

三七的指纹图谱研究概述^Δ

柯昌虎^{1*}, 黄慧敏¹, 赵阳², 李志浩^{1#} (1. 湖北医药学院附属东风医院药学部, 湖北十堰 442000; 2. 西安交通大学第二附属医院药物临床试验机构, 西安 710004)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)13-1864-09
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.13.32

摘要 目的: 为全面控制中药三七的质量提供参考。方法: 以“三七”“指纹图谱”“*Panax notoginseng*”“Fingerprint”等为关键词, 组合查询2003年1月—2017年12月在中国知网、万方、维普、PubMed等数据库中的相关文献, 对三七指纹图谱的相关研究进行综述。结果与结论: 共检索到相关文献209篇, 其中有效文献80篇。目前三七指纹图谱分析方法主要有色谱法(包括高效液相色谱法、薄层色谱法、毛细管电泳色谱法、气相色谱法等)、光谱法(包括红外光谱法、紫外光谱法、荧光光谱法、核磁共振等)、非线性化学法、生物学方法等。三七化学指纹图谱的研究报道较多, 特别是色谱指纹图谱广泛应用于三七及其制剂的质量评价, 而基于其指纹图谱与药效作用结果的谱-效关系研究有待进一步深入。

关键词 三七; 指纹图谱; 检测技术; 质量控制

中药三七 [*Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen] 为五加科人参族植物, 盛产于云南、广西、贵州等地区, 药用历史已达数百年, 是我国治疗血证的传统中药, 被认定为“外伤科之圣药、止血之神药、理血之妙品”^[1]。三七的根茎(剪口)、支根(筋条)、叶、花等部位均可用于治疗疾病, 且常以主根入药^[2], 是三七化瘀口服液、三七配方颗粒、三七通舒胶囊、血塞通注射液等中药制剂的有效成分之一, 以其为配方的许多制剂大多纳入了《国家基本药物目录》。现代药理学研究发现, 三七药材在止血活血、保护心血管、保护神经系统、抗炎、抗肿瘤等方面药效显著, 主要依赖其天然皂苷类活性成分。目前已从三七不同部位中分离出80余种达玛烷型皂苷, 人参皂苷 Rb₁ (G-Rb₁)、人参皂苷 Rd (G-Rd)、人参皂苷 Re (G-Re)、人参皂苷 Rg₁ (G-Rg₁) 和三七皂苷 R₁ (N-R₁) 这5种皂苷成分常用于三七药材含量分析及内在质量控制的考察指标^[3-5]。其中, G-Rb₁、G-Rg₁、N-R₁ 在三七总皂苷中含量分别高达30%、20%、2.5%^[6], 在2015年版《中国

药典》(一部)中, 上述3种成分被列为三七的药材和相关制剂的质量控制指标^[7]。

由于受到产地、生长环境、年限、采收时间等因素的影响, 三七药材质量不一, 从而直接造成临床用药疗效的不稳定, 加之市场上三七药材质量差异大, 商品质量更是真伪难辨, 给临床用药安全带来危害^[8-9]。目前在相关研究中, 由于缺乏皂苷参照或色谱分离能力差, 半数以上的总皂苷还不能被定量检测, 而可供的参照物远远不符合分析要求^[6, 10]。因此, 借助现代技术, 全面、系统地控制三七药材内在质量, 对确保产品的安全与稳定尤为重要。指纹图谱分析是基于现代光谱、色谱、分子生物学技术等方法而建立起来的质量控制模式, 并逐步应用于中药质量控制领域, 成为确定其身份、真实性和一致性的有力工具。与经验鉴别“辨状论质”、初期的理化鉴别等传统质量控制方法比较, 指纹图谱可以更全面地反映出中药复杂体系的内部状况, 获得准确而完整的指纹, 实现中药的稳定与可控, 现已成为诸多中药及其

[48] 陈颖, 周岩, 黄立勇, 等. 天花粉皂苷及其在制备治疗缺血性脑血管疾病药物中的用途: 中国, 101983637A[P]. 2011-03-09.
[49] 黄庆勇, 叶森, 李煌, 等. 响应面法优选天花粉总皂苷的提取工艺[J]. 中成药, 2015, 37(7): 1595-1599.
[50] 张波, 刘红燕, 李佳, 等. 基于性别差异的栝楼药用部位氨基酸含量比较研究[J]. 中国药师, 2014, 17(9): 1517-

1519.
[51] 刘娟, 路欣欣, 孟慧. 瓜氨酸的药理作用及生产方法的研究进展[J]. 药学实践杂志, 2011, 29(3): 173-175.
[52] 杨申明, 王振吉, 韦薇, 等. 天花粉中总黄酮提取工艺研究[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(5): 870-874.
[53] 彭朝霞, 曹敏, 张运杰, 等. HPLC测定天花粉中葫芦素B的含量[J]. 中国现代应用药学杂志, 2009, 26(11): 946-948.
[54] 夏侯国论, 刘丽华, 李银保. 微波消解-火焰原子吸收法测定天花粉中的微量元素[J]. 赣南医学院学报, 2009, 29(3): 321-322.

^Δ 基金项目: 湖北省卫生和计划生育委员会科研立项项目(No. WJ2017F080); 十堰市科学技术研究与开发项目(No. 17Y58)

* 硕士。研究方向: 中药活性成分与质量控制。电话: 0719-8272595。E-mail: kchdfzyy@163.com

通信作者: 副主任药师, 副教授。研究方向: 中药分析与筛选。电话: 0719-8272346。E-mail: 281395565@qq.com

(收稿日期: 2018-03-01 修回日期: 2018-05-08)
(编辑: 余庆华)

制剂质量控制的重要手段^[11-12]。另外,将指纹图谱特征与药物作用效应进行有机结合而建立起谱-效关系,可以更好地阐明药效物质基础。笔者以“三七”“指纹图谱”“*Panax notoginseng*”“Fingerprint”等为关键词,组合查询2003年1月—2017年12月在中国知网、万方、维普、PubMed等数据库中的相关文献。结果,共检索到相关文献209篇,其中有效文献80篇。现对三七指纹图谱的相关研究进行综述,以期为全面控制中药三七的质量提供参考。

1 色谱指纹图谱

色谱能反映中药的“化学成分”,以中药色谱指纹图谱来鉴别中药的真伪合理可行,已被广泛应用于中药质量控制中,包括高效液相色谱(HPLC)、毛细管电泳色谱(CE)、薄层色谱(TLC)、气相色谱(GC)等方法。国家食品药品监督管理局(CFDA)明确要求^[10],所有的中草药注射剂及相关原料在标准化中使用色谱指纹图谱。色谱指纹图谱通过建立共有模式,指认特征共有峰及数目,借助相似性估计、主成分分析(PCA)和聚类分析等化学计量学方法来实现不同来源中药的质量评价^[13-14]。

1.1 液相色谱

1.1.1 HPLC (1)三七药材的HPLC指纹图谱分析。HPLC具有分离效能高、分析速度快、应用范围广等优点,是中药指纹图谱研究最广泛的检测方法之一。建立不同产地及不同批次三七药材的HPLC指纹图谱共有模式,可为其全面质量控制提供参考。白长财等^[15]收集20批不同产地的三七药材,以甲醇提取,乙腈-水梯度洗脱。结果发现,建立的HPLC图谱相似度在0.931~0.995之间,19个共有峰中7个主要的指纹峰(3、4、5、14、15、16、17)得到确认,分别为N-R₁、G-Rg₁、G-Re、G-Rb₁、G-Rg₂、G-Rh₁、G-Rd。所建立的方法适用于三七等含有弱或无紫外吸收成分中药材的分析。张迅杰等^[16]收集10批三七药材,以70%乙醇进行超声提取,乙腈-0.1%磷酸水溶液梯度洗脱,203 nm为检测波长。结果发现,建立的HPLC图谱相似度均在0.755~0.963之间,39个共有峰中指认了6个主要色谱峰(7、8、9、19、22、31),分别为N-R₁、G-Rg₁、G-Re、G-Rf、G-Rb₁、G-Rd,该分析方法为三七药材的质量控制提供了依据。刘小红等^[17]对三七药材用70%乙醇回流提取,以分离总皂苷为主线轴,采用正向剔除分离法制备得到4种不同伴生物组成的三七总皂苷(I、II、III、IV),各6批,以乙腈-水梯度洗脱,203 nm为检测波长。结果发现,建立的HPLC图谱相似度均>0.99,4种醇提三七总皂苷各有10个共有峰,N-R₁、G-Rg₁、G-Rb₁均可在指纹图谱中得以追溯。闫炳雄等^[18]采集10批三七药材,将其发酵产物进行指纹图谱研究,以甲醇超声提取,乙腈-水梯度洗脱。结果发现,建立的HPLC图谱相似度均>0.98,14个共有峰中8个色谱峰(2、3、4、5、6、8、12、14)得到确认,分别为G-Rg₁、G-Re、

G-Rb₁、G-Rg₂、G-Rh₁、G-Rd、G-Rg₃、G-CK,并可作为鉴别三七发酵产物物质基础的重要指标,从而为全面控制三七发酵产物总皂苷的质量提供理论依据。刘晓丽等^[19]以三七药材制备10批三七总皂苷,乙腈-水梯度洗脱,203 nm为检测波长。结果发现,建立的HPLC图谱共确定了22个共有峰,并应用色谱指纹图谱指数F等参数、双定性双定量相似度法和系统指纹定量法对三七总皂苷质量进行评价,为三七总皂苷的质量控制提供方法。

(2)三七不同药用部位的HPLC指纹图谱分析。对三七不同药用部位HPLC分析并建立其指纹图谱,不仅能反映出药用部位和生产工艺不同造成的含量差异,还可以准确分辨三七不同药用部位的质量。崔翰明等^[20]采用甲醇对三七多个部位(主根、筋条、剪口、叶、花)进行超声提取,以乙腈-水进行线性梯度洗脱,203 nm为检测波长。结果发现,不同规格三七根(20~100头)和剪口、筋条的HPLC指纹图谱接近,相似度>0.971,三七主根与花和叶相似度分别为0.596和0.564,17个特征峰中8个色谱峰(4、5、6、7、8、9、10、11)得到确认,分别为N-R₁、G-Rg₁或G-Re、G-Rf、G-Rb₁、G-Rc、G-Rb₂、G-Rb₃、G-Rd;又在相同色谱条件下对不同来源的三七总皂苷提取物进行指纹图谱分析时发现,三七主根、剪口和筋条3个不同部位之间以及不同生产工艺条件下,其主要特征峰峰面积及比例差异明显,在同一生产工艺下,三者总皂苷提取物差异不大,11个特征峰中8个色谱峰(1、2、3、4、5、6、7、8)得到确认,并与前期研究结果保持一致^[21]。陈彤等^[22]采用70%甲醇分别对10批三七总皂苷和10批三七剪口药材进行超声提取,以乙腈-水进行梯度洗脱,203 nm为检测波长。结果发现,建立的HPLC图谱相似度均≥0.995,10个共有峰中指认了5个色谱峰(1、2、3、5、9),分别为N-R₁、G-Rg₁或G-Re、G-Rf、G-Rb₁、G-Rd,5种皂苷含量之和达84.7%,含量测定结果平均值的RSD不超过3.23%,表明三七剪口提取三七总皂苷的生产工艺稳定。

(3)三七饮片的HPLC指纹图谱分析。建立三七饮片HPLC指纹图谱,对生、熟三七进行对比研究,不仅可为其鉴别提供依据,也可为解决生、熟三七品质评价提供科学的方法。李琳等^[23]采集活性三七饮片和传统干燥三七药材各10批,以甲醇提取,乙腈-水梯度洗脱,203 nm为检测波长。结果发现,建立的HPLC图谱相似度均在0.90~1.00之间,8个共有峰中指认的5个色谱峰(1、2、3、7、8)分别为N-R₁、G-Rg₁、G-Rb₁、G-Re、G-Rd,且活性三七中上述5个指标成分的含量均高于传统干燥三七药材,表明活性三七饮片的指纹图谱适用于活性三七饮片的质量控制。陈炜璇等^[24]分别采集三七药材饮片11批、破壁粉体和破壁饮片各12批,以70%甲醇超声提取,乙腈-水梯度洗脱,203 nm为检测波长。结果发现,建立的HPLC图谱相似度>0.9,8个共有峰中3个共有

峰(1、2、4)得到确认,分别为N-R₁、G-Rg₁、G-Rb₁,建立的HPLC指纹图谱方法具有良好的精密性、重复性和稳定性,适用于三七破壁饮片的质量控制。陈荣洁等^[25]采用70%甲醇对10批熟三七进行超声提取,乙腈-水梯度洗脱,203 nm为检测波长。结果发现,在18个共有峰中辨认出14个色谱峰(1、2、3、4、5、6、7、8、12、13、14、15、17、18),分别为N-R₁、G-Rg₁、G-Re、G-Rb₁、G-Rc、20S-G-Rh₁、20R-G-Rh₁、G-Rd、G-Rk₃、G-Rh₄、20S-G-Rg₃、20R-G-Rg₃、G-Rk₁、G-Rg₅,其中G-Rg₁、G-Rb₁和G-Rh₄为熟三七的特征峰,且G-Rh₄是区别熟三七和生三七的重要成分。连艳等^[26]对10批熟三七饮片进行指纹图谱研究,以甲醇提取,乙腈-水梯度洗脱,203 nm为检测波长。结果发现,建立的HPLC图谱相似度>0.9,在16个共有峰中辨认了6个色谱峰(1、2、5、12、13、14),分别为N-R₁、G-Rg₁、G-Rb₁、G-Rc、20S-G-Rg₃、20R-G-Rg₃,可为熟三七饮片的鉴别及质量控制提供依据。

(4)三七相关制剂的HPLC指纹图谱分析。应用HPLC指纹图谱对三七相关制剂进行评价分析,可为解决中药配方在不具备饮片外形后的品种真伪鉴别和质量优劣的评价上提供科学的方法,也为保证临床用药的安全、有效提供依据。周绚^[27]分别取三七药材、三七总皂苷和三七缓释片各10批,以70%甲醇提取,乙腈-水梯度洗脱,203 nm为检测波长。结果发现,三者共有峰数目分别为17、15、14个,三七药材的相似度>0.82,三七总皂苷提取物、三七缓释片的相似度均>0.95,三者指纹图谱整体特征相关性良好,三七皂苷类成分分布及比例稳定,中间体、成品与原料药的相关性良好,质量稳定。江国华等^[28]收集10个批次三七化瘀口服液,以甲醇超声提取,乙腈-0.05%磷酸水溶液梯度洗脱。结果发现,图谱相似度均在0.9~1.0之间,共有峰12个。毕晓黎等^[29]采用甲醇对10批三七配方颗粒进行超声提取,以乙腈-水梯度洗脱,203 nm为检测波长。结果发现,图谱相似度>0.9,18个共有峰中3个色谱峰(3、4、7)得到确认,分别为N-R₁、G-Rg₁、G-Rb₁,可用于三七配方颗粒的定性鉴别。马再鸿等^[30]对10批三七通舒胶囊进行指纹图谱研究,以乙腈进行提取,乙腈-水梯度洗脱,203 nm为检测波长。结果发现,图谱相似度>0.96,样品标定4个共有指纹峰(1、2、3、4),分别为N-R₁、G-Rg₁、G-Re、G-Rb₁,且上述4种主要有效成分的相对比例较稳定,所建立的方法可用于三七通舒胶囊的质量控制。

1.1.2 超高效液相色谱 超高效液相色谱(UPLC)在HPLC的基础上发展而来,凭借其优良的分离性能和高通量的检测水平,使成分复杂的中药体系的定性和定量检测、代谢组学方面的研究更为准确和高效,可用于中药的成分鉴别、含量测定、指纹图谱、代谢标记物等方面的研究^[31]。三七中的皂苷类成分紫外吸收较弱,尤其在中药复方中皂苷含量很低,从而对检测方法提出了更高

的要求^[32]。胥爱丽等^[33]对10批三七配方颗粒进行UPLC指纹图谱研究,以甲醇超声提取,乙腈-水梯度洗脱,203 nm为检测波长。结果发现,图谱相似度均>0.9,11个共有指纹峰中辨认出3个色谱峰(1、2、3),分别为N-R₁、G-Rg₁和G-Rb₁,所建立的UPLC指纹图谱可用于三七配方颗粒的快速定性鉴别,并为三七配方颗粒的快速质量评价提供方法。董宏然等^[34]采用80%甲醇超声提取10批丹七软胶囊(丹参、三七),以0.1%甲酸水溶液-0.1%甲酸乙腈梯度洗脱,208 nm为检测波长。结果发现,图谱相似度>0.980,32个共有峰中18个成分来自三七,所建立的指纹图谱稳定可靠,灵敏度高,可以作为丹七软胶囊的质量控制标准。李学林等^[35]对20批注射用血栓通(冻干)进行UPLC指纹图谱研究,以70%甲醇提取,乙腈-水梯度洗脱,203 nm为检测波长。结果发现,图谱相似度均>0.98,13个共有峰中辨认出5个色谱峰(5、7、8、11、13),分别为N-R₁、G-Rg₁、G-Re、G-Rb₁、G-Rd。与HPLC比较,UPLC更加快速高效,可以作为注射用血栓通(冻干)的质量控制的重要参考方法之一。

1.1.3 液相色谱-质谱联用 液相色谱-质谱联用(LC-MS)技术将色谱高分离能力和质谱的灵敏性有机结合起来,可以更好地了解中药的药理基础,并成为连接中医与现代医学的桥梁^[36]。中药大多是从动植物中得到,化学成分丰富多样,药理活性显著有效且毒性较低,但由于缺乏科学的分析方法,中药的价值一直未被充分认识。在中草药处方及中药制剂中,大量的药物成分混合在一起,给中药的分离和检测分析工作带来巨大的挑战。MS是一种无标记技术,特异性强,可以通过离子的质荷比可靠地检测出分子,而串联质谱扫描模式则可以进一步提高检测的灵敏度和特异性,特别适用于复杂样品的分析,已广泛应用于皂苷、黄酮类、生物碱类等许多中药活性成分的分析^[37-38]。冷静等^[39]采用HPLC-MS法对三七三醇皂苷(15批)及三七通舒肠溶微丸胶囊(10批)进行指纹图谱研究,以20%乙腈水溶液提取,乙腈-水梯度洗脱,采用电喷雾离子源(ESI),负离子化模式下进行检测。结果发现,谱图相似度>0.94,辨认共有峰14个,离子碎片图谱中确定第2、3、4、5、9号峰分别为N-R₁、G-Rg₁、G-Re、G-Rf、G-Rb₁。曹怡等^[40]采用100倍量水饱和正丁醇超声提取三七样品,选用ESI离子源,正负离子模式下的全扫描,扫描范围 m/z 300~2 000(MS^1), m/z 50~2 000(MS^2 和 MS^3),建立了三七质量评价半微量方法,液相色谱-离子阱-飞行时间质谱联用(LC-MS-IT-TOF)技术辨认出指纹图谱中的16个皂苷类成分(1~16),分别为N-R₁、G-Rg₁、G-Re、Ace-G-Rg₁、N-R₄、N-Ra、G-Rf、G-Rb₁、N-R₂、Mal-G-Rb₁、G-Rg₂、G-Rh₂、Iso-G-Rb₁、G-Rd、Mal-G-Rd、N-K,包括8个人参三醇型皂苷(1、2、3、4、7、9、11、12)和8个人参二醇型皂苷(5、6、8、10、13、14、15、16)。结果表明,利用指纹图谱相似度

评价及对特征峰峰面积提取可进行三七的质量分析,避免了测定过程的烦琐及费用昂贵问题,为三七样品的质量分析提供了简便、快速和准确的评价方法,且可应用于三七不同年限等样品的质量评价。赵静等^[41]以乙腈-0.1%甲酸水溶液梯度洗脱,ESI负离子模式,采用超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱联用(UPLC-Q-TOF-MS)法对三七中化合物进行快速分析,结果可将17种皂苷类成分划分为5种类型,即I型皂苷[原人参二醇型(PDS)]、II型皂苷[原人参三醇型(PTS)]、III型皂苷(拟人参皂苷F₁₁)、IV型皂苷[齐墩果烷型(G-R₀)]和V型皂苷(G-R_{k1});同时,对多种难以区分的同分异构体(如G-R_c、G-R_{b2}、G-R_{g3}、拟人参皂苷F₁₁等)也能进行有效区分。该方法可为快速鉴定和分析含有三七皂苷和人参皂苷类成分的化合物提供参考,并为全面表征三七指纹图谱提供依据。

1.1.4 谱-效关系 指纹图谱使中草药的质量控制和标准得到提升,谱图中的主要成分被认为是中草药质量评价的标志物,但无法反映出药物的治疗作用。借助谱-效关系可以将中药指纹图谱中化学成分的变化与药效结果之间的联系反映出来,并找出与药效活性相关的药效成分群,从而建立中药产品与其疗效基本一致的反映产品内在质量的评价体系。在中药液相指纹图谱分析的基础上,通过谱-效关系建立中草药综合评价体系,可以阐明特征图谱与药效的相互关系,反映中药的内在质量,同时确定药效物质基础^[42-43]。通过对三七的谱-效关系研究,确定用于三七全面质量控制的主要活性成分,以期建立三七全面质量评价体系提供参考和依据。刘旭等^[44]采用甲醇超声提取,乙腈-水梯度洗脱,检测波长203 nm,建立了三七药材的HPLC指纹图谱,以大鼠心肌缺血模型为对象,研究中药三七对大鼠心肌缺血保护作用谱-效关系及药效物质基础。结果发现,N-R₁(峰1)、G-R_{g2}(峰2)、G-R_{b1}(峰3)、G-R_e(峰5)均与治疗心肌缺血作用呈正相关,是中药三七治疗心肌缺血的主要有效成分,所建立的评价三七药材谱-效关系的新方法为该类药物进一步研究提供了新的思路;刘旭课题组又以心肌缺血模型为对象进行谱-效关系研究发现,N-R₁(峰1)、G-R_{g2}(峰2)、G-R_{b1}(峰3)均与药效呈显著正相关,其中G-R_{b1}可显著降低血清中乳酸等物质水平的升高,G-R_{g2}可显著降低血清游离脂肪酸(FFA)水平升高,是中药三七治疗心肌缺血的主要有效成分。通过谱-效关系研究获得了药效活性物质,建立了三七药材谱-效关系评价的方法,客观反映了药物内在质量,为该类药物创新研究提供了借鉴^[45]。赵玉珑^[46]将三七复杂化学成分UPLC指纹图谱与其抗凝药效相结合,研究了三七二醇苷(PDS)、三七三醇苷(PTS)和三七总皂苷(PNS)抗凝作用的“量-效”关系,并与三七花和叶中皂苷成分

的抗凝作用进行了比较。将样品色谱峰峰面积与其凝血酶原时间(PT)值联系,建立了线性方程模型,发现N-R₁、G-R_{b1}、G-R_d和一个未知成分为其质量控制的主要活性物质;量-效关系试验结果显示,三七根和三七叶中PDS的抗凝活性显著高于其他样品,且三七叶中的PDS可能是潜在的新型抗凝药物。

1.2 CE

CE已成为药物质量控制的有效工具,广泛应用于药用植物成分的分离鉴定,如茶多酚、糖类、脂类、生物碱、萜类化合物等。在天然复杂成分的分离和定量上,与其他分析方法比较,CE具有峰容量高、样品和试剂用量少、分离效率高、灵敏度高、成本-效益高等优点,为中药及其复方制剂的分析、鉴定及指纹图谱建立提供了一种高效、准确的方法^[47-48]。刘金丹^[49]采用CE法对12批市售三七药材进行分析,考察了不同提取条件、背景电解质和分离电压3个因素对电泳图谱的影响,以背景电解质50 mmol/L硼砂-200 mmol/L硼酸(1:1, V/V),运行电压12 kV,检测波长203 nm,建立云南产三七的指纹图谱。结果,共确定18个共有峰,建立的CE指纹图谱成为三七质量控制的一种新工具。李霞等^[50]以10批次复方丹参滴丸为对象,50 mmol/L硼砂-硼酸缓冲盐(内含30 mmol/L十二烷基硫酸钠)为电泳缓冲盐,分离电压25 kV,检测波长203 nm,建立了复方丹参滴丸的CE指纹图谱。结果,在14个共有峰中,指出4个色谱峰(2、3、4、6),分别为原儿茶醛、N-R₁、G-R_{g1}、丹参素,建立的CE指纹图谱测定方法快速、高效,为复方丹参滴丸的全面质量控制提供了科学依据。

1.3 TLC

TLC是一种成熟的可视化分析方法,操作简便、成本低、通用性强、特异性强,可以直观而形象地反映出中药的特征,在中草药评价中有着广泛的应用^[51]。TLC指纹图谱可以在可见光或紫外光下,对衍生化前后的分离带的数目、序列、位置和颜色进行比较。随着仪器的进步与发展,高效薄层色谱(HPTLC)成为中草药指纹图谱分析强大的一种工具,适用于低或中等极性化合物的分析,且苯胺-二苯胺比色法的检测灵敏度远远高于HPLC常用的示差折光检测器(RI)和蒸发光散射检测器(ELSD)的灵敏度^[52]。同时,HPTLC具有高通量、可重复、稳定好等特点,与CE一样,具有方法简单、快速的优势^[53]。颜玉贞等^[54]采用预制硅胶高效薄层板(20 cm×10 cm),二氯甲烷-无水乙醇-水(70:45:6.5, V/V/V)为展开剂,硫酸乙醇溶液(10%)为显色剂,于366 nm紫外灯下检视三七样品的荧光色谱。结果,建立了24个不同商品规格三七药材皂苷类成分的HPTLC指纹图谱,其中G-R_{b1}、G-R_d、G-R_e、G-R_{g1}、N-R₁等10个特征斑点的峰及其峰比值相对稳定,提供的皂苷类成分分布信息可以快

速考察商品三七的质量。马妮等^[55]采用硅胶60预制板,氯仿-甲醇-水(65:35:10, V/V/V, 取下层)为一次展开剂,氯仿-正丁醇-甲醇-水(4:8:3:4, V/V/V/V, 取下层)为二次展开剂,使三七中主要成分N-R₁、G-Rg₁、G-Re、G-Rb₁和G-Rd得到良好分离;以硫酸乙醇溶液(10%)为显色剂,于366 nm波长处检视,发现不同规格和不同产地的三七根部和根茎的TLC指纹图谱特征斑点一一对应,而根部与花、茎叶比较则明显不同。结果表明,TLC能有效直观地对三七药材中皂苷成分进行快速鉴定,建立的TLC指纹图谱可为完善三七质量标准控制体系提供依据。王明科等^[56]采用硅胶G薄层板,正丁醇-醋酸乙酯-水(4:1:5, V/V/V, 取上层)为展开剂,硫酸乙醇溶液(10%)为显色剂,G-Rg₁、G-Rb₁、N-R₁作为对照品,于365 nm波长处检视,建立了三七丹参颗粒的TLC定性指纹图谱,该方法准确、快速,可有效控制该制剂的内在质量。

1.4 GC

与LC比较,GC具有一些显著的优点,如流动相的黏度低,扩散系数大,使得流动阻力降低且传质速率加快,适用于低分子量化合物的分析^[47]。中药中含有许多活性挥发性物质和低沸点成分,GC可在中药的分析中发挥出重要作用。目前,GC及GC-MS联用技术广泛应用于中药的挥发性成分分析,灵敏度高、稳定性好、分析效率高,特别是GC与MS联用,对复杂成分的定性分析提供了可靠的信息^[51]。李丽明等^[57]利用顶空固相微萃取-GC-MS法研究三七挥发性成分的化学成分组成,分离得到离子峰93个,鉴定得到83个化合物,占挥发性物质总量的95.83%,该方法简便、环保、快速、灵敏,适用于三七挥发性成分的研究。梁贺升等^[58]利用GC-MS仪对中药三七蒸汽溶液进行分析研究,建立了三七药材挥发性物质的GC-MS图谱。结果,总共辨析出46个色谱峰,通过检索美国国家标准与技术局(NIST)的质谱图库,测得了19种可能化合物,其中2-甲氧基-4-(1-丙烯基)-苯酚、十四烷酸、十八碳二烯酸、二十五烷的可信度达95%以上,且从结构上看,三七药材中挥发性物质大部分为苷类化合物。通过GC指纹图谱分析三七所含组分,为其质量鉴别提供借鉴作用。

2 光谱指纹图谱

不同药材所含物质基础不同,根据其相对应的光谱性质的差异可以判断药材的品质与质量,包括红外光谱(IR)、紫外光谱(UV)、荧光光谱(FS)、核磁共振(NMR)等方法。将中药材及其制剂进行适当处理,经光谱测定即可得到能够标识该中药材及其制剂共有模式的指纹图谱。光谱指纹图谱与色谱指纹图谱一样,应用于中药及其制剂的研究中,成为中药质量控制的重要手段。

2.1 IR

IR可以提供分层的指纹图谱(整体、部分和单一成

分),其像“GPS”一样,从系统到分子水平循环,可以“导航”中草药综合化学特征^[59]。中草药是一个复杂的体系,整个系统尚缺乏表征指标来呈现完整的分子信息。李建蕊^[60]运用傅里叶变换红外光谱(FTIR)技术,对三七的剪口(根茎)、主根、筋条、绒根等不同部位以及表皮、韧皮部、形成层、木部等不同组织的一维IR和二阶导数光谱进行了探讨。结果发现:(1)绒根在1 741 cm⁻¹和1 384 cm⁻¹处的特征吸收峰与剪口、主根、筋条峰形差异较大;剪口在1 077 cm⁻¹峰强度显著高于主根、支根、绒根在1 080 cm⁻¹附近特征峰的强度;主根与筋条整体峰形相似,两者所含化学成分的种类基本相同。(2)在不同组织中,韧皮部、形成层和木部的主体成分均为淀粉。(3)三七剪口与其表皮的一维红外光谱和二阶导数光谱均在1 317 cm⁻¹和781 cm⁻¹处有草酸钙的特征峰,且表皮中草酸钙的含量更高。IR既能对三七不同部位、组织以及不同加工方法的样品进行鉴别,又能揭示三七的主体成分、有机大分子和无机小分子成分等化学信息,IR指纹图谱为三七药材的质量评价及其控制提供了一种准确、快速、无损的检测方法,也为中药材的微量研究提供了方法参考。李运^[61]采用FTIR对云南道地药材三七进行研究,建立了三七红外指纹图谱,结合偏最小二乘判别分析(PLS-DA)、支持向量机(SVM)等化学计量学方法挖掘不同产地与地下部位三七图谱化学信息,并进行鉴别。结果显示,5个不同区域的三七IR相似度很高,3 400、2 930、1 731、1 643、1 152、1 079、1 023、927 cm⁻¹附近有8个明显共有峰;区域鉴别正确率为94.29%,道地产地与非道地产地鉴别正确率为97.14%;对三七主根、剪口和须根粉末进行鉴别,鉴别正确率为100%。表明FTIR结合化学计量学方法能够对三七进行快速准确鉴别,建立的方法可为三七科学、合理、规范使用及质量评价提供研究基础。

2.2 UV

UV指纹可以表征样品的化学性质,借助PCA、PLS等评价工具,建立药理学与光谱数据之间的关系,可用于评价中药制剂的药效强度,有助于筛选不同草药或不同技术制备的中草药制剂^[62]。基于指纹图谱分析的中药材或中药材质量分析与控制越来越受到人们重视,将多组分分析方法和指纹图谱相结合被认为是在中草药中筛选候选药物的有效工具。三七中主要药效成分为皂苷类,有较强的UV末端吸收。丁永丽^[63]采用UV指纹图谱共有峰率和变异峰率双指标序列分析、聚类分析、PCA和PLS-MD分析等多种指纹图谱评价方法系统地研究了三七UV指纹图谱,并探讨了不同显色剂对三七UV指纹图谱的峰数目和吸收范围产生的影响。丁永丽等^[64]采用氯仿、乙醇、水分别提取三七样品,同时在各溶剂提取液中加入一定量5%硫酸香草醛溶液,建立了三

七UV指纹图谱和三七-硫酸香草醛UV指纹图谱。采用SIMCA软件及共有峰率和变异峰率双指标序列法进行分析时发现,加入硫酸香草醛的三七指纹图谱的共有峰率数据较为集中(50%~70%),其变异峰率的范围也较小(20%~50%)。三七-硫酸香草醛UV指纹图谱的相似性大于三七UV指纹图谱,双指标序列分析的结果与图谱结果一致,表明两种方法所得UV图谱的差异性与三七产地和生长年限均相关。王元忠等^[65]采集云南10个不同地区共50个三七样品的紫外光谱时发现,不同产地三七样品的紫外光谱峰形相似,主要共有峰为194、200、204、210、218 nm,吸光度分布在0~4.00之间,表明三七的主要成分组成与产地相关性低,含量与产地存在相关性。PLS-DA得分图显示10个产地样品被分为4类,且图谱有差异的样品区分较为明显。表明该方法能快速准确地对不同产地三七样品进行定性分析,阐明样品UV指纹图谱与产地的关系,为中药的资源鉴别提供理论参考。钟贵等^[66]采集越南产野三七的根部、叶部及云南产野三七的根部,提取其有效成分,利用紫外-可见吸收光谱(UV-Vis)指纹图谱结合多元统计方法对其进行鉴别分析,PCA及PLS-DA得分图均显示所有样品聚为3类。越南产野三七根部、叶部及云南产野三七根部的UV-Vis指纹图谱征共有吸收峰分别分布在206~310、206~800、206~400 nm,表明不同产地、部位和介体的野三七样品存在明显的差异。UV-Vis指纹图谱结合多元统计方法能有效地鉴别不同产地和部位的野三七样品,从而为中药材的质量控制、安全使用提供参考。

2.3 FS

FS是一种操作简便、分析可靠、高效的分析方法,可以快速、准确地鉴定植物材料(油包水、非法毒品和酒中的多酚等^[67])。中草药中存在的某些化学成分(特别是有效成分)在紫外灯或可见光下可以产生一定的荧光,据此性质可以实现FS检测,FS现象可以反映出中药材的内在质量。三七中含有共轭基团的成分在紫外光照射下会发射出FS。刘智等^[68]采用FS对三七皮和芯的溶出物成分进行研究,发射波长为680 nm,激发波长为280 nm,发现三七皮醇提液的FS图中比三七芯的FS图多1个荧光峰,据此表明三七皮与芯在成分上的差异。张举成等^[69]以血塞通冻干粉作为对照,采用固体三维荧光技术建立三七及其支根的固体三维FS指纹图谱。结果发现,三七粉末荧光峰出现在230/340、290/340、370/480、430/540 nm,最强荧光峰为290/340 nm;三七支根的荧光峰出现在280/450、290/350、350/440 nm,最强荧光峰为350/440 nm;血塞通冻干粉荧光峰出现在230/330、280/660、300/340、370/590、440/550、490/610 nm,最强荧光峰为300/340 nm。三者的荧光峰均出现在290~300/340~350 nm,且在血塞通冻干粉和三七粉末中该峰最

强。另外,在血塞通冻干粉和三七粉末中有230/330~340 nm的荧光峰,三七支根没有。因此,选取以上2个荧光峰作为特征荧光峰进行检测,可以有效地鉴别三七粉末与三七支根,实现产品质量的快速评价。

2.4 NMR

NMR已成为鉴别中药中有机化合物结构的有力手段,其指纹图谱具有高度的特征性和重现性,且与植物品种间存在十分准确的对应关系,谱图所提供的中药特征性化学成分的结构和组成信息对于中药生产中的质量控制具有重要的实用价值。袁卫梅等^[70]采用购自北京、昆明、贵阳、郑州、新乡等地的商品三七药材,规格包括20、30、40、60头,建立了三七特征总提物B的¹H-NMR指纹图谱。结果发现,各种规格的三七的¹H-NMR指纹图谱具有很好的一致性,表明其在特征性化学成分的组成方面是一致的。三七的药用化学成分受到产地的影响,不同产地的三七样品各区积分面积所占比重有一定差异。赵羽等^[71]对三七主根样品进行超声提取,并用noesypr1d脉冲序列预饱和和水峰压制试验,获取了8种不同产地三七的¹H-NMR指纹图谱,峰形十分相似,表明化学成分近似;某些特征信号强度比例明显不同,说明不同产地三七主根中的三萜皂苷的含量和组成比例不同。

3 非线性化学指纹图谱

非线性化学指纹图谱技术是一种基于化学振荡和化学湍流等非线性化学反应的全新技术,其通过对样品整体检测化学或活性成分来反映样品的整体信息。该技术无需分离和提纯等预处理技术,是一种简单、快速、经济的中药鉴别和质量控制技术。以非线性化学反应来表征中药复杂体系成分群集特征的指纹图谱,可以达到中药材的混伪品及来源鉴别的目的^[72-73]。罗志平等^[74]采用非线性化学方法对超微三七粉进行研究,以0、4.2、9.2 kGy 3种剂量的⁶⁰Co- γ 射线对其进行辐照处理,建立了辐照前后三七粉非线性化学指纹图谱。结果发现,辐照剂量与振荡寿命及停振时间之间存在良好的线性负相关关系;三七粉辐照前后的非线性化学指纹图谱存在一定的差异,且重复性较好;而随着辐照剂量的增大,辐照过的三七粉与未辐照处理的三七粉指纹图谱中的系统相似度越来越小。表明非线性化学指纹图谱技术可用于鉴别不同剂量辐照处理的超微三七粉。王东艳等^[75]采用 $H^+-Mn^{2+}-CH_3COCH_3-BrO_3$ 为振荡体系,加入中药粉末在封闭体系中发生的非线性化学反应,通过记录体系中电位随时间的变化,获得中草药的电化学指纹图谱。实验测定了三七及其伪品(白术、莪术)的电化学指纹图谱,中药材(三七等)作为有机底物,与溶剂发生氧化还原反应,固定其他反应条件不变,加入不同反应底物,所得到的电化学指纹图谱特色鲜明,三七及其伪品的电化

学指纹图谱具有明显的差别,据此来鉴别三七。

4 生物指纹图谱

在探讨中药药理的过程中,人们发现生物指纹技术具有良好的选择性和高通量性能,其结合了化学指纹和生物评价,特别适合于复杂成分、整体调节、多靶点中药的分析,获取信息量大、分析能力强且无污染,使其备受关注^[76]。迄今为止,人们对中药的药理学依然知之甚少,对一些具有潜在毒性的植物、动物和矿物中药心存疑虑,某些传统的指纹识别技术已不能完全满足该领域的新要求^[77]。赵熙等^[78]采用随机扩增多态性DNA(RAPD)技术,对文山和广西两地的三七进行DNA指纹图谱的鉴别研究,从45个引物中筛选出23个扩增稳定且谱带清晰的引物,获得211个遗传标记。结果显示,不同样品间有遗传差异,各自具有不同的遗传特征。张英等^[79]采用聚合酶链式反应(PCR)技术对三七及其7种伪品的18S rRNA和matK基因部分核苷酸序列以及不同产地三七的DNA分子特征进行测定时发现,三七及其伪品的核糖体18S rRNA基因序列存在很大的差异,而不同产地的三七的核糖体18S rRNA和叶绿体matK基因序列特征完全一致,结合三七的化学指纹特征,可以为三七的正品药材基原鉴定提供分子和化学依据。张靖等^[80]应用第二内转录间隔区(ITS2)序列DNA条形码对三七饮片进行分子鉴定,利用化学指纹图谱结合DNA分子鉴定技术进行考察。结果发现,三七精准煮散饮片与市售原饮片基本属性相一致,但煮散饮片的浸出、有效成分溶出及质量均一性均有明显提高,提示煮散饮片可提高临床用药的精准性。

5 结语

三七是我国的名贵中药,其止血、消肿、镇痛等作用显著,极具药用价值,一直以来被广泛应用于临床。三七药材质量的优劣直接影响着药物疗效以及制剂的稳定性与可控性,如何保证优质药材来源,完善药材质量标准,利用现代分析技术把好药材质量关,是当下及未来中医药事业发展的必然要求。

中药指纹图谱是一种综合的、量化的鉴定手段,能够全面反映出中药的内部状况,有效弥补单一指标成分质量控制的弊端,成为中药质量评价的有力手段。三七化学指纹图谱技术主要借助光谱、色谱等现代先进技术,建立三七药材及其制剂的共有模式,可以较为全面地反映其所含复杂化学成分的整体情况及其制剂内在质量的均一性和稳定性,同时可以区分不同年限三七的质量差异,能够快速鉴定和分析含三七皂苷和人参皂苷化合物。非线性化学指纹图谱是从非线性化学的角度对三七等中药进行真伪鉴别和质量控制的一种新方法,与色谱、光谱指纹图谱比较,该技术无需烦杂的预处理过程,适用于各种相态和剂型样本的分析鉴别。三七生

物指纹图谱则利用基因组学和蛋白质学技术,在分子水平上反映其遗传多样性,并体现其特殊性,即药材的“道地性”,已成为三七等中药材真伪鉴别的重要手段。

随着三七的指纹图谱研究的不断深入,指纹图谱与药物效应之间构建的谱-效关系日益引起关注。目前,三七谱-效关系研究尚处于初步阶段,“谱”主要集中在液相色谱指纹图谱,完整的“谱”还不能表征完整的“效”,无法完全实现“谱”“效”一致。因此,综合运用各种现代分析技术对三七进行深入全面的分析研究,阐明三七的谱-效关系,明确药效物质基础,全面控制三七药材、饮片及其制剂的质量,进一步完善其鉴别体系和质量评价系统,不仅是三七的合理开发和应用的要求,更是临床精准用药的需要。

参考文献

- [1] 陈斌,许慧琳,贾晓斌.三七炮制的研究进展与研究思路[J].中草药,2013,44(4):482-487.
- [2] ZHOU X, CHEN LL, XIE RF, et al. Chemosynthesis pathway and bioactivities comparison of saponins in radix and flower of *Panax notoginseng* (Burk.) F.H.Chen[J]. *J Ethnopharmacol*, 2017. DOI: 10.1016/j.jep.2016.11.008.
- [3] NG TB. Pharmacological activity of sanchi ginseng (*Panax notoginseng*) [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2006, 58(8): 1007-1019.
- [4] YANG ZZ, ZHU JQ, ZHANG H, et al. Investigating chemical features of *Panax notoginseng* based on integrating HPLC fingerprinting and determination of multiconstituents by single reference standard[J]. *J Gins Res*, 2017. DOI: 10.1016/j.jgr.2017.04.005.
- [5] LI SP, QIAO CF, CHEN YW, et al. A novel strategy with standardized reference extract qualification and single compound quantitative evaluation for quality control of *Panax notoginseng* used as a functional food[J]. *J Chromatogr A*, 2013. DOI: 10.1016/j.chroma.2013.07.025.
- [6] 王莹,褚扬,李伟,等.三七中皂苷成分及其药理作用的研究进展[J].中草药,2015,46(9):1381-1392.
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:11.
- [8] 夏鹏国,张顺仓,梁宗锁,等.三七化学成分的研究历程和概况[J].中草药,2014,45(17):2564-2570.
- [9] 张治军,饶伟文.三七及其伪品的近红外光谱鉴别法[J].中国药房,2009,20(30):2367-2369.
- [10] YAO H, SHI PY, SHAO Q, et al. Chemical fingerprinting and quantitative analysis of a *Panax notoginseng* preparation using HPLC-UV and HPLC-MS[J]. *Chin Med*, 2011. DOI: 10.1186/1749-8546-6-9.
- [11] WANG Q, TONG L, YAO L, et al. Fingerprinting of traditional Chinese medicines on the C18-diol mixed-mode column in online or offline two-dimensional liquid chroma-

- tography on the single column modes[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016. DOI: 10.1016/j.jpba.2016.03.033.
- [12] ZHONG XK, LI DC, JIANG JG. Identification and quality control of Chinese medicine based on the fingerprint techniques[J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16 (23) : 3064-3075.
- [13] JIAO L, XUE ZW, WANG GF, et al. Application of fourier transform to preprocessing chromatographic fingerprints of traditional Chinese medicine[J]. *Chemom Intell Lab Syst*, 2015. DOI: 10.1016/j.chemolab.2014.11.004.
- [14] LIANG YZ, XIE PS, CHAN K. Chromatographic fingerprinting and metabolomics for quality control of TCM[J]. *Comb Chem High T Scr*, 2010, 13(10):943-953.
- [15] 白长财, 柴兴云, 王海龙, 等. 利用电雾式检测器建立三七药材液相色谱指纹图谱[J]. 中国药科大学学报, 2009, 40(1):54-58.
- [16] 张迅杰, 赫军, 柳芳, 等. 人参和三七 HPLC 特征图谱研究[J]. 山东中医药大学学报, 2017, 41(4):372-376.
- [17] 刘小红, 郭东艳, 唐志书, 等. 不同伴生物三七总皂苷指纹图谱研究[J]. 医学研究杂志, 2012, 41(9):43-45.
- [18] 闫炳雄, 贺帅, 许文迪, 等. 三七发酵产物总皂苷指纹图谱[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(24):52-56.
- [19] 刘晓丽, 周清, 姜玢, 等. 三七总皂苷 HPLC 数字化指纹图谱研究[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(10):2327-2331.
- [20] 崔翰明, 张秋燕, 彭亮, 等. 三七不同部位及总皂苷提取物 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中药材, 2011, 34(3):362-367.
- [21] 崔翰明, 张秋燕, 林海, 等. 三七总皂苷的大孔吸附树脂纯化工艺和质量分析研究[J]. 中草药, 2012, 43(11):2177-2182.
- [22] 陈彤, 曾荣, 侯世祥, 等. 三七总皂苷和三七剪口高效液相色谱指纹图谱和含量测定方法的建立[J]. 中国医药生物技术, 2008, 3(4):279-283.
- [23] 李琳, 王承霖, 崔秀明, 等. 活性三七饮片指纹图谱研究及单体皂苷含量测定[J]. 云南大学学报(自然科学版), 2014, 36(4):551-556.
- [24] 陈炜璇, 刘敏, 严萍, 等. 三七破壁饮片指纹图谱研究[J]. 中药材, 2012, 35(7):1056-1061.
- [25] 陈荣洁, 丁艳芬, 杨崇仁. HPLC 指纹图谱共有模式用于熟三七的质量控制[C]//2012年云南省药学会论文集. 昆明: 云南省药学会, 2012:260-264.
- [26] 连艳, 黄凤, 蒋桂华. 熟三七饮片的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中药与临床, 2017, 8(2):27-30.
- [27] 周绚. 三七总皂苷生物粘附型缓释片的研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2009.
- [28] 江国华, 黄健, 陈淑映. 三七化瘀口服液高效液相色谱指纹图谱的建立[J]. 中国药业, 2016, 25(8):69-72.
- [29] 毕晓黎, 胥爱丽, 李养学. 三七配方颗粒的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(9):54-57.
- [30] 马再鸿, 林茵, 伍俊妍. 三七通舒胶囊的指纹图谱研究[J]. 中药材, 2013, 36(8):1356-1357.
- [31] 刘丹, 齐双辉, 马海英. UPLC 在中药组分分析及代谢组学中的应用进展[J]. 中国药房, 2016, 27(7):973-975.
- [32] PENG JJ, LI DX, HUANG JY, et al. Simultaneous determination of saponins in dripping pills made from Astragalus radix and Panax notoginseng by UPLC-ELSD[J]. *Chin Herb Med*, 2017, 9(3):267-274.
- [33] 胥爱丽, 董玉娟, 江洁仪, 等. 三七配方颗粒的 UPLC 指纹图谱研究[J]. 中国药师, 2014, 17(8):1277-1279.
- [34] 董宏然, 程琪庆, 段丽颖, 等. 丹七软胶囊 UPLC 指纹图谱研究及组分鉴别[J]. 中成药, 2016, 38(1):117-122.
- [35] 李学林, 李宇辉, 唐进法, 等. 注射用血栓通(冻干)UPLC 指纹图谱研究[J]. 中国新药杂志, 2016, 25(14):1641-1646.
- [36] WANG XJ, ZHANG AH, YAN GL, et al. UPLC-MS for the analytical characterization of traditional Chinese medicines[J]. *Trend Anal Chem*, 2014. DOI: 10.1016/j.trac.2014.05.013.
- [37] WONG MY, SO PK, YAO ZP. Direct analysis of traditional Chinese medicines by mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2016. DOI: 10.1016/j.jchromb.2015.11.032.
- [38] CHEN P, LUTHRIA D, HARRINGTON PB, et al. Discrimination among Panax species using spectral fingerprinting[J]. *J Aoac Int*, 2011, 94(5):1411-1421.
- [39] 冷静, 杨华蓉, 林大胜, 等. 三七三醇皂苷及制剂的 LC-MS 指纹图谱研究[J]. 华西药学杂志, 2009, 24(5):503-505.
- [40] 曹怡, 王超群, 徐风, 等. 中药三七质量评价半微量方法及在三七连作障碍样品分析中的应用[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(20):3773-3781.
- [41] 赵静, 秦振娟, 彭冰, 等. 基于 UPLC-Q-TOF MS 技术的三七中皂苷类成分质谱裂解规律研究[J]. 质谱学报, 2017, 38(1):97-108.
- [42] ZHU CS, LIN ZJ, XIAO ML, et al. The spectrum-effect relationship: a rational approach to screening effective compounds, reflecting the internal quality of Chinese herbal medicine[J]. *Chin J Nat Med*, 2016, 14(3):177-184.
- [43] ZHENG QF, ZHAO YL, WANG JB, et al. Spectrum-effect relationships between UPLC fingerprints and bioactivities of crude secondary roots of *Aconitum carmichaelii* Debeaux (Fuzi) and its three processed products on mitochondrial growth coupled with canonical correlation analysis[J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 153(3):615-623.
- [44] 刘旭, 李明春, 徐霞, 等. 中药三七对大鼠心肌缺血保护作用的谱效学研究[J]. 中国现代应用药学, 2013, 30(8):819-823.
- [45] 刘旭, 李晓, 崔晓博, 等. 基于谱效关系表达的中药三七药效物质筛选研究[J]. 中国药师, 2016, 19(2):205-209.
- [46] 赵玉珑. 不同来源三七的“谱-效”关系及其抗凝血有效成分的研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2013.

- [47] SONG XY, LI YD, SHI YP, et al. Quality control of traditional Chinese medicines: a review[J]. *Chin J Nat Med*, 2013, 11(6):596-607.
- [48] 江尚飞, 杨元娟, 何静, 等. 高效毛细管电泳技术在中药指纹图谱研究中的应用[J]. *中国药房*, 2010, 21(15): 1435-1436.
- [49] 刘金丹. 中药高效毛细管电泳指纹图谱在线专家系统研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2008.
- [50] 李霞, 王宏钊, 李继, 等. 复方丹参滴丸HPCE指纹图谱的建立[J]. *中成药*, 2009, 31(5):660-662.
- [51] JIANG Y, DAVID B, TU PF, et al. Recent analytical approaches in quality control of traditional Chinese medicines: a review[J]. *Anal Chim Acta*, 2010, 657(1):9-18.
- [52] ZHAO J, MA SC, LI SP. Advanced strategies for quality control of Chinese medicines[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018. DOI:10.1016/j.jpba.2017.06.048.
- [53] CHEONG KL, WU DT, HU DJ, et al. Comparison and characterization of the glycome of Panax species by high-performance thin-layer chromatography[J]. *J Planar Chromat*, 2014, 27(6):449-453.
- [54] 颜玉贞, 余琼希, 谢培山. 三七药材高效薄层色谱指纹图谱分析: 色谱条件优化的再研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2007, 18(4):303-305.
- [55] 马妮, 张紫佳, 曾江, 等. 三七中皂苷类成分TLC指纹图谱研究[J]. *现代中药研究与实践*, 2009, 23(4):50-51.
- [56] 王明科, 张丽华. 三七丹参颗粒指纹鉴定研究[J]. *中国医药科学*, 2011, 1(5):35-37.
- [57] 李丽明, 任斌, 郭洁文, 等. 顶空固相微萃取-气相色谱质谱联用法测定三七挥发性成分[J]. *广州中医药大学学报*, 2013, 30(1):63-67.
- [58] 梁贺升, 陈少瑾, 郑集镇. 三七挥发性物质的气相色谱分析[J]. *广东化工*, 2014, 41(14):222-223.
- [59] XU CH, WANG Y, CHEN JB, et al. Infrared macro-fingerprint analysis- through- separation for holographic chemical characterization of herbal medicine[J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2013, 74(4):298-307.
- [60] 李建蕊. 基于中红外光谱特征的中药鉴定研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2014.
- [61] 李运. 红外光谱结合化学计量学对三七质量评价研究[D]. 昆明: 云南中医学院, 2017.
- [62] NI LJ, ZHANG LG, HOU J, et al. A strategy for evaluating antipyretic efficacy of Chinese herbal medicines based on UV spectra fingerprints[J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 124(1):79-86.
- [63] 丁永丽. 三七紫外指纹图谱研究[D]. 昆明: 云南中医学院, 2013.
- [64] 丁永丽, 王元忠, 张霁, 等. 硫酸香草醛显色-紫外吸收光谱法在三七质量评价中的应用[J]. *光谱学与光谱分析*, 2013, 33(2):471-475.
- [65] 王元忠, 钟贵, 张霁, 等. 紫外指纹图谱结合化学计量学对不同产地中药三七的鉴别研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2016, 36(6):1789-1793.
- [66] 钟贵, 胡健, 张霁, 等. 野三七紫外可见指纹图谱结合多元统计方法的鉴别分析[J]. *南昌大学学报(医学版)*, 2017, 57(2):11-16.
- [67] MAZINA J, VAHER M, KUHTINSKAJA M, et al. Fluorescence, electrophoretic and chromatographic fingerprints of herbal medicines and their comparative chemometric analysis[J]. *Talanta*, 2015. DOI: 10.1016/j.talanta.2015.02.050.
- [68] 刘智, 李赛君, 田洪波, 等. 三七不同部位成分的谱学性质研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2005, 25(4):579-583.
- [69] 张举成, 陶汝同, 封永珍, 等. 固体三维荧光指纹图谱在三七品质鉴定中的应用[J]. *中药材*, 2014, 37(8):1364-1368.
- [70] 袁卫梅, 司立鲜. 不同规格三七的¹H NMR指纹图比较[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2003, 9(4):63.
- [71] 赵羽, 耿珠峰, 邓志威. 不同产地三七的¹H NMR指纹图谱对比分析[J]. *分析试验室*, 2016, 35(11):1326-1329.
- [72] ZHANG TM, ZHAO Z, FANG XQ, et al. Determining method, conditional factors, traits and applications of non-linear chemical fingerprint by using dissipative components in samples[J]. *Sci China Chem*, 2012, 55(2):285-303.
- [73] ZHANG TM, ZHAO Z, FANG XQ, et al. Principle of non-linear chemical fingerprint by using dissipative components in samples as well as calculation and evaluation of similarity[J]. *Sci China Chem*, 2012, 55(2):304-322.
- [74] 罗志平, 孟兰贞, 张娟, 等. 非线性化学指纹图谱技术鉴别辐照超微三七粉[J]. *湖南农业科学*, 2017(3):81-83, 87.
- [75] 王东艳, 沈百通, 吴迪, 等. 电化学指纹图谱法快速鉴别三七[J]. *广东化工*, 2017, 44(21):25-26.
- [76] YU FJ, KONG L, ZOU HF, et al. Progress on the screening and analysis of bioactive compounds in traditional Chinese medicines by biological fingerprinting analysis[J]. *Comb Chem High T Scr*, 2010, 13(10):855-868.
- [77] TAO Y, GU XH, LI WD, et al. Techniques for biological fingerprinting of traditional Chinese medicine[J]. *Trend Anal Chem*, 2017. DOI:10.1016/j.trac.2017.09.008.
- [78] 赵熙, 李艳萍, 李顺英, 等. 三七DNA指纹图谱分析[J]. *云南中医中药杂志*, 2006, 27(3):45-46.
- [79] 张英, 黄明辉, 柏干荣, 等. 三七的18SrRNA, matK基因序列和HPLC化学指纹图谱分析研究[J]. *药品评价*, 2005, 2(1):23-30.
- [80] 张靖, 雷迪, 丘小惠, 等. 三七精准煮散饮片的研制: 质量均一性分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(11):13-17.

(收稿日期:2018-02-23 修回日期:2018-05-14)

(编辑:余庆华)