蒙药三子散质量评价研究：指纹图谱、化学模式识别和多成分分析Δ

李　君[1,2*]，李荣杰[3]，周枫叶[3]，张　谦[1,2]，张　微[1,2]，张博瀚[4]，王　舒[4]，赵曦桐[4]，陈建平[1#]（1.内蒙古医科大学药学院，呼和浩特　010110；2.内蒙古自治区新药筛选工程研究中心，呼和浩特　010110；3.内蒙古医科大学附属医院药学部，呼和浩特　010110；4.内蒙古医科大学第一临床医学院，呼和浩特　010110）

中图分类号　R917　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2025）04-0414-07
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2025.04.05

摘　要　目的　建立三子散指纹图谱、化学模式识别及多指标定量分析的方法，评价该制剂质量。**方法**　采用高效液相色谱（HPLC）法，利用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012版）》建立15批三子散的指纹图谱，并进行聚类分析、主成分分析和正交偏最小二乘法-判别分析；以变量重要性投影（VIP）大于1为标准，筛选潜在质量差异标志物，并以同一HPLC法测定上述标志物的含量。**结果**　15批三子散指纹图谱共有21个共有峰，相似度为0.994～0.999；指认了6个共有峰，分别为没食子酸（3号峰）、栀子苷（10号峰）、柯里拉京（11号峰）、诃子酸（16号峰）、鞣花酸（18号峰）、西红花苷Ⅰ（19号峰）；聚类分析和主成分分析、正交偏最小二乘法-判别分析结果显示，15批三子散可被分为两大类，S1、S5、S7、S9、S14聚为一类，S2～S4、S6、S8、S10～S13、S15聚为一类；柯里拉京、诃子酸、鞣花酸等11个成分的VIP值大于1。15批三子散中，柯里拉京、诃子酸、鞣花酸含量分别为2.667～5.152、9.506～13.522、0.891～1.811 mg/g。**结论**　所建三子散HPLC指纹图谱、多指标成分含量测定方法快速、简便，结合化学模式识别分析可用于该制剂的质量评价；柯里拉京、鞣花酸、诃子酸等11个成分可能是影响该制剂质量的潜在质量差异标志物。

关键词　三子散；指纹图谱；化学模式识别；含量测定；质量评价

Study on quality evaluation of Mongolian medicine Sanzi powder: fingerprint, chemical pattern recognition and multi-component quantification analysis

LI Jun[1,2], LI Rongjie[3], ZHOU Fengye[3], ZHANG Qian[1,2], ZHANG Wei[1,2], ZHANG Bohan[4], WANG Shu[4], ZHAO Xitong[4], CHEN Jianping[1]（1. College of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China; 2. Inner Mongolia Autonomous Region Engineering Research Center of New Pharmaceutical Screening, Hohhot 010110, China; 3. Dept. of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China; 4. The First Clinical Medical College, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To establish fingerprint, chemical pattern recognition and multi-component quantification analysis of Sanzi powder, and evaluate its quality. **METHODS** HPLC method was adopted. The fingerprints of 15 batches of Sanzi powder were established by using *the Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine* (2012 edition). Cluster analysis, principal component analysis and orthogonal partial least squares-discriminant analysis were also conducted. The variable importance in projection (VIP) value greater than 1 was used as the index to screen the differential markers, and the contents of the differential markers were determined by the same HPLC method. **RESULTS** A total of 21 common peaks in the HPLC fingerprints of 15 batches of Sanzi powder were calibrated, and the similarities of them were 0.994-0.999; 6 common peaks were identified, including gallic acid (peak 3), garminoside (peak 10), corilagin (peak 11), chebulinic acid (peak 16), ellagic acid (peak 18), crocin Ⅰ (peak 19). According to the results of cluster analysis, principal component analysis and orthogonal partial least squares-discriminant analysis, 15 batches of samples could be clustered into two categories: S1, S5, S7, S9, S14 were clustered into one category; S2-S4, S6, S8, S10-S13, S15

Δ**基金项目**　国家自然科学基金项目（No.82460822）；内蒙古自治区自然科学基金项目（No.2023QN08012，2024QN08054）；内蒙古自治区卫生健康科技计划项目（No.202201187）；内蒙古医科大学大学生创新创业项目（No.101322024017）；内蒙古医科大学联合项目（No.YKD2024LH005，No.YKD2023LH062）

＊**第一作者**　助理研究员，硕士。研究方向：中蒙药药效物质基础及质量控制。E-mail：nmg15547126231@sina.com

＃**通信作者**　教授，硕士。研究方向：中蒙药药效物质基础及质量控制。E-mail：jianping5817@163.com

were clustered into one category. VIP values of 11 differential components such as corilagin, chebulinic acid and ellagic acid were higher than 1. Among 15 batches of samples, the contents of corilagin, chebulinic acid and ellagic acid ranged 2.667-5.152, 9.506-13.522, 0.891-1.811 mg/g. **CONCLUSIONS** Established HPLC fingerprint and multi-component quantification analysis of Sanzi powder are rapid and simple, and can be used for quality evaluation of Sanzi powder by combining with chemical pattern recognition. Eleven components such as corilagin, chebulinic acid and ellagic acid are differential markers affecting the quality of Sanzi powder.

KEYWORDS Sanzi powder; fingerprint; chemical pattern recognition; content determination; quality evaluation

蒙药三子散收载于2020年版《中国药典》(一部),由栀子、诃子及川楝子3味药材组成。方中,栀子清血热,川楝子清热、燥黄水,诃子调和体素、解毒;诸药合用,共凑清热凉血、解毒之功效,在改善温热、血热、新久热等病症方面效果显著,常与蒙医放血疗法配合,用于高血压、高血脂等疾病的临床治疗[1-3]。

科学合理的质量评价体系和不断创新完善的质量评价模式是传统制剂高质量发展的重要前提,三子散现行质量标准仅包括性状、鉴别、含量测定、用法用量项,而含量测定项中仅以方中栀子所含栀子苷为检测指标[2-3],难以反映该制剂的整体特性和内在品质。近年来,三子散的相关研究多集中于物质组成、血清移行成分、提取工艺等方面[1,4-6],而针对其质量评价体系构建的研究则较为薄弱。指纹图谱技术可有效提取所含成分信息,全面反映饮片或制剂的内在化学特征,已被广泛应用于饮片的真伪鉴别、优劣评估和制剂质量的一致性、稳定性评价等领域[7]。化学模式识别方法具有将多变量信息进行降维、分类处理的能力,可克服图谱多维信息分析这一难题[8]。基于此,本研究拟采用高效液相色谱(HPLC)法构建15批三子散的指纹图谱,并结合聚类分析(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)筛选潜在质量差异标志物;同时,采用HPLC法对所得潜在质量差异标志物进行定量分析,从而全面评价三子散的质量,旨在为该制剂的质量评价体系构建及临床安全应用奠定基础。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括LC-2030C型HPLC仪、AP135W型十万分之一电子天平(日本Shimadzu公司),BSA224S型万分之一天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司],DS-7510DTH型数控超声波清洗器(上海生析超声仪器有限公司)等。

1.2 主要药品与试剂

没食子酸对照品(批号PU0918-0025,纯度≥99.0%)、诃子酸对照品(批号PS2273-0020,纯度≥98.0%)均由成都普思生物科技股份有限公司提供;柯里拉京对照品(批号111623-200302,纯度≥98.2%)、鞣花酸对照品(批号111959-201903,纯度≥98.8%)、西红花苷Ⅰ对照品(批号111588-202205,纯度≥98.4%)、栀子苷对照品(批号110749-202320,纯度≥97.1%)均由中国食品药品检定研究院提供;甲醇为色谱纯,磷酸为分析纯,水为纯净水。

各饮片均购自内蒙古北域药业有限责任公司(具体信息见表1),经内蒙古医科大学药学院生药教研室渠弼教授鉴定均为真品。采用随机数字表法对不同批次、不同产地饮片进行组合,获得15批三子散样品(编号S1~S15,组合信息见表2)。

表1 三子散饮片信息

饮片名称	基原及药用部位	产地	批号
栀子	茜草科植物栀子*Gardenia jasminoides* Ellis的干燥成熟果实	福建	230501054
		江西	20190727
		江西	23022105
诃子	使君子科植物诃子*Terminalia chebula* Retz.的干燥成熟果实	广西	220325
		广东	211108
		云南	200911
川楝子	楝科植物川楝*Melia toosendan* Sieb.et Zucc.的干燥成熟果实	四川	20101810
		四川	210602CP613
		四川	20210624

表2 15批三子散样品组合信息

编号	栀子	诃子	川楝子	编号	栀子	诃子	川楝子
S1	23022105	220325	20101810	S9	23022105	220325	20210624
S2	20190727	211108	20101810	S10	230501054	211108	210602CP613
S3	230501054	200911	20210624	S11	20190727	200911	20210624
S4	23022105	211108	210602CP613	S12	20190727	211108	210602CP613
S5	20190727	220325	20210624	S13	23022105	200911	20210624
S6	20190727	211108	20210624	S14	23022105	220325	210602CP613
S7	230501054	220325	20101810	S15	230501054	200911	20101810
S8	23022105	200911	210602CP613				

2 方法与结果

2.1 三子散的指纹图谱研究

2.1.1 色谱条件

以Agilent Eclipse XDB-C_{18}(4.6 mm×250 mm, 5 μm)为色谱柱,甲醇(A)-0.2%磷酸溶液(B)为流动相进

行梯度洗脱（0～10 min，15%A→20%A；10～18 min，20%A→35%A；18～24 min，35%A→40%A；24～35 min，40%A→60%A；35～39 min，60%A→65%A；39～43 min，65%A→82%A；43～50 min，82%A→95%A；50～60 min，95%A→15%A；60～75 min，15%A）；流速为1.0 mL/min；柱温为35 ℃；检测波长为254 nm；进样量为10 μL。

2.1.2 对照品贮备液的制备

精密称取对照品没食子酸5.26 mg、西红花苷Ⅰ4.67 mg、诃子酸4.78 mg、柯里拉京3.13 mg、栀子苷5.14 mg、鞣花酸9.66 mg，分别置于10 mL容量瓶中，加甲醇适量，超声（功率200 W，频率70 kHz）溶解，定容，混匀，得上述成分质量浓度分别为526.00、467.00、478.00、313.00、514.00、966.00 μg/mL的单一对照品贮备液，于4 ℃下保存，备用。

2.1.3 供试品溶液的制备

取三子散样品（编号S1）各饮片，粉碎，过四号筛，按处方比例称取各饮片粉末，充分混匀后精密称取2.0 g，置于50 mL锥形瓶中，加5 mL甲醇，称重；超声（功率200 W，频率70 kHz）提取40 min，冷却至室温；再次称重，以甲醇补足失重，摇匀，经0.22 μm滤膜滤过，即得指纹图谱分析用供试品溶液。

2.1.4 饮片及阴性对照溶液的制备

取三子散样品（编号S1）各饮片，粉碎，过四号筛，按处方比例称取各饮片粉末，按“2.1.3”项下方法分别制备栀子饮片、诃子饮片、川楝子饮片的对照溶液及缺栀子、缺诃子、缺川楝子的阴性对照溶液。

2.1.5 精密度考察

取“2.1.3”项下供试品溶液（编号S1），按“2.1.1”项下色谱条件连续进样6次，记录色谱图。以16号峰为参照（峰面积较大，保留时间适中且较为稳定），得各共有峰相对峰面积的RSD均不高于1.89%（n=6），相对保留时间的RSD均不高于0.28%（n=6），表明方法的精密度良好。

2.1.6 重复性考察

取三子散样品（编号S1）各饮片，共6份，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，再按“2.1.1”项下色谱条件进样分析，记录色谱图。以16号峰为参照，得各共有峰相对峰面积的RSD均不高于2.11%（n=6），相对保留时间的RSD均不高于0.29%（n=6），表明方法的重复性良好。

2.1.7 稳定性考察

取“2.1.3”项下供试品溶液（编号S1），分别于室温下放置0、3、6、12、18、24 h时按“2.1.1”项下色谱条件进样分析，记录色谱图。以16号峰为参照，得各共有峰相对峰面积的RSD均不高于2.03%（n=6），相对保留时间的RSD均不高于0.31%（n=6），表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.1.8 指纹图谱的生成及共有峰指认

按“2.1.3”项下方法制备15批三子散样品的供试品溶液（编号S1～S15），按“2.1.1”项下色谱条件进样分析，记录色谱图。将所得色谱图转换为“CDF”格式并导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012版）》，采用中位数法，以S1样品为参照图谱进行指纹图谱分析（设置时间窗为0.1 min），经多点校正和Marker峰匹配后，生成15批三子散样品的对照指纹图谱（R）和叠加指纹图谱（图1）。最终确定共有峰21个，经与各单一对照品贮备液图谱（各单一对照品贮备液按“2.1.1”项下色谱条件进样所得，图2）比对，共指认了6个，分别为没食子酸（峰3）、栀子苷（峰10）、柯里拉京（峰11）、诃子酸（峰16）、鞣花酸（峰18）、西红花苷Ⅰ（峰19）。

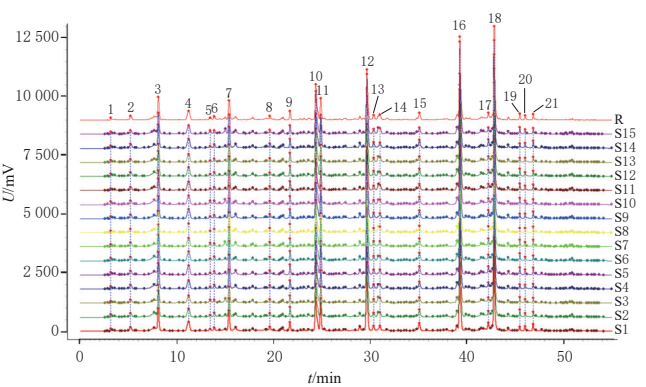
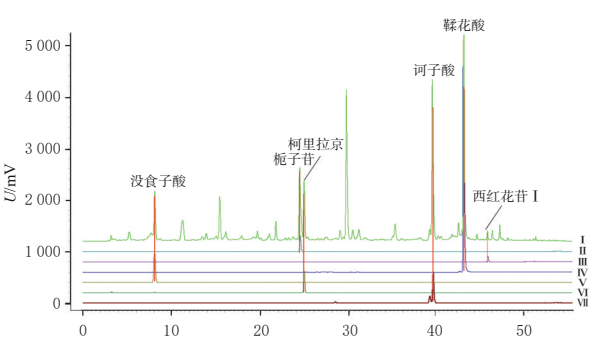


图1 15批三子散样品的对照指纹图谱和叠加指纹图谱



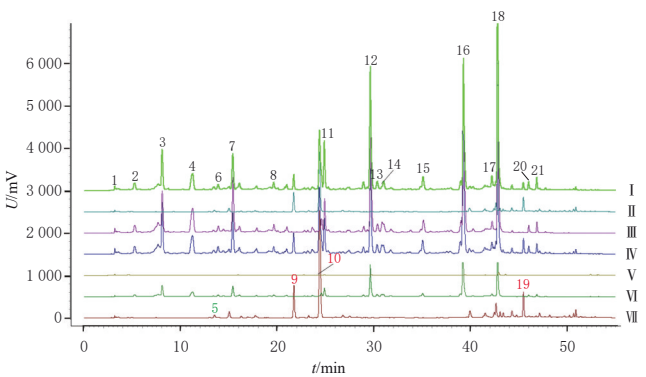
Ⅰ：S1；Ⅱ：栀子苷对照品贮备液；Ⅲ：西红花苷Ⅰ对照品贮备液；Ⅳ：鞣花酸对照品贮备液；Ⅴ：没食子酸对照品贮备液；Ⅵ：柯里拉京对照品贮备液；Ⅶ：诃子酸对照品贮备液。

图2 单一对照品贮备液和三子散样品供试品溶液（S1）的色谱图

2.1.9 共有峰归属

取“2.1.4”项下各饮片对照溶液及阴性对照溶液，按“2.1.1”项下色谱条件进样分析，记录色谱图（图3），并对

各共有峰归属进行指认。结果显示，诃子贡献了18个色谱峰，占比85.71%，包括峰1～8（峰3为没食子酸）、峰11～18（峰11为柯里拉京、峰16为诃子酸、峰18为鞣花酸）、峰20～21；栀子贡献了4个色谱峰，占比19.05%，包括峰5、峰9、峰10（栀子苷）、峰19（西红花苷Ⅰ）；由于川楝子所含特征成分的紫外吸收较弱[9]，在“2.1.1”项下色谱条件下并未检测到相应色谱信号；此外，峰1～4、峰6～8、峰11～18、峰20～21为诃子特征峰，峰9～10、峰19为栀子特征峰，峰5为栀子、诃子共有峰。



Ⅰ：S1；Ⅱ：缺诃子阴性对照溶液；Ⅲ：诃子饮片对照溶液；Ⅳ：缺川楝子阴性对照溶液；Ⅴ：川楝子饮片对照溶液；Ⅵ：缺栀子阴性对照溶液；Ⅶ：栀子饮片对照溶液。

图3　三子散指纹图谱21个共有峰的归属

2.1.10　相似度评价

运用《中药指纹图谱相似度评价系统（2012版）》对15批三子散样品的指纹图谱进行相似度评价。结果显示，15批三子散样品指纹图谱与对照指纹图谱的相似度为0.994～0.999，表明其整体质量差异性较小。然而，15批三子散样品21个共有峰相对峰面积的RSD为6.14%～22.45%，提示不同批次样品的成分含量可能存在较大差异。

2.2　三子散的化学模式识别分析

2.2.1　CA

以15批三子散样品的21个共有峰峰面积为变量，借助微生信科研绘图平台（https://www.bioinformatics.com.cn/），采用完全链接法以平方欧氏距离进行CA[10]。结果（图4）显示，15批三子散样品被分为两大类，S1、S5、S7、S9、S14聚为一类，S2～S4、S6、S8、S10～S13、S15聚为一类，提示不同批次样品存在一定的质量差异。

2.2.2　PCA

以15批三子散样品的21个共有峰峰面积为变量，运用SIMCA 14.1软件对其进行自动规格化处理后进行无监督的PCA，并获得PCA得分图。结果（图5）显示，S1、S5、S7、S9、S14与其他批次样品明显分离，其他批次中的S3、S13表现出一定的分离趋势。

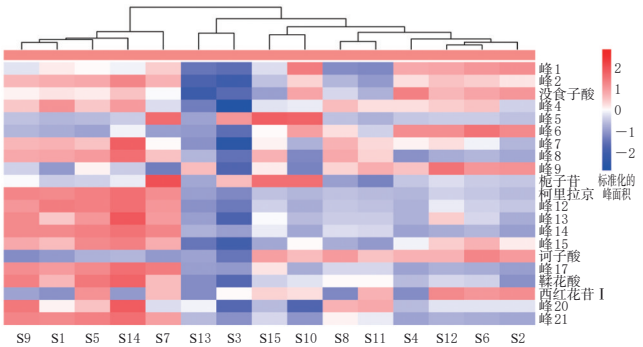


图4　15批三子散样品的聚类热图

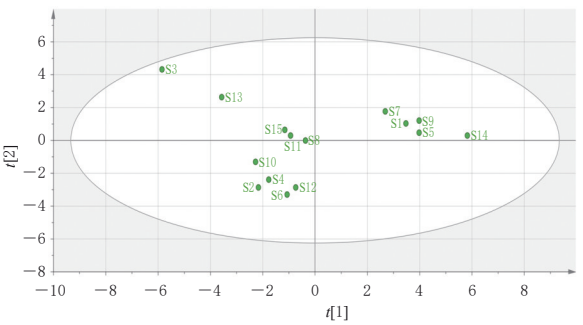


图5　15批三子散样品的PCA得分图

2.2.3　OPLS-DA和潜在质量差异标志物筛选

OPLS-DA结果显示，所得模型的累计解释能力参数R^2X为0.928、R^2Y为0.994，预测能力参数Q^2_{cum}为0.981，各参数指标均大于0.5，表明OPLS-DA模型构建成功[11]；同时，采用SIMCA 14.1软件进行200次置换检验，结果显示，所有Q^2均在R^2之下，且Q^2的回归直线与y轴相交于负半轴，进一步确证了该模型的有效性[9]。基于上述模型构建OPLS-DA得分图，结果（图6）显示，15批样品中，S1、S5、S7、S9、S14与S2～S4、S6、S8、S10～S13、S15的离散趋势明显，与CA、PCA结果基本一致。

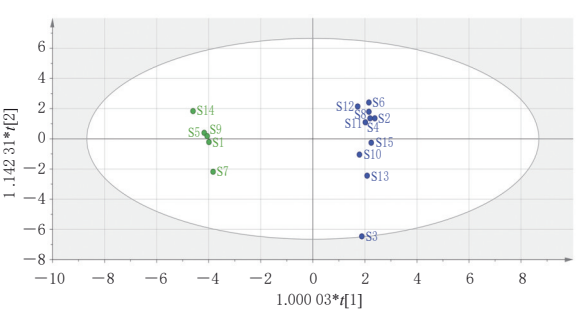


图6　15批三子散样品的OPLS-DA得分图

本研究进一步以变量重要性投影（variable importance in projection，VIP）大于1为标准[12]，筛选潜在质量差异标志物。结果（图7）显示，VIP＞1的成分有11个，对应色谱峰分别为峰11（柯里拉京）、峰14、峰12、峰17、峰21、峰18（鞣花酸）、峰13、峰15、峰8、峰16（诃子酸）、峰2，VIP值分别为1.276、1.266、1.245、1.243、1.239、1.162、1.145、1.046、1.041、1.026、1.004。

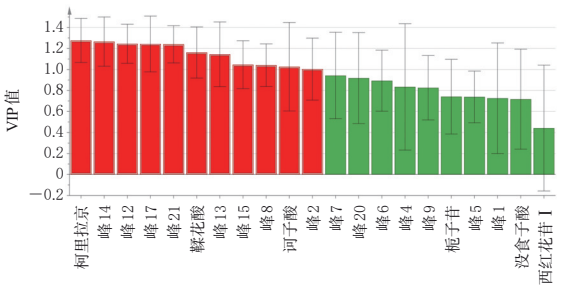


图7　15批三子散样品21个共有峰的VIP图

2.3　三子散中潜在质量差异标志物的定量分析

采用HPLC法对“2.2.3”项下所得潜在质量差异标志物(柯里拉京、鞣花酸、诃子酸)进行定量分析。

2.3.1　色谱条件

色谱条件同“2.1.1”项。

2.3.2　对照品溶液的制备

精密移取“2.1.2”项下鞣花酸单一对照品贮备液2 mL,置于10 mL容量瓶中,以甲醇定容,制得质量浓度为193.20 μg/mL的对照品溶液;另取“2.1.2”项下诃子酸、柯里拉京单一对照品贮备液,作为对照品溶液;取上述各单一对照品溶液1 mL,置于5 mL容量瓶中,以甲醇定容,制得专属性考察用混合对照品溶液。上述溶液均于4 ℃下保存,备用。

2.3.3　供试品溶液的制备

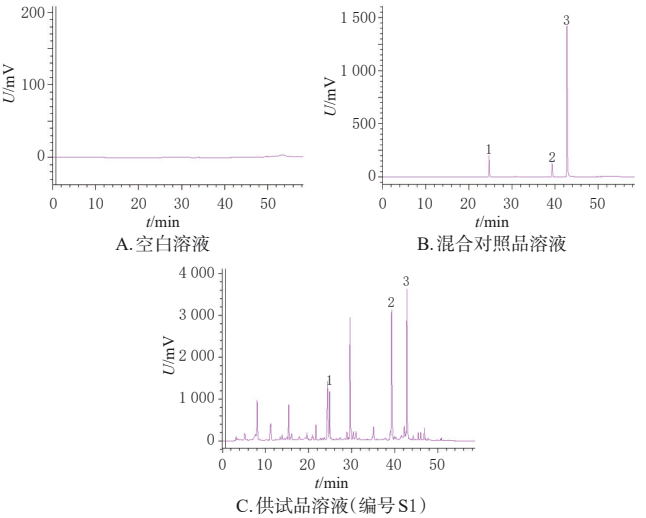
取三子散样品各饮片,先按“2.1.3”项下方法操作,取所得溶液200 μL,以甲醇定容至1 mL,涡旋10 s后精密移取250 μL,再以甲醇定容至1 mL,涡旋混匀,经0.22 μm滤膜滤过,即得定量分析用三子散供试品溶液。

2.3.4　专属性考察

取空白溶液(甲醇)、“2.3.2”项下混合对照品溶液、“2.3.3”项下供试品溶液(编号S1),按“2.3.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。结果(图8)显示,在相应保留时间处,其他成分对待测成分的检测无干扰,方法的专属性良好。

2.3.5　线性关系考察

分别精密移取“2.3.2”项下柯里拉京、诃子酸对照品溶液100、200、400、600、800、1 000 μL和鞣花酸对照品溶液50、200、400、600、800、1 000 μL,分别以甲醇定容至1 mL,制得各单一对照品系列溶液;取上述各溶液,按“2.3.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。以各待测成分质量浓度为横坐标(X)、峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归,结果(表3)显示,各待测成分在其线性范围内与峰面积成良好的线性关系(r>0.999)。



1:柯里拉京;2:诃子酸;3:鞣花酸。

图8　3个待测成分专属性考察的HPLC图

表3　3个待测成分的线性关系考察结果

待测成分	回归方程	r	线性范围/(μg/mL)
柯里拉京	Y=19 266.0X+30 334.9	0.999 2	31.30~313.00
诃子酸	Y=8 999.1X−62 299.3	0.999 1	47.80~478.00
鞣花酸	Y=56 038.7X−162 899.0	0.999 7	9.66~193.20

2.3.6　精密度考察

取“2.3.5”项下柯里拉京、诃子酸、鞣花酸质量浓度分别为62.60、95.60、38.64 μg/mL的单一对照品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件连续进样6次,记录峰面积。结果显示,柯里拉京、诃子酸、鞣花酸峰面积的RSD分别为2.17%、2.69%、1.97%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.3.7　稳定性考察

取“2.3.3”项下供试品溶液(编号S1),分别在室温下放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.3.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。结果显示,柯里拉京、诃子酸、鞣花酸峰面积的RSD分别为2.54%、2.77%、2.23%(n=6),表明上述溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.3.8　重复性考察

取三子散样品(编号S1)各饮片,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,共6份,按“2.3.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积并代入“2.3.5”项下回归方程计算各成分含量。结果显示,柯里拉京、诃子酸、鞣花酸的平均含量分别为4.196、9.996、1.376 mg/g,RSD分别为2.37%、2.96%、2.01%(n=6),表明方法重复性良好。

2.3.9　加样回收率考察

取已知含量的三子散样品(编号S1)约1.00 g,加入与已知量相当的各待测成分对照品溶液1 mL(分别精密称取柯里拉京对照品40.31 mg、诃子酸对照品97.45 mg、鞣花酸对照品12.94 mg,置于10 mL容量瓶中,以甲醇定容,混匀,即得),按“2.3.3”项下方法处理,平行6份,再按

“2.3.1”项下色谱条件进样分析，记录峰面积并计算加样回收率。结果显示，柯里拉京、诃子酸、鞣花酸的平均加样回收率分别为100.31%、99.50%、99.47%，RSD分别为2.39%、2.35%、2.79%（n=6），表明方法的准确度良好。

2.3.10　样品含量测定

取15批三子散样品（编号S1～S15）各饮片，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，再按“2.3.1”项下色谱条件进样分析，记录峰面积并代入“2.3.5”项下回归方程计算各成分含量。每样品平行测定3次，取平均值。结果（表4）显示，相较于其他批次，S1、S5、S7、S9、S14批三子散样品中柯里拉京、鞣花酸含量较高，而诃子酸含量较低；S3、S13批三子散样品中各成分含量均较低，这可能是“2.2.2”项下化学模式识别分析中S3、S13批样品具有离散性的原因。

表4　15批三子散样品中3个待测成分的含量测定结果（n=3，mg/g）

批次	柯里拉京	诃子酸	鞣花酸	批次	柯里拉京	诃子酸	鞣花酸
S1	4.207	10.016	1.399	S9	4.334	9.602	1.445
S2	3.313	13.443	1.033	S10	3.273	11.897	1.242
S3	2.667	9.506	0.891	S11	3.433	11.761	1.258
S4	3.047	12.301	1.050	S12	3.838	12.120	1.191
S5	4.736	10.917	1.505	S13	2.787	10.738	0.994
S6	3.711	13.522	1.115	S14	5.152	11.447	1.811
S7	4.530	9.770	1.386	S15	3.612	12.938	1.091
S8	3.557	13.055	1.335				

3　讨论

3.1　样品前处理与色谱条件优化

本课题组以2020年版《中国药典》（一部）中三子散样品处理方法为基础[2]，以色谱峰分离效果、色谱峰数量及响应强度等参数为指标，对供试品提取方法（加热回流和超声处理）、提取时间（20、30、40、50 min）及提取溶剂（水、35%甲醇、55%甲醇、75%甲醇、甲醇、35%乙醇、55%乙醇、75%乙醇、乙醇）进行了考察，结果显示，在以甲醇为提取溶剂、超声处理40 min条件下的提取效果最优。由于传统复方所含成分复杂多样，各成分在不同检测波长下的响应强度有所不同，故为获取较为全面的色谱信息，本课题组采用二极管阵列检测技术对三子散供试品溶液进行了全波长扫描，通过汇总各波长条件下的色谱峰数量、响应强度等色谱信息发现，254 nm检测波长下的色谱信息较为丰富。本课题组进一步对不同流动相体系（甲醇-0.2%磷酸溶液、甲醇-0.1%甲酸溶液、乙腈-0.2%磷酸溶液、乙腈-0.1%甲酸溶液）进行了考察，结果显示，以甲醇-0.2%磷酸溶液为流动相进行梯度洗脱时，色谱峰数量、响应强度、峰形及分离度等均较优。基于此，本课题组最终确定了“2.1.1”项下色谱条件。

3.2　指纹图谱、化学模式识别及含量测定联合分析

相似度评价结果显示，15批三子散样品指纹图谱与对照指纹图谱的相似度为0.994～0.999，表明这15批样品所含化学组成一致性较好；但需注意的是，15批样品21个共有峰峰面积的RSD相差较大，提示各批样品成分的含量存在一定差异。为阐明差异来源，本研究进一步进行了化学模式识别分析，CA、PCA、OPLS-DA结果显示，15批三子散样品中的S1、S5、S7、S9、S14被聚为一类，S2～S4、S6、S8、S10～S13、S15被聚为一类。此外，笔者通过对15批三子散样品随机组合信息（表2）进行分析发现，广西产诃子可能是导致不同批次样品被聚为两类的主要因素，且诃子酸等3个潜在质量差异标志物均来源于诃子饮片。结合15批三子散含量测定结果可知，S1、S5、S7、S9、S14批样品中柯里拉京、鞣花酸含量较其余批次高；同时，已有研究表明，不同产地诃子药材所含特征成分含量存在一定差异性[13－14]。因此，关注诃子药材质量对保证三子散制剂质量的一致性、稳定性尤为重要。

3.3　不足与展望

尽管本研究基于指纹图谱与化学模式识别分析从三子散中筛选获得了11个潜在质量差异标志物，并对其中柯里拉京、鞣花酸、诃子酸3个成分进行了定量分析，但尚有8个差异标志物未被辨识、指认，故本研究结果存在一定的局限性、片面性。针对上述不足，本课题组后续将完善相关定性鉴别、定量分析研究。

本研究建立了三子散的HPLC指纹图谱，结合化学模式识别分析筛选获得了柯里拉京、鞣花酸、诃子酸等11个潜在质量差异标志物，并建立了柯里拉京、鞣花酸、诃子酸3个质量差异标志物的含量测定方法。所建指纹图谱与含量测定方法可用于三子散的质量评价与控制。

参考文献

[1] 夏慧敏，张慧文，刘宏，等. HPLC-Q-Exactive-MS/MS快速鉴定蒙药三子散化学成分[J]. 中国现代应用药学，2023，40(21)：3005-3014.
XIA H M，ZHANG H W，LIU H，et al. Rapid identification of the chemical components of Mongolian medicine Sanzi powder by HPLC-Q-exactive-MS/MS[J]. Chin J Mod Appl Pharm，2023，40(21)：3005-3014.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：一部[M].2020年版. 北京：中国医药科技出版社，2020：44，259.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese pharmacopoeia：part Ⅰ[M]. 2020 edition. Beijing：China Medical Science Press，2020：44，259.

[3] 卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准：

蒙药分册[S]. 呼和浩特：内蒙古科学技术出版社，1998：185.
Pharmacopoeia Commission of the Ministry of Health. Drug standards of the Ministry of Health of the People's Republic of China: Mongolian medicine volume[M]. Hohhot: Inner Mongolia Science and Technology Publishing House, 1998: 185.

[4] 李君，胡玉霞，张梦迪，等. 蒙药三子散醇提物化学成分的HPLC-Q-Exactive-MS快速分析与鉴定[J]. 中国药房，2022，33(11)：1348-1354.
LI J, HU Y X, ZHANG M D, et al. Rapid analysis and identification of chemical components of ethanol extract from Mongolian medicine Sanzi san by HPLC-Q-Exactive-MS[J]. China Pharm, 2022, 33(11): 1348-1354.

[5] 张慧文，夏慧敏，刘宏，等. 高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法快速分析三子散的入血成分及代谢产物[J]. 色谱，2022，40(7)：653-660.
ZHANG H W, XIA H M, LIU H, et al. Rapid analysis of serum components and metabolites of Sanzi san by high-performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry[J]. Chin J Chromatogr, 2022, 40(7): 653-660.

[6] 李君，周旻昱，王跃武，等. 基于HPLC-MS/MS法多指标优化蒙药三子散醇提取工艺[J]. 中药材，2022，45(1)：168-172.
LI J, ZHOU M Y, WANG Y W, et al. Optimization of extraction technology of Mongolian medicine Sanzisan alcohol based on HPLC-MS/MS method with multiple indexes [J]. J Chin Med Mater, 2022, 45(1): 168-172.

[7] 刘现磊，李琨，张辉，等. 市售丹参配方颗粒的UPLC指纹图谱及化学模式识别研究[J]. 药物分析杂志，2022，42(11)：2000-2009.
LIU X L, LI K, ZHANG H, et al. UPLC fingerprint and chemical pattern recognition study on commercial available Danshen formula granules[J]. Chin J Pharm Anal, 2022, 42(11): 2000-2009.

[8] 谢四芳，杨思成，唐佩莉，等. 基于高效液相色谱指纹图谱技术的养血利尿颗粒物质相关性的评价[J]. 中国医院药学杂志，2023，43(13)：1484-1488.
XIE S F, YANG S C, TANG P L, et al. Evaluation on the correlation of material of Yangxue liniao granules based on high-performance liquid chromatography fingerprint [J]. Chin J Hosp Pharm, 2023, 43(13): 1484-1488.

[9] 刘妍妍，张慧文，白云霞，等. 蒙药三子散HPLC指纹图谱结合化学模式识别研究[J]. 中国药房，2022，33(3)：319-325.
LIU Y Y, ZHANG H W, BAI Y X, et al. Study on HPLC fingerprint and chemical pattern recognition of Mongolian medicine Sanzisan[J]. China Pharm, 2022, 33(3): 319-325

[10] 崔小敏，董明芝，张红，等. 基于UHPLC-Q-exactive orbitrap MS和化学计量学分析的芪龙壮儿口服液质量评价研究[J]. 药学学报，2023，58(6)：1655-1662.
CUI X M, DONG M Z, ZHANG H, et al. Quality evaluation of Qilong zhuang'er oral liquid based on UHPLC-Q-exactive orbitrap MS and chemometrics analysis[J]. Acta Pharm Sin, 2023, 58(6): 1655-1662.

[11] 储烟阗，匡艳辉，严曾豪，等. 经典名方当归四逆汤物质基准指纹图谱及关键质量属性量值传递规律研究[J]. 中草药，2023，54(3)：746-755.
CHU Y T, KUANG Y H, YAN Z H, et al. HPLC fingerprint of classic prescription Danggui sini decoction and quantity transfer law of key quality attributes[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(3): 746-755.

[12] 蒋云秀，曹马怡洁，吴杰，等. 基于HPLC指纹图谱结合多元统计分析九制女贞子炮制过程中成分变化[J]. 中华中医药学刊，2024，42(7)：250-254，285-286.
JIANG Y X, CAO M Y J, WU J, et al. Analysis on compositional changes during processing process of nine processed Nyuzhenzi (Ligustri Licidi Fructus) based on HPLC fingerprint spectrum combined with multivariate statistical analysis[J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2024, 42(7): 250-254, 285-286.

[13] 胡绮萍，赵书运，吴文平，等. 基于多指标成分含量测定的诃子和绒毛诃子质量分析[J]. 中药材，2021，44(2)：374-378.
HU Q P, ZHAO S Y, WU W P, et al. Quality analysis of the fruits of *Terminalia chebula* and *Terminalia chebula* var. *tomentella* based on multi-index component content determination[J]. J Chin Med Mater, 2021, 44(2): 374-378.

[14] 王巍，张强，陈九妹，等. 基于UPLC指纹图谱及多指标定量分析的诃子药材质量研究[J]. 化学工程师，2021，35(8)：26-30.
WANG W, ZHANG Q, CHEN J M, et al. Study on quality of *Terminalia chebula* based on UPLC fingerprint and multi index quantitative analysis[J]. Chem Eng, 2021, 35(8): 26-30.

（收稿日期：2024-07-24　修回日期：2025-01-06）
（编辑：张元媛）