

# 特木仁-5味散的指纹图谱建立及4种成分的含量测定<sup>△</sup>

孙灿灿\*,周婧,苏比依努尔·吐尔洪,马桂芝<sup>#</sup>(新疆医科大学药学院,乌鲁木齐 830054)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)04-0452-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.04.12



**摘要** 目的 建立特木仁-5味散的指纹图谱并进行化学模式识别分析,同时测定其中4种成分的含量。方法 采用高效液相色谱法结合《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》建立10批特木仁-5味散(编号S1~S10)的指纹图谱并进行相似度评价,与混合对照品比对指认共有峰。采用SPSS 26.0软件对共有峰进行系统聚类分析、主成分分析。采用高效液相色谱法测定10批样品中没食子酸、梔子苷、绿原酸、鞣花酸的含量。**结果** 从10批特木仁-5味散的指纹图谱中共标定15个共有峰,相似度为0.997~0.999;指认峰1为没食子酸、峰3为梔子苷、峰5为绿原酸、峰12为鞣花酸。10批样品中,S4、S9聚为一类,S6~S8聚为一类,其余批次样品聚为一类;前3个主成分的累计方差贡献率为89.245%。没食子酸、梔子苷、绿原酸、鞣花酸检测质量浓度的线性范围分别为5.55~177.5、15.98~511.5、2.56~82.0、13.48~431.5 μg/mL;精密性、稳定性(24 h)、重复性试验的RSD均小于2%(n=6或n=7);平均加样回收率分别为101.56%、102.21%、98.60%、96.62%,RSD分别为1.90%、1.61%、1.58%、1.73%(n=6)。10批特木仁-5味散中,上述成分的平均含量分别为5.03~5.64、10.38~12.16、1.40~1.69、6.47~7.11 mg/g。**结论** 所建指纹图谱稳定、可行,含量测定方法符合相关规定,结合化学模式识别分析可用于特木仁-5味散的质量控制。

**关键词** 特木仁-5味散;指纹图谱;系统聚类分析;主成分分析;含量测定

## Establishment of the fingerprint of Temurin-5 powder and content determination of 4 components

SUN Cancan, ZHOU Jing, Subiyinuer · Tuerhong, MA Guizhi (College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To establish the fingerprint of Temurin-5 powder, conduct chemical pattern recognition analysis, and determine the contents of 4 components simultaneously. **METHODS** The fingerprints of 10 batches of Temurin-5 powder were established and similarity evaluation was performed by using high performance liquid chromatography (HPLC) combined with the *Similarity Evaluation System of Chromatographic Fingerprints of Traditional Chinese Medicine* (2012 edition); common peaks were identified by comparing with mixed substance control. The common peaks were analyzed by systematic cluster analysis and principal component analysis with SPSS 26.0 software. The HPLC method was used to determine the contents of gallic acid, geniposide, chlorogenic acid and ellagic acid in 10 batches of samples. **RESULTS** A total of 15 common peaks were identified from the fingerprints of 10 batches of Temurin-5 powder, and the similarity was 0.997-0.999. It was identified that peak 1 was gallic acid, peak 3 was geniposide, peak 5 was chlorogenic acid and peak 12 was ellagic acid. Among the 10 batches of samples, S4 and S9 were grouped into one category, S6-S8 were grouped into one category, and the other batches of samples were grouped into one category. The accumulative variance contribution rate of first three principal components was 89.245%. The linear ranges of gallic acid, geniposide, chlorogenic acid and ellagic acid were 5.55-177.5, 15.98-511.5, 2.56-82.0 and 13.48-431.5 μg/mL, respectively. RSDs of precision, stability (24 h) and repeatability tests were all less than 2% (n=6 or n=7). The average recoveries were 101.56%, 102.21%, 98.60% and 96.62%, respectively, RSDs were 1.90%, 1.61%, 1.58% and 1.73% (n=6). Average contents of above components were 5.03-5.64, 10.38-12.16, 1.40-1.69, 6.47-7.11 mg/g, respectively. **CONCLUSIONS** The established fingerprint is stable and feasible, and the content determination method meets the relevant regulations. Combined with chemical pattern recognition analysis, it can be used for the quality control of Temurin-5 powder.

**KEYWORDS** Temurin-5 powders; fingerprint; systematic cluster analysis; principal component analysis; content determination

特木仁-5味散出自藏医经典《四部医典·后序本》,也称扎格切-5汤散,是由铁面、诃子、梔子、黄柏、川楝子5味药材组成的传统蒙药制剂<sup>[1]</sup>。本方性凉,方中以清肝

热、明目的铁面为主。研究指出,铁面有消肿、清肝热、明目、解毒的功效;诃子有祛“三弊”所致诸疾、调理体素及解毒的功效;梔子有清血热、明目、祛巴达干希拉、滋养强壮及调节体素的功效;黄柏有清热、明目的功效;川楝子有祛巴达干希拉、燥黄水、止痛、杀虫、明目的功效;诸药共奏清肝热、明目之功<sup>[1]</sup>。蒙医理论认为,眼睛系靠火元素之特性构成的感形器,故其属性为火,且眼为肝之华,为司视希拉存在之处,也是病变希拉窜行之道<sup>[2]</sup>。

<sup>△</sup> 基金项目:新疆维吾尔自治区重点研发计划项目(No.2017B03-013-2)

\* 硕士研究生。研究方向:药品质量控制。E-mail:1597165545@qq.com

<sup>#</sup> 通信作者:副教授,硕士生导师,博士。研究方向:药品质量控制。E-mail:maguizhi000@126.com

因此,蒙医眼科治疗血热型眼病以清热、明目的特木仁-5汤为主<sup>[2-4]</sup>。此外,本方对治疗单纯性疱疹角膜炎、虹膜睫状体炎、急性闭角型青光眼、高血压眼底出血等眼病也有很好的效果<sup>[5]</sup>。现代药学研究表明,方中诃子具有涩肠止泻、敛肺止咳的作用,主要成分为没食子酸、鞣花酸等<sup>[6-7]</sup>;栀子苷作为栀子的指标及药效成分,具有泻火除烦、清热利湿、凉血解毒之效,外用可消肿止痛<sup>[8-9]</sup>;黄柏有燥湿清热、解毒泻火、去腐消肿的作用,其主要成分绿原酸具有抗菌、抗肿瘤等活性<sup>[10-11]</sup>。

民族药医院制剂不仅是医院临床用药的重要支撑,也是少数民族地区医疗体系的重要保障。同时,民族药医院制剂既是上市品种的重要补充,也可为新药创制提供参考,如金花清感颗粒、复方丹参滴丸、胃苏颗粒等都是由医院制剂转化而成的创新药<sup>[12]</sup>。作为常用的蒙医医院院内制剂,特木仁-5味散疗效确切,但现有质量标准仅有性状及检查项,不能准确反映制剂质量,导致其临床应用存在一定的安全隐患。中药指纹图谱是中药材经适当处理后,借助现代分析手段所得到的能够标示其化学特征的色谱图或光谱图,是一种评价中药材优劣、鉴别真伪、区分物种、优选炮制加工/煎药工艺、确保其一致性和稳定性的有效方法<sup>[13-16]</sup>。化学模式识别中的系统聚类分析与主成分分析可以在无样品类别信息的情况下获取分类信息,其主要目的是分析数据之间最初的结构特征,反映样品之间的相似程度<sup>[17-18]</sup>。本文拟建立特木仁-5味散的高效液相色谱指纹图谱,并进行化学模式识别分析,同时测定特木仁-5味散中没食子酸、栀子苷、绿原酸、鞣花酸含量,旨在为评价特木仁-5味散整体质量、提高其质量控制标准提供参考。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括LC-20AD型高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司)、New Classic MS型分析天平(最小度量值为0.01 mg,瑞士Mettler Toledo公司)、Milli-Q型超纯水仪(美国Millipore公司)、KQ5200DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)、SHB-III型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司)等。

### 1.2 主要药品与试剂

没食子酸对照品(批号110831-201204,纯度 $\geq$ 89.9%)购自中国食品药品检定研究院;栀子苷、鞣花酸、绿原酸对照品(批号分别为Y26F11Y1712、S02N7G-24008、Y20A11K111541,纯度均不低于98%)均购自上海源叶生物科技有限公司;铁面(制)饮片(产地河北,批号210114)、诃子饮片(产地广西,批号070308)、栀子饮片(产地广西,批号170518)、黄柏饮片(产地四川,批号190301)、川楝子饮片(产地四川,批号150426)均由新疆维吾尔自治区博尔塔拉蒙古自治州蒙医医院提供,由该

院张虹主任药师鉴定,分别为锉削金属铁所得铁屑的炮制品、使君子科植物诃子 *Terminalia chebula* Retz.或绒毛诃子 *T. chebula* Retz. var. *tomentella* Kurt.的干燥成熟果实、茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis的干燥成熟果实、芸香科植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid.的干燥树皮、楝科植物川楝 *MeLia toosendan* Sieb. et Zucc.的干燥成熟果实;特木仁-5味散(批号分别为20210416、20210425、20210427、20210429、20210430、20210501、20210502、20210503、20210523、20210526,编号依次为S1~S10)由新疆医科大学自制;甲醇、乙腈均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液 取没食子酸、栀子苷、绿原酸、鞣花酸对照品适量,精密称定,加甲醇溶解,制成没食子酸、栀子苷、绿原酸、鞣花酸质量浓度分别为28.1、121.8、20.3、101.1  $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液A(供指纹图谱用)和177.5、511.5、82.0、431.5  $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液B(供含量测定用)。

2.1.2 供试品溶液和阴性样品溶液 取特木仁-5味散约0.25 g,精密称定,置于25 mL棕色量瓶中,加甲醇至刻度,超声(功率100 W,频率40 kHz)处理30 min,放冷后用甲醇定容,摇匀,静置,取上清液,过0.22  $\mu\text{m}$ 微孔滤膜,取续滤液,即得供试品溶液。按处方比例制备缺相应药材的特木仁-5味散,同法制备供指纹图谱用的特木仁-5味散阴性样品溶液,包括缺诃子阴性样品溶液、缺栀子阴性样品溶液、缺黄柏阴性样品溶液、缺川楝子阴性样品溶液(因铁面所含成分难溶于甲醇,且在紫外检测器下无响应,故本研究未制备缺铁面阴性样品溶液),以及供含量测定用的特木仁-5味散阴性样品溶液,即缺诃子、栀子、黄柏阴性样品溶液(因所测成分分别来自诃子、栀子和黄柏,故本研究未制备缺铁面、川楝子阴性样品溶液)。

### 2.2 指纹图谱的建立

2.2.1 色谱条件 以Cosmosil C<sub>18</sub>(250 mm $\times$ 4.6 mm,5  $\mu\text{m}$ )为色谱柱,以0.05%磷酸溶液为流动相A、甲醇-乙腈(1:1, V/V)为流动相B进行梯度洗脱(0~10 min, 92%A;10~15 min, 92%A $\rightarrow$ 83%A;15~40 min, 83%A;40~45 min, 83%A $\rightarrow$ 80%A;45~55 min, 80%A $\rightarrow$ 79%A;55~75 min, 79%A $\rightarrow$ 78%A;75~80 min, 78%A $\rightarrow$ 75%A;80~115 min, 75%A $\rightarrow$ 72%A;115~120 min, 72%A $\rightarrow$ 69%A;120~130 min, 69%A;130~135 min, 69%A $\rightarrow$ 67%A;135~140 min, 67%A $\rightarrow$ 92%A;140~145 min, 92%A);流速为1 mL/min;柱温为30  $^{\circ}\text{C}$ ;检测波长为254 nm;进样量为10  $\mu\text{L}$ 。

2.2.2 精密度试验 称取特木仁-5味散(编号S10)约

0.25 g,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定6次,以峰12(鞣花酸)为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,15个共有峰相对保留时间的RSD均不高于0.34% ( $n=6$ ),相对峰面积的RSD均不高于1.76% ( $n=6$ ),表明该方法精密度良好。

2.2.3 重复性试验 取同一批特木仁-5味散(编号S10)6份,每份约0.25 g,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,以峰12(鞣花酸)为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,15个共有峰相对保留时间的RSD均不高于0.64% ( $n=6$ ),相对峰面积的RSD均不高于1.34% ( $n=6$ ),表明该方法重复性良好。

2.2.4 稳定性试验 取供试品溶液(编号S10)适量,分别于室温下放置0、3、6、9、12、15、18、21、24 h时按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,以峰12(鞣花酸)为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,15个共有峰相对保留时间的RSD均不高于0.72% ( $n=9$ ),相对峰面积的RSD均不高于2.10% ( $n=9$ ),表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.2.5 指纹图谱建立与共有峰指认 取10批特木仁-5味散的供试品溶液和缺栀子、缺川楝子、缺黄柏、缺诃子阴性样品溶液以及混合对照品溶液A,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。将10批特木仁-5味散的色谱图导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》,以S1样品图谱为参照,设置时间窗宽度为0.1 min,进行全峰匹配生成叠加指纹图谱,以中位数法生成对照指纹图谱。10批特木仁-5味散的叠加指纹图谱见图1,对照指纹图谱见图2,特木仁-5味散阴性样品溶液和混合对照品溶液的高效液相色谱图见图3。

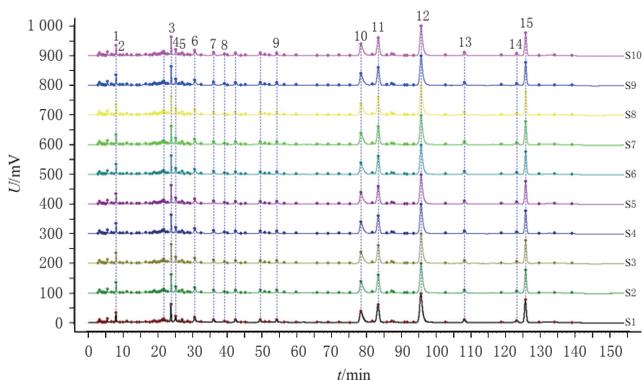


图1 10批特木仁-5味散的叠加指纹图谱

由图1和图2可见,在10批特木仁-5味散的指纹图谱中标定了15个共有峰。通过与混合对照品溶液进行比对,确定峰1为没食子酸、峰3为栀子苷、峰5为绿原酸、峰12为鞣花酸。通过各阴性样品溶液色谱图与对照指纹图谱比对,发现特木仁-5味散缺诃子阴性样品色谱图中只有3个共有峰,缺失的峰1、2、4、6~9、11~15可

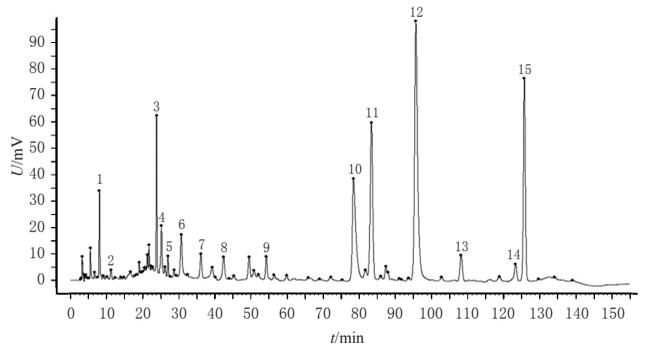
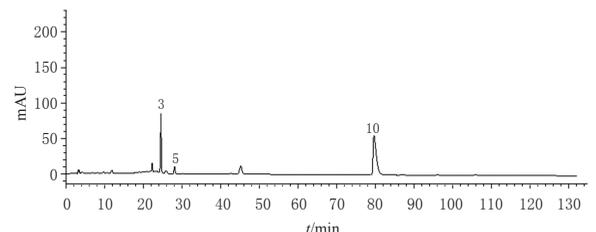
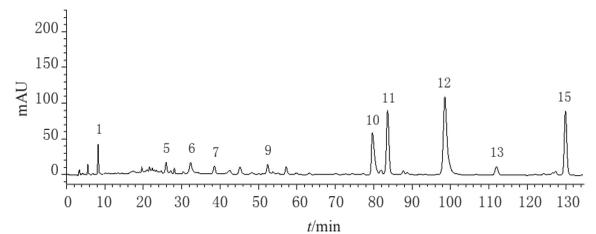


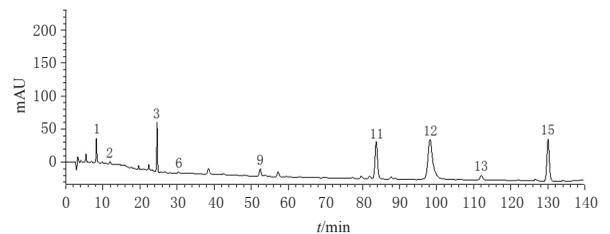
图2 特木仁-5味散的对照指纹图谱



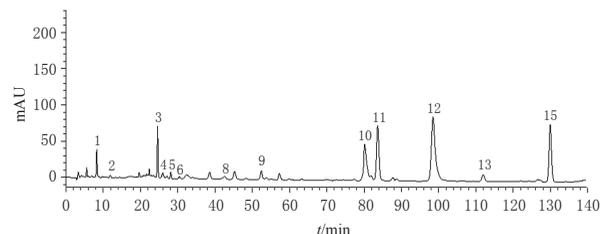
A.缺诃子阴性样品溶液



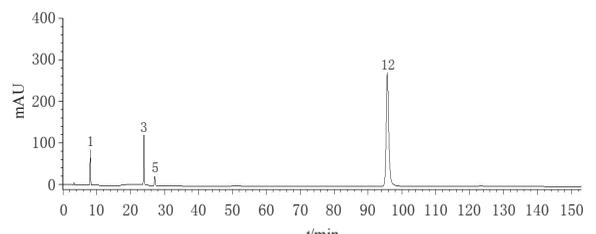
B.缺栀子阴性样品溶液



C.缺黄柏阴性样品溶液



D.缺川楝子阴性样品溶液



E.混合对照品溶液A

1:没食子酸;3:栀子苷;5:绿原酸;12:鞣花酸;2、4、6~11、13~15:未知成分

图3 特木仁-5味散阴性样品溶液和混合对照品溶液的高效液相色谱图

能与诃子有关;特木仁-5味散缺栀子阴性样品色谱图中有10个共有峰,缺失的峰2~4、8、14可能与栀子相关;特木仁-5味散缺黄柏阴性样品色谱图中有9个共有峰,缺失的峰4~5、7~8、10、14可能与黄柏有关;特木仁-5味散缺川楝子阴性样品色谱图中有13个共有峰,缺失的峰7、14可能与川楝子有关。

2.2.6 相似度评价 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》对10批特木仁-5味散进行相似度评价。结果显示,与对照指纹图谱比对,10批样品的相似度分别为0.999、0.999、0.999、0.997、0.999、0.998、0.998、0.998、0.999、0.999,表明10批特木仁-5味散的质量差异较小。

### 2.3 化学模式识别分析

2.3.1 系统聚类分析 采用SPSS 26.0软件,以平方欧氏距离为测度,以10批特木仁-5味散指纹图谱的15个共有峰峰面积为变量,进行系统聚类分析<sup>[19-20]</sup>。结果显示,当平方欧氏距离为5时,10批样品可聚为3类,S4、S9为一类,S6~S8为一类,其余批次样品为一类。10批特木仁-5味散的系统聚类分析树状图见图4。

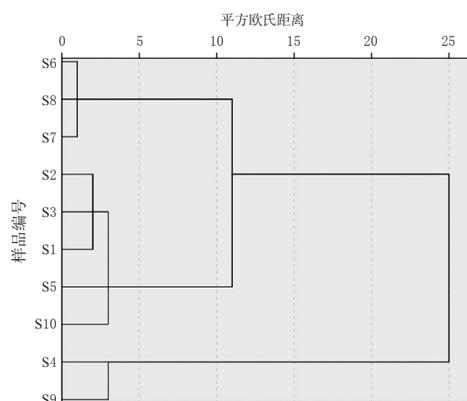


图4 10批特木仁-5味散的系统聚类分析树状图

2.3.2 主成分分析 为更直接评价15个共有成分对特木仁-5味散的分辨能力,以方差贡献率和特征值 $>1$ 为选择主成分的依据<sup>[21-22]</sup>,采用SPSS 26.0软件对10批特木仁-5味散进行主成分分析,结果见表1、表2。由表1可见,前3个主成分的累计方差贡献率为89.245%,说明这3个主成分包含了15个共有成分89.245%的信息,能较好地反映样品的主要特征,具有代表性。由表1和表2可见,主成分1的信息量最大,方差贡献率为59.454%,主要对应峰7、8、10~12(鞣花酸)、15;主成分2的方差贡献率为17.738%,主要对应峰1(没食子酸)、4、6、9、13、14;主成分3的方差贡献率为12.053%,主要对应峰2、3、5。由此推测可能影响特木仁-5味散质量差异的不是单一成分,而是多成分协同作用所导致的结果。

### 2.4 多成分含量测定

参考相关文献<sup>[23-24]</sup>,采用高效液相色谱法进行测定。

2.4.1 色谱条件 以Cosmosil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm)为色谱柱,以0.05%磷酸溶液为流动相A、甲醇-乙

表1 特木仁-5味散主成分分析的特征值与累计方差贡献率

主成分	特征值	方差贡献率/%	累计方差贡献率/%
1	8.918	59.454	59.454
2	2.661	17.738	77.191
3	1.808	12.053	89.245

表2 特木仁-5味散主成分分析的初始因子载荷矩阵

峰号	主成分1	主成分2	主成分3
1	-0.004	0.200	0.092
2	-0.156	0.011	0.106
3	-0.136	-0.116	0.098
4	-0.229	0.105	-0.091
5	-0.114	-0.096	0.091
6	-0.225	0.080	-0.093
7	0.394	-0.132	0.059
8	0.190	-0.060	0.073
9	-0.114	0.290	0.049
10	0.280	0.239	0.055
11	0.094	-0.013	-0.110
12	0.192	0.183	-0.087
13	0.050	0.089	-0.105
14	0.101	0.290	0.061
15	0.230	-0.088	-0.095

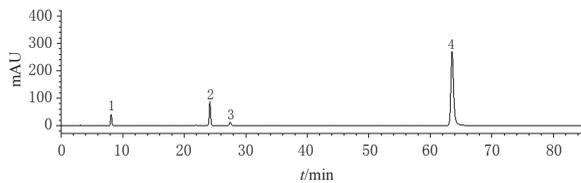
腈(1:1, V/V)为流动相B进行梯度洗脱(0~10 min, 92% A; 10~15 min, 92% A→83% A; 15~40 min, 83% A; 40~45 min, 83% A→69% A; 45~60 min, 69% A; 60~68 min, 69% A→67% A; 68~80 min, 67% A);流速为1.0 mL/min;柱温为30 ℃;检测波长为253 nm;进样量为10 μL。

2.4.2 专属性考察 取“2.1”项下混合对照品溶液B、供试品溶液和缺诃子、栀子、黄柏阴性样品溶液各适量,按“2.4.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图(图5)。由图5可见,没食子酸、栀子苷、绿原酸、鞣花酸色谱峰均与相邻色谱峰的分度度良好,阴性样品对测定无干扰。

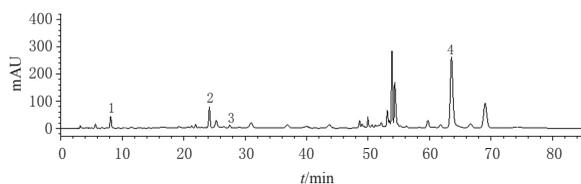
2.4.3 线性关系考察 精密吸取“2.1.1”项下混合对照品溶液B,用甲醇分别稀释2、4、8、16、32倍,分别精密吸取混合对照品溶液B和稀释后的系列样品溶液10 μL,按“2.4.1”项下色谱条件进样测定。以待测成分质量浓度(x)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行回归分析。结果显示,没食子酸、栀子苷、绿原酸、鞣花酸在相应质量浓度范围内与峰面积的线性关系良好,详见表3。

2.4.4 精密密度试验 取没食子酸、栀子苷、绿原酸、鞣花酸对照品适量,精密称定,加甲醇溶解,制成上述成分质量浓度分别为38.0、106.8、15.7、71.8 μg/mL的混合对照品溶液,按“2.4.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果显示,没食子酸、栀子苷、绿原酸、鞣花酸峰面积的RSD分别为0.72%、0.48%、1.08%、0.38%(n=6),表明仪器精密密度良好。

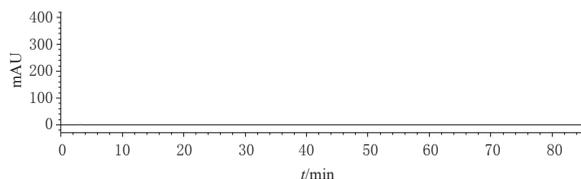
2.4.5 稳定性试验 取同一批特木仁-5味散(编号S5)适量,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,并分别于室



A.混合对照品溶液B



B.供试品溶液



C.缺诃子、栀子、黄柏阴性样品溶液

1:没食子酸;2:栀子苷;3:绿原酸;4:鞣花酸

图5 特木仁-5味散中没食子酸等成分定量分析的高效液相色谱图

表3 没食子酸等成分的线性关系考察结果

待测成分	回归方程	r	线性范围/( $\mu\text{g/mL}$ )
没食子酸	$y=13\ 785x+5\ 282.9$	0.999 9	5.55~177.5
栀子苷	$y=7\ 806.2x+14\ 874$	0.999 9	15.98~511.5
绿原酸	$y=9\ 993.9x-4\ 932.3$	0.999 8	2.56~82.0
鞣花酸	$y=98\ 752x-1\ 000\ 000$	0.999 6	13.48~431.5

温下放置0、2、4、6、8、12、24 h时按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,没食子酸、栀子苷、绿原酸、鞣花酸峰面积的RSD分别为0.94%、0.64%、0.46%、1.34% ( $n=7$ ),表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.4.6 重复性试验 取同一批特木仁-5味散(编号S5)适量,按“2.1.2”项下方法平行制备供试品溶液6份,按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并代入回归方程计算含量。结果显示,没食子酸、栀子苷、绿原酸、鞣花酸含量的RSD分别为1.58%、1.23%、1.76%、1.42% ( $n=6$ ),表明该方法重复性良好。

2.4.7 加样回收率试验 精密称取已知含量的特木仁-5味散(编号S5)9份,加入低、中、高质量浓度对照品溶液(按“2.1.1”项下方法配制,加入量约相当于已知量的0.8、1.0、1.2倍),按“2.1.2”项下方法平行制备供试品溶液,按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表4。

2.4.8 样品含量测定 精密称取10批特木仁-5味散适量,每批3份,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并代入回归方程计算含量,结果见表5。

表4 没食子酸等成分的加样回收率试验结果( $n=9$ )

待测成分	取样量/ g	已知量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	加样回收率/ %	平均加样回收率/ %	RSD/ %			
没食子酸	0.125 5	0.625 0	0.449 5	1.083 1	101.91	101.56	1.90			
	0.125 2	0.623 5	0.449 5	1.069 8	99.29					
	0.125 4	0.624 5	0.449 5	1.073 9	99.98					
	0.125 2	0.623 5	0.619 0	1.245 5	100.48					
	0.125 2	0.623 5	0.619 0	1.235 9	98.93					
	0.125 3	0.624 0	0.619 0	1.259 1	102.60					
	0.125 3	0.624 0	0.725 5	1.375 9	103.64					
	0.125 2	0.623 5	0.725 5	1.373 9	103.43					
	0.125 8	0.626 5	0.725 5	1.379 4	103.78					
	栀子苷	0.125 5	1.149 6	0.920 7	2.103 9			103.65	102.21	1.61
		0.125 2	1.146 8	0.920 7	2.067 0			99.95		
		0.125 4	1.148 7	0.920 7	2.083 5			101.53		
0.125 2		1.146 8	1.022 7	2.162 1	99.28					
0.125 2		1.146 8	1.022 7	2.191 5	102.15					
0.125 3		1.147 7	1.022 7	2.202 4	103.13					
0.125 3		1.147 7	1.329 5	2.519 4	103.17					
0.125 2		1.146 8	1.329 5	2.517 6	103.11					
0.125 8		1.152 3	1.329 5	2.533 6	103.90					
绿原酸		0.125 5	0.175 7	0.147 6	0.323 0	99.80	98.60	1.58		
		0.125 2	0.175 3	0.147 6	0.319 1	97.43				
		0.125 4	0.175 6	0.147 6	0.320 0	97.83				
	0.125 2	0.175 3	0.164 0	0.336 4	98.23					
	0.125 2	0.175 3	0.164 0	0.338 0	99.21					
	0.125 3	0.175 4	0.164 0	0.342 7	102.01					
	0.125 3	0.175 4	0.213 2	0.384 1	97.89					
	0.125 2	0.175 3	0.213 2	0.381 6	96.76					
	0.125 8	0.176 1	0.213 2	0.385 6	98.26					
	鞣花酸	0.125 5	0.834 6	0.647 2	1.466 8	97.68			96.62	1.73
		0.125 2	0.832 6	0.647 2	1.448 3	95.13				
		0.125 4	0.833 9	0.647 2	1.457 3	96.32				
0.125 2		0.832 6	0.863 0	1.669 3	96.95					
0.125 2		0.832 6	0.863 0	1.686 2	98.91					
0.125 3		0.833 2	0.863 0	1.689 4	99.21					
0.125 3		0.833 2	1.121 9	1.902 2	95.28					
0.125 2		0.832 6	1.121 9	1.899 2	95.07					
0.125 8		0.836 6	1.121 9	1.902 7	95.03					

表5 特木仁-5味散中没食子酸等成分的含量测定结果( $\bar{x} \pm s, n=3, \text{mg/g}$ )

编号	没食子酸	栀子苷	绿原酸	鞣花酸
S1	5.43 $\pm$ 0.15	11.30 $\pm$ 0.23	1.50 $\pm$ 0.11	6.51 $\pm$ 0.17
S2	5.54 $\pm$ 0.03	11.54 $\pm$ 0.07	1.63 $\pm$ 0.01	6.92 $\pm$ 0.04
S3	5.64 $\pm$ 0.13	12.16 $\pm$ 0.40	1.69 $\pm$ 0.05	7.11 $\pm$ 0.20
S4	5.34 $\pm$ 0.17	11.14 $\pm$ 0.51	1.50 $\pm$ 0.11	6.67 $\pm$ 0.15
S5	5.03 $\pm$ 0.04	10.38 $\pm$ 0.04	1.40 $\pm$ 0.01	6.47 $\pm$ 0.02
S6	5.13 $\pm$ 0.10	10.72 $\pm$ 0.27	1.49 $\pm$ 0.07	6.55 $\pm$ 0.05
S7	5.28 $\pm$ 0.11	11.05 $\pm$ 0.30	1.53 $\pm$ 0.10	6.66 $\pm$ 0.08
S8	5.13 $\pm$ 0.09	11.14 $\pm$ 0.04	1.47 $\pm$ 0.03	6.50 $\pm$ 0.04
S9	5.22 $\pm$ 0.02	11.14 $\pm$ 0.08	1.44 $\pm$ 0.01	6.69 $\pm$ 0.02
S10	5.34 $\pm$ 0.23	11.77 $\pm$ 0.28	1.46 $\pm$ 0.03	6.60 $\pm$ 0.08

### 3 讨论

本研究在含量测定预实验中考察了不同柱温(25、30、35  $^{\circ}\text{C}$ )对特木仁-5味散中没食子酸、栀子苷、绿原酸、鞣花酸分离效果的影响。结果显示,以甲醇-乙腈(1:1,  $V/V$ )-0.05%磷酸溶液为流动相、柱温为30  $^{\circ}\text{C}$ 时,色谱图

中相邻色谱峰的分度均较好。对特木仁-5味散进行全波长扫描,通过色谱信息丰富程度与峰形确定含量测定的检测波长为253 nm。

本研究所建立的特木仁-5味散指纹图谱符合方法学要求,共标定了15个共有峰,指认了其中4个共有峰;不同批次样品色谱图与对照指纹图谱比较,相似度均大于0.99,表明不同批次特木仁-5味散的质量较稳定。同时,本研究通过与阴性样品色谱图对比,推测了15个未知共有峰的可能来源,其中诃子和黄柏可能是共有峰的主要来源。

化学模式识别分析可对样品进行全面的鉴别归类<sup>[25]</sup>。本研究对10批特木仁-5味散进行了系统聚类分析和主成分分析,结果显示,S4、S9聚为一类,S6~S8聚为一类,其余批次样品聚为一类;前3个主成分的累计方差贡献率为89.245%。

10批特木仁-5味散中,没食子酸、栀子苷、绿原酸、鞣花酸的平均含量分别为5.03~5.64、10.38~12.16、1.40~1.69、6.47~7.11 mg/g。

综上所述,本研究所建指纹图谱稳定、可行,含量测定方法符合相关规定,结合化学模式识别分析可用于特木仁-5味散的质量控制,为该制剂的质量评价和质量标准提升奠定了实验基础。

## 参考文献

[1] 罗布桑.蒙药学[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2006:109.

[2] 阿拉坦图雅,巴日格其,代明山.蒙药特木仁-5汤在眼科临床中的应用[J].中国民族医药杂志,2019,25(12):65,73.

[3] 胡龙堂,格日勒.蒙药熏眼、口服加睑板腺按摩治疗干眼症的观察[J].中国民族医药杂志,2016,22(9):28-29.

[4] 段香星.蒙西结合治疗FS-LASIK术后干眼症的临床观察[J].内蒙古医学杂志,2017,49(10):1170-1172.

[5] 代明山,阿拉坦图雅.蒙药治疗单纯疱疹性角膜炎[J].辽宁中医杂志,2005,32(5):436.

[6] 夏慧敏,张慧文,白云霞,等. HPLC指纹图谱技术结合灰色关联度法评价不同批次诃子质量[J].中国现代应用药学,2020,37(12):1448-1453.

[7] 赵鹿,廖翠萍,杨秀娟,等.诃子的研究进展及质量标志物的预测[J].中草药,2020,51(10):2732-2744.

[8] 刘春雷,刘燕琴,陈艾萌,等.不同栀子子系果实中活性成分累积规律探究[J].中成药,2021,43(2):436-440.

[9] 李晓雅,吴敏,王松子,等.中药栀子有效成分栀子苷的心血管系统药理作用研究[J/OL].中国中西医结合杂志:1-6(2020-10-20)[2022-01-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/>

detail/11.2787.R.20201017.1709.002.html.

[10] 李嘉诚,吴岚,蔡同凯,等.黄柏化学成分及其药理作用研究进展[J].药学实践杂志,2018,36(5):389-391,398.

[11] 王庆华,杜婷婷,张智慧,等.绿原酸的药理作用及机制研究进展[J].药学学报,2020,55(10):2273-2280.

[12] 陈艳,刘慧,张哲,等.院内中药制剂对综合性医院临床和科研工作的促进作用[J].医学信息,2020,33(19):44-47.

[13] 曹雨晴,楚尧娟,刘克锋,等.我国中药指纹图谱研究的可视化分析[J].世界科学技术(中医药现代化),2020,22(9):3073-3081.

[14] 赵晨曦.中药复方制剂指纹图谱质量评价研究进展[J].临床医药文献电子杂志,2019,6(A2):194.

[15] 张泽帅,王海霞,叶瑞平,等.振荡化学指纹图谱技术结合数学分析方法在中药和食品质控分析中的应用进展[J].中国中药杂志,2021,46(1):46-51.

[16] 陈文财,吕高荣,钟小清,等.中药指纹图谱、特征图谱技术专利申请的创造性分析[J].专利代理,2020(1):35-38.

[17] 孙立丽,王萌,任晓亮.化学模式识别方法在中药质量控制研究中的应用进展[J].中草药,2017,48(20):4339-4345.

[18] 王业.云南铁皮石斛及其相似种光谱指纹图谱研究[D].昆明:云南中医药大学,2020.

[19] 周洪亮,翁燕,邵怡霖,等. HPLC指纹图谱结合化学模式识别的不同采收期酸枣仁质量对比研究[J].中国中医药信息杂志,2021,28(12):68-73.

[20] 何翠敏,黄伟斌,邱雨,等.基于HPLC指纹图谱结合化学模式识别分析相思子叶质量[J].中成药,2021,43(6):1521-1525.

[21] 石岩,魏锋,马双成.关于主成分分析在中药和天然药物分析研究中应用的探讨[J].中国中药杂志,2018,43(14):3031-3035.

[22] 李毅,刘林,李钟,等.基于化学计量学的复方小儿退热颗粒质量一致性研究[J/OL].中药材,2021,44(5):1166-1171[2022-01-10]. <http://kns.cnki.net/KCMS/detail/44.1286.R.20210531.1130.025.html>. DOI:10.13863/j.issn1001-4454.2021.05.024.

[23] 罗静玲,张湘龙,曾建国,等.不同成熟度和产地初加工方法对栀子中4种活性成分含量的影响[J].食品工业科技,2021,42(13):241-246.

[24] 黄宽,付鹏,林艾和,等. HPLC法同时测定毛诃子中5种鞣质类成分的含量[J].中国药师,2021,24(3):607-609.

[25] 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.

(收稿日期:2021-08-19 修回日期:2022-01-12)

(编辑:邹丽娟)