

• 专 论 •

中药指纹图谱技术进展及未来发展方向展望

李 强, 杜思邈, 张忠亮, 吕春明, 周永全, 赵 燕, 张 宁*

上海中医药大学 科技实验中心, 上海 201203

摘 要: 中药指纹图谱在现代及未来的中药质量控制中都占有很重要的地位, 其可分析中药中有效成分和无效成分的种类和含量分布的信息, 符合中医中药整体性和模糊性的特点。随着越来越多的技术不断被应用于中药指纹图谱的研究, 中药指纹图谱必在中药质量控制、中药药效成分研究、中药作用机制研究等多方面发挥更加重要的作用。总结了近年来中药指纹图谱研究技术和分析方法的进展, 并就其未来发展方向进行探析。

关键词: 中药; 质量控制; 指纹图谱; 药效成分; 作用机制

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)22-3095-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.22.001

Progress in fingerprint technology on Chinese materia medica and prospect of its future development

LI Qiang, DU Si-miao, ZHANG Zhong-liang, LV Chun-ming, ZHOU Yong-quan, ZHAO Yan, ZHANG Ning

Experiment Center for Science and Technology, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Abstract: Fingerprint of Chinese materia medica (CMM), which could be used to comprehensively analyze the information of the type and content distribution of the effective and ineffective components in CMM, is in line with the integral and fuzzy characteristics of CMM and has held its own important space in modern and future CMM quality control. As more and more technologies have been applied to the fingerprint research of CMM, it is sure to play a much more important role in many aspects, such as the quality control of CMM, the researches of efficient components, and the mechanism in CMM, and so on. This paper generalizes the research in progresses in research and analytic methods on CMM fingerprint technology, and the prospect of the future development in the fingerprint is discussed.

Key words: Chinese materia medica; quality control; fingerprint; efficacious constituents; mechanism of action

随着中药在国际上的广泛应用, 其有效性、安全性问题引起了广泛关注。建立高品质的质量标准以保证药物的安全性、有效性是一项长期而艰巨的任务。中药质量控制一直都是中药研究与生产中的难点和热点, 也是实现中药现代化的重要基础和关键^[1]; 而且目前国内中药质量控制的模式和手段具有很多局限性, 已成为中药打入国际市场的主要障碍之一。

我国目前推行的中药质量标准体系是由区分优劣的定量指标(包括纯度、异物、灰分、水分等)和辨别真伪的定性指标(包括产地、采收期、形状、

特征、颜色反应、浸出物等)组成的。由药材中单一或几个化合物来对一种或几种药材定性或定量测定是一种普遍现象, 其控制的是中药中的某部分组分, 忽略了中药中多种成分、多种机制的协同作用, 难以全面衡量中药的疗效和质量。

经过二十几年发展的中药指纹图谱在中药质量的综合评价和控制方面迈进了一大步, 被认为是中药质量控制的里程碑^[2], 已由最初的在方法和技术方面的基础研究, 开始逐渐进入到中药质量控制和评价的实际应用中^[3]。

指纹图谱是基于对中药物质群整体作用的认

收稿日期: 2013-08-02

基金项目: 上海市教育委员会重点学科资助项目(J50302); 上海市科促会联盟计划(2012033)

作者简介: 李 强(1987—), 男, 中药学硕士生, 河南焦作人, 研究方向为中药新剂型与质量评价。E-mail: liqiang875@foxmail.com

*通信作者 张 宁 Tel: (021)51322384 E-mail: ningzh18@126.com

识,借助于波谱和色谱等技术获得中药化学成分的光谱或色谱图,是实现鉴别中药真实性、评价质量一致性和产品稳定性的可行模式,具有信息量大、特征性强、整体性和模糊性等特点。指纹图谱包括了对已知成分和未知成分的分析,反映的化学成分信息(具体表现为相对保留时间和相对峰面积)具有高度特异性和选择性,可较充分地反映出中药复杂混合体系中各种化学成分分布的整体状况,尤其是在现阶段有效成分绝大多数没有明确的情况下,能够结合各种色谱、光谱、波谱手段^[4],特征性地鉴定中药的真伪与优劣,成为中药自身的“化学条码”^[5-6]。因此,中药指纹图谱能较全面地反映药材所含化学成分的相对关系,体现了中药成分的复杂性和相关性,与中医药的传统理论相适应,能真正对中药内在质量进行有效表征、综合评价和全面控制,尤其适用于有效成分不完全明确或不需要完全明确的情况下,对中药材及中药产品进行质量控制。中药指纹图谱除能用于考察中药材产地、采收季节、采收部位、炮制加工、储存时间等因素^[7-12],以提供依据鉴别生产前原料药材的真伪优劣,更可用于中药生产过程的质量控制:追踪制剂中某些化学成分的变化,监测原料药材与成品之间、成品的各批次间质量的一致性^[13-15]。

本文将以指纹图谱所用技术(化学指纹图谱、生物指纹图谱和代谢指纹图谱三大类)及分析方法为依据分类阐述近年来指纹图谱研究进展,并指出指纹图谱在未来研究中应注意的问题,以期指纹图谱能为中药质量控制、中药的现代化和国际化提供有益的参考。

1 化学指纹图谱

化学指纹图谱是依据中药中所含化学成分种类及其量用不同的仪器、方法检测得到的指纹图谱。根据所用方法的不同将中药化学指纹图谱分为2类:波(光)谱指纹图谱、色谱指纹图谱。

1.1 波(光)谱指纹图谱

光谱指纹图谱中常用的有红外光谱、近红外光谱、紫外光谱以及X射线衍射光谱、核磁共振等。由于这些方法能够给出药效物质基础的结构信息,部分信息也可能与特定的化学成分有直接关联,所以它们在中药指纹图谱的研究中仅是作为辅助手段。

1.1.1 红外光谱(近红外光谱)指纹图谱 红外光谱法测定的是物质中分子吸收光谱,是由分子振动

或转动引起偶极距的净变化产生,不同物质有其特征指纹性^[16]。近些年来,近红外光谱用于中药质量控制尤其广泛。由于近红外光谱仪具有体积小、分析速度快及受温度、压力和振动等外部因素干扰小等优点^[17],已充分应用于中药的加工过程监控和质量控制,不仅可以对原药材、饮片、成药、颗粒剂以及注射剂等连续的加工过程进行在线的质量控制,而且对于药材的提取过程也可以进行全程质量监控^[18-20]。

孙素琴等^[21-22]以红外光谱法对地黄、正红花油的分析以及对鹿角、鹿茸、鹿角霜的鉴别为例指出:中药多组分化化合物的红外光谱中,具有同一类官能团的多种成分可整体形成叠加峰,对其分析可得物质群组的信息,逐步分析后,再逐级利用二阶导数红外光谱及二维红外光谱等分辨能力更高的方法,并借助于光谱数据库检索、相似度量化评价、多组分定量分析等识别手段,对多产地的中药进行质量控制,能够真实反映中药样品的整体信息,可进行宏观物质群组分析,对特定的群组进行微观分析,并可对多成分进行定量分析。整个分析过程直接、简便、合理、有效,可从源头开始,建立从整体到局部、从定性到定量的全过程、全成分的分析体系。Fournier等^[23]应用一种特殊形式的二维四波混频红外振动光谱(2DIR FWM)作为可能的蛋白质指纹识别工具,可以测定某些肽的氨基酸量。Vijayalakshmi等^[24]用紫外-可见光谱和红外光谱指纹图谱比较和评价铁力木根提取物的提取率,每个提取物和官能团在 $500\sim 3\,500\text{ cm}^{-1}$ 区域内可出现指纹光谱。

1.1.2 拉曼光谱指纹图谱 拉曼光谱具有无需预处理、不需破坏样品、分析速度快、灵敏度较高、样品浓度低的特点,为中药的质量控制、中药有效成分的微量分析与深层次研究提供了一种新的方便而可靠的分析方法^[25]。

刘蓬勃等^[26]和朱世玮等^[27]分别采用傅里叶变换拉曼光谱鉴别了八角茴香真伪品、肉桂及其混淆品阴香,鉴别方法快速、准确。林文硕等^[28]采用拉曼光谱对山药成分进行分析,并在其拉曼光谱的基础上获得了一阶导数谱。结果显示:拉曼光谱中出现的 477 、 863 、 936 cm^{-1} 强峰,可认为是山药的特征峰;在其一阶导数谱 $600\sim 800\text{ cm}^{-1}$, $1\,000\sim 1\,400\text{ cm}^{-1}$ 区域内可以更为清晰的表现山药拉曼光谱。

1.1.3 紫外光谱指纹图谱 紫外光谱可反映出中药中化学组分 $\pi\rightarrow\pi^*$ 、 $n\rightarrow\pi^*$ 及 $n\rightarrow\sigma^*$ 化学键信息,由

于不同的化学成分体系紫外吸收曲线具有指纹特征,故紫外光谱指纹图谱可用于中药及其制剂的质量鉴别。

孟庆华等^[29]建立了一种计算紫外光谱相似度的方法,实现对中药注射液质量的控制。用紫外吸收光谱上所有数据点计算样品紫外光谱和多个对照品紫外光谱的相似度并求出平均值,通过该平均值与阈值的比较对样品质量进行评价。邹华彬等^[30]采用紫外指纹图谱技术和双指标(共有峰率和变异峰率)序列分析法对不同产地、不同采集年份的白芍及相近植物赤芍、丹皮进行了定量评价。结果表明,在本实验采用的药材范围内,相近产地的白芍具有最相近的关系,不同产地的白芍之间存在着较明显的差异,同一地区不同年份的白芍之间有较明显的差异,并可以明确区分白芍及丹皮,并可对至少2个样品进行定量评价,为白芍质量的准确定量评价提供了一种新方法。冀宪领等^[31]对紫外指纹图谱鉴定(别)白僵蚕质量的可行性进行了分析,初步建立了可应用于白僵蚕鉴别的紫外指纹图谱技术,该方法可为白僵蚕的质量控制提供依据。

1.1.4 荧光光谱指纹图谱 大多数中药成分具有荧光性质,荧光光谱能形象地反映出荧光组分的各种信息,特别是所有荧光组分的种类和量的信息分别都会反映在光谱上,使得每种中药的荧光光谱有所差异而具有了良好的指纹性;如果再结合计算机技术,根据一定的标准进行确认,便可达到对中药的识别和质量控制等目的^[32]。

牟新利等^[33]用三维荧光研究柳杉种子、银杏叶和槐米的指纹图谱,化学成分芦丁能显示唯一的指纹图谱特征,因此,三维荧光可以较准确地鉴定中药中的化学成分,三维荧光可以作为中药指纹图谱研究的一种标准。王琳等^[34]利用液晶光谱仪通过光谱成像法对黄柏和人参总皂苷进行了荧光光谱图像检测,采用滤波器与像素点定位联用的方法提取有效像素点,获取了荧光光谱图像,绘制了中药荧光指纹图谱,其所得荧光指纹图谱稳定性好、谱线优,结果表明该方法可以用于构建中药荧光指纹图谱。

1.1.5 核磁共振指纹图谱 中药核磁共振指纹图谱是一种整体的、综合的鉴定手段,核磁共振具有高度的重现性和特征性,操作简单、分析周期短、易于解析,可用于鉴别中药真伪、评价药材和中成药的质量均一性和稳定性,具有其他光谱学方法无可比拟的优越性。

张瑜等^[35]建立关黄柏的¹H-NMR指纹图谱方法,对关黄柏的总提取物、总生物碱提取物和总柠檬苦素提取物三者的指纹图谱进行对比分析研究。结果表明,关黄柏总提取物的指纹图谱主要显示小檗碱、巴马汀的特征共振信号;关黄柏总生物碱提取物的指纹图谱主要显示小檗碱、巴马汀和黄柏碱的特征共振信号;关黄柏总柠檬苦素提取物的指纹图谱主要显示黄柏酮、黄柏内酯的特征共振信号;各图谱能够很好地表征出主要成分的特征信号,可以作为关黄柏指纹图谱研究的辅助方法以控制中药质量。姜苗苗等^[36]应用¹H-NMR技术建立银翘解毒液的指纹图谱,并应用Excel 2003软件计算10批银翘解毒液样品相似度,其中8批样品的相关系数和夹角余弦相似度在0.97以上,另外2批相似度在0.82~0.91。该指纹图谱专属性强,准确可行,能全面、快速、客观地反映其质量特征,可用于银翘解毒口服液类中药复方制剂的质量评价和控制。Lin等^[37]通过¹H-NMR指纹图谱方法分别检测1~6年生栽培干人参,产生的数据集使用主成分分析和聚类分析,建立一个能够真实、明确区分人参栽培年限的质量监控方法。

1.1.6 X射线衍射指纹图谱 X射线衍射是用X射线对被测样品进行照射而产生的衍射图谱(如Fourier指纹图谱的几何拓扑图形和特征衍射峰等),是各组分衍射效应的叠加,是恒定组成的样品的特征图谱。X射线衍射法对样品前处理只需进行物理(粉碎)加工,不需化学处理,可保持样品组分全貌,所需样品量小,操作快捷方便,所获得的图谱信息量大、指纹性强、稳定可靠,作为样品定性鉴别的依据可靠性强。目前建立的方法中以动物、矿石类药材居多,但也不乏植物药材。

Wang等^[38]建立了大黄的X射线衍射指纹图谱方法并对3个产地的大黄进行检测和图谱峰差异性评价和整体相似性评价。结果显示:3个样品所含的化学成分相同,但量不相等,其衍射图谱及衍射峰值具有一定的指纹特征,表明X射线衍射法可为区分不同产地大黄药材的质量及鉴别提供依据,是鉴别不同产区的大黄及其他中药材的一种快捷有效的方法。赵翠等^[39]采用X射线衍射技术对8个煅硼砂样品进行定性分析,并对各样品共有峰进行相似度分析。结果显示:其中7个样品衍射图谱几何拓扑特征基本一致,后经夹角余弦法和相关系数法计算,发现不同样品X射线衍射图谱共有峰相似度均

较高,与聚类分析结果一致,表明X射线衍射指纹图谱分析方法专属性强,准确可靠,可实现对煅硼砂的鉴别和质量评价。刘广桢等^[40]建立冰硼散X射线衍射分析方法,对市售8个厂家冰硼散进行X射线衍射指纹图谱分析及特征标记峰鉴别,发现不同厂家冰硼散样品X射线衍射图谱中均可检出冰片、玄明粉和朱砂的特征峰,部分样品可检出硼砂的特征峰。该方法可用于冰硼散的鉴定。

1.2 色谱指纹图谱

色谱法是分析化学领域中发展最快、应用最广泛的分析方法之一,也是中药指纹图谱最基本的技术和现代中药产业的关键技术,非常适合我国的国情。常用的色谱指纹图谱技术有薄层色谱指纹图谱、液相色谱指纹图谱、气相色谱指纹图谱、高效毛细管电泳指纹图谱等^[41]。各种技术均有各自的优点和缺点,适用范围也各有差别,选择何种色谱指纹图谱技术取决于供试品的性质和研究目的。

1.2.1 薄层色谱指纹图谱 薄层色谱是应用最普遍的鉴别手段,多国药典都采用其作为必不可少的药材鉴别方法。薄层色谱具有经济、简便、直观、快速、时效高、适用广、专属性强等优点,以及效能低、受环境影响大、重现性差等缺点。

杨成等^[42]应用高效薄层色谱法和薄层扫描技术获得了可用于区分来自冬虫夏草、灵芝、黄芪、人参、西洋参和三七的6种多糖组分的薄层色谱指纹图谱。雷敬卫等^[43]为鉴别生熟地黄及考察熟地黄饮片质量的稳定性和一致性而建立了薄层色谱指纹图谱方法,结果显示10批清蒸和10批酒炖样品间的相似程度较高,饮片质量比较均一、稳定,与《中国药典》2010年版中规定的鉴别方法比较,反映的信息更丰富、更具说服力。Galal等^[44]建立了白花丹叶薄层色谱指纹图谱的方法,对3种白花丹(蓝花丹 *Plumbago auriculata* Lamk.、紫花丹 *P. indica* L. 和白花丹 *P. zeylanica* L.) 的叶、茎和根进行分析,结果表明,三者的叶和根差异明显,而茎无明显差异。

1.2.2 液相色谱指纹图谱 高效液相色谱是研究指纹图谱应用最广泛的方法之一,具有分离效能高、分析速度快及仪器自动化等特点,依托正相色谱和反相色谱两大技术、紫外检测器(UV)、荧光检测器(FD)、电化学检测器(ECD)、蒸发激光光散射检测器(ELSD)、示差折光检测器(RID)、二极管阵列检测器(DAD)、质谱检测器(MS)等多种检

测器以及种类丰富的色谱柱,使得液相色谱法适用性非常强。

王海波等^[45]通过对65种不同来源羌活药材的荧光指纹图谱进行实验研究,构建羌活的高效液相-荧光指纹图谱质控方法,确定了羌活药材质量评价荧光指纹谱的基准样本值,得到20个共有指纹色谱峰,各羌活样品与基准样本相似度值均在0.8以上。周慧等^[46]分别采用高效液相色谱技术和ESI-MS技术得到了分离度、精密度和重现性均较好的刺五加叶HPLC-UV及ESI-MS指纹图谱,并成功鉴别了刺五加叶与山楂叶,可为刺五加叶的质量控制提供参考。Xiong等^[47]建立了普通针毛蕨的高效液相指纹色谱法鉴定和质控方法,图谱中有11个特征峰,并可同时定量分析原芹黄酮、原芹黄素-4'-O- β -D-葡萄糖苷、芹黄素4'-O- β -D-葡萄糖苷和芹黄素4种物质的量,该方法可靠、快速。Zhao等^[48]建立了牛膝的高效液相指纹色谱质量控制标准,确定其中3个峰为蜕皮甾酮、25R-牛膝甾酮和25S-牛膝甾酮,并,进行定量HPLC-UV分析,量化分析了怀牛膝、尖叶牛膝、结球甘蓝和川牛膝4种同属药材。结果表明,该方法是良好的评价牛膝质量的方法。Dou等^[49]用LC-DAD和LC-ESI-MS-MS联用方法对黄连解毒汤进行质量评价,由C₁₈色谱柱分离得到25个色谱峰,其中对13个化学成分进行ESI-MS鉴定,7个成分进行LC-DAD定量分析,用该方法能够更充分、完整地监测及评价黄连解毒汤的质量。

1.2.3 气相色谱指纹图谱 气相色谱指纹图谱主要应用于含挥发性成分较多的中药材及中药制剂的质量鉴定和质量控制,具有分离效能高、选择性好、灵敏度高、样品用量少、分析速度快和应用范围广等优点。

沈振铎等^[50]建立了评价五味子质量的气相色谱指纹图谱分析和鉴定方法,根据聚类和相似度分析结果对南五味子、北五味子进行了鉴别,确定了北五味子、南五味子挥发油类成分中各自的28个和16个共有峰。吴志成等^[51]提取了海南沉香挥发油并对其进行GC-MS分析,建立了海南沉香药材挥发油的GC指纹图谱,并对10批海南沉香药材进行分析,相似度为0.913~0.997。该方法稳定性好、特征性强,可作为海南沉香药材地道性鉴定的一种新手段。李红梅等^[52]采用水蒸气蒸馏和正己烷萃取藿香正气水,以正十七烷为参照物经毛细管气相色谱柱(含FID检测器)进行了分析,对10批次藿香

正气水进行检测,建立了该药品的GC指纹图谱,并标示了16个共有指纹峰。该方法准确、重现性好,为进一步质量标准化研究和质量控制提供依据。Jiao等^[53]建立了广东海风藤提取物GC-MS指纹图谱,并对色谱图中的23个主要特征峰进行了鉴定,通过SPSS进行分层聚类分析,10个批次的相似度值较低,该药材可分为三大类。该方法重现性好,提供了一个有效控制海风藤质量的方法。

1.2.4 毛细管电泳色谱指纹图谱 毛细管电泳已被用于分析中药中生物碱、黄酮(黄酮苷)、酚酸、香豆素、醌类、强心苷、皂苷、葡萄糖异硫氰酸盐等成分,具有抗污染能力强、前处理简单、分析运行成本低、水溶性样品的指纹特征强等特点,而且在分析基质复杂的样品和运行费用方面比HPLC方法有着极为突出的优越性,同时已有性能较好的国产仪器。

王丽聪等^[54]用毛细管电泳法研究运行缓冲液的浓度和酸度、检测波长及分离电压对黄芩药材指纹图谱的影响,得到了优化的测定条件(50 mmol/L 硼砂缓冲液, pH 值 7.94, 分离电压为 20 kV, 柱上 254 nm 紫外检测),从而建立了不同产地黄芩药材的指纹图谱,通过对10批次药材的测定,结果与实际样品分类相符合,为黄芩药材的质量控制提供了新的参考。崔洋等^[55]建立了连翘的高效毛细管电泳指纹图谱共有模式,确定了12个共有峰,并对不同产地、不同采收部位药材进行了比较和评价。结果显示:河北产连翘药材指纹图谱较相似,山西、河南产与河北产质量相近,不同部位连翘药材化学成分差异较大。郭涛等^[56]采用高效毛细管电泳法建立以10批当归道地药材、10批川芎道地药材、10批红花道地药材、10批心舒口服液的指纹图谱,分别建立标准指纹图谱,再分别对制剂、单味药材水煎液、各药材阴性对照液的指纹图谱进行在线紫外光谱和迁移时间的比较,初步确定了样品制剂与原料药材指纹图谱之间的相关性,最终建立复方中药制剂心舒口服液的质量控制方法。

1.2.5 高速逆流色谱指纹图谱 高速逆流色谱分离原理是利用螺旋柱产生巨大离心力,使螺旋柱中互不相溶的两相不断反复进行混合和静置这一频率极高的分配过程,可使样品在两相之间不断反复地进行分配,由于样品中各组分分配系数不同,导致在螺旋柱中的移动速度不同,因而能使样品各组分依次得到分离。高速逆流色谱技术的特点:操作简单

易行,应用范围广,无需固体载体,产品纯度高,使得其他色谱技术中可能出现的样品吸附、损失、污染和色谱峰拖尾等问题得到解决。目前,该技术主要应用于分离和提纯方面,如果在各组分洗脱出口处串联上适当的检测器,其检测信号谱图则为指纹图谱,且具有分析成本低、易于操作、性能可靠、仪器价格低廉、分离和分析同时完成等优点^[57]。

Gu等^[58]用高速逆流色谱法研究丹参指纹图谱,用高速逆流色谱仪分离纯化丹参脂溶性成分,选用正己烷-乙醇-水(10:5.5:4.5)体系进行分步洗脱,3个丹参样品分别分离得到12个相同的洗脱组分,但相对量有较大差异,说明高速逆流色谱法可以体现中药化学成分浓度分布的状况,表明高速逆流色谱法作为指纹图谱研究方法具有可行性。沈平嬢等^[59]建立了五味子的高速逆流色谱指纹图谱方法,得到的谱图有13个特征峰,对分离得到的4种成分(五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素)进行检测,质量分数均大于97%,对建立五味子高速逆流色谱指纹图谱质量控制标准进行了有益的探索。

2 生物指纹图谱

中药生物指纹图谱主要应用于植物遗传育种研究以及种子质量标准化、品种审定、假种辨别等方面,包括蛋白质组学指纹图谱和DNA(基因组学)指纹图谱。蛋白质组学的研究是一个细胞或一个基因组所表达的全部蛋白质,是在空间和时间上动态变化的整体,其研究主要依赖三大技术,即双向电泳技术、电喷雾质谱(ESI-MS)和基质辅助激光解吸离子飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)技术、生物信息学技术。中药材DNA指纹图谱多运用聚合酶链反应(PCR)从不同生物样品中人工合成DNA片段,这种DNA片段的大小、数目因不同生物而不同,所以直接分析的是生物遗传因子,只能用于药材种质资源的考察。其分析技术目前主要有DNA随机扩增多态性(random amplified polymorphic DNA, RAPD)、简单重复序列间扩增(inter-simple sequence repeat, ISSR)和扩增限制性片段多态性(amplified restriction fragment polymorphism, AFLP)。

蒋军富等^[60]用筛选出的两条随机引物对不同采集地绞股蓝及乌莓基因组DNA进行PCR扩增,将扩增样品中的具有相同迁移率的1条DNA片段进行克隆、测序、一致性分析,并在美国国立生物技术信息中心(NCBI)上进行Blastn比对检索。

结果发现该 DNA 序列为新发现序列, 以上 2 条引物能分别扩增得到绞股蓝与乌莓样品基因组的差异性 DNA 片段, 可以明确区别绞股蓝与乌莓, 为绞股蓝的品种鉴定、辅助选择育种等研究奠定了基础。高霞等^[61]利用 RAPD 标记对膜荚黄芪(父本)和斜茎黄芪(母本)及其杂交种黄芪草进行了指纹图谱及遗传相似度分析。结果表明, 黄芪草在引物 P3 和 P5 的扩增图谱中分别具有 1 条和 2 条特异带, 而父本与母本无此特异带; 在引物 P4 的扩增下父本具有一条特异带, 而其余 5 份材料均未出现该特异带; 黄芪草与其父本遗传相似系数较小, 而与母本遗传相似系数较大, 其遗传偏向母本。Rana 等^[62]把相关序列扩增多态性(SRAP)标记法用于 31 个品种的麻黄遗传多样性研究, 43 个引物对扩增出 394 个条带, 其中 89% 的条带覆盖了所有 31 个品种, 43 个引物对其中 24 个品种可以唯一标识, 结果表明, SRAP 标记可以有效地用于黄麻遗传多样性分析, 对于确定黄麻的种质是非常有用的。

3 代谢指纹图谱

代谢指纹图谱的研究有 2 种: 一种是植物和中药的代谢组学研究, 主要研究不同的处置方式(包括栽培、环境、病虫害、采集、加工和贮存)对中药材的影响, 以及提取物的标准化和质量控制等; 另一方面, 研究中药对动物、人体代谢组的影响, 以进行药物安全性评价和发现生物活性化合物群及其作用机制研究等。后者目前见诸报道的较多。中药化学成分复杂性决定其经体内代谢后的入血成分会更加复杂, 而且量一般也很低, 所以检测体液中的中药代谢成分的方法应该灵敏、准确、快速^[63]。故代谢组学研究多以质谱法为基础技术, 其主要优点是应用范围广、选择性和灵敏度高, 能提供化合物的相对分子质量、元素组成和结构信息。与分离技术相结合, 可减少代谢物质谱的复杂性, 减少离子抑制效应并进一步提供了代谢物的物理化学性质^[64]。

Tianniam 等^[65]根据经验丰富的药工判断采自不同气候条件和不同加工方式的日本当归的品质(分为高、中、低 3 个等级), 然后利用 GC-TOF/MS 技术结合主成分分析其质量的差异。结果表明, 质量差的当归果糖和葡萄糖的量远远高于中、高质量的当归。Fang 等^[66]在不同时间点采集舌下含服复方丹参滴丸后的人血浆样品, 通过微血管张力实验测试血管扩张效果, 采用柱切换系统对样品进行富集纯化, 再测定血浆中活性成分的代谢特征指纹图谱。

结果表明, 1.5 h 采集的血浆扩张血管能力最强, 在色谱图中出现 5 个新的色谱峰, 与复方丹参滴丸的药效物质基础关系密切。汪江山等^[67]运用 UPLC/TOF-MS 测定尿液代谢物的变化, 建立了大鼠 iv 人参皂苷 Rg₃ 后的尿液代谢指纹图谱, 且得到了其中 2 种发生显著变化的代谢物的结构信息。Wang 等^[68]用结合 LC-MS 的代谢组学法对红景天提取物的质量进行评价, 共成功分离和检测到红景天提取物中 131 个峰, 结果表明不同红景天提取物的质量差异主要体现在 6 个成分, 络赛维(rosavin)的量对其质量影响较大。

4 中药指纹图谱分析方法

指纹图谱方法结合现代化学测量仪器, 给出的有关定性和定量的信息量远比任何单一成分的测量所得的信息量要多得多, 如何提取、分析和处理所需要的有用的化学信息还要借助于化学信息学和计量学中有关数据的提取与处理、信息基础理论等手段。在对中药指纹图谱进行评价时, 只要好好把握中药指纹图谱整体性和模糊性这两大特征, 建立直观而又全面、合理而又简易、精确而又方便的中药色谱指纹图谱计算机处理方法, 就可能对中药指纹图谱的质量进行合理评价。

4.1 化学模式识别方法

4.1.1 人工神经网络学模式识别技术 是根据物质所含化学成分信息, 用计算机对其进行分类或描述, 其能够较好地迎合指纹图谱整体性和模糊性的要求, 分为无监督方法和监督方法。

(1) 无监督的模式识别方法: 用图谱信息对样本进行归类, 特别适用于不利用或没有样本所属类别信息的情况, 其将复杂的数据以分类图的形式显示出来进行系统分析。常用方法包括主成分分析(principle component analysis, PCA)和系统聚类分析(hierarchical clustering analysis, HCA)^[69]等。

(2) 监督模式识别方法: 其基本思路是用一组已知类别的样本作为训练集得到类别间判别模型, 使各类样品间达到最大的分离, 并利用建立的多参数模型对未知的样本进行预测^[70]。常用方法包括: 偏最小二乘法(partial least squares, PLS)^[69]、簇类独立软模式分类法(soft independent modeling of class analogy, SIMCA)^[71]、线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA)^[71]、K 邻域判别法(K2 nearest neighbor analysis, KNN)^[7]、人工神经网络技术(artificial neural networks, ANN)^[72]等。

4.1.2 其他的化学模式识别方法 包括广义夹角余弦法 (cosine of generalized angle, CGA)^[73]、星座图技术 (constellation graphing technique)^[74]、典型相关分析 (canonical correlation analysis, CCA)^[75]、模糊信息分析法 (fuzzy information analysis)^[76]、灰色关联聚类法 (gray relational grade cluster, GRGC)^[76]等。

4.2 其他相似度评价方法

其他相似度评价方法主要有相关系数法 (correlation coefficient)^[77]、夹角余弦法 (inter-angle-cosine; vector cosine)^[77]、模糊尖 T-分布法 (fuzzy distribution)^[77]、总量统计矩相似度法 (the total quantum statistical moment similarity)^[77]、欧氏距离法 (euclidean distance analysis)^[77]、相对熵方法 (relative entropy)^[78]、相似系统理论 (similarity system theory)^[79]、组合相似度评价方法 (combination similarity)^[80]、马氏距离法 (mahalanobis distance analysis)^[81]、全定性全定量相似度法 (overall qualitative similarity and overall quantitative similarity method)^[82]、权值非均一性相似度法 (similarity method of assigning the different weight according to different size of the peak)^[83]、乘方相似度和定量乘方相似度法 (average involution similarity and the quantitative involution similarity)^[84]、假设检验法 (hypothesis test)^[85]等。

以上任意一种方法在中药指纹图谱相似度评价中的应用均非全部适用,需要科研工作者不断实验和遴选,从而选择最佳的评价方法,以期使指纹图谱在中药质量控制上能发挥其独特的作用。另外,随着各种相似度评价方法与计算机、可视化软件的不深入结合,各种综合性评价系统软件和专家评价系统软件也在不断被研发出来,甚至应用于中药指纹图谱相似度评价上,为使用者带来了极大方便,很大程度地促进了中药指纹图谱技术的发展和进步,而指纹图谱技术的进步对于相似度评价方法的要求必定也会越来越苛刻,需要更多专业人才综合多学科知识进行相似度评价系统的研发和改进。

5 展望

与仅检测若干种物质的量相比,中药指纹图谱具有很多优越性,可以最大程度地综合评价中药及其制剂的质量。中药指纹图谱应用于中药质量控制研究已有 20 年左右时间,随着越来越多的仪器和方法被用于指纹图谱技术研究,越来越多的药材及制

剂的指纹图谱方法被开发用于质量控制,可以预见,距离其成为各种中药及复方制剂质量标准体系中必备的一部分的时间已经不远。但是,在研究过程中,中药指纹图谱应该被扩展应用的空间还是很大,为求更好地控制中药和中药制剂的质量、解决目前在中药指纹图谱研究中遇到的问题 (如何划定合适的相似度的界限以区分合格与不合格的药材及各种中间产品和最终产品,如何判断一种指纹图谱方法能够比较好地控制和评价中药质量的好坏等),今后应该从以下几个方面加大研究力度。

5.1 中药制剂质量标准体系

中药制剂质量标准体系从内容上可以分为药材质量标准、过程质量标准和产品质量标准 3 个部分;其中,药材质量是良好质量的源头,过程质量是良好质量的保证,产品质量是良好质量的最终体现。这 3 个部分可以体现中药原料药材在被加工制备成中药制剂的过程中各种化学成分的综合变迁,使质量控制的技术和指标得以深入和细化,更能保证制剂的均一和稳定。中药指纹图谱由于其独特的优势,如果加大研究力度,从中药材到产品的整个提取分离制备过程中,根据不同工艺步骤的质量控制水平建立不同层次的过程质量控制指纹图谱,实现生产工艺的稳定性控制,从而建立制剂制备过程质量控制指纹图谱体系,那么会使得中药质量标准体系的建立不再是纸上谈兵,迎来一个美好的前景。

5.2 中药代谢指纹图谱

中药代谢指纹图谱是近些年来研究的热点,其通过监测中药的入血成分间接表征其药理效应,比中药化学指纹图谱更直接地反映中药的质量,而且代谢指纹图谱不仅将中药质量比较的着眼点放在共有的化学信息上面,还能显著地体现出差异性成分的信息,因此,中药代谢指纹图谱对于中药的质量控制具有重要意义,甚至似乎更能反映中药的质量。所以,笔者认为应该把中药化学指纹图谱和中药代谢指纹图谱研究联合起来进行物质追踪和比较,在比较中药化学指纹图谱的相似度时,可以考虑增加主要代谢物及其原形物质的相似性的权重,这对于恰当的设定相似度、更好地评判中药质量,甚至深入的研究谱效学指纹图谱与组效学指纹图谱都具有重要的意义。

5.3 建立各种手段的指纹图谱的综合数据库

目前研究中药指纹图谱的技术和手段多种多

样,缺少系统的有机整合比较,笔者认为很有必要建立各种手段的指纹图谱的综合数据库,以求得到中药质量控制的网状立体体系,使整个中药质量控制不再片面和偏颇,而变得完整和全面。叶敏等^[64]提出把中药指纹图谱的全面指认与多指标成分定量相结合的思路;罗国安等^[86]提出建立多维多息特征谱的思路等,都是可以借鉴和继续发展的为指纹图谱增添更多深刻的化学和药效内容的研究思路。

5.4 建立微量元素的指纹图谱

目前中药指纹图谱只表示了有效有机物类成分种类和含量分布,并没有涵盖微量元素的种类和含量分布,随着对中药有效成分的分析,微量元素的作用已越来越被人们熟知和重视,所以笔者认为应该建立微量元素指纹图谱的方法,充分表征中药中微量元素的分布,并和中药指纹图谱体系综合起来,为中药的作用机制研究以及质量控制打下更加坚实的基础。

5.5 建立中药制剂生产过程数字化指纹图谱质量控制体系

借助于目前在线自动化检测、分析和质控技术,在指纹图谱技术基础上结合中药生产过程质量控制、数字化控制技术于一体建立一套健全的具有中医药特色的中药制剂生产过程数字化指纹图谱质量控制体系,将中药产业各个环节的质量控制技术进行有效整合,可以对中药制剂生产过程中的每一个环节进行质量检测与控制,能从实质上控制中药复方的药效物质及其变化规律,能准确地反映药品的全面质量特征、制备工艺环节、原辅料与中间体的情况,解决中药的质量控制问题,提高我国中药产品品质;可以更好地保证中药复方制剂的有效性、安全性和稳定性,有利于突破制约中药产业发展的技术瓶颈,满足解决我国中药产业急需解决的标准和质量控制关键技术问题的需要,对于提高中药的药效和安全性、推动中药产业技术现代化和产业化发展、提升中药产业的核心竞争力、促进中药进入国际化市场具有重要的现实意义。

参考文献

- [1] 肖小河,金城,鄢丹,等. 中药大质量观及实践 [J]. 中草药, 2010, 41(4): 505-508.
- [2] 房德敏. 中药指纹图谱技术的研究与应用 [J]. 中草药, 2005, 36(4): 236-237.
- [3] Cui J X, Hong W X, Zhou R J, et al. Feature extraction of Chinese materia medica fingerprint based on star plot

representation of multivariate data [J]. *Chin Herb Med*, 2011, 3(2): 140-143.

- [4] Yu F, Kong L, Zou H, et al. Progress on the screening and analysis of bioactive compounds in traditional Chinese medicines by biological fingerprinting analysis [J]. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2010, 13(10): 855-868.
- [5] 孙国祥, 胡玥珊, 智雪枝. 用复杂性科学原理揭示中药指纹图谱的本质特征 [J]. 中南药学, 2008, 6(5): 600-605.
- [6] 谢培山. 刍议中药指纹图谱的现状、发展和问题 [J]. 中药材, 2007, 30(3): 257-259.
- [7] 容蓉, 吕青涛, 巢剑非, 等. 山东不同产地丹参的 HPLC 指纹图谱-化学模式识别研究 [J]. 化学分析计量, 2008, 17(1): 24-28.
- [8] 赵胜男. 不同采收期黄芩药材指纹图谱的研究 [D]. 承德: 承德医学院, 2012.
- [9] 崔翰明, 张秋燕, 彭亮. 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.
- [10] 袁萍. 白术不同炮制品指纹图谱的研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2010.
- [11] 金玉青, 吕光华, 魏伯平, 等. 川芎药材贮藏期间化学成分的变化 [J]. 中药材, 2013, 36(1): 38-41.
- [12] 雷欣潮, 杨焕琪, 赖茂祥, 等. 广西不同产区两面针 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2012, 43(5): 1003-1008.
- [13] 王丽聪, 曹玉华, 徐红兰, 等. 银黄口服液的质量控制及其高效液相色谱指纹图谱的研究 [J]. 色谱, 2006, 24(4): 367-372.
- [14] 孙国祥, 任培培, 毕雨萌, 等. 双定性双定量相似度法评价银杏达莫注射液的高效液相色谱指纹图谱 [J]. 色谱, 2007, 25(4): 518-523.
- [15] 李家春, 孙兰, 李红娟, 等. 桂枝茯苓胶囊 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2012, 43(7): 1333-1335.
- [16] 孙国祥, 杨婷婷, 车磊. UV-IR 光谱指纹定量法鉴定六味地黄丸质量 [J]. 中南药学, 2012, 8(10): 766-771.
- [17] 马晓青, 蔡皓, 刘晓, 等. 近红外光谱在中药鉴别和质量控制中的应用 [J]. 中国药房, 2012, 23(7): 661-663.
- [18] Elizarova T E, Morozova M A, Pleteneva T V. Possibility of using near-IR spectrometry for drug quality control with respect to dose uniformity [J]. *Pharm Chem J*, 2011, 45(5): 302-305.
- [19] 王焕魁. 中药生产过程的质量控制 [J]. 中药材, 2003, 26(10): 764-766.
- [20] 汪小莉, 李嫒, 秦昆明, 等. 近红外光谱学与化学计量学在中成药液体制剂过程分析中的应用 [J]. 中草药, 2013, 44(15): 2165-2171.

- [21] 孙素琴. 食品与中药红外光谱分析与质量控制 [J]. 光谱仪器与分析, 2011(Z1): 186-189.
- [22] 孙素琴, 周 群, 陶家洵. 红外光谱宏观指纹鉴定法与中药的质量控制 [J]. 现代仪器, 2009, 15(5): 10-15.
- [23] Fourniera F, Gardnera E M, Guo R, et al. Optical fingerprinting of peptides using two-dimensional infrared spectroscopy: Proof of principle [J]. *Anal Biochem*, 2008, 374: 358-365.
- [24] Vijayalakshmi R, Ravindhran R. Comparative fingerprint and extraction yield of *Diospyros ferrea* (Willd.) Bakh. root with phenol compounds (gallic acid), as determined by UV-VIS and FT-IR spectroscopy [J]. *Asian Pac J Tropical Biomed*, 2012, 2(3): 1367-1371.
- [25] 苏松柏, 张永萍, 张丽丽, 等. 拉曼光谱在中药质量控制中的应用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 8(11): 284-286.
- [26] 刘蓬勃, 朱世玮, 孙素琴. 傅里叶变换拉曼光谱法鉴别八角茴香及其伪品 [J]. 时珍国医国药, 2001, 12(10): 903-904.
- [27] 朱世玮, 孙素琴. 傅里叶变换拉曼光谱法鉴别肉桂及其伪品阴香 [J]. 中药材, 2001, 24(9): 636-637.
- [28] 林文硕, 陈 荣, 李永增. 山药近红外拉曼光谱分析 [J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(5): 1095-1097.
- [29] 孟庆华, 王微波, 胡育筑. 紫外光谱相似度及其在中药注射液质量控制中的应用 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(3): 206-210.
- [30] 邹华彬, 袁 浩, 王爱武, 等. 白芍紫外指纹图谱共有峰率和变异峰率双指标序列分析 [J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(9): 1815-1819.
- [31] 冀宪领, 盖英萍, 牟志美, 等. 应用紫外指纹图谱分析技术鉴别白僵蚕 [J]. 蚕业科学, 2006, 32(1): 67-73.
- [32] 史训立, 张 琳, 杜红莉, 等. 中药三维荧光指纹图谱数据库的构建 [J]. 计算机与应用化学, 2013, 30(1): 102-106.
- [33] 牟新利, 高 鹏, 付 川, 等. 三维荧光中药指纹图谱研究 [J]. 光谱实验室, 2010, 27(1): 180-183.
- [34] 王 琳, 庞其昌, 马 骥, 等. 一种中药荧光指纹图谱的光谱图像构建方法 [J]. 光子学报, 2011, 40(6): 860-864.
- [35] 张 瑜, 袁久志. 关黄柏的 $^1\text{H-NMR}$ 指纹图谱研究 [J]. 中南药学, 2012, 10(5): 392-394.
- [36] 姜苗苗, 张 宇, 冯毅凡. 银翘解毒液 $^1\text{H-NMR}$ 指纹图谱研究 [J]. 中成药, 2012, 34(4): 589-592.
- [37] Lin W N, Lu H Y, Lee M S, et al. Evaluation of the cultivation age of dried *Ginseng Radix* and its commercial products by using $^1\text{H-NMR}$ fingerprint analysis [J]. *Am J Chin Med*, 2010, 38(1): 205-218.
- [38] Wang N F, La B. Study on X-ray diffraction map of rhubarb produced from different places of qinghai [J]. *Agric Sci Technol*, 2009(6): 119-120.
- [39] 赵 翠, 张 倩, 周 平, 等. 煅硼砂 X 射线衍射指纹图谱研究 [J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(1): 204-206.
- [40] 刘广桢, 林 林, 谢元超. 不同厂家冰硼散的 X 射线衍射分析 [J]. 中成药, 2010, 32(4): 666-667.
- [41] 马丽娜, 张 岩, 陶遵威. 色谱分析技术在中药指纹图谱研究中的应用 [J]. 药物评价研究, 2012, 35(1): 58-62.
- [42] 杨 成, 管 佳, 章江生, 等. 高效薄层色谱法鉴别 6 种中药多糖 [A]. // 中国药学会学术年会论文集 [C]. 石家庄: 中国药学会, 2008.
- [43] 雷敬卫, 白 雁, 贾 永. 薄层色谱指纹图谱对熟地黄质量稳定性的实验研究 [J]. 河南中医学院学报, 2008, 23(5): 28-30.
- [44] Galal A M, Raman V, Avula B, et al. Comparative study of three *Plumbago* L. species (Plumbaginaceae) by microscopy, UPLC-UV and HPTLC [J]. *J Nat Med*, 2013, 67: 554-561.
- [45] 王海波, 邸 学, 包永睿. 中药羌活 HPLC-荧光指纹谱研究 [J]. 光谱实验室, 2010, 27(2): 568-572.
- [46] 周 慧, 宋凤瑞, 刘志强. 刺五加叶的 HPLC-UV 和 ESI-MS 指纹图谱研究 [J]. 质谱学报, 2008, 29(6): 321-326.
- [47] Xiong C M, Ruan J L, Tang Y, et al. Chromatographic fingerprint analysis of *Macrothelypteris torresiana* and simultaneous determination of several main constituents by LC [J]. *Chromatographia*, 2009, 70: 117-124.
- [48] Zhao B T, YANG S, Moon D C, et al. High performance liquid chromatography used for quality control of *Achyranthis Radix* [J]. *Arch Pharm Res*, 2012, 35(8): 1449-1455.
- [49] Dou S S, Liu L, Jiang P, et al. LC-DAD and LC-ESI-MS chromatographic fingerprinting and quantitative analysis for evaluation of the quality of HUANG-LIAN-JIE-DU-TANG [J]. *Chromatographia*, 2009, 69(7/8): 659-664.
- [50] 沈振铎, 陈晓辉, 熊 丽, 等. 评价五味子和南五味子质量的 GC 指纹图谱的建立与分析 [J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(8): 650-655.
- [51] 吴志成, 黄维钱, 胡广林, 等. 海南沉香挥发油的气相色谱指纹图谱研究 [J]. 化学分析计量, 2009, 18(3): 23-25.
- [52] 李红梅, 茹 鑫, 梁 悦, 等. 藿香正气水气相色谱指纹图谱特性研究 [J]. 中成药, 2010, 32(1): 6-10.
- [53] Jiao H Y, Wang Y S, Liu Y, et al. GC-MS study on fingerprint of volatile oil from *Kadsura heteroclita* [J]. *J Chin Med Mater*, 2012, 35(9): 1431-1434.
- [54] 王丽聪, 曹玉华. 黄芩药材的毛细管电泳指纹图谱研

- 究 [J]. 天津化工, 2010, 24(4): 24-27.
- [55] 崔 洋, 张兰桐, 孔德志, 等. 河北道地药材连翘的高效毛细管电泳指纹图谱研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(18): 2440-2443.
- [56] 郭 涛, 隋 因, 孙 沂, 等. 心舒口服液毛细管电泳指纹图谱的研究 [J]. 中草药, 2006, 37(6): 839-843.
- [57] 陈小芬, 黄新异, 郑媛媛, 等. 高速逆流色谱分离纯化天然产物中生物碱类成分的应用进展 [J]. 中草药, 2011, 42(5): 1026-1032.
- [58] Gu M, Zhang S F, Su Z Q, *et al.* Fingerprinting of *Salvia miltiorrhiza* Bunge by non-aqueous capillary electrophoresis compared with high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1057(1/2): 133-140.
- [59] 沈平孃, 刘志远, 王玲玲, 等. 高速逆流色谱 (HSCCC) 技术在中药分离分析中的应用研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2011, 13(4): 658-666.
- [60] 蒋军富, 李雄英, 吴耀生, 等. 绞股蓝的 RAPD 指纹图谱鉴定及其特异 DNA 片段克隆-序列分析 [J]. 中药材, 2009, 32(2): 190-193.
- [61] 高 霞, 赵景峰, 何为平, 等. 黄芪杂交种 RAPD 指纹图谱及其亲缘关系分析 [J]. 种子, 2011, 30(1): 27-30.
- [62] Rana M K, Arora K, Singh S, *et al.* Multi-locus DNA fingerprinting and genetic diversity in *Jute* (*Corchorus* spp.) based on sequence-related amplified polymorphism [J]. *Plant Biochem Biotechnol*, 2013, 22(1): 1-8.
- [63] 盛龙生. 代谢组学与中药研究 [J]. 中国天然药物, 2008, 6(2): 98-102.
- [64] 叶 敏, 果德安. 关于中药质量控制与体内代谢研究的思考 [J]. 化学进展, 2009, 21(1): 100-104.
- [65] Tianniam S, Tarachimin L, Bamba T, *et al.* Metabolic profiling of *Angelica acutiloba* roots utilizing gas chromatography-time-of-flight-mass spectrometry for quality assessment based on cultivation area and cultivar via multivariate pattern recognition [J]. *J Biosci Bioeng*, 2008, 105(6): 655-659.
- [66] Fang M F, Zheng X H, Wang S X, *et al.* Metabolic fingerprint and profile analysis of compound *Danshen* dripping pills by CS-HPLC-ESI-MSⁿ [J]. 中国药科大学学报, 2008, 39(3): 232-237.
- [67] 汪江山, 赵欣捷, 郑育芳, 等. 超高效液相色谱/飞行时间质谱用于人参皂苷 Rg₃ 作用后大鼠尿液代谢物指纹图谱分析及标记物的鉴定 [J]. 色谱, 2006, 24(1): 5-9.
- [68] Wang Z G, Hu H L, Chen F, *et al.* Metabolic profiling assisted quality assessment of *Rhodiola rosea* extracts by high-performance liquid chromatography [J]. *Planta Med*, 2012, 78(7): 740-746.
- [69] 江洪波, 姜建辉, 田仁君, 等. 绵阳道地麦冬 ¹H-NMR 指纹图谱研究 [J]. 亚太传统医药, 2011, 7(4): 26-28.
- [70] 李 玮. 化学计量学在液相色谱法分析药物中的应用 [J]. 安徽医药, 2009, 13(5): 475-477.
- [71] Dharmara J S, Gam L H, Sulaiman S F, *et al.* The application of pattern recognition techniques in metabolite fingerprinting of six different *Phyllanthus* spp [J]. *Spectroscopy*, 2011, 26(1): 69-78.
- [72] 蒋建平. 色谱指纹图谱识别的人工神经网络方法对比研究 [J]. 广东化工, 2011, 38(2): 58-59.
- [73] 易中宏, 胥秀英, 郑一敏, 等. 茯苓药材指纹图谱模糊模式识别研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2004, 18(4): 20-22.
- [74] 赖宇红, 阮桂平, 谢友莲, 等. 冬虫夏草及其类似品的 HPLC 指纹特征分析 [J]. 中药材, 2008, 31(8): 1142-1145.
- [75] 尹敏娟, 康向阳. 三倍体白杨杂种无性系指纹图谱的构建 [J]. 生物技术通讯, 2012, 23(1): 86-89.
- [76] 苏薇薇, 吴 忠, 全 健. 中药指纹图谱的构建及计算机解析 [J]. 中药材, 2001, 24(4): 295-298.
- [77] 杨岩涛, 吴春英, 刘文龙, 等. 不同相似度法对当归补血汤指纹图谱分析的比较研究 [J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(5): 1431-1435.
- [78] 刘永锁, 曹 敏, 王义明, 等. 相似系统理论定量评价中药材色谱指纹图谱的相似度 [J]. 分析化学, 2006, 34(3): 333-337.
- [79] 詹雪艳, 史新元, 孙启生, 等. 基于组合相似度丹参样本质量稳定性评价 [J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(6): 1650-1654.
- [80] 瞿海斌, 杨海雷, 程翼宇. 近红外漫反射光谱法快速无损鉴别阿胶真伪 [J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(1): 60-62.
- [81] 孙国祥, 侯志飞, 张春玲, 等. 色谱指纹图谱定性相似度和定量相似度的比较研究 [J]. 药学报, 2007, 42(1): 75-80.
- [82] 杨忠民, 李忠民, 赵日利, 等. 指纹图谱相似度新算法的研究 [J]. 中国测试技术, 2008, 34(3): 141-144.
- [83] Sun J, Liu J. Qualitative and quantitative assessment of the HPLC fingerprints of *Ginkgo biloba* extract by the involution similarity method [J]. *Anal Sci*, 2007, 23(8): 955-958.
- [84] 杨 云, 朱学峰. 一种新的计算中药指纹图谱相似度方法与实现 [J]. 计算机测量与控制, 2007, 15(10): 1376-1378.
- [85] Gan F, Ye R. New approach on similarity analysis of chromatographic fingerprint of herbal medicine [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1104(1/2): 100-105.
- [86] 罗国安, 王义明, 曹 进. 多维多息特征谱及其应用 [J]. 中成药, 2000, 22(6): 395-397.