

基于指纹图谱及多成分含量的化学模式识别法评价不同产地栀子药材的质量

王 琪¹, 李晓琦^{2,3}, 黄萌萌^{2,3}, 陈 彦^{2,3*}

1. 江苏大学, 江苏 镇江 212000

2. 南京中医药大学附属中西医结合医院, 江苏 南京 210028

3. 江苏省中医药研究院, 中药组分与微生态研究中心, 江苏 南京 210028

摘要: 目的 基于 HPLC 指纹图谱与多成分含量测定, 并结合化学模式识别法, 评价不同产地栀子的质量, 优选最佳产地。方法 采用 RP-HPLC 切换波长法, 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液进行梯度洗脱, 检测波长为 234、440 nm, 对 10 个不同产地的 30 批栀子药材进行指纹图谱及 5 种有效成分含量测定研究, 应用聚类分析与主成分分析等化学模式识别方法对栀子质量进行评价。结果 10 个不同产地 30 批栀子的指纹图谱相似度均在 0.95 以上, 去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷、西红花苷 I 和西红花苷 II 质量分数分别为 0.61~4.26、1.73~12.92、51.79~82.76、5.03~12.80、0.71~2.28 mg/g; 聚类分析可分为 3 类, 第 1 类为产地湖南永州、湖南永安、江西丰城、江西湖口、安徽广德和福建福鼎; 第 2 类为产地江西黎川、江苏句容和河南唐河; 第 3 类为产地安徽六安。通过主成分分析, 进一步评价不同产地间质量的差异, 从而发现安徽六安、江西湖口和湖南永安等地质量较优。结论 不同产地之间栀子存在一定质量差异, 同一产地不同批次间栀子质量较稳定。通过指纹图谱与含量测定相结合, 应用化学模式识别方法可全面综合评价栀子质量。此方法的建立为栀子药材的质量控制及评价提供了有效的参考依据。

关键词: 栀子; 指纹图谱; 去乙酰车叶草酸甲酯; 京尼平龙胆双糖苷; 栀子苷; 西红花苷 I; 西红花苷 II; 化学模式识别

中图分类号: R286.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2019)11-2690-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.11.028

Quality evaluation of *Gardeniae Fructus* from different areas by using chemical pattern recognition based on combination of chromatographic fingerprints and multi-component content

WANG Qi¹, LI Xiao-qi^{2,3}, HUANG Meng-meng^{2,3}, CHEN Yan^{2,3}

1. Jiangsu University, Zhenjiang 212000, China

2. Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

3. Multi-component of Traditional Chinese Medicine and Microecology Research Center, Jiangsu Provincial Academy of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

Abstract: Objective To evaluate the quality of *Gardeniae Fructus* from different producing areas and optimize the best place of production by using chemical pattern recognition method based on HPLC fingerprint and multi-component content determination. **Methods** The RP-HPLC using acetonitrile-0.1% phosphoric acid aqueous solution as mobile phase based on the wavelength switching (234 nm and 440 nm) and gradient elution method was developed to evaluate the quality of 30 batches of *Gardeniae Fructus* from 10 different producing areas. The combination of chromatographic fingerprints and quality determination of five active ingredients, as well as chemometrics including hierarchical cluster analysis (HCA) and principal component analysis (PCA), were further employed for the quality assessment. **Results** The fingerprint similarity of 30 batches of *Gardeniae Fructus* from 10 different producing areas were all above 0.95. The content ranges of deacetylated methyl oxalate, genipin gentiobioside, geniposide, crocin I, and crocin II were 0.61—4.26 mg/g, 1.73—12.92 mg/g, 51.79—82.76 mg/g, 5.03—12.80 mg/g, and 0.71—2.28 mg/g.

收稿日期: 2019-01-13

基金项目: 国家中药标准化项目 (ZYBZH-C-JS-33)

作者简介: 王 琪 (1993—), 男, 硕士在读。Tel: 18260635929 E-mail: 1249128936@qq.com

*通信作者 陈 彦, 女博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事中药制剂及质量控制研究。Tel: 13805157904 E-mail: ychen202@hotmail.com

Samples can be divided into three categories by HCA: The first category is Yongzhou in Hunan, Yong'an in Hunan, Fengcheng in Jiangxi, Hukou in Jiangxi, Guangde in Anhui, and Fuding in Fujian; The second category is Lichuan in Jiangxi, Jurong in Jiangsu and Tanghe in Henan; And the third category is Lu'an in Anhui. PCA was used to further evaluate the quality differences of the samples from different producing areas, and it was found that the medicinal materials from Lu'an in Anhui, Hukou in Jiangxi, and Yong'an in Hunan were of superior quality. **Conclusion** The quality of *Gardeniae Fructus* from different producing areas was different to a certain extent, while the quality of same batches was stable. By combination of fingerprint and content determination, the chemical pattern recognition method can be used to evaluate the quality of the *Gardeniae Fructus* comprehensively. The establishment of this method provided an effective reference for the quality control and evaluation of *Gardeniae Fructus*.

Key words: *Gardeniae Fructus*; fingerprint; deacetylated methyl oxalate; genipin gentiobioside; geniposide; crocin I; crocin II; chemical pattern recognition

梔子 *Gardenia jasminoides* Ellis, 为茜草科植物梔子的干燥成熟果实^[1], 主要含有环烯醚萜苷类、有机酸酯类和西红花苷类成分, 具有抗炎、解毒、消肿止痛等功效, 不仅广泛应用于临床汤剂, 而且也是各种成方制剂, 如安宫牛黄丸、小儿豉翘清热颗粒等制剂中的主要药味。梔子于 9~11 月果实成熟呈红黄色时采收, 主产于江西、安徽、湖南、福建等地^[2-3], 由于土壤、气候等地理环境的影响导致梔子质量参差不齐, 因此对不同产地梔子药材质量的全面评价有利于优选梔子的产地, 获得优质药材, 从而保证汤剂的疗效及中成药的优质优效^[4-5]。《中国药典》2015 年版对梔子的质量控制只对梔子苷做了含量测定, 而单一成分的含量测定无法全面有效地反映梔子药材的整体质量。近年来随着中药指纹图谱技术与多成分定量方法的应用与发展, 中药的质量标准得到了提高, 使得药材与终产品的安全性与有效性得到了有力的保证^[6-11]。因此本实验建立了不同产地梔子的指纹图谱及对发挥抗炎、抗病毒功效的 5 种有效成分去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆双糖苷、梔子苷、西红花苷 I 和西红花苷 II 进行了含量测定。应用聚类分析与主成分分析等化学模式识别的方法^[12-13]对不同产地的梔子药材进行全面质量评价, 从而为最优产地的选择提供科学、有效的参考依据。

1 仪器与材料

Agilent 1260 高效液相色谱仪, 四元泵, 自动进样器, 柱温箱, DAD 检测器, Agilent Chemstation (C.01.03) 色谱工作站 (美国安捷伦科技有限公司); FA2104 电子分析天平 (上海良平仪器仪表公司); MT-5 精密天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司); KH-500E 型超声波清洗器 (昆山禾创超声仪器有限公司); Milli-Q 超纯水制备仪 (美国 Millipore 公司); 高速万能粉碎机 (天津市泰斯特仪器有限公司)。

梔子苷 (批号 110749-201718, 质量分数 ≥

97.6%)、西红花苷 I (批号 111588-201303, 质量分数 ≥ 92.6%)、西红花苷 II (批号 111589-201705, 质量分数 ≥ 92.2%)、去乙酰车叶草酸甲酯 (批号 111788-201602, 质量分数 ≥ 94.3%), 以上对照品均购自中国食品药品检定研究院; 京尼平龙胆双糖苷 (批号 IW16021804, 质量分数 ≥ 98%) 购自南京良纬生物科技有限公司; 乙腈 (HPLC, Tedia 公司); 水为实验室自制超纯水; 其余试剂均为分析纯。收集 10 个不同产地的梔子药材 30 批, 经南京中医药大学邹立思教授鉴定为茜草科植物梔子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实。药材信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 梔子药材 HPLC 指纹图谱的建立

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈 (A) - 0.1% 磷酸水溶液 (B); 梯度洗脱: 0~12 min, 5%~8% A; 12~30 min, 8%~15% A; 30~45 min, 15%~35% A; 45~60 min, 35%~45% A; 60~62 min, 45%~5% A; 体积流量 1 mL/min; 柱温 35 °C; 进样体积 10 μL; 波长 238 nm (0~40 min) 和 440 nm (40~62 min)。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称定梔子药材粉末 (过 4 号筛) 0.1 g, 置具塞锥形瓶中, 加 70% 甲醇 25 mL, 准确称定质量, 超声 20 min, 放冷, 用溶剂补足减失的质量, 摇匀, 取续滤液适量, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液即得。

2.1.3 对照品溶液的制备 精密称定去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆双糖苷、梔子苷、西红花苷 I、西红花苷 II 对照品适量, 置于 10 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇溶解并定容至刻度, 得去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆双糖苷、梔子苷、西红花苷 I、西红花苷 II 质量浓度分别为 103.70、59.00、402.11、72.84、9.87 μg/mL 的混合对照品储备液。

表 1 30 批栀子药材信息表

Table 1 Information table of 30 batches of *Gardeniae Fructus*

样品号	产地	采收期	样品号	产地	采收期
S1	湖南永州	晚期	S16	江苏句容	晚期
S2	湖南永州	晚期	S17	江苏句容	晚期
S3	湖南永州	晚期	S18	江苏句容	晚期
S4	湖南永安	晚期	S19	安徽六安	晚期
S5	湖南永安	晚期	S20	安徽六安	晚期
S6	湖南永安	晚期	S21	安徽六安	晚期
S7	江西丰城	晚期	S22	安徽广德	晚期
S8	江西丰城	晚期	S23	安徽广德	晚期
S9	江西丰城	晚期	S24	安徽广德	晚期
S10	江西湖口	晚期	S25	福建福鼎	晚期
S11	江西湖口	晚期	S26	福建福鼎	晚期
S12	江西湖口	晚期	S27	福建福鼎	晚期
S13	江西黎川	晚期	S28	河南唐河	晚期
S14	江西黎川	晚期	S29	河南唐河	晚期
S15	江西黎川	晚期	S30	河南唐河	晚期

2.1.4 精密度试验 取栀子药材 (S7), 按“2.1.2”项下方法制备供试品, 按“2.1.1”项下色谱条件进样分析, 连续进样 6 次, 以栀子苷 (7 号峰) 为参照峰, 考察各共有峰的相对保留时间与相对峰面积。结果表明各共有峰相对保留时间和相对峰面积 RSD 值均小于 2%, 表明仪器精密度良好。

2.1.5 稳定性试验 取栀子药材 (S7), 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 室温下放置, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 后按照“2.1.1”项下色谱条件进样分析, 以栀子苷 (7 号峰) 为参照峰, 考察各共有峰的相对保留时间与相对峰面积。结果表明各共有峰相对保留时间和相对峰面积 RSD 值均小于 3%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.6 重复性试验 取栀子药材 (S7), 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 平行制备 6 份, 按照“2.1.1”项下色谱条件进样分析, 以栀子苷 (7 号峰) 为参照峰, 考察各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果表明各共有峰相对保留时间和相对峰面积 RSD 值均小于 3%, 表明方法重复性良好。

2.2 栀子 HPLC 指纹图谱

2.2.1 共有峰的标定 取收集到的 30 批栀子药材, 按“2.1.2”项方法制备供试品溶液, 按“2.1.1”项色谱条件下进行测定, 得 30 批栀子药材 HPLC 色谱图。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004

A 版) 进行色谱峰匹配, 样品 (S1) 图谱作为参照图谱, 选择中位数法生成对照图谱, 采用多点校正法建立指纹图谱, 见图 1、2。选择栀子中的主要成

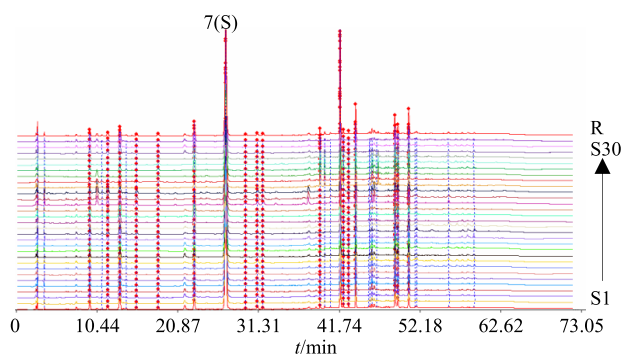


图 1 30 批栀子药材 HPLC 指纹图谱

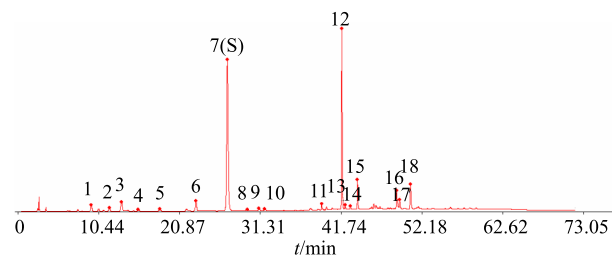
Fig. 1 HPLC fingerprints of *Gardeniae Fructus*

图 2 栀子药材 HPLC 对照指纹图谱

Fig. 2 Common mode of HPLC fingerprints of *Gardeniae Fructus*

分且分离较好的色谱峰作为共有峰,共标定了 18 个共有峰,18 个共有峰的总面积占总峰面积的 90% 以上,因此确定 18 个色谱峰为栀子指纹图谱的共有峰。

2.2.2 相对峰面积和相对保留时间 选取峰面积较大,出峰时间较稳定的栀子苷(7 号峰)作为参

照峰(S)。取 30 批栀子指纹图谱计算各色谱峰保留时间和峰面积与同一图谱中 S 峰的保留时间和峰面积的比值,得到的相对保留时间和相对峰面积,见表 2、3。结果表明,各共有峰的相对保留时间 RSD 值均小于 1.0%,说明共有峰出峰时间均较稳定,成分种类相对稳定。

表 2 30 批栀子指纹图谱共有峰相对保留时间

Table 2 Relative retention time of common peaks of 30 batches of *Gardeniae Fructus*

峰号	相对保留时间															
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16
1	0.349 4	0.351 3	0.353 9	0.350 6	0.352 2	0.350 1	0.350 1	0.350 8	0.350 4	0.349 8	0.352 1	0.350 7	0.347 5	0.353 8	0.351 2	0.350 2
2	0.434 2	0.437 7	0.440 6	0.435 7	0.439 0	0.436 7	0.435 4	0.436 6	0.437 4	0.435 0	0.438 1	0.437 6	0.431 9	0.439 1	0.437 2	0.435 7
3	0.491 9	0.496 0	0.499 1	0.493 3	0.497 7	0.495 0	0.493 7	0.495 0	0.495 9	0.492 9	0.496 4	0.496 0	0.489 5	0.497 3	0.496 0	0.493 5
4	0.572 1	0.576 0	0.579 1	0.573 2	0.578 0	0.574 7	0.573 8	0.575 1	0.575 0	0.572 8	0.576 7	0.576 2	0.569 7	0.578 1	0.576 8	0.574 1
5	0.676 3	0.679 0	0.681 5	0.677 2	0.680 8	0.677 9	0.677 0	0.678 7	0.678 0	0.677 4	0.679 5	0.679 5	0.673 2	0.680 2	0.679 4	0.677 2
6	0.849 1	0.850 1	0.852 0	0.849 1	0.851 4	0.850 0	0.849 4	0.850 3	0.850 2	0.849 7	0.850 8	0.850 7	0.849 0	0.851 1	0.850 5	0.849 2
7	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0
8	1.094 5	1.094 5	1.093 3	1.095 2	1.093 7	1.095 0	1.094 5	1.095 0	1.094 8	1.094 5	1.095 3	1.095 5	1.096 2	1.094 4	1.095 0	1.094 6
9	1.152 0	1.151 1	1.150 0	1.152 6	1.150 2	1.152 1	1.151 6	1.151 3	1.151 2	1.151 2	1.150 5	1.151 3	1.154 4	1.150 4	1.150 9	1.152 4
10	1.178 8	1.177 7	1.176 3	1.179 5	1.176 8	1.179 0	1.178 1	1.177 8	1.177 7	1.178 0	1.176 8	1.177 8	1.181 5	1.176 7	1.177 3	1.178 8
11	1.452 7	1.445 3	1.443 3	1.454 0	1.443 3	1.449 9	1.451 3	1.448 1	1.447 0	1.452 8	1.444 8	1.445 9	1.461 1	1.443 6	1.445 7	1.453 2
12	1.549 4	1.541 5	1.539 3	1.550 6	1.539 7	1.546 4	1.547 9	1.544 0	1.542 7	1.549 6	1.539 9	1.541 1	1.557 9	1.539 3	1.541 3	1.549 8
13	1.565 2	1.557 0	1.554 9	1.566 3	1.555 3	1.599 0	1.563 5	1.559 6	1.558 3	1.565 4	1.555 8	1.556 7	1.574 0	1.554 7	1.556 4	1.565 3
14	1.590 6	1.582 3	1.579 7	1.592 3	1.580 5	1.587 2	1.588 5	1.584 4	1.583 3	1.590 6	1.580 7	1.581 5	1.599 2	1.579 7	1.581 2	1.589 6
15	1.624 3	1.616 0	1.613 6	1.626 7	1.614 3	1.621 0	1.622 4	1.618 2	1.617 0	1.624 4	1.614 4	1.615 3	1.633 1	1.613 3	1.614 7	1.624 5
16	1.812 6	1.802 6	1.801 0	1.813 9	1.801 0	1.808 4	1.810 0	1.805 4	1.803 9	1.812 5	1.800 8	1.801 5	1.822 5	1.798 8	1.801 0	1.812 6
17	1.827 0	1.817 3	1.815 6	1.827 9	1.815 3	1.822 7	1.824 6	1.819 8	1.818 4	1.827 0	1.815 6	1.816 1	1.837 0	1.813 3	1.815 8	1.827 0
18	1.878 7	1.869 1	1.866 8	1.880 6	1.866 7	1.874 3	1.876 2	1.871 5	1.870 1	1.878 5	1.866 9	1.867 0	1.888 8	1.865 0	1.867 2	1.877 8

峰号	相对保留时间															RSD/%
	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24	S25	S26	S27	S28	S29	S30		
1	0.353 6	0.351 6	0.349 7	0.353 9	0.350 6	0.349 6	0.350 7	0.349 5	0.349 4	0.351 0	0.349 4	0.349 3	0.349 0	0.350 8	0.45	
2	0.438 4	0.436 9	0.434 7	0.438 2	0.436 0	0.434 4	0.436 8	0.435 1	0.434 5	0.436 6	0.434 9	0.434 8	0.434 5	0.436 1	0.42	
3	0.496 6	0.495 1	0.492 4	0.495 9	0.494 4	0.492 0	0.495 0	0.493 8	0.492 0	0.495 0	0.493 2	0.492 5	0.492 6	0.494 1	0.42	
4	0.577 4	0.576 3	0.572 7	0.576 8	0.575 0	0.572 0	0.574 3	0.573 5	0.572 6	0.575 2	0.573 0	0.572 8	0.571 9	0.573 8	0.38	
5	0.679 8	0.678 8	0.677 0	0.679 7	0.678 6	0.676 3	0.678 5	0.677 3	0.676 8	0.678 7	0.677 1	0.676 8	0.676 5	0.677 6	0.24	
6	0.850 5	0.850 2	0.849 4	0.850 9	0.850 0	0.849 9	0.849 6	0.849 4	0.849 1	0.849 8	0.849 4	0.848 8	0.849 1	0.849 6	0.09	
7	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0.00	
8	1.094 4	1.094 3	1.096 0	1.095 6	1.096 2	1.094 4	1.095 6	1.094 5	1.094 7	1.095 2	1.095 0	1.094 6	1.094 6	1.094 3	0.06	
9	1.151 3	1.151 1	1.152 0	1.150 5	1.151 0	1.151 9	1.154 2	1.153 1	1.152 1	1.153 5	1.153 8	1.152 2	1.153 4	1.152 5	0.10	
10	1.177 6	1.177 4	1.179 0	1.177 8	1.178 2	1.178 5	1.181 2	1.179 9	1.179 0	1.180 5	1.180 8	1.178 8	1.180 1	1.179 2	0.11	
11	1.448 2	1.445 9	1.452 1	1.446 6	1.447 7	1.451 7	1.455 5	1.454 1	1.452 8	1.453 4	1.455 9	1.453 5	1.456 5	1.451 9	0.31	
12	1.544 2	1.541 3	1.548 9	1.542 6	1.543 5	1.547 8	1.552 9	1.551 3	1.549 2	1.550 0	1.552 7	1.550 3	1.553 9	1.548 4	0.32	
13	1.559 8	1.556 8	1.564 5	1.557 8	1.558 8	1.563 5	1.568 7	1.567 4	1.565 2	1.566 0	1.568 7	1.566 1	1.569 9	1.564 2	0.54	
14	1.585 0	1.581 6	1.589 6	1.583 1	1.584 4	1.588 9	1.593 6	1.592 4	1.590 3	1.591 0	1.594 1	1.591 4	1.594 8	1.589 4	0.33	
15	1.618 7	1.615 4	1.623 1	1.616 7	1.618 1	1.622 5	1.627 1	1.626 2	1.624 1	1.624 7	1.627 8	1.625 1	1.628 7	1.623 0	0.33	
16	1.805 6	1.801 7	1.811 3	1.803 5	1.804 8	1.810 3	1.815 5	1.814 3	1.812 6	1.812 8	1.816 5	1.813 1	1.817 4	1.810 9	0.34	
17	1.820 3	1.816 3	1.826 0	1.818 1	1.819 3	1.824 3	1.829 4	1.828 2	1.827 0	1.826 9	1.830 5	1.827 6	1.831 4	1.825 0	0.33	
18	1.871 8	1.867 8	1.877 6	1.869 7	1.870 5	1.876 8	1.881 0	1.879 5	1.878 5	1.877 9	1.881 5	1.879 3	1.882 4	1.876 0	0.32	

表 3 30 批栀子指纹图谱共有峰相对峰面积
Table 3 Relative peak area of common peaks of 30 batches of *Gardeniae Fructus*

峰号	相对峰面积															
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16
1	0.041 2	0.043 7	0.043 6	0.037 4	0.038 3	0.036 5	0.040 6	0.048 7	0.047 4	0.039 2	0.041 8	0.043 2	0.037 2	0.040 8	0.040 7	0.031 2
2	0.019 2	0.019 8	0.019 9	0.019 4	0.018 8	0.017 9	0.020 5	0.022 0	0.022 5	0.019 3	0.019 0	0.019 5	0.024 8	0.025 8	0.025 1	0.025 2
3	0.071 9	0.070 7	0.074 0	0.074 7	0.073 9	0.072 4	0.082 9	0.087 4	0.080 7	0.073 3	0.073 6	0.073 1	0.076 6	0.074 3	0.089 9	0.068 2
4	0.011 6	0.011 8	0.011 8	0.010 9	0.010 6	0.010 2	0.011 3	0.012 1	0.012 1	0.010 8	0.010 5	0.010 6	0.014 6	0.015 3	0.015 3	0.012 4
5	0.014 5	0.014 6	0.013 7	0.019 5	0.017 9	0.016 9	0.021 9	0.021 6	0.022 2	0.018 3	0.017 6	0.018 2	0.014 2	0.013 6	0.015 1	0.012 1
6	0.050 6	0.056 2	0.060 9	0.051 4	0.053 1	0.051 2	0.057 1	0.061 6	0.054 7	0.050 2	0.050 3	0.055 8	0.044 0	0.049 6	0.045 3	0.097 0
7	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0
8	0.008 9	0.009 9	0.009 7	0.011 6	0.013 0	0.013 6	0.012 2	0.013 4	0.013 0	0.012 3	0.010 1	0.011 1	0.010 8	0.011 0	0.010 4	0.008 1
9	0.015 1	0.014 0	0.013 9	0.016 7	0.014 6	0.015 8	0.019 7	0.019 9	0.020 4	0.017 8	0.016 6	0.017 7	0.012 8	0.012 1	0.013 1	0.007 8
10	0.010 7	0.010 6	0.010 1	0.012 6	0.013 3	0.012 5	0.013 3	0.014 5	0.014 5	0.014 1	0.013 8	0.014 1	0.013 3	0.012 2	0.013 7	0.008 1
11	0.011 5	0.015 1	0.014 7	0.014 1	0.016 3	0.020 7	0.008 4	0.007 4	0.005 9	0.014 9	0.015 0	0.014 8	0.008 1	0.008 2	0.009 4	0.008 3
12	0.568 1	0.572 1	0.555 7	0.649 4	0.649 5	0.614 4	0.775 3	0.746 5	0.760 8	0.657 3	0.639 5	0.665 6	0.373 0	0.339 9	0.389 0	0.294 8
13	0.012 7	0.012 2	0.012 1	0.015 8	0.014 5	0.014 6	0.016 3	0.016 7	0.016 8	0.017 2	0.015 4	0.015 2	0.013 8	0.011 5	0.011 7	0.009 2
14	0.010 5	0.010 6	0.010 5	0.012 4	0.012 3	0.012 3	0.014 6	0.013 6	0.013 5	0.012 7	0.012 5	0.013 0	0.006 1	0.005 4	0.006 6	0.004 7
15	0.090 8	0.092 5	0.092 2	0.103 2	0.091 3	0.096 3	0.121 9	0.115 2	0.114 1	0.098 3	0.096 4	0.102 0	0.081 6	0.075 6	0.090 4	0.056 2
16	0.073 9	0.073 5	0.072 3	0.099 5	0.094 9	0.090 3	0.115 9	0.143 2	0.134 9	0.109 1	0.110 0	0.111 4	0.090 1	0.085 6	0.092 9	0.054 5
17	0.039 4	0.039 9	0.040 3	0.040 9	0.043 1	0.044 9	0.046 9	0.039 3	0.041 0	0.048 8	0.039 4	0.042 8	0.037 3	0.030 8	0.036 2	0.036 8
18	0.076 3	0.081 7	0.080 5	0.114 1	0.109 8	0.109 4	0.132 4	0.126 5	0.119 6	0.123 4	0.104 2	0.115 9	0.141 6	0.126 9	0.139 1	0.054 2
峰号	相对峰面积														RSD/%	
	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24	S25	S26	S27	S28	S29	S30		
1	0.039 3	0.036 9	0.036 9	0.041 1	0.042 6	0.012 8	0.014 1	0.014 7	0.016 1	0.017 4	0.016 0	0.036 4	0.042 9	0.044 1	30.68	
2	0.030 1	0.030 1	0.051 5	0.059 0	0.073 4	0.005 8	0.006 4	0.006 4	0.007 8	0.008 2	0.008 1	0.018 4	0.023 2	0.023 2	64.83	
3	0.078 4	0.084 0	0.064 7	0.061 2	0.073 2	0.029 5	0.029 2	0.030 3	0.029 2	0.031 1	0.029 7	0.073 4	0.081 2	0.081 4	29.45	
4	0.014 6	0.014 6	0.027 2	0.031 5	0.037 8	0.003 4	0.003 8	0.003 9	0.004 6	0.005 1	0.004 8	0.011 1	0.013 5	0.013 3	59.96	
5	0.012 4	0.012 0	0.023 1	0.023 3	0.023 7	0.015 7	0.017 6	0.017 9	0.017 6	0.016 9	0.016 6	0.010 2	0.010 7	0.010 3	23.66	
6	0.100 5	0.109 0	0.022 4	0.017 8	0.021 4	0.026 3	0.023 7	0.027 8	0.056 1	0.058 8	0.061 5	0.102 0	0.113 2	0.120 4	48.17	
7	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0.00	
8	0.008 3	0.008 3	0.023 0	0.022 5	0.024 5	0.008 5	0.010 1	0.010 1	0.010 9	0.013 2	0.013 1	0.008 6	0.010 1	0.009 6	34.99	
9	0.007 9	0.008 0	0.027 9	0.029 7	0.033 4	0.011 0	0.012 2	0.012 8	0.011 2	0.011 5	0.011 2	0.008 3	0.009 5	0.009 2	42.16	
10	0.008 1	0.008 2	0.031 5	0.032 1	0.033 6	0.008 0	0.008 9	0.009 3	0.009 1	0.009 7	0.008 8	0.006 0	0.005 9	0.006 1	55.39	
11	0.004 6	0.005 8	0.005 3	0.006 8	0.006 8	0.041 9	0.048 0	0.050 5	0.057 1	0.061 7	0.063 3	0.012 1	0.009 9	0.009 1	95.42	
12	0.318 2	0.309 7	0.926 3	0.938 3	0.980 7	0.566 4	0.605 2	0.626 8	0.532 5	0.507 9	0.538 9	0.339 5	0.333 1	0.336 4	33.89	
13	0.009 5	0.009 3	0.007 5	0.006 1	0.006 2	0.015 8	0.015 6	0.017 2	0.018 0	0.017 8	0.018 1	0.012 9	0.011 8	0.012 3	25.96	
14	0.005 3	0.005 1	0.015 2	0.013 6	0.014 4	0.006 2	0.006 8	0.007 1	0.008 1	0.007 8	0.008 3	0.005 7	0.005 9	0.006 3	36.66	
15	0.061 3	0.062 6	0.218 7	0.199 5	0.239 8	0.062 4	0.066 4	0.071 0	0.071 8	0.074 2	0.071 4	0.054 7	0.066 7	0.058 1	47.42	
16	0.058 9	0.056 8	0.060 2	0.068 5	0.070 6	0.069 2	0.072 9	0.074 2	0.083 8	0.087 6	0.084 4	0.065 2	0.063 4	0.063 4	26.88	
17	0.035 6	0.037 7	0.049 6	0.049 2	0.052 8	0.034 5	0.035 9	0.037 2	0.032 7	0.031 2	0.031 0	0.029 6	0.029 1	0.031 9	16.37	
18	0.054 8	0.055 8	0.206 8	0.207 8	0.220 5	0.071 2	0.075 7	0.082 0	0.097 4	0.103 2	0.106 2	0.069 1	0.074 0	0.075 5	39.79	

2.2.3 相似度 将得到的 30 批栀子指纹图谱导入国家药典委员会颁布的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004 A 版),进行色谱峰匹配,生成栀子对照指纹图谱,见图 2,并计算不同批次之间的相似度。结果显示 30 批样品与对照图谱之间的相似度分别为 0.999、1.000、0.999、0.998、0.998、0.999、0.991、0.992、0.991、0.998、0.999、0.998、0.985、0.980、0.987、0.97、0.975、0.973、0.968、0.966、0.958、0.997、0.997、0.996、0.997、0.996、0.997、0.979、0.977、0.977。30 批样品相似度均大于 0.95,且同一产地不同批次间相似度接近,说明不同产地间栀子主要成分有较好的一致性,不同批次间稳定性较好。

2.2.4 主要色谱峰的化学指认 采用对照品对各峰进行指认,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录 HPLC 色谱图,通过比较各峰保留时间和紫外吸收光谱,对各峰进行指认,见图 3。栀子样品 HPLC 指纹图谱中 2、6、7、12、15 号峰得到了化学指认,依次为去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷、西红花苷 I、西红花苷 II。

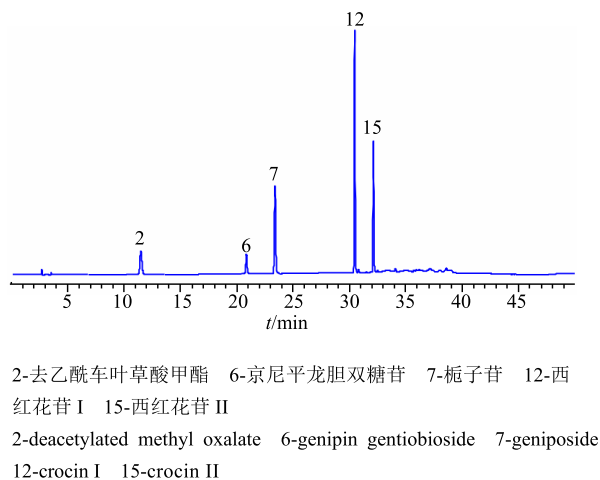


图 3 混合对照品 HPLC 色谱图

Fig. 3 HPLC of mixed reference substance

2.3 HPLC 同时测定栀子中 5 种有效成分的含量

2.3.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B); 梯度洗脱: 0~12 min, 5%~8% A; 12~20 min, 8%~15% A; 20~35 min, 15%~40% A; 35~40 min, 40%~5% A, 体积流量 1 mL/min; 柱温 35 °C; 进样体积 10 μL; 波长(0~27 min) 234 nm 和 (27~40 min) 440 nm。

2.3.2 线性关系考察 取混合对照品储备液适量,

分别用 70%甲醇稀释 1、2、4、5、10、20、40、50、100 倍,每个质量浓度对照品溶液按“2.3.1”项色谱条件下分别进样,记录峰面积。以峰面积为纵坐标(Y),进样质量浓度为横坐标(X),进行线性回归,即得回归方程及线性范围。回归方程、线性范围及相关系数分别为去乙酰车叶草酸甲酯: $Y=12.341 X-5.406 9$, 1.04~103.70 μg/mL, $r^2=0.999 9$; 京尼平龙胆双糖苷: $Y=8.944 8 X-1.047 2$, 0.59~59.00 μg/mL, $r^2=0.999 8$; 栀子苷: $Y=13.557 X-9.647 3$, 4.02~402.11 μg/mL, $r^2=0.999 9$; 西红花苷 I: $Y=58.373 X+7.805 8$, 0.73~72.84 μg/mL, $r^2=0.999 8$; 西红花苷 II: $Y=73.671 X-1.523 6$, 0.10~9.87 μg/mL, $r^2=0.999 8$; 结果表明 5 种成分在上述质量浓度范围内线性关系良好。

2.3.3 精密度试验 取同一混合对照品溶液在“2.3.1”项下色谱条件连续进样 6 次,记录色谱峰面积,计算去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷、西红花苷 I、西红花苷 II 峰面积的 RSD 值分别为 0.08%、0.14%、0.20%、0.20%、0.14%,均小于 2%,表明仪器精密性良好。

2.3.4 稳定性试验 取 S7 批栀子药材,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,室温下放置,分别在 0、2、4、8、12、24 h 后按照“2.3.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱峰面积,计算去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷、西红花苷 I、西红花苷 II 峰面积的 RSD 值分别为 1.16%、1.40%、0.98%、0.87%、0.83%均小于 2%,表明本方法稳定性良好。

2.3.5 重复性试验 取 S7 批栀子药材,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,平行制备 6 份,按照“2.3.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱峰面积,测得各成分含量,计算去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷、西红花苷 I、西红花苷 II 的 RSD 值分别为 1.11%、1.44%、1.22%、1.14%、0.66%,均小于 2%,表明本方法重复性良好。

2.3.6 加样回收率试验 精密称取已测定的栀子粉末(S7) 6 份,每份 0.05 g,加入混合对照品溶液适量,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件测定,记录色谱峰峰面积,计算回收率。结果表明,去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷、西红花苷 I、西红花苷 II 峰面积的平均回收率分别为 99.51%、96.83%、102.58%、102.25%、93.89%,均符合《中国药典》

2015 年版规定, RSD 值分别为 1.71%、0.74%、0.77%、0.69%、1.13%, 均小于 2%, 结果表明方法准确可靠。

2.3.7 样品测定 取 30 批栀子药材按“2.1.2”项下方法平行制备供试品溶液各 2 份, 按“2.3.1”项下色谱条件进行测定, 计算各成分含量, 结果见表 4。

表 4 30 批栀子多成分含量测定结果 ($n=3$)

Table 4 Determination of five components of 30 batches of *Gardeniae Fructus* ($n=3$)

编号	质量分数($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)				
	去乙酰车叶草酸甲酯	京尼平龙胆双糖苷	栀子苷	西红花苷 I	西红花苷 II
1	1.48	4.85	62.46	8.10	1.03
2	1.47	5.16	63.46	8.38	1.09
3	1.48	5.52	62.40	7.96	1.06
4	1.40	4.73	59.50	8.61	1.10
5	1.29	4.39	57.37	8.61	0.97
6	1.25	4.32	58.22	8.17	1.04
7	1.55	5.26	59.64	10.03	1.24
8	1.49	5.42	57.62	10.12	1.25
9	1.51	4.79	57.44	10.26	1.25
10	1.31	4.78	57.28	8.33	0.97
11	1.30	4.77	58.13	8.63	1.07
12	1.28	4.95	55.43	8.57	1.06
13	2.21	5.25	74.86	6.38	1.12
14	2.22	5.91	74.93	5.95	1.06
15	2.12	5.48	73.16	6.61	1.26
16	2.46	12.14	80.43	5.41	0.83
17	2.72	12.22	79.53	5.90	0.93
18	2.71	12.92	78.49	5.63	0.93
19	3.49	2.16	57.14	11.98	2.25
20	3.90	1.73	58.76	12.80	2.20
21	4.26	1.95	51.79	11.66	2.28
22	0.61	3.27	78.72	10.32	0.91
23	0.64	2.77	75.90	10.67	0.95
24	0.62	3.09	72.41	10.56	0.96
25	0.86	7.13	82.76	10.12	1.10
26	0.81	6.90	77.70	9.16	1.07
27	0.82	7.36	80.00	10.01	1.09
28	1.57	10.91	69.02	5.42	0.71
29	1.77	10.80	64.87	5.04	0.82
30	1.71	11.47	64.19	5.03	0.71

2.4 化学模式识别

2.4.1 显著性差异分析 利用 SPSS 21.0 统计软件, 采用单因素方差分析, 对 10 个不同产地的栀子药材中 5 个成分的含量进行显著性差异分析。结果表明, 乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆双糖苷、

栀子苷、西红花苷 I、西红花苷 II 这 5 个成分的 P 值, 均小于 0.05, 说明在不同产地之间 5 个成分含量存在显著性差异。

2.4.2 聚类分析 将 30 批栀子样品 18 个共有峰的相对峰面积数据输入 SPSS 21.0 软件, 对样品进行系统聚类, 采用组间均连法, 以欧式平方距离为分类依据。由图 4 可见, 当类间距离大于 5 时, 30 批栀子聚为 3 类, 第 1 类为样品 1、2、3 (湖南永州), 4、5、6 (湖南永安), 7、8、9 (江西丰城), 10、11、12 (江西湖口), 22、23、24 (安徽广德), 25、26、27 (福建福鼎); 第 2 类为样品 13、14、15 (江西黎川), 16、17、18 (江苏句容)、28、29、30 (河南唐河); 第 3 类为样品 19、20、21 (安徽六安)。因江西黎川、江苏句容、河南唐河产地栀子的栀子苷 (7 号峰) 峰面积值均较大, 故这 3 个产地分为一类; 安徽六安产地栀子的西红花苷 I (12 号峰) 和西红花苷 II (15 号峰) 峰面积值均较大, 故单独分为一类。由聚类结果可看出不同产地之间栀子样品存在一定质量差异, 在 30 批样品相似度均大于 0.95 的前提下, 以湖南永州、湖南永安、江西丰城、江西湖口、安徽广德和福建福鼎产地的第 1 类样品相似度最佳, 且同一产地不同批次之间相似度较接近, 表明批次间质量相对稳定。

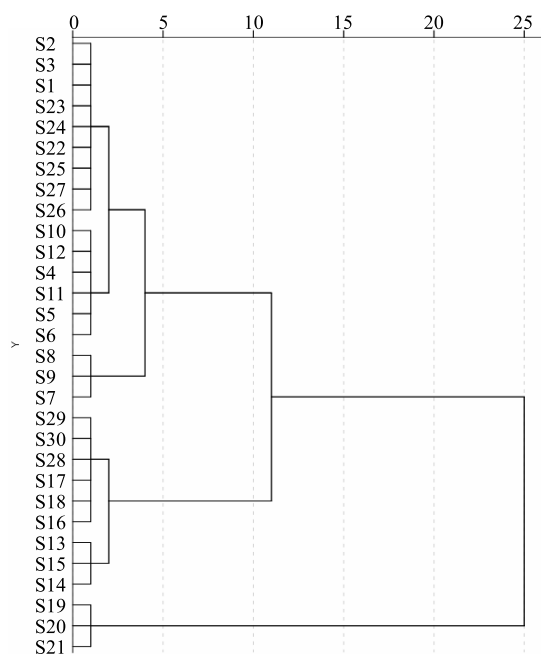


图 4 30 批栀子聚类分析树状图

Fig. 4 Dendrogram of cluster analysis of 30 batches of *Gardeniae Fructus*

2.4.3 主成分分析 为进一步比较不同产地批次间栀子样品的质量差异,将栀子中的去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷、西红花苷 I、西红花苷 II 含量作为变量导入到 SPSS 软件中进行主成分分析。选取其中特征值大于 1 的前 2 个因子作为主成分 1 (PC1) 与主成分 2 (PC2),贡献率分别为 56.5%和 25.3%,对总方差的累积贡献率达 81.8% (表 5),故 PC1 和 PC2 2 个主成分可反映栀子药材的整体综合质量。由表 6 因子载荷矩阵可知,PC1 与去乙酰车叶草酸甲酯、西红花苷 I 与西红花苷 II 呈正相关;PC2 与去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆双糖苷和西红花苷 II 呈正相关。根据公式 $y = Zx \times t$ 计算各主成分值,其中 Zx 原始数据标准化得标准化矩阵, t 为标准化的正交特征向量矩阵。根据各主成分的贡献率,计算出综合得分,其公式为 $y_{\text{综}} = 0.564\ 79\ y_1 + 0.253\ 31\ y_2$,分别以 PC1 与 PC2 建立坐标系,得到主成分分析散点图,见图 5,各主成分值及综合排序结果见表 7。

由图 5 可看出,PC1 和 PC2 可将样品分为 3 类,第 1 类为样品 13、14、15 (江西黎川),16、17、18 (江苏句容)、28、29、30 (河南唐河);第 2 类

表 5 特征值和累积贡献率

Table 5 Eigenvalue and cumulative contribution			
主成分	特征值	贡献率/%	累积贡献率/%
1	2.824	56.479	56.479
2	1.267	25.331	81.810
3	0.715	14.298	96.108
4	0.168	3.365	99.473
5	0.026	0.527	100.000

表 6 因子载荷矩阵

有效成分	主成分	
	1	2
去乙酰车叶草酸甲酯 (x_1)	0.454	0.880
京尼平龙胆双糖苷 (x_2)	-0.826	0.470
栀子苷 (x_3)	-0.644	-0.020
西红花苷 I (x_4)	0.831	-0.397
西红花苷 II (x_5)	0.911	0.336

为样品 19、20、21 (安徽六安);剩余为第 3 类。主成分分析与聚类分析结果相一致,进一步证明了 PC1 和 PC2 可代表栀子的质量用于产地划分。通过主成分分析得到的综合主成分值,对其进行排序,见表 7。得分情况反映各产地栀子的质量情况,质

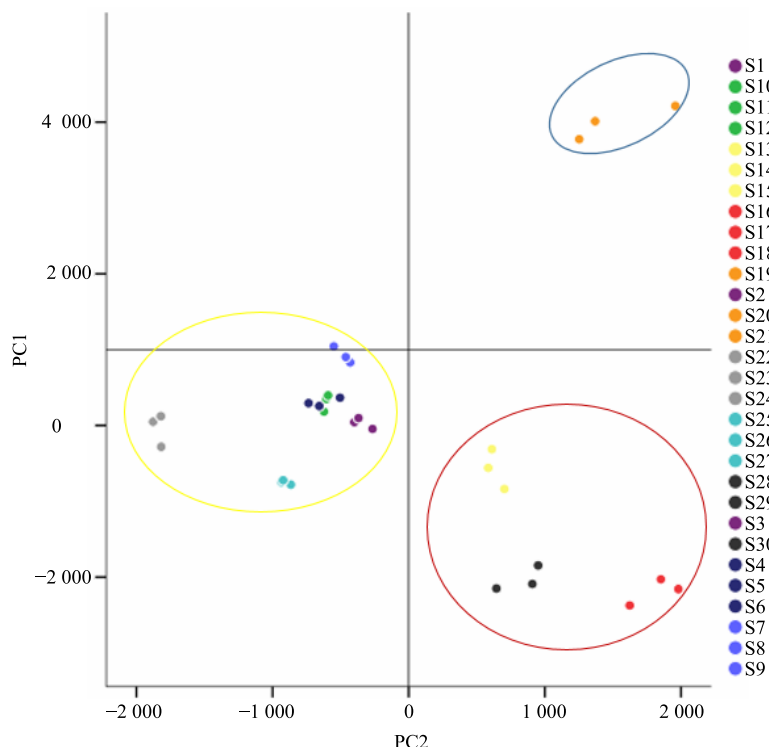


图 5 主成分分析散点图

Fig. 5 Scatter plots of principal component analysis

表 7 主成分值及综合主成分值

Table 7 Principal component values and comprehensive principal component values

产地	y_1	y_2	$y_{\text{综}}$	综合排序
安徽六安	4.214	1.958	2.876	1
安徽六安	4.011	1.369	2.612	2
安徽六安	3.775	1.252	2.449	3
江西丰城	1.043	-0.550	0.450	4
江西丰城	0.902	-0.463	0.392	5
江西丰城	0.830	-0.430	0.360	6
湖南永安	0.366	-0.505	0.079	7
江西湖口	0.396	-0.592	0.074	8
江西湖口	0.349	-0.607	0.044	9
湖南永安	0.295	-0.736	-0.020	10
江西黎川	-0.312	0.611	-0.022	11
湖南永安	0.256	-0.657	-0.022	12
湖南永州	0.098	-0.369	-0.038	13
江西湖口	0.182	-0.623	-0.055	14
湖南永州	0.044	-0.399	-0.076	15
湖南永州	-0.046	-0.266	-0.094	16
江西黎川	-0.560	0.584	-0.168	17
江西黎川	-0.838	0.703	-0.295	18
安徽广德	0.121	-1.821	-0.393	19
安徽广德	0.048	-1.878	-0.448	20
安徽广德	-0.282	-1.818	-0.620	21
福建福鼎	-0.722	-0.922	-0.642	22
福建福鼎	-0.747	-0.935	-0.659	23
福建福鼎	-0.780	-0.866	-0.660	24
江苏句容	-2.028	1.852	-0.676	25
江苏句容	-2.157	1.981	-0.717	26
河南唐河	-1.846	0.950	-0.802	27
江苏句容	-2.373	1.623	-0.929	28
河南唐河	-2.090	0.908	-0.950	29
河南唐河	-2.150	0.644	-1.051	30

量越好,则分数越高。本研究中,安徽六安、江西丰城产地质量相对较优,且批次间质量相对稳定。

3 讨论

栀子作为一种常用的中药,使用广泛。所谓“药材好,药才好”,栀子药材的质量会直接影响制剂的质量与疗效,而产地是影响药材质量的主要原因之一,因此评价不同产地栀子药材质量,优选产地,也是保证栀子相关制剂质量的重要手段之一。本研

究通过对 10 个不同产地的 30 批栀子药材进行指纹图谱研究,结果发现 30 批次间样品相似度良好,质量相对较稳定。后续又测定了去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷、西红花苷 I、西红花苷 II 5 种有效成分的含量,结果发现不同产地间含量存在较大差异。通过运用聚类分析和主成分分析等化学模式识别方法对其进行全面综合的质量评价,结果表明安徽六安、江西丰城、湖南永安等产地栀子质量较优。江西作为栀子的道地产区具有产量大和市场流通性广等优点,通常是栀子的优选产地,本研究还表明安徽六安、湖南永安也可作为栀子优质产地的补充。本研究通过栀子指纹图谱与多成分含量测定相结合的方法,全面反映了栀子样品的整体质量信息,运用化学模式识别方法对其信息作进一步综合分析,实现了对栀子的全面综合质量评价,为栀子产地的优选提供了科学、有效的参考依据。

实验过程中,在测定栀子药材中 5 种有效成分时,因环烯醚萜类(去乙酰车叶草酸甲酯、京尼平龙胆双糖苷和栀子苷),西红花苷类(西红花苷 I、西红花苷 II),分别在 238 nm 与 440 nm 波长处有最大吸收。为保证信息的全面,通过检测波长 238 nm 与 440 nm 的切换,使所有成分在同一指纹图谱条件下呈现,尽可能地反映了栀子化学成分的全貌。本实验对供试品制备方法进行了系统考察,包括不同提取溶剂(水、50%乙醇、50%甲醇、70%甲醇和 100%甲醇)、不同提取方式(超声和回流)、不同提取时间(超声 20、30、40 min)的考察,确定了栀子供试品的最佳制备方法;对色谱条件进行了系统考察,包括不同流动相系统(乙腈-0.1%磷酸、甲醇-0.1%磷酸和乙腈-0.1%甲酸)、不同色谱柱(Agilent ZORBAX SB-C₁₈、Agilent TC-C₁₈ 和 Hypersil BDS C₁₈)、不同柱温(30、35、40 °C)、不同体积流量(0.8、1.0 和 1.2 mL/min)、不同进样量(5、10、15 μL)的考察,最终确定了栀子分析的最佳色谱条件。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 李 云, 吴建雄, 石 伟, 等. HPLC 同时测定栀子药材中两类活性成分 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2015, 17(1): 2229-2234.
- [3] Park J H, Yoon J, Lee K Y, *et al.* Effects of geniposide on

- hepatocytes undergoing epithelial-mesenchymal transition in hepatic fibrosis by targeting TGF β /Smad and ERK-MAPK signaling pathways [J]. *Biochimie*, 2015, 113: 26-34.
- [4] 邵建强. 中药指纹图谱的研究进展 [J]. 中草药, 2009, 40(6): 994-998.
- [5] 崔爱瑛. 安宫牛黄丸的药理及临床研究进 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(20): 341-344.
- [6] Bergonzi M C, Righeschi C, Isacchi B, *et al.* Identification and quantification of constituents of *Gardenia jasminoides* Ellis (Zhizi) by HPLC-DAD-ESI-MS [J]. *Food Chem*, 2012, 134(2): 1199-1204.
- [7] 苗琦, 罗光明, 罗扬婧, 等. 栀子多波长 HPLC 指纹图谱及化学模式识别研究 [J]. 中草药, 2014, 45(21): 3159-3164.
- [8] 蔡艳, 宋剑, 贾继明. 双波长 HPLC 法建立栀子药材的指纹图谱 [J]. 西北药学杂志, 2017, 32(2): 147-150.
- [9] 王伟影, 毛菊华, 余乐, 等. 市售栀子饮片的质量评价研究 [J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(5): 681-684.
- [10] 王永香, 米慧娟, 李淼, 等. 不同产地栀子药材中 8 种主要药效成分的含量测定及聚类分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(20): 44-48.
- [11] 付小梅, 彭水梅, 刘婧, 等. HPLC 法同时测定栀子类药材中 10 个主要有效成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2014, 34(4): 615-621.
- [12] 张铁军. 中药质量认识与质量评价 [J]. 中草药, 2011, 42(1): 1-9.
- [13] Liu S, Liang Y Z, Liu H T. Chemometrics applied to quality control and metabolomics for traditional Chinese medicines [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2016, 1015/1016: 82-91.