

明方法精密度较好,符合体内药物浓度测定的要求。

3.5 回收率试验:精密量取芍药苷对照品溶液 5、10、20、40 μL,室温下分别加入空白血浆 50 μL,再加入甲醇定容,制成一定质量浓度的芍药苷血浆对照品溶液,摇匀后按血样预处理项下处理、测定,结果见表 1,不同质量浓度下均有大而稳定的回收率。

表 1 血浆中芍药苷的回收率试验 (n=3)

Table 1 Recoveries of paeoniflorin in plasma (n=3)

对照品溶液质量浓度 /(ng · μL ⁻¹)	测得质量浓度 /(ng · μL ⁻¹)	平均回收率 /%	RSD /%
19.23	18.07	93.96	4.78
38.46	35.96	93.50	7.78
76.92	69.23	90.00	9.23
153.85	160.94	104.61	7.61

3.6 血药浓度的测定:取已制备好的血浆样品,按上述色谱条件测定,由标准曲线计算出芍药苷的血药浓度。小鼠 ig 赤芍提取物后血浆中芍药苷质量浓度为(42.28±4.43) ng/μL (n=10),ig 赤芍胡椒复方后血浆中芍药苷质量浓度为(78.56±5.61) ng/μL (n=10)。

4 讨论

目前复方给药后血浆中药物效应成分可以定量的理论已经提出,但研究中药的体内代谢及中药主要有效成分体内检测方法是一个比较薄弱的方面。本研究参考有关文献^[1~3],经反复对比试验,最后选

定甲醇-水(38 : 62)为流动相,在此条件下,小鼠血浆中芍药苷与血浆中蛋白杂峰、内源性物质、芍药提取物的其他成分以及这些成分的体内代谢物和结合性成分均能很好的分离,峰形良好,且主峰时间适宜(芍药苷保留时间约 13 min)。本方法最低检测质量浓度为 1.49 ng/μL,平均回收率大于 90%,日内、日间 RSD 均小于 10%,精密度高,符合体内药物浓度测定的要求。

在血液样品处理中筛选了甲醇、乙醇、加热等方法,最终采用乙醇沉淀蛋白,操作程序简便,样品损失率低。本检测方法的建立为活血温里复方中活血药主要有效成分血药浓度和生物利用度的研究提供了可靠的检测方法。

致谢:四川大学周文铨教授,四川省肿瘤医院董昱研究员、唐小海主任医师对本研究工作的支持。

References:

[1] Guo L W. *The Method and Application of Pharmacokinetics of Chinese Traditional Drugs* (中药药物动力学方法与应用) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002.

[2] Han G Z. *Pharmacokinetics of Chinese Traditional and Herbal Drugs* (中草药药代动力学) [M]. Beijing: China Medicopharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1999.

[3] Lu Q Z, Wang X H, An R, et al. Determination of ferulic acid and paeoniflorin in Huoxue Mixture by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2002, 24(9): 668-669.

丹参水溶性成分 HPLC 指纹图谱指纹对照品对照法的研究

宋 敏,杭太俊*,张正行

(中国药科大学 药物分析室,江苏 南京 210009)

摘要:目的 建立 HPLC 法测定丹参药材水溶性成分的指纹图谱标准,确定指纹对照品对照法的作用,实现丹参药材指纹图谱标准的重现与易控。方法 采用 C₁₈ 色谱柱,甲醇-1.0%冰醋酸溶液梯度程序洗脱,体积流量为 1.0 mL/min。以丹参对照药材制备指纹对照品进行色谱系统适用性试验,考察梯度洗脱程序、流动相酸度以及色谱柱填充剂对指纹图谱重现性的影响。结果 建立的指纹图谱测定系统,对丹参水溶性成分分离良好,选择色谱图中 15 个特征峰作为指纹峰。将不同产地的 10 批药材的指纹图谱与同时测定的指纹对照品图谱进行比较,结果即使改变色谱柱填充剂也可以获得一致的相似性评价结论。结论 色谱指纹图谱可以体现药材中多个成分的信息,但色谱系统的变化对指纹图谱的重现性有很大的影响,而且在不同的色谱柱条件下所得的指纹图谱结果不尽相同。因而为了实现指纹图谱标准的重复可控,应同时规定指纹图谱测定的色谱系统适用性条件和指纹对照品。

关键词:丹参;高效液相色谱法;指纹图谱;指纹对照品

中图分类号:R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2005)03-0360-05

收稿日期:2004-05-18

作者简介:宋 敏(1977—),女,重庆人,博士研究生,研究方向为色谱与光谱分析。

Tel: (025) 83271090 E-mail: cqsongmin@sina.com

* 通讯作者

Fingerprints of *Salvia miltiorrhiza* water-soluble components by HPLC compared with fingerprint reference substance

SONG Min, HANG Tai-jun, ZHANG Zheng-xing

(Department of Pharmaceutical Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract: Objective To establish a stable and reliable HPLC method and fingerprint reference substance for the measurement of the fingerprint, the practical quality control, and assay of the water-soluble components of *Salvia miltiorrhiza*. **Methods** The HPLC was run on C₁₈ columns with methanol-1.0% glacial acetic acid solution as mobile phase in gradient elution mode at a flow rate of 1.0 mL/min. The chromatographic system suitability, the gradient elution mode, mobile phase acidity, and the effect of column type on fingerprint repeatability were tested. **Results** The HPLC fingerprints of the water-soluble extract of reference *S. miltiorrhiza* were obtained with very good resolution under the established chromatographic system. Fifteen peaks in the chromatograms were selected for the fingerprint identification and quality control of *S. miltiorrhiza*. The quality of ten batches of *S. miltiorrhiza* samples from different habitats were assessed by comparing their chromatographic fingerprints with the reference fingerprints obtained at the same time, and the similarity showed no difference, even though the column filler was changed. **Conclusion** Because the inherent complexity of medicinal material components has been reflected by chromatographic fingerprints, there are many factors affecting the fingerprint repeatability for the changes of column type. The results of the quality assessment of *S. miltiorrhiza*, using fingerprints from different columns, are not all coincidence. In order to obtain the comparable and repeatable results in different laboratories, it is much practical with both a defined chromatographic system suitability and a fingerprint reference substance.

Key words: *Salvia miltiorrhiza* Bunge; HPLC; fingerprints; fingerprint reference substances

丹参是唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的干燥根及根茎。其分布广泛,以安徽、山西等地产量最大。但传统认为四川龙安、中江、平武栽培者质优。丹参主要含有脂溶性和水溶性两类活性成分。前者具有抗菌、抗炎及扩张血管作用;后者用于治疗冠心病、栓塞和中风。

指纹图谱是控制天然药物质量的有效方式之一。目前丹参水溶性成分的指纹图谱研究已有较多报道,大多以固定色谱系统条件下的相对保留时间和相对峰面积为主要指标对指纹图谱进行评定^[1~4]。但是仅仅固定色谱系统,并不足以保证指纹图谱的耐用性,难以在不同实验室重现。解决该难点的新思路和设想时有报道,如对中药挥发性成分的一系列正构烷烃为参照的保留指数法^[5]、用代表性的样品等量混合后形成的“对照指纹图谱”用以进行样品指纹图谱与标准之间的相似度比较法^[6]。本实验用“指纹对照品”(由典型对照药材或典型的代表性样品,按指纹图谱标准建立的方法与条件制备的供指纹图谱测定作对照的具有代表性的提取物)^[6],对丹参指纹图谱测定的色谱系统适用性条件进行了研究,考察了梯度洗脱程序、流动相酸度、以及色谱柱型号与品牌对指纹图谱重复性的影响。并在不同色谱柱系统下,以指纹对照品为参比评价不同产地丹

参药材与其相似度。

1 仪器与试剂

Waters Alliance 2695 高效液相色谱系统(沃特斯科科技公司),Agilent HP 1100 LC-MSD 色谱系统(安捷伦科技公司)。甲醇、冰醋酸均为 AR 试剂,纯净水自制。色谱柱分别为 Shimpack C₁₈(150 mm×6.0 mm, 5 μm)、Zorbax C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Lichrospher C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Waters C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Water C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm)。

丹参药材分别于 2000—2003 年购自四川、河北、内蒙、云南、重庆、安徽 6 个省市的丹参栽培基地或药材公司,由南京师范大学生命科学院龚祝南教授鉴定,见表 1。丹参对照药材购自中国药品生物制品检定所(批号:0923-200006)。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备:称取丹参药材粗粉 5.0 g,加 600 mL 水,煮沸 3 h,抽滤,用适量水洗涤残渣,合并滤液,再用 0.45 μm 滤膜抽滤。减压回收至约 60 mL,定量转移至 100 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2 指纹对照品溶液的制备:取丹参对照药材同法制备,即得。

表 1 丹参药材来源

Table 1 Origin of different *S. miltiorrhiza*

样品号	产地	品种
1	四川中江(秋季采收)	丹参 <i>Salvia miltiorrhiza</i>
2	四川中江(春季采收)	丹参 <i>S. miltiorrhiza</i>
3	河北	丹参 <i>S. miltiorrhiza</i>
4	四川中江	丹参 <i>S. miltiorrhiza</i>
5	云南丽江	大紫丹参 <i>S. przewalskii</i> var. <i>mandarinorum</i>
6	云南	土丹参 <i>S. kiapmetiensis pubescense</i>
7	内蒙古	丹参 <i>S. miltiorrhiza</i>
8	内蒙古	丹参 <i>S. miltiorrhiza</i>
9	重庆	丹参 <i>S. miltiorrhiza</i>
10	安徽亳州	丹参 <i>S. miltiorrhiza</i>

2.3 色谱条件及系统适用性试验:用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;甲醇-冰醋酸溶液为流动相进行梯度程序洗脱;体积流量为 1.0 mL/min;柱温为 30 ℃;检测波长为 254 nm。理论板数以丹参酸乙色谱峰计算不低于 3 000。

2.4 指纹图谱的测定:在规定的条件下,取供试品溶液或对照品溶液各 20 μL,分别注入色谱仪,记录色谱图,以相对峰面积大于 0.6%和峰分离度大于 0.8 为限度,选取特征成分色谱峰作为指纹特征峰。以丹参酸乙为参比物质计算相对保留时间(α),相对峰面积(A_R)为入选峰面积归一化值。根据《中药注射剂色谱指纹图谱实验研究技术指南(试行)》要求,按夹角余弦法计算指纹图谱相似度(degree of similarity, DS)表示色谱指纹图谱的一致性。

2.5 梯度洗脱程序试验:采用 Shimpack C₁₈ 色谱柱,甲醇(A)-1.0%冰醋酸溶液(B)梯度程序洗脱, I: 0 min (5% A)~90 min (95% A), II: 0 min (5% A)~70 min (95% A)~85 min (95% A), III: 0 min (5% A)~80 min (61% A)~90 min (95% A),分别对丹参指纹对照品溶液进行指纹图谱分析,比较其 α 和 A_R 的变化。典型图谱见图 1,结果见表 2。表明在不同的梯度程序洗脱下,特征成分的 α 及 A_R 均有较明显的变化,梯度程序 I、III 可检出丹参水溶性成分中 15 个特征成分色谱峰,梯度程序 II

可检出 12 个特征成分色谱峰,然而指纹图谱的相似度仍良好(DS>0.90)。所以仅以指纹图谱的相似度进行判定尚不够全面。

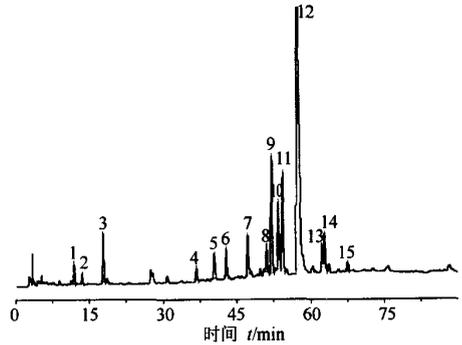


图 1 Shimpack C₁₈柱上丹参水溶性成分 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprints of *S. miltiorrhiza* water-soluble components at Shimpack C₁₈ column

2.6 流动相酸度变化考察:在其他色谱条件均相同的条件下,以梯度程序 III 进行洗脱,改变流动相组成,分别以甲醇(A)-0.9%冰醋酸溶液(B)、甲醇(A)-1.0%冰醋酸溶液(B)、甲醇(A)-1.1%冰醋酸溶液(B)为流动相,测定丹参指纹对照品溶液的指纹图谱。结果表明,各色谱峰的 α 比较稳定,RSD 均小于 2.0%。以流动相为甲醇(A)-1.0%冰醋酸溶液(B)时所得的色谱图作为参比,计算流动相为甲醇(A)-0.9%冰醋酸溶液(B)和甲醇(A)-1.1%冰醋酸溶液(B)时所得的色谱图的相似度,结果相似度均大于 0.998。可见流动相酸度的微小变化不影响丹参水溶性成分指纹图谱的相对保留时间和相对峰面积。

2.7 色谱柱的选择:分别在 Shimpack C₁₈ (150 mm×6.0 mm, 5 μm)、Zorbax C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Lichrospher C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Waters C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 和 Water C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm) 柱上,以 A-B 按梯度程序 III,对丹参指纹对照品溶液进行测定,考察色谱柱变化对指纹图谱的影响。

表 2 不同梯度条件下丹参水溶性成分 HPLC 指纹特征的比较

Table 2 Comparison of HPLC fingerprints of *S. miltiorrhiza* water-soluble components under different gradient elution

梯度洗脱程序	特征	峰号															相似度(DS)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
I	α	0.259	0.295	0.376	0.680	0.769	0.841	0.880	0.894	0.919	0.950	0.961	1.000	1.050	1.074	1.168	0.948
	A _R /%	3.39	5.47	9.61	2.19	0.90	5.04	1.71	0.94	16.24	6.88	1.01	42.32	0.71	1.96	1.61	
II	α	0.169	0.192	0.261	0.611	0.729	0.815	0.875	0.895	0.909	0.932	0.954	1.000	—	—	—	0.989
	A _R /%	3.20	6.45	8.47	2.80	1.00	5.42	1.70	0.63	18.29	4.10	9.46	38.48	0.00	0.00	0.00	
III	α	0.209	0.237	0.313	0.642	0.748	0.822	0.871	0.888	0.907	0.924	0.946	1.000	1.053	1.083	1.177	1.000
	A _R /%	3.32	6.64	9.14	2.96	0.74	5.20	1.72	0.63	18.53	4.82	11.75	31.21	0.64	1.12	1.59	
α 的 RSD/%		21.23	21.23	21.31	18.20	5.29	2.70	1.62	0.57	0.44	0.73	1.42	0.79	0.00	0.19	0.62	

结果表明在 Zorbax C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱上可检出丹参水溶性成分中 13 个色谱峰,而在其他 4 种色谱柱上可检出 15 个色谱峰。在 Waters C₁₈ (250 mm × 6.0 mm, 5 μm) 柱上所得指纹图谱中色谱峰分离度最好。色谱图见图 1~4。Waters C₁₈ 与 Shimpack C₁₈ (150 mm × 6.0 mm, 5 μm) 柱上测得的 HPLC 指纹图谱比较,分离得到的 8 号和 9 号色谱峰的出峰顺序不同;而在 Zorbax C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 柱上则有多个成分峰被合并,包括 Shimpack C₁₈ (150 mm × 6.0 mm, 5 μm) 色谱柱上分离得到的 10 号和 11 号峰。计算不同色谱柱上测得指纹图谱的相似度,结果见表 3。表明色谱柱的变化对丹参指纹图谱的相对保留时间和相对峰面积均有较明显的影响,然而计算所得的相似度均大于 0.90。

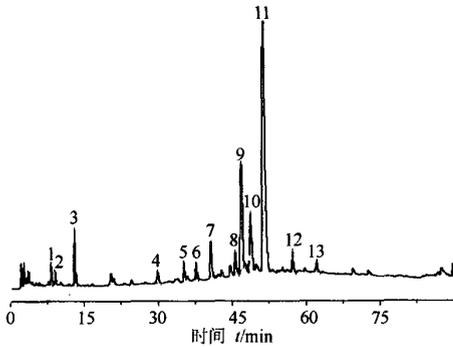


图 2 Zorbax C₁₈ 柱上丹参水溶性成分 HPLC 指纹图谱
Fig. 2 HPLC fingerprints of *S. miltiorrhiza* water-soluble components at Zorbax C₁₈ column

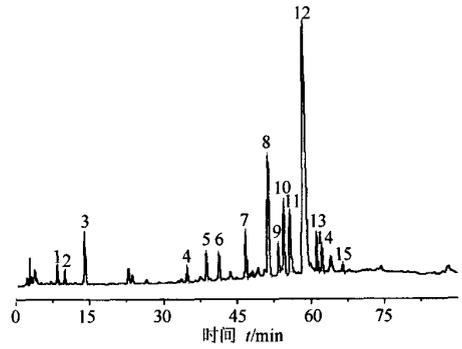


图 3 Waters C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 柱上丹参水溶性成分 HPLC 指纹图谱

Fig. 3 HPLC fingerprints of *S. miltiorrhiza* water-soluble components at Waters C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column

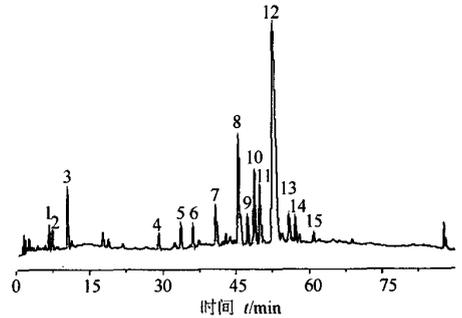


图 4 Waters C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) 柱上丹参水溶性成分 HPLC 指纹图谱

Fig. 4 HPLC fingerprints of *S. miltiorrhiza* water-soluble components at Waters C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) column

表 3 在不同色谱柱上丹参水溶性成分 HPLC 指纹特征的比较

Table 3 Comparison of HPLC fingerprints of *S. miltiorrhiza* water-soluble components obtained at different columns

色谱柱	特征	峰号															相似度 (DS)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Shimpack C ₁₈ (150 mm × 6.0 mm, 5 μm)	α	0.208	0.237	0.312	0.642	0.706	0.748	0.825	0.891	0.909	0.933	0.948	1.000	1.088	1.097	1.179	0.964
	A _R /%	1.41	0.74	4.08	1.18	2.41	2.75	3.73	2.27	10.48	6.54	9.3	50.1	1.43	2.69	0.89	
Lichrosper C ₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	α	0.221	0.252	0.332	0.654	0.713	0.755	0.830	0.876	0.917	0.950	0.958	1.000	1.061	1.091	1.180	0.904
	A _R /%	2.46	5.75	7.89	1.91	1.32	2.03	4.94	1.91	18.22	6.29	3.00	40.93	0.44	0.96	1.96	
Zorbax C ₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	α	0.163	0.179	0.256	0.583	0.688	0.737	0.795	0.891	0.915	0.95	—	1.000	—	1.119	1.214	0.937
	A _R /%	1.50	0.66	4.92	1.48	1.61	1.71	4.27	2.87	17.55	3.31	0.00	56.55	0.00	2.31	1.26	
Waters C ₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm)	α	0.129	0.142	0.201	0.555	0.642	0.689	0.779	0.867	0.903	0.93	0.951	1.000	1.065	1.09	1.161	1.000
	A _R /%	1.43	1.11	3.87	1.21	2.04	1.7	4.33	13.35	2.52	7.1	6.41	49.34	2.61	2.13	0.84	
Waters C ₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	α	0.144	0.171	0.241	0.596	0.664	0.708	0.801	0.879	0.915	0.934	0.956	1.000	1.049	1.067	1.139	1.000
	A _R /%	1.39	0.78	4.25	1.29	2.25	2.19	4.34	13.25	2.31	6.07	6.68	49.48	3.03	2.09	0.61	
	α 的 RSD/%	23.12	23.69	19.91	6.82	4.33	3.83	2.64	1.18	0.64	1.03	0.49	0.00	1.53	1.70	2.35	
	MS 鉴别	丹参素			原儿茶醛			紫草酸			丹酚酸 C		迷迭香酸 丹参酸乙				

2.8 指纹对照品对照法指纹图谱比较: 分别在不同色谱柱上, 以甲醇(A)-1.0%冰醋酸溶液(B)按梯度程序 III 洗脱, 以丹参指纹对照品为参比, 对 10 批不同来源的丹参药材进行指纹图谱测定分析。结果见

表 4。即使在不同的色谱柱条件下, 以相应指纹对照品为参比, 测得各药材的相似度结果也高度一致 (RSD < 0.6%)。表明以指纹对照品对照法进行指纹图谱质量分析具有更好的耐用性。10 批不同来源的

丹参药材中,除大紫丹参外均与指纹对照品有较好的相似性(DS>0.96)。大紫丹参与指纹对照品有较大差异,这与药材鉴定结果及相关文献相符^[7]。大紫丹参为非正品丹参,仅在云南等地区作为习用品使用。因此指纹对照品与供试品药材随行测定,可以评定不同来源的药材质量。

表 4 不同色谱柱上指纹对照品对照法测定丹参水溶性成分 HPLC 指纹图谱的相似度

Table 4 Comparison of similarity of different *Salvia miltiorrhiza* water-soluble components obtained at different columns with reference to respective reference chromatographic fingerprints

样 品	Shimpack C ₁₈ (150 mm× 6.0 mm,5 μm)	Zorbax C ₁₈ (250 mm× 4.6 mm,5 μm)	Waters C ₁₈ (250 mm× 4.6 mm,5 μm)	Waters C ₁₈ (150 mm× 4.6 mm,5 μm)	均 值	RSD /%
1	0.998	0.999	0.996	0.994	0.997	0.222
2	0.977	0.971	0.967	0.969	0.971	0.445
3	0.970	0.960	0.960	0.962	0.963	0.494
4	0.986	0.978	0.986	0.979	0.982	0.443
5	0.378	0.260	0.246	0.244	0.282	22.835
6	0.994	0.994	0.992	0.986	0.992	0.382
7	0.992	0.992	0.989	0.983	0.989	0.429
8	0.984	0.981	0.979	0.975	0.980	0.385
9	0.977	0.973	0.975	0.965	0.973	0.541
10	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	

2.9 指纹图谱特征成分鉴别:采用 Shimpack C₁₈(150 mm×6.0 mm,5 μm)柱,甲醇-1.0%冰醋酸溶液按梯度程序Ⅲ洗脱,对丹参水溶性成分进行 API-ESI 测定鉴定。API-ESI 工作参数:干燥氮气温度 350 ℃,流量 10.0 L/min,雾化器压力 275.8 kPa(40 Psi),裂解电压 70 eV,毛细管电压 4 000 V,扫描质量范围 m/z 100~1 000。在酸性条件下由于丹参水提液中含有大量酚酸性成分,在质谱负离子检测时有较强的响应。液-质联用测定时分别进行负离子和正离子扫描测定。根据各峰的质荷比及相关文献^[8]对其进行归属确认:α=0.208(1号峰),为丹参素,[M-H]⁻m/z 197,[2M-H]⁻m/z 395;α=0.312(3号峰),为原儿茶醛,[M-H]⁻m/z 137;α=0.825(7号峰),为紫草酸,[M-H]⁻m/z 537,[M+Na]⁺m/z 561,[2M+Na]⁺m/z 1 099;α=0.909(9号峰),为丹酚酸 C,[M-H]⁻m/z 493;α=0.948(11号峰),为迷迭香酸 C,[M-H]⁻m/z 359,[M+Na]⁺m/z 383,[2M+Na]⁺m/z 743;α=1.000(12号峰),是 HPLC-UV 色谱图中最大的吸收峰,为丹参酸乙,[M-H]⁻m/z 717,[M+Na]⁺m/z 741,脱去

一分子丹参素所形成的碎片离子 m/z 521。

3 讨论

3.1 丹参水溶性成分提取时,分别煮沸 1.5、3.0、4.5 h。结果表明煮沸 3.0 h 时丹参药材中水溶性成分提取基本达到平衡。

3.2 实验结果表明同一样品在不同的色谱系统中所得的指纹图谱结果不尽相同。梯度洗脱程序及色谱柱型号品牌等对指纹图谱检出的色谱峰数、相对保留时间和相对峰面积均有明显影响。因此,采用指纹对照品进行色谱系统适用性考察,以此消除在不同的条件下(色谱系统、实验室等)影响指纹图谱重复性和耐用性的因素很有必要。

3.3 在不同的色谱柱条件下,以同时测定的指纹对照品的指纹图谱为参比进行相似度计算评定不同来源丹参药材的质量,相似度评定结果基本一致。显示了指纹对照品和色谱系统适用性条件的同时约定,对中药指纹图谱标准法质量控制的重要作用。对于中药制剂的指纹图谱标准,可同样用其指纹对照品进行质量控制。

References:

[1] Li L, Lee F S C, Wang X R, et al. Development of HPLC fingerprint bar code technique for authentication and quality of *Radix Salviae Miltiorrhizae* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(7): 649-653.

[2] Zhang W S, Ye Z L, Yue H S, et al. Fingerprints of *Radix Salviae Miltiorrhizae* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2001, 24(7): 478.

[3] Yang G D, He L C, Li Y M. Studies on the analytical methods with qualitative fingerprint of effective part and qualitative measurement of effective components of *Salvia miltiorrhiza* Bge. [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2003, 23(6): 409-414.

[4] Zhang Z J, Li Q, Wang W, et al. Study on fingerprints of *Radix Salviae Miltiorrhizae* and its injection by HPLC-MS [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(12): 1074-1076.

[5] Hang T J, Zhang Z X, Xiang B R, et al. Standardization and digitization of fingerprint gas chromatograms of essential oil of *Curcuma longa* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(9): 793-797.

[6] Zhang N P, Xiao X Y, Zhang P, et al. Study on the establishing of reference fingerprint for the traditional Chinese medicine [J]. *Chin Pharm Aff* (中国药事), 2003, 17(6): 347-350.

[7] Qian Z G, Liang X Y, Hou A G. Preliminary study on the resources of *Salvia przewalskii* [J]. *Chin J Mod App Pharm* (中国现代应用药学), 2003, 20(3): 174-176.

[8] Zhou C X, Luo H W, Niwa M. Studies on isolation and identification of water-soluble constituents of *Salvia miltiorrhiza* [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1999, 30(6): 411-416.