

两基原中药决明子 UPLC 指纹图谱研究

陈鸿平, 刘 飞, 郭 换, 潘欢欢, 王嘉鑫, 曾梦瑶, 陈 林, 刘友平*

成都中医药大学药学院, 中药材标准化教育部重点实验室, 中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 四川 成都 611137

摘要: 目的 建立两基原(决明、小决明)中药决明子的 UPLC 指纹图谱, 为决明子药材质量控制和评价提供依据。方法 采用 Agilent ZORBAX EP C₁₈ (100 mm×3.0 mm, 1.8 μm) 色谱柱; 以乙腈-0.01%甲酸水溶液为流动相, 梯度洗脱, 体积流量 0.4 mL/min, 检测波长 285 nm, 柱温 30 °C, 进样量为 1 μL。结果 首次建立了决明子 UPLC 指纹图谱共有模式, 运用相似度评价软件标定了 20 个共有峰, 结合保留时间和紫外光谱分析, 指认了 7 个峰; 20 批决明子药材相似度均大于 0.9; 聚类分析结果为当欧式距离平方和为 5 时, 20 批决明子样品可分为 4 类; 主成分分析降维得到 3 个主成分, 根据主成分得分将样品进行划分归类, 与聚类分析结果一致; 通过拟合归纳第一主成分的载荷因子模型, 筛选出红链霉素-6-*O*-β-龙胆二糖苷等具有评价决明子质量优劣的特征峰。结论 决明与小决明共有化学成分存在共性差异, 该方法可以用于决明子药材质量控制和评价。

关键词: 决明子; 决明; 小决明; UPLC; 指纹图谱; 聚类分析; 主成分分析

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)18-3826-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.18.025

Study on UPLC fingerprint of *Cassiae Semen* from two species

CHEN Hong-ping, LIU Fei, GUO Huan, PAN Huan-huan, WANG Jia-xin, ZENG Meng-yao, CHEN Lin, LIU You-ping
Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Breeding Base of State Key Laboratory of Resources System Research and Development Utilization of Chinese Herbal Medicines Co-constructed by Ministry of Science and Technology and Sichuan Province, Chengdu 611137, China

Abstract: Objective To establish a UPLC fingerprint of *Cassiae Semen* from two species which is expected to provide standard for the quality control and evaluation. **Methods** Chromatography conditions were Agilent ZORBAX EP C₁₈ (100 mm × 3.0 mm, 1.8 μm) column with gradient mobile phase of acetonitrile-0.01% formic acid solution. UV detection wavelength was 285 nm, the flow rate was 0.4 mL/min, the column temperature was 30 °C and the sample quantity was 1 μL. **Results** The common mode of UPLC fingerprint of *Cassiae Semen* was established firstly. There were 20 common peaks had been calibrated by similarity evaluation. Seven peaks had been identified by comparing retention time with UV spectrum analysis. The similarity evaluation of 20 batches samples of *Cassiae Semen* was more than 0.9. Twenty batches of *Cassiae Semen* could be divided into four grades when the sum of squared Euclidean distance is 5 become the result of Cluster Analysis. Principal component analysis got three principal components through dimension reduction. The results of principal component scores agree with the clustering analysis. By fitting the load factor model of the first principal component, characteristic peak such as rubrofusarin-6-*O*-β-gentiobioside were filtered to appraise *Cassiae Semen*'s quality. **Conclusion** The contents of same chemical compositions between *Cassia obtusifolia* and *C. tora* are different. UPLC fingerprint can be used in *Cassiae Semen*'s quality control and evaluation.

Key words: *Cassiae Semen*; *Cassia obtusifolia* L.; *Cassia tora* L.; UPLC; fingerprint; clustering analysis; principal component analysis

决明子来源于豆科植物决明 *Cassia obtusifolia* L. 或小决明 *Cassia tora* L. 的干燥成熟种子, 具有清热明目、润肠通便的功效^[1]。始载于《神农本草经》, 列为上品, 药用历史悠久^[2], 是卫计委公布的 101 种药食同源类中药材之一, 除药用外, 在保健食品、本草功能饮料等产品领域应用广泛。现代研

收稿日期: 2017-02-13

基金项目: 成都市科技惠民技术研发项目 (2014-HM01-00406-SF); 四川省科技厅苗子工程 (2015013)

作者简介: 陈鸿平, 主要从事中药质量标准及药效物质基础研究工作。Tel: 13982283303 E-mail: chen_hongping@126.com

*通信作者 刘友平, 研究员, 博士生导师, 从事中药标准化及药效物质基础研究, Tel: (028)61800103 E-mail: liuyouping@yeah.net

究表明决明子在治疗高血压、高血脂、便秘、保护视力等方面具有明确的疗效^[3-8],其化学成分主要为蒽醌类、萘并吡喃酮类、脂肪酸类^[9]等。目前决明子质量控制指标多为水解后的蒽醌苷元,操作繁琐、专属性差且含量低,不能对决明子药材的质量进行全面评价。中药指纹图谱技术具有从整体上分析复杂化学物质组成的特点,已成为国内外广泛接受的中药质量评价模式。通过 HPLC 建立决明子药材的指纹图谱已有文献报道^[10-15],图谱峰信息量不大,分析时间过长,未能较为全面地表征决明子药材化学成分。而超高效液相色谱法(UPLC)具有分析速度快、分离度好、所需流动相少等优点^[16-19]。本实验拟通过建立能够反映两基原中药决明子特征的 UPLC 指纹图谱,在数据化处理的基础上,结合相似度评价、聚类分析、主成分分析的方法,进行质量分析和评价,为更全面地控制和评价决明子药材的质量提供依据。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1290 超高效液相色谱仪, G4220B 四元泵; G4226A 进样器; G1316C 柱温箱; G4212A DAD 检测器, Chem Station 工作站(美国 Agilent 公司), BP211D 十万分之一型电子分析天平、QUINTIX22Z-1CN 万分之一型电子分析天平、PRACTUM2102-1CN 百分之一型电子分析天平(德国 Sartorius 股份有限公司), UPT-I-10T 优普系列超

纯水机(成都超纯科技有限公司), DFT-手提式高速中药材粉碎机(江阴市丫匀机械制造有限公司), HH-2 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司), SB-5200DT 超声清洗器(500 W, 50 kHz: 武汉超杰实验仪器公司)

1.2 试药与试剂

对照品芦荟大黄素(批号 110795-201308)、大黄酸(批号 110757-200206)、大黄素(批号 110756-201512)、大黄酚(批号 110796-201520)均为中国食品药品检定研究院提供,对照品橙黄决明素(批号 C-007-140728, 成都瑞芬思生物科技有限公司),对照品黄决明素(批号 B-20559, 上海源叶生物科技有限公司),对照品红链霉素-6-O-β-龙胆二糖苷(批号 E-2496, 上海同田生物技术股份有限公司)上述对照品经 HPLC 峰面积归一化法检测质量分数均在 98.0% 以上。乙腈为色谱纯(Sigma-Aldrich 公司), 甲醇、甲酸及磷酸均为分析纯, 水为超纯水。

1.3 样品收集

决明子药材于 2015 年 12 月~2016 年 5 月购自四川成都荷花池中药材专业市场、安徽亳州中药材专业市场、甘肃兰州中药材专业市场和河北安国中药材专业市场,经成都中医药大学中药鉴定教研室卢先明教授鉴定为豆科植物决明 *Cassia obtusifolia* L. 或小决明 *Cassia tora* L. 的干燥成熟种子,见表 1。

表 1 样品信息

Table 1 Sample information

编号	样品名称	样品来源	产地	收集时间
S1	决明	河北安国中药材市场	河南南阳	2016-03
S2	决明	安徽亳州中药材市场	安徽亳州	2016-04
S3	决明	安徽亳州中药材市场	安徽淮南	2016-04
S4	决明	安徽亳州中药材市场	安徽滁州	2016-04
S5	决明	安徽亳州中药材市场	安徽阜阳	2016-04
S6	决明	甘肃兰州中药材市场	陕西	2016-03
S7	决明	甘肃兰州中药材市场	内蒙古	2016-03
S8	决明	成都荷花池中药材市场	广西玉林	2016-03
S9	决明	成都荷花池中药材市场	越南	2016-04
S10	决明	成都荷花池中药材市场	四川广元	2016-04
S11	小决明	成都荷花池中药材市场	四川广汉	2016-03
S12	小决明	成都荷花池中药材市场	四川宜宾	2016-03
S13	小决明	河北安国中药材市场	河南鹤壁	2015-12
S14	小决明	成都荷花池中药材市场	广东	2015-12
S15	小决明	河北安国中药材市场	广西玉林	2016-03
S16	小决明	河北安国中药材市场	广西玉林	2016-03
S17	小决明	成都荷花池中药材市场	广西龙州	2016-03
S18	小决明	成都荷花池中药材市场	广西南宁	2016-03
S19	小决明	成都荷花池中药材市场	越南	2016-04
S20	小决明	成都荷花池中药材市场	四川	2016-05

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱采用 Agilent ZORBAX EP C₁₈ (100 mm×3.0 mm, 1.8 μm) 色谱柱; 以乙腈(A)-0.01% 甲酸水溶液(B)为流动相, 梯度洗脱: 0~4 min, 5% A; 4~6 min, 5%~15% A; 6~20 min, 15%~20% A; 20~25 min, 20%~30% A; 25~29 min, 30%~40% A; 29~32 min, 40%~50% A; 32~36 min, 50%~80% A; 36~40 min, 80%~100% A; 体积流量 0.4 mL/min, 检测波长 285 nm, 柱温 30 ℃。在上述色谱条件下, 各目标峰分离度良好, 达到基线分离。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液的制备 分别取对照品红链霉素-6-*O*-β-龙胆二糖苷、橙黄决明素、芦荟大黄素、大黄酸、黄决明素、大黄素、大黄酚适量, 精密称定, 加甲醇分别制成含红链霉素-6-*O*-β-龙胆二糖苷 0.218 mg/mL、橙黄决明素 0.294 mg/mL、芦荟大黄素 0.410 mg/mL、大黄酸 0.312 mg/mL、黄决明素 0.352 mg/mL、大黄素 0.28 mg/mL、大黄酚 0.322 mg/mL 的溶液, 作为各对照品储备液。分别精密移取上述各储备液各 1 mL 转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 即得混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品粉末(过 4 号筛)约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL 并称定质量, 加热回流 1 h, 放冷称定质量, 用甲醇补足减失质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

分别精密吸取上述对照品溶液与供试品溶液各 1 μL, 注入液相色谱仪, 测定, 色谱图见图 1。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 称取编号为 S5 (安徽阜阳) 的样品 1 份, 约 0.5 g, 精密称定, 按“2.2.2”项下制备供试品溶液, 按“2.1”项下的色谱条件进样, 连续进样 6 次, 记录色谱图。20 个共有色谱峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 0.10%~3.46%、0.23%~2.68%, 以《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件》(2012 版) 评价, 6 次进样的相似度均>0.998, 表明仪器精密度良好。

2.3.2 重复性试验 称取编号为 S5 (安徽阜阳) 的样品 6 份, 精密称定, 每份约 0.5 g, 按“2.2.2”项下制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样, 记录色谱图。20 个共有色谱峰的相对保留时间和相

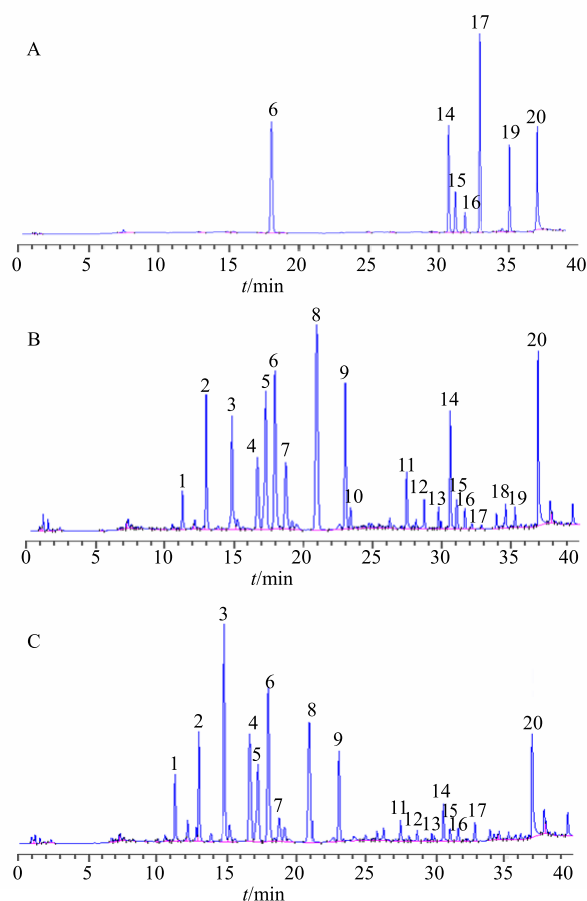


图 1 混合对照品 (A)、决明样品 (B) 和小决明样品 (C) 的 UPLC 图

Fig. 1 UPLC of mixed reference substances (A), *C. obtusifolia* (B), and *C. tora* (C)

对峰面积的 RSD 分别为 0.38%~4.56%、1.69%~3.48%, 以《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件》(2012 版) 评价, 6 次进样的相似度均>0.998, 表明样品处理方法重复性良好。

2.3.3 稳定性试验 称取编号为 S5 (安徽阜阳) 的样品 1 份, 约 0.5 g, 精密称定, 按“2.2.2”项下制备供试品溶液, 按“2.1”项下的色谱条件进样, 在 0、2、4、8、12、16、24 h 记录色谱图。20 个共有色谱峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 0.28%~4.82%和 0.36%~4.54%。以《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件》(2012 版) 评价, 6 次进样的相似度均>0.998, 结果表明样品在 24 h 内稳定性良好。

2.4 指纹图谱共有模式建立

2.4.1 指纹图谱建立及相似度评价 取 20 批决明子药材样品, 按“2.2.2”项下制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进行进样检测, 记录色谱图,

分别得到 20 批样品的指纹图谱, 以 AIA 格式依次导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件》(2012 版) 软件, 以 S7 批 (内蒙古) 药材作为参照图谱, 以中位数法进行指纹匹配, 建立了决明子药材指纹图谱共有模式, 共获得 20 个共有峰。结果见图 2 和图 3, 并进行了相似度计算, 相似度结果见表 2, 20 批决明子药材相似度在 0.914~0.989, 均>0.90。由表 2 的相似度结果可知, 不同产地不同基原决明子具有较高的相似度, 说明决明子质量相对稳定, 具有很好的一致性。

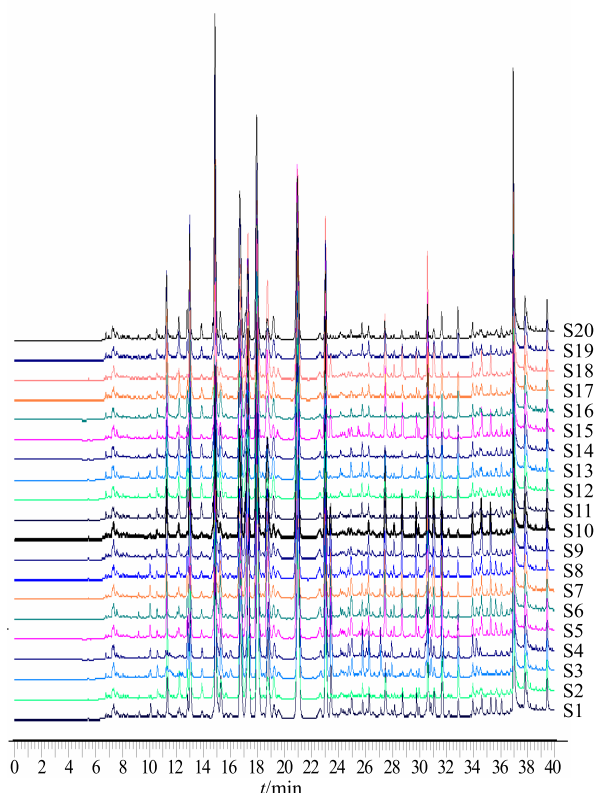
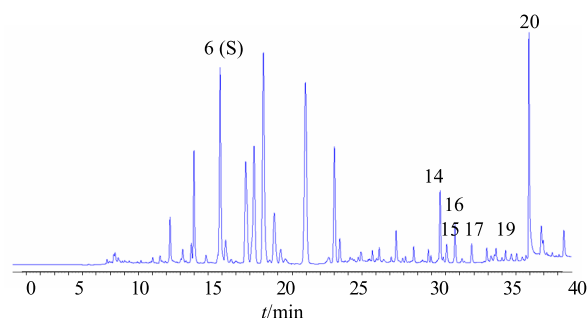


图 2 20 批决明子 UPLC 指纹图谱叠加图

Fig. 2 Overlay chart of UPLC fingerprints for 20 batches of *Cassiae Semen*

2.4.2 共有峰指认及参比峰的选择 通过对照保留时间及样品与对照品相应峰的 DAD 紫外吸收图, 指认其中 7 个共有峰。在 20 批决明子样品图谱中, 由于 6 号峰峰位置处于谱图中间、分离度较好、峰面积较大, 为 20 批药材共有, 且该对照品较为稳定, 故确定 6 号色谱峰 (红链霉素-6-*O*- β -龙胆二糖苷) 为参比峰 (S)。

2.4.3 聚类分析 运用 SPSS 21.0 软件对 20 批决明子样品进行系统聚类, 首先对 20 个共有峰相对于参比峰的峰面积量化, 数据经标准化后采用组间 Ward 联结法, 以欧氏距离 (Euclidean) 平方



6-红链霉素-6-*O*- β -龙胆二糖苷 14-橙黄决明素 15-芦荟大黄素
16-大黄酸 17-黄决明素 19-大黄素 20-大黄酚
6-rubrofusarin-6-*O*- β -gentiobioside 14-aurantio-obtusifolin 15-aloe-emodin
16-rhein 17-chrysoobtusin 19-emodin 20-chrysophanol

图 3 决明子 UPLC 指纹图谱共有模式

Fig. 3 Common pattern of UPLC of *Cassiae Semen*

表 2 相似度结果

Table 2 Similarity results of UPLC fingerprints of *Cassiae Semen*

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.984	S11	0.932
S2	0.954	S12	0.943
S3	0.960	S13	0.982
S4	0.954	S14	0.949
S5	0.985	S15	0.975
S6	0.983	S16	0.948
S7	0.989	S17	0.971
S8	0.969	S18	0.972
S9	0.958	S19	0.976
S10	0.949	S20	0.914

和为测度, 分析结果见图 4, 当欧式距离平方和为 10 时, 结果显示 20 批药材被分为 2 类, 其中包括 I 类 S11、S12、S13、S14、S15、S16、S17、S18、S19、S20。II 类包括 S1、S2、S3、S4、S5、S6、S7、S8、S9、S10。结合相似度分析结果, I 类相似度在 0.914~0.982, 样品来源均为小决明, II 类相似度在 0.949~0.989, 样品来源均为决明, 当欧式距离平方和为 5 时, 结果显示 20 批药材被分为 4 类, I 类中 S11 与其他 9 批分开, II 类中 S1、S2、S3、S4、S5 归为一类, S6、S7、S8、S9、S10 归为一类。

聚类分析结果可以更直观地对不同产地决明或小决明进行归类, 不同样品间欧式距离平方和的大小可以表示样品间的相关性, 距离越大, 相似度差异越大。从图 4 可以看出 I 类小决明样品 S11 与其余各批存在较大的差异, 而该批相似度结果最低, 聚类分析结果与相似度评价结果一致。

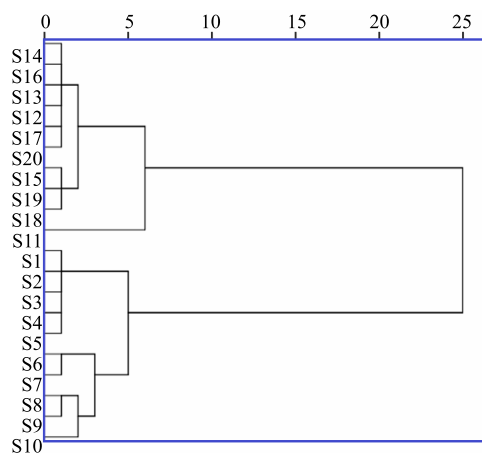


图 4 聚类分析结果

Fig. 4 Results of clustering analysis

2.4.4 主成分分析 (PCA) 运用 SIMCA11.5 软件对 20 个样品的 20 个共有峰进行 PCA, 先对 20 个共有峰相对于参比峰 (6 号峰) 的峰面积量化, 经数据标准化处理后, 以主成分的特征根及贡献率作为选择主成分的依据, 主成分个数的提取原则是取主成分对应的特征值大于 1, 结果提取到的 3 个主成分累计贡献率达到了 86.594%, 基本包含了决明子药材 UPLC 指纹图谱大部分信息。其中第一主成分特征值为 9.216, 方差贡献率为 46.079%, 第二主成分的特征值为 6.598, 方差贡献率为 32.991%, 第三主成分的特征值为 1.505, 方差贡献率为 7.524%。分别以第一、第二、第三主成分为坐标轴建立空间坐标系, 进行投影即可得到所有样品的得分 PCA 三维投影图, 见图 5。

经 PCA 得各样品的得分载荷图, 见图 6, 20 个样品达到了比较理想的区分效果。从图 6 可以看

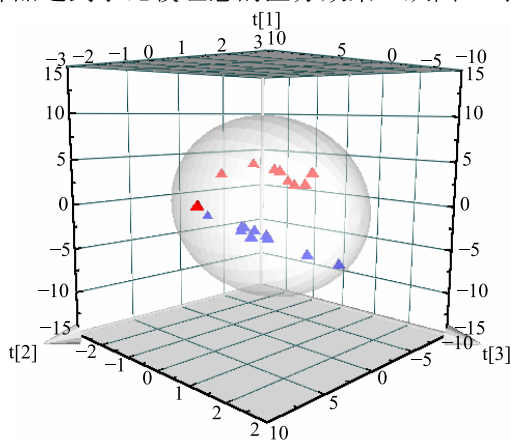


图 5 PCA 三维投影图

Fig. 5 Score scatter 3D plot of PCA

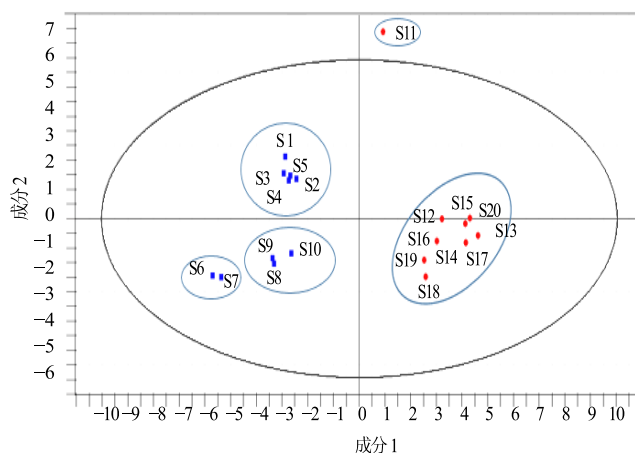


图 6 主成分分析得分载荷图

Fig. 6 Score scatter plot of PCA

出决明样品与小决明样品分为 2 个区域, 10 批决明样品分为 3 个区域, 小决明样品分为 2 个区域。其区分结果与聚类分析结果一致, 由此可以通过此方法来区分不同产地不同基原的决明子药材。为了从 PCA 中获得更多的信息, 对提取其 PCA 模型的载荷因子进行拟合归纳。第一主成分不仅贡献率最大的、信息量最丰富, 也最能代表决明子指纹图谱的信息, 故绘制了第一主成分的载荷因子模型, 如图 7 所示。从图 7 中可以看出第一主成分对决明子指纹图谱贡献较大的峰 1、3、4、6 号等, 其中峰 6 对主成分的贡献率最大, 所有样品与这几个峰均呈正相关性。说明不同产地、不同基原的决明子化学成分差异主要体现在这几个成分的量的不同, 其中峰 6 为红链霉素-6-O-β-龙胆二糖苷, 其他均为大极性未知成分, 还需进行 MS 等手段进一步确认。

3 讨论

3.1 色谱条件的确定和提取方法考察

本实验使用 DAD 检测器在紫外区 190~400 nm 进行了全波长扫描, 供试品在大于 285 nm 处峰 1~10 等大极性成分响应度较低, 小于 285 nm 处则峰 14~20 等小极性成分响应度较低。在 285 nm 处, 色谱图基线噪音较低, 特征峰响应度较高, 各个成分色谱信息较全, 因此选择 285 nm 作为本实验的检测波长, 考察了甲醇-水、乙腈-0.1%磷酸水、乙腈-0.1%甲酸水 3 个流动相系统, 结果发现采用乙腈-0.1%甲酸水流动相系统, 各峰的分离度较好, 基线平稳, 因此最终采用乙腈-0.1%甲酸水流动相系统。本实验还考察 0.25、0.40、0.50 mL/min 3 种体积流量, 结果 0.4 mL/min 相较于 0.25 mL/min 分析时间短,

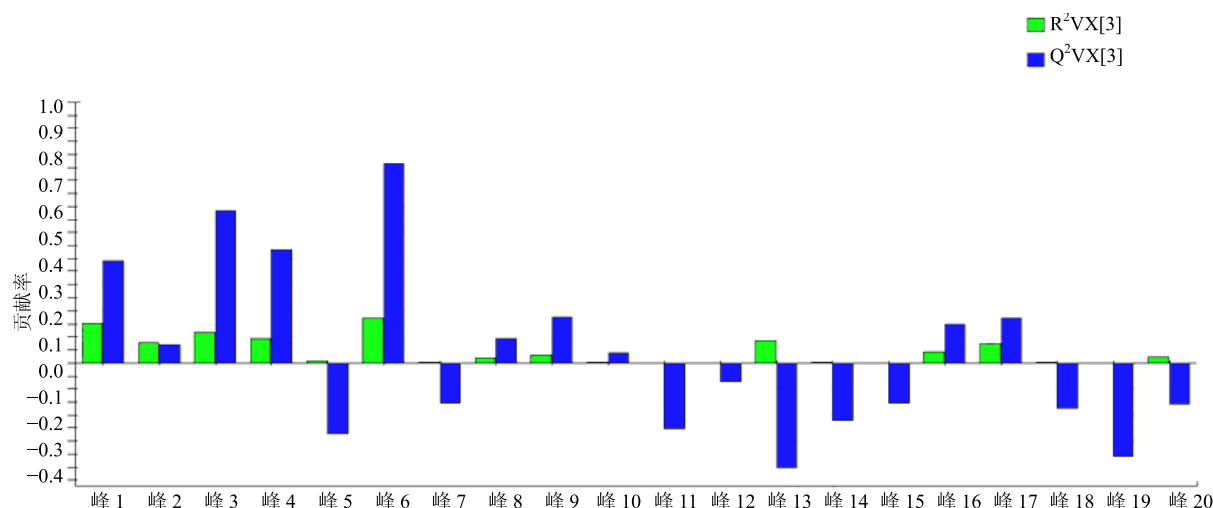


图 7 第 1 主成分载荷因子模型

Fig. 7 Component contribution plot of first principal

较 0.5 mL/min 分离度好, 最终选择 0.4 mL/min 作为体积流量。通过对提取溶媒的种类、提取溶媒的用量、提取时间和提取方法 4 个因素的考察, 结果表明用 50 mL 甲醇回流提取 1 h 的提取效果较好。

3.2 结果分析

从指纹图谱样品测定结果可以得出, 决明与小决明两个基原在色谱图上存在一定的共性差异, 二者所含成分基本一致, 而仅在个别成分的量上存在差异, 主要表现在 3、5、8 号峰, 小决明中 3 号峰与参比峰的相对比值较决明大; 小决明 8 号峰与参比峰的相对比值较决明小; 4 号峰与 5 号峰的相对比值小决明大于决明; 色谱峰在 25 min 后, 决明色谱图较小决明谱图丰富, 各共有峰峰面积更大, 说明决明中小极性的游离蒽醌类成分比小决明量高。因此 25 min 后的色谱峰可作为 2 个品种的指纹识别区, 进而直接从指纹图谱来辨识两者的基原。决明与小决明 2 个品种化学成分基本一致, 而共同成分的相对量则存在差异, 该差异是否对二者的药理作用或药效产生影响, 需要进一步研究。

本实验建立了鉴别评价决明子的 UPLC 指纹图谱方法, 相似度评价分析得到 20 批药材指纹图谱相似度均 > 0.9, 均表现出很高的相似度, 说明药材质量总体较为稳定; 结合保留时间和紫外光谱指认了其中 7 个共有峰, 分别为红链霉素-6-O-β-龙胆二糖苷、橙黄决明素、芦荟大黄素、大黄酸、黄决明素、大黄素、大黄酚, 其中红链霉素-6-O-β-龙胆二糖苷、橙黄决明素为决明子中特有成分; 聚类分析得到样品之间的相关性, 可以按不同的欧式距离平方和将

决明、小决明分类进行分类; 利用 PCA 的方法, 降维得到 3 个主成分, 根据主成分得分将样品进行区域划分, 其结果与聚类分析结果一致, 通过拟合归纳第一主成分的载荷因子模型, 筛选出红链霉素-6-O-β-龙胆二糖苷等具有评价决明子质量优劣的特征峰; 下一步将通过质谱、药效等手段进行研究, 以说明其量的差异对决明子品质的影响。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 魏·吴 普. 神农本草经 [M]. 长春: 时代文艺出版社, 2008.
- [3] 熊 英. 决明子蒽醌苷防治高脂血症实验研究 [J]. 湖北中医杂志, 2015, 37(1): 18-19.
- [4] 陈 琳, 郑艳超, 张振秋. 血脂灵片中决明子生炒互换治疗高脂血症的药效学研究 [J]. 中医临床研究, 2015, 7(20): 8-10.
- [5] 张 喜, 董 慧. 决明子及其主要成分治疗高脂血症的研究进展 [J]. 现代中西医结合杂志, 2014, 23(35): 3972-3974.
- [6] 潘正军, 陆 祈, 潘 丽, 等. 决明子水提液对高血压小鼠血压血脂及肾脏结构的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15): 195-198.
- [7] 韩昌志. 决明子煎剂对家兔和狗睫状肌中乳酸脱氢酶活性的影响 [J]. 同济医科大学学报, 1994, 23(6): 470-472.
- [8] 张立海, 慈 慧. 决明子润肠通便的化学成分及临床应用研究 [J]. 首都医药, 2011, 18(16): 56.
- [9] 孔祥锋, 臧恒昌. 决明子化学成分及药理活性研究进展 [J]. 齐鲁药事, 2013, 32(11): 660-662.
- [10] 王文燕, 赵 强, 张铁军, 等. 决明子的 HPLC 指纹图

- 谱及模式识别研究 [J]. 中草药, 2009, 40(10): 1638-1641.
- [11] 杜 睿, 翁朝泽, 高璐璐, 等. 决明子的 HPLC 指纹图谱及 3 种游离蒽醌含量的同步测定 [J]. 药物生物技术, 2014, (5): 445-448.
- [12] 鄢海燕, 邹纯才, 方洪壮. 决明子生品及炮制品的 HPLC 指纹特征研究 [J]. 中国药房, 2009, 20(3): 204-206.
- [13] 张 萍, 陈建伟. 决明子饮片的 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2007, 38(3): 372-375.
- [14] 胡铁娟, 朱 军, 万 丽. 决明子 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中国中医药科技, 2008, 15(5): 365-367.
- [15] 罗 文, 刘 斌, 王 伟, 等. 决明子药材 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2009, 32(2): 115-117.
- [16] 金高娃, 章飞芳, 薛兴亚, 等. 超高效液相色谱在复杂体系中中药分离分析中的应用 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2006, 8(3): 106-111.
- [17] 张绍山, 刘 璇, 王景富, 等. UPLC 法测定云南省不同地区云南重楼及多芽品系中 7 种甾体皂苷量及其指纹图谱建立 [J]. 中草药, 2016, 47(23): 4257-4263.
- [18] 刘筱筱, 夏忠庭, 何 毅, 等. 远志 UPLC 多指标成分的测定及指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2016, 47(12): 2167-2174.
- [19] 杨燕梅, 马晓辉, 卢有媛, 等. UPLC 法测定 7 种秦艽中 7 种指标成分的量 [J]. 中草药, 2016, 47(11): 1968-1973.