

野生与栽培远志 HPLC 指纹图谱及化学模式识别研究

彭亮, 杨冰月, 张琳, 周可心, 颜永刚, 李依民, 高静, 陈莹, 王薇, 张岗*, 胡本祥*
陕西中医药大学药学院, 陕西 西安 712046

摘要: 目的 建立野生和栽培远志的 HPLC 指纹图谱, 为不同来源远志鉴别和质量评价提供依据。方法 利用 HPLC 法对 20 批不同产地野生与栽培远志进行测定, 采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012A 版) 计算相似度, 运用主成分分析 (PCA) 和最小偏二乘法-判别分析 (PLS-DA) 对其进行模式识别研究。结果 建立了野生与栽培远志 HPLC 指纹图谱共有模式, 标定了 24 个共有峰, 20 批不同产地野生与栽培远志指纹图谱与对照指纹图谱的相似度均 > 0.86。PCA 可较好地将不同来源远志归为 2 类, PLS-DA 则能将野生与栽培远志完全区分开, 远志吡酮 III 和 3,6'-二芥子酰基蔗糖等 12 个成分是导致二者差异的主要标记物。结论 建立的远志指纹图谱特征性强, 结合化学模式识别方法可有效评价远志质量以及区分其野生与栽培品, 为远志的质量控制和化学计量分类学提供参考依据。

关键词: 远志; HPLC; 指纹图谱; 化学模式识别; 远志吡酮 III; 3,6'-二芥子酰基蔗糖; 主成分分析

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)21-4998-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.21.007

HPLC fingerprint analysis and chemistry pattern recognition of wild and cultivated *Polygalae Radix* from different regions

PENG Liang, YANG Bing-yue, ZHANG Lin, ZHOU Ke-xin, YAN Yong-gang, LI Yi-min, GAO Jing, CHEN Ying, WANG Wei, ZHANG Gang, HU Ben-xiang

College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine Xi'an 712046, China

Abstract: Objective To study and establish the HPLC fingerprint of *Polygala tenuifolia* for the identification and quality control of *P. tenuifolia*. **Methods** Twenty batches of wild and cultivated *P. tenuifolia* collected from different regions in China were detected by HPLC. The Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of TCM (2012 A edition) was used to evaluate the similarity of the samples. The differences among the samples were identified by chemical pattern recognition methods including principal component analysis (PCA) and partial least squares discriminate analysis (PLS-DA). **Results** The common model of HPLC fingerprint of wild and cultivated *P. tenuifolia* was obtained, 24 common peaks were found in the chromatograph. The similarities between wild and cultivated *P. tenuifolia* fingerprints and control fingerprints in 20 batches from different regions were over 0.86, PCA results demonstrated obvious distinction between the wild and cultivated *P. tenuifolia*. The wild and cultivated *P. tenuifolia* was completely distinguished by PLS-DA. Twelve constituents, such as polygalactoneone III and 3,6'-disinapoyl sucrose were screened as biomarkers, representing the major differences between the two varieties. **Conclusion** The HPLC fingerprint combined with chemical pattern recognition can be used as an effective method for the quality control and identification of the different sources of *P. tenuifolia*, and provide a reference for the quality control and stoichiometric taxonomy of *P. tenuifolia*.

Key words: *Polygala tenuifolia* Willd.; HPLC; fingerprint; chemical pattern recognition; polygalaxanthone III; 3,6'-disinapoyl sucrose; principal component analysis

远志为远志科远志属多年生草本植物远志 *Polygala tenuifolia* Willd. 或卵叶远志 *Polygala sibirica* L. 的干燥根, 为我国传统大宗中药材之一。其气微, 味苦、微辛, 嚼之有刺喉感, 归心、肾、肺经, 具

有益智安神、祛痰消肿等功效^[1]。远志广泛分布于我国西北、华北和东北地区, 其中以陕西、山西产量较大、质量较好。现代化学成分研究表明, 其主要化学成分为皂苷类、吡酮类和糖酯类成分等^[2];

收稿日期: 2018-06-08

基金项目: 公益性行业 (中医药) 科研专项经费项目 (201507002); 国家大学生创新计划 (201710716011); 陕西省高校青年杰出人才支持计划项目; 咸阳市中青年科技领军人才项目

作者简介: 彭亮 (1985—), 博士, 研究方向为中药资源评价与开发利用、中药材质量控制研究。E-mail: ppengliang@126.com

*通信作者 张岗 (1981—), 教授, 研究方向为中药资源与分子生药学。E-mail: jay_gumling2003@aliyun.com

胡本祥 (1960—), 教授, 研究方向为中药品种、质量及资源开发研究。E-mail: hubenxiang@tom.com

临床上多用于治疗健忘惊悸、失眠多梦、神志恍惚、乳房肿痛等^[3]。资源方面,由于其良好的药理作用,远志药材国内市场需求量和出口量不断增加,野生资源已经无法满足药材需求,人工栽培面积不断扩大,而有关远志野生与栽培品的相关研究报道多为化学成分的含量分析方面^[4]。远志指纹图谱方面,则集中在建立指纹图谱且多为栽培品、市售药材、不同规格等^[5-8],未见野生与栽培远志的指纹图谱结合化学模式识别研究。众所周知,不同产地、不同种质药材质量与其化学组分密切相关。生态环境的改变、规范化种植技术的采用、遗传因素等会导致野生与栽培药材的次生代谢组分出现差异,寻找和探究导致差异的原因及其主要变量,识别野生与栽培药材、道地与非道地药材,进而进行质量评价和控制是中药资源学研究的重要内容之一^[9-10]。

模式识别技术(pattern recognition)是化学计量学的重要组成部分,也是筛选中药质量标志物(Q-markers)的重要数学方法,具有较好的预测精度和广泛的适用性,按照有无训练可划分为无监督的模式识别和有监督的模式识别方法。前者主要包括主成分分析(principal component analysis, PCA)、聚类分析(cluster analysis, CA)等方法;后者主要包括偏最小二乘法-判别分析(partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)、人工神经网络(artificial neural networks, ANNs)、判别分析(discriminant analysis, DA)等方法^[11]。目前,指纹图谱结合模式识别方法已广泛应用于中药材的质量控制、差异标记物筛选和种质鉴别等方面,可有效对中药材复杂的次生代谢产物信息进行综合评价,在夏枯草^[12]等多种中药材上取得了较好的研究成果。本项目通过 HPLC 建立不同来源栽培及野生种远志的指纹图谱,采用 PCA 和 PLS-DA 等模式识别技术分析栽培及野生远志药材的化学组分特征及识别归类,筛选导致样品间差异的主要标记物,可为远志的质量评价和化学计量分类学提供参考依据。

1 仪器与材料

电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司); Waterse-2695 高效液相色谱仪; 色谱柱 Agilent 5TC-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); Waters 2998 PDA Detector 检测器; KQ-200DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); XS-02 型多功能高速粉碎机(上海兆申科技有限公司);

Waters-Certified 液相小瓶; SHZ-D (III) 循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司); FA2104 型十万分之一电子分析天平(上海民桥精密科学仪器有限公司)。对照品远志吡啶 III (批号 201504, 质量分数≥95.5%), 3,6'-二芥子酰基蔗糖(批号 201504, 质量分数≥98%) 购于中国食品药品检定研究院; 色谱级乙腈、甲醇、磷酸(赛默飞世尔科技有限公司); 纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司); 其他试剂均为分析纯(天津市天力化学试剂有限公司)。远志栽培品及野生品来源见表 1, 由陕西中医药大学中药鉴定教研室胡本祥教授鉴定为远志科植物远志 *Polygonatum tenuifolium* Willd. 的干燥根, 标本凭证(PZ201701-201710, PU201601-10) 保存于陕西中医药大学生药实验中心。

表 1 远志样品信息

Table 1 Sample information of *Polygonatum Radix*

编号	名称	来源	收集时间
S1	远志(栽培)	山西闻喜	2017-09
S2	远志(栽培)	陕西西安	2017-09
S3	远志(栽培)	陕西咸阳	2017-10
S4	远志(栽培)	陕西咸阳	2017-10
S5	远志(栽培)	陕西榆林	2017-10
S6	远志(栽培)	甘肃庆阳	2017-10
S7	远志(栽培)	河南洛阳	2017-10
S8	远志(栽培)	河南郑州	2017-10
S9	远志(栽培)	江苏南通	2017-10
S10	远志(栽培)	山东聊城	2017-10
S11	远志(野生)	山西太原	2016-08
S12	远志(野生)	山西新绛	2016-08
S13	远志(野生)	陕西渭南	2016-08
S14	远志(野生)	陕西榆林	2016-08
S15	远志(野生)	安徽亳州	2016-08
S16	远志(野生)	山西闻喜	2016-08
S17	远志(野生)	陕西西安	2016-08
S18	远志(野生)	陕西咸阳	2016-08
S19	远志(野生)	陕西咸阳	2017-10
S20	远志(野生)	陕西榆林	2017-10

2 方法

2.1 供试品溶液的制备

从不同产地内部随机抽取 5 个单株根样品, 于 60 °C 下干燥, 粉碎, 过 60 目筛, 以保证样品的代表性。分别取各远志药材粉末约 0.1 g, 精密称定,

精密加入 70% 甲醇 10 mL, 超声 45 min (功率 250 W, 频率 40 kHz), 取出, 放冷后, 用 70% 甲醇补足减失质量, 滤过, 重复 2 次, 合并滤液, 0.22 μm 微孔滤膜滤过后, 取续滤液进行 HPLC 分析。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取 5.0 mg 远志吡啶 III 和 1.5 mg 3,6'-二芥子酰基蔗糖, 加纯甲醇定容至 10 mL, 配制远志吡啶 III、3,6'-二芥子酰基蔗糖质量浓度为 0.50 mg/mL 和 0.15 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.3 色谱条件

色谱柱: Agilent 5 TC-C₁₈ (2) (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 316 nm; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样体积 10 μL ; 流动相为乙腈 (A)-0.05% 磷酸水 (B), 梯度洗脱系统 (0~10 min, 10%~20% A; 10~15 min, 20%~21% A; 15~20 min, 21%~23% A; 20~30 min, 23%~26% A; 30~40 min, 26%~38% A; 40~50 min, 38%~40% A; 50~70 min, 40%~42% A)。

2.4 方法学考察

2.4.1 空白实验 精密吸取甲醇溶液 10 μL 作为空白溶液, 注入高效液相色谱仪, 按“2.3”项下色谱条件进行测定。结果表明空白溶液对测定结果无干扰。

2.4.2 精密度试验 精密吸取同一供试品 (S3) 溶液 10 μL , 按“2.3”项下色谱条件连续进样 6 次, 检测指纹图谱, 获得远志吡啶 III 和 3,6'-二芥子酰基蔗糖色谱峰的保留时间和峰面积, 计算 RSD 分别为 1.65%、0.98% 和 1.42%、0.69%。

2.4.3 稳定性试验 取同一供试品 (S3) 溶液 10 μL , 分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样, 按“2.3”项下色谱条件检测指纹图谱, 获得远志吡啶 III 和

3,6'-二芥子酰基蔗糖色谱峰的保留时间和峰面积, 计算 RSD 分别为 1.55%、1.02% 和 0.96%、1.12%, 符合指纹图谱要求, 说明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.4 重复性试验 精密称取同一样品 (S3) 6 份, 按“2.1”项下方法制备成供试品溶液, “2.3”项下色谱条件检测, 获得远志吡啶 III 和 3,6'-二芥子酰基蔗糖色谱峰的保留时间和峰面积, 计算 RSD 分别为 1.74%、1.18% 和 1.01%、0.66%。

2.5 模式识别分析

采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 A) 分析远志 HPLC 指纹图谱数据, 确定共有峰, 生成对照图谱并进行相似度计算。以相对共有峰峰面积为变量, 将数据导入 SIMCA-P13.0 软件进行 PCA、PLS-DA 和变量投影重要性 (variable importance plot, VIP) 分析, 研究野生与栽培远志的差异性, 筛选导致样品间差异的化学成分。

3 结果与分析

3.1 指纹图谱的构建及共有峰的确定

取 20 批不同来源远志样品, 按“2.1”项下方法制备各供试品溶液, 按“2.3”项下色谱条件进样, 进行 HPLC 测定与分析, 记录色谱图, 导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 A), 设置 S1 分析得到的图谱为参照指纹图谱, 叠加图及对照指纹图谱见图 1、2。

20 批不同来源远志共得到 24 个共有峰, 并指认了其中的 2 个共有峰, 分别为远志吡啶 III (峰 5) 和 3,6'-二芥子酰基蔗糖 (峰 7)。以分离度良好、含量较高的化合物 3,6'-二芥子酰基蔗糖为参照峰 (7 号峰), 计算相对保留时间及相对峰面积。

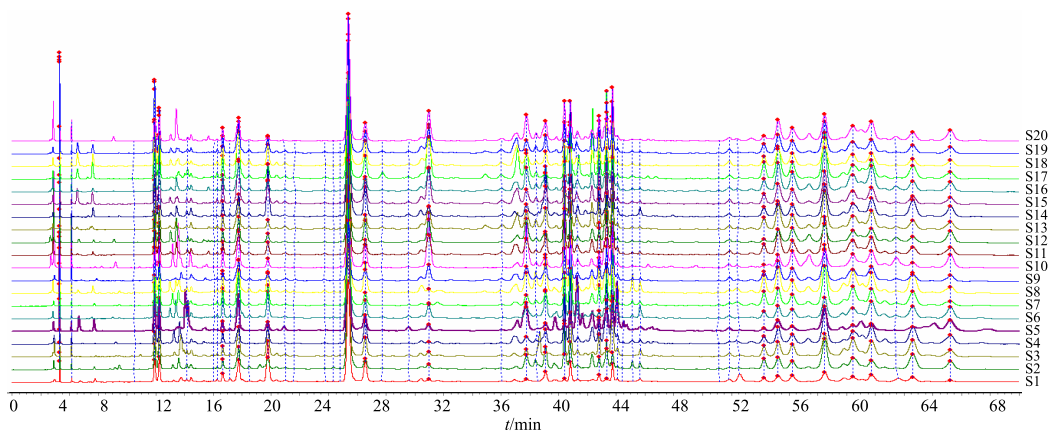
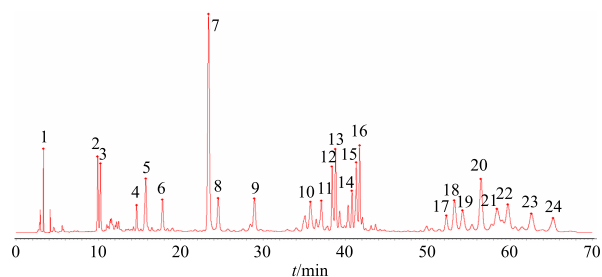


图 1 20 批远志样品的指纹图谱叠加图

Fig. 1 Fingerprint overlay of 20 batches of *Polygalae Radix*



5-远志吡喃 III 7-3,6'-二芥子酰基蔗糖
5-polygalaxanthone III 7-3,6'-disinapoyl sucrose

图 2 远志对照指纹图谱

Fig. 2 Control fingerprint of *Polygalae Radix*

3.2 不同来源远志指纹图谱相似度分析

采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2012A 版”，以远志的共有模式图作为参照，计算相似度，结果见表 2。结合图 1 可知，不同来源野生与栽培远志具有较高的相似度，其值均在 0.86 以上，表明野生与栽培远志整体化学组分相似，但化学成分含量存在一定差异，相似度最低的为来自山西的野生远志 S17 (0.869)。

表 2 不同来源远志 HPLC 指纹图谱相似度评价

Table 2 Similarity evaluation of HPLC chromatogram of 20 batches of *P. tenuifolia* samples

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.887	S11	0.965
S2	0.951	S12	0.955
S3	0.887	S13	0.922
S4	0.928	S14	0.914
S5	0.890	S15	0.972
S6	0.941	S16	0.931
S7	0.935	S17	0.869
S8	0.957	S18	0.968
S9	0.904	S19	0.975
S10	0.912	S20	0.962

3.3 化学模式识别研究

3.3.1 无监督模式识别 将 20 批远志样品中 24 个共有峰的峰面积相对于参照峰 (7 号峰) 的峰面积量化为变量，得到 20 × 24 阶数据矩阵。采用 SIMCA-P13.0 统计软件对收集的 20 批野生及栽培远志样品进行 PCA，前 3 个主成分的特征值均大于 1，累积贡献率达到 83.26%，说明前 3 个因子在反映产地与 24 个共有成分的相互关系中起主导作用，能够揭示样品中大多数的变异信息 (表 3)。其中，

表 3 主成分载荷表

Table 3 Loadings in three principal components

峰号	PC1	PC2	PC3
1	0.493	-0.091	-0.620
2	0.751	0.030	-0.540
3	0.325	0.655	0.076
4	0.658	0.136	0.696
5	0.747	0.339	-0.274
6	-0.073	0.843	-0.095
7	0.084	0.564	0.494
8	0.486	0.229	0.024
9	0.403	-0.669	-0.123
10	0.196	-0.668	0.303
11	0.319	0.552	0.532
12	0.392	-0.164	0.619
13	0.389	0.537	0.503
14	0.825	-0.189	-0.344
15	0.607	-0.491	0.279
16	0.294	-0.128	0.376
17	0.797	0.247	-0.155
18	0.867	-0.222	-0.165
19	0.648	-0.530	0.160
20	0.843	-0.023	-0.004
21	0.729	-0.075	0.367
22	-0.136	-0.609	0.543
23	0.463	0.625	0.311
24	0.068	-0.268	0.649
特征值	7.180	4.069	1.048
贡献率/%	49.460	20.710	13.090
累积贡献率/%	49.460	70.170	83.260

第 1 主成分 (PC1) 独立贡献率为 49.46%，主要反映为来自峰 18 (0.867)、20 (0.843)、14 (0.825)、17 (0.797)、2 (0.751)、5 (0.747) 和 21 (0.729) 的信息；第 2 主成分 (PC2) 独立贡献率为 20.71%，主要反映的是来自峰 6 (0.843)、3 (0.655)、23 (0.625)、9 (-0.669)、10 (-0.668) 和 22 (-0.609) 的信息；第 3 主成分 (PC3) 独立贡献率为 13.09%，主要反映的是来自峰 4 (0.696)、24 (0.649) 和 12 (0.619) 的信息。上述结果表明，通过 PCA 分析降维处理后所提取的主成分能够代表远志指纹图谱中 24 个共有峰的要信息。

根据 20 批远志材料 24 个共有峰的 PCA 结果，提取前 2 个主成分作得分图，见图 3。由图 3 表明，

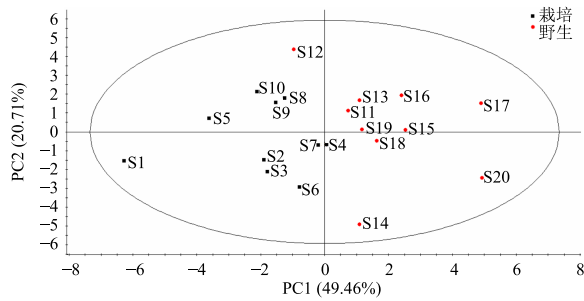


图 3 PCA 得分图

Fig. 3 Score plot of PCA

栽培和野生远志沿着 PC1 轴方向具有较好的分离趋势,栽培品位于得分图的左边,野生品位于得分图的右边,但野生品的 S12 号样品和栽培品的 S4 号样品没有按照各自来源进行归类。为了更好地考察化学模式识别方法可否完全将不同来源野生及栽培远志区分开来,进一步采用 PLS-DA 法对样品进行分析。

3.3.2 有监督模式识别 PLS-DA 是基于偏最小二乘法 (PLS) 上的一种监督模式识别方法。其主要原理是先利用 PLS 提取样本的主成分,然后将主成分作为新变量建立训练样本自变量和分类变量之间的回归模型,进行判别分析。结果表明 (图 4), PLS-DA 模型有效可用,模型中 2 组不同来源样品聚类良好,区分明显,栽培远志位于得分图的右侧,野生远志位于得分图的左侧,证实野生远志与栽培远志在化学成分上存在一定差异,且有趋势性;模型的主成分回归系数 $Q^2_Y = 0.522 0 > 0.5$,说明模型的预测能力较强,反映两组样本具明确分离的趋势; $R^2_Y = 0.773 0$,说明模型对因变量变异贡献的百分比为 77.30%,即自变量 (共有峰) 的变化能够解释导致 77.30% 不同分类 (因变量) 发生,模型的拟合度较好。

提取 PLS-DA 模型中 24 个变量的 VIP 值图 (图 5),对 24 个共有峰峰面积 VIP 值大小进行排列,选择

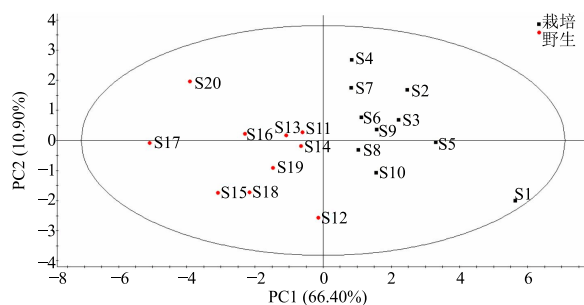


图 4 PLS-DA 得分图

Fig. 4 Score plot of PLS-DA

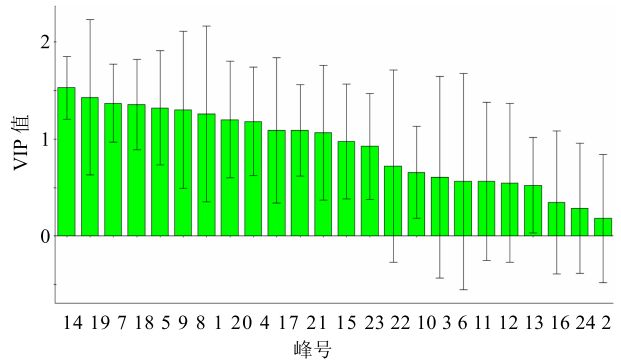


图 5 差异标志物的 VIP ($\bar{x} \pm s, n = 24$)

Fig. 5 VIP of PLS-DA ($\bar{x} \pm s, n = 24$)

VIP 值大于 1 的共有峰,结果显示 14 号峰 (VIP 值 1.475 8)、19 号峰 (VIP 值 1.379 1)、7 号峰 (VIP 值 1.340 3)、9 号峰 (VIP 值 1.308 4)、18 号峰 (VIP 值 1.307 5)、5 号峰 (VIP 值 1.288 5)、8 号峰 (VIP 值 1.213 5)、1 号峰 (VIP 值 1.183 9)、20 号峰 (VIP 值 1.171 9)、4 号峰 (VIP 值 1.124 1)、17 号峰 (VIP 值 1.077 3) 和 21 号峰 (VIP 值 1.036 5) 均大于 1,说明以上化学成分对野生和栽培远志样品分类有显著影响,这些成分是引起野生与栽培远志成分差异的主要标志性成分,并指出其中 2 个成分:远志吡酮 III (5 号峰) 和 3,6'-二芥子酰基蔗糖 (7 号峰)。其余色谱峰 VIP 值小于 1,对样品的区分影响较小。

4 讨论

4.1 提取方法和色谱条件的考察

本实验对提取溶剂、提取方法、提取次数和提取时间进行了考察,发现以 70% 甲醇超声提取 45 min,提取 2 次时提取率佳、杂质干扰少。

同时,考察了不同流动相甲醇-0.05% 甲酸水溶液、甲醇-0.05% 磷酸水溶液、乙腈-0.05% 甲酸水溶液、乙腈-0.05% 磷酸水溶液、乙腈-0.1% 磷酸水溶液,结果表明以乙腈-0.05% 磷酸水为流动相,色谱峰的对称性、分离度最好。在上述实验条件下,进一步对远志 HPLC 指纹图谱开展全波长扫描,比较了检测波长在不同波段的色谱图,得到 316 nm 波长下的 HPLC 指纹图谱色谱峰丰富、峰形好、特征性强。

最终确定样品以 70% 甲醇超声提取 45 min,提取 2 次;色谱条件以色谱柱 Agilent 5 TC-C₁₈ (2),流动相乙腈-0.05% 磷酸水梯度洗脱,检测波长 316 nm,体积流量 1.0 mL/min,柱温 30 °C 为远志 HPLC 指纹图谱的最佳条件。

4.2 指纹图谱建立与相似度分析

本实验通过 20 批样品建立了不同产地野生与栽培远志的 HPLC 指纹图谱, 该方法稳定、简便、可靠。20 批远志共得到 24 个共有峰, 能较为全面地反映该药材的化学特征。以远志的共有模式图为参照, 计算相似度, 结果显示不同来源栽培及野生远志具有较高的相似度, 20 批样品的相似度在 0.869~0.975, 可知远志化学成分整体特征相似度高, 药材质量相对稳定, 有较好的一致性, 但相对峰面积的 RSD 值较大, 说明化学成分的量有所不同。

4.3 化学模式识别研究

化学模式识别方法已被广泛应用于中药的分析中, 在处理中药色谱指纹图谱、近红外指纹图谱等获得的数据中取得了一系列研究成果, 能够较好地地区分甘草^[13]、穿龙薯蓣^[14]和山楂叶^[15]等的栽培与野生品种。基于此, 本实验通过模式识别分析, 以分离度良好、含量较高的化合物 3,6'-二芥子酰基蔗糖为参照峰(7 号峰), 获得的相对峰面积为数据矩阵, 建立了栽培与野生远志的 PCA、PLS-DA 分类模型。综合评价结果显示, PCA 可较好地将远志栽培品和野生品区分, PLS-DA 能完全将远志栽培品和野生品区分, 说明远志在人工种植过程中因为人为控制、栽培管理等方式导致某些化学成分含量发生了变化, 从而导致远志栽培品与野生品出现差异, 进一步通过标记物的筛选可知, 将栽培和野生远志区分开来的主要差异性物质有 12 个。同时, 远志栽培品与野生品各自内部中的样品也出现一定程度的分离, 表明不同产地远志的野生种质、人工种植过程以及产地的地理、气候、土壤等因素会在远志积累次生代谢产物的过程中产生影响, 从而导致呈现出差异性。

本实验建立的远志指纹图谱稳定可靠、简便快速, 可较为全面地反映远志中化学成分信息。化学模式识别方法可作为指纹图谱相似度评价的有利补充, 基于指纹图谱共有峰相对峰面积构建的 PCA、PLS-DA 分类模型直观、合理, 能够区分野生与栽培远志。将指纹图谱和化学模式识别结合起来为不同来源远志的相似度和识别比较提供了一种较好的模式, 是进行远志质量控制的有效手段, 有利于远志的质量评价和临床用药。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 刘艳芳, 姜勇, 屠鹏飞. 不同来源远志药材有效成分的定量分析 [J]. 中国药理学杂志, 2011, 46(24): 1879-1883.
- [3] Wang C C, Yen J H, Cheng Y C, et al. *Polygala tenuifolia* extract inhibits lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes and high-fat diet-induced obese mouse model and affects hepatic transcriptome and gut microbiota profiles [J]. *Food Nutr Res*, 2017, 61(1): 1-17.
- [4] Xu R, Mao F, Zhao Y, et al. UPLC Quantitative analysis of multi-components by single marker and quality evaluation of *Polygala tenuifolia* Wild. extracts. [J]. *Molecules*, 2017, 22(12): 2276-2293.
- [5] 王丹丹, 闫艳, 张福生, 等. 远志药材 UPLC 指纹图谱及多指标性成分测定方法的建立 [J]. 中草药, 2018, 49(5): 1150-1159.
- [6] 王海波, 刘勇, 邸学, 等. 远志 HPLC 多指标指纹图谱研究 [J]. 中药材, 2018, 49(2): 391-393.
- [7] 王晶, 彭亮, 王媛媛, 等. 基于 HPLC-PDA 检测系统的远志指纹图谱分析与研究 [J]. 中南药学, 2017, 15(5): 561-566.
- [8] 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.
- [9] Ke J, Qu Y, Li S, et al. Application of HPLC fingerprint based on acid amide components in Chinese pricklyash (*Zanthoxylum*) [J]. *Ind Crops Prod*, 2018, 119(1): 267-276.
- [10] 王丹, 张秋燕, 杨兴鑫, 等. 基于 HPLC 指纹图谱的黄芩道地药材与非道地药材的鉴别研究 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(12): 1951-1960.
- [11] 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.
- [12] 皮胜玲, 胡玉珍, 彭曦, 等. 野生与栽培夏枯草 HPLC 指纹图谱研究及模式识别分析 [J]. 中国药理学杂志, 2017, 52(5): 367-371.
- [13] 尹海波, 康廷国, 张囡, 等. 穿龙薯蓣 HPLC 指纹图谱及模式识别 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(22): 145-148.
- [14] 杨天鸣, 张璐, 付海燕, 等. 不同产地甘草的近红外指纹图谱模式识别鉴别方法 [J]. 亚太传统医药, 2015, 11(14): 11-14.
- [15] 胡玉珍, 周亚敏, 熊苏慧, 等. UPLC 结合化学计量学方法的野生与市售山楂叶指纹图谱研究 [J]. 中药材, 2017, 40(6): 1355-1359.