

HPLC 指纹图谱结合化学计量学的不同产地灯盏花药材和近缘种样品的质量评价

肖琳婧^{1,2}, 刘莹莹^{1,2}, 赵禹¹, 李国栋^{1*}, 钱子刚^{1*}

1. 云南中医药大学中药学院, 云南 昆明 650500

2. 云南省食品药品监督检验研究院, 云南 昆明 650106

摘要: 目的 建立灯盏花药材 HPLC 指纹图谱, 为科学评价及有效控制其质量提供依据。方法 采用 Zorbax SB-C₁₈ 柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 以甲醇 (A)-0.1% 磷酸水溶液 (B) 为流动相进行梯度洗脱, 体积流量为 1 mL/min, 检测波长 335 nm, 柱温 30 °C, 对 19 批灯盏花药材和 3 批近缘种进行检测。通过相似度评价, 结合聚类分析 (HCA) 和主成分分析 (PCA), 对不同产地的灯盏花药材及近缘种进行质量评价。结果 通过建立灯盏花药材 HPLC 指纹图谱的共有模式, 确定了 11 个色谱峰作为指纹图谱的共有峰, 并根据对照品指认了 5 个共有峰, 19 批灯盏花药材的相似度为 0.873~0.978, 3 批近缘种中一年蓬和多舌飞蓬的相似度较高; HCA 和 PCA 均可将 19 批灯盏花药材分为 3 类, 且分类结果一致。PCA 将 19 批灯盏花药材和近缘种中相似度结果较高的一年蓬和多舌飞蓬进行综合评价, 综合得分结果显示其中澄江梁王山野生的灯盏花药材质量最优, 多舌飞蓬质量尚可, 多舌飞蓬有代替灯盏花药材的可能性。结论 灯盏花的 HPLC 指纹图谱的构建和化学模式识别可为药材质量控制提供全面的参考。

关键词: 灯盏花; 近缘种; HPLC; 指纹图谱; 相似度分析; 化学计量学; 质量评价

中图分类号: R282.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2019)14-3438-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.14.026

Quality evaluation of *Erigeron breviscapus* from different origins and its related species by HPLC coupled with chemometrics

XIAO Lin-jing^{1,2}, LIU Ying-ying^{1,2}, ZHAO Yu¹, LI Guo-dong¹, QIAN Zi-gang¹

1. Faculty of Traditional Chinese Pharmacy, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China

2. Yunnan Institute for Food and Drug, Kunming 650106, China

Abstract: Objective To establish the HPLC fingerprint for effective quality control and scientific evaluation of *Erigeron breviscapus*.

Methods Separation was performed on a Zorbax SB-C₁₈ column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) and the mobile phase was methanol-0.1% phosphoric acid with gradient elution. The flow rate at 1 mL/min, the column temperature at 30 °C, and the detection wavelength at 335 nm. A total of 19 batches of *E. breviscapus* and its related species were analyzed. Similarity evaluation combined with hierarchical clustering analysis (HCA) and principal components analysis (PCA) were used to evaluate the quality of herbs from different batches.

Results The HPLC fingerprint of *E. breviscapus* was established with 11 common peaks, and five peaks were identified. Similarities of the 19 batches of samples were 0.873—0.978. Two batches of samples from its related species were high similarity. These 19 batches of samples could be classified into three clusters. The PCA result was consistent with HCA. The comprehensive score of S5 was the highest and the quality was the best. There was possibility for using *E. multiradiatus* as herbs instead of *E. breviscapus*. **Conclusion** The establishment of HPLC fingerprint and the recognition of chemical pattern can provide a more comprehensive reference for the quality control of herbs.

Key words: *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand. -Mazz.; related species; HPLC; fingerprint; similarity evaluation; chemometrics; quality evaluation

收稿日期: 2019-02-06

基金项目: 云南省重大科技专项 (2017ZF002-1); 云南省科学技术厅-云南中医学院应用基础研究联合专项 [2018FF001(-039)]; 云南省傣医药与彝医药重点实验室 (筹备) 自由探索课题 (2017DG-Z3)

作者简介: 肖琳婧 (1987—), 硕士, 主要从事中药质量标准研究。Tel: 13888014635 E-mail: xiaolinjing1@126.com

*通信作者 李国栋, 副教授, 硕士生导师, 主要从事分子药理学研究。E-mail: gammar116@163.com

钱子刚, 教授, 博士生导师, 主要从事中药资源学研究。E-mail: qianzig@aliyun.com

灯盏花 *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand. -Mazz. 又名灯盏细辛或短葶飞蓬, 为菊科飞蓬属多年生草本植物, 产于湖南、广西、贵州、四川、云南及西藏等省区。常见于海拔 1 200~3 500 m 的中山和亚高山开旷山坡, 草地或林缘^[1]。味辛、微苦, 温, 归心、肝经。具有活血通络止痛、祛风散寒之功效, 用于脑卒中、偏瘫、胸痹心痛、风湿痹痛、头痛、牙痛^[2]。灯盏花的主要化学成分灯盏花乙素属于黄酮类化合物, 是治疗闭塞性脑血管疾病和脑溢血后遗症的天然特效药物^[3]。灯盏花种的酚酸类化合物具有扩张血管、抑制血栓的作用^[4]。目前对于灯盏花药材的质量评价《中国药典》2015 年版^[2]仅测定灯盏花乙素的含量, 然而灯盏花药材的药理作用是多种不同类型的化学成分综合作用的结果, 中药成分复杂多样, 仅靠个别指标来判断药材的整体质量过于局限。中药指纹图谱具有整体性、系统性和模糊性的显著特点, 已成为国际公认的控制天然药物、中成药质量的最有效的方法。中药化学模式识别则是模糊数学概念渗透到药学领域的重要突破, 解决了中药质量多维信息的综合分析问题, 可实现对中药质量的整体控制^[5]。

本实验共收集了 19 批不同产地的灯盏花药材和 3 批近缘种, 在资源收集过程中兼顾了野生资源、传统产区和基地样品。采用了 HPLC 建立了 22 批样品的指纹图谱, 通过与对照品对比, 指认了其中的 5 个共有峰, 运用中药指纹图谱相似度评价系统, 对 22 批样品的相似度进行评价; 运用化学计量学的方法对 19 批灯盏花药材共有峰进行聚类分析 (HCA) 和主成分分析 (PCA), 发现与药材品质评价有密切关系的检测指标, 最后对 21 批样品进行质量综合评价, 为灯盏花野生种质资源的选育和近缘种替代可能性提供科学的依据。

1 仪器和材料

1.1 仪器

岛津 LC-20A 高效液相色谱仪 (岛津公司, 日本); Sartorius CPA225D 电子天平 (赛多利斯公司, 德国); FW80 高速万能粉碎机 (天津泰斯特公司); UEZOSFD 超声波清洗器 (40 kHz、250 W, Fungilab 公司)。

1.2 试药

对照品绿原酸 (批号 110753-201706)、野黄芩苷 (批号 110842-201709)、3,5-二咖啡酰基奎宁酸 (批号 111782-201706)、4,5-二咖啡酰基奎宁酸 (批

号 111894-201102) 购自中国食品药品检定研究院, 质量分数大于 98%; 对照品芹菜素 (批号 PRF9020241) 购自成都普瑞法科技开发有限公司, 质量分数大于 98%; 甲醇为色谱纯 (Merk 公司); 其余试剂均为分析纯, 水为超纯水。

1.3 材料

19 批灯盏花药材和 3 批近缘种均收集于云南省和四川省, 经云南中医学院中药学院药植资源教研室李国栋副教授鉴定为灯盏花 *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand. -Mazz. 展苞飞蓬 *Erigeron patentisquamus* J. F. Jeffr.、多舌飞蓬 *Erigeron multiradiatus* (Lindl.) Benth.、一年蓬 *Erigeron annuus* (L.) Pers., 见表 1。

表 1 样品信息

Table 1 Information of sample batches

编号	基原	品种	海拔/m	产地
S1	短葶飞蓬	基地种植品	1 846	云南曲靖陆良县
S2	短葶飞蓬	基地种植品	2 004	云南大理弥渡县
S3	短葶飞蓬	野生品	1 983	云南大理云龙县
S4	短葶飞蓬	野生品	2 583	云南大理剑川县
S5	短葶飞蓬	野生品	2 777	云南玉溪澄江县梁王山
S6	短葶飞蓬	野生品	2 709	云南大理大理市
S7	短葶飞蓬	野生品	2 166	云南曲靖会泽县
S8	短葶飞蓬	基地种植品	1 968	云南红河弥勒县
S9	短葶飞蓬	野生品	2 410	云南昆明嵩明县
S10	短葶飞蓬	基地种植品	1 846	云南红河泸西县
S11	短葶飞蓬	野生品	3 337	云南香格里拉市
S12	短葶飞蓬	野生品	2 910	云南怒江兰坪县
S13	短葶飞蓬	野生品	3 234	云南香格里拉市
S14	短葶飞蓬	野生品	2 354	云南香格里拉市
S15	短葶飞蓬	基地种植品	1 971	云南曲靖宣威县
S16	短葶飞蓬	野生品	1 496	云南玉溪新平县
S17	短葶飞蓬	野生品	2 746	云南丽江玉龙县
S18	短葶飞蓬	野生品	3 358	云南香格里拉市
S19	短葶飞蓬	野生品	1 979	云南大理南涧县
S20	展苞飞蓬	野生品	2 583	云南大理剑川县
S21	多舌飞蓬	野生品	3 715	四川阿坝马尔康县
S22	一年蓬	野生品	2 182	云南红河个旧县

2 方法和结果

2.1 对照品溶液的制备

分别精密称取各对照品适量, 置量瓶中, 加甲醇适量, 超声使溶解, 放冷, 加甲醇定容至刻度,

制得质量浓度分别为 20~28 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液, 即得。

2.2 供试品溶液的制备

分别取 22 批药材粉末(过 3 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, 密塞, 称定质量, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz) 20 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 色谱条件

Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)。流动相为甲醇(A)-0.1%磷酸水溶液(B), 梯度洗脱: 0~10 min, 13%~23% A; 10~85 min, 23%~38% A; 85~95 min, 38%~53% A; 95~105 min, 53%~70% A; 体积流量为 1 mL/min; 检测波长 335 nm; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样量 5 μL 。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 取灯盏花药材(S1)制备成供试品溶液, 按“2.3”项下的色谱条件, 连续进样 6 次, 记录色谱峰。以灯盏花乙素色谱峰(5 号峰)为参照峰, 结果表明, 各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 0.64%, 相对峰面积的 RSD 均小于 1.85%, 说明该方法精密度良好。

2.4.2 重复性试验 取灯盏花药材(S1)的粉末 6 份, 按“2.2”项下的方法制备供试品溶液, 按“2.3”项下的色谱条件, 记录色谱峰。以灯盏花乙素色谱峰(5 号峰)为参照峰, 结果显示, 各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 1.43%, 相对峰面积的 RSD 均小于 1.98%, 表明该方法重复性良好。

2.4.3 稳定性试验 取灯盏花药材(S1)制备成供试品溶液, 按“2.3”项下的色谱条件, 分别在 0、4、8、12、16、24 h 进样, 记录色谱峰。以灯盏花乙素色谱峰(5 号峰)为参照峰, 结果表明, 各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 0.78%, 相对峰面积的 RSD 均小于 1.37%, 说明样品稳定性良好。

2.5 指纹图谱的建立及相似度评价

对 22 批样品进行测定, 记录色谱图, 并利用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012A), 对 19 批灯盏花药材及 3 批近缘种样品的图谱数据进行分析, 以 S4 药材图谱作为参照图谱, 采用多点校正后进行自动匹配, 确定了 11 个共有峰结果见图 1 和 2。通过与对照品比对, 指认了其中的 5 个色谱峰, 其中 2、5、6、9、11 号峰分别为绿原酸、灯盏花乙素、3,5-二咖啡酰基奎宁酸、4,5-二咖啡酰基奎

宁酸、芹菜素。19 批灯盏花药材及 3 批近缘种样品的相似度评价结果见表 2。

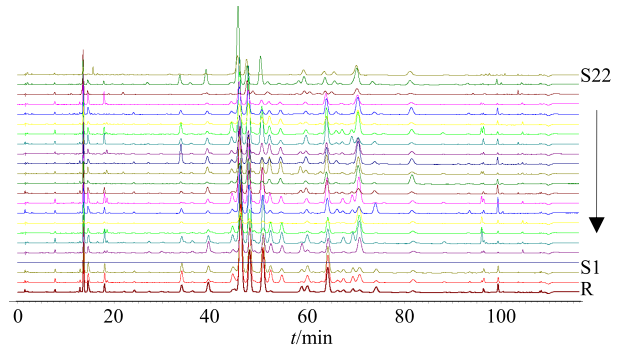
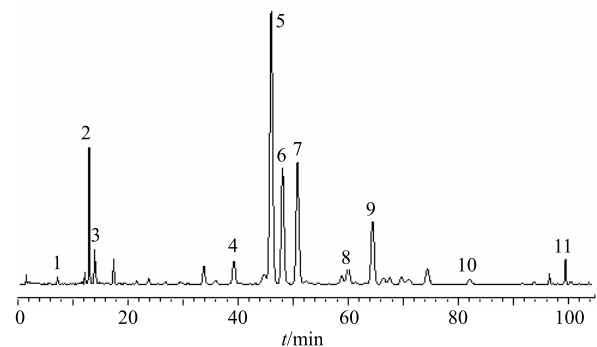


图 1 22 批样品 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of 22 batches of samples



2-绿原酸 5-灯盏花乙素 6-3,5-二咖啡酰基奎宁酸 9-4,5-二咖啡酰基奎宁酸 11-芹菜素

2-chlorogenic acid 5-lamp saponin 6-3,5-dicaffeoylquinic acid 9-4,5-dicaffeoylquinic acid 11-apigenin

图 2 灯盏花药材对照指纹图谱

Fig. 2 HPLC fingerprint of *E. breviscapus*

表 2 22 批样品相似度分析结果

Table 2 Similarity of 22 batches of samples

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.955	S12	0.976
S2	0.963	S13	0.940
S3	0.950	S14	0.978
S4	0.976	S15	0.955
S5	0.928	S16	0.963
S6	0.921	S17	0.958
S7	0.918	S18	0.920
S8	0.965	S19	0.954
S9	0.964	S20	0.578
S10	0.945	S21	0.920
S11	0.873	S22	0.898

2.6 化学计量学分析

2.6.1 HCA HCA 法是以“物以类聚”为原则来研究事物分类的一种多元统计分析的方法^[6]。研究者多通过 HCA 法将不同产地、品质较接近的药材进行聚类,从而直观地表现药材的亲缘关系^[7]。将不同产地的 19 批灯盏花药材指纹图谱数据中的 11 个共有峰的峰面积导入 SPSS 18.0 统计学软件,选择离差平方和法,进行 Q 型聚类分析,测量距离为欧式平方距离,标准化选择“Z 得分”,聚类结果见图 3。从图中可以看出 19 批灯盏花药材可以聚为 3 类:第 1 类包括 S2、S9、S16、S1、S15、S5;第 2 类包括 S11、S18、S10、S13、S8;第 3 类为 S6、S14、S17、S7、S19、S3、S12、S4。

2.6.2 PCA PCA 是将原来众多具有一定相关性的指标重新组合成一组新的相互无关的综合指标来代替原来指标的统计方法,也是数学上处理降维的一种方法,广泛用于中药材品质的综合评价与分类鉴别^[8]。SIMCA 是一种有监督的数据分类方法,每个类别独立使用 PCA 建立模型^[9]。不同产地的 19 批灯盏花药材指纹图谱数据中的 11 个共有峰的峰面

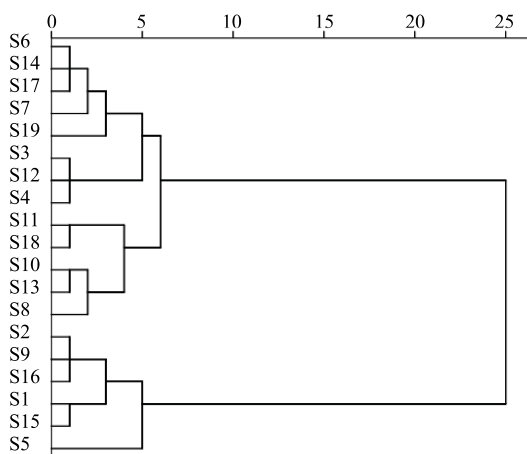


图 3 19 批灯盏花药材指纹图谱聚类分析

Fig. 3 Hierarchical clustering analysis for 19 batches of *E. breviscapus*

积导入数据导入 Simca-p 12.0 软件做图,得到 PCA 二维分布散点图,见图 4。

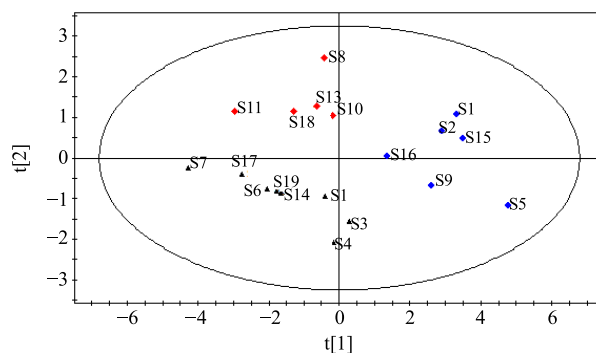


图 4 二维分布散点图

Fig. 4 Two-dimensional distribution scatter plot

2.6.3 灯盏花药材和指纹图谱相似度较高的 2 批近缘种样品的综合评价 采用 SPSS 18.0 统计软件将 21 批样品的指纹图谱数据进行 PCA,将 21 批样品 11 个共有峰峰面积导入 SPSS 18.0 软件,共有峰峰面积 Z 标准化处理后,得出相关矩阵的特征值和方差,见表 3。得到前 4 个主成分的累积方差贡献率为 84.079% (>80%),故选取前 4 个主成分,主成分因子矩阵见表 4,并以相应主成分的权重系数计算出综合得分。主成分得分、综合得分及排名见表 5。

3 讨论

3.1 色谱条件选择

灯盏花药材中主要成分为黄酮类和酚酸类成分,主要成分灯盏花乙素的最大吸收 335 nm,酚酸类成分的最大吸收为 327 nm^[10]。指纹图谱的原则是一张图谱尽可能多的显示待测样品中的化学成分信号峰^[11]。2 类成分的紫外最大吸收相差不大,选择 335 nm 为检测波长,既可兼顾灯盏花乙素等黄酮类成分,又可以凸显酚酸类成分的峰。在此条件下灯盏花药材及近缘种中所测 11 种成分的响应均较高,且峰的数量较多,基线平稳。同时参考《中国药典》

表 3 特征值和方差贡献率

Table 3 Characteristic value and variance contribution rate

成分	初始特征值			提取平方和载入		
	合计	方差贡献率/%	累积贡献率/%	合计	方差贡献率/%	累积贡献率/%
1	5.576	50.692	50.692	5.576	50.692	50.692
2	1.522	13.834	64.526	1.522	13.834	64.526
3	1.208	10.980	75.506	1.208	10.980	75.506
4	0.943	8.574	84.079	0.943	8.574	84.079

表 4 主成分因子矩阵
Table 4 Component matrix

峰号	主成分			
	1	2	3	4
1	0.779	-0.486	0.112	-0.056
2	0.808	-0.282	-0.084	0.289
3	0.736	0.003	0.352	-0.407
4	0.446	0.403	-0.530	-0.023
5	0.920	0.335	-0.029	-0.033
6	0.867	-0.301	0.017	0.293
7	0.946	0.134	-0.112	-0.044
8	0.695	0.386	-0.250	0.352
9	0.734	-0.114	0.439	-0.213
10	-0.205	0.186	0.601	0.643
11	0.130	0.791	0.390	-0.138

表 5 主成分得分、综合得分及排名

Table 5 Principal component scores and ranking of comprehensive scores

样品	主成分 1 得分	主成分 2 得分	主成分 3 得分	主成分 4 得分	综合得分	排名
S1	3.27	1.74	0.04	-1.50	2.11	3
S2	2.96	-0.33	0.99	0.00	1.86	4
S3	0.37	-1.64	-0.01	-0.50	-0.10	11
S4	-0.17	-0.63	-1.54	-0.88	-0.50	14
S5	4.89	-1.20	-1.18	1.75	2.77	1
S6	-1.92	-0.81	-0.15	-0.52	-1.36	17
S7	-4.08	-0.02	-0.82	-0.17	-2.58	21
S8	-0.23	1.67	1.65	-1.12	0.24	8
S9	2.67	-1.41	0.59	-0.33	1.42	5
S10	-0.13	1.71	-0.46	-0.54	0.09	9
S11	-2.75	0.33	1.84	1.98	-1.16	16
S12	-0.39	-0.57	-0.50	-0.19	-0.41	13
S13	-0.67	1.55	0.42	0.96	0.00	10
S14	-1.56	-0.44	-0.58	0.13	-1.08	15
S15	3.44	0.46	-0.26	-0.07	2.11	2
S16	1.46	-1.08	1.31	0.59	0.94	6
S17	-2.61	-0.17	-0.63	-0.29	-1.71	20
S18	-1.15	0.27	1.98	0.52	-0.34	12
S19	-1.63	-1.32	0.47	-1.75	-1.31	18
S21	0.44	2.74	-1.77	0.81	0.57	7
S22	-2.22	-0.87	-1.36	1.12	-1.54	19

2015 年版灯盏花药材^[2]及文献报道^[10]中流动相, 分别比较了甲醇-0.1%磷酸水溶液和乙腈-0.3%磷酸水溶液梯度洗脱的情况, 确定甲醇-0.1%磷酸水溶液梯度洗脱, 可使各成分达到理想分离, 且峰形较好。

3.2 指纹图谱评价

19 批灯盏花药材的相似度为 0.873~0.978, 3 批近缘种中一年蓬的和多舌飞蓬的相似度较高, 分别为 0.898 和 0.920, 说明 21 批样品的化学成分基本一致, 仅是部分成分的量上有所差异, 可以通过 PCA 综合评价其质量, 筛选出优质的野生种质资源和具有潜力的替代品。展苞飞蓬的相似度较低仅为 0.578, 说明展苞飞蓬在化学成分上与灯盏花药材有较大差异, 不能作为灯盏花药材的替代资源。

3.3 HCA 和 PCA

通过对 19 批云南产的灯盏花药材进行系统聚类, 分为 3 类。分为 3 类的原因可能是某些化学成分在量上具有一定的差异。第 1 类是曲靖陆良、大理弥渡、曲靖宣威的 3 个基地栽培品和玉溪澄江、玉溪新平、昆明嵩明 3 个野生品; 第 2 类是 S11、S13、S18 香格里拉的 3 个野生品和红河泸西、红河弥勒的 2 个基地栽培品; 第 3 类是大理下大理市、大理南涧、大理云龙、大理剑川、香格里拉、丽江玉龙、怒江兰坪、曲靖会泽的 8 个野生品。样品的分类存在产地交叉的现象, 说明灯盏花药材中积累的代谢产物的种类及其含量主要由遗传背景决定, 与产地和气候关系不大。野生品与基地栽培品不能区分, 说明在驯化过程中, 药效物质的种类及含量基本相同, 变异较小。基地栽培品之间存在差异, 差异可能的原因是选育过程中种质资源的不同和规范化种植技术的不同。通过 PCA, 19 批药材聚为 3 类, 与 HCA 结果一致。

第 1 主成分具有最大的特征值, 其变量的权重值可最大程度地反映化学成分与药材质量的相关性^[12]。根据表 4 中主成分因子矩阵, 比较第 1 主成分中各变量的权重值, 前 3 个权重值最大的变量对应的峰号为 7、5、6 号峰, 权重值分别为 0.946、0.920、0.867, 通过与对照品比对, 确认 5 号峰为灯盏花乙素, 6 号峰为 3,5-二咖啡酰基奎宁酸。从而进一步说明未知结构 7 号峰、灯盏花乙素、3,5-二咖啡酰基奎宁酸的含量的高低是决定药材的质量的关键因素。7 号峰代表的化合物尚未明确, 有待进一步探究物质基础。

3.4 灯盏花药材和指纹图谱相似度较高的 2 批近缘种样品的综合评价

云南省灯盏花常年采集量在 1 000 t 以上, 被列为云南省重点开发的“五大天然系列”药物加以开发。近年对云南省灯盏花原分布区进行资源调查

时,已难见到有成片的灯盏花,植株分布频度已接近稀少或枯竭^[13]。优质的种质资源选育和寻找具有潜力的替代品已经成为灯盏花产业可持续发展急需解决的问题。用4个主成分对19批灯盏花药材2批近缘种样品进行综合评价,根据主成分综合得分计算模型计算出主成分得分和综合得分,得分越高,表明质量越好^[14-16]。综合得分结果显示,玉溪澄江、大理弥渡、曲靖宣威、曲靖陆良、昆明嵩明、玉溪新平的灯盏花药材在所有样品中排名前6名,说明玉溪澄江梁王山、昆明嵩明和玉溪新平的灯盏花药材综合质量较好,可以做优质为种质资源进行引种驯化。其近缘种多舌飞蓬的排名是第7名,比红河泸西、红河弥勒的2个基地栽培的灯盏花药材排名靠前,说明多舌飞蓬具有潜在的开发价值,如需全面评价多舌飞蓬的利用价值,应增加不同产地多舌飞蓬样品数量。近缘种一年蓬样品的排名较低,说明一年蓬样品的综合质量与排名靠前的灯盏花药材有较大差距,不能作为灯盏花药材的替代资源。红河泸西、红河弥勒2个基地栽培的灯盏花药材比某些野生品的排名低,说明基地产品的综合质量有提升的空间,可以从种原和品种选育和规范化种植技术方面入手。通过提取4个主成分对19批灯盏花药材进行综合评价,综合聚类分析结果,可以看出第1类S2、S9、S16、S1、S15、S5的灯盏花药材质量最优;第2类S11、S18、S10、S13、S8药材的质量次之;第3类为S6、S14、S17、S7、S19、S3、S12、S4的质量最差。

本实验运用指纹图谱结合了化学计量学对灯盏花药材和近缘种进行质量评价,结论较单一成分测定更加全面,可为药材质量控制提供全面的参考。可用于灯盏花药材优质种质资源的引种选育和寻找可能的替代品。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第74卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1985.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] 张薇, 王建军, 魏翔, 等. AFLP 标记对灯盏花遗传多样性及选育品系群体一致性的分析 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(14): 2245-2249.
- [4] 孙汉董, 赵勤实. 防治心脑血管疾病对的药物-灯盏细辛酚的研究和开发 [J]. 化学进展, 2009, 21(1): 77-83.
- [5] 刘江, 陈兴福, 邹元锋. 基于中药指纹图谱多维信息的化学模式识别研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(8): 1081-1088.
- [6] Gu F, Hall P, Miles N J. Performance evaluation for composites based on recycled polypropylene using principal component analysis and cluster analysis [J]. *J Clean Prod*, 2016, 41(115): 343-353.
- [7] 王露露, 孙倩怡, 杨慧海, 等. 模式识别及其在中药质量评价中的应用 [J]. 中草药, 2016, 47(23): 4282-4288.
- [8] 王月红, 韩璐, 许俊, 等. 基于化学指纹图谱和多指标测定的柿叶药材质量研究 [J]. 中草药, 2017, 48(6): 1205-1209.
- [9] 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.
- [10] 李晓波, 汪瑞波, 沈勇, 等. HPLC 测定灯盏花不同部位绿原酸、灯盏乙素、3,5-二咖啡酰奎宁酸和4,5-二咖啡酰奎宁酸含量 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(14): 2237-2240.
- [11] 聂犇, 朱培林, 房海灵, 等. HPLC 指纹图谱结合化学计量学评价不同产地广东紫珠药材的质量 [J]. 中草药, 2017, 48(1): 185-191.
- [12] 姜建萍, 王美琪, 马雯芳, 等. 基于多种分析模式构建壮药滇桂艾纳香 HPLC 指纹图谱 [J]. 中药材, 2018, 41(1): 124-128.
- [13] 杨生超, 李永芳, 赵峥, 等. 灯盏花种质资源遗传关系的 RAPD 分析 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(13): 1532-1535.
- [14] 叶耀辉, 马越兴, 应亚宾, 等. 藏药桃儿七 HPLC 指纹图谱产地识别及质量评价 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(24): 97-101.
- [15] 徐彤, 黄萌萌, 刘丽芳, 等. 安宫牛黄丸 HPLC 指纹图谱及其多成分化学模式分析 [J]. 中草药, 2017, 48(12): 2448-2454.
- [16] 岳显可, 杜伟锋, 凌珏, 等. 基于高效液相色谱指纹图谱及聚类分析、主成分分析的市售片姜黄质量研究 [J]. 时珍国医国药, 2017, 28(5): 1095-1098.