

川芎药材超高效合相特征图谱的建立

刘梦婷^{1,2}, 徐嘉欣^{1,2}, 李 振^{1,3}, 景一丹^{1,3}, 杨子辉^{1,2}, 刘秀斌^{1,3}, 曾建国^{1,2*}

1. 湖南农业大学 中兽药湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410128

2. 湖南农业大学动物医学院, 湖南 长沙 410128

3. 湖南农业大学动物科学技术学院, 湖南 长沙 410128

摘 要: 目的 构建川芎 *Ligusticum chuanxiong* 超高效合相色谱 (UPC²) 特征图谱, 与 HPLC 特征图谱进行比较, 为川芎质量评价提供新的参考。方法 采用 UPC²-PDA 法, 以 CO₂ 为流动相, 异丙醇-甲醇 (3:7) 为助溶剂, 梯度洗脱, 建立川芎药材化学成分特征图谱; 利用主成分分析和聚类分析方法, 分析川芎药材品质与产地的关联性。结果 建立了不同产区川芎药材特征图谱, 以藁本内酯为参照峰, 确定了 8 个共有特征峰, 同时指认了 5 种特征性成分; 经主成分分析 4 个主成分因子的累积方差贡献率为 93.097%, 聚类分析将 20 批不同产地药材分为 3 大类。结论 建立的川芎药材 UPC² 特征图谱的不仅精密度、重复性、稳定性良好, 而且在分析方法上优于 HPLC 特征图谱, 还可以对不同产地川芎药材品质进行快速、有效地评估。

关键词: 超高效合相色谱; 特征图谱; 川芎; 藁本内酯; 主成分分析; 聚类分析; 藁本内酯; 洋川芎内酯 A; 洋川芎内酯 H; 洋川芎内酯 I; 阿魏酸

中图分类号: R286.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2021)19-6032-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.19.026

Study on specific chromatogram of *Ligusticum chuanxiong hort.* by UPC²

LIU Meng-ting^{1,2}, XU Jia-xin^{1,2}, LI Zhen^{1,3}, JING Yi-dan^{1,3}, YANG Zi-hui^{1,2}, LIU Xiu-bin^{1,3}, ZENG Jian-guo^{1,2}

1. Hunan Key Laboratory of Traditional Chinese Veterinary Medicine, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

2. College of Veterinary Medicine, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

3. College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

Abstract: Objective To establish the specific chromatogram of *Ligusticum chuanxiong hort.* by ultra performance convergence chromatography (UPC²), and compared with that of HPLC, providing reference for the quality evaluation of *Ligusticum chuanxiong hort.*. **Methods** *Ligusticum chuanxiong hort.* separated on UPC²-PDA, with CO₂ as the mobile phase and isopropanol-methanol (3:7) as cosolvent by gradient elution, and established the specific chromatogram of chemical components of *Ligusticum chuanxiong hort.* Then The principal component analysis and cluster analysis were performed to explore the correlation between the origins and quality of *Ligusticum chuanxiong hort.*. **Results** Using ligustilide as control, 8 common specific chromatogram peaks were confirmed in the specific chromatogram of chemical constituents of *Ligusticum chuanxiong hort.* from different regions, and 5 characteristic ingredients were identified. The cumulative variance contribution rate of the 4 principal components was 93.097 through principal component analysis, *Ligusticum chuanxiong hort.* from different origins were classified into 3 classes by cluster analysis. and standard control. **Conclusion** The specific chromatogram of chemical components of *Ligusticum chuanxiong hort.* established in this study has good precision, repeatability and stability. In addition, the analytical method is superior to HPLC specific chromatogram, which can quickly and effectively evaluate the quality of *Ligusticum chuanxiong hort.* from different origins.

Key words: UPC²; specific chromatogram; *Ligusticum chuanxiong Hort.*; ligustilide; principal component analysis; cluster analysis; ligustilide; senkyunolide A; senkyunolide H; senkyunolide I; ferulic acid

中药质量评价一直是中药研究与应用中的难点 质量控制手段^[1], 所以在现代及未来的中药质量控
与重点, 而中药指纹图谱是一种综合的、可量化的 制中都占有重要的地位^[2], 但指纹图谱对不同产

收稿日期: 2021-02-03

基金项目: 国家重点研发计划资助 (2017YED0501500); 现代农业产业技术体系建设专项资金资助 (CARS-21)

作者简介: 刘梦婷 (1997—), 女, 在读硕士研究生, 专业方向为中兽药。Tel: 18229722939 E-mail: 1548592263@qq.com

*通信作者: 曾建国 E-mail: zengjianguo@hunau.edu.cn

地原料药材很难进行良好的相似度分析,容易将合规药材排除在外,难以实际应用推广,因此,开发新的药材质量控制方法成为研究热点。特征图谱是一种选取图谱中某些重要的特征信息,作为控制药材质量的重要鉴别手段,因其只需要对样品中重要的特征信息进行分析,更简单易行、可控、可普及。

川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎,主要产自四川,在云贵、广西、湖北等地均有栽培^[3]。川芎具有活血行气、祛风燥湿等功效^[4],同时还具有抗心肌缺血生物活性^[5],其主要药效成分有藁本内酯、洋川芎内酯 I、H、A 和阿魏酸等^[6]。国内外关于川芎指纹图谱的研究已有不少,如刘洪玲等^[7]建立了川芎挥发油的 GC-MS 指纹图谱,马天成等^[8]进行了川芎的 UPLC 指纹图谱研究,李松林等^[9]运用 HPLC-DAD-MS 联用技术建立川芎指纹图谱, Qin 等^[10]运用核磁共振波谱和 HPLC 法对商品型川芎进行了指纹图谱分析, Wei 等^[11]建立一种毛细管区带电泳-紫外二极管阵列检测方法,用于川芎药材的指纹图谱分析,而川芎药材的特征图谱尚未有人研究。

本研究所采用的超高效合相色谱(UPC²)结合了反相液相色谱(RPLC)和气相色谱(GC)的优点,是一种新颖、环保、高效的分析方法^[12]。基于这些优势,本研究旨在建立 UPC² 川芎药材的特征图谱,并与高效液相色谱(HPLC)特征图谱进行比较,为川芎的质量评价提供新的参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

ACQUITY UPC² 超高效合相色谱仪,包括样品管理器(Sample Manager),二元溶剂管理器(Binary Solvent Manager, BSM), PDA 检测器(Detector), 色谱柱管理器(Column Manager, CM), 两相色谱管理器(Convergence Chromatography Manager, CCM), 配有 Waters Empower[®] 3 数据处理系统(美国 Waters 公司); Waters e 2695 HPLC 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); 移液枪(德国 Eppendorf 公司); NewClassic ME 电子天平(METTLER TOLEDO); TG16-WS 离心机(长沙湘智离心机仪器有限公司), KQ5200DE 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司), YH-2 型氮吹浓缩仪(WIGGENS)。

1.2 试剂

对照品藁本内酯(批号 19041506, 质量分数≥

98%)、洋川芎内酯 I(批号 17121105, 质量分数≥98%)、洋川芎内酯 H(批号 17121106, 质量分数≥98%)均购于成都普菲德生物技术有限公司; 洋川芎内酯 A(批号 190509-008, 质量分数≥98%)购于北京中兴嘉仁生物技术有限公司; 阿魏酸(批号 110773-201604, 质量分数≥99%)购于中国食品药品检定研究院。CO₂(长沙高科气体有限公司, 质量分数 99.99%), 甲醇为色谱纯(Merck 公司), 异丙醇为色谱纯(Merck 公司), 乙醇为分析纯(安徽安特食品股份有限公司), Purelab Chorus 超纯水(Elga 公司)。

1.3 药材

从河北、河南、安徽等地收集不同批次的川芎药材并编号, 河北安国(S1~S7)、安徽亳州(S8~S12, S16~S20)、河南禹州(S13~S15), 经湖南农业大学曾建国教授鉴定药材川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

2.1.1 UPC² 条件 色谱柱为 Waters Viridis[®] BEH 2-EP 色谱柱(100 mm×3.0 mm, 1.7 μm); 以 CO₂ 为流动相 A, 异丙醇-甲醇(3:7)为助溶剂 B, 梯度洗脱: 0~2 min, 99.4%~99.2% A; 2~3 min, 99.2%~92% A; 3~4 min, 92%~85% A; 4~8 min, 85%~84.5% A; 8~9 min, 84.5%~80% A; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量为 0.5 μL; 柱温为 40 °C; 检测波长为 270 nm; 动态背压(active back pressure regulator, ABPR)为 11031.6 kPa。在以上的色谱条件下, 各色谱峰分离效果最佳, 基本达到基线分离。

2.1.2 HPLC 色谱条件 参考文献方法^[13]做一些修改, 色谱柱为 Unitary 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以乙腈为流动相 A, 0.1%甲酸水为流动相 B, 梯度洗脱: 0~25 min, 5%~45% A; 25~35 min, 45%~55% A; 35~55 min, 55%~95% A; 体积流量为 1.0 mL/min; 进样量为 10 μL; 柱温为 30 °C; 检测波长为 280 nm。在以上的色谱条件下, 各色谱峰分离效果最佳, 基本达到基线分离。理论塔板数按藁本内酯峰计算应不低于 5000。

2.2 样品前处理

将收集到的药材晒干, 采用 5 点取样法将不同批次样品粉碎过筛, 低温干燥环境下保存。

2.3 溶液的配制

2.3.1 对照品溶液的配制 分别精密称取藁本内

酯、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 A 和阿魏酸对照品适量,置于 25 mL 量瓶中,用乙醇溶解并定容至刻度,配成含藁本内酯 219.52 $\mu\text{g/mL}$ 、洋川芎内酯 I 199.92 $\mu\text{g/mL}$ 、洋川芎内酯 H 442.96 $\mu\text{g/mL}$ 、洋川芎内酯 A 201.88 $\mu\text{g/mL}$ 、阿魏酸 174.24 $\mu\text{g/mL}$ 的储备液,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下冷藏备用。

2.3.2 供试品溶液的配制 准确称取干燥粉碎后的药材粉末 0.25 g 于 15 mL 离心管中,精密加入 10 mL 甲醇溶液,超声提取(功率 400 W、频率 37 kHz) 30 min,取出,放冷至室温。置于离心机中,10 000 r/min 离心 10 min,再取 1 mL 上清液氮吹干,用 2 mL 乙醇完全复溶,用 0.22 μm 有机滤膜过滤,取续滤液于液相小瓶中,备用。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 取来自安徽亳州的川芎样品粉末(S20)1份,按照“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,用“2.1.1”项下色谱条件连续进样6次,记录色谱图,以2号峰为参照峰,8个共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD分别小于0.2%和4.9%。

2.4.2 重复性试验 精密称取的川芎样品粉末(S20)6份,按照“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,用“2.1.1”项下色谱条件分别进样。以2号峰为参照峰,8个共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD分别小于0.1%和4.5%。

2.4.3 稳定性试验 取川芎样品粉末(S20)1份,按照“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,于0、4、8、12以及24 h按照“2.1.1”项下色谱条件进样。以2号峰为参照峰,8个共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD分别小于0.8%和4.8%。

2.5 川芎药材化学成分特征图谱研究

选取不同产地川芎药材样品,按照“2.3.2”项下方法制备各批次样品的供试品溶液,按照“2.1.1”项下色谱条件进行测定,记录色谱图。采用仪器自带软件将所有色谱图叠加,根据叠加图谱中色谱峰分布,选择各批次共有色谱峰作为特征峰,建立统一处理方法处理各批次样品色谱图,确保每一批次特征峰均能被积分,再用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012年版)》对各批次样品进行UPC²特征图谱分析,二次验证共有特征峰在20批样品中均能识别,得到20批样品叠加图,并建立川芎药材特征图谱的对照图谱(R),见图1。通过2种方式,最终确定8个共有特征峰,按出峰时间依次标记为1~8号峰。

为考察特征图谱是否具有代表性以及能否表征待测所含成分的专属性,通过对照品比对,如图2,明确保留时间为2.537、3.221、5.125、5.685、6.508 min的色谱峰分别对应藁本内酯(2号峰)、洋川芎内酯A(3号峰)、洋川芎内酯H(4号峰)、洋川芎

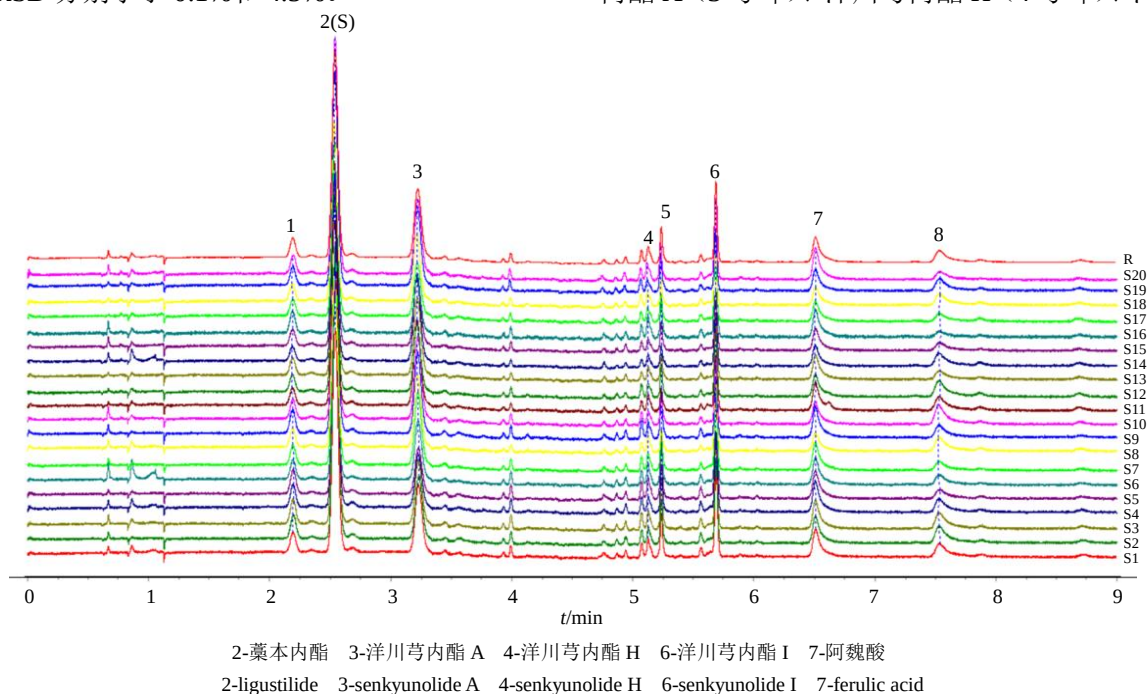
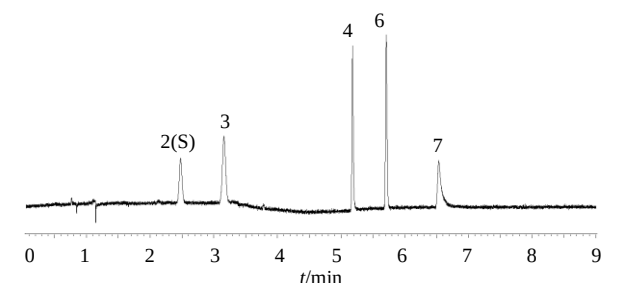


图1 川芎药材合相色谱叠加图谱及对照图谱(R)

Fig. 1 Overlay UPC² chromatograms and UPC² common pattern (R) of specific chromatograms of *Ligusticum chuanxiong*



2-藁本内酯 3-洋川芎内酯A 4-洋川芎内酯H 6-洋川芎内酯I 7-阿魏酸
2-ligustilide 3-senkyunolide A 4-senkyunolide H 6-senkyunolide I 7-fenulic acid

图 2 UPC²混合对照品图谱

Fig. 2 UPC² chromatograms of mixed control

内酯 I (6 号峰) 和阿魏酸 (7 号峰), 以上指认特征峰均为川芎药材中有效成分, 因此认为建立的特征图谱具有代表性, 能对川芎药材进行质量控制。通过对照品对特征峰进行指认后, 选取主要有效成分 2 号峰 (2.537 min, 藁本内酯) 作为参照峰 (S); 计算上述 8 个共有峰与 S 峰的相对峰面积 (表 1) 和相对保留时间 (表 2)。结果显示, 各批次样品特征峰的 RSD 小于 0.18%, 说明特征峰出峰时间相对稳定; 而相对峰面积结果显示, 各批次特征峰的峰面积差异较大, 反映了不同来源

表 1 20 批不同产地川芎药材共有峰的相对峰面积

Table 1 Relative peak areas of common peaks of 20 batches of *L. chuanxiong* from different producing areas

批次	相对峰面积							
	峰 1	峰 2 (S)	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8
S1	0.088	1.000	0.418	0.056	0.097	0.191	0.170	0.128
S2	0.101	1.000	0.329	0.049	0.09	0.189	0.150	0.119
S3	0.112	1.000	0.325	0.055	0.106	0.211	0.170	0.124
S4	0.106	1.000	0.260	0.043	0.092	0.156	0.160	0.096
S5	0.118	1.000	0.282	0.071	0.131	0.273	0.195	0.113
S6	0.130	1.000	0.459	0.076	0.126	0.274	0.203	0.095
S7	0.088	1.000	0.407	0.056	0.098	0.218	0.180	0.077
S8	0.112	1.000	0.559	0.070	0.089	0.280	0.144	0.187
S9	0.104	1.000	0.395	0.048	0.092	0.155	0.177	0.095
S10	0.095	1.000	0.453	0.047	0.093	0.142	0.131	0.151
S11	0.096	1.000	0.581	0.065	0.082	0.217	0.190	0.183
S12	0.098	1.000	0.404	0.056	0.088	0.180	0.155	0.160
S13	0.111	1.000	0.529	0.053	0.075	0.194	0.207	0.076
S14	0.107	1.000	0.637	0.053	0.080	0.210	0.181	0.153
S15	0.101	1.000	0.509	0.055	0.090	0.181	0.176	0.076
S16	0.129	1.000	0.429	0.080	0.106	0.284	0.230	0.057
S17	0.108	1.000	0.426	0.069	0.095	0.235	0.168	0.077
S18	0.094	1.000	0.484	0.063	0.088	0.188	0.168	0.116
S19	0.105	1.000	0.469	0.046	0.100	0.147	0.143	0.122
S20	0.076	1.000	0.433	0.055	0.083	0.198	0.183	0.064
RSD/%	12.68	0	21.97	17.92	14.64	21.36	13.75	33.78

表 2 不同产地川芎药材共有峰的相对保留时间

Table 2 Relative retention time of common peaks of 20 batches of *Ligusticum chuanxiong* hort. from different producing areas

批次	相对保留时间							
	峰 1	峰 2 (S)	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8
S1	0.863	1.000	1.271	2.021	2.064	2.242	2.566	2.969
S2	0.861	1.000	1.273	2.017	2.06	2.237	2.56	2.961
S3	0.864	1.000	1.271	2.018	2.061	2.239	2.562	2.962
S4	0.865	1.000	1.271	2.018	2.061	2.239	2.561	2.967
S5	0.865	1.000	1.271	2.018	2.06	2.238	2.561	2.966
S6	0.864	1.000	1.269	2.017	2.059	2.237	2.561	2.961
S7	0.863	1.000	1.269	2.018	2.060	2.238	2.563	2.961
S8	0.864	1.000	1.270	2.021	2.065	2.242	2.566	2.966
S9	0.863	1.000	1.270	2.020	2.063	2.241	2.565	2.969
S10	0.863	1.000	1.269	2.019	2.062	2.240	2.562	2.961
S11	0.862	1.000	1.269	2.021	2.064	2.242	2.567	2.972
S12	0.863	1.000	1.270	2.022	2.066	2.244	2.569	2.975
S13	0.861	1.000	1.270	2.020	2.064	2.241	2.565	2.973
S14	0.863	1.000	1.270	2.023	2.067	2.244	2.568	2.969
S15	0.864	1.000	1.269	2.022	2.065	2.243	2.567	2.974
S16	0.862	1.000	1.270	2.021	2.064	2.242	2.566	2.976
S17	0.864	1.000	1.269	2.019	2.062	2.240	2.566	2.970
S18	0.862	1.000	1.270	2.023	2.066	2.244	2.570	2.976
S19	0.862	1.000	1.269	2.018	2.061	2.239	2.566	2.970
S20	0.863	1.000	1.268	2.015	2.058	2.237	2.562	2.967
RSD/%	0.13	0	0.09	0.11	0.12	0.11	0.11	0.17

批次川芎药材的差异性,由于药材采购自药材市场,因此无法准确从药材来源进行差异性分析。

2.6 主成分分析与聚类分析

2.6.1 主成分分析 为了探究川芎药材主要成分与产地之间的关联性,利用 SPSS 22.0 对上述不同产地样本的峰面积进行主成分分析。经过标准化处理后的样本数据共提取得到 4 个主成分,它们的特征值依次为 4.326、1.517、0.922、0.683,方差贡献率依次为 54.069、18.967、11.525、8.536,累计贡献率达到 93.097,基本包括了川芎特征图谱的大部分信息。主成分载荷矩阵反映了各共有峰对主成分的贡献,采用前 2 个主成分因子为指标对 20 批药材进行评价。由表 3 可知,主成分因子 1 可反映峰 1、2、4、5、6、7 的信息,主成分因子 2 可反映峰 3、9 的信息。

2.6.2 聚类分析 同时以各共有峰的峰面积为指标,采用 SPSS 22.0 软件,选取方差贡献率较大的 2 个主成分进行系统聚类分析,结合平均连接法以欧氏距离为测度得到图 3,由图可知,20 批川芎药材

表 3 初始因子载荷矩阵

共有峰编号	主成分因子	
	1	2
1	0.848	0.277
2	0.696	0.597
3	-0.564	0.306
4	0.819	-0.375
5	0.909	0.246
6	0.803	-0.396
7	0.814	-0.057
8	-0.036	0.793

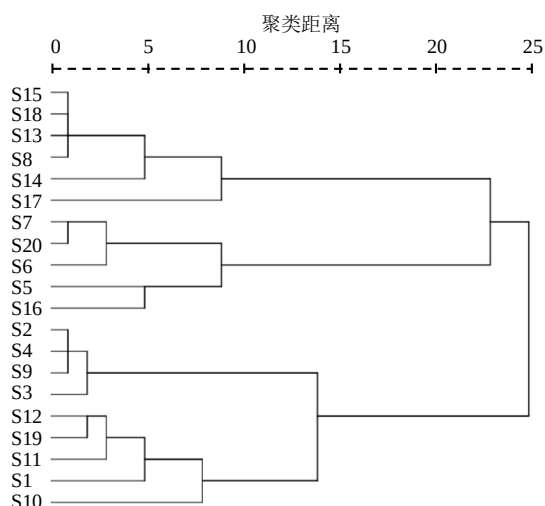


图 3 川芎聚类分析树状图

Fig. 3 Cluster analysis dendrogram of 20 batches of *Ligusticum chuanxiong hort.*

被分为 3 类, S1~S4、S9~S12、S19 为一类, S5~S7、S16、S20 为一类, S8、S13~15、S17~S18 一类。由此分类可知,聚类结果与实际川芎药材来源地关联性不大,河北安国和安徽亳州的样品分别被分到不同类别,只有河南禹州的样品整体被归为一类。

2.7 UPC2 特征图谱与 HPLC 特征图谱对比

按照“2.1.2”项色谱条件,川芎 HPLC 特征图谱分析时长共 65 min,共有特征峰 8 个,指认了 5 种特征性成分。虽然 HPLC 特征图谱也是一种成熟、稳定的质量控制方法,但是相较于 UPC² 特征图谱来说,分析时间过长,溶剂损耗大,没有那么的环保、高效、便捷。

3 讨论

3.1 色谱条件的优化

3.1.1 色谱柱的选择 为了使川芎中不同极性的物质在较短分析时间达到分离并具有良好峰形,比较了 Waters Viridis® BEH 2-EP (100 mm×3.0 mm, 1.7 μm)、Torus™ DEA (100 mm×3.0 mm, 1.7 μm)、Torus™ 2-PIC (100 mm×3.0 mm, 1.7 μm) 这 3 款常见的色谱柱对不同物质的分离影响,评估了分离度、峰形、出峰时间等因素,最终选择 Waters Viridis® BEH 2-EP 色谱柱进行分离。

3.1.2 助溶剂的选择 由于 UPC² 的流动相主要是 CO₂ 超临界流体,助溶剂的加入能够改善目标化合物的峰形及保留时间。本实验分别选用了甲醇、乙醇、异丙醇、乙腈及其混合溶液作为助溶剂,对川芎药材的化学成分进行分离。当选用异丙醇-甲醇 (3:7) 混合溶剂为助溶剂时,各化合物在较短时间内达到较好分离,并具有较好的峰型和响应,因此,本实验选择异丙醇-甲醇 (3:7) 混合溶剂为助溶剂。

3.1.3 背压、柱温和体流量的选择 流动相的流速越大,被分离物质出峰时间越快,响应高;较小的流速会造成分析时间过长,色谱峰展宽,造成拖尾、响应变低等后果。本实验优化了 0.8、1.0、1.2 mL/min 的体流量,为了使各物质尽可能分离开,本实验的最佳体流量选择为 1.0 mL/min。背压升高和柱温降低都会使分析物保留时间提前。本实验考察了 11 031.6、12 410.6、13 789.5、15 168.5 kPa 不同背压和 30、35、40、45 °C 不同柱温,观察不同条件对样品分离度的影响。综合分析后,11 031.6 kPa 的背压和 40 °C 的柱温对各物质之间分离情况最好。

3.2 前处理方法优化

3.2.1 提取方式选择 为了尽可能多且完全地提取川芎中的有效成分,本实验考察了不同提取方式。比较了水蒸气蒸馏法提取和超声提取 2 种方式,结果发现使用超声提取后色谱峰更多,再加上超声提取简便易行的特点,本实验采用超声提取的方式。

3.2.2 提取溶剂优化 在超声提取方式下进一步优化提取溶剂及其比例、不同提取溶剂以及提取溶剂比例。使用醋酸乙酯、乙醇、甲醇进行对比,结果显示,甲醇能最大化、较全面的提取出川芎药材含有的化学成分,但其溶剂效应太强,因此,我们最终选择用甲醇提取,乙醇复溶来获得供试液。

3.3 特征图谱与指纹图谱异同

本研究在分析方法开发与建立、研究步骤上仍遵循指纹图谱建立的一般方法,比如对样品批数的要求、方法学考察等。但是在数据分析中,特征图谱主要强调特征峰的特征信息,用特征峰的信息来进行主成分分析,聚类分析以及产地、质量等评价,参数和变量,将其应用于质量标准中更易操作、好推广;指纹图谱更强调一个整体性,用相似度来对整体进行分析,信息更全面,参数和变量多,但在应用上更严格,不易推广使用。

3.4 结论

本研究建立的川芎超高效合相色谱特征图谱,提取到 8 个共有峰,以 2 号峰(藁本内酯)为参照峰,计算其他共有峰的相对峰面积,并对结果进行了主成分分析和聚类分析。通过对前处理方法和仪器条件进行优化,使得川芎各化学成分在 9 min 之内得到良好的分离,该方法仅需微量的助溶剂,对环境友好,是一种更高效的川芎质量控制方法。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 周建良,齐炼文,李萍. 色谱指纹图谱在中药质量控制中的应用 [J]. 色谱, 2008, 26(2): 153-159.
- [2] 李强,杜思邈,张忠亮,等. 中药指纹图谱技术进展及未来发展方向展望 [J]. 中草药, 2013, 44(22):

3095-3104.

- [3] 李娟,吴永胜,邱时秀. 川芎的研究进展 [J]. 畜牧与饲料科学, 2017, 38(4): 71-72.
- [4] 舒冰,周重建,马迎辉,等. 中药川芎中有效成分的药理作用研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2006, 22(9): 1043-1047.
- [5] Liu X, Li X Z, Ji S G, et al. Screening of bioactive ingredients in *Ligusticum chuanxiong* hort for protection against myocardial ischemia [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 40(3/4): 770-780.
- [6] 梁军. HPLC 测定川芎中 5 种药效成分的含量 [J]. 解放军预防医学杂志, 2015, 33(2): 224.
- [7] 刘洪玲,于良生,纪恒胜,等. 川芎挥发油的 GC-MS 指纹图谱研究 [J]. 中国药房, 2012, 23(43): 4101-4103.
- [8] 马天成,崔思娇,张靓琦,等. 川芎的 UPLC 指纹图谱研究 [J]. 中国药房, 2013, 24(15): 1389-1391.
- [9] 李松林,林鸽,钟凯声,等. 应用 HPLC-DAD-MS 联用技术研究中药川芎指纹图谱 [J]. 药科学报, 2004, 39(8): 621-626.
- [10] Qin H L, Deng A J, Du G H, et al. Fingerprinting analysis of *Rhizoma Chuanxiong* of commercial types using ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy and high performance liquid chromatography method [J]. *J Integr Plant Biol*, 2009, 51(6): 537-544.
- [11] Wei F H, Shen Q, Chen F L. Development and validation of improved method for fingerprint analysis of *Rhizoma chuanxiong* by capillary zone electrophoresis with ultraviolet-diode array detection [J]. *Trop J Pharm Res*, 2014, 13(5): 773.
- [12] 李雪敏,余文琴,张焱,等. Waters ACQUITY UPC² 的应用进展和方法建立 [J]. 广东化工, 2020, 47(6): 103-105.
- [13] Zhang X L, Liu L F, Zhu L Y, et al. A high performance liquid chromatography fingerprinting and ultra high performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry chemical profiling approach to rapidly find characteristic chemical markers for quality evaluation of dispensing granules, a case study on *Chuanxiong Rhizoma* [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 88: 391-400.

[责任编辑 时圣明]