

不同产地蜂胶药材的 HPLC 指纹图谱

贾艾玲, 朱凯, 郑爱竹, 邱智东*

(长春中医药大学药学院, 长春 130117)

[摘要] 目的:通过建立蜂胶药材 HPLC 指纹图谱,评价不同产地蜂胶药材质量的差异,为蜂胶原料适宜产地的选择提供实验依据。方法:采用 HPLC 测定 4 个不同主产区 14 批不同产地蜂胶药材的指纹图谱,并采用国家药典委员会颁布的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004 A)和聚类分析对指纹图谱进行相似度比较。结果:建立蜂胶药材指纹图谱共有模式,标定 12 个指纹图谱共有峰,14 批蜂胶药材中 9 批蜂胶药材的相似度 > 0.90,说明不同主产区及同一主产区不同产地蜂胶指纹图谱既有共性又存在一定差异。结论:建立的方法精密度、重复性和稳定性较好,可用于蜂胶药材的质量控制及产地鉴别。

[关键词] 蜂胶; 高效液相色谱法; 指纹图谱; 相似度评价; 聚类分析

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)03-0048-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016030048

HPLC Fingerprint Analysis of Propolis from Different Origins

JIA Ai-ling, ZHU Kai, ZHENG Ai-zhu, QIU Zhi-dong*

(Pharmacy College, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

[Abstract] **Objective:** By establishing HPLC fingerprint of propolis, to evaluate the quality differences of propolis from different areas, and provide experimental evidence for appropriate choice of raw propolis origins. **Method:** The fingerprints of 14 batches of propolis from four main producing areas were determined by HPLC method, and the fingerprints were compared for similarity by using “*Traditional Chinese Medicine Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation System*” (2004 A) issued by Chinese Pharmacopoeia commission and cluster analysis. **Result:** The common mode for propolis fingerprints was established, and 12 common fingerprint peaks were identified; the similarity was greater than 0.90 in 9 batches of the 14 batches of propolis medicinal herbs, indicating that propolis fingerprints had both similarities and differences either from different main producing areas or different fields within the same producing area. **Conclusion:** This method is reproducible, precise and steady, and it can be used for quality control and origin identification of propolis medicinal herbs.

[Key words] propolis; HPLC; fingerprint; similarity assessment; cluster analysis

蜂胶是蜜蜂科昆虫意大利蜂从植物芽苞和树干处采集的树胶,混入意大利蜂上颚腺分泌物和蜂蜡等形成的一种具有芳香味的胶状固形物^[1]。蜂胶中化学成分较复杂,主要为黄酮类化合物,还包括萜烯类、酚酸类化合物等,主要具有抗病原体、抗炎镇痛、抗肿瘤、抗氧化、保肝等多种生理活性^[2],临床

上可用于治疗口腔溃疡、心脑血管疾病^[3]等,还有降血糖、抗癌等疗效,是天然保健佳品,被誉为“紫色黄金”^[4-7]。《中国药典》2010年版一部以白杨素和高良姜素 2 个指标性成分的含量控制蜂胶的质量,由于中药及其复方的药效是由其所包含的成分群数以及各成分含量及含量比决定的,2010年版

[收稿日期] 20150202(003)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81274092,81173543)

[第一作者] 贾艾玲,硕士,讲师,从事中药制剂研究,Tel:0431-86172786,E-mail:sweetboxarien@qq.com

[通讯作者] *邱智东,硕士,教授,博士生导师,从事中药制剂研究,Tel:0431-86172786,E-mail:qzdeczy@163.com

《中国药典》方法难以全面反映不同产地蜂胶及其制品的质量,指纹图谱能比较全面的反映中药的化学成分体系^[8]。课题组多年来一直致力于有关蜂胶及其制剂的研究,如蜂胶总黄酮滴丸的研制,蜂胶小分子凝胶剂的研制,建立可以从基源上鉴定蜂胶的 DNA 分子遗传标记检测方法,优化《中国药典》2010 年版一部蜂胶的薄层鉴别方法,应用 HPLC-MS 联用技术研究不同基源蜂胶指纹图谱等。本实验在前期课题组研究基础上^[9-10],采用 HPLC 对吉林、河南、陕西及山东等不同主产区的 14 批蜂胶原料药指纹图谱进行研究,利用相似度评价及聚类分析方法,得出不同主产区及同一主产区不同产地蜂胶指纹图谱,该方法可为蜂胶原料适宜产地的选择提供实验依据,并用于蜂胶原药材的质量控制。

1 材料

1.1 仪器 EL204 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司),1260 系列高效液相色谱仪(二极管阵列检测器,在线真空脱气机、四元梯度泵、自动进样器、柱温箱及 Chemstation 化学工作站,美国安捷伦科技公司),HH-2 型双孔数显恒温水浴锅(金坛市精达仪器制造厂)。

1.2 试药 蜂胶原料药采自于主产地吉林省、山东省、陕西省及河南省,经长春中医药大学中药资源与鉴定教研室翁丽丽教授鉴定,均来源于意大利蜂 *Apis mellifera* 的干燥分泌物;白杨素(批号 111701-200501)和高良姜素(批号 111699-200501)对照品均购自中国食品药品检定研究院,甲醇为色谱纯。水为娃哈哈纯净水,其他试剂均为分析纯,不同产地的蜂胶药材来源见表 1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 25 min, 35% ~ 55% A; 25 ~ 40 min, 55% ~ 58% A; 40 ~ 58 min, 58% ~ 55% A; 58 ~ 70 min, 55% ~ 56% A; 70 ~ 85 min, 56% ~ 67% A; 85 ~ 100 min, 67% ~ 80% A; 100 ~ 110 min, 80% ~ 90% A; 110 ~ 115 min, 90% ~ 35% A),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 290 nm,柱温 30 °C,进样量 15 μL,记录 115 min 的色谱图。

2.2 对照品溶液制备 取白杨素、高良姜素对照品,加甲醇分别制成白杨素、高良姜素为 30.6, 19.76 mg·L⁻¹的对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备 取蜂胶粉末(过四号筛)约 0.1 g,精密称定,置索式提取器中,加丙酮 100 mL,

表 1 蜂胶药材来源(产地)及采集时间

Table 1 Propolis medicinal sources (origin) and acquisition time

No.	序号	来源(产地)	采集时间
1	吉林-1	吉林抚松	2012-04
2	河南	河南长葛	2008-11
3	吉林-2	吉林桦甸	2008-12
4	吉林-3	吉林临江	2012-05
5	吉林-4	吉林蛟河	2008-11
6	吉林-5	吉林靖宇北沟	2012-07
7	吉林-6	吉林靖宇珠子河	2012-07
8	吉林-7	吉林露水河	2009-01
9	吉林-8	吉林松江河	2012-07
10	吉林-9	吉林延吉	2009-01
11	山东	山东荣成	2012-04
12	吉林-10	吉林长岭	2008-01
13	吉林-11	吉林左家	2012-04
14	陕西	陕西山花	2012-04

注:同一产地蜂胶采集来源有别,以编号区别。

加热回流至提取液无色,提取液回收溶剂至干,残渣用甲醇溶解,转移至 100 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为样品溶液,即得。

2.4 指纹图谱方法学考察

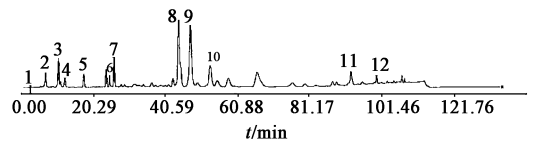
2.4.1 精密度考察 精密吸取同一产地(1 号样品)蜂胶供试品溶液,按照上述色谱条件连续进样 6 次,测定并记录指纹图谱。将所得图谱应用“中药色谱指纹图谱相似度评价”(2004A)软件处理;各主要色谱峰的相对保留时间 RSD 均 < 0.6%,相对峰面积 RSD 均 < 1.1%,表明仪器精密度良好。

2.4.2 重复性考察 精密吸取同一产地(1 号样品)蜂胶样品粉末 6 份,每份 0.1 g,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按照上述色谱条件进样,记录指纹图谱。将所得图谱应用“中药色谱指纹图谱相似度评价”(2004A)软件处理;各主要色谱峰的相对保留时间 RSD 均 < 0.3%,相对峰面积 RSD 均 < 1.8%,表明方法的重复性良好。

2.4.3 稳定性考察 精密吸取同一产地(1 号样品)蜂胶供试品溶液,分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 按照上述色谱条件进样,记录指纹图谱。将所得图谱应用“中药色谱指纹图谱相似度评价”(2004A)软件处理;各主要色谱峰的相对保留时间 RSD 均 < 1.6%,相对峰面积 RSD 均 < 1.7%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5 不同主产地蜂胶药材 HPLC 指纹图谱的建立^[13-14] 按照《中药指纹图谱研究技术》的要求及

2.1 项下方法测定 14 批不同产地蜂胶药材的指纹图谱。将 14 批蜂胶药材的 HPLC 数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价”(2004A)软件,生成蜂胶药材的对照指纹图谱及共有模式,确定 12 个共有特征峰,分别见图 1,2。通过与对照品的色谱图相对比,确定其中 8 号峰为白杨素,9 号峰为高良姜素。其中,9 号峰峰面积较大,且峰形和分离度均较好,选择作为参照峰(s),计算各共有峰与参照峰的峰面积比值,每批样品的非共有峰面积占总峰面积的比值均 <20%,符合指纹图谱技术要求。



8. 白杨素;9. 高良姜素(参照峰)

图 2 蜂胶药材的 HPLC 对照指纹谱

Fig.2 HPLC fingerprint comparison of propolis

对保留时间进行计算,见表 2~4。从结果可以发现,14 批样品共有峰的相对峰面积及保留时间的 RSD 均 <3%,符合指纹图谱的要求,产自河南长葛与吉林临江、靖宇北沟、靖宇珠子河和露水河地区的蜂胶与其他 9 个产地的药材存在一定差异,相似度在 0.707~0.884,其余 9 个产地的药材相似度较高,均 >0.90,说明大多数产地的蜂胶药材质量具有较高的一致性。

2.7 不同主产地蜂胶药材指纹图谱的聚类分析
采用 SPSS 11.0 软件对 14 批蜂胶原料药进行聚类分析。采用欧氏距离和类内平均法作为样品的聚类依据^[11-12]。高效液相指纹图谱可获得样品的整体信息,进行图谱比较,可反映样与样之间的亲疏程度^[15-16],然而单纯凭借图谱直观比较峰的个数多少及面积大小,不足以全面考量药材的质量。相似度比较可以客观的描述指纹图谱。分别对 14 批蜂胶药材指纹图谱进行系统聚类分析见图 3。聚类分析结果和指纹图谱相似度结果较相似,根据相似度可

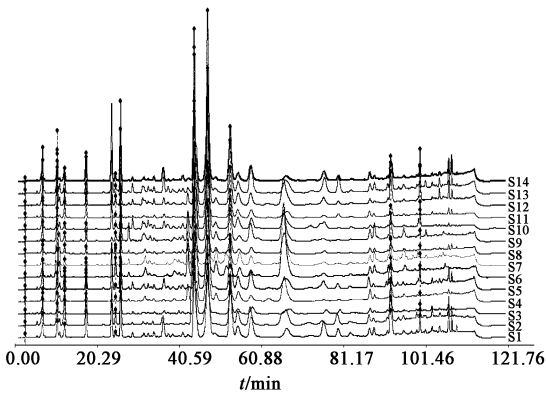


图 1 14 批蜂胶药材的 HPLC 指纹谱

Fig.1 HPLC fingerprint of propolis from 14 batches

2.6 不同产地蜂胶药材指纹图谱相似度评价 以 9 号峰为参照峰,采用指纹图谱相似度评价软件对 14 批蜂胶药材指纹图谱共有峰的相对峰面积及相

表 2 14 批蜂胶药材指纹图谱相似度评价

Table 2 HPLC fingerprint evaluation results of propolis from 14 batches

样品	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	对照
1	1	0.791	0.910	0.761	0.943	0.483	0.612	0.789	0.819	0.891	0.909	0.840	0.941	0.988	0.930
2	0.791	1	0.803	0.663	0.786	0.438	0.532	0.702	0.738	0.736	0.752	0.750	0.791	0.811	0.818
3	0.910	0.803	1	0.799	0.963	0.486	0.602	0.791	0.810	0.858	0.964	0.889	0.895	0.924	0.922
4	0.761	0.663	0.799	1	0.803	0.513	0.616	0.949	0.731	0.844	0.799	0.779	0.763	0.777	0.845
5	0.943	0.786	0.963	0.803	1	0.509	0.640	0.810	0.860	0.928	0.971	0.888	0.925	0.957	0.953
6	0.483	0.438	0.486	0.513	0.509	1	0.981	0.581	0.759	0.562	0.461	0.787	0.466	0.511	0.707
7	0.612	0.532	0.602	0.616	0.640	0.981	1	0.684	0.843	0.690	0.587	0.855	0.598	0.640	0.812
8	0.789	0.702	0.791	0.949	0.810	0.581	0.684	1	0.837	0.902	0.747	0.781	0.757	0.822	0.884
9	0.819	0.738	0.810	0.731	0.860	0.759	0.843	0.837	1	0.926	0.763	0.892	0.761	0.866	0.942
10	0.891	0.736	0.858	0.844	0.928	0.562	0.690	0.902	0.926	1	0.847	0.837	0.861	0.921	0.947
11	0.909	0.752	0.964	0.799	0.971	0.461	0.587	0.747	0.763	0.847	1	0.876	0.909	0.908	0.906
12	0.840	0.750	0.889	0.779	0.888	0.787	0.855	0.781	0.892	0.837	0.876	1	0.827	0.853	0.951
13	0.941	0.791	0.895	0.763	0.925	0.466	0.598	0.757	0.761	0.861	0.909	0.827	1	0.930	0.910
14	0.988	0.811	0.924	0.777	0.957	0.511	0.640	0.822	0.866	0.921	0.908	0.853	0.930	1	0.950
对照	0.930	0.818	0.922	0.845	0.953	0.707	0.812	0.884	0.942	0.947	0.906	0.951	0.910	0.950	1

表 3 14 批蜂胶药材指纹图谱共有峰相对峰面积

Table 3 HPLC fingerprint peaks relative peak area of propolis from 14 batches

样品	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10	峰 11	峰 12
1	0.021 4	0.108 7	0.077 5	0.066 4	0.120 4	0.232 7	0.230 6	0.664 5	1.000 0	0.582 0	0.230 1	0.0673
2	0.025 2	0.225 6	0.236 8	0.328 7	0.393 4	0.104 5	0.404 8	1.002 8	1.000 0	0.794 0	0.483 9	0.048 5
3	0.041 5	0.134 1	0.098 7	0.158 2	0.218 5	0.229 3	0.248 5	0.669 2	1.000 0	0.639 8	0.274 4	0.032 3
4	0.034 3	0.092 3	0.384 7	0.083 1	0.120 4	0.027 1	0.139 8	0.557 4	1.000 0	0.208 4	0.179 9	0.023 2
5	0.012 0	0.085 7	0.051 4	0.072 3	0.101 7	0.150 7	0.261 6	0.705 2	1.000 0	0.407 1	0.139 9	0.070 7
6	0.023 5	0.104 3	0.862 6	0.038 7	0.030 5	0.116 1	0.126 7	0.990 7	1.000 0	0.167 1	0.127 2	0.029 5
7	0.016 9	0.098 3	0.655 8	0.033 3	0.018 4	0.077 7	0.141 2	0.880 0	1.000 0	0.165 5	0.167 3	0.040 0
8	0.030 9	0.086 7	0.494 0	0.069 5	0.060 5	0.066 9	0.232 4	0.974 7	1.000 0	0.377 1	0.182 9	0.031 3
9	0.016 3	0.058 5	0.178 1	0.030 1	0.034 9	0.030 9	0.187 5	1.271 9	1.000 0	0.267 4	0.127 3	0.025 8
10	0.010 6	0.074 7	0.060 6	0.017 4	0.016 8	0.102 3	0.117 7	0.900 8	1.000 0	0.204 6	0.068 5	0.061 1
11	0.024 4	0.140 4	0.058 0	0.117 8	0.170 6	0.096 7	0.161 7	0.468 4	1.000 0	0.482 3	0.173 8	0.027 4
12	0.017 3	0.122 5	0.264 3	0.070 4	0.102 1	0.043 0	0.156 6	0.660 1	1.000 0	0.437 4	0.223 7	0.228 8
13	0.009 4	0.114 5	0.086 9	0.044 0	0.096 2	0.013 5	0.238 8	0.717 0	1.000 0	0.419 5	0.154 4	0.009 4
14	0.020 3	0.103 3	0.067 6	0.080 6	0.162 5	0.044 8	0.280 1	0.805 5	1.000 0	0.553 8	0.207 0	0.055 0

表 4 14 批蜂胶药材指纹图谱共有峰相对保留时间

Table 4 HPLC fingerprint peaks relative retention time of propolis from 14 batches

样品	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10	峰 11	峰 12
1	0.053 5	0.144 1	0.221 0	0.258 8	0.370 1	0.501 2	0.548 0	0.929 9	1.000 0	1.119 8	1.949 6	2.104 2
2	0.055 6	0.144 4	0.221 2	0.258 9	0.370 2	0.502 0	0.549 4	0.930 4	1.000 0	1.119 4	1.947 5	2.103 3
3	0.055 0	0.142 2	0.218 0	0.255 8	0.367 2	0.499 1	0.546 4	0.928 7	1.000 0	1.123 8	1.932 8	2.070 4
4	0.053 5	0.144 0	0.219 7	0.257 7	0.369 1	0.521 1	0.546 9	0.929 0	1.000 0	1.158 9	1.957 4	2.110 8
5	0.052 9	0.143 6	0.219 9	0.258 1	0.369 9	0.501 6	0.548 6	0.929 4	1.000 0	1.117 9	1.954 2	2.102 1
6	0.058 5	0.142 7	0.219 0	0.257 7	0.369 9	0.523 0	0.549 9	0.929 7	1.000 0	1.115 7	1.955 6	2.098 6
7	0.055 7	0.143 6	0.219 5	0.257 6	0.371 3	0.521 5	0.548 4	0.930 3	1.000 0	1.117 3	1.950 5	2.093 0
8	0.055 6	0.143 8	0.220 3	0.258 1	0.369 7	0.522 0	0.549 2	0.930 5	1.000 0	1.120 1	1.948 2	2.103 5
9	0.053 6	0.143 5	0.219 7	0.258 0	0.370 2	0.522 5	0.549 5	0.930 2	1.000 0	1.116 5	1.954 2	2.109 9
10	0.054 0	0.144 4	0.221 2	0.258 9	0.370 2	0.502 0	0.549 4	0.930 4	1.000 0	1.119 4	1.947 5	2.103 3
11	0.055 6	0.144 0	0.220 5	0.258 2	0.369 6	0.502 0	0.548 9	0.930 1	1.000 0	1.119 3	1.950 3	2.101 3
12	0.055 8	0.143 5	0.219 5	0.257 6	0.369 9	0.522 2	0.549 2	0.929 9	1.000 0	1.116 3	1.952 5	2.110 2
13	0.053 0	0.143 4	0.219 4	0.257 7	0.369 9	0.521 7	0.548 9	0.929 4	1.000 0	1.117 2	1.949 4	2.097 6
14	0.053 1	0.143 8	0.219 9	0.258 2	0.370 2	0.522 3	0.549 5	0.930 4	1.000 0	1.117 6	1.952 8	2.107 1

以将 14 批样品分为 3 类,结果见表 5。相似度为 0.884~0.951 的 10 个产地样品可归为一类,为优质品;相似度为 0.812~0.845 的 3 个产地样品归为一类,为一般品;产于吉林靖宇北沟地区的与其他批次的蜂胶药材相比相似度较低,为 0.707,质量较差,归为一类,为劣质品。

3 讨论

3.1 样品提取条件的优化 试验中比较了不同浓

表 5 14 批蜂胶药材系统聚类分析

Table 5 Cluster analysis results of propolis from 14 batches

类别	样品号
I	12,14,5,10,9,1,3,11,13,8
II	2,7,4
III	6

度甲醇(50%,80%,100%)及丙酮通过不同提取方

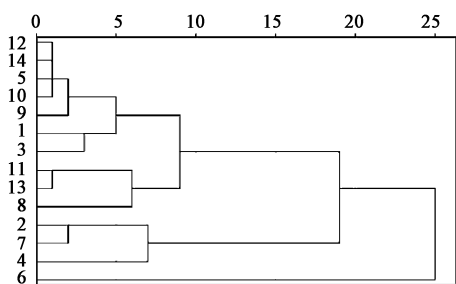


图 3 14 批蜂胶药材聚类分析树状

Fig. 3 Dendrogram of propolis from 14 batches

法(超声提取、索氏回流提取)得到的 HPLC 指纹图谱,结果显示以丙酮索氏回流提取至无色得到的色谱峰分离效果最好,信息最为丰富^[9]。

3.2 色谱条件的优化 由于蜂胶药材成分复杂,本实验通过用甲醇-0.1% 甲酸溶剂系统进行线性梯度洗脱,使蜂胶中各主要成分能得到较好的分离和较完整的指纹图谱。预实验中曾考察不同色谱柱的分离效果,即对 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)和 Dikma Technologies 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)进行试验,得到的分离效果均较好;考察不同液相分离效果,即对 Agilent1260 系列高效液相色谱仪及日本岛津 LC-15C 型高效液相色谱仪进行对比试验,得到的分离效果也较好,说明建立的指纹图谱方法较为稳定。

3.3 测定波长的选择 文献中有用 283 nm 作为检测波长的报道^[17],实验中应用二极管阵列检测器对蜂胶药材波长进行检测,参照 3D 立体图构向分析,在 290 nm 处,相对吸收峰比较多,基本能够反映出蜂胶药材的整体效果,在线性梯度洗脱时,基线基本平稳,所以确定检测波长为 290 nm。

3.4 蜂胶指纹图谱对评价药材质量的意义 通过建立蜂胶药材的指纹图谱,采用相似度软件对来自不同产区和同一产区不同产地的药材进行比较分析,得出主要考察的吉林省 11 个产地的蜂胶药材指纹图谱总体差异较小但可能由于蜜源植物和采集的季节不同,使得个别产地的指纹图谱与共有模式对照图谱相似度相比较偏低,质量较为一般。

本文通过利用聚类分析等方法对待测样品进行归类鉴别,并且利用相似度软件评价待测样品与对照指纹图谱之间的相似程度,在一定程度上能够反应其质量优劣。建立的鉴别方法可为完善蜂胶原料药及其制剂的行业标准提供实验依据,进一步为蜂胶的临床合理用药提供参考。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:338.

[2] 孟晓英,王玉华,魏春琴. 蜂胶药理作用研究概述[J]. 中国现代药物应用,2010,4(18):245.

[3] 隋殿军,邱智东,陈雪松,等. 蜂胶总黄酮滴丸治疗冠心病心绞痛临床研究[J]. 新中医,2011,43(11):8-10.

[4] 杨道锋,王静丽,朱慧芬,等. 普通蜂胶及纳米蜂胶对临床常见细菌的体外抑制效应研究[J]. 中国药师,2008,11(10):1167-1169.

[5] 马斌. 蜂胶在口腔科临床应用的研究进展[J]. 人民军医,2006,49(9):550-552.

[6] 沙娜,黄慧莲,张金强,等. 蜂胶的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国药科大学学报,2009,40(2):144-146.

[7] 仝会娟,张强,康深,等. 木蝴蝶药材中黄芩素和白杨素的含量测定[J]. 中国中医药信息杂志,2009,16(12):52-53.

[8] 彭娟,郭娜,范斌,等. 黄连解毒汤高效液相色谱指纹图谱研究及指标成分的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(10):67-70.

[9] 韩红祥,王维,陈雪松,等. 应用 HPLC-MS 联用技术研究不同基源蜂胶指纹图谱[J]. 吉林中医药,2011,31(12):1221-1223.

[10] 贾艾玲,郑爱竹,王睿,等. 不同地区蜂胶原料药的质量评价[J]. 辽宁中医杂志,2014,41(2):316-318.

[11] 李亚伟,陈守煜,聂相田. 基于 PCA 和聚类分析的相似流域选择方法[J]. 东北水利水电,2004,22(7):1-3.

[12] 陈军辉,谢明勇,王凤美,等. 聚类分析法用于西洋参样品分类研究[J]. 分析测试学报,2006,25(2):20-24.

[13] 国家食品药品监督管理局. 关于印发《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》的通知[J]. 中成药,2000,22(10):671-675.

[14] 周玉新,雷海明. 中药指纹图谱研究技术[M]. 北京:化学工业出版社,2002:131.

[15] 黄慧莲,刘科兰,邵峰,等. 不同主产地黑顺片的指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(16):44-49.

[16] 张克荣,毕开顺. 芍药 HPLC 指纹图谱相似度的分析[J]. 中国中药杂志,2004,29(4):380-381.

[17] 王小平,林励,潘建国,等. 蜂胶 HPLC 指纹图谱的研究[J]. 中草药,2008,39(10):1499-1501.

[责任编辑 顾雪竹]