

Fingerprint of *Periplaneta americana* by HPLC

Hongmei Wu¹, Ye Yang¹, Limei Liu², Ming Yang², Xiangpei Wang^{1*}

¹Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

²Ministry of Education Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicines, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan

Email: *wxp0123@126.com

Received: Jul. 28th, 2015; accepted: Aug. 14th, 2015; published: Aug. 21st, 2015

Copyright © 2015 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Taking Diamonsil C₁₈(1) column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), with acetonitrile-0.1% trifluoroacetic acid as mobile phase, detection wavelength 256 nm, we got a result that there were 22 common peaks in batches of *Periplaneta Americana*, the peaks similarity was more than 0.950, three common peaks were identified, the similarity of *Periplaneta fuliginosa* was 0.990 by comparing with the control fingerprint, but there were 18 common peaks. The method is repeatable and feasible and can be suitable for the quality control of *Periplaneta americana*.

Keywords

Periplaneta americana, Characteristic Chromatographic Profile, HPLC

美洲大蠊药材HPLC指纹图谱研究

吴红梅¹, 杨 焯¹, 刘李梅², 杨 明², 王祥培^{1*}

¹贵阳中医学院, 贵阳

²成都中医药大学中药材标准化教育部重点实验室, 成都

Email: *wxp0123@126.com

收稿日期: 2015年7月28日; 录用日期: 2015年8月14日; 发布日期: 2015年8月21日

*通讯作者。

摘要

采用Diamonsil-C₁₈(1)色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1%三氟乙酸水溶液, 检测波长256 nm, 结果10批不同来源的美洲大蠊药材标定了22个共有峰, 其中指认了3个共有峰, 其相似度大于0.950; 与美洲大蠊药材对照指纹图谱比较, 1批黑胸大蠊药材的相似度为0.990, 但只有18个共有峰。本文建立的方法具有简便, 重复性好, 特征性强的特点, 可用于美洲大蠊药材的鉴别与质量评价。

关键词

美洲大蠊药材, 特征指纹图谱, HPLC

1. 引言

美洲大蠊(*Periplaneta americana* L.)为蜚蠊科大蠊属昆虫, 俗称“蟑螂”, 其入药始载于《神农本草经》, 列为中品[1]。具有散瘀、消积、解毒、利水、消肿等功效。近年来对美洲大蠊药用价值的研究越来越多, 其临床应用也越来越广泛[2]。目前以测定美洲大蠊药材中乙醇浸出物[3]、总氨基酸[4] [5]和甘露醇[6]的含量来控制其质量, 但药材的化学成分复杂, 仅以这些指标的测定难以控制药材质量。同时美洲大蠊药材来源复杂, 饲养的基地也较多, 药材的质量直接关系到制剂的质量及临床药效的发挥, 不同美洲大蠊药材质量的差异, 值得研究。而中药指纹图谱技术能够标示其特征的共有峰, 借以辨别真伪、评价药材、半成品以及成品质量的均一性和稳定性[7]-[10]。目前虽已有关于美洲大蠊药材指纹图谱的研究报道[11], 但样品前处理过于繁琐, 势必会导致样品检测的误差, 降低分析的精确度, 且所建立的指纹图谱信息量小, 不利于体现其“整体性”和“模糊性”的显著特点, 难以对成分复杂的美洲大蠊药材得到较为全面的表征。因此本文通过建立简便的美洲大蠊样品前处理方法, 同时又能反映更多信息的 HPLC 指纹图谱, 以期对较为全面的评价和控制美洲大蠊药材的质量提供参考。

2. 实验部分

2.1. 材料与仪器

2.1.1. 药材

11 批药材分别收集或采集于四川成都、云南腾冲、大理等地(表 1)。10 批美洲大蠊药材经贵阳中医学院生药实验室王祥培教授鉴定, 为蜚蠊科昆虫美洲大蠊 *Periplaneta americana* (Linnaeus)的干燥全体; 1 批黑胸大蠊为自己捕获, 经贵阳中医学院生药实验室王祥培教授鉴定, 为蜚蠊科昆虫黑胸大蠊 *Periplaneta fuliginosa* (Serville)的干燥全体。

2.1.2. 仪器与试剂

Agilent1100 型高效液相色谱仪系列(美国安捷伦, 包括四元梯度泵、自动进样器、二极管阵列检测器、Chemstation 工作站), AG135 型电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司); 《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004 A 版》(国家药典委员会)。

葫芦巴碱(中国药品生物制品检定所, 批号: 110883-200502)、尿嘧啶(中国药品生物制品检定所, 批号: 100469-200401)、次黄嘌呤(中国药品生物制品检定所, 批号: 140661-200903)、腺苷(中国药品生物制品检定所, 批号: 879-200001)、肌苷(中国食品药品检定研究院, 批号: 40669-201104)、表皮生长因子(sigma 公司, 批号: 62253-63-8); 乙腈、甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为娃哈哈纯净水。

Table 1. Source of medicinal material and the results of the Similarity
表 1. 药材来源及相似度结果

序号	样品	产地	批号	相似度
S1	美洲大蠊	成都荷花池药材市场	2012-07	0.953
S2	美洲大蠊	云南腾冲	2012-04	0.978
S3	美洲大蠊	云南大理弥渡县	2012-04	0.996
S4	美洲大蠊	云南宾川	2012-05	0.998
S5	美洲大蠊	云南宾川	2012-04	0.994
S6	美洲大蠊	云南大理弥渡县	2012-04	0.980
S7	美洲大蠊	云南腾冲	2012-04	0.998
S8	美洲大蠊	云南腾冲	2011-12	0.986
S9	美洲大蠊	云南腾冲	2012-05	0.969
S10	美洲大蠊	四川科伦药业	2012-04	0.963
S11	黑胸大蠊	四川成都	2012-06	0.990

2.2. 方法与结果

2.2.1. 色谱条件

色谱柱: Dikma 公司 Diamonsil C₁₈(1) (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.1%三氟乙酸水溶液(B)进行线性梯度洗脱, 0~30 min, 1% A~5% A, 30~40 min, 5% A~18% A, 40~60 min, 18% A~30% A, 60~75 min, 30% A~38% A, 75~85 min, 38% A~46% A, 85~90 min, 46% A~100% A, 90~100 min, 100% A~100% A; 检测波长: 256 nm; 柱温: 25℃; 流速: 0.8 mL/min; 运行时间: 100 min; 进样量 7 μL。

2.2.2. 供试品溶液的制备

1) 药材供试品溶液的制备

精密称取约 1.0 g 美洲大蠊、黑胸大蠊药材粉末(过 40 目筛), 置于圆底烧瓶中, 加入 85%乙醇 50 mL, 回流提取 2 次, 每次 1 h, 过滤, 合并滤液, 于水浴挥干, 加 50%甲醇定容至 10 mL 容量瓶, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 即得。

2) 对照品溶液的配制

分取葫芦巴碱、尿嘧啶、表皮生长因子、次黄嘌呤、腺苷、肌苷适量, 精密称定, 加水溶解制成含有葫芦巴碱、尿嘧啶、表皮生长因子、次黄嘌呤、肌苷、腺苷分别约为 20, 20, 20, 20, 20, 50 μg·mL⁻¹ 的混合对照品溶液, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 作为参照物溶液。

2.2.3. 空白试剂干扰

精密吸取制备供试品溶液的试剂(50%甲醇), 进样 7 μL, 注入高效液相色谱仪, 按规定的梯度条件进行洗脱, 记录色谱图, 从色谱图可知, 所用试剂除了 93 min 后的图谱外, 对指纹图谱测定基本无干扰。见图 1。

2.2.4. 方法学考察

1) 稳定性试验

取同一份药材供试品溶液, 分别在 0、8、16、24、32 h 进行检测, 用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版》软件计算, 得各色谱指纹图谱的相似度均大于 0.995。各共有色谱峰的相对保留时间及相对峰面积 RSD 分别在 0%~2.88%和 0%~0.51%之间, 表明样品溶液在 32 h 内稳定。

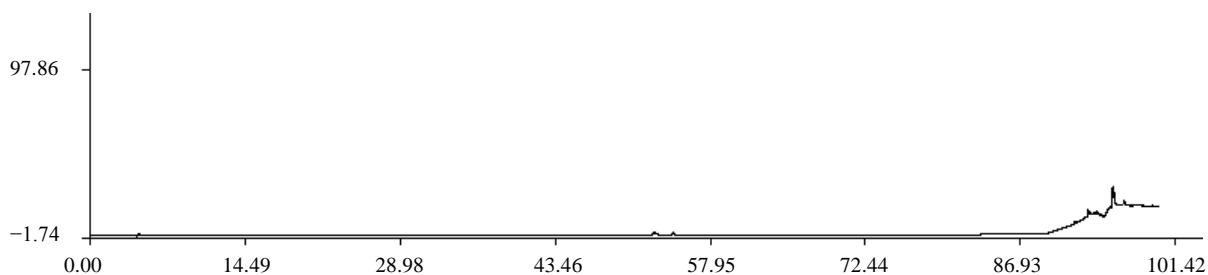


Figure 1. Blank solvent of chromatogram

图 1. 空白溶剂色谱图

2) 精密度试验

取同一份药材供试品溶液, 重复进样 5 次, 用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版》软件计算, 得各色谱指纹图谱的相似度均大于 0.995。各共有色谱峰相对保留时间及相对峰面积的 RSD 分别在 0%~1.24% 和 0%~0.66% 之间, 表明该仪器精密度良好。

3) 重复性试验

取同一批药材的供试品 5 份, 同法分别进行检测, 用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版》软件计算, 得各色谱指纹图谱的相似度均大于 0.995。各共有色谱峰的相对保留时间和相对峰面积比值的 RSD 值分别在 0%~2.75% 和 0%~2.83% 之间, 表明该方法具有重复性。

2.2.5. 指纹图谱的构建和解析

1) 共有峰的标记

对 10 批美洲大蠊药材进行指纹图谱分析, 以肌苷(11 号峰)作为内参比峰, 以峰的共有率大于 90% 为依据, 标定了 22 个共有峰, 分别为 1 号峰(4.326 min), 2 号峰(6.546 min), 3 号峰(7.450 min), 4 号峰(9.146 min), 5 号峰(10.288 min), 6 号峰(10.953 min), 7 号峰(12.813 min), 8 号峰(13.290 min)、9 号峰(15.068 min)、10 号峰(16.375 min)、11 号峰(21.446 min)、12 号峰(22.385 min)、13 号峰(30.219 min)、14 号峰(38.643 min)、15 号峰(45.118 min)、16 号峰(45.544 min)、17 号峰(46.757 min)、18 号峰(47.243 min)、19 号峰(47.851 min)、20 号峰(62.244 min)、21 号峰(89.930 min)和 22 号峰(92.654 min)。通过与对照品图谱比对, 指认 3 号峰为尿嘧啶, 4 号峰为次黄嘌呤, 11 号峰为肌苷。见图 2~4。

2) n 强峰标定

把 10 批药材的色谱图与生成的对照图谱进行比较, 发现 S7 与之相似度最高, 于是把 S7 作为标准药材。通过峰面积的比较, 选取峰面积较大且稳定的图谱共有峰, 得到 10 个强峰, 分别为共有峰 3 号(4.9488%), 4 号(10.6527%), 5 号(41.1724%), 7 号(3.3767%), 8 号(1.5296%), 9 号(4.5672%), 11 号(17.0318%), 13 号(1.1086%), 14 号(2.9320%), 18 号(1.2523%), 其峰面积之和占总峰面积的 85% 以上。这 10 个强峰都是共有峰, 可反映美洲大蠊药材内在特征, 可控制药材的质量。

3) 共有指纹峰的相对保留时间及相对峰面积

在供试品色谱图中, 以肌苷色谱峰(11 号峰)为参照峰, 其保留时间和色谱峰面积为 1, 将其他特征峰的保留时间与峰面积与肌苷相比, 得到各峰的相对保留时间和相对峰面积, 其中 10 批美洲大蠊药材有 22 个共有峰, 而美洲大蠊与黑胸大蠊只有 18 个共有峰(表 2 和表 3)。

4) 相似度计算

将 10 批美洲大蠊药材样品的 HPLC 指纹图谱以 AIA 格式导入中国药典委员会推荐使用的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版》软件, 计算各色谱图的整体相似度, 见表 1。S11 为同科同属昆虫黑胸大蠊的图谱, 各峰在整体面貌上与美洲大蠊非常相似, 且相似度达 0.99, 见表 1 和图 5。

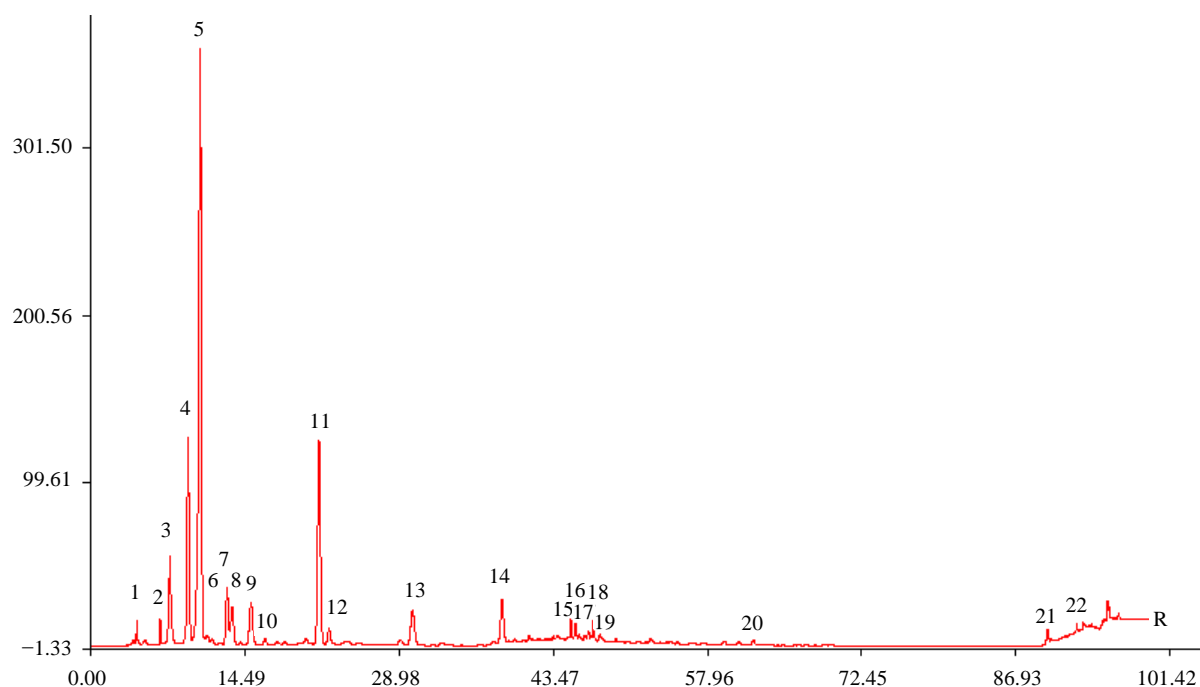


Figure 2. Reference fingerprint

图 2. 对照指纹图谱

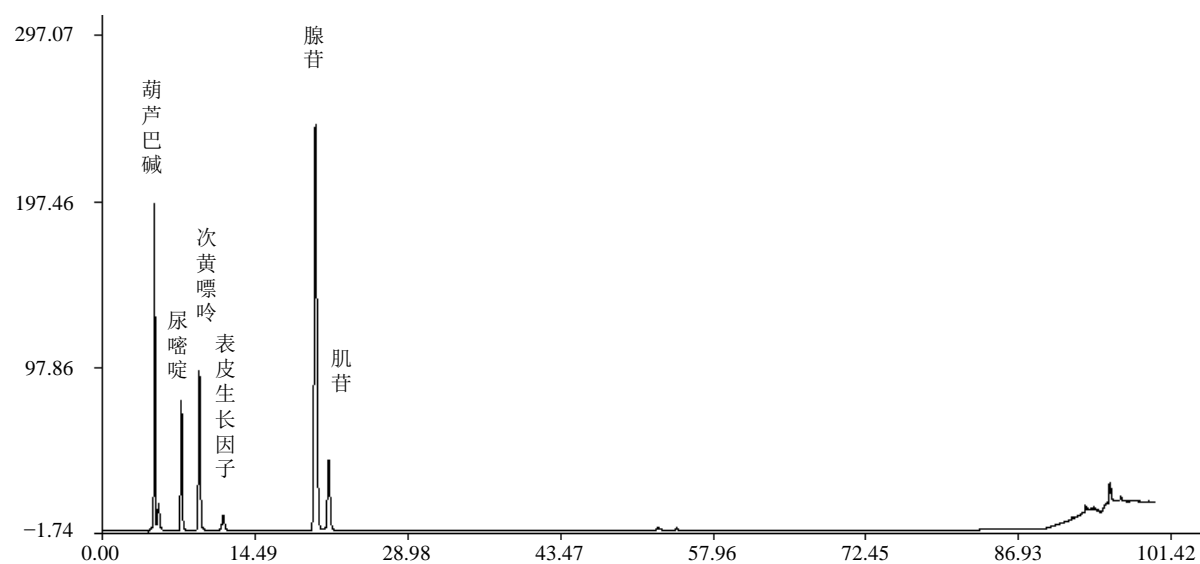


Figure 3. Mixed reference solution of chromatogram

图 3. 混合对照品溶液色谱

5) 美洲大蠊与黑胸大蠊药材指纹图谱比较

从美洲大蠊与黑胸大蠊的指纹图谱中，可以直观地看出各自的色谱指纹图谱较为相似，但 10 批美洲大蠊药材有 22 个共有峰，而美洲大蠊与黑胸大蠊只有 18 个共有峰，并且美洲大蠊药材指纹图谱的 21 号峰(89.930 min)和 22 号峰(92.654 min)为特有峰，见图 5 和图 6。

6) 聚类分析

10 批美洲大蠊药材聚类分析：采用 SPSS 数据统计软件，将表 3 中 10 批美洲大蠊样品的 22 个共有

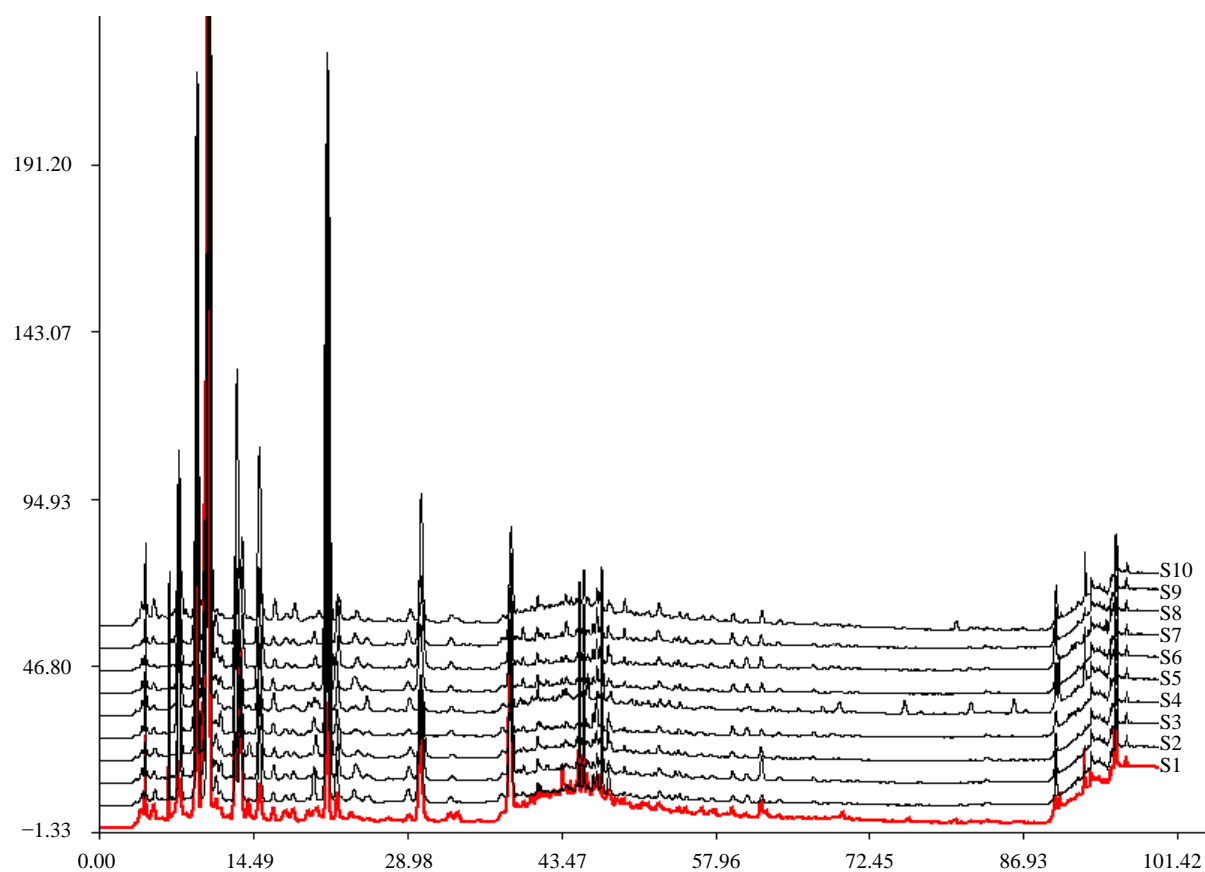


Figure 4. Fingerprint for 10 batches periplaneta medicinal material

图 4. 10 批美洲大蠊药材指纹图谱

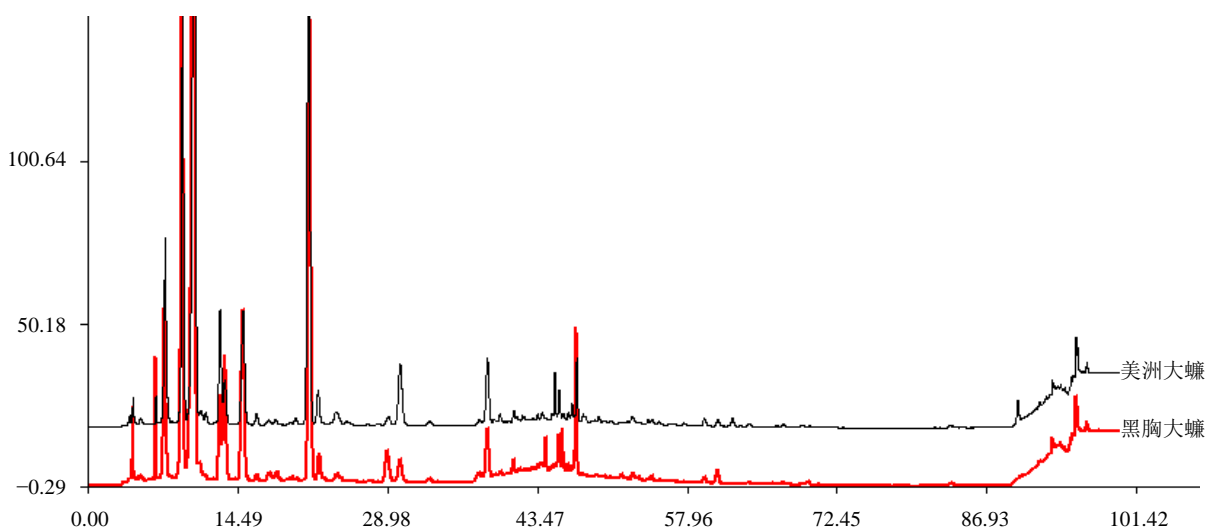


Figure 5. Fingerprint comparison for medicinal material of *Periplaneta fuliginosa* and *Periplaneta americana*

图 5. 黑胸大蠊与美洲大蠊药材指纹图谱比较

峰相对峰面积数据, 选用组间联接(between groups linkage)进行聚类, 用相关性(Pearson)计算样品相似性程度, 聚类结果见图 7。从树状聚类图中看到, 10 批样品大体上聚为 2 类, S2 (云南腾冲)、S3 (云南弥渡)、

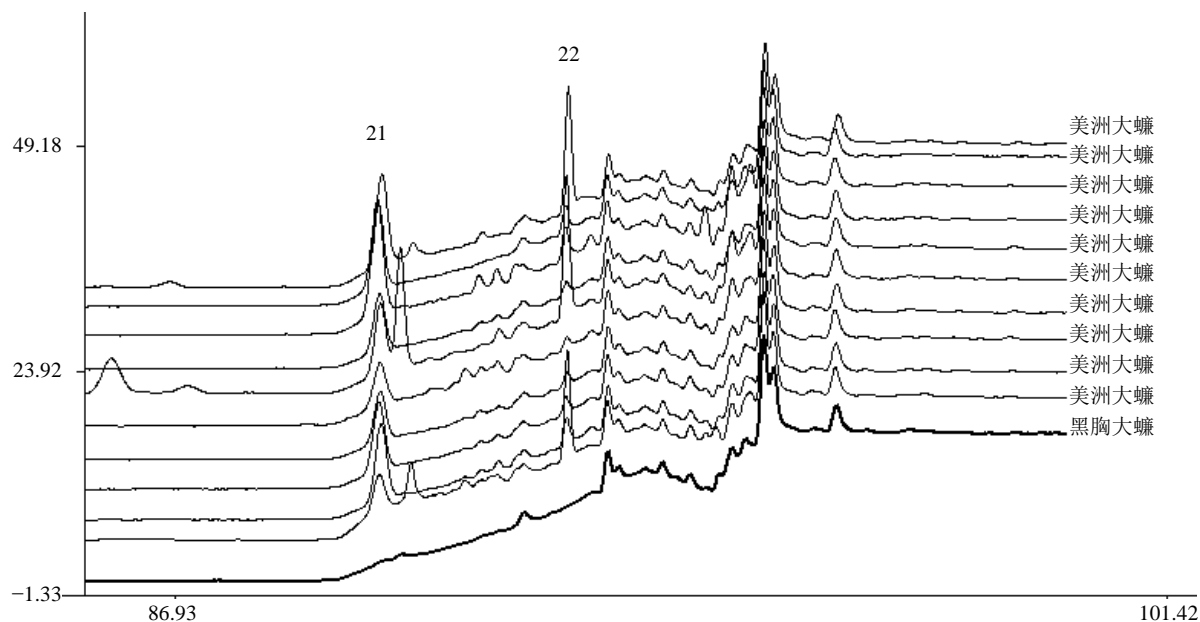


Figure 6. Amplified fingerprint comparison for medicinal material of *Periplaneta fuliginosa* and *Periplaneta americana* after 86 min

图 6. 黑胸大蠊与美洲大蠊药材 86 min 后指纹图谱放大比较

Table 2. Relative retention time of common peaks for 11 batches of medicinal material

表 2. 11 批药材相对保留时间

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
1	0.202	0.203	0.202	0.201	0.201	0.201	0.203	0.201	0.201	0.2	0.202
2	0.305	0.306	0.305	0.303	0.305	0.305	0.308	0.305	0.305	0.304	0.305
3	0.348	0.349	0.348	0.346	0.347	0.347	0.35	0.347	0.346	0.347	0.346
4	0.427	0.429	0.427	0.424	0.426	0.426	0.429	0.428	0.425	0.426	0.424
5	0.479	0.482	0.480	0.476	0.479	0.478	0.482	0.482	0.478	0.480	0.478
6	0.513	0.513	0.511	0.508	0.511	0.509	0.513	0.512	0.511	0.511	0.503
7	0.597	0.599	0.597	0.594	0.598	0.596	0.599	0.6	0.597	0.598	0.595
8	0.619	0.621	0.619	0.617	0.62	0.618	0.62	0.622	0.619	0.621	0.617
9	0.704	0.704	0.702	0.701	0.703	0.701	0.703	0.704	0.701	0.702	0.699
10	0.764	0.765	0.762	0.762	0.764	0.762	0.765	0.765	0.763	0.763	0.762
11	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
12	1.045	1.044	1.044	1.044	1.045	1.044	1.044	1.043	1.043	1.043	1.043
13	1.409	1.411	1.409	1.408	1.412	1.409	1.416	1.404	1.407	1.405	1.408
14	1.802	1.809	1.802	1.794	1.807	1.797	1.812	1.793	1.801	1.791	1.801
15	2.103	2.113	2.101	2.091	2.109	2.095	2.118	2.093	2.104	2.088	2.105
16	2.123	2.133	2.122	2.111	2.130	2.115	2.138	2.113	2.123	2.108	2.123
17	2.180	2.190	2.178	2.167	2.185	2.170	2.196	2.170	2.180	2.165	2.180
18	2.203	2.213	2.201	2.189	2.209	2.194	2.218	2.191	2.202	2.186	2.201
19	2.230	2.242	2.229	2.217	2.237	2.222	2.247	2.220	2.231	2.216	-
20	2.902	2.916	2.899	2.883	2.910	2.890	2.924	2.887	2.900	2.883	-
21	4.192	4.211	4.187	4.169	4.203	4.225	4.220	4.172	4.191	4.162	-
22	4.320	4.337	4.314	4.296	4.330	4.350	4.348	4.299	4.319	4.288	-

Table 3. Relative area of common peaks for 11 batches of medicinal material
表 3. 11 批药材相对峰面积

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
1	0.290	0.018	0.036	0.032	0.026	0.025	0.022	0.019	0.022	0.196	0.050
2	0.124	0.036	0.022	0.039	0.023	0.028	0.013	0.024	0.016	0.086	0.060
3	0.477	0.225	0.413	0.22	0.297	0.126	0.291	0.266	0.236	1.049	0.318
4	2.678	0.482	0.678	0.909	0.667	0.244	0.625	0.536	0.684	2.839	1.257
5	10.24	1.570	3.036	2.693	2.458	2.143	2.417	1.902	1.524	7.159	3.315
6	0.216	0.043	0.042	0.054	0.027	0.037	0.028	0.04	0.064	0.051	0.033
7	0.631	0.089	0.249	0.293	0.208	0.054	0.198	0.145	0.145	1.443	0.165
8	1.563	0.15	0.13	0.171	0.111	0.138	0.09	0.099	0.139	0.537	0.288
9	0.403	0.121	0.318	0.159	0.189	0.089	0.268	0.189	0.391	0.269	0.442
10	0.121	0.014	0.027	0.020	0.020	0.008	0.021	0.017	0.013	0.133	0.014
11	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
12	0.228	0.063	0.077	0.081	0.046	0.058	0.065	0.057	0.08	0.153	0.055
13	0.965	0.273	0.311	0.208	0.014	0.246	0.172	0.45	0.164	0.257	0.071
14	1.870	0.214	0.352	0.220	0.049	0.128	0.134	0.183	0.168	0.703	0.117
15	0.699	0.024	0.127	0.052	0.033	0.017	0.050	0.052	0.045	0.180	0.019
16	0.454	0.030	0.052	0.051	0.051	0.022	0.040	0.045	0.037	0.260	0.067
17	0.213	0.024	0.021	0.03	0.046	0.042	0.021	0.027	0.029	0.226	0.012
18	0.238	0.048	0.090	0.047	0.034	0.038	0.074	0.068	0.068	0.131	0.183
19	0.400	0.029	0.018	0.026	0.021	0.033	0.016	0.020	0.016	0.215	-
20	0.149	0.012	0.049	0.022	0.011	0.011	0.015	0.021	0.016	0.076	-
21	0.095	0.031	0.037	0.030	0.021	0.041	0.029	0.056	0.039	0.161	-
22	0.122	0.006	0.005	0.009	0.005	0.007	0.007	0.009	0.006	0.106	-

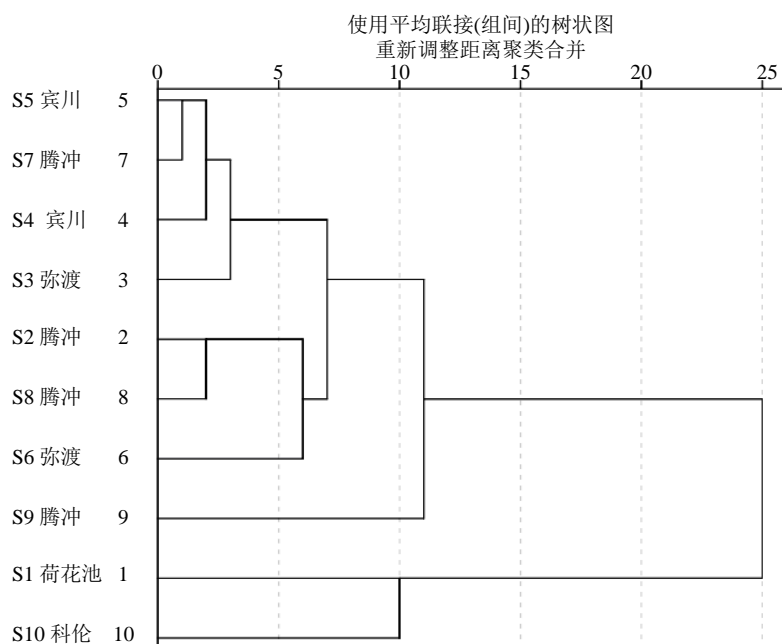


Figure 7. Dendrogram of cluster analysis for 10 batches of periplaneta
图 7. 10 批美洲大蠊聚类分析树状图

S4 (云南宾川)、S5 (云南宾川)、S6 (云南弥渡)、S7 (云南腾冲)、S8 (云南腾冲)、S9 (云南腾冲)为一类, S1 (四川荷花池)与 S10 (四川科伦)为一类。

3. 讨论

为了尽可能地表征美洲大蠊药材的化学成分, 本文考察了 85%乙醇、85%甲醇、水等溶剂, 回流提取、超声提取及提取次数对美洲大蠊药材中化学成分提取的影响, 最终本文所用的提取条件较完全, 且稳定, 重复性好。

为优化较佳的色谱条件, 本文选择了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1%三氟乙酸及乙腈-0.1%三氟乙酸溶液等不同梯度的流动相系统, 结果本文所用乙腈-0.1%三氟乙酸溶液的梯度洗脱条件基线稳定、信息较文献报道[11]的丰富及分离度高, 这可能是与美洲大蠊药材主要含有多肽及蛋白质, 而三氟乙酸在反相色谱分离这些大分子物质具有优越性有关; 采用 DAD 检测器对检测波长进行考察, 研究结果显示在 256 nm 波长下, 美洲大蠊 HPLC 指纹图谱色谱中峰较多, 峰形对称, 基线平稳。

本实验还比较了 Diamonsil C₁₈(1) (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)、AgI RP-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm, Alltima)、Diamonsil C₁₈(2) (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)、Ultimate® XB-C₁₈ 四种色谱柱对美洲大蠊药材供试品的分离情况。结果选择了峰分布、峰形、分离度均较好的 Diamonsil C₁₈(1) (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)作为色谱柱。还考察了柱温在 25℃、30℃、35℃、40℃条件下, 对药材的分离效果, 各色谱图整体面貌相差较小, 柱温对色谱的分离影响不大, 综合考虑, 确定选择柱温为 25℃进行色谱的测定。

通过对美洲大蠊药材的指纹图谱比较并结合相似度分析结果表明, 不同产地美洲大蠊指纹图谱有 22 个共有峰, 相似度平均为 0.982, 说明不同饲养基地的美洲大蠊药材化学成分相似性较高。药材中的化学成分在一定的程度上代表其功能主治, 这些成分量的积累也在一定的程度上代表其质量, 结合共有峰相对峰面积聚为 2 类来看, 来源于荷花池、科伦的美洲大蠊与云南不同饲养基地生产的美洲大蠊药材的质量存在一定的差异, 而云南不同基地生产的美洲大蠊药材质量较为稳定。质量差异可能与美洲大蠊产地、饲养的条件、环境及其加工炮制等不同因素有关。也提示康复新液等制剂在采购原料药美洲大蠊时应保证供应渠道的稳定性, 才能更好的保证其临床的安全有效。

通过将收集到的美洲大蠊与黑胸大蠊进行比较发现, 美洲大蠊与黑胸大蠊有 18 个共有峰, 相似度达 0.990, 直观两者的指纹图谱整体面貌具有良好的相似性, 这符合亲缘关系相近的物种在化学成分上具有相同或相似性的特性[12], 这在一定程度上提示资源同样丰富的黑胸大蠊有作蟑螂入药可能。而美洲大蠊与黑胸大蠊的共有峰个数的差异及特征峰的有无可作为两者鉴别的依据。

美洲大蠊药材化学成分复杂, 导致其临床应用具有广泛性。本文通过 HPLC 指纹图谱对其化学成分尽可能进行了表征, 并指认了肌苷、次黄嘌呤及尿嘧啶 3 个化学成分, 而 10 批美洲大蠊药材中具有多种生理活性的表皮生长因子、葫芦巴碱及腺苷含量较低, 不同批次药材中这些成分量的积累存在较大差异, 未能同时得到表征。

本文建立的美洲大蠊药材 HPLC 指纹图谱较文献报道[11] [13]的前处理简单、信息量丰富, 更能体现美洲大蠊药材功效上、成分上的多样性、复杂性, 建立的指纹图谱可用于美洲大蠊药材的质量控制。

参考文献 (References)

- [1] 清·黄奭辑 (1982) 神农本草经. 中医古籍出版社, 北京, 238.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会 (1999) 中华本草. 上海科学技术出版社, 上海, 149-151.
- [3] 云南省食品药品监督管理局编 (2006) 云南省中药材标准(2005年版). 云南美术出版社, 昆明, 246.
- [4] 吴红梅, 李晨晨, 刘楠, 等 (2012) 闪式与回流提取美洲大蠊总氨基酸的工艺比较. *中国实验方剂学杂志*, **21**,

52-53.

- [5] 杨芳, 邵金良, 汪庆平, 等 (2010) 美洲大蠊水解氨基酸含量测定及营养评价. *氨基酸和生物资源*, **1**, 9-11.
- [6] 肖培云, 杨永寿, 李树楠 (2012) 不同养殖场美洲大蠊中甘露醇的含量测定. *中国现代应用药学*, **2**, 156-158.
- [7] 郭念欣, 李颖春, 谢伟桥, 等 (2011) 广陈皮与陈皮 HPLC 指纹图谱的建立与鉴别. *中国实验方剂学杂志*, **7**, 90-93.
- [8] 王祥培, 黄婕, 靳凤云, 等 (2010) 威灵仙类药材 HPLC 指纹图谱鉴别研究. *中成药*, **5**, 704-708.
- [9] 刘璃曦, 王荣荣, 齐文, 等 (2013) 基于 HPLC 特征指纹图谱的蒲黄炭的鉴别研究. *中成药*, **1**, 127-131.
- [10] 李辰, 刘志平, 邸多隆 (2013) 快速鉴别原药材与其胶囊制剂的 HPLC 指纹图谱比对法. *中成药*, **1**, 143-147.
- [11] 王利春, 孔繁贵, 廖军, 等 (2008) 一种美洲大蠊药材及其提取物的指纹图谱质量测定方法. 中国, ZL200810116773.0.
- [12] 万德光 (1997) 中药分类学. 人民卫生出版社, 北京, 155-193.
- [13] 焦春香, 张成桂, 刘光明, 等 (2011) 心脉隆注射液 HPLC 指纹图谱建立方法的研究. *中成药*, **10**, 1648-1652.