

黄芪药材利尿作用的谱效关系研究

刘小花^{1,2}, 蔺兴遥¹, 梁瑾², 陈亚丽², 任远^{1*}, 封士兰² (1.甘肃省中药药理与毒理学重点实验室, 兰州 730000; 2.兰州大学药学院, 兰州 730000)

摘要: 目的 阐述黄芪的高效液相色谱(HPLC)图谱与利尿药效的相关性, 表征黄芪药材的药效物质基础。方法 对不同产地的 10 批黄芪药材乙酸乙酯部位进行 HPLC 指纹图谱研究; 以小鼠的排尿量为指标来研究利尿作用: 氢氯噻嗪(0.6 g·kg⁻¹)为阳性对照组, 小鼠灌胃乙酸乙酯部位的浸膏 7 d(1.4 g·kg⁻¹); 采用灰关联度分析方法研究其谱效关系。结果 黄芪乙酸乙酯部位的利尿作用是其所有化学成分共同作用的结果, 各特征峰代表各自化学成分, 其对利尿作用贡献的大小顺序(按特征峰编号): P₇>P₆>P₈>P₅>P₄>P₂>P₁>P₃。其中 4 号峰为毛蕊异黄酮, 7 号峰为芒柄花素。结论 乙酸乙酯部分含较多中等极性的黄酮类化合物, 能明显提高小鼠的排尿量, 其 HPLC 指纹图谱与利尿作用之间有一定对应关系, 这为进一步探讨黄芪对肾炎蛋白尿的治疗作用奠定了基础。

关键词: 黄芪; 高效液相色谱; 利尿; 谱效关系

中图分类号: R282.71; R917.101

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)05-0491-05

Spectrum-effect Relationship in Diuretic Effect of Astragali Radix

LIU Xiaohua^{1,2}, LIN Xingyao¹, LIANG Jin², CHEN Yali², REN Yuan^{1*}, FENG Shilan² (1.Key Laboratory of TCM Pharmacology and Toxicology(Nurturing Station), Lanzhou 730000, China; 2.School of Pharmaceutical, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To elaborate the correlation between chromatography fingerprint of Astragali Radix and the efficacy of diuretic effect, and express the effective substances foundation. **METHODS** To study different origin Astragali Radix of HPLC fingerprints of the ethyl acetate extracts of 10 batches, and the ethyl acetate extract was given to mice by gavage for 7 d (1.4 g·kg⁻¹). Hydrochlorothiazide was used as a positive control, Urine volume was set as the index of diuretic effect evaluation. Then the grey relational analysis was used to study its spectrum-effect relationship. **RESULTS** The efficacy of diuretic of the total ethyl acetate extract part of Astragali Radix resulted in its chemical compositions together. Its various peaks represented different chemical components. The contribution order of diuretic effect was(number of peaks): P₇>P₆>P₈>P₅>P₄>P₂>P₁>P₃, in which the number of peaks of 4 was identified as calycosin, peak of 7 was formononetin. **CONCLUSION** There are many flavonoids with middle polarity in the ethyl acetate extract, which might obviously increase the urine volume of mice. There is a responsible relationship between the HPLC fingerprints and efficacy of diuretic effect. It is also the foundation for further study to nephritis proteinuria.

KEY WORDS: Astragali Radix; HPLC; diuretic effect; relationship of fingerprint and efficacy

黄芪(Astragali Radix)为豆科植物蒙古黄芪 [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao]或膜荚黄芪 [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge.]的干燥根, 具有补气固表、利尿托毒、排脓、敛疮生肌之功效^[1]。其主要化学成分有黄芪皂苷、黄芪多糖、黄酮类化合物。现代药理研究表明, 黄芪具有增强免疫力、抗疲劳、降糖、抗病毒、降脂、改善神经内分泌因子分泌、利尿、强心、降压等多种作用^[2-3]。本实验使用黄芪药材的不同提取部位对小鼠利尿作用进

行了比较, 并筛选出了利尿作用最好的提取部位; 研究了该部位的指纹图谱; 用灰关联度分析方法, 计算指纹图谱特征峰与利尿药效的关联度; 以关联度的大小来衡量指纹图谱特征峰对药效贡献的大小, 最终确定最能反映其药效的特征色谱峰, 为科学评价黄芪药材利尿作用提供理论基础。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters 2695 高效液相色谱仪, Millennium 32 工作站, 2771 自动进样器, 2996 二极管阵列检测

基金项目: 甘肃省中药药理与毒理学重点实验室开放基金项目(ZDSYS-KJ-2012-007); “十二五”国家科技支撑计划课题(2011BAI05B02)

作者简介: 刘小花, 女, 博士生, 实验师 Tel: 15693070560 E-mail: liuxiaoh@Lzu.cn *通信作者: 任远, 男, 教授 Tel: 13893103569 E-mail: ry@gszy.edu.cn

器, Hypersil ODS-1 C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)(大连依利特有限公司)。

1.2 试剂

乙腈为色谱纯(德国默克); 水为超纯水; 生理盐水、氢氯噻嗪(山西云鹏制药有限公司); 昆明种小鼠(兰州大学动物实验中心, 18~22 g), 实验动物合格证号: SCXK(甘)2009-0004。数据处理软件: 中药色谱指纹图谱计算机辅助相似性评价系统软件(版本 1.0, 中南大学提供)。对照品毛蕊异黄酮(批号: 111920-201001)、芒柄花素(批号: 111703-200602)均购于中国药品生物制品检定所, 供含量测定使用, 纯度>98%。

黄芪药材为全国各地采集或购买的种植或野生黄芪, 经兰州大学药学院生药学研究所马志刚教授鉴定为蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus*(Bge.) Hsiao, 共 10 批, 见表 1。

表 1 黄芪药材的来源与品种

Tab 1 Origins and varieties of Astragali Radix

样品编号	来源	品种
20101001	甘南野生	蒙古黄芪
20101002	甘肃陇西	蒙古黄芪
20101003	甘肃岷县 1	蒙古黄芪
20101004	甘肃岷县 2	蒙古黄芪
20101005	甘肃陇西(首阳)	蒙古黄芪
20101006	甘肃临洮	蒙古黄芪
20101007	甘肃西和	蒙古黄芪
20101008	内蒙	蒙古黄芪
20101009	山西	蒙古黄芪
20101010	甘肃陇南	蒙古黄芪

表 2 黄芪药材不同极性部位利尿作用的实验结果($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab 2 Effect of extract of Astragali Radix on diuretic effect in mice($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/ g·kg ⁻¹	排尿量/g					
		1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	1~5 h
空白组	-	0.211 1±0.050 9	0.292 8±0.062 5	0.223 6±0.033 9	0.100 7±0.016 1	0.054 8±0.015 4	0.833 0
阳性对照组	1.4	0.160 5±0.127 2	0.389 6±0.094 5	0.122 8±0.009 0	0.086 1±0.013 5	0.043 8±0.027 9	0.802 8
混合组	1.4	0.226 6±0.050 2	0.160 5±0.000 1	0.252 6±0.049 8	0.048 3±0.000 1	0.219 3±0.000 1	0.907 3
石油醚组	1.4	0.208 0±0.032 9	0.124 0±0.026 4	0.082 0±0.011 1	0.092 2±0.047 8	0.034 8±0.010 8	0.540 9
乙酸乙酯组	1.4	0.445 2±0.128 9 ¹⁾	0.201 8±0.024 3 ²⁾	0.108 9±0.054 6 ¹⁾	0.098 5±0.027 9	0.101 1±0.039 9	0.955 4
乙醇组	1.4	0.300 6±0.026 0	0.302 1±0.058 0	0.061 8±0.040 8	0.041 6±0.062 4	0.196 7±0.117 6	0.902 7
水组	1.4	0.309 2±0.069 6	0.247 7±0.001 5	0.145 1±0.081 5	0.113 8±0.024 1	0.104 2±0.022 9	0.913 6

注: 与空白组比较, ¹⁾ $P<0.01$, ²⁾ $P<0.05$

Note: Compared with blank group, ¹⁾ $P<0.01$, ²⁾ $P<0.05$

2 方法与结果

2.1 利尿药理实验^[4-6]

2.1.1 各部位有效物质的提取 分别称取 10 批黄芪药材, 每批 300 g, 用 6 倍量的 95%乙醇回流提取, 共提取 3 次, 每次 1 h, 合并提取液, 将提取液减压浓缩至无醇味, 取出 10 mL 浓缩成浸膏, 作为总提取部位; 其余用石油醚萃取, 重复 3~5 次, 分出上层, 合并, 萃取液浓缩成浸膏, 得到石油醚部位; 下层溶液用乙酸乙酯萃取, 重复 3~5 次, 分出上层, 合并, 萃取液浓缩成浸膏, 得到乙酸乙酯部位; 下层溶液浓缩至干, 加乙醇超声溶解 10 min, 得到乙醇部位; 乙醇不溶解部位加水溶解, 得水部分; 10 批药材样品处理过程相同。

2.1.2 供试品溶液的制备 将各提取物部位, 按实验动物与成人服用剂量的公式进行换算, 称取浸膏, 加吐温 80(0.3%)制成混悬液。

2.1.3 不同极性部分对小鼠利尿作用的比较实验^[5-8] 筛选尿量正常的小鼠 70 只, 随机分为空白组、阳性对照组、5 组给药组, 每组 10 只。给药组分别给予第一个样品的混合部位、石油醚部位、乙酸乙酯部位、乙醇部位和水部位混悬液, 空白组给予生理盐水, 阳性对照组给予氢氯噻嗪(0.6 g·kg⁻¹)。各组动物均灌胃给药, 连续 7 d, 每天 1 次。末次给药前禁食 18 h, 末次给药 1 h 后, 轻压每只小鼠下腹部, 排尽余尿, 各用 1 mL 生理盐水灌胃作为水负荷, 将小鼠置于铺有 3 层滤纸的 1 000 mL 干燥烧杯中, 烧杯口盖铁网罩。滤纸精密称重后放在烧杯底部的铝丝架的铝网上面, 烧杯底层加 100 mL 水防止尿液挥发。每小时换滤纸 1 次, 记录水负荷 1, 2, 3, 4, 5 h 小鼠的排尿量(滤纸湿重±滤纸干重)。结果见表 2。

由表 2 可见, 混合组、乙酸乙酯组、乙醇组和水组对小鼠有利尿作用, 乙酸乙酯组利尿作用最为明显, 且与空白组相比, 差异有统计学意义; 因此, 下一步研究 10 批黄芪药材乙酸乙酯部分和利尿作用间的药效关系。

2.1.4 10 批黄芪药材乙酸乙酯部分的利尿作用取小鼠 120 只, ♀♂各半, 随机分为空白组、阳性对照组、给药组, 每组 10 只。给药组分别给予 10 批不同产地黄芪药材乙酸乙酯部分的混悬液, 其余做法与“2.1.3”项下所述做法相同。结果见表 3。

表 3 10 批黄芪药材乙酸乙酯部分利尿作用的实验结果($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab 3 Effect of the total extracts of 10 samples on diuretic effect in mice($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	排尿量/g					
	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	1~5 h
空白组	0.339 2±0.029 4	0.153 1±0.014 4	0.148 0±0.012 2	0.071 5±0.001 4	0.028 3±0.001 6	7.346 6
阳性对照组	0.655 2±0.045 8	0.224 4±0.013 5	0.137 8±0.017 9	0.029 0±0.001 2	0.013 2±0.005 6	10.594
给药组						
甘南野生	0.425 3±0.065 6	0.218 9±0.020 2	0.079 5±0.020 6	0.069 0±0.001 2	0.044 5±0.005 8	6.698
陇西	0.388 7±0.039 1 ²⁾	0.187 9±0.012 3	0.172 6±0.009 2	0.044 6±0.004 3	0.042 5±0.001 4	8.361
岷县 1	0.501 6±0.001 7	0.277 2±0.009 8	0.237 6±0.030 7	0.075 7±0.006 8	0.046 5±0.003 4	10.246 5
岷县 2	0.412 8±0.044 0	0.250 5±0.035 7 ²⁾	0.209 5±0.012 6	0.053 0±0.000 2	0.051 3±0.003 7	8.792 1
首阳	0.305 4±0.036 2 ²⁾	0.153 8±0.006 0	0.210 5±0.018 2	0.095 0±0.004 7	0.064 5±0.003 4	8.291 5
临洮	0.234 7±0.027 9	0.218 2±0.001 7	0.152 1±0.018 8 ²⁾	0.070 4±0.002 1 ²⁾	0.055 7±0.004 5	7.309 5
西和	0.327 7±0.034 2	0.142 5±0.009 9 ²⁾	0.169 3±0.000 6 ¹⁾	0.040 1±0.000 1 ¹⁾	0.069 9±0.002 5	7.493
内蒙	0.310 1±0.011 3	0.194 0±0.004 6 ²⁾	0.177 1±0.014 8 ²⁾	0.031 3±0.001 2 ¹⁾	0.075 6±0.003 4	7.879 5
山西	0.328 6±0.011 9	0.156 2±0.006 1 ²⁾	0.209 5±0.019 2 ²⁾	0.063 0±0.005 2 ²⁾	0.058 4±0.001 9	8.157
陇南	0.394 9±0.027 4	0.215 8±0.010 7 ²⁾	0.166 4±0.016 1	0.029 4±0.001 8	0.053 4±0.002 1 ²⁾	8.598

注: 与空白组比较, ¹⁾ $P<0.01$, ²⁾ $P<0.05$

Note: Compared with blank group, ¹⁾ $P<0.01$, ²⁾ $P<0.05$

2.2 高效液相色谱测定^[7-9]

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Hypersil ODS-1 C₁₈ 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相为乙腈和水, 梯度洗脱, 0~40 min, 乙腈 15%→45%; 40~80 min, 乙腈 45%→100%; 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 柱温为 25 °C; 检测波长为 280 nm。

2.2.2 样品溶液制备 取 10 批不同产地黄芪药材乙酸乙酯部位, 干燥, 分别取 0.5 g, 精密称定, 加甲醇溶解转移至 10 mL 量瓶中, 定容至刻度, 摇匀, 即得供试品溶液。用微孔滤膜(0.45 μm)过滤后备用。

2.2.3 HPLC 图谱峰的归属 按“2.2.1”项下色谱条件, 将毛蕊异黄酮、芒柄花素对照品及 10 批黄芪药材样品分别进样 10 μL, 得 HPLC 图。从 10 批药材 HPLC 指纹图谱中确定 8 个共有峰, 其中 4 号和 7 号峰分别与对照品毛蕊异黄酮和芒柄花素的保留时间和紫外光谱图相同, 因此鉴定为毛蕊异黄酮和芒柄花素。结果见图 1, 2。

2.2.4 指纹图谱相似度 运用中药色谱指纹图谱计算机辅助相似性评价系统软件(版本 1.0, 中南大

学提供)计算样品相似度, 10 个样品的 HPLC 指纹图谱相似度均>90%。

2.2.5 方法学考察 取 1 号黄芪药材乙酸乙酯部位供试液, 进样 5 次, 每次进样量为 10 μL, 测定指纹图谱相似度的日内精密度, 计算得指纹图谱的相似度>0.95, RSD<1.0%; 连续 5 d 每天进样 1 次, 测定指纹图谱相似度的日间精密度, 计算得图谱的相似度>0.94, RSD<1.9%; 取 1 号黄芪药材乙酸乙酯部位浸膏 5 份, 按“2.1.2”项下方法制

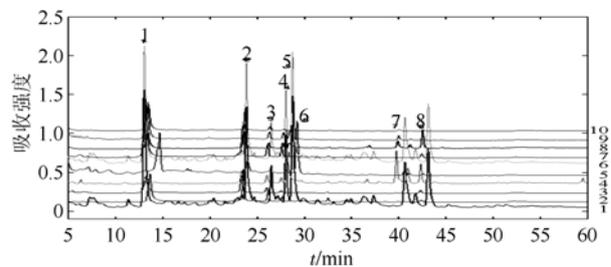


图 1 黄芪药材乙酸乙酯部分 HPLC 指纹图谱(280 nm)

4-毛蕊异黄酮; 7-芒柄花素

Fig 1 HPLC chromatogram of the ethyl acetate extract of Astragali Radix(280 nm)

4-Calycosin; 7-Formononetin

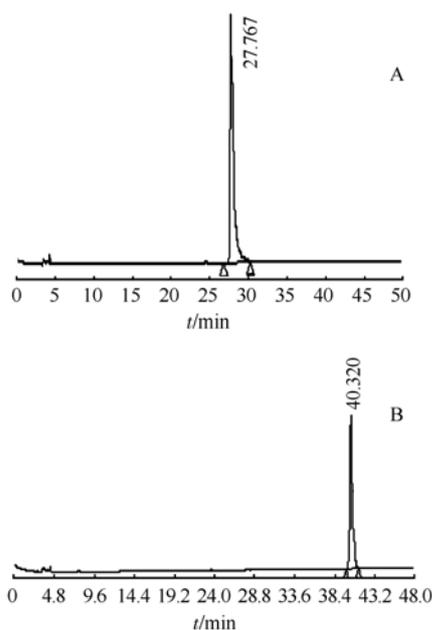


图2 对照品 HPLC 图谱(280 nm)

A-毛蕊异黄酮; B-芒柄花素

Fig 2 HPLC fingerprints of controls(280 nm)

A-calycosin; B-formononetin

备样品溶液,测定指纹图谱相似度的重复性,计算得图谱的相似度 >0.92 , $RSD < 1.2\%$;以加样回收率考察准确度,取已知含量的同一批黄芪药材5份,每份5g,精密称定,各加入1 mL混合对照品溶液(毛蕊异黄酮和芒柄花素的质量浓度分别为 $7.15 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $4.57 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$),按“2.2.2”项下方法操作测定,计算加样回收率。毛蕊异黄酮、芒柄花素的平均回收率分别为99.36%, 99.91%, RSD 分别为1.41%, 1.05%。

2.3 黄芪药材乙酸乙酯部位的指纹图谱与利尿作用的灰色关联分析

2.3.1 计算关联系数^[10-11] 按文献方法对10批黄芪药材共有峰峰面积及其排尿量和空白组排尿量的差值 R 进行标准化转换后,按公式计算关联系数。

经数据变换的共有峰峰面积为母序列记为 $[X_0(k)]$,排尿量和空白组排尿量的差值 R 为子序列记为 $[X_i(k)]$,则 $[X_0(k)]$ 与 $[X_i(k)]$ 的关联系数 $L_{0i}(k)$ 可由下式计算:

$$L_{0i}(k) = \frac{\Delta \min + \rho \Delta \max}{\Delta_{0i}(k) + \rho \Delta \max}$$

式中 $\Delta_{0i}(k)$ 为母与子比较序列绝对差值,即 $\Delta_{0i}(k) = |x_0(k) - x_i(k)| (1 \leq i \leq m)$; $\Delta \max$ 和 $\Delta \min$ 分别

表示所有比较序列绝对差中的最大值与最小值。由于比较序列相交,故一般取 $\Delta \min = 0$; ρ 称为分辨系数,其意义是削弱最大绝对差数值太大引起的失真,提高关联系数之间的差异显著性,一般情况下可取0.1~0.5。关联系数反映两个比较序列的靠近程度,关联系数的范围为 $0 < L \leq 1$ 。

2.3.2 计算关联度 关联度按两比较序列关联系数的均值计算:

$$\gamma_{0i} = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N L_{0i}(k)$$

式中 γ_{0i} 为子序列 i 与母序列 0 的关联度, N 为比较序列的数据个数。

2.3.3 排关联序 由表3可见,各个共有峰所代表的化学成分与利尿作用都具有一定关联(关联度 >0.60),说明黄芪乙酸乙酯部位的利尿作用是其内在“化学成分群”共同作用的结果。1, 2, 3号峰所代表的化学成分与利尿作用具有高度关联(关联度 >0.80)。依据关联度的大小,确定各成分对“利尿作用”贡献的大小顺序为 $P_7 > P_6 > P_8 > P_5 > P_4 > P_2 > P_9 > P_3$ 。其中4号峰为毛蕊异黄酮,7号峰为芒柄花素。见表4。

3 讨论

3.1 流动相的选择

因黄芪所含成分复杂,使用单一流动相很难得到理想的色谱图,因此在HPLC分析过程中,选用不同溶剂不同梯度洗脱,如曾用不同比例甲醇-水或乙腈-水,研究发现,乙腈-水按文中所述梯度洗脱时,各峰分离度好且峰数较多,因而流动相选用乙腈和水梯度洗脱。

3.2 检测波长的选择

该实验HPLC指纹图谱是采用二极管阵列检测器得到的,按文中所述色谱条件运行样品后,可得到任意波长下的指纹图谱。经观察发现280 nm下的各样品指纹图谱峰的数目较多且分离度较好,因此选择280 nm为检测波长。

3.3 药理活性比较

通过药效学实验进行各部分利尿作用药理活性的比较,找到优势药效部分为乙酸乙酯部位,这可能与黄芪乙酸乙酯部位中含较多中等极性的黄酮类化合物,能明显提高小鼠的排尿量,为进一步探讨黄芪对肾炎蛋白尿的治疗作用奠定了基础。

表 4 10 批黄芪药材乙酸乙酯部分的共有峰与药效值 R 及关联度

Tab 4 Common peaks of the ethyl acetate extract in HPLC spectrum from 10 samples and gray relation grades

共有峰	1	2	3	4	5	6	7	8	R
保留时间	14.26	23.87	26.22	26.87	27.96	29.22	40.68	42.66	
样 1	13 782 121	8 143 804	1 411 399	613 180	753 764	20 532 321	16 192 880	4 522 090	6.696 8
样 2	15 721 962	8 746 521	1 799 326	1 245 693	1 228 996	21 516 347	17 400 415	5 013 795	8.361
样 3	18 709 406	4 971 128	1 741 510	1 452 393	1 540 482	13 681 512	1 034 041	380 271	10.246 5
样 4	10 017 646	7 673 272	2 120 485	56 514	758 009	173 069	100 236	458 828	8.792 1
样 5	6 550 012	54 306	1 091 209	404 860	27 104	10 996	127 287	666 151	8.291 5
峰面积									
样 6	1 377 144	270 571	1 933 559	578 358	12 617 130	875 258	875 258	4 077 745	7.309 5
样 7	18 691 054	296 415	2 497 685	1 827 108	320 589	105 323	79 682	894 383	7.493
样 8	6 270 970	3 283 613	1 105 976	142 171	907 351	1 668 791	389 014	3 719 079	7.879 5
样 9	14 020 122	2 907 610	1 384 141	17 691	1 017 663	326 428	767 572	241 667	8.157
样 10	9 881 073	4 475 698	802 783	20 786	255 320	209 120	51 935	255 850	8.598
G 关联度	0.881 3	0.834 7	0.916 2	0.794 8	0.7769	0.709 3	0.696 7	0.750 6	

3.4 灰关联分析

它是一种用灰关联度顺序来描述因素间相关程度的方法，强调了因素间相关程度的顺序。其“几何对应”的特点也可使动态指标的原始信息得到充分的利用^[11]。本研究用灰色关联的分析方法，根据关联度大小来确定黄芪乙酸乙酯部位中各成分对利尿作用的贡献程度。用灰关联度的分析方法研究指纹图谱和药效之间的关系，表明指纹图谱中各个峰所代表的化学成分与利尿作用具有一定关联(关联度>0.60)，说明黄芪乙酸乙酯部位的利尿作用是其内“化学成分群”共同作用的结果。

REFERENCES

[1] Ch.P(2010)Vol II(中国药典 2010 年版. 二部) [S]. 2010: 283-285.
 [2] WU F B, CHENG X Y. Astragalus pharmacological effects review [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2004, 27(3): 232-234.
 [3] SHI H W, ZHANG H Y, LI X Y, et al. Protective effects of Astragalus Radix on cell apoptosis in denervated skeletal muscle in rat [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(11): 984-987.

[4] XU S Y, BIAN R L, CHEN X. Pharmacology Experiment Methodology(药理学实验方法) [M]. 3rd Ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002: 201-210, 713-735, 693-695.
 [5] ALDARMAA J, GISELA G, AXEL B. Evaluation of the effects of *Astragalus mongholicus* Bunge saponin extract on central nervous system functions [J]. J Ethnophar, 2010, 131(3): 544-549.
 [6] ZHANG Y, JIN H J, ZHOU J S, et al. The refined Yumixu polysaccharide diuretic effect on mice [J]. J Jilin Chem Ins(吉林化工学院学报), 2010, 27(2): 24-26.
 [7] HU F D, FENG S L, ZHAO J X, et al. Astragalus high-performance liquid chromatography fingerprint and main component content measur set [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2004, 27(11): 831-834.
 [8] HUANG J W, LI R Z, LIU J, et al. Astragalus medicinal materials HPLC fingerprint study [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2005, 27(11): 1244-1246.
 [9] BAI Y J, WANG Z Y, DU X G, et al. Study on HPLC-UV fingerprint of Radix Astragali [J]. Chin Tradit Pat Drugs(中草药), 2008, 39(7): 1089-1092.
 [10] WU Z. Quality metrology-Chinese medicine fingerprints analytical and features expression [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2003, 26(8): 598-600.
 [11] SUN F F. Light grey correlation degree analysis method to negotiate and its application [J]. Sci Technol Inf(科技信息), 2010, (17): 364-366.

收稿日期: 2012-06-12