

基于HPLC指纹图谱的不同产地金钱草及其地方习用品与混用品的鉴定研究

陈云¹, 徐璐娜¹, 王翰华¹, 李兆慧¹, 周漫佳², 程汝滨^{2*}

1. 浙江药科职业大学, 浙江 宁波 315100

2. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053

摘要:目的 对不同产地的金钱草 *Lysimachia christinae* 及其常见的地方习用品与混用品的 HPLC 指纹图谱进行研究, 比较分析不同产地金钱草及其习用品与混用品的差异, 为其鉴定技术的开发应用奠定基础。方法 利用 80% 甲醇制备金钱草及其习用品与混用品样品的提取溶液, 采用 HPLC 法建立不同产地的金钱草及其习用品与混用品提取液的指纹图谱, 明确金钱草及其地方习用品与混用品的特征鉴别峰, 分析比较不同产地金钱草样品间指纹图谱的差异, 利用 SPSS 软件对不同样品的指纹图谱进行聚类分析和主成分分析, 明确 HPLC 指纹图谱在不同产地金钱草样品的质量评价和习用品与混用品的正伪鉴别中的作用。结果 HPLC 指纹图谱共获得了区分度较好的 8 个特征峰数据, 可用于后续的鉴别和质量评价, 其中金钱草和其地方习用品浙金钱草与几种混用品的指纹图谱存在显著差异, SPSS 聚类分析结果表明 HPLC 指纹图谱可将金钱草及其地方习用品与混用品进行准确高效区分; 不同产地金钱草的指纹图谱存在一定差异, 其中四川产地和贵州、云南产地的可以进行有效区分。结论 HPLC 指纹图谱能有效区分不同产地金钱草及其地方习用品与混用品, 鉴定结果具有快速、准确和操作简单的特点, 为控制金钱草药材商品的质量提供了技术保障。

关键词: 金钱草; 混用品; 指纹图谱; 相似度; 聚类分析

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)14-4504-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.14.029

Study on identification technology of *Lysimachia christinae* and its local common articles and mixed articles based on HPLC fingerprint

CHEN Yun¹, XU Lu-na¹, WANG Han-hua¹, LI Zhao-hui¹, ZHOU Man-jia², CHENG Ru-bin²

1. Zhejiang Pharmaceutical University, Ningbo 315100, China

2. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

Abstract: Objective To research *Lysimachia christinae* and its local common articles and mixed articles based on HPLC fingerprint, and compare and analyze the differences of the medicinal materials and mixed articles in different areas, so as to lay a foundation for the development and application of the identification technology. **Methods** Using 80% methanol to preparation *L. christinae* and its local common articles and mixed articles extracts, HPLC method was used to establish the fingerprints of the *Hance* and its local common articles and mixed articles, clarify the characteristic identification peak of the *Hance* and its local common articles, analyze and compare the differences of the fingerprints of different the *Hance* samples. SPSS software was used for cluster analysis of fingerprints of different samples, to clarify the role of HPLC fingerprint in the quality evaluation of the *Hance* samples in different areas and the positive and false identification of common articles and mixed articles. **Results** The data of eight characteristic peaks were obtained by fingerprint. The composition and proportion of each characteristic peak in the fingerprint of different *Hance* species were significantly different, the results of SPSS cluster analysis showed that HPLC fingerprint could be used to accurately and efficiently distinguish the *L. christinae* and its local common articles. There were also some differences in the fingerprint patterns of the samples from different regions, among which the samples from Sichuan, Guizhou and Yunnan could be

收稿日期: 2021-12-19

基金项目: 浙江医药高等专科学校校级科研基金项目 (XY2020005, ZPCSR2020006, ZPCSR2020007)

作者简介: 陈云 (1988—), 女, 实验师, 硕士, 研究方向为中药资源的化学成分和质量控制研究。

Tel: 13429355212 E-mail: 365553752@qq.com

*通信作者: 程汝滨, 副研究员, 研究方向为中药资源开发与利用。Tel: 15988839155 E-mail: biothcheng@hotmail.com

effectively distinguished. **Conclusion** HPLC fingerprint can effectively distinguish the sources of different *L. christinae* and its local common articles, and the identification results have the characteristics of rapid, accurate and simple operation, which provides a technical guarantee for the quality control of the *L. christinae*.

Key words: *Lysimachia christinae* Hance; adulterants; fingerprint; similarity; cluster analysis

金钱草为报春花科植物过路黄 *Lysimachia christinae* Hance. 的干燥全草^[1], 又名大金钱草、四川大金钱草等, 主要含有黄酮、挥发油、三萜等化学成分, 具有利尿通淋、除湿退黄等功效, 因其对治疗肝胆结石效果显著, 被誉为治结石之要药^[2]。由于历史原因和资源限制, 金钱草地方习用品和混用品众多, 至少有 7 个科 14 种植物被作为金钱草在各地使用, 点腺过路黄、天胡荽、活血丹、广金钱草、马蹄金、积雪草等均在特定地区被作为金钱草使用^[3]。随着药材野生资源的不断衰竭, 市场存在着药材品种混乱、掺伪、染色、重金属超标、农药残留等问题, 这些都严重影响着药材的质量^[4]。近年来发现, 金钱草同属植物聚花过路黄、巴东过路黄等也作为金钱草伪品流通于市场^[5]。金钱草“同名异物”“以假乱真”现象严重, 地方习用品和混用品与正品金钱草在化学成分、药理作用和临床功效等方面存在一定差异, 为金钱草的临床用药带来了一定的安全隐患。

随着中医药大健康产业的发展, 对中药材的质量提出了更高的要求。道地药材是经过中医临床长期应用优选出来, 产在特定地域的药材, 与其他产区药材相比, 品质和疗效更好, 且质量更稳定。杨正久等^[6]对贵州省不同来源地的 21 份金钱草样品进行分析, 发现其在槲皮素和山柰素含量上有显著差异, 具有丰富的多样性与一定地域性。金钱草主产于云贵川地区, 虽被收入《四川道地中药材志》, 成为 49 味川产道地药材之一^[7], 但不同产区的金钱草药材质量仍缺乏可靠的评价方法, 难以体现其优质性, 易导致低质量金钱草药材的市场冲击, 不利于健康有序的优质优价金钱草中药市场环境的建立。因此, 迫切需要建立开发一种金钱草质量分析方法, 对不同产区的金钱草进行质量评价和区分, 为金钱草道地产区的确认奠定坚实的基础。

HPLC 指纹图谱是从中药多组分角度为研究基础的现代分析技术, 是中药品种鉴定及质量评控的一种常用方法^[8]。杜欢等^[9]证实 HPLC 特征图谱可以有效区分金钱草及其混用品锈毛过路黄、显苞过路黄等, 提示该技术在金钱草的质量评价和品种鉴

别方面具有广阔的应用前景。本研究以芦丁、槲皮素为主要参比成分, 采用 HPLC 法对不同地区金钱草及其习用品与混用品药材进行指纹特征图谱测定及其特征峰的归属确认分析, 并结合相似度分析、聚类分析和主成分分析比较其差异, 来考察 HPLC 指纹图谱对不同产地金钱草原药材及其常见的几种市场销售的地方习用品与混用品的鉴定能力, 用以提高金钱草用药的准确性, 为临床安全合理用药提供技术保障。

1 仪器与材料

1.1 仪器

LC-20A 型高效液相色谱仪 (日本岛津公司); SB-5200DT 型超声波清洗机 (宁波新芝生物科技有限公司); ME204 型十万分之一电子天平 (瑞士梅特勒公司); QE-200 型高速粉碎机 (浙江屹立工贸有限公司)。

1.2 材料

芦丁 (批号 C20J6Y1722, 质量分数 $\geq 98\%$), 槲皮素 (批号 C20J6Y1722, 质量分数 $\geq 98\%$), 对照品均购自上海源叶生物科技有限公司; 甲醇, 乙腈均为色谱纯, 水为娃哈哈纯净水, 购自宁波奥博科技有限公司。

30 批金钱草及其习用品与混用品药材样品来源信息见表 1, 浙江台州、宁波产地的连钱草和马蹄金为笔者自行采集, 其他产地金钱草及其混用品药材分别购于全国各地的药材市场。经浙江医药高等专科学校中药学院李兆慧副教授鉴定分别为过路黄 *L. christinae* Hance (金钱草)、点腺过路黄 *L. hemsleyana* Maxim. (浙金钱草)、连钱草 *Glechoma longituba* (Nakai) Kupr.、广金钱草 *Desmodium styracifolium* (Osbeck) Merr.、马蹄金 *Dichondra micrantha* Urban. 和积雪草 *Centella asiatica* (L.) Urb., 将样品做好标记后保存于该单位奉化校区中药实验室。

2 方法

2.1 样品溶液的制备

取样品 3 g, 加 50 mL 80% 甲醇至 150 mL 具塞锥形瓶中, 密塞, 称定质量, 60 °C 超声 40 min, 放

表 1 样品来源
Table 1 Sample source

样品	品种	来源地
S1	金钱草 (对照药材)	四川秦巴
S2	金钱草	四川秦巴
S3	金钱草	四川维康大药房
S4	金钱草	四川维康大药房
S5	金钱草	四川遂宁
S6	金钱草	四川遂宁
S7	金钱草	四川沐川
S8	金钱草	四川沐川
S9	金钱草	贵州遵义
S10	金钱草	贵州遵义
S11	金钱草	云南
S12	金钱草	云南
S13	浙金钱草	浙江台州
S14	浙金钱草	浙江台州
S15	广金钱草	广东肇庆
S16	广金钱草	广东梅州
S17	广金钱草	广东汕头
S18	广金钱草	广西南宁
S19	连钱草	浙江台州
S20	连钱草	浙江宁波
S21	连钱草	江苏扬州
S22	连钱草	湖北
S23	马蹄金	广东梅州
S24	马蹄金	浙江台州
S25	马蹄金	浙江宁波
S26	马蹄金	贵州黔东南
S27	积雪草	广西桂林
S28	积雪草	广西玉林
S29	积雪草	湖北
S30	积雪草	贵州

冷，80%甲醇补足质量，滤过，精密量取续滤液 25 mL，微孔滤膜（0.45 μm）滤过，取续滤液即得。

2.2 对照品溶液的制备

取芦丁、槲皮素对照品，加甲醇制成含芦丁 11 μg/mL、槲皮素 2 μg/mL 的混合溶液，即得。

2.3 色谱条件

Inertsil C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相 0.3%醋酸溶液（A）-乙睛（B），梯度洗脱（0~15 min，92%~85% A；15~45 min，85%~79% A；45~50 min，79%~75% A；50~60 min，75%~55% A；60~75min，55%~45% A；75~80 min，45%~92% A），柱温 30 °C，体积流量 0.9 mL/min，检测波长 360nm，进样量 10 μL。色谱图见图 1。

芦丁和槲皮素等黄酮类化合物为金钱草的主要有效成分之一，且在 HPLC 指纹图谱中的出峰时间适中，因此本实验选芦丁、槲皮素的色谱峰作为金钱草的参照色谱峰，对不同产地金钱草及其地方习用品与混用品的 HPLC 指纹图谱进行比较分析。

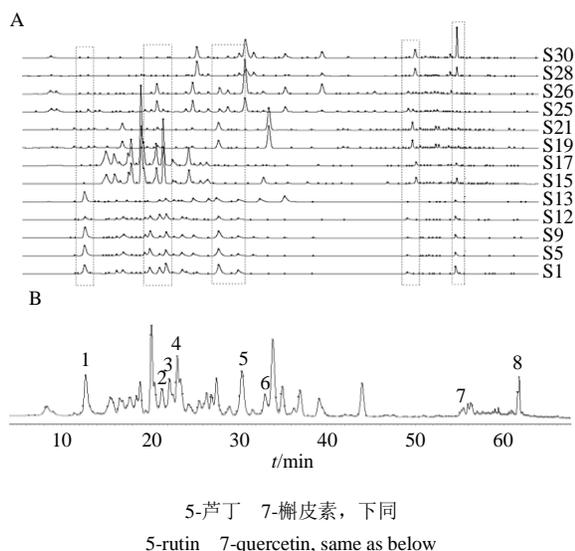


图 1 金钱草及其习用品与混用品的 HPLC 指纹图谱 (A) 和对照指纹图谱 (B)
Fig. 1 HPLC fingerprints of *L. christinae* and its articles (A) and mixes and contrast (B)

2.4 方法学考察

2.4.1 重复性试验 取金钱草 S1 样品药材同一批次 6 份，精密称定，按“2.1”项下的制备方法制备，按 2.3 项下的色谱条件测定，以 5 号峰（芦丁）作为参照峰，计算出各共有峰的相对保留时间的 RSD 在 0.03%~0.47%、相对峰面积的 RSD 在 0.23%~1.50%。

2.4.2 精密度试验 取金钱草 S1 样品药材 1 份，精密称定，按“2.1”项下的制备方法制备，按“2.3”项下的色谱条件重复进样 5 次，测定各特征色谱图，以 5 号峰（芦丁）作为参照峰，计算出各共有峰的相对保留时间的 RSD 在 0.02%~0.34%、相对峰面积的 RSD 在 0.16%~0.47%。

2.4.3 稳定性试验 取金钱草 S1 样品药材末 1 份，精密称定，按“2.1”项下的制备方法制备，按“2.3”项下的色谱条件，分别于 0、2、4、8、12 h 检测，测定各特征色谱图，以 5 号峰（芦丁）作为参照峰，计算出各共有峰的相对保留时间的 RSD 在 0.04%~0.43%，相对峰面积的 RSD 在 0.26%~1.04%。

2.5 数据处理

将 30 批金钱草及其地方习用品与混用品药材样品，按“2.1”项下的方法制备，按“2.3”项下的色谱条件检测，得到的图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”（2012A）软件进行分析处理，以 S1 号金钱草样品（四川秦巴地区）的指纹图谱

为参照图谱，多点校正，采用平均数法，时间窗宽度为0.1，计算各样品与参照图谱相似度，识别共有峰。通过SPSS 24软件对这30批样品HPLC指纹图谱的8个共有特征峰峰面积进行数据处理，采用组间联接法，以平方Euclidean距离为度量标准，进行聚类分析，并采用降维、因子分析，以回归方法，计算主成分特征值和方差贡献率，将得到的成分矩阵进行正交旋转，得到一个旋转矩阵，进行主成分分析。

3 结果与分析

3.1 HPLC 指纹图谱的分析

对来自全国8个地区的30批金钱草及其地方习用品与混用品药材样品进行HPLC指纹图谱的测定，结果如图2所示，金钱草含有分离度较好且峰面积占比较大的8个特征峰，可作为区分鉴别金钱草及其习用品与混伪品的主要依据。与对照品比对分析后，明确5号峰为芦丁，7号峰为槲皮素，金钱草及其习用品与混伪品之间的指纹图谱存在着显著差异，HPLC指纹图谱可作为一种鉴别金钱草正伪品种的有效手段。1~4号峰和6号峰在部分混伪品样品中均有缺失，其中1号峰在浙金钱草(S13)

中的占比最高；5号峰在广金钱草(S15)中的占比最低，在马蹄金中最高(S23)；6号峰在广金钱草(S15)、连钱草(S19)中缺失，在马蹄金(S23)与积雪草(S27)中的占比都较高；而8号峰占比最低的是马蹄金(S23)，最高的是积雪草(S27)。该结果提示金钱草指纹图谱中的1~8号峰，可作为金钱草HPLC指纹图谱特征鉴定的指标，是金钱草及其习用品与混用品区分的重要依据。

如图3所示，不同产地金钱草之间的指纹图谱也存在着一一定的差异，金钱草含有分离度较好且峰面积占比较大的8个特征峰，可作为区分鉴别不同产地金钱草之间的主要依据。与对照品比对后，明确5号峰为芦丁，7号峰为槲皮素，其中1、6和8号峰在贵州遵义(S9)、云南(S11)产地样品中的占比均低于其他产地；3、7号峰在贵州遵义(S9)产地中的占比最低；4、5号峰占比较高的是四川秦巴(S1)、维康(S3)、沐川(S7)产地。该结果显示金钱草指纹图谱中这1~8号峰，可作为金钱草HPLC指纹图谱特征鉴定的指标，是区分不同产地金钱草之间的重要依据。

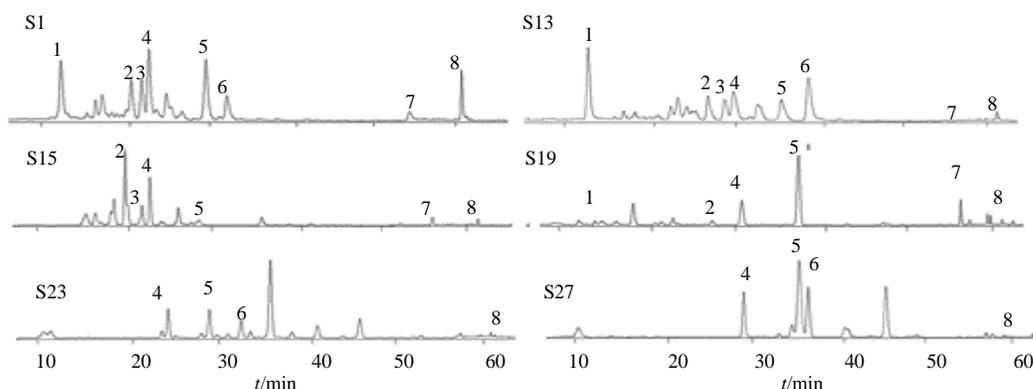


图2 金钱草及其习用品与混用品代表药材 HPLC 特征图谱

Fig. 2 HPLC fingerprints of *L. christinae* and its articles and mixes

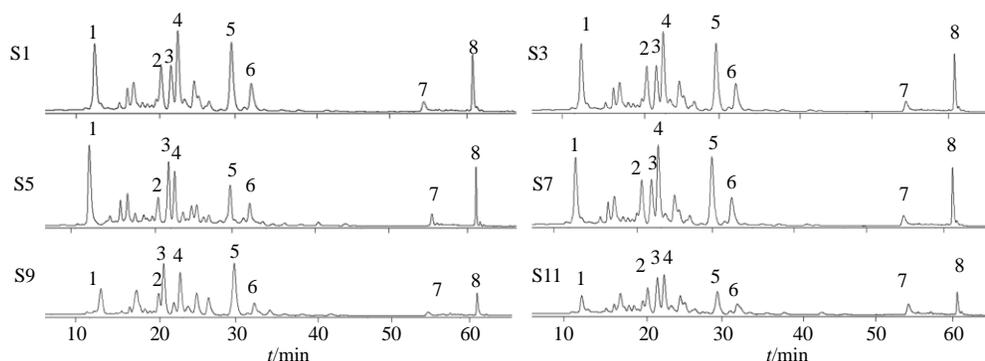


图3 不同产地金钱草代表药材 HPLC 特征图谱

Fig. 3 HPLC fingerprints of *L. christinae* from different habitats

为进一步深入分析 HPLC 指纹图谱中特征峰的鉴定效果,对不同样品中的特征峰含量和比例进行量化分析,以 5 号峰作为参照峰,分别计算各样品各共有峰的相对峰面积,习用品和混用品均已取其平均值,结果如表 2 所示。金钱草及其习用品与混用品共有峰的相对峰面积的 RSD 值在 25.07%~83.03%,其中 2 号峰的 RSD 值最大,7 号峰的 RSD 值最小;2 号峰在马蹄金和积雪草中缺失,其相对峰面积在广金钱草中占比最高;8 号峰的相对峰面积在金钱草中占比最高,在马蹄金中最低;3 号峰在积雪草中缺失,在金钱草中占比最高;6 号峰在广金钱草、连钱草中均缺失,其相对峰面积占比最高的是积雪草;浙金钱草在 4、5 号峰占比较大的同时,1 号峰在其他习用品及混伪品中占比最高,说明浙金钱草可能在这些习用品及混伪品中与正品金钱草的差异性最小;广金钱草缺失 2 个特征峰,且 5 号峰在其他习用品及混伪品中占比最低,积雪草缺

失 3 个特征峰,1 号峰在其他样品中占比最低,说明广金钱草和积雪草可能与正品金钱草差异性更大。该结果也提示金钱草指纹图谱中的 1~8 号峰,可作为金钱草 HPLC 指纹图谱特征鉴定的指标,是金钱草及其习用品与混用品区分的重要依据。

不同产地金钱草的共有峰的相对保留时间的 RSD<1.79%,说明在成分组成上大致一样,相对峰面积的 RSD 值在 5.88%~23.93%,说明在含量上有所差异,其中 8 号峰的 RSD 值最大,7 号峰的 RSD 值最小;4 号峰、5 号峰在四川维康中的相对峰面积占比最高;3 号峰、7 号峰在贵州遵义产地中最低;2 号峰在贵州遵义、云南产地中的相对峰面积占比最高,在四川遂宁中最低;1 号峰、6 号峰和 8 号峰的相对峰面积在贵州遵义、云南产地中最低,说明贵州遵义、云南产地的金钱草在特征峰含量上可能与四川产地相比具有更大的差异,其原因可能与生长环境有关,有待深入研究。

表 2 金钱草及其习用品与混用品 HPLC 指纹图谱特征峰相对峰面积

Table 2 Fingerprint characteristic peak relative peak area of *L. christinae* and its articles and mixes

样品	特征峰相对峰面积							
	1	2	3	4	5	6	7	8
S1	1.09	0.76	0.77	1.21	1.00	0.58	0.17	0.68
S2	1.09	0.76	0.77	1.21	1.00	0.58	0.17	0.68
S3	1.05	0.76	0.83	1.23	1.03	0.57	0.18	0.68
S4	1.04	0.76	0.82	1.22	1.03	0.57	0.18	0.68
S5	1.03	0.71	0.92	0.87	0.82	0.50	0.18	0.67
S6	1.04	0.71	0.92	0.88	0.83	0.50	0.18	0.67
S7	1.08	0.78	0.90	1.16	1.00	0.56	0.17	0.69
S8	1.08	0.78	0.90	1.16	0.99	0.56	0.17	0.69
S9	0.76	0.88	0.54	0.85	0.97	0.44	0.15	0.38
S10	0.76	0.89	0.54	0.85	0.96	0.44	0.15	0.38
S11	0.78	0.81	0.88	0.89	0.89	0.42	0.17	0.39
S12	0.78	0.81	0.86	0.89	0.89	0.42	0.17	0.39
S13	1.17	0.20	0.36	0.45	0.42	0.38	0.08	0.15
S14	1.16	0.20	0.37	0.46	0.42	0.37	0.08	0.16
S15	0.00	1.16	0.43	0.64	0.09	0.00	0.14	0.12
S16	0.00	1.15	0.43	0.63	0.09	0.00	0.13	0.11
S17	0.00	1.16	0.43	0.64	0.09	0.00	0.14	0.12
S18	0.00	1.16	0.43	0.64	0.09	0.00	0.14	0.12
S19	0.52	0.19	0.19	0.23	0.38	0.00	0.26	0.11
S20	0.53	0.19	0.19	0.22	0.38	0.00	0.25	0.10
S21	0.52	0.18	0.19	0.23	0.38	0.00	0.26	0.11
S22	0.52	0.19	0.19	0.23	0.38	0.00	0.26	0.11
S23	0.64	0.00	0.17	0.39	0.79	0.96	0.15	0.09
S24	0.63	0.00	0.16	0.38	0.77	0.95	0.15	0.09
S25	0.64	0.00	0.17	0.39	0.79	0.96	0.15	0.09
S26	0.64	0.00	0.17	0.39	0.79	0.96	0.15	0.09
S27	0.48	0.00	0.00	0.00	0.20	0.98	0.18	0.30
S28	0.48	0.00	0.00	0.00	0.20	0.98	0.17	0.28
S29	0.47	0.00	0.00	0.00	0.21	0.96	0.18	0.30
S30	0.48	0.00	0.00	0.00	0.20	0.98	0.18	0.30

3.2 相似度分析

以 S1 号金钱草样品（四川秦巴地区）为参照图谱，通过“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”（2012A）软件对这 30 批金钱草及其习用品与混用品图谱进行分析处理，生成对照指纹图谱，见图 1，并进行相似度计算。30 批样品的相似度差异较大，习用品和混用品相似度在 0.023~0.486，其中浙金钱草（S13~S14）与金钱草（S1~S12）的相似度相对较高，广金钱（S15~S18）、积雪草（S27~S30）的相似度略低，在 0.023~0.045。不同产地的金钱草（S1~S12）相似度较高，在 0.916~1.000，其中贵州遵义（S9~S10）、云南（S11~S12）产地的相似度稍低于四川产地（S1~S8），其原因可能与生长环境有关，有待深入研究。

3.3 聚类分析

通过 SPSS 24 软件对这 30 批样品 HPLC 指纹图谱的 8 个共有特征峰峰面积进行聚类分析，结果如图 4 所示。当 Euclidean 距离大于 5 时，金钱草及其习用品与混用品样品可聚为 6 类，积雪草（S27~S30）聚为第 1 类，马蹄金（S23~S26）聚为第 2 类，连钱草（S19~S22）聚为第 3 类，浙金钱草（S13~S14）聚为第 4 类，金钱草（S1~S12）聚为第 5 类，广金钱草（S15~S18）聚为第 6 类。不同产地的金钱草可聚为 2 类，其中贵州遵义（S9~S10）、云南

（S11~S12）产地的金钱草可聚为一类，四川（S1~S8）产地的金钱草聚为第 2 类，说明不同产地金钱草及其地方习用品与混用品的 HPLC 指纹图谱有很大差异，其聚类趋势与相似度计算结果基本一致。这也体现了不同产地的金钱草具有一定的区域性，贵州产地和云南产地的金钱草之间有一定的亲缘关系，而四川作为金钱草的主产区有一定的独特优势，这为金钱草道地药材的质量评价和鉴定区分提供了一定的技术保障。

3.4 主成分分析

通过 SPSS 24 软件对这 30 批样品 HPLC 指纹图谱的 8 个共有特征峰峰面积进行主成分分析，结果见表 3。主成分特征值和方差贡献率是选择主成分的依据，载荷矩阵反映了各变量对主成分的重要程度。经因子分析所得的前 3 个主成分，其特征值均 > 1，即 4.122、1.972、1.114，方差的总累积达 90.095%，说明各个成分之间具有较强的相关性，适合主成分分析。将得到的成分矩阵进行正交旋转，得到 8 个指标在 3 个主成分中的旋转矩阵，据表 4 所示：第 1 主成分的信息主要来自于 1、3、4、5（芦丁）、8 号色谱峰，第 2 主成分信息主要来自 6 号色谱峰，第 3 主成分信息主要来自 7（槲皮素）号色谱峰。以 1、2、3 主成分为自变量绘制得分图如图 5 所示，从图中可以看出不同产地金钱草及其地方

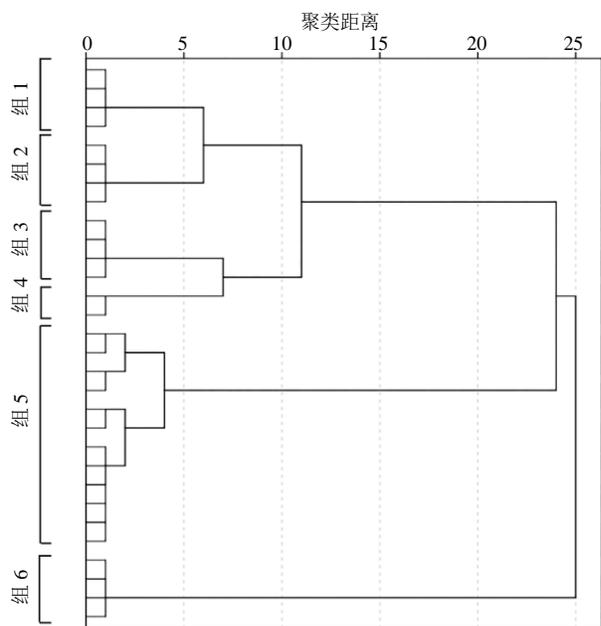


图 4 金钱草及其习用品与混用品的聚类分析树状图

Fig. 4 Cluster analysis tree of *L. christinae* and its articles and mixes

表 3 金钱草及其习用品与混用品的主成分分析特征值和方差贡献率

Table 3 Principal component analysis of eigenvalue and variance contribution rate of *L. christinae* and its articles and mixes

成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	4.122	51.525	51.525
2	1.972	24.649	76.174
3	1.114	13.921	90.095

表 4 金钱草及其习用品与混用品的主成分因子荷载矩阵

Table 4 Principal component factor load matrix of *L. christinae* and its articles and mixes

峰号	成分 1	成分 2	成分 3
1	0.707	0.560	0.082
2	0.578	-0.772	-0.174
3	0.949	-0.244	0.028
4	0.955	-0.224	-0.061
5	0.826	0.393	0.116
6	0.019	0.876	-0.286
7	-0.158	-0.010	0.976
8	0.877	0.174	0.157

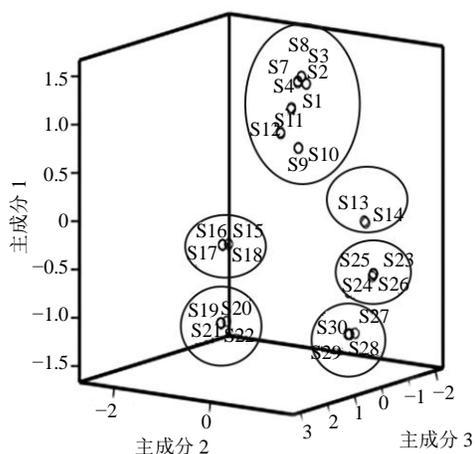


图5 金钱草及其习用品与混用品的指纹图谱得分

Fig. 5 Fingerprint score of *L. christinae* and its articles and mixes

习用品与混用品样品已经进行了很好地分类，共分为6大类，金钱草（S1~S12）聚为第一类，浙金钱草（S13~S14）聚为第2类，马蹄金（S23~S26）聚为第3类，积雪草（S27~S30）聚为第4类，连钱草（S19~S22）聚为第5类，广金钱草（S15~S17）聚为第6类，其结果与聚类分析基本一致。

4 讨论

本研究首先对样品制备方法及色谱条件进行了优化，最终以出峰数量和分离效果确定以80%甲醇的溶剂超声提取，以Inertsil C₁₈色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）、流动相0.3%醋酸-乙腈、梯度洗脱、柱温30℃、体积流量0.9 mL/min、检测波长360 nm为最佳色谱参数。其次通过相似度分析、聚类分析和主成分分析对不同产地金钱草及其地方习用品与混用品的HPLC指纹图谱进行了研究。结果显示HPLC指纹图谱共获得了区分度较好的8个特征峰，指认了5号峰为芦丁，7号峰为槲皮素，其中金钱草及其地方习用品与混用品的指纹图谱存在显著差异，浙金钱草与正品金钱草的相似度最高，广金钱草、积雪草的相似度略低，SPSS聚类分析结果表明HPLC指纹图谱可将金钱草及其地方习用品与混用品进行准确高效区分；不同产区金钱草的指纹图谱存在一定差异，其中四川产区和贵州、云南产地的可以进行有效区分。以上结果表明，本研究建立的HPLC指纹图谱法可用于鉴别不同产地金钱草及其地方习用品与混用品，且浙金钱草长期作为浙江地区金钱草药材的代替习用品，具有一定的科学依据。本研究的开展为浙金钱草资源的开发与利用提供了一定的技术保障，为后续浙金钱草的应用研究奠定

了基础，有助于对其进一步深入研究和有关健康产品的开发。

道地性中药材是近年的研究热点之一，随着中药现代化基地建设的推进，中药材跨区域引种现象日益增加，加之市场流通的便利性，道地药材与非道地药材在药材市场共存，严重影响了道地药材价值和疗效。我国作为道地药材的产区，原材料丰富，全国均有分布，且政府越来越重视中医药文化及技术的发展与传承，这也为道地药材扩大市场占有率提供了有利条件^[10]。药材性状、药效和化学成分通常是评价道地药材的直接指标，其中化学成分分析被公认为道地药材的内在质量标准^[11]，这几年来，很多学者用化学指纹图谱对道地药材进行鉴定识别，效果显著，指纹图谱也已成为国际公认的控制中药质量的最有效手段^[12]。本研究表明，不同产地的金钱草在HPLC指纹图谱上有一定差异，其中四川秦巴、维康、遂宁、沐川产地的样品和贵州遵义、云南昆明产地的有着显著差异，主要体现在成分含量上有一定的差别，且不同产地的金钱草表现出了一定的区域性，四川产区的金钱草样品与贵州、云南产地样品能够明显区分，四川作为金钱草的主产区有一定的独特优势^[7]，这为金钱草道地药材的质量评价和鉴定区分提供了一定的技术保障。

在广东、广西地区，常把广金钱草当作金钱草使用，称为“广东金钱草”，含黄酮和生物碱成分，主治泌尿系结石等病症^[13]；积雪草在湖北、广西地区也被当作金钱草使用，称为“地钱草”^[14]，主要含有三萜类和挥发油类成分，有着抗抑郁、抗炎等作用^[15]；在江浙沪地区，用于治疗各种热淋、尿路结石等病症的“金钱草”其实大部分是连钱草^[16]，主要含挥发油和三萜酸类成分^[17]；在四川和贵州等地区，还把马蹄金当作金钱草，称为“小金钱草”^[18]，含黄酮和挥发油类成分，主要用于治疗湿热黄疸、尿路感染等病症，具有镇痛、抗炎作用^[19]；点腺过路黄在浙江地区的资源蕴藏量非常丰富，并收录在《浙江省中药炮制规范》中，因其与正品金钱草的主治功效相似，因此在浙江地区常用其作为金钱草的代替习用品长期使用，名为“浙金钱草”^[20]，主要成分为糖类和氯化钾，具有清利湿热、消肿的功效，主要用于治疗炎症，包括肝炎、膀胱炎等^[21]。正品金钱草主要含有黄酮和挥发油类成分，以除湿退黄、利胆排石为主要功效，偏重于治结石，如此混用，必将给金钱草的临床应用带来一定的安全隐患。

本研究发现, HPLC 指纹图谱可以作为一种评判不同产地金钱草及其地方习用品与混用品质量差异的方法, 但因药材取样的局限性, 本研究不能完全代表各产地金钱草及其地方习用品与混用品的质量差异, 应进一步在其他成分或其他方面进行深入分析, 以提高用药的科学性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 23.
- [2] 高飞飞. 金钱草的化学成分研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2013.
- [3] 蒋苏国, 陈爱萍. 金钱草的原植物考察 [J]. 中草药, 2004, 35(7): 828-829.
- [4] 阳长明, 陈霞, 赵巍, 等. 基于源头控制的中药制剂质量研究 [J]. 中草药, 2021, 52(2): 321-326.
- [5] 周志祥, 吴世美, 魏俊德. 伪品金钱草的鉴别 [J]. 北京中医, 2006, 25(4): 240-241.
- [6] 杨正久, 代建忠, 梁大敏, 等. 高效液相色谱法评价贵州金钱草代谢产物槲皮素和山奈素的多样性 [J]. 中国医院药学杂志, 2020, 40(3): 279-283.
- [7] 万德光, 彭成, 赵军宁. 四川道地中药材志 [M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2005: 26.
- [8] 黄芳, 张彪, 李绣菊, 等. 黔产金钱草与同属易混品的 HPLC 特征图谱鉴别方法探讨 [J]. 亚太传统医药, 2019, 15(5): 84-87.
- [9] 杜欢, 徐僮, 李琪, 等. 光核桃仁与桃仁 HPLC 指纹图谱比较 [J]. 中成药, 2019, 41(11): 2796-2799.
- [10] 陈梦颖. 道地药材文化传承和专利保护 [D]. 广州: 华南理工大学, 2012.
- [11] 李亚杰, 覃大吉, 杨永康, 等. 道地药材的品质评价现状 [J]. 湖北民族学院学报: 自然科学版, 2010, 28(4): 410-413.
- [12] 王薇, 康云鹰. 论中药指纹图谱利弊及其应用前景 [J]. 现代中医药, 2009, 29(2): 70-72.
- [13] 戴卫波, 梅全喜, 孔祥廉. 积雪草的化学成分与药理作用研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(6): 1566-1568.
- [14] 王俊文, 熊颖, 陈晓虎, 等. 过路黄和广金钱草的 HPLC 指纹图谱比较研究 [J]. 中草药, 2016, 47(5): 827-831.
- [15] 秦路平, 郑汉臣, 丁如贤, 等. 中药积雪草原植物的本草考证 [J]. 中国野生植物资源, 1997, 16(1): 19-21.
- [16] 徐昊. 金钱草及其伪品的鉴别 [J]. 实用中医药杂志, 2012, 28(9): 797.
- [17] 黄天赐, 聂晶, 张立群. 连钱草的综合研究进展 [J]. 数理医药学杂志, 2012, 25(5): 566-570.
- [18] 龙冬艳, 袁涛忠, 孙玉丽, 等. 苗药马蹄金(vob bix seix niub)的应用 [J]. 中国民族医药杂志, 2020, 26(5): 51-53.
- [19] 屈相玲, 梁光义. 苗药马蹄金的现代研究进展 [J]. 贵阳中医学院学报, 2007, 29(4): 49-51.
- [20] 浙江省食品药品监督管理局. 浙江省中药炮制规范(2015年版) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2016.
- [21] 倪士峰, 傅承新, 吴平, 等. 点腺过路黄挥发油气相色谱-质谱研究 [J]. 分析化学, 2004, 32(1): 123.

[责任编辑 时圣明]