

· 基础研究 ·

萱草花药材DNA条形码鉴别与HPLC指纹图谱研究[△]

钟春琳, 胡绮萍, 吴文平, 何嘉莹, 罗宇琴, 林晗, 李国卫*

广东一方制药有限公司 广东省中药配方颗粒企业重点实验室, 广东 佛山 528200

[摘要] 目的: 利用DNA条形码技术对萱草花药材进行物种鉴定, 建立其指纹图谱, 为萱草花质量控制和鉴定提供依据。方法: 提取14批样品的DNA进行序列分析和物种鉴定, 并建立高效液相色谱法指纹图谱, 采用Waters HSS T3型色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.2%乙酸为流动相, 梯度洗脱, 流速为1 mL·min⁻¹, 检测波长为360 nm, 柱温为35℃。结果: 经DNA条形码鉴定, 14批萱草花基原均为黄花菜 *Hemerocallis citrina* Baroni。结合指纹图谱共标定了14个共有峰。结论: DNA条形码和指纹图谱2种方法可对萱草花进行物种鉴定, 并能全面反映萱草花药材中的成分信息, 可用于萱草花药材的真伪鉴定和批间一致性评价。

[关键词] 萱草花药材; DNA条形码; 指纹图谱

[中图分类号] R282.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2023)04-0798-06

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20220810002

DNA Barcoding Identification and HPLC Fingerprint of *Hemerocallis citrina*

ZHONG Chun-lin, HU Yi-ping, WU Wen-ping, HE Jia-ying, LUO Yu-qin, LIN Han, LI Guo-wei*

Guangdong Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formula Granule, Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan 528000, China

[Abstract] **Objective:** To identify the species of *Hemerocallis citrina* by DNA barcoding technology and establish its fingerprint, providing a basis for quality control and identification of *H. citrina*. **Methods:** The DNA of 14 batches of samples was extracted for sequence analysis and species identification. The high performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint was established. Waters HSST3 column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used, with acetonitrile-0.2% acetic acid solution as mobile phase for gradient elution. The flow rate was 1 ml/min, the detection wavelength was 360 nm, and the column temperature was 35℃. **Results:** After DNA barcoding identification, all 14 batches of *H. citrina* flower were identified. On this basis, HPLC fingerprints of 14 batches of samples were established and 14 common peaks were calibrated. **Conclusion:** DNA barcoding and fingerprint can be used to identify *H. citrina* flower species and reflect the composition information of *H. citrina*, which can be used for identification of *H. citrina* and evaluation of consistency among batches.

[Keywords] *Hemerocallis citrina* Baroni; DNA barcoding; fingerprint

萱草花收载于《上海中药材标准》1994年版, 为百合科植物黄花菜 *Hemerocallis citrina* Baroni 或萱草 *H. fulva* L. 的干燥花蕾, 多于7—8月花蕾未开放前采摘, 晒干, 有利水渗湿、清热止渴、解郁宽胸等功效^[1]。其在全国各地常见栽培, 主产于山西、甘肃、黑龙江、安徽和吉林等地^[2]。研究表明萱草花药材具有明显的抗抑郁的作用^[3-6]。

萱草花作为常用药食两用药材, 目前其质量控

制研究较少, 现行标准中其质量控制项目只有性状和杂质检查, 且性状描述中未对黄花菜和萱草2种基原进行区分^[1]。目前文献中对萱草花2个基原区分手段仅有性状和显微鉴别, 不能很好地区分^[7]。本研究拟通过DNA条形码技术对来自全国5个省的14批药材进行鉴定, 在研究药材基原的基础上, 建立萱草花的高效液相色谱法(HPLC)指纹图谱, 通过分子生物学信息和化学成分表征相结合, 为萱草花药

[△] [基金项目] 工业和信息化部2019年产业技术基础公共服务平台项目(2019-00902-1-2)

* [通信作者] 李国卫, 副主任中药师, 研究方向: 中药质量评价; Tel: 0757-85128602, E-mail: 452048107@qq.com

材的质量控制提供依据。查阅文献发现萱草花化学成分主要有黄酮类,如槲皮素-3-O-芸香糖苷、槲皮素、槲皮素-3-O-吡喃木糖苷、3-糠酸、琥珀酸、金丝桃苷、异槲皮苷等^[8],因此,本研究拟开展黄酮类成分指纹图谱研究。

1 材料

1.1 仪器

5424GM型高速离心机、5424R型高速冷冻离心机均购于德国艾本德公司;BioSpec-nano型紫外分光光度计(日本岛津公司);OSE-MC8型微型离心机[天根生化科技(北京)有限公司];T100型聚合酶链式反应(PCR)仪、Sub-CellGT型水平电泳槽、PowerPac型电泳仪均购于美国伯乐生命科学有限公司;NuGenius型凝胶成像仪(英国Syngene公司);JXFSTPRP-48型全自动样品快速研磨仪(上海净信实业发展有限公司);ACQUITY Arc型高效液相色谱仪、Waters HSS T3型色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)均购于美国Waters公司;ME204E型万分之一天平、XP26型百万分之一天平均购于梅特勒-托利多科技(中国)有限公司;KQ500DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);HWS28型恒温水浴锅(上海一恒科技有限公司);Milli-Q Direct型超纯水系统(默克股份有限公司)。

1.2 试剂

萱草花对照药材(批号:DSTYM007901,成都乐美天医药科技有限公司);芦丁对照品(批号:100080-202012,纯度:91.6%,中国食品药品检定研究院);高效植物基因组DNA提取试剂盒[货号:DP350-03,批号:X0121,天根生化科技(北京)有限公司];2×M5 SupperFast Taq PCR MasterMix(北京聚合美生物科技有限公司);DL1000 DNA Marker[货号:3591A,批号:AL51615A,宝日医生物技术(北京)有限公司];实验所用药材经广东一方制药有限公司魏梅主任中药师鉴定,均为黄花菜 *Hemerocallis citrina* Baroni 的干燥花蕾。药材具体信息见表1。

2 方法

2.1 DNA条形码鉴别

2.1.1 样品前处理 称取样品适量,用75%乙醇擦

表1 14批萱草花药材信息

编号	批号	来源
S1	XCH1	甘肃省陇南市
S2	XCH2	甘肃省庆阳市
S3	XCH3	甘肃省兰州市
S4	XCH4	甘肃省庆阳市
S5	XCH5	山西省大同市
S6	XCH6	山西省大同市
S7	XCH7	黑龙江省齐齐哈尔市
S8	XCH8	黑龙江省牡丹江市
S9	XCH9	黑龙江省哈尔滨市
S10	XCH10	吉林省白山市
S11	XCH11	安徽省亳州市
S12	XCH12	安徽省亳州市
S13	XCH13	安徽省亳州市
S14	XCH14	安徽省亳州市

拭表面,去除泥沙及杂质,采用样品快速研磨仪研磨,得到细粉(过五号筛)。

2.1.2 DNA提取 取细粉50 mg,按照高效植物基因组DNA提取试剂盒说明书操作,提取样品基因组DNA。

2.1.3 PCR扩增和测序 PCR反应体系50 μL:2×M5 SupperFast Taq PCR MasterMix 25 μL,引物:psbA-F,5'-GTTATGCATGAACGTAATGCTC-3';trnH-R,5'-CGCGCATGGTGGATTCAACAATCC-3'^[9]或matK-3F,5'-CGTACAGTACTTTTGTGTTTACGAG-3';matK-1R,5'-ACCCAGTCCATCTGGAAATCTTGGTTC-3'各0.8 μL,DNA模板1 μL,双蒸水(ddH₂O)补足至50 μL。以ddH₂O为空白对照。扩增程序:95℃预变性5 min;95℃变性30 s,55℃退火30 s,72℃复性45 s,35个循环;72℃延伸10 min。所有扩增产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳确认后,由北京六合华大基因科技有限公司做Sanger测序。

2.1.4 数据处理 测序结果通过Seqman Version 7.1.0软件进行序列拼接和人工校正,然后除去拼接后的序列两端的低质量区。并将所得序列通过美国国家生物技术信息中心(NCBI, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)进行BLAST对比鉴别。

2.2 指纹图谱建立

2.2.1 色谱条件 用十八烷基硅胶为填充剂,Waters HSS T3型色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为乙腈(A)-0.2%乙酸(B),梯度洗脱(0~15 min,

15%~18%A; 15~25 min, 18%~20%A; 25~30 min, 20%~40%A), 柱温为 35 °C, 流速为 1 mL·min⁻¹, 进样量为 10 μL, 检测波长为 360 nm。

2.2.2 供试品制备方法 取药材粉末(过三号筛)约 1 g, 加 70% 甲醇 25 mL, 超声处理(功率 300 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.3 参照物制备方法 取萱草花对照药材 1.0 g, 加 70% 甲醇 25 mL, 超声处理(功率 300 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为对照药材参照物溶液。另取芦丁对照品适量, 加甲醇制成含芦丁 100 μg·mL⁻¹ 的对照品溶液。

2.2.4 方法学考察

2.2.4.1 精密度试验 取同一萱草花供试品溶液(批号: XCH1), 照 2.2.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 将图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 版), 结果各图谱的相似度均在 0.99 以上, 表明仪器的精密度良好。

2.2.4.2 稳定性试验 取同一萱草花供试品溶液(批号: XCH1), 分别于 0、2、4、8、12、24 h 测定, 结果各图谱相似度均在 0.99 以上, 表明供试品溶液在 24 h 内相对稳定。

2.2.4.3 重复性试验 取同一萱草花药材粉末(批号: XCH1) 1 g, 共 6 份, 分别按 2.2.2 项下供试品制备方法制成供试品溶液, 照 2.2.1 项下色谱条件分别进样, 结果各图谱相似度均在 0.99 以上, 表明该方法的重复性良好。

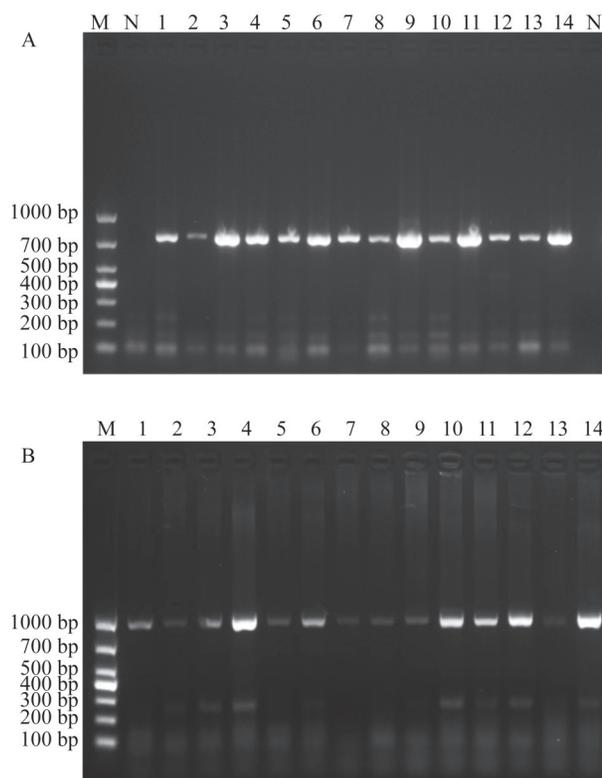
3 结果与分析

3.1 DNA 条形码鉴定结果与分析

14 批萱草花样品扩增电泳图见图 1, 将拼接后的序列通过 NCBI 进行 BLAST 对比, 结果见表 2。经 GenBank 数据库比对, 黄花菜、萱草、小黄花菜 *Hemerocallis minor* Mill. 3 个物种的 *psbA-trnH* 和 *matK* 片段的同源性较高, 其中 *psbA-trnH* 在第 509 位, 黄花菜基原碱基为 C, 而其他基原碱基为 A, *matK* 在 523 位, 黄花菜基原碱基为 C, 而其他基原碱基为 T, 最终得到本研究 14 批结果均为黄花菜基原。

3.2 HPLC 指纹图谱实验结果及分析

3.2.1 指纹图谱的建立 取 14 批萱草花供试品溶液各 10 μL, 在 2.2.1 项下色谱条件进行测定, 得到



注: A. *psbA-trnH*; B. *matK*; M. DL1000 DNA Marker; N. 空白; 1~14. 萱草花药材 S1~S14。

图 1 14 批萱草花样品扩增电泳图

14 批萱草花的 HPLC 指纹图谱, 根据色谱图中各色谱峰的相对保留时间, 确定共有峰, 并选取其中 14 个共有峰作为特征峰建立指纹图谱(图 2)。经过与对照品比对可知 7 号峰为芦丁(图 3), 以之为 S 峰, 计算其余特征峰与 S 峰的相对保留时间(表 3)和相对峰面积(表 4)。

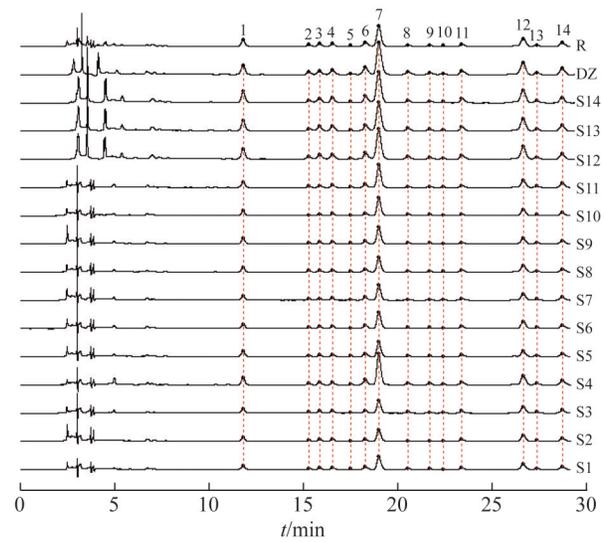
14 批样品的相对保留时间 RSD 为 0.11%~0.48%, 相对峰面积 RSD 为 12.40%~31.58%, 可见各特征峰的相对保留时间较稳定, 但相对峰面积相差较大, 说明不同批次萱草花各特征峰所代表的化学成分的比例存在一定的差异, 这种差异可能与产地因素有关。

3.2.2 主成分分析 以 14 批样品指纹图谱的 14 个共有峰峰面积作为变量导入 SPSS 22.0 软件进行主成分分析, 提取特征值 >1 的 2 个主成分, 其累积方差贡献率为 84.729%(表 5、图 4)。根据成分矩阵图可知峰 1~7、峰 9~14 对主成分 1 影响较大, 峰 8 对主成分 2 影响较大(表 6)。14 个样品主成分 1 和主成分 2 综合得分为 -2.722 81~3.334 31, 综合得分排序见表 7。

采用主成分分析, 提取 2 个主成分, 计算综合得

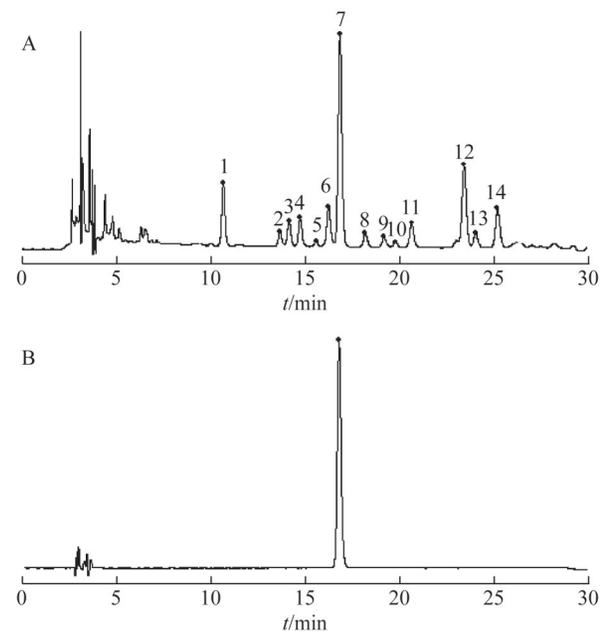
表2 14批萱草花药材序列与数据库比对结果

批号	<i>psbA-trnH</i>		<i>matK</i>	
	物种	匹配率/%	物种	匹配率/%
XCH1	<i>Hemerocallis citrina</i>	99.12	<i>H. citrina</i>	99.65
	<i>H. fulva</i>	99.12	<i>H. fulva</i>	99.65
	<i>H. minor</i>	99.12		
XCH2	<i>H. citrina</i>	99.12	<i>H. citrina</i>	99.88
	<i>H. fulva</i>	99.12	<i>H. fulva</i>	99.88
	<i>H. minor</i>	99.12		
XCH3	<i>H. citrina</i>	99.12	<i>H. citrina</i>	99.88
	<i>H. fulva</i>	99.12	<i>H. fulva</i>	99.88
	<i>H. minor</i>	99.12		
XCH4	<i>H. citrina</i>	99.12	<i>H. citrina</i>	99.76
	<i>H. fulva</i>	99.12	<i>H. fulva</i>	99.76
	<i>H. minor</i>	99.12		
XCH5	<i>H. citrina</i>	99.12	<i>H. citrina</i>	99.28
	<i>H. fulva</i>	99.12	<i>H. fulva</i>	99.28
	<i>H. minor</i>	99.12		
XCH6	<i>H. citrina</i>	99.12	<i>H. citrina</i>	99.64
	<i>H. fulva</i>	99.12	<i>H. fulva</i>	99.64
	<i>H. minor</i>	99.12		
XCH7	<i>H. citrina</i>	99.12	<i>H. citrina</i>	99.64
	<i>H. fulva</i>	99.12	<i>H. fulva</i>	99.64
	<i>H. minor</i>	99.12		
XCH8	<i>H. citrina</i>	99.12	<i>H. citrina</i>	99.77
	<i>H. fulva</i>	99.12	<i>H. fulva</i>	99.77
	<i>H. minor</i>	99.12		
XCH9	<i>H. citrina</i>	99.12	<i>H. citrina</i>	99.53
	<i>H. fulva</i>	99.12	<i>H. fulva</i>	99.53
	<i>H. minor</i>	99.12		
XCH10	<i>H. citrina</i>	99.12	<i>H. citrina</i>	99.88
	<i>H. fulva</i>	99.12	<i>H. fulva</i>	99.88
	<i>H. minor</i>	99.12		
XCH11	<i>H. citrina</i>	99.12	<i>H. citrina</i>	99.77
	<i>H. fulva</i>	99.12	<i>H. fulva</i>	99.77
	<i>H. minor</i>	99.12		
XCH12	<i>H. citrina</i>	99.12	<i>H. citrina</i>	99.77
	<i>H. fulva</i>	99.12	<i>H. fulva</i>	99.77
	<i>H. minor</i>	99.12		
XCH13	<i>H. citrina</i>	99.12	<i>H. citrina</i>	99.88
	<i>H. fulva</i>	99.12	<i>H. fulva</i>	99.88
	<i>H. minor</i>	99.12		
XCH14	<i>H. citrina</i>	99.12	<i>H. citrina</i>	99.77
	<i>H. fulva</i>	99.12	<i>H. fulva</i>	99.77
	<i>H. minor</i>	99.12		



注: S1~S14. 14批萱草花样品; DZ. 萱草花对照药材; R. 对照图谱。

图2 14批萱草花药材指纹图谱、萱草花对照药材和对照图谱叠加图



注: A. 供试品; B. 对照品; 7. 芦丁。

图3 萱草花指纹图谱和对照品HPLC图

分, 甘肃省的样品综合得分整体排序靠后, 黑龙江省和安徽省排序前后均有, 而山西省的样品综合得分排序分别为第1和第7、吉林省的样品综合得分为第4, 可知山西省、吉林省等产地的萱草花总体质量较好。

4 讨论

传统的药材鉴定方法主要通过性状鉴别、理化鉴别和显微鉴别等, 具有一定的主观性和局限性,

表3 14批萱草花指纹图谱共有峰相对保留时间

批号	峰1	峰2	峰3	峰4	峰5	峰6	峰7 (S)	峰8	峰9	峰10	峰11	峰12	峰13	峰14
XCH1	0.622	0.806	0.837	0.874	0.926	0.962	1.000	1.081	1.142	1.180	1.231	1.402	1.439	1.510
XCH2	0.622	0.806	0.836	0.872	0.924	0.962	1.000	1.081	1.142	1.183	1.231	1.402	1.438	1.509
XCH3	0.622	0.806	0.836	0.873	0.924	0.962	1.000	1.081	1.142	1.180	1.231	1.402	1.438	1.509
XCH4	0.622	0.806	0.836	0.873	0.924	0.962	1.000	1.082	1.142	1.181	1.231	1.401	1.438	1.509
XCH5	0.622	0.806	0.836	0.873	0.924	0.962	1.000	1.082	1.142	1.182	1.231	1.402	1.439	1.510
XCH6	0.621	0.806	0.836	0.872	0.923	0.962	1.000	1.082	1.141	1.181	1.232	1.402	1.437	1.509
XCH7	0.621	0.805	0.836	0.872	0.923	0.963	1.000	1.082	1.143	1.182	1.231	1.402	1.437	1.509
XCH8	0.621	0.805	0.836	0.872	0.923	0.963	1.000	1.082	1.142	1.181	1.231	1.401	1.437	1.509
XCH9	0.621	0.805	0.836	0.871	0.923	0.963	1.000	1.082	1.142	1.181	1.231	1.401	1.437	1.508
XCH10	0.621	0.805	0.835	0.872	0.923	0.963	1.000	1.082	1.142	1.181	1.231	1.401	1.437	1.508
XCH11	0.622	0.806	0.836	0.872	0.923	0.962	1.000	1.082	1.141	1.182	1.231	1.401	1.438	1.509
XCH12	0.619	0.802	0.828	0.864	0.917	0.965	1.000	1.086	1.147	1.178	1.239	1.410	1.453	1.524
XCH13	0.619	0.801	0.828	0.864	0.918	0.965	1.000	1.087	1.149	1.179	1.240	1.412	1.455	1.525
XCH14	0.619	0.801	0.828	0.864	0.917	0.966	1.000	1.088	1.147	1.180	1.239	1.412	1.454	1.525
RSD/%	0.19	0.24	0.40	0.42	0.32	0.14	0	0.22	0.22	0.11	0.29	0.30	0.48	0.44

表4 14批萱草花指纹图谱共有峰相对峰面积

批号	峰1	峰2	峰3	峰4	峰5	峰6	峰7 (S)	峰8	峰9	峰10	峰11	峰12	峰13	峰14
XCH1	0.268	0.067	0.110	0.130	0.029	0.198	1.000	0.078	0.058	0.025	0.133	0.447	0.081	0.240
XCH2	0.281	0.091	0.165	0.173	0.030	0.151	1.000	0.021	0.031	0.025	0.147	0.539	0.076	0.298
XCH3	0.322	0.070	0.109	0.142	0.035	0.220	1.000	0.070	0.047	0.024	0.141	0.397	0.100	0.238
XCH4	0.308	0.078	0.145	0.165	0.024	0.206	1.000	0.096	0.051	0.025	0.172	0.530	0.089	0.268
XCH5	0.212	0.041	0.078	0.079	0.015	0.166	1.000	0.055	0.051	0.018	0.097	0.320	0.053	0.172
XCH6	0.242	0.074	0.111	0.120	0.022	0.191	1.000	0.055	0.051	0.024	0.136	0.467	0.069	0.230
XCH7	0.213	0.047	0.079	0.094	0.019	0.156	1.000	0.044	0.055	0.022	0.094	0.340	0.055	0.215
XCH8	0.248	0.079	0.111	0.134	0.025	0.210	1.000	0.050	0.059	0.023	0.148	0.479	0.075	0.247
XCH9	0.246	0.074	0.110	0.124	0.022	0.207	1.000	0.057	0.058	0.024	0.149	0.477	0.073	0.237
XCH10	0.275	0.059	0.101	0.129	0.028	0.161	1.000	0.063	0.066	0.022	0.101	0.343	0.082	0.228
XCH11	0.232	0.039	0.080	0.089	0.016	0.151	1.000	0.089	0.060	0.024	0.080	0.351	0.054	0.187
XCH12	0.275	0.063	0.129	0.139	0.020	0.209	1.000	0.086	0.054	0.030	0.136	0.426	0.071	0.200
XCH13	0.287	0.068	0.135	0.146	0.021	0.219	1.000	0.086	0.050	0.030	0.144	0.431	0.077	0.216
XCH14	0.277	0.067	0.126	0.136	0.021	0.208	1.000	0.084	0.050	0.030	0.136	0.386	0.071	0.201
RSD/%	12.40	22.59	22.13	20.81	24.04	13.89	0	31.58	15.33	13.96	20.22	16.66	18.04	14.36

有研究中也提到将DNA条形码分子鉴定法与《中华人民共和国药典》2010年版规定的其他鉴别方法相结合,能够对药品质量进行综合评价与有效监控^[10]。本研究通过DNA条形码技术对14批样品进行物种鉴定,结果显示样品均为百合科植物黄花菜 *H. citrina* Baroni。本研究在基原确定后对14批萱草花进行指纹图谱研究,建立的HPLC指纹图谱共标定了14个共有峰,方法学考察结果符合指纹图谱技

术要求,并对图谱进行相似度评价,结果各批次的相似度均大于0.99,表明所用的样品质量稳定,来源均一。本研究通过DNA条形码和HPLC指纹图谱技术来实现遗传物质和化学成分共同表征,为中药质量评价技术的应用提供了示范,即利用DNA条形码技术进行萱草花药材的物种鉴定,并在物种鉴定的基础上通过HPLC指纹图谱技术评价萱草花药材的质量。

表5 14批萱草花药材各主成分的贡献率

主成分	初始特征值			提取平方和载入		
	合计	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%	合计	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	9.848	70.344	70.344	9.848	70.344	70.344
2	2.014	14.385	84.729	2.014	14.385	84.729
3	0.935	6.676	91.406			
4	0.467	3.337	94.743			
5	0.378	2.699	97.442			
6	0.172	1.231	98.673			
7	0.081	0.578	99.251			
8	0.045	0.319	99.569			
9	0.043	0.306	99.875			
10	0.009	0.064	99.939			
11	0.007	0.049	99.988			
12	0.001	0.009	99.997			
13	0	0.003	100.000			
14	1.46×10^{-16}	1.04×10^{-15}	100.000			

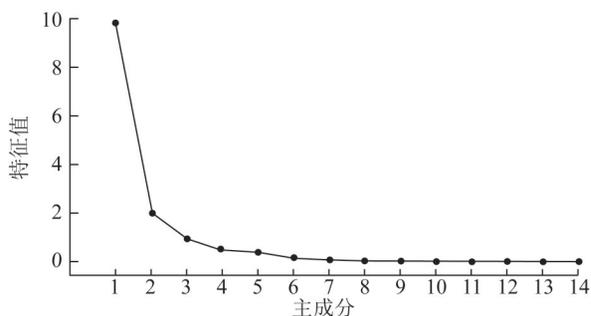


图4 14批萱草花药材各主成分贡献率碎石图

表6 14批萱草花药材各因子初始因子载荷矩阵

峰号	主成分1	主成分2
1	0.949	0.192
2	0.738	-0.610
3	0.804	-0.279
4	0.847	-0.414
5	0.708	-0.326
6	0.923	0.213
7	0.941	0.271
8	0.479	0.791
9	0.850	0.417
10	0.803	0.484
11	0.860	-0.253
12	0.896	-0.114
13	0.885	-0.079
14	0.937	-0.117

表7 14批萱草花药材主成分得分

批号	产地	主成分1	主成分2	综合得分	排序
XCH1	甘肃省陇南市	-0.647 93	0.213 25	-0.434 68	8
XCH2	甘肃省庆阳市	-0.680 92	-2.041 89	-2.722 81	14
XCH3	甘肃省兰州市	0.218 66	-0.555 06	-0.336 40	6
XCH4	甘肃省庆阳市	-0.125 90	-0.442 98	-0.568 88	12
XCH5	山西省大同市	2.791 06	0.543 25	3.334 31	1
XCH6	山西省大同市	0.297 71	-0.661 08	-0.363 37	7
XCH7	黑龙江省齐齐哈尔市	0.970 05	0.272 67	1.242 72	3
XCH8	黑龙江省牡丹江市	0.044 03	-0.949 75	-0.905 72	13
XCH9	黑龙江省哈尔滨市	-0.026 41	-0.426 69	-0.453 10	9
XCH10	吉林省白山市	0.316 06	-0.121 85	0.194 21	4
XCH11	安徽省亳州市	-0.342 57	2.255 70	1.913 13	2
XCH12	安徽省亳州市	-1.304 98	0.843 58	-0.461 40	10
XCH13	安徽省亳州市	-1.047 71	0.569 49	-0.478 22	11
XCH14	安徽省亳州市	-0.461 17	0.501 35	0.040 18	5

参考文献

[1] 上海市卫生局. 上海市中药材标准[M]. 上海:上海市卫生局, 1994:312.

[2] 陈丽飞, 董然. 萱草属植物研究进展[J]. 北方园艺, 2007(6):66-69.

[3] 范斌, 王佳, 许绍芬. 萱草花对小鼠镇静作用的实验观察[J]. 上海中医药杂志, 1996, 30(2):40-41.

[4] UEZU E. Effects of *Hemerocallis* on sleep in mice[J]. Psychiatry Clin Neurosci, 1998, 52(2):136-137.

[5] HSIEH M T, HO Y F, PENG W H, et al. Effects of *Hemerocallis flava* on motor activity and the concentration of central monoamines and its metabolites in rats[J]. J Ethnopharmacol, 1996, 52(2):71-76.

[6] 贺戈, 韩珍, 杨俊, 等. 萱草花抗抑郁作用的实验研究[J]. 宁夏医学杂志, 2008, 30(8):682-683.

[7] 史娟. 萱草药材质量标准研究[J]. 亚太传统医药, 2021, 17(11):81-83.

[8] 潘红, 郝丽静, 黄建梅, 等. 萱草花化学成分研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(9):2186-2187.

[9] CHEN S, PANG X, SONG J, et al. A renaissance in herbal medicine identification: From morphology to DNA [J]. Biotechnol Adv, 2014, 32(7):1237-1244.

[10] 辛天怡, 雷美艳, 宋经元. 中药材DNA条形码鉴定研究进展[J]. 中国现代中药, 2015, 17(2):170-176.

(收稿日期: 2022-08-10 编辑: 吴美琪)