·中药农业·

不同品系及生长期金线莲的金线莲苷含量变化研究△

陈莹[1,2]，王文义[2]，谌赛男[2]，黄锦芳[2]，张雪[2,3]，吴水生[2*]，孙志蓉[1*]，陈菁瑛[4,5]

1. 北京中医药大学 中药学院，北京　102488；
2. 福建中医药大学 药学院，福建　福州　350122；
3. 陆军军医大学 西南医院，重庆　400038；
4. 福建省农业科学院 农业生物资源研究所，福建　福州　350003；
5. 福建省农业科学院 药用植物研究中心，福建　福州　350003

［**摘要**］ **目的**：研究不同品系及生长期金线莲的金线莲苷含量变化，为金线莲优良种质筛选和适宜采收期确定提供参考。**方法**：以不同产地的不同品系及不同生长时期的金线莲为研究对象，建立高效液相色谱-蒸发光散射检测法（HPLC-ELSD）测定金线莲苷含量的方法，测定并比较不同品系金线莲在不同生长期金线莲苷的含量。**结果**：金线莲苷质量浓度在 31.76～1 588.00 μg·mL^{-1}线性良好（r=0.999 8），平均加样回收率为 92.03%，RSD 为 2.26%。不同产地不同品系组织培养金线莲的金线莲苷质量分数为 1.55%～16.14%，南靖大圆叶组织培养苗质量分数最高；不同品系及生长期栽培金线莲的金线莲苷质量分数为 2.68%～21.97%。同一产地不同品系金线莲的金线莲苷含量在不同生长期内变化不同，除尖叶的金线莲苷含量在花期前随生长时间增加而升高外，其他品系的金线莲苷含量随种植时间增加波动变化。本地野生金线莲在 2~4 个月的生长期内金线莲苷含量均高于其他品系金线莲，最高可达 21.97%；不同产地野生金线莲的金线莲苷含量极差较大，为 1.51%～11.40%。**结论**：建立的金线莲苷含量测定方法准确、稳定、重复性好。金线莲中的金线莲苷含量受种质资源和移栽生长时间影响较大，本地野生、大圆叶和尖叶品系金线莲苷含量较高。栽培有利于金线莲苷含量的积累。

［**关键词**］ 金线莲；金线莲苷；高效液相色谱-蒸发光散射检测法；不同品系；不同生长期；含量测定

［**中图分类号**］ R282.2　　［**文献标识码**］ A　　［**文章编号**］ 1673-4890(2021)08-1423-07

doi：10.13313/j.issn.1673-4890.20200911001

Changes in Kinsenoside Content of Different Strains of *Anoectochilus roxburghii* at Different Growth Periods

CHEN Ying[1,2], WANG Wen-yi[2], CHEN Sai-nan[2], HUANG Jin-fang[2], ZHANG Xue[2,3], WU Shui-sheng[2*], SUN Zhi-rong[1*], CHEN Jing-ying[4,5]

1. *School of Chinese Materia Medica*, *Beijing University of Chinese Medicine*, *Beijing* 102488, *China*;
2. *School of Pharmacy*, *Fujian University of Traditional Chinese Medicine*, *Fuzhou* 350122, *China*;
3. *Southwest Hospital*, *Third Military Medical University* (*Army Medical University*), *Chongqing* 400038, *China*;
4. *Agricultural BioResources Institute*, *Fujian Academy of Agricultural Sciences*, *Fuzhou* 350003, *China*;
5. *Research Center for Medicinal Plants*, *Fujian Academy of Agricultural Sciences*, *Fuzhou* 350003, *China*

[**Abstract**] **Objective**: To study the kinsenoside content in different strains of *Anoectochilus roxburghii* at different growth stages, so as to provide reference for the screening of high-quality germplasm and the determination of suitable harvest period. **Methods**: Different strains of *A. roxburghii* at different growth stages were collected from different origins for kinsenoside determination and comparison by high-performance liquid chromatography coupled with evaporative light scattering detector (HPLC-ELSD). **Results**: HPLC-ELSD analysis revealed a good linearity within the kinsenoside range of

△［**基金项目**］ 财政部和农业农村部：国家现代农业产业技术体系项目（CARS-21）；福建省财政厅专项（595291505）；福建中医药大学与永安市政府校地科技合作项目（20150601）

*［**通信作者**］ 孙志蓉，教授，研究方向：中药质量与开发；Tel：（010）84738334，E-mail：zrs67@126.com
吴水生，教授，研究方向：中药复方药效物质及其作用机制；Tel：（591）22861135，E-mail：wushuishengwsstcm@163.com

31.76-1 588.00 μg·mL^{-1} (r = 0.999 8). The average recovery rate was 92.03% with RSD being 2.26%. The mass fraction of kinsenoside in tissue-cultured strains from different origins ranged from 1.55% to 16.14%, with the highest mass fraction detected in the large round-leaf tissue-cultured sample from Nanjing. The mass fractions of kinsenoside in different strains of *A. roxburghii* at different growth stages were within the range of 2.68%-21.97%. It was worth noting that the kinsenoside content differed in different strains of *A. roxburghii* at different growth stages even from the same origin. Except that kinsenoside content in the sharp-leaf tissue-cultured sample increased over the growth time before the flowering period, kinsenoside content in other strains fluctuated with the extension of the growth time. The kinsenoside content in local wild *A. roxburghii* during the 2-4 months growing season was higher than that in the other strains, which could reach up to 21.97%. The content of kinsenoside in wild samples from different habitats varied greatly, ranging from 1.51% to 11.40%. **Conclusion**: The established HPLC-ELSD method for kinsenoside quantification is accurate, stable and reproducible. The results have shown that the content of kinsenoside in *A. roxburghii* is greatly affected by germplasm resources and plantation period. The local wild, large round-leaf and sharp-leaf strains have been proved to contain high content of kinsenoside. Cultivation is conducive to the accumulation of kinsenoside content.

[**Keywords**] *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl.; kinsenoside; high-performance liquid chromatography coupled with evaporative light scattering detector (HPLC-ELSD); different strains; different growth periods; quantitative analysis

金线莲又名金线兰，为兰科植物花叶开唇兰 *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. 的新鲜或干燥全草，是闽台地区的珍稀草药[1]，主产于福建，浙江、广西、广东等地亦有分布[2]，是福建省道地药材，也是“福九味”之一[3]，被列为福建省野生药材保护品种[4]。其性平，味甘，归肺、肝、肾、膀胱经，具有清热凉血、祛风利湿等功效[1]，临床常用于治疗乙型肝炎、肾炎、糖尿病、高血压、手足口病等[5-7]。随着药用价值的开发和市场需求量的增加，其产业规模不断扩大。目前，金线莲人工栽培技术成熟，市售药材以组织培养种苗移栽林下土壤或大棚基质种植 4~6 个月或更长时间的栽培金线莲为主[8-9]。金线莲经长期引种驯化和种质选育，逐渐形成不同栽培品系，常见的有尖叶、本地野生、本地圆叶、大圆叶、红霞等[3,10]。《福建省中药材标准》2006 年版规定，金线莲在夏、秋季茎叶茂盛时采收[1]，但各企业金线莲种苗移栽时长和采收期不同，行业内无统一的栽培技术规范[11]，加之金线莲具有野生、不同栽培品系、组织培养等来源，其品质参差不齐，有商家将组织培养种苗甚至同属植物作为产品的加工原料，严重影响金线莲产品的质量[12-13]。

目前，尚未建立合适的标准对组织培养、不同栽培品系金线莲的品质进行质量控制[14]。已有研究表明，金线莲主要有效成分为黄酮及黄酮苷、金线莲苷、多糖等[15-18]。金线莲苷是从金线兰中分离得到的糖苷类化合物，结构为五元内酯环的手性碳上连接葡萄糖，具有保护血管、降血糖、调血脂、抗肝病毒和保护肝细胞等作用[6,19]，是金线莲的有效物质及特征性成分，可作为金线莲质量评价的重要指标。已有研究表明，各品系金线莲之间存在遗传多样性[3]，其总黄酮和核苷类成分含量也存在差异[20-21]。已有研究采用高效液相色谱法（HPLC）[22]、高效液相色谱-蒸发光散射检测法（HPLC-ELSD）[23]、超高效液相色谱-高分辨飞行时间质谱法（UPLC-TOF-MS）[24]测定金线莲中金线莲苷的含量，但尚未见不同品系及生长期金线莲中金线莲苷含量变化比较的报道。本研究以不同产地不同品系及生长期的金线莲为研究对象，建立 HPLC-ELSD 测定金线莲苷含量的方法，探究不同品系金线莲在不同生长期金线莲苷含量的变化规律，为金线莲质量评价、优良种质筛选及适宜采收期的确定提供参考。

1　材料

1260 型高效液相色谱仪（美国安捷伦公司）；Alltech 3300 型蒸发光散射检测器（美国格雷斯奥泰公司）；GT-2120QTS 型超声机（广东固特超声股份有限公司）；DV215CD 型十万分之一分析天平（奥豪斯公司）；DFY-500A 型粉碎机（上海四瑞仪器有限公司）；Milli-Q 型超纯水仪（美国 Millipore 公司）。

金线莲苷对照品（批号：P08S8F43417，纯度≥95%，上海源叶生物科技有限公司）；乙腈为色谱纯（德国 Merck 公司）；水为超纯水，其余试剂均为分

析纯。

不同品系及生长期金线莲来源于福建漳州南靖、三明永安、莆田仙游等地。其中，组织培养金线莲为组织培养生根阶段 4 个月的试管苗，由来源地金线莲种植企业提供；栽培金线莲为试管苗经炼苗 10~15 d后再移栽林下（永安、仙游）或大棚（南靖）种植样品，并分别于种植 1、2、3、4、5、6、7、9、10、13 个月取样；野生金线莲为林下野生药材（表 1）。所有样品均为在产地随机采集鲜品（50 株或以上），经福建中医药大学药学院范世明高级实验师鉴定为兰科开唇兰属金线莲 *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. 的新鲜全草。

2　方法与结果

2. 1　色谱条件

色谱柱为 Ultimate Hilic Amide（100 mm×4. 6 mm, 3 μm）；流动相为乙腈-水等度洗脱（92∶8，V/V）；流速为 0. 8 mL·min^{-1}；柱温为 30 ℃；蒸发光散射检测器雾化室温度为 50 ℃，载气为高纯氮气，载气流速为 1. 5 L·min^{-1}；进样量为 10 μL。对照品与样品的色谱图见图 1。

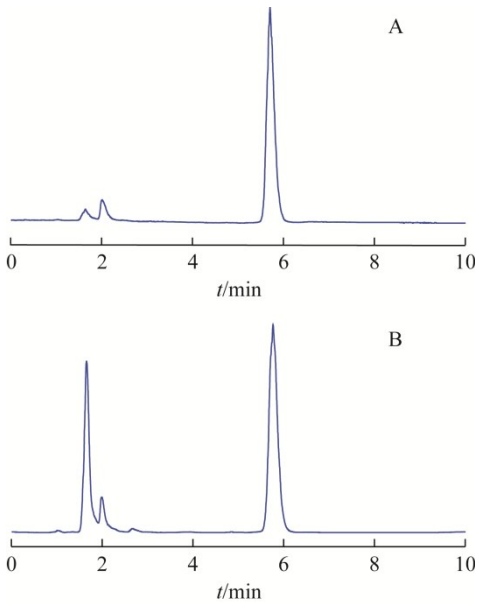
2. 2　对照品溶液制备

精密称取金线莲苷对照品 7. 94 mg 到 5 mL 量瓶

表 1　金线莲样品信息

编号	商品名	产地	生长方式	生长时间/月	编号	商品名	产地	生长方式	生长时间/月
W1	金线莲	福建龙岩上杭	野生	—	NJC6	红霞	福建漳州南靖	栽培	1
W2	金线莲	福建南平建瓯	野生	—	NJC7	本地圆叶	福建漳州南靖	栽培	2
W3	金线莲	福建南平建瓯	野生	—	NJC8	尖叶	福建漳州南靖	栽培	2
W4	金线莲	福建泉州德化	野生（竹林下）	—	NJC9	本地尖叶	福建漳州南靖	栽培	2
W5	金线莲	福建莆田仙游	野生（竹林下）	—	NJC10	本地野生	福建漳州南靖	栽培	2
W6	金线莲	广东	野生	—	NJC11	大圆叶	福建漳州南靖	栽培	2
W7	金线莲	广西	野生	—	NJC12	本地圆叶	福建漳州南靖	栽培	3
W8	金线莲	云南	野生	—	NJC13	尖叶	福建漳州南靖	栽培	3
SMZ1	本地圆叶 1	福建三明永安	组织培养	—	NJC14	本地尖叶	福建漳州南靖	栽培	3
SMZ2	本地圆叶 2	福建三明永安	组织培养	—	NJC15	本地野生	福建漳州南靖	栽培	3
SMZ3	尖叶 1	福建三明永安	组织培养	—	NJC16	大圆叶	福建漳州南靖	栽培	3
SMZ4	尖叶 2	福建三明永安	组织培养	—	NJC17	红霞	福建漳州南靖	栽培	3
SMZ5	本地野生	福建三明永安	组织培养	—	NJC18	本地圆叶	福建漳州南靖	栽培	4
SMZ6	本地尖叶	福建三明永安	组织培养	—	NJC19	尖叶	福建漳州南靖	栽培	4
SMC1	尖叶 2	福建三明永安	栽培	1	NJC20	本地尖叶	福建漳州南靖	栽培	4
SMC2	红霞	福建三明永安	栽培	1	NJC21	本地野生	福建漳州南靖	栽培	4
SMC3	尖叶 2	福建三明永安	栽培	2	NJC22	大圆叶	福建漳州南靖	栽培	4
SMC4	红霞	福建三明永安	栽培	2	NJC23	红霞	福建漳州南靖	栽培	4
SMC5	尖叶 2	福建三明永安	栽培	3	NJC24	本地尖叶	福建漳州南靖	栽培	5
SMC6	红霞	福建三明永安	栽培	6	NJC25	大圆叶	福建漳州南靖	栽培	5
NJZ1	本地圆叶	福建漳州南靖	组织培养	—	NJC26	红霞	福建漳州南靖	栽培	5
NJZ2	尖叶	福建漳州南靖	组织培养	—	XYC1	尖叶	福建莆田仙游	栽培	4
NJZ3	本地尖叶	福建漳州南靖	组织培养	—	XYC2	尖叶	福建莆田仙游	栽培	5
NJZ4	本地野生	福建漳州南靖	组织培养	—	XYC3	尖叶	福建莆田仙游	栽培	6
NJZ5	大圆叶	福建漳州南靖	组织培养	—	XYC4	尖叶	福建莆田仙游	栽培	7
NJC1	本地圆叶	福建漳州南靖	栽培	1	XYC5	尖叶	福建莆田仙游	栽培（带花苞）	9
NJC2	尖叶	福建漳州南靖	栽培	1	XYC6	尖叶	福建莆田仙游	栽培（开花）	9
NJC3	本地尖叶	福建漳州南靖	栽培	1	XYC7	尖叶	福建莆田仙游	栽培（带花苞）	10
NJC4	本地野生	福建漳州南靖	栽培	1	XYC8	尖叶	福建莆田仙游	栽培（开花）	10
NJC5	大圆叶	福建漳州南靖	栽培	1	XYC9	尖叶	福建莆田仙游	栽培	13

注：—表示野生金线莲生长时间未知，组织培养金线莲没有移栽种植。



注：A. 金线莲苷；B. 金线莲。

图 1　金线莲苷对照品与金线莲 HPLC 图

中，加入甲醇制备成 1.588 mg·mL^{-1} 的金线莲苷对照品储备液，备用。

2.3　供试品溶液制备

将 60 ℃干燥至恒重的金线莲粉碎，过 60 目筛得金线莲粉末。取金线莲粉末 0.2 g，精密称定，置具塞三角瓶中，精密加入甲醇 40 mL，密塞，称定质量，超声提取 30 min（功率 250 W，频率 50 kHz），放冷，称定质量，用甲醇补足减少的质量，摇匀，0.22 μm 滤膜滤过，取续滤液，备用。

2.4　线性关系考察

取 **2.2** 项下方法制备的对照品储备液，分别用甲醇稀释至 1 588.00、1 270.40、1 016.32、508.16、254.08、127.04、63.52、31.76 μg·mL^{-1}，精密吸取 10 μL，按 **2.1** 项下色谱条件测定峰面积，以质量浓度的对数值为横坐标（X），以峰面积的对数值为纵坐标（Y），绘制标准曲线，得回归方程 Y=1.717 1X－1.599 8（r=0.999 8），线性范围为 31.76～1 588.00 μg·mL^{-1}。按 3 倍信噪比计算检测限（LOD），按 10 倍信噪比计算定量限（LOQ），分别为 15.88、31.76 μg·mL^{-1}。

2.5　精密度试验

精密吸取 **2.4** 项方法制备的 508.16 μg·mL^{-1} 对照品溶液 10 μL，按 **2.1** 项下色谱条件连续进样 6 次，记录金线莲苷的峰面积，金线莲苷峰面积 RSD 为 1.35%；精密吸取上述对照品溶液连续测定 3 d，每天测定 6 次，金线莲苷峰面积 RSD 为 1.07%，表明仪器的精密度良好。

2.6　稳定性试验

精密称取金线莲样品 XYC3 粉末 0.2 g，按 **2.3** 项下方法制备供试品溶液，按 **2.1** 项色谱条件下于 0、2、6、10、12、24 h 进样 10 μL，被测物峰面积 RSD 为 4.69%，结果表明供试液在 24 h 内稳定。

2.7　重复性试验

分别精密称取同一批样品 XYC3 粉末 0.2 g，共 6 份，按 **2.3** 项下方法制备供试品溶液，分别进样测定，测得金线莲苷含量 RSD 为 2.15%，结果表明该法重复性良好。

2.8　加样回收率试验

取 **2.7** 项下已知含量的样品（XYC3）粉末，每份 0.1 g，共 6 份，精密称定，每份精密加入相同量（已知含量的 100%）的金线莲苷对照品，按 **2.3** 项下方法制备供试品溶液，在 **2.1** 项下色谱条件下测定含量，计算加样回收率，结果该方法的加样回收率为 92.03%，RSD 为 2.26%，说明该方法回收率良好（表 2）。

表 2　金线莲中金线莲苷加样回收率试验结果

样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
12.76	12.70	24.29	90.72	92.03	2.26
12.74	12.70	24.48	92.45		
12.14	12.70	24.27	95.48		
12.96	12.70	24.44	90.38		
12.81	12.70	24.64	93.10		
12.92	12.70	24.35	90.03		

2.9　含量测定

分别取样品粉末 0.2 g，精密称定，按 **2.3** 项下方法制备供试品溶液，再按 **2.1** 项下色谱条件进行测定，用外标法计算样品中金线莲苷的含量，结果见表 3。

由表 3 可知，不同产地野生金线莲的金线莲苷质量分数为 1.00%～11.04%，因产地不同而异。三明永安不同品系组织培养金线莲的金线莲苷质量分数为 1.27%～5.54%，其含量大小由高到低为尖叶 2>本地圆叶 1>本地尖叶>尖叶 1>本地圆叶 2>本地野生。三明永安林下移栽生长 1～3 个月尖叶 2

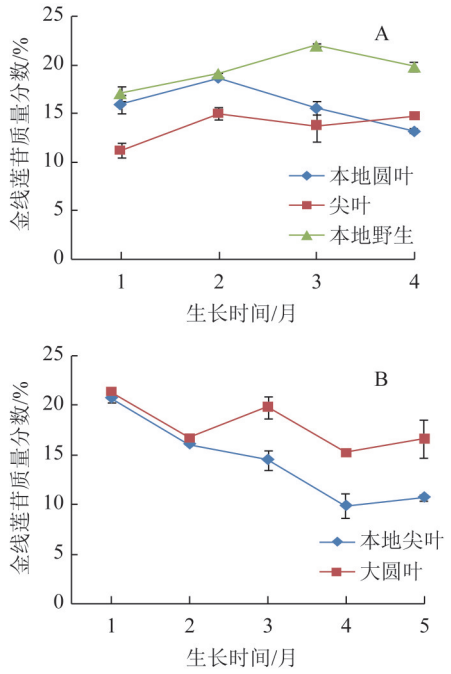
表 3　金线莲中金线莲苷质量分数

%

编号	质量分数	编号	质量分数
W1	1.51	NJC6	13.21
W2	1.00	NJC7	18.61
W3	1.91	NJC8	14.98
W4	4.56	NJC9	16.06
W5	11.04	NJC10	19.10
W6	10.64	NJC11	16.69
W7	9.11	NJC12	15.52
W8	7.23	NJC13	13.78
SMZ1	3.40	NJC14	14.48
SMZ2	1.55	NJC15	21.97
SMZ3	2.03	NJC16	19.77
SMZ4	5.54	NJC17	14.75
SMZ5	1.27	NJC18	13.17
SMZ6	2.05	NJC19	14.76
SMC1	5.58	NJC20	9.83
SMC2	3.88	NJC21	19.80
SMC3	2.68	NJC22	15.22
SMC4	3.62	NJC23	16.10
SMC5	20.08	NJC24	10.68
SMC6	9.54	NJC25	16.60
NJZ1	14.54	NJC26	15.41
NJZ2	6.74	XYC1	10.88
NJZ3	15.29	XYC2	13.68
NJZ4	15.35	XYC3	12.70
NJZ5	16.14	XYC4	17.22
NJC1	15.90	XYC5	17.04
NJC2	11.19	XYC6	15.17
NJC3	20.72	XYC7	13.15
NJC4	17.05	XYC8	14.61
NJC5	21.29	XYC9	12.52

栽培金线莲的金线莲苷含量变化为“升-降-升”，种植 3 个月尖叶 2 的金线莲苷质量分数达 20. 08%，红霞栽培金线莲的金线莲苷含量表现出相似的规律，其种植 6 个月的金线莲苷质量分数为 9. 54%。

南靖不同品系组织培养金线莲的金线莲苷质量分数为 6. 74% ~ 16. 14%，由大到小依次为大圆叶>本地野生>本地尖叶>本地圆叶>尖叶。南靖不同品系栽培金线莲不同生长期的金线莲苷含量见图 2。由图 2A 可知，本地野生金线莲在 1 ~ 4 个月生长期内金线莲苷含量均比尖叶和本地圆叶金线莲高，表现为先升后降的趋势，在生长 3 个月时达到最高值 21. 97%；本地圆叶金线莲的金线莲苷含量在 1 ~ 2 个月时上升，在 2 ~ 4 个月时下降，在生长 2 个月时达到最高值 18. 61%；尖叶金线莲在 1 ~ 4 个月生长期内金线莲苷含量除了在 3 个月时略微下降外均呈上升趋势，在生长 2、4 个月时质量分数均达 14. 5% 以上。由图 2B 可知，生长 1 ~ 5 个月的大圆叶金线莲的金线莲苷含量呈现锯齿状“降-升-降-升”的趋势，其质量分数均在 15% 以上，分别在生长 1、3 个月达到峰值 21. 29%、19. 77%；本地尖叶金线莲的金线莲苷质量分数由 1 个月时的 20. 72% 缓慢下降到 4 个月时的 9. 83%，到生长 5 个月时上升到 10. 68%。此外，生长 3 ~ 5 个月的红霞金线莲的金线莲苷质量分数均在 14. 7% 以上，在生长 4 个月时达 16. 1%。



注：A. 生长期为 1 ~ 4 个月金线莲；B. 生长期为 1 ~ 5 个月金线莲。

图 2　南靖不同品系金线莲在不同生长期的金线莲苷质量分数($\bar{x}\pm s$, n=3)

仙游林下栽培 4 ~ 13 个月的尖叶金线莲的金线莲苷质量分数见图 3。由图 3 可知，尖叶金线莲的金线莲苷含量在生长 4 ~ 7 个月时呈“升-降-升”的趋势，并在生长 7 个月时达到最高值 17. 22%。而在生长 9 个月之后，其金线莲苷含量呈下降趋势，生长 9 ~ 13 个月时其质量分数为 12. 52% ~ 17. 04%。生长 9 个月时含花苞金线莲的金线莲苷质量分数高于生长 9 个月的开花金线莲，分别为 17. 04%、15. 17%，而生长 10 个月的开花金线莲的金线莲苷质量分数高于生长 10 个月含花苞金线莲，分别为 14. 61%、13. 15%，但总体上进入花期及之后生长

期的尖叶金线莲的金线莲苷含量较生长 9 个月前降低。

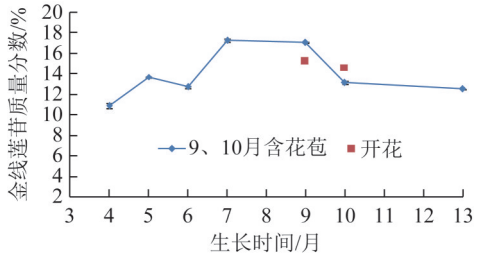


图 3　仙游尖叶金线莲在不同生长期的金线莲苷质量分数（n=3）

3　讨论

3.1　金线莲苷提取和测定方法的选择

金线莲苷是由 1 个五元环内酯与葡萄糖连接形成的苷，在酸碱性溶剂环境下易开环分解[23]，故本研究选择操作简便、提取效率高的超声提取法[25]，减少中间操作步骤，保证金线莲苷检测的准确性。研究过程中比较了不同色谱柱（C_{18}柱和氨基柱）、不同检测器（二极管阵列检测器和蒸发光散射检测器）对金线莲苷保留、检测的效果，金线莲苷是强极性成分并为紫外末端吸收，应用C_{18}柱出峰时间早且低波长下紫外吸收检测干扰大，而应用氨基柱可以在适当的时间出峰、分离度好，结合蒸发光散射检测器测定干扰小。与 Wei 等[26]研究结果一致，均表明 HPLC-ELSD 适用于金线莲苷成分快速、有效的测定。同时，选择粒径更小和柱长更短的氨基柱，可缩短单次样品检测时间，在 10 min 内即可完成目标成分测定。

3.2　含量比较

本研究首次对不同品系及生长期金线莲的金线莲苷含量进行测定，结果表明不同生长方式金线莲的金线莲苷含量差异较大，组织培养、栽培和野生金线莲的金线莲苷含量分别为 1.55%～16.14%、2.68%～21.97%和 1.51%～11.40%。野生金线莲的金线莲苷含量极差较大，可能与产地样品种质资源和自然生长时间不同有关；不同品系组织培养金线莲的金线莲苷含量与产地有关。南靖大圆叶组织培养金线莲的金线莲苷质量分数最高，永安本地圆叶 2 金线莲质量分数最低，可能是由于驯化引种的产区野生金线莲种质资源存在差异[4]。

同一产地不同品系栽培金线莲的金线莲苷含量在不同生长期变化趋势不同。永安尖叶和红霞金线莲在移栽 3 个月生长后期的金线莲苷含量相对于前期均增加；南靖除尖叶金线莲的金线莲苷含量在 1～4 个月生长期内呈持续上升趋势，其他 4 种品系金线莲的金线莲苷含量随生长期延长波动变化。其中，本地野生金线莲的金线莲苷含量在 2～4 个月生长期内均高于其他品系金线莲，生长 4 个月尖叶、本地野生和大圆叶金线莲苷的含量均高于组织培养期，说明金线莲的金线莲苷含量与其品系和移栽生长时间有关。王海阁等[3]研究表明，大圆叶、小圆叶和尖叶金线莲经引种驯化已经产生遗传分化；杨彬彬[27]研究发现，同一产地不同生长阶段金线莲的金线苷含量随种植时间增长而增加；结合本研究结果提示，金线莲苷含量受种质资源的影响较大，同时可能与不同生长期金线莲苷生物合成量变化有关。此外，莆田仙游尖叶金线莲的金线莲苷含量进入花期之后呈下降趋势，但其含量仍显著高于生长 4 个月的植株，说明在花期前延长种植时间有利于尖叶金线莲的金线莲苷含量的积累。

4　结论

综上所述，本研究建立了 HPLC-ELSD 测定金线莲苷含量的方法，该方法准确、稳定、重复性好，为金线莲的质量评价提供方法参考。不同品系及生长期金线莲的金线莲苷含量差异较大，影响较大的 2 个因素是种质资源和移栽生长时间。南靖不同品系金线莲组织培养苗的金线莲苷含量均较高，可考虑作为金线莲苷分离提取的原材料；不同品系金线莲的金线莲苷含量随移栽生长时间的变化趋势不同，总体上栽培有利于金线莲中金线莲苷含量的积累；金线莲苷含量较高的金线莲品系有本地野生、大圆叶和尖叶。

致谢：福建省三明永安市金线莲协会、福建省林业科技试验中心陈翔提供不同品系及生长期的金线莲样品，马来西亚理科大学（USM）任文辉指导本文撰写。

参考文献

[1]　福建省食品药品监督管理局. 福建省中药材标准[M]. 福州：海风出版社，2006：154-157.

[2]　中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志：第 17 卷[M]. 北京：科学出版社，2000：220.

[3] 王海阁,许文,张勋,等. 林下栽培金线莲的生药鉴别[J]. 中药材,2020,43(2):303-308.
[4] 黄颖桢,陈菁瑛,赵云青,等. 金线莲遗传多样性的ISSR分析[J]. 中草药,2014,45(15):2230-2234.
[5] 刘政芳,李芹. 复方金线莲口服液联合恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎30例临床观察[J]. 福建中医药,2008,39(5):3-4.
[6] YE S Y, SHAO Q S, ZHANG A L. *Anoectochilus roxburghii*: A review of its phytochemistry, pharmacology, and clinical applications [J]. J Ethnopharmacol, 2017, 209:184-202.
[7] 李芹,官升灿,周文,等. 金线莲液联合手足清方治疗手足口病127例[J]. 福建中医药,2016,47(6):6-8.
[8] 黄瑞平,黄颖桢,陈菁瑛,等. 不同月龄金线莲多糖和总黄酮含量的比较[J]. 热带生物学报,2012,3(2):174-176.
[9] 陈莹,任丽,严桂杰,等. 不同来源金线莲的HPLC指纹图谱[J]. 沈阳药科大学学报,2019,36(9):794-804.
[10] 郑丽香. 金线莲的资源调查及生药学研究[D]. 福州:福建中医药大学,2018.
[11] 胡帅军,朱星语,孟祥霄,等. 金线莲无公害规范化种植技术探讨[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2018,20(11):2082-2087.
[12] 陶子曦. 林下仿野生栽培金线莲品质动态变化研究[D]. 福州:福建农林大学,2019.
[13] CHEN Y, HUANG J, YEAP Z Q, et al. Rapid authentication and identification of different types of *A. roxburghii* by Tri-step FT-IR spectroscopy [J]. Spectrochim Acta A,2018,199:271-282.
[14] 沈廷明,黄春情,刘知远,等. 林下仿生态种植金线莲的质量标准研究[J]. 中草药,2018,49(2):450-454.
[15] 关璟,王春兰,郭顺星. 福建产金线莲中黄酮苷成分的研究[J]. 中草药,2005,36(10):1450-1453.
[16] ZHANG J G, LIU Q, LIU Z L, et al. Antihyperglycemic activity of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharose in diabetic mice induced by high-fat diet and streptozotocin[J]. J Ethnopharmacol, 2015, 164:180-185.
[17] QI C X, ZHOU Q, ZHOU Y, et al. Kinsenoside: A promising bioactive compound from *Anoectochilus* species[J]. Curr Med Sci, 2018, 38(1): 11-18.
[18] 牛欢,谢卓宓,古力,等. 林下种植密度和收获期对金线莲产量和品质的影响[J]. 中国现代中药,2018,20(7):837-841,865.
[19] 谈婉月. 金线莲苷治疗自身免疫性肝炎的作用和分子机制研究[D]. 武汉:华中科技大学,2016.
[20] 陈莹,张巧云,任丽,等. 金线莲总黄酮提取工艺优化及不同月龄、品系金线莲黄酮含量比较[J]. 食品工业科技,2019,40(8):184-189.
[21] 张勋,张嘉嘉,马迟,等. HPLC法同时测定金线莲中12个核苷类成分的含量[J]. 药物分析杂志,2020,40(7):1197-1208.
[22] 张锦文,唐菲,张小琼,等. 高效液相色谱法测定金线莲中金线莲苷的含量[J]. 中国医院药学杂志,2011,31(4):261-263.
[23] 万婷,熊富良. HPLC-ELSD法测定金线莲提取物中金线莲苷[J]. 中成药,2014,36(7):1485-1488.
[24] 张藏蔓,卢敬光,谢启师,等. 基于UHPLC-TOF-MS技术建立金线莲的指纹图谱及金线莲苷的含量测定方法[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(1):31-37.
[25] 张超,吴建国,易骏,等. HPLC-ELSD法测定三种植物基原金线莲的金线莲苷含量[J]. 食品工业科技,2017,38(2):75-78.
[26] WEI M, CHEN X M, YI L W, et al. Detecting kinsenoside from *Anoectochilus roxburghii* by HPLC-ELSD with dual columns of NH_2 and AQ-C_{18} [J]. Phytochem Anal,2020,31(6):700-710.
[27] 杨彬彬. 金线莲的水溶性化学成分及质量控制研究[D]. 福州:福建中医药大学,2018.

(收稿日期: 2020-09-11　编辑: 戴玮)