

甘肃引种栽培不同品种金银花的质量评价与代谢组学分析

张素珍¹, 张亚萍^{1#}, 魏玉杰², 陈耀³, 宋国士³, 翟玉生³, 张芳⁴, 杨志刚^{1*}

1. 兰州大学药学院, 甘肃 兰州 730030

2. 甘肃省农业工程技术研究院, 甘肃 武威 733006

3. 通渭县清凉沉金银花产业扶贫开发有限公司, 甘肃 定西 743300

4. 山东中医药大学, 山东 济南 250355

摘要: **目的** 对甘肃引种栽培的不同品种金银花 *Lonicerae Japonicae Flos* 进行品质分析, 为金银花品种选育和产业化开发提供新思路。**方法** 采用 ITS2 条形码序列分析 11 个不同品种金银花的种间差异; 采用 HPLC 建立金银花特征图谱, 并对 13 个样品的指标成分进行含量测定; 采用超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱 (UPLC-QTOF-MS/MS) 进行非靶向代谢组学分析。**结果** 通过 ITS2 序列对比分析发现, 金花 3 号、豫金 2 号、豫花 1 号和华金 6 号不同品种间核苷酸序列位点碱基发生较大突变, 其中华金 6 号有 24 处碱基差异。根据 HPLC 特征图谱, 指认了特征成分绿原酸、异绿原酸 A 和异绿原酸 C。不同品种金银花绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 和木犀草苷的含量存在差异, 其中北花 1 号、华金 6 号、封花 1 号、金花 3 号与豫金 1 号金银花的酚酸类成分及木犀草苷含量均显著高于《中国药典》2020 年版的规定。不同品种金银花代谢组学分析共筛选出 21 个差异代谢物, 包括异绿原酸、山柰酚-O-芸香糖苷等。**结论** 北花 1 号、华金 6 号、封花 1 号、金花 3 号与豫金 1 号金银花作为重点品种, 可结合生产实践进行推广示范研究。系统分析了不同品种金银花中主要有效成分的异同, 为金银花品种鉴定、质量控制和生产利用提供了科学依据。

关键词: 金银花; ITS2; 特征图谱; 绿原酸; 异绿原酸 A; 异绿原酸 C; 木犀草苷; 差异代谢物

中图分类号: R286.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)06-2135-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.06.025

Quality evaluation and metabolomics analysis of different varieties of *Lonicerae Japonicae Flos* cultivated in Gansu Province

ZHANG Suzhen¹, ZHANG Yaping¹, WEI Yujie², CHEN Yao³, SONG Guoshi³, ZHAI Yusheng³, ZHANG Fang⁴, YANG Zhigang¹

1. School of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730030, China

2. Gansu Agricultural Engineering Technology Research Institute, Wuwei 733006, China

3. Tongwei Qingliang Yuan Limited Liability Company of *Lonicerae Japonicae Flos* Industry Poverty Alleviation and Development, Dingxi 743300, China

4. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

Abstract: Objective In order to offer new insights for the breeding and industrialization of Jinyinhua (*Lonicerae Japonicae Flos*, LJF), the comprehensive quality evaluation of different varieties of LJF cultivated in Gansu Province was carried out. **Methods** ITS2 barcode sequence was used to analyze the interspecific differences of 11 different varieties of LJF medicinal materials. The characteristic chromatogram of LJF was established by high performance liquid chromatography (HPLC), and the content of indicator components in 13 samples was determined. Un-targeted metabolomics analysis was performed using ultra high performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-QTOF-MS/MS). **Results** Through ITS2 sequence alignment, it was found that there were significant mutations in nucleotide sequence sites among different varieties of Jinhua 3, Yujin 2, Yuhua 1, and Huajin 6, with 24 nucleotide differences observed in Huajin 6. Chlorogenic acid, isochlorogenic acid A, and isochlorogenic acid C were identified in the HPLC characteristic chromatograms.

收稿日期: 2024-10-02

基金项目: 甘肃省科技计划项目 (22CX8NA003); 国家药监局中药材及饮片质量控制重点实验室项目 (2024GSMPLA-KL08)

作者简介: 张素珍, 女, 硕士研究生, 从事中药质量评价研究。E-mail: zhangszh2023@lzu.edu.cn

#共同第一作者: 张亚萍, 女, 硕士研究生, 从事中药质量评价研究。E-mail: zhyaping2023@lzu.edu.cn

*通信作者: 杨志刚, 教授, 博士生导师, 从事中药药效物质研究。E-mail: yangzg@lzu.edu.cn

Different varieties of LJF showed significant differences in the content of chlorogenic acid, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C, and luteoloside. The phenolic acid and luteolin content of Beihua 1, Huajin 6, Fenghua 1, Jinhua 3, and Yujin 1 were significantly higher than those specified in the 2020 edition of the *Chinese Pharmacopoeia*. Metabolomics analysis showed a total of 21 differential metabolites, including isochlorogenic acid, kaempferol-*O*-rutoside. **Conclusion** Based on comprehensive analysis, Beihua 1, Huajin 6, Fenghua 1, Jinhua 3, and Yujin 1 could be selected as key varieties for the further production practice. This study systematically evaluated the similarities and differences of the main active components in different varieties of LJF, which provided scientific basis for variety identification, quality control and production and utilization of LJF in Gansu Province.

Key words: *Lonicerae Japonicae Flos*; ITS2; characteristic chromatogram; chlorogenic acid; isochlorogenic acid A; isochlorogenic acid C; luteoloside; differential metabolites

金银花来源于忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或带初开的花, 具有清热解毒、疏散风热的功效^[1]。含有机酸、黄酮、挥发油、环烯醚萜等化学成分, 具有抗菌、抗炎、抗氧化、降血糖等药理作用^[2]。金银花是我国常用大宗药材之一, 由于受疫情的影响以及以金银花为主的保健品、日用化工等产品市场的开拓, 国内外对金银花的需求量大幅增加。金银花在山东和河南两省种植规模大、产量高; 甘肃、四川和河北等地种植规模次之^[3]。近年来, 甘肃省金银花种植面积不断扩大, 尤其在定西市通渭县, 金银花已经成为促进当地增收发展的黄金产业, 种植面积已达 15 万亩(1 亩=0.066 7 hm²)、产值突破 7 亿元, 推动了当地中医药产业的发展和乡村振兴^[4]。

金银花在中医药防病治病中发挥着重要作用, 同时种植金银花又是促进农民增收的重要途径之一。但是随着金银花种植规模的扩大, 各产地出现了金银花品种混杂、产量及质量不稳定的情况^[5]。中药材新品种选育可为其产量与质量的提升奠定基础, 然而每种药用植物至少需要 3~5 个优良品种才可满足种植需求, 每个优良品种在使用 5~8 代后品种就会退化^[6]。据实地调查, 甘肃省主要推广种植的金银花品种是北花 1 号, 亟需结合生产实践选育符合地方特色的优良品种类型。

ITS2 序列是指位于 5.8S 和 28S rRNA 之间的转录间隔, 由于其碱基信息较多且核苷酸变异较大, 在大多数品种中表现出序列多态性。ITS2 条形码序列在药材基源鉴定、遗传育种等研究中应用广泛^[7]。不同品种金银花在植株形态、生长发育习性、药材性状方面存在一定的差异。与性状鉴别相比, 活性成分分析能更客观、精准地揭示种间的差异, 近年来在金银花质量评价研究中应用广泛^[8]。利用 HPLC、UPLC-QTOF-MS/MS 比较分析引种栽培金银花各品种间活性成分含量的差异, 应用统计学方

法对引进品种的可行性、科学性进行检测和验证。优良的种质是中药材质量稳定的基础, 是中药材规范化生产的保证, 然而金银花新品种选育是个持续长久的工作^[6]。

本研究自 2023 年 2 月份从山东、河南等地引进 10 余种不同品种金银花, 在甘肃通渭县进行栽培, 结合现代分析技术进行其质量评价, 旨在选育出适宜在甘肃种植的优良金银花品种奠定基础。

1 仪器与材料

基因扩增仪(杭州柏恒科技有限公司); 高效液相色谱仪(上海通微分析技术有限公司); SHB-III 型循环水式多用真空泵(上海和泰仪器有限公司); 旋转蒸发仪(郑州长城科工贸有限公司); 超纯水净化仪(上海和泰仪器有限公司)。

植物基因组 DNA 纯化试剂盒购自北京全是金生物技术股份有限公司(货号 EE111-01); 对照品绿原酸(批号 ST02150120)、异绿原酸 A(批号 ST03860120)、异绿原酸 C(批号 ST06600120)和木犀草苷(批号 ST00330120)均购自上海诗丹德技术服务有限公司, 质量分数均大于 98%; HPLC 级乙腈购自 Mreda(美国); LC-MS 级甲醇, 甲酸均购自 Merck(GER); 其余试剂均为分析纯购自天津市凯通化学试剂有限公司。

药材来源于 2023 年 2 月在甘肃省通渭县引种栽培的 11 个品种金银花, 经兰州大学药学院杨志刚教授鉴定为忍冬 *L. japonica* Thunb. 的花蕾。2023 年 6 月下旬~7 月初采收花蕾, 13 个样品信息见表 1, 在产地及时用烘干设备进行干燥, 室温保存。

2 方法

2.1 DNA 提取, PCR 扩增和测序

称取花蕾 200 mg, 经液氮研磨后, 使用植物 DNA 提取试剂盒提取总 DNA。PCR 扩增和测序的正向引物 5'-ATGCGATACTTGGTGTGAAT-3', 反向引物 5'-GACGCTTCTCCAGACTACAAT-3', PCR

表 1 金银花样品信息

Table 1 Sample information of LJJ

编号	基原	品种	原产地	编号	基原	品种	原产地
S1	忍冬	金花3号	山东临沂	S8	忍冬	北花1号	河南新乡
S2	忍冬	北花1号	山东临沂	S9	忍冬	四季金银花	河南新乡
S3	忍冬	大毛花	山东临沂	S10	忍冬	封花1号	河南新乡
S4	忍冬	四季金银花	山东临沂	S11	忍冬	豫金1号	河南
S5	忍冬	黄白金银花	山东临沂	S12	忍冬	豫金2号	河南
S6	忍冬	华金6号	山东泰安	S13	忍冬	豫金3号	河南
S7	忍冬	豫花1号	河南新乡				

反应体系包括 DNA 模板 1 μL 、ddH₂O 8.2 μL 、2 $\times$ Easy Taq PCR SuperMix 10 μL 、正反引物各 0.4 μL 。PCR 仪器程序设定为 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 2 min、55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s、72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s、72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min。扩增结束后产物以 1% 琼脂糖凝胶电泳检测，使用凝胶成像分析系统分析。PCR 产物经纯化回收后送至北京奥科鼎盛生物公司进行测序。

测序结果经 CodonCode Aligner V3.0 软件评估序列峰图质量，校对拼接并除去低质量的序列及引物区^[9]；将所测序列在 NCBI 数据库 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 中进行 Blast 相似性比对，验证所获序列的准确性^[10]。从 GenBank 数据库中下载与本研究扩增区段一致的金银花的 ITS2 序列，使用 MEGAX 软件进行多序列比对，去除两端冗余序列^[11]，分析处理后序列的核苷酸组成、变异位点等。

2.2 HPLC 特征图谱

2.2.1 对照品溶液的制备 取木犀草苷、绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 对照品，精密称定，加甲醇制成含 0.10 mg/mL 木犀草苷、0.40 mg/mL 绿原酸、0.39 mg/mL 异绿原酸 A、0.12 mg/mL 异绿原酸 C 的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取过四号筛的金银花粉末 0.5 g，精密称定。精密加入 75% 甲醇 50 mL，放置于锥形瓶中，称定质量。超声处理 30 min，冷却后重新称定质量，用甲醇补足损失的质量，摇匀，滤过，滤液经 0.45 μm 有机系滤膜，取续滤液，即得。

2.2.3 色谱条件 EasySep[®]-3030 液相色谱仪；5C₁₈-MS-II 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)；流动相为乙腈 (A) -0.1% 磷酸 (B)，梯度洗脱程序：0~8 min, 14%~19% A；8~14 min, 19% A；14~34 min, 19%~31% A；34~35 min, 31%~90% A；35~

40 min, 90% A；柱温 $\leq$ 25 $^{\circ}\text{C}$ ；体积流量 0.7 mL/min；进样量 10 μL ；检测波长 240 nm。

2.2.4 稳定性试验 取金银花供试品溶液 (S1)，按“2.2.3”项下色谱条件，分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样，记录色谱图。以绿原酸为参照峰，计算共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示共有峰相对保留时间的 RSD $<$ 3%，相对峰面积的 RSD $<$ 3%，表明供试品在 24 h 内稳定性良好。

2.2.5 重复性试验 取金银花供试品溶液 (S1)，依照“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，按“2.2.3”项下色谱条件进行分析，记录色谱图。以绿原酸为参照峰，计算共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示共有峰相对保留时间的 RSD $<$ 1%，相对峰面积的 RSD $<$ 2%，表明方法重复性良好。

2.2.6 精密度试验 取金银花供试品溶液 (S1)，按“2.2.3”项下色谱条件，连续进样 6 次，记录色谱图。以绿原酸为参照峰，计算共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示共有峰相对保留时间的 RSD $<$ 3%，相对峰面积的 RSD $<$ 3%，表明仪器精密度良好。

2.3 酚酸类成分的测定

2.3.1 对照品溶液的制备 取对照品绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C，精密称定，用 75% 甲醇配成含 0.28 mg/mL 绿原酸、0.15 mg/mL 异绿原酸 A、44.0 $\mu\text{g/mL}$ 异绿原酸 C 的混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备 取金银花样品粉末，按“2.2.2”项下制备，即得。

2.3.3 色谱条件 除检测波长为 327 nm 外，其他同特征图谱项下“2.2.3”项色谱条件。

2.3.4 线性回归方程的绘制 精密称取绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 对照品 7.02、3.91、1.20 mg，

加入 75% 甲醇配制成质量浓度为 0.702、0.391、0.120 mg/mL 的母液, 用 75% 甲醇稀释成梯度质量浓度的溶液。按“2.3.3”项下色谱条件测定。以对照品质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 得 3 种成分的回归方程与线性范围, 见表 2。

表 2 线性关系考察结果

Table 2 Linear relationship results

化合物	标准曲线	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	R^2
绿原酸	$Y=8\,482.2X+35.093$	0.19~31.90	0.999 0
异绿原酸 A	$Y=9\,165.9X+4.893\,7$	2.04~40.92	0.999 6
异绿原酸 C	$Y=12\,973X+19.207$	1.85~36.92	0.999 7
木犀草苷	$Y=44\,385X-7.262$	2.03~31.96	0.999 4

2.3.5 稳定性试验 取金银花供试品溶液 (S1), 按“2.3.3”项下色谱条件分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 记录 3 个对照品色谱峰的峰面积。各对照品色谱峰峰面积 RSD 为 1.38%~3.43%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

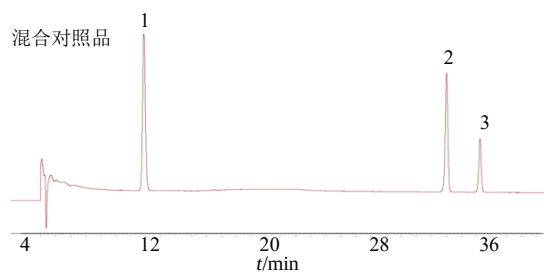
2.3.6 重复性试验 取 6 份金银花供试品溶液

(S1), 按“2.3.3”项下色谱条件进行测定, 计算 3 个对照品的质量分数。结果显示, 各对照品质量分数的 RSD 为 4.29%~4.47%。

2.3.7 精密度试验 取混合对照品溶液, 按“2.3.3”项下色谱条件进行测定, 连续进样 6 次, 记录绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 3 个对照品色谱峰的峰面积。峰面积的 RSD 为 0.33%~2.32%。

2.3.8 加样回收率试验 精密称取已测定绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 3 种成分含量的金银花样品 (S1) 6 份, 每份 0.25 g, 分别加入一定量的对照品, 按照“2.3.3”项下方法测定, 计算加样回收率。绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 的回收率范围分别为 97.14%、102.6%、101.4%, RSD 分别为 1.40%、2.70%、2.35%。

2.3.9 样品含量的测定 取 13 批金银花药材粉末, 按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.3.3”项下色谱条件进样测定含量。酚酸类对照品与样品 HPLC 谱图如图 1 所示。



1-绿原酸; 2-异绿原酸 A; 3-异绿原酸 C。

1-chlorogenic acid; 2-isochlorogenic acid A; 3-isochlorogenic acid C.

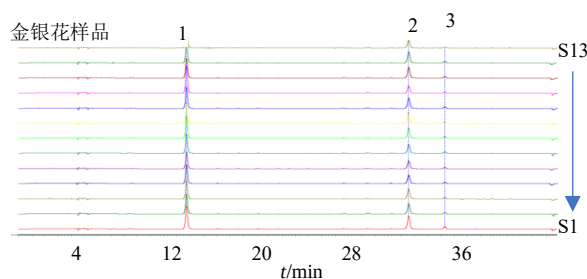


图 1 酚酸类成分测定 HPLC 谱图

Fig. 1 HPLC of content determination of phenolic acids

2.4 木犀草苷的测定

2.4.1 对照品溶液的制备 取木犀草苷对照品适量, 精密称定, 用 70% 乙醇配成含 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液。

2.4.2 供试品溶液的制备 取过四号筛的金银花粉 2 g, 精密称定。精密加入 70% 乙醇 50 mL, 放置于锥形瓶中, 称定质量。超声处理 1 h, 冷却后重新称定质量, 用乙醇补足损失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液 10 mL。回收溶剂至干, 残渣使用乙醇溶解, 于 5 mL 量瓶定容。经 0.45 μm 有机系滤膜, 取续滤液, 即得。

2.4.3 色谱条件 流动相为乙腈 (A) -0.5% 醋酸 (B), 梯度洗脱程序为 0~15 min, 10%~20% A; 15~30 min, 20% A; 30~40 min, 20%~30% A; 柱温 $\leq 25\,^{\circ}\text{C}$; 体积流量 0.7 mL/min; 进样量 10 μL ;

检测波长 350 nm。

2.4.4 线性回归方程的绘制 精密称取木犀草苷对照品 1.00 mg, 加入 70% 乙醇配制成质量浓度为 0.040 mg/mL 的母液, 用 70% 乙醇稀释成梯度质量浓度的溶液。按“2.4.3”项下色谱条件测定。以对照品质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 得木犀草苷的回归方程与线性范围, 见表 2。

2.4.5 稳定性试验 取金银花供试品溶液 (S1), 按“2.4.3”项下分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 记录木犀草苷对照品色谱峰的峰面积, 得到木犀草苷峰面积的 RSD 为 1.89%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.6 重复性试验 取 6 份金银花供试品溶液 (S1), 按“2.4.3”项下色谱条件进行测定, 计算木

犀草苷的质量分数,得到木犀草苷质量分数的 RSD 为 1.72%。

2.4.7 精密度试验 取混合对照品溶液,按“2.4.3”项下色谱条件进行测定,连续进样 6 次,记录木犀草苷的峰面积,得到木犀草苷峰面积的 RSD 为 1.54%。

2.4.8 加样回收率试验 精密称取已测定木犀草苷含量的金银花样品(S1)6 份,每份 1.0 g,分

别加入一定量的对照品,按照“2.4.3”项下方法测定,计算加样回收率得到木犀草苷回收率为 105.6%,RSD 为 3.07%。

2.4.9 样品的测定 取 13 批金银花药材粉末,按“2.4.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.4.3”项下色谱条件进样测定含量。木犀草苷对照品与样品含量测定 HPLC 谱图如图 2 所示。

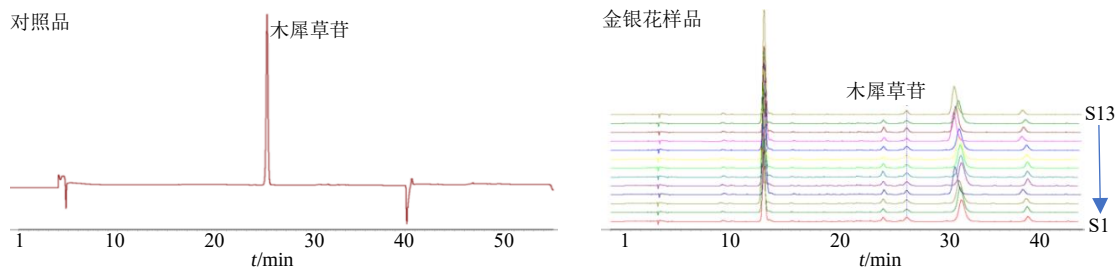


图 2 木犀草苷测定的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of content determination of luteoloside

2.5 代谢组学分析

2.5.1 样品制备 精密称定金银花粉末 40 mg,加入 75%甲醇 4 mL,放置于锥形瓶中。超声处理 30 min,以 12 000 r/min 离心 15 min 后用 0.22 μ m 滤膜滤过。

2.5.2 质谱条件 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (50 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μ m);离子化模式为电喷雾负离子模式;离子源电压 3 000 V;离子扫描范围 m/z 50~1 200;喷雾器压力 2.0 bar;干燥气体积流量 8.0 L/min;干燥气温度 200 $^{\circ}$ C;碰撞射频(RF) 750 V;预脉冲存储 8 μ s;传输时间 80 μ s;柱温 36 $^{\circ}$ C;进样量 2 μ L;体积流量 0.3 mL/min;流动相为 0.1%甲酸乙腈(A)-0.1%甲酸(B),梯度洗脱程序为 0~3 min, 5% A; 3~4 min, 5%~9% A; 4~15 min, 9%~14% A; 15~21 min, 14%~60% A; 21~22 min, 60%~100% A; 22~23 min, 100% A; 23~24 min, 100%~5% A; 24~28 min, 5% A。

将 Masshunter B.08.00 采集的谱图信息导入 Profinder B.08.00 软件,处理得到 13 个样品的离子峰面积,使用 SIMCA14.1 软件进行多元回归分析筛选不同品种金银花的差异代谢物,将筛选得到的差异化合物的峰面积进行标准化处理,使用微生信(<https://www.bioinformatics.com.cn/>)绘制成可视化的热图^[12],依据 UPLC-QTOF-MS/MS 得到的准分子离子峰确定化合物分子量,碎片离子峰信息及部分对照品信息,结合 Chem Spider 等数据库及相关

文献报道,归属化合物信息。

3 结果与分析

3.1 植株生物学性状与 ITS2 序列分析

3.1.1 不同品种植株性状观察 根据实地观测金银花生长状态,发现不同品种金银花植株高度和枝条长度存在一定差异,其中河南封花 1 号的平均植株最高,为 49.5 cm。枝条长度以豫金 2 号最长,为 60 cm。金银花的叶片呈阔圆形或卵圆形,但不同品种金银花叶片大小存在一定差异,其平均长度在 4.33~5.32 cm,平均宽度在 2.56~3.47 cm,其中叶片平均长度以山东北花 1 号最长,山东黄白金银花最小为 4.33 cm。不同品种金银花花蕾最粗处直径与长度存在一定差异,山东黄白金银花的花蕾直径最小为 0.26 cm,花蕾长度以华金 6 号最长,平均为 4.67 cm。不同品种金银花生物学性状统计数据见表 3。

13 个品种的花蕾如图 3 所示。通过观测,发现金花 3 号与封花 1 号金银花植株开花较早,抗病虫害较差。北花 1 号植株低矮,树形明显且分支多,无病虫害或不明显。豫金 2 号金银花植株长势好,成熟茎枝颜色为红褐色,叶片上表面为深绿色,下表面为红褐色,花蕾肥大呈紫红色,具有浓郁的香气。华金 6 号金银花生长迅速,植株高度与冠幅显著优于其他品种,直立程度强且枝叶茂盛,花蕾肥大呈空泡状,花蕾聚拢且花期集中,大白期持续时间长,花蕾开放后跳过银花期,直接进入金花期,如图 4 所示。华金 6 号采收花期集中为 10~15 d,

可以延长花蕾采摘期,降低采收成本,提高经济效益^[6]。

3.1.2 ITS2 序列分析 所选 ITS2 基因片段在 11 个金银花品种中均扩增和测序成功,与 NCBI 数据库公布的 *L. japonicae* 碱基序列进行同源性比较,相

似度达 99%及以上。ITS2 条形码信息如图 5 所示,11 个 ITS2 条形码长度均为 228 bp,说明不同品种金银花基因序列中不存在碱基缺失或碱基插入;金花 3 号、华金 6 号、豫花 1 号和豫金 2 号品种间核苷酸序列位点碱基发生突变。金花 3 号、豫金 2 号

表 3 不同品种金银花生物学性状研究 ($n=10$)

Table 3 Study on biological characteristics of different varieties of LJF ($n=10$)

品种	植株形态/cm		叶片/cm		花蕾/cm	
	植株高度	枝条长度	叶片长度	叶片宽度	花蕾长度	花蕾直径
S1	41.90±6.42	33.80±14.17	4.58±0.43	3.11±0.34	4.00±0.52	0.31±0.07
S2	38.10±5.11	31.30±10.22	5.32±0.24	2.92±0.14	4.23±0.38	0.28±0.06
S3	38.80±10.32	25.20±14.21	4.80±0.50	2.96±0.40	4.04±0.45	0.27±0.05
S4	43.50±10.01	26.50±9.14	4.65±0.40	3.12±0.39	4.33±0.46	0.28±0.04
S5	35.40±5.17	13.70±3.13	4.33±0.42	2.85±0.37	4.00±0.44	0.26±0.05
S6	34.80±7.04	28.40±10.94	5.20±0.33	2.99±0.24	4.67±0.36	0.37±0.07
S7	45.50±11.35	29.00±15.24	4.90±0.36	3.22±0.29	3.99±0.43	0.28±0.04
S8	37.40±3.89	31.90±19.86	4.60±0.41	3.04±0.17	3.99±0.34	0.27±0.05
S9	45.60±7.97	33.30±7.20	4.96±0.33	3.47±0.37	3.73±0.62	0.26±0.08
S10	49.50±7.59	41.10±30.27	4.71±0.17	3.14±0.25	4.51±0.52	0.33±0.07
S11	40.35±10.96	36.10±18.71	4.47±0.51	3.12±0.38	4.25±0.47	0.32±0.08
S12	34.60±4.58	60.00±22.25	5.26±0.21	2.56±0.33	4.14±0.37	0.27±0.05
S13	33.20±6.18	23.90±9.10	5.14±0.43	3.31±0.33	4.13±0.33	0.27±0.05

采用邓肯多重范围检测方法分析。

The Duncan's multiple range test method was used for analysis.

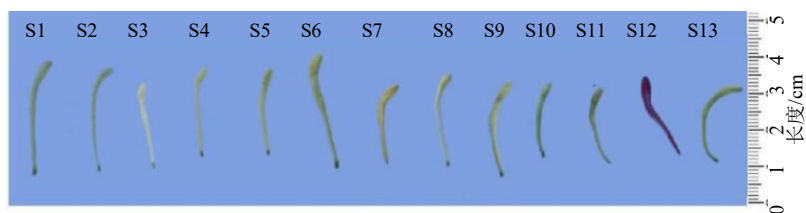


图 3 不同品种金银花花蕾

Fig. 3 Different varieties of LJF buds



图 4 华金 6 号花蕾不同发育期

Fig. 4 Different developmental stages of Huajin 6 buds

在第 20 位有 1 个 A→G 的突变,且豫金 2 号在 61 位有 1 个 A→C 的突变;豫花 1 号在 61 位有 1 个 A→C 的突变;华金 6 号在 20、25、26、34、40、45、48、55、57、62、67、69、70、73、76、81、120、174、177、178、179、188、205、209 位共有 24 处碱基差异;其余 7 个金银花品种间序列差异较小,各序列间一致性达 98.66%。

在 GenBank 数据库中,灰毡毛忍冬 *L.*

macranthoides Hand. -Mazz. 的变异位点一般在 55 位有 1 个 C→T 的突变,61 位有 1 个 C→A 的突变,90、157、205 位分别有 C→T、G→A、C→T 突变。刘震等^[13]发现 ITS2 序列在鉴别忍冬属植物时无法将极为相近的灰毡毛忍冬和黄褐毛忍冬 *L. fulvotomentosa* Hsu et S. C. Cheng 区分开来,psbA-trnH 序列在忍冬属植物中有着很高的扩增效率和鉴定成功率,可以显著弥补 ITS2 在鉴定忍冬属物种水平

上的不足。

3.2 HPLC 特征图谱及含量测定

3.2.1 HPLC 特征图谱 将 13 个样品的 HPLC 特

征图谱，分别导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”（2012 版），利用中位数法进行共有峰匹配，结果如图 6 所示。

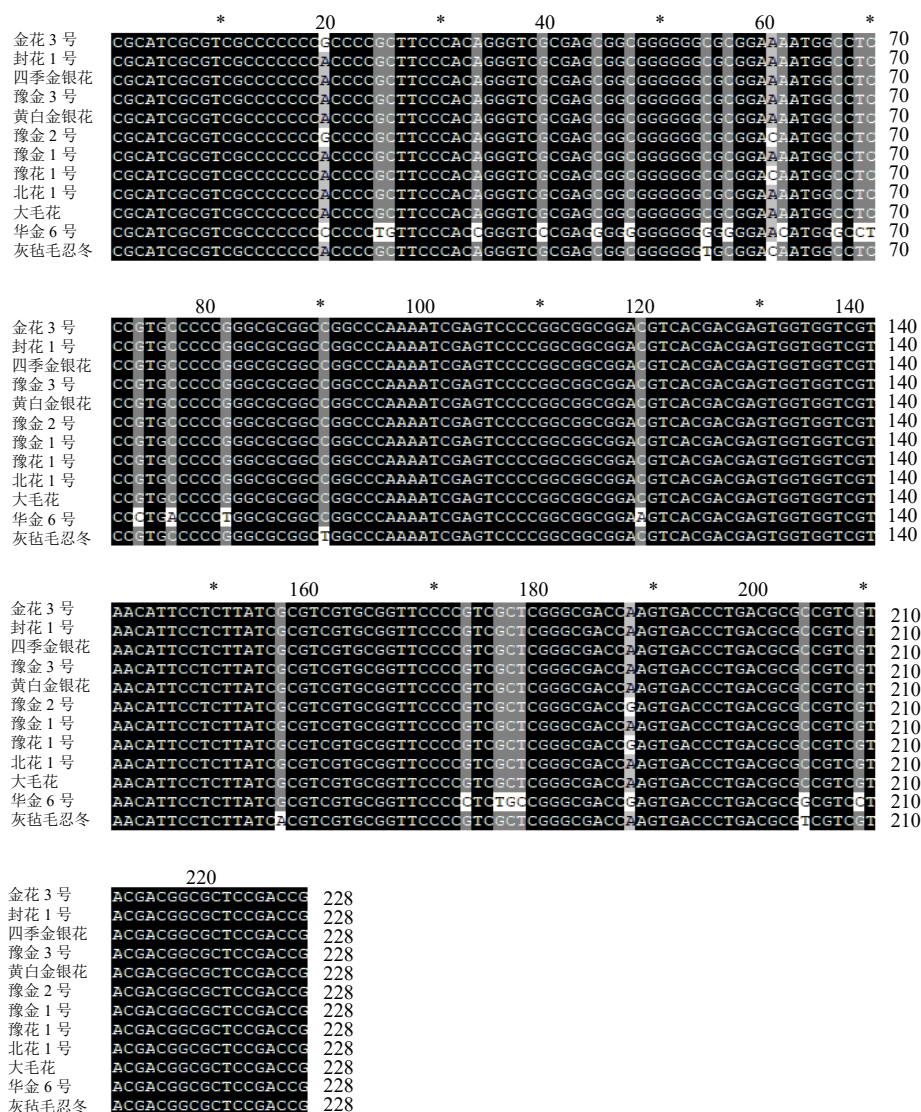
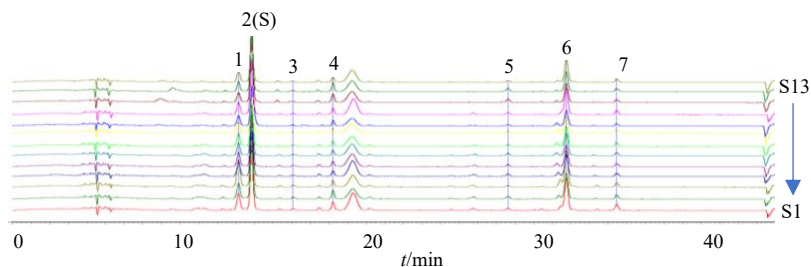


图 5 ITS2 序列比对图

Fig. 5 ITS2 Sequence alignment diagram



2-绿原酸；5-木犀草苷；6-异绿原酸 A；7-异绿原酸 C。

2-chlorogenic acid; 5-luteoloside; 6-isochlorogenic acid A; 7-isochlorogenic acid C.

图 6 HPLC 特征图谱

Fig. 6 HPLC characteristic chromatogram

上述共有峰匹配结果显示, 13 个金银花样品图谱有 7 个共有特征峰, 其中峰 2 为对照峰 (S) 绿原酸。结合《中国药典》2020 年版金银花项下规定, 通过计算各特征峰与 S 峰的相对保留时间, 可推测出峰 3 为当药苷、峰 4 为断氧化马钱子苷、峰 5 为 (Z)-二聚断马钱苷烯醛。

3.2.2 含量测定 分别取不同品种的金银花粉末, 制备供试品溶液并进行含量测定, 不同品种金银花有效成分含量见表 4。

由表 4 可知, 13 个金银花样品的绿原酸、酚酸类与木犀草苷的含量均高于《中国药典》2020 年版规定, 无不合格品种。其中, 豫金 1 号 (S12) 绿原酸含量最高, 为 45.07 mg/g; 北花 1 号 (S2)、华金 6 号 (S6)

绿原酸含量次之, 这 3 个品种间绿原酸含量无显著性差异, 但与其他品种绿原酸含量差异显著, 且均明显高于其他品种。四季金银花 (S9) 酚酸类总量最高, 为 60.18 mg/g; 北花 1 号 (S2)、华金 6 号 (S6) 次之, 豫花 1 号 (S7) 最低为 44.4 mg/g, 且与其他品种的酚酸类总含量有显著性差异。豫金 1 号 (S12) 木犀草苷质量分数最高为 2.17 mg/g, 北花 1 号 (S2)、华金 6 号 (S6) 次之, 这 3 个金银花品种间木犀草苷含量差异显著。金银花各样品间成分含量有明显差异, 其中酚酸类与木犀草苷含量均显著高于《中国药典》2020 年版规定的金银花品种有北花 1 号 (S2)、华金 6 号 (S6)、封花 1 号 (S10)、豫花 1 号 (S7)、金花 3 号 (S1) 与豫金 1 号 (S12)。

表 4 不同品种金银花有效成分含量

Table 4 Effective component content of different varieties of LJF

品种	质量分数/(mg·g ⁻¹)				
	绿原酸	异绿原酸A	异绿原酸C	酚酸类总量	木犀草苷
S1	35.83±3.80 cd	20.26±4.66 ab	1.78±0.52 a	57.87±6.35 a	1.24±0.24 c
S2	42.81±4.76 ab	14.48±2.09 de	1.31±0.25 bc	58.60±5.88 a	1.73±0.31 b
S3	36.37±7.81 cd	16.26±2.36 d	1.51±0.30 abc	54.13±10.13 ab	1.31±0.14 c
S4	29.96±4.14 e	15.03±1.99 de	1.29±0.45 c	46.28±5.91 c	0.88±0.08 ef
S5	32.47±3.34 de	20.67±4.37 ab	1.55±0.29 abc	54.70±4.62 ab	0.70±0.17 f
S6	41.27±7.70 ab	15.35±3.33 de	1.21±0.38 c	57.84±10.07 a	1.28±0.39 c
S7	29.28±3.15 e	13.46±1.95 e	1.66±0.30 ab	44.40±4.22 c	1.13±0.28 cd
S8	35.47±2.94 cd	21.94±3.13 a	1.80±0.40 a	59.21±5.85 a	0.77±0.31 ef
S9	39.10±5.65 bc	19.21±2.99 bc	1.87±0.27 a	60.18±8.26 a	0.79±0.09 ef
S10	35.46±5.27 cd	17.11±2.00 cd	1.77±0.43 a	54.34±7.50 ab	0.98±0.03 de
S11	29.58±4.95 e	17.24±2.24 cd	1.34±0.34 bc	48.17±5.44 bc	0.84±0.07 ef
S12	45.07±5.62 a	10.47±2.08 f	1.22±0.37 c	56.76±7.62 a	2.17±0.35 a
S13	34.14±4.03 cde	13.24±1.62 e	1.57±0.22 abc	48.95±5.64 bc	0.97±0.22 de

采用邓肯多重范围检测方法分析, 同一列不同字母表示显著性差异 (**P*<0.05)。

Duncan's multiple range test method was used for analysis, with different letters in the same column indicating significant differences (**P*<0.05).

13 个金银花之间各成分含量差别较大, 为了更好地全面比较分析其质量优劣, 采用 IBM SPSS Statistics 25 软件对数据进行主成分分析^[6]。首先对原始数据进行标准化处理, 对处理后的数据, 用主成分分析法计算 4×13 矩阵的特征值和特征向量, 得到特征值和方差分析结果参见表 5。

作为多元统计分析降维技术之一的主成分分析,

表 5 因子分析对原有变量总体描述

Table 5 Factor analysis of sample feature maps for overall description of original variables

主因子数	特征根	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	2.778	69.449	69.449
2	1.221	30.513	99.961

是要用尽可能少的因子来解释观测到的变量之间的相关^[7]。用前 2 个主因子代替原始变量, 可以概况原始变量所包含信息的 99.961%, 说明利用主成分对原始数据进行降维处理合理性强。由因子得分系数和各变量标准化数据可以求得每个样本在 2 个主因子下的因子得分, 因子得分系数矩阵见表 6。各因子得分表达式如下。(a_i 表示标准化变量):

$$F_1 = 0.304 a_1 + 0.104 a_2 + 0.357 a_3 + 0.359 a_4$$

$$F_2 = -0.438 a_1 + 0.785 a_2 + 0.100 a_3 + 0.045 a_4$$

将标准化的数据代入 $F_1 \sim F_2$ 计算式, 可得各品种在 2 个主因子上的得分。以各主因子的贡献率为权重进行线性加权求和可得到各个品种的综合因子得分, 并进行排名, 综合得分表达式为 $F = 0.509 2 F_1 +$

表 6 因子得分系数矩阵

Table 6 Factor score coefficient matrix

成分	因素1	因素2
绿原酸	0.304	-0.438
异绿原酸A	0.104	0.785
异绿原酸C	0.357	0.100
木犀草苷	0.359	0.045

0.349 1 F_2 , 得分排名见表 7。通过 2 个主因子及其对原始数据的累积贡献率可求得各品种活性成分的综合得分排名, 结果显示, 四季金银花 (S9) 评

分最高为 0.89, 其次为北花 1 号 (S8), 得分为 0.86, 排序评分最低的是豫花 1 号 (S7), 得分为-1.36。根据不同品种金银花的主成分得分与综合排序来看, 金银花的品质差异较较大, 进一步结合代谢组学分析鉴定其差异化合物。

3.3 代谢组学分析

由 UPLC-QTOF-MS/MS 采集金银花的代谢物变化, 负离子模式下总离子流图如图 7 所示。通过总离子流图可看出, 不同品种金银花样品中代谢物分布与累积程度存在一定的差异。

表 7 金银花含量评价综合得分

Table 7 Comprehensive score for LJF content evaluation

品种	F_1	F_2	F	综合排名	品种	F_1	F_2	F	综合排名
S9	1.087 7	0.523 8	0.89	1	S10	0.031 4	0.187 6	0.06	8
S8	0.822 1	1.455 1	0.86	2	S3	0.053 7	-0.094 4	0.02	9
S1	0.643 0	0.995 6	0.65	3	S12	-1.156 7	0.559 0	-0.74	10
S2	1.014 9	-0.947 0	0.57	4	S13	-0.892 8	-0.756 1	-0.79	11
S6	0.817 0	-0.633 0	0.48	5	S4	-1.453 6	-0.045 5	-1.07	12
S5	-0.008 4	1.292 8	0.23	6	S7	-1.767 2	-0.403 8	-1.36	13
S11	0.808 8	-2.133 9	0.20	7					

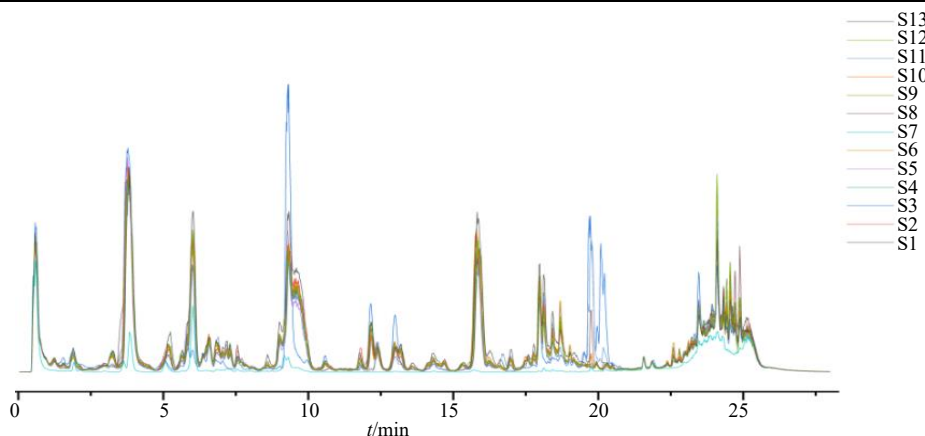


图 7 金银花总离子流图

Fig. 7 Total ion flow diagram of LJF

3.3.1 主成分分析 (principal component analysis, PCA) PCA 是一种无监督化学模式识别, 可使数据矩阵简化, 降低维数, 通过少数几个主成分揭示数据结构的特征^[14]。PCA 聚类结果如图 8-A 所示, QC 样品的聚集度良好, 表明检测系统的稳定性良好。山东北花 1 号、华金 6 号、豫金 3 号、河南北花 1 号与其他品种显著区分, 表明不同品种金银花之间存在很大的差异。根据 13 种金银花的 PCA 分析结果、含量测定结果及样品植株观测特点, 筛选出区别较大且更具有研究意义的 10 个金银花样

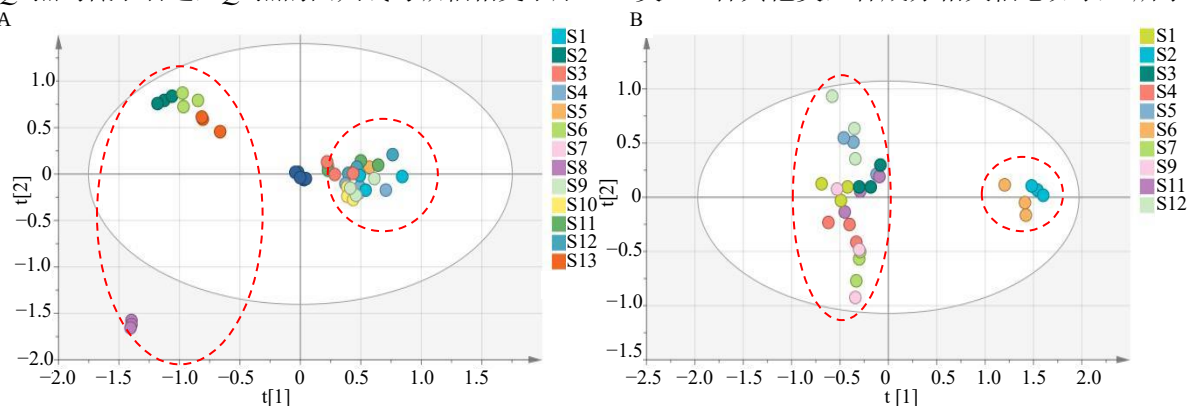
品, 进行重点分析。筛选出的金银花样品信息为 S1 (金花 3 号)、S2 (北花 1 号)、S3 (大毛花)、S4 (四季金银花)、S5 (黄白金银花)、S6 (华金 6 号)、S7 (豫花 1 号)、S9 (四季金银花)、S11 (豫金 1 号) 和 S12 (豫金 2 号)。将 10 个金银花样品化学成分的峰面积数据进行 PCA, 结果如图 8-B 所示, 不同金银花样品可以被区分。

3.3.2 正交偏最小二乘法判别分析 (orthogonal partial least-squares discrimination analysis, OPLS-DA) 为了进一步探究金银花的潜在差异代谢物, 采用 OPLS-

DA 对不同种质金银花样品进行分析^[15]。根据 PCA (图 8-B) 分布结果, 聚类得到 OPLS-DA 得分图。如图 9-A 所示, 表明品种间可以被区分, 并对模型进行验证, 设定检验数为 200 次, 如图 9-B 所示, 左边的 R^2 点和 Q^2 点均低于右边, Q^2 点的回归线与纵轴相交于原

点以下, 表明未产生过拟合, 模型可靠。

如图 9-C 所示, 根据 VIP 值 ≥ 1 筛选出 49 个差异代谢物, 通过分析鉴定出了其中的 21 种化合物, 包括 6 种黄酮类、8 种环烯醚萜苷类、5 种酚酸类、2 种其他类, 各成分相关信息如表 8 所示。

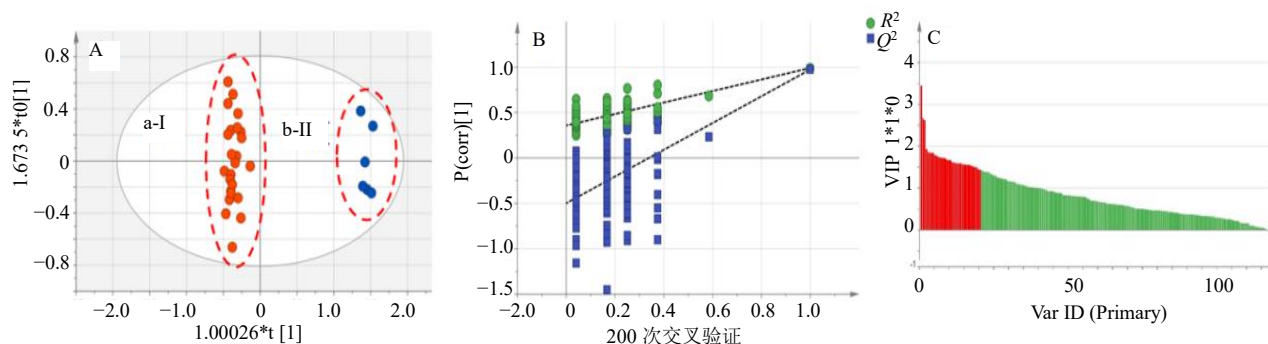


A-13 种金银花; B-筛选出的 10 种金银花。

A-13 batches of LjF; B-10 batches of LjF.

图 8 PCA 得分图

Fig. 8 PCA Score chart



A-得分图; B-模型验证图; C-VIP 图。

A-the score chart; B-model verification diagram; C-VIP picture.

图 9 OPLS-DA 图

Fig. 9 OPLS-DA map

基于 OPLS-DA 结果, 进一步比较研究筛选后 10 个金银花药材的差异代谢物, 制作热图分析。如图 10 所示, 蓝色和红色方框分别代表低水平表达和高水平表达。其中 S1 (金花 3 号)、S4 (山东四季金银花)、S5 (黄白金银花)、S11 (豫金 2 号)、S3 (大毛花)、S7 (豫花 1 号)、S9 (河南四季金银花) 和 S12 (豫金 1 号) 可聚为 I 类; S2 (北花 1 号) 和 S6 (华金 6 号) 聚为 II 类。结果表明, 10 个金银花样品可显著区分为 2 大类, 分列模型左右两侧且组内聚集性强, 进一步说明 I 类与 II 类金银花样品代谢物的含量及其分布确实存在较大的

差异。

4 讨论

4.1 植株生物学性状观察

我国金银花种质资源丰富, 不同品种在直立程度、外观形态、枝条长度和叶片大小等方面有很大的差异。田间引种栽培观测, 发现金花 3 号、北花 1 号、四季金银花、华金 6 号和豫金 1 号金银花的茎叶粗大, 植株旺盛, 且华金 6 号生长迅速、直立性强、枝条节间短, 花蕾生长集中。李建军等^[20-21]通过观察 11 个品种金银花的叶形态、表皮毛的长短、气孔器的大小、花蕾形态等特征, 发现不同金

表 8 不同品种金银花差异代谢物的鉴定
Table 8 Identification of differential metabolites in different varieties of LJF

序号	化合物名称	t _R /min	m/z		误差(×10 ⁻⁶)	分子式	主要碎片离子(m/z)	类别	VIP
			理论值	实测值					
1	阿拉伯糖葡萄糖基槲皮素 ^[16]	10.538	595.130 5	595.134 1	6.05	C ₂₈ H ₂₈ O ₁₆	300.028 9、301.036 8、271.025 1、255.031 5、151.004 4	黄酮	1.73
2	木犀草素-O-二葡萄糖苷 ^[17]	12.142	609.146 1	609.149 6	5.75	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	199.042 6、151.004 6	黄酮	1.83
3	槲皮素-O-乙酰葡萄糖苷	14.469	505.098 8	505.101 8	5.94	C ₂₈ H ₂₈ O ₁₃	300.030 3、271.024 8、255.030 5、179.071 8、151.005 3	黄酮	2.66
4	山柰酚-O-芸香糖苷	15.278	593.151 2	593.152 2	1.69	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	285.042 1、255.032 1	黄酮	1.86
5	异鼠李素-O-芸香糖苷	16.356	623.161 8	623.165 6	6.10	C ₂₈ H ₂₈ O ₁₆	315.052 7、299.021 9、271.029 2、243.030 0	黄酮	1.78
6	二甲氧基木犀草素 ^[18]	21.434	313.071 8	313.073 4	5.11	C ₁₈ H ₁₄ O ₆	298.799 1、283.026 9、270.030 2、255.033 3	黄酮	1.50
7	genameside A ^[17]	2.108	421.135 1	421.137 8	6.41	C ₁₇ H ₂₆ O ₁₂	241.075 5、197.046 4	环烯醚萜	1.53
8	7-表-马钱子酸 ^[19]	3.474	375.129 7	375.131 5	4.80	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₀	213.078 1、169.087 4、151.077 6、125.061 9	环烯醚萜	3.44
9	8-表-马钱子酸 ^[17]	5.031	375.129 7	375.132 0	6.13	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₀	213.075 2、169.089 6、151.077 3、125.062 9	环烯醚萜	1.15
10	kingside or isomer	7.135	403.124 6	403.126 9	5.71	C ₁₇ H ₂₆ O ₁₁	197.081 6、179.057 8、127.030 2	环烯醚萜	1.02
11	threoinossecologanin ^[16]	13.500	456.151 1	456.153 8	5.92	C ₂₀ H ₂₇ NO ₁₁	294.099 9、224.056 2、276.091 4、180.066 2、122.026 8	环烯醚萜	1.45
12	去甲基马钱子苷A ^[17]	14.257	729.224 8	729.229 1	5.90	C ₃₈ H ₄₀ O ₁₉	549.166 5、505.911 1、453.137 5、409.154 3	环烯醚萜	1.61
13	马钱子苷A	15.931	743.240 4	743.245 5	6.86	C ₃₈ H ₄₀ O ₁₉	581.187 7、563.181 5、511.148 9、467.153 3	环烯醚萜	1.25
14	Z-二聚断马钱苷烯醛	18.118	757.256 1	757.262 1	7.92	C ₃₈ H ₄₀ O ₁₉	595.20 7、525.164 8、493.177 5	环烯醚萜	1.10
15	二氢咖啡酰奎宁酸 ^[16]	0.944	371.098 4	371.100 9	6.74	C ₁₆ H ₂₀ O ₁₀	353.091 8、191.058 1	有机酸	1.30
16	咖啡酰奎宁酸葡萄糖苷	1.399	515.140 6	515.143 9	6.41	C ₂₂ H ₂₈ O ₁₄	353.090 2、191.006 8、179.035 2	有机酸	1.62
17	3-O-对-香豆酰基奎宁酸 ^[17]	6.405	337.092 9	337.094 6	5.04	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	191.056 4、173.045 6、163.040 5、93.035 7	有机酸	1.00
18	未知成分1 ^[16]	11.051	357.155 5	357.157 5	5.60	C ₁₇ H ₂₆ O ₈	183.104 1、173.046 6、93.035 9	有机酸	1.85
19	异绿原酸 ^[17]	17.395	515.119 5	515.123 1	6.99	C ₂₀ H ₂₈ O ₁₂	353.09 0 0、191.270 3、179.035 4、173.048 3	有机酸	1.55
20	hydroxyresveratrol-glucosyl-glucosyl-glucoside ^[16]	13.899	729.224 8	729.229 1	5.90	C ₃₈ H ₄₀ O ₁₉	453.137 5、399.133 3、281.119 3、229.087 5、177.053 7	其他	1.37
21	未知成分2	17.520	467.249 8	467.252 5	5.78	C ₂₁ H ₄₀ O ₁₁	335.658 5、161.045 4、101.024 6	其他	1.59

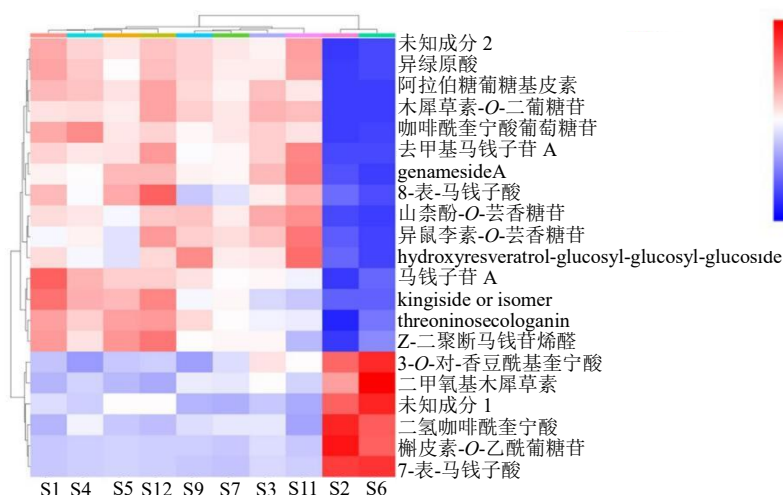


图 10 金银花样品的聚类热图

Fig. 10 Hierarchical cluster analysis diagram of LJF

银花的茎叶和花蕾的形态特征存在差异，可以作为不同类型金银花品种划分的依据。今后，要深入分析优良金银花品种性状，并加强优良种质的选育。

4.2 ITS2 序列分析

中药材 DNA 分子鉴定为传统中药鉴定学的发

展提供了新的理论和技术支撑^[22]，采用 DNA 条形码序列可以对不同金银花品种在分子水平上的鉴定提供依据。本研究提取了 11 个品种金银花的 ITS2 基因片段，对条形码序列进行拼接、对比和查对，并根据碱基组成、变异位点数等指标评价各个品种

的差异。通过序列对比发现, 华金 6 号有 24 个碱基位点发生了变异, 其他品种间有较大的碱基差异。并且发现该序列能明显区分出华金 6 号与金花 3 号、豫金 2 号和豫花 1 号。张永清等^[6]采用系统选育结合辐射诱导, 选育出长蕾期表型的金银花新品种华金 6 号, 为金银花优势变异种, 与农家栽培品种大毛花之间的亲缘关系较近。北花 1 号、大毛花、四季金银花、黄白金银花、封花 1 号、豫金 2 号与豫金 3 号金银花样品的种间序列差异较小, 各序列间一致性达 98.66%, 表明这几个品种属于近缘物种, 可能是由于种植区域或者生长环境不一致, 造成植株形态和成分含量的差异, 也有可能是同一品种, 引种到不同的地区种植造成的差异。今后还需加强对同一品种不同产地金银花质量研究。He 等^[23]运用 ITS 序列比对和主要活性成分含量的聚类分析, 鉴定了四川种植的 21 种忍冬属植物, 并对 17 个不同品种金银花进行品质评价, 发现不同品种金银花花蕾、茎、叶中绿原酸和木犀草苷含量差异显著, 其中鲁峰王 3 号的品质最优。

4.3 质量评价与代谢组学分析

金银花种质资源丰富、栽培品种繁多, 且各品种间成分含量差异明显^[24]。金银花品种间质量评价对金银花的品种改良、生产实践和引种等均具有重要意义^[25]。本研究以绿原酸、异绿原酸和木犀草苷为参照, 建立了在甘肃通渭引种栽培的 11 个不同品种金银花 HPLC 特征图谱, 指认了其中 6 个共有特征色谱峰。进一步对不同品种金银花的指标成分进行测定, 结果表明北花 1 号、华金 6 号、封花 1 号、豫花 1 号、金花 3 号与豫金 1 号的酚酸类与木犀草苷含量显著高于《中国药典》2020 年版规定。齐大明等^[26]对北花 1 号、四季金银花、豫金 1 号、羊角花和白米花等 9 个品种金银花进行了质量评价, 发现北花 1 号的酚酸类含量是 5.1%, 豫金 1 号的木犀草苷含量比其余品种高 25%。黄文静等^[27]建立了金银花 20 种黄酮类成分含量的 HPLC-ESI-MS/MS 测定方法, 发现华金 6 号金银花黄酮类成分含量高, 尤其是在木犀草苷含量方面具有显著优势, 与本研究结果一致。

化学模式识别可将中药的复杂成分转变为对数据的解析, 更有利于从整体上对中药质量进行评价与控制^[28-29]。运用 UPLC-QTOF-MS/MS 对不同品种金银花进行化学成分表征, 共鉴定出 21 种差异代谢物, 发现了 I 类样品 (金花 3 号、山东四季金

银花、黄白金银花、豫金 2 号、大毛花、豫花 1 号、河南四季金银花和豫金 1 号) 中有木犀草素-*O*-二葡萄糖苷、山柰酚-*O*-芸香糖苷和异鼠李素-*O*-芸香糖苷等 15 种差异性成分, II 类金银花样品 (北花 1 号和华金 6 号) 中的 3-*O*-对-香豆酰基奎宁酸、二甲氧基木犀草素、二氢咖啡酰奎宁酸、槲皮素-*O*-乙酰葡萄糖苷和 7-表-马钱子酸等 6 种成分含量较高。据报道, 槲皮素-*O*-乙酰葡萄糖苷可以通过抑制病毒 RNA 聚合酶并占据病毒 PB2 蛋白上 m7GTP 的结合位点, 对甲型和乙型流感病毒表现出较强的抑制活性^[30], 该化合物在华金 6 号与北花 1 号品种金银花中的含量较高。金莹等^[31]采用液质联用技术比较郁香忍冬花蕾与金银花化学成分, 发现金银花与新品种郁香忍冬花蕾的成分种类差异较小, 仅有 2 种酚酸类及 2 种黄酮类成分为金银花特有, 分别为丁香酸、咖啡酸乙酯及槲皮素-3-*O*-木糖苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷。

通过观察不同品种金银花的植株形态, 比较分析品种间活性成分差异, 从品种鉴定、酚酸类和木犀草苷的含量测定、差异代谢物分析等多角度进行系统分析, 结果表明不同品种金银花品质差异较大, 其中北花 1 号、华金 6 号、封花 1 号、金花 3 号与豫金 1 号品种金银花植株长势好, 枝叶茂盛, 花蕾聚拢易采摘, 耐寒耐旱, 同时有效成分含量高, 品质优, 可作为后续重点关注品种, 结合生产实践进一步推广示范研究。

本研究首次在甘肃引进豫花 1 号、豫金 1 号、华金 6 号、大毛花、豫金 3 号品种金银花, 并首次对大批量引种栽培的不同品种金银花进行了综合性质量研究, 今后还需深入开展不同品种金银花产量及其质量、性状稳定性等研究, 结合转录组学和代谢组学结果充分发掘金银花种质资源, 以期获得产量更高、质量更优、适应性更强的金银花新品种。

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: 230-232.
- [2] 谭政委, 夏伟, 余永亮, 等. 金银花化学成分及其药理学研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2018, 46(9): 26-28.
- [3] 马涵玉, 钱琪, 牛丽颖. 基于文献计量学的金银花研究现状与热点分析 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(7): 1426-1434.
- [4] 李旭华, 李丽, 吕海龙, 等. 通渭县中药材产业化发展存在的问题及对策 [J]. 农业科技与信息, 2023, 20(11): 167-170.

- [5] 管仁伟, 郭瑞齐, 郭凤丹, 等. 金银花品种选育研究现状 [J]. 中药材, 2022, 45(10): 2522-2529.
- [6] 王玲娜. “华金 6 号”金银花新品种药材质量研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2018.
- [7] 黄鑫, 陈万生, 张汉明, 等. 生物技术在药用植物研究与开发中的应用和前景 [J]. 中草药, 2015, 46(16): 2343-2354.
- [8] 朱凤洁, 杨健, 袁媛, 等. 金银花种质资源化学指纹图谱及代谢物相似性分析 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(12): 2575-2579.
- [9] 郭丽嵘, 赵伟, 杨丽, 等. 基于 ITS2 序列的鬼箭羽及其混伪品 DNA 条形码鉴定 [J]. 中国中医药信息杂志, 2023, 30(2): 124-128.
- [10] 张高曼, 赵立佳, 刘光富, 等. 基于 ITS 和 ITS2 序列的药用石斛 DNA 条形码鉴定研究 [J]. 中草药, 2024, 55(2): 575-587.
- [11] Kumar S, Stecher G, Li M, *et al.* MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms [J]. *Mol Biol Evol*, 2018, 35(6): 1547-1549.
- [12] Li Y, Chen Y, Zhou L, *et al.* MicroTom metabolic network: Rewiring tomato metabolic regulatory network throughout the growth cycle [J]. *Mol Plant*, 2020, 13(8): 1203-1218.
- [13] 刘震, 陈科力, 罗焜, 等. 忍冬科药用植物 DNA 条形码通用序列的筛选 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(19): 2527-2532.
- [14] 蒲俊杰, 刘谦, 李佳, 等. 金银花不同发育时期挥发性成分的 HS-SPME-GC-MS 分析 [J]. 中草药, 2022, 53(9): 2818-2824.
- [15] 王淑, 张翠翠, 郭凤丹, 等. 基于 UPLC 多指标含量测定和指纹图谱的不同种质金银花药材质量评价研究 [J]. 中草药, 2024, 55(3): 947-955.
- [16] Pan H Q, Zhou H, Miao S, *et al.* An integrated approach for global profiling of multi-type constituents: Comprehensive chemical characterization of *Lonicerae Japonicae Flos* as a case study [J]. *J Chromatogr A*, 2020, 1613: 460674.
- [17] Wang Y, Li L L, Ji W H, *et al.* Metabolomics analysis of different tissues of *Lonicera japonica* Thunb. based on liquid chromatography with mass spectrometry [J]. *Metabolites*, 2023, 13(2): 186.
- [18] 张妙婷. 基于色谱-质谱联用技术结合代谢组学探究金银花和山银花的药效物质基础 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2021.
- [19] Kucharska A Z, Fecka I. Identification of Iridoids in Edible Honeysuckle Berries (*Lonicera caerulea* L. var. *kamtschatica* Sevest.) by UPLC-ESI-qTOF-MS/MS [J]. *Molecules*, 2016, 21(9): 1157.
- [20] 李建军, 李军芳, 贾国伦, 等. 金银花不同种质叶形态特征比较 [J]. 河南师范大学学报: 自然科学版, 2012, 40(3): 119-123.
- [21] 李建军, 贾国伦, 王君, 等. 金银花不同种质花蕾的形态和品质成分比较分析 [J]. 广西师范大学学报: 自然科学版, 2013, 31(4): 103-108.
- [22] Liu Y X, Zhang M F, Chen X Q, *et al.* Developing an efficient DNA barcoding system to differentiate between *Lilium* species [J]. *BMC Plant Biol*, 2021, 21(1): 465.
- [23] He H Y, Zhang D, Gao J N, *et al.* Identification and evaluation of *Lonicera Japonica Flos* introduced to the Hailuoguo area based on ITS sequences and active compounds [J]. *Peer J*, 2019, 7: e7636.
- [24] 雷华平, 秦韦, 刘纯一, 等. 不同品种金银花中绿原酸和木犀草苷的含量测定 [J]. 中国野生植物资源, 2015, 34(5): 30-32.
- [25] 王湘莹, 何钢, 王晓明, 等. 金银花不同品种间遗传变异的 ISSR 分析 [J]. 中南林业科技大学学报, 2013, 33(11): 77-82.
- [26] 齐大明, 董诚明, 刘天亮, 等. 基于指纹图谱对金银花与山银花的区分及各品种金银花质量评价 [J]. 中草药, 2023, 54(6): 1946-1952.
- [27] 黄文静, 熊乐文, 张龙霏, 等. 不同种质金银花发育过程中黄酮类成分含量变化规律研究 [J]. 中草药, 2022, 53(10): 3156-3164.
- [28] 张崇佩, 张依欣, 李潮, 等. 不同年份吴茱萸 UPLC 指纹图谱及多成分化学模式识别研究 [J]. 中草药, 2019, 50(11): 2700-2707.
- [29] 王宝林, 丘海芯, 甘金月, 等. 基于指纹图谱结合化学模式识别及多成分定量的千斤拔质量评价研究 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(12): 2464-2472.
- [30] Gansukh E, Kazibwe Z, Pandurangan M, *et al.* Probing the impact of quercetin-7-O-glucoside on influenza virus replication influence [J]. *Phytomedicine*, 2016, 23(9): 958-967.
- [31] 金莹, 熊乐文, 蒲高斌, 等. 基于液质联用技术比较郁香忍冬花蕾与金银花化学成分 [J]. 中成药, 2024, 46(3): 850-859.

[责任编辑 时圣明]