

金線連檢驗方法之研究

溫彩玉 高靖傑 徐思敏 黃詩珊 林雅姿 林美智 曾素香 王德原

食品藥物管理署研究檢驗組

摘要

臺灣金線連係蘭科(Orchidaceae)植物*Anoectochilus formosanus*之葉，在臺灣作為民間珍稀草藥金線連(*Anoectochili Herba*)的使用基原，用於治療高血壓、高血糖。由於金線連在各地使用習慣不同且數量稀少，造成混用情形頻繁。本研究收集金線連類對照物種8種及市售檢體23件，分別就性狀、顯微鏡檢與薄層層析法建立鑑別方法，利用UHPLC-Q-TOF MS進行成分分析，並透過預測模型之建立與主成分分析進行金線連類物種之基原與摻混鑑別。研究發現市售金線連檢體中，4件(17.4%)為臺灣金線連(*A. formosanus*)，2件(8.7%)為圓葉鴨跖草(*Commelina benghalensis*)，1件(4.3%)為花格斑葉蘭(*G. kwangtungensis*)，5件(21.7%)未檢出，11件(47.8%)為多物種摻混。

關鍵詞：金線連、生藥鑑別、薄層層析法、UHPLC-Q-TOF MS

前言

金線連為民間常用之保健中草藥之一，素有「藥王」、「金草」、「烏人參」、「神草」的美稱⁽¹⁻³⁾，具清熱涼血、消炎解毒、祛風除濕等功效⁽⁴⁻⁶⁾。開唇蘭屬(*Anoectochilus*)包含約60個原生種，分布於亞洲大陸、東南亞地區、澳洲以及太平洋小島。根據衛生福利部食品藥物管理署公告「可供食品使用原料彙整一覽表」記載，金線連為蘭科植物臺灣金線連*Anoectochilus Formosanus* Hayata之葉⁽⁷⁾，但金線連對生長環境要求高，發芽率低，又屬高經濟價值之名貴藥草，由於早年過度採加上環境破壞導致金線連野生資源稀少，市場需求龐大導致各地均出現代用或混用情形，研究發現共有4科7屬等多種植物以金線連之名使用^(2,8-18)。

臺灣金線連含有機酸、脂肪酸、醣苷、生

物鹼、黃酮類及三萜類等化合物⁽¹⁹⁻²³⁾，其中以Kinsenoside為主要成分⁽²⁴⁾。本研究利用生藥鑑別及超高效液相層析四極桿飛行時間質譜儀建立金線連之鑑別方法，除提供金線連類中草藥相關物種鑑定及品質控管的檢驗參考依據，以避免混用情形發生外，亦可供食藥署運用於不法中藥案件之檢驗，讓不法中藥無所遁形，進而保障民眾使用之安全。

材料與方法

一、材料

(一)樣品

1. 對照材料：臺灣金線連5件、花格斑葉蘭7件、血葉蘭、電光寶石蘭、烏嘴蓮、大武斑葉蘭、圓葉鴨跖草及吊竹草各1件，共計18件。
2. 市售金線連檢體：23件檢體。

(二)試藥與試劑

1. 一般化學藥品

OCT膠(LEICA, Germany)、ethanol (臺灣菸酒, Taiwan)、safranin (Fluka, USA)、fast green (Wako, Japan)、xylene (Lab-Scan, Ireland)、absolute alcohol、canada balsam、hydrogen peroxide、glacial acetic acid、methanol (Merck, Germany)、potassium hydroxide (Merck, Germany)、formic acid (Honeywell, USA)、chloroform (Macron, USA)、3,5-dinitrobenzoic acid (Toronto research chemicals, Canada)、acetonitrile (HPLC grade, J.T. Baker, USA)、water (LC-MS grade, Scharlau Chemie SA, Spain)、formic acid (puriss. p.a., Sigma-Aldrich, USA)。

2. 對照標準品

Kinsenoside (HPLC $\geq 95\%$, Lab Tools, China)、quercetin-3-glucoside (HPLC $\geq 98\%$, Sigma-Aldrich, USA)、syringaldehyde (GC $\geq 97\%$, Sigma-Aldrich, USA)、isorhamnetin-3-rutinoside (HPLC $\geq 98\%$, Lab Tools, China)、isorhamnetin-3-glucoside (HPLC $\geq 98\%$, Lab Tools, China)。

二、儀器與設備

- (一)數位顯微鏡(VHX-6000, Keyence, Japan)
- (二)冷凍切片機(CryoStar NX50 System OP, Thermo Fisher Scientific, USA)
- (三)光學顯微鏡(BX51, Olympus, Japan)附影像處理裝置(Microscope Digital Camera DP74)
- (四)藥材研磨機(Tube Mill control, IKA, Germany)
- (五)超音波振盪器(Transsonic Digital, Elma, Germany)

(六)TLC自動點樣器(Automatic TLC Sampler 4, Camag, Switzerland)

(七)TLC自動展開裝置(Automatic Developing Chamber 2, Camag, Switzerland)

(八)TLC照相裝置(TLC visualizer 2, Camag, Switzerland)

(九)TLC自動呈色裝置(Derivatizer, Camag, Switzerland)

(十)超高效液相層析串聯四極桿飛行時間質譜儀(Agilent Technologies, USA)

Agilent 1290 Series UHPLC

Agilent 6530 Quadrupole time-of-flight LC/MS

質譜分析軟體：MassHunter Acquisition、Mass Profiler Professional (Agilent Technologies, USA)

三、實驗方法

(一)生藥鑑別

1. 性狀檢查

應用數位顯微鏡檢視檢體外觀形狀、大小、顏色及折斷面。

2. 組織鏡檢

檢體先修裁成適當大小，經潤溼後以OCT膠包埋，切片後，再以safranin和fast-green進行二重染色，乙醇脫水，二甲苯澄清，封片後以顯微鏡檢視。

3. 解離鏡檢

將檢體置於裝有30%過氧化氫：水：無水乙酸(1:4:5, v/v)混合液之固定瓶內蓋緊，放置於約50℃烘箱內，解離至檢體為半透明狀或略帶白色，以水沖洗三次，每次間隔約兩小時，用探針挑出已解離之材料，置於載玻片上，以顯微鏡檢視。

(二)薄層層析法

1. 標準品溶液配製

取kinsenoside、syringaldehyde配製成0.2

mg/mL 甲醇溶液，供作標準品溶液。

2. 檢液配製

檢體以粉碎機研磨成細粉，取各約 1 g 加入甲醇 10 mL，超音波震盪 30 分鐘，以 0.45 μm 濾膜過濾後供作檢液。

3. 呈色劑配製

(1) 3,5-dinitrobenzoic acid 乙醇試液：取 3,5-dinitrobenzoic acid 2g 加乙醇使溶解成 125 mL，即得。

(2) potassium hydroxide 乙醇試液：取 potassium hydroxide 11.2 g 加乙醇使溶解成 100 mL，即得。

4. 層析條件

將檢液及標準品溶液各點注 25 μL 於層析板上，以 chloroform : methanol : formic acid (76:22:2, v/v/v) 展開，展開後風乾，先噴以 3,5-dinitrobenzoic acid 乙醇試液，再以 potassium hydroxide 乙醇試液呈色，置於 UV 366 nm 及可見光下檢視。

(三) 化學指紋成分分析

1. 標準品溶液配製

分別取 quercetin-3-glucoside、syringaldehyde、isorhamnetin-3-rutinoside 與 isorhamnetin-3-glucoside 標準品各 1 mg，加入適量甲醇；取 kinsenoside 標準品 1 mg，加入適量去離子水，經超音波震盪溶解並定容至 10 mL，再以 0.22 μm 微孔濾膜過濾，即得 100 $\mu\text{g/mL}$ 標準品溶液。

2. 檢液配製

檢體經粉碎後過 60 號篩，取 0.5 g 加入去離子水 10 mL，超音波震盪 60 分鐘，以 0.22 μm 微孔濾膜過濾供作檢液。

3. 超高效液相層析四極桿飛行時間質譜儀分析方法之建立

(1) 液相層析條件

分析管柱：Agilent Poroshell 120 SB

C18, 4.6 $\times$ 150 mm, 2.7 μm

移動相：A：0.1% 甲酸之水溶液

B：0.1% 甲酸之乙腈溶液

沖提梯度：0 - 6 min，B：0%；6 - 8 min，B：0 - 15%；8 - 14 min，B：15 - 25%；14 - 17 min，B：25 - 30%；17 - 18 min，B：30 - 100%；18 - 21 min，B：100%；21 - 24 min，B：100 - 0%；24 - 25 min，B：0%

管柱溫度：30 $^{\circ}\text{C}$

流速：0.6 mL/min

檢品注入量：0.3 μL

標準品注入量：0.1 μL

檢測波長：360 nm (全波長：190 - 600 nm)

(2) 四極桿飛行時間質譜儀條件

電噴灑法正離子模式、毛細管電壓 3500 V、霧化器壓 45 psi、鞘氣流速 11.0 L/min、鞘氣溫度 350 $^{\circ}\text{C}$ 、乾燥氣體流速 9 L/min、乾燥氣體溫度 300 $^{\circ}\text{C}$ 、噴嘴電壓 250 V、準確質量測定以 121.0509 m/z 與 922.0098 m/z 作為即時校正、全掃描範圍為 100 - 1500 m/z。

4. 主成分分析(Principal components analysis, PCA)與預測模型建立

主成分分析為一種多變量分析，以降維的方式簡化數據同時保留大部分之變異量，藉由觀察檢體於座標圖上的分布趨勢能夠了解檢體間之異同；而利用已知基原之檢體以偏最小平方判別分析(Partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)建立預測模型，可用於未知檢體之基原判定。本研究中之主成分分析與預測模型建立皆是在 Agilent

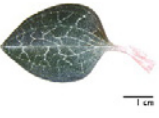
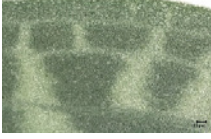
Mass Profiler Professional分析軟體上進行。

結果與討論

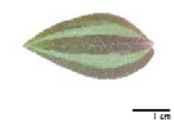
一、生藥鑑別及薄層層析法

本研究針對8種對照材料進行之性狀檢查結果見表一、二，其莖、葉中脈組織切片及葉片解離結果見表二、三。薄層層析結果顯示在

表一、金線連類物種性狀特徵比較表

物種	特徵	葉柄	葉形	葉緣	葉尖	葉基	葉背	葉片紋理
臺灣金線連		包莖	卵形至寬橢圓形	全緣，黃白色	漸尖	圓鈍	綠紫色至紫紅色	白色網脈
								
花格斑葉蘭		包莖	披針形	全緣，黃白色	銳尖	圓鈍	綠色至黃綠色	白色網格
								
大武斑葉蘭		包莖	披針形	全緣，黃白色	銳尖	楔形	綠色至黃綠色	淺綠斑塊
								
鳥嘴連		包莖	卵形	微波狀，黃白色	鈍尖	圓鈍	綠色	白色線條
								
血葉蘭		包莖	長橢圓至披針形	全緣，黃白色	銳尖	圓鈍	紅色至紫紅色	紅色網脈
								
電光寶石蘭		包莖	卵形至寬橢圓形	全緣，黃白色	鈍尖	圓鈍	綠紫色至紫紅色	黃色網脈
								

表一、金線連類物種性狀特徵比較表(續)

物種	特徵	葉柄	葉形	葉緣	葉尖	葉基	葉背	葉片紋理
圓葉鴨跖草		包莖	披針形至橢圓形	眾多非腺毛	鈍尖	楔形	黃色至黃綠色	無紋理
								
吊竹草		包莖	披針形	全緣，紫色	銳尖	楔形	綠紫色至紫紅色	綠色紫色相間
								

表二、金線連類物種檢索表

性狀特徵

1. 葉背綠紫色至紫紅色
 2. 葉卵圓形至橢圓形，具有網狀脈紋
 3. 具有白色網狀脈紋 臺灣金線連
 3. 具有黃色網狀脈紋 電光寶石蘭
 2. 葉披針形
 3. 具有紅色網狀脈紋 血葉蘭
 3. 具有紫色、綠色相間紋理 吊竹草
1. 葉背綠色或黃色
 2. 葉表面、邊緣被有眾多非腺毛 圓葉鴨跖草
 2. 葉表面、邊緣無絨毛
 3. 葉片具不規則淺綠色斑塊 大武斑葉蘭
 3. 葉片具白色脈紋
 4. 白色脈紋1條，線狀 烏嘴蓮
 4. 白色脈紋呈網格狀 花格斑葉蘭

莖組織特徵

1. 中央具明顯中柱，佔直徑約1/3
 2. 維管束中央散生 臺灣金線連
 2. 維管束中央大約排列成環 花格斑葉蘭
1. 中央具明顯中柱，佔直徑大部份，外側具有非腺毛...圓葉鴨跖草

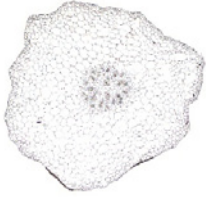
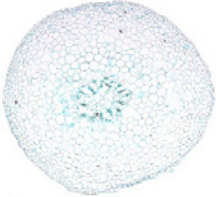
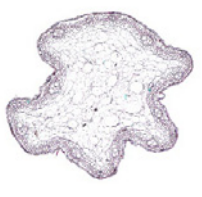
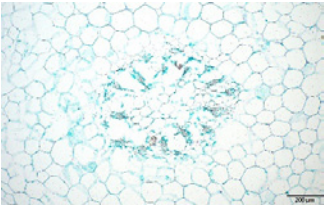
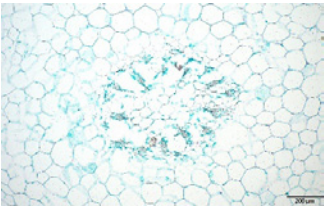
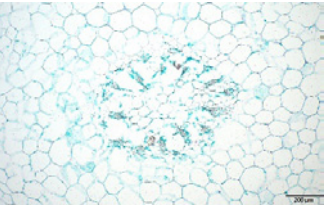
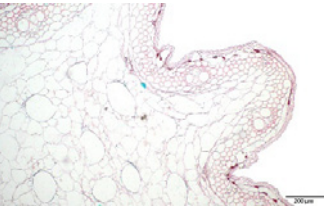
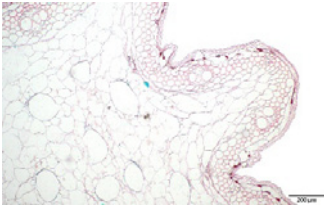
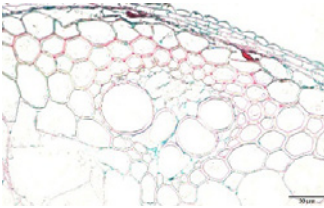
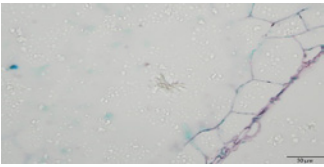
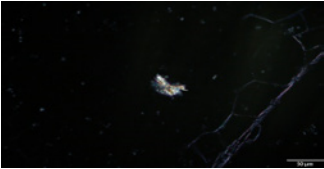
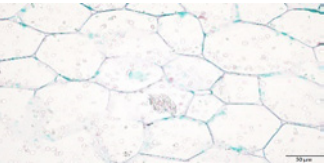
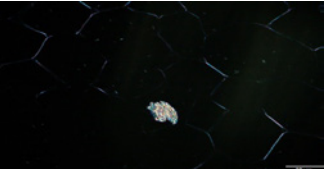
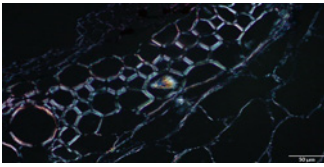
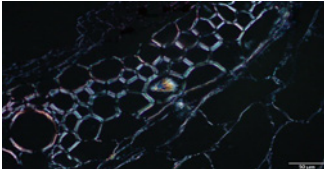
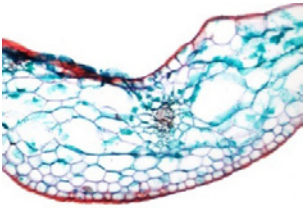
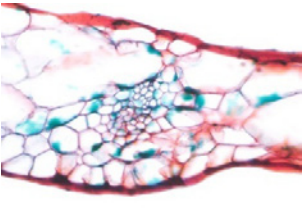
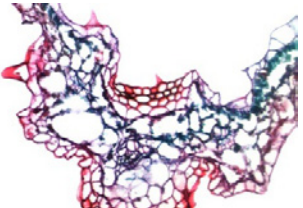
葉中脈組織特徵

1. 中脈無明顯凸起，不具非腺毛
 2. 葉肉具有草酸鈣針晶束 臺灣金線連
 2. 葉肉不具結晶 花格斑葉蘭
1. 中脈下表面明顯凸起，具錐狀、鞭狀非腺毛及草酸鈣柱晶圓葉鴨跖草

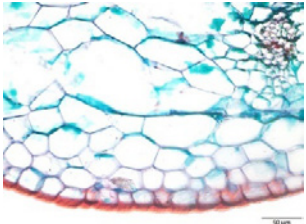
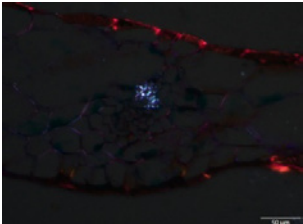
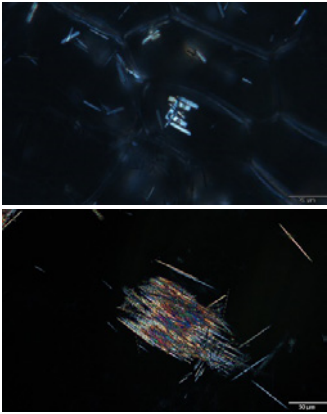
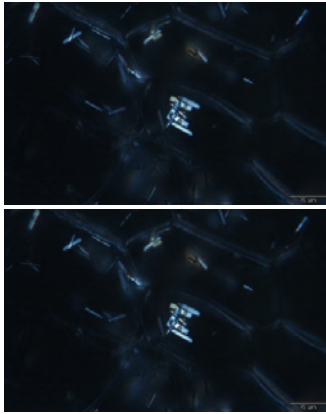
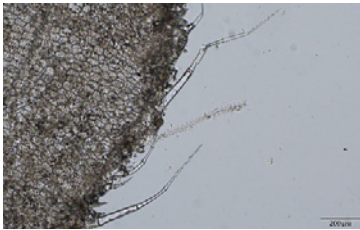
葉片解離特徵

1. 氣孔多為不定式，不具非腺毛
 2. 具有草酸鈣結晶 臺灣金線連
 2. 不具有草酸鈣結晶 花格斑葉蘭
1. 氣孔多為平軸式，具眾多非腺毛 圓葉鴨跖草

表三、金線連類物種莖、葉組織特徵比較表

物種 特徵	臺灣金線連	花格斑葉蘭	圓葉鴨跖草
莖橫切面	類圓形，具明顯維管束中柱	圓形，具明顯維管束中柱	不規則，表皮外側具非腺毛
			
莖維管束	中央散生	外韌型，中央排列成環	外韌型，外圈排列成環
	 	 	 
莖結晶	草酸鈣針晶	草酸鈣針晶	草酸鈣針晶
	 	 	 
葉片中脈	無明顯凸起	無明顯凸起	下表面明顯凸起
			

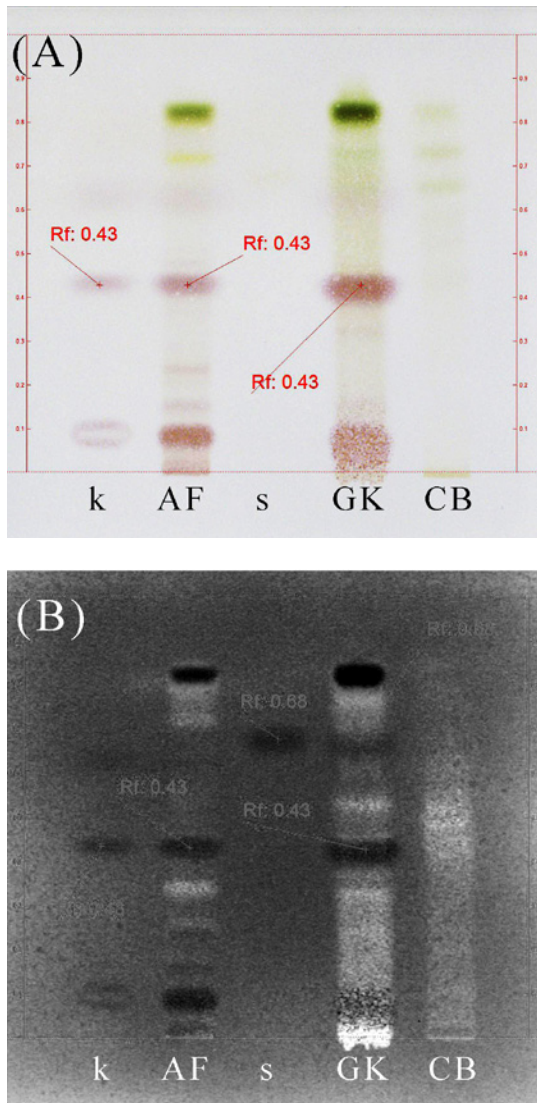
表三、金線連類物種莖、葉組織特徵比較表(續)

物種 特徵	臺灣金線連	花格斑葉蘭	圓葉鴨跖草
葉片結晶	葉肉具草酸鈣針晶 	無結晶 	非腺毛基部具草酸鈣柱晶 
葉片結晶 (解離)	具草酸鈣針晶束 	葉片無結晶	具草酸鈣柱晶 
葉片非腺 毛(解離)	無	無	具有眾多非腺毛 

可見光及UV 366 nm下，臺灣金線連及花格斑葉蘭檢液與kingsenoside標準品溶液在 R_f 值0.43處均有紫紅色對應斑點，圓葉鴨跖草檢液則無，但在UV 366 nm下，僅花格斑葉蘭檢液與syringaldehyde標準品溶液在 R_f 值0.68處有相對應之藍色斑點(圖一)。

金線連與其他7種混用物種，在性狀上可由葉片之上表面紋理、葉尖、葉基及葉緣形態特徵來區別。23件市售檢體計有19件乾燥

全草、3件乾燥葉片及1件茶包，經初步外觀性狀檢查，分別有臺灣金線連、花格斑葉蘭及圓葉鴨跖草，故後續顯微鏡檢僅針對此3物種進行。在莖組織橫切面，3物種可由維管束位置、形態加以區別；葉中脈橫切面則可由表面形態、草酸鈣結晶形式及非腺毛等特徵區別之。葉片解離主要可依據草酸鈣結晶的形式、非腺毛及氣孔等特徵來區別。綜整顯微特徵檢索表如表二、三。



圖一、金線連類物種與標準品薄層層析圖(A:可見光；B:UV 366 nm)

註：k：kingsenoside, AF:臺灣金線連, s：syringaldehyde, GK:花格斑葉蘭, CB:圓葉鴨跖草

植物在相同或不同生長環境下，外觀均可能出現差異，如福建金線連的黃色網脈有些非常清楚，有些較不清楚，此2形態植株常常於同一環境下以伴生形式存在，民間習稱「金線蓮公」、「金線蓮母」⁽²⁵⁾。臺灣金線連標準對照物種葉片之白色網脈亦有類似情形，但無論

是何種形態，網脈顏色均不會改變，依舊可以做為性狀鑑別之重要特徵。烏嘴蓮(絨葉斑葉蘭)在部份地區亦稱做「金線蓮」或「金線蓮公」^(10,18)，中國閩南地區認為血葉蘭為「金線蓮」，金線蓮為「母金線蓮」⁽²⁶⁾，中國江西地區則稱虎耳草為「金線蓮」⁽¹⁰⁾，其外觀均與金線連相距甚遠，卻因名稱相似而導致混用。斑蘭屬多種植物均被當做銀線連使用，其外觀與金線連極為相似，特別是乾品，因此市場常以銀線連充當金線連，或有二者混售之情事⁽²⁷⁾，本研究收集之市售檢體與斑葉蘭屬植物混用情形也多。鴨跖草科植物不論是圓葉鴨跖草或是吊竹草，其外觀及名稱皆與金線連差異大，圓葉鴨跖草常見為鴨跖草之混用品⁽²⁸⁻³⁰⁾，推測利用其生長快速之特性，混充高價之金線連，為其混用的主因。

二、化學指紋成分分析-主成分分析及預測模型的建立

市售檢體經外觀生藥鑑別後，檢體主要為臺灣金線連、花格斑葉蘭及圓葉鴨跖草，故著重於此3種物種進行成分分析比較。檢液之分析結果經與文獻中成分分子量及儀器軟體搜尋比對，於臺灣金線連、花格斑葉蘭與圓葉鴨跖草中共整理出40項離子訊號。將標準對照物種之臺灣金線連3件、花格斑葉蘭5件與圓葉鴨跖草3件(包含檢體AF_01與AF_04)，透過Agilent Mass Profiler Professional分析軟體，以至少在其中一項族群中出現頻率達100%、在各族群中變異係數< 10%，且於ANOVA檢定中與其它族群比較具有顯著差異者($p < 0.001$)作為篩選條件，篩選出22項作為特徵離子訊號(表四)，其中4項經標準品比對確定為quercetin-3-glucoside、syringaldehyde、isorhamnetin-3-rutinoside及isorhamnetin-3-glucoside成分。3物種之化學指紋圖譜如圖二至四所示。以此22項特徵離子訊號進行主成分分析(圖五)，PC1與PC2分別為70.39%與27.95%，總變異量為

表四、金線連類物種22項特徵離子訊號

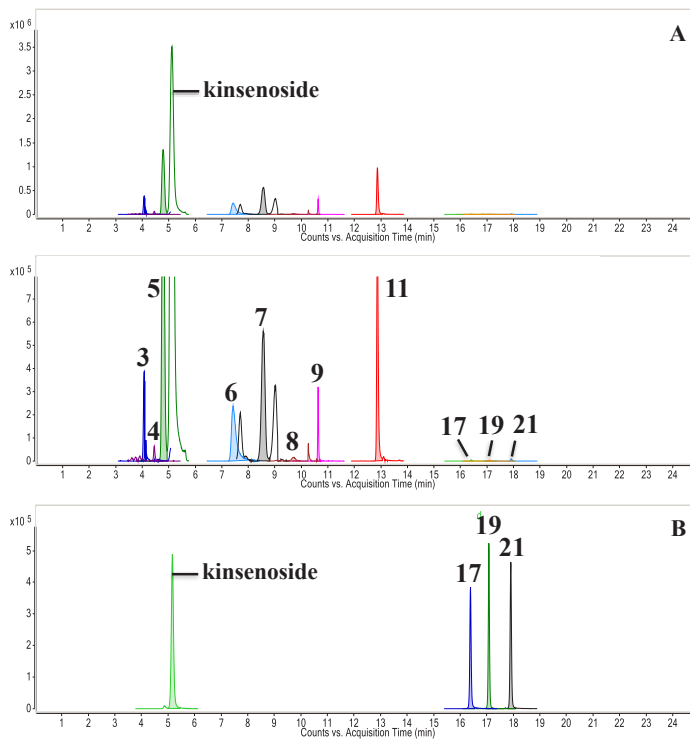
No.	t_R (min)	Mass	$[M+H]^+$ (m/z)	$[M+Na]^+$ (m/z)	Compound or possible formula	Error (ppm)
1	2.525	158.0680	159.0753	-	$C_6H_{10}N_2O_3$	-6.94
2	3.302	132.0425	133.0497	-	$C_3H_8O_4$	-1.58
3	4.075	271.1052	272.1132	-	$C_{12}H_{17}NO_6$	-1.42
4	4.459	328.1373	- ^a	351.1269	$C_{12}H_{24}O_{10}$	1.00
5	4.793	264.0856	265.0920	287.0749	$C_{10}H_{16}O_8$	4.11
6	7.426	179.0936	180.1009	-	$C_{10}H_{13}NO_2$	-5.75
7	8.551	238.1062	-	261.0958	$C_9H_{18}O_7$	3.84
8	9.697	426.1376	-	449.1265	$C_{16}H_{26}O_{13}$	0.54
9	10.633	222.1090	-	245.0984	$C_9H_{18}O_6$	-6.08
10	12.07	610.1537	611.1608	633.1440	$C_{27}H_{30}O_{16}$	0.48
11	12.871	249.1366	250.1439	-	$C_{14}H_{19}NO_3$	0.39
12	12.88	580.1425	581.1502	603.1316	$C_{26}H_{28}O_{15}$	-0.51
13	12.939	594.1587	595.1666	617.1481	$C_{27}H_{30}O_{15}$	0.45
14	13.732	564.1489	565.1565	587.1384	$C_{26}H_{28}O_{14}$	1.77
15	14.342	550.1327	551.1402	573.1215	$C_{25}H_{26}O_{14}$	0.75
16	15.294	534.1384	535.1461	557.1276	$C_{25}H_{26}O_{13}$	1.98
17	16.412	464.0956	465.1018	487.0853	quercetin-3-glucoside	0.19
18	16.835	182.0583	183.0656	205.0481	syringaldehyde	2.03
19	17.096	624.1710	625.1774	647.1611	isorhamnetin-3-rutinoside	3.12
20	17.724	622.1537	623.1610	645.1402	$C_{28}H_{30}O_{16}$	0.43
21	17.915	478.1114	479.1194	501.1002	isorhamnetin-3-glucoside	0.60
22	18.229	776.2157	777.2238	799.2053	$C_{36}H_{40}O_{19}$	-0.86

^a “-” 代表未能觀察到

98.34%，顯示臺灣金線連、花格斑葉蘭與圓葉鴨跖草具有明顯分群。為進一步瞭解摻混檢體於主成分分析圖中之分布狀況，本實驗自行配製不同混摻比例檢體(兩者摻混以比例3：1、1：1與1：3配製；三者摻混以比例2：1：1、1：2：1、1：1：2與1：1：1配製)與市售檢體一同分析，透過比較自行配製摻混檢體與市售檢體於主成分分析中的位置可以做為推測市售檢體摻混狀況之依據。將標準對照物種以PLS-DA建立預測模型，並進行檢體之基原判定，在模型訓練階段能達到100%準確度。

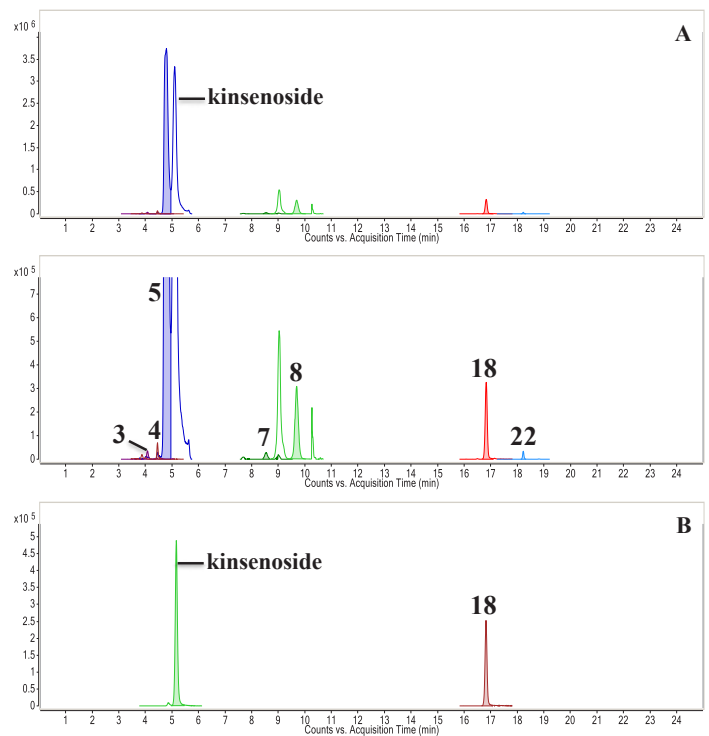
以confidence measure > 0.8為判定基準，小於0.8者可推測為摻混或三者以外之基原。檢體AF_09、13、20與21在成分上包含多項臺灣金線連特徵離子訊號，但Confidence measure均未達0.8，推測其亦為開唇蘭屬植物。檢體AF_16為茶包檢體，檢液中幾乎不存在本研究所歸納出的特徵離子訊號，甚至不含臺灣金線連之主要成分Kinsenoside，因此無法判別此檢體中是否含有臺灣金線連或其它相關植物基原。

市售檢體經生藥及預測模型之基原鑑別，



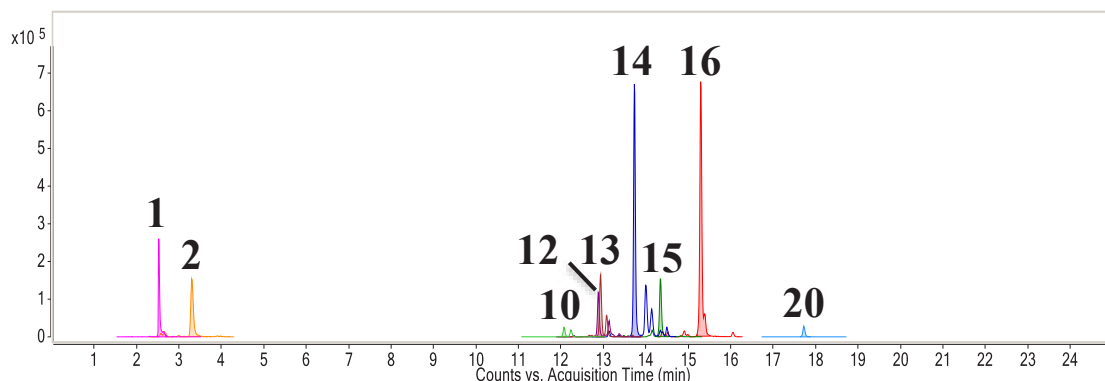
圖二、臺灣金線連化學指紋圖譜

註：(A) extracted ion chromatogram質譜圖；(B) 標準品：17. quercetin-3-glucoside、19. isorhamnetin-3-rutinoside、21. isorhamnetin-3-glucoside

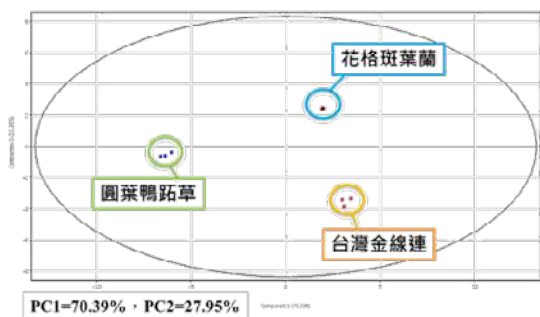


圖三、花格斑葉蘭化學指紋圖譜

註：(A) extracted ion chromatogram質譜圖；(B) 標準品：18. Syringaldehyde



圖四、圓葉鴨跖草extracted ion chromatogram (EIC)質譜圖



圖五、臺灣金線蓮、花格斑葉蘭及圓葉鴨跖草之主成分分析圖

結果顯示4件(17.4%)為臺灣金線蓮，2件(8.7%)為圓葉鴨跖草，1件(4.3%)為花格斑葉蘭，5件(21.7%)未檢出，11件(47.8%)為多物種摻混，結果統整如表五。

參考文獻

1. 朱建軍、黃雨佳、金建紅、沈佳鈺。2019。不同栽培基質對金線蓮3種基原植物生長及其活性成分含量的影響。中國中藥雜誌，44(12): 2467-2471。
2. 何淑敏、張靜芳、謝倩、馬文霞等。2018。不同地區金線蓮種質資源品質分析及綜合評價。天然產物研究與開發，30(08): 1415-1422。
3. 李榮峰。2018。金線蓮研究進展。安徽農學通報，24(24): 27-29。
4. 高云、龍立慧、李蒙禹、吳燕等。2017。黔產金線蓮藥材的薄層色譜鑒別研究。貴陽中醫學院學報，39(05): 39-41, 84。
5. 梅瑜、邱道壽。2018。金線蓮活性成分和分子鑒定的研究進展。安徽農業科學，46(09): 29-33。
6. 馬贊留、蔡紅海、崔成華、錢海云。2016。金線蓮與銀線蓮活性成分的分析。南方農業，10(03): 166, 171。
7. 衛生福利部食品藥物管理署。2017。可供食品使用原料彙整一覽表。[<http://consumer.fda.gov.tw/Food/MaterialDetail.aspx?nodeID=160&id=160>]。
8. 錢麗萍、楊盼、闕慧卿、黃寶林等。2017。金線蓮的品種及成分研究進展。海峽藥學，29(05): 32-35。
9. 尹澤楠、徐柯心、樊嬌嬌、馬志強等。2016。中國蘭科開唇蘭屬植物化學成分研究進展。環球中醫藥，9(09): 1153-1160。
10. 陳綱、林競成。1994。金線蓮的真偽鑒別。海峽藥學，6(04): 83。
11. 屈信成、嚴克儉、羅小珍、胡琦敏。2016。金線蓮與灰巖金線蓮的性狀與顯微鑒別研究。中國藥業，25(22): 35-37。

表五、市售檢體生藥及質譜鑑別統整結果

編碼	檢品樣態	鑑別結果
AF_01	乾燥全草	圓葉鴨跖草
AF_02	乾燥全草	臺灣金線連+圓葉鴨跖草
AF_03	乾燥全草	臺灣金線連+花格斑葉蘭+圓葉鴨跖草
AF_04	乾燥全草	圓葉鴨跖草
AF_05	乾燥全草	臺灣金線連+花格斑葉蘭
AF_06	乾燥葉片	臺灣金線連
AF_07	乾燥全草	臺灣金線連
AF_08	乾燥全草	臺灣金線連+花格斑葉蘭+圓葉鴨跖草
AF_09	乾燥全草	- ^a
AF_10	乾燥全草	圓葉鴨跖草+? ^b
AF_11	乾燥全草	花格斑葉蘭+圓葉鴨跖草+? ^b
AF_12	乾燥全草	臺灣金線連+圓葉鴨跖草
AF_13	乾燥全草	- ^a
AF_14	乾燥全草	臺灣金線連+圓葉鴨跖草
AF_15	乾燥葉片	臺灣金線連
AF_16	茶包	- ^a
AF_17	乾燥全草	臺灣金線連+花格斑葉蘭+圓葉鴨跖草
AF_18	乾燥全草	臺灣金線連+花格斑葉蘭+圓葉鴨跖草
AF_19	乾燥全草	臺灣金線連+花格斑葉蘭
AF_20	乾燥全草	- ^a
AF_21	乾燥全草	- ^a
AF_22	乾燥葉片	臺灣金線連
AF_23	乾燥全草	花格斑葉蘭

“-”代表未能檢出臺灣金線連、圓葉鴨跖草及花格斑葉蘭

“?”代表不確定之植物基原

12. 蔡超。2016。金線蓮的鑒別與應用。中國中醫藥現代遠程教育，14(21): 123-127。
13. 吳海清、龔祝南。1996。金線蓮和銀線蓮的比較解剖學研究。江蘇農學院學報，17(03): 25-29。
14. 黃澤豪、沈賢娟。2013。閩南民間藥公石松的生藥鑒定。亞熱帶植物科學，42(04): 288-292。
15. 黨友超、黃哲、李蒙禹、楊燁等。2018。黔產金線蓮及其易混品(斑葉蘭)的顯微鑒定研究。貴陽中醫學院學報，40(04): 30-34。
16. 陳吉田。2018。金線蓮與灰巖金線蓮的性狀與顯微鑒別研究。雙足與保健，10: 176-178。
17. 黃哲、黨友超、王世清。2019。黔產金線蓮與其易混品斑葉蘭的葉表皮顯微特徵研究。貴陽中醫學院學報，41(02): 34-37, 65。
18. 陳裕、林坤瑞、管其寬。1990。野生花葉開唇蘭、大斑葉蘭資源調查研究初報。亞

- 熱帶植物通訊，02: 61-63。
19. Du, X.M., Sun, N.Y., Irino, N. and *et al.* 2000. Glycosidic constituents from in vitro *Anoectochilus formosanus*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 48(11): 1803-1804.
20. Wang, S.Y., Kuo, Y.H., Chang, H.N. and *et al.* 2002. Profiling and characterization antioxidant activities in *Anoectochilus formosanus* hayata. *J Agric Food Chem*. 50(7): 1859-1865.
21. Masuda, K., Kawaguchi, T., Koyama, T. and *et al.* 2010. Osteoclast-forming suppressive compounds from *Anoectochilus formosanus*. *Jpn J Comp Alternative Med*. 7(2): 121-124.
22. 張藏蔓、盧敬光、謝啟師、王丹等。2018。基於UHPLC-TOF-MS技術建立金線蓮的指紋圖譜及金線蓮苷的含量測定方法。中國實驗方劑學雜誌，24(01): 31-37。
23. 曾碧玉、蘇明華、陳清西、李惠華等。不同地理種源金線蓮不同採集時間活性成分分析研究。熱帶作物學報，41(4): 811-818。
24. Qi, C.X., Zhou, Q., Yuan, Z. and *et al.* 2018. Kinsenoside: A Promising Bioactive Compound from *Anoectochilus* Species. *Curr Med Sci*. 38(1): 11-18.
25. 鄭純、黃以鐘、季蓮芳。1996。金線蓮文獻考證、原植物及商品調查。中草藥，27(3): 169-171。
26. 盧彩燕。2019。血葉蘭與金線蓮的糖分組成及含量比較。東南園藝，04: 16-19。
27. 黃麗萍、黃麗英、李喜載、俞曉玲。2015。銀線蓮藥材HPLC指紋圖譜研究。中國現代應用藥學，32(10): 1170-1174。
28. 周鳳琴、張照榮、張炎焱。1994。鴨跖草及其混淆品飯包草的生藥鑒別。中藥材，17(08): 14-17。
29. 高賓、郭淑珍、趙丹。2013。鴨跖草的採收加工與偽品鑒別。首都醫藥，(05): 43。
30. 張曉玲、張昭、趙保華、李展等。2010。鴨跖草生藥學研究。中草藥，41(03): 475-477。

Study on the Identification Method of Anoectochili Herba

TSAI-YU WEN, CHING-CHIEH KAO, SI-MIN HSU, SHIH-SHAN HUANG,
YA-TZE LIN, MEI-CHIH LIN, SU-HSIANG TSENG AND DER-YUAN WANG

Division of Research and Analysis, TFDA

ABSTRACT

The botanical origin of Anoectochili Herba is the leaf of *Anoectochilus formosanus* of the Orchidaceae Family. It's a folk medicine used for treating hypertension and hyperglycemia. However, the divergence of regional usage and short supply leading to rampant situation of alternate use. In this study, we collected 8 Anoectochili Herba-associated species as classification model, and 23 market bought Anoectochili Herba samples classified according to their morphology, microscopy and thin layer chromatographic analysis. Chemical composition was analyzed using UHPLC-Q-TOF MS and processed by principal component analysis (PCA) and partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) prediction model. The results showed 4 of 23 (17.4%) Anoectochili Herba samples were *A. formosanus*, two (8.7%) were *Commelina benghalensis*, one (4.3%) was *G. kwangtungensis*, five (21.7%) were non-detect, eleven (47.8%) were multispecies.

Key words: anoectochili herba, morphological identification, thin layer chromatography,
UHPLC-Q-TOF MS