

基于 UPLC-Triple TOF MS/MS 技术分析不同产地何首乌的差异化学成分

罗益远¹, 刘娟秀¹, 刘训红¹, 王胜男¹, 华愉教¹, 兰才武², 邢清清¹

(1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023;

2. 贵州昌昊中药发展有限公司, 贵州 凯里 556000)

摘要:为了探讨不同产地对何首乌代谢物合成积累的影响,采用超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间高分辨质谱法(UPLC-Triple TOF MS/MS)结合多元统计分析技术对不同产地何首乌中差异性化学成分进行研究。通过二级串联质谱分析,对其质谱数据进行峰匹配、峰对齐、滤噪处理等,以提取特征峰;用主成分分析(PCA)和偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)进行数据处理;根据一级质谱精确质荷比和二级质谱碎片信息,结合软件数据库搜索及相关文献进行成分鉴定。结果显示,4个不同产地的何首乌样品间的化学组成可得到有效区分;初步筛选出36种差异显著的化学成分并鉴定出33种成分,其中有12种共有差异化学成分呈现不同的变化规律。该结果可为揭示产地对何首乌代谢物合成积累的影响规律提供基础资料。

关键词:何首乌;超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间高分辨质谱(UPLC-Triple TOF MS/MS);差异性化学成分;产地

中图分类号:O657.63

文献标志码:A

文章编号:1004-2997(2017)06-0678-12

doi:10.7538/zpxb.2016.0182

Difference of Chemical Compositions in *Polygoni Multifori Radix* from Different Habitats by UPLC-Triple TOF MS/MS

LUO Yi-yuan¹, LIU Juan-xiu¹, LIU Xun-hong¹, WANG Sheng-nan¹, HUA Yu-jiao¹,
LAN Cai-wu², XING Qing-qing¹

1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;

2. Guizhou Chang Hao Chinese Medicine Co., Ltd., Kaili 556000, China)

Abstract: In order to study the influence of the different origin on the synthesis and accumulation of metabolites in *Polygoni Multifori Radix*, the UPLC-Triple TOF MS/MS method combined with multivariate statistical analysis was used to analyze the differences of chemical compositions in *Polygoni Multifori Radix* from different habitats. Through the analysis of the multistage tandem mass spectrometry, the characteristic peaks were extracted with mass spectrometry data peak matching, peak alignment

收稿日期:2016-11-14;修回日期:2017-02-27

基金项目:国家科技支撑计划项目(2011BAI13B04);江苏高校优势学科建设工程资助项目(ysxk-2014)资助

作者简介:罗益远(1989—),男(汉族),福建人,硕士研究生,中药品质评价专业。E-mail: luoyiyuan0012@sohu.com

通信作者:刘训红(1959—),男(汉族),江苏人,教授,从事中药鉴定与品质评价研究。E-mail: liuxunh1959@sohu.com

and noise filtering. Principal component analysis (PCA) and partial least-squares discriminant analysis (PLS-DA) were used for data processing. The chemical compositions were identified or tentative presumed according to MS accurate mass and MS/MS spectrometry fragmentation information, combined with the software of database search and literature. The results showed that the differences among samples of *Polygoni Multiflori Radix* from different habitats are distinguishable. A total of 36 differential chemical compositions were screened in *Polygoni Multiflori Radix* from different habitats, and 33 chemical constituents of which were identified. Among of them, there were 12 kinds of common differential chemical compositions, such as 3,5-dihydroxyphenol-1- O - β -D-(6''- O -galloyl)-glucopyranoside, gallic acid, poycyanidin B-7-3- O -gallate, catechin glycosidase, piceatannol-3- O - β -D-(6''- O -galloyl)-glucopyranoside, stilbene glucoside, THSG-glucuronide, torachrysone- O - β -D-glucopyranoside, emodin-8- O -(6'- O -malonyl)- β -D-glucopyranoside, emodin, palmidin A and physcion, which presented different change laws. The results showed that stilbene glucoside, torachrysone- O - β -D-glucopyranoside and emodin-8- O -(6'- O -malonyl)- β -D-glucopyranoside are much higher in the samples from Shibing county Guizhou province, 3,5-dihydroxyphenol-1- O - β -D-(6''- O -galloyl)-glucopyranoside, gallic acid and palmidin A are much higher in the samples from Yingshan city Hubei province, catechin glycosidase, piceatannol-3- O - β -D-(6''- O -galloyl)-glucopyranoside, THSG-glucuronide and emodin are much higher in the samples from Gaozhou city Guangdong province, poycyanidin B-7-3- O -gallate, and physcion are much higher in the samples from A'ba county Sichuan province. This study can provide basic information for revealing the influence law of the different origin on the biosynthesis of metabolites in *Polygoni Multiflori Radix*.

Key words: *Polygoni Multiflori Radix*; UPLC-Triple TOF MS/MS; difference of chemical composition; habitats

何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根,具有消痈、解毒、截疟、润肠通便的功效,用于治疗疮痈、瘰癧、风疹瘙痒、久疟体虚、肠燥便秘等疾病^[1]。除此之外,何首乌还具有抗衰老、增强免疫力、抗肿瘤、保肝、止痛、抗菌等作用^[2-3]。何首乌主产于我国广东、贵州、四川、湖北等省。由于何首乌野生资源日渐减少,而原药材市场需求量逐年加大,现已在贵州、广东等地建立了大规模的种植基地。随着何首乌栽培地域的扩大,产地不同导致何首乌有效成分的积累差异较大,药材质量参差不齐,难以实现商品药材标准化,因而无法保证其临床使用的有效性。研究表明,不同产地何首乌的化学成分存在一定差异,但这些研究仅限于对其中二苯乙烯苷类、蒽醌类等单一类成分的测定^[4-7],得到的信息相对较少,难以实现对药材质量的综合评价。为了更

加全面地了解产地对何首乌代谢物合成积累的影响以及不同产地药材品质的差异,有必要建立基于何首乌整体化学成分的质量分析方法。

植物代谢组学技术是对植物提取物中代谢组进行高通量、无偏差全面分析的技术,特别适合于中药多组分复杂体系的分析^[8],使中药研究更符合祖国医学的整体观念。近年来,液相色谱-质谱联用技术被广泛应用于中药复杂体系的定性和定量分析中。目前,常用的质谱技术有四极杆质谱、离子阱质谱、飞行时间质谱以及复合式串联质谱等。相比于低分辨质谱,高分辨质谱能够测得更多的碎片离子、更精确的分子质量,进而获得化合物的分子式。根据多级质谱的化合物裂解碎片信息,结合相关数据库和文献资料,能快速鉴定其中大部分化合物的结构。高效、快速分离性能的 LC 与灵敏、准确的 MS 或 MSⁿ 结合,被广泛应用于难挥发性化合物、极性化合物、热不稳定化合物和大

分子化合物(如蛋白质、多肽、多糖、多聚物等)的分析,既可定性,也可定量,是最具前景的代谢组学研究技术之一^[9-12]。

本研究借鉴植物代谢组学的研究思路和方法,拟采用超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间高分辨质谱(UPLC-Triple TOF MS/MS)技术分析不同产地何首乌化学成分的差异性,并通过多元统计分析找出差异显著的化学成分,探究其变化规律,希望为揭示产地因素对何首乌代谢产物合成积累的影响规律及探讨何首乌药材的品质形成机制提供基础资料。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Aquity™ UPLC 超高效液相色谱仪:美国 Waters 公司产品;Triple TOF™ 5600 System-MS/MS 电喷雾飞行时间高分辨质谱仪,Peakview 1.2 数据处理工作站:美国 AB Sciex 公司产品;SIMCA-P 13.0 数据处理软件:瑞士 Umetrics 公司产品;Anke TGL-16B 离心机:上海安亭科学仪器厂产品;BSA224S 电子天平:德国赛多利斯公司产品;KQ-500B 型超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司产品,超声功率为 500 W,频率为 40 kHz;甲醇:色谱纯,德国 Merck 公司产品,用于色谱流动相配制;甲酸:色谱纯,德国 Merck 公司产品;甲醇(批号:081110865):化学纯,南京化学试剂有限公司产品,用于供试品溶液制备;实验用水:由 Millipore 纯水器制得。

何首乌样品:2 年生,分别采自贵州省施秉、湖北省英山、广东省高州和四川省阿坝,每个产地采集样品 4 份。所有样品均由南京中医药大学药学院刘训红教授鉴定为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根,留样凭证保存于南京中医药大学中药鉴定实验室。

1.2 供试品溶液的制备

精密称取 1.0 g 干燥恒重的何首乌样品粉末(过 80 目筛),置于 100 mL 具塞锥形瓶中,加入 25 mL 甲醇,称其质量后,室温下超声提取 45 min,放置冷却,再次称其质量,并以甲醇补足质量损失,静置冷却,以 12 000 r/min 离心 10 min,取上清液,过 0.22 μm 微孔滤膜,即得供试品溶液。

1.3 实验条件

1.3.1 色谱条件 色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C18 柱(250 mm×4.6 mm×5 μm);流动相:甲醇(A)-0.1%甲酸水溶液(B);梯度洗脱程序:0~3 min(20%~35%A),3~10 min(35%~45%A),10~15 min(45%~60%A),15~20 min(60%~80%A),20~30 min(80%~100%A);流速 1.0 mL/min;柱温 30 ℃;进样量 10 μL;检测波长 254 nm。

1.3.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI),负离子模式采集数据;质量扫描范围 m/z 50~1 000;喷雾电压 5.0 kV;气帘气流速 30 L/min;雾化气 55 L/min;辅助气 55 L/min;离子源温度 500 ℃;碰撞室射出电压(CXP)9 V;去簇电压(DP)100 V。

1.4 数据预处理与统计分析

将原始质谱数据和色谱图导入 Peakview 1.2 数据处理工作站进行峰匹配、峰对齐、滤噪处理等,然后将结果导入 SIMCA-P 13.0 软件进行分析。采用主成分分析(PCA)法,通过初步观察各样品的聚集情况,直观地表达不同产地何首乌的化学组成差异;再用偏最小二乘判别分析(PLS-DA)法对各样品分类,其中 R^2X 、 R^2Y 越接近 1,表示模型越稳定, $Q^2>0.5$ 表示预测率高。根据 PLS-DA 模型得到的变量权重值(VIP>1)找到潜在的差异化学成分。采用 t 检验验证多维统计中找到的差异化学成分是否在单维统计中具有显著性差异,若 $P<0.05$,则表示有显著性差异。

1.5 差异化学成分的鉴定

通过一级质谱确定精确相对分子质量,二级质谱获得裂解信息,结合 HMDB(<http://www.hmdb.ca/>)和 METLIN(<http://metlin.scripps.edu/>)数据库搜索及文献报道推测化合物结构式信息。

2 结果与讨论

2.1 样品处理方法的选择

在供试品溶液的制备中,分别考察了纯甲醇、70%甲醇、50%甲醇 3 种溶剂对实验结果的影响,结果表明,以纯甲醇为溶剂的色谱峰峰形优于其他两种溶剂。同时考察了超声提取时间分别为 15、30、45 和 60 min 对提取结果的影

响,结果表明,超声提取 45 min 时色谱峰峰面积明显较大,因此,最终选择以纯甲醇溶液超声提取 45 min。

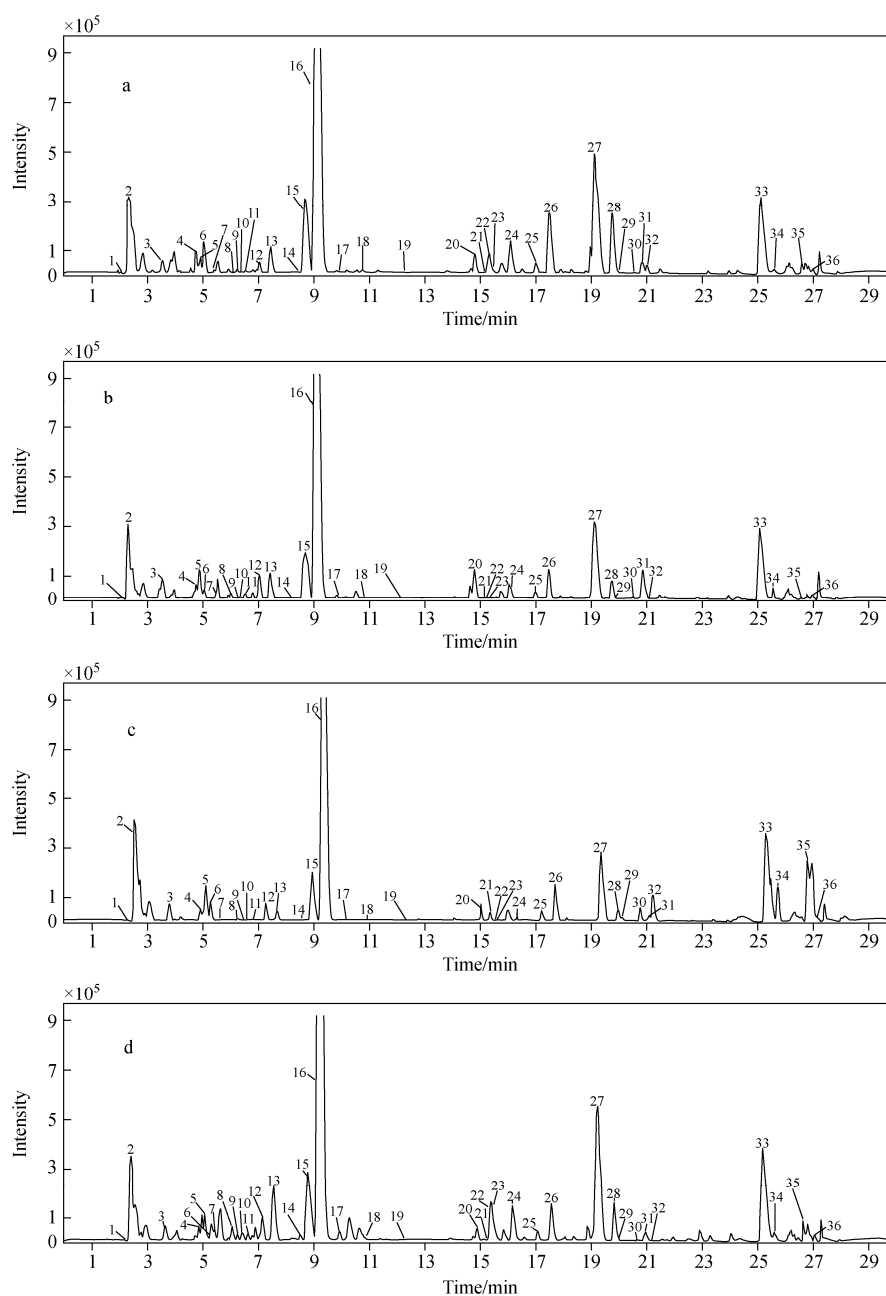
2.2 色谱条件的优化

分别考察了流动相为甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1%甲酸水溶液、乙腈-0.1%甲酸水溶液在梯度洗脱条件下对样品各色谱峰分离度的影响,

结果表明,采用甲醇-0.1%甲酸水溶液为流动相时,色谱峰峰形较好且具有良好的分离效果。

2.3 样品分析

根据设定的液相色谱、质谱条件,取供试品溶液进样分析。4 个不同产地何首乌样品在负离子模式下的 UPLC-Triple TOF MS/MS 基峰强度离子流(BPI)色谱图示于图 1。



注:a. 贵州施秉;b. 湖北英山;c. 广东高州;d. 四川阿坝

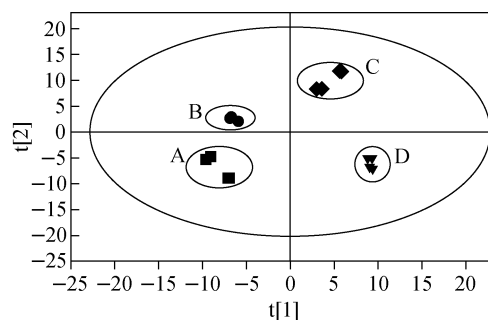
图 1 负离子模式下,不同产地何首乌样品提取离子流(BPI)色谱图

Fig.1 UPLC-Triple TOF MS/MS base peak intensity (BPI) chromatogram of *Polygoni Multifori Radix* from different habitats in negative ion mode

2.4 多元统计分析

2.4.1 PCA 分析 采用 PCA 多变量模式识别方法对 4 个不同产地何首乌样品进行降维分析。4 个不同产地何首乌 PCA 分析的散点图 ($t_1:47.6\%$; $t_2:22.7\%$) 示于图 2。4 个产地何首乌样品分布在不同区域, 分类结果较为理想, 说明 4 个产地的何首乌样品的化学成分存在明显差异。相比于其他 2 个产地的样品, 贵州施秉和湖北英山的样品得分较接近, 说明这 2 个产地的何首乌样品组内的均一性较好, 即化学成分组成接近。广东高州和四川阿坝的样品得分距离其他 2 组较远, 说明这 2 组何首乌样品与其他 2 组样品差异较大。

2.4.2 PLS-DA 分析 采用有监督模式识别方法 PLS-DA 分析确定不同产地何首乌之间的差异变量, 即差异化学成分。使用常用变量载荷评价参数 (VIP) 值描述变量的贡献程度, 当 $VIP > 1$ 时, 认为存在潜在的差异化学成分。



注: A. 贵州施秉; B. 湖北英山; C. 广东高州; D. 四川阿坝
图 2 负离子模式下, 不同产地何首乌的 PCA 得分图

Fig. 2 PCA scores of *Polygoni Multifori Radix* from different habitats in negative ion mode

分别对不同产地何首乌样品进行两两比较和 PLS-DA 分析, 结果示于图 3~8。2 个产地的何首乌样品沿着 PC1 轴明显分开。模型验证结果 (R^2Y 和 Q^2) 显示模型有效可靠。VIP 的得分图示于图 3b~8b, 对 2 组分类贡献较大的差异性成分 ($VIP > 1$) 数据列于表 1。

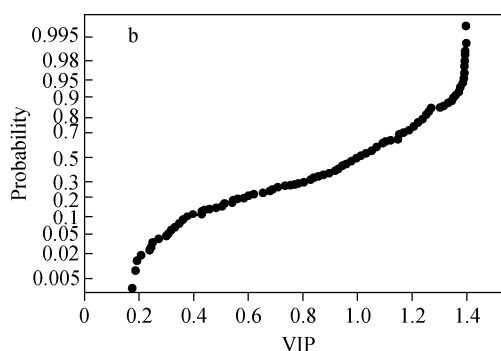
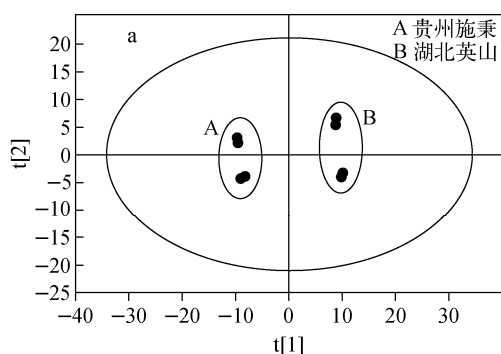


图 3 贵州施秉和湖北英山的何首乌样品的 PLS-DA 得分图(a)和 VIP 得分图(b)

Fig. 3 PLS-DA scores plot (a) and variable importance plot (b) of samples from Shibing and Yingshan

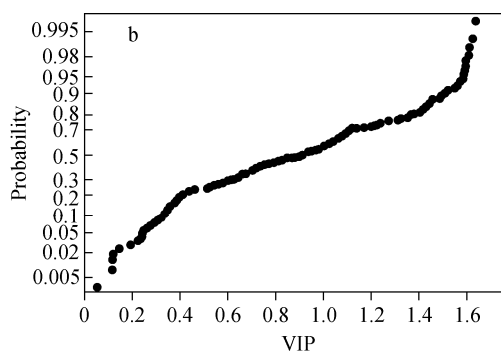
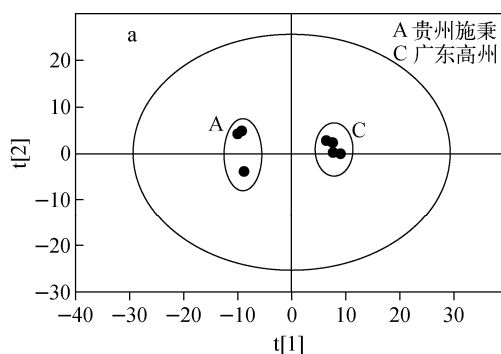


图 4 贵州施秉和广东高州的何首乌样品的 PLS-DA 得分图(a)和 VIP 得分图(b)

Fig. 4 PLS-DA scores plot (a) and variable importance plot (b) of samples from Shibing and Gaozhou

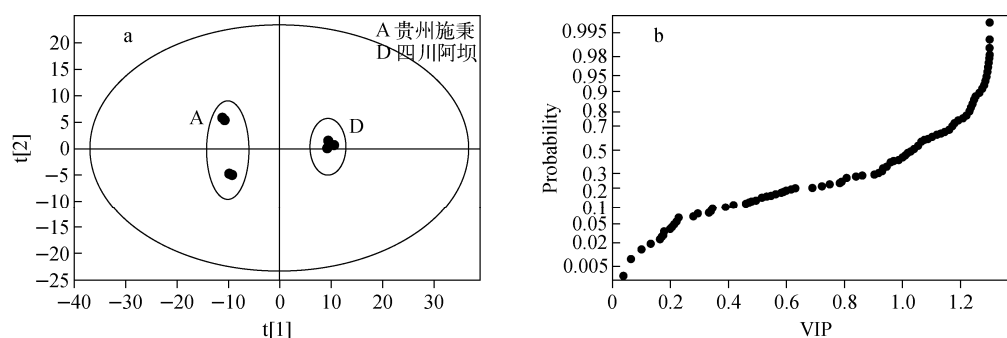


图 5 贵州施秉和四川阿坝的何首乌样品的 PLS-DA 得分图(a)和 VIP 得分图(b)

Fig. 5 PLS-DA scores plot (a) and variable importance plot (b) of samples from Shibing and A'ba

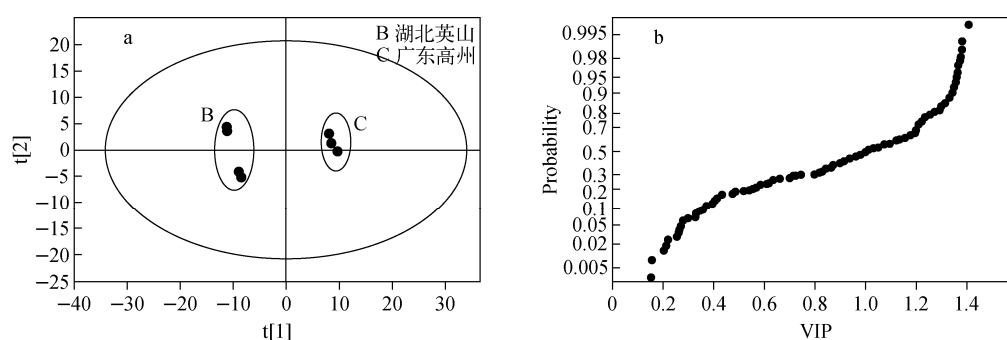


图 6 湖北英山和广东高州的何首乌样品的 PLS-DA 得分图(a)和 VIP 得分图(b)

Fig. 6 PLS-DA scores plot (a) and variable importance plot (b) of samples from Yingshan and Gaozhou

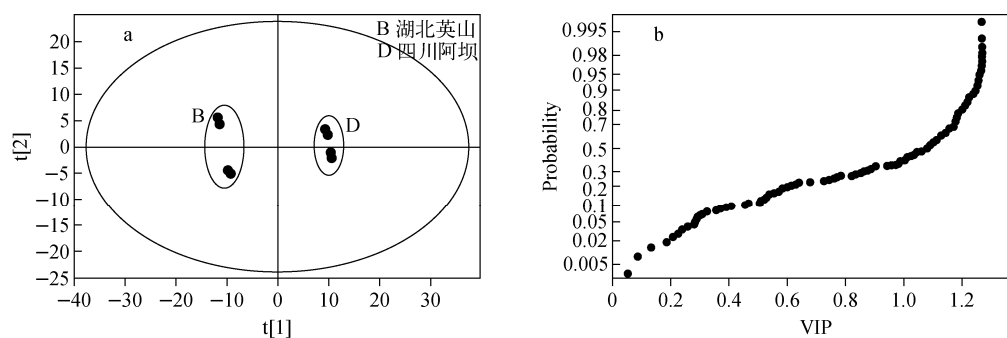


图 7 湖北英山和四川阿坝的何首乌样品的 PLS-DA 得分图(a)和 VIP 得分图(b)

Fig. 7 PLS-DA scores plot (a) and variable importance plot (b) of samples from Yingshan and A'ba

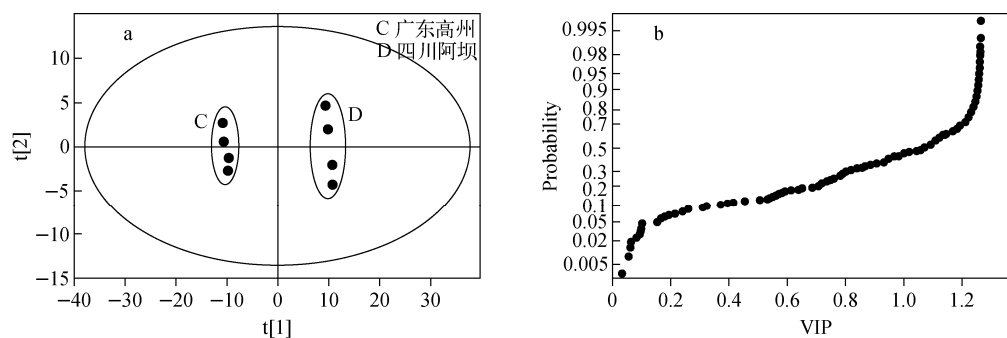


图 8 广东高州和四川阿坝的何首乌样品的 PLS-DA 得分图(a)和 VIP 得分图(b)

Fig. 8 PLS-DA scores plot (a) and variable importance plot (b) of samples from Gaozhou and A'ba

表 1 不同产地何首乌样品 PLS-DA 分析结果

Table 1 Results of PLS-DA in *Polygoni Multifori Radix* from different habitats

样品 Samples	模型验证结果 Results of model validation		VIP>1 的特征峰数 Number of characteristic peaks(VIP>1)
	R^2Y	Q^2	
贵州施秉与湖北英山	0.999	0.994	97
贵州施秉与广东高州	0.996	0.967	83
贵州施秉与四川阿坝	0.999	0.995	111
湖北英山与广东高州	0.999	0.994	96
湖北英山与四川阿坝	0.995	0.980	117
广东高州与四川阿坝	0.997	0.983	106

2.5 差异化学成分的鉴定

通过对 HMDB 和 METLIN 数据库搜索,结合相关文献报道^[13-24],对 $VIP > 1$ 且 $p < 0.05$ 的 36 种差异化学成分进行结构鉴定,初步鉴定出 33 种化学成分,其质谱数据列于表 2。

2.6 共有差异化学成分的相对含量变化

所分析的 4 个不同产地何首乌样品中共有 12 种差异化学成分,分别为 3,5-二羟苯基-1- O - β -D-(6"- O -没食子酰)-吡喃葡萄糖苷、没食子酸、原始车菊素 B-7-3- O 没食子酰、儿茶素葡萄糖苷、白皮杉醇-3- O - β -D-(6"- O -没食子酰)-吡喃葡萄糖苷、二苯乙烯苷、二苯乙烯-葡萄糖苷酸、决明柯酮- O - β -D-葡萄糖苷、大黄素-8- O -(6'- O -乙酰基)- β -D-葡萄糖苷、大黄素、掌叶二萜酮 A、大黄素甲醚。提取各共有差异成分在各组样品间对应的峰面积来表示其相对含量,对同一化学成分在不同产地何首乌样品间的峰面积平均值的标准差进行计算,得到共有差异成分在不同产地何首乌间的相对含量变化,结果示于图 9。12 种共有差异成分中,二苯乙烯苷、决明柯酮- O - β -D-葡萄糖苷和大黄素-8- O -(6'- O -乙酰基)的相对含量以产自贵州施秉的何首乌较高;3,5-二羟苯基-1- O - β -D-(6"- O -没食子酰)-吡喃葡萄糖苷、没食子酸和掌叶二萜酮 A 的相对含量以产自湖北英山的何首乌较高;儿茶素葡萄糖苷、白皮杉醇-3- O - β -D-(6"- O -没食子酰)-吡喃葡萄糖苷二苯乙烯-葡萄糖苷酸- β -D-葡萄糖苷和大黄素的相对含量以产自广东高州的何首乌较高;原始车菊素 B-7-3- O 没食子酰和大黄素甲醚的相对含量以产自四川阿坝的何首乌较高。

3 小结

建立了基于 UPLC-Triple TOF MS/MS 结合多元统计分析技术的不同产地何首乌差异化学成分的分析方法,并从样品制备、色谱图分析、数据处理等方面进行探讨,找出积累差异显著的化学成分,探索其变化规律。实验结果表明,串联四极杆飞行时间高分辨质谱(Triple TOF MS/MS)可准确获取化合物的精确分子质量和裂解碎片质量信息,快速鉴定化合物的结构;贵州施秉、湖北英山、广东高州和四川阿坝 4 个产地的何首乌样品中化学成分存在明显差异,找出了 36 种共有差异显著的化学成分,并鉴定出 33 种成分,其中 12 种共有差异成分呈现不同的变化规律。该结果可为揭示产地因素对何首乌代谢产物合成积累的影响规律以及探究何首乌药材的品质形成机制提供基础资料,为中药复杂体系分析、差异化学成分的鉴定提供一种可靠、准确的方法参考。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:175-177.
- [2] LIN L F, NI B, LIN H M, et al. Traditional usages, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Polygonum multiflorum* Thunb.: a review[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2015, 159(1): 158-183.
- [3] 杨红莉,葛珍珍,孙震晓. 何首乌药理研究新进展[J]. 中药材,2013(10):1 713-1 717. YANG Hongli, GE Zhenzhen, SUN Zhenxiao. Pharmacological research progress of polygonum multiflorum[J]. Journal of Chinese Medicine Materials, 2013(10): 1 713-1 717(in Chinese).

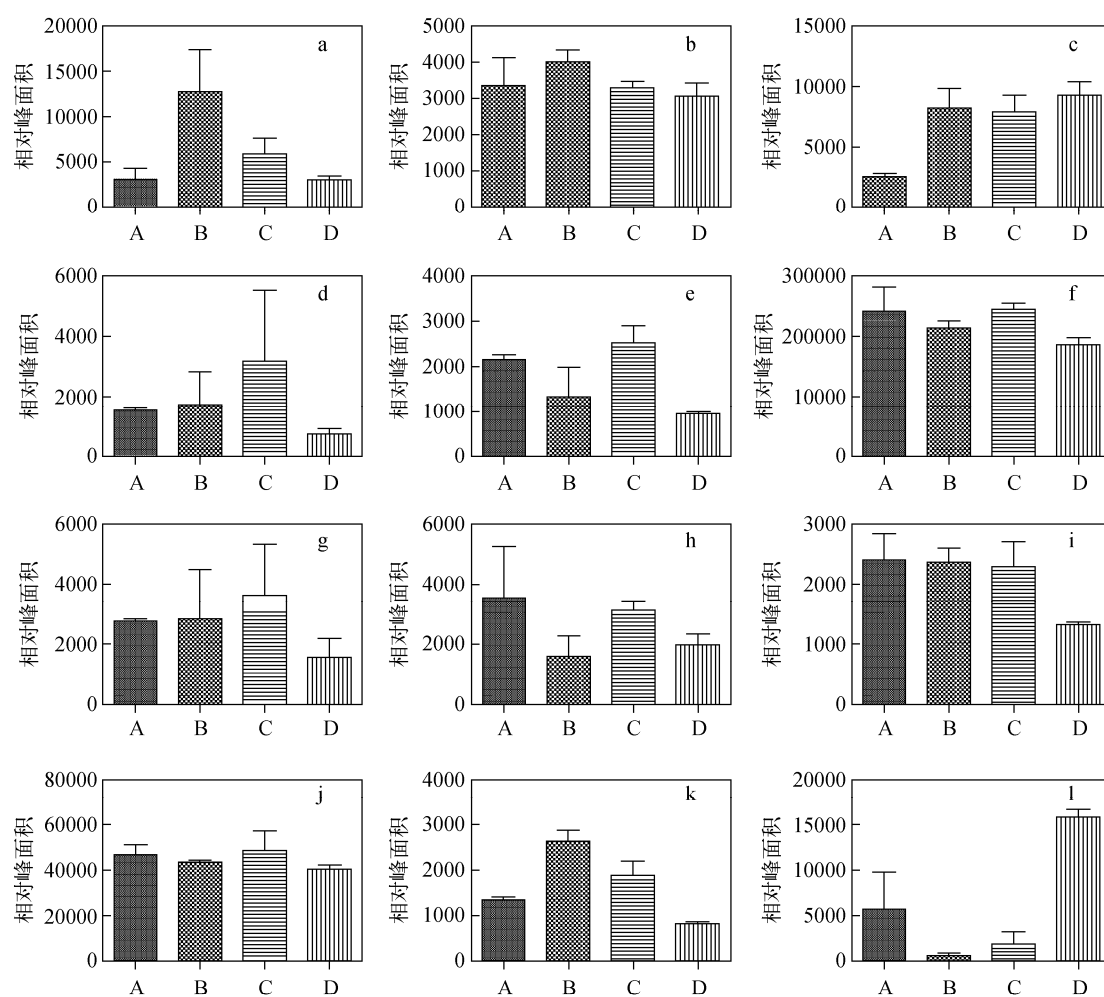
表 2 不同产地何首乌中差异化学成分的鉴定

Table 2 Identification of the different chemical constituents in *Polygoni Multiflori Radix* from different habitats

No.	保留时间 t_R /min	化学成分 Compounds	分子式 Molecular formula	测量值 Measured value/Da	质谱数据 Mass data(m/z)
1	2.099	异丹叶大黄素	$C_{15}H_{14}O_4$	257.0616	173.1036, 131.0825
2	2.294	3,5-二羟基-1-O- β -D-(6"-O-没食子酰)-吡喃葡萄糖苷	$C_{19}H_{20}O_{12}$	439.0824	439.0851, 96.9690, 78.9613
3	3.547	没食子酸	$C_7H_6O_5$	169.0157	125.0248
4	4.739	未知物 1	—	419.1663	257.1134, 213.1232, 195.1127, 128.0350
5	4.959	原始车菊素 B-7-3-O 没食子酰	$C_{37}H_{30}O_{16}$	729.1256	577.1363, 559.1260, 451.1041, 425.0880, 407.0770, 289.0703, 125.0241
6	5.065	儿茶素	$C_{15}H_{14}O_6$	289.0725	245.0806, 179.0390, 165.0172, 151.0391, 137.0242, 109.0303
7	5.405	1,2,6-没食子酰葡萄糖	$C_{27}H_{24}O_{18}$	635.0871	465.0685, 313.0551, 289.0705, 169.0134
8	6.010	未知物 2	—	331.1505	259.1292, 128.0354
9	6.264	原始车菊素 B-4-3'-O 没食子酰	$C_{37}H_{30}O_{16}$	729.1455	577.1381, 559.1274, 451.1039, 425.0887, 407.0771, 289.0701, 125.0245
10	6.369	表儿茶素	$C_{15}H_{14}O_6$	289.0719	245.0806, 203.0719, 151.0391, 137.0244, 109.0305
11	6.567	儿茶素葡萄糖苷	$C_{21}H_{24}O_{14}$	449.1284	484.1219, 453.0841, 404.0841, 289.0409
12	7.057	白杉皮醇 3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	$C_{21}H_{24}O_{14}$	405.1173	243.0650
13	7.461	表儿茶素-3-O-没食子酸酯	$C_{27}H_{24}O_{14}$	441.0815	289.0708, 245.0805, 203.0706, 169.0135, 125.0245
14	8.407	白藜芦醇 4'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	$C_{20}H_{22}O_8$	389.1235	227.0702, 185.0579, 143.0499
15	8.717	白皮杉醇-3-O- β -D-(6"-O-没食子酰)-吡喃葡萄糖苷	$C_{27}H_{26}O_{13}$	557.1278	405.1164, 313.0537, 243.0642, 169.0124
16	9.128	二苯乙烯苷	$C_{20}H_{22}O_9$	405.1088	243.0627, 173.0574, 137.0219
17	9.937	白藜芦醇-4'-O- β -D-(6"-O-没食子酰)-吡喃葡萄糖苷	$C_{27}H_{26}O_{12}$	541.1204	313.0559, 227.0703, 169.0132, 151.0024
18	10.850	山奈酚-3- β -D-葡萄糖苷	$C_{21}H_{20}O_{11}$	447.1176	285.0394, 243.0648

续表 2

No.	保留时间 t_R /min	化学成分 Compounds	分子式 Molecular formula	测量值 Measured value/Da	质谱数据 Mass data(m/z)
19	12.134	反式-2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2- <i>O</i> -(6"- <i>O</i> -乙酰基)- β - <i>D</i> -吡喃葡萄糖苷	C ₂₂ H ₂₄ O ₁₀	447.1277	433.1154, 270.0529, 242.0509
20	14.895	二苯乙烯葡萄糖苷	C ₂₆ H ₂₉ O ₁₅	581.1490	419.1142, 405.1191, 243.0650, 174.0389
21	15.132	未知物 3	—	342.1336	190.0496, 178.0494, 148.0518, 135.0444
22	15.279	柚皮素-7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447.0815	303.0511, 285.0460, 125.0246
23	15.348	硫酸化大黄素- <i>O</i> -葡萄糖苷	—	511.0536	431.0971, 269.0443, 225.0537
24	16.103	大黄素-1- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	431.0870	243.0980, 269.0437, 240.0408, 225.0537
25	17.032	Emodin-gemtiobioside	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	593.1511	440.7630, 269.0447, 243.0621
26	17.558	决明柯酮- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷	C ₂₀ H ₂₃ O ₉	407.1249	269.0437, 240.0408, 225.0573
27	19.146	决明柯酮- <i>O</i> -乙酰基-葡萄糖苷	C ₂₂ H ₂₅ O ₁₀	449.1334	245.0807, 230.0570
28	19.762	大黄素-8- <i>O</i> -葡萄糖苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	431.0883	269.0429, 225.0514, 240.0390, 197.0570
29	19.814	大黄素-8- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> -丙二酰)- β - <i>D</i> -葡萄糖苷	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₃	518.0876	474.1134, 270.0469, 226.0569
30	20.571	决明柯酮-8- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> -乙酰基)- β - <i>D</i> -葡萄糖苷	C ₂₂ H ₂₆ O ₁₀	449.1437	245.0842, 230.0576
31	20.881	大黄素甲醚-8- <i>O</i> - β - <i>D</i> -吡喃葡萄糖苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	446.1086	431.0994, 283.0603, 269.0447, 240.0415
32	21.075	大黄素-8- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> -乙酰基)- β - <i>D</i> -葡萄糖苷	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₁	473.1057	431.1121, 269.0442
33	25.080	大黄素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.1878	241.0488, 225.0523
34	25.514	掌叶二萜酮 A	C ₃₀ H ₂₂ O ₈	509.1217	254.0570
35	26.603	Rendin A	C ₃₀ H ₂₀ O ₉	523.1364	254.0559
36	26.980	大黄素甲醚	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	283.0612	240.0414, 212.0463



注: a. 3,5-二羟基-1-O-β-D-(6"-O-没食子酰)-吡喃葡萄糖苷; b. 没食子酸; c. 原始车菊素 B-7-3-O 没食子酰;

d. 儿茶素葡萄糖苷; e. 白皮杉醇-3-O-β-D-(6"-O-没食子酰)-吡喃葡萄糖苷;

f. 二苯乙烯苷; g. 二苯乙烯-葡萄糖苷; h. 决明子-β-D-葡萄糖苷;

i. 大黄素-8-O-(6'-O-乙酰基)-β-D-葡萄糖苷; j. 大黄素; k. 掌叶二萜酮 A; l. 大黄素甲醚;

A. 贵州施秉; B. 湖北英山; C. 广东高州; D. 四川阿坝

图9 不同产地何首乌中差异化化学成分的相对含量变化

Fig. 9 Relative contents of different chemical constituents in *Polygoni Multiflori Radix* from different habitats

- [4] TIAN K, ZHANG H G, CHEN X G, et al. Determination of five anthraquinones in medicinal plants by capillary zone electrophoresis with beta-cyclodextrin addition[J]. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1 123(1): 134-137.
- [5] XU L Y, DONG Q, HU F Z, et al. Simultaneous quantitative determination of eight active components in *Polygonum multiflorum* Thunb. by RP-HPLC[J]. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, 2009, 18(4): 358-361.
- [6] 李帅锋, 郑传柱, 张丽, 等. 不同产地何首乌 HPLC 指纹图谱研究[J]. *中草药*, 2015, 46(14):

2 149-2 154.

LI Shuaifeng, ZHENG Chuanzhu, ZHANG Li, et al. HPLC fingerprint on roots of *Polygonum multiflorum* from different habitats[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2015, 46(14): 2 149-2 154(in Chinese).

- [7] 李帅锋, 郑传柱, 张丽, 等. 不同产地何首乌的质量评价[J]. *江苏中医药*, 2015, 47(8): 69-71.

LI Shuaifeng, ZHENG Chuanzhu, ZHANG Li, et al. Quality analysis of *Polygonum multiflorum* from different habitats[J]. *Jiangsu Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2015, 47(8):

- 69-71(in Chinese).
- [8] 李春雨,王张,王平,等. 基于代谢组学技术的中药效应物质基础及作用机制研究[J]. 中草药, 2013,44(7):918-922.
LI Chunyu, WANG Zhang, WANG Ping, et al. Therapeutic material basis and action mechanism of Chinese materia medica based on metabonomic technology[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2013, 44(7): 918-922(in Chinese).
- [9] 章斌,娄子洋. 液质联用技术在中药代谢物及代谢组学研究中的应用分析[J]. 第二军医大学学报, 2011,32(6):658-662.
ZHANG Bin, LOU Ziyang. Application of LC-MS technique in metabolite and metabonomic research of traditional Chinese medicine[J]. Academic Journal of Second Military Medical University, 2011, 32(6): 658-662(in Chinese).
- [10] 刘娟秀,罗益远,刘训红,等. 基于 UPLC-Triple TOF-MS/MS 技术分析苍耳子炒制前后的差异化学成分[J]. 质谱学报, 2017,38(1):157-168.
LIU Juanxiu, LUO Yiyuan, LIU Xunhong, et al. Differences of chemical composition in *Xanthii Fructus* before and after stir-frying by UPLC-Triple TOF-MS/MS[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2017, 38(1): 157-168(in Chinese).
- [11] 侯娅,马阳,邹立思,等. 基于 UPLC-Triple TOF-MS/MS 技术分析不同产地太子参的差异化学成分[J]. 质谱学报, 2015,36(4):329-366.
HOU Ya, MA Yang, ZOU Lisi, et al. Differences of chemical composition in *Pseudostellariae Radix* from different origins by UPLC-Triple TOF-MS/MS[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2015, 36(4): 329-366(in Chinese).
- [12] PLUMB R, STUMPF C, GRANGER J. Use of liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry and multivariate statistical analysis shows promise for the detection of drug metabolites in biological fluids[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2003, 17: 2 632-2 638.
- [13] 潘智然,梁海龙,梁朝晖,等. 基于诊断离子策略的超高压液相色谱-线性离子阱-轨道离子阱质谱联用技术解析中药虎杖的化学成分[J]. 色谱, 2015,33(1):22-28.
PAN Zhiran, LIANG Hailong, LIANG Chao-hui, et al. An ultra-high-liquid chromatography/linear ion trap-Orbitrap mass spectrometry method coupled with a diagnostic fragment ions-searching-based strategy for rapid identification and characterization of chemical components in *Polygonum cuspidatum* [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2015, 33(1): 22-28 (in Chinese).
- [14] XU W, ZHANG J, HUANG Z H, et al. Identification of new dianthrone glycosides from *Polygonum multiflorum* Thunb. using high-performance liquid chromatography coupled with LTQ-Orbitrap mass spectrometry detection: a strategy for the rapid detection of new low abundant metabolites from traditional Chinese medicines[J]. Analytical Methods, 2012, 4: 1 806-1 812.
- [15] ZHAN Y, KAO C P, CHANG Y S, et al. Quality assessment on *Polygoni Multiflori Caulis* using HPLC/UV/MS combined with principle component analysis[J]. Chemistry Central Journal, 2013, 7(1): 106.
- [16] 董静,王弘,万乐人,等. 高效液相色谱/电喷雾-离子阱-飞行时间质谱分析鉴定中药虎杖中的主要化学成分[J]. 色谱, 2009,27(4):425-430.
DONG Jing, WANG Hong, WAN Leren, et al. Identification and determination of major constituents in *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. by high performance liquid chromatography/electrospray ionization-iontrap-time-of-flight mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2009, 27(4): 425-430(in Chinese).
- [17] 颜世伦. 制何首乌的化学成分研究[D]. 天津:天津大学, 2014.
- [18] 孙晋苓,黄晓兰,吴惠勤,等. 液相色谱/离子阱质谱法研究何首乌中糖苷类化合物[J]. 天然产物研究与开发, 2009,21(5):806-812.
SUN Jinling, HUANG Xiaolan, WU Huiqin, et al. HPLC/IT-MS analysis of glycosides in *Radix Polygoni Multiflori* [J]. Natural Product Research and Development, 2009, 21(5): 806-812(in Chinese).
- [19] ZHU Z, LI J, GAO X, et al. Simultaneous determination of stilbenes, phenolic acids, flavonoids and anthraquinones in *Radix Polygoni multiflori* by LC-MS/MS[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2012, 62: 162-166.

- [20] LIANG Z T, CHEN H B, YU Z L, et al. Comparison of raw and processed *Radix Polygoni multiflora* (Heshouwu) by high performance liquid chromatography and mass spectrometry [J]. Chinese Medical Sciences Journal, 2010, 5: 29-37.
- [21] 徐文. 液质联用技术在两种中药成分分析中的应用[D]. 广州:广州中医药大学, 2015.
- [22] 高亮亮. 唐古特大黄、药用大黄和掌叶大黄的化学成分和生物活性研究[D]. 北京:北京协和医学院, 2012.
- [23] YI T, LEUNG K S Y, LU G H, et al. Identification and determination of the major constituents in traditional Chinese medicinal plant *Polygonum multiflorum* Thunb. by HPLC coupled with PDA and ESI/MS[J]. Phytochemical Analysis, 2007, 18(3):181-187.
- [24] 胥爱丽,董玉娟,陈昭,等. UPLC/Q-TOF MS 法对何首乌配方颗粒化学成分的快速分[J]. 中药材, 2015, 38(6):1 287-1 289.
- XU Aili, DONG Yujuan, CHEN Zhao, et al. Rapid identification of chemical components in polygonum multiflorum formula granules by UPLC/Q-TOF MS[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2015, 38(6): 1 287-1 289 (in Chinese).