

基于 UPLC - Q TOF MS 联合多元统计分析及分子网络的百合及卷丹化学成分差异性研究*

付钰^{1,2}, 王碧莹¹, 张欣亚¹, 荣晓庆¹, 陈随清^{1,3**}

(1. 河南中医药大学药学院, 郑州 450046; 2. 河南羚锐制药股份有限公司, 信阳 465550;

3. 河南中医药大学呼吸病协同创新中心, 郑州 450046)

摘要 目的: 采用超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱(UPLC - Q TOF MS)技术, 联合多元统计分析和分子网络分析, 解析百合及卷丹化学成分的差异性。方法: 采用 Agilent poroshell 120 EC - C₁₈ (100 mm × 2.1 mm, 2.7 μm) 色谱柱, 以乙腈(A) - 0.01% 甲酸水溶液(B)为流动相, 流速 0.3 mL · min⁻¹, 柱温 30 °C, 进样量 1 μL; 电喷雾离子源, 正、负离子模式检测, 扫描范围 *m/z* 80 ~ 1 100, 分析新鲜百合及卷丹样品。数据采集后进行化学轮廓分析, 首先运用主成分分析(PCA)比较二者化学轮廓差异性, 发现百合及卷丹在化学成分上存在明显差异。进而通过正交偏最小二乘法(OPLS - DA)结合单因素分析对百合和卷丹的差异化合物群进行筛选。最后, 以差异化合物群中各成分 MS/MS 碎片信息为依据, 通过 GNPS 平台构建分子网络, 并通过 Cytoscape 3.7.2 软件筛选结构相似的分子簇并绘制可视化网络图。通过对照品比对、网络数据库检索等方式鉴定各分子簇“种子”成分, 以“种子”成分为线索解析不同来源百合差异成分群结构组成。结果: 百合和卷丹主要在酚酸甘油酯、生物碱和皂苷成分群中存在差异, 其中生物碱类为百合的优势成分群, 而甾体皂苷类为卷丹的优势成分群。并通过分子网络在二者的差异成分群中鉴定出 31 个化合物, 其中包括酚酸甘油酯类 18 个、生物碱类 7 个及皂苷类成分 6 个。结论: 百合及卷丹在化学成分上存在较大差异, 差异成分对于药材的品质, 在复方中的功效和含复方临床疗效之间的关系还需进一步研究。本研究为百合的合理利用及精准开发提供数据参考, 也为中药化学成分表征及快速鉴别提供借鉴。

关键词: 百合; 卷丹; 液质联用; 多元统计; 分子网络; 成分差异

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793 (2024) 10 - 1699 - 14

doi: 10.16155/j.0254 - 1793.2023 - 0747

Multivariate statistical analysis combined with molecular networking to analysis the components between the bulbus of *Lilium lancifolium*

Thunb. and *L. brownii* F. E. Brown var. *viridulum* Baker*

FU Yu^{1,2}, WANG Bi - ying¹, ZHANG Xin - ya¹,
RONG Xiao - qing¹, CHEN Sui - qing^{1,3**}

(1. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. Henan Lingrui Pharmaceutical Company, Xinyang 465550, China; 3. Collaborative Innovation Center for Respiratory Disease Diagnosis and Treatment & Chinese Medicine Development of Henan Province, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

Abstract Objective: To explore the difference of chemical composition between the bulbus of *Lilium lancifolium*

* 河南省高等学校重点科研项目(24A360004); 河南省中医药科学研究专项课题重大专项(2022ZYZD18)

** 通信作者 Tel: (0371) 65676686; E - mail: suiqingchen@163.com

第一作者 Tel: (0371) 65676656; E - mail: fuyucpu@163.com

Thunb. and *L. brownii* F. E. Brown var. *viridulum* Baker, the chemical profile of Lili Bulbus was acquired by ultra-high performance liquid chromatography with quadrupole-time of flight mass spectrometry (UPLC-Q TOF MS), then the components of all samples was analyzed by chemometrics combined with molecular networking. **Methods:** The Agilent poroshell 120 EC-C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 2.7 μm) was adopted, and the mobile phase was acetonitrile-0.1% formic acid aqueous solution with gradient elution. The flow rate was 0.3 mL · min⁻¹, the column temperature was 30 °C and the injection volume was 1 μL. The mass spectra were acquired in the positive and negative modes in the mass range of *m/z* 80-1100. Principal component analysis (PCA), partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) and single factor analysis were used for screening the differential components. Then GNPS molecular network was created according to the similarity of MS/MS fragmentation modes. Cytoscape 3.7.2 software was used to screen molecular clusters with similar structures. **Results:** Phenolic acid glycerides, alkaloids and steroid saponins were screened as the differential components groups. Among these components, the bulbous of *Lilium lancifolium* Thunb. was rich in steroid saponins, while the bulbous of *L. brownii* F. E. Brown var. *viridulum* Baker was rich in alkaloids. Besides, 31 components, including 18 phenolic acid glycerides, 7 alkaloids and 6 steroid saponins were identified in the three differential components groups. **Conclusion:** This method can provide reference data for the quality control and pharmacodynamic substances of Lili Bulbus, and provide reference for the rapid qualitative analysis of chemical components of traditional Chinese medicine.

Keywords: bulbous of *Lilium lancifolium* Thunb.; bulbous of *L. brownii* F. E. Brown var. *viridulum* Baker; UPLC-MS; multivariate statistical analysis; molecular networking; composition differences

百合为我国药食同源中药,具有养阴润肺,清心安神的功效。其药用历史悠久,为多首古代经典名方的重要组成药物。2020年版《中华人民共和国药典》记载百合来源于百合科植物卷丹 *Lilium lancifolium* Thunb.、百合 *L. brownii* F. E. Brown var. *viridulum* Baker 或细叶百合 *L. pumilum* DC. 的肉质鳞叶。由于百合来源复杂,故在经典名方的开发中其来源的确定一直存在争议。本草研究发现^[1-5],百合自古以来来源较多,其中卷丹 *Lilium lancifolium* Thunb. 和百合 *L. brownii* F. E. Brown var. *viridulum* Baker 的肉质鳞茎均曾作为主要药用来源,但二者在形态、地理分布及性味等方面存在较明显差异。故需要系统研究二者化学成分的异同,进而明确卷丹和百合在现代高品质中药制剂研发中能否等同入药。

卷丹和百合均含有多糖类、酚酸甘油酯类、甾醇类、黄酮类、苯丙素类、皂苷类等成分^[6-7]。已有研究表明,卷丹和百合在皂苷及酚酸甘油酯的种类和含量上有较大差异^[8-10]。但现有许多研究多针对卷丹和百合中1种或者几种化学成分,缺乏整体性比较。虽然也有研究从化学轮廓方面比较多个来源百合的差异^[11],但缺乏针对经典名方用药特点的卷丹和百

合系统的化学成分比较。

超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q TOF MS)技术具有高分辨、高灵敏度的特点,是天然产物识别、鉴定的常用分析方法之一^[12]。该技术结合主成分分析等多种多元统计分析方法能够从整体层面阐明不同样本间化学成分的差异,并已广泛地用于中药质量评价研究中^[13-15]。虽然,Q TOF MS技术其能够提供大量的化合物分子量信息,为中药复杂体系中各类化学成分的识别提供依据,但如何解析这些复杂的数据仍是中药未知成分鉴定的一项难题。近年来,基于全球天然产物分子网络集群数据库(Global Natural Products Social Molecular Networking,GNPS)平台的分子网络(molecular networking)分析为复杂基质化合物的识别提供了新的思路和角度。分子网络根据相关化合物的二级质谱碎片的相似性,将同一类化合物分子聚集在一个分子网络中,根据网络中已知成分的结构,可推断未知化学成分的类型及结构^[16]。多项研究表明,该技术的应用能够加速对天然药物中未知成分群的指认^[17-18]。

本研究遵循百合传统用药方式,采用Q TOF

MS 对卷丹和百合的化学成分进行检测并绘制其化学轮廓图,采用多种化学计量学手段筛选二者差异成分群,依据差异成分群各化合物二级质谱图相似性,构建分子网络,解析卷丹和百合的差异成分群,为含有百合的高品质中药现代制剂的研发提供依据。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1290 型超高效液相色谱仪(Agilent Technologies 公司);Agilent 6546 型四极杆飞行时间质谱仪(Agilent Technologies 公司);冷冻离心机(Thermo Fisher 公司);水浴锅(常州国华仪器有限公司)。

1.2 试剂

乙腈、甲醇(色谱纯,Merck 公司);甲酸(色谱纯,阿拉丁试剂有限公司);纯水(屈臣氏公司);王百

合苷 A、王百合苷 B、王百合苷 C、王百合苷 E、王百合苷 F、王百合苷 H、澳洲茄碱(上海源叶科技有限公司,生产批号分别为 B27791、B27371、B27372、B27373、B22151、B22161、B20019),以上对照品纯度采用 HPLC 面积归一化法计算,纯度均 >95%。

1.3 实验药材

8 批新鲜百合 *Lilium brownii* F. E. Brown var. *viridulum* Baker 鳞茎分别采于江西省宜春市及湖南省邵阳市。9 批新鲜卷丹 *Lilium landfolium* Thunb. 鳞茎分别采于江苏宜兴市及湖南土家族苗族自治州。样品经河南中医药大学药学院陈随清教授鉴定分别为卷丹 *Lilium lancifolium* Thunb. 和百合 *L. brownii* F. E. Brown var. *viridulum* Baker 新鲜的肉质鳞茎。新鲜百合及卷丹采收后以吸水纸包裹,置于 4 °C 冰箱保存备用。样品信息如表 1 所示。

表 1 卷丹及百合样品信息

Tab. 1 Information of Lili Bulbus samples

批号 (sample No)	来源 (origin)	采收地 (habitat)	采收时间 (harvesting time)
XXLY-1	百合(<i>Lilium brownii</i>)	江西宜春市万载县(Wanzai, Yichun, Jiangxi)	2021-08-03
XXLY-2	F. E. Brown var. <i>viridulum</i>	江西宜春市万载县(Wanzai, Yichun, Jiangxi)	2021-08-03
XXLY-3	Baker)	江西宜春市万载县(Wanzai, Yichun, Jiangxi)	2021-08-03
XXLY-4		江西宜春市万载县(Wanzai, Yichun, Jiangxi)	2021-09-06
XXLY-5		江西宜春市万载县(Wanzai, Yichun, Jiangxi)	2021-09-06
XXLY-6		江西宜春市万载县(Wanzai, Yichun, Jiangxi)	2021-09-06
XXLY-7		湖南省邵阳市隆回县(Longhui, Shaoyang, Hunan)	2021-09-20
XXLY-8		湖南省邵阳市隆回县(Longhui, Shaoyang, Hunan)	2021-09-20
XXJD-1	卷丹(<i>Lilium lancifolium</i>	江苏省宜兴市(Yixing, Jiangsu)	2021-09-05
XXJD-2	Thunb.)	江苏省宜兴市(Yixing, Jiangsu)	2021-09-05
XXJD-3		湖南省湘西土家族苗族自治州龙山县(Longshan, Xiangxi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Hunan)	2021-09-19
XXJD-4		湖南省湘西土家族苗族自治州龙山县(Longshan, Xiangxi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Hunan)	2021-09-19
XXJD-5		湖北省恩施市来凤县(Laifeng, Enshi, Hubei)	2021-09-25
XXJD-6		湖北省恩施市来凤县(Laifeng, Enshi, Hubei)	2021-09-25
XXJD-7		湖南省湘西土家族苗族自治州龙山县(Longshan, Xiangxi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Hunan)	2021-09-19
XXJD-8		湖北省恩施市宣恩县(Xuanen, Enshi, Hubei)	2021-09-25
XXJD-9		湖南省湘西土家族苗族自治州龙山县(Longshan, Xiangxi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Hunan)	2021-09-19

2 方法

2.1 溶液的制备

2.1.1 供试品溶液 各批次新鲜样品洗净,剥取鳞片,迅速切成 2 mm 小块,精密称取 10 g,置于

200 mL 圆底烧瓶中(该过程 15 min 内完成),精密加入蒸馏水 100 mL,称量,100 °C 水浴回流 2 h,放冷,再称量,用蒸馏水补足减失的量,8 000 r · min⁻¹ 离心 20 min,过滤,取上清,用 0.22 μm 微孔滤膜过滤。取

滤液 1 mL 至固相萃取小柱 (Selectcore HLB 固相萃取柱, 纳谱分析技术有限公司), 先以 20% 甲醇 - 水 2 mL 洗脱, 弃去洗脱液, 后以甲醇 0.5 mL 洗脱, 收集甲醇洗脱液, 即得。

2.1.2 对照品储备液 精密称取王百合苷 A、王百合苷 B、王百合苷 C、王百合苷 E、王百合苷 F、王百合苷 H、澳洲茄碱的对照品适量, 加 50% 甲醇溶解, 配制成质量浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品储备液, 于 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用, 临用时稀释。

2.1.3 质控(QC)样品溶液制备及运行 分别取 17 批药材的供试品溶液各 0.1 mL, 混匀后备用。在检测过程中每检测 4 个样品运行 1 次 QC 样品溶液, 采集样品前及结束后各运行 2 次 QC 样品溶液, 以保证整个分析系统的稳定性。

2.2 UPLC - Q TOF MS 检测条件

2.2.1 色谱条件 采用 Agilent poroshell 120 EC - C_{18} (100 mm \times 2.1 mm, 2.7 μm) 色谱柱, 以乙腈(B) - 0.1% 甲酸溶液(A) 为流动相, 梯度洗脱 (0 ~ 3 min, 5%B; 3 ~ 17 min, 5%B \rightarrow 30%B; 17 ~ 25 min, 30%B \rightarrow 100%B; 25 ~ 27 min, 100%B), 流速 $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温 $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 进样量 $1 \mu\text{L}$ 。

2.2.2 质谱条件 采用 ESI 离子源, 正、负离子模式扫描, 毛细管电压为 3.5 kV (正离子模式) 和 4.0 kV (负离子模式), 脱溶剂气体为氮气, 气流量 $9 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$, Sneath gas 温度 $350 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 离子源温度为 $320 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 扫描范围 m/z 80 ~ 1 100, 扫描频率为每秒扫描 2 个光谱, 碰撞气体为氩气。质谱数据采集及处理软件为 Agilent Masshunter 工作站。以 Auto target MS/MS 及 Target MS/MS 模式采集二级质谱, 裂解电压为 25 ~ 65 V。

2.3 数据处理

将各样品采集的数据通过 Agilent profinder 软件进行数据处理, 如峰对齐、降噪、峰提取、归一化等。将处理后的数据导入 SIMCA - P 14.1 软件进行主成分分析 (PCA) 及正交偏最小二乘判别法分析 (OPLS - DA)。通过 OPLS - DA 模型置换验证确定模型的可信度后, 根据变量对分组贡献值 VIP 的大小, 筛选出 $\text{VIP} \geq 1.5$ 的化合物。同时将数据导入 Agilent Mass Profiler Professional (MPP, Agilent Technologies) 软件进行 t 检验及差异倍数分析, 最终选取 $\text{VIP} \geq 1.5$ 、 $P < 0.05$ 且差异倍数 $\text{fold change} > 2$ 的成分作为显著差异性成分。

2.4 GNPS 分子网络构建

正、负离子模式下卷丹及百合按“2.1.1”项方法制备的供试品的质谱数据先通过 MS Convert 软件转换为 mzML 格式, 将数据上传至 GNPS (<https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/static/gnps-splash.jsp>) 网站, 构建 GNPS 网络。参数设置如下: Precursor Ion Mass Tolerance 和 Fragment Ion Mass Tolerance 的质量误差均为 0.02 Da, Min Pairs Cos 0.7, Minimum Matched Fragment Ions 6。其余参数均选择默认值, 计算结构用 Cytoscape 3.7.2 软件进行可视化分析。

3 结果

3.1 卷丹及百合化学轮廓分析

各批次样品的供试品溶液经过 UPLC - Q TOF MS 分析后得总离子流图 (图 1)。由 8 个 QC 样品分别在正 (左) 及负 (右) 离子模式下的总离子流叠加图 (图 1 - A) 可知, 8 个 QC 样品可较好地重叠, 说明数据采集过程中分析方法及仪器稳定, 数据可靠。通过化学轮廓对比, 能够直观地观察到卷丹及百合在 a、b 及 c 3 个区域的化学成分数量和种类存在差异。a 区域内卷丹及百合在正、负模式下均有明显的色谱峰, 但在正离子模式下各化合物 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 峰不明显, 不易进行化学结构解析。而在负离子模式下均出现较为稳定的 $[\text{M} - \text{H}]^-$ 峰, 并具有较为丰富而稳定的二级质谱碎片。但卷丹和百合在该区域的色谱峰种类和强度有所不同。b 区域内, 正离子模式下, 百合有较为明显的峰响应, 且在 45 V 电压下能够产生较为丰富的碎片, 而卷丹在此区域内未见明显色谱峰。负离子模式下二者在 b 区域均未有明显的色谱峰。c 区域内百合在正、负离子模式下, 未见明显峰相应。而卷丹在该区域内正、负离子模式下都存在明显的色谱峰, 且在负离子模式下可检测到 $[\text{M} - \text{H}]^-$ 峰及 $[\text{M} + \text{CH}_3\text{COO}]^-$ 的加合峰。

3.2 卷丹及百合化学成分差异性分析

为进一步分析卷丹和百合的差异性, 们分别采用单因素分析和主成分分析方法对二者的差异性进行初探。将所有原始数据导入 Agilent profinder 软件进行数据的提取、清洗、标准化等处理后, 在正离子模式下得到 3 756 个化合物, 负离子模式下得到 1 578 个化合物。首先利用单因素分析绘制不同离子模式下 2 种百合化学成分火山图, 通过 t 检验和差异倍数分析法对化合物组间差异进行分析, 得出各化合物在 2 种来源百合间的 P 及 fold change 值。如图 2 火山图所示,

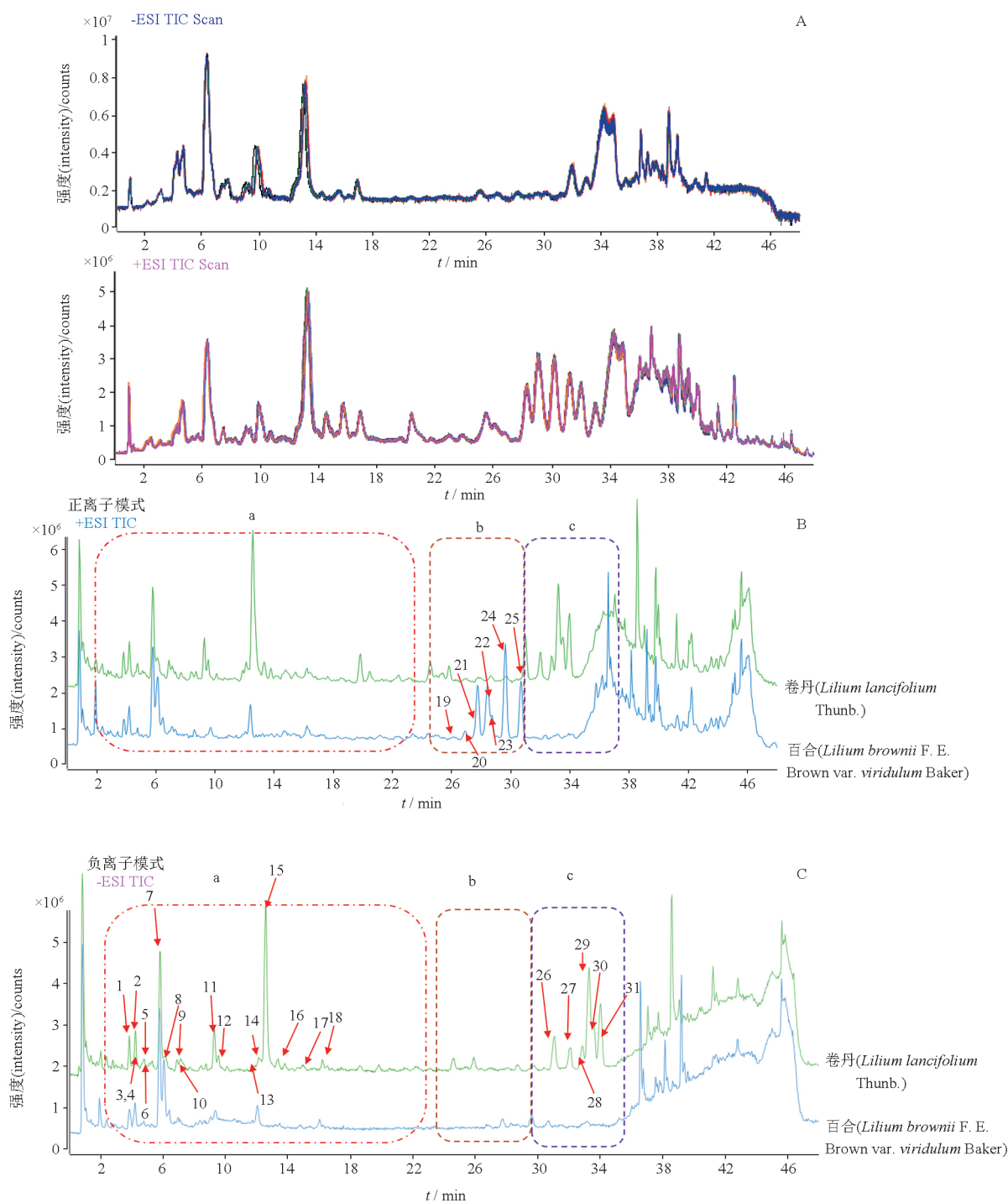
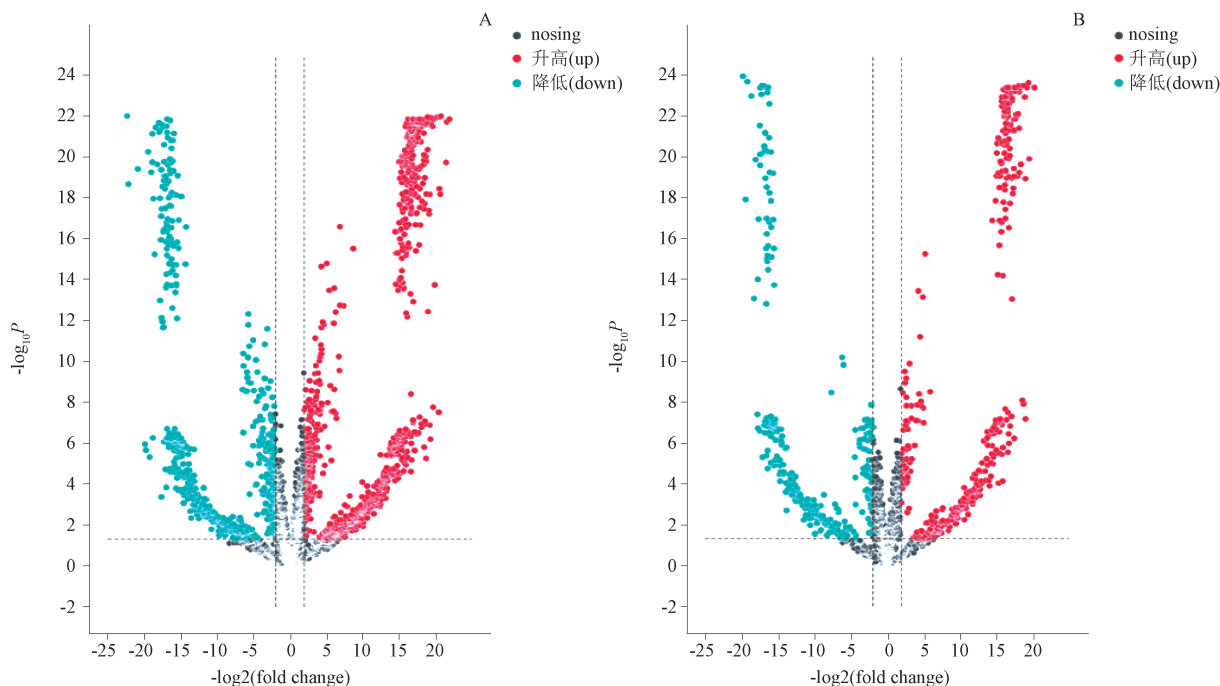


图 1 QC 样品总离子流叠加图(A)、百合及卷丹正离子模式(B)及负离子模式(C)总离子流图

Fig. 1 Overlay total ion chromatograms of QC sample (A) and total ion chromatograms of *Lilium brownii* F. E. Brown var. *viridulum* Baker and *Lilium lancifolium* Thunb. in positive (B) and negative (C) modes

横坐标为“ $\log_2(\text{fold change})$ ”,纵坐标为“ $-\log_{10}P$ ”。红色点代表卷丹较百合中升高的变量,且满足 $\text{fold change} > 2$ 同时 $P < 0.05$;蓝色点代表卷丹较百合样品降低的变量,且满足 $\text{fold change} < -2$ 同时 $P < 0.05$ 。从

图中可知,在正离子模式下,卷丹有 1 199 个成分峰面积显著高于百合,853 个成分峰面积显著低于百合;在负离子模式下,卷丹有 519 个成分峰面积高于百合,有 413 个成分峰面积低于百合。



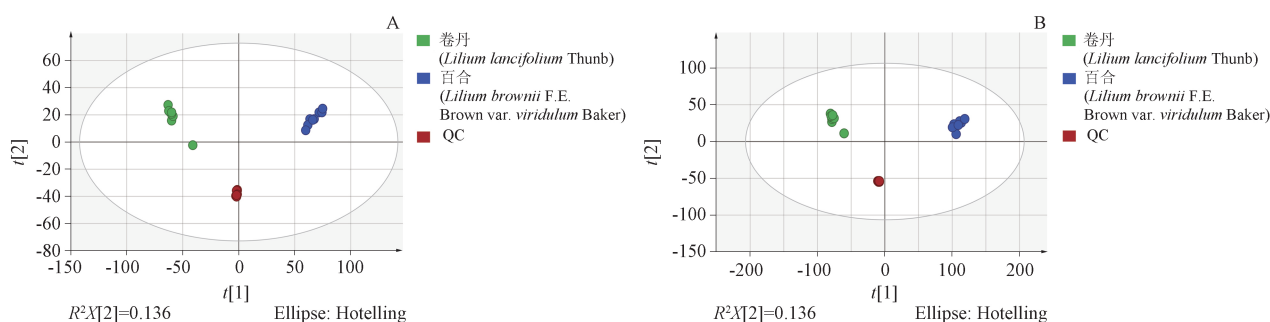
A. 正离子(positive mode) B. 负离子(negative mode)

图2 百合和卷丹化学成分单因素分析火山图

Fig. 2 Volcano plots of the differential components in bulbous of *Lilium lancifolium* Thunb. and *L. brownii* F. E. Brown var. *viridulum* Baker

PCA 分析可从整体层面展示卷丹和百合的差异性。通过 SIMCA - P 14.1 软件对各批次样品正、负离子模式下数据进行 PCA 分析。如图 3 所示,在正、负离子模式下,QC 样品均能较好的聚合,说明数据采集、化合物提取过程稳定。在正离子模式下,得到 2 个主成分,其中,第一主成分解释了 63.3% 的变量

信息,第二主成分解释了 5.83% 的变量信息;负离子模式下,得到 2 个主成分,其中,第一主成分解释了 59.7% 的变量信息,第二主成分解释了 6.33% 的变量信息。从正、负离子模式下 PCA 图可知,百合和卷丹有较为明显的分离,说明 2 种药材的水提物在化学成分组成上存在较大差异。



A. 负离子(negative mode) B. 正离子(positive mode)

图3 新鲜百合及新鲜卷丹 PCA 图

Fig. 3 PCA plot of fresh bulbous of *Lilium lancifolium* Thunb. and *L. brownii* F. E. Brown var. *viridulum* Baker

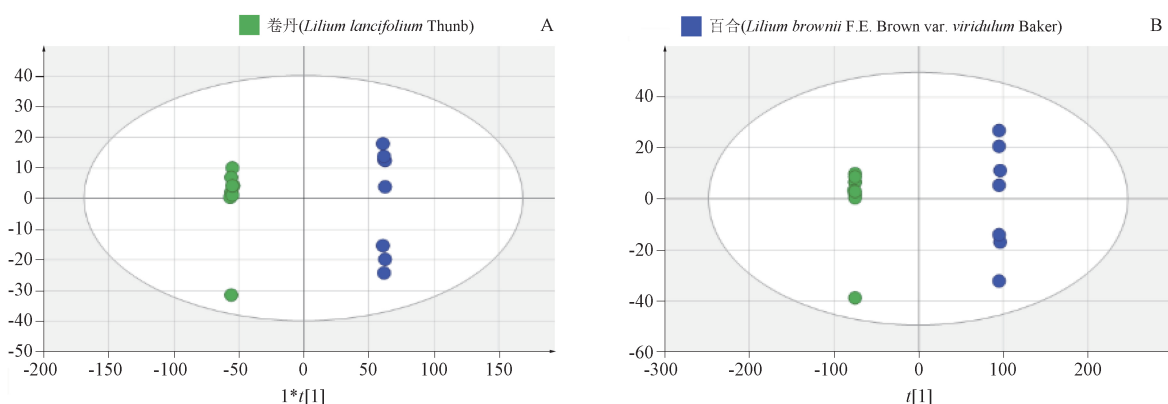
3.3 卷丹及百合差异化合物群的筛选及鉴定

3.3.1 正交偏最小二乘分析 正交偏最小二乘分析(OPLS - DA)属于有监督的分析方法。在分析数据时,已知样本分组关系,能更好地区分各组

间特征变量,获得组间差异信息。如图 4 所示,百合及卷丹样品在正离子模式下有较好的区分,且 $R^2X = 0.705, R^2Y = 0.99, Q^2 = 0.994$;负离子模式下亦有较好的区分,且 $R^2X = 0.735, R^2Y = 0.99$,

$Q^2 = 0.993$ 。同时,分别对正、负离子 OPLS - DA 模型参数 R^2 和 Q^2 进行了 200 次的置换验证, Q^2 和 R^2 的最终值接近 1, 说明模型建立有效。图 4 所

示,在正、负离子模式下,卷丹和百合均各自聚集,分为明显的 2 类,且与 PCA 结果相似,进一步证明二者的差异性。



A. 负离子(negative mode) B. 正离子(positive mode)

图 4 新鲜百合及新鲜卷丹 OPLS - DA 图

Fig. 4 OPLS - DA plot of fresh bulbous of *Lilium lancifolium* Thunb. and *L. brownii* F. E. Brown var. *viridulum* Baker

差异化合物采用多变量 OPLS - DA 模型前 2 个主成分的 $VIP \geq 1.5$, 结合单因素分析 $\text{fold change} > 2$ 和 $P < 0.05$ 三者取交集, 得到共有的差异化合物。结果发现, 在正离子模式下, 与百合相比, 卷丹有 656 个上调差异化合物, 411 个下调差异化合物; 在负离子模式下, 与百合相比, 卷丹有 268 个上调差异化合物, 197 个下调差异化合物。通过分析差异成分的保留时间, 发现差异成分主要分布于 a、b 和 c 3 个区域内。

3.3.2 基于 MS/MS 关联的分子网络分析卷丹和百合的差异成分群

GNPS 分子网络平台是基于化合物的二级质谱碎片模式相似性创建分子网络的公共平台, 通过计算每个化合物二级质谱碎片的相似性关系来创建一个可视化的网络图^[19]。本部分结合化学计量学结果, 运用分子网络的聚类信息对卷丹及百合的差异成分群进行分析。

在负离子模式下, 根据化合物保留时间, 围绕化学轮廓中 a 区域和 c 区域生成 2 个化学成分群类。a 区域以酚酸甘油酯类成分为主(图 5 - A 所示), 包括 15 个化合物, 其中 5 个成分经对照品对比分别鉴定为王百合苷 A、B、C、E、F、H, 可将其作为“种子”成分。本研究首先对“种子”成分质谱裂解行为进行研究, 如王百合苷 E(图 5 - B 所示), 二级质谱图谱显示其分子离子峰为 m/z 457.13 $[M - H]^-$, m/z 457.13 $[M - H]^-$ 结构中 $C1'''$ 位酯键断裂形成 m/z

415.12 $[M - H - CH_3CO]^-$, 进一步脱水形成 m/z 397.14 $[M - CH_3CO - H_2O]^-$ 。同时, 分子离子峰 m/z 457.13 $[M - H]^-$ 失去 1 分子葡萄糖形成 m/z 277.07 $[M - H - glu]^-$, m/z 277.07 $[M - H - glu]^-$ 中 $C1 - O$ 键断裂(如图所示)形成 m/z 179.03 的碎片离子, 进而脱水形成 m/z 161.02 的碎片离子。同时, m/z 277.07 的碎片离子亦通过 $C8' - C9'$ 断裂形成 m/z 135.045 的碎片离子。通过对“种子”成分裂解规律总结, 发现连续脱水、酯键断裂等为该类成分的特征裂解途径, 并多产生 m/z 179.03、 m/z 161.02、 m/z 135.04、 m/z 163.03、 m/z 119.05 等征离子。在 a 区域分子网络中, 未知 9 个成分均获得了高质量的一级及二级图谱, 通过相似的裂解途径及特征离子与“种子”成分相关联。如图 5 - A 所示, 其中关联线的宽度代表其与临近成分的相关程度。通过各化合物之间的质量位移(mass difference)可知, 各化合物之间主要存在糖基团、羰基基团、甲基基团等差异, m/z 237.078 的化合物与王百合苷 H 或 A 相差 1 个葡萄糖基团(m/z 162.05), m/z 603.196 的化合物在王百合苷 B 的基础上增加 1 个分子葡萄糖, 而 m/z 561.18 的化合物与 m/z 603.196 的化合物相差 1 个羰基基团。通过关联度分析, 可推测其皆为潜在的酚酸甘油酯类成分。从化合物节点饼状图(红色和蓝色分别代表节点成分在卷丹及百合样品中的平均响应)可知, 该类成分在卷丹和百合中的分布存在较明显

差异。其中王百合苷 B、E、F 以及 m/z 325.09、 m/z 603.19 的化合物为卷丹的优势成分,而王百合苷 A、H 为百合的优势成分。结合前期化学计量学结果

发现王百合苷 B、E 以及 m/z 325.09、 m/z 603.19 的化合物在 2 个来源存在较大差异 (VIP > 1.5 且 fold change > 2, $P < 0.05$), 可作为卷丹及百合差异标志物。

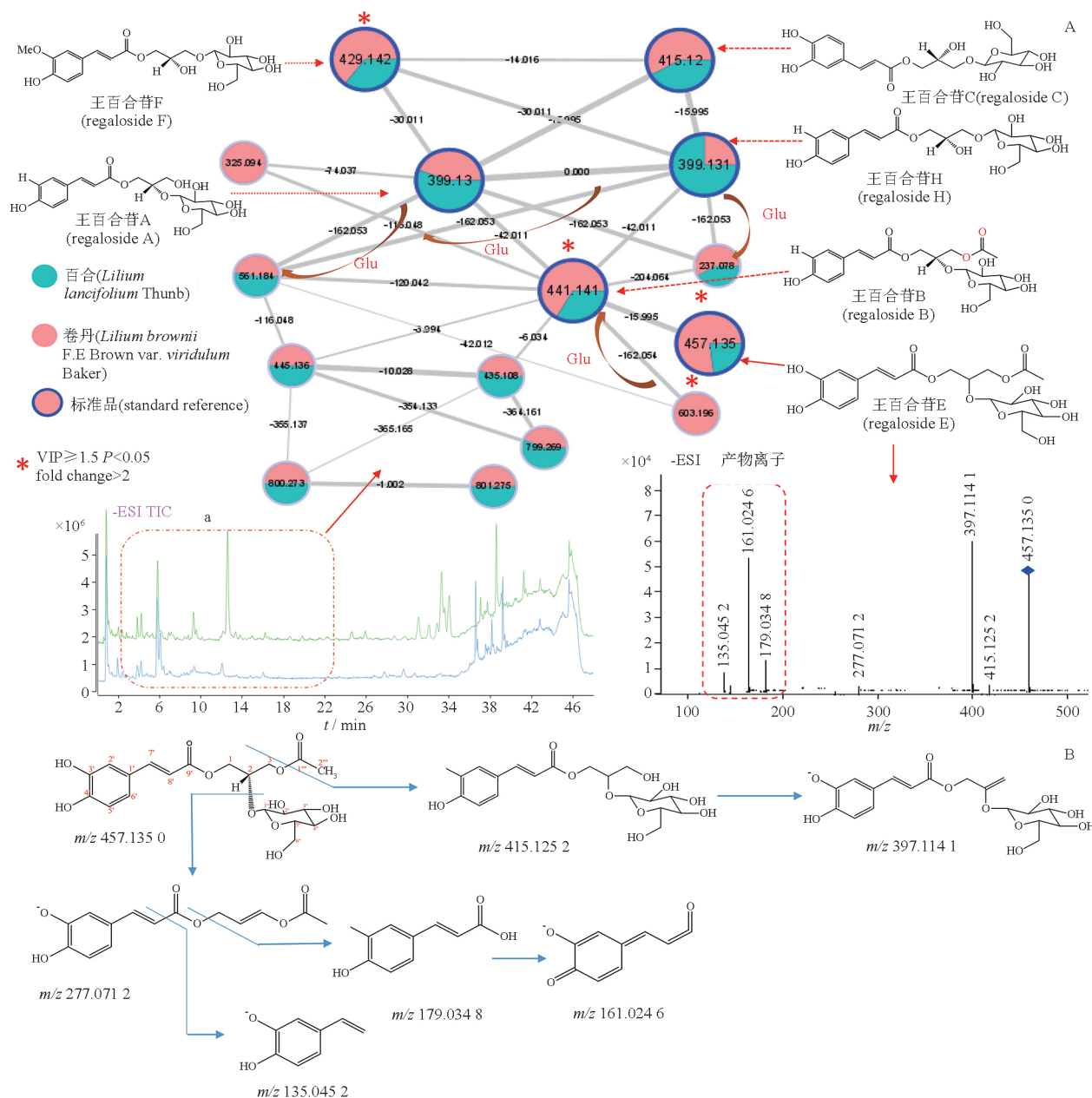


图 5 酚酸甘油酯类成分分子网络图 (A) 及王百合苷 E 质谱裂解途径 (B)

Fig. 5 Molecular networking diagram of phenolic acid glycerides (A) and fragmentation pathway of regaloside E (B)

c 区域集中为 14 个较大分子量 (>900) 化合物 (图 6), 由于缺少此类成分的对照品, 其结构信息主要通过数据库及文献检索获得。根据文献^[20]可推测, m/z 899.465、 m/z 901.481 和 m/z 903.495 的化合物为甾体皂苷类成分。通过质量位移可知, 未知成分与推

测成分裂解途径和特征离子相似, 但存在甲基、 H_2O 及羧基等基团的差异, 可推断此化合物群主要为甾体皂苷类成分。从各化合物在卷丹和百合的分布可知, 甾体皂苷类成分在卷丹中的含量明显高于百合, 化学计量学分析也显示多个化合物在卷丹和百合间存在显著差异。

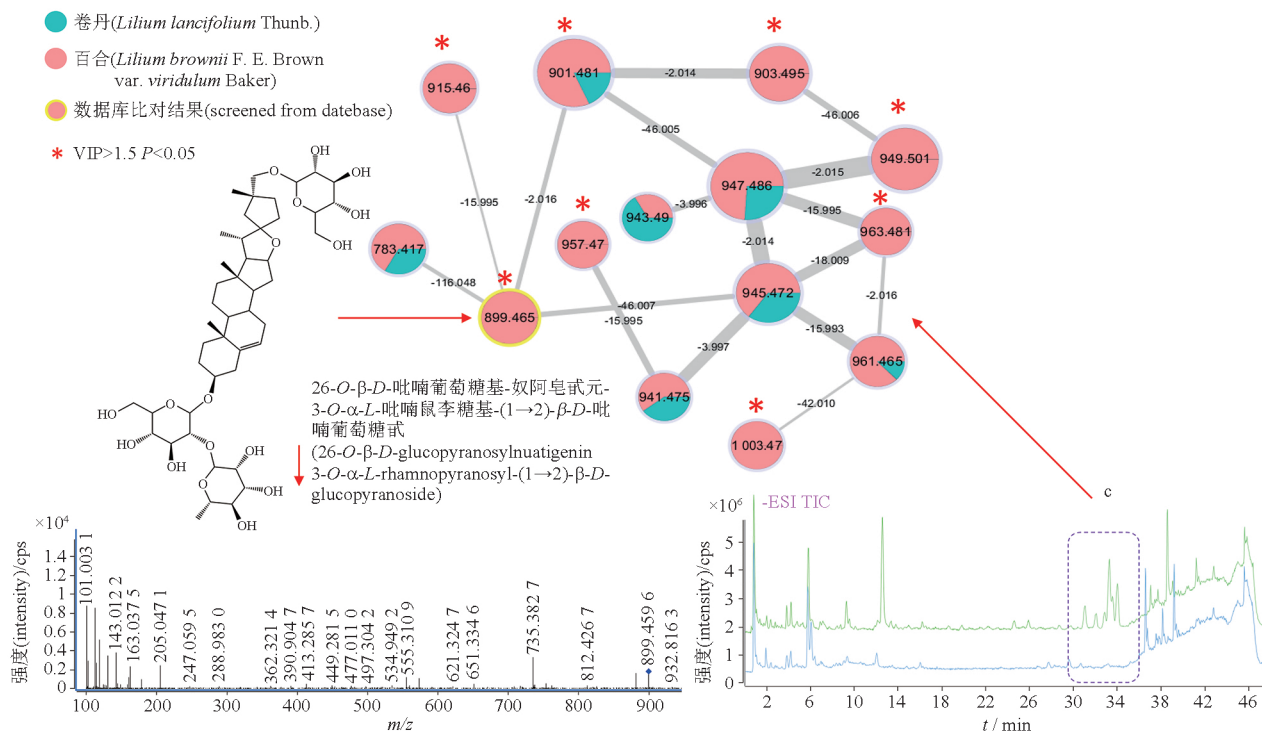


图6 甾体皂苷类成分分子网络图

Fig. 6 Molecular networking diagram of steroid saponins

同理,在正离子模式下,b区域的14个化合物聚为一类。此类化合物分子离子峰的质荷比值皆为偶数,根据氮律可知该类化合物为一系列含有奇数个氮元素的化合物(图7)。通过对照品比对鉴定出 m/z 884.50 $[M+H]^+$ 为澳洲茄碱的分子离子峰,故将其作为“种子”节点进行质谱裂解规律分析。一级质谱图显示在正离子模式下,澳洲茄碱产生明显的 m/z 884.50 $[M+H]^+$ 峰,二级质谱图显示分子离子 $[M+H]^+$ 脱去1个分子 H_2O 形成 m/z 866.48 $[M+H-H_2O]^+$,进一步脱去1分子鼠李糖形成 m/z 720.42 的碎片离子,进而脱去2个分子葡萄糖形成 m/z 414.3174 的苷元结构碎片峰。苷元碎片通过脱去2个分子 H_2O 形成 m/z 378.29 的碎片离子,进一步失去含氮基团形成 m/z 253.17 及 m/z 126.1058 的碎片离子。从分子网络图中可知,样品中存在多个澳洲茄碱同分异构体。 m/z 886.51 的未知成分与澳洲茄碱分子离子峰的质荷比相差2,通过二级质谱数据对比,发现二者有相似的裂解行为且二级碎片离子质量皆相差2,为2个原子H。故推测 m/z 886.51 的化合物包含澳洲茄碱B环的饱和结构,且也存在多个同分异构体。 m/z 722.44 及 m/z 724.46 的化合物与澳洲茄碱有相似的裂解途径,二者分别

与 m/z 884.5 的化合物、 m/z 886.5 的化合物的质荷比相差162.05(1个分子葡萄糖)。故推测 m/z 722.44 及 m/z 724.46 的化合物及其同分异构体与澳洲茄碱具有类似的结构,而在糖取代基的数量和位置有所差异。通过以上分子网络分析可判断,该化学成分群为与澳洲茄碱结构相似的生物碱类成分。通过分析该类结构在卷丹和百合中的分布,可知生物碱在百合中占明显优势,结合多元统计分析结果可将此类结构作为潜在的百合特征性成分群。

依据质谱信息及分子网络分析,从3个化学成分群中共鉴定出31个化学成分,如表2所示。

4 讨论

本研究基于UPLC-Q TOF MS结合多元统计及分子网络分析探讨卷丹及百合化学成分的差异。通过单因素分析、PCA及OPLS-DA筛选出2种药材的差异成分群。进而根据各化合物二级质谱的相似性,通过GNPS平台构建分子网络,解析二者化学成分簇的结构,探寻不同来源百合的潜在的差异标志物。

4.1 药材提取方式

百合自古用法较多,包括生用(鲜用及干用)、炒用、蒸用等。其中,《金匱要论》《伤寒总病论》等皆有其鲜用的记载,其鲜品多以水煎煮入汤剂,如百合

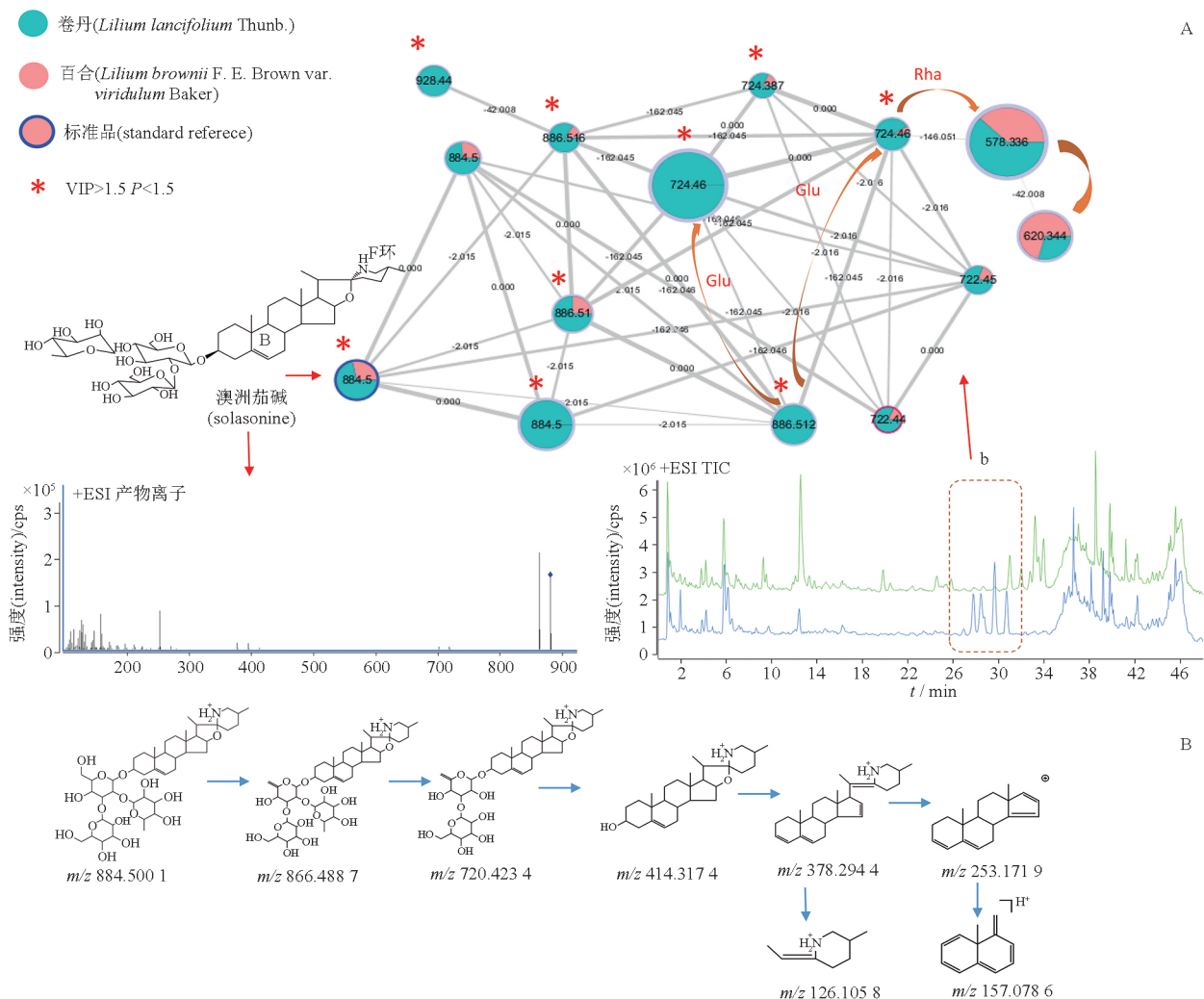


图 7 生物碱类成分分子网络图 (A) 及澳洲茄碱质谱裂解途径 (B)
 Fig. 7 Molecular networking diagram of alkaloids (A) and the fragmentation pathway of solamargine (B)

地黄汤中记载“以水洗百合，渍一宿，当白沫出，去其水，更以泉水二升，煎取一升”。为最大限度还原传统汤剂成分，且保证试验的精确性，故本研究采用回流提取法制备新鲜百合及卷丹样品。

4.2 样品前处理

前期研究发现卷丹及百合回流提取物中含有大量糖类极性成分。此类成分在反相色谱中保留较差，且不易体现二者的差异性。文献报道卷丹和百合在酚酸甘油酯等非极性成分的种类及含量上存在差异，故本实验采用固相萃取法富集非极性成分。首先考察纯水、10% 甲醇-水、20% 甲醇-水对极性成分洗脱能力，结果发现与纯水和 10% 甲醇-水相比，20% 甲醇-水能够最大限度去除极性成分的同时保留非极性目标成分。故最终采用 20% 甲醇-水

作为洗脱剂除去非目标成分，并以 100% 甲醇对目标成分进行富集。

4.3 不同批次样品差异性

本研究收集的 8 批次百合分别产自江西和湖南两省，9 批次卷丹分别产自湖南、湖北及江苏三省。通过 PCA 发现，百合和卷丹种间化学成分的差异明显大于种内差异。其中在 8 批次百合中，负离子模式下的 PCA 发现 XXLY1 (江西万载县)、XXLY10 (湖南隆回县)、XXLY11 (湖南隆回县) 3 批样品更为接近，推测湖南和江西地理环境会影响百合化学成分。在 9 批次卷丹样品中，除 XXJD3 (江苏宜兴) 外，其他产地样品均聚合较为紧密，说明产地因素对卷丹化学成分未产生明显影响。同时，文献报道^[21]，湖南产卷丹为江苏宜兴引种品种，故两产地卷丹化学成分

表 2 百合及卷丹化学成分质谱信息

 Tab. 2 Identification of chemical constituents of the bulbous of *Lilium brownii* F. E. Brown var. *viridulum* Baker and *Lilium landfolium* Thunb. by UPLC-Q TOF MS

化合物 编号 (compound No.)	t_R / min	质荷比 (m/z)	离子 形式 (ion form)	分子式 (formula)	碎片离子 (fragment ion)	推测结构 (identified constituent)	峰面积(peak area)		类别 (type)
							卷丹(<i>Lilium lanceifolium</i> Thunb.)	百合(<i>Lilium brownii</i> F. E. Brown var. <i>viridulum</i> Baker)	
1*	4.24	415.125 2	[M-H] ⁻	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₁	253.092 7, 235.060 9, 179.035 0, 161.024 4, 135.045 1	王百合苷 C (regaloside C)	2 961 333	530 733	酚酸甘油酯(phenolic acid glycerides)
2	4.60	399.129 1	[M-H] ⁻	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₀	253.093 4, 163.040 0, 145.029 4, 119.050 0	王百合苷 D (regaloside D)	3 727 300	2 903 925	酚酸甘油酯(phenolic acid glycerides)
3	4.72	561.183 2	[M-H] ⁻	C ₂₄ H ₃₄ O ₁₅	339.128 6, 354.544 8, 163.040 5, 145.029 3	1-O-p-香豆酰-二阿魏酰蔗糖苷(1-O-p- p-coumaroyl-diferuloylsucrose)	463 553	218 058	酚酸甘油酯(phenolic acid glycerides)
4	4.78	325.092 8	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₈ O ₈	161.061 1, 145.030 3, 119.049 7	1-O-p-香豆酰-葡萄糖苷(1-O-p- coumaroyl-glucopyranose)	380 361	ND	酚酸甘油酯(phenolic acid glycerides)
5*	5.24	399.130 2	[M-H] ⁻	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₀	253.092 9, 219.066 1, 163.040 1, 145.029 6, 119.050 3	王百合苷 H (regaloside H)	88 458	167 740	酚酸甘油酯(phenolic acid glycerides)
6	5.89	237.036 8	[M-H] ⁻	C ₁₂ H ₁₃ O ₅	163.041 3, 145.049 6	1-O-香豆酰甘油(1-O-Coumaroylglycerol)	155 809	134 896	酚酸甘油酯(phenolic acid glycerides)
7*	5.98	399.129 8	[M-H] ⁻	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₀	253.092 7, 163.040 3, 145.029 6, 119.050 3	王百合苷 A (regaloside H)	15 690 398	19 267 056	酚酸甘油酯(phenolic acid glycerides)
8	6.12	399.129 0	[M-H] ⁻	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₀	253.092 6, 237.077 0, 163.040 2, 145.029 6	王百合苷 A 同分异构体(isomer of regaloside H)	702 529	3 939 020	酚酸甘油酯(phenolic acid glycerides)
9	6.56	163.040 1	[M-H] ⁻	C ₉ H ₈ O ₃	119.050 0	对香豆酸(4-coumaric acid)	1 531 533	865 436	酚酸甘油酯(phenolic acid glycerides)
10*	6.85	429.140 6	[M-H] ⁻	C ₁₉ H ₂₆ O ₁₁	249.076 4, 193.050 6, 175.039 8	王百合苷 F (regaloside F)	888 762	276 220	酚酸甘油酯(phenolic acid glycerides)
11*	9.87	457.135 8	[M-H] ⁻	C ₂₀ H ₂₅ O ₁₂	457.135 5, 415.125 0, 397.114 6, 179.035 2, 161.024 7	王百合苷 E (regaloside E)	3 981 610	865 436	酚酸甘油酯(phenolic acid glycerides)
12	10.05	603.193 8	[M-H] ⁻	C ₂₆ H ₃₆ O ₁₆	381.121 1, 163.040 5, 145.029 9, 136.319 7	1-香豆酰-2-阿魏酰-3-O-乙酰甘油(1- O-p-coumaroyl-2-diferuloylsucroyl-3-O- acetylglycerol)	334 515	ND	酚酸甘油酯(phenolic acid glycerides)
13	12.1	163.040 3	[M-H] ⁻	C ₉ H ₇ O ₃	119.050 0,	邻香豆酸或其同分异构体(coumaric acid or its iso- mer)	310 694	294 934	酚酸甘油酯(phenolic acid glycerides)
14	12.21	441.139 8	[M-H] ⁻	C ₂₀ H ₂₆ O ₁₁	399.128 5, 381.118 9, 163.040 1, 145.029 6, 119.050 1	王百合苷 B 同分异构体(isomer of regaloside B)	461 088	921 11	酚酸甘油酯(phenolic acid glycerides)
15*	12.98	441.140 0	[M-H] ⁻	C ₂₀ H ₂₆ O ₁₁	399.129 5, 381.119 2, 163.040 1, 145.029 6, 119.050 1	王百合苷 B (regaloside B)	23 002 474	64 206 488	酚酸甘油酯(phenolic acid glycerides)
16	13.70	693.202 7	[M-H] ⁻	C ₃₂ H ₃₈ O ₁₇	621.036 5, 517.155 4, 499.145 0, 193.050 7, 175.040 1	双阿魏酰蔗糖及其同分异构体(di-diferuloylsu- croyl-glucopyranose-fructofuranosyl)	79 468	133 422	酚酸甘油酯(phenolic acid glycerides)

表 2 (续)

化合物 编号 (compound No.)	t_R / min	质荷比 (m/z)	离子 形式 (ion form)	分子式 (formula)	碎片离子 (fragment ion)	推测结构 (identified constituent)	峰面积 (peak area)		类别 (type)
							卷丹 (<i>Lilium brownii</i> <i>lanceifolium</i> F. E. Brown var. Thunb.)	百合 (<i>Lilium brownii</i> <i>viridulum</i> Baker)	
17	15.02	693.203 7	[M - H] ⁻	C ₃₂ H ₃₈ O ₁₇	517.155 9, 499.145 7, 193.051 1, 175.040 8	双阿魏酰基蔗糖及其同分异构 (isomer of di- diferuloylsucryl - glucopyranose - fructofuranosyl)	33 858	61 843	酚酸甘油酯 (phenolic acid glycerides)
18	16.06	639.204 0	[M - H] ⁻	C ₃₂ H ₃₈ O ₁₇	517.155 6, 499.146 1, 193.050 8, 175.040 8	双阿魏酰基蔗糖及其同分异构 (isomer of di- diferuloylsucryl - glucopyranose - fructofuranosyl)	124 382	55 367	酚酸甘油酯 (phenolic acid glycerides)
19*	26.00	884.500 3	[M + H] ⁺	C ₄₈ H ₇₃ NO ₁₆	866.488 7, 738.442 5, 576.389 5, 414.336 7	澳洲茄碱 (solasanine)	ND	2 569 751	生物碱 (alkaloids)
20	27.00	578.405 0	[M + H] ⁺	C ₃₃ H ₄₅ NO ₇	524.277 7, 416.352 9	澳洲茄胺 - 葡萄糖苷 (solasodine - glucopyr- anose)	5 689 751	13 569 811	生物碱 (alkaloids)
21*	27.78	884.500 8	[M + H] ⁺	C ₄₈ H ₇₃ NO ₁₆	738.443 1, 576.388 9, 414.336 0	澳洲茄碱同分异构 (isomer of solasanine)	1 632 812	21 636 856	生物碱 (alkaloids)
22	28.39	578.405 0	[M + H] ⁺	C ₃₃ H ₄₅ NO ₇	416.352 4	澳洲茄胺 - 葡萄糖苷 (isomer of solasodine - gl- copyranose)	251 450	9 854 611	生物碱 (alkaloids)
23	28.81	722.447 8	[M + H] ⁺	C ₃₉ H ₆₃ NO ₁₁	576.389 6, 414.336 5	β_1 - 澳洲茄碱 (β_1 - khasianine)	1 260 548	16 832 290	生物碱 (alkaloids)
24	29.60	886.516 7	[M + H] ⁺	C ₄₈ H ₇₃ NO ₁₅	740.457 7, 578.399 4, 416.351 49	氢化澳洲茄碱 (hydride solasanine)	1 185 488	41 991 444	生物碱 (alkaloids)
25	30.79	724.464 1	[M + H] ⁺	C ₃₉ H ₆₃ NO ₁₁	578.405 4, 416.322 5	氢化 β_1 - 澳洲茄碱 (hydride β_1 - solamarigine)	1 178 878	49 543 156	生物碱 (alkaloids)
26	31.06	899.464 0	[M - H] ⁻	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₈	735.382 7, 573.323 4, 555.310 9, 497.3043 2, 449.281 5, 413.285 7	26 - O - β - D - 吡喃葡萄糖基 - 双阿皂甙元 - 3 - O - α - L - 吡喃鼠李糖基 - (1 \rightarrow 2) - β - D - 吡喃葡萄糖甙 (26 - O - β - D - glucopyranosylInu- atigenin 3 - O - α - L - rhamnopyranosyl - (1 \rightarrow 2) - β - D - glucopyranoside)	507 160	ND	甾体皂苷 (alkaloids)
27	32.09	901.481 0	[M - H] ⁻	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₈	737.398 4, 575.339 3, 523.431 6, 457.311 2, 413.286 9	化合物 26 同系物 (congeners of compound 26)	451 279	ND	甾体皂苷 (steroid sap- onins)
28	32.92	901.479 7	[M - H] ⁻	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₈	737.400 1, 575.336 5, 523.430 7, 457.312 6, 413.287 3	化合物 26 同系物 (congeners of compound 26)	6 421 390	ND	甾体皂苷 (steroid sap- onins)
29	33.26	901.480 8	[M - H] ⁻	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₈	737.402 2, 575.334 5, 523.431 1, 457.311 4, 413.288 9	化合物 26 同系物 (congeners of compound 26)	6 033 252	225 217	甾体皂苷 (steroid sap- onins)
30	33.62	903.495 0	[M - H] ⁻	C ₄₅ H ₇₆ O ₁₈	883.468 5, 721.415 7, 575.357 6, 413.305 0	化合物 26 同系物 (congeners of compound 26)	2 069 584	ND	甾体皂苷 (steroid sap- onins)
31	34.01	903.494 9	[M - H] ⁻	C ₄₅ H ₇₆ O ₁₈	885.483 4, 723.431 6, 577.373 2, 415.320 6	化合物 26 同系物 (congeners of compound 26)	6 521 498	ND	甾体皂苷 (steroid sap- onins)

注 (note): * 通过对照品比对成分, 其余为文献及数据库检索成分 (the compounds compared with reference standards, others were identified by literature and databases)

较为相近。但由于本次研究种内不同产地样品较少,未能全面说明产地对百合及卷丹化学成分的影响,故仍需进一步研究。

4.4 卷丹和百合潜在差异成分(群)筛选及鉴定

OPLS-DA 结合单因素分析发现,百合和卷丹化学成分存在较大差异。根据差异成分的保留时间分布可知,差异成分主要存在于 a、b 和 c 3 个区域内。而通过分子网络的构建可知 3 个区域的成分群主要为酚酸甘油酯类、生物碱类及甾体皂苷类。其中,生物碱类和甾体皂苷类成分在卷丹和百合中差异较大。百合中含有一系列由含氮杂螺型甾体苷元和糖苷构成甾体糖苷类生物碱(化合物 19~25),此类生物碱主要存在于茄科及百合科植物中^[22],研究表明此类成分具有抗肿瘤、抗病毒、抗菌等多种活性^[23-25]。本研究发现此类成分在卷丹中含量甚微,可作为区别百合和卷丹的差异标志物群。卷丹中明显存在一系列螺甾皂苷类成分(化合物 26~31),而此类成分在百合中仅微量存在,其可作为卷丹特异性标志物群。值得注意的是,以上甾体糖苷类生物碱与螺甾皂苷在母环结构上较为相似,主要差别在于生物碱的 F 环中以 NH 替代了螺甾皂苷的 O(图 7-A),说明二者生物合成过程较为相似。由于甾体糖苷类生物碱 F 环存在 NH,也使其化学性质、生物学活性和螺甾皂苷发生的较大的变化,说明百合和卷丹在药理作用可能上存在一定差异^[26]。

虽然,百合和卷丹都作为药用百合被 2020 年版《中华人民共和国药典》收录,现代药用中并未区分使用,但本研究表明二者在化学成分方面存在较大差异。而这些差异成分对于百合的品质,及其在复方中的功效和含百合复方临床疗效之间的关系还需进一步研究。总之,本研究为百合的合理利用及精准开发提供数据参考,也为中药化学成分表征及快速鉴别提供借鉴。

参考文献

- [1] 刘浩,钟灿,金剑,等. 百合道地药材的历史沿革与品质评价研究[J]. 中国现代中药, 2020, 22(9):1434
LIU H, ZHONG C, JIN J, et al. Research on historical evolution and quality evaluation of Dao-di herbs of Lili Bulbus[J]. Mod Chin Med, 2020, 22(9):1434
- [2] 张卫,王嘉伦,张志杰,等. 经典名方药用百合本草考证[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(22):5007

- ZHANG W, WANG JL, ZHANG ZJ, et al. Herbal textual research on traditional Chinese medicine "Baihe" (Lilii Bulbus) [J]. China J Mater Med, 2019, 44(22):5007
- [3] 王昌华,舒抒,银福军,等. 药用百合正源考证研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(8):1732
WANG CH, SHU S, YIN FJ, et al. Textual research on origin and genuine of Lilii Bulbus[J]. China J Chin Mater Med, 2018, 43(8):1732
- [4] 李卫民,孟宪纾,高英. 中药百合的本草考证[J]. 中国中药杂志, 1990, 15(10):3
LI WM, MENG XS, GAO Y. Herbarological studies on Bulbus Lilii [J]. China J Chin Mater Med, 1990, 15(10):3
- [5] 童巧珍. 湖南省药用百合种质资源的评价与利用研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2009
TONG QZ. Studies on the Germplasm Resources Evaluation And utilization on Medical Lily in Hunan[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2009
- [6] 周中流,石任兵,刘斌,等. 卷丹甾体皂苷和酚类成分及其抗氧化活性研究[J]. 中药材, 2011, 42(1):21
ZHOU ZL, SHI RB, LIU B, et al. Steroidal saponins and phenolic constituents from *Lilium lancifolium* and their anti-oxidant activities[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2011, 42(1):21
- [7] 罗林明,裴刚,覃丽,等. 中药百合化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2017, 28(6):824
LOU LM, PEI G, QIN L, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of medicinal Lilium plants [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2017, 28(6):824
- [8] 黄江剑,高英,李卫民,等. HPLC-ELSD 测定不同产地百合中薯蓣皂苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5):110
HUANG JJ, GAO Y, LI WM, et al. Quantitative determination of dioscin in Bulbus Lilii by HPLC-ELSD[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2011, 17(5):110
- [9] 张黄琴,严辉,钱大玮,等. 不同产地百合药材中 8 种活性成分的分析与评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 42(2):311
ZHANG HQ, YAN H, QIAN DW, et al. Analysis and evaluation of eight active ingredients in *Lilium lancifolium* from different regions[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2017, 42(2):311
- [10] 刘湘丹,陈勋,刘畅宇,等. 不同来源百合药材的质量评价及分析[J]. 湖南中医药大学学报, 2019, 39(4):480
LIU XD, CHEN X, LIU CY, et al. Quality evaluation and analysis of Lilii Bulbus from different sources[J]. J Hunan Univ Chin Med, 2019, 39(4):480
- [11] KONG Y, WANG H, LANG L, et al. Metabolome-based discrimination analysis of five Lilium Bulbs associated with differences in secondary metabolites[J]. Molecules, 2021, 26(5):1340
- [12] 王迪,俞佳,詹固,等. 液质联用技术在中药研究中的应用进展[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(2):68
WANG D, YU J, ZHAN G, et al. Advances in application of liq-

- uid chromatography – mass spectrometry technology in study of traditional Chinese medicine [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2022, 40(2):68
- [13] 范胜贤, 袁恩, 梅慧, 等. 基于 UPLC – Q – TOF – MS/MS 技术的黄檀属植物新黄酮类化合物质谱裂解规律研究[J]. *药物分析杂志*, 2023, 43(8):1312
FAN SX, YUAN E, MEI H, *et al.* Fragmentation pathway of neoflavonoid in *Dalbergia* genus using ultra performance liquid chromatography/quadrupole – time – of – flight mass spectrometry [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43(8):1312
- [14] 胡晓茹, 聂黎行, 何风艳, 等. 基于 LC – MS/MS 特征图谱技术牛黄清心丸(局方)中牛黄及代用品的鉴别研究[J]. *药物分析杂志*, 2022, 42(10):1808
HU XR, NIE LX, HE FY, *et al.* Identification of Bovis Calculus and its substitutes in Niu Huang Qingxin pills (prescription of the bureau) by LC – MS/MS [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2022, 42(10):1808
- [15] MENG Y, LIANG Z, ZHANG L, *et al.* Identification of three types of O – glycosylated flavonoids in *Dendrobium loddigesii*, *Dendrobium primulinum*, *Dendrobium crepidatum*, *Dendrobium porphyrochilum* and *Dendrobium hancockii* by MS [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2022, 37(2):e9421
- [16] 杨军, 刘心昱, 许国旺. 基于质谱数据的计算代谢组学方法学研究进展[J]. *中国科学: 化学*, 2022, 52(9):1580
YANG J, LIU XY, XU GW. New advances in mass spectrometry data – based computational metabolomics methods [J]. *Sci Sin (Chem)*, 2022, 52(9):1580
- [17] 覃舒然, 刘海翠, 李大山, 等. 质谱分子网络在天然产物结构研究中的应用[J]. *天然产物研究与开发*, 2022, 34(11):1978
QIN SR, LIU HC, LI DS, *et al.* Application of mass spectrometry molecular networking in the study of natural product structure [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2022, 34(11):1978
- [18] NOTHIAS LF, NOTHIAS – ESPOSITO M, DA SILVA R, *et al.* Bioactivity – based molecular networking for the discovery of drug leads in natural product bioassay – guided fractionation [J]. *J Nat Prod*, 2018, 81(4):758
- [19] ARON AT, GENTRY EC, MCPHAIL KL, *et al.* Reproducible molecular networking of untargeted mass spectrometry data using GNPS [J]. *Nat Protoc*, 2020, 15(6):1954
- [20] 赵康宏, 周峰, 严思恩, 等. 基于 HPLC – Q – TOF – MS 和 HS – SPME – GC – MS 法分析龙牙百合中的化合物 [J]. *天然产物研究与开发*, 2020, 32(8):1331
ZHAO KH, ZHOU F, YAN SE, *et al.* The analysis of compounds from Longya lily via HPLC – Q – TOF – MS and HS – SPME – GC – MS [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2020, 32(8):1331
- [21] 潘清平, 周日宝, 贺又舜, 等. 龙山县百合种植基地概况 [J]. *湖南中医药导报*, 2003, 9(6):56
PAN QP, ZHOU RB, HE YS, *et al.* Investigation of lily bulb implantation garden in Longshan County [J]. *Hunan Guid J Tradit Chin Med Pharmacol*, 2003, 9(6):56
- [22] KALALINIA F, KARIMI – SANI I. Anticancer properties of solamargine: a systematic review [J]. *Phytother Res*, 2017, 31(6):858
- [23] EL – HAWARY SS, MOHAMMED R, ABOUZID SF, *et al.* Solamargine production by a fungal endophyte of *Solanum nigrum* [J]. *J Appl Microbiol*, 2016, 120(4):900
- [24] 曹春艳, 张家祺, 张立超. 澳洲茄边碱抗肿瘤作用及其机制研究进展 [J]. *中国医院药学杂志*, 2022, 42(20):2188
CAO CY, ZHANG JQ, ZHANG LC. Research progress on antitumor effect and mechanism of solamargine [J]. *Chin J Hosp Pharm*, 2022, 42(20):2188
- [25] 唐朝辉, 张岩, 李娜, 等. 澳洲茄边碱提取纯化工艺及其抗肿瘤作用的研究 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(16):2192
TANG CH, ZHANG Y, LI N, *et al.* Extraction, purification technology and antineoplastic effects of solamargine [J]. *China J Chin Mater Med*, 2011, 36(16):2192
- [26] 陈朋伟. 薯蓣皂苷和澳洲茄边碱的合成及其结构优化 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013
CHEN PW. Synthesis and Structural Modifications of Dioscin and Solamargine [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013

(本文于 2023 年 11 月 22 日收到)