

基于植物代谢组学和靶标定量分析研究山西不同产地黄芩叶化学成分差异

程鹏飞¹, 王涛^{2,3,4}, 陈聪聪^{2,3,4}, 秦雪梅^{2,3,4}, 杜冠华⁵, 周玉枝^{2,3,4*}

(1. 山西省药品检查中心(山西省疫苗检查中心), 山西太原 030006; 2. 山西大学中医药现代研究中心, 山西太原 030006; 3. 山西大学化学生物学与分子工程教育部重点实验室, 山西太原 030006; 4. 地产中药功效物质研究与利用山西省重点实验室, 山西太原 030006; 5. 中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

摘要: 本研究整合植物代谢组学和靶标定量分析方法, 系统分析山西不同产地间黄芩叶化学成分的差异, 为合理有效利用黄芩叶资源提供理论依据。基于植物代谢组学的思路, 采用UPLC-QTOF-MS对山西省8个不同产地共53批黄芩叶进行液质分析, 并通过多元统计分析方法, 筛选山西不同产地间的差异化学成分。同时, 优化并建立一种可以同时测定黄芩叶中7种黄酮类成分和3种有机酸类成分的含量测定方法, 以定量分析山西不同产地黄芩叶化学成分差异。植物代谢组学结果显示, 晋北(大同、忻州)、晋中(阳泉、吕梁)和晋南(长治、运城、晋城、临汾)三个区域的黄芩叶化学成分组成具有差异性: 晋北和晋中地区间存在14个显著差异化学成分; 晋南和晋中之间存在18个显著差异化学成分; 晋北和晋南之间存在15个显著差异化学成分。其中, 野黄芩苷和异红花素-7-O-葡萄糖醛酸苷是三个地区间的共有差异成分, 野黄芩苷在晋南地区含量最高, 在晋北地区含量最低; 异红花素-7-O-葡萄糖醛酸苷在晋中地区含量最高, 在晋北地区含量最低。定量分析结果进一步证实, 晋北地区芹菜素、柚皮素和柠檬酸的平均含量最高, 晋南地区野黄芩苷、咖啡酸、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷、苹果酸和汉黄芩苷的平均含量最高, 晋中地区汉黄芩素和黄芩苷的平均含量最高。该研究对于黄芩叶资源的质量控制具有重要意义, 为合理有效利用黄芩叶资源提供理论依据。

关键词: 植物代谢组学; 含量测定; 黄芩叶; 化学成分差异

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2023)07-1867-13

Study on the differences in chemical composition of *Scutellaria baicalensis* leaves from different origins in Shanxi Province based on plant metabolomics and targeted quantitative analysis

CHENG Peng-fei¹, WANG Tao^{2,3,4}, CHEN Cong-cong^{2,3,4}, QIN Xue-mei^{2,3,4}, DU Guan-hua⁵, ZHOU Yu-zhi^{2,3,4*}

(1. Shanxi Provincial Drug Inspection Center (Shanxi Provincial Vaccine Inspection Center), Taiyuan 030006, China; 2. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 3. The Key Laboratory of Chemical Biology and Molecular Engineering of Ministry of Education, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 4. The Key Laboratory of Effective Substances Research and Utilization in TCM of Shanxi Province, Taiyuan 030006, China; 5. Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: By integrating plant metabolomics and target quantitative analysis methods, this study systematically analyzed the differences of chemical constituents in *Scutellaria baicalensis* leaves from different

收稿日期: 2022-11-27; 修回日期: 2023-02-22.

基金项目: 山西省重点研发计划项目(201703D321023-3); 山西省“1331工程”协同创新中心建设计划经费资助项目(1331KCIC).

*通讯作者 E-mail: zhouyuzhi@sxu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-1273

producing areas in Shanxi, so as to provide theoretical basis for rational and effective utilization of *Scutellaria baicalensis* leaves. Based on the idea of plant metabonomics, the liquid quality of 53 batches of *Scutellaria baicalensis* leaves from 8 different producing areas in Shanxi was analyzed by UPLC-QTOF-MS, and the collected data were imported into SIMCA 14.1 software for multivariate statistical analysis to screen the different chemical constituents among different habitats in Shanxi. Meanwhile, a method for simultaneous determination of 7 flavonoids and 3 organic acids in *Scutellaria baicalensis* leaves was optimized and established to quantitatively analyze the differences of chemical components in *Scutellaria baicalensis* leaves from different producing areas in Shanxi. The results of plant metabonomics showed that there were differences in the chemical composition of *Scutellaria baicalensis* leaves in northern Shanxi (Datong, Xinzhou), Jinzhong (Yangquan, Luliang) and southern Shanxi (Changzhi, Yuncheng, Jincheng, Linfen): there were 14 significant differences in chemical composition between northern Shanxi and Jinzhong; there were 18 significant differences in chemical constituents between southern Shanxi and central Shanxi. There were 15 significant differences in chemical constituents between northern Shanxi and southern Shanxi. Among them, scutellarin and isocarathamidin-7-*O*-glucuronide were the common differences among the three regions, and the content of scutellarin was the highest in southern Shanxi and the lowest in northern Shanxi. The content of isocarathamidin-7-*O*-glucuronide was the highest in Jinzhong area and the lowest in northern Shanxi area. Quantitative analysis further confirmed that the average contents of apigenin, naringenin and citric acid were the highest in northern Shanxi, scutellarin, caffeic acid, apigenin-7-*O*-glucuronide, malic acid and wogonoside were the highest in southern Shanxi, and wogonoside and baicalin were the highest in central Shanxi. This study is of great significance to the quality control of *Scutellaria baicalensis* leaf resources, and provides theoretical basis for rational and effective utilization of *Scutellaria baicalensis* leaf resources.

Key words: plant metabolomics; content determination; *Scutellaria baicalensis* leaf; chemical composition difference

黄芩叶为唇形科黄芩属植物黄芩 (*Scutellaria baicalensis* Georgi) 的干燥叶。现代研究表明,黄芩叶与黄芩根的化学成分相似,且具有抗炎、抗氧化、保肝、降血压、提高机体免疫力、降血脂等多种药理作用。黄芩叶多在民间使用,已有千年应用历史,具有清热燥湿、泻火解毒、消炎、促消化的功效^[1],目前我国北方各地区及云南部分地区仍常作为一种茶饮用,被称为黄金茶、黄芩茶。现代研究发现,黄芩叶中含有黄酮类、有机酸类、挥发油、二萜类、无机元素、氨基酸类资源性化学成分^[2],具有降血脂、抗病毒、抗氧化、降血糖、抗炎、保肝、提高机体免疫及抗肿瘤等多种药理活性^[3]。

山西省的黄芩资源十分丰富,约占全国产量的40%以上,尤其茎叶产量极大。山西等地民间常将黄芩叶自制成具有保健功能的黄芩叶茶,应用历史悠久。黄芩叶在山西省分布广泛,全省各地均有分布,然而,目前有关产地因素对黄芩叶化学成分的影响报道较少,不同产地因生态环境的不同,是否会对黄芩叶的化学成分造成影响尚不清楚。因此全面评价山西不同产地间黄芩叶化学成分的差异,对于黄芩叶资源的质量控制具有重要意义。

药用植物资源的安全、有效利用依赖于其存在的化学成分,而化学成分的组成和含量会受到生态环境等多种因素的影响,从而导致药用植物资源质量参差

不齐,难以有效、合理利用药用植物资源。因此,药用植物资源化学成分的差异性研究也一直是药用植物资源开发的热点。目前有关产地因素对于黄芩叶化学成分的影响研究较少,并且仅对其中的几个主要成分进行含量差异测定,乔丽芳等^[4]采用HPLC法同时测定晋产黄芩叶中野黄芩苷、芹菜素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷和白杨素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷3种黄酮类成分的含量,结果发现,晋产黄芩叶中野黄芩苷的含量最高。而中药化学成分复杂,仅靠少数几个化学成分无法全面准确反映其品质优劣。液质联用技术目前在中药化学成分定性分析中扮演着重要角色,具有灵敏度高、高通量、选择性好等优点。植物代谢组学是代谢组学重要分支,具有整体性、全面性和动态性研究特点,其可对植物整体化学成分的动态变化进行全面表征。因此植物代谢组学有助于中药质量追溯体系的建立,为药用植物资源的质量评价研究提供新思路和新方法^[5]。此外,通过化学计量学对植物整体代谢物进行定性和定量分析,可以研究不同植物在不同生长期或不同外界刺激后所有次级代谢物种类和含量的变化^[6]。基于以上研究背景,本研究采集了来自山西8个不同产地共53批黄芩叶,采用液质联用技术并结合植物代谢组学方法,对不同产地间黄芩叶化学成分的差异进行分析。并在此基础上,基于植物代谢组学分析结果,作者建立一种

可以同时测定黄芩叶中7种黄酮类成分和3种有机酸类成分的含量测定方法,以定量分析山西不同产地黄芩叶化学成分差异。该研究整合植物代谢组学和靶标定量分析方法,系统分析山西不同产地间黄芩叶化学成分的差异,对于黄芩叶资源的质量控制具有重要意义,为合理有效利用黄芩叶资源提供理论依据。

材料与方 法

样本收集 53批黄芩叶样品采自山西省八个不同城市,其中长治市7份、运城市7份、晋城市7份、临汾市7份、吕梁市4份、阳泉市7份、大同市7份、忻州市7份,生长年限均为2年,经山西大学中医药现代研究中心周玉枝教授鉴定为唇形科黄芩属植物黄芩 (*Scutellaria baicalensis* Georgi) 的地上叶。收集的新鲜黄芩叶样本自然阴干,然后55℃烘干至恒重,粉碎,备用。样本详细采集信息见表1。

仪器及试剂 Agilent 1290 II 超高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); Triple TOF 5600 质谱仪和 Sciex 3200 Q-Trap 质谱仪(美国 AB SCIEX 公司); 色谱柱: ACQUITY UPLC HSS T3 (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm), 美国 Waters 公司; 乙腈(质谱级)、甲酸(质谱级)、甲醇

(质谱级), 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 对照品野黄芩苷(批号 Y0120171216)、黄芩苷(批号 PS011768)、汉黄芩素(批号 H029181216)、汉黄芩苷(批号 PS011071)、芹菜素(批号 PS010177)、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷(批号 PS000759)、柚皮素(批号 PS02400025)、咖啡酸(批号 PS010522)、苹果酸(批号 PS010539)、柠檬酸(批号 PS020652) 和金丝桃苷(批号 PS000512) 均购自成都普思生物科技股份有限公司。

LC-MS 植物代谢组学数据收集

样本制备 取黄芩叶适量于 IKA 粉碎机中粉碎,过 50 目筛,精密称取粉末 15 mg,置于 50 mL 锥形瓶中,加入 70% 乙醇 50 mL 后称重,超声提取 1 h,取出,放冷至室温,再次称重,用 70% 乙醇弥补失重,摇匀,吸取提取液,置于 4℃ 高速离心机中,13 000 r·min⁻¹ 离心 10 min。取上清液,用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,取 100 μL 上清液进样分析。取上述每个测试样品上清液各 10 μL 并充分混合,作为质量控制(quality control, QC) 样本,进样时每 6 个样本插入一个 QC 样本,用来检查仪器是否稳定。

液相条件 流动相 A% (0.1% 甲酸水)、流动相 B% (乙腈),按以下梯度洗脱: 0~2 min, 10%~20% B;

Table 1 *Scutellaria baicalensis* leaves origin, harvesting period, and number

No.	Place of origin	Harvesting period	No.	Place of origin	Harvesting period
CZ-1	Changzhi City, Shanxi Province	2020.7	LF-7	Linfen City, Shanxi Province	2020.7
CZ-2	Changzhi City, Shanxi Province	2020.7	LL-1	Luliang City, Shanxi Province	2020.7
CZ-3	Changzhi City, Shanxi Province	2020.7	LL-2	Luliang City, Shanxi Province	2020.7
CZ-4	Changzhi City, Shanxi Province	2020.7	LL-3	Luliang City, Shanxi Province	2020.7
CZ-5	Changzhi City, Shanxi Province	2020.7	LL-4	Luliang City, Shanxi Province	2020.7
CZ-6	Changzhi City, Shanxi Province	2020.7	YQ-1	Yangquan City, Shanxi Province	2020.8
CZ-7	Changzhi City, Shanxi Province	2020.7	YQ-2	Yangquan City, Shanxi Province	2020.8
YC-1	Yuncheng City, Shanxi Province	2020.8	YQ-3	Yangquan City, Shanxi Province	2020.8
YC-2	Yuncheng City, Shanxi Province	2020.8	YQ-4	Yangquan City, Shanxi Province	2020.8
YC-3	Yuncheng City, Shanxi Province	2020.8	YQ-5	Yangquan City, Shanxi Province	2020.8
YC-4	Yuncheng City, Shanxi Province	2020.8	YQ-6	Yangquan City, Shanxi Province	2020.8
YC-5	Yuncheng City, Shanxi Province	2020.8	YQ-7	Yangquan City, Shanxi Province	2020.8
YC-6	Yuncheng City, Shanxi Province	2020.8	DT-1	Datong City, Shanxi Province	2020.7
YC-7	Yuncheng City, Shanxi Province	2020.8	DT-2	Datong City, Shanxi Province	2020.7
JC-1	Jincheng City, Shanxi Province	2020.8	DT-3	Datong City, Shanxi Province	2020.7
JC-2	Jincheng City, Shanxi Province	2020.8	DT-4	Datong City, Shanxi Province	2020.7
JC-3	Jincheng City, Shanxi Province	2020.8	DT-5	Datong City, Shanxi Province	2020.7
JC-4	Jincheng City, Shanxi Province	2020.8	DT-6	Datong City, Shanxi Province	2020.7
JC-5	Jincheng City, Shanxi Province	2020.8	DT-7	Datong City, Shanxi Province	2020.7
JC-6	Jincheng City, Shanxi Province	2020.8	XZ-1	Xinzhou City, Shanxi Province	2020.8
JC-7	Jincheng City, Shanxi Province	2020.8	XZ-2	Xinzhou City, Shanxi Province	2020.8
LF-1	Linfen City, Shanxi Province	2020.7	XZ-3	Xinzhou City, Shanxi Province	2020.8
LF-2	Linfen City, Shanxi Province	2020.7	XZ-4	Xinzhou City, Shanxi Province	2020.8
LF-3	Linfen City, Shanxi Province	2020.7	XZ-5	Xinzhou City, Shanxi Province	2020.8
LF-4	Linfen City, Shanxi Province	2020.7	XZ-6	Xinzhou City, Shanxi Province	2020.8
LF-5	Linfen City, Shanxi Province	2020.7	XZ-7	Xinzhou City, Shanxi Province	2020.8
LF-6	Linfen City, Shanxi Province	2020.7			

2~4 min, 20%~30% B; 4~9 min, 30%~55% B; 9~11.5 min, 55%~90% B; 11.5~12.5 min, 90%~10% B; 12.5~14 min, 10% B。采用 Waters ACQUITYUPLC HSS T3 (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱, 进样量 5 μL、流速 0.3 mL·min⁻¹、柱温 35 °C。

质谱条件 Triple TOF 5600 质谱仪 (美国 AB SCIEX 公司), 采用电喷雾离子源 (ESI) 负离子模式; 喷雾电压: -4 500 V; 雾化气压力 (GS1): 0.55 kPa; 辅助气压力 (GS2): 0.5 kPa; 离子源温度 (TEMP): 550 °C; 碰撞能量 (CE): 30 eV; 碰撞能量滚动区间 (CES): 20 eV; 簇裂解电压 (DP): 60 V; 扫描模式: IDA (信息关联采集模式); 质谱检测采集范围为 m/z 50~1 000 Da。

LC-MS 植物代谢组学数据处理 将采集得到的原始质谱数据导入 MS-DIAL 4.48 软件进行预处理, 使用 SIMCA 14.1 软件 (Umetrics, 瑞典) 对所有预处理后的数据进行无监督的主成分分析 (PCA) 和有监督的正交偏最小二乘法分析 (OPLS-DA), 通过 OPLS-DA 模型得到的变量权重值 (VIP > 1) 和 t 检验 ($P < 0.05$) 寻找潜在的差异化学成分。

LC-MS 定量分析数据收集

对照品溶液的制备 分别精密称取黄芩苷、汉黄芩素、芹菜素、野黄芩苷、苹果酸、柚皮素、咖啡酸、汉黄芩苷、柠檬酸、芹菜素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷以及金丝桃苷 (内标 IS) 对照品适量, 用甲醇溶解制成 2 mg·mL⁻¹ 的单一对照品储备液。分别精密吸取对照品储备液适量, 加甲醇制成质量浓度分别为 138、180、21、13、22、81、15、21、17、188 和 135 μg·mL⁻¹ 的混合对照品储备液 (IS 浓度为 20 μg·mL⁻¹)。

色谱条件 流动相 A% (0.1% 甲酸水)、流动相 B% (乙腈), 按以下梯度洗脱: 0~1 min, 5% B; 1~11 min, 5%~60% B; 11~12 min, 60%~95% B; 12~12.2 min, 95%~5% B; 12.2~14 min, 5% B。采用 Waters ACQUITYUPLC HSS T3 (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱, 进样量 5 μL、流速 0.3 mL·min⁻¹、柱温 40 °C。

质谱条件 Sciex 3200 Q-Trap 质谱仪 (美国 AB SCIEX 公司), 采用电喷雾离子源 (ESI) 负离子模式; 扫描模式: 多重反应监测 (MRM); 10 种分析成分的 MRM 质谱参数包括碰撞能量 (CE)、去簇电压 (DP) 和离子对等信息如表 2 所示。

统计学分析 GraphPad Prism 8.1 软件作图。数据以平均值 ± SD 表示, 采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析, 通过 t 检验比较两组之间的统计学差异, 通过单因素方差分析 (one-way ANOVA) 比较多组之间的统计学差异, $P < 0.05$ 被认为数据之间存在显著性差异。

Table 2 MRM-based mass spectrometry parameters for the detection of 10 analytes. Q1: Quadrupole 1; Q2: Quadrupole 2; DP: Declustering potential; CE: Collision energy

No.	Compound	t_r /min	Q1/Q3	DP /V	CE /eV
1	Scutellarin	6.63	461.1/285.1	-40	-34
2	Baicalin	7.83	445.1/269.1	-40	-37
3	Wogonin	10.95	283.1/268.0	-35	-26
4	Wogonoside	8.66	459.1/268.0	-48	-41
5	Apigenin	8.97	269.1/117.0	-85	-52
6	Apigenin-7- <i>O</i> -glucuronide	7.15	444.9/269.1	-40	-30
7	Naringenin	8.93	271.1/119.0	-57	-48
8	Caffeic acid	5.17	179.0/135.1	-45	-23
9	Malic acid	1.29	133.0/115.0	-35	-15
10	Citric acid	1.57	191.0/111.0	-35	-20

结果

1 植物代谢组学分析

1.1 仪器系统稳定性监测

采用无监督的 PCA 模式对 QC 样本进行聚类分析来考察仪器系统的稳定性^[6]。结果图 1A 所示, 无监督模式 PCA 评分图中 QC 样品聚类良好, 表明所建立的分析方法稳定可靠, 符合大批量进样的分析条件。

1.2 黄芩叶的化学成分指认

结合文献和标准品, 对黄芩叶中的化学成分进行指认, 共鉴定出 53 个化合物 (表 3^[7-15]), 包括 45 个黄酮类化合物, 5 个有机酸类化合物, 3 个其他类化合物。

1.3 多元统计分析

首先应用无监督的 PCA 模式, 从得分散点图可以看出同一个产地的样本聚集在一起, 不同产地间的样本可明显分开 (图 1A)。其中, 同属晋北地区的大同 (DT) 和忻州 (XZ) 的样本与同属晋南地区的长治 (CZ)、运城 (YC)、晋城 (JC) 和临汾 (LF) 的样本以及同属晋中地区的阳泉 (YQ) 和吕梁 (LL) 的样本能明显分离, 该结果说明晋北、晋中和晋南三个地区之间黄芩叶化学成分存在较大差异。接下来采用 OPLS-DA 对晋北、晋中和晋南三组黄芩叶样品分别两两组合进行分析, 并依据 VIP 值以及 t 检验筛选三组之间的差异化学成分。OPLS-DA 模型验证实验结果表明, OPLS-DA 模型的 $R^2X = 0.739$, $R^2Y = 0.982$, $Q^2 = 0.966$, 证实模型稳健良好, 不存在过拟合现象 (图 1B)。

晋北 (JB) 和晋中 (JZ) 地区的黄芩叶样品的 OPLS-DA 结果表明, 晋北和晋中地区的黄芩叶化学成分轮廓可显著分开 (图 1C)。结合 S-plot 图中 VIP > 1, 及 t 检验 ($P < 0.05$) 筛选晋北和晋中地区之间显著改变的差异变量 (图 1D)。如图 2 所示, 在晋北和晋中地区共筛选鉴定出 14 个差异成分, 包括 *D*-葡萄糖二酸 (VIP = 1.18, $P < 0.05$)、柠檬酸 (VIP = 2.55, $P < 0.001$)、8-阿拉

Table 3 Mass spectral information of compounds identified by UPLC-MS/MS in *Scutellaria baicalensis* leaves. *Validated with standard

No.	t_R /min	Formula	Experimental m/z [M-H] ⁻	Error ($\times 10^{-6}$)	Fragment ion (m/z)	Identification	Reference
1	0.95	C ₆ H ₁₀ O ₈	209.031 2	4.35	195.020 1	D-Saccharic acid	[7]
2	1.14	C ₄ H ₆ O ₅	133.014 0	-1.85	115.004 0, 133.013 4	Malic acid*	[7]
3	1.27	C ₆ H ₈ O ₇	191.020 7	5.1	111.008 8, 129.018 9, 154.998 3, 173.009 2	Citric acid*	[7]
4	3.56	C ₇ H ₆ O ₄	153.019 0	-1.96	109.029 7	Protocatechuic acid	[7]
5	3.73	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₅	581.150 2	-1.71	167.035 4, 383.104 9, 413.094 3, 563.134 0	8-Arabinosyl-6-glucosyl-2',3,5,7-dihydroxyflavanone	[8]
6	3.88	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	563.141 3	1.19	353.067 3, 383.078 6, 443.099 5, 473.107 1	Schaftoside	[9]
7	4.05	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	563.140 0	-1.12	353.067 3, 383.078 6, 443.099 5	Apigenin-6-C-glucosyl-8-C-arabonoside	[10]
8	4.13	C ₉ H ₈ O ₄	182.042 4	-0.54	107.058 0, 117.030 0, 134.036 4, 135.043 6	Caffeic acid*	[11]
9	4.21	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	479.084 0	1.85	166.999 3, 181.014 8, 285.041 6, 303.051 4	5,6,7,3',4'-Pentahydroxy flavanone-7-O-glucuronide	[10]
10	4.35	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	563.140 7	0.17	353.067 3, 383.078 6, 443.099 5, 473.107 1	Schaftoside isomer	[8]
11	4.40	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	479.083 7	1.22	166.999 3, 181.014 8, 285.041 6, 303.051 4	5,7,8,3',4'-Pentahydroxy flavanone-7-O-glucuronide	[10]
12	4.58	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₃	547.146 0	0.54	337.073 4, 367.088 2, 427.095 4, 457.113 3	Chrysin 6-C-β-D-glucoside-8-C-β-arabinoside	[12]
13	4.60	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431.096 5	-4.34	269.045 9	Baicalein-7-O-glucoside	[8]
14	4.64	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	623.197 9	-0.32	161.024 2, 179.037 2, 461.164 7	Acteoside	[12]
15	4.73	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	461.074 7	4.66	175.024 1, 285.040 2	4',5,6,7-Tetrahydroxyflavone-7-O-glucuronide	[8]
16	4.74	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.089 2	2.16	153.019 9, 181.015 1, 287.055 5	Carthamidin-7-O-glucuronide	[10]
17	4.77	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	287.055 6	-1.78	119.050 8, 139.002 7, 153.018 7, 166.996 3, 181.012 2	Carthamidin	[13]
18	4.80	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464.376 1	0.21	193.018 1, 281.043 9, 301.075 9, 461.067 1	2',3,5,6',7-Pentahydroxyflavone-2'-O-glucoside	[8]
19	4.90	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₃	477.064 7	-5.79	164.983 0, 257.045 9, 273.036 8, 301.036 6	6-Hydroxyluteolin-7-O-glucuronide	[10]
20	4.93	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.087 2	-2.16	153.019 9, 181.015 1, 287.055 5	Isocarthamidin-7-O-glucuronide	[10]
21	5.06	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	461.071 9	-1.41	213.055 8, 239.035 1, 241.052 5, 267.029 2, 285.040 2	Scutellarin*	[14]
22	5.21	C ₃₁ H ₄₀ O ₁₅	651.228 7	-1.07	175.038 7, 193.052 9	Cistanoside D	[12]
23	5.27	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431.098 2	0.46	135.048 4, 183.099 5, 271.067 0	Apigenin-7-O-glucoside	[15]
24	5.29	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	475.087 5	-1.47	165.991 4, 299.054 3	5,7,2'-Trihydroxy-6-methoxyflavone-7-O-β-D-glucoside	[12]
25	5.30	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447.093 7	1.11	175.025 4, 227.071 4, 253.051 5	Dihydrobaicalin	[7]
26	5.31	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	445.075 9	-3.9	113.024 4, 117.019 6, 151.004 2, 175.024 3, 269.045 4	Apigenin-7-O-glucuronide*	[7]
27	5.37	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	445.079 4	3.97	269.045 9	Baicalein-6-O-β-D-glucuronide	[12]
28	5.38	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	461.088 7	1.08	284.032 7, 299.055 0	2',5,7-Trihydroxy-6-methoxyflavone-7-O-β-D-glucoside	[12]
29	5.40	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447.095 1	4.25	151.003 1, 177.019 1, 271.061 5	Naringenin-7-O-glucuronide	[10]
30	5.40	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447.094 2	2.23	175.025 4, 269.049 3, 285.043 6	Plantagin	[12]
31	5.81	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	461.074 2	3.58	285.040 3	Luteolin-7-O-glucuronide	[15]
32	5.94	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	445.076 3	-3	225.063 6, 241.046 3, 269.045 5	Norwogonin-8-O-glucuronide	[12]
33	6.05	C ₃₀ H ₃₈ O ₁₅	637.214 2	0.62	175.039 1, 193.054 1	Leucosceptoside A	[12]
34	6.23	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₂	475.088 7	1.05	284.032 2, 299.056 3	5,7,8-Trihydroxy-4'-methoxyflavanone-7-O-glucuronide	[8]
35	6.23	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₂	475.088 6	0.84	284.032 2, 299.056 3	2',5,7-Trihydroxy-8-methoxyflavanone-7-O-glucuronide	[8]
36	6.23	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₂	475.086 0	-4.63	284.033 0, 299.056 4	5,7,2'-Trihydroxy-6-methoxyflavone-7-O-glucuronide	[8]
37	6.23	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₂	475.088 9	1.47	284.032 7, 299.055 0	Trihydroxy-methoxyflavone-O-glucuronide	[12]
38	6.53	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	445.077 5	-0.3	113.022 5, 197.058 9, 225.057 7, 241.058 9, 269.045 9	Baicalin*	[7]

Continued

No.	t_R /min	Formula	Experimental m/z [M-H] ⁻	Error ($\times 10^{-6}$)	Fragment ion (m/z)	Identification	Reference
39	6.57	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	477.101 6	-4.71	273.077 3, 301.072 5	Trihydroxy-methoxyflavanone-7- <i>O</i> -glucuronide	[12]
40	6.96	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₀	429.082 8	0.19	175.024 7, 181.068 2, 209.060 4, 211.037 2, 253.051 2	Chrysin-7- <i>O</i> -glucoside	[10]
41	7.01	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	253.051 6	3.82	143.049 6, 145.027 0, 209.057 9, 225.053 3	Chrysin [*]	[15]
42	7.34	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₁	460.388 4	1.73	113.036 9, 175.021 3, 268.037 5, 283.064 2	Wogonoside [*]	[7]
43	7.35	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₁	460.388 7	2.38	175.021 3, 268.037 5, 283.064 2, 459.103 7	5,7-Dihydroxy-6-methoxyflavanone-7- <i>O</i> -glucuronide	[7]
44	7.67	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	431.097 5	-2.02	151.004 9, 187.077 7, 211.076 5, 213.055 9, 255.066 6	Pinocembrin-7- <i>O</i> -glucuronide	[10]
45	8.42	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	271.061 9	2.59	107.014 7, 151.003 6, 177.019 4	Naringenin [*]	[10]
46	8.49	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.045 2	-1.29	117.034 2, 151.004 8, 201.057 1, 225.052 9, 241.046 8	Apigenin [*]	[13]
47	8.76	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	313.072 5	2.23	283.026 3, 298.045 2	Dihydroxy-dimethoxyflavone	[12]
48	9.58	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.045 0	1.85	171.052 0, 195.043 4, 223.039 8, 241.051 9	5,7,2'-Trihydroxyflavone	[8]
49	10.83	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	313.071 9	0.44	268.075 2, 283.026 3, 298.045 2	5,7-Dihydroxy-2',8-dimethoxyflavone	[8]
50	11.58	C ₁₈ H ₁₆ O ₇	343.082 9	1.74	313.035 2, 328.065 6	2',5-Dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone	[8] [12]
51	11.68	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	313.072 6	2.55	211.038 9, 283.023 6, 298.045 2	5,8-Dihydroxy-6,7-dimethoxyflavone	[12]
52	12.01	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	283.060 5	-2.47	163.004 3, 267.030 7, 268.037 5	Wogonin [*]	[12]
53	12.19	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	255.067 0	2.74	151.003 2, 186.938 4, 213.055 2	Pinocembrin	[10]

伯糖基-6-葡萄糖基-2',3,5,7-四羟基黄烷酮 (VIP = 2.91, $P < 0.001$)、红花素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.73, $P < 0.001$)、4',5,6,7-四羟基-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.75, $P < 0.001$)、异红花素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.80, $P < 0.001$)、黄芩素-6-*O*- β -D-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.66, $P < 0.001$)、野黄芩苷 (VIP = 2.62, $P < 0.001$)、柚皮素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.08, $P < 0.001$)、木犀草素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.21, $P < 0.001$)、三羟基-甲氧基黄烷酮-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.35, $P < 0.001$)、白杨素 (VIP = 2.38, $P < 0.001$)、白杨素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.77, $P < 0.001$) 和松属素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.64, $P < 0.001$)。晋北地区 14 个差异成分的含量均显著低于晋中地区。

晋南 (JN) 和晋中 (JZ) 地区的黄芩叶样品的 OPLS-DA 结果表明, 两个地区的黄芩叶化学成分轮廓可显著分开 (图 1E)。结合 S-plot 图中 VIP > 1, 及 t 检验 ($P < 0.05$) 筛选晋南和晋中地区之间显著改变的差异变量 (图 1F)。如图 3 所示, 在晋南和晋中地区共筛选鉴定出 18 个差异成分。与晋中地区相比, 晋南地区黄芩叶中苹果酸 (VIP = 1.33, $P < 0.05$)、4',5,6,7-四羟基-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 1.15, $P < 0.05$)、5,7,8,3',4'-五羟基黄烷酮-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 1.13, $P < 0.05$)、野黄芩苷 (VIP = 1.51, $P < 0.05$)、夏佛塔苷异构体 (VIP = 1.24, $P < 0.05$) 5 种差异成分含量显著升高; 白杨素 (VIP =

1.37, $P < 0.05$)、芹菜素-6-*C*-葡萄糖-8-*C*-阿拉伯糖苷 (VIP = 2.47, $P < 0.001$)、芹菜素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.19, $P < 0.001$)、红花素 (VIP = 2.32, $P < 0.001$)、黄芩素-7-*O*-葡萄糖苷 (VIP = 2.13, $P < 0.001$)、6-羟基木犀草素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.50, $P < 0.001$)、红花素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.24, $P < 0.001$)、木犀草素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.15, $P < 0.001$)、异红花素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 1.89, $P < 0.01$)、5,7,2'-三羟基-6-甲氧基黄酮-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.53, $P < 0.001$)、黄芩苷 (VIP = 2.47, $P < 0.001$)、柚皮素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.30, $P < 0.001$)、5,6,7,3',4'-五羟基黄烷酮-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.06, $P < 0.001$) 13 种差异成分含量显著降低。

晋南 (JN) 和晋北 (JB) 地区的黄芩叶样品的 OPLS-DA 结果表明, 两个地区的黄芩叶化学成分轮廓可显著分开 (图 1G)。结合 S-plot 图中 VIP > 1, 及 t 检验 ($P < 0.05$) 筛选晋南和晋北地区之间显著改变的差异变量 (图 1H)。如图 4 所示, 在晋南和晋北地区共筛选鉴定出 15 个差异成分。与晋北地区相比, 晋南地区黄芩叶中黄芩素-7-*O*-葡萄糖苷 (VIP = 2.16, $P < 0.001$)、6-羟基木犀草素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.02, $P < 0.001$)、芹菜素-6-*C*-葡萄糖-8-*C*-阿拉伯糖苷 (VIP = 2.22, $P < 0.001$) 3 种成分含量显著降低; 野黄芩苷 (VIP = 2.42, $P < 0.001$)、黄芩素-6-*O*- β -D-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.37,

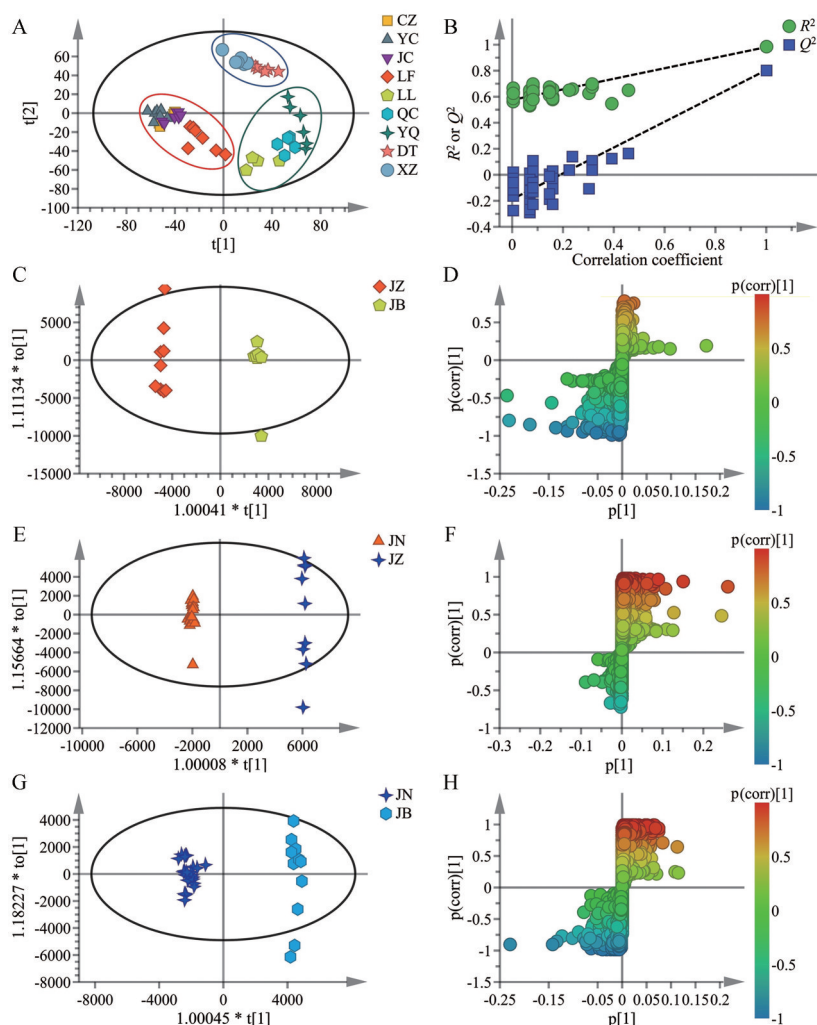


Figure 1 Multivariate data analysis from UPLC-MS/MS. A: PCA score plots from CZ, YC, JC, LF, LL, YQ, DT, XZ, and QC samples; B: OPLS-DA model validation diagram; C: OPLS-DA score plots from JZ and JB; D: S-plot of OPLS-DA between JZ and JB; E: OPLS-DA score plots from JN and JZ; F: S-plot of OPLS-DA between JN and JZ; G: OPLS-DA score plots from JN and JB; H: S-plot of OPLS-DA between JN and JB; CZ: Changzhi City; YC: Yuncheng City; JC: Jincheng City; LF: Linfen City; LL: Lvliang City; YQ: Yangquan City; DT: Datong City; XZ: Xinzhou City; QC: Quality Control; JZ: Jinzhong; JN: Jinnan; JB: Jinbei

$P < 0.001$)、柚皮素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.49, $P < 0.001$)、木犀草素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.51, $P < 0.001$)、去甲汉黄芩素-8-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.44, $P < 0.001$)、三羟基-甲氧基黄烷酮-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 1.78, $P < 0.05$)、白杨素-7-*O*-葡萄糖苷 (VIP = 1.84, $P < 0.05$)、松属素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 2.07, $P < 0.001$)、柚皮素 (VIP = 2.16, $P < 0.001$)、芹菜素 (VIP = 2.09, $P < 0.001$)、异红花素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 (VIP = 1.31, $P < 0.05$)、夏佛塔苷 (VIP = 2.01, $P < 0.001$) 12 种差异成分含量显著升高。

2 山西不同产地黄芩叶关键化学成分定量分析

2.1 方法学考察

2.1.1 专属性 黄芩叶样品的MRM色谱图如图5所示,结果表明各待测成分(7种黄酮类成分和3种有机

酸类成分)分离良好,溶剂系统对待测成分无干扰,此分析方法专属性良好。

2.1.2 标准曲线和定量下限 对9种浓度的混标对照品工作溶液进行线性观察,10种分析物均显示出良好的线性,回归方程、相关系数、线性范围见表4。

2.1.3 精密度 日内精密度:精密吸取同一混合对照品溶液,同一天内重复进样6次,记录10种目标成分的峰面积,并计算其峰面积的RSD值。日间精密度:连续进样3天,在同一天连续进样6次,测定10种目标成分的峰面积,并计算其峰面积的RSD值。结果(表5)显示,10种待测成分的日内和日间精密度的RSD值均小于3.2%,表明该分析方法精密度良好。

2.1.4 重复性 取同一批黄芩叶粉末样品6份,每份约15 mg,精密称定,按样品制备的方法制备供试品溶

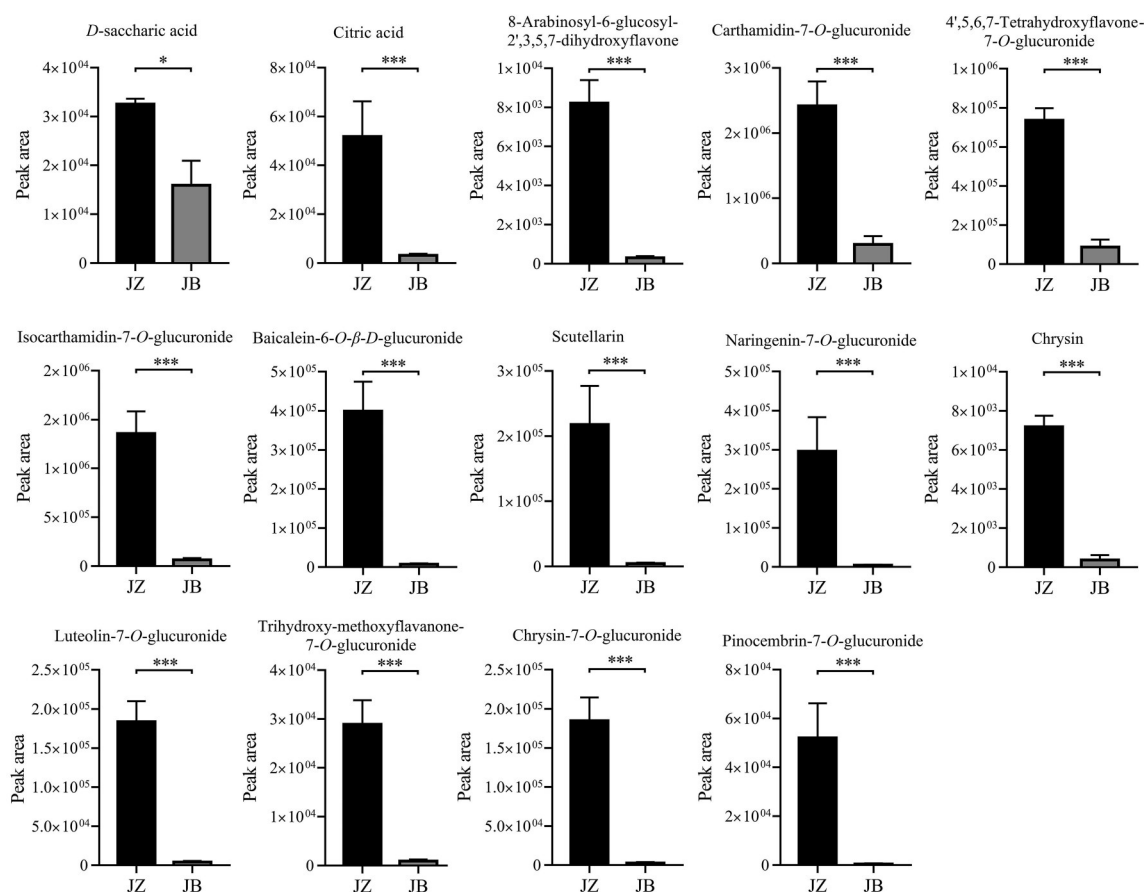


Figure 2 Significantly different components between JZ ($n = 11$) and JB ($n = 14$). All data are expressed as the mean \pm SD. * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$

Table 4 Liner range, regression equation, correlation coefficient of 10 analytes

Compound	Regression equation	Correlation coefficient (r^2)	Liner range/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	LOQ/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$
Scutellarin	$Y = 0.389\ 6X - 0.034\ 7$	0.999 1	0.000 7-3.650 0	0.76
Baicalin	$Y = 0.232\ 4X - 0.012\ 5$	0.998 5	0.000 4-1.866 2	0.45
Wogonin	$Y = 0.083\ 2X - 0.001\ 6$	0.998 7	0.000 5-2.625 3	0.58
Wogoninide	$Y = 0.074\ 3X + 0.002\ 7$	0.999 5	0.001 2-6.126 1	1.31
Apigenin	$Y = 0.077\ 1X - 0.008\ 3$	0.999 1	0.001 0-5.144 3	1.09
Apigenin-7-O-glucuronide	$Y = 0.209\ 2X - 0.006\ 2$	0.998 6	0.000 8-3.024 6	0.94
Naringenin	$Y = 0.126\ 4X - 0.005\ 7$	0.998 8	0.000 7-1.050 2	0.78
Caffeic acid	$Y = 0.112\ 8X + 0.003\ 9$	0.999 3	0.001 1-2.220 4	1.23
Malic acid	$Y = 0.713\ 3X + 0.009\ 2$	0.999 0	0.000 9-2.357 8	0.98
Citric acid	$Y = 0.553\ 8X - 0.017\ 9$	0.998 9	0.000 6-1.685 6	0.64

Table 5 The precision, stability, repeatability and recovery of 10 analytes ($n = 6$).

Compound	Precision RSD/%		Stability RSD/%	Repeatability RSD/%	Recovery	
	Intra-day	Inter-day			Mean/%	RSD/%
Scutellarin	1.65	1.33	1.42	1.38	100.02	2.11
Baicalin	1.39	1.45	1.85	1.05	99.84	2.78
Wogonin	1.07	1.32	1.74	1.12	101.09	1.63
Wogoninide	3.11	3.20	5.14	5.35	107.24	2.94
Apigenin	1.77	1.86	2.31	2.90	104.26	2.63
Apigenin-7-O-glucuronide	1.31	1.56	1.47	1.87	102.56	2.87
Naringenin	1.86	1.56	3.38	3.53	99.42	1.98
Caffeic acid	3.19	2.98	2.94	3.91	102.81	2.50
Malic acid	1.62	1.48	1.08	1.43	103.45	1.79
Citric acid	1.44	1.53	1.77	1.95	106.53	2.92

液,精密吸取 1 mL,精密加入 20 μ L 内标溶液,混匀,过 0.22 μ m 微孔滤膜后进样分析,记录 10 种目标成分的峰面积,计算其 RSD 值。结果(表 5)显示,10 种化学成分峰面积的 RSD 在 1.05%~5.35% 之间,符合含量测定中对重复性考察的基本要求。

2.1.5 稳定性 精密称定同一批黄芩叶粉末样品 15 mg,按样品制备的方法制备供试品溶液,精密吸取 1 mL,精密加入 20 μ L 内标溶液,混匀。同一供试品溶液于室温放置 0、2、4、8、12、16 和 24 h 后连续进样分析,记录峰面积,并计算 10 种目标成分峰面积的 RSD 值,结果显示,10 种化合物的 RSD 在 1.08%~5.14% 之间,表明在 24 h 内供试品溶液具有良好的稳定性。

2.1.6 加样回收率 精密称取已知 10 个目标成分含量的同一批黄芩叶样品 6 份,每份约 15 mg,置于具塞

锥形瓶中,分别精密加入低、中、高三水平(50%、100%、150%)的对照品适量,每个水平平行备样 3 次,按样品制备的方法制备供试品溶液,过 0.22 μ m 微孔滤膜后进样分析,记录各成分的峰面积,计算其平均加样回收率及相应的 RSD 值。如表 5 所示,10 种化合物的回收率在 99%~108% 内,且 RSD 值均小于 2.94%,表明该提取方法具有良好的准确度。

2.2 靶标定量分析

山西不同产地黄芩叶关键化学成分定量分析结果如图 6 所示,结果发现黄芩叶样本中 7 种黄酮类成分的平均含量大小为野黄芩苷 > 芹菜素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷 > 汉黄芩素 > 黄芩苷 > 柚皮素 > 芹菜素 > 汉黄芩苷,其中野黄芩苷的平均含量达 40.29 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$; 3 种有机酸类成分的平均含量大小为苹果酸 > 柠檬酸 > 咖啡

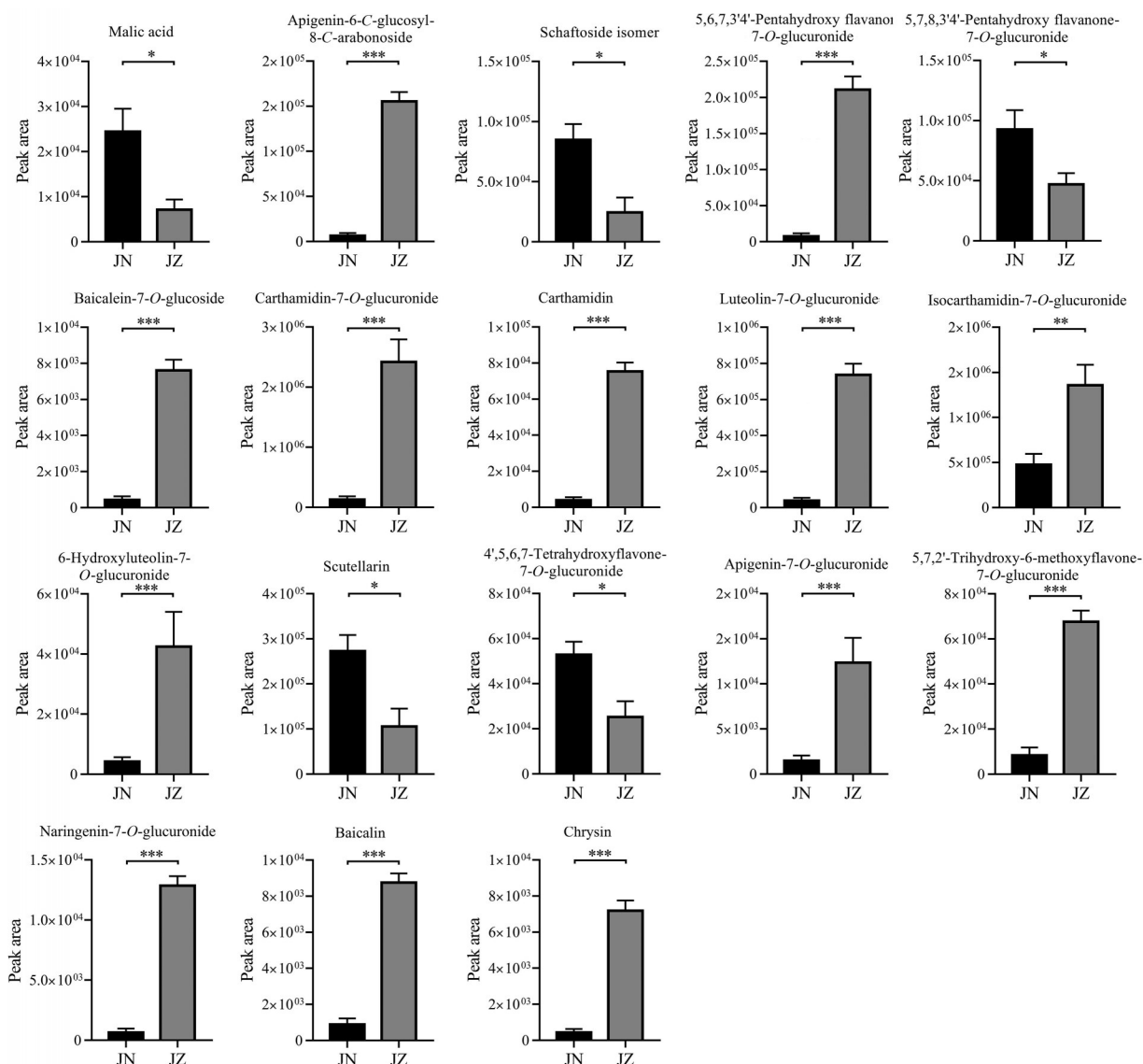


Figure 3 Significantly different components between JN ($n = 28$) and JZ ($n = 11$). All data are expressed as the mean \pm SD. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

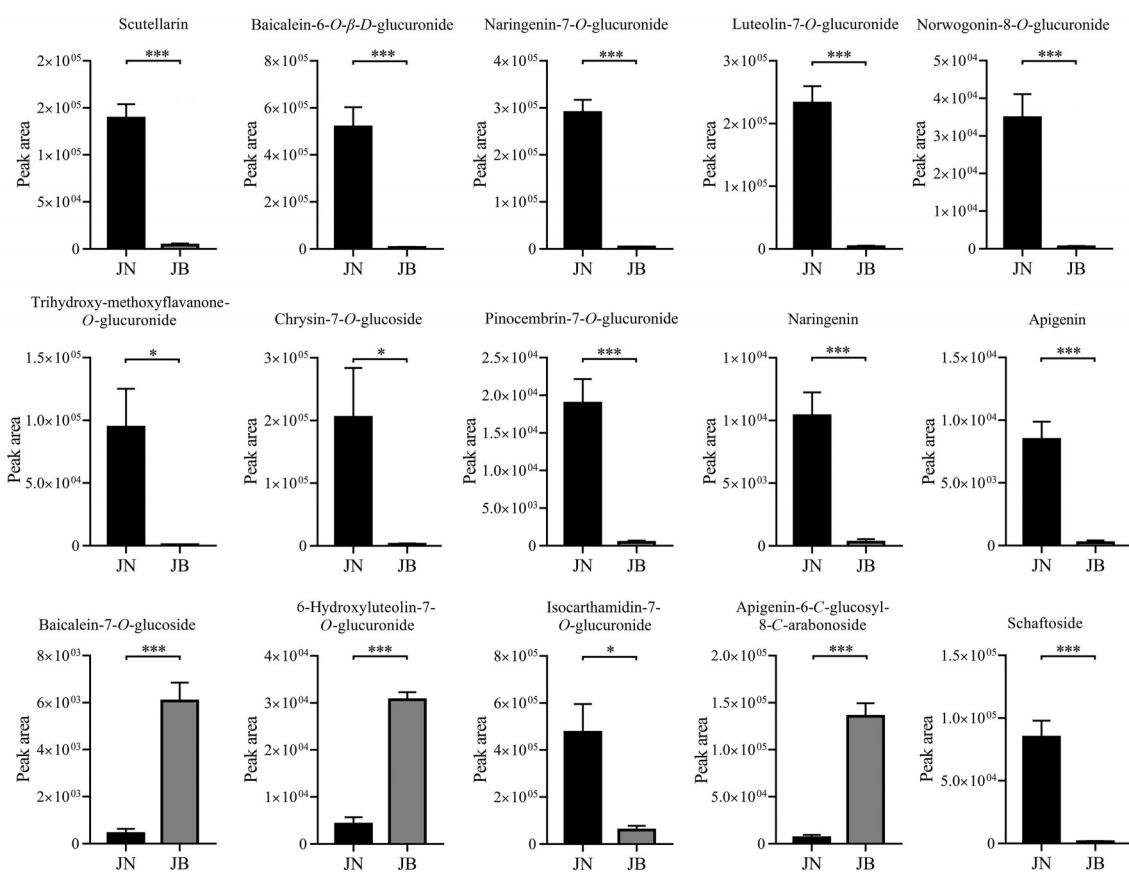


Figure 4 Significantly different components between JN ($n = 28$) and JB ($n = 14$). All data are expressed as the mean \pm SD. * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$

酸, 其中苹果酸的平均含量有 $15.16 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

接下来, 运用多元统计分析方法进一步对定量的准确结果进行产地间的比较分析。10种定量成分的PCA(图6A)及PLS-DA(图6B)分析结果发现, 晋北(JB)、晋中(JZ)和晋南(JN)三个地区之间的黄芩叶样本能明显分离。为进一步研究各产地间10种定量成分的含量差异, 利用GraphPad Prism 8.2.1软件, 对10种成分的含量按产区(晋北、晋中和晋南)进行单因素方差分析。如图6C所示, 野黄芩苷、黄芩苷、芹菜素、汉黄芩素、柚皮素、咖啡酸、苹果酸和芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷共8种成分在三个地区间有显著性差异, 汉黄芩苷和柠檬酸2种成分含量受地区影响不明显。其中, 野黄芩苷、咖啡酸、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷、苹果酸和汉黄芩苷含量变化为晋南 > 晋中 > 晋北, 汉黄芩素和芹菜素含量变化为晋北 > 晋中 > 晋南, 黄芩苷含量变化为晋中 > 晋北 > 晋南, 柚皮素和柠檬酸含量变化为晋北 > 晋南 > 晋中。

讨论

本研究采用植物代谢组学技术对山西不同产地间

黄芩叶化学成分进行差异分析。通过PCA分析发现晋北、晋中和晋南三个地区间的黄芩叶样本间差异明显, 表明生态环境的差异对黄芩叶中的化学成分有显著影响。通过OPLS-DA分析对具有明显差异的晋北、晋中和晋南地区的黄芩叶样本进行两两比较分析, 筛选各组间差异化学成分的。结果表明, 晋北和晋中地区间存在14个显著性差异成分, 在晋南和晋中地区间有18个显著性差异成分, 在晋北和晋南地区间有15个显著性差异成分。其中, 黄芩叶中的主要化学成分野黄芩苷和异红花素-7-O-葡萄糖醛酸苷为晋北、晋中和晋南3个地区间的共有差异化学成分, 野黄芩苷在晋南地区含量最高, 晋北地区含量最低; 异红花素-7-O-葡萄糖醛酸苷在晋中地区含量最高, 晋北地区含量最低。

基于植物代谢组学分析结果, 作者建立了一种可以同时测定黄芩叶中7种黄酮类成分和3种有机酸类成分的含量测定方法, 以定量分析山西不同产地黄芩叶化学成分差异。结果发现不同地区间黄芩叶含量存在差异。其中, 野黄芩苷、黄芩苷、汉黄芩素、芹菜素、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷、柚皮素、咖啡酸和苹果酸8

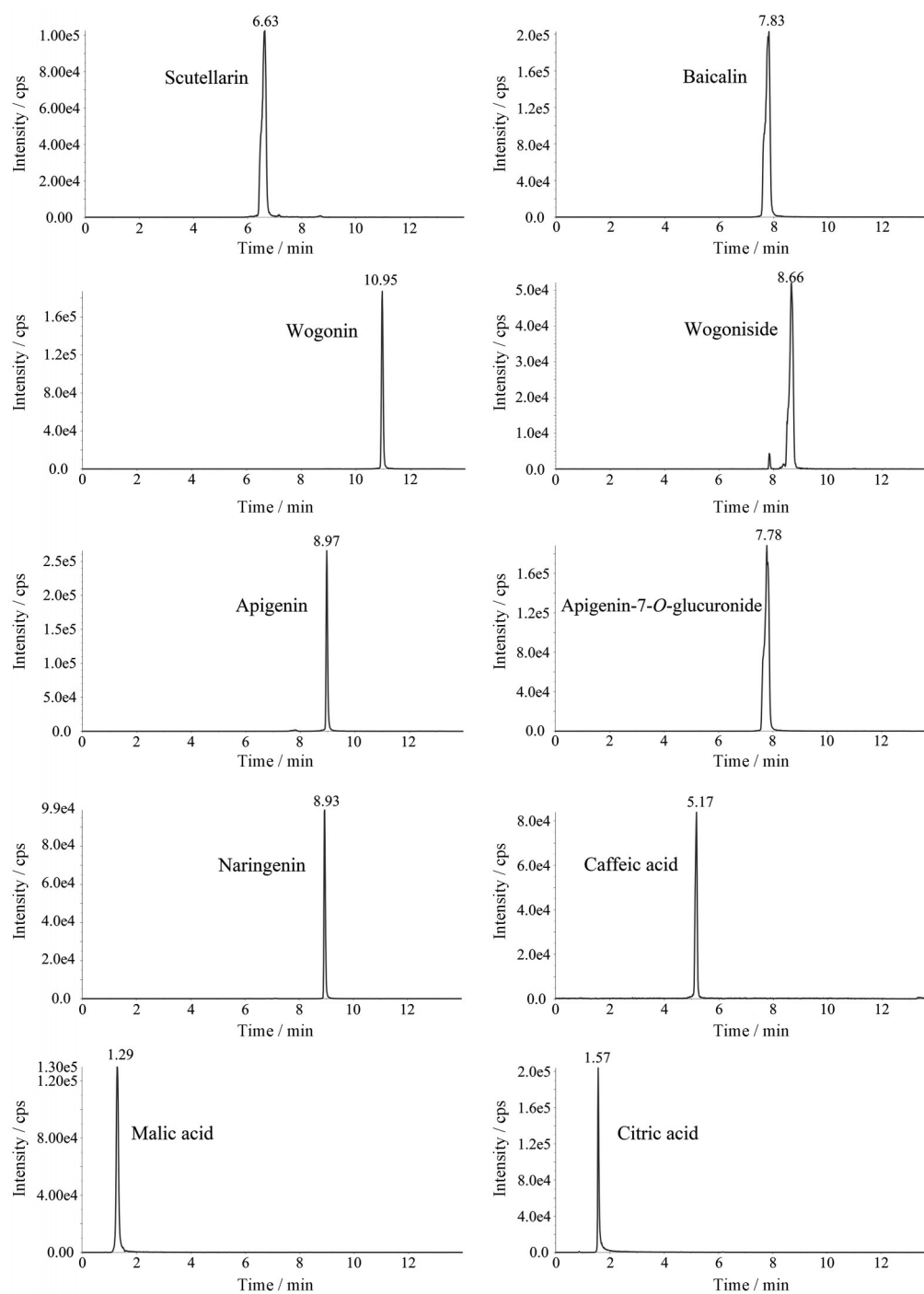


Figure 5 The typical MRM chromatograms of the 10 analytes in *Scutellaria baicalensis* leaves samples

种成分含量在晋北、晋中和晋南三个地区间存在显著性差异, 汉黄芩苷和柠檬酸在晋北、晋中和晋南三个地区间不存在显著性差异。

综上, 本研究对黄芩叶中的化学成分进行全面表征, 共鉴定出 53 个化学成分。同时, 采用植物代谢组学技术比较分析山西 8 个不同产地间黄芩叶化学成分的差异。并依据植物代谢组学分析结果, 建立一种可同时测定黄芩叶中 10 种化学成分的含量测定方法。

该研究对于黄芩叶资源的质量控制具有重要意义, 为山西产黄芩叶的质量评价奠定基础, 为合理有效利用黄芩叶资源提供理论依据。

作者贡献: 周玉枝负责研究思路的提出; 王涛、程鹏飞进行实验并处理数据; 程鹏飞、周玉枝、秦雪梅、杜冠华提供撰写思路及修改论文; 程鹏飞、王涛、陈聪聪查阅部分文献, 撰写草稿。所有作者阅读并认可的终稿。

利益冲突: 所有作者均无相关利益冲突。

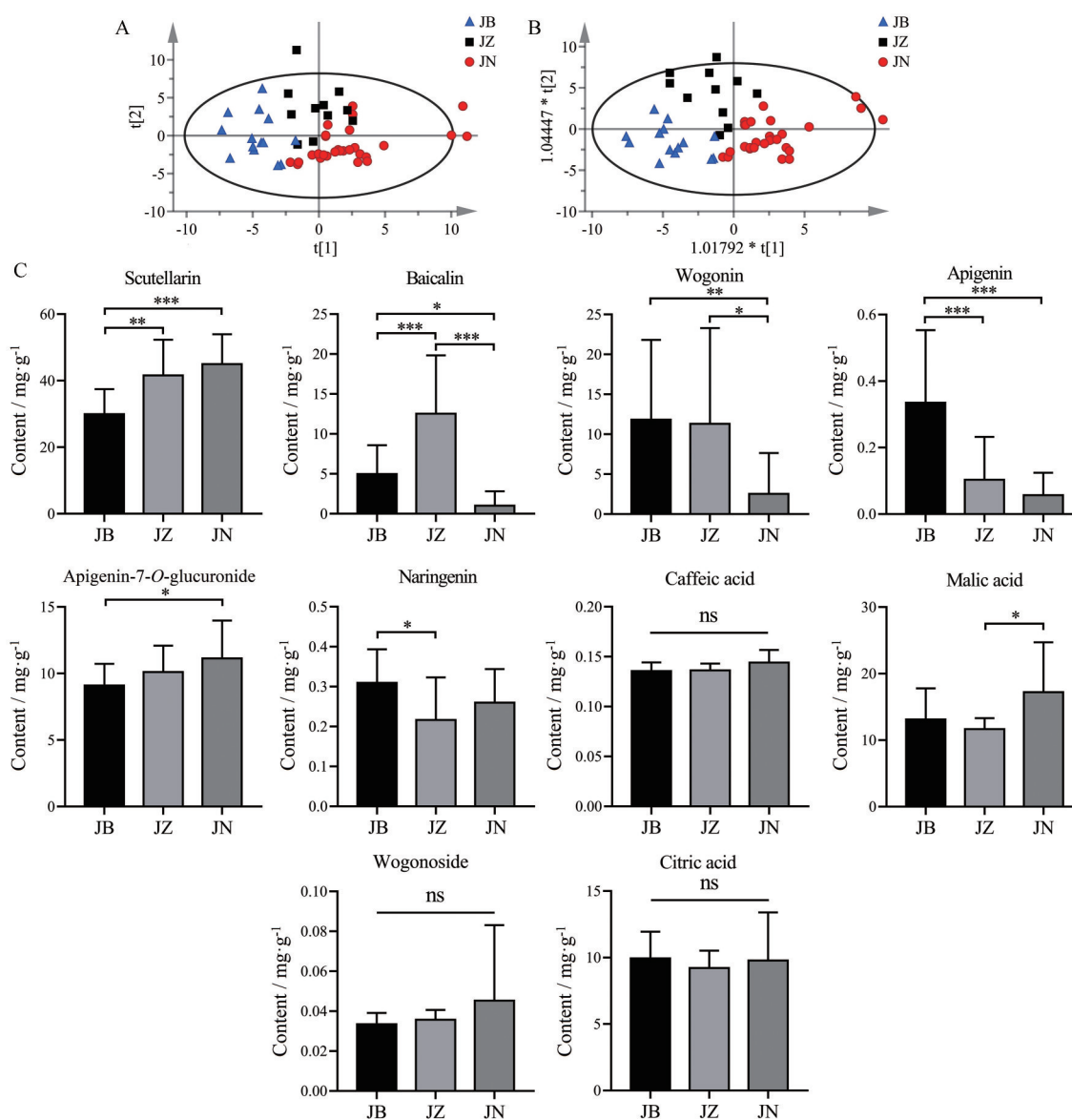


Figure 6 Multivariate data analysis and quantitative analysis of 10 components in *Scutellaria baicalensis* leaves samples from JB ($n = 14$), JZ ($n = 11$) and JN ($n = 28$) regions. A: PCA score plots from JB, JZ, and JN; B: PLS-DA score plots from JB, JZ, and JN; C: Results of quantitative analysis of 10 components in *Scutellaria baicalensis* leaves samples from JB, JZ and JN regions. All data are expressed as the mean \pm SD. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

References

[1] He CN, Peng Y, Xiao W, et al. Application history and research status of *Scutellaria baicalensis* Georgi tea [J]. Mod Chin Med (中国现代中药), 2011, 13: 3-7.
 [2] Wang HW, Yin ZF, Li HB, et al. Chemical constituents from stems and leaves of *Scutellaria baicalensis* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2016, 22: 41-44.
 [3] Sa QE, Wu XJ. Research progress on pharmacological action of stem and leaf of *Scutellaria baicalensis* Georgi [J]. J Med Pharm Chin (中国民族医药杂志), 2014, 20: 51-55.
 [4] Qiao LF, Wang XM, Yang YY, et al. Simultaneous determination of three flavonoids in *Scutellaria baicalensis* leaves from three

regions in Shanxi by HPLC [J]. J Shanxi Med Univ (山西医科大学学报), 2021, 52: 494-498.
 [5] Tian SY, Liao ZH, Zhou ZW, et al. Research progress and prospects for the use of plant metabolomics in quality evaluation of traditional Chinese medicinal materials [J]. Acta Pharm Sin (药 学 学 报), 2022, 57: 1734-1749.
 [6] Wang B, Zhang TX, Zhao Q, et al. Application progress of plant metabolomics in medicinal plants [J]. Chin Arch Tradit Chin Med (中华中医药学刊), 2021, 39: 28-31.
 [7] Han J, Ye M, Xu M, et al. Characterization of flavonoids in the traditional Chinese herbal medicine-Huangqin by liquid chromatography coupled with electrospray ionization mass spectrometry

- [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2007, 848: 355-362.
- [8] Wang H, Cao J, Xu S, et al. Depletion of high-abundance flavonoids by metal complexation and identification of low-abundance flavonoids in *Scutellaria baicalensis* Georgi [J]. *J Chromatogr A*, 2013, 1315: 107-117.
- [9] Zhou P, Hu O, Fu H, et al. UPLC-Q-TOF/MS-based untargeted metabolomics coupled with chemometrics approach for Tieguan-yin tea with seasonal and year variations [J]. *Food Chem*, 2019, 283: 73-82.
- [10] Liu G, Rajesh N, Wang X, et al. Identification of flavonoids in the stems and leaves of *Scutellaria baicalensis* Georgi [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2011, 879: 1023-1028.
- [11] Jiang Y, Liu R, Chen J, et al. Application of multifold characteristic ion filtering combined with statistical analysis for comprehensive profiling of chemical constituents in anti-renal interstitial fibrosis I decoction by ultra-high performance liquid chromatography coupled with hybrid quadrupole-orbitrap high resolution mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2019, 1600: 197-208.
- [12] Qiao X, Li R, Song W, et al. A targeted strategy to analyze untargeted mass spectral data: rapid chemical profiling of *Scutellaria baicalensis* using ultra-high performance liquid chromatography coupled with hybrid quadrupole orbitrap mass spectrometry and key ion filtering [J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1441: 83-95.
- [13] Pang YY, Xue LY, Zheng YH, et al. Comparative study on quality of *Scutellaria baicalensis* Georgi in different harvest periods using UHPLC-MS/MS metabolomics technology [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2017, 52: 1903-1909.
- [14] Liu G, Ma J, Chen Y, et al. Investigation of flavonoid profile of *Scutellaria baicalensis* Georgi by high performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ion trap mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216: 4809-4814.
- [15] Chen S, Liu J, Dong G, et al. Flavonoids and caffeoylquinic acids in *Chrysanthemum morifolium* Ramat flowers: a potentially rich source of bioactive compounds [J]. *Food Chem*, 2021, 344: 128733.