

基于 NMR 代谢组学技术的当归不同部位化学成分比较

李 静^{1,2}, 魏玉海³, 秦雪梅¹, 李震宇^{1*}

1. 山西大学 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

2. 山西大学化学化工学院, 山西 太原 030006

3. 青海出入境检验检疫局, 青海 西宁 810000

摘要: 目的 拟对当归 *Angelica sinensis* 不同部位的化学成分进行比较。方法 运用核磁代谢组学技术对当归的不同部位进行了代谢组学化学成分比较。并采用主成分分析、正交偏最小二乘法、单变量分析等统计方法对当归不同部位的代谢产物进行了比较分析。结果 通过核磁图谱共指认出包括初级和次级代谢产物共 36 种。多种统计分析发现, 当归头部量较高的成分包括缬氨酸、异亮氨酸等; 主要分布于尾部的成分包括 Z-丁烯基苯肽、*cis*-Z,Z'-3 α ,7 α ',7 α ,3 α '-dihydroxyligustilide 等; 主要分布于身部的成分包括色氨酸、阿魏酸松柏酯; 在头部和尾部量均较高的成分包括天冬氨酸、Z-藁本内酯等; 在 3 个部分无明显差异的成分包括丙氨酸、精氨酸等。结论 采用的核磁共振指纹可同时表征当归中的初级和次级代谢产物, 研究结果可为进一步揭示当归不同部位功效与化学成分的相关性奠定基础。

关键词: 当归; 不同部位; 代谢组学; 天冬氨酸; Z-藁本内酯; 多元统计

中图分类号: R282.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)07-1409-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.07.025

Chemical comparison on different parts of *Angelica sinensis Radix* based on NMR metabolomics

LI Jing^{1,2}, WEI Yu-hai³, QIN Xue-mei¹, LI Zhen-yu¹

1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

3. Qinghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Xining 810000, China

Abstract: Objective To compare the chemical constituents in different parts of *Angelica Sinensis Radix* (ASR). **Methods** In this study, NMR-based metabolomics approach was used to compare the chemical constituents of different parts in ASR. And the metabolites of different parts in ASR were analyzed using PCA, OPLS-DA, and univariate analysis. **Results** Totally 36 metabolites were identified in the NMR spectra. Multivariate analysis revealed that higher levels of some compounds, such as valine and isoleucine, were present at the head of ASR, while the tail showed higher contents of Z-butylidenephthalide, *cis*-Z,Z'-3 α .7 α ,7 α .3 α '-dihydroxyligustilide, etc. The body showed higher contents of tryptophan, coniferyl ferulate, and the levels of aspartic acid, Z-ligustilide, etc were present at higher levels in both head and tail. For some metabolites, such as alanine and arginine, no significant difference was observed among the three parts of ASR. **Conclusion** Both the primary and secondary metabolites of ASR can be detected at the same time by ¹H-NMR based metabolic profiling approach used in this study, and the results revealed in this study laid the foundation for the further investigation of the relationship between the chemical components and biological effects of different parts in ASR.

Key words: *Angelica Sinensis Radix*; different parts; metabolomics; aspartic acid; Z-ligustilide; multivariate

当归为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根^[1], 别名秦归、云归、西归、岷归, 始载于《神农本草经》, 列为上品, 味甘、辛, 性温, 具有补血、活血、调经、止痛、润肠等功效^[2], 为临床使用频率最高的中药之一, 素有“十方九归”之称^[3]。全归根为圆柱形, 根的上部称为“头”, 主

收稿日期: 2016-09-19

基金项目: 山西省科技创新重点团队 (2013131015); 山西省高等学校创新人才支持计划

作者简介: 李 静, 女, 硕士, 研究方向为中药质量控制。Tel: 15735175924 E-mail: jinglisxu@163.com

*通信作者 李震宇, 男, 教授, 硕士生导师, 研究方向为中药质量控制及活性成分研究。Tel: 15834101402 E-mail: lizhenyu@sxu.edu.cn

根部称为“身”，支根部称为“尾”，根据中医理论和临床用药经验，当归不同药用部位具有不同的功效，当归的头部、身部、尾部均可用药。根据苏中武主编《生药学》记载：“历代医家认为，应按归头、归身、归尾三部分分开入药”，甚至有人认为“用者不分，不如不使”^[4]。《汤液本草》（元·王好古）云：“头止血，身和血，梢破血。”

近年来有研究采用高效液相色谱（HPLC）、气相色谱-质谱联用（GC-MS）、近红外漫反射（NIR）等手段对当归不同部分的化学组成进行了比较，指标包括挥发油类以及藁本内酯、阿魏酸、绿原酸等次级代谢产物^[5-9]。这些研究为当归不同部位的化学比较奠定了研究基础。然而，当归的化学组成非常复杂，有限的指标难以完全揭示当归不同部位之间的化学差异。植物代谢组学是以植物提取物为研究对象，以高通量检测和数据处理为手段，具有整体观的研究思路，已被广泛地应用于中药材的质量分析，如款冬^[10]、柴胡^[11]、远志^[12-13]、人参^[14]、阿胶^[15]、地黄^[16]、厚朴^[17]等。核磁共振可以检测大部分的有机化合物，尤其适合于色谱柱上不保留或无紫外吸收的化合物。此外核磁共振指纹图谱中的化学位移、偶合常数、峰形等可以给出样品中成分的化学结构信息。因此，在中药材质量评价与分析中，作为一种整体性分析技术，核磁共振代谢组学分析是液相指纹图谱的有力补充^[18]。本实验拟采用基于 NMR 技术，从整体物质组的角度，对当归不同药用部位进行化学比较，为阐明当归不同部位化学成分与功效的相关性奠定研究基础。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究收集的当归样品购自甘肃兰州黄河药材市场，样品经山西大学秦雪梅教授鉴定为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根，标本保存在山西大学中医药现代研究中心。

1.2 仪器与试剂

Bruker 600-MHz AVANCE III NMR Spectrometer (600.13 MHz, 德国布鲁克公司); 超声波清洗器 (KQ5200E, 昆山市超声仪器有限公司); 旋转蒸发器 (RE-52A, 上海亚荣生化仪器厂); SC-3610 低速离心机 (安徽中科中佳科学仪器有限公司); TGL-16 高速台式冷冻离心机、分析纯甲醇 (北京化工厂); 分析纯氯仿 (天津市天力化学试剂有限公司); 娃哈哈纯净水、NMR 试剂: 重水 (Norell, Landisville 公司, 美国); 氘代甲醇、氘代氯仿

(99.8%, Merck 公司, 德国); 氘代氢氧化钠 (Armar 公司, 瑞典); 三甲基硅烷丙酸钠盐 (TSP, Cambridge Isotope Laboratories Inc., MA)。

1.3 核磁样品制备

参照课题组之前报道的方法进行供试品制备^[18]。精密称取液氮研磨后药材粉末各 200 mg, 置于 10 mL 玻璃离心管中, 分别加蒸馏水及甲醇各 1.5 mL, 氯仿 3 mL, 涡旋混匀 1 min, 超声提取 25 min, 室温下离心 (3 500 r/min) 25 min, 提取液分为 2 层 (上层为水溶性部分即甲醇水相, 下层为氯仿相), 用移液枪分别转移至 25 mL 圆底烧瓶中, 减压浓缩蒸干。于测定前用 NMR 试剂溶解, 其中甲醇水相层用氘代甲醇 400 μ L 与缓冲重氘水 (缓冲液: KH_2PO_4 溶于 D_2O 中, 以 1 mol/L 氘代氢氧化钠溶液调节 pH 值至 6.0, 含 0.1% TSP) 400 μ L 溶解, 溶解液分别转移至 1.5 mL 离心管中, 离心 (13 000 r/min) 10 min, 移取上清液 600 μ L 于 5 mm 核磁管中待测, 而氯仿相部分用氘代氯仿 800 μ L 溶解, 取上清液 600 μ L 转移到 5 mm 核磁管中待测。每批药材样品平行备样 2 份。

1.4 ^1H -NMR 测定及条件

样品在 25 $^\circ\text{C}$ 下于 600 MHz NMR 仪上测定, 测定频率为 600.13 MHz, 扫描次数为 64, 谱宽 12 345.679 Hz。甲醇水相提取物核磁测定采用 noesygppr1d 序列压制水峰, 用氘代甲醇进行锁场, 内标为 TSP。氯仿相提取物核磁测定采用 zg30 序列, 用氘代氯仿锁场, 内标为 TMS。

1.5 数据分析

核磁图谱采用 MestReNova (version 8.0.1, 西班牙) 进行处理。核磁图谱经过定标、相位、基线校准后, 以 δ 0.04 积分段对化学位移区间进行分段积分。甲醇水相核磁图谱中对化学位移 δ 0~9.52 进行分段积分, 其中 δ 4.92~4.96 (残余水峰) 和 δ 3.28~3.32 (残余甲醇峰) 不进行积分, 氯仿相核磁图谱中对化学位移 δ 0.60~9.84 进行分段积分, 其中 δ 7.20~7.32 (残余氯仿峰) 不进行积分。将 Excel 中的积分数据导入 SIMCA-P 13.0 (Umetrics, Umea, 瑞典) 软件中进行主成分分析 (PCA), 再用偏最小二乘法判别分析 (PLS-DA), 规格化方法为 Unit Variance scaling (UV) 法。对核磁图谱中信号未完全重叠的物质通过积分面积进行单变量分析, 将积分后的数据导入 GraphPad Prism5.01 中, 并在 SPSS16.0 中进行两两比较 t 检验, ANOVA 分析^[19]。

2 结果与分析

2.1 代谢组学分析

采用氯仿-甲醇-水 (2:1:1) 两相提取法, 得到当归头部、身部及尾部样品的甲醇水相和氯仿相提取物。通过对照品对照、文献报道数据以及 BMRB 数据库中的标准物质对照, 从当归各部分图谱中指认出 36 个代谢产物 (图 1)。其中甲醇水相中主要包括极性大的成分 (图 1-A), 图谱大致可以分为 3 个区域, 高场区 (δ 3.10~0.00) 主要包括有机酸和氨基酸, 如亮氨酸、苏氨酸、缬氨酸、柠檬酸等; 碳水化合物区 (δ 5.50~3.10) 主要为糖类物质, 包括 α -葡萄糖、 β -葡萄糖以及蔗糖等, 此外还包括胆碱等物质; 低场区 (δ 9.0~5.50) 主要包括芳香化合物, 包括阿魏酸、酪氨酸、腺苷、尿嘧啶等。氯仿相提取物中主要是低极性成分 (图 1-B), 包括脂肪酸类及当归的次级代谢产物, 如甘油酯、*Z*-藁本内酯、*Z*-丁烯基苯肽及阿魏酸松柏酯等。各类化合物的核磁数据见表 1。

2.2 多元统计分析

$^1\text{H-NMR}$ 图谱虽然可以提供大量的指纹信息, 但直观分析显示当归不同部分化学差异并不十分明显。因此, 需要借助多元统计方法对数据进行深入分析以准确揭示当归各部分化学差异。首先对当归头部、尾部及身部甲醇水相提取物进行 PCA 分析 (图 2-A), 由主成分 1 (PC1: 64.1%) 和主成分 2 (PC2: 47.3%) 为横纵坐标构建的得分散点图可直观看出, 当归头部、尾部及身部样品具有一定的分离趋势, 即存在一定组间差异, 说明当归 3 个部位所含化学成分存在一定差异。在氯仿相的 PCA 得分散点图中 (图 2-D), 第 1 主成分和第 2 主成分共解释了 54.4% (PC1: 35.1%, PC2: 27.7%) 的原始变量信息, 三者也具有一定的分离趋势, 说明当归头部、尾部及身部的低极性成分之间也存在化学差异。不同批次的当归样品相对分散, 说明组内也存在差异, 原因可能在于不同产地和批次的影响。

OPLS-DA 在 PCA 的基础上将与 Y 矩阵相关的 X 矩阵和与 Y 矩阵无关的 X 矩阵加以区分, 并将无关

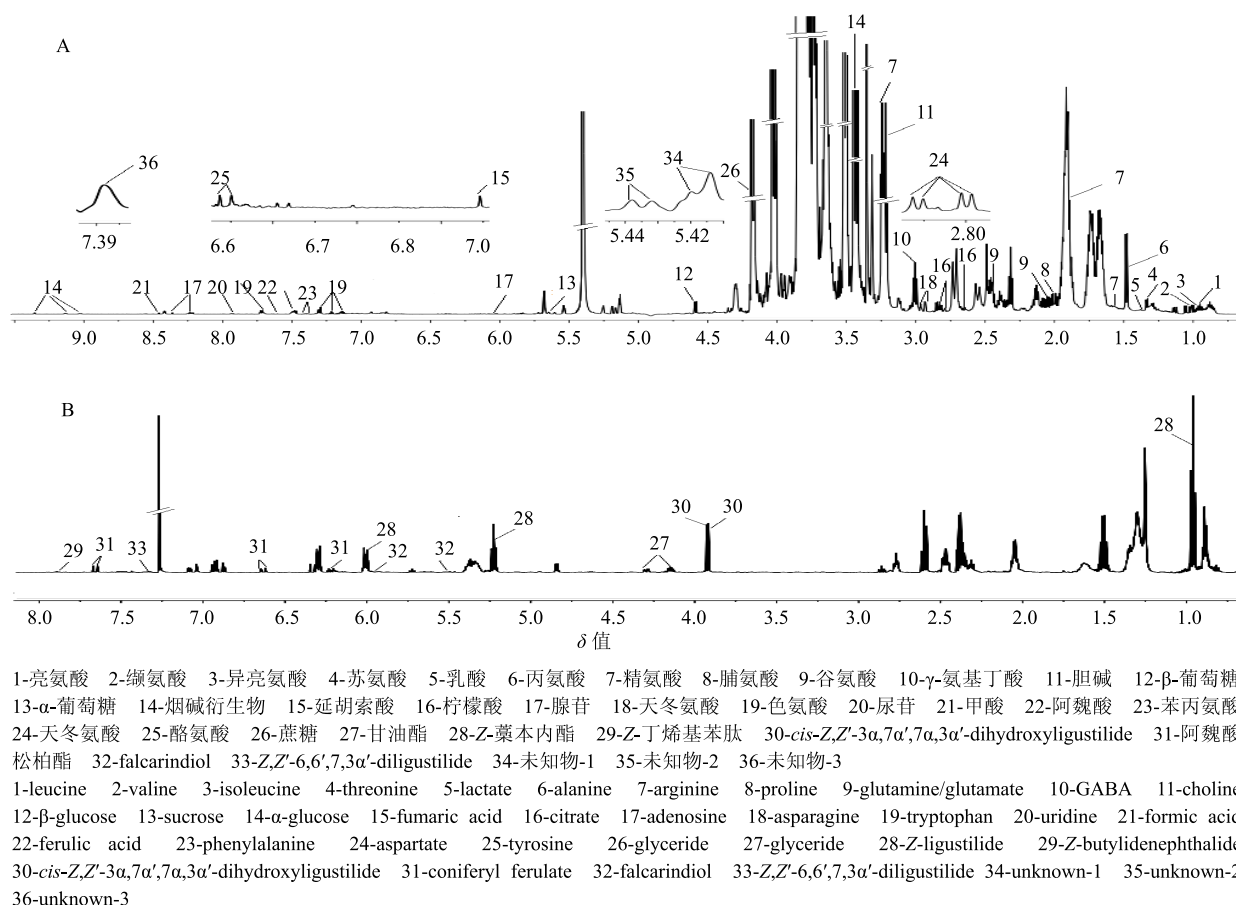


图 1 当归甲醇水相 (A) 和氯仿有机相 (B) $^1\text{H-NMR}$ 图谱指认

Fig. 1 $^1\text{H-NMR}$ assignments of major metabolites in methanol-water extract (A) and organic phase (B) of ASR

表 1 当归中主要化合物的 $^1\text{H-NMR}$ 图谱数据归属
Table 1 $^1\text{H-NMR}$ assignments of major metabolites in ASR

峰号	化合物	δ_{H}	植物部位
1	亮氨酸	0.96 (d, $J=6.0$ Hz)	头、身、尾
2	缬氨酸	1.01 (d, $J=7.2$ Hz), 1.06 (d, $J=7.2$ Hz)	头、身、尾
3	异亮氨酸	0.97 (t, $J=7.8$ Hz), 1.02 (d, $J=7.2$ Hz)	头、身、尾
4	苏氨酸	1.33 (d, $J=6.6$ Hz)	头、身、尾
5	乳酸	1.34 (d, $J=6.6$ Hz)	头、身、尾
6	丙氨酸	1.49 (d, $J=7.2$ Hz)	头、身、尾
7	精氨酸	1.60 (m), 1.80 (m), 1.90 (m), 3.23 (t, $J=7.2$ Hz)	头、身、尾
8	脯氨酸	2.08 (m), 2.34 (m)	头、身、尾
9	谷氨酸	2.15 (m), 2.47 (m)	头、身、尾
10	γ -氨基丁酸	2.38 (t, $J=7.2$ Hz), 3.01 (t, $J=7.2$ Hz)	头、身、尾
11	胆碱	3.21 (s)	头、身、尾
12	β -葡萄糖	4.58 (d, $J=8.4$ Hz)	头、身、尾
13	α -葡萄糖	5.18 (d, $J=4.8$ Hz)	头、身、尾
14	烟碱衍生物	8.22 (m), 9.03 (d, $J=8.4$ Hz), 9.12 (d, $J=6.0$ Hz), 9.36 (s)	头、身、尾
15	延胡索酸	6.54 (s)	头、身、尾
16	柠檬酸	2.65 (d, $J=16.8$ Hz), 2.78 (d, $J=15.6$ Hz)	头、身、尾
17	腺苷	6.02 (d, $J=6.6$ Hz), 8.24 (s), 8.35 (s)	头、身、尾
18	天冬氨酸	2.83 (dd, $J=7.8, 16.8$ Hz), 2.96 (dd, $J=3.6, 16.8$ Hz)	头、身、尾
19	色氨酸	7.13 (t, $J=7.8$ Hz), 7.21 (t, $J=7.2$ Hz), 7.29 (s), 7.47 (d, $J=7.8$ Hz), 7.71 (d, $J=7.8$ Hz)	头、身、尾
20	尿苷	5.87 (t, $J=8.4$ Hz), 7.91 (d, $J=7.8$ Hz)	头、身、尾
21	甲酸	8.47 (s)	头、身、尾
22	阿魏酸	6.37 (d, $J=16.2$ Hz), 6.89 (d, $J=8.4$ Hz), 7.07 (dd, $J=2.4, 7.8$ Hz), 7.15 (d, $J=1.8$ Hz), 7.62 (d, $J=15.6$ Hz)	头、身、尾
23	苯丙氨酸	7.33 (d, $J=7.2$ Hz), 7.40 (d, $J=7.8$ Hz)	头、身、尾
24	天冬氨酸	2.57 (dd, $J=6.6, 16.2$ Hz), 2.80 (dd, $J=4.8, 16.2$ Hz)	头、身、尾
25	酪氨酸	6.85 (d, $J=9.0$ Hz), 7.18 (d, $J=8.4$ Hz)	头、身、尾
26	蔗糖	3.44 (t, $J=9.6$ Hz), 3.75 (t, $J=9.6$ Hz), 4.03 (t, $J=8.4$ Hz), 4.17 (d, $J=8.4$ Hz), 5.41 (d, $J=4.2$ Hz)	头、身、尾
27	甘油酯	4.14 (dd, $J=6.0, 12.0$ Hz), 4.29 (dd, $J=4.2, 12.0$ Hz)	头、身、尾
28	Z-藁本内酯	0.96 (t, $J=7.2$ Hz), 1.51 (m), 2.38 (m), 2.45 (m), 2.60 (m), 5.21 (t, $J=7.8$), 6.0 (m), 6.29 (d, $J=0.6$ Hz)	头、身、尾
29	Z-丁烯基苯肽	7.60 (t, $J=7.2$ Hz), 7.89 (d, $J=7.8$ Hz)	头、身、尾
30	cis-Z,Z'-3 α ,7 α' ,7 α ,3 α' -dihydroxyiligustilide	4.85 (t, $J=7.8$ Hz)	头、身、尾
31	阿魏酸松柏酯	4.80 (d, $J=6.6$ Hz), 6.21 (m), 6.63 (d, $J=15.6$ Hz), 6.88 (d, $J=8.2$ Hz), 6.92 (t, $J=8.4$ Hz), 7.08 (dd, $J=7.8, 22.2$ Hz), 7.65 (d, $J=15.6$ Hz)	头、身、尾
32	falcarindiol	5.50 (m), 5.97 (m)	头、身、尾
33	Z,Z'-6,6',7,3 α' -diligustilide	7.35 (d, $J=6.6$ Hz)	头、身、尾
34	未知物-1	5.42 (d, $J=3.6$ Hz)	头、身、尾
35	未知物-2	5.43 (d, $J=3.6$ Hz)	头、身、尾
36	未知物-3	9.36 (s)	头、身、尾

的 X 变量加以滤除, 不仅可以消除组内误差及消除与研究目的无关的随机误差, 而且能够体现数据的整体特征与变化规律, 利于提高模型的有效性和解析能力^[20]。有监督的模式识别方法着重强调组间差异, 而将组内差异降至最低, 但模型的使用应以模型有效为前提。对于当归 3 个不同部位的甲醇水相

提取物, 虽然头部与其他 2 个部位可以区分 (图 2-B), 但排列实验结果显示模型无效 (图 2-C), 即差异无统计学意义, 说明当归 3 个部位甲醇水相提取物的差异非常小。对于有机相提取物, 3 个部位均可明显区分 (图 2-E), 且排列实验显示模型有效 (图 2-F), 说明当归 3 个不同部位在低级性成分上

的差异大于高极性成分。

当归甲醇水相提取物中含有大量的糖类, 这些高浓度成分掩盖了其他成分对分类的贡献。为了分析低浓度芳香区化学成分在当归不同部位的差异, 对当归甲醇水相 $^1\text{H-NMR}$ 图谱的芳香区 (δ 9.68~

5.68) 进一步分析。PCA (图 3-A) 分析发现 3 个部位的差异仍不明显, OPLS-DA (图 3-B) 分析显示 3 个部位可明显分开, 并且排列实验显示模型有效 (图 3-C), 说明当归甲醇水相芳香区成分在 3 个部位的分布确实存在一定差异。

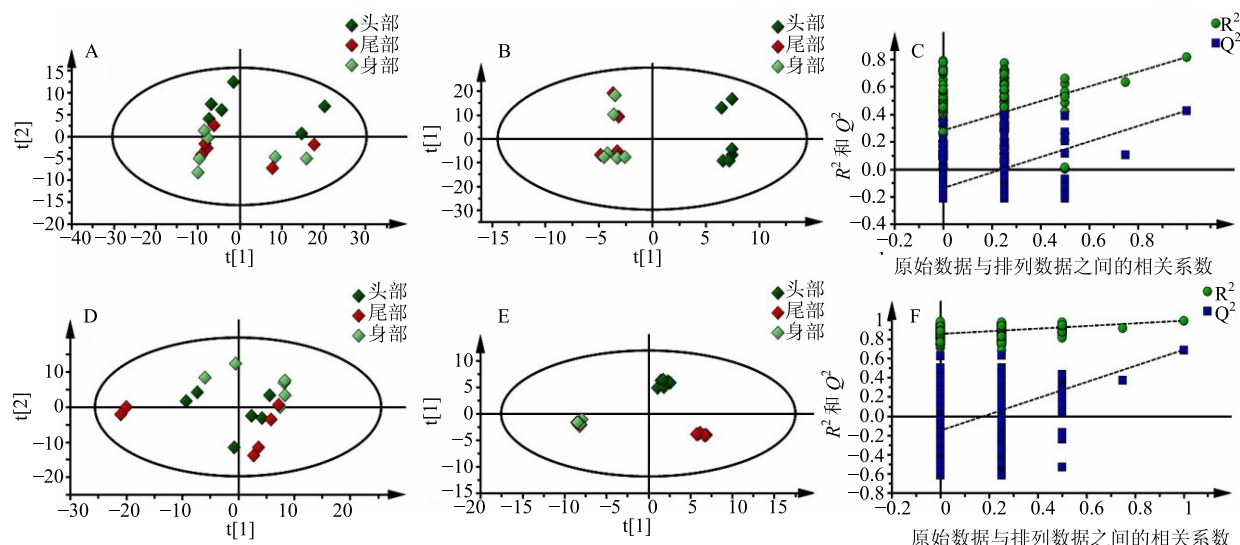


图 2 甲醇水相 PCA 得分 (A)、甲醇水相 OPLS-DA 得分 (B)、甲醇水相 $^1\text{H-NMR}$ 谱 PLS-DA 模型验证 (C)、氯仿有机相 PCA 得分 (D)、氯仿有机相 OPLS-DA 得分 (E) 和 氯仿相 $^1\text{H-NMR}$ 谱 PLS-DA 模型验证 (F) 图

Fig. 2 PCA score plots (A), OPLS-DA score plots (B), and $^1\text{H-NMR}$ PLS-DA model verification (C) of methanol-water extract, and PCA score plots (D), OPLS-DA score plots (E), and $^1\text{H-NMR}$ PLS-DA model verification (F) of chloroform extract

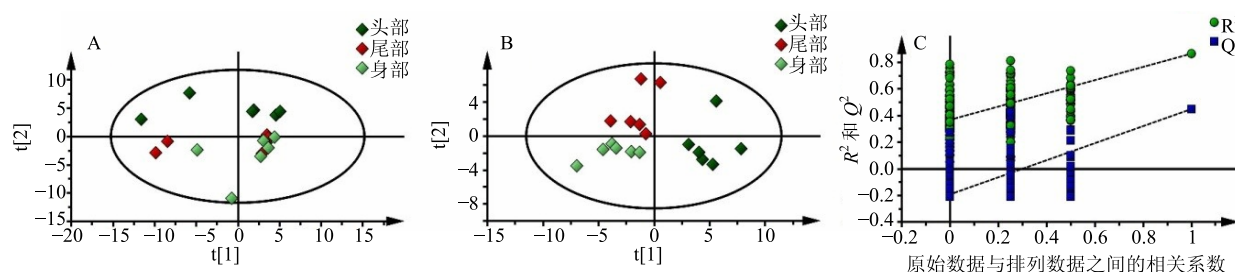


图 3 甲醇水相芳香区的 PCA 得分 (A)、甲醇水相芳香区的 OPLS-DA 得分 (B)、甲醇水相芳香区 $^1\text{H-NMR}$ 谱 PLS-DA 模型验证 (C) 图

Fig. 3 PCA score plots (A), OPLS-DA score plots (B), and $^1\text{H-NMR}$ PLS-DA model verification (C) of aromatic region from methanol-water extract

核磁图谱积分面积可以反映物质的相对质量分数, 因此对当归头部、尾部及身部中共 30 种化学成分, 以内标 TSP 或者 TMS 进行积分, 然后运用 Graph Prism 5.01 软件对 30 种不同成分进行单变量分析, 结果如图 4 所示。由于当归产地、批次导致的组内差异较大, 多数成分差异无统计学意义, 但仍可看出每一成分在不同部位之间大致的质量分数分布趋势。当归头部量较高的成分包括缬氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、烟碱衍生物、腺苷、甲酸、阿魏酸、苯丙氨酸、酪氨酸、甘油酯、未知物 3; 主要分布

于尾部的成分包括亮氨酸、苏氨酸、Z-丁烯基苯肽、阿魏酸松柏酯、faltarindiol、Z,Z'-6,6',7,3 α' -diligustilide; 主要分布于身部的成分包括色氨酸、cis-Z,Z'-3 α' ,7 α' ,7 α' ,3 α' -dihydroxy ligustilide; 在头部和尾部量均较高的成分包括天冬氨酸、Z-藁本内酯、未知物 1; 在 3 个部分无明显差异的成分包括乳酸、丙氨酸、精氨酸、谷氨酸、 γ -氨基丁酸、胆碱、未知物 2。

此外, 当归有机相中含有较多的脂肪酸或脂肪酸酯类成分, 包括全饱和以及不饱和脂肪酸, 化学位移

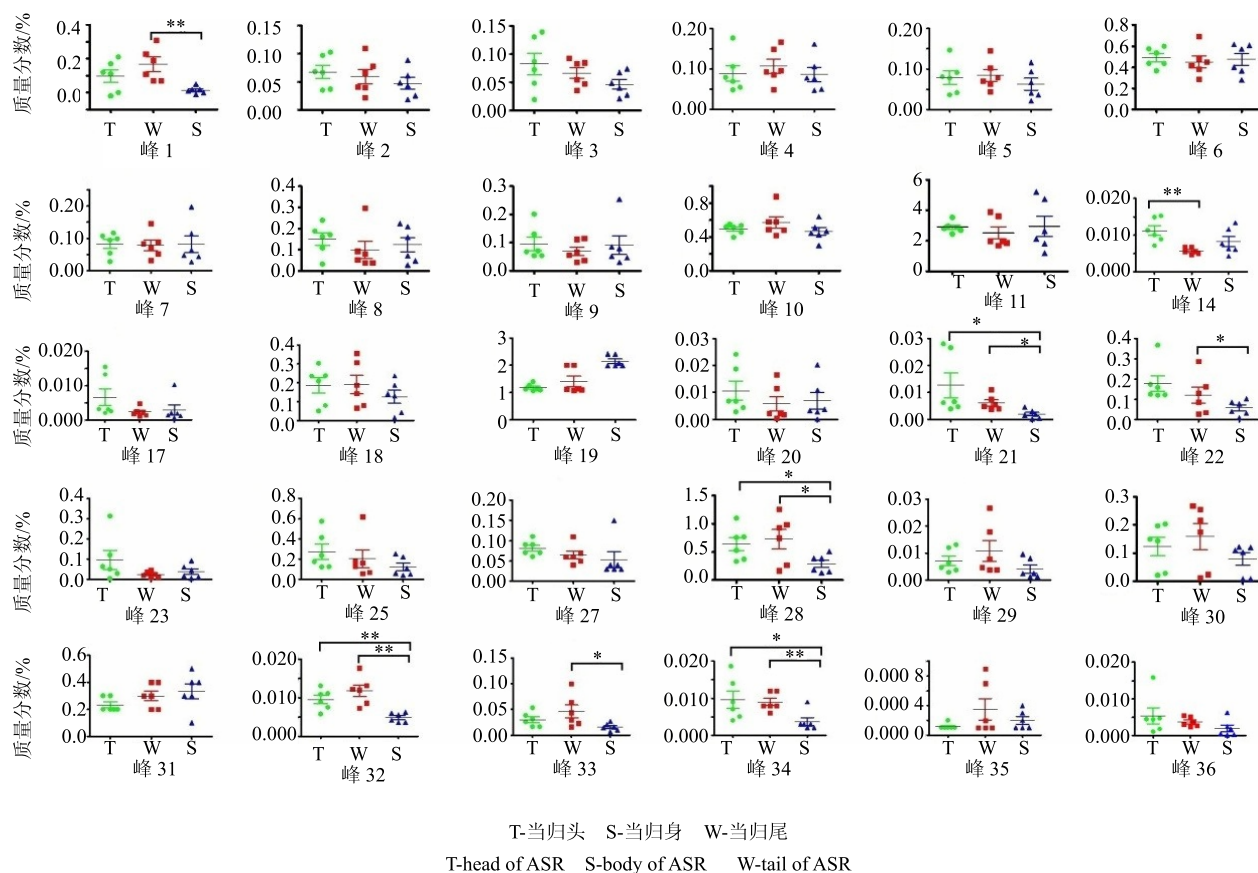


图4 当归头部、尾部及身部代谢物比较

Fig. 4 Quantification of metabolites identified from head (T), body (S), and tail (W) of ASR

δ 2.7的信号为多不饱和脂肪酸中位于2个双键之间的亚甲基信号, 化学位移 δ 2.0处的信号为与1个双键相连的亚甲基信号, 当归3个部位中这2个信号的积分面积也存在显著差异, 说明当归不同部位中脂肪酸类或脂肪酸酯类成分也存在一定差异, 但差异成分的种类需要采用其他手段进一步深入分析(图5)。

3 讨论

当归是中医临床重要药材, 当归头、身、尾分别具有不同的功效。本研究利用 $^1\text{H-NMR}$ 的代谢组学技术对当归头、身、尾的化学组成进行了比较。

从当归的有机相和甲醇水相图谱中共鉴定化合物36种, 包括Z-藁本内酯、Z-丁烯基苯肽、阿魏酸松柏酯、Falcarindiol等次级代谢产物, 以及氨基酸、有机酸、糖类初级代谢产物。多元统计结果显示当归不同部位存在明显的化学差异, 而且低级性成分的差异大于高级性成分的差异, 高级性成分的差异主要体现在芳香区类化学成分。已有的当归不同部位化学研究指标主要集中于次级代谢产物, 本研究采用的核磁共振指纹技术能同时表征当归中所含的初级和次级代谢产物, 所确定的当归不同部位的化学差异成分可为进一步揭示当归不同部位功效与化学成分的相关性奠定基础。

当归在中医临床中主要是水煎入药, 在水煎剂中除含有次级代谢产物外, 还含有大量的初级代谢产物, 这类成分的组成和量对于当归不同部位功效的研究同样重要。当归具有复杂的化学组成, 不同部位之间的化学差异不是体现在个别或有限的成分, 而是体现在多类结构不同的成分。由于任何一种分析检测手段都具有一定的局限性, 后续的研究

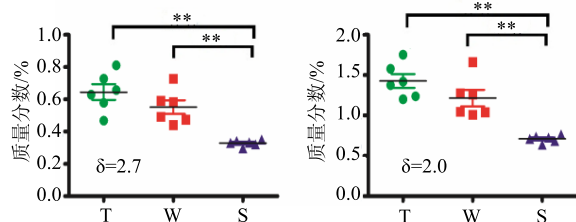


图5 当归头、尾及身脂肪酸类成分比较

Fig. 5 Composition of fatty acids from head (T), body (S), and tail (W) of ASR

中还需借助其他手段进一步全面表征当归中的化学成分,进而完全揭示当归不同部位的化学差异。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 仇锦春, 廖清船, 张永, 等. 香丹注射液对急性血瘀模型大鼠血液流变性及血小板聚集的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 137-139.
- [3] 徐国钧, 何宏贤, 徐璐珊, 等. 中国药材学 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1996.
- [4] 李斐, 孟运莲. 香丹注射液对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. 中国现代药物应用, 2014, 4(1): 25-27.
- [5] Li F, Men Y L. The protection xiang dan in jection on ischem ia-reperfusion injury of rats [J]. *Chin J Mod Drug Appl*, 2014, 4(1): 25-27.
- [6] 温学逊, 牛研, 王书芳, 等. 当归不同药用部位活性成分含量的 HPLC 分析方法及特征图谱研究 [J]. 药物分析杂志, 2014, 34(2): 317-323.
- [7] Wei S Y, Xu C J, Mok D K W, *et al.* Analytical comparison of different parts of *Radix Angelicae Sinensis* by gas chromatography coupled with mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1187(1): 232-238.
- [8] 唐文文, 李国琴, 晋小军, 等. 当归不同药用部位有效成分研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2012, 19(12): 58-60.
- [9] 张亚亚, 顾志荣, 丁军霞, 等. 当归不同药用部位近红外漫反射光谱指纹图谱研究 [J]. 中药材, 2015, 38(7): 1413-1416.
- [10] Wu Y Y, Wang L, Lu G X, *et al.* Characterization of principal compositions in the roots of *Angelica sinensis* by HPLC-ESI-MSⁿ and chemical comparison of its different parts [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2014, 23(6): 393-402.
- [11] Zhi H J, Qin X M, Sun H F, *et al.* Metabolic fingerprinting of *Tussilago farfara* L. using ¹H-NMR spectroscopy and multivariate data analysis [J]. *Phytochem Anal*, 2012, 23(5): 492-501.
- [12] Qin X M, Dai Y T, Liu N Q, *et al.* Metabolic fingerprinting by ¹H-NMR for discrimination of the two species used as *Radix Bupleuri* [J]. *Planta Med*, 2012, 78(9): 926-933.
- [13] 王雪洁, 李震宇, 薛水玉, 等. 基于植物代谢组学技术的远志不同炮制品质量控制研究 [J]. 中草药, 2012, 43(9): 1727-1737.
- [14] Yang S O, Shin Y S, Hyun S H, *et al.* NMR-based metabolic profiling and differentiation of ginseng roots according to cultivation ages [J]. *J Pharm Biomed*, 2012, 58(1): 19-26.
- [15] 那丽丹, 陈建丽, 秦雪梅, 等. 基于 ¹H-NMR 代谢组学的阿胶化学成分差异性分析方法初探 [J]. 中草药, 2015, 46(17): 2573-2579.
- [16] Chang W T, Chio Y H, Hhijden R V, *et al.* Traditional processing strongly affects metabolite composition by hydrolysis in *Rehmannia glutinosa* roots [J]. *Pharm Soc Japan*, 2011, 59(5): 546-552.
- [17] Jiang Y, Vaysse J, Gilard V, *et al.* Quality assessment of commercial *Magnoliae officinalis Cortex* by ¹H NMR-based metabolomics and HPLC methods [J]. *Phytochem Anal*, 2012, 23(4): 387-395.
- [18] 李震宇, 李爱平, 张福生, 等. 植物代谢组学技术在山西道地药材研究中的应用 [J]. 中草药, 2013, 44(7): 785-789.
- [19] 何盼, 李震宇, 范圣此, 等. 基于代谢组学技术和 ITS2 序列的恒山黄芪与川黄芪差异性研究 [J]. 药学报, 2013, 48(10): 1595-1601.
- [20] 李艺, 范玛莉, 邢婕, 等. 龟龄集中细辛特殊炮制工艺的代谢组学研究 [J]. 中草药, 2015, 46(16): 2385-2393.
- [21] 范玛莉, 邢婕, 李震宇, 等. 基于 NMR 代谢组学技术的白芍与赤芍化学成分比较研究 [J]. 中草药, 2014, 45(22): 3230-3237.