

本文引文格式:陈雪晴,胡叶青,王满,等.基于 UHPLC-QE-MS 非靶向代谢组学的不同产地断血流差异代谢物分析[J].右江民族医学院学报,2026,48(4):537-546.

【论著与临床报道】

基于 UHPLC-QE-MS 非靶向代谢组学的 不同产地断血流差异代谢物分析

陈雪晴^{1,2}, 胡叶青^{1,2}, 王满³, 刘亚芳¹, 陈晓锦¹, 胡佳敏¹, 吴其国^{1,2}

(1. 安庆医药高等专科学校药学院, 安徽 安庆 246052;

2. 安庆医药高等专科学校, 安徽皖西南特色中药资源创新应用重点实验室, 安徽 安庆 246052;

3. 安徽中医药大学, 安徽 合肥 230012)

摘要:目的 探究不同产地断血流代谢产物的差异性。方法 采用超高效液相色谱—四极杆—静电场轨道阱质谱(UHPLC-QE-MS)结合非靶向代谢组学方法,通过主成分分析(PCA)、正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)筛选差异代谢产物,并分析差异代谢物及相关代谢通路。结果 在不同产地断血流药材中共鉴定出 18 类共 1 229 个代谢物,主要为萜类、黄酮类、酚酸及其衍生物和脂类等;安徽大别山对比贵州铜仁共有 379 个差异代谢物、安徽大别山对比湖南吉首共有 242 个差异代谢物、湖南吉首对比贵州铜仁共有 136 个差异代谢物,其中 445 种代谢物通过人类代谢数据库(HMDB)定性分类,分为 11 类,其中脂质及类脂分子、苯丙素类与聚酮类化合物、苯环类化合物及有机氧化合物占比较高,各类占比均>10%。KEGG 通路富集分析表明,精氨酸生物合成代谢、淀粉和蔗糖代谢、丙氨酸-天冬氨酸和谷氨酸代谢途径为主要差异代谢通路,3 个产地共有差异代谢产物有 27 种,主要以脂质及类脂分子、苯环类化合物和有机氧化合物为主;通过聚类分析表明安徽大别山与湖南吉首、贵州铜仁的差异代谢物区分明显,且安徽大别山与贵州铜仁组的代谢物之间具有明显的上调和下调区域,湖南吉首与贵州铜仁组的代谢谱较为相似。结论 UHPLC-QE-MS 非靶向代谢组学技术可用于不同产地断血流差异代谢物的鉴别,提示地域来源是影响代谢物组成的关键因素,为断血流的产地鉴别、质量控制及安全合理用药提供了科学依据。

关键词:断血流;不同产地;代谢组学;差异代谢物;超高效液相色谱—四极杆—静电场轨道阱质谱

中图分类号:R34;R282

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2026)04-0537-10

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2026.04.007

Analysis of differential metabolites in Clinopodii Herba from different origins based on UHPLC-QE-MS untargeted metabolomics

CHEN Xueqing^{1,2}, HU Yeqing^{1,2}, WANG Man³, LIU Yafang¹,

CHEN Xiaojin¹, HU Jiamin¹, WU Qiguo^{1,2}

(1. School of Pharmacy, Anqing Medical College, Anqing 246052, Anhui, China;

2. Key Laboratory of Innovative Application of Characteristic Traditional Chinese Medicine Resources in Southwest Anhui Province, Anqing Medical College, Anqing 246052, Anhui, China;

3. Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To investigate the differences in metabolites of Clinopodii Herba from different pro-

基金项目:安徽省高校自然科学基金项目(2025AHGXZK31005、2025AHGXZK30945);安庆医药高等专科学校科创团队(KCTD202304)

第一作者:陈雪晴,讲师,研究方向:药效物质基础,E-mail:chenxq1105@sina.com

通讯作者:吴其国,博士,副教授,硕士研究生导师,研究方向:中药活性物质基础及制剂,E-mail:qiguo_wu@163.com

ducing origins. **Methods** UHPLC-QE-MS combined with untargeted metabolomics was used. Principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) were applied to screen differential metabolites, and the differential metabolites and related metabolic pathways were analyzed.

Results A total of 1229 metabolites belonging to 18 categories were identified in Clinopodii Herba from different origins, mainly including terpenoids, flavonoids, phenolic acids and their derivatives, lipids. There were 379 differential metabolites between Dabieshan (Anhui) and Tongren (Guizhou), 242 between Dabieshan (Anhui) and Jishou (Hunan), and 136 between Jishou (Hunan) and Tongren (Guizhou). Among them, 445 metabolites were qualitatively classified into 11 categories using the Human Metabolome Database (HMDB). Lipids and lipid-like molecules, phenylpropanoids and polyketides, benzene ring-containing compounds, and organic oxygen compounds accounted for a relatively high proportion, with each category exceeding 10%. KEGG pathway enrichment analysis showed that arginine biosynthesis, starch and sucrose metabolism, and alanine, aspartate and glutamate metabolism were the main differential metabolic pathways. Twenty-seven common metabolites were detected across the three origins, dominated by lipids and lipid-like molecules, benzene ring compounds, and organic oxygen compounds. Cluster analysis revealed distinct separation of differential metabolites between samples from Dabieshan (Anhui) and those from Jishou (Hunan) and Tongren (Guizhou). Obvious upregulated and downregulated regions of metabolites were observed between the Dabieshan (Anhui) and Tongren (Guizhou) groups, while the metabolic profiles of samples from Jishou (Hunan) and Tongren (Guizhou) were relatively similar. **Conclusion** UHPLC-QE-MS-based untargeted metabolomics can be applied to identify the differential metabolites of Clinopodii Herba from different origins, suggesting that geographical origin is a key factor affecting metabolite composition. This provides a scientific basis for the geographical identification, quality control, and safe rational use of Clinopodii Herba.

Key words: Clinopodii Herba; different origins; metabolomics; differential metabolites; UHPLC-QE-MS

断血流为唇形科植物灯笼草 *Clinopodium polycephalum* (Vaniot) C. Y. Wu et Hsuan 或风轮菜 *Clinopodium chinense* (Benth.) O. Kuntze 的干燥地上部分,味微苦、涩,性凉,归肝经^[1],具有止血、抗炎、抗菌、收缩子宫等药理作用^[2-3]。断血流作为临床常用止血中药材,其药用价值已得到广泛认可,目前市场上的断血流制剂有断血流胶囊剂、断血流颗粒剂、断血流片等^[4],因而断血流的药材质量直接关系到临床用药的安全性及有效性,中药材的质量受多种因素影响,其中产地是核心因素之一,“诸药所生,皆有境界”的形成,产地环境对药材品质影响是道地药材的重要体现。断血流在我国安徽、贵州、湖南等地广泛分布,不同产地间气候、土壤、海拔等生态环境差异显著,可导致药材代谢产物种类与含量发生改变,直接影响其品质和临床药效。目前断血流研究多集中于成分、含量及临床应用^[5-9],产地间代谢差异研究不足,缺乏特征标志物,制约了相关制剂的质量控制与规范应用。代谢组学作为系统生物学的重要分支,能够全面、动态地检测生物体内所有的代谢物种类并筛选出差异代谢物,是系统生物学的重要组成部分^[10-11]。超高效液相色谱—四极杆—静电场轨道阱质谱(UHPLC-QE-MS)凭借高分离度、高灵敏度和高分辨率的优势,能够快速、准确地鉴定复杂体系中的代谢产物,已广泛应用

于中药代谢组学研究^[12]。雷舒雯等^[13]采用 UHPLC-QE-MS 非靶向代谢组学,解析了云南深纹核桃仁的代谢特征并筛选出产地并判别潜在标志物;苗玥等^[14]则利用该技术对不同产地咖啡生豆进行差异代谢物分析,为咖啡豆产地溯源提供方法支撑;杨秀娟等^[15]亦基于相同技术平台,鉴定了当归不同药用部位间的差异代谢产物。然而当前对于断血流的质量评价多依赖单一或少数指标成分,难以全面反映不同产地药材的整体化学特征。生态环境差异可显著影响其次生代谢产物积累,但相关代谢组学研究仍较缺乏。因此,建立不同产地断血流的代谢谱特征并筛选潜在产地标志物,对完善其质量控制体系具有重要意义。

基于此,本研究采用 UHPLC-QE-MS 结合非靶向代谢组学方法,以安徽大别山、湖南吉首、贵州铜仁 3 个产地的断血流药材为研究对象,系统筛选不同产地断血流的差异代谢产物,分析其代谢谱特征及关键差异代谢通路,为断血流药材的产地鉴别、质量控制及安全合理用药提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 断血流药材由安庆回音必制药股份有限公司提供,共 3 个产地,每个产地 3 批次,分别为安徽大别山(DXL-AH-1、DXL-AH-2、DXL-AH-3),湖南吉首(DXL-HN-1、DXL-HN-2、DXL-HN-3),贵州

铜仁(DXL-GZ-1、DXL-GZ-2、DXL-GZ-3);所有样品经安庆医药高等专科学校吴其国副教授鉴定为断血流药材,来源植物为风轮菜 *Clinopodium chinense* (Benth.) O. Kuntze,保存于安徽皖西南特色中药资源创新应用重点实验室,药材具体信息见表 1。L-2-氯苯丙氨酸(纯度 $\geq 98\%$,Adamas-beta),2-丙醇(纯度 $\geq 98\%$,Merck),甲醇、乙腈(色谱纯,Fisher Chemical),甲酸(色谱纯,德国 CNW 公司),水为超纯水。

表 1 断血流药材信息

产地	编号	来源植物	采集时间
安徽大别山	DXL-AH-1	风轮菜	2025 年 8 月
安徽大别山	DXL-AH-2	风轮菜	2025 年 8 月
安徽大别山	DXL-AH-3	风轮菜	2025 年 8 月
贵州铜仁市	DXL-GZ-1	风轮菜	2025 年 8 月
贵州铜仁市	DXL-GZ-2	风轮菜	2025 年 8 月
贵州铜仁市	DXL-GZ-3	风轮菜	2025 年 8 月
湖南吉首市	DXL-HN-1	风轮菜	2025 年 8 月
湖南吉首市	DXL-HN-2	风轮菜	2025 年 8 月
湖南吉首市	DXL-HN-3	风轮菜	2025 年 8 月

1.2 仪器与设备 Vanquish Horizon system 型 UHPLC 液相色谱系统(Thermo Scientific);Q-Exacti-ve 型质谱仪(Thermo Scientific);Centrifuge 5424 R 型冷冻离心机(Eppendorf);控温超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);电子天平(METTLER TOLEDO);JXDC-20 型氮气吹扫仪(上海净信实业发展有限公司);Wonbio-96c 型多样品冷冻研磨仪(上海万柏生物科技有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 样品处理 精确称取(50 $\pm$ 5) mg 样品至 2 mL 离心管中,加入一颗直径 6 mm 的研磨珠,加入 400 μ L 提取液[甲醇:水=4:1(v:v)],含内标 L-2-氯苯丙氨酸(0.02 mg/mL);冷冻组织研磨仪研磨 6 min($-10\text{ }^{\circ}\text{C}$,50 Hz);低温超声提取 30 min(5 $^{\circ}\text{C}$,40 KHz);将样品静置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$,30 min;离心 15 min(13 000 g,4 $^{\circ}\text{C}$),移取上清液至带内插管的进样小瓶中上机分析;另外,每个样本分别移取 20 μ L 上清液,混合后作为质控样本。

1.3.2 检测条件 色谱条件:色谱柱为 ACQUITY UPLC BEH C18(100 mm $\times$ 2.1 mm i.d.,1.7 μ m; Waters, Milford, USA);流动相 A:2% 乙腈水(含 0.1%甲酸),流动相 B:乙腈(含 0.1%甲酸),进样量为 3 μ L,柱温为 40 $^{\circ}\text{C}$ 。梯度洗脱程序为:0 $\sim$ 0.5 min,2%B;0.5 $\sim$ 3.5 min,2% $\sim$ 25%B;3.5 $\sim$ 7.5 min,25% $\sim$ 35%B;7.5 $\sim$ 11 min,35% $\sim$ 50%B;11 $\sim$ 13 min,50% $\sim$ 95%B;13 $\sim$ 14.4 min,95%B;14.4 $\sim$

14.6 min,95% $\sim$ 2%B;16 min,2%B。质谱条件:样品经电喷雾电离,分别采用正、负离子扫描模式采集质谱信号。扫描范围 m/z 70 $\sim$ 1050;鞘气流速设定为 50 arb,辅助气流速为 13 arb;加热温度为 450 $^{\circ}\text{C}$;毛细管温度为 320 $^{\circ}\text{C}$;喷雾电压在正模式下为 3.5 kV,在负模式下为 3 kV;S-Lens 电压:40;分辨率:70000(Full MS)、17500(MS2);碰撞能梯度为 20 $\sim$ 60 eV。

1.4 统计学方法 将样品数据导入 Progenesis QI v 3.0(Waters Corporation, Milford, USA)软件进行特征峰提取与鉴定,将一级、二级质谱信息与美吉生物自建中药专属代谢物数据库(MJBIOTCM)匹配,完成代谢物定性,代谢物鉴定基于精确分子量、二级质谱碎片及数据库匹配结果完成,未使用标准品验证的化合物定义为推测性鉴定结果。采用主成分分析(PCA)与正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)进行多变量统计分析;筛选同时差异倍数(FC) ≥ 2 或 FC ≤ 0.5 ,变量投影重要性(VIP) >1 和 $P < 0.05$ 的变量认定为差异代谢物。通过京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析($P < 0.05$ 且通路影响值 Impact >0.1)解析代谢通路,并利用热图对共有差异代谢物进行可视化,直观展示各组样品间的表达聚类与变化模式。

2 结果与分析

2.1 不同产地断血流代谢物鉴定与比较 不同产地断血流样品的总离子流图,见图 1。采用上海美吉生物医药公司自建数据库进行代谢物匹配鉴定。删除缺失值 $>50\%$ 的离子峰后,对代谢物进行分类鉴定统计,筛选不同产地断血流中的活性代谢物。通过不同产地断血流组织样本质谱检测得到的全部离子碎片信息与美吉自建数据库(MJBIOTCM)进行比对,共鉴定出 1 229 个代谢物,共 18 类。其中,萜类、黄酮类、酚酸及其衍生物和脂类占比较高,是断血流样品中的主要代谢物类型,具体分类结果见表 2 和图 2。

2.2 不同产地断血流代谢组学差异分析

2.2.1 PCA 分析 PCA 是一种无监督多变量统计分析方法,可在尽可能保留原始数据信息的基础上实现样品间整体差异的可视化,常用于评价样品聚类趋势和检测系统稳定性^[16]。以安徽大别山、湖南吉首、贵州铜仁 3 个产地共 9 批断血流样品及质控样品为研究对象开展 PCA 分析。结果见图 3,质控(QC)样品呈现高度聚集状态,说明试验方法稳定、数据可靠;3 个产地的断血流样品可明显区分成 3 个类群,整体表现为组内紧密聚合、组间显著分离的特征。其中,安徽大别山产地样品与另外 2 个产地样品区分效果最为突出,提示安徽大别山产区的断血流在化学成分组成上存在显著差别。

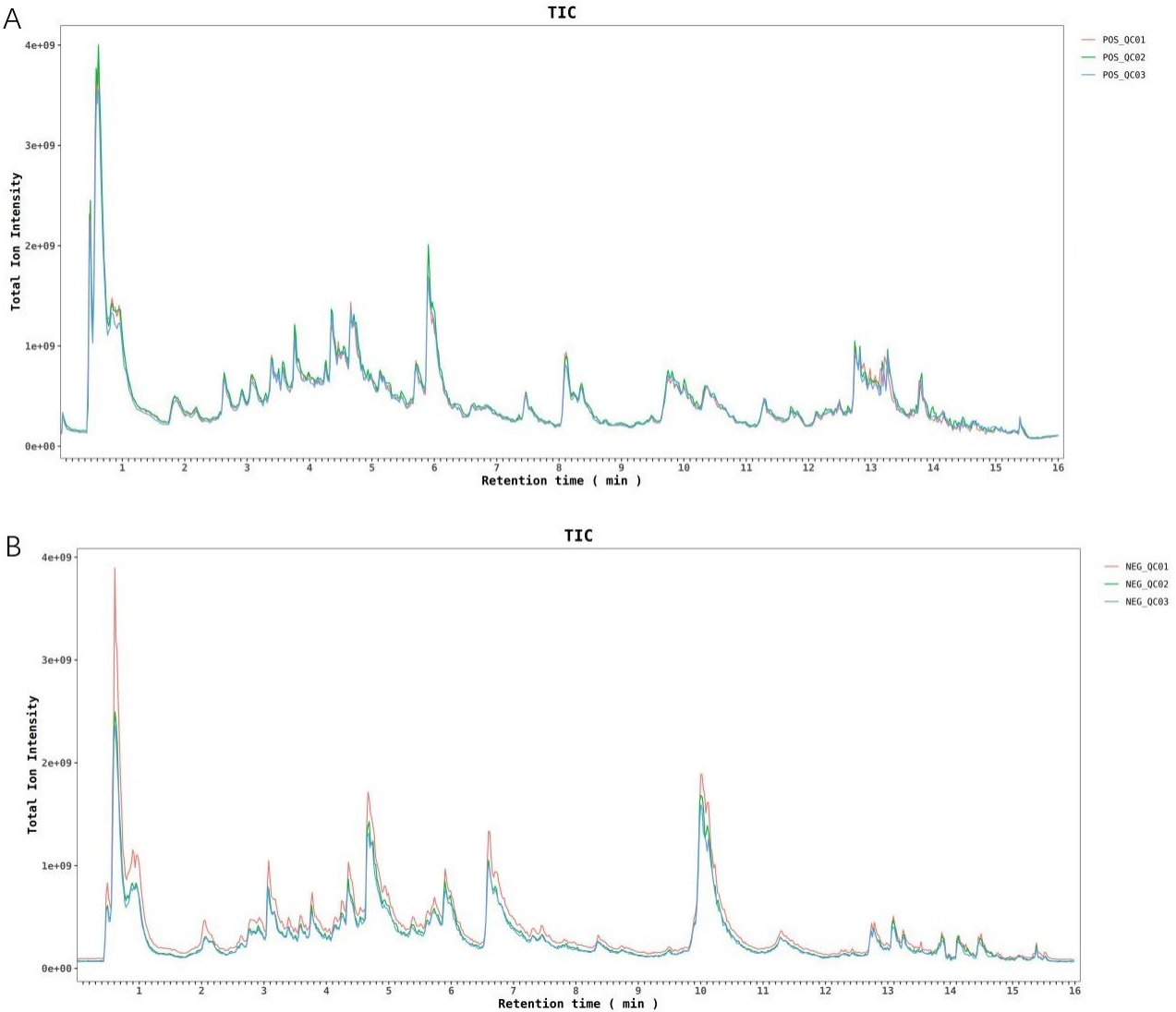


图 1 不同产地断血流样品正(A)、负(B)离子模式总离子流层叠图

表 2 代谢物分类

化合物类型	数量/个
萜类	184
黄酮类	135
酚酸及其衍生物	86
脂质	86
糖类及其衍生物	57
香豆素及其衍生物	26
氨基酸及其衍生物	25
甾体类及其衍生物	18
有机酸及其衍生物	17
醌类	12
木脂素及其衍生物	16
吲哚及其衍生物	6
维生素	5
核苷酸及其衍生物	3
二苯乙烯类	3
鞣质(单宁)	2
生物碱及其衍生物	2
其他类	546

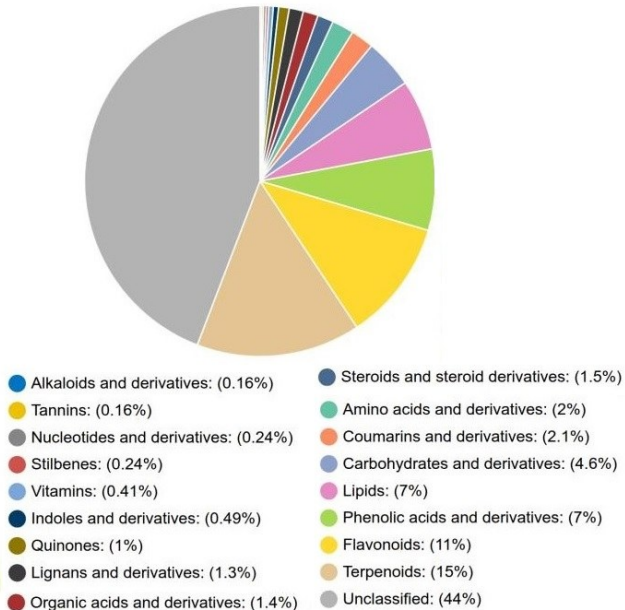


图 2 不同产地断血流代谢产物分类图

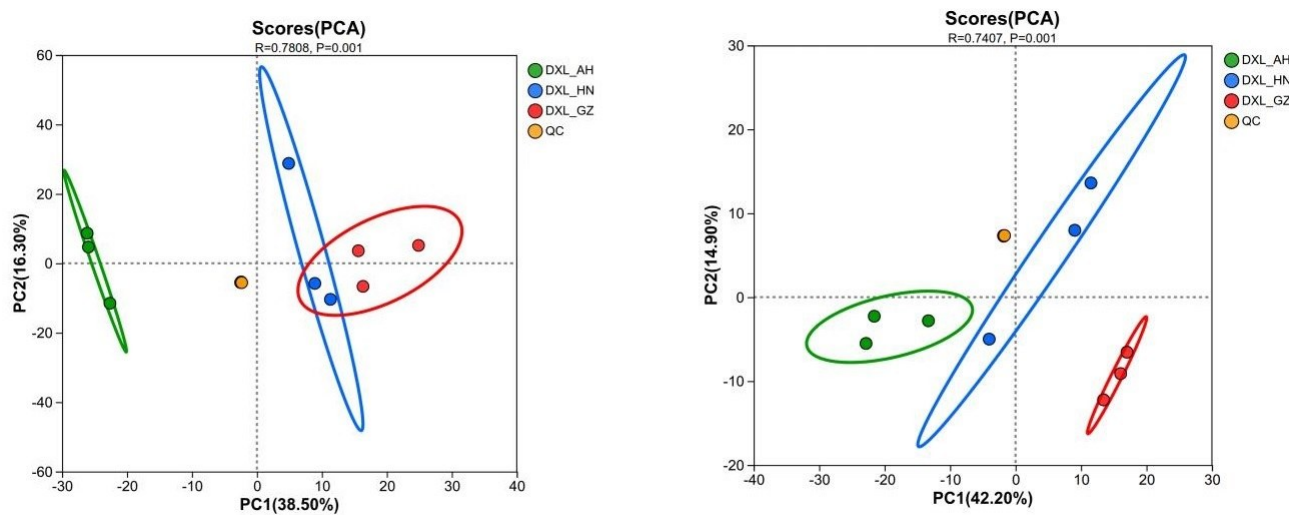
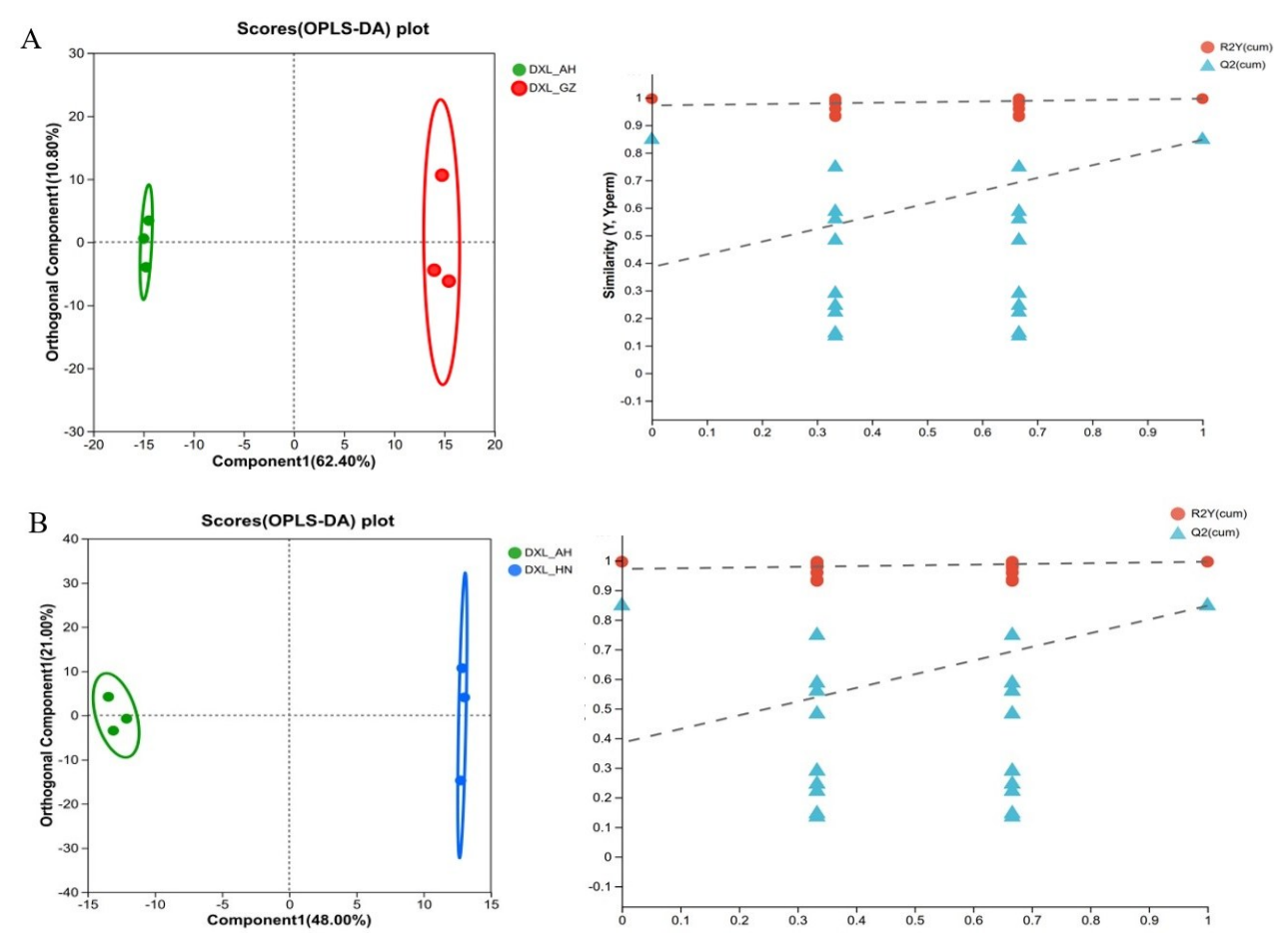
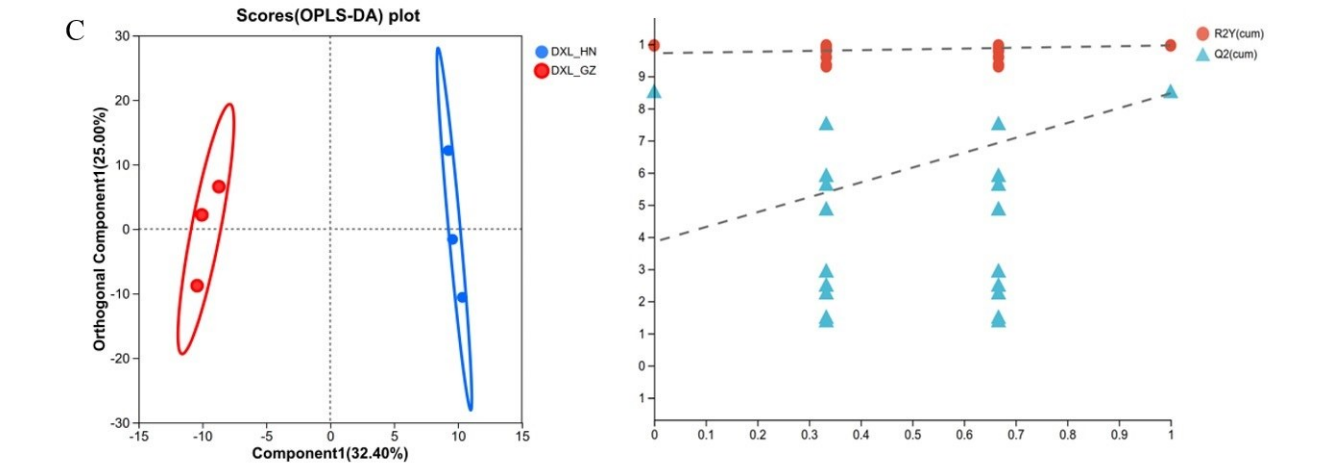


图 3 正、负离子模式下不同产地断血流药材的 PCA 得分图

2.2.2 OPLS-DA 分析 OPLS-DA 作为代谢组学中常用的数据分析与可视化方法,可有效剔除代谢物数据中与分类变量无关的正交信息,精准地揭示组间差异代谢物,明确其与组别间的关联程度,显著提高数据分析结果的准确性与可靠性^[17-18]。OPLS-DA 可将组间差异最大化,分析 3 个产地的组间差异,分别对每个产地的断血流样品与其他 2 个产地的断血流样品进行 OPLS-DA 分析。结果见图 4 和表 1, OPLS-DA 与

PCA 结果一致,对模型进行置换检验,检验模型 R^2Y 和 Q^2 的值,要求满足结果在 Y 轴上的截距 <0.4 , R^2Y 和 Q^2 的值 >0.5 ,两者差值 <0.3 ,值越接近于 1 说明模型越可靠,无过拟合现象。采用 200 次置换检验评价 OPLS-DA 模型的可靠性,各组的 R^2Y 均 >0.99 、 Q^2 均 >0.8 ,表明所构建的 OPLS-DA 模型未出现过拟合现象,见表 3,有较好的稳定性和预测能力,可用于区分不同产地的断血流药材。





注:A为AH vs GZ;B为AH vs HN;C为HN vs GZ。
图 4 不同产地断血流药材的 OPLS-DA 得分图、置换检验图

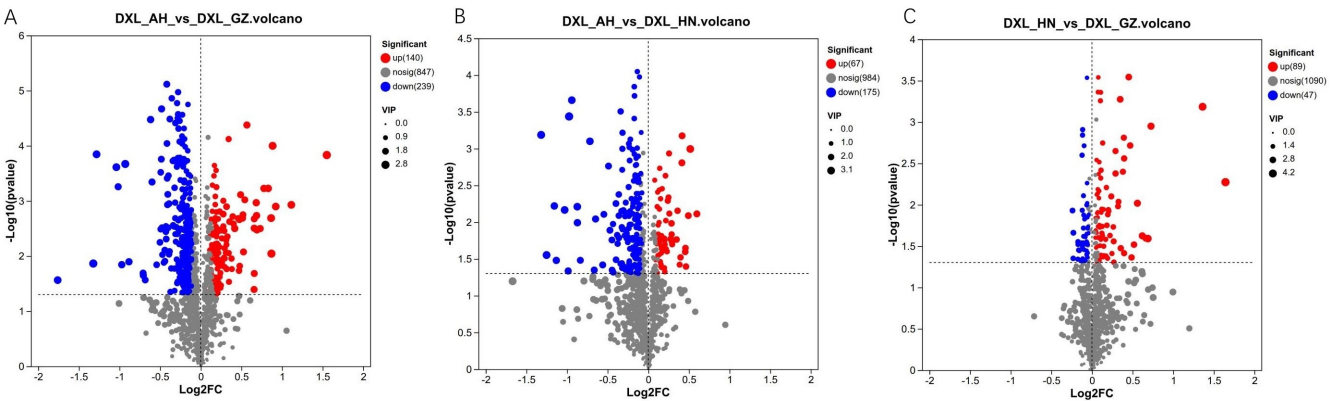
表 3 OPLS-DA 模型质量参数

组别	$R^2 X/\text{cum}$	$R^2 Y/\text{cum}$	Q^2/cum
DXL-AH vs DXL-HN	0.691	0.999	0.938
DXL-AH vs DXL-GZ	0.732	0.999	0.977
DXL-HN vs DXL-GZ	0.574	0.996	0.847

2.3 不同产地断血流之间差异代谢分析

2.3.1 不同产地断血流差异代谢物鉴定与分析 基于 OPLS DA 分析结果,结合 VIP 值与 FC 值进一步筛选不同产地断血流样品间的差异代谢物,筛选标准设定为: $VIP \geq 1$, $P < 0.05$ 以及 $FC \geq 2$ 和 $FC < 0.5$ 。分析结果详见图 5。在 DXL-AH vs DXL-GZ 比较中,以 DXL-GZ 为参照;在 DXL-AH vs DXL-HN 比较中,

以 DXL-HN 为参照;在 DXL-HN vs DXL-GZ 比较中,以 DXL-GZ 为参照,具体结果见表 4;安徽大别山对比贵州铜仁、安徽大别山对比湖南吉首之间的差异代谢物主要为下调模式,下调的主要成分为黄酮类、生物碱类及苯丙素类等;湖南吉首对比贵州铜仁之间的差异代谢物主要为上调模式,上调的主要组分为酚酰胺类、苯丙素及肽类等。依据 HMDB 分类分为 11 类,见表 5,其中脂质及类脂分子、苯丙素类与聚酮类化合物、苯环类化合物和有机氧化化合物的占比较高(占比均大于 10%),推测这些可能是断血流的主要成分。相较于贵州铜仁样品,安徽大别山样品中 140 个代谢物显著升高,239 个代谢物显著降低。



注:A为AH vs GZ;B为AH vs HN;C为HN vs GZ。
图 5 不同产地断血流差异代谢产物火山图

表 4 断血流差异代谢分析

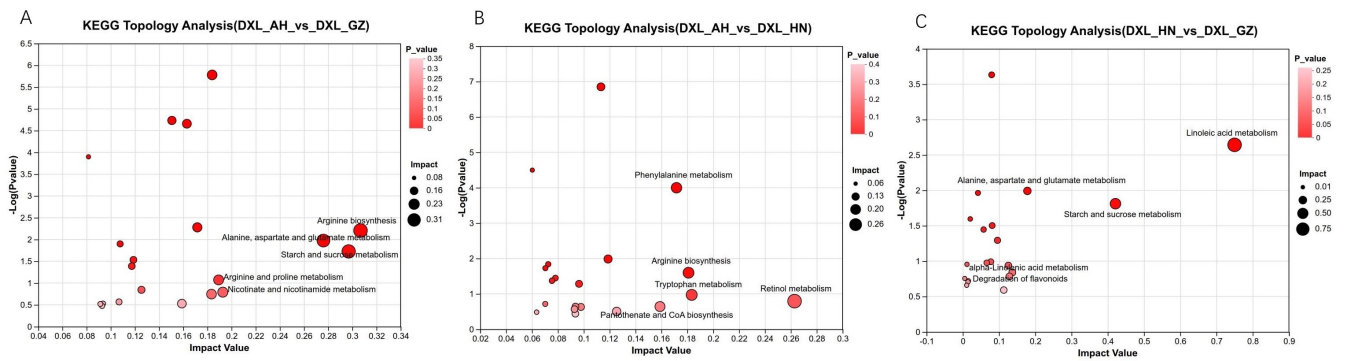
比较组	差异代谢物总数	上调数量	下调数量	代表性上调代谢物	代表性下调代谢物
DXL-AH vs DXL-HN	242	67	175	附子林碱、麦芽糖、3 甲基 6-(丙 2 亚基) 环己-2-烯酮等	Phascloidin、L-glutamine、Cumaroylspermidine、3,4,5-三甲氧基肉桂酸等
DXL-AH vs DXL-GZ	379	140	239	橙黄胡椒酰胺、N-benzoyl-L-phenylalaninol 等	黄花远志素 A、3',6-二芥子酰基蔗糖、二氢吡嗪等
DXL-HN vs DXL-GZ	136	89	47	橙黄胡椒酰胺、N-乙酰多巴胺、苍术呋喃烃等	藜芦醛、Gypsogenin、贝萼皂苷元等

表 5 不同产地断血流差异代谢物分类分析

代谢物类别	数量及占比/%		
	AH vs HN	AH vs GZ	HN vs GZ
脂质及类脂分子	48(36.09)	59 (26.46)	29 (36.71)
苯丙素类与聚酮类化合物	20 (15.04)	54 (24.22)	9 (11.39)
苯环类化合物	22 (16.54)	38 (17.04)	12 (15.19)
有机氧化合物	15 (11.28)	35 (15.70)	13 (16.46)
有机杂环化合物	11 (8.27)	14 (6.28)	7 (8.86)
有机酸及衍生物	11 (8.27)	15 (6.73)	7 (8.86)
木脂素、新木脂素及相关物质	2 (1.50)	4 (1.79)	—
有机氮化合物	—	1 (0.45)	1 (1.27)
核苷、核苷酸及类似物	1 (0.75)	—	1 (1.27)
烃类化合物	2 (1.50)	2 (0.90)	—
烃类衍生物	1 (0.75)	1 (0.45)	—
总计	133	223	79

2.3.2 不同产地断血流差异代谢物通路分析 为进一步探究不同产地断血流代谢途径中差异代谢物的变化,通过 KEGG 对安徽大别山、湖南吉首、贵州铜仁 3 个产地之间进行差异代谢物关键代谢通路富集。如图 6 所示:精氨酸生物合成、苯丙氨酸代谢通路对安徽大别山对比湖南吉首的差异性影响最大,其中 L-arginine 和 L-glutamine 被注释到精氨酸生物合成通路上,2-苯基乙酰胺、Trans-Cinnamate、L-phenylalanine、L-(-)-3-苯基乳酸、D-phenylalanine 被注释到苯丙氨酸代谢通路上;精氨酸生物合成、淀粉和蔗糖代谢、丙氨酸一天冬氨酸和谷氨酸代谢、类黄酮生物合成是安徽大别山

对比贵州铜仁的重要代谢通路,其中 L-谷氨酸、L-arginine、L-glutamine 被注释到精氨酸生物合成代谢通路上,麦芽糖、蔗糖、海藻糖被注释到淀粉和蔗糖代谢通路上,L-谷氨酸、L-glutamine、柠檬酸被注释到丙氨酸一天冬氨酸和谷氨酸代谢通路上,短叶松素、圣草酚、异樱花素、(-)-表没食子儿茶素、3,4,2',4',6'-Pentahydroxychalcone、毛地黄黄酮、芹菜素、柚皮素查尔酮、根皮素被注释到类黄酮生物合成代谢通路上;亚油酸代谢、淀粉和蔗糖代谢、丙氨酸一天冬氨酸和谷氨酸代谢是湖南吉首对比贵州铜仁的重要代谢通路,其中 Coronaric acid、亚油酸被注释到亚油酸代谢通路上,D-葡萄糖、蔗糖被注释到淀粉和蔗糖代谢通路上,L-谷氨酸、柠檬酸被注释到丙氨酸一天冬氨酸和谷氨酸代谢通路上;精氨酸生物合成代谢途径是安徽大别山对比湖南吉首、安徽大别山对比贵州铜仁的共有通路,精氨酸生物合成代谢途径共有被注释代谢物为 L-arginine、L-glutamine,均呈下调模式。淀粉和蔗糖代谢、丙氨酸一天冬氨酸和谷氨酸代谢途径是安徽大别山对比贵州铜仁、湖南吉首对比贵州铜仁的共有通路,淀粉和蔗糖代谢途径共有蔗糖 1 个代谢物被注释到该通路上,呈下调模式;丙氨酸一天冬氨酸和谷氨酸代谢途径共有 L-谷氨酸、柠檬酸两个代谢物被注释到该通路上,均呈上调模式。



注:A为AH vs GZ;B为AH vs HN;C为HN vs GZ。

图 6 不同产地断血流代谢通路气泡图

2.3.3 不同产地断血流差异代谢物筛选鉴定 通过韦恩图(Venn diagram)直观呈现各组差异代谢物的相互关系,明确不同组别间共有与特有差异代谢物的数量分布^[19]。结果如图 7,安徽大别山与贵州铜仁(DXL-AH vs DXL-GZ)差异最大,特有的差异代谢物为 153 种,主要包括甲羟戊酸、P-Coumaroylagmatine、滨蒿内酯、Oleuropeinic acid、色醇等;安徽大别山与湖南吉首(DXL-AH vs DXL-HN)之间差异最小,特有的

差异代谢物为 52 种,主要包括 2-甲基苯甲酸、DL-3-Phenyllactic acid、柳杉二醇、芥子醇等;湖南吉首与贵州铜仁(DXL-HN vs DXL-GZ)之间特有的差异代谢物为 53 种,主要包括皮考啉酸、鸟嘌呤、Benzyl glucopyranoside、下箴刺桐碱等;3 个组别的共有代谢产物有 27 种,其中主要以脂质及类脂分子、苯环类化合物和有机氧化合物为主,见表 6。

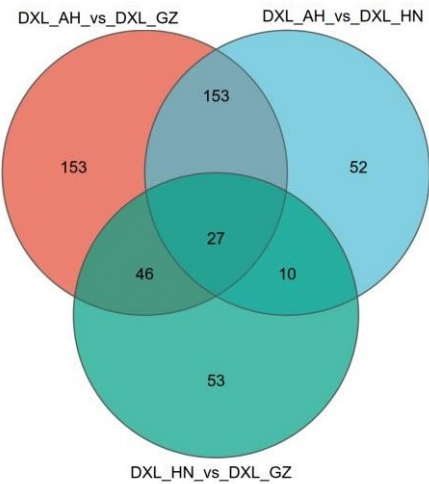


图 7 差异代谢物的韦恩图

2.3.4 差异代谢物聚类分析及潜在特征组分筛选
为观察代谢物差异表达规律,对不同产地断血流组别间 27 个共有差异代谢物进行聚类,绘制差异代谢物类聚分析热图,见图 8。层次聚类热图分析显示,3 组样本(DXL-AH、DXL-GZ、DXL-HN)同组样本优先聚类,组间代谢谱差异显著。样本聚类树表明,安徽大别山与湖南吉首、贵州铜仁的差异代谢物区分明显,具有明显的上调区和下调区域,而湖南吉首与贵州铜仁组

的代谢谱更为相似,提示地域来源是影响代谢物组成的关键因素。其中安徽大别山产地中显著上调的代谢物主要包括黄酮类、酰胺类和萜类,如 2',5,6',7-Tetrahydroxyflavone、Cajanol、3,4,2',4',6'-Pentahydroxychalcone、(2s)-5,7,2',5'-Tetrahydroxy-6-methoxyflavanone、N-benzoyl-l-phenylala-ninol、N-[2-(3,4-Dihydroxyphenyl)ethyl acetamide、Epomediol、杜鹃酮等;贵州铜仁产地显著上调的代谢物主要包括酚酸类、环烯醚萜苷类、苯丙素类,如 3-羟基苯甲酸、5-乙酰水杨酸、Methyl 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzo-ate、Methyl-4-O-methylgallate、哈巴苷、异梔子苷、益母草苷 A、Rehmaionoside C、Icariside F2、4-羟基苯甲酸葡萄糖苷、Osmanthuside h 等;所有的共有差异代谢物在湖南吉首产区的趋势不明显。共有差异代谢物的表达模式分析显示,安徽大别山产地与贵州铜仁产地存在显著的代谢差异特征:安徽大别山产地中,以黄酮类、酰胺类生物碱、萜类为主的 11 种代谢物呈显著上调,而在贵州铜仁产地中明显下调;反之,以酚酸类、环烯醚萜苷类、苯丙素类为主的 16 种代谢物在贵州铜仁产地显著上调,在安徽大别山产地明显下调。湖南吉首产地中所有共有差异代谢物表达均无显著波动,呈中性过渡状态。

表 6 共有差异代谢物信息

代谢物	化学式	质核比/(m·z ⁻¹)	保留时间/min	类型
阿波斯基姆素	C ₂₀ H ₂₄ O ₁₂	457.1307	2.0326	黄酮类化合物
3-羟基苯甲酸	C ₇ H ₆ O ₃	171.065	2.165	酚酸类化合物
哈巴苷	C ₁₅ H ₂₄ O ₁₀	369.115	2.3418	环烯醚萜苷类
5-乙酰水杨酸	C ₉ H ₈ O ₄	181.0493	2.8936	有机酸类
Methyl 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoate	C ₁₀ H ₁₂ O ₅	213.0753	5.0881	酚酸类化合物
1,8-Octanediol	C ₈ H ₁₈ O ₂	111.117	5.4712	脂质和类脂分子
2',5,6',7-Tetrahydroxyflavone	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	287.0545	5.6251	黄酮类
N-benzoyl-l-phenylalaninol	C ₁₆ H ₁₇ NO ₂	256.1327	6.6182	酰胺类生物碱
双酚 A	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	229.122	7.8483	苯环类化合物
Pimaric acid	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	267.2101	13.75	萜类
Asperphenamate	C ₃₂ H ₃₀ N ₂ O ₄	507.2268	12.8222	酰胺类生物碱
Methyl-4-O-methylgallate	C ₉ H ₁₀ O ₅	199.0598	4.7905	苯丙素类
异梔子苷	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₁	369.1174	4.1579	环烯醚萜苷类
杜鹃酮	C ₁₅ H ₂₂ O	273.1843	8.5963	萜类
益母草苷 A	C ₁₄ H ₂₀ O ₉	331.103	2.1597	环烯醚萜苷类
4-羟基苯甲酸葡萄糖苷	C ₁₃ H ₁₆ O ₈	299.0767	2.8903	苯丙素类
Osmanthuside h	C ₁₉ H ₂₈ O ₁₁	477.1594	3.1905	苯丙素类
Icariside F2	C ₁₈ H ₂₆ O ₁₀	401.1447	3.3617	黄酮苷类
Epomediol	C ₁₀ H ₁₈ O ₃	231.1231	4.988	萜类
3,4,2',4',6'-Pentahydroxychalcone	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	287.0555	5.5378	黄酮类
Cajanol	C ₁₇ H ₁₆ O ₆	315.0869	9.8728	黄酮类
十五烷醛	C ₁₅ H ₃₀ O	271.2274	14.5009	脂肪族醛类
橙黄胡椒酰胺	C ₂₅ H ₂₆ N ₂ O ₃	401.1863	9.8728	酰胺类生物碱
(2s)-5,7,2',5'-Tetrahydroxy-6-methoxyflavanone	C ₁₆ H ₁₄ O ₇	317.066	5.5604	黄酮类
Rehmaionoside C	C ₁₉ H ₃₂ O ₈	433.2074	3.4489	萜类
N-[2-(3,4-Dihydroxyphenyl)ethyl]acetamide	C ₁₀ H ₁₃ NO ₃	194.0813	2.627	苯丙素类酰胺
帕拉金糖	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	341.1083	0.6128	有机氧化合物

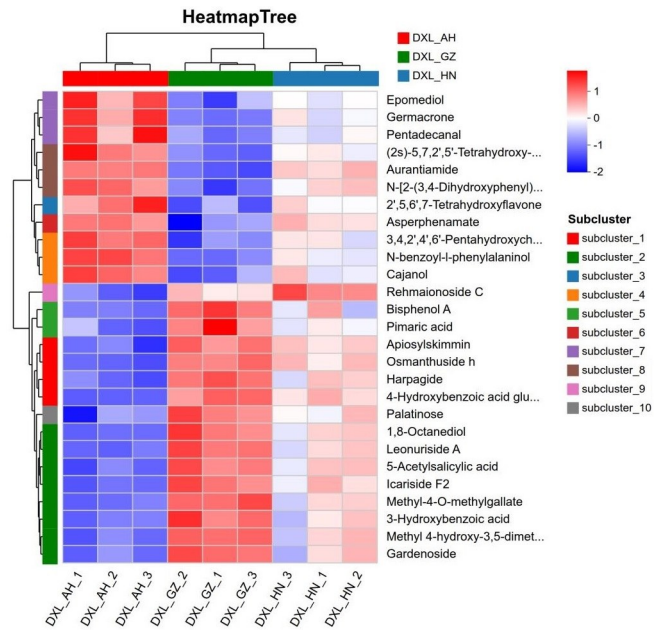


图 8 差异代谢物聚类分析热图

3 讨论

本研究基于 UHPLC-QE-MS 非靶向代谢组学技术,系统分析了安徽大别山、湖南吉首和贵州铜仁 3 个产地断血流药材的代谢谱差异。结果共鉴定出 1 229 个代谢物,主要包括萜类、黄酮类、酚酸及其衍生物和脂类等,这些代谢产物多为断血流药理活性的重要物质基础^[20-21],黄酮类化合物具有抗炎、抗氧化及血管保护活性;萜类成分可发挥抗炎、止血与免疫调节作用;酚酸类则主要表现出良好的抗氧化和抗炎功效^[22-24],但种类与含量的差异可能直接导致不同产地断血流药效的差异不同,可通过代谢产物的差异反映药材品质的差异^[25]。

经 PCA 及 OPLS-DA 模型分析结果显示,不同产地断血流样品存在明显区分,组间呈现显著分离趋势;其中安徽大别山产地样品与其他产地样品的区分度尤为突出。安徽大别山为断血流道地产区,该药材于 2016 年入选“十大皖药”,上述结果进一步证实不同产地断血流药材具有显著差异性,原因可能与安徽大别山、湖南吉首与贵州铜仁 3 个产地在气候类型、年均温度、降水量、海拔梯度及土壤理化性质与矿质元素组成等方面差异较大有关,药用植物次生代谢产物的合成与积累极易受这些环境生态因子的调控,从而使得 3 个产地断血流药材代谢特征组分不同,可作为产地溯源与鉴别依据。对 3 个产地的差异代谢产物进行分析,安徽大别山与贵州铜仁间的差异代谢物为 379 个、安徽大别山与湖南吉首间的差异代谢物为 242 个、湖南吉首与贵州铜仁间的差异代谢物为 136 个,3 个产地的共有代谢产物有 27 种,主要以脂质及类脂分子、苯环类化合物和有机氧化合物为主(占比均大于 10%),

提示该类化合物是区分不同产地断血流的重要特征代谢物。

利用差异代谢物进行代谢通路富集分析结果显示,安徽大别山对比湖南吉首和贵州铜仁的共有通路为精氨酸生物合成代谢途径,安徽大别山和湖南吉首对比贵州铜仁的共有通路为淀粉和蔗糖代谢、丙氨酸一天冬氨酸和谷氨酸代谢途径,3 个产地主要代谢通路多数与氨基酸代谢和糖类能量代谢有关。不同产地之间差异代谢物的数量和差异代谢通路的种类表明,3 个产地之间的代谢物有较大差异^[26]。为直观地看出不同组别共有差异代谢物变化趋势,对 3 个产地 27 个共有代谢物开展聚类分析,结果安徽大别山组与湖南吉首、贵州铜仁的差异代谢物区分明显,其中黄酮类、酰胺类、萜类等代谢物在安徽大别山产地呈显著上调,这些成分与断血流的止血、抗炎及心血管保护作用可能密切相关,因此可作为后续产地鉴别和质量评价的候选标志物。然而,这些候选成分仍需通过标准品定量、药效相关性分析及多批次样本验证进一步确认,以提升其可靠性与实用性。研究结果表明地域来源是影响该药材代谢物组成的关键因素,其特征性代谢物如黄酮类、酰胺类、萜类等可能是区分不同产地的核心生物标志物。

研究表明 UHPLC-QE-MS 非靶向代谢组学技术可用于鉴别不同产地断血流的代谢物,系统分析了不同产地断血流的代谢产物差异及关键代谢通路,为断血流药材的产地溯源、质量评价与临床安全用药提供了科学依据。本研究仍存在一定局限性,各产地样本批次偏少,后续需扩大采样并补充生态因子数据,代谢物鉴定依赖数据库匹配,关键成分有待标准品验证,尚未开展代谢物与药效关联分析,后续可通过谱效研究筛选质量标志物。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京:中国医药科技出版社,2025:349.

[2] 李紫茵,桂双英,方成武,等.“十大皖药”断血流的本草考证[J]. 中药材,2024,47(8):2095-2101.

[3] 朱海琳,孟兆青,丁岗,等. 断血流的研究进展[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2013,15(9):2002-2010.

[4] 田京歌,倪倩,周娟娟,等. HPLC 法同时测定不同厂家断血流制剂中 3 种成分[J]. 中成药,2023,45(6):1978-1980.

[5] TAO M K,LIU Y X,ZHOU X M,et al. Polycephalums a and B, new anticoagulant constituents isolated from *Clinopodium polycephalum* [J]. Chem Biodivers, 2023, 20(6):e202300448.

[6] 李丽丽,黄琪,彭代银,等. 风轮菜总提取物、总皂苷和总黄

- 酮对子宫异常出血大鼠抗炎止血作用机制研究[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(12): 3372-3379.
- [7] ZHOU R S, ZHAO J Z, GUO L M, et al. The novel anti-tumor compound clinopodiside A induces cytotoxicity *via* autophagy mediated by the signaling of BLK and Ras-GRP2 in T24 bladder cancer cells[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 982860.
- [8] WANG Y M, SHAO Z T, SONG C, et al. *Clinopodium chinense* Kuntze ameliorates dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice by reducing systematic inflammation and regulating metabolism[J]. J Ethnopharmacol, 2023, 309: 116330.
- [9] LIU Y, SONG X J, SHEN X B, et al. A rapid and efficient strategy for quality control of clinopodii herba encompassing optimized ultrasound-assisted extraction coupled with sensitive variable wavelength detection [J]. Molecules, 2022, 27(14): 4418.
- [10] 曹小汉, 毛惠敏, 任莉萍. 代谢组学技术在植物次生代谢产物研究中的应用[J]. 农业与技术, 2022, 42(11): 1-3.
- [11] QIU YUNPING, REED DEBORAH. Gas chromatography in metabolomics study[M]. America: Intech, 2014: 83-101.
- [12] ZHENG X H, ZHAN Y Y, PENG M L, et al. Metabolite profiling analysis of the Tongmai Sini decoction in rats after oral administration through UHPLC-Q-exactive-MS/MS[J]. Metabolites, 2024, 14(6): 333.
- [13] 雷舒雯, 赵红, 付晓萍, 等. 基于 UHPLC-QE-MS 代谢组学分析云南不同产地深纹核桃仁品质差异[J]. 食品工业科技, 2025, 46(9): 275-285.
- [14] 苗玥, 谭超, 彭春秀, 等. 基于 UHPLC-QE-MS 代谢组学分析小粒种咖啡豆特征成分[J]. 中国食品学报, 2022, 22(11): 355-367.
- [15] 杨秀娟, 魏江霞, 杨志军, 等. 基于 UHPLC-QE-MS 非靶向代谢组学的当归不同药用部位差异代谢物分析[J]. 药学报, 2025, 60(4): 1093-1102.
- [16] BERRUETA L A, ALONSO-SALCES R M, HÉBERG ER K. Supervised pattern recognition in food analysis [J]. J Chromatogr A, 2007, 1158(1/2): 196-214.
- [17] CAO Q Q, FU Y Q, LIU Y Y, et al. A targeted and non-targeted metabolomics study on the oral processing of epicatechins from green tea[J]. Food Chem, 2022, 378: 132129.
- [18] 钱景锐, 廖志涵, 姜奇瑶, 等. 基于 UHPLC-Q/TOF-MS 非靶向代谢组学分析六君子汤调节脾虚泄泻的作用机制[J]. 中国药理学通报, 2026, 42(1): 172-180.
- [19] 王雪, 潘兆平, 陈嘉序, 等. 茶枝柑与不同品种温州蜜柑果皮的非靶向代谢组学比较与分析[J]. 食品科学, 2024, 45(14): 133-141.
- [20] 陈小兵, 袁章林, 黄小琼, 等. 风轮菜化学成分和药理活性研究进展[J]. 中南药学, 2025, 23(8): 2375-2380.
- [21] 王圣男, 余世春, 许旭东, 等. 风轮菜属三萜皂苷与黄酮研究进展及波谱特征[J]. 波谱学杂志, 2013, 30(3): 447-460.
- [22] QI J J, ZHANG Q Q, LI L L, et al. Spectrum-effect relationship between UPLC-Q-TOF-MS fingerprint and anti-AUB effect of *Clinopodium chinense* (Benth.) O. Kuntze [J]. J Pharm Biomed Anal, 2022, 217: 114828.
- [23] ZHU Y D, HONG J Y, BAO F D, et al. Triterpenoid saponins from *Clinopodium chinense* (Benth.) O. Kuntze and their biological activity[J]. Arch Pharm Res, 2018, 41(12): 1117-1130.
- [24] ZHANG H J, CHEN R C, SUN G B, et al. Protective effects of total flavonoids from *Clinopodium chinense* (Benth.) O. Ktze on myocardial injury *in vivo* and *in vitro via* regulation of Akt/Nrf2/HO-1 pathway [J]. Phytomedicine, 2018, 40: 88-97.
- [25] 田淑云, 廖朝华, 周紫薇, 等. 植物代谢组学在药材质量评价中的研究进展与展望[J]. 药学报, 2022, 57(6): 1734-1749.
- [26] 任艳君, 孙宇, 郭晓瑞, 等. 基于 GC-MS 分析刺五加和短梗五加不同器官的代谢差异特性[J]. 植物研究, 2023, 43(3): 439-446.
- 收稿日期: 2026-04-17; 修回日期: 2026-05-27
(本文编辑 覃洪含)