

猴耳环嫩枝和叶组织的代谢物分析*

黄婷¹ 彭冠明¹ 林昌明¹ 司徒荣贵¹ 毛积鹏^{1,2}

(1. 台山市红岭种子园, 广东 台山 529223; 2. 华南农业大学 林学与风景园林学院 / 广东省森林植物种质创新与利用重点实验室, 广东 广州 510642)

摘要 对猴耳环 *Pithecellobium clypearia* 主要药用部分嫩枝和叶中的代谢物成分及其含量差异进行分析, 从猴耳环的嫩枝和叶中共鉴定出 712 种代谢物成分, 主要为氨基酸类、有机酸类、酚酸类、脂质类和黄酮类等化合物。猴耳环嫩枝和叶组织部位之间代谢物成分含量差异显著, 其中槲皮素、表儿茶素苷和表没食子儿茶素没食子酸酯等猴耳环药用特征标志物在嫩枝中的含量显著高于叶组织, 而表儿茶素、槲皮苷和杨梅苷等特征标志物则在叶组织中含量更高。综合表明猴耳环嫩枝和叶组织均富含多种高生物活性物质, 大部分药用特征代谢物在嫩枝和叶中的含量差异显著。

关键词 猴耳环; UPLC-MS/MS; 代谢物; 嫩枝; 叶片

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 2096-2053 (2021) 04-0033-07

Metabolites Analysis of the Twigs and Leaves of *Pithecellobium clypearia*

HUANG Ting¹ PENG Guanming¹ LIN Changming¹ SI-TU Ronggui¹
MAO Jipeng^{1,2}

(1. Taishan Hongling Seed Orchard, Jiangmen, Guangdong 529223, China; 2. College of Forestry and Landscape Architecture, South China Agricultural University/Guangdong Key Laboratory for Innovative Development and Utilization of Forest Plant Germplasm, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

Abstract The metabolites compositions and content differences in the twigs and leaves of *Pithecellobium clypearia* were analyzed. The results showed that total of 712 metabolites were identified, including the amino acids, organic acids, phenolic acid, lipids and flavonoids. In addition, the results showed that there were significant differences in the content of metabolites between twigs and leaves. For example, the contents of quercetin, epicatechin glucoside and epigallocatechin gallate in twigs were significantly higher than in leaves, while the contents of epigallocatechin, quercitrin and myricitrin were higher in leaves. These results showed that both twigs and leaves of *P. clypearia* were rich in various high bioactive substances, and there were significant differences in the contents of most medicinal characteristic metabolites in twigs and leaves.

Key words *Pithecellobium clypearia*; UPLC-MS/MS; metabolites; twigs; leaves

猴耳环 *Pithecellobium clypearia* 为豆科 Leguminosae 猴耳环属植物, 广泛分布于我国南方各省, 是一种重要的药用植物, 具有抗炎、抗菌和抗病毒等多种功效^[1-7]。猴耳环中化学成分种类繁多, 主要

有黄酮类、氨基酸类、生物碱类、糖及酚类等^[8-9]。其中没食子酸、槲皮素和表没食子儿茶素没食子酸酯等黄酮类化合物为猴耳环代表性药用特征标志物^[10-12]。猴耳环的入药部位主要以干燥的幼枝和叶

* 基金项目: 中央财政林业科技推广示范项目 ([2018] GDTK -14 号, 2018-2021)。

第一作者: 黄婷 (1982—), 女, 工程师, 主要从事林木遗传育种研究, E-mail: 156611083@qq.com。

通信作者: 毛积鹏 (1990—), 男, 博士后, 主要从事植物生理与分子生物学研究, E-mail: 1083635973@qq.com。

片组织为主,但也有直接以茎干切片入药。前期相关学者利用高效液相色谱法和核磁共振波谱等方法于猴耳环的主要药用部位嫩枝和叶中成功鉴定出没食子酸、槲皮素、槲皮苷、儿茶素和表没食子儿茶素等多种高生物活性的黄酮类化合物^[13-14]。传统药用植物活性成分的鉴定具有单一性、分析通量有限,难以系统阐明药用植物的有效成分及其植株体内的分布情况。而超高效液相色谱法—串联质谱联用法(UPLC-MS/MS)作为目前代谢组学分析中的常用手段具有高灵敏、高通量、特异性强等特点,能高效快速地掌握植物内源性代谢物成分及其动态变化信息^[15]。本研究利用UPLC-MS/MS代谢组学技术对猴耳环的主要药用部位嫩枝和叶组织部位中的主要代谢物成分进行了测定,旨在为猴耳环代谢物成分鉴定及其分布特性提供重要信息,为猴耳环的质量控制和合理开发利用提供物质基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

猴耳环样本材料来自于广东省台山市红岭种子园。于2019年9月份取样,采取了2 a生且生长旺盛的猴耳环嫩枝(NZ)和叶片(LY)组织部位,每个组织部位3个生物学重复,适当剪碎后放入50 mL无菌的离心管中随即放入液氮中,最后-80 °C保存。

1.2 样本制备

将猴耳环各组织部位样本于冻干机(Scientz-100F)中真空冷冻干燥,干燥后利用研磨仪(MM 400, Retsch)研磨至粉末状。称取约100 mg粉末溶解于1.2 mL 70%甲醇(色谱级, Merck) 4 °C条件下提取12 h,每2 h涡旋震荡1次,以提高提取率。12 000 rpm离心10 min取上清液,用0.22 μm微孔滤膜过滤样本,随后保存于进样品中用于UPLC-MS/MS分析。

1.3 色谱和质谱数据采集

分别利用超高效液相色谱(SHIMADZU Nexera X2)和串联质谱(Applied Biosystem 4500 QTRAP)仪器系统采集猴耳环嫩枝和叶组织的色谱和质谱数据。色谱数据收集参数设置如下:色谱柱:Agilent SB-C18, 1.8 μm, 2.1 mm × 100 mm;流动相:A相为超纯水(加入0.1%的甲酸),B相为乙腈(色谱级, Merck);洗脱梯度:0.00 min, B相比率为5%, 9.00 min内B相比率线性

增加到95%,并维持1 min; 10.00~11.10 min, B相比率降为5%,并以5%平衡至14 min;流速设置为0.35 mL/min,柱温40 °C,进样量4 μL。

质谱数据采集条件为:电喷雾离子源(Electrospray Ionization, ESI)温度550 °C,质谱电压5 500 V(正模式)/-4 500 V(负模式),帘气(Curtain gas, CUR) 25 psi,碰撞诱导电离(Collision-Activated Dissociation, CAD)参数设置为高。在三重四级杆中每个离子对是根据优化的簇电压(Declustering Potential, DP)和碰撞能进行扫描检测^[16]。

1.4 代谢物定性与定量分析

基于迈维代谢公司的自建数据库MWDB(metware database),根据二级谱信息进行物质定性分析,分析时去除同位素信号、含K⁺离子、Na⁺离子和NH₄⁺离子的重复信号。代谢物定量则是利用三重四级杆质谱的多反应检测模式进行。四级杆首先筛选目标物质的前体离子,前体离子经诱导电离后形成碎片离子,碎片离子通过三重四级杆过滤选择出特征碎片离子。随后进行峰面积积分,并对其中同一代谢物在不同样本中的质谱出峰进行积分校正^[17]。

1.5 数据分析

利用MultiaQuant软件和Analyst 1.6.3软件处理质谱数据,并进行色谱峰的积分和校正工作,每个色谱峰的面积代表对应物质的相对含量,最后导出所有色谱峰面积积分数据保存。随后对样本数据进行主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)和正交偏最小二乘法判别分析(Orthogonal Partial Least Squares—Discriminant Analysis, OPLS-DA),通过载荷图和变量重要性投影(Variable Importance in Projection, VIP)值大于等于1来筛选差异代谢物。PCA用R软件中的Prcomp函数对进行归一化处理后的数据进行分析。OPLS-DA在原始数据进行log₂转换后,进行中心化处理,利用R软件中的MetaboAnalystR包的OPLSR.Anal函数进行分析。

2 结果与分析

2.1 代谢物鉴定

利用UPLC-MS/MS法在猴耳环的嫩枝和叶组织中共鉴定出712种代谢物成分,其正离子模式下混合样本的质谱分析总离子流图如图1所示,

各峰分离效果良好表明仪器精密度良好结果可靠。其中氨基酸类物质 78 种，酚酸类物质 127 种，核苷酸及其衍生物 44 种，类黄酮化合物 148 种，生物碱类 22 种，木脂素和香豆素类化合物 15 种，有机酸类 70 种，脂质类 129 种，维生素类 11 种，鞣质类 9 种，萜类化合物 9 种，糖及醇类 40 种，其它类化合物 10 种。148 种类黄酮代谢物中，其中查尔酮 5 种，二氢黄酮 7 种，二氢黄酮醇 6 种，黄酮 49 种，黄酮醇 38 种，黄烷醇 15 种，异黄酮 18 种，原花青素 10 种。

2.2 多元统计分析

为了解猴耳环嫩枝和叶组织样本之间总体代谢差异和组内样本之间的变异度大小，对各样本数据进行 PCA 分析（图 2A）。结果表明第一主成分可解释 53.96% 的原始变量信息，第二和第三主成分共解释了 28.55%（PC1: 12.56%，PC2: 15.99%）的原始变量信息。此外猴耳环嫩枝和叶组织样本具有一定的分离趋势，即存在一定组间差异，说明猴耳环嫩枝和叶中所含的代谢物成分存在一定差异。同时，同一组织部位的不同样本

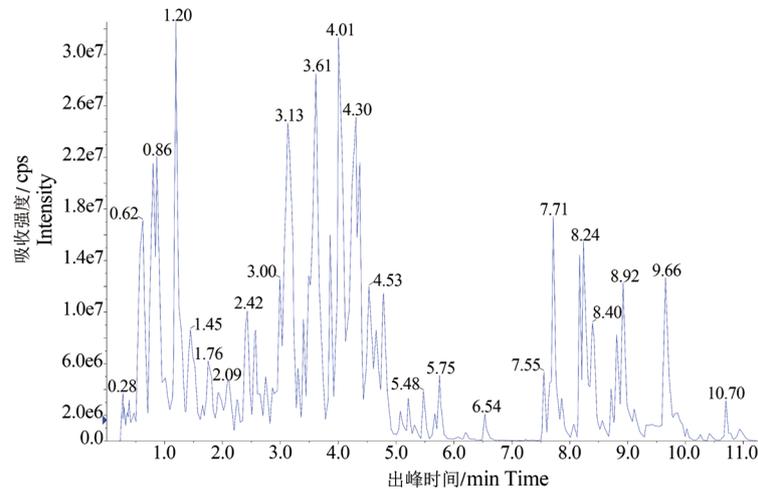
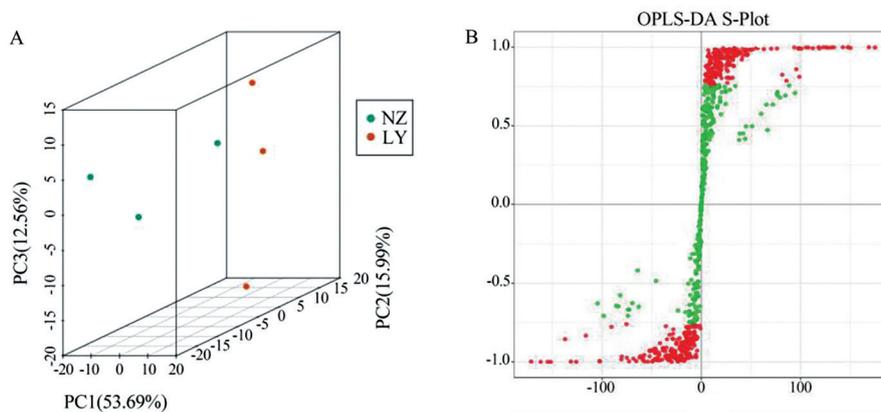


图 1 正离子模式下混合样本的质谱分析总离子流图

Fig.1 Total ions current of mass spectrometry analysis of mixed samples positive ion mode



注：A：PCA 分析，PC1、PC2 和 PC3 分别表示第一、第二和第三主成分；B：OPLS-DA 分析，横坐标表示主成分与代谢物的协方差，纵坐标表示主成分与代谢物的相关系数，红色表示代谢物的 VIP 值大于或等于 1，绿色表示代谢物的 VIP 值小于 1。

Note: A: PCA analysis, the PC1, PC2 and PC3 represent the first, second and third principal components, respectively. B: OPLS-DA analysis, the x-coordinate represents the covariance between the principal component and the metabolite, and the y-coordinate represents the correlation coefficient between the principal component and the metabolite, red dot indicates that the metabolite's VIP value is greater than or equal to 1, and green dot indicates that the metabolite's VIP value is less than 1.

图 2 猴耳环嫩枝和叶组织样本的多元统计分析

Fig.2 Multivariate statistical analysis charts of *Pithecellobium clypearia* in different tissues

也相对分散,说明组内样本间也存在一定差异。PCA是一种没有监督的分组方法,难以消除掉随机误差和组内误差,因此OPLS-DA被用于更准确找到猴耳环嫩枝和叶组织部位中的差异代谢物。OPLS-DA的S-plot图如图2B所示。结果显示猴耳环嫩枝和叶区分明显,且很大一部分代谢物的VIP值大于或等于1,表明这些代谢物成分在猴耳环嫩枝和叶中的含量差异显著。

2.3 差异代谢物鉴定

根据单变量分析的差异倍数(Fold change)值和多元统计分析OPLS-DA模型的VIP值来筛选差异代谢物。选取了差异倍数大于等于2或小于等于0.5,且VIP值大于等于1的代谢物认为差异显著。在鉴定到712种代谢物中,393种代谢物成分的含量在猴耳环的嫩枝和叶组织部位中没有显著差异。另外319种代谢物成分则在猴耳环两组织部位中的含量差异显著。含量差异显著的代谢物中,162种在猴耳环嫩枝组织部位中的含量显著高于叶组织,其中包含了19种类黄酮化合物,如表1所示。157种代谢物成分在猴耳环叶组织中的含量显著高于嫩

枝,其中包含了43种类黄酮化合物,如表2所示。此外,比较分析发现高生物活性代谢物成分如柚皮素、芹菜素、槲皮素、二氢槲皮素、表儿茶素苷和表没食子儿茶素没食子酸酯等在猴耳环嫩枝中的含量显著高于叶组织。而表儿茶素、槲皮苷、杨梅苷和芦丁等高生物活性代谢成分则在猴耳环叶组织中的含量显著高于嫩枝。

2.4 差异代谢物分析

为了更方便和直观的了解差异显著代谢物的组织变化规律及其通路分布情况,我们对含量差异显著的代谢物进行了聚类和KEGG富集分析。结果如图3和图4所示。聚类分析结果表明,大部分萜类化合物、鞣质类、核苷酸及其衍生物和黄酮类化合物在猴耳环叶组织中含量显著高于嫩枝。嫩枝中含量显著高于叶组织的代谢物成分主要为脂质类、酚酸类和氨基酸及其衍生物等化合物。KEGG富集分析结果表明,含量差异显著的代谢物显著富集于缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成通路,组氨酸、精氨酸和脯氨酸代谢通路,异黄酮生物合成通路,抗坏血酸和醛酸代谢

表1 19种在猴耳环嫩枝中含量显著高于叶组织的类黄酮化合物

Table 1 The 19 flavonoids of *Pithecellobium clypearia* that the content in twig were higher than in leaves

物质 Compounds	化学式 Formula	二级分类 Class II	CAS号 CAS Number	差异倍数 Fold change
柚皮素查尔酮	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	查耳酮	73692-50-9	0.18
根皮素	C ₁₅ H ₁₄ O ₅	查耳酮	60-82-2	0.25
柚皮素	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	二氢黄酮	480-41-1	0.15
5,7,3',4',5'-五羟基二氢黄酮	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	二氢黄酮	-	0.15
二氢槲皮素(花旗松素)	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	二氢黄酮醇	480-18-2	0.12
落新妇苷	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	二氢黄酮醇	29838-67-3	0.31
芹菜素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	黄酮	520-36-5	0.19
3',4',7-三羟基黄酮	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	黄酮	2150-11-0	0.01
苜蓿素(麦黄酮)	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	黄酮	520-32-1	0.47
乔松素-7-O-葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	黄酮	75829-43-5	0.32
紫柳素-7-O-葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	黄酮	-	0.17
柚皮素-4'-O-葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	黄酮	-	0.17
花旗松素-3'-O-葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₂	黄酮	31106-05-5	0.18
槲皮素	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	黄酮醇	117-39-5	0.01
表儿茶素苷	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₁	黄烷醇类	-	0.01
表没食子儿茶素没食子酸酯	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₁	黄烷醇类	989-51-5	0.15
大豆苷元	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	异黄酮	486-66-8	0.28
染料木素(金雀异黄素)	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	异黄酮	446-72-0	0.02
染料木苷(金雀异黄苷)	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	异黄酮	529-59-9	0.02

注:差异倍数为LY/NZ值。

Note: fold change value was calculated by LY/NZ.

表 2 猴耳环叶组织中 43 种含量显著高于嫩枝的类黄酮化合物

Table 2 The 43 flavonoids of *Pithecellobium clypearia* that the content in leaves were higher than in twigs

物质 Compounds	化学式 Formula	二级分类 Class II	CAS 号 CAS Number	差异倍数 Fold change
7- 羟基 -3,5,6,8- 四甲氧基黄酮	C ₁₉ H ₁₈ O ₇	黄酮	-	11.74
山奈酚 -3-O- 阿拉伯糖苷	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	黄酮	-	7.44
芹菜素 -5-O- 葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	黄酮	28757-27-9	5.52
山奈酚 -4'-O- 葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	黄酮	-	2.39
红车轴草素 -7-O- 葡萄糖苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	黄酮	36191-03-4	11.23
香叶木素 -7-O- 半乳糖苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	黄酮	-	13.16
6- 甲基山奈酚 -3-O- 葡萄糖苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	黄酮	-	15.32
苜蓿素 -7-O- 葡萄糖苷	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₂	黄酮	32769-01-0	4.42
柠檬素 -3-O- 葡萄糖苷	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₃	黄酮	-	34.67
柠檬素 -3-O- 半乳糖苷	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₃	黄酮	-	133.89
丁香亭 -7-O- 葡萄糖苷	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₃	黄酮	-	162.15
苜蓿素 -7-O- 愈创木酚基甘油	C ₂₇ H ₂₆ O ₁₁	黄酮	-	95.81
木犀草素 -7-O- 新橘皮糖苷	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	黄酮	25694-72-8	62.00
木犀草素 -7-O- 芸香糖苷	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	黄酮	3563-98-2	35.70
5,7- 二羟基 -4- 甲氧基黄酮 -3-O- 木糖 -(1-6)- 葡萄糖	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	黄酮	-	6.08
金圣草黄素 -7-O- 葡萄糖苷	C ₃₂ H ₃₀ O ₁₄	黄酮	-	25.58
二氢山奈素	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	黄酮醇	137225-59-3	46.62
3,7- 二 -O- 甲基槲皮素	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	黄酮醇	2068-02-2	28.97
山奈酚 -7-O- 鼠李糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	黄酮醇	20196-89-8	564.11
山奈酚 -3-O- 鼠李糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	黄酮醇	482-39-3	560.82
扁蓄苷 (广寄生苷)	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	黄酮醇	572-30-5	2.15
槲皮苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	黄酮醇	522-12-3	61.28
杨梅苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	黄酮醇	17912-87-7	88.12
异鼠李素 -3-O- 葡萄糖苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	黄酮醇	5041-82-7	6.67
苜蓿素 -4'- 甲基醚 -3'-O- 葡萄糖苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	黄酮醇	-	19.13
鼠李素 -3-O- 葡萄糖苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	黄酮醇	27875-34-9	16.14
杨梅素 -3-O- 葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	黄酮醇	19833-12-6	2.53
槲皮素 -7-O-(6"- 丙二酰) 葡萄糖苷	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₅	黄酮醇	-	11.71
芦丁	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	黄酮醇	153-18-4	9.18
槲皮素 -3-O-(2"- 没食子酰) 葡萄糖苷	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₆	黄酮醇	69624-79-9	25.57
槲皮素 -3-O-(2"- 没食子酰) 半乳糖苷	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₆	黄酮醇	53209-27-1	29.04
6- 羟基山奈酚 -3,6-O- 二葡萄糖苷	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	黄酮醇	-	9.48
白麻苷	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	黄酮醇	18609-17-1	2.70
6- 羟基山奈酚 -7,6-O- 二葡萄糖苷	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	黄酮醇	-	6.28
表儿茶素	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	黄烷醇类	490-46-0	11.95
6- 羟基黄豆苷元	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	异黄酮	17817-31-1	7.93
3'- 甲氧基大豆苷元	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	异黄酮	21913-98-4	10.48
阿夫罗摩辛	C ₁₇ H ₁₄ O ₅	异黄酮	550-79-8	5.58
染料木素 -7-O- 半乳糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	异黄酮	-	3.68
黄豆苷元	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	异黄酮	40246-10-4	7.55
毛蕊异黄酮苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	异黄酮	20633-67-4	368.52
5,7,4'- 三羟基 -6,8- 二甲氧基异黄酮 -7-O- 半乳糖苷	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₂	异黄酮	-	4.69
羟基 -5- 甲氧基染料木素 -4',7-O- 二葡萄糖	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₇	异黄酮	-	17.11

注：差异倍数为 LY/NZ 值。

Note: fold change value was calculated by LY/NZ.

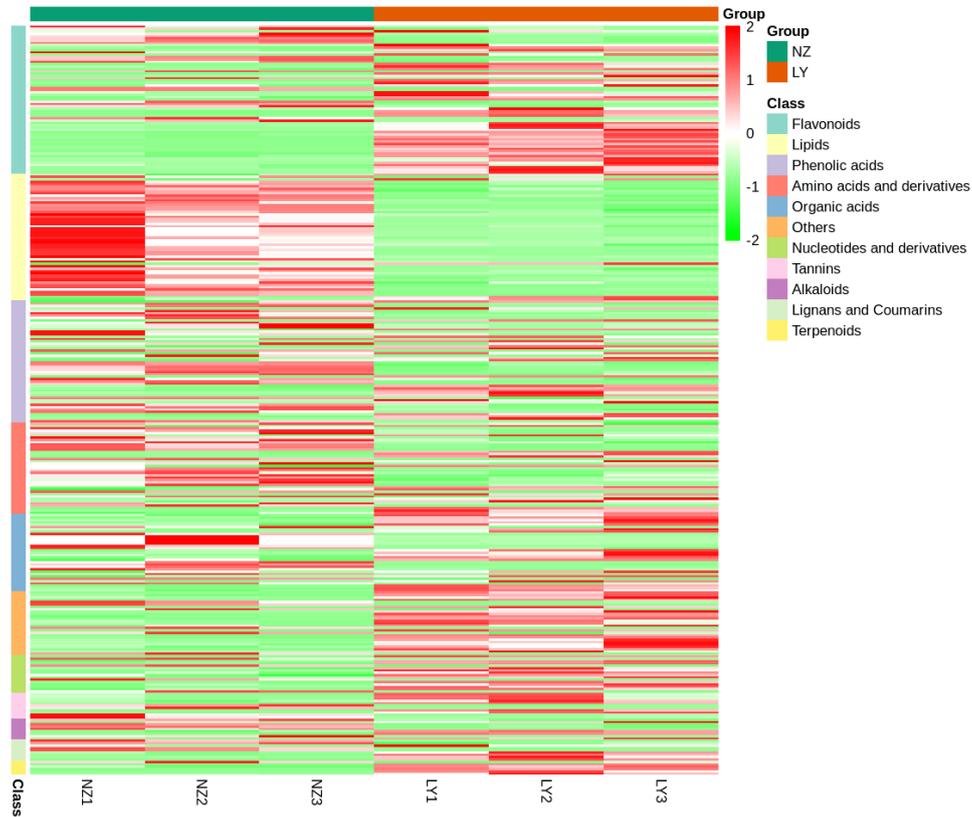


图3 差异代谢物聚类热图

Fig.3 Different metabolites cluster heat map

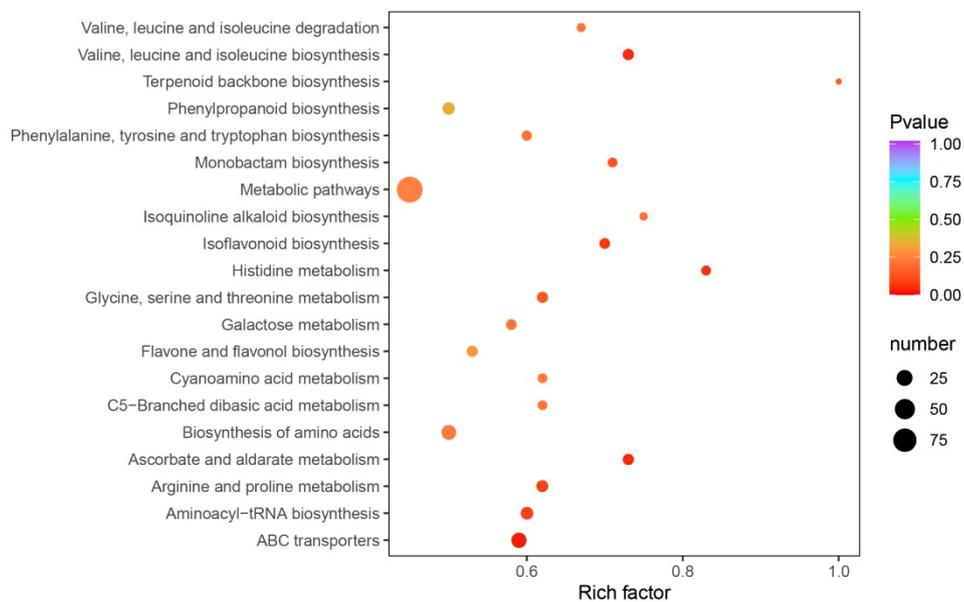


图4 差异代谢物 KEGG 富集分析

Fig.4 The KEGG enrichment analysis of differential metabolites

通路以及 ABC 转运蛋白通路。

3 结论与讨论

本研究利用 UPLC—MS/MS 代谢组学技术对

猴耳环的主要药用部位嫩枝和叶的代谢物成分进行了鉴定与分析。嫩枝和叶组织中共鉴定出代谢物成分 712 种。主要包括了氨基酸类、酚酸类、核苷酸及其衍生物和类黄酮等化合物。其中先前

报道的槲皮素、二氢槲皮素、槲皮苷、表儿茶素、表儿茶素苷、杨梅苷和没食子儿茶素没食子酸酯等多种猴耳环药效成分均被检测到^[1, 3, 11], 而未检测到没食子酸单体, 很可能是因为没有食子酸常与鞣质和酯类等结合在一块^[10]。综合表明 UPLC—MS/MS 及其相关代谢组学技术适用于药用植物高生物活性物质的鉴定及新药源分子的挖掘。先前已有相关学者利用 UHPLC-MS/MS、LS-MS/MS 和 UHPLC-QTOF/MSE 代谢组学技术分别对黄芩 *Scutellaria baicalensis* 的不同采收期材料^[18]、新疆一支蒿 *Artemisia rupestris* 的不同组织部位^[19] 和文冠果 *Xanthoceras sorbifolium* 的不同组织部位^[20] 进行了代谢组学分析。多元统计、聚类和 KEGG 富集分析结果显示, 猴耳环嫩枝和叶组织存在显著代谢物成分含量差异。其中脂质类、酚酸类和氨基酸及其衍生物主要积累于猴耳环嫩枝部位, 而萜类化合物、鞣质类和类黄酮化合物则主要积累于猴耳环的叶组织中。其中黄酮醇类化合物槲皮素在叶组织中的含量显著高于嫩枝, 这与李雪玲等人^[10] 的研究结果相反, 这很可能是因为不同产地, 不同年龄的猴耳环组织部位代谢物成分及含量有一定差异^[11]。本研究仅以台山市红岭种子园 2 a 生的猴耳环嫩枝和叶为研究材料, 结果具有一定的局限性。欲系统全面揭示猴耳环代谢物成分及特征活性物质在不同组织部位的分布特征及其相对含量的变化规律, 为猴耳环有效部位的合理利用和开发提供重要的物质基础。后续应进一步对不同产地和年份的猴耳环的多个组织部位进行代谢组学研究。

参考文献

- [1] 彭亮, 李诒光, 陈杰, 等. 我国猴耳环属植物药理作用及临床应用研究进展[J]. 江西中医药大学学报, 2015, 27(6): 117-120.
- [2] BARRERA N L L, BAUTISTA B S, JIMENEZ E M, et al. Influence of leaf, fruit and seed powders and extracts of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth on the in vitro vegetative growth of seven postharvest fungi[J]. Revista Mexicana de Fitopatología, 2002, 20: 66-71.
- [3] 郭耀威, 李沛波. 猴耳环提取物抗炎作用的实验研究[J]. 中国医药杂志, 2007(12): 23-24.
- [4] KATEKHAYE S D, KALE M S. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth wood bark and leaves[J]. Free Radicals and Antioxidants, 2012, 3(2): 47-57.
- [5] 范伟军, 彭冠明, 黄婷, 等. 猴耳环不同家系的苗期生长分析[J]. 林业与环境科学, 2020, 36(3): 55-60.
- [6] 张中贤, 黄剑臻, 李沛波. 猴耳环水提取物抗流感病毒的实验研究[J]. 中国热带医学, 2008, 8(1): 30-34.
- [7] 郭晓宇, 王乃利, 宝丽, 等. 猴耳环的化学成分及其对 T 淋巴细胞增殖的影响[J]. 中国药学, 2007, 16(3): 208-213.
- [8] 苏妙贤, 唐之岳, 黄伟欢, 等. 猴耳环化学成分研究[J]. 中药材, 2009, 32(5): 705-707.
- [9] 范文昌. 广东地产清热解毒药物大全[M]. 北京: 中医古籍出版社, 2011: 623-625.
- [10] 李雪玲, 刘莉, 钟棱. HPLC 测定猴耳环不同部位中没食子酸和槲皮素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18): 95-97.
- [11] 彭亮, 李诒光, 陈杰, 等. HPLC 同时测定不同产地猴耳环叶中没食子酸和槲皮素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(11): 77-79.
- [12] 李镜友, 罗巧红, 张曼, 等. HPLC 法测定不同采收期猴耳环中没食子酸的含量[J]. 中药材, 2009, 32(6): 915-916.
- [13] 姜冀, 罗显峰, 于韬, 等. 猴耳环叶化学成分的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2014, 31(4): 262-265.
- [14] 陈昱桦. 猴耳环化学成分的分离与鉴定[J]. 天津药学, 2015, 27(6): 5-8.
- [15] 吕尚, 杨世林, 饶毅, 等. 代谢组学及其相关技术在中药研发领域的应用进展[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(21): 4182-4193.
- [16] CHEN W, GONG L, GUO Z, et al. A novel integrated method for large-scale detection, identification, and quantification of widely targeted metabolites: application in the study of rice metabolomics[J]. Molecular Plant, 2013, 6(6): 1769-1780.
- [17] FRAGA C G, CLOWERS B H, MOORE R J, et al. Signature-discovery approach for sample matching of a nerve-agent precursor using liquid chromatography-mass spectrometry, XCMS, and chemometrics[J]. Analytical Chemistry, 2010, 82(10): 4165-4173.
- [18] 庞溢媛, 薛立英, 郑艳红, 等. 基于 UHPLC-MS/MS 代谢组学技术的不同采收期黄芩质量比较研究[J]. 药学报, 2017, 52(12): 1903-1909.
- [19] 陈路路, 王中华, 周帆, 等. 基于液相色谱-串联质谱技术的新疆一支蒿植物代谢组学分析方法研究[J]. 分析化学, 2018, 46(5): 735-742.
- [20] 宋楠楠, 路瞳, 肖姣, 等. 基于 UHPLC-QTOF/MSE 代谢组学方法研究文冠果不同部位化学成分[J]. 沈阳药科大学学报, 2019, 36(10): 900-909.