

348-349; 384.

[15] 杨 婕, 袁友泉, 万屏南, 等. 彭泽贝母与其他产地贝母中无机元素的分析测定[J]. 江西化工, 2006(4): 160-162.

[16] 周 浓, 郭冬琴, 沈 力, 等. 太白贝母与暗紫贝母中砷、汞、镉、铅的含量比较[J]. 分析检测, 2013, 34(24): 67-69.

[17] 党 君. 中药材贝母中 10 种微量元素的主成分分析[J]. 微量元素与健康研究, 2011, 28(4): 19-20.

[18] 张 良, 李 黎, 袁 瑜, 等. 中药材贝母中 16 种微量元素的测定和分析[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(1): 162-164.

[19] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.

基于 GC-TOF/MS 的卷柏不同生长阶段代谢组学研究

席彩彩¹, 谷 巍^{1,2*}, 周 晨¹, 张阿琴¹, 王 帆¹
(1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023; 2. 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏 南京 210023)

摘要: **目的** 研究卷柏不同生长阶段差异代谢物。 **方法** 以 3 个生长阶段卷柏样品为研究对象, 采用衍生化 GC-TOF/MS 技术, 以代谢组学研究其成分种类和含量的动态变化, 结合多元统计分析不同生长阶段的差异代谢物, 并分析其含量变化与涉及的代谢通路的影响。 **结果** 卷柏代谢产物共检测出化合物 441 个, 其中鉴定出 182 个; 3 个生长阶段卷柏样品间的化学组成得到有效区分, 筛选出 15 个共有差异化合物, 其中 5 月海藻糖等水溶性糖类和硬脂酸等油脂类含量相对较高, 9 月氨基酸类化合物含量相对较高, 1 月蔗糖和丙氨酸的含量相对较高。不同生长阶段丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢变化最大。 **结论** 不同生长阶段卷柏代谢产物存在明显差异, 建议最佳采收期为 5 月份左右。

关键词: 卷柏; 生长阶段; 代谢组学; GC-TOF/MS

中图分类号: R282 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)12-3542-06
doi: 10. 3969/j. issn. 1001-1528. 2021. 12. 056

卷柏 *Selaginella tamariscina* (Beauv.) spring 为蕨类卷柏科卷柏属植物, 在我国各地均有分布, 具有破血散瘀、活血止血的功能^[1-3]。卷柏是典型极端耐旱的复苏维管植物, 干旱时植株向内卷成一团, 颜色枯黄, 但它能在相当长时间里保持生命, 一旦遇水, 便会植株伸展返绿, 因此民间常称其为“九死还魂草”^[4-5]。对于卷柏的形态及产地最早记载见于《名医别录》, 它喜光, 多生于向阳的山坡岩石上或干旱的岩石缝中, 在温度 20 ℃ 左右的潮湿地方生长正常^[6-7]。全年均可采收^[8], 采收期区别于古籍记载。

中药质量的优劣取决于有效成分的含量, 后者会随生长过程发生不同程度的动态变化, 因此适时采收是保证中药材质量的先决因素之一^[9]。卷柏化学成分复杂多样, 目前对其成分的测定方法大多为 GC-MS、HPLC、TLC 等, 仅

局限于某几个特征成分, 忽略了其他成分的变化。代谢组学从植物生物体系的整体性和动态性出发, 研究植物代谢产物的动态变化, 不仅可以观察到化学成分的积累过程, 还可以发现各成分之间的相互转化规律, 可从整体上科学评价药材的质量^[10-12]。

本研究借鉴植物代谢组学的思路和方法, 研究三个不同生长阶段卷柏样品的代谢产物的不同, 寻求差异化合物, 探究其动态变化, 采用脲化-硅烷化衍生法 GC-TOF/MS 技术分析卷柏三个不同生长阶段样品的化学成分, 并通过主成分分析 (PCA) 和偏最小二乘法-判别分析 (PLS-DA) 进行数据处理, 找出差异显著的化学成分及其变化规律, 为卷柏商品药材质量的综合评价及卷柏药材的采收提供参考, 为卷柏复苏机制研究提供依据, 为其综合开发利用奠定基础。

收稿日期: 2020-06-24
基金项目: 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心项目 (ZDXM-2-6, ZDXM-3-24); 2019 年医疗服务与保障能力提升补助资金 (中医药事业传承与发展部分) “全国中药资源普查项目” (财社 [2019] 39); 江苏省中药优势学科 II 期建设项目 (PAPD-2014); 江苏省林业科技创新与推广项目 (LYKJ—常州 [2020] 04)
作者简介: 席彩彩 (1988—), 女, 博士, 研究方向为中药资源生产与合成生物学。Tel: 15195980002, E-mail: xicaicaizhxy0122@163.com
*** 通信作者:** 谷 巍 (1969—), 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药资源生产与合成生物学。Tel: 13951879869, E-mail: guwei9926@126.com

1 材料

1.1 仪器 ALEX-CIS GCTOF-MS 气质联用仪（美国 Leco 公司）；MIKRO220/220R 型离心机（德国 Hettich 公司）；AX324ZH 型电子分析天平（美国 Ohaus 公司）；移液枪（德国 Eppendorf 公司）；微型旋涡混合器（德国 BOECO 公司）。

1.2 试剂与药物 甲氧胺盐酸盐（CH₃ONH₂·HCl）、饱和脂肪酸甲酯、*N*-甲基-*N*-三甲硅基三氟乙酰胺、吡啶均为色谱纯购自美国 Sigma-Aldrich 公司；其余试剂均为分析纯；水为蒸馏水。卷柏全草分别于 2014 年 5 月、2014 年 9 月、2015 年 1 月采自江苏省连云港前云台、中云台、后云台山，每个生长期采集 3 批，经南京中医药大学中药资源教研室谷巍教授鉴定为卷柏科植物卷柏 *Selaginella tamariscina* (Beauv.) spring，除去须根洗净晒干备用，保存于南京中医药大学药学院，具体信息见表 1。

表 1 样品信息

序号	产地	采收时间
1	江苏连云港前云台	2014 年 5 月
2	江苏连云港中云台	2014 年 5 月
3	江苏连云港后云台	2014 年 5 月
4	江苏连云港前云台	2014 年 9 月
5	江苏连云港中云台	2014 年 9 月
6	江苏连云港后云台	2014 年 9 月
7	江苏连云港前云台	2015 年 1 月
8	江苏连云港中云台	2015 年 1 月
9	江苏连云港后云台	2015 年 1 月

2 方法

2.1 分析条件

2.1.1 色谱 rtx5Sil-MS 型毛细管柱（30 m×0.25 mm，0.25 μm）；载气高纯氦气（99.999%）；体积流量为1 mL/min；程序升温（50 ℃保持 1 min，以 20 ℃/min 升至330 ℃，保持 5 min）；进样口温度 50 ℃，以 12 ℃/s 升至 250 ℃；进样量 0.5 μL；不分流，无溶剂延迟。

2.1.2 质谱 电子电离源（EI）；检测器电压 1 800 V；传输线温度 230 ℃；离子源温度 250 ℃；质量扫描范围 *m/z* 80~500；电子能量为 70 eV。

2.2 供试品溶液制备 取不同生长阶段、批次卷柏 2 g 粉碎，加入 10 mL 乙腈-异丙醇-水（3：3：2，脱气，-20 ℃）超声提取 2 次，每次 30 min，涡旋 10 s，在 4 ℃下振摇 5 min，离心，移出上清液，冻干，经乙腈-水（3：1）萃取，离心，取上清液浓缩。采用脎化-硅烷化衍生法，向样品中加入 2 μL C₈~C₃₀脂肪酸甲酯标准混合液（溶于氯仿，C₈~C₁₆0.8 mg/mL，C₁₈~C₃₀0.4 mg/mL），加入 40 μL 新鲜配制的 20 mg/mL 甲氧胺吡啶盐酸溶液，在 30 ℃下反应 90 min，750 r/min 快速搅拌，发生脎化反应，最后加入 40 μL *N*-甲基-*N*-三甲硅基三氟乙酰胺，750 r/min 快速搅拌，在 37 ℃下反应 50 min，实现活泼氢的三甲硅烷基化作用^[13]，放冷，过 0.22 μm 微孔滤膜，即得。

2.3 方法学考察 精密吸取同一供试品溶液，在“2.1”项条件下进样测定 6 次，于 0、4、8、12、24 h 进样检测；按“2.2”项下方法平行衍生化制备 6 份供试品溶液，在“2.1”项条件下进样测定，计算各主要色谱峰相对内标的保留时间和峰高 RSD，考察仪器精密度、供试品溶液的稳定性、样品制备重复性。

2.4 数据处理分析 通过 XCMS 软件对质谱图进行预处理（包括峰对齐、切割和降噪等），Excel 软件将数据进行归一化，导入 Simca-P 14.1 软件进行分析。采用主成分分析（PCA），直观表达不同采收期的卷柏样品的化学组成差异；以偏最小二乘判别分析（PLS-DA）对各样品进行分类，其中 *R*²*X*，*R*²*Y* 越接近 1，表示模型越稳定，*Q*²>0.5 表示预测率高，根据 PLS-DA 模型得到的变量权重值（VIP>1）找到潜在的差异性成分。通过 SPSS 20.0 软件进行统计学分析，计量资料以（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，组间比较采用两两独立样本 *t* 检验，组间均数比较采用单因素方差分析，以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。采用 Graphpad prism 5 软件绘图，MetaboAnalyst 4.0 软件进行代谢通路分析。

3 结果

3.1 方法学考察 主要色谱峰相对保留时间和相对峰高 RSD 均小于 2%，表明仪器精密度良好，溶液在 24 h 内稳定，方法重复性理想。

3.2 GC-TOF/MS 分析 共检测出代谢产物 441 个，鉴定出化合物 182 个，见表 2。

3.3 多元统计分析

3.3.1 主成分分析 采用 PCA 多变量模式识别方法^[14]，对 3 个生长阶段样品数据进行降维分析，其得分图（*t* [1] 56.5%，*t* [2] 30.8%）见图 1。由此可知，不同生长阶段样品数据分布在不同区域，分类结果较为理想，表明其成分存在明显差异；样品在 PCA 轴上呈现逐步变化的趋势，5 月采收的分布在 PC1 轴正方向，9 月、1 月采收的分布在 PC1 轴负方向，各自聚为一类，表明 5 月采收的在代谢组成上与 9 月、1 月采收的有明显不同。

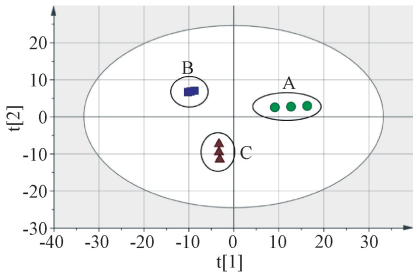
3.3.2 偏最小二乘法判别分析 对 3 个生长阶段样品数据进行 PLS-DA 分析^[15]（5 月与 9 月、5 月与 1 月、9 月与 1 月），结果见图 2a、2c、2e，可知每 2 组样品数据分别沿 PC1 轴明显分开，其中模型参数 *R*²*X*（cum）分别为 0.946、0.901、0.897；*R*²*Y*（cum）分别为 0.999、0.999、0.998；*Q*² 分别为 0.998、0.997、0.995，表明模型有效可靠，与无监督的主成分分析（PCA）相比，2 个生长期的样品数据得到了更大程度的分离，有助于寻找差异性成分。VIP 得分图见图 2b、2d、2f，可知对 2 组分类贡献较大的差异性成分（VIP>1）分别有 23、26、25 个特征峰。

3.4 差异性成分分析

3.4.1 定性鉴定 将 PLS-DA 分析结果得到的 3 组对分类贡献较大的差异性成分进行比对，得到 15 个共有差异性成分，见表 3。

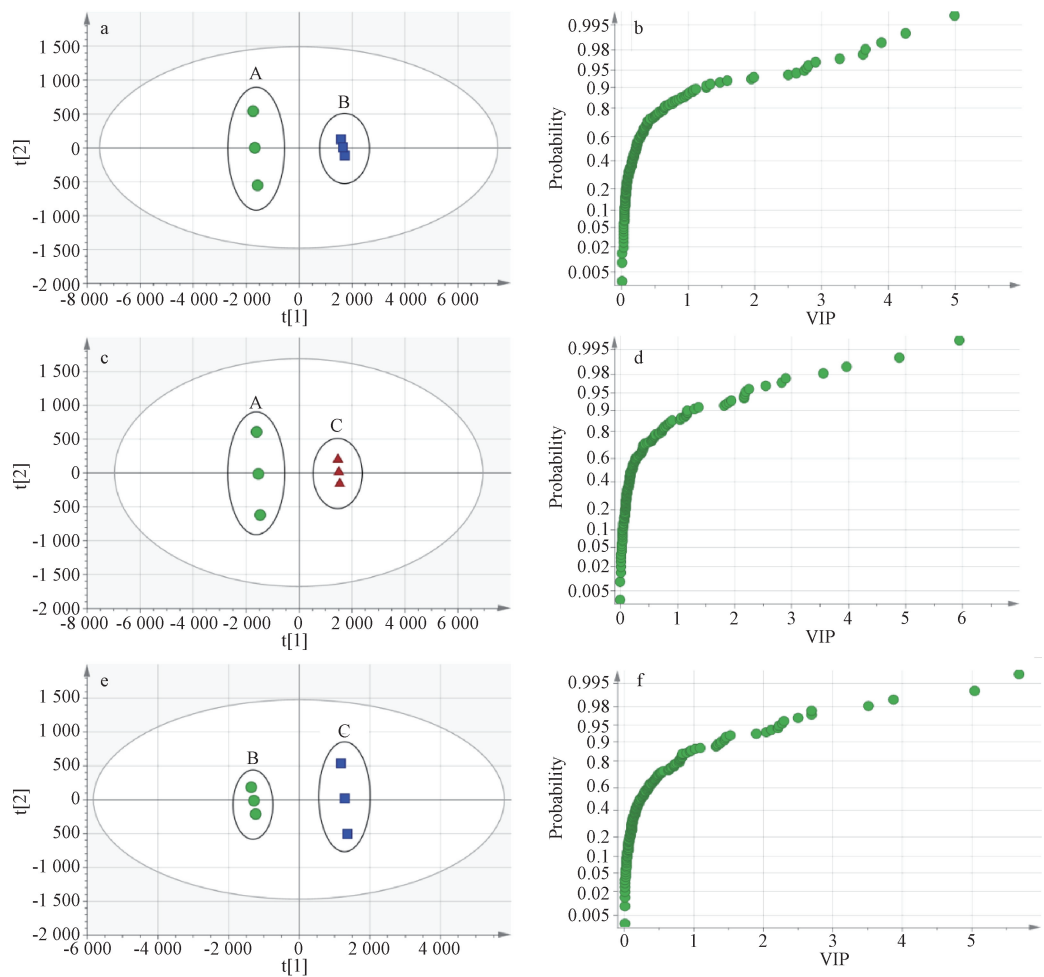
表 2 GC-TOF/MS 分析结果

序号	化合物	序号	化合物	序号	化合物	序号	化合物
1	木酮糖	47	磷酸盐	93	异柠檬酸	139	绿原酸
2	木糖	48	苯丙氨酸	94	inositol-4-monophosphate	140	辛酸
3	木糖醇	49	戊糖醇	95	羟胺	141	丁内酰胺
4	香草酸	50	壬酸	96	hydroxycarbamate	142	butane-2,3-diol
5	缬氨酸	51	咪唑啉三酮	97	高丝氨酸	143	龙胆二糖
6	尿苷	52	棕榈油酸	98	组氨酸	144	丙胺酸
7	尿素	53	棕榈酸	99	己糖醇	145	苯甲酸
8	尿嘧啶	54	焦谷氨酸	100	十七烷酸	146	壬二酸
9	酪氨酸	55	草酸	101	鸟苷	147	天冬氨酸
10	色氨酸	56	鸟氨酸	102	鸟嘌呤	148	天冬酰胺
11	三糖	57	十八烯酸	103	glycyl-proline	149	二十烷酸
12	海藻糖	58	十八醇	104	乙醇酸	150	氨基丙二酸
13	trans-4-hydroxyproline	59	十九烷酸	105	甘氨酸	151	α 酮戊二酸
14	生育酚 γ	60	N-methylalanine	106	glycerol-α-phosphate	152	二脲基乙酸
15	生育酚 β	61	烟酸	107	glycerol-3-galactoside	153	丙氨酸
16	生育酚 α	62	烟酰胺	108	甘油	154	己二酸
17	胸腺嘧啶	63	烟草胺	109	甘油酸	155	adenosine-5-monophosphate
18	胸苷	64	乙酰谷胺酸	110	glutamyl-valine	156	腺苷
19	苏氨酸	65	N-acetyl-D-hexosamine	111	谷氨酰胺	157	腺嘌呤
20	蔗糖酸	66	N-acetyl-D-galactosamine	112	谷氨酸	158	乌头酸
21	蔗糖醇	67	肉豆蔻酸	113	磷酸盐	159	乙酰苯
22	酒石酸	68	粘液酸	114	葡萄糖	160	6-deoxyglucitol
23	塔格糖	69	甲硫氨酸	115	葡糖酸	161	5-hydroxynorvaline
24	硫磺酸	70	methanolphosphate	116	葡庚酮糖	162	氨基戊酸
25	sucrose-6-phosphate	71	蜜二糖	117	γ-氨基丁酸	163	羧基丁酸
26	蔗糖	72	松三糖	118	半乳糖醇	164	羧基苯甲酸
27	琥珀酸	73	甘露醇	119	甜菜苷	165	氢酪酸
28	豆甾醇	74	麦芽三糖	120	富马酸	166	4',5-dihydroxy-7-glucosyloxyflavanone
29	硬脂酸	75	麦芽糖	121	岩藻糖	167	苯基乳酸
30	槐二糖	76	麦芽糖醇	122	6-磷酸果糖	168	3-hydroxy-3-methylglutaric acid
31	莽草酸	77	丙二酸	123	果糖	169	3-aminoisobutyric acid
32	丝氨酸	78	苹果酸	124	左旋糖	170	3,6-anhydro-D-galactose
33	癸二酸二(2-辛基)酯	79	马来酰亚胺	125	阿魏酸	171	3,4-dihydroxycinnamic acid
34	水杨酸	80	来苏糖	126	乙醇胺	172	2-monopalmitin
35	葡糖二酸	81	lyxitol	127	磷酸乙醇	173	异丙基苹果酸
36	核酸糖	82	赖氨酸	128	赤藓糖醇	174	2-hydroxyglutaric acid
37	核糖酸	83	亚麻酸	129	十二烷醇	175	2-deoxyerythritol
38	棉子糖	84	亚油酸	130	乳糖醛酸	176	2,4-diaminobutyric acid
39	金鸡纳酸	85	二十四酸	131	脱氢枞酸	177	2,3-dihydro-8-methoxyfuro(2,3-b) quinoline
40	丙酮酸	86	亮氨酸	132	半胱氨酸	178	棕榈酸单甘油酯
41	焦磷酸盐	87	十二烷酸	133	cyanoalanine	179	1-methylgalactose
42	腐胺	88	乳糖酸	134	conduritol-beta-epoxide	180	蔗糖三糖
43	假尿苷	89	乳酸	135	瓜氨酸	181	1-deoxyerythritol
44	脯氨酸	90	isothreonic acid	136	柠檬酸	182	2,5-dihydroxypyrazine
45	派可林酸	91	异麦芽糖	137	咖啡酸		
46	叶绿醇	92	异亮氨酸	138	胆固醇		



注：A 为 5 月，B 为 9 月，C 为 1 月。
图 1 不同采收期样品的 PCA 得分图

3.4.2 相对含量 提取各共有差异性成分在各组样品间对应的相对峰高来表示其相对含量，对同一化学成分在不同生长阶段样品间相对峰高平均值的标准差进行计算，结果见图 3。由此可知，5 月采收的样品中相对含量最高的化合物有 7 个，分别为海藻糖、硬脂酸、麦芽糖、甘油、赤藓糖醇、棕榈酸、甘露醇；9 月采收的样品中相对含量最高的化合物有 6 个，分别为天冬氨酸、柠檬酸、谷氨酰胺、鸟氨酸、焦谷氨酸、色氨酸；1 月采收的样品中相对含量最高的化合物有 2 个，分别为蔗糖和丙氨酸，即 5 月采收的样品差异性成分数量最多。



注：A 为 5 月，B 为 9 月，C 为 1 月。

图 2 样品数据的 PLS-DA 得分图、VIP 得分图

表 3 样品中共有差异性成分

序号	代谢物	分子式	相对分子质量	VIP
1	海藻糖	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	191	4.54
2	天冬氨酸	C ₄ H ₇ NO ₄	232	4.07
3	柠檬酸	C ₆ H ₈ O ₇	273	2.88
4	谷氨酰胺	C ₁₀ H ₁₈ N ₂ O ₅	156	3.13
5	硬脂酸	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	117	2.42
6	鸟氨酸	C ₅ H ₁₂ N ₂ O ₂	142	2.20
7	麦芽糖	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	204	2.09
8	甘油	C ₃ H ₈ O ₃	205	2.05
9	赤藓糖醇	C ₄ H ₁₀ O ₄	217	1.97
10	焦谷氨酸	C ₅ H ₇ NO ₃	156	1.85
11	色氨酸	C ₁₆ H ₂₀ N ₂ O ₄	202	1.71
12	蔗糖	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	271	1.78
13	棕榈酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	313	1.09
14	甘露醇	C ₆ H ₁₄ O ₆	319	1.62
15	丙氨酸	C ₃ H ₇ NO ₂	116	5.43

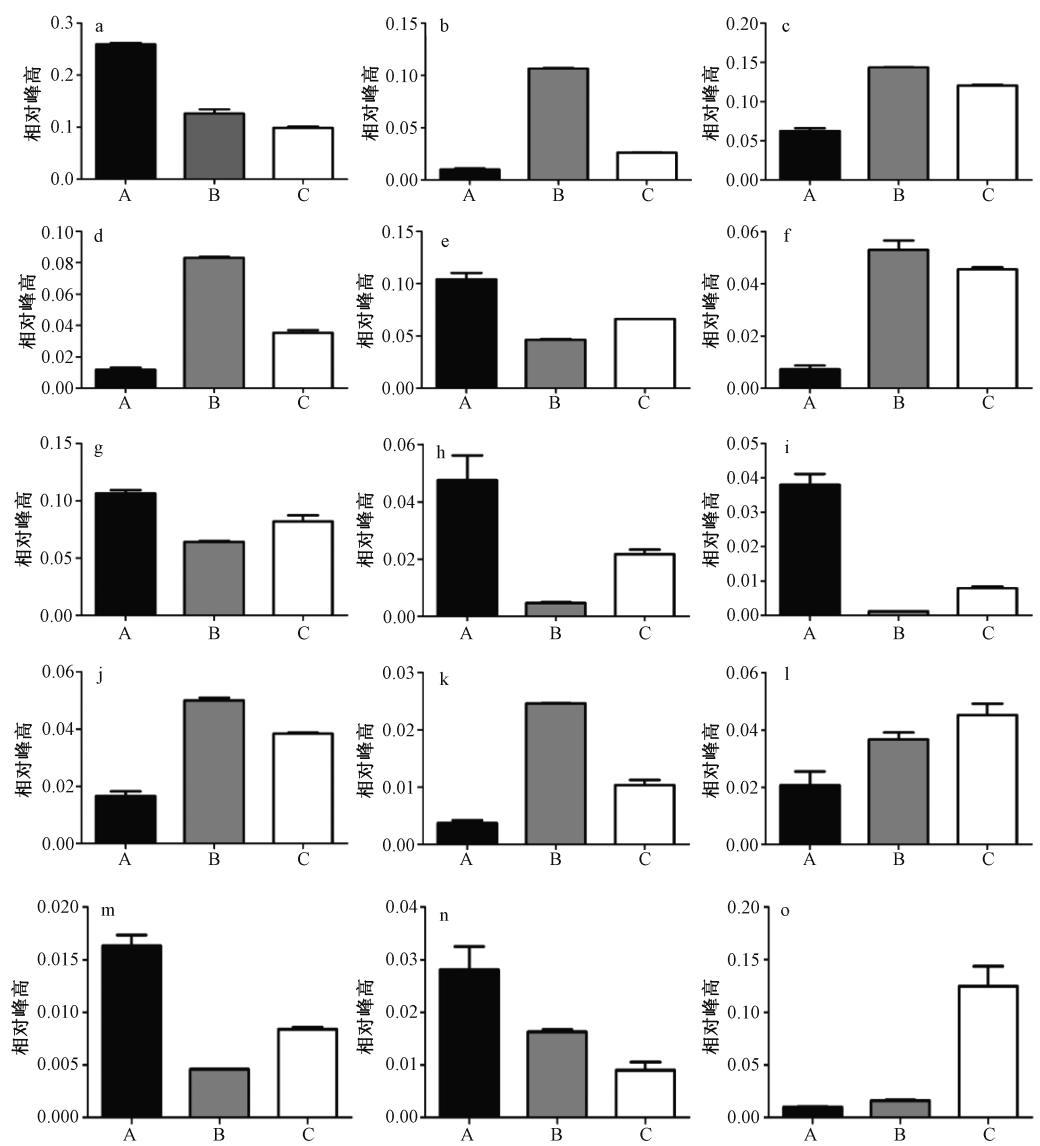
3.4.3 显著性检验及代谢通路分析 5 月、9 月采收的样品中，海藻糖、天冬氨酸、柠檬酸、谷氨酰胺、硬脂酸、鸟氨酸、麦芽糖、甘油、赤藓糖醇、焦谷氨酸、色氨酸、棕榈酸含量有显著差异 ($P<0.01$)；5 月、1 月采收的样品中，海藻糖、天冬氨酸、柠檬酸、谷氨酰胺、硬脂酸、鸟

氨酸、麦芽糖、赤藓糖醇、焦谷氨酸、色氨酸、棕榈酸、甘露醇、丙氨酸含量有显著差异 ($P<0.01$)；9 月、1 月采收的样品中，天冬氨酸、柠檬酸、谷氨酰胺、焦谷氨酸、色氨酸、棕榈酸、丙氨酸含量有显著差异 ($P<0.01$)；天冬氨酸、柠檬酸、谷氨酰胺、焦谷氨酸、色氨酸、棕榈酸含量在不同生长阶段样品中均有显著差异 ($P<0.01$)。

采用 MetaboAnalyst 4.0 数据库对天冬氨酸、柠檬酸、谷氨酰胺、焦谷氨酸、色氨酸、棕榈酸进行代谢通路分析，结果见图 4（图中每个圆圈代表一条代谢通路，圆圈颜色表示 P 值大小，颜色越红其 P 值越小，显著性越高，其对应的 $-\log P$ 值越大；圆圈的大小则表示该代谢通路的影响力大小，圆圈越大，说明它的影响力越大），将代谢途径的影响得分大于 0.05、 P 值小于 0.05 设为权重影响筛选标准^[16-17]。由此可知，丙氨酸、天冬氨酸、谷氨酸代谢，二羧酸代谢，柠檬酸循环（TCA 循环），色氨酸代谢受影响较大，以丙氨酸、天冬氨酸、谷氨酸代谢更明显。

4 讨论

卷柏代谢物繁杂，包含黄酮、呋喃酮、酚酸类等较强极性非挥发性代谢物，本实验选用脞化-硅烷化衍生法将卷柏代谢物中非挥发性成分经过衍生化后成为具有挥发性的



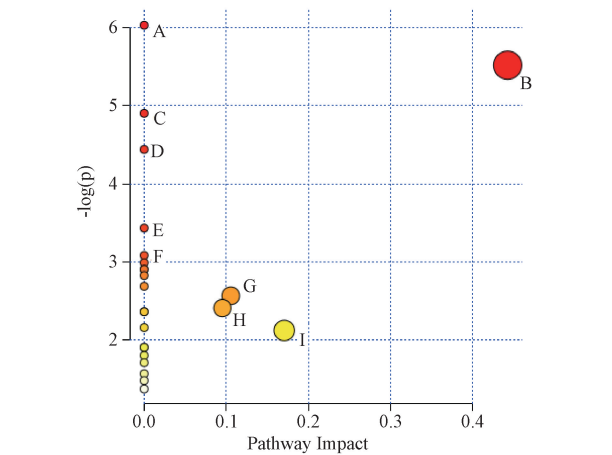
注：a 为海藻糖，b 为天冬氨酸，c 为柠檬酸，d 为谷氨酰胺，e 为硬脂酸，f 为鸟氨酸，g 为麦芽糖，h 为甘油，i 为赤藓糖醇，j 为焦谷氨酸，k 为色氨酸，l 为蔗糖，m 为棕榈酸，n 为甘露醇，o 为丙氨酸。A 为 5 月，B 为 9 月，C 为 1 月。

图 3 不同生长阶段样品中差异性成分相对含量

成分，克服了传统 GC-MS 只能测定挥发性成分的缺陷。选用 GC-TOF/MS 分析，为全扫描质谱，每一个采集到的数据点都有一张完整的质谱与之对应。与四级杆质谱相比，飞行时间质谱可以检测到更多挥发性化合物，灵敏度高，因此用该方法常可以检测到特殊的或不常见的代谢物。同时选用峰高代替峰面积，峰高对于检测低含量的及极性相近的代谢产物更加灵敏，同时克服了受基线影响的困难^[10-12,18-21]。结果检测出卷柏代谢产物 441 个，并鉴定出 182 个，大大提高了检测效率，使检测出的卷柏代谢物数量明显增加。

通过 PLS-DA 分析筛选出三个生长期卷柏样品间的 15 个共有差异性成分，其中 5 月的海藻糖、硬脂酸、麦芽糖、甘油、赤藓糖醇、棕榈酸、甘露醇的含量相对较高，5 月为卷柏生命开始复苏的季节，体内海藻糖含量达到最高，海藻糖含量变化与卷柏复苏密切相关，亦与课题组前期研

究结果一致^[22]。PCA 分析结果显示 5 月卷柏在代谢组成上和 9 月、1 月采集的样品有明显不同，5 月所含含量高的差异化合物个数最多，与代谢活跃有关，研究表明 5 月份左右有利于药效成分穗花杉双黄酮（药典含量测定成分）的积累^[8, 23]，与古籍记载中的“五、七月采”相符。9 月的天冬氨酸、柠檬酸、谷氨酰胺、鸟氨酸、焦谷氨酸、色氨酸含量相对较高，9 月天气逐渐转凉，卷柏体内开始失水，机体调动体内氨基酸来抵抗外界胁迫维持机体生命。1 月的蔗糖和丙氨酸的含量相对较高，可能与卷柏失水处于休眠状态有关。此结果表明卷柏一年中代谢产物的动态变化过程，说明卷柏一年中参与代谢过程的成分因时间的变化而变化。经过 SPSS 分析得出天冬氨酸、柠檬酸、谷氨酰胺、焦谷氨酸、色氨酸和棕榈酸在三个不同生长阶段样品中均表现显著差异，说明这 6 个化合物含量最易受到生长期的影响，并结合代谢通路分析，得出丙氨酸、天冬氨酸



注：A 为氨酰-tRNA 生物合成，B 为丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢，C 为甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢，D 为精氨酸和脯氨酸代谢，E 为吡啶生物碱的生物合成，F 为赖氨酸生物合成，G 为二羧酸代谢，H 为柠檬酸循环，I 为色氨酸代谢。

图 4 代谢通路代谢得分总图

和谷氨酸代谢受影响最大，糖分解代谢的中间产物可以转变成组成蛋白质的许多非必需氨基酸，从而参与氨基酸代谢途径，与课题组前期研究一致。推测丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸在卷柏复苏与代谢调控中发挥重要作用。研究结果为卷柏药材质量评价、采收及复苏机制研究提供科学依据。

参考文献：

[1] Banks J A, Nishiyama T, Hasebe M, *et al.* The *Selaginella* genome identifies genetic changes associated with the evolution of vascular plants[J]. *Science*, 2011, 332(6032): 960-963.

[2] Xu Z C, Xin T Y, Bartels D, *et al.* Genome analysis of the ancient tracheophyte *Selaginella tamariscina* reveals evolutionary features relevant to the acquisition of desiccation tolerance[J]. *Mol Plant*, 2018, 11(7): 983-994.

[3] Gu W, Song J Y, Cao Y, *et al.* Application of the ITS2 region for barcoding medicinal plants of Selaginellaceae in Pteridophyta [J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): 1-9.

[4] Li J, Lei X, Chen K L. Comparison of cytotoxic activities of extracts from *Selaginella* species[J]. *Pharmacogn Mag*, 2014, 10(40): 529-535.

[5] Wang C G, Yao W N, Zhang B, *et al.* Lung cancer and matrix metalloproteinases inhibitors of polyphenols from *Selaginella tamariscina* with suppression activity of migration[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2018, 28(14): 2413-2417.

[6] Zhu Q F, Bao Y, Zhang Z J, *et al.* A biomimetic semisynthesis enables structural elucidation of selaginellin U: a tautomeric cyclic alkynylphenol from *Selaginella tamariscina* [J]. *R Soc Open Sci*, 2017, 4(7): 170352.

[7] Xu Z C, Xin T Y, Bartels D, *et al.* Genome analysis of the ancient tracheophyte *Selaginella tamariscina* reveals evolutionary features relevant to the acquisition of desiccation tolerance[J]. *Mol Plant*, 2018, 11(7): 983-994.

[8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京：中国医药科技出版社，2015.

[9] 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.

[10] Han Y Q, Li Y X, Wang Y Z, *et al.* Comparison of fresh, dried and stir-frying gingers in decoction with blood stasis syndrome in rats based on a GC-TOF/MS metabolomics approach [J]. *J Pharmaceut Biomed anal*, 2016, 129: 339-349.

[11] Ji J, Zhu P, Pi F W, *et al.* GC-TOF/MS-based metabolomic strategy for combined toxicity effects of deoxynivalenol and zearalenone on murine macrophage ANA-1 cells[J]. *Toxicon*, 2016, 120: 175-184.

[12] Alexis M V, Mercè B, Jordi E, *et al.* Injection-port derivatization coupled to GC-MS/MS for the analysis of glycosylated and non-glycosylated polyphenols in fruit samples [J]. *Food Chem*, 2016, 204: 210-217.

[13] Fiehn O, Garvey W T, Newman J W, *et al.* Plasma metabolomic profiles reflective of glucose homeostasis in non-diabetic and type 2 diabetic obese african-american women[J]. *PLoS One*, 2010, 5(12): e15234

[14] 董 巍, 郝修洁, 王超众, 等. UPLC-Q-TOF /MS 法分析对叶百部蜜炙前后化学成分的变化[J]. *中成药*, 2016, 38(8): 1792-1796.

[15] 潘凌云, 徐 敏, 王 亿, 等. UPLC-ESI-MS /MS 法分析藤黄炮制前后化学成分的变化[J]. *中成药*, 2016, 38(5): 1098-1103.

[16] 王晴雨, 张建美, 赵亚周, 等. 利用 LC-MS /MS 技术分析蜂毒对大鼠内源性代谢的影响[J]. *中国农业科技导报*, 2018, 20(10): 146-153.

[17] 周 宁, 郑晓珂, 王秋红, 等. 桑白皮对肾源性水肿大鼠的代谢组学研究[J]. *中成药*, 2018, 40(4): 788-795.

[18] 马 妍, 程家丽, 唐艳斌, 等. 衍生化气相色谱-质谱法测定儿童营养辅食包中糖和糖醇[J]. *卫生研究*, 2020, 49(3): 442-446

[19] Zhang Z H, Zhao Y Y, Cheng X L, *et al.* Metabonomic study of biochemical changes in the rat urine induced by *Pinellia ternate* (Thunb.) Berit [J]. *J Pharmaceut Biomed anal*. 2013, 85: 186-193.

[20] 陈 帅, 夏媛媛, 魏广力, 等. 柱前衍生化结合 UHPLC-MS/MS 法同时测定 Beagle 犬血浆中的红景天苷和酪醇[J]. *药学报*, 2017, 52(2): 296-301.

[21] 寇晓琳, 李婷婷, 吴彩娥, 等. 基于 GC-TOF-MS 技术优化青钱柳茶挥发性物质的萃取条件[J]. *现代食品科技*, 2019, 35(8): 261-270.

[22] 李红芳, 谷 巍, 席彩彩, 等. 卷柏复苏过程中抗氧化系统响应机制及海藻糖含量变化[J]. *植物生理学报*, 2016, 52(12): 1872-1876.

[23] 龙红萍, 徐康平, 李 炜, 等. 不同生长季节兖州卷柏中穗花杉双黄酮的含量变化[J]. *湖南师范大学学报 (医学版)*, 2011, 8(1): 76-78.