

基于成分特征的桑叶经霜质量标志物探索

曲永胜, 王亮*, 郭威*

(山东省中医药研究院, 济南 250014)

[摘要] **目的:** 分析识别桑叶经霜质量标志物(Q-marker),对桑叶是否经霜进行鉴别。**方法:** 建立桑叶经霜前后 HPLC-DAD-MSⁿ 指纹图谱,标记共有峰,采用正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)提取桑叶经霜后的特征成分,以含量变化较大的成分作为标志成分,较为稳定的成分作为内参成分,以标志成分与内参成分峰面积的相对比值为桑叶经霜成分特征,实现对桑叶经霜的鉴别,并通过 MSⁿ 和对照品进行定性研究。**结果:** 建立了桑叶经霜前后的指纹图谱,共标记了 33 个共有峰,通过 OPLS-DA 分析,峰 1,23,14 确定为标志成分,峰 12 确定为内参成分,通过 MSⁿ 和对照品分别鉴定为枸橼酸衍生物,桑皮苷 F,色氨酸和新绿原酸。桑叶经霜前后枸橼酸衍生物,桑皮苷 F,色氨酸与新绿原酸峰面积的比值分别为 0.15 ± 0.054 , 1.0 ± 0.48 ; 0.14 ± 0.073 , 0.98 ± 0.48 ; 0.13 ± 0.088 , 0.89 ± 0.49 。**结论:** 建立的桑叶指纹图谱中,枸橼酸衍生物,桑皮苷 F,色氨酸与新绿原酸的峰面积比值作为桑叶经霜的成分特征具有专属性,可作为桑叶经霜 Q-marker 对桑叶是否经霜进行鉴别。该研究扩展了中药 Q-marker 专属性的内涵,可为桑叶的质量评价及成药性提供实验数据,并为类似研究提供参考。

[关键词] 桑叶; 经霜前后; 枸橼酸衍生物; 桑皮苷 F; 色氨酸; 新绿原酸

[中图分类号] R284.2;R289;R22;R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)23-0145-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20192418

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190917.0902.001.html>

[网络出版时间] 2019-09-17 09:41

Study on Frosting Quality Markers of Mori Folium Based on Component Characteristic

QU Yong-sheng, WANG Liang*, GUO Wei*

(Shandong Academy of Chinese Medicine, Ji'nan 250014, China)

[Abstract] **Objective:** To screen the frosting quality markers (Q-marker) of Mori Folium and identify Mori Folium after frost. **Method:** The HPLC-DAD-MSⁿ fingerprints of Mori Folium before and after frost were established, the common peaks were marked and the characteristic components were selected by orthogonal partial least squares discrimination analysis (OPLS-DA). The components with a large content change were used as marker components, and the relatively stable component was used as an internal reference component. The ratio of the marker components to the peak area of the internal reference component was used as component characteristic to identify the frost of Mori Folium, and qualitative study of frosting markers were performed by MSⁿ and authentic standards. **Result:** The fingerprints were established and 33 common peaks were marked. Through OPLS-DA, peaks 1, 23, 14 were determined as marker components, peak 12 was determined as internal reference component. The frosting quality markers of Mori Folium were characterized as citric acid derivatives, saponin F, tryptophan and neochlorogenic acid by MSⁿ and standards. The ratios of the peak areas of citric acid derivatives, saponin F, tryptophan and neochlorogenic acid before and after frost were 0.15 ± 0.054 , 1.0 ± 0.48 ; 0.14 ± 0.073 , 0.98 ± 0.48 , 0.13 ± 0.088 , 0.89 ± 0.49 , respectively. **Conclusion:** In the fingerprints established in

[收稿日期] 20190610(011)

[基金项目] 山东省自然科学基金青年基金项目(ZR2016HQ49,ZR2016HQ17);山东省重大科技创新工程项目(2017CXGC1308);山东省重点研发计划项目(2019GSF108001);山东省中医药科技发展计划项目(2015-164,2015-167)

[第一作者] 曲永胜, 硕士, 副研究员, 从事中药质量控制工作, E-mail: liuqus@sina.com

[通信作者] * 郭威, 博士, 助理研究员, 从事中药资源和中药质量控制工作, E-mail: 331527800@qq.com;

* 王亮, 博士, 副研究员, 从事中药分析和中药质量控制工作, E-mail: wliang81@gmail.com

this study, the peak area ratios of citric acid derivatives, saponin F, tryptophan to new chlorogenic acid had specificity, which can be used as frosting quality markers for identification of Mori Folium. This study expanded the connotation of the Q-marker specificity of traditional Chinese medicine. The results can provide experimental data for the quality evaluation and drug-forming properties of Mori Folium, and provide reference for similar research.

[Key words] Mori Folium; before and after frost; citric acid derivatives; saponin F; tryptophan; neochlorogenic acid

桑叶为桑科植物桑的干燥叶,初霜后采收,除去杂质,晒干。甘、苦,寒,归肺、肝经,有疏散风热,清肺润燥,清肝明目之功^[1],为中医临床常用中药。桑叶始载于《神农本草经》,列为中品,附桑根白皮项下,“叶主除寒热出汗。”^[2]《本草纲目》记载,桑叶“苦、甘、寒,有小毒,除寒热,出汗。”^[3]《本草经集注》载,“叶主除寒热,出汗。”^[4]《本草经疏》记载桑叶,“主除寒热出汗,……,味甘气寒性无毒。甘,所以益血,寒,所以凉血,甘寒相合故下气而益阴。”^[5]现代药理研究表明,桑叶具有抗氧化^[6]、抗焦虑^[7]、降血糖^[8-9]、抗炎、抗菌、抗病毒、抗衰老及抗癌^[10]等多种药理作用。

2015 年版《中国药典》规定桑叶药用必须“经霜后”采收,传统中医历来认为霜桑叶具有上乘品质^[11],《本草图经》载:“十月霜后,三分二分已落,一分在者,名神仙叶,即采收”^[12],《本草求真》载:“用腊月不落桑叶”^[13],《本草蒙筌》载:“叶采经霜者”^[14]。另外,未经霜桑叶可用作养蚕等用途^[15]。目前,2015 年版《中国药典》中的桑叶饮片质量标准仅以芦丁为指标进行质量评价,无法分辨桑叶是否经霜。张魏琬麒等^[16]对不同季节桑叶中芦丁、异槲皮苷、紫云英苷、绿原酸 4 个单体成分及生物碱(DNJ)等次生代谢产物的动态变化规律进行了研究,结果表明,6 月份芦丁含量最高,其它 3 个单体成分 11 月份经霜后含量达到最高,DNJ 含量 8 月份含量最高,气候温度可影响桑叶中次生代谢产物的表达。俞燕芳等^[17]对桑叶经霜后的总酚、黄酮和总糖的含量变化进行了研究,发现随着霜降后时间的推移,桑叶总酚、黄酮呈逐渐降低趋势,可溶性总糖表现出先升高后降低的趋势,除温度外,光照时间也会影响桑叶成分的变化。目前已有的研究主要集中在经霜对桑叶成分的影响,桑叶经霜的鉴别未见报道。因此,如何鉴别桑叶是否经霜,进而确保桑叶饮片的疗效,成为桑叶临床应用中亟待解决的问题之一。

中药基原的多样性、成分的复杂性使中药研究

和质量控制极其复杂。中药 Q-marker 作为中药质量控制的新概念已有较多的成功研究范例^[18-20],但中药 Q-marker 属性中的专属性一般难以确定,且随着研究的深入,新成分地发现,已确定的专属性也可能被证伪。因此,中药 Q-marker 中专属性的内涵和外延需要扩展,以提高其适用性和普适性。本研究采用基于成分特征提取的桑叶经霜 Q-marker 研究,通过提取桑叶的经霜特征成分,以变化较大的成分作为标志成分,较为稳定的成分作为内参成分,基于成分特征建立了简便快捷的桑叶经霜鉴别方法,免除了绝对定量的繁琐工作。桑叶经霜 Q-marker 虽非桑叶特有的成分,但由于其之间成分特征的特有性,使其可作为经霜 Q-marker 进行桑叶的经霜鉴别,进而保证桑叶饮片质量。

1 材料

1200 系列高效液相色谱系统,6320 型离子阱质谱检测器(美国安捷伦公司),BP211D 型 1/10 万电子分析天平(德国赛多利斯集团),Milli-Q IQ7000 型纯水系统(德国默克公司),KDM 型控温电热套(鄞城华鲁电热仪器有限公司)。

乙腈(色谱纯,德国默克公司),磷酸(色谱纯,天津科密欧公司),甲酸(色谱纯,美国飞世尔公司),新绿原酸(南京普怡生物科技有限公司,批号 PY20170220,纯度 99.78%),色氨酸(中国食品药品检定研究院,批号 140686-201303,纯度 99.9%)。

20 批次的桑叶(Q1 ~ Q10)与霜桑叶(H1 ~ H10)均采自山东省德州市夏津县,批次相同的经霜前后样品分别采自同一棵桑树。经山东省中医药研究院林慧彬研究员鉴定为桑科植物桑 *Morus abla* 的干燥叶。见表 1。

2 方法

2.1 供试品溶液的制备 取供试品粉末(过 3 号筛)1 g,精密称定,加水 50 mL,称质量,回流提取 1 h,冷却至室温,补足减失质量,过滤,即得。

2.2 指纹图谱的色谱条件 Agilent SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相 0.3% 磷酸(A)-

表 1 采集样品信息表

Table 1 Specific information of collected samples

状态	样品编号	植株编号	状态	样品编号	植株编号
经霜前	Q1	1	经霜后	H1	1
	Q2	2		H2	2
	Q3	3		H3	3
	Q4	4		H4	4
	Q5	5		H5	5
	Q6	6		H6	6
	Q7	7		H7	7
	Q8	8		H8	8
	Q9	9		H9	9
	Q10	10		H10	10

甲醇(B)-乙腈(C), 梯度洗脱(0~120 min, 1% B; 0~10 min, 99% A, 10~40 min, 99%~93% A, 40~60 min, 93%~91% A, 60~90 min, 91%~84% A, 90~120 min, 84% A), 流速 1.00 mL·min⁻¹, 波长 240 nm, 柱温 30 ℃, 进样量 10 μL。

2.3 质谱条件 色谱分析条件中的磷酸用甲酸替代, 进行质谱分析。采用电喷雾离子源; 正负离子交替扫描模式; 扫描级数 5 级; 扫描范围 *m/z* 50~1 000; 扫描速度 26 000 *m/z*·s⁻¹; 喷雾气压力 241.3 kPa; 干燥气温度 350 ℃; 干燥气流速 9 L·min⁻¹; 毛细管电压 4 000 V, 分流比 4:1。

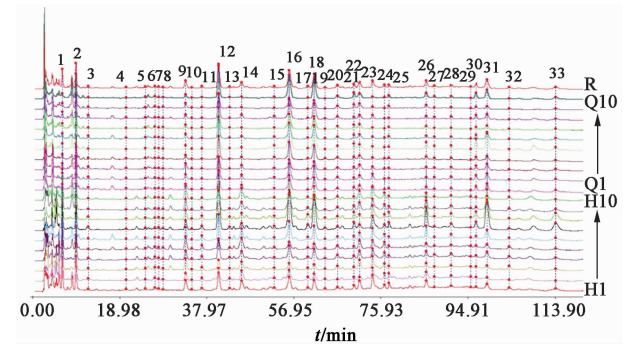
2.4 数据处理与分析 将 20 批样品的色谱数据(AIA 格式)导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004 年 A 版), 建立指纹图谱, 经过多点校正、自动匹配, 以中位数法生成对照图谱, 并标定共有峰。将获得的指纹图谱 20×33 数据矩阵导入 SPSS 19.0 软件, 通过因子分析对原始数据标准化处理后, 进行主成分分析, 采用 SIMCA-P14.1 软件(Umetrics, Umea, Sweden)进行聚类分析和 OPLS-DA 分析。建立 OPLS-DA 模型时, 首先对数据进行 permutation 分析, 假设检验次数设为 200; 对两组数据的差异性进行整体分析, 得到 S-plot 图和变量权重重要性排序(variable importance in projection, VIP)预测值分布图, 选取位于 S-plot 图两端并且 VIP>1 的点作为差异性成分。

采用 DataAnalysis 对正、负离子模式总离子流图进行分析, 根据相对保留时间、碎片离子信息和分子式匹配软件, 结合 Scifinder, Chemspider 等数据库以及相关文献报道对目标峰进行鉴定。

3 结果

3.1 方法学考察 进行了样品的精密度试验、稳定性试验、重复性试验, 以 12 号色谱峰为参照峰, 各主要色谱峰相对保留时间 RSD 均 <1%, 相对峰面积 RSD 均 <3%。结果表明, 仪器精密度良好, 实验方法的重复性良好, 供试液在 24 h 内稳定。

3.2 指纹图谱研究 按照 2.1 项下方法制备所得 20 批桑叶指纹图谱数据依次导入指纹图谱相似度评价软件。以 H1 号样品色谱图作为参照图谱, 共标定 33 个指纹峰, 指纹图谱叠加图见图 1, 各样品指纹图谱相似度为 0.869~0.997。



H1~H10. 经霜后桑叶; Q1~Q10. 经霜前桑叶样品; R. 对照图谱

图 1 经霜前后桑叶样品的指纹谱叠加

Fig. 1 HPLC fingerprints of Mori Folium before and after frost

3.3 主成分分析和聚类分析 以特征值 >1 为标准提取主成分, 前 5 个成分的特征值 >1, 分别为 13.321, 8.837, 2.814, 1.854, 1.467, 且累计方差贡献率达 85.734%, 见表 2, 能反映指纹图谱主要信息, 因此提取前 5 个成分进行分析。聚类树状图中可见经霜前和经霜后桑叶样品可分别聚类, 表明建立的指纹图谱可反映桑叶经霜前后化学成分的区别。见图 2。

表 2 桑叶主成分分析

Table 2 Principal component analysis of Mori Folium

成分	特征值	方差贡献/%	累计方差贡献/%
1	13.321	40.366	40.366
2	8.837	26.778	67.144
3	2.814	8.528	75.673
4	1.854	5.617	81.290
5	1.467	4.444	85.734

3.4 桑叶经霜前后的特征提取 采用 SIMCA-P 14.1 软件, 对指纹图谱共有峰进行 OPLS-DA 分析, 以筛选差异性成分, 33 个指纹图谱共有峰的 S-plot 图见图 3, VIP 图见图 4。

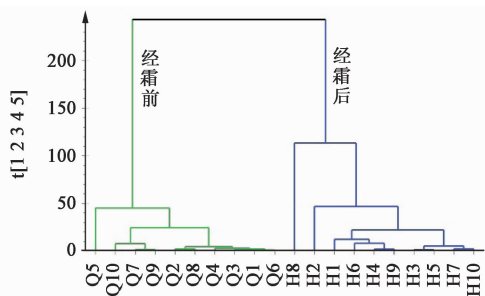


图 2 经霜前后桑叶的聚类分析
Fig. 2 Cluster dendrogram of Mori Folium before and after frost

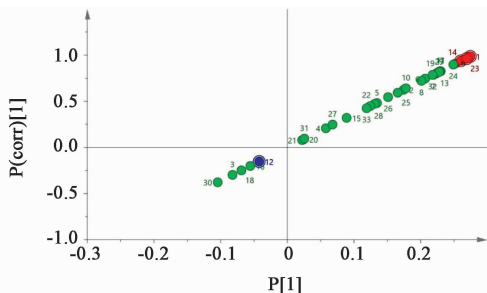


图 3 桑叶指纹谱共有峰的 S-plot
Fig. 3 S-plot of common peaks from Mori Folium fingerprints

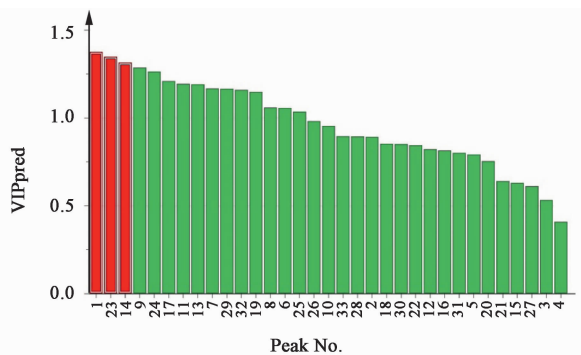


图 4 桑叶指纹谱共有峰的 VIP
Fig. 4 VIP of common peaks from Mori Folium fingerprints

表 3 关键色谱峰的质谱数据与解析

Table 3 MS data of key peaks

峰号	保留时间/min	ESI ⁻	ESI ⁺	相对分子质量	分子式	化合物	文献
1	6.45	405, 191, 111	407	406	unknown	枸橼酸衍生物	[21]
23	74.1	611, 565, 403, 241	589, 427, 339	566	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₄	桑皮苷 F	[22]
14	45.4	203, 159, 130	205, 188	204	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	色氨酸	[23-24], 对照品
12	40.5	353, 191, 127	355, 163, 145	354	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	新绿原酸	[25], 对照品

3.6 桑叶经霜的判定标准 桑叶经霜前后枸橼酸衍生物, 桑皮苷 F, 色氨酸, 新绿原酸的峰面积变化见表 4。表中可见, 新绿原酸经霜前后含量变化不大, 而经霜后枸橼酸衍生物, 桑皮苷 F, 色氨酸的含量增加明显, 且含量区间不重叠, 可将其含量作为标志成分对桑叶经霜与否进行鉴别。

S-plot 图中 S 型曲线上的每一个点代表一个化合物, 差异性化合物分布在 S 型曲线的上下两端, 越接近坐标原点的变化越小。S 曲线上端应为经霜桑叶中高表达的化合物, 下端为未经霜桑叶中高表达的化合物。在 0.95 的置信区间内, VIP > 1 的化合物在两组分类中发挥重要作用, 结合各变量的 VIP 值, 选取位于 S-plot 图中代表正差异的一端并且 VIP > 1 的 1, 14, 23 号色谱峰作为区分桑叶经霜前后的差异性化合物。选取负差异化合物中成分变化最小, 含量相对稳定的 12 号色谱峰作为内参化合物。

3.5 目标成分的定性研究 共有峰 1, 23, 14, 12 的质谱数据见表 3。由表 3 可知, 共有峰 1 中成分的相对分子质量为 406, 其 -MS 准分子离子的质谱裂解 m/z 405, 191, 111 与文献一致, 其中 m/z 191, 111 与枸橼酸一致^[21], 推测为枸橼酸衍生物。共有峰 23 的 -MS 中, m/z 611 为 $[M + \text{甲酸} - H]^-$ 的加合离子, m/z 565 为准分子离子峰, -MS³ 和 -MS⁴ 均发生 162 Da 的中性丢失, 推测为葡萄糖, +MS 中 m/z 589 的母离子为 $[M + Na]^+$ 离子, 推断共有峰 23 中成分的相对分子质量为 566, 结合文献报道^[22], 推测为桑皮苷 F。共有峰 14 中成分的相对分子质量为 204, +MS 和 -MS 的裂解路径与文献一致^[23-24], 并通过与对照品比对, 推断为色氨酸。共有峰 12 中成分的相对分子质量为 354, 其 +MS 中的 m/z 163, -MS 中的 m/z 191 分别为咖啡酸和奎宁酸的特征碎片, 应为咖啡酰奎宁酸结构, 结合已有报道及对照品比对, 推断其为新绿原酸^[25]。

通过绝对定量的方法进行经霜鉴别, 流程较为繁琐, 成本也较高。因此, 本研究选择桑叶经霜前后含量较为稳定的新绿原酸作为内参成分, 以指纹图谱中标志成分和内参成分峰面积的比值作为指标可更快捷的进行经霜鉴别。枸橼酸衍生物, 桑皮苷 F, 色氨酸与新绿原酸峰面积的比值见表 5。

表 4 桑叶指纹图谱关键共有峰的峰面积

Table 4 Key common peaks areas of Mori Folium fingerprints

编号	枸橼酸衍生物		色氨酸		桑皮苷 F		绿原酸	
	经霜前	经霜后	经霜前	经霜后	经霜前	经霜后	经霜前	经霜后
1	50.5	234.6	69.5	184.5	62.5	250.8	314.3	291.7
2	53.2	273.6	67.4	211.3	88.3	245.1	353.5	204.6
3	51.3	271.7	63.1	178.0	54.1	247.6	206.1	169.0
4	52.3	250.9	42.7	181.7	38.5	207.3	376.2	321.9
5	49.5	290.0	29.0	267.7	44.8	180.9	783.0	186.7
6	46.3	268.5	45.2	219.9	41.3	223.3	339.4	424.0
7	50.8	199.0	15.4	185.8	28.2	228.4	346.1	136.6
8	61.2	223.9	71.4	119.8	65.2	274.2	416.7	1 011.1
9	52.3	243.7	18.9	196.8	29.5	240.3	237.2	369.5
10	47.8	222.3	25.1	253.6	35.9	245.5	542.9	154.8

表 5 桑叶指纹图谱标志成分与内参成分的峰面积比值

Table 5 Peak areas ratios of Mori Folium fingerprint markers and internal standard

指标	经霜前	经霜后
枸橼酸衍生物/新绿原酸	0.15 ± 0.054	1.00 ± 0.48
桑皮苷 F/新绿原酸	0.14 ± 0.073	0.98 ± 0.48
色氨酸/新绿原酸	0.13 ± 0.088	0.89 ± 0.49

表 5 中可见,枸橼酸衍生物,桑皮苷 F,色氨酸与新绿原酸峰面积的比值,在桑叶经霜前后有明显差异,数据区间距离差异大,且不重叠,可作为判定标准对桑叶经霜与否进行鉴别。

4 讨论与总结

为提高样品的代表性和减少其他因素的影响,本研究所用批次相同的经霜前后桑叶样品分别采自同一棵桑树。本研究建立了桑叶经霜前后样品水煎液的指纹图谱,标定了 33 个共有峰,并对其成分变化进行了 OPLS-DA 分析,筛选得到了标志成分和内参成分。为提高鉴别准确度,选择了 3 个变化最大的成分,枸橼酸衍生物、桑皮苷 F 和色氨酸,作为标志成分;为增加鉴别指标的分辨率,选择了含量变化为负且相对稳定的 12 号共有峰(新绿原酸)为内参成分,其相对比值可作为桑叶经霜的成分特征对桑叶是否经霜进行鉴别。

中药 Q-marker 是中药质量控制的新概念,是反映中药安全性和有效性的标示性物质^[26]。专属性或特有性是中药 Q-marker 的基本属性之一,但一般难以确定。本研究中,桑叶指纹图谱中的枸橼酸衍生物,桑皮苷 F,色氨酸与新绿原酸均不是桑叶的特

有成分,但是,其相对比值作为霜桑叶的成分特征具有专属性,因此,枸橼酸衍生物,桑皮苷 F,色氨酸和新绿原酸可作为桑叶经霜的 Q-marker,对桑叶饮片是否经霜进行鉴别。

本研究对中药 Q-marker 专属性的内涵进行了扩展,中药中的特征成分或成分特征均可作为中药 Q-marker 专属性的依据,实现中药的质量控制。本研究建立的桑叶经霜鉴别方法简便快捷,有利于桑叶饮片的质量控制,确保临床疗效,并可为中药的类似研究提供参考。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:297-298.
- [2] 孙星衍,孙冯翼. 神农本草经[M]. 太原:山西科学技术出版社,1991.
- [3] 李时珍. 本草纲目[M]. 北京:华夏出版社,2008.
- [4] 陶弘景. 本草经集注[M]. 上海:群联出版社,1955.
- [5] 廖希雍. 神农本草经疏[M]. 北京:中医古籍出版社,2002.
- [6] Yen G C, WU S C, Duh P D. Extraction and identification of antioxidant components from the leaves of mulberry (*Morus alba* L.) [J]. J Agric Food Chem, 1996,44(7):1687-1690.
- [7] Yadav A V, Kawale L A, Nade V S. Effect of *Morus alba* L. (mulberry) leaves on anxiety in mice[J]. Indian J Pharmacol, 2008,40(1):32-36.
- [8] 季涛,宿树兰,郭盛,等. 基于 α -葡萄糖苷酶抑制活性评价桑叶多组分药效相互作用研究[J]. 中国中药杂志,2016,41(11):1999-2006.
- [9] 刘颖慧,牟新,周迪夷,等. 基于 JNK 信号通路探讨桑

- 叶有效成分改善胰岛素抵抗的机制研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(5):1019-1025.
- [10] 王婷婷, 马天宇, 李琪, 等. 桑叶化学成分及生物活性研究进展[J]. 食品与药品, 2018, 20(5):390-393.
- [11] 白华. 《神农本草经》桑叶考证[J]. 内蒙古中医药, 2016, 35(1):102-103.
- [12] 苏顷. 本草图经[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011.
- [13] 黄宫绣. 本草求真[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1987.
- [14] 陈嘉谟. 本草蒙筌[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1988.
- [15] 游元元, 万德光. 川产桑叶“经霜为上”合理性的 LC-MS 法验证[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(11):2596-2598.
- [16] 张魏琬麒, 欧阳臻, 赵明, 等. 桑叶经霜前后次生代谢产物表达差异分析[J]. 食品科学, 2015, 36(8):109-114.
- [17] 俞燕芳, 黄金枝, 王军文, 等. 霜后桑叶总酚、黄酮和总糖含量变化研究[J]. 蚕桑茶叶通讯, 2017(6):1-4.
- [18] 张铁军, 王杰, 陈常青, 等. 基于中药属性和作用特点的中药质量标志物研究与质量评价路径[J]. 中草药, 2017, 48(6):1051-1060.
- [19] 杨岩涛, 李森, 刘金玲, 等. 中药质量标志物与“网通虹势”代谢规律[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(12):2420-2424.
- [20] 王亮, 窦立雯, 郭威, 等. 基于中药传统用法的毒性 Q-Marker 发现: 以吴茱萸为例[J]. 中草药, 2017, 48(6):1159-1166.
- [21] Spínola V, Pinto J, Castilho P C, et al. Identification and quantification of phenolic compounds of selected fruits from Madeira island by HPLC-DAD-ESI-MSⁿ and screening for their antioxidant activity[J]. Food Chem, 2015, 173:14-30.
- [22] Lee S H, Choi S Y, Kim H, et al. Mulberroside F isolated from the leaves of *Morus alba* inhibits melanin biosynthesis[J]. Biol Pharm Bull, 2002, 25(8):1045-1048.
- [23] 田欢, 翟俊乐, 李孟秋, 等. LC-MS/MS 法测定小鼠脑组织中色氨酸及其 3 种代谢物[J]. 食品工业科技, 2016, 37(1):315-319, 330.
- [24] 梅辉. 基于 LC-MS/MS 法的色氨酸合成代谢组学分析平台的构建[D]. 无锡: 江南大学, 2010.
- [25] 张阿琴, 李迦娜, 张仓, 等. LC-MS 分析消癌平注射液中有机酸类成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4):88-90.
- [26] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物(Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念[J]. 中草药, 2016, 47(9):1443-1457.

[责任编辑 顾雪竹]