

基于代谢组学的新疆一枝蒿生长关键成分研究

王纪阳¹ 周帜^{*1,2} 谢冰¹ 崔星云¹ 拉毛卓玛¹
王中华^{1,2} 再帕尔·阿不力孜^{1,3}

(中央民族大学 质谱成像与代谢组学国家民委重点实验室¹,
民族医药教育部重点实验室², 药学院³, 北京 100081)

摘 要 新疆一枝蒿是维吾尔医学常用药用植物,由于其独特的生态特性,自然繁殖极为困难,尤其近年来野生资源已经逐渐匮乏,因而开展其引种、驯化和人工栽培等研究是实现资源可持续利用最有效的手段。药用植物的物质基础通常有生长发育时期的特异性,深入探讨新疆一枝蒿生长发育过程与关键成分代谢模式的相关性有助于揭示其生理与代谢适应机制。本研究采用基于液相色谱-质谱联用技术的植物代谢组学研究方法,分析了采自新疆阿勒泰富蕴和哈密两个地区处于幼苗期、发育期和盛花期的新疆一枝蒿全草样本,通过整合两地区数据并结合动态规律分析,筛选出 24 种与该植物生长发育密切相关的代谢物。进一步,基于这 24 种生长关键成分,构建了贝叶斯判别分析模型,可用于未知样本的采收时期判别。本研究为新疆一枝蒿的质量控制和合理利用提供了参考信息,也为其它药用植物的相关研究提供了研究思路。

关键词 新疆一枝蒿; 代谢组学; 液相色谱-质谱联用技术; 采收时期; 生长关键成分

新疆一枝蒿是菊科蒿属多年生草本植物一枝蒿(*Artemisia rupestris* L., *A. rupestris*)的全草,作为维吾尔医学常用的药用植物,具有清热退烧、消炎止痛、健胃消食、活血化瘀、抗病毒和抗过敏等药效,用于治疗感冒和肝炎的疗效尤为显著^[1-4]。我国的野生新疆一枝蒿资源主要分布在新疆天山、阿勒泰山和帕米尔高原一带。由于市场需求量不断增加,加上矿山开采、过度放牧等原因,野生 *A. rupestris* 已经难以满足需求^[5]。目前, *A. rupestris* 的人工栽培已经得到重视并不断发展,产量基本能够满足用药需求,但是仍然处于研究摸索阶段,栽培与采收技术对于药材品质的不良影响尚未得到解决;此外,与其相关的研究基础较薄弱,尚未建立合理的质量控制标准^[6]。因此,深入探讨 *A. rupestris* 生长发育过程与物质基础的相关性,发现关键成分代谢模式,有助于揭示该植物的生理与代谢适应机制,并为其科学开发和质量控制提供参考。

研究表明, *A. rupestris* 全草中主要含有黄酮类、倍半萜类和生物碱类等化学成分^[7-9],具有种类繁多、结构多样和含量差异大等特点。近年来,针对该药用植物的大多数研究仍然是对于少数几个或某一类化合物开展的成分分离、鉴定或药效研究^[9-12],难以实现多类别成分同时分析;而代谢组学的整体性研究思路能够较全面地获取该植物体内重要的活性成分。本课题组在前期研究工作中建立了适用于 *A. rupestris* 的植物代谢组学研究方法^[10],并用于不同组织器官、产地和品种的代谢组差异研究,获得了花、茎和枝叶等的代谢组特征,并深入探究了生态环境因素对于植物体内化学成分的影响^[13-15]。但是,目前尚没有全面揭示 *A. rupestris* 生长发育过程中其体内的化学成分动态变化及其规律的研究报道。

本研究以 *A. rupestris* 两个主产区(新疆阿勒泰富蕴和哈密)的人工栽培品种为研究对象,采集幼苗期、发育期和花期的样本进行分析,开展 *A. rupestris* 整体化学成分的动态研究,探索该植物生长发育期的代谢组特征及其变化规律,寻找生长关键成分,以期为该药用植物的物质基础研究、质量控制和合理开发利用提供新的参考信息。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Q-OT-qIT 杂合型质谱仪、Ultimate 3000 超高效液相色谱(美国 Thermo 公司); ALPHA2-4 LD Plus 冷冻干燥机、RVC2-25 CD Plus 真空浓缩仪(德国 Christ 公司); Mini Spin 离心机、Thermo Mixer C 混匀仪(德国 Eppendorf 公司); Captiva 96 孔板过滤装置(美国 Agilent Technologies 公司); KQ3200E 型超声仪(昆山市超声仪器有限公司); Ultra Turrax 高速分散机(德国 IKA 公司); 0.22 μm 滤膜(美国 Agilent 公司)。

乙腈和甲醇(德国 Merck 公司); 甲酸(美国 ROE 公司)。所用试剂均为色谱纯; 实验用水为某品牌纯净水。

1.2 样品采集与制备

采集新疆阿勒泰富蕴地区(F区)和哈密地区(H区)人工栽培品种 *A. rupestris* 地上部分全草样本, 3~4月采集幼苗期(M期), 5~6月采集发育期(S期), 8月采集盛花期(H期)。采集后立即置于干冰中暂存, 并尽快转移至 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。取FM组、FS组、FH组、HM组、HS组和HH组的样本各14株, 在液氮中使用研钵研磨成粉末, 并置于冷冻干燥机48h, 制成冻干品。准确称取50mg新疆一枝蒿冻干粉末于2mL匀浆管中, 加入 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预冷的1mL甲醇-水(80:20, V/V)作为提取溶剂。在冰浴条件下, 使用高速分散器提取3min(25000 r/min提取1min; 3000 r/min提取1min; 25000 r/min提取1min), 将提取后的混合物放置于超声仪中进行超声辅助提取10min。在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下, 13500 r/min离心10min, 收集上清液, 置于真空离心浓缩仪中浓缩蒸干。将浓缩蒸干后产物采用1mL乙腈-水(50:50, V/V)复溶, 超声混匀后离心10min, 上清液经0.22 μm 滤膜过滤后, 待分析。

质量控制(Quality control, QC)样品为各组实际样品的等量混合样品, 用于监测分析系统的稳定性。

1.3 液相色谱-质谱联用分析

液相色谱柱: Acquity UPLC HSS T3(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μm , Waters 公司); 流动相A为 H_2O (含0.1%甲酸), 流动相B为乙腈(含0.1%甲酸); 柱温: $40\text{ }^{\circ}\text{C}$; 进样量: 5 μL ; 流速: 0.3 mL/min。梯度洗脱: 0~20 min, 5%~50% B; 20~27 min, 50%~98% B; 27~30 min, 98% B。进样前用初始流动相平衡8min。质谱离子源为电喷雾离子源(Electrospray ionization, ESI), 采用正、负离子检测模式, 各路气路均使用氮气。扫描模式: Full scan; 扫描范围: m/z 100~1000; 分辨率: 60000; 喷雾电压: 3.5~3 kV; 鞘气: 35 psi(1 psi = 6.895 kPa); 辅助气: 15 psi; 离子传输管温度: $380\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

为了保证色谱柱和系统内无残留污染物的干扰, 在分析样品前, 有规律地在检测序列之前连续插入10个QC样品, 待仪器稳定后, 再开始实际样品检测。实际样品随机排列, 并且每进样11个实际样品后插入1次QC样品分析。

1.4 数据处理

采用已建立的非靶向代谢组学数据处理方法^[8], 即将获得的UHPLC-($\pm$)ESI-MS谱经过格式转换, 导入R语言XCMS程序包进行峰识别、峰对齐、峰填充及峰过滤, 获得包括质荷比(m/z)、保留时间(Retention time, RT)及其峰面积的二维数据阵; 进一步采用SIMCA-P(Version 15.0, Umetrics AB, Umeå, Sweden)构建M期与H期样品的模式识别模型, 通过生成的VIP(Variable importance for the projection)列表、Jack-knifed 置信区间载荷图、 t -检验和Pearson协相关分析等步骤筛选出可靠的、对于分组有显著贡献的差异离子。根据差异代谢物的MS及MS/MS谱数据, 结合代谢物数据库HMDB(<https://hmdb.ca/>)检索和已知成分的质谱裂解规律, 推测差异代谢物的结构或结构类别。

采用Heatmapper(<http://www.heatmapper.ca/expression/>)在线工具绘制聚类热图; 采用SPSS16.0软件进行贝叶斯判别分析模型的构建。

2 结果与讨论

2.1 数据质量评价

为了获得真实可靠的数据, 从以下两方面进行数据质量的控制与评价: (1)UHPLC-ESI($\pm$)MS分析

时,采用不同组间穿插进样、组内随机进样的方式进行检测;(2)通过绘制 QC 样品的主成分分析(PCA)得分图和所有实际样品的保留时间变异图,考察检测系统的稳定性。如图 1 所示,在正、负离子检测模式下,所有 QC 样品的峰面积偏差在 2 倍标准偏差($-2SD \sim 2SD$)之间,并且实际样品的保留时间变异均在 ± 20 s 内,说明色谱系统的分离性能和稳定性良好,分析方法稳定且可靠,可确保后续数据处理得到的组间差异来自于不同生长期 *A. rupestris* 的代谢组差异,而非人为失误或仪器系统的误差。

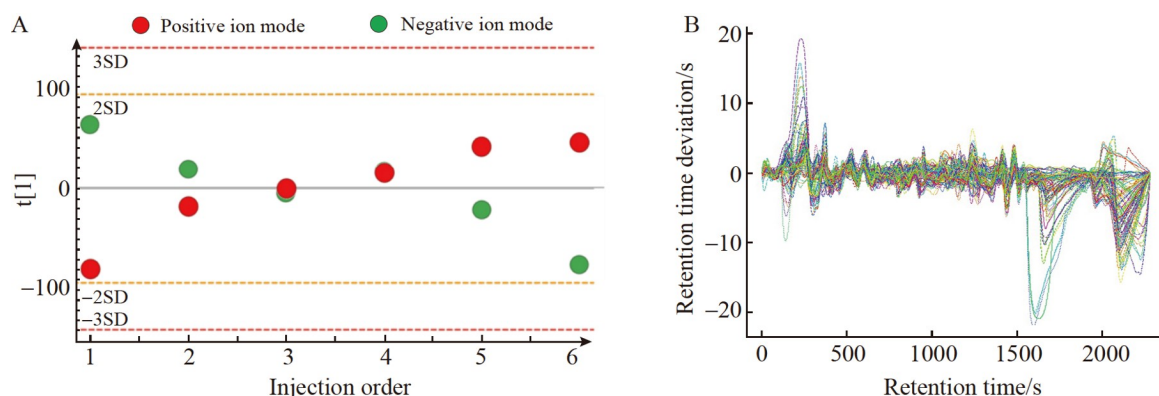


图1 基于超高效液相色谱-质谱联用(UHPLC-MS)技术的一枝蒿(*A. rupestris*)代谢组学研究数据质量评价:(A)质量控制样品的主成分分析得分图;(B)所有样品的保留时间变异图

Fig.1 Data quality evaluation of *Artemisia rupestris* L. (*A. rupestris*) metabolomics research based on ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry (UHPLC-MS) technique: (A) Principal component analysis (PCA) model score plot of quality control (QC) samples; (B) Retention time variation plot of all real samples

2.2 新疆一枝蒿不同生长期的代谢轮廓分析

在负离子检测模式下, F 区和 H 区的 *A. rupestris* 不同生长期样本的代表性总离子流色谱图(Total ion chromatogram, TIC)如图 2A 所示,从整体轮廓上可以看出,不同生长期的样品中代谢组大致相同,但在部分保留时间区域内检出的代谢物有所不同。例如, F 区 *A. rupestris* 的 RT 5~7 min 范围内,在 M 期样品中检出的色谱峰较多,而在 S 期和 H 期中检出色谱峰较少; RT 10~13 min 范围内, M 期样品中检出色谱峰较多,后两个时期样品中检出色谱峰较少,但也有一些代谢物的丰度更高。H 区来源样本 RT 13~15 min 范围内, M 期和 S 期样品中未检出明显色谱峰, H 期样品中在 RT 13.5 min 处有明显的色谱峰;在 RT 19~21 min 范围内, RT 19.46 min 的色谱峰在不同组别中质谱响应显著不同。正离子检测模式获得的 TIC 有类似的现象,不再赘述。通过构建 PCA 模型可知,在未设置组别的情况下,得分图中样品已经呈现出明显的分组分布,如图 2B 所示,充分说明不同生长时期的 *A. rupestris* 中代谢组具有显著差异。

2.3 生长关键成分筛选与判别分析模型构建

2.3.1 非靶向与靶向分析相结合的生长关键成分筛选

分别构建两个地区的 M 期和 H 期样品的正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)模型,以寻找组间差异变量。OPLS-DA 模型均经过交叉有效性验证和置换验证,保证了模型有效且可靠。为了提高差异变量的可靠性与重复性,重点针对组间差异倍数大于 5 的差异变量进行后续分析。最终,在正离子检测模式下, F 区样品中在 M 期和 H 期两组之间差异倍数在 5 倍以上的差异变量仅获得 8 个;在 H 区样品中筛选出 73 个;在负离子检测模式下筛选出的差异变量较多,差异倍数 5 倍以上的变量在 F 区样品中有 240 个, H 区有 162 个。由此可知,在生长发育过程中含量变化大的成分在负离子模式下更容易检出。

基于上述筛选的差异变量,通过绘制其在 M 期、S 期和 H 期样品中平均水平散点图,能够获得随生长发育过程的动态变化规律。由于阿勒泰富蕴地区和哈密地区的生态环境不同,所以两个地区生长的 *A. rupestris* 植物中随生长发生变化的成分也不同。对比两地区数据发现,差异变量列表的重复度很小,这说明不同的生态环境对于同一植物的生长发育模式具有显著影响。但是,两个地区样本中也存在一些相同的代谢物,并表现出相同的动态变化规律,这表明这些代谢物仅与该药用植物生长发育过程密切相关,不受生态环境的影响,即为生长关键成分。正离子检测模式数据中未发现生长关键成分,负离子检测模

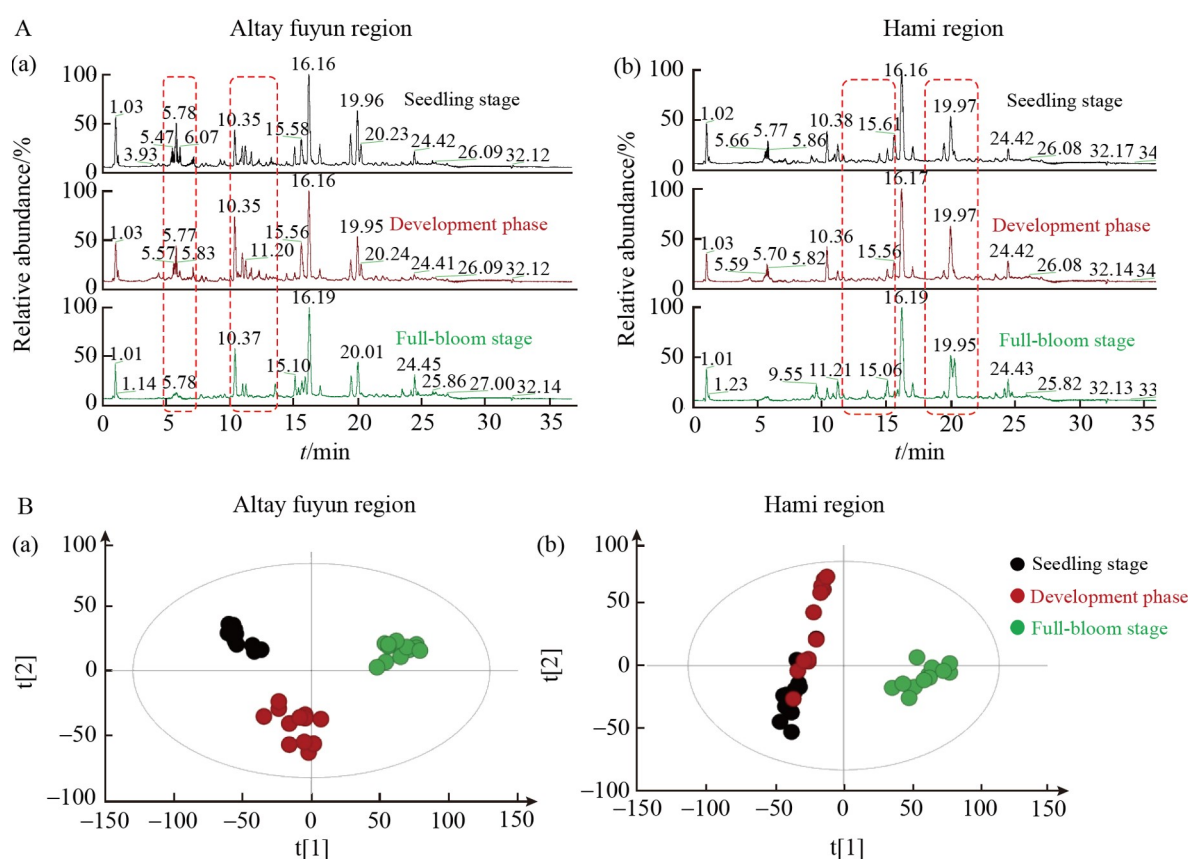


图2 基于UHPLC-(−) ESI MS数据的阿勒泰富蕴和哈密地区 *A. rupestris* 不同生长期样品的代表性总离子流(TIC) 色谱图(A)和主成分分析(PCA) 得分图(B)

Fig.2 Representative total ion chromatograms (TIC) (A) and score plot of principal component analysis (PCA) model (B) of different growth stage samples of *A. rupestris* based on UHPLC-(−) ESI MS data

式数据中筛选出 18 种生长关键成分, 详见电子版文后支持信息表 S1。

生长关键成分 m/z 285.0406 (RT 13.49 min) 的 MS/MS 谱有明显的黄酮类化合物 C 环裂解产生的特征子离子 $C_7H_3O_4^-$ (m/z 151.0037) 峰, 推测其为黄酮类化合物; 进一步推测其元素组成为 $C_{15}H_9O_6^-$, 可能为木犀草素。采用木犀草素标准品进行验证, 得到了类似的 MS/MS 图, 并且 RT 为 13.75 min, 因此鉴定化合物为木犀草素。此外, 在生长关键成分 m/z 431.2642 (RT 25.38 min) 的 MS/MS 谱中, 出现了一枝蒿酮酸的 $[M-H]^-$ (m/z 247.1338) 以及其明显的特征子离子 $[M-H-CO_2]^-$ (m/z 203.1490), 因此判定该代谢物为一枝蒿酮酸衍生物。采用精确 m/z 检索数据库, 推测生长关键成分 m/z 474.2696 (RT 23.57 min) 可能为 LysoPE(18:3/0:0); 其 MS/MS 谱中基峰为 m/z 277.2169 的子离子, 其数据库检索的唯一结果是分子式为 $C_{18}H_{36}O_2$ 的不饱和脂肪酸, 也与 LysoPE(18:3/0:0) 中的脂肪链相对应。类似地, m/z 502.2929 (RT 23.65 min) 和 m/z 562.3138 (RT 23.65 min) 推测为 LysoPE(20:3/0:0) 及其衍生物。上述 5 种生长关键成分的 MS/MS 谱图见电子版文后支持信息图 S1, 木犀草素化学对照品的高分辨 MS 和 MS/MS 图见图 S2。

在上述非靶向分析获得的 18 种生长关键成分中, 仅鉴定出 m/z 285.0397 (RT 3.49 min) 为 *A. rupestris* 中已知代谢物木犀草素。而在前期研究中, 本课题组发现了一组 *A. rupestris* 的已知代表性代谢物, 其中 33 种采用化学对照品确认, 34 种推测出了分子组成与结构类别^[15-16]。为了深入挖掘生长发育对于已知代表性代谢物的影响, 对其在两个地区 M 期、S 期和 H 期样品中的动态变化趋势进行了描绘, 筛选出芹黄素、山奈酚、金丝桃苷、一枝蒿酮酸 B、一枝蒿酮酸 C 和 m/z 609.1325 (RT 12.14 min) 组分共 6 种成分作为生长关键成分。其中, m/z 609.1245 (RT 12.14 min) 组分的分子式为 $C_{30}H_{25}O_{14}$, 其结构以木犀草素为基本母核, 并连接一个咖啡酸基团和一个葡萄糖基团。

图 3B 的聚类热图为上述 24 种生长关键成分在 M 期、S 期和 H 期样品中均值的可视化呈现, 可以

看出这些生长关键成分在不同地区的生长过程中的变化规律基本一致。时间序列聚类分析表明,上述代谢物有 3 类变化规律,并且在两个地区来源的样本中结果一致: Cluster 1 中代谢物在前两个时期含量水平几乎不变,在盛花期时含量水平大幅度提升; Cluster 2 中代谢物在整个生长发育过程中呈稳步上升趋势; Cluster 3 中的代谢物则是在整个生长发育过程中呈逐步下降趋势。

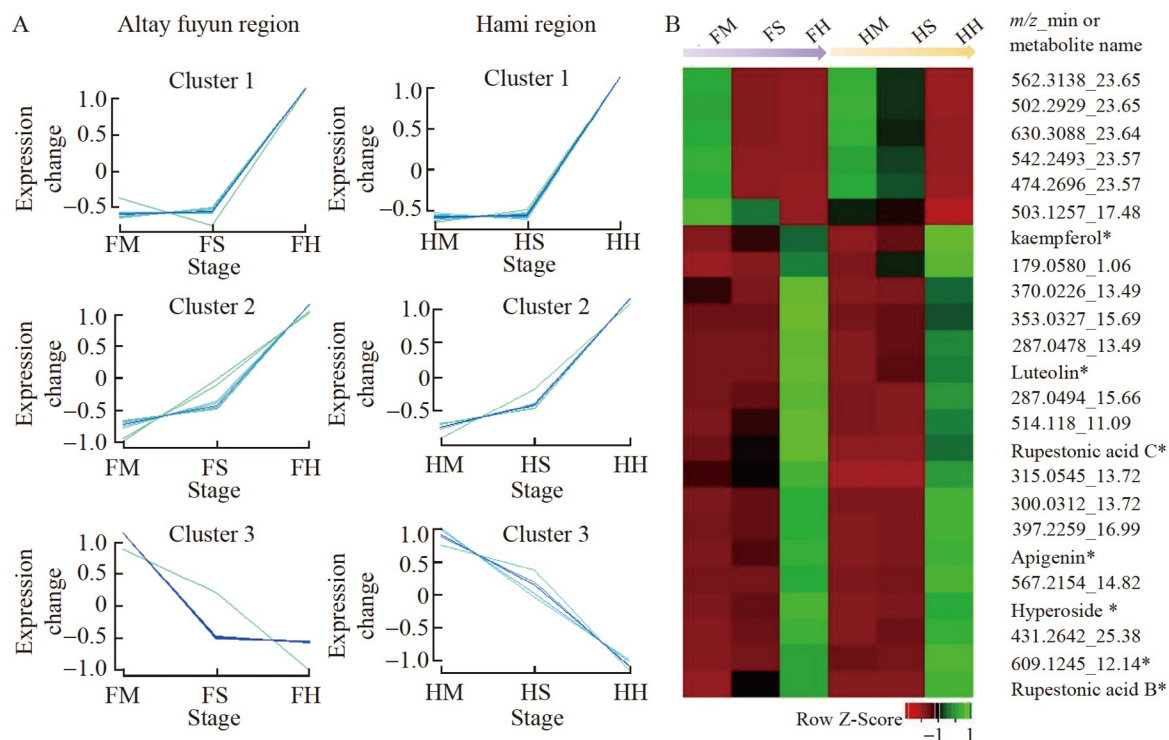


图3 *A. rupestris* 的生长关键成分在阿勒泰富蕴、哈密地区样本中的时间序列聚类分析图(A)和聚类热图(B)

Fig.3 Time series clustering analysis plots (A) and cluster heatmaps (B) of growth key components of *A. rupestris* L. from Altay fuyun and Hami regions

2.3.2 基于生长关键成分的贝叶斯判别分析模型的构建

A. rupestris 通常在夏秋季即盛花期及之后采集入药,如前所述,生长关键成分与生长时期密切相关,因此可以用于判别采收时期未知的样本。采用 24 种生长关键成分构建贝叶斯判别分析模型,得出的各成分分类判别函数系数如表 1 所示(在不同分类判别函数中系数均为 0 的变量已删除)。对于采收时期未知的样本,采用本研究建立的样品分析方法测得生长关键成分的峰面积数据后,代入 3 个分类判别函数进行计算,并最终归属在计算值高的时期。该模型对于初始分组案例中样本的分类正确率为 98.6%,经过交叉验证后的分类正确率为 95.8%。

3 结论

本研究采用 UHPLC-MS/MS 技术的非靶向代谢组学研究策略,对采集自新疆阿勒泰富蕴地区和哈密地区的幼苗期、生长期和盛花期的 *A. rupestris* 样本进行分析,研究了其内部化学成分的生长发育模式。结果表明,不同采收时期的 *A. rupestris* 植物的代谢组存在显著差异,并且具有地域差异性;通过整合两个地区数据并结合动态规律分析,获得了与该植物生长发育密切相关的 24 种代谢物;进一步构建了基于生长关键成分的贝叶斯判别分析模型,并将其用于采收时期未知样本的判别。本研究为 *A. rupestris* 质量控制提供了指导,也为保障其药用资源得到合理利用以及其它药用植物的质量控制和合理开发提供了新的研究策略。

表1 基于生长关键成分的*A. rupestris*不同生长期贝叶斯分类判别函数系数

生长关键成分	幼苗期	发育期	盛花期
Key growth components	Seedling stage	Development phase	Full-bloom stage
<i>m/z</i> 503.1257 (RT17.48 min)	3.03×10^{-6}	5.51×10^{-6}	1.58×10^{-6}
一枝蒿酮酸 B			
Rupestonic acid B	4.57×10^{-7}	9.16×10^{-7}	1.12×10^{-6}
<i>m/z</i> 179.0580 (RT1.06 min)	-1.36×10^{-7}	-1.12×10^{-7}	-4.85×10^{-7}
木犀草素			
Luteolin	-0.00×10^{-6}	-2.71×10^{-6}	-1.09×10^{-5}
<i>m/z</i> 287.0478 (RT13.49 min)	3.35×10^{-6}	2.91×10^{-6}	-6.65×10^{-6}
<i>m/z</i> 287.0494 (RT 15.66 min)	-9.32×10^{-6}	-1.17×10^{-5}	2.48×10^{-5}
<i>m/z</i> 315.0545 (RT13.72 min)	-7.19×10^{-7}	-1.65×10^{-7}	5.78×10^{-7}
<i>m/z</i> 353.0327 (RT15.69 min)	-1.80×10^{-5}	-4.53×10^{-6}	4.90×10^{-5}
<i>m/z</i> 370.0226 (RT13.49 min)	2.02×10^{-5}	1.69×10^{-6}	0
<i>m/z</i> 397.2259 (RT 16.99 min)	9.49×10^{-6}	8.58×10^{-6}	2.26×10^{-5}
<i>m/z</i> 431.1975 (RT8.36 min)	-1.92×10^{-6}	-5.63×10^{-6}	3.26×10^{-5}
<i>m/z</i> 474.2694 (RT23.57 min)	4.80×10^{-6}	8.60×10^{-6}	1.01×10^{-6}
<i>m/z</i> 502.2995 (RT23.65 min)	-2.90×10^{-5}	-4.06×10^{-6}	-5.83×10^{-5}
<i>m/z</i> 514.118 (RT11.09 min)	3.03×10^{-6}	5.23×10^{-6}	-5.68×10^{-7}
<i>m/z</i> 542.2557 (RT23.57 min)	-2.78×10^{-5}	0	1.68×10^{-5}
<i>m/z</i> 562.3216 (23.65 min)	1.82×10^{-5}	1.75×10^{-6}	3.36×10^{-5}
<i>m/z</i> 567.2154 (RT14.82 min)	1.12×10^{-5}	2.53×10^{-5}	4.84×10^{-5}
一枝蒿酮酸 C			
Rupestonic acid C	2.63×10^{-6}	1.08×10^{-6}	1.73×10^{-6}
芹黄素			
Apigenin	2.23×10^{-7}	2.00×10^{-7}	2.58×10^{-7}
山奈酚			
Kaempferol	5.32×10^{-9}	3.70×10^{-9}	1.97×10^{-8}
金丝桃苷			
Hyperoside	-5.23×10^{-8}	-8.94×10^{-8}	3.96×10^{-9}
<i>m/z</i> 609.1325 (RT 12.14 min)	-3.17×10^{-6}	-3.74×10^{-6}	-1.64×10^{-5}
(Constant)	-55.21	-40.41	-273.94

致谢 感谢中国科学院新疆理化技术研究所新疆特有药用资源利用实验室的努尔波拉提·阿依达尔汗和刘戈宇老师在新疆一枝蒿样品采集中给予的支持。

References

[1] LIU Yong-Min, YIKEMU Shawuti, Annals of Uygur Medicine (Part I). Urumqi: Xinjiang People's Press. , 1986, 7: 1-3. 刘勇民, 沙吾提·伊克木. 维吾尔药志 (上). 乌鲁木齐: 新疆人民出版社, 1986, 7: 1-3.

[2] DONG Hui-Jun, JIANG Yun-Tao, YU Ke-Yun, WANG Hao, YE Wen-Cai. Res. Pract. Chin. Med. , 2013, 27(4): 73-77. 董慧君, 蒋云涛, 俞可云, 汪豪, 叶文才. 现代中药研究与实践, 2013, 27(4): 73-77.

[3] WAN Ying-Jie, XIA Jian-Xin, TANG Li. China J. Chin. Mater. Med. , 2017, 42(23): 4565-4573. 万英洁, 夏建新, 唐丽. 中国中药杂志, 2017, 42(23): 4565-4573.

[4] CAI Xiao-Cui, MAO Yan, HE Jin-Hua, LI Li-Dan. Chin. J. Pharm. Anal. , 2019, 39(9): 1580-1589. 蔡晓翠, 毛艳, 贺金华, 李丽丹. 药物分析杂志, 2019, 39(9): 1580-1589.

[5] LAN Dong-Dong, GUO Xiong-Fei, LU Meng-Qi, ZHOU Xiao-Ying, ZHU Guo-Qiang. Xinjiang J. Tradit. Chin. Med. , 2017, 35(5): 107-109. 兰冬冬, 郭熊飞, 鲁梦琪, 周晓英, 朱国强. 新疆中医药, 2017, 35(5): 107-109.

[6] Rahima ABDULLA, ZHONG Jie, EZIZ Zulheyre, AISA Haji Akber. Herald Med. , 2011, 30(9): 1200-1202. 热依木古丽·阿布都拉, 仲婕, 佐艾热·艾孜江, 阿吉艾克拜尔·艾萨. 医药导报, 2011, 30(9): 1200-1202.

[7] GU D, YANG Y, ABDULLA R, AISA H A. Rapid Commun. Mass Spectrom. , 2012, 26(1): 83-100.

[8] HE F, NUGROHO A E, WONG C P, HIRASAWA Y, SHIROTA O, MORITA H, AISA H A. Chem. Pharm. Bull. , 2012, 60: 213-218.

[9] XIA Shao-Li, CAO Yue, LI Qing-Lin, CHENG Zhi-Hong. Chin. Tradit. Herb. Drugs. , 2020, 51(13): 3393-3398. 夏少立, 曹悦, 李庆林, 程志红. 中草药, 2020, 51(13): 3393-3398.

- [10] WEN Na, CAO Xue-Qin, CHEN Jun-Yu, WANG Ai-Xia, CHEN Guo-Tong. *Hunan Agric. Sci.*, 2020, 60(S1): 329-331.
文娜, 曹雪琴, 陈俊宇, 王爱霞, 陈国通. *湖南农业科学*, 2020, 60(S1): 329-331.
- [11] ZHANG Ai-Lian, YANG Yu. J. *Xinjiang Univ.*, 2020, 37(4): 508-514.
张爱莲, 杨雨. *新疆大学学报*, 2020, 37(4): 508-514.
- [12] QIAN Jin-Xiu, WEN Luan, HAN Bao-Die, ADILI Adilai, GUO Jian-Ning, ZHANG Qiu-Ju. *Shizhen Med. Mater. Med. Res.*, 2020, 31(6): 1325-1329.
钱锦秀, 闻銮, 韩宝蝶, 阿迪莱·阿迪力, 郭简宁, 张秋菊. *时珍国医国药*, 2020, 31(6): 1325-1329.
- [13] CHEN Lu-Lu, WANG Zhong-Hua, ZHOU Zhi, HE Bing-Shu, HE Jiu-Ming, HUANG Luo-Jiao, AIDARHAN Nurbolat, LIU Ge-Yu, Haji Akber AISA, ABLIZ Zeper. *Chin. J. Anal. Chem.*, 2018, 46(5): 735-742.
陈璐璐, 王中华, 周帜, 何秉淑, 贺玖明, 黄罗娇, 努尔波拉提·阿依达尔汗, 刘戈宇, 阿吉艾克拜尔·艾萨, 再帕尔·阿不力孜. *分析化学*, 2018, 46(5): 735-742.
- [14] XIE Bing, ZHOU Zhi, ZHANG Chen, CHEN Lu-Lu, HUO Mei-Ling, AIDARHAN Nurbolat, LIU Ge-Yu, AISA Haji Akber, WANG Zhong-Hua, Zeper ABLIZ. *Chin. J. Anal. Chem.*, 2020, 48(6): 733-741.
谢冰, 周帜, 章宸, 陈璐璐, 霍美玲, 努尔波拉提·阿依达尔汗, 刘戈宇, 阿吉艾克拜尔·艾萨, 王中华, 再帕尔·阿不力孜. *分析化学*, 2020, 48(6): 733-741.
- [15] ZHOU Z, XIE B, HE B, ZHANG C, CHEN L, WANG Z, CHEN Y, ABLIZ Z. *Ind. Crops Prod.*, 2021, 170: 113732.
- [16] ZHANG C, WANG S, ZENG K W, CUI F X, JIN H W, GUO X Y, JIANG Y, TU P F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2014, 24(17): 4318-4322.

Study on Key Growth Components of *Artemisia rupestris* L. Based on Metabolomics

WANG Ji-Yang¹, ZHOU Zhi^{*1,2}, XIE Bing¹, CUI Xing-Yun¹, LAMAO Zhuo-Ma¹,
WANG Zhong-Hua^{1,2}, ABLIZ Zeper^{1,3}

¹(Key Laboratory of Mass Spectrometry Imaging and Metabolomics of State Ethnic Affairs Commission,
Minzu University of China, Beijing 100081, China)

²(Key Laboratory of Ethnomedicine of Ministry of Education, Minzu University of China, Beijing 100081, China)

³(College of Pharmacy, Minzu University of China, Beijing 100081, China)

Abstract *Artemisia rupestris* L. (*A. rupestris*) is a kind of commonly used medicinal plant in Uygur medicine. Due to its unique ecological characteristics, it is extremely difficult to reproduce naturally, and wild resources have been scarce in recent years. Therefore, conducting introduction, domestication and artificial cultivation researches are the most effective means to realize the sustainable utilization of resources. The material basis of medicinal plants is usually specific for the period of growth and development. Thus, an in-depth study of the correlation between the growth period and the metabolic patterns of key components will help to reveal the physiological and metabolic adaptation mechanism of *A. rupestris*. In this study, plant metabolomics strategy based on liquid chromatography-mass spectrometry technique was applied to analyze *A. rupestris* samples of different growth periods, including seedling stage, development phase, and full-bloom stage, which were collected from Xinjiang Altay Fuyun and Hami regions. Twenty-four metabolites that were closely related to the plant growth and development were screened by integrated analysis of the two regions data and dynamic regulation description. Furthermore, a Bayesian discriminant analysis model based on 24 key growth components was constructed, which could be used to discriminate the harvesting period of unknown samples. This study provided new reference information for quality control and rational utilization of *A. rupestris*., and also provided research ideas for other medicinal plants.

Keywords *Artemisia rupestris* L.; Metabolomics; Liquid chromatography-mass spectrometry technique; Harvest period; Key growth component

(Received 2022-08-30; accepted 2022-11-03)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 2167050718).