

以UHPLC-QTOF/MS建立肉蓯蓉類藥材指紋圖譜及市售藥材鑑別之應用

王博誠 林雅姿 高靖傑 溫彩玉 蔡佳芬 林美智 曾素香 王德原

食品藥物管理署研究檢驗組

摘 要

肉蓯蓉具良好滋補功能，常用於輔助治療腎虛或性功能障礙，但嚴重的混誤用情形已經成為肉蓯蓉品質管理的問題之一，甚至影響到病人用藥安全。近年來，肉蓯蓉因過度採集導致野生肉蓯蓉數量銳減，造成市面上混誤用率的增加。根據臺灣中藥典第三版，肉蓯蓉正品應為植物肉蓯蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma 或管花肉蓯蓉 *Cistanche tubulosa* (Schrenk) Wight 之帶鱗葉的乾燥肉質莖。本研究利用超高效液相層析-四極桿飛行式質譜儀(UHPLC-QTOF/MS)進行肉蓯蓉類藥材化學成分之指紋圖譜分析，於肉蓯蓉與管花肉蓯蓉藥材中找出共19種指標成分可供比對，並經主成分分析(principal components analysis, PCA)後可發現不同基原之藥材呈現分群區，可區分出肉蓯蓉、管花肉蓯蓉與其他混誤用藥材。本研究結果能應用於日後肉蓯蓉類藥材品質管制檢驗之依據。

關鍵詞：肉蓯蓉、化學指紋圖譜、超高效液相層析四極桿/飛行式質譜儀

前 言

肉蓯蓉藥材始載於神農本草經，列為上品，又稱荒漠肉蓯蓉、蓯蓉、甜大芸，主要分布於中國內蒙古、陝西、甘肅、寧夏、青海、新疆等地⁽¹⁾。常見肉蓯蓉混誤用品有同為列當科肉蓯蓉屬的鹽生肉蓯蓉 [*Cistanche salsa* (C. A. Mey.) G. Beck] 與沙蓯蓉 (*Cistanche sinensis* G. Beck)，還有同科不同屬之草蓯蓉 [*Boschniakia rossica* (Cham. et Schlecht.) Fedtsch.]，以及鎖陽科鎖陽 (*Cynomorium songaricum* Rupr.) 等藥材。根據臺灣中藥典第三版⁽²⁾記載，肉蓯蓉 (*Cistanches Herba*) 藥材本品為列當科 Orobanchaceae 植物肉蓯蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma 或管花肉蓯蓉 *Cistanche tubulosa*

(Schrenk) Wight 之帶鱗葉的乾燥肉質莖。在現代醫學研究中，肉蓯蓉萃取物具有抗發炎⁽³⁾、降低膽固醇⁽⁴⁾、抗氧化^(5,6)、減少骨質流失與增強骨質形成^(7,8)、增強記憶^(9,10)、抗肝纖維化作用^(11,12)與改善阿茲海默症症狀⁽¹³⁾等藥理活性。

化學指紋圖譜是指樣品經過前處理、層析分離與質譜或光譜等儀器分析後，得到能夠標示成為化學特徵的層析圖譜或光譜，完整中藥指紋圖譜能夠反映出中藥多元的化學組成成分，對中藥混誤用及品質測定能提供更合理的檢驗方法^(14,15)。本研究透過液相層析技術，將中草藥或天然物中化學成分分離，並運用質譜分析挑選出具有特徵的化學成分建立成化學指紋圖譜，藉由比對指紋圖譜中的特色成分，作為判斷藥材基原的依據。文獻中提到肉蓯

蓉、管花肉蓯蓉、鹽生肉蓯蓉與沙蓯蓉所含成分主要多為phenylethanoid glycoside、iridoid glycoside與lignan glycoside類化合物^(16,17)，草蓯蓉中曾被分離出phenylpropanoid glycoside、iridoid glucoside、iridoid aglycone和triterpenoid類化合物⁽¹⁸⁾，而鎖陽中曾被分離出steroids、triterpenes、fructoside、flavanoid與condensed tannins類化合物⁽¹⁹⁾。

肉蓯蓉類藥材的生物活性可能來自於phenylethanoid glycoside類化合物中echinacoside、acteoside、isoacteoside、2'-acetylacteoside和cistanoside A^(16,20)，而有文獻指出草蓯蓉之acteoside含量明顯低於肉蓯蓉，或許不適合作為肉蓯蓉的代用品⁽²¹⁾。

超高效液相層析四極桿/飛行式質譜儀(ultra-high performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry, UHPLC-QTOF/MS) 具有高效快速和高靈敏度等特點，適用於成分複雜且含量較低之天然物分析^(22,23)。為了解臺灣肉蓯蓉藥材使用情況，我們收集市售肉蓯蓉類藥材，利用UHPLC-QTOF/MS分析後與標準品建立之指紋圖譜進行成分的比對確認，再利用主成分分析將檢體分群後區分出誤用藥材。本研究結果可做為未來肉蓯蓉類藥材鑑別與品質管理依據，保障民眾用藥的品質與安全。

材料與方法

一、材料

(一)樣品

於台北地區之中藥行與GMP藥廠蒐集市售肉蓯蓉類藥材共38件，包括肉蓯蓉24件、管花肉蓯蓉7件、鹽生肉蓯蓉3件、草蓯蓉4件。標準藥材粉末共3件，包括肉蓯蓉1件(批號：121101-200402)與管花肉蓯蓉2件(批號：121276-200501，121276-

201102)，購自中國藥品生物製品檢定所。

(二)試藥

1. 一般化學藥品：LC-MS級乙腈(J.T. Baker, USA)、LC-MS級甲醇與LC-MS級純水(Scharlau Chemie SA, Spain)，puriss. p.a.級甲酸(Fluka Chemical, USA)，乙醇95% (臺灣菸酒公司，臺灣)。
2. 對照標準品：geniposidic acid、syringin、cistanoside F、echinacoside、acteoside (verbascoside)、isoacteoside、tubuloside A及2-acetylacteoside購自廣翊有限公司(臺灣)，cistanoside A、cistanoside C及tubuloside B購自宸碩生物科技有限公司(臺灣)。

二、儀器設備

- (一)超高效能液相層析串聯四極桿/飛行式質譜儀(Agilent 1290 Series UHPLC/Agilent 6530 Q-TOF, Agilent, USA)
- (二)藥材研磨機(Tube Mill control, IKA, Germany)
- (三)超音波震盪器(Transsonic Digitals, Elma, Germany)
- (四)精密天平(XS205, Mettler Toledo, Swiss)

三、液相層析串聯四極桿/飛行式質譜儀分析方法之建立

(一)檢體溶液配製

將藥材經粉碎研磨後過60號篩(Nonaka Rikaki, Japan)，稱取250 mg，加入50% methanol 5 mL，在室溫下超音波震盪(頻率：40 kHz) 30分鐘，經0.22 μ m filter過濾後，將濾液以50% methanol稀釋10倍，供做檢品溶液。

(二)標準品溶液配製

分別稱取geniposidic acid、syringin、cistanoside F、echinacoside、acteoside、isoacteoside、tubuloside A、2-acetylacteoside、cistanoside A、cistanoside C及tubuloside B標準品各1 mg，各自加入適量50% methanol，於室溫下經超音波震盪溶解，再以50% methanol定容至10 mL，經0.22 μm filter過濾，得到100 $\mu\text{g/mL}$ 標準品溶液。

(三)液相層析條件

分析管柱使用Agilent Poroshell 120 EC - C18，3.0 x 100 mm，2.7 μm ；移動相為A：0.1% 甲酸水溶液；B：0.1% 甲酸乙腈溶液，沖提梯度(以A、B混合後B所佔百分比表示)：0 - 5 min，B：5 - 20%；5 - 8 min，B：20 - 25%；8 - 13 min，B：25 - 100%；13 - 16 min，B：100%；16 - 16.1 min，B：100 - 5%；16.1 - 18 min，B：5%。管柱溫度：40°C，流速：0.5 mL/min，檢品或標準品注入量：1 μL 。

(四)極桿/飛行式質譜儀條件

電噴灑法正離子模式(positive ion mode)，毛細管電壓(capillary voltage) 3500 V，霧化器壓(nebulizer pressure) 45 psi，鞘氣流速(sheath gas flow) 11.0 L/min，鞘氣溫度(sheath gas temperature) 350°C，乾燥氣體流速(drying gas flow) 9 L/min，乾燥氣體溫度(drying gas temperature) 325°C，噴嘴電壓(nozzle voltage) 500 V，準確質量測定以121.0509、922.0098 m/z作即時校正，全掃描範圍為100 - 1000 m/z。

四、化學指紋圖譜之建立

將標準藥材之檢體溶液經UHPLC-QTOF/MS分析後，以Agilent MassHunter Mass Profiler統計軟體進行數據分析，根據Agilent MassHunter Qualitative Analysis定性軟體歸納層析峰之滯留時間(retention time)和精確質量

(accurate mass)，利用標準品資料庫比對成分篩選出於肉蓯蓉或管花肉蓯蓉其中一族群中出現率達70%以上者，作為肉蓯蓉和管花肉蓯蓉藥材之化學指紋成分。

五、主成分分析

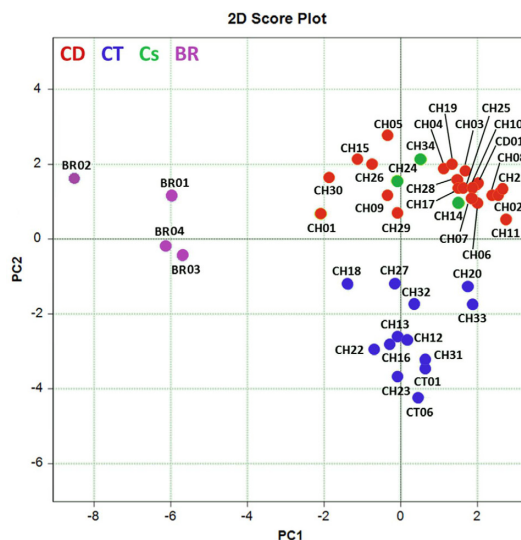
主成分分析(principal components analysis, PCA)是透過降維(dimension reduction)的方式將數量眾多之變數簡化成少數幾個主要變數(主成分)，藉由將主成分座標化能夠快速比較各樣品點分布以分辨整體數據之異同。其中將最能夠表示該樣品群差異的維度稱為PC1，而能夠看出樣品群次要差異之維度則稱之為PC2，各主成分之變異數代表著該主成分保留原始數據中多少比例之變異量，當總變異量愈大代表主成分分析圖呈現出來之分布趨勢愈接近原始數據之趨勢。本研究將所有藥材檢體共41件(含市售藥材及標準藥材)，利用19項指紋成分(詳見結果與討論)之滯留時間與精確質量透過Agilent MassHunter Mass Profiler統計軟體進行主成分分析並觀察其藥材檢體之分布情形。

結果與討論

將收集來的肉蓯蓉檢體經PCR基原鑑定⁽²⁴⁾與外觀鑑定⁽²⁵⁾後整理出20件肉蓯蓉檢體和1件標準藥材粉末共21件肉蓯蓉檢體作為方法開發之標準藥材，經萃取、UHPLC-QTOF/MS檢測及統計軟體分析後，得到16個共同成分作為該藥材指紋成分，包含10個已知成分geniposidic acid、syringin、acteoside、isoacteoside、echinacoside、cistanoside F、tubuloside B、2-acetylacteoside、cistanoside A、cistanoside C與6個未知成分，其中cistanoside A與cistanoside C成分僅在肉蓯蓉藥材中可偵測到。將收集來的管花肉蓯蓉檢體經PCR基原鑑定與外觀鑑定後整理出12件管花肉蓯蓉檢體，包括6件原標示為管花肉蓯蓉檢體，4件原標

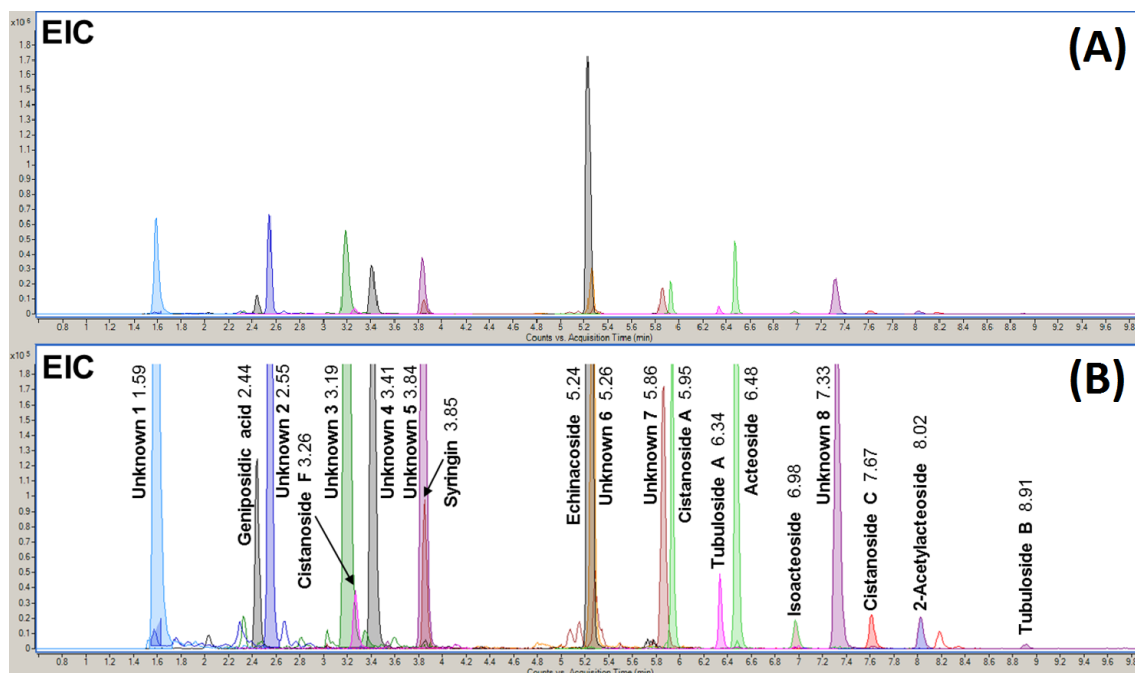
示為肉蓯蓉檢體經鑑定為管花肉蓯蓉，及2件標準藥材粉末，同樣經萃取、質譜儀檢測及統計軟體分析後，得到15個共同成分作為該藥材指紋成分，包含7個已知成分geniposidic acid、syringin、acteoside、isoacteoside、echinacoside、cistanoside F、tubuloside A與8個未知成分，此8項未知成分包含了於肉蓯蓉中發現的6項未知成分並將其標示為unknown 1~8，其中tubuloside A、unknown 5與unknown 7成分僅在管花肉蓯蓉藥材中可偵測到。綜整肉蓯蓉類藥材可得19種指紋成分如圖一，其詳細精確分子量、化學式及滯留時間如表一所示。

將市售肉蓯蓉類藥材38件及標準藥材粉末3件(共41件)，針對19種指紋成分進行統計，主成分分析結果如圖二所示。PC1與PC2之變異數分別為32.10%與22.08%，總變異數為54.18%，表示PC1與PC2共能夠代表原始資料中54.18%之變異量。於表一中列出19種指標



圖二、肉蓯蓉類藥材主成分分析圖

註：CD：肉蓯蓉；CT：管花肉蓯蓉；Cs：鹽生肉蓯蓉；BR：草蓯蓉



圖一、肉蓯蓉類藥材19種指紋成分之extracted ion chromatogram (EIC)圖

註：(A) 原層析圖；(B) 縱軸放大10倍

表一、肉蓯蓉類藥材19種指紋成分表

Name	Formula	Mass	RT (min)	Adduct	Positive ion (m/z)	Correlation	
						PC1	PC2
unknown 1 (CD)(CT)		386.1213	1.59	[M+H] ⁺	387.1264	0.29	-0.17
geniposidic acid (CD)(CT)	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₀	374.1213	2.44	[M+Na] ⁺	397.1117	0.61	-0.42
unknown 2 (CD)(CT)		370.1264	2.55	[M+H] ⁺	371.132	0.57	0.25
unknown 3 (CD)(CT)		354.1315	3.19	[M+H] ⁺	355.1367	0.60	0.46
cistanoside F (CD)(CT)	C ₂₁ H ₂₈ O ₁₃	488.1530	3.26	[M+Na] ⁺	511.1412	0.81	-0.09
unknown 4 (CD)(CT)		192.0773	3.41	[M+H] ⁺	193.0837	0.54	0.61
unknown 5 (CT)		268.0583	3.84	[M+H] ⁺	269.0648	0.23	-0.52
syringin (CD)(CT)	C ₁₇ H ₂₄ O ₉	372.1420	3.85	[M+Na] ⁺	395.1313	0.56	0.22
echinacoside (CD)(CT)	C ₃₅ H ₄₆ O ₂₀	786.2582	5.24	[M+Na] ⁺	809.2476	0.75	-0.35
unknown 6 (CD)(CT)		370.1628	5.26	[M+H] ⁺	371.1676	0.51	-0.48
unknown 7 (CT)		338.1366	5.86	[M+H] ⁺	339.1394	0.2	-0.66
cistanoside A (CD)	C ₃₆ H ₄₈ O ₂₀	800.2739	5.95	[M+Na] ⁺	823.2620	0.52	0.73
tubuloside A (CT)	C ₃₇ H ₄₈ O ₂₁	828.2688	6.34	[M+Na] ⁺	851.2568	0.14	-0.77
acteoside (CD)(CT)	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	624.2054	6.48	[M+Na] ⁺	647.1935	0.75	-0.34
isoacteoside (CD)(CT)	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	624.2054	6.98	[M+Na] ⁺	647.1934	0.68	-0.25
unknown 8 (CD)(CT)		602.1999	7.33	[M+H] ⁺	603.2041	0.64	-0.43
cistanoside C (CD)	C ₃₀ H ₃₈ O ₁₆	638.2211	7.67	[M+Na] ⁺	661.2085	0.47	0.78
2-acetylacteoside (CD)	C ₃₁ H ₃₈ O ₁₆	666.2160	8.02	[M+Na] ⁺	689.2038	0.66	0.22
tubuloside B (CD)	C ₃₁ H ₃₈ O ₁₆	666.2160	8.91	[M+Na] ⁺	689.2022	0.63	0.28

CD：肉蓯蓉；CT：管花肉蓯蓉

成分跟PC1與PC2之相關性(correlation)，相關性愈高代表該指標成分對於主成分分析圖上之分數影響愈大，當樣品點之PC1與PC2得分愈高時，表示這些樣品中高相關性之成分含量愈高。觀察其分布歸屬可將檢體分為3群，其中在圖左側有一區塊標示紫色為草蓯蓉，在圖右上方有一區塊標示紅色為肉蓯蓉，在圖右下有一區塊標示藍色為管花肉蓯蓉，鹽生肉蓯蓉標示為綠色，分散於肉蓯蓉的區塊中，檢體編號名稱與主成分分析結果歸納於表二與表三中，其中4件肉蓯蓉檢體於主成分分析中判定為管花肉蓯蓉與PCR基原鑑定和組織鑑定結果一致。19種指標成分中大部分之成分與PC1之相關性高，顯示位於PCA分析圖中右半邊的肉蓯

蓉與管花肉蓯蓉中大都含有這些指標成分；而cistanoside A與cistanoside C跟PC2之相關性明顯高於其他成分，為區分肉蓯蓉與管花肉蓯蓉之關鍵。

3件分散於肉蓯蓉區塊中之檢體，市售標示名稱為鹽生肉蓯蓉(CH14、24、34)，經PCR鑑定其結果為鹽生肉蓯蓉，但PCA結果係分散於肉蓯蓉區塊中，表示針對指紋成分所建立之PCA無法區別肉蓯蓉與鹽生肉蓯蓉二者，根據Jiang Y.等人⁽²⁶⁾研究顯示肉蓯蓉與鹽生肉蓯蓉主要成分皆為echinacoside、acteoside與2-acetylacteoside，此三種成分組成含量相似，而有差異之成分含量相對較低，此為導致PCA無法區別之原因。

表二、市售肉蓯蓉類藥材檢體與PCA歸屬

編碼	檢體標示	PCA歸屬	編碼	檢體標示	PCA歸屬
CT01	管花肉蓯蓉 ^a	管花肉蓯蓉	CH19	肉蓯蓉	肉蓯蓉
CT06	管花肉蓯蓉 ^a	管花肉蓯蓉	CH20	肉蓯蓉	管花肉蓯蓉 ^b
CD01	肉蓯蓉 ^a	肉蓯蓉	CH21	肉蓯蓉	肉蓯蓉
CH01	肉蓯蓉	肉蓯蓉	CH22	管花肉蓯蓉	管花肉蓯蓉
CH02	肉蓯蓉	肉蓯蓉	CH23	管花肉蓯蓉	管花肉蓯蓉 ^d
CH03	肉蓯蓉	肉蓯蓉	CH24	鹽生肉蓯蓉	肉蓯蓉 ^c
CH04	肉蓯蓉	肉蓯蓉	CH25	蒙古肉蓯蓉	肉蓯蓉 ^b
CH05	肉蓯蓉	肉蓯蓉	CH26	肉蓯蓉	肉蓯蓉
CH06	肉蓯蓉	肉蓯蓉	CH27	肉蓯蓉	管花肉蓯蓉 ^b
CH07	肉蓯蓉	肉蓯蓉	CH28	肉蓯蓉	肉蓯蓉
CH08	肉蓯蓉	肉蓯蓉	CH29	肉蓯蓉	肉蓯蓉
CH09	肉蓯蓉	肉蓯蓉	CH30	肉蓯蓉	肉蓯蓉
CH10	肉蓯蓉	肉蓯蓉	CH31	肉蓯蓉	管花肉蓯蓉 ^b
CH11	肉蓯蓉	肉蓯蓉	CH32	管花肉蓯蓉	管花肉蓯蓉
CH12	管花肉蓯蓉	管花肉蓯蓉	CH33	管花肉蓯蓉	管花肉蓯蓉
CH13	管花肉蓯蓉	管花肉蓯蓉	CH34	鹽生肉蓯蓉	肉蓯蓉 ^c
CH14	鹽生肉蓯蓉	肉蓯蓉 ^c	BR01	草蓯蓉	草蓯蓉
CH15	荒漠肉蓯蓉	肉蓯蓉	BR02	草蓯蓉	- ^c
CH16	肉蓯蓉	管花肉蓯蓉 ^b	BR03	草蓯蓉	草蓯蓉
CH17	肉蓯蓉	肉蓯蓉	BR04	草蓯蓉	草蓯蓉
CH18	管花肉蓯蓉	管花肉蓯蓉			

註：^a標準藥材粉末；^b與PCR鑑定結果相符；^c與PCR鑑定結果不符；^d外觀鑑定為肉蓯蓉與管花肉蓯蓉摻混，PCR鑑定結果為肉蓯蓉；^e檢體外觀明顯與其他草蓯蓉不同，PCR鑑別為疑似蛇菰屬 *Balanophora* 物種

表三、市售肉蓯蓉類藥材檢體與PCA歸屬結果統整表

檢體標示	PCA歸屬
(荒漠)肉蓯蓉 (24件)	肉蓯蓉 (20件) 管花肉蓯蓉 (4件)
管花肉蓯蓉 (9件)	管花肉蓯蓉 (9件)
鹽生肉蓯蓉 (3件)	藥材粉末無法以指紋成分評價方法進行鑑別 (3件)
蒙古肉蓯蓉 (1件)	肉蓯蓉 (1件)
草蓯蓉 (4件)	草蓯蓉 (3件) 檢體外觀明顯與其他草蓯蓉不同，PCR鑑別為疑似蛇菰屬 <i>Balanophora</i> 物種 (1件)

4件市售標示名稱為草蓯蓉(BR01-04)，其中3件BR01、03與04經PCR鑑定為草蓯蓉，落在PCA圖上左側區塊，另1件BR02其外觀經組織鏡檢明顯與其他不同，PCR鑑別為疑似蛇菰屬 *Balanophora* 物種^(24,25)，在PCA圖上也可見其與其他草蓯蓉較為分離。

本研究利用指紋成分建立肉蓯蓉類中藥之檢測技術，未來將可擴大應用研究成果於地方政府衛生局、關務署、海岸巡防署及檢警調等機關送驗不明中藥材、中藥粉末之鑑別。不但可供本署查驗登記、品質調查及相關單位送驗之檢驗參考依據，更可提供各藥廠製劑製造前

之藥材篩檢，避免中藥材誤混用情形發生。

參考文獻

1. Wang, T., Zhang, X., and Xie, W. 2012. *Cistanche deserticola* Y. C. Ma, "Desert Ginseng": a review. *Am J Chin Med.* 40: 1123-1141.
2. 行政院衛生署臺灣中藥典編修小組。2018。臺灣中藥典。第三版。140-141頁，行政院衛生署中醫藥委員會，台北。
3. Lin, L.W., Hsieh, M.T., Tsai, F.H., Wang, W.H. and *et al.* 2002. Anti-nociceptive and anti-inflammatory activity caused by *Cistanche deserticola* in rodents. *J Ethnopharmacol.* 83(3): 177-182.
4. Shimoda, H., Tanaka, J., Takahara, Y., Takemoto, K. and *et al.* 2009. The hypocholesterolemic effects of *Cistanche tubulosa* extract, a Chinese traditional crude medicine, in mice. *Am J Chin Med.* 37(6): 1125-1138.
5. Xiong, Q., Kadota, S., Tani, T. and Namba, T. 1996. Antioxidative effects of phenylethanoids from *Cistanche deserticola*. *Biol Pharm Bull.* 19(12): 1580-1585.
6. Zhang, W., Huang, J., Wang, W., Li, Q. and *et al.* 2016. Extraction, purification, characterization and antioxidant activities of polysaccharides from *Cistanche tubulosa*. *Int J Biol Macromol.* 93(Pt A): 448-458.
7. Liang, H., Yu, F., Tong, Z. and Huang, Z. 2011. Effect of *Cistanches Herba* aqueous extract on bone loss in ovariectomized rat. *Int J Mol Sci.* 12(8): 5060-5069.
8. Li, T.M., Huang, H.C., Su, C.M., Ho, T.Y. and *et al.* 2012. *Cistanche deserticola* extract increases bone formation in osteoblasts. *J Pharm Pharmacol.* 64(6): 897-907.
9. Choi, J.G., Moon, M., Jeong, H.U, Kim, M.C. and *et al.* 2011. *Cistanches Herba* enhances learning and memory by inducing nerve growth factor. *Behav Brain Res.* 216(2): 652-658.
10. Peng, X.M., Gao, L., Huo, S.X., Liu, X.M. and *et al.* 2015. The mechanism of memory enhancement of acteoside (verbascoside) in the senescent mouse model induced by a combination of D-gal and $AlCl_3$. *Phytother Res.* 29(8): 1137-1144.
11. You, S.P., Zhao, J., Ma, L, Tudimat, M. and *et al.* 2015. Preventive effects of phenylethanol glycosides from *Cistanche tubulosa* on bovine serum albumin-induced hepatic fibrosis in rats. *DARU J Pharm Sci.* 23: 52.
12. You, S.P., Ma, L., Zhao, J., Zhang, S.L. and *et al.* 2016. Phenylethanol glycosides from *Cistanche tubulosa* suppress hepatic stellate cell activation and block the conduction of signaling pathways in TGF- β 1/smad as potential anti-hepatic fibrosis agents. *Molecules.* 21(1): 102.
13. Wu, C.R., Lin, H.C. and Su, M.H. 2014. Reversal by aqueous extracts of *Cistanche tubulosa* from behavioral deficits in Alzheimer's disease-like rat model: relevance for amyloid deposition and central neurotransmitter function. *BMC Complement Altern Med.* 14: 202.
14. Mok, D.K.W. and Chau, F.T. 2006. Chemical information of Chinese medicines: A challenge to chemist. *Chemometr Intell Lab Syst.* 82: 210-217.
15. Zhong, X.K., Li, D.C. and Jiang, J.G. 2009. Identification and quality control of chinese medicine based on the fingerprint techniques. *Curr Med Chem.* 16(23): 3064-3075.

16. Jiang, Y. and Tu, P.F. 2009. Analysis of chemical constituents in *Cistanche* species. *J Chromatogr A*. 1216: 1970-1979.
17. Tu, P.F., Shi, H.M., Song, Z.H., Jiang, Y. and *et al.* 2007. Chemical constituents of *Cistanche sinensis*. *J Asian Nat Prod Res*. 9(1): 79-84.
18. Shyr, M.H., Tsai, T.H., Lin, L.C. 2006. Rosicacins A, B and rosicaside F, three new phenylpropanoid glycosides from *Boschniakia rossica*. *Chem Pharm Bull*. 54(2): 252-254.
19. Jiang, Z.H., Tanaka, T., Sakamoto, M., Jiang, T. and *et al.* 2001. Studies on a medicinal parasitic plant: lignans from the stems of *Cynomorium songaricum*. *Chem Pharm Bull*. 49(8): 1036-1038.
20. Li, Y., Zhou, G., Peng, Y., Tu, P. and *et al.* 2016. Screening and identification of three typical phenylethanoid glycosides metabolites from *Cistanche Herba* by human intestinal bacteria using UPLC/Q-TOF-MS. *J Pharm Biomed Anal*. 118: 167-176.
21. Wu, Y.T., Lin, L.C., Sung, J.S. and Tsai, T.H. 2006. Determination of acteoside in *Cistanche deserticola* and *Boschniakia rossica* and its pharmacokinetics in freely-moving rats using LC-MS/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 844(1): 89-95.
22. Zhang, A., Zou, D., Yan, G., Tan, Y. and *et al.* 2014. Identification and characterization of the chemical constituents of Simiao Wan by ultra high performance liquid chromatography with mass spectrometry coupled to an automated multiple data processing method. *J Sep Sci*. 37(14): 1742-1747.
23. Li, H., Yao, W., Liu, Q., Xu, J. and *et al.* 2017. Application of UHPLC-ESI-Q-TOF-MS to identify multiple constituents in processed products of the herbal medicine *Ligustri Lucidi Fructus*. *Molecules*. 22(5): 689.
24. 謝詠筌、李蕙君、林雅姿、蔡佳芬等。2018。利用Nested PCR-DNA定序方法鑑定肉蓯蓉藥材基原。食品藥物研究年報，9: 219-227。
25. 溫彩玉、謝嘉芸、盧芬鈴、林雅姿等。2018。市售肉蓯蓉類藥材之鑑別。食品藥物研究年報，9: 206-218。
26. Jiang, Y., Li, S.P., Wang, Y.T., Chen, X.J. and *et al.* 2009. Differentiation of *Herba Cistanche* by fingerprint with high-performance liquid chromatography-diode array detection-mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 1216: 2156-2162.

Chemical Fingerprint Analysis for Differentiation of Cistanche Species by UHPLC-QTOF/MS

BO-CHENG WANG, YA-TZE LIN, CHING-CHIEH KAO, CAI-YU WEN,
CHIA-FEN TSAI, MEI-CHIH LIN, SU-HSIANG TSENG
AND DER-YUAN WANG

Division of Research and Analysis, TFDA

ABSTRACT

Cistanches Herba is a common traditional Chinese medicine with superior tonic activity, and used for the treatment of kidney deficiency and sexual dysfunction. However, the counterfeiting of Cistanches Herba is so rampant in the market and causes problems in the quality control and patient safety. In the recent years, the quantity of Cistanche had been decreasing due to over-harvesting and resulting in severe counterfeiting. According to Taiwan Herbal Pharmacopeia (3rd edition), authentic Cistanches Herba was the dried stem, with scales, of *Cistanche deserticola* Y. C. Ma or *Cistanche tubulosa* (Schrenk) Wight. This study aimed at the development for chemical fingerprints of Cistanches Herba by ultra-high performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UHPLC-QTOF/MS). Nineteen characteristic compounds were identified. The data was further analyzed by principal component analysis (PCA) to transform a set of values of linearly uncorrelated variables which was able to differentiate *Cistanche deserticola* Y. C. Ma and *Cistanche tubulosa* (Schrenk) Wight from other misused species. This study demonstrated fingerprinting technique can be used for quality control and then enhancing the safety of Cistanches Herba products.

Key words: Cistanches Herba, chemical fingerprint, ultra-high performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry