

# 基于超高效液相色谱-质谱联用技术和化学计量学方法比较白芥子炒制前后的化学成分<sup>△</sup>

贾小舟<sup>1,2\*</sup>, 杨小龙<sup>1</sup>, 卢晓莹<sup>1</sup>, 梁月仪<sup>1</sup>, 何民友<sup>1</sup>, 陈向东<sup>1</sup>, 魏梅<sup>1</sup>, 孙冬梅<sup>1</sup>, 李振雨<sup>1#</sup> (1. 广东一方制药有限公司/广东省中药配方颗粒企业重点实验室, 广东佛山 528244; 2. 广州中医药大学附属第一医院, 广州 510400)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)22-2731-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.22.08



**摘要** 目的: 比较白芥子炒制前后的化学成分。方法: 采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱质谱(UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS)联用技术对白芥子炒制前后的化学成分进行分析。色谱柱为 Waters CORTECS T3, 流动相为甲醇-0.1% 甲酸溶液(梯度洗脱), 流速为 0.25 mL/min, 柱温为 30 ℃, 进样量为 2 μL; 高分辨 MS 采用加热电喷雾离子源, 于正离子扫描模式下扫描, 扫描范围为  $m/z$  120~1 000。采用 Compound Discover 3.2 软件结合相关数据库等对白芥子炒制前后的化学成分进行鉴定, 以峰面积对成分含量变化进行初步评价, 再以峰面积为变量对成分含量变化进行化学计量学分析。结果: 从白芥子中共鉴定出 54 种化学成分, 主要为脂肪酸类(以芥子酸为代表)、生物碱类(以芥子碱为代表)、黄酮类等化合物。经炒制后共有 19 种化学成分的含量发生了明显变化, 其中 10 种显著降低、9 种显著升高( $P < 0.05$ )。主成分分析和正交偏最小二乘法判别分析均能将白芥子与炒白芥子明显区分开。结论: 白芥子经炒制后, 其部分化学成分含量发生了明显变化, 这可能是该药材炒制后功效发生改变的重要原因之一。**关键词** 白芥子; 炒制; 化学成分; 超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱质谱联用技术; 主成分分析; 正交偏最小二乘法判别分析

## Comparison of Chemical Constituents of *Sinapis alba* before and after Stir-frying Based on UPLC-MS and Chemometrics Methods

JIA Xiaozhou<sup>1,2</sup>, YANG Xiaolong<sup>1</sup>, LU Xiaoying<sup>1</sup>, LIANG Yueyi<sup>1</sup>, HE Minyou<sup>1</sup>, CHEN Xiangdong<sup>1</sup>, WEI Mei<sup>1</sup>, SUN Dongmei<sup>1</sup>, LI Zhenyu<sup>1</sup> (1. Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd./Guangdong Provincial Key Lab of TCM Formula Granules Enterprise, Guangdong Foshan 528244, China; 2. The First Affiliated Hospital of Guangdong University of TCM, Guangzhou 510400, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To compare the chemical components in *Sinapis alba* before and after stir-frying. METHODS: UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS was adopted to analyze chemical constituents of *S. alba* before and after stir-frying. The determination was performed on Waters CORTECS T3 column with mobile phase consisted of methanol-0.1% formic acid solution (gradient elution) at the flow rate of 0.25 mL/min. The column temperature was 30 ℃ and the sample size was 2 μL. High resolution MS adopted heating electrospray electron source, positive ion scanning mode, scanning range  $m/z$  120-1 000. The chemical constituents of *S. alba* before and after stir-frying were identified by Compound Discover 3.2 software combined with relevant database, and the content changes of chemical constituents were analyzed by using peak area. Chemometrics analysis was performed for the content changes of chemical constituents using peak area as variable. RESULTS: A total of 54 chemical components were identified in *S. alba*, mainly fatty acids (represented by erucic acid), alkaloids (represented by sinapine), flavonoids. After stir-frying, the contents of 19 chemical components changed significantly, of which the contents of 10 components decreased significantly and those of 9 components increased significantly ( $P < 0.05$ ). Principal component analysis and orthogonal partial least squares discriminant analysis could clearly distinguish *S. alba* from stir-fried *S. alba*. CONCLUSIONS: The contents of some chemical components of *S. alba* change significantly after stir-frying, which may be one of the important reasons for the change of efficacy after stir-frying.

**KEYWORDS** *Sinapis sinapis*; Stir-frying; Chemical constituents; UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS; PCA; OPLS-DA

△ 基金项目: 广东省省级科技计划项目(No.2018B030323004); “广东特支计划”科技创业领军人才项目(No.2017TY04R197)

\* 博士。研究方向: 中药药效物质基础、中药配方颗粒。电话: 0757-85128602。E-mail: 2630151879@qq.com

# 通信作者: 主管中药师, 硕士。研究方向: 中药饮片、中药配方颗粒。电话: 0757-85128602。E-mail: 1083656123@qq.com

白芥子为十字花科植物白芥 *Sinapis alba* L. 的干燥成熟种子, 性温, 味辛, 归肺经, 具有温肺祛痰、利气散结、通络止痛之功效<sup>[1]</sup>。化学成分研究表明, 白芥子含有多糖、挥发油、脂肪酸、生物碱、黄酮等 5 大类成分<sup>[2]</sup>。药理学研究证实, 白芥子中的白芥子苷、脂肪油、芥子碱、

芥子酶等成分的辛散力强,可通络止痛、散结消肿,故临床广泛用其治疗痰瘀阻络所致的内科、外科及妇科多种疾病<sup>[3]</sup>。白芥子中的芥子油(如油酸、芥酸等)有刺鼻的辛辣味及刺激作用,能使皮肤和黏膜发生水肿、水疱,剂量过大还易引起强烈的胃肠道刺激<sup>[2]</sup>。因此,临床上多以白芥子的炒制品配伍入方,可缓和其辛散走窜之性,避免耗气伤阴,并善于顺气豁痰,用于痰多咳嗽的治疗;同时,白芥子经炒制后种皮破裂,其有效成分易被煎出,可充分发挥其利气散结等功效<sup>[4]</sup>。

近年来,学界对白芥子的研究多集中在其化学成分和药理药效方面<sup>[5-10]</sup>,尚未见针对白芥子炒制后化学成分变化的分析报道。鉴于此,本研究采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱质谱(UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS)联用技术对白芥子炒制后的化学成分进行分析,采用Compound Discover 3.2软件对其化学成分进行鉴定,并结合化学计量学方法对其炒制前后的化学成分及含量进行比较,以期揭示白芥子的炒制内涵提供科学依据。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有 Thermo Vanquish Flex 型 UPLC-Thermo Fisher QE 型高分辨 MS 联用仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)、ME204E 型万分之一电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司)、KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)、Milli-Q Direct 型超纯水系统(美国 Millipore 公司)等。

### 1.2 主要试剂与药品

本研究所用的主要试剂有甲醇(MS 纯,美国 Merck 公司,批号 1122707049)、甲酸(MS 纯,德国 CNW 公司,批号 A8310050);其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

本研究共收集白芥子药材 10 批(样品来源信息如表 1 所示),经广东一方制药有限公司魏梅主任药师鉴定,均为十字花科植物白芥 *S. alba* L. 的干燥成熟种子。10 批炒白芥子饮片按照 2020 年版《中国药典》(一部)“芥子”项下饮片炮制规定进行炮制,具体方法为:取净白芥子,照清炒法(通则 0213)炒至淡黄色至深黄色,有香辣气,用时捣碎<sup>[1]</sup>。

## 2 方法

### 2.1 供试品溶液的制备

取白芥子和炒白芥子粉末(过三号筛)约 0.1 g,精密称定,分别置于具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 50 mL,称定质量,超声(功率 250 W,频率 50 kHz)处理 30 min,放冷,再次称定质量,用 50% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

### 2.2 分析条件

2.2.1 色谱条件 以 Waters CORTECS T3(150 mm×2.1 mm,

表 1 白芥子样品来源信息

Tab 1 Source information of *S. alba*

白芥子样品编号	炒白芥子样品编号	产地来源
G01	(C)G01	四川省德阳市
G02	(C)G02	四川省德阳市
G03	(C)G03	四川省德阳市
G04	(C)G04	四川省绵阳市
G05	(C)G05	四川省绵阳市
G06	(C)G06	四川省绵阳市
G07	(C)G07	四川省绵阳市
G08	(C)G08	四川省绵阳市
G09	(C)G09	四川省绵阳市
G10	(C)G10	四川省广元市

1.6 μm)为色谱柱,以甲醇(A)-0.1%甲酸溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~13 min,100%B→97%B;13~14 min,97%B→85%B;14~23 min,85%B;23~34 min,85%B→76%B;34~44 min,76%B→55%B;44~50 min,55%B→15%B);流速为 0.25 mL/min;柱温为 30 ℃;进样量为 2 μL<sup>[11]</sup>。

2.2.2 MS 条件 采用加热电喷雾离子源(HESI),喷雾电压为 3.80 kV,加热温度为 350 ℃,毛细管温度为 350 ℃;鞘气流速为 35 arb,辅助气流速为 10 arb;分别于正、负离子模式下进行扫描,扫描范围为  $m/z$  120~1 000;S-lens 电压为 50 V;归一化碰撞能量(NCE)为 40 eV。

分别采集正、负离子扫描模式下白芥子与炒白芥子样品的总离子流图(TIC),结果发现,负离子扫描模式下出峰较少,而正离子扫描模式下色谱峰的响应较强,因此后续的分析选择在正离子扫描模式下进行。白芥子和炒白芥子的 TIC(正离子扫描模式)分别如图 1、图 2 所示。

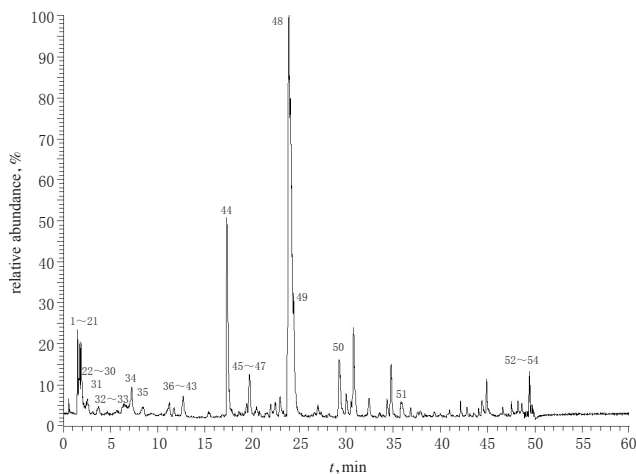


图 1 白芥子的 TIC(正离子扫描模式)

Fig 1 TIC chromatogram of *S. alba*(positive ion scanning mode)

### 2.3 数据处理

取“2.1”项下供试品溶液适量,按“2.2”项下分析条件进样分析,采集所有样品的色谱图和多级 MS 图,采用 Compound Discover 3.2 软件对所提取色谱峰的一级和

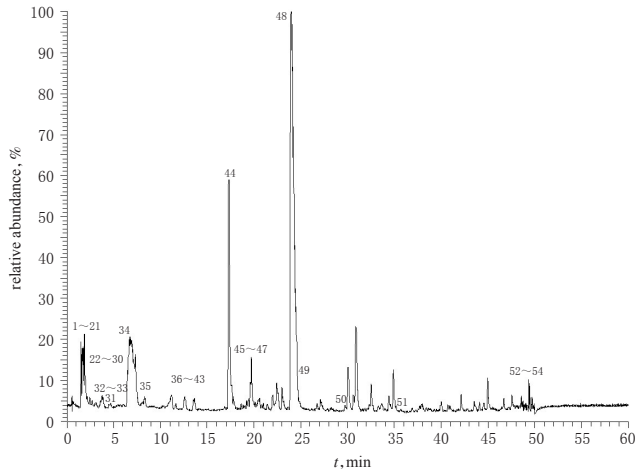


图2 炒白芥子的TIC(正离子扫描模式)

Fig 2 TIC chromatogram of *S. alba* after stir-frying (positive ion scanning mode)

二级MS进行解析,确定目标化合物的精确分子量、质量数偏差及加合物离子信息,通过与mzCloud数据库、中药成分高分辨MS OTCML数据库等进行比对,根据比对结果对白芥子炒制前后的化学成分进行鉴定,以峰面积对成分含量变化进行初步评价,以log<sub>2</sub>FC[FC即倍数变化(fold change),表示两样品(组)间峰面积的比值]的绝对值大于1且P<0.05表示差异有统计学意义。再以峰面积为变量,采用SIMCA 14.1软件对白芥子炒制前后的离子数据进行主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA),绘制白芥子炒制前后化学成分含量变化的火山图,分析白芥子炒制后化学成分及其含量的变化。

### 3 结果

#### 3.1 化学成分鉴定

笔者查阅文献[2-4],并经mzCloud数据库、中药成分高分辨MS OTCML数据库或与对照品比对,一共从白芥子中鉴定出54种化学成分,如表2所示。

由表2可知,本研究鉴定出来的54种化学成分主要为脂肪酸类、生物碱类、黄酮类和其他类化合物。其中,脂肪酸类成分以白芥子的有效成分芥子酸为代表,其保留时间为36.942 min,在正离子扫描模式下的准分子离子峰为m/z 225.060 5[M+H]<sup>+</sup>,二级MS可见m/z 207.065 2、175.039 0、147.044 1、119.049 4的特征离子;生物碱类成分以芥子碱为代表,其保留时间为23.923 min,在正离子扫描模式下的准分子离子峰为m/z 310.164 6[C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>5</sub>]<sup>+</sup>,二级MS可见m/z 251.091 4、207.065 3、175.065 3、147.044 0、119.049 3的特征离子;其他类成分以麦芽糖为代表,其保留时间为2.213 min,在正离子扫描模式下的准分子离子峰为m/z 360.150 1[M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>,二级MS可见m/z 85.028 9、127.039 0、145.049 6的特征离子。

本研究采用正离子扫描模式对白芥子炒制前后的

表2 白芥子炒制后的化学成分含量变化

Tab 2 Changes of chemical constituents of *S. alba* after stir-frying

序号	化学成分	保留时间, min	分子量	分子式	log <sub>2</sub> FC	P	含量变化
1	六氢吡啶羧酸(pipelic acid)	1.583	129.079 0	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	0.14	0.322	/
2	L-组氨酸(L-histidine)	1.656	155.069 6	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	-0.51	0.002	/
3	N <sub>6</sub> ,N <sub>6</sub> ,N <sub>6</sub> -trimethyl-L-lysine	1.665	188.152 5	C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	-0.58	0.067	/
4	葡萄糖胺(D-glucosamine)	1.672	179.079 5	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub>	2.55	0.001	升高
5	4-乙酰氨基丁酸(4-acetamidobutanoic acid)	1.689	145.073 9	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>	4.79	0.001	升高
6	1-甲基-L-组氨酸(1-methylhistidine)	1.692	169.085 2	C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	-0.84	0.001	/
7	D-天冬酰胺(asparagine)	1.693	132.053 6	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	-0.46	0.001	/
8	D-天冬氨酸[D-(+)-aspartic acid]	1.710	133.037 6	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>4</sub>	-0.40	0.002	/
9	DL-高丝氨酸(DL-homoserine)	1.740	119.058 5	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	-0.54	0.010	/
10	D-葡萄糖-6-磷酸(D-glucose-6-phosphate)	1.751	260.029 7	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> P	-3.74	0.001	降低
11	胆碱(choline)	1.764	103.100 1	C <sub>5</sub> H <sub>14</sub> NO	-0.25	0.126	/
12	γ-氨基丁酸(γ-aminobutyric acid)	1.809	103.063 8	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	1.40	0.005	升高
13	L-蛋氨酸(methionine sulfoxide)	1.820	165.046 0	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub> S	-1.12	0.004	降低
14	左旋肉碱[L(-)-carnitine]	1.858	161.105 2	C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>	-0.42	0.692	/
15	麦芽三糖(maltotriose)	1.909	504.169 3	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>16</sub>	-0.23	0.270	/
16	盐酸硫胺素(thiamine)	1.910	264.104 5	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> N <sub>4</sub> OS	0.36	0.201	/
17	DL-水苏碱(DL-stachydrine)	1.917	143.094 8	C <sub>7</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	0.12	0.663	/
18	α-D-乳糖水合物(α-lactose)	1.917	342.116 2	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	-0.29	0.018	/
19	acetyl-β-methylcholine	1.950	159.126 0	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>2</sub>	-0.02	0.603	/
20	糠酸(2-furoic acid)	1.956	112.016 3	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	-0.99	0.169	/
21	L-谷氨酸(L-glutamic acid)*	1.957	147.053 1	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>	-1.53	0.001	降低
22	麦芽糖(β-maltose)	2.213	342.116 2	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	-0.62	0.001	/
23	腺苷酸(adenosine 5'-monophosphate)	2.234	347.063 1	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub> P	5.06	0.001	升高
24	烟酰胺核苷酸(β-nicotinamide mononucleotide)	2.443	334.056 5	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> P	-5.84	0.001	降低
25	L-缬氨酸(valine)	2.455	117.079 2	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	-1.13	0.001	降低
26	4-胍基丁酸(4-guanidinobutyric acid)	2.505	145.085 1	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	-0.63	0.001	/
27	L-蛋氨酸[L(-)-methionine]	2.983	149.051 1	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub> S	0.25	0.612	/
28	谷胱甘肽(还原型)[L-glutathione(reduced)]	3.312	307.083 8	C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S	2.35	0.001	升高
29	烟酰胺(nicotinamide)	3.556	122.048 2	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O	3.88	0.001	升高
30	L-焦谷氨酸(L-pyroglutamic acid)	3.687	129.042 7	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>	2.63	0.001	升高
31	异亮氨酸(isoleucine)*	4.704	131.094 7	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	-0.32	0.329	/
32	L-叔亮氨酸(leucine)	5.028	131.094 7	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	-0.49	0.008	/
33	L-酪氨酸(L-tyrosine)*	5.825	181.073 9	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	-0.76	0.001	/
34	反玉米蛋白(trans-zeatin)	7.293	219.111 9	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O	-0.33	0.010	/
35	氧化型谷胱甘肽(L-glutathione oxidized)	8.486	612.151 7	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S <sub>2</sub>	-4.28	0.001	降低
36	腺苷(adenosine)*	11.043	267.096 7	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	0.02	0.485	/
37	zeatin-7-N-glucoside	11.199	381.164 6	C <sub>16</sub> H <sub>23</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub>	-0.14	0.499	/
38	L-苯丙氨酸(L-phenylalanine)	11.675	165.079 0	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	-0.63	0.003	/
39	D-谷氨酰胺(D-(+)-glutamine)	12.641	146.069 2	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	-0.40	0.015	/
40	D-焦谷氨酸[D-(+)-pyroglutamic acid]	12.643	129.042 7	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>	-0.40	0.019	/
41	鸟苷(guanosine)*	12.762	283.091 8	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub>	-0.63	0.245	/
42	5-羟甲基糠醛(5-hydroxymethyl-2-furaldehyde)*	12.846	126.031 9	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	-0.03	0.714	/
43	2-phenylglycine	13.673	151.063 3	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	6.07	0.001	升高
44	胍丁胺(agmatine)	17.615	130.122 0	C <sub>5</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub>	2.55	0.001	升高
45	半胱氨酰甘氨酸(cysteinylglycine)	19.232	178.041 3	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S	-0.29	0.017	/
46	对羟基苯乙酮(piceol)*	19.463	136.052 5	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	-2.23	0.001	降低
47	iberin	20.356	163.012 4	C <sub>7</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	-4.22	0.002	降低
48	芥子碱(sinapine)*	23.923	310.164 5	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> NO <sub>5</sub>	-0.15	0.349	/

注：“\*”表示与对照品比对；“/”表示炒制前后成分含量差异无统计学意义(P>0.05)

Note: “\*” means compared with substance control; “/” means there was no statistical significance in content before and after stir-frying (P>0.05)

续表2

Continued tab 2

序号	化学成分	保留时间, min	分子量	分子式	log <sub>2</sub> FC	P	含量变化
49	香豆素(coumarin)*	24.124	146.036	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	0.16	0.971	/
50	对羟基苯甲醛(4-hydroxybenzaldehyde)	29.477	122.036	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	-3.74	0.001	降低
51	芥子酸(sinapic acid)*	36.942	224.068	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	-1.93	0.010	降低
52	β-细辛脑(β-asarone)	48.208	208.110	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	0.06	0.818	/
53	茉莉酸(jasmonic acid)	48.767	210.125	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	0.05	0.187	/
54	十二烷基伯胺(dodecylamine)	49.725	185.214	C <sub>12</sub> H <sub>27</sub> N	-0.51	0.015	/

化学成分进行分析,通过TIC图(图1、图2)可知,炒制后白芥子中的一些化学成分发生了变化,如4-乙酰氨基丁酸(成分5)、腺苷酸(成分23)等成分的含量显著升高,对羟基苯甲醛(成分50)、D-葡萄糖-6-磷酸(成分10)、烟酰胺核苷酸(成分24)等成分的含量显著降低,这些化学成分含量的变化可能是白芥子炒制后功效发生改变的重要原因之一。

### 3.2 白芥子炒制前后化学成分含量的PCA结果

采用SIMCA 14.1软件对白芥子炒制前后的化学成分含量进行PCA(其得分图如图3所示),可得白芥子和炒白芥子样品均处于置信区间内,且两种样品被完全分开,说明白芥子和炒白芥子的化学成分含量有较明显的差异。

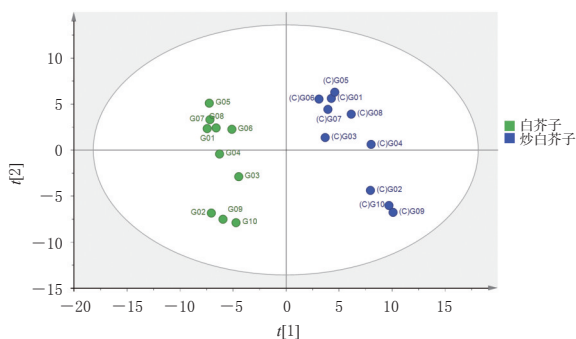


图3 白芥子和炒白芥子样品的PCA得分图

Fig 3 PCA scoring plot of *S. alba* before and after stir-frying

### 3.3 白芥子炒制前后化学成分含量的OPLS-DA结果

OPLS-DA被广泛应用于代谢组学数据的分析,由于其分析方法能够将组间差异最大化,故常被用于差异代谢物的筛选<sup>[12]</sup>。笔者采用SIMCA 14.1软件,对白芥子炒制前后的化学成分含量进行OPLS-DA(其得分图如图4所示),并对其进行200次置换检验(检验结果如图5所示)。结果可得,所建立的OPLS-DA模型的 $R^2(X)=0.686$ , $R^2(Y)=0.990$ , $Q^2=0.967$ ( $>0.5$ ),表明该模型可用于白芥子炒制前后化学成分含量的模式识别<sup>[13]</sup>。

本研究采用OPLS-DA模型中的变量重要性投影(VIP)值进行样品之间差异代谢物的筛选。根据每一变量的系数置信区间和变量权重的VIP值,可衡量各共有峰的表达模式对样本分类别的影响强度和解释能力:

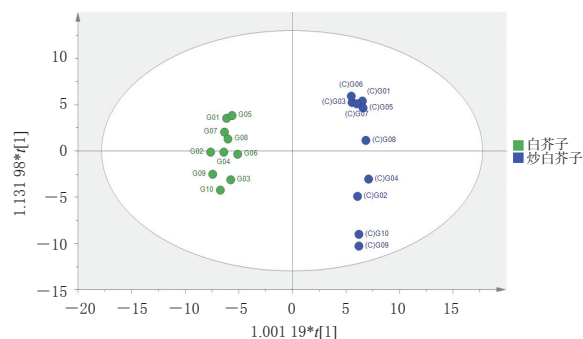
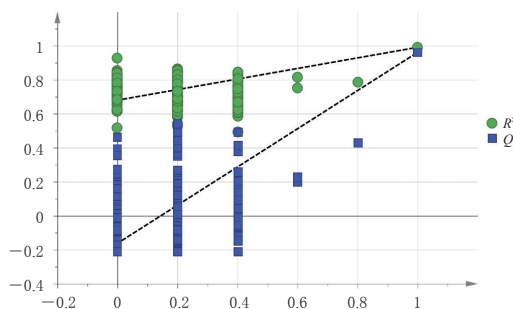


图4 白芥子和炒白芥子化学成分含量的OPLS-DA得分图

Fig 4 OPLS-DA scoring plot of the contents of chemical constituents in *S. alba* before and after stir-frying图5 白芥子和炒白芥子化学成分含量的OPLS-DA置换检验结果( $n=200$ )Fig 5 OPLS-DA displacement test results of the contents of chemical constituents in *S. alba* before and after stir-frying( $n=200$ )

当 $VIP>1$ 时,表明该变量对所建模型的贡献率高于平均水平<sup>[13]</sup>。笔者根据 $VIP>1$ 和 $P<0.05$ 筛选出白芥子炒制前后含量差异有统计学意义的化学成分,以 $\log_2FC$ 为横坐标、以显著性检验 $P$ 值的负对数( $-\log_{10}P$ )为纵坐标绘制火山图(图6),图中偏离中心越远的点,表示差异倍数越大。结果显示,所鉴定出的54种化学成分中,共有19种的含量发生了明显变化:10种化学成分的含量在炒制后显著降低,9种化学成分的含量在炒制后显著升高,与炒制前比较,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),如表2所示。采用SIMCA 14.1软件对白芥子与炒白芥子的化学成分含量变化进行聚类分析,发现两种样品可被明显区分为两大类,如图7所示。

## 4 讨论

据文献报道,白芥子中主要含有多糖类、挥发油类、脂肪酸类、生物碱类、黄酮类等化学成分,共有60余种单体化合物得到分离和结构确证<sup>[5]</sup>。本研究利用UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS联用技术对白芥子炒制前后的化学成分进行分析,并采用Compound Discover 3.2软件进行鉴定,以mzCloud数据库、中药成分高分辨MS OTCML

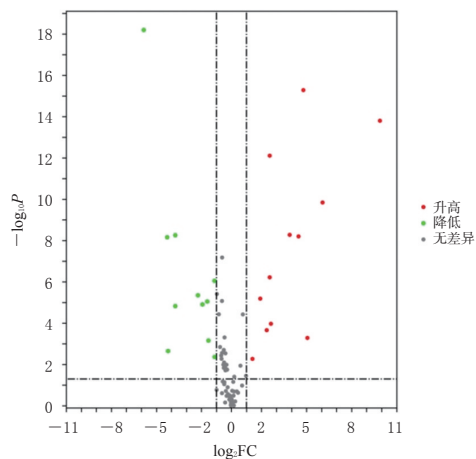


图6 白芥子和炒白芥子化学成分含量变化的火山图  
Fig 6 Volcanic map of the content changes of chemical constituents in *S. alba* before and after stir-frying

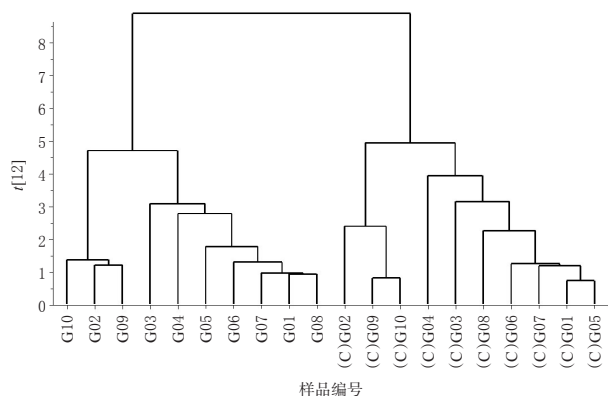


图7 白芥子和炒白芥子化学成分含量变化的聚类分析结果  
Fig 7 Cluster analysis of the content changes of chemical constituents in *S. alba* before and after stir-frying

数据库及对照品进行对比,从白芥子中共鉴定出54种化学成分,主要为脂肪酸类、生物碱类、黄酮类和其他类化合物,其中有19种成分的含量在炒制后发生了明显变化(10种显著降低,9种显著升高)。

由本研究结果可推测,4-乙酰氨基丁酸、对羟基苯甲醛等19种化学成分的含量变化可能是增强炒白芥子顺气豁痰等药效作用的物质基础;同时,白芥子在炒制过程中有香辣气溢出,这可能是缓和白芥子的辛散走窜之性、降低其刺激作用的重要原因之一<sup>[11]</sup>;另外,在此次分析中还鉴定出多种氨基酸类成分(如组氨酸、谷氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸等),这些游离氨基酸也可能是影响中药炒制后成分含量发生变化的关键物质<sup>[14]</sup>——以上因素可为揭示白芥子的炒制内涵提供科学依据。但是,本研究仅对白芥子炒制后部分化学成分

的变化进行了分析,后续将进一步对该药材中其他挥发性成分进行深入研究。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:167-168.
- [2] 冯宝民,余正江,段礼新,等.炒白芥子中化学成分的研究[J].中草药,2008,39(3):331-334.
- [3] 万军梅.中药白芥子研究进展[J].中国民族民间医药,2014,23(11):20-22.
- [4] 孙银芳.中药白芥子最新研究进展[J].新中医,2015,47(10):209-211.
- [5] 孙远梅,曾智锐,王婧雅,等.芥子碱硫氰酸盐增强HepG2细胞对吉西他滨敏感性的作用[J].中成药,2021,43(4):901-907.
- [6] 吴圣曦,赖兰香,吴国欣,等.白芥子挥发油提取工艺优化及其化学成分鉴定[J].中华中医药杂志,2010,25(5):680-682.
- [7] 李日葵,林一星.白芥子中脂溶性成分的气相色谱-质谱联用分析[J].重庆医学,2012,41(26):2749-2750.
- [8] BAHMID N A, HEISING J, DEKKER M. Multiresponse kinetic modelling of the formation, release, and degradation of allyl isothiocyanate from ground mustard seeds to improve active packaging[J]. J Food Eng, 2021, 292: 110370-110378.
- [9] AHMED A G, HUSSEIN U K, AHMED A E, et al. Mustard seed (*Brassica nigra*) extract exhibits antiproliferative effect against human lung cancer cells through differential regulation of apoptosis, cell cycle, migration, and invasion[J]. Molecules, 2020, 25(9):2069-2087.
- [10] 金璇,周鹤峰.白芥子提取物通过调控lncRNAC ASC2的表达影响宫颈癌细胞增殖、迁移、侵袭的实验研究[J].中草药,2020,43(12):3029-3034.
- [11] 何民友,王利伟,吴淑珍,等.芥子及其炮制品配方颗粒的UPLC指纹图谱研究[J].广东药科大学学报,2020,36(4):484-490.
- [12] THÉVENOT E A, ROUX A, XU Y, et al. Analysis of the human adult urinary metabolome variations with age, body mass index, and gender by implementing a comprehensive workflow for univariate and OPLS statistical analyses[J]. J Proteome Res, 2015, 14(8):3322-3335.
- [13] 郭丽,杨忠杰,于晓涛,等.南、北五味子药材的HPLC指纹图谱建立及化学模式识别分析[J].中国药房,2020,31(18):2224-2229.
- [14] 陈乃东,朱赛,王荣花,等.柱前衍生化-HPCE法测定霍山石斛中游离氨基酸[J].生物学杂志,2020,37(3):110-114.

(收稿日期:2021-04-26 修回日期:2021-09-23)

(编辑:胡晓霖)