

不同基原芥子及其炒制品 UPLC 特征图谱和化学模式识别的对比研究



丘 娴^{1,2}, 马懿飞^{1,2}, 彭 娇^{1,2}, 周湘媛^{1,2}, 周 林^{1,2}, 陈向东^{1,2}, 何民友^{1,2},
孙冬梅^{1,2}, 李振雨^{1,2}

1. 广东一方制药有限公司 (广东佛山 528244)
2. 广东省中药配方颗粒企业重点实验室 (广东佛山 528244)

【摘要】目的 建立芥子及其炒制品超高效液相色谱 (UPLC) 特征图谱, 对比不同基原芥子及炒制品 UPLC 特征图谱的异同。**方法** 采用 UPLC 法测定白芥子、黄芥子及其对应炒制品的特征图谱, 并对特征图谱的结果进行化学模式识别研究。**结果** 不同基原芥子及特征图谱差异较大, 其中, 峰 4 (芥子碱硫氰酸盐)、峰 5、峰 8 (芥子酸) 为不同基原芥子的共有特征峰, 且可传递至对应炒芥子; 峰 1 (白芥子苷)、峰 2 (对羟基苯甲醇)、峰 3、峰 6、峰 7 为白芥子的专属成分, 峰 11 (4-羟基芸苔葡萄糖硫苷)、峰 12 ~ 峰 16 为黄芥子的专属成分; 另外, 峰 2、峰 9、峰 10 为区分白芥子和炒白芥子的重要标志物, 峰 11 为区分黄芥子和炒黄芥子的重要标志物。**结论** 本研究建立的 UPLC 特征图谱方法可以区分不同基原芥子及其炒制品, 为芥子、炒芥子的质量控制提供依据。

【关键词】 白芥子; 黄芥子; 炒制品; 超高效液相色谱; 特征图谱

【中图分类号】 R284.1

【文献标识码】 A

Comparative study on *Sinapis alba* L., *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss and processed products by using UPLC characteristic chromatograms and chemical pattern recognition

QIU Xian^{1,2}, MA Yifei^{1,2}, PENG Jiao^{1,2}, ZHOU Xiangyuan^{1,2}, ZHOU Lin^{1,2}, CHEN Xiangdong^{1,2},
HE Minyou^{1,2}, SUN Dongmei^{1,2}, LI Zhenyu^{1,2}

1. Guangdong Yifong Pharmaceutical Co. Ltd., Foshan 528244, Guangdong Province, China
 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formula, Foshan 528244, Guangdong Province, China
- Corresponding author: LI Zhenyu, Email: 1083656123@qq.com

【Abstract】Objective To establish and compare the UPLC characteristic chromatograms of *Sinapis alba* L., *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss and their processed products. **Methods** The characteristic chromatograms of *Sinapis alba* L., *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss and their processed products were determined by UPLC method, and chemometric pattern recognition analysis was performed based on the characteristic chromatograms. **Results** There were significant differences in the characteristic chromatograms. Peak 4 (sinapine thiocyanate), peak 5, and peak 8 (sinapic acid) were common characteristic peaks of *Sinapis alba* L., *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss and their processed products. Peak 1 (sinalbin), peak 2 (p-hydroxybenzyl alcohol),

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202604126

基金项目: 佛山市自筹经费类科技创新项目 (2320001007559); 佛山市南海区重点领域科技攻关专项 (南科 [2023] 20 号-18)

通信作者: 李振雨, 硕士, 副主任中药师, Email: 1083656123@qq.com

<https://yxqy.whuznhmedj.com>

peak 3, peak 6 and peak 7 were specific components of *Sinapis alba* L., while peak 11 (4-hydroxyglucobrassicin) and peak 12-16 were specific components of *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss. In addition, Peak 2, Peak 9 and Peak 10 were important markers for distinguishing *Sinapis alba* and its processed products. Peak 11 served as a key marker for distinguishing *Brassica juncea* and its processed products. **Conclusion** The UPLC characteristic chromatogram method established in this study enables the discrimination of *Sinapis alba* L., *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss and their processed products, providing a basis for the quality control of *Sinapis alba* L., *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss and their processed products.

【Keywords】 *Sinapis alba* L.; *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss; Processed products; UPLC; Characteristic chromatogram

芥子为十字花科植物白芥 (*Sinapis alba* L.) 和芥 [*Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss] 的干燥成熟种子, 前者常称为“白芥子”, 后者常称为“黄芥子”^[1]。不同基原芥子化学成分和药效略有差异, 白芥子富含白芥子苷^[2], 辛温力强; 黄芥子主要成分为黑芥子苷^[3], 辛散缓和; 炮制后两者辛温之性均趋于缓和、药效增强^[4-9], 炒制程度对炒芥子的药效具有一定影响^[10]。由于不同基原芥子性状相近, 但药效和市场流通价格存在差异, 药材流通中常出现以两种基原及其炒制品混合使用的情况, 易造成用药偏差。因此, 亟须建立直观、可靠的检测方法, 实现不同基原芥子及其炮制品的精准鉴别, 规避基原混淆导致的用药偏差。

现代研究常采用特征图谱的分析方法来评价中药材的质量^[11-13]。目前已有研究利用HPLC或超高效液相色谱(UPLC)指纹图谱、特征图谱结合聚类分析、主成分分析等化学模式识别方法, 实现了白芥子与黄芥子^[14]、白芥子与炒白芥子^[15]的区分, 并考察了芥子炒制前后化学成分的变化规律^[16-17], 表明特征图谱结合化学模式识别用于芥子基原与炮制品鉴别具有可行性。然而, 现有研究多针对单一基原或饮片、水煎液、配方颗粒等特定剂型, 尚缺乏将白芥子、黄芥子及其各自炒制品置于同一色谱体系下进行系统比较的研究, 对炒制程度的评价亦仍以性状描述为主, 缺乏客观量化依据。

基于上述问题, 本研究建立UPLC特征图谱分析方法, 用于区分不同基原芥子及炒制品, 为芥子的质量控制提供依据; 同时结合化学模式识别分析, 明确白芥子、黄芥子及其炮制品的特征图谱差异性, 为炒制程度的客观评价提供量化参考, 弥补传统性状判断的主观不足。该方法可用

于药材流通环节的基原鉴定与炒芥子的质量评价, 为芥子质量控制标准的制定及临床安全、合理用药提供技术支撑, 具有良好的实用价值。

1 仪器与材料

1.1 主要仪器

1290型Agilent高效液相色谱仪(美国安捷伦公司); H-Class Waters高效液相色谱仪(美国沃特世有限公司); Vanquish Thermo高效液相色谱仪(美国赛默飞世尔科技有限公司); ME204E万分之一分析天平(瑞士梅特勒托利多公司); XP26百万分之一分析天平(瑞士梅特勒托利多公司); KQ500DE数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); HWS28型恒温水浴锅(上海一恒科技有限公司); Milli-Q Direct超纯水系统(默克德国股份有限公司)。

1.2 主要药品与试剂

芥子碱硫氰酸盐(批号: 111702-201605, 纯度99.0%)、对羟基苯甲醇(批号: 111970-202303, 纯度97.4%)对照品均来源于中国食品药品检定研究院; 4-羟基苯甲酰胆碱(批号: STF6070110, 纯度98.0%)、芥子酸(批号: ST57000120, 纯度98.0%)、白芥子苷(批号: STC2200105, 纯度98.0%)、4-羟基芸苔葡萄糖硫苷(批号: STF2230205, 纯度95.0%)对照品均来源于上海诗丹德标准技术服务有限公司; 甲醇(天津市富宇精细化工有限公司, 分析纯); 磷酸(天津市科密欧化学试剂有限公司, 色谱纯); 乙腈(默克股份有限公司, 色谱纯); 水为超纯水(实验室自制)。

15批黄芥子药材和15批白芥子药材经广州中医药大学中药学院黄海波教授鉴定分别为十字花科植物芥 [*Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss]

的干燥成熟种子和十字花科植物白芥 (*Sinapis alba* L.) 的干燥成熟种子。参照《中国药典》2025 年版^[1]炒芥子项下, 以及《北京市中药饮片炮制规范》2023 年版^[18]的规定, 分别取 15 批

黄芥子和白芥子药材制备炒黄芥子和炒白芥子饮片, 具体炮制方法: 取芥子药材, 除去杂质, 在 120 °C 下炒制 10 ~ 15 min, 即得。60 批芥子及炒芥子的产地及批号详见表 1。

表 1 白芥子、黄芥子及其炒制品来源信息表

Table 1. Source information of mustard seeds from *Sinapis alba* L., *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss and their stir-fried products

基原	生品批号	炒制品批号	产地	基原	生品批号	炒制品批号	产地
芥子 (芥) <i>Brassica juncea</i> (L.) Czern. et Coss	HJ-1	CHJ-1	安徽	芥子 (白芥) <i>Sinapis alba</i> L.	BJ-1	CBJ-1	四川
	HJ-2	CHJ-2	安徽		BJ-2	CBJ-2	四川
	HJ-3	CHJ-3	安徽		BJ-3	CBJ-3	四川
	HJ-4	CHJ-4	安徽		BJ-4	CBJ-4	四川
	HJ-5	CHJ-5	青海		BJ-5	CBJ-5	四川
	HJ-6	CHJ-6	青海		BJ-6	CBJ-6	四川
	HJ-7	CHJ-7	青海		BJ-7	CBJ-7	四川
	HJ-8	CHJ-8	内蒙古		BJ-8	CBJ-8	四川
	HJ-9	CHJ-9	内蒙古		BJ-9	CBJ-9	四川
	HJ-10	CHJ-10	内蒙古		BJ-10	CBJ-10	四川
	HJ-11	CHJ-11	内蒙古		BJ-11	CBJ-11	四川
	HJ-12	CHJ-12	河北		BJ-12	CBJ-12	四川
	HJ-13	CHJ-13	河北		BJ-13	CBJ-13	内蒙古
	HJ-14	CHJ-14	河北		BJ-14	CBJ-14	内蒙古
	HJ-15	CHJ-15	河北		BJ-15	CBJ-15	内蒙古

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 YMC Triart C₁₈ (150 mm × 2.1 mm, 1.9 μm) 色谱柱; 以乙腈为流动相 A, 以 0.1% 磷酸溶液为流动相 B, 按表 2 程序梯度洗脱; 流速为 0.30 mL/min, 柱温为 30 °C, 检测波长为 234 nm, 进样量为 2 μL。

表 2 洗脱梯度程序

Table 2. Elution gradient programme

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0 ~ 5	1→3	99→97
5 ~ 10	3→7	97→93
10 ~ 15	7→9	93→91
15 ~ 18	9	91
18 ~ 25	9→11	91→89
25 ~ 40	11→13	89→87
40 ~ 45	13	87
45 ~ 55	13→25	87→75
55 ~ 65	25→30	75→70
65 ~ 68	30→35	70→65

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液

分别取芥子碱硫氰酸盐对照品、芥子酸对照品、白芥子苷对照品、对羟基苯甲醇对照品、4-羟

基苯甲酰胆碱对照品、4-羟基芸苔葡萄糖硫苷对照品适量, 精密称定, 加 75% 甲醇分别制成每 1 mL 含芥子碱硫氰酸盐 200 μg、芥子酸 20 μg, 白芥子苷 150 μg、对羟基苯甲醇 150 μg、4-羟基苯甲酰胆碱 50 μg、4-羟基芸苔葡萄糖硫苷 20 μg 的对照品溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液

根据《中国药典》2025 年版^[19]要求, 将 60 批芥子及炒芥子样品粉碎至能全部通过二号筛, 但混有能通过四号筛不超过 40% 的粉末, 即得样品粗粉。取上述样品粗粉约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 75% 甲醇 25 mL, 称定质量, 加热回流 30 min, 放冷, 再称定质量, 用 75% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性考察

取白芥子 (批号: BJ-1) 粗粉约 0.5 g, 按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 精密吸取供试品溶液、“2.2.1”项下对照品溶液与空白溶剂 (75% 甲醇) 各 2 μL, 按“2.1”项下色谱条件进样分析。结果如图 1 所示, 供试品与对照品相应的保留时间处有相同的色谱峰, 且空白溶剂无干扰, 说明建立的方法专属性良好。

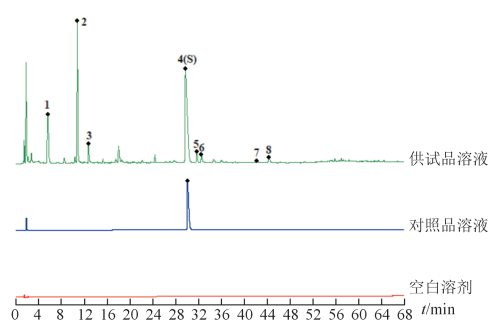


图1 专属性考察结果图

Figure 1. Specificity test results

2.3.2 精密度考察

精密吸取同一份白芥子供试品溶液 (批号: BJ-1), 连续进样6次, 以芥子碱硫氰酸盐色谱峰为参照峰S, 计算峰1~峰3、峰5~峰8与S峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示, 各特征峰与S峰的相对保留时间和相对峰面积的 *RSD* 值均小于5% ($n=6$), 说明仪器精密度良好。

2.3.3 重复性考察

精密称取同一批白芥子粗粉 (批号: BJ-1) 6份, 按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液并进行测定, 以芥子碱硫氰酸盐色谱峰为参照峰S, 计算峰1~峰3、峰5~峰8与S峰的相对保留时间和相对峰面积, 结果显示, 各特征峰与S峰的相对保留时间和相对峰面积的 *RSD* 值均小于5% ($n=6$), 说明所建立的方法重现性良好。

2.3.4 稳定性考察

精密吸取同一份供试品溶液 (批号: BJ-1), 分别于0、2、4、8、12、18、24 h进样, 以芥子碱硫氰酸盐色谱峰为参照峰S, 计算峰1~峰3、峰5~峰8与S峰的相对保留时间和相对峰面积, 结果显示, 各特征峰的相对保留时间和相对峰面积的 *RSD* 值均小于5% ($n=7$), 表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.4 不同基原芥子及其炒制品 UPLC 特征图谱的建立及相似度分析

2.4.1 不同基原芥子及其炒制品特征图谱的建立

取15批黄芥子及其炒制品、15批白芥子及其炒制品分别制备供试品溶液并进样分析, 将特征图谱数据文件导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012版) 软件中, 分别以批号 HJ-1、CHJ-1、BJ-1、CBJ-1 样品特征图谱为参照进行多点校正和共有峰匹配, 选择分离度较好、峰型较高或

成分已知的共有峰分别作为不同基原芥子特征图谱的特征峰, 15批白芥子特征图谱标识出8个共有特征峰, 其对应炒制品标识出9个; 15批黄芥子标识出9个共有特征峰, 其对应炒制品标识出8个, 叠加图分别如图2~图5所示。

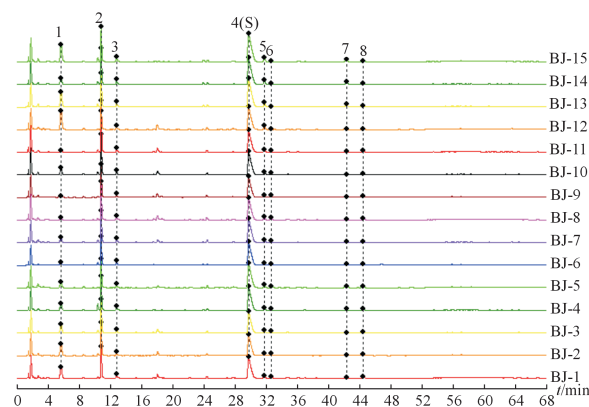


图2 15批白芥子特征图谱叠加图

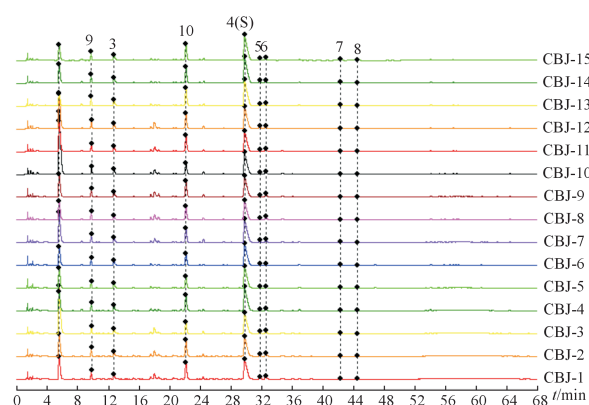
Figure 2. Overlaid characteristic fingerprints of 15 batches of *Sinapis alba* L.

图3 15批炒白芥子特征图谱叠加图

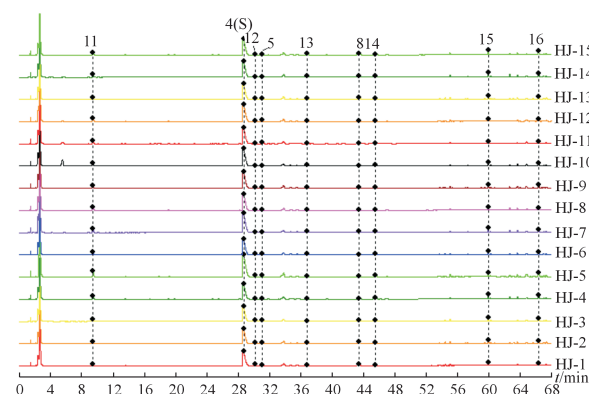
Figure 3. Overlaid characteristic fingerprints of 15 batches of stir-fried *Sinapis alba* L.

图4 15批黄芥子特征图谱叠加图

Figure 4. Overlaid characteristic fingerprints of 15 batches of *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss

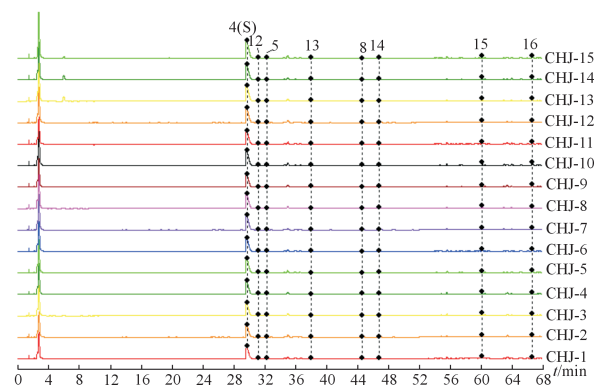


图5 15批炒黄芥子特征图谱叠加图

Figure 5. Overlaid characteristic fingerprints of 15 batches of stir-fried *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss

经过对照品液相色谱保留时间比以及对紫外3D光谱分析,确认峰1为白芥子苷、峰2为对羟基苯甲醇、峰4为芥子碱硫氰酸盐、峰8为芥子酸、峰10为4-羟基苯甲酰胆碱、峰11为4-羟基芸苔葡萄糖硫苷,对照品与供试品特征图谱叠加图如图6所示。

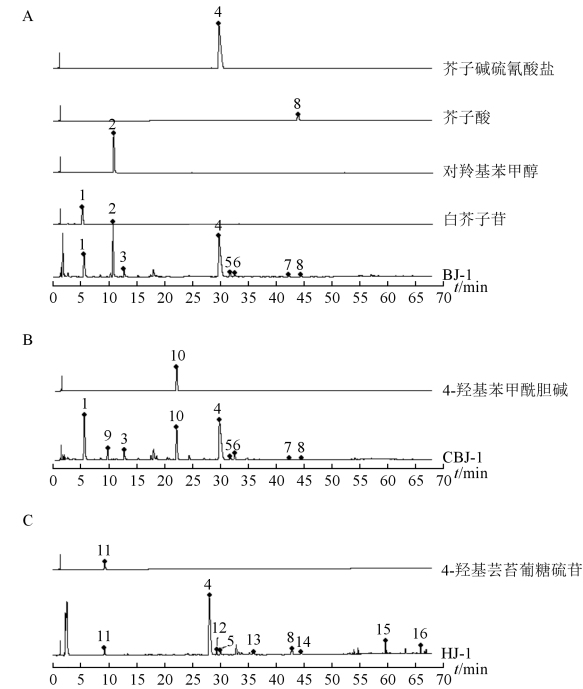


图6 白芥子、黄芥子及其炮制品特征峰指认图

Figure 6. Identification of characteristic peaks of *Sinapis alba* L., *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss and their stir-fried products

注: A.峰1、峰2、峰4、峰8指认; B.峰10指认; C.峰11指认。

采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012版)软件,以平均数法分别自动生成不同基原芥子及炒芥子对照特征图谱,对比图如图7所示。不同基原芥子特征图谱差异较大,峰4

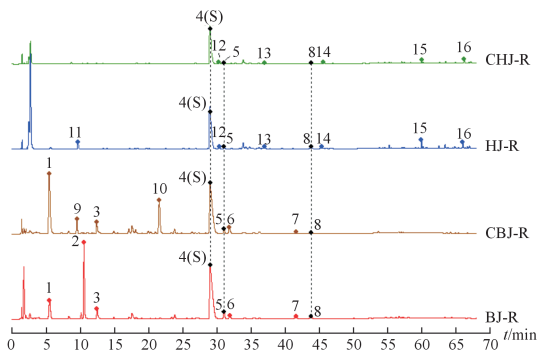


图7 白芥子、炒白芥子、黄芥子、炒黄芥子的对照特征图谱叠加图

Figure 7. Overlay of reference characteristic chromatograms of *Sinapis alba* L., stir-fried *Sinapis alba* L., *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss and stir-fried *rassica juncea* (L.) Czern. et Coss

(芥子碱硫氰酸盐)、峰5、峰8(芥子酸)为不同基原芥子的共有特征峰,且该3个特征峰在炒芥子特征图谱中仍共有,说明2种基原芥子在化学成分组成上存在一定共性,并可传递至对应炒制品中。

白芥子特征图谱中呈现白芥子苷(峰1)、对羟基苯甲醇(峰2),为芥子(白芥)基原的专属成分,另外峰3、峰6、峰7也仅在白芥子特征图谱中体现;黄芥子特征图谱呈现4-羟基芸苔葡萄糖硫苷(峰11),为芥子(芥)基原的专属性成分,峰12~峰16也仅在黄芥子特征图谱中体现。

对比白芥子与炒白芥子特征图谱发现,两者呈现7个共有特征峰(峰1、峰3~峰8),白芥子经炒制后,峰2消失,峰9和峰10(4-羟基苯甲酰胆碱)出现,说明峰2(对羟基苯甲醇)受热不稳定,峰9和峰10为炒制期间的产物,暗示通过观察峰2、峰9、峰10的变化情况,可判断炒白芥子的炒制程度。

黄芥子与炒黄芥子呈现7个共有峰(峰4、峰5、峰8、峰12~峰16),黄芥子经炒制后,峰11(4-羟基芸苔葡萄糖硫苷)消失,说明峰11为受热不稳定成分,可通过观察该特征峰在炒制期间的变化情况来判断炒黄芥子的炒制程度。

2.4.2 不同基原芥子及炒制品相似度评价

采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012版)软件,分别对15批白芥子、15批炒白芥子、15批黄芥子和15批炒黄芥子进行相似度评价,结果如表3所示,与各自生成的对照特征图谱相比,不同基原芥子及炒制品的相似度均大于

0.90, 说明不同批次的白芥子、炒白芥子、黄芥子、炒黄芥子质量稳定均一, 差异不大, 但无法反映不同基原芥子及炒制品的质量差异, 需进一步采用多元化学模式识别进行质量评价。

表3 不同批次白芥子、炒白芥子、黄芥子和炒黄芥子的相似度评价表

Table 3. Similarity of different batches of *Sinapis alba* L., *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss and their stir-fried products

批号	相似度	批号	相似度	批号	相似度	批号	相似度
BJ-1	0.994	CBJ-1	0.997	HJ-1	0.998	CHJ-1	0.999
BJ-2	0.991	CBJ-2	0.996	HJ-2	0.999	CHJ-2	0.997
BJ-3	0.997	CBJ-3	0.936	HJ-3	0.979	CHJ-3	0.981
BJ-4	0.999	CBJ-4	0.983	HJ-4	0.999	CHJ-4	0.993
BJ-5	0.995	CBJ-5	0.992	HJ-5	0.998	CHJ-5	0.997
BJ-6	0.992	CBJ-6	0.990	HJ-6	0.987	CHJ-6	0.979
BJ-7	0.997	CBJ-7	0.999	HJ-7	0.983	CHJ-7	0.976
BJ-8	0.988	CBJ-8	0.996	HJ-8	0.991	CHJ-8	0.993
BJ-9	0.987	CBJ-9	0.997	HJ-9	0.967	CHJ-9	0.977
BJ-10	0.997	CBJ-10	0.948	HJ-10	0.969	CHJ-10	0.979
BJ-11	0.983	CBJ-11	0.993	HJ-11	0.998	CHJ-11	0.999
BJ-12	0.968	CBJ-12	0.988	HJ-12	0.999	CHJ-12	0.999
BJ-13	0.992	CBJ-13	0.936	HJ-13	0.971	CHJ-13	0.973
BJ-14	0.996	CBJ-14	0.971	HJ-14	0.993	CHJ-14	0.995
BJ-15	0.990	CBJ-15	0.960	HJ-15	0.998	CHJ-15	0.997

2.5 不同基原芥子及其炒制品特征图谱的化学模式识别研究

2.5.1 聚类分析

采用SPSS 20.0软件, 对60批不同基原芥子及炒制品特征图谱进行分析, 以16个特征峰的峰面积(缺失峰的相对峰面积记为0)为变量, 标准化后采用瓦尔德法, 以平方欧氏距离为测度, 结果见图8, 当平方欧氏距离为25时, 白芥子及炒制品与黄芥子及炒制品各成一类, 说明不同基原芥子及炒制品特征图谱差异较大; 当平方欧氏距离为5时, 白芥子、炒白芥子、黄芥子、炒黄芥子各成一类, 说明同一基原芥子的生品与炒制品间也存在差异。

2.5.2 正交偏最小二乘法-判别式分析

为了进一步区别不同基原芥子及炒制品特征图谱, 采用SIMCA 14.1软件, 以16个特征峰的峰面积(缺失峰的相对峰面积记为0), 建立正交偏最小二乘法-判别式分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)模型, 模型累计解释能力参数 R^2X 、 R^2Y 分别为0.925、

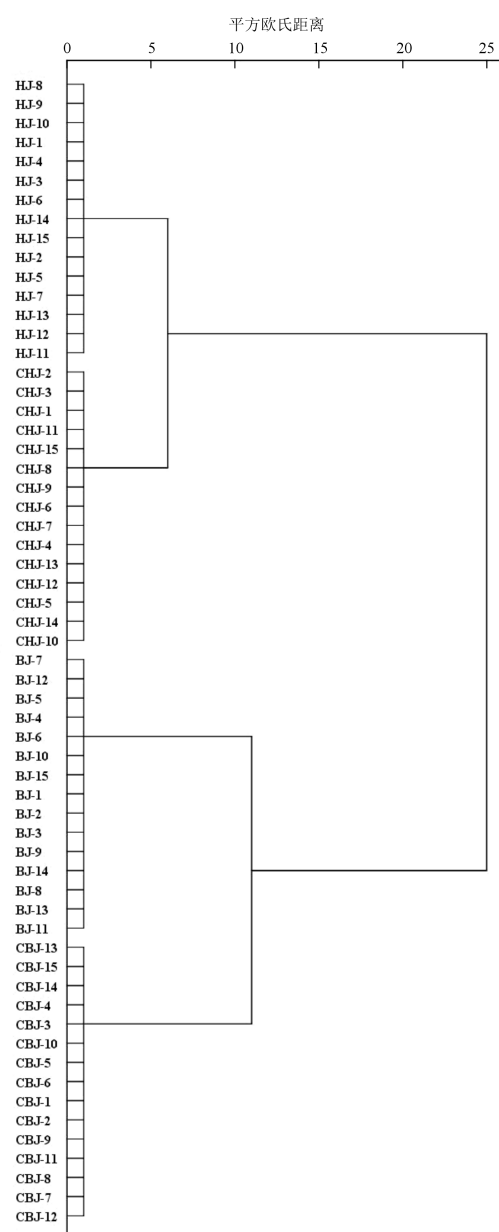


图8 白芥子、黄芥子及其炮制品聚类分析图

Figure 8. Cluster analysis plot of *Sinapis alba* L., *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss and their stir-fried products

0.957, 预测能力参数 Q^2 为0.947, 均大于0.5, 证明模型有效且具有良好的预测能力, 其得分图见图9, 60批样品可分为4类, 该结果与聚类分析结果一致。

为验证所构建OPLS-DA模型的可靠性, 进行内部置换检验, 检验次数设置为200次, 结果如图10所示, 左端随机排列的 R^2 、 Q^2 均小于右端的原始值, 回归曲线斜率为正值, 且 Q^2 的回归曲线相交于y轴的负值, 说明模型没有过度拟合。变量投影重要性(variable importance in projection, VIP)值见图11, 以VIP值大于1.0为标准, 共筛

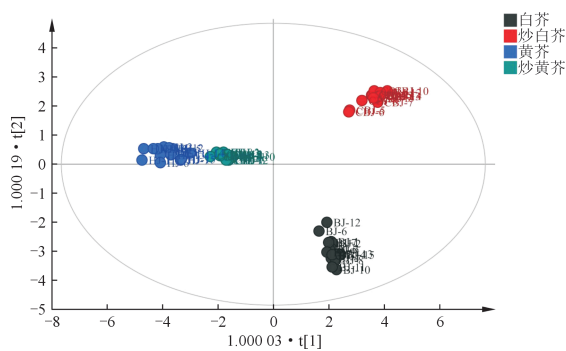


图9 白芥子、黄芥子及其炮制品 OPLS-DA 得分图
Figure 9. OPLS-DA score plot of *Sinapis alba* L., *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss and their stir-fried products

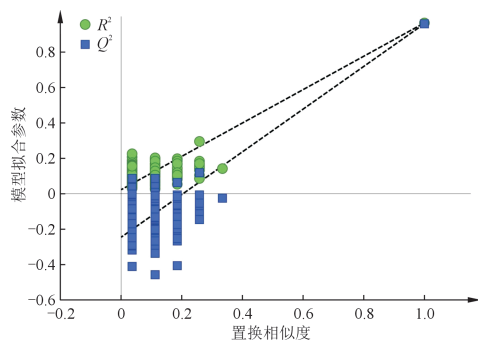


图10 白芥子、黄芥子及其炮制品 OPLS-DA 模型置换
检验结果图
Figure 10. Permutation test result plot for the OPLS-DA model of *Sinapis alba* L., *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss and their stir-fried products

选出 8 个差异性成分，依次为峰 11、峰 8、峰 2、峰 9、峰 10、峰 15、峰 4、峰 5，说明该 8 个特征峰为不同基原芥子及炒制品的差异性标志物。

2.6 不同基原芥子及其炮制品特征峰的变化规律研究

对炒芥子的炒制时间进行考察，对比各特征峰在炒制过程中的变化情况。

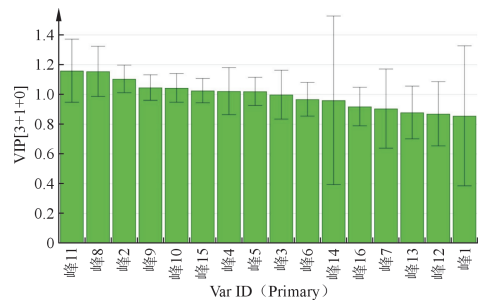


图11 白芥子、黄芥子及其炮制品特征峰 VIP 值图
Figure11. VIP value plot of characteristic peaks for *Sinapis alba* L., *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss and their stir-fried products

2.6.1 不同炒制时间对白芥子特征图谱的影响

取白芥子药材（批号：BJ-1），除去杂质，考察在 120 °C 下不同炒制时间（5 ~ 20 min）对特征图谱的影响。取不同炒制时间的样品，按照“2.2.2”项下分别制备供试品溶液，采用“2.1”项下色谱条件测定特征图谱，叠加图见图 12。结果显示，炒制时间超过 8 min，峰 2 消失，而随着炒制时间延长，峰 9 和峰 10 由无到有，峰面积逐渐增加，其余特征峰变化无明显规律。说明峰 2 为受热不稳定成分，在炒制过程中峰面积逐渐减小，而峰 9、峰 10 是炒制过程中产生，在一定时间范围内，有增大的趋势，峰 2、峰 9、峰 10 可以作为区分白芥子和炒白芥子的重要标志物，可观察峰 2 是否消失，峰 9 和峰 10 是否出现来评价炒白芥子的炒制程度是否恰当；当炒制时间大于 15 min 或小于 10 min 时，饮片性状不符合《中国药典》2025 年版^[1]炒芥子（白芥）项下的描述，结合饮片性状以及特征图谱的结果，确定炒白芥子的饮片炒制时间以 10~15 min 为宜。

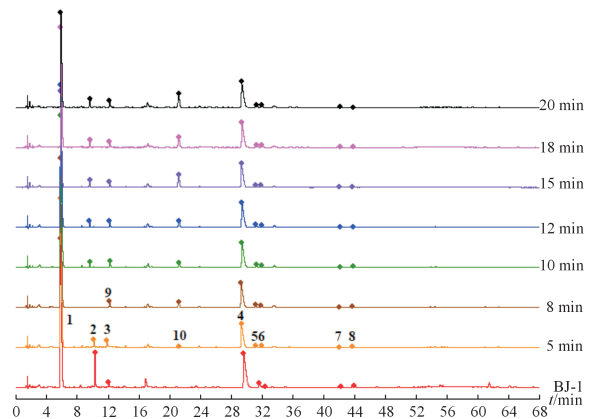


图12 炒白芥子饮片不同炒制时间考察特征图谱叠加图
Figure 12. Overlay of characteristic chromatograms investigating different stir-frying times of stir-fried *Sinapis alba* L.

2.6.2 不同炒制时间对炒黄芥子特征图谱的影响

取黄芥子药材（批号：HJ-1），除去杂质，考察在 120 °C 不同炒制时间（5 ~ 20 min）对特征图谱的影响。取不同炒制时间的样品，按照“2.2.2”项下分别制备供试品溶液，采用“2.1”项下色谱条件测定特征图谱，叠加图见图 13。结果显示，随着炒制时间的延长，峰 11 峰面积逐渐降低，当炒制时间超过 10 min 时，峰 11 消失，其

余特征峰变化无明显规律。说明峰11为受热不稳定成分，可作为区别黄芥子和炒黄芥子的重要特征性成分。性状方面结果显示，随着炒制时间增加，炒黄芥子饮片颜色逐渐加深，当炒制时间大于15 min或小于10 min时，饮片性状不符合《中国药典》2025年版^[1]炒芥子（芥）项下的描述，结合饮片性状以及特征图谱的结果，确定炒黄芥子的饮片炒制时间以10~15 min为宜。

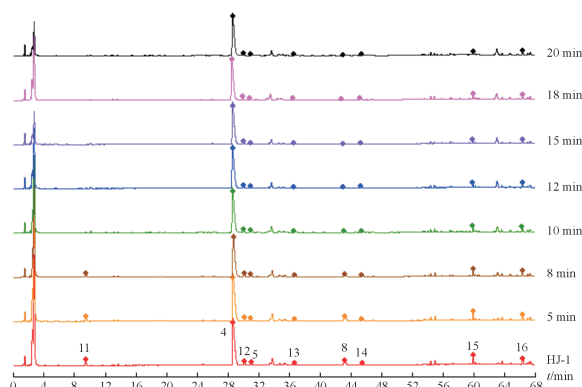


图13 炒黄芥子饮片不同炒制时间考察特征图谱叠加图

Figure 13. Overlay of characteristic chromatograms investigating different stir-frying times of stir-fried *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss

3 讨论

3.1 特征图谱色谱条件优化

本研究对芥子特征图谱UPLC色谱条件进行对比考察，经过3D全波长扫描发现，波长在230~250 nm之间，色谱峰较丰富，尤其在234 nm时色谱峰的整体响应较高，因此选择234 nm作为建立芥子特征图谱的检测波长。对比不同有机相（甲醇、乙腈、乙腈：甲醇=4：1）以及水相（0.1%冰醋酸、0.1%甲酸、0.1%磷酸）对芥子特征图谱的影响，结果显示，当流动相为乙腈和0.1%磷酸时，基线平稳，且色谱峰分离度和峰型较好。在色谱柱的选择方面，对比了Waters BEH C₁₈色谱柱（150 mm×2.1 mm，1.7 μm）、Waters HSS T3色谱柱（2.1 mm×150 mm，1.8 μm）和YMC Trait C₁₈色谱柱（150 mm×2.1 mm，1.9 μm）3款色谱柱对芥子特征图谱影响，其中YMC Trait C₁₈色谱柱（150 mm×2.1 mm，1.9 μm）对色谱峰的分离度最佳，因此后续选择该款色谱柱作研究。

3.2 供试品溶液制备前处理考察

本研究前期对供试品溶液制备方式进行考察，分别对比了不同提取溶剂（甲醇、75%甲

醇、50%甲醇）、不同提取方式（加热回流提取、超声提取）、不同提取时间（15~60 min）对特征图谱的影响，以“总峰面积/称样量”为特征图谱的考察标准，最终确定以75%甲醇25 mL加热回流提取30 min为最佳方式。

3.3 化学模式识别分析

本研究建立了不同基原芥子与炒芥子的特征图谱，对60批样品的特征图谱结果进行聚类分析，初步确定不同基原芥子及炒芥子化学成分差异较大，继续进行OPLS-DA，指导不同基原芥子及炒芥子的分类，得出造成特征图谱差异的8个特征峰，其中峰4（芥子碱硫酸盐）、峰5（芥子酸）2个特征峰为芥子的代表药效成分，提示不同基原芥子及炒芥子的成分差异为其药效差异的关键。

3.4 炒制时间对特征图谱的影响分析

不同炒制时间对炒芥子性状及特征图谱的特征峰影响较大，其中炒白芥子需要关注的特征峰为峰2是否消失，峰9和峰10是否出现；炒黄芥子的观察指标为峰11是否消失。通过测定炒制前后样品的特征图谱，结合炮制后的性状描述，即可观察炒芥子是否充分，降低人为主观性的误差，为炒芥子的炒制程度提供依据。

综合以上试验结果，该特征图谱方法可用于区别不同基原芥子及炒制品，可更全面评价芥子及炒芥子的质量标准，实现不同基原芥子的精准区分，规避基原混淆导致的用药偏差。

3.5 小结

本研究采用UPLC法建立不同基原芥子及炒芥子的特征图谱，以建立的方法分别对15批白芥及对应炒白芥、15批黄芥及对应炒黄芥的相似度进行比较，实现对不同基原芥子及炒制品中有效成分的定性分析，同时，该方法可用于区别不同基原芥子及对应炒制品，具有专属性强、分析时间短的优势，能够有效提升芥子的质量控制水平。

参考文献

- 1 中国药典2025年版.一部[S]. 2025: 172.
- 2 杨林飞, 田硕, 任梦阳, 等. 白芥子化学成分、药理作用及质量标志物(Q-Marker)的预测分析[J/OL]. 中华中医药学刊, 1-20(2025-11-12). [Yang LF, Tian S, Ren MY, et al. Prediction and analysis of chemical constituents, pharmacological effects and quality markers of Semen Brassicae (Q-Markers)[J/OL]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 1-20(2025-11-12).] <https://link.cnki.net/urlid/21.1546.R.20251112.1015.022>.
- 3 寇梦琳, 邓启粤, 孙艳艳, 等. 不同基原芥子的天灸疗法对阈

- 下抑郁患者注意力网络的影响[J]. 中国针灸, 2026, 46(2): 176–182. [Kou ML, Deng QY, Sun YY, et al. Effect of blistering moxibustion with mustard seeds of different botanical sources on attention networks in patients with subthreshold depression[J]. Chinese Acupuncture & Moxibustion, 2026, 46(2): 176–182.] DOI: 10.13703/j.0255-2930.20250609-0004.
- 4 谭朝阳, 于静, 崔培梧, 等. 黄芥子中芥子酶活性的测定及炮制对其活性的影响[J]. 湖南中医杂志, 2015, 31(5): 175–176. [Tah ZY, Yu J, Cui PW, et al. Determination of myrosase activity in *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss. and effect of processing on myrosase activity[J]. Hunan Journal Of Traditional Chinese Medicine, 2015, 31(5): 175–176.] DOI: 10.16808/j.cnki.issn1003-05.2015.05.95.
- 5 罗跃龙, 何华妙, 刘青凤, 等. 炮制对黄芥子中芥子碱硫氰酸盐含量的影响[J]. 湖南中医杂志, 2015, 31(3): 154–155. [Luo YL, He HM, Liu QF, et al. Effect of processing on sinapine thiocyanate content in mustard [*Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss.][J]. Hunan Journal Of Traditional Chinese Medicine, 2015, 31(3): 154–155.] DOI: 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2015.03.085.
- 6 燕梦晴, 康乐, 曹彦刚, 等. 中药“逢子必炒”理论沿革与现代科学研究[J]. 中国医院药学杂志, 2025, 45(3): 348–354. [Yan MQ, Kang L, Cao YG, et al. Discussion on the theoretical evolution and modern scientific research of "seed drugs be stir-fried" in traditional Chinese medicine[J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2025, 45(3): 348–354.] DOI: 10.13286/j.1001-5213.2025.03.17.
- 7 石芸, 徐长丽, 金俊杰, 等. “逢子必炒”炮制理论的传统认识与现代研究进展[J]. 中草药, 2022, 53(07): 2227–2236. [Shi Y, Xu CL, Jin JJ, et al. Traditional understanding and modern research progress on processing theory of "seed drugs be stir-fried"[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2022, 53(7): 2227–2236.] DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.07.032.
- 8 金禹彤, 吴凌韬, 陈姍, 等. 生/炒白芥子贴膏穴位贴敷大鼠后主要有效成分透皮率及皮肤结构情况[J]. 浙江中医药大学学报, 2022, 46(11): 1171–1180. [Jin YT, Wu LT, Chen S, et al. Main active ingredients transdermal rate and skin structure of rats with raw/fried white mustard paste[J]. Journa of Zhejiang Chinese Medical Unicersity, 2022, 46(11): 1171–1180.] DOI: 10.16466/j.issn1005-5509.2022.11.001.
- 9 李淑贤, 朱紫含, 邵俊然, 等. 芥子化学成分、药理作用研究进展及其质量相关功效物质预测分析[J]. 中草药, 2026, 57(7): 2768–2786. [Li SX, Zhu ZH, Shao JR, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Sinapis Semen* and its quality-related effective components analysis[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2026, 57(7): 2768–2786.] DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.07.027.
- 10 廖小娟, 周宜, 谢瑜, 等. 芥子微波和恒温鼓风烘炮制工艺研究[J]. 中医药导报, 2024, 30(6): 44–48. [Liao XJ, Zhou Y, Xie Y, et al. The processing technology of microwave and constant temperature blast baking of Jiezi (*Sinapis Semen*) [J]. Guiding Journal of Traditional Chinese Medicine Ans Pharmacy, 2024, 30(6): 44–48.] DOI: 10.13286/j.cn43-1446/r.2024.06.008.
- 11 李娜, 孟宇倩, 王亚丽, 等. 高效液相色谱法同时测定怀小白菊中 6 个成分的含量[J]. 中药材, 2026, 49(3): 704–707. [Li N, Meng YQ, Qang YL, et al. Simultaneous HPLC determination of six components in Huai feverfew[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2026, 49(03): 704–707.] DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2026.03.025.
- 12 黄月纯, 丘振文, 梁芷韵, 等. 薄树芝脂溶性成分 HPLC 特征图谱及化学模式识别研究[J]. 中药材, 2026, 49(1): 134–140. [Huang YC, Qiu ZW, Liang ZY, et al. Study on HPLC characteristic chromatogram and chemical pattern recognition of liposoluble constituents from *Magoderna subresinosum* fruiting body[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2026, 49(1): 134–140.] DOI: 10.13863/j.issn.1001-4454.2026.01.021.
- 13 吴成志, 熊梦琪, 乔金为, 等. 基于 HPLC 特征图谱和一测多评法的经典名方桔梗汤质量控制研究[J]. 中国现代中药, 2026, 28(3): 584–591. [Wu CZ, Xiong MQ, Qiao JW, et al. Quality control of the classic formula Jiegeng decoction based on HPLC characteristic chromatograms and quantitative analysis of multi-components by single marker method[J]. Modern Chinese Medicine, 2026, 28(3): 584–591.] DOI: 10.13313/j.issn.1673.4890.20250620003.
- 14 黄瑶, 陈江平, 刘涛乾, 等. 白芥子与黄芥子 UPLC 特征图谱差异性研究[J]. 中药材, 2020, 43(5): 1147–1153. [Huang Y, Chen JP, Liu TQ, et al. Study on the differences of UPLC characteristic spectra between *Sinapis Alba* and *Brassica Juncea* [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2020, 43(5): 1147–1153.] DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2020.05.021.
- 15 刘涛乾, 张志鹏, 夏长青, 等. 白芥子及炒白芥子饮片、水煎液、配方颗粒 UPLC 特征图谱研究[J]. 中医药导报, 2020, 26(13): 59–63. [Liu TQ, Zhang ZP, Xia CQ, et al. Study the UPLC characteristic spectra of decoction pieces, water decoctions and formula granules between *Baijiezi* (*Sinapis Albae Semen*) and *Chaobaijiezi* (*Sinapis Albae Semen* Frictum) [J]. Guiding Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2020, 26(13): 59–63.] DOI: 10.13862/j.cnki.cn43-1446/r.2020.13.013.
- 16 苏慧, 岳琳, 刘颖, 等. 芥子及莱菔子饮片炮制前后物质基础变化规律分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(7): 23–26. [Su H, Yue L, Liu Y, et al. Analysis on change law of material basis of *Sinapis Semen* and *Raphani Semen* before and after processing[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2018, 24(7): 23–26.] DOI: 10.13422/j.cnki.syfx.20180703.
- 17 贾小舟, 杨小龙, 卢晓莹, 等. 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[J]. 中国药房, 2021, 32(22): 2731–2735. [Jia XZ, Yang XL, Lu XY, et al. Comparison of chemical constituents of *Sinapis alba* before and after stir-frying based on UPLC-MS and chemometrics methods[J]. China Pharmacy, 2021, 32(22): 2731–2735.] DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.22.08.
- 18 北京市药品监督管理局. 北京市中药饮片炮制规范 2023 年版[S]. 2023: 凡例, 1.
- 19 中国药典 2025 年版. 四部[S]. 2025: 凡例, 1.

收稿日期: 2026 年 04 月 30 日 修回日期: 2026 年 09 月 03 日

本文编辑: 周璐敏 洗静怡