

· 综述 ·

高通量代谢组学在药用植物研究中的应用

郭志英^{1,2}, 周正², 谭何新², 张磊², 刁勇¹ (1. 华侨大学生物医学学院, 福建泉州 362021; 2. 第二军医大学药学院药用植物学教研室, 上海 200433)

[摘要] 高通量代谢组学近年来发展十分迅速,并在药用植物的研究中得到了广泛的应用。目前,它主要被用于通过指纹图谱对药用植物进行质量控制,比较基因改造后药用植物的代谢差异,监测不同环境对药用植物的代谢变化以及研究药用植物基因的功能。高通量代谢组学具有良好的前景,但也存在对仪器要求较高及数据整合烦琐等问题,限制其更好的推广和应用。随着科学技术的发展及仪器设备联用的普及,高通量代谢组学必将在药用植物的研究中发挥不可替代的作用。

[关键词] 高通量代谢组学;药用植物;质量控制;数据整合

[中图分类号] R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2017)06-0499-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.06.005

Application in medicinal plants research by high-throughput metabolomics method

GUO Zhiying^{1,2}, ZHOU Zheng², TAN Hexin², ZHANG Lei², DIAO Yong¹ (1. School of Biomedical Science, Huaqiao University, Quanzhou, 362021, China; 2. Department of Pharmaceutical Botany, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] High-throughput metabolomics have developed very rapidly in recent years and been widely used in medicinal plants research. At present, high-throughput metabolomics mainly applied in the following areas, quality control of medicinal plants by fingerprints, metabolites difference comparison before and after genetic engineering, monitoring metabolites change in different environment and gene function study. High-throughput metabolomics have a great future, but still have some challenges, such as the requirements for more sophisticated equipment and complexity of data integration. With the advancement of science and technology, high-throughput metabolomics will be an irreplaceable tool for the research of medicinal plants.

[Key words] high-throughput metabolomics; medicinal plants; quality control; data integration

1 高通量代谢组学简介

代谢组是指某一生物或者细胞所有低分子量代谢产物。而高通量代谢组学是通过高通量的分析技术,全面研究代谢组的一门科学^[1]。通过对某一生物或者细胞中所有低分子量代谢产物进行定性及定量分析,监测活细胞中的化学变化。Feihn^[2]对代谢组学的研究方向进行了以下分类:①目标代谢产物分析(定量分析目标代谢产物);②相关代谢产物分析(定性及定量分析一组化合物或特定的代谢途径);③代谢组学(定性及定量分析所有低分子量代谢产物);④代谢产物指纹图谱(定性分析样本)。高通量代谢组学近年来发展十分迅速,并在药用植物

的研究中得到了广泛的应用。基于对化学文摘资料库(Cheical Abstract Service, CAS)的搜索,发现植物代谢研究的论文数量约占每年代谢研究总论文数的20%,并呈逐年上升的态势^[3](图1)。

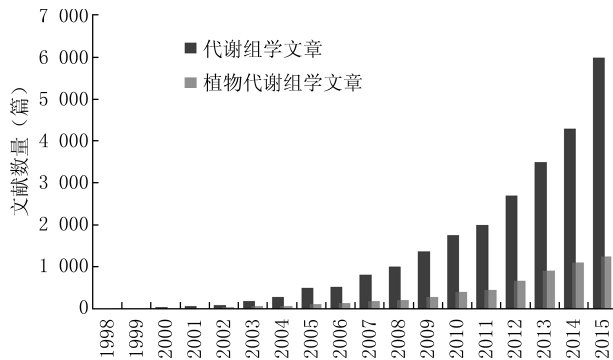


图1 1998—2015年CAS资料库中收录的代谢组学与植物代谢组学论文数量的比较

2 高通量代谢组学研究药用植物的技术流程

2.1 样本的制备和预处理 样品的制备和预处理

[作者简介] 郭志英,博士研究生,研究方向:药用植物生物工程, Email: guozhy_ada@sina.com

[通讯作者] 刁勇,博士,教授,博士生导师,研究方向:生物医学工程, Email: diaoyong@hqu.edu.cn

是高通量代谢组学研究的前提。该步骤需要考虑药用植物采集的时间、地域、部位以及生长发育阶段等各项因素,以减少样品的差异对代谢组学分析结果的影响。样品采集后需要对药用植物进行生物灭活处理,如在液氮中速冻,以减少氧化还原反应以及各种水解酶对待测样品的降解^[4]。

制备样品的过程中,根据研究对象的性质以及所选取的研究方法,对样本进行预处理。比如运用不同极性的溶剂,将药用植物中极性大的水溶性成分与极性小的脂溶性成分分离。目前高通量代谢组学的分析对象大多为亲水性的小分子。此外,由于大多数初级次生代谢产物不具有挥发性,所以在提取样本后,需要对样品进行衍生化处理,如酯化、酰化、离子化、烷基化等,以获得更多可供分析的样品^[5]。

2.2 代谢产物的分离与鉴定 代谢产物的分离技术通常包括:气相色谱(gas chromatogram, GC)、液相色谱(liquid chromatogram, LC)以及毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)等,而检测及鉴定技术则包括:红外光谱(IR spectrum)、紫外光谱(UV spectrum)、核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)及质谱技术(mass spectrometry, MS)。分离技术与鉴定技术相结合构成了高通量代谢组学中常用的分离鉴定方法,如GC-MS, HPLC-MS以及CE-MS等。这些技术各有特点,如GC-MS具有较为全面的图谱数据,更容易进行定性分析;LC-MS高效、快速并对极性高且热稳定性差的化合物分析具有独特的优势^[6];CE-MS对含有电荷的代谢物的分离与鉴定更为便捷^[7]。在进行化合物的分离与鉴定时,常需要根据样品的性质以及所用仪器的选择性和灵敏度,确定适合的检测技术^[8]。

2.3 数据转换与分析 代谢产物经过分离与鉴定后,即得到最原始的色谱数据。这些数据卷帙浩繁,为了弄清楚化合物与化合物之间的统计学关系,解析数据后蕴含的生物学意义,需要将色谱数据转换为数字化的矩阵数据。转换这些数字的方法包括消除噪声干扰、校正基线、对数据进行分段积分以排除测定时环境因素的干扰等。

对原始数据进行处理后,接下来就要对数据进行分析。常用的数据分析可分为两类识别模式,即监督分类和非监督分类。两种模式的区别在于非监督分类利用已知的数学模型对样本进行预测,而监督分类是通过原始的检测图谱,对代谢物的测定结果进行分类和筛选。监督分类包括:主成分分析法(principal components analysis, PCA)、层次聚类分

析法(hierarchical clustering analysis, HCA)、自组织映射图法(self-organizing feature mapping, SOM);非监督分类主要包括:偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)和正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)等方法^[9]。

完成数据分析及归类后,便可以利用各种数据库揭示样本数据背后隐藏的生物学意义。在药用植物学领域,目前常用的数据库有PlantCYC、MetaCyc等^[10]。从这些数据库中,可以获取药用植物的代谢物数据,如代谢物种类、结构和图谱信息,准确快速地对化合物进行鉴定并预测代谢路径中的相关反应。在实际应用中,常利用多个数据库对数据进行分析整合,联合基因组学、转录组学、蛋白质组学对药用植物的代谢组学进行预测和分析^[11]。

3 高通量代谢组学在药用植物研究中的应用

高通量代谢组学与基因组学相结合,可以实现功能基因的定位与鉴定,为功能基因组学的研究提供有力工具。同时,高通量代谢组学可以更加明确动植物代谢网络中各个关键酶、底物、中间产物之间的复杂的相互作用,甚至可能会发现新的代谢途径和关键酶。此外,高通量代谢组学可以阐明环境对代谢网络的影响,促进代谢工程的研究工作。目前,高通量代谢组学研究平台越来越多地被用于药用植物研究,贯穿了药用植物种质资源的开发,药材的采摘、加工与炮制,中药材的质量控制以及药物在体内的代谢监测等一系列过程,具有十分重要的意义。笔者列举了近年来高通量代谢组学在药用植物研究中的一些有代表性的研究工作,如表1所示。

3.1 指纹图谱分析 药用植物种类繁多、成分复杂,通过指纹图谱技术可以有效地对其进行全面的质量控制,确保药用植物使用效果安全稳定。代谢组学通过运用高通量、高灵敏度的检测技术,可以同时药用植物大量的次生代谢产物进行定性及定量分析,以全面透彻地了解植物不同部位、不同代谢阶段的代谢产物的种类与含量的差异^[29]。根据得到的信息推测该药用植物的代谢网络与途径,或者比较不同环境下药用植物代谢的差异,进一步对植物进行分类或推测其亲缘关系。

Murch^[30]采用HPLC-MS技术研究黄芩*Scutellaria baicalensis*的代谢产物,发现了2 000多种成分,并对其中781个成分进行了初步鉴定,从而为筛选和评价优良品种建立了筛选模型。Chu^[15]对3种人参——红参、白参和大理人参进行了LC-QTOF-MS图谱分析,发现3种人参虽然形态相同,

表 1 高通量代谢组学研究平台在药用植物研究中的应用

物种	检测平台	应用	参考文献
人参 (<i>Panax ginseng</i>)	LC-QTOF-MS	建立了检测人体内西洋参代谢产物的方法	[12]
	UPLC-QTOF-MSGC-MS	确定了鉴定人参年份的标志物	[13,14]
	LC-QTOF-MS	鉴别 3 种人参发挥药效的有效成分	[15]
	¹ H-NMR	比较炮制前后人参代谢产物的差异	[16]
	¹ H-NMR	对 3 种人参的生物标志物进行分析,确定人参质量评价的相关标准	[17]
赤芍 (<i>Radix Paeoniae Rubra</i>)	UPLC-PDA-QTOF/MS	建立了对赤芍进行质量控制的生物标志物	[18]
喜树 (<i>Camptotheca acuminata</i>)	HPLC-MS/MS	比较喜树毛状根和愈伤组织中有效活性成分含量的差别	[19]
长春花 (<i>Catharanthus roseus</i>)	¹ H-NMR	研究转基因长春花中次生代谢产物合成的变化	[20]
丹参 (<i>Salvia miltiorrhiza</i>)	¹ H-NMR/LC-MS	研究不同生境对丹参中代谢物累积的影响	[21]
蛇根草 (<i>Ophiorrhiza pumila</i>)	FT-ICR-MS	寻找蛇根草生物碱合成途径转录变化和代谢物累积的相关性	[22]
菘蓝 (<i>Isatis indigotica</i>)	UPLC-QTOF	建立了菘蓝中黄酮类化合物的检测方法	[23]
三七 (<i>Panax notoginseng</i>)	UHPLC-TOF-MS	比较炮制前后三七化学成分的变化	[24]
枸杞 (<i>Lycium barbarum</i>)	LC-QTOF-MS	研究黄酮和酚酸类成分的差异,用以区分不同产地的枸杞	[25]
黄芪 (<i>Astragalus membranaceus</i>)	GC-TOF-MS/AFLP	表明生境对于蒙古黄芪的影响远大于遗传因素	[26]
	¹ H-NMR/UPLC-MS	研究黄芪去皮之后代谢产物的变化	[27]
天麻 (<i>Gastrodia elata</i>)	LC-QTOF-MS	建立了 6 种鉴别炮制前后天麻的生物标记物	[28]

但是药理作用存在显著差异的原因是不同种类的人参所含的人参皂苷不同。Kim^[31]对 3 种麻黄植物 *Ephedra* 进行了¹H-NMR 指纹图谱分析,并最终找出了 3 种植物代谢物的差异。以上研究很好地证明了代谢组学分析是研究药用植物指纹图谱的强有力工具。

3.2 监测药用植物经不同处理后体内代谢产物的变化 监测药用植物体内代谢产物的变化,就是在外界物理、化学或者生物刺激条件下,通过高通量代谢组学手段,监测植物代谢的改变。将刺激前后药用植物代谢产物的差异进行对比和全面分析,为寻找和确定植物代谢关键步骤及规律奠定基础。在中药的使用中,不同的炮制方法也会对药用植物的代谢产物产生影响。Li^[32]通过 UHPLC-QTOF-MS/MS 技术,分析硫磺熏蒸后的白参代谢产物的含量变化。结果表明,熏蒸后的白参相比未熏蒸的白参,多检测出了 35 个特征峰,说明在熏蒸的过程中,白参中发生了酯化、水解等衍生化反应。而这些反应的产物被证实是发挥药效作用的关键成分。Li 等^[33]对款冬花的生品和炮制后的化学成分用 NMR 方法进行了比较,结果表明生品种绿原酸和氨基酸含量较高,炮制后的款冬则包含了较多的多糖类物质和款冬酮。随着外界条件的改变,药用植物的代谢产物相互作用也不断发生变化。通过高通量代谢组学比较不同条件下药用植物代谢产物的变化,可以更好地研究不同环境以及不同药用植物的炮制方法对植物有效成分的影响。

3.3 研究药用植物基因功能 通过表型的改变判

断基因表达水平存在一定的误差。因为表型是基因与环境共同作用的结果。但是基因的改变却可以使药用植物的代谢产物发生显著变化。以代谢产物的分析比较而揭示相关基因表达水平的变化,可推断基因对代谢流的影响。Winzer^[34]利用高通量代谢组学和 RNAseq 的方法对罂粟 (*Papaver somniferum*) 271 株 F2 群体(亲本由高产吗啡与高产诺斯卡品的罂粟杂交)进行检测,并对两组数据进行关联分析,以验证在高产斯诺卡品的亲本中有 5 个不同酶家族的基因形成了复合基因簇,并通过基因沉默技术验证了罂粟体内 6 个基因的生化功能。Chen^[23]利用 UPLC/Q-TOF 对菘蓝中黄酮类成分进行检测,从而对菘蓝转录组功能基因注释进行了验证。通过高通量代谢组学方法研究药用植物代谢产物,可以更好地确定植物基因的功能,在基因型和表型之间建立了一座桥梁。

3.4 辅助药用植物培育及收获 药用植物中的化学成分会随着生长时期和环境的改变而相应变化,关注不同时期和环境下代谢物含量的累积,可有效保证药材的品质和产量,为合理有效地利用药材提供科学依据。Happyana 等^[35]利用核磁共振技术及定量 PCR 对大麻开花期的代谢流以及基因表达量变化进行检测,结果表明,大麻聚酮酶的表达量与大麻素的累积成正相关,为提升大麻素的含量代谢工程研究提供了依据。Jia^[36]通过代谢组学和转录组学数据对黄芪抗旱基因开展研究,揭示了干旱条件下特殊基因的表达量变化,为培养抗旱黄芪提供了研究方向。Guldbrandsen 等^[37]通过 NMR 的方法

分析不同产地菘蓝在不同采收时期的叶片代谢物差异,提出了不同产地菘蓝的合理采收标准。通过高通量代谢组学的方法关注不同时期和环境下药用植物有效成分的变化,辅助药用植物的培育和采收,为保证药用植物的品质和产量奠定了基础。

4 结 语

代谢组学为人们全面了解动植物的代谢提供了可能。但是,面对纷繁复杂的化合物,如何进行快速便捷的定性及定量测定,是研究者不得不考虑的一个问题。到目前为止,大多数代谢组学采取分析仪器联用(GC-MS、UPLC-MS等)进行实验。理想的仪器是集化合物的分离、定性定量分析和结构鉴定于一体,但是从目前来看,距离这个理想仪器还很远。此外,面对繁杂的数据,如何将这此数据高效率地整合起来,并发现其蕴含的生物学意义尤为重要。以上都需要生物信息学技术的支持^[38]。

此外,药用植物种类繁多,次生代谢途径复杂,调控因素较多。尽管目前许多重要的药用植物(如丹参、黄芩、青蒿等)药用成分的次生代谢途径已经被解析,但是仍有许多药用植物的代谢途径和调控机制仍属空白。随着高通量代谢组学技术的发展和深入,必将有更多的药用植物的次生代谢途径被挖掘^[39]。这将更深层次地揭示药用植物的有效成分生源合成途径,了解其代谢规律,同时为寻找调控代谢途径关键位点打下坚实的基础。

在代谢组学越来越多被应用的同时,不同层面的高通量技术也应用于药用植物的研究中,包括基因组学、转录组学以及蛋白质组学^[40]。通过系统生物学的方法,将这些不同平台的数据进行整合分析,不仅可以解析植物中活性成分的生源合成途径特征,同时也可以描述目标化合物合成的调控,进而构建次生代谢产物生物合成的转录调控系统模型,从而探索药用植物中活性成分的形成、积累与其生境的关联,以及种质特征形成的遗传机制,最终为有效开展药用植物的品质控制以及种质改良提供理论依据。

代谢组学作为一个新兴学科,面临着许多挑战,但是我们相信,随着检测技术和生物信息学分析平台的不断发展,高通量代谢组学将会在植物基因功能解析、揭示网络调控代谢机理、提高药用植物产量品质等方面发挥不可替代的作用。

【参考文献】

[1] Nielsen J. Systems Biology of Metabolism [J]. Annu Rev

Biochem, 2017, 86:245-275.

- [2] Fiehn O. Metabolomics—the link between genotypes and phenotypes[J]. Plant Mol Biol, 2002, 48(1-2): 155-171.
- [3] Karahalil B. Overview of Systems Biology and Omics Technologies[J]. Curr Med Chem, 2016, 23(37): 4221-4230.
- [4] Petersson SV, Lindén P, Moritz T, *et al.* Cell-type specific metabolic profiling of Arabidopsis thaliana protoplasts as a tool for plant systems biology [J]. Metabolomics, 2015, 11(6): 1679-1689.
- [5] Danielsson AP, Moritz T, Mulder H, *et al.* Development and optimization of a metabolomic method for analysis of adherent cell cultures[J]. Anal Biochem, 2010, 404(1): 30-39.
- [6] Wolfender JL, Glauser G, Boccard J, *et al.* MS-based plant metabolomic approaches for biomarker discovery [J]. Nat Prod Commun, 2009, 4(10): 1417-1430.
- [7] Ramautar R, Somsen GW, de Jong G J. CE-MS for metabolomics: Developments and applications in the period 2014-2016[J]. Electrophoresis, 2017, 38(1): 190-202.
- [8] Tohge T, Fernie AR. Combining genetic diversity, informatics and metabolomics to facilitate annotation of plant gene function[J]. Nat Protoc, 2010, 5(6): 1210-1227.
- [9] Ernst M, Silva DB, Silva RR, *et al.* Mass spectrometry in plant metabolomics strategies: from analytical platforms to data acquisition and processing[J]. Nat Prod Rep, 2014, 31(6): 784-806.
- [10] Mak TD, Laiakis EC, Goudarzi M, *et al.* MetaboLyzr: a novel statistical workflow for analyzing Postprocessed LC-MS metabolomics data[J]. Anal Chem, 2014, 86(1): 506-513.
- [11] Culibrk L, Croft CA, Tebbutt SJ, *et al.* Systems Biology Approaches for Host-Fungal Interactions: An Expanding Multi-Omics Frontier[J]. OMICS, 2016, 20(3): 127-138.
- [12] Wan JY, Liu P, Wang HY, *et al.* Biotransformation and metabolic profile of American ginseng saponins with human intestinal microflora by liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. J Chromatogr A, 2013, 1286:83-92.
- [13] Kim N, Kim K, Lee D, *et al.* Nontargeted metabolomics approach for age differentiation and structure interpretation of age-dependent key constituents in hairy roots of Panax ginseng[J]. J Nat Prod, 2012, 75(10): 1777-1784.
- [14] Park HE, Lee SY, Hyun SH, *et al.* Gas chromatography/mass spectrometry-based metabolic profiling and differentiation of ginseng roots according to cultivation age using variable selection[J]. J AOAC Int, 2013, 96(6): 1266-1272.
- [15] Chu C, Xu S, Li X, *et al.* Profiling the ginsenosides of three ginseng products by LC-Q-TOF/MS[J]. J Food Sci, 2013, 78(5): C653- C659.
- [16] Kim SH, Hyun SH, Yang SO, *et al.* (1)H-NMR-based discrimination of thermal and vinegar treated ginseng roots [J]. J Food Sci, 2010, 75(6): C577-C581.
- [17] Lee EJ, Shaykhtudinov R, Weljie AM, *et al.* Quality assessment of ginseng by (1)H NMR metabolite fingerprinting and profiling analysis[J]. J Agric Food Chem, 2009, 57(16):

- 7513-7522.
- [18] Li SL, Song JZ, Choi FF, *et al.* Chemical profiling of Radix Paeoniae evaluated by ultra-performance liquid chromatography/photo-diode-array/quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 49(2): 253-266.
- [19] Montoro P, Maldini M, Piacente S, *et al.* Metabolite fingerprinting of Camptotheca acuminata and the HPLC-ESI-MS/MS analysis of camptothecin and related alkaloids [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 51(2): 405-415.
- [20] Pan Q, Wang Q, Yuan F, *et al.* Overexpression of ORCA3 and G10H in Catharanthus roseus plants regulated alkaloid biosynthesis and metabolism revealed by NMR-metabolomics [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e43038.
- [21] Dai H, Xiao C, Liu H, *et al.* Combined NMR and LC-MS analysis reveals the metabolomic changes in Salvia miltiorrhiza Bunge induced by water depletion [J]. *J Proteome Res*, 2010, 9(3): 1460-1475.
- [22] Yamazaki M, Mochida K, Asano T, *et al.* Coupling deep transcriptome analysis with untargeted metabolic profiling in Ophiorrhiza pumila to further the understanding of the biosynthesis of the anti-cancer alkaloid camptothecin and anthraquinones [J]. *Plant Cell Physiol*, 2013, 54(5): 686-696.
- [23] Chen J, Dong X, Li Q, *et al.* Biosynthesis of the active compounds of Isatis indigotica based on transcriptome sequencing and metabolites profiling [J]. *BMC Genomics*, 2013, 14(1): 857.
- [24] Toh DF, New LS, Koh HL, *et al.* Ultra-high performance liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry (UHPLC/TOFMS) for time-dependent profiling of raw and steamed Panax notoginseng [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 52(1): 43-50.
- [25] Bondia-Pons I, Savolainen O, Törrönen R, *et al.* Metabolic profiling of Goji berry extracts for discrimination of geographical origin by non-targeted liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Food Res Int*, 2014, 63: 132-138.
- [26] Duan LX, Chen TL, Li M, *et al.* Use of the metabolomics approach to characterize Chinese medicinal material Huangqi [J]. *Mol Plant*, 2012, 5(2): 376-386.
- [27] Jung JY, Jung Y, Kim JS, *et al.* Assessment of peeling of Astragalus roots using ¹H NMR- and UPLC-MS-based metabolite profiling [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(43): 10398-10407.
- [28] Kwon J, Kim N, Lee D, *et al.* Metabolomics approach for the discrimination of raw and steamed Gastrodia elata using liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 94: 132-138.
- [29] de Oliveira Dal Molin Cristiana G, Orellana Camila, Gebbie Leigh, *et al.* Metabolic reconstruction of setaria italica: A systems biology approach for integrating tissue-specific omics and pathway analysis of bioenergy grasses [J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 1138.
- [30] Murch SJ, Rupasinghe HP, Goodenowe D, *et al.* A metabolomic analysis of medicinal diversity in Huang-qin (Scutellaria baicalensis Georgi) genotypes: discovery of novel compounds [J]. *Plant Cell Rep*, 2004, 23(6): 419-425.
- [31] Kim HK, Choi YH, Erkelens C, *et al.* Metabolic fingerprinting of Ephedra species using ¹H-NMR spectroscopy and principal component analysis [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2005, 53(1): 105-109.
- [32] Li SL, Shen H, Zhu LY, *et al.* Ultra-high-performance liquid chromatography-quadrupole/time of flight mass spectrometry based chemical profiling approach to rapidly reveal chemical transformation of sulfur-fumigated medicinal herbs, a case study on white ginseng [J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1231: 31-45.
- [33] Lee EJ, Shaykhtudinov R, Weljie AM, *et al.* Quality assessment of ginseng by ¹H-NMR metabolite fingerprinting and profiling analysis [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(16): 7513-7522.
- [34] Winzer T, Gazda V, He Z, *et al.* A Papaver somniferum 10-gene cluster for synthesis of the anticancer alkaloid noscapine [J]. *Science*, 2012, 336(6089): 1704-1708.
- [35] Happyana N, Kayser O. Monitoring metabolite profiles of *Cannabis sativa L. Trichomes* during flowering period using ¹H NMR-based metabolomics and real-time PCR [J]. *Planta Med*, 2016, 82(13): 1217-1223.
- [36] Jia X, Sun C, Zuo Y, *et al.* Integrating transcriptomics and metabolomics to characterise the response of Astragalus membranaceus Bge. var. mongolicus (Bge.) to progressive drought stress [J]. *BMC Genomics*, 2016, 17(1): 88.
- [37] Gulbrandsen N, Kostidis S, Schäfer H, *et al.* NMR-based metabolomic study on isatis tinctoria: comparison of different accessions, harvesting dates, and the effect of repeated harvesting [J]. *J Nat Prod*, 2015, 78(5): 977-986.
- [38] Goossens A. It is easy to get huge candidate gene lists for plant metabolism now, but how to get beyond? [J]. *Mol Plant*, 2015, 8(1): 2-5.
- [39] Tian L, Hu Y, Chen XY. Advancing human health through exploration of plant metabolism and reaping the benefits of edible medicinal plants [J]. *Mol Plant*, 2017, 10(3): 533-536.
- [40] Wurtzel ET, Kutchan TM. Plant metabolism, the diverse chemistry set of the future [J]. *Science*, 2016, 353(6305): 1232-1236.

[收稿日期] 2017-07-15 [修回日期] 2017-09-15

[本文编辑] 李睿旻