

- [21] YANG Z Z, TSCHOPP O, DI-Pol N, et al. Dosage-dependent effects of Akt1/protein kinase B α (PKB α) and Akt3/PKB γ on thymus, skin, and cardiovascular and nervous system development in mice[J]. Mol Cell Biol, 2005, 25(23): 10407-10418.
- [22] 王荣, 李晓玫, 李惊子, 等. 黄芪当归合剂对慢性肾病鼠肾脏细胞表型及 MAPK 信号转导通路的影响[J]. 中国药理学通报, 2003, 19(9): 1069-1074.
- [23] FAN X, WEI W, HUANG J, et al. Isoorientin attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity through the inhibition of oxidative stress and apoptosis via activating the SIRT1/SIRT6/Nrf-2 pathway[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 264.
- [24] FENG L X, ZHAO F, LIU Q, et al. Role of Nrf2 in lipopolysaccharide-induced acute kidney injury: protection by human umbilical cord blood mononuclear cells [J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 6123459.
- [25] GUERRERO-HUE M, RAYEGO-MATEOS S, VÁZQUEZ-CARBALLO C, et al. Protective role of Nrf2 in renal disease[J]. Antioxidants (Basel), 2020, 10(1): 39.

【责任编辑：侯丽颖】

基于顶空-气相色谱-离子迁移谱的北柴胡与藏柴胡鉴别

樊洪利¹, 刘亚雄², 乔莉², 陈馥², 罗卓雅²

(1. 广州中医药大学, 广东广州 510006; 2. 广东省药品检验所, 国家药品监督管理局药品快速检验技术重点实验室, 广东广州 510663)

摘要:【目的】建立北柴胡与藏柴胡的顶空-气相色谱-离子迁移谱(HS-GC-IMS)的挥发性指纹图谱, 用以快速鉴别北柴胡与藏柴胡。【方法】使用键合交联聚乙二醇柱(MXT-WAX)和5%苯基-甲基聚硅氧烷柱(MXT-5)分别检测21批北柴胡和17批藏柴胡的挥发性指纹谱。分析北柴胡与藏柴胡的特征峰, 并对特征峰进行主成分分析, 以鉴别北柴胡与藏柴胡。【结果】利用MXT-5色谱柱检测获得北柴胡挥发性特征峰1个, 藏柴胡挥发性特征峰5个, 主成分1(PC-1)与主成分2(PC-2)总占比为87%; 利用MXT-WAX色谱柱检测获得北柴胡挥发性特征峰4个, 藏柴胡挥发性特征峰4个, 主成分分析PC-1与PC-2总占比为91%。【结论】应用HS-GC-IMS并选用MXT-WAX色谱柱可简单、快速、更好地区分北柴胡与藏柴胡。

关键词: 北柴胡; 藏柴胡; 顶空-气相色谱-离子迁移谱; 鉴别

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2022)02-0417-05

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2022.02.032

Identification of *Bupleurum chinense* DC. and *Bupleurum marginatum* var. Wall. ex DC *stenophyllum* (Wolff) Shan et Li Based on Headspace-Gas Chromatography-Ion Mobility Spectrometry

FAN Hong-Li¹, LIU Ya-Xiong², QIAO Li², CHEN Fu², LUO Zhuo-Ya²

(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. NMPA Key Laboratory for Rapid Testing Technology of Drugs, Guangdong Institute for Drug Control, Guangzhou 510663 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To establish the volatile fingerprint of headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry (HS-GC-IMS) of *Bupleurum chinense* DC. and *Bupleurum marginatum* var. Wall. ex DC *stenophyllum* (Wolff) Shan et Li to rapidly identify them. **Methods** MXT-WAX and MXT-5 were used to detect the volatile fingerprint of

收稿日期: 2020-12-14

作者简介: 樊洪利(1993-), 女, 硕士研究生; E-mail: fh1293@163.com

通讯作者: 刘亚雄(1977-), 男, 博士; E-mail: liuyaxiong@gdcdc.org.cn. 罗卓雅(1963-), 女, 主任药师; E-mail: LzyGDIDC@163.com

基金项目: 广东省中医药局科研项目(编号: 20181042); 广东省生物医药科技协同创新中心项目(编号: ZA20190010)

21 batches of *Bupleurum chinense* DC. and 17 batches of *B. marginatum* var. *stenophyllum*, respectively. The achieved characteristic peaks of *Bupleurum chinense* DC. and *B. marginatum* var. *stenophyllum* were given the principal component analysis to identify the two subjects. **Results** MXT-5 column was used to obtain one characteristic peak of volatile constituents in *Bupleurum chinense* DC. and 5 characteristic peaks of volatile constituents in *B. marginatum* var. *stenophyllum*, and the total proportion of principal components 1 (PC-1) and 2 (PC-2) was 87%. MXT-WAX column was used to obtain 4 characteristic peaks of volatile constituents in *Bupleurum chinense* DC. and 4 characteristic peaks of volatile constituents in *B. marginatum* var. *stenophyllum*, and the total proportion of PC-1 and PC-2 was 91%. **Conclusion** The use of HS-GC-IMS with MXT-WAX column allows for simple, rapid and better differentiation between *Bupleurum chinense* DC. and *B. marginatum* var. *stenophyllum*.

Keywords: *Bupleurum chinense* DC.; *Bupleurum marginatum* var. Wall. ex DC *stenophyllum* (Wolff) Shan et Li; headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry (HS-GC-IMS); identification

北柴胡为伞形科植物柴胡(*Bupleurum chinense* DC.)的干燥根,是临床最为常用的解表药之一,具有疏肝解郁、解肌退热的功效,用于治疗感冒发热、寒热往来、疟疾、肝郁气滞等病证^[1-2]。藏柴胡 [*Bupleurum marginatum* var. Wall. ex DC *stenophyllum* (Wolff) Shan et Li]主产于甘肃,其解热、抗炎作用与北柴胡相似,但保肝作用不明显^[3],且具有药理毒性^[4],其常作为民族药但并未收录于《中华人民共和国药典》。不同的道地药材其有效成分含量不同,直接关系到其临床疗效,目前市场上时有利用藏柴胡替代北柴胡的事件发生,因此,建立有效的药材鉴别方法尤为必要^[5-6]。鉴别柴胡的方法多为性状鉴别^[7]、薄层色谱(TLC)^[8]、高效液相色谱(HPLC)^[9]、高效液相色谱-质谱(HPLC-MS)联用^[10]等,其中,性状鉴别的主观因素影响较大,TLC、HPLC及HPLC-MS等方法需要对药材进行复杂的前处理,且分析周期较长。本研究使用顶空-气相色谱-离子迁移谱(HS-GC-IMS)技术对北柴胡与藏柴胡直接检测,可快速鉴别北柴胡与藏柴胡。

1 材料与方法

1.1 仪器 HS-GC-IMS仪(德国G.A.S.公司);MS204S型1/万电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

1.2 数据分析 采用HS-GC-IMS仪器配套的分析软件LAV(laboratory analytical viewer)及3款插件Reporter、GalleryPlot、Int Dynamic Principal Components Analysis(Int Dynamic PCA)对样品离子迁移谱图进

行分析。

1.3 样品 北柴胡药材(编号:BCH1~21),藏柴胡药材(编号:ZCH1~17),已经广东省药品检验所中药室李华主任药师进行鉴定。样品的详细来源见表1。

1.4 样品前处理 取0.1 g柴胡样品置于20 mL顶空进样瓶中,120 ℃孵化30 min,经顶空进样并使用HS-GC-IMS进行分离检测,每个样品平行测定2次。

1.5 分析条件 MXT-WAX色谱柱(15 m×0.53 mm, 1.0 μm),MXT-5色谱柱(15 m×0.53 mm, 1.0 μm),载气(漂移气)为氮气,载气流量(0~5 min, 5 mL/min; 5~10 min, 5~25 mL/min; 10~15 min, 25~125 mL/min; 15~30 min, 125 mL/min),漂移气流量150 mL/min,柱温80 ℃,IMS温度80 ℃,进样针温度125 ℃,进样体积500 μL。

2 结果

2.1 MXT-5色谱柱检测柴胡 采用MXT-5色谱柱分别检测21批北柴胡及17批藏柴胡,其典型图谱详见图1-a,通过统计获得北柴胡挥发性特征峰1个,藏柴胡挥发性特征峰5个。其Gallery图谱详见图1-b,颜色越深表明该挥发性物质的含量越高。由图可见,北柴胡与藏柴胡的主要区别在于挥发性特征物质含量的高低。采用Int Dynamic PCA软件对21批北柴胡及17批藏柴胡进行主成分分析,详见图1-c,可见北柴胡BCH 1~21聚成一堆,藏柴胡ZCH 1~17聚成一堆,两者各自独立聚成一堆,表明两者有明显的差异,且PC-1与PC-2

表1 柴胡样品的来源

Table 1 Resource of samples of *Bupleurum Chinense* DC. and *B. Marginatum* var. *Stenophyllum*.

样品编号	厂家(批号)	产地	样品编号	厂家(批号)	产地
BCH1	广州白云山光华药业	/	BCH20	/	山西省运城市
BCH2	广州白云山光华药业	/	BCH21	国药集团冯了性(佛山)药材饮片有限公司(20200201)	山西省
BCH3	/	甘肃省漳县	ZCH1	/	甘肃省
BCH4	/	甘肃省	ZCH2	/	甘肃省
BCH5	/	甘肃省	ZCH3	/	甘肃省
BCH6	汕头市粤东药业有限公司(180302)	陕西省	ZCH4	/	甘肃省
BCH7	国药集团冯了性(佛山)药材饮片有限公司(20170703)	湖北省	ZCH5	广州白云山光华药业	/
BCH8	安徽协和成药业饮片有限公司(17122523)	山西省	ZCH6	广州白云山光华药业	/
BCH9	广东汇群中药饮片股份有限公司(20171001)	陕西省	ZCH7	甘肃省药品检验所提供	甘肃省定西市渭源县会川镇
BCH10	广东汇群中药饮片股份有限公司(20170802)	陕西省	ZCH8	甘肃省药品检验所提供	甘肃省定西市渭源县会川镇
BCH11	广州南北行中药饮片有限公司(171211)	河北省	ZCH9	/	甘肃省
BCH12	广东天泰药业有限公司中药饮片厂(170701)	陕西省	ZCH10	/	甘肃省
BCH13	康美药业股份有限公司(1712071610)	湖北省	ZCH11	/	甘肃省
BCH14	广州南北行中药饮片有限公司(160608)	山西省	ZCH12	/	甘肃省
BCH15	广东汇群中药饮片股份有限公司(20171002)	陕西省	ZCH13	/	甘肃省
BCH16	广州白云山光华药业	/	ZCH14	国药集团冯了性药材饮片有限公司	/
BCH17	广州白云山光华药业	/	ZCH15	中检院提供	/
BCH18	广州致信中药饮片有限公司	/	ZCH16	广州白云山光华药业	/
BCH19	/	山西省运城市	ZCH17	/	甘肃省

总占比为87%,表明通过弱极性MXT-5柱可以对北柴胡与藏柴胡进行有效区分。

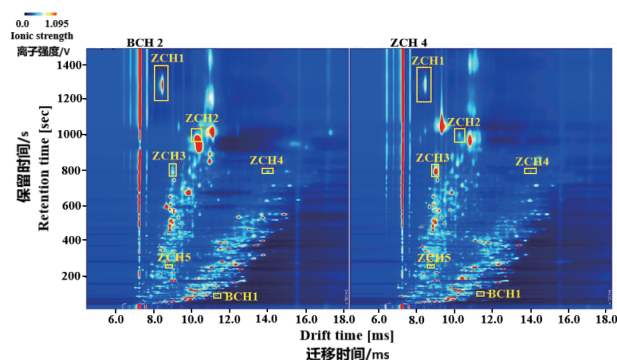
2.2 MXT-WAX 色谱柱检测柴胡 采用MXT-WAX 色谱柱分别检测21批北柴胡及17批藏柴胡,其典型图谱详见图2-a。通过统计获得北柴胡挥发性特征峰4个,藏柴胡挥发性特征峰4个。其Gallery图谱详见图2-b。颜色越深表明该挥发性物质的含量越高。由图可见,北柴胡与藏柴胡的主要区别在于挥发性特征物质含量的高低。采用Int Dynamic PCA 软件对21批北柴胡及17批藏柴胡进行主成分分析,详见图2-c,可见北柴胡BCH 1~21聚成一堆,藏柴胡ZCH 1~17聚成一堆,两者各自独立聚成一堆,表明两者之间有明显的差异,且PC-1与PC-2总占比为91%,表明通过强极性MXT-WAX柱可以更好地对北柴胡与藏柴胡进行有效区分。

2.3 取样量的优化 取北柴胡10与藏柴胡4样品,分别称取0.05、0.1、0.2、0.3 g,于120℃孵

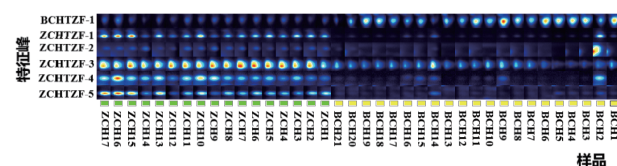
育30 min后进行检测。结果显示:0.05 g样品出峰较少;0.2 g及0.3 g样品出峰较多,但信号强度高,峰分离度较差;0.1 g样品出峰较好,且峰与峰之间分离度好。因此,选择北柴胡与藏柴胡的取样量为0.1 g。

2.4 顶空孵育温度的优化 固定孵育时间为30 min,优化顶空孵育温度。取北柴胡10与藏柴胡4样品,分别于80、90、100、110、120℃孵育。结果显示,随着孵育温度的升高,出现的峰增多,但温度过高可能造成挥发性物质的降解,因此选择顶空孵育温度为120℃。

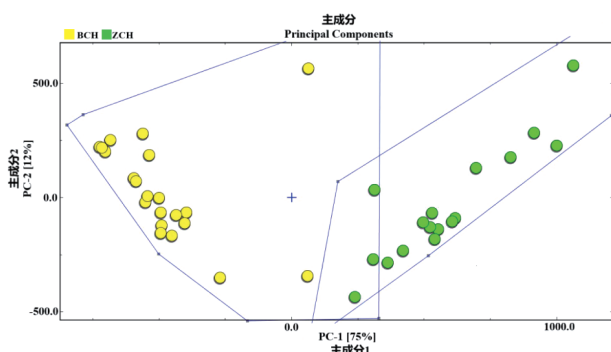
2.5 顶空孵育时间的优化 固定孵育温度为120℃,优化顶空孵育时间。取北柴胡10与藏柴胡4样品,分别于10、20、30、40、50 min进行孵育。结果显示,随着孵育时间的增加,出现的峰增多,30 min后出现峰的个数和强度增加不明显,因此选择顶空孵育时间为30 min。



a. MXT-5 色谱柱检测柴胡特征峰典型图谱：左图为北柴胡，右图为藏柴胡



b. MXT-5 色谱柱检测 21 批北柴胡及 17 批藏柴胡的 Gallery 特征峰 (TZF) 图谱



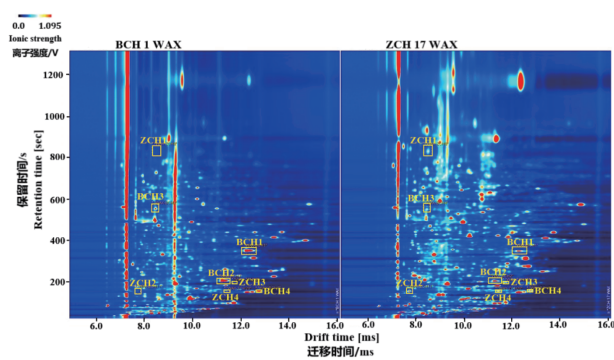
c. MXT-5 色谱柱检测 21 批北柴胡及 17 批藏柴胡的主成分分析

图1 MXT-5 色谱柱检测北柴胡及藏柴胡的特征峰与主成分分析

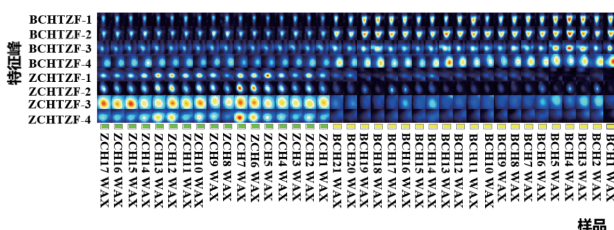
Figure 1 Characteristic peaks and principal component analysis of *Bupleurum chinense* DC. and *B. marginatum* var. *stenophyllum* using MXT-5 column

3 讨论

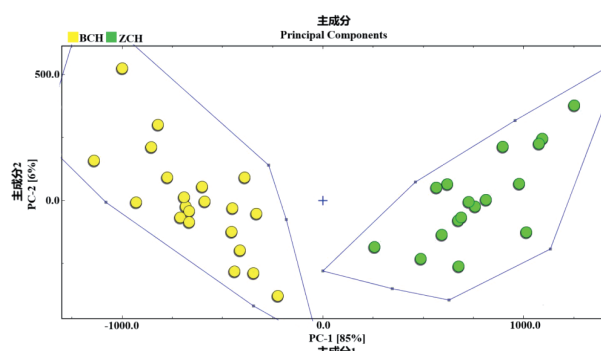
柴胡的化学成分种类繁多,包括挥发油、柴胡皂苷、香豆素和脂肪酸等,其中挥发油是柴胡的有效成分之一^[8]。目前,有较多方法分析柴胡的化学成分^[4,7-11],杨印军等^[4]采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)方法比较了北柴胡、竹叶柴胡、藏柴胡与小叶黑柴胡之间的化学成分构成,该方法需要复杂的样品前处理,且需要质谱仪完成,成本高;于丹等^[8]采用TLC及HPLC对柴胡的有效成分进行研究,但该方法需要



a. MXT-WAX 色谱柱检测柴胡特征峰典型图谱：左图为北柴胡，右图为藏柴胡



b. MXT-WAX 色谱柱检测 21 批北柴胡及 17 批藏柴胡的 Gallery 特征峰 (TZF) 图谱



c. MXT-WAX 色谱柱检测 21 批北柴胡及 17 批藏柴胡的主成分分析

图2 MXT-WAX 色谱柱检测北柴胡及藏柴胡的特征峰与主成分分析

Figure 2 Characteristic peaks and principal component analysis of *Bupleurum chinense* DC. and *B. marginatum* var. *stenophyllum* using MXT-WAX column

对柴胡的样品进行研粉、浸泡、提取等复杂的前处理,且研究周期长,不能满足快速检验技术的要求;廖远熹等^[11]运用静态顶空-毛细管气相色谱-质谱法及质谱检索和保留指数相结合技术对6种不同产地柴胡的挥发性成分进行了检测,该方法分析周期较长且需要质谱仪完成,成本高。

HS-GC-IMS 是一种顶空气相色谱与离子迁移谱联用的技术,既具备了顶空气相色谱无需样品

前处理与突出分离的特点,又具备了离子迁移谱高灵敏度、高分辨率、操作简单等优点^[12-15]。HS-GC-IMS可以从分子水平上快速检测待测样品中的挥发性物质,被广泛应用于中药^[14-18]、化妆品^[19-20]、食品^[21-22]等检测领域,而北柴胡与藏柴胡含有大量的挥发性成分^[23],基于此,本研究采用HS-GC-IMS对北柴胡与藏柴胡进行鉴别。

综上所述,本研究采用HS-GC-IMS可简单、快速地鉴别北柴胡与藏柴胡,并使用MXT-WAX色谱获得北柴胡与藏柴胡的挥发性特征峰分别为4个,为鉴别北柴胡与藏柴胡提供了可靠的参考资料。

参考文献:

- [1] 郭泰麟,康廷国,张慧.不同产地南北柴胡中柴胡皂苷的含量测定[J].天津中医药大学学报,2020,39(2):107-111.
- [2] 赵佳琛,翁倩倩,张悦,等.经典名方中柴胡药材的本草考证[J].中国中药杂志,2020,45(3):697-703.
- [3] 王惠.藏柴胡与北柴胡的鉴别与药理活性对比研究[D].太原:山西省中医药研究院,2019.
- [4] 杨印军,郑伟,郭佳琪,等.北柴胡、竹叶柴胡、藏柴胡与小叶黑柴胡化学成分比较研究[J].中国中药杂志,2019,44(2):332-337.
- [5] 丁锤,徐莹,马孝熙,等.柴胡属5种易混药材的鉴别研究[J].中药材,2016,39(9):1975-1981.
- [6] 王惠,刘霞.藏柴胡的研究进展[J].世界最新医学信息文摘,2019,19(20):110-113.
- [7] 魏娟,祝宇,余世荣,等.空心柴胡的生药学研究[J].中国现代应用药学,2020,37(1):35-39.
- [8] 于丹,吴军凯,谢海龙,等.不同产地柴胡商品药材的质量评价研究[J].化学工程师,2020,34(2):23-26.
- [9] 黄金,刘艳,潘娟,等.北柴胡地上部分正丁醇层的化学成分研究[J].中医学报,2020,48(1):38-41.
- [10] 刘玉梅.柴胡抗炎谱效关系及质量评价研究[D].合肥:安徽中医药大学,2020.
- [11] 廖远熹,王昊阳,郭寅龙,等.中药柴胡挥发性成分的静态顶空-气相色谱-质谱分析[J].质谱学报,2005,3:187-192.
- [12] 杨彩静,曹人邴,赵颖,等.气相色谱法同时测定扎冲十三药材中6种挥发性成分的含量[J].中国药房,2019,654(12):71-75.
- [13] 徐文峰,徐硕,金鹏飞,等.减肥类保健食品中非法添加化学药物检测技术和方法的研究进展[J].中国药房,2017,28(9):1292-1296.
- [14] 周倩,戴衍朋,郭威,等.基于顶空-气相色谱-离子迁移谱的生、炙甘草饮片挥发性有机物指纹图谱分析[J].中国中药杂志,2020,45(16):3857-3862.
- [15] 林史珍,杜方敏,林良静,等.GC-IMS技术监测加速破坏条件下苦杏仁挥发性物质变化研究[J].广州中医药大学学报,2019,36(8):1247-1251.
- [16] YUAN Z Y, QU H Y, XIE M Z, et al. Direct authentication of three Chinese materia medica species of the Lili Bulbus family in terms of volatile components by headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry [J]. Analytical Methods, 2019, 11(4): 530-536.
- [17] YUAN Z Y, LI J, ZHOU X J, et al. HS-GC-IMS-based metabonomics study of Baihe Jizhuang Tang in a rat model of chronic unpredictable mild stress [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2020, 1148: 122143.
- [18] 马云,王尧尧,管明瑞,等.不同发育期忍冬花颜色与气味变化[J].中成药,2019,41(6):1349-1353.
- [19] 方文娟,龚葵,许明翥.GC-IMS联用技术在香水质量快速检测中的应用[J].中国食品药品监管,2019,181(2):57-61.
- [20] 郑小嘎,吴爱东,陈庆彩,等.不同产地大马士革玫瑰精油特征成分的气相离子迁移谱对比分析[J].食品安全质量检测学报,2020,11(11):3465-3472.
- [21] 于怀智,姜滨,孙传虎,等.顶空气相离子迁移谱技术对不同产地水蜜桃的气味指纹分析[J].食品与发酵工业,2020,46(16):231-235.
- [22] 杜超,戚军,姚文生,等.基于气相-离子迁移谱分析反复炖煮过程中鸡肉风味物质的变化规律[J].食品与发酵工业,2020,46(9):265-271.
- [23] 叶耀辉,张博文,郑红梅,等.顶空进样GC-MS分析柴胡不同炮制品的挥发性成分[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(18):11-14.

【责任编辑:侯丽颖】