

# 柴荆注射液中柴胡气相色谱指纹图谱研究

郭雪清<sup>1</sup>, 王英锋<sup>1</sup>, 刘海平<sup>1</sup>, 王欣月<sup>1</sup>, 王丽霞<sup>2</sup>, 牟稷征<sup>2</sup>, 王旗<sup>3\*</sup>

(1. 首都师范大学分析测试中心, 北京 100037; 2. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053;  
3. 北京大学公共卫生学院, 北京 100083)

[摘要] 目的: 应用气相色谱(GC)法建立柴荆注射液中柴胡挥发油的气相色谱指纹图谱。方法: 收集 10 批北京产药材柴胡代表性样品, 按生产工艺制备柴胡水蒸汽蒸馏液, 正己烷提取后, 用 Varian CP-Sil 24 CB 毛细管柱, 程序升温分离, FID 检测。结果: 方法有良好的重复性、精密度和稳定性(RSD < 3%, n = 6), 建立的北京柴胡药材指纹图谱确定 9 个共有峰, 用中南大学版相似度评价软件计算, 相关系数大于 0.9。结论: 建立的指纹图谱可为柴荆注射液的质量控制提供依据。

[关键词] 柴胡; 挥发油; 气相色谱; 指纹图谱

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)02-0015-03

## Gas Chromatographic Fingerprint for *Bupleurum chinese* DC. of Chaijing Injection

GUO Xue-qing<sup>1</sup>, WANG Ying-feng<sup>1</sup>, LIU Hai-ping<sup>1</sup>, WANG Xin-yue<sup>1</sup>, WANG Li-xia<sup>2</sup>, MU Ji-zheng<sup>2</sup>, WANG Qi<sup>3\*</sup>

(1. Analytical and Testing Center, Capital Normal University, Beijing 100037, China;

2. Guang An Men Hospital, The Chinese Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China

3. School of Public Health, Peking University, Beijing 100083, China)

[Abstract] **Objective:** To establish GC fingerprint for quality control of volatile oil in *Bupleurum chinese* DC. of Chaijing Injection. **Methods:** A sum of 10 batches of *Bupleurum Chinese* DC. samples were collected and identified. The GC equipped with FID detector, and a Varian CP-Sil 24 CB capillary column was used. The temperature program of column oven was as follows: 50 °C, held for 3 min; increased at a rate of 2 °C·min<sup>-1</sup> to 110 °C, then at 6 °C·min<sup>-1</sup> to 250 °C, held for 5 min. **Results:** The method had good precision, repeatability and stability (RSD < 3%, n = 6). The fingerprints from the 10 samples were well-uniformized and the correlative coefficient was over 0.9. **Conclusion:** The fingerprint is reliable and can be used for quality control of volatile oil in Chaijing Injection.

[Key words] *Bupleurum chinese* DC.; volatile oil; GC; fingerprint

柴胡具有和解表里、保肝利胆、升阳的功效。其挥发油具有解热、抗炎等作用。柴荆注射液为广安门医院研制的中药注射剂, 由柴胡和荆芥组成, 具有解表发汗, 疏散风热的作用。用于外感风邪、发热恶寒, 临床疗效显著<sup>[1,2]</sup>。柴胡挥发油中含有丁香酚, 正己酸、对甲氧基苯乙酮和戊酸等有效成分。其质

量控制方法主要为测定正己酸的含量<sup>[2,3]</sup>。

柴胡属植物有几十个品种, 《中国药典》规定<sup>[4]</sup>伞形科植物柴胡(北柴胡) *Bupleurum chinense* DC. 和狭叶柴胡(南柴胡) *Bupleurum scorzonifolium* Willd. 为正品, 以根入药。南柴胡与北柴胡的化学成分并不完全相同, 北柴胡的药效较好<sup>[5]</sup>。柴胡主产于北京、河北、山西、陕西、吉林等地。不同产地柴胡挥发油化学成分差别不大, 但是含量差别较大, 北京怀柔是柴胡的主产地, 柴胡药材供给充足。为控制柴荆注射液质量, 本文用水蒸汽蒸馏法按制备工艺提取北京产柴胡挥发油, 进行气相色谱指纹图谱分析, 以建

[收稿日期] 2007-06-27

[基金项目] 北京市科委资助项目(H010210310129)

[通讯作者] \* 王旗, Tel: (010) 82801527; E-mail: wangqi@bjmu.edu.cn

立北柴胡挥发油特征气相色谱指纹图谱,用于柴胡药材的质量控制。

## 1 仪器与试剂

**1.1 仪器与试剂** Thermo Finnigan Trace2000 气相色谱仪(FID 检测器);GDC-500G 高纯氢气发生器;KQ-250E 型超声仪,Sartorius 电子分析天平;正己酸对照品为美国 Sigma 公司产品,纯度为 99.8%。正己烷,无水硫酸钠为分析纯。

**1.2 药材样品:**柴胡样品均由中国中医科学院广安门医院药剂科收集,并经本院牟稷征主管药师鉴定为伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinese* DC 的干燥根。

## 2 实验方法

### 2.1 色谱条件及供试液的制备

**2.1.1 色谱条件** 色谱柱:Varian CP-Sil 24 CB 毛细管柱(50% phenyl, 50% dimethylpolysiloxane, 30 m × 0.53 mm, 0.1 μm);进样口温度:260 °C;检测器温度:280 °C;载气:氦气,流速:10.0 mL·min<sup>-1</sup>;FID 检测器:Air 350 mL·min<sup>-1</sup>, H<sub>2</sub> 35 mL·min<sup>-1</sup>, N<sub>2</sub> 30 mL·min<sup>-1</sup>;进样方式:不分流(splitless)进样;进样量:0.5 μL。程序升温:柱初始温度 50 °C,保持 3 min,然后以 2 °C·min<sup>-1</sup>升温至 110 °C,再以 6 °C·min<sup>-1</sup>升温至 250 °C,保持 5 min。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 柴胡水蒸汽蒸馏液供试品的制备:按制备工艺制备柴胡水蒸汽蒸馏液,2 g 生药/mL(由中国中医科学院广安门医院提供)。

取水蒸气蒸馏液 5 mL 加正己烷萃取 2 次,萃取液分别为 5 mL, 3 mL, 萃取液经装有 5 g 无水硫酸钠(脱水)的小漏斗,过滤,自然挥发,转移至 5 mL 容量瓶中,加正己烷定容至刻度,密闭,置 4 °C 冰箱保存,作为供试品溶液。

**2.1.3 对照品溶液的制备** 称取正己酸对照品 0.013 3 g,用正己烷溶解,定容至 10 mL,再用正己烷稀释 10 倍。

**2.1.4 测定方法** 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 0.5 μL,注入气相色谱仪,测定并记录 1 h 色谱图,以正己酸为参照物峰,计算各峰的相对保留时间和相对峰面积值。

### 2.2 方法学考察

**2.2.1 空白与对照试验** 分别精密吸取空白溶剂与对照品正己酸溶液各 0.5 μL,注入气相色谱仪中,测定并记录 1 h 色谱图,确定保留时间(0.8~3) min 的色谱峰为溶剂峰,11.0 min 的色谱峰为正己酸对

照峰。

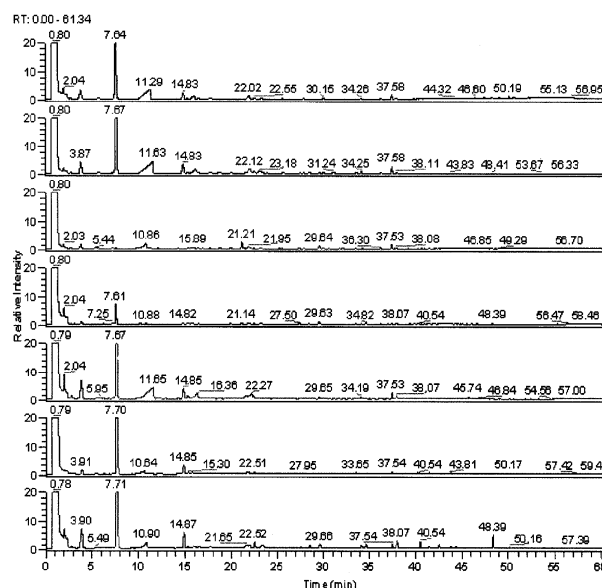
**2.2.2 精密度实验** 取制备好的柴胡供试品,连续进样 6 次,17 个共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.13%~0.28%,相对峰面积的 RSD 为 1.4%~2.9%,均小于 3%,方法精密度良好。

**2.2.3 稳定性实验** 取制备好的柴胡供试品,分别于 0, 4, 8, 12, 16, 20 h 进样检测,17 个共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.13%~0.34%。相对峰面积的 RSD 为 0.8%~2.1%,均小于 3%,在 20 h 内稳定性良好。

**2.2.4 重复性实验** 取柴胡药材 5 份按上述方法制备供试液,进样检测,17 个共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.10%~0.41%,相对峰面积的 RSD 为 1.6%~2.9%,均小于 3%,方法重复性良好。

## 3 结果

**3.1 不同产地柴胡药材指纹图谱** 收集了 7 个不同产地的柴胡药材,分别来自北京怀柔,山西侯马,河北承德,内蒙古,山西吕梁,吉林,甘肃陇西,检测其气相色谱指纹图谱,结果如图 1 所示。不同产地柴胡药材指纹图谱既有相似性,又存在一定差异,导致其质量及药效的差异。要保证药材质量稳定,应固定产地。以柴胡药材中解热活性成分正己酸比较,北京怀柔,山西侯马和山西吕梁柴胡中含量较高,因为北京怀柔产地较近,药材供给充足,故选择北京怀柔产药材柴胡。



由上至下产地分别为北京怀柔,山西侯马,河北承德,内蒙古,山西吕梁,吉林,甘肃陇西

图 1 不同产地柴胡药材挥发油色谱图

**3.2 北京柴胡气相色谱指纹图谱的建立** 根据 10 批次北京怀柔柴胡药材水蒸汽蒸馏液的指纹图谱检

测结果, 标定北京柴胡药材挥发油的共有色谱峰, 标定出 9 个共有峰, 见图 2。北京产柴胡药材气相色谱指纹图谱可分为 3 个区: 保留时间 3 min 之前的色谱峰为溶剂峰; 保留时间(3~ 12) min(I 区) 为主要特征区, 出现 3 个明显的特征峰, 包括内参照物峰正己酸(3 号峰), 所有样品的指纹峰均能重合, 只是峰面积比值有差别; 保留时间(12~ 40) min( II 区) 为指纹密集区, 不同批次的柴胡指纹图谱略有差异; 保留时间(40~ 60) min( III 区) 为一些细小的指纹区, 不同批次的柴胡指纹图谱有不同程度的缺失。以正己酸为参照物峰, 其相对保留时间和相对峰面积比值为 1, 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积比值。在 9 个共有峰中, 单峰面积占总峰面积大于 20% 的共有峰有 1 个, 为 2 号峰; 单峰面积占总峰面积大于 10% 的共有峰有 1 个, 为 1 号峰; 单峰面积占总峰面积大于 5% 的共有峰有 1 个, 为 3 号峰; 其相对峰面积比值的 SD 均小于 20%。由于柴胡挥发油含量比较低, 溶剂峰占总峰面积的百分比高达 10% 以上, 因此共有峰百分峰面积占 80% 以上, 非共有峰百分峰面积均小于 10%。

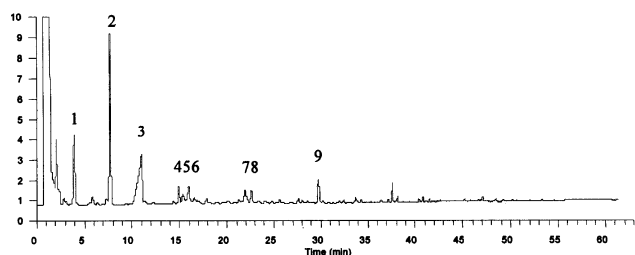


图 2 北京产柴胡药材气相色谱指纹图谱

**3.3 指纹图谱相似度计算** 用中南大学版指纹图谱相似度评价软件, 导入 10 批次北京产柴胡药材的气相色谱指纹图谱, 计算相似度(全谱), 结果见表 1, 相似度均在 0.93 以上。

**3.4 主要特征峰的鉴定** 用气相色谱保留时间对比和气相色谱-质谱(GC-MS)分析对主要特征峰进行了确认, 确定北京产柴胡指纹图谱中 1 号特征峰为环己醇, 2 号特征峰为己醛, 3 号特征峰为正己酸。

表 1 10 批次北京产柴胡气相色谱指纹图谱相似度

批次	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
相关系数 (均值)	0.996 6	0.998 6	0.989 0	0.993 3	0.984 1	0.985 5	0.992 2	0.937 9	0.940 7	0.934 7
相关系数 (中位数)	0.989 2	0.992 8	0.983 3	0.991 3	0.979 8	0.982 4	0.990 2	0.964 8	0.966 9	0.962 3

## 4 讨论

**4.1 色谱柱的选择** 分别试用 HP-1, SE-54, HP-50+, HP-20M 和 CP-SIL24CB 毛细管气相色谱柱, 各色谱峰之间可以分离, 但 HP-1, SE-54, HP-20M 容易受到空白溶剂的干扰, 经过反复比较实验, 最终选用 CP-SIL 24CB(50% phenyl, 50% dimethylpolysiloxane) 毛细管柱。

**4.2 色谱条件的选择** 对柱温的升温程序进行了优化, 特别考察了柱温最后分别升温至 180 °C, 200 °C, 220 °C, 250 °C 时, 色谱峰的数目有无变化(以判断是否有成分高温分解)。

经如下不同升温程序试验: (1) 起始温度为 45 °C, 保持 3 min, 以 4 °C/min 速率升至 270 °C, 保持 5 min; (2) 起始温度为 50 °C, 保持 3 min, 以 2 °C/min 速率升至 200 °C, 保持 0 min; (3) 起始温度为 50 °C, 保持 3 min, 以 2 °C/min 速率升至 110 °C, 保持 0 min, 再以 6 °C/min 速率升至 200 °C, 保持 5 min; (4) 起始温度为 50 °C, 保持 3 min, 以 2 °C/min 速率升至 110 °C, 保持 0 min, 再以 6 °C/min 速率升至 250 °C, 保持 5 min。发现应用升温程序(4) 色谱峰最多, 且各色谱峰分离好, 检测时间适中, 故选择此升温程序。

**4.3 北京柴胡气相色谱指纹图谱** 通过系统的方法学考察, 在仔细观察 10 批代表性药材样品指纹图谱的基础上, 依据指纹图谱信息特征、指纹图谱稳定性好的原则, 建立了北京柴胡气相色谱指纹图谱, 方法简单, 操作性强, 可用于柴胡药材的质量控制。

## [参考文献]

- [1] 孔焕宇, 陆丽珠, 封丽红. 柴胡注射液及自制柴荆注射液对三联菌苗致热家兔降温作用的比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 1998, 4(6): 63.
- [2] 孙会敏, 崔翰明, 田颂九, 等. 气相色谱法测定柴荆注射液中正己酸和胡薄荷酮含量的研究[J]. 药物分析杂志, 2002, 22(5): 401-403.
- [3] 洪筱坤, 王智华, 王伟民, 等. 柴胡注射液中有有效成分的气相色谱分析[J]. 药物分析杂志, 1988, 8(2): 95-96.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 198.
- [5] 郝庆, 李岩, 李强. 不同品种柴胡药效学及其质量控制[J]. 中华临床医药杂志, 2002, 3(22): 1-3.