

基于¹H-NMR代谢组学技术比较熏硫和未熏硫白芷的化学成分差异及化学标志物筛选^Δ

董 芸^{1*}, 田玫瑰¹, 唐荣伟¹, 唐 玲¹, 赵程成², 张 艺², 范 刚^{2#}(1.达州中医药职业学院药学系, 四川 达州 635000; 2.成都中医药大学民族医药学院, 成都 611137)

中图分类号 R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)13-1557-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.13.04

摘 要 目的:研究熏硫与未熏硫白芷药材的整体化学成分差异,并筛选可用于两者鉴别的化学标志物。方法:分别以硫熏和未硫熏的白芷药材各16批为检测样品,以氘代甲醇-重水(1:0.2, V/V)为提取溶剂,采用氢核磁共振(¹H-NMR)代谢组学技术检测两种方法处理的白芷药材中的初级和次级代谢产物。利用直观分析、主成分分析(PCA)和 t 检验比较二者的化学成分差异,并确定化学标志物。结果:从两种白芷药材中同时检测并鉴定出了包括香豆素类、氨基酸类、糖类在内的19种化学成分。直观分析发现,两种白芷药材的化学成分轮廓相似,但香豆素类和糖类成分的¹H-NMR信号强度有较大的差异;PCA分析结果显示,所有样品按不同处理方法分成两类; t 检验结果显示,白芷熏硫后氧化前胡素、欧前胡素、葡萄糖和蔗糖含量均显著降低($P<0.01$ 或 $P<0.001$),丙氨酸、亮氨酸含量均显著升高($P<0.01$ 或 $P<0.001$),而其余13种成分含量差异无统计学意义($P>0.05$)。结论:熏硫和未熏硫白芷药材中氧化前胡素、欧前胡素、葡萄糖和蔗糖、丙氨酸、亮氨酸6种化学成分存在明显的差异,可作为化学标志物用于市场上熏硫白芷的鉴别。

关键词 白芷;熏硫;氢核磁共振代谢组学;化学标志物;鉴别

Comparison of Chemical Constituents Differences between *Angelicae dahuricae* with and without Sulphur-fumigation and Selection of Chemical Markers Based on ¹H-NMR Metabolomics

DONG Yun¹, TIAN Meigui¹, TANG Rongwei¹, TANG Ling¹, ZHAO Chengcheng², ZHANG Yi², FAN Gang²
(1. Dept. of Pharmacy, Dazhou Vocational College of TCM, Sichuan Dazhou 635000, China; 2. College of Ethnic Medicine, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the differences in the overall chemical constituents of *Angelicae dahuricae* with and without sulphur-fumigation, and to select chemical markers that can be used for identification. METHODS: Each 16 batches of *A. dahuricae* with and without sulphur-fumigation were selected as samples. Deuterated methanol-deuterium oxide (1:0.2, V/V) was used as extraction solvent, and ¹H-NMR metabolomics was used to detect the primary and secondary metabolites in *A. dahuricae*. In addition, visual analysis, principal component analysis (PCA) and t -test were used to compare the component differences of *A. dahuricae* by two kinds of pretreatment methods. RESULTS: A total of 19 chemical constituents such as coumarins, amino acids and sugars were simultaneously detected and identified from two kinds of *A. dahuricae*. Visual analysis showed that the chemical profiles of the two kinds of *A. dahuricae* were similar, but their coumarins and carbohydrates were quite different in ¹H-NMR signal intensity. PCA analysis showed that all samples could be divided into two categories according to different treatment methods. The results of t -test showed that the contents of oxypeucedanin, imperatorin, glucose and sucrose of *A. dahuricae* were decreased significantly after sulphur fumigation ($P<0.01$ or $P<0.001$), while the contents of alanine and leucine were significantly increased ($P<0.01$ or $P<0.001$). There was no statistical significance in the contents of other 13 kinds of components ($P>0.05$). CONCLUSIONS: There are obvious differences in the 6 chemical compounds of oxypeucedanin, imperatorin, glucose, sucrose, alanine and leucine in *A. dahuricae* with and without sulphur-fumigation, which can be used as chemical markers for the identification of sulphur-fumigated *A. dahuricae* in the market.

KEYWORDS *Angelicae dahuricae*; Sulphur-fumigation; ¹H-NMR metabolomics; Chemical markers; Identification

白芷为常用中药材,来源于伞形科植物白芷[*Angeli-*

^Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81874370, No.81303310);国家重点研发计划项目(No.2017YFC1703900)

*讲师。研究方向:中药质量控制。E-mail:524632023@qq.com

通信作者:副研究员,博士。研究方向:中药及民族药质量控制与评价。电话:028-61800160。E-mail:fangang1111@163.com

ca dahurica (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f.]或杭白芷[*Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. var. *formosana* (Boiss.) Shan et Yuan]的干燥根,其味辛,性温,具有解表散寒、祛风止痛、宣通鼻窍、燥湿止带、消肿排脓等功效,可用于治疗感冒头痛、眉棱骨痛、

鼻塞流涕、鼻渊、牙痛、带下、疮疡肿痛等^[1]。白芷药材肉质根粗壮,富含淀粉,不易干燥,在潮湿环境下受损处易感染菜豆壳孢真菌而发生腐烂^[2]。另外,白芷药材粉性强、香气浓,在贮藏过程中极易发生虫蛀^[3]。目前,白芷新鲜药材在产地大多使用硫磺熏蒸(简称“熏硫”)的方法进行加工处理,熏硫有增白、防虫、防腐、防霉等作用,可使药材易于保存和销售。但现代研究表明,熏硫后白芷药材的香豆素类有效成分发生了较大的变化^[4-6],影响了药材的药效,例如与未熏硫的白芷比较,熏硫白芷的抗炎、镇痛作用减弱^[7]。然而,除香豆素类成分以外,熏硫后白芷药材中其他成分是否会发生变化还未见文献报道。此外,白芷熏硫前后药材的性状并未发生明显的变化,导致市场上白芷药材是否熏硫难以从外观上进行鉴别。因此,采用新的技术手段开展白芷熏硫后整体化学成分变化研究,并寻找新的客观鉴别方法,对于该药材的质量控制和临床应用具有重要的意义。

目前,关于熏硫白芷的化学成分变化及质量评价研究,多是采用高效液相色谱法(HPLC)测定特征成分的含量或进行指纹图谱分析^[4-6],但未见从初级与次级代谢产物角度开展其质量评价的报道。氢核磁共振(¹H-NMR)代谢组学是近年来发展起来的新兴分析技术,具有初级与次级代谢产物同时表征的优点^[8-10]。这种整体性评价模式与中药材治疗疾病的整体观、系统论相吻合,为中药材内在质量的综合评价提供了技术平台。目前,¹H-NMR代谢组学技术已广泛应用于黄连、沙棘、乌梅等中药材的品种鉴定和质量评价研究中^[9-12]。本课题组前期建立了熏硫川白芷的¹H-NMR主成分分析(PCA)鉴别预测模型^[13],但对白芷的整体化学成分没有进行鉴定,也未发现可区别熏硫和未熏硫白芷的化学标志物。因此,本研究采用¹H-NMR代谢组学技术,进一步从整体上鉴定分析白芷药材的初级与次级代谢产物,并结合PCA分析和*t*检验方法,系统研究熏硫和未熏硫白芷的整体化学成分差异,以期筛选出可用于熏硫白芷鉴别的特征化学标志物,进而为白芷的质量控制提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

Varian Mercury Plus 400 MHz 型NMR 仪(美国 Agilent 公司);BP221S 型电子天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司);KQ-300B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

本研究共收集了32批白芷药材,包括16批未熏硫药材及16批熏硫药材,经成都中医药大学民族医药学院范刚副研究员鉴定均为伞形科植物白芷[*A. dahurica*

(Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f.]的干燥根;异欧前胡素对照品(批号:110827-201109,纯度:98.5%)、补骨脂素对照品(批号:110739-200814,纯度:98.6%)、东莨菪素对照品(批号:110768-200504,纯度:98.5%)均购自中国食品药品检定研究院;欧前胡素、氧化前胡素、珊瑚菜素、Cnidilin、佛手柑内酯和异茴芹内酯均为本课题组从白芷药材中分离得到,经HPLC法检测其纯度均大于98%;重水(D₂O,纯度:99.9%)、氘代甲醇(CD₃OD,纯度:99.8%)、3-(三甲基硅基)-2,2,3,3-四氘代丙酸钠盐(TSP)均购自美国Sigma-Aldrich公司;磷酸二氢钾(成都市科龙化工试剂厂)。药材来源信息见表1。

表1 白芷药材来源信息

Tab 1 Source of *A. dahurica*

批号	产地	采集时间	处理情况
BZ-1	四川省遂宁市蓬溪县红江镇顺江村	2018-07-22	未熏硫
XLBZ-1			熏硫
BZ-2	四川省遂宁市蓬溪县红江镇永益村2组	2018-07-22	未熏硫
XLBZ-2			熏硫
BZ-3	四川省遂宁市蓬溪县红江镇永益村3组	2018-07-22	未熏硫
XLBZ-3			熏硫
BZ-4	四川省遂宁市新桥镇洪江村8组	2018-07-21	未熏硫
XLBZ-4			熏硫
BZ-5	四川省遂宁市新桥镇小坝村	2018-07-21	未熏硫
XLBZ-5			熏硫
BZ-6	四川省遂宁市新桥镇龙池村	2018-07-21	未熏硫
XLBZ-6			熏硫
BZ-7	四川省遂宁市新桥镇洪江村10组	2018-07-21	未熏硫
XLBZ-7			熏硫
BZ-8	四川省遂宁市射洪县金家镇	2018-07-23	未熏硫
XLBZ-8			熏硫
BZ-9	四川省遂宁市船山区老池乡花园村	2018-07-20	未熏硫
XLBZ-9			熏硫
BZ-10	四川省遂宁市船山区老池乡书院村	2018-07-20	未熏硫
XLBZ-10			熏硫
BZ-11	四川省遂宁市船山区老池乡黄楠村	2018-07-20	未熏硫
XLBZ-11			熏硫
BZ-12	四川省遂宁市船山区老池乡莲花石村	2018-07-20	未熏硫
XLBZ-12			熏硫
BZ-13	四川省资阳市安岳县元坝镇	2018-08-12	未熏硫
XLBZ-13			熏硫
BZ-14	四川省资阳市安岳县合义乡	2018-08-12	未熏硫
XLBZ-14			熏硫
BZ-15	四川省内江市东兴区百合镇	2018-08-12	未熏硫
XLBZ-15			熏硫
BZ-16	四川省内江市东兴区杨家乡	2018-08-12	未熏硫
XLBZ-16			熏硫

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

取干燥的白芷药材粉末0.2 g,精密称定,置于锥形瓶中,分别加入CD₃OD溶液1.0 mL和D₂O溶液0.2 mL(内含0.4 mg/mL TSP和12.32 mg/mL的磷酸二氢钾),摇匀,密封,超声(功率:200 W,频率:40 kHz,下同)提取30 min;取出,放冷,用0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液0.6 mL至标准的5 mm核磁管中,进行¹H-NMR测定。

2.2 ¹H-NMR分析条件

以CD₃OD为频率内锁,¹H-NMR测定条件为:观察频率400.12 MHz,测定温度(*T*)25℃,谱宽(*sw*)6 410.3 Hz,采样时间(*at*)2.556 s,脉冲延迟时间(*dl*)2.0 s,采样次数(*nt*)64,脉冲宽度(*pw*)6 μs,采用标准的预饱和脉冲序列(Presat)压制残留的水峰信号。

2.3 数据处理及统计分析

将测得的¹H-NMR自由感应衰减(FID)信号导入MestReNova 6.1.0软件进行傅里叶转换,并手动调整相位和基线,以TSP峰(0.0 ppm)为基准校正所有样品的化学位移。对0.50~8.50 ppm范围内的图谱以0.04 ppm为单位进行分段积分(bin_{ing}),并以总峰面积进行归一化处理,然后以ASCII格式输出数据,即得到各化学位移段与之相对应的信号峰面积值,并扣除甲醇溶剂的信号(3.26~3.34 ppm)及残留水峰信号(4.66~5.02 ppm)。将最终获得的数据矩阵,导入SIMCA 11.5软件进行PCA分析。此外,采用GraphPad Prism 5.0软件进行统计学分析,两组样品比较采用配对*t*检验,*P*<0.05表示差异有统计学意义。

2.4 方法学考察

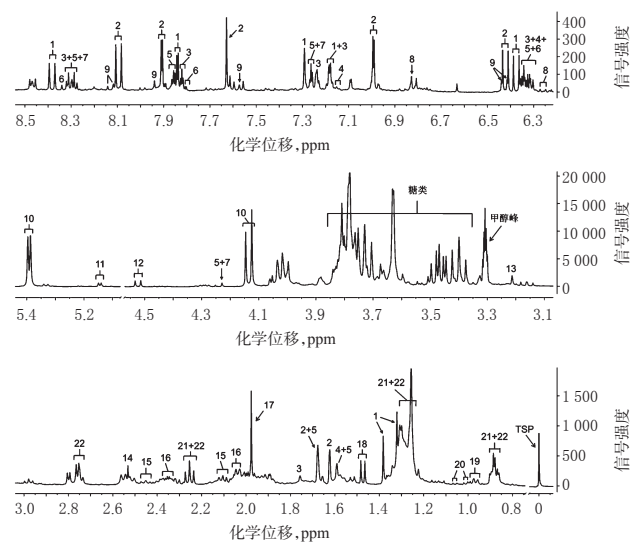
2.4.1 仪器精密度考察 取同一批未熏硫白芷供试品溶液(批号:BZ-1),分别连续进行¹H-NMR测定5次,按“2.3”项下数据处理方法处理图谱,得到5组积分值数据,运用Excel 2007软件计算5组数据之间的相关系数,结果分别为0.995、0.993、0.997、0.995和0.998,均大于0.99,表明仪器精密度良好。

2.4.2 方法重复性考察 取同一批未熏硫白芷药材(批号:BZ-1)粉末5份,按“2.1”项下方法制得供试品溶液,再分别进行¹H-NMR测定和数据处理,得到5组积分值数据,运用Excel 2007软件计算5组数据之间的相关系数,分别为0.994、0.995、0.996、0.998、0.995,均在0.99以上,表明该方法具有较好的重复性。

2.5 白芷整体化学成分的¹H-NMR检测及鉴定

取一批未熏硫白芷药材(批号:BZ-1)粉末适量,按“2.1”项下方法制备供试品溶液后,在“2.2”项条件下进行¹H-NMR测定。采用“加标准品定性”试验进行9种次级代谢产物(氧化前胡素、欧前胡素、异欧前胡素、Cnidilin、珊瑚菜素、佛手柑内酯、异茴芹内酯、东莨菪素、补骨脂素)的¹H-NMR信号归属,即在供试品溶液中分别加入各对照品2 mg,超声2 min使溶解,再进行¹H-NMR测定。通过MestReNova 6.1.0软件比对加入对照品前后的¹H-NMR图谱差异,根据峰的变化确定信号归属。此外,通过比对SDBS光谱数据库(<http://sdb.sdb.aist.go.jp>)及参考相关文献^[11,14]进行氨基酸、糖类等初级代谢产物的¹H-NMR信号归属。结果,采用¹H-NMR分析技术,从白芷药材中共鉴定出19种化学成分(α-葡萄糖和β-葡萄糖

计为1种)。白芷¹H-NMR图谱大致可以分为3个区域:高场区(3.1~0.0 ppm)主要包括有氧化前胡素、欧前胡素、异欧前胡素、Cnidilin、丁二酸、谷氨酰胺、谷氨酸、醋酸盐、丙氨酸、亮氨酸、缬氨酸以及饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸类成分等;中场区(5.5~3.1 ppm)主要有蔗糖、α-葡萄糖、β-葡萄糖等;低场区(9.5~5.5 ppm)主要有异茴芹内酯、东莨菪素、补骨脂素等。白芷药材代表性的¹H-NMR图谱见图1。



注:1.氧化前胡素;2.欧前胡素;3.异欧前胡素;4.Cnidilin;5.珊瑚菜素;6.佛手柑内酯;7.异茴芹内酯;8.东莨菪素;9.补骨脂素;10.蔗糖;11.α-葡萄糖;12.β-葡萄糖;13.胆碱;14.丁二酸;15.谷氨酰胺;16.谷氨酸;17.醋酸盐;18.丙氨酸;19.亮氨酸;20.缬氨酸;21.饱和脂肪酸类成分;22.不饱和脂肪酸类成分

Note: 1. oxypeucedanin; 2. imperatorin; 3. isoimperatorin; 4. cnidilin; 5. phellopterin; 6. bergapten; 7. isopimpinellin; 8. scopoletin; 9. psoralen; 10. sucrose; 11. α-glucose; 12. β-glucose; 13. choline; 14. succinic acid; 15. glutamine; 16. glutamic acid; 17. acetate; 18. alanine; 19. leucine; 20. valine; 21. saturated fatty acids; 22. unsaturated fatty acids

图1 白芷药材的¹H-NMR图谱
Fig 1 ¹H NMR spectra of *A. dahuricae*

2.6 熏硫和未熏硫白芷的¹H-NMR图谱比较

分别取同一批熏硫(批号:XLBZ-1)和未熏硫(批号:BZ-1)白芷药材粉末各适量,按“2.1”项下方法制备供试品溶液后,在“2.2”项条件下分别进行¹H-NMR测定,得到熏硫和未熏硫白芷的¹H-NMR图谱。通过直观分析,发现熏硫和未熏硫白芷的整体化学成分轮廓相似,但二者有些成分的信号强度有较大的差异,如未熏硫白芷的蔗糖、α-葡萄糖、β-葡萄糖及一些未鉴定的糖类(3.3~4.1 ppm)的信号强度明显高于熏硫白芷,而丙氨酸的信号强度弱于熏硫白芷。此外,通过放大¹H-NMR图谱的低场区(6.2~8.5 ppm),发现白芷熏硫后主要的香豆素类成分(如氧化前胡素、欧前胡素)的信号强度也有所不同,表明两种白芷的化学成分含量有一定的差

异。熏硫和未熏硫白芷的¹H-NMR图谱见图2(注:图中化学成分编号同图1)。

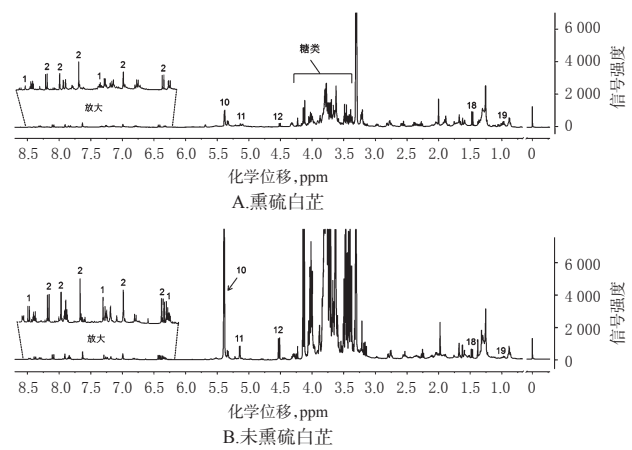


图2 熏硫和未熏硫白芷的¹H-NMR图谱比较
Fig 2 Comparison of ¹H-NMR spectra of *A. dahuricae* with and without sulphur-fumigation

2.7 基于PCA分析的熏硫和未熏硫白芷差异比较

白芷含有的化学成分复杂,其¹H-NMR图谱可以提供大量的化学成分信息。PCA是最常用的无监督模式识别方法,其能简化数据结构,将原始的多变量数据进行降维处理,有利于观察不同样本数据的分布特征^[8]。分别取硫熏和未硫熏的样品粉末各16批,按“2.1”项下方法制备供试品溶液后,在“2.2”项条件下分别进行¹H-NMR测定,得到熏硫和未熏硫白芷的¹H-NMR图谱。将¹H-NMR测定获得的数据进行PCA分析,研究两种处理方法的样品是否存在差异,结果见图3(图中每个点代表1个样品)。得分图中,第一主成分(PC1)得分为97.6%,第二主成分(PC2)得分为1.1%。两组样品被明显地分离,其中熏硫白芷样品位于PCA得分图的左边,而未熏硫白芷样品位于得分图的右边,这表明二者的整体化学成分存在一定的差异,也说明¹H-NMR代谢组学结合PCA分析可用于熏硫白芷的鉴别。此外,从图3也可以看出,熏硫白芷的组内差异大于未熏硫白芷,这可能是由于熏硫时间和硫磺用量不一致所引起的,也说明硫磺熏蒸工艺难以控制,会影响白芷药材质量的稳定性和均一性。

2.8 鉴别熏硫白芷的特征化学标志物筛选

为了确定可用于熏硫和未熏硫白芷鉴别的化学标志物,笔者进一步观察了19种化学成分在两组样品间的实际水平差异。¹H-NMR信号强度直接与化合物的摩尔浓度成正比,因此化合物的¹H-NMR峰面积可以代表其含量高低^[9]。本研究以各成分的归一化峰面积为指标,采用配对 t 检验评价上述成分在两组样品中的差异是否具有显著性。结果发现,熏硫后白芷药材中氧化前胡素、欧前胡素、葡萄糖和蔗糖含量显著降低($P<0.01$ 或

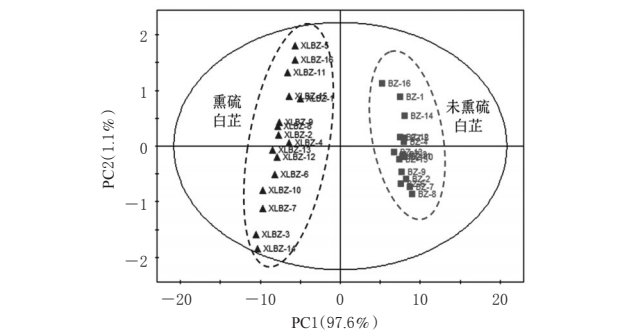
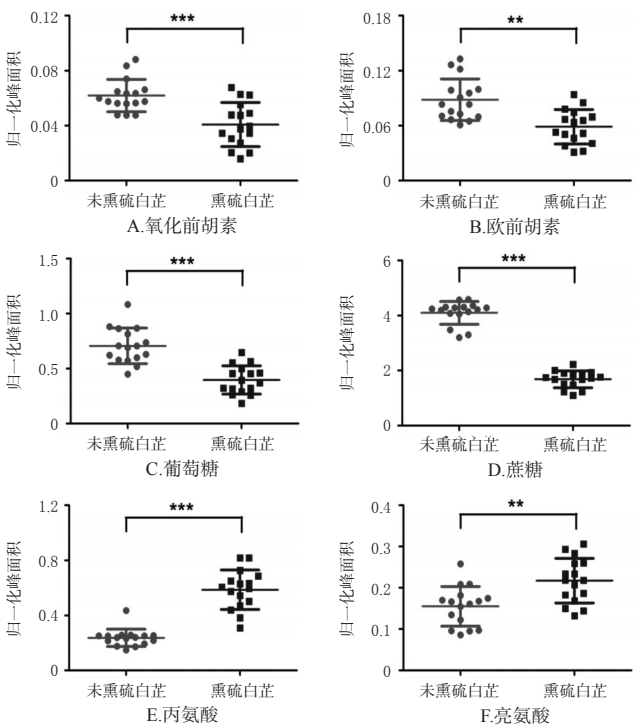


图3 熏硫和未熏硫白芷样品的PCA得分图
Fig 3 PCA score plot of *A. dahuricae* with and without sulphur-fumigation

$P<0.001$),丙氨酸和亮氨酸含量显著升高($P<0.01$ 或 $P<0.001$),而其余13种成分含量差异无统计学意义($P>0.05$)。可见,以上6种差异成分为引起两组样品间差异的特征化学标志物,可用于熏硫和未熏硫白芷的客观鉴别。6种差异化合物在熏硫和未熏硫白芷样品中的含量比较见图4。



注:“*”表示两组间比较, $P<0.01$;“***”表示两组间比较, $P<0.001$

Note: “*” means group comparison, $P<0.01$; “***” means group comparison, $P<0.001$

图4 6种差异化合物在熏硫和未熏硫白芷样品中的含量测定结果
Fig 4 Comparison of contents of 6 differential compounds in *A. dahuricae* with and without sulphur-fumigation

3 讨论

本研究采用¹H-NMR代谢组学技术,充分利用其方

法学优势,从整体层面上同时分析白芷药材的化学成分,鉴定出了包括香豆素类、氨基酸类、糖类在内的19种化学成分,所建立的¹H-NMR图谱可为白芷药材的鉴定和质量控制提供新的技术手段。此外,结合PCA分析和*t*检验,发现白芷熏硫后其初级代谢产物(糖类、氨基酸类成分)和次级代谢产物(香豆素类成分)均发生了变化。其中,氧化前胡素、欧前胡素、葡萄糖、蔗糖、丙氨酸和亮氨酸被确定为白芷药材的化学标志物,这6种成分可用于熏硫和未熏硫白芷的客观鉴别。虽然¹H-NMR法所用仪器昂贵,但本文发现的主要标志物可用更加简单、价廉的方法进行检测,如可利用HPLC仪、氨基酸分析仪测定这些成分的含量,再通过与未熏硫白芷对照药材进行比较,即可判断市场上白芷药材是否经过熏硫。

欧前胡素和氧化前胡素为白芷药材的主要有效成分。现代药理研究表明,欧前胡素具有明显的镇痛、抗炎和舒张血管等活性^[15],氧化前胡素也具有镇痛、镇咳及平滑肌解痉等作用^[16],这些药理活性与白芷药材的功能主治基本一致。本研究发现,白芷熏硫后其氧化前胡素和欧前胡素的含量明显降低,表明药材的质量明显下降,可能会影响其临床疗效。除了香豆素类成分,本研究发现白芷熏硫后的初级代谢产物(糖类、氨基酸类成分)也发生了变化,其中糖类成分含量明显降低,尤其是蔗糖,其含量降低了约60%。此外,与未熏硫白芷相比,熏硫白芷中含有更多的丙氨酸和亮氨酸,这与半夏药材熏硫后氨基酸类成分含量有所升高的研究结果类似^[17]。白芷熏硫后其糖类成分含量降低可能有利于药材的贮藏、防虫和防霉,但熏硫后糖类和氨基酸类成分的含量变化是否会影响白芷药材的质量还需要进一步的研究。

综上,本研究采用¹H-NMR代谢组学技术研究了熏硫和未熏硫白芷的整体化学成分差异,结果表明,熏硫后白芷药材的6种化学成分发生了明显的变化,其中氧化前胡素、欧前胡素、葡萄糖和蔗糖含量明显降低,而丙氨酸和亮氨酸含量明显升高。因此,这6种成分可作为化学标志物,用于市场上熏硫和未熏硫白芷的客观鉴别。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:86.
- [2] 吕强.川白芷生长发育和产量质量对比研究[D].成都:成都中医药大学,2009.
- [3] 李娟,谭秋生,邓才富,等.白芷采后加工与中药材熏硫

[J].时珍国医国药,2016,27(6):1389-1391.

- [4] 蒋运斌,卢晓琳,杨枝中,等.与熏硫加工相关的白芷化学成分研究[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(22):74-78.
- [5] 卢晓琳,蒋运斌,曹赞,等.熏硫与未熏硫白芷的体内HPLC图谱对比分析[J].中药与临床,2015,6(5):7-9.
- [6] 卢晓琳,马逾英,张福卓,等.不同硫磺熏蒸程度白芷二硫化硫残留量与有效成分含量的相关性[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(9):139-142.
- [7] 卢晓琳,蒋运斌,袁茂华,等.熏硫与未熏硫白芷抗炎镇痛作用的对比研究[J].中药与临床,2015,6(5):43-47.
- [8] 范刚,罗尚华,李艳,等.基于¹H-NMR代谢组学技术的中药质量评价[J].世界科学技术:中医药现代化,2013,15(9):1862-1870.
- [9] FAN G, ZHANG MY, ZHOU XD, et al. Quality evaluation and species differentiation of *Rhizoma coptidis* by using proton nuclear magnetic resonance spectroscopy[J]. *Anal Chim Acta*, 2012. DOI: 10.1016/j.aca.2012.08.038.
- [10] LIU Y, FAN G, ZHANG J, et al. Metabolic discrimination of sea buckthorn from different *Hippophaë* species by ¹H NMR based metabolomics[J]. *Sci Rep*, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-01722-3.
- [11] FAN G, LUO WZ, LUO SH, et al. Metabolic discrimination of *Swertia mussotii* and *Swertia chirayita* known as “Zangyinchen” in traditional Tibetan medicine by ¹H NMR-based metabolomics[J]. *J Pharmaceut Biomed Anal*, 2014. DOI: 10.1016/j.jpba.2014.06.014.
- [12] 唐荣伟,田玫瑰,唐玲,等.乌梅的¹H-NMR指纹图谱研究[J].中国药房,2018,29(19):2644-2647.
- [13] 罗乔奇,肖云川,席贞,等.川白芷熏硫的¹HNMR-PCA鉴别预测模型的研究[J].华西药学杂志,2011,26(5):432-434.
- [14] KIM HK, CHOI YH, VERPOORTE R. NMR-based metabolomic analysis of plant[J]. *Nat Protoc*, 2010, 5(3): 536-549.
- [15] 杨小花,胡晓.欧前胡素与异欧前胡素的药理学研究进展[J].南昌大学学报(医学版),2012,52(3):95-97,100.
- [16] 邓士贤,莫云强.氧化前胡素的药理研究[J].中药通报,1985(12):38-40.
- [17] 万军,严茂伟,张小琳.半夏褐变及硫熏后氨基酸含量比较[J].安徽农业科学,2009,37(29):14180,14182.

(收稿日期:2020-03-03 修回日期:2020-04-19)

(编辑:林 静)