

大血藤药材及不同提取物 FTIR 的比对分析

尹 泉¹, 李惠芬^{1*}, 周 群², 徐茂玲¹, 阎 姝¹, 孙素琴², 吴咸中³

1. 天津医科大学药学院, 天津 300070

2. 清华大学化学系, 生命有机磷化学及化学生物学教育部重点实验室, 北京 100084

3. 天津市中西医结合急腹症研究所, 天津 300100

摘要 采用红外光谱法(FTIR)、二阶导数红外光谱法和二维相关光谱分析技术(Two-Dimensional Correlation Spectroscopy)对江西和安徽大血藤药材、水提物、蒽醌类提取物和残渣进行了快速无损比对分析研究,从中发现两产地大血藤药材的谱图中均出现 $1\ 400\sim 1\ 620\ \text{cm}^{-1}$ 和 $1\ 000\sim 1\ 200\ \text{cm}^{-1}$ 两个强峰带,说明药材含有大量的药效成分蒽醌类和糖类物质;蒽醌提取物的谱图中也有上述2个谱带,但 $1\ 400\sim 1\ 620\ \text{cm}^{-1}$ 谱带明显强于 $1\ 000\sim 1\ 200\ \text{cm}^{-1}$ 谱峰,说明该提取工艺适宜提取蒽醌类物质;而水提物中2个谱峰带则是后者明显强于前者,证实该提取工艺适宜提取糖类物质;另外通过红外谱图和二阶导数红外谱图的对比发现在药材残渣中含有大量的草酸钙晶体。证明红外光谱技术不仅能对原药材及提取物的药效基团进行分析和指认,还能区分不同产地药材的提取物含量的高低,成功地建立了大血藤及其不同提取物药效成分比对分析的新方法。

关键词 傅里叶变换红外光谱;大血藤;蒽醌;糖苷类;草酸钙

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2010)01-0054-04

引言

傅里叶变换红外光谱法(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)是一种常用的结构分析技术,以极高的分辨率,简单的采样技术以及优越的联机扩展性,已被作为物质结构鉴定的重要手段之一^[1]。尤其是在中草药真伪、优劣、不同产地的快速鉴别等方面,Zhuo^[2], Xu^[3]和 Sun^[4]等已开展了系统研究。近年来,随着二维相关红外光谱技术的扩展,极大地提高了红外光谱分辨率和谱图的识别能力,对于揭示分子内/分子间的相互作用及分子各官能团的判断研究发挥了作用^[5-11]。本文选择江西和安徽大血藤药材为研究对象,分析研究其水提物、蒽醌类提取物及残渣的一维、二阶导数及二维相关光谱,建立了不同提取物的快速、整体、全面、直观分析方法,为深入研究凉血活血处方中君药大血藤的不同抗菌成分与抗粘连作用机制明确了药效物质基础^[12, 13]。

大血藤属木通科落叶木质藤本植物大血藤 [*Sargentodoxacuneata*(oliv)Rehd. etwi ls.]的藤茎。主产江西、安徽、江苏等地。其主要化学成分为糖苷类、蒽醌类(大黄素和大

黄素甲醚等)、鞣质等。功能主治为清热解毒,活血祛风,用于肠痈腹痛、经闭痛经,风湿痹痛,跌打损伤肿痛。体外实验对金黄色葡萄球菌等有敏感抑菌作用^[14-16]。王宇歆等采用高效液相色谱法对绿原酸和皂苷类物质进行了分析和测定^[17],为大血藤及其组方的临床应用提供了实验数据和理论依据。本文应用红外三级鉴定法从另一侧面对大血藤药效成分糖苷类物质(即水提物)、蒽醌类提取物和残渣进行了比对分析。

1 实验

1.1 样品来源与制备

江西和安徽大血藤药材购自天津中药饮片厂,并由天津中医药大学张丽娟鉴定。

称取20 g江西和安徽大血藤药材,粉碎,过200目筛,备用;另称取上述药材各60 g分别用蒸馏水加热回流2 h,2次,合并提取液,减压浓缩后得浸膏,作为水提样品;再称取水提后剩余的药材各4 g,装袋置于索氏提取器中,用150 mL 70%乙醇于95 °C水浴抽提8 h,抽提液浓缩得浸膏,即蒽醌类提取物;提取后所剩的残渣烘干后,作为残渣试样备

收稿日期: 2009-02-08, 修订日期: 2009-05-12

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2006BAI04A15)资助

作者简介: 尹 泉, 1984年生, 天津医科大学药学院硕士研究生

* 通讯联系人 e-mail: lihui fen@tjmu.edu.cn; sunsq@mail.tsinghua.edu.cn

用, 将以上备用品采用压片法, 进行红外检测。

1.2 仪器与测定

Spectrum GX FTIR 红外光谱仪 (Perkin Elmer 公司), DTGS 检测器, 扫描信号累加 16 次, 光谱分辨率 4 cm^{-1} , 测量范围 $400\sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$ 。以北京朝阳自动化仪表厂的 CKW2-II 温控仪作为温度控制器, 自 $50\sim 120\text{ }^\circ\text{C}$ 区间每间隔 $10\text{ }^\circ\text{C}$ 采集一次红外谱图数据。通过 Perkin-Elmer 公司 Spectrum v3.02 操作软件得到红外光谱图和二阶导数谱图; 应用清华大学自行设计的二维相关分析软件对动态光谱图分析处理得到相应的二维红外光谱图。

2 结果与讨论

2.1 大血藤药材、水提取物、蒽醌类提取物和残渣红外谱图分析

图 1a 和 1b 分别为江西和安徽大血藤原药材的红外光谱图, 可以明显看出 $1\,400\sim 1\,620\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,000\sim 1\,200\text{ cm}^{-1}$ 两个强峰带。根据大血藤所含的主要成分包括蒽醌类、糖苷类和草酸钙等物质^[7, 8], 可以推断 $1\,000\sim 1\,200\text{ cm}^{-1}$ 范围的峰是大血藤糖苷类物质 C—O 的伸缩振动峰, $1\,400\sim 1\,620\text{ cm}^{-1}$ 为蒽醌类物质结构的特征峰; 而蒽醌类物质包含大黄素 (emodin) 及大黄素甲醚 (physcione), 根据图 2 中大黄素及大黄素甲醚所含的稠环结构, 再综合图 3 两产地蒽醌类提取物及大黄素和大黄素甲醚对照品谱图中 $1\,400\sim 1\,620\text{ cm}^{-1}$ 的比较, 可确认 $1\,612(1\,611)$, $1\,516(1\,517)$, $1\,441\text{ cm}^{-1}$ 为蒽醌类稠环骨架振动峰(图 1a, 1b)。

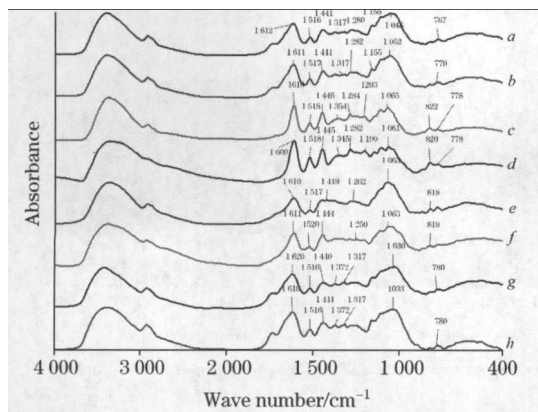


Fig. 1 a, b DaXueTeng of Jiang Xi and An Hui; c, d anthraquinone extract of Jiang Xi and An Hui; e, f aqueous extract of Jiang Xi and An Hui; g, h residue of Jiang Xi and An Hui

图 1c 和 1d 是江西和安徽大血藤蒽醌类提取物的红外光谱图, 可以看出两提取物 $1\,400\sim 1\,620\text{ cm}^{-1}$ 中的 3 个蒽醌物质特征峰明显高于图 1a 和 1b 原药材的 3 个谱峰; 而 $1\,000\sim 1\,200\text{ cm}^{-1}$ 中的糖苷峰明显低于图 1a 和 1b 原药材的谱峰, 说明优化筛选的蒽醌类提取的工艺条件适于提出蒽醌类物质, 不利于极性较大的糖苷类物质的浸出, 故谱图中蒽醌类物质含量高于图 1a 和 1b, 而糖苷类物质含量较低, 远不及

图 1a 和 1b 原药材含量。

图 1e 和 1f 是大血藤的水提取物红外光谱图, 可以看出 $1\,000\sim 1\,200\text{ cm}^{-1}$ 范围的谱峰明显高于图 1a 和 1b 原药材的谱峰, 而 $1\,400\sim 1\,620\text{ cm}^{-1}$ 中的 3 个蒽醌物质峰明显低于图 1a 和 1b 原药材的 3 个谱峰, 这是因为水是极性溶剂, 根据

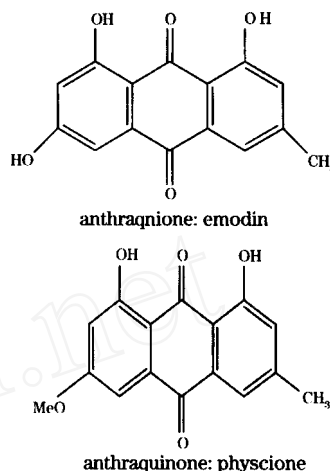


Fig. 2 Framework of emodin and physcione

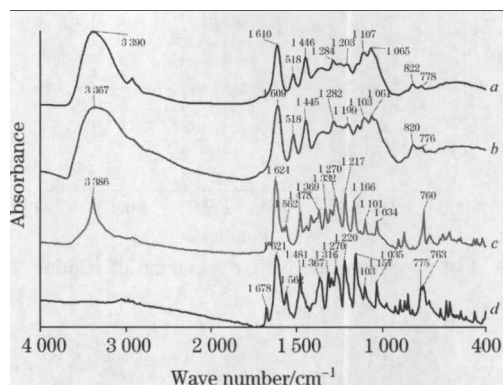


Fig. 3 a anthraquinone extract of Jiang Xi; b anthraquinone extract of An Hui; c emodin d physcion

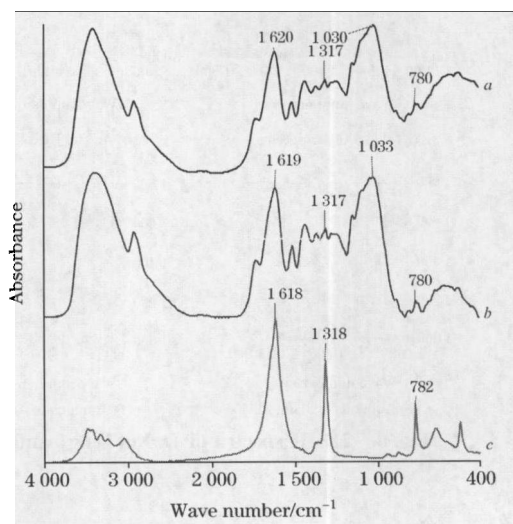


Fig. 4 IR spectra of residue a, b; Residue of Jiang Xi and An Hui; c: Calcium oxalate

相似相溶原理, 利于极性大的糖苷类物质的提取, 故糖苷类物质的含量明显增高。

图 1g 和 1h 是江西和安徽大血藤药材提取后的残渣, 与图 1c 和 1d 蒽醌提取物与图 1e 和 1f 水提物的红外光谱图相比, 提取后的残渣 $1\ 000\sim 1\ 200\ \text{cm}^{-1}$ 的糖苷类特征峰与 $1\ 400\sim 1\ 620\ \text{cm}^{-1}$ 的蒽醌类特征峰均较低, 说明有效成分大部分已被提出, 残留物主要为草酸钙, 可从图 4 残渣与草酸钙对照品的红外光谱图得到证实。图 4 残渣中 $1\ 620$ ($1\ 619$), $1\ 317$, $780\ \text{cm}^{-1}$ 3 个特征峰与草酸钙对照品中 $1\ 618$, $1\ 318$, $782\ \text{cm}^{-1}$ 3 个特征峰一一对应, 从而证实残留物主要为草酸钙。实验过程中为确切证实大血藤中含有草酸钙, 又对图 4 中图谱进行二阶导数变换, 得图 5。其残渣的 $1\ 620$ ($1\ 621$), $1\ 316$, $781\ \text{cm}^{-1}$ 的峰与草酸钙对照品 $1\ 618$,

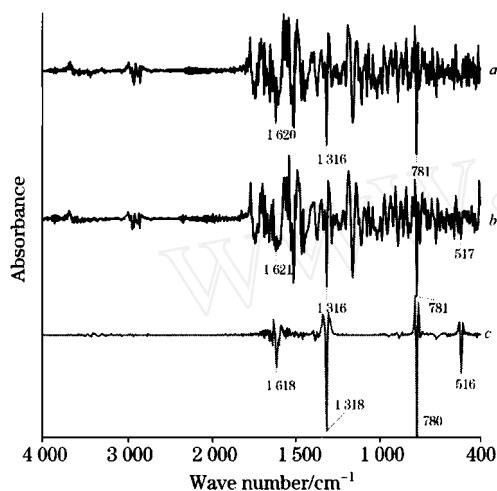


Fig. 5 Second derivative spectrum of residue

$1\ 318$, $780\ \text{cm}^{-1}$ 三个特征峰十分相近, 进而推断大血藤残渣中含有大量的草酸钙。

2.2 大血藤水提物、蒽醌类提取物的二维相关红外光谱图分析

Noda^[6]曾用一个低频率的扰动作用在红外光谱样品上, 通过测定不同弛豫过程的红外振动光谱, 经数学相关分析技术得到二维相关红外光谱图, 可精确地阐述基团之间的相关性, 另经体系动态谱图的结构微弱变化信息还可分析基团之间的相互作用, 进而揭示二维图上的谱峰在外部扰动下分子内基团的变化。

图 6(a)和 6(b)分别为江西和安徽大血藤药材的二维相关红外谱图, 由图可以清楚地看出江西和安徽大血藤比较相似, 均在 $1\ 455$ 和 $1\ 610\ \text{cm}^{-1}$ 的波数处具有明显的自动峰, 并成 2×2 的矩阵, 说明这两种药材中芳香类物质的吸收峰随着温度的升高有明显的变化; 图 6(c)和 6(d)分别为江西和安徽大血藤蒽醌类提取物的二维相关红外谱图, 在 $1\ 400\sim 1\ 650\ \text{cm}^{-1}$ 区域内的 4×4 的矩阵, 也说明芳香类物质的稠环基团受温度热扰影响较大, 证明蒽醌类提取物中芳香物质含量较高, 也证实了红外一维谱图的结论; 而图 6(e)和 6(f)是江西和安徽大血藤水提物的二维相关红外谱图, 可见在 $1\ 000\sim 1\ 200\ \text{cm}^{-1}$ 区域形成 4×4 的矩阵, 糖苷类基团受温度热扰影响变化强烈, 说明水提物中含有大量的糖苷类物质, 这也与红外一维图谱得出的结论完全一致; 最后图 6(g)和 6(h)为江西和安徽大血藤残渣的二维相关谱图, 江西大血藤残渣在 $1\ 450$ 和 $1\ 550\ \text{cm}^{-1}$ 的波数处具有明显的自动峰, 成 2×2 的矩阵; 而安徽大血藤则在 $1\ 450$ 和 $1\ 640\ \text{cm}^{-1}$ 的波数处有自动峰, 也说明江西和安徽 2 个不同产地的大血藤存在区别。

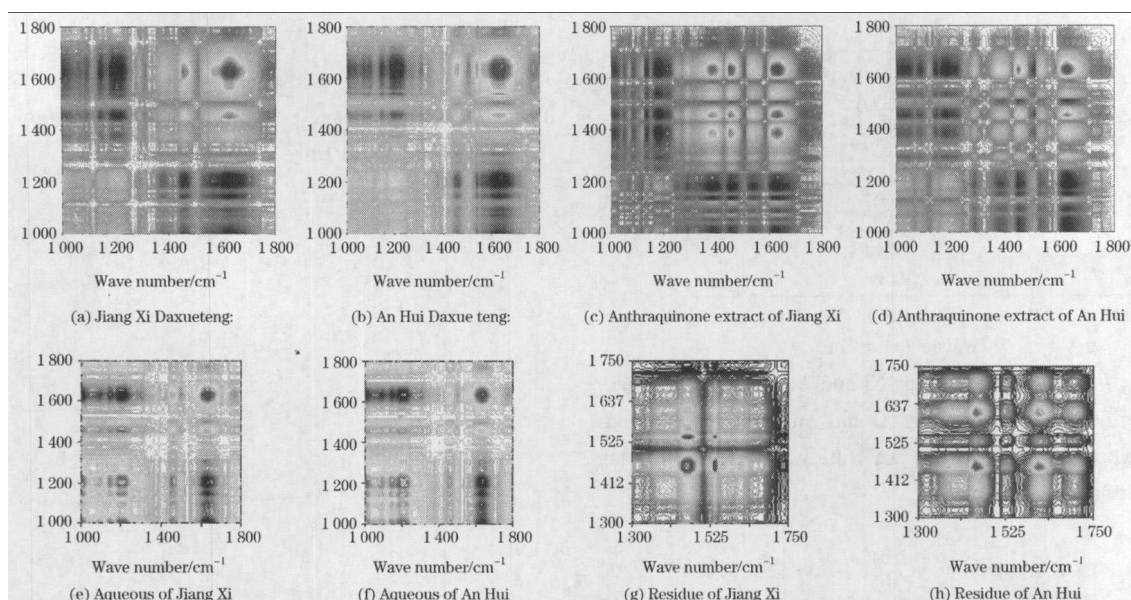


Fig. 6 2D-IR spectra of DaXueTeng, anthraquinone extract, aqueous extract, and residue of DaXueTeng

3 结论

通过对大血藤药材及不同提取物药效成分 FTIR 的比对

分析结果, 说明应用红外光谱三级鉴别技术可以明确中药材药效成分中的物质基团结构, 为揭示中药药理的作用机制奠定物质基础; 还能对中药材药效成分进行定性和初步的定量

分析,成功建立了大血藤及其不同提取物药效成分比对分析的新方法。

参 考 文 献

- [1] Wu W, Sun S Q, Zhou Q, et al. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2008, 46: 498.
- [2] Zhou Q, Sun S Q, Yu L, et al. Journal of Molecular Structure, 2006, 799: 77.
- [3] Xu C H, Sun S Q, Guo C Q, et al. Vibrational Spectroscopy, 2006, 41: 118.
- [4] Sun S Q, Li C W, Wei J P, et al. Journal of Molecular Structure, 2006, 799: 72.
- [5] CHEN Jian-bo, ZHOU Qun, SUN Su-qin, et al(陈建波, 周 群, 孙素琴, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2007, 27(8): 1493.
- [6] Noda I. J. Am. Chem. Soc., 1989, 111: 8116.
- [7] Noda I. Appl. Spectrosc., 1990, 44: 550.
- [8] Noda I. Appl. Spectrosc., 1993, 47: 1329.
- [9] Noda I, Dowrey A E, Marcott C, et al. Appl. Spectrosc., 2000, 54: 236A.
- [10] Noda I, Ozaki Y, Two-Dimensional Correlation Spectroscopy-Application in Vibrational and Optical Spectroscopy, Wiley, Chichester, 2004.
- [11] Noda I, J. Mol. Struct., 2006, 799: 2.
- [12] DU Fan, LI Hui-fen, ZHOU Jing(杜 凡, 李惠芬, 周 静). Tianjin Pharmacy(天津药学), 2008, 20(2): 10.
- [13] ZHOU Jing, LI Hui-fen, WANG Hong-zhi(周 静, 李惠芬, 王洪志). Lishizhen Medicine and Materia Medica Research(时珍国医国药), 2008, 19(9): 2130.
- [14] Li Y J. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2002, 25(9): 669.
- [15] Ni S F, Fu C, Wu P. Chinese Wild Plant Resources, 2004, 23(4): 8.
- [16] Committee of Nation Pharmacopoeia, Pharmacopoeia of People's Republic of China(中华人民共和国药典). Beijing: Chemical Industry Press(北京: 化学工业出版社), 2005, 15, 134.
- [17] WANG Yu-xin, LI Hui-fen, ZHOU Jing(王宇歆, 李惠芬, 周 静). Chinese Journal of Surgery of Integrated Traditional and Western Medicine(中国中西医结合外科杂志), 2008, 14(4): 410.

Analysis and Comparison of Daxueteng and Their Extracts by FTIR

YIN Quan¹, LI Hui-fen^{1*}, ZHOU Qun², XU Mao-ling¹, YAN Shu¹, SUN Su-qin², WU Xian-zhong³

1. School of Pharmaceutical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

2. Key Laboratory of Bioorganic Phosphorus Chemistry & Chemical Biology (Ministry of Education), Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China

3. Tianjin Institute of Acute Abdominal Diseases of Integrated Traditional and Western Medicine, Tianjin 300100, China

Abstract The present study is to compare and analyze *Sargentodoxa cuneata* (oliv) Rehd. etwils herbs, the aqueous, anthraquinone extracts and residue in Jiang Xi and An Hui quickly and undamagedly by Fourier transform infrared spectroscopy(FTIR) and two-dimensional correlation spectroscopy. In the spectra of DaXueTeng, there are two strong peak areas at about 1 400-1 620 cm^{-1} and 1 000-1 200 cm^{-1} , and it was concluded that DaXueTeng contains much glycoside and anthraquinone. Anthraquinone extracts only exhibit strong peaks of 1 400-1 620 cm^{-1} which were stronger than that of 1 000-1 200 cm^{-1} , and this illustrated that this method was adapted to extracting anthraquinone; then aqueous only show powerful peaks of 1 000-1 200 cm^{-1} , so the authors know that the craftwork was suitable for extracting glycoside; finally, the authors also found that the residue of DaXueTeng contained much calcium oxalate. All of these illustrated that FTIR could not only analyze and identify traditional Chinese medicine (TCM) and extract components, but also discriminate contents of different extracts of TCM. The authors developed the new method to analyze and evaluate the DaXueTeng and their pharmacodynamic extracts successfully.

Keywords Fourier transform infrared spectroscopy(FTIR); *Sargentodoxa cuneata* (oliv)Rehd. etwils; Anthraquinone; Glycoside; Calcium oxalate

* Corresponding author

(Received Feb. 8, 2009; accepted May 12, 2009)