

淫羊藿药材一些混淆物种的 FTIR 鉴别研究

裴利宽¹, 郭宝林¹, 孙素琴^{2*}, 黄文华¹

1. 中国医学科学院中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094

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

摘 要 淫羊藿是一味药用历史悠久的传统中药, 具有补肾壮阳之功效。《中国药典》规定使用五种来源的淫羊藿——淫羊藿 *Epimedium brevicornu* Maxim、箭叶淫羊藿 *E. sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim、柔毛淫羊藿 *E. pubescens* Maxim、朝鲜淫羊藿 *E. koreanum* Nakai 和巫山淫羊藿 *E. wushanense* T. S. Ying, 但这几种药材的鉴别特征描述比较简单, 传统鉴定技术很难实现这些种类和常见混淆物种的鉴别。文章采用傅里叶变换红外光谱(FTIR)及其二阶导数谱对常见淫羊藿易混淆药材——淫羊藿与朝鲜淫羊藿, 柔毛淫羊藿与保靖淫羊藿 *E. baojingense* Q. L. Chen & B. M. Yang、星花淫羊藿 *E. stellulatum* Stearn、竹山淫羊藿 *E. zhushanense* K. F. Wu & S. X. Qian, 柔毛淫羊藿与部分天平山淫羊藿 *E. myrianthum* Stearn, 箭叶淫羊藿与粗毛淫羊藿 *E. acuminatum* Franch. 共 4 对易混淆药材进行鉴别研究。根据不同物种淫羊藿药材红外光谱特征的不同, 基本上实现常见易混淆物种的快速鉴别。该方法有助于解决淫羊藿药材物种混乱问题。

关键词 淫羊藿药材; 傅里叶变换红外光谱; 鉴别

中图分类号: R931.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-0593(2008)01-0055-06

引 言

淫羊藿(*Herba Epimedii*) 是药用历史悠久的传统中药, 始载于《神农本草经》, 味苦、辛, 性温, 归肝、肾经; 具有补肾阳、强筋骨、祛风湿等功效, 用于阳痿遗精、筋骨痠软、风湿痹痛、麻木拘挛等病症, 现代临床常用治疗更年期综合症、高血压、骨质疏松等疾病。《中国药典》规定使用五种来源的淫羊藿——淫羊藿 *Epimedium brevicornu* Maxim、箭叶淫羊藿 *E. sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim、柔毛淫羊藿 *E. pubescens* Maxim、朝鲜淫羊藿 *E. koreanum* Nakai 和巫山淫羊藿 *E. wushanense* T. S. Ying, 但这几种药材的鉴别特征描述比较简单^[1], 而且依据传统鉴定技术也很难实现这些种类和常见混淆物种的鉴别^[2], 所以药材使用上的混乱问题历来非常严重, 迫切需要建立一种稳定、客观、有效、易掌握的现代鉴别技术。

作者在资源调查中发现, 由于药用部位的形态特征区别不显著, 实际上淫羊藿属的所有种类都在一定的程度上被药用, 但形成明显应用混乱的一般是资源量比较大的物种^[3]。本文在探索新的鉴别方法的过程中首先选择了形态比较相似的最主要的几种易混种类, 如淫羊藿与朝鲜淫羊藿; 保靖淫

羊藿 *E. baojingense* Q. L. Chen & B. M. Yang、星花淫羊藿 *E. stellulatum* Stearn、竹山淫羊藿 *E. zhushanense* K. F. Wu & S. X. Qian, 以及部分天平山淫羊藿 *E. myrianthum* Stearn 与柔毛淫羊藿; 粗毛淫羊藿 *E. acuminatum* Franch. 与箭叶淫羊藿等。

中药材、中药饮片和中药制剂的红外光谱是中药所含所有成分吸收光谱的叠加, 药材中所含化学成分不同、各成分含量的比例不同, 就会导致红外图谱的差异, 凭借红外光谱的这些差异特征, 即“宏观指纹性”, 可以用来识别中药的真伪、质量的优劣, 大量的研究证明了本法的可行性, 也使得该方法逐步得以完善^[4-8]。红外光谱法的无损、快速、宜于推广等优点使其在中药鉴定领域具有较大的应用前景。

本文通过对常见淫羊藿药材的易混淆品进行红外光谱法的分析, 以期建立一种淫羊藿药材的快速鉴定方法。

1 实验部分

1.1 材料和试剂

实验材料为本课题组采集, 包括朝鲜淫羊藿 8 个样品、淫羊藿 14 个、柔毛淫羊藿 7 个、保靖淫羊藿 4 个、星花淫羊藿 2 个、竹山淫羊藿 1 个、天平山淫羊藿 8 个、箭叶淫羊藿

收稿日期: 2006-05-10, 修订日期: 2006-08-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(30270101)资助

作者简介: 裴利宽, 1981 年生, 中国协和医科大学 2003 级硕士研究生 * 通讯联系人 e-mail: sunsq@chem.tsinghua.edu.cn

©1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

15 个、粗毛淫羊藿 12 个, 涵盖了各物种的主要分布地区, 所有样品均经中国医学科学院药用植物研究所郭宝林研究员鉴定, 凭证标本存放于中国医学科学院药用植物研究所标本馆 (IMD)。实验材料为每一样品的 10 个个体, 每一个体 1 枚成熟叶片, 共同研磨混合, 过 200 目筛, 得细粉末。

溴化钾为 AR 级。

1.2 仪器设备

红外光谱仪为 Perkin Elmer 公司的 Spectrum GX 型光谱仪, 光谱分辨率 4 cm^{-1} , 测量范围 $4\,000\sim 400\text{ cm}^{-1}$, 扫描信号累加 16 次。

1.3 数据处理

红外图谱采用 Spectrum for windows 软件; 二阶导数谱采用 Spectrum v3 02 操作软件, 13 点平滑。

2 实验结果与讨论

实验考察了仪器稳定性和方法重现性, 符合实验分析的要求, 单株不同小叶片和同一产地不同个体样品红外光谱相似性较好, 证明个体间化学成分差异不大。

2.1 不同成熟度样品的比较

分布于南方种类的样品采集时间为春天的 3 月中旬到 5 月中旬, 此时当年的新生叶尚未完全成熟, 同时上一年度的老叶还留存, 本研究进行了不同成熟度叶片的比较。分别选取同一居群两个个体不同成熟度的叶片, 其中 *a* 和 *b* 为新叶, *c* 和 *d* 为老叶。相关系数 ($1\,620\sim 1\,200\text{ cm}^{-1}$) 计算结果显示, 以 *a* 为参考, *b*, *c* 和 *d* 的相关系数分别为 0.997 3, 0.911 6 和 0.925 5, 而以 *c* 为参比, *d*, *a* 和 *b* 的相关系数分别为 0.995 5, 0.911 6 和 0.896 8。从红外图谱 (见图 1) 上可以看到: 新叶 *a* 和 *b* 中 $1\,438$ 或 $1\,439\text{ cm}^{-1}$ 的峰, 老叶 *c* 和 *d* 红移至 $1\,435\text{ cm}^{-1}$, 红移了 3~4 个波数, 老叶 *c* 和 *d* 中存在较强的 $1\,318\text{ cm}^{-1}$ 的峰, 而在新叶 *a* 和 *b* 中并不明显。图 2 中二阶导数谱上标示处可以更清楚看到新叶 *a*, *b* 和老叶 *c*, *d* 之间的差别。因此, 这提示我们新叶和老叶之间化学成分的组成情况有所不同, 因此, 药材研究中实验材料应选用一致的成熟叶, 确保实验结果更可信。

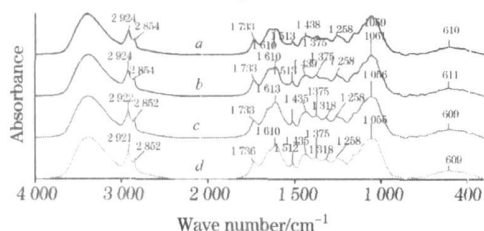


Fig 1 FTIR spectra of the samples with different degrees of maturity ($800\sim 1\,800\text{ cm}^{-1}$)

a, *b*: Young leaves; *c*, *d*: Old leaves

2.2 常见易混淆物种的 IR 指纹图谱鉴别

IR 指纹图谱鉴别特征的选取, 首先进行鉴别物种全部样品的一阶和二阶图谱叠合或集中比对, 然后寻找具有鉴别特征的波段。

2.2.1 朝鲜淫羊藿与淫羊藿的鉴别

从图 3 和图 4 中 IR 图谱上可以看出, 朝鲜淫羊藿 $2\,927$ 和 $2\,854\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰显著钝于淫羊藿, 证明朝鲜淫羊藿中含次甲基成分 (如油脂类成分) 少于淫羊藿。

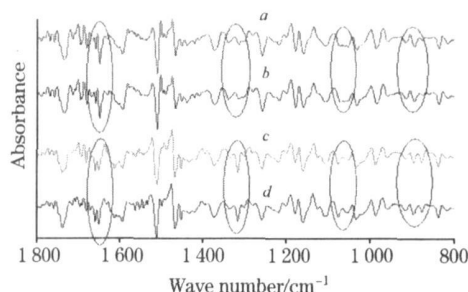


Fig 2 Second derivative IR spectra of the samples with different maturity degrees ($800\sim 1\,800\text{ cm}^{-1}$)

a, *b*: Young leaves; *c*, *d*: Old leaves

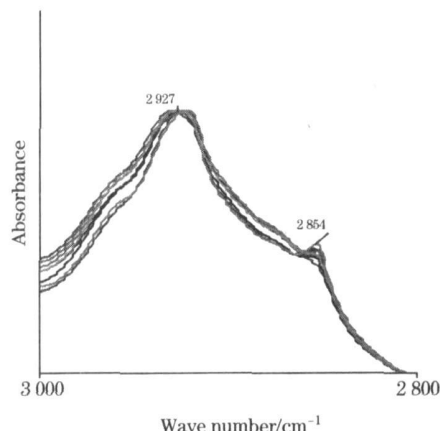


Fig 3 FTIR spectra of the samples of *Epimedium koreanum* Nakai ($2\,800\sim 3\,000\text{ cm}^{-1}$)

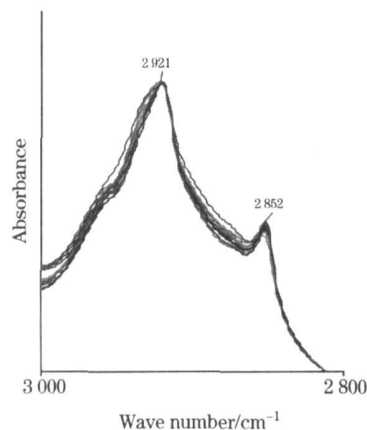


Fig 4 FTIR spectra of the samples of *Epimedium brevicornu* Maxim ($2\,800\sim 3\,000\text{ cm}^{-1}$)

$1\,750\sim 1\,600\text{ cm}^{-1}$ 波段内二阶导数谱 (图 5 和图 6), 朝鲜淫羊藿与淫羊藿也存在较为显著的差异, 其中淫羊藿在此波段内具有 6 个显著的导数峰, 类似“锯齿”状, 而朝鲜淫羊藿几个样品中仅 4 个导数峰较显著, 不具有“锯齿”状指纹特征。

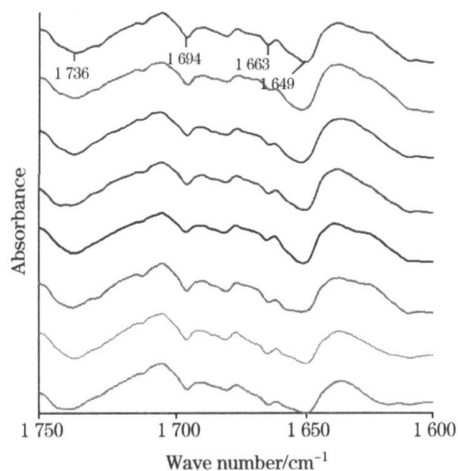


Fig 5 Second derivative IR spectra of the samples of *E. koreanum* Nakai (1 600~ 1 750 cm^{-1})

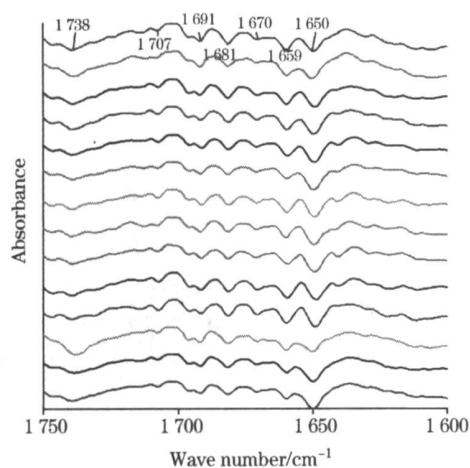


Fig 6 Second derivative IR spectra of the samples of *E. brevicornu* Maxim (1 600~ 1 750 cm^{-1})

2.2.2 柔毛淫羊藿与保靖、星花、竹山淫羊藿的鉴别

从图 7 和图 8 中 IR 光谱标示处中可以看出, 柔毛淫羊藿 1 259 cm^{-1} 波数存在尖锐的吸收峰, 而其易混淆品保靖、

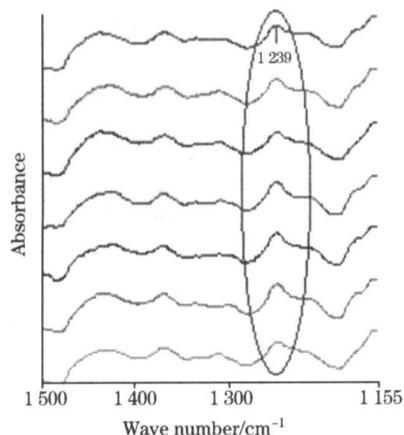


Fig 7 FTIR spectra of the samples of *E. pubescens* Maxim (1 155~ 1 500 cm^{-1})

星花、竹山淫羊藿则没有显著的此吸收峰。

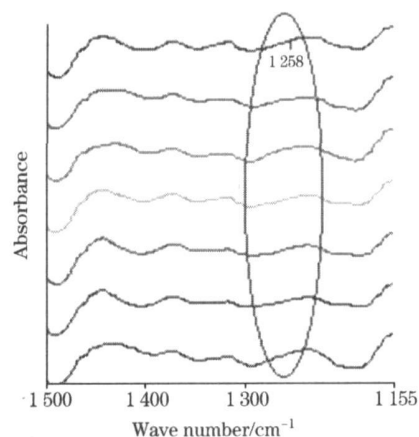


Fig 8 FTIR spectra of samples of *E. baojingense* Q L Chen & B M Yang (a~ d), *E. stellatum* Stearn (e~ f) and *E. zhushanense* K F Wu & S X Qian (g) (1 155 ~ 1 500 cm^{-1})

1 355~ 1 100 cm^{-1} 波段二阶导数谱 (图 9 和图 10) 上的区别则更显著, 柔毛淫羊藿中存在尖锐的 1 302, 1 259, 1 219, 1 180 cm^{-1} 吸收峰, 而保靖、星花、竹山淫羊藿中却几乎不存在; 保靖、星花、竹山淫羊藿中存在较强的 1 203 cm^{-1} 峰, 而在柔毛淫羊藿中则较弱; 另外, 保靖、竹山、星花淫羊藿 1 316 或 1 317 cm^{-1} 峰显著强于柔毛淫羊藿。

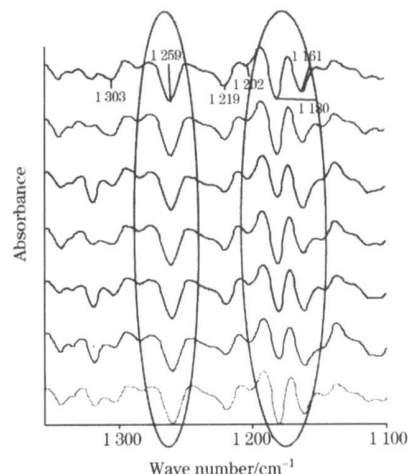


Fig 9 Second derivative IR spectra of the samples of *E. pubescens* Maxim (1 100~ 1 355 cm^{-1})

2.2.3 柔毛淫羊藿与天平山淫羊藿的差别

柔毛淫羊藿与天平山淫羊藿在二阶导数谱上的区别明显, 1 760~ 1 720 cm^{-1} 波段内 (图 11 和图 12) 上可以看到 1 738 cm^{-1} 附近一组酯羰基峰的导数峰形存在较大的差别, 其中柔毛淫羊藿酯羰基峰较为尖锐, 1 738 cm^{-1} 两侧的 2 个峰不对称, 而天平山酯羰基峰则较钝, 1 739 cm^{-1} 两侧的 2 个峰则较为对称。说明柔毛淫羊藿中含酯羰基类物质普遍有别于天平山淫羊藿。

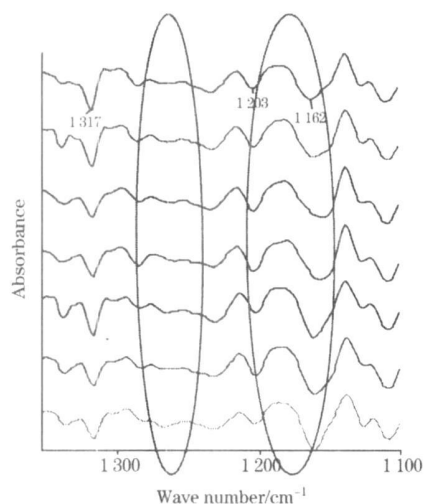


Fig 10 Second derivative IR spectra of the samples of *E. baojingense* Q L Chen & B M Yang (a ~ d), *E. stellatum* Stearn (e ~ f) and *E. zhushanense* K F Wu & S X Qian (g) (1 100 ~ 1 355 cm^{-1})

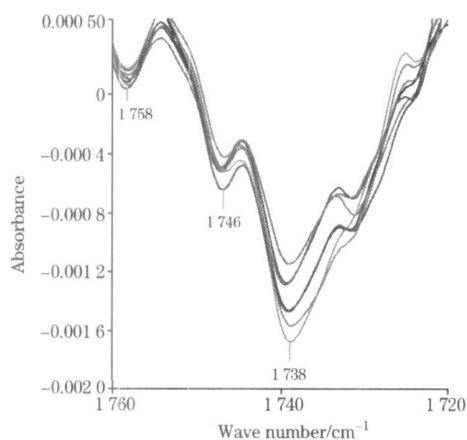


Fig 11 Second derivative IR spectra of the samples of *E. pubescens* Maxim (1 720 ~ 1 760 cm^{-1})

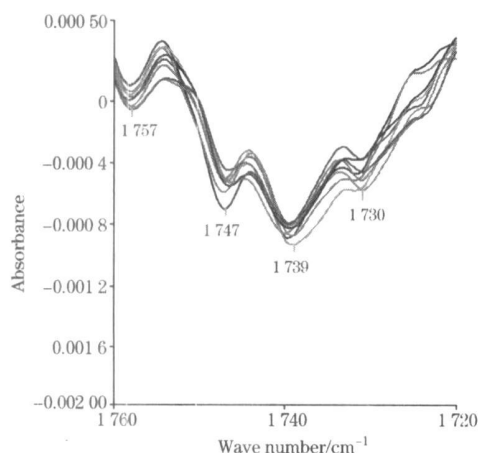


Fig 12 Second derivative IR spectra of the samples of *E. myrianthum* Stearn (1 720 ~ 1 760 cm^{-1})

2 2 4 箭叶淫羊藿与粗毛淫羊藿的鉴别

箭叶淫羊藿和粗毛淫羊藿各样品间一维 IR 图谱很难找到两者指纹鉴别特征。二阶导数谱中则能很清楚看到其不同, 如图 13 和图 14 中所示, 1 400 ~ 1 300 cm^{-1} 波段内, 粗毛淫羊藿各样品 1 366 cm^{-1} 处均存在 1 个较弱的导数峰, 从而与 1 377 cm^{-1} 处导数峰形成了一个“倒置的阶梯”, 而箭叶淫羊藿则普遍不具有 1 366 cm^{-1} 峰, 且在 1 366 ~ 1 377 cm^{-1} 区段较为平滑; 另外, 粗毛淫羊藿普遍具有较强的 1 343 cm^{-1} 峰, 而箭叶淫羊藿则仅有少数较强; 650 ~ 700 cm^{-1} 波段内 (图 15 和图 16), 也存在较为显著的不同, 箭叶淫羊藿 663 和 673 cm^{-1} 两峰均较弱, 而粗毛淫羊藿两峰均较强而尖锐。

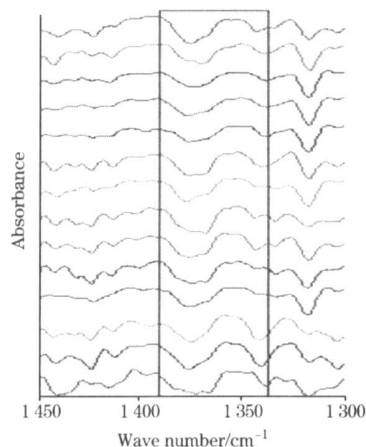


Fig 13 Second derivative IR spectra of the samples of *E. sagittatum* (Sieb & Zucc.) Maxim (1 450 ~ 1 300 cm^{-1})

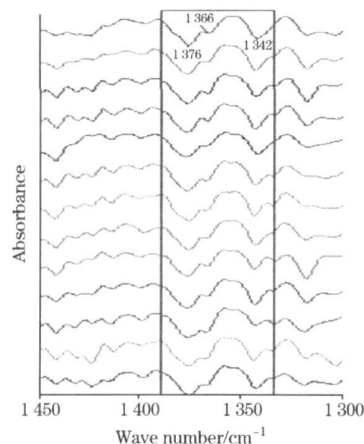


Fig 14 Second derivative IR spectra of the samples of *E. acuminatum* Franch (1 450 ~ 1 300 cm^{-1})

3 结 论

IR 指纹图谱法用于中药材的鉴定, 关键在于研究样品具有代表性, 以及选取特征区、特征点的稳定可靠性。这些特征区 (点) 可直接通过一阶红外光谱获得, 也可在提高了分辨率的二阶导数谱中获得, 还可通过二维红外光谱技术获得, 此即 IR 指纹图谱鉴定技术的“三级鉴定”。本实验通过

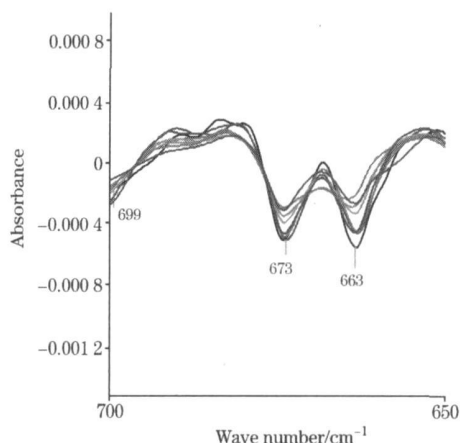


Fig 15 Second derivative IR spectra of the samples of *E. sagittatum* (Sieb & Zucc.) Maxim (700~ 650 cm^{-1})

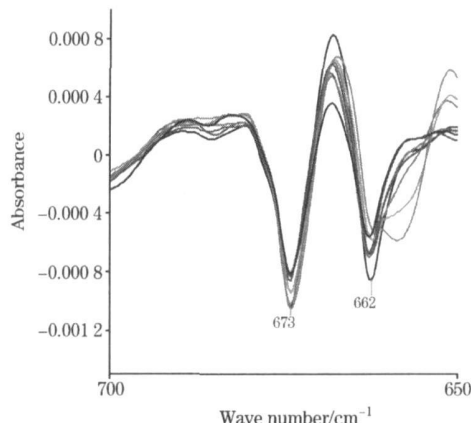


Fig 16 Second derivative IR spectra of the samples of *E. acuminatum* Franch (700~ 650 cm^{-1})

对药典规定使用的 5 个淫羊藿品种与常见混淆品的鉴别研究, 找到了之间稳定可靠的鉴别特征, 也为 FTIR 应用于淫羊藿更为深入的研究奠定了基础, 也为这一技术在中药鉴定

领域更为广泛的应用进行了有益的尝试。

致谢: 淫羊藿研究样品的采集得到了贵州同济堂制药有限公司的大力支持, 特此致谢。

参 考 文 献

- [1] The Pharmacopoeia Commission of the People's Republic of China(国家药典委员会编). Chinese Pharmacopoeia(中华人民共和国药典). Vol I. Beijing: Chemical Industrial Publishing House(北京: 化学工业出版社), 2005. 229.
- [2] XU Guo-jun, XU Luo-shan, WANG Zheng-tao(徐国钧, 徐珞珊, 王峥涛). Species Systematization and Quality Evaluation of Commonly Used Chinese Traditional Drugs(常用中药材品种整理和质量研究). Vol 1. Fuzhou: Fujian Science & Technology Publishing House(福州: 福建科学技术出版社), 1994. 745.
- [3] GUO Bao-lin, XIAO Pei-gen(郭宝林, 肖培根). China Journal of Chinese Materia Medica(中国中药杂志), 2003, 28(4): 303.
- [4] SUN Su-qin, ZHOU Qun, YU Jian-yuan, et al(孙素琴, 周群, 郁鉴源, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2000, 20(2): 199.
- [5] WANG Zhao, SUN Su-qin, LI Xiao-bo, et al(王钊, 孙素琴, 李晓波, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2001, 21(3): 311.
- [6] SUN Su-qin, DU De-guo, LIANG Xi-yun(孙素琴, 杜德国, 梁曦云). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学), 2001, 29(3): 309.
- [7] SUN Su-qin, WANG Xing-qu, LIANG Xi-yun, et al(孙素琴, 王兴渠, 梁曦云, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2001, 21(6): 787.
- [8] XU Yong-qun, SUN Su-qin, YUAN Zi-min, et al(徐永群, 孙素琴, 袁子民, 等). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学), 2002, 30(10): 1231.
- [9] DONG Bin, SUN Su-qin, ZHOU Hong-tao, et al(董彬, 孙素琴, 周红涛, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2002, 22(2): 232.
- [10] XU Yong-qun, SUN Su-qin, FENG Xue-feng, et al(徐永群, 孙素琴, 冯学峰, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2003, 23(3): 502.
- [11] SUN Su-qin, ZHOU Qun, QIN Zhu(孙素琴, 周群, 秦竹). Atlas of Two-Dimensional Correlation Infrared Spectroscopy for Traditional Chinese Medicine Identification(中药二维相关红外光谱鉴定图集). Beijing: Chemical Industry Press(北京: 化学工业出版社), 2003.
- [12] HUA Rui, SUN Su-qin, ZHOU Qun, et al. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2003, 33: 199.
- [13] LI Ying-ming, SUN Su-qin, ZHOU Qun, et al. Vibrational Spectroscopy, 2004, 36: 227.
- [14] LIU Hong-xia, SUN Su-qin, LÜ Guang-hua, et al. Spectrochimica Acta Part A., 2005, 64: 321.

Study on the Identification of Some Species of *Herba Epimedii* with FTIR

PEI Li-kuan¹, GUO Bao-lin¹, SUN Su-qin^{2*}, HUANG Wen-hua¹

1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100094, China
2. Key Laboratory of Bioorganic Phosphorus Chemistry & Chemical Biology (Ministry of Education), Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China

Abstract *Herba Epimedii*, the dried aerial parts of *Epimedium brevicornum* Maxim., *E. sagittatum* Maxim., *E. pubescens* Maxim., *E. wushanense* T.S. Ying., and *E. koreanum* Nakai, has been widely used in the field of nourishing the kidney and reinforcing 'Yang' for centuries. The descriptions of external appearance of *Herba Epimedii* are rather simple, so it is difficult to identify the raw materials of *Herba Epimedii* only with the traditional methods. In the present paper, the methods of FTIR and the second derivative IR spectra were used for the identification of *Herba Epimedii*, by which, *E. brevicornum* Maxim. could be identified from *E. koreanum* Nakai, and so *E. sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim. from *E. acuminatum* Franch., as well as *E. pubescens* Maxim. from *E. stellulatum* Stearn, *E. baojingensis* Q. L. Chen et B. M. Yang, *E. zhushanense* K. F. Wu & S. X. Qian and *E. myrianthum* Stearn. According to the features of the IR spectra of each species, a method based on FTIR for the identification of *Herba Epimedii* was established, and it conducted to solve the confusion of species of *Herba Epimedii*.

Keywords *Herba Epimedii*; FTIR; Identification

(Received May 10, 2006; accepted Aug. 20, 2006)

* Corresponding author