

红外光谱应用新进展及其与色谱指纹图谱对比分析

刘 岩¹, 刘顺航¹, 王俊全¹, 孙素琴²*

1. 天津天士力现代中药资源有限公司, 天津 300402

2. 清华大学化学系, 北京 100084

摘 要 综述了红外光谱技术在常用中药材鉴定、地方民族药识别、中药炮制、中药注射剂四方面应用最新进展, 这些包括加强计算机解析深度, 增加药材前处理, 利用二维相关红外光谱进行炮制监控等; 另外, 简述了色谱指纹图谱多组分含量分析框架体系的构建; 分析比较红外光谱与色谱指纹图谱技术在中药质量控制领域应用的共性与差异点。

关键词 红外光谱; 色谱指纹图谱; 新进展; 中药质量控制

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2007)06-1093-05

引 言

在中药现代化进程中, 中药质量控制成为瓶颈问题之一。为此科研人员开展了大量基础研究工作, 在红外光谱与色谱指纹图谱(本文特指高效液相色谱指纹图谱)方面为中药质控开辟了新的途径^[1]。本文综述了当前红外光谱新进展, 并将其与色谱指纹图谱进行分析比较。

1 红外光谱新进展

近两年来红外光谱在中药质控领域取得突破性进展, 突破了检测样品有损、存在大量废弃物的问题, 形成了一种无损、环保的新型检测体系。常规的制药分析样品前处理繁琐, 分析周期较长, 使用有毒有害试剂较多, 常产生大量废气、废液; 相比之下红外光谱分析有如下鲜明的技术特点: 分析速度快, 多种成分同时分析, 无污染分析, 样品不需特别的预处理, 不使用有毒、有害试剂, 无损伤分析, 操作简单, 分析成本低^[2-4]。红外光谱技术已在中药材鉴定、中药材炮制、中药注射剂各个领域发挥了重要作用, 分述如下。

1.1 中药材鉴定

1.1.1 常用中药材的深入研究

红外光谱对常用中药的研究已经不局限于通过谱图的差异来作出简单辨别; 而出现两个新的应用研究方向: 一种是在谱图计算机辅助解析方面进行深入研究, 采用多种分析方法挖掘谱图数据信息; 另一种是为了增大样品差异性对样品

进行前处理。

王凤岭^[5]等利用红外三级鉴定法区别栽培和野生丹参。栽培与野生丹参一维谱图峰形相似度很高, 只是吸收峰波数有一定的差异。二阶导数谱则在特征波段栽培丹参有单峰, 野生丹参出现分叉峰; 栽培丹参与野生丹参较强吸收峰特征波数不一致。二维红外相关光谱中差异更明显, 在特征波段野生丹参有很强的自动峰, 而栽培丹参没有。依据自动峰的不同可以很容易的分辨出栽培与野生丹参。红外三级鉴定法将栽培与野生丹参药材的差异性逐步明显化, 有利于直观鉴别。

徐海星^[6]等建立了一种中药材海金沙分析鉴定的方法。以甲醇、氯仿、石油醚为提取溶剂, 提取海金沙得到不同溶剂提取物, 采用红外光谱图谱鉴别法对提取物进行分析、比较所得的图谱样品与标本的相似性好。该试验使用不同的溶剂对原药材进行提取处理, 增大了样品差异性, 提高了图谱差异化, 更有利于药材的辨识。

张瑞芳^[7]等用红外光谱法用直接鉴定三种不同产地的佛手, 根据特征吸收峰的峰位、吸收强度及峰高比的量化指标值, 进行比较分析; 每个产地的佛手峰高比值都有固定的范围; 根据值的大小可以初步判断其产地。该试验对光谱图进行峰高比的量化指标值是其新特点。

程存归^[8]等采用水平衰减全反射变换红外光谱法测定了赤芍及其伪品, 并结合主成分分析法进行排序比较了正伪品之间的差异程度。结果发现基于傅里叶变换红外光谱的主成分分析在反映同属不同种及同种不同产地植物化学组成差异程度上具有应用价值。

收稿日期: 2006-12-02, 修订日期: 2007-02-20

基金项目: 国家十五科技攻关计划项目(2004BA721A44)资助

作者简介: 刘 岩, 女, 1963年生, 天津天士力现代中药资源有限公司副主任药师 e-mail: ly20596392@163.com *通讯联系人

金向军^[9]等利用红外光谱法对 18 种来源于不同产地的朝鲜淫羊藿的红外光谱进行了分析、指认,利用红外光谱半定量分析方法分析了朝鲜淫羊藿的品质与原产地的关系,发现光谱随产地等因素呈现规律性的变化。初步建立了利用红外光谱简便地分析淫羊藿品质的方法。

王立群^[10]等分析研究不同的遮荫条件(人工棚架、杉树林下、玉米林下等)和不同的生长年限(1~5 年)栽培黄连的红外光谱的“指纹特征”,凭借直观而相对量化的红外特征峰的相对强度来阐明对黄连生长影响的整体变化规律。采用 FTIR,从分子水平上快速准确无损地检测由于生长环境的不同而影响黄连生长的原因。这一方法和技术对道地药材的规范化种植具有指导意义。

阿依古丽塔西^[11]等采用 FTIR 光谱法分别对药用植物甘草(药材对照品)及其伪品刺果甘草进行了无损快速鉴别研究。结果表明:虽然甘草和伪品刺果甘草都是来源于同一科属,但两者所含化学组分的含量不同,其红外光谱图既有一定的差异,又有一定的相似。而在红外二阶导数谱图上差异较明显,在二维红外谱图的差别不但较明显而且很直观。凭借这些差异,可方便地进行真伪鉴别,同时还进一步表明了这两种甘草药材中化学组分之间的差异。

金文英^[12]等鉴定白术及其伪品,采用径向基函数神经网络分别测试了白术及其伪品的红外光谱。采用 36 个样本作训练集,27 个样本作检验集,当训练目标误差平方和定为 0.01 时,各类 RBF(径向基函数)对训练集中白术样本识别的正确率均为 100%。因此该法可用于简便、快速、准确地识别白术及其伪品。

红外光谱技术应用新进展表现为:一方面通过应用了不同的溶媒进行试验,对药材进行提取处理,增大了样品差异性,提高了谱图差异化,更有利于差异性小的药材辨识;另一方面谱图计算机辅助解析通过量化峰高比、主成分分析、谱图半定量分析、相关二维、神经网络等方面的深入研究,挖掘了更多的谱图数据信息。

1.1.2 地方民族药的鉴别

由于地方民族药还停留在外观形状经验鉴别水平,相应色谱含量分析较少。因此红外光谱分析技术已迅速被彝、藏、蒙等少数民族医药所接受,并且在地域性药物鉴别、基原调查、珍稀药材保护等领域进行了有益的尝试。

杨群^[13]等采用傅里叶变换衰减反射红外光谱法对鸡根、大红袍两种彝药药材进行了快速无损的红外光谱测定。说明彝药块根的红外吸收光谱图主要由碳水化合物木质素、纤维等吸收峰组成。

关昕璐^[14]等采用红外光谱法直接测定藏药翼首草不同产地、不同药用部位的红外光谱,并比较了它们的红外光谱差别。结果表明:翼首草药材根与地上部分的红外指纹图谱有明显差别,可用于药用部位的鉴别;产地相距较远药材的光谱差别也较大。

徐良^[15]等用红外三种光谱法对四种蒙药材进行了鉴别研究。四种药材粉末的红外光谱有明显区别。

结果表明地方民族药与传统中药一样具有较强的红外光谱指纹特征,可以据此进行判别。红外光谱在地方民族药中

的应用,打破了其长期缺乏有效质控方法的局面。与此同时,红外光谱也将成为地方民族医药核心质控技术。

1.2 中药材炮制

红外指纹图谱用于中药炮制品的鉴别是可行的,特别是二维相关的使用,使炮制过程不再成为不可控的过程;且红外光谱法样品制备简单,仪器设备普及性强,在中药饮片的快速鉴别与过程监控中具有一定的优势。

白燕^[16]等利用红外光谱法,从分子水平,快速、准确,整体宏观监控炮制过程,分析生地黄特征峰和熟地黄特征峰变化趋势和规律。在地黄传统炮制经验基础上,规范其炮制工艺,制定其饮片质量标准,并为中药炮制质量检测、工艺监控等提供强有力分析手段。

鲍红娟^[17]等利用红外光谱技术分析研究河南道地药材怀菊花及其炮制品,找出怀菊花、炒菊花和菊花炭的红外光谱和二阶导数谱的“指纹”特征。

郁露^[18]等采用傅里叶变换红外光谱技术动态跟踪药用植物白芥子的炒制过程,获得了不同炒制时间样本的红外谱,二阶导数谱和热扰动下的二维相关红外谱。白芥子的红外谱表明,白芥子在炒制过程中油脂特征峰的相对强度变化不明显,说明白芥子磷酸酯相对较稳定;而酰胺带峰和酰胺带的吸收峰相对强度显著减小,是因为白芥子在高温炒制过程中,蛋白质(酶)发生了热变性;纤维多糖的特征吸收峰在炒制 10 min 后明显减弱,这与药材表皮纤维多糖加热分解相关联。二阶导数谱和二维相关红外谱的变化规律与红外谱的结果相一致,进一步验证了白芥子药材在炒制过程中发生的主要变化是蛋白质变性及多糖的分解。该方法揭示了药材在炮制过程中所发生的物理化学变化过程,从分子光谱水平上奠定了白芥子药材炮制的目的“杀酶保甙”的理论基础。

1.3 中药注射剂

王晶^[19]等将红外光谱技术应用于中药注射剂鉴别;系统考察了制样、分辨率、扫描次数、重复扫描次数等对光谱信息质量产生影响的因素,分别测定了板蓝根、川芎、红花、黄芪、鱼腥草等中药注射剂的红外光谱。结果各种注射剂原始图谱具有较大的相似性,采用计算机辅助解析技术可以较好的对不同种注射剂进行鉴别。

潘艳丽^[20]研究黄金菊粉针(金莲花、野菊花、金银花)药效组分的红外指纹表征,采用红外光谱及其导数光谱法进行测定,用相关系数法进行解析,用原料药和化学药效组分指纹表征表述质量特征。

2 色谱指纹图谱现状概述

中药质量的评价需要用综合的、非线性的分析观念来适应,色谱指纹图谱就是适应这一特点的一种质量控制模式。目前我国中药指纹图谱的实施,已由实验室研究进入到实际应用和作为法定质量标准的阶段。它不仅从图谱的整体特征来综合地鉴别真伪,还可以以一定的量化参数大致评价中药产品质量的稳定性和一致性。在现阶段,据此判断原料、半成品、成品的质量相关性、一致性和稳定性,应用范围包括

原料药材的筛选、生产工艺的优化、成品质量的稳定考察、市场商品的质量监控。实践证明，色谱指纹图谱分析所表达的质量信息远比测试单一成分要丰富得多^[21, 22]。

中药指纹图谱的检测是将定量取样、定量操作得到的标准提取物色谱指纹图谱整体特征作为指纹，与同样定量取样、定量操作得到的供试品色谱相比较，不仅能检测出该中药应该含有的中药成分，而且能检测出所含成分含量的高低。无须烦琐计算，即可通过相似度的比较达到鉴别真伪。中药指纹图谱的应用能有效、准确地评价中药的质量指标^[23, 24]。

例如天士力集团已将多元色谱指纹图谱分析定为内控方法。对复方丹参滴丸主要化学成分进行了系统分析，鉴定出 10 种丹参水溶性成分和 20 种三七皂苷类成分，基本揭示了复方丹参滴丸化学物质基础；能更完整地反映出复杂药产品的化学组成特征，可用于复中药产品的质量控制^[25]，见图 1（各批次的复方丹参滴丸产品中有效成分的含量一致，确保了复方丹参滴丸质量的稳定）。

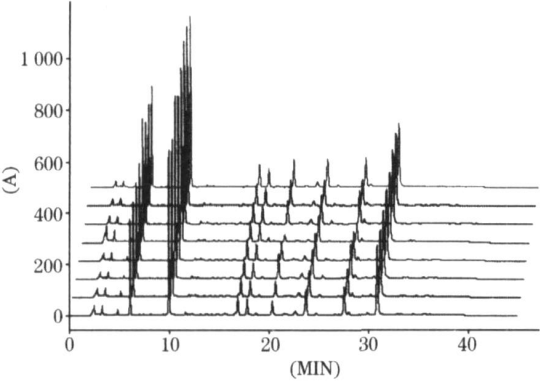


Fig 1 HPLC fingerprint chromatographic for various lots of compound denshen dripping pill

3 红外光谱与色谱指纹图谱共性与差异分析

3.1 共性

中药指纹图谱是某种(或某产地)中药材经适当处理后，采用一定的分析手段得到的能够标示该中药材或中成药特性的某类或数类成分的色谱或光谱的图谱，它具有系统性、特征性和重现性。

系统性：指纹图谱所反映的化学成分应包括中药有效部

位所含大部分成分的种类，或指标性成分的全部；

特征性：指纹图谱中反映的化学成分信息能特征地区分中药的真伪与优劣，成为中药自身的“化学条码”；

重现性：不同操作者和不同的实验室应能做出相同的指纹图谱，其误差应在允许的范围内。

3.2 差异性

红外光谱鉴别特征性强。对整个化合物分子的鉴别，专一性更强，其关键是把具有差异性的化学成分富集起来，使其表现在红外图谱上，只需考虑红外光谱指纹图谱之间的相似度，比较其差异性，即可达到鉴别效果。

色谱指纹图谱表示中药及其制剂的各种组分群体特性的共有峰的图谱。它综合反映了某一特定药材各主要成分的含有情况，以及彼此相对含量的内在质量情况。

总之红外光谱与色谱指纹图谱在原理、制样、测试、分析等方面存在许多不同点，见表 1。

Table 1 Contrast Analysis chart for IR spectrum with fingerprint chromatographic

红外光谱	色谱指纹图谱
无损性	对样品进行破坏
无需条件摸索	色谱条件需进行摸索，不易确定
简单、快捷(直接粉碎压片)5 min	繁琐(需进行浸提分离过程)4h 以上
获取整体宏观信息	获取部分信息
无需单体标准物	必需单体标准物
检验成本低	检验成本高
无废弃物产生	有大量废液产生
重现性好	重现性差
定性分析	定性、定量分析
检测精度低	检测精度高

4 结 论

随着红外光谱与色谱指纹图谱在解决中药质量标准与检验方面优势的显现，中药质控领域结合自身实际情况对其在该领域的研究进行了有效的延伸与扩展，基本形成以红外光谱为定性、半定量分析，色谱指纹图谱为定量分析的两大模式；在药物质量控制过程中，红外光谱可以应用于前道质量控制与样品稳定性考察；色谱指纹图谱可以应用于后续重点成份指标含量控制；两者互相渗透、互为补充，为中药现代化铺平了道路。

参 考 文 献

[1] SUN Sur-qin, ZHOU Qun, QIN Zhu, et al(孙素琴,周 群,秦 竹,等). 中药配方颗粒红外光谱非分离提取多级宏观指纹鉴定方法 [P]. 中国专利: CN 1447109A. 2003.

[2] SUN Sur-qin, QIN Zhu, ZHOU Qun, et al(孙素琴,秦 竹,周 群,等). 中药药材红外光谱非分离提取多级宏观指纹鉴定方法. 中国专利: CN 147110A. 2003.

[3] SUN Sur-qin, ZHOU Qun, QIN Zhu(孙素琴,周 群,秦 竹). Acta of Two-dimensional Correlation Infrared Spectroscopy for Traditie-

- nal Chinese Medition Indentification(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. 9.
- [4] Pharmacopiea Committee of the Ministry of Health, the People 's Republic of China(中华人民共和国国家药典委员会编). Pharmacopeia the 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), 2000.
- [5] WANG Feng-ling, ZHOU Jian-ke, WU Jing, et al(王凤岭, 周建科, 吴 婧, 等). Modern Instrument(现代仪器), 2006, (5): 18.
- [6] XU Hai-xing, LIU Xiao-ping, ZHANG Cheng-wei, et al(徐海星, 刘小平, 张成伟, 等). Journal of Wuhan University of Technology(武汉理工大学学报), 2006, 26(2): 137.
- [7] ZHANG Rui-fang, GAO Your-heng, CUI Hong-hua(张瑞芳, 高幼衡, 崔红花). Journal of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine(广州中医药大学学报), 2006 23(1): 48.
- [8] CHENG Curr-gui, LI Dan-ting, CHEN Jian-hua, et al(程存归, 李丹婷, 陈建华, 等). Chinese Pharmaceutical Journal(中国药学杂志), 2006, 41(8): 580.
- [9] JIN Xiang-jun, LI Xiao-ping, LIU Zhi-qiang, et al(金向军, 李晓萍, 刘志强, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(4): 614.
- [10] WANG Li-qun, LI Ying-ming, ZHANG Li-ping, et al(王立群, 李英明, 张丽萍, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(6): 1061.
- [11] A YIGULI Taxi, ZHOU Qun, DONG Xiao-ou, et al(阿依古丽·塔西, 周 群, 董晓鸥, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(7): 1238.
- [12] JIN Wen-ying, CHENG Curr-gui, WU Xiao-hua(金文英, 程存归, 吴小华). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(12): 2210.
- [13] YANG Qun, WANG Yi-lin, YAO Jie, et al(杨 群, 王怡林, 姚 杰, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(12): 2219.
- [14] GUAN Xin-lu, YAN Yu-ning, HUANG Xiao-ling, et al(关昕璐, 阎玉凝, 黄晓玲, 等). Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae(中国实验方剂杂志), 2006, 12(4): 11.
- [15] XU Liang, SURITALATU, XI Hai-shan, et al(许 良, 苏日塔拉图, 席海山, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(3): 448.
- [16] BAI Yan, SUN Su-qin, LI Jun, et al(白 雁, 孙素琴, 李 军, 等). Chinese Traditional Patent Medicine(中成药), 2005, 27(5): 544.
- [17] BAO Hong-juan, AN Hong, BAI Yan, et al(鲍红娟, 安 宏, 白 雁, 等). Modern Instrument(现代仪器), 2004, (5): 24.
- [18] YU Lu, SUN Su-qin, ZHOU Qun(郁 露, 孙素琴, 周 群, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(12): 2181.
- [19] WANG Jing, HU Jin-hong, XIAO Jie(王 晶, 胡晋红, 肖 杰, 等). Chinese Traditional Paten Medicine(中成药), 2005, 27(5): 505.
- [20] PAN Yan-li, ZHANG Gui-jun, SUN Su-qin(潘艳丽, 张贵君, 孙素琴). Chinese Traditional Patent Medicine, 2006, 28(2): 172.
- [21] XIE Pei-shan(谢培山). Chinese Traditional New Drugs and Clinic Pharmacology(中药新药与临床药理), 2001, 12(3): 141.
- [22] XIE Pei-shan(谢培山). China Journal of Chinese Materia Medica(中国中药杂志), 2001, 26(10): 653.
- [23] XIE Pei-shan(谢培山). Atlas of Chromatogram of Chinese Medicines(中药色谱指纹图谱). Beijing: People 's Medical Press(北京: 人民卫生出版社), 2005.
- [24] HONG Xiao-kun, WANG Zhi-hua(洪筱坤, 王智华). Digitized Chromatographic Spectrum of Chinese Medicines(中药数字化色谱指纹谱). Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Press(上海: 上海科学技术出版社), 2003.
- [25] CAO Feng-lan, MENG Jie(曹凤兰, 孟 杰). Pharmaceutial World(医药世界), 2004, (7): 22.

Progress in Application of Infrared Spectroscopy and Comparative Study of Chromatographic Fingerprints

LIU Yan¹, LIU Shun-hang¹, WANG Jun-quan¹, SUN Su-qin²*

1. Tianjin Tasly Modern TCM Resourees Co. Ltd., Tianjin 300402, China
2. Analytic Center of Tsinghua University, Beijing 100084, China

Abstract The newest development of applications of IR techniques to the identification of Chinese herbs, the discrimination of folk medicine herbs, Chinese herbs processing and Chinese traditional injection, which involving enhancing computer analysis depth, intensifying the pre-treatment of Chinese herb and using 2D-IR correlation spectroscopy for processing control, was elaborated in the present paper. Meanwhile, the establishment of multi-component determination analysis system of chromatographic fingerprint diagram was shown. And the sameness and difference of the IR spectroscopy and chromatography fingerprint diagram

techniques were analyzed, and a comparison was made in terms of quality control of Chinese herbal medicine.

Keywords IR; Chromatographic fingerprints; New development; Quality control of Chinese traditional medicine

(Received Dec. 2, 2006; accepted Feb. 20, 2007)

* Corresponding author

第 35 届国际光谱会议

第 35 届国际光谱会议(35th Colloquium Spectroscopicum Internationale, CSI XXXV)将于 2007 年 9 月 23~27 日在厦门召开。国际光谱会议是世界谱学研究领域的顶级峰会之一,此次会议是这一系列性国际学术盛会首次在中国召开。会议由中国化学会、中国物理学会、中国光谱学会、国家自然科学基金委、厦门市政府和厦门大学主办。会议主席为黄本立院士,联合主席为方肇伦院士;会议秘书长为王秋泉教授。

此次会议主要议题包括:(1) Atomic Spectrometry (AAS, AES, AFS, Plasma 等); (2) Molecular Spectrometry (UV-VIS, IR, Raman, Fluorescence/ Phosphorescence/ Chemiluminescence, NMR 等); (3) Mass Spectrometry; (4) Laser Spectrometry; (5) Hyphenated Techniques (with μ -TAS, HPLC, CE 等); (6) X-Ray and Synchrotron Spectroscopy; (7) Chemometrics。会议还将组织包括:(1) Elemental Speciation; (2) Environmental Analysis; (3) Frontier of Mass Spectrometry; (4) Spectroscopic Sensing of Bio-related Species; (5) Spectroscopy for Nanomaterials; (6) Surface-enhanced Spectroscopy 等专题研讨会。同时还将举办光谱/质谱仪器及周边设备/部件、相关化学品及化学/物理预处理设备等的展览会。(请详见会议网站上的二轮通知英文稿)

为了提高中国光谱/质谱学研究水平,鼓励国内同行积极地参与,经研究决定特别针对国内代表的会议做以下说明:(请登陆会议网站注册系统,查看详细的注册信息和旅馆信息)

一、付款方式:

请将会议注册费转帐至:

帐 户:厦门大学

开户银行:工行厦大支行

账 号:4100021709024904620

注:1. 汇款时请注明为“CSI XXXV 注册费”

2. 请在 6 月 15 日前将参会代表的姓名、单位及汇款单底联通过网站注册系统个人帐号在线上传到会务组,否则无法确认您的注册信息。

二、会议摘要请于 2007 年 5 月 31 日前通过网络在线提交,本次会议不接受电子邮件投稿。请到会议网站下载摘要模板,严格按照模板的格式和要求用英文准备摘要,并以 Microsoft Word 文件格式投稿。不符合格式要求的摘要将被退回。会议论文集将由厦门大学出版社正式出版,文责自负。

三、会议给少数特别优秀的研究生参加会议提供部分资助。请在 5 月 15 日前提交申请,具体事宜请登陆会议网站查询。

四、重要日期:2007.5.31 摘要截稿 2007.6.15 提前注册截止

2007.9.23 会议注册 2007.9.24~27 会议召开

五、联系方式:

联系人:林峻越 陈 石 吴玲玲

邮政地址:厦门大学化学化工学院现代分析科学教育部重点实验室 邮编:361005

电话:0592-2186401,2183052 传真:0592-2181810

E-mail:secrcsi@xmu.edu.cn; secrcsi@gmail.com

网站:http://www.csixxxv.org