

中药掺伪的二维相关红外光谱法分析

李 树¹, 乐 健², 陈桂良², 柴逸峰¹, 陆 峰^{1*}

1 第二军医大学药学院, 上海 200433

2 上海市药品检验所, 上海 200233

摘 要 旨在建立基于二维相关红外光谱(2D IR spectra)的分析技术,以进行中药中是否掺杂化学药物的判别。以减肥药盐酸芬氟拉明(fenfluramine hydrochloride, FH)、盐酸西布曲明(sibutramine hydrochloride, SH)为待检化合物,确定二者同步相关谱中的特征相关峰。首先通过比较掺杂中药与盐酸芬氟拉明的同步谱中特征相关峰的相似性,初步对掺杂化合物盐酸芬氟拉明进行判定,而后利用掺杂中药异步谱能确认相关峰来源的特性,进一步确证盐酸芬氟拉明的存在;此外,根据掺杂中药同步谱中未出现与盐酸西布曲明同步谱相似的特征相关峰,可以直接判别其中未掺杂盐酸西布曲明。实验所建立的方法无需样品分离,速度快,成本低,为快速简便地进行复杂体系中是否存在化学药物的判别提供了一种新的可能的方法。

关键词 二维相关红外光谱法; 中药掺伪; 判别分析

中图分类号: O657.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-0593(2007)11-2212-04

引 言

近年来中药制剂的发展比较迅速,而在纯中药制剂中添加化学药物来达到治疗目的的现象一直屡见不鲜^[1,2],如壮阳类保健品中掺杂伟哥,减肥药中含有盐酸西布曲明,降糖药中掺入格列本脲等。为了遏制此类丑恶现象,国内外的相关工作者做出了许多努力^[3]。目前对此类掺杂的检测技术主要有色谱及色-质联用等,即利用高效液相色谱法、气相色谱法、毛细管电泳法等强大的分离能力将复杂体系分离简化,再利用联用的检测技术尤其是质谱法将微量的未知化合物的结构进行确证从而判定检测样品中是否掺杂^[4-6]。但由于购置设备与运行成本昂贵、操作技术要求高等原因,致使这些检测技术的普及性存在一定问题。

傅里叶变换红外光谱法(FTIR)是一种常用的光谱分析技术,主要用于化合物结构的解析和判别。它具有成本低,速度快,操作简便的优势,是一种较易普及和使用的分析方法。但是面对复杂的中药体系时,微量成分的红外信息则易受到复杂背景的干扰,吸收峰重叠,部分掩盖甚至完全包埋。即使在中药的红外光谱上出现若干与怀疑成分相对应的吸收峰,也不能就此简单地判定是否含有这种掺杂成分。

本文在红外光谱法的基础上,结合二维相关分析(2D Correlation analysis)技术,对掺杂了减肥类药品违禁成分盐

酸芬氟拉明的中药进行了鉴别分析,为快速简便的进行中药掺伪检测提供了一种新的分析方法。

1 原 理

二维相关红外光谱(2D IR spectra)的概念^[7]最早是在1986年由美国科学家Noda提出的。2D-IR的产生基于对由外部微扰所产生的样品体系的动态变化的检测。外部微扰引起样品分子的激发,其局部环境产生变化所检测的瞬态光谱也就有相应的变化。运用相关分析对这些瞬态光谱进行处理,就得到2D-IR。根据2D-IR谱图上的谱峰可以分析在外部扰动过程中分子内基团的变化和相互关系。目前2D-IR已在聚合物的分析以及中药材真伪鉴别等领域有了广泛的应用,如Zimmermann^[8]等采用2D-IR分析了保泰松中的热聚合作用,孙素琴^[9]等通过此技术对中药半夏作了真伪鉴别,效果良好。但尚未见过采用2D-IR对中药体系进行掺伪化合物鉴别的相关文献。

二维相关分析可产生同步相关谱和异步相关谱,其中同步谱表征的是两个波数处信号强度变化的方向和协同程度。同步谱分为自动峰和交叉峰两类,自动峰总是正直,表征了在同一扰动下同一个波数的自相关光谱峰,反映了该处光谱强度随外界扰动变化的灵敏度。交叉峰是两个波数不同的峰的相关,表征了这两个频率之间光谱强度变化的相似性。当

收稿日期: 2006-08-16, 修订日期: 2006-11-16

基金项目: 上海市科学技术委员会技术标准专项(05dz05006)资助

作者简介: 李 树, 1981年生, 上海第二军医大学药学院硕士研究生 * 通讯联系人, e-mail: fenglufeng@hotmail.com

他们信号强度变化方向一致, 即同增或同减, 则为正, 强度变化方向不一致, 一个增加而另一个减少, 则为负。

异步谱则表征不同波数处信号强度变化的差异性。其值有正有负, 对异步光谱的解释需要参考同一位置的同步谱。针对外部扰动场引起的、由混合物中不同组份、各相中的物质或化学功能团表现出来的不同效应, 在异步相关谱中可以方便地鉴别出来, 甚至于挨得很近的重叠峰都可以分辨出来, 因此这种特性在区分由不同光谱来源或不同组份形成的重叠峰时特别有用。异步谱解释规则为: (1) 在异步二维相关谱的对角线左上方(即 $\nu_1 > \nu_2$), 如果异步相关交叉峰是正的, 也就是说光谱强度变化在高波数 ν_1 处先于 ν_2 处发生; (2) 如果在对角线的右下方(即 $\nu_1 < \nu_2$) 异步相关交叉峰是正的, 则光谱强度变化在低波数 ν_1 处先于 ν_2 处发生; (3) 如果异步相关交叉峰是负的, 则以上两条规则相反; (4) 假如在 ν_1 和 ν_2 处的同步相关交叉峰是负的, 以上 3 条规则正好相反; (5) 如果异步相关交叉峰强度消失, 说明 2 个受激发偶极矩的取向同时发生, 这两个峰的来源可能相同; (6) 如果同步相关光谱中的相应同步相关强度消失, 则 2 个受激发偶极矩的取向关系不能确定。

不同基团对外界扰动时产生的响应各不相同, 例如施加温度变化时, 有些基团对较低温度响应灵敏, 有些基团在较高温度下才会产生响应, 有些则对温度变化根本不敏感。因此, 每个化合物在 2D-IR 上的相关峰是其内部基团对外界扰动产生响应的特征性表现。本实验在施加热微扰的条件下, 以检测样品中是否含有待测化合物为目的, 首先通过待测化合物的同步相关谱, 确定产生响应的特征峰位, 若掺杂中药中含有待测化合物, 那么当施加相同外扰时, 这些峰位处的特征性响应则应同样存在于中药的同步相关谱中。同时, 借助异步谱能够确认相关峰的来源的特性, 从而进一步证明待测化合物的存在与否。

从一维信息到二维信息, 并有同步、异步相关谱的相互印证, 二维相关分析不但提高了红外谱图的分辨率, 揭示了分子内、分子间的相互作用, 同时增强了谱图的识别能力, 大大提高掺杂判别的可信度。

2 实验

2.1 样品来源

盐酸芬氟拉明 FH 标准品和盐酸西布曲明 SH 标准品由上海药品检验所提供; 待检中药由纯中药基质与盐酸芬氟拉明混合研磨制成。

2.2 实验条件

实验所用仪器为 Bruker 公司的 Vector 22 型傅里叶变换红外光谱仪, 光谱范围 $400 \sim 4000 \text{ cm}^{-1}$, 分辨率 4 cm^{-1} , 扫描次数 32 次。

动态光谱: 分别取 3 mg 标准品与待检中药与溴化钾 300 mg 研磨压片, 以热微扰为外部扰动条件, 每次间隔 40 s, 采样 10 次。采用 OPUS 软件包自带二维相关分析(2D Correlation)软件进行分析处理。

3 结果与讨论

图 1 中由上至下分别是待检中药、盐酸芬氟拉明 FH 以及盐酸西布曲明 SH 的一维红外光谱。从待检中药的红外谱图可以观察到, $1456, 1337, 1166, 1121, 1074 \text{ cm}^{-1}$ 等峰位是与 FH 相对应的, 而 1653 和 1121 cm^{-1} 等峰位则与 SH 对应。虽然前者在待检中药样品中的出峰位置较后者多一些, 但不能就此简单地判定两种化合物的存在与否, 需要用二维相关红外谱图来进一步验证。

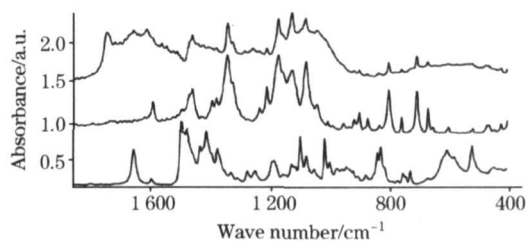


Fig 1 Infrared spectra of adulterated traditional chinese medicine, fenfluramine hydrochloride and sibutramine hydrochloride

对 FH 做二维相关红外光谱, 得到的同步谱图 2 上有 3 个较强自相关峰, 分别在 $1168, 1339, 1071 \text{ cm}^{-1}$ 附近, 对应于一维红外光谱中是峰强最大的 3 个峰 $1166, 1337, 1074 \text{ cm}^{-1}$ (样品经过外部扰动处理以后, 峰位会发生一定的偏移), 说明这 3 个峰位处的基团对外界扰动的响应比较明显。同时, 在对角线两侧还出现了 6 个较明显的对称的正相关峰, 分别为 $(1339, 1071 \text{ cm}^{-1}), (1071, 1339 \text{ cm}^{-1}), (1339, 1168 \text{ cm}^{-1}), (1168, 1339 \text{ cm}^{-1}), (1168, 1071 \text{ cm}^{-1}), (1071, 1168 \text{ cm}^{-1})$, 可以看出 $1168, 1339, 1071 \text{ cm}^{-1}$ 三个峰位之间两两相关, 说明它们的强度变化是同步的。

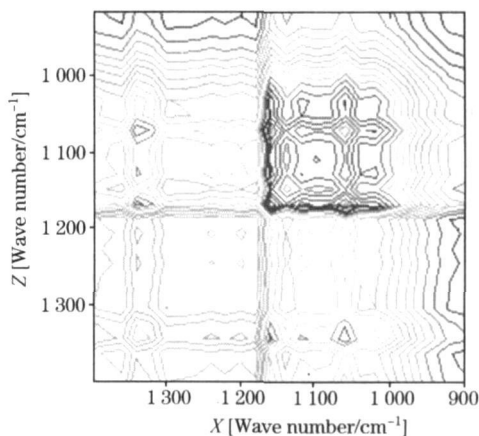


Fig 2 Synchronous 2D correlation spectrum of fenfluramine hydrochloride

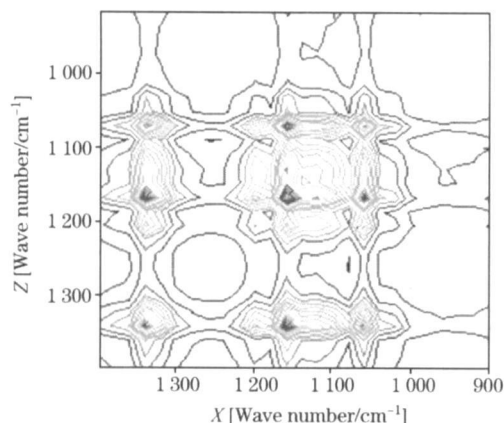


Fig 3 Synchronous 2D correlation spectrum of adulterated traditional Chinese medicine

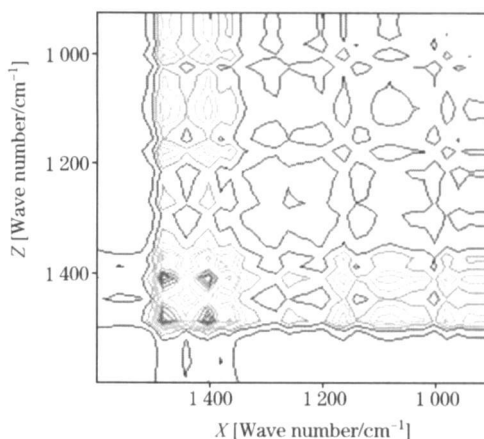


Fig 5 Synchronous 2D correlation spectrum of sibutramine hydrochloride

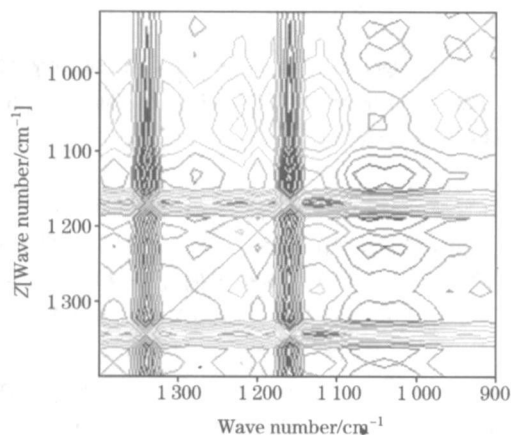


Fig 4 Asynchronous 2D correlation spectrum of adulterated traditional Chinese medicine

在待检中药同步谱图 3 中, 1 168, 1 339, 1 071 cm^{-1} 三个自相关峰清晰可见, 且在对角线两边可以观察到它们两两相关的 6 个正交叉峰。提示了这 3 个峰可能来自 FH, 但不能排除来自其他物质特征基团响应的可能性。那么再对待检中药异步谱图 4 进行分析, 对异步谱而言本身没有自相关峰, 且交叉峰是关于对角线反对称的。在这里, 同步谱中的 6 个正交叉峰在异步谱中同时消失, 说明这 3 个相关峰位的强度变化是同步发生的, 提示了它们的来源可能相同。并且, 在对角线右下方, 可观察到 (1 168, 1 120 cm^{-1}), (1 339, 1 120 cm^{-1}), (1 120, 1 074 cm^{-1}) 三个正交叉峰, 对应的在对角线左上方为 (1 120, 1 168 cm^{-1}), (1 130, 1 339

cm^{-1}), (1 074, 1 120 cm^{-1}) 三个负交叉峰。根据异步谱的解释规则, $V_{1\ 120\ \text{cm}^{-1}} > V_{1\ 168\ \text{cm}^{-1}}$, $V_{1\ 120\ \text{cm}^{-1}} > V_{1\ 339\ \text{cm}^{-1}}$, $V_{1\ 120\ \text{cm}^{-1}} > V_{1\ 074\ \text{cm}^{-1}}$, 即 1 120 cm^{-1} 处的强度变化先于 1 168, 1 339, 1 071 cm^{-1} 三个峰位处的强度变化而发生, 进一步证明了这 3 个峰位强度变化的同步性以及来源相同的可能性, 即都来源于 FH 的基团振动。同时也提示了 1 120 cm^{-1} 峰可能来源于纯中药基质的基团振动。

根据以上的分析结果, 可以判定待检中药样品中确实含有待测化合物 FH。

此外, 一维红外光谱图 1 中待检中药中只有个别较弱峰与 SH 相对应, 出峰位置不明显。但如前所述, 仅以此还无法判定 SH 是否存在于待检中药中。通过 SH 同步相关谱图 5 观察到了 1 477 和 1 407 cm^{-1} 两个较强自相关峰(对应一维红外光谱 1 473, 1 407 cm^{-1}), 说明这两个峰位对温度变化比较敏感, 是 SH 对外扰响应的特征性表现。而在施加了相同外扰的待检中药同步谱上, 则未出现类似的特征相关峰, 从而直接提示了待检中药中并不含有 SH。

利用光谱方法对中药材进行鉴别, 具有重要的意义, 这方面的工作亦可参阅文献 [10]。

4 结 论

采用二维相关红外光谱技术, 利用不同化合物对外界微扰产生的特征性响应, 可以对复杂体系中的掺杂成分进行定性分析。由于此方法基于红外光谱, 具有经济, 简便和快速的优点, 因此为中药掺伪的快速鉴别提供了一种新的可供选择的方法。

参 考 文 献

- [1] Huang W F, Wen K C, Hsiao M L. *J. Clin. Pharmacol.*, 1997, 37: 344.
- [2] Richard J K. *New Engl. J. Med.*, 1998, 339(12): 847.
- [3] Cockburn R, Newton P N, Agyarko E K, et al. *Plos Medicine*, 2005, 2(4): 302.
- [4] Liu S Y, Woo S O, Michael J, et al. *J. Pharm. Biomed Anal.*, 2000, 22(3): 481.
- [5] FENG Jia-li, PAN Zheng-qiu, CAO Hua-juan, et al(冯家力, 潘振球, 曹华娟, 等). *Chinese Journal of Chromatography(色谱)*, 2004, 22(3): 228.
- [6] Ku Y R, Chag L Y, Ho L K, et al. *J. Biomed. Anal.*, 2003, 33(2): 329.
- [7] Noda I. *Appl. Spectrosc.*, 1990, 44(4): 550.
- [8] Zimmermann B, Baranovic G. *Vibrational Spectrosc.*, 2006, 41(1): 126.
- [9] SUN Shu-qin, ZHOU Qun, LIU Jun, et al(孙素琴, 周群, 刘军, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2004, 24(4): 427.
- [10] LIU Shu-hua, ZHANG Xue-gong, ZHOU Qun, et al(刘沐华, 张学工, 周群, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2006, 26(4): 629.

Discrimination of Adulterated Traditional Chinese Medicines by Infrared Spectroscopy-Two Dimensional Correlation Analysis

LI Shu¹, LE Jian², CHEN Gu-liang², CHAI Yi-feng¹, LU Feng^{1*}

1. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Shanghai Institute for Drug Control, Shanghai 200233, China

Abstract A new method was established, based on infrared spectroscopy-two dimensional (2D) correlation analysis, for the discriminative analysis of adulteration in traditional Chinese medicines (TCM). Fenfluramine hydrochloride (FH) and sibutramine hydrochloride (SH) were taken as examples of synthetic drugs (adulterant), and the correlative peaks of their synchronous 2D correlation spectra were found. Then the characteristics of the synchronous 2D correlation spectrum of the suspected TCM were compared with those of FH. Since the correlative peaks in the synchronous spectrum of the suspected TCM coincide well with those of FH, a positive conclusion could be drawn after further investigation of the asynchronous spectra of TCM, which could provide the information about the source of correlative peaks. On the contrary, the dissimilarity of the synchronous spectra of SH and TCM directly implies that the suspected TCM is not adulterated with SH. The method can be used for a correct discrimination on whether the TCM is adulterated with the synthetic drugs, it does not rely on sample separation, and provides a new simple and cost-effective alternative to test the adulteration of TCM.

Keywords Two dimensional correlation infrared spectroscopy(2D-IR); Adulterated traditional Chinese medicine; Discriminative analysis

(Received Aug. 16, 2006; accepted Nov. 16, 2006)

* Corresponding author