

诃子不同提取物的近红外光谱研究

李静怡¹, 李文兰^{2*}, 马芳³, 图雅^{4*}

(1. 哈尔滨商业大学 生命科学与环境科学研究中心, 哈尔滨 150076;

2. 哈尔滨商业大学 药学院, 哈尔滨 150076;

3. 清华大学, 北京 100084; 4. 中国中医科学院 中医药发展研究中心, 北京 100700)

[摘要] **目的:**对诃子原药材、水提取物、无水乙醇提取物、石油醚提取物及主要有效成分鞣酸的红外光谱图进行了整体分析。**方法:**采用傅里叶变换红外光谱法(FTIR)并结合二阶导数谱和二维相关红外光谱技术(2D-IR)。**结果:**诃子药材及其提取物有着各自稳定的光谱特征,谱图中 $1\ 714\ \text{cm}^{-1}$ 的 α,β -不饱和酯键的红外吸收峰, $1\ 613, 1\ 447\ \text{cm}^{-1}$ 的苯环骨架振动是判断鞣酸在不同诃子样品中特征峰强弱的主要依据。诃子药材经过提取,以鞣酸为代表的主要成分得到有效富集,3种提取物中鞣酸的特征峰明显较强,其中水提取物中鞣酸的特征峰强度明显高于无水乙醇提取物和石油醚提取物。**结论:**红外光谱宏观指纹技术可提供大量的整体结构信息,能够为主要有效成分的提取分离及准确把握诃子药材的整体质量提供参考依据。

[关键词] 诃子; 鞣酸; 提取物; 红外光谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)11-0072-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016110072

FTIR Spectroscopy of Different Extracts of Chebulae Fructus

LI Jing-yi¹, LI Wen-lan^{2*}, MA Fang³, TU Ya^{4*}

(1. Harbin University of Commerce, Research Center for Life Science and Environment Science, Harbin 150076, China; 2. Harbin University of Commerce, College of Pharmacy, Harbin 150076, China;

3. Tsinghua University, Beijing 100084, China; 4. Development Research Center for Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To conduct a global analysis on the infrared spectrum of Chebulae Fructus raw material, water extract, absolute ethanol extract, petroleum ether extract and the main component tannin. **Method:** Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), second-derivative infrared spectroscopy and two-dimensional correlation infrared spectrum (2D-IR) were adopted. **Result:** Chebulae Fructus raw material and extracts had respective stable spectral characteristics. The infrared spectrum of α, β -unsaturated ester bonds at $1\ 714\ \text{cm}^{-1}$, and aromatic skeleton vibration at $1\ 613, 1\ 447\ \text{cm}^{-1}$ were the main basis to determine the characteristic peak intensity of tannin in different Chebulae Fructus samples. After extraction, the main component tannin was effectively enriched. The characteristic peak of tannin was stronger in the three extracts, and the intensity of characteristic peak of tannin in water extract was higher than that in absolute ethanol extract, petroleum ether extract. **Conclusion:** The infrared spectrum macroscopical fingerprint technology could provide large amount of information on the overall structure, and provide reference for the extraction and separation of the main effective ingredients and accurately controlling the overall quality of Chebulae Fructus.

[收稿日期] 20151116(025)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81274192)

[第一作者] 李静怡,在读硕士,从事中药药效物质基础研究,Tel:13895700168,E-mail:13895700168@163.com

[通讯作者] *李文兰,教授,从事中药化学及药物代谢动力学研究,Tel:139361169153,E-mail:lwlzd@163.com;

*图雅,教授,从事民族药(中药)药效物质基础研究及相关政策研究,Tel:010-64089685,E-mail:tuyal26@126.com

[Key words] Chebulae Fructus; tannic; extract; FTIR spectra

诃子^[1]是常用蒙古族药,蒙古族医学认为诃子味涩、性平^[2]。有祛三弊所引起的诸疾,调理体素即三根,解毒功效^[3]。临床用于赫依、希拉、巴达干合并证和聚合性诸证;脏腑病,用于心脏病、胸肋刺痛、肺热证、肝热证、脾病、胃希拉病;中毒症;五官科疾病^[4]。诃子主要含有鞣质类、三萜类、酚酸类、脂肪族类化合物几大成分^[5]。其中鞣质为主要化学成分,大量研究证实诃子酸、诃黎勒酸的总量高达 23% ~ 37%^[6]。

红外光谱 (FTIR) 具有取样量小、整体特征性强、简便迅速等特点,已广泛应用在药材真伪鉴别及快速质量控制等方面的研究^[7-9]。随着二维相关红外光谱技术的扩展和应用,提高了红外光谱图的分辨率^[10-12],并在揭示分子内、分子间的相互作用及判断分子各官能团反应的先后顺序研究中发挥了重要作用,大大增强了谱图的识别能力^[13-16]。本文采用傅立叶红外光谱法并借助于二阶导数谱以及二维相关红外光谱研究了诃子原药材、水提取物、无水乙醇提取物、石油醚提取物所含化学成分的整体变化规律。为诃子药材有效成分的跟踪、提取方式的判别及药材整体质量监控提供一定的理论依据。

1 材料

Spectrum GX 型 FTIR 红外光谱仪 (配有 DTGS 检测器,Perkin Elmer, Inc) 光谱分辨率为 4 cm^{-1} ,扫描范围 $400\sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$,扫描信号累加次数 16 次,OPD 速度为 $0.2\text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$,扫描时扣除 CO_2 和 H_2O 的干扰。

诃子由内蒙古医科大学蒙医药学院松林教授提供,并鉴定为使君子科植物诃子 *Terminalia chebula* 的干燥成熟果实。对照品鞣酸购于中国食品药品检定研究院 (批号 124884)。石油醚、无水乙醇等均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 样品制备 诃子药材经粉碎后过 40 目筛,分别称取适量诃子药材粉末 2 份,各置于 1 000 mL 圆底烧瓶中,分别加入 10 倍量去离子水、无水乙醇、石油醚分别浸润 30 min。之后加热回流提取 2 次,每次 1 h,趁热过滤,将滤液浓缩后真空冷冻干燥,得到诃子的水提取物、无水乙醇提取物及石油醚提取物。

分别取上述药材、水提取物、无水乙醇提取物、石油醚提取物及对照品鞣酸粉末少量,与 KBr 混

合,研磨均匀后压片,放入红外光谱仪中测定。

2.2 数据处理 红外图谱:对样品以 KBr 压片进行普通的 FTIR 测定,对所得图谱进行相应处理分析。二阶导数谱:二阶导数谱的获得采用 Perkin-Elmer 公司 Spectrum v3.02 操作软件,平滑点数为 13。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。

2.3 对照品鞣酸的红外光谱图 鞣酸的相对分子质量较大,结构复杂,分子结构中具有酯键,苷键,苯环,其中酯键为 α,β -不饱和酯键,所以其红外光谱的特征性较强。一般在 $1\,710\sim 1\,730\text{ cm}^{-1}$ 处有一个明显的 α,β -不饱和酯键的红外吸收峰。在 $1\,613, 1\,533, 1\,447\text{ cm}^{-1}$ 处有一系列的吸收峰,对应着苯环的骨架伸缩振动。对照品鞣酸的归属峰情况见表 1。红外光谱图见图 1。

表 1 对照品鞣酸的红外特征峰归属情况

Table 1 Assignments of FTIR spectrum of tannic acid

特征/ cm^{-1}	主要归属
3 334	O-H 伸缩振动
1 714	α,β -不饱和酯键
1 613, 1 533, 1 447	苯环骨架振动
1 337	羧酸盐-COO-
1 206, 1 087, 1 032	C-O 伸缩振动

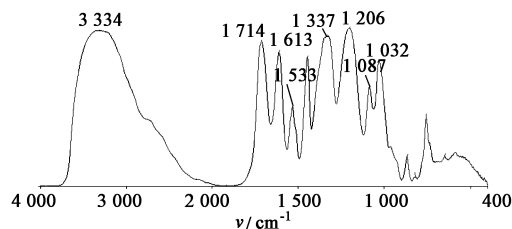


图 1 对照品鞣酸红外光谱

Fig. 1 FTIR spectra of tannic acid

2.4 诃子原药材、不同提取物及鞣酸红外谱图的对比与分析 在诃子原药材及不同提取物谱图中均观察到 $1\,714\text{ cm}^{-1}$ 处鞣酸的特征峰,与诃子药材比较,其水提物、无水水提取物中鞣酸的特征峰明显增强。比较水提物和无水乙醇提取物的一维红外光谱,水提物在 $1\,714\text{ cm}^{-1}$ 处有 α,β -不饱和酯键对应的吸收峰而无水乙醇提取物的 α,β -不饱和酯键对应的吸收峰在 $1\,710\text{ cm}^{-1}$ 处,鞣酸特征吸收峰变弱。除此之外,不同提取物谱图中的 $1\,613, 1\,447\text{ cm}^{-1}$ 附近苯环骨架振动特征吸收峰也比原药材的吸收峰增

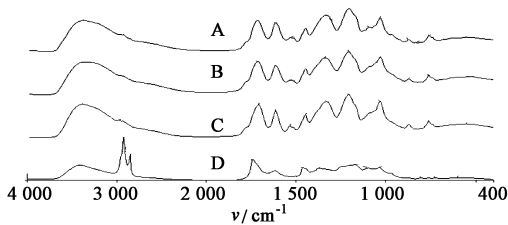
强。同时,在药材与水提取物谱图中各个宽且凸的谱带在诃子水提取物中变得细长而尖锐。在 $1\ 032\ \text{cm}^{-1}$ 附近的 C-O 振动吸收峰,在水提取物中的峰强高于诃子原药材和无水乙醇提取物,在石油醚提取物中几乎无此特征吸收。以上结果均可说明,水提取物中鞣酸的对应特征吸收强度高于其他提取物,这与文献报道的研究结果一致。在石油醚提取物的谱图中,可看到在 $2\ 925, 2\ 853\ \text{cm}^{-1}$ 2 个位置有明显的

吸收峰,推测诃子中可能含有脂肪类和糖类物质。石油醚提取物中,对照品鞣酸的特征吸收峰均不明显,均发生了明显的偏移,诃子石油醚提取物中鞣酸的对应特征峰强度明显降低,说明用石油醚作为溶剂,可能不利于诃子中有效成分鞣酸的溶出。诃子不同提取物及对照品峰值对应表见表 2。诃子药材及水提取物、无水乙醇提取物、石油醚提取物的红外光谱图见图 2。

表 2 诃子原药材、不同溶剂提取物及对照品鞣酸的特征峰归属情况

Table 2 Peak table of herb, extract of *Chebulae Fructus* and tannic

样品	峰吸收波长/ cm^{-1}							
诃子原药材	3 375	1 715	1 613	1 531	1 448	1 331	1 208	1 032
诃子水提取物	3 358	1 712	1 619	1 530	1 448	1 342	1 208	1 032
诃子无水乙醇提取物	3 380	1 707	1 615	1 535	1 449	1 332	1 208	1 034
诃子石油醚提取物	3 407	1 740	1 619	-	1 462	1 377	1 172	1 038
鞣酸对照品	3 334	1 714	1 613	1 533	1 447	1 337	1 206	1 032



A. 诃子原药材; B. 诃子水提取物; C. 诃子无水乙醇提取物; D. 诃子石油醚提取物(图 3 同)

图 2 诃子原药材及不同溶剂提取物的红外光谱

Fig. 2 FTIR spectra of herb, extract of *Chebulae Fructus*

2.5 诃子原药材及不同提取物二阶导光谱图比较

为进一步对诃子药材及其 3 种提取物中鞣酸的特征峰进行指认,笔者对图 2 中的 FTIR 谱图进行了二阶求导,见图 3。在分辨率较高的二阶导数谱中,鞣酸中的特征吸收峰在诃子药材及其提取物中明显增多,一些原始谱图中的不明显的特征峰显现出来。

二阶导数谱中除了有对应苯环骨架振动的 $1\ 651, 1\ 512, 1\ 469\ \text{cm}^{-1}$ 附近吸收峰,以及对应 α, β -不饱和酯键的 $1\ 716\ \text{cm}^{-1}$ 谱峰,还有 $1\ 684, 1\ 648\ \text{cm}^{-1}$ 等谱峰。后 2 个谱峰对应着分子中 α, β -不饱和酮中羰基和 C = C 键的伸缩振动。另外,还有 $928, 872\ \text{cm}^{-1}$ 等较强的谱峰。

在 $1\ 800 \sim 600\ \text{cm}^{-1}$, 诃子药材谱图中显现出的鞣酸的特征峰有 $1\ 782, 1\ 688, 1\ 619, 1\ 534, 1\ 510, 1\ 471, 1\ 315, 967\ \text{cm}^{-1}$ 等;而诃子水提取物与无水乙醇提取物几乎显现出全部的鞣酸的特征峰 $1\ 787, 1\ 651, 1\ 067, 782, 764\ \text{cm}^{-1}$ 等;在诃子石油醚提取物

的二阶导数谱图中, $1\ 709 \sim 1\ 471\ \text{cm}^{-1}$ 几乎无吸收峰,这与原始谱图中一致。同时,在二阶导数谱图中, $1\ 096, 1\ 032\ \text{cm}^{-1}$ 附近对应醇羟基变角振动的吸收峰也显现出来,这些均表明,在回流提取中,用水作溶剂比无水乙醇和石油醚更有利于诃子中有效成分鞣酸的溶出。同时,与原始谱图几乎相一致的结果,石油醚作为溶剂不利于有效成分鞣酸的溶出。

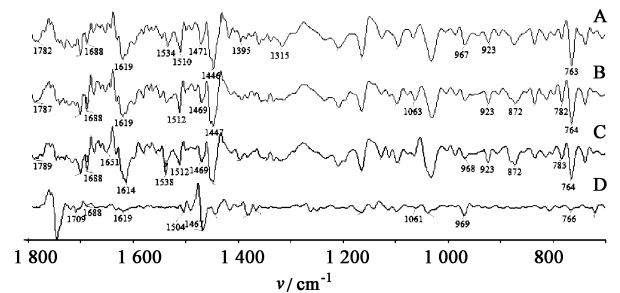


图 3 诃子原药材及不同溶剂提取物二阶导数红外光谱

Fig. 3 Secondary derivative FTIR spectra of herb, extracts and tannin

2.6 诃子原药材及不同提取物二维红外光谱图比较

二维红外光谱法是对一系列动态红外光谱进行数学分析,不仅提高了红外谱图的分辨率,而且提供了基团之间相关性的详细结构信息,有利于研究物质成分或基团之间的相互作用。诃子不同提取物的二维红外同步相关红外谱($1\ 400 \sim 1\ 800\ \text{cm}^{-1}$)见图 4。

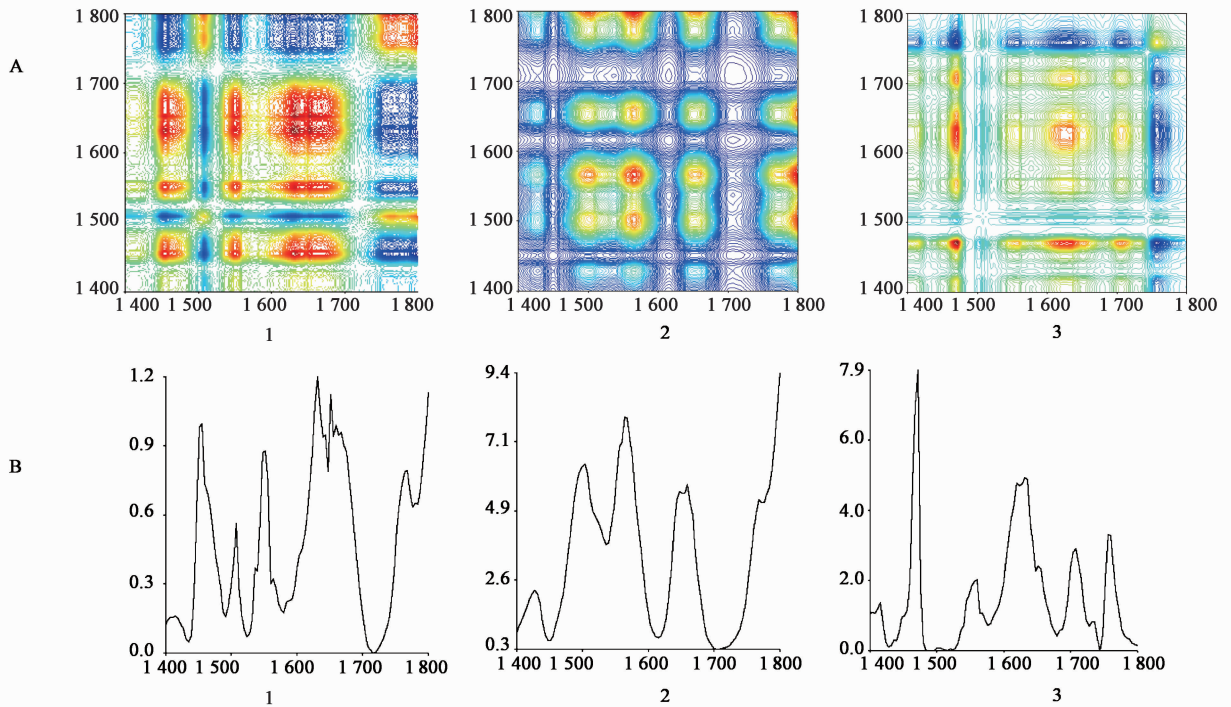
图 4 中,水提取物谱图 a 对角线上出现 6 个自动峰 $1\ 416, 1\ 454, 1\ 507, 1\ 550, 1\ 651, 1\ 765\ \text{cm}^{-1}$;其中 $1\ 651\ \text{cm}^{-1}$ 为 C = C 伸缩振动, $1\ 765\ \text{cm}^{-1}$ 对应

的是 α,β -不饱和酯键,其他峰位均为苯环骨架振动,说明诃子水提取物中含有鞣酸,且特征峰强度较强,此结论与一维和二阶导数谱图分析结果相一致。

图4中,无水乙醇提取物图b对角线上出现6自动峰 $1\,429,1\,502\text{ cm}^{-1}$,15对应特征吸收峰强度较高 $1\,564,1\,660,1\,648,1\,768\text{ cm}^{-1}$;其中 $1\,660\text{ cm}^{-1}$ 为C=C伸缩振动, $1\,768\text{ cm}^{-1}$ 对应的是 α,β -不饱和酯键,其他峰位均为苯环骨架振动,说明诃子

无水乙醇提取物中含有鞣酸,但从峰形来看,吸收低于诃子水提取物,此结论与一维和二阶导数谱图分析结果相一致。

图4中,石油醚提取物图c对角线上出现5自动峰 $1\,415,1\,502,1\,558,1\,652,1\,758\text{ cm}^{-1}$; $1\,500\sim 1\,600\text{ cm}^{-1}$ 几乎无明显吸收峰,说明用石油醚作为溶剂不利于鞣酸的溶出。这与之前的分析结果一致。



1. 诃子水提取物;2. 诃子无水乙醇提取物;3. 诃子石油醚提取物;A. 二维谱;B. 自动峰

图4 诃子不同溶剂提取物二维相关红外光谱

Fig.4 2D-FTIR spectra of different extracts

通过对诃子不同提取物的二维红外谱图的比较与分析可以看出,在诃子水提取物中鞣酸的特征吸收峰较明显,无水乙醇鞣酸的特征吸收弱于水提取物,与之前分析结果一致,石油醚中对照品鞣酸特征吸收最弱。结果表明,水回流提取最利于诃子中有效成分的溶出。

3 结论

根据以上分析结果可知,红外光谱法可为蒙古族药材的整体成分分析提供大量信息。这种将原药材图谱与不同溶剂提取物图谱相结合的对比较分析方法及不同提取工艺图谱的差异比较,可明显观测药材化学成分的整体成分变化规律,有助于药材的整体质量控制,并为蒙古族药材有效成分的追踪、同类化学成分的定向转移和不同提取工艺的鉴别提供一种快速、有效的宏观检测手段。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 173.
- [2] 清明, 梅长江, 刘知平. 浅谈诃子在蒙药制剂中的应用 [J]. 中国民族民间医药, 2012, 8(1): 45.
- [3] 刘芳, 秦红飞, 刘松青. 诃子化学成分与药理活性研究进展 [J]. 中国药房, 2012, 23(7): 670-672.
- [4] 包金焱. 蒙药之王——诃子 [J]. 医学文选, 1994, 45(1): 5.
- [5] 连红, 黄庆柏, 赵余庆. 中药诃子的化学成分与生物活性研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2008, 6(4): 46-48.
- [6] 刘沐华, 张学工, 周群, 等. 模式识别和红外光谱法相结合鉴别中药材产地 [J]. 光谱学与光谱分析, 2005, 25(6): 878-881.

- [7] 李春华. 中药提取物在中药现代化过程中的作用和展望 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2001, 3 (2): 34-37.
- [8] Zhou Q, Sun S Q, Zuo L. Research on processing medicinal herbs with multi-steps infrared macro-fingerprint method [J]. Vibrational Spectroscopy, 2004, 36 : 207.
- [9] 彭勇, 孙素琴, 赵中振, 等. 国产枸杞属植物的红外指纹图谱无损快速鉴别研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2004, 24(6): 679-681.
- [10] Yu L, Sun S Q, Fan K F, et al. Research on processing medicinal herbs with multi-steps infrared macro-fingerprint method [J]. Spectrochim Acta A : Mol Biomol Spectroscopy, 2005, 62(1/3): 22-29.
- [11] Liu H X, Sun S Q, Lv G H, et al. Discrimination of extracted lipophilic constituents of Angelica with multi-steps infrared macro-fingerprint method [J]. Vibrational Spectroscopy, 2006, 40(2): 202-208.
- [12] Liu H X, Sun S Q, Lv G H, et al. Study on Angelica and its different extracts by Fourier transform infrared spectroscopy and two-dimensional correlation IR spectroscopy [J]. Spectrochim Acta A : Mol Biomol Spectroscopy, 2006, 64 (2) : 321-326.
- [13] 孙素琴, 周群, 梁曦云, 等. 七种花旗参茶包的 FTIR 光谱法无损鉴别 [J]. 光谱学与光谱分析, 2002, 22 (4) : 600-602.
- [14] 周群, 孙素琴, 梁曦云. 枸杞产地的红外指纹图谱与聚类分析法研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2003, 23 (3) : 509-511.
- [15] 魏爱华, 王朝鲁, 孙素琴, 等. 不同产地草乌的红外光谱鉴别研究 [J]. 现代中西医结合杂志, 2013, 22 (19) : 2066-2069.
- [16] 武彦文, 肖小河, 孙素琴, 等. 黄连不同提取物的红外光谱研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29 (1) : 93-96.

[责任编辑 顾雪竹]

欢迎订阅《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管, 中华中医药学会、中国中医科学院中药研究所主办的学术刊物。本刊创建于 1995 年 10 月, 主要设置栏目包括复方配伍专论、方剂学研究、药剂与炮制、资源与鉴定、化学分析、药物代谢、药理、毒理、临床、数据挖掘、中医传承及相关综述等。目前为 CSCD 来源期刊、中文核心期刊、RCCSE 中国学术期刊排行榜核心期刊、美国《化学文摘》统计源期刊; 并被评为中国中医药优秀期刊及中国学术期刊优秀期刊。

本刊为半月刊, 16 开本, 234 页, 标准刊号 ISSN1005-9903; CN11-3495/R。每期定价 35 元, 全年 840 元。国内外公开发行, 国内由北京市报刊发行局办理总发行, 邮发代号 2-417; 国外由中国国际图书贸易集团有限公司办理发行, 代号 SM4655, 欢迎订阅。读者还可通过本刊编辑部办理邮购, 地址: 北京市东城区东直门内南小街 16 号, 收件人: 《中国实验方剂学杂志》编辑部, 邮编 100700, Tel: (010)84076882, E-mail: syfjx_2010@188.com, 网址: www.syfjxzz.com。