

忍冬不同种质花蕾红外光谱分析

张芳¹, 张永清^{1*}, 于晓², 康玉秋¹, 周凤琴¹, 孙素琴³

(1. 山东中医药大学, 济南 250355; 2. 山东医药技师学院, 山东 泰安 271016;
3. 清华大学化学系, 北京 100084)

[摘要] **目的:**分析鉴定山东产忍冬不同种质花蕾。**方法:**采用红外光谱三级鉴定法(红外光谱、二阶导数谱以及二维相关谱)对不同种质忍冬花蕾进行分析鉴定。**结果:**一维图谱上不同种质间相似度较大,均有 $3\ 371\ \text{cm}^{-1}$ 处的 O-H 伸缩振动峰, $2\ 924, 2\ 853\ \text{cm}^{-1}$ 处的 -CH₂ 处的伸缩振动峰, $1\ 735\ \text{cm}^{-1}$ 处的 C=O 伸缩振动峰, $1\ 637\ \text{cm}^{-1}$ 处的烯醚双键伸缩振动峰, $1\ 051\ \text{cm}^{-1}$ 处的 C-O 伸缩振动峰,说明其主体成分相似;二阶导数红外图谱上,不同种质间在 $1\ 800 \sim 1\ 300\ \text{cm}^{-1}$ 处差异明显;二维相关光谱中,不同种质间其峰强、峰形、峰位等均有较大差异。**结论:**利用傅立叶红外光谱三级鉴定技术可以鉴别不同种质来源的金银花药材。

[关键词] 种质;忍冬;红外光谱;二阶导数谱;二阶相关谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0083-04

Analysis of IR Spectra on the Buds of Different Germplasm Resources of *Lonicera Japonica*

ZHANG Fang¹, ZHANG Yong-qing^{1*}, YU Xiao², KANG Yu-qiu¹, ZHOU Feng-qin¹, SUN Su-qin³

(1. College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China;
2. Shandong Medicine Technician College, Taian 271016, China;
3. Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze and identify the buds of different germplasm resources of *Lonicera japonica* Thunb. cultivated in ShanDong. **Method:** Multi-steps infrared macro-fingerprint method (infrared spectroscopy, secondary derivative spectroscopy and two dimensional correlation infrared spectroscopy) was used to analyze the buds of different germplasm resources of *Lonicera japonica* Thunb. **Result:** In the one-dimensional spectra, there have some similarity among different germplasm, appearing the absorption peak of -OH in $3\ 371\ \text{cm}^{-1}$, the absorption peak of -CH₂ in $2\ 924\ \text{cm}^{-1}$ and $2\ 853\ \text{cm}^{-1}$, the absorption peak of C=O in $1\ 735\ \text{cm}^{-1}$, the absorption peak of =C-O in $1\ 637\ \text{cm}^{-1}$ and the absorption peak of C-O in $1\ 051\ \text{cm}^{-1}$. In the second derivative spectra, there have significant difference among different germplasm between $1\ 800\ \text{cm}^{-1}$ and $1\ 300\ \text{cm}^{-1}$. Otherwise, the 2D-IR correlation spectra also have significant differences in the absorption strength, frequency and form. **Conclusion:** The FTIR Analysis is effective for the identification of the buds of different germplasm resource.

[Key words] germplasm; *Lonicera japonica*; FTIR; secondary derivative spectroscopy; two dimensional correlation infrared spectroscopy

[收稿日期] 20111019(004)

[基金项目] 国家十二五科技支撑计划课题(2011BAI06B01); 山东省科技发展计划项目(2008GG2NS02022)

[第一作者] 张芳, 讲师, 博士, 从事中药资源及质量控制研究, E-mail: zfang_819@163.com

[通讯作者] * 张永清, 教授, 博士生导师, 从事中药资源及其质量控制研究, E-mail: zyzq622003@126.com

忍冬科植物忍冬为常用中药金银花的原植物,以花蕾药用,具有清热解毒、疏散风热之功效,用于治疗急性热病和外科感染性疾病。金银花年需求量达 2 000 万 kg 以上,主要依靠人工栽培满足需要,主产于山东、河南、河北等省。忍冬分布范围广,种植历史悠久,经过长期的自然选择与人工定向培育,形成了丰富的种质资源,各地药农依据植株形态特征差异将其划分为不同的种质^[1]。不同种质的忍冬植株,不仅形态特征差异明显,而且花蕾的产量与活性成分含量也有不同^[2-3]。

傅里叶变换红外光谱法 (FTIR) 是一种现代结构分析技术,操作迅速、简单、灵敏度高,已被广泛应用于药学研究的各个领域^[4],包括不同产地、不同品种的中药材鉴别,易混淆、真伪中药材的鉴别,中成药的定量分析等。如孙素琴等采用 FTIR 和二维相关红外技术对药用动植物的无损快速质量控制方面开展了系统研究,已成功用于不同产地葛根^[5]、金莲花^[6]等药材的鉴别。目前,应用红外光谱技术对忍冬不同种质花蕾的研究仅见少量报道^[7],且研究不够深入。本文以山东主产区忍冬 6 个不同种质花蕾为材料,应用 FTIR 对其进行三级鉴定,旨在为忍冬种质资源划分和种质优选提供依据。

1 材料

1.1 仪器 Spectrum GX 型傅立叶变换红外光谱仪 (Perkin Elemer), DTGS 检测器,光谱分辨率 4 cm^{-1} ,测量范围 4 000 ~ 400 cm^{-1} ,扫描信号累加 16 次。变温附件为 Love Control 公司的 Portable Controller 可编程控制单元 (50-886 型),控温范围 50 ~ 120 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.2 试药 山东中医药大学药用植物园忍冬种质资源圃中种植的 6 个不同种质,均为 5 年生植株,栽培管理措施一致,种质名称分别为小毛花、大毛花、大鸡爪、九丰一号、红鸡爪、红梗子。于 2010 年 5 月,在植株盛花期,采集大白期花蕾,于室内通风处阴干,粉碎,过 200 目筛,置干燥器中备用。原植物经山东中医药大学周凤琴教授鉴定,确认为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb.。

2 方法

将不同种质花蕾粉末以经典 KBr 压片法压片分析,获得室温下红外光谱图;采用 Perkin Elemer 公司 Spectrum v3.02 软件处理,获得二阶导数图。为获得各样本不同波段下的二维相关红外光谱图,将样品粉末以经典 KBr 压片法压片后,温度程控从

50 ~ 120 $^{\circ}\text{C}$,每升温 10 $^{\circ}\text{C}$,采集 1 次红外光谱,连续采集,获取系列光谱-变温动态谱,应用清华大学自编的二维相关分析软件对所得的动态光谱图进行处理,即获得各样本不同波段的二维相关红外光谱图。

3 结果与讨论

3.1 不同种质花蕾红外光谱 如图 1 所示。

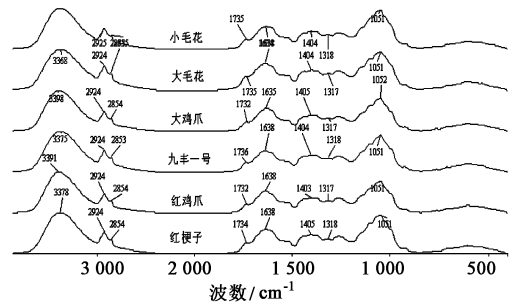


图 1 忍冬不同种质花蕾红外光谱

图 1 结果显示,不同种质花蕾红外图谱相似,均有强而宽的 $\sim 3\,371\text{ cm}^{-1}$ 处的 O-H 伸缩振动峰, $\sim 2\,924$, $\sim 2\,853\text{ cm}^{-1}$ 处的 $-\text{CH}_2$ 处的伸缩振动峰, $\sim 1\,735\text{ cm}^{-1}$ 处的 C=O 伸缩振动峰, $\sim 1\,637\text{ cm}^{-1}$ 处的烯醚双键伸缩振动峰 (环烯醚萜类化合物的共同特征峰), $\sim 1\,318\text{ cm}^{-1}$ 处为草酸钙的特征峰 (与金银花显微特征鉴定结果相符), $\sim 1\,051\text{ cm}^{-1}$ 处的 C-O 伸缩振动峰,不同种质间某些峰峰位、峰形和峰强略有差异。

3.2 不同种质花蕾二阶导数红外光谱 如图 2 所示。

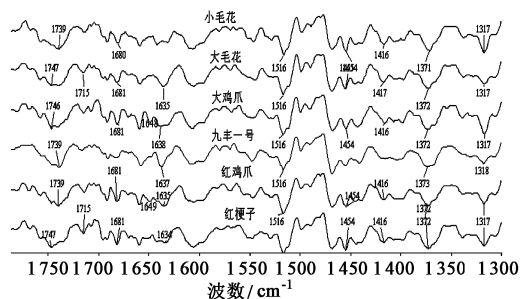


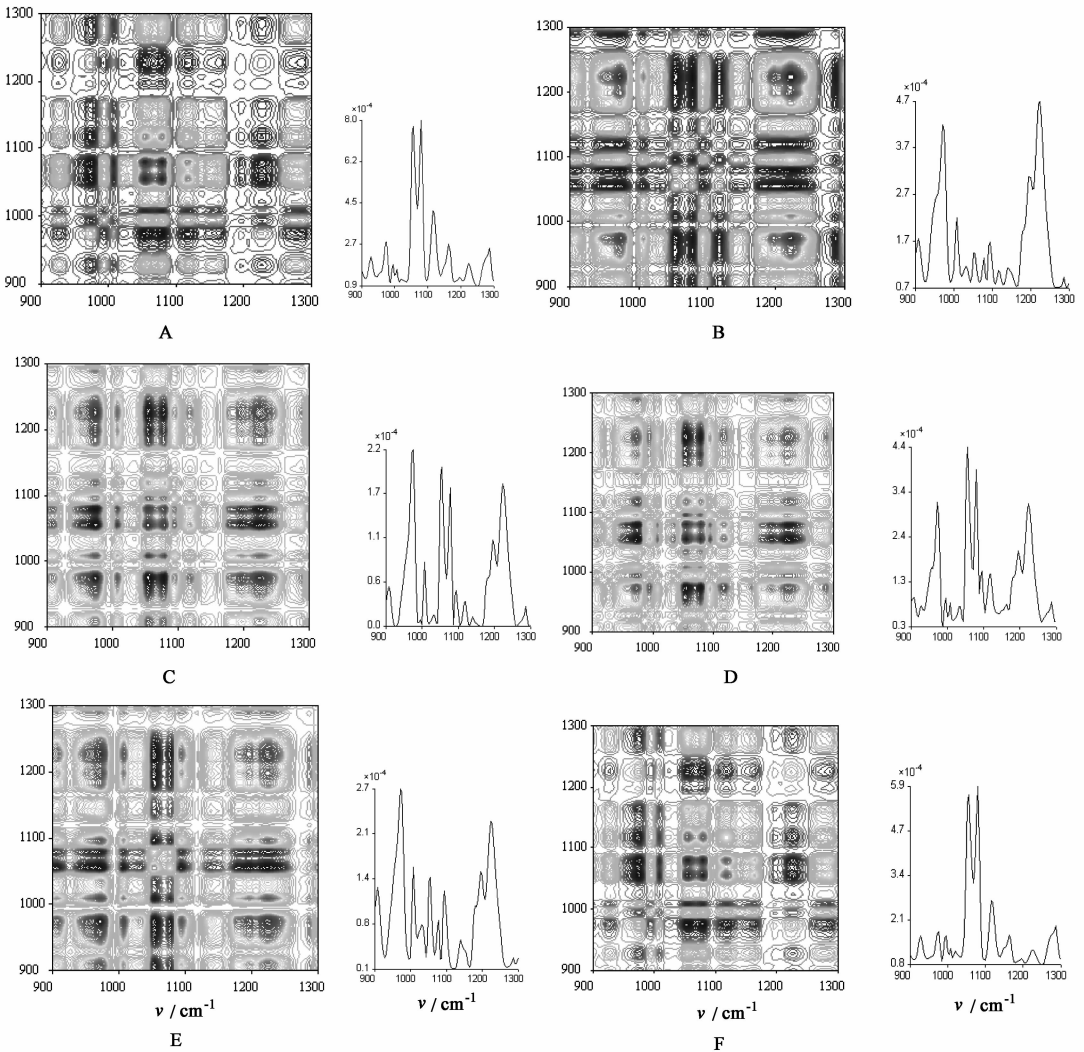
图 2 忍冬不同种质花蕾的二阶导数红外谱

图 2 结果显示 $\sim 1\,739\text{ cm}^{-1}$ 处,小毛花、九丰一号、红鸡爪有较强吸收,且小毛花吸收峰较后两者略宽;大毛花、大鸡爪、红梗子在 $\sim 1\,747\text{ cm}^{-1}$ 处有明显吸收; $\sim 1\,681\text{ cm}^{-1}$ 处,九丰一号无明显吸收,其他种质均有强而尖锐的吸收峰; $\sim 1\,648\text{ cm}^{-1}$ 处,大鸡爪、红鸡爪吸收明显,其他种质无明显吸收峰; $1\,635\text{ cm}^{-1}$ 处,小毛花无明显吸收,其他种质均有吸收,且大鸡爪吸收峰较宽; $\sim 1\,416\text{ cm}^{-1}$ 处,九丰一号无明显吸收,其他种质有较强而宽的吸收峰; $\sim 1\,317\text{ cm}^{-1}$ 处,小毛花、大鸡爪有强而尖锐的吸收

峰,大毛花、九丰一号吸收最弱。

3.3 不同种质同步二维相关红外光谱 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分辨率,而且提供了基团之间相

关性的详细结构信息^[8]。金银花活性成分包括有机酸、黄酮、皂苷及环烯醚萜类成分,含有苯环、C=O等基团,本实验选取 $1\ 300\sim 900\text{ cm}^{-1}$ 的波数来研究其对热微扰效应的响应性。结果如图3。



I. 小毛花; II. 大毛花; III. 大鸡爪; IV. 九丰一号; V. 红鸡爪; VI. 红梗子

图3 忍冬不同种质二维红外光谱分析

图3结果显示,6个不同种质忍冬花蕾的二维红外光谱中,小毛花、红梗子均在 $1\ 055, 1\ 079\text{ cm}^{-1}$ 处有两个明显自动峰,在 $1\ 117\text{ cm}^{-1}$ 处有一中强自动峰,说明这两个种质在这3处的吸收峰对热微扰影响较为敏感;大毛花与红鸡爪均在 $973(971)\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\ 224(1\ 223)\text{ cm}^{-1}$ 处有强自动峰,但二者的自动峰吸收强度差别较大,主要体现在大毛花中 $1\ 224\text{ cm}^{-1}$ 处的自动峰最强,而红鸡爪的最强自动峰位于 971 cm^{-1} 处;大鸡爪与九丰一号的二维谱图相似,均在 $975(971), 1\ 078(1\ 079), 1\ 096(1\ 095), 1\ 223(1\ 222)\text{ cm}^{-1}$ 处有4个强自动峰,但大鸡爪中 975 cm^{-1} 为最强自动峰,九丰一号中 $1\ 079\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\ 095$

cm^{-1} 处的自动峰最强。以上结果说明,小毛花与红梗子、大毛花与红鸡爪、大鸡爪与九丰一号的图谱中自动峰峰位较为相似,说明两两之间对于热微扰敏感的成分可能一致,但是二者之间自动峰强度又各不相同,说明各个种质在化学成分的种类和相对含量上有一定的差异。

4 结论

本研究结果显示,6个忍冬不同种质花蕾红外指纹图谱主体成分相似,均有 $3\ 371\text{ cm}^{-1}$ 处的O-H伸缩振动峰; $2\ 924, 2\ 853\text{ cm}^{-1}$ 处的 $-\text{CH}_2$ 伸缩振动峰; $1\ 637\text{ cm}^{-1}$ 处的烯醚双键伸缩振动峰; $1\ 051\text{ cm}^{-1}$ 处的C-O伸缩振动峰。二阶导数光谱上,各种质花蕾

HPLC 同时测定黄芪白术药对提取物毛蕊 异黄酮苷、白术内酯 I、白术内酯 III 含量

张英丰¹, 朱黎霞², 梁东辉^{2*}, 吴阳¹

(1. 广州中医药大学, 广州 510006; 2. 南方医科大学, 广州 510515)

[摘要] 目的: 建立黄芪白术药对提取物中毛蕊异黄酮苷、白术内酯 I、白术内酯 III 3 种成分 HPLC 同步测定新方法。方法: 选用 Kromasil 100-5C₁₈ (4.6 mm × 250 mm) 色谱柱; 以乙腈-水为流动相梯度洗脱, 流速 1 mL·min⁻¹; 检测波长 220 nm。结果: 毛蕊异黄酮苷、白术内酯 I、白术内酯 III 分别在进样量范围内与峰面积线性关系良好, $r > 0.999 5$, 仪器精密度和稳定性 RSD 均小于 2%, 3 种成分的回收率在 97% ~ 103% ($n = 3$)。测定了 6 批白术黄芪药对中的毛蕊异黄酮苷、白术内酯 I、白术内酯 III 含量。结论: 该方法快速、准确、重复性好, 可同时定量白术黄芪药对的 3 种成分。

[关键词] 高效液相色谱法; 毛蕊异黄酮苷; 白术内酯 I; 白术内酯 III; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0086-04

Simultaneous Determination of Calycosin Glycoside、 Atractylenolide-1, Atractylenolide III in Crude Extract of Radix Astragali- Atractylodis Macrocephalae Herb Couple by HPLC

ZHANG Ying-feng¹, ZHU Li-xia², LIANG Dong-hui^{2*}, WU Yang¹

[收稿日期] 20110921(016)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81072935, 30701097)

[第一作者] 张英丰, 副教授, 从事生物药剂学与药物动力学研究, E-mail: zyfeng-2006@163.com

[通讯作者] * 梁东辉, 教授, 主任医师, 从事心脑血管疾病的临床及科研, E-mail: dhliang2005@21cn.com

差异显著, 小毛花和大鸡爪在 1 317 cm⁻¹ 有尖锐的强吸收峰, 大鸡爪在 1 638 cm⁻¹ 处有吸收, 小毛花没有; 大毛花和九丰一号在 1 318 cm⁻¹ 处的吸收最弱, 可区别于其余种质; 大鸡爪、红鸡爪在 1 648 cm⁻¹ 处有明显吸收峰, 其他种质在此处无明显吸收; 红梗子在 1 747 cm⁻¹ 处有明显吸收峰。值得指出的是, 九丰一号与其他种质差异较大, 表现在 1 681, 1 416 cm⁻¹ 处其他种质均有吸收, 而九丰一号没有。二维红外光谱上, 忍冬 6 个不同种质花蕾在 1 300 ~ 900 cm⁻¹ 差异较大, 表现在自动峰的数目及自动峰的强弱上各有不同。由此可见, 利用傅立叶红外光谱三级鉴定技术可以鉴别不同种质来源的金银花药材。

[参考文献]

- [1] 张永清. 山东金银花生产情况调查[J]. 山东中医杂志, 2000, 19(10): 621.
- [2] 冉蓉, 孔庆悦, 周凤琴, 等. 山东 10 个不同种质金银

花木犀草苷的含量测定[J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(4): 753.

- [3] 周凤琴, 冉蓉, 李佳, 等. 山东 10 个不同种质金银花中绿原酸含量及品质评价[J]. 山东中医杂志, 2007, 26(7): 478.
- [4] 李燕, 吴然, 于伯华, 等. 红外光谱在中药定性定量分析中的应用[J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(10): 1846.
- [5] 韩明霞, 周群, 李全宏, 等. 不同产地葛根红外光谱的三级鉴定[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(7): 1851.
- [6] 聂波, 张贵君, 孙素琴, 等. 不同金莲花药材的 IR 鉴别研究[J]. 中药材, 2006, 29(4): 323.
- [7] 徐荣, 孙素琴, 刘友刚, 等. 四倍体金银花新品种的红外光谱分析[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(12): 5477.
- [8] 王鹏, 郭庆梅, 赵启韬, 等. 白花丹参不同部位的红外光谱三级鉴定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(9): 113.

[责任编辑 蔡仲德]