

白花丹参不同部位的红外光谱三级鉴定

王鹏¹, 郭庆梅^{1*}, 赵启韬¹, 周凤琴¹, 孙素琴²

(1. 山东中医药大学, 济南 250355;

2. 清华大学化学系 北京 100084)

[摘要] 目的:对白花丹参不同部位进行红外光谱分析。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),对白花丹参根、茎、叶、花的粉末、脂溶性和水溶性提取物进行分析鉴定。结果:叶在有效成分特征吸收区 1 800 ~ 1 200 cm^{-1} 波段峰强高于根、茎、花。一维图谱中,除花外,脂溶性提取物根、茎、叶均有邻醌 C = O 特征吸收 1 692, 1 670 cm^{-1} 峰出现;水溶性提取物叶、花的丹酚酸 B 芳香化合物骨架振动 1 610 cm^{-1} 峰较根、茎明显。二阶导数谱中,脂溶性提取物和水溶性提取物均出现标准品谱图的特征峰,印证一维谱图结论;二维相关光谱中,白花丹参不同部位自动峰位置及强度均不相同。结论:白花丹参不同部位化学成分种类及含量有所差异,茎、叶、花是值得进一步开发利用的资源。

[关键词] 红外光谱;二阶导数谱;二维相关谱;白花丹参

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)09-0113-05

Study on Identification of Different Parts of *Salvia miltiorrhiza* by Multi-steps Infrared Macro-fingerprint Method

WANG Peng¹, GUO Qing-mei^{1*}, ZHAO Qi-tao¹, ZHOU Feng-qin¹, SUN Su-qin²

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China;

2. Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

[Abstract] **Objective:** The different parts of *Salvia miltiorrhiza* Bge f. *alba* was analysed by IR spectroscopy. **Method:** Multi-steps infrared macro-fingerprint method (infrared spectroscopy, secondary derivative spectroscopy and two dimensional correlation infrared spectroscopy) was used to analyse the powder, ethanol-soluble and water-soluble extracts of the root, stem, leaf, flower of *S. miltiorrhiza*. **Result:** In effective component characteristics absorption area (1 800-1 200 cm^{-1} band) the peak intensity of the leaf was higher than root, stem and flower. In the one-dimensional spectra, except flower, the ethanol soluble extract of root, stem and leaf all appeared the adjacent quinone C = O characteristic peak absorption 1 692 cm^{-1} or 1 670 cm^{-1} . In water-soluble extract, the skeleton vibration peak 1 610 cm^{-1} of aromatic compounds (like salvianolic acids B) in leaf and flower was more obvious than root and stem. In the secondary derivative spectra, ethanol-soluble extract and water-soluble extracts all appeared the characteristic peak of standard substance, which confirm the conclusions of one-dimensional spectrograms. In the two-dimensional correlation spectra, the automatic peak position and intensity of different parts of *S. miltiorrhiza* were different. **Conclusion:** The kinds and content of chemical composition of different part of *S. miltiorrhiza* were different, and the stem, the leaf and the flower were resources to be further exploited.

[收稿日期] 20101226(002)

[基金项目] 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金项目(2006BS03047)

[第一作者] 王鹏, 硕士研究生, 研究方向: 中药质量控制与资源, Tel: 13854192541, E-mail: wangpeng0230@163.com

[通讯作者] * 郭庆梅, 博士, 教授、硕士生导师, 从事中药质量控制与资源研究, Tel: 0531-89628080, E-mail: qmguo@sina.com

[Key words] infrared spectroscopy; secondary derivative spectroscopy; two dimensional correlation infrared spectroscopy; *Salvia miltiorrhiza*

白花丹参 *Salvia miltiorrhiza* 为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的白花变型。白花丹参的脂溶性成分大多为共轭醌、酮类化合物, 主要包含丹参酮 I、丹参酮 II_A、丹参酮 II_B、隐丹参酮等; 水溶性成分主要为酚酸类物质, 包含丹参素、丹参酚酸 A、丹参酚酸 B 等^[1]。现代药理证明, 白花丹参对心血管作用显著, 特别是对血栓性脉管炎有特别疗效。但由于分布较少, 已被列为珍稀濒危药用植物^[2]。为更好地利用白花丹参这一资源, 齐永秀等^[3]对白花丹参不同部位的微量元素进行了分析比较, 认为从微量元素角度进行分析, 茎叶具有一定的应用价值。杭亮等^[4]采用紫外分光光度法、比色法和高效液相色谱法分析了白花丹参和丹参中根、茎、叶、花各部位有效成分分布特征。但是对其不同部位化学成分的红外光谱研究尚未见相关报道。

傅里叶红外光谱法具有特征指纹性、快速方便、不破坏原材料等优点, 已经广泛应用于中药材质量的快速鉴定^[5-8]。本文利用红外光谱、二阶导数谱、二维相关光谱, 对白花丹参不同部位的粉末、脂溶性提取物和水溶性提取物进行了分析测定, 从而为白花丹参的合理开发利用提供依据。

1 材料

Spectrum One FT-IR 红外光谱仪(美国 Perkin Elmer 公司), DTGS 检测器, 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, OPD 速度 $0.2\text{ cm}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ 。50-886 型变温附件(Love Control 公司), 控温范围 $50\sim 120\text{ }^\circ\text{C}$, 升温速率 $2\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

样品均采自山东中医药大学苗圃, 原植物经山东中医药大学周凤琴教授鉴定为唇形科植物白花丹参 *S. miltiorrhiza* Bge. f. *alba*, 分别取其根、茎、叶、花, 干燥。溴化钾为 AR 级。

2 样品制备

药材粉末: 样品经粉碎过 200 目筛。提取物: 取白花丹参不同部位粉末(过 50 目筛) 0.15 g, 精密称定。置具塞锥形瓶中, 精密吸取甲醇 25 mL, 置电子天平称定质量, 水浴加热回流 1 h, 摇匀, 滤过, 蒸干, 即得脂溶性提取物; 取白花丹参不同部位粉末(过 50 目筛) 0.1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 75% 甲醇 25 mL, 称定质量, 水浴加热回流 1 h, 取

出, 摇匀, 滤过, 蒸干, 即得水溶性提取物。

应用溴化钾压片法进行压片测定, 扫描时实时扣除 H_2O 和 CO_2 的干扰, 得各样品的一维红外光谱图。采用 PerkinElmer 公司的 Spectrum for Windows 软件中的求导数功能, 13 点平滑, 得各样品的红外二阶导数光谱图。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, 即可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 白花丹参不同部位的一维红外谱图分析 白花丹参根、茎、叶、花不同部位的一维谱图(图 1) 比较相似, 谱峰的位置和峰高都比较接近。利用 Spectrum v5.02 软件的 compare 功能, 以根为对照, 计算茎、叶、花的相似系数为 0.816 5, 0.860 2, 0.847 2。根据文献对主要红外吸收峰进行指认和归属: $3\ 367, 3\ 350\text{ cm}^{-1}$ 为多糖类、苷类、糖醇类等化合物中羟基 O-H 键的伸缩振动; $2\ 927\text{ cm}^{-1}$ 附近为亚甲基的 C-H 伸缩振动; $1\ 736\text{ cm}^{-1}$ 附近是羧酸类或酯类物质中 C=O 的伸缩振动峰; $1\ 650\sim 1\ 607\text{ cm}^{-1}$ 主要为水的 O-H 弯曲振动, 蛋白质的酰胺 N 带及植物中有机酸盐的 COO- 不对称伸缩振动, 以及芳香烃的苯环伸缩振动, 与白花丹参中丹参酮类、酚酸类等物质的结构吻合; $1\ 256\sim 1\ 264\text{ cm}^{-1}$ 处为糖类、糖苷、脂类中 C=C 骨架、C=O-C 及 P=O 的伸缩振动峰, 同时包含蛋白质酰胺 O 带特征峰; $1\ 054\text{ cm}^{-1}$ 附近为多个峰重叠而成的宽强峰, 归属为多糖、苷类物质中 C=OH 弯曲振动; $817\sim 618\text{ cm}^{-1}$ 分别为苯环上的 C-H 面外弯曲振动。根、茎、叶、花不同部位的一维谱图中, 在 $1\ 800\sim 1\ 200\text{ cm}^{-1}$ 附近叶的峰高明显高于其他部位, 推测叶中的丹参酮类、酚酸类等物质含量较高, 在 $1\ 054\text{ cm}^{-1}$ 附近茎的峰高于其他部位, 推测茎中所含糖类成分较多。

3.2 白花丹参不同部位提取物一维谱图分析 由于药材中存在难溶和不溶性物质, 对一些较微量的活性化学成分有掩盖作用, 故分别对其脂溶性提取物和水溶性提取物做了进一步的红外光谱分析。以《中国药典》2005 年版规定的指标性成分丹参酮 II_A 和丹参酚酸 B 的红外谱图分别与白花丹参不同部位脂溶性提取物、水溶性提取物的红外谱图进行比较分

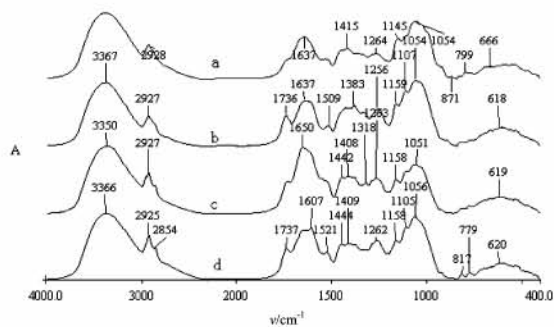


图1 白花丹参不同部位粉末一维红外谱

a.根;b.茎;c.叶;d.花

析(图2)。从脂溶性提取物一维谱图($1750 \sim 1350 \text{ cm}^{-1}$)可以看出,提取之后,除花外,根、茎、叶均有与丹参酮 II_A 相同的邻醌 C=O 特征吸收 $1692, 1670 \text{ cm}^{-1}$ 峰出现,只有根能显示更强的 1670 cm^{-1} 峰(1667 cm^{-1} 峰),说明根中丹参酮 II_A 含量最高,其次为茎、叶,而花中含量最低。由于丹参酮 II_A 含量较低,一维谱图峰仍然叠加严重。从水溶性提取物谱图($1800 \sim 1350 \text{ cm}^{-1}$)可以看出,虽然有所偏移,但各部位丹酚酸 B 的芳香化合物骨架振动 1610 cm^{-1} 峰都比较明显,叶、花该峰形较根、茎更尖锐,且更能对应丹酚酸 B 的 1520 cm^{-1} 峰,提示叶、花中丹酚酸 B 含量较根、茎中为高。

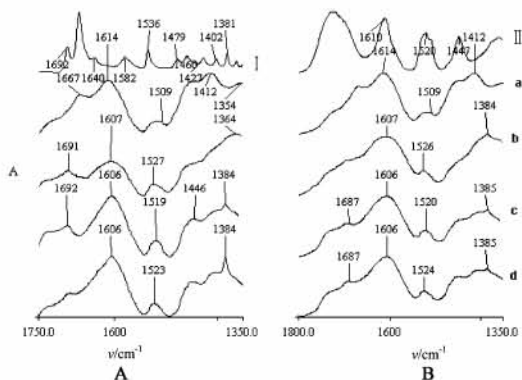


图2 白花丹参不同部位提取物一维谱

A. 脂溶性提取物(I.丹参酮 II_A 对照品);B. 水溶性提取物

(II.丹酚酸 B 对照品)a.根;b.茎;c.叶;d.花

3.3 白花丹参不同部位提取物二阶导数图分析

3.3.1 白花丹参不同部位脂溶性提取物二阶导数图分析 二阶导数谱可以呈现出许多被掩盖谱峰的斜率变化特征。从图3可以看到,在高分辨的二阶导数谱中白花丹参不同部位的谱峰特征均明显增多,显示差异也有所增大,原谱中差异不显著的各峰位处,如 $1671, 1600 \sim 1450, 1384 \text{ cm}^{-1}$ 附近区域呈现出多样的峰形和不同的强度,许多被掩盖的吸收

峰显现出来。茎、叶与根的二阶导数谱比较相似,代表丹参酮 II_A 邻醌 C=O 振动的 1670 cm^{-1} 峰、醌类化合物芳香骨架振动的 $1582, 1536, 1460 \text{ cm}^{-1}$ 附近的峰、C-O-C 不对称伸缩振动的 1289 cm^{-1} 峰和 C-O 伸缩振动的 1160 cm^{-1} 峰都较明显,并且以茎、叶的峰最多且强度较强,这是由于根中脂溶性成分有多种,有些峰可能相互遮盖,显示出来峰形较圆钝;茎叶中的脂溶性成分组成相对比较简单,显示峰较多且峰形较尖锐;花的峰形较平缓,未见丹参酮 II_A 的特征吸收峰,推测其丹参酮类成分含量较少。在 $1600 \sim 1450 \text{ cm}^{-1}$ 出现的苯环骨架的伸缩振动峰,可以看出4个部位差异很大,以叶的峰最多且强度较强,花的较弱。此外,茎和叶 $1402, 1380, 1362, 1160 \text{ cm}^{-1}$ 处的峰均显露出来,与丹参酮 II_A 相比,这些峰发生了少许位移和峰强的变化,说明此范围内他们与根的成分大多数是一致的,只是含量有所差异。

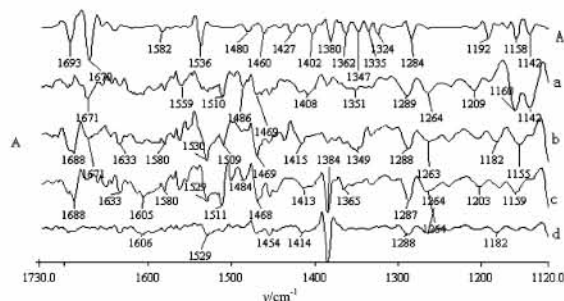


图3 白花丹参不同部位脂溶性提取物二阶导数

A. 丹参酮 II_A; a.根;b.茎;c.叶;d.花

3.3.2 白花丹参不同部位水溶性提取物二阶导数图分析

从图4可以看出:根、茎、叶和花4个部位的二阶导数图比较相似,与丹酚酸 B 的图谱相比发生了少许位移和峰强的变化;都出现了显示丹酚酸 B 结构中的羧酸 C=O 振动的 1746 cm^{-1} 峰和芳香族骨架振动的 $1607, 1510, 1454 \text{ cm}^{-1}$ 峰。4个部位的二阶导数图差异主要表现在:根中的水溶性丹酚酸类成分最多,在此波段峰形波动较小,出峰较少;茎出峰较多,在 $1768, 1351 \text{ cm}^{-1}$ 均出现了1个比较强的吸收峰;叶和花的此段峰形较丰富、峰强较强,由此可以推测叶、花中丹酚酸类成分组成相对简单且含量较根、茎为高。

3.4 白花丹参不同部位提取物二维相关谱图分析

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

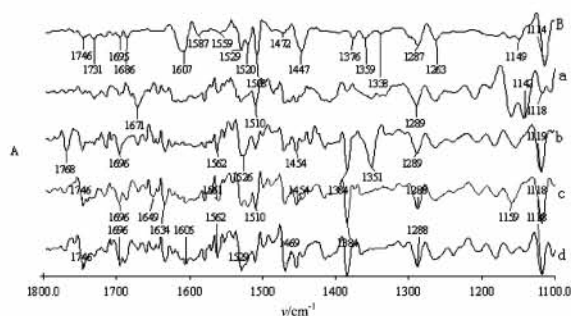


图 4 白花丹参不同部位水溶性提取物二阶导数
B. 丹酚酸 B; a. 根; b. 茎; c. 叶; d. 花

基团之间相关性的详细结构信息,可用于鉴别和研究物质成分或基团之间的相互作用^[9]。白花丹参有效成分为脂溶性的醌类成分和水溶性的酚酸类成分,主要含有 C=O、苯环等基团,所以,实验选取 1 350 ~ 1 800 cm^{-1} 波段的红外光谱来分析有效成分对热微扰的响应性。

图 5 可以看出,4 个部位醇提物的交叉峰均为

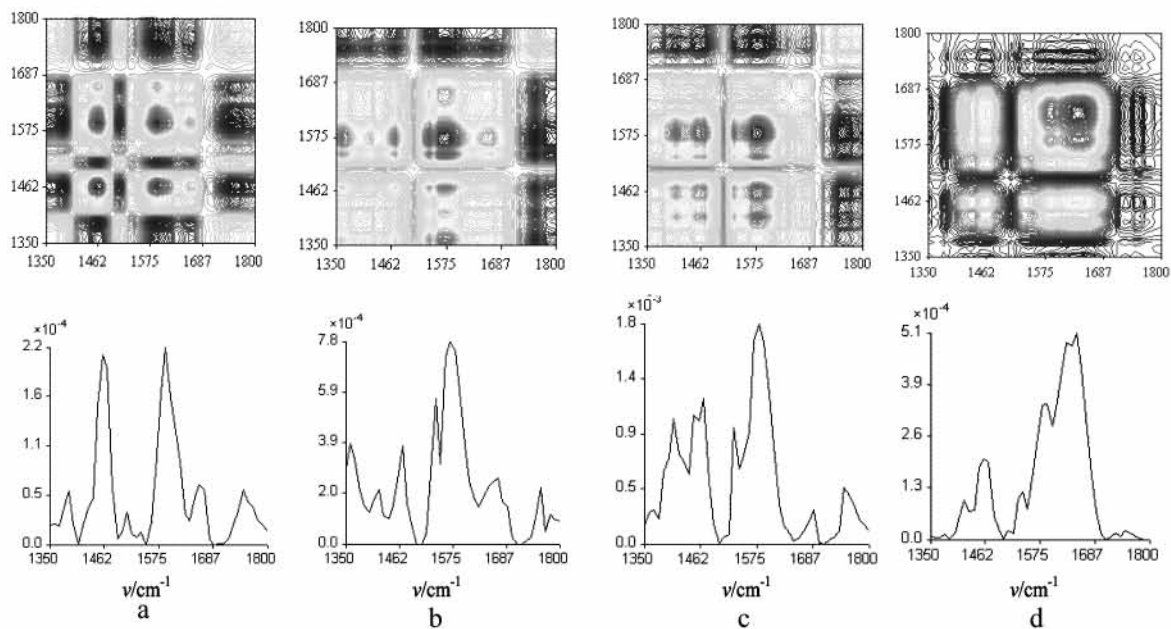


图 5 白花丹参根不同部位脂溶性提取物二维谱
a. 根; b. 茎; c. 叶; d. 花

图 6 白花丹参水溶性提取物二维相关谱图中,根的明显自动峰出现在 1 467, 1 592 cm^{-1} ,茎出现在 1 472, 1 511, 1 541 cm^{-1} ,叶出现在 1 407, 1 466, 1 558 cm^{-1} ,花在 1 419, 1 466, 1 567 cm^{-1} ,叶、花的二维图谱均出现 3 × 3 的矩阵峰。4 个部位的最强吸收峰均在 1 575 cm^{-1} 附近,说明其主要热敏性成分类似,根与茎、叶、花中的芳香类化合物组成和含

量存在一定的差异。正峰,明显自动峰根中有 3 个分别在 1 459, 1 588, 1 658 cm^{-1} 吸收峰处形成 3 (3 矩阵峰、茎中 2 个在 1 568, 1 670 cm^{-1} 处、叶中 5 个在 1 405, 1 448, 1 470, 1 528, 1 580 cm^{-1} 处、花中 2 个在 1 586, 1 630, 1 649 cm^{-1} 处,明显自动峰数目越多,说明热敏感成分越多。根、茎及叶的最高自动峰均位于 1 575 cm^{-1} 附近;其中茎、叶醇提物的明显自动峰的峰形和强度比较接近,均位于 1 575 cm^{-1} 处;而根的最高自动峰红移至 1 580 cm^{-1} 处,并且峰形较茎、叶更为尖锐;除此之外,根在 1 459 cm^{-1} 处还有 1 个很强的自动峰,强度与最高自动峰接近,而茎、叶中最强自动峰之外的其他自动峰则相对较弱;这些差异说明根与茎、叶各部位醇提物中的丹参酮类化合物的组成和含量存在一定的差异。花的最高自动峰位于 1 649 cm^{-1} 处,1 649 cm^{-1} 处接近邻醌 C=O 伸缩振动,表明花含 C=O 的化学成分随温度变化大,化学成分种类与其他部位差别也比较大。

量存在一定的差异。

4 结论

研究表明,虽然白花丹参不同部位相似系数较高,峰高和峰位比较接近,但所含化学成分种类及含量仍有差异。茎在 1 054 cm^{-1} 附近峰强较高,显示所含糖类成分较多;其丹参酮 II_A 含量较根低,且脂溶性和水溶性成分组成较根简单,含量也低于根。

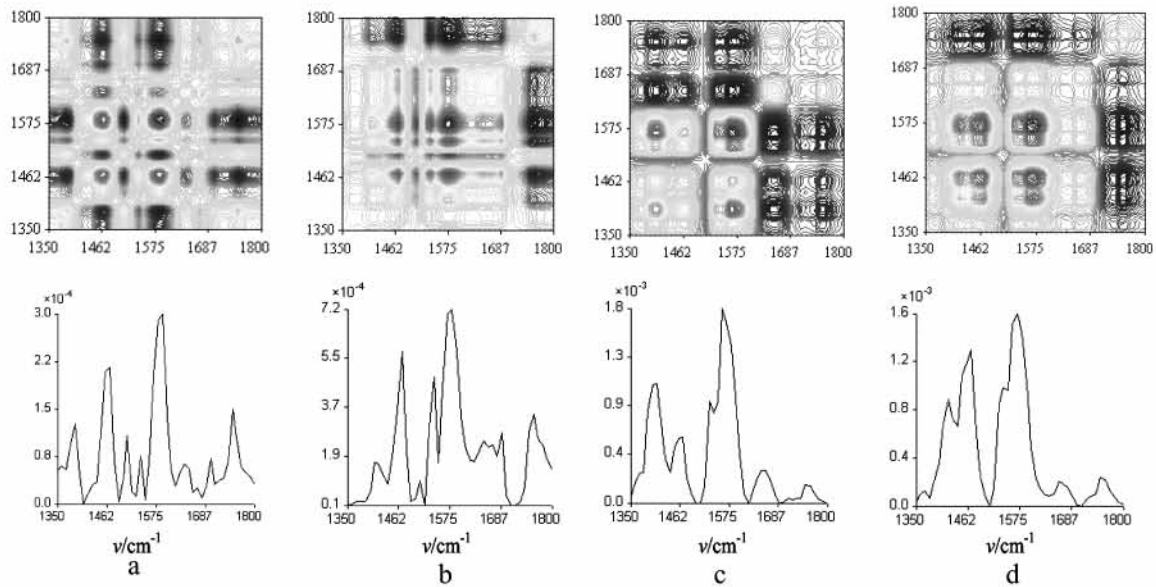


图6 白花丹参不同部位水溶性提取物二维谱
a.根;b.茎;c.叶;d.花

叶在 $1\ 800 \sim 1\ 200\ \text{cm}^{-1}$ 峰强较大,显示叶较其他部位有效成分含量高;其丹酚酸 B 含量高于根、茎,水溶性成分组成相对简单但含量较高。花中丹参酮 II_A 等脂溶性成分含量最低,但丹酚酸 B 等水溶性成分含量较根、茎为高,化学成分组成与其他部位差别较大。该结论与前人报道结论^[4]基本一致,为白花丹参的资源开发及合理利用提供理论依据。

[参考文献]

- [1] 山东省卫生厅.山东省中药材标准[S].济南:山东友谊出版社,2004:66.
- [2] 周凤琴,李建秀,张照荣.山东珍惜濒危野生药用植物的调查研究[J].中草药,1998,29(1):46.
- [3] 齐永秀,高允生,夏作理,等.白花丹参不同部位微量元素分析比较[J].微量元素与健康研究,2004,29(1):20.
- [4] 杭亮,王俊儒,杨东风,等.紫花丹参和白花丹参不同部位有效成分的分布特征[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2008,36(12):217.
- [5] 王凤岭,周建科,吴婧,等.栽培与野生丹参的红外光谱三级鉴定研究[J].现代仪器,2006,5:18.
- [6] 金哲雄,徐胜艳,孙素琴,等.刺五加不同部位的红外光谱分析与鉴定[J].光谱学与光谱分析,2008,28(12):2859.
- [7] 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.
- [8] 徐荣,孙素琴,刘友刚,等.红外光谱法对肉苁蓉径向不同部位的分析与评价[J].分析化学研究报告,2009,37(2):221.
- [9] 许长华,周群,孙素琴.二维相关红外光谱法与阿胶的真伪鉴别[J].分析化学研究简报,2005,33(2):221.

[责任编辑 邹晓翠]