

黄芩及其提取物红外光谱与二维相关光谱的鉴别

张春晖¹, 张贵君^{1*}, 孙素琴², 图雅²

1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102

2. 清华大学化学系, 北京 100084

摘要 采用二维红外相关技术, 对黄芩原药材、饮片及其提取物进行分析研究。在一维红外光谱中, 各样本间的谱图十分相似, 导数光谱分析发现, 经过炮制之后在 $1\ 745$ 和 $1\ 411\ \text{cm}^{-1}$ 处吸收峰向高波数位移, $1\ 357\ \text{cm}^{-1}$ 处吸收峰向低波数位移。二维红外谱图显示的药效组分特征差异明显, 生黄芩在 $1\ 300\sim 1\ 800\ \text{cm}^{-1}$ 波数范围内有 4 个特征峰, 以 $1\ 575\ \text{cm}^{-1}$ 最强; 黄芩片的自动峰有 3 个区域; 酒黄芩的自动峰有 2 个区域。各区域内自动峰均为正相关。不同样品总苷提取物的一维谱图显示, 在 $1\ 615$, $1\ 585$, $1\ 450\ \text{cm}^{-1}$ (苯环骨架振动) 和 $1\ 658\ \text{cm}^{-1}$ (C—O) 附近均有特征吸收, 二阶导数谱图给出在 $1\ 656\ \text{cm}^{-1}$ (黄酮的 C=O) 附近有特征峰, 推测共有的成分为酚苷类化合物。二维谱图在 $800\sim 1\ 800\ \text{cm}^{-1}$ 波段均体现苯环骨架振动的 5 个自动峰 $1\ 366$, $1\ 420$, $1\ 508$, $1\ 585$, $1\ 669\ \text{cm}^{-1}$ 。可见红外光谱宏观指纹技术可提供大量整体信息, 能够较准地把握黄芩的整体质量。可用于研究黄芩药材及饮片特征的相关性。

关键词 黄芩; 红外光谱; 二阶导数谱; 二维相关光谱; 药效组分

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2010)07-1774-06

引言

黄芩为唇形科 Labiatae 植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根, 多年生草本, 属清热解暑常用中药。黄芩的炮制品种主要为黄芩片、酒黄芩等^[1]。黄芩炮制方法不同功用侧重不同, 黄芩生用或热处理后切薄片, 性味苦寒, 以清热泻火力强, 多用于风热湿症和痈疽疔疖。酒黄芩酒制后可缓和苦寒之性, 免伤脾阳。酒制入血分, 并可借黄酒升腾之力, 治疗目赤肿痛, 瘀血壅盛, 上部积血, 失眠, 上焦肺热及四肢肤表之湿热^[2]。

傅里叶变换红外光谱 (FTIR) 技术近年来较多的被应用于中药的研究当中^[3-8], 可实现对中药的快速、高效、准确分析^[9]。具有样品用量少, 灵敏度高, 操作简单等优点。本实验采用 FTIR 技术 (红外原谱、二阶导数谱及二维相关谱三者结合) 对黄芩原药材、饮片及其各自提取物进行了红外光谱特征研究, 以期对中药黄芩鉴定和制定质量标准提供一种新的方法和手段。

1 仪器设备

实验所用仪器为 Perkin-Elmer 公司的 Spectrum GX 型傅里叶变换红外光谱仪, 光谱测定范围 $400\sim 4\ 000\ \text{cm}^{-1}$, DTGS 检测器, 分辨率 $4\ \text{cm}^{-1}$, 扫描次数 16 次, OPD 速度为 $0.2\ \text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$, 扫描时实时扣除水和 CO_2 的干扰。红外光谱仪另附有变温附件 (Love Control) 公司和 Portable Controller 可编程温度控制单元 (50-886 型), 控温范围为室温至 $110\ ^\circ\text{C}$ 。

2 样品来源及试剂

酒黄芩、黄芩片和生黄芩购自河北省安国市祁新中药颗粒饮片有限公司。所有样本经张贵君教授鉴定均来自唇形科 Labiatae 植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根。实验所用试剂均为分析纯。

收稿日期: 2009-09-26, 修订日期: 2009-12-28

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30860391) 资助

作者简介: 张春晖, 女, 1982 年生, 北京中医药大学中药学院 2007 届博士研究生 e-mail. zhangchunhui1982@126.com

* 通讯联系人 e-mail. guijunzhang@163.com

3 供试品制备

3.1 黄芩三级鉴定

将酒黄芩、黄芩片和生黄芩样品充分粉碎均匀，过 200 目筛。取样品粉末约 3 与 200 mg 溴化钾碎晶(KBr)混合研磨充分均匀，压片。

3.2 黄芩提取物

将生黄芩和黄芩片、酒黄芩分别干燥粉碎，各取 10 g，用 10 倍量乙醇、蒸馏水超声提取 2 次，每次 30 min，提取液浓缩，干燥，分别得到乙醇、蒸馏水提取物。将提取物分别采用 KBr 压片制样。

4 实验方法及数据处理

Spectrum GX 型傅里叶变换红外光谱仪测定红外光谱图。谱图处理采用 Perkin-Elmer 公司的定性分析软件(Compare)。其原理是根据数学上的相关系数来比较两个红外光谱之间(或者一个光谱和一系列光谱之间)的相似程度。二阶导数谱的获得采用 13 点平滑^[10-12]；三级鉴定将药材，饮片及提取物的 KBr 盐片放在变温池内，通过程序控制升温，从 50~120 °C 每隔 10 °C 进行原位实时扫描红外谱图，获得动态光谱集。二维相关红外谱图的获得采用清华大学自行设计的二维相关分析软件进行分析处理^[13-15]。

5 结果分析

5.1 生黄芩和黄芩片、酒黄芩的三级鉴定

5.1.1 生黄芩和黄芩片、酒黄芩的一维红外光谱分析

图 1 为酒黄芩、黄芩片和生黄芩的一级谱图，谱图间较相似，谱峰的位置和峰形也较接近。如生黄芩在 1 655, 1 414, 1 359 和 1 293 cm⁻¹ 的吸收峰位置与黄芩片 1 658, 1 415, 1 360 和 1 296 cm⁻¹ 的吸收峰最大只相差 8 个波数；与酒制黄芩 1 658, 1 416, 1 361 和 1 295 cm⁻¹ 的吸收峰最大相差 9 个波数。

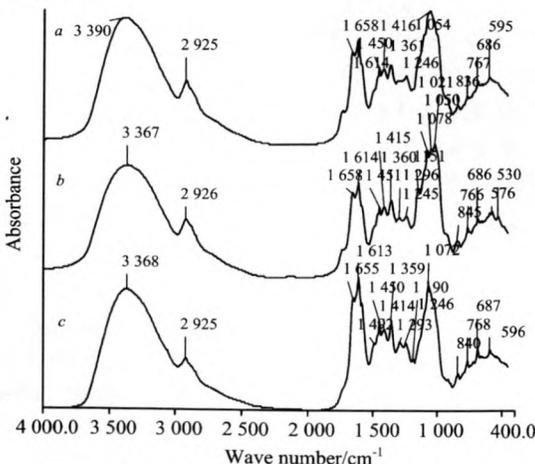


Fig. 1 FTIR spectra of a wine-fried scutellariae, b sliced scutellariae and c crude drug of radix scutellariae

5.1.2 生黄芩和黄芩片、酒黄芩的二阶导数光谱分析

图 2 为酒黄芩、黄芩片和生黄芩的导数光谱图，通过分辨率更高的导数光谱进一步分析，在 1 745 和 1 411 cm⁻¹ 处吸收峰在经过炮制之后向高波数位移，1 357 cm⁻¹ 处吸收峰在经过炮制之后向低波数位移。

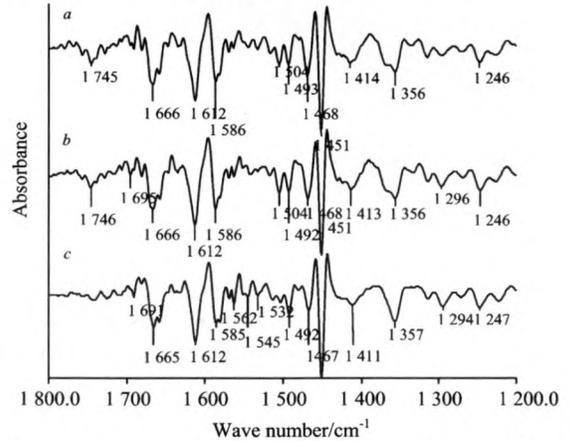


Fig. 2 Second derivative spectra of a wine-fried scutellariae, b sliced scutellariae and c crude drug of radix scutellariae

5.1.3 生黄芩和黄芩片、酒黄芩变温过程的二维红外相关分析

图 3 为黄芩在 1 300~1 800 cm⁻¹ 区域的二维红外相关谱。由二维相关谱可以看出很多在一维谱中的重叠峰变得可以清晰的分辨出来。生黄芩的二维红外光谱存在 4 个主要的自动峰(1 357, 1 420, 1 575 和 1 668 cm⁻¹)，其中以 1 575 cm⁻¹ 峰最强。自动峰和交叉峰形成明显的 4×4 的对称分布，均为正相关；黄芩片在该范围内主要以 1 365, 1 428, 1 468, 1 508, 1 577, 1 668 cm⁻¹ 组成多重峰区域，各自动峰均为正相关；酒黄芩在这一范围内出现 1 362, 1 428, 1 468, 1508, 1 578, 1 661 cm⁻¹ 的多重峰，各自动峰均为正相关。

Table 1 Analysis of peaks of baicalin

波数/cm ⁻¹	基团及振动方式
3 389	—C—H 伸缩环 C—H 伸缩
2 924	C—H 反对称伸缩
2 905	C—H 对称伸缩
1 726	C=O 伸缩
1 659	C=O (主); C=C
1 608	芳环等的骨架振动
1 495	C—H 弯曲
1 434	芳环等的骨架振动
1 366	C—H 对称弯曲
1 298	—C—O—R 的反对称伸缩振动
1 252	O—H 弯曲, C—O—C 伸缩, C—CO 反对称弯曲
1 246	C—O 伸缩, —C—O—C 反对称伸缩振动
1 141	C—O 伸缩, C—OH 弯曲
1 109	C—OH 弯曲, C—CH ₃ 骨架振动
1 063	C—OH 弯曲, —C—O—C 伸缩, C—CH ₃ 骨架振动
1 036	—C—O—C 伸缩, C—CH ₃ 骨架振动

5.2 生黄芩和黄芩片、酒黄芩不同提取物的成分分析

黄芩的主要成分是黄酮类化合物。如黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷、汉黄芩素等，其中黄芩苷在黄芩中含量较高。药效作用最为显著。

5.2.1 红外谱图的指认

黄芩苷的红外光谱图如图 4 所示，具体的谱峰指认如表 1 所示。

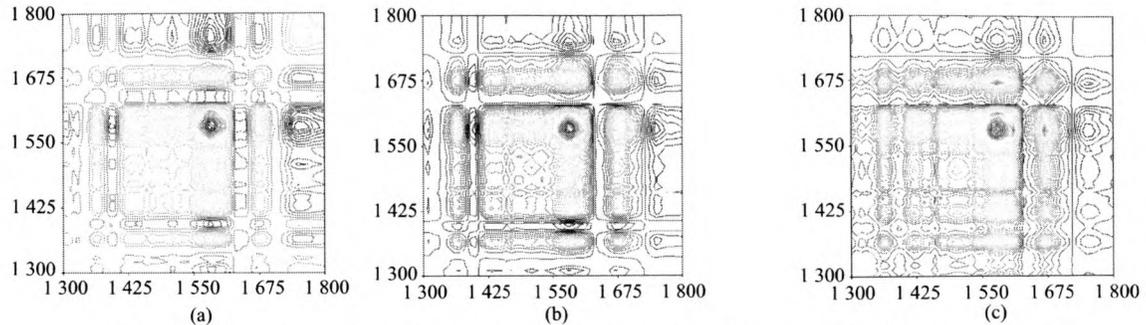


Fig. 3 Two-dimensional infrared (2D-IR) correlation spectroscopy of (a) wine-fried scutellariae, (b) sliced scutellariae and (c) crude drug of radix scutellariae

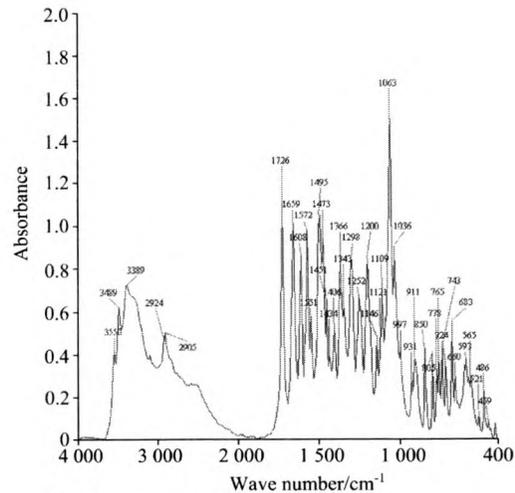
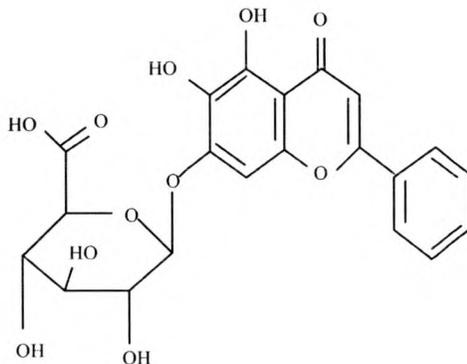


Fig. 4 Molecule structure and FTIR spectra of baicalin

5.2.2 黄芩总黄酮提取物的一维红外光谱分析

黄芩主要有效成分为黄酮类化合物。如图 5 所示，黄芩在 1 800~400 cm⁻¹ 指纹区特征峰明显增多，给出的信息更加丰富。比较两张图共同的特征就是 1 612, 1 514, 1 452 cm⁻¹ (苯环骨架振动) 和 1 656 cm⁻¹ (C=O) 附近均有特征吸收，推测三者共有的成分为酚苷类化合物。而 840, 766, 685 cm⁻¹ 附近的 C-H 面外弯曲振动吸收则体现了三者苯环上取代基个数(或位置)相同(或相近)。不同的是三者虽然分别在 1 739 和 1 665 cm⁻¹ 有羰基吸收峰，并且在 1 400~1 000 cm⁻¹ 范围内有一系列的 C-O 吸收峰，但峰位不尽相同，再加上 1 600~1 450 cm⁻¹ 苯环的骨架振动，推测三者均含芳族酯类化合物，但具体结构不同。由 1 400~1 000 cm⁻¹ 范围内的多重峰(C-O) 还可看出，黄芩提取物中黄酮苷类成分占大多数，只是具体成分不同而已。为了放大指纹特征我们进一步获取了各提取物的二阶导数谱。

5.2.3 黄芩提取物的二阶导数光谱分析

图 6 为黄芩提取物的二阶导数谱，二阶导数谱进一步提

高了谱图的分辨率，给出了更多的信息。首先，从图 6(a) 中可看到该波段不同样品提取物整体峰形比较相似，其中 1 619, 1 612, 1 585, 1 492 和 1 451 cm⁻¹ 附近的特征峰体现着苯环的骨架振动，结合 1 745 cm⁻¹ 附近 C=O 吸收峰和 1 400~1 000 cm⁻¹ 范围内的 C-O 吸收峰说明了三者共有的成分为酚苷类化合物，与一维谱图分析结果相一致。

5.2.4 黄芩提取物的二维相关光谱分析

图 7 为酒黄芩、黄芩片、生黄芩提取物在 800~1 300 cm⁻¹ 波段范围的二维相关红外光谱图。提取物谱图非常雷同，对角线上均出现 5 个自动峰：1 366, 1 420, 1 508, 1 585, 1 669 cm⁻¹；其中 1 669 cm⁻¹ 为黄酮类成分的 C=O 振动，其他峰位均为苯环骨架振动，说明三者共有苯环结构，且该结构基团热敏性高、较活跃，并且乙醇提取物中的黄酮类成分要高于水提取物，此结论亦与一维和二阶导数谱图分析结果相一致。

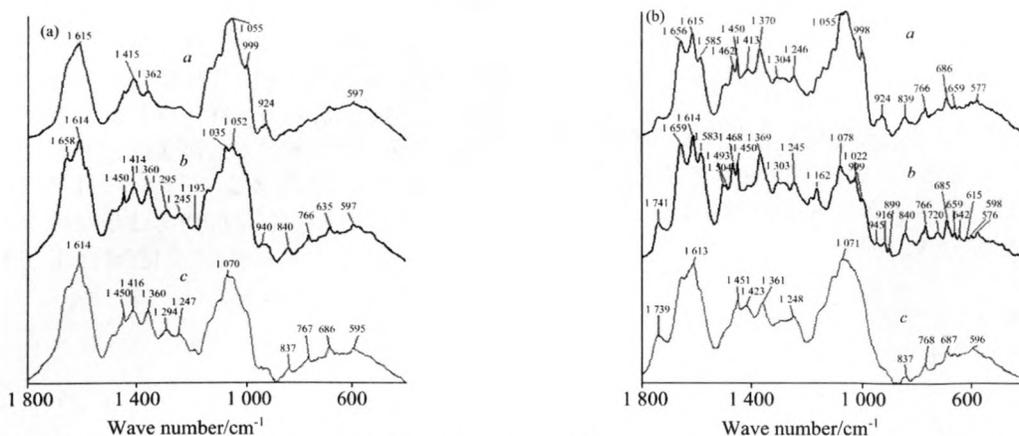


Fig. 5 FTIR spectra of extract of *a* wine-fried scutellariae, *b* sliced scutellariae and *c* crude drug of radix scutellariae
(a): Extract of water; (b): Extract of ethyl alcohol

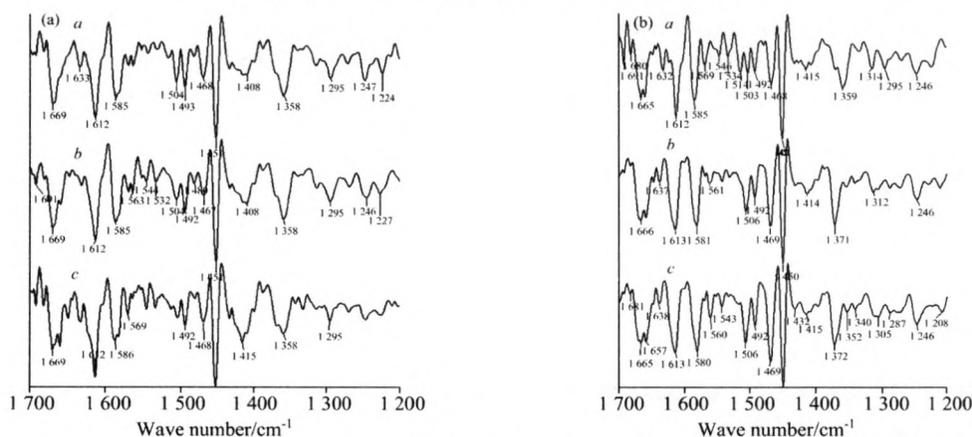


Fig. 6 Second derivative spectra of extract of *a* wine-fried scutellariae; *b* sliced scutellariae and *c* crude drug of radix scutellariae
(a): Extract of water; (b): Extract of ethyl alcohol

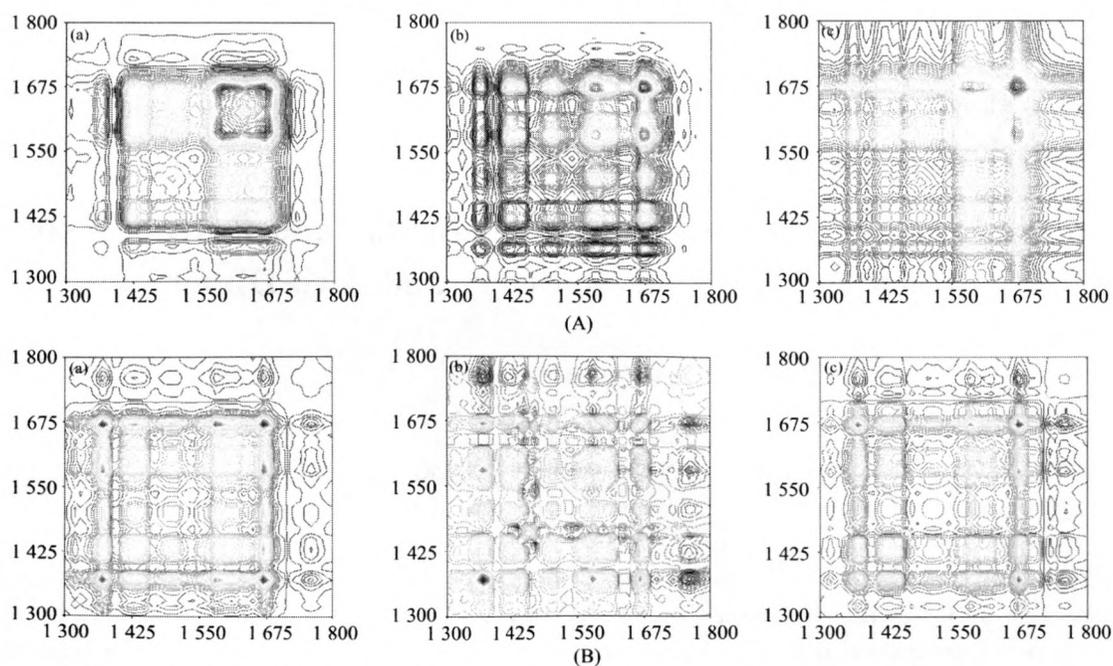


Fig. 7 Two-dimensional infrared correlation spectroscopy of the extracts of (a) wine-fried scutellariae, (b) sliced scutellariae and (c) crude drug of radix scutellariae
A: Extract of water; B: Extract of ethyl alcohol

6 结 论

通过红外光谱三级宏观指纹鉴定方法分析了酒黄芩、黄芩片、生黄芩的红外谱图,从宏观上比较了三者成分的差异。黄芩药材与饮片的一维红外谱图显示的药效组分特征相似;而饮片药效组分的导数光谱在 $1\ 745$ 和 $1\ 411\ \text{cm}^{-1}$ 处向高波数位移,而在 $1\ 357\ \text{cm}^{-1}$ 向低波数位移。二维红外谱图显示的药效组分特征差异明显,自动峰和交叉峰形成明显的 4×4 的对称分布,均为正相关;生黄芩在 $1\ 300 \sim 800\ \text{cm}^{-1}$

波数范围内有 4 个特征峰($1\ 357$, $1\ 420$, $1\ 575$ 和 $1\ 668\ \text{cm}^{-1}$),以 $1\ 575\ \text{cm}^{-1}$ 最强;黄芩片的自动峰有 3 个区域:由 895 , 908 , $968\ \text{cm}^{-1}$ 三个吸收峰组成的一个区域, $1\ 068$, $1\ 098$, $1\ 136$, $1\ 214\ \text{cm}^{-1}$ 四个尖锐的峰组成的区域和 $1\ 800 \sim 1\ 300\ \text{cm}^{-1}$ 多重峰区域;酒黄芩的自动峰有 2 个区域: $1\ 300 \sim 800\ \text{cm}^{-1}$ 内的多重峰, $1\ 800 \sim 1300\ \text{cm}^{-1}$ 内的多重峰。比较总苷提取物的一维谱图、二阶导数谱和二维相关谱图得出三者共有的成分为酚苷类化合物,其中醇提取物中黄酮类成分要高于水提取物。

参 考 文 献

- [1] Pharmacopoeia Committee of Ministry of Health, the People's Republic of China(中华人民共和国卫生部药典委员会编). Pharmacopoeia of 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), 2005. 221.
- [2] WU Tian-jin, LI Wei-de(吴天津,李维德). Journal of Chinese Clinical Medicine(中华临床医药), 2004, 5(18): 109.
- [3] LIANG Bi-yan, LI Shu-yuan, SUN Su-qin(梁碧燕,李书渊,孙素琴). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2009, 29(2): 313.
- [4] ZHANG Hong-mei, GUO Xi-hua(张红梅,郭西华). Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory(光谱实验室), 2008, 25(4): 609.
- [5] XU Rong, SUN Su-qin, LIU You-gang(徐荣,孙素琴,刘友刚). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学), 2009, 37(2): 221.
- [6] WANG Yan-chun, ZHANG Zhong-yan, JIANG Xiao-zhuo(王艳春,张忠艳,姜小卓). China Foreign Medicinal Treatment(中外医疗), 2009, 28(13): 158.
- [7] ZHOU Dian-feng(周殿凤). Chinese Journal of Light Scattering(光散射学报), 2009, 21(1): 69.
- [8] ZHOU Yun, ZANG Hong-chang(周云,臧红昌). Food and Durg(食品与药品), 2009, 11(1): 72.
- [9] ZHAO Jun, SONG Zhi-rong, WANG Yu-xia(赵珺,宋治荣,王玉霞). Chinese Journal of Medicinal Guide(中国医药导刊), 2009, 11(4): 620.
- [10] ZHAO Bao-wen(赵保文). Capital Medicine(首都医药), 2000, 7(4): 33.
- [11] WANG Yong-gao, ZHU Yuan-long, ZHU Ren-hong(王永高,朱元龙,朱任宏). Acta Pharmaceutica Sinica(药学报), 1980, 15(9): 526.
- [12] CAI Bao-chang(蔡宝昌). China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy(中国医药学报), 1990, 5(3): 31.
- [13] SUN Su-qin, LIU Jun, ZHOU Qun(孙素琴,刘军,周群). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学), 2002, 30(2): 140.
- [14] SUN Su-qin, HUANG H, XU Y Q. Anal. Sci., 2001, 13(Suppl 1): a451.
- [15] SUN Su-qin, DU D G, ZHOU Qun, et al. Anal. Sci., 2001, 13(Suppl 1): a455.

Study on the Identification of Radix Scutellariae and Extract Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Two-Dimensional IR Correlation Spectroscopy

ZHANG Chun-hui¹, ZHANG Gui-jun^{1*}, SUN Su-qin², TU Ya²

1. College of Pharmaceutics, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China

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

Abstract 2D-IR correlation spectroscopy was used to do the research on crude and prepared drug of radix scutellariae and the extracts of them. The results show that the holistic shape of peaks among them are similar in the FTIR spectra. In second derivative spectra, the two absorption peaks: $1\ 745$ and $1\ 411\ \text{cm}^{-1}$ of processed products move to the bigger wavenumber direction, while $1\ 357\ \text{cm}^{-1}$ of processed products moves to the smaller wavenumber direction; There are conspicuous differences in Two-dimensional infrared correlation spectroscopy among them. Four characteristic peaks are shown between $1\ 300$ and $1\ 800\ \text{cm}^{-1}$. The intensity of peak at $1\ 575\ \text{cm}^{-1}$ is the strongest. There are three main districts about the autopeaks of sliced scutellariae.

Wine-fried scutellariae has two auto-peak districts, in which all the auto-peaks are positively correlated. The FTIR spectra of total glycoside extract of different samples present characteristic peaks at 1 615, 1 585, 1 450 cm^{-1} (vibration of phenyl framework) and 1 658 cm^{-1} ($=\text{C}-\text{O}$) respectively, therefore, the authors speculated that their mutual component is the compound of phenolic glycoside. The two-dimensional infrared correlation spectra present five automatic peaks (vibration of phenyl framework) in 800-1 800 cm^{-1} (1 366, 1 420, 1 508, 1 585, 1 669 cm^{-1}). So the authors can conclude that a lot of information can be provided by macro-fingerprint technology of infrared spectroscopy which can evaluate overall quality of radix scutellariae accurately and be used to study the characteristics of relevance of crude and prepared scutellariae.

Keywords Radix Scutellariaei; Infrared spectroscopy; Second derivative IR spectroscopy; Two-dimensional IR correlation spectroscopy; Active components alignment

(Received Sep. 26, 2009; accepted Dec. 28, 2009)

* Corresponding author

《光谱学与光谱分析》2010 年征订启事

欢迎投稿 欢迎订阅

《光谱学与光谱分析》1981 年创刊, 国内统一刊号: CN 11-2200/O4, 国际标准刊号: ISSN 1000-0593, CODEN 码: GYGFED, 国内外公开发刊, 大 16 开本, 288 页, 月刊; 是中国科协主管, 中国光学学会主办, 钢铁研究总院、中国科学院物理研究所、北京大学、清华大学共同承办的学术性刊物。北京大学出版社出版, 每期售价 35.00 元, 全年 420 元; 国内邮发代码 82-68, 国外发行代码 M905。刊登主要内容: 激光光谱测量、红外、拉曼、紫外、可见光谱、发射光谱、吸收光谱、X 射线荧光光谱、激光显微光谱、光谱化学分析、国内外光谱化学分析领域内的最新研究成果、开创性研究论文、学科发展前沿和最新进展、综合评述、研究简报、问题讨论、书刊评述。

《光谱学与光谱分析》适用于冶金、地质、机械、环境保护、国防、天文、医药、农林、化学化工、商检等各个领域的科学研究单位、高等院校、制造厂家、从事光谱学与光谱分析的研究人员、高校有关专业的师生、管理干部。

《光谱学与光谱分析》为我国首批自然科学核心期刊, 中国科协优秀科技期刊, 中国科协择优支持基础性、高科技学术期刊, 中国科技论文统计源刊, “中国科学引文数据库”, “中国物理文摘”, “中国学术期刊文摘”, 同时被国内外的 CSCD, SCI, AA, CA, Ei, PKJ, MEDLINE 等文献机构收录。根据国家科技部信息研究所发布信息, 中国科技期刊物理类影响因子及引文量《光谱学与光谱分析》都居前几位。欢迎国内外厂商在《光谱学与光谱分析》发布广告 (广告经营许可证: 京海工商广字第 8094 号)。

《光谱学与光谱分析》的主编为黄本立院士。

欢迎新老客户到全国各地邮局订阅, 若有漏订者可直接与光谱学与光谱分析期刊社联系。

联系地址: 北京市海淀区学院南路 76 号, 光谱学与光谱分析期刊社 邮政编码: 100081

联系电话: 010-62181070, 62182998

电子信箱: chngpxygpfx@vip.sina.com; 修改稿专用邮箱: gp2008@vip.sina.com

网 址: <http://www.gpxygpfx.com>