

中药材栀子的 X 射线衍射傅立叶指纹图谱鉴定研究

龚宁波¹ 郑笑为² 王钢力² 张继² 吕扬¹

(1 中国协和医科大学 中国医学科学院药物研究所 北京 100050)

(2 中国药品生物制品检定所 北京 100050)

摘要 为建立一种新的中药材鉴定与分析方法,我们采用粉末 X 射线衍射分析技术,分别对 19 个不同来源的栀子样品进行实验分析研究。利用粉末 X 射线衍射傅立叶(Fourier)指纹图谱分析方法,获得栀子与水栀子等中药材的各自对照衍射图谱和特征标记峰值。使用对照衍射图谱和特征标记峰值可以很好地区分道地中药材栀子、药材栀子变种-水栀子及地方习用品-黄花栀子。分析结果表明,粉末 X 射线衍射 Fourier 指纹图谱分析方法可以用于传统中药材的鉴定与质量控制。

关键词 中药材 X 射线衍射 傅立叶(Fourier) 指纹图谱 栀子

引言

植物中药材是世界上最古老与最经典的药用植物,用于防病治病已有上千年的历史。由于其良好的治疗功效与较低的毒副作用,使得中药材越来越受到世人的关注。众所周知,每种中药材均是一个复杂的多相体系,内含有有机与无机等数十乃至上百种成分。中药材治病功效是其所含全部成分作用的叠加效果。我国传统的中药材鉴别方法无法对其成分进行整体评价,而是对所含几个已知活性组分进行鉴别与评价。而已有分析方法无法反映中药材的整体性质,因此有必要在中医整体论思想指导下寻找一种新的既能检测中药材已知活性组分,又能同时反映中药材中整体组分性质的分析方法。基于此目的,建立一种能系统反映中药材整体成分性质和特征的新的分析技术——粉末 X 射线衍射 Fourier 指纹图谱鉴定法。它能够更快捷、更方便地用于中药材的鉴别和质量控制。

X 射线衍射 Fourier 指纹图谱鉴定法包括两个方面内容:其一,以晶面间距 d (Å) 和相对强度 I/I_0 表示衍射峰的位置与强度值,并考虑到中药材样品的分布误差^[1];其二,引入拓扑学概念表示整幅衍射图形的几何拓扑特征,并依据拓扑学中关于图形相等的关系,构建衍射图形之间的异同关系^[2,3]。由于中药材为多组分组成,受到产地、生长年限、采集季节等多种因素影响,而导致样品在成分、含量间可能会存在一定差异性,这种差异使得其衍射图形间存在有一定的“模糊性质”。为此引入一个“符合度”概念,将具有相同衍射图形

的样品归为一类,并标记其共有的特征标记峰数 Σ ,逐一计算每个样品含有的特征标记峰数,并计算其与 Σ 的比值。通过已对近 200 种植物、动物、矿物中药材样品的统计分析,确定同种中药材正品的符合度值应 $\geq 60\%$ ^[4,5]。在此研究基础上,利用该分析方法还可以对不同产地的同种中药材进行分类,并用于药材的优劣、真伪识别与质量鉴定。

中药材栀子为茜草科植物栀子 (*Gardenia jasminoides* Ellis) 的果实,又称为山栀子。秋季果实成熟呈红黄色时采收,去果梗杂质,置沸水中烫或用蒸笼蒸至上气,取出,晒干或烘干。国内主产于江西、湖南、湖北、浙江、福建、四川等省。栀子功能泻火除烦、清热利湿、凉血止血。主治热病心烦、湿热黄疸、肝胃郁热诸症,并治血热吐、疮疡肿毒^[6]。水栀子 (*Gardenia jasminoides* var. *Ellis*) 为山栀子的引种品(改良品种),现也作药用,但其功效与山栀子不同。山栀子味苦,性寒。泻水除烦,清热利湿,凉血解毒,内服外用均可。而水栀子一般不供内服,供染色及外敷伤肿,有舒筋、消肿、止痛的作用。黄花栀子则是一种地方习用品种。

本文应用粉末 X 射线衍射 Fourier 指纹图谱鉴定法分别对 1 个栀子对照品(中国药品生物制品检定所提供)、10 个山栀子中药材、7 个水栀子中药材及 1 个黄花栀子等 19 个样品进行实验分析研究。19 个样品均经中国药品生物制品检定所张继主任药师宏观鉴定。经计算分析获得了中药材栀子的 X 射线衍射 Fourier 对照指纹图谱,并进行分类及表征。

1 实验部分

1.1 样品与制备

19个不同梔子样品的来源及产地信息(见表1)。全部样品均经去泥沙、粉碎、过100目筛,制成细粉处理。样品经精密称量100mg,供粉末X射线衍射实验用。在表中数字20代表梔子在《中药材X射线衍射Fourier指纹图谱库》中的序号。

表1 19个梔子样品信息

编号	衍射图号	名称	来源
1 [#]	20-1	梔子	药材对照品(986-9301)
2 [#]	20-2	山梔子	广西藤县
3 [#]	20-3	山梔子	湖南湘潭
4 [#]	20-4	山梔子	湖北咸宁
5 [#]	20-5	山梔子	浙江泰顺
6 [#]	20-6	山梔子	江西吉水
7 [#]	20-7	山梔子	四川康定
8 [#]	20-8	山梔子	广西梧州
9 [#]	20-9	山梔子	湖南华容
10 [#]	20-10	山梔子	四川綦江
11 [#]	20-19	山梔子	四川宜宾
12 [#]	20-11	水梔子	浙江苍南
13 [#]	20-12	水梔子	广西梧州
14 [#]	20-13	水梔子	广西梧州
15 [#]	20-14	水梔子	广西永福
16 [#]	20-15	水梔子	湖北长阳
17 [#]	20-16	水梔子	江西赣州
18 [#]	20-17	水梔子	四川宜宾
19 [#]	20-18	黄花梔子	西双版纳

1.2 仪器与实验条件

日本理学Rigaku D/max-2550粉末X射线衍射仪,CuK α 辐射,石墨单色器,管压40kV,管流150mA,2 θ 扫描范围3~60°,扫描速度8°/min。

2 结果与讨论

以下实验数据以晶面间距d(A)和衍射峰相对强度I/I₀表示,记为d/I/I₀。

比较1~11[#]山梔子中药材的X射线衍射图谱的几何拓扑和衍射峰值,表明它们具有一致的图形几何拓扑,11个山梔子样品共有35个特征标记峰值(见图1)。以此为参照,计算山梔子中药材衍射峰值的符合度分别为73%、79%、77%、75%、83%、80%、70%、73%、77%、73%、79%。

比较12~18[#]水梔子中药材的X射线衍射图谱的几何拓扑和衍射峰值,表明它们具有一致的图形几何拓扑,7个样品共有34个特征标记峰值(见

图2)。以此为参照,计算水梔子中药材衍射峰值的符合度分别为79%、81%、77%、74%、70%、70%、74%。

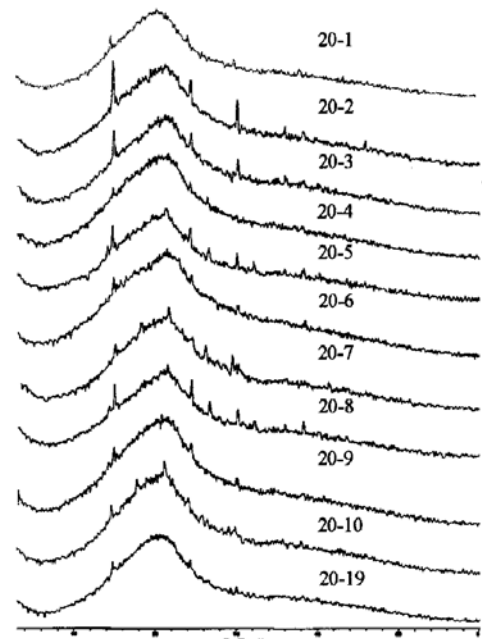


图1 山梔子X射线衍射图谱

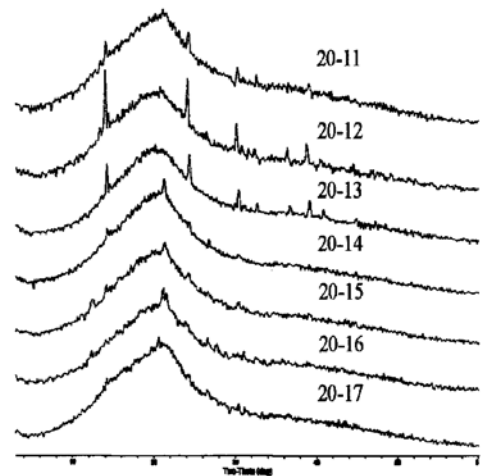


图2 水梔子X射线衍射图谱

比较黄花梔子与山梔子的衍射图谱,可以发现二者具有部分的相似性,而黄花梔子与水梔子比较,二者的衍射图谱也具有部分的相似性,表明花梔子成分与山梔子和水梔子间存在有部分相同物质成分(见图3)。

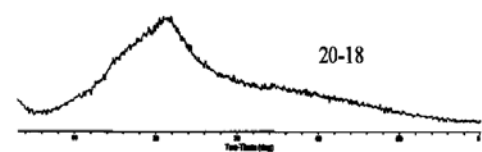


图3 黄花梔子X射线衍射图谱

3 结论

分析山栀子 $1^{\#}$ ~ $11^{\#}$ 样品的X射线衍射图谱与数据,对其11个样品的图谱与数据进行加和平均,最终获得山栀子中药材样品的对照粉末X射线衍射 Fourier 指纹图谱和特征标记峰值(见图4)。山栀子共有33个特征标记峰值:6 236/60, 5 968/77, 5 829/67, 5 638/67, 5 562/73, 5 482/70, 5 355/73, 5 239/75, 5 197/60, 5 072/65, 5 034/79, 4 886/85, 4 816/84, 4 469/92, 4 077/76, 4 029/85, 3 855/81, 3 810/82, 3 665/80, 2 980/57, 2 848/41, 2 788/42, 2 641/39, 2 500/40, 2 410/38, 2 388/38, 2 259/38, 2 243/34, 2 223/33, 2 208/34, 2 153/32, 2 127/30, 2 076/32。

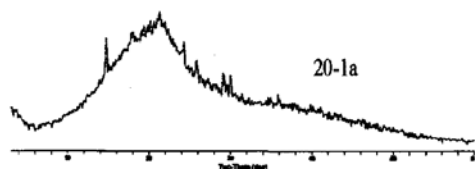


图4 山栀子 Fourier 对照指纹图谱

分析水栀子 $12^{\#}$ ~ $18^{\#}$ 样品的X射线衍射图谱与数据,对其7个样品的图谱数与数据进行加和平均,最终获得水栀子中药材样品的对照粉末X射线衍射 Fourier 指纹图谱和特征标记峰值(见图5)。水栀子共有34个特征标记峰值:5 970/63, 5 662/73, 5 610/75, 5 562/73, 5 482/70, 5 350/70, 5 239/75, 5 195/68, 5 069/74, 5 034/79, 4 900/76, 4 820/82, 4 622/85, 4 473/85, 4 438/86, 4 080/95, 3 860/78, 3 812/79, 3 660/65, 3 363/60, 3 205/50, 3 030/43, 2 974/45, 2 908/46, 2 805/43, 2 635/40, 2 505/39, 2 406/37, 2 254/34, 2 242/40, 2 226/30, 2 206/39, 2 128/45, 2 074/28。

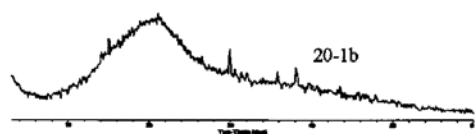


图5 水栀子 Fourier 对照指纹图谱

比较山栀子和水栀子的特征标记峰值发现:山栀子有7个特有的衍射特征标记峰(6 236/60, 5 829/67, 5 638/67, 4 029/85, 2 848/41, 2 388/

38, 2 153/32);水栀子有9个特有的衍射特征标记峰(5 662/73, 5 610/75, 4 622/85, 4 438/86, 3 363/60, 3 205/50, 3 030/43, 2 908/46, 2 805/43)。由于水栀子样品为山栀子的引种改良品种,所以其物质组成的主要成分基本一致,故其衍射的几何拓扑图形与山栀子十分相似,且二者衍射峰具有76%一致性,但利用其各自的特有特征标记峰值完全可以将二者区分开来。以此作为标准,可达到用于对未知或已知栀子中药材样品的识别与鉴定目的。

黄花栀子与山栀子比较,其几何拓扑图形与山栀子有一定的相似性,衍射峰有55%一致;黄花栀子与水栀子比较,其几何拓扑图形与水栀子相似,衍射峰有65%一致,所以黄花栀子可能也是从山栀子衍生而来的植物,可作为水栀子的代用品使用。

在19个栀子样品中均含有一水草酸钙成分,但含量各有差异,草酸钙源于植物自身代谢产物,其含量的多少受生长环境、生长年限等多种因素的影响。

由于中药材样品自身存在有品种多样性、生长环境复杂性、成分含量的模糊性等,造成对其整体成分的识别与鉴定困难。我们在研究和建立不同中药材样品的对照粉末X射线衍射 Fourier 指纹图谱时,一般需要以多个样品的实验图谱与数据结果为依据。分析结果表明,X射线衍射 Fourier 指纹图谱法可实现对中药材栀子的鉴定。表明该方法在中药材鉴定中具有广阔的应用前景。

参考文献

- 1 吕扬,郑启泰,吴楠等 中药材X射线衍射图谱研究,药学学报,1997,32(3):193~198
- 2 吕扬,郑启泰,章菽等 中药材山柰的X衍射 Fourier 图谱分析,药学学报,1998,33(8):587~590
- 3 张丽,王树春,吴云山等 马鹿茸的X射线衍射 Fourier 指纹图谱鉴定,中成药,2005,27(5):577~580
- 4 吴立,马林,郑启泰等 中药材厚朴的X射线衍射 Fourier 指纹图谱分析,中成药,2004,26(11):861~864
- 5 张莉莉,马林,郑启泰等 石韦的X射线衍射 Fourier 指纹图谱鉴定研究,中草药,2003,34(4):370~374
- 6 中华人民共和国药典,中华人民共和国卫生部药典委员会编,北京:化学工业出版社,2005

(下转第31页)

其中 Veeco 公司的 D3100 和 NanoMan 型号可以满足此要求。如果 AFM 检测时依靠手动来移动样品台,则坐标位置不能实时显示,本文发展的重定位方法也就难以实现。

4 结论

相对于已知的重定位方法,本方法无需在样品扫描区域作精细的多处标记,从而避免对样品待扫描区域的破坏,而且只要作一次表面标记即可对样品表面的多个区域进行重定位成像,这对于贵重模板的重定位成像很重要。另外,本方法对样品和衬底的透明度没有要求,适用样品的最大尺寸(直径)达 15cm,对大样品的重定位成像尤其实用。

参考文献

1 Binnig, G., C. Quate, and C. Gerber, Atomic force microscope Phys Rev Lett, 1986, 56: 930 ~933

- 2 Tumer, D. C., et al., Use of a repositionable substrate to acquire and compare distinct atomic force microscope images of a field of microtubules Ultramicroscopy, 1995, 58 (3 ~4): 425 ~434
- 3 Markiewicz, P. and M. C. Goh, Identifying locations on a substrate for the repeated positioning of AFM samples Ultramicroscopy, 1997, 68 (4): 215 ~221
- 4 R. Gahlin, R., S. Jacobson, and R. Laiker, Wear volume and wear distribution of hydraulic motor cam rollers studied by a novel atomic force microscope technique Wear, 1998, 220 (1): 1 ~8
- 5 Su, M., Z. Pan, and V. P. Dravid, A convenient and rapid sample repositioning approach for atomic force microscopy Journal of Microscopy, 2004, 216 (2): 194 ~196
- 6 Cao, Y., et al., A multi-wall carbon nanotube (MWCNT) relocation technique for atomic force microscopy (AFM) samples Ultramicroscopy, 2005, 103 (2): 103 ~108

Reposition imaging technique of AFM with program-controlled sample stage

Tang Yuzhao¹ Zhang Xiaodong¹ Sun Jieli¹ Hu Jun^{1,2}

(1 School of Life Science and Biotechnology, Shanghai Jiao-Tong University, Shanghai 200240)

(2 Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Science, Shanghai 201800)

Abstract Atomic force microscopy (AFM) has been an important tool for observing and manipulating samples at nanometer scale. Reposition imaging technique of AFM provides a method to compare the differences between the former sample and the disposed sample at the same position. In this paper, an new accurate and efficient reposition imaging technique of AFM for multi-area has been developed by employing the AFM equipped with program-controlled high resolution sample stage system and using two surface marks in the sample.

Key words Atomic force microscope Reposition imaging Surface mark Program-controlled high resolution sample stage system

(上接第 24 页)

Identification on chinese materia medica cape jasmine by X-ray diffraction fourier fingerprint pattern method

Gong Ningbo¹ Zheng Xiaowei² Wang Gangli² Zhang Ji² Lu Yang¹

(1 Institute of Materia Medica, Peking Union Medical College and Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050)

(2 National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing 100050)

Abstract To develop a new identification and analysis method for Traditional Chinese Medicine, the Powder X-ray Diffraction was used on nineteen different specimens for Cape Jasmine. The reference X-ray diffraction Fourier Fingerprint Patterns and characteristic diffraction peaks of Cape Jasmine and "Shui-Zhizi" were obtained by Powder X-ray Diffraction Fourier Fingerprint Pattern method. Identification result shows that Cape Jasmine was well distinguished from the variation of Cape Jasmine-"Shui-Zhizi", and the habitually prescribing medicinal materials-"Huanghua Zhizi". The Fourier Fingerprint Patterns and characteristic diffraction peaks can be used for identification and quality control of Traditional Chinese Medicine.

Key words Traditional chinese medicine X-Ray diffraction Fourier fingerprint pattern Cape jasmine