

黄连不同提取物的红外光谱研究

武彦文¹, 肖小河², 孙素琴³, 刘红霞³

1. 北京市理化分析测试中心, 北京 100089
2. 中国人民解放军第302医院全军中药研究所, 北京 100039
3. 清华大学化学系生命有机磷化学及化学生物学教育部重点实验室, 北京 100084

摘要 中药提取物是传统中药融合现代制药技术的新型产品, 具有广泛的国际市场。建立快速、有效的分析方法有助于中药提取物的实时质量监控。文章利用傅里叶变换红外光谱技术(FT-IR)对黄连药材、水提物和醇提物作了研究。结果表明: 黄连药材及其提取物有着各自稳定的光谱特征, 谱图中位于 1505 cm^{-1} 的芳环骨架振动峰是判断盐酸小檗碱在不同黄连样品中含量高低的主要依据, 而相应的二阶导数谱图可以大大提高原始谱图的分辨率。黄连药材经过提取, 以小檗碱为代表的主要活性成分得到有效富集, 两种提取物中小檗碱的含量明显增高; 黄连醇提物中小檗碱的含量又明显高于其水提物。FTIR能够简便、快速地提供中药提取物中主要化学成分的定性与半定量信息, 从而为后续的化学成分分析和中药提取分离工艺的改进提供有效参考。

关键词 中药提取物; 质量监控; 红外光谱; 黄连; 盐酸小檗碱

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2009)01-0093-04

引言

中药提取物是对中药材的深度加工, 具有物理性状好, 有效成分富集程度高的特点, 并可应用现代制剂技术将其制成质量稳定、剂量小、服用方便的剂型。它具有开发投入少、技术含量高、产品附加值大、国际市场广泛等优势。作为一类融合现代制药技术的新型中药产品, 中药提取物已经广泛用于医药、保健品、化妆品等方面^[1]。一般根据提取对象不同, 中药提取物可分为三大类: 单味中药提取物, 复方中药提取物及纯化提取物, 包括活性部位和单体化合物。我国目前以生产单味中药提取物为主, 但由于国内药材市场的混乱、生产工艺的不稳定、生产上的滞后性检测检验及缺乏科研力量的支持, 使得我国中药提取物缺乏一定的国际竞争优势, 因此急需一种快速、有效、可行的分析方法用于中药提取物的质量监控。而现行的中药提取物质量控制模式, 基本上是以测定某一或几种有效成分或指标成分为目标的分析方法, 从中医药的多组分整合调节作用的观点看, 指标成分的控制难以真正控制中药功效。

红外光谱(FTIR)具有整体特征性强、取样量小、简便迅速、准确等特点, 是药物鉴别的主要方法。每种中药, 包括

单味药和中药复方都是一个大的混合物体系, 其红外光谱在本质上与纯化合物的红外光谱不同。它是由多个组分的红外谱图叠加而成, 光谱的吸收峰强度与峰形是相同或不同的官能团互相作用的结果。由于不同中药所含化学成分不同, 其红外光谱的特征吸收峰位置、峰形和峰强也就不同, 从而构成了复杂体系的整体红外光谱, 具有宏观的“指纹”特性。这样从形态学角度研究红外光谱的指纹或特征谱来区别类似物, 而不是像确定官能团那样去解析光谱的理论已经开始得到认可^[2-6]。整体红外光谱的变化可以反映出中药这一混合物体系化学成分上的变化和差别。因此, 红外光谱可以作为用于评价中药质量的一项关键指标。

本文以常用中药黄连为研究对象, 通过对其药材及其不同提取物之间红外谱图的分析比较, 阐明现代红外光谱技术在中药提取工艺的监控、中药提取物的成分分析等方面的应用价值。黄连是毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. (味连)、三角叶黄连 *Coptis deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao(雅连)或云黄连 *Coptis teeta* Wall. (云连)的干燥根茎^[7]。黄连苦、寒, 归心、脾、胃、肝、胆、大肠经, 具有清热燥湿, 泻火解毒的功效, 临床上长期以来用于解热镇痛、抗肠道细菌感染等。黄连的主要成分为多种生物碱, 其中小檗碱含量最高。常用于黄连有效成分检测方法是高效液相色谱(HPLC),

收稿日期: 2007-09-28, 修订日期: 2007-12-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(30701107)和国家杰出青年科学基金项目(30625042)资助

作者简介: 武彦文, 1973年生, 北京市理化分析测试中心助理研究员 e-mail: wuyanwenanal@hotmail.com

液质联用(HPLC-MS),毛细管电泳(CE)等^[8-12]。这些方法可以提供具体化学成分的含量信息。但也有一定的局限,包括实验仪器昂贵,检测时间长,对照品与溶剂的消耗量大,一种的溶剂系统和检测器往往只能对某一类成分进行测定等等,这些限制条件使得光谱方法可以在色谱之前首先发挥其重要的导向作用。具体地讲,就是利用光谱无损、快速的特点,红外光谱能够预先获得相关的化学信息,为制定下一步的提取方案和检测方法提供方向性参考;同时红外光谱作为中药的化学指纹谱图,是控制中药提取物质量的重要手段之一。

1 实验部分

1.1 样品

黄连(*Rhizoma coptidis*)药材购自北京同仁堂药店,对照品盐酸小檗碱购于中国药品生物制品检定所。黄连药材经粉碎后过 40 目筛,分别称取适量黄连药材粉末两份,各置于 250 mL 圆底烧瓶中,分别加入 8 倍量去离子水或 80%乙醇水溶液浸润 30 min,之后加热回流提取 2 次,每次 1 h,趁热过滤,将滤液浓缩后真空干燥,得到黄连的水提取物与醇提取物。

分别取上述药材、水提取物、醇提取物及化学对照品盐酸小檗碱粉末少量,与 KBr 混合,研磨均匀后压片,放入红外光谱仪中测定。

1.2 实验过程与数据处理

采用 Spectrum GX 型傅里叶变换红外光谱仪(美国 Perkin Elmer 公司),DTGS 检测器扫描获得红外谱图,光谱范围为 4 000~400 cm^{-1} ,分辨率 4 cm^{-1} ,扫描信号累加次数为 32 次,扫描时扣除了水和二氧化碳的干扰;二阶导数谱是取原始谱图各点的二阶导数,以 13 点平滑处理获得。

2 结果与讨论

2.1 黄连药材、不同提取物及盐酸小檗碱红外原始谱图的对比与分析

图 1 为黄连药材及其水提取物、80%乙醇提取物和主要成分盐酸小檗碱的红外光谱图。表 1 为盐酸小檗碱的红外谱峰归属情况。比较图 1 中各谱图的吸收峰可知,与黄连药材相比,其水提取物与 80%乙醇提取物中盐酸小檗碱的含量明显增大;这是由于盐酸小檗碱的最强吸收峰 1 505 cm^{-1} 在黄连及其两种提取物的整体谱图中表现的峰强与峰形决定的。盐酸小檗碱 1 505 cm^{-1} 的芳环骨架振动峰在整体谱图中表现的峰越强,峰形越细长,则该混合物中的盐酸小檗碱的含量越高。除此之外,各谱图中 1 365, 1 277, 1 229, 1 036 cm^{-1} 的存在也可以帮助判断小檗碱在混合物中含量的高低;另外,通过判断谱峰之间的比例也能帮助辨别盐酸小檗碱在混合物的比例。在黄连药材中,阶梯峰 1 150, 1 078, 1 082 cm^{-1} 的强度明显高于不饱和双键与芳环 1 642 cm^{-1} [$\nu(\text{C}=\text{C})$]的振动峰,而在其水提取物和醇提取物中 $\nu(\text{C}=\text{C})$ 振动峰在逐渐向低波数移动时,它与阶梯峰的峰强比例也逐

渐接近,尤其是在黄连醇提取物的谱图中,位于 1 603 cm^{-1} [$\nu(\text{C}=\text{C})$]振动峰的峰强已经低于位于 1 034 cm^{-1} 的阶梯峰的最高峰。同时,在药材与水提取物谱图中各个宽且凸的谱带在黄连醇提取物谱图中变得细长而尖锐。所有这些充分说明:黄连的醇提取物中的小檗碱的含量高于其水提取物,这与文献报道的研究结果完全一致。

Table 1 Assignments of FTIR spectrum of berberine

Band / cm^{-1}	Main attribute	Band / cm^{-1}	Main attribute
3 549	不缔合 $\nu(\text{N}-\text{H})$	1 389	
3 345	缔合 $\nu(\text{N}-\text{H})$,	1 365	$\delta(\text{NC}-\text{H})$
	$\nu(\text{C}=\text{O})$ 的倍频,	1 333	
	芳环 $\nu(\text{C}=\text{H})$		
2 910	饱和碳氢键 $\nu(\text{C}-\text{H})$	1 277	
1 634	芳环与杂环 $\nu(\text{C}=\text{C})$,	1 229	芳香脂肪醚
1 601	$\nu(\text{C}=\text{N})$; $\delta(\text{N}-\text{H})$	1 103	$\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C})$
1 505	芳环 $\nu(\text{C}=\text{C})$	1 036	

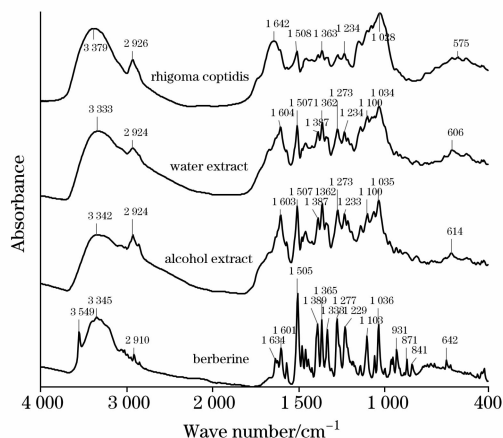


Fig. 1 FTIR spectra of herb, water and alcohol extract of *Rhizoma coptidis* and berberine

2.2 黄连药材、不同提取物及盐酸小檗碱的二阶导数谱图的对比与分析

为进一步对黄连药材及其两种提取物中的盐酸小檗碱的特征峰进行指认,我们对图 1 中的 FTIR 谱图进行了二阶求导(图 2)。在分辨率较高的二阶导数谱中,盐酸小檗碱中的特征吸收峰在黄连药材及其提取物中的谱峰特征明显增强,一些原始谱图中的不明显的特征峰也显现出来。在 1 800~1 000 cm^{-1} 范围内,黄连药材谱图中显现出的盐酸小檗碱的特征峰有 1 603, 1 567, 1 508, 1 482, 1 387, 1 233, 1 103 cm^{-1} 等;而黄连水提取物与醇提取物中几乎显现出的全部的盐酸小檗碱的特征峰: 1 635, 1 621, 1 603, 1 567, 1 507, 1 481, 1 457, 1 387, 1 362, 1 341, 1 328, 1 273, 1 233, 1 213, 1 191, 1 140, 1 100, 1 060, 1 035 cm^{-1} 等;这些表明,在回流条件下,水和醇均有利于盐酸小檗碱的溶出。由于二阶导数谱经过求导之后,其峰强已不再遵循朗伯-比尔定律,即已经失去了定量的依据,因此,不能通过导数谱图中各谱峰的峰强比例判断组分在混合物中的含量。但是,二阶导数谱图

显示了原始谱图中不易分辨的谱峰所在波数,即峰位。通过比较各二阶导数谱图的峰位,可以很明显地从红外光谱图中

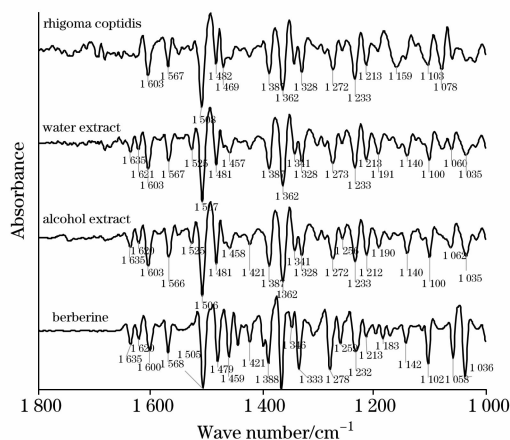


Fig. 2 Secondary derivative FTIR spectra of herb, water and alcohol extract of *Rhizoma coptidis* and berberine

看到:盐酸小檗碱大量存在于黄连药材及其两种不同溶剂提取物中。再结合原始谱图可以得出结论:在中性条件下回流提取,用醇作溶剂比水更有利于小檗碱的溶出。

3 结论

利用红外光谱技术研究中药,具有宏观、整体、直接、无损、快速的特点;同时红外谱图还可提供被测样品中主要化学成分的定性或半定量信息。研究表明:黄连药材经过提取,以小檗碱为代表的主要活性成分得到有效富集,各提取物中小檗碱的含量明显增高;而黄连醇提物中小檗碱的含量又明显高于其水提物,该结论得到相应二阶导数谱图的进一步验证。因此,通过收集和分析比较从药材到不同提取物的红外谱图,可以宏观整体地把握中药各级提取物的化学信息,从而为下一步的化学成分的微观分析提供方向性参考;另外,根据红外谱图提供的化学成分差异信息,可以及时指导中药提取分离工艺的改进。

参 考 文 献

- [1] LI Chun-hua(李春华). World Science and Technology(Modernization of Traditional Chinese Medicine)(世界科学技术-中药现代化), 2001, 3(2): 34.
- [2] Zhou Q, Sun S Q, Zuo L. Vibrational Spectrosc., 2004, 36: 207.
- [3] PENG Yong, SUN Su-qin, ZHAO Zhong-zhen, et al(彭勇, 孙素琴, 赵中振, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(6): 679.
- [4] Yu L, Sun S Q, Fan K F, et al. Spectrochim. Acta A; Mol. Biomol. Spectrosc., 2005, 62(1-3): 22.
- [5] Liu H X, Sun S Q, Lü G H, et al. Vibrational Spectrosc., 2006, 40: 202.
- [6] Liu H X, Sun S Q, Lü G H, et al. Spectrochim. Acta A; Mol. Biomol. Spectrosc., 2006, 64(2): 321.
- [7] The Pharmacopoeia Committee of People's Republic of China(国家药典委员会编). Chinese Pharmacopoeia Vol. I(中国药典, 一部), 2005. 213.
- [8] Chuang W C, Young D Y, Liu KAO K L L, et al. J. Chromat., 1996, 755: 19.
- [9] Sun S W, Tseng H M. J. Pharm. Biomed. Anal., 2005, 37: 39.
- [10] LIAO Qing-wen, FAN Dong-li, XIAO Xiao-he(廖庆文, 樊冬丽, 肖小河). China Journal of Chinese Materia Medica(中国中药杂志), 2007, 32(3): 210.
- [11] YING Yi, HE Zhi-hong, ZHOU Shi-wen, et al(应懿, 何志红, 周世文, 等). Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae(第三军医大学学报), 2007, 29(9): 843.
- [12] LIU Yu-hong, LIU Yu-guo(刘玉红, 刘玉国). Chinese Journal of Modern Appl. Pharmacy(中国现代应用药理学), 2007, 24(2): 140.

Study on Traditional Chinese Medicine Extracts of *Rhizoma Coptidis* by FTIR Spectroscopy

WU Yan-wen¹, XIAO Xiao-he², SUN Su-qin³, LIU Hong-xia³

1. Beijing Center for Physical and Chemical Analysis, Beijing 100089, China

2. PLA Institute of Chinese Materia Medica, 302 Military Hospital of China, Beijing 100039, China

3. Key Laboratory of Bioorganic Phosphorus Chemistry & Chemical Biology (Ministry of Education), Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China

Abstract In the present paper, we applied Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and second derivative infrared spectroscopy to establish a rapid and efficient analytical method for a preliminary quality control of medicinal herb extracts. The commonly used Chinese herb medicine, *Rhizoma coptidis*, was taken as an example. The main component-berberine in *rhizoma coptidis* was analyzed as target compound. The results indicated that the IR spectra of *rhizoma coptidis* herb, its water and alcohol extracts, exhibit their macroscopic fingerprint characters with fine repeatability, and the corresponding secondary derivative spectra further confirmed the spectral characteristics of the original IR spectra by enhancing spectral resolution. The typical and strongest absorption band of IR spectrum of berberine is at $1\ 505\ \text{cm}^{-1}$, which is assigned to aromatic skeleton vibration band, and its intensities in spectra of *rhizoma coptidis* herb and its different extracts become the main identification standard of the contents of berberine in those samples. In addition, comparing the IR spectra of the medicinal herb and its extracts, it was shown that the main bioactive components, alkaloids in *rhizoma coptidis* herb, are enriched by extraction, and the contents of berberine in alcohol extracts of *rhizoma coptidis* are higher than those in water extracts. The spectroscopic technique described is a simple and rapid analytical technique, which could provide valuable information about chemical constituents of medicinal extracts for guiding further chromatographic analysis and separation improvement.

Keywords Medicinal extracts; Quality control; FTIR; *Rhizoma coptidis*; Berberine

(Received Sep. 28, 2007; accepted Dec. 29, 2007)