

肉苁蓉醇提物的傅里叶变换红外光谱三级鉴定

张声俊¹, 许长华², 陈建波², 周群², 孙素琴^{2*}

1. 安顺学院化学与生物农学系, 贵州 安顺 561000

2. 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 采用傅里叶变换红外光谱结合二阶导数谱和二维相关红外光谱的三级鉴定技术对肉苁蓉的不同浓度醇提物药液和相应的药渣由表及里地进行了分析与评价研究。结果表明, 用乙醇提取肉苁蓉活性成分的加工过程使苯乙醇苷类等活性物质在红外光谱上得以明显体现, 并发现 70% 乙醇提取物中苯乙醇苷类等物质均高于其他浓度提取物。该技术从整体上揭示了乙醇萃取肉苁蓉活性物质的规律, 验证了传统醇提法的合理性。它不仅可用于跟踪肉苁蓉醇提取过程和药液药渣的成分分析, 分辨不同浓度提取液和药渣成分的细微差别, 还可以将不同浓度提取液和药渣成分相结合, 提供肉苁蓉药材的整体信息, 为更深入的肉苁蓉的成分分析和药效研究提供宏观整体上的指导。

关键词 红外光谱; 二维相关红外光谱; 肉苁蓉; 醇提物; 鉴别

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2011)11-2923-05

引言

肉苁蓉(*Cistanche deserticola* Y. C. Ma)为列当科多年生寄生性草本植物, 其干燥带鳞片的肉质茎为我国传统名贵中药材, 有补肾壮阳、益精血、润肠通便等功效。肉苁蓉具有多种活性成分, 主要为苯乙醇苷类、环烯醚萜类、木质素类、多糖类、脂类等挥发性成分以及游离氨基酸等^[1]。虽然肉苁蓉已有大量的相关研究, 但采用红外光谱法对不同浓度乙醇肉苁蓉提取药液的化学成分分析较为少见, 针对肉苁蓉对应药渣的红外光谱分析更未见报道。

傅里叶变换红外光谱法(FTIR)具有宏观整体鉴定复杂体系的优点及无损快速等特点, 在各个学科领域发挥了重大作用, 如食品药品真伪优劣的快速鉴别、药材及其他物质不同部位的成分分析研究等^[2-5]。近年来, 二维红外相关光谱技术(2D-IR)的发展大幅度增强了红外光谱的分辨率以及谱图的识别能力^[6-9]。本研究采用红外光谱法与二维相关光谱相结合的分析技术, 研究肉苁蓉不同浓度乙醇对肉苁蓉常温浸泡, 提取原药材药液和药渣分析不同化学成分差异, 探索一种快速全面评价药材质量新的方法和手段, 为肉苁蓉的合理开发利用提供理论上的指导。

1 实验部分

1.1 仪器设备

Spectrum GX FTIR 光谱仪(PerkinElmer, Inc.), DTGS 检测器, 光谱分辨率 4 cm^{-1} , 测量范围 $4\ 000\sim 400\text{ cm}^{-1}$, 扫描累加 32 次; 二维相关光谱所采用的变温附件为 Love Control 公司的 Portable Controller 可编程控制单元(50-886 型), 控温范围 $50\sim 120\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

1.2 样品来源与制备

肉苁蓉样品取自宁夏永宁本草苁蓉种植基地和新疆于田, 由药用植物研究所陈君研究员提供并依照 2005 年版中国药典进行鉴定, 为秋天采挖的未出土肉苁蓉。取新鲜肉苁蓉肉和茎各 50 g, 分别放置在 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 乙醇溶液中浸泡 365 d。分别取浸泡后肉苁蓉药液 60 mL, 于不锈钢电热板上 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 挥干溶剂。分别取肉苁蓉药渣 15 g 干燥后粉碎, 并过 200 目孔径筛。药液与药渣各取 1 g 制备得到不同浓度溶剂萃取的醇提物和药渣肉苁蓉样品。

1.3 实验过程与数据处理

采用 KBr 压片法制样, 获得各种原药材药液与原药材药渣在室温下的红外光谱图; 用 Perkin Elmer 公司的 Spectrum

收稿日期: 2011-07-06, 修订日期: 2011-09-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(21075076)资助

作者简介: 张声俊, 1956 年生, 安顺学院化学与生物农学系副教授

* 通讯联系人 e-mail: sunsq@tsinghua.edu.cn

v3.02 操作软件获得二阶导数图谱。另将所压样品装入变温附件, 温度程控范围 50~120 °C, 温度从 50 °C 逐步升高, 每升温 10 °C 采集一次红外光谱, 经二维相关分析软件处理采集的系列光谱——变温动态谱, 即获得二维红外相关光谱。

2 结果与讨论

2.1 肉苁蓉药材不同浓度醇提物药液与药渣的分析与比较

2.1.1 红外光谱分析

肉苁蓉药材醇提物采用乙醇提取富集了药材中的有效成分, 除去了一些中药材中所共有成分, 因此与原药材相比, 醇提物中相应的化学成分特征变得突出, 从而使得有效成分的红外光谱特征吸收更加明显, 适合采用红外光谱对其进行的分析。本研究对肉苁蓉药材采用不同浓度的乙醇进行梯度浸泡提取, 随后醇提物药液和提取后残留的药渣进行了红外光谱图分析, 结果如图 1 和图 2 所示。

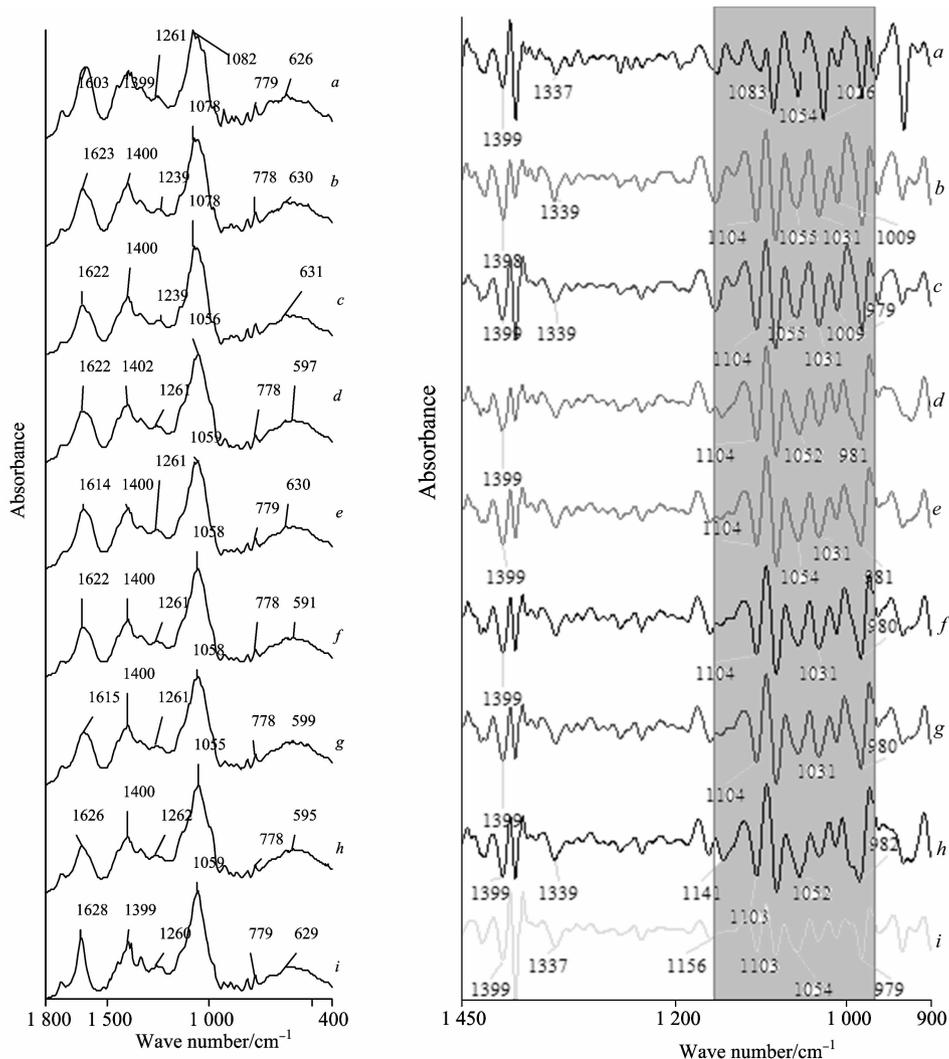


Fig. 1 IR spectra and the second derivative spectra of different concentrations of alcoholic extracts from of *cistanche deserticola*
a:10%; b:20%; c:30%; d:40%; e:50%; f:60%; g:70%; h:80%; i:90%

肉苁蓉不同浓度的醇提物药液和其对应的药渣在红外光谱图的整体形状上比较相似, 但仔细观察可以看出提取物与其对应药渣在 1 400 cm^{-1} 附近偏离了约 20 cm^{-1} (90%乙醇提取药渣除外)。根据文献^[3-8]对主要红外吸收峰进行指认和归属: 1 400 和 1 262 cm^{-1} 附近的 C—H 的弯曲振动, 说明肉苁蓉的化合物成分含有较多饱和烷基; 1 731 cm^{-1} 附近是羧酸类或酯类物质中 C=O 的伸缩振动峰; 1 620 cm^{-1} 附近的吸收峰主要归属于蛋白质的酰胺 I 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, 与肉

苁蓉中苯乙醇苷类、生物碱、黄酮类、环烯醚萜类等物质的结构吻合; 1 244 cm^{-1} 附近处为糖类、糖苷、脂类中 C—C 骨架、C—O—C 及 P=O 的伸缩振动峰; 最强峰是 1 050 cm^{-1} 附近多个峰重叠而成的宽峰, 归属为多糖、苷类物质中 C—OH 弯曲振动。

红外光谱综合反映出肉苁蓉化学成分具有多样性和复杂性。其吸收峰的峰形、峰高和峰强度均有细微的差异, 说明用不同浓度的醇提物糖类和糖苷类等物质的含量不相同, 药渣中都有大量的纤维素。需要特别指出的是, 肉苁蓉醇提

物的最高峰位于 $1\ 059\ \text{cm}^{-1}$ 处, 不同浓度的醇提取物均在 $1\ 620$, $1\ 400$ 和 $1\ 058\ \text{cm}^{-1}$ 附近有吸收峰存在, 且这几个吸收峰的相对强度大致相同, 因此可以说明其中含有均一定量的苯乙醇苷类物质^[10]。该结果表明肉苁蓉醇提取物中的苯乙

醇苷类物质含量较高, 从另一个角度佐证了传统醇提法的合理性。但是只凭红外光谱图的信息, 其含量变化的具体规律难以说明清楚, 为此对以上的原始图谱进行二阶导数分析。

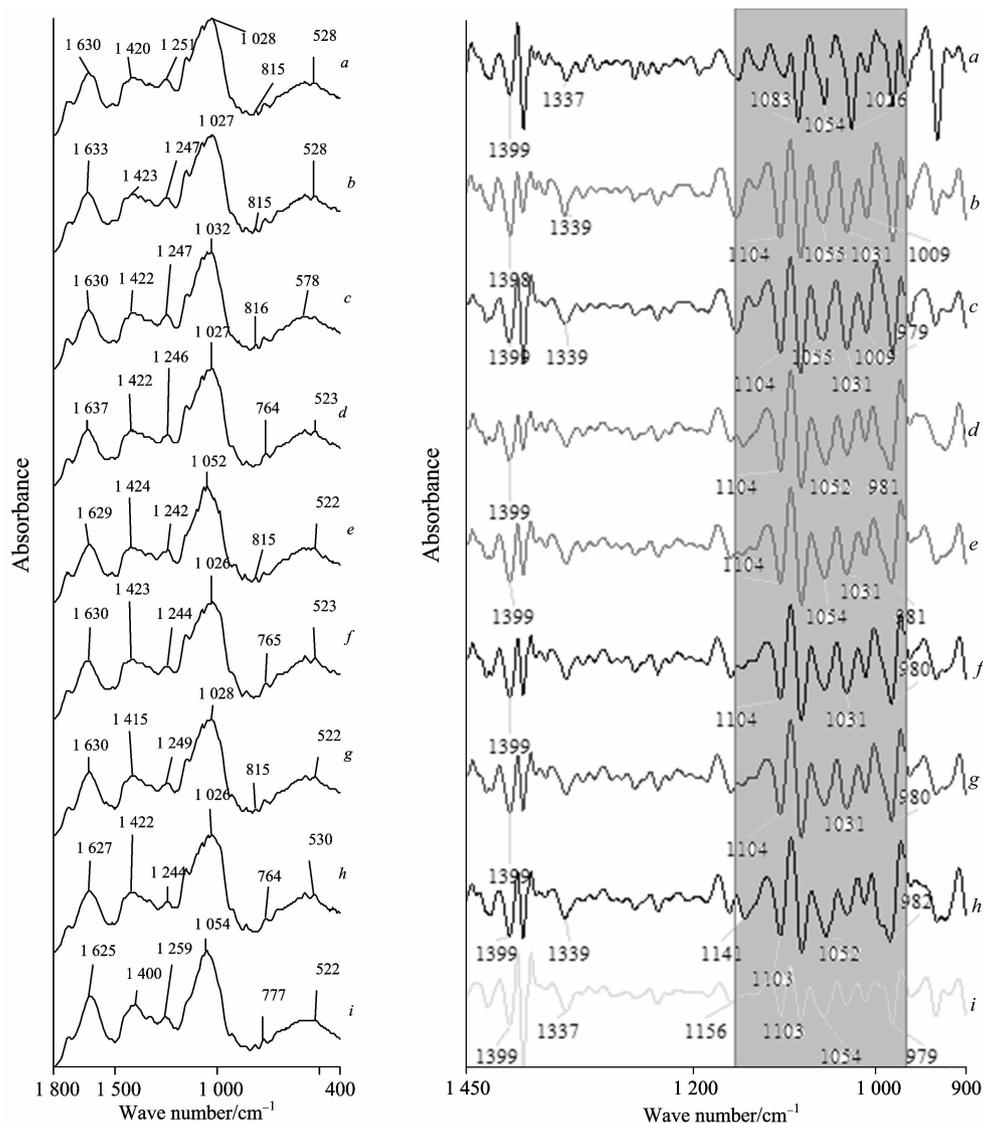


Fig. 2 IR spectra and the second derivative spectra of the residues corresponding to different concentrations of alcoholic extracts from of *cistanche deserticola*

a:10%; b:20%; c:30%; d:40%; e:50%; f:60%; g:70%; h:80%; i:90%

2.1.2 二阶导数红外光谱分析

中药材及其提取物中所含成分较多, 因此其红外光谱上吸收峰重叠往往很严重, 很多特征峰被掩盖(如图 1 中 $1\ 059\ \text{cm}^{-1}$ 处的宽峰), 导致谱图间差异不明显。使用二阶导数红外光谱, 可以对原光谱上的重叠峰进行分辨, 增强光谱的表观分辨率, 使一些原始谱图中不明显的特征峰也显现出来。从而找出特定的化合物特征峰, 或者提高谱图的指纹特征性。如图 1 和图 2 中二阶导数谱所示, 不同浓度肉苁蓉醇提取物药液及其对应药渣的谱峰特征均明显增多, 差异变得明显。

红外光谱中差异不显著的如 $1\ 059\ \text{cm}^{-1}$ 附近区域也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。不同浓度醇提取物药渣在 $1\ 162$ 和 $1\ 078\ \text{cm}^{-1}$ 处的峰均明显高于药液, 且 $982\ \text{cm}^{-1}$ 附近代表糖环的峰, 其强度药液也低于药渣, 说明药液的纤维素成分较少, 而可溶性的多糖和糖苷类含量较高。

虽然二阶导数谱不能对混合物中某个物质进行定量分析, 但多个峰相对强度的变化也能够体现苷类物质在醇提过程中的分布情况, 说明肉苁蓉醇提取物药液中苯乙醇苷类物质明显高于肉苁蓉药渣。通过比较药液和药渣谱图中 $1\ 399$ 和

1 620 cm^{-1} 附近的吸收峰可知,随着提取液的醇浓度增加到 70%,苯乙醇苷类物质到最高,之后其含量开始下降。

此外,肉苁蓉的二阶导数谱显示出了更多的谱峰信息,表明肉苁蓉醇提物中药液的小分子物质组成较药渣的更为丰富,而药渣中则多为纤维素等类大分子物质。将药液与药渣的谱图相结合,可以得到关于肉苁蓉药材组成的丰富信息。

2.1.3 二维相关红外光谱分析

由于浓度为 70%和 80%的这两个关键性的乙醇提物药

液在二阶导数谱上还是非常的相似,为了确认以上的研究和结论,进一步分析了二者的二维相关红外光谱指纹特征。二维相关红外分析利用在外界微扰下,体系中各组分有关基团分子振动行为相对于微扰所产生的差异,进一步提高图谱的表观分辨率,从而获得红外光谱及二阶导数谱上得不到的信息^[11-13]。实验中以温度的变化作为微扰,选取 1 300~1 800 cm^{-1} 波段对浓度为 70%和 80%的乙醇提取物药液进行了二维同步相关红外分析比较,如图 3 所示。

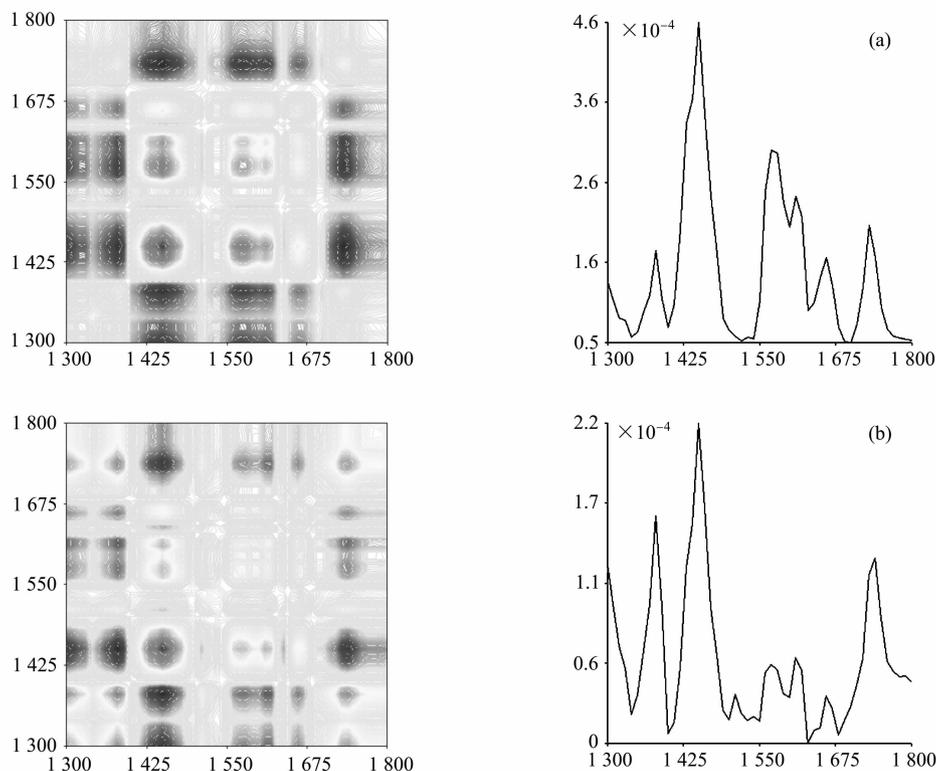


Fig. 3 2D synchronous correlation IR spectra of 70% (a) and 80% (b) of alcoholic extracts from of *cistanche deserticola* at 1 300~1 800 cm^{-1}

在 1 300~1 800 cm^{-1} 范围内,二者的二维同步谱有一定的相似性,与前面的红外光谱和二阶导数的谱图分析结果吻合,但是自相关峰的强度不同。浓度 70%提取药液位于 1 660, 1 610 和 1 570 cm^{-1} 处的自动峰明显高于 80%的(与最强峰 1 450 cm^{-1} 相比较),非常直观地反映出了二者的差异。1 660 和 1 570 cm^{-1} 附近是蛋白质的酰胺 I 带和 II 带的特征峰以及 1 600~1 450 cm^{-1} 范围内的出现苯环骨架的伸缩振动峰,说明了 70%的醇提物药液的芳香类化合物如苯乙醇苷类和氨基酸等含量较多。因此,二维相关谱进一步验证了 70%的醇提物的苯乙醇苷类等物质的含量最高。

以上研究表明,用采用不同浓度的乙醇提取肉苁蓉活性成分,可以得到如苯乙醇苷类等活性物质的红外光谱特征信息,进一步佐证了传统醇提法的合理性。红外光谱结合二阶导数谱和二维相关红外光谱的三级鉴定法从整体上揭示了不同浓度乙醇提取肉苁蓉活性物质的规律,70%的醇提物中,苯乙醇苷类物质的含量最高。该法不仅可以用于跟踪肉苁蓉醇提过程和药液药渣的成分分析,分辨不同浓度提取液和药渣成分的细微差别,还可以将不同浓度提取液和药渣成分相结合,提供肉苁蓉药材的整体信息,为今后肉苁蓉物质成分的更深入的分析 and 药效研究提供宏观整体上的指导。

References

- [1] ZHANG Hong-lei, DU Nian-sheng(张红雷,堵年生). Chinese Traditional Patent Medicine(中成药), 2003, 25(4): 323.
- [2] WANG Li-nan, CHEN Jun, YANG Mei-hua(王丽楠,陈君,杨美华). China Pharmacy(中国药房), 2007, 18(21): 1620.

- [3] SUN Su-qin, DU De-guo, LIANG Xi-yun, et al(孙素琴, 杜德国, 梁曦云, 等). Chinese J. Anal. Chem. (分析化学), 2001, 29(3): 309.
- [4] SUN Su-qin, LIANG Xi-yun, YANG Xian-rong(孙素琴, 梁曦云, 杨显荣). Chinese J. Anal. Chem. (分析化学), 2001, 29(5): 552.
- [5] LI Zhan-long, ZHOU Mi, ZUO Jian(李占龙, 周密, 左剑). Chinese J. Anal. Chem. (分析化学), 2007, 35(11): 1636.
- [6] SUN Su-qin, LIU Jun, ZHOU Qun(孙素琴, 刘军, 周群). Chinese J. Anal. Chem. (分析化学), 2002, 30(2): 140.
- [7] Hua R, Sun S Q, Zhou Q, et al. J. Pharm. Biomed. Anal. 2003, 33: 199.
- [8] ZHOU Qun, LI Jing, LIU Jun(周群, 李静, 刘军). Chinese J. Anal. Chem. (分析化学), 2003, 31(9): 1058.
- [9] SUN Su-qin, ZHOU Qun, QIN Zhu(孙素琴, 周群, 秦竹). Atlas of Two-Dimensional Correlation Infrared Spectroscopy for Traditional Chinese Medicine Identification(中药二维相关红外光谱鉴定图集). Beijing: Chemical Industry Press(北京: 化学工业出版社), 2003. 1.
- [10] LIU You-gang, WANG Wei, XU Rong, et al(刘友刚, 王威, 徐荣, 等). Chinese Journal of Hospital Pharmacy(中国医院药学杂志), 2010, 30(15): 1257.
- [11] Zhou Q, Sun SQ, Yu L, et al. Journal of Molecular Structure, 2006, 799(1-3): 77.
- [12] Xu C H, Sun S Q, Guo C Q, et al. Vibrational Spectroscopy, 2006, 41(1): 118.
- [13] SUN Su-qin, ZHOU Qun, CHEN Jian-bo(孙素琴, 周群, 陈建波). Analysis of Traditional Chinese Medicine by Infrared Spectroscopy (中药红外光谱分析与鉴定). Beijing: Chemical Industry Press(北京: 化学工业出版社), 2010.

Analysis of Alcoholic Extracts of *Cistanche Deserticola* by Tri-Step Identification of Fourier Transform Infrared Spectroscopy

ZHANG Sheng-jun¹, XU Chang-hua², CHEN Jian-bo², ZHOU Qun², SUN Su-qin^{2*}

1. Department of Chemical and Biological Agriculture, Anshun University, Guizhou, 561000, China

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

Abstract Tri-step identification of Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) integrated with second derivative spectroscopy and two dimensional correlation infrared spectroscopy (2D-IR) were applied to analyze and evaluate the alcoholic extracts and corresponding residues of *cistanche deserticola* from the surface to what lies behind. It was found that active compounds including phenylethanoid glycosides were enriched effectively after alcoholic extraction and the extract by using 70% of alcohol had the highest concentration compared to the others. The technique of the tri-step identification holistically disclosed the profile of active compounds in *cistanche deserticola* extracted by a series of concentrations of ethanol and validated the rationality of the traditional alcoholic extraction method. It not only could be used in monitoring the process of the alcoholic extraction and the compositions of the extracts and residues, discriminating micro-differences among them, but also could provide a macroscopic guidance for medicinal and pharmacological studies.

Keywords Fourier transform infrared spectroscopy; Two dimensional correlation infrared spectroscopy; *Cistanche deserticola*; Alcoholic extract; Identification

(Received Jul. 6, 2011; accepted Sep. 20, 2011)

* Corresponding author