

° 药材 °

近红外漫反射光谱法在羊蹄类生药分类中的应用

刘荔荔,原 源,陈万生,张汉明,吴玉田
(上海第二军医大学药学院,上海 200433)

摘要:目的 用近红外漫反射光谱法对部分羊蹄类生药进行鉴别,为生药鉴定提供一种新的方法和手段。方法 采用聚类分析和判别分析方法进行定性鉴别。结果 可以有效地对部分羊蹄类生药进行鉴别,所得分类结果与传统植物分类学结果基本一致。结论 本方法可用于羊蹄类生药的快速准确鉴别。
关键词: 近红外漫反射光谱;聚类分析;判别分析;羊蹄
中图分类号: R282.740.3 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2001)11-1024-03

Identification of Yangti (crispatе rhubarb) by near-infrared diffuse reflectance spectroscopy

LIU Li-li, YUAN Yuan, CHEN Wan-sheng, ZHANG Han-ming, WU Yu-tian
(College of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

Abstract Object To establish a new method for the identification of Yangti (Chinese herb from *Rumex* L., Polygonaceae) by near-infrared diffuse reflectance spectrometry. **Methods** Cluster analysis and discriminative analysis were adopted for their identification. **Results** The method can identify crude Yangti to a certain degree with results coincident with that of the traditional phytotoxonomy. **Conclusion** This method can be used for the rapid and accurate differentiation of crude drug of *Rumex* L..

Key words near-infrared diffuse reflectance spectroscopy; cluster analysis; discriminative analysis; Yangti (crispatе rhubarb; Chinese herb from *Rumex* L., Polygonaceae)

羊蹄为民间常用草药,来源于蓼科酸模属多种植物的根。其中羊蹄 *Rumex japonicus* Houtt.、巴天酸模 *R. patientia* L.、红丝酸模 *R. chalepensis* Mill. (金不换)、齿果酸模 *R. dentatus* L.都作为“羊蹄”在各地使用,称为“羊蹄类生药”。有清热解毒、止血凉血、通便利尿、消痈肿、杀虫之功效。临床主要用于治疗各种出血症、炎症及真菌性皮肤病等^[1,2]。由于该植物基源较多,使临床用药因品种混淆而致质量和疗效不稳定。有必要建立一种快速、简便的药材鉴别分类方法。

本实验采用近红外漫反射光谱 (Near-infrared diffuse reflectance spectroscopy, NIRDRS)结合聚类分析法和判别分析法对蓼科酸模属的 5种药用植物及 3个产地的羊蹄进行鉴别研究,结果与形态分析基本一致。

1 仪器和材料

VECTOR22/N 型傅立叶变换近红外光谱仪

(德国 Bruker公司)。

生药样品巴天酸模、羊蹄、红丝酸模、齿果酸模和酸模(每个种或产地的多个样品,来源于同一产地的不同采集区域)。各实验样本品种、产地编号见表 1。

表 1 生药样品

编号	样品名称	来 源	采集时间	聚类图编号	散点图编号
1	巴天酸模	吉林长春	1999-08	1-1~ 1-4	1~ 4
2	酸模	上海佘山	1999-10	2-1~ 2-7	5~ 11
3	齿果酸模	上海佘山	1999-10	3-1~ 3-7	12~ 18
4	羊蹄	本院药圃	1999-09	4-1~ 4-5	19~ 23
5	羊蹄	江苏南京	1999-06	5-1~ 5-5	24~ 28
6	羊蹄	上海佘山	1999-10	6-1~ 6-4	29~ 32
7	红丝酸模	本院药圃	1999-09	7-1~ 7-5	33~ 37

2 实验条件与方法

测定方式:积分球漫反射;扫描次数:64次;扫描范围:3 700~12 000 cm⁻¹;分辨率:4 cm⁻¹。

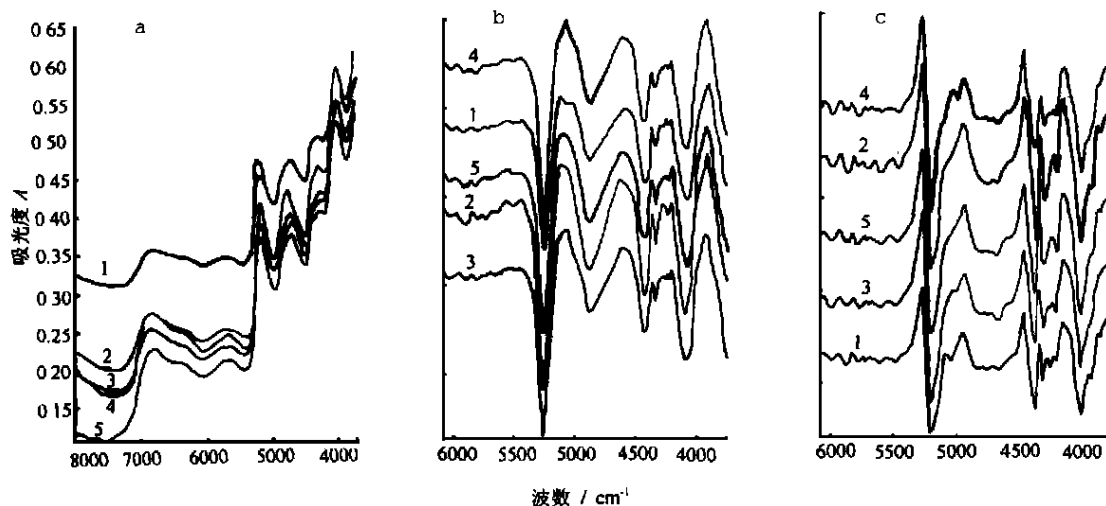
药材经 60℃烘干 12 h,机器粉碎,过 80 目筛,取约 2 g 置测量杯中,以金箔为参比,按实验条件进行扫描,每个样品重复 5 次,求平均光谱。

收稿日期: 2001-03-02
基金项目: 上海市科学技术发展基金项目 (No. 98441906)
作者简介: 刘荔荔 (1959-),女,山东沂水人,副教授,博士。1983年毕业于山东大学化学系分析化学专业,同年分配到第二军医大学药学院药物分析教研室从事分析化学、药物分析教学与科研工作。研究方向:复杂体系的分离分析工作。Tel: (021) 25070350 E-mail: Li-ullk@Online.sh.cn

3 结果

3.1 不同种羊蹄药材的 NIRDRS 羊蹄与种内其

它 4 种药材的 NIRDRS 原谱、一、二阶导数光谱见图 1



a 原谱 b 一阶导数光谱 c 二阶导数光谱
1 酸模 2 羊蹄 3 红丝酸模 4 巴天酸模 5 齿果酸模

图 1 不同种羊蹄药材的 NIRDRS 图

3.2 不同种羊蹄药材的聚类分析: 将采自南京、佘山、本院药圃的多棵羊蹄与采自长春(巴天酸模)、佘山(酸模、齿果酸模)、本院药圃(红丝酸模)的多棵属内植物聚类, 结果见图 2



图 2 样品的聚类分析图

3.3 不同种羊蹄药材的判别分析: 将酸模属内不同产地多棵药材的 NIRDRS 用因子分析法处理, 提出的带规律性的特征信息用特征向量投影法进行分类鉴别^[3], 二维平面上的非线性映射图见图 3

4 讨论

近红外光谱 (NIRS) 其波长范围为 $0.75 \sim 2.5 \mu\text{m}$ (波数范围为 $13\,330 \sim 4\,000 \text{ cm}^{-1}$)。该谱区主要是含氢基团 (C-H N-H O-H) 的倍频与合频吸收。虽然信息量比紫外-可见光谱大, 但吸收强度弱、谱带宽、重叠严重、解析较难等, 随着计算机和化学计量学的发展, 该谱区得以广泛应用。NIRS 吸收弱的特点

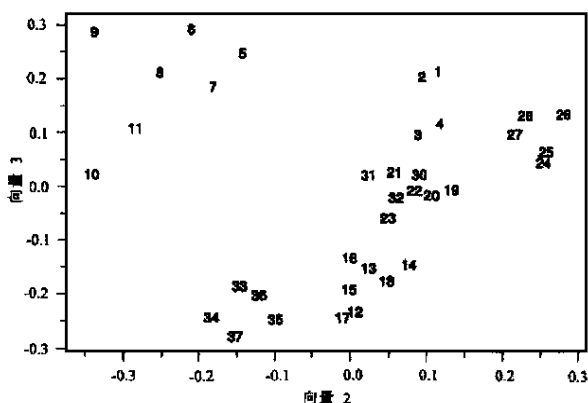


图 3 不同种羊蹄生药在二维平面上的非线性映射图

也给分析带来了方便, 即样品不需稀释等预处理, 可直接进行分析; 而漫反射技术可直接测定固体样品, 无需破坏样品及制样, 操作简便、快速, 是一种理想的质量控制和质量保证的方法^[4]。NIRS 法用于中药的鉴别与传统的中药感官鉴别相比, 可以排除人为主观因素的影响, 使中药鉴定更为快捷、且具科学性。

蓼科酸模属的化学成分比较复杂, 主要是一些蒽醌类化合物^[5], 这些化合物中都有能引起 NIR 吸收的 C-H O-H 和 N-H 键, 由于种属的不同及自然条件的影响, 不同种和产地的样品中化学成分存在差异, 因而其 NIR 光谱也不尽相同, 这种差异性使得将 NIRS 技术应用于其分类成为可能。另一方面, 由于植物类中药具有许多相同组成 (淀粉、纤维素、多糖等), 这些相同成分的吸收峰往往掩盖了代表特

征信息成分的吸收峰,使得其 NIRS图非常相似,从图 1可以看出,各样品特征信息隐藏于光谱中,不能简单以峰位、峰形鉴别法进行分类,必须经过数学处理,提取到特征信息进行分类鉴别。

图 2树状聚类图表明,一个产地的多棵同种药材均先自聚一类,说明 NIRDRS中带有地域性特征,然后再与距离相近的异种生药聚类。3个不同产地的羊蹄最先与巴天酸模归为一类。其中巴天酸模较南京羊蹄更为接近另两个产地的羊蹄,除说明了生长环境对植物的 NIRS有一定的影响外,也从光谱分析的方面说明了巴天酸模与羊蹄化学成分相似、亲缘关系相近,民间把二者混用不无道理。齿果酸模、红丝酸模、酸模与羊蹄的相似程度依次递减并自成一类,说明了不同种间的差异还是很明显的。但 4种羊蹄类生药具有更大的相似性;非线性映射图上的分布情况与聚类结果一致。

通过聚类与判别分析可以看出,聚类分析能够通过距离的大小,准确地把同一产地的样品自聚一类,再与同种生药聚类,最后与不同种生药相聚;而

判别分析更直观,可直接从映射图中看出各不同种生药经过数学处理后,反映在特征向量上的差异。两种方法所得结果与植物分类学上的分类一致。

综上所述,我们采用 NIRDRS技术在酸模属植物分类中的应用进行了尝试,通过非入侵方式获得植物内在成分信息,应用聚类分析法和判别分析法进行分类,结果准确可信。表明本方法适用于酸模属植物的分类,能快速准确地鉴别羊蹄类生药。也显示了将 NIRS技术应用于植物类中药鉴别分析及产地判别的良好前景。

参考文献:

- [1] 朱有昌. 东北药用植物 [M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1989.
- [2] 谢宗万. 全国中草药汇编 [M]. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 1996.
- [3] 刘国林, 蔡金娜, 李伟, 等. 近红外光谱技术在中药蛇床子分类中的应用 [J]. 计算机与应用化学, 2000, 17(2): 109-110.
- [4] 吴拥军, 李伟, 相秉仁, 等. 光纤近红外漫反射光谱技术在前胡植物分类中的应用探讨 [J]. 计算机与应用化学, 2000, 17(2): 111-112.
- [5] 何丽一, 陈碧珠, 肖培根. 酸模属中草药的调查鉴定与成分分析 [J]. 药学报, 1981, 16(4): 289-293.

基因测序技术在中药质量研究中的应用 (II) —— 山药基原的 DNA测序鉴别

刘玉萍¹, 何报作², 曹晖¹

(1. 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700; 2. 广西中医学院药学系, 广西南宁 530001)

摘要: 目的 分析正品山药 *Dioscorea polystachya* Turcz. 与地方习用品广山药 *D. persimilis* Prain et Burkill 土山药 *D. japonica* Thunb. 和方山药 *D. alata* L. 的核基因组 18S rRNA 基因序列, 为山药基原鉴别及品质评价提供分子依据。方法 采用 PCR直接测序技术测定山药及其地方习用品的 18S rRNA 基因核苷酸序列并作序列同源性分析。结果 山药、广山药和土山药的 18S rRNA 序列长度均为 1 810 bp, 而方山药为 1 807 bp。根据排序比较, 广山药与正品山药的 18S rRNA 序列完全相同, 而与土山药和方山药的序列同源性分别为 99.89% 和 97.5%。结论 DNA测序技术可成为山药基原鉴定准确而有效的分子方法。

关键词: 山药; 18S rRNA 基因; DNA测序; 基原鉴别

中图分类号: R282.71 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2001)11-1026-05

Application of gene technology in quality control of Chinese materia medica II . Identification of Chinese *Rhizoma Dioscoreae* by DNA sequencing

LIU Yu-ping¹, HE Bao-zuo², CAO Hui¹

(1. Institute of Chinese Materia Medica, Chinese Academy of TCM, Beijing 100700, China; 2. Department of Pharmacy, Guangxi College of TCM, Nanning Guangxi 530001, China)

Abstract Object To distinguish the genuine *Dioscorea polystachya* Turcz. from other species of *Dioscorea* L. such as *D. persimilis* Prain et Burkill, *D. japonica* Thunb., and *D. alata* L., conventionally

收稿日期: 2001-04-09

作者简介: 刘玉萍 (1963-), 女, 山西长治人, 副研究员, 药学博士。1983年毕业于北京中医药大学中药系, 1987~1995年先后在日本国立富山医科药科大学获得药理学硕士、药学博士及博士后, 1995年回国在中国中医研究院中药研究所生药室工作, 从事中药质量分析及分子鉴定研究开发。Tel: 010-64014411 转 2952 Fax: 010-64013996