

核磁共振氢谱法鉴别黄连的研究[△]

河南省科学院化学研究所 (郑州 450002) 秦海林* 尚玉俊 赵 伟 赵天增

摘 要 用 FT-NMR波谱仪测定了 6个不同产地黄连特征总提物的¹HNM R图谱,并对特征信号进行了归属。从特征总提物中分得并鉴定了小檗碱和棕榈碱。分析结果指出,每种黄连的¹HNM R图谱都显示出原小檗碱型生物碱的特征共振峰。黄连伪品无此信号。

关键词 ¹HNM R指纹图 鉴别 黄连

Identification of Chinese Goldthread (*Coptis chinensis*) by ¹HNMR

Institute of Chemistry, Henan Academy of Sciences (Zhengzhou 450002) Qin Hailin, Shang Yujun, Zhao Wei and Zhao Tianzeng

Abstract The ¹HNM R fingerprints of the general characteristic extracts (GCEs) of rhizoma of *Coptis chinensis* Franch. from six different localities were determined on FT-NM R spectrometer. The characteristic signals were analyzed and assigned on the basis of the constituents of the GCEs. Six samples of *C. Chinensis* showed clearly the characteristic resonance peaks of the alkaloids of protoberberine type, which could be used for the identification of *C. chinensis*. The faked products were devoid of such characteristics.

Key words ¹HNM R fingerprints identification *Coptis chinensis* Franch.

黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch.的根茎,习称“味连”,具有清热燥湿、清心除烦、泻火解毒的功效^[1]。由于生长的周期较长,价格较高,市场上常见到以单叶升麻 *Beesia calthaefolia* (Maxim.) Ulbr.根茎和酸模 *Rumex acetosa* L.的根伪充黄连使用。传统上,采用其形态学和组织学特征鉴别其品种。近年来,有研究报道^[2]黄连甲醇提取液的薄层色谱对其品种有鉴别意义。我们采用 FT-NMR波谱仪测定了 6个不同产地黄连和黄连的一种伪品特征总提物的¹HNM R图谱,并从黄连特征总提物中分得鉴定了小檗碱 (berberine)和棕榈碱 (palmating),得到了能用于黄连真伪鉴别的特征¹HNM R共振峰。本法可用于黄连的真伪鉴别,方法简便,结果可靠。

1 材料与方法

1.1 ¹HNM R指纹法鉴别植物中药的原理设计:
¹HNM R指纹法是一种鉴定植物类中药的新方法^[3]。我们在查阅大量国内外文献,全面了解我国植物类中药鉴定的重要性、方法和现状的基础上,提出并初步建立了¹HNM R指纹法鉴定植物类中药的理论和方法。目前,通过对 25类不同科属 36种植物类中药的 152个不同来源样品及部分中药伪品的考

察,实验结果充分证实了该理论的正确。本项工作正在深入进行,可以预言,随着研究工作的深入开展,必将在中药鉴定学、生药学领域产生深远的影响。

¹HNM R指纹法鉴定植物类中药是根据对鉴定方法的要求,¹HNM R图谱的特点和两个假设建立起来的。对鉴定方法的要求是可靠、灵敏、简便、价廉。¹HNM R图谱具有单一性,即氢谱的谱峰与每一个氢都是严格的对应关系;全面性,即所测样品中的任一质子都有其相关的谱峰;定量性,即谱图中信号的相对强弱反映混合物中各组分的相对含量;易辨性,即通过化合物的结构研究可归属指纹图中的各个信号。假设以一定的程序可获取植物类中药的特征性化学成分 (或化学成分组)的总提取物,这些特征的化学成分的含量是相对固定的。

用¹HNM R指纹法鉴别植物类中药可满足上述要求,因此,在规范的提取分离程序下,植物类中药的¹HNM R指纹图与植物品种间存在严格的对应关系,没有混淆的余地。

以植物中药的化学成分为指征,用植物化学的研究方法对其进行品种鉴别和品质评价的研究主要涉及需要解决两个关键问题,一是植物中药代表性化学成分的选定,二是植物中药代表性化学成分的

* Address: Qin Hailin, Institute of Chemistry, Henan Academy of Sciences, Zhengzhou

秦海林 男,理学博士,助理研究员,从事植物化学研究和核磁共振波谱解析。现为中国药科大学生药学研究室博士后。现址:中国药科大学生药学研究室,南京 210038

[△]国家自然科学基金资助项目 No. 29572040

表征¹HNMR指纹法鉴定植物类中药的理论要点正是为解决上述两个关键问题而建立起来的。通过选择适当的提取分离程序,获取植物中药代表性化学成分总提取物是该理论的核心。我们将这种总提取物称为植物中药特征总提取物(The General Characteristic Extracts of the Traditional Chinese Herbal Medicines, or GCEs of TCHMs)。植物中药特征总提物的化学成分可用多种检测手段予以表征,而其¹HNMR图谱不仅有高度的重现性和特征性,更主要是其同时具有上述4个特点,非常适用于植物中药的品种鉴别和植物的化学分类研究,我们将这种图谱称为植物中药¹HNMR指纹图(¹HNMR fingerprints of TCHMs)。通过植物中药¹HNMR指纹图分析,可以达到快速准确鉴别多种植物中药的目的。建立植物中药¹HNMR指纹图是该理论的一个重点。另外,通过对不同来源的同品种植物中药特征总提物的收率计算,可初步对其作出品质评价,这是该理论的另一个重点。

1.2 仪器和样品: JEOL-FX60Q型NMR波谱仪(日本)。

实验所用的黄连样品均购自各产地或药材公司,并经生药学方法由中国中医研究院中药研究所张静修研究员鉴定学名,均为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch.的根茎。黄连伪品经鉴定为蓼科植物酸模 *Rumex acetosa* L.的根;未收集到单叶生麻根茎。

1.3 GCE的获取和¹HNMR指纹图的测定:同前文^[3]方法制备黄连特征总提物A和B,并测定其¹HNMR指纹图。

1.4 GCE化学成分的分离和结构鉴定:黄连的化学成分已经报道含多种苄基异喹啉衍生物,主要为原小檗碱(protoberberine)型生物碱^[4,5],如小檗碱、黄连碱、甲基黄连碱、棕榈碱、药根碱等。此外,尚含有木兰碱及阿魏酸等。

黄连特征总提物B经色谱分离得化合物I和II,用对照品对照¹HNMR¹³CNMR及薄层色谱鉴定了它们的结构,分别为小檗碱和棕榈碱,从而实现了黄连特征总提物B¹HNMR指纹图的解析。

化合物I:¹HNMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ 3.28 (2H, t, J= 5.1 Hz, CH₂-5), 4.88 (2H, t, J= 5.1 Hz, CH₂-6), 3.87, 4.07 (各 3H, s, OCH₃×2), 6.19 (2H, s, -O-CH₂-O-), 6.91, 7.28, 8.86, 9.85 (各 1H, s, H-1, 4, 8, 13), 7.73, 8.04 (2H, ABq, J= 8.1 Hz, H-11, 12) ¹³CNMR (100 MHz,

CDCl₃) δ 28.8, 57.8, 58.1, 63.3, 101.6, 106.9, 110.0, 121.8, 121.9, 123.8, 125.0, 128.6, 132.1, 135.5, 140.0, 145.7, 145.8, 150.2, 152.8, 152.9。数据与小檗碱对照品一致,薄层色谱与小檗碱对照品Rf值相同,故化合物I为小檗碱。

化合物II:¹HNMR(400 MHz, CDCl₃) δ 3.20 (2H, t, J= 5.0 Hz, CH₂-5), 5.01 (2H, t, J= 5.0 Hz, CH₂-6), 3.93, 3.97, 4.01, 4.17 (各 3H, s, OCH₃×4), 6.68, 7.37, 8.48, 9.85 (各 1H, s, H-1, 4, 8, 13), 7.37, 7.66 (2H, ABq, J= 8.2 Hz, H-11, 12);¹HNMR数据与棕榈碱对照品一致,薄层色谱与棕榈碱对照品Rf值相同,故化合物II为棕榈碱。

通过薄层色谱分析还检测到黄连特征总提物B中另外两种成分为黄连碱和甲基黄连碱,它们都属于原小檗碱型生物碱。

黄连特征总提物A的化学成分由于含量较少,其结构正在鉴定中。

2 结果与讨论

2.1 黄连的¹HNMR指纹图谱特征和相对标准图谱:黄连6个样品¹HNMR指纹图有很好的一致性。特征总提物B的共振峰分布在3个区域。δ 0.87~1.22区显示甲基、亚甲基的信号,其所代表的结构有待进一步研究。δ 3.69~5.00是原小檗碱型生物碱化合物中与芳环相连的甲氧基和5,6位亚甲基的信号,该区域的信号受水峰的干扰较大。δ 6.02~7.46区的信号是由黄连中多种原小檗碱型生物碱化合物的次甲二氧基质子和芳香质子的信号部分重叠而成的多重峰,该区域信号不受其它峰的干扰,分辨清晰,其中,δ 6.02~6.18区均为次甲二氧基的信号,δ 6.75~7.46区均为化合物中芳香质子的信号;由于特征总提物为混合物且所用仪器磁场较低,该区域信号不能逐个予以归属,但其中δ 6.19, 6.91, 7.28以及甲氧基信号δ 3.87, 4.07与小檗碱的信号一致,且信号较强,提示小檗碱在特征总提物中的含量较高。在低场区,黄连特征总提物B中各化合物的芳香质子信号均呈小的馒头峰,其影响因素尚不清楚,鉴于δ 6.02~7.46区的共振峰有高度的重现性和特征性,因此可作为鉴定黄连的特征峰(图1-B)。6种不同产地黄连特征总提物B的¹HNMR指纹图部分数据见表1。

对黄连特征总提物A的¹HNMR指纹图(图1-A)进行分析。由于特征总提物A的收率较低,其化学成分研究工作尚未进行,但从其图谱分析可初步对其予以解释。δ 3.95, 4.01应为甲氧基质子信号,

δ 6. 01 为次甲二氧基质子信号, δ 6. 21和 6. 72 为芳香质子信号;推测黄连特征总提物 A 的 ¹HNMR 指纹图显示异喹啉或苄基异喹啉类生物碱的特征共振峰。当然,这种推测还有待于其化学成分研究工作的进一步证实,但 δ 3. 94~ 6. 73 区的甲氧基、次甲二氧基和芳香质子信号重现性好、特征性强,且不受其它峰的干扰,可作为 ¹HNMR 指纹法鉴别黄连品种的另一参照。

表 1 黄连特征总提物 B 的部分 ¹HNMR 数据

指纹图数据	四川△	四川	湖北	陕西	甘肃	北京△△	H
3. 68	+	+	+	-	+	+	甲氧基
3. 73	+	+	+	+	+	+	
3. 77	+	+	+	+	+	+	
3. 81	+	+	+	+	+	+	
3. 87	+	+	+	+	+	+	
4. 07	+	+	+	+	+	+	
6. 02	+	+	+	-	+	+	次甲二氧基
6. 07	+	+	+	+	+	+	
6. 19	+	+	+	+	+	+	
6. 75	+	+	+	+	+	+	芳氢
6. 90	+	+	+	+	+	+	
7. 08	+	+	+	+	+	+	
7. 16	+	-	-	+	-	-	
7. 20	+	+	+	+	+	+	
7. 28	+	+	+	+	+	+	
7. 39	+	-	+	-	-	-	
7. 44	+	+	+	+	+	+	

△为野生品 △△中国药品与生物制品检定所对照药材

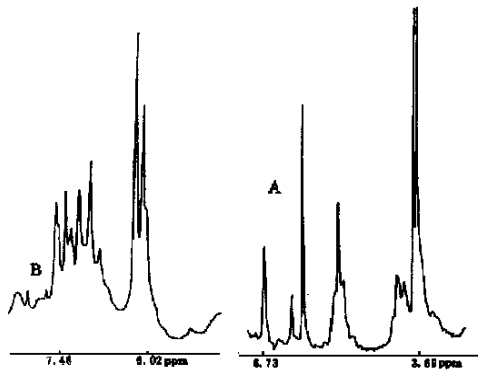


图 1 黄连特征总提物 A、B 的 ¹HNMR 指纹图 (59. 75 MHz)

2. 2 用 ¹HNMR 指纹法鉴别黄连及其伪品: 以黄连特征总提物 A 和 B 的 ¹HNMR 指纹图作参照,用同样的方法测定酸模根的特征总提物 A 和 B 的

¹HNMR 图谱,结果表明,其与黄连的指纹图毫无相似之处。该法用于鉴别黄连及其伪品非常准确,且简便、快速。

2. 3 小结: 研究结果指出,图 1 和图 2 为黄连特征总提物 A、B 和的相对标准图谱,表 1 和表 2 所列 ¹HNMR 数据是相应的特征共振信号数据,可作为鉴定黄连的参照。

表 2 黄连特征总提物 A 的部分 ¹HNMR 数据

指纹图数据	四川△△	四川	湖北	陕西	甘肃	北京△△△
3. 95	+	+	+	+	+	+
4. 01	+	+	+	+	+	+
4. 14△	+	+	-	-	-	-
4. 19△	+	+	+	+	+	+
4. 31△	+	+	+	+	+	+
4. 40△	+	+	+	+	-	-
5. 35	+	+	+	+	+	+
6. 01	+	+	+	+	+	+
6. 21	+	+	+	+	+	+
6. 70△	+	-	-	-	-	-
6. 73	+	+	+	+	+	+

△信号较小 △△为野生品 △△△中国药品与生物制品检定所对照药材

¹HNMR 指纹法鉴定黄连等植物中药是以中药的特征性化学成分为基础,经简单的处理和测试,即可完成鉴定中药品种真伪和质量优劣。特征性化学成分是指不同的植物品种或植物类群所特有的化学成分,这些成分分布局限、结构特殊,且多具有某方面的生理活性,因此,其在植物中药品种鉴定、品质评价和化学分类上有特殊的意义。与现有的 TLC、HPLC 等鉴定方法相比,¹HNMR 指纹法具有特征总提物的提取分离程序和表征方法统一、能迅速可靠地给出特征总提物众多的结构信息等优点,并且操作简单,结果可靠,成本低。对丰富生药学和药用植物化学分类学的内容、控制植物类中药的质量、提高中药标准化程度等有重要意义。

致谢: 中国医学科学院药物研究所梁晓天研究员对本项研究给予了精心的指导。

参考文献

1 任仁安,等. 中药鉴定学. 上海: 上海科学技术出版社, 1986. 82
2 颜玉贞,等. 中国中药杂志, 1993, 18(6): 329
3 秦海林,等. 药学报, 1999, 34(1): 58
4 林启寿. 植物药品化学. 北京: 人民卫生出版社, 1956. 108
5 Misaki T, et al. Chem Pharm Bull, 1982, 30. 354

(1999-11-05 收稿)

敬告读者

本刊编辑部尚存部分过刊精装合订本,包括: 1991~ 1994 年 (50 元 / 年); 1995~ 1997 年 (102 元 / 年); 1998 年 (120 元); 1996 年增刊 (50 元); 1997 年增刊 (45 元); 1998 年增刊 (55 元); 1999 年增刊 (70 元)。欢迎来函来电订购。