

· 综述 ·

¹H NMR 指纹法鉴定植物中药[△]

河南省科学院化学研究所(郑州 450002) 赵天增* 秦海林**
中国医学科学院 药物研究所 梁晓天
中国协和医科大学

摘 要 阐述了¹H NMR 指纹法鉴定植物中药的理论要点、方法学研究及其应用。

关键词 ¹H NMR 指纹图 植物中药鉴定 方法学研究

中药是中医防病治病的物质基础,其基源与品质直接影响中医的临床疗效和中药的实验研究。因此,中药的品种鉴别和品质评价一直是中药鉴定学领域主要的研究方向。中药防病治病的基础是中药中所含活性成分,所以,中药的真伪必须包括其化学成分,特别是活性成分的内容。以植物中药的化学成分为指标,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与传统的形态学和组织学方法相结合,不仅能揭示中药材的外在品质,更能反映其内在的品质。¹H NMR 指纹法鉴定植物类中药是一种新的植物中药鉴定方法^[1-4]。我们在查阅大量国内外文献^[5-10]、全面了解植物类药材鉴定的重要性、方法和现状的基础上,提出并建立了¹H NMR 指纹法鉴定植物中药的理论和方法。目前,通过对 25 类不同科属 36 种植物中药的 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¹H NMR 指纹法理论的正确及方法的可行性和优点^[1-4]。我们拟将¹H NMR 指纹法鉴定植物中药作一系统介绍。

1 依据和理论要点

¹H NMR 指纹法鉴定植物中药是根据对鉴定方法的要求,对植物中药的两个假设和¹H NMR 图谱的特点而建立起来的。对鉴定方法的要求是可靠、灵敏、简便、价廉。假设每种植物中药都有其特征的化学成分(或化学成分组),这些特征的化学成分相对之间的含量比例是基本固定的。¹H NMR 图谱有 4 个特点:单一性指氢谱的谱峰与样品中不同基团上的氢是严格的一一对应关系;全面性指所测样品中的每一个基团上的氢在图谱中都有其相关的谱峰;

定量性指图谱中信号的相对强弱反映样品各个基团上氢的数目比例;易辨性指通过化合物结构的研究,可归属图谱中的每一个信号。

以植物中药的化学成分为指征,用植物化学的研究方法与传统的形态学和组织学方法相结合对其进行品种鉴别和品质评价的研究,需解决两个关键问题: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表征方法。¹H NMR 指纹法鉴定植物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的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物(The General Characteristic Extracts of Traditional Chinese Herbal Medicines, 简称为 GCEs of TCHMs)。植物中药特征总提物的组成可用多种检测手段予以表征,而其¹H NMR 图谱不仅有高度的重现性和特征性,更主要是其同时具备上述 4 个特点,易于解析和进一步分析研究。因此,在规范的提取分离程序下,植物中药特征总提物的¹H NMR 图谱与植物品种间存在严格的对应关系,非常适用于植物中药的品种鉴别和化学分类研究。我们将这种图谱称为植物中药¹H NMR 指纹图(¹H NMR Fingerprints of TCHMs)。通过植物中药¹H NMR 指纹图谱分析,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¹H NMR 指纹图是该理论的一个重点。另外,通过对各不同来源的同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。

2 方法学研究

* Address: Zhao Tianzeng, Institute of Chemistry, Henan Academy of Sciences, Zhengzhou.

赵天增 1966年毕业于北京大学化学系,研究员,天然产物化学博士研究生导师,从事天然产物化学和波谱解析工作 30 多年,对野蔷薇、野花椒、苦皮藤、小叶丁香、银杏等天然植物的活性成分进行了系统研究,主持完成国家自然科学基金等项目 12 项,其中 4 项获省、部级以上奖励,获国家发明专利 1 项,发表论文 50 多篇,出版专著《核磁共振氢谱》、《核磁共振碳谱》2 部。

** 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(29572040)

2.1 植物中药样品的采集:为了取得达到统计学要求的多产地代表性样品,目前,本项研究共收集到正品植物中药 36种,其中,部分品种包括 2~8个不同来源的样品,共 152个样品。同种不同采摘期的植物中药的 ¹H NMR 指纹图的比较正在进行中。

2.2 植物中药特征总提物的获取:依据鉴定方法要简便、价廉的要求,通过反复探索,最后确定对各种植物中药均采用统一的提取分离程序获取其特征总提物^[1]。

2.3 植物中药的 ¹H NMR 指纹图分析

2.3.1 重复性和特征性的研究:实验证实,同种植物中药特征总提物 A和 B的 ¹H NMR 指纹图不仅有很好的重复性,而且还有高度的特征性,可以用来鉴别植物中药的品种。以人参为例,其 A和 B的 ¹H NMR 指纹图数据,不仅可以看出明显的特征性,而且可以看出不同来源样品很好的重复性^[1]。

2.3.2 同科属不同种植物中药的 ¹H NMR 指纹图:同科属不同种植物中药的 ¹H NMR 指纹图有相似性,同时也表现出由于各类似成分的不同或主要成分间相对含量的不同所引起的图谱差异,可用于同科属不同种植物中药的品种和化学分类鉴别。例如,五加科人参属植物中 3种主要的药用植物人参、西洋参、三七指纹图相互之间有相似性,说明了它们之间的亲缘关系;同时表现出明显的差异,可以区分不同品种^[1]。

2.3.3 同科不同属植物中药的 ¹H NMR 指纹图:某些同科不同属植物中药的 ¹H NMR 指纹图同样表现相互间的相似性,说明其亲缘关系;同时表现出明显的差异,可进行属间和种间的区分。例如,蓼科蓼属植物虎杖和何首乌与蓼科大黄属植物掌叶大黄和唐古特大黄特征总提物 A和 B的 ¹H NMR 指纹图^[2]。

2.3.4 植物中药 ¹H NMR 指纹图的解析:对植物中药 ¹H NMR 指纹图的分析除了进行一般性的比较外,要真正使其在植物中药的鉴定中发挥作用,必须对其进行深入的解析。通过解析,可以了解同科属不同种或同科不同属植物中药的代表性化学成分,说明其亲缘关系;同时了解它们间化学成分的差别及主要成分间含量的差异,说明 ¹H NMR 指纹图差异的原因,使得对植物中药研究得更科学、更深入,为中药走向世界提供科学依据。

2.3.5 不同磁场仪器对 ¹H NMR 指纹图的影响:不同磁场仪器测定的同种植物中药 ¹H NMR 指纹图从外形上看肯定不同,但其信号的化学位移值应该是一致的,通过对 ¹H NMR 指纹图的深入解析,可以把

不同磁场仪器测定的植物中药 ¹H NMR 指纹图统一起来。例如,图 1-a和 -b分别为浙贝母特征总提物 B的 60和 400 MHz ¹H NMR 指纹图,它们主要显示浙贝甲素(peimine)和浙贝乙素(peiminine)的特征共振峰(表 1),通过深入解析,二者达到高度的统一。

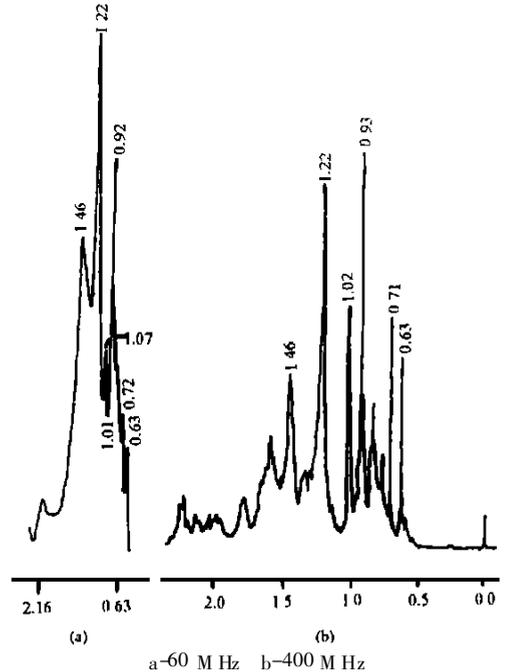


图 1 浙贝母的 GCE B ¹H NMR 指纹图

表 1 浙贝母的 ¹H NMR (60 MHz) 指纹数据

指纹数据	来源				归属	
	浙江	江苏	安徽	河北	浙贝甲素	浙贝乙素
0.63	+	+	+	+		CH ₃ -19
0.72	+	+	+	+	CH ₃ -19	
0.84	+	+	+	+		
0.92	+	+	+	+	CH ₃ -21	CH ₃ -21
1.07	+	+	+	+	CH ₃ -27	CH ₃ -27
1.22	+	+	+	+		
1.46	+	+	+	+		

* 一个双峰的一半, J = 7.2 Hz

综上所述,我们认为建立 60 MHz和超导两种磁场条件下的 ¹H NMR 指纹图较合适,60 MHz仪器图谱便于普及和推广,超导仪器的图谱便于深入解析以及将不同磁场条件下的图谱统一起来。

3 植物中药 ¹H NMR 指纹图的规范化

为了使植物中药 ¹H NMR 指纹图得以使用,便于推广和普及,更加科学化,必须对其进行规范化。我们认为,规范化需从下面几方面进行。

3.1 仪器的磁场强度:如前所述,应建立 60 MHz和超导两种磁场条件下的 ¹H NMR 指纹图。

3.2 ¹H NMR 指纹图绘制要求:从不同来源样品特

征总提物 A 和 B 的 $^1\text{HNM R}$ 指纹图中选择一个分辨率最好的、最具代表性的、最佳的图谱作为相对标准 $^1\text{HNM R}$ 指纹图进行绘制。图谱坐标要清楚; 具有代表意义的共振峰要标出; 多个共振峰挤在一起分辨不清楚时, 图谱要拉宽。

3.3 $^1\text{HNM R}$ 数据表: 在相对标准 $^1\text{HNM R}$ 指纹图下面要有 $^1\text{HNM R}$ 数据表, 列出所有具有代表意义的共振峰数据, 不同来源样品数据状况在表中也均列出。 $^1\text{HNM R}$ 指纹图经过解析已认清的共振峰, 在表中要标出, 如虎杖、何首乌和掌叶大黄、唐古特大黄、黄连等特征总提物 A 和 B 的 $^1\text{HNM R}$ 指纹图数据表^[2-4]。

3.4 化合物结构式: $^1\text{HNM R}$ 指纹图经过解析后,

表 2 一些不同来源植物中药的 GCE B 的收率 (%)

人 参		西 洋 参		三 七		掌 叶 大 黄		唐 古 特 大 黄	
来源	收率	来源	收率	来源	收率	来源	收率	来源	收率
辽宁	1.93	北京	3.83	云南	5.81	郑州	0.105	甘肃	0.163
吉林 1	1.14	加拿大	4.22	广西	4.30	四川	0.084	四川	0.207
吉林 2	1.32	美国	3.58	北京	5.43	甘肃	0.140	北京	0.179
吉林 3	1.87	河北	3.43			陕西	0.093		
河北	0.98	吉林	3.09			北京	0.134		
北京	1.65								

$^1\text{HNM R}$ 指纹图是从分子水平鉴定植物中药, 因此, 它的可靠性是无可置疑的。由于指纹图为每种植物中药的特征性化学成分 (或化学成分组) 的真实反映, 经过对指纹图的解析, 这些特征性化学成分均可弄清, 且大部分特征性化学成分与有效成分一致, 所以, 植物中药的 $^1\text{HNM R}$ 指纹图可作为植物中药深入研究的重要参考资料。中药的现代化是摆在我们面前的迫切任务, $^1\text{HNM R}$ 指纹法鉴定植物中药为中药现代化打开了科学之门。 $^1\text{HNM R}$ 指纹法鉴定植物中药可靠、灵敏、简便、价廉, 便于推广, $^1\text{HNM R}$ 指纹图易于解析, 是其它鉴定植物中药的光谱方法所无可比拟的。可以预言, 随着 $^1\text{HNM R}$ 指纹法的深入研究, 必将在中药现代化、中药走出国门等方面发挥重要作用。我国中药材资源丰富, 据统计

主要化学成分结构式已弄清, 从而使 $^1\text{HNM R}$ 指纹图的共振峰得以一定程度的归属。为了便于辨认 $^1\text{HNM R}$ 指纹图, 已鉴定的化学成分结构式及其名称均要标明。

3.5 参考文献: 解析 $^1\text{HNM R}$ 指纹图时引用的主要参考文献均需列出, 以便读者查找。

4 用植物中药特征总提物的收率评价其品质

植物中药特征总提物的收率可作为植物中药品质评价的重要指标, 目前, 用此法我们对一些植物中药的品质评价作了初步探讨, 例如, 表 2 为人参、西洋参、三七、掌叶大黄和唐古特大黄不同来源样品的品质差异。

5 展望与建议

药用植物大约有 1 万余种, 常用植物中药约 800 余种, 要对它们进行深入的 $^1\text{HNM R}$ 指纹研究是一项庞大的系统工程。为此, 我们建议, 有关部门能够给予支持, 加以精心组织, 使其得以实施。

参 考 文 献

- 1 秦海林, 赵天增. 药学学报, 1999, 34(1): 58
- 2 秦海林, 赵天增, 袁卫梅, 等. 药学学报, 1999, 34(11): 828
- 3 秦海林, 尚玉俊, 赵伟, 等. 中草药, 2000, 31(1): 48
- 4 秦海林, 赵天增, 张静修, 等. 中国野生植物, 1999, 18(5): 49
- 5 任仁安, 陈瑞华. 中药鉴定学. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 4
- 6 Shaw P C, But P P H. Planta Med, 1995, 61: 466
- 7 Patama T T, Widen C J. Phytochemistry, 1991, 30(10): 3305
- 8 饶伟文. 中成药, 1996, 18(2): 38
- 9 秦路平, 郑水庆, 张卫东, 等. 中国中药杂志, 1997, 22(3): 137
- 10 王秀坤, 李家实, 阎玉凝, 等. 中医药信息, 1996, (5): 26

(2000-04-03收稿)

欢迎订阅 2001年《天津药学》杂志

《天津药学》杂志创刊于 1989 年 4 月, 为天津市医药集团有限公司 (原天津市医药管理局) 主管, 天津市医药集团技术发展有限公司和天津市药学会主办, 《天津药学》编辑部编辑出版的药学领域或综合性定期刊物。国内外公开发行, 国内统一刊号 CN 12-1230/R, 国际标准刊号 ISSN 1006-5687 本刊是《中国药学文摘》确认的核心期刊, 也是中国中文科技期刊中文数据库的信息源之一。经中国科学文献计量评价研究中心和中国学术期刊 (光盘版) 编委会认定《天津药学》杂志为《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊, 并由《中国期刊网》《中国学术期刊 (光盘版)》全文收录。本刊主要栏目: 专论、实验研究、综述、医药工业、中药、医院药学、药品不良反应、药品质量检验、世界药物、医药管理、简讯、学会园地等。

双月刊, 定价 8 元, 全年 48 元, 订阅杂志可通过邮局汇款, 也可通过银行划拨。

收款单位: 天津药学杂志社 开户银行: 天津市工商银行成都道分理处 帐号: 1052491153077

杂志社地址: 天津市和平区新华南路庆云里 21 号 邮政编码: 300050 电话: 23312548 稿件请寄《天津药学》编辑部

地址: 天津市南开区红旗南路 237 号 420 室 邮政编码: 300191 电话: 23696290