

· 药材 ·

不同产地赤芍的 FTIR 指纹图谱对比分析

周红涛¹, 胡世林^{1,2}, 冯学锋¹, 杨京玉¹, 孙素琴^{3*}

(1. 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700; 2. 香港浸会大学中医药学院, 香港; 3. 清华大学 化学系, 北京 100084)

摘要: 目的 寻找能够鉴别不同产地赤芍成分差异的新方法, 探讨赤芍道地性的形成原因。方法 利用傅里叶变换红外光谱仪测定不同产地的样品, 对所获得的指纹图谱进行特征峰指认和对比分析。结果 赤芍野生品与栽培品的红外吸收频率、吸收峰的相对强度都存在比较大的差异。多伦赤芍(道地药材)的红外吸收峰形状也有一定的特异性。结论 首次运用傅里叶变换红外光谱技术对不同产地芍药根部的混合化学体系进行了全组分快速分析, 为赤芍道地商品的鉴别及质量控制提供了可靠的依据。

关键词: 赤芍; 傅里叶变换红外技术; 指纹图谱; 道地性

中图分类号: R282.710.3 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)09-0834-04

Contrast analysis of FTIR fingerprints of *Radix Paeoniae Rubra* from different areasZHO U Hong-tao¹, Hu Shi-lin^{1,2}, FEN G Xue-feng¹, YAN G Jing-yu¹, SUN Su-qin³

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of TCM, Beijing 100700, China;

2. School of Chinese Medicine, Hongkong Baptist University, Hongkong, China;

3. Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract **Object** To develop a new method of discriminating the principle components of *Radix Paeoniae Rubra* (RPR) from different areas, and to find the reason for forming high-quality of RPR in the place of the genuine. **Methods** Using Fourier transform infrared (FTIR) absorption spectrometry, the characteristic peaks of fingerprint infrared spectra of RPR samples from 18 habitats were recognized and compared. **Results** Frequency, intensity and shape of infrared absorption spectra were obviously different between wild and cultivated groups of RPR. The infrared absorption peaks of RPR in Duolun, a famous Chinese orthodox drug, were of distinct characteristics. **Conclusion** FTIR technique is first applied to rapid analysis of principle component of RPR from different areas. So an operable method in the quality control and discrimination of RPR in the place of the genuine is provided.

Key words *Radix Paeoniae Rubra* (RPR); FTIR technique; fingerprint; genuineness

赤芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根, 具有清热凉血、活血化瘀的作用。据 80 年代进行的大规模全国中药资源普查结果, 我国赤芍的蕴藏量为 1.2×10^8 kg, 年消耗量约 2×10^6 kg, 其中 80% 来源于东北、华北、西北各省野生的芍药^[1], 而且以内蒙古多伦所产为优质, 根长达 1 m, 具有“糟皮粉渣”的特征, 是著名的道地药材^[2]。另外, 芍药的药用栽培面积较大, 以安徽亳州和浙江缙云、磐安等地为道地产区。我们在考察中发现, 栽培的芍药在加工成白芍的过程中, 形状不佳或细小的支根被直接干燥作为赤芍进入药材市场。芍药的野

生品和栽培品, 如单纯测定芍药苷、丹皮酚等活性成分的含量显然难以区分, 需要研究新的鉴别技术和方法。早在 80 年代末期, 胡世林^[3]、田进国^[4]等学者就试图用红外光谱法来区分不同产地的赤、白芍药材, 但由于需要对样品进行提取, 以及仪器性能不够先进等原因而未能推广。近年来傅里叶变换红外光谱 (FTIR) 仪器和技术的迅速改进, 将药材粉末直接压片测定后获得的图谱不仅可以准确定位而且还能进行智能化对比, 既简化了操作, 又消除了溶剂干扰, 所得的整体混合成分指纹图谱用于药材鉴定的可行性大为提高^[5,6]。

* 收稿日期: 2002-03-05

基金项目: 国家自然科学基金重点资助课题 (39730500)

作者简介: 周红涛 (1972-), 女, 硕士, 主要从事生药道地性系统研究。E-mail: htz72@yahoo.com.cn

Tel (010) 64014411-2983

Fax (010) 64013996

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂: 采用 Perkin-Elmer 公司的 Spec-trum GX 傅里叶变换红外光谱仪, 中红外 DTGS9 检测器, 测定区域 4 000~ 400 cm⁻¹ (本文部分图例所示的 2 000~ 400 cm⁻¹ 区域为指纹区, 该范围内谱带密集, 对细小结构变化高度敏感), 扫描次数 16 次, 分辨

率 4 cm⁻¹; 实验用 KBr (北京化学试剂公司)、可溶性淀粉 (天津塘沽邓中化工厂) 均为分析纯

1.2 样品来源: 实验样品经中国中医研究院胡世林研究员鉴定均为芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 野生或栽培的干燥根。全部直接采自原产地, 产地气候、地理条件见表 1

表 1 赤芍样品来源

产 地	编号	北纬	海拔 (m)	气候	土壤	生产	断面性状	备注
内蒙多伦	1~ 5	42. 5°	500~ 1 000	中温带亚干旱区	栗钙土	野生	黄棕色, 粉性	道地产区
内蒙克什克腾旗	6~ 10	43°	500~ 1 000	中温带亚干旱区	栗钙土	野生	黄棕色, 纤维性	
内蒙喀喇沁旗	11~ 15	42°	500~ 1 000	中温带亚干旱区	棕壤	野生	黄棕色, 纤维性	
河北围场	16~ 20	42°	500~ 1 000	中温带亚干旱区	褐土	野生	浅黄色, 纤维性	
河北隆化	21~ 25	41. 5°	500~ 1 000	中温带亚干旱区	褐土	野生	黄棕色, 纤维性	
河北崇礼	26~ 30	41°	1 000	中温带亚干旱区	褐土	野生	黄棕色, 纤维性	
河北怀来	31~ 35	40. 5°	500~ 1 000	暖温带亚湿润区	褐土	野生	黄棕色, 纤维性	
黑龙江克山	36~ 40	48°	200~ 500	中温带湿润区	黑土	野生	黄棕, 纤维性强	克山病区
黑龙江桦南	41~ 45	46°	500	中温带湿润区	暗棕壤	野生	黄棕色, 纤维性	金矿区
黑龙江黑河	46~ 45	50. 5°	100~ 500	中温带湿润区	暗棕壤	野生	黄白色, 纤维性	
吉林白城	51~ 55	45. 5°	50~ 100	中温带亚干旱区	草甸土	野生	黄棕色, 纤维性	
辽宁西丰	56~ 60	42. 5°	200~ 500	中温带亚湿润区	黑土	野生	黄棕色, 纤维性	
陕西旬邑	61~ 65	35°	1 000	南温带亚湿润区	黑垆土	野生	黄褐, 略颗粒性	克山病区
陕西黄龙	66~ 70	35. 5°	1 300	南温带亚干旱区	黄绵土	野生	黄白, 略颗粒性	克山病区
陕西紫阳	71~ 75	32. 5°	900~ 1 100	北亚热带湿润区	黄棕壤	栽培	黄棕色, 颗粒性	克山病区
安徽亳州	76~ 80	34°	50~ 100	南温带亚湿润区	黄潮土	栽培	浅黄, 颗粒性强	
浙江缙云	81~ 85	28. 5°	100~ 500	北亚热带湿润区	红壤	栽培	黄褐, 颗粒性强	
浙江磐安	86~ 90	29. 5°	100~ 500	北亚热带湿润区	红壤	栽培	黄褐, 颗粒性强	

1.3 样品制备与测定: 每个产地的赤芍样品各取 5 份, 每份随机称量 100 g, 分别在 60℃ 下干燥至恒重, 粉碎, 过 200 目筛。精密称取样品 3 mg (使其最强吸收峰的透光率在 10% 以下), KBr 200 mg, 在红外灯下混合研磨, 均匀放入模具内, 压强为 9. 8 k× 10⁸ Pa, 作用 3 min, 取出, 可得直径 13 mm 厚度 0. 5 mm 左右的供试片, 立即放入样品架进行测量。用 Perkin-Elmer 公司的比对软件 (compare) 计算两个红外光谱之间的相关系数

2 结果

2.1 精密度试验: 取同一样品供试片连续测定 5 次, 所得红外谱图完全一致, 相关系数分别:

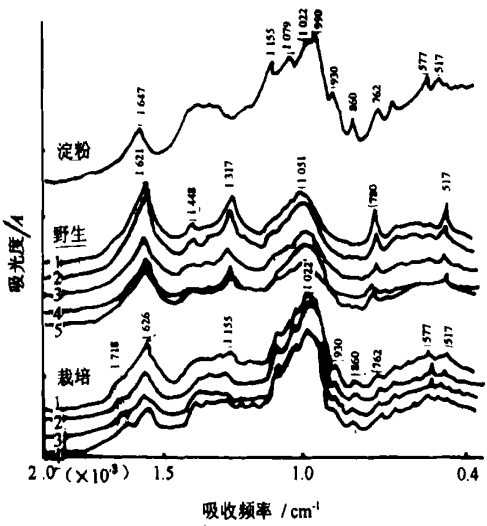
1. 000 0, 1. 000 0, 1. 000 0, 1. 000 0, 0. 999 7, RSD= 2. 5× 10⁻⁸。

2.2 稳定性试验: 取同一样品片放入真空干燥器内保存, 每隔 1 h 测定 1 次, 结果 5 h 内所得谱图基本一致。谱图间相关系数分别为: 1. 000 0, 0. 999 7, 0. 999 6, 0. 999 6, 0. 999 5, RSD 为 2. 5× 10⁻⁸。

2.3 重复性试验: 取 1 份赤芍样品, 称量、压片 5 次, 所得红外谱图比较一致。谱图间相关系数分别为: 1. 000 0, 0. 997 3, 0. 990 7, 0. 997 8, 0. 989 6 RSD 为 2. 144 2× 10⁻⁷。

2.4 赤芍野生品与栽培品的红外谱图差异: 野生品

与栽培品的红外吸收频率 (cm⁻¹), 吸收峰的相对强度都存在比较大的差异, 吸收峰形状明显不同 (图 1), 将吸收峰的特征及强度归纳如表 2



野生: 1-多伦 2-崇礼 3-白城 4-西丰 5-黑河
栽培: 1-紫阳 2-亳州 3-缙云 4-磐安

图 1 野生与栽培芍药的 FTIR 谱图对比

野生赤芍的红外光谱图中 1 621, 1 317, 1 051 cm⁻¹ 处有很强的吸收峰, 同时 1 448, 780, 517 cm⁻¹ 处也有明显的吸收峰, 从 660 到 577 cm⁻¹ 有一组中等强度的宽峰。在栽培赤芍的红外谱图中 1 626 和

表 2 野生与栽培芍药主要吸收峰差异

		吸收频率 (主峰相对峰强,峰高比)			
野生赤芍	1 621(vs, 1. 000 0), 1 448(m), 1 317(s, 0. 422 6), 1 051(vs, 0. 831 4), 780(s, 0. 306 2), 517(s, 0. 260 6)				
栽培赤芍	1 718(sh), 1 626(s, 1. 000 0), 1 317(w, 0. 066 7), 1 155(sh), 1 079(sh), 1 022(vs, 2. 427 2), 930(sh), 860(m), 762(m, 0. 190 9), 577(m, 0. 463 7), 517(m)				

注: 本文在 4 000~ 400 cm^{-1} 区域内吸收频率误差为 $\pm 4 \text{ cm}^{-1}$ vs 很强; s 强; m 中等; w 较弱; sh 肩峰 相对峰高比是以第一个主峰为参考。

1 317 cm^{-1} 两个吸收峰强度明显下降,特别是 1 317 cm^{-1} 峰与 1 384, 1 419 cm^{-1} 处的小吸收峰合并为一宽峰 主峰由 1 051右移到 1 022 cm^{-1} ,并且强度增大, 1 150和 1 077 cm^{-1} 处的肩峰也随之增强,同时 1 448, 780, 517 cm^{-1} 处的吸收减弱, 930, 860, 762 cm^{-1} 处的吸收增强, 600 cm^{-1} 附近的宽峰也由于 660 cm^{-1} 的吸收强度下降, 577 cm^{-1} 的吸收强度增加,使得峰形发生改变 总之,栽培赤芍的谱图与淀粉的谱图十分相似,说明栽培赤芍中淀粉含量明显高于野生赤芍。

在赤芍野生品与栽培品的比较分析中,以内蒙古多伦野生赤芍样品为参考标准,其他产地的赤芍红外谱图计算机比对的相关系数见表 3

利用 SPSS10. 0软件对野生和栽培赤芍的相关系数进行均数方差分析,证明两者具有极显著性的差异 (** $P < 0. 000 1$)。

表 3 不同产地赤芍 FTIR 谱图相关系数

生 产	产 地	系 数	产 地	系 数
野 生	多 伦	1. 000 0	克 山	0. 970 5
	克什克腾	0. 963 6	桦 南	0. 975 1
	喀喇沁	0. 975 6	黑 河	0. 953 4
	围 场	0. 984 2	白 城	0. 970 7
	隆 化	0. 967 4	西 丰	0. 961 4
	崇 礼	0. 989 8	旬 邑	0. 980 1
	怀 来	0. 977 4	黄 龙	0. 987 0
	均数	0. 975 $\pm$ 0. 012		
栽 培	紫 阳	0. 854 6	缙 云	0. 713 0
	毫 州	0. 688 0	磐 石	0. 694 5
	均数	0. 738 $\pm$ 0. 079		

2. 5 不同产地赤芍的红外谱图差异: 生赤芍不同产地间红外谱图差别不是很明显,可以通过直观分析依据主要特征峰的变化分为两类:

第一类: 包括道地产区内蒙古多伦及其周边的河北围场 崇礼等地,以及陕西的旬邑、黄龙 这些地区所产赤芍的红外谱图相关系数均大于 0. 98 谱图特点是: 1 051 cm^{-1} 处的吸收峰形态特异,为强吸收峰,峰顶尖锐,峰形不对称 峰的左侧(高波数端)有 3 个小峰融合其中,在 1 151, 1 106, 1 077 cm^{-1} 处形成 3 个弱肩峰, 1 151 cm^{-1} 处的肩峰,峰顶圆钝 峰的右侧(低波数端)吸收曲线为“柳叶”状

根据谱图中 1 621与 1 051 cm^{-1} 两个主要吸收

峰的强度变化,该类又可分两组: 在多伦和旬邑赤芍的红外谱图中 1 621 cm^{-1} / 1 051 cm^{-1} 的相对峰高比相等或略大于 1 同时,多伦赤芍的 1 283 cm^{-1} 吸收峰较明显 在围场 崇礼 黄龙赤芍的红外谱图中 1 621 cm^{-1} / 1 051 cm^{-1} 的相对峰高比略小于 1

第二类: 包括内蒙古的克什克腾旗 喀喇沁旗,辽宁的西丰,吉林的白城,黑龙江的克山 黑河 桦南,河北的隆化 怀来 以多伦赤芍为参考,这些地区所产赤芍红外谱图相关系数均小于 0. 98,而且 1 051 cm^{-1} 吸收峰的强度 形态与第一类产区有差异

在克什克腾旗 桦南 隆化产赤芍的谱图中 1 051 cm^{-1} 吸收峰与 1 151, 1 106, 1 077 cm^{-1} 3 个小肩峰相比,吸收强度下降,峰顶圆钝,同时, 1 621 cm^{-1} / 1 051 cm^{-1} 的相对峰高比远大于 1

其余产地的谱图中 1 051 cm^{-1} 吸收峰被 1 049 和 1 023 cm^{-1} 两个分离度很低的重叠峰取代 以 1 622 cm^{-1} 峰与这两个峰的相对峰高比为依据,可再分两组 白城 黑河、怀来 西丰产赤芍的谱图中该比值小于 1 相反,克山和喀喇沁旗产赤芍的谱图中该比值大于 1

3 讨论

3. 1 本实验利用 FTIR技术,直观地对赤芍原粉中混合化学体系进行了全组分分析 结果表明赤芍野生品与栽培品之间存在明显差异 野生芍药在 1 621, 1 448, 1 317, 1 051, 780 cm^{-1} 有较强的吸收峰,而栽培芍药根在 1 626, 1 022, 930, 860, 762, 577 cm^{-1} 有较强的吸收峰 这种现象反映了栽培品中大量积累淀粉,与断面“粉性”和显微镜下所见大量淀粉粒的观察结果一致,是区分野生与栽培芍药的重要光谱特征,建议新版药典予以收载,并规定赤芍的植物来源为野生芍药,防止将栽培芍药直接干燥的细小的根充当赤芍使用

3. 2 在野生赤芍的 FTIR谱图中,多伦产赤芍在 1 051 cm^{-1} 处的吸收峰比较特异,可以作为鉴别道地赤芍的依据 另外,多伦周边地区,如围场 崇礼等地,位于内蒙古高原与张北高原结合地带,气候环境与多伦相比,赤芍的红外谱图也比较相近 相反,地处大兴安岭 长白山的边缘的西丰、白城、克山、黑河

等地,气候地理条件与多伦差别较大,赤芍的红外谱图区别也较大。但是,样品主成分的区别大小并不与产地间距离远近成正比。如陕西旬邑、黄龙等地虽然距离道地产区较远,然而所产赤芍的 FTIR 谱图与多伦相似,主体化学成分相近,可能与这些地区海拔高、气候干燥、土壤中微量元素特异有关。正如利比希“最小因子定律”^[7]所说:植物的生长往往不受环境中较充足,而且在植物生长过程中所需较大的营养物质的限制,而是受土壤中某些微量元素的制约,即植物的生长取决于环境中处于最低量状态的营养物质。

红外光谱法在化合物分子结构测定和矿物分析方面的应用十分广泛,但用于植物药材鉴定尚处于探索阶段。傅里叶变换红外光谱方法利用干涉图和光谱图之间的对应关系,通过测量干涉图和对干涉图进行傅里叶积分变换来测定和研究光谱图,从而使它具有比经典的红外光谱法高得多的信噪比和分辨率,而且固、液、气样品可以方便的直接测定,具有简便、准确、快速的特点,可以补充其他方法之不足,

加速了用于道地药材鉴定方面的应用。值得强调的是:多伦产芍药根的全组分 FTIR 谱图具有一定特异性,它是优质赤芍的来源,但是由于生态环境的急剧恶化,这一珍贵种质已经濒危^[8],亟待保护,以便对其药理作用和化学成分进行更深入的研究。

致谢:衷心感谢清华大学化学系仪器分析中心周群老师在实验中给予热情指导,特别感谢中药所杨莲菊、何希荣、格小光、唐晓军老师协助采集样品。

参考文献:

- [1] 中国药材公司,中国测绘科学院. 中国药材资源地图集 [M]. 北京: 科学出版社, 1994.
- [2] 胡世林. 中国道地药材原色图说 [M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1998.
- [3] 胡世林. 中国道地药材论丛 [M]. 北京: 中医古籍出版社, 1997.
- [4] 田进国,胡世林,娄红祥,等. 不同产地白芍和赤芍的红外光谱鉴别 [J]. 中药材, 1995, 18(4): 176-179.
- [5] 孙素琴,周群,胡鑫尧,等. 分子振动光谱与中药研究的最新进展 [J]. 光谱学与光谱分析, 2000, 20(2): 199.
- [6] 孙素琴,张宣,秦竹,等. FTIR 光谱法直接鉴别植物生药材 [J]. 光谱学与光谱分析, 1999, 19(4): 542.
- [7] 郭继明,淮虎银. 药用植物与环境 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1997.
- [8] 赵一之. 内蒙古珍稀濒危植物图谱 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1992.

广东菲牛蛭生长和生殖的研究

谭恩光*, 黄立英, 关莹, 王波*

(中山医科大学 生物学教研室, 广东 广州 510089)

摘要: 目的 研究室内菲牛蛭生长动态和生殖,为人工饲养菲牛蛭提供基础资料。方法 在同一个卵袋产下的幼蛭,放入盛有天然水的 80 cm× 60 cm× 50 cm 的玻璃缸内饲养,每 10 d 称牛蛭体重 1 次,每天记录水温,每月换水一次,每次在野外采回的水要检测 10 种化学成分。在活兔身上吸血,每次称出出血量。观察生长发育变化,记录交配产卵过程。结果 从孵化出的幼蛭经 14 个月时间,吸血 5、6 次,生长发育达到性成熟,第 1、2、3 次吸血为幼体阶段,第 4 次吸血后进入亚成体阶段,第 5 次吸血后,部分个体达到性成熟,有的个体第 6 次吸血后进入性成熟。生长动态曲线是一跳跃曲线。记录了交配、产卵过程。结论 阐明牛蛭生长动态和生殖过程。在室内饲养牛蛭成功。

关键词: 菲牛蛭; 生长动态; 生殖

中图分类号: R282.3 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)09-0837-04

Studies on growth and reproduction of *Hirudinaria manillensis* in Guangdong Province

TAN En-guang, HUANG Li-ying, GUAN Ying, WANG Bo

(Department of Biology, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510089, China)

Abstract **Object** To study the dynamic growth and reproduction of *Hirudinaria manillensis* Lesson in laboratory with providing the data of artificially breeding leech in the field. **Methods** The newly hatched juvenile from same cocoon were bred in 80 cm× 60 cm× 50 cm aquaria with natural water from rice paddy and weighted every ten days. Water temperature was recorded daily and water was exchanged

* 收稿日期: 2001-03-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (3880068, 39160017); 省中医药管理局基金 (200011)

作者简介: 谭恩光 (1936-), 男, 广东阳江人, 教授, 研究方向为蛭类及其在医学上的应用。E-mail: Tanenguang@21cn.com

* 通讯作者