

防控工作,严格无菌操作规程,做好环境卫生的消毒及监测,特别是要注意提高手卫生的依从性,以减少质粒介导的细菌传播而引起院内交叉感染。

#### 参考文献:

[1] 许银燕,黄新艳,谢娟,等. 我院 2013 年 1-10 月早发型与晚发型新生儿败血症细菌耐药性及抗菌药物使用分析[J]. 中国药房, 2014, 25(46): 4346-4349.

[2] 孙国全,王倩,褚云卓,等. 28 179 例血培养病原菌分布及耐药性分析[J]. 微生物学杂志, 2013, 33(5): 102-105.

[3] 彭洋,陈小凤,毕嘉琦,等. 利奈唑胺与替考拉宁比较治疗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌肺炎的 Meta 分析[J]. 中国循证医学杂志, 2013, 13(11): 1340-1346.

(刘雄志)

(收稿日期:2015-12-03 修回日期:2015-12-17)

doi:10. 13407/j. cnki. jpp. 1672-108X. 2016. 10. 016

· 论著 ·

## 武当山区重楼红外指纹图谱研究

郑江萍<sup>1</sup>,程镇<sup>2</sup>,叶方<sup>1,2</sup>,胡杨根<sup>2</sup>,魏晋宝<sup>1,2</sup>,张晨宁<sup>1,2</sup>,孙良学<sup>3</sup>,唐祖德<sup>3</sup>(1. 湖北医药学院附属十堰市太和医院,湖北十堰 442000;2. 湖北医药学院,湖北十堰 442000;3. 湖北济世药业有限责任公司,湖北十堰 442000)

[摘要] 目的:建立不同品种重楼属植物红外指纹图谱,为重楼药材的快速鉴别提供理论依据。方法:采用傅里叶变换红外光谱仪(FFIR)测定不同品种的重楼属植物,运用 Nicolet Omnic Ver 8.2 红外光谱处理软件对所获指纹图谱进行特征峰指认和二阶导数图谱对比分析。结果:不同品种重楼属植物的指纹图谱间有一定差异,二阶导数图谱比较差异较明显,可作为不同品种重楼属植物的鉴别特征。结论:红外指纹图谱法可快速鉴别不同品种重楼属植物,且操作简便、易行,对其他中药材的品种鉴定具有参考价值。

[关键词] 重楼;七叶一枝花;红外指纹图谱;相似度;二阶导数;鉴别

[中图分类号] R917

[文献标识码] A

[文章编号] 1672-108X(2016)10-0047-04

### Study on Infrared Fingerprint of *Paris Polyphylla* in Wudang Mountain Area

Zheng Jiangping<sup>1</sup>, Cheng Zhen<sup>2</sup>, Ye Fang<sup>1,2</sup>, Hu Yanggen<sup>1,2</sup>, Wei Jinbao<sup>1,2</sup>, Zhang Chenning<sup>1,2</sup>, Sun Liangxue<sup>3</sup>, Tang Zude<sup>3</sup>(*Taihe Hospital Affiliated to Hubei Medicine University, Hubei Shiyan 442000, China; 2. Hubei Medicine University, Hubei Shiyan 442000, China; 3. Hubei Jishi Pharmaceutical Co., Ltd., Hubei Shiyan 442000, China*)

[Abstract] **Objective:** To establish an infrared fingerprint spectrum of different varieties of *Paris polyphylla* and provide a theoretical basis for *Paris polyphylla*'s rapid identification. **Methods:** Using Fourier transform infrared spectroscopy (FFIR) to establish the IR fingerprint of different varieties of *Paris polyphylla*. Then the spectrogram was analyzed by Nicolet Omnic Ver8.0 Infrared Spectra. **Results:** The fingerprints of different varieties of the *Paris polyphylla* had certain differences. There were obvious differences by comparing their second derivative maps. So, it can be used as the distinguishing characteristics of the different varieties of the *Paris polyphylla*. **Conclusion:** Infrared fingerprint method can be used to quickly identify different varieties of *Paris polyphylla*. Moreover, it is simple and easy for manipulation. So, it has some reference meaning and guidance for the identification of other varieties of traditional Chinese medicine materials.

[Keywords] *Paris polyphylla*; *Paris polyphylla* var. *chinensis*; infrared fingerprint; similarity; second derivative; identification

重楼又名蚤休、七叶一枝花、海螺七等,主要分布于欧洲和亚洲温带、亚热带地区,约有 10 个品种,我国分布有 7 个品种和 8 个变种<sup>[1]</sup>,主要分布于云南、四川、贵州、广西、西藏等地<sup>[2]</sup>。《中国药典》2010 年版收载重楼为百合科植物云南重楼 [*Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. -Mazz.] 或七叶一枝花 [*Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara] 的

干燥根茎<sup>[3]</sup>。现代研究证明,重楼具有止血、抗癌、抑菌、镇痛、镇静、免疫调节等多种功效<sup>[4]</sup>,临床上主要用于疔疮脓肿、咽喉肿痛、毒蛇咬伤、跌扑伤痛、惊风抽搐等的治疗<sup>[5-6]</sup>。随着重楼药用价值不断开发,药材用量也越来越大,野生药材储量却日渐下降,导致近年来其市场价格也一路飙升<sup>[7]</sup>。同时,我国中药材监管方面仍存在缺乏统一协调的管理机制以及中药材管理无法可

基金项目:湖北省教育厅 2011 计划,编号 2011JH-2014CXTT13;2014 年湖北省中青年创新团队项目,编号 T201414。

作者简介:郑江萍(1968.09~),女,主管药师,主要从事药品检验和药品调剂工作,E-mail: zhengjp68@126.com。

通讯作者:叶方(1971.02~),男,大学本科,副教授,副主任药师,主要从事医院药学管理工作,E-mail: yxwen8801129@sina.com。

依等诸多现实问题<sup>[8]</sup>。经实地调查发现,目前各药房或药店的重楼药材饮片多混杂使用,并未严格区分其类别,导致其质量不易规范化<sup>[9]</sup>。另外,少数药商将天南星科植物独角莲<sup>[10]</sup>、百合科开口箭属植物的根茎<sup>[11]</sup>等冒充重楼药材,扰乱了药材市场,给患者带来安全隐患。

传统的中药材基源鉴别多为人工操作,受样品的形态、形状以及研究者的专业水平限制,难以全面反映药材的内在质量。傅里叶变换红外光谱分析法 (FTIR) 可快速鉴别药材<sup>[11-13]</sup>,通过建立红外指纹图谱,比较其特征峰和二阶导数图谱间的差异,对药材进行定性鉴别。目前对重楼属植物药材的红外鉴别比较少,因此,我们建立重楼药材红外指纹图谱,为鉴别重楼属植物药材并区分其种属提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验仪器

FTIR-650 傅里叶红外变换红外光谱仪,包括高灵敏度 DTGS 检测器,FTIR-650 红外应用软件(天津港东科技发展股份有限公司)及 Nicolet Omnic Ver 8.2 红外光谱处理软件(赛默飞世尔科技公司)。DF-4 型压片机(天津港东科技发展股份有限公司),HF-12 型红外压片

模具(天津港东科技发展股份有限公司),电子天平(上海精科公司,型号 FA2004),HW-3A 型温控红外烤箱(天津港东科技发展股份有限公司),玛瑙研钵(上海隆拓仪器设备有限公司)。

### 1.2 药材

重楼药材样品采自武当山区和神农架林区,主要包括湖北省十堰市辖区内张湾区、茅箭区、郧县、竹山县、竹溪县、房县、丹江口市、神农架林区,各样品经湖北医药学院生药学教研室主任陈吉炎教授根据《中国植物志》<sup>[1]</sup>的分类标准鉴定,各样品基源及产地信息如表 1 所示。原药材去掉地上部分及须根后洗净,50 ℃ 烘干,粉碎后过 3 号筛备用。

### 1.3 样品测定与仪器条件

精密称定药材粉末 0.5 g,置 100 mL 具塞锥形瓶中,加入 25 mL 无水乙醇,加热回流 30 min,置冷,滤过,滤液水浴挥干成干浸膏(粉末)。取浸膏适量,加入 200 倍 KBr(光谱纯),在红外光灯下混合,研磨均匀后均匀放入压片模具内,在压强为 18 MPa 时维持 5 min 进行压片。光谱的波数范围 4 000 ~ 400 cm<sup>-1</sup>,分辨率为 2 cm<sup>-1</sup>,扫描信号累加 8 次。

表 1 样品基源及产地信息

编号	产地	品种鉴定	拉丁名	海拔	采集日期
1	茅箭区赛武当锅厂村	宽叶重楼	<i>P. polyphylla</i> var. <i>latifolia</i>	1 041 m	20140827
2	郧西槐树林场仙姑洞村	宽叶重楼	<i>P. polyphylla</i> var. <i>latifolia</i>	1 328 m	20140906
3	茅箭区马家河龙王寨	宽叶重楼	<i>P. polyphylla</i> var. <i>latifolia</i>	721 m	20140906
4	丹江口市官山杨叉坡村观音寨	宽叶重楼	<i>P. polyphylla</i> var. <i>latifolia</i>	814 m	20140930
5	竹溪县桃源乡茂古坪村	宽叶重楼	<i>P. polyphylla</i> var. <i>latifolia</i>	1 476 m	20140829
6	茅箭区茅塔乡坪子村-02	七叶一枝花	<i>P. polyphylla</i> Sm	666 m	20140913
7	茅箭区茅塔乡坪子村-01	七叶一枝花	<i>P. polyphylla</i> Sm	630 m	20140913
8	茅箭区马家河龙王寨	七叶一枝花	<i>P. polyphylla</i> Sm	796 m	20140921
9	神农架林区太子垭	七叶一枝花	<i>P. polyphylla</i> Sm	2 655 m	20141011
10	郧县鲍峡镇沧浪村-03	七叶一枝花	<i>P. polyphylla</i> Sm	1 178 m	20140826
11	茅箭区茅塔乡坪子村-02(野生)	七叶一枝花	<i>P. polyphylla</i> Sm	666 m	20140913
12	房县野人谷镇东蒿坪村-03	球药隔重楼	<i>P. fargesii</i>	1 657 m	20140831
13	房县野人谷镇东蒿坪村-02	球药隔重楼	<i>P. fargesii</i>	1 657 m	20140831
14	房县野人谷镇东蒿坪村-01	球药隔重楼	<i>P. fargesii</i>	1 657 m	20140830
15	竹溪县天宝乡蒿坝村	华重楼	<i>P. polyphylla</i> Sm. var. <i>chinensis</i>	816 m	20140828
16	茅箭区茅塔乡坪子村-03	华重楼	<i>P. polyphylla</i> Sm. var. <i>chinensis</i>	686 m	20140913
17	郧县叶大乡王良河村	狭叶重楼	<i>P. polyphylla</i> Sm. var. <i>stenophylla</i> Franch.	1 037 m	20140902
18	竹溪县桃源乡源茂林场	重楼	<i>Paris</i>	1 476 m	20140829
19	竹山	重楼	<i>Paris</i>	-	20120510

注:“-01、-02、-03”表示同村不同地块采集的样品。

### 1.4 数据预处理

每个样品测得的光谱曲线进行基线校正和归一化处理,然后对图谱作 9 点平滑以降低噪声的干扰。

### 1.5 方法学考察

1.5.1 精密度实验 取 4 号样品供试片连续测定 5 次,得其红外谱图,利用相关系数法<sup>[13]</sup>对样品药材进行全谱相似度分析,谱图间相关系数分别为 1.000 0、0.999 9、1.000 0、1.000 0、1.000 0, *RSD* = 0.01%。

1.5.2 重复性实验 取 4 号样品,分别取样 5 次进行

压片测定,测得红外吸收谱图,利用相关系数法对样品药材进行全谱相似度分析,谱图间相关系数分别为 0.998 9、0.994 3、0.997 6、0.999 5、0.997 9, *RSD* = 0.20%。

1.5.3 稳定性实验 取同一样品供试片(3 号样品)放入干燥器内保存,分别在 0、1、2、4、8、24 h 时测定,利用相关系数法对样品药材进行全谱相似度分析,所得谱图的相关系数分别 1.000 0、0.999 7、0.998 9、0.997 6、0.996 5, *RSD* = 0.15%

## 2 结果

### 2.1 武当山区重楼属植物药材红外指纹图谱构建

根据红外光谱吸收特征进行重楼药材红外指纹图谱的构建与分析,结果见图 1。重楼属植物药材在 3 470  $\text{cm}^{-1}$ 、2 990  $\text{cm}^{-1}$ 、2 920  $\text{cm}^{-1}$ 、1 777  $\text{cm}^{-1}$ 、1 670  $\text{cm}^{-1}$ 、1 420  $\text{cm}^{-1}$ 、1 080  $\text{cm}^{-1}$ 、960  $\text{cm}^{-1}$ 、608  $\text{cm}^{-1}$  附近有吸收峰。由其红外吸收谱图可知,重楼属植物的主要共有吸收峰有 3 470  $\text{cm}^{-1}$ 、2 990  $\text{cm}^{-1}$ 、1 670  $\text{cm}^{-1}$ 、1 420  $\text{cm}^{-1}$ 、1 080  $\text{cm}^{-1}$ 、960  $\text{cm}^{-1}$ 。其中在 3 470  $\text{cm}^{-1}$  处有最强吸收峰,峰形圆钝,其右侧 2 990  $\text{cm}^{-1}$  处有一较弱吸收峰,较尖锐。在 1 080  $\text{cm}^{-1}$  处有第二强吸收峰。在 1 670  $\text{cm}^{-1}$ 、1 420  $\text{cm}^{-1}$  多为双峰,较弱。这些吸收峰可作为重楼属植物药材的红外指纹图谱的共有特征峰。

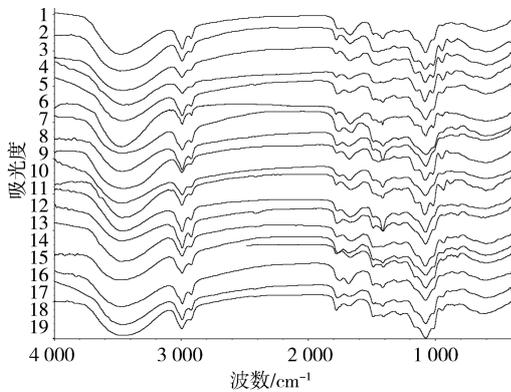


图 1 19 种重楼样品的红外光谱图

### 2.2 武当山区不同种属重楼药材的特征峰

不同种属的重楼属植物的红外吸收图谱如图 2 ~ 图 5 所示。依次为七叶一枝花、宽叶重楼、球药隔重楼、华重楼,不同种属重楼吸收图谱有细微差别。除上述主要吸收峰外,七叶一枝花的红外吸收光谱图在指纹区 1 497  $\text{cm}^{-1}$ 、1 295  $\text{cm}^{-1}$ 、1 155  $\text{cm}^{-1}$ 、953  $\text{cm}^{-1}$ 、880  $\text{cm}^{-1}$  附近有专特征吸收峰;宽叶重楼的红外吸收光谱图指纹区特征峰基本与宽叶重楼一致,可能是宽叶重楼为七叶一枝花的变种的原因,但七叶一枝花在 880  $\text{cm}^{-1}$  附近有一专特征峰,可对二者加以区分;球药隔重楼的红外吸收光谱图在 1 488  $\text{cm}^{-1}$ 、1 449  $\text{cm}^{-1}$ 、1 405  $\text{cm}^{-1}$  处有一三重峰,特征明显,1 295  $\text{cm}^{-1}$ 、1 273  $\text{cm}^{-1}$  处有一重峰和二重峰,在 882  $\text{cm}^{-1}$ 、817  $\text{cm}^{-1}$  处有两个较弱吸收峰;华重楼在 1 494  $\text{cm}^{-1}$ 、1 412  $\text{cm}^{-1}$  附近峰形发生分裂,呈二重峰。说明不同品种重楼药材的红外吸收图谱有一定差别,可用来鉴别重楼。

### 2.3 武当山区重楼药材红外光谱图主要吸收峰的归属

根据有机化合物的红外光谱特征,3 470  $\text{cm}^{-1}$  归属于羟基(O-H,来源于皂苷);2 990  $\text{cm}^{-1}$ 、2 920  $\text{cm}^{-1}$  归属于亚甲基(-CH<sub>2</sub>-);1 777  $\text{cm}^{-1}$  归属于羰基(C=O,羧酸、酮、酯类);1 670  $\text{cm}^{-1}$  归属于烯炔类(C=C);1 080  $\text{cm}^{-1}$  归属于醚键(C-O-C,醚类化合物);960  $\text{cm}^{-1}$  归属于碳氢键(=C-H)。见表 2。

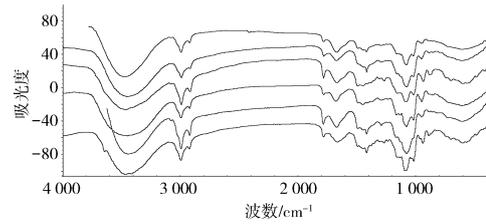


图 2 七叶一枝花的红外光谱图

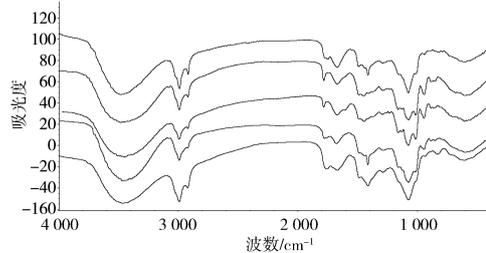


图 3 宽叶重楼的红外光谱图

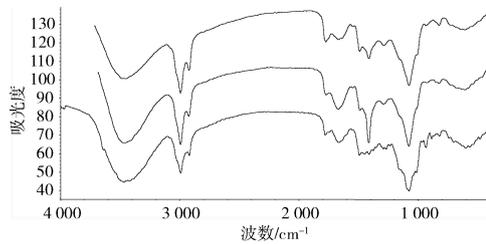


图 4 球药隔重楼的红外光谱图

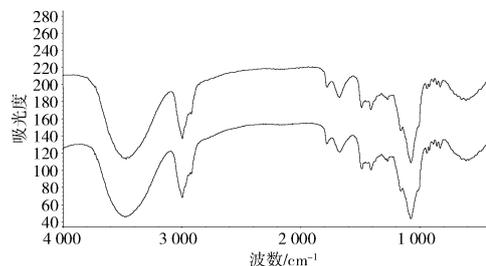


图 5 华重楼的红外光谱图

表 2 红外光谱图主要吸收峰的归属

波数/ $\text{cm}^{-1}$	归属	
3 470	$\nu(\text{O-H})$	羟基,来自于皂苷
2 990, 2 920	$\nu(-\text{CH}_2-)$	-
1 777	$\nu(\text{C=O})$	羧酸,酮,酯类
1 670	$\nu(\text{C=C})$	-
1 080	$\nu(\text{C-O-C})$	醚类化合物
960	$\gamma(=\text{C-H})$	-

### 2.4 红外光谱的二阶导数图谱的比较

以七叶一枝花的红外光谱的二阶图谱为参比,与其他各种属的红外二阶导数图谱进行比较,如图 6 ~ 图 9 所示。宽叶重楼在 3 675  $\text{cm}^{-1}$  处有一尖锐的峰,七叶一枝花在此处无明显峰;在 3 648  $\text{cm}^{-1}$  与 3 637  $\text{cm}^{-1}$  处宽叶重楼呈二重峰,而七叶一枝花只有一单峰;在 3 586  $\text{cm}^{-1}$  处七叶一枝花有一尖锐峰,而宽叶重楼在相应位置无明显峰。球药隔重楼在 1 292  $\text{cm}^{-1}$  处有一尖锐峰,七叶一枝花在相应位置没有;在 1 201  $\text{cm}^{-1}$  处球药隔重楼则分裂为二重峰,而 1 192  $\text{cm}^{-1}$  处七叶一枝花仅有一单峰;在

860  $\text{cm}^{-1}$  与 816  $\text{cm}^{-1}$  处球药隔重楼较七叶一枝花峰形明显。华重楼在 1 485  $\text{cm}^{-1}$ 、1 075  $\text{cm}^{-1}$  处皆为二重峰,而七叶一枝花在相应位置为单峰;华重楼在 940  $\text{cm}^{-1}$ 、886  $\text{cm}^{-1}$ 、858  $\text{cm}^{-1}$ 、828  $\text{cm}^{-1}$  处峰形尖锐,密集,而七叶一枝花在相应位置峰形较矮,较少。狭叶重楼与七叶一枝花的比较,七叶一枝花在 1 577  $\text{cm}^{-1}$  处有一吸收峰,狭叶重楼在相应位置吸收峰较弱,在 1 291  $\text{cm}^{-1}$  处则相反,狭叶重楼有一较强吸收峰,而七叶一枝花在此处吸收峰较弱。

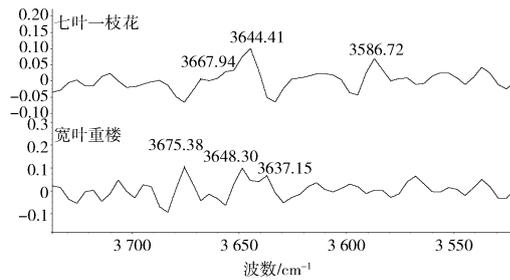


图 6 七叶一枝花与宽叶重楼的二阶导数图谱

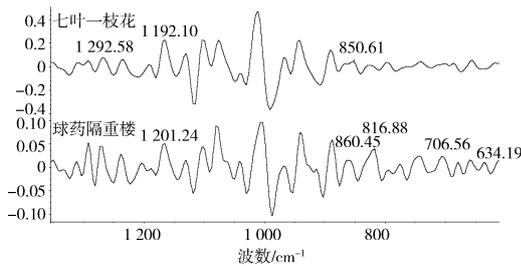


图 7 七叶一枝花与球药隔重楼的二阶导数图谱

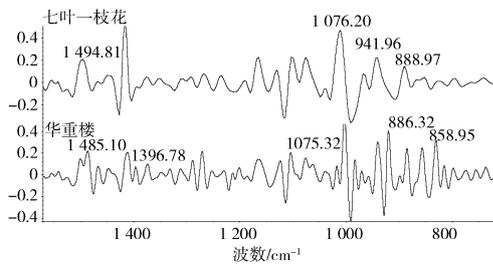


图 8 七叶一枝花与华重楼的二阶导数图谱

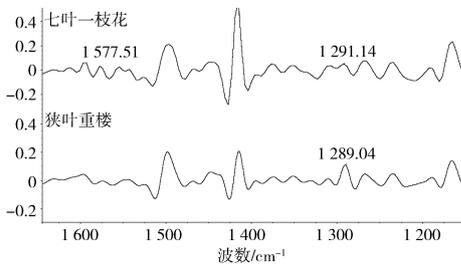


图 9 七叶一枝花与狭叶重楼的二阶导数图谱

### 3 讨论

对重楼药材的红外指纹图谱研究结果显示,采用红外指纹图谱、二阶导数图谱相结合的方式可以较准确地鉴别重楼属植物药材的品种,说明红外光谱法可以为重楼类药材定性鉴别提供参考。而且本方法较色谱法等

操作简便、检测时间短、重现性好,为其他中药材的快速鉴别提供了一定的科学依据和思路。但由于该方法没有进行数据处理,所以不能完全准确鉴别不同品种,可以结合其他方法进一步鉴别。

相似度作为数字信号科学中的一个定量定性参数,已被国家药典委员会确定为中药指纹图谱标准中的一项重要评价指标。但是在红外吸收光谱测定中,要保证其相似度在误差允许范围内,需要在压片环节中保证压片规格十分接近,所以在压片过程中操作必须十分规范,以免影响实验结果。

收集的 19 份样品中,第 18 号样品在采集时地上部分枯萎,通过形态学未能鉴别出具体品种。19 号样品为本地区采购的中药饮片,也未能准确鉴别其具体品种。通过红外图谱分析发现二者图谱较一致,但与其它品种图谱有差异,说明 18 号与 19 号样品可能为同一品种,或者是由不同品种混合一起的,还有待后续进一步研究。

不同品种重楼属植物外形差异较明显,可通过根、茎、叶、花、果等进行鉴别,但作为药用部位的根茎除南重楼组与重楼组组间差异明显外,同一组内没有明显差异,所以若不结合地上部分难以准确鉴别其品种,但通过红外图谱的差异特征分析可以比较准确进行鉴别,而且快速、直观。

### 参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 第一版(第十五卷). 北京: 科学出版社. 1978: 86-96.
- [2] 李恒, 陈昌祥, 丁靖凯. 重楼属植物的化学成分、地理分布及资源评价[J]. 云南植物研究, 1988(SI): 38-46.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010 年版一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010, 243-244.
- [4] 张树潘. 重楼属植物的化学成分及其药理活性研究进展[J]. 海峡药学, 2007, 19(6): 4-7.
- [5] 陈吉炎, 涂汉军, 涂自良, 等. 中国武当中草药志: 第一卷[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 2009, 241.
- [6] 叶方, 杨光义, 李志荣, 等. 重楼皂苷的提取工艺及质量控制研究概述[J]. 中国药师, 2011, 14(8): 1207-1209
- [7] 刘旭, 陈玉菡, 吴中应, 等. 重楼市场需求与价格分析[J]. 中国现代中药, 2007, 9(6): 45.
- [8] 韩培, 胡运权. 中药监管体制和机制创新的理论基础与政策建议[J]. 中国软科学, 2007, (11): 73-82.
- [9] 叶方, 杨光义, 黄良永, 等. 鄂西北地区重楼药材中皂苷含量比较[J]. 医药导报, 2013, 32(7): 933-935.
- [10] 唐瑾. 重楼伪品禹白附的鉴别[J]. 时珍国医国药, 2001, 12(11): 1004.
- [11] 颜茜. 中药重楼及其伪品开口箭的 FTIR 分析与鉴别[J]. 光散射学报, 2013, 25(1): 85-91.
- [12] 卢丽萍, 林励, 黄爱华, 等. 化橘红药材红外指纹图谱的研究[J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(3): 319-324.
- [13] 王栋, 王永禄, 郭啸, 等. 中药金礞石红外指纹图谱相似度分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(10): 2715-2718.

(编辑:杨丹)

(收稿日期:2015-12-07)