

三七茎叶提取物红外光谱分析

张志信, 张仕秀

(文山学院 生化系, 文山州生物资源开发研究中心, 云南 文山 663000)

摘要:以三七茎叶为原料, 采用醇提水沉-D101 大孔吸附树脂吸附、乙醇溶液梯度洗脱, 得到不同洗脱物; 在此基础上通过红外光谱法(FTIR)、二阶导数红外光谱法分析不同乙醇溶液洗脱物的“宏观指纹特征”, 并与原人参二醇型皂苷对照品 Rb1、黄酮类化合物对照品槲皮素、芦丁的红外光谱进行比较。结果表明: 不同洗脱物的一维红外光谱及二阶导数红外光谱有明显差异, 初步指认了不同洗脱物的吸收特征峰, 30%、50% 的乙醇溶液洗脱物主要成分为三七茎叶皂苷, 并且 2 个活性物的成分不同; 60%、70%、90% 乙醇溶液洗脱物主要成分为黄酮类化合物, 并且结构有差异, 可以作为不同的药理活性成分进行药物开发, 为三七茎叶原料药的提取建立分析模式。

关键词:三七茎叶; 提取物; 红外光谱

中图分类号:S 567.23⁺6 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)08-0178-06

三七茎叶为五加科植物三七(*Panax notoginseng* (Burk) F. H. Chen)的地上部分, 三七叶苷及黄酮是三七茎叶中的有效物。三七总黄酮与皂苷合用, 生理活性最强, 分开使用则证明总黄酮能显著增加心肌冠脉流量^[1]。现代药理试验表明, 三七叶有促神经元分化和保护、镇痛和镇静、改善微循环、提高免疫力和抗肿瘤等作用, 且毒副作用小。从化学结构分析, 叶和根的主要活性成分都是达玛烷型四环三萜 20(S)-原人参二醇型(PPD)和 20(S)-原人参三醇型(PPT), 根部主要含(PPT), 而叶几乎仅含(PPD), 二者含有 17 种相同的成分, 这预示着三七茎叶除具有与根相同的药理作用外还具有独特的作用, 随着三七茎叶药理作用的不断被揭示, 三七茎叶的药用价值引起关注^[2]。三七黄酮类成分有 3 种槲皮素、山奈酚, 还有 1 种苷元为槲皮素, 糖元被鉴定为木糖、葡萄糖和葡萄糖醛酸, 但糖的联结次序及位置未定。

郑莹等^[3]分离鉴定出三七茎叶中含有山奈酚、槲皮素、山奈酚-7-O- α -L-鼠李糖苷、山奈酚-3-O- β -D-半乳糖苷、山奈酚-3-O- β -D-半乳糖(2 \rightarrow 1)葡萄糖苷、槲皮素-3-O- β -D-半乳糖(2 \rightarrow 1)葡萄糖苷。张志信等^[4]以三七茎叶为原料, 采用醇提水沉、D101 树脂吸附, 以不同浓度的乙醇溶液进行梯度洗脱, 得到 10%、30%、50%、60%、70%、90% 的乙醇溶液洗脱物, 初步分析结果显示, 在 30%~60% 乙醇溶液洗脱物以三七茎叶皂苷为主要含量, 而

70%、90% 的乙醇溶液洗脱物以三七茎叶总黄酮为主要含量。傅里叶变换红外光谱法(FTIR)是一种常用的分析技术, 已被广泛应用在各个研究领域。其快速、整体、直观分析的新方法也适应于中药结构研究, 尤其对中草药真伪、优劣、不同产地的快速鉴别、复方整体成分配伍规律变化的研究^[5], 而将其应用于中药原料药提取质量监控的研究鲜为少见。该试验在此基础上采用 FTIR 技术分析了三七茎叶不同提取物的 FTIR 图谱特征, 为三七茎叶的提取及其提取物的深度开发研究提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

三七茎叶, 购自文山三七国际交易中心。将三七茎叶 105℃ 干燥至恒重, 粉碎过 60 目筛, 70% 乙醇溶液提取, 回收乙醇至干, 蒸馏水溶解, 过滤, 调节原液浓度, D101 大孔吸附树脂吸附, 蒸馏水洗至颜色极淡, 分别用 10%、30%、50%、60%、70%、90% 乙醇溶液梯度洗脱, 得到相应的洗脱液, 分别进行浓缩, 真空干燥, 得到相应的洗脱物, 用于红外光谱分析。傅立叶变换红外光谱仪(IRPresting-21 型, 日本岛津公司); 液压片机、粉碎机(XA-1 型); 电子天平(Precisa XT220A, 瑞士生产); 恒温干燥箱(202 型)。

1.2 光谱测试

利用傅立叶变换红外光谱仪(IRPresting-21 型)分别测量 10%、30%、50%、60%、70%、90% 的乙醇溶液洗脱物。

2 结果与分析

2.1 三七茎叶不同提取物的 FTIR 图谱分析

三七茎叶的主要有效成分是叶苷及黄酮, 因此该试验采取醇提水沉法制备上柱原液, 用 D101 大孔吸附树

第一作者简介:张志信(1970-), 男, 硕士, 副教授, 现主要从事天然药物等研究工作。

基金项目:云南省教育厅科学研究基金资助项目(08C0261)。

收稿日期:2012-01-29

脂吸附,乙醇溶液梯度洗脱得到不同洗脱物,减压浓缩得到不同的提取物,避免淀粉、纤维素等的干扰。10%、30%、50%、60%、70%、90%的乙醇溶液洗脱物的红外光谱见图1~3。从图1~3可以看出,所有的三七茎叶提

取物在 3 383、3 402 cm^{-1} 附近均有吸收峰,且峰形宽大,吸收峰强度较强的羟基伸缩振动,表明 6 种洗脱物都含有活泼-OH,存在糖或酚羟基;在 2 943、2 929、2 877、2 856附近均有吸收峰,表明含有 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-$ 。

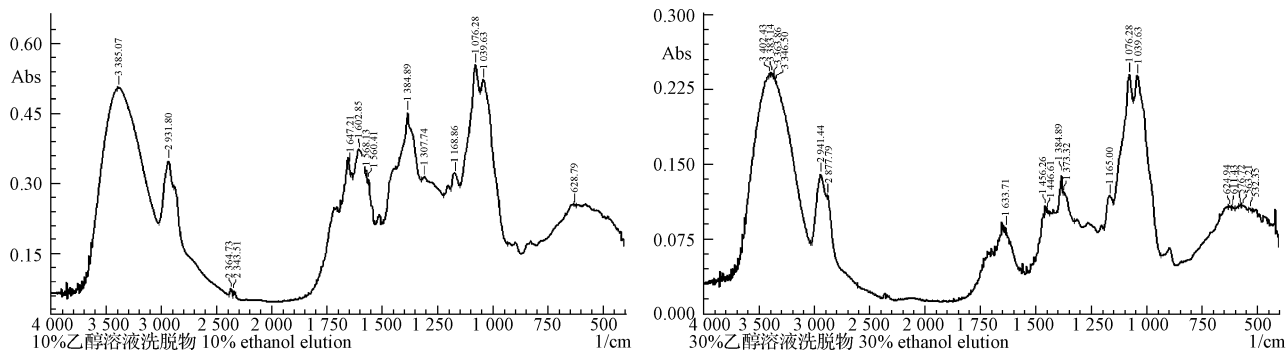


图1 10%、30%乙醇溶液洗脱物红外光谱图

Fig.1 Infrared spectrum of 10%, and 30% ethanol elution

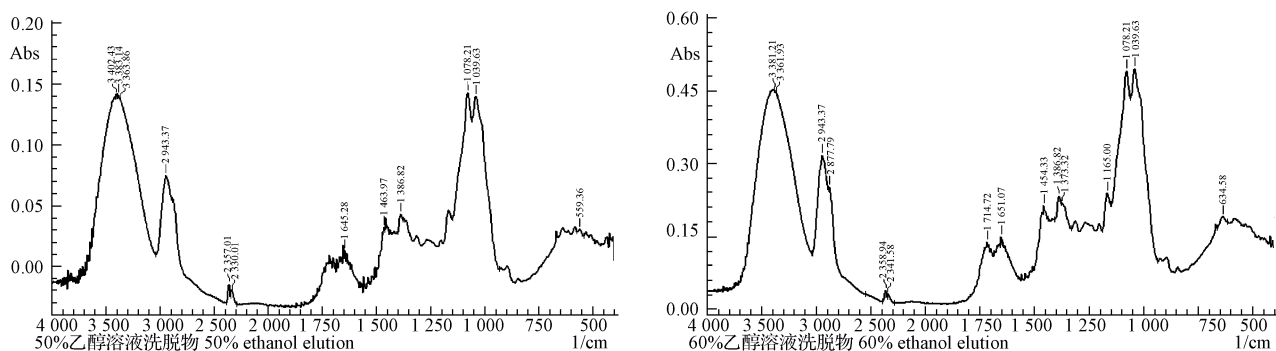


图2 50%、60%乙醇溶液洗脱物红外光谱图

Fig.2 Infrared spectrum of 50%, and 60% ethanol elution

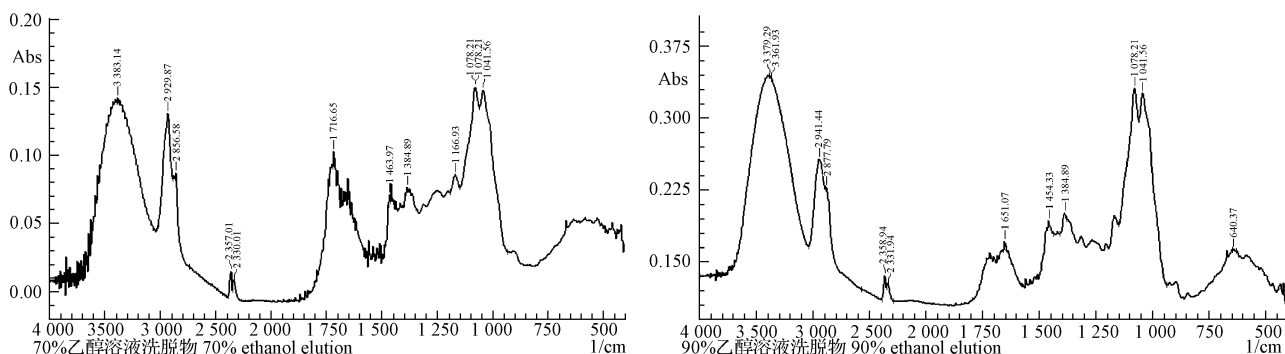


图3 70%、90%乙醇溶液洗脱物红外光谱图

Fig.3 Infrared spectrum of 70%, and 90% ethanol elution

由表1及图4可以看出,10%、30%、50%、60%、70%、90%的乙醇溶液洗脱物在 1 384 cm^{-1} 附近均有吸收峰,这是四环三萜化合物的特征吸收峰,并以 10%的乙醇各溶液洗脱物吸收强度最大,随着乙醇溶液浓度加大在此处的洗脱物吸收强度下降;表明原人参二醇型标品 Rb1 的红外光谱吸收峰 3 402、3 383、3 365、3 348、2 943、2 877、1 635、1 456、1 386、1 165、1 076、1 035 cm^{-1} 都能在 30%乙醇溶液洗脱物的红外光谱中找到,在 50%

乙醇溶液洗脱物中也能找到 3 402、3 383、3 365、3 348、2 943、1 386、1 078、1 035 cm^{-1} 吸收峰,表明 30%、50%乙醇溶液洗脱物中主要成分是原人参二醇型皂苷。故 30%、50%乙醇溶液洗脱物主要用于与原人参二醇型皂苷相关的药物制剂方面,突出其药理作用;3 363、2 943、2 877 cm^{-1} 为 30%、50%、60%、90%乙醇溶液洗脱物的共同吸收峰,30%~90%乙醇溶液洗脱物在 2 358 cm^{-1} 附近均有吸收峰,表明有 60%、70%的乙醇溶液洗脱物

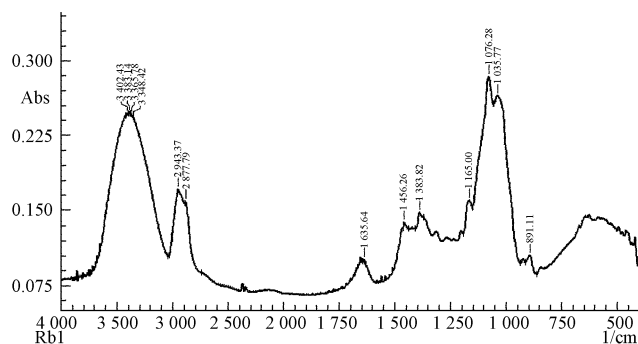


图4 Rb1 对照品红外光谱图

Fig. 4 Infrared spectrum of Rb1 standard

在 1714 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$)、 1651 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$ 、 $\text{C}=\text{C}$)附近有羰基的伸缩振动吸收峰,并且60%乙醇溶液洗脱物的吸收强度远大于70%乙醇洗脱物,而90%乙醇溶液洗脱物在 1651 cm^{-1} 处的吸收强度大于60%乙醇溶液洗脱物在此波数处的吸收强度,表明含有 $\text{C}=\text{O}$,60%、70%、90%的乙醇溶液洗脱物中出现了黄酮类化合物,90%乙醇溶液洗脱物的黄酮类化合物含量最高,60%的乙醇溶液洗脱物中的黄酮类化合物含量远远高于70%乙醇溶

表1

不同浓度乙醇溶液洗脱物的红外光谱特征峰

Table 1

Infrared spectral feature of different concentration of ethanol eluate

样品 Sample	10%洗脱物 10% ethanol eluate	30%洗脱物 30% ethanol eluate	50%洗脱物 50% ethanol eluate	60%洗脱物 60% ethanol eluate	70%洗脱物 70% ethanol eluate	90%洗脱物 90% ethanol eluate
峰位置 Position of peak/ cm^{-1}	3 385 2 931 2 364 2 343 1 647 1 602 1 568 1 560 1 384 1 307 1 168 1 076 1 039 628	3 402 3 383 3 363 3 346 2 941 2 877 1 633 1 456 1 446 1 384 1 373 1 165 1 076 1 039 624 611 576 563 532	3 402 3 383 3 363 2 943 2 357 2 330 1 645 1 463 1 386 1 078 1 039 559	3 381 3 361 2 943 2 877 2 358 2 341 1 714 1 651 1 454 1 386 1 373 1 165 1 078 1 039 634	3 383 2 929 2 856 2 357 2 330 1 716 1 463 1 384 1 166 1 078 1 076 1 041	3 379 3 361 2 941 2 877 2 358 2 331 1 651 1 454 1 384 1 078 1 041 610

表2

Rb1、芦丁、槲皮素标品的红外光谱特征峰

Table 2

The infrared spectral feature of Rb1 and rutin and quercetin standard

	红外光谱特征峰 Infrared spectral feature/ cm^{-1}											
Rb1	3 402	3 383	3 365	3 348	2 943	2 877	1 635	1 456	1 386	1 165	1 076	1 035 891
芦丁 Rutin	3 423	3 406	2 358	1 653	1 600	1 506	1 456	1 361	1 296	1 203	1 060	1 012
槲皮素 Quercetin	3 394	3 319	1 658	1 610	1 562	1 519	1 379	1 317	1 259	1 242	1 199	1 166 1 012

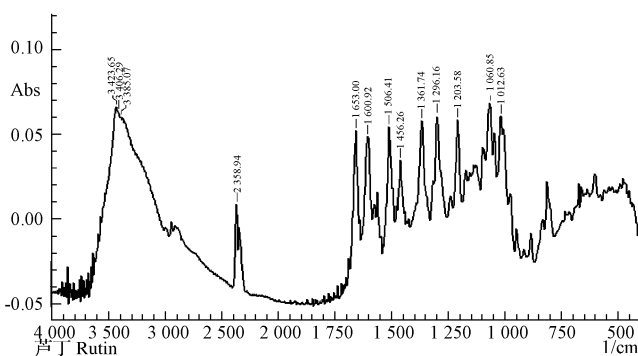
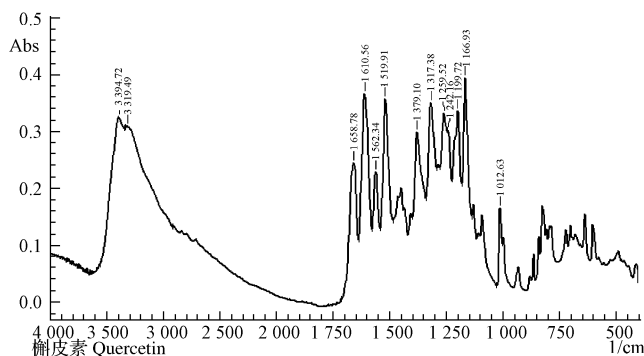


图5 槲皮素、芦丁标准品红外光谱图

Fig. 5 Infrared spectrum of rutin and quercetin standard

2.2 三七茎叶不同提取物的 FTIR 二阶导数谱图分析

二阶导数谱最大的优势是把复杂体系中原本重叠在一起的峰区分开来,提高图谱的表现分辨率。运用二阶导数法对三七茎叶提取物从 D101 大孔吸附树脂上采用不同浓度的乙醇溶液梯度洗脱物中成分进行归属,如表 3 及图 6~8 所示,在 1 900~1 000 cm^{-1} 范围内,二阶导数谱分辨出的吸收峰最多,60%、70%、90%的乙醇溶液洗脱物在 1 759、1 687、1 568、1 527、1 496、1 402、1 328、1 294、1 217、1 186、1 143、1 058、997 cm^{-1} 附近均有相同

的吸收峰,1 568、1 527、1 496 cm^{-1} 是苯环的骨架振动,再加上一维红外光谱图中于 1 454 cm^{-1} 附近有吸收峰,推测三者均含有苯环结构,1 078 cm^{-1} (C-O) 特征吸收峰最强,结合 1 714、1 651 cm^{-1} (C=O) 处的吸收峰,表明三者中含黄酮类成分较高;在 1 000~500 cm^{-1} 波数范围内,也在 997、960、873 cm^{-1} 附近有相同吸收峰,表明这 3 种乙醇溶液洗脱物的成分结构相似程度高。而 10%、30%、50%的乙醇溶液洗脱物在 1 900~1 000 cm^{-1} 范围内,与 1 186、1 145、997 cm^{-1} 附近有相同吸收峰。

表 3 不同浓度乙醇溶液洗脱物的二阶导数红外光谱特征峰

Table 3 Secondary derivative spectral feature of different concentration of ethanol eluate

样品 Sample	3 500~2 500 cm^{-1}	2 500~1 900 cm^{-1}	1 900~1 000 cm^{-1}	1 000~500 cm^{-1}
10%乙醇洗脱物 10% ethanol eluate	3 003 2 889 2 837	2 349	1 695 1 627 1 531 1 496 1 479 1 429 1 330 1 217 1 188 1 143 997	997 956 873
30%乙醇洗脱物 30% ethanol eluate	3 018 2 902 2 887 2 835	2 378 2 343	1 527 1 396 1 186 1 145 979	995 948 875
50%乙醇洗脱物 50% ethanol eluate	3 018 2 889 2 864 2 835	2 378 2 345	1 494 1 186 1 145 1 058	995 962 873 678 655
60%乙醇洗脱物 60% ethanol eluate	3 016 2 837	2 380 2 347	1 759 1 687 1 568 1 527 1 496 1 402 1 328 1 294 1 217 1 186 1 143 1 058 997	977 960 941 873
70%乙醇洗脱物 70% ethanol eluate	2 904 2 885 2 837	2 378 2 345	1 759 1 687 1 527 1 494 1 481 1 444 1 406 1 143	997 954 875 678 655
90%乙醇洗脱物 90% ethanol eluate	3 012 2 837	2 380 2 347	1 759 1 685 1 568 1 527 1 496 1 481 1 402 1 328 1 294 1 217 1 186 1 143 1 058 979	997 950 943 873

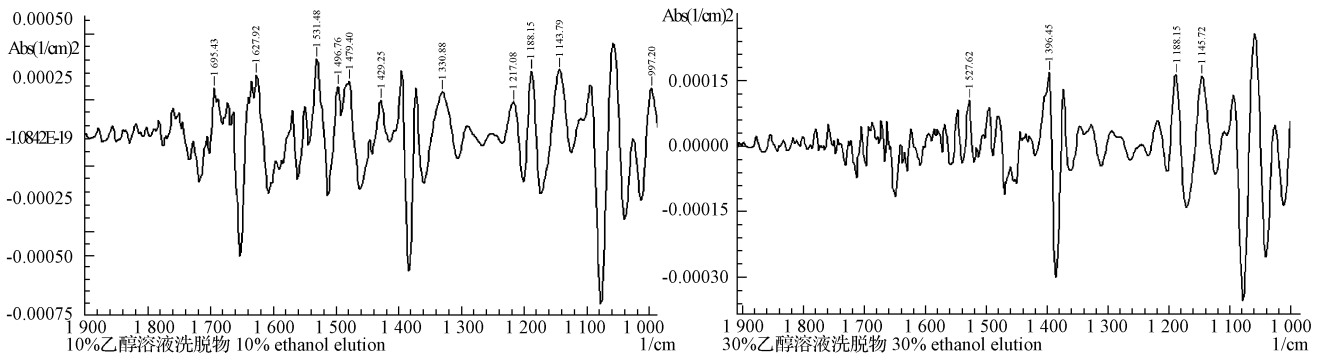


图 6 10%、30%乙醇溶液洗脱物二阶导数红外光谱图

Fig. 6 Secondary derivative spectra of 70%, and 90% ethanol elution 10%, and 30% ethanol elution

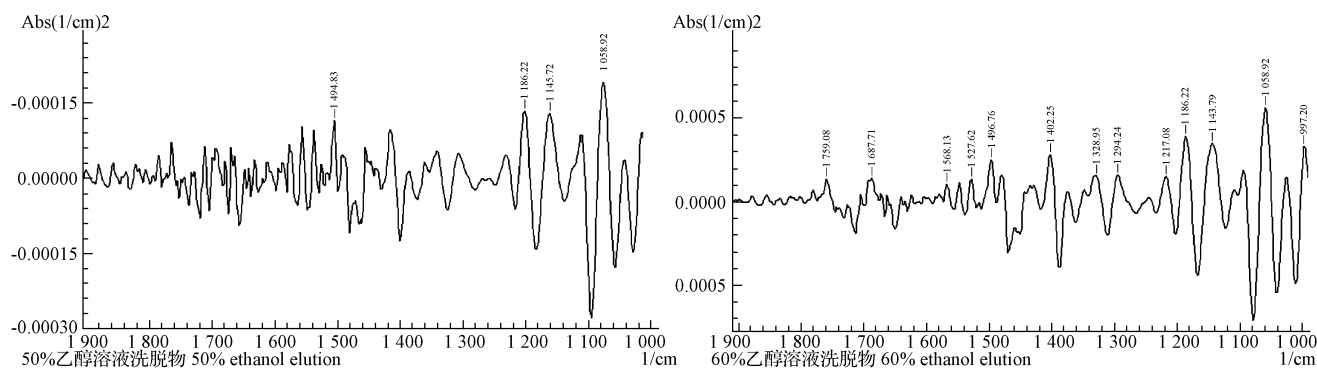


图7 50%、60%乙醇溶液洗脱物二阶导数红外光谱图

Fig. 7 Secondary derivative spectra of 50%, and 60% ethanol elution

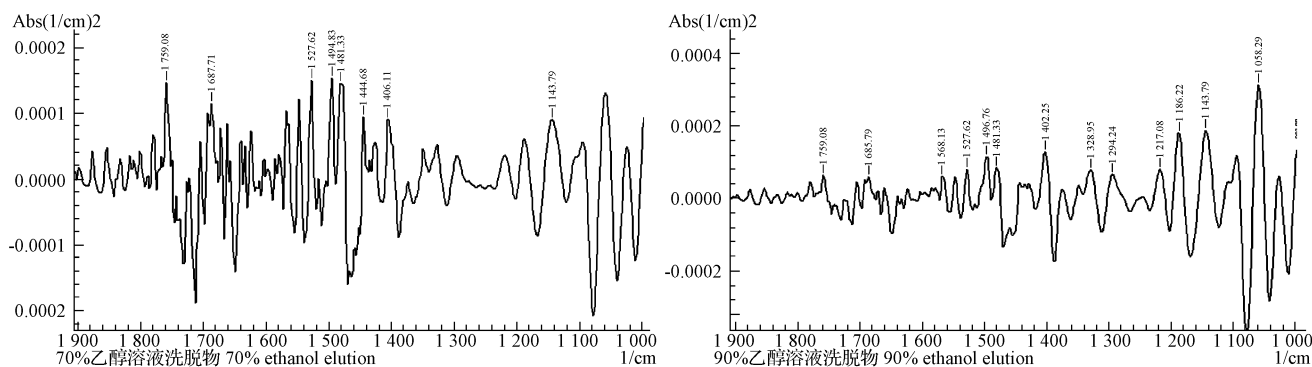


图8 70%、90%乙醇溶液洗脱物二阶导数红外光谱图

Fig. 8 Secondary derivative spectra of 70%, and 90% ethanol elution

3 结论

以三七茎叶为原料,采用水提醇沉-D101 大孔吸附树脂吸附,不同浓度乙醇溶液梯度洗脱得到 6 组洗脱物,通过 FTIR 技术分析了 6 组洗脱物的 FTIR 图谱,从宏观上发现 6 组洗脱物的成分差异显著,10%乙醇溶液洗脱物主要含糖类及三七叶皂苷及少量吸附不牢固的黄酮类化合物;30%及 50%的乙醇溶液洗脱物主要含三七叶皂苷,并且二者所含三七叶皂苷成分有区别;60%、70%、90%的乙醇溶液洗脱物主要含有黄酮类化合物。这一结论显示,三七茎叶提取物只要控制提取工艺,可以得到不同的有效部位,提高三七茎叶提取物制剂药理作用的针对性,缩小剂型,增强疗效。

参考文献

- [1] 魏均娟,杜元冲. 三七-现代科学研究与应用[M]. 昆明:云南科技出版社,1996:31-34.
- [2] 黄凤,向飞军,伍杰雄. 三七叶皂苷成分及其单体提取分离研究进展[J]. 中药材,2009,32(6):999-1005.
- [3] 郑莹,李绪文,桂明玉,等. 三七茎叶黄酮类成分的研究[J]. 中国药学杂志,2006,41(3):176-178.
- [4] 张志信,张仕秀,胡彦. 三七茎叶中叶苷及黄酮的同步分离工艺研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(5):1139-1141.
- [5] 陈业高. 植物化学成分[M]. 北京:化学工业出版社,2004:175.
- [6] 徐茂玲,李惠芬,周群,等. 不同配伍方式凉血活血复方的红外光谱法研究[J]. 光谱学与光谱分析,2010,30(3):640-643.

Infrared Spectrum Analysis of Extracts of *Panax notoginseng* Stems and Leaves

ZHANG Zhi-xin, ZHANG Shi-xiu

(Department of Biochemistry, Wenshan University, Wenshan Biological Resources Research and Development Centre, Wenshan, Yunnan 663000)

Abstract: Taking *Panax notoginseng* stems and leaves as the materials, different elution fractions were prepared by precipitating with alcohol extracting-water, adsorption with D101 macroporous resin and gradient elution with ethanol solution. Then analyzing 'macro fingerprint characteristics' of different elution fractions by Fourier Transform infrared spectroscopy and second derivative infrared spectroscopy. The results were compared with infrared spectroscopy of

短葶飞蓬挥发油化学成分的研究

徐文晖, 梁 倩

(西南林业大学 西南山地森林资源保育与利用省部共建教育部重点实验室, 云南 昆明 650224)

摘 要:用水蒸汽蒸馏的方法提取挥发油,用面积归一化法测定各化学成分的相对百分含量,通过 GC-MS 对短葶飞蓬挥发油的化学成分进行了分析。结果表明:共鉴定出 18 种成分,占挥发油总量的 98.991%;酮类含量最高(73.224%),其中 6,7-二甲醇基-二氢-茛-2-酮含量最高(49.690%)。

关键词:挥发油;短葶飞蓬;GC-MS

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)08-0183-02

短葶飞蓬(*Erigeron breviscapus*)为菊科飞蓬属多年生草本植物,也叫灯盏花、灯盏细辛^[1]。用于祛风散寒、活血通络止痛、风寒湿痹痛,可治疗中风瘫痪、胸痹心痛、牙痛、感冒^[2]等症。短葶飞蓬主要分布于我国西南地区,其中 98%左右分布在云南,是云南特有的山地中药材^[3]。近现代研究表明,短葶飞蓬主要用于治疗高血压、脑栓塞、多发性神经炎、慢性蛛网膜炎等脑血管意外所致的瘫痪症^[4]等。

1 材料与方法

1.1 试验材料

短葶飞蓬全株于 2011 年 5 月采自云南省文山县,经西南林业大学植物学教研室杜凡教授鉴定为短葶飞蓬(*Erigeron breviscapus*)。乙醚及其它试剂均为分析纯。试剂与仪器:GC6890-MSD5973N 气相-质谱联用仪,美国 J&W. HP-5 色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm)弹性石英毛细管柱,谱库: NIST02,电子分析天平(AUW120 日本岛津)。

第一作者简介:徐文晖(1974-),男,陕西宝鸡人,博士,讲师,现主要从事天然产物的研究工作。

基金项目:教育部重点实验室科研基金资助项目(KLESWFU-1104)。

收稿日期:2012-01-29

1.2 试验方法

1.2.1 挥发油的提取 将短葶飞蓬样品 185 g,放入圆底烧瓶,用水蒸汽蒸馏 6 h,再用乙醚萃取流出液,再在 -10℃挥掉乙醚,得待测样品。

1.2.2 气相色谱条件 载气为高纯氦气(99.99%),流速:1 mL/min,进样量 0.5 μL,分流比 100:1,汽化室温度:250℃,程序升温为:80~290℃,速率:4℃/min,保持 30 min。

1.2.3 质谱条件 离子源温度 230℃,电离方式为 E I 源,电子能量 70 eV。

2 结果与分析

对挥发油样品进行了 GC-MS 分析,采用色谱数据处理系统,以峰面积归一化法测得挥发油各组分的相对含量,通过 NIST02 标准质谱图库检索,并查对相关质谱资料,得到短葶飞蓬挥发油的化学成分(表 1)。

由表 1 可知,共鉴定出 18 种化合物,大致可以分为酮类、脂肪酸、醇类、烯类、醛类。短葶飞蓬挥发油中,酮类化合物 6 个,百分含量为 73.224%,6,7-二甲醇基-二氢-茛-2-酮含量最高(49.690%);脂肪酸类化合物 5 个,十六烷酸含量最高(17.606%);醇类化合物 4 个(2.293%);烯类化合物 2 个(1.691%);醛类化合物 1 个(0.098%)。

protopanaxadiol saponins Rb1 reference substance, flavonoids quercetin reference substance and rutin. The results showed that one-dimensional infrared spectroscopy and second derivative infrared spectroscopy of different elution fractions were different. The characteristic absorption peaks of different elution fractions were described. The elution fractions with 30% and 50% ethanol solution mainly were different component saponins of *Panax notoginseng* stems and leaves. The elution fractions with 60%, 70% and 90% ethanol solution mainly were flavonoids with different structure. These products can be used as different pharmacological component to meet the challenge of drug discovery and establishing analysis pattern for extraction of *Panax notoginseng* stems and leaves crude drug.

Key words: *Panax notoginseng* stems and leaves; extracts; infrared spectroscopy