

基于 FTIR 的天南星及其混伪品鉴别

严福林, 刘利平, 杜富强, 谭云飞, 黄明喆, 魏升华*
(贵州中医药大学药学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要: **目的** 建立傅里叶红外光谱 (FTIR) 快速鉴别天南星及其混伪品。**方法** 应用 FTIR 测定 10 种、30 批天南星及其混伪品在 4 000~400 cm^{-1} 红外光谱范围的吸收情况, 并对不同样品的红外光谱吸收峰特征进行比较与聚类分析。**结果** 30 批样品的红外光谱在波数 4 000~2 000 cm^{-1} 内有 2 个共同吸收峰, 无显著吸收差异; 在波数 2 000~400 cm^{-1} 内吸收峰较多, 具有明显吸收差异; 16 批不同产地的天南星红外光谱图较为相似, 相关系数均大于 0.9; 在波数为 1 323 cm^{-1} 、1 736 cm^{-1} 处的吸收可以将天南星与大部分同属混伪品进行区分。30 批样品可分为 3 大类。**结论** 该方法准确稳定, 重复性好, 可用于天南星的质量控制。

关键词: 天南星; 混伪品; 鉴定; FTIR

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2020)01-0128-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.01.028

Identification of *Arisaematis Rhizoma* and its adulterants based on FTIR

YAN Fu-lin, LIU Li-ping, DU Fu-qiang, TAN Yun-fei, HUANG Ming-zhe, WEI Sheng-hua*
(Department of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish a rapid method for identification of *Arisaematis Rhizoma* and its adulterants by fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). **METHODS** Ten species of thirty batches of *Arisaematis Rhizoma* and its adulterants were detected with the absorption range in 4 000–400 cm^{-1} by FTIR. The characteristics of FTIR absorption peaks of different samples were used for comparative analysis and cluster analysis. **RESULTS** In the wave number 4 000–2 000 cm^{-1} , there were two co-absorption peaks in the infrared spectra of thirty samples, without significant differences. There were many absorption peaks in the wave number of 2 000–400 cm^{-1} , with significant differences in absorption. The infrared spectra of sixty batches of araceae samples from different growing areas were similar, with the correlation coefficients all above 0.9. The infrared absorption spectra at the wavenumber of 1 323 cm^{-1} , 1 736 cm^{-1} could identify and distinguish the most of *Arisaematis Rhizoma* and adulterants of genus *Arisaema*. Thirty batches of samples were divided into three types. **CONCLUSION** This accurate, stable and reproducible method can be used for the quality control of *Arisaematis Rhizoma*.

KEY WORDS: *Arisaematis Rhizoma*; adulterants; identification; FTIR

天南星是我国传统大宗药材之一, 药用历史悠久, 《神农本草经》中记载天南星实为虎掌, 以天南星之名首载于《开宝本草》^[1-2]。2015 年版《中国药典》收载的天南星来源于天南星科植物天南星 *Arisaema erubescens* (wall.) Schott.、异叶天南星

A. heterophyllum Bl.、东北天南星 *A. amurense* Maxim. 的块茎。天南星性温, 味辣, 具有消肿止痛、燥湿化痰、祛风止痉等功效^[3], 古代诸多本草及方剂典籍中均有记载, 如《太平圣惠方》中朱砂丸、一字散, 《普济方》中的南星膏、桃红撒

收稿日期: 2018-12-21

基金项目: 国家中医药管理局项目 (国中医药科技中药 2014-117); 贵州省教育厅贵州中药民族药种质资源保存及评价研究中心 (黔教合 KY 字 [2017] 018); 贵州医科大学省部共建药用植物功效利用国家重点实验室开放课题 (FAMP201701K)

作者简介: 严福林 (1986—), 男, 硕士, 讲师, 从事中药及民族药资源、栽培与质量控制研究。E-mail: fliyan00@qq.com

* 通信作者: 魏升华 (1965—), 男, 教授, 硕士生导师, 从事中药及民族药资源、分类鉴定与质量控制研究。E-mail: weishenghua6512@126.com

等^[4-5]。现代研究表明,天南星含有丰富的多糖、黄酮及核苷类成分(腺苷、鸟苷、肌苷、胸苷、尿苷),具有广泛的抗肿瘤、抗病毒、镇痛、抗炎、抗凝血、松弛支气管平滑肌、心肌保护、镇静中枢神经等生物活性^[6-10]。

天南星药材来源种类繁多,外形相似,同属或同科混伪现象普遍。据考证,天南星在不同本草记载中来源各异。经调查发现,各地民间的药用天南星基因地而异常用的有山珠南星、虎掌、半夏、银南星、河谷南星、高原南星、普陀南星、象南星、象头花、犁头尖、三叶犁头尖、鞭檐犁头尖、马蹄犁头尖等二十余种天南星科天南星属、犁头尖属、半夏属、魔芋属等植物^[11]。

不同来源天南星药材成分及含量差异较大,对天南星及其伪品虎掌、半夏的研究较多,主要集中在性状、显微、理化鉴别等方面^[12-14]。裴文茜等^[15]建立了天南星薄层色谱鉴别方法;陆丹等^[16]通过近红外光谱法将天南星与虎掌进行鉴别;高鸿彬等^[17]通过近红外漫反射光谱法建立天南星与不同产地半夏快速无损鉴别方法;李欣逸等^[18]通过电子鼻技术建立了天南星与半夏、水半夏的鉴别方法;罗芬等^[19]通过HPLC获得天南星药材共有指纹图谱,发现与虎掌、半夏图谱比较有显著区别,但以上方法均受到了样本量的限制,其应用上具有一定局限性。目前,关于天南星多来源,如山珠南星、棒头南星、虎掌、半夏、滴水珠、绥阳雪里见等多种类、大样本的混伪品研究尚未见报道。

傅里叶变换红外光谱(FTIR)是中药结构分析和鉴定的现代方法之一,具有简便、快速、准确、无损等特点^[20],在黄芪、三七、八角莲、羌活等中药材鉴定中得到了广泛应用,效果较好^[21-24]。据此,本研究运用该技术对天南星及其混伪品的红外光谱图进行分析,以期丰富该药材鉴定方法,并为其临床应用、挖掘开发提供参考。

1 材料

FW135粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司); DGF-6AB电热鼓风干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司); IRAffinity-1 s傅里叶变换红外分光光谱仪(日本岛津公司)。

本研究共收集到不同产地10种、30批样品,其中天南星属7种,半夏属3种,经贵州中医药大学魏升华教授鉴定为正品,凭证标本保存于贵州中医药大学药学院中药材种植与加工研究所,具体见表1。

2 方法

2.1 样品预处理 采集天南星及其混伪品新鲜块茎,洗净,切片,60℃干燥,过6号筛,密封,放于干燥器中保存。

2.2 光谱数据采集 将样品粉末与溴化钾混合,置于红外光谱测定专用模具中压片,傅里叶变换红外光谱仪检测,得到红外光谱图。采集条件为光谱范围4 000~400 cm⁻¹,每张光谱累加扫描次数32次,光谱分辨率4 cm⁻¹。抽取5个样品(编号1、6、12、18、24)各进行3次制样试验,结果显示方法稳定,重复性较好。

2.3 数据处理 将30批样品的原始图谱用OMNIC 9.0、TQ Anlyst 8.0软件进行处理,消除基线漂移和噪音干扰后进行图谱分析。然后,将预处理过的光谱数据导入SPSS 16.0软件,通过组件连接和欧氏距离进行聚类分析,绘制系统聚类分析树状图。

3 结果与分析

3.1 红外光谱特征 30批样品的红外光谱图趋势较为相似,在特征频率区(波数4 000~2 000 cm⁻¹)内有2个共同吸收峰,即在波数3 385 cm⁻¹由醇类和酚类成分O-H(形成氢键)伸缩产生的吸收峰,以及在波数2 929 cm⁻¹由烯烃的C-H伸缩产生的吸收峰,见图1。指纹区(波数2 000~400 cm⁻¹)内吸收峰较多,具有明显吸收差异,见图2。因此,本实验选择波数2 000~400 cm⁻¹的光谱信息进行后续比对分析。

3.2 不同产地的天南星红外光谱 通过TQAnlyst 8.0软件,以贵州安顺天南星的红外光谱图作为参照峰,比较16批不同产地样品红外光谱图,图谱间的相关系数分别为1.000、0.961 0、0.905 4、0.965 1、0.900 7、0.969 4、0.967 8、0.967 3、0.926 3、0.970 7、0.937 3、0.923 4、0.962 0、0.964 9、0.928 3,均大于0.9,表明它们之间非常相似,见图3。

3.3 天南星与同属混伪品的红外光谱 天南星与同属混伪品通过芳香酮类羧基化合物成分C-C伸缩在波数1 323 cm⁻¹的吸收,可将9(天南星)与18(异叶天南星)、20(棒头南星)、30(花南星)区分,其中9在这个波数的吸收尖锐,而18、20、30在此波数较平坦、钝圆。

酯类羧基化合物成分C=O双键伸缩在波数1 736 cm⁻¹的吸收可以将9(天南星)与28(象头花)、29(绥阳雪里见)区分,9在此波束处平坦,

表 1 样品信息
Tab. 1 Information of samples

编号	样品	采集地点	采集时间	经度	纬度
1	天南星	贵州安顺龙宫镇	2017. 06. 12	104°52'47"	25°13'16"
2	天南星	贵州龙里麻芝乡	2017. 07. 10	107°2'32"	26°27'49"
3	天南星	贵州施秉牛大场镇	2017. 05. 12	107°55'57"	27°8'47"
4	天南星	贵州威宁黑石镇	2017. 08. 25	104°1'34"	26°44'57"
5	天南星	贵州贵阳乌当锅底箐	2017. 06. 19	106°55'33"	26°47'52"
6	天南星	贵州龙里羊场镇	2017. 05. 18	106°56'34"	26°26'51"
7	天南星	贵州威宁岔河乡	2017. 08. 27	103°49'29"	26°42'39"
8	天南星	贵州威宁松木卡村	2017. 08. 27	104°8'43"	26°44'30"
9	天南星	贵州贵阳燕楼乡	2017. 06. 04	106°37'32"	26°19'42"
10	天南星	贵州大方龙山村	2017. 05. 25	105°52'34"	27°21'5"
11	天南星	贵州大方大海坝	2017. 05. 26	105°36'59"	27°7'45"
12	天南星	贵州贵阳高坡乡	2017. 05. 14	105°36'60"	26°18'6"
13	天南星	贵州大方凉井村	2017. 06. 12	105°36'61"	27°10'7"
14	天南星	贵州凯里开怀村	2017. 08. 11	105°36'62"	26°32'28"
15	天南星	贵州贵阳花溪平桥	2017. 07. 23	105°36'63"	26°26'18"
16	天南星	贵州六盘水梅花山	2017. 08. 26	104°45'19"	26°36'16"
17	异叶天南星	贵阳市乌当区下坝乡	2017. 07. 15	105°36'65"	26°50'44"
18	异叶天南星	贵州贵阳花溪平桥	2017. 05. 13	105°36'66"	26°26'18"
19	山珠南星	贵州贵阳花溪党武乡	2017. 05. 13	105°36'67"	26°23'22"
20	棒头南星	贵州贵阳羊昌乡	2017. 05. 01	105°36'68"	26°42'52"
21	虎掌	贵州贵阳羊昌乡	2017. 06. 14	105°36'69"	26°42'52"
22	虎掌	贵州关岭花江镇	2017. 04. 23	105°36'70"	25°45'8"
23	半夏	贵州大方鸡场乡	2017. 06. 12	105°36'71"	27°0'32"
24	象头花	贵州凯里开怀村	2017. 05. 30	105°36'72"	26°32'28"
25	象头花	贵州盘县鸡场坪	2017. 07. 10	105°36'73"	25°35'26"
26	滴水珠	贵州黄平飞云峡谷	2017. 04. 29	105°36'74"	26°55'10"
27	象头花	贵州水城县坪寨乡	2017. 08. 26	105°36'75"	26°28'29"
28	象头花	贵州六枝特区	2017. 08. 21	105°36'76"	26°14'34"
29	绥阳雪里见	贵州都匀斗蓬山	2017. 08. 17	105°36'77"	26°21'41"
30	花南星	贵州贵阳乌当锅底箐	2017. 06. 19	105°36'78"	26°47'52"

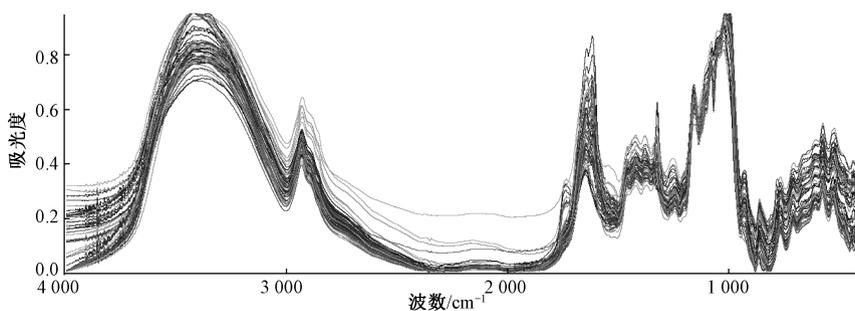


图 1 30 批样品红外光谱图 (4 000~400 cm⁻¹)

Fig. 1 Infrared spectra of thirty batches of samples (4 000-400 cm⁻¹)

28、29 在此波数吸收峰小而坚挺，但无法将 9（天南星）和 19（山珠南星）区分，见图 4。

3.4 天南星与半夏属混伪品的红外光谱 天南星与半夏属混伪品通过芳香酮类羧基化合物成分 C-C 伸缩在波数 1 323 cm⁻¹的吸收，可以将 9（天南星）与 22（虎掌）、23（半夏）、26（滴水珠）区分，

9 在这个波数有吸收尖锐，而 22、23、26 在此波数吸收较弱，见图 5。

3.5 红外光谱聚类分析 将天南星及其混伪品的红外光谱数据导入 SPSS 16.0 软件，通过组件连接和欧氏距离进行聚类分析，建立 30 批样品的系统聚类分析树状图，见图 6。

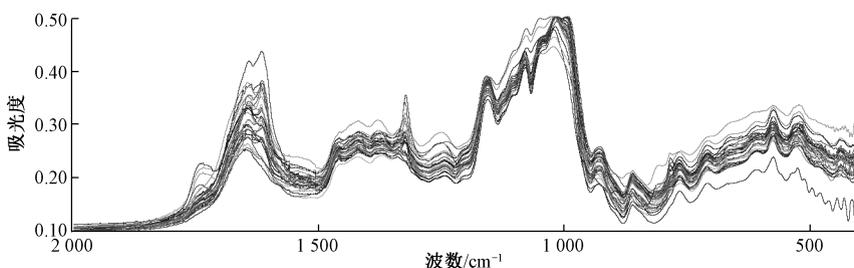


图2 30批样品红外光谱图 (2 000~400 cm⁻¹)

Fig. 2 Infrared spectra of thirty batches of samples (2 000~400 cm⁻¹)

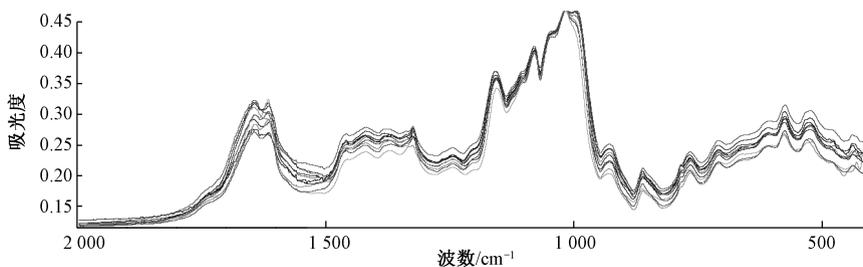


图3 16批不同产地天南星红外光谱图

Fig. 3 Infrared spectra of sixteen batches of *Arisaematis Rhizoma* from different growing areas

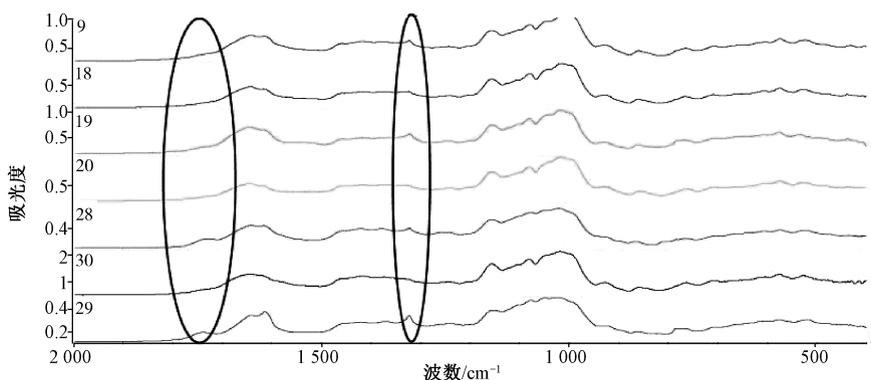


图4 天南星与半夏属混伪品的红外光谱图 (I)

Fig. 4 Infrared spectra of *Arisaematis Rhizoma* and adulterants belonging to genus *Arisaema* (I)

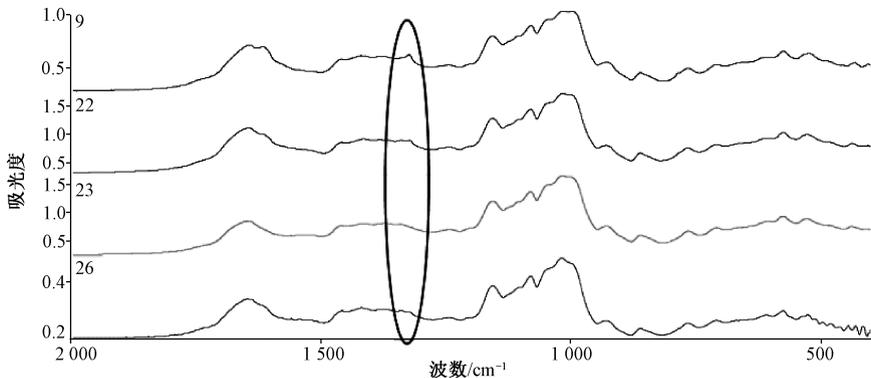


图5 天南星与半夏属混伪品的红外光谱图 (II)

Fig. 5 Infrared spectra of *Arisaematis Rhizoma* and adulterants of genus *Pinellia* (II)

由此可知, 将天南星及其混伪品分为3大类, 第1大类包含18批样品, 第2大类包含6批样品,

第3大类包含6批样品。第一大类为16批不同产地的天南星和2批不同产地的异叶天南星。在

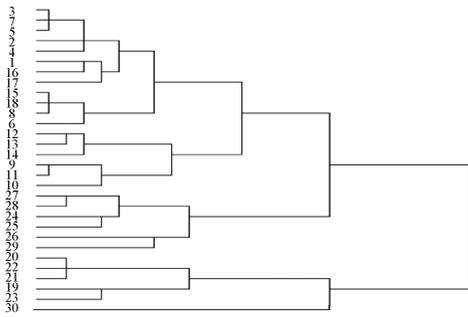


图 6 30 批样品聚类树状图

Fig. 6 Dendrogram of thirty batches of samples

2015年版《中国药典》一部中，将天南星与异叶天南星列为天南星药材基源，本研究聚类分析结果表明两者化学成分相近，支持传统结论。但16批不同产地的天南星和2批不同产地的异叶天南星分为2类，第一类，1（贵州安顺）、2（贵州龙里）、3（贵州施秉）、4、7、8（贵州威宁）、5（贵州贵阳乌当）、6（贵州龙里）、15（贵州贵阳花溪）、16（贵州六盘水）和2个异叶天南星17（贵州贵阳下坝）、18（贵州贵阳花溪）共12批样品；第二类，9，12（贵州高坡）、10、11、13（贵州大方）、14（贵州凯里）共6批样品，由此表明，产地水分、土壤、海拔等环境因素对天南星成分含有量存在在有一定程度的影响。第二大类为滴水珠、绥阳雪里见和4批不同产地的象头花，其中4批不同产地的象头花聚为一支，滴水珠和绥阳雪里见聚为一支。第三大类为山珠南星、棒头南星、花南星、虎掌和半夏，其中棒头南星和虎掌聚为一支，山珠南星和半夏聚为一支，而花南星单独一支，从植物形态分析，棒头南星和虎掌外形很相似，山珠南星和半夏叶片全三裂。本研究红外光谱分析结果与植物形态分类具有一定的相似性，推测天南星科植物化学成分及其含有量构成可能与植物形态具有一定相关性，但尚需进一步研究。

4 讨论

本实验采用傅里叶变换红外光谱（FTIR）技术对10种、30批天南星及其混伪品进行分析，在波数4000~400 cm⁻¹范围内应用样品化学成分特征结合红外光谱技术，进行药材的特征峰分析和聚类分析以鉴别天南星混伪品。结果表明，在波数1736、1323 cm⁻¹的吸收可以将天南星与除山珠南星以外的混伪品区分，但是不能将混伪品进行物种鉴别；通过聚类分析发现，可有效鉴别天南星和异叶天南星与其他混伪品，但不能将天南星和异叶天南星鉴别；红外光谱特征和聚类分析综合分析显

示，红外光谱特征能将天南星不同基源物种天南星和异叶天南星区分，但不能把天南星和山珠南星区分；聚类分析能将天南星和异叶天南星与其他混伪品鉴别，却不能将天南星和异叶天南星鉴别。两者综合分析，既能将天南星与其他混伪品区分开，又能将天南星的不同基源物种区分开。

本研究初步建立了天南星及其混伪品的红外光谱鉴定方法，但由于条件限制，未能收集到全部混伪品，绥阳雪里见、花南星、山珠南星、棒头南星、滴水珠等伪品样本数较少，代表性较弱。因此，今后还需对天南星混伪品进行多产地、大样本深入研究，以期FTIR技术在相关鉴定中的应用提供参考。

参考文献：

- [1] 徐树楠. 神农本草经[M]. 石家庄: 河北科学出版社, 1996: 119.
- [2] 卢多逊. 开宝本草[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1998: 252.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 57.
- [4] 唐慎微. 证类本草[M]. 北京: 华夏出版社, 1993: 281; 310.
- [5] 汪荣斌, 刘晓龙, 王存琴, 等. 天南星的本草考证与药用品种调查[J]. 中药材, 2010, 33(7): 1182-1185.
- [6] 王凤杰, 杨玉华, 王 婷, 等. 不同来源天南星外用对大鼠外伤性血瘀模型的影响[J]. 中医学报, 2017, 32(12): 2408-2414.
- [7] 刘天竹, 王 帅, 李天娇, 等. 基于均匀设计法东北天南星治疗肺癌药效组分配伍优化研究[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(8): 2023-2025.
- [8] 刘立萍, 李 然, 梁茂新. 天南星潜在功能的考察与分析[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(1): 23-25.
- [9] 黄晓松, 罗银利, 于春艳, 等. 僵蚕天南星方对大鼠急性缺血性脑水肿MMP-2表达的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2016, 25(16): 1711-1713.
- [10] 穆丽莎. 天南星抗癌有效部位制备工艺及质量控制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.
- [11] 连文琰, 冯瑞芝. 中药天南星的调查[J]. 中药通报, 1982(4): 9-11.
- [12] 马志刚, 吕 叶, 胡月芬. 七种天南星块茎的生药鉴别[J]. 甘肃科学学报, 1997(4): 13-17.
- [13] 沈保安, 李秋月. 中药天南星的原植物东北天南星及其混淆品种的鉴别[J]. 基层中药杂志, 1996(3): 11-12.
- [14] 赵晓秋. 天南星和半夏的显微及理化鉴别[J]. 现代中药研究与实践, 2003, 7(4): 38-39.
- [15] 裴文茜, 周成惠, 张 慧. 虎掌南星及其混淆品种的鉴别研究[J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(5): 23-24; 28.
- [16] 陆 丹, 池玉梅, 赵懿清, 等. 虎掌南星药材的质量标准

- 研究[J]. 中成药, 2013, 35(6): 1274-1278.
- [17] 高鸿彬, 刘浩, 相秉仁. 半夏及其伪品天南星的近红外漫反射快速无损鉴别[J]. 光谱实验室, 2012, 29(2): 899-902.
- [18] 李欣逸, 解达帅, 张超, 等. 基于电子鼻技术的胆南星定性鉴别研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(8): 6-10.
- [19] 罗芬, 陆丹, 池玉梅, 等. 天南星药材的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(23): 3302-3305.
- [20] 李家磊, 管立军, 王崑仑, 等. 近红外光谱技术在药食同源品质评价中的应用进展[J]. 中国调味品, 2018, 43(5): 189-193.
- [21] 周雨枫, 杨哲萱, 董林毅, 等. 近红外光谱技术快速测定三七水分和醇溶性浸出物[J]. 药物评价研究, 2018, 41(11): 1994-1999.
- [22] 顾志荣, 许爱霞, 祁梅, 等. 基于傅里叶变换红外光谱指纹特征的甘肃 8 个主产区红芪药材鉴别研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2018, 25(11): 62-67.
- [23] 陈仕学, 姚元勇, 黎兴艳. 不同地区八角莲的红外光谱分析[J]. 云南化工, 2018(1): 96-101.
- [24] 吴方斌, 高姗姗, 韦学敏, 等. 羌活与宽叶羌活药材的红外光谱鉴别[J]. 中药材, 2017, 40(3): 543-549.

华泽兰内生真菌的分离及其抑菌、抗肿瘤活性

张建芬, 林璟, 徐好仪, 张梦捷
(浙江树人大学生物与环境工程学院, 浙江 杭州 310015)

摘要: 目的 研究华泽兰内生真菌的分离及其抑菌、抗肿瘤活性。方法 采用组织分离法分离内生真菌, 通过形态学观察和其 ITS (5.8S) 序列的分子生物学方法鉴定内生真菌, KB 纸片法和 MTT 法分别对内生真菌代谢产物的乙酸乙酯提取物进行抑菌实验和体外抗肿瘤实验, PCR 法分析和检测内生真菌 PKS 和 NRPS 基因。结果 从中分离得到 8 株内生真菌, 分别鉴定为禾谷镰刀菌、间座壳属、链格孢属、层生镰刀菌、葡萄座腔菌属小新壳梭孢、细极链格孢、首都叶点霉。菌株 EC102、EC103、EC107、EC108、EC111 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、面包酵母都具有很好的抑菌活性, EC102、EC107、EC108、EC109 对人乳腺癌细胞株有较好的抗肿瘤活性。从华泽兰内生菌株中发现 4 个 NRPS 基因片段和 1 个 PKS 基因片段。结论 分离得到的内生真菌具有潜在的抑菌和抗肿瘤活性, 且能产生 NRPS 基因和 PKS 基因。

关键词: 华泽兰; 内生真菌; 抑菌; 抗肿瘤

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2020)01-0133-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.01.029

Isolation of endophytic fungi from *Eupatorium chinense* and their antimicrobial, antitumor activities

ZHANG Jian-fen, LIN Jing, XU Hao-yi, ZHANG Meng-jie
(College of Biology and Environmental Engineering, Zhejiang Shuren University, Hangzhou 310015, China)

ABSTRACT: AIM To study the isolation of endophytic fungi from *Eupatorium chinense* and their antimicrobial and antitumor activities. METHODS The endophytic fungi were isolated by tissue separation method, and identified by morphological observation and molecular biological methods. The antimicrobial activity from the isolated endophytic fungi was detected using filter paper method. And the antitumor activity was detected by MTT assay. PKS and NRPS genes were analyzed by PCR. RESULTS Eight strains of the endophytic fungi were isolated and identified as *Fusarium graminearum*, *Diaporthe* sp., *Alternaria* sp., *Fusarium proliferatum*, *Neofusicoccum parvum*, *Alternaria tenuissima*, and *Phyllosticta capitalensis*, respectively. The strains of EC102, EC103, EC107, EC108 and

收稿日期: 2018-10-30

基金项目: 浙江省自然科学基金项目 (LY18C010002); 国家级大学生创新创业训练计划项目 (201811842016)

作者简介: 张建芬 (1979—), 女, 博士, 教授, 从事微生物生产天然代谢产物研究。E-mail: grace_zjf@126.com