

基于 FT-IR 结合计量学分析快速鉴定香附及炮制香附标准汤剂

李运法^{1,2}, 杨颜溶^{1,2}, 桑宏扬^{1,2}, 乔俊昊^{1,2}, 薛洋洁^{1,2}, 杨春静^{1,3}, 龚海燕^{1,2}, 雷敬卫^{1,2}

(1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046; 2. 河南省中药质量控制与评价工程技术研究中心, 河南 郑州 450046; 3. 河南中医药大学第三附属医院, 河南 郑州 450046)

摘要:目的 建立香附及其炮制品标准汤剂红外指纹图谱, 快速鉴别香附及其炮制品标准汤剂。方法 建立香附、酒香附、醋香附、四制香附汤剂指纹图谱, 利用 OMNIC 9.2 软件分析香附、酒香附、醋香附、四制香附汤剂的平均红外光谱间的差异, 采用 Spectrum for Window 3.02 软件标定香附及其炮制香附汤剂的共有峰, 计算相对峰高; 通过主成分分析、正交偏最小二乘法-判别分析、聚类分析比较香附炮制品汤剂之间差异。结果 通过基线校正、归一化处理对香附汤剂、醋香附汤剂、酒香附汤剂、四制香附汤剂共标定了 12 个共有峰, 在 1700~1000 cm⁻¹ 波段处差异明显, 筛选出 2929、1053、997、1639 cm⁻¹ 共 4 个波段为差异主要贡献波段, 通过分析 4 种炮制品汤剂均聚为四类。结论 香附汤剂、醋香附汤剂、酒香附汤剂、四制香附汤剂之间有明显差异, 通过红外可以快速鉴别香附及其炮制品汤剂, 所用方法快速有效, 且结果准确。

关键词: 香附; 炮制; 红外图谱; 聚类分析; 主成分分析

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1673-7717(2025)12-0220-06

Rapid Identification of Standardized Decoction of Xiangfu (Cyperi Rhizoma) and Its Processed Products Based on FT-IR Combined with Metrological Analysis

LI Yunfa¹, YANG Yanrong^{1,2}, SANG Hongyang^{1,2}, QIAO Junhao^{1,2}, XUE Yangjie^{1,2}, YANG Chunjing^{1,3}, GONG Haiyan^{1,2}, LEI Jingwei^{1,2}

(1. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, Henan, China;

2. Henan Engineering Research Center for Quality Control and Evaluation of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, Henan, China;

3. The Third Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, Henan, China)

Abstract: *Objective* To establish the infrared fingerprint spectra of standard decoctions of Xiangfu (Cyperi Rhizoma) and its processed products, and quickly identify the standard decoctions of Xiangfu (Cyperi Rhizoma) and its processed products. *Methods* Infrared fingerprint spectra were established for the decoctions of Xiangfu (Cyperi Rhizoma), wine-processed Xiangfu (Cyperi Rhizoma), vinegar-processed Xiangfu (Cyperi Rhizoma) and four-processed Xiangfu (Cyperi Rhizoma). The differences among the average infrared spectra of the decoctions of Xiangfu (Cyperi Rhizoma), wine-processed Xiangfu (Cyperi Rhizoma), vinegar-processed Xiangfu (Cyperi Rhizoma) and four-processed Xiangfu (Cyperi Rhizoma) were analyzed using OMNIC 9.2 software. The common peaks of Xiangfu (Cyperi Rhizoma) and its processed product decoctions were identified using Spectrum for Window 3.02 software and the relative peak heights were calculated. The differences among the processed Xiangfu (Cyperi Rhizoma) decoctions were compared using principal component analysis, orthogonal partial least squares-discriminant analysis and clustering analysis. *Results* A total of 12 common peaks were identified and standardized for the decoctions of Xiangfu (Cyperi Rhizoma), vinegar-processed Xiangfu (Cyperi Rhizoma), wine-processed Xiangfu (Cyperi Rhizoma) and four-processed Xiangfu (Cyperi Rhizoma) using baseline correction and normalization. The differences were obvious in the 1700-1000 cm⁻¹ waveband, and four main contribution wavebands were selected, including 2929 cm⁻¹, 1053 cm⁻¹, 997 cm⁻¹ and 1639 cm⁻¹. The processed Xiangfu (Cyperi Rhizoma) decoctions were all clustered into four categories through analysis. *Conclusion* There are obvious differences among the decoctions of Xiangfu (Cyperi Rhizoma), vinegar-processed Xiangfu (Cyperi Rhizoma), wine-processed Xiangfu (Cyperi Rhizoma) and four-processed Xiangfu (Cyperi Rhizoma), and they can be quickly identified using infrared spectroscopy. The method is fast, effective and accurate.

Keywords: Xiangfu (Cyperi Rhizoma); processing; infrared mapping; cluster analysis; principal component analysis

基金项目: 河南省高等学校重点科研项目(24A360009); 河南省本科高校大学生创新创业训练计划项目(202310471041)

作者简介: 李运法(1999-), 男, 安徽亳州人, 硕士在读, 研究方向: 中药质量分析。

通讯作者: 雷敬卫(1972-), 男, 河南郑州人, 教授, 硕士研究生导师, 博士, 研究方向: 中药质量分析。E-mail: 925390812@qq.com。

龚海燕(1980-), 女, 河南郑州人, 副教授, 研究方向: 中药质量分析。E-mail: ghy_mz@163.com。

香附, 莎草科植物莎草 *Cyperus rotundus* L. 的干燥根茎, 始载于《名医别录》^[1], 归肝、脾、三焦经。传统中医理论认为, 香附具有行气解郁、调经止痛的功效^[2], 香附在中医学中具有生熟异治的作用^[3], 《本草纲目》^[4]记载不同炮制品其功能主治也略有差别, 酒制香附有行经络疏肝理气, 止痛, 消积化滞功效, 临床用于饮食内停, 心气痛, 腹痛^[5]; 四制香附有增强理气、理血、解郁止痛功效; 醋制香附则有消积聚、理气止痛功效^[6]。现代研究表明, 香附有抗癌、抗抑郁、抗氧化、抑菌抗炎等药理作用^[7-13]。临床上的香附炮品有醋制、炒制、蜜制、盐

制、酒制、姜制、四制和七制等20多种^[14]。2020版《中华人民共和国药典》仅收录醋香附,而在各省份的炮制规程中有醋制、酒制、四制、七制等,其中醋制和四制是应用最为广泛。

本实验采用傅里叶变换红外光谱(FTIR)鉴别香附及炮制品标准汤剂,傅里叶变换红外光谱具有快速、样品无损坏、绿色无污染、重复性高等优点^[15-18]。通过红外光谱可以快速鉴别出香附及不同炮制品,比较不同炮制品之间的差异,分析香附及其炮制品红外光谱峰型、峰位、吸收强度等差异,利用化学计量学方法对香附及其炮制品进行差异分析,鉴别香附及其炮制品种类,从而可规范临床用药以及为不同炮制品制剂提供参考鉴定标准。

1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂 粉末压片机(型号:FW-4A,天津市拓扑仪器有限公司);傅里叶变换红外分光光度计(型号:Spectrum100,美国Pekin Elmer公司);电热恒温鼓风干燥箱(型号:101-3AB,北京中兴伟业仪器有限公司);溴化钾(光谱纯);无水乙醇(分析纯)。

1.2 材料 香附药材采于2022年河南省焦作市,将药材火燎后直接晒干,切成厚度相同的片,即香附饮片,备用。

醋香附饮片、酒香附饮片、四制香附饮片制备参考乔璐等^[19]、乔俊昊等^[24]的炮制方法并稍作修改。

标准汤剂样品制备:取50g样品,置于砂锅中,煎煮两次,分别加入7.6倍水,第一次煎煮前,浸泡30min,武火煮沸后转文火煎煮25min,第二次煎煮武火煮沸后转文火煎煮15min,趁热过滤,合并滤液,减压浓缩,冷冻干燥,即得标准汤剂冻干粉末(编号与对应的饮片一致)^[20-21]。样品信息见表1。

表1 样品信息

编号	样品	编号	样品
TY1 ~ TY10	香附	TC1 ~ TC10	醋香附
TJ1 ~ TJ10	酒香附	TS1 ~ TS10	四制香附

2 方法与结果

2.1 样品制备与采集 取冻干样品粉末(过九号筛)适量于研钵中,加入光谱纯溴化钾,研磨均匀,取适量混合样品置于专用压片模具中,压成均匀半透明薄片,同法制备空白背景片。中红外光谱扫描范围为400~4000 cm^{-1} ,首先扫描空白样品片,扣除背景干扰,分辨率为8 cm^{-1} ,扫描6次/s,扫描速度0.2 cm/s ^[3]。

2.2 红外谱图处理 按照“2.1”项采集各样品的红外光谱,由红外图谱可以看到不同样品光谱总体趋势基本相同,包括的特征峰和形状都差不多,但也有一些特征峰的强度比较明显,表现出了明显的差别,这可能是由于不同的炮制加工方式所引起的成分变化,结果见插页XLIII图1。

将香附标准汤剂、醋香附标准汤剂、酒香附标准汤剂、四制香附标准汤剂的红外光谱图分别进行处理后,得到红外光谱平均值图谱,结果见插页XLIII图2。

由插页XLIII图2红外图谱中可知,羟基O-H所形成的伸缩振动峰在3388 cm^{-1} 波段处;由于亚甲基C-H₂是不对称分子其所产生的振动伸缩吸收峰在2929 cm^{-1} 波段处;1700~1600 cm^{-1} 附近存在较强的吸收峰,可能为C=O和C=C的不对称伸缩振动产生;1300~1400 cm^{-1} 波段处为C-O-C的对称以及不对称伸缩振动所产生,可能为 α,β -不饱和酸酯;糖、糖苷类等物质C-O键的伸缩振动吸收峰主要在1053、997、932 cm^{-1} 波段处^[3,22]。

由插页XLIII图3可知,香附标准汤剂、酒香附标准汤剂、四制香附标准汤剂在1518、1420、1109 cm^{-1} 波段处存在新峰,香附标准汤剂、四制香附标准汤剂在1678、1375 cm^{-1} 波段处存在新峰,在1200~1300 cm^{-1} 波段处醋香附标准汤剂、酒香附标准汤剂为1263 cm^{-1} 的单峰,香附标准汤剂、四制香附标准汤剂为1291、1252 cm^{-1} 的“双峰”,四制香附标准汤剂在1030 cm^{-1} 波段处存在新峰。

2.3 聚类分析 以香附、醋香附、酒香附、四制香附标准汤剂的共有峰面积为基础,利用SPSS 22.0软件进行聚类分析,结果如图4,当组间距离为5时,香附样品聚为2类,香附(TY1~TY10)、酒香附(TJ1~TJ10)和四制香附(TS1~TS10)聚为一类,醋香附(TC1~TC10)单独聚为一类。说明通过标准汤剂的12个共有峰,可以区分不同香附及其炮制品。

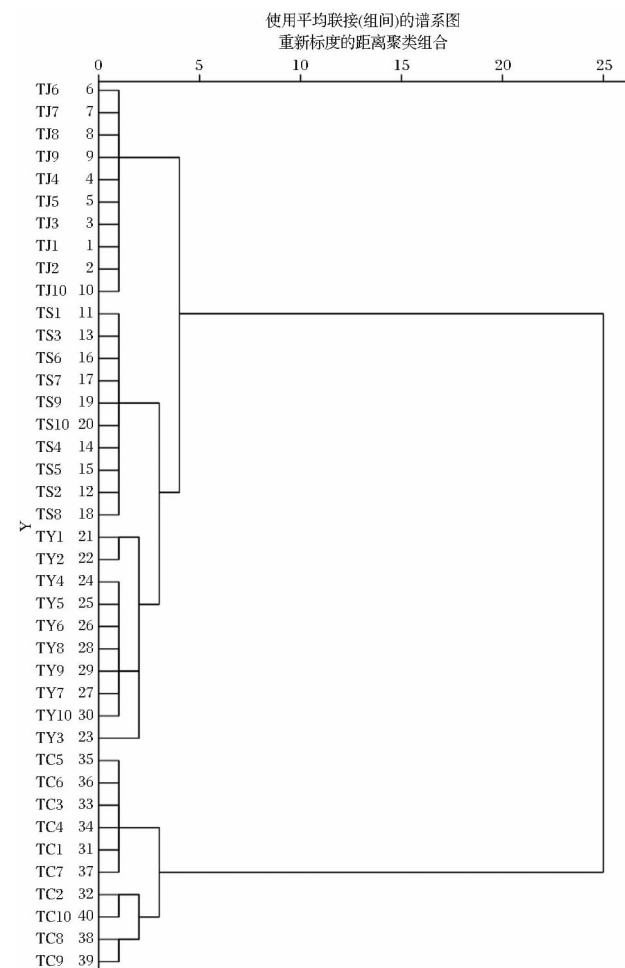


图4 聚类分析树状图

2.4 主成分分析 将12个共有峰数据导入多元统计分析软件SIMCA 14.1进行主成分分析,得分矩阵 $R_x^2 = 0.994$, $Q^2 = 0.948$,如插页XLIII图5所示。从图中可以看出,香附样品可聚为4类,其中醋香附与酒香附汤剂距离较大,四制香附和香附汤剂之间距离较小,提示醋香附和酒香附在加工炮制的过程中成分含量变化较大,导致峰面积变化较大,而四制香附在炮制加工的过程中虽然伴随着成分含量的变化,但是在得分矩阵中四制香附炮制品间距离相较于香附饮片较近。

2.5 正交偏最小二乘法-判别分析 为更好挖掘出香附炮制品之间的差别,以各标准汤剂的共有峰的相对峰高为变量,通

过正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA),结果数据矩阵的模型区分参数($R^2_y = 0.937$)、解释率参数($R^2_x = 0.988$)、模型预测能力参数($Q^2 = 0.915$)均接近1,表明所建立的模型预测能力良好、稳定可靠^[23]。40批样品可聚为4类,醋香附(TC1~TC10)、四制香附(TS1~TS10)、香附(TY1~TY10)、酒香附(TJ1~TJ10)分别单独聚为一类。结果见插页XLX图6。

通过200次置换实验,对已构建的OPLS-DA模型进行了验证,发现 R^2 、 Q^2 均小于0.3,说明该模型是精确、可信的,能有效地避免过拟合,可为后续的标记筛选提供依据^[3]。结果见插页L图7。

为进一步筛选出不同香附汤剂中的差异性成分,以VIP>1为作为筛选指标,筛选出不同香附汤剂间差异的吸收峰依次为2929、1053、997、1639 cm^{-1} ,表明这4个吸收峰在40批香附聚类分组中占有显著的重要性,可作为区分不同香附汤剂间差异标志物。结果见图8。

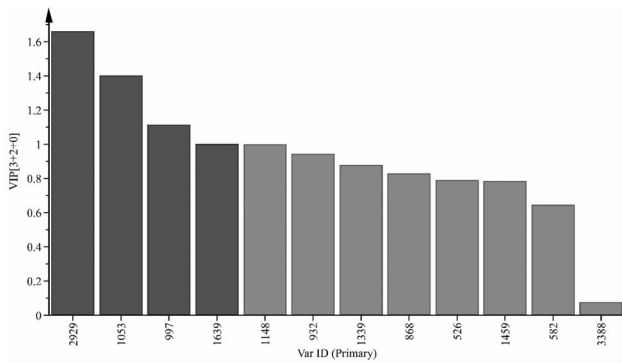


图8 12个共有峰的VIP值

3 讨论

本实验采用傅里叶变换红外光谱快速鉴别香附及其炮制品标准汤剂,通过基线校正、归一化处理,共标定了12个共有峰。通过图谱差异性比较在1518、1420、1109 cm^{-1} 波段处醋香附缺少相对应的峰位,香附标准汤剂、四制香附标准汤剂在1678、1375 cm^{-1} 波段处存在新峰,在1200~1300 cm^{-1} 波段处醋香附标准汤剂、酒香附标准汤剂为1263 cm^{-1} 的单峰,香附标准汤剂、四制香附标准汤剂为1291、1252 cm^{-1} 的“双峰”,四制香附标准汤剂在1030 cm^{-1} 波段处存在新峰。通过主成分分析(PCA)以及正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)结果均显示40批香附样品可聚为4类,醋香附(TC1~TC10)、四制香附(TS1~TS10)、香附(TY1~TY10)、酒香附(TJ1~TJ10)分别单独聚为一类。表明香附标准汤剂、醋香附标准汤剂、酒香附标准汤剂、四制香附标准汤剂间存在差异。对各标准汤剂进行差异性评价,通过VIP法(VIP>1)筛选引起样品间差异的主要波段,筛选出2929、1053、997、1639 cm^{-1} 共4个波段为差异主要贡献波段,其中1053、997 cm^{-1} 波段处属于糖类成分的特征吸收峰,1639 cm^{-1} 波段处属于酸类成分的特征吸收峰,提示区分香附饮片标准汤剂、醋香附标准汤剂、酒香附标准汤剂、四制香附标准汤剂应重点关注糖类成分、酸类成分的变化^[24]。红外光谱能够体现出药材整体化学物质的相关差异^[25],红外光谱技术能够很好并快速区分香附以及各炮制品标准汤剂。

综上所述,本实验中香附及各炮制品标准汤剂间的红外光谱图差异明显,能够很好并快速对各标准汤剂进行鉴别分析,可为标准汤剂相关研究提供参考。

参考文献

- [1] 陶弘景. 名医别录[M]. 尚志钧, 辑校. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 154-156.
- [2] 吴鑫雨, 邱丽媛, 王又迪, 等. 基于智能感官与多源信息融合技术的香附炮制程度快速辨识方法研究[J]. 中草药, 2023, 54(21): 7007-7016.
- [3] 杨颜溶, 贾豪, 田瀚举, 等. 香附饮片与4种醋制香附饮片的快速鉴别[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(1): 122-129, 273-274.
- [4] 明. 李时珍. 本草纲目[M]. 北京: 华夏出版社, 1998: 888.
- [5] 燕梦晴, 康乐, 曹彦刚, 等. 中药“酒行药势”理论的现代研究[J]. 中国医院药学杂志, 2024, 44(15): 1824-1829.
- [6] 白浩东, 张子东, 孙延平, 等. 炙法对中药化学成分影响的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(12): 84-90.
- [7] JANAKI S, ZANDI-SOHRANI N, RAMEZANI L, et al. Chemical composition and insecticidal efficacy of *Cyperus rotundus* essential oil against three stored product pests [J]. Int Biodeterior Biodegrad, 2018, 133: 93-98.
- [8] 蒙雪雁, 丘琴, 甄汉深, 等. 香附质量标志物的预测分析[J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(7): 192-197.
- [9] 叶晓滨, 孙越. 含香附治疗肝郁脾虚证的中成药干预抑郁症伴功能性消化不良的研究进展[J]. 中医研究, 2021, 34(10): 63-67.
- [10] WANG Q, YI C D, DUAN W L, et al. Two new sesquiterpenoids isolated from *Cyperus rotundus* L. [J]. Nat Prod Commun, 2021, 16(2): 1934578X2199168.
- [11] 郭慧玲, 封传华, 赵娟娟, 等. 两种方法提取香附挥发油的化学成分和抗氧化活性比较[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(4): 1804-1809.
- [12] 郑莹, 刘思聪, 罗曦, 等. 气滞胃痛颗粒中香附抗炎镇痛作用的构效组学[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(21): 153-160.
- [13] 刘日群, 李宇棋, 肖淑华, 等. 理气药抗抑郁作用及机制研究进展[J]. 中草药, 2024, 55(10): 3558-3568.
- [14] 陈一龙, 励娜, 储瑞, 等. 香附炮制的历史沿革及研究现状[J]. 天然产物研究与开发, 2023, 35(4): 722-731.
- [15] 丁坤, 项安. 近红外高光谱成像技术结合偏最小二乘法-判别分析所建模型快速鉴定核桃仁的品质[J]. 理化检验-化学分册, 2023, 59(7): 844-848.
- [16] 杜晓伟, 宋平顺, 倪琳. 基于傅里叶变换红外光谱技术对中药党参产地快速判别方法的研究[J]. 中华中医药学刊, 2025, 43(3): 75-78, 269-271.
- [17] 郭亚菲, 曹强, 叶蕾蕾, 等. 唐古特大黄 FTIR 的双指标序列分析及抗炎谱效关系研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2024, 44(1): 188-196.
- [18] 顾旭鹏, 张迪, 张韶珂, 等. 傅里叶变换红外光谱技术对北柴胡中有效成分定量模型建立及含量测定[J]. 中华中医药学刊, 2025, 43(1): 142-146, 282-283.
- [19] 乔璐, 张瑞, 赵博宇, 等. 不同产地香附炮制品的快速鉴别[J]. 中成药, 2022, 44(5): 1510-1515.
- [20] 李雅静, 孙博, 朱广伟, 等. 基于传统煎药工艺的茵陈蒿饮片标准汤剂制备及质量标准研究[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(6): 1412-1416.
- [21] 田瀚举, 张维方, 贾豪, 等. 经典名方一贯煎汤剂指标成分含量测定及量值传递分析[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(1): 113-118.
- [22] 贾豪, 雷益铭, 张维方, 等. 牛膝药材的红外指纹图谱建立及多元统计分析[J]. 中国药房, 2022, 33(2): 153-159.
- [23] 李海燕, 王慧然, 那丽莎, 等. 基于主成分分析、正交偏最小二乘法判别分析及加权逼近理想解排序-灰色关联度融合模型评价不同产地珠子参质量[J]. 中草药, 2024, 55(9): 3116-3126.
- [24] 乔俊昊, 杨颜溶, 孙静洋, 等. 基于 HPLC 指纹图谱结合化学模式识别及多指标成分定量评价香附质量[J]. 中草药, 2024, 55(17): 5999-6008.
- [25] 单圣男, 解玫莹, 王兰, 等. 中药材大蓟及混伪品的傅里叶变换红外光谱鉴别研究[J]. 中农药学, 2022, 20(9): 2076-2081.

基于 FT-IR 结合计量学分析快速鉴定香附及炮制香附标准汤剂

(正文见 220-222 页)

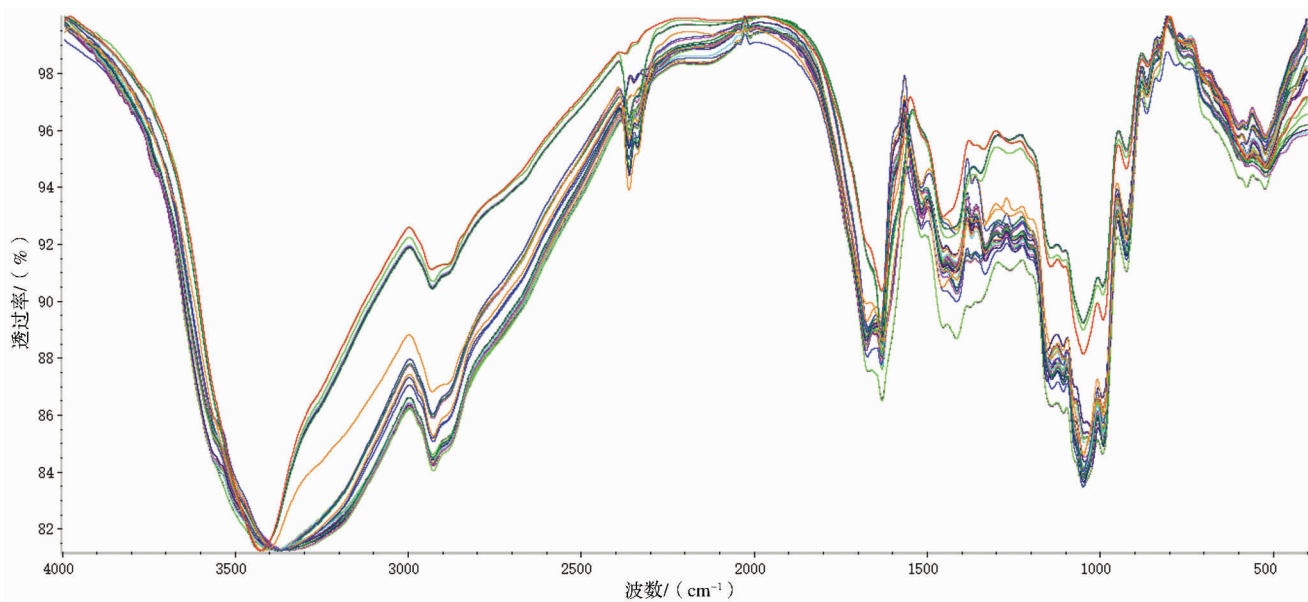


图1 40批香附样品的红外光谱叠加图

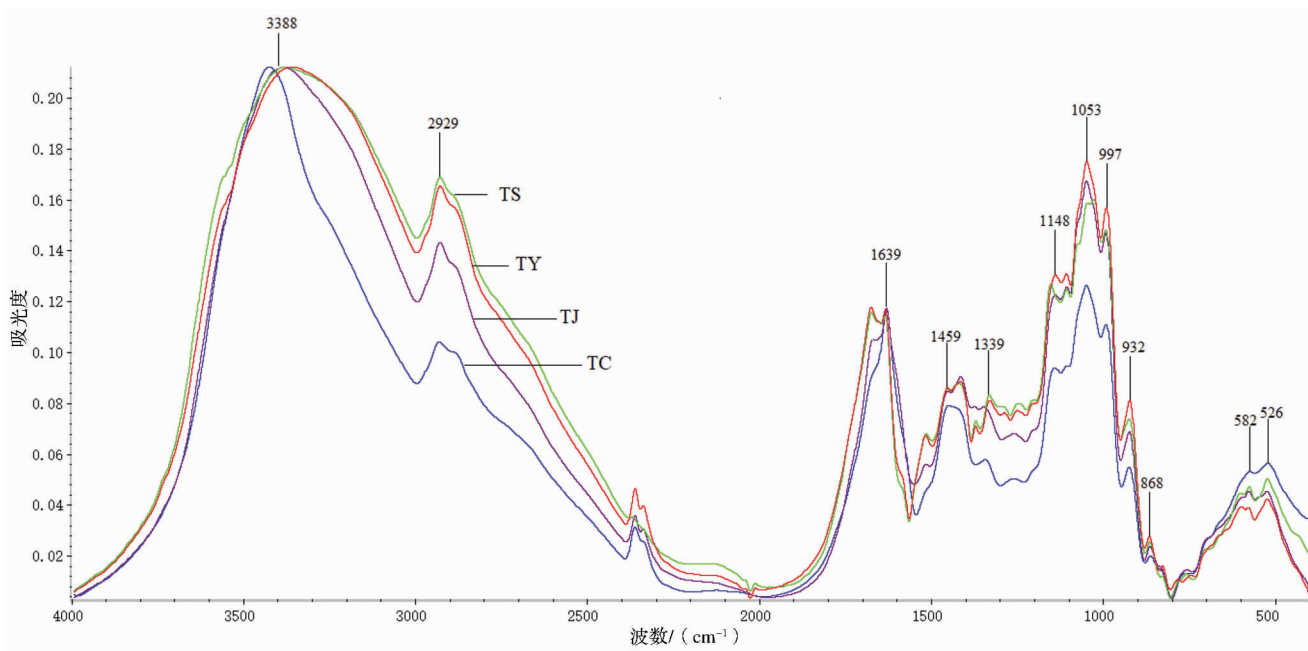


图2 香附及炮制品标准汤剂平均红外光谱图

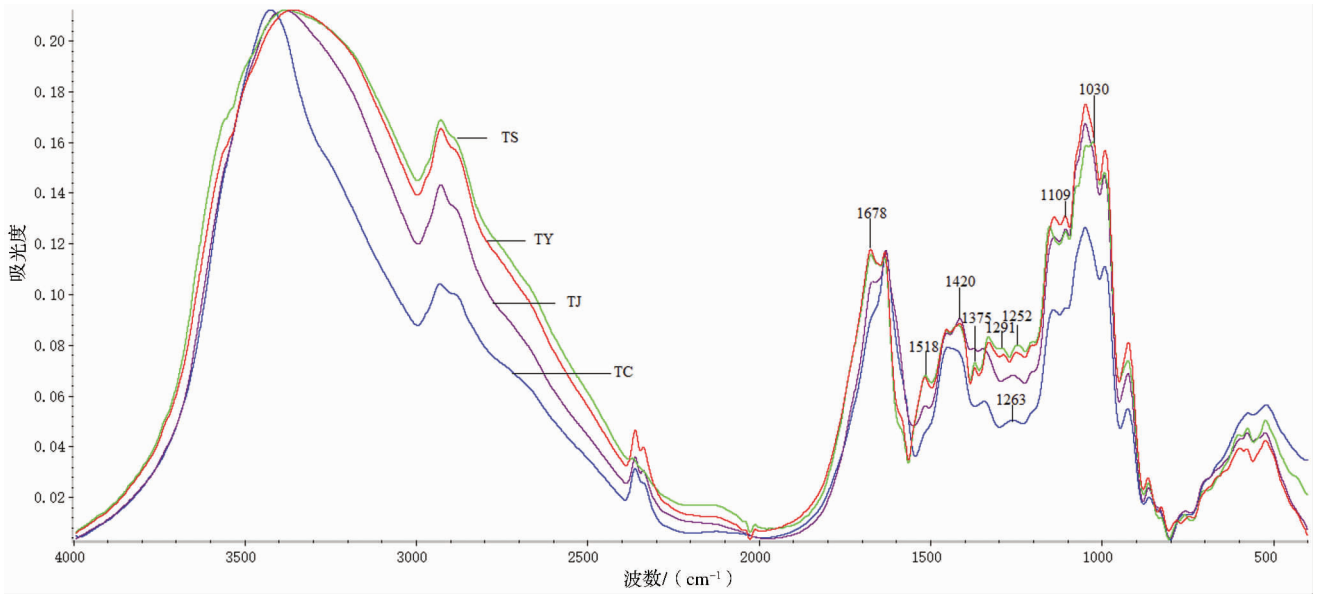


图3 香附及炮制品平均红外光谱图差异对比图

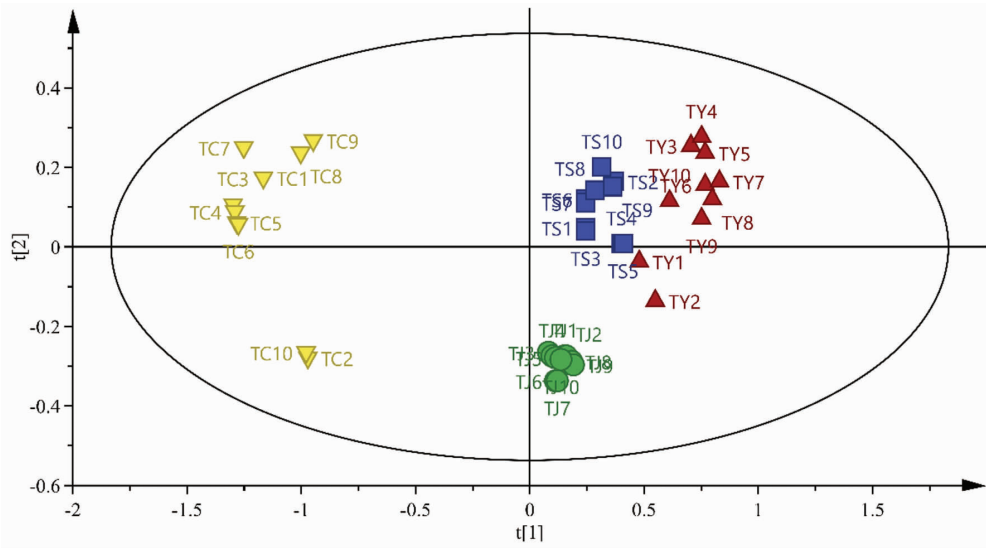


图5 香附汤剂主成分分析得分图

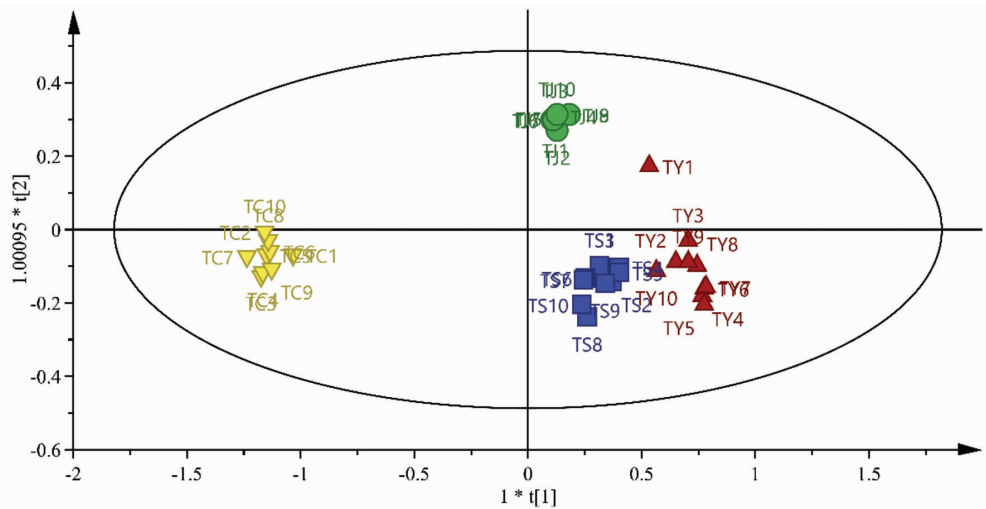


图6 香附汤剂正交偏最小二乘法 - 判别分析得分图

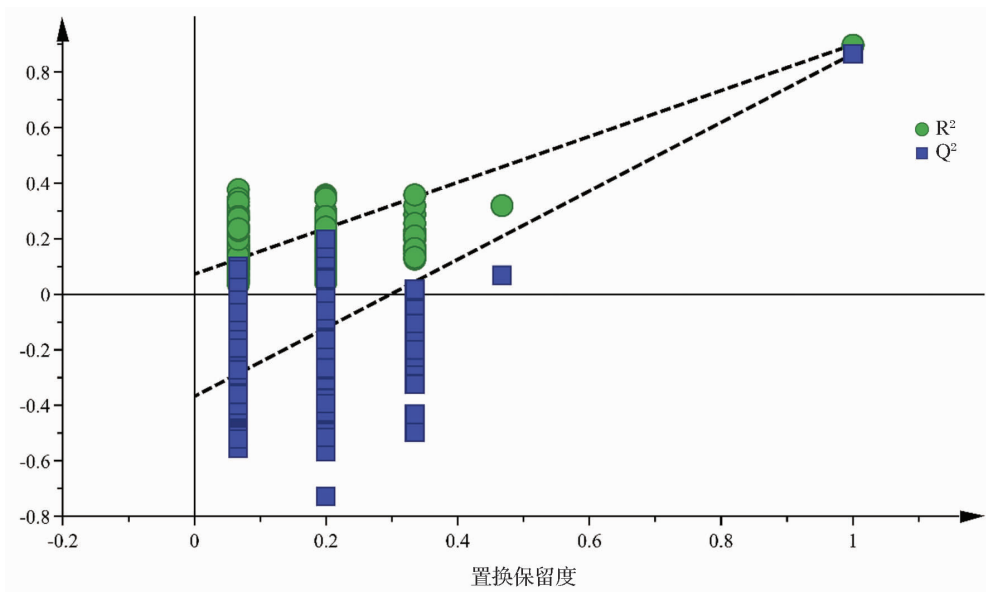


图7 200次响应排序检验

五态人格的潜在剖面分析及其与大五人格的相关性研究

(正文见 226 - 230 页)

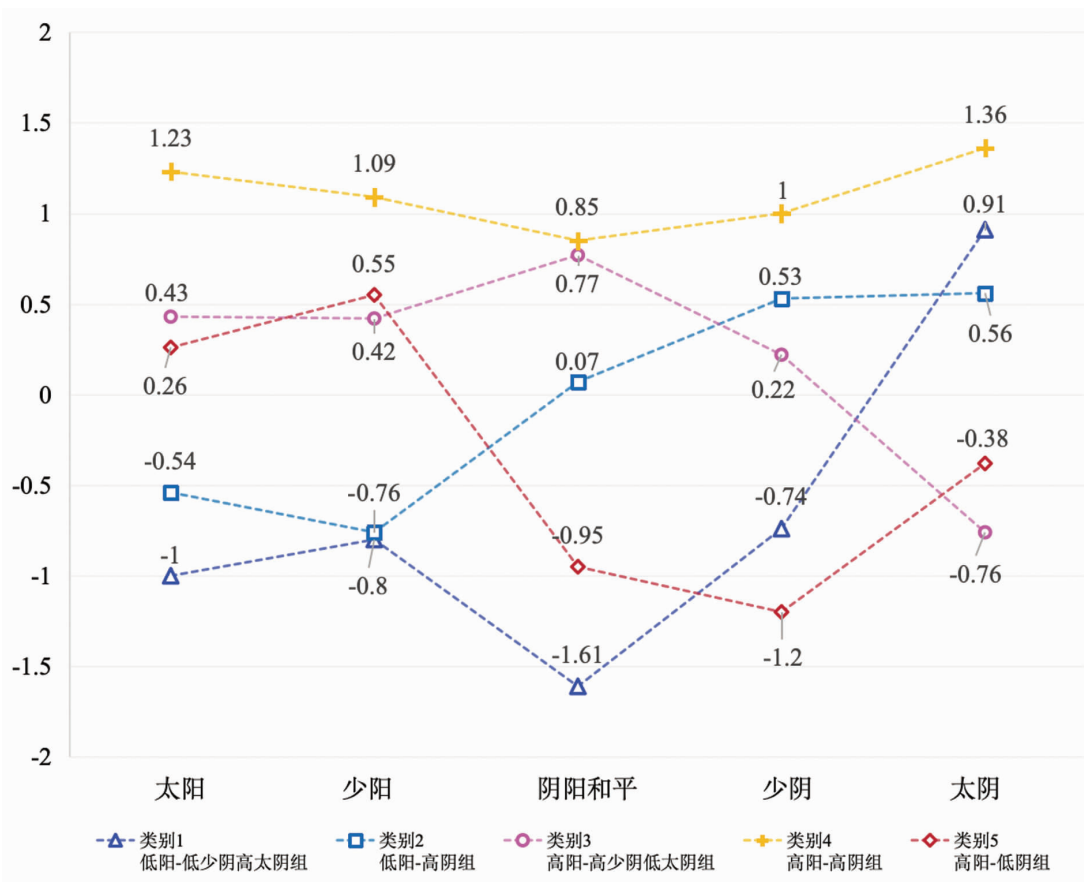


图1 五类别潜在剖面模型在五态人格五维度上的特征分布(Z分数)