

- [2] 周中流. 毛冬青化学成分的研究[D]. 南宁: 广西师范大学, 2007.
- [3] 邓六勤, 钟鸣, 马志玲. 毛冬青化学成分、药理作用及应用研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育, 2006, 4(10): 24-26.
- [4] 余成霞, 柳文媛, 冯锋, 等. 毛冬青药材的指纹图谱[J]. 中国天然药物, 2008, 6(6): 439-443.
- [5] 尹文清, 周中流, 邹节明, 等. 毛冬青根中化学成分的分离[J]. 中草药, 2007, 38(7): 995-997.
- [6] Zhang CX, Lin CZ, Xiong TQ, et al. New triterpene saponins from the root of *Ilex pubescens*[J]. Fitoterapia, 2010, 81(7): 788-792.
- [7] 赵钟祥, 金晶, 林朝展, 等. 毛冬青根中三萜苷类成分的研究[J]. 中国药师, 2011, 14(5): 599-601.
- [8] 赵钟祥, 曾瑞鑫, 金晶, 等. 毛冬青根中的新三萜苷类[J]. 中草药, 2012, 43(7): 1267-1269.
- [9] 冯锋, 朱明晓, 谢宁. 毛冬青化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 2008, 43(10): 732-736.
- [10] Jiang ZH, Wang JR, Li M, et al. Hemiterpene Glucosides with Anti-Platelet Aggregation Activities from *Ilex pubescens*[J]. J. Nat. Prod, 2005, 68: 397-399.
- [11] 刘毅, 方芳, 袁海龙, 等. 毛冬青药材中 neopubescensin 的含量测定[J]. 中药材, 2006, 29(2): 144-145.
- (编辑: 宋威)

近红外光谱法快速分析广升麻药材

肖浩¹, 严小红², 江英桥², 王自², 侯惠婵²(1. 广州中医药大学, 广东 广州 510006; 2. 广州市药品检验所, 广东 广州 510160)

摘要: **目的** 建立广升麻药材快速分析方法。**方法** 建立广升麻药材一致性模型与聚类分析模型, 运用最小偏二乘法(PLS)建立广升麻中蜕皮甾酮含量与其近红外光谱之间的校正模型, 并对未知样品进行含量预测。**结果** 利用一致性模型与聚类分析模型能够准确的区分广升麻药材与其混用品, 定量校正模型决定系数 R^2 为 92.34, 内部交叉验证均方差(RMSECV)为 0.94, 外部验证均方差(RMSEP)为 0.33。**结论** 该方法准确、快速, 为广升麻药材的快速分析方法的建立提供了科学依据。

关键词: 近红外光谱法; 广升麻; 快速分析

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)05-0506-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.05.021

Rapid Analysis of Radix Serratulae Chinensis by Near-Infrared Spectroscopy

XIAO Hao¹, YAN Xiaohong², JIANG Yingqiao², WANG Zi², HOU Huichan²(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. Guangzhou Institute for Drug Control, Guangzhou 510160 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To develop a method for rapid analysis of Radix Serratulae Chinensis. **Methods** We established conformity model and cluster analysis model for Radix Serratulae Chinensis, and partial least squares were used to establish the calibration model for content of ecdysone in Radix Serratulae Chinensis and near-infrared spectrum. **Results** The conformity and cluster analysis model can be used to accurately identify Radix Serratulae Chinensis and its adulterants, the determination coefficient of calibration was 92.34, root mean square error of cross validation(RMSECV) was 0.94, and root mean square error of prediction deviation(RMSEP) was 0.33. **Conclusion** The near-infrared spectroscopy method is accurate and rapid, which provides the scientific basis for the rapid analysis of Radix Serratulae Chinensis.

Keywords: Near-infrared spectroscopy; Radix Serratulae Chinensis; Rapid analysis

收稿日期: 2013-07-01

作者简介: 肖浩, 男, 硕士研究生, 研究方向: 中药分析。Email: haoshawn@163.com。通讯作者: 江英桥, 主任中药师, 研究方向: 中药分析。Email: jiangyq@gzfdca.gov.cn。

基金项目: 国家药品标准提高暨 2015 版药典科研项目。

广升麻为菊科植物华麻花头 *Serratula chinensis* S. Moore 的干燥根, 性味辛, 微甘, 微寒, 归肺、胃、大肠经, 具有清热解毒、发表透疹的功能, 用于风热头痛、热毒咽肿、麻疹初期透发不畅等^[1]。目前对广升麻的定性鉴别主要是显微和薄层鉴别为主, 而广升麻中蜕皮甾酮的含量测定主要是采用高效液相等常规方法^[2-3]。此类方法前处理耗时多, 样品无法回收。近红外光是介于可见光和中红外光之间的电磁波, 其光谱范围为 780~2526 nm。近红外光谱分析技术是一种快速、无损的绿色分析技术, 具有分析速度快、样品处理简单、无需试剂消耗等特点, 目前已经应用于中药材的鉴定和有效成分量测定中^[4]。为了建立一种快速分析广升麻药材的方法, 开展本研究。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Matrix-F 近红外光谱仪, 手持 1.5m 固体光纤探头(德国布鲁克光谱仪器公司); OPUS5.0 光谱分析软件(德国布鲁克光谱仪器公司); Agilent 1200 高效液相色谱仪(紫外检测器, 在线脱气机, 四元梯度泵, 柱温箱, 化学工作站)。

1.2 试药 蜕皮甾酮对照品(中国药品生物制品检定研究院, 批号: 111638-200402), 甲醇为色谱纯, 其余试剂为分析纯。50 批广升麻药材, 2 批续断药材和 1 批升麻药材均经广州市药品检验所侯惠婵主任中药师鉴定为 *Serratula chinensis* S. Moore 的干燥块根, *Dipsacus asper* Wall. ex Henry 的干燥根和 *Cimicifuga heracleifolia* Kom. 的干燥根。

2 方法与结果

2.1 近红外光谱采集 将样品粉碎过 65 目筛, 装入西林瓶内, 将探头直接接触药粉采集数据。光谱采集条件: 波数范围为 4000~12000 cm^{-1} ; 分辨率为 8 cm^{-1} , 扫描次数为 32 次, 重复次数为 6 次。取 6 次扫描光谱图平均图谱作为该样品的近红外光谱图, 得到 50 份样品的总光谱图, 见图 1。

从图中可以看出 50 份样品的近红外原始图谱基本一致, 很难看出药材的光谱信息差异, 因此也就很难从原始近红外光谱中找出特定吸收谱带对其加以区分, 其原因一方面是因为中药成分众多, 另一方面是因为近红外光谱谱带自身严重重叠。因此, 我们需要对原始图谱进行相应的前处理, 建立相应模型, 使图谱信息更加直观、明确。

2.2 一致性模型建立 随机选取 2 批广升麻药材和续断药材、升麻药材为检验光谱, 剩余 48 批广升麻药材作为参考光谱, 光谱预处理方式为 Second Derivative, 平滑点数为 17。波段选择范围为:

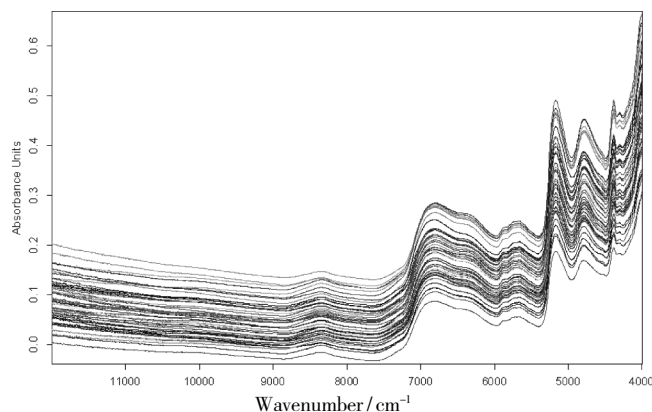


图 1 50 份广升麻样品近红外光谱叠加图

Figure 1 The stacking chart of near-infrared spectrum of 50 samples

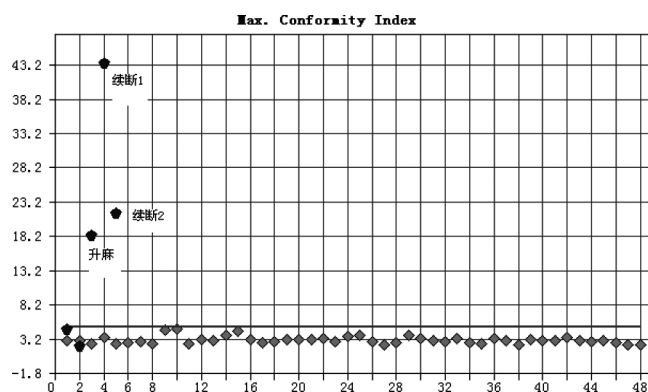


图 2 一致性分析图谱

Figure 2 Conformity analysis graph

8917.6~3999.8 cm^{-1} , CI 值为 5。模型结果见图 2。

由上图可见, 全部参与建模的广升麻样品和参与验证的两批广升麻样品 CI 值均在限度 5 以内, 而两批续断药材和一批升麻药材, CI 值均大于 18.2, 远远超过一致性 CI 值限度。由此可见, 该一致性模型能够准确的鉴别广升麻正品与其混用品。

2.3 聚类分析模型建立 选取全部 50 批广升麻药材和续断、升麻药材光谱, 光谱预处理方式 Second Derivative, 平滑点数为 9, 方法为 standard, 波段选择范围为: 8956.2~3999.8。模型结果见图 3。

由图 3 可知, 50 批广升麻药材聚为一大类, 而 2 批续断和一批升麻则聚为另一大类, 可见该模型能够准确, 直观的鉴别广升麻与其混用品。

2.4 定量模型建立

2.4.1 广升麻蜕皮甾酮含量测定^[5] 色谱条件: 色谱柱为 Agilent-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-水(45:55), 检测波长: 248 nm, 流速: 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 进样量: 10 μL , 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$, 色谱图见图 4。

2.4.2 PLS 建模的方法 将 50 批样品随机分为校正集

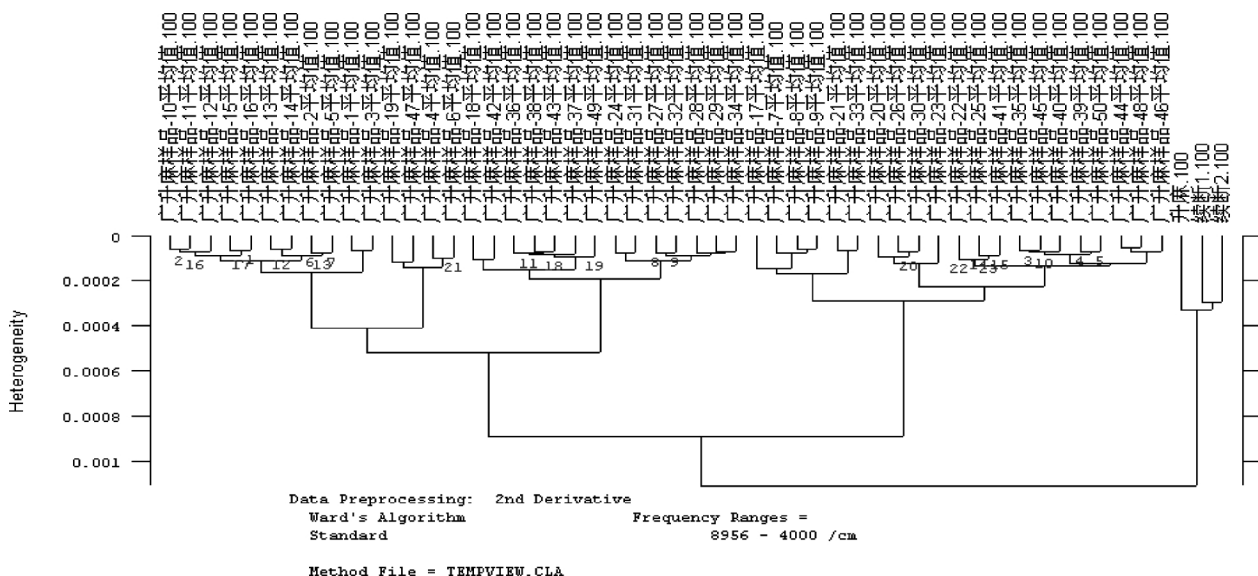


图3 聚类分析系统树图

Figure 3 Cluster analysis dendrogram

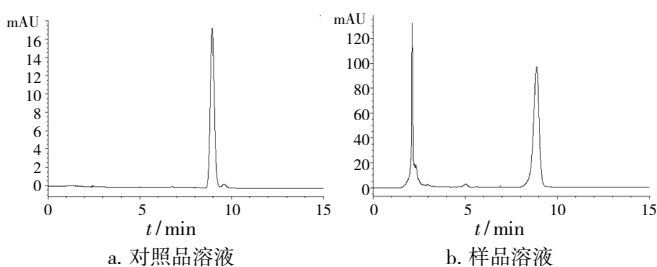


图4 高效液相色谱图

Figure 4 HPLC chromatograms

和预测集, 其中校正集 42 批, 预测集 8 批。校正集用于校正模型的建立, 预测集不参与建模, 用于模型的验证。将校正集近红外光谱与 HPLC 分析值相关联, 输入 OPUS 定量分析软件中。对光谱预处理方法进行比较, 并优化建模的光谱区间, 采用最小偏二乘法(PLS 法)和外部验证法建立定量模型, 并以决定系数(R^2), 外部验证均方差(RMSEP)和内部交叉验证均方差(RMSECV)值等参数作为模型性能的评价指标。

2.4.3 模型条件优化 近红外波段光谱可能会有冗余信息, 对光谱波段进行选择, 可使其包含待测成分的信息量最大, 受背景干扰最小, 改善所建模型的性能, 而近红外采集光谱时, 由于外部环境、仪器工作状态、样品物理性质的差异, 会对模型的建立造成比较大的影响, 通过对光谱进行预处理可以最大限度的减少影响, 本实验通过 OPUS5.0 软件进行筛选, 最佳建模波段范围是 11995.6~6098.1 和 5450.1~5022, 预处理方式为 Vector Normalization, 决定系数 $R^2=92.34$, RMSECV 为 0.940, RMSEP 为 0.330, 此条件模型为最优, 结果见表 1。

2.4.4 主成分数的选择 本实验采用 PLS 建立定量分

表 1 建模波段与预处理方式的选择

Table 1 Selection of different spectra and processing methods

波段	预处理方式	R^2	RMSECV	RMSEP
11995.6~6098.1	Vector Normalization	92.34	0.940	0.330
5450.1~5022				
11995.6~7494.4	First Derivative	84.99	0.957	0.462
6105.8~4597.7				
11995.6~7494.4	Multiplicative Scattering	90.49	0.920	0.367
6105.8~4246.7	Correction			
11995.6~7494.4	First Derivative+Straight	88.12	0.959	0.411
5450.1~4593.8	Line Subtraction			
9052.6~6094.2	Vector Normalization	80.70	0.955	0.523
5450.1~5022				

析模型, 主成分数对模型的预测能力有较大影响。本实验以检验样品集 RMSEP 为优化参数, 选择最适主成分数, 最佳主成分数为 9, 结果见图 5。

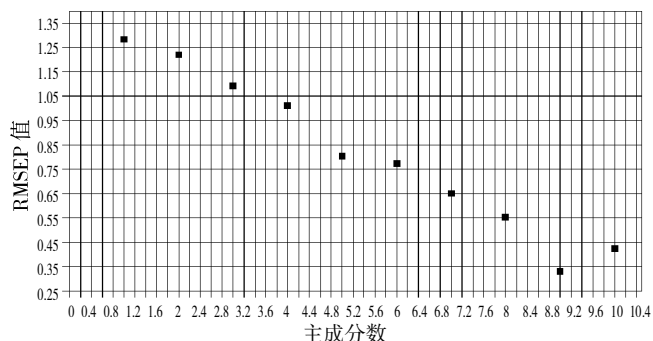


图5 主成分数与 RMSEP 相关图

Figure 5 The correlation between main fractions and RMSEP

2.4.5 模型的验证 运用上述建立模型, 将 HPLC 测定值作为化验值, 用近红外预测值与化验值的相对误差来衡量模型的预测能力。结果见表 2, 预测结果最

表 2 预测样本近红外模型的预测值

Table 2 The predictive value of samples by near-infrared spectroscopy

编号	预测值 /mg·g ⁻¹	液相实测值 /mg·g ⁻¹	绝对误差 /mg·g ⁻¹	相对误差 /%
1	5.9	5.8	0.1	1.7
2	9.3	9.6	0.3	3.1
3	7.0	7.2	0.2	2.8
4	8.4	8.6	0.2	2.3
5	6.2	6.7	0.5	7.5
6	7.8	7.7	0.1	1.3
7	7.8	8.3	0.5	6.0
8	9.4	9.1	0.3	3.3

大相对误差为 7.5 %, 最小相对误差为 1.3 %, 模型的预测效果良好。

3 讨论

目前, 中药鉴定的方法仍然以形态学特征鉴定为主, 本实验应用近红外光谱技术, 建立了一致性模型与聚类分析模型, 实现了广升麻与其混用品升麻以及续断的快速鉴别, 所得结果准确可靠。通过近红外与 HPLC 法相结合, 建立了快速测定广升麻中蜕皮甾酮

含量的分析方法, 结果表明所建立的模型可以较为准确的预测出广升麻中蜕皮甾酮的含量, 本实验建立了 3 种模型为广升麻定性、定量两方面提供了一个快速评价的参考方法。

模型预测中所测 8 份样品, 有 2 份蜕皮甾酮的相对偏差高于 5 %, 相对偏差最大的达到 7.5 %。建模决定系数 $R^2=92.34$, 表明预测值跟实测值之间仍有一定的差距, 一方面可能因为蜕皮甾酮在药材中含量较低, 中药材成分复杂, 干扰较多, 影响建模的准确性; 另一方面也与近红外定量模型数学处理方法有关, 有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 《广东中药志》编辑委员会. 广东中药志(一卷)[M]. 广东: 广东科技出版社, 1994: 142-144.
- [2] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准(第二册)[M]. 广州: 广东科技出版社, 2011: 39-42.
- [3] 蔡巧燕, 曾建伟, 林珊, 等. 广升麻质量标准研究[J]. 福建中医药大学学报, 2011, 21(4): 38-40.
- [4] 朱静毅, 应忠良, 闻珺毓. 近红外光谱分析技术在药品质量控制中的应用[J]. 中国药房, 2009, 20(7): 550-551.

(编辑: 修春)

(上接第 492 页) 峰差值不得大于 $\pm 25\%$; (4) 供试品图谱与对照指纹图谱经计算机模拟相似度评价软件计算, 相似度不得低于 0.90。

3 讨论

3.1 供试品溶液制备的考察 本研究曾采用香草固齿酊经微孔滤膜滤过后直接进样, 结果极性较大的干扰峰多、峰形不好, 故对香草固齿酊进行萃取以除去干扰峰, 分别采用水饱和正丁醇和乙酸乙酯萃取^[8-9], 结果, 乙酸乙酯萃取效果较理想, 不仅能除去极性较大的干扰峰, 使峰形对称, 还能获得较佳的分度度, 同时考虑参照峰及其他主要特征峰的数量与峰面积大小, 最终采用乙酸乙酯萃取制备供试品溶液。

3.2 检测波长及流速的选择 对香草固齿酊 HPLC 色谱图在 210 nm 至 400 nm 进行全波段扫描, 分别考察基线平稳程度、色谱峰的数目、峰形及信号响应强弱等因素, 选择 250 nm 为测定波长; 由于 8, 9 号峰以及 14, 15 号峰为色谱图中的难分离组分, 以这两组峰的分度度为指标, 考察了不同流速的影响, 结果流速为 $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 时分度度最好。

3.3 流动相的选择 在考察流动相时, 有机相分别考察乙腈和甲醇, 发现乙腈的分离效果较好, 而用甲醇时峰重叠、峰形差。此外, 还考察了流动相的酸度及酸的种类对峰形的影响, 分别采用了乙腈 - 0.1 % 冰

醋酸溶液、乙腈 - 0.3 % 冰醋酸溶液、乙腈 - 0.1 % 磷酸溶液、乙腈 - 0.2 % 磷酸溶液等系统进行比较, 结果发现在流动相中加入酸可在一定程度上改善峰形。其中, 以乙腈 - 0.1 % 磷酸溶液的峰形最佳。

参考文献:

- [1] 解宇环, 沈映君, 纪广亮, 等. 香附、藿香挥发油抗炎、镇痛、解热作用的实验研究[J]. 四川生理科学杂志, 2005, 27(3): 731.
- [2] 刘国卿, 王秋娟, 谢卓丘. 香附挥发油药理研究[J]. 中国药科大学学报, 1989, 20(1): 48-50.
- [3] Yu HH, Lee DH, Seo SJ, et al. Anticariogenic properties of the extract of *Cyperus rotundus*[J]. Am J Chin Med, 2007, 35(3): 497-505.
- [4] 陈杰, 许静, 罗子玲, 等. 蟛蜞菊内酯对脂多糖诱导 RAW264.7 细胞 IL-6、TNF- α 及 NF- κ B 的影响[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(9): 2166-2168.
- [5] 徐媛, 张文娟, 王庆伟. 香附不同炮制品 HPLC 指纹图谱研究[J]. 实验研究, 2011, 8(31): 29-31.
- [6] 吴红霞, 高晓霞, 赵云丽. 墨旱莲药材的高效液相指纹图谱及聚类分析[J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 23(2): 97-100.
- [7] 王岩, 吴淑媛, 廖祈祈, 等. 正交试验优选香草固齿酊的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(12): 46-49.
- [8] 王岩, 马红霞, 黄妙嫦, 等. 养精种玉汤正丁醇部位的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中成药, 2010, 32(9): 1461.
- [9] 马红霞, 王岩, 周念, 等. 养精种玉汤乙酸乙酯部位的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国药房, 2010, 21 (41): 4461.

(编辑: 宋威)