

中的5倍, enmein在叶和茎中几乎均等分布。

根据本试验可知溪黄草不同部位中5个二萜的含量有显著性差异, 其分布情况为: 叶>全草>茎, 叶中5个二萜总含量约是茎中的4倍, 建议溪黄草入药时选用叶子或全草。此外, 通过对不同产地、不同部位的溪黄草二萜含量的对比发现: nodosin含量最高, sculponeatin A, enmein次之, isodocarpin, lasiokaurin含量相对较小。本研究首次建立HPLC法测定溪黄草中5个二萜的含量, 该方法简便、准确、专属性强, 可为溪黄草药材及其制剂的质量控制标准的提高, 提供可资借鉴的基础研究资料。

参考文献:

- [1] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准(第1册)[M]. 广州: 广东科技出版社, 2004: 204.
- [2] 吕惠珍. 广西香茶菜属药用植物资源及其开发利用前景[J]. 时珍国医国药, 1999, 10(9): 131.
- [3] 江苏新医学院. 中药大辞典. 下册[M]. 上海: 上海科学出版社, 1977: 25.
- [4] 张洪利, 英小路, 汪小根. 溪黄草不同提取方法抗菌活性比较研究[J]. 中医药导报, 2014, 20(5): 78-85.
- [5] 吴剑峰. 溪黄草的研究综述[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(8): 498.
- [6] 孙汉董, 许云龙, 姜北. 香茶菜属植物二萜化合物[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 2-3.
- [7] 李恒, 普建新, 李捷. 唇形科香茶菜属二萜类化合物分布规律[J]. 植物分类与资源学报, 2013, 35(1): 81-88.
- [8] 海广范, 牛秉轩, 李晶晶. Nodosin对HepG2细胞株的增殖抑制及Bel-2和Bax表达的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2014, 30(10): 1879-1882.
- [9] 王瀚, 丁兰, 刘国安, 等. 拟缺香茶菜二萜类成分及细胞毒活性研究[J]. 西北师范大学学报, 2005, 41(6): 54.
- [10] Zhao AH, Zhang Y, Zhao HX, et al. Immunosuppressive ent-Kaurane Diterpenoids from Isodon serra[J]. International Immunosuppressive, 2005, 5(13-14): 1957-1965.
- [11] 刘凡. 溪黄草的生药学研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2010: 47-53.
- [12] 李楚源, 邓乔华, 黄琳, 等. 溪黄草中熊果酸含量测定方法学研究[J]. 中外医疗, 2009(28): 155-156.
- [13] 吴剑峰, 刘斌, 祝晨蓀, 等. 不同采收期溪黄草中2 α -羟基熊果酸含量的动态研究[J]. 中草药, 2004, 31(1): 81-83.
- [14] LIU PW, DU YF, ZHANG XW, et al. Rapid Analysis of 27 Components of Isodon serra by LC-ESI-MS-MS[J]. Chromatographia, 2010, (72): 265.
- [15] LIN LZ, GAO Q, CUI C, et al. Isolation and identification of ent-kaurane-type diterpenoids from Rabdosia serra Hara leaf and their inhibitory activities against HepG-2, MCF-7, and HL-60 cell lines[J]. Food Chemistry, 2012(131): 1009-1014.
- [16] DU YF, LIU PW, ZHU H, et al. A Sensitive analysis method for 7diterpenoids in rat plasma by LC-ESI-MS and its application to pharmacokinetic study of Isodon serra extract[J]. Journal of Chromatography A, 2011(1218): 7771-7780.

(编辑: 邓响潮)

应用近红外光谱定量分析模型测定国产血竭中龙血素A、龙血素B含量

刘杰, 杨瑶璐, 王文祎, 吕晓娜, 李梦, 戴待(北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

摘要: 目的 用近红外光谱技术快速测定国产血竭中龙血素A、龙血素B含量。方法 根据国产血竭在5284~4169.34 cm⁻¹、7131.47~5943.53 cm⁻¹、8913.37~7470.88 cm⁻¹内的近红外吸收光谱, 采用偏最小二乘法(PLS)建立了校正模型。采用二阶导数预处理方法时能最有效地提取光谱的信息。结果 龙血素A的校正集相关系数为0.9749, 校正集标准偏差(RMSEC)为0.1720, 预测集相关系数为0.9857, 预测集标准偏差(RMSEP)为0.1450; 龙血素B校正集相关系数为0.9933, 校正集标准偏差(RMSEC)为0.0526, 预测集相关系数为0.9872, 预测集标准偏差(RMSEP)为0.0604。结论 近红外光谱技术快速简便, 适合中药指标成分的快速分析。

关键词: 国产血竭; 龙血素A; 龙血素B; 偏最小二乘法; 近红外漫反射光谱

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2015)01-0102-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2015.01.025

收稿日期: 2014-09-09

作者简介: 刘杰, 硕士研究生, 研究方向: 中药质量评价。Email: liujietcm@163.com。通讯作者: 杨瑶璐, 教授, 博士, 研究方向: 中药质量评价。Email: yangyaojunbucm@163.com。

基金项目: 北京中医药大学“重点学科”开发课题(2013-2DXKKF-21)。

Determination of Loureirin B, Loureirin A in China Domestic Resina Draconis Using Near Infrared Diffuse Reflectance Spectroscopy

LIU Jie, YANG Yaojun, WANG Wenyi, LV Xiaona, LI Meng, DAI Dai (School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

Abstract: Objective To develop a method for the determination of loureirin A and loureirin B in China domestic Resina Draconis using near infrared diffuse reflectance spectroscopy. **Methods** Near infrared spectra (NIR) in the range of 5284 ~ 4169.34 cm^{-1} , 7131.47 ~ 5943.53 cm^{-1} , 8913.37 ~ 7470.88 cm^{-1} were recorded for Resina Draconis. Calibration model was established using the partial least squares (PLS) method. Spectra pretreatments were extracted by second-order derivate pretreatment method. **Results** For loureirin A, the correlation coefficient (r^2) of calibration set was 0.9749 with RMSEC being 0.1720 and the correlation coefficient (r^2) of prediction sets was 0.9857 with RMSEP being 0.1450. For loureirin B, the correlation coefficient (r^2) of calibration set was 0.9933 with the root square standard error of calibration (RMSEC) being 0.0526, and the correlation coefficient (r^2) of prediction sets was 0.9872 with the root square standard error of prediction being 0.0604. **Conclusion** It is indicated that near infrared diffuse reflectance spectroscopy can be used to rapidly analyze the valid components in Chinese herbs.

Keywords: China domestic Resina Draconis; Loureirin B; Loureirin A; Partial least squares; Near infrared diffuse reflectance spectroscopy

国产血竭为百合科植物剑叶龙血树 *Dracaena-cochinchinensis* (Lour.) S.H.Chen 含脂木质部经提取加工制成的树脂, 具有活血散瘀、定痛止血和敛疮生肌的功能, 用于跌打损伤、瘀血作痛、妇女气血凝滞、外伤出血和褥疮的治疗^[1]。其主要有效成分为龙血素 A (loureirin A)、龙血素 B (loureirin B), 具有较好的活血化瘀作用^[2]。目前龙血素 A、龙血素 B 的含量测定方法主要有高效液相色谱法^[3-5], 但还未见采用近红外光谱法进行测定的研究报道。本文对国产血竭在近红外光谱区域的特征吸收进行了实验研究^[6-12], 得到了其在近红外特征吸收的波段范围, 并在此基础上运用近红外光谱技术结合偏最小二乘法 (PLS), 建立了校正模型, 对龙血素 A、龙血素 B 的含量进行了定量分析。

1 材料

1.1 仪器 Thermo Nicolet ANTARIS、Waters 高效液相色谱仪、Agilent TC-C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)、Sartorius BP110S 分析天平, 北京赛多利斯仪器有限公司; KQ5200E 超声清洗器, 昆山市超声仪器有限公司。

1.2 试剂 甲醇, Fisher 公司, 色谱纯; 乙腈, Fisher 公司, 色谱纯; 龙血素 A 对照品 (批号: 111660-200402)、龙血素 B 对照品 (批号: 111558-201006), 中国食品药品检定研究院; 冰醋酸, 分析纯; 屈臣氏

蒸馏水。

1.3 样品制备 国产血竭样本共 47 个, 来源于河北安国药材市场、安徽亳州药材市场、桂林药材市场、北京同仁堂等。经北京中医药大学杨瑶珺教授鉴定为百合科植物剑叶龙血树的含脂木材, 经提取得到的树脂加工制成。将收集好的样品粉碎, 过 4 号筛, 置干燥器中。

1.4 近红外光谱获取 将收集到的 47 份样品各取约 0.5 g 放入样品杯中, 混合均匀, 采用积分球漫反射, 采集光谱。采集参数如下: 分辨率 8 cm^{-1} , 光谱采集范围 12000 ~ 4000 cm^{-1} , 扫描次数 32, 每份样品重复扫描 3 次, 取平均光谱, 47 份样品近红外光谱叠加图见图 1。

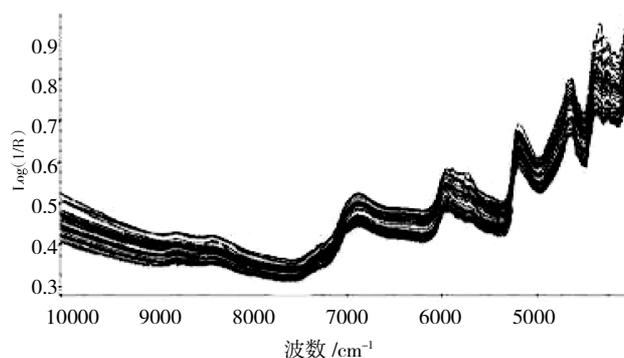


图 1 样品近红外光谱图

Figure 1 NIR spectrum of samples

2 方法与结果

2.1 光谱波段的选择 本实验直接将样品装于配套的小样品杯中进行近红外光谱采集。控制光谱的采集在相同条件下进行,样品的装样厚度、装填的紧密性和颗粒的均匀性等实验中力求一致,以免影响实验结果。从图 1 可见不同样品的近红外光谱十分接近,无法直接判定龙血素 A、龙血素 B 的含量与个别波长点的吸光度之间的相关性,不可能从某一波长点来确定其含量,而必须在一定的区间内建立数学模型来确定近红外光谱和含量间的关系。图中 5284 ~ 4169.34 cm^{-1} 、7131.47 ~ 5943.53 cm^{-1} 、8913.37 ~ 7470.88 cm^{-1} 区间内曲线平滑,吸光度无明显变化,信息量丰富,能反映出样品的性质和组成间有联系,后续研究均在此区间中进行,避免了采用全谱建模所需的大量计算工作。

2.2 光谱预处理方法的选择 根据 TQ Analyst 定量分析软件提供的建模波段范围建立不同波段范围内龙血素 B 的 PLS 定量数学模型,由软件筛选出最优化的模型,模型可用相关系数(r^2)和校正标准偏差(RMSEC)来评价,预测能力通过预测集标准偏差(RMSEP)作为衡量指标,具体参数见表 1 及表 2。

表 1 龙血素 A 模型优化参数

预处理方法	波长范围 / cm^{-1}	校正集 相关系数	校正集标准偏差 (RMSEC)	预测集相关 系数(r^2)	预测集标准 偏差(RMSEP)
	5284~4169.34				
二阶导数	7131.47~5943.53	0.9749	0.1720	0.9857	0.1450
	8913.37~7470.88				

表 2 龙血素 B 模型优化参数

预处理方法	波长范围 / cm^{-1}	校正集 相关系数	校正集标准偏差 (RMSEC)	预测集相关 系数(r^2)	预测集标准 偏差(RMSEP)
	5284~4169.34				
二阶导数	7131.47~5943.53	0.9933	0.0526	0.9872	0.0604
	8913.37~7470.88				

2.3 结果 采用 2.2 项下最优化模型预测校正集样本,所得结果见表 3 及表 4。HPLC 测定龙血素 A、龙血素 B 含量参考李忠琼^[4]等的文献。龙血素 B、龙血素 A 的校正集和预测集的测量值和预测值间的关系见图 2 及图 3。

3 讨论

本研究表明,选择具有足量的代表性的样品,采用近红外漫反射光谱法,结合二阶导数处理方法建立

表 3 龙血素 A 预测集结果

样品号	HPLC 测定值 /%	NIR 测定值 (%)	偏差 /%	百分偏差 /%
G1	0.894	0.911	0.018	2.013
G6	0.365	0.313	-0.053	-14.521
G8	0.709	0.556	-0.153	-21.580
G10	1.052	0.811	-0.240	-22.814
G12	0.582	0.849	0.267	45.876
G16	1.473	1.348	-0.125	8.486
G17	1.416	1.363	-0.053	-3.743
G24	2.993	2.882	-0.112	-3.742
G29	0.345	0.408	0.063	18.261
G31	2.454	2.411	-0.044	-1.793

表 4 龙血素 B 预测集结果

样品号	HPLC 测定值 /%	NIR 测定值 /%	偏差 /%	百分偏差 /%
G1	0.826	0.894	0.068	8.232
G7	1.728	1.729	0.001	0.058
G10	1.075	1.048	-0.027	2.512
G12	1.325	1.413	0.088	6.642
G20	0.778	0.721	-0.057	-7.326
G21	0.779	0.698	-0.081	10.398
G27	0.966	0.974	0.008	0.828
G30	1.189	1.111	-0.078	-6.560
G32	1.887	1.839	-0.048	-2.544
G37	1.694	1.700	0.006	0.354

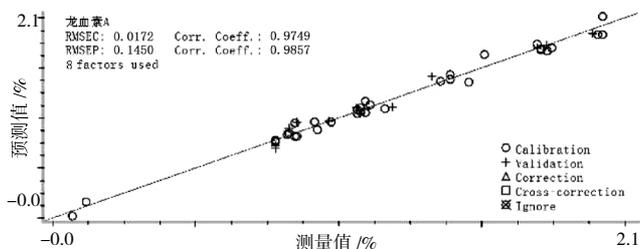


图 2 龙血素 A 测量值与预测值相关性

Figure 2 Correlations of real content and the predicted content of loureirin A

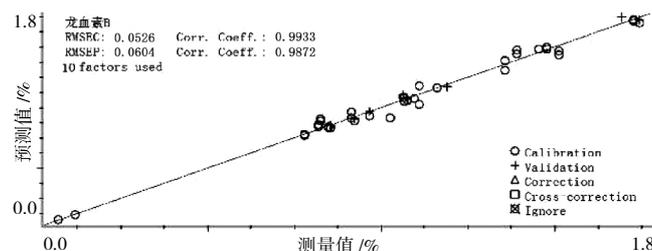


图 3 龙血素 B 测量值与预测值相关性

Figure 3 Correlations of real content and the predicted content of loureirin B

模型,可快速准确测定国产血竭龙血素 A、龙血素 B 的百分含量。

由实验结果知,样品间 HPLC 测定值相差较大,这可能与样品间差异有关。龙血素 B 大部分样品的百分偏差都在 1%~5%之间。国家药品监督管理局国家标准颁布件 WS3-028(Z-016)-99(Z)中要求龙血素 B 含量不低于 0.4%,47 个样品均符合要求,但若再增大样本量,模型可能会更为准确。

中药的质量问题一直是中药研究的热点。中药的成分复杂,分析过程繁琐,近红外分析方法能快速有效测定出中药中的指标性成分含量,对提高制剂的质量标准有一定的意义。

参考文献:

[1] 杨晓宇,姚琳. 龙血竭的药理作用及临床应用[J]. 黑龙江医药, 2011, 24(2): 265-266.
 [2] 邓家刚,黄海滨,农毅清,等. 龙血素 B 的药效学实验研究[J]. 广西中医药, 2004, 27(1): 44-46.
 [3] 许佳,金红宇,孙磊. 替代对照品法测定龙血竭原料中龙血素 A 和 B 的含量[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(11): 2058.
 [4] 李忠琼,向东. HPLC 测定龙血竭中龙血素 A 和龙血素 B 的含量

[J]. 华西药理学杂志, 2005, 20(4): 348-349.
 [5] 孙胜利,宓鹤鸣,姜子洋. 反相高效液相色谱法测定国产血竭中龙血素 A 和 B 的含量[J]. 第二军医大学学报, 2002, 23(12): 1366-1368.
 [6] 王磊磊,陈聪,周旻,等. 近红外漫反射光谱法测定川藏道地药材赭藜子中黑芥子苷含量[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(10): 2673-2676.
 [7] 黄倩倩,潘瑞乐,魏建和,等. 近红外漫反射光谱法测定黄芩中总黄酮及黄芩苷的含量[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(9): 2425-2428.
 [8] 孙通,应义斌,刘魁武,等. 梨可溶性固形物含量的在线近红外光谱检测[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(11): 2536-2539.
 [9] 谢丽娟,刘东红,张宇环,等. 近红外光谱技术定量测定杨梅汁可溶性固形物[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(7): 1332-1335.
 [10] 陈建波,周群,彭新华,等. 基于黄芪注射液红外光谱指纹特征提取与黄芪甲苷的定量分析[A]. 中国光学学会、中国化学学会第十五届全国分子光谱学术报告会论文集[C]. 中国光学学会、中国化学学会, 2008, 28(10): 103-104.
 [11] 黄璐,袁洪福,宋春风,等. 近红外漫反射光谱法快速测定天然纤维素清洁浆料 α-纤维素含量[J]. 光谱学与光谱分析, 2013, 33(1): 60-64.
 [12] 孙素琴,周群,秦竹,等. FT-IR 和 FT-Raman 与中药的质量控制[J]. 光散射学报, 2003, 15(3): 203-207.

(编辑: 邓响潮)

液-质联用测定不同产地独活中蛇床子素和欧前胡素的含量

顿珠次仁¹, 朱根华², 邹志琴², 严志宏², 黄秀珍²(1. 西藏藏医学院, 西藏 拉萨 850000; 2. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004)

摘要: **目的** 建立不同产地独活中蛇床子素和欧前胡素含量的测定方法。**方法** 采用液相色谱-质谱联用(液-质联用)方法,测定 4 种不同产地独活中蛇床子素和欧前胡素的含量。液相色谱条件: 甲醇-水(体积比, 85:15)作流动相,流速为 0.3 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃,进样量 5 μL。质谱条件: 电喷雾离子源(ESI),阳离子模式,多反应监测(MRM)方式检测。采用外标法测定蛇床子素和欧前胡素的含量。**结果** 不同产地独活中蛇床子素含量范围为 1.11~5.02 μg·g⁻¹,欧前胡素的含量范围 0.85~9.54 μg·g⁻¹。**结论** 不同产地独活中蛇床子素和欧前胡素的含量存在一定的差异。该法可为不同地区独活中药材的质量控制提供参考标准。

关键词: 独活; 蛇床子素; 欧前胡素; 液-质联用

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2015)01-00105-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2015.01.026

Determination of Osthole and Imperatorin in Radix Angelicae Pubescentis from Different Habitats by HPLC-MS/MS

DUNZHU Ciren¹, ZHU Genhua², ZOU Zhiqin², YAN Zhihong², HUANG Xiuzhen² (1. Traditional Tibetan Medicine

收稿日期: 2014-09-24

作者简介: 顿珠次仁,男,硕士,讲师,研究方向: 藏药中药成分分析研究, Email: duncila@21cn.com。通讯作者: 严志宏,讲师,研究方向: 药物分析技术研究。Email: yanzhihong03@126.com。

基金项目: 江西中医药大学校基金——道地药材及特色中药资源研究专项(2012ZR022)。