

玫瑰花口服液的红外指纹图谱及化学模式识别

阿吉姑·阿布都热西提^{1,2}, 楚刚辉¹, 托哈提阿吉·麦麦提艾力³, 买买提·吐尔逊^{1*}

(1. 新疆喀什大学 化学与环境科学学院, 新疆特色药食用植物
资源化学重点实验室, 新疆 喀什 844006; 2. 中国科学院新疆理化技术研究所
干旱区植物资源化学重点实验室, 乌鲁木齐 830011;
3. 喀什地区第一人民医院, 新疆 喀什 844000)

[摘要] 目的:采用红外光谱和化学模式识别相结合建立了玫瑰花口服液质量评价的方法。方法:以11批玫瑰花口服液和4种伪品作红外光谱分析,对主要吸收峰进行指认,获得红外指纹图谱,并按不同特征吸收峰位下的透射比进行相似度计算,通过相似度分析对11批玫瑰花口服液及4种伪品的红外图谱一致性进行了考察,并把获得的指纹图谱采用系统聚类分析和主成分分析进行化学模式识别。结果:11批玫瑰花口服液红外指纹图谱一致性良好,玫瑰花口服液及伪品通过相似度分析和化学模式识别均能够很好地区分开来,相似度和聚类分析、主成分分析结果相一致,2种化学计量方法具有良好的相关性。结论:结果表明该方法是鉴别玫瑰花口服液真伪的有效方法。

[关键词] 玫瑰花口服液; 伪品; 红外指纹图谱; 相似度; 化学模式识别

[中图分类号] **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)17-0047-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015170047

Fingerprint Infrared Spectrum on Rose Oral Liquid and Its Chemical Pattern Recognition

AJIGU·Abudurexiti^{1,2}, CHU Gang-hui¹, TUOHATIAJI·Maimaitiaili³, MAMAT·Tursun^{1*} (1. College of Chemistry and Environmental Science, Kashgar University, Key Laboratory of Xinjiang Native Medicinal and Edible Plant Resources Chemistry, Kashgar 844006, China; 2. Key Laboratory of Plant Resource and Chemistry of Arid Zone, Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China; 3. No. 1 People's Hospital of Kashgar Prefecture, Kashgar 844000, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a system on the quality assessment of Rose oral liquid on the combination of chemical pattern recognition. **Method:** Selecting the infrared spectrograms of 11 batches of Rose oral liquid and 4 kinds of counterfeit to analysis, the primary peaks were deciphered, obtained the fingerprint infrared spectrum, Moreover, according to transmittance of the different characteristic absorption peaks, the similarity was calculated, the consistency of the infrared spectrograms of 11 batches of Rose oral liquid and 4 kinds of counterfeit was investigated by similarity. The fingerprints were obtained and were handled by hierarchical clustering analysis and principal component analysis. **Result:** The results showed that the infrared spectrograms of 11 batches of Rose oral liquid for were not only in good agreement, but also Rose oral liquid and counterfeit could completely be distinguished by similarity analysis and chemical pattern recognition, and the result of similarity was the same as cluster analysis or principal component analysis, the two methods of chemometrics showed good correlation. **Conclusion:** The method was convenient for differentiation of counterfeit and applicable to quality evaluation of Rose oral liquid.

[Key words] Rose oral liquid; counterfeit; fingerprint infrared spectrum; similarity; chemical pattern recognition

[收稿日期] 20150316(006)

[基金项目] 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(201318101-15)

[第一作者] 阿吉姑·阿布都热西提, 讲师, 在读博士, 从事药物分析研究, Tel:0991-3836733, E-mail:aji_228@163.com

[通讯作者] *买买提·吐尔逊, 副教授, 硕士生导师, 从事药物分析研究, Tel:0998-2892332, E-mail:maimat@163.com

玫瑰花是药食两用功能的植物。现代药物化学和药理学研究表明玫瑰花富含维生素 C、没食子酸、原花青素、黄酮类、多酚类、鞣质和多糖等多种生物活性成分,具有抗氧化、抗肿瘤、抗菌、保肝、提高机体免疫力等功效^[1-3]。新疆和田地区是传统维吾尔医药的发源地,是玫瑰花原产地之一,该地区生产的玫瑰花以质优、肉厚、味浓郁、黄酮类成分含量高等特点而著称^[4]。玫瑰花口服液是一类凝聚着维吾尔医疗经验特色的民族成药^[5]。该药具有补脑益心、镇静安神、消肿止痛的功效,在防治早期的心血管疾病方面疗效显著,并在新疆各民族聚集区广为应用^[6]。经多方跟踪调查,除了少数患者腹胀外,没有发现该药的其他副作用。

维吾尔族药是中药体系的重要组成部分,然而新疆地方维吾尔族药材及成药存在的主要问题是质量标准很不完善,检测项目少且简单,高质量、高技术的检测标准严重缺失。中药成分较为复杂,单一活性成分不能全面反映它所体现的整体疗效,而指纹图谱技术是一种综合的、整体的鉴别手段,能较好的表征中药物质组成的整体性和复杂性^[7]。该技术使产品质量分析和控制简便、易行、快速^[8];目前该技术已广泛用于中药的质量控制^[9-11],对鉴别中药的真伪、生产工艺的保证及成分质量的稳定性等方面具有重要的参考价值;指纹图谱是目前能反映整体性、可快速分析的国内外广泛接受的一种中药质量评价模式^[12]。

傅立叶变换红外光谱(FT-IR)技术能够快速反映出物质官能团的细微结构信息,用这种方法来鉴别药材可以展现药材整体的化学结构特征。目前,中药 FT-IR 指纹图谱的建立结合主成分分析、聚类分析以及二阶导数等数据分析方法,对快速、准确地完成中药材及药食产品的品质评价和真伪鉴别非常有效^[13-15]。花类药材的易混伪品在生药材伪品中也比较常见,这将影响到用药的安全性和有效性^[16]。甄别药材的真伪对中成药生产来说能够从来源头上杜绝药材掺假,同时,加强建立成品中成药真伪鉴别方法也是完善其质量标准的必要手段,尤其是单方中成药。玫瑰花常见的混伪品有(野)月季花、钝叶蔷薇花、美蔷薇花等,本研究建立了 11 批玫瑰花口服液以及 4 种伪品的红外光谱指纹图谱,通过对所得数据进行相似度分析和化学模式识别,以期实现使用 FT-IR 指纹图谱法快速辨别玫瑰花口服液真伪。

1 材料

傅立叶变换红外光谱仪(Nicolet IR200 型,美国

Thermo Electron 公司),FW-4A 型粉末压片机(天津港市拓普仪器有限公司),溴化钾(光谱纯);玫瑰花口服液(11 批,喀什昆仑维吾尔药业股份有限公司),随机选取市面的 4 种不同口服液作为伪品。

2 方法与结果

2.1 供试品的制备 把玫瑰花口服液和伪品各取适量,分别置于称量瓶中,盖子半开,放入真空干燥箱中设置温度 60 ℃,干燥 48 h,备用。

2.2 红外光谱分析 取 2.1 项下供试品适量,将样品(1:100)加入到已干燥过的溴化钾粉末中,混合均匀后取适量,20 MPa 压片,保持 3 min,通过 EZ OMNIC 7.3 红外光谱操作软件进行谱图分析。

2.3 化学模式识别 应用 SPSS 17.0 软件对各变量的红外指纹图谱数据做标准化处理,进行聚类分析^[17]及主成分分析^[18],从而对样本类型做出判别。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 将同一批玫瑰花口服液样品连续采集 6 次,其共有峰波数的 RSD 均 < 1%。

2.4.2 稳定性试验 将同一批处理好的样品,在干燥器内放置 0, 2, 4, 8, 12, 16, 24 h 后检测,所得其红外图谱共有峰波数的 RSD < 0.6%,表明样品在 24 h 内稳定。

2.4.3 重复性试验 取同一批玫瑰花口服液样品,按 2.1 项下方法制备 6 份,分别测定,其共有峰波数的 RSD 在 0.4% ~ 1.1%。

2.5 指纹图谱的建立 把供试品制备成压片,按选定的测定条件下进行检测,所得的样品红外光谱图给出的信息制定玫瑰花口服液的红外指纹图谱,见图 1。

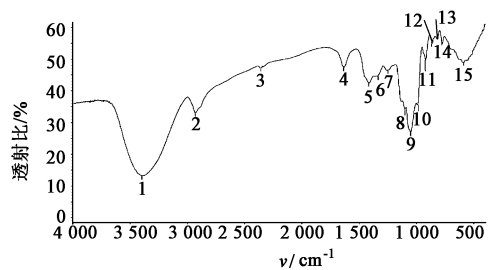


图 1 玫瑰花口服液红外指纹谱

Fig. 1 Infrared spectral fingerprint of Rose oral liquid

2.6 指纹图谱分析

2.6.1 共有峰的确定 经过将 11 批玫瑰花口服液样品进行红外光谱分析与比较,最终确定该样品红外指纹图谱有 15 个共有峰(图 1),1 ~ 15 号峰波数依次为 3 392.6, 2 933.6, 2 362.8, 1 636.9, 1 421.6, 1 343.6, 1 248.9, 1 146.6, 1 060.3, 994.1, 921.8,

866.3, 820.0, 776.6, 588.8 cm^{-1} 。

2.6.2 相似度评价 采用相关系数和夹角余弦评价相似度^[19], 计算各批次玫瑰花口服液样品及伪品的相似度, 见表 1。

夹角余弦法计算结果显示, 11 批玫瑰花口服液样品中, 各样品的夹角余弦值(相似度)均在 0.919~0.999 内, 其相关系数均 > 0.930, 只有 S9

的相关系数略 < 0.90, 说明所有玫瑰花口服液样品红外光谱的相似程度较高, 指纹图谱一致性良好。但是 4 个伪品的夹角余弦值分别为 0.663, 0.672, 0.699, 0.741, 而其相关系数在 0.141~0.348, 表明与样品相比, 伪品的相似度更低。因此, 可以通过相似度对玫瑰花口服液样品的质量进行评价, 并能够有效区分伪品。

表 1 玫瑰花口服液及伪品相似度

Table 1 Results obtained for infrared spectral analysis of Rose oral liquid and counterfeits

编号	波数 cm^{-1}	透射比/%																均值
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	w1	w2	w3	w4		
1	3 392	1.0	4.5	8.6	2.9	4.2	10.9	13.0	1.5	0.3	3.2	6.3	16.3	17.8	33.2	16.6	5.1	
2	2 933	11.7	19.6	26.6	25.9	18.0	28.2	32.9	13.3	8.4	19.3	27.1	35.6	34.8	49.0	35.7	20.9	
3	2 362	47.7	41.4	50.5	57.2	38.7	50.6	47.1	42.8	40.3	35.8	53.1	50.8	49.3	56.6	49.9	45.9	
	2 341	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	52.4	51.0	58.5	51.3	0.0	
4	1 635	31.4	33.0	43.5	44.9	32.0	43.0	47.3	30.2	31.2	35.3	46.1	50.6	48.7	59.1	48.7	37.9	
	1 597	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	47.9	0.0	
	1 558	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	56.4	52.3	63.1	47.9	0.0	
	1 459	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	43.8	40.8	57.9	43.5	0.0	
5	1 421	13.0	22.5	32.9	29.9	21.9	33.6	42.2	15.3	8.9	21.7	32.8	41.6	40.0	57.5	41.4	24.9	
6	1 343	14.1	24.9	35.4	33.1	23.8	36.1	44.7	17.4	9.2	22.3	33.8	42.7	40.0	60.0	40.4	26.8	
7	1 248	15.6	25.8	37.4	35.5	25.8	37.4	46.6	19.5	11.0	24.6	36.1	46.0	44.1	61.1	46.3	28.6	
8	1 146	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	31.7	30.7	53.8	34.8	0.0	
	1 105	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	31.0	30.0	54.1	34.6	0.0	
9	1 060	1.9	8.5	17.4	7.2	8.6	20.0	26.7	3.1	0.4	4.9	12.4	26.3	26.0	48.4	26.9	10.1	
	1 026	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	22.9	22.2	0.0	0.0	0.0	
10	994.1	5.6	14.5	23.4	15.1	13.7	25.7	35.3	6.6	2.2	10.5	22.2	0.0	0.0	49.9	30.1	15.8	
11	921.8	15.5	28.2	38.5	36.5	27.0	39.5	49.6	20.0	7.0	19.1	36.1	49.0	46.2	59.7	43.9	28.8	
12	866.3	22.0	33.9	46.1	46.8	33.6	46.0	54.8	28.2	14.7	27.6	43.5	54.1	51.0	66.5	52.7	36.1	
	832.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	66.6	53.5	0.0	
13	820.0	27.2	33.9	47.6	48.2	35.9	46.6	56.1	29.8	26.9	38.1	50.4	56.4	0.0	0.0	0.0	40.0	
14	776.6	23.9	31.1	44.8	44.2	33.4	44.1	54.7	26.3	24.9	37.0	47.7	51.0	48.0	0.0	54.0	37.4	
	707.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	48.1	45.7	0.0	0.0	0.0	
	671.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	46.5	43.8	61.6	45.9	0.0	
15	588.8	12.0	23.4	34.5	30.1	24.1	36.1	48.7	15.5	7.9	21.0	34.0	41.6	40.0	61.7	43.7	26.1	
	553.4	11.8	23.9	34.8	30.6	24.6	36.9	49.7	15.7	7.6	20.3	34.1	0.0	0.0	62.2	43.4	26.3	
	523.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	43.4	42.0	0.0	44.8	0.0	

注: S1~S11 为 11 批玫瑰花口服液, w1~w4 为 4 种伪品。

2.7 化学模式识别

2.7.1 聚类分析 按照 11 批玫瑰花口服液样品及伪品的红外图谱分析结果, 以各峰位的波数为变量,

以各峰透光率为测度, 采用 SPSS 17.0 统计分析软件进行 Q 型聚类分析, 见图 2。

11 批玫瑰花口服液样品聚为一类, 4 种伪品聚

为一类,这进一步解释了相似度分析的结果,说明采用聚类分析法也可以对玫瑰花口服液样品及伪品进行有效的区分。

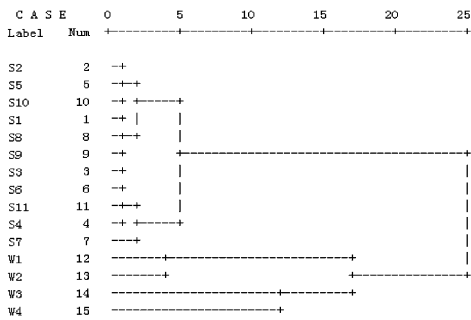


图 2 15 个样本的聚类分析树

Fig. 2 Cluster analysis dendrogram of sample

2.7.2 主成分分析 在中药质量标准研究数据的统计分析方法中,主成分分析法被广泛地使用,该方法中利用对数据降维、变量提取与压缩,获取中药品种真伪的分类和聚类数据,并得到用于鉴别分析中药的有价值的信息,最终实现中药品种真伪的鉴别、分类和优选^[20]。本实验对 11 批玫瑰花口服液样品和 4 种伪品的红外图谱分析,获得一个矩阵,每列代表不同的样本,每行代表谱图中出现色谱峰位的透光率,运用 SPSS 17.0 统计分析软件进行主成分分析,结果见表 2,图 3。

表 2 主成分方差分析

主成分	特征值贡献率	方差	累计方差
1	10.721	71.474	71.474
2	1.891	12.605	84.079
3	1.388	9.252	93.331
4	0.529	3.528	96.859
5	0.317	2.115	98.974
6	0.107	0.714	99.688
7	0.031	0.208	99.896
8	0.012	0.078	99.975
9	0.002	0.014	99.989
10	0.001	0.008	99.996
11	0.000	0.002	99.998
12	0.000	0.001	99.999
13	7.600×10^{-5}	0.001	100.000
14	3.555×10^{-5}	0.000	100.000
15	1.014×10^{-5}	6.761×10^{-5}	100.000

从表 2 可知,特征值 1 以上的前 2 个主成分的累计方差贡献率达到 84% 以上,故根据这 2 个成分得分绘制二维散点图,见图 3。图中每一点代表 1 个样本,15 个样本聚为两类,一大类为玫瑰花口服液,另一大类为伪品,与聚类分析结果一致。

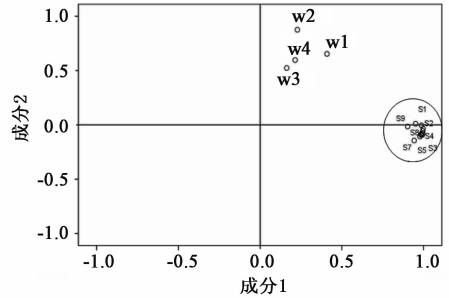
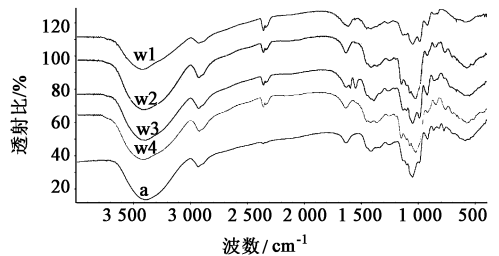


图 3 玫瑰花口服液和伪品主成分散点

Fig. 3 Scatter diagram of principal components

2.8 玫瑰花口服液和伪品红外光谱比较 指纹图谱考察的是图谱整体的面貌,所以不需对每个峰做出归属。由图 4 可以看出玫瑰花口服液样品和伪品红外光谱图存在一定异同点。玫瑰花口服液样品及伪品在波数 $3700 \sim 3000 \text{ cm}^{-1}$ 区有一宽强峰,在波数 $3000 \sim 2800 \text{ cm}^{-1}$ 区有一小肩峰,他们在这两个区没有显著差异;在波数 $2400 \sim 2300 \text{ cm}^{-1}$,玫瑰花口服液样品有一个弱肩峰,而伪品均有 2 个小肩峰;在波数 1500 cm^{-1} 区,玫瑰花口服液样品没有峰,而伪品 w3 有 2 个小肩峰;波数 $1200 \sim 100 \text{ cm}^{-1}$,玫瑰花口服液样品有峰,而伪品 w1 和 w2 没有峰;在波数 $900 \sim 700 \text{ cm}^{-1}$,仅样品有并列的 3 个小尖峰 ($867, 820, 777 \text{ cm}^{-1}$),而伪品没有这个特征; 672 cm^{-1} 处样品没有峰,而伪品均有峰; 553 cm^{-1} 处样品有小峰,但 w1 和 w2 没有此特征峰。



A. 玫瑰花口服液; w1 ~ w4. 伪品

图 4 玫瑰花口服液和伪品红外光谱

Fig. 4 Infrared spectral fingerprints of Rose oral liquid and counterfeits

3 讨论

本研究建立了玫瑰花口服液红外指纹图谱,并

采用红外指纹图谱结合化学模式识别进行该口服液的真伪鉴别。采用11批玫瑰花口服液样品获得红外指纹图谱,进行相似度分析,发现不同批次玫瑰花口服液具有相同的红外特征,相似度较高;相比之下,4种伪品的相似度均远小于0.90,表明玫瑰花口服液样品与伪品图谱之间相似度有一定差距。对所有的样本进行化学模式识别,通过聚类分析法对11批玫瑰花口服液样品及4种伪品的红外指纹图谱进行Q型聚类,结果表明11批玫瑰花口服液样品聚为一类,4种伪品聚为一类;通过主成分分析能把11批玫瑰花口服液与4种伪品严格区分开来,这一点和聚类分析结果相一致。这些结果充分说明采用相似度分析和化学模式识别能对玫瑰花口服液样品和伪品的红外指纹图谱的有效区分,而且区分结果较为吻合。说明红外指纹图谱结合化学模式识别能快速、简便地鉴别玫瑰花口服液样品与伪品,为该制剂质量评价及控制提供了一种简易的新方法。

[参考文献]

[1] 马猛华,崔波,于海峰,等. 玫瑰花的研究进展[J]. 山东轻工业学院学报,2008,22(4):38-42.

[2] 艾合买提·买买提,艾克白尔·买买提,买合木提·买买提. 玫瑰花的研究进展[J]. 中国民族医药杂志,2008,14(8):23-25.

[3] Ng T B, He J S, Niu S M, et al. A gallic acid derivative and polysaccharides with anti-oxidative activity from rose (*Rosa rugosa*) flowers[J]. J Pharm Pharmacol, 2004,56(4):537-545.

[4] 仲婕. 玫瑰花的新药用价值[J]. 中国医药科学,2011,1(16):9-11.

[5] 凯赛尔·阿不拉,沙拉麦提·艾力,苏来曼·哈力克. 玫瑰花口服液质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(4):85-87.

[6] 热比亚·阿布力米提,沙吉旦·斯拉木. 维吾尔药玫瑰花口服液结合西药治疗44例心血管疾病的疗效观察[J]. 中国民族医药杂志,2006,12(1):14.

[7] 李建银,刘文,邱德文,等. 中药复方指纹图谱的研究现状及其前景[J]. 武警医学,2004,15(1):59-61.

[8] Cuadrado M U, De Castro M D L, Gomez-Nieto M A. Study of spectral analytical data using fingerprints and scaled similarity measurements[J]. Anal Bioanal Chem, 2005, 381(4): 953-963.

[9] 祖双,梁洁,刘明颖,等. 参芪王浆养血口服液高效液相指纹图谱研究[J]. 亚太传统医药,2015,11(2):19-21.

[10] 胡军华,苏倩倩,李婷婷,等. 金振口服液的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国中药杂志,2014,39(19):3768-3771.

[11] 刘伟,杨艳玲,刘乃强,等. 柴胡口服液 HPLC 指纹图谱及柴胡皂苷 b_2 的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(8):134-137.

[12] Lazarowych N. Use of fingerprinting and marker compounds for identification of botanical drug; Strategies for applying pharmaceutical HPLC analysis to herbal products[J]. Drug Infor J,1998,32:497-500.

[13] 楚刚辉,阿吉姑·阿布都热西提,丁晓丽. 喀什树莓酒及其5种伪品的红外指纹图谱鉴别[J]. 食品科学,2012,33(20):157-161.

[14] 季晓辉,李娜,王俊儒,等. 天麻及其5种伪品红外指纹图谱鉴别研究[J]. 西北植物学报,2008,28(4):831-835.

[15] 郑捷,肖凤霞,林励,等. 基于傅里叶变换红外光谱法的土茯苓真伪鉴别及溯源研究[J]. 食品科学,2014,35(12):165-168.

[16] 孙立宏. 2010年版药典花类易混伪品种的研究概况[J]. 海峡药学,2014,26(9):36-39.

[17] 彭学君. 聚类分析在数据挖掘中的应用探究[J]. 科教文汇,2007(9):216.

[18] 贾明辉,华志强. 主成分分析数据处理方法探讨[J]. 内蒙古民族大学学报:自然科学版,2008,23(4):379-381.

[19] 苗爱东,孙殿甲. Excel2002在中药指纹谱相似度计算中的应用[J]. 药学进展,2003,27(1):51-54.

[20] 孔浩,郭庆梅,王慧慧,等. 主成分分析法在中药质量评价中的应用[J]. 辽宁中医杂志,2014,41(5):890-892.

[责任编辑 顾雪竹]