

运用近红外技术建立藿香正气胶囊中厚朴酚的定量模型

郭念欣, 蔡佳良, 李蕾蕾, 黄洁燕, 姬生国*
(广东药学院中药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 采用近红外光谱技术建立藿香正气胶囊中厚朴酚含量快速测定的方法。方法: 以高效液相色谱法测定 109 批次藿香正气胶囊中厚朴酚含量, 近红外光谱法采集近红外光谱数据, 结合偏最小二乘法 (PLS) 建立厚朴酚的定量模型。结果: 建立的厚朴酚校正模型相关系数 (R^2)、内部交叉验证均方差、校正均方差分别为 0.945 6, 0.054 3, 0.024 5。经外部验证, 预测均方差为 0.045 9, 平均回收率为 101.26%。结论: 建立的近红外定量模型稳定, 准确可靠, 可快速对藿香正气胶囊中厚朴酚的含量进行测定。

[关键词] 近红外光谱法; 藿香正气胶囊; 厚朴酚; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0146-04

[doi] 10.11653/syjf2013080146

Determination content of Magnolol in Huoxiang Zhengqi Capsules Separate from Different Pharmaceutical Factories by Near-infrared Spectroscopy

GUO Nian-xin, CAI Jia-liang, LI Lei-lei, HUANG Jie-yan, JI Sheng-guo*

(School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content of Magnolol in Huoxiang Zhengqi capsules by near-infrared spectroscopy (NIR). **Method:** Determined the content of magnolol in 109 samples by HPLC. Collected their NIR spectrograms data, calibration model of magnolol was established by the Partial least squares regression analysis. **Result:** The correlation coefficients (R^2), the root-mean-square error of cross-validation and the root-mean-square error of calibration (RMSEC) of the calibration model for magnolol were 0.945 6, 0.054 3, 0.024 5; and the root-mean-square error of prediction (RMSEP) was 0.045 9, the average rate of recovery was 101.26%. **Conclusion:** The method is steady, accurate, and can be applied for the fast determination of magnolol within. Huoxiang Zhengqi capsules.

[Key words] near-infrared spectroscopy; Huoxiang Zhengqi capsules; magnolol; HPLC

藿香正气胶囊为传统解表化湿, 理气和中之中成药, 临床主要用于治疗外感风寒, 内伤湿滞, 头痛昏重, 胸膈痞闷, 脘腹胀痛, 呕吐泄泻等症^[1-2]。在藿香正气胶囊的质量评价体系中, 其厚朴酚的含量

测定方法多以常见的 HPLC 为主, 易受样品制备、仪器等因素的影响。近红外光谱技术是近年来发展迅速的一种绿色分析技术, 在农业、食品、石化等领域中得到了成功的应用。该技术以快速方便、适应在线分析和无损分析的特点, 在药物的定性、定量分析中已经得到了广泛的重视和应用^[3-8]。本研究通过对 109 批的藿香正气胶囊中的厚朴酚的含量进行测定, 并采集近红外光谱数据, 建立藿香正气胶囊的厚朴酚近红外定量模型, 实现中成药生产中, 中间体、半成品、成品的快速质量检测体系。

[收稿日期] 20120531(007)

[第一作者] 郭念欣, 硕士研究生, 从事中药质量标准研究, Tel: 13922123248, E-mail: godchina@qq.com

[通讯作者] * 姬生国, 教授, 博士, 从事中药资源中药质量标准及中药新药研究, Tel: 020-39352327, E-mail: shenguo_ji@yahoo.cn

1 材料

1.1 样品采集与前处理 109批藿香正气胶囊均购自于广东省药店,为不同产家所生产。每批次取20颗胶囊,倾出内容物,研碎过80目标筛即为1个样品。

1.2 仪器 Nicolet-6700型傅立叶变换近红外光谱仪,配有积分球、样品旋转台、样品杯、OMNIC光谱采集软件和TQ10分析软件(美国Thermo公司),LC-1200型高效液相色谱仪(日本岛津公司)。

1.3 试剂 甲醇为色谱纯(美国迪马公司),水为超纯水,其余试剂均为分析纯。样品为10个不同厂家生产的109批藿香正气胶囊,厚朴酚对照品(中国药品生物制品检定所,批号528-43-8)。

2 方法

2.1 近红外光谱的采集 每批样品取约5g,混合均匀后放入石英样品杯中,采用积分球漫反射测样;扫描范围 $4\ 000\sim 10\ 000\text{ cm}^{-1}$,分辨率 8 cm^{-1} ,扫描次数64次,温度 $(25\pm 2)\text{ }^{\circ}\text{C}$,相对湿度45%~50%。每批样品扫描5次,求平均光谱,见图1。

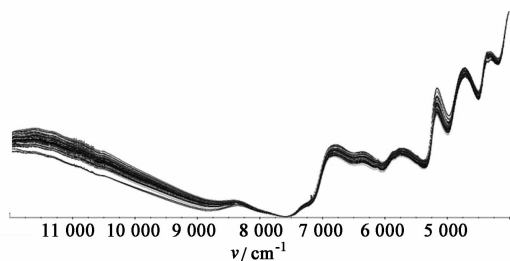


图1 109批样品的近红外光谱叠加图

2.2 厚朴酚含量测定

2.2.1 色谱条件 Kromasil ODS 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-0.2%磷酸水(73:27),检测波长294 nm,柱温30℃,流速 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,进样量10 μL。理论塔板数按厚朴酚峰计算应不低于5 600,保留时间约为22.5 min。

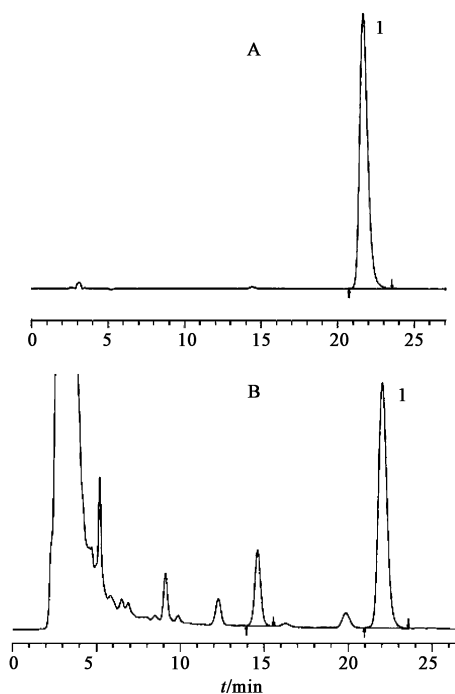
2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取厚朴酚对照品0.0048 g,加甲醇溶解,制成每1 mL含厚朴酚0.48 mg溶液,即得对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取藿香正气胶囊内容物0.25 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇25 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率250 W,频率33 kHz)30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.2.4 标准曲线的建立 精密吸取对照品溶液2.0,1.0,1.0,2.0,1.0,1.0 mL,分别加甲醇定容至

5,5,10,25,25,50 mL,摇匀。用0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,按上述色谱条件进样测定。以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,计算得回归方程为: $Y=3\times 10^7 X+63\ 824(r=1.000\ 0)$,厚朴酚浓度在 $0.009\ 6\sim 0.48\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.5 样品的含量测定与含量分布 精密吸取上述对照品溶液和供试品溶液各10 μL($n=5$),分别按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图(见图1)。计算得到109批藿香正气胶囊样品中厚朴酚的质量分数,变化范围在0.15%~0.5%,且分布均匀,平均为0.34%。



A. 对照品溶液; B. 供试品溶液; 1. 厚朴酚峰

图2 样品溶液的HPLC

2.3 建立模型的方法 将109批样品随机分为校正集和验证集,其中,验证集的含量范围在校正集的含量范围之内。以偏最小二乘法建立定量校正模型,并且以 R^2 ,RMSECV, RMSEP这3个指标作为模型性能的评价指标。一般而言, R^2 越大, RMSECV越小,表明模型结构越合理, RMSEP越小,表明模型的预测性能和推广能力越强^[8]。见表1。

3 结果与讨论

3.1 建立模型条件选择 不同的样品能引起近红外光谱基线的漂移和斜率的变化,这对模型的建立产生较大的影响^[9]。因此,必须对近红外光谱进行预处理来消除这些影响。选择合适的光谱区间,要包含待测组分的最大信息量,同时也要尽可能降低噪音干扰,改善所建模型的性能,从而获得最佳的预

表 1 不同预处理方法对模型的影响

方法	校正集		验证集
	R^2	RMSEC	RMSEP
常数(无)	0.625 75	0.066 91	0.046 4
多元散射校正	0.815 56	0.055 47	0.050 5
标准归一化处理	0.792 29	0.062 41	0.049 7
一阶导数法	0.922 70	0.053 48	0.049 0
标准归一化处理 + 一阶导数法	0.944 09	0.054 46	0.046 5
多元散射校正 + 一阶导数法	0.945 79	0.054 30	0.046 0

测效果^[10]。本实验比较不同的预处理方法,最终确定最佳预处理方法为偏最小二乘法(PLS) + 多元散射校正(MSC) + 一阶导数法(First derivative),建模波段为 9 830 ~ 4 849 cm^{-1} 。见表 2。

表 2 不同波段对建模的影响

ν/cm^{-1}	校正集		验证集
	R^2	RMSEC	RMSEP
10 000 ~ 4 000	0.832 26	0.053 48	0.057 7
9 130 ~ 4 000	0.798 40	0.054 45	0.055 6
9 130 ~ 4 849	0.945 62	0.054 30	0.045 9

3.2 主成分数的选择 偏最小二乘法(PLS)建立的校正模型,其主成分数的选择对模型预测能力有很大的影响。主成分数过多,易出现过拟合现象;而主成分数过少,也会导致建模信息不全,预测能力差^[11]。因此,本实验采用交互验证法考察不同主成分数对 RMSECV 值的影响,最终确定最佳主成分数为 9 个。见图 3。

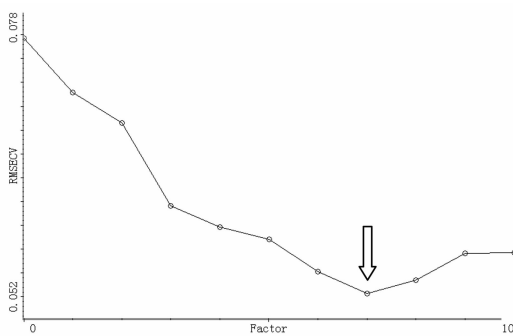


图 3 校正集 RMSECV 与主成分数之间的相关性

3.3 校正模型的建立和验证 近红外光谱经过 MSC + 一阶导数处理后,在 9 830 ~ 4 849 cm^{-1} ,选择前 9 个主成分建立了最优校正模型。该模型的 $R^2 = 0.945 62$, $\text{RMSEC} = 0.054 3$, $\text{RMSEP} = 0.045 9$,见图 4。从 109 份样品中随机选取 22 批样品组成验证集,以验证集样品的近红外光谱预测值与 HPLC 分析值的比值作为预测回收率,计算得平均回收率为

101.26%,见表 3。

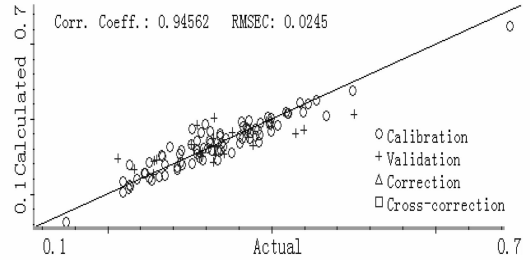


图 4 校正集化学值与预测值的相关图

表 3 22 批验证集样品的平均回收率

No.	化学值/%	预测值/%	偏差	平均回收率/%
1	0.21	0.29	0.08	
2	0.23	0.26	0.03	
3	0.26	0.25	-0.01	
4	0.26	0.29	0.03	
5	0.30	0.33	0.03	
6	0.31	0.38	0.07	
7	0.31	0.30	-0.01	
8	0.32	0.31	-0.01	
9	0.33	0.29	-0.04	
10	0.33	0.35	0.02	
11	0.33	0.40	0.07	
12	0.33	0.30	-0.03	101.26
13	0.34	0.31	-0.03	
14	0.35	0.37	0.02	
15	0.37	0.35	-0.02	
16	0.38	0.33	-0.05	
17	0.39	0.39	0.00	
18	0.40	0.38	-0.02	
19	0.40	0.39	-0.01	
20	0.43	0.36	-0.07	
21	0.44	0.44	0.00	
22	0.50	0.41	-0.09	

4 结论

结合光谱学与化学计量学,提取藿香正气胶囊近红外光谱中共同的、有用的信息,然后与对应样品中厚朴酚含量进行线性拟合而建立藿香正气胶囊中厚朴酚定量模型。该模型建立后,可越过常规分析方法,直接扫描待测样品的近红外光谱图并立刻获得样品中厚朴酚含量。将该方法应用在藿香正气胶囊的生产过程中,将能实现样品的在线检测,及时了解生产过程中样品化学成分的含量变化,更好地控制产品的质量。

亲水液相色谱-三重四极杆质谱检测 河豚鱼肝中的河豚毒素

陈晓¹, 文红梅^{1*}, 李伟¹, 张路¹, 赵继红²

(1. 南京中医药大学药学院, 南京 210046;

2. 泰州市康特生物工程有限公司, 江苏 泰州 225500)

[摘要] 目的: 建立河豚鱼肝中河豚毒素(TTX)的亲水液相色谱-三重四极杆质谱联用(LC-MS-MS)定量检测方法。方法: 样品经匀浆, 超声, 乙腈沉淀离心后, 取上清液进样测定。极性聚酰胺键合硅胶柱 Innovation™ HP Amide (100 mm × 3.0 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.3% 甲酸(体积比为 70:30), 流速为 0.5 mL·min⁻¹; 柱温 30 °C, 进样量 5 μL。选择正离子多反应监测(MRM)模式, [M + H]⁺, m/z 320.1162.1 进行定量分析。结果: TTX 的线性范围为 0.031 3 ~ 2.00 mg·L⁻¹ (r = 0.999 9); 检测限(S/N = 3)为 3.0 pg, 加样回收率在 96.3% ~ 103.0%。结论: 该法灵敏度高, 重复性好, 简便快速, 适用于河豚毒素的测定。

[关键词] 亲水液相色谱-三重四极杆质谱联用; 河豚毒素(TTX); 河豚鱼; 肝脏

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0149-04

[doi] 10.11653/syjf2013080149

Determination of Tetrodotoxin in Fugu Liver Using Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography Coupled with Triple Quadrupole Mass Spectrometry

CHEN Xiao¹, WEN Hong-mei^{1*}, LI Wei¹, ZHANG Lu², ZHAO Ji-hong¹

(1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China;

[收稿日期] 20121119(017)

[第一作者] 陈晓, 硕士研究生, 从事中药化学研究, Tel: 13813823404, E-mail: flymorning@126.com

[通讯作者] * 文红梅, 教授, 博士生导师, 从事药物分析和代谢研究, Tel: 025-85811839, E-mail: njwenhm@126.com

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 1234.
- [2] 中国药典委员会. 中国药典临床用药须知. 中药卷[S]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 26.
- [3] 薛晓倩, 黄学宽, 高宁, 等. 藿香正气液对湿阻证大鼠回肠黏膜 ZO-1 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 224.
- [4] 白雁, 李雯霞, 王星, 等. 近红外光谱法测定道地产区生地黄中梓醇的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(13): 46.
- [5] 刘建学. 实用近红外光谱技术[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 21.
- [6] 白雁, 史会齐, 龚海燕, 等. 近红外光谱法测定不同厂家六味地黄丸中丹皮酚[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(17): 63.
- [7] 蔡佳良, 郭念欣, 黄洁燕, 等. 运用近红外光谱法建立广藿香中百秋李醇的定量模型[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(14): 2113.
- [8] 李晓明, 杨滨. 近红外光谱技术的研究进展及其在中药领域的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(12): 69.
- [9] 刘建学. 实用近红外光谱技术[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 21.
- [10] 石猛, 耿春贤, 叶彬, 等. 近红外光谱法快速测定消渴丸浓缩液中葛根素含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11): 48.
- [11] 陆婉珍. 现代近红外光谱分析技术[M]. 2 版. 北京: 中国石化出版社, 2007: 441.

[责任编辑 顾雪竹]