

山檀药材中银松素含量近红外定量模型的建立

雷敬卫*, 郭艳利, 白雁, 陈随清
(河南中医学院, 郑州 450008)

[摘要] 目的:建立山檀药材中银松素含量的近红外(Near infrared,简称 NIR)定量模型,准确快速的测定山檀药材中银松素的含量.方法:利用近红外漫反射光谱法结合 TQAnalyst 8.0 软件,建立银松素的定量模型.结果:建立的银松素含量定量模型的相关系数(R^2)、校正均方差(RMSEC)分别为 0.993 65,0.110.结论:方法操作简单,测定结果准确,能快速有效的测定山檀药材中银松素的含量.

[关键词] 山檀; 银松素; 近红外光谱; 定量模型

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0075-03

Establish the Quantitative Model of 3,5-dihydroxystilbene in *Lindera reflexa* Hemsl by Near-infrared Spectroscopy

LEI Jing-wei*, GUO Yan-li, BAI Yan, CHEN Sui-qing
(Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008)

[Abstract] **Objective:** To establish a quantitative model of 3,5-dihydroxystilbene in *Lindera reflexa* so as to determine the content of 3,5-dihydroxystilbene fast and accurately. **Method:** A quantitative model was established by NIR and TQ Analyst8.0 software. **Result:** The correlation coefficients (R^2) and the root-mean-square error of calibration (RMSEC) of the quantitative model for 3,5-dihydroxystilbene were 0.993 65 and 0.110 respectively. **Conclusion:** This method is used easily, and the result is accurate. It can determine the content of 3,5-dihydroxystilbene in *Lindera reflexa* quickly and effectively.

[Key words] *Lindera reflexa*; 3,5-dihydroxystilbene; NIR; quantitative model

山檀 *Lindera reflexa* Hemsl 为樟科 Lauraceae 山胡椒属植物,落叶灌木或小乔木,根部入药,性味辛,温,祛风理气,止血,消肿,杀虫,主治癣疥,过敏性皮炎,胃痛,及刀伤出血等。山檀根为中成药“胃痛宁片”的主要原料^[1]。对山檀中银松素的含量测定,常采用高效液相色谱法,测定结果准确、稳定性好,但是该法需对样品进行较为繁琐的化学前处理,且损坏样品。由于近红外光谱分析技术分析速度快、

对样品无损害、无化学污染等显著优点^[2],因此本文通过近红外漫反射光谱技术,建立了山檀中银松素的含量测定模型,可以实现大生产中大批量样品的快速测定,提高检测效率,节约检测成本。

1 仪器与试剂

美国 Thermo Nicolet 公司 6700 型近红外光谱仪,Agilent 1200 自动高效液相色谱仪, Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm),HS-6150 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),BS201S 型电子天平,FW-200 型高速药材粉碎机(北京中兴伟业仪器有限公司)。

甲醇(色谱纯,天津四友试剂有限公司),甲醇(分析纯,天津市福晨化学试剂厂)、重蒸馏水(自制),银松素纯品为本课题组从山檀中提取,经¹³C-NMR,¹H-NMR 鉴定,HPLC 面积归一化法测定纯度

[收稿日期] 20110313(002)

[基金项目] 河南省重点科技攻关计划(082102330026);河南省教育厅科技攻关项目(2008A360016)

[通讯作者] * 雷敬卫,副教授,医学博士,研究方向:中药资源及质量分析, Tel:0371-65575596, E-mail: ljwei@hactcm.edu.cn

为 99.10%。

2 样品来源

山檀药材为 2008 年 10 月至 2010 年 4 月期间采自河南省信阳地区,部分药材由羚锐公司提供,共收集 66 份样品。全部药材由河南中医学院药学院陈随清教授鉴定为樟科植物山檀 *L. reflexa* 的根。

3 近红外光谱数据的采集

把上述样品粉碎,过 60 目筛,取约 5 g 装入 50 mL 标准石英杯,进行近红外图谱采集。每个样品重复采集 3 次,以空气为参比,计算平均光谱,见图 1。

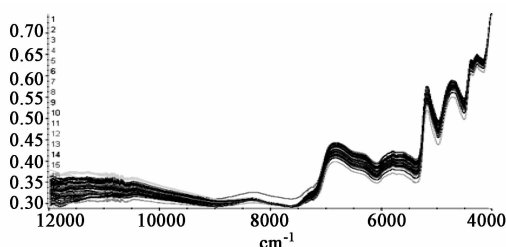


图 1 山檀药材的近红外光谱

4 山檀药材中银松素的含量测定^[3]

4.1 对照品溶液的制备 精密称取银松素对照品 1.60 mg,置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,配制成浓度为 160 mg·L⁻¹的对照品溶液,见图 2。

4.2 供试品溶液的制备 取山檀粉末约 1g,精密称定,加 50 mL 甲醇后置具塞三角瓶中,称定质量,超声提取 1 h,放冷,用甲醇补足减失的质量,摇匀后滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液 10 mL 置 25 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀后的溶液经 0.45 μm 滤膜滤过,弃去初滤液,取续滤液作为供试品溶液。

4.3 色谱条件 参考文献报道方法,经多次实验,最终选择流动相甲醇-水梯度洗脱。梯度洗脱 0~5 min(50%~65% 甲醇),5~40 min(65%~100% 甲醇),40~45 min(100% 甲醇),45~55 min(50% 甲醇)。经紫外分光光度计检测,确定检测波长为 300 nm,见图 2。

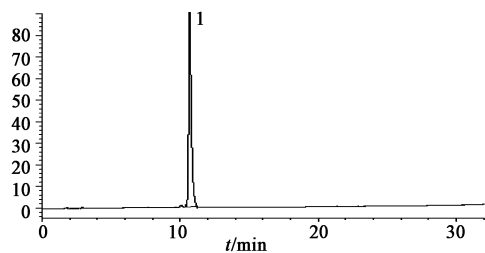


图 2 银松素的 HPLC 图

4.4 标准曲线的制备 取 4.1 项下对照品溶液,分别精密吸取 2,6,10,14,18 μL 注入液相色谱仪,测定峰面积。以进样量为横坐标,峰面积积分为纵坐标,进行回归处理,得回归方程 $Y = 5541.1X - 19.771$ ($R^2 = 1$),结果表明银松素在 0.32~2.88 μg 线性关系良好。

4.5 精密度试验^[4] 精密吸取对照品溶液 10 μL,重复进样 6 次,测定峰面积,结果银松素峰面积的 RSD 0.043%,表明精密度较好。

4.6 重复性试验 精密称取同一样品,按照 4.2 项下制备方法制备成 6 份供试品溶液,并在上述色谱条件下测定,结果样品中银松素含量的 RSD 0.175%,重复性较好。

4.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别在 0,2,4,6,8,12 h 进样测定,结果银松素峰面积的 RSD 2.79%,表明采用本方法测定银松素的含量在 12 h 内稳定性良好。

4.8 加样回收率试验 取已知含量的样品 6 份,精密称定,分别加入一定含量的银松素纯品,按含量测定方法处理并测定,计算加样回收率,结果银松素平均回收率为 100.48%,RSD 0.537%,表明该方法可靠。

4.9 样品的含量测定 按照 4.2 项下的方法制备供试品溶液,对 66 个样品中银松素的含量进行测定。

5 建立山檀药材中银松素含量的 NIR 分析模型

5.1 校正集和验证集样品的选择 根据山檀药材中银松素含量的分布情况,从 66 份样品中,随机选取 54 个有代表性的样品组成校正集,用于建立模型;剩余 12 个样品为验证集,对模型进行内部验证,见表 1。

表 1 校正集与验证集样品银松素分布范围表

样品	样本数	最大值	最小值	平均值
校正集	54	11.163	3.777	7.489
验证集	12	8.546	6.701	7.374

5.2 定量模型的建立 运用 TQ8.0 定量分析软件中 PLS 法建立模型,66 份样品用于建模(其中 54 份样品作为校正集样品,12 份作为验证集样品),对银松素不同的光谱预处理方法、不同的建模波段及不同的建模主因子数的选择得到的 RMSEC 和 R² 不同,经过多次的手动选择及综合比较,最终选择 SNV + Second Derivative 对光谱进行预处理,采用波

段7 677.96 ~ 4 011.21 cm^{-1} , 6 个主因子数进行建模效果最好,用验证集进行验证时 $R^2 = 0.99365$, $\text{RMSEC} = 0.110$ 。NIR 预测值与参考值的相关图见图 3,偏差图见图 4,从图中可以看出 NIRS 预测值与参考值非常接近。

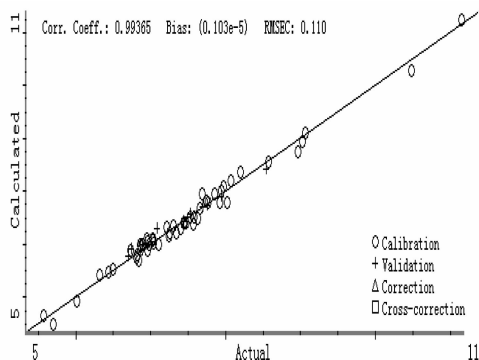


图 3 NIR 预测值与真实值的相关图

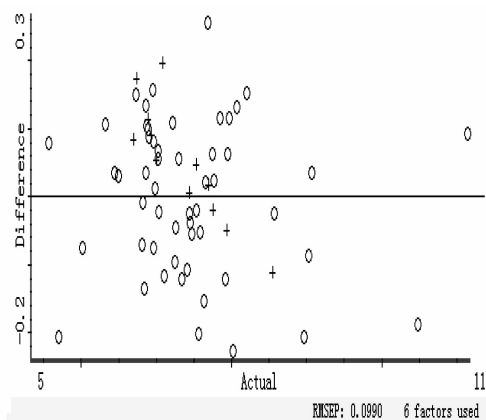


图 4 NIR 预测值与真实值偏差图

5.3 NIR 定量模型的内部验证 将 12 份验证集样品的 NIR 图谱输入校正模型,预测其银松素含量,并与其 HPLC 法测定值进行比较,结果见表 2。

5.4 统计学检验 将 12 份验证集样品的 NIR 侧得值与药典法测定值进行配对 t 检验,结果表明对于

表 2 NIR 预测值与药典法测定值的比较

No.	银松素/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$		绝对偏差预测 回收率/%	平均回收率 /%	No.	银松素/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$		绝对偏差预测 回收率/%	平均回收率 /%
	HPLC	NIR				HPLC	NIR		
1	7.94	7.89	-0.05	99.37	7	6.73	6.91	0.18	102.67
2	7.43	7.44	0.01	100.13	8	6.89	7.00	0.11	101.59
3	8.54	8.43	-0.11	98.71	9	7.08	7.28	0.20	102.82
4	7.75	7.73	-0.02	99.74	10	7.00	7.05	0.05	100.71
5	7.53	7.57	0.04	100.53	11	6.93	7.02	0.09	101.29
6	7.69	7.71	0.02	100.75	12	6.70	6.78	0.08	101.19

给定显著性水平 0.05, $t(0.05/2, 11) = 2.20$, 经配对 t 检验, 12 个样品 NIR 预测值与药典法测定值的 t 检验值为 -1.92, 小于给定值 2.20, 即 2 种方法的分析结果差异无统计学意义, 该模型通过内部验证, 可以准确预测其覆盖范围的山柃药材中银松素的含量。

6 结论

建立的山柃药材中银松素含量的近红外模型, 可以准确、快速的对大批量山柃药材中银松素的含量进行测定, 为实际生产中测定山柃药材中银松素的含量提供了一种简便、快速的分析手段。

[参考文献]

- [1] 河南省卫生厅. 河南省药品标准[S]. 郑州: 河南科学技术出版社, 1984. 157.
- [2] 陆婉珍, 袁洪福, 徐广通, 等. 现代近红外光谱分析技术[M]. 北京: 中国石化出版社, 2000.
- [3] 刘雯霞. 山柃化学成分及质量标准的研究[D]. 中国优秀博硕士学位论文全文数据库(硕士), 2006, (02).
- [4] 中国药典. 一部[S]. 2010.

[责任编辑 蔡仲德]