

而逐渐加速。在保藏后期,真空包装杏仁的氧化程度高于可食用膜包装法,其生育酚消耗的速度也高于涂膜包装的杏仁。而同一包装方法杏仁中生育酚的稳定性依次为: γ -生育酚 $>\alpha$ -生育酚 $>\delta$ -生育酚。这主要是因各自的抗氧化能力以及在杏仁油中的量不同所决定的。

可食用膜包装保藏方法保持杏仁中生育酚的稳定性优于其他两种方法,而保护生育酚的稳定性又可防止或减轻脂肪氧化酸败,以控制或减轻杏仁“走油”,以延缓杏仁药材品质劣变,并能减少污染,保证用药安全。建议杏仁饮片采用可食用膜包装后进入流通销售领域,尤其是夏季高温季节。

References:

- [1] Li C W, Wang R L, Li D R, et al. Study on the stability of almonds with different storage technology under accelerated storage conditions [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, 29 (8): 16-17.
- [2] Sun M X, Li C W, Wang R L. Effects of vitamin E on the quality of almonds under accelerated storage conditions [J]. *J Zhengzhou Inst Tech* (郑州工程学院学报), 2004, 25 (4): 55-57.
- [3] Wang J Y, Zhu S G, Xu C F. *Biochemistry* (生物化学) [M]. 3rd ed. Beijing: Higher Education Press, 2002.
- [4] Wang R L, Bian K, Xu S Y. Study on preventing fat deterioration in nuts coated with edible film from vegetable proteins [J]. *J Zhengzhou Inst Tech* (郑州工程学院学报), 2002, 23 (3): 19-22.
- [5] Li G H, Guo L Y. Determination of tocopherol content in seed oils of different refining degrees with high pressure liquid chromatography [J]. *J Zhengzhou Inst Tech* (郑州工程学院学报), 1994, 15 (2): 34-39.
- [6] Zheng T S, Gong Y S. *Biochemistry Laboratory Handbook of Grain and Food* (粮食与食品生化实验指导) [M]. Zhengzhou: Henan Medical University Press, 1996.
- [7] Luo Q. The change of effective basis in oil over-flowed almonds [J]. *J Chin Med Pharmacol* (中医药学报), 2002, 30 (3): 32-33.
- [8] Zhao G X. The function of vitamin E oil antioxidant [J]. *Heilongjiang Agric Sci* (黑龙江农业科学), 2003, (1): 45-48.

近红外光谱法测定六味地黄丸中丹皮酚

宋丽丽¹, 徐晓杰², 范丙义¹, 张启明¹, 杨晨华¹, 相秉仁²

(1. 河南大学, 河南 开封 475001; 2. 中国药科大学 分析测试中心, 江苏 南京 210009)

六味地黄丸是临床常用的滋补肝肾之阴的代表方剂,由熟地黄、山茱萸、山药、丹皮、茯苓、泽泻6味药组成,具有调节肾功能、保持肝脏、降血压、抗衰老、抗肿瘤、免疫调节等多种药理作用。牡丹皮为毛茛科植物牡丹的干燥根皮,是六味地黄方的主要药材之一,其主要有效成分丹皮酚是六味地黄丸质量标准规定的一项重要检测指标。丹皮酚的测定报道有分光光度法、HPLC法、差示光谱法、毛细管气相色谱法、一阶导数光谱法等。近年来迅速发展的近红外(near infrared, NIR)光谱分析技术在农业、烟草、石油化工、医药等各个领域得到了广泛的应用。NIR光谱分析的最大特点是对样品无破坏性、操作简便、分析迅速、测量信号可以远距离传输和分析,特别是与计算机技术和光纤技术相结合,采用NIR透射、散射、漫反射法可直接对样品进行分析^[1~3]。本实验采用近红外光谱法对六味地黄丸中丹皮酚进行测定,旨在探索六味地黄丸生产过程中的在线、无损定量检测途径,结果较为满意。

1 材料与仪器

1.1 仪器与试剂: HP 1090 高效液相色谱仪, 岛津 SPD-10A 紫外检测器, 乙醇(分析纯), 甲醇(色谱纯), 水(乐百氏纯净水)。Bruker MPA 近红外光谱仪(带旋转积分球、光纤), 旋转积分球, 波数 12 000~4 000 cm^{-1} , 间隔 4 cm^{-1} , 每次测量为 64 次。牡丹皮、山茱萸、山药、熟地黄、茯苓、泽泻、淀粉由河大制药厂提供, 六味地黄丸模拟样品自制。

1.2 训练集样本的制备: 采用 $L_{25}(5^6)$ 正交设计表按处方 70%~130% 配制六味地黄丸混合粉末样本, 得 25 个训练集样本(2-X1~25), 混合均匀, 待测。

1.3 预示集样本的制备: 采用 $L_{18}(3^6)$ 正交设计表按处方 80%~120% 配制六味地黄丸混合粉末样本, 得 17 个预示集(2-Y1~18), 混合均匀, 待测。

2 六味地黄丸模拟样品中丹皮酚的 HPLC 测定

2.1 色谱条件^[4]: 汉邦公司 C_{18} 柱(150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(70:30); 检测波长:

274 nm;体积流量:1 mL/min。理论塔板数以丹皮酚计在 2 000 以上,保留时间在 4.0 min 左右。

2.2 标准曲线的制备:精密称取丹皮酚对照品 41.24 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇至刻度。精密量取该溶液适量,依次稀释成 0.206 2、0.101 3、0.051 55、0.025 775 mg/mL 的溶液,进样 20 μ L 测定,记录峰面积。峰面积对质量浓度进行线性回归,回归方程 $Y=1E-0.7 X+0.010 1$, $R^2=0.999 4$ 。

2.3 测定:取六味地黄丸模拟样品 300 mg,精密称定,加甲醇适量,超声处理 30 min,加甲醇稀释至 100 mL,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液,分别吸取供试品和对照品溶液各 20 μ L 注入高效液相色谱仪,进行测定,结果见表 1。

表 1 模拟样品中丹皮酚的测定结果

Table 1 Determination of paeonol in simulation samples			
样品	丹皮酚/(mg·g ⁻¹)	样品	丹皮酚/(mg·g ⁻¹)
2-X1	0.322 0	2-X22	0.403 4
2-X2	0.299 9	2-X23	0.316 4
2-X3	0.287 7	2-X24	0.422 2
2-X4	0.280 3	2-X25	0.300 1
2-X5	0.296 2	2-Y1	0.256 0
2-X6	0.410 0	2-Y2	0.248 5
2-X7	0.273 3	2-Y3	0.381 6
2-X8	0.290 5	2-Y4	0.276 5
2-X9	0.302 0	2-Y5	0.447 6
2-X10	0.331 5	2-Y6	0.233 9
2-X11	0.373 6	2-Y7	0.547 8
2-X12	0.289 7	2-Y8	0.370 5
2-X13	0.277 4	2-Y10	0.291 5
2-X14	0.287 0	2-Y11	0.470 1
2-X15	0.336 9	2-Y12	0.558 6
2-X16	0.291 6	2-Y13	0.399 9
2-X17	0.379 2	2-Y14	0.430 7
2-X18	0.490 1	2-Y15	0.501 4
2-X19	0.271 8	2-Y16	0.512 0
2-X20	0.416 9	2-Y17	0.643 0
2-X21	0.472 0	2-Y18	0.316 9

3 六味地黄丸模拟样品中丹皮酚的近红外光谱法测定^[5,6]

分别采用偏最小二乘(PLS)^[7]、主成分分析-BP 神经网络、小波变换-BP 神经网络对所采集的样本数据进行处理。

PCA-BP 神经网络是主成分分析(PCA)^[7]和 BP 神经网络^[7]相结合而成的一种方法,该法首先利用主成分分析法提取光谱数据中 useful 信息,减少干扰和实验误差等无用信息,同时也简化了数据,然后将反映这些有用信息的主成分作为 BP 神经网络的输入,经训练得到数学模型。

将小波变换(WT)^[8]和 BP 神经网络组合而成小波变换-BP 神经网络方法。鉴于色谱数据中组分的

信号信息主要包含在低频部分中,而高频部分主要是由噪声组成,小波变换作用是通过光谱数据变换,减少噪声,突出组分的贡献,然后由 BP 神经网络给出模型。小波变换中可使用不同的小波基函数,因此分别采用 dbN (db1、db4、db8), symN (sym2、sym4、sym8), coifN (coif1、coif3、coif5)等小波函数进行了数据变换。样本 2-X1 原始谱图、db1 小波变换结果见图 1。可以看出,原始谱图的信号信息主要包含在第一部分的低频系数,而高频系数则主要是由噪声所组成。由于小波变换过程中存在边缘效应,使低频系数两端数据失真,因此在实际数据处理时去除两端部分,选取低频系数的中间部分,作为 BP 神经网络的输入,建立小波变换-BP 神经网络模型。

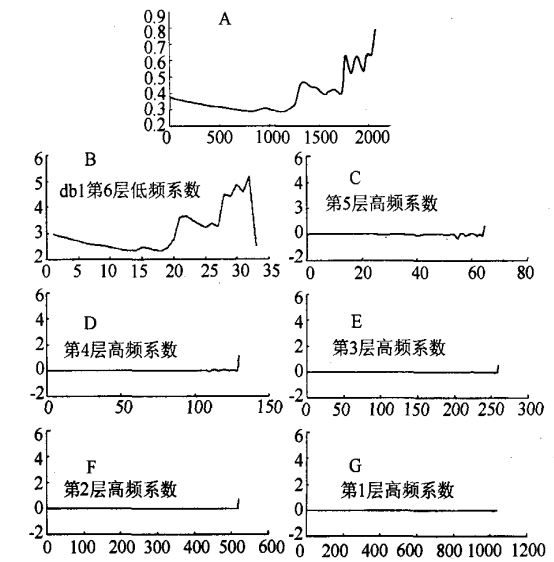


图 1 样本 2-X1 原始谱图(A)和 db1 小波变换所得系数图(B~G)

Fig. 1 Spectrogram of primitive sample 2-X1 (A) and coefficient transformed by db1 wavelet (B~G)

以样品中丹皮酚的质量分数为标准,各方法的计算值与它的比值作为回收率,不同数据处理方法所得训练集和预测试集的回收率结果见表 2、3。

4 讨论

近红外主要由 C-H、O-H、N-H 等含氢基团的倍频和合频吸收谱组成,中药中几乎所有成分都在近红外谱区有吸收,因此近红外光谱包含了中药中各成分的信息。利用计算机的强大功能,通过“数学分离”方法,可将其中有用信息提取出来,从而实现药物的定性、定量分析。同时近红外可以透过塑料、玻璃等包装材料,非破坏性地对包装物内的药物成分进行定量、定性分析。与计算机、光导纤维技术相结合,运用透射、散射和漫反射等光学检测方法,可

表 2 训练集中丹皮酚测定的回收率结果

%

Table 2 Results of recovery test of paeonol in training set

%

样品	db1	db4	db8	sym2	sym4	sym8	coif1	coif3	coif5	PLS	PCA-BP
2-X1	111.9	94.58	103.5	86.36	98.20	99.71	101.0	119.7	111.3	95.24	100.6
2-X2	119.4	97.07	84.83	108.9	84.10	113.2	108.3	81.75	116.4	90.80	103.5
2-X3	88.98	106.6	97.16	100.3	86.83	110.8	111.6	95.22	85.05	99.80	104.9
2-X4	111.5	94.72	100.8	106.7	94.81	90.90	103.4	103.2	85.18	103.2	96.99
2-X5	87.79	97.80	95.64	116.8	89.89	89.63	90.63	91.75	113.7	101.1	99.29
2-X6	114.8	103.4	107.5	84.03	85.08	104.3	98.12	96.19	98.92	94.43	94.05
2-X7	103.6	99.58	101.9	87.30	85.70	105.4	115.8	109.7	98.39	101.1	92.26
2-X8	115.2	109.6	96.28	110.1	102.8	94.30	99.96	96.02	92.09	98.64	107.6
2-X9	104.1	91.68	98.14	101.2	102.2	88.07	83.46	93.94	82.20	90.89	98.99
2-X10	113.4	106.6	104.9	116.9	109.2	93.01	102.4	117.4	115.7	97.14	89.99
2-X11	95.23	95.19	85.27	90.60	119.5	117.0	84.96	92.90	90.98	96.88	100.3
2-X12	108.6	106.7	109.8	104.5	92.23	96.36	96.76	96.23	115.1	109.7	91.97
2-X13	109.3	97.99	116.6	85.53	110.9	102.0	110.0	94.22	100.6	99.56	109.7
2-X14	112.7	104.0	82.67	111.9	82.07	81.19	101.8	83.82	88.03	97.44	96.87
2-X15	103.5	100.2	102.5	101.4	94.45	112.9	99.31	101.8	101.7	99.01	101.8
2-X16	115.4	106.6	96.42	114.7	97.40	117.3	105.7	115.0	110.2	108.2	105.1
2-X17	84.09	88.50	92.05	87.30	115.7	103.1	97.18	111.4	83.62	93.38	88.50
2-X18	92.28	92.68	100.2	99.21	96.71	95.83	108.3	101.5	84.08	106.1	95.78
2-X19	102.2	97.57	108.1	91.75	93.42	104.5	105.6	90.91	88.18	100.8	101.0
2-X20	116.7	108.1	94.61	96.82	101.8	85.49	98.86	111.4	116.9	99.91	101.7
2-X21	97.97	98.18	101.7	91.03	108.6	98.89	91.22	80.86	95.12	100.5	93.88
2-X22	86.85	90.25	88.31	87.65	109.7	97.46	95.62	87.04	84.86	104.2	103.9
2-X23	99.92	88.02	102.2	97.57	89.48	102.9	85.49	102.7	110.0	98.29	109.80
2-X24	109.0	95.28	107.2	97.61	98.80	90.64	104.1	100.6	109.0	107.8	101.7
2-X25	94.12	98.27	89.63	85.35	92.02	92.71	90.97	89.84	116.2	101.5	98.56
均值	103.94	98.77	98.71	98.46	97.67	99.51	99.62	98.60	99.74	99.82	99.56
RSD	10.16	6.37	8.52	10.80	10.49	9.81	8.50	10.99	12.72	4.96	5.80

表 3 预示集中丹皮酚测定的回收率结果

%

Table 3 Results of recovery test of paeonol in prediction set

%

样品	db1	db4	db8	sym2	sym4	sym8	coif1	coif3	coif5	PLS	PCA-BP
2-Y1	106.8	106.6	113.2	110.8	110.7	108.6	109.2	113.4	109.1	100.5	104.1
2-Y2	99.93	95.62	95.25	99.58	99.66	95.02	95.42	95.24	100.7	99.36	99.72
2-Y3	89.95	96.44	88.40	86.27	86.16	88.26	88.51	88.17	118.9	98.38	103.7
2-Y4	115.1	113.2	115.1	116.9	117.3	107.6	113.0	115.1	115.7	110.9	115.0
2-Y5	94.29	96.86	94.52	95.40	95.25	95.65	92.77	94.54	99.81	110.0	92.68
2-Y6	107.2	100.3	101.3	106.8	107.1	100.9	102.6	101.3	106.5	99.58	103.2
2-Y7	111.0	108.6	110.0	110.3	110.2	109.7	110.0	110.1	116.2	95.49	112.8
2-Y8	98.22	96.16	78.90	97.25	97.10	98.62	99.16	99.04	102.5	94.32	103.0
2-Y10	111.4	104.0	107.6	111.0	111.2	77.06	108.6	107.3	81.80	99.26	99.99
2-Y11	111.2	96.71	106.0	111.0	111.4	110.3	106.9	106.1	109.7	98.87	101.1
2-Y12	88.62	86.93	86.90	87.95	87.91	86.56	87.18	86.90	91.84	101.4	94.03
2-Y13	105.4	103.5	104.0	105.0	105.0	103.9	103.6	104.0	79.90	105.4	91.25
2-Y14	106.0	103.1	106.0	105.0	104.9	105.4	107.0	105.9	109.8	90.96	98.65
2-Y15	72.61	91.55	99.05	76.46	76.27	95.01	73.00	76.14	80.03	102.4	98.14
2-Y16	122.9	100.4	94.19	122.0	121.8	121.5	121.9	121.9	128.5	92.96	93.89
2-Y17	90.86	103.7	94.51	94.83	94.63	97.18	90.99	94.59	99.54	90.71	101.3
2-Y18	114.7	112.7	114.1	114.3	74.08	114.0	113.4	114.1	120.4	110.4	102.0
均值	102.5	101.0	100.5	103.0	100.6	100.9	101.4	102.0	104.2	100.1	100.9
RSD	12.35	7.00	10.28	11.71	13.54	10.93	11.96	11.57	13.84	6.33	6.27

无需或很少对样品进行预处理,直接对颗粒状、固体状、糊状等复杂的混合物进行快速分析。

本实验对六味地黄丸模拟样品中丹皮酚进行了测定,首先通过 HPLC 法测定每个样品中丹皮酚并建立模型,然后对预示集样本进行预测。从训练集结

果可以看出模型的稳定性较好。实验考察了不同小波基进行小波变换数据预处理对结果的影响,可以看出,采用 db4 小波预处理方法数据结果较好,回收率和 RSD 分别为 101.0%和 7.00%。另外偏最小二乘和主成分分析-BP 神经网络法对丹皮酚预测回收

率和 RSD 分别为 100.1%、6.33% 和 100.9%、6.27%，基本可以满足药品生产过程中测定的要求，为中药在线检测提供参考。

References:

- [1] Blanco M, Eustaquio A, Gonzalez J M, *et al.* Identification and quantitation assays for intact tablets of 2 related pharmaceutical preparations by reflectance near-infrared spectroscopy-validation of the procedure [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2000, 22 (1): 139-148.
- [2] Blanco M. Analytical control of pharmaceutical production steps by near infrared reflectance spectroscopy [J]. *Anal Chim Acta*, 1999, 392: 237-246.
- [3] Eustaquio A. Determination of paracetamol in intact tablets by use of near infrared transmittance spectroscopy [J]. *Anal Chim Acta*, 1999, 383: 283-290.
- [4] Zhang Z C, Guan Y M, Wang J, *et al.* Determination of paeonol in Liuweidihuang Capsule by HPLC [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 1999, 10 (12): 900.
- [5] Ren Y L, Li W, Ren R X, *et al.* Analysis of sulfamethoxazole by PLS-NIR diffuse reflectance spectrophotometer [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1998, 18 (1): 30-32.
- [6] Yano T, Funatsu T. Measurement of the concentrations of glucose and citric acid in the aqueous solution of a blood anticoagulant using near infrared spectroscopy [J]. *J Near Infrared Spectrosc*, 2001, 9: 43-48.
- [7] An D K. *Selected Topics on Modern Pharmaceutical Analysis* (现代药物分析选论) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 2000.
- [8] Hu C H, Zhang J B, Xia J, *et al.* *System Analysis and Design Based on MATLAB-Wavelet Analysis* (基于 MATLAB 的系统分析与设计-小波分析) [M]. Xi'an: Xidian University Press, 2000.

五酯胶囊中五味子醇甲的 HPLC 测定

张思源

(青海医学院附属医院 药剂科, 青海 西宁 810001)

五酯胶囊为木兰科植物五味子果实中提取的木脂素衍生物精制而成, 能降低血清谷丙转氨酶, 主要用于预防肝损伤和治疗急慢性肝炎。五味子醇甲是其有效成分之一。《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第 10 册中仅以五味子醇甲作对照, 对样品进行定性鉴别。本实验采用 HPLC 法对其主要有效成分五味子醇甲进行测定, 建立了五酯胶囊中五味子醇甲测定方法。本法操作简便、重现性好, 可作为该产品质量控制方法。

1 仪器与试剂

LC-10AT 高效液相色谱仪, SPD-10A 紫外检测器(日本岛津), N-2000 数据处理机。五味子醇甲(批号: 0857-9601)由中国药品生物制品检定所提供。五酯胶囊(四川禾正制药有限公司)。HPLC 用甲醇为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件下系统适用性试验: 色谱柱: VP-ODS C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (55: 45); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 250 nm; 柱温: 室温 (20 ℃); 进样量: 10 μL。在选定条件下, 五味子醇甲与相邻色谱峰分离度大于 1.5, 理论板数在 2 000 以上。

2.2 对照品溶液的制备: 取五味子醇甲对照品 16 mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解, 并稀释至刻度, 摇匀。精密量取 25 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 制成 80 μg/mL 对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 取本品内容物粉末(过 3 号筛)约 0.25 g 精密称定, 置 20 mL 量瓶中, 加甲醇约 18 mL, 超声处理(功率 250 W, 频率 20 Hz) 20 min, 取出, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 线性关系的考察: 精密称取 189 μg/mL 五味子醇甲对照品溶液 3.0、5.0、10.0、15.0、20.0、25.0 mL, 分别置于 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 各进样 10 μL, 依次注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件测定峰面积。以峰面积积分值为纵坐标, 质量为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = 3.073 \times 10^5 X - 1.045 \times 10^4$, $r = 0.999 6$ 。结果表明, 五味子醇甲在 0.25~1.89 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验: 精密吸取 80 μg/mL 五味子醇甲对照品溶液 10 μL, 重复进样 5 次, 测定五味子醇甲峰面积, 计算得其 RSD 为 1.28%。

2.6 稳定性试验: 精密吸取供试品溶液 10 μL, 每 2 h 测定 1 次, 测定峰面积值, 计算质量分数, 结果其