

着重要的影响,且随增重的增加释放变慢。因此,专门考察了包衣增重的影响,最终选择包衣增重为5%。综上,试验结合市场需要,完全采用国产药用辅料,通过预试验优选出微丸包衣处方,采用自创的改良喷雾包衣法制备了日服1次的MND缓释微丸胶囊,并进行了药物的体外释放累积百分率及其释放曲线拟合数学模型分析,得知缓释微丸胶囊的体外释放符合Higuchi释放模型,说明所制备的微丸的确具有缓释性能。

参考文献:

- [1] 黄震华. 新型钙通道拮抗剂马尼地平[J]. 中国新药与临床杂志 2003 22(4): 241.
- [2] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典[S]. 二部,北京: 中国医药科技出版社 2010: 附录 78.
- [3] 杨安金, 宓静英. 简述微丸的制备方法[J]. 江西中医学院学报 2006 18(6): 28.

收稿日期: 2010-12-10

川白芷硫熏的¹HNMR-PCA 鉴别预测模型的研究

罗乔奇¹, 肖云川¹, 席贞¹, 刘森¹, 冉坚¹, 张艺², 黄静^{1*}

(1. 四川大学华西药学院, 四川 成都 610041; 2. 成都中医药大学民族医药学院, 四川 成都 611137)

摘要: 目的 建立一种方便、快速、客观地鉴别川产道地药材川白芷是否经过硫熏的方法。方法 采用氢核磁共振技术采集川白芷样品信息,以已知样品的氢核磁共振数据为基础,采用模式识别中的主成分分析法建立鉴别预测模型,并以未知样本对此模型进行检验验证。结果 以44个未硫熏和8个硫熏川白芷样品的氢核磁共振数据基础上,成功地建立了主成分分析鉴别预测模型,并以7个川白芷样本对模型进行了验证。结论 氢核磁共振-模式识别鉴别预测模型可客观、快速、有效地鉴别川白芷样品,也为建立其他中药材的品质提供参考。

关键词: 川白芷; 氢核磁共振; 模式识别; 预测; 模型; 主成分分析

中图分类号: R28

文献标志码: A

文章编号: 1006-0103(2011)05-0432-03

¹HNMR-PCA predict model for identification of the sulfur-smoked samples of *Angelica dahurica*

LUO Qiao-qi¹, XIAO Yun-chuan¹, XI Zhen¹, LIU Miao¹, RAN Jian¹, ZHANG Yi², HUANG Jing^{1*}

(1. School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu, Sichuan, 610041 P. R. China; 2. National Medical College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu, Sichuan, 611137 P. R. China)

Abstract: **OBJECTIVE** To establish an ¹HNMR-PCA prediction model for identification of the sulfur-smoked and no sulfur-smoked samples of *Angelica dahurica* var *formosana*. **METHODS** ¹HNMR technology was used for collecting the information of samples, the ¹HNMR data of the known samples were used to establish a prediction model, and the unknown samples were used for verification of the prediction model. **RESULTS** The sulfur-smoked samples were different with the no sulfur-smoked samples of *Angelica dahurica* var *formosana* on PCA. And an ¹HNMR-PCA prediction model was established successfully. **CONCLUSION** The ¹HNMR-PCA prediction model is a feasible and efficient method to distinguish the sulfur-smoked samples and no sulfur-smoked samples of *Angelica dahurica*.

Key words: *Angelica dahurica*; ¹HNMR; Pattern recognition; Prediction; Model; PCA

CLC number: R28

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2011)05-0432-03

中药白芷为伞形科植物白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. 或杭白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. var. *formosana* (Boiss.) Shan et Yuan 的干燥根^[1]。

市场上流通的白芷主要为杭白芷,产于浙江杭州一带,而产于四川的则习称川白芷。白芷在临床上用于治疗鼻炎、功能性头痛、白癜风、体癣等症^[2]。白芷是40种大宗常用中药材之一,含白芷的中药处方

基金项目: 国家“十一”五科技支撑项目(2007BAI40B05)

作者简介: 罗乔奇(1982—),男,从事天然药物化学的研究工作。

* 通信作者(Correspondent author), Email: huangj_pharm@scu.edu.cn

达400多个^[3]。四川是白芷的道地药材主产区,其产量约占中国传统商品白芷的70%^[3]。白芷的主要有效化学成分为香豆素类和挥发油类成分^[4]。白芷一般于8月下旬采收,传统的加工方法为晒干、硫熏、烘干和石灰埋藏。其中,硫熏已成为比较普遍的加工处理方式^[5]。但是硫熏会对白芷的化学成分产生很大影响,如香豆素类成分含量显著下降,硫熏白芷会丧失镇痛作用等^[6-7]。目前判断白芷是否经过硫熏,主要通过观察外观,嗅味等主观方式进行,缺乏客观性。现以已知是否硫熏的川白芷样品为对象,采用¹HNMR对其提取物进行全成分数据采集,以此数据为基础,建立模式识别鉴别预测模型,并利用未知样本对模型进行检验,可建立一种快速、方便、客观的鉴别川白芷是否硫熏的新方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

AVII-600 MHz 核磁共振仪(Bruker公司)。川白芷样本共59份分别采自遂宁、安岳、南充、达州等地,编为1~59号(1~8,11~51及58~59为未硫熏样本;9~10和52~57为硫熏样本,经张教授鉴定,所有样品均保存于四川大学华西药学院;所用试剂为分析纯。

1.2 方法与结果

1.2.1 溶液的制备 称取0.5 g药材粉末,加入10 mL甲醇,于50℃水浴1 h,冷却至室温后补重。精密量取0.5 mL提取液,减压蒸馏至干,加入0.5 mL氘代二甲基亚砷溶解后,移入φ5 mm核磁管中待测。依上法制得59份川白芷样本溶液。¹HNMR图谱的测定:恒温在296 K,以DMSO-d₆作为内标,每个图谱扫描64次,采样时间域为64 k,谱宽为1.2336×10⁴ Hz,采样时间为2.66 s,脉冲间隔D₁为3.00 s,采用标准的预饱和脉冲序列(zgpr)压制水峰信号。将所有样品溶液测定¹HNMR,得到一组自由衰减(FID)信号。

1.2.2 ¹HNMR图谱的处理和数据的采集 将获得的各样品FID信号导入Mestre-C软件进行傅立叶转换,经修整基线、调整象限后,以DMSO-d₆信号峰的化学位移值δ2.50为标准校正图谱。每张图谱的δ10.00~0.00化学位移区间,按每0.05化学位移值单位进行分段积分,即得到化学位移值段与积分值一一对应的数据矩阵(200×59)。该矩阵的行代表不同的化学位移段,列代表对应于化学位移值段的积分值。

1.2.3 数据处理 将“1.2.2”项得到的数据矩阵导入Excel软件,进行归一化处理后,获得新数据矩

阵。然后将新数据矩阵导入SIMCA-P软件,调用主成分分析程序^[8],提取主成分,以各主成分得分值供数据分析。

1.2.4 样品的制备及重复性考察 分别取川白芷的同一样本5份,分别按制备方法和测定条件进行样本制备和¹HNMR测定,并按“1.2.2”项方法处理图谱,得到5组积分值数据。以第一份样品的数据为对照,计算5份样品之间的夹角余弦值^[9];由于其夹角余弦值达到0.998以上,说明实验所用样品制备方法具有良好的重复性。

1.2.5 核磁共振仪的稳定性及图谱处理方法的重复性 取川白芷样本1份,按制备方法制备样本,按“1.2.2”项测定条件连续测定5次,并按“1.2.2”项方法处理图谱,得到5组数据。以第一组测定数据为对照,计算5组数据间的夹角余弦值;由于其夹角余弦值达到0.999以上,说明实验所用核磁共振仪稳定性以及图谱处理方法的重复性均良好。

1.2.6 主成分分析 将所有样品的¹HNMR数据矩阵(200×59)按“1.2.3”项进行归一化处理后的新数据矩阵导入SIMCA-P软件,启动主成分分析程序,提取主成分。结果显示:前9个主成分(PCs)的累积贡献率达到85.3%,即表示前9个主成分能够代表85.3%原始数据变量的信息^[10]。分别以主成分1(PC₁)的得分值 $t_{[1]}$ 和主成分2(PC₂)的得分值 $t_{[2]}$ 为横纵坐标绘制二维得分散点图。从图1可见:未硫熏白芷药材样品与硫熏白芷药材样品间存在比较明显的差异,主要差异体现在PC₂的得分值上。未硫熏白芷药材样品主要位于PC₂的正值区域,而硫熏白芷药材则位于PC₂的负值区域。

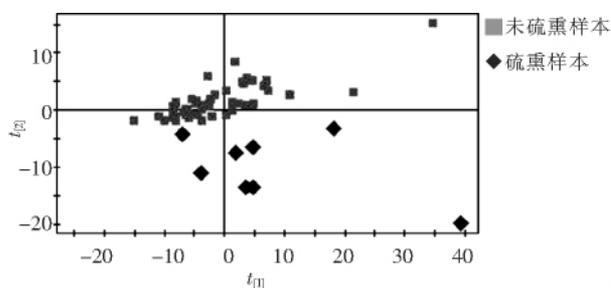


图1 主成分PC₁-PC₂的分散点图

Fig 1 PC₁-PC₂ Scatter plot of principle components

1.2.7 鉴别预测模型的建立 在已知未硫熏与硫熏白芷药材样品之间存在较明显差异的基础上,随机将未硫熏的白芷药材样品(5~8,11~47,58~59号)和硫熏的白芷药材样品(9~10,52~57号)的¹HNMR数据矩阵导入SIMCA-P软件,建立主成分分析模型。分别提取主成分,以各自的主成分1为分析对象,调用预测模型分析程序,选取

Cooman's plot 分析方式。图 2 中左上方框内为未硫熏样本所在区,右下方框内为硫熏样本所在区。未硫熏与硫熏样本间无交叉,说明两组样本间的差异较大,模型成立。

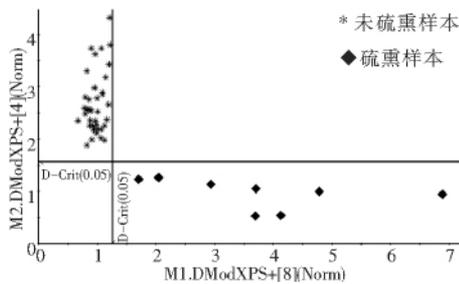


图 2 未硫熏和硫熏样本的鉴别预测模型

Fig 2 The prediction model of no sulfur-smoked samples and sulfur-smoked samples

1.2.8 鉴别预测模型的验证 在“1.2.7”项成功建立的鉴别预测模型中,将样本分布划分成 4 个区域:左上为未硫熏样本区,左下为未硫熏样本和硫熏样本交叉区,右上为既非未硫熏样本也非硫熏样本区,右下为硫熏样本区。从图 3 中可直观地看出:新建模型中的 7 个检验样本(▲)全部分布在左上的未硫熏样本区,说明新建模型中的 7 个检验样本全部为未硫熏样本。鉴别成功率达 100%。

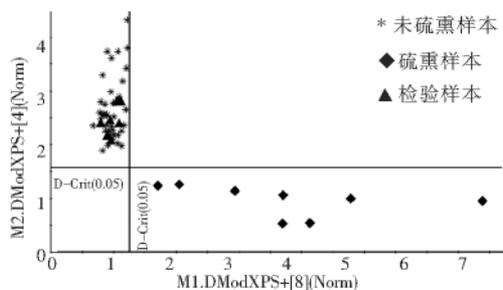


图 3 未硫熏样本在鉴别预测模型中的验证

Fig 3 The verification of prediction model

2 讨论

文中首次采用¹HNMR 技术结合模式识别中的主成分分析法(PCA)成功地对川产道地药材川白芷 59 份不同加工方式的样品进行了分析。结果显示:未硫熏川与硫熏川白芷样品之间确实存在比较明显的差异。随机以 44 个已知未硫熏和 8 个已知硫熏的川白芷样本的¹HNMR 数据,成功地建立了基于主成分的鉴别预测模型。进一步以随机选取的 7 个川白芷样本对已建立的鉴别预测模型进行了验证,结果显示:7 个川白芷样本均为未硫熏样本,验证结果与实际记载一致。由于中药材的质量会受到如自然

因素、加工方式、运输、贮存等多方面的影响,同时也存在化学成分复杂、药材个体间存在较大的差异等因素,因此,依靠单一成分的含量测定难以满足中药材的质量控制要求。文中所采用的¹HNMR 技术,对测定对象具有无选择性和无差别性,可对应于中药材多成分的复杂性;而 PCA 法是一种多元统计方法,可在复杂的数据中反映出一定的规律性,可对应于中药材的复杂状况。¹HNMR 技术与 PCA 法的结合既兼顾了中药材中多成分的特点,又将各种不同来源中药材的复杂性包含其中。因此,¹HNMR-PCA 分析法是一种值得期待的中药材质量控制方法。由于¹HNMR-PCA 分析法是基于测定并统计的方法,因此,各样品的处理、图谱测定、数据处理与分析的过程应注意其一致性。以一定数量的已知样本建立的鉴别预测模型,可用于对未知样品的鉴别分析。其特点在于当模型成功建立后并不断对未知样品的鉴别分析的同时,当判别样品对象为确定的某一类型时,即可将其数据纳入模型中。这样,可不断增加模型中的样本数,从而不断提高模型判别的准确性。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 97-98.
- [2] 郑虎占,董泽宏,余靖,等. 中药现代研究与应用(第二卷)[M]. 北京: 学苑出版社, 1997: 1511.
- [3] 蒋桂华,张绿明,马逾英,等. 白芷综合开发利用研究进展及展望[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(11): 2718-2720.
- [4] 张富强,聂红,韦艺,等. 白芷的化学与药理研究进展[J]. 南京中医药大学学报:自然科学版, 2002, 18(3): 190-192.
- [5] 韩学俭. 白芷及其采收加工技术[J]. 四川农业科技, 2001, 6(1): 29.
- [6] 张玉方,余红梅. 硫熏对白芷香豆素类成分含量的影响研究[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(9): 536-538.
- [7] 马逾英,高颖,邹文莉,等. 硫熏川白芷药材对小鼠镇痛作用的影响[J]. 华西药学期刊, 2006, 21(6): 616-617.
- [8] Manfred S, Martin H, Michael A *et al.* Flow injection proton nuclear magnetic resonance spectroscopy combined with pattern recognition methods: implications for rapid structural studies and high throughput biochemical screening[J]. Anal Commun, 1997, 34: 339-341.
- [9] 王龙星,肖红斌,梁鑫淼,等. 一种评价中药色谱指纹谱相似性的新方法: 向量夹角法[J]. 药学学报, 2002, 37(9): 713-717.
- [10] 何晓群. 现代统计分析方法与应用[M]. 北京: 中国人民大学出版社, 1998.

收稿日期 2010-11-01