

## 近红外漫反射光谱法快速测定盾叶薯蓣药材醇浸出物的含量

谢彩侠, 左春芳, 雷敬卫, 白雁\* (河南中医学院, 郑州 450008)

**摘要:** 目的 应用近红外光谱(NIR)技术和化学计量学分析软件, 对盾叶薯蓣药材中醇浸出物的含量进行快速测定。方法 应用偏最小二乘法(PLS)对盾叶薯蓣醇浸出物的结果与 NIR 建立定量校正模型。**结果** 建立的模型内部交叉验证决定系数( $R^2$ )为 0.991 09, 内部交叉验证均方差(RMSECV)为 0.010 13, 预测均方差(RMSEP)为 0.004 59。**结论** 近红外漫反射光谱技术的运用具有快速方便、结果准确的特点, 该方法可应用于盾叶薯蓣药材醇浸出物的快速检测, 对于其他的中药材指标成分测定也有一定的参考价值。

**关键词:** 近红外漫反射光谱法; 偏最小二乘法; 定量分析; 盾叶薯蓣; 浸出物

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)10-0931-05

### Quantitative Analysis on Extracts by Ethanol from *Dioscorea Zingiberensis* C.H. Wright by Near-infrared Diffuse Reflection Spectroscopy

XIE Caixia, ZUO Chunfang, LEI Jingwei, BAI Yan\* (Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To determine the content of extracts from *Dioscorea zingiberensis* C.H.Wright by near-infrared spectroscopy combined with chemometrics method. **METHODS** Multivariate calibration model based on PLS algorithm was developed to correlate the spectra and the extracts values. **RESULTS** The correlation coefficients ( $R^2$ ), The root-mean-square error of cross-validation (RMSECV) and the root-mean-square error of prediction (RMSEP) of the quantitative analysis model for *Dioscorea zingiberensis* C.H.Wright were 0.991 09, 0.010 13 and 0.004 59. **CONCLUSION** NIRS technique is rapid and correct, which can be used in the determination of extracts from *Dioscorea zingiberensis* C.H.Wright. It also can be applied in other Chinese herbs.

**KEY WORDS:** near-infrared diffuse reflectance spectroscopy; PLS; quantitative analysis; *Dioscorea zingiberensis* C.H.Wright; extracts

盾叶薯蓣为薯蓣科植物盾叶薯蓣 *Dioscorea zingiberensis* C.H.Wright 的根茎, 又名黄姜、火头根, 是我国特有的植物资源, 主产于河南、湖北、湖南等地, 以根状茎入药, 是合成甾体激素类药物和甾体避孕药的重要医药化工原料, 现在还广泛应用于风湿性关节炎、抗肿瘤、心脏病、止血、抗炎等疾病的治疗<sup>[1-2]</sup>。

盾叶薯蓣中含有较多的醇溶性成分<sup>[3]</sup>, 因此对其醇溶性浸出物的研究具有重要的意义。目前传统的醇浸出物测定方法繁琐, 费时费力, 而且分析结果滞后, 影响分析速度, 很难实现对盾叶薯蓣醇浸出物的快速测定。近红外光谱分析(NIR)技术因其具备分析速度快、对样品无损害、无化学污染等显著优点, 已广泛用于中药活性成分的测

定<sup>[4-6]</sup>。本实验采用近红外漫反射光谱技术与常规醇浸出物测定法相结合, 建立盾叶薯蓣中醇浸出物含量的近红外定量分析模型, 实现对盾叶薯蓣醇浸出物含量的快速准确测定<sup>[7]</sup>。

#### 1 材料

Nicolet 6700 型傅里叶变换近红外光谱仪(美国 Thermo Nicolet 公司), 配有积分球、样品旋转台、样品杯、OMNIC 光谱采集软件和 TQ 8.0 分析软件; 乙醇为分析纯(上海市恒兴化学试剂有限公司); 药材为采自河南西峡、淅川、内乡的盾叶薯蓣, 见表 1, 并经河南中医学院中药鉴定教研室主任陈随清教授鉴定为薯蓣科植物盾叶薯蓣 *Dioscorea zingiberensis* C.H.Wright 的根茎。

基金项目: 河南省高等学校青年骨干教师资助计划(2010GGJS-134); 河南省教育厅自然科学研究项目(2011A360021)

作者简介: 谢彩侠, 女, 博士, 副教授 Tel: 13598044136  
13673651577 E-mail: zuochunfang.818@163.com

E-mail: 407813267@qq.com \*通信作者: 白雁, 女, 教授 Tel:

表 1 62 份样品信息表

Tab 1 The information of 62 samples

编号	生长时间	土壤	产地	编号	生长时间	土壤	产地
1	7 年生	黏土	河南西峡	32	1 年生	黄土	河南内乡
2	7 年生	黏土	河南西峡	33	7 年生	黄土	河南淅川
3	1 年生	黏土	河南西峡	34	5 年生	黄土	河南内乡
4	1 年生	黏土	河南西峡	35	5 年生	黄土	河南内乡
5	2 年生	壤土	河南西峡	36	5 年生	黄土	河南内乡
6	1 年生	壤土	河南西峡	37	12 年生	黄土	河南淅川
7	3 年生	黏土	河南西峡	38	5 年生	纯黄土	河南淅川
8	3 年生	黏土	河南西峡	39	5 年生	纯黄土	河南淅川
9	4 年生	黏土	河南西峡	40	5 年生	纯黄土	河南内乡
10	4 年生	黏土	河南西峡	41	5 年生	黄土	河南内乡
11	1 年生	黏土	河南西峡	42	2 年生	沙土	河南淅川
12	1 年生	沙土	河南西峡	43	4 年生	黄砂土	河南淅川
13	1 年生	沙土	河南西峡	44	4 年生	黄砂土	河南淅川
14	2 年生	沙土	河南西峡	45	12 年生	黄砂土	河南淅川
15	1 年生	沙土	河南西峡	46	2 年生	黑土	河南淅川
16	7 年生	沙土	河南西峡	47	4 年生	黄砂土	河南淅川
17	7 年生	沙土	河南西峡	48	1 年生	黄砂土	河南淅川
18	7 年生	沙土	河南西峡	49	4 年生	黄砂土	河南淅川
19	7 年生	沙土	河南西峡	50	2 年生	沙土	河南淅川
20	7 年生	黄土	河南淅川	51	1 年生	沙土	河南西峡
21	1 年生	沙土	河南淅川	52	7 年生	黄土	河南淅川
22	3 年生	黄砂土	河南淅川	53	3 年生	黏土	河南西峡
23	1 年生	沙土	河南淅川	54	1 年生	沙土	河南西峡
24	2 年生	黄土	河南淅川	55	2 年生	壤土	河南西峡
25	3 年生	黄砂土	河南淅川	56	5 年生	沙土	河南淅川
26	4 年生	黄砂土	河南淅川	57	7 年生	黏土	河南西峡
27	4 年生	黄砂土	河南淅川	58	2 年生	黑土	河南淅川
28	4 年生	黄砂土	河南淅川	59	12 年生	黄土	河南淅川
29	4 年生	黄土	河南淅川	60	3 年生	黄砂土	河南淅川
30	2 年生	黄土	河南淅川	61	1 年生	黄砂土	河南内乡
31	5 年生	黄土	河南内乡	62	5 年生	黏土	河南内乡

## 2 方法与结果

### 2.1 近红外光谱的采集

将采集的 62 份不同产地、不同生长年限的盾叶薯蓣样品在 60 °C 干燥、粉碎，过 40 目筛，取约 5 g 过筛后的样品粉末放入石英样品杯中，混合均匀，轻轻压平，按下述实验条件进行扫描：测样方式为积分球漫反射；分辨率为 8 cm<sup>-1</sup>；扫描次数 32 次；扫描范围 12 000~4 000 cm<sup>-1</sup>；温度 25 °C；空气湿度 60%；每份样品重复扫描 3 次，求平均光谱，62 份盾叶薯蓣 NIR 光谱叠加图见图 1。

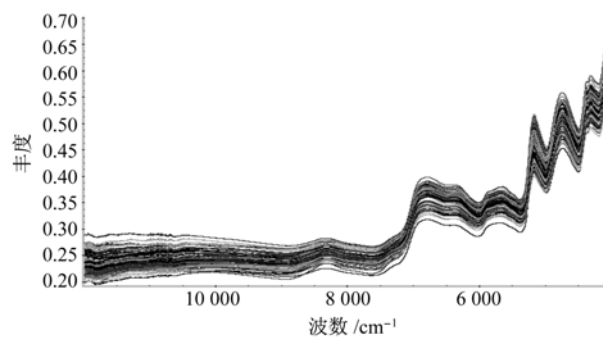


图 1 62 份样品的近红外光谱图

Fig 1 NIR transreflectance spectra of 62 samples

## 2.2 盾叶薯蓣药材醇浸出物真实值的测定

采用 2010 年版中国药典中的方法测定盾叶薯蓣的醇浸出物(热浸法)<sup>[8]</sup>。取盾叶薯蓣药材粉末约 2 g, 精密称定, 置 100~250 mL 的锥形瓶中, 加 80%乙醇 50 mL, 密塞, 称定重量, 静置 1 h 后, 连接回流冷凝管, 加热至沸腾, 并保持微沸 1 h, 放冷后, 取下锥形瓶。密塞, 再称定重量。用 80%乙醇补足减失的重量, 摇匀, 用干燥滤器滤过, 精密量取 25 mL, 置已干燥置恒重的蒸发皿中, 在水浴上蒸干后, 于 105 °C 干燥 3 h, 移置干燥器中, 冷却 30 min, 迅速精密称定重量。以干燥品计算供试品中醇溶性浸出物的含量。盾叶薯蓣药材醇浸出物含量测定值见表 2。

表 2 62 份盾叶薯蓣醇浸出物含量

Tab 2 The content of the extracts by ethanol in 62 samples

编号	醇浸出物含量/%	编号	醇浸出物含量/%	编号	醇浸出物含量/%
1	23.64	22	19.29	43	23.77
2	21.38	23	20.23	44	24.36
3	18.46	24	19.85	45	23.87
4	18.52	25	20.63	46	18.96
5	18.88	26	18.99	47	18.51
6	20.01	27	18.72	48	18.36
7	19.45	28	17.37	49	25.59
8	17.32	29	17.84	50	21.82
9	20.22	30	21.43	51	18.22
10	24.14	31	19.26	52	25.1
11	20.13	32	16.37	53	17.52
12	18.55	33	20.43	54	19.77
13	16.97	34	20.17	55	23.66
14	19.21	35	20.23	56	24.91
15	19.29	36	20.36	57	24.42
16	21.81	37	19.95	58	25.39
17	25.57	38	23.99	59	22.60
18	23.23	39	26.47	60	22.16
19	21.06	40	19.81	61	21.39
20	20.56	41	20.89	62	21.13
21	18.64	42	19.75		

## 2.3 建立盾叶薯蓣药材醇浸出物近红外定量模型

### 2.3.1 建立模型的方法<sup>[9]</sup>

将 62 份样品的近红外光谱与真实值相关联, 输入到 TQ 8.0 定量分析软件中, 随机分为校正集和验证集, 要保证验证集的含量范围在校正集的含量范围之内, 见表 3。采用偏最小二乘法(PLS)建立定量分析模型, 并以  $R^2$ 、内部交叉验证均方差(RMSECV)、预测均方差

(RMSEP)作为评价指标来优化模型性能。 $R^2$  越大、RMSECV 越小, 表明模型构建越合理, RMSEP 越小, 表明模型的预测性能和推广能力越强。

表 3 校正集和验证集中醇浸出物含量分布

Tab 3 Calibration and validation of the extracts by ethanol content distribution

样品	样品数	含量范围/%	平均含量/%
校正集	48	16.37~26.47	20.70
验证集	14	18.88~24.91	20.88

### 2.3.2 光谱预处理方法的选择

样品物理性质的不同, 会引起光谱基线的飘移和斜率的变化, 对校正模型的建立会产生较大的影响。因此, 在建模前对光谱进行预处理来消除这些影响非常重要。光谱数据分析进行多种处理后模型的  $R^2$  和 RMSECV 的比较结果见表 4。从表 4 中可以看出, 不同的光谱预处理方法对  $R^2$  和 RMSECV 有显著的影响。其中以 SNV+一阶导数处理效果最好。对原始光谱进行必要的处理之后, 更能真实细致地反应指标成分的光谱信息。

表 4 不同预处理方法对模型性能的影响

Tab 4 The effect of model performance by different preprocessing methods

光谱预处理方法	$R^2$	RMSECV
多元散射校正(MSC)	0.973 03	0.025 34
标准归一化(SNV)	0.972 06	0.023 61
SNV+一阶导数	0.991 09	0.010 13
MSC+二阶导数	0.768 41	0.025 74
SNV+二阶导数	0.768 62	0.025 87

### 2.3.3 建模区间的选择

建模时所选光谱区间, 不仅要包含待测组分的最大信息量, 避免冗余信息, 同时尽可能的降低噪声干扰, 以改善所建模型的性能, 获得最佳的预测效果。近红外光谱由倍频峰和合频峰组成, 无锐峰和基线分离的峰, 相互重叠严重, 不易区分。但经过合适的光谱预处理方法处理之后, 可使各样品光谱间的区别明显。经过筛选, 浸出物含量所对应的最佳建模区间为 5 476.05~7 466.32  $\text{cm}^{-1}$ , 结果见表 5。

表 5 建模区间的选择对模型性能的影响

Tab 5 The effect of model performance by different regions

光谱范围/ $\text{cm}^{-1}$	$R^2$	RMSECV
5 476.05~7 466.32	0.991 09	0.010 13
4 199.42~8 564.92	0.983 64	0.011 85
4 008.32~5 678.39	0.983 66	0.011 16
5 338.28~6 998.39	0.961 45	0.010 32

**2.3.4 主因子数的选择** 在建模过程中, PLS 模型采用不同的主因子数, 在校正集样本一定的情况下, 因子数取的太少, 会导致用来建模的信息不全, 模型预测能力太低; 反之, 因子数取的太多, 则会将一些噪声的信息掺入计算, 会导致模型过于复杂, 训练过程出现过拟合现象, 降低模型的预测能力<sup>[10]</sup>。因此, 本实验用内部交叉验证法来筛选主因子数, RMSECV 值最小对应的即为最佳主因子数, 本实验采用的最佳主因子数为 8, 见图 2。

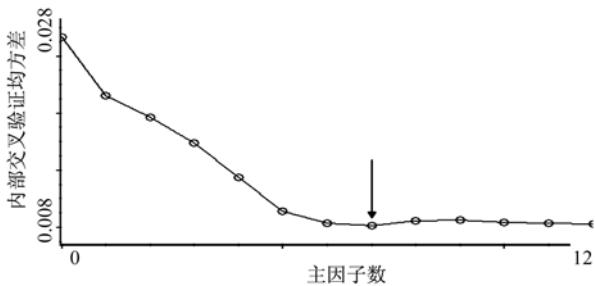


图 2 校正集 RMSECV 与主因子数之间的相关图  
Fig 2 The correlation diagram between the calibration RMSECV and the number of main factors

**2.3.5 浸出物定量模型的建立** 本实验采用 TQ 8.0 定量分析软件中 PLS 法进行数据处理, 其中 48 份样品作为校正样品集, 14 份作为预测样品集建立模型。所建分析模型的内部交叉验证决定系数  $R^2$  为 0.991 09, RMSEC 为 0.003 46, 见图 3; RMSECV 为 0.010 3, 确定最佳主成分数为 8, 见图 2; 近红外光谱法测量值与真实值比较接近, 绝对误差较小, 见图 4, RMSEP 为 0.004 59。从以上各图中可以看出, 近红外测得值逼近参考值, 说明该模型建立成功。

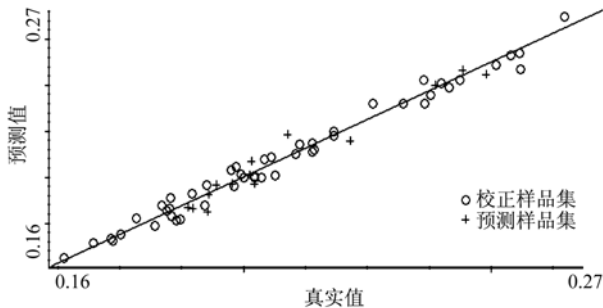


图 3 醇浸出物含量预测值与真实值之间的相关图  
Fig 3 Predicted versus experimental value of extracts by ethanol correlation figure

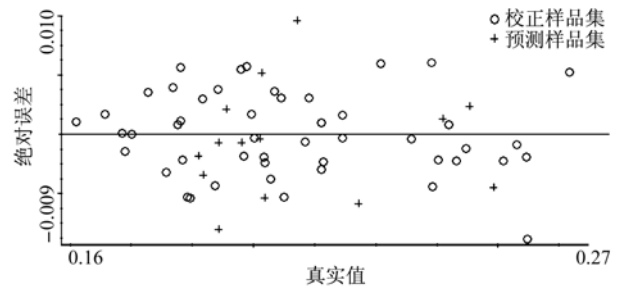


图 4 醇浸出物含量预测值与真实值之间的偏差图  
Fig 4 Predicted versus experimental value of extracts by ethanol deviation figure

**2.3.6 醇浸出物定量模型的验证** 将 14 批验证集样品的近红外光谱代入模型中, 并将所得 NIR 预测值与所测真实值做相关分析, 结果见表 6。经计算可以得到, 预测集平均相对偏差为 1.77%, 可以看出预测结果较为准确, 所建模型成功。

表 6 验证集样品的 NIR 预测结果  
Tab 6 The NIR predicted results of the validation set

样品编号	真实值/%	预测值/%	绝对偏差	相对偏差/%	平均相对偏差/%
5	18.88	18.69	-0.19	1.01	1.77
7	19.45	19.66	0.21	1.08	
11	20.13	20.08	-0.05	0.25	
15	19.29	19.22	-0.07	0.36	
22	19.29	18.48	-0.81	4.20	
23	20.23	19.70	-0.53	2.62	
26	18.99	18.64	-0.35	1.84	
34	20.17	20.68	0.51	2.53	
41	20.89	21.85	0.96	4.60	
45	23.87	24.00	0.13	0.54	
54	19.77	19.70	-0.07	0.35	
56	24.91	24.46	-0.45	1.81	
57	24.42	24.65	0.23	0.94	
60	22.16	21.57	-0.59	2.66	

### 3 讨论

由结果可知, 62 份样品的 NIR 原始图谱基本一致, 很难看出药材的光谱信息差别。其原因有两方面: 一是近红外光谱谱带自身重叠严重; 二是中药成分众多, 组成复杂, 难以从原始近红外光谱中找出特征吸收谱带。因此, 必须通过化学计量法对图谱进行处理和信息提取<sup>[11]</sup>。

本实验采用近红外漫反射光谱技术与常规醇浸出物测定法相结合, 建立了快速测定盾叶薯蓣中醇浸出物含量的分析方法, 结果表明该方法具有无损样品、快速、无污染等特点, 为盾叶薯蓣

质量的快速评价提供了参考和依据。

在实际应用中,通过增加样品集,对模型进行再校正和优化,可不断提高模型的稳定性和适用性。由于近红外光谱技术能够反映样品的综合信息,可在盾叶薯蓣作为原料药生产的过程中进行质量监控,提高其质量控制标准。同时,该方法对其他中药及有效成分的含量测定也具有一定的借鉴意义。

## REFERENCES

- [1] XIE C X, SHI H Q, GAO S L, et al. Analysis of physiochemical index and effective ingredient in radiation strain of *Dioscorea zingiberensis* Wright [J]. China J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2010, 25(7): 1005-1008.
- [2] LIU Z B, WANG T J, LU Z Q, et al. HPLC determination of dioscin and protodioscin in *Dioscorea nipponica* Mak [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2008, 39(5): 774-776.
- [3] LIU X K, CHEN G Z, YANG Q X, et al. Steroidal saponins of cardiovascular activity [C]. Chinese Pharmaceutical Association Annual Meeting Proceedings(中国药学会学术年会论文集). Ningbo, 2000: 996.
- [4] BAI Y, LIU L, WANG D, et al. Quantitative analysis on extracts by ethanol in *Scutellaria baicalensis* Georgi by near-infrared diffuse reflection spectroscopy [J]. Lishizhen Med Meter Med Res(时珍国医国药), 2009, 20(5): 1081-1082.
- [5] BAI Y, GONG H L, SONG R L, et al. Quantitative analysis on extracts by water and ethanol in *Rhizoma Dioscoreae* by near-infrared diffuse reflection spectroscopy [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2010, 27(2): 163-166.
- [6] CHEN G B, YANG W F, TAO Q F, et al. Establishment of universal NIR model to determine the content of pyrazinamide tablets [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(10): 934-938.
- [7] QIN F, YANG H H, LU L A, et al. Application of near infrared spectra coupled with LLE-PLS modeling to extraction process of Anshen Bunoao syrup [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2008, 30(10): 1465.
- [8] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: Appendix 62.
- [9] ZHANG S N, WANG H L, LIU Z Q, et al. On-line monitoring the contents of active components in the solution for Fufangdanshen dripping pills by near-infrared spectroscopy [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2009, 29(2): 192-196.
- [10] ZHANG W, BAI Y, WANG X, et al. Determination of phillyrin in the extractum of Forsythiae suspense by near infrared diffuse reflectance spectroscopy [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2010, 30(12): 1018-1021.
- [11] LU W Z. Modern Near Infrared Spectroscopy Analytical Technology(现代近红外光谱分析技术) [M]. Beijing: China Petroleum and Chemical Press, 2007: 44.

收稿日期: 2012-01-05

## 利奈唑胺滴眼液在兔眼角膜内的药动学

黄楚龙<sup>1</sup>, 王延东<sup>1\*</sup>, 曾夏芸<sup>2</sup>, 叶成添<sup>1</sup>(1.中山大学中山眼科中心, 广州 510060; 2.广东宏盈科技有限公司, 广东 佛山 528531)

**摘要:** 目的 探讨利奈唑胺滴眼液单次滴兔眼后在角膜中的药动学特征。方法 40 只新西兰大白兔, 局部滴入利奈唑胺滴眼液 50  $\mu\text{L}$ , 采用高效液相色谱法测定兔眼角膜中利奈唑胺的药物浓度, 用 DAS 2.1.1 软件计算药动学参数。结果 给药后 0~120 h, 利奈唑胺在兔眼角膜中的最高浓度为  $(58.62 \pm 15.48) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ , 消除半衰期  $t_{1/2}$  为  $(38.09 \pm 11.59) \text{h}$ , 药时曲线下面积  $\text{AUC}_{0-1}$  为  $(2459.02 \pm 508.95) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{g}^{-1}$ ,  $\text{AUC}_{0-\infty}$  为  $(2834.13 \pm 578.96) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{g}^{-1}$ 。结论 利奈唑胺滴眼液单次滴兔眼后在角膜中具有良好的药代动力学特征和组织通透性。

**关键词:** 利奈唑胺; 滴眼液; 兔; 角膜; 药动学

中图分类号: R945

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)10-0935-04

## Pharmacokinetics of Linezolid in Ocular Cornea of Rabbit

HUANG Chulong<sup>1</sup>, WANG Yandong<sup>1\*</sup>, ZENG Xiayun<sup>2</sup>, YE Chengtian<sup>1</sup>(1.Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China; 2.Guangdong Wholewin Technology.,Ltd, Foshan 528531, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To study pharmacokinetics of linezolid in ocular cornea of rabbit after ocular instillation. **METHODS** Forty New England rabbits were topically applied 50  $\mu\text{L}$  of linezolid eye drops. Ocular cornea was sampled at different intervals after drug instillation, and the drug levels were assayed by HPLC. The pharmacokinetics parameters were

基金项目: 广东省部产学研合作引导项目(2010B090400081); 高明区科技三项费用项目(201015)

作者简介: 黄楚龙, 男, 硕士, 主管药师 Tel: (020)87331543 E-mail: hclzoc@163.com \*通信作者: 王延东, 男, 硕士, 副主任药师 Tel: (020) 87331543-11 E-mail: wangydsyj@163.com