

dissolution profiles of melemycin tablets from different manufacturers in five dissolution medias [J]. Chin J Antibiot(中国抗生素杂志), 2014, 39(1): S2-S4.

[6] 曹琳, 陆煜谦. 二甲双胍的溶出度试验[J]. 海峡药学, 2013, 25(4): 53-55.

[7] XIE M F. Evaluation methods of comparability of dissolution curve [J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2009, 40(4): 308-311.

[8] ZHANG Y L, JIANG X H, WANG L. The comparison of release rate of valaciclovir hydrochloride tablets from different pharmaceutical factories *in vitro* [J]. Chin J Antibiot(中国抗生素杂志), 2012, 37(3): 227-229.

[9] 谢沐风. 对“口服固体制剂仿制药质量一致性评价技术手段——多条溶出曲线”的理解[J]. 中国药物评价, 2013, 30(2): 65-69.

收稿日期: 2014-06-25

## 近红外漫反射光谱结合主成分回归法快速测定黑果小檗皮中盐酸小檗碱含量

李莉, 王庆振, 孙颖平(新疆医科大学, 乌鲁木齐 830054)

**摘要:** 目的 应用近红外漫反射光谱结合主成分回归法(PCR)对黑果小檗皮中盐酸小檗碱进行快速定量分析。方法 通过化学测定值与光谱间建立 PCR 数学模型对黑果小檗皮中盐酸小檗碱进行快速定量分析。结果 黑果小檗皮中盐酸小檗碱的内部交叉验证均方差(RMSECV)为 1.016 9, 内部交叉验证决定系数为 0.979 5, 预测平均回收率为 108.51%, 统计学检验表明预测值与标准方法测定值之间的差异无统计学意义。结论 表明利用近红外漫反射光谱结合 PCR 对黑果小檗进行定量分析可行。

**关键词:** 黑果小檗; 近红外光谱分析技术; 主成分回归法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)03-0309-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.03.014

### Near Infrared Diffuse Reflection Optical Spectra Combined with PCR Rapid Determination Content of Berberine Hydrochloride in *Berberis Heteropoda* Cortex

LI Li, WANG Qingzhen, SUN Yingping(Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To analysis berberine hydrochloride in *Berberis heteropoda* cortex by frared diffuse reflection optical spectra combined with PCR. **METHODS** Between the measured value and chemical spectroscopy, a method of NIR diffuse reflectance optic-fiber spectroscopy combined with PCR was established to analysis berberine hydrochloride in *Berberis heteropoda* cortex. **RESULTS** The root-mean-square error of cross-validation(RMSECV) of the berberine hydrochloride in *Berberis heteropoda* cortex was 1.016 9, the correlation coefficients was 0.979 5, the average recycle rate was 108.5%. Statistical test was used to analysis the dates and it showed that the difference between NIR prediction values and the values determined by standard methods had no statistical significance. **CONCLUSION** It indicates that NIR diffuse reflectance optic-fiber spectroscopy combined with PCR method can be used in rapid determination of the contents of *Berberis heteropoda* Schrenk.

**KEY WORDS:** *Berberis heteropoda* Schrenk; near infrared reflectance spectroscopy(NIRS); PCR

新疆特色药材黑果小檗(*Berberis heteropoda*)为小檗科(Berberidaceae)小檗属(*Berberis* L.)多年生灌木。小檗属在全球分布约 500 种, 我国约有 200 种, 主要分布于西北部和西南部, 新疆有 5 种, 分别为黑果小檗(*Berberis heteropoda* Schrenk)、喀什小檗(*Berberis kaschgarica* Rapr.)、红叶小檗

(*Berberis thunbergii* cv. *atropurpurea*)等。小檗属植物绝大多数种类均含有小檗碱、小檗胺、药根碱、巴马汀等多种生物碱, 并具有抗肿瘤、心血管药理、免疫调节、抗炎抗菌、止泻和抗氧化等多种生理活性<sup>[1-6]</sup>。小檗碱对肠炎、痢疾、角膜炎等疾病具有显著的疗效<sup>[7]</sup>。

基金项目: 国家自然科学基金(81260485)

作者简介: 李莉, 女, 博士, 教授 Tel: (0991)4362505 E-mail: llxjmu@163.com

黑果小檗皮始载于《新华本草纲要》，为小檗科植物黑果小檗的根皮和茎皮。黑果小檗皮性寒，味苦，入肝经，有清湿热、泻火解毒的功效；主湿热痢疾、泄泻、目赤肿痛、咽喉肿痛、口疮、湿疹。黑果小檗皮中主要含生物碱类化学成分，为哈萨克民族常用药材。

近年来，近红外光谱技术以其独特的优势在医药领域已被广泛关注，在药材品种鉴别、真伪鉴别、产地判定及有效成分定量分析等领域均有应用<sup>[8-18]</sup>。近红外光谱技术主要用于复杂样品的无损快速分析。从近红外光谱数据中提取有用信息，需要充分利用计算机和化学计量学技术进行数据处理。它必须依赖常规的化学分析方法测定出特定背景范围内多个标准样品成分的化学值，通过校正模型的建立实现对未知样本的定性或定量分析<sup>[19]</sup>。

本研究应用近红外漫反射光谱结合主成分回归法建立数学模型对黑果小檗皮中盐酸小檗碱进行快速定量分析。为黑果小檗皮的质量控制提供了新的手段，可作为新疆特色药材黑果小檗皮质量控制的辅助检测方法。

## 1 仪器与材料

### 1.1 样品和对照品

新疆哈萨克特色药材黑果小檗皮及黑果小檗果样品，采自阿勒泰地区大东沟、小东沟、五指泉，乌鲁木齐水西沟、板房沟、水磨沟、白杨沟，伊犁地区，由新疆医科大学药学院生药学教研室帕丽达·阿布拉孜教授鉴定为小檗科植物黑果小檗(*Berberis heteropoda* Schrenk)的干燥根皮、茎皮。样品信息见表1。

表1 样品产地及药用部位信息

Tab. 1 Sample origin and medicinal parts information

产地及部位	批次	批数	编号
乌鲁木齐石人沟茎皮	20120725	5	1~5
伊犁地区根皮	20120729	5	6~10
乌鲁木齐白杨沟茎皮	20120812	5	11~15
乌鲁木齐水磨沟根皮	20120825	5	16~20
乌鲁木齐板房沟根皮	20120725	5	21~25
乌鲁木齐板房沟茎皮	20120725	5	26~30
乌鲁木齐水西沟根皮	20120812	3	31~33
乌鲁木齐南山茎皮	20120812	3	34~36
阿勒泰小东沟根皮	20120929	5	37~41
阿勒泰小东沟茎皮	20120929	5	42~46
伊犁地区茎皮	20120729	5	47~51
阿勒泰五指泉茎皮	20120930	5	52~56
乌鲁木齐水西沟茎皮	20120725	5	57~61
阿勒泰大东沟茎皮	20120930	5	62~66
阿勒泰桦林公园茎皮	20120930	5	67~71

小檗碱(成都曼斯特生物科技有限公司, 批号: MUST-10092001, 含量: 98%)。

### 1.2 试剂

甲醇(Chromadex, 色谱纯); 乙腈(Chromadex, 色谱纯); 磷酸二氢钾(天津市风船化学试剂科技有限公司, 批号: 20091202, 优级纯); 十二烷基磺酸钠(天津市福晨化学试剂厂, 批号: 20110105); 超纯水。

### 1.3 仪器与软件

NIR Quest 近红外光纤光谱仪, 采用 InGaAs 检测器(美国海洋光学公司); QP600-2-VIS-NIR 光纤(美国海洋光学公司); ISP-REF 积分球(美国海洋光学公司, 内置卤素灯); GBC Cintro-40 紫外可见分光光度计(澳大利亚 GBC 科学仪器公司); 高效液相色谱仪(日本岛津, LC-20AB 泵, SPD-20A 紫外双波长检测器), Inertsil-ODS-SP 色谱柱(4.6 mm×15 cm, 5 μm), Lcsolution 色谱工作站; KQ-200KDE 高功率数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); AB135-S 分析天平(瑞士 METTLER TOLEDO)

数据处理及分析均在多元变量统计分析软件 Unscrambler X 10.2 中进行(美国挪威公司)。

## 2 方法

### 2.1 样品近红外漫反射光谱的信息采集

样品经粉碎机粉碎, 过 60 目筛, 再将样品装于无色透明袋中, 压平, 置于积分球样品口处进行近红外光谱采集。采集条件: 波长扫描范围为 860~2 500 nm, 扫描间隔为 0.8 nm, 积分时间 50 ms, 扫描平均次数 20 次。每个样品扫描 3 次, 并取平均光谱作为样品光谱。得到 71 个黑果小檗皮样品的近红外漫反射光谱图, 其叠加图见图 1。

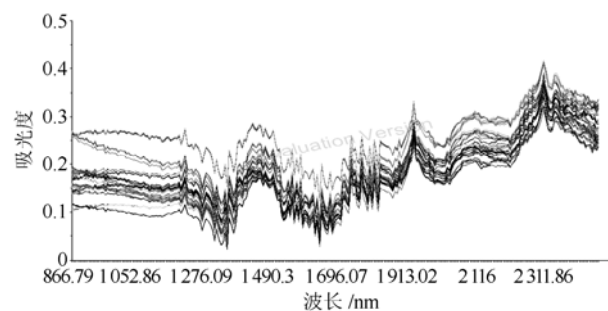


图1 原始光谱图

Fig. 1 The raw NIR spectra

### 2.2 主成分的测定

#### 2.2.1 色谱条件与系统适用性 色谱柱为 Inertsil-

ODS-SP(4.6 mm×15 cm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.05 mol·L<sup>-1</sup>磷酸二氢钾水溶液(每 100 mL 加 0.1 g 十二烷基磺酸钠)梯度洗脱: 0~25 min, 30%~46% 乙腈; 紫外检测波长 345 nm; 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温 30 °C。进样量 10 μL。理论板数以盐酸小檗碱计算应 ≥ 4 000, 分离度 > 1.5, 拖尾因子在 0.95~1.05 之间。

**2.2.2 对照品溶液制备** 精密称取小檗碱对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 10.01 μg 小檗碱的对照品溶液。

**2.2.3 供试品溶液制备** 精密称取黑果小檗皮粉末(过 60 目筛)约 0.2 g, 加 40 mL 甲醇, 称重, 超声提取 30 min, 补足失重, 取上清液, 以 0.22 μm 滤膜过滤, 得供试品溶液。

### 2.3 建立定量分析模型

将 71 份黑果小檗皮样品随机分为 2 组: 校正集和预测集。其中 60 份作为校正样品集, 用于建立测定黑果小檗皮样品中盐酸小檗碱含量的定量分析校正模型, 11 份作为预测样品集, 用于验证所建立校正模型的预测能力。采用 Unscrambler X 10.2 软件进行光谱处理并建立数学模型。首先对原始光谱进行偏最小二乘回归分析及主成分回归分析, 以完全交互验证方法进行计算, 得到黑果小檗皮样品中盐酸小檗碱含量的交互验证预测值, 并与化学测量值进行比较, 剔除与化学测量值偏差较大的样品, 剩余样品再用于模型建立。采用不同预处理方法对原始光谱进行预处理、选择不同的光谱区域、设置不同的因子数来考察模型的影响因素, 通过比较模型参数交互验证均方根误差(RMSECV)和预测值与化学测量值间的相关系数(R<sub>v</sub>)评价预测效果, 最终确定最优模型。

## 3 结果

### 3.1 样品中生物碱含量统计结果

按“2.2”项下方法测得的盐酸小檗碱含量见表 2, 校正集和预测集样本生物碱含量分布范围见表 3。

### 3.2 主成分回归法(PCR)定量模型的建立

采用近红外漫反射光纤光谱结合 PCR 法对黑果小檗皮建立定量分析模型, 通过对原始光谱预处理、主成分数(principal component scores, PCS)选择、特征波长范围选择等来建立最优模型, 提高对黑果小檗皮的预测能力。

表 2 样品含量测定结果

Tab. 2 Results of content determination in samples

编号	含量/ mg·g <sup>-1</sup>	编号	含量/ mg·g <sup>-1</sup>	编号	含量/ mg·g <sup>-1</sup>	
1	2.87	26	3.91	51	7.69	
3	1.75	27	3.01	52	9.73	
4	2.47	28	3.87	53	9.44	
5	1.54	29	3.75	54	9.67	
6	22.29	31	19.46	55	8.59	
7	23.19	32	19.94	57	9.80	
9	22.36	33	19.18	58	9.78	
10	21.29	34	11.17	59	9.75	
11	8.93	35	11.51	60	9.82	
12	8.92	37	16.08	61	9.85	
校正集	13	9.49	39	16.46	62	11.03
	14	8.91	40	15.72	63	9.52
	16	25.65	41	15.43	64	9.43
	17	25.78	42	11.00	65	8.59
	18	25.69	43	10.97	66	9.27
	19	24.72	44	10.99	67	2.28
	20	24.77	46	11.08	69	2.96
	21	22.30	47	7.91	70	2.87
	23	21.45	48	8.04	71	3.02
	24	20.49	49	7.96		
	25	22.00	50	8.02		
预测集	2	2.69	30	3.86	56	8.71
	8	23.45	36	12.16	68	3.08
	15	9.75	38	16.26		
	22	21.99	45	10.96		

表 3 校正集与验证集样本盐酸小檗碱含量分布范围

Tab. 3 The statistics of berberine hydrochloride content in calibration set and validation set

样品集	成分	样本数	最大值	最小值	平均值	变化范围	标准偏差/%
校正集	盐酸小檗碱	61	25.78	1.54	12.06	24.24	7.16
预测集	盐酸小檗碱	10	23.45	2.69	11.29	20.76	7.41

**3.2.1 光谱预处理** 采用 Unscrambler X 10.2 软件自带的光谱预处理方法, 进行了卷积平滑、标准归一化(SNV)、标准化、基线校正、一阶导数、二阶导数及其组合预处理方法考察各种因素对 PCR 模型预测能力的影响, 原始光谱及预处理光谱建立的 PCR 模型的参数结果见表 4。原始光谱图经最佳预处理后图谱见图 2。

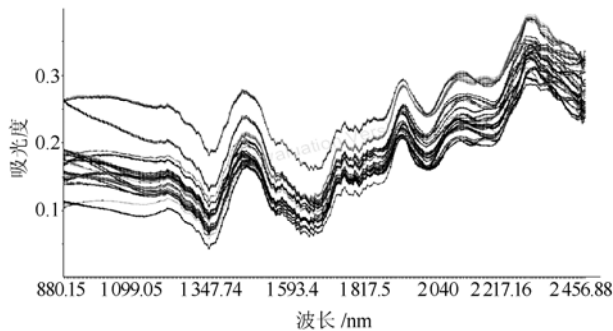
当参数 R<sub>v</sub> 值越大, RMSECV 值越小时, 模型的稳定性和预测效果越好。观察表 4, 确定卷积平滑为最佳预处理方法。

**3.2.2 波长范围的选择** 波长范围的优化可以更有效的提取到光谱信息, 在建立模型时, 以 R<sub>v</sub> 和 RMSECV 为指标, 固定其他参数不变, 卷积平滑为预处理方法, 对多个谱段进行比较, 选择 R<sub>v</sub> 最

接近 1, RMSECV 最小的全波长光谱区域建立模型。结果见表 5。

**表 4** 不同光谱预处理方法所建立的 PCR 模型相关参数结果  
**Tab. 4** The performance parameters of the established PCR model of berberine hydrochloride via different spectra pretreated methods

图谱预处理方法	盐酸小檗碱		
	PCs	Rv	RMSECV
原始光谱	9	0.976 6	1.087 8
Savitsky-Golay 平滑	10	0.979 5	1.016 9
多元散射校正	9	0.962 5	1.376 6
SNV	10	0.968 1	1.269 8
基线校正	9	0.972 3	1.181 8
一阶导数	7	0.941 3	1.722 1
二阶导数	8	0.778 7	3.342 9
一阶导数+MSC	9	0.936 3	1.793 0
一阶导数+SNV	9	0.937 9	1.770 9
一阶导数+Savitsky-Golay 平滑	6	0.937 9	1.770 5
一阶导数+SNV+Savitsky-Golay 平滑	11	0.960 6	1.410 8



**图 2** 卷积平滑预处理后近红光谱图  
**Fig. 2** The NIR spectra of Savitzky-Golay smoothing pretreatment

**表 5** 不同光谱范围对盐酸小檗碱定量模型的影响  
**Tab. 5** The effect of different spectral range of quantitative model of berberine hydrochloride

编号	光谱范围/nm	盐酸小檗碱		
		PCs	Rv	RMSECV
1	全波长	10	0.979 5	1.016 9
2	1 388~2 083	10	0.947 2	1.633 3
3	870~1 200 & 1 600~1 890 & 2 000~2 400	12	0.976 3	1.093 7
4	866.79~2 400	10	0.968 7	1.257 7
5	1 000~2 300	11	0.964 7	1.334 1
6	1 000~2 482.9	9	0.973 2	1.162 2

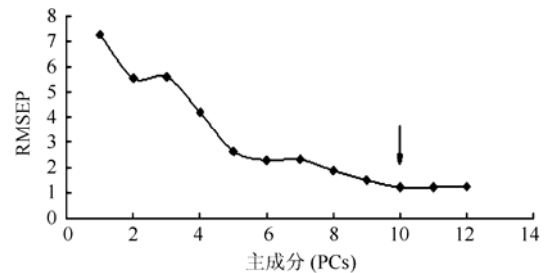
**3.2.3 主成分数的选择** PCR 法建立数学模型时最主要的问题就是确定主成分数, 主成分数的选择会直接影响模型的实际预测能力。当完全交互验证 RMSEP 值最小时, 主成分数最佳。卷积平滑

光谱所建立 PCR 模型主成分数对应的 RMSEP 的结果见表 6 和图 3, 可见最佳主成分数为 10 时, RMSEP 值最小。

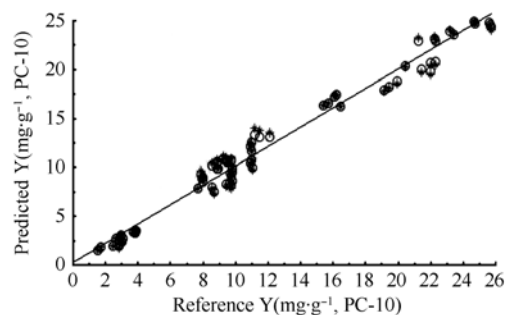
**3.2.4 最优校正模型的建立** 通过以上因素的考察得出预处理方法卷积平滑法, 在全波长范围内建立 PCR 数学模型为最优模型。采用完全交互验证法, 其中  $R_v=0.979 5$ ,  $RMSECV=1.016 9$ 。校正集样品完全交互验证得到的 NIR 测得结果与 HPLC 测得结果的相关图见图 4, 可以观察到, 校正集样品均匀的分布在回归线两侧。

**表 6** 卷积平滑预处理所建立的 PCR 模型中主成分数对应的 RMSEP 结果  
**Tab. 6** The RMSEP results corresponding to the PCs of the PCR model established by the Savitzky-Golay smoothing

主成分数	RMSEP	主成分数	RMSEP
1	7.266 5	7	2.316 9
2	5.549 8	8	1.872 8
3	5.612 6	9	1.494 1
4	4.196 2	10	1.205 7
5	2.637 9	11	1.214 8
6	2.284 9	12	1.235 5



**图 3** 经卷积平滑建立的 PCR 模型中 PCs 与 RMSEP 相关图  
**Fig. 3** Relational graph of PCs and RMSEP via Savitzky-Golay smoothing



**图 4** 完全交互验证法建立的 PCR 模型中理论与预测含量的相关图  
**Fig. 4** Correlation diagrams between the NIR predicted values and the reference values of berberine hydrochloride contents

### 3.3 模型的方法学验证

**3.3.1 线性** 将校正集的近红外方法测定结果对 HPLC 的测定结果作相关性比较, 盐酸小檗碱  $r=0.9795$ , 表明盐酸小檗碱浓度在  $1.54\sim 25.78\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  内线性良好。

**3.3.2 仪器精密度** 取同一样品平行 6 份, 分别扫描 3 次, 取平均光谱, 用得到的最优校正模型预测其含量。结果显示, 预测的相对标准偏差(RSD)为 2.16%, 说明模型预测未知样本含量具有很好的重复性。

**3.3.3 重复性** 取同一份样品, 重复扫描 5 次, 通过建立的 NIR 定量分析模型计算其含量, 其相对标准偏差 RSD 值为 0.92%。

**3.3.4 回收率** 将预测集的近红外方法测定结果对 HPLC 的测定结果作相关性比较见表 7, 并对结果进行统计学检验, 经配对  $t$  检验  $P>0.05$ , 2 种方法所测得的结果无显著性差异。

表 7 预测集样品 NIR 预测结果与 HPLC 测定结果的比较

Tab. 7 Comparison of HPLC-NIR measured values for prediction set

编号	HPLC/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	NIR/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	绝对偏差	预测回 收率/%	平均回 收率/%
1	2.69	3.19	-1.50	118.59	
2	23.45	24.30	-0.85	103.62	
3	9.75	11.61	-1.86	119.08	
4	21.99	20.43	1.56	92.91	
5	3.87	4.64	-0.77	119.90	108.51
6	11.17	12.38	-1.21	110.83	
7	16.26	18.03	-1.77	110.89	
8	10.96	10.76	0.20	98.18	
9	8.71	8.23	0.48	94.49	
10	3.08	3.59	-0.51	116.56	

## 4 讨论

本实验使用美国挪威公司的 Unscrambler X 10.2 专用分析软件, 采用近红外漫反射光纤光谱结合偏最小二乘法, 对样品光谱从  $860\sim 2500\text{ nm}$  进行全谱计算分析。首先建立数学模型, 然后对数学模型从图谱预处理、波长范围的选择、主成分的选择 3 个方面对所建立的模型进行考察。最后, 对模型进行方法学验证。在实际应用中应注意的是, 如果未知样品的组成或性质数据不在所建模型涵盖范围内时, 预测结果将产生较大的偏差。解决此问题的方法之一是先建立涵盖不同范围的不同模型, 采样后运用所得光谱数据进行模式识别, 在预测分析前, 先对未知样品进行类别判别, 选择正确的校正模型。利用近红外漫反射

分析技术对样品进行无损分析, 可减少预处理过程及此过程中引入的误差。本实验研究表明, 根据主成分回归方法建立的预测数学模型, 对黑果小檗进行含量测定是可行的。

## REFERENCES

- [1] KIM J B, YU J H, KO E, et al. The alkaloid Berberine inhibits the growth of anoikis-resistant MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cell lines by inducing cell cycle arrest [J]. *Phytomedicine*, 2010, 17(6): 436-440.
- [2] QIAO G F, ZHOU H, Li B Y, et al. Antagonistic effect of berbamine on  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  mobilization by KCl norepinephrine and caffeine in new born rat cardiomyocytes [J]. *Acta Pharmacol Sin*(中国药理学报), 1999, 20(4): 292-296.
- [3] KÜPELİ E, KOŞAR M, YEŞİLADA E, et al. A comparative study on the anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic effects of isoquinoline alkaloids from the roots of Turkish Berberis species [J]. *Life Sci*, 2002, 72(6): 645-657.
- [4] SINGH M, SRIVASTAVA S, RAWAT A K. Antimicrobial activities of Indian Berberis species [J]. *Fitoterapia*, 2007, 78(7/8): 574-576.
- [5] JOSHI P V, SHIRKHEDKAR A A, PRAKASH K, et al. Antidiarrheal activity, chemical and toxicity profile of *Berberis aristata* [J]. *Pharm Biol*, 2011, 49(1): 94-100.
- [6] ZOVKO KONCIĆ M, KREMER D, KARLOVIĆ K, et al. Evaluation of antioxidant activities and phenolic content of *Berberis vulgaris* L. and *Berberis croatica* Horvat [J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(8/9): 2176-2180.
- [7] MA Z G, MA X Y, YANG P R. Comprehensive studies on medicinal plants of berberis in recent 30 year [J]. *J Gansu Sci*(甘肃科学学报), 1999, 11(1): 75-78.
- [8] GAO H B, LIU H, XIANG B R. Rapid nondestructive identification of pinellia and its pseudo-product arisaema rhizome by near-infrared diffuse reflectance spectrometry [J]. *Chin J Spectrosc Lab*(光谱实验室), 2012, 29(2): 899-902.
- [9] WANG L L, HUANG Y W, QI S Y. Research on identification American ginseng and panax ginseng by near infrared spectra of samples'cross section [J]. *Spectrosc Anal*(光谱学与光谱分析), 2012, 32(4): 925-928.
- [10] YU C, GONG X Y. Establishment of qualitative model of fangji by NIR DRS method [J]. *Chin Pharm Aff*(中国药事), 2010, 24(7): 679-680.
- [11] LEI J W, GUO Y L, BAI Y, et al. Establishment of qualitative model of 3, 5-dihydroxystilbene in *Lindera reflexa* hemsl by near-infrared spectroscopy [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2011, 17(17): 75-77.
- [12] CAO Y, ZUO D Y, ZHANG M L, et al. Determination of swertiamarin and gentiopicroside in *radix gentiana scabra* bge. by near infrared diffuse reflectance spectroscopy [J]. *Drug Stand China*(中国药品标准), 2011, 12(4): 258-261.
- [13] JIA F, LI J, TAO Q F, et al. Establishment of the near-infrared spectroscopy qualitative model for Diammonium Glycyrrhizinate injection [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2013, 30(6): 664-666.
- [14] WANG L L, CHEN C, ZHOU W. Determination of sinigrin content in *semen thlaspi* from sichuan and tibet using near infrared diffuse reflectance spectroscopy [J]. *Spectrosc Anal*(光谱学与光谱分析), 2009, 29(10): 2673-2676.
- [15] BAI Y, LIU J Y, LEI J W. Rapid Determination of moisture in Qiju Dihuang pills by near-infrared spectroscopy technique [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2013, 30(1): 52-54.

- [16] YU X X, YI Y, ZHOU N. Rapid determination of icariin and epimedin C in epimedium by near infrared spectroscopy [J]. Chin J Spectrosc Lab(光谱实验室), 2012, 29(3): 1379-1383.
- [17] LI J C, XIAO W, SUN L. Rapid analysis of paeoniae radix alba by near infrared spectroscopy [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2012, 18(6): 57-60.
- [18] YANG X, YANG R R, LUO D Q. The construction and application of baical skullcup roofs quantitative model by near infrared diffuse reflectance spectrometry [J]. Northwest Pharm J(西北药学杂志), 2010, 25(3): 184-186.
- [19] ZHANG L, QIU F P, YU J. Modern near-infrared spectroscopic techniques [J]. Changchun Univ Technol: Nat Sci(长春工业大学学报: 自然科学版), 2003, 24(4): 23-25.

收稿日期: 2014-05-19

## 积雪草酸大鼠体内药动学考察

张雅雯<sup>1</sup>, 尹丽娜<sup>1</sup>, 梁泽华<sup>2</sup>, 吴斌丽<sup>1,2</sup>, 朱亮<sup>1,2</sup>, 黄夏樱<sup>1</sup>, 王胜浩<sup>1\*</sup> (1.浙江省医学科学院, 杭州 310013; 2.浙江中医药大学药学院, 杭州 310053)

**摘要:** 目的 建立大鼠血浆中积雪草酸(asiatic acid, AA)的柱前衍生化 HPLC, 探讨 AA 在大鼠体内的药动学。方法 SD 大鼠, ♂, 尾静脉注射 AA(10 mg·kg<sup>-1</sup>), 于给药后不同时间采取血浆, 经 DIKMA Proelut PLS 柱固相萃取, 柱前衍生化 HPLC 测定血浆中 AA 浓度(以甘草次酸为内标), 药物统计软件(PKS 1.0)拟合统计药动学参数。结果 血药浓度在 0.1~20 μg·mL<sup>-1</sup> 内线性良好( $r=0.999\ 6$ ), 平均提取回收率为 71.1~79.9%, 日内、日间精密度 RSD 均 <13%, 样品在 -20 °C 放置, 经 2 次冻融循环后基本稳定。AA 在大鼠体内药-时曲线符合一室开放模型, 主要药动学参数为:  $t_{\max}=2.0\ \text{min}$ ,  $C_{\max}=14.7\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $t_{1/2}=35.1\ \text{min}$ ,  $\text{AUC}_{0-t}=217.0\ \mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $\text{AUC}_{0-\infty}=234.3\ \mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。结论 AA 在大鼠体内消除迅速, 所建立的提取及柱前衍生化 HPLC 适用于体内 AA 的测定。

**关键词:** 积雪草酸; 血药浓度; 固相萃取; 一室模型

中图分类号: R969.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)03-0314-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.03.015

### Study on Pharmacokinetics of Asiatic Acid in Rats

ZHANG Yawen<sup>1</sup>, YIN Lina<sup>1</sup>, LIANG Zehua<sup>2</sup>, WU Binli<sup>1,2</sup>, ZHU Liang<sup>1,2</sup>, HUANG Xiaying<sup>1</sup>, WANG Shenghao<sup>1\*</sup> (1.Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China; 2.Department of Pharmacy, Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a sensitive precolumn derivatization HPLC method for determination of plasma concentration of asiatic acid(AA) and evaluate its pharmacokinetics characteristics in rats. **METHODS** The male SD rats were intravenously administrated AA by 10mg·kg<sup>-1</sup>. The plasma samples were taken at different times, concentrated by SPE method and determined by precolumn derivatization RP-HPLC method, the glycyrrhetic acid was used as an internal standard. The pharmacokinetic parameters were accessed by PKS 1.0. **RESULTS** Excellent liner relationship was obtained in the range of 0.1 to 20 μg·mL<sup>-1</sup>( $r=0.999\ 6$ ). The averang extraction recovery was 71.1%~79.9%. The intra- and inter-day RSDs were less than 13%. The samples were stabled at -20 °C, and remained stable after twice freeze-thaw cycles. AA was fitted to a one compartment open model in rats, mainly pharmacokinetic parameters as follow:  $t_{\max}=2.0\ \text{min}$ ,  $C_{\max}=14.7\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $t_{1/2}=35.1\ \text{min}$ ,  $\text{AUC}_{0-t}=217.0\ \mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $\text{AUC}_{0-\infty}=234.3\ \mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{mL}^{-1}$ . **CONCLUSION** AA is disposed extensively and rapidly in rats. The method can be used to determine the concentration and to investigate the pharmacokinetics of AA in rats.

**KEY WORDS:** asiatic acid; plasma concentration; solid phase extraction; one compartment model

积雪草酸(asiatic acid, AA)为伞形科植物积雪草(*Centella asiatica* L. Urban)中含量较高的乌苏烷

型五环三萜酸, 具有治疗皮肤创伤、抗炎、护肝、抗肿瘤等多种药理作用<sup>[1-3]</sup>。1971 年首次报道了采

**基金项目:** 浙江省科技厅项目(2011F10048); 浙江省新世纪 151 人才工程(第二层次); 浙江省卫生高层次创新人才培养工程项目(2008); 浙江省医学重点学科群建设资助项目(XKQ-010-001)

**作者简介:** 张雅雯, 女, 硕士生 Tel: (0571)88215622 E-mail: zyw.25@163.com \*通信作者: 王胜浩, 男, 博士, 研究员 Tel: (0571)88215622 E-mail: wshenghao@yahoo.com