

近红外光谱法快速测定怀地黄中总苯乙醇苷、总环烯醚萜苷的含量^Δ

耿晓桐^{1*}, 王丰青², 苏秀红¹, 陶晓赛¹, 李雅静¹, 雷敬卫¹, 谢彩侠^{1#} (1. 河南中医药大学药学院, 郑州 450046; 2. 河南农业大学农学院, 郑州 450000)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)02-0225-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.02.17

摘要 目的: 建立快速测定怀地黄中总苯乙醇苷及总环烯醚萜苷含量的方法。方法: 采用紫外-可见分光光度法测定药材样品中总苯乙醇苷及总环烯醚萜苷的含量。采用近红外光谱法结合偏最小二乘法, 最佳光谱预处理方法分别为多元散射校正法联合一阶导数法、标准归一化法联合一阶导数法, 最佳光谱范围分别为 $6\,703.35\sim11\,065.54\text{ cm}^{-1}$ 、 $3\,999.63\sim9\,102.36\text{ cm}^{-1}$, 最佳主因子数分别为 10、7, 建立药材样品中总苯乙醇苷及总环烯醚萜苷含量的定量分析模型。结果: 药材样品中总苯乙醇苷及总环烯醚萜苷含量测定方法学经验证符合要求。总苯乙醇苷、总环烯醚萜苷定量模型的校正集内部交叉验证相关系数分别为 0.998 2、0.980 9, 校正均方根偏差分别为 0.032 7、0.186 0, 预测均方根偏差分别为 0.035 5、0.035 1, 交叉验证均方根偏差分别为 0.256 9、0.574 3。总苯乙醇苷、总环烯醚萜苷含量的预测值分别为 0.268%~1.636%、3.424%~6.978%, 测定值分别为 0.299%~1.629%、3.431%~6.952%, 绝对偏差分别为 -0.042%~0.067%、-0.111%~0.088%, 相对偏差分别为 -0.819%~0.076%、-2.257%~1.672%, 预测值与测定值比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。结论: 该方法快速准确、简便, 可用于不同种质怀地黄中总苯乙醇苷及总环烯醚萜苷含量的测定。

关键词 怀地黄; 近红外光谱法; 偏最小二乘法; 总苯乙醇苷; 总环烯醚萜苷; 快速测定

Rapid Determination of Total Phenylethanoid Glycosides and Total Iridoid Glycosides in *Rehmannia glutinosa* by Near Infrared Spectroscopy

GENG Xiaotong¹, WANG Fengqing², SU Xiuhong¹, TAO Xiaosai¹, LI Yajing¹, LEI Jingwei¹, XIE Caixia¹ (1. School of Pharmacy, Henan University of TCM, Zhengzhou 450046, China; 2. College of Agriculture, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for rapid determination of total phenylethanoid glycosides and total iridoid glycosides in the root of *Rehmannia glutinosa*. METHODS: The contents of total phenylethanoid glycosides and total iridoid glycosides in medicinal material samples were determined by UV spectrophotometry. Quantitative model of total phenylethanoid

- 关系解析中的应用[J]. 计算机与应用化学, 2008, 25 (10): 1189-1192.
- [5] 李丹. 基于组学方法及 LC-MS 技术的两种蒙药 (森登-4 和丹参) 作用机制研究[D]. 通辽: 内蒙古民族大学, 2016.
- [6] WANG X, LI D, JIANG M, et al. K Nearest Neighbor algorithm coupled with metabonomics to study the therapeutic mechanism of Sendeng-4 in adjuvant-induced rheumatoid arthritis rat[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018. DOI: 10.1155/2018/2484912.
- [7] 王曦烨, 李丹, 唐兴盟, 等. 基于组学方法的蒙药复方森登-4 配伍机制研究[J]. 中草药, 2016, 47(5): 736-740.
- [8] 唐兴盟, 刘景林, 许良. 蒙药复方森登-4 汤现代研究若干进展[J]. 内蒙古民族大学学报 (自然科学版), 2015, 30 (5): 420-423.
- [9] 赵娅, 冯慧, 周珍, 等. HPLC 法同时测定四味姜黄汤散中 7 种成分的含量[J]. 中国药房, 2018, 29(1): 29-33.
- [10] 陈雁, 张现涛, 张雷红, 等. 栀子化学成分及药理作用研究进展[J]. 海峡药学, 2010, 22(12): 1-5.
- [11] 杨小娟, 高晓黎. 文冠果化学成分及药理作用研究进展[J]. 西北药学杂志, 2004, 19(5): 235-237.
- [12] 徐先祥. 儿茶素的药理作用研究综述[J]. 郑州轻工业学院学报 (自然科学版), 2012, 27(4): 60-64.
- [13] 林国钊, 谢燕, 李国文. 杨梅素的研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2012, 39(6): 483-487.
- [14] 侯小龙, 王文清, 施春阳, 等. 二氢杨梅素药理作用研究进展[J]. 中草药, 2015, 46(4): 603-609.
- [15] 乔华, 谢望, 张晓云. 花旗松素的生物活性及其应用[J]. 中草药, 2003, 34(8): 15-17.
- [16] 马开, 田萍, 张薇, 等. 青钱柳叶 HPLC 指纹图谱研究及 9 个成分定量分析[J]. 中药材, 2018, 41(8): 1904-1909.

Δ 基金项目: 河南省科技发展计划 (No. 162300410124, 18210231-1156)

* 硕士研究生。研究方向: 中药质量控制。E-mail: 825630046@qq.com

通信作者: 教授, 博士。研究方向: 中药质量控制。E-mail: nan-yang.xcx@163.com

(收稿日期: 2018-04-30 修回日期: 2018-12-04)

(编辑: 余庆华)

glycosides and total iridoid glycosides in medicinal samples was established by NIRS-PLS method. The optimal pretreatment spectra were multivariate scattering correction combined with first derivative method, standard normalization combined with first derivative method. The optimum spectral ranged from 6 703.35-11 065.54 cm^{-1} and 3 999.63-9 102.36 cm^{-1} . The optimum principal factor number were 10 and 7. RESULTS: The content determination of total phenylethanoid glycosides and total iridoid glycosides in medicinal material samples was proved to meet the requirements by methodological experience. The internal cross validation determination coefficients of total phenylethanoid glycosides and total iridoid glycosides were 0.998 2 and 0.980 9. The correction of root mean square error was 0.032 7 and 0.186 0. The root mean square error of prediction were 0.035 5 and 0.035 1. The root mean square error of cross validation were 0.256 9 and 0.574 3. The predicted values of total phenylethanol glycosides and total iridoid glycosides were 0.268%-1.636% and 3.424%-6.978%, respectively; the determination value of them were 0.299%-1.629% and 3.431%-6.952%, respectively; the absolute deviations were -0.042% -0.067% and -0.111% -0.088%, respectively; the relative deviations were -0.819% -0.076%、-2.257% -1.672%, respectively; There was no statistical significance between predicted values and measured values ($P>0.05$). CONCLUSIONS: The method is accurate and simple. The method can be used for the rapid determination of total phenylethanoid glycosides and total iridoid glycosides in different germplasms of *R. glutinosa*.

KEYWORDS *Rehmannia glutinosa*; NIRS; PLS; Total phenylethanoid glycosides; Total iridoid glycosides; Rapid determination

地黄(*Rehmannia glutinosa* Libosch.)是玄参科(*Scrophulariaceae*)地黄属(*Rehmannia*)多年生草本植物,始载于《神农本草经》,在我国河南、山东等地均有大量种植。由“今人惟以怀庆地黄为上,亦各处随时兴废不同尔”等本草考证可知,河南作为地黄道地产区的地位没有动摇,故河南产地黄亦称为怀地黄,其具有生精补髓、滋阴补肾、清热生津、抗癌、抑制皮肤真菌、抗炎、抗增生、降糖和增强免疫力等功效^[1-3],是我国“四大怀药”之一,也是临床应用较多的大宗中药材。地黄中含有多糖^[4]、苯乙醇苷类^[5]、环烯醚萜苷类^[6]、梓醇^[7]、核苷^[8]等成分。其中,苯乙醇苷类成分具有抗病毒、抗肿瘤、强心、抗菌、免疫调节、保肝、抗氧化、增强记忆等作用^[9];环烯醚萜苷类成分具有神经保护、利尿、抗炎、缓泻、降糖、抗癌、补血等作用^[10]。苯乙醇苷类及环烯醚萜苷类成分是地黄主要的活性成分。有研究发现,不同种质不同生育期内怀地黄块根中总苯乙醇苷类及总环烯醚萜苷类成分含量差异较大^[11]。因此这两种成分可作为评价怀地黄质量的指标,其含量快速测定方法的建立对于怀地黄质量的评价及资源的利用具有重要意义。

不同种质怀地黄中总苯乙醇苷类及总环烯醚萜苷类成分含量不同,常用测定方法为紫外-可见分光光度法(UV),但该方法的样品前处理较为复杂,引入的误差来源较多,试剂用量较大,环境污染较为严重,不符合中药现代化的要求^[5-6]。近红外光谱法(NIR)作为一种无损的分析方法,具有分析速度快、操作简便、消耗低、绿色环保等优点,其所反映的信息符合中药整体性的特征,已广泛用于中药的质量控制^[12-13]。目前,尚未有NIR法测定地黄块根中总苯乙醇苷类及总环烯醚萜苷类成分的研究。为此,本研究以不同种质怀地黄为研究对象,建立了快速测定怀地黄块根中总苯乙醇苷及总环烯醚萜苷含量的NIR法,旨在为怀地黄种质资源优选及质量评价提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Nicolet 6700型傅立叶变换NIR仪,包括光源、分光系统、测量附件、检测器(赛默飞世尔科技有限公司);WFZ UV-2000型UV计(优尼柯仪器有限公司);FW-100型高速万能粉碎机(北京科伟永兴仪器有限公司);101-3AB型电热恒温鼓风干燥箱(北京中兴伟业仪器有限公司);KQ-700DB型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);ME204E/OL型万分之一电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];HH-S2型双孔智能水浴锅(巩义市予华仪器有限责任公司);YE5K613352型移液枪(上海荣泰生化工程有限公司)。

1.2 药品与试剂

毛蕊花糖苷对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号:MUST-17020715,纯度:99.57%);梓醇对照品(成都曼思特生物科技有限公司,批号:MUST-17102510,纯度:99.46%);甲醇(分析纯)、无水乙醇(分析纯)均由天津市致远化学试剂有限公司提供;2,4-二硝基苯肼(分析纯,天津市大茂化学试剂厂);盐酸(分析纯,烟台市双双化工有限公司);氢氧化钠(分析纯,天津市恒兴化学试剂制造有限公司);水为蒸馏水。

1.3 药材

6种种质怀地黄块根均采集于河南省温县武德镇亢村怀地黄种植基地,经河南中医药大学药学院董诚明教授鉴定为玄参科(*Scrophulariaceae*)地黄属(*Rehmannia*)植物。整个生育期内共收集怀地黄块根128份(批号:S1~S128,S1~S24为85-5地黄生育期内样品,S25~S48为BJ-1地黄生育期内样品,S49~S72为白变地黄生育期样品,S73~S96为金九地黄生育期内样品,S97~S112为山东地黄生育期内样品,S113~S128为QH-1地黄生育期内的样品;85-5指温县农科所王乾璐以单县151为母本,金状元为父本,杂交选育的高产优质地黄新品种,BJ-1指用农家地黄品种新状元和武陟一号杂交培育的新品种,QH-1指地黄品种沁怀在河南引种后的一个新品种)。将怀地黄块根洗净,于真空干燥箱55℃烘干,粉碎后过50目筛,保存于干燥器中,备用。

2 方法与结果

2.1 UV法测定总苯乙醇苷的含量

2.1.1 供试品溶液的制备 精密称取药材样品粉末约1 g,置于具塞锥形瓶中,加60%甲醇50 mL,称定质量,超声(功率:220 W;频率:100 Hz)处理30 min,放至室温,再次称定质量,用60%甲醇补足缺失的质量,摇匀,滤过,取续滤液1 mL,置于10 mL量瓶中,加60%甲醇定容至刻度,即得^[5]。

2.1.2 对照品溶液的制备 取毛蕊花糖苷对照品1.21 mg,置于10 mL量瓶中,加甲醇定容至刻度,即得。

2.1.3 线性关系考察 精密量取“2.1.2”项下对照品溶液0.5、0.6、0.7、1.0、1.2、1.8 mL,分别置于5 mL量瓶中,加甲醇稀释并定容至刻度,摇匀,得质量浓度分别为0.012 1、0.014 5、0.016 9、0.024 2、0.029 0、0.043 5 mg/mL的线性关系工作溶液。以60%甲醇为空白,于332 nm波长^[14]处测定吸光度。以待测物质量浓度(x ,mg/mL)为横坐标、吸光度(y)为纵坐标进行线性回归,得毛蕊花糖苷回归方程为 $y=25.94x+0.078\ 1(r=0.992\ 5)$ 。结果表明,毛蕊花糖苷检测质量浓度线性范围为0.012 1~0.043 5 mg/mL。

2.1.4 方法学考察 按2015年版《中国药典》(四部)^[14]标准进行方法学考察。结果表明,精密度、稳定性、重复性试验吸光度的RSD均小于3.00%,表明仪器精密度、供试品溶液稳定性、方法重复性均较好。总苯乙醇苷加样回收率范围为99.83%~102.11%,RSD为2.12%($n=6$)。

2.1.5 样品含量测定 取“2.1.1”项下供试品溶液2 mL,置于比色皿中,于332 nm波长^[15]处测定吸光度,平行测定3次,计算样品含量,结果见表1。

2.2 UV法测定总环烯醚萜苷的含量

2.2.1 供试品溶液的制备 精密称取药材样品粉末约1 g,置于具塞锥形瓶中,加70%乙醇10 mL,称定质量,超声(功率:220 W;频率:100 Hz)处理45 min,放至室温,再次称定质量,用70%乙醇补足缺失的质量,滤过,取续滤液,用70%乙醇定容至50 mL量瓶中,摇匀,取2.5 mL,置于50 mL量瓶中,加70%乙醇定容至刻度,摇匀,即得^[6]。

2.2.2 对照品溶液的制备 取梓醇对照品5.21 mg,置于25 mL量瓶中,加70%乙醇定容至刻度,即得。

2.2.3 线性关系考察 精密量取“2.2.2”项下对照品溶液1.5、2.0、2.5、3.0、4.0 mL,分别置于10 mL量瓶中,加70%乙醇稀释并定容至刻度,摇匀,得质量浓度分别为0.031 3、0.041 7、0.052 1、0.062 5、0.083 4 mg/mL的线性关系工作溶液。另取“2.2.3”项下空白对照,于462 nm波长^[6]处测定吸光度。以待测物质量浓度(x ,mg/mL)为横坐标、吸光度(y)为纵坐标进行线性回归,得梓醇回归方程为 $y=10.609x-0.091\ 8(r=0.995\ 5)$ 。结果表明,梓醇质量浓度线性范围为0.031 3~0.083 4 mg/mL。

2.2.4 方法学考察 按2015年版《中国药典》(四部)^[14]

表1 总苯乙醇苷含量测定结果($n=3$,%)

Tab 1 Results of content determination of total phenylethanoid glycosides($n=3$,%)

批号	总苯乙醇苷	批号	总苯乙醇苷	批号	总苯乙醇苷
S1	0.577	S44	1.625	S87	0.622
S2	0.597	S45	0.415	S88	0.623
S3	0.177	S46	0.416	S89	0.746
S4	0.191	S47	1.629	S90	0.747
S5	0.318	S48	1.630	S91	0.143
S6	0.337	S49	0.225	S92	0.144
S7	0.350	S50	0.229	S93	1.094
S8	0.351	S51	0.322	S94	1.095
S9	1.743	S52	0.308	S95	1.019
S10	1.744	S53	0.306	S96	1.018
S11	0.353	S54	1.602	S97	1.558
S12	0.354	S55	1.600	S98	1.559
S13	0.380	S56	1.603	S99	0.553
S14	0.381	S57	1.025	S100	0.554
S15	0.708	S58	1.026	S101	0.930
S16	0.709	S59	0.879	S102	0.931
S17	0.666	S60	0.880	S103	0.779
S18	0.667	S61	1.199	S104	0.778
S19	1.532	S62	1.198	S105	0.894
S20	1.533	S63	1.283	S106	0.895
S21	0.488	S64	1.284	S107	0.420
S22	0.489	S65	0.460	S108	0.421
S23	0.770	S66	0.462	S109	0.721
S24	0.771	S67	1.821	S110	0.722
S25	0.665	S68	1.820	S111	0.977
S26	0.665	S69	1.937	S112	0.978
S27	0.232	S70	1.938	S113	1.760
S28	0.229	S71	0.746	S114	1.761
S29	0.376	S72	0.745	S115	0.453
S30	0.377	S73	1.312	S116	0.454
S31	0.322	S74	1.304	S117	0.391
S32	0.323	S75	0.299	S118	0.392
S33	0.376	S76	0.298	S119	0.726
S34	0.377	S77	0.300	S120	0.727
S35	0.512	S78	0.303	S121	0.409
S36	0.510	S79	0.376	S122	0.410
S37	0.430	S80	0.377	S123	1.236
S38	0.431	S81	0.450	S124	0.235
S39	0.431	S82	0.451	S125	2.332
S40	0.432	S83	0.419	S126	2.333
S41	0.650	S84	0.418	S127	1.644
S42	0.651	S85	0.590	S128	1.645
S43	1.624	S86	0.591		

标准进行方法学考察。结果表明,精密度、稳定性、重复性试验吸光度的RSD均小于3.00%,表明仪器精密度、供试品溶液稳定性、方法重复性均较好。总环烯醚萜苷加样回收率范围为100.21%~102.76%,RSD为2.21%($n=6$)。

2.2.5 样品含量测定 取“2.2.1”项下供试品溶液1 mL,置于10 mL量瓶中,加1 mol/L盐酸2 mL,摇匀,于90 ℃水浴中反应15 min,放至室温,加二硝基苯胍乙醇溶液0.5 mL,摇匀,于90 ℃水浴中反应25 min,室温静置15 min,放冷,加1 mol/L的氢氧化钠70%乙醇溶液(将氢氧化钠用70%乙醇配制为1 mol/L的溶液)3 mL,摇匀,室

温静置1 h。取70%乙醇1 mL,按上述从“置于10 mL量瓶中起至室温静置1 h”操作得空白对照,于462 nm波长^[6]处测定吸光度,平行测定3次,计算样品含量,结果见表2。

表2 总环烯醚萜苷含量测定结果($n=3$,%)
Tab 2 Results of content determination of total iridoid glycosides($n=3$,%)

批号	总环烯醚萜苷	批号	总环烯醚萜苷	批号	总环烯醚萜苷
S1	3.988	S44	4.545	S87	4.908
S2	2.939	S45	4.363	S88	4.918
S3	4.756	S46	4.360	S89	5.934
S4	4.539	S47	3.908	S90	5.941
S5	4.408	S48	3.904	S91	4.005
S6	4.556	S49	3.726	S92	4.011
S7	7.123	S50	4.559	S93	4.177
S8	7.120	S51	5.186	S94	4.181
S9	6.881	S52	5.610	S95	4.431
S10	6.882	S53	4.100	S96	4.429
S11	7.244	S54	4.889	S97	5.342
S12	7.242	S55	5.733	S98	5.355
S13	6.952	S56	5.731	S99	5.220
S14	6.951	S57	5.318	S100	5.217
S15	7.701	S58	5.321	S101	4.513
S16	7.702	S59	5.311	S102	4.508
S17	5.032	S60	5.312	S103	6.024
S18	5.031	S61	4.745	S104	6.019
S19	5.963	S62	4.747	S105	5.273
S20	5.962	S63	4.566	S106	5.269
S21	5.899	S64	4.568	S107	4.899
S22	5.898	S65	4.396	S108	4.896
S23	6.593	S66	4.399	S109	4.673
S24	6.592	S67	5.266	S110	4.669
S25	5.447	S68	5.263	S111	5.754
S26	4.840	S69	5.780	S112	5.759
S27	4.889	S70	5.780	S113	5.924
S28	4.915	S71	5.774	S114	5.922
S29	5.452	S72	5.779	S115	5.719
S30	6.040	S73	3.279	S116	5.717
S31	4.963	S74	2.738	S117	5.075
S32	4.960	S75	7.123	S118	5.072
S33	4.857	S76	5.568	S119	6.124
S34	4.852	S77	5.829	S120	6.127
S35	4.534	S78	4.494	S121	5.447
S36	4.530	S79	5.022	S122	5.450
S37	4.889	S80	5.017	S123	5.055
S38	4.883	S81	4.590	S124	5.057
S39	4.231	S82	4.588	S125	6.572
S40	4.228	S83	4.254	S126	6.569
S41	5.139	S84	4.257	S127	6.140
S42	5.134	S85	3.420	S128	6.137
S43	4.549	S86	3.431		

2.3 NIR定量模型的建立与验证

2.3.1 NIR光谱的采集 分别取128批药材样品粉末适量,平铺于样品杯内,置于NIR仪中,采用积分球漫反射法采样。采集条件:分辨率为8 cm⁻¹,扫描范围为12 000~4 000 cm⁻¹,扫描次数为64次,每批药材样品采集3张光谱。128批药材样品近红外光谱原始叠加图见图1。

2.3.2 校正集和验证集样品的选择 根据表1、表2药材样品中总苯乙醇苷、总环烯醚萜苷含量测定结果,按

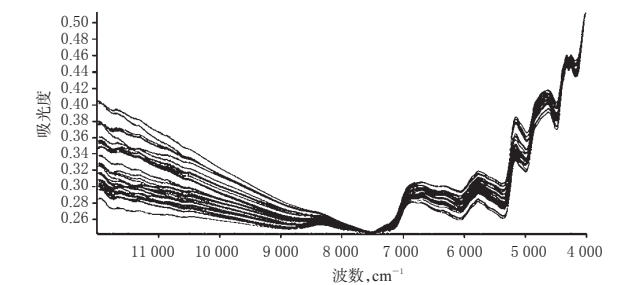


图1 128批药材样品近红外光谱原始叠加图
Fig 1 NIR primordial spectral superposition of 128 batches of medicinal samples

照校正集与验证集样品比例4:1、验证集样品的含量范围在校正集样品含量范围内的原则,分别选择99批、26批药材样品作为总苯乙醇苷的校正集和验证集(S2、S7、S22药材样品因偏差较大忽略不计);分别选择100批、27批药材样品作为总环烯醚萜苷的校正集和验证集(S99药材样品因偏差较大忽略不计),结果见表3、表4。

表3 总苯乙醇苷校正集和验证集含量范围
Tab 3 Content range of total phenylethanoid glycosides in calibration set and validation set

模型	批数	批号	含量范围,%	平均含量,%
校正集	99	S1、S3~S6、S9~S11、S13~S21、S23、S25~S30、S32~S34、S36~S43、S46、S48~S61、S63~S70、S72~S74、S76、S78~S79、S81、S83~S89、S91~S92、S94~S95、S97~S101、S104~S107、S109、S111、S113~S115、S117~S118、S120~S121、S124~S128	0.143~2.333	0.822
验证集	26	S8、S12、S24、S31、S35、S44~S45、S47、S62、S71、S75、S77、S80、S82、S90、S93、S96、S102~S103、S108、S110、S112、S116、S119、S122~S123	0.299~1.629	0.726

表4 总环烯醚萜苷校正集和验证集含量范围
Tab 4 Content range of total iridoid glycosides in calibration set and validation set

模型	批数	批号	含量范围,%	平均含量,%
校正集	100	S1~S9、S11~S12、S14~S33、S35~S36、S38~S39、S41~S43、S45~S55、S57、S59~S63、S66~S67、S69~S79、S81~S85、S87、S90~S91、S93~S94、S96~S97、S100~S101、S103、S105、S107、S109~S111、S113、S116~S125、S127	2.738~7.702	5.518
验证集	27	S10、S13、S34、S37、S40、S44、S56、S58、S64~S65、S68、S80、S86、S88~S89、S92、S95、S98、S102、S104、S106、S108、S112、S114~S115、S126、S128	3.431~6.952	5.242

2.3.3 光谱预处理方法的选择 不同种质不同生育期内的药材样品由于物理性质及测定条件等差异,会引起光谱基线漂移和斜率的变化,进而影响模型的预测性能,因此在建模前需要消除基线漂移和斜率的影响,采用NIR仪配套软件对原始光谱进行预处理。常用的预处理方法有原始光谱(Constant)、一阶导数法(FD)、多元散射校正法(MSC)、二阶导数法(SD)、标准归一化法(SNV)、平滑滤波系数法(SG)、直接差分法(ND)。

以校正集内部交叉验证相关系数(R^2)、校正均方根偏差(RMSEC)、预测均方根偏差(RMSEP)为指标,评价

模型的准确性与适用性,详见表5、表6。 R^2 越接近1,表示预测值与测定值越接近;RMSEC、RMSEP越小,表示模型预测效果越好,适用性越好。预处理后的近红外光谱见图2、图3。

表5 不同光谱预处理方法对总苯乙醇苷定量模型性能的影响

Tab 5 Effects of different spectral pretreatment methods on quantitative model performance of total phenylethanoid glycosides

预处理方法	R^2	RMSEC	RMSEP
Constant	0.977 6	0.116 0	0.180 0
Constant+FD	0.997 6	0.038 1	0.041 8
MSC	0.975 0	0.111 0	0.162 0
MSC+FD	0.998 2	0.032 7	0.035 5
MSC+SD	0.996 1	0.048 5	0.064 9
SNV+FD	0.998 2	0.112 0	0.037 6
SNV+SD	0.996 4	0.046 8	0.064 6

表6 不同光谱预处理方法对总环烯醚萜苷定量模型性能的影响

Tab 6 Effects of different spectral pretreatment methods on quantitative model performance of total iridoid glycosides

预处理方法	R^2	RMSEC	RMSEP
Constant	0.968 6	0.238 0	0.213 0
MSC	0.884 0	0.447 0	0.461 0
SNV	0.972 6	0.222 0	0.185 0
Constant+FD	0.980 4	0.188 0	0.058 7
Constant+SD	0.977 8	0.200 0	0.105 0
SNV+FD	0.980 9	0.186 0	0.035 1
MSC+FD	0.980 5	0.188 0	0.053 5
MSC+SD	0.980 4	0.189 0	0.049 3
SNV+SD	0.980 4	0.188 0	0.048 2
SNV+FD+SG	0.980 1	0.190 0	0.068 0
SNV+FD+ND	0.965 8	0.248 0	0.236 0

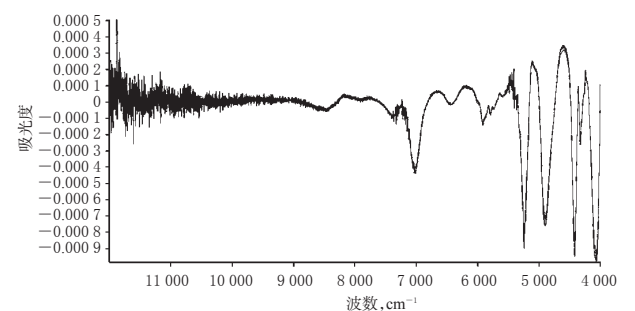


图2 总苯乙醇苷预处理后的近红外光谱图
Fig 2 NIR spectra of pretreated total phenylethanoid glycosides

由表5、表6、图2、图3可知,总苯乙醇苷、总环烯醚萜苷的最佳光谱预处理方法分别为MSC+FD、SNV+FD,表明所建总苯乙醇苷、总环烯醚萜苷模型的预测性能均较好。

2.3.4 建模光谱范围的选择 近红外光谱主要反映基团伸缩振动产生的倍频峰、组频峰的信息,由于倍频峰及组频峰的强度较弱不易区分,各峰重叠严重,因此冗

余信息及噪音干扰较大。为获取与待测组分含量相关的最大信息,以建立最优的预测模型,对不同光谱范围所建模型性能进行考察,详见表7、表8。

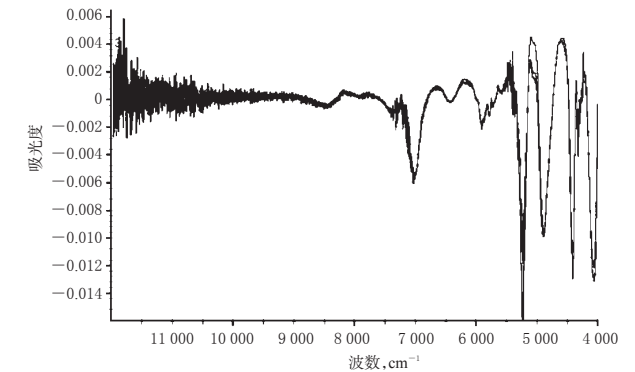


图3 总环烯醚萜苷预处理后的近红外光谱图
Fig 3 NIR spectra of pretreated total iridoid glycosides

表7 不同光谱范围对总苯乙醇苷定量模型性能的影响

Tab 7 Effects of different spectral ranges on the quantitative model performance of total phenylethanoid glycosides

光谱范围, cm⁻¹	R^2	RMSEC	RMSEP
5 003.00~10 998.90	0.997 4	0.042 2	0.101 0
5 402.63~10 998.93	0.997 1	0.043 2	0.122 0
6 703.35~11 065.54	0.998 2	0.032 7	0.035 5
7 899.00~10 429.15	0.994 7	0.158 1	0.080 0
9 376.21~10 280.03	0.960 1	0.204 6	0.206 0

表8 不同光谱范围对总环烯醚萜苷定量模型性能的影响

Tab 8 Effects of different spectral ranges on the quantitative model performance of total iridoid glycosides

光谱范围, cm⁻¹	R^2	RMSEC	RMSEP
3 999.63~11 998.93	0.972 1	0.187 0	0.047 4
3 999.63~9 102.36	0.980 9	0.186 0	0.035 1
4 317.49~6 615.30	0.968 1	0.271 0	0.331 0
7 906.57~11 793.64	0.959 0	0.195 0	0.093 6
5 317.40~9 482.59	0.970 3	0.191 0	0.070 2

由表7、表8可知,总苯乙醇苷、总环烯醚萜苷含量预测的最佳建模光谱范围分别为6 703.35~11 065.54 cm⁻¹、3 999.63~9 102.36 cm⁻¹。

2.3.5 主因子数的选择 在校正集药材样品相同的条件下,主因子数的选择对模型的准确性和NIR预测结果有较大影响,主因子数过少或过多均可影响模型的准确性。以交叉验证均方根偏差(RMSECV)为评价指标, RMSECV最小时得到的因子数为最佳主因子数,详见图4。

由图4可知,总苯乙醇苷、总环烯醚萜苷定量模型的RMSECV最小值分别为0.256 9、0.574 3,得到的最佳主因子数分别为10、7。

2.3.6 定量模型的建立 分别将99批总苯乙醇苷校正集样品和100批总环烯醚萜苷校正样品,通过TQ 8.0分

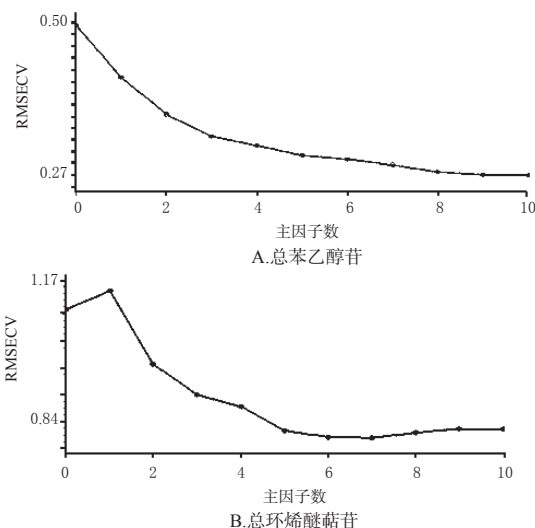


图4 主因子数对定量模型性能的影响

Fig 4 Effects of principal factor number on quantitative model performance

析软件结合偏最小二乘法(PLS)法,分别采用最佳光谱预处理方法 MSC+FD、SNV+FD,最佳建模光谱范围 $6\,703.35\sim 11\,065.54\text{ cm}^{-1}$ 、 $3\,999.63\sim 9\,102.36\text{ cm}^{-1}$,最佳主因子数 10.7,建立定量分析模型。总苯乙醇苷、总环烯醚萜苷校正集样品 NIR 模型见图 5、图 6。

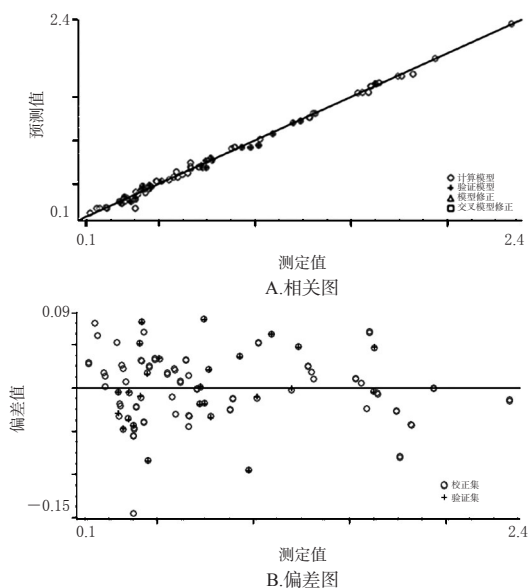


图5 总苯乙醇苷校正集样品 NIR 模型

Fig 5 NIR models of total phenylethanoid glycosides in calibration set

由图 5、图 6 可知,预测值与测定值相关性较好,所建模型准确性、适用性好。

2.3.7 定量模型的验证 分别在总苯乙醇苷、总环烯醚萜苷的定量分析模型中,将 26 批总苯乙醇苷验证集样品和 27 批总环烯醚萜苷验证集样品含量的测定值与预测值进行比较并计算偏差,详见表 9、表 10[注:绝对偏差=(预测值-测定值);相对偏差=(预测值-测定值)/测定值]。

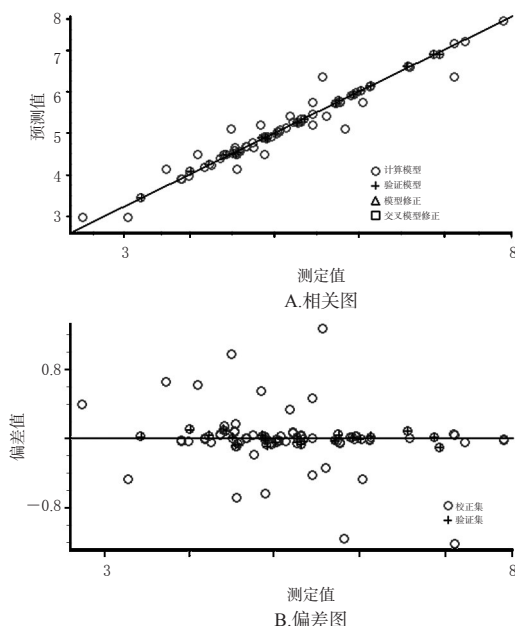


图6 总环烯醚萜苷校正集样品 NIR 模型

Fig 6 NIR models of total iridoid glycosides in validation set

表9 总苯乙醇苷定量模型验证结果(%)

Tab 9 Results of quantitative model validation of total phenylethanoid glycoside(%)

批号	测定值	预测值	绝对偏差	相对偏差
S8	0.351	0.364	0.013	0.037
S12	0.354	0.325	-0.029	-0.819
S24	0.771	0.769	-0.002	-0.003
S31	0.322	0.289	-0.033	-0.103
S35	0.512	0.470	-0.042	-0.082
S44	1.625	1.593	-0.032	-0.019
S45	0.415	0.408	-0.007	-0.017
S47	1.629	1.636	0.007	0.004
S62	1.198	1.192	-0.006	-0.005
S71	0.746	0.726	-0.020	-0.027
S75	0.299	0.268	-0.031	-0.103
S77	0.300	0.304	0.004	0.013
S80	0.377	0.377	0	0
S82	0.451	0.477	-0.004	-0.009
S90	0.747	0.782	0.035	0.047
S93	1.094	1.110	0.016	0.015
S96	1.018	0.988	-0.030	-0.030
S102	0.931	0.930	-0.001	-0.001
S103	0.779	0.778	-0.001	-0.001
S108	0.421	0.453	0.032	0.076
S110	0.722	0.719	-0.003	-0.004
S112	0.978	0.970	-0.008	-0.008
S116	0.454	0.438	-0.016	-0.035
S119	0.726	0.781	0.055	0.076
S122	0.410	0.416	0.006	0.015
S123	1.236	1.303	0.067	0.054

由表 9、表 10 可知,NIR 所建模型预测总苯乙醇苷、总环烯醚萜苷的含量结果与 UV 法的测定结果接近,绝对偏差及相对偏差均较小;经 SPSS 19.0 统计软件配对 t 检验,预测值与测定值比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。这表明所建模型的预测性能均较好,可用于药材

表 10 总环烯醚萜苷定量模型验证结果(%)
Tab 10 Results of quantitative model validation of total iridoid glycosides(%)

批号	测定值	预测值	绝对偏差	相对偏差
S10	6.882	6.930	0.048	0.697
S13	6.952	6.978	0.026	0.374
S34	4.852	4.879	0.027	0.556
S37	4.889	4.916	0.027	0.552
S40	4.228	4.193	-0.035	-0.828
S44	4.545	4.582	0.037	0.814
S56	5.731	5.702	-0.029	-0.506
S58	5.321	5.247	-0.074	-1.391
S64	4.568	4.602	0.034	0.744
S65	4.396	4.452	0.056	1.274
S68	5.263	5.351	0.088	1.672
S80	5.017	4.966	-0.051	-1.017
S86	3.431	3.424	-0.007	-0.204
S88	4.918	4.807	-0.111	-2.257
S89	5.934	5.894	-0.040	-0.674
S92	4.011	4.027	0.016	0.399
S95	4.431	4.386	-0.045	-1.016
S98	5.355	5.349	-0.006	-0.112
S102	4.508	4.473	-0.035	-0.776
S104	6.019	6.036	0.017	0.282
S106	5.269	5.281	0.012	0.228
S108	4.896	4.884	-0.012	-0.245
S112	5.759	5.756	-0.003	-0.052
S114	5.922	5.875	-0.047	-0.794
S115	5.719	5.653	-0.066	-1.154
S126	6.569	6.525	-0.044	-0.670
S128	6.137	6.058	-0.079	-1.287

样品中总苯乙醇苷、总环烯醚萜苷的含量测定。

3 讨论

由于怀地黄种质资源较丰富,不同种质怀地黄的表型性状(指不同种质怀地黄形状、大小)及质量差异较大,为保证所建模型的使用范围,本研究以怀地黄产区6种种质怀地黄为研究对象,共收集到不同生育期内的怀地黄块根样品 128 批,样品信息基本涵盖了怀地黄种质和生育期的差异对待测成分的影响,具有一定的代表性。

NIR 不仅可反映药材样品内部的组分、电负性和氢键等化学信息,还可反映样品的色泽、黏度、密度、颗粒度、均匀度等物理信息,可从整体上对药材样品的性状及质量进行综合评价。为提高模型的预测性能,本研究选择具有代表性的校正集样品,以最佳光谱预处理方法、建模光谱范围和主因子数建立校正模型,并对所建模型的预测性能进行评价,以保证模型的准确性。

NIR 是一种间接的分析方法,该方法的准确性和适用性取决于药材样品的数量、代表性、参考值测定的准确性及采集条件的稳定性等,而药材样品数量及代表性是建立较好性能模型的前提。本研究建立了怀地黄块根中总苯乙醇苷及总环烯醚萜苷的定量分析模型,但模

型并未涵盖地黄产地差异的信息,因此后续还有待采集其他产地的地黄,扩大样本量以进一步完善和优化模型。

参考文献

[1] 谢彩侠,李雅静,张苗,等.怀地黄中地黄苷 A、地黄苷 D 及益母草苷含量快速分析方法的建立[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(6):47-54.

[2] ZHANG RX,LI MX,JIA ZP. Rehmannia glutinosa: review of botany, chemistry and pharmacology[J]. J Ethnopharmacol,2008,117(2):199-214.

[3] 张汝学,贾正平,李茂星,等.地黄寡糖对 2 型糖尿病大鼠外周血像、激素水平和胰岛病理学的影响[J].西北国防医学杂志,2009,30(3):161-164.

[4] 谢彩侠,李雅静,张苗,等.不同种质地黄块根菊花心与非菊花心部位有效成分特征分析[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(20):75-83.

[5] 易满,封传华,汤小林,等.不同产地车前草中总苯乙醇苷和毛蕊花糖苷含量测定[J].中国中医药信息杂志,2017,24(9):84-86.

[6] 吉雪琪,孙鹏,祁建军,等.地黄生长期根叶中梓醇及总环烯醚萜苷含量变化[J].中国中药杂志,2014,39(3):466-469.

[7] 陈瑾,谭丽媛,李敏,等.冻干鲜地黄生地黄中梓醇和毛蕊花糖苷的含量比较[J].时珍国医国药,2018,29(7):1625-1627.

[8] SASAKI H,NISHIMURA H,CHIN M,et al. Nine phenethyl alcohol glycosides from Stachys sieboldii[J]. Phytochemistry,1989,28(30):875-877.

[9] 刘彦飞,赵宇,温学森,等.梓醇的药效学及化学转化研究现状[J].中国中药杂志,2007,32(12):1128-1130

[10] 杨云,张华锋,刘炯,等.道地产区不同品种怀地黄中梓醇及毛蕊花糖苷的含量比较[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(16):97-101.

[11] 王丰青,王丽娜,智惊宇,等.不同品种地黄中毛蕊花糖苷的动态积累规律变化[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(24):78-83.

[12] 谢彩侠,左春芳,白雁,等.近红外光谱技术快速测定盾叶薯蓣中伪原薯蓣皂苷的含量[J].中国药房,2013,24(15):1396-1399.

[13] 张迪文,白雁,谢彩侠,等.近红外光谱法快速测定女贞子药材中女贞苷的含量[J].中国药房,2016,27(36):5140-5143.

[14] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015 年版.北京:中国医药科技出版社,2015:374-377.

[15] 封传华,任琦,汤小林,等.车前草中总苯乙醇苷及毛蕊花糖苷的含量测定[J].中国药师,2017,20(8):1477-1479.

(收稿日期:2018-08-01 修回日期:2018-11-14)

(编辑:陈宏)