

## 近红外光谱法快速测定芍药根中芍药苷和芍药内酯苷

马越<sup>1</sup>, 刘永强<sup>1</sup>, 门宇凤<sup>1</sup>, 姚艺新<sup>1</sup>, 刘攀颜<sup>1</sup>, 龙飞<sup>1\*</sup>, 唐红军<sup>2</sup>, 廖中标<sup>2</sup>, 吕光华<sup>1\*</sup>

1. 成都中医药大学药学院 中药材标准化教育部重点实验室, 四川 成都 611137

2. 四川聚元药业集团有限公司, 四川 渠县 635200

**摘要:** **目的** 建立近红外光谱法(NIR)测定芍药根中芍药苷和芍药内酯苷含量的方法,快速评价其质量。**方法** 从四川、安徽、浙江采集了 65 份芍药根样品,晒干。先用 UPLC 测定样品中芍药苷和芍药内酯苷的含量,并测定其近红外光谱。选择 53 份为校正集样品,12 份为验证集样品;以 UPLC 测定的含量为参考值,运用偏最小二乘法,通过优化波段、光谱预处理方法和主因子数等参数,建立校正集样品芍药苷和芍药内酯苷含量与 NIR 之间的多元校正模型。根据未知样品(验证集)的 NIR 预测这 2 种药效成分的含量。**结果** 53 份校正集样品芍药苷和芍药内酯苷的 NIR 预测值与 UPLC 测定值之间的标准偏差分别为 1.437 2% 和 0.784 3%,相关系数分别为 0.990 2 和 0.994 4。12 份验证集样品芍药苷和芍药内酯苷的 NIR 预测值与 UPLC 测定值之间的标准偏差分别为 0.714 5% 和 0.632 4%,相关系数分别为 0.988 0 和 0.994 6。四川、安徽、浙江样品中这 2 种成分之和分别为 5.49%、5.33%、4.81%。**结论** NIR 可快速同时测定芍药根中芍药苷和芍药内酯苷的含量,评价其质量。以这 2 种药效成分之和为指标,四川、安徽、浙江栽培的芍药根的质量相近,无显著性差异。

**关键词:** 芍药; 近红外光谱; 芍药苷; 芍药内酯苷; UPLC

中图分类号: R282.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)03-0700-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.03.028

## Rapid determination of paeoniflorin and albiflorin in red peony root by near-infrared spectroscopy

MA Yue<sup>1</sup>, LIU Yong-qiang<sup>1</sup>, MEN Yu-feng<sup>1</sup>, YAO Yi-xin<sup>1</sup>, LIU Pan-yan<sup>1</sup>, LONG Fei<sup>1</sup>, TANG Hong-jun<sup>2</sup>, LIAO Zhong-biao<sup>2</sup>, LV Guang-hua<sup>1</sup>

1. Key Laboratory of Standardization of Chinese Medicinal Materials of Ministry of Education, School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. Sichuan Juyuan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Quxian 635200, China

**Abstract: Objective** To develop a method for the measurement of the content of paeoniflorin and albiflorin in red peony root (the roots of *Paeonia lactiflora*, RPR) by near-infrared spectroscopy (NIR) for quality rapid assessment. **Methods** A total of 65 RPR samples were collected from Sichuan, Zhejiang and Anhui of China, and then quantified the content of paeoniflorin and albiflorin by NIR and ultra-high performance liquid chromatography (UPLC). Fifty-three samples were chosen as the calibration set, while the remaining 12 samples were assigned to external validation set. The calibration model of paeoniflorin and albiflorin was further developed by modified partial least squares (MPLS) using UPLC data as reference based on optimized spectral regions, pre-treatment of spectrum and the number of principal divisors. The content of paeoniflorin and albiflorin in unknown samples (validation model) was predicted according to the validation set of NIR. **Results** The standard errors of prediction (SEP) for the contents between the predicted value of NIR method and the estimated value of UPLC method were 1.437 2% for paeoniflorin and 0.784 3% for albiflorin, and their correlation coefficient (R) were 0.990 2 for paeoniflorin) and 0.994 4 for albiflorin in 53 calibration set samples. Moreover, the SEP and R of that in 12 validation set samples were 0.714 5%, 0.988 0% for paeoniflorin, and 0.632 4, 0.994 6 for albiflorin, respectively. The sum of paeoniflorin and albiflorin in RPR cultivated in Sichuan, Anhui, and Zhejiang province in China were 5.49%, 5.33%, and 4.81%, respectively. **Conclusion** NIR can quantify the amounts of paeoniflorin and albiflorin quickly and simultaneously in RPR for quality rapid assessment. The quality of RPR cultivated in Sichuan, Anhui, and Zhejiang is similar based on the sum of these two bioactive compounds without significant differences.

**Key words:** *Paeonia lactiflora* Pall.; red peony root; paeoniflorin; albiflorin; near-infrared spectroscopy; UPLC

收稿日期: 2017-09-17

基金项目: 四川省教育厅科研项目(16ZA0113); 四川省科技计划项目(16FPZX0016)

作者简介: 马越, 女, 在读硕士, 研究方向为中药品种、质量及资源利用。Tel: 18782903365 E-mail: 562413277@qq.com

\*通信作者 龙飞, 男, 副教授, 研究方向为中药品种、质量及资源利用。Tel: (028)61800231 E-mail: lf\_tcm@163.com

吕光华, 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药品种、质量及资源利用。Tel: (028)61800232 E-mail: lughcd@aliyun.com

毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的根经不同方法加工成中药白芍和赤芍<sup>[1]</sup>。这 2 种中药均含有芍药苷、芍药内酯苷等单萜苷类药效成分, 具有养血调经、平抑肝阳(白芍), 或清热凉血、散瘀止痛(赤芍)的功效<sup>[2-6]</sup>。《中国药典》2015 年版仅以芍药苷为指标评价白芍和赤芍的质量<sup>[1]</sup>。但是, 芍药内酯苷为芍药苷的同分异构体, 在芍药中含量仅次于芍药苷<sup>[7]</sup>, 约为芍药苷的 37%, 并且具有补血、抗抑郁和治疗结肠炎等功效<sup>[8-10]</sup>。故以这 2 种药效成分为指标评价白芍和赤芍的质量更合理。

《中国药典》2015 年版中用 HPLC 测定芍药苷的含量。虽然该法具有灵敏度高和结果准确等优点<sup>[11]</sup>; 但是在测定过程中需对样品提取、制备, 具有操作繁琐、耗时等缺点。近红外光谱(NIR)是分子中含氢基团在 770~2 500 nm 内振动的倍频与合频谱线。先通过 HPLC 等方法测定样品中某成分的含量和 NIR, 建立已知样品(校正集样品)的含量与 NIR 之间的多元校正模型; 再运用此模型及未知样品(或验证集样品)的 NIR, 可预测未知样品中该成分的含量<sup>[12]</sup>。该法已应用于菟丝子、厚朴等中药材、粉末或提取物中药效成分的测定<sup>[13-16]</sup>, 具有操作简便、快速的优点, 适合于中药材的快速检测。虽然已有学者将 NIR 法用于白芍中芍药苷的快速测定和白芍提取过程的在线监控<sup>[17-18]</sup>, 但是只测定了芍药苷的含量, 未测定芍药内酯苷的含量。

本研究将 UPLC 法与 NIR 相结合, 为了比较四川、浙江和安徽 3 大芍药基地栽培的芍药根的质量, 从这 3 大产地采集了 65 份芍药根样品。先用 UPLC 测定样品中芍药苷和芍药内酯苷的含量, 并测定其 NIR。选择 53 份样品的 NIR 为校正集样品, 12 份样品的 NIR 为验证集样品; 以 UPLC 测定的含量为参考值, 运用偏最小二乘法建立校正集样品芍药苷和芍药内酯苷含量与近红外光谱之间的多元校正模型, 再根据未知样品(验证集)NIR 预测这两种成分的含量。并用预测标准偏差和相关系数评价 NIR 预测结果的准确性, 以此建立 NIR 快速测定芍药中芍药苷和芍药内酯苷含量的方法; 还评价了四川、安徽和浙江栽培芍药根的质量。

## 1 仪器与材料

NIRS<sup>TM</sup> DS 2500F 近红外分析仪(Foss 公司, 丹麦), 配置硅(850~1 100 nm)检测器和硫化铅(1 100~2 500 nm)检测器, 仪器分辨率为 0.5 nm。光谱采集软件为 ISIScan Nova<sup>TM</sup>; 图谱和数据处理软

件为 Mosaic solo 版和 Win ISI III (InfraSoft International 公司, 美国)。Agilent 1290 型超高效液相色谱仪(配置 G4204A 四元梯度泵, G4226A 自动进样仪, G1316C 柱温箱, G4212A 二极管阵列检测器, 美国)。电子天平(BSA224S 型, max=220 g, d=0.1 mg; BP211D 型, max=41 g, d=0.01 mg, 北京赛多利斯科学仪器有限公司)。KQ-500VDE 型双频数控超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司)。

对照品芍药苷(批号 MUST-14081408)和芍药内酯苷(批号 MUST-14031214)均购于成都曼斯特生物科技有限公司, 质量分数均大于 98%; 乙腈、甲醇均为色谱纯(Sigma 公司); 乙醇、磷酸均为分析纯(成都市科龙化工试剂厂); ULUP-IV-10T 型超纯水由优普超纯水器(四川优普超纯科技有限公司)制备。

从四川、浙江和安徽采集了 65 份芍药根样品, 晒干(即赤芍), 备用。所有样品由成都中医药大学药学院中药鉴定教研室吕光华教授鉴定均为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的根(表 1)。

## 2 方法与结果

### 2.1 近红外光谱的采集

将 65 份芍药根样品研碎, 过 65 目筛; 取适量粉末平铺于样品杯中, 厚度大于 1.5 mm, 置于近红外光谱仪中, 测定近红外光谱。每份药材样品的粉末测定 2 次, 计算其平均光谱, 作为该份药材样品的近红外光谱。NIR 光谱采集条件: 光谱收集范围为 850~2 500 nm, 每张光谱累加扫描 30 次, 分辨率为 0.5 nm。65 份芍药样品的 NIR 图见图 1。

### 2.2 UPLC 法测定芍药苷与芍药内酯苷含量

色谱柱为 Waters CORTECS<sup>TM</sup> C<sub>18</sub>(100 mm×4.6 mm, 2.7 μm)。流动相为乙腈(A)-0.05%磷酸(B), 梯度洗脱: 0~7 min, 4%~9% A; 7~11 min, 9% A; 11~14 min, 9%~13% A; 14~20 min, 13%~20% A; 20~25 min, 20%~35% A; 25~30 min, 35% A。体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 进样量 3 μL; 检测波长 230 nm。在此色谱条件下, 芍药苷和芍药内酯苷分离良好(图 2)。参照本课题组前期建立的方法<sup>[7]</sup>, 测定芍药苷和芍药内酯苷量。每份药材样品平行 2 份, 取平均值。用烘干法测定药材粉末的含水量, 按干燥品计算这 2 种药效成分的量, 结果见表 2、3。65 份芍药根中芍药苷的质量分数为 0.97%~6.05%, 芍药内酯苷的质量分数为 0.33%~3.41%。

### 2.3 NIR 定量分析模型的建立

2.3.1 校正集和验证集的选择 利用定标软件 Win

表 1 芍药样品的来源

Table 1 Source of *Paeonia lactiflora* root

样品编号	样品产地	采收时间	样品编号	样品产地	采收时间
1	四川省渠县李渡乡	2014-09	34	浙江省磐安县新渥镇	2015-11
2	四川省渠县新市乡	2014-09	35	浙江省磐安县新渥镇	2015-11
3	四川省渠县青神乡	2015-11	36	浙江省磐安县新渥镇	2015-11
4	四川省渠县青神乡	2015-11	37	浙江省东阳市马宅镇	2014-12
5	四川省渠县青神乡	2015-11	38	浙江省东阳市马宅镇	2014-12
6	四川省渠县青神乡	2015-11	39	浙江省东阳市马宅镇	2014-12
7	四川省万源市石塘乡	2014-11	40	浙江省东阳市马宅镇	2014-12
8	四川省中江县合兴乡	2015-01	41	浙江省东阳市马宅镇	2014-12
9	四川省中江县合兴乡	2015-01	42	浙江省东阳市马宅镇	2015-11
10	四川省中江县合兴乡	2015-01	43	浙江省东阳市马宅镇	2015-11
11	四川省中江县合兴乡	2015-01	44	浙江省东阳市马宅镇	2015-11
12	四川省中江县合兴乡	2015-01	45	安徽省界首市芦村镇	2014-11
13	四川省中江县集凤镇	2015-01	46	安徽省太和县双庙乡	2014-12
14	四川省中江县集凤镇	2015-01	47	安徽省太和县双庙乡	2014-12
15	四川省中江县集凤镇	2015-01	48	安徽省谯城区大杨镇	2014-12
16	四川省中江县集凤镇	2015-01	49	安徽省谯城区十八里镇	2014-12
17	四川省中江县集凤镇	2015-01	50	安徽省谯城区十八里镇	2014-12
18	四川省中江县集凤镇	2015-01	51	安徽省谯城区十八里镇	2014-12
19	四川省中江县集凤镇	2015-01	52	安徽省谯城区十八里镇	2015-11
20	四川省中江县集凤镇	2015-01	53	安徽省谯城区十八里镇	2015-11
21	四川省中江县集凤镇	2015-01	54	安徽省谯城区十八里镇	2015-11
22	四川省中江县集凤镇	2015-01	55	安徽省谯城区十八里镇	2015-11
23	四川省中江县集凤镇	2015-01	56	安徽省谯城区十九里镇	2015-11
24	浙江省磐安县安文镇	2014-12	57	安徽省谯城区十九里镇	2015-11
25	浙江省磐安县安文镇	2014-12	58	安徽省涡阳县陈大镇	2014-12
26	浙江省磐安县深泽乡	2014-12	59	安徽省涡阳县义门镇	2014-12
27	浙江省磐安县新渥镇	2014-12	60	安徽省涡阳县义门镇	2015-11
28	浙江省磐安县新渥镇	2014-12	61	安徽省涡阳县义门镇	2015-11
29	浙江省磐安县新渥镇	2015-11	62	安徽省涡阳县义门镇	2015-11
30	浙江省磐安县新渥镇	2015-11	63	安徽省涡阳县义门镇	2015-11
31	浙江省磐安县新渥镇	2015-11	64	安徽省涡阳县义门镇	2015-11
32	浙江省磐安县新渥镇	2015-11	65	安徽省涡阳县义门镇	2015-11
33	浙江省磐安县新渥镇	2015-11			

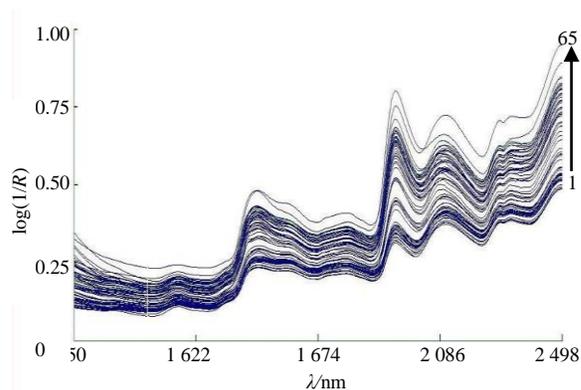


图 1 65 份芍药样品的近红外光谱

Fig. 1 NIR spectra of 65 *P. lactiflora* samples

ISI III 将 65 份芍药样品的 NIR 数据转化为 PCA 得分文件, 以马氏距离 3.0 为剔除限, 计算各样品的马氏距离。结果表明, 65 份样品中, 没有马氏距离大于 3.0 的超常样品。以 53 份临近马氏距离为 0.2

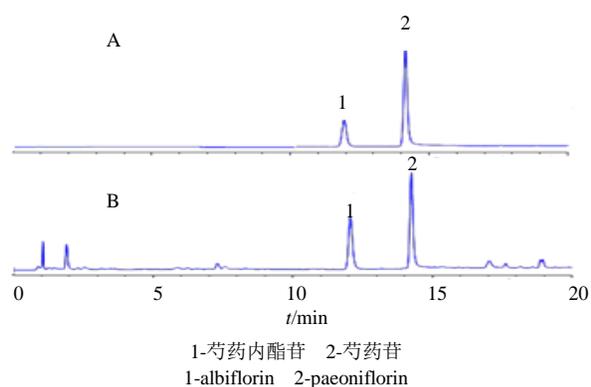


图 2 对照品 (A) 及芍药样品 (B) 的 UPLC 色谱图

Fig. 2 UPLC Chromatograms of reference substance (A) and sample (B)

的样品作为建立定标模型校正集的样品, 剩余 12 份样品作为验证集样品。UPLC 测定结果 (表 2、3) 表明, 验证集样品芍药苷和芍药内酯苷的含量在校正集含量范围内, 说明样品集的划分合理。

表 2 53 份校正集样品 NIR 预测与 UPLC 测定的比较

Table 2 Comparison on NIR predicted value and HPLC quantified value for calibration set samples

样品	芍药苷/%			芍药内酯苷/%		
	NIR 测定值	UPLC 测定值	绝对偏差	NIR 测定值	UPLC 测定值	绝对偏差
1	4.34	4.34	0.00	1.47	1.33	0.14
2	3.65	3.63	0.03	0.63	0.67	-0.04
4	3.64	3.86	-0.22	1.22	1.12	0.10
5	3.70	3.60	0.09	1.19	1.13	0.06
7	3.72	3.79	-0.08	0.73	0.73	0.00
8	5.36	5.21	0.15	1.52	1.61	-0.08
10	4.18	4.06	0.12	1.67	1.71	-0.04
11	4.65	4.77	-0.12	1.57	1.51	0.06
12	4.15	3.99	0.16	1.18	1.14	0.03
14	2.49	2.34	0.15	1.59	1.61	-0.02
15	4.08	3.93	0.15	1.16	1.04	0.13
16	5.90	6.05	-0.15	1.70	1.60	0.10
17	4.03	3.92	0.10	1.78	1.68	0.10
18	3.58	3.64	-0.06	1.43	1.58	-0.14
19	3.81	4.17	-0.36	1.36	1.28	0.08
20	3.81	3.92	-0.12	1.38	1.40	-0.02
21	3.84	4.07	-0.23	1.41	1.42	-0.01
22	4.54	4.46	0.08	0.91	0.89	0.02
23	2.50	2.54	-0.03	2.01	1.91	0.10
24	1.17	1.04	0.13	1.97	1.81	0.16
25	2.13	2.25	-0.12	2.80	2.93	-0.14
26	2.70	2.82	-0.13	1.15	1.09	0.05
27	3.19	3.19	0.00	3.35	3.41	-0.07
28	3.20	3.10	0.10	2.72	2.88	-0.17
29	4.89	4.91	-0.02	3.44	3.39	0.06
30	2.74	2.71	0.03	2.60	2.67	-0.07
31	4.43	4.48	-0.05	3.02	2.98	0.05
34	4.25	4.30	-0.05	2.60	2.66	-0.06
35	4.76	4.94	-0.18	0.40	0.38	0.02
36	1.65	1.43	0.23	0.49	0.52	-0.03
37	3.15	2.96	0.18	0.68	0.73	-0.05
38	4.19	4.24	-0.05	1.00	1.05	-0.05
40	0.90	0.97	-0.07	0.40	0.33	0.06
41	3.32	3.14	0.18	0.62	0.69	-0.07
42	2.69	2.68	0.01	1.17	1.10	0.07
43	1.87	1.90	-0.03	0.48	0.52	-0.04
44	3.40	3.64	-0.24	1.48	1.46	0.02
45	2.86	3.00	-0.13	0.53	0.58	-0.05
47	3.35	3.47	-0.13	1.19	1.21	-0.02
48	3.45	3.40	0.05	1.31	1.33	-0.02
49	3.29	3.35	-0.06	0.85	0.81	0.04
51	3.27	3.31	-0.05	1.41	1.40	0.01
52	3.60	3.52	0.09	1.41	1.55	-0.14
53	4.58	4.60	-0.01	1.68	1.57	0.10
54	4.41	4.26	0.15	1.50	1.54	-0.04
55	4.61	4.60	0.02	1.76	1.76	0.00
56	4.60	4.55	0.05	1.88	1.93	-0.05
57	4.74	4.69	0.05	1.32	1.38	-0.06
60	3.99	3.99	0.00	2.00	1.91	0.09
61	3.97	4.27	-0.29	0.50	0.49	0.01
62	4.56	4.25	0.31	1.84	1.97	-0.14
64	4.18	4.18	0.00	2.18	2.10	0.08
65	4.17	4.17	0.00	1.77	1.73	0.04

表 3 12 份验证集样品 NIR 测定与 UPLC 测定的比较

Table 3 Comparison of NIR predicted value and UPLC quantified value for external validation set samples

样品编号	芍药苷/%			芍药内酯苷/%		
	NIR 测定值	UPLC 测定值	绝对偏差	NIR 测定值	UPLC 测定值	绝对偏差
3	5.29	5.12	0.17	2.35	2.35	0.00
6	3.87	3.87	0.00	0.87	0.85	0.02
9	4.30	4.24	0.07	1.82	1.89	-0.08
13	3.78	3.72	0.06	2.17	2.23	-0.06
32	4.29	4.41	-0.12	0.70	0.68	0.02
33	4.26	4.40	-0.14	2.20	2.13	0.07
39	3.78	3.78	0.00	0.67	0.66	0.02
46	3.83	3.91	-0.08	1.35	1.26	0.09
50	3.62	3.89	-0.27	1.39	1.32	0.07
58	4.24	4.41	-0.17	1.55	1.61	-0.06
59	3.03	2.92	0.12	0.70	0.80	-0.10
63	4.15	4.16	-0.01	1.38	1.30	0.08

2.3.2 定标模型参数的选择

(1) 建模波段的选择: 由于全波段谱图所包含的信息量较大, 并且包含较多冗余信息, 应筛选出建模的最佳波段, 提高化学计量的计算速度<sup>[18]</sup>。同时, 因不同波段交叉验证的相关系数不同, 选取交

叉验证相关系数最接近于 1 的波段为最佳建模波段。结果表明, 芍药苷和芍药内酯苷分别在 1 420~1 890 nm 和 1 360~1 900 nm 内的相关系数接近于 1, 表明该波段的校正性能最好 (表 4)。

(2) 光谱预处理方法的优化: 由于平滑光谱可

表 4 NIR 不同波段对模型预测性能的影响

Table 4 Effect of different NIR spectral regions on model performance

波段/nm	定标标准偏差		交叉验证标准差		交叉验证相关系数	
	芍药苷	芍药内酯苷	芍药苷	芍药内酯苷	芍药苷	芍药内酯苷
850~1 100	2.189	2.344	3.926	4.173	0.866 9	0.692 1
1 100~1 900	2.222	2.601	4.118	3.890	0.842 6	0.732 5
1 900~2 200	3.683	3.891	5.866	4.376	0.699 1	0.661 4
2 200~2 498	4.240	3.967	5.371	5.157	0.720 4	0.529 8
1 400~1 900	1.733	1.028	3.426	2.349	0.894 4	0.895 5
1 420~1 890	1.853	1.780	2.808	3.236	0.927 7	0.814 9
1 360~1 900	1.744	1.081	3.599	2.296	0.883 5	0.901 9

以降低光谱的噪声, 多元散射校正可以消除基线漂移的影响<sup>[19]</sup>。为此, 本研究先将光谱进行修正偏最小二乘回归 (MPLS) 和二阶导数 4 点平滑 (2, 4, 4, 1), 再比较 6 种不同多元散射校正消除基线漂移的效果, 即: 1) 标准正常化处理 (SNV only); 2) 标准正常化结合去散射处理 (SNV and detrend); 3) 去散射处理 (detrend only); 4) 标准化多元散射校正 (standard MSC); 5) 重力多元散射校正 (weighted MSC); 6) 反向多元散射校正 (inverse MSC)。选取相应交叉验证相关系数最接近于 1 的光谱预处理方法为最佳光谱预处理方法。结果表明 (表 5、6), 芍药苷、芍药内酯苷分别经重力多元散射校正 (方

法 5) 或标准正常化结合去散射处理后 (方法 2) 的交叉验证相关系数最大, 消除基线漂移的效果最好。

(3) 主因子数的选择: 由于近红外光谱建立定标模型时, 选用的主因子数对近红外光谱预测结果和模型的稳定性影响较大。若选用的主因子数太少, 则光谱中信息含量比较少, 一些有用的信息可能被删除, 导致近红外光谱模型预测的不稳定。而主因子数太多, 则会导致过拟合现象<sup>[20-21]</sup>; 虽然模型对内部样品的预测效果较好, 但对外部样品预测结果的误差较大<sup>[12]</sup>。为此, 本研究选择 1 400~1 900 nm 的光谱, 采用标准正常化结合去散射处理, 分别比较主因子数为 5~13 对交叉验证相关系数的影响。

表 5 芍药苷经不同多元散射校正的结果

Table 5 Calibration results by different multi-scattering correlations for paeoniflorin

多元散射校正	定标标准偏差	交叉验证标准偏差	交叉验证相关系数
标准正常化处理	1.835	2.797	0.928 2
标准正常化结合去散射处理	1.853	2.808	0.927 7
去散射处理	2.095	3.308	0.900 5
标准化多元散射校正	1.838	2.779	0.929 2
重力多元散射校正	1.727	2.799	0.929 5
反向多元散射校正	1.850	2.814	0.927 3

表 6 芍药内酯苷经不同多元散射校正方法的结果

Table 6 Calibration results by different multi-scattering correlations for albiflorin

多元散射校正	定标标准偏差	交叉验证标准偏差	交叉验证相关系数
标准正常化处理	1.441	2.395	0.893 2
标准正常化结合去散射处理	1.081	2.296	0.901 9
去散射处理	1.682	3.729	0.754 2
标准化多元散射校正	1.461	2.860	0.855 3
重力多元散射校正	1.512	2.847	0.856 7
反向多元散射校正	1.380	2.781	0.863 3

结果表明,当主因子数大于 11 以后,芍药苷和芍药内酯苷的交叉验证相关系数均达到最大值,接近于 1 (图 3)。故本研究选择的主因子数为 11。综上,芍药苷最佳定标模型的参数为波段 1 420~1 890 nm,主因子数为 11,光谱预处理方法为 MPLS、二阶导数 4 点平滑和重力多元散射校正。芍药内酯苷最佳定标模型的参数为波段 1 360~1 900 nm,主因子数为 11,光谱预处理方法为 MPLS、二阶导数 4 点平滑和标准正常化结合去散射处理。

**2.3.3 模型的验证与评价** 分别用建立的定标模型对芍药根的校正集和验证集样品中芍药苷和芍药内酯苷的含量进行预测;其校正集(内部校正)和验证集(外部校正)的相关性图谱见图 4、5。由图可

见,校正集与验证集样品均匀地分布在回归线两侧,表明该模型具有良好的线性。NIR 预测值和 UPLC

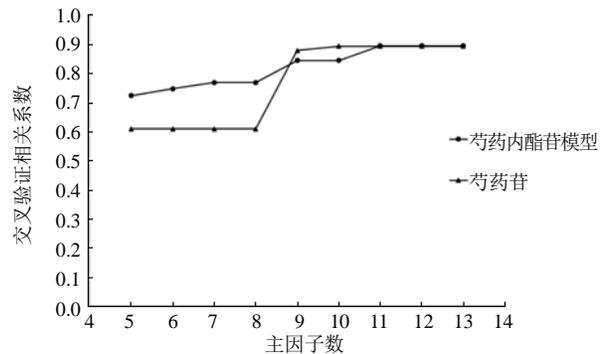


图 3 主因子数对交叉验证相关系数的影响  
Fig. 3 1-VR value with different main factors

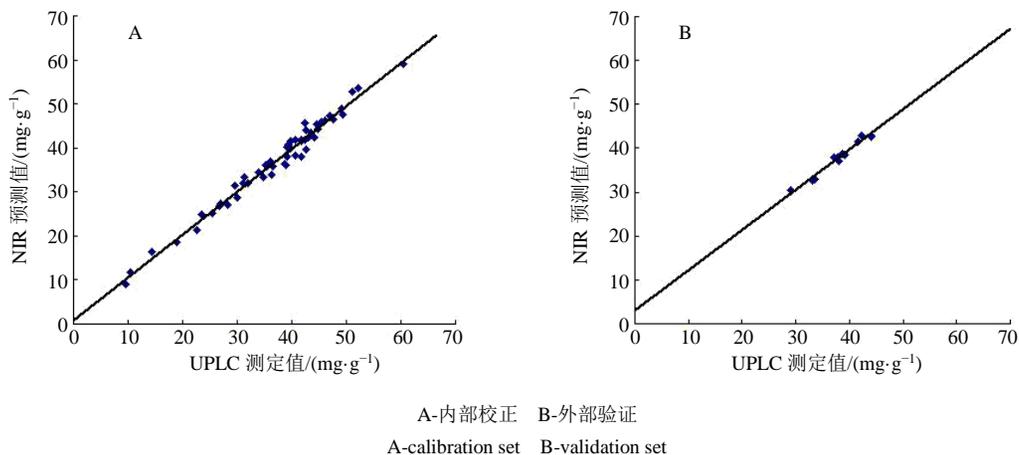


图 4 芍药苷的 NIR 预测值与 UPLC 测定值之间的相关性

Fig. 4 Correlation between NIR predicted data and UPLC values for paeoniflorin

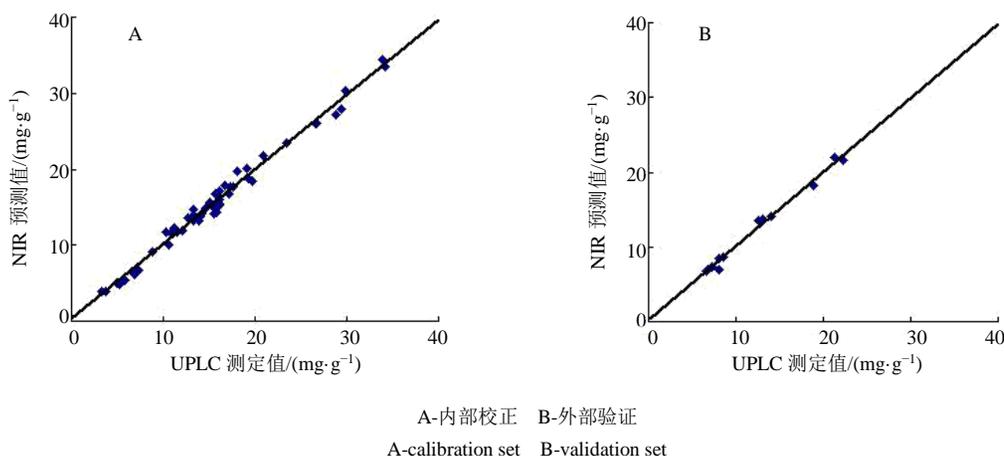


图 5 芍药内酯苷的 NIR 预测值与 UPLC 测定值之间的相关性  
 Fig. 5 Correlation between NIR predicted data and UPLC values for albiflorin

测定值的结果见表 2、3。65 份样品的最大绝对偏差 0.31%；以验证集样品的 NIR 预测值与 UPLC 测定值之比作为预测回收率<sup>[22]</sup>，芍药苷和芍药内酯苷的回收率分别为 99.37% 和 100.75% ( $n=12$ )。校正集样品芍药苷和芍药内酯苷的预测标准偏差分别为 1.437 2% 和 0.784 3% ( $n=53$ )，该值越小越好；UPLC 测定值与 NIR 预测值之间的相关系数分别为 0.990 2 和 0.994 4 ( $n=53$ )。验证集样品芍药苷和芍药内酯苷的预测标准偏差分别为 0.714 5% 和 0.632 4% ( $n=12$ )，UPLC 测定值与 NIR 预测值之间的相关系数分别为 0.988 0 和 0.994 6 ( $n=12$ )。由此可见，NIR 预测值与 UPLC 测定值接近，建立的定标模型的预测性能良好。

### 2.4 三大产地芍药根的质量比较

四川、安徽、浙江是全国白芍的主产区。为了比较这 3 个产区栽培的芍药根的质量，本研究从这 3 个产地采挖了 65 份芍药根样品。其中，四川、安徽、浙江的样品数分别为 23、21 和 21。测定芍药苷和芍药内酯苷的含量。结果表明（表 7），这 3 个产地栽培的芍药根中芍药苷和芍药内酯苷的含量之和不同；但是，经 SPSS 21.0 统计软件方差分析，两两之间均无显著性差异 ( $P>0.05$ )。《中国药典》2015 年版中以芍药苷为指标评价白芍和赤芍的质量。若以芍药苷为指标，这 3 大产地栽培的芍药根中芍药苷的含量不同，四川和安徽样品相近 ( $P>0.05$ )，均高于浙江样品 ( $P<0.05$ )。

表 7 三大产地芍药根的质量比较  
 Table 7 Comparison of quality for samples cultivated in three areas

产地	芍药苷/%		芍药内酯苷/%		芍药苷与芍药内酯苷之和/%	
	NIR 测定值	UPLC 测定值	NIR 测定值	UPLC 测定值	NIR 测定值	UPLC 测定值
四川	4.05	4.05	1.44	1.42	5.49	5.47
浙江	3.19	3.20	1.62	1.62	4.81	4.82
安徽	3.93	3.95	1.40	1.41	5.33	5.36

### 3 讨论

本研究以 65 份芍药根（赤芍）为样品，应用 NIR 法结合 UPLC 法，通过对 NIR 波段、光谱预处理方法、主因子数的选择，建立了 NIR 同时预测芍药苷和芍药内酯苷的定标模型；再通过 NIR 的预测值与 UPLC 法的测定值之间标准偏差、相关系数等验证，表明该定标模型的预测性能良好。根据芍药的 NIR “在线” 或 “离线” 均可预测芍

药苷和芍药内酯的含量，快速评价芍药的质量。同时，通过 23 份四川样品、21 份浙江样品和 21 份安徽样品的比较，发现以这 2 种药效成分之和为指标，四川、安徽、浙江栽培芍药根的质量相近，差异不显著。若根据《中国药典》2015 年版规定赤芍以芍药苷为指标，则这三大产地栽培的芍药根则有显著性差异，四川和安徽栽培的芍药根优于浙江栽培的芍药根。

## 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 张建军, 李伟, 王丽丽. 赤芍和白芍品种、功效及临床应用述评 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(20): 3595-3601.
- [3] 罗淳. 浅谈赤芍与白芍的历史源流、划分及应用 [J]. 光明中医, 2011, 26(11): 2356-2357.
- [4] He C, Peng Y, Feng Y, et al. Quick comparison of *Radix Paeonia Alba*, *Radix Paeonia Rubra*, and *Cortex Moutan* by high performance liquid chromatography coupled with monolithic columns and their chemical pattern recognition [J]. *Pharm Mag*, 2012, 31(8): 237-243.
- [5] Martey O N K, Shi X, He X. Advance in pre-clinical pharmacokinetics of paeoniflorin, a major monoterpene glucoside from the root of *Paeonia lactiflora* [J]. *J Pharm Pharm*, 2013, 65(12): 1679-1804.
- [6] 秦亚东, 钟正灵, 汪荣斌, 等. 白芍多糖对D-半乳糖胺/脂多糖诱导小鼠急性肝损伤的保护作用 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2015, 20(8): 854-858.
- [7] 刘永强, 马越, 杨博文, 等. UHPLC 测定不同产地芍药根的有效成分 [J]. 中药材, 2016, 39(5): 980-985.
- [8] 朱映黎, 王林元, 王景霞, 等. 芍药内酯苷对环磷酸腺致血虚小鼠的补血作用及机制 [J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(5): 1892-1896.
- [9] 张建军, 王景霞, 李伟, 等. 芍药内酯苷抗抑郁作用的实验研究 [J]. 中药与临床, 2011, 2(6): 35-37.
- [10] Fang X H, Wu X, Zhu X M, et al. Albiflorin attenuates inflammatory injury by regulating the TLR4 signaling pathway and its negative regulating factor Tollip in experimental models of ulcerative colitis [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2016, 25(5): 366-372.
- [11] 马双成. 药品检测新技术从 HPLC 到 UHPLC [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012.
- [12] 严衍禄, 陈斌, 朱大洲, 等. 现代近红外光谱分析的原理、技术与应用 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2013.
- [13] 孙荣梅, 相秉仁, 于丽燕, 等. 近红外光谱法用于菟丝子药材的鉴别 [J]. 药学与临床研究, 2010, 18(6): 534-536.
- [14] 余驰, 姜红, 刘爱萍. 近红外漫反射光谱法建立厚朴药材的定性模型 [J]. 药物分析杂志, 2009, 29(4): 656-658.
- [15] 吕琳昂, 师涛, 杨辉华, 等. NIR 在线检测监控安神补脑液水提过程的研究 [J]. 中草药, 2009, 40(2): 224-228.
- [16] 杜晨朝, 赵安邦, 吴志生, 等. 近红外光谱结合不同变量筛选方法用于金银花提取过程中绿原酸量的在线监测 [J]. 中草药, 2017, 48(16): 3317-3321.
- [17] 张慧, 胡甜, 臧恒昌. 近红外光谱分析技术在白芍水提过程中的在线控制研究 [J]. 药学研究, 2015, 34(5): 272-275.
- [18] 柳艳云, 胡昌勤. 近红外分析中光谱波长选择方法进展与应用 [J]. 药物分析杂志, 2010, 30(5): 968-975.
- [19] 余宏凯, 陈彦, 孙玉军, 等. 白芍多糖分离纯化及性质分析 [J]. 生物学杂志, 2008, 25(5): 34-36.
- [20] 熊明华, 方少敏, 饶毅, 等. 白芍水提过程中芍药苷含量的 NIRS 快速测定研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(21): 52-56.
- [21] 刘玲玲, 赵博, 张银桥, 等. 小麦品质近红外检测系统的设计与试验研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2013, 33(1): 92-97.
- [22] 白雁, 李小庆, 雷敬卫. 近红外光谱法快速测定白芍中芍药苷含量 [J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(3): 358-362.