

基于近红外技术的金银花药材多指标成分快速检测

耿姝, 陈勇, 金叶, 栾连军, 刘雪松, 吴永江* (浙江大学药学院, 杭州 310058)

摘要: 目的 采用近红外光谱(NIR)漫反射法和化学计量学方法对金银花药材质控指标绿原酸和木犀草苷的含量同时进行快速检测, 实现金银花药材质量的高效评价。方法 HPLC 分别测定不同批次金银花药材中绿原酸和木犀草苷成分的含量, 同时采集药材的 NIR 光谱, 最终采用偏最小二乘回归(PLSR)法分别建立 NIR 与绿原酸和木犀草苷含量间的定量校正模型, 并对预测集样品中指标成分的含量进行预测。结果 所建 PLSR 定量模型的相关系数均 >0.90 , RMSECV 分别为 0.469 和 0.012 4; 采用独立验证集对模型进行外部验证, RMSEP 分别为 0.478 和 0.010 5, 与 RMSEC 值相近且与 RMSECV 的比值接近于 1, RSEP 分别为 10.19% 和 14.76%。所建 NIR 快速检测方法的准确度和精密度结果良好。结论 该分析方法简便高效, 可应用于不同批次金银花药材中绿原酸和木犀草苷 2 个关键质控指标含量的快速检测及质量控制, 结果准确可靠。

关键词: 近红外光谱; 金银花药材; 绿原酸; 木犀草苷; 偏最小二乘回归法; 快速检测

中图分类号: R284.1; R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2016)02-0144-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.02.003

Rapid Quantitative Determination of Multi-Indicators in *Lonicerae Japonicae Flos* by Near-Infrared Spectroscopy

GENG Shu, CHEN Yong, JIN Ye, LUAN Lianjun, LIU Xuesong, WU Yongjiang* (College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a set of quantitative calibration models based on near-infrared (NIR) spectroscopy and chemometrics methods for rapid determination of chlorogenic acid and luteoloside content in *Lonicerae Japonicae Flos* at the same time, which is useful for the quality control process. **METHODS** The PLSR algorithm was finally used to build NIR quantitative models between the spectra and the content of chlorogenic acid and luteoloside determined by the reference methods. The validation set was used to identify the predictive performance of the established models. **RESULTS** For PLSR models, the correlation coefficients of calibration and cross-validation were both >0.90 , and the root mean square errors of cross validation (RMSECV) of two indicators were 0.469 and 0.012 4, respectively. External validation proved that the root mean square errors of prediction (RMSEP) were 0.478 and 0.010 5, which were close to RMSEC values, respectively. The ratio of RMSECV to RMSEP was close to 1, and the relative standard errors (RSEP) for chlorogenic acid and luteoloside content were 10.19% and 14.76%. This established method was initiatively proved to be accurate and stable. **CONCLUSION** NIR can be used for the rapid determination of chlorogenic acid and luteoloside content in *Lonicerae Japonicae Flos* at the same time, which is beneficial and crucial for the quality control of this raw material in TCM pharmaceutical factory.

KEY WORDS: near-infrared spectroscopy; *Lonicerae Japonicae Flos*; chlorogenic acid; luteoloside; partial least squares regression; rapid quantitative determination

金银花为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或带初开的花^[1], 具有很高的保健和药用价值, 深受国内外学者和企业家的重视, 其中绿原酸、黄酮类化合物是金银花中的主要药效成分, 具有清热解毒、抗氧化、抗肿瘤功能^[2-4]。金银花药材来源广泛, 品种繁多, 同一品种药材因其生长条件、采收季节、加工方式及贮藏条件的不同而在质量上存在差异, 从而使中药制剂存

在一定的质量差异, 迫切需要建立一种快速含量测定的实时监控方法以确保最终产品质量。目前使用 HPLC 进行金银花药材中绿原酸、木犀草苷含量测定及质量控制的研究较多^[5-6], 但分析过程耗时耗力, 不适用于工厂大批量金银花药材的快速分析, 缺乏通用性。

近红外光谱(near-infrared spectroscopy, NIR)分析技术是目前发展最快和最具有前景的过程分

基金项目: “重大新药创制” 科技重大专项(2013ZX09402203)

作者简介: 耿姝, 女, 硕士生 Tel: 13735526804 E-mail: daisyqueen001@163.com

*通信作者: 吴永江, 男, 博士, 博导 Tel:

(0571)88208621 E-mail: yjwu@zju.edu.cn

析技术之一,结合化学计量学和高速计算机处理技术,可实现对药物化学成分含量测定^[7-8]、制药过程在线检测和监控^[9-10]、中药材产地鉴别^[11]等,具有样品处理简单、无损耗、快速等诸多优点。从目前的研究进展来看,NIR技术是最有希望实现中药材质量快速检测和评价的分析技术。已有研究人员用NIR分析技术测定金银花中绿原酸的含量^[12],但到目前为止,还没有用该方法同时快速测定金银花中多指标含量并进行方法评价的文献报道。

本研究尝试应用NIR分析技术,结合化学计量学方法同时快速测定大批量金银花药材中绿原酸和木犀草苷成分的含量,建立一种快速无损、高效便捷的金银花关键质控指标的检测方法。

1 仪器与材料

Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司,含 UV 检测器); Bruker MATRIX-F 近红外光谱仪(德国 Bruker 公司); HX-500A 型高速中药粉碎机(永康市溪岸五金药具厂); KQ-500DE 型超声仪(昆山市超声仪器有限公司); FA2004 电子天平(上海越平科学仪器有限公司); H1650-W 高速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司)。

54 批金银花药材由黑龙江珍宝岛药业提供,主要采购于山东平邑、河北安国、河南密县、河南封丘县、陕西丹凤及湖北产地的金银花干品,经浙江大学药学院徐娟华副教授鉴定。药材经粉碎后,过 80 目筛,得到粒度均匀粉末,每批药材粉末平均分成 3 份,分装于自封袋中备用,共得 162 份样品。绿原酸和木犀草苷对照品(成都曼思特生物科技有限公司,批号分别为 MUST-14091701, MUST-12100401,纯度均 $\geq 98\%$); 甲醇、冰醋酸、乙醇(分析纯,天津市永大化学试剂有限公司); 磷酸(分析纯,国药集团有限公司); 乙腈(色谱纯,北京百灵威科技有限公司); 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 绿原酸含量的测定

取金银花药材粉末样品约 0.5 g,精密称定,按中国药典 2015 年版一部“金银花”项下绿原酸含量测定进行样品预处理^[1]。HPLC 分析条件: Agilent SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈-0.4%磷酸溶液(13:87); 检测波长为

327 nm; 流速为 1.0 mL \cdot min⁻¹; 进样体积为 10 μ L。在上述条件下,以保留时间定性,峰面积定量,标准曲线法计算,每份样品平行 3 次测定取平均值,作为建模的绿原酸含量实测值。

2.2 木犀草苷含量的测定

取金银花药材粉末样品约 2 g,精密称定,按中国药典 2015 年版一部“金银花”项下木犀草苷含量测定进行样品预处理操作^[1]。HPLC 分析条件: Agilent SB-C₁₈ 分析柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈(A)-0.5%冰醋酸溶液(B),梯度洗脱程序如下: 0~15 min, 10% \rightarrow 20%A; 15~30 min, 20%A; 30~40 min, 20% \rightarrow 30%A; 检测波长为 350 nm; 流速为 1.0 mL \cdot min⁻¹; 进样体积为 10 μ L。在上述条件下,以保留时间定性,峰面积定量,标准曲线法计算,每份样品平行 3 次测定取平均值,作为后续建模的木犀草苷含量实测值。

2.3 近红外光谱的采集

在室温条件下,以空气为背景,将所得的每份金银花药材粉末置扁形瓶中采集 NIR 漫反射光谱。光谱采集条件:扫描范围为 4 000~10 000 cm⁻¹,扫描次数为 32 次,分辨率为 8 cm⁻¹。所得 162 份金银花药材粉末原始光谱见图 1。

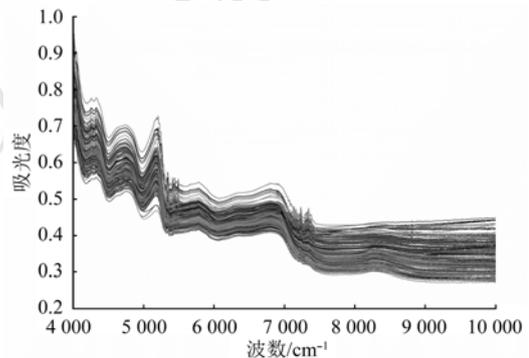


图 1 金银花药材原始近红外光谱图

Fig. 1 Raw NIR spectra of Lonicerae Japonicae Flos samples

2.4 模型性能评价指标

选择合适建模波段,在适宜光谱预处理基础上,运用 TQ Analyst 化学计量学软件中的回归算法建立金银花光谱数据与绿原酸和木犀草苷 2 个关键质控指标的 NIR 定量分析模型,以交互验证误差均方根(RMSECV)为指标,运用 LOO 交互验证法确定最佳 PLSR 主因子数。以相关系数(R)、校正集均方差(RMSEC)、预测集均方差(RMSEP)、

相对预测偏差(RSEP)为指标优化建模参数,考察模型性能,相关参数的计算方法详见文献[13-14]。当模型相关系数 R 越接近 1, RMSECV 与 RMSEC 越接近,表明模型性能越稳定,分析准确度越高。当 RMSEC 和 RMSEP 较小且彼此接近时,模型具有较高的预测能力,同时以 RSEP 来考察模型的预测误差。

2.5 含量测定结果

162 个金银花样品中绿原酸的含量变化范围为 0.017%~7.662%,木犀草苷的含量变化范围为 0.003%~0.134%,相对标准偏差分别为 73.69%和 48.27%,且变异系数远远>10%,表明不同产地和批次金银花药材中绿原酸和木犀草苷含量差别较大。本研究中所选金银花样品中绿原酸和木犀草苷含量数据分布较为均匀,所选用的样品具有一定代表性,符合建模要求。中国药典 2015 年版规定绿原酸含量不得<1.5%,木犀草苷含量不得<0.050%^[1],个别批次的药材未达到此质量控制要求,故金银花药材在进入中药制剂大生产前迫切需要进行质控指标含量的快速检测,在生产源头上控制中药制剂的质量。

2.6 金银花近红外定量模型的建立

2.6.1 校正集和验证集的选择 为了避免校正集和验证集的选择存在歧视效应,主要采用 Kennard-Stone (K-S)方法进行样品集的划分,该方法首先计算所有样品光谱之间的欧式距离,并将具有最大距离的 2 个样品选入校正集,然后不断计算剩余样品与校正集中样品之间的最小欧式距离,并按设定的校正集样品个数将最小欧式距离的最大样品不断加入校正集^[15-16]。本研究中,145 份样品被选入校正集,剩余 17 份样品划归为验证集。划分后校正集与验证集样品中绿原酸和木犀草苷含量的统计结果见表 1,光谱数据在前 2 个主成分上的得分分布见图 2。可见校正集样品含量范围覆盖了验证集样品的含量范围,且验证集样品可均匀地分布在校正集中。

表 1 校正集和验证集样品绿原酸和木犀草苷的含量分布
Tab. 1 The statistical values of chlorogenic acid and luteoloside content in calibration and validation set

指标成分	均值/%	校正集/%	验证集/%
绿原酸	2.190±1.614	0.017~7.662	0.093~7.142
木犀草苷	0.058±0.028	0.003~0.134	0.016~0.092

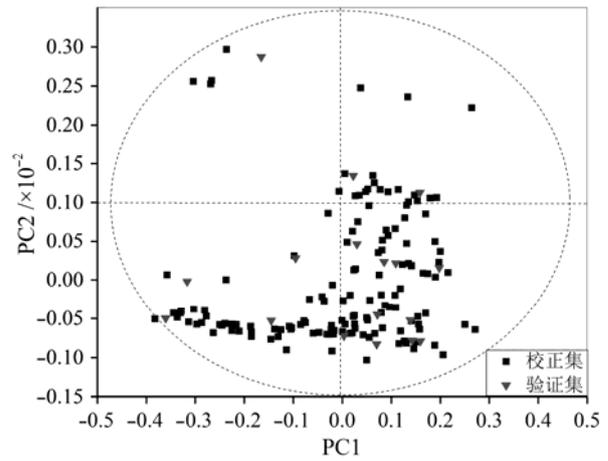


图 2 校正集和验证集样品在前 2 个主成分的得分分布图
Fig. 2 The scores of the first two PCs in calibration and validation set

2.6.2 波段的选择 NIR 全谱信息包含噪音等冗余信息,且不同建模指标与 NIR 光谱波段也有相关性,使用全谱建模势必会降低建模效率,还可能影响模型预测能力,因此有必要在建模前对光谱波段进行筛选。由于 4 000~4 500 cm^{-1} 波段存在光纤吸收的干扰,建模时选择舍弃。从图 1 可以看出,9 000~10 000 cm^{-1} 波段光谱信息较少,无显著特征吸收,建模时不采用该波段。近红外短波(>7 620 cm^{-1})区域主要是高倍频峰的吸收带,主要用于长路径的透射分析。因此,本研究选择 4 500~7 620 cm^{-1} 波段用于绿原酸和木犀草苷定量校正模型的建立。为进一步保证光谱选择区域的准确性,还对 NIR 和质控指标的相关系数进行考察,以绿原酸为例(图 3),相关系数>0.6 的光谱主要集中在所选择的光谱区域内。对于木犀草苷含量指标来说也有类似的相关结果。

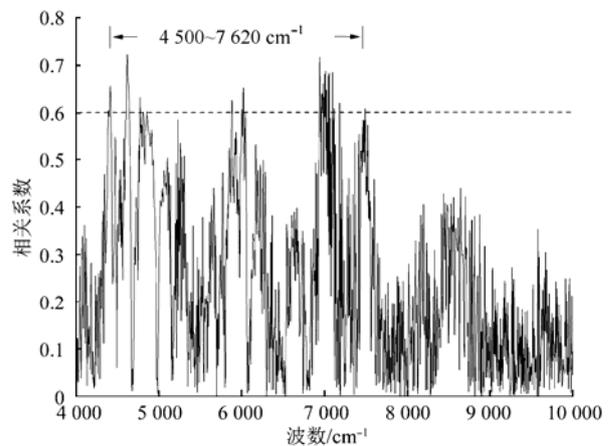


图 3 近红外光谱与绿原酸含量的线性响应图
Fig. 3 The correlogram of NIR spectra and chlorogenic acid content

2.6.3 不同建模方法的比较 为建立更满意的近红外定量校正模型, 分别采用偏最小二乘回归(PLSR)、主成分回归(PCR)和多元线性回归(MLR)方法建立金银花药材中绿原酸和木犀草苷含量模型。以绿原酸为例, 分别在最佳条件下基于以上3种回归方法建立定量校正模型, 计算步骤相似, 模型评价的比较结果见表2, 在PLSR方法下, R更接近于1, RMSEC和RMSEP更小, 说明模型的稳健性能和预测性能更高。同样, 木犀草苷定量模型建模方法比较结果与此相同。因此, 本研究最终选择PLSR方法建立金银花中绿原酸和木犀草苷定量模型。在PLSR定量校正模型建立过程中, 光谱预处理方法和最佳主因子数的选择尤为重要, 因此在下面2个部分主要讨论条件的优选过程。

表2 不同建模方法对绿原酸定量模型的影响

Tab. 2 Performance parameters of the established models for chlorogenic acid content based on different regression methods

方法	校正		内部交互验证		外部验证	
	R ₁	RMSEC	R ₂	RMSECV	R ₃	RMSEP
PLSR	0.981 2	0.327	0.961 4	0.469	0.961 4	0.478
PCR	0.925 9	0.641	0.898 5	0.749	0.909 6	0.749
MLR	0.823 8	0.961	0.812 3	0.990	0.626 3	1.290

2.6.4 光谱预处理方法 采集光谱过程中, 环境变化(温度、湿度等)以及药材粉末自身颗粒状态等因素, 会引起光谱基线漂移, 光散射和随机噪声等。因此, 需要借助相关的光谱预处理方法以消

表3 不同光谱预处理方法对定量模型性能的影响

Tab. 3 Influence of different pretreatment methods on performance of calibration models

指标成分	预处理方法	校正		内部交互验证		外部验证	
		R ₁	RMSEC	R ₂	RMSECV	R ₃	RMSEP
绿原酸	原始光谱	0.964 0	0.451	0.944 4	0.559	0.937 8	0.614
	MSC	0.968 5	0.423	0.954 6	0.507	0.937 8	0.586
	SNV	0.974 8	0.379	0.963 9	0.452	0.962 4	0.486
	MSC+ND+1 st D	0.978 7	0.348	0.955 1	0.508	0.953 8	0.516
	SNV+ND+1 st D	0.981 2	0.327	0.961 4	0.469	0.961 4	0.478
	MSC+SG+2 nd D	0.907 1	0.714	0.813 6	0.993	0.622 1	1.330
木犀草苷	原始光谱	0.930 5	0.010 3	0.896 5	0.012 5	0.839 8	0.013 9
	MSC	0.890 3	0.012 8	0.853 8	0.014 7	0.873 4	0.012 0
	SNV	0.932 8	0.010 1	0.897 0	0.012 4	0.876 4	0.119 0
	SNV+ND+1 st D	0.935 0	0.009 9	0.908 2	0.012 4	0.907 2	0.010 5
	MSC+SG+2 nd D	0.906 0	0.011 9	0.859 1	0.014 4	0.855 9	0.013 0

注: SG-7点3阶平滑; ND-平滑段长为5, 段间距为9。

Note: SG-7 point 3 orders smoothing; ND-section length was 5, the interoval was 9.

除这些干扰对光谱的影响, 提高模型性能。常用的光谱预处理方法有一阶导数(1stD)、二阶导数(2ndD)、标准正则变换(SNV)、多元散射校正(MSC)、Savitzky-Golay平滑(SG); Karl Norris平滑(ND)等。导数处理方法可以消除因基线漂移引起的误差以及提取光谱特征的相关信息。SNV和MSC方法主要目的是消除由于基线漂移、光散射、样本不均匀所造成的影响^[17]。

本研究通过交互验证法来考察不同预处理方法对指标成分模型性能的影响, 以筛选最优预处理方法, 建模效果见表3。结果显示, 光谱数据经一阶导数和Norris平滑结合SNV预处理后所建的PLSR模型效果最优, 校正集相关系数R最大, RMSEC和RMSECV相对较小, 可以更好地消除样品由于物性差别引起的光谱基线偏移和漂移, 强化了有效的谱带特征。因此, 最适合绿原酸和木犀草苷定量模型的预处理方法为SNV+ND+1stD。

2.6.5 最佳主因子数的选择 通常所建每个PLSR模型都有最佳的主因子数。若校正过程中选取因子数大于或小于最佳值, 就会出现“高度拟合和低度拟合”现象, 对该校正模型效果和预测能力均有一定影响。以木犀草苷为例, 本研究通过LOO交互验证法, 考察了不同主因子数对RMSECV的影响并进行优选。结果表明, 伴随因子数增加, RMSECV陡然下降。当因子数为8时, 所得的RMSECV最小, 且曲线趋于平缓, 得到的模型校正结果最为理想, 结果见图4。同理, 最终确定绿原酸的最佳因子数为10。

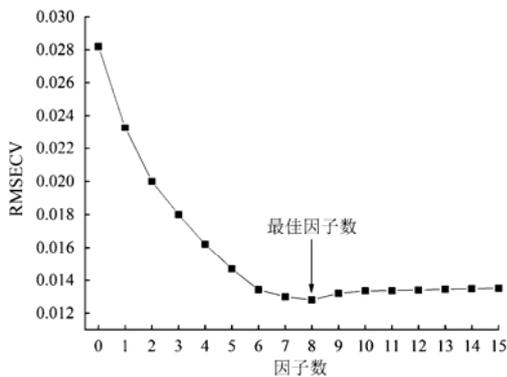


图4 木犀草苷 PLSR 定量模型的最佳因子数选择

Fig. 4 The optimization procedure for luteoloside calibration models

表4 所建模型的校正、内部交互验证及外部验证结果

Tab. 4 The integrated performance of the two calibration models

指标成分	模型校正		内部交互验证		外部验证		RMSECV/RMSEP
	R ₁	RMSEC	R ₂	RMSECV	R ₃	RMSEP	
绿原酸	0.981 2	0.327	0.961 4	0.469	0.961 4	0.478	0.982
木犀草苷	0.935 0	0.009 9	0.908 2	0.012 4	0.907 2	0.010 5	1.081

绿原酸和木犀草苷定量模型 NIR 预测值与 HPLC 测定值相关图和残差图见图 5。可见校正集均匀地分布在回归线的两侧，验证集完全分布在线性范围内，表明预测值与实测值的线性相关性较好且较为合理。所建 PLSR 模型对验证集中

2.6.6 PLSR 定量校正模型的建立和验证 将 4 500~7 620 cm⁻¹ 波段范围内的光谱，经过导数和平滑预处理后，在最佳因子数下采用 PLSR 法建立绿原酸和木犀草苷成分定量校正模型并进行验证。模型性能评价指标汇总见表 4，2 个模型校正集的相关系数均>0.93，RMSEC 分别为 0.327，0.009 9，交互验证决定系数分别为 0.961 4，0.908 2，RMSECV 较小且与 RMSEC 相近，RMSECV/RMSEP(用于评价模型的稳健性)更接近于 1，结果表明所建 2 个模型的准确性和稳健性结果较为满意。

绿原酸和木犀草苷含量预测结果见图 6，可见绿原酸和木犀草苷含量的 NIR 预测值与实测值较为接近，计算相对预测偏差 RSEP 分别为 10.19%，14.76%，能够满足中药实际生产过程中分析精度要求。

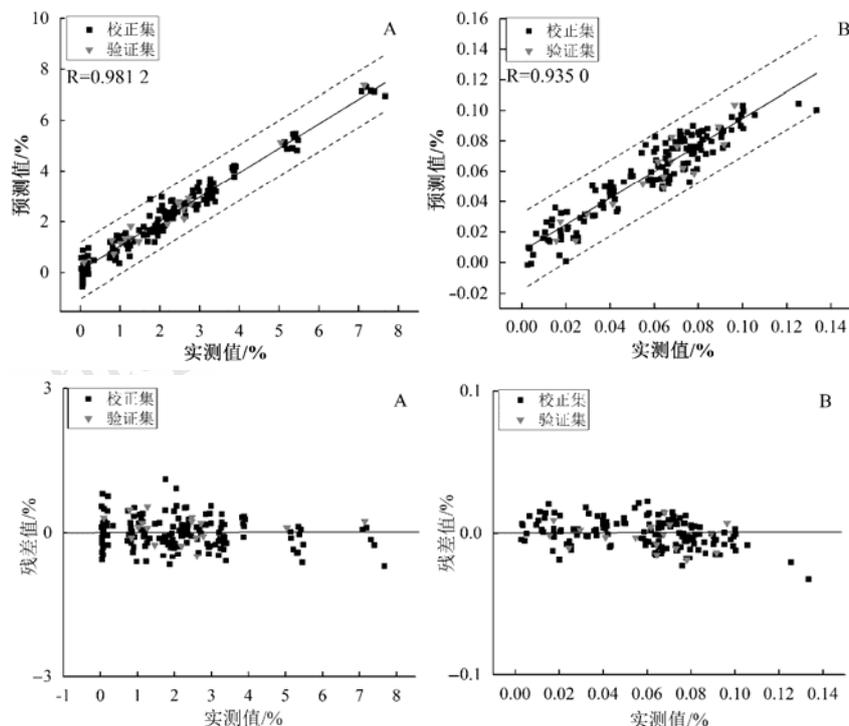


图5 校正集和验证集样品中 NIR 预测值与实测值的线性相关图和残差图
A-绿原酸；B-木犀草苷。

Fig. 5 Correlation chart and the residuals plot of the two calibration models
A-chlorogenic acid; B-luteoloside.

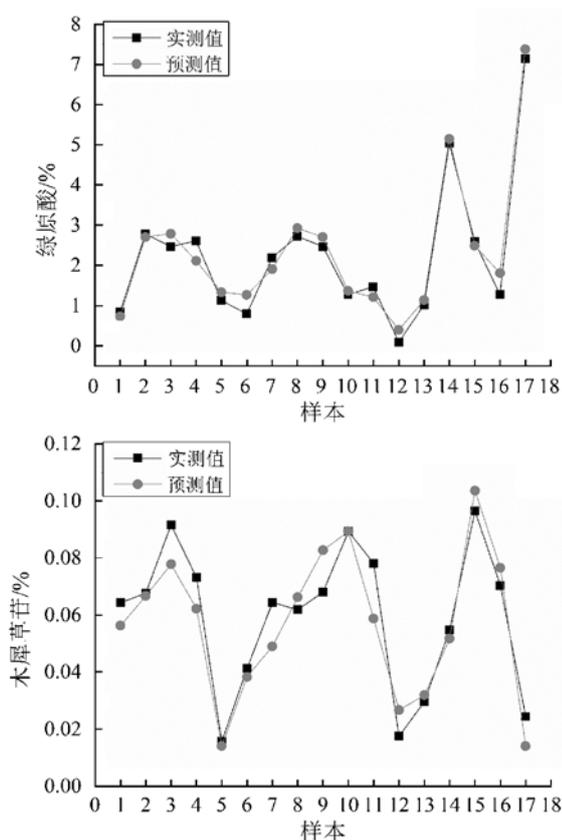


图6 验证集中绿原酸和木犀草苷含量 NIR 预测值与实测值的相对趋势

Fig. 6 Correlation of NIR predicted value and measured value of chlorogenic acid and luteoloside content for validation set

2.6.7 所建 NIR 方法的评价 为初步验证所建 NIR 快速方法的准确度,对验证集样品中绿原酸和木犀草苷成分含量实测值与预测值进行 t 检验分析,以 $\alpha=0.05$ 为统计显著水平, t 值分别为-1.33 和 1.08, 低于相应的临界值 $t(0.05, 17)=2.12$, 说明使用 NIR 方法所测的绿原酸和木犀草苷含量与 HPLC 测定的含量无显著差异。为了进一步验证模型精密度,利用所建模型对同一金银花样品重复 6 次采集光谱,并进行预测分析,所得绿原酸和木犀草苷含量预测值的 RSD 值分别为 2.66% 和 4.21%。由于药材样品中木犀草苷含量较低,模型预测值的微小差异就会使 RSD 值偏大,但以上结果均初步说明所建 NIR 分析方法具有较高的精密度。

3 结论

本研究应用 NIR 分析技术建立了金银花原药材中绿原酸和木犀草苷 2 个关键质控指标的同时快速检测方法,并考察了光谱范围、不同建模方法、光谱预处理方法和最佳因子数的选择对定量

模型性能的影响。最终所构建的 PLSR 定量模型性能良好,相对预测偏差 RSEP 总体控制在合理范围内,可用于对未知样品的预测。并初步验证所建 NIR 快速检测方法的准确度和精密度良好。

在实际生产过程中,只需要扫描金银花药材样品得到 NIR 光谱,并将其代入所建立定量模型即可同时快速预测药材中绿原酸和木犀草苷成分的含量。该方法简便快速,结果验证可靠,弥补了传统 HPLC 分析存在的人力投入大、费时费力、环境污染等缺陷,为医药企业中不同批次金银花药材中多指标成分的快速检测和质量控制提供了新的技术支持,具有广阔的应用前景。

此外,在本研究所建方法基础上,还应采集更多的、更具代表性的金银花样品,不断扩充到模型中,使模型更为稳健、适用性更广、预测精度更高;在针对预测较低含量有效成分时,可不断尝试优选不同化学计量学方法来建立性能更优的近红外定量模型,使本研究方法能够更系统地应用于金银花药材在入库和投料前、药材前期加工过程质量的现场快速检测中。

REFERENCES

- [1] 中国药典.一部[S]. 2015: 附录 221.
- [2] 黄嘉茹, 刘伟娜, 曹冬. 金银花的化学成分及药理作用研究评析[J]. 中医药学刊, 2005, 23(3): 418-419.
- [3] 李琳. 金银花的研究进展[J]. 科技信息, 2012, 29(24): 132.
- [4] 刘恩荔, 李青山. 金银花的研究进展[J]. 山西医科大学报, 2006, 37(3): 331-334.
- [5] XIN H, FENG J, CHENG R M, et al. Simultaneous determination of chlorogenic acid and galuteolin in honeysuckle [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2011, 17(2): 60-63.
- [6] LIU W, RU F S, CUI Y X, et al. Comparison of content of chlorogenic acid and luteolin in Sulfur Fumigation and Drying *Lonicera japonica* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2013, 19(1): 91-94.
- [7] HAN H F, ZHANG L, ZHANG Y, et al. Rapid determination of total flavonoids, total saponins, and soluble solid content in Fufang Ejiao Syrup by NIRS [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2013, 44(17): 2397-2403.
- [8] LIU F, ZHANG F, JIN Z, et al. Determination of acetolactate synthase activity and protein content of oilseed rape (*Brassica napus* L.) leaves using visible/near-infrared spectroscopy [J]. Anal Chim Acta, 2008, 629(1): 56-65.
- [9] XIONG H S, GONG X C, QU H B. Monitoring batch-to-batch reproducibility of liquid-liquid extraction process using in-line near-infrared spectroscopy combined with multivariate analysis [J]. J Pharm Biomed Anal, 2012(70): 178-187.
- [10] HUANG H X, QU H B. In-line monitoring of alcohol precipitation by near-infrared spectroscopy in conjunction with multivariate batch modeling [J]. Anal Chim Acta, 2011, 707(1):

- 47-56.
- [11] CHEN Y, XIE M Y, YAN Y, et al, Discrimination of *Ganoderma lucidum* according to geographical origin with near infrared diffuse reflectance spectroscopy and pattern recognition techniques [J]. *Anal Chim Acta*, 2008, 618(2): 121-130.
- [12] BAI Y, LI S, WANG X, et al, Determination of chlorogenic acid of honeysuckle by near-infrared spectroscopy rapidly [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志)*, 2011, 17(5): 66-69.
- [13] BLANCO M, BANO R G, BERTRAN E. Monitoring powder blending in pharmaceutical processes by use of near infrared spectroscopy [J]. *Talanta*, 2002, 56(1): 203-212.
- [14] XIANG D, BERRY J, BUNTZ S, et al. Robust calibration design in the pharmaceutical quantitative measurements with near-infrared (NIR) spectroscopy: avoiding the chemometric pitfalls [J]. *J Pharm Sci*, 2009, 98(3): 1155-1166.
- [15] ROBERTO K H, MARIO C U, GLEDON E J, et al. A method for calibration and validation subset partitioning [J]. *Talanta*, 2005, 67(4): 736-740.
- [16] FEUDALE R N, WOODY N A, TAN H, et al. Transfer of multivariate calibration models: a review [J]. *Chemom Intell Lab Syst*, 2002, 64(2): 181-192.
- [17] HE Y, LI X L, DENG X F. Discrimination of varieties of tea using near infrared spectroscopy by principal component analysis and BP model [J]. *J Food Eng*, 2007, 79(4): 1238-1242.
- 收稿日期: 2015-07-17

基于均匀设计法的钩吻配伍玉叶金花的毒性作用规律研究

王英豪, 吴水生*, 李德森, 王河山(福建中医药大学药学院, 福州 350122)

摘要: 目的 探讨钩吻配伍玉叶金花后的毒性变化规律。方法 采用 $U_7^*(7^4)$ 均匀设计表, 按 2 因素 7 水平设计配比实验, 以小鼠死亡率为考察指标进行急性毒性评价, 并考察钩吻配伍前后的 LD_{50} 。结果 均匀设计得到的多元函数模型具有显著性统计学意义 ($P < 0.05$), 针对函数模型求偏导得最佳配比 0.54 : 14.23 (钩吻 : 玉叶金花), 三维曲面分析的低毒性的剂量配比范围 (钩吻 : 玉叶金花 = 1 : 22~36); 钩吻 LD_{50} 为 $0.32 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 而配伍后 LD_{50} 为 $0.68 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 毒性大幅降低。结论 钩吻配伍玉叶金花后毒性降低, 可为临床合理用药提供参考依据。

关键词: 均匀设计; 急性毒性; 玉叶金花; 钩吻

中图分类号: R284.1; R917.101 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2016)02-0150-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.02.004

Uniform Design Research on the Compatibility Toxicity of *Gelsemium Elegans* Benth. and *Mussaenda Pubescens*

WANG Yinghao, WU Shuisheng*, LI Desen, WANG Heshan (College of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the toxicity variation of *Gelsemium elegans* Benth. combined with *Mussaenda pubescens*. **METHODS** The $U_7^*(7^4)$ uniform design method was used by two factors and seven levels to investigate the toxicity changes with the death of mice as index in different groups of *Gelsemium elegans* Benth. combined with *Mussaenda pubescens*. Then LD_{50} of *Gelsemium elegans* Benth. combined with *Mussaenda pubescens* were determined. **RESULTS** The multivariate function model of uniform design was statistically significant ($P < 0.05$). The best ratio of *Gelsemium elegans* Benth. combined with *Mussaenda pubescens* was 0.54 : 14.23 by partial derivative. The dose ratio range from 1 : 22 to 1 : 36 by 3D surface analysis. The LD_{50} of *Gelsemium elegans* Benth. was $0.32 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, and the LD_{50} was of *Gelsemium elegans* Benth. combined with *Mussaenda pubescens* was $0.68 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$. The toxicity was greatly reduced. **CONCLUSION** The toxicity of *Gelsemium elegans* Benth. combined with *Mussaenda pubescens* reduce. The results offer scientific basis for reasonable usage.

KEY WORDS: uniform design; acute toxicity; *Mussaenda pubescens*; *Gelsemium elegans* Benth.

基金项目: 国家自然科学基金项目(81303240); 高等学校博士学科点专项科研基金联合资助项目(20133519110005)

作者简介: 王英豪, 男, 硕士, 副教授 Tel: (0591)22861135 E-mail: wyhtcm@aliyun.com *通信作者: 吴水生, 男, 博士, 教授 Tel: (0591)22861322 E-mail: wsstcm@yahoo.cn