

中药金礞石红外指纹图谱相似度分析

王 栋, 王永禄, 郭 啸, 王益群, 王伯涛*

南京工业大学药学院, 江苏 南京 211816

摘 要 分析金礞石红外指纹图谱的相似度, 建立金礞石药材质量的红外指纹图谱评价方法。用傅里叶变换红外光谱仪测定金礞石药材样品的红外光谱, 以共有模式建立金礞石的对照红外指纹图谱, 采用相关系数法和夹角余弦法计算药材样品红外指纹图谱与对照指纹图谱的相似度。19 件样品中, 符合《中国药典》规定者红外指纹图谱与对照指纹图谱的相似度(相关系数法)均在 0.94 以上, 不符合《中国药典》规定者, 其相似度均在 0.94 以下; 部分样品虽然来源符合中国药典规定, 但根据传统经验鉴别认为质量较差者, 其相似度值比质量较好者要低些。金礞石的红外指纹图谱可以用于金礞石药材的质量评价, 其相似度值的大小可作为金礞石药材质量的评价指标。

关键词 金礞石; 红外指纹图谱; 相关系数; 夹角余弦; 相似度

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2011)10-2715-04

引 言

金礞石为矿物中药, 收载于历版《中国药典》, 临床上多用于顽痰胶结, 咳逆喘急, 癫痫发狂, 烦躁胸闷, 惊风抽搐等症^[1]。但就市场流通商品药材和临床应用的饮片来看, 其质量差异明显, 一定程度上影响了临床用药的安全有效性。而在目前, 对金礞石药材的鉴定, 仍然依赖于经验鉴别, 缺少具体的理化分析方法和测定指标, 客观上为金礞石药材的纷杂状况提供了存在环境。金礞石的红外吸收光谱表现为典型的层状硅酸盐类红外光谱特征, 可表征其基本化学结构和组成^[2]。但不同的金礞石样品之间其红外吸收光谱的拓朴图形大体一致, 直接用金礞石红外吸收光谱特征以评价药材的质量状况尚有一定困难。然而, 药材的红外吸收光谱为其各种成分红外吸收的叠加, 具有一定的指纹性^[3], 因此, 本研

究在金礞石药材红外吸收光谱的基础上, 采用指纹图谱的分析方法, 计算药材样品红外指纹图谱与对照指纹谱的相似度^[4, 5], 以期探索金礞石的红外指纹图谱与药材质量之间的内在联系, 可望建立金礞石的红外指纹图谱评价金礞石药材质量的方法。

1 实验仪器及材料

美国 Nicolet iS10 傅里叶变换红外光谱仪, 天津天光光学仪器厂 HY-12 型红外压片机, 玛瑙研钵。溴化钾(光谱纯), 国药集团化学试剂有限公司。

金礞石药材收集于全国各地, 共 19 批, 均为市售商品。经外观性状和薄片显微鉴定及经验鉴别, 其中 4 件样品不符合《中国药典》规定, 15 件样品符合《中国药典》规定, 其中 6 件样品质量较好。见表 1。

Table 1 List of samples information

样品编号	来源	矿物组成		药材鉴定结果 ¹	经验鉴别结果 ²
		主要矿物	主要伴生矿物		
JC01	蛭石化的黑云母片岩	蛭石化的黑云母	石英, 白云母	√	☆
JC02	蛭石化的黑云母片岩	蛭石化的黑云母	石英	√	
JC03	蛭石化的黑云母石英片岩	蛭石化的黑云母	石英, 白云母	√	☆
JC04	蛭石化的黑云母片岩	蛭石	石英	√	☆

收稿日期: 2010-12-11, 修订日期: 2011-04-05

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目(2008BAI55B00)资助

作者简介: 王 栋, 1986 年生, 南京工业大学药学院硕士研究生

e-mail: dongwang86@163.com

* 通讯联系人 e-mail: hywbt@sina.com

续表 1

JC05	蛭石化的黑云母片岩	蛭石化的黑云母	斜长石, 石英, 白云母	✓	
JC06	蛭石化的角闪黑云母片岩	蛭石化的黑云母	角闪石, 长英质矿物	✓	
JC07	蛭石化的石英黑云母片岩	蛭石化的黑云母	蛭石, 白云母	✓	☆
JC08	蛭石化的黑云母片岩	蛭石化的黑云母	石英	✓	☆
JC09	蛭石化的黑云母片岩	蛭石化的黑云母	黑云母, 石英	✓	☆
JC10	片岩	长英质矿物	黑云母	×	
JS01	片岩	长英质矿物	黑云母, 白云母	×	
JS02	蛭石化的黑云母片岩	蛭石化的黑云母	石英	✓	
JS03	蛭石化的黑云母片岩	蛭石化的黑云母	黑云母	✓	
JS04	片岩	长英质矿物	角闪石, 黑云母	×	
JS05	蛭石化的二云母片岩	黑云母	蛭石, 石英, 白云母	✓	
JS06	蛭石化的黑云母片岩	蛭石化的黑云母	石英, 白云母	×	
JS07	蛭石化的黑云母片岩	蛭石化的黑云母	石英	✓	
JS08	蛭石化的黑云母片岩	黑云母	斜长石, 石英	✓	
JS09	蛭石化的片岩	蛭石	石英	✓	

1: “✓”符合《中国药典》规定; “×”不符合《中国药典》规定; 2: “☆”质量好。

2 实验方法及结果

取礞石样品细粉少量, 至玛瑙研钵中, 加 KBr 粉末做分散剂, 研磨均匀, 取适量研细后的粉末平铺于红外压片模具中, 以 20 MPa 压力压制 1 min, 取出, 对光检视, 以样片均匀, 半透光为佳。将制备好的样片置于红外光谱仪中测定红外光谱。测定区域为 4 000~400 cm^{-1} , 扫描 16 次, 分辨率 4 cm^{-1} 。样品扫描完成后, 通过仪器自带软件扣除背景, 并进行基线校正和自动平滑处理。

金礞石样品的红外光谱如图 1。

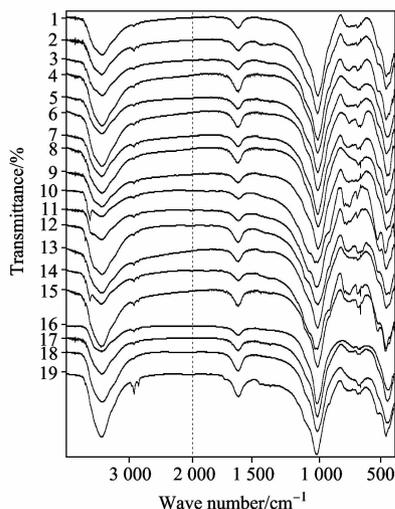


Fig. 1 Infrared spectra of *Lapis Micae Aureum* samples
1~10: JC01~JC10, 11~19: JS01~JS09

3 相似度计算原理和方法

以金礞石药材的整个红外光谱图为分析对象, 对样品的全谱进行了相似度分析。即在计算时, 并不是以部分明显的吸收峰作为比较对象, 而是将仪器所测定的每个数据点均作

为特征值, 根据各个数据点位置所对应的吸收强度值的差异进行相似度的分析。这种计算方法可以最大限度地将不同样品吸收峰强度和位置的差异都体现出来, 所得相似度的大小不仅反映了样品间化学成分上的差异, 也反映了各自结构特点的不同。因此, 极大地提高了样品间的可比性和比较分析的精度。

有关中药指纹图谱相似度的计算方法^[6-8], 目前常用的有两种: 一种是相关系数法, 另一种是向量夹角余弦法。利用相关系数可以确定两种属性之间的关系, 也可以对不同批次样品的同种属性进行相似度比较, 计算公式如下

$$\text{相关系数} = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X}_i)(Y_i - \bar{Y}_i)}{\sqrt{\sum_{i=1}^n ((X_i - \bar{X}_i)^2 (Y_i - \bar{Y}_i)^2)}}$$

向量夹角余弦法是将中药指纹图谱数据视为多维空间中的向量, 使指纹谱的相似性问题转化为多维空间中的两个向量间的相似性问题。目前在中药指纹图谱研究中较为常见, 计算公式如下

$$\text{夹角余弦} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i Y_i}{\sqrt{\sum_{i=1}^n X_i^2} \sqrt{\sum_{i=1}^n Y_i^2}}$$

以上两种计算方法各有特点, 为了比较二者在全谱相似度分析方面的差异, 本课题中红外图谱的相似度均采用两种方法计算。

4 金礞石红外指纹图谱相似度分析

4.1 对照红外指纹图谱的建立

在进行相似度分析之前, 先以共有模式建立金礞石的对照红外指纹图谱。选择外观性状符合《中国药典》规定, 并且经传统经验鉴定质量较好的 6 批样品: JC01, JC03, JC04, JC07, JC08 和 JC09, 以其吸收强度的平均值为对照指纹图谱的吸收强度, 最终得到的红外图谱如图 2。

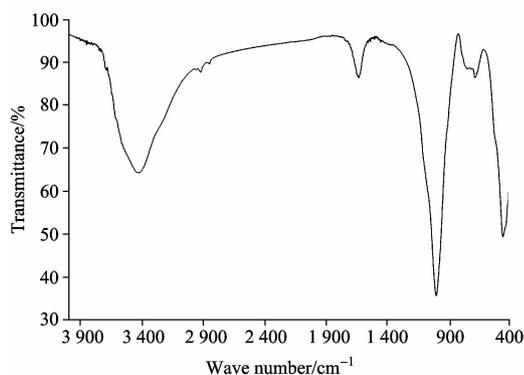


Fig. 2 Reference infrared spectra of *Lapis Micae Aureum*

4.2 样品指纹图谱相似度分析

将金礞石样品的红外图谱与得到的对照红外指纹图谱进行相似度分析, 分别采用相关系数法和夹角余弦法进行计算。结果见表 2 和表 3。

Table 2 Results of similarity of infrared spectra of samples by correlation coefficient method

样品 ¹	相关系数	药材质量状态 ²
JC07	0.998 3	√ ☆
JC01	0.997 0	√ ☆
JC05	0.996 2	√
JC08	0.995 8	√ ☆
JS03	0.994 1	√
JC03	0.993 6	√ ☆
JC09	0.990 4	√ ☆
JC04	0.987 4	√ ☆
JC02	0.985 0	√
JC06	0.979 2	√
JS07	0.977 6	√
JS05	0.976 2	√
JS02	0.965 3	√
JS09	0.955 7	√
JS08	0.949 8	√
JS01	0.936 5	×
JS04	0.923 4	×
JS06	0.913 6	×
JC10	0.906 6	×

1: 按相关系数从大到小依次排列; 2: “√”符合《中国药典》规定; “×”不符合《中国药典》规定; “☆”质量好。

5 结果与讨论

5.1 采用相关系数法进行相似度分析可用于药材质量评价

由表 2 和表 3 可以发现, 用向量夹角余弦法计算相似度时, 不同样品的计算结果极为接近, 且与样品的质量状况没有明显的关系, 不利于样品间的比较; 而用相关系数法计算时, 其结果则有较为明显的差异, 且相似度的大小与样品的质量状况密切相关: 经经验鉴定合格的样品, 其红外图谱与

对照图谱的相似度均在 0.94 以上, 且经经验鉴别质量较好的 6 批样品, 其相似度均大于 0.98; 经经验鉴定为伪品的 4 批样品, 其相似度则小于 0.94。可见采用相关系数法对金礞石红外指纹图谱进行全谱相似度分析时, 其结果可以准确地反映出金礞石样品的实际质量状况, 因此可用于药材的质量评价。

Table 3 Results of similarity of infrared spectra of samples by the included angle cosine method

样品 ¹	向量夹角余弦	药材质量状态 ²
JC01	0.999 9	√ ☆
JC05	0.999 9	√
JS03	0.999 7	√
JC09	0.999 7	√ ☆
JC06	0.999 5	√
JC03	0.999 3	√ ☆
JC07	0.999 0	√ ☆
JC04	0.999 0	√ ☆
JS05	0.998 9	√
JC08	0.998 8	√ ☆
JS07	0.998 8	√
JS01	0.998 5	×
JS04	0.998 3	×
JC02	0.998 1	√
JS06	0.998 1	×
JS09	0.997 4	√
JC10	0.995 6	×
JS08	0.993 9	√
JS02	0.992 0	√

1: 按向量夹角余弦从大到小依次排列; 2: “√”符合《中国药典》规定; “×”不符合《中国药典》规定, “☆”质量好。

5.2 采用全谱分析法提高相似度分析结果准确度及样品间可比性

目前对于中药指纹图谱的研究, 以色谱图较为常见^[9-12]。中药色谱图所反映的是药材中成分及含量的信息, 在进行相似度计算时通常先要进行谱峰匹配, 然后以各色谱峰的强度或面积为比较对象, 因此其相似度的大小可以体现出样品间化学成分和含量的差异情况。但是对于药材的红外光谱图, 其吸收峰的强度与位置不仅与化学键类型有关, 还反映了药材的结构特点。在对红外图谱进行相似度分析时, 如果按照色谱图的处理方法进行计算, 则会人为造成吸收峰信息的缺失, 使得计算结果的准确性和可信度降低, 不利于相似样品间的比较。目前中药材红外图谱的比较分析多采用共有峰率和变异峰率双指标序列分析法^[13], 主要是以吸收峰的有无来进行相似性评价, 这种分析方法适用于吸收峰较为复杂的样品, 对于吸收峰较少的样品则有一定的局限性。从金礞石的红外光谱图中可以看出, 其吸收图谱拓扑结构简单, 吸收峰较少, 因此也不适用双峰指标法进行相似度评价。本研究采用全谱分析法, 有效地避免了以上问题, 提高了相似度分析结果的准确度和金礞石样品间的可比性。

5.3 两种相似度计算方法

本研究所采用的两种相似度计算方法均较为简单,因此可以利用 Excel 2010 的数据处理功能来实现。先通过仪器自带软件将红外光谱数据保存为“.CSV”格式,然后导入到 Excel 中,将吸收波数列为 Excel 表中第一列,以后各列依次为要计算的样品的吸收强度。由于样品的红外图谱均在相同的实验条件下得到,因此图谱中数据的取样点和取样频率是一致的,不须再进行谱峰匹配,可直接用于相似度计算。如样

品图谱吸收强度值所占表格为 B2~B7470,对照指纹图谱吸收强度值所占表格为 C2~C7470,则用相关系数法计算相似度时,公式为: $\text{correl}(B2:B7470, C2:C7470)$; 采用夹角余弦法计算相似度时,公式为: $\text{sumproduct}(B2:B7470, C2:C7470)/\sqrt{(\text{sumsq}(B2:B7470) * \text{sumsq}(C2:C7470))}$ 。对照指纹图谱的建立也可以用 Excel 的 average 函数进行计算。

References

- [1] The Pharmacopoeia Commission of the People's Republic of China(国家药典委员会). Chinese Pharmacopoeia of the People's Republic of China Part 1(中华人民共和国药典一部). Beijing: Chemical Industry Press(北京:化学工业出版社), 2010. 207.
- [2] ZHAO Shi-min, HU Yue-hua, XU Jing, et al(赵世民, 胡岳华, 徐竞, 等). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学), 2004, 32(4): 555.
- [3] SUN Su-qin, ZHOU Qun, QIN Zhu, et al(孙素琴, 周群, 秦竹, 等). China Patent: CN 1447109A. 2003.
- [4] XIE Pei-shan(谢培山). Atlas of Chromatogram of Chinese Medicines(中药色谱指纹图谱). Beijing: People's Medical Press(北京:人民卫生出版社), 2005.
- [5] HONG Xiao-kun, WANG Zhi-hua(洪筱坤, 王智华). Digitized Chromatographic Spectrum of Chinese Medicines(中药数字化色谱指纹). Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Press(上海:上海科学技术出版社), 2003.
- [6] ZHAN Xue-yan, SHI Xin-yuan, ZHAN Xiao-ri, et al(詹雪艳, 史新元, 展晓日, 等). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学研究简报), 2010, 38(2): 253.
- [7] NIE Lei, HU Zhen, LUO Guo-an, et al(聂磊, 胡震, 罗国安, 等). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学), 2005, 33(6): 898.
- [8] NIE Li-xing, WANG Gang-li, LI Zhi-meng, et al(聂黎行, 王钢力, 李志猛, 等). J. Infrared Millim. Waves(红外与毫米波学报), 2008, 27(3): 205.
- [9] ZENG Zhi, YANG Dong-hui, TAO Jing-qi, et al(曾志, 杨东晖, 陶敬奇, 等). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学), 2004, 32(8): 1035.
- [10] ZHANG Yian-qiu, HONG Jin-bo(张艳秋, 洪金波). Chinese Traditional and Herbal Drugs(中草药), 2007, 38(7): 1084.
- [11] JIANG Yong, ZHANG Na, CUI Zhen, et al(姜勇, 张娜, 崔振, 等). Acta Pharmaceutica Sinica(药学学报), 2006, 41(2): 179.
- [12] WANG Meng-yue, WEI Jing-fei, SHI Hai, et al(王梦月, 韦静斐, 史海, 等). Chinese Pharmaceutical Journal(中国药学杂志), 2009, 44(24): 1847.
- [13] ZOU Hua-bin, YUAN Jiu-yong, DU Ai-qin, et al(邹华彬, 袁久荣, 杜爱琴, 等). China Journal of Chinese Materia Medica(中国中药杂志), 2005, 30(1): 16.

Similarity Analysis of FTIR of *Lapis Micae Aureum*

WANG Dong, WANG Yong-lu, GUO Xiao, WANG Yi-qun, WANG Bo-tao*

School of Pharmaceutical Science, Nanjing University of Technology, Nanjing 211816, China

Abstract Similarity analysis of FTIR of *Lapis Micae Aureum* was carried out to find out the relationship between similarity of infrared spectra and the quality of medicine samples, and try to provide a new method for its quality assessment. FTIR was used to analyze *Lapis Micae Aureum* samples. Then 6 samples with good quality were picked up to establish a reference infrared spectra by their infrared spectra. Correlation coefficient method and the included angle cosine method were used to calculate the similarity between sample's infrared spectra and the reference infrared spectra. For all those 19 samples with characters in accordance with Ch. P, the similarity is above 0.94, and for the others the similarity is less than 0.94. Although some samples' source meets the requirement of Ch. P, but with poor quality by traditional experience, the similarity is lower than those of good quality. It was concluded that the similarity of infrared spectra of *Lapis Micae Aureum* is closely related to the quality of medicines. As a result, similarity analysis of FTIR of *Lapis Micae Aureum* is reliable, and can be used for its quality assessment.

Keywords *Lapis Micae Aureum*; FTIR; Correlation; Cosine; Similarity

* Corresponding author

(Received Dec. 11, 2010; accepted Apr. 5, 2011)