

近红外光谱在天舒胶囊提取工艺过程中的应用

杨绪芳^{1,2}, 孙永成², 米慧娟², 王秀海², 李峰², 吴云², 萧伟^{1,2*}

(1. 南京中医药大学药学院, 南京 210000; 2. 江苏康缘药业股份有限公司, 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏连云港 222047)

[摘要] 目的:采用近红外(NIR)光谱技术建立天舒胶囊水提取工序中天麻素含量和含固量2个质量控制指标的快速定量分析方法,实时获得二者在该制剂2次水提过程中的动态变化情况,实现水提液浓缩过程关键指标的质量控制。方法:收集天麻、川芎2次水提取过程中样品,通过异常点去除、光谱预处理方法确定及最优波段选择,运用偏最小二乘法(PLS)分别建立NIR光谱与天麻素含量和含固量之间的定量校正模型,采用未知样品对定量校正模型进行验证,判断其准确性。结果:天麻素含量和含固量校正模型的相关系数分别为0.968 0,0.977 2,验证模型的相关系数分别为0.965 9,0.978 6,校正均方差(RMSEC)分别为4.686,0.053,预测均方差(RMSEP)分别为3.698,0.034,预测相对偏差(RSEP)分别为4.85%,3.07%。结论:近红外光谱分析技术操作简便、分析速度快且准确度高,可用于天舒胶囊水提取过程天麻素含量及含固量的快速监测。

[关键词] 近红外光谱; 天舒胶囊; 水提取; 天麻素; 含固量

[中图分类号] R283.6;R284.1;R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)23-0028-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015230028

Application Research on Near-infrared Spectroscopy Monitoring of Water Extraction Process of Tianshu Capsules YANG Xu-fang^{1,2}, SUN Yong-cheng², MI Hui-juan², WANG Xiu-hai², LI Feng², WU Yun², XIAO Wei^{1,2*} (1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, China; 2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd., State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222047, China)

[Abstract] **Objective:** To realize quality control of water extracting process, near-infrared (NIR) spectroscopy was used to establish a rapid quantitative analysis model for the content of gastrodin and total solid content in the second water extracting process of Tianshu capsules, which could timely reflect its state. **Method:** Samples of the second water extracting process of Tianshu capsules were collected, after rejection of abnormal samples, pretreatment of spectra and choice of corresponding wave band, multivariate calibration models were respectively established by partial least squares (PLS) algorithm between spectra and the content of gastrodin or total solid content. Samples in the concentrating process, which did not participate in modeling were used to test performance of models. **Result:** Correlation coefficients of the content of gastrodin and total solid content were 0.968 0 and 0.977 2; predicted coefficients of them were 0.965 9 and 0.978 6, root mean square error of calibration (RMSEC) were 4.686 and 0.053, root mean square error of prediction (RMSEP) were 3.698 and 0.034, and the relative standard errors of predictions (RSEP) were 4.85% and 3.07%, respectively. **Conclusion:** The method mentioned above is proved to be convenient, rapid, accurate and applicable for fast analysis and monitoring of active components in the second water extraction process of Tianshu capsules.

[Key words] near-infrared spectroscopy; Tianshu capsules; water extraction; gastrodin; total solid content

近红外光谱分析技术近年来在众多领域得到应用,作为一种过程分析技术其发展迅速。实际操作

[收稿日期] 20150918(009)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2012ZX09201201-002)

[第一作者] 杨绪芳,中级工程师,从事中药新药及中药制药新技术研究,Tel:0518-81152326,E-mail:lafang2008@126.com

[通讯作者] *萧伟,博士,研究员级高级工程师,从事中药新药及中药制药新技术研究,Tel:0518-81152325,E-mail:wzhzh-nj@163.com

时,具有样品处理简单、可用于定性或定量分析、分析快速、不用试剂等优点^[1],近红外光谱技术为实现中药生产过程的在线检测、中药生产过程质量的实时监控提供了支持。目前,该技术已成功应用在中药生产过程的各个环节中^[2-9]。

天舒胶囊处方源于《圣济总录》中大芎丸^[10],是江苏康缘药业股份有限公司的独家品种,由天麻、川芎 2 味药材组成,为《中国药典》2010 年版一部收载品种^[11]。该制剂的制备主体工艺为两药醇提后药渣加水煎煮 2 次^[11]。本实验在天舒胶囊 2 次水提取过程中使用近红外光谱分析技术,应用偏最小二乘法建立 2 次水提取过程的定量校正模型,实现水提取过程中天麻素含量与含固量的快速检测,为该制剂水提取过程的在线质量监控提供研究基础。

1 材料

Luminar 5030 型 AOTF-NIR 光谱分析仪(美国 Brimrose 公司),1200 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 科技有限公司),ME104E 型电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 仪器有限公司),Milli-Q Academic 型纯水机(美国 Millipore 公司)。

天舒胶囊 2 次水提取液(江苏康缘药业股份有限公司),天麻素对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110807-201306,纯度 96.8%),甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 样品收集 根据公司车间实际生产,天麻、川芎 2 味药材 2 次水提取沸腾时开始取样,每隔 5 min 取样 1 次至提取结束,终点重复取样 5 次,共收集 8 批次(17 个/批,共 136 个)样品用于建立定量校正模型,1 批次(共 17 个)样品用于模型验证。

2.2 NIR 光谱采集 室温条件下,利用 NIR 光谱分析仪采集样品的光谱。设定光谱扫描范围 1 100 ~ 2 300 nm,波长增量 2 nm,扫描数 300 次,光程 2 mm,检测方式为透射,每个样本采集 3 张 NIR 图谱,取平均值作为样本的光谱。

2.3 含固量的测定 量取 2.1 项下样品各适量,置于已烘干至恒重的蒸发皿,称重,置烘箱(105 ℃)烘干至恒重,称定质量,计算含固量。

2.4 天麻素的含量测定^[11]

2.4.1 色谱条件 Phenomenex Luna C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.1% 磷酸水溶液(3:97),流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 10 μL,检测波长 221 nm,柱温 30 ℃。

2.4.2 对照品溶液制备 精确称取天麻素对照品

适量,加流动相制成 50 mg·L⁻¹ 的溶液,即得。

2.4.3 供试品溶液的制备 取 2.1 项下样品适量,于 12 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

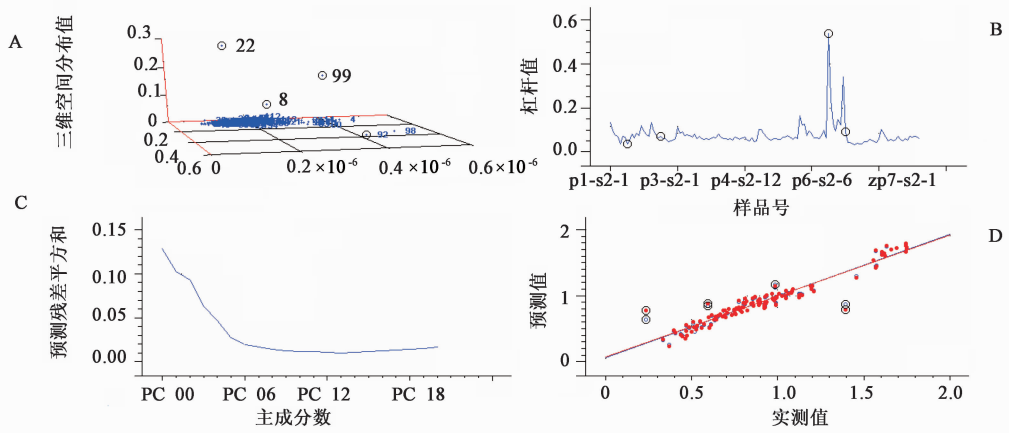
2.4.4 线性关系考察 精密称取天麻素适量,加流动相制成 301.5 mg·L⁻¹ 储备液。精密吸取储备液 0.5, 2, 4, 8, 10 mL,置于 10 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,按 2.4.1 项下色谱条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y = 18.096X + 23.139$ ($R^2 = 0.9998$),线性范围 15.08 ~ 301.50 mg·L⁻¹。

2.5 光谱数据处理和模型性能评价 在对近红外光谱进行异常点的剔除后,在最佳预处理方法基础上,选择最好的波段,运用偏最小二乘法分别建立天麻素含量和含固量 2 个指标与近红外数据间的定量校正模型。Unscrambler 软件以校正集相关系数(R^2),校正均方差(RMSEC),交互验证均方差(RMSEV)为指标优化建模参数,以预测集相关系数(R^2),预测均方差(RMSEP),预测相对偏差(RSEP)为指标评价模型对预测样品预测效果的精准性。

2.6 样品测定数据 校正集和验证集样品中天麻素质量浓度范围分别为 27.363 ~ 150.242, 35.673 ~ 89.672 mg·L⁻¹;校正集和验证集样品含固量范围依次为 0.330% ~ 1.751%, 0.490% ~ 1.205%,预测集样品各指标范围包括在建模指标范围内。天舒胶囊 2 次提取过程中天麻素含量和含固量随着提取时间延长基本呈现增加的趋势,提取结束后各指标检测值趋于平稳。

2.7 模型的建立

2.7.1 异常点的剔除 由于实验人员操作、环境、仪器等误差因素的影响,实验过程中可能会出现异常样品,从而导致模型精度下降。通过异常样品的判断和去除,可提高模型的适用性和预测精准性。异常样品的剔除采用三维空间分布值及线性相关性对照检验,同时参考光谱杠杆值,去除异常样品对模型进行优化^[12]。样品三维空间分布图见图 1A,由于建模用样品为同类样品,它们因相似的光谱信息而分布在一个相对集中的主成分空间中,而远远偏离此区域的少数样品就是异常样品,如图中 8, 22, 92, 99 号样品。线性回归图 1D 的横坐标是实测值,纵坐标是预测值,离回归线比较近或者在回归线上的样品,说明预测值与实测值非常接近或者一致,而那些远离回归线的就是异常样品。杠杆值图 1B 在



A. 三维空间分布值; B. 杠杆值; C. 预测残差平方和-主成分数目关系; D. 线性回归

图 1 天舒胶囊的定量校正模型异常点剔除说明

Fig. 1 Explanation for outlier of rapid quantitative analysis model of Tianshu capsules

优化建模参数时作为辅助参考指标。

2.7.2 光谱预处理 在近红外光谱采集过程中,样品的状态、仪器误差、环境的波动、随机噪音等因素会对光谱产生干扰,导致光谱中包含一些干扰信息,使光谱基线发生漂移,从而影响建模效果。故在建模前需对光谱进行预处理,以去除干扰,扩大光谱有

效信息,提高模型的精确度和预测的效果^[13]。比较原始光谱、一阶导数、二阶导数等 9 种不同预处理方法,天麻素含量和含固量用不同预处理方法所建立的模型性能评价指标见表 1。结果显示天麻素建模光谱最佳预处理方法为平滑(5 点),含固量建模光谱最佳预处理方法为标准化处理。

表 1 天舒胶囊预处理方法的选择

Table 1 Choice of pretreatment method of Tianshu capsules

建模参数	预处理方法	主成分数 /个	校正集		交互验证集		外部未知样品预测结果		
			R ²	RMSEC	R ²	RMSECV	R ²	RMSEP	RSEP
天麻素	原始光谱	10	0.965 5	4.845	0.942 0	6.332	0.963 6	3.869	5.38
	平滑(5 点)	10	0.968 0	4.686	0.940 4	6.442	0.965 9	3.698	4.85
	一阶导数	8	0.968 1	4.727	0.905 4	8.209	0.859 5	7.020	9.66
	一阶导数+9 点平滑	9	0.966 0	4.634	0.926 8	6.865	0.859 7	6.914	9.33
	二阶导数	4	0.903 4	9.259	0.693 5	16.627	0.806 2	11.762	17.00
	二阶导数+9 点平滑	7	0.930 2	7.430	0.855 1	10.796	0.744 7	9.888	13.04
	标准正态变量校正	9	0.965 4	4.830	0.951 6	5.759	0.953 9	4.349	5.81
	标准化处理	11	0.953 5	6.428	0.918 0	8.598	0.969 9	3.364	4.85
	Baseline	10	0.965 2	4.824	0.937 6	6.517	0.960 5	4.103	5.22
含固量	原始光谱	11	0.977 0	0.053 5	0.967 4	0.064 2	0.972 0	0.041 3	3.78
	平滑(5 点)	10	0.979 1	0.051 0	0.969 9	0.061 7	0.971 9	0.041 7	3.81
	一阶导数	8	0.968 1	0.062 8	0.906 6	0.108 3	0.900 4	0.074 4	7.85
	一阶导数+9 点平滑	9	0.966 8	0.063 7	0.920 4	0.099 5	0.955 4	0.053 5	5.66
	二阶导数	4	0.930 2	0.092 5	0.731 4	0.182 9	0.860 2	0.092 0	8.91
	二阶导数+9 点平滑	7	0.921 7	0.098 3	0.839 8	0.141 8	0.817 5	0.101 6	8.89
	标准正态变量校正	9	0.977 9	0.052 0	0.965 3	0.065 8	0.964 1	0.046 7	4.09
	标准化处理	10	0.977 2	0.052 5	0.954 3	0.074 9	0.978 6	0.034 3	3.07
	Baseline	10	0.978 1	0.051 8	0.961 7	0.069 0	0.970 1	0.041 9	3.61

2.7.3 波段的筛选 偏最小二乘法虽可以处理全光谱信息,但因其中会含有大量无效的信息,从而降低有效信息率及计算效率,故需要对最佳的波长范围进行筛选,以消除干扰,提高模型精度^[14]。已筛选出了天麻素含量和含固量 2 个指

标建模时光谱的最佳预处理方法,在最佳光谱预处理方法的基础上,优选最佳建模波段,见表 2。结果表明天麻素、含固量的各自最佳建模波段均为全波长,1 900 ~ 2 050 nm 波段所建模型效果均较差。

表 2 天舒胶囊不同光谱波段的选择

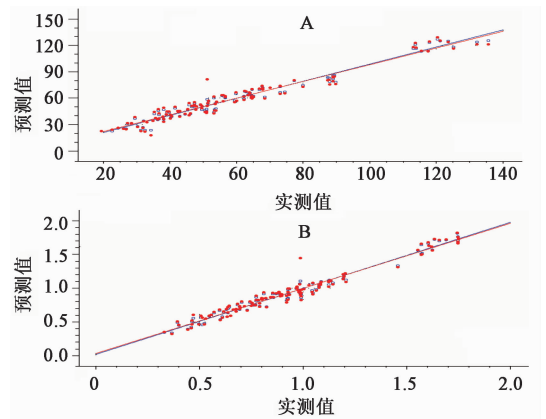
Table 2 Choice of different regions of spectrum of Tianshu capsules

建模参数	建模波段 /nm	主成分数 /个	校正集		交互验证集		外部未知样品预测结果		
			R ²	RMSEC	R ²	RMSECV	R ²	RMSEP	RSEP
天麻素	1 100 ~ 2 300	10	0.968 0	4.686	0.940 4	6.442	0.965 9	3.698	4.85
	1 100 ~ 1 400	9	0.944 6	6.117	0.924 6	7.200	0.890 6	7.203	10.59
	1 400 ~ 1 500	5	0.907 8	8.482	0.896 3	9.088	0.847 8	11.147	17.76
	1 400 ~ 1 900	9	0.917 7	7.804	0.878 3	9.570	0.864 4	9.325	14.51
	1 500 ~ 1 900	8	0.900 2	8.565	0.857 3	10.325	0.781 5	9.493	13.93
	1 900 ~ 2 050	6	0.715 5	15.894	0.642 7	17.950	0.806 2	16.828	26.16
	1 900 ~ 2 300	6	0.811 7	12.875	0.783 1	13.933	0.540 8	14.295	22.85
	2 050 ~ 2 300	5	0.803 1	12.489	0.774 7	13.473	0.434 4	14.210	22.18
含固量	1 100 ~ 2 300	10	0.977 2	0.053	0.954 3	0.075	0.978 6	0.034	3.07
	1 100 ~ 1 400	12	0.953 4	0.076	0.904 3	0.110	0.911 0	0.074	6.27
	1 400 ~ 1 500	5	0.752 8	0.174	0.733 2	0.182	0.760 2	0.141	14.83
	1 400 ~ 1 900	10	0.955 8	0.073	0.918 5	0.100	0.868 6	0.094	9.45
	1 500 ~ 1 900	9	0.957 1	0.073	0.934 8	0.091	0.874 7	0.098	10.79
	1 900 ~ 2 050	3	0.658 7	0.207	0.633 8	0.216	0.362 8	0.207	22.48
	1 900 ~ 2 300	7	0.769 1	0.171	0.684 6	0.201	0.688 9	0.153	17.48
	2 050 ~ 2 300	6	0.700 6	0.194	0.646 2	0.213	0.578 2	0.164	17.80

2.7.4 模型的建立 经过对校正集样品异常点的去除、光谱预处理方法及建模波段的筛选,采用偏最小二乘法分别建立了天麻素和固含物 2 个指标的最佳校正定量模型,并对验证集样品进行预测,结果见表 2,外部未知样品预测情况,预测值与真实值的 RSEP 分别为 4.85%,3.07%。以天麻素含量及含固量为指标建模时,使用标准化处理的近红外光谱预处理方法,并采用全波长(1 100 ~ 2 300 nm)光谱建模,模型的预测能力均最佳,模型线性回归情况见图 2。

3 讨论

天舒胶囊具有活血平肝、通络止痛的功效,临床用于治疗偏头痛,使用广泛,疗效确切。由于中药制剂成分复杂,其生产过程中各工序工艺参数的细微变换均可能导致成品的质量发生变化,复方制剂的提取过程将直接影响产品批次之间质量的均一性。本文建立了天舒胶囊 2 次水提取过程中天麻素含量



A. 天麻素; B. 含固量

图 2 天舒胶囊模型的线性回归

Fig. 2 Linear regression of model of Tianshu capsules

和含固量 2 个关键指标的近红外快速测定方法。运用该模型对未知样本进行验证,结果显示预测集 RSEP 均 < 5%,能够准确快速地得到 2 次水提过程中未知样品的这 2 个指标数据,达到对水提取过程

中天麻素含量及含固量的快速监测的目的,为近红外光谱分析技术用于天舒胶囊水提取过程在线动态质量监控提供了可行性参考。该分析方法操作简便、快速无损且准确可靠,可达到生产工艺稳定、产品批间差异小的目的。

[参考文献]

[1] 陆婉珍. 现代近红外光谱分析技术. [M]. 2版. 北京: 中国石化出版社, 2006: 10.

[2] Rager L, Roos G, Schmidt P C, et al. Rapid quantification of constituents in *St. John's wort* extracts by NIR spectroscopy [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, 28(3/4): 439-446.

[3] Woo Y A, Kim H J, Ze K R, et al. Near-infrared (NIR) spectroscopy for the non-destructive and fast determination of geographical origin of *Angelicae Giganticae Radix* [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2005, 36(5): 955-959.

[4] 雷敬卫, 李小庆, 白雁, 等. 近红外光谱法快速测定逍遥丸(浓缩丸)中水分含量[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(19): 132-135.

[5] 瞿海斌, 叶颖雅, 程翼宇. 近红外光谱快速评价丹参基地药材[J]. *药物分析杂志*, 2006, 26(10): 1413-1416.

[6] 雷敬卫, 樊明月, 白雁, 等. 近红外光谱法结合 PLS 快速测定木香药材中水分的含量[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(15): 75-78.

[7] 王静. 过程分析技术在丹参注射液醇沉和养胃颗粒喷雾制粒中的应用研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2007.

[8] 陈雪英, 李页瑞, 陈勇, 等. 近红外光谱分析技术在赤芍提取过程质量监控中的应用研究[J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(11): 82-85.

[9] 徐晓杰, 宋丽丽, 朱新科, 等. 近红外光谱法用于六味地黄丸粉末混合过程的质量控制研究[J]. *中国现代应用药学杂志*, 2006, 23(7): 644-646.

[10] 赵佶. 《圣济总录》. 上卷[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1962: 403.

[11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 523-524.

[12] 张亚非, 左翔云, 毕宇安, 等. 近红外光谱技术在热毒宁注射液萃取液浓缩过程中的应用研究[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(16): 3069-3073.

[13] 褚小立, 袁洪福, 陆婉珍. 近红外分析中光谱预处理及波长选择方法进展与应用[J]. *化学进展*, 2004, 16(4): 528-542.

[14] 金叶, 丁海樱, 吴永红, 等. 近红外光谱技术用于血必净注射液提取过程的在线检测研究[J]. *药物分析杂志*, 2012, 32(7): 1214-1220.

[责任编辑 刘德文]

《中国实验方剂学杂志》入选 2015—2016 年度 CSCD(E)

经过中国科学院“中国科学引文数据库(Chinese Science Citation Database, 简称 CSCD)”定量遴选、专家定性评估,《中国实验方剂学杂志》入选 2015—2016 年度 CSCD(E)。

2015—2016 年度 CSCD 收录来源期刊 1200 种, 其中中国出版的英文期刊 194 种, 中文期刊 1006 种。CSCD 来源期刊分为核心库和扩展库两部分, 其中核心库 872 种(以备注栏中 C 为标记); 扩展库 328 种(以备注栏中 E 为标记)。

CSCD 具有建库历史最为悠久、专业性强、数据准确规范、检索方式多样、完整、方便等特点, 自提供使用以来, 深受用户好评, 被誉为“中国的 SCI”。CSCD 是我国第一个引文数据库, 曾获中国科学院科技进步二等奖。该数据库已在我国科研院所、高等学校的课题查新、基金资助、项目评估、成果申报、人才选拔以及文献计量与评价研究等多方面作为权威文献检索工具获得广泛应用。