

基于近红外光谱判定复方丹参片生产过程中冰片的混合均匀性

匡艳辉¹, 唐海蛟^{1*}, 王德勤¹, 刘晓谦², 覃仁安¹, 王智民², 李楚源¹

(1. 广州白云山和记黄埔中药有限公司, 广州 510515; 2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

[摘要] **目的:**探索一种近红外光谱用于判定复方丹参片生产过程中微量冰片混合均匀性的方法,为该制剂的质量改进提供参考。**方法:**收集混合过程中所需原料,按照一定的比例配制成不同的组分,采用研磨和喷雾2种方式将冰片混入干膏粉中,在不同部位均匀取样,所得样品进行近红外光谱扫描并计算其阈值及欧式距离,采用气相色谱法(GC)检验每份样品中冰片的含量,DB-FFAP毛细管柱(0.32 mm×30 m,0.25 μm),柱温110℃,进样口和检测器温度均为200℃,分流比1:1。**结果:**当阈值或欧式距离<0.01时,GC结果显示冰片含量的RSD<10%,表明冰片混合均匀;当阈值或欧式距离>0.01时,GC结果显示冰片含量的RSD>30%,表明冰片混合不均匀。**结论:**所建立的方法能有效快速判定复方丹参片生产过程中冰片混合的均匀性,建议纳入企业内控或国家标准中。

[关键词] 复方丹参片;冰片;均匀度;阈值;欧氏距离;气相色谱法;近红外光谱

[中图分类号] R22;R283.6;R289;O6-331;R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)06-0007-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20180602

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171226.1149.004.html>

[网络出版时间] 2017-12-27 11:01

A Method for Analyzing Uniformity of Borneol in Manufactory Process of Compound Danshen Tablets by Near-infrared Spectroscopy

KUANG Yan-hui¹, TANG Hai-jiao^{1*}, WANG De-qin¹, LIU Xiao-qian²,
QIN Ren-an¹, WANG Zhi-min², LI Chu-yuan¹

(1. Guangzhou Baiyun Mountain and Hutchison Whampoa Co. Ltd., Guangzhou 510515, China;
2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** A near-infrared method for determining the uniformity of micro-borneol in the production process of compound Danshen tablets was investigated. **Method:** The raw materials required for the mixing process were collected and prepared into different fractions according to a certain ratio, two ways of grinding and spraying were used to mix borneol into the dry extract. Uniform samples were sampled at different locations, the samples were scanned by near-infrared, and their thresholds and Euclidean distance parameters were calculated. The content of borneol in each sample was detected by GC. **Result:** When the threshold or the Euclidean distance was <0.01, GC results showed that RSD of borneol content was <10%, indicating that the borneol was uniformly mixed. When the threshold or the Euclidean distance was >0.01, GC results showed that RSD of borneol content was >30%, indicating that the borneol was mixed unevenly. **Conclusion:** The established method can effectively and quickly determine the uniformity of borneol mixing in compound Danshen tablets, it is recommended to be incorporated into internal control or national standards.

[收稿日期] 20170822(007)

[基金项目] 国家中医药管理局中药标准化项目(ZYBZH-C-GD-05)

[第一作者] 匡艳辉, 硕士, 高级工程师, 从事中药制剂工艺及质量标准研究, Tel:020-66282450, E-mail:kyanhui@163.com

[通信作者] *唐海蛟, 硕士, 从事中药质量标准研究, Tel:020-66282449, E-mail:tanghaijiao@813zy.com

[Key words] compound Danshen tablets; borneol; uniformity; threshold; Euclidean distance; gas chromatography; near-infrared spectroscopy

在中成药制药生产过程中,物料的混合是一个连续封闭的过程,传统的混合均匀性测定方法局限于多点取样后送实验室分析,导致分析时间长、分析结果严重滞后等问题,且中药原料本身存在的批次性差异也会导致每批物料原则上混合时间的不同,很难仅凭终产品的质量数据就获得较好的结果,特别是微量成分混于中药浸膏时其难度更大。因此如何在混合过程中快速检测物料是否混合均匀,这成为中成药亟需解决的问题之一。

复方丹参片具有活血化瘀、理气止痛的功效,用于防治心脑血管疾病。该制剂的处方以 1 000 片为例计算,冰片用量仅 8 g,加之冰片又容易挥发,若混合过程中局部含量不均匀,势必会加重“耗气”或无法速效,因此如何保证冰片在与药膏、药粉混合时达到均匀,是保证复方丹参片产品质量和安全的关键难题之一。为检验冰片是否混合均匀,一般在同一混合容器内取不同点的样品,采用气相色谱法等^[1-4]检测冰片的含量,该法虽具有一定的精密性,但由于其分析时间长且分析结果滞后,无法在生产过程中实时监控产品质量和过程终点。另有采用近红外光谱技术(NIR)进行分析的^[5-7],因该法操作简便、快速,在制药行业得到了一定的推广与应用,是过程分析技术的主要在线检测技术之一;但由于 NIR 进行定量分析时需要建模,而建模又需要耗费大量的时间和成本,且模型的准确度远不及气相色谱法,所以在实际应用中并不是很广泛。

本实验以复方丹参片为研究对象,探讨采用 NIR 判定生产过程中微量冰片与药粉、药膏是否混合均匀的可行性,设计不同的冰片与干膏粉比率,采用研磨和喷雾 2 种方式将冰片混入干膏粉中,所得样品进行 NIR 扫描,计算样品近红外图谱之间的阈值及欧式距离,同步采用气相色谱法检验冰片的含量。结果发现阈值和欧式距离能有效快速地判定复方丹参片生产过程中冰片混合是否均匀,该法能极大地提高工作效率、提升产品的内在质量。

1 材料

MPA 型近红外光谱仪(德国布鲁克公司),HH260-II 型台式混合机(上海东球),FL-60C 型沸腾干燥制粒机(重庆宏南科技有限公司)。复方丹参片用干膏粉、冰片(广州白云山和记黄埔中药有限公司,批号分别为 D17A036,1703004),龙脑、异

龙脑对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110881-201508,111512-201603,纯度分别为 96.8%,96.7%),试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 欧式距离和阈值 欧式距离指在 m 维空间中 2 个点之间的真实距离,或者向量的自然长度(即该点到原点的距离),在二维和三维空间中的欧氏距离就是两点之间的实际距离。在近红外中,通过数学法计算每份参考光谱的光谱距离并完成建模,未知样品光谱与模型中的参考光谱进行比较,计算光谱距离,此为欧式距离。如果测试光谱与模型中的参考图谱越匹配,则欧氏距离值越小。以 2 张图谱为例,1 张是测试光谱,1 张是平均光谱,欧式距离(D)的计算公式表示如下:

$$D = \sqrt{\sum_{i=1}^n (A_{s(\lambda_i)} - A_{r(\lambda_i)})^2}$$

式中 $A_{s(\lambda_i)}$ 为测试光谱在 λ_i 处的吸光度, $A_{r(\lambda_i)}$ 为模型的平均光谱在 λ_i 处的吸光度。欧式距离体现了 2 条光谱在所选波长范围内在 Y 轴差异的总和。如果 2 条光谱完全相同,那么 Y 轴差异的总和也就是零,随着 Y 轴 A 差异的增加,那么欧式距离也会相应的增大。说明欧式距离是衡量 2 条光谱差异程度的 1 个数值。阈值是对模型中所有光谱设定的 1 个距离限度,目的是为了选取合适的阈值,使其他所有参考光谱同平均光谱的欧式距离都小于这个限度,也就是 D_{\max} ,阈值比所有的单独光谱的最大欧式距离还要大。而阈值比最大欧式距离还要大的部分是通过加入欧式距离标准差来得到的,这个附加因素是为了预测未知样品光谱时能够允许存在一定的误差范围。在建模时,为了更加合理地计算阈值,一般会收集多条光谱产生相应的平均光谱并得到阈值。阈值 = $D_{\max} + X \times S_0$,式中 X 为用户自定义的阈值因子,默认值 0.25; S_0 为光谱距离的标准偏差^[8]。

2.2 样品的制备及检测 参照 2015 年版《中国药典》中复方丹参片中冰片的质量为 8 mg/片,总片重 0.32 g,除去包衣的质量,按照素片重 0.3 g 计算,复方丹参片未加冰片的干膏粉与冰片的质量比为 100:2.7。按此设计了 100:0.9,100:1.8,100:2.7,100:3.6,100:5.4 共 5 个比例,采用研磨和喷雾加入法 2 种方法,考察不同混匀方法对冰片均匀度的影响。

2.2.1 研磨加入法 按照 2015 年版《中国药典》，即冰片研磨后过 100 目筛，将干膏粉和冰片放入混合机，按照生产工艺要求的时间和参数混合均匀。

2.2.2 喷雾加入法 即将冰片溶解到一定量的 95% 乙醇中，配成冰片质量浓度约 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液，用真空机喷洒至干膏粉中。

同份样品的上、中、下不同的位置共 10 个点取样进行近红外扫描，建立近红外的定性测试模式，得到定性分析模型的阈值，计算每条光谱与平均光谱的欧式距离。同时采用气相色谱法 (GC) 测定每份样品的冰片含量。

2.3 近红外扫描参数 光源卤钨灯，检测器硫化铅 (PbS)，附漫反射积分球，样品旋转器和 5 cm 石英样品杯，测样方式为积分球漫反射，分辨率 8 cm^{-1} ，扫描数 64 次，扫描范围 $12\ 000 \sim 4\ 000 \text{ cm}^{-1}$ ，室温 $18 \sim 25 \text{ }^\circ\text{C}$ 。所有样品的近红外光谱见图 1。

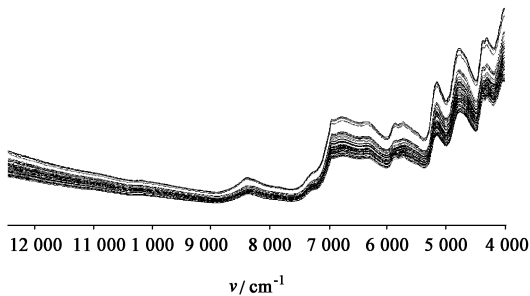


图 1 复方丹参片样品的近红外吸收光谱
Fig. 1 Near-infrared absorption spectra of compound Danshen tablets samples

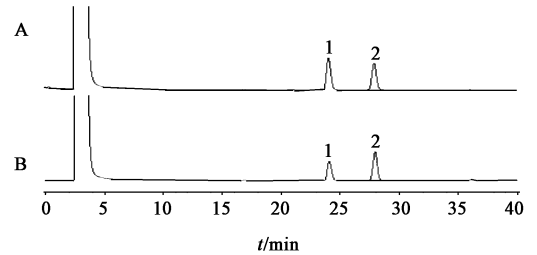
2.4 GC 分析

2.4.1 对照品溶液的制备 取龙脑、异龙脑对照品适量，精密称定，分别加无水乙醇制成每 1 mL 含 0.2, 0.3 mg 的混合对照品溶液。

2.4.2 供试品溶液的制备 取本品约 0.2 g，精密称定，置锥形瓶中，精密加入无水乙醇 10 mL，称定质量，超声处理 15 min (频率 37 kHz, 功率 350 W)，放冷，用无水乙醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.4.3 样品检测 DB-FFAP 毛细管柱 ($0.32 \text{ mm} \times 30 \text{ m}, 0.25 \text{ }\mu\text{m}$)，柱温 $110 \text{ }^\circ\text{C}$ ，进样口温度 $200 \text{ }^\circ\text{C}$ ，检测器温度 $200 \text{ }^\circ\text{C}$ ，分流比 1:1。取混合对照品溶液、供试品溶液各 $2 \text{ }\mu\text{L}$ 注入气相色谱仪，冰片含量为异龙脑和龙脑含量之和。见图 2。

分析每组测试光谱的阈值，以及每个样本的测试光谱与平均光谱之间的欧式距离，结果发现喷雾加入法每组阈值都 < 0.01 ，所得样品的欧式距离



A. 混合对照品; B. 供试品; 1. 异龙脑; 2. 龙脑

图 2 复方丹参片的 GC

Fig. 2 GC chromatograms of compound Danshen tablets

都 < 0.01 ，说明喷雾加入法所得的每组样品的组内差异较小，混合均匀。而研磨加入法每组阈值都 > 0.01 ，所得样品的欧式距离有部分 > 0.01 ，说明该光谱跟其他光谱之间存在一定距离，即该点没有混合均匀。同步按上述条件检测其冰片含量，结果喷雾加入法中 5 组冰片质量分数平均值分别为 10.86, 23.56, 42.29, 58.23, 113.24 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，每组组内的 RSD 均 $< 10\%$ ，采用研磨加入法处理时，5 组冰片质量分数平均值分别为 10.01, 12.28, 29.21, 29.86, 80.88 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，每组组内的 RSD 均 $> 30\%$ ，进一步证实了喷雾加入法更有利于样品的混合均匀。见表 1。

2.5 验证试验 向冰片中加入 95% 乙醇配制成约 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液，过 100 目筛，用沸腾制粒干燥机喷入复方丹参干膏粉中。取上、中、下不同的位置共 10 个点进行近红外扫描，得到阈值和欧式距离，同时按照 2.4 项下条件测定每份样品中的冰片含量，见表 2。结果发现样本组的阈值和每个样本的欧式距离均 < 0.01 ，而对应的冰片含量也均较稳定，RSD $< 5\%$ ，证明该法能够有效判断冰片是否混合均匀。

3 讨论

本研究建立了一种快速判定样品是否混合均匀的方法，即用欧式距离和阈值来判定，当欧式距离和阈值均 < 0.01 时，说明样品混合均匀，反之，则说明样品没有混合均匀。其中欧式距离表达的是每个取样点的光谱与平均光谱的差距，阈值表达的是所有取样点光谱之间的距离，两者可以同时判定，也可单个进行判定。为了保证结果的准确性，且两者的计算方式都比较简便，建议采用两者同时判定。

本研究提出的方法是一种定性分析方法，只需要收集混合过程中具有代表性的样品的近红外光谱，通过简单的数据处理，即可判断样品是否混合均匀，且在一定的浓度范围内均具有可行性，可用于

表 1 不同方法所得近红外光谱的欧式距离、阈值及样品中冰片质量分数

Table 1 Euclidean distances and threshold values of near-infrared spectra, content of borneol in samples obtained by different methods

组别	喷雾加入法				研磨加入法			
	欧式距离	阈值	冰片质量分数 /mg·g ⁻¹	RSD /%	欧式距离	阈值	冰片质量分数 /mg·g ⁻¹	RSD /%
100:0.9	0.005 97	0.009 83	11.25	5.1	0.010 15	0.015 65	7.69	59.0
	0.002 38		10.01		0.003 78		8.17	
	0.003 15		10.79		0.003 83		15.42	
	0.003 68		11.91		0.007 50		20.23	
	0.004 37		11.10		0.003 36		18.80	
	0.005 29		10.77		0.013 82		6.10	
	0.008 52		11.15		0.006 02		7.80	
	0.002 64		10.15		0.005 72		3.92	
	0.005 77		10.96		0.004 28		7.55	
	0.004 53		10.46		0.003 04		4.43	
100:1.8	0.003 08	0.007 37	23.87	8.1	0.006 28	0.014 24	10.61	62.0
	0.003 69		20.70		0.009 40		28.33	
	0.003 86		22.54		0.004 68		6.65	
	0.003 58		23.72		0.012 13		4.82	
	0.002 11		25.12		0.007 58		22.76	
	0.006 10		24.32		0.003 92		4.96	
	0.002 61		25.77		0.007 55		12.17	
	0.003 03		22.48		0.103 50		12.50	
	0.006 29		20.85		0.007 85		10.42	
	0.004 39		26.25		0.006 93		9.58	
100:2.7	0.002 43	0.006 66	41.55	4.6	0.007 43	0.018 22	44.69	37.4
	0.003 26		43.52		0.006 19		29.45	
	0.005 69		40.69		0.012 41		43.11	
	0.004 11		40.98		0.009 14		17.55	
	0.004 12		42.37		0.003 80		12.46	
	0.004 15		39.87		0.010 17		26.97	
	0.002 91		43.87		0.013 60		20.94	
	0.002 85		46.59		0.008 78		41.18	
	0.002 44		42.33		0.008 31		28.83	
	0.003 59		41.09		0.015 56		26.91	
100:3.6	0.003 42	0.005 34	62.40	6.8	0.003 05	0.026 65	46.12	57.0
	0.002 21		49.58		0.011 08		27.94	
	0.002 56		58.30		0.006 41		26.88	
	0.004 29		59.04		0.011 13		18.72	
	0.004 49		57.47		0.023 49		22.45	
	0.003 11		55.89		0.003 34		13.67	
	0.002 50		61.76		0.018 51		59.01	
	0.003 32		57.07		0.014 05		52.29	

续表 1

组别	喷雾加入法				研磨加入法			
	欧氏距离	阈值	冰片质量分数 /mg·g ⁻¹	RSD /%	欧氏距离	阈值	冰片质量分数 /mg·g ⁻¹	RSD /%
100:5.4	0.002 83		57.88		0.005 80		7.42	
	0.002 76		63.44		0.002 78		24.10	
	0.005 87	0.007 31	112.46	1.6	0.007 08	0.031 64	112.38	33.0
	0.005 62		110.58		0.009 04		116.27	
	0.004 55		113.06		0.020 67		68.16	
	0.004 83		114.20		0.027 97		55.29	
	0.004 99		115.79		0.008 69		34.25	
	0.004 65		112.14		0.009 78		77.19	
	0.005 94		116.57		0.006 79		110.75	
	0.005 41		111.54		0.017 47		66.05	
	0.005 32		113.39		0.002 89		87.34	
	0.004 29		112.63		0.008 50		81.12	

表 2 复方丹参片喷雾加入法的中试试验

Table 2 Pilot test of compound Danshen tablets with spray addition method

位置	欧氏距离	冰片质量分数/mg·g ⁻¹	位置	欧氏距离	冰片质量分数/mg·g ⁻¹
1	0.002 51	42.36	6	0.002 73	41.77
2	0.003 24	41.06	7	0.002 82	42.10
3	0.001 94	45.29	8	0.002 31	42.32
4	0.003 27	41.08	9	0.002 19	40.95
5	0.003 05	45.27	10	0.002 51	45.89

注:阈值 0.003 98, RSD 4.5%。

生产过程中的动态监测。该法虽不能直接得出样品的含量结果,但是省去了定量分析需要建模等繁琐的步骤。该法操作简便、快速有效,建议纳入企业内控或国家标准中。

本研究考察了研磨和喷雾 2 种冰片的加入方法,通过比较发现,采用喷雾法将冰片加入到药粉或药膏中时,冰片溶液在压缩空气的作用下形成极细的雾粒,乙醇迅速挥发,留下冰片微粒附着在药粉或药膏之中,且比较均匀,这为复方丹参片生产工艺的改进奠定了基础^[9-10]。本研究是针对同一品种控制批内一致性而建立的,鉴于近红外反映的是被监测对象的综合信息,而中成药因批间存在一定的差异,导致批间的近红外信息本就存在差异,故批间样品的均一性不能用该法来进行判断,这还有待进一步的研究去探索与证实。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:146.
- [2] 张洪,周本宏,罗云,等. β -环糊精包结冰片以提高复方丹参片的质量研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 1998,4(5):1-3.
- [3] 张韦娜. 复方丹参片标准制剂的质量研究[D]. 广州:广东药学院,2014.
- [4] 石巧娟,陈琴华,戴方伟,等. 复方丹参片中冰片的 GC-MS 法测定[J]. 中国医药工业杂志, 2006, 37(10):706-707.
- [5] 杨婵,徐冰,张志强,等. 基于移动窗 F 检验法的中药配方颗粒混合均匀度近红外分析研究[J]. 中国中药杂志, 2016,42(19): 3557-3562.
- [6] 武卫红,王宁,石俊英,等. 基于 AOTF-近红外光谱技术的复方丹参片快速无损质量控制研究[J]. 中成药, 2010,32(7):1140-1144.
- [7] 柳艳云,沈佳特,万文标,等. 近红外光谱法对银杏叶分散片混合均匀性的在线控制研究[J]. 中国药学杂志, 2014,49(6):505-508.
- [8] 刘小莉. 应用傅利叶近红外光谱定性、定量检测鱼粉中掺杂三聚氰胺的研究[D]. 雅安:四川农业大学,2010.
- [9] 王德昌. 复方丹参片的质量有待提高[J]. 中国实验方剂学杂志, 2003,9(3):49.
- [10] 王方升. 复方丹参片生产工艺改进研究[J]. 上海医药, 2003,24(12):558-559.

[责任编辑 刘德文]