

近红外光谱法快速测定消渴丸干模丸中葛根素含量

石猛*, 尹震, 孙幸, 梁智琳, 王江超, 雷婷
(广州中一药业有限公司, 广州 510530)

[摘要] 目的:采用近红外光谱法对消渴丸干模丸中葛根素含量进行快速测定。方法:以 HPLC 分析值作为参照,采用近红外漫反射光谱技术采集消渴丸干模丸的近红外光谱,结合偏最小二乘法建立葛根素含量的快速测定方法,并对未知样品进行含量预测。结果:建立的葛根素校正模型 $R^2 = 0.9482$, RMSECV = 0.248, RPD = 4.40。对验证集样品预测平均相对偏差为 3.51%。结论:该方法准确、快速、简便,可作为消渴丸中间产品质量检测和实时在线质量控制的方法。

[关键词] 近红外光谱法; 消渴丸; 葛根素

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)22-0088-03

Rapid Determination of Puerarin in Dry Pills of Xiaoke Pills by Near-infrared Spectroscopy

SHI Meng*, YIN Zhen, SUN Xing, LIANG Zhi-lin, WANG Jiang-chao, LEI Ting
(Guangzhou Zhongyi Pharmaceutical Company Ltd., Guangzhou 510530, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content of puerarin in dry pills of Xiaoke pills rapidly by near-infrared spectroscopy. **Method:** Near-infrared diffuse reflectance spectroscopy technology was used to collect NIR spectra of the dry pills. With HPLC analysis values as reference, the fast determination method for puerarin was established with partial least squares (PLS). **Result:** R^2 , RMSECV and RPD of the calibration model for puerarin were 0.9482, 0.248 and 4.40, respectively. The average relative deviation of the predication set was 3.51%. **Conclusion:** The method is accurate, fast and simple, which could be generalized to the quality monitor of intermediates and on-line quality control in the manufacture process of the Xiaoke pills.

[Key words] near-infrared spectroscopy; Xiaoke pills; puerarin

消渴丸收载于 2010 年版《中国药典》,是由葛根、黄芪、玉米须、格列本脲等 8 味药组成的中西药复方制剂,具滋阴养阴、益气生津之功效,临床上广泛应用于多饮、多尿、多食、消瘦、体倦乏力、眠差、腰痛之气阴两虚所致的消渴病,或 2 型糖尿病见上述证候者^[1]。

近红外光谱法(NIR)作为一种快速、无污染、非破坏性的分析方法,不仅可以用于中药材、中药提取物、中药制剂的定性、定量检测,更可以利用光纤探

头技术实现对中药生产工艺的在线监测,具有很好的应用前景^[2-6]。以消渴丸的中间产品干模丸为研究对象,将近红外光谱法应用于其葛根素含量的快速检测,通过对 NIR 信息与 HPLC 色谱信息的化学计量学分析,采用偏最小二乘法建立干模丸中葛根素含量的定量校正模型,实现对消渴丸制丸过程中间产品的快速检测。

1 仪器与试剂

近红外光谱分析仪(MPA 型,德国 BRUKER 公司),配备半导体冷却的高灵敏度 InGaAs 检测器和 PbS 检测器、漫反射积分球、样品旋转器、样品杯和 OPUS 化学计量学软件;高效液相色谱仪(Agilent 1100 型,美国 Agilent 公司);电子天平(XS205DU 型,METTLER);高速万能粉碎机(天津泰斯特)。

消渴丸干模丸(广州中一药业有限公司,共 67

[收稿日期] 20120717(449)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09308-003)

[通讯作者] *石猛,高级工程师,从事中药生产和技术开发,
Tel:020-32218884, E-mail:shimeng1964@126.com

批);葛根素对照品(中国药品生物制品检定所,批号200912);甲醇(色谱纯,HONEYWELL);纯化水(广州中一药业有限公司)。

2 方法

2.1 采集近红外光谱 取消渴丸中间产品干模丸适量,用高速万能粉碎机粉碎30 s,粉碎后的药粉过80目筛。取过筛后细粉约10 g,倒入50 mm直径的样品杯中,将样品杯置样品旋转器上,使用MPA型近红外光谱分析仪的漫反射积分球模块采集样品的近红外光谱,每个样品重复装样扫描2次。谱区范围 $12\ 000\sim 4\ 000\text{ cm}^{-1}$,分辨率 8 cm^{-1} ,扫描次数64次。67个样品的原始近红外光谱图见图1。

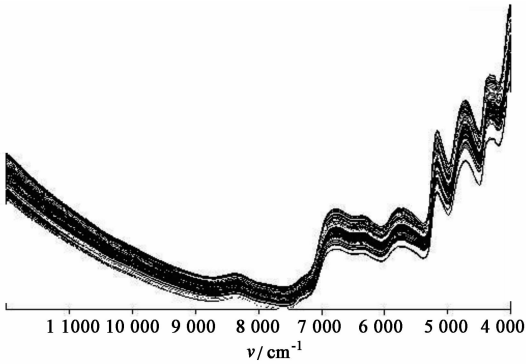


图1 消渴丸干模丸近红外图谱

2.2 HPLC测定葛根素含量 取消渴丸药粉中葛根素含量HPLC测定色谱条件:Agilent Zorbax SB-C₁₈色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相甲醇-水(25:75);检测波长250 nm;进样量10 μL;流速1.0 mL·min⁻¹;柱温25℃。以保留时间定性,峰面积定量,外标法计算。

2.3 建立模型 将全部样品分为校正集和验证集,其中47个样品作为校正集,20个样品作为验证集,具体见表1。

表1 校正集与验证集样品情况

样品	样品数	含量范围 /mg·g ⁻¹	平均值 /mg·g ⁻¹	RSD /%
校正集	47	10.07~15.38	12.40	8.90
验证集	20	10.36~14.34	12.68	9.78

将校正集样品近红外光谱与HPLC检测结果关联并进行化学计量学分析,使用OPUS 6.5软件对光谱进行优化,以 R^2 ,RMSECV,RPD为指标,最终确定模型参数。

3 结果

3.1 光谱预处理方法的选择 以 R^2 、RMSECV、RPD为指标,对多种预处理方法进行比较以寻找最

佳方法。其中 R^2 代表变量之间的线性相关程度, R^2 越接近1,RMSECV越小,表明模型结构越合理;RPD越大,模型准确性越高。由表2可见,一阶导数为最佳光谱预处理方法。

表2 光谱预处理方法

光谱预处理方法	R^2	RMSECV	RPD
无光谱预处理	0.911 4	0.322	3.36
消除常数偏移量	0.936 8	0.272	3.98
矢量归一化	0.944 4	0.255	4.24
多元散射校正	0.933 0	0.280	3.87
一阶导数+MSC	0.946 0	0.254	4.31
一阶导数+矢量归一化	0.945 5	0.255	4.29
一阶导数	0.948 2	0.248	4.40
二阶导数	0.686 1	0.612	1.79

3.2 谱区范围的选择 通过比较各谱区范围数据对模型性能的影响(表3),最终确定谱区范围为 $7\ 502\sim 5\ 446.2\text{ cm}^{-1}$ 。

表3 谱区范围选择

谱区范围/cm ⁻¹	R^2	RMSECV	RPD
7 502~5 446.2	0.948 2	0.248	4.40
7 502~5 446.2, 4 601.5~4 246.7	0.918 2	0.312	3.50
7 502~4 597.6	0.921 1	0.307	3.57
6 101.9~4 246.7	0.896 2	0.352	3.11
6 101.9~5 446.2, 4 601.5~4 246.7	0.896 1	0.352	3.11

3.3 主因子数的选择 使用偏最小二乘法(partial least squares, PLS)进行多元因子回归时,最佳主因子数尤为重要。若选取的主因子数太少,会丢失原光谱信息;若选取的主因子数太多,会出现过度拟合现象。采用“留一法”,通过交叉验证最终确定模型所采用的主因子数为9,见图2。

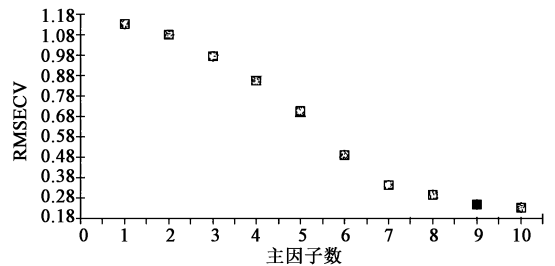


图2 消渴丸干模丸葛根素含量模型交叉验证-RMSECV/主因子数

3.4 模型的建立及交叉验证

3.4.1 最终确定模型建立的方法 将近红外原始图谱用一阶导数求导,并选择 $7\ 502\sim 5\ 446.2\text{ cm}^{-1}$ 区间的光谱,预处理后的光谱见图3。采用PLS法

建立校正模型,其中主因子数为 9。模型 $R^2 = 0.9482$, $RMSECV = 0.248$, $RPD = 4.40$ 。

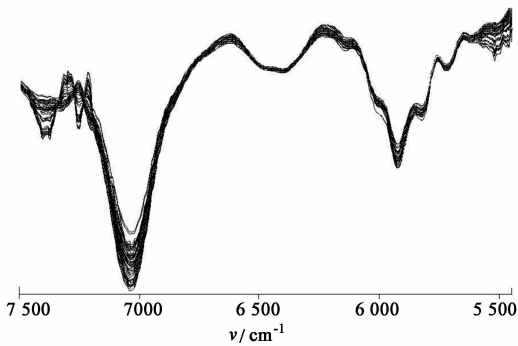


图 3 校正预处理后的红外光谱

3.4.2 交叉验证结果 相对偏差最小值 0.02%, 相对偏差最大值 4.48%, 平均相对偏差 1.52%, 见图 4。

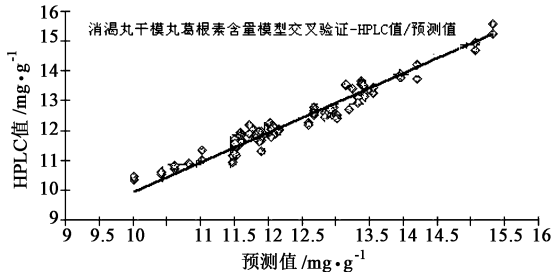


图 4 模型交叉验证

3.5 验证集外部验证 取验证集样品 20 个,使用已建立的模型进行模型外部验证,结果见表 4。相对偏差 0.06% ~ 7.68%, 平均相对偏差 3.51%, 模型预测性能良好。

4 讨论

建立了基于近红外光谱法的消渴丸中间产品干模丸中葛根素含量的快速测定方法,方法能够较为准确的测定干模丸中葛根素含量,具有快速、精确、无污染的特性。本方法可作为生产过程质量控制的有效手段,并且可在中药生产中进一步推广。

样品的预处理对于固体物料的近红外分析极其重要。物料粒径的大小和均一程度对模型性能有较大影响,降低样品粒径,可以使样品颗粒物理状态的离散度下降,从而降低源于粒径不均而引起的随机误差。由于消渴丸干模丸表面有无规律的凹陷和凸起,会产生较大的随机误差,因此,本方法将物料粉碎成 80 目细粉后再扫描近红外图谱,有效降低了随机误差的产生,提高了模型的可靠性。

中药制药过程包含了多个生产环节,本文仅针

表 4 验证集外部验证结果

样品名	液相值 /mg·g ⁻¹	预测值 /mg·g ⁻¹	绝对偏差 /mg·g ⁻¹	相对偏差 /%	平均相对 偏差/%
P01451	13.60	13.28	-0.32	2.37	3.51
P01452	13.05	13.90	0.85	6.54	
P01453	11.27	11.72	0.45	3.99	
P01454	10.36	11.16	0.80	7.68	
P01455	11.08	11.85	0.77	6.93	
P01456	12.52	12.88	0.36	2.91	
P01457	13.95	13.61	-0.34	2.43	
P01459	13.61	14.31	0.70	5.12	
P01482	11.21	10.36	-0.85	7.61	
P01485	11.54	12.19	0.65	5.66	
P01487	12.26	12.15	-0.11	0.92	
P01488	11.16	11.10	-0.06	0.53	
P01490	11.87	11.56	-0.31	2.62	
P01491	13.84	13.96	0.12	0.87	
P01492	13.98	13.99	0.01	0.06	
P01493	14.34	13.68	-0.66	4.60	
P01497	13.58	13.80	0.22	1.59	
P01498	13.69	13.31	-0.38	2.78	
P01559	13.93	13.75	-0.18	1.28	
P01603	12.74	13.21	0.47	3.72	

对中药生产的一个环节进行了研究,可将本方法深入研究并应用于其他生产环节,以实现生产全过程的控制。

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S]. 2010: 1041.
 [2] Fan Qi, Wang Yuanliang, Sunb Peng, et al. Discrimination of *Ephedra* plants with diffuse reflectance FT-NIRS and multivariate analysis [J]. Talanta, 2010 (80): 1245.
 [3] 孙鹏,张小松,杨腊虎,等.不同产地青蒿 FTIR 特征图谱的系统聚类分析和主成分分析[J]. 药物分析杂志, 2008,28(10): 1633.
 [4] 付友珍,王斌,杨天鸣,等.叶提取液中总黄酮含量[J]. 化学与生物工程,2009,26(5): 75.
 [5] Berntsson O, Danielsson L, Lagerholm B, et al. Quantitative in-line monitoring of powder blending by near infrared reflection spectroscopy [J]. Powder Technology, 2002,123:185.
 [6] 聂黎行,王钢力,李志猛,等.近红外光谱法在乌鸡白凤丸半成品质量控制中的应用[J]. 中成药,2009,31(7): 1054.

[责任编辑 顾雪竹]