

近红外光纤光谱法快速检测 清热解毒口服液中黄芩苷的含量

白雁^{*}, 李珊, 龚海燕
(河南中医学院, 郑州 450008)

[摘要] **目的:**建立应用近红外光纤光谱法对清热解毒口服液进行现场快速定量分析的方法。**方法:**收集 100 批清热解毒口服液为样本,利用 HPLC 测定样品中黄芩苷的含量,采集光谱,用偏最小二乘法(PLS)对清热解毒口服液中黄芩苷成分建立了定量分析模型,并对模型的处理方法、波长范围进行了研究。**结果:**建立的黄芩苷校正模型相关系数(R^2)、估计误差均方根(RMSEE)、相对分析误差(RPD)分别为 0.915 4, 0.040 3, 3.44。经外部验证,校正模型的预测均方差(RMSEP)、平均回收率分别为 0.039 9, 100.299%。**结论:**本研究使用近红外光纤光谱法所建立的对清热解毒口服液中黄芩苷的分析方法快速、准确,为清热解毒口服液的现场、即时快速定量分析提供了一种新方法,同时也为生产过程中的在线质量监控奠定了基础。

[关键词] 近红外光纤光谱法; 偏最小二乘法; 清热解毒口服液; 黄芩苷; 快速测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0109-04

Determination of Baicalin of Qingre Jiedu Oral Solution by Near-infrared Fibre-optical Spectroscopy Rapidly

BAI Yan^{*}, LI Shan, GONG Hai-yan
(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a new method for on-site rapidly analyzing Qingre Jiedu Oral Solution by near-infrared fibre-optical spectroscopy. **Method:** The samples are 100 batches of Qingre Jiedu Oral Solution. Baicalin in Qingre Jiedu Oral Solution was examined by HPLC, and then, scanning spectral. Quantitative analysis model of baicalin in Qingre Jiedu Oral Solution was established using partial least squares (PLS). The model conditions was researched, such as different spectral pretreatments and wavelength regression. **Result:** The correlation coefficients (R^2), the root-mean-square error of estimated (RMSEE) and the RPD of the calibration model for baicalin were 0.915 4, 0.040 3 and 3.44, respectively; the root-mean-square error of prediction (RMSEP) and the average rate of recovery were 0.039 9 and 100.299%. **Conclusion:** The analysis method based on near-infrared fibre-optical spectroscopy provides a foundation for rapid quantitative analysis of Qingre Jiedu Oral Solution, which sets up the foundation of product-line control of Qingre Jiedu Oral Solution and can be used for on-site rapid testing of drugs.

[Key words] Near-infrared fibre-optical spectroscopy; partial least square; Qingre Jiedu Oral Solution; baicalin; rapid determination

清热解毒口服液^[1]由金银花、连翘、黄芩等 12

味药加工而成,具清热解毒的作用,是治疗热毒壅盛所致发热面赤、烦躁口渴、咽喉肿痛等症的常用中成药,已用于临床多年,其疗效确切^[2]。2010 年版《中国药典》规定以 HPLC 对指标性成分黄芩苷进行定量分析。传统分析方法样品需要前处理、成本高、操作烦琐,难以做到快速检测,更无法实现对生产过程的在线质量监控和基层现场假劣药品的快速

[收稿日期] 20120106(003)

[基金项目] 河南省重大公益科研项目(081100912500);河南省杰出人才项目(084200510017)

[通讯作者] ^{*}白雁,教授,博士生导师,从事利用现代分析手段对中药品质进行分析和评价研究, Tel: 13526601286, E-mail: ls8600@163.com

实验筛查,已成为中药现代化进程中的瓶颈,迫切需要新技术的尝试和应用。

近红外光谱(NIRS)反映的是分子的振动频谱,主要是分子中 CH,OH,NH 基团的倍频和合频的吸收,其吸收谱带强度较弱,谱带复杂、重叠严重,与经典的定性、定量方法不同,NIRS 技术需借助于化学计量学方法进行数据处理,将其所含的定性、定量信息提取出来,与经典的定量方法进行相关分析,建立数学模型,对待测组分进行含量预测或相似度判断。NIRS 技术由于其快速、准确、无损、富含化学信息以及易于实现在线检测的特点,在中药及其制剂领域的应用日益增多^[3-5]。中药口服液是一种现代中药制剂,建立其快速质量评价方法具有重要意义。本文选择清热解毒口服液为研究对象,探索应用 NIRS 进行中药口服液中指标成分快速测定的方法。

1 材料

1.1 药品与试剂 样品为河南宛西制药厂生产的不同批号的 100 批清热解毒口服液,黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110715-200815),甲醇为色谱纯,水为双蒸水,其余均为分析纯。

1.2 仪器 MPA 型傅立叶变换近红外光谱仪(德国 Bruker 公司,配有 PbS 和 InGaAs 检测器,液体光纤),Agilent 1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),AE240 型 1/10 万天平(瑞士 Mettler 公司)。

2 方法

2.1 黄芩苷含量的 HPLC 测定 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),流动相甲醇-水-磷酸(47:53:0.3),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 276 nm,柱温 30 °C。

2.2 清热解毒口服液的 NIRS 采集 光谱仪分辨率为 8 cm⁻¹,扫描次数 32 次,以水作参比,用液体光纤采集光谱,每个样品做 3 次平行实验,取其平均光谱,用光谱仪专用软件 OPUS 采集光谱,对光谱信号进行基线校正,光谱范围 4 000 ~ 12 000 cm⁻¹。

2.3 偏最小二乘法定量分析模型建立条件的选择

将清热解毒口服液样品黄芩苷含量值和近红外光谱输入 BrukerOPUS6.5 定量分析软件,进行数据处理,采用化学计量学中的偏最小二乘法(PLS)建立定量校正模型,软件随机选取 100 个样品中的 84 个样品组成校正样品集,其余 16 个作为验证集建立模型。所建模型用相关系数(R^2),估计误差均方根(RMSEE)来评价, R^2 越接近于 1、RMSEE 越小,表明模型结构越合理。根据相对分析误差(RPD)值对模型进行更为详细的评价,如果相对分析误差

(RPD) > 3,说明定标效果良好,建立的定标模型可以用于实际检测;如果 2.5 < RPD < 3,说明利用 NIRS 对该成分进行定量分析是可行的,但预测精度有待于进一步提高;如果 RPD < 2.5,则说明所建模型不适合实际应用^[6]。其预测能力可通过预测均方差(RMSEP)作为衡量指标,RMSEP 越小,表明模型的预测性能和推广能力越强。

3 结果与分析

3.1 清热解毒口服液中黄芩苷含量测定 100 批样品中,黄芩苷含量最高的为 2.431 g·L⁻¹,最低的为 1.751 g·L⁻¹;符合一定的梯度分布及建模要求。

3.2 清热解毒口服液的 NIRS 图 清热解毒口服液的 NIRS 图见图 1。

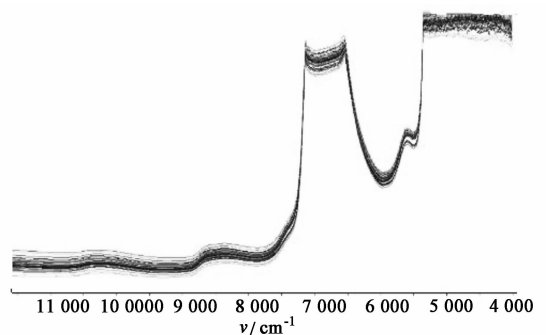


图 1 100 份样品的近红外光谱

3.3 光谱预处理方法的选择 对扫描得到的原始吸收光谱进行微分处理,可以消除基线漂移的影响,可分辨重叠峰,提高分辨率和灵敏度。但导数光谱法放大了相邻波长点差异的同时也可能导致噪声被放大,信噪比降低,因而针对不同的检测样本,建立模型前应对其光谱预处理方法进行优选。表 1 不同光谱处理方法对模型性能的影响,结果显示一阶导数光谱法的预测效果最好,其一阶导数光谱图见图 2 所示。

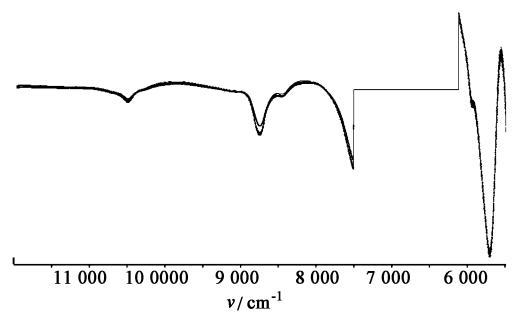


图 2 清热解毒口服液的 NIR 一阶导数光谱

3.4 光谱范围选择 近红外全波段光谱可能会有冗余信息,对光谱波段进行选择,可使其包含待测组

表1 不同预处理方法对模型性能的影响

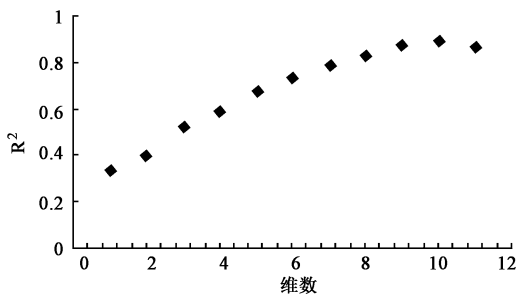
光谱预处理方法	R^2	RMSEE/%	RPD
Constant(无)	0.819 8	0.057 7	2.36
SNV(标准归一化)+一阶导数	0.907 5	0.041 6	3.29
MSC(多元散射校正)+一阶导数	0.908 7	0.041 3	3.31
一阶导数	0.915 4	0.040 3	3.44
二阶导数	0.873 9	0.048 9	2.82

分的信息量最大,受背景干扰最小,改善所建模型的性能,以达到最佳预测效果。图2所示,6 102 ~ 7 498.3 cm^{-1} 区间内吸光度变化不明显,噪音干扰较大,可能影响模型的预测能力,而 11 995.7 ~ 7 498.3 cm^{-1} ;6 102 ~ 5 446.3 cm^{-1} 区间信息量丰富。为进一步优选建模谱段,选择不同波段进行对比分析,以 R^2 , RMSEE, RPD 为综合考察指标,结果以上2个波段均符合近红外定量分析模型方法学验证的常规要求^[7]。见表2。

表2 不同建模区间对模型性能的影响

建模区间/ cm^{-1}	R^2	RMSEE	RPD
11 995.7 ~ 7 498.3;6 102 ~ 5 446.3	0.915 4	0.040 3	3.44
9 747 ~ 7 498.3;6 102 ~ 5 446.3	0.879 6	0.047 8	2.88
11 995.7 ~ 7 498.3;6 102 ~ 5 774.1	0.837 1	0.055 6	2.48

3.5 主成分数的选择 用偏最小二乘法建立校正模型,主成分数的选择对模型的预测能力有非常大的影响。主成分数太多,使模型包含过多的测量噪音,出现过拟合现象;主成分数过少,导致建模信息不全,预测能力差^[8]。因此,选用不同维数建模,考察其对模型 R^2 , RMSEE, RPD 值的影响,见图3~5,本实验采用的最佳主成分数为10。

图3 R^2 与维数关系性

3.6 校正模型的建立和验证 NIR 光谱经过一阶导数处理后,在 11 995.7 ~ 7 498.3;6 102 ~ 5 446.3 cm^{-1} , 选择前10个主成分建立了最优校正模型,见图6。该模型的 $R^2 = 0.915 4$, RMSEE = 0.040 3,

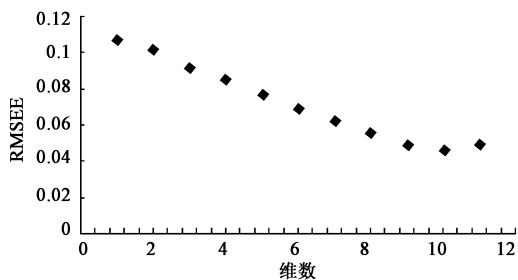


图4 RMSEE 与维数关系

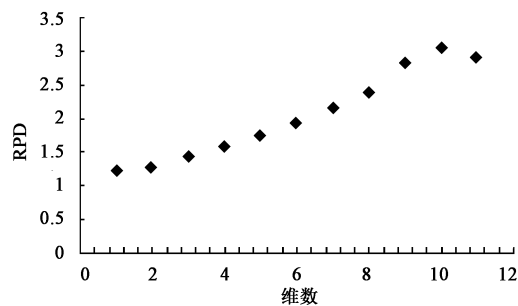


图5 RPD 与维数关系

RPD = 3.44, RMSEP = 0.039 9。并以验证集样品的 NIR 预测值与 HPLC 分析值的比值作为预测回收率,所得平均回收率为 100.299%,见表3。由此可见,建立的模型性能较好。

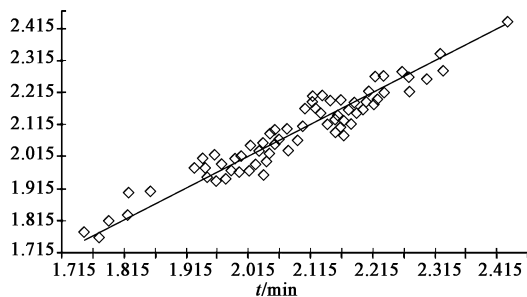


图6 清热解毒口服液中黄芩苷定量校正模型

4 讨论

近红外光谱技术由于快速、无损及原位成为在线质量控制中指标性成分含量测定的理想方法。2010年版《中国药典》清热解毒口服液项下规定了指标性成分黄芩苷的含量测定,本实验通过 NIR 光谱法与化学计量学技术相结合,采用偏最小二乘法建立了测定清热解毒口服液中黄芩苷含量的分析方法,结果表明该方法快速、准确、无污染,可满足清热解毒口服液中黄芩苷快速分析的需求,也为建立其他中药口服液及注射剂的在线质量控制方法提供了参考思路。但其各种参数需要进一步优化,在后续的工作中将进一步深入研究。

HPLC 测定小儿清肺化痰颗粒中黄芩苷的含量

唐慧慧¹, 蔡清宇¹, 张丽娟^{2*}

(1. 海军总医院药剂科, 北京 100048; 2. 首都医科大学燕京医学院, 北京 101300)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱法测定小儿清肺化痰颗粒中黄芩苷的含量方法。方法: Agilent XDB C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 4.6 μm); 流动相: 甲醇-0.4% 磷酸溶液 (47:53); 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长 280 nm 柱温: 40 °C。结果: 回归方程为 $A = 34\ 884.9C - 19\ 478.8$, $R^2 = 1.000\ 0$ 。黄芩苷在 1.482 ~ 148.2 mg·L⁻¹ 线性关系良好, 平均回收率为 97.8%, RSD 1.9% ($n = 6$)。结论: 该方法简便、准确、重复性好, 可作为小儿清肺化痰颗粒黄芩苷含量的测定。

[关键词] HPLC; 小儿清肺化痰颗粒; 黄芩苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0112-03

Determination of Baicalin in Xiaerqingfei huatan Granule by HPLC

TANG Hui-hui¹, CAI Qing-yu¹, ZHANG Li-juan^{2*}

(1. Department of Pharmacy, Naval General Hospital, Beijing 100048, China;

[收稿日期] 20120416(293)

[第一作者] 唐慧慧, 副主任药师, 从事中药的质量研究, Tel:010-66958175, E-mail:tanghui106@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 张丽娟, 副教授, 硕士, 从事中药的生化机制研究, Tel:010-69427565, E-mail:lijuanzh@sohu.com

表 3 验证集样品黄芩苷含量的 NIR 预测

No	分析值	预测值	绝对 偏差	平均 回收率/%	RMSEP
1	2.059	2.052	-0.007		
2	1.939	1.993	0.054		
3	1.812	1.836	0.024		
4	1.798	1.777	-0.021		
5	1.840	1.903	0.063		
6	1.881	1.888	0.007		
7	2.200	2.161	-0.039		
8	2.155	2.168	0.013	100.299	0.039 9
9	2.107	2.126	0.019		
10	2.243	2.262	0.019		
11	2.083	2.109	0.026		
12	2.291	2.248	-0.043		
13	1.979	1.995	0.016		
14	2.020	2.049	0.029		
15	2.131	2.146	0.015		
16	2.330	2.225	-0.105		

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2005: 619.
- [2] 朱山寅, 张关顺, 赵亚疑, 等. 清热解暑口服液黄芩苷高效液相色谱定量法的改进[J]. 江西中医学院学报, 2004, 16(4): 46.
- [3] 白雁, 李艳英. 近红外光谱法快速分析不同厂家的一清颗粒[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(20): 2413.
- [4] 蔡佳良, 郭念欣, 黄洁燕, 等. 运用近红外光谱法建立广藿香中白秋李醇的定量模型[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(14): 2113.
- [5] 聂黎行, 王刚力, 李志猛, 等. 近红外光谱法在中药辅料质量控制中的应用[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(17): 14.
- [6] 滑荣, 韩建国, 齐晓, 等. 近红外漫反射光谱法预测紫花苜蓿草颗粒营养价值[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(12): 2826.
- [7] 史贵连, 叶福丽. 近红外漫反射光谱法在中药材分析中的数学模型及其评价[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(1): 120.
- [8] 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, 2007: 44.

[责任编辑 顾雪竹]