

# 近红外光谱结合化学计量学的感冒灵颗粒半成品中蒙花苷含量检测研究

麦毅<sup>1</sup>, 包彦宇<sup>1</sup>, 秋晖<sup>1</sup>, 吕洪亮<sup>1</sup>, 李红<sup>1</sup>, 陈沛鑫<sup>1</sup>, 王钧<sup>2</sup>, 李页瑞<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>华润三九医药股份有限公司, 广东 深圳

<sup>2</sup>苏州泽达兴邦医药科技有限公司, 江苏 苏州

Email: [leecoyr@163.com](mailto:leecoyr@163.com)

收稿日期: 2021年7月5日; 录用日期: 2021年7月22日; 发布日期: 2021年8月4日

## 摘要

目的: 本研究旨在建立近红外光谱法快速检测感冒灵颗粒半成品中蒙花苷含量的方法。方法: 利用近红外光谱仪对感冒灵颗粒半成品样品进行扫描, 对其光谱进行预处理和波段选择, 并结合偏最小二乘法 (partial least squares, PLS) 建立浸出物含量快速无损检测方法。结果: 所建立的模型的决定系数 $R$ 为0.9428, 交叉验证均方根差值为0.0115, 对验证集样品进行预测并统计分析, 预测值与真实值之间无显著差异 ( $P > 0.05$ )。结论: 所建立的模型准确度高, 适用于感冒灵颗粒半成品的蒙花苷含量的快速检测。

## 关键词

感冒灵颗粒, 蒙花苷, 近红外光谱技术, 偏最小二乘法, 过程质量控制

# Study on the Content Determination of Linarin in the Semi-Finished Products of Ganmaoling Granules by Near Infrared Spectroscopy Combined with Stoichiometry

Yi Mai<sup>1</sup>, Yanyu Bao<sup>1</sup>, Hui Qiu<sup>1</sup>, Hongliang Lv<sup>1</sup>, Hong Li<sup>1</sup>, Peixin Chen<sup>1</sup>, Jun Wang<sup>2</sup>, Yerui Li<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>China Resources Sanjiu Pharmaceutical Co., Ltd., Shenzhen Guangdong

<sup>2</sup>Suzhou Zedaxingbang Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Suzhou Jiangsu

Email: [leecoyr@163.com](mailto:leecoyr@163.com)

Received: Jul. 5<sup>th</sup>, 2021; accepted: Jul. 22<sup>nd</sup>, 2021; published: Aug. 4<sup>th</sup>, 2021

\*通讯作者。

文章引用: 麦毅, 包彦宇, 秋晖, 吕洪亮, 李红, 陈沛鑫, 王钧, 李页瑞. 近红外光谱结合化学计量学的感冒灵颗粒半成品中蒙花苷含量检测研究[J]. 药物化学, 2021, 9(3): 105-111. DOI: [10.12677/hjmce.2021.93013](https://doi.org/10.12677/hjmce.2021.93013)

## Abstract

**Objective:** The aim of this study was to establish a method for the rapid determination of linarin in the semi-finished products of ganmaoling granules by near infrared spectroscopy. **Methods:** The semi-finished samples of ganmaoling granules were scanned by near-infrared spectroscopy (NIR). The spectra of the samples were pretreated and the bands were selected. A method for rapid nondestructive determination of extract content was established by using partial least squares method (PLS). **Results:** The determination coefficient  $R$  of the established model was 0.9428, and the root mean square difference of cross-validation was 0.0115. The samples of the validation set were predicted and statistically analyzed, and there was no significant difference between the predicted value and the true value ( $P > 0.05$ ). **Conclusion:** The established model has high accuracy and is suitable for the rapid determination of the content of linarin in the semi-finished products of ganmaoling granules.

## Keywords

**Ganmaoling Granules, Linarin, Near Infrared Spectroscopy, Partial Least Squares Method, Process Quality Control**

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

感冒灵颗粒功效为解热镇痛，被广泛用于因感冒引起的头疼、发热、鼻塞、流涕、咽痛等症状，其由三叉苦、岗梅、金盏银盘、薄荷素油、野菊花、马来酸氯苯那敏、咖啡因、辅料蔗糖粉组成。野菊花中的蒙花苷是感冒灵颗粒的重要检测指标之一。感冒是由病毒或细菌引起的上呼吸道感染[1][2]。感冒灵颗粒组方中中药多为岭南地区习用清热解毒类中药，组方中化学药组分也是治疗上呼吸道感染的常用的化学药主要成分，该方取中、西药的优势配伍用药，并大幅降低了对乙酰氨基酚等化学药的用量[1]。

根据近现代的药理研究发现感冒灵颗粒因其含有不同的化学成分有众多的药理作用：对非特异性炎症及其炎症因子的抑制作用——感冒灵化学药组分与中药组方协同作用[3][4][5]；对成熟 *Klebsiella pneumoniae* (KPN)生物被膜内活菌量的抑制作用——感冒灵全方及中、西药组方[6]-[15]。

感冒是生活中最常见的疾病，而感冒灵颗粒作为能够有效治疗感冒的药品之一，其市场需求也是极为广阔的，故而感冒灵颗粒的快速无损检测有很大的应用空间。本研究主要采用近红外光谱技术结合化学计量学方法——偏最小二乘法(PLS)，对感冒灵颗粒半成品指标成分蒙花苷进行检测分析，并建立定量分析模型，以期提供一种新的快速检测感冒灵颗粒半成品质量的方法，能够快速、准确地监控感冒灵颗粒半成品质量，为感冒灵颗粒生产提供质量合格的感冒灵颗粒半成品。

## 2. 实验部分

### 2.1. 仪器与试剂

感冒灵颗粒半成品(华润三九(枣庄)药业有限公司); SupNIR-21440 近红外光谱仪(聚光科技股份有限公司); 高速多功能中药粉碎机(温州鼎历医疗器械有限公司); PX2202ZH 电子天平(OHAUS); HH-8 型恒

温水浴锅(国华(常州)仪器制造有限公司); MS304TS 型电子天平(梅特勒-托利多公司); 超声波清洗机(法兰特, FRQ-1008HT)。

甲醇为色谱纯; 水为超纯水。

## 2.2. 近红外漫反射光谱采集

感冒灵颗粒半成品粉末光谱采集预处理: 不同批号的感冒灵颗粒半成品经粉碎后, 得到粒度较均匀的感冒灵颗粒半成品粉末, 分装于自封袋中备用, 共得 144 个样品。将分装好的感冒灵颗粒半成品粉末置洁净干燥的扁形瓶中后, 采集近红外漫反射光谱。

光谱采集条件: 扫描范围为  $1000\sim 1800\text{ cm}^{-1}$ , 扫描次数为 32 次, 分辨率为  $8\text{ cm}^{-1}$ 。感冒灵颗粒半成品粉末原始光谱如图 1 所示。

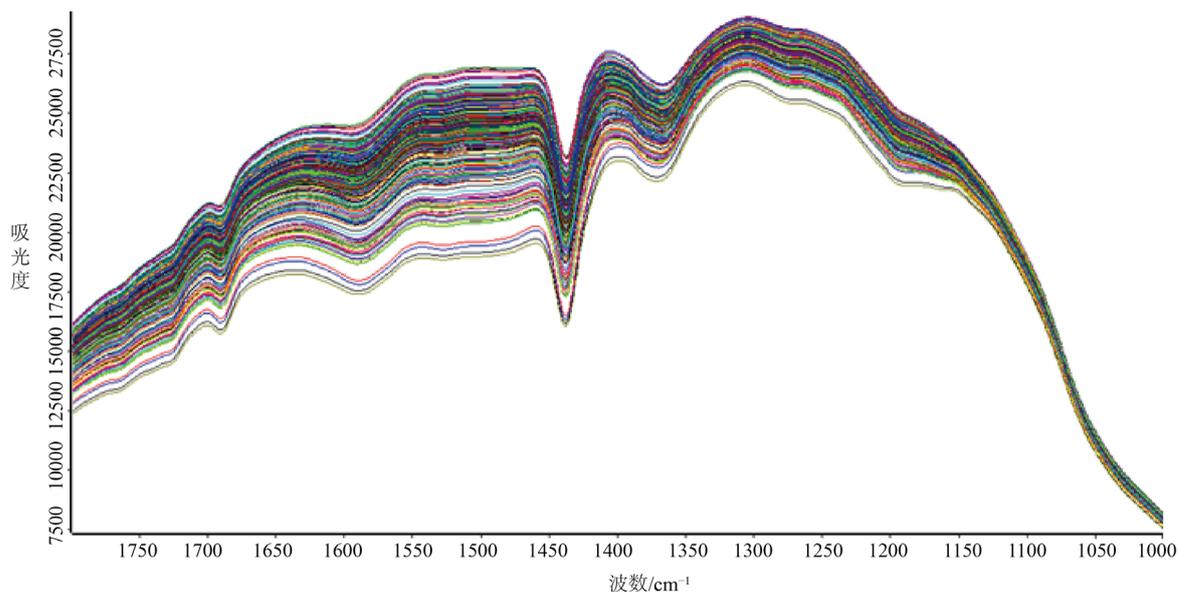


Figure 1. NIR original spectra of Ganmaoling granules semi-finished powder

图 1. 感冒灵颗粒半成品粉末近红外原始光谱

## 2.3. 感冒灵颗粒半成品中蒙花苷含量的测定

色谱条件与系统适用性试验参考王改平等[16]的方法并作适当修改, 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以乙腈-水(21:79)为流动相; 检测波长为 334 nm。理论板数按蒙花苷峰计算应不低于 3000; 分离度应符合规定; 灵敏度: 信噪比应不小于 10。

对照品溶液的制备: 取蒙花苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含蒙花苷  $10\text{ }\mu\text{g}$  的溶液, 即得。

供试品溶液的制备: 取本品 10 袋, 称量内容物总重量, 计算平均装量。取该内容物研细, 混匀, 取 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 密塞, 称定重量, 加热回流 2 小时, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

测定法: 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各  $10\sim 20\text{ }\mu\text{L}$ , 注入液相色谱仪, 测定, 即得。

## 2.4. 数据处理与模型性能评价

采集近红外光谱图后, 运用 Bruker 公司 OPUS 7.8 数据分析软件中的偏最小二乘法建立感冒灵颗粒

半成品蒙花苷的近红外光谱与含量之间的校正模型。建立模型前, 需要筛选出原始光谱中适宜的波段建立模型, 这样能够快速提取光谱中的有效信息, 缩短建模时间, 减少计算量。由于仪器背景或环境会对近红外光谱产生一定影响, 还需要对样品光谱进行平滑、微分等适宜的光谱预处理。

运用留一交叉验证法(Leave-One-Out Cross Validation, LOOCV), 以交互验证误差均方根(Root Mean Square Error of Cross Validation, RMSECV)为指标, 通过预测残差平方和作为判别依据来确定最佳因子数。对校正集样本和验证集样本的预测误差分别用校正集误差均方根(RMSEC)、验证集误差均方根(RMSEP)、校正集相对偏差(RSEC)和验证集相对偏差(RSEP)考察。以模型相关系数(Correlation Coefficient, R)来判断模型性能的好坏。建立的模型相关系数(R)越接近 1, 说明样品实测值与通过模型得到的预测值之间越接近, 进一步证明建立的校正模型稳定性好, 预测能力强。当 RMSEC 和 RMSEP 值越小且彼此接近(一般在 10% 以内), 表明模型具有好的稳健性。RSEC 和 RSEP 亦是评价模型性能的重要指标, RSEC 和 RSEP 值越小且彼此接近, 说明模型的稳健性良好并且对未知样品的预测能力较强。

### 3. 结果与讨论

#### 3.1. 感冒灵颗粒半成品中有效成分含量测定结果

按照 2.3 项下的方法测定 144 个感冒灵颗粒半成品样品中蒙花苷的含量, 蒙花苷含量的范围 0.13~0.3 mg/g 之间。故有必要在感冒灵颗粒半成品投入生产变成成品前对其蒙花苷含量进行快速测定, 从而筛选出合格的感冒灵颗粒半成品投入大生产, 保证感冒灵颗粒制剂的安全、有效。

#### 3.2. 光谱预处理

近红外光谱采集过程中, 外部环境、药液本身温度、气泡以及仪器性能的改变都会导致光谱基线漂移, 进而干扰校正结果, 因此在建模前需要对原始光谱进行光谱预处理以提高模型预测精度。OPUS 数据分析软件中常用的光谱预处理方法有: 一阶导数(1st)、二阶导数(2nd)、多元散射校正(MSC)、消除常数偏移量、矢量归一化(SNV)等。本研究比较了不同预处理方法对板蓝根浸出物含量建模的影响, 结果如表 1 所示。

**Table 1.** The influence of different pretreatment methods on the content model of linarin in the semi-finished products of ganmaoling granules

**表 1.** 不同预处理方法对感冒灵颗粒半成品蒙花苷含量模型的影响

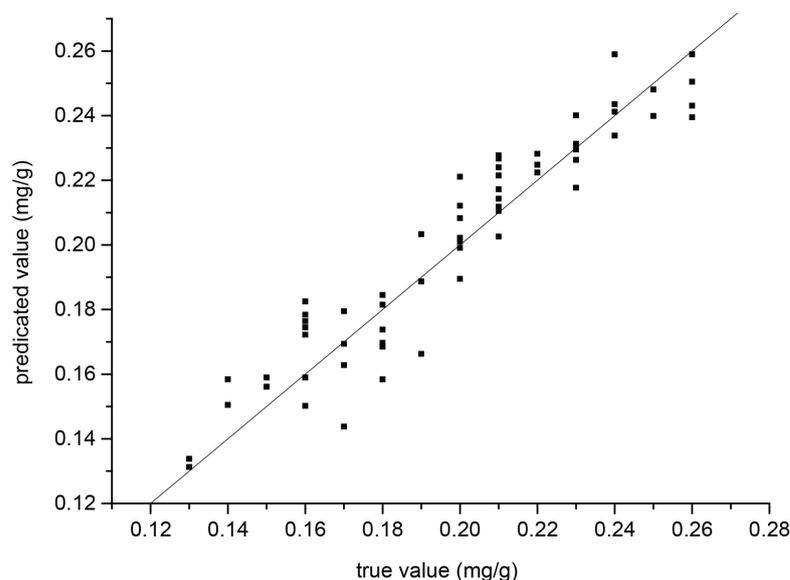
预处理方法	建模波段/cm <sup>-1</sup>	Rcal	RMSEP	RPD	Factor
<b>矢量归一化</b>	<b>1799~1639, 1480~1239</b>	<b>0.9428</b>	<b>0.0115</b>	<b>4.56</b>	<b>10</b>
一阶导数	1799~1559, 1480~1239, 1080~1000	0.9396	0.0119	3.68	9
无光谱预处理	1799~1239	0.9391	0.0119	2.89	10
一阶导数 + 矢量归一化	1799~1559, 1480~1239	0.9371	0.0122	2.85	9
一阶导数 + 减去一条直线	11440~1559, 1480~1159	0.9353	0.0122	2.81	9

通过比较发现, 感冒灵颗粒半成品蒙花苷含量在 1799~1639, 1480~1239 cm<sup>-1</sup> 的波段范围内, 通过矢量归一化进行处理后得到的模型有较低的 RMSECV 值和较高的 RPD 值, 且相关系数 R 值更接近 1。

#### 3.3. 定量模型的建立

经过异常点判断、光谱预处理以及建模波段选择的步骤后, 最终得到由 PLS 法所建立的感冒灵颗粒

半成品蒙花苷含量近红外定量校正模型(其中校正集样本 62 个, 验证集样本 61 个)。如图 2 所示, 获得感冒灵颗粒半成品蒙花苷含量模型的校正集样品实测值和 NIR 预测值的相关关系, 表示为  $y = 0.926x - 0.016$ , 其中  $r$  值为 0.9428。



**Figure 2.** Correlation between the measured value of linarin content in the semi-finished products of ganmaoling granules and the predicted value of NIR  
**图 2.** 感冒灵颗粒半成品蒙花苷含量 HPLC 实测值和 NIR 预测值相关性图

模型的参数汇总见表 2, 从表 2 可以看出, 采用矢量归一化方式, 在波段  $1799\sim 1639\text{ cm}^{-1}$ ,  $1480\sim 1239\text{ cm}^{-1}$  内采用偏最小二乘法所建立的感冒灵颗粒半成品蒙花苷近红外定量分析校正模型效果最佳。其中, 模型校正集实测值与 NIR 预测值的相关系数为 0.9428, RPD 为 4.56, RMSEP 为 0.0115。

**Table 2.** Parametric summary of effective component content model of ganmaoling granules semi-finished products  
**表 2.** 感冒灵颗粒半成品有效成分含量模型参数汇总

指标	建模波段/ $\text{cm}^{-1}$	Rcal	RMSEP	RPD	Factor	预处理方法
蒙花苷	1799~1639, 1480~1239	0.9428	0.0115	4.56	10	矢量归一化

### 3.4. 定量模型的验证

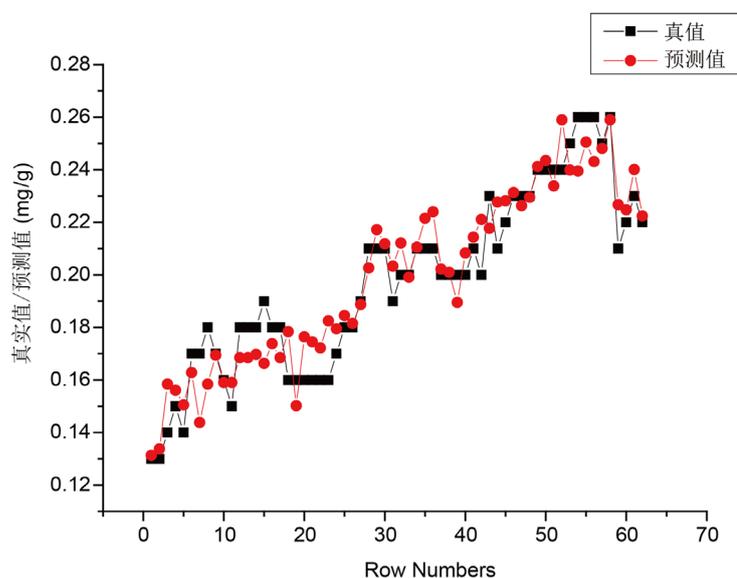
为了进一步验证模型的预测能力, 本研究根据 3.3 中所建立的模型来预测验证集样本。蒙花苷含量的 NIR 预测值和 HPLC 法测得值的比较如图 3 所示, 模型预测参数汇总见表 3。

**Table 3.** Prediction effect parameters of the content model of linarin in the semi-finished product of ganmaoling granules  
**表 3.** 感冒灵颗粒半成品蒙花苷含量模型的预测效果参数表

模型	RMSEP	RSEP (%)
蒙花苷模型	0.0115	11.3

从图 3 可以直观地看出 NIR 定量校正模型的预测值与实际测得浸出物含量之间的相关性。表 3 结果

显示浸出物含量模型的 RMSEP 值小于 0.02, RSEP (%) 小于 12%, 说明近红外光谱分析方法基本可以较好地预测感冒灵颗粒半成品蒙花苷的含量。



**Figure 3.** Comparison of the measured value of linarin content in the semi-finished products of ganmaoling granules by HPLC and the predicted value by NIR

**图 3.** 感冒灵颗粒半成品蒙花苷含量 HPLC 实测值和 NIR 预测值比较

#### 4. 结论

本研究建立了感冒灵颗粒半成品蒙花苷含量的近红外快速分析方法, 所用的感冒灵颗粒半成品蒙花苷含量的数据由华润三九(枣庄)药业有限公司实验室测定。应用 PLS 建立的感冒灵颗粒半成品蒙花苷含量的定量校正模型, 其相关系数  $R$  为 0.9428, RMSEP 为 0.0115, RSEP (%) 为 11.3, 满足定量分析的要求。所建立的近红外模型能够在较短的时间内通过采集近红外光谱对感冒灵颗粒半成品蒙花苷含量进行测定, 相较于传统方法(液相、紫外等)具有简便、快速、无损的优点。

#### 参考文献

- [1] 徐启华, 贺蓉, 彭博, 等. 999 感冒灵主要药效学及其作用机制研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(8): 1388-1396.
- [2] 徐淑云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 906.
- [3] 吴洪福. 炎症细胞因子网络与疾病[J]. 青海医学院学报, 2003, 24(4): 267.
- [4] 龚非力. 医学免疫学[M]. 第 3 版. 北京: 科学出版社, 2009: 53.
- [5] 左泽平, 王志斌, 郭玉东, 等. 常用大鼠发热模型研究[J]. 中国比较医学杂志, 2012, 22(2): 52.
- [6] 李京宝, 韩峰, 于文功. 细菌生物膜研究技术[J]. 微生物学报, 2007, 47(3): 558.
- [7] 郭文胜. 清开灵注射液抗感染基础及临床研究进展[J]. 临床合理用药杂志, 2015, 8(1): 168.
- [8] 周汛, 李桂明. 10 种中药的不同制剂对常见致病茵体外抗菌活性研究[J]. 中华中医药杂志, 2009, 24(2): 237.
- [9] 黄世杰. 生物膜和抗生素治疗: 新释药系统对细菌耐药的抗衡[J]. 国外医学药学分册, 2006, 33(1): 31.
- [10] Højby, N. (2014) A Personal History of Research on Microbial Biofilms and Biofilm Infections. *Pathogens and Disease*, **70**, 205-211. <https://doi.org/10.3917/autr.070.0205>
- [11] 官妍, 王宁, 汪长中, 等. 中穿心莲内酯等中药有效成分对表皮葡萄球菌生物膜渗透性的比较[J]. 中国微生态学

- 
- 杂志, 2012, 24(1): 9.
- [12] 雷洪涛, 马淑骅, 姜秀新, 等. 连花清瘟胶囊抗金黄色葡萄球菌生物膜形成的研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2013, 19(10): 1133.
- [13] 朱小明, 杨家卿, 张昌峰, 等. 黄连解毒汤抗铜绿假单胞菌生物被膜及与阿奇霉素协同抗菌作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(U): 155.
- [14] 枉前, 孙凤军, 夏培元. 亚抑菌浓度抗生素对细菌生物膜形成的影响[J]. 中国抗生素杂志, 2009, 34(4): 200.
- [15] Johnson, J.G., Murphy, C.N., *et al.* (2011) Type 3 Fimbriae and Biofilm Formation Are Regulated by the Transcriptional Regulators MrkHI in *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Bacteriology*, **193**, 3453. <https://doi.org/10.1128/JB.00286-11>
- [16] 王改平, 倪梦梦, 裴香萍, 等. 高效液相色谱法测定清热止痛胶囊中蒙花苷的含量[J]. 山西中医学院学报, 2017, 18(3): 12-16.