

近红外分析技术在气滞胃痛颗粒提取过程中的快速质量检测应用

麦毅¹, 王钧², 程杰¹, 韩凌¹, 史泳¹, 潘英¹, 杨炳朝¹, 黄家鹏², 李页瑞²

¹华润三九药业有限公司, 广东 深圳

²苏州泽达兴邦医药科技有限公司, 江苏 苏州

收稿日期: 2021年11月18日; 录用日期: 2021年12月16日; 发布日期: 2022年2月23日

摘要

目的: 建立近红外光谱法快速检测气滞胃痛颗粒提取液中芍药苷含量的方法。方法: 利用近红外光谱仪对提取液样品进行扫描, 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)建立芍药苷含量快速无损检测方法。结果: 所建立的模型的决定系数 R^2 为0.9793, 交叉验证均方根差值为0.2006, 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, 适用于气滞胃痛颗粒提取液中芍药苷含量的快速检测。

关键词

气滞胃痛颗粒, 芍药苷, 近红外光谱技术, 偏最小二乘法, 过程质量控制

Application of Near Infrared Spectroscopy in Rapid Quality Detection of Qizhi Weitong Granules during Extraction

Yi Mai¹, Jun Wang², Jie Cheng¹, Ling Han¹, Yong Shi¹, Ying Pan¹, Bingchao Yang¹, Jiapeng Huang², Yerui Li²

¹China Resources Sanjiu Pharmaceutical Co., Ltd., Shenzhen Guangdong

²Suzhou Zeda Xingbang Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Suzhou Jiangsu

Received: Nov. 18th, 2021; accepted: Dec. 16th, 2021; published: Feb. 23rd, 2022

文章引用: 麦毅, 王钧, 程杰, 韩凌, 史泳, 潘英, 杨炳朝, 黄家鹏, 李页瑞. 近红外分析技术在气滞胃痛颗粒提取过程中的快速质量检测应用[J]. 药物化学, 2022, 10(1): 46-52. DOI: 10.12677/hjmce.2022.101006

Abstract

Objective: To establish a method for rapid determination of paeoniflorin in extract of Qizhi Weitong granules by near infrared spectroscopy. **Methods:** The extract sample was scanned by near infrared spectrometer, and its spectrum was preprocessed and band selection was carried out. Combined with partial least squares (PLS) method, a rapid and nondestructive detection method for paeoniflorin content was established. **Results:** The determination coefficients R of the established model were 0.9793, and the root mean square difference of cross-validation were 0.2006, respectively. There was no significant difference between the predicted value and the true value ($P > 0.05$) after the prediction and statistical analysis of the validation set samples. **Conclusion:** The established model has high accuracy and is suitable for the rapid detection of paeoniflorin content in the extract of Qizhi Weitong granules.

Keywords

Qizhi Weitong Granules, Paeoniflorin, Near Infrared Spectroscopy, Partial Least Squares Method, Process Quality Control

Copyright © 2022 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

胃病是我国常见的胃肠道疾病，目前，中成药制剂逐渐受到越来越多患者的青睐。气滞胃痛颗粒在临床中应用广泛，由白芍、枳壳、柴胡、延胡索等成分组成，主要功效为舒肝理气、和胃止痛等[1][2]，常用于治疗胃脘疼痛、肝郁气滞、胸痞胀满[3]。其中，白芍作为重要组成成分之一，它具有养血调经、平肝止痛的作用，芍药苷为其指标成分[4]。

目前近红外光谱技术在中药生产过程中应用较为广泛，能够快速检测，操作简单，能源消耗低[5]。相比于传统的检测方法，近红外分析技术替代了人工，降低了人为主观带来的误差[6]。本文以气滞胃痛颗粒提取液为样品，利用近红外光谱技术，建立气滞胃痛颗粒提取液中芍药苷指标的定量分析模型，为扩大近红外在中药生产应用范围奠定了理论基础。

2. 实验材料与仪器

2.1. 仪器与试剂

气滞胃痛颗粒提取液(华润三九本溪药业有限公司); 高效液相色谱仪(Agilent 1260); MicroNIR 光谱仪(美国 VIAVI); 水浴锅(电热恒温水浴锅, 220 V, 50 HZ, 上海精宏实验设备有限公司); 梅特勒 XS105DU 型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); 100 ml、250 ml 锥形瓶; 10 ml、25 ml 容量瓶; 进样瓶; 一次性针筒; 过滤器(尼龙, 13 mm, 0.2 μm , 北京百灵威科技有限公司); 甲醇为分析纯; 水为超纯水; 乙腈为色谱纯; 磷酸色谱纯。

2.2. 在线近红外光谱采集

气滞胃痛提取液光谱采集预处理: 采集光谱前对提取液进行混匀均已后, 采集近红外透射光谱。

光谱采集条件：扫描范围为 908~1676 nm，扫描次数为 100 次，积分时间 10.3 ms。气滞胃痛颗粒提取液原始光谱如图 1 所示。

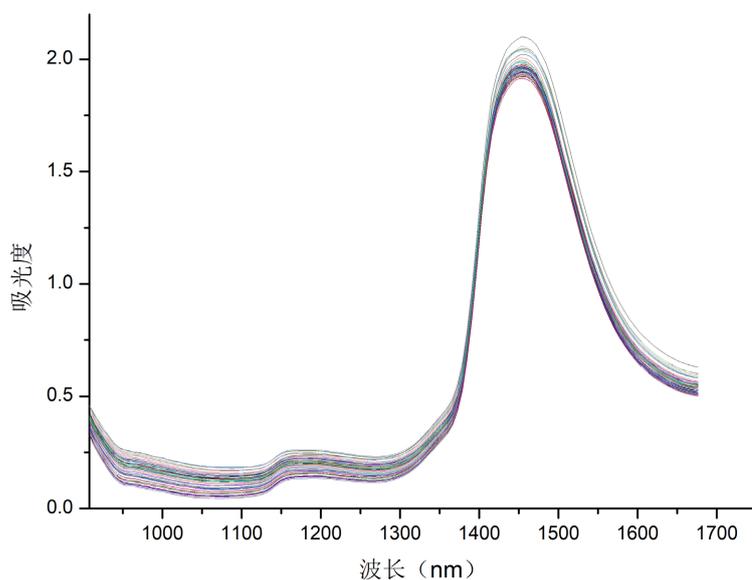


Figure 1. Near infrared original spectroscopy of Qizhi Weitong granules
图 1. 气滞胃痛颗粒近红外原始光谱

2.3. 气滞胃痛颗粒提取液中芍药苷含量的测定

对照品溶液的制备：精确称量芍药苷对照品适量，加乙醇后制备成 80 ug/ml 溶液，即可。

供试品溶液的制备：取提取液约 2 g，精确称量并记录，置于 50 ml 锥形瓶中加水，称重，室温下超声处理(功率 250 W，频率 50 kHz) 60 分钟，冷却后再次称重，加水补充失去的重量，摇匀过滤，取滤液待用。

芍药苷含量测定：实验参考康绍建[7]等人的方法并做修改，分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 ul，注入液相色谱仪，测定。色谱条件为：十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，乙腈为流动相 A，0.1% 磷酸溶液为流动相 B，检测波长为 230 nm，梯度洗脱参考表 1。

Table 1. Gradient conditions of liquid chromatography at different times
表 1. 不同时间液相色谱梯度条件

时间(分钟)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0~20	14	86
20~21	80	20
21~28	80	20
28~29	14	86
29~35	14	86

2.4. 数据处理与模型性能评价

采集近红外光谱图后，运用 VIAVI 公司 MicroNIR3.1 数据分析软件中的偏最小二乘法建立气滞胃痛颗粒提取液中芍药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, 表征 NIR 结果与参照结果差异的标准误差[8], 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。以模型决定系数(Determinate Coefficient, R^2)来判断模型性能的好坏。建立的模型决定系数(R^2)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。SEC 和 SEP 亦是评价模型性能的重要指标, SEC 和 SEP 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. 气滞胃痛颗粒提取液芍药苷含量测定结果

对 104 个气滞胃痛颗粒提取液中芍药苷的含量进行测定得出, 芍药苷含量的范围 0.16~1.80 mg/g 之间。故有必要在气滞胃痛颗粒提取液生产过程对其芍药苷含量进行快速测定, 从而及时判断出合格的气滞胃痛颗粒提取液投入大生产, 提高生产效率, 降低能源消耗(表 2)。

Table 2. Paeoniflorin content of Qizhi Weitong granule extract sample

表 2. 气滞胃痛颗粒提取液样品芍药苷含量

批号	含量(mg/g)	批号	含量(mg/g)	批号	含量(mg/g)	批号	含量(mg/g)
20210716-1	1.508	20210718-9	0.472	20210721-9	0.265	20210724-8	0.696
20210716-2	1.247	20210719-1	0.161	20210722-1	0.945	20210724-9	0.622
20210716-3	0.693	20210719-2	0.598	20210722-2	0.740	20210725-1	1.602
20210716-4	0.685	20210719-3	0.600	20210722-3	1.041	20210725-2	1.207
20210716-5	0.705	20210719-4	0.695	20210722-4	0.977	20210725-3	1.211
20210716-6	0.727	20210719-5	0.955	20210722-5	1.044	20210725-4	1.268
20210716-7	0.749	20210719-6	0.946	20210722-6	1.026	20210725-6	0.869
20210716-8	0.363	20210719-7	0.234	20210722-7	1.047	20210725-7	0.878
20210716-9	0.375	20210719-8	0.218	20210722-8	0.316	20210725-8	0.880
20210717-1	1.024	20210720-1	1.481	20210722-9	1.753	20210725-9	0.322
20210717-2	0.517	20210720-2	0.513	20210723-1	1.728	20210725-10	0.327
20210717-3	0.521	20210720-3	0.514	20210723-2	1.080	20210726-1	1.208
20210717-4	0.542	20210720-4	0.573	20210723-3	0.445	20210726-2	1.211
20210717-5	0.468	20210720-5	0.535	20210723-4	1.041	20210726-3	1.217
20210717-6	0.783	20210720-6	0.780	20210723-5	1.046	20210726-4	0.886
20210717-7	0.737	20210720-7	0.737	20210723-6	1.044	20210726-5	0.887
20210717-8	0.415	20210720-8	0.236	20210723-7	1.047	20210726-6	0.327
20210717-9	0.416	20210720-9	0.224	20210723-8	0.310	20210726-7	0.326

Continued

20210718-1	0.498	20210721-1	1.802	20210723-9	0.309	20210737-1	0.998
20210718-2	0.555	20210721-2	1.095	20210724-1	1.722	20210737-2	0.999
20210718-3	0.546	20210721-3	1.029	20210724-2	0.752	20210737-3	1.003
20210718-4	0.616	20210721-4	1.094	20210724-3	0.744	20210737-4	1.488
20210718-5	0.842	20210721-5	1.093	20210724-4	0.821	20210737-5	1.492
20210718-6	0.969	20210721-6	1.089	20210724-5	0.873	20210737-6	0.414
20210718-7	0.935	20210721-7	1.091	20210724-6	0.877	20210737-7	0.413
20210718-8	0.456	20210721-8	0.266	20210724-7	0.873	20210737-8	0.400

3.2. 光谱预处理

为提高近红外光谱的稳定性和准确性,需要对光谱进行预处理,常用的预处理光谱方法有一阶导数(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)、Savitsky-Golay 滤波平滑(S-G)和 Norris 导数滤波平滑等。本实验比较了在相同波长情况下不同预处理对气滞胃痛颗粒提取液中芍药苷含量模型的影响,结果如表 3 所示。

Table 3. Effects of different pretreatment methods on the content model of paeoniflorin in Qizhi Weitong granule extract
表 3. 不同预处理方法对气滞胃痛颗粒提取液中芍药苷含量模型的影响

预处理方法	建模波段/cm ⁻¹	R ²	RMSEP	RPD	Factor
去趋势化	908.1~1676.2	0.9793	0.2006	4.9404	5
一阶导数	908.1~1676.2	0.9725	0.2118	4.2936	4
矢量归一化 + 去趋势化	908.1~1676.2	0.9669	0.2031	3.9192	4
二阶导数	908.1~1676.2	0.9246	0.3821	2.6251	4
去趋势化 + 一阶导数	908.1~1676.2	0.9700	0.2103	4.1135	4

从表中可以得出,在光谱 908.1~1676.2 cm⁻¹ 内,分别对其进行去趋势化、一阶导数、矢量归一化 + 去趋势化、二阶导数以及去趋势化 + 一阶导数处理后,当预处理方法为去趋势化时,得到的模型最优,其中,模型的 R² 为 0.9793 更接近于 1,且模型的 RMSEP 值较低,RPD 值较高。

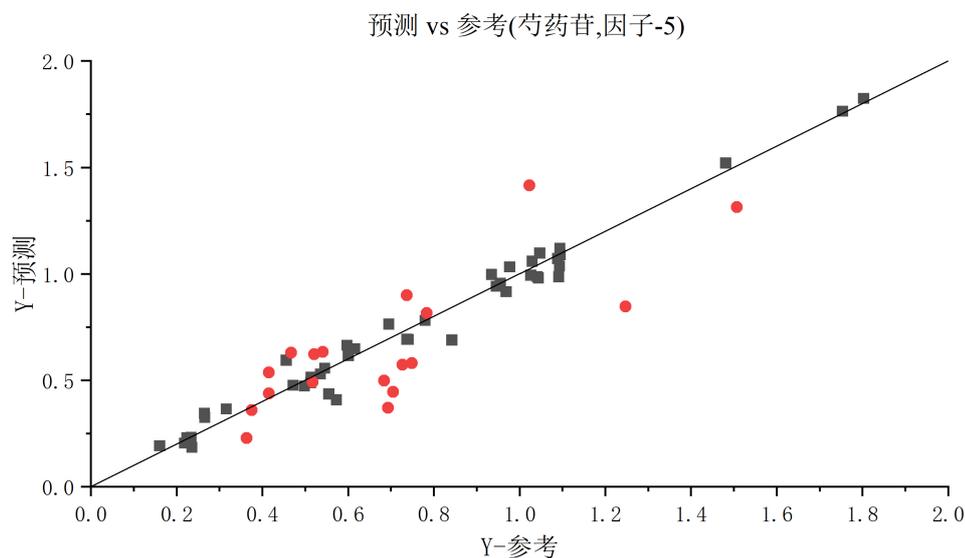
3.3. 定量模型的建立

通过对气滞胃痛颗粒提取液得到的光谱进行异常点判断、光谱预处理和建模波段的处理后,最终得到提取液芍药苷含量分析模型,利用 PLSR 法建立提取液芍药苷含量的近红外定量校正模型,样品提取液芍药苷含量实测值与 NIR 预测值的相关关系如图 2 所示。

提取液芍药苷含量分析模型参数如表 4 所示,从表中可以得出在 908.1~1676.2 的波段范围内,光谱通过去趋势化预处理后,应用偏最小二乘法建立的近红外定量校正模型较好,模型校正集实测值与 NIR 预测值的 R² 为 0.9793,RPD 分别为 4.9404, RMSEP 分别为 0.2006。

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。芍药苷含量的 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 5。



注：黑色点为参考值，红色点为预测值。

Figure 2. Correlation diagram of HPLC measured value and NIR predicted value of paeoniflorin in extract of Qizhi Weitong granules

图 2. 气滞胃痛颗粒提取液芍药苷含量 HPLC 实测值和 NIR 预测值相关性图

Table 4. Summary of model parameters for paeoniflorin content in extract

表 4. 提取液芍药苷含量模型参数汇总

指标	建模波段/cm ⁻¹	R ²	RMSEP	RPD	Factor	预处理方法
芍药苷	908.1-1676.2	0.9793	0.2006	4.9404	5	去趋势化

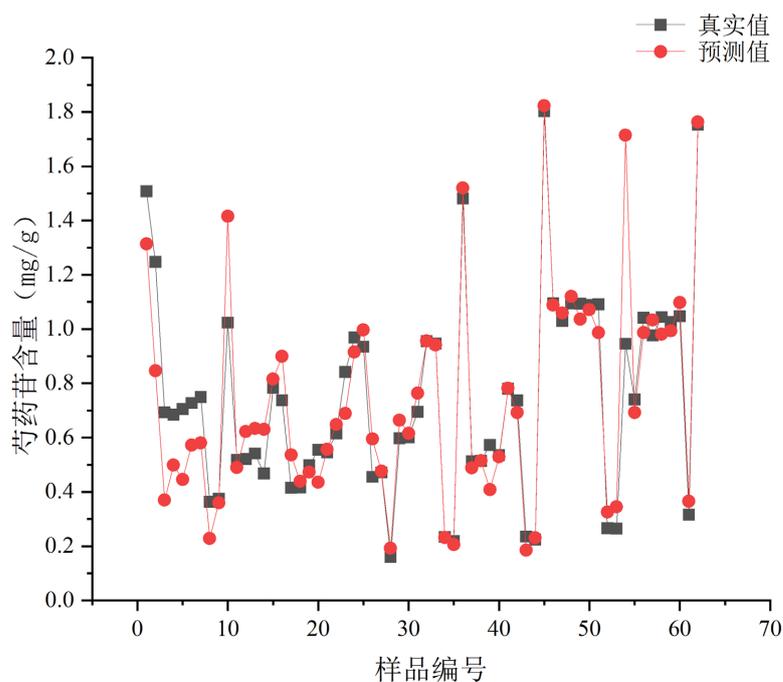


Figure 3. Comparison between HPLC measured values and NIR predicted values

图 3. HPLC 实测值和 NIR 预测值比较

Table 5. Parameter table of prediction effect of paeoniflorin content model in Qizhi Weitong granules extract
表 5. 气滞胃痛颗粒提取液芍药苷含量模型的预测效果参数表

模型	RMSEP	RSEP (%)
芍药苷模型	0.2006	3.45

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芍药苷含量之间的相关性。表 5 结果显示芍药苷含量模型的 RMSEP 值为 0.2006, RSEP (%) 小于 10%, 说明近红外光谱分析方法基本可以较好地预测气滞胃痛颗粒提取液芍药苷的含量。

4. 结论

本研究建立了气滞胃痛颗粒提取液中芍药苷含量的近红外快速分析方法, 所用的气滞胃痛提取液芍药苷含量的数据由苏州泽达兴邦医药科技有限公司实验室测定。通过偏小二乘法(PLSR)对提取液中芍药苷含量的定量校正模型的建立, 得出的最优模型的相关系数 R 为 0.9542, RMSEP 为 0.697, RSEP (%) 为 3.45, 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气滞胃痛颗粒提取液中芍药苷含量进行测定, 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] 姚东, 孟宪生, 王帅, 包永睿, 潘英, 韩凌. 气滞胃痛颗粒全时段多波长融合指纹图谱研究及多成分定量分析[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(10): 1513-1517.
- [2] 韩晶. 气滞胃痛颗粒临证应用体会[J]. 上海中医药杂志, 2005, 39(12): 28.
- [3] 韩凌, 李坤, 潘英, 刁云鹏, 黄珊珊, 张厚利. 气滞胃痛颗粒的药效学研究[J]. 中国药房, 2010, 21(35): 3285-3287.
- [4] 张赞华, 董媛, 李忠琼, 刘莹莹, 张雯洁. HPLC-DAD 法同时测定气滞胃痛颗粒中 5 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(9): 1661-1664.
- [5] 胡钢亮. 近红外光谱技术在中药领域中的应用研究[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2003.
- [6] 王涛, 白铁成, 朱彩蝶, 等. 基于近红外光谱多种预处理的胡杨叶片含水量预测对比[J]. 西北林学院学报, 2020, 35(5): 173-179.
- [7] 康绍建, 罗茜. HPLC 法测定感冒疏风片中芍药苷的含量[J]. 中国民族民间医药, 2021, 30(13): 67-68+74.
- [8] 冯艳春, 张琪, 胡昌勤. 药品近红外光谱通用性定量模型评价参数的选择[J]. 光谱学与光谱分析, 2016, 36(8): 2447-2454.