

# 近红外分析技术应用于复方血栓通胶囊三七浓缩过程的快速质量检测

罗日康<sup>1</sup>, 徐媛<sup>1</sup>, 陈冠华<sup>1</sup>, 湛炎钦<sup>2</sup>, 李页瑞<sup>2</sup>, 王钧<sup>2</sup>

<sup>1</sup>广东众生药业股份有限公司, 广东 东莞

<sup>2</sup>苏州泽达兴邦医药科技有限公司, 江苏 苏州

Email: wangj@sino-essence.com

收稿日期: 2021年6月14日; 录用日期: 2021年9月17日; 发布日期: 2021年9月26日

## 摘要

目的: 利用近红外光谱分析技术(NIRS)其操作简单、快速无损、准确可靠以及在不破坏原检测物质的基础上结合化学计量学中的偏最小二乘法(PLSR)构建中药制剂生产过程工段三七浓缩液中的三七含量的快速检测方法, 从而建立一种适用于复杂中药体系的中间过程快速检测方法。方法: 以高效液相色谱法(HPLC)作为参比分析方法测定三七浓缩液总皂苷含量(三七皂苷R<sub>1</sub>、人参皂苷R<sub>g1</sub>、人参皂苷R<sub>e</sub>、人参皂苷R<sub>b1</sub>), 利用近红外光谱仪对取得的60批浓缩工段全过程的代表性样品进行扫描, 对其光谱进行预处理和波段选择, 并结合偏最小二乘法(PLSR)建立三七含量快速无损检测方法。结果: 所建立的模型的决定系数R<sup>2</sup>为0.9962; 校正标准偏差RMSEC为3.1278; 预测标准偏差RMSEP为5.1539。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: 模型R<sup>2</sup>值接近于1、RMSEC为3.1278、RMSEP为5.1539, 所建立的模型准确度高, 适用于三七浓缩液中的三七含量的快速检测。

## 关键词

复方血栓通, 三七浓缩液, 近红外光谱技术, 偏最小二乘法, 过程质量控制

# Rapid Quality Determination of Compound Xueshuantong Capsule Notoginseng's Concentration Process, Using Near Infrared Spectroscopy Combined with Stoichiometry

Rikang Luo<sup>1</sup>, Yuan Xu<sup>1</sup>, Guanhua Chen<sup>1</sup>, Yanqin Chen<sup>2</sup>, Yerui Li<sup>2</sup>, Jun Wang<sup>2</sup>

文章引用: 罗日康, 徐媛, 陈冠华, 湛炎钦, 李页瑞, 王钧. 近红外分析技术应用于复方血栓通胶囊三七浓缩过程的快速质量检测[J]. 光电子, 2021, 11(3): 142-149. DOI: 10.12677/oe.2021.113017

<sup>1</sup>Guangdong Zhongsheng Pharmaceutical Co., Ltd., Dongguan Guangdong

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

Email: wangj@sino-essence.com

Received: Jun. 14<sup>th</sup>, 2021; accepted: Sep. 17<sup>th</sup>, 2021; published: Sep. 26<sup>th</sup>, 2021

## Abstract

**Objective:** To establish a rapid method for the determination of the concentration of *Panax notoginseng* in the concentrated solution of *Panax notoginseng* in the production process of traditional Chinese medicine preparation by using near infrared spectroscopy (NIRS), which is simple, fast, nondestructive, accurate and reliable, and combined with partial least square method (PLSR) in stoichiometry without destroying the original detection substances. Therefore, it can be used for rapid quality control in the middle process of the complex Chinese medicine system. **Methods:** HPLC was used as a reference method to determine the content of total saponins in the concentrated solution of *Panax notoginseng* (Panax notoginsenoside R<sub>1</sub>, Panax ginsenoside R<sub>g1</sub>, Panax ginsenoside R<sub>e</sub>, Panax ginsenoside R<sub>b1</sub>). The representative samples of the whole process of 60 batches of concentration section were scanned by NIR spectrometer, and their spectra were pretreated and bands were selected. The method of rapid nondestructive detection of *Panax notoginseng* was established by the partial least square method (PLSR). **Results:** The determination coefficient  $R^2$  of the established model was 0.9962. Calibration standard deviation RMSEC is 3.1278; the prediction standard deviation RMSEP is 5.1539. The samples of the validation set were predicted and statistically analyzed, and there was no significant difference between the predicted and true values ( $P > 0.05$ ). **Conclusion:** The  $R^2$  value of the model is close to 1, RMSEC is 3.1278 and RMSEP is 5.1539. The established model has high accuracy and is suitable for the rapid determination of the content of *Panax notoginseng* in concentrated solution.

## Keywords

Compound Xueshuantong, Concentrated Solution of Notoginseng, 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

复方血栓通胶囊为理血剂，具有活血化瘀，益气养阴之功效[1] [2]。主治血瘀兼气阴两虚证的视网膜静脉阻塞，症见视力下降或视觉异常、眼底瘀血征象[3] [4]，神疲乏力、咽干、口干；以及用于血瘀兼气阴两虚的稳定性劳累型心绞痛[5]，症见胸闷、胸痛、心悸、心慌、气短、乏力、心烦、口干。三七作为复方血栓通胶囊主成分之一[6]，来源于五加科人参属多年生直立草本植物，高可达 60 厘米；药理部位为根部入药，其性温，味辛，具有显著的活血化瘀、消肿定痛、止血、破血散瘀、消炎定痛和滋补之功效[7]，为治疗跌打损伤之主要药物，有“金不换”、“南国神草”之美誉[8]。

三七在中药中运用广泛，企业在中成药的生产过程中会用到很多三七，故而三七的快速无损检测就有很大的应用空间。含多种皂苷，总量 9.75%~14.90%，和人参所含皂苷类似，主要为人参皂苷 R<sub>b1</sub>、R<sub>b2</sub>、

$R_c$ 、 $R_d$ 、 $R_e$ 、 $R_{g1}$ 、 $R_{g2}$ 、 $R_{h1}$  及三七皂苷  $R_{1\sim4}$ 、 $R_6$  等[9] [10]。鉴于药典复方血栓通胶囊成品指标为三七皂苷  $R_1$ 、人参皂苷  $R_{g1}$ 、人参皂苷  $R_e$ 、人参皂苷  $R_{h1}$ ，因此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(PLSR)，对浓缩液三七含量进行检测分析[11] [12] [13]，并建立定量分析模型，以期提供一种新的快速检测三七质量的方法，能够快速、准确的监控三七质量，为复方血栓通胶囊生产提供质量合格的中间工段三七浓缩液。

## 2. 实验部分

### 2.1. 仪器与试剂

1) 仪器: MicroNIROnSite-W 手持式近红外光谱仪(美国 VIAVI); Simplicity 超纯水系统(默克密理博); PTAP-1018-4030 超声波清洗机(中外超声波仪器服务部); LC-20AT 高效液相色谱仪(岛津 5)。

2) 试剂: 三七浓缩液(广东众生药业股份有限公司); 乙醇(AR); 水(超纯水); 乙腈(HPLC); 甲醇(AR)。

### 2.2. 近红外透射光谱采集

三七浓缩液光谱采集预处理: 收集不同批号的同工段全过程的 60 批浓缩液样品, 采集光谱前对浓缩液样品进行反复晃动混匀, 然后采集近红外透射光谱。

光谱采集条件: 900~1650 nm, 扫描次数为 100 次, 分辨率为  $8\text{ cm}^{-1}$ 。三七浓缩液原始光谱如图 1 所示。

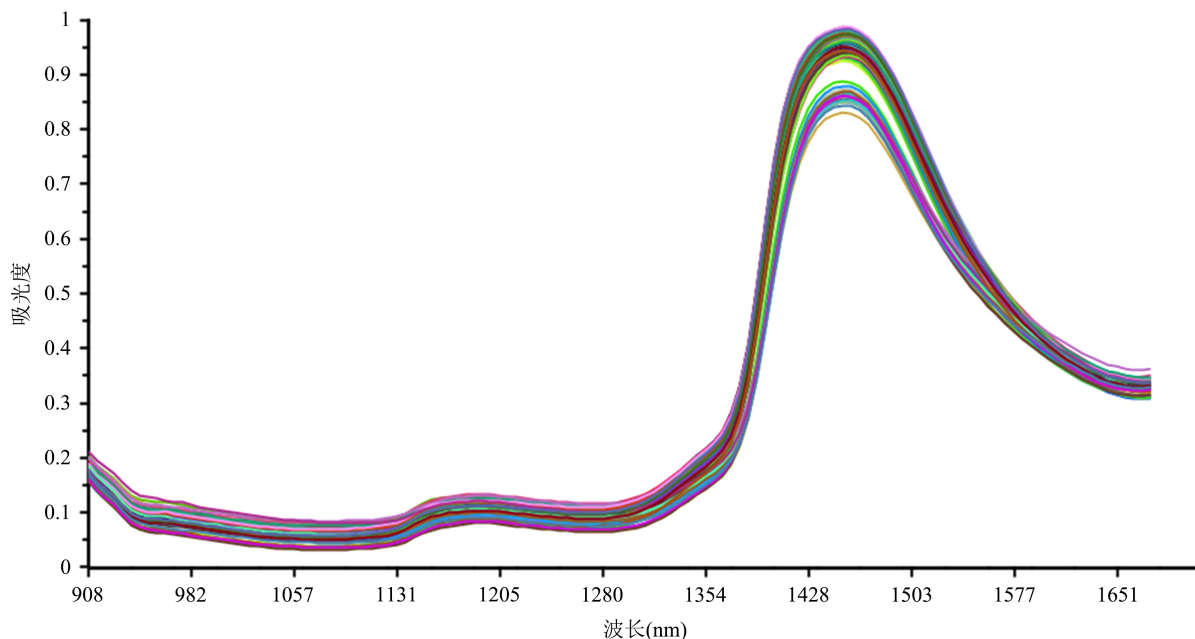


Figure 1. Near-infrared original spectra of concentrated solution of *Panax notoginseng*

图 1. 三七浓缩液近红外原始光谱

### 2.3. 三七浓缩液含量测定

供试品的制备参照《中国药典》2020 版第一部高效液相色谱法(通则 0512), 取装量差异项下的本品内容物, 研细, 混匀, 取 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50%乙醇 25 ml, 密塞, 称定重量, 超声处理(功率 300 W, 频率为 45 kHz) 30 分钟, 放冷, 再称定重量, 用 50%乙醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

### 3. 数据处理与模型建立

#### 3.1. 数据处理

如图 2 在运用高效液相色谱法处理所得的数据中基本涵盖整个浓缩工段三七含量的范围：15.9130~153.6195 (mg/g)。

三七皂苷		三七皂苷		三七皂苷		三七皂苷	
批号	含量(mg/g)	批号	含量(mg/g)	批号	含量(mg/g)	批号	含量(mg/g)
浓缩 210412-1	53.7373	浓缩 210414-4	15.9130	浓缩 210503-1	42.9198	浓缩 210505-4	16.4179
浓缩 210412-2	84.8871	浓缩 210414-5	23.4366	浓缩 210503-2	61.1067	浓缩 210505-5	22.8081
浓缩 210412-3	144.4826	浓缩 210414-6	145.3500	浓缩 210503-3	148.0135	浓缩 210505-6	147.5270
浓缩 210412-4	17.1034	浓缩 210501-1	45.7152	浓缩 210503-4	16.8160	浓缩 210506-1	50.7816
浓缩 210412-5	24.2844	浓缩 210501-2	81.8638	浓缩 210503-5	20.0908	浓缩 210506-2	80.1304
浓缩 210412-6	149.9640	浓缩 210501-3	123.4988	浓缩 210503-6	145.8204	浓缩 210506-3	149.3079
浓缩 210413-1	58.6532	浓缩 210501-4	19.5777	浓缩 210504-1	58.3360	浓缩 210506-4	16.9029
浓缩 210413-2	77.6080	浓缩 210501-5	137.6154	浓缩 210504-2	82.1356	浓缩 210506-5	20.5559
浓缩 210413-3	145.8619	浓缩 210501-6	140.1154	浓缩 210504-3	146.1095	浓缩 210506-6	149.3069
浓缩 210413-4	17.9896	浓缩 210502-1	49.3472	浓缩 210504-4	16.7076	浓缩 210507-1	53.0549
浓缩 210413-5	20.9690	浓缩 210502-2	80.1401	浓缩 210504-5	21.7925	浓缩 210507-2	79.1862
浓缩 210413-6	153.6195	浓缩 210502-3	141.7587	浓缩 210504-6	62.5753	浓缩 210507-3	143.4697
浓缩 210414-1	52.8086	浓缩 210502-4	16.6369	浓缩 210505-1	57.0465	浓缩 210507-4	17.9221
浓缩 210414-2	79.9738	浓缩 210502-5	20.3082	浓缩 210505-2	74.7375	浓缩 210507-5	23.6864
浓缩 210414-3	139.8744	浓缩 210502-6	140.3145	浓缩 210505-3	140.7844	浓缩 210507-6	145.0630

Figure 2. Data summary of concentrated notoginseng content

图 2. 浓缩三七含量数据汇总

#### 3.2. 模型建立与评定

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(PLSR)建立三七浓缩液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。

如图 3, 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。

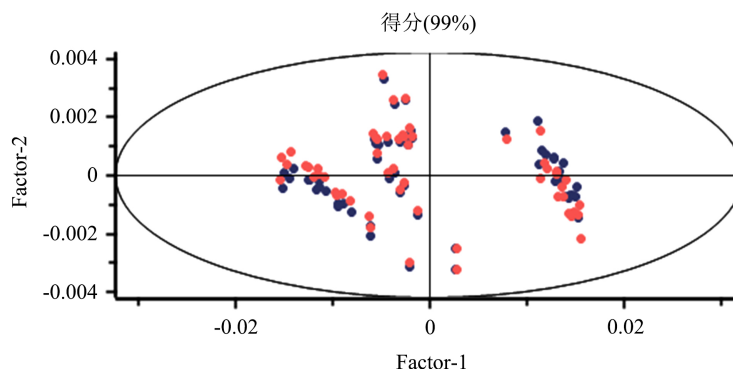


Figure 3. Concentrated PLSR model score of *Panax notoginseng*  
图 3. 浓缩三七 PLSR 模型得分图

## 4. 结果与讨论

### 4.1. 浓缩工段三七含量测定结果

按照 2.3 项下的方法测定 60 批不同批次三七浓缩液样品的总皂苷含量,三七含量的范围为 15.9130~153.6195 (mg/g)之间,参照 2020 版《中国药典》规定复方血栓通成品含量不低于 19.0000 (mg/g),对比成品与浓缩液的稀释比例,故有必要在浓缩工段三七投入生产过程中对其总皂苷含量进行快速质量测定及监控,从而用于生产规模复杂中药体系中间过程的快速质量监控,保证复方血栓通胶囊制剂的安全、有效。

### 4.2. 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。VIAVI 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。本研究比较了相同波长范围下的不同预处理方法对三七浓缩液含量建模的影响,结果如表 1 所示。

Table 1. Influence of different pretreatment methods on concentration model of *Panax notoginseng*

表 1. 不同预处理方法对三七浓缩液含量模型的影响

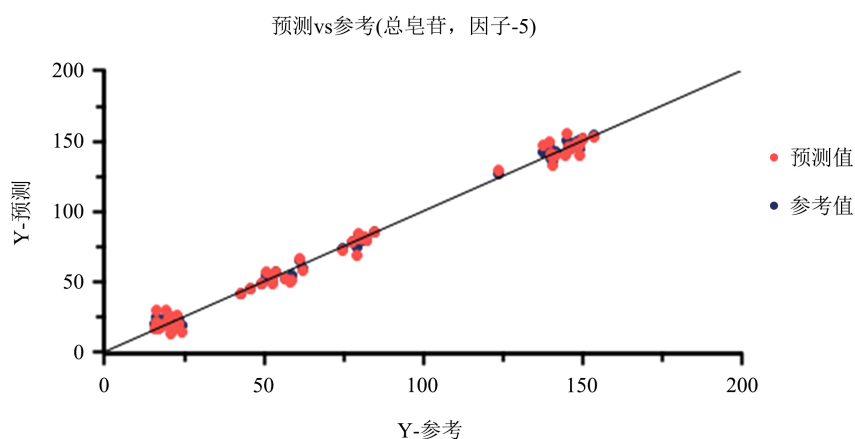
预处理方法	建模波段/nm	R <sup>2</sup>	RMSEC	RMSEP	Factor
无光谱预处理	908.1~1676.2	0.9883	5.5041	6.4321	5
一阶导数	908.1~1676.2	0.9948	3.6819	4.5656	5
二阶导数	908.1~1676.2	0.9962	3.1278	5.1539	5
矢量归一化	908.1~1676.2	0.9913	4.7451	5.8556	5
去趋势化	908.1~1676.2	0.9949	3.6254	4.2416	5

通过比较发现,三七浓缩液含量在 908.1~1676.2 nm 的波段范围内,通过二阶导数预处理进行处理后得到的模型有较低的 RMSEC 值和较接近的 RMSEP 值,且决定系数  $R^2$  值更接近 1。

### 4.3. 定量模型的建立

#### 4.3.1. 模型效果图

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 PLSR 法所建立的三七浓缩液近红外定量校正模型(其中校正集样本 56 个,验证集样本 4 个)。获得三七浓缩液含量模型的校正集样品真实值和 NIR 预测值的相关关系,如图 4 所示。



**Figure 4.** Correlation between HPLC reference values and NIR predicted values of concentrated solution of *Panax notoginseng*

**图 4.** 三七浓缩液 HPLC 参考值和 NIR 预测值相关性图

#### 4.3.2. 模型的参数汇总

模型效果参数如表 2 所示。

**Table 2.** Parameter summary of concentrated liquid content model of *Panax notoginseng*

**表 2.** 三七浓缩液含量模型参数汇总

预处理方法	建模波段/nm	$R^2$	RMSEC	RMSEP	Factor
二阶导数	908.1~1676.2	0.9962	3.1278	5.1539	5

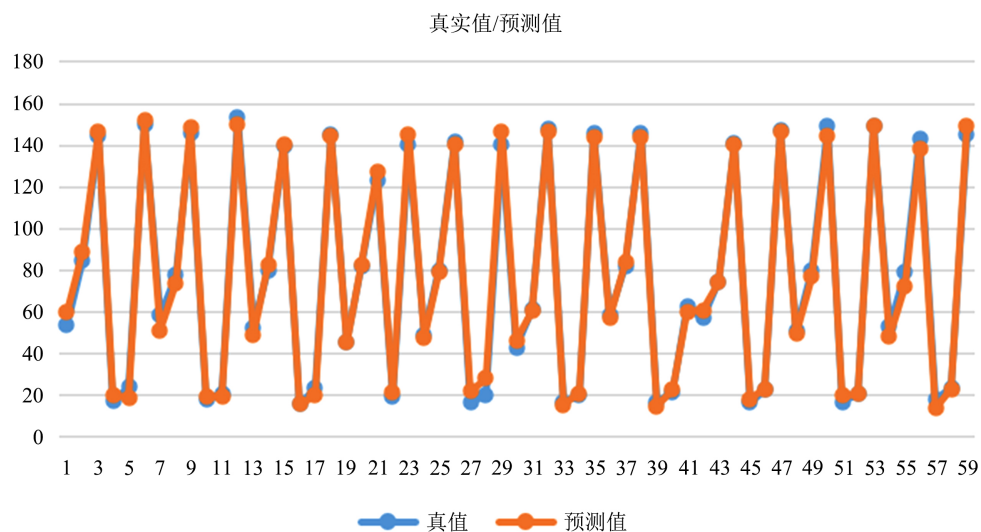
从表 2 可以看出,采用二阶导数光谱预处理方式,在波段 908.1~1676.2 nm 内采用偏最小二乘法(PLSR)所建立的三七浓缩液含量近红外定量分析校正模型效果最佳。其中,模型校正集实测值与 NIR 预测值的决定  $R^2$  系数为 0.9962, RMSEC 为 3.1278, RMSEP 为 5.1539。

### 4.4. 定量模型的验证

#### 4.4.1. 模型效果图

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。三七浓缩液含量的 NIR 预测值和 HPLC 法测得值的比较如图 5 所示,模型预测参数汇总见表 2。

从图 5 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。



**Figure 5.** Comparison of the measured value of total saponins in concentrated solution of *Panax notoginseng* by HPLC and the predicted value by NIR

**图 5.** 三七浓缩液总皂苷含量 HPLC 实测值和 NIR 预测值比较

#### 4.4.2. 模型的参数汇总

模型效果参数如表 3 所示。

**Table 3.** Prediction effect parameters of concentration model of *Panax notoginseng*

**表 3.** 三七浓缩液含量模型的预测效果参数表

模型	RMSEC	RMSEP
总皂苷含量模型	3.1278	5.1539

表 3 结果显示浸出物含量模型的 RMSEC 值小于 3.1278, RMSEP5.1539, 说明近红外光谱分析方法基本可以较好地预测三七浓缩液的含量。

## 5. 结论

本研究建立的复方血栓通胶囊的浓缩工段三七浓缩液含量的近红外快速分析方法, 所用的三七浓缩液含量的数据由广东众生药业股份有限公司质量控制部门实验室测定。应用 PLSR 建立的三七浓缩液含量的定量校正模型, 其决定系数  $R^2$  为 0.9962, RMSEC 为 3.1278, RMSEP 为 5.1539, 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三七浓缩液含量进行测定, 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] 李朝晖, 马晓鹏, 吴万征, 等. 复方血栓通对脑缺血再灌注模型大鼠脑 MDA 和 SOD 的影响[J]. 罕少疾病杂志, 2019, 26(4): 1-4.
- [2] 李娟, 潘洁玲. 复方血栓通胶囊合金水宝胶囊治疗早期糖尿病肾病临床研究[J]. 新中医, 2008(6): 19-20.
- [3] 张慧艳. 复方血栓通胶囊治疗眼底病的临床分析[J]. 世界复合医学, 2020, 6(12): 6-8.
- [4] 金红梅. 卵磷脂络合碘片联合复方血栓通胶囊治疗视网膜静脉阻塞的效果观察[J]. 临床合理用药杂志, 2020, 13(14): 113-114.

- 
- [5] 李慧, 李丹丹, 吴珠, 朱丽朋, 李和教. 复方血栓通胶囊治疗冠心病急性心肌梗死临床疗效观察[J]. 中国中医急症, 2020, 29(10): 1841-1843.
- [6] 孙惠惠, 李宏丽, 田婧莹, 蒋坤秀, 宋星卓, 王析瑞, 宋勇丽, 张伽妹, 韩静. 不同化学工艺制备的复方血栓通提取物的药效比较[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(8): 40-44+260-263.
- [7] 刘格. 不同产地三七药材质量综合评价研究[D]: [硕士学位论文]. 北京: 北京中医药大学, 2020.
- [8] 吴龙龙. 三七活血止痛金不换[N]. 上海中医药报, 2021-03-26(004).
- [9] 陈朝. 三七及其制剂中皂苷类成分含量测定方法研究概述[J]. 中医药导报, 2017, 23(5): 49-53.
- [10] 何倩梅, 林坤河, 朱运锐, 贤英越. 三七提取液中三七皂苷 R1 近红外在线检测方法构建[J]. 大众科技, 2021, 23(3): 23-26.
- [11] 张铮. 近红外光谱一致性法、相关系数法和偏小二乘法在中药鉴定识别与定量分析中的应用[D]: [硕士学位论文]. 青岛: 山东大学, 2011.
- [12] 龙飞. 基于近红外光谱技术的上市品种三七三醇皂苷及其制剂生产过程质量控制研究[D]: [博士学位论文]. 成都: 成都中医药大学, 2011.
- [13] 闫珂巍, 陈美君, 梅国荣, 王福, 卢俊宇, 陈鸿平, 刘友平, 陈林. 近红外光谱法测定三七中 3 种皂苷的总含量[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(4): 691-696.