

复方血栓通胶囊丹参提取过程的近红外快速质量检测

罗日康¹, 徐媛¹, 陈冠华¹, 谌炎钦², 王钧², 李页瑞^{2*}

¹广东众生药业股份有限公司, 广东 东莞

²苏州泽达兴邦医药科技有限公司, 江苏 苏州

Email: *leecoyr@163.com

收稿日期: 2021年6月12日; 录用日期: 2021年7月9日; 发布日期: 2021年7月20日

摘要

目的: 利用近红外光谱分析技术(Near Infrared Spectroscopy)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丹参提取液中的丹酚酸B含量的快速检测方法, 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。方法: 以高效液相色谱法(HPLC)作为参比分析方法测定丹参提取液丹酚酸B含量(C₃₆H₃₀O₁₆), 利用近红外光谱仪对取得的64批提取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)建立丹参含量快速无损检测方法。结果: 所建立的模型的决定系数R²为0.9850; 校正标准偏差RMSEC为0.1952; 预测标准偏差RMSEP为0.8187。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R²值接近于1、RMSEC为0.1952、RMSEP为0.8187, 所建立的模型准确度高, 适用于丹参提取液中的丹酚酸B含量的快速检测。

关键词

复方血栓通, 丹参提取液, 近红外光谱技术, 偏最小二乘法, 过程质量控制

Rapid Quality Detection of *Salvia miltiorrhiza* in the Extraction Process of Compound Xueshuantong Capsule by Near Infrared Spectroscopy

Rikang Luo¹, Yuan Xu¹, Guanhua Chen¹, Yanqin Chen², Jun Wang², Yerui Li^{2*}

¹Guangdong Zhongsheng Pharmaceutical Co., Ltd., Dongguan Guangdong

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

*通讯作者。

文章引用: 罗日康, 徐媛, 陈冠华, 谌炎钦, 王钧, 李页瑞. 复方血栓通胶囊丹参提取过程的近红外快速质量检测[J]. 药物资讯, 2021, 10(4): 223-229. DOI: 10.12677/pi.2021.104028

Email: *leecoyr@163.com

Received: Jun. 12th, 2021; accepted: Jul. 9th, 2021; published: Jul. 20th, 2021

Abstract

Objective: To establish a rapid method for the determination of salvianolic acid B in the extract of *Salvia miltiorrhiza* in the production process of traditional Chinese medicine preparation by using near infrared spectroscopy (Near Infrared Spectroscopy), which is simple, fast, nondestructive, accurate and reliable, and combined with partial least square method (PLSR) in stoichiometry without destroying the original detection substance. Therefore, it can be used for rapid quality control in the middle process of complex Chinese medicine system. **Methods:** HPLC was used as reference method to determine the content of salvianolic acid B ($C_{36}H_{30}O_{16}$) in the extract of *Salvia miltiorrhiza*. The representative samples of the whole process of 64 batches of concentrated section were scanned by NIR spectrometer, and their spectra were pretreated and bands were selected. The method of rapid nondestructive determination of *Salvia miltiorrhiza* content was established by partial least square method (PLSR). **Results:** The determination coefficient R^2 of the established model was 0.9850. Calibration standard deviation RMSEC is 0.1952; the prediction standard deviation RMSEP is 0.8187. The samples of the validation set were predicted and statistically analyzed, and there was no significant difference between the predicted and true values ($P > 0.05$). **Conclusions:** The R^2 value of the model is close to 1, RMSEC is 0.1952, and RMSEP is 0.8187. The established model has high accuracy and is suitable for the rapid detection of salvianolic acid B content in the extract of *Salvia miltiorrhiza*.

Keywords

Compound Xueshuantong, *Salvia miltiorrhiza* Extract, 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。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，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，症见胸闷、胸痛、心悸、心慌、气短、乏力、心烦、口干。丹参作为复方血栓通胶囊主成分之一，为唇形科植物丹参的干燥根和根茎。春、秋二季采挖，除去泥沙，干燥。全国大部分地区都有分布。具有活血祛瘀，通经止痛，清心除烦，凉血消痈之功效。用于胸痹心痛，脘腹胁痛，症瘕积聚，热痹疼痛，心烦不眠，月经不调，痛经经闭，疮疡肿痛。

丹参在中药中运用广泛，企业在中成药的生产过程中会用到丹参，故而丹参的快速无损检测就有很大的应用空间。丹参药材指标包含丹参酮类(含丹参酮 II_A ($C_{19}H_{18}O_3$)、隐丹参酮($C_{19}H_{20}O_3$)和丹参酮 I ($C_{18}H_{12}O_3$))和丹酚酸 B，鉴于药典复方血栓通胶囊成品指标为丹酚酸 B，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)，对提取液丹参含量进行检测分析，并建立定量分析

模型,以期提供一种新的快速检测丹参质量的方法,能够快速、准确的监控丹参质量,为复方血栓通胶囊生产提供质量合格的中间工段丹参提取液[1][2][3][4][5]。

2. 实验部分

2.1. 仪器与试剂

2.1.1. 仪器

MicroNIR OnSite-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)。

2.1.2. 试剂

丹参提取液(广东众生药业股份有限公司); 乙醇(AR); 水(超纯水); 乙腈(HPLC); 甲酸(HPLC); 甲醇(AR)。

2.2. 近红外透射光谱采集

丹参提取液光谱采集预处理:收集不同批号的同工段全过程的 64 批提取液样品,采集光谱前对提取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 cm^{-1} 。丹参提取液原始光谱如图 1 所示。

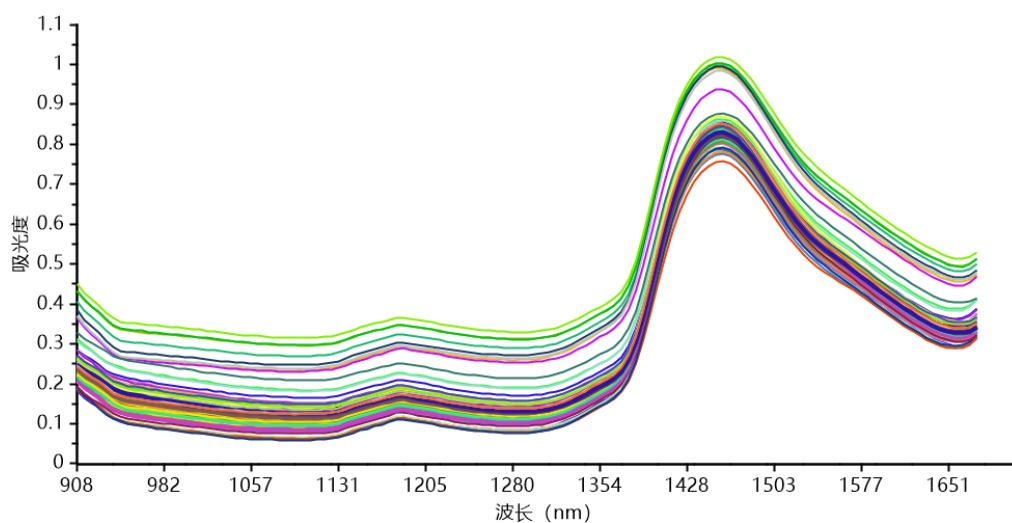


Figure 1. NIR original spectrum of *Salvia miltiorrhiza* extract

图 1. 丹参提取液近红外原始光谱

2.3. 丹参提取液含量测定

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,混匀,取 2 ml,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50%乙醇 20 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提取工段丹参含量的范围:2.4696~8.9852

(mg/ml)。

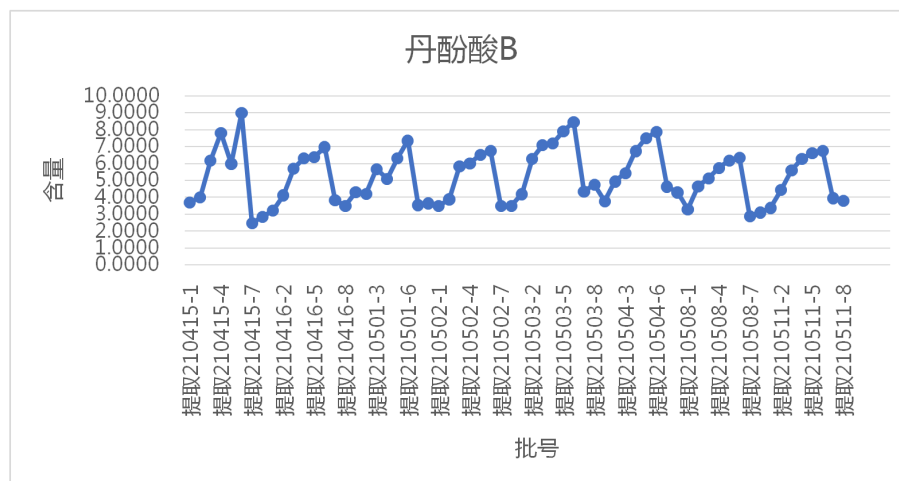


Figure 2. Extraction of *Salvia miltiorrhiza* content data distribution

图 2. 提取丹参含量数据分布

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)建立丹参提取液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[6] [7] [8]。

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[9] [10] [11]。

4. 结果与讨论

4.1. 提取工段丹参含量测定结果

按照 1.3 项下的方法测定 64 批不同批次丹参提取液样品的丹酚酸 B 含量,丹参含量的范围为 2.4696~8.9852 (mg/ml)之间,参照 2020 版《中国药典》规定复方血栓通成品含量不低于 0.9000 (mg/g),对比成品与提取液的稀释比例,故有必要在提取工段丹参投入生产过程中对其丹酚酸 B 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丹参提取液含量建模的影响，结果如表 1 所示。

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

表 1. 不同预处理方法对丹参提取液含量模型的影响

预处理方法	建模波段/nm	R ²	RMSEC	RMSEP	Factor
无光谱预处理	908.1~1676.2	0.9794	0.2286	0.7624	15
一阶导数	908.1~1676.2	0.9748	0.2528	0.7366	15
二阶导数	908.1~1676.2	0.9744	0.2549	1.1958	15
矢量归一化	908.1~1676.2	0.9826	0.2116	0.8008	15
去趋势化	908.1~1676.2	0.9850	0.1952	0.8187	15

通过比较发现，丹参提取液含量在 908.1~1676.2 nm 的波段范围内，通过 Detrend 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 R² 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 法所建立的丹参提取液近红外定量校正模型(其中校正集样本 60 个，验证集样本 4 个)。获得丹参提取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 3 所示，其中 R² 为 0.9580，RMSEC 为 0.1952。

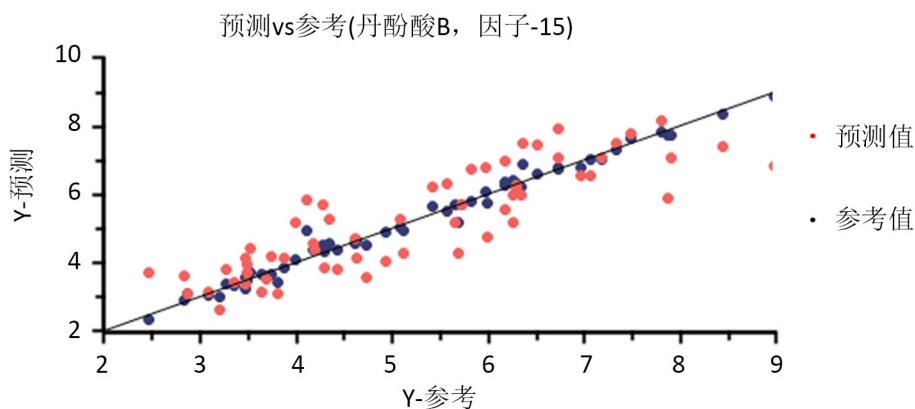


Figure 3. Correlation diagram of HPLC reference value and NIR predicted value of *Salvia miltiorrhiza* extract

图 3. 丹参提取液 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 extract content model of *Salvia miltiorrhiza*

表 2. 丹参提取液含量模型参数汇总

预处理方法	建模波段/nm	R ²	RMSEC	RMSEP	Factor
Detrend	908.1~1676.2	0.9850	0.1952	0.8187	15

从表 2 可以看出,采用 Detrend 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)所建立的丹参提取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 0.9850, RMSEC 为 0.1952, RMSEP 为 0.8187。

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。丹参提取液含量的 NIR 预测值和 HPLC 法测得值的比较如图 4 所示,模型预测参数汇总见表 2。

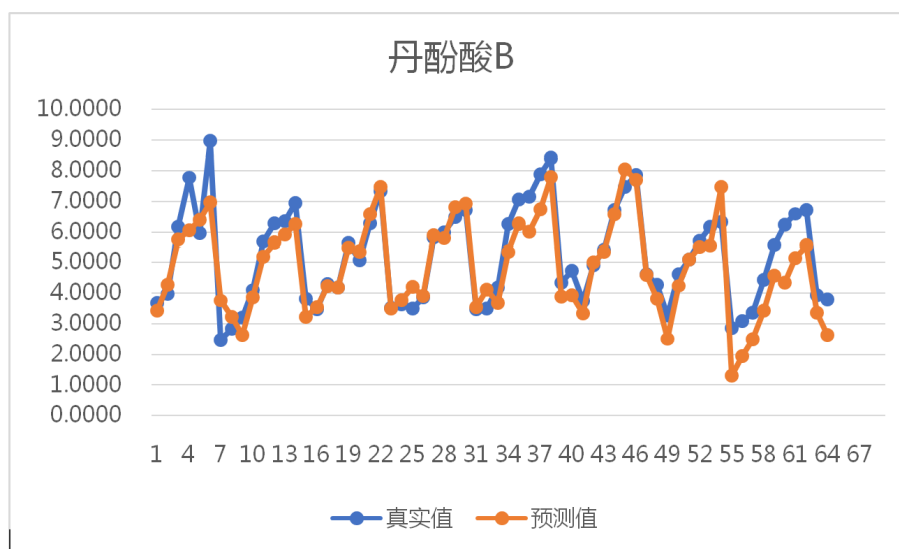


Figure 4. Comparison of the measured value of salvianolic acid B content in *Salvia miltiorrhiza* extract by HPLC and the predicted value by NIR

图 4. 丹参提取液丹酚酸 B 含量 HPLC 实测值和 NIR 预测值比较

从图 4 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。

4.4.2. 模型的参数汇总

模型效果参数如表 3 所示。

Table 3. Parameter table of prediction effect of extract content model of *Salvia miltiorrhiza*

表 3. 丹参提取液含量模型的预测效果参数表

模型	RMSEC	RMSEP
丹酚酸 B 含量模型	0.1952	0.8187

表 3 结果显示丹酚酸 B 含量模型的 RMSEC 值为 0.1952, RMSEP 为 0.8187, 说明近红外光谱分析方法基本可以较好地预测丹参提取液的含量[12] [13] [14] [15] [16]。

5. 结论

本研究建立的复方血栓通胶囊的提取工段丹参提取液含量的近红外快速分析方法,所用的丹参提取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 建立的丹参提取液含量的定量校正模型,其决定系数 R^2 为 0.9850, RMSEC 为 0.1952, RMSEP 为 0.8187, 满足定量分析的要

求[17][18][19]。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丹参提取液含量进行测定,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] 高瑞琳, 杨鹏硕, 许刚, 武晓文, 杨畅, 史新元. 基于系统建模思想的脑心通胶囊中丹酚酸 B 近红外定量建模[J]. 光谱学与光谱分析, 2020, 40(11): 3573-3578.
- [2] 李德坤, 苏志刚, 苏小琴, 王蕴华, 岳洪水, 鞠爱春. 注射用丹参多酚酸化学成分及质量控制研究进展[J]. 药物评价研究, 2019, 42(2): 362-368.
- [3] 宋强. 浅谈传统中药丹参及其鉴别方法[J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2018, 2(20): 167-168.
- [4] 雷晓晴, 李耿, 王秀丽, 付梅红, 张秀荣, 陈芳宁. 基于近红外光谱法快速测定丹参中 5 种成分模型的建立[J]. 中草药, 2018, 49(11): 2653-2661.
- [5] 苏婷, 李亚东, 郑广晶, 马子君, 齐美欣, 于园园, 姜文月. AOTF-NIR 快速检测丹参中丹参酮 I 含量的新方法[J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(68): 196-197.
- [6] 张磊, 岳洪水, 鞠爱春, 叶正良. 基于近红外光谱技术的注射用丹参多酚酸生产过程分析系统构建及相关探讨[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(19): 3569-3573.
- [7] 李敏, 毛丹卓, 杨永健. 近红外光谱技术在药物分析领域的应用[J]. 医药导报, 2016, 35(4): 374-379.
- [8] 贾帅芸, 徐冰, 杨婵, 崔向龙, 史新元, 乔延江. 基于 SIC 算法的丹参醇提过程近红外定量模型更新研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(5): 823-829.
- [9] 徐茂玲. 近红外光谱定量技术应用于中药领域的最新研究[J]. 天津药学, 2015, 27(6): 65-67.
- [10] 李洋. 中药提取过程在线近红外实时检测方法研究[D]: [硕士学位论文]. 北京: 北京中医药大学, 2015.
- [11] 张强. NIRS 和 HPLC 在丹参质量分析中的应用研究[D]: [硕士学位论文]. 郑州: 河南中医学院, 2015.
- [12] 李洋, 吴志生, 潘晓宁, 史新元, 郭明晔, 徐冰, 乔延江. 在线近红外光谱在我国中药研究和生产中应用现状与展望[J]. 光谱学与光谱分析, 2014, 34(10): 2632-2638.
- [13] 黄红霞. 丹参注射剂生产全程质量控制技术研究[D]: [博士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- [14] 雷敬卫, 李磊, 白雁, 谢彩侠, 胡春月. 丹参药材丹酚酸 B 含量的 NIR 快速检测[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(4): 1007-1008.
- [15] 刘君动, 叶正良, 李德坤, 岳洪水, 李兵, 周大铮. 近红外透射光谱法测定丹酚酸提取物中丹酚酸 B [C]//天津市生物医学工程学会、天津市第三中心医院. 天津市生物医学工程学会第三十二届学术年会论文集. 天津: 天津市生物医学工程学会、天津市第三中心医院, 2012: 1.
- [16] 武卫红, 王宁, 石俊英, 董海平. 基于 AOTF-近红外光谱技术的复方丹参片快速无损质量控制研究[J]. 中成药, 2010, 32(7): 1140-1144.
- [17] 王欢. 丹酚酸 B 的含量测定方法研究进展[J]. 江西中医药, 2010, 41(6): 79-80.
- [18] 刘岩, 张延莹, 张金巍, 张爱军. NIR 技术对复方丹参提取过程的在线监控研究[J]. 中草药, 2009, 40(3): 383-386.
- [19] 史春香. 近红外光谱监控丹参、黄芪质量[D]: [硕士学位论文]. 天津: 天津大学, 2006.