

基于近红外光谱结合化学计量学的气滞胃痛颗粒中芍药苷的检测研究

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

¹辽宁华润本溪三药有限公司, 辽宁 本溪

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10月10日; 录用日期: 2021年11月8日; 发布日期: 2021年11月15日

摘要

目的: 研究近红外光谱在一步制粒过程中监测气滞胃痛颗粒芍药苷含量的可行性。方法: 利用近红外在线检测系统, 非接触式探头对制粒过程进行全程近红外光谱扫描, 对采集到的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 为0.9172, 交叉验证均方根差值为0.535, 验证集样品预测统计分析得出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, 适用于气滞胃痛一步制粒过程中芍药苷含量的实时预测。

关键词

气滞胃痛颗粒, 一步制粒, 近红外光谱技术, 偏最小二乘法, 在线监测

Determination of Paeoniflorin in Qizhiweitong Granules Based on Near Infrared Spectroscopy Combined with Chemometrics

Jie Cheng¹, Jie Chen², Bingchao Yang¹, Jiapeng Huang², Yong Shi¹, Ying Pan¹, Ling Han¹, Ping Shao¹, Jun Wang², Yerui Li²

¹Liaoning Huarun Benxi Sanyao Co., Ltd., Benxi Liaoning

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

文章引用: 程杰, 陈洁, 杨炳朝, 黄家鹏, 史泳, 潘英, 韩凌, 邵平, 王钧, 李页瑞. 基于近红外光谱结合化学计量学的气滞胃痛颗粒中芍药苷的检测研[J]. 药物资讯, 2021, 10(6): 339-345. DOI: 10.12677/pi.2021.106042

Abstract

Objective: To study the feasibility of paeoniflorin content in Qizhiweitong granules by near infrared spectroscopy in one-step granulation process. **Methods:** Using near infrared on-line detection system, the non-contact probe was used to scan the whole process of granulation by near-infrared spectroscopy. The spectra of the samples were pretreated and the bands were selected. A fast and nondestructive method for the paeoniflorin content was established by using partial least squares (PLS). **Results:** The determination coefficient R of the established model was 0.9172, and the root mean square difference of cross-validation was 0.535. 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 real-time prediction of paeoniflorin content in one-step granulation process of Qizhi Weitong granules.

Keywords

Qizhi Weitong Granules, One-Step Granulation, Near Infrared Spectroscopy, Partial Least Squares Method, Online Analytical Technology

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

气滞胃痛颗粒主要是由柴胡、炙甘草、白芍、枳壳、香附(炙)、延胡索(炙)组成的, 该品种被《中国药典》记载为非处方药, 此药广泛用于治疗肝郁气滞、胸痞胀满、胃脘疼痛等, 疗效确切, 有抗炎镇痛、抗溃疡、促胃动力等作用[1] [2] [3]。

气滞胃痛颗粒以芍药苷为定量指标[4], 主要存在于白芍中。白芍为毛茛科植物芍药的干燥根, 具有养血护经、柔肝止痛、缓急舒挛等功能, 主要用于治疗胁痛、腹痛、四肢挛痛、头痛眩晕等。芍药苷是一种单萜类糖苷化合物, 于1963年首次从毛茛科植物芍药中提取, 是芍药根中糖苷类物质白芍总苷的主要活性成分[5] [6], 具有抗肿瘤、抗氧化、抗抑郁、免疫调节及补血等作用, 且毒副作用较小, 其药用价值受到社会广泛关注, 故芍药苷在线快速检测具有很大的应用空间。喷雾制粒是将药物溶液或混悬液用雾化方式喷雾于干燥室内的热气流中, 使水分迅速蒸发以直接制成球状干燥颗粒的方法[7]。气滞胃痛颗粒采用沸腾式一步制粒机制粒干燥, 在喷入清膏的同时进行干燥, 在此过程中, 操作人员通常经过肉眼与经验观察颗粒状态, 从而调节进风温度、供液压力及风机频率等工艺参数, 其方法具有误差大、效率低等缺点。

根据现代近红外光谱(NIR)理论, 每种物质对电磁波都有吸收能力, 但这种吸收是有波长选择性的[8]。本研究采用在线近红外光谱检测技术, 在沸腾式一步制粒机基础上进行改造, 联合化学计量学方法(偏最小二乘法), 对气滞胃痛颗粒一步制粒过程中芍药苷含量指标建立定量模型, 精准地监控了一步制粒过程的质量变化, 保证其过程质量稳定, 为气滞胃痛颗粒生产指导提供了一定科学依据。

2. 实验部分

2.1. 仪器与试剂

气滞胃痛颗粒(华润三九(本溪)药业有限公司); MicroNIR 光谱仪(美国 VIAVI); 高效液相色谱仪(Agilent 1260); 超声波清洗仪(KQ-500DE); QUINTIX224-1CN 型电子天平(赛多利斯); XP56 型电子天平(梅特勒-托利多公司)。

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

基于 FL-300C 沸腾式一步制粒机视窗改造, 通过蓝宝石视窗对沸腾式一步制粒机内气滞胃痛颗粒制粒全过程进行光谱扫描。光谱采集条件: 扫描范围为 908~1675 nm, 扫描次数为 100 次, 积分时间 10.3 ms。气滞胃痛颗粒原始光谱如图 1 所示。

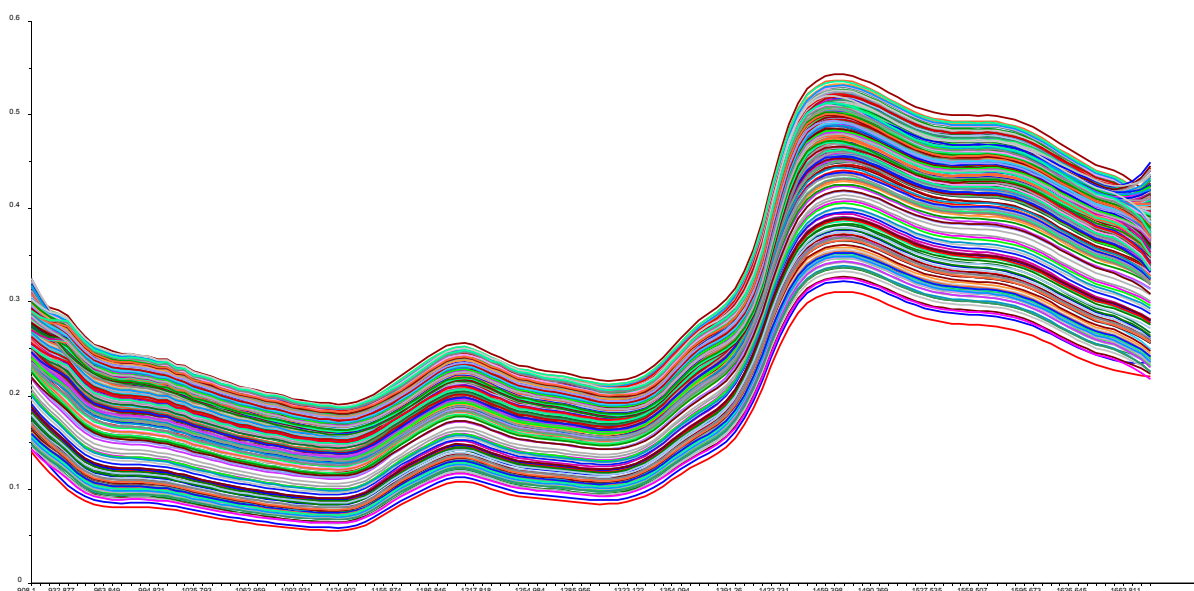


Figure 1. Near infrared original spectroscopy of Qizhiweitong granules

图 1. 气滞胃痛颗粒近红外原始光谱

2.3. 气滞胃痛颗粒半成品中药药苷含量的测定

色谱条件与系统适用性试验:以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈为流动相 A;以 0.1%磷酸溶液为流动相 B,按下表 1 中的规定进行梯度洗脱,检测波长为 230 nm [9]。

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

对照品溶液的制备：取芍药苷对照品适量，精密称定，加乙醇制成每 1 ml 含 80 ug 的溶液，即得。

供试品溶液的制备：取装量差异项下的本品，研细，取约 2 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加水 50 ml，密塞，称定重量，室温下超声处理(功率 250 W，频率 50 kHz) 60 分钟，放冷，再称定重量，用水补足减失的重量，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 ul，注入液相色谱仪，测定。

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气滞胃痛颗粒半成品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[10]，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。Williams 等[11]提出用相对分析误差[ratio of (standard error of) prediction (validation) to (standard) deviation, RPD]，来表现模型的是好坏。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. 气滞胃痛颗粒半成品有效成分含量测定结果

按照 2.3 项下的方法测定 199 个气滞胃痛颗粒半成品样品中芍药苷的含量，芍药苷含量的范围 4.5~13.4 mg/g 之间。故有必要在气滞胃痛颗粒半成品投入生产变成成品前对其芍药苷含量进行快速测定，从而筛选出合格的气滞胃痛颗粒半成品投入大生产，保证气滞胃痛颗粒制剂的安全、有效。

3.2. 光谱预处理

近红外光谱采集过程中，外部环境、颗粒本身温度、沸腾颗粒间隙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。根据应用目的，恰当的选择评价参数和评价方法[12]，本研究比较了不同预处理方法对气滞胃痛颗粒半成品芍药苷含量建模的影响，结果如表 2 所示。

Table 2. Effects of different pretreatment methods on paeoniflorin content model of semi-finished Qizhi Weitong granules
表 2. 不同预处理方法对气滞胃痛颗粒半成品芍药苷含量模型的影响

预处理方法	建模波段/nm	Rcal	RMSEP	RPD	Factor
一阶导数 + MSC	908.10~1372.70 1440.81~1527.54 1595.67~1676.20	0.9542	0.697	3.29	5

Continued

最小最大归一化	982.43~1062.96 1137.29~1217.82 1292.15~1372.68 1521.30~1676.20	0.9509	0.713	3.16	6
多元散射校正	908.10~988.62 1056.76~1143.49 1211.60~1601.90	0.9686	0.738	3.13	4
一阶导数 + 矢量归一化	908.10~988.63 1056.76~1143.49 1211.60~1601.90	0.9479	0.739	3.06	6
一阶导数	982.40~1217.80 1366.48~1447.01 1595.67~1676.20	0.9517	0.757	3.22	8

通过比较发现, 气滞胃痛颗粒半成品芍药苷含量在 908.10~1372.70、1440.81~1527.54、1595.67~1676.20 nm 的波段范围内, 通过一阶导数 + MSC 处理后得到的模型有较低的 RMSEP 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, 气滞胃痛颗粒半成品芍药苷含量近红外定量校正模型(其中校正集样本 131 个, 验证集样本 59 个)。获得气滞胃痛颗粒半成品芍药苷含量模型的校正集样品实测值和 NIR 预测值的相关关系, 如图 2 所示。模型的参数汇总见表 3。

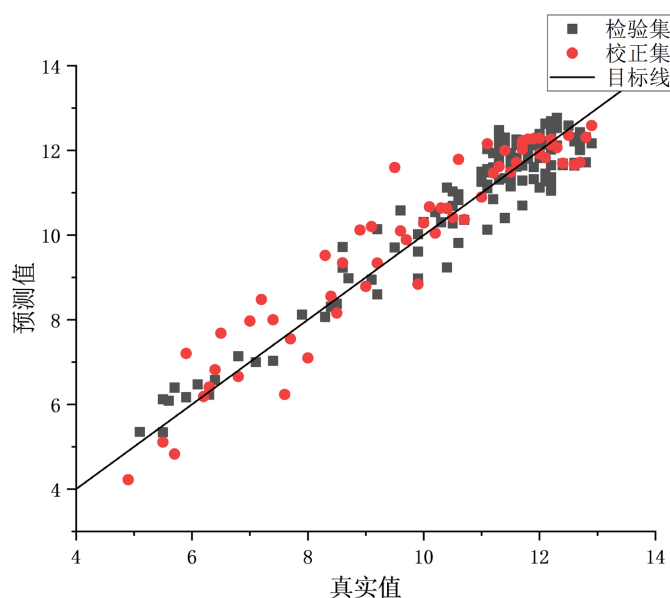


Figure 2. Correlation between HPLC measured value and NIR predicted value of paeoniflorin content in semi-finished products of Qizhiweitong granules

图 2. 气滞胃痛颗粒半成品芍药苷含量 HPLC 实测值和 NIR 预测值相关性图

Table 3. Summary of model parameters of paeoniflorin content in semi-finished products of Qizhiweitong granules
表 3. 气滞胃痛颗粒半成品芍药苷含量模型参数汇总

预处理方法	建模波段/nm	Rcal	RMSEP	RPD	Factor
一阶导数 + MSC	908.10~1372.70 1440.81~1527.54 1595.67~1676.20	0.9542	0.697	3.29	5

从表 3 可以看出, 采用一阶导数 + MSC 处理方式, 在波段 908.10~1372.70、1440.81~1527.54、1595.67~1676.20 nm 内采用偏最小二乘法所建立的气滞胃痛颗粒半成品芍药苷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 预测值的相关系数为 0.9542, RPD 为 3.29, RMSEP 为 0.697。

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 4。

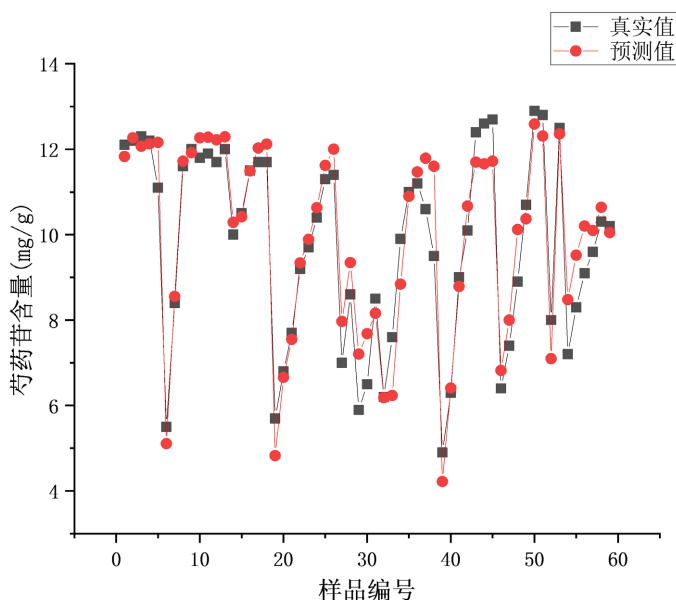


Figure 3. Comparison between HPLC measured values and NIR predicted values of extract content in Radix Isatidis

图 3. HPLC 实测值和 NIR 预测值比较

Table 4. Prediction effect parameters of paeoniflorin content model of semi-finished Qizhiweitong granules

表 4. 气滞胃痛颗粒半成品芍药苷含量模型的预测效果参数表

模型	RMSEP	RSEP (%)
芍药苷模型	0.697	6.95

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 3 结果显示芍药苷含量模型的 RMSEP 值小于 0.7, 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半成品芍药苷的含量。

4. 结论

本研究建立了气滞胃痛颗粒半成品芍药苷含量的近红外快速分析方法,所用的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。应用 PLS 建立的浸出物含量的定量校正模型,其相关系数 R 为 0.9542, RMSEP 为 0.697, RSEP (%) 为 6.95, 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半成品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。

基金项目

项目名称: 2019 年辽宁省重点研发计划项目《气滞胃痛颗粒智能制造技术研究与产业化应用》(2019JH2/10100002)。

参考文献

- [1] 孙方圆. 气滞胃痛颗粒治疗功能性消化不良的脑肠轴机制研究[D]: [硕士学位论文]. 天津: 天津医科大学, 2017.
- [2] 于婷, 王帅, 孟宪生, 等. 气滞胃痛颗粒防治反流性胃炎的药效及作用机制初步研究[J]. 中药材, 2015, 38(9): 1933-1936.
- [3] 姚东, 孟宪生, 潘英, 等. 气滞胃痛颗粒镇痛作用研究及机制初探[J]. 中成药, 2012, 34(3): 556-558.
- [4] 国家药典委员会. 中国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 699.
- [5] Wu, S.H., Wu, D.G. and Chen, Y.W. (2010) Chemical Constituents and Bioactivities of Plants from the Genus *Paeonia*. *Chem Biodivers*, 7, 90-104.
- [6] 孙丽荣, 曹雄, 候凤青, 等. 芍药苷研究进展[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(18): 2028-2032.
- [7] 汪宝成. 固体制剂不同制粒方法的常见问题及特点分析[J]. 机电信息, 2018, 563(29): 39-42.
- [8] 屈凌波, 相秉仁, 吴拥军, 等. 近红外反射光谱分析在抗生素片剂质量控制中的应用[J]. 计算机与应用化学, 2002, 19(3): 320-322.
- [9] 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.
- [10] 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.
- [11] Williams, P.C. and Norris, K. (2001) Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries. *American Association of Cereal Chemists Press*, 9, 145-149.
- [12] Bleye, C.D., Chavez, P.F., Mantanus, J., et al. (2012) Critical Review of Near-Infrared Spectroscopic Methods Validations in Pharmaceutical Applications. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 69, 125-132. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.02.003>