

## 中试规模 and 不同提取时段的黄芩配方颗粒 质量参数在线 NIR 监测研究

李洋<sup>1,2,3</sup>, 吴志生<sup>1,2,3\*</sup>, 史新元<sup>1,2,3</sup>, 潘晓宁<sup>1,2,3</sup>, 张乔<sup>1,2,3</sup>, 乔延江<sup>1,2,3\*</sup>

(1. 北京中医药大学, 北京 100102; 2. 国家中医药管理局中药信息工程重点实验室, 北京 100102;  
3. 北京市中药基础与新药研究重点实验室, 北京 100102)

**[摘要]** 采用近红外光谱分析技术, 在线监测黄芩配方颗粒提取过程中黄芩苷成分的含量变化。以高效液相色谱法为参考方法, 采用 Kennard-Stone 法(KS)划分样本集, 进而比较不同预处理方法, 通过组合间隔偏最小二乘法(SiPLS)对建模波段进行筛选, 建立偏最小二乘模型。采用相对误差法对黄芩 3 次提取时段的预测集样本进行预测。结果表明应用 Savitzky-Golay11 点平滑(SG11 点)预处理方法所建模型最好, 其交叉验证均方根(RMSECV)、校正均方根误差(RMSEC)和预测均方根误差(RMSEP)分别为 0.092 7、0.134 4、0.114 8, 决定系数  $R^2$  均大于 0.99, 且黄芩苷含量的平均相对误差在 5% 以下, 说明在线近红外光谱分析技术可以应用于黄芩配方颗粒提取过程中在线监测及其质量控制。

**[关键词]** 黄芩; 配方颗粒; 在线近红外; 组合间隔偏最小二乘; 过程监测

中药配方颗粒是中药现代化生产的重要产物之一, 是单味药材经过提取、浓缩、醇沉及后续制剂过程后形成的中药产品, 其具有免于煎煮、携带方便以及安全卫生等优点。在我国已有超过 300 多种中药材被 6 家企业先行生产, 供临床中医应用, 并取得显著效果。

黄芩作为一种常用中药材, 出自《神农本草经》, 为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis Georgi* 的干燥根<sup>[1]</sup>, 性味苦寒, 归肺、胆、脾、大肠和小肠经, 有清热燥湿、泻火解毒及止血安胎等功效。其主要成分黄芩苷是从黄芩根中提取分离出来的一种黄酮类化合物<sup>[2]</sup>, 具有抑菌、利尿、抗炎、抗变态和解痉作用<sup>[3]</sup>, 同时具有较强的抗癌反应等生理效能<sup>[4]</sup>。黄芩不仅在中药方剂中配伍应用普遍, 而且在配方颗粒生产中为常用中药种类。目前, 配方颗粒的研究热点之一主要集中在其质量检测标准和提取工艺优化等方面, 未有对黄芩配方颗粒生产过程中的关键环节——提取环节质量进行实时监测的文

献报道。

近红外光谱技术具有快速、无损和实时分析等优点, 凭借其和光纤的结合, 已广泛应用到中药生产过程中, 实时监控中药生产中关键工艺参数变化, 控制产品质量。通过与化学计量学结合并建立相应的近红外校正模型, 近红外光谱技术可以在线智能预测生产过程中各成分的含量变化, 为中药现代化生产提供一种快捷检测手段。

因此, 本文采用黄芩配方颗粒的提取过程作为研究对象, 以 2010 年版《中国药典》中规定的黄芩指标性成分黄芩苷为监测指标, 实时在线采集黄芩提取过程中近红外光谱信息。以高效液相色谱法(HPLC)作为参考方法, 运用组合间隔偏最小二乘法(SiPLS)进行建模波段筛选, 建立黄芩苷校正模型并对其进行相对误差分析, 为实现黄芩配方颗粒提取过程在线质量控制提供科学合理的手段。

### 1 材料

XDS Rapid Liquid Analyzer 近红外光谱仪及其透射光纤(美国 Foss 公司), VISION 工作站(美国 Foss 公司); 夹套式 100 L 多功能提取罐(天津隆业中药设备有限公司); Waters 2695 高效液相色谱仪及其 Waters2996 二极管阵列检测器(美国 Waters 公司)。

黄芩药材(北京本草方源药业有限公司); 黄芩

**[收稿日期]** 2014-06-16

**[通信作者]** \* 乔延江, 教授, 研究方向为中药质量控制, Tel: (010) 84738621, E-mail: yjqiao@263.net; \* 吴志生, 讲师, 研究方向为中药质量控制, Tel: (010) 84738650, E-mail: wzs@bucm.edu.cn

**[作者简介]** 李洋, 硕士研究生, Tel: (010) 84738650, E-mail: lim-ingyangsoul@163.com

苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110715-201004);甲醇(色谱纯,美国 Fisher 公司);娃哈哈纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司);提取用水为自制高纯水。

## 2 方法

### 2.1 黄芩饮片中试提取过程

称取黄芩饮片 6 kg 置于 100 L 夹套式多功能提取罐中,加 12 倍水,提取 3 次,每次 1 h。在提取过程中每隔一定时间在线采集近红外光谱,同时进行 HPLC 离线检测。

### 2.2 在线 NIR 采集光谱

在光程 2 mm 下,通过光纤附件在线采集提取液吸收光谱,光谱范围为 800 ~ 2 200 nm,每个样品扫描 32 次。

光谱采集条件如下:第 1 次提取过程中,提取液沸腾后每 4 min 采集光谱 1 次;第 2 次提取过程中,提取液沸腾后每 5 min 采集光谱 1 次;第 3 次提取过程中,提取液沸腾后每 5 min 采集光谱 1 次。上述过程共收集到 39 份样品。

### 2.3 提取液中黄芩苷的 HPLC 测定方法

**2.3.1 色谱条件<sup>[1]</sup>** DIKMA Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相甲醇-水-磷酸(47:53:0.2),等度洗脱;柱温 30 °C;检测波长 280 nm;流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>;进样 10 μL。

**2.3.2 对照品溶液的配制** 取在 60 °C 下减压干燥 4 h 的黄芩苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 104 μg 的溶液,即得。

**2.3.3 供试品溶液的配制** 由于供试品原液浓度较大,需要对原液进行如下稀释:第 1 次提取煮沸阶段,取 0.5 mL 样品原液于 25 mL 量瓶中,加入 20% 甲醇稀释至刻度,用 0.45 μm 滤膜滤过,取滤液,即得;第 2 次提取煮沸阶段,取 0.5 mL 样品原液于 25 mL 量瓶中,加入 20% 甲醇稀释至刻度,用 0.45 μm 滤膜滤过,取滤液,即得;第 3 次提取煮沸阶段,取 2 mL 样品原液于 25 mL 量瓶中,加入 20% 甲醇稀释至刻度,用 0.45 μm 滤膜滤过,取滤液,即得。

### 2.4 数据处理和软件

采用 Kennard-Stone 法(KS)划分 39 个样本集,划分后的校正集和验证集分别为 26 和 13。采用不同的预处理方法,建立全波段偏最小二乘(PLS)模型,以交叉验证均方根(RMSECV)作为评价指标,选出最优预处理方法。采用组合间隔偏最小二乘法

(SiPLS)对建模波段进行筛选,建立偏最小二乘模型,评价参数为交叉验证均方根(RMSECV)、校正均方根误差(RMSEC)、预测均方根误差(RMSEP)及其相应决定系数 R<sup>2</sup>。为进一步验证模型可靠性,采用相对误差法对模型进行评价。上述数据处理均在 Unscrambler 数据分析软件(version 9.6,挪威 CAMO 软件公司)和 MATLAB(version 7.0,美国 Math Works 公司)软件上完成。

## 3 结果与讨论

### 3.1 提取液中黄芩苷的 HPLC 测定结果

参照文献色谱条件,其分离度、精密度、重复性和稳定性均符合分析要求。对黄芩苷进行线性条件考察,其在 0.208 ~ 2.08 μg 线性关系良好,方程为  $Y = 3 \times 10^6 X - 23\ 611$ , R<sup>2</sup> = 0.999 0。39 份样品含量测定结果见表 1。

表 1 黄芩苷不同提取阶段含量

Table 1 The content of baicalin in different extraction processes  
g · L<sup>-1</sup>

提取阶段	最小值	最大值	均值
第 1 次提取过程	2.06	4.68	3.64
第 2 次提取过程	0.72	1.90	1.24
第 3 次提取过程	0.19	0.52	0.36

### 3.2 NIR 光谱特征分析测定

黄芩苷 3 次提取阶段的样品光谱图见图 1。图中每条光谱曲线代表一个取样样品。由图可以看出,39 个样品光谱曲线大部分重叠在一起,且在 1 900 ~ 2 100 nm 谱带变化无规律<sup>[5]</sup>。

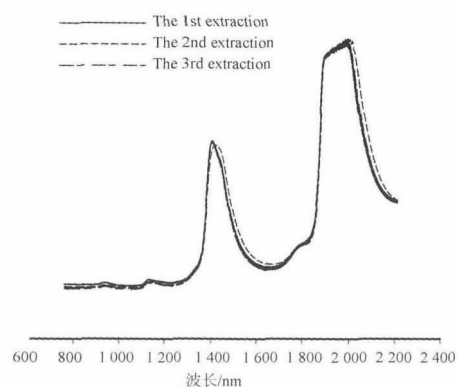


图 1 黄芩在线近红外光谱

Fig. 1 The NIR spectra of Scutellariae Radix

### 3.3 光谱预处理方法筛选

在建立偏最小二乘(PLS)模型前,需要对样品的原始吸收光谱进行预处理,以消除噪音和基线漂移影响等,从而提高模型的预测精度,使所得模型更加稳健。本文比较了原始光谱、一阶导数(1D)、二阶导数(2D)和 Savitzky-Golay 平滑法(SG)等光谱预处理方法对模型性能的影响<sup>[6-8]</sup>。采用四折内部交叉验证法,通过考察潜变量因子数对预测残差平方和(PRESS)的影响,选择合适的预处理方法。对于黄芩提取液样本,采用 SG11 点平滑预处理方法所建的 PLS 模型 PRESS 值最小,所得结果较其他方法均理想,见图 2。因此,采用 SG11 点平滑法建立黄芩苷 PLS 模型。

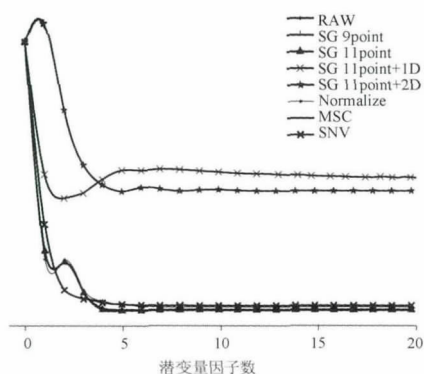


图 2 不同预处理方法下黄芩苷的 PRESS  
Fig. 2 The PRESS value of baicalin with different pretreatment methods

### 3.4 建模波段选择

由于近红外光谱存在谱带冗余信息,因此在建模之前需要对建模波段进行优化筛选。本文采用 SiPLS 法筛选黄芩苷最优建模波段。SiPLS 法主要用于筛选 PLS 建模的波段,将精度较高的几个局部模型组合,以组合模型的 RMSECV 值作为模型精度衡量标准,选出最佳子区间组合<sup>[9]</sup>。筛选过程参数为:间隔数 20,最大潜变量因子数 10,组合数 3。应用 SiPLS 法,黄芩苷最优波段为 1 290 ~ 1 360 nm, 1 360 ~ 1 430 nm 和 1 500 ~ 1 570 nm,见图 3。

### 3.5 模型建立与预测

对样本校正集采用 SG11 点平滑建立偏最小二乘模型,采用内部样本集对模型预测性能进行验证,模型评价参数如下:交叉验证均方根(RMSECV)为

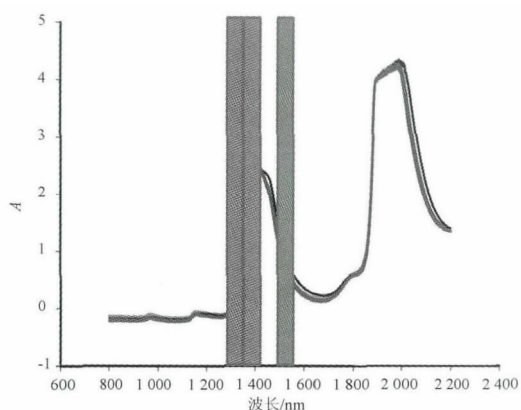


图 3 黄芩苷最优建模波段结果图(SiPLS)  
Fig. 3 The optimum subinterval combination selected by SiPLS for the quantitative determination of baicalin

0.092 7,校正均方根误差(RMSEC)为 0.134 4,预测均方根误差(RMSEP)为 0.114 8,校正集决定系数  $R_{cal}^2$  为 0.995 7,验证集决定系数  $R_{val}^2$  为 0.993 8,预测集决定系数  $R_{pre}^2$  为 0.992 1。黄芩苷的 NIR 光谱预测值与参考值的相关图见图 4。样品紧密的分散在直线两侧,  $R^2$  均在 0.99 以上。为进一步验证上述模型的预测结果,采用相对误差法对所建模型预测集样本进行预测,结果表明黄芩苷在 3 次提取过程中其相对误差分别为 3.94%、5.97%、4.03%,平均相对误差为 4.74%,均低于 10%,说明预测性能良好。

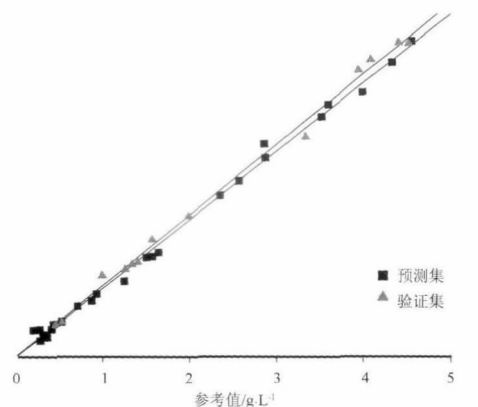


图 4 黄芩苷量预测值与参考值图  
Fig. 4 NIR predictions versus the reference method result of baicalin

## 4 结论

本文首次采用近红外光谱技术在线监测黄芩配

方颗粒不同提取时段中主要成分黄芩苷的含量变化,并建立相应的偏最小二乘模型。同时对不同提取时段的黄芩苷含量进行相对误差分析,其平均相对误差为 4.74%,相对于中药黄芩说明预测结果良好。此研究可以为今后黄芩配方颗粒提取过程的质量控制与在线监测提供有力的技术支撑。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010:283.
- [2] 于艳,徐晶,修丽丽,等. 大孔吸附树脂纯化黄芩中三种黄酮的含量测定[J]. 中国现代应用药学, 2013, 30(10):1107.
- [3] 汪东海,陈敏,姜志强,等. 黄芩苷消除鲍曼不动杆菌耐药质粒的实验研究[J]. 中国现代应用药学, 2012, 29(5):400.
- [4] 洪铁,杨振,绳娟,等. 黄芩苷抗肿瘤作用及机制的研究[J]. 中国药理学通报, 2008, 24(12):1676.
- [5] Sui C, Wu Z, Peng Y, et al. Validation of NIR model for on-line monitoring of Flos Lonicera Japonica extraction process with different batches of materials[J]. Int J Online Eng, 2013, 9(4):44.
- [6] Reich G. Near-infrared spectroscopy and imaging: basic principles and pharmaceutical applications[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2005, 57(8):1109.
- [7] Roggo Y, Chalou P, Maurer L, et al. A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies[J]. J Pharm Biomed Anal, 2007, 44(3):683.
- [8] Luypaert J, Massart D, Heyden Y. Near-infrared spectroscopy applications in pharmaceutical analysis[J]. Talanta, 2007, 72(3):865.
- [9] Wu Z, Peng Y, Cheng W, et al. NIR spectroscopy as a process analytical technology (PAT) tool for monitoring and understanding of a hydrolysis process[J]. Bioresour Technol, 2013, 137:394.

## Research on quality parameters of Scutellariae Radix( formula particles) using on-line NIR in pilot with different extraction process

LI Yang<sup>1,2,3</sup>, WU Zhi-sheng<sup>1,2,3\*</sup>, Shi Xin-yuan<sup>1,2,3</sup>, PAN Xiao-ning<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Qiao<sup>1,2,3</sup>, QIAO Yan-jiang<sup>1,2,3\*</sup>

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. Pharmaceutical Engineering and New Drug Development of Traditional Chinese Medicine of Ministry of Education, Beijing 100102, China;

3. Beijing Key Laboratory for Basic and Development Research on Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] The on-line monitor for the changes in the content of baicalin in Scutellariae Radix formula particles during the extraction process was conducted by using near infrared spectroscopy (NIR). High performance liquid chromatography (HPLC) was used as a reference method. Kennard-Stone (KS) was used to divide sample sets, so as to compare different pretreatment methods. The synergy interval partial least squares (SiPLS) was used to screen out modeling wave band to establish partial least-squares models. The relative error method was applied to predict forecast set samples of Scutellariae Radix in three extraction phases. The results showed that the model established by Savitzky-Golay smoothing with 11 points (SG11 points) was the best, with the root mean square with cross validation (RMSECV), root mean square error of correction (RMSEC) and root mean square error of prediction (RMSEP) of baicalin of 0.0927, 0.1344 and 0.1148, respectively, the determination coefficient  $R^2$  of greater than 0.99, and the relative error of baicalin content of less than 5%. This indicates that the on-line near infrared reflectance spectroscopy could be applied in on-line monitor and quality control of the extraction process of Scutellariae Radix formula particles.

[Key words] Scutellariae Radix; formula particles; on-line NIR; SiPLS; process monitoring

doi: 10.4268/cjmm20141918

[责任编辑 马超一]