

究奠定基础。

中药效应组分一般易吸潮,无论在醇中或水中均黏度大。润湿剂或黏合剂的用量稍改变,软材性质将产生较大变化,即在挤出滚圆中适合成球的润湿剂或黏合剂的用量范围较窄。在以中药效应组分为原料微丸制备过程中,控制软材润湿剂的比例是挤出滚圆工艺中最关键的因素。相对增加中药物料软材制备的湿度,能降低黏性和韧性,使之能被剪切打断、成球;降低湿度,则挤出物塑性增强,韧性增大,滚圆中不易被剪切打断,即使被打断在滚圆中也多呈哑铃型或棒状。

单因素考察时,有些因素对药物释放的影响具有前后矛盾性,或者前期释药太快,或者后期释药太慢。通过实验发现,对药物的前期释药行为很难调整,而对药物的后期释药行为通过处方的调整可以得到很好的解决。因此在确定单因素时主要选择前期释药行为较好的。

比较释放曲线差异的方法有多种,如比较释药时间($t_{x\%}$)、平均溶出时间(MDT $_{x\%}$)法、相似因子(f_2)或差异因子(f_1)法以及模型依赖法等,其中 f_2 是一种较好的区分释放度差异的方法。这种比较释放度相似性的方法已经被美国FDA的“药物评价与研究中心”采纳。本实验采用 f_2 值比较芍药苷释药曲线差异。结果表明, f_2 值均在50~100,说明该芍药总苷微丸处方工艺具有较好的重现性。

参考文献:

- [1] 蔡宛如,钱华.芍药甘草汤治疗呼吸系统疾病的临床和药理研究进展[J].中医药信息,1998,15(6):5-6.
- [2] Shah V P, Tsong Y, Sathe P, et al. *In vitro* dissolution profile comparison-statistics and analysis of the similarity factors f_2 [J]. *Pharm Res*, 1998, 15(6): 889-894.
- [3] 赵语,蒋学华,周大杰,等.用均匀设计法优选水溶性药物缓释片的制备工艺[J].华西药学杂志,2000,15(5):352-354.
- [4] Ritger R L, Peppas N A. A simple equation for description of solute release I Fickian and non-Fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs[J]. *J Control Release*, 1987, 5(1): 23-26.

NIR 技术对复方丹参提取过程的在线监控研究

刘岩,张延莹,张金巍*,张爱军

(天津天士力现代中药资源有限公司,天津 300410)

摘要:目的 利用 NIR 技术研究并建立复方丹参有效成分的检测模型,实现生产规模复杂中药体系提取过程的在线质量监控。方法 在提取装置上在线采集提取液的近红外光谱,同时进行丹参素的 HPLC 检测,采用偏小二乘法建立丹参素的质量浓度检测模型。结果 最佳建模波段为 $9\,715\sim 7\,082\text{ cm}^{-1}$,模型相关系数(R)为 0.959 4,校正均方差(RMSEC)为 0.049 4,预测值与真实值的平均相对误差为 7.2%。结论 利用 NIR 技术能够实现生产规模复方丹参提取过程的在线质量监控。

关键词: 复方丹参; 近红外技术; 在线质量监控; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.2; R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)03-0383-04

On-Line quality control of Compound Danshen's extracting process by NIR

LIU Yan, ZHANG Yan-ying, ZHANG Jin-wei, ZHANG Ai-jun

(Tasly Modern TCM Resources Co., Ltd., Tianjin 300410, China)

Abstract: Objective To research and develop a model of the representative active component's content by NIR spectroscopy, so as to realize the on-line quality control of extracting process for multiple herbal medicine system in product scale. **Methods** The on-line NIR detection of extracting process was used to obtain the NIR spectrum, HPLC detection of the extracts was carried out to determine the content of danshensu, and PLS method was used to establish the relationship between the information of NIR and HPLC. **Results** The optimum NIR wavelength range was $9\,715\sim 7\,082\text{ cm}^{-1}$, $R=0.959\,4$, RMSEC=0.049 4, the average relative error was 7.2%. **Conclusion** NIR Technique could be used in the on-line quality control of Compound Danshen's extracting process.

Key words: Compound Danshen; NIR technique; on-line quality control; HPLC

* 收稿日期: 2008-05-09

基金项目: 国家科技支撑项目(2007BAI47B02)

作者简介: 刘岩,女,正高级工程师, MBA。

* 通讯作者 张金巍 Tel: (022) 26736588 E-mail: tjvv@163.com

我国现行中药生产工艺的控制模式,基本仍停留在传统的经验控制方法上,很少考虑工艺过程中的成分及其量的变化,控制过于简单,无法做到对生产过程的在线检测和质量监控。近红外(near infrared, NIR)光谱作为一种快速分析技术,美国FDA于2002年将其作为一种标准的检测方法,《中国药典》2005年版已将“近红外分光光度法指导原则”列入目录。近年来,NIR技术在中药行业,特别是中药生产过程的在线检测逐渐成为研究热点。有学者应用其检测丹参提取过程丹参酮和丹酚酸B的量^[1],也有对栀子药材提取和三七总皂苷模拟物系进行实时定量分析^[2,3]。但这些仅局限于实验室规模的模拟生产研究,且研究系统均针对单方药材的水提过程,同时采取人工取样后再对样品进行近红外采谱的半在线模式。本研究以生产规模的复方丹参提取过程作为研究系统,以水提液中主要有效成分丹参素的变化作为研究对象,利用NIR在线检测技术采集光谱,并结合HPLC检测技术和化学计量学的数据处理方法,建立丹参素的检测模型,实现复方丹参生产过程的全程实时质量监控。

1 仪器与材料

ANTARIS 傅里叶近红外分析仪(美国 Thermo 公司),配有光纤配件及 TQ Analyst 分析软件;Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国 HP 公司);500 L 多功能提取装置(天士力现代中药资源有限公司)。

丹参(产地陕西商洛)、三七(产地广西文山)经天士力现代中药资源有限公司质检部鉴定分别为丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 和三七 *Panax notoginseng* F. H. Chen 的根茎;丹参素钠对照品(中国药品生物制品检定所);甲醇、乙腈为色谱纯(默克公司);冰醋酸为分析纯(天津化学试剂有限公司)。

2 方法与结果

2.1 复方丹参提取系统:称取丹参、三七药材共 50 kg,置于 500 L 提取罐中,加 4 倍量水,煎煮提取 2 h,放液;药渣进行第 2 次提取,加入 3 倍量水,煎煮提取 1 h,放液。在提取过程中每隔一定时间用近红外检测设备在线采谱 1 次,同时取样进行 HPLC 法检测。

2.2 NIR 谱图的在线采集:加热沸腾后每隔 5 min 采谱 1 次,每次采集 2 张谱图;采谱的同时取样进行 HPLC 检测,样品编号一一对应。光谱采集时的扫描范围:10 000~4 000 cm^{-1} ,扫描次数 32,分辨率 8 cm^{-1} 。复方丹参提取液近红外谱图见图 1。

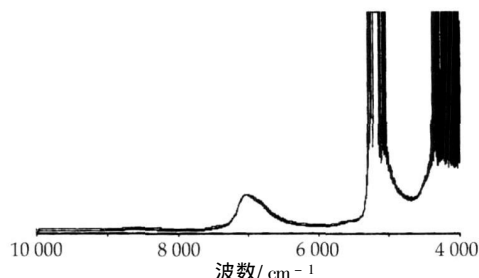


图1 复方丹参提取液近红外谱图

Fig. 1 NIR Spectrum of Compound Danshen extract solution

在谱图采集过程中,流通池中的样品存在气泡,一直是困扰试验进行的大问题,因为其直接影响到光信号在流通池中的吸收与传播,造成采集到的光谱出现不规则峰型,谱图信息受到严重干扰。针对该问题,笔者从设备、现场操作等方面入手,解决了气泡的干扰现象,扫清了在线采谱的最大障碍。

2.3 丹参素的 HPLC 法测定:参照《中国药典》2005 年版一部复方丹参滴丸项下的测定方法。

2.3.1 色谱条件:色谱柱为 Agilent Zorbax SB C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水-冰醋酸(8:91:1);检测波长 281 nm;体积流量 1 mL/min;柱温 30 $^{\circ}\text{C}$;进样量 5 μL ;

2.3.2 对照品溶液的制备:精密称取丹参素钠对照品适量,加甲醇制成 0.16 mg/mL 的溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备:取样品 1 mL 于 5 mL 量瓶中,加入甲醇稀释至刻度,用 0.45 μm 滤膜滤过,取滤液,即得。

2.4 光谱数据的预处理:在近红外光谱的采集过程中,环境的变化会引起光谱的基线偏移,随机噪声和样品背景干扰都会对校正结果产生影响,因此需要对光谱数据进行预处理。本研究将光谱预处理方法多元散射校正(MSC)、标准正交变换(SNV)、一阶微分、二阶微分、S-G 平滑和 Norris 导数滤波平滑排列组合,考察其对模型相关系数(R)、均方差(RMSEC)和校正均方差(RMSECV)的影响,结果见表 1。根据计算结果,最终选择一阶+Norris 的光谱预处理方式建立模型。

2.5 最佳主因子数的选择:采用 PLS 法建立定量模型时,为避免出现“过拟合”现象,需要对主因子数进行合理选择。本研究采用留一交叉验证法^[4],考察了主因子数对内部交叉验证均方差(RMSECV)的影响。交叉验证结果见图 2。可以看出,当主因子数为 6 时, RMSECV 为 0.106,超过此主因子数时, RMSECV 不下降反而上升。因此确定最佳主因

表 1 不同光谱预处理方法对偏最小二乘法模型的影响

Table 1 Effect of various pretreatment methods on PLS model

光谱预处理方法	<i>R</i>	RMSEC	RMSECV
原始光谱	0.901 7	0.075 7	0.113
M SC	0.866 0	0.087 6	0.135
M SC+ 一阶	0.958 0	0.050 2	0.209
M SC+ 二阶	0.952 9	0.053 1	0.192
M SC+ 一阶+ Norris	0.935 4	0.061 9	0.128
M SC+ 二阶+ Norris	0.935 5	0.061 9	0.133
SNV	0.870 8	0.086 1	0.125
SNV+ 一阶	0.952 7	0.054 7	0.209
SNV+ 二阶	0.957 8	0.050 3	0.190
SNV+ 一阶+ Norris	0.931 0	0.063 9	0.127
SNV+ 二阶+ Norris	0.939 5	0.060 0	0.133
一阶+ Norris	0.959 4	0.049 4	0.106
二阶+ Norris	0.957 3	0.050 7	0.138
一阶+ S-G	0.957 5	0.050 5	0.118
二阶+ S-G	0.894 4	0.078 3	0.143

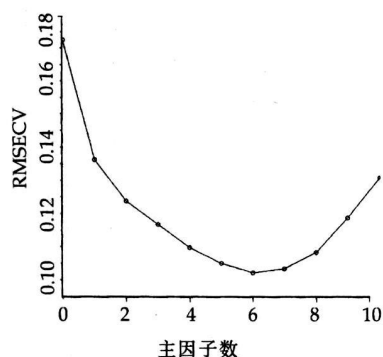


图 2 最佳主因子数和交叉验证结果

Fig. 2 Optimal PLS factors and results obtained by cross-validation

子数为 6。

2.6 光谱范围的选择: 光谱范围的选择在 NIR 定量分析模型的建立中是最难的一步, 迄今为止, 化学计量学领域还没有一个完美的算法来选择最佳的光谱范围。本研究在去除吸收饱和波段和噪声较大的部分波段后, 通过比较, 选取吸收特征较为明显的 $9\,715\sim 7\,082\text{ cm}^{-1}$ 波段作为建立模型的最佳光谱范围, 模型的相关系数和预测效果良好。

2.7 模型的建立: 本研究对 3 批 102 个实验样本中的 78 个样本进行数据分析, 采用一阶微分光谱对丹参素的量进行 PLS 建模。根据交叉验证获得的结果, 即最佳主因子数为 6, 相关系数 $R = 0.959\,4$, $\text{RMSEC} = 0.049\,4$, 其中丹参素质量浓度的变化范围是 $0.15\sim 1.35\text{ mg/mL}$ 。模型预测值与真实值的相关系数见图 3。

2.8 预测效果的评价: 为了验证上述模型的预测效果, 参照同样的提取条件, 重复进行 1 批生产, 并在过程中采集样本 34 个, 用于模型的验证。丹参素质量浓度的预测值与真实值的变化趋势见图 4。可以看出, 剔除个别异常数据点, 预测曲线与真实曲线均

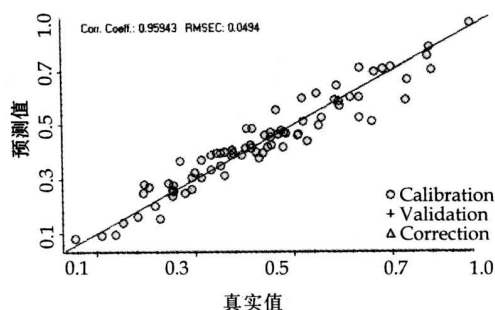


图 3 丹参素预测值与真实值之间的相关系数图

Fig. 3 Correlation of danshensu's content between calculated and actual values

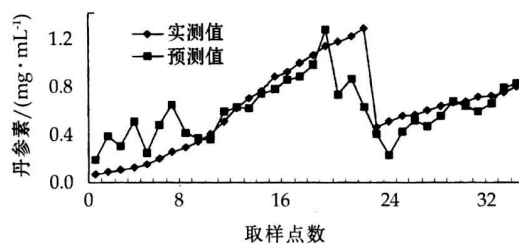


图 4 丹参素质量浓度的测定值与预测值变化趋势图

Fig. 4 Variational current of danshensu's content concentration between detected and calculated values

呈现稳定、一致的变化趋势, 预测值与真实值之间的平均相对误差为 7.2% 。异常数据点的形成可能有如下几个原因, 首先近红外仪器要求待测组分质量浓度不能低于 0.1% , 目标组分的质量浓度过低会给检测带来较大误差; 同时, 考虑到本研究采用在线采谱的方式, 液体在管路中一直是处于不断运动的状态, 其通过流通池时的流动稳定性和气泡问题, 会导致部分数据失真, 增大了预测误差。

3 讨论

近红外光谱是人们最早发现的非可见光, 它的光谱区与有机分子中含氢基团 (OH 、 NH 、 CH) 振动的合频和各级倍频的吸收区相一致, 通过扫描样品的近红外光谱, 可以得到样品中有机分子含氢基团的特征信息。不同基团或同一基团在不同化学环境中的近红外吸收波长与强度都有明显差别。因此近红外光谱具有丰富的样品结构和组成信息, 适用于天然产物活性成分的品质检测^[5]。由于近红外光谱吸收谱带较宽且重叠严重, 必须使用化学计量学方法提取近红外光谱特征信息^[6]。本研究以 HPLC

确定待测组分丹参素的质量浓度,应用偏最小二乘法(PLS)建立组分丹参素的质量浓度与 NIR 光谱间关系的数学模型,实现对复方丹参提取过程的在线检测和质量监控。

近红外光谱分析技术具有方便、省时、成本低、环境友好等优点。本研究以生产规模的复方丹参提取过程作为研究对象,采用直接在生产装置上进行在线采谱的方式,建立了提取液中丹参素的质量浓度的检测模型,模型的趋势预测效果良好,基本能够满足生产过程中在线检测和质量监控的要求。

光谱的预处理方法、光谱范围和主因子数的选择对所建模型的精确度影响很大,应对各种条件进行分析对比,以选择最优的建模参数。

待测组分的量低于近红外仪器检测限、液体在管路中流动状态的稳定性,以及流动过程中气泡的

存在都会干扰谱图信息的采集,影响模型的预测效果。在实际在线检测过程中应采取有效措施,减少上述情况的发生。

参考文献:

- [1] 倪力军,史晓浩,高秀蛟,等. NIR 在线检测、分析技术在丹参水提过程质量监控中的应用[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(8): 628-630.
- [2] 严诗楷,罗国安,王义明,等. 栀子药材提取工艺的 NIR 光谱实时控制方法研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(6): 1026-1030.
- [3] 杨南林,瞿海斌,程翼宇. 近红外光谱法快速测定三七总皂苷的方法研究[J]. 浙江大学学报:工学版, 2002, 36(4): 463-466.
- [4] 刘树深,易忠胜. 基础化学计量学[M]. 北京:科学出版社, 1999.
- [5] 陆婉珍,袁洪福,徐广通,等. 现代近红外光谱分析技术[M]. 北京:中国石化出版社, 2000.
- [6] 褚小立,袁洪福,陆婉珍. 近年来我国近红外光谱分析技术的研究与应用进展[J]. 分析仪器, 2006(2): 1-9.

复方五仁醇胶囊含药血清中五味子醇甲、五味子醇乙、五味子甲素、五味子乙素的测定

窦志华¹, 丁安伟^{2*}, 罗琳³, 王陆军¹, 张兵¹

(1. 南通大学附属南通第三医院, 江苏 南通 226006; 2. 南京中医药大学, 江苏 南京 210029; 3. 南通大学, 江苏 南通 226001)

摘要:目的 建立复方五仁醇胶囊含药血清中五味子醇甲、五味子醇乙、五味子甲素和五味子乙素的测定方法。方法 采用高效液相色谱法。色谱条件: Lichrosphere C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), Phenomenex[®] Description C₁₈ 保护柱(4.0 mm × 3.0 mm); 水-乙腈梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 210 nm。结果 五味子醇甲、五味子醇乙、五味子甲素和五味子乙素分别在 0.051 2~0.768 0 μg($r=0.999\ 5$)、0.054 0~0.810 0 μg($r=0.999\ 6$)、0.012 3~0.184 5 μg($r=0.999\ 8$)、0.039 8~0.597 0 μg($r=0.999\ 6$) 线性关系良好, 含药血清中 4 种成分的平均质量浓度分别为 8.021 1、6.231 0、0.530 8、5.851 0 μg/mL。结论 该法简便、准确、专属性强, 可用于复方五仁醇胶囊含药血清中木脂素类成分的测定。

关键词: 复方五仁醇胶囊; 含药血清; 五味子醇甲; 五味子醇乙; 五味子甲素; 五味子乙素; 高效液相色谱
中图分类号: R286.02 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)03-0386-04

Determination of schisandrin, schisandrol B, deoxyschizandrin, and schisandrin B in serum containing drug of Compound Wurechun Capsula

DOU Zhì-huá¹, DING Ān-wei², LUO Lín³, WANG Lǔ-jūn¹, ZHANG Bīng¹

(1. Nantong Third Affiliated Hospital, Nantong University, Nantong 226006, China; 2. Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China; 3. Nantong University, Nantong 226001, China)

Abstract: Objective To determine schisandrin, schisandrol B, deoxyschizandrin, and schisandrin B in serum containing drug of Compound Wurechun Capsula. **Methods** An HPLC method was set up. Lichrosphere C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) and Phenomenex[®] Description C₁₈ (4.0 mm × 3.0 mm)

* 收稿日期: 2008-06-29

基金项目: 江苏省中医药局科研项目(H05173); 江苏省高校研究生科技创新计划项目(140)

作者简介: 窦志华(1966—), 男, 副主任药师, 博士, 从事中药药效物质基础研究及新制剂开发。

Tel: (0513) 85116027 E-mail: zhihuadou@163.com

* 通讯作者 丁安伟 Tel: (025) 85811523 E-mail: awding105@163.com