

在线中红外光谱监测热毒宁注射液金银花与青蒿醇沉过程 7 种指标成分研究

徐芳芳^{1,2}, 杜 慧¹, 张 欣^{1,2}, 李执栋^{1,2}, 徐 冰³, 朱文灯^{1,2}, 吴 云^{1,2}, 肖 伟^{1,2*}

1. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

2. 中成药智能制造国家地方联合工程研究中心, 江苏 连云港 222001

3. 北京中医药大学, 北京 100029

摘要: 目的 应用在线中红外光谱技术(MIR)对热毒宁注射液金银花 *Lonicerae Japonicae Flos*、青蒿 *Artemisiae Annuae Herba* (金青)醇沉过程中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 和断氧化马钱子苷的含量进行在线监控,提高该过程在线质量控制水平。方法 利用衰减全反射中红外光谱技术采集 9 个批次金青醇沉过程样本的光谱信息,组合间隔偏最小二乘法(synergy interval partial least squares, SiPLS)找到最佳波段,偏最小二乘法(PLS)建立该过程 7 种指标成分的定量模型,以决定系数(R^2)、校正集误差均方根(RMSEC)、交互验证集误差均方根(RMSECV)、预测相对偏差(RSEP)为指标评价模型性能。结果 经模型优化,7 种指标成分模型的 R^2 值均大于 0.96, RMSEC 和 RMSECV 值均小于 0.2 mg/mL, RSEP 值和相对误差均小于 10%。结论 在线中红外光谱分析技术可用于定量测定金青醇沉过程 7 种指标成分的含量,结果准确可靠。

关键词: 在线中红外; 醇沉过程; 金银花; 青蒿; 波段筛选; 偏最小二乘法

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)10-2909-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.10.007

Online mid-infrared spectroscopy for monitoring seven index components in alcohol precipitation process of *Lonicerae Japonicae Flos* and *Artemisiae Annuae Herba* of Reduning Injection

XU Fang-fang^{1,2}, DU Hui¹, ZHANG Xin^{1,2}, LI Zhi-dong^{1,2}, XU Bing³, ZHU Wen-deng^{1,2}, WU Yun^{1,2}, XIAO Wei^{1,2}

1. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

2. National & Local Joint Engineering Research Center on Intelligent Manufacturing of TCM, Lianyungang 222001, China

3. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract: Objective Online mid-infrared spectroscopy (MIR) was used to monitor the concentration of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid C, and oxidized loganin of alcohol precipitation process of Jinyinhua (*Lonicerae Japonicae Flos*, LJF) and Qinghao (*Artemisiae Annuae Herba*, AAH) (LA) of Reduning Injection (热毒宁注射液), so as to increase the level of online quality control. **Methods** Attenuated total reflectance infrared spectroscopy technology was used to acquire the spectral information of nine batches samples from LA alcohol precipitation. The optimal bands were found by using synergy interval partial least squares (SiPLS). The quantitative models of seven indicators of the process were established based on partial least squares method (PLS). Model performance was evaluated by the coefficient of determination (R^2), root mean square error of calibration (RMSEC), root mean square error of cross validation (RMSECV) and relative standard error of prediction (RSEP). **Results** After modeling optimization, the model values of R^2 of the seven indicator components were all greater than 0.96, RMSEC and RMSECV values were less than 0.2 mg/mL, and the values of RSEP and relative

收稿日期: 2020-11-10

基金项目: 国家“重大新药创新”科技重大专项“基于功效成分群的中药口服固体制剂先进制药与信息化技术融合示范应用”(2018ZX09201010-004); 国家中药标准化项目“热毒宁注射液标准化建设”(ZYBZH-C-JS-31)

作者简介: 徐芳芳(1990—), 女, 博士, 研究方向为过程分析技术。E-mail: 879164331@qq.com

*通信作者: 肖 伟(1959—), 研究员级高级工程师, 博士, 研究方向为中药新药的研究与开发。

Tel: (0518)81152363 E-mail: kanionlunwen@163.com

error (RE) were less than 10%. **Conclusion** The results demonstrate that online MIR could determine the concentration of seven indicators of alcohol precipitation process of LA rapidly and accurately.

Key words: online mid-infrared spectroscopy; alcohol precipitation process; *Lonicerae Japonicae Flos*; *Artemisiae Annuae Herba*; band screening; partial least squares method

热毒宁注射液 (Reduning Injection, RI) 处方由青蒿、金银花和栀子组成, 临床用于外感风热所致感冒、咳嗽, 症见高热、微恶风寒、头痛身痛、咳嗽、痰黄; 上呼吸道感染、急性支气管炎见上述证候者^[1-2]。金银花和青蒿 (金青) 醇沉是热毒宁注射液生产过程的关键工序之一, 是金银花和青蒿的水提浓缩液合并后加入乙醇从而除去蛋白质、鞣质、多糖等杂质^[3]而达到纯化目的的过程。中药醇沉机制复杂, 过程质量控制难度高, 能否实现醇沉过程物料的快速分析对控制醇沉品质至关重要^[4]。

光学分析技术属于无损、绿色检测技术, 操作简单、快速, 广泛应用于中药样品中成分含量的快速测定^[5-10]。杜文俊等^[3]曾尝试采用近红外光谱法测定金青醇沉过程中绿原酸和固形物的含量, 但由于醇沉时易出现粒径不均的颗粒状或絮状样品, 在透射测定模式下直接影响近红外定量预测的效果, 该研究对象仅为醇沉上清液, 近红外技术的应用是离线应用, 未能实现醇沉过程的在线控制^[11]。

本研究采用在线中红外光谱 (mid-infrared spectrum, MIR) 分析技术, 采用衰减全反射设计, 利用样品表面的反射信号获取样品有机成分的结构信息^[12], 且其产生的基频吸收强度大, 灵敏度更高, 更适用于混悬体系的样品检测。这不仅可以简化样品的制备过程, 还扩大了红外光谱技术的应用范围, 测定多种状态的样品, 例如生物组织、浆液等。目前红外光谱技术在中药检测得到较为广泛的应用, 如药材鉴别^[13-15]、品种分类^[16-17]、伪劣鉴别^[18]等定性分析方面有较多的研究应用, 而在中药含量测定报道较少, 本实验利用衰减全反射-傅里叶变换 MIR 结合组合间隔偏最小二乘法 (synergy interval partial least squares, SiPLS)^[19-22]进行变量筛选, 分别建立热毒宁注射液金银花与青蒿 (金青) 醇沉过程 7 种指标成分的偏最小二乘定量分析模型, 实现新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 和断氧化马钱子苷的快速测定。

1 材料与仪器

1.1 材料

9 批次的金青醇沉过程样本, 批号及数量见表 1, 由江苏康缘药业股份有限公司中药现代化数字化

表 1 金青醇沉样本信息

Table 1 Information of Jinqing alcohol precipitation samples

批号	数量	批号	数量	批号	数量
Z181123	12	Z181126	12	Z181131	12
Z181124	12	Z181128	13	Z181132	11
Z181125	10	Z181129	11	Z181133	10

提取工厂提供。对照品绿原酸 (批号 110753-201805, 质量分数 96.2%)、栀子苷 (批号 110749-201806, 质量分数 97.5%), 供含量测定用, 中国食品药品检定研究院。

1.2 仪器

Nicolet iS10 红外光谱分析仪、赛默飞 U5 高效液相色谱仪, 美国 Thermo Fisher 公司; BSA224S-CW 型万分之一电子天平, 德国 Sartorius 公司; 0.1 mL 移液枪, 德国 Eppendorf 公司; H1650 型台式高速离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司。

1.3 数据处理软件

Unscrambler 11, 挪威 Camo Analytics 公司。

2 方法与结果

2.1 金青醇沉样本取样方法

为实现 MIR 在线获取及样本自动采集, 对醇沉设备取样口位置进行了适当改造。打开醇沉罐上部取样口, 插入一根套管, 并固定其位置, 光纤及探头放于套管内, 探头接触醇沉罐中药液; 在套管内再放入一根软管, 软管与蠕动泵相连, 便于实时取样。光纤及探头信息: 厂家 Infrared Fiber Sensor, 型号 DiProbe, 探头长度 28 cm, 探头直径 6 mm, 光谱级卤化银光纤, 光线长度 2.5 m。醇沉过程中红外在线应用见图 1。启动金青醇沉程序 30 min 后, 每隔 10 min 取样 1 次, 至醇沉结束。金青醇沉样品信息如表 1 所示, 共计 103 个样品。

2.2 MIR 的采集

以空气为扫描背景; 光谱扫描范围 3400~700 cm^{-1} ; 扫描次数 16 次; 扫描间隔 4 cm^{-1} ; 根据样本取样时间推算样本光谱采集时间, 1 min 内连续的 3 张光谱的平均值, 作为金青醇沉样本光谱数据。MIR 扫描结果见图 2。图 2-A 为 103 个样品的光谱, 图 2-B 为 Z181123 批次中代表性样品的光谱图, 取样

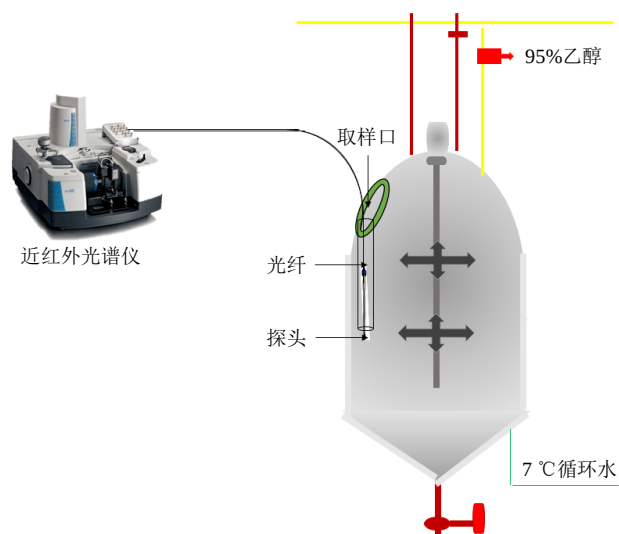


图 1 醇沉过程在线中红外应用示意图

Fig. 1 Schematic diagram of online MIR applying for alcohol precipitation process

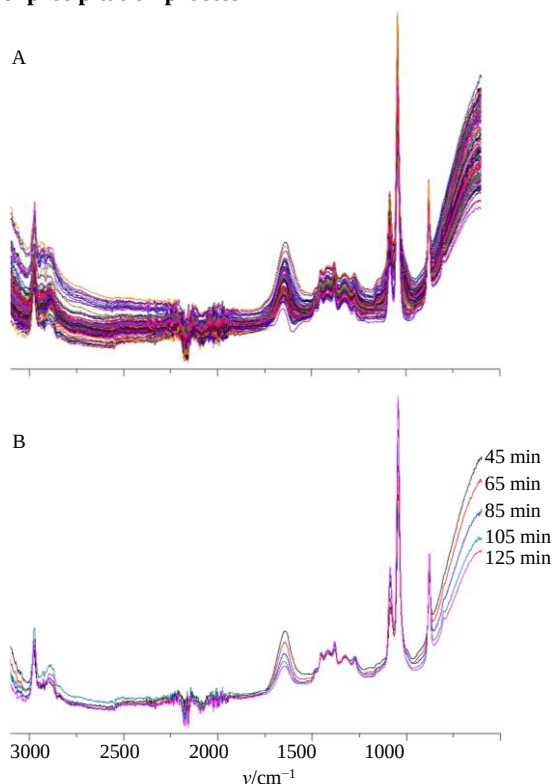


图 2 样品 (A) 和 Z181123 批次中代表性样品 (B) 的 MIR 光谱图

Fig. 2 Mid-infrared spectra of samples (A) and typical samples spectra of batch Z181123 (B)

时间为 45、65、85、105、125 min。

光谱随着醇沉工艺的进行有变化，但是差异不明显。因中红外检测对象是醇沉上清液，上清液中溶剂是水和乙醇的混合液，溶剂浓度的变化及有效成分的含量变化未导致近红外峰形有很大差异。

2.3 金青醇沉过程中 7 种指标含量的测定

依据企业内控质量标准，采用一测多评法^[23]，以绿原酸为参照，测定金青醇沉样品中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 的含量；以槲皮素为参照，测定金青醇沉样品中断氧化马钱子苷的含量。

色谱条件：色谱柱为 Kromasil C₁₈ 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液，梯度洗脱：0~5 min，15%~18%乙腈；5~15 min，18%乙腈；15~38 min，18%~31%乙腈；38~38.5 min，31%~90%乙腈；38.5~40 min，90%乙腈；40~41 min，90%~15%乙腈；41~45 min，15%乙腈；体积流量 1.0 mL/min；柱温 20 °C；检测波长为 327、238 nm；进样体积 10 μL。所有样本中 7 种指标成分的含量测定结果见表 2。

表 2 所有样品指标成分的含量

Table 2 Statistics of content determination values of index components of all samples

指标成分	最大值/ (mg·mL ⁻¹)	最小值/ (mg·mL ⁻¹)	均值/ (mg·mL ⁻¹)
新绿原酸	1.30	0.40	0.72
绿原酸	7.37	1.79	4.08
隐绿原酸	1.61	0.40	0.86
异绿原酸 A	1.32	0.44	0.90
异绿原酸 B	1.44	0.38	0.79
异绿原酸 C	2.53	0.13	1.38
断氧化马钱子苷	2.21	0.28	1.14

2.4 校正集与验证集的划分

本研究共收集 9 批数据，共计 103 个样品。其中 93 个样本用于 MIR 定量模型的建立，该部分样本以 3：1 比例进行校正集与预测集的划分，校正集样本 70 个，预测集样本 23 个，剩余 10 个样作为外部验证集。

2.5 光谱预处理

MIR 不仅能反应样本的化学组成与浓度，同时也受样本的黏度、粒度、表面纹理、密度等物理性质^[11]及杂散光、探头的材质、光的散射的影响。因此，为了建立价位准确的定量模型，应该用适当的光谱预处理方法来消除背景噪音及特定的物理因素的干扰，提高谱图与化学成分之间的相关性。常用的预处理方法有多元散射校正 (multiplicative scatter correction, MSC)、标准正态变量变换 (standard normal variate transformation, SNV)、Savitzky-Golay

平滑 (Savitzky-Golay smoothing, S-G 平滑)、归一化、基线校正、光谱转换 (spectroscopic transformation)、分位数归一化 (quantile normalization) 等。

为了降低噪声、提高信噪比, 改善光谱数据, 本实验选择上述光谱预处理方法对 7 种指标成分的光谱进行预处理, 然后结合偏最小二乘法建立这 7 种指标成分的定量模型。根据模型评价指标优选光

谱预处理方法, 以预测相对偏差 (relative standard error of prediction, RSEP) 为主要评价指标, RSEP 值越小越好, 决定系数 R^2_c 与 R^2_p 越大越好, 校正集误差均方根 (root mean square error of calibration, RMSEC) 与交叉验证集误差均方根 (root mean square error of cross validation, RMSECV) 越小越好。光谱预处理结果见表 3。

表 3 不同预处理方法的模型性能参数

Table 3 Model performance parameters of different spectral pretreatment methods

指标成分	处理方法	校正集			预测集	
		R^2_c	RMSEC/(mg·mL ⁻¹)	RMSECV/(mg·mL ⁻¹)	R^2_p	RSEP/%
新绿原酸	无预处理	0.992 8	0.016 4	0.062 3	0.976 8	9.33
	S-G 平滑	0.998 5	0.016 4	0.060 3	0.975 4	9.33
	归一化	0.930 9	0.108 0	0.141 1	0.961 1	14.61
	基线校正	0.998 3	0.017 2	0.063 0	0.978 7	8.17
	MSC	0.997 4	0.021 4	0.072 2	0.959 3	12.15
	SNV	0.997 4	0.021 1	0.072 8	0.959 1	12.25
	光谱转换	0.998 7	0.015 1	0.068 5	0.971 9	9.78
	分位数归一化	0.993 6	0.033 5	0.079 4	0.980 6	9.14
绿原酸	无预处理	0.999 9	0.018 6	0.145 9	0.994 6	4.56
	S-G 平滑	0.999 9	0.018 6	0.145 9	0.994 6	4.57
	归一化	0.977 3	0.346 5	0.034 8	0.987 8	7.61
	基线校正	0.964 0	0.054 5	0.162 7	0.977 7	8.71
	MSC	0.998 6	0.085 9	0.262 9	0.988 3	6.12
	SNV	0.997 8	0.109 5	0.258 8	0.987 5	5.22
	光谱转换	0.996 9	0.129 3	0.211 7	0.994 5	4.60
	分位数归一化	1.000 0	0.005 5	0.265 4	0.993 3	5.30
隐绿原酸	无预处理	0.999 0	0.015 5	0.065 8	0.982 4	8.20
	S-G 平滑	0.998 8	0.016 8	0.065 4	0.981 5	8.15
	归一化	0.936 8	0.121 3	0.156 6	0.967 8	13.40
	基线校正	0.999 5	0.011 4	0.067 0	0.981 5	8.16
	MSC	0.999 6	0.010 1	0.078 7	0.965 4	10.90
	SNV	0.998 5	0.018 8	0.078 9	0.970 0	10.35
	光谱转换	0.999 0	0.015 2	0.073 6	0.977 8	8.53
	分位数归一化	0.999 6	0.009 5	0.089 0	0.984 2	6.48
异绿原酸 A	无预处理	0.996 7	0.028 8	0.048 0	0.987 7	6.29
	S-G 平滑	0.990 6	0.048 9	0.054 7	0.985 7	6.99
	归一化	0.957 6	0.102 9	0.124 4	0.978 8	8.48
	基线校正	0.975 0	0.079 4	0.085 2	0.968 0	9.49
	MSC	0.985 0	0.061 5	0.076 4	0.982 6	7.04
	SNV	0.991 8	0.045 6	0.075 4	0.982 0	7.25
	光谱转换	0.990 3	0.049 5	0.062 3	0.988 8	6.31
	分位数归一化	0.988 2	0.054 7	0.079 3	0.981 9	7.72

续表 3

指标成分	处理方法	校正集			预测集	
		R^2_c	RMSEC/(mg·mL ⁻¹)	RMSECV/(mg·mL ⁻¹)	R^2_p	RSEP/%
异绿原酸 B	无预处理	0.996 3	0.021 9	0.053 5	0.980 4	5.41
	S-G 平滑	0.997 5	0.018 1	0.099 1	0.978 1	5.75
	归一化	0.996 6	0.020 8	0.127 6	0.973 5	5.48
	基线校正	0.997 2	0.019 1	0.056 5	0.969 7	5.99
	MSC	0.997 9	0.128 3	0.066 7	0.967 4	6.01
	SNV	0.996 2	0.022 2	0.078 5	0.965 7	5.89
	光谱转换	0.999 7	0.006 7	0.066 0	0.959 3	6.58
	分位数归一化	0.994 1	0.027 6	0.087 3	0.963 4	6.00
异绿原酸 C	无预处理	0.999 9	0.007 2	0.085 7	0.981 1	7.61
	S-G 平滑	0.992 0	0.066 8	0.099 7	0.985 7	8.53
	归一化	0.935 8	0.186 2	0.203 9	0.972 4	12.57
	基线校正	0.989 1	0.077 1	0.097 0	0.983 8	8.52
	MSC	0.991 8	0.067 7	0.119 5	0.974 6	9.95
	SNV	0.988 2	0.080 8	0.116 0	0.980 7	8.87
	光谱转换	0.986 0	0.088 2	0.112 5	0.983 1	8.67
	分位数归一化	0.992 3	0.065 4	0.117 1	0.980 8	7.79
断氧化马钱子苷	无预处理	0.995 3	0.042 7	0.045 5	0.990 1	5.61
	S-G 平滑	0.995 3	0.042 6	0.052 4	0.988 9	6.26
	归一化	0.978 0	0.092 1	0.121 6	0.974 7	8.93
	基线校正	0.995 2	0.043 2	0.056 9	0.987 5	6.45
	MSC	0.992 8	0.052 7	0.071 1	0.985 4	6.76
	SNV	0.993 2	0.051 5	0.070 6	0.985 5	6.73
	光谱转换	0.997 1	0.033 7	0.057 2	0.990 7	5.48
	分位数归一化	0.991 7	0.042 6	0.052 4	0.991 7	7.29

从分析结果看,新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 和断氧化马钱子苷分别以基线校正、无预处理、分位数归一化、无预处理、无预处理、无预处理、光谱转换进行光谱预处理时, RSEP 值最小, R^2_c 与 R^2_p 值较大, RMSEC 与 RMSECV 值较小, 因此采用上述方法进行光谱预处理。

2.6 光谱波段的选择

选择最佳的光谱波段, 是保证模型稳健、准确的关键, 它可以剔除光谱数据中无用的信息, 能够有效提高模型的准确性和有效性。SiPLS 法主要用于偏最小二乘建模的波段筛选。将相关性较大的几个波段进行组合, 以组合模型的 RMSEC 值作为判断模型精度的标准, 得到最佳组合波段区间。其优点缩小了波段范围, 减小了波段优选的工作量, 避免中红外建模过程中波段筛选的盲目性。本实验使

用 SiPLS 法选择波段区间。将整个光谱等分为 20 个等宽的子区间。最大潜变量因子 20, 组合数 3。以 RMSEC 值大小作为选择最佳检测波段的标准, 其中 RMSEC 值越小, 意味所选波段最佳。光谱筛选结果见图 3。

对于金青醇沉 7 种指标成分特征波段选择结果如下: 新绿原酸组合区间为 [13, 16, 19], 即最佳波段区间为 835~725、1224~1099、1598~1377 cm⁻¹; 绿原酸组合区间为 [1, 8, 12], 即最佳波段区间为 3100~2975、2223~2098、1723~1599 cm⁻¹; 隐绿原酸组合区间为 [8, 15, 18], 即最佳波段区间为 2223~2098、1348~1224、974~849 cm⁻¹; 异绿原酸 A 组合区间为 [1, 7, 12], 即最佳波段区间为 3100~2975、2347~2223、1723~1599 cm⁻¹; 异绿原酸 B 组合区间为 [15, 16, 19], 即最佳波段区间为 1348~1224、1224~1099、849~725 cm⁻¹;

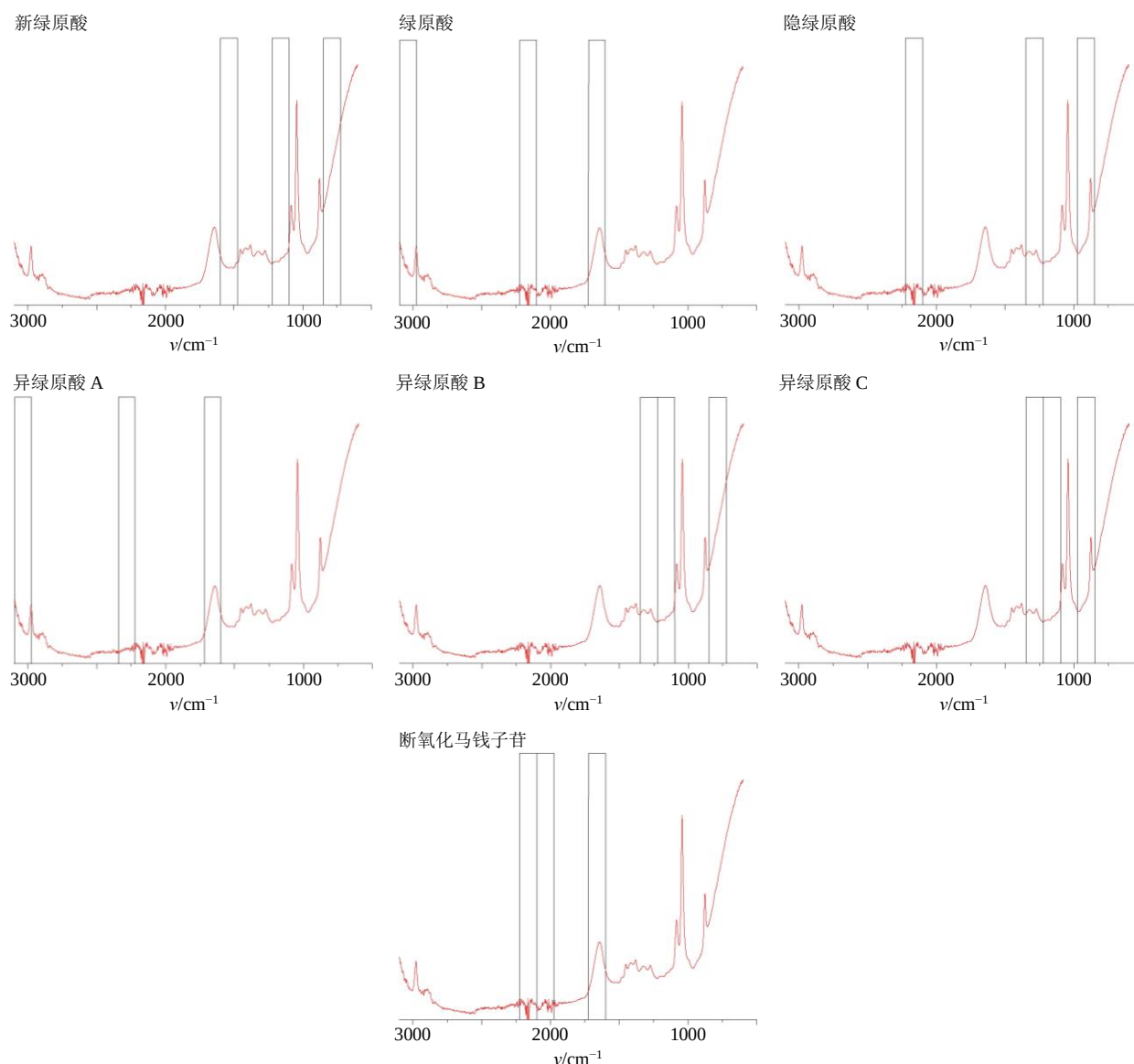


图 3 光谱波段筛选结果

Fig. 3 Screening results of spectral bands

异绿原酸 C 组合区间为 [15, 16, 18], 即最佳波段区间为 1348~1224、1224~1099、973~849 cm^{-1} ; 断氧化马钱子苷组合区间为 [8, 9, 12], 即最佳波段区间为 2223~2098、2098~1973、1723~1599 cm^{-1} 。

7 种指标成分的化学结构如图 4 所示, 红外光谱的 9 个重要区段如表 4 所示, 综合 SiPLS 筛选结果分析可知, 新绿原酸和隐绿原酸的特征波段共有区段相似, 它们的特征波段中都具有不饱和碳氢面外弯曲振动、C-O 的伸缩振动及 C-H、O-H 的各种面内弯曲振动的信息; 绿原酸和异绿原酸 A 的特征波段共有区段相同, 它们的光谱有效信息主要来自于不饱和碳氢、C=O、C=C 的伸缩震动。异

绿原酸 B 和异绿原酸 C 的特征波段共有区段相同, 它们的光谱有效信息主要来自于不饱和碳氢面外弯曲振动、C-O 的伸缩振动及 C-H、O-H 的各种面内弯曲振动。断氧化马钱子苷的光谱有效信息主要来自于 C=O、C=C 的伸缩震动。上述筛选结果说明, SiPLS 法识别的指标成分的光谱信息具有代表性, 是 MIR 定量模型建立过程的一种有效方法, 筛选的特征波段与指标成分化学结构的官能团具有高度相关性。

2.7 模型建立

通过 SiPLS 法找到新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 和断氧化马钱子苷这 7 种成分的特征波段, 依据这 7 种成

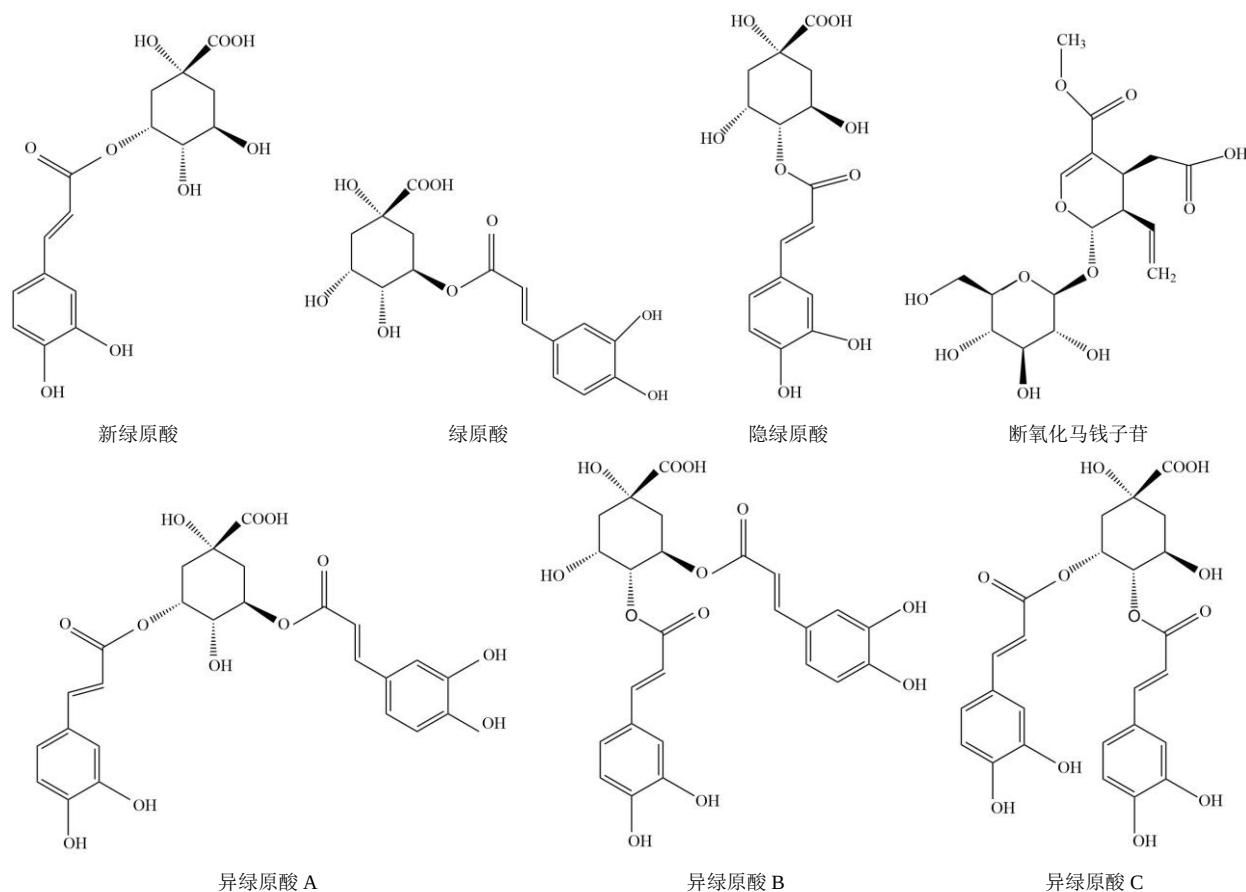


图 4 7 种指标成分的化学结构

Fig. 4 Chemical structures of seven indicator components

表 4 红外光谱的 9 个重要区段

Table 4 Nine important segments of infrared spectrum

波数/cm ⁻¹	波长/nm	振动类型
3750~3000	2700~3300	ν _{OH} 、ν _{NH}
3300~3000	3000~3400	ν _{≡CH} > ν _{=CH} ≈ ν _{Ar-H}
3000~2700	3300~3700	ν _{CH} (-CH ₃ 、-CH ₂ 、CH、-CHO)
2400~2100	4200~4900	ν _{C≡C} 、ν _{C≡N}
1900~1650	5300~6100	ν _{C=O} (酸酐、酰氯、酯、醛、酮、羧酸、酰胺)
1675~1500	5900~6200	ν _{C=C} 、ν _{C=N}
1475~1300	6800~7700	δ _{CH} 、δ _{OH} (各种面内弯曲振动)
1300~1000	7700~10 000	ν _{C-O} (酚、醇、醚、酯、羧酸)
1000~650	10 000~15 400	γ _{=CH} (不饱和碳氢外面弯曲振动)

分的特征波段结合偏最小二乘法建立中红外的定量模型，7 种指标成分建模结果表 5 所示。

从模型的预测结果可以看出，新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 和断氧化马钱子苷的模型预测误差均小于 10%。特征波段所建立的定量模型对热毒宁注射液

金青醇沉阶段新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 和断氧化马钱子苷的预测均有较好的效果。

2.8 模型外部验证

模型预测的准确性需用外部验证集样本来验证。根据一测多评法所测各指标成分的实测值与样

表 5 7 种指标成分的模型性能参数

Table 5 Model performance parameters of seven index components

指标成分	校正集			预测集	
	R^2_c	RMSEC/(mg·mL ⁻¹)	RMSECV/(mg·mL ⁻¹)	R^2_p	RSEP/%
新绿原酸	0.979 3	0.054 1	0.073 5	0.973 8	9.43
绿原酸	0.995 9	0.141 7	0.232 2	0.987 8	6.33
隐绿原酸	0.967 4	0.082 7	0.128 0	0.984 7	7.23
异绿原酸 A	0.993 4	0.040 8	0.063 1	0.984 8	7.30
异绿原酸 B	0.976 7	0.063 8	0.083 6	0.974 6	8.92
异绿原酸 C	0.989 0	0.078 0	0.095 9	0.983 4	7.41
断氧化马钱子苷	0.989 0	0.065 4	0.087 0	0.980 7	7.66

本预测值, 计算相对误差。新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 和断氧化马钱子苷模型预测值与样本实测值的绝对误差及相对误差见表 6, 结果显示这 7 种指标成分的平均相对误差均小于 10%。

表 6 验证集样本预测值与实测值的对比

Table 6 Comparison of prediction values and measured values of model validation samples

指标成分	平均绝对误差/ (mg·mL ⁻¹)	平均相对 误差/%
绿原酸	0.090	2.63
新绿原酸	0.044	7.13
隐绿原酸	0.050	5.86
异绿原酸 A	0.036	4.06
异绿原酸 B	0.043	5.40
异绿原酸 C	0.069	5.35
断氧化马钱子苷	0.047	3.93

3 讨论

本研究以热毒宁注射液醇沉过程中的新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 和断氧化马钱子苷共 7 个成分为考察对象, 采用 SiPLS 法筛选 MIR, 得到特征波段, 并基于此建立了中红外定量模型。结果显示, 所建立的中红外监测方法操作简便、快速、准确。

醇沉过程是中药生产过程的纯化除杂方法, 目前我们对于醇沉工艺过程的认识不太深入, 对于过程中各工艺参数对质控指标的影响的理解较为薄弱, 采用常规技术难以理解过程工艺参数的波动对醇沉上清液质量的影响, 造成醇沉上清液批次间的质量波动, 存在质量控制风险。MIR 技术可很好适

应中药醇沉机理和混合体系工况复杂的情况, 能实现醇沉过程物料的快速检测, 为热毒宁注射液醇沉工序在线监控奠定基础, 也为中药醇沉过程实现在线检测提供技术支持, 拓展了中药生产在线质量控制手段。MIR 技术应用于实际生产时, 生产过程模型的稳定性和传递性, 是应重点关注与维护的地方。后期需定期更新用于模型建立的样本集, 结合化学计量学算法, 不断提高该模型的稳健性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 孙科. 基于信号通路的热毒宁注射液抗炎机制研究及疾病治疗策略探讨 [D]. 西安: 西北大学, 2015.
- [2] 方媛. 热毒宁注射液治疗 MODS 呼吸衰竭的临床研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2014.
- [3] 杜文俊, 刘雪松, 陶玲艳, 等. 热毒宁注射液金银花和青蒿(金青)醇沉过程中多指标的近红外快速检测 [J]. 中草药, 2015, 46(1): 61-66.
- [4] 朱向荣, 李娜, 史新元, 等. 近红外光谱与组合的间隔偏最小二乘法测定清开灵四混液中总氮和栀子苷的含量 [J]. 高等学校化学学报, 2008, 29(5): 906-911.
- [5] Li W L, Han H F, Cheng Z W, et al. A feasibility research on the monitoring of traditional Chinese medicine production process using NIR-based multivariate process trajectories [J]. *Sensor Actuat B-Chem*, 2016, 231: 313-323.
- [6] Wu S, Jin Y, Liu Q, et al. On-line quantitative monitoring of liquid-liquid extraction of *Lonicera japonica* and *Artemisia annua* using near-infrared spectroscopy and chemometrics [J]. *Pharmacogn Mag*, 2015, 11(43): 643-650.
- [7] Yang Y, Wang L, Wu Y, et al. On-line monitoring of extraction process of *Flos Lonicerae Japonicae* using near infrared spectroscopy combined with synergy interval PLS and genetic algorithm [J]. *Spectrochim Acta*

- A Mol Biomol Spectrosc*, 2017, 182: 73-80.
- [8] Wu Y J, Jin Y, Ding H Y, *et al.* In-line monitoring of extraction process of scutellarein from *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand. -Mazz. based on qualitative and quantitative uses of near-infrared spectroscopy [J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2011, 79(5): 934-939.
- [9] Jin Y, Wu Z Z, Liu X S, *et al.* Near infrared spectroscopy in combination with chemometrics as a process analytical technology (PAT) tool for on-line quantitative monitoring of alcohol precipitation [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2013, 77: 32-39.
- [10] Luo G, Xu B, Shi X Y, *et al.* Rapid characterization of tanshinone extract powder by near infrared spectroscopy [J]. *Int J Anal Chem*, 2015, 2015: 704940.
- [11] 李勇, 魏益民, 王锋. 影响近红外光谱分析结果准确性的因素 [J]. 核农学报, 2005, 19(3): 236-240.
- [12] 黄红英, 尹齐和. 傅里叶变换衰减全反射红外光谱法(ATR-FTIR)的原理与应用进展 [J]. 中山大学研究生学刊: 自然科学、医学版, 2011, 32(1): 20-31.
- [13] 程存归, 阮永明, 李冰岚. 傅里叶变换红外光谱法应用于中药砂仁真伪鉴别的研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2004, 24(11): 1355-1358.
- [14] 罗聪佩, 何涛, 淳泽. 红外光谱法在石斛鉴别中的应用研究进展 [J]. 应用与环境生物学报, 2013, 19(3): 537-541.
- [15] 胡晔, 陈彬, 寿佳妮, 等. 傅里叶自去卷积红外光谱法应用于柏子仁及其伪品柏树籽的鉴别研究 [J]. 中成药, 2013, 35(10): 2222-2225.
- [16] Pei Y F, Wu L H, Zhang Q Z, *et al.* Geographical traceability of cultivated *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* using ATR-FTMIR spectroscopy with three mathematical algorithms [J]. *Anal Methods*, 2019, 11(1): 113-122.
- [17] 孔黎春, 余鹏, 程存归. 水平衰减全反射-傅里叶变换红外光谱结合化学计量学应用于三种缩叶藓属植物的分类 [J]. 理化检验: 化学分册, 2012, 48(4): 405-409.
- [18] 杜倩, 万茶艳, 程存归. 薏苡仁及其伪品衰减全反射傅里叶变换红外光谱及傅里叶自去卷积的鉴别 [J]. 医药导报, 2015, 34(1): 104-107.
- [19] 张久旭, 翟小林, 王丹, 等. 当归粉末显微鉴别特征的ATR-FTIR 光谱成像识别 [J]. 中国现代中药, 2018, 20(12): 1521-1525.
- [20] 于舸, 吕淑华, 许家林, 等. 衰减全反射红外光谱用于人乳腺癌组织的研究 [J]. 光子学报, 2005, 34(3): 390-394.
- [21] 赫伯特·L·伯曼, 杰弗里·N·罗. 红外衰减全反射测量系统: 中国, CN99813406.6 [P]. 2004.
- [22] 纪楠. 大豆秸秆木质素和纤维素含量与近红外光谱相关性模型研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2016.
- [23] 崔小弟, 李执栋, 徐芳芳, 等. 热毒宁注射液多指标成分的一测多评法同时测定 [J]. 时珍国医国药, 2019, 30(5): 1116-1119.

[责任编辑 郑礼胜]