



近红外光谱法测定注射用益气复脉(冻干)中的10种人参皂苷

韩晓萍^{1,4}, 李德坤², 周大铮², 林瑞超³, 刘丽芳⁴, 叶正良^{2*}

(1. 青海省药品检验所, 青海 西宁 810003; 2. 天士力之骄药业有限公司, 天津 300410; 3. 中国药品生物制品检定所, 北京 100150; 4. 中国药科大学, 江苏 南京 211198)

[摘要] 目的:利用近红外光谱法快速测定注射用益气复脉(冻干)中10种人参皂苷的总量。方法:用HPLC分别测定60批样品中10种人参皂苷的总量,运用偏最小二乘法(PLS)建立50批测定值与NIR光谱之间的校正模型,并对10批样品的含量进行预测。结果:运用一阶导数+多元散射校正的预处理方法,选择波段为4 246.8~4 602.2, 5 446.8~6 102.6 cm^{-1} ,最佳维数为9时,建立的定量模型准确性好, R^2 (决定系数)和RMSECV(内部交叉验证均方差)分别为94.2, 0.186;对10批样品的预测值与HPLC测定值之间的RMSEP为0.234。结论:近红外光谱法能快速对注射用益气复脉中的10种人参皂苷的含量进行预测,方法简便、精密。

[关键词] 近红外光谱法;注射用益气复脉(冻干);人参皂苷

在近红外光谱定量分析中,建立准确性高、稳定可靠的校正模型是成功的关键技术之一^[1],校正模型准确性与样品基础测量数据的精确度有很大关系^[2]。前期研究^[3]报道了用近红外光谱法测定注射用益气复脉(冻干)中人参总皂苷的含量的方法,本文在前研究基础上进行了进一步的改进。生产中的日常检测数据显示,注射用益气复脉中的10种人参皂苷(人参皂苷 Rg_1 , Re , Rf , Rg_2 , Rb_1 , Rb_2 , Rb_3 , Rd , Rg_3 , Rc)能占到皂苷指纹图谱峰面积的70%,能够代表皂苷类物质的情况,且这10种皂苷含量之和能占到总皂苷(紫外分光法测定)的约60%以上,对照品易于购买,对产品质量控制具有实际意义,在生产中属于内部监控项目,每批都要进行测定。本文采用HPLC分析测得样品中10种人参皂苷,建立了近红外定量模型,用其总和来间接地反映样品中总皂苷的含量高低,且为企业内部监控节省了时间。由于HPLC方法准确度较高,使得基础测量的数据更合理,此校正模型较之前

取得了较好的结果。

1 材料

Bruker Tensor 37型近红外光谱仪(德国布鲁克公司),积分球附件,定量分析软件为OPUS 6.5;Waters2695高效液相色谱仪,Waters2998二极管阵列检测器(美国Waters公司);Mettler XS105电子天平(瑞士梅特勒公司);人参皂苷 Rg_1 , Re , Rf , Rg_2 , Rb_1 , Rb_2 , Rb_3 , Rd , Rg_3 对照品(中国药品生物制品检定所提供,批号分别为110703-201027, 110754-200822, 111719-200703, 111719-200801, 11704-200921, 111715-200802, 111686-200501, 110804-200603);人参皂苷 Rc 由吉林大学提供,纯度 $\geq 98\%$,试剂均为色谱纯,水为超纯水;注射用益气复脉(冻干)样品(天津天士力之骄药业有限公司提供,科研用样品,60批,分别编号为1~60)。

2 方法

2.1 注射用益气复脉冻干中10种人参皂苷的HPLC分析

参考文献,对60批益气复脉(冻干)中的10种人参皂苷进行测定^[4],分别计算其总量。

2.2 近红外光谱分析

2.2.1 近红外光谱采集

将收集到的60份样品用布擦拭干净其西林瓶底部,扫描其近红外光谱。具体扫描参数为测量温度16 $^{\circ}\text{C}$,湿度32%,光谱仪开

[稿件编号] 20101118010

[基金项目] 国家科技重大专项(2010ZX09602-004);重大创新专项项目(08FDZDSH01404)

[通信作者] *叶正良,研究员, Tel: (022) 86342066, E-mail: yzl@tasly.com

[作者简介] 韩晓萍,硕士研究生,主管药师,主要研究方向为中药质量控制, Tel: 13997088731



机预热 1 h,以仪器内置镀金背景为参比,积分球漫反射扫描方式,扫描波长范围 4 000 ~ 12 000 cm^{-1} ,扫描次数 32 次,分辨率 8 cm^{-1} ,每份样品扫描 6 张,取其平均光谱^[5]。

2.2.2 校正集和验证集样品的选择 依据样品中 10 种人参皂苷总量的大小,从 60 份样品中选择 50 份有代表性的样品作为校正集(含量分布范围较广,能涵盖验证集样品的含量)来建立校正模型。剩余 10 份作为验证样品,用校正模型对其含量进行预测,并与测定值进行比较分析^[6]。校正集和验证集的含量分布范围见表 1。

表 1 校正集和验证集样品的含量分布范围

项目	样品数	最大值 /mg	最小值 /mg	平均值 /mg
校正集	50	6.53	2.36	4.03
验证集	10	5.09	2.85	4.15

表 2 不同预处理方法和波段下的 R^2 和 RMSECV

光谱预处理方法	波段选择/ cm^{-1}		R^2	RMSECV
一阶导数 + MSC	4 246.8 ~ 4 602.2	5 446.8 ~ 6 102.6	94.20	0.186
二阶导数	4 246.8 ~ 4 602.2	5 446.8 ~ 7 502.9	93.77	0.201
一阶导数	4 246.8 ~ 4 602.2	5 446.8 ~ 6 102.6	92.01	0.189
直线减影	4 246.8 ~ 4 602.2	5 446.8 ~ 6 102.6	91.40	0.236
一阶导数 + 直线减影	4 246.8 ~ 4 602.2	5 446.8 ~ 7 502.9	89.83	0.261
一阶导数 + SNV	4 246.8 ~ 4 602.2		88.74	0.275

3.2 校正模型的建立

选择上表最优参数,将 50 份校正集样品的 NIR 图谱与其 HPLC 测定值运用 PLS 算法进行拟合,运用内部交叉验证方法进行模型验证,建立 10 种人参皂苷含量的定量模型,见图 1,建立的定量校正模型准确性好, R^2 和 RMSECV 分别为 94.2,0.186。RMSECV 和 Rank 之间的趋势图见图 2。

预测值 vs 真值 / 10 种人参皂苷 [mg] / 交叉检验

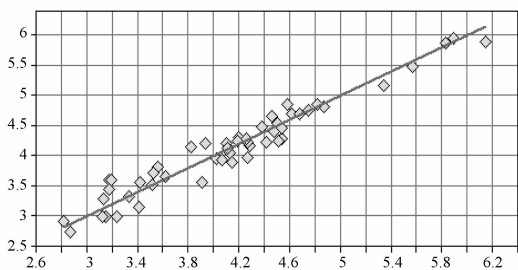


图 1 校正集 NIR 预测值与真值之间的相关图

2.2.3 校正模型的建立 运用 Opus 6.5 数据分析软件,在光谱预处理和选取合适波段的基础上,采用偏最小二乘法(PLS)运算,得到定量校正模型。

3 结果与讨论

3.1 光谱预处理

近红外光谱中各个物质的吸收较弱且信号重叠严重,对其进行预处理能有效消除仪器噪音和基线漂移地影响,提取有用的特征信号。在 Opus 软件自动优化的基础上,通过不断调节,比较不同校正模型的决定系数(R^2)和内部验证均方差(RMSECV), R^2 越接近于 100 说明模型的预测值越准确,RMSECV 越小说明模型预测精度越高。最终发现在波段 4 246.8 ~ 4 602.2, 5 446.8 ~ 6 102.6 cm^{-1} 内,用一阶导数 + MSC 预处理法,最佳维数为 9 时,能有效提取光谱中的特征信息,消除仪器不稳、环境变化和样品不均等带来漂移和波动^[7]。在 PLS 算法下运用不同预处理方法和选取不同波段时的 R^2 和 RMSECV 见表 2。

RMSECV vs 维数 / 10 种人参皂苷 [mg] / 交叉检验

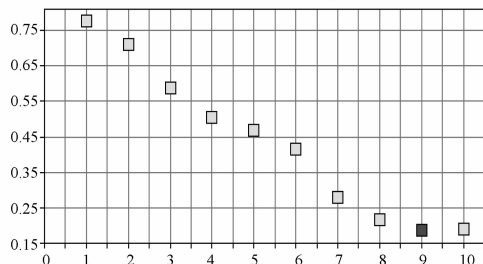


图 2 校正集 RMSECV 与 Rank 之间的趋势图

3.3 模型的验证

调入其余 10 份样品的 NIR 图谱,用建立好的校正模型预测其含量,并与其 HPLC 测定值进行比较,计算得模型预测均方差(RMSEP)为 0.234。经统计学双配对样本 t 检验^[1],预测值与测定值的相关系数为 0.953,表明 2 种方法无统计学差异,在校正集样品的含量覆盖范围之内,该模型能够准确预测样品含



量。

3.4 精密度考察

取同一样品,擦拭干净西林瓶,重复扫描5次,用模型预测其含量,10种人参皂苷总量的平均值为5.13 mg, RSD 1.5%,表明方法的精密度良好。

3.5 重复性考察

分别取同一批号的样品5瓶,分别扫描其NIR图谱,用模型预测其含量,10种人参皂苷总量的平均值为5.12 mg, RSD 1.8%,表明该方法的重复性良好。

4 结论

本研究用近红外光谱法测定了注射用益气复脉(冻干)中10种人参皂苷的含量,方法精密度良好,准确度高,与传统方法比较具有简便、快速、不破坏样品的优点,能用于生产中大批量样品的快速检测。

[参考文献]

- [1] 褚小立,王艳斌,陆婉珍. 近红外光谱定量模型的建立与应用[J]. 理化检验·化学分册,2008,44(8):796.
- [2] 褚小立,袁洪福,陆婉珍. 基础数据准确性对近红外光谱分析结果的影响[J]. 光谱学与光谱分析,2005,25(6):886.
- [3] 韩晓萍,李德坤,周大铮,等. 近红外光谱法快速测定注射用益气复脉(冻干)中人参总皂苷的含量[J]. 光谱实验室,2011,28(4):1887.
- [4] Zhou D D. Quantitative determination of eight major constituents in the traditional Chinese medicinal Yi-Qi-Fu-Mai preparation by LC[J]. Chromatographia, 2009, 70(5/6):969.
- [5] 聂黎行,王钢力,李志猛,等. 近红外光谱法在中药辅料质量控制中的应用[J]. 中国中药杂志,2009,34(17):2185.
- [6] 王星,白雁,陈志红,等. 近红外光谱法测定连翘中连翘酯苷含量[J]. 中国中药杂志,2009,34(16):2071.
- [7] 柳艳云,胡昌勤. 近红外分析中光谱波长选择方法进展与应用[J]. 药物分析杂志,2010,30(5):968.

Determination of total content of ten ginsenosides in Yiqifumai lyophilized injection by near infrared spectroscopy

HAN Xiaoping^{1,4}, LI Dekun², ZHOU Dazheng², LIN Ruichao³, LIU Lifang⁴, YE Zhengliang^{2*}

(1. Qinghai institute of drug control, Xining 810003, China;

2. Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300410, China;

3. National Institute for The Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing 100150, China;

4. China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the total content of 10 ginsenosides in Yiqifumai lyophilized injection by near infrared spectroscopy. **Method:** Sixty samples were collected and determined of the total contents of ten ginsenosides by HPLC. The optimal calibration model was established by the contents of 10 ginsenosides in fifty samples and their NIR spectroscopy using the PLS. And the contents of 10 samples were successfully predicted. **Result:** When using the pretreatment of the first derivative and MSC in the range of 4 246.8 ~ 4 602.2, 5 446.8 ~ 61 02.6 cm^{-1} , the best dimension was 9, and the quantitative model was accurate. The R^2 was 94.2, and the RMSECV was 0.186. The RMSEP of ten samples was 0.234. **Conclusion:** This method is easy, rapaid and precise, and can be used to determine the content of 10 ginsenosides in Yiqifumai lyophilized injection.

[Key words] NIR spectroscopy; Yiqifumai lyophilized injection; ginsenosides

doi:10.4268/cjcm20111212

[责任编辑 马超一]