

近红外光谱在线采集技术检测华盖散提取液浓缩过程中的相关指标[△]

封义玲^{1*}, 罗晓健^{1,2}, 赖衍清³, 蔡大宇⁴, 饶小勇^{1,2#}, 徐春良⁵(1.江西中医药大学药学院,南昌 330004;2.中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,南昌 330006;3.波通瑞华科学仪器有限公司,北京 100016;4.楚天科技股份有限公司,湖南宁乡 410600;5.江西中医药大学附属医院药剂科,南昌 330006)

中图分类号 R95 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)03-0303-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.03.10

摘要 目的:建立在线快速检测华盖散提取液浓缩过程中相关指标的方法,为其判断浓缩终点提供参考。方法:采用近红外光谱(NIRS)在线采集装置采集华盖散提取液浓缩过程中73个浓缩液样品的在线光谱图,采用偏最小二乘法(PLS)建立NIRS与5个指标(浓缩液密度、含固量和苦杏仁苷、盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱含量)间的定量校正模型,并用另外15个浓缩液样品模型进行验证,分析预测值与测量值之间的相关性。结果:所建立的定量校正模型中浓缩液密度、含固量和苦杏仁苷、盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱含量的相关系数(R^2)分别为0.982 5、0.999 9、0.998 3、0.999 4、0.999 3,校正集均方根误差(RMSEC)分别为0.001 6、0.025 1、0.014 7、0.001 8、0.000 9,交叉验证均方根误差(RMSECV)分别为0.002 1、0.035 8、0.033 6、0.006 3、0.001 3。15个样品验证后,预测均方根误差(RMSEP)分别为0.003 2、0.024 6、0.021 5、0.007 7、0.005 9。结论:本研究所建立的定量校正模型预测性良好,可为华盖散提取液浓缩终点的在线判断提供依据。

关键词 华盖散;浓缩过程;近红外光谱法;在线采集

Determination of Related Indexes in the Concentration Process of Huagai San Extraction Solution by Online Collection Technology for Near Infrared Spectroscopy

FENG Yiling¹, LUO Xiaojian^{1,2}, LAI Yanqing³, CAI Dayu⁴, RAO Xiaoyong^{1,2}, XU Chunliang⁵ (1.College of Pharmacy, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China; 2.National Engineering Research Center for Solid Preparation Technology of TCM, Nanchang 330006, China; 3.Botong Ruihua Scientific Instrument Co., Ltd., Beijing 100016, China; 4.Chutian Technology Co., Ltd., Hunan Ningxiang 410600, China; 5.Dept. of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Jiangxi University of TCM, Nanchang 330006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for online rapid detection of related indexes in the concentration process of Huagai san extraction solution, and to provide reference for judgment of concentration end point. METHODS: Online diagram of 73 concentrated samples in the concentration process of Huagai san extraction solution were drawn by NIRS online collection equipment. The partial least squares (PLS) method was used to establish the NIRS quantitative calibration model of 5 related indexes (concentration density, solid content, the contents of amygdalin, ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride). Another 15 samples were used to validate the model, and the correlation of predicted value and measured value was analyzed. RESULTS: The correlation coefficients (R^2) of the concentration density, solid content, the contents of amygdalin, ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in the quantitative calibration model were 0.982 5, 0.999 9, 0.998 3, 0.999 4 and 0.999 3, respectively; the root mean square errors of calibration (RMSEC) were 0.001 6, 0.025 1, 0.014 7, 0.001 8 and 0.000 9; the root mean square errors of cross validation (RMSECV) were 0.002 1, 0.035 8, 0.033 6, 0.006 3 and 0.001 3, respectively. After validation by 15 samples, root mean square errors of prediction (RMSEP) were 0.003 2, 0.024 6, 0.021 5, 0.007 7 and 0.005 9, respectively. CONCLUSIONS: The established quantitative calibration model has good predictability and can provide basis for online judgment of concentration end point of Huagai san extraction solution.

KEYWORDS Huagai san; Concentration process; Near-infrared spectroscopy; Online collection

△ 基金项目:国家“重大新药创制”科技重大专项(No.2018ZX-09201010);2016绿色制造系统集成项目(No.工信部节函[2016]562号);江西省中药学一流学科专项科研基金(No.JXSYLXK-ZHYA0016)

* 硕士研究生。研究方向:中药新剂型与新技术。E-mail:1028305182@qq.com

通信作者:副教授,硕士生导师。研究方向:中药固体制剂。E-mail:xy1014@163.com

浓缩是中药制剂生产过程中的重要工序之一,常规的浓缩终点判断多以经验为主,或采用相对密度作为终点判断的指标,但该方法无法反映浓缩过程中药效成分的变化和浓缩液质量的一致性,将直接影响后续制剂的质量^[1]。因此中药浓缩过程中含固量和指标成分含量等的在线检测技术研究,对提高中药浓缩液质量具有重要

意义。

美国FDA颁布的《PAT工业指南》提出PAT(过程分析技术)可以通过对过程的关键质量属性实时监控,从而确保最终产品质量^[2]。近红外光谱(NIRS)法作为PAT的最常用技术,具有绿色、无损、快速等优点^[3]。本课题组前期组装了NIRS在线采集装置,在实验室中进行浓缩过程的在线检测技术研究,模拟工业化生产过程,可为中药浓缩生产过程的在线检测提供参考。

华盖散出自《太平惠民和剂局方》^[4],记载曰:“治肺感寒邪,咳嗽上气,胸膈烦满,项背拘急,声重鼻塞,头昏目眩,痰气不利,呀呷有声”,该方由紫苏子(炒)、赤茯苓(去皮)、桑白皮(炙)、陈皮(去白)、杏仁(去皮、尖,炒)、麻黄(去根、节)、甘草(炙)等7味药材组成,主治风寒哮喘,现代临床上多用于治疗小儿咳嗽变异型哮喘^[5]。该方为煮散剂,需患者自行煎煮,本课题组拟将该方制成颗粒剂,克服煎煮不便的问题。经过前期研究,确定了华盖散各组方饮片提取的工艺参数,现将NIRS法应用于华盖散提取液浓缩过程中,以浓缩液密度、含固量和苦杏仁苷、盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱含量作为在线检测的指标,建立NIRS与上述指标的定量校正模型,并实时检测华盖散浓缩过程中各指标的变化,以期为NIRS法在华盖散提取液浓缩过程中的应用提供试验依据,并为中药浓缩过程中的终点判断、产品中间质量控制以及在线检测等提供有效、可靠的途径。

1 材料

1.1 仪器

E2695型高效液相色谱仪(美国Waters公司);MS105型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司);YZN50型液体浓缩真空煎药机(北京东华原医疗设备有限责任公司);QWWJ-200型全无油静音空压机(上海曲晨机电技术有限公司);QBY-15型气动隔膜泵(温州同创机械科技有限公司);DA 7440 GP型近红外分析仪(瑞士Pertec公司)。

1.2 药品与试剂

麻黄、苦杏仁、紫苏子、陈皮(去白)、桑白皮、赤茯苓、甘草等7味药材均购自江西江中饮片有限公司,经江西中医药大学药学院刘勇教授鉴定为真品;盐酸麻黄碱对照品(批号:171241-201508,纯度:99.8%)、盐酸伪麻黄碱对照品(批号:171237-201510,纯度:99.8%)、苦杏仁苷对照品(批号:110820-201607,纯度:90.7%)均购自中国食品药品检定研究院;甲醇和乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为纯净水。

2 方法与结果

2.1 华盖散浓缩液样品的制备与收集

称取麻黄、苦杏仁、紫苏子、桑白皮、赤茯苓、陈皮(去白)各0.5 kg,甘草0.25 kg,共3.25 kg药材,加10倍量水(L/kg)于液体浓缩真空煎药机中提取,提取2次,每次

90 min,过滤,合并滤液;滤液于60℃、-0.06 MPa条件下浓缩,浓缩过程中采集NIRS(NIRS在线采集装置由液体浓缩真空煎药机、气动隔膜泵、石英液体池、NIRS分析仪以及数据采集系统组成,详见图1)。溶液经气动隔膜泵输送至石英液体池中后循环回浓缩罐中,由NIRS分析仪采集数据,并连接NIRS工作站进行光信号的传递。保持溶液循环以采集实时光谱,在光谱采集过程中,关闭阀门b、c,打开阀门a,采集静态药液光谱,随后由可拆卸软管收集样本。每次浓缩过程约7 h,前4 h约每30 min取样,后3 h约每20 min取样,每份30 mL。共浓缩5次,收集88个样品(由于真空度或者升温速率的不同,每次的浓缩时间不完全相同,因此所得样品共88个)。取其中73个样品(编号:S1~S73)用于定量校正模型的建立;取另外15个样品用于模型的验证。NIRS在线采集装置图见图1。

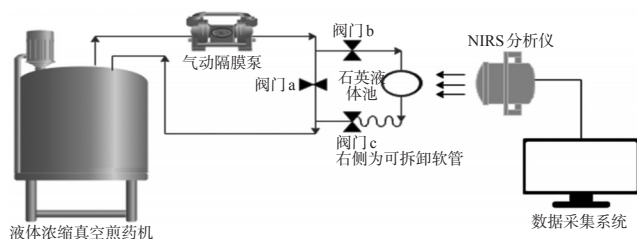


图1 NIRS在线采集装置图

Fig 1 Diagram of NIRS online acquisition device

2.2 华盖散浓缩液样品的NIRS在线模型图谱的建立

NIRS采集测量方式为透反射,光程为4 mm,分辨率为5 nm,光谱采集范围为950~1 650 nm,扫描速度为30次/秒,扫描时间为8秒,室内温度为(25±1)℃。取“2.1”项下收集的73个样品(编号:S1~S73),按上述条件进行扫描分析,并采集NIRS。华盖散浓缩液各样品的NIRS叠加图见图2。

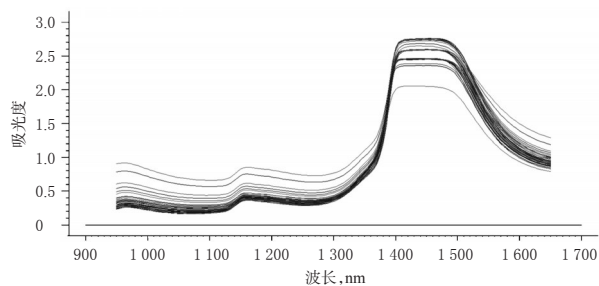


图2 华盖散浓缩液各样品的NIRS叠加图

Fig 2 NIRS superposition diagram of each sample of Huagai san concentrated solution

2.3 浓缩液密度的测定

在25℃的环境下,用移液管分别精密移取73个华盖散浓缩液样品各5 mL(V),精密称定其质量(m)。每份样品平行测定3次,计算浓缩液密度(ρ , $\rho=m/V$)。结果,73个华盖散浓缩液样品的密度范围为1.01~1.09 g/cm³。

2.4 含固量的测定

取73个量瓶置于105℃烘箱中烘干至恒质量,分别精密称定质量(m_1);精密移取73个华盖散浓缩液样品各5 mL分别至上述量瓶中,精密称定质量(m_2);放入105℃烘箱烘干至恒质量,精密称定质量(m_3)。每份样品平行测量3次,计算含固量[含固量= $(m_3 - m_1)/(m_2 - m_1) \times 100\%$]。结果,73个华盖散浓缩液样品的含固量范围为0.79%~16.08%。

2.5 苦杏仁苷、盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量测定

2.5.1 供试品溶液的制备 取华盖散浓缩液样品(样品编号:S1)适量,用水稀释至适当浓度,微孔滤膜滤过后,即得供试品溶液。

2.5.2 阴性样品溶液的制备 按照华盖散处方,分别制备缺苦杏仁和麻黄药材的阴性样品溶液。

2.5.3 对照品溶液的制备 精密称取苦杏仁苷对照品适量,加甲醇配制成质量浓度为36.95 $\mu\text{g/mL}$ 的苦杏仁苷对照品溶液,备用;精密称取盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱对照品适量,加甲醇配制成质量浓度分别为49.70、50.01 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液,备用。

2.5.4 色谱条件 (1)苦杏仁苷含量测定的色谱条件。色谱柱为Phenomenex Synergi™ Polar-RP 80A(250 mm×4.6 mm, 4 μm);流动相为乙腈-水(6:94, V/V);流速为1 mL/min;检测波长为207 nm;柱温为30℃;进样量为10 μL 。(2)盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量测定的色谱条件。参考2015年版《中国药典》(二部)中相关方法^[6],色谱柱为Phenomenex Synergi™ Polar-RP 80A(250 mm×4.6 mm, 4 μm);流动相为甲醇-水(含0.092%磷酸、0.04%三乙胺、0.02%二正丁胺)(1.5:98.5, V/V);流速为1 mL/min;检测波长为210 nm;柱温为30℃;进样量为10 μL 。

2.5.5 专属性考察 分别吸取“2.5.1”~“2.5.3”项下供试品溶液、阴性样品溶液、各对照品溶液各10 μL ,按“2.5.4(1)(2)”项下色谱条件分别进样分析,记录色谱图。结果,供试品溶液中各组分在上述色谱条件下均分离良好,各阴性样品对苦杏仁苷、盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的测定均无干扰,表明该方法专属性良好。高效液相色谱图见图3。

2.5.6 线性关系考察 分别以甲醇为溶剂制备含苦杏仁苷 230.945、115.472、57.736、28.868、14.434、7.217 $\mu\text{g/mL}$,盐酸麻黄碱 248.50、124.25、62.13、31.06、15.53、7.77 $\mu\text{g/mL}$,盐酸伪麻黄碱 250.50、125.25、62.62、31.31、15.66、7.83 $\mu\text{g/mL}$ 的系列质量浓度标准工作溶液。分别吸取上述溶液10 μL ,分别按“2.5.4(1)(2)”项下色谱条件进样分析。以苦杏仁苷、盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱的质量浓度为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y)绘制标准曲线,得到回归方程。结果,苦杏仁苷的回归方程为 $y = 10\,338x - 31\,097$ ($r = 0.999\,8$),盐酸麻黄碱的回归方程为 $y = 22\,197x - 37\,233$ ($r = 0.999\,9$),盐酸伪麻黄碱的回归方程为 $y = 22\,992x - 52\,488$ ($r = 0.999\,9$),三者分别在7.217~230.945、7.77~248.50、7.83~230.50 $\mu\text{g/mL}$ 范围

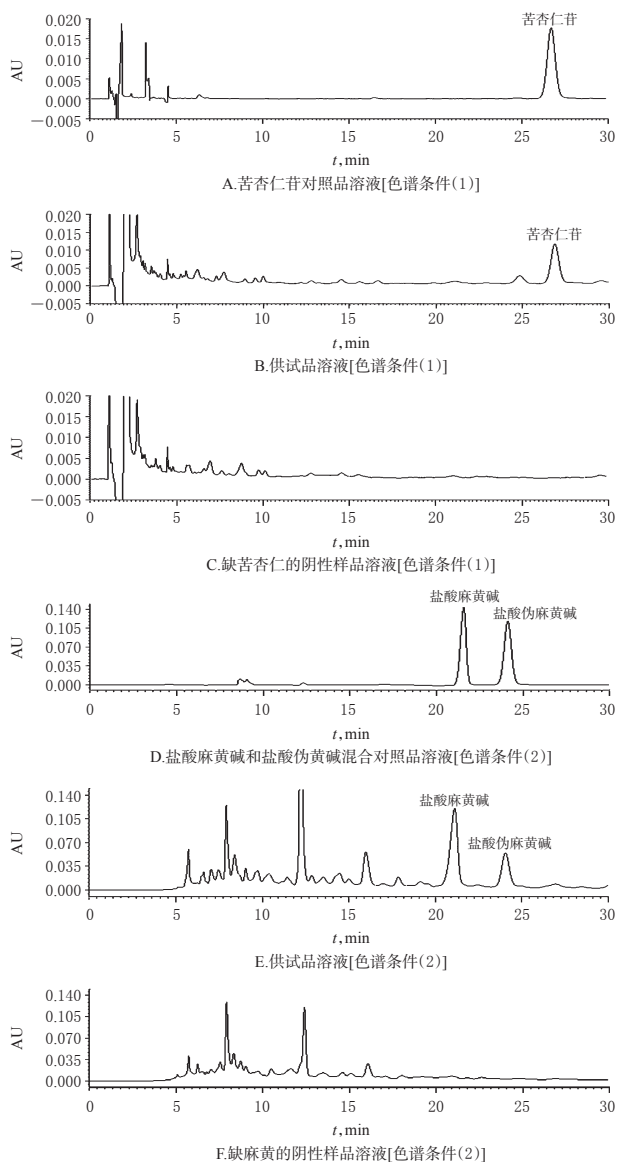


图3 高效液相色谱图

Fig 3 HPLC chromatograms

内线性关系良好。

2.5.7 精密度的试验 取“2.5.3”项下对照品溶液各适量,分别按“2.5.4(1)(2)”项下色谱条件连续进样6次,记录峰面积。结果,苦杏仁苷、盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱峰面积的RSD分别为0.64%、0.12%、0.10%($n = 6$),表明仪器精密度的良好。

2.5.8 稳定性试验 取华盖散浓缩液样品(样品编号:S1),按照“2.5.1”项下方法制备供试品溶液,分别于室温下放置0、2、4、8、12、24 h后,分别按“2.5.4(1)(2)”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。结果,苦杏仁苷、盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱峰面积的RSD分别为1.34%、1.09%、0.21%($n = 6$),表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.5.9 重复性试验 取华盖散浓缩液样品(样品编号:S1),按“2.5.1”项下方法平行制备6份供试品溶液,分别按“2.5.4(1)(2)”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。

结果,苦杏仁苷、盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱峰面积的RSD分别为0.93%、1.89%、1.37%($n=6$),表明该方法重复性良好。

2.5.10 含量测定 取73个华盖散浓缩液样品适量,按“2.5.1”项下方法制备供试品溶液,再按“2.5.4(1)(2)”项下色谱条件进样分析,记录峰面积,并计算苦杏仁苷、盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱的含量。结果,苦杏仁苷、盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量范围分别为0.129 3~2.405 3、0.025 5~0.513 7、0.010 7~0.240 7 mg/mL。

2.6 数据处理、建模及模型验证

将采集的73个样品的NIRS与其所对应的浓缩液密度、含固量和苦杏仁苷、盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱含量导入The Unscrambler 9.7软件(网址:<https://www.camo.com/>),选择合适的建模波段和光谱预处理方法,运用偏最小二乘(PLS)法计算^[7],采用交叉验证法,建立NIRS与各指标间的定量校正模型。

2.6.1 建模波段的选择 华盖散浓缩液样品的光谱采集范围为950~1 650 nm。由于其溶剂是水,而纯水的NIRS在1 440 nm波长附近吸收峰较强,波谱较宽^[8],对样品吸收峰的干扰较大,且通常认为吸收度大于1.5的波长区间为饱和吸收,故建模时不宜采用这一波段的光谱^[9]。因此,排除水的强吸收波段后,确定950~1 375 nm与1 505~1 650 nm为建模波段。

2.6.2 NIRS定量校正模型相关参数的选择 NIRS定量校正模型以相关系数(R^2)、校正均方根误差(RMSEC)、交叉验证均方根误差(RMSECV)和预测均方根误差(RMSEP)为指标优化建模参数。其中, R^2 越接近于1,说明模型的预测值与测量值的相关性越好;RMSEC和RMSECV越小且越接近,说明该模型稳定性越好,精确度越高;RMSEP越小,说明模型的预测效果越好^[10]。

2.6.3 NIRS定量校正模型预处理方法的选择 在近红外透反射光谱的采集过程中,背景噪声和特定物理因素等会对NIRS产生影响,可能会造成光谱基线的偏移和噪音信号的放大^[11]。因此在进行光谱分析之前,应对采集的原始光谱进行必要的预处理。本文选择了近红外光谱中常见的5种预处理方法[一阶导数+Savitzky-Golay平滑滤波、二阶导数+Savitzky-Golay平滑滤波、标准变量变换(SNV)、一阶导数+Savitzky-Golay平滑滤波+SNV、附加散射校正(MSC)],比较了无预处理方法以及5种预处理方法对 R^2 、RMSEC和RMSECV的影响,详见表1。

由表1可得,浓缩液密度可选用一阶导数+Savitzky-Golay平滑滤波进行预处理;含固量可选用一阶导数+Savitzky-Golay平滑滤波+SNV进行预处理;苦杏仁苷和盐酸伪麻黄碱含量不进行光谱预处理;盐酸麻黄碱含量选用MSC进行预处理。

2.6.4 主因子数的确定 在采用PLS建模的过程中,主因子数过少会导致信息不全,过多容易造成模型的过拟

表1 不同预处理方法对各指标参数的影响结果

Tab 1 Effect of different pretreatment methods on each index parameter

指标	参数	未预处理	预处理方法				
			一阶导数+Savitzky-Golay平滑滤波	二阶导数+Savitzky-Golay平滑滤波	SNV	一阶导数+Savitzky-Golay平滑滤波+SNV	MSC
浓缩液密度	R^2	0.980 1	0.982 5	0.974 8	0.982 5	0.975 6	0.982 4
	RMSEC	0.001 7	0.001 6	0.001 9	0.001 6	0.001 9	0.001 6
	RMSECV	0.002 2	0.002 1	0.002 3	0.002 2	0.002 5	0.002 2
含固量	R^2	0.999 9	0.999 4	0.999 8	0.999 9	0.999 9	0.999 9
	RMSEC	0.025 4	0.054 5	0.033 1	0.019 8	0.025 1	0.018 2
	RMSECV	0.069 6	0.100 8	0.096 6	0.068 3	0.035 8	0.061 3
苦杏仁苷含量	R^2	0.998 3	0.995 2	0.995 5	0.985 9	0.996 1	0.978 2
	RMSEC	0.014 7	0.027 2	0.024 2	0.042 9	0.022 7	0.053 4
	RMSECV	0.033 6	0.063 5	0.040 4	0.068 5	0.034 6	0.072 7
盐酸麻黄碱含量	R^2	0.996 4	0.998 0	0.997 1	0.998 8	0.984 2	0.999 4
	RMSEC	0.004 5	0.003 3	0.004 0	0.002 5	0.009 3	0.001 8
	RMSECV	0.006 5	0.006 7	0.006 3	0.006 5	0.010 2	0.006 3
盐酸伪麻黄碱含量	R^2	0.999 3	0.999 0	0.999 3	0.998 5	0.998 1	0.998 7
	RMSEC	0.000 9	0.001 1	0.000 9	0.001 4	0.003 3	0.001 3
	RMSECV	0.001 3	0.001 4	0.001 6	0.002 0	0.006 3	0.001 9

合,因此选择适合的主因子数有利于提高模型的预测性^[12]。RMSECV越小,模型的精确度越高,其对应的主因子数即为最优主因子数^[10]。主因子数与RMSECV的关系图见图4。

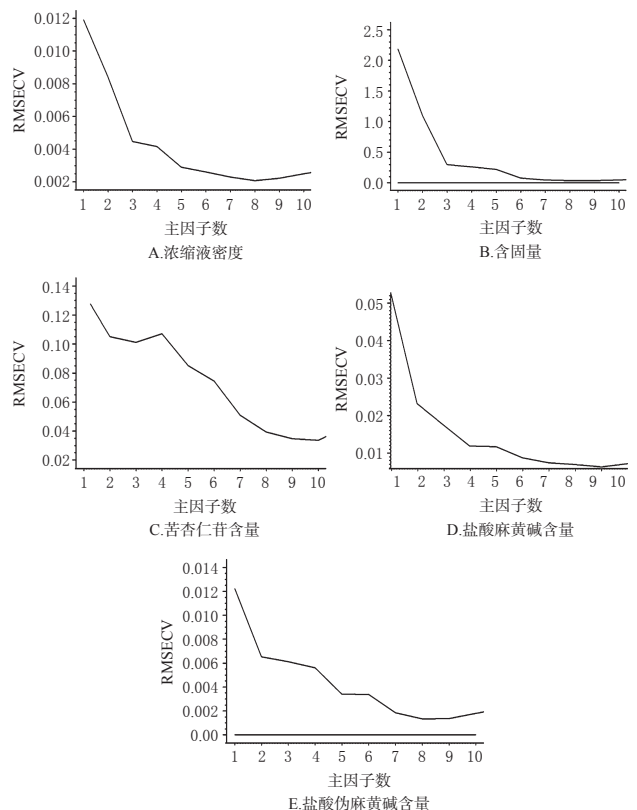


图4 主因子数与RMSECV的关系图

Fig 4 Relationship diagram between main factor number and RMSECV

由图4可知,浓缩液密度、含固量和苦杏仁苷、盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱含量的最优主因子数分别为8、8、10、9、8。

2.6.5 NIRS定量校正模型的建立 将所有光谱和各组数据导入The Unscrambler 9.7软件后,经过上述确定的光谱预处理方法处理后,运用PLS和交叉验证法建立NIRS定量校正模型,并评价NIRS定量校正模型各指标的预测值与测量值的相关性,确定所建立的NIRS定量校正模型是否合理。结果,建立的NIRS定量校正模型中浓缩液密度、含固量和苦杏仁苷、盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱含量等5种指标的 R^2 分别为0.982 5、0.999 9、0.998 3、0.999 4、0.999 3, RMSEC分别为0.001 6、0.025 1、0.014 7、0.001 8、0.000 9, RMSECV分别为0.002 1、0.035 8、0.033 6、0.006 3、0.001 3;NIRS定量校正模型的预测值与测量值间的相关性良好,表明所建立的NIRS定量校正模型合理,详见图5。

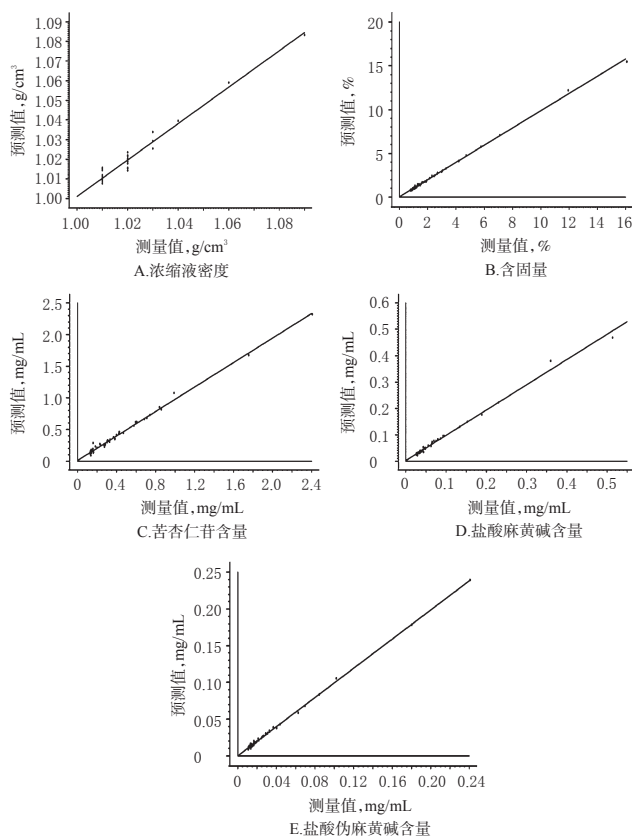


图5 NIRS定量校正模型中各指标预测值与测量值的相关性

Fig 5 Relevance between predicted values and measured values in each quantitative calibration model of NIRS

2.6.6 NIRS定量校正模型的验证 采集“2.1”项下用于验证试验的15个样品的NIRS,并将上述建立的NIRS定量校正模型导入The Unscrambler 9.7软件中,分析浓缩

液密度、含固量和苦杏仁苷、盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱含量的预测值与测量值的相关性。结果,验证试验中浓缩液密度、含固量和苦杏仁苷、盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱含量的 R^2 分别为0.923 7、0.989 8、0.995 9、0.986 7、0.961 1, RMSEP分别为0.003 2、0.024 6、0.021 5、0.007 7、0.005 9;各指标预测值与测量值的相关性良好,详见图6。

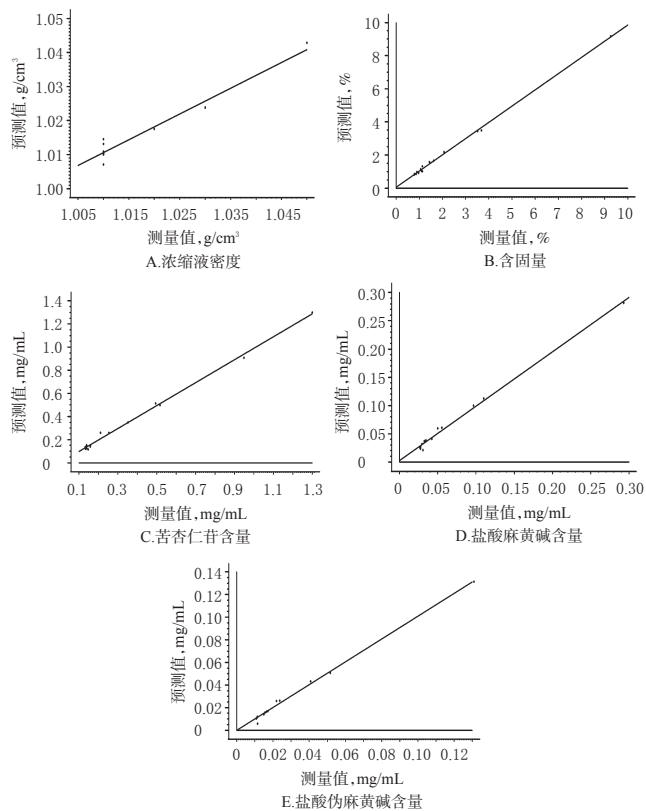


图6 验证试验中各指标预测值与测量值的相关性
Fig 6 Relevance between the predicted value of measured value in validation test

3 讨论

华盖散方中麻黄和苦杏仁是君药与臣药,麻黄宣肺化痰、解表发汗为君,苦杏仁降气消痰、宣肺止咳为臣^[3]。因而,麻黄中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和苦杏仁中的苦杏仁苷含量是工艺监测的重要指标。华盖散浓缩液密度与含固量则与制剂成型工艺息息相关。因此,本试验以盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱及苦杏仁苷含量为化学指标,以浓缩液密度、含固量为物理指标,构建了一个多指标体系,为华盖散提取液浓缩过程的质量监控提供依据。

试验中选用石英液体池配合NIRS探头采集华盖散浓缩液的在线图谱。华盖散提取液不断循环,以保证采集其实时NIRS;同时,将石英液体池置于提取液循环的旁路,可采集静态提取液光谱,避免浓缩过程中产生气泡,干扰NIRS的采集。液体池选用石英玻璃,可减少由

基于斑马鱼模型的西洋参提取物心脏保护作用研究^Δ

吕婧*,李晨,杨龙飞,高燕,赵瀚年[#](山东中医药大学药学院,济南 250355)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)03-0308-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.03.11

摘要 目的:研究西洋参提取物的心脏保护作用。方法:通过耐受性实验确定西洋参提取物的给药剂量以及特非那定的最优造模剂量后,将受精后24 h(24 hpf)的斑马鱼分为空白对照组(0.5%二甲基亚砜)、模型组(2.5 μg/mL特非那定)、阳性对照组(2.5 μg/mL特非那定+30 μg/mL白藜芦醇)和不同质量浓度西洋参提取物组(2.5 μg/mL特非那定+5、10、25 μg/mL西洋参提取物,以生药量计);孵育48 h后,以斑马鱼心率、心脏静脉窦-动脉球(SV-BA)间距为指标,并计算其心脏损伤修复率,以考察西洋参提取物的心脏保护作用。另取24 hpf的斑马鱼分为空白对照组、模型组、阳性对照组和20批不同产地西洋参提取物组(5 μg/mL,以生药量计),同法给药和孵育48 h后,测定其心率、心脏SV-BA间距,并计算其心脏损伤修复率和心脏损伤相对修复率,进一步验证西洋参提取物的心脏保护作用。结果:与空白对照组比较,模型组斑马鱼心率显著降低($P<0.01$),心脏SV-BA间距显著增大($P<0.01$);与模型组比较,阳性对照组和5、10、25 μg/mL西洋参提取物组斑马鱼心率显著升高($P<0.01$),5、10 μg/mL西洋参提取物组斑马鱼心脏SV-BA间距显著缩短($P<0.05$ 或 $P<0.01$),其中5 μg/mL西洋参提取物组斑马鱼的心脏损伤修复率达73.77%。验证实验显示,与模型组比较,20批不同产地西洋参提取物组斑马鱼心率均显著升高($P<0.01$),心脏SV-BA间距均显著缩短($P<0.01$);其心脏损伤修复率在70.45%~85.78%之间,心脏损伤相对修复率在75.48%~98.12%之间。结论:西洋参提取物具有较好的心脏保护作用。

关键词 西洋参;斑马鱼;心脏保护;静脉窦-动脉球;间距;心率

于器皿的吸光度对光谱采集准确性的影响;选用气动隔膜泵是因为其具有较强的自吸能力,可将溶液由浓缩罐中吸出,使提取液循环,便于采集实时光谱。

本研究将NIRS法用于华盖散提取液的浓缩过程,建立了华盖散浓缩液中多指标同时在线测定的方法,解决了离线分析周期长的问题。该方法无需样品处理,操作简便、快速,可在线测定,后续可在实际生产中对所建立的模型进行完善和再校正,进一步提高模型在华盖散提取液浓缩过程的适用性与稳定性。

参考文献

- [1] 金叶,吴永江,刘雪松,等.蟾皮提取液浓缩过程中吡啶类生物碱等多指标近红外快速检测研究[J].中国药理学杂志,2012,47(9):712-717.
- [2] Food and Drug Administration. *Guidance for industry PAT: a framework for innovative pharmaceutical development, manufacturing, and quality assurance*[EB/OL].[2019-03-15].<http://www.fda.gov/cder/guidance/published.html>.
- [3] 邹文博,尹利辉,胡昌勤.拉曼光谱与近红外光谱技术在药品快速分析中的应用[J].中国药房,2018,29(3):416-420.
- [4] 太平惠民和剂局.太平惠民和剂局方[M].刘景源,整理.

^Δ 基金项目:国家重点研发计划课题(No.2017YFC1701501)

* 博士研究生。研究方向:中药质量综合评价、新药研究、中药有效成分分离。E-mail:13589056006@126.com

[#] 通信作者:研究员,博士生导师,硕士。研究方向:中药质量综合评价、新药研究、中药有效成分分离。E-mail:bonianzh@163.com

北京:人民卫生出版社,1985:140.

- [5] 朱贤旬,苏益仁,邹艳贤.华盖散治疗咳嗽变异性哮喘36例[J].光明中医,2014,29(6):1205-1207.
- [6] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:320-321.
- [7] 牟倩倩,贺敬霞,张建琪,等.近红外漫反射光谱法结合PLS法快速测定红景天药材中水分和红景天苷的含量[J].中国药房,2017,28(30):4260-4264.
- [8] 胡昌勤,冯艳春.近红外光谱法快速分析药品[M].北京:化学工业出版社,2009:147-150.
- [9] 王永香,郑伟然,米慧娟,等.热毒宁注射液青蒿金银花浓缩过程近红外快速定量检测方法的建立[J].中草药,2017,48(1):102-108.
- [10] 雷晓晴,李耿,王秀丽,等.基于近红外光谱法快速测定丹参中5种成分模型的建立[J].中草药,2018,49(11):2653-2661.
- [11] 刘雪松,陈佳善,陈国权,等.近红外光谱法结合自动化控制在感冒灵颗粒浓缩过程中的在线检测技术研究[J].药学学报,2017,52(3):462-467.
- [12] 张叶霞,严国俊,徐佳颜,等.茵栀黄口服液提取过程的近红外光谱在线监测模型和含量测定[J].中药材,2015,38(12):2616-2618.
- [13] 王衮.博济方[M].上海:商务印书馆,1959:15.

(收稿日期:2019-08-11 修回日期:2019-10-17)

(编辑:唐晓莲)