

## · 论著 ·

## 基于药用辅料的拉曼光谱鉴别络活喜仿冒药研究

钱小峰,柳艳,陈辉,陆峰(第二军医大学药学院药物分析学教研室,上海200433)

**[摘要]** 目的 针对药物活性成分与原研药质量相同的一类仿冒药,以苯磺酸氨氯地平片原研药及仿冒药为工具药,建立基于两者所用药用辅料的差异,用于鉴别络活喜仿冒药的方法。**方法** 收集络活喜片剂常用辅料的拉曼光谱,采用相似度算法及特征峰查找待检样品中辅料,若待检样品的辅料与原研药辅料不同则判为仿冒药;若待检品辅料与原研药辅料相同,则采用主成分分析法区分仿冒药与原研药。**结果与结论** 该方法可快速、准确地鉴别络活喜仿冒药。

**[关键词]** 药用辅料;拉曼光谱;仿冒药;相似度法;特征峰;主成分分析

**[中图分类号]** R927 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2015)04-0334-04

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2015.04.012

## Identification of Norvasc and counterfeit drugs based on Raman spectra of pharmaceutical excipients

QIAN Xiaofeng, LIU Yan, CHEN Hui, LU Feng (Department of Pharmaceutical Analysis, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** **Objective** To build an identification method for Norvasc and its counterfeit drugs based on the differences of their pharmaceutical excipients with the original and generic Amlodipine besylate tablets as tools. **Methods** Raman spectra of pharmaceutical excipients which were usually used in tablets were collected. Similarity algorithm and characteristic Raman bands were used to search the excipients contained in the tablets. If the excipients was not the same as excipients contained in Norvasc, the tablet was judged as counterfeit drugs. Otherwise, principal component analysis was used to identify counterfeit and generic. **Results and conclusion** The method based on Raman spectra of pharmaceutical excipients could identify Norvasc and counterfeit drugs efficiently and accurately.

**[Key words]** pharmaceutical excipients; Raman spectrum; counterfeit drugs; similarity algorithm; characteristic Raman bands; PCA

药品仿冒是一种性质严重的犯罪活动,其不仅侵犯知识产权,并且已经成为有组织的犯罪新分支,为恐怖分子活动提供资金<sup>[1]</sup>。世界卫生组织(WHO)表示,全球范围内10%的药品为仿冒药<sup>[2]</sup>。因此,研究建立快速、准确的药品鉴别方法迫在眉睫。WHO已将仿冒药定义为“伪造、贴错标签、伪造、仿冒药品(SFFC)”<sup>[3]</sup>。

通常,对仿冒药的筛查从样品外观开始,包括药品本身,如:重量、形状、颜色、外观等,以及包装如:箱、盒、泡形罩、玻璃小瓶、说明书、批号日期、印刷质量、商标标示等。此外,理化测试包括比色法<sup>[4]</sup>、溶解度<sup>[5]</sup>、密度、黏度检测<sup>[6]</sup>等,速度快且费用低。但

是,这些检测并不能提供样品内容物信息。

拉曼光谱在仿冒药的鉴别领域有广泛应用。本研究主要针对药物活性成分(API)与原研药相同的一类仿冒药,选择WHO列出的必需药品之一苯磺酸氨氯地平片为工具药。仅根据《中华人民共和国药典》所示方法尚不能鉴别仿冒药。本研究收集20种常用片剂辅料的拉曼光谱,构成片剂辅料拉曼光谱库(简称:辅料库),计算待检样品辅料与原研药辅料的相似度,并结合特征峰的峰位及强度,如果待检药品辅料与原研药络活喜辅料不同,判为仿冒药;反之,则采用主成分分析的方法,以实现对此类仿冒药的准确鉴别。

### 1 材料与仪器

**1.1 材料** 常用片剂辅料(上海信谊药厂);原研药络活喜(A.辉瑞公司生产),本研究所涉及处方均由厂家提供,共收集6个厂家的苯磺酸氨氯地平片,

**[作者简介]** 钱小峰,硕士研究生.Tel:13817636166;E-mail:xi-aofengtou@126.com

**[通讯作者]** 陆峰,教授.研究方向:药物质量信息学.E-mail:feng-lufeng@hotmail.com

API规格均为5 mg。络活喜A处方:微晶纤维素、磷酸氢钙、羧甲淀粉钠、硬脂酸镁;厂家B处方:微晶纤维素、磷酸氢钙(较多)、羧甲淀粉钠(少量)、硬脂酸镁(少量)、羟丙甲纤维素(少量);厂家C处方:乳糖(仅告知部分处方);厂家D处方:淀粉、甘露醇、硬脂酸镁、羟丙纤维素、预胶化淀粉、羟丙甲纤维素;厂家E处方:微晶纤维素、磷酸氢钙、淀粉、羧甲淀粉钠、硬脂酸镁;厂家F处方:羧甲淀粉钠、微晶纤维素、磷酸氢钙、硬脂酸镁、淀粉。

**1.2 仪器** 采用B&W Tek 便携式拉曼光谱仪(G-Raman)进行样品光谱采集。拉曼光谱仪采用半导体致冷型CCD检测器,激光源波长:785 nm,激光器功率:100 mW,光束直径:2 mm,光谱分辨率: $3.5\text{ cm}^{-1}$ ,波数范围: $65\sim 2\,700\text{ cm}^{-1}$ 。

## 2 方法

**2.1 采样方法** 将辅料、原研药、仿冒药分别置于载玻片上,手动调整焦距,采样积分时间: $5\times 3\text{ s}$ ,每个样品进行多个位置采样,以多张拉曼光谱的平均值作为该样品的拉曼光谱。

**2.2 光谱预处理方法** 辅料及样品所采集的拉曼光谱均采取同样的预处理方法,截波范围 $100\sim 1\,800\text{ cm}^{-1}$ ,平滑去除由于物理因素产生的噪音,基线校正采用Rubberband correction算法,标准化采用min-max normalization。

### 2.3 方法学验证

**2.3.1 稳定性实验** 采样时间间隔24 h,连续5 d对同一供试品按照“2.1”及“2.2”项下方法进行检测,计算得出5次采样光谱的相似度均 $>0.95$ ,峰位偏差不足1个波数。实验结果表明,供试品在拉曼光谱检测过程中具有较好的稳定性。

**2.3.2 精密度实验** 将同一供试品平均分为5份,在相同的测量环境下,按照“2.1”及“2.2”项下方法对5份供试品进行拉曼光谱采集。计算得出5份供试品拉曼光谱的相似度均 $>0.95$ ,峰位偏差不足1个波数,结果表明,用拉曼光谱仪检测供试品具有较好的精密度。

**2.3.3 重复性实验** 取同一批号同种供试品5份,在相同的测量环境下,按照“2.1”及“2.2”项下方法对5份供试品进行拉曼光谱采集。计算得出5份供试品拉曼光谱的相似度均 $>0.95$ ,峰位偏差不足1个波数,结果表明,拉曼光谱技术具有较好的重复性。

**2.4 分析策略** 本研究尝试建立原研药与仿冒药的两步鉴别法。①采集待检样品及原研药的拉曼光谱图,经过光谱预处理后,将待检样品及原研药光谱

与辅料库中光谱分别计算相似度。②若与某种药用辅料相似度值达0.9以上,则判断待检样品中含有该药用辅料,并用特征峰对该药用辅料进行验证。若与辅料库内药用辅料相似度值达不到阈值0.9,则提示样品中可能含有某种辅料,标出样品中辅料的特征峰位置及强度,用这些特征峰对比辅料库中辅料的特征峰位置及强度。如果样品辅料与原研药辅料不同,则可明确判定为仿冒药;如果查找得出样品辅料与原研药辅料相同,则需要收集不同批次的原研药及仿冒药,使用主成分分析法进行鉴别。

## 3 结果分析与讨论

**3.1 常用片剂辅料的拉曼光谱** 图1为20种辅料的拉曼光谱图。

**3.2 辅料不同的原研药与仿冒药鉴别** 仿冒药生产者首先会对原研药进行大量资料调研,而络活喜处方中所使用的辅料易于获取,不法分子通过化工厂购买原料药,再仿冒、甚至高价回收原研药的外包装盒,蒙骗消费者,给患者带来伤害。

从图2可见,B、C、D厂家的拉曼图谱与原研药A络活喜有较大区别,而E、F厂家与原研药较为相似。计算各厂家与辅料库光谱的相似度值,并在扣除片剂中API的特征峰后,根据特征峰查找各厂家药片中可能含有的辅料,按“2.4”项下方法进行分析。

如图2A所示,B厂家光谱与辅料库中磷酸氢钙的相似度为0.835 37(小于阈值0.9),采用特征峰查找为主要鉴别方法,B厂家药片主要特征峰为: $1\,381\text{ cm}^{-1}(\text{w})$ , $1\,124\text{ cm}^{-1}(\text{w})$ , $1\,094\text{ cm}^{-1}(\text{w})$ , $1\,059\text{ cm}^{-1}(\text{w})$ , $987\text{ cm}^{-1}(\text{vs})$ , $880\text{ cm}^{-1}(\text{w})$ , $523\text{ cm}^{-1}(\text{m})$ , $409\text{ cm}^{-1}(\text{m})$ , $381\text{ cm}^{-1}(\text{s})$ 和 $208\text{ cm}^{-1}(\text{w})$ ,而磷酸氢钙主要特征峰为: $1\,058\text{ cm}^{-1}(\text{w})$ , $987\text{ cm}^{-1}(\text{vs})$ , $879\text{ cm}^{-1}(\text{w})$ , $587\text{ cm}^{-1}(\text{w})$ , $523\text{ cm}^{-1}(\text{m})$ , $411\text{ cm}^{-1}(\text{m})$ , $380\text{ cm}^{-1}(\text{s})$ 和 $207\text{ cm}^{-1}(\text{w})$ ,两者主要特征峰强度及位置相一致的个数有7个,由此可判断B厂家样品含有磷酸氢钙。原研药络活喜中虽然含有磷酸氢钙,但是由于仿冒药厂家中含有大量磷酸氢钙,其拉曼光谱峰主要体现了磷酸氢钙的拉曼峰,由此能够鉴别B厂生产的是仿冒药。

由图2B可见,C厂家光谱与辅料库中乳糖的相似度为0.990 82,以相似度为主要鉴别方法,判断其中含有乳糖。同时,查找特征峰作为验证,C厂家的主要辅料特征峰为: $259\text{ cm}^{-1}(\text{w})$ , $358\text{ cm}^{-1}(\text{vs})$ , $378\text{ cm}^{-1}(\text{s})$ , $398\text{ cm}^{-1}(\text{w})$ , $478\text{ cm}^{-1}(\text{m})$ , $554\text{ cm}^{-1}(\text{w})$ , $852\text{ cm}^{-1}(\text{m})$ , $877\text{ cm}^{-1}(\text{m})$ , $916\text{ cm}^{-1}(\text{w})$ ,

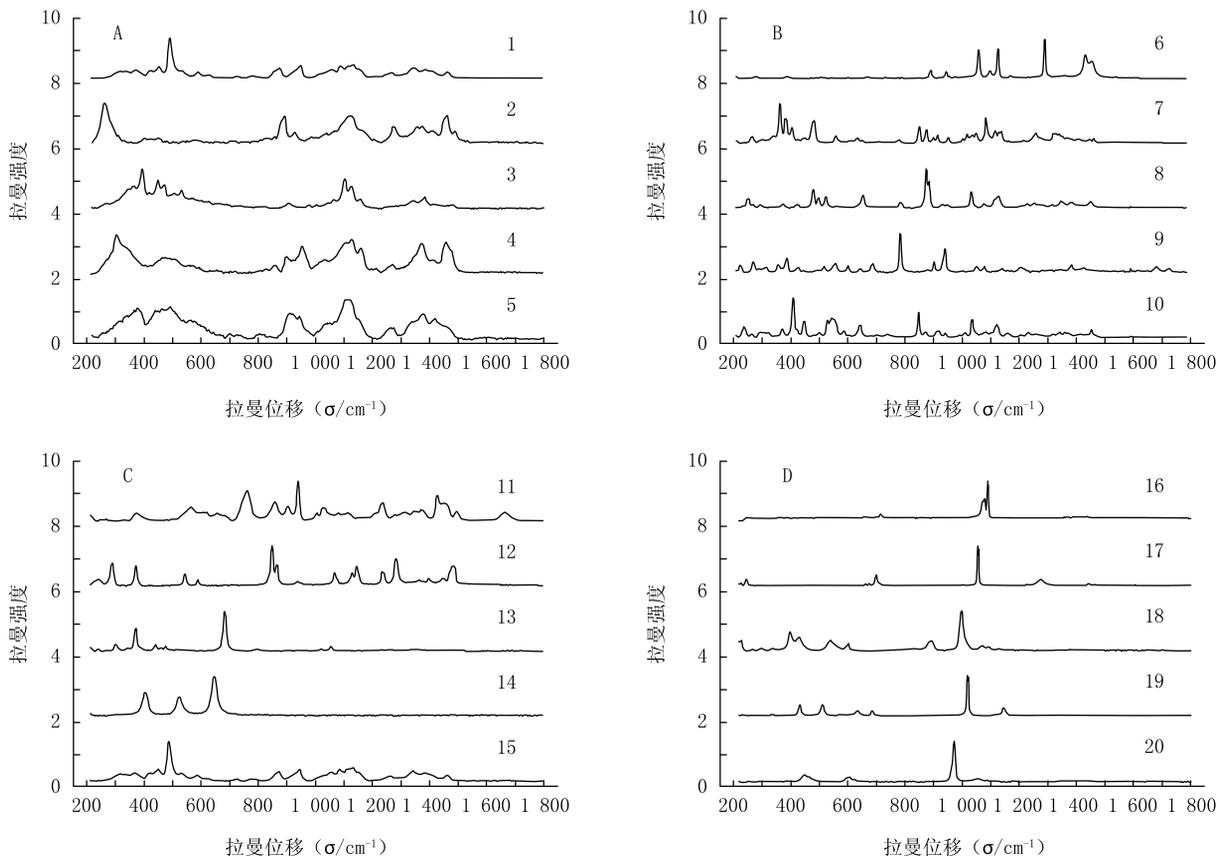


图1 20种常用片剂药用辅料拉曼光谱图

A: 1.淀粉; 2.乙基纤维素; 3.微晶纤维素; 4.羟丙甲纤维素; 5.羧甲基纤维素钠; B: 6.硬脂酸镁; 7.乳糖; 8.甘露醇; 9.枸橼酸; 10.蔗糖; C: 11.交联聚维酮; 12.聚乙二醇6000; 13.滑石粉; 14.氧化钛; 15.糊精; D: 16.无水碳酸钠; 17.碳酸氢钠; 18.磷酸氢钙; 19.硫酸钙; 20.磷酸三钙

$954\text{ cm}^{-1}$  (w),  $1\ 020\text{ cm}^{-1}$  (w),  $1\ 053\text{ cm}^{-1}$  (w),  $1\ 087\text{ cm}^{-1}$  (s),  $1\ 121\text{ cm}^{-1}$  (m)和  $1\ 263\text{ cm}^{-1}$  (w)。C厂家与药用辅料乳糖的特征峰强度及位置相一致的有10个,可判断其中含有乳糖,而原研药中不含乳糖,因此,判定C厂家生产的是仿冒药。

D厂家与辅料库中甘露醇的相似度值为0.8542(小于阈值0.9),以特征峰查找为主要鉴别方法。如图2C所示,D厂家主要辅料特征峰为  $369\text{ cm}^{-1}$  (w),  $478\text{ cm}^{-1}$  (m),  $518\text{ cm}^{-1}$  (m),  $788\text{ cm}^{-1}$  (w),  $850\text{ cm}^{-1}$  (m),  $875\text{ cm}^{-1}$  (vs),  $1\ 037\text{ cm}^{-1}$  (m),  $1\ 131\text{ cm}^{-1}$  (w),  $1\ 354\text{ cm}^{-1}$  (w)和  $1\ 460\text{ cm}^{-1}$  (w),查找特征峰发现主要辅料为甘露醇,辅料库中甘露醇的特征峰为  $244\text{ cm}^{-1}$  (w),  $288\text{ cm}^{-1}$  (w),  $369\text{ cm}^{-1}$  (w),  $477\text{ cm}^{-1}$  (s),  $494\text{ cm}^{-1}$  (w),  $789\text{ cm}^{-1}$  (w),  $876\text{ cm}^{-1}$  (vs),  $1\ 038\text{ cm}^{-1}$  (s)和  $1\ 135\text{ cm}^{-1}$  (w),D厂产品与甘露醇的特征峰强度及位置相一致的个数为6,可判断其中含有甘露醇。而原研药辅料中不含甘露醇,因此判定D厂家生产的是仿冒药。此方法的优势在于:通过一片药就可以将可疑样品与原研药加以鉴别,具有用

量较少、特征明显、容易鉴别的特点。

**3.3 辅料相似的原研药与仿冒药鉴别** E、F厂家样品的拉曼光谱与原研药较相似,按上述方法,原研药、E、F厂家与辅料库中微晶纤维素的相似度值分别为0.95427、0.95367、0.81824,结合查找特征峰,发现各厂家样品中均含有微晶纤维素(表1)。

表1 3个厂家样品和微晶纤维素的特征峰查找结果

样品	特征峰波数( $\sigma/\text{cm}^{-1}$ )及强度
A 络活喜	1 651 w; 1 378 m; 1 338 w; 1 121 s; 1 096 vs; 998 w; 900 w; 589 w; 519 w; 458 m; 435 s; 380 vs; 351 w
厂家E	1 650 w; 1 380 m; 1 340 w; 1 122 s; 1 096 vs; 1 055 w; 998 w; 898 w; 519 w; 436 s; 379 vs; 209 w
厂家F	1 652 w; 1 379 m; 1 338 w; 1 123 s; 1 095 vs; 998 w; 899 w; 588 w; 518 w; 433 s; 380 vs; 203 w
微晶纤维素	1 379 m; 1 338 w; 1 293 w; 1 120 s; 1 095 vs; 997 w; 898 w; 519 w; 458 m; 436 s; 380 vs

注:w:弱峰;m:中等强度峰;s:强峰;vs:较强峰

主成分分析(PCA)是一种数学降维技术,运用少数变量代替处理前的众多变量,尽可能表达原有

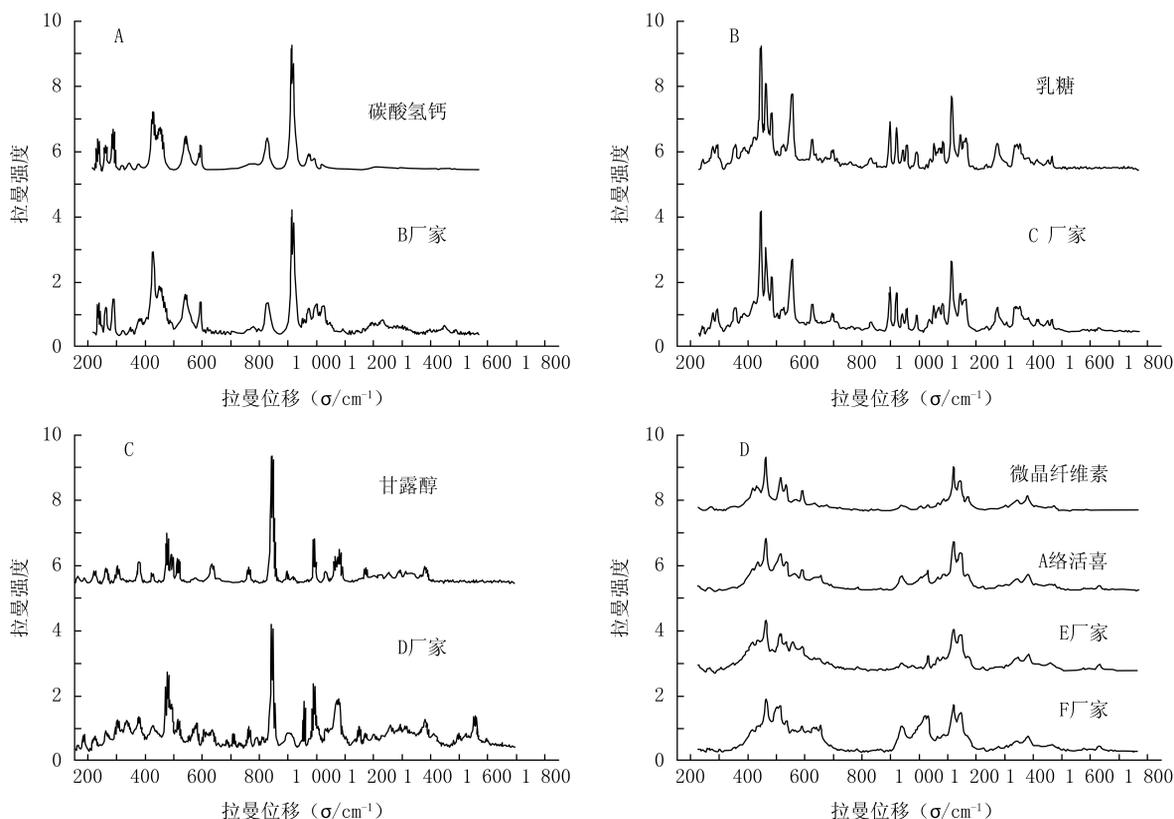


图2 各厂家苯磺酸氨氯地平片及其主要辅料的拉曼光谱图

信息,以达到提取特征信息的目的。应用 SIMCA-P 软件,得到2个主成分 PC1 和 PC2 的得分(图3),反映各样品的聚集程度<sup>[7]</sup>。本研究共收集原研药 A 络活喜 7 个批次, E 厂样品 7 个批次, F 厂样品 6 个批次,每批次样品采集 3 次,求得各批次的平均光谱。如图 3 所示,原研药的光谱能够较好地聚在一起, E、F 厂样品与原研药均有一定距离。

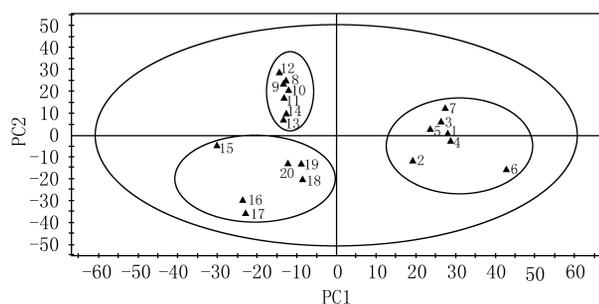


图3 PCA 分析络活喜与待检样品拉曼光谱的得分图  
1~7: E 厂样品; 8~14: 络活喜原研药; 15~20: F 厂样品

#### 4 结论

本研究针对“专业仿冒”——API 相同、生产工艺不同的一类仿冒药。建立基于辅料的仿冒药鉴别方法,能够提供部分内容物信息,结果快速、准确、可靠,可为快速鉴别仿冒药提供参考。

#### 【参考文献】

- [1] Dégardin K, Roggo Y, Margot P, *et al.* Understanding and fighting the medicine counterfeit market [J]. *J Pharm Biomed Anal.* 2014, 87:167-165.
- [2] International Medical Products Anti-Counterfeiting Taskforce (IMPACT). Counterfeit Drugs Kill! [EB/OL]. WHO, Geneva, Switzerland, 2008. [2012-12-07]. <http://www.who.int/impact/FinalBrochureWHA2008a.pdf>.
- [3] World Health Organization. Medicines: Spurious/Falsely Labeled/Falsified/Counterfeit (SFFC) medicines [EB/OL]. WHO, Geneva, Switzerland, 2010. [2011-03-24]. <http://www.who.int/medicines/services/counterfeit/en/>.
- [4] Rodomonte AL, Gaudiano MC, Antoniella E, *et al.* Counterfeit drugs detection by measurement of tablets and secondary packaging colour [J]. *J Pharm Biomed Anal.* 2010, 53 (2): 215-220.
- [5] Westenberger BJ, Ellison CD, Fussner AS, *et al.* Quality assessment of internet pharmaceutical products using traditional and non-traditional analytical technique [J]. *Int J Pharm.* 2006, 306(1-2): 56-70.
- [6] Al-Hussaini SR. Counterfeit captagon: an analytical study [J]. *Sci Just.* 1996, 36(3):139-142.
- [7] 阿基业. 代谢组学数据处理方法——主成分分析 [J]. *中国临床药理学与治疗学.* 2010, 15(5):481-489.

【收稿日期】 2014-07-09 【修回日期】 2015-01-14

【本文编辑】 李睿旻