

· 研究报告 ·

药物辅料中有毒掺杂物的拉曼/近红外光谱法检测灵敏度评价

张中湖¹, 李皓², 李军¹, 陆峰² (山东省食品药品检验研究院, 山东 济南 250101; 2. 第二军医大学药学院, 上海 200433)

[摘要] **目的** 建立常用药物辅料(甘油)中有毒掺杂物(二甘醇)的快速检测方法。**方法** 利用拉曼/近红外光谱法结合移动窗口相关系数法评价有毒掺杂物的检测灵敏度。**结果** 拉曼光谱下获得的检测灵敏度优于近红外光谱,同时移动窗口法可进一步提高检测灵敏度。**结论** 拉曼光谱法有望成为现场快速检测药物辅料中掺杂有毒物质的有效方法。

[关键词] 药物辅料;拉曼光谱法;近红外光谱法;灵敏度;移动窗口

[中图分类号] R927 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2015)05-0441-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2015.05.016

The sensitivity evaluation of Raman spectroscopy and near infrared spectroscopy ; in toxic adulterant detection of pharmaceutical excipient

ZHANG Zhonghu¹, LI Hao², LI Jun¹, LU Feng² (1. Shandong Institute for Food and Drug Control, Jinan 250101, China; 2. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To develop a rapid method for the detection of toxic adulterant (diethylene glycol) in pharmaceutical excipient (glycerol). **Method** The detection sensitivity of Raman / near infrared (NIR) spectroscopy combined with moving window correlation coefficient (MWCC) method was evaluated. **Results** The detection sensitivity of Raman spectroscopy was superior to that of NIR spectroscopy and with the assistance of MWCC method; the sensitivity had been further improved. **Conclusion** Raman spectroscopy has the potential to become the effective method in the on-site detection of toxic adulterant in pharmaceutical excipient.

[Key words] pharmaceutical excipient; Raman spectroscopy; near infrared (NIR) spectroscopy; sensitivity; moving window correlation coefficient (MWCC) method

近年来,一些药物辅料误用与掺杂事件的发生,如“齐二药”事件,对人们的健康和生命构成了相当大的威胁^[1,2]。因此,构成药物制剂重量的主体以及影响其功效和安全性的药物辅料再也不能被视为无毒性的辅助性材料。药物辅料的生产、使用、监管应该受到更多的重视,因此,研究药物辅料的质量检测方法具有明确的现实意义。

通常药品的分析方法包括化学法、光谱法、色谱法等。尽管色谱法如气相色谱法、高效液相色谱法^[3,4]的灵敏度高、准确性好,但这些方法耗时耗力,且并不能用于现场检测。而光谱法如近红外、红外、拉曼光谱法等,简单方便,非破坏性,是值得推荐

的替代方法。尤其是拉曼光谱法,借助于众多已经商品化的便携式拉曼光谱仪,已经广泛应用于药品检测、司法鉴定以及爆炸物检测等众多领域^[5,6]。2011年,FDA研究人员利用拉曼光谱法结合相关系数法^[7]对甘油/二甘醇、丙二醇/二甘醇体系进行了检测,计算了HQI值(相似度,用于衡量2张光谱间相似程度的指标,通常以0.95作为判别阈值),最终分别获得了18%及32%的灵敏度,即在上述两个二元体系中,二甘醇分别达到18%及32%才能检出。显然,这个灵敏度对实际药品而言还不足够。

为了进一步提高检测灵敏度,本研究试图在FDA研究人员所做工作的基础上,以常用药物辅料甘油及其可能掺杂的有毒物质二甘醇为研究对象,结合移动窗口相关系数法对药物辅料/有毒掺杂物体系的拉曼光谱特征区间进行了优化,同时与中国食品药品检定研究院推荐的近红外光谱方法的检测灵敏度进行了比较。

[基金项目] 科技部重大科学仪器设备开发专项(2012YQ180132)

[作者简介] 张中湖,副主任药师.研究方向:药品检验. Tel: 15969719370

[通讯作者] 陆峰,博士,教授,博士生导师.研究方向:药物质量信息学. E-mail: fenglufeng@hotmail.com

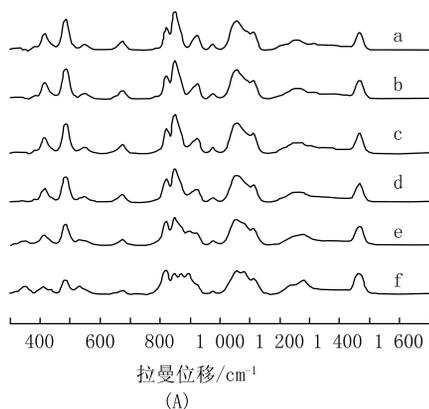
1 仪器与试药

便携式拉曼光谱仪(BWS415; B & W Tek, USA), 激发波长 785 nm, 分辨率 5 cm^{-1} ; 近红外光谱仪(Vector22/N, Bruker, Germany), 分辨率 4 cm^{-1} ; KQ-250DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。甘油、二甘醇(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

2 实验与方法

2.1 样品制备 采用重量法制备混合样品溶液(本文中出现的所有组成都以质量分数表示)。甘油/二甘醇体系中有毒掺杂物二甘醇的质量分数分别为 0%~100%, 间隔为 5%。所有制备的混合溶液, 需超声 30 min 以确保甘油与二甘醇完全混合。

2.2 数据预处理 包括平滑、基线校正、插值、一阶导数。所有的处理方法皆通过 Matlab 7.0 软件进



行, 其中平滑方法为 9 点 Savitzky-Golay 算法, 通过 airPLS 进行基线校正, 3 次样条函数进行插值。

2.3 HQI 计算 本文提到的 HQI 值通过以下公式进行计算:

$$\text{HQI} = \frac{(\text{Library} \cdot \text{Test})^2}{(\text{Library} \cdot \text{Library})(\text{Test} \cdot \text{Test})}$$

其中 Library 表示药物辅料的光谱而 Test 表示有毒掺杂物的光谱。HQI 被定义为药物辅料/有毒掺杂物光谱的相关系数的平方, 利用一个最小 HQI 阈值(通常为 0.95)去判断药物辅料中有毒掺杂物是否超标。

3 结果与分析

3.1 全光谱范围的 HQI 比较 我们对不同浓度的甘油/二甘醇溶液进行拉曼光谱以及近红外光谱的采集, 结果见图 1, 其所对应的二甘醇质量分数分别是 0%、5%、10%、15%、20%、35%。同时比较拉曼/

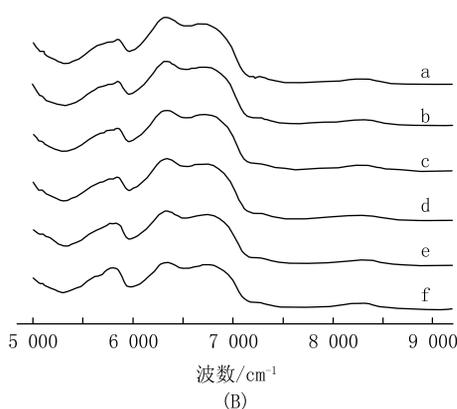


图 1 甘油/二甘醇混合溶液的拉曼光谱(A)、近红外光谱(B)

二甘醇的质量分数分别为:a. 0%; b. 5%; c. 10%; d. 15%; e. 20%; f. 35%

近红外光谱, 可见随着二甘醇质量分数的提高, 近红外光谱中的强度仅有小幅的下降, 而拉曼光谱却有大幅的下降, 以此说明该混合溶液对拉曼光谱响应较为敏感。同时, 我们又计算了混合溶液与纯甘油光谱的 HQI 值, 如表 1 所示(由于篇幅限制, 仅展示前 6 个 HQI 值)。可以发现, 在近红外光谱中, HQI 为 0.95 时其对应的二甘醇质量分数为 20%~35%; 而在拉曼光谱中 HQI 为 0.95 时, 其对应的二甘醇质量分数为 10%~15%。由此可见, 拉曼光谱获得的检测灵敏度确实高于近红外光谱(检测灵敏度与二甘醇掺杂的质量分数成负相关关系)。最终根据拟合获得 HQI 曲线(图 2), 我们可以得出近红外与拉曼光谱条件下得到的质量分数分别约为 20.5% 及 13.6%。后者与 FDA 研究人员得到的 HQI 值(18%)相比, 灵敏度有所提高, 可能缘于曲

线拟合以及实验误差。

表 1 甘油/二甘醇混合溶液的拉曼及近红外光谱(全光谱范围)下的 HQI 值

二甘醇质量分数(%)	拉曼光谱	近红外光谱
0.0	1.00	1.00
5.0	0.99	0.99
10.0	0.98	0.98
15.0	0.94	0.97
20.0	0.82	0.96
35.0	0.43	0.87

3.2 移动窗口的提出及优化后光谱范围的比较 Kim 等^[8]报道, 通过合适的光谱范围选择能够提高预测的选择性和准确性; 同时, 陆婉珍等^[9]利用近红

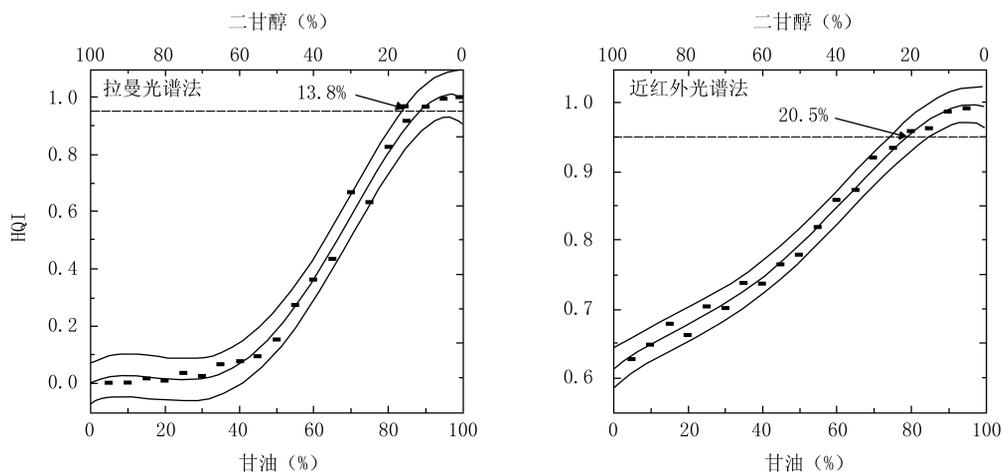


图2 甘油/二甘醇混合溶液的HQI曲线

拟合曲线基于95%的置信区间;图中的箭头所示的HQI值为0.95对应的检测灵敏度

外光谱法并结合移动窗口相关系数(MWCC)法准确地区分出高度相似的原由样品。因此,在本文中我们试图利用MWCC法对获取的拉曼光谱、近红外光谱进行特征区间的提取。因为窗口的大小是一个非常重要的计算参数,我们采用不同大小的窗口计算不同的灵敏度并最终从中选取最佳的窗口大小。表2呈现了一系列窗口大小计算的检测灵敏度。从表2可以看出,对近红外光谱而言,当窗口从100增大到300时,检测灵敏度有所下降,而大小为100、150、200的窗口表呈现出相近的灵敏度;对拉曼光谱而言,当窗口从100增大到500时,检测灵敏度变化不大。梁逸曾等^[10]报道小窗口往往能够提供更多的精确信息。因此,在本文中我们均采用100作为最佳的移动窗口大小。最终结果是,经过窗口大小选择与窗口移动,近红外光谱测得的二甘醇的最低质量分数由20.5%降低到17.9%;而拉曼光谱测得的二甘醇的质量分数由13.6%降低到

到8.2%。结果表明,对全光谱范围进行特征区间的提取后再进行HQI计算,可以提高甘油中二甘醇的检测灵敏度,且拉曼光谱法的检测效果稍优于近红外光谱法。

4 讨论

4.1 异常值的影响 一般来说,药物辅料在混合溶液中的质量分数越低,则该混合溶液与纯药物辅料的光谱差异越大,相应HQI值也越低,也就是说HQI曲线应该呈现如图3所示的趋势。然而,在甘油/二甘醇体系中,HQI曲线却出现了一些异常点。掺杂50%二甘醇的混合溶液的HQI值(0.747)高于掺杂45%二甘醇的混合溶液(0.702);同时,这种异常也体现于掺杂55%与60%的二甘醇的混合溶液。原因可能是这几种质量分数均在50%左右,也即甘油与二甘醇的质量比约为1:1,由于两者的分子结构比较相似,此时二者分子间的相互作用达到最强,从而导致了HQI曲线上异常点的出现。好在因为HQI值0.95对应的掺杂质量分数远远小于50%(<20%),这几个异常点的出现并未影响最终的检测结果。

4.2 定量及灵敏度评估 Ruzicka等^[11]利用拉曼光谱定量分析了甘油/二甘醇体系,得到的二甘醇的检测限为0.32%,远小于本文中得到的8%的检测限。然而在该论文中,需要先对有毒掺杂物进行定性鉴别,再建立并验证定量分析模型,相对烦琐、耗时。相比较而言,本文更多致力于近红外、拉曼光谱的灵敏度评价,而该方法是基于定性鉴别或者半定量分析,因此能够更简单、快速地提高药物辅料的检测灵敏度。

表2 拉曼光谱法和近红外光谱法下不同窗口大小及优化光谱区间测得的灵敏度

	窗口大小	光谱范围 (cm ⁻¹)	灵敏度(二甘醇质量分数)
拉曼光谱	100	1171~1292	4%~8%
	200	1136~1296	4%~8%
	300	1131~1335	4%~8%
	400	1130~1383	4%~8%
	500	1130~1330	4%~8%
近红外光谱	100	5646~5877	4%~8%
	150	5689~5882	4%~8%
	200	5645~5879	4%~8%
	250	5597~5890	8%~10%
	300	5561~5883	8%~10%

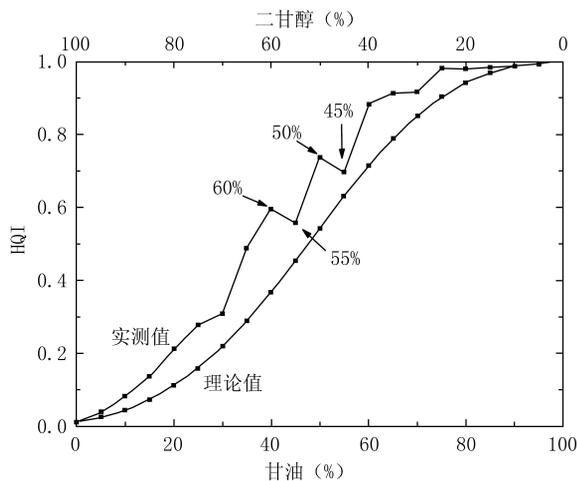


图3 甘油/二甘醇体系的HQI曲线

注:图示箭头表示的是二甘醇掺杂的质量分数

5 结论

拉曼光谱法结合优化光谱范围的移动窗口相关系数法成功地提高了药物辅料中有毒掺杂物的检测灵敏度,且优于近红外光谱的检测效果。在接下来的工作中,需要结合一些更先进的化学计量学方法,使该方法成长为现场快速检测药物辅料的备选方法。

【参考文献】

- [1] Khalique MA, Michael PM, Jean N, *et al.* Fourier transform infrared and near-infrared spectroscopic methods for the detection of toxic diethylene glycol (DEG) contaminant in glycerin based cough syrup[J]. *Spectrosc*, 2010, 24: 601-608.
- [2] Lin BL, Zhao ZX, Chong YT, *et al.* Venous diethylene glycol poisoning in patients with preexisting severe liver disease in China[J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14: 3236-3241.
- [3] Yua H, Cornettb C, Larsenb J, *et al.* Reaction between drug

substances and pharmaceutical excipients: formation of esters between cetirizine and polyols [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 53: 745-750.

- [4] Liltorp K, Larsenb TG, Willumsenb B, *et al.* Solid state compatibility studies with tablet excipients using non thermal methods[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, 55: 424-428.
 - [5] Ali EMA, Edwards HGM, Scowen IJ. *In-situ* detection of single particles of explosive on clothing with confocal Raman microscopy[J]. *Talanta*, 2009, 78: 1201-1203.
 - [6] Lyndgaard LB, van den BF, de Juan A. Quantification of paracetamol through tablet blister packages by Raman spectroscopy and multivariate curve resolution-alternating least squares[J]. *Chemom Intell Lab Syst*, 2013, 125: 58-66.
 - [7] Rodriguez JD, Westenberger BJ, Buhse LF, *et al.* Quantitative evaluation of the sensitivity of library-based Raman spectral correlation methods[J]. *Anal Chem*, 2011, 83: 4061-4067.
 - [8] Kim J, Hwang J, Chung H. Comparison of near-infrared and Raman spectroscopy for on-line monitoring of etchant solutions directly through a Teflon tube [J]. *Anal Chim Acta*, 2008, 629: 119-127.
 - [9] Chu XL, Xu YP, Tian SB, *et al.* Rapid identification and assay of crude oils based on moving-window correlation coefficient and near infrared spectral library [J]. *Chemom Intell Lab Syst*, 2011, 107: 44-49.
 - [10] Du YP, Liang YZ, Jiang JH, *et al.* Spectral regions selection to improve prediction ability of PLS models by changeable size moving window partial least squares and searching combination moving window partial least squares [J]. *Anal Chim Acta*, 2004, 501: 183-191.
 - [11] Ruzicka CMG, Arzhantsev S, Pelster LN, *et al.* Multivariate calibration and instrument standardization for the rapid detection of diethylene glycol in glycerin by Raman spectroscopy [J]. *Appl Spectrosc*, 2011, 65: 334-341.
- [收稿日期] 2015-05-29 [修回日期] 2015-07-26
[本文编辑] 顾文华

(上接第435页)

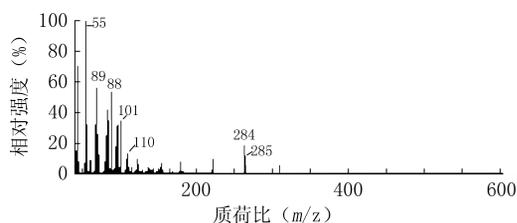


图3 反式油酸乙酯质谱图

血竭低极性部位检出的含量较高的 β -蒎烯的药理

活性研究甚少,有待进一步深入研究。

【参考文献】

- [1] 罗凡,侯炜.草血竭抗流感病毒的研究[J].*武汉大学学报(医学版)*,2006,27(1):72-73.
 - [2] 李文广,张小郁.草血竭抗肿瘤作用的实验研究[J].*中药药理和临床*,2001,17(6):31-32.
 - [3] 张小郁.草血竭提取物对胃肠功能的影响[J].*中药材*,2002,25(3):192-193.
- [收稿日期] 2014-08-23 [修回日期] 2014-11-07
[本文编辑] 顾文华