

近红外光谱在药学中的应用

艾立^{1,2}, 梁琼麟², 罗国安², 杨辉华², 王义明²

(1. 江西中医学院, 江西 南昌 330004; 2. 清华大学 化学系, 北京 100084)

摘要:概述了近红外光谱分析技术的原理、特点及其在药物原料、药物制剂分析、药物在线监测控制以及在中药领域的应用,并讨论了近红外光谱技术药物分析应用中存在的问题。

关键词:近红外光谱;化学计量学;药物分析;中药

中图分类号:R917

文献标识码:A

文章编号:1673-2197(2008)06-052-03

美国材料检测协会(ASTM)将近红外光谱区定义为波长780~2,526 nm的光谱区(波数为12,820~3,959 cm^{-1}),同时又将近红外区划分为近红外短波(780~1,100 nm)和近红外长波(1,100~2,526 nm)两个区域^[1]。

1 近红外光谱特点

近红外光谱主要是由于分子振动的非谐性使分子振动从基态向高能级跃迁时产生的。近红外光谱记录的是分子中单个化学键的基频振动的倍频和合频信息,主要是含氢基团C-H、O-H、N-H的伸缩振动的倍频吸收谱带及伸缩振动和摇摆振动的合频吸收。几乎包含了有机物中所有的含氢基团的信息,信息量简洁而又丰富。如图1所示为10味中药组成的腰痛宁胶囊原粉粉末的近红外光谱图。主要是通过透射光谱技术和反射光谱技术获得近红外光谱。通常依靠计算机软件校正基线背景或消除样品的基质或杂质的干扰,进行判别分析或建立标准曲线方程,适用于常规方法很难分析的样品。近几十年来,随着科技的飞速发展,近红外光谱法也得到了长足发展,在农业、食品、化学和石油都有应用。

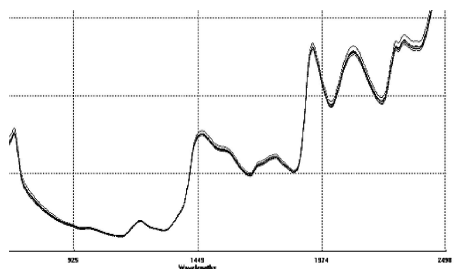


图1 腰痛宁胶囊原粉粉末近红外光谱

近红外在短短的几十年间,发展如此之快,主要是因为近红外光谱法对样品无损、可以在线快速检测。另外,经红外光程较长(780nm~2,526nm),可以测量块状、气体、粉末、液体等,但它是二级分析方法,其定量分析需依赖一套标准样品及标准参照方法,且需复杂的化学统计学的数据处理。本文主要就其在现代药学应用进行分析。

2 应用范围

近红外光谱法在药学领域中的应用范围相当广泛,它不仅适用于药物的多种不同状态如原料、片剂、胶囊以及液体等制剂的分析检测,还可用于不同类型的药品,如蛋白质、中药、抗生素等药物的分析。以及在线生产工艺的监控,包括混合、微波真空干燥、注射用产品灭菌、片剂的膜衣厚度等。还可进行产品的稳定性测定、安慰剂与活性成分的辨别等,根据应用范围利用不同的光纤探针可实现生产工艺在线分析监控。

2.1 药物原料的分析

人用药品注册技术规定国际协调会议(ICH)的指导原则里面明确指出鉴别实验的重要性,欧洲药典的2.2.40章节^[2]同样介绍了NIR方法应用于药物的定性分析。由于NIR方法需要的样品量很少,同时可控各药物成分(API)或辅料,使得其在药物原料分析中大放光彩,Rose用其开发的软件对大量结构相似的青霉素类药物,用NIRS加以区别和鉴定。

Mark等使用马氏距离分类技术对制药原料进行定性鉴别。Shah等则分别用马氏距离法和SIMCA法这两种分类方法对制药原料的近红外光谱进行分类。另外,原料药

收稿日期:2008-04-09

作者简介:艾立(1982~),男,江西新余人,江西中医学院和清华大学联合培养硕士研究生,主修中药方剂现代化研究;罗国安,男,清华大学教授,博士生导师。

的结晶状态、粒径和密度在制剂生产和控制主要活性成分的过程中非常重要,可用近红外光谱对原料药的不同物理性质进行检测。NIRS 可以对药物原料(主要是固体粉末)的多种物理性质包括晶粒大小、晶型^[3]、结晶度、表观密度和旋光性等进行全面的分析。

2.2 药物制剂的分析

FDA 的 Sherken 最早使用近红外光谱对片剂药物进行含量测定,他用近红外法测定一系列的甲丙氨酯标准溶液,并且建立了计算甲丙氨酯片含量的校对方程。后来 Zappala 等继续考察了近红外光谱法对片剂和缓释胶囊中甲丙氨酯的含量分析,并且对 Sherken 的方法作了改进。Corti 等在用近红外光谱分析胶质和粉末基质中酮替芬含量时,并分析了雷尼替丁片的含量。

另外,近红外光谱法在药物制剂的鉴别和分类中也多有应用,Sondermann^[4]在分析一种兴奋剂中,应用 NIR 分析鉴别出了苯丙胺等 3 种成分。国内在这方面这做出了很好的成绩,任玉林^[5]等对近红外在药品无损分析中的应用进行了研究。他们应用几种多变量统计分类技术,对磺胺噻唑、美迪康等粉末药品进行分析,成功地鉴别出合格药、劣药和假药。近红外光谱法能够很好的对药物中的水分进行检测。Beyer^[6]等应用 NIR 光谱法检测了药物辅料中的水分。Plugge 等^[7]运用基于双波长的简单多线性回归检测了氨苄西林三水合物中的水分,其校正曲线的精密度和线性关系和 Karl-Fisher 参照方法并无二样。NIR 方法在湿法制粒评价中也有诸多应用:例如在湿法制粒中预测加水量^[8],以及湿法制粒过程中在线检测湿度和确定湿度允许范围和终点判断。

2.3 药物在线监测控制的应用

近红外分析技术特别适宜于在线的过程控制分析,因为近红外光谱分析的特点就是操作简便、快速,无损样品进行原位测定,可不使用化学试剂,不必对样品进行预处理,可直接对颗粒状、固体状、糊状、不透明的样品进行分析。

2.3.1 粉末混合过程控制

药物中的活性成分和辅料的混合过程是固体制剂过程中至关重要的一个部分,未经混合均匀的粉末在后续的制剂过程中是不可能得到均一活性成分剂量的制剂,因此混合过程判断各成分的均一性非常值得研究。一般都是先从混料机中取出一部分样品进行 HPLC 或者 UV-vis 分析,从而检测其有效成分含量及其混合均匀性,从而把该数据与 NIR 光谱进行相关性建模。Sekulic^[9]等使用近红外光谱对粉末混合均匀性进行在线监测,混合物样品中含 10% 苯甲酸钠、39% 微晶纤维素、50% 乳糖和 1% 滑石粉。首先用近红外光谱仪收集样品的近红外光谱数据,然后用化学计量学软件对数据进行处理,结果表明,近红外光谱技术作为一种对药物混合均匀性在线分析方法是可行有效。

2.3.2 干燥过程控制

干燥是固体制剂生产过程中最普遍的单元操作之一,

湿度是干燥过程最关键的指标,通常采用湿化学方法在干燥终点对物料进行检测以判断是否达到要求。对冷冻干燥过程的监控主要是冻干产品残留水分的检测,以确定干燥终点。用光纤漫反射探针可以对安瓿内容物进行 1100~2500nm 波长范围透光率的扫描,而注射用冻干药物装于玻璃安瓿中。本法^[10]利用光纤探针可不必破坏安瓿进行水分的测定,因此可以进行冻干产品生产质量的在线控制。Jackie 等^[11]选用带光纤探针的近红外光谱仪,通过对终产物水含量的检测对微波真空干燥过程来监控干燥终点。

2.3.3 包衣过程控制

在线制药过程中,包衣一般都是制剂的最后一环节,同时也在整个过程中具有很重要的地位,它能确保制剂的完整性和好品质,如决定药物释放的稳定可靠。NIR 的漫反射光谱带光纤探头使用 PLS 模式可以对颗粒剂或片剂包衣层进行检测。Kirsch^[12]等发现片剂样品近红外光谱的变化与包衣的厚度之间存在相关性。他们在用乙基纤维素(EC)或羟丙基纤维素(HPMC)进行包衣的过程中,按一定的时间间隔取样,测定片剂样品的近红外光谱。采用二阶导数变换和多元散射校正两种方法对光谱进行处理,然后用主成分分析建立计算包衣厚度的校正模型。进一步测定样品的溶出度,考察包衣厚度与溶出度的相关性,从而更好地控制包衣制剂的质量,进行生产工艺的监控。

2.4 中药分析中的应用

中药现代化的“瓶颈”是对中药材原料和生产过程的质量控制,这是因为药材的内在质量决定疗效和安全性。应在基础研究的支持下,结合现代分析技术手段如 TLC、HPLC、HPLC/MS、GC、GC/MS、IR、NMR 及 X 射线分析等,建立能充分体现中药系统性、特征性和稳定性三个基本原则和指纹图谱体系,进而从根本上保证中药质量稳定,推动中药现代化进程。本文仅从 NIR 方面阐述在中药检测中的应用。

2.4.1 中药鉴定

应用 NIRS 分析技术不仅可以提高鉴定准确性,避免了主观因素对中药质量定性判别的影响,同时也解决了理化鉴别方法中需要对中药进行烦琐样品处理的问题。可以用 NIR 方法对中药进行真伪判别、种类的鉴别、产地分析等等。根据原始光谱图、一阶导数光谱图和二阶导数光谱图的峰位、峰数、峰强的差异,进行中药材的近红外光谱峰位鉴别,从而鉴别该药材的真伪,目前用此方法鉴别了丹参^[13]。高越等^[14]通过近红外漫反射光谱法对贝母药材进行了鉴别研究,采用了褶合变换-可视化-指纹图谱相似系数分析法将 5 种贝母之间的微小差异进一步扩大化,为 5 种贝母之间的鉴别提供了新的方法。

2.4.2 中药成分定量分析

周旻^[15]提出了用近红外光谱技术快速测定川产中药黄柏中指标成分小檗碱含量的方法。对小檗碱含量在 2.155%~8.245% 范围的不同来源的黄柏,根据其在 12,

500~3,600 cm^{-1} 的近红外吸收光谱,采用偏最小二乘算法(PLS)建立了校正模型,比较了光谱不同预处理方法对校正结果的影响。当采用二阶导数处理方法时能最有效地提取光谱的信息,此时校正集相关系数(r^2)为0.9221,校正集标准偏差(SEC)为0.337,预测集标准偏差(SEP)为0.251。该方法快速简便,适合于中药指标成分的快速分析。宋丽丽^[16]利用近红外光谱法对六味地黄丸模拟样品中熊果酸的含量进行测定,db4小波、偏最小二乘以及主成分分析-BP神经网络法对熊果酸含量预测回收率分别为100.1%,100.7%,100.6%。虞科等^[17]将NIRS技术应用于中成药的定量分析,运用偏最小二乘法建立NIRS与HPLC分析值之间的多元校正模型,对未知样品进行含量预测,结果准确可靠,建立了近红外漫反射光谱快速测定复方丹参滴丸有效成分的新方法,说明此方法可推广应用于中药复方制剂有效成分的快速检测。

2.4.3 中药混合过程控制

中成药组方、成分复杂,生产要求混合均匀,否则不仅影响产品外观,更重要的是对安全用药与疗效的影响。有些药品疗效不够稳定,除了组方及疾病因素外,与产品在生产过程中混合不均也有很大的关系。药物混合均匀度是中药生产过程质量控制的关键环节之一。徐晓杰^[18]等利用偏最小二乘、主成分分析-BP神经网络、小波变换-BP神经网络对模拟样品数据进行处理,对六味地黄丸生产粉末混合过程进行质量控制研究,结果表明偏最小二乘数据处理可以满足药品生产过程中粉末混合均匀度测定的要求。马群^[19]等采集安宫牛黄丸原粉不同点的近红外光谱(NIRS),并对光谱进行相似度计算,比较相似度和均匀度之间的关系,发现原料不同点近红外光谱的相似度能够反映其均匀度。可以用该方法来控制安宫牛黄丸原料的均匀度,并为利用NIRS技术对中药材原粉的均匀度测量和对中成药原粉产品的质量控制提供基础依据。

3 问题与展望

目前,NIRS技术在药物分析领域中越来越引起人们的关注,呈现出有望应用于解决药物质量快速检测难题的光明前景。由于该项分析技术需要通过建立校正模型才能实现对未知样品的定性定量分析。特别是鉴于中药是一个复杂的混合物,其吸收光谱是所含各化合物吸收光谱的叠加,具有难以解析的复杂性,加之大多数药材的主体成分相似,图谱又具有一定的相似性,这使得建模方法学成为近红外光谱技术用于药物分析的关键和研究前沿。还有如何利用近红外的特殊优势,运用到药物特别是中药的大规模生产线上,罗国安^[20]等对此提出了中药生产智能控制系统集成NIR在线检测的理念,实现对药物的内在质量进行实时监控。并且,近红外光谱技术已得到药品质量管理部门如美国FDA和加拿大卫生部的重视,近红外光谱技术在药学方面的应用受到了越来越多的关注。

参考文献:

- [1] Gao R Q, Fan S F. J. Anal[J]. Appar, 2002, (3): 9~12.
- [2] Council of Europe (COE). European Pharmacopoeia, 6th ed[M]. European Directorate for the Quality of Medicines. Council of Europe, 2006.
- [3] M. Blanco, D. Valdes, M. S. Bayod, F. Fernandez-Mari, I. Llorente, Anal[J]. Chim. Acta, 2004 (502) 221~227.
- [4] N. Sondermann, K.-A. Kovar, Foren. Sci[J]. Int, 1999 (102) 133~147.
- [5] 任玉林. 主成分分析-近红外漫反射光谱法对去痛片的非破坏性分析[J]. 计算机与应用化学, 1997(3) 191~196.
- [6] J. Beyerand, K. J. Steffens, Pharm[J]. Ind, 2003 (65): 186~192.
- [7] W. Plugge, C. Van Der Vlies, J. Pharm. Biomed[J]. Anal, 1993 (11): 435~442.
- [8] A. Miwa, T. Yajima, S. Itai, Int. J [J]. Pharm, 2000 (195): 81~89.
- [9] S. Sonja Sekulic, John Wakeman, J. Pharm. Biomed[J]. Anal, 1998 (17): 1285~1309.
- [10] Jones JA, Last IR, MacDonald et al. J. Pharm. Biom[J]. Anal, 1993; (11/12): 1227.
- [11] White J G. On-line moisture detection for a microwave vacuum dryer[J]. pharm Res, 1994, 11(5): 728.
- [12] John D. Kirsch, James K. Drennen J. Pharm. Biomed[J]. Anal, 1999 (19): 351~362.
- [13] 刘荔荔, 李力. 不同种丹参药材的近红外漫反射光谱模式识别法鉴别[J]. 药学服务与研究, 2002 (1): 23~25.
- [14] 高越, 柴逸峰, 吴玉田. 近红外漫反射光谱法鉴别贝母药材的研究[J]. 中成药, 2005 (12): 1440~1443.
- [15] 周旻, 王天志, 叶利明, 等. 近红外漫反射光谱法测定产葱柏中小檗碱含量[J]. 光谱学与光谱分析, 2007 (8): 1527~1530.
- [16] 宋丽丽, 范丙义, 徐晓杰, 等. 近红外光谱法用于六味地黄丸模拟样品中熊果酸的含量测定[J]. 中国中药, 2006 (10): 1590~1593.
- [17] 虞科, 胡楚楚, 程翼宇, 等. 近红外光谱法测定复方丹参滴丸中的3种有效成分[J]. 中国药学, 2006 (3): 226~229.
- [18] 徐晓杰, 宋丽丽, 朱新科, 等[J]. 中国现代应用药学, 2006 (23): 644~646.
- [19] 马群, 乔延江, 郝贵奇, 等. 近红外光谱法结合支持向量机测定天然牛葱粉中人工牛黄的掺入量[J]. 北京中医药大学学报, 2006 (29): 854~859.
- [20] 罗国安, 杨辉华, 王勇, 等[J]. 当代中国近红外光谱技术[J]. 北京: 中国石化出版社, 2006. 47~53.

(责任编辑:王尚勇)