

近红外光谱法快速检测肾上腺色腺片品质的应用研究^{*}

李明梅¹, 袁兰兰¹, 王梅娟² (1. 盐城卫生职业技术学院, 江苏盐城 224005; 2. 江苏省盐城市药品检验所 224002)

【摘要】 目的 建立肾上腺色腺片近红外光谱技术的品牌判别模型, 以打击假冒伪劣品。**方法** 在 Opus Setup Conformity Test 模块中, 建模参数: 波段: 9 000~7 500、6 900~5 600、5 000~4 250/cm, 一致性指数(CI)值为 7, 平滑点为 13, 预处理方法为二阶导数+矢量归一。通过以上参数, 数据前处理后建立近红外一致性模型。**结果** 江苏亚邦爱普森药业有限公司的调入 12 张验证肾上腺色腺片光谱均在 CI 值为 7 的限度范围内, 而 2 批假冒的药品光谱均不在模型设定的 CI 值范围内。**结论** 该方法建立的品牌模型, 能快速鉴别该品牌药品的真伪, 并可应用于日常监督中的药品初筛, 以提高抽样命中率。

【关键词】 近红外光谱法; 定性模型; 肾上腺色腺片

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2015. 21. 014 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)21-3167-02

Study on application of rapid detection for quality of Carbazochrome Tablets by near infrared spectroscopy^{*} LI Ming-mei¹, QIU Lan-lan¹, WANG Mei-juan² (1. Yancheng Health Vocational and Technical College, Yancheng, Jiangsu 224005, China; 2. Yancheng Municipal Institute for Drug Control, Yancheng, Jiangsu 224002, China)

【Abstract】 Objective To establish the brand discrimination model of near infrared technology for Carbazochrome Tablets in order to attack the counterfeit products. **Methods** In the module of Opus Setup Conformity Test, the model-building parameters: the waveband was at the 9 000—7 500, 6 900—5 600 and 5 000—4 250/cm, the CI value was 7, the smooth point was 13, the pre-processing method was second derivative plus vector normalization. The near infrared consistency model was established after the data pretreatment through the above parameters. **Results** 12 pieces of spectrum for verifying Carbazochrome Tablets from Jiangsu Yabang Apusen Pharmaceutical Co., Ltd. were all within the limitation range of CI value 7, while the spectrum of 2 batches of counterfeit product exceeded the CI limit. **Conclusion** The brand model established by this method can rapidly identify the authenticity of this brand of drug, and can be used for the preliminary screening of drugs in the daily surveillance work in order to increase the sampling hit rate.

【Key words】 near infrared spectroscopy; qualitative model; Carbazochrome Tablets

肾上腺色腺片是一种良好的止血药物, 该药能够有效提高毛细血管对病理损伤的免疫抵抗能力, 适合应用于毛细血管损伤所引起的出血、血小板减少性紫癜等疾病。肾上腺色腺片可作用于因为血管通透性增加、毛细血管受损所引起的出血症状, 具有良好的疗效, 以其在出血方面的治疗好且毒性低而得以广泛应用。因此对其质量控制显得尤为重要。在《卫生部药品标准》中指出化学药品、制剂的检验标准, 通过分光光度法对肾上腺色腺片的浓度进行检测, 因为肾上腺色腺片的片型比较小, 去糖衣的操作较为繁琐, 容易造成不可避免的损失, 而且浪费时间。传统的检测方法操作周期长, 过程复杂, 不能作为快速检测的方法。近红外光谱指的是波长长度介于可见区与中红外区之间的一种电磁波, 波长范围为 780~2 525 nm。近红外光谱获得的信息通常是分子内部具有按集团震动的合频、倍频吸收, 具有非常丰富的化学信息量。因为绝大部分有机物本身含有该类基团, 所以近红外光谱分析技术具有更加广泛的应用前景。相比以往传统的方法, 近红外光谱分析法具有快速、样品预处理简单、可多组分同时测定、环保、易于实现在线检测等优

点^[1-3], 已经被广泛应用于食品、农业、医药等多个领域中^[4-8]。本法能快速有效地控制肾上腺色腺片的质量。

1 材料与方法

1.1 仪器 仪器型号: Matrix-F 型傅立叶变换近红外光谱仪, 仪器号分别为 BRUKER Matrix-SFDA 10059563 (盐城)、BRUKER Matrix-SFDA 10059561 (南通)、BRUKER Matrix-SFDA 10029302 (泰州)。INGAAS 检测器、手拿光纤探头 (德国 BRUKER 公司)。Agilent 高效液相色谱仪 (Opus 5.0 光谱工作站, 美国 Agilent 公司)。

1.2 样品 江苏亚邦爱普森药业有限公司肾上腺色腺片一共 12 批, 编号为 1~12, 批号分别为 130101、130201、130215、130318、130319、130317、130311、130412、130413、130515、131213、131216。假冒的产品共有 2 个批次, 编号 13 及 14, 批号为 130321、120917。

1.3 方法

1.3.1 样品的准备与制作工作 取本品 6 片 (每批取 6 片), 用细砂纸打磨去糖衣至表面平滑, 即得。

^{*} 基金项目: 江苏省盐城市医学科技发展计划项目 (YK2014059)。

作者简介: 李明梅, 女, 副教授, 本科, 主要从事化学分析和药物分析的教学及研究工作。

1.3.2 近红外光谱的采集与处理 取上述 1.3.1 样品制备的研究样品进行光谱测定,测试条件:分辨率:8/cm;样品累积扫描次数:32 Scans;背景累积扫描次数:32 Scans;光谱范围:12 000~4 000/cm。光谱测定:每批次测定 6 张光谱,分别在 3 台仪器上测定,共 18 张原始光谱。测试方式为:直接接触测,环境条件为:温度 25 ℃,湿度 45%。三波段(9 000~7 500、6 900~5 600、5 000~4 250/cm)一阶导数化点平滑^[3]。

1.3.3 样品的鉴别 以 11、13、14 三个批号编号的样品,根据国际标准的肾上腺色胺片鉴别项的方法^[9]。(1)取本品 5 mg,加醋酸 2 mL 溶解后,溶液应显橙红色,加锌粉少许,颜色即消失。(2)取本品约 1 mg,加水 10 mL 与三氯化铁试剂数滴,溶液显血红色。(3)取本品约 10 mg,加苯胺 1 mL,小心加热,煮沸时发生的气体能使湿润的红色石蕊试纸变为蓝色。按上述 3 种鉴别方法检查,其中编号为 11 的样品鉴别呈正反,编号为 13、14 的样品的鉴别均不呈正反。

1.3.4 建立一致性检验模型进行筛查 取江苏亚邦爱普森药业有限公司的 12 批肾上腺色胺片(编号 1~12)的近红外光谱图作参考图谱^[3],在 Opus 的一致性检验模型设置模块,Opus Setup Conformity Test 模块中,建模参数为波段:9 000~7 500、6 900~5 600、5 000~4 250/cm,一致性指数(CI)值为 7,平滑点为 13,预处理方法为二阶导数+矢量归一,构建近红外一致性检验的模型。同时,取江苏亚邦爱普森药业有限公司的样品正品,11、12 两种编号,假冒的编号 13、14 样品,对模型进行验证。

1.3.5 模型耐用性验证 取在不同型号的 3 台近红外仪器上,在条件不同的情况下,验证光谱为泰州近红外光谱。在不同温度、不同湿度、不同操作人员等条件下,对光谱进行测定,在 CI 限值之下进行计算。

2 结 果

2.1 正品、假冒品的近红外光扫描谱图的区别 样品 1~12 的近红外光谱波数范围 12 000~4 000/cm,运用 OPUS 软件,对正品及假冒品进行对比分析,两者间的曲线区别非常大,假冒品在 8 010~6 050/cm。正品波数范围在 9 000~4 200/cm。把两者的近红外原始图谱进行一阶求导+矢量归一。

2.2 一致性检验模型的筛查结果 从图 1 上可看出,正品标样的值在 CI 值为 7 的限值内,假冒样品则不在 CI 值的限值范围内。

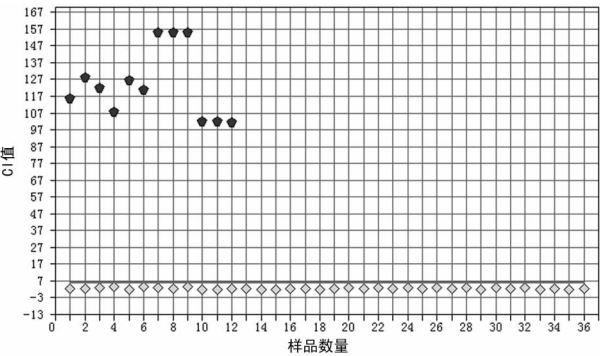


图 1 一致性检验模型的检验结果

2.3 模型耐用性验证 模型耐用性验证结果,说明所建近红外一致性模型的耐用性很好,人为因素对于模型不会产生过

大的影响。见图 2。

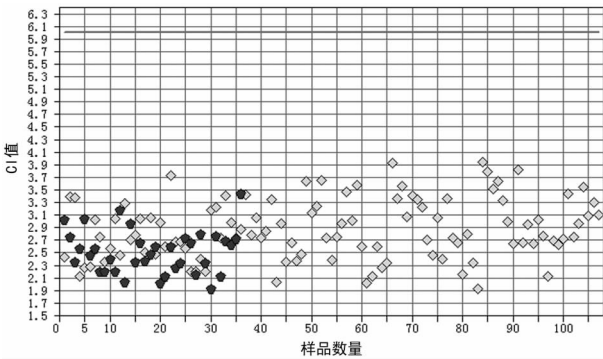


图 2 耐用性试验 CI 示意图

3 讨 论

近红外光谱技术是现代科技的一种高效、快速的分析技术,是综合运用了化学计量学、光谱技术及计算机技术等多种学科的一项最新研究成果。由 20 世纪 80 年代开始,随着化学计量学、计算机技术的不断进步,近红外光谱已经在不同领域中广泛应用。同时,该项技术已经逐渐获得了社会的普遍肯定、官方的认可。近红外光谱分析技术最近几年在药品的快速鉴别上得以广泛应用,例如石油化工、高分子、食品工业、制药工业等领域,其具有操作方便、不需要预处理、无污染、分析成本较低、非破坏性、分析效率较高及分析速度快等多种优点,具体内容如下:(1)分析速度快,光谱的测量过程通常可在 1~2 min 内完成,利用建立的定标模型能够快速检测获得样品的化学成分、性质。(2)分辨率较高,利用 1 张光谱的测量与已经建立的多个不同定标模型,能够对样品的各种成分、性质进行具体测定。(3)非破坏性分析技术,近红外光谱检测期间不会对样品造成损伤,从外观至内部均不会对样品造成任何影响,鉴于这一特点此项技术在活体分析与药物临床应用领域均得到了广泛的应用。(4)在样品分析期间,不会对样品本身产生消耗,不需要应用任何化学试剂,明显减少了分析的成本费用,同时对环境不会产生任何污染,是一种非常绿色环保的分析技术。(5)样品通常不需要预处理,操作非常简便,因为近红外光具有很强的穿透能力、散射效应,结合样品的物态、透光能力的强弱,可适当选择漫反射及透射测谱方式,利用相应的载样器件能够直接检测胶状类、半固体、固体及液体等不同物态的样品。(6)测试重现性良好,因为近红外光谱检测的稳定性较好,检测结果几乎不会受到人为因素的影响,相比参考或标准的方法,近红外光谱通常可以体现更好的重现性。(7)有利于在线分析的实现,因为近红外光谱在光纤中具有非常良好的传输特性,利用光纤能够让仪器远离采样现场,更适合应用于生产过程、危险、恶劣环境条件下的样品分析,实现远程监控、在线分析^[9]。本研究结果证明,此药品构建的近红外一致性模型可靠、具有专一性,本研究建立的定性模型只适合江苏亚邦爱普森药业有限公司生产的肾上腺色胺片。此法易收集样品的正品,可快速构建一致性近红外模型,可对市场上出现的假冒药品进行监控。同时对生产企业的处方工艺具有监督作用。假若让此模型覆盖其他厂家的产品,需要定期、定量收集各地厂家的样品进行规模式的建模。(下转第 3171 页)

脏的各个部分进行活检,诊断存在一定局限性^[6]。所以研究出准确且重复性较强、对患者无损伤的诊断慢性肝病肝纤维化的检查方法至关重要。

MRI 被认为是反映组织器官早期病理变化最为敏感的标志,常规 MRI 扫描中 T₂ 值的变化直接反映出组织器官结构和氢质子含量的改变;在肝脏受到慢性损害后,肝细胞发生脂肪变性,使肝脏组织中含水量增加, T₂ 值延长^[7]。MRI T₂Map 是通过描述组织横向磁化衰减来反映组织特性;近来它作为无创技术在国内外广泛用于软骨成像的研究, T₂ 弛豫出现在 GRE 序列中,是许多 MRI 技术的基础。由于组织中各种物质的磁敏感性不同造成磁场不均匀性,引起 T₂ 弛豫,弛豫速度的差别使 T₂ 值可以反映组织内磁敏感性的改变,有可能为诊断慢性肝病、肝纤维化提供更有效的信息,达到量化肝组织内结构改变和物质代谢改变的目的^[8]。本组中,对照组和观察组中不同炎症活动分期和纤维化分期、病情轻重的磁共振成像 T₂ 值的差异明显,观察组中炎症活动分期和纤维化分期级别越高,病情越重, T₂ 值越高; T₂ 值与病理诊断结果呈明显的正相关。

DWI 是通过水分子的布朗运动对病变组织进行分析,是一种无创的检查方法,通过测量 ADC 值对肝脏组织进行量化分析。大量临床研究发现,慢性肝病患者由于肝脏不同程度纤维化,大量纤维和细胞外基质的沉积使水分子不能正常扩散,因此 ADC 值降低^[9]。本组研究中,对照组和观察组中不同炎症活动分期和纤维化分期、病情轻重的 ADC 值的差异明显,观察组中炎症活动分期和纤维化分期级别越高,病情越重, ADC 数值越低; ADC 值与病理诊断结果呈明显的负相关。而且临床上很多研究也表明,在肝脏发生弥漫性病变时,肝脏组织的 ADC 值明显低于正常肝组织。而且随着纤维化程度的加重和临床分期的升高,细胞外基质中胶原纤维沉积越多, ADC 值下降越明显,这与本组研究得出的结论基本一致。

本组研究认为慢性肝炎、肝纤维化时,肝细胞受损后炎症浸润、水样变性、脂肪变性、胶原纤维沉积、铁沉积等引起肝组织内磁敏感性改变,造成磁场不均匀,引起 T₂ 弛豫速度改变;本组研究以肝穿刺病理对照为金标准,通过 T₂ 值定量分析肝组织成分改变,评价慢性肝病不同发展阶段,并与 ADC 值进行比较,以期临床提供无创、快捷、价廉、准确的定量诊断方法,为临床对慢性肝病抗病毒、抗纤维化药物治疗的评估提供

辅助手段^[10]。

总之, MRI T₂ 值和 ADC 值能够较早评估慢性肝病的纤维化分期和炎症活动度,为临床提供无创、快捷、价廉、准确的定量诊断方法,可作为慢性肝病抗病毒、抗纤维化药物治疗的辅助评估手段。

参考文献

- [1] 陈晓丽,李杭,陈天武. 肝纤维化的磁共振定量诊断与分期研究进展[J]. 国际医学放射学杂志, 2013, 36(6): 545-549.
- [2] 陈伟,周胜利. DWI 在食管癌定量及定期诊断中的价值[J]. 临床放射学杂志, 2014, 33(3): 388-393.
- [3] 李秋菊,赵周社,于兵,等. 磁共振扩散加权成像在肝纤维化中的应用进展[J]. 中国临床医学影像杂志, 2014, 25(7): 502-506.
- [4] 王梅,张龙江,卢光明. 肝硬化相关结节的 MRI 研究与进展[J]. 国际医学放射学杂志, 2012, 35(5): 437-442.
- [5] 单崴,陈思争. ADC 在肝纤维化患者诊断中的应用价值研究(附 56 例报告)[J]. 医学影像学杂志, 2014, 24(7): 1172-1174.
- [6] 莫旭林,刘彪,黄波,等. 磁共振弥散加权成像 ADC 值和骨髓对比率对脊椎转移瘤的诊断价值[J]. 临床医学, 2014, 34(10): 104-105.
- [7] 崔航,来颖,刘云霞,等. 多回波 GRE-T₂* 序列诊断肝细胞癌的可行性研究[J]. 中国实验诊断学, 2012, 16(3): 484-486.
- [8] 张小彪,马菁,郭玉林,等. 3.0 T 磁共振对肝硬化背景上小肝癌检出的价值[J]. 临床放射学杂志, 2014, 33(8): 1193-1197.
- [9] 高希春,陆文杰,刘昊元,等. 磁共振 3 种 T₂ 加权成像序列在胃癌中的成像质量对比[J]. 中国临床研究, 2014, 27(9): 1038-1041.
- [10] 刘玲峰,陆海英,于岩岩,等. FibroScan 检测与超声检查对肝纤维化程度诊断价值的对比分析[J]. 临床肝胆病杂志, 2014, 30(10): 1045-1049.

(收稿日期: 2015-02-25 修回日期: 2015-06-21)

(上接第 3168 页)

参考文献

- [1] 褚小立. 化学计量学方法与分子光谱分析技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2011: 95-104.
- [2] 褚小立,陆婉珍. 近五年我国近红外光谱分析技术研究与应用进展[J]. 光谱学与光谱分析, 2014, 34(10): 2595-2605.
- [3] 陈慧真,夏正燕. 基于近红外光谱技术的蜂胶总黄酮含量分析[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(10): 1868-1894.
- [4] 杨建松,孟庆翔,任丽萍,等. 近红外光谱法快速评定牛肉品质[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(3): 685-687.
- [5] 王徽蓉,李卫军,刘沈阳,等. 基于遗传算法与线性鉴别的近红外光谱玉米品种鉴别研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(3): 669-672.

- [6] 蔡佳良,郭念欣,黄洁燕,等. 运用近红外光谱法建立广藿香中百秋李醇的定量模型[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(14): 2113.
- [7] 张锐,尹利辉,金少鸿,等. 5 种近红外光谱仪采集药品光谱的一致性检验[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(6): 1067-1071.
- [8] 左登平. 利用 NIR 技术建立阿莫西林克拉维酸钾颗粒一致性对比模型的研究[J]. 黑龙江医药, 2014, 27(5): 1044-1046.
- [9] 张学博,尹利辉. 近红外光谱一致性检验方法用于快速判断药品质量的研究[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(3): 603-608.

(收稿日期: 2015-01-25 修回日期: 2015-05-15)