

近红外光谱法测定头孢氨苄颗粒含量

牛冲, 杨娜, 李玉杰, 赵海云, 于明艳, 凌霄* (山东省食品药品检验所, 济南 250101)

摘要: 目的 建立测定头孢氨苄颗粒含量的近红外光谱(NIR)快速分析方法。方法 以全国不同企业生产的 187 批头孢氨苄颗粒样品采集近红外光谱, 分别建立校正集和检验集, 校正集经内部交叉验证, 建立校正模型, 对检验集的样品进行分析。结果 头孢氨苄颗粒的浓度为 $0.042\ 0\text{--}0.138\ 0\ \text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}$, 内部交叉验证决定系数(R^2)为 98.84, 内部交叉验证均方差(RMSECV)为 0.003, 外部验证预测均方差(RMSEP)为 0.003, 预测值与真值的相关系数为 0.995 0。结论 所建方法快速、简便、结果准确, 可用于头孢氨苄颗粒的快速定量检验。

关键词: 近红外光谱; 头孢氨苄; 颗粒; 快速分析

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)07-0874-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.07.028

Rapid Determination of Cefalexin Granules by NIR

NIU Chong, YANG Na, LI Yujie, ZHAO Haiyun, YU Mingyan, LING Xiao* (*Shandong Institute for Food and Drug Control, Jinan 250101, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a NIR method for rapid determination of Cefalexin granules. **METHODS** The NIR spectra of 187 batches of Cefalexin granules from different pharmaceutical manufacturers were collected, 94 spectra of them were used as the calibration set and the rest 93 spectra as the validation set. The quantitative model was set up and applied to predict the validation set and detect the samples. **RESULTS** For the quantitative determination, the concentration range of cephalixin was $0.042\ 0\text{--}0.138\ 0\ \text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}$. The determination coefficients (R^2) of the cross validation was 98.84, the true mean predictive error of root meansquare error of cross validation (RMSECV) was 0.003. The mean prediction error of root mean square error of prediction (RESEP) was 0.003, the correlation coefficient of the true value and prediction value was 0.995 0. **CONCLUSION** The method is simple, rapid and accurate, and can be applied to drug rapid determination.

KEY WORDS: NIR; cephalixin; granules; rapid determination

近红外光谱(NIR)的波长范围为 $780\sim2\ 526\ \text{nm}$ ($12\ 820\sim3\ 959\ \text{cm}^{-1}$), 该区域主要是 O-H、N-H、C-H 及 S-H 等含氢基团振动光谱的倍频和合频吸收, 其谱带宽、重叠严重、信号吸收弱, 图谱解析复杂, 随着计算机技术及化学计量学的发展, NIR 由于具有预处理简单, 测试速度快, 适合在线、现场分析

等特点已经广泛应用到药物的快速鉴别中^[1-4]。

头孢氨苄颗粒临床用药范围广, 主要用于治疗呼吸道感染、尿路感染和皮肤软组织感染等。中国药典 2010 年版采用 HPLC 测定其含量。以往的工作中, 笔者建立了头孢氨苄片 NIR 定量分析方法^[5], 本实验在头孢氨苄颗粒国家评价性抽验工

作者简介: 牛冲, 男, 硕士, 主管药师 Tel: (0531)81216550
Tel: (0531)81216551 E-mail: xiaol6551@126.com

E-mail: ncmilan@126.com

*通信作者: 凌霄, 女, 博士, 副主任药师

作基础上,利用 NIR 建立通用性的定量模型,补充完善了头孢氨苄系列制剂的快速分析方法。

1 仪器与试剂

Matrix-F 型近红外光谱仪(Bruker 公司); LC-20At 高效液相色谱仪(日本岛津); Extend C₁₈ 色谱柱(美国 Agilent 公司)。头孢氨苄颗粒样品来自 2012 年全国评价性抽验工作,其中头孢氨苄颗粒涉及 26 家生产企业共计 187 批次,头孢氨苄对照品(中国药品生物制品检定所,批号:130408-200710,含量:94.4%);甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余化学试剂均为分析纯。

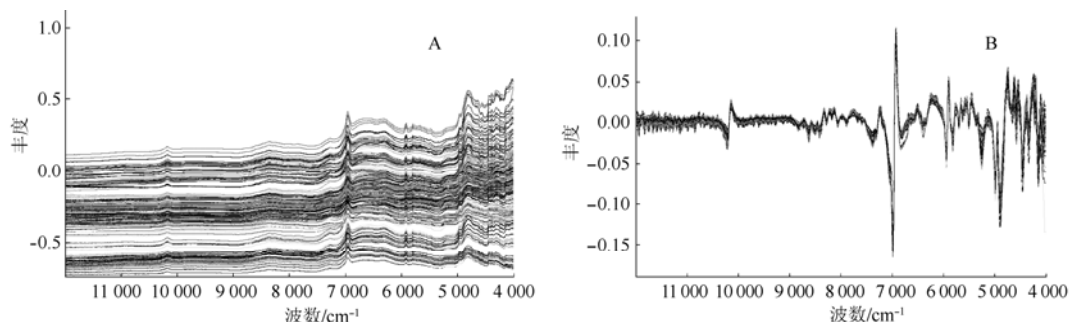


图 1 头孢氨苄颗粒原始图谱(A)、一阶导数+矢量归一化处理后图谱(B)

Fig. 1 The original NIR spectra(A) and first derivative +vector normalization corrected spectra(B) of Cefalexin granules

3 结果

3.1 预处理方法的选择

由于 NIR 光谱谱带复杂,信号重叠严重,在建立定量分析模型时,需要采用一定的数据处理才能获得准确的分析结果。文献表明矢量归一化能较好地消除粒径对光谱的影响,而导数光谱能够消除基线偏移,分辨重叠峰,提高信噪比,因此预处理方法选择一阶导数+矢量归一化。实际样品的原始光谱见图 1A,经过一阶导数+矢量归一化处理后的光谱图见图 1B。由图可见,经预处理后的光谱消除了基线偏移,降低了背景及噪声干扰,提高了信噪比,增强了光谱特征。

3.2 谱段选择

由图 1 可以看出,头孢氨苄颗粒在 10 500 cm⁻¹ 以上的区域吸收很弱。另据文献报道,水峰一般在 5 000~5 600 cm⁻¹ 和 7 000~7 500 cm⁻¹ 左右有吸收^[7],往往会对建模有影响,因此谱段的选择应予以扣除。校正集光谱经预处理方法处理后,在全谱范围内分析谱段与含量的相关性,结合 OPU S 7.0 的优化结果得到几组较优谱段,分别建立模型,利用内部交叉验证均方差(RMSECV)、验证集样品的预测均方差(RMSEP)和相关系数(R²)值选择最优模型见表 1。综合上述结果,认为谱段选择

2 方法

2.1 HPLC 含量测定

按照中国药典 2010 年版二部中头孢氨苄颗粒含量测定法测定头孢氨苄颗粒的含量^[6]。187 批头孢氨苄颗粒的浓度为 0.042 0~0.138 0 mg·mg⁻¹。

2.2 光谱采集

光谱扫描条件:取样品 6 袋,将内容物置同一西林瓶中,充分混匀,用光纤探头抵住瓶底,在 12 000~4 000 cm⁻¹ 间扫描,分辨率为 8 cm⁻¹,扫描 32 次。每批重复测定 6 次,并计算平均光谱作为样品光谱。光谱图见图 1。

5 450~6 101.8, 7 498~10 502.7 cm⁻¹ 较为合适。

表 1 建模谱段对模型的影响

Tab1 Effects of wavelength selection on calibration model

模型	谱段/cm ⁻¹	校正		检验	
		RMSECV	R ²	RMSEP	R ²
1	10 502.7~7 498	0.003	98.84	0.003	99.00
	6 101.8~5 450				
2	9 747.1~7 498.3	0.004	98.75	0.003	98.90
	4 601.6~4 246.7				
3	7 501.9~5 450	0.005	97.84	0.005	98.6
	4 601.4~4 246.6				

3.3 模型的建立

为使训练集样品涵盖所有分析样品及方便对校正模型的验证,首先将 187 批样品(浓度为 0.042 0~0.138 8 mg·mg⁻¹)进行聚类分析,预处理方法为一阶导数加矢量归一化法,谱段选择为 5 450~6 101.8, 7 498~10 502.7 cm⁻¹,平滑点选择 17。聚类分析结果样品共分为 10 个亚类,从这 10 个亚类中选出样品分成 2 组:校正集和检验集。训练集含有 94 批样品,用于建立校正模型;预测集含有 93 个样品,用于验证模型。训练集内部交叉验证,内部交叉验证决定系数 R²=98.84,均方差(RMSECV)为 0.003。

3.4 模型的验证

用所建模型测定预测集中样品的含量, 以 HPLC 测定结果为对比, 外部验证预测均方差

(RMSEP)为 0.003, $R^2 = 99.00$, 预测值与真值的相关系数为 0.995 0。结果见表 2 和图 2。

表 2 头孢氨苄颗粒模型测定结果及偏差

Tab. 2 Predicted results of the unknown samples

编号	HPLC 结果/ mg·mg ⁻¹	NIR 结果/ mg·mg ⁻¹	偏差	回收率/%	编号	HPLC 结果/ mg·mg ⁻¹	NIR 结果/ mg·mg ⁻¹	偏差	回收率/%
1	0.122 7	0.130 3	-0.007 6	106	48	0.044 9	0.047 7	-0.002 8	106
2	0.114 2	0.120 9	-0.006 7	106	49	0.050 0	0.049 4	0.000 6	99
3	0.114 0	0.120 1	-0.006 1	105	50	0.049 8	0.052 2	-0.002 4	105
4	0.137 8	0.135 4	0.002 4	98	51	0.048 3	0.047 4	0.000 9	98
5	0.136 1	0.137 7	-0.001 6	101	52	0.050 1	0.049 7	0.000 4	99
6	0.137 8	0.142 4	-0.004 6	103	53	0.104 6	0.099 3	0.005 3	95
7	0.136 1	0.131 1	0.005 0	96	54	0.109 2	0.106 1	0.003 1	97
8	0.136 5	0.138 6	-0.002 1	102	55	0.110 9	0.104 9	0.006 0	95
9	0.050 3	0.048 7	0.001 7	97	56	0.124 6	0.124 1	0.000 5	100
10	0.055 1	0.058 4	-0.003 3	106	57	0.123 9	0.122 5	0.001 4	99
11	0.060 8	0.065 3	-0.004 5	107	58	0.125 6	0.125 4	0.000 2	100
12	0.115 6	0.116 8	-0.001 2	101	59	0.050 0	0.048 9	0.001 1	98
13	0.114 3	0.112 8	0.001 5	99	60	0.050 9	0.054 0	-0.003 1	106
14	0.117 6	0.117 7	-0.000 1	100	61	0.050 5	0.048 3	0.002 2	96
15	0.116 9	0.118 5	-0.001 6	101	62	0.050 9	0.050 2	0.000 8	99
16	0.1153	0.112 7	0.002 6	98	63	0.050 4	0.049 7	0.000 7	99
17	0.115 9	0.118 2	-0.002 3	102	64	0.048 9	0.049 6	-0.000 7	101
18	0.116 4	0.115 5	0.000 9	99	65	0.050 8	0.050 4	0.000 4	99
19	0.082 4	0.088 2	-0.005 8	107	66	0.050 8	0.050 8	0.000 0	100
20	0.0832	0.086 0	-0.002 8	103	67	0.049 5	0.049 3	0.000 2	99
21	0.063 0	0.062 2	0.000 8	99	68	0.050 3	0.052 3	-0.002 0	104
22	0.048 6	0.045 4	0.003 2	93	69	0.051 0	0.054 3	-0.003 3	107
23	0.049 9	0.051 5	-0.001 6	103	70	0.048 9	0.049 5	-0.000 6	101
24	0.049 9	0.049 7	0.000 2	100	71	0.050 8	0.051 0	-0.000 2	100
25	0.049 6	0.050 0	-0.000 4	101	72	0.050 2	0.048 9	0.001 3	97
26	0.060 5	0.061 3	-0.000 8	101	73	0.051 2	0.049 2	0.002 0	96
27	0.061 8	0.069 1	-0.007 3	112	74	0.052 3	0.053 6	-0.001 3	103
28	0.062 5	0.065 6	-0.003 1	105	75	0.083 6	0.080 2	0.003 4	96
29	0.063 0	0.066 0	-0.003 0	105	76	0.085 8	0.087 4	-0.001 6	102
30	0.063 3	0.063 2	0.000 1	100	77	0.084 8	0.082 6	0.002 2	97
31	0.061 8	0.061 0	0.000 8	99	78	0.084 7	0.078 9	0.005 8	93
32	0.105 7	0.109 2	-0.003 5	103	79	0.082 2	0.085 4	-0.003 2	104
33	0.105 1	0.103 1	0.002 0	98	80	0.082 5	0.083 5	-0.001 0	101
34	0.105 8	0.100 9	0.004 9	95	81	0.049 3	0.054 1	-0.004 8	110
35	0.104 5	0.101 1	0.003 5	97	82	0.050 2	0.055 0	-0.004 8	110
36	0.104 8	0.105 5	-0.000 7	101	83	0.050 0	0.055 5	-0.005 5	111
37	0.115 0	0.109 3	0.005 7	95	84	0.048 6	0.052 4	-0.003 8	108
38	0.116 9	0.117 6	-0.000 7	101	85	0.053 2	0.050 2	0.003 0	94
39	0.117 1	0.118 4	-0.001 3	101	86	0.053 1	0.048 6	0.004 5	92
40	0.114 7	0.117 3	-0.002 6	102	87	0.121 5	0.121 8	-0.000 3	100
41	0.115 4	0.114 4	0.001 1	99	88	0.124 7	0.120 4	0.004 3	97
42	0.116 9	0.112 9	0.004 0	97	89	0.120 6	0.121 3	-0.000 7	101
43	0.115 4	0.117 3	-0.001 9	102	90	0.121 5	0.123 2	-0.001 7	101
44	0.116 9	0.115 9	0.001 0	99	91	0.113 5	0.111 4	0.002 1	98
45	0.117 6	0.110 4	0.007 2	94	92	0.112 0	0.105 7	0.006 3	94
46	0.114 7	0.114 4	0.000 3	100	93	0.109 7	0.106 4	0.003 3	97
47	0.048 7	0.046 1	0.002 6	95					

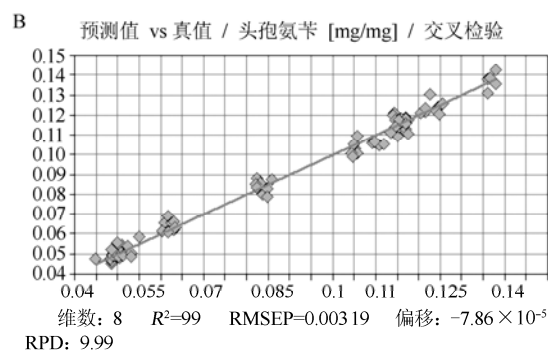
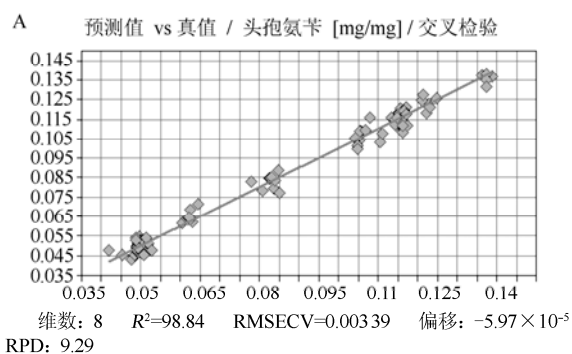


图2 交叉验证预测值与真值相关图

A-训练集; B-检验集

Fig. 2 Correlation of between NIR predicted and true values

A-cross validation of calibration set; B-cross validation of test set

4 讨论

NIR 定量分析的方法, 训练集的选择是分析能否成功的关键因素, 训练集样品应具有代表性。本实验通过聚类分析, 将获得的 187 张近红外图谱分成 10 个亚类, 随机从每个亚类中选择等量图谱作为训练集, 保证了训练集光谱能够代表样品的特性。

选择一阶导数+矢量归一化对采集的近红外图谱进行预处理, 有效地消除了基线漂移, 降低了背景及噪声干扰。根据文献报道, 扣除了水对应的谱段, 同时采用软件自身的优化功能选择 5 450~6 101.8, 7 498~10 502.7 cm^{-1} 。

本实验结果显示, 通过近红外定量分析技术测定的产品结果与使用中国药典方法测定的结果基本一致, 方法结果准确可靠, 可对头孢氨苄颗粒的含量进行快速定量分析, 进一步完善头孢氨苄系列制剂的快速检验方法。

NIR 定量分析的方法并非通用型方法, 局限性在于该模型只能对该品种该剂型适用, 其准确性和参与建立模型的样本数量和质量存在密切的关系。本实验所涉及的样品虽然涉及到全国范围内多个厂家生产的产品, 代表性比较强, 但仍需不断补充样本数量扩充模型库。

头孢氨苄不同剂型之间, 因其辅料相差较大, 波段及预处理方法的选择存在一定的差异。头孢氨苄片剂近红外定量分析中^[3], 糖衣片波段为

11 995.8~7 498.3, 4 601.6~4 424.2 cm^{-1} , 处理方法为一阶导数+矢量归一化; 薄膜衣片波段为 11 995.8~6 098.2 cm^{-1} , 光谱无须预处理。而头孢氨苄颗粒因其处方组成与片剂相差较大, 谱段选择 5 450~6 101.8, 7 498~10 502.7 cm^{-1} , 预处理方法选择一阶导数+矢量归一化。

REFERENCE

- [1] HU C Q, FENG Y C. Rapid Determination of Medicine by NIR(近红外光谱法快速分析药品) [M]. Beijing: Chemistry Industry Press, 2009: 1-14.
- [2] LIU G H, ZHANG Z H. Analysis on application prospect of Raman, NIR and IR on screening chemical substances adulterated in drugs [J]. Qilu Pharm Aff(齐鲁药事), 2012, 31(11): 634-635.
- [3] BAI Y, LI L, LEI J W, et al. Quality determination of *Salvia miltiorrhiza* in pharmaceutical industry by near-infrared spectroscopy [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(3): 222-225.
- [4] JIA F, LI J, TAO Q F, et al. Establishment of the near-infrared spectroscopy qualitative model for Diammonium Glycyrrhizinate injection [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013, 30(6): 664-666.
- [5] GONG L P, WANG W J, YANG N, et al. Development of NIR method for rapid determination of Cefalexin tablet [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2011, 31(8): 1571-1574.
- [6] Ch.P(2010)Vol II (中国药典 2010 年版. 二部) [S]. 2010: 209-210.
- [7] PANG H H, FENG Y C, HU C Q, et al. Construction of universal quantitative models for determination of cefoperazone sodium for injection from different manufacturers using near infrared reflectance spectroscopy [J]. Spectrosc Spec Anal(光谱学与光谱分析), 2006, 26(12): 2214-2218.

收稿日期: 2013-08-13