

近红外光谱法快速测定注射用乙酰谷酰胺水分

柳艳云 余道宏 赵亚萍 王文西 姜红 (湖北省药品监督检验研究院 武汉 430076)

摘要 目的: 利用近红外光谱(NIR)技术结合化学计量学方法对注射用乙酰谷酰胺的水分进行快速定量分析。**方法:** 以 51 批注射用乙酰谷酰胺及 7 批加速引湿样本为分析对象,采用卡尔费休法测定样品水分;采集样品近红外光谱,选择建模波段为 $5\ 419.1 \sim 4\ 993.1\ \text{cm}^{-1}$,光谱预处理方法为一阶导数+多元散射校正,利用偏最小二乘法建立定量模型。**结果:** 建模样本水分值范围为 $0.8\% \sim 5.9\%$,交叉验证均方根误差为 0.144,相关系数为 0.982 4;外部验证均方根误差为 0.155,相关系数为 0.983 7。**结论:** 建立的模型能对注射用乙酰谷酰胺的水分进行快速定量分析,方法简单可靠,可用于药品的现场快速分析。

关键词 注射用乙酰谷酰胺;水分;定量分析;近红外光谱

中图分类号:R917 文献标识码:A 文章编号:1008-049X(2018)08-1503-03

Rapid Determination of Water in Aceglutamide for Injection by Near Infrared Spectroscopy

Liu Yanyun, Yu Daohong, Zhao Yanping, Wang Wenxi, Jiang Hong (Hubei Institute for Drug Control, Wuhan 430076, China)

ABSTRACT Objective: To make a rapid quantitative analysis on water in aceglutamide for injection by near infrared spectroscopy (NIR) combined with chemometrics. **Methods:** Totally 51 batches of aceglutamide for injection and 7 batches of accelerated humidifying samples were used as the analysis objects. The water content in the samples was calibrated by Carle Fischer's method, and the near infrared spectra of the samples were collected. The selected spectral segments were from 5419.1 to $4993.1\ \text{cm}^{-1}$, and the spectral preprocessing method was the first derivative and multivariate scattering correction, and the partial least square method was used to establish the quantitative model. **Results:** The content range of water was $0.8\% \sim 5.9\%$, the root mean square error of cross validation was 0.144, the correlation coefficient was 0.982 4, the root mean square error of external validation was 0.155, and the correlation coefficient was 0.983 7. **Conclusion:** The established model can quickly and quantitatively analyze the water content in aceglutamide for injection. The method is simple and reliable, and can be applied in the rapid analysis of drugs.

KEY WORDS Aceglutamide for injection; Water content; Quantitative analysis; Near infrared spectroscopy

乙酰谷酰胺为谷氨酰胺的乙酰化合物,能促进氨基酸转运,加强细胞谷胱甘肽和 DNA 合成,有改善神经细胞代谢、提高细胞活力、维持神经应激能力及改善脑功能的作用^[1]。注射用乙酰谷酰胺主要成分为乙酰谷酰胺,辅料为甘露醇,临床适应证为用于脑外伤性昏迷、神经外科手术引起的昏迷、肝昏迷及偏瘫、高位截瘫、小儿麻痹后遗症、神经性头痛及腰痛。注射用乙酰谷酰胺均为企业注册标准。现行标准中 70% 的注册标准采用卡尔费休法测定水分,限度在 $3.0\% \sim 5.0\%$ 之间,干燥失重有常压和减压两种,限度在 $2.0\% \sim 8.0\%$ 之间。用标准方法测定水分值耗时较长,且受辅料影响。

近红外光谱是波长范围为 $780 \sim 2\ 500\ \text{nm}$ ($12\ 000 \sim 4\ 000\ \text{cm}^{-1}$) 的分子光谱,具有较强的穿透力^[2],样品光谱测定时无需前处理甚至可以破坏样品包装,因其检测快速、成本低、环境友好,而被认为是一种绿色分析技术,在农业、食品和化工领域均有广泛应用。近年来随着药品快检技术应用的广泛开展,近红外光谱技术在药品快速检测中的应用研究也得到越来越多的关注,本文利用近红外漫反射光谱技术结合偏最小二乘法建立注射用乙酰谷酰胺水分定量分析模型,利用数字相关性分析^[3],对 NIR 法和卡氏水分法测定结果进行比较,以期实现本品的快速质量控制。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Matrix-F 型近红外光谱仪(德国 Bruker 公司),配有光纤探头测样附件;OPUS 7.0 光谱分析软件(德国 Bruker 公司);XP205 电子天平(美国 Mettler Toledo 公司);Binder KBFP240 恒温恒湿箱(德国 Binder);890 Titrand 水分测定仪(瑞士 Metrohm 公司)。

1.2 试药

本次试验收集注射用乙酰谷酰胺样品 51 批,共涉及全国 14 个生产企业(表 1)。注射用乙酰谷酰胺处方均为乙酰谷酰胺原料、甘露醇、氢氧化钠(调节 pH)和活性炭,各企业甘露醇和原料比例有差异。利用卡尔费休水分测定法测得 51 批次样品水分含量为 $0.8\% \sim 3.3\%$ 。

为扩大样品水分含量范围,经恒温恒湿(25°C , 80%)的加速引湿试验,制备样品 7 批,水分含量为 $3.9\% \sim 5.9\%$ 。

2 方法与结果

2.1 样品水分参考值的测定

样品水分测定照中国药典 2015 版四部^[4]收载的卡尔费休法测定。

2.2 近红外光谱的采集

以仪器内置背景为参比,波数范围 $12\ 000 \sim 4\ 000\ \text{cm}^{-1}$,

基金项目:湖北省食品药品监督管理局项目“药品生产流通风险监测快检数据库及快检产品开发备用研究”(编号:2016010-03)

通讯作者:姜红 Tel:(027)87705206 E-mail:hbyjsjh@163.com

表 1 不同厂家样品信息表

生产厂家	规格	批数	批号	生产厂家	规格	批数	批号
A 公司	0.3g	5	16040302	H 公司	0.3g	5	161122
			16120302				161221
			17040304				170324
			17040305				170327
			17020311				161222
B 公司	0.3g	4	170102	I 公司	0.2g	4	20160201
			160601				20161003
			151209				20160701
			170203				20161002
C 公司	0.25g	2	161101A	J 公司	0.1g 0.2g	2	1612010433317005
			161103A				
D 公司	0.1g	2	161101 E1	K 公司	0.1g	3	201609082017020620170208
			60101 E1				
E 公司	0.1g	4	161105	L 公司	0.2g	5	170114-8
			161103				160409-7
			170203				170222-8
			170204				170528-8
F 公司	0.25g	5	1601003	M 公司	0.25g	4	161001
			1604010				161002
			1702006				161002
			1701003				161201
			1611017				
G 公司	0.25g	3	201609012	N 公司	0.6g	8	20160902
			201701022				20161102
			201701012				20170102
			201701012				20170102
							20170101
							20170103
	20170502						
	20170502						

扫描累加次数 32 次,分辨率 8 cm^{-1} , InGaAs 检测器。以光纤探头抵住样品西林瓶底,透过西林瓶底扫描样品光谱;每个样品测定 6 次,得 6 张原始光谱,计算平均光谱,结果见图 1。

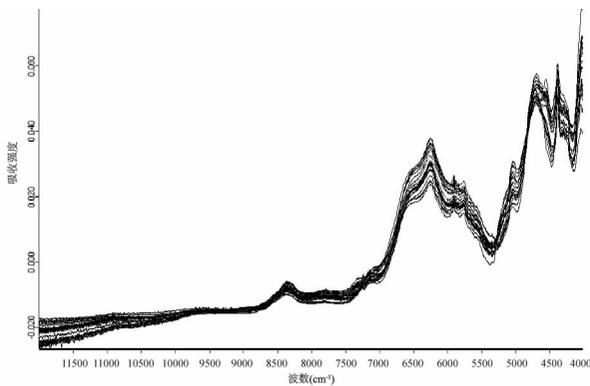


图 1 注射用乙酰谷酰胺近红外光谱图

2.3 近红外光谱模型的建立

2.3.1 校正集与验证集光谱的选择 利用 OPUS7.0 软件 Quant-2 模块选择 29 个样品作为校正集,水分值范围为 0.8% ~ 5.9%;其余 29 个样品作为验证集,水分值范围为 1.0% ~ 5.7%。

2.3.2 建模谱段及预处理方法的选择 受各种物理、化学因素以及温度的影响,且由于近红外光谱含有化学组分、电负性和氢键等复杂信息,又受到高频随机噪音、基线漂移、样品颗粒大小等因素的影响,需要通过化学计量学方法才能有效提取特征信息。光谱预处理和波长选择是建模的基础。常见的预处理方法包括多元散射校正(MSC),矢量归一化法(VN),一阶导数(FD),二阶导数(SD)等^[5]。

由于水分的近红外光谱主要是 O-H 基团振动光谱的倍频及合频吸收^[6],其具有较强专属性的特征谱段为 O-H 二倍频引起的 $7\ 100 \sim 6\ 900\text{ cm}^{-1}$ 和 O-H 合频引起的 $5\ 260 \sim 5\ 160\text{ cm}^{-1}$ 。本研究采用 OPUS 7.0 数据处理软件,考察了多种预处理方法,并采用偏最小二乘法从高维光谱数据中提取有效的光谱信息区间,实现光谱的数据预处理、光谱区间的筛选以及模型的处理。以交叉验证均方根误差(root-mean-squares error of cross-validation, RMSECV)为指标,采用留一法交叉验证(LOOCV)确定模型的最佳因子数(表 2)。通过软件优化选择建模谱段为 $5\ 419.1 \sim 4\ 993.1\text{ cm}^{-1}$;通过比较不同光谱预处理方法对模型预测结果的影响,选择光谱预处理方法为一阶导数+多元散射校正。最终校正模型的内部交叉验证均方根误差为 0.144,相关系数为 0.982 4。

表 2 不同预处理方法对校正模型预测结果的影响

模型	预处理方法	主因子数	交叉验证均方根误差 RMSECV	R^2
1	一阶导数+多元散射校正	5	0.144	0.9824
2	矢量归一化	1	0.199	0.9664
3	一阶导数	1	0.423	0.8488
4	二阶导数	3	0.539	0.7443
5	一阶导数+矢量归一化	2	0.306	0.9208
6	一阶导数+直线差减	1	0.499	0.7888

2.4 模型的验证

2.4.1 线性关系考察 近红外光谱分析方法为二级方法,其线性由待测物的预测值与参比值的关系来评价。注射用乙酰谷酰胺近红外光谱水分分析模型在 0.8% ~ 5.9% 水分值范围内,以模型预测值与(Y)与卡尔费休法测定的参考值

(X)求线性方程得: $Y=1.010X-0.015$, $r=0.9918$,模型外部验证相关性见图2。结果表明近红外模型预测值与费休氏法参考值之间具有良好的线性。

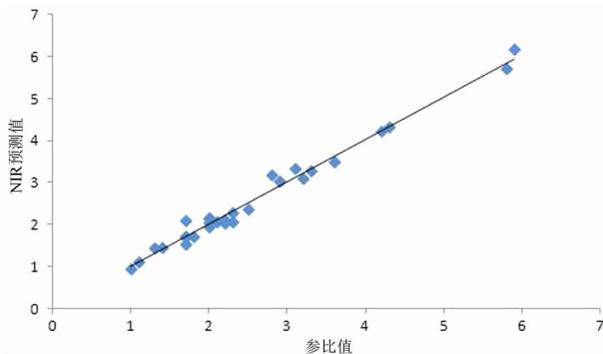


图2 模型预测值与参考值的相关性图

2.4.2 准确性考察 用所建立的模型对验证集样本进行分析,模型预测值与卡尔费休法测定的参考值进行对比,结果见表3,预测值的平均偏差为0.1%,验证集的均方根误差为0.155,基本符合快速检测定量分析的要求。

表3 验证集样本预测值及偏差(%)

批号	参比值	NIR 预测值	偏差	批号	参比值	NIR 预测值	偏差
1	1.7	1.7	0.0	16	2.1	2.1	0.0
2	1.3	1.4	-0.1	17	1.7	1.5	0.2
3	2.8	3.2	-0.4	18	2.0	2.0	0.0
4	1.4	1.4	0.0	19	1.7	1.7	0.0
5	2.0	2.1	-0.1	20	2.9	3.0	-0.1
6	3.2	3.1	0.1	21	3.3	3.3	0.0
7	1.0	0.9	0.1	22	1.1	1.1	0.0
8	1.8	1.7	0.1	23	2.5	2.4	0.1
9	2.0	2.1	-0.1	24	1.7	2.1	-0.4
10	3.1	3.3	-0.2	25	2.2	2.1	0.1
11	2.2	2.0	0.2	26	5.9	6.2	-0.3
12	2.3	2.3	0.0	27	5.8	5.7	0.1
13	2.0	1.9	0.1	28	4.2	4.2	0.0
14	2.3	2.1	0.2	29	4.3	4.3	0.0
15	3.6	3.5	0.1				

2.4.3 精密度试验 随机选取1个批次的样品(批号:20170101),同一天内重复测定6次近红外光谱,分别用建立的模型分析其水分值,考察方法的精密度,结果RSD为1.4%($n=6$),精密度良好。

2.4.4 稳定性试验 选取1个批次(批号:20170101)的样品,5d每天测定其近红外光谱并用建立的模型分析其水分值,考察方法的稳定性。结果RSD为1.8%($n=5$),模型具有良好的稳定性。

3 讨论

注射用乙酰谷酰胺具有较强的吸湿性,吸湿后稳定性较差,本文通过建立近红外光谱定量分析模型,可以快速无损的测定注射用乙酰谷酰胺的水分,且建模样品基本涵盖市场上所有注射用乙酰谷酰胺的生产厂家,具有广泛的代表性,可以有效的对生产、运输、存储等各环节中注射用乙酰谷酰胺的水分进行无损分析,考察其稳定性。对于生产企业控制其产品质量、监管部门现场检查和靶向抽样都有广阔的应用空间。

参 考 文 献

- 胡学强. 注射用乙酰谷酰胺的研究进展[J]. 中国处方药,2017,15(1):17-19
- 胡昌勤,冯艳春. 近红外快速分析药品[M]. 北京:化学工业出版社,2009:11-13
- 张华,董媛,刘莹莹,等. NIR、HPLC及UV法测定灯盏花素片的比较[J]. 中国医药工业杂志,2015,46(5):508-510
- 中国药典[S]. 2015年版. 四部. 103-104
- 张磊,丁大中,于玮洁,等. 注射用阿莫西林钠/舒巴坦钠近红外快速定量分析模型的建立[J]. 中国药师,2017,20(8):1497-1498
- 冯艳春,常艳,姚尚辰,等. 近红外法监测标准物质分装及贮存过程中水分的变化[J]. 药物分析杂志,2010,30(10):1895-1899