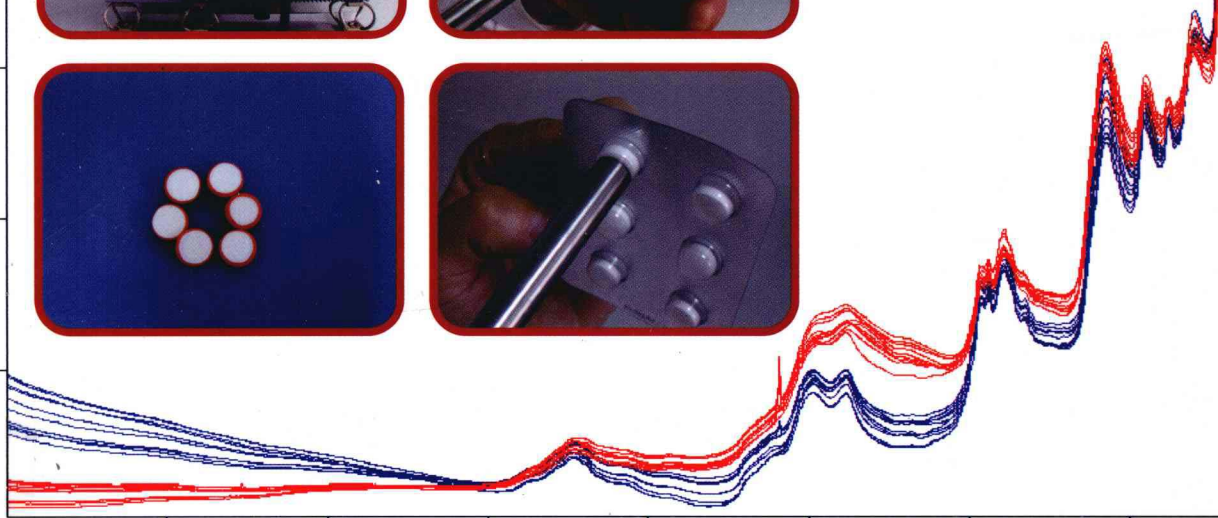
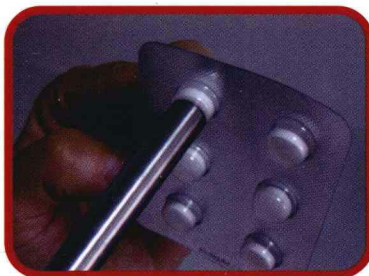
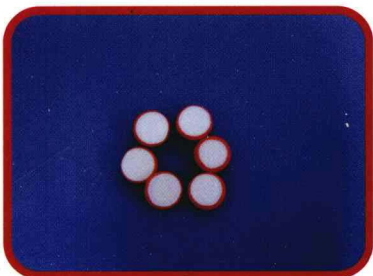


近红外光谱法

快速分析药品



▶ 胡昌勤 冯艳春 著

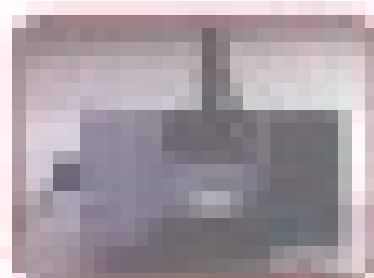


近红外光谱法

快速分析药品



1 2 3 4 5 6 7

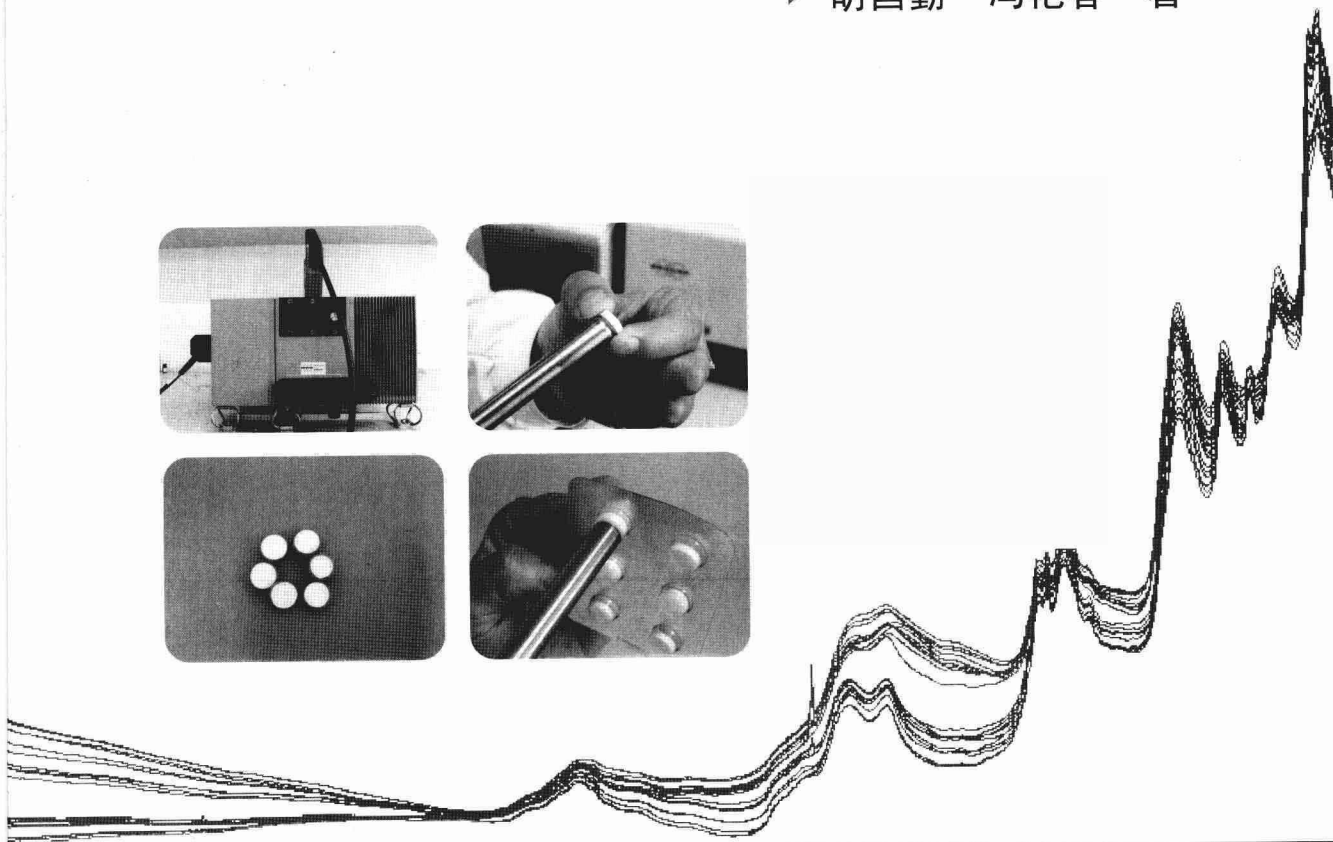
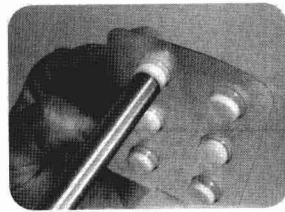
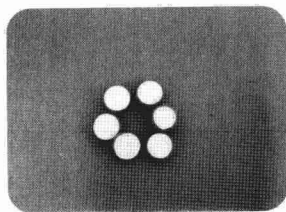
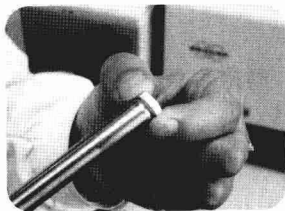
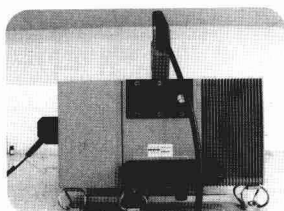


R917-39
H455

近红外光谱法

快速分析药品

▶ 胡昌勤 冯艳春 著



化学工业出版社

· 北京 ·

本书是介绍利用近红外光谱方法进行假药识别, 实现药品无损定性、定量分析, 并同时分析活性成分和辅料, 提供产品的指纹信息等方面的专著。

本书不仅详细介绍了建立药品通用性近红外模型的基本理论, NIR 通用性模型的建模思路与方法, 而且对建立液体制剂、粉针剂、口服固体制剂通用性近红外定性、定量模型的一般方法分别进行了论述, 还对目前流行的在流通领域快速筛查假劣药品的近红外无模型检测技术进行了介绍。

本书可作为以近红外分析技术从事打击假劣药品工作的药品检验人员的培训教材, 对从事药物分析、光谱分析、化学计量学等方面的科研工作者有参考和实用价值; 亦可作为大专院校研究生和高年级学生学习光谱分析、药物分析课的参考书。

图书在版编目 (CIP) 数据

近红外光谱法快速分析药品/胡昌勤, 冯艳春著. —北京:
化学工业出版社, 2009. 11
ISBN 978-7-122-06681-7

I. 近… II. ①胡…②冯… III. 近红外光谱法-应用-药物
分析 IV. R917-39

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 171326 号

责任编辑: 任惠敏
责任校对: 郑捷

文字编辑: 向东
装帧设计: 韩飞

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)
印 装: 北京画中画印刷有限公司
787mm×1092mm 1/16 印张 23 字数 588 千字 2010 年 1 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888(传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 85.00 元

版权所有 违者必究

前 言

假药是世界各国特别是发展中国家所共同面临的问题之一。制假、售假不仅严重危害人类的健康，还给合法企业造成巨大的经济损失。根据世界卫生组织统计，当今世界市场有6%~10%的药品为假药，年销售额高达350亿美元。因此如何有效地打击制假、售假行为，已成为各国政府关注的一个焦点。2006年2月，WHO组织召开“打击假药：建立有效的国际合作”国际会议，与会代表一致通过了“罗马宣言”，向假药宣战；并要求WHO领导组建一个强有力的由各国政府部门、非政府组织和国际团体共同参加的“国际打击假药工作小组（IMPACT）”，在政策法规、监督管理、信息共享、宣传教育和打假技术等方面开展研究。2006年11月15日，IMPACT在德国波恩举行首次会议，对“全球防治伪劣药品方案”进行了讨论。我国的《中华人民共和国药品管理法》第四十八条对假药已有明确的规定。针对我国98%以上的药品使用单位在农村，制售假劣药品的违法行为80%发生在广大农村地区；农村医疗机构数量多、规模小、分散且大部分地处偏远；药品使用品种多、数量少、进货渠道多；而我国的药品监督检验资源比较匮乏，药品监督的覆盖面小，打假手段更是落后于制假技术的特点，如何解决药品监督检验人员在农村及偏远地区进行现场技术监督、检查，有效提高现场监督、检查的频率和质量是国内打击假劣药品的关键。在国家食品药品监督管理局的大力支持下，2003年中国药品生物制品检定所成立了专门的科研小组，开展“车载近红外药品快速检测系统”的研制工作，以“药品快速检测专用车”为载体，利用车辆流动性好，近红外分析快速、无损伤的特点，实现在监督现场对药品进行快速定性、定量分析的目的，解决在基层对假劣药品进行快速筛查的难题，以提高监督、检查的频率和密度，保证广大人民群众的用药安全。目前，360余辆药品检测车已经于2007年7月装备到全国的各地市。

作为药品检测车的核心，“车载近红外药品快速检测系统”具有哪些特点呢？虽然自2001年来，已经有利用近红外进行假药识别的报道，但均集中在判别某样品是否为特定企业的产品（即建立特殊模型鉴别特定产品）这一领域；而车载近红外药品快速检测系统则需要排除制剂中辅料的干扰，针对药品中的活性成分进行快速鉴别及定量，即建立通用性模型鉴别一类产品。目前国际上对此尚无任何报道。本研究小组从建立通用性近红外模型的概念入手，针对研究中出现的各种问题从理论与实践两方面进行探讨，终于实现了上述目标。在研制的“车载近红外药品快速检测系统”中：①结构相近的同系物药物，如抗感染药物，按其化学结构分为头孢菌素类、青霉素类、大环内酯类、氨基糖苷类等被放到一组进行识别，再根据其制剂（粉针剂、胶囊剂、片剂）的形式，分别建立鉴别模型。②采用两步鉴别的方案：第一步识别模型，利用同系物药物近红外图谱的差异（一般利用相对较窄的特征谱段），主要解决模型中同系物之间的相互识别问题；第二步确证模型，利用较宽的谱段，解决可能与其他品种的混淆问题，进一步提高了鉴别的准确性。在建模过程中：①通过合理的训练集样本选择；②合理的波长范围选择；③利用主成分分析法，通过对活性成分光谱、辅料光谱和因子光谱的比较，确定各因子光谱的特性，进而选用合理的因子光谱进行分析；④针对性地采用光谱预处理手段，进一步去除干扰，提高光谱的分辨率，建立了满意的定性和定量模

型。2004年11月30日在由中科院院士陆婉珍任组长的项目鉴定会上,诸多专家一致给出了“如此大规模、系统化、多品种药物的研究成果,具有国际创新水平,至今在国内外未见披露”的高度评价。

作为“车载近红外药品快速检测系统”项目的技术总负责人,回想起2006年我们的第一篇NIR通用性定量模型论文在JPBA发表时部分学者的不理解。The attempt to set up a universal model for the measurement of an active irrespective of the source of manufacture or the NIR instrument used for measurement is a worthy project. I don't believe, however, the authors have achieved this or explained insufficient detail the problems involved.^①其问题的焦点可概括为:(1)由于建模过程中不可能包括所有企业的产品,对模型中未包括的产品能得到可信的结果吗(Only by including all known products in the model, and applying it only to those products, can it possibly work with confidence.^①)?(2)即使是包括了全部企业的产品,如何应对新企业的仿制品(How will the models cope with products from new manufacturers.^①)?现在十分欣慰地看到近红外通用性模型的概念已经在国内外被逐渐接受;药品检测车作为“流动实验室”,2006年以来已经对近6.8万个基层涉药单位进行了检查,筛查药品约39.2万批,现场检测发现约4.3万批可疑药品,经实验室确证近1.3万批为假劣药品,扩大了监管覆盖面,提高了抽验针对性;目前该项目备受WHO和国际同行的密切关注。

本书是对过去5年来研究工作的全面总结。整个项目由近红外项目协作组(包括建模协作组和试运行协作组,由中国药品生物制品检定所、湖北省药品检验所、广东省药品检验所、河南省食品药品检验所、安徽省食品药品检验所、陕西省食品药品检验所、青岛市药品检验所、深圳市药品检验所、天津市药品检验所、江苏省药品检验所和重庆市食品药品检验所组成)共同完成。中国药品生物制品检定所的尹立辉研究员和布鲁克光谱仪器公司的刘旭工程师对车载型近红外光谱仪及通用性模型的模型传递中的误差控制理论进行了探讨与总结;广东省药品检验所的雷毅博士提出定性与定量模型联合应用可以提高对假劣药品筛查的检出率;姜红主任药师和殷飞副主任药师在湖北和河南推广的大规模应用经验,直接推动了快速筛查假劣药品的近红外无模型检测技术的发展。该项目也培养出多名研究生:冯艳春博士在“建立近红外药品快速识别体系的可行性研究”中第一次充分证明“建立近红外通用性定性和定量模型用于快速地鉴别和定量来自不同厂家的同一品种药物是可行的;通过选择合适的仪器并对产生误差的因素加以严格的控制,可以实现模型在不同仪器上的直接无缝传递”。逢焕欢、崇小萌硕士完成了建立粉针剂通用性模型一般方法的探讨;侯少瑞硕士完成了建立液体药品通用性模型一般方法的探讨;刘绪平、尼珍、柳艳云硕士分别就通用性模型中的样本选择和光谱预处理方法开展研究,丰富了通用性模型的建模理论;张学博博士通过对通用性模型的大规模验证并结合模拟实验,探讨了通用性模型的可行性、局限性和可扩展性,进而针对性地提出了通用性模型的模型更新方案;王学良、雷德卿硕士对利用近红外无模型检测技术建立药品应急检验模型的理论和方法进行了探讨。上述全部工作即构成了本书的全部内容。

面对一个飞速发展的应用领域,加之时间仓促、水平有限,书中的错误和不妥之处在所难免,敬请专家和广大读者批评指正。相信伴随着时间的推进,书中的许多概念将会得到丰富与发展。

胡昌勤
2009年5月

① 论文审稿人的评论。

目 录

第一章 假劣药品的快速分析	1
第一节 药品快速检测系统	1
一、以药品检测车为载体的药品现场快速初筛平台	1
二、以授权方法为基础的药品实验室快速检测平台	7
第二节 对假劣药品的综合分析	14
参考文献	26
第二章 近红外光谱仪	28
第一节 近红外光谱仪器	29
一、近红外光谱仪器的主要性能指标	29
二、不同类型仪器的主要特点和工作原理	31
三、色散型近红外光谱仪与傅里叶变换型近红外光谱仪的比较	33
第二节 车载型近红外光谱仪 (Matrix-F) 介绍	34
参考文献	54
第三章 建立药品通用性近红外模型的基本理论	55
第一节 定性分析的一般方法	57
一、利用图谱库结合匹配值定性	57
二、聚类分析法定性	58
三、因子分析法定性	59
四、主成分分析法定性	60
五、直接利用近红外光谱图的变化进行定性分析	61
第二节 定量分析的一般方法	61
一、多元线性回归法	61
二、主成分回归法	62
三、偏最小二乘法	63
第三节 建立药品近红外模型的一般方法	64
一、训练集样本的选择	64

二、图谱预处理方法	67
三、近红外多元校正模型的传递	71
第四节 建立药品通用性模型的可行性研究	81
一、建模方法	85
二、建立通用性模型的可行性	86
三、通用性模型的局限性	88
四、通用性模型的可扩展性	89
五、应用举例——样品代表性与模型通用性的关系	91
参考文献	93
第四章 近红外药品快速分析系统	101
第一节 通用性 NIR 鉴别模型的建模思路与方法	101
一、样品的分组与鉴别流程	101
二、样本 NIR 光谱差异的表征与阈值的确定	103
三、训练集、验证集光谱的选择	105
第二节 通用性 NIR 定量模型的一般建模方法	106
一、选择训练集样本的一般原则	106
二、图谱预处理方法的选择	128
第三节 模型传递中的误差控制	143
参考文献	146
第五章 建立通用性液体制剂近红外模型的一般方法	147
第一节 近红外水溶液模型	147
一、液体样品近红外光谱的采集方式	147
二、液体样品的近红外分析	148
三、环境温度对液体近红外分析的影响	149
第二节 建立通用性液体制剂近红外定量模型的一般方法	150
一、温度的影响	151
二、通用性液体近红外定量模型建模的一般方法	155
三、对通用性液体近红外定量模型建模一般方法的验证	159
四、对液体样品定量模型建模规律的总结	172
第三节 通用性液体近红外定性模型建模的一般方法	173
参考文献	178
第六章 建立通用性粉针剂近红外模型的一般方法	182
第一节 通用性粉针剂近红外定性模型的建立与验证	182

一、通用性头孢菌素类粉针剂近红外定性模型的建立	182
二、通用性青霉素/碳青霉烯类粉针剂近红外定性模型的建立	195
三、通用性氨基糖苷类抗生素粉针剂近红外定性模型的建立	207
第二节 粉针剂通用性近红外定量模型的建立与验证	216
一、通用性粉针剂近红外定量模型的建立	216
二、光纤模型和积分球模型比较	228
三、通用性头孢菌素类粉针剂近红外定量模型建模规律的探讨	245
参考文献	254
第七章 建立通用性固体口服制剂近红外模型的一般方法	256
第一节 辅料成分改变对近红外模型的影响	256
一、模型的基本特性	256
二、样品处方改变对模型的影响	259
三、小结	264
第二节 通用性片剂近红外模型的建立	265
一、通用性大环内酯类抗生素片剂定性模型的建立	265
二、通用性大环内酯类抗生素片剂定量模型的建立	282
第三节 通用性胶囊剂近红外模型的建立	293
参考文献	308
第八章 流通领域快速筛查假劣药品的近红外无模型分析技术	309
第一节 药品检测车在流通领域快速筛查假劣药品的运行模式	309
第二节 近红外图谱直观分析法	313
第三节 近红外图谱相似系数分析法	322
第四节 近红外图谱逆向相似系数分析法	332
第五节 近红外一致性检验模型及其应用	344
参考文献	352
附录	353
I. 车载近红外药品快速检测系统中已收录的近红外通用性定性模型目录	353
II. 车载近红外药品快速检测系统中已收录的近红外通用性定量模型目录	358

第一章 假劣药品的快速分析

假劣药品不仅严重危害人民群众的健康，且制约社会经济的迅速发展，因此是目前世界各国特别是发展中国家共同面临的问题之一^[1]。我国的《中华人民共和国药品管理法》第四十八条对假药也有明确规定。在高科技发展的今天，传统的假药（以非药品冒充药品、以低值药品冒充高价产品）已经越来越少，取而代之的是企业未经批准私自在药品处方中增加或减少活性成分、用普通企业的药品冒充名牌药品等。国内还发现将真药与假药混合包装的案例。使得假药识别的难度越来越大，对假药识别的要求也越来越高。

对假药的识别通常没有固定的模式。较复杂的假药，在实验室中通常需要采用多种定性与定量分析方法，从多方面相互补充和引证，故所耗的时间较长。利用模式识别等数学分析的原理和方法，采用新的分析手段，建立各类药品的特征数据库，进而建立假药的系统识别法，可以大大提高对假药的识别速度和识别能力，是解决上述矛盾的有效途径。针对国内制售假劣药品的违法行为 80% 发生在广大农村地区，而农村医疗机构数量多且分散，药品进货渠道多，但药品监督检查资源比较匮乏，打假手段落后的特点，在国家食品药品监督管理局的大力支持下，2003 年中国药品生物制品检定所成立了专门的科研小组，开展药品快速检测系统的研究，目前整个系统已显雏形（图 1-1）。整个药品快速检测系统可以概括为两个技术平台：①以药品检测车为

载体的药品现场快速初筛平台；②以授权方法为基础的实验室快速确证平台。前者，主要装备有近红外快速检测系统和化学快速鉴别系统，配合药品信息管理系统，利用车辆流动性好，近红外分析快速、无损伤的特点，实现在基层现场对假劣药品进行快速实验筛查，以提高监督、检查的频率和密度，保证广大人民群众用药安全。至 2007 年 9 月底药品检测车已全部装备到全国的各地市。后者，主要包括 HPLC 快速测定系统和 LC-MS 快速分析系统。

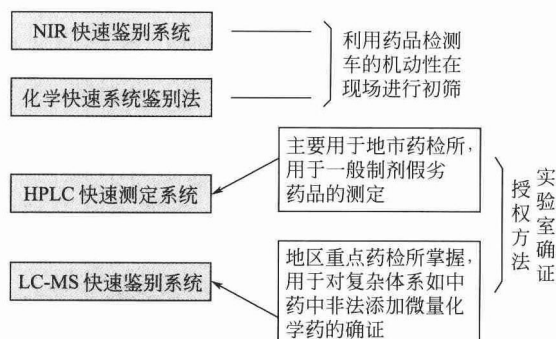


图 1-1 药品快速检测系统

HPLC 快速测定系统主要装备于各地市药检所，用于对一般假劣制剂药品的快速分析；从 2007 年开始，已在部分地市所试点使用。而 LC-MS 快速分析系统则由各省级药检所或地区重点所掌握，用于对复杂体系如中药中非法添加微量化学药的确证。药品快速检测体系的建立将极大地加强各基层单位发现假劣药品的能力，且其应用的各项技术是对传统的实验室发现假劣药品检测方法的重要补充。本章重点介绍药品快速检测系统与实验室鉴别技术的特点及应用。

第一节 药品快速检测系统

一、以药品检测车为载体的药品现场快速初筛平台

药品检测车中装备有“药品信息查询系统”和“药品快速筛查系统”两大系统（图 1-2）。

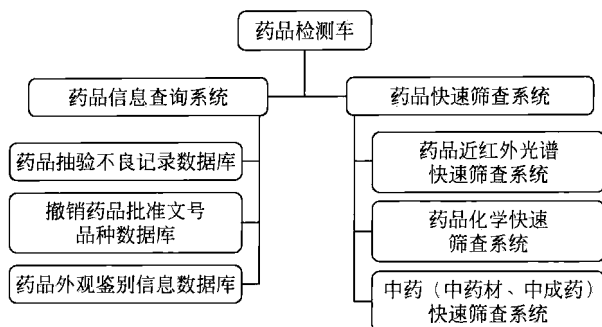


图 1-2 药品检测车中装载的两大系统

药品信息查询系统利用现代信息技术，通过强大的数据库搜索查询和管理功能，安装在专用的笔记本电脑中，该系统由药品批准文号数据库、药品不良记录数据库和涉嫌药品照片库组成，各数据库数据可动态更新。目前药品批准文号数据库中收录有 18 万多条数据可供检索，是日常监督检查的有力工具。在地方药监部门及制药企业的配合下“药品信息查询系统”的数据库及功能将日趋扩大、完善。药品快速筛查系统由药品近红外（NIR）快速筛查系统、药品化学快速筛查系统和中药（中药材、中成药）快速筛查系统组成。NIR 快速筛查系统由配有光纤探头的车载型 NIR 光谱仪，利用预先建立的 NIR 模型，对药品进行快速定性和定量分析。化学快速筛查系统由传统的官能团化学鉴别和薄层色谱（TLC）鉴别两部分组成。我们提出了“系统鉴别”的概念：官能团化学鉴别和薄层色谱鉴别相辅相成，首先根据药品分子结构中的特定官能团反应实现对药品“类”的鉴别，再利用 TLC 法鉴别具体药品。该系统鉴别法通过充分的验证，将逐渐成为中国药典各品种正文项的第二套鉴别方法，从而被赋予法定地位。而中药（中药材、中成药）快速筛查系统，利用中药材正品和非正品在性状、显微、理化性质等的差异，选择简便、易行的指标实现中药材真伪的快速筛查；对中成药则主要以其主要活性成分，如生物碱、黄酮、皂苷等为指标，利用 TLC，通过参照物鉴别具体中成药中的主要药味，进而实现快速筛查。

1. 药品近红外快速筛查系统

近红外（Near infrared, NIR）光谱的波长范围是 780~2526nm（12820~3959cm⁻¹），由于该区域主要是 O—H，N—H，C—H，S—H 等含氢基团振动光谱的倍频及合频吸收，虽然其谱带宽、重叠较严重、吸收信号弱、信息解析复杂，但伴随着计算机技术的发展，复杂的化学计量学运算已不再是限制 NIR 应用的瓶颈，且由于其本身具有方便快捷、无需对样品进行预处理，适用于在线、现场分析等特点，近年来其成为发展最快、最引人注目的光谱分析技术，在药物分析领域中正不断得到重视与应用。

利用近红外方法进行假药识别具有诸多优点^[2]：可实现无损检测；可以同时定性、定量分析；可以同时分析活性成分和辅料，提供产品的指纹信息；进而综合出大量的有用信息。虽然自 2001 年来，已经有利用近红外进行假药识别的报道^[3~6]，但均集中在判别某样品是否为特定企业的产品（即建立特殊模型鉴别特定产品）这一领域。为适应药品检测车的需要，胡昌勤等于 2004 年提出建立近红外假药识别系统的设想^[7]，其实质是针对药品的活性成分建立一套对不同企业的具有相同 INN（International nonproprietary names）名称的同类产品能进行快速鉴别及定量的 NIR 模型，该方法能有效排除制剂中工艺、辅料的干扰，适用于多台近红外光谱仪；该类模型被称为通用性模型（Universal model）^[8]。在研制的“车载近红外药品快速检测系统”中：①结构相近的同系物药物，如抗感染药物，按其化学结构分为头孢菌素类、青霉素类、大环内酯类、氨基糖苷类等被放到一组进行识别，再根据其制剂（粉针剂、胶囊剂、片剂）的形式，分别建立鉴别模型。②采用两步鉴别的方案：第一步识别模型，利用同系物药物近红外图谱的差异（一般利用相对较窄的特征谱段），主要解决模型中同系物之间的相互识别问题；第二步确证模型，利用较宽的谱段，解决可能与其

药品信息查询系统利用现代信息技术，通过强大的数据库搜索查询和管理功能，安装在专用的笔记本电脑中，该系统由药品批准文号数据库、药品不良记录数据库和涉嫌药品照片库组成，各数据库数据可动态更新。目前药品批准文号数据库中收录有 18 万多条数据可供检索，是日常监督检查的有力工具。在地方药监部门及制药企业的配合下“药品信息查询系统”的数据库及功能将日趋扩大、完善。

他品种的混淆问题,进一步提高鉴别的准确性。在建模过程中:①通过合理的样品选择;②选择合理的波长范围;③利用因子分析法,通过对活性成分光谱、辅料光谱和因子光谱的比较,确定各因子光谱的特性,进而选用合理的因子光谱进行分析;④结合导数光谱等光谱预处理手段,进一步去除干扰,提高光谱的分辨率,建立了满意的定性和定量模型^[8~15]。对11种常见大环内酯类抗生素片剂的近红外分析流程如图1-3所示。2007年初,中检所组织17个省市药检所利用1万余批次经过法定方法确证的样品(包括假药),对近红外快速检测系统的准确性进行了验证,主要模型的鉴别正确率均在95%左右(表1-1),基本达到了预期的目标,进而进一步肯定了建模思路及方法的有效性。有关通用性模型的建模理论与方法将在本书以后的各章中逐步介绍。

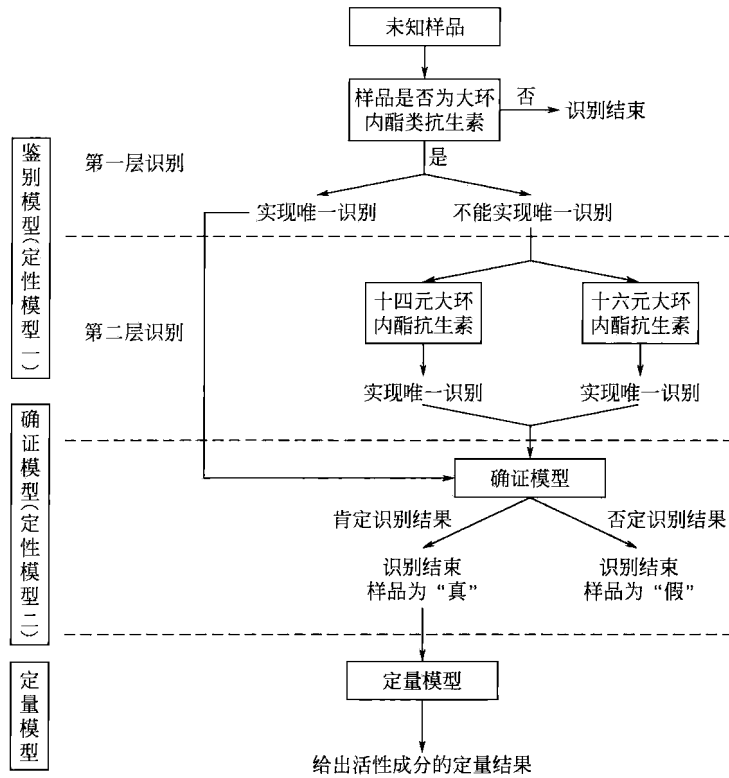


图 1-3 车载近红外药品快速分析系统分析大环内酯类抗生素片剂的流程图

注:“实现唯一识别”意味着未知样品被鉴别为一种确定的药品

表 1-1 对常用的 30 个近红外鉴别模型的验证结果

样 品	正确识别(正确识别率)	错误识别(假阳/阴性率)
合格样品 8235 批	7996(97.10%)	239(2.90%)
假药样品 263 批	258(98.10%)	5(1.90%)

2. 药品化学快速筛查系统

药品化学快速检测系统由传统的官能团化学鉴别和薄层色谱(TLC)鉴别两部分组成。中检所提出了“系统鉴别法”的概念:官能团化学鉴别和薄层色谱鉴别相辅相成,首先利用官能团反应实现对药品“类”的鉴别,再利用TLC法鉴别具体药品。对大环内酯类抗生素的系统鉴别法如图1-4所示:第一步浓硫酸反应首先确定样品是否为大环内酯类抗生素;再利用高锰酸钾溶液在十四元环大环内酯类抗生素和十六元环大环内酯类抗生素溶液中退色时

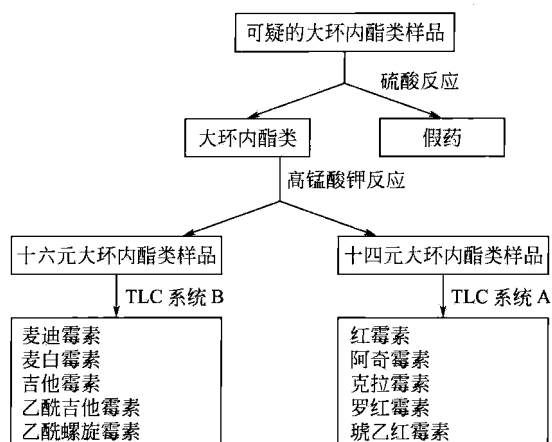


图 1-4 大环内酯类抗生素的化学系统鉴别流程图

间的差异,进一步区分十四元、十六元环大环内酯类抗生素;最后利用 TLC 法,根据不同大环内酯类抗生素 R_f 值的差异确定具体品种^[16]。

针对以往药物快检方法中存在的特异性不强、系统性差、品种单调、对具有相同活性成分的不同制剂采用的鉴别方法不一致、试剂未标准化、许多方法的可靠性未经过验证等问题,新建立的药品化学快速检测系统要求做到以下几点。

① 快速,要求反应时间要尽可能的短。对于颜色反应一般要求试剂加入后立即观察,最长观察时间不应超过 5min;对于 TLC 法,一般要求展开时间在 10min 左右

为宜,最长不宜超过 30min。

② 简便,要求现场操作过程要尽可能的简单。所有的试液、展开剂等均应具有一定的稳定性,不需要现场配制;实验方法要具有一定的粗放性,可以根据药品的标示量制备供试品,以避免称量、精密量取等较为繁琐的操作。

③ 经济,要求所用的器具、试剂等应价廉易得,便于携带,利于回收,并尽量不使用毒性较强的试剂。

④ 可操作性强,即方法应易于普及,非药检专业人员经过培训后应能够独立、正确地操作;且方法受地理环境如温度、湿度等的影响要尽可能的小。

从技术的角度上,要求官能团鉴别反应做到:①尽量采用反应机理明确的反应;②对同系物药品(如大环内酯类抗生素、 β -内酰胺类抗生素等),不同品种间的终反应现象如颜色等应明显便于区分;③反应结果具有较好的重现性。

要求薄层色谱鉴别系统做到:①展开后样品斑点的比移值(R_f)在 0.3~0.8 的范围内,且同系物药品间的 R_f 值应便于彼此区分;②对于 R_f 值接近的品种,可通过与对照品比对的方法,以保证结果判定的准确性;③每一薄层系统中使用的对照品一般不宜超过 2 个,可以采用 R_f 值、相对 R_f 值等方法,对薄层板中的斑点进行定性;④在建立方法时应考察温度对展开时间的影响,以确定适宜的操作温度,考察硅胶板活化情况对结果的影响,以指导硅胶板的合理存放。最终形成的各类化学快速鉴别方法汇编成册,每一具体方法中应包括对取样量,样品提取方法,官能团反应所用试剂的浓度、配制方法、加入量,TLC 鉴别所用的薄层板型号、点样浓度及点样量、展开剂的配制方法、显色剂及显色方法和对鉴别正反应现象如颜色反应的变化过程,TLC 实验的 R_f 值、斑点形状等的详细描述。

目前采用“系统鉴别法”,将常用的 13 类化学药品按其结构分别建立了 37 个鉴别系统,实现了对同系物药物的互相区分,可以对各类制剂的 500 余种药品实行快速鉴别(表 1-2)。

3. 中成药快速筛查系统

中成药多为复方制剂,理化鉴别专属性差,且干扰严重。快速筛查方法主要采用薄层色谱方法,按中药主要化学成分如生物碱、黄酮、皂苷等类别,分别建立薄层色谱系统,再对各品种的主要药味建立薄层色谱鉴别方法。在此基础上,逐步扩大到对同类品种的检测。

表 1-2 已经建立的常用药品化学快速鉴别系统

序 号	药品类别	鉴别系统	药品数量
1	抗生素(抗感染)类 药物 11 个鉴别系统 198 种药品	β -内酰胺类	51
		大环内酯类	29
		氨基糖苷类	19
		喹诺酮类	48
		四环素类	7
		利福霉素类	8
		糖肽类	7
		林可霉素类	7
		氯霉素类	7
		磺胺类药物	13
		其他	2
2	解热镇痛类药物 5 个鉴别系统 102 种药品	芳酰胺类	46
		吡唑酮类	11
		水杨酸类	8
		芳基烷酸类	32
		苯磺酰胺类	5
3	心脑血管类药物 6 个鉴别系统 76 种药品	有机(无机)酸(盐)类	10
		氮杂环类	32
		苯磺酰胺类	12
		芳乙胺类	8
		糖及其衍生物类	7
		他汀类	7
4	呼吸系统及抗病毒类 药物 5 个鉴别系统 35 种药品	对氨基水杨酸类	2
		酰肼及酰胺类	4
		有机胺类	14
		嘌呤类	10
		嘧啶类	5
5	消化系统用药	替丁类	10
6	降糖类药物	—	17
7	神经和精神类药物	—	30
8	抗寄生虫药物	咪唑类	35
9	甾体激素类药物	—	30
10	抗过敏类药物	—	10
11	抗变态反应用药	—	5
12	抗艾滋类药物	核苷及其衍生物类	6
13	抗疟类药物 2 个鉴别系统 7 种药品	喹啉及其衍生物类	3
		倍半萜内酯及其衍生物类	4
总计		37	561

(1) 按类别成分建立薄层色谱鉴别方法 针对皂苷类成分的薄层色谱鉴别法,例如,已研究的成药品种有:云南白药、云南白药胶囊、地奥心血康胶囊、三七片、三七伤药片、复方丹参片、复方丹参滴丸、生脉注射液、石斛夜光丸、跌打丸等成药。这些处方中含三七、人参、重楼、续断等,其主要药味均含有皂苷类成分,所建立的快检薄层色谱鉴别方法为:硅胶 G 板(预制)薄层板,三氯甲烷-甲醇-水(13:6:1.1)为展开剂,105℃加热至显色,可见光检视。统一使用三七总皂苷作为参照物,并根据成药品种的不同情况提出了不同的结果判断模式。

① 供试品与参照物含相同成分,参照物完全起到对照物的作用,可清晰鉴别主要成分

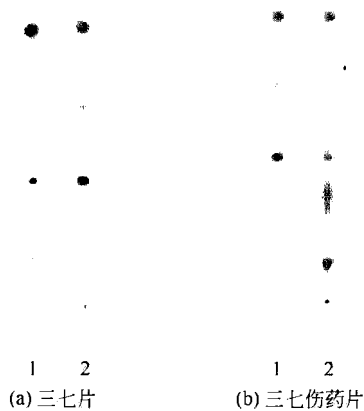


图 1-5 利用皂苷类薄层色谱
鉴别法鉴别三七片
1—样品；2—三七总皂苷对照物

(图 1-5)。

② 供试品与参照物成分类似，除鉴别与参照物相同的主要斑点外，还可鉴别其他特征斑点。如对含人参、西洋参等药材的成药的鉴别（图 1-6）。

石斛夜光丸中含有人参，对其鉴别时要求：“在供试品色谱图中，与参照物色谱斑点 1、2、3、4 相应的位置上，应显相同颜色的斑点；在与参照物色谱第 1、2 主斑点之间的相应位置上，应显 1~3 个红棕色的斑点”。

③ 供试品中含与参照物完全不同的皂苷成分，参照物仅起薄层色谱斑点的定位作用，结合图谱色谱斑点编号，以文字描述色谱结果。

如对地奥心血康胶囊的鉴别（图 1-7），“供试品色谱图中，应显 4~7 个大小不等的棕黄色斑点，其中位于参照物溶液色谱斑点 2 和斑点 3 之间接近斑点 2 的相应位置上，应显一棕褐色主斑点”。

(2) 对成药中贵重药材总体成分进行鉴别 加强对成药中贵重药材总体成分的鉴别，可以判别供试品中是否存在以低价原料代替贵重原料投料的现象。如在黄连上清片、香连片的检验过程中，曾发

现有的产品仅检出盐酸小檗碱的斑点，而无黄连对照药材的其他斑点（图 1-8）。说明该产品存在使用盐酸小檗碱或三颗针提取物代替黄连投料的现象。方法规定：“供试品色谱图中在与对照品色谱斑点相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点，并在其下方另显 1~2 个斑点”。

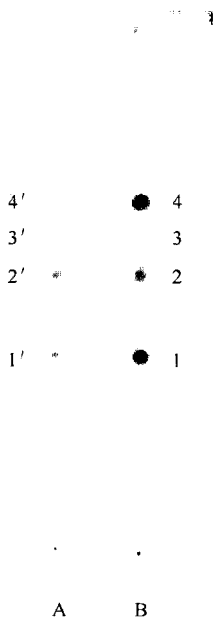


图 1-6 利用皂苷类薄层色谱鉴别
法鉴别石斛夜光丸
A—石斛夜光丸；B—三七总皂苷参照物

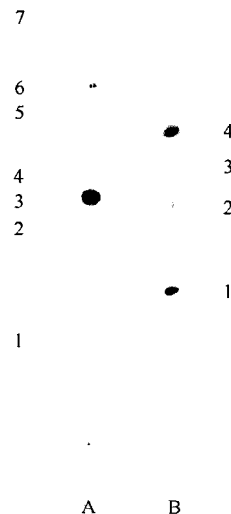


图 1-7 利用皂苷类薄层色谱鉴别法鉴别
地奥心血康胶囊
A—地奥心血康胶囊；B—三七总皂苷参照物

(3) 开展对系列品种的鉴别 六味地黄系列除包括六味地黄丸及其他剂型(六味地黄胶囊、六味地黄口服液、六味地黄片、六味地黄颗粒等)外,为适应不同的体征,在六味地黄丸的基础上还增加不同药味形成了一系列不同品种药物,包括杞菊地黄丸、桂附地黄丸、明目地黄丸、知柏地黄丸、金匱肾气丸、济生肾气丸、耳聋左慈丸等。快检方法针对六味地黄系列的基本处方药味(熟地黄、山茱萸、牡丹皮、山药、茯苓、泽泻),建立针对不同成分的系列检测方法(图 1-9,图 1-10),所建立的方法能对系列品种进行检测。

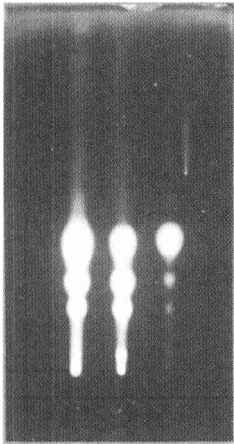
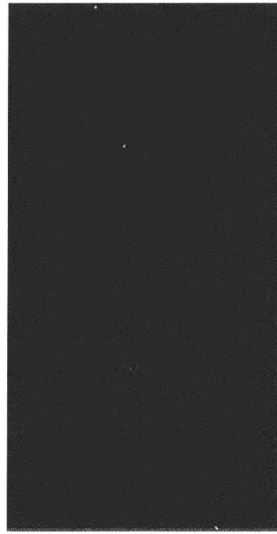


图 1-8 香连片薄层鉴别图谱

1- 香连片; 2- 黄连对照药材; 3- 盐酸小檗碱



(a) UV (254nm) (b) 10%硫酸乙醇溶液显色

图 1-9 对六味地黄丸中丹皮酚、熊果酸薄层鉴别图谱

1- 六味地黄丸; 2- 丹皮酚对照品; 3- 熊果酸对照品

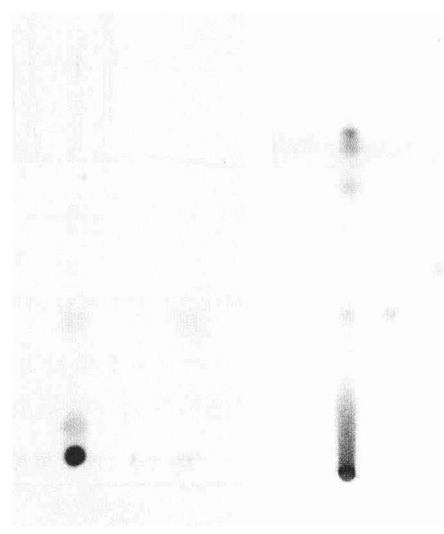


图 1-10 六味地黄丸马钱苷薄层鉴别图谱

1- 六味地黄丸; 2- 马钱苷对照品; 3- 芍药苷对照品

二、以授权方法为基础的药品实验室快速检测平台

授权 (Forensic) 方法系指具有法律地位的方法,在此特指能迅速鉴别假劣药品的药品检验方法。按其技术特点,可分为 HPLC 授权方法和 LC-MS 授权方法两大类,前者要求能够在一般药品检验所,特别是在地市级药品检验所被良好掌握,并具有较好的专属性、重现性,主要用于对一般假劣药品的鉴别;后者则主要集中在各省级药检所及部分重点地区药检所使用,用于对复杂成分(如中药掺西药)等疑难假劣药品的确证。

1. HPLC 授权方法

与药典中收录的 HPLC 方法相比较, HPLC 授权方法具有以下基本特点: ① 色谱系统相对简单,通常采用 C_{18} 或 C_8 色谱柱,流动相一般不用离子对试剂; ② 结构类似的药物在相同的色谱系统中能够相互区别; ③ 更注重方法的重现性,而不强求对药品中的有关物质实现完全分离。如对青霉素类药物,可采用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; $0.05\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾溶液(含四丁基氢氧化铵 $0.001\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH3.0)-乙腈为流动相;检测波长为 225nm ;流速为 $1.0\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 室温测定(图 1-11)。此外,授权方法要求采用药物的最小单位(片、囊、袋)进行测定,并依据原法定方法的含量限度和装量差异限度确定制剂的限度。

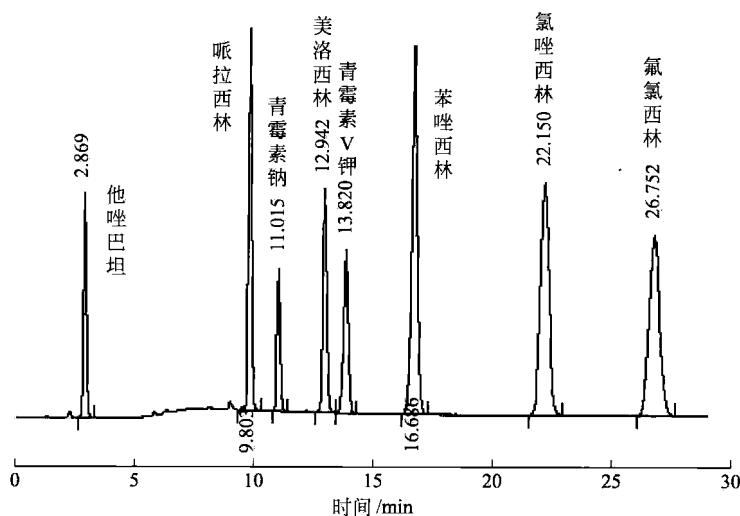


图 1-11 部分注射用青霉素的授权 HPLC 方法色谱图磷酸盐缓冲液-乙腈 (68 : 32)

授权方法限度(%) = 原标准含量下限(%) × [1 - 原标准装量差异限度(%)]

不同规格的注射用青霉素钠的授权方法限度见表 1-3。

表 1-3 注射用青霉素钠的授权方法限度

规格	药典限度	药典装量差异限度	授权方法限度
0.05g 及 0.05g 以下	标示量的 95.0%	15%	标示量的 80.8%
0.05g 以上至 0.15g		10%	标示量的 85.5%
0.15g 以上至 0.50g		7%	标示量的 88.4%
0.50g 以上		5%	标示量的 90.3%

(1) 采用对照品为参比的测定 当采用对照品为参比进行测定时, 授权方法通常需要在 2 个比例的强溶剂流动相条件下比较供试品与对照品的保留值, 以确保鉴别实验的专属性 (图 1-12), 并在其中的一个条件下测定供试品的含量。青霉素类药物 HPLC 授权方法的流动相条件见表 1-4。目前已经初步建立了青霉素类抗生素 (包括 27 种制剂)、头孢菌素类抗

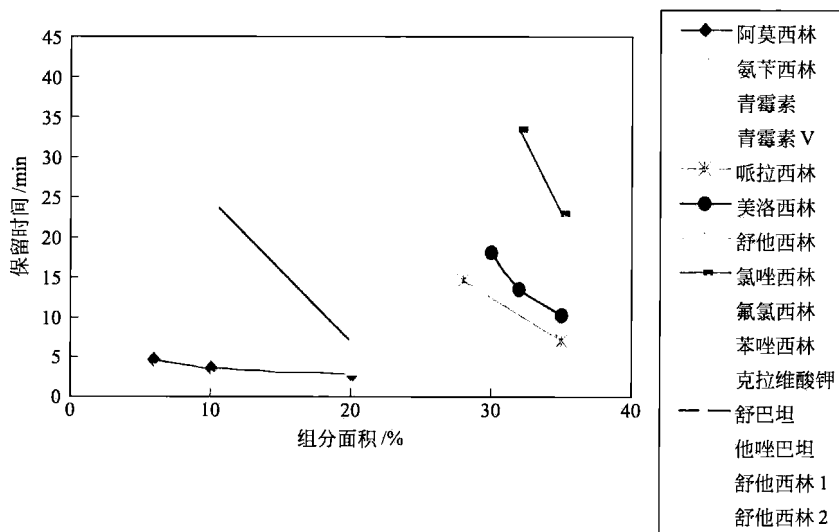


图 1-12 流动相强溶剂变化对青霉素药物保留值的影响 (Diamonsil 色谱柱实验结果)