

## 近红外漫反射光谱在快速测定利福平胶囊中利福平含量的应用

逯家辉,郭伟良,孟庆繁,蒋朝军,吴迪,张彤,滕利荣\* (吉林大学生命科学,长春 130012)

**摘要:**目的 建立利福平胶囊中利福平含量的快速测定方法。方法 采集样品的近红外漫反射光谱数据,采用偏最小二乘法(PLS)建立光谱数据和样品中的利福平含量的相关模型,应用所建模型对未知样品进行预测。结果 所建模型的回归系数(R)达到0.955 87;校正均方根误差(RMSEC)为0.006 51;预测均方根误差(RMSEP)为0.003 80。结论 所建模型预测精度高,可作为利福平胶囊原位质量检测和在线质量监控的方法予以推广。

**关键词:**偏最小二乘法;利福平;近红外光谱

中图分类号:R978.3;R917.102 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2008)01-0054-03

### Application of Near Infrared Diffuse Reflectance Spectroscopy to Rapid Determination of Rifampicin Capsules

LU Jia-hui, GUO Wei-liang, MENG Qing-fan, JIANG Chao-jun, WU Di, ZHANG Tong, TENG Li-rong\* (College of Life Science, Jilin University, Changchun 130012, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** Develop a method for content determination of rifampicin in rifampicin capsules. **METHODS** The near infrared (NIR) diffuse reflectance spectra of the samples was collected to establish a relative model between the spectra data and the rifampicin contents in rifampicin capsules by partial least squares regression, and then the samples were determined using the model. **RESULTS** The regression coefficient (R) of the model is up to 0.955 87. The root mean square error of calibration (RMSEC) is 0.006 51. The root mean square error of prediction (RMSEP) is 0.003 80. **CONCLUSION** This model possesses high precision of prediction, it must be popularized in the in situ measurement and the on-line quality control for rifampicin capsules production.

**KEY WORDS:** partial least squares; rifampicin; near infrared diffuse reflectance spectroscopy

利福平(RFP)是广谱抗生素,是一种高效的抗结核药物,为结核化疗中首选杀菌药物,但RFP在应用过程中常出现不良反应,因此药品含量要求比较精确<sup>[1]</sup>。国家标准方法中,RFP含量的测定是采用高效液相法(HPLC)<sup>[2]</sup>,该法测量虽然准确,可步骤繁琐,且难以实现在线检测。

近红外光谱(NIR)分析技术是20世纪70年代后逐渐兴起的一种新型快速定量分析方法,它具有无前处理、无污染、方便快捷、无破坏性、可在线检测等优点。但作为信息源的近红外光谱中有效信息率低,对复杂样品进行近红外光谱分析需从复杂、重叠、变动的光谱中提取微弱信息,非常困难<sup>[3]</sup>。本实验引入偏最小二乘法(PLS),该方法可消除部分干扰,解析重叠波谱,目前是化学计量学中最有效的分析方法之一<sup>[4]</sup>。应用近红外漫反射光谱结合PLS建立利福平胶囊中RFP含量的定量分析校正模型,并用所建模型对预测集样品中的RFP含量进行预测,取得较好的效果。该方法在药物分析方面有很大的应用前景。

#### 1 实验材料和方法

基金项目:吉林省科技发展基金(20020503-2)

作者简介:逯家辉,男,高级工程师 \* 通讯作者:滕利荣,男,教授

#### 1.1 实验材料

日本岛津UV-3150型紫外可见近红外分光光度计;日本岛津ISR-3100积分球附件;美国Waters公司Waters486高效液相色谱仪;Nucleosil ODS(4.6 mm × 150 mm, 10 μm)色谱柱(大连江申分离科技公司)。利福平(99.59%)对照品购于中国药品生物制品检定所;辅料购买于成都市泰山薄膜包衣有限公司;利福平胶囊购于内蒙古康源药业有限公司;其余试剂均为分析纯。

#### 1.2 预测集与校正集样品的配制

按照利福平胶囊的配方,精确配制成41个利福平胶囊粉末样品,其中利福平浓度范围为33.74%~41.19%(相当于标示量的74.98%~110.00%)。购买10个不同批号的利福平胶囊,取囊心物作为实际分析样品,其利福平含量按照文献<sup>[2]</sup>方法测量,测量值作为真实值,校正集样品36份(31份粉末样品,5份实际样品),预测集样品15份(10份粉末样品,5份实际样品),实际样品用HPLC法测量值作为真值。

#### 1.3 HPLC测定实际样品中利福平含量

E-mail: tenglr@jlu.edu.cn

采用 Nucleosil ODS (4.6 mm × 150 mm, 10 μm) 色谱柱, 流动相: 乙腈-0.05 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾溶液 (45:55), 流速: 1 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长: 340 nm。

精密称取利福平对照品 100.0 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加氯仿定容, 摇匀, 分别精密移取 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 和 6.0 mL 置于 50 mL 量瓶中, 用甲醇定容, 摇匀, 取 10 μL 进样, 以利福平峰面积为纵坐标, 利福平浓度作为横坐标绘制标准曲线。回归方程为  $Y=1\ 051.5X+13\ 001.1$ ,  $r=0.999\ 6$ 。

#### 1.4 光谱的采集

应用积分球, 设置狭缝为 12 nm, 波长范围为 1200 ~ 2500 nm, 对所有的样品进行近红外光谱扫描。

#### 1.5 数据的处理

用 OriginLab 公司的 Origin7.5 软件对样品的原始光谱进行卷积平滑 (Savitzky-Golay)、一阶导数和二阶导数预处理。运用 The m o Nicolet 公司 Omnic 软件包中的 TQ Analyst 部分对其原始光谱、卷积平滑光谱、一阶导数和二阶导数光谱数据进行 PLS 分析。以模型的回归系数 (R)、通过交互验证得出的交互验证均方根误差 (RMSECV) 为模型的优化参数, 模型的预测效果以预测集样品的预测均方根误差 (RMSEP) 来考察, 通过考察因子数对 RMSECV 和预测参差平方和 (PRESS) 影响选出模型最佳主因子数。R, RMSEC, RMSECV, RMSEP, PRESS 的计算方法见文献<sup>[5]</sup>。

### 2 结果与讨论

#### 2.1 原料与各辅料的近红外光谱分析

近红外光谱区主要反映分子中含氢基团的基频与合频, 而在 1 200 ~ 2 500 nm 谱区主要是含氢基团的一级倍频与合频。表 1 光谱预处理方法与波段的选择对 PLS 定量分析模型的 RMSECV 和 R 的影响

Table 1 Influence of different preprocessing methods and spectral regions on RMSECV, R and RMSEP of PLS calibration models

光谱预处理方法	优化参数	波长范围 /nm					
		1200 ~ 1416	1416 ~ 1906	1906 ~ 2252	2252 ~ 2500	1200 ~ 2500	1416 ~ 2252
原始光谱	RMSECV	0.008 13	0.006 56	0.006 64	0.011 85	0.006 53	0.006 55
	R	0.922 58	0.950 03	0.948 13	0.812 02	0.950 50	0.951 88
	RMSEP	0.008 20	0.004 17	0.006 17	0.012 70	0.004 14	0.003 98
卷积平滑光谱	RMSECV	0.008 79	0.006 79	0.006 88	0.011 34	0.006 54	0.006 51
	R	0.912 48	0.949 33	0.946 61	0.829 84	0.950 53	0.955 87
	RMSEP	0.008 95	0.004 07	0.005 49	0.011 50	0.004 19	0.003 80
一阶导数光谱	RMSECV	0.007 35	0.006 57	0.007 35	0.010 95	0.007 30	0.006 68
	R	0.939 31	0.950 72	0.938 68	0.846 03	0.938 37	0.948 85
	RMSEP	0.005 33	0.004 27	0.006 60	0.013 90	0.006 18	0.005 29
二阶导数光谱	RMSECV	0.008 79	0.010 25	0.010 55	0.014 72	0.006 51	0.009 75
	R	0.928 10	0.877 73	0.869 71	0.726 35	0.950 53	0.888 17
	RMSEP	0.005 14	0.007 05	0.009 04	0.014 00	0.004 19	0.007 14

#### 2.3 主因子数的选择

采用 PLS 方法建立定量分析模型时, 主因子数 (又称主成分数) 的选择直接关系到模型的实际预测能力, 使用主因子数过少, 就不能充分反映样品的光谱信息; 使用主因子数过多则会将一些噪音的信息也掺入计算, 降低模型的预测能

力。本实验采用留一交互验证法<sup>[6]</sup>, 考察主因子数对 RMSECV 和 PRESS 值的影响, 当 RMSECV 与 PRESS 值均最小时, 所选主因子数最佳。利福平胶囊中利福平含量的定量分析校正模型交互验证结果见图 2, 由图 2 可以看出其最适主因子数为 7。

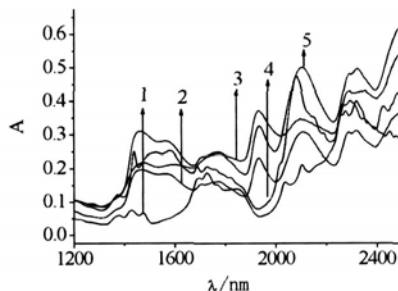


图 1 利福平原料与辅料的近红外光谱

1 - 利福平; 2 - 淀粉; 3 - 羧甲基纤维素; 4 - 蔗糖; 5 - 糊精

Fig 1 NIR spectrum of rifampicin and auxiliary materials

1 - rifampicin; 2 - starch; 3 - carboxymethyl cellulose; 4 - saccharose; 5 - dextrin

#### 2.2 光谱预处理方法与光谱范围的选择

近红外光谱仪所采集的光谱除样品的自身信息外, 还包含了其他无关信息和噪音, 选择最有效的光谱预处理方法, 去除噪音, 提高定量分析模型的预测精度。不同的官能基团有不同的倍频及合频的特征吸收波长, 通过从全波长范围内选择其中最有效的特征波长范围, 减少近红外光谱波峰重叠和共线现象引起的误差, 提高模型预测的精度。不同的光谱预处理方法和光谱范围的 PLS 分析, 结果见表 1。可以看出采用卷积平滑光谱的 1 416 ~ 2 252 nm 波段进行 PLS 时其分析效果最佳。

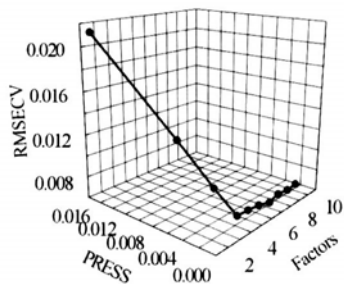


图 2 主因子数对 RMSECV 与 PRESS 的影响

Fig 2 Influence of Factors on RMSEV and PRESS of PLS calibration models

#### 2.4 最佳模型的建立

采用波长范围在 1416 ~ 2252 nm 的卷积平滑光谱,主因子数为 7,建立利福平胶囊中 RFP 含量的最佳定量分析模型,校正集样品中利福平浓度的预测值与真实值间的相关性见图 3,由图 3 可以看出 NIR 光谱预测值均能够准确地逼近真实值。

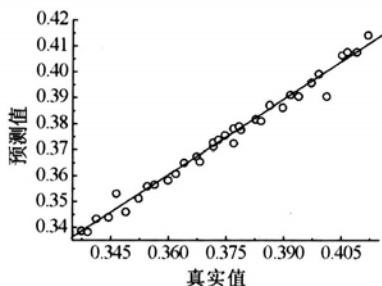


图 3 校正集的预测值与真实值间的相关图

Fig 3 Correlation between predicted values by NIR and actual values

#### 2.5 最佳模型对预测集样品的预测结果

应用所建的最佳定量分析模型对预测集样品中 RFP 含量进行预测,预测结果见表 2,由表 2 可以看出预测值与真实值间的相对误差 (RE) 在 -0.975% ~ 0.798% 间,平均回收率为 99.840%,结果表明模型有很高的预测精度。

#### 3 结论

本实验应用近红外漫反射光谱结合 PLS 法建立利福平胶囊中 RFP 含量定量分析模型,该方法不需对样品进行化学处理,方便快捷;PLS 能较好的解析近红外漫反射光谱严重重叠现象,解决各组干扰问题;预测精度能满足利福平胶囊生产中定量分析的要求。由于各仪器型号、数据格式、数据点数量、光谱分辨率等参数对光谱的采集有所影响,本实验应用岛津 UV-3150 型紫外可见近红外光谱仪所采集的光谱数据所建的定量分析模型在别的型号仪器所采集的光谱数据是否可用尚未考察。近红外光在光纤中有良好的传输性,光纤探头和便携式近红外光谱仪的产生,使在线检测和现场检测成为可能,通过光纤所采集的数据与直接采集的光

表 2 预测集中利福平含量的预测结果

Tab 2 Results of rifampicin in the prediction set

预测集样品号	真实值 /%	预测值 /%	相对误差 /%	回收率 /%
1	34.316	33.653	-0.975	98.068
2	35.071	35.635	0.798	101.608
3	35.835	35.192	-0.905	98.206
4	36.566	35.986	-0.799	98.414
5	37.279	37.351	0.096	100.193
6	38.063	37.640	-0.559	98.889
7	38.782	38.693	-0.115	99.771
8	39.536	39.320	-0.274	99.454
9	40.311	40.205	-0.132	99.737
10	41.060	41.191	0.159	100.319
11	37.224	37.489	0.355	100.712
12	37.434	37.471	0.049	100.099
13	37.589	38.117	0.697	101.405
14	37.763	37.906	0.189	100.379
15	37.908	38.038	0.171	100.343
平均值	37.649	37.592	-0.076	99.840

谱数据略有不同,只需对测量方法稍加改进,该方法在药物生产的原位检查和在线质量控制方面就会有很大发展前景。

#### REFERENCES

- [1] RAMESH P, SHRUTIDEVI A. Biopharmaceutic and pharmacokinetic aspects of variable bioavailability of rifampicin [J]. *Int J Pharm*, 2004, 271: 1-4.
- [2] SMITH P J, VAN-DYK J, FREDERICKS A. Determination of rifampicin isoniazid and pyrazinamide by high performance liquid chromatography after their simultaneous extraction from plasma [J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 1999, 3 (S3): 325-328.
- [3] MCCLURE W F. 204 years of near infrared technology: 1800 - 2003 [J]. *Near Infrared Spectrosc*, 2003, 11 (6): 487-518.
- [4] WU X H, CHEN D Z. Recent development of nonlinear partial-least squares in chemometrics [J]. *Chin J Anal Chem (分析化学)*, 2004, 32 (4): 543-540.
- [5] BLANCO M, COELLO J, ITURRIAGA H. NIR calibration in non-linear systems: different PLS approaches and artificial neural networks [J]. *Chemometr Intell Lab*, 2000, 50(1): 75-82.
- [6] ERIKSSON L, JOHANSSON E, MULLER M, *et al*. On the selection of the training set in environmental QSAR analysis when compounds are clustered [J]. *J Chemometrics*, 2000, 14(5-6): 599-616.

收稿日期: 2007-06-21