

基于太赫兹技术的药物检测*

段瑞鑫¹ 赵红卫² 朱亦鸣^{1,†}

(1 上海理工大学 上海市现代光学系统重点实验室 上海 200093)

(2 中国科学院上海应用物理研究所 上海 201800)

2013-09-11 收到

† email: ymzhu@usst.edu.cn

DOI: 10.7693/wl20131103

Drug detection by terahertz time-domain spectroscopy

DUAN Rui-Xin¹ ZHAO Hong-Wei² ZHU Yi-Ming^{1,†}

(1 Engineering Research Center of Optical Instrument and System, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

(2 Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800, China)

摘要 鉴于太赫兹辐射特有的光谱分辨性、功能性成像特点以及良好的穿透性和安全性等,太赫兹波谱技术迅速成为物质分析与检测等的重要工具。文章基于太赫兹时域光谱技术的实验数据,结合泛函密度理论(DFT)和HIPHOP模型,对一系列降糖类药物进行分子解析和功能基团识别;结合支持向量机理论(SVM),对4种郁金类中草药进行分析识别;并结合差式扫描量热法对葡萄糖一水合物的结晶水状态进行测定;最后对太赫兹时域技术在药物检测方面的优势和不足做了进一步的分析与展望。

关键词 太赫兹, 药物检测, 中草药, 降糖药, 葡萄糖

Abstract Due to unique spectral region, functional imaging ability, excellent penetration and safety characteristics of terahertz radiation, the terahertz technology rapidly becomes a vital method to detect and analyze drugs. In this paper, firstly, we identify the functional groups of anti-diabetic drugs by density functional theory (DFT), HIPHOP models and experimental results from terahertz time-domain spectroscopy measurements. Secondly, we identify four kinds of herbs of radix curcumae by using the support vector machine (SVM) analysis. Besides, we analyze the absorption of anhydrous and hydrous glucose, and determine the state of water in the crystalized D-glucose·H₂O through the results of differential scanning calorimetry measurement. Finally, we summarize the advantages and disadvantages of terahertz time-domain spectroscopy method in drug detection and analyzation.

Keywords terahertz, drug detection, herbs, anti-diabetes, glucose

1 引言

太赫兹技术为人类认识和观察物质世界展现

* 上海市基础研究重点项目(批准号: 12JC1407100); 国家重大科学仪器专项基金(批准号: 2001YQ150021)、国家自然科学基金(批准号: 11174207, 61138001, 61007059, 61205094)资助项目; 上海市教育委员会重点学科建设基金(批准号: S30502)资助项目

了一个全新的视角。太赫兹窗口介于远红外波段与微波之间,通常是指频率在0.1 THz—10 THz(波长在3 mm—30 μm)之间的远红外电磁辐射^[1]。太赫兹电磁波具有良好的穿透性,能透过很多种材料,如包装用的纸张、塑料、木材^[2, 3]等。太赫兹辐射能量低,不会对样品造成损伤,因此在材料检测、质量控制^[4-6],尤其是在生物^[7]和医药监

测分析及医学诊断^[8]方面具有重要的应用。

近年来,太赫兹光谱技术和成像技术不断发展,使其在生物医药领域的应用得到了高度关注,太赫兹技术所特有的光谱分辨性、功能性成像以及良好的穿透性和安全性正成为药物检测的一种新手段,并与常规的傅里叶变换红外光谱技术形成了有效的互补。2003年,Taday等最早报道了通过太赫兹脉冲光谱区分盐酸雷尼替丁(ranitidine hydrochloride)的两种晶型^[8]。2006年,Zeitler等利用太赫兹光谱分辨磺胺噻唑的五种晶型,并且对不同晶型的混合物进行了区分^[9]。2010年,Chakkittakandy等研究了两种晶型甘露醇的太赫兹谱,并发现在甘露醇冷冻的过程中,可以形成不同种类的晶型^[10]。太赫兹光谱不仅可以对不同晶型的药物进行区分,而且可以对含不同结晶水的药物原材料进行区分。Upadhy和Kawase等分别利用太赫兹技术对不同形式的乳糖^[11]、茶碱^[12, 13]等多种材料进行区分。在2009年,Kawase等获得了不同形式的头孢他啶,发现了不同形式的药物的明显区别。太赫兹技术不仅能够对不同组成和结构的化合物进行区分鉴别,而且对于复合药物或混合药物体系也能进行有效的定性和定量分析^[14]。2008年,Nishikiori等分析了D-酒石酸和L-酒石酸,并利用最小二乘法对它们的混合物进行定量分析,得到了两种物质的含量^[15]。2010年,Otsuka等人对两种不同形式的甲灭酸(mefenamic acid),用化学计量学方法进行了量化分析^[16]。在外界温度、压力等因素影响下,有些药物会由一种固态形式转变成为另一种固态形式,这个过程有可能会发生在药品的制备或者存储过程中,利用太赫兹技术也可以检测其中的变化。2005年,Zeitler等人首次利用太赫兹技术研究了在不同温度条件下卡马西平两种固体形态之间的可逆转变^[17],并且进一步研究了非晶态卡马西平的结晶^[18]。2009年,Limwikanant等人分析了氧氟沙星和草酸的络合物,发现利用太赫兹技术可以获得络合物之间的弱相互作用信息,进而可以判断络合物的结构形式^[19]。

本文主要综述上海理工大学上海市现代光学

系统重点实验室的一系列基于太赫兹技术的药物分析和检测的实验及其理论研究成果,通过太赫兹时域光谱实验数据,并结合理论对一系列降糖药物进行分子解析和功能基团识别,对4种郁金类中草药进行分析识别,并对葡萄糖一水合物结晶水状态进行测定,发现太赫兹光谱技术在药物成分分析、鉴别及药物分子解析方面有巨大价值和重要意义。

2 太赫兹时域波谱系统

目前,实验室常用的太赫兹系统分为透射式太赫兹系统、反射式太赫兹系统和太赫兹成像系统。透射式太赫兹系统是指太赫兹电磁波直接透过样品材料进行检测。反射式太赫兹系统是指利用太赫兹电磁波经由样品材料反射的信号进行检测。太赫兹成像系统是基于透射式或反射式系统对样品材料上的一定区域范围进行逐点扫描成像。本文所采用的设备为透射式太赫兹时域光谱(THz-TDS)系统,其原理如图1所示。该系统主要是由飞秒激光器、太赫兹辐射产生装置、太赫兹辐射探测装置、时间延迟控制系统组成。飞秒激光器使用相干公司生产的自锁模钛蓝宝石激光器Mirror 900,其中心波长是800 nm,重复频率为76 MHz,脉宽为80 fs,输出功率在1.1 W左右。探测晶体是碲化锌(ZnTe)。系统的工作原理是飞秒激光经过半波片和分束镜后被分成抽运光和探测光两部分,抽运光经过频率为3 kHz的斩波器斩波后,通过衰减片并聚焦在加有偏置电压的碲化镓上,激发出太赫兹电磁波。太赫兹电磁波经过两个抛物面镜收集聚焦后经过样品,携带有样品信息的太赫兹脉冲被第三个抛物面镜收集,并通过高阻硅片。探测光经过光学延迟系统和偏振片被高阻硅反射,太赫兹信号和探测光经过第四个抛物面镜聚焦后进入到碲化锌晶体,碲化锌晶体在太赫兹电磁波的作用下会产生双折射效应,从而将线偏振的探测光变为椭圆偏振光。经过渥拉斯通棱镜将椭圆偏振光分成方向垂直的分量,光电探测器接收到光信号

经过低通滤波处理后输入到锁相放大器中，然后输入到计算机中进一步处理，得到时域太赫兹信号。实验中所用信噪比可以达到 10^4 。

本系统使用的太赫兹辐射源是采用上海理工大学研制的用分子束外延技术生长的超纯本征砷化镓(GaAs)作为辐射源材料，并在其上镀透明电极，制作成m-i-n二极管(见图2(a))。针对现有的太赫兹辐射源效率低、频谱窄的问题，我们采取超纯本征砷化镓材料来制备太赫兹辐射源，实现了宽频谱、高效的太赫兹辐射源。

根据麦克斯韦方程，

$$\begin{aligned} \nabla \times \mathbf{E} &= -\mu_0 \frac{\partial \mathbf{H}}{\partial t} \\ \nabla \times \mathbf{H} &= \mathbf{J} + \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial t} \\ \Rightarrow \mathbf{E} &\propto \frac{\partial \mathbf{J}}{\partial t} \propto \frac{\partial n}{\partial t} + \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t}, \end{aligned} \quad (1)$$

其中 $\mathbf{J} = nev$ (n 为被激光激发出的载流子的浓度， \mathbf{v} 是载流子非平衡运动的速度)，我们可以知道载流子的浓度变化或者速度变化都能产生太赫兹电磁波。

传统的光电导天线大多采用低温生长砷化镓材料，该材料中存在较多缺陷，能产生较多的空穴和电子的复合，使得电流强度产生瞬时的变化，从而产生太赫兹电磁波(即(1)式中的 $\partial n/\partial t$ 项)。不同于传统的低温砷化镓材料，我们的太赫兹辐射源是采用分子束外延技术生长的超纯本征砷化镓材

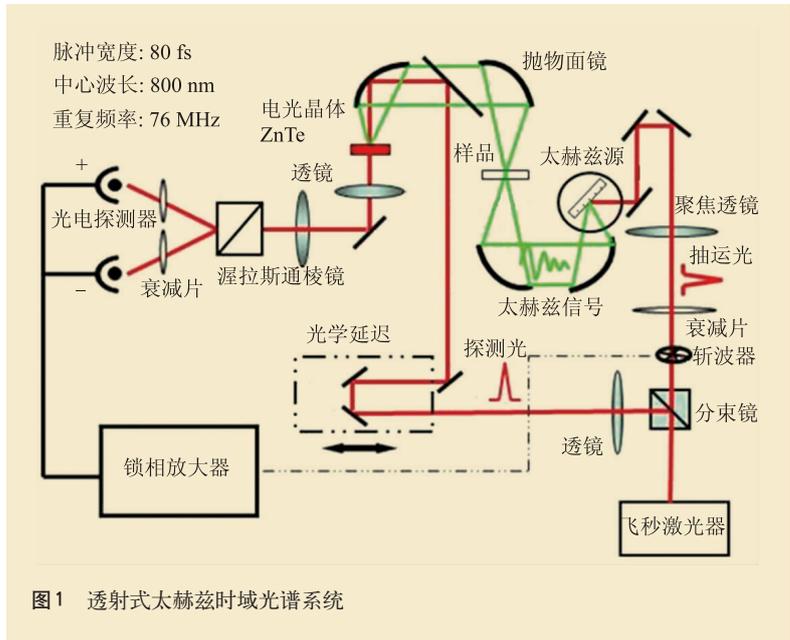


图1 透射式太赫兹时域光谱系统

料层作为辐射源材料^[20]。所以该器件具有缺陷密度少的优点，虽然牺牲了(1)式中的 $\partial n/\partial t$ 项，但是显著地提高了其耐受超高电场的特点，从而保证了电子能获得巨大的加速度，实现高转换效率地产生宽频谱的太赫兹电磁波(即(1)式中的 $\partial \mathbf{v}/\partial t$ 项)。频谱宽度可达到4.5 THz(见图2(b))。

3 降糖类药物有效成分鉴别

目前，临床上针对2型糖尿病患者，一般用磺脲类药物进行治疗^[21]，发展至今已经有几代产品：第一代有甲苯磺丁脲、氯磺丙脲等；第二代有格列苯脲、格列齐特等；第三代有格列美脲

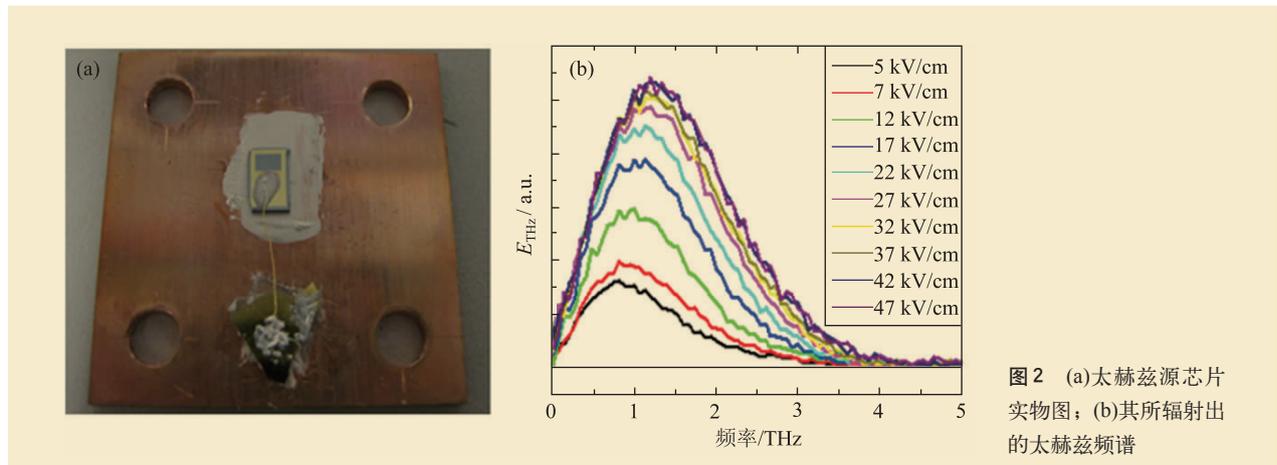


图2 (a)太赫兹源芯片实物图；(b)其所辐射出的太赫兹频谱

等。随着降糖类药物的发展，第一代产品由于其不良的副作用缓慢地退出市场；第二代是在第一代的基础上发展而来的，通过改变分子结构，减少副作用的产生，并且大幅地提高药效，目前正被广泛的使用；第三代是在第二代的基础上加入了二环杂环，使药物在已具有的降糖功能的基础上，增加了对血小板的改善功能，有益于改善糖尿病患者凝血或有血栓倾向的并发症^[22]。

一些研究已经证明，药物的药效基团在太赫兹频率波段十分敏感，具有明显的特征吸收峰，使用 THz-TDS 技术可以准确地识别出基团的振动频率，可结合基于受体或配体的药物设计来获得其振动模式，为实现药效基团分析、新药开发等一系列药理研究工作提供帮助。

在针对降糖尿病药物的分析研究中，利用时域太赫兹波谱系统，对格列喹酮(Gliquidone)、格列吡嗪(Glipizide)、格列齐特(Gliclazide)、格列美

脲(Glimepiride)、阿卡波糖(Acarbose)、瑞格列奈(Repaglinide)和二甲双胍(Metformin)7种降糖药进行检测，得到它们在0.3—3.0 THz范围内的太赫兹吸收谱^[23]。

图3中不同药物有明显不同的吸收峰，可以发现，磺脲类药在约1.37 THz处有相同的吸收峰，但是在其他区域，4种降糖类药物无明显的指纹谱，因而不宜做细节分辨。实验中，有可能存在辅料干扰实验结果，通过对4种药物查询，发现仅有 α -水乳糖在0.53 THz和1.38 THz处存在吸收峰，但是在实验中没有发现0.53 THz处共振峰，因此可以排除这一干扰因素。

分析样品的分子结构可以发现，4种磺脲类降糖药物在分子结构上存在异同点。如图4所示，在磺脲基团两侧，分别挂上R1和R2的物质的药物均属于磺脲类药物，根据已有的实验结果，我们猜测1.37 THz处的共振是由同一基团引起，借助基于药物设计理念的HIPHOP算法，通过药效团识别方法，获取4种磺脲类

药物共有药效功能基团——磺脲基团，如图4所示。去除药物分子周边R1和R2所携带的分子结构，仅保留磺脲基团，再次使用密度泛函理论(一种被广泛应用于量子力学上的建模方法，大多数情况下，在固态物理中应用时能与实验数据保持一致)进行量子计算，得到1.38 THz处的振动模式，并确定该频点上分子基团的运动规律。

利用太赫兹时域光谱技术，可以对药物的逆向研发起到决定性的促进作用，通过对共振吸收峰的分析，可以进行有效的分子功能基团的识别分析。

4 中草药的鉴别

中草药是中华民族的一大宝藏。我国古代劳动人民总结了大量中草药的药理药性，总结了很多种疾病的治

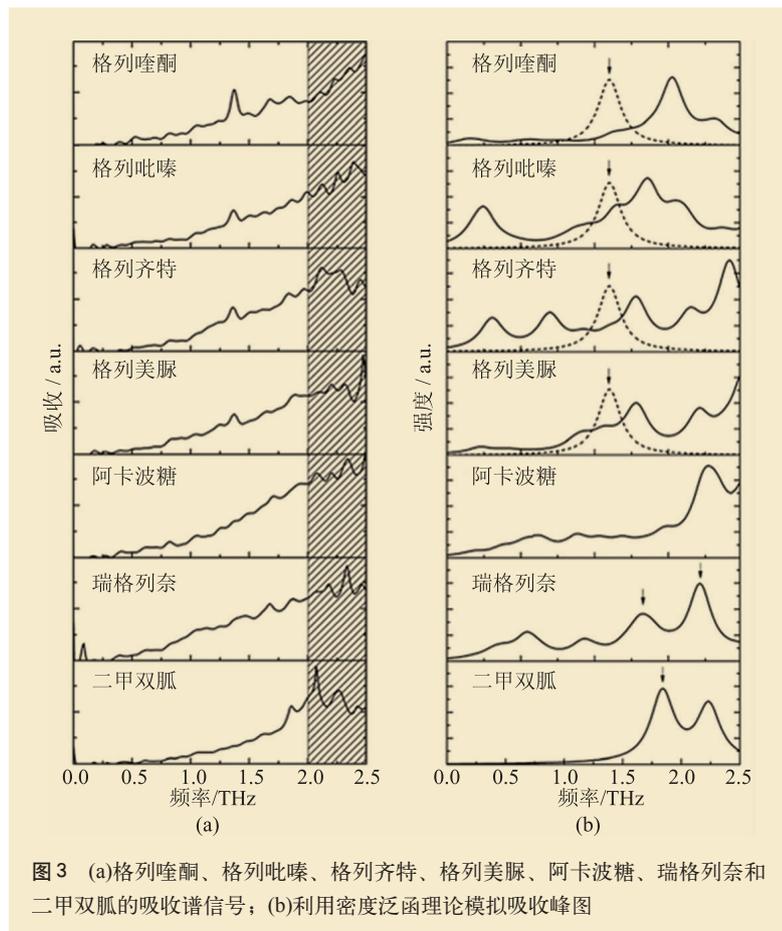


图3 (a)格列喹酮、格列吡嗪、格列齐特、格列美脲、阿卡波糖、瑞格列奈和二甲双胍的吸收谱信号；(b)利用密度泛函理论模拟吸收峰图

疗方法，尤其在慢性病、消耗性疾病治疗方面有着西医不可替代的重要作用。但是由于中草药种类繁多，而且药效和中草药的品质种类有着直接的关系，因此中草药的鉴别以及质量控制是一个备受关注的焦点。现代中药的鉴别已经在很大程度上取代了眼看、手摸等传统检测方法，现代检测方法中主要采用色谱法、光谱法、热分析法、分子生物技术、扫描电镜技术等。红外光谱技术对中草药成分鉴别方面非常有效，指纹特征显著，因此在中医药分析和鉴别方面有十分重要和广泛的应用。太赫兹电磁波由于其波段的特殊性，将远红外电磁波进一步扩展，因此太赫兹电磁波被应用于揭示低频波段的振动响应和分子间的弱相互作用。最近，陈艳江^[24]等利用太赫兹时域光谱技术，结合支持向量机和神经网络技术，对甘草、柴胡等中药进行鉴别分析，取得了良好效果。何明霞^[25]等利用太赫兹时域光谱技术和分层聚类方法，对牛藤、黄芪等几组中药进行了分层聚类分析和识别。中草药在太赫兹波段的特征吸收可以作为特定标识，在没有特征吸收峰的情况下，可以结合模式识别来进行具体的区分。

本实验室对郁金类中草药黄郁金、绿郁金、温郁金和桂郁金进行了太赫兹光谱测量和分析^[26]。样品经过研磨加工成直径 5 μm 左右的颗粒后制样。实验测得 4 种郁金类中草药在太赫兹波段没有明显的吸收峰，见图 5。因此需要通过支持向量机进行模式识别分类^[26]。

在我们的实验中，对每一个样品测量 4 次，共计得到 16 组数据，计算的吸收谱，如图 5 中的 4 种郁金的吸收谱，选取信噪比最高的部分 0.5—0.6 THz 处作为模式识别分类数据。将样品随机

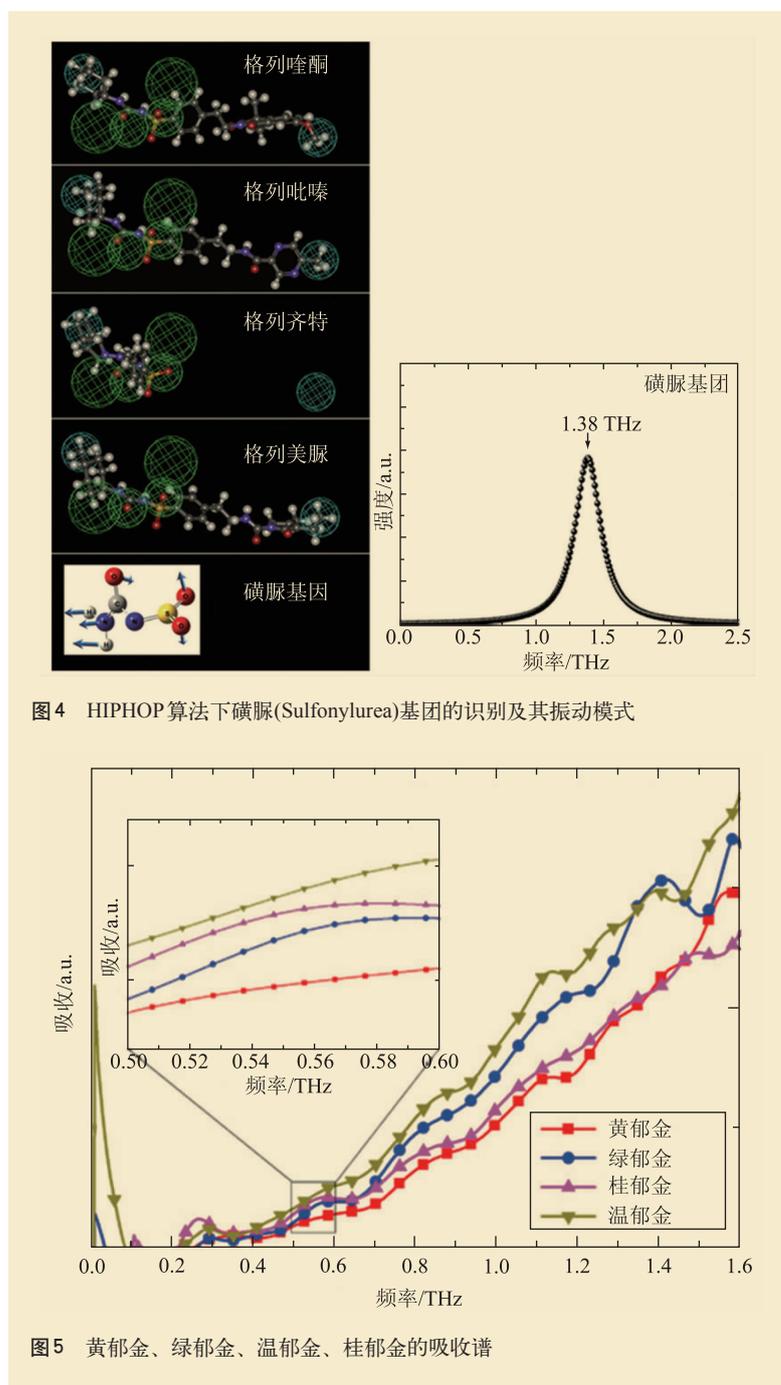


图4 HIPHOP算法下磺脲(Sulfonylurea)基团的识别及其振动模式

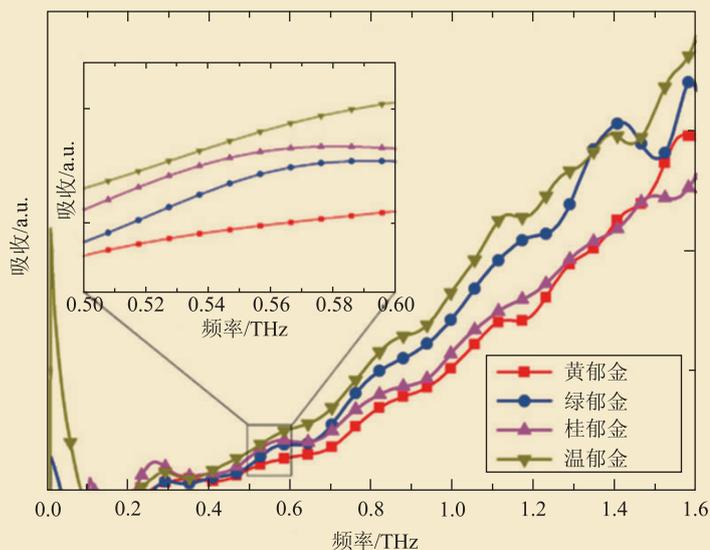


图5 黄郁金、绿郁金、温郁金、桂郁金的吸收谱

分成 4 组，并随机选取 3 组作为训练集，余下的一组作为未知材料进行分类，4 种样品分类正确率达到 100%。研究表明，太赫兹光谱技术能够有效地应用于中草药的检测识别和分析。

5 葡萄糖的鉴别

葡萄糖是细胞能量来源和新陈代谢中间产

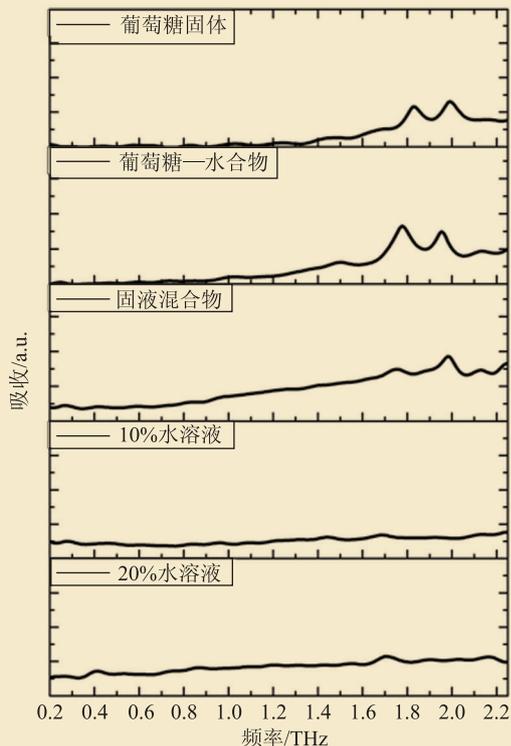


图6 5种形式下葡萄糖结晶水合物的吸收谱

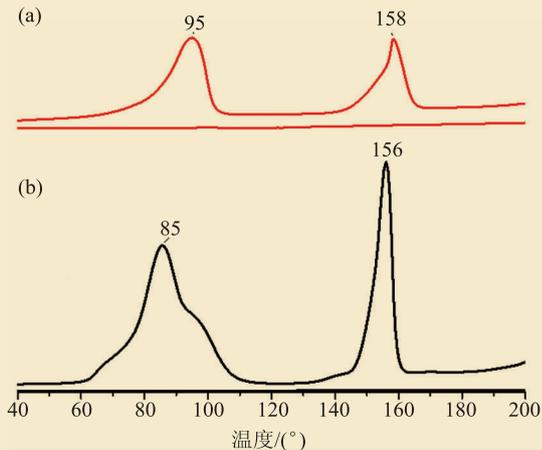


图7 差式扫描量热法结果 (a)析出葡萄糖固体；(b)葡萄糖一水合物标准样品

物，在生物学领域具有重要地位。葡萄糖很容易进入血液中，并参与能量转换和代谢过程，葡萄糖及其含结晶水状况在制药领域具有重要意义，会直接影响药物的溶解速率、稳定性和生物活性等。2006年，Liu H. B. 等首次利用太赫兹时域光谱技术研究了无水的和含结晶水的葡萄糖的吸收

特性，发现它们的吸收光谱有显著的区别，并详细分析了其水合物脱水的动力学过程^[27]。无水D-葡萄糖晶体呈正交晶系，空间群为 $P2_12_12_1$ ^[28]。而含葡萄糖一水合物为单斜晶系，空间群为 $P2$ ^[29]。从分子微观结构上看，它们的晶体堆积方式不同，分子内和分子间相互作用不同，这是造成其振动光谱差异的主要原因。2007年，Abe K. 等对含有不同量结晶水的葡萄糖进行研究^[30]，发现太赫兹光谱技术可以用来测量结晶水的含量。2009年，马晓菁等利用太赫兹时域光谱技术，结合线性回归技术，对葡萄糖、核糖、乳糖等多种糖混合物的太赫兹吸收光谱进行了定量分析^[31]，指出太赫兹技术可以同时用来做定性和定量分析，使其在药物成分分析方面发挥作用。2012年，Zheng Z. P. 等人结合理论计算，分析了葡萄糖和果糖的太赫兹吸收峰，指出这两种同分异构体在太赫兹波段的低频吸收是分子内和分子间作用力共同参与的结果^[32]。

本实验室所用的葡萄糖为生物试剂公司提供原料，未具体标注是否含结晶水。本文作者通过太赫兹时域光谱技术对其进行鉴别分析，并初步考察了其水溶液的太赫兹吸收光谱。图6为原料固体粉末的太赫兹吸收谱，可以看出，在1.8 THz和1.96 THz处有两个明显的吸收峰，和文献^[27]中所报道的葡萄糖一水合物特征峰一致。

分析图6中葡萄糖一水合物中加入少量水、糊状固液混合物以及不同浓度葡萄糖水溶液的吸收谱，可以看出，随着水的加入，固液混合物中仍然呈现原料分子的指纹特征吸收，表明其晶体结构未完全被破坏。随着水的增加，葡萄糖水合物逐渐溶解，晶体结构被破坏，特征峰消失，且其水溶液吸收相对平滑。为了检测过剩的水对吸收的影响，我们针对图6中10%和20%两种浓度水溶液，采取了滤纸取样的方式。通过滤纸吸去部分水分后使得少量分子重新结晶，导致有弱吸收峰出现。通过分析图6中5种样品的THz-TDS吸收谱，我们可以通过吸收峰的强弱判断未含结晶水的葡萄糖的多少，这在制药原材料分析方面有巨大的潜在应用价值。

对于重新析出的固体, 我们通过差式扫描量热法 (differential scanning calorimetry, DSC) 做了进一步确认, 证实了太赫兹光谱所示结果, 图 7 中析出葡萄糖中依然含有一定量的自由水, 因此, 图 7(b) 与图 7(a) 相比, 第一个峰值有漂移。

6 结束语

通过实验研究发现, 太赫兹时域波谱技术结

合密度泛函理论、支持向量机和 HIPHOP 模型等算法, 可以对药物活性成分结构进行分析, 识别相近属性中草药, 测定药物—水合物中的结晶水含量等。然而, 太赫兹技术在药物检测中仍然存在一些问题和挑战。如有机物在太赫兹波段的特征光谱响应所对应的相关有机大分子基团的解析是该技术应用中面临的重要问题, 但太赫兹光谱技术仍然在药物识别、设计和药物质量检测等方面具有广阔的发展前景和重要意义。

参考文献

- [1] 许景周, 张希成. 太赫兹科学技术和应用. 北京: 北京大学出版社, 2007. 07
- [2] Ferguson B, Zhang X C. *Nature Materials*, 2002, 1(1): 26
- [3] Dexheimer S L. Taylor Francis Group. New York, USA, 2008
- [4] Jansen C, Wietzke S, Peters O *et al.* *Applied Optics*, 2010, 49(19): E48
- [5] May R K, Evans M J, Zhong S *et al.* *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2011, 100(4): 1535
- [6] Jepsen P U, Cooke D G, Koch M. *Laser & Photonics Reviews*, 2011, 5(1): 124
- [7] Parrott E P J, Sun Y, Pickwell-MacPherson E. *Journal of Molecular Structure*, 2011, 1006(1): 66
- [8] Taday P F, Bradley I V, Arnone D D *et al.* *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2003, 92(4): 831
- [9] Zeitler J A, Newnham D A, Taday P F *et al.* *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2006, 95(11): 2486
- [10] Chakkittakandy R, Corver J A W M, Planken P. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2010, 99(2): 932
- [11] Zeitler J A, Kogermann K, Rantanen J *et al.* *International Journal of Pharmaceutics*, 2007, 334(1): 78
- [12] Upadhyaya P C, Nguyen K L, Shen Y C *et al.* *Spectroscopy Letters*, 2006, 39(3): 215
- [13] Balbuena P B, Blocker W, Dudek R M *et al.* *The Journal of Physical Chemistry A*, 2008, 112(41): 10210
- [14] Kawase M, Saito T, Ogawa M *et al.* *Analytical Sciences*, 2009, 25(12): 1483
- [15] Nishikiori R, Yamaguchi M, Takano K *et al.* *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2008, 56(3): 305
- [16] Otsuka M, Nishizawa J, Shibata J *et al.* *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2010, 99(9): 4048
- [17] Zeitler J A, Newnham D A, Taday P F *et al.* *Thermochimica Acta*, 2005, 436(1): 71
- [18] Zeitler J A, Taday P F, Pepper M *et al.* *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2007, 96(10): 2703
- [19] Limwikanant W, Higashi K, Yamamoto K *et al.* *International Journal of Pharmaceutics*, 2009, 382(1): 50
- [20] Zhu Y M, Unuma T, Shibata K *et al.* *Applied Physics Letters*, 2008, 93(4): 042116
- [21] Janbon M, Chaptal J, Vedel A *et al.* *Montpellier Med.*, 1942, 441: 21
- [22] 魏凤婷, 张宏颖, 夏彩霞等. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(4): 191
- [23] Du S Q, Li H, Xie L *et al.* *Appl. Phys. Lett.*, 2012, 100(14): 143702
- [24] 陈艳江, 刘艳艳, 赵国忠等. *光谱学与光谱分析*, 2009, 29(9): 2346
- [25] 何明霞, 郭帅, 秦蕊等. *光谱实验室*, 2013, 30(003): 1044
- [26] Li H, Du S Q, Xie L *et al.* *Optik-Int. J. Light Electron Opt.*, 2012, 123(13): 1129
- [27] Liu H B, Zhang X C. *Chemical Physics Letters*, 2006, 429(1): 229
- [28] Ferrier W G. *Acta Cryst.*, 1963, 16(10): 1023
- [29] Killean R C G, Ferrier W G, Young D W. *Acta Crystallographica*, 1962, 15(9): 911
- [30] Abe K, Hayashi S, Doki N *et al.* *Bunseki Kagaku*, 2007, 56(10): 851
- [31] Ma X J, Zhao H W. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2009, 29(11): 2885
- [32] Zheng Z P, Fan W H, Liang Y Q *et al.* *Optics Communications*, 2012, 285(7): 1868