

药物晶型定量分析方法的研究进展

马乐伟, 杜 葳, 赵春顺*

(中山大学药剂学与制药工程实验室, 广东 广州 510006)

摘要: 药物的多晶型对制剂的稳定性、溶出度及生物利用度等有着不可忽视的影响, 有的甚至带来毒副作用, 是影响药品质量的重要因素之一。因此, 仅定性分析原料药或制剂中的晶型不能满足药品的质量控制要求。为了测定原料药或制剂中有效晶型的含量, 从而确保制剂的疗效, 需要建立适当的多晶型定量方法, 其中包括 X-射线粉末衍射法、傅里叶变换拉曼光谱法、中红外光谱法、近红外光谱法、太赫兹光谱法、固态核磁共振法和差示扫描量热法等技术。本文综述了近 10 年来这些晶型定量方法的研究进展。

关键词: 药物; 多晶型; 定量分析

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 08-0896-08

Advances in the quantitative analytical methods of drug polymorphism

MA Le-wei, DU Wei, ZHAO Chun-shun*

(Laboratory of Pharmacy and Pharmaceutical Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: Polymorphism of drug is known to influence the stability, dissolution, bioavailability and other performance characteristics of the products. Therefore, the crystal form of the drug must be identified and determined in order to ensure consistent product performance. Even if the identification and characterization of crystal forms are performed thoroughly and the effective crystal form is selected for preparation, it is important to ensure that the effective crystal form in the final product remains unchanged. Therefore, it is essential to quantitate the content of the effective crystal form in the product to control the quality and performance of them. X-ray powder diffraction, FT-Raman, mid-IR, near-IR, terahertz pulsed spectroscopy, solid-state NMR spectroscopy, and DSC are the quantitative methods of crystal form used in the recent 10 years. This review briefly highlights the basic principles and the progress of these methods and discusses the perspective as they apply to pharmaceutical research and development.

Key words: pharmaceutical; polymorphism; quantitative analysis

多晶型是指化合物在晶格中按照不同的分子排列方式或构象的不同而形成不同晶型的现象^[1]。目前上市药物中至少有 50% 存在多晶型现象^[2, 3], 不同的晶型具有不同的机械学、热力学、物理学和化学特性, 如: 可压缩性、熔点、晶癖、颜色、密度、溶解度和溶出速率等。这些特性的差异可能会对药物的流动性、吸湿性、稳定性、制剂制备过程、生物利用度、药效及安全性等产生较大的影响^[4]。因此, 为固体药

物选择一种合适的存在形式显得尤为重要。

药物晶型是影响药品质量的重要因素之一, 因此, 仅定性分析原料药或制剂中的晶型已不能满足要求。为了测定原料药或制剂中有效晶型的含量, 从而确保药品的疗效, 需要建立适当的多晶型定量方法。Stephenson 等^[5]提出, 当药物的多晶型或溶剂化物之间的理化性质相差很大, 以致影响药物制剂的质量 (生物利用度或化学稳定性) 或制剂生产的重现性时, 建立多晶型的定量方法尤为必要; 此外, 在知识产权方面, 具有与原晶型生物等效甚至药效更高的新晶型, 可以作为一个附加专利, 延长药物的

收稿日期: 2011-01-26.

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2009ZX09501-022).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-20-39943118, E-mail: zhaocs@mail.sysu.edu.cn

专利保护期^[6]。近 10 年来, 关于化合物专利的申请已经扩展到覆盖化合物的所有形态。对新化学实体的所有形态进行分析和专利保护是新药研发的一个基本策略。而多晶型的定量方法作为支撑晶型专利保护的核心技术, 越来越受到人们的重视。

近年来, 国外报道了许多晶型分析的物理方法, 如: 晶体学法^[7]、光谱法^[8-11]、热分析法^[12]和显微镜法^[13]等。

本文着重综述了 X-射线粉末衍射法、傅里叶变换拉曼光谱法、中红外光谱法、近红外光谱法、太赫兹光谱法、固态核磁共振法和差示扫描量热法技术在药物晶型定量方面的研究进展。

1 X-射线粉末衍射法 (PXRD)

PXRD 是一种发展比较早的药物晶型分析方法, 已广泛应用于不同晶型混合物的定量分析和结晶度的确定。Alexander 等^[14]于 1948 年首次提出了用于粉末混合物定量的基本参数, 并推导了峰强度与样品中相应组分晶型含量的数学关系式。

此法用于定量有单峰法和全谱法两种基本方法。

1.1 单峰法

建立了特征峰强度与被测药物中各晶型组分对应关系。该法用于定量的一般方程为:

$$I_i = \frac{K_i x_i}{\rho_i [x_i (\mu_i^* - \mu_M^*) + \mu_M^*]}$$

I_i : 衍射强度; K_i : 比例常数; ρ_i : 相密度; x_i : 质量分数; μ_i^* : 被分析物的质量吸收系数; μ_M^* : 基体的质量吸收系数 (混合物中除 1 相外的其他部分)

同一药物混晶分析的情况下 ($\mu_i^* = \mu_M^*$), 特定衍射峰的强度与某一晶型的浓度呈正比, 衍射强度对浓度回归可以得到线性回归曲线。然而, 运用此方程定量分析制剂中的晶型含量时, 药物组分与辅料之间质量吸收系数的差异 ($\mu_i^* \neq \mu_M^*$) 会使被测物的“浓度-质量分数回归曲线”偏离线性。尽管在纯有机系统中, 线性偏离并不像无机系统中那么严重 (有机系统中, 组分的质量吸收系数及其分布范围均较小), 但忽略质量吸收系数的差异可能会严重影响定量方法的准确性。

单峰法对样品的信息要求较小, 方法简单、灵敏度较高, 尤其适于长期晶型定量分析。但是, 该定量方法严重依赖标样的纯度, 而且制样时产生的择优取向效应会严重影响单峰法的应用。因而, 实际应用中往往需要校正。如 Tiwari 等^[15]通过建立可信、有效标准曲线和对仪器、操作参数的二维最优化处理,

成功地定量了奥氮平多晶型的相对含量, 其检测限和定量限分别为 0.40%、1.22%。

对药物制剂中晶型定量时, 由于样品受到辅料的稀释, 样品峰的总强度减弱, 所要求的检测限提高; 此外, 由于操作或仪器的偏差及样品制备时不可避免地引入无机物等原因, 使待分析物与基体之间的质量吸收系数的差异变大。为了减小以上因素的影响, 制剂中晶型的定量通常采用与其他方法联合或引入化学计量学等技术。最典型的是 Varasteh 等^[16]的研究, 作者利用 PXRD 与傅里叶变换红外光谱及拉曼光谱法相结合, 成功地定量了由 ALZA 公司开发的 OROS[®]片剂中 REJ-333369B 晶型的含量, 其检测限在 2% 左右; 类似的例子又如: PXRD 结合人工神经网络系统 (artificial neural networks, ANN) 定量盐酸雷尼替丁片剂中的多晶型^[17]; 平行光-PXRD 定量分析氯磺丙脲片剂和甘氨酸片剂中的多晶型^[18]等。

1.2 全谱法

建立了全谱峰强度与被测药物中各晶型组分对应关系。近年来发展的全谱法越来越多地用于药物多晶型的定量。如偏最小二乘法 (partial least squares, PLS)、全粉末图谱分解法 (whole powder pattern decomposition, WPPD) 和 Rietveld 法等。

以化学计量学为基础的全谱法可以通过分析布拉格衍射和弥漫散射来定量样品, 因而其信噪比、灵敏度和专属性明显提高。Moore 等^[19]分别以经典最小二乘回归法 (classical least squares, CLS)、主成分回归法 (principal components regression, PCR) 和 PLS 为基础, 利用全谱法定量分析了两种晶态和两种无定型组成的固态样品。模型比较表明, PLS 回归为较理想的定量模型。

在 WPPD 法中, 积分强度参数、晶胞参数及峰型参数都由最小二乘法结合某一晶型的可信度因子进行修正。

Uvarov 等^[20]应用 WPPD 法, 将衍射图分解为峰型方程和本底方程, 通过 CLS 使某一纯晶型的衍射数据与上述方程计算所得的数据相拟合。在定量阶段, 标定参与定量相的积分强度, 使某一特定组分的全部可信度因子之和为 1。每一组分的可信度因子通过 CLS 拟合, 直到与未知组分的图谱达到最好的吻合。

$$Y(2\theta_i) = B(2\theta_i) + \sum_{k=1}^N S_k \sum_j I_{jk} P(2\theta_i)_{jk}$$

$$S_y = \sum w_i (Y(2\theta_i) - Y(2\theta_{ci}))^2$$

$w_i = 1/Y(2\theta_i)$: 基于计数统计的权重因子; $Y(2\theta_i)$: i 点

数据的实测强度; $Y(2\theta_{ci})$: i 点数据的计算强度; $B(2\theta)$: 背底方程; $P(2\theta)$: 峰型方程; S_k : 可信度因子。

作者利用此法和单峰法分别定量了硫酸氢氯吡格雷二元混晶, 所得数据的统计分析表明, WPPD 法具有更高的准确度, 方法的定量限在 1.0%~1.5%。

Rietveld 法^[21]除了需要结构模型计算特定相的峰强度外, 本质上与 WPPD 法相同。即事先假设一种晶体结构模型和结构参数, 在此基础上, 结合某种峰型参数计算晶体的衍射图谱, 通过计算机程序, 逐点比较衍射强度的计算值与实验值, 利用 PLS 法调节晶体结构和峰型参数, 使计算图谱与实验图谱之间的加权剩余方差因子 R_{WP} 最小。

$$R_{WP} = \sqrt{\frac{\sum W_i (Y_{io} - Y_{ci})^2}{\sum W_i Y_{io}^2}}$$

W_i : 基于计数统计的权重因子; Y_{io} : i 点数据的实测强度; Y_{ci} : i 点数据的计算强度。

$$Y_{ci} = S_y \sum_K L_K |F_K| P_{\text{Bragg}}(2\theta_i - 2\theta_K) PO_K A + Y_{\text{background}}$$

S_y : 可信度因子; L_K : 包括洛伦兹偏振因子、多重性因子; K : 为米勒指数 h, k, l ; F_K : 第 K 个布拉格散射的结构因子; P_{Bragg} : 峰型函数; PO_K : 描述择优取向效应的函数; A : 吸收因子; $Y_{\text{background}}$: 本底的强度。

与 WPPD 法相比, Rietveld 法除了需要质量吸收系数、结构因子等参数外, 还需要原子坐标、位置占有率等用于分析结构因子的参数。因此, 当所得的晶体结构信息很少时, WPPD 法比 Rietveld 法更具有优势。但是, 近几年兴起的粉末解晶体结构法使这种优势不再明显, 本课题组在没有获得硫酸氢氯吡格雷 I 晶型单晶结构的前提下, 利用粉末从头解结构的方法计算了硫酸氢氯吡格雷 I 晶型的结构参数, 再利用 Rietveld 法成功地定量了硫酸氢氯吡格雷的二元混晶样品。

与单峰法相比, 全谱法无需标准样品, 从根本上消除了对标准样品的依赖; 其对择优取向效应的修正, 也降低了择优取向效应对定量结果的影响; 然而, 全谱法要求特定相的峰形和峰位置恒定, 对样品信息的要求较高。另外, 由于其复杂性的原因, 使得此法不利于实际推广。

2 光谱法

光谱法是一种非破坏性晶型分析方法^[22]。晶型的差异会导致光谱特征的差异, 利用此类差异可以建立适当的多晶型定量方法。

2.1 振动光谱 (IR、NIR、Raman、TPS)

对于同一物质的不同晶型, 分子空间排列和相

互间作用 (氢键的作用尤为重要) 的差异, 使分子的振动-转动能级发生变化, 导致振动光谱的峰形、峰高和峰强等产生差异^[23]。

2.1.1 漫反射傅里叶变换红外光谱 (diffuse reflectance Fourier infrared spectroscopy, DRIFTS) DRIFTS 使红外光谱法准确定量药物晶型成为可能。一般情况下, DRIFTS 的相对强度与样品浓度不成比例, 不能以 Lambert-Beer 定律定量, 但可通过 Kubelka-Munk 方程计算:

$$F(R_{\infty}) = \frac{(1 - R_{\infty})^2}{2R_{\infty}} + \frac{2.303ac}{s}$$

$F(R_{\infty})$: K-M 函数; R_{∞} : 样品层无限厚时的反射率; a : 样品的摩尔吸收系数; c : 样品浓度; s : 散射系数。

由方程可知, 为了获得 $F(R_{\infty})$ 与 c 的线性关系, 需要保证散射系数 s 为一常量。在被测物浓度较低时, 散射系数主要取决于无吸收的分散剂 (如 KBr), 此时可以用 Lambert-Beer 定律定量。但浓度较大时, 散射系数发生变化而使 Lambert-Beer 定律不再适用。

为了减小散射系数对实验结果的影响, 可以通过控制样品粒子的均一性、堆密度、粒径大小和形状来实现。此外, 实际应用中往往引入化学计量法。Braga 等^[24]利用 DRIFT 结合 PLS, 定量分析了卡马西平混晶的比例。方法学验证表明, 此法可以作为 PXRD 的替代性方法; Kachrimanis 等^[25]利用 DRIFTS 与 ANN 相结合定量分析了甲苯达唑 A-C 混晶样品, 通过 ANN 模型对二次导数 IR 谱图的拟合处理, 得到了较好的实验结果。与 PLS 模型相比, ANN 模型具有明显的优势。作者还提出, ANN 模型同样适于甲苯达唑混悬剂中晶型含量的分析。

利用 DRIFTS 时, 由于样品分散在无吸收的介质内, 样品制备过程不受热能和机械能的影响。因此, 避免了制备过程中晶型的转变; 此外, DRIFTS 对粒径大小的影响不敏感、仪器通用性较强, 使得 DRIFTS 非常适于晶型的定量, 尤其适于晶型之间转化规律及转化量的研究。

2.1.2 近红外光谱法 (near infrared spectroscopy, NIRS)

NIRS 是近几年兴起的药物晶型分析方法。与 DRIFTS 相比, NIRS 谱峰包含的信息少、分辨率低、信息谱带比较宽, 有时还会有峰的重叠现象。

为了增加相邻峰的分辨率, 在数据计算前, 往往对 NIRS 光谱进行一阶导数或二阶导数处理; 另外, 一些光谱预处理技术, 如标准正态变量变换 (standard normal variate, SNV)、多元散射校正 (multivariate

scatter correction, MSC) 等可以更有效地减小由样品粒子大小差异引起的散射效应^[26]; 此外, 引入多元线性回归 (multiple linear regression, MLR)、主成分分析法 (principal component analysis, PCA) 和 PLS 等化学计量学模型也是解决此类问题的方法。如 Patel 等^[27]利用 NIRS 定量分析了磺胺噻唑二元混晶系统, 分别以 MLR、PLS 等为回归模型建立了磺胺噻唑 I 晶型的质量分数与二次导数光谱参数的回归曲线, 其检测限达到 0.3%; Blanco 等^[28]采用了一种快速有效的鉴别阿奇霉素晶型的方法, 同时还测定了样品中无定型的含量。此外, 结合 PLS 成功地定量分析了药物制剂中米卡霉素晶型的含量^[29]。

NIRS 的显著特点是分析速度快。其快速性不仅可以鉴别活性成分的不同晶型, 还可以检测原料药和制剂中晶型的纯度。

2.1.3 傅里叶变换拉曼光谱法 (Fourier transform Raman spectroscopy, FT-Raman) 由于拉曼谱线数目、位移大小、谱线长度直接与试样分子振动或转动能级有关。因此, 对拉曼光谱的研究, 也可以得到有关分子振动或转动的信息。

理论上, 拉曼光谱强度与样品浓度呈简单的线性关系。但由于拉曼谱线强度还受仪器、样品及药物晶型组成的复杂性等诸多因素的影响, 使得这种线性关系在实际中很难获得。为了解决以上问题, 往往结合 PCA 回归模型。如 Pratiwi 等^[30]用拉曼光谱结合 PCA 定量了盐酸雷尼替丁混晶中盐酸雷尼替丁 I 晶型的含量, PCA 回归预测检测限和定量限分别为 0.6% 和 1.8%; 另外, Kachrimanis 等^[31]利用 FT-Raman 和 PLS 定量了对乙酰氨基酚的混晶样品; 类似地, Heinz 等^[32]用 FT-Raman 和 NIRS 结合 PLS 回归法定量了吲哚美辛三元混晶体系。

FT-Raman 谱峰清晰尖锐, 定量速度比较快, 所需样品量较少, 对于混合系统 (如混悬剂) 样品的检测不需要破坏样品, 几乎不需要样品的特殊制备而支持混晶的在线分析。特别是对于含水性浆状物 (如混悬剂等) 的多晶型分析, 由于水的拉曼散射很弱, 所以该法可用于此类制剂中的药物多晶型的直接测定^[33]。此外, 由于拉曼光谱对于非极性物质具有较高的响应值, 而药用辅料通常为极性物质, 响应值较低。因此, 拉曼光谱更适于药物制剂的分析。Mazurek 等^[34]分别以 PLS、PCA、ANN 为回归模型, 利用 FT-Raman 定量分析了不同规格片剂和胶囊中双氯芬酸钠晶型的含量。

2.1.4 太赫兹光谱法 (terahertz pulsed spectroscopy, TPS) 太赫兹波是指频率在 0.1~3 THz 的电磁波, 又称远红外波。与传统的红外光谱相比, 其具有以下优势: ① 对高温的影响比较敏感, 可以用于高温材料或加热过程的分析。② 利用飞秒脉冲产生并探测时间分辨的太赫兹时域光谱, 可用于无定型体系动态过程的研究。③ TPS 能量比较低, 可以避免样品在测量过程中的降解或转变。

IR 的产生主要由分子内或分子间的氢键结合引起, 而 TPS 由晶格振动和低能态的氢键振动引起。因此, 与 IR 相比, TPS 对分子间结合的差异更为敏感, 更适于分析药物晶型。

Strachan 等^[35]用此技术结合 PLS 定量分析了卡马西平、马来酸依那普利、吲哚美辛和非诺洛芬钙等药物的晶型及结晶度, 检测限均在 1% 左右, 表明此技术在药学领域固态系统的分析潜力。

2.2 固态核磁共振法 (solid state NMR, ss-NMR)

对于同一药物的不同晶型, 分子排列的差异, 导致不同晶型间分子内相同原子的化学环境产生差异, 表现为化学位移不同。通过测定不同化学位移处的峰强度, 可以定量分析药物多晶型。

核磁共振图谱中, 响应信号强度一般用峰面积 (A) 表示, 其计算公式为:

$$A = kN$$

A : 响应信号强度; k : 光谱常数; N : 待测物分子中被激发的原子数。

该法的灵敏度取决于待测物激发态原子数 (N_α) 与基态原子数 (N_β) 的比值, 比值越高, 灵敏度越高。其计算公式为:

$$\frac{N_\alpha}{N_\beta} = \exp\left(\frac{-\gamma h B_0}{2\pi k T}\right)$$

N_α : 激发态原子数; N_β : 基态原子数; γ : 待测原子的磁旋比; h : 普朗克常量; B_0 : 磁场强度; k : 波兹曼常数; T : 绝对温度。

因此, 提高磁场强度、选择低温探头可以提高检测灵敏度。此外, 增加样品浓度及扫描次数也可以提高灵敏度。足够的弛豫时间能确保已激发的原子有充分的时间回到基态并再次激发, 从而使信号多次采集并积累, 灵敏度提高。

多脉冲序列使固态核磁共振 ^1H 谱成为可能。但由于氢谱各向同性化学位移的范围只有 12 ppm。质子-质子偶合作用引起的峰宽效应会导致 ss-NMR ^1H 谱的重叠, 严重限制了 ss-NMR ^1H 谱在定量方面的应用。与 ^1H 谱相比, ^{13}C 谱各向同性化学位移的范

围明显扩大, 而且高分辨率的 ^{13}C 谱较易获得, 因此, ^{13}C 谱更适于定量。Hays^[36]和 Harris^[37]先后对高分辨率的 ss-NMR 的定量方面做了具体的分析。此外, 能给出高分辨率光谱的 ^{31}P 和 ^{15}N 同样适于药物晶型的定量。

为了获得高分辨率的 ^{13}C 共振光谱, 应当避免 ^1H - ^{13}C 的强偶极作用和 ^{13}C 原子核的化学位移各向异性 (chemical shift anisotropy, CSA)。能将 CSA 均化为零的魔角自旋 (magic angle spinning, MAS) 及降低 ^1H - ^{13}C 间强偶极作用的高能质子去耦 (MAS 同样可以降低 ^1H - ^{13}C 间的强偶极作用) 可以获得高分辨率的固态 ^{13}C NMR 光谱。

Pines 等^[38]为了解决稀核 ^{13}C 的低分辨率问题, 还引入了交叉极化技术 (CP)。此技术将高丰度或高磁化灵敏度的核 ^1H 经由 Hartmann-Hahn 匹配条件有效率地将极化能量转移给 ^{13}C ^[39]。与直接观测稀核的普通技术相比, 其信号采集频率明显提高。

通过建立完整的磁化曲线, 即信号强度与不同接触时间的函数关系, 可以校正 CP/MAS 光谱的信号强度。对于均相体系, 校正的信号值可以通过外推法获得。对于非均相体系, 由于其具有复杂的自旋扩散, 因而需要对 CP 曲线进行拟合以获得理想的信号强度。有时, 光谱的重合会阻碍信号强度的直接校正, 此时, 可以选择数学统计的方法来校正。Virtanen 等^[40]以直接指数曲线分辨率算法 (direct exponential curve resolution algorithm) 为模型, 利用 CP MAS ^{13}C NMR 定量分析了二元混晶体系, 其定量限达 0.7%。此外, 与其他方法联合可以达到定量药物制剂中晶型的目的。Lefort 等^[41]利用 ss-NMR 和差示扫描量热法联合成功地定量了海藻糖制剂中无定型的含量。

与其他光谱法相比, ss-NMR 的高分辨率具有明显的优势。但由于高速旋转速度通常用于收集高分辨率的 ss-NMR 光谱, 此技术不适用于可能经历相转变的亚稳定晶型的研究。而且, 弛豫时间对固态药物中分子的移动性比较敏感, 而温度的变化会导致数值剧烈的变动, 因而, 实验过程中需要严格控制样品的温度。另外, 信号累加所需的循环弛豫时间致使此方法测量时间较长, 严重制约了此技术的常规应用。

3 差示扫描量热法 (differential scanning calorimetry, DSC)

DSC 分析技术已广泛用于药物多晶型的定量。晶型之间转变或熔融时会发生热效应, 相应的热量变化与晶型含量之间存在比例关系。因此, 利用 DSC

可以定量分析药物晶型的含量。在保证固态药物 100% 晶态的前提下, DSC 还可以用于测定药物的结晶度。

通常, 实验室用到的 DSC 包括传统型 DSC、温度调幅式 DSC (modulated temperature differential scanning calorimetry, MTDSC)、超高效或高效 DSC (high speed differential scanning calorimetry, HSDSC)。

传统型 DSC 考察恒定加热速率条件下样品的热力学变化情况。样品的 DSC 曲线一般包括玻璃态转变吸热峰、结晶放热峰、熔融吸热峰。通过测定纯晶型的熔融焓或晶型转变焓, 利用标准曲线法可以定量分析样品中各晶型的相对含量。Tong 等^[42]利用 DSC 和 MTDSC 定量分析了昔萘酸沙美特罗中 II 晶型杂质的痕量, 定量限低于 1%。

MTDSC 是在线性加热外叠加一个正弦振荡方式的加热。缓慢的线性加热时, 可得到较高的分辨率; 而正弦波振荡方式加热时, 造成了瞬间的温度剧烈变化, 故灵敏度较高。MTDSC 克服了传统的 DSC 不能同时具备高灵敏度和高分辨率的不足, 配合傅里叶变换方法将总热流分解成可逆成分和不可逆成分, 从而将许多重叠的转变峰分开。由于该法对无定型的玻璃态转变温度较为敏感, 因此多用于无定型药物或辅料的定量分析。Guinot 等^[43]利用纯无定型在玻璃化转变温度时热容量的跳动值建立了标准曲线, 成功地定量了 X 化合物微粉化样品的结晶度, 其检测限和定量限分别为 0.9% 和 3.0%。

一般, HSDSC 在 $100\sim 500\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的加热速度内具有很高的灵敏度。当升温速率增大时, 热流量峰值变高, 灵敏度增大; 亚稳态或无定型属于热力学不稳定体系, 在较快的升温速率下可以降低测量过程中晶型的转变。因此, 该法的突出优势在于分析样品中少量的亚稳态或无定型组分。通常, DSC 不适用于定量无定型含量低于 10% 的样品。然而, Saunders 等^[44]以 α -乳糖一水合物为模型, 考察了 HSDSC 定量分析无定型含量的潜力。结果表明, 在 $500\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下, DSC 可以定量分析无定型含量低于 1.5% 的样品。但在多晶型定量研究中, 样品中少量的晶种引起的部分重结晶现象会严重影响此技术的定量结果。McGregor 等^[45]拟利用 HSDSC 定量卡马西平混晶样品中晶型的相对含量, 对卡马西平 II 晶型熔融焓的检测限能够达到 1%, 但是由于晶种引起的部分重结晶, 严重限制了其定量方面的应用^[46]。

在药物制剂定量方面, 辅料会影响传统定量方

法的应用 (如辅料与药物之间潜在的相互作用等)。因此, DSC 一般不单独用于制剂中药物晶型的定量分析, 而多采用与其他方法联合的方式。Tong 等^[47]利用 DSC、HPLC、PXRD 等联合定量了沙美特罗昔萘酸酯粉末的相对含量。方法学考察结果表明, 该法具有良好的准确性和重现性。此外, Lefort 等^[48]利用 ss-NMR 和 DSC 联合定量了海藻糖制剂中的无定型的含量。

DSC 法所需样品量少, 操作简单, 但是测试过程对样品的损害是不可逆的, 因而不适于定量分析不易获得或贵重样品。晶型的热力学差异在测量时受样品粒径、厚度、样品盘位置以及热电偶等因素的影响较大; 加之, 不同样品本身的热力学差异, 往往导致不同样品定量方法的检测限和定量限的较大差异。

4 总结及展望

药物晶型定量时, 首选 PXRD 法。尽管其他方法的定量结果有时显得更好, 但一般仅作为 PXRD 法的辅助方法。光谱法由于数据复杂, 多采用化学计量学的处理。由于无定型相的 Raman、IR 和 ss-NMR 的光谱专属性高, 因此, 光谱法在定量结晶度方面较衍射法优越。光谱法的非破坏性使得此法优于热力学方法。当然, 在实际应用中, 提倡采用两种或多种方法联合定量, 以弥补各方法的不足。

建立一种良好的定量方法需要考虑其灵敏性、专属性、耐用性及方法的难易程度。固态样品本身存在均匀性差等问题, 使得药物多晶型的定量方法往往不能达到像色谱方法的准确度和精密度。通常, 定量限在 5%, 相对标准偏差在 10%左右的方法已是较好的定量方法。

药物晶型的定量技术正日新月异的发展, PXRD 用于定量的例子越来越频繁, 随着各种软件的出现及更新, 全谱法将是未来发展的趋势之一; 光谱法中, 随着 FT-Raman 和 NIRS 灵敏度的提高以及 NIRS 无需样品制备、专属性好等优势发挥, 使得此法在定量方面的应用前景很大; 热分析仪器精度及加热速率范围的扩大, 使得此法能将不同晶型的特征峰分开, 从而扩大了其在晶型定量方面的应用, 但是其加热过程造成样品的不可逆破坏, 在一定程度上限制此法的应用; ss-NMR 由于成本太高, 其在固态药物分子水平分析的潜力尚未完全发挥。各种仪器的普及, 使得联合应用技术成为可能, 明显提高了定量方法的选择性。总之, 药物多晶型的定量是今后新药研发的一个必不可少的环节和重要趋势。

References

- [1] Lu J, Wang XJ, Yang X, et al. Characterization and selective crystallization of famotidine polymorphs [J]. *J Pharm Sci*, 2007, 96: 2457–2468.
- [2] Llinas A, Goodman JM. Polymorph control: past, present and future [J]. *Drug Discov Today*, 2008, 13: 198–210.
- [3] Lu J, Rohani S. Polymorphism and crystallization of active pharmaceutical ingredients (APIs) [J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16: 884–905.
- [4] Saifee M, Inamda N, Dhamecha D, et al. Drug polymorphism: a review [J]. *Int J Health Res*, 2010, 2: 291–306.
- [5] Stephenson GA, Forbes RA, Reutzel-Edens SM. Characterization of the solid state: quantitative issues [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 48: 67–90.
- [6] Bernstein J. Polymorphism and patents from a chemist's point of view [M]//Hilfiker R. *Polymorphism in the Pharmaceutical Industry*. Germany: Vch Verlagsgesellschaft MbH, 2006: 365–382.
- [7] Armas HND, Peeters OM, Blaton N, et al. Solid state characterization and crystal structure from X-ray powder diffraction of two polymorphic forms of ranitidine base [J]. *J Pharm Sci*, 2009, 98: 146–158.
- [8] Xie Y, Cao WJ, Krishnan S, et al. Characterization of mannitol polymorphic forms in lyophilized protein formulations using a multivariate curve resolution (MCR)-based Raman spectroscopic method [J]. *Pharm Res*, 2008, 25: 2292–2301.
- [9] Willans MJ, Wasylshen RE, McDonald R. Polymorphism of potassium ferrocyanide trihydrate as studied by solid-state multinuclear NMR spectroscopy and X-ray diffraction [J]. *Inorg Chem*, 2009, 48: 4342–4353.
- [10] Chesalov YA, Baltakhinov VP, Drebuschak TN, et al. FT-IR and FT-Raman spectra of five polymorphs of chlorpropamide. Experimental study and ab initio calculations [J]. *J Mol Struct*, 2008, 891: 75–86.
- [11] Chakkittakandy R, Corver JAWM, Planken P. Terahertz spectroscopy to identify the polymorphs in freeze-dried mannitol [J]. *J Pharm Sci*, 2010, 99: 932–940.
- [12] Koradia V, Chawla G, Bansal AK. Qualitative and quantitative analysis of clopidogrel bisulphate polymorphs [J]. *Acta Pharm (Zagreb)*, 2004, 54: 193–204.
- [13] Bruni G, Berbenni V, Milanese C, et al. Thermodynamic relationships between nateglinide polymorphs [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 50: 764–770.
- [14] Alexander L, Klug H. Basic aspects of X-ray absorption in quantitative diffraction analysis of powder mixtures [J]. *Anal Chem*, 1948, 20: 886–889.
- [15] Tiwari M, Chawla G, Bansal AK. Quantification of olanzapine

- polymorphs using powder X-ray diffraction technique [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 43: 865–872.
- [16] Varasteh M, Deng Z, Hwang H, et al. Quantitative determination of polymorphic impurity by X-ray powder diffractometry in an OROS® formulation [J]. *Int J Pharm*, 2009, 366: 74–81.
- [17] Agatonovic-Kustrin S, Wu V, Rades T, et al. Ranitidine hydrochloride X-ray assay using a neural network [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2000, 22: 985–992.
- [18] Cao W, Bates S, Peck GE, et al. Quantitative determination of polymorphic composition in intact compacts by parallel-beam X-ray powder diffractometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2002, 30: 1111–1119.
- [19] Moore MD, Cogdill RP, Wildfong PLD. Evaluation of chemometric algorithms in quantitative X-ray powder diffraction (XRPD) of intact multi-component consolidated samples [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 49: 619–626.
- [20] Uvarov V, Popov I. Development and metrological characterization of quantitative X-ray diffraction phase analysis for the mixtures of clopidogrel bisulphate polymorphs [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, 46: 676–682.
- [21] Antonio SG, Benini FR, Ferreira FF, et al. Quantitative phase analyses through the rietveld method with X-ray powder diffraction data of heat-treated carbamazepine form III [J]. *J Pharm Sci*, 2011, 100: 2658–2664.
- [22] Shah B, Kakumanu VK, Bansal AK. Analytical techniques for quantification of amorphous/crystalline phases in pharmaceutical solids [J]. *J Pharm Sci*, 2006, 95: 1641–1665.
- [23] Kamada K, Yoshimura S, Murata M, et al. Characterization and monitoring of pseudo-polymorphs in manufacturing process by NIR [J]. *Int J Pharm*, 2009, 368: 103–108.
- [24] Braga J, Poppi R. Figures of merit for the determination of the polymorphic purity of carbamazepine by infrared spectroscopy and multivariate calibration [J]. *J Pharm Sci*, 2004, 93: 2124–2134.
- [25] Kachrimanis K, Rontogianni M, Malamataris S. Simultaneous quantitative analysis of mebendazole polymorphs AC in powder mixtures by DRIFTS spectroscopy and ANN modeling [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 51: 512–520.
- [26] Sarraguca MC, Lopes JA. Quality control of pharmaceuticals with NIR: from lab to process line [J]. *Vib Spectrosc*, 2009, 49: 204–210.
- [27] Patel AD, Luner PE, Kemper MS. Low-level determination of polymorph composition in physical mixtures by near-infrared reflectance spectroscopy [J]. *J Pharm Sci*, 2001, 90: 360–370.
- [28] Blanco M, Villar A. Development and validation of a method for the polymorphic analysis of pharmaceutical preparations using near infrared spectroscopy [J]. *J Pharm Sci*, 2003, 92: 823–830.
- [29] Blanco M, Valdés D, Bayod MS, et al. Characterization and analysis of polymorphs by near-infrared spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2004, 502: 221–227.
- [30] Pratiwi D, Fawcett JP, Gordon KC, et al. Quantitative analysis of polymorphic mixtures of ranitidine hydrochloride by Raman spectroscopy and principal components analysis [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2002, 54: 337–341.
- [31] Kachrimanis K, Braun D, Griesser U. Quantitative analysis of paracetamol polymorphs in powder mixtures by FT-Raman spectroscopy and PLS regression [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 43: 407–412.
- [32] Heinz A, Savolainen M, Rades T, et al. Quantifying ternary mixtures of different solid-state forms of indomethacin by Raman and near-infrared spectroscopy [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2007, 32: 182–192.
- [33] Chen ZP, Fevotte G, Caillet A, et al. Advanced calibration strategy for *in situ* quantitative monitoring of phase transition processes in suspensions using FT-Raman spectroscopy [J]. *Anal Chem*, 2008, 80: 6658–6665.
- [34] Mazurek S, Szostak R. Quantitative determination of diclofenac sodium in solid dosage forms by FT-Raman spectroscopy [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, 48: 814–821.
- [35] Strachan CJ, Taday PF, Newnham DA, et al. Using terahertz pulsed spectroscopy to quantify pharmaceutical polymorphism and crystallinity [J]. *J Pharm Sci*, 2005, 94: 837–846.
- [36] Hays G. High-resolution carbon-13 solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. *Analyst*, 1982, 107: 241–252.
- [37] Harris RK. Quantitative aspects of high-resolution solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. *Analyst*, 1985, 110: 649–655.
- [38] Pines A, Gibby M, Waugh J. Proton-enhanced nuclear induction spectroscopy. A method for high resolution NMR of dilute spins in solids [J]. *J Chem Phys*, 1972, 56: 1776–1777.
- [39] Hartmann S, Hahn E. Nuclear double resonance in the rotating frame [J]. *Phys Rev*, 1962, 128: 2042–2053.
- [40] Virtanen T, Maunu SL. Quantitation of a polymorphic mixture of an active pharmaceutical ingredient with solid state ¹³C CPMAS NMR spectroscopy [J]. *Int J Pharm*, 2010, 394: 18–25.
- [41] Lefort R, De Gusseme A, Willart JF, et al. Solid state NMR and DSC methods for quantifying the amorphous content in solid dosage forms: an application to ball-milling of trehalose [J]. *Int J Pharm*, 2004, 280: 209–219.

- [42] Tong HHY, Shekunov BY, York P, et al. Thermal analysis of trace levels of polymorphic impurity in salmeterol xinafoate samples [J]. Pharm Res, 2003, 20: 1423–1429.
- [43] Guinot S, Leveiller F. The use of MTDSC to assess the amorphous phase content of a micronised drug substance [J]. Int J Pharm, 1999, 192: 63–75.
- [44] Saunders M, Podlun K, Shergill S, et al. The potential of high speed DSC (Hyper-DSC) for the detection and quantification of small amounts of amorphous content in predominantly crystalline samples [J]. Int J Pharm, 2004, 274: 35–40.
- [45] McGregor C, Saunders MH, Buckton G, et al. The use of high-speed differential scanning calorimetry (Hyper-DSC (TM)) to study the thermal properties of carbamazepine polymorphs [J]. Thermochim Acta, 2004, 417: 231–237.
- [46] McGregor C, Bines E. The use of high-speed differential scanning calorimetry (Hyper-DSC(TM)) in the study of pharmaceutical polymorphs [J]. Int J Pharm, 2008, 350: 48–52.
- [47] Tong HHY, Shekunov BY, Chan JP, et al. An improved thermoanalytical approach to quantifying trace levels of polymorphic impurity in drug powders [J]. Int J Pharm, 2005, 295: 191–199.
- [48] Lefort R, De Gussemme A, Willart JF, et al. Solid state NMR and DSC methods for quantifying the amorphous content in solid dosage forms: an application to ball-milling of trehalose [J]. Int J Pharm, 2004, 280: 209–219.

祝贺《药学报》英文刊正式出版

《药学报》英文刊 *Acta Pharmaceutica Sinica B* (APSB) 在广大读者、作者的关心与支持下, 经过几届编委会和全体编辑人员的共同努力终于于 2011 年 6 月出版了。这为期刊真正走向国际奠定了良好的基础。

Acta Pharmaceutica Sinica B 是由中国医学科学院药物研究所、中国药学会和荷兰 Elsevier 出版公司合作出版, 是《药学报》中文刊的国际化延伸。其报道内容与风格与《药学报》保持一致, 药理学家蒋建东教授为期刊主编。目前, 期刊编委会已按照国际期刊的标准组织完成, Elsevier 出版公司提供的更符合国际期刊投稿流程的投审稿系统 (<http://ees.elsevier.com/apsb>) 于 7 月 22 日启用。本刊的出版周期为双月刊。发表论文在 Elsevier 期刊数据库 ScienceDirect 平台以 OA 方式刊出 (<http://www.sciencedirect.com/science/journal/22113835>), 便于广大读者免费阅读和下载。

投稿方式和论文格式参见<http://ees.elsevier.com/apsb>, 不收取审稿费、版面费。

欢迎国内外药学工作者积极投稿。

《药学报》编辑部