

用于非破坏性药物成分分析的多波长共焦拉曼显微镜

1064nm 波长下的卓越荧光抑制能力

Copyright BaySpec, Inc., June 2013, Jack Qian and Lin Chandler

背景

在制药业的药物研究和开发过程中，必须对商业药品中的活性药物成分 (API) 及其分布和物理特性进行表征。在用于此目的的各种分析技术中，拉曼光谱因其非破坏性、非侵入性、数秒内快速获取光谱、高重现性等优点而越来越受欢迎。由于近十年来电信业的蓬勃发展推动了技术的进步，拉曼光谱已变得更加容易为各个领域的用户所使用。技术的改进与该技术的分子灵敏度相结合，导致拉曼技术在制药、生物医学和法医等众多应用领域的使用激增。然而在所有这些应用中，从荧光和发光样品中提取有用的拉曼光谱仍是一个难题。

荧光是一种比拉曼效应强数千倍的宽发射类型，在原料药和最终药物等制药样品中非常常见。在短波长的照射下，荧光更容易发生，也更强烈。1064nm激发波长是避免荧光的基本方法，过去只能在傅立叶变换拉曼中使用，这通常比色散拉曼系统更复杂、更慢。但现在BaySpec的新型色散1064nm拉曼光谱仪系列仪器为用户提供了一种交钥匙解决方案，它将色散拉曼仪器的速度、灵敏度和坚固设计与传统傅立叶变换拉曼的荧光避免功能相结合。此外，色散式几何结构允许衍射限制光学性能，从而实现了1064nm共焦显微拉曼配置。

结果和讨论

BaySpec的Nomadic™拉曼显微镜（如图1所示）是目前市场上唯一同时配备从可见光到近红外（532、785和1064 nm）三种激发光源的拉曼显微镜，为化学分析提供了前所未有的灵活性和强大的无荧光拉曼光谱探测能力。如图2所示，拉曼显微镜使用532nm、785nm和1064nm的激发激光，通过涂层采集 Zantac® 药片的拉曼光谱。即使在785nm波长下，涂层中颜料的荧光也占据了整个光谱，找不到明显的拉曼特征。但在1064nm色散拉曼光谱中，由于涂层具有优异的荧光回避能力和最小的信号损耗，因此能产生清晰的拉曼光谱。

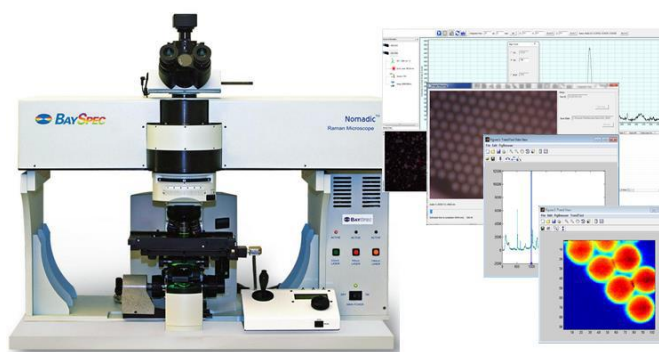


图1: BaySpec 的 Nomadic™拉曼显微镜具有多波长激发（532、785 和 1064 nm）和自动拉曼成像软件界面

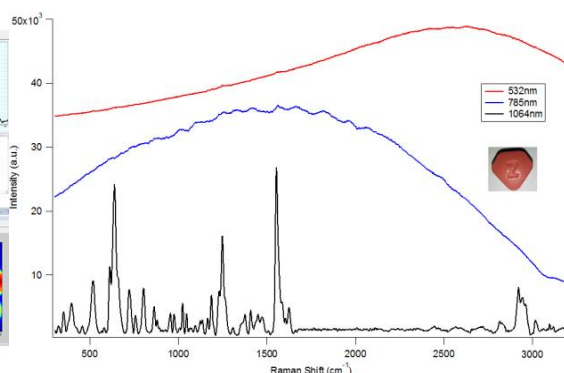


图2: 使用 532nm、785nm 和 1064nm 激光激发的 Nomadic™拉曼显微镜通过涂层采集的 Zantac® 药片的拉曼光谱

BaySpec的Nomadic™拉曼显微镜配备了高效的VPG®光栅和创新的深冷CCD或InGaAs探测器，能够以高光学效率、高单噪比和高光谱分辨率提供所有三个波长的拉曼光谱。图3所示的典型样品是在纯粉末材料上获取的对乙酰氨基酚、阿司匹林和咖啡因的1064nm拉曼光谱。作为化学鉴定、验证和拉曼成像的基本信息，这三种重要药物成分的独特拉曼特征很容易区分。

在制药行业，了解原料药和辅料的结构、多晶型和异质分布至关重要，因为它们对药物的溶解和疗效有很大影响。拉曼成像技术能够以非侵入方式绘制药物样品的化学特性图。通过与具有高精度和高重复性的自动平台耦合，共焦拉曼显微镜可以达到0.25μm -1.00μm的高特殊分辨率。通过软件同步X和Y方向的平台扫描和拉曼光谱采集，可记录每个图像点的拉曼光谱，并通过对特定拉曼峰或区域的积分自动生成拉曼图像。此外，焦平面还可在Z方向移动，以进行深度剖析或真正的三维拉曼光谱成像。例如在970 x 700μm（97×70像素，亮视图像如图4(B)所示）的区域内对Excedrin® Extra Strength Tablet进行了1064nm拉曼成像，其原料药包括对乙酰氨基酚（250毫克）、阿司匹林（250毫克）和咖啡因（65毫克）。通过比较三种主要原料药的拉曼特征，用不同颜色的标记选取每种成分的独特拉曼特征（图4(A)），重建拉曼图像。如图4（C）所示的彩色编码拉曼图像，突出显示了三种原料药在扫描区域的分布：红色区域表示阿司匹林，绿色和蓝色表示对乙酰氨基酚和咖啡因。

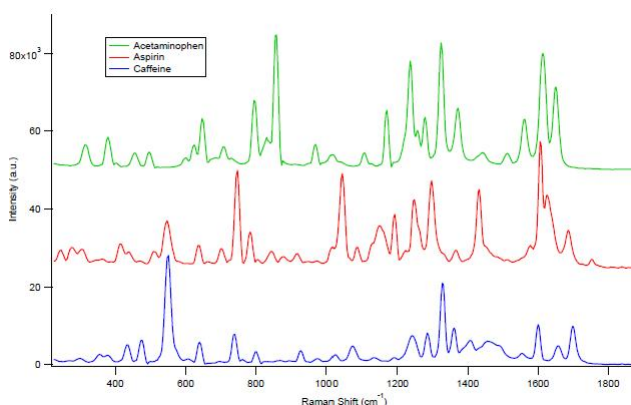


图3（上图）：使用1064纳米拉曼显微镜获取的对乙酰氨基酚、阿司匹林和咖啡因的拉曼光谱

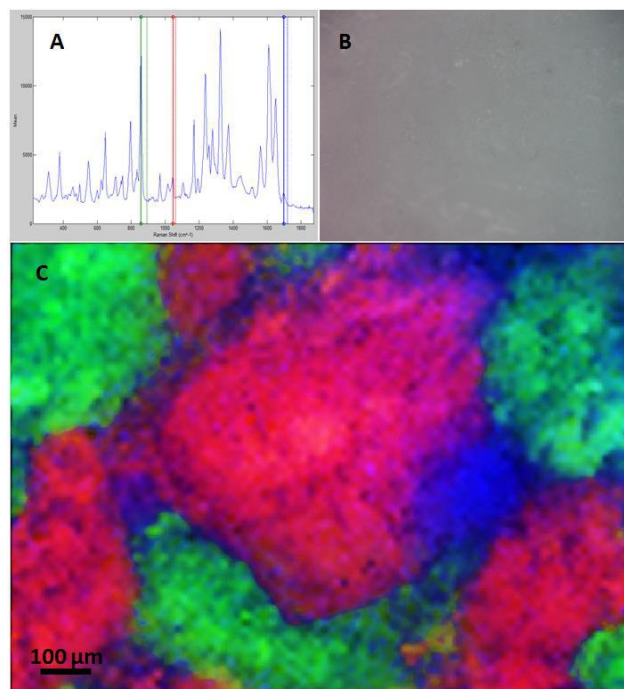


图4（右图）：Excedrin® Extra Strength 片剂的彩色编码拉曼图像，用于发现主要成分—阿司匹林、对乙酰氨基酚和咖啡因（C）的空间分布。（A）表示用于拉曼成像的不同化学成分选定独特拉曼特征，（B）是扫描区域的亮视图像

结论

如上所述，多波长共焦拉曼显微镜被证明是一种可行的新选择和非破坏性的化学鉴定方法。可根据样品特性灵活选择激发激光，不同波长之间的切换完全由软件自动控制。特别是使用1064nm拉曼波长时，无需任何信号处理就能从荧光中有效揭示拉曼特征。此外，对药物片剂进行拉曼成像，以分析原料药的分布和均匀性，可促进药物开发和生产的成功。

除了多波长拉曼测量，BaySpec的Nomadic™拉曼显微镜还提供荧光成像和散射测量选项，以及各种灵活的测量附件，例如96孔微孔板拉曼阅读器和光纤探针。该仪器的软件界面简单易用但功能强大，具有库搜索、化学计量学分析和自动区域制图等功能，适用于所有研发、质量保证/质量控制和法医实验室。

References

- 1) Vankerisbilck, T., et al., Trends Anal Chem, 2002, 21, 869-877.
- 2) Gendrin, C., et al., J Pharmaceut Biomed Anal, 2008, 49, 18-25.