

用拉曼光谱表征和监测D型甘露醇的多晶型转化 利用1064纳米拉曼进行过程监控

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

背景

多晶体是同一种纯物质的不同结晶形式，其中的分子具有不同的排列和/或不同的分子构象。多晶型对制药和精细化工行业至关重要，因为不同的多晶型具有不同的物理和化学特性，如化学反应性、溶解性、稳定性和溶解速率。毕竟，多晶型的不同性质会影响药物中活性药物成分（API）的生物利用度和储存。由于多态性的重要性，筛选多态性和监测多态性转变成为研发和质量保证的必要条件。

D-甘露醇是一种典型的多晶型结晶固体，已被广泛应用于制药和食品行业。在制药业中，D-甘露醇被广泛用作冷冻干燥最终产品的赋形剂。据报道，D-甘露醇有三种主要的多晶型：鉴别不同多晶型的一种传统方法是X射线法，这种方法非常昂贵，而且对样品制备非常敏感。

拉曼光谱是一种理想的应用技术，它具有以下几个优点：首先，作为一种振动光谱技术，拉曼能够分辨分子几何形状的细微差别；其次，拉曼分析通常不需要样品制备，是一种非破坏性方法；第三，聚焦激光光斑使其可以分析少量样品；最后但并非最不重要的点是，拉曼光谱的数据采集通常以秒为单位，速度很快。除了拉曼技术的上述优点外，BaySpec的拉曼光谱仪和显微镜还具有灵敏度高、速度快、灵活性强、用途广泛等特点，并拥有成熟的软件界面，可用于定性、定量和分布分析。

方法

D-甘露醇的 δ 形态可在市场上买到，购自Sigma-Aldrich。 α 多晶型是通过丙酮和蒸馏水的反溶剂沉淀得到的¹。 β 多晶型是通过熔融结晶制备的，方法是将 δ 型D-甘露醇加热至170°C，然后通过自然冷却至室温使其结晶²。

D-甘露醇不同多晶型的拉曼光谱是使用BaySpec的RamSpec™-HR高分辨率1064nm拉曼光谱仪采集的，如图1所示。BaySpec独有的1064nm拉曼光谱仪不仅适用于甘露醇等非荧光样品，还适用于较短波长无法测量拉曼光谱的荧光样品，因此极大地扩展了采样能力。

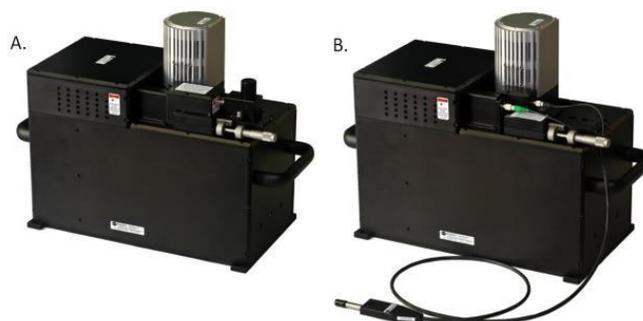


图1: BaySpec的RamSpec™-HR高分辨率1064nm拉曼光谱仪。提供两个可交换的样品接口: (A) 直接采样, 提高光学效率; (B) 光纤探头, 提高灵活性

结果

拉曼光谱可以成功地用于识别 D-甘露醇的多晶型。如图2所示的三种多晶型(α -、 β -和 δ -)的 1064nm 拉曼光谱, 三种多晶型之间的差异非常明显。不仅某些峰的中心位置不同, 在拉曼位移 480 、 885 、 1125cm^{-1} (图 2A) 和 2900 至 3000cm^{-1} (图 2B) 之间的一些拉曼特征峰的宽窄和形状也可以用来区分不同的多晶型。

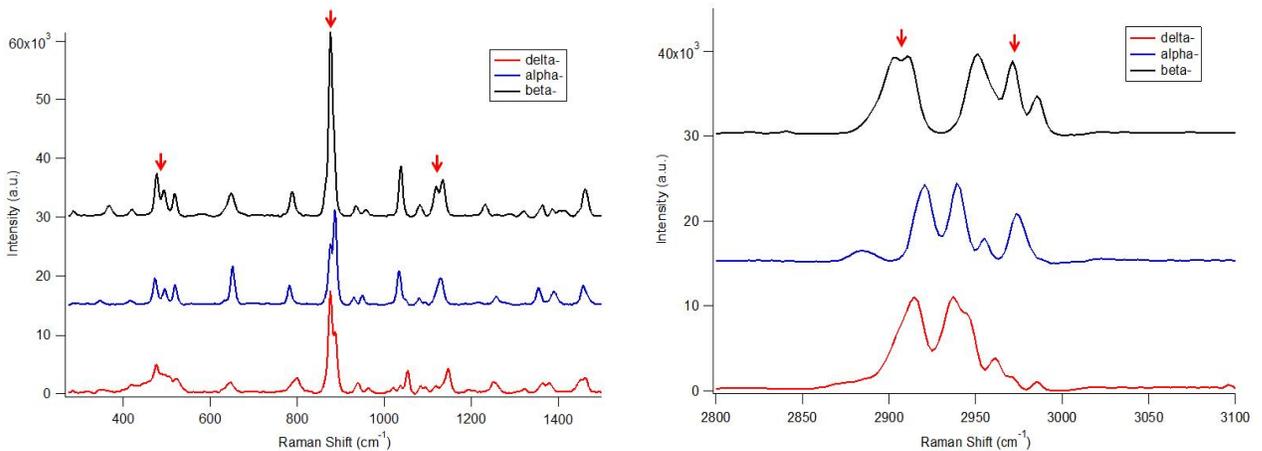


图 2: 三种不同D-甘露醇多晶体的1064nm拉曼光谱图

比较图2中三种多晶体的拉曼特征, α 和 β 形态显示出更多的相似性, 主要差异位于 380 、 885 和 1125cm^{-1} 。同时, δ 多晶体显示出更多独特的拉曼峰, 使其更容易与其他两种形态区分开来。因此要鉴别这三种不同的多晶体, 就需要对所收集的拉曼光谱进行相对较高的分辨。RamSpec™-HR 1064nm拉曼光谱分析仪可替代笨重、缓慢和昂贵的傅立叶变换拉曼系统, 它不仅能覆盖整个光谱范围(100 - 3200cm^{-1}), 还能达到高达 4cm^{-1} 的高分辨率, 为进一步分析提供更多拉曼光谱细节。

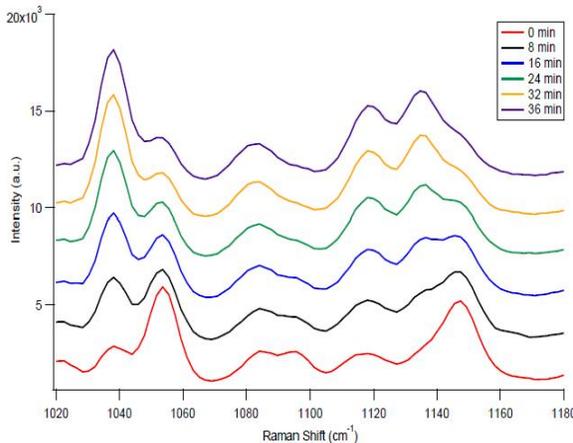


图3: D-甘露醇从 δ 型多晶体转变为 β 型多晶体时的拉曼光谱

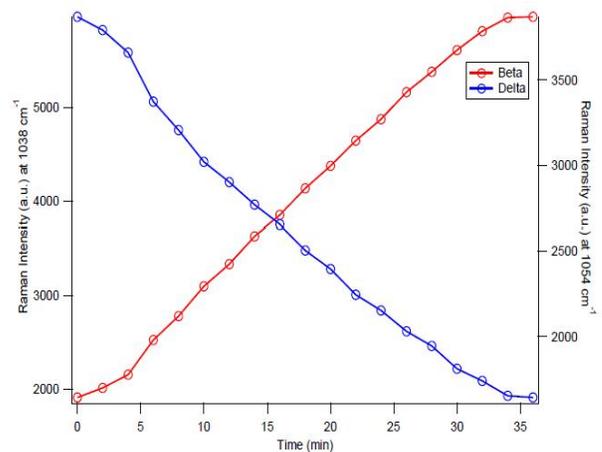


图 4: 以 1308cm^{-1} (红色来自 β 多晶体) 和 1054cm^{-1} (蓝色来自 δ 多晶体) 为中心的拉曼峰的原位拉曼强度差异

与其他分析方法相比拉曼技术的主要优势之一是无损和快速测量, 因此非常适合过程监测。在从 δ 形态到 β 多形态的多晶体转变过程中, 每两分钟采集一次样品的拉曼光谱, 通过自然冷却过程监测多晶体的转变。图3显示了 1020 ~ 1180cm^{-1} 光谱范围内的时间分辨原位拉曼光谱强度变化。在这一范围内以 1054 和 1146cm^{-1} 为中心的 δ 形拉曼特征随着时间的推移而减弱, 而以 1038 、 1118 和 1137 为中心的 β 多晶体拉曼特征则随着时间的推移而增强。此外在 36 分钟时 δ 型D-甘露醇已大部分转变为 β 型。图4显示了以 1038 和 1054cm^{-1} 为中心的拉曼峰强度与时间的相关性。由于 δ 形D-甘露醇的代表性拉曼峰位于 1054cm^{-1} , 因此在自然冷却过程中拉曼强度随着时间的推移逐渐降低。相反 1038cm^{-1} 的拉曼峰强度不断增加, 表明形成了 β 多晶型。同时出现的峰值强度变化证明了 1064nm 拉曼光谱仪对多晶体转变过程的监测能力。

在 $800 \times 700 \mu\text{m}$ (80×70 像素, 亮视图象如图5B所示) 的范围内, 对三种多晶型拉曼特征最为相似的 D-甘露糖醇的 α 和 β 型混合物样品进行了1064nm拉曼成像。该应用使用了 BaySpec 的 Nomadic™ 拉曼多波长显微镜。通过不同颜色的标记选择每种多晶体的独特拉曼特征 (图 5A) 重建拉曼图像。图 5C 所示的彩色编码拉曼图像成功地显示了这两种多晶体在扫描区域的分布情况。

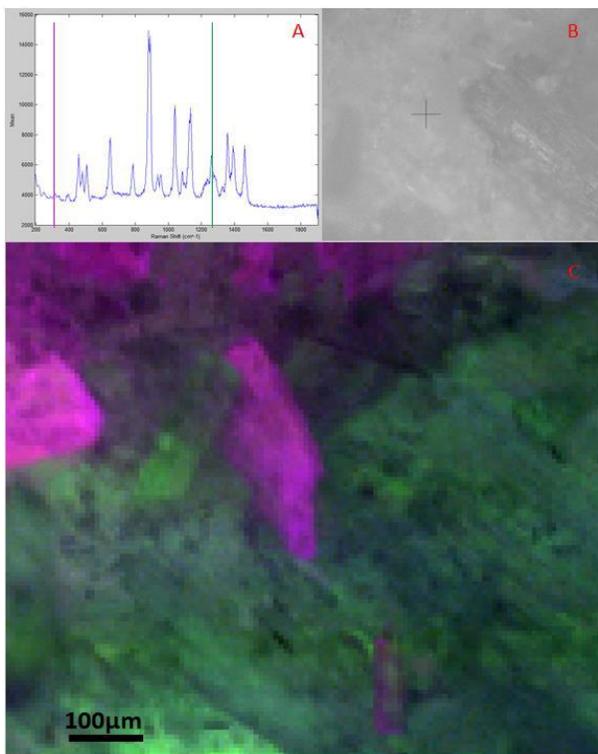


图6 (上图): 用于自动拉曼采集的96孔微孔板取样附件
左上角插图: 开启识别模式进行自动测量时的软件界面

图5 (左图): D-甘露糖醇 (C) 的 α -和 β -形态混合物样品的彩色编码拉曼成像
(A) 表示选定的用于拉曼成像的不同化学成分的独特拉曼特征
(B) 表示扫描区域的亮视图象

结论

在这些实验的基础上, 1064nm色散拉曼被证明是一种可行的新选择, 也是识别多晶体和应用过程监控的非破坏性方法。利用所提供的高分辨率拉曼光谱, 可以很容易地利用多晶体的拉曼特征差异来实现多晶体识别、过程监控和分布表征的目的。以差异测量附件、96孔微孔板拉曼阅读器 (图 6)、流动池取样接口和原位监测平台为例, 用于识别和过程监控的全自动拉曼光谱测量可轻松应用于研发或质量保证目的。此外, 与主成分分析 (PCA) 和偏最小二乘法回归 (PLS) 等化学计量学工具相结合, 还可以实现自动识别和定量化学成分的一种可行的新选择和非破坏性方法。此外该仪器和方法还可轻松应用于制药业的许多其他研发领域。

References

- 1) Burger, A., et al., J. Pharm. Sci., 2000, 89(4), 457-468.
- 2) Bruni, G., et al., J. Therm. Anal. Calorim., 2009, 95, 871-876.