

差示扫描量热仪（DSC）在药物分析中的应用

珀金埃尔默仪器（上海）有限公司 朱兵 刘继涛

前言：

药品的研发与生产必须监控其物化性质，如纯度、晶型、稳定性和安全性，以确保药物具有预期的药性。众所周知，有机化合物包括药品常常具有多种结构及晶态，这势必影响到药品的加工条件、期稳定性、衰变及生物投递能力。药品的最终组成中包含了多种活性组份以及它们之间相互作用而生成的产物，当然还有赋形剂、水分、药片涂层等，十分复杂。因此对其全面的表征也变得越来越重要，其中最理想的测试方法之一就是热分析。

热分析具有用量少、方法灵敏、快速的特点，在较短的时间内可获得需要复杂技术或长期研究才能得到的各种信息。差示扫描量热仪（DSC）是目前在医药领域应用最广的热分析仪之一，DSC 通过测量药物热焓和温度随程序温控的变化，具体可以研究的信息如：

- 药物纯度
- 药物的多晶及亚稳态、无定形态的研究
- 优化冷冻干燥
- 脂质检测、蛋白质变性

1. 药物纯度

DSC 在药物分析中最主要的应用之一是评估药物纯度。自从上世纪六十年代商业 DSC 产品出现以来，因 DSC 测定药物纯度快速、准确易于操作，这项技术已被广泛接受。DSC 池体的响应时间和温度测量对于纯度的准确分析至关重要。功率补偿型 DSC 因其炉体小（<1g），响应时间极快，而且其使用铂电阻测温精度高、准确好，因而非常适合纯度的准确测量。众所周知，当物质中有微量杂质存在时，其熔点将会降低，同时熔程变宽。

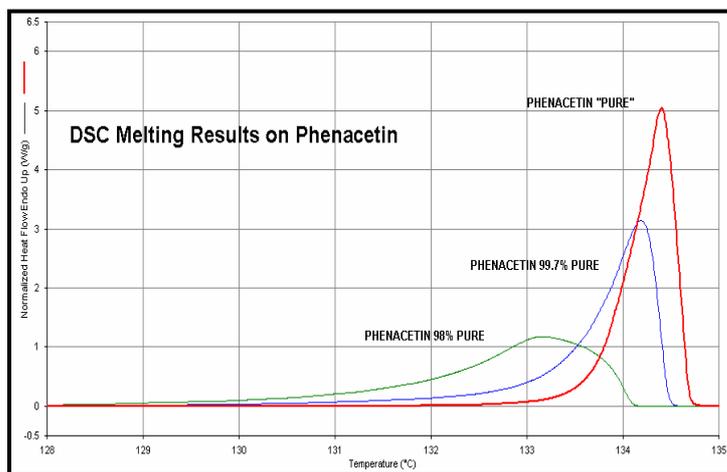


图 1. 不同纯度非那西汀样品的 DSC 熔融测试结果

图 1 所示不同纯度的非那西汀（乙酰对氨基苯乙醚）样品的 DSC 曲线，可以说明这一点。而 DSC 测定纯度通过 Var'tHoff 方程计算求得：

$$1/Fs = [\Delta H/R] \cdot [T_o - T_s] / T_o^2 \cdot [1/X_2]$$

式中 T_s 为样品的瞬间熔解温度， T_o 为纯物质的熔点（°K）； ΔH 为纯物质的熔融热（J/g）， X_2 为杂质样品中的摩尔分数； R 为气体常数（8.314J/mole）， F_s 则为温度 T_s 时样品已熔化的分数， $F_s=A_s/A_t$ ， A_s 为温度为 T_s 时已熔融部分的熔融热， A_t 为总熔融热。以 T_s 对 $1/F_s$ 作图，斜率为 $Rt_o^2X_2/\Delta H$ ，而Y轴截距则为 100%纯物质的熔点 T_o 。

图 2 为非那西汀样品的纯度分析。由 PerkinElmer 的纯度软件，依照 Van't Hoff 方程，即可求得其纯度为 99.96%。

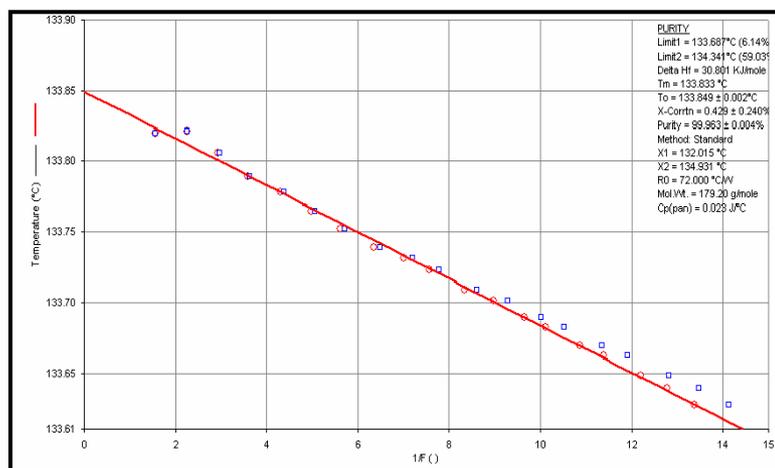


图 2. Pyris 软件根据 Van't Hoff 方程计算的非那西汀样品的纯度结果

2. 药品的多晶态分析

许多药物都存在多晶现象，由于根据加工条件的不同，药品可以存在 2 种以上的晶型。在热力学上稳定性较差的晶型具有较低的熔点。因此一个具有多种晶型的药物在熔融过程中可能存在多个熔点。更为复杂的是：当亚稳态晶型熔化后，可能会再结晶，然后在更高的温度下熔融。

药品的多晶现象对药物的性质，如药理、生物可利用率、有效寿命等有着至关重要的影响。不同晶型的药品，其溶解和被吸收性能会有明显的差异。因此可以通过控制晶型及该种晶型所占比例来控制药物的存放时间、释放时间及有效作用时间。随着药品存放时间的增加，有些易溶解的晶型会逐渐转化为难溶解的晶型，从而改变药物配方的药物活性。因为上述原因，需要有一种方法能检测药物的多晶现象。差示扫描量热仪由于其能准确地测量多种晶型的熔点及熔融热，且能显示整个熔融过程，发现各晶型的单变或互变现象（晶型转变），非常适合于药品的多晶分析。

图 3 所示为对扑热息痛片剂（乙酰氨基酚）的 DSC 曲线，在 57.5°处有一尖锐的吸热峰；其热焓值仅为 0.82J/g。此转变与扑热息痛的多晶现象有关。起始温度在 168.2°C 的峰为其主要晶型的熔融峰，热焓高达 155.0J/g。图 3 中的插图为 57.5°C 处亚稳晶型的放大 DSC 曲线，除该吸热峰处还存在一较宽温程与之叠加的吸热峰，应为扑热息痛药片中少量水份的挥发。

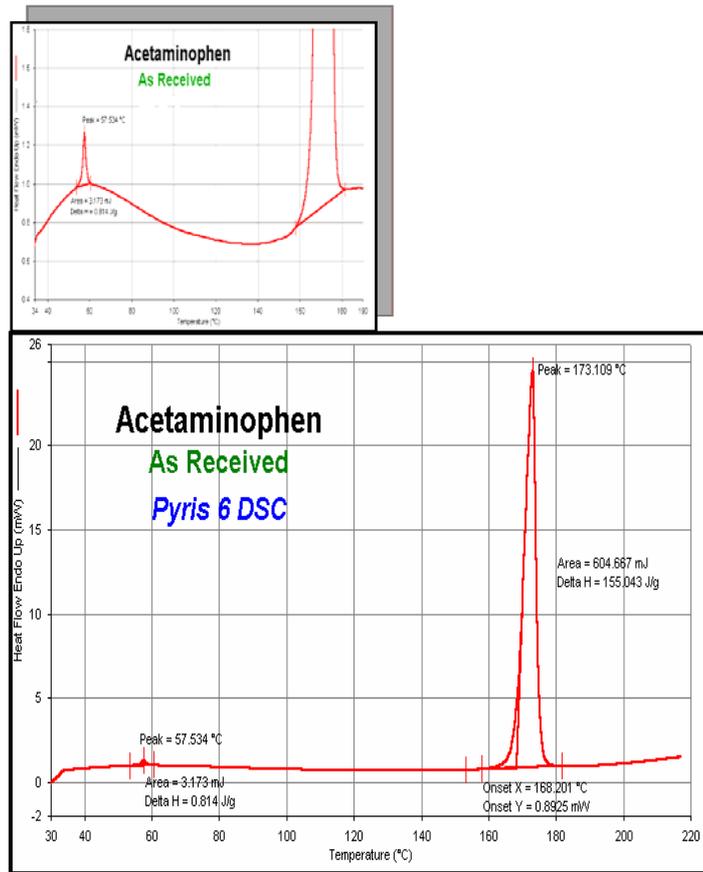


图 3. 未处理的醋氨酚的 DSC 测试结果

将上述药品冷却到室温后再次以 10°C/min 加热，所得曲线见于图 4，与图 3 相比，DSC 结果出现显著差异。在 80.0°C 和 131°C 出现两个结晶峰，放热量分别为 102J/g 和 7.5J/g，熔融峰出现在 159.1°C，由此可见热历史的不同将严重影响药品的多晶组成，进而导致药品的理化性质。

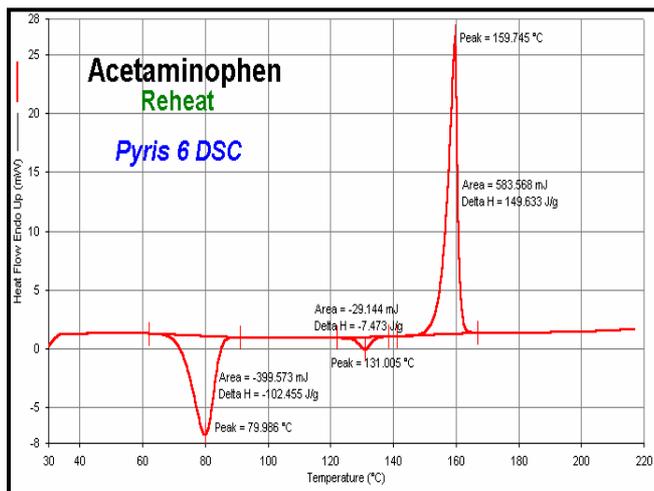


图 4. 冷却后再加热的醋氨酚的 DSC 测试结果

3. 冷冻干燥工艺的优化

许多药品在生产过程中需要将活性物质的水溶液在不破坏组成、结构的前提下，进行冷冻干燥（冻干法）以便延长储存时间或使用中能与水重新组成试剂。冻干过程包括二个步骤：冷冻原水溶液，抽真空使吸附水挥发。从能源消耗角度考虑，需要知道最高的可以接受的冷冻温度，同时为确保所冻干药品保持原有的物化性能、药理效果，又要求冷冻干燥的温度足够低，不至于破坏药品结构与组成。

在药品溶液冷冻干燥过程中，溶质相可能形成无定形的浓缩相，并且具有特征的玻璃化转变温度（ T_g ），也可能形成共晶体，加热晶化药品至其共熔点将导致药品的熔化或回熔。考虑到上述溶质相非晶态及结晶态在冷冻过程中的形成，评价与之相类的配方组成，就成了优化冻干工艺条件的前提。对于形成无定型浓缩相的组成。其关键参数为低温下的玻璃化转变温度（ T_g ）。通常情况下，冻干温度应低于 T_g ，以避免冻干加热过程中破坏样品结构。因此，精确、准确、灵敏地检测样品在低温下的 T_g 及重结晶转变，在冷冻干燥工艺设置中就变得尤为重要。

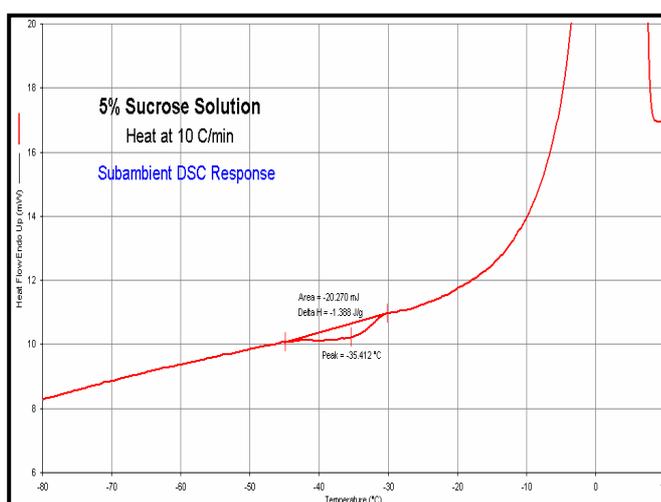


图 5. 5%蔗糖溶液常规 DSC 测试结果

图 5 为 5%蔗糖溶液经-80℃冷冻 2min 后，升温扫描 DSC 曲线（10℃/min，-80℃~20℃），在冰的熔融峰之前，-35℃左右处还存在一微弱平缓的放热峰，这个结果很难解释。众所周知，蔗糖溶液在此温度范围存在一个玻璃化转变过程。为了澄清上述常规 DSC 所得结果，对上述样品采用分步扫描 DSC（StepScan DSC）进行分析，方法显示于图 6，结果见于图 7。

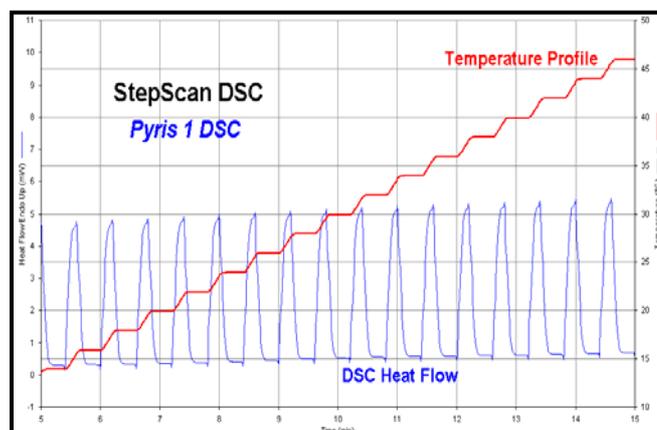


图 6. 采用分步扫描 DSC（StepScan DSC）循环升温等温的测试方法

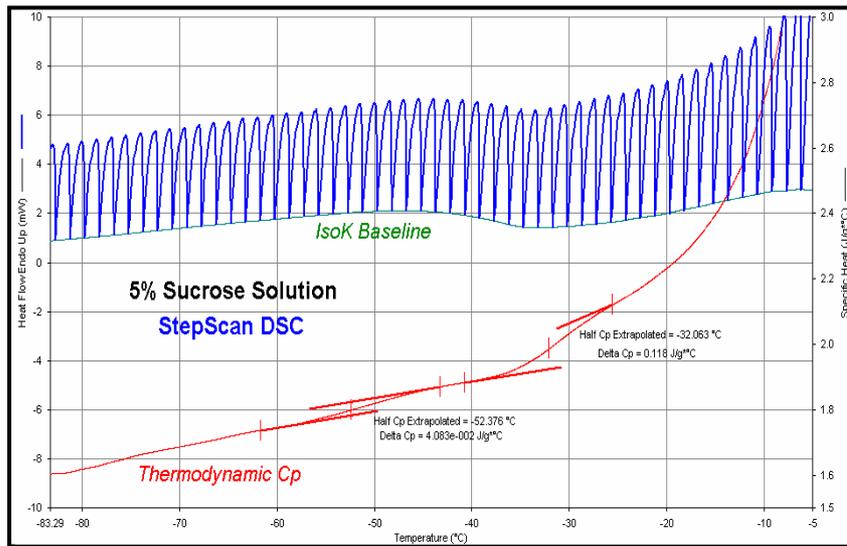


图 7. 5%蔗糖溶液采用分步扫描 DSC (StepScan DSC) 的测试分析结果

StepScanDSC 是一种新型的用于 PerkinElmer 功率补偿型 DSC 上的软件，该方法采用传统的测量物质比热 (C_p) 的方法，未实现最可靠的量热结果。它的加热冷却方式为分段式加热(冷却)-保温-加热(冷却)。该方法可直接获得比热 (C_p) 数据，并可在不降低分辨率的前提下提高灵敏度，还可分离热现象中可逆与不可逆现象。如可逆的玻璃化转变过程中，不可逆的应力释放或水份挥发，可逆的熔融过程中不可逆的组份的分解。当然要实现上述很窄温度区间内的升温-保温-升温过程，如 $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温 2°C ，然后保持 200 秒，然后再 $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温 2°C ，保温 200 秒，多次重复，不仅需要软件操作，更需要硬件上的支持，要求炉体要有极快的响应时间，精确的控温能力，PerkinElmer 的功率补偿型 DSC，具有一对质量小于 1g 的铂铱合金炉体，升降温速率可高达 $500^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ，而且如此 $100^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的加热速率升温，温度过冲小于 0.1°C ，因此可满足 StepScanDSC 的要求。

图 7 中，最上方锯齿型谱图为 StepScanDSC 原始结果，中间的谱线代表了不可逆热变化，与图 5 中标准 DSC 所得结果相似，有一放热峰。最下方谱线反映了样品的可逆热转变，从中可清楚地看到该样品在 -32°C 及 -52°C 处存在两个玻璃化转变。其中，在 -33°C 的转变被认为可能造成结构的破坏。因此，冻干温度必须低于此温度。

4. DSC 用于蛋白质变性的检测

随着热分析在生化领域的应用，采用高灵敏度的 DSC 研究蛋白质溶液的热性能变得越来越重要。在水溶液中，蛋白质具有特定的三维结构以支持特殊的生物功能，而一旦蛋白质被加热，分子运动就会破坏这种结构(热变性作用)。变质过程伴随着非常微弱的能量变化，高灵敏度的 DSC 可检测到这种转变。

图 8 所示，为 5% 蛋白质溶液的 DSC 曲线，这种蛋白质在 72.6°C (峰顶温度) 附近有一个很宽的吸热峰，此吸热峰即代表了该物质的受热变质。可见 DSC 可方便快捷地检测蛋白质的热稳定性。这对抗病毒药品开发及研究非常重要。

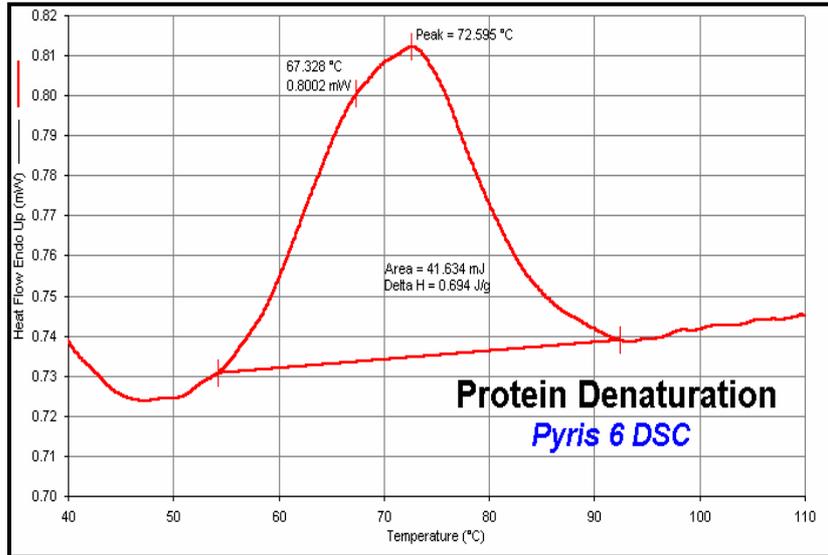


Figure 8. 蛋白质受热变性的 DSC 测试结果(5%溶液)

综上所述，热分析技术尤其是差示扫描量热仪在药品检验中有着广泛的应用，在新药研制、中间体检测、最佳配方的选择、药物稳定性的预测、药物质量优劣的评价等方面，起着举足轻重的作用。

参考文献

- D. Giron, *American Pharmaceutical Review*, Vol. 3, Issue 2, 2000, 53-61.
- D. Giron, *American Pharmaceutical Review*, Vol. 3, Issue 3, 2000, 43-53.
- D. Giron, *Journal of Thermal Analysis*, 56, 1999, 1285-1304
- W. Sichina, *Proceedings of the 28th Annual Conference of the North American Thermal Analysis Society*, Orlando, FL, 2000, 223-230.