



³⁵Cl 固体核磁共振：药物活性成分研究的新方法

玛蒂娜·莫内特¹，大卫·A·赫什²和罗伯特·W. Schurko²

作者信息：1 - 加拿大安大略省米尔顿布鲁克加拿大有限公司；2 - 加拿大安大略省温莎市温莎大学化学和生物化学系

大多数药物活性成分 (APIs) 在生产、分销和消费过程中均以固体形式存在。许多药物活性成分具有多种多晶型形式，每种多晶型具有不同的物化特性，如溶解度、熔点和溶解速率。此外，药物活性成分还可形成伪多晶体，即具有不同结构和性质的各种水合物和溶剂化物。每一种独特晶型都可能具有迥然不同的生物利用度和稳定性，也代表着独一无二的知识产权。因此，制药工业必须在药物开发的每个阶段利用可靠的技术来表征药物活性成分，包括散装和成品剂型（即片剂和胶囊剂）。

表征固体药物活性成分的常用方法有热分析法、粉末 X 射线衍射法 (PXRD) 与 ¹³C 固体核磁共振技术 (SSNMR)¹。虽然所有这些方法都足以表征散装药物活性成分，但仍存在严重的局限性。例如，pXRD 只能应用于晶体药品样本，¹³C 固体核磁共振区分由结构差异和 / 或杂质所引起的谱峰的能力有限。此外，这三种技术并不适用于剂型药物，因为它们的复杂性和干扰信号产生于它们赋形剂基质中分子的多样性。

超过 50% 的药物活性成分是以盐酸盐的形式生产的，目的是稳定它们的晶型，同时在溶解时具有高度的生物利用度。HCl 药物活性成分中的氯离子位于具有复杂氢键排列的独特环境中。有趣的是，有一种出色的核磁共振方法可为每个含有 ³⁵Cl 的多晶型或伪多晶型物提供唯一的谱图指纹。在氯的两种核磁共振活性同位素中，首选具有较高普适性的 (n.a. 75.33%) 的 ³⁵Cl，因为它的共振频率接近 15N，这就使得许多商业化的标准核磁共振探头都可以对其进行检测。通过采集、处理和模拟 ³⁵Cl 中心跃迁 (+ $\frac{1}{2}$ ↔ - $\frac{1}{2}$, CT) 谱图，可以确定 ³⁵Cl 电场梯度 (EFG) 张量参数，这些参数通常表示为四极耦合常数 CQ 和不对称因子 η_{Cl} 。电场梯度张量和化学位移 (CS) 张量对氯离子的氢键网络非常敏感。因此，³⁵Cl 固体核磁共振谱图可为每种药用活性成分及其各自的多晶型提供独有的谱图数据，还可鉴别杂质和其他副产物²。此外，还可建立四极参数与短 Cl...H 氢键数目和类型之间的关系，从而用于辅助分析分子水平的精细结构³。

静态（即非旋转）CT 粉末图样可直接测量化学位移张量及其相对于电场梯度张量的取向。但是，想得到具有高灵敏度且被均匀激发的宽线 CT 粉末谱将会非常困难。因此，常规实验方法（例如 Hahn-echo）需要大量的信号累加平均和非常高的矩形脉冲功率来分别解决这两个问题。对于后面这种情况， ^{35}Cl CT 粉末谱通常都非常宽，导致其无法实现均匀激发。此外，由于片剂、胶囊等剂型中的药物活性成分只占总重量的一小部分，因此在中等场强下进行常规的 ^{35}Cl 固体核磁共振实验要么需要很长的实验时间，要么根本不可能实现。幸运的是，超高场核磁共振系统和高灵敏度探头的逐渐应用，以及超宽谱线粉末图样信号增强脉冲序列的开发，使得 ^{35}Cl 固体核磁共振谱成为研究药物活性成分的极好选择，无论是散装还是剂型药物。^{4, 5} WURSTCPMG 脉冲序列^{6, 7} 是在 Carr-Purcell Meiboom-Gill (CPMG) 回波序列⁹ 的基础上加入了宽带匀速平滑截断 (WURST) 脉冲用于宽带激发⁸，以提高灵敏度。所得谱图由梳子状的小尖峰组成，这些小尖峰的轮廓图勾勒出静态 CT 粉末谱。 ^{35}Cl 固体核磁共振实验结果通常在静态条件下进行，这就降低了魔角旋转 (MAS) 所需的转子填充难度。

实验设置

下面，我们将演示直接激发 WURST-CPMG 实验参数的设置。**WCPMG_35Cl** 实验参数的设置中用的脉冲序列为 **wcpmg**。WURST 脉冲宽度 (P11) 设置为 50 微秒，sp1 设置为相当于 18kHz 射频场的功率，脉冲形状为 W_50us_500kHz_500。中心频率 (O1) 设为氯化钠 (NaCl) 的 ^{35}Cl 信号 ($\delta = 0\text{ppm}$) 共振频率，谱宽 (SWH) 设为 1MHz。回波时间 d6 设为 200 微秒，死时间 d3 为 10~100 微秒，具体的数值由探头的特性决定。采集的回波数 (I22) 设为 50， ^1H 去耦场设置为 100kHz，但 50kHz 就已足够。谱图处理时加指数窗函数，增宽因子为 50Hz，然后进行傅里叶变换。然后用幅度计算 (mc) 处理随后的波谱。如有必要，对这些谱图进行二阶相位校正；为简单起见，建议采用幅度处理即可。

结果与讨论

我们首先展示用标准样品甘氨酸-HCl 得到的实验结果。甘氨酸-HCl 简单易得、成本低、毒性小，而且 ^{35}Cl 的中心跃迁充分代表预期谱宽，因此可以用作药物活性成分 ^{35}Cl 固体核磁共振实验设置的标准样品，^{3,4} 图 1 展示了甘氨酸 HCl（购自 Sigma Aldrich）在 11.7T (48.9 MHz) 场强下得到的谱图：弛豫恢复时间为 1s，采样次数为 128，总的实验时间约为 2 分钟。所获得谱图在 500MHz 时谱宽为 170kHz，这就证明了 WURST 脉冲能够对宽带谱进行有效的激发。

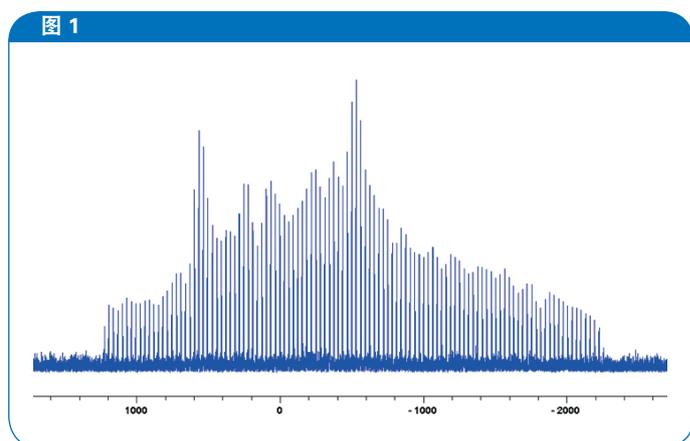
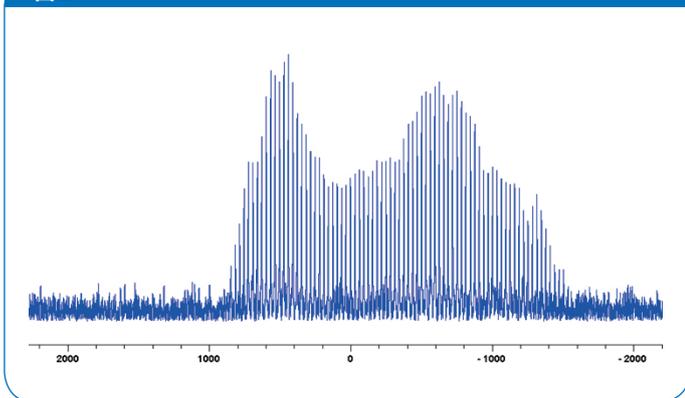


图 1 甘氨酸-HCl 的 WURST-CPMG NMR 谱图。

由于宽带激发脉冲和 CPMG 回波序列的组合能够显著提高实验效率，我们接下来展示该技术在盐酸雷尼替丁成品制剂配方样本中的应用。雷尼替丁通常用于缓解胃灼热症状。在当地药店购买的 150 毫克 Zantac 片剂用作剂型。在制备过程中，用研钵和杵将片剂压碎并研磨，然后将其转移到 4 毫米氧化锆转子中。图 2 为累加约一小时后得到的谱图。该实验中使用的参数与图 1 中的参数相同，仅将扫描次数改为 4096。

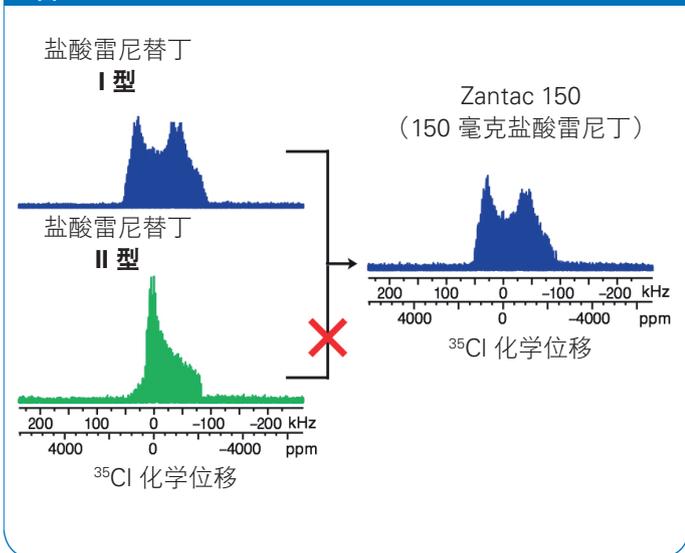
图 2



Zantac 药片的 WURST-CPMG NMR 谱图

对 ^{35}Cl 固体核磁共振谱图进行模拟，得到 ^{35}Cl 电场梯度张量参数；细节另有说明。^{3, 10} 然而，简单分析谱图线型，就可获得有用的定性分析信息。盐酸雷尼替丁有两种已知的多晶体，它们具有不同的局部 Cl- 环境。晶型 I 中单个氯原子仅与一个 H-Cl 紧密结合，¹¹ 而晶型 II 中 Cl 原子与两个 H-Cl 紧密结合。¹² 这两种晶型产生不同的 ^{35}Cl 粉末谱，如图 3 所示（Schurko 等人，未发表结果）。通过比较，我们可以确认在当地药店购买的 Zantac 药片主要由 I 型盐酸雷尼替丁组成。 ^{35}Cl 粉末谱可直接用作评价盐酸雷尼替丁分子多晶型的方法。

图 3



雷尼替丁 I 型和 II 型的 ^{35}Cl 固体核磁共振谱图数据由温莎大学的 R.W.Schurko 提供。

结论

我们已经证明， ^{35}Cl WURST-CPMG 技术是一种强大的工具，可用于指纹识别和表征剂型中药物活性成分的结构。利用该技术可发现在制剂的生产和制造过程中可能出现的新相或杂质产物。鉴于其获取谱图数据的快速简便性，我们希望本文所述的技术将有助于扩展 ^{35}Cl 固体核磁共振技术在药物活性成分剂型研究中的应用。此外，我们已经证明， ^{35}Cl 固体核磁共振技术这种工具显然应该列入不断扩大的制药工业表征技术库中，用于鉴定、鉴别和发现新型药物活性成分相。

参考：

- [1] 哈里斯·R.K, 《分析师》2006, 131, 351。
- [2] 哈 马 德·H.; Laschuk, M.W.; Terskikh, V. V.; Schurko, R. W. 《美国化学会志》, Soc.2009, 131, 8271。
- [3] 希尔德布兰德·M.; 哈马德·H.; Namespetra, A. M.; 多诺霍·J.M.; Fu, R.; 亨·I.; 加恩·Z.; Schurko, R.W. 《晶体工程通讯》2014, 16, 7334。
- [4] Namespetra, A. M.; 赫什·D.A, 希尔德布兰德·M.P.; 桑德尔·A.R.; 哈马德·H.; 罗森·J.M.; Schurko, R.W. 《晶体工程通讯》2016, 18, 6213。
- [5] 赫什·D.A, 罗西尼·A.J; 埃姆斯利·L; Schurko, R.W. Phys.Chem.Chem.Phys.2016, 18, 1。
- [6] O' Dell, L.A.; Schurko, R.W. Chem.Phys.Lett, 2008, 464, 97。
- [7] O' Dell, L.A.; 罗 西 尼·A.J; Schurko, R.W. Chem.Phys.Lett, 2009, 468, 330。
- [8] Kupce, E.; 弗里曼·R, 《波谱学杂志》A 1995, 115, 273。
- [9] 凯 尔·H·Y; 珀 塞 尔·E·M, Phys.Rev. 1954, 94, 630。
- [10] 哈马德·H.; 帕夫洛夫斯基·J.M.; 库珀·B.B.T.; Fu, R.; 艾克霍恩·S.H.; Schurko, R. W. 《美国化学会志》, Soc.2008, 130, 11056。
- [11] 石田·T; 因·Y; 井上·M, 《晶体学报 A》Sect.C., 1990, 46, 1893。
- [12] 亨 佩 尔·A; Camerman·N; Mastropaolo, D.; Camerman, A., 《晶体学报 A》Sect.C. 2000, 56, 1048。

 **Bruker BioSpin**

info@bruker.com
www.bruker.com