

吸附水分影响 DSC 法测定药物纯度的分析

刘毅¹, 吴锐^{1,2}, 郭贤辉¹, 朱炯^{1*}, 陈华^{1*}

(1. 中国食品药品检定研究院, 北京 102629; 2. 烟台大学药学院, 烟台 264005)

摘要 **目的:** 探讨吸附水分对差示扫描量热 (DSC) 法测定药物纯度的影响。**方法:** 药物纯度 DSC 测定的升温速率为 $0.5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, 气氛为氮气, 干燥气为 $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 优化后的方法起始温度较常规方法提前 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$, 并增设速率为 $1\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的升温程序 10 min , 其余参数不变。**结果:** 无需干燥处理试样, 常规 DSC 法可以准确测定吸附水分小于 7% 的咪唑、盐酸去氧肾上腺素和甲硫酸新斯的明试样的纯度。方法优化后进一步排除吸附水分干扰, 吸附水分小于 8% 的上述试样均可以准确分析。**结论:** 吸附水分可能影响 DSC 法纯度分析的结果, 熔融温度高于 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 且吸附水分小于 7% 的一般试样无需干燥处理, 优化后的方法可进一步降低吸附水分的影响。

关键词: 差示扫描量热法; 纯度分析; 吸附水分影响; 方法优化

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793 (2025) 05-0915-06

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024-1249

Analysis of the influence of adsorbed moisture on DSC method for detecting drug purity

LIU Yi¹, WU Rui^{1,2}, GUO Xian-hui¹, ZHU Jiong^{1*}, CHEN Hua^{1*}

(1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China; 2. School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264005, China)

Abstract Objective: To investigate the effect of adsorbed moisture on drug purity determination by differential scanning calorimetry (DSC). **Methods:** The DSC analysis for drug purity was performed with a heating rate of $0.5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ under a nitrogen atmosphere (drying gas flow rate: $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$). The optimized method reduced by $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ than the conventional method and included an additional heating segment at $1\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ for 10 min , while other parameters remained unchanged. **Results:** Without pre-drying, the conventional DSC method accurately determined the purity of imidazole, phenylephrine hydrochloride, and neostigmine methylsulfate samples with adsorbed moisture below 7%. After optimization, the method further eliminated moisture interference, allowing accurate analysis of samples with adsorbed moisture below 8%. **Conclusion:** Adsorbed moisture may affect DSC-based purity analysis. For general samples with a melting point above $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ and adsorbed moisture below 7%, pre-drying is unnecessary. The optimized method further reduces the impact of adsorbed moisture.

Keywords: differential scanning calorimetry (DSC); purity analysis; influence of adsorbed moisture; method optimization

* 通信作者 陈华 Tel:(010)53851622; E-mail: chenhua@nifdc.org.cn

朱炯 Tel:(010)53852616; E-mail: zhujiong@nifdc.org.cn

第一作者 Tel:(010)53851579; E-mail: liuyi@nifdc.org.cn

差示扫描量热(differential scanning calorimetry, DSC)法是在程序控温和一定气氛下,测量输给供试品与参比物的热流速率或加热功率(差)与温度(或时间)关系的技术^[1],目前在化学标准物质等主体研究中经常采用^[2-3],DSC纯度分析法是药物含量分析中滴定法、色谱法等常规方法的有益补充^[4-5],已经逐渐成为药品检验工作中不可或缺的方法之一^[6-7]。化学药品及其标准物质中所含千分之几的杂质已引起药品质控研究人员的关注,但对于其中所含可能近百分之几的水分仍然未足够重视。具引湿性的样品常常因为吸附水分的影响困扰着质控分析人员,这一难题尤其在高湿度的环境氛围表现更加凸显。潮湿季节时实验室环境的湿度常在60%以上,南方实验室日常湿度可能更高,必须考虑相关具引湿性药品拆封后续分析过程中吸附水分的影响。

本研究选取引湿性较强、吸附水分可增加至药品标准限度之上(无结晶水),且熔点靠近水沸点的代表性品种,针对性地开展吸附水分影响DSC法测定

药物纯度的研究。弱碱性的咪唑(熔点89℃)常被用作抗真菌药、抗霉剂等,在药物的水分分析中作为卡氏试剂的组分用于阻止发生副反应,但其本身的引湿性较强,RH 80%环境氛围2h引湿增重达到10%。盐酸去氧肾上腺素(熔点142℃)常用于休克治疗,RH 60%环境明显引湿,随着湿度氛围的增加可引湿增重达20%;常用的抗胆碱酯酶药甲硫新斯的明(熔点146℃),水中极易溶解,引湿性情况与上述盐酸去氧肾上腺素相近。3种代表性的化学药品在临床和药物分析领域内应用价值较大,但自身较强的水分吸附特性可能会影响相关的量效关系乃至安全稳定性,本次探索性研究为具引湿性品种的纯度分析提供了参考。

1 仪器与试剂

DSC差示扫描量热仪、MHG动态水分吸附仪、V305水分测定仪、40 μL标准铝坩埚(批号12200071),Mettler Toledo公司。

实验用样品均来自中国食品药品检定研究院的同源标准物质候选原料,见表1。

表1 纯度分析试样情况

Tab. 1 The samples for purity analysis

试样 (sample)	批号 (lot No.)	水分含量 (water content)/%
咪唑(imidazole)	100045-201304	0, 3.9, 5.0, 5.9, 7.0, 8.0, 8.4~9.3
盐酸去氧肾上腺素(phenylephrine hydrochloride)	100261-201403	0, 0.5, 1.0, 1.2, 2.0, 3.0, 3.9, 5.0, 7.1, 7.7~8.8
甲硫新斯的明(neostigmine methylsulfate)	100550-200401	0, 1.0, 6.0, 7.1, 8.1

注(note): 0%水分样品即干燥后样品(sample of 0% moisture refers to sample after loss on drying test)

2 方法与结果

2.1 吸附水分对DSC法纯度分析的影响

采用热分析DSC法分析原料药纯度时,首先需要获取其热特征信息,其次DSC分析确认具有单一独立的熔融吸热峰,最后以升温速率 $0.5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 精细分析样本的熔融区间获得纯度^[8-9]。基于水分对DSC法熔点分析的影响研究,进一步探讨相关纯度分析的影响。咪唑、盐酸去氧肾上腺素和甲硫新斯的明3种药物的典型DSC分析曲线见图1。

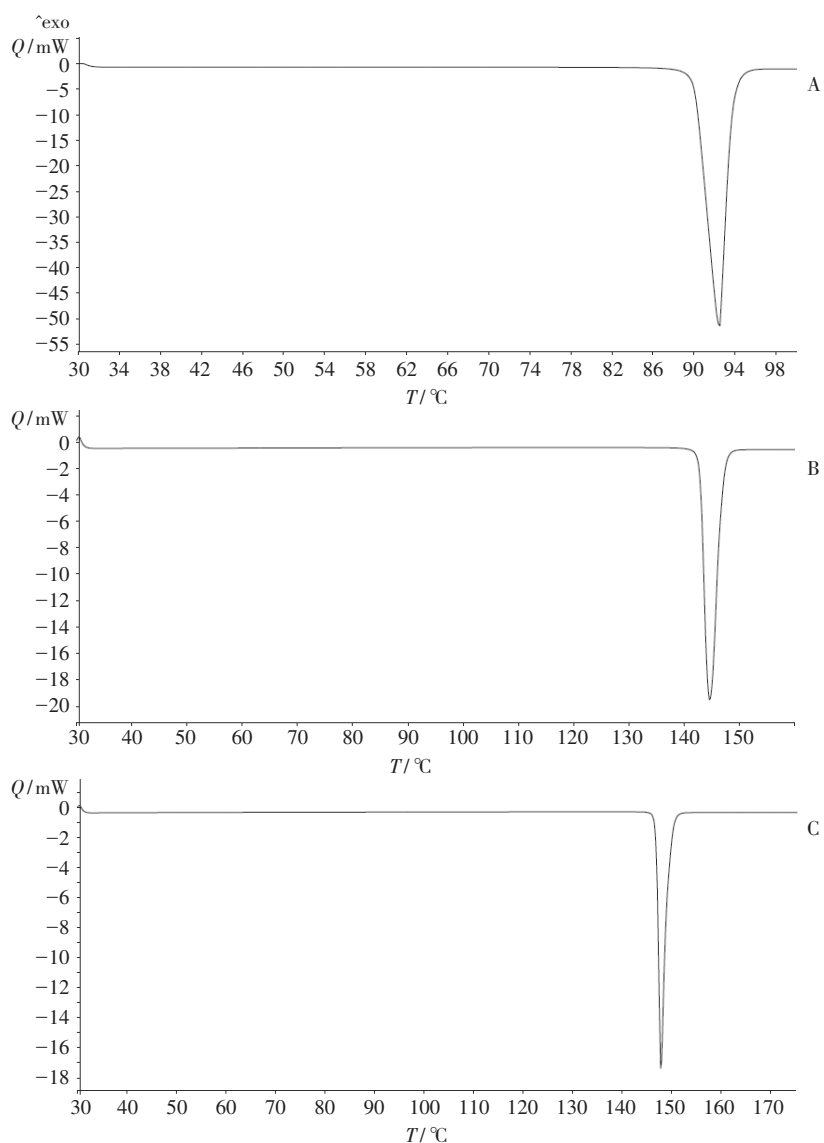
分别称取咪唑、盐酸去氧肾上腺素试样1~3 mg,并制成不同水分含量的样品(见表1)。针对性地考察吸附水分的影响,因此专门采用密封坩埚以锁住水分的挥发,分析样本的纯度受影响情况。

随着水分增加,样品的纯度分析结果会逐渐下

降。如图2所示,咪唑样本的水分增至8%时,纯度分析结果下降1%,进一步引湿达到9%时已经无法分析纯度;盐酸去氧肾上腺素的样本水分近3%时,纯度分析结果下降了2%,进一步引湿的样本也无法再次分析纯度。甲硫新斯的明的分析情况再次验证了吸附水分对样本纯度分析的影响,吸附水分0.7%时,纯度分析结果降低了0.7%,样本进一步引湿的水分为1.6%时已经无法分析纯度。

2.2 具引湿性样品DSC法纯度分析的优化

上述研究已经反映,吸附水分可能导致样品的纯度分析结果降低。采用DSC法进行样品的纯度分析,以 $0.5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的升温速率扫描分析样品的熔融区间^[9],不同水分的咪唑、盐酸去氧肾上腺素和甲硫新斯的明样品的纯度分析结果见表2。



A. 咪唑 (imidazole) B. 盐酸去氧肾上腺素 (phenylephrine hydrochloride) C. 甲硫新斯的明 (neostigmine methylsulfate)

图 1 3 种具引湿性药物的典型 DSC 曲线

Fig. 1 Typical DSC curves of three hygroscopic drugs

表 2 常规 DSC 法纯度分析具引湿性的代表性样品

Tab. 2 Conventional DSC purity analysis for representative samples with hygroscopicity

咪唑 (imidazole)		盐酸去氧肾上腺素 (phenylephrine hydrochloride)		甲硫新斯的明 (neostigmine methylsulfate)	
水分 (moisture) /%	纯度 (purity) /%	水分 (moisture) /%	纯度 (purity) /%	水分 (moisture) /%	纯度 (purity) /%
0	100.0	0	99.9	0	99.8
3.9	99.9	1.0	99.9	6.0	99.7
5.9	99.9	2.0	99.9	7.1	99.8
7.0	99.9	3.0	99.9	8.1	99.9
		3.9	99.9		
		5.0	99.9		
		7.1	100.0		

注 (note): 0% 水分样品即干燥后样品 (sample of 0% moisture refers to sample after drying)

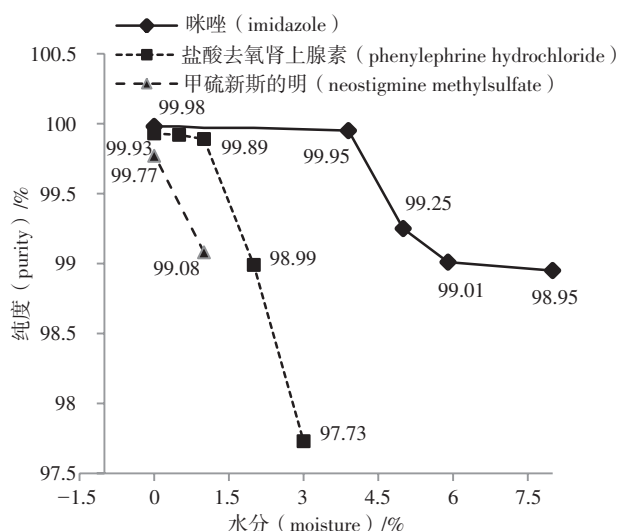


图2 吸附水分对 DSC 法药物纯度分析的影响
Fig. 2 The influence of the adsorbed moisture on DSC drug purity analysis

研究表明:与干燥处理后的样品(水分 0%)相比较,咪唑和盐酸去氧肾上腺素水分低于 7% 的样品 DSC 纯度分析结果差异小于 0.1%,基本一致;甲硫新斯的明水分为 8% 时与干燥后的样品 DSC 纯度分析结果无显著性差异。可见一般吸附水分不大于 7% 且原料药熔点高于 80 °C 的样品,直接采用常规 DSC

纯度分析法^[8],既节省了专门需求干燥处理样品的时间,同时也解决了具引湿性样品干燥后恢复常温时易发生的复引湿难题。

咪唑样品水分小于 7% 时,纯度分析升温速率较慢,分析时间较长,水分已持续蒸发,对结果影响较小。而引湿导致其水分大于 7% 时,观察到水分已经严重影响到了样品,肉眼可见性状的改变,常规热分析的 DSC 曲线也因为尖刺和可能的重结晶放热等产生异常的熔融吸热峰,必然干扰 DSC 纯度分析结果,无法准确检查纯度。ASTM 研究并规定纯度分析升温速率需在 0.3~0.7 °C·min⁻¹ 内^[9],优化后的方法升温速率仍然保持 0.5 °C·min⁻¹,但降低了方法的起始温度,延长了样品的加热处理时间。在常规方法上增设一段 70~80 °C 过程的 1 °C·min⁻¹ 升温程序,之后 80~92 °C 再采用 0.5 °C·min⁻¹ 的升温速率分析纯度。研究显示,优化后的方法可准确分析吸附水分接近 9% 的咪唑样品纯度,与常规 DSC 法分析干燥处理后的样品比较,纯度分析结果相差在 0.1% 以内,结果如表 3。2 种方法纯度分析结果通过 *t* 检验, *P*=0.07 (*P* > 0.05),无显著性差异,所以可认为,优化过的 DSC 纯度分析法可准确检测水分达 9% 的咪唑样品纯度。

表 3 优化 DSC 法纯度分析具引湿性的代表性样品 (n=10)

Tab. 3 Optimized DSC purity analysis for representative samples with hygroscopicity

咪唑 (imidazole)				盐酸去氧肾上腺素 (phenylephrine hydrochloride)			
水分 (moisture) /%	纯度 (purity) /%	水分 (moisture) /%	纯度 (purity) /%	水分 (moisture) /%	纯度 (purity) /%	水分 (moisture) /%	纯度 (purity) /%
0	99.9	8.9	100.0	0	99.9	7.7	99.9
0	99.9	8.9	100.0	0	99.9	8.0	100.0
0	100.0	9.3	100.0	0	99.9	8.1	100.0
0	100.0	8.8	100.0	0	100.0	8.2	100.0
0	100.0	8.8	100.0	0	100.0	8.0	100.0
0	99.9	8.4	99.9	0	99.9	8.1	99.9
0	99.9	8.8	100.0	0	99.9	7.9	99.9
0	99.9	8.7	100.0	0	99.9	8.8	99.9
0	100.0	8.8	99.9	0	99.9	8.0	100.0
0	99.9	8.9	100.0	0	99.9	8.0	100.0

注 (note): 0% 水分样品即干燥后样品 (sample of 0% moisture refers to sample after drying)

依照咪唑程序控温调整的思路,优化盐酸去氧肾上腺素的 DSC 纯度分析方法:增加设置熔融前 120~130 °C 过程的 1 °C·min⁻¹ 升温程序,之后 130~144 °C 再采用 0.5 °C·min⁻¹ 的升温速率分析纯度,即可准确

分析水分达 8% 的盐酸去氧肾上腺素样品。与干燥后的样品 DSC 纯度分析结果比较,差异小于 0.1%,结果如表 3。2 种方法纯度分析结果应用 *t* 检验, *P*=0.08 (*P* > 0.05),无显著性差异,故认为优化方法

DSC 纯度分析水分约 8% 的盐酸去氧肾上腺素样品的结果可靠。

咪唑和盐酸去氧肾上腺素的研究提示,比较常规的 DSC 纯度分析方法,在样品熔融 10 °C 前增设一段 1 °C · min⁻¹ 的升温程序,之后再以 0.5 °C · min⁻¹ 升温速率扫描分析样品的熔融温度范围,可以进一步排除含量高达 8% 的吸附水分影响。而甲硫新斯的明因为熔点较高,常规 DSC 纯度分析法即可准确分析水分在 8% 以内的样品纯度(见表 3)。

3 讨论

水分不仅影响着药物的稳定性,也直接关联着质控分析中药品及其标准物质的量值。DSC 法纯度分析时,吸附水分对样品熔点低于或接近于水沸点(100 °C)的结果影响较大,本研究显示(如图 2)随着样本水分的增加,其 DSC 纯度分析结果呈趋势性下降。

基于 DSC 纯度分析方法的原理进一步关注样品熔融过程的物相转变,不同样本的 DSC 纯度分析结果受水分的影响程度大相径庭,影响正相关于主成分与水分的相变所致热焓的差异,二者相变热焓差异越大的影响就越大,常常通过化学结构的分子量差异进行简单的初步判断。DSC 纯度分析法的理论基础是范德霍夫方程,化学药品标准物质的杂质通常为降解产物、中间产物等,大多数为主成分化学结构相似的同系物。聚焦吸附的水分影响 DSC 法纯度分析的研究中,密封坩埚阻止水分的加热蒸发,以更好地观察这种影响(见图 2)。水的相对分子质量为 18,咪唑的相对分子质量为 68.08,水分为 8% 时,纯度分析结果与原样相比下降 1%;盐酸去氧肾上腺素分子量 203.67 g · mol⁻¹;水分为 3% 时,纯度结果降低 2%,甲硫新斯的明分子量 334.39 g · mol⁻¹;水分为 0.7% 时,结果已降低近 1%;水分为 2% 时,纯度已经无法分析(见图 2)。在纯度分析过程中,水分会作为杂质参与分析计算,对结果影响较大。3 个品种中甲硫新斯的明纯度分析结果是由水分引入偏差最大的品种,因为大概率其杂质也是与水分结构相差最大的。与传统液相纯度分析中主成分与杂质的响应因子差值越大分析结果偏差就越大类似,DSC 纯度分析中主成分与水分化学结构相差越大,因而吸附水分因素引入的偏差很可能就越大,这也提示对此类具引湿性化学药品标准物质进行纯度分析时应严控工作环境的水分吸附干扰。

DSC 纯度分析过程中,熔融温度较低的样品在分析其低温熔程的热焓转变时很难克服水分挥发带人的影响,熔点较高时更容易提前消除水分以实现同系物杂质共熔体系的热力学纯度分析。本次代表性的样品研究显示,熔融温度高于 80 °C、吸附水分在 7% 以内的样品,无需干燥处理,可直接采用热分析 DSC 法进行纯度分析^[8],最终以 0.5 °C · min⁻¹ 升温速率精细分析窄窗口的样品熔融过程(结果见图 3)。可以优化方法,通过设置控温程序适当增长样品的加热,最大程度排除水分干扰,一般可准确分析水分达 8% 的具引湿性样品的纯度,考虑到品种引湿性和熔融温度不同,可解决的水分或有变动。优化的方法节省了一般方法中干燥处理样品的时间,有效解决了具引湿性样品冷却过程中的反复吸附水分难题,具有参考应用价值。

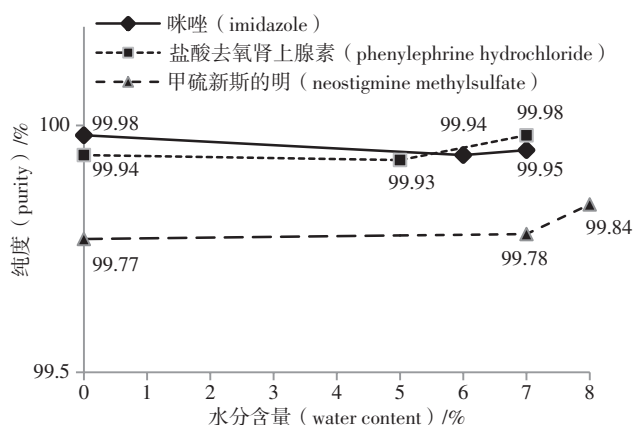


图 3 吸附水分影响 DSC 纯度分析的对比

Fig. 3 Comparative analysis of the influence of adsorbed moisture on DSC purity analysis

应用 DSC 法开展纯度分析时,水分可能会参与样品的熔融过程,研究结果显示随着水分的增加,纯度分析结果呈现不同程度的下降,提示在质控分析的研究过程中应注意水分的影响。DSC 纯度分析法的应用中无法准确计算水分,仅能体现出受水分影响的大致趋势。一般可通过优化 DSC 法的程序控温,排除水分干扰从而达到准确分析的目的,故应慎重考量一些学者关于 DSC 法分析药品绝对含量的认知。

影响药品稳定性的水分可视为纯度分析中的特殊杂质,药品质控分析人员应重点关注其对物质纯度分析的影响。本研究提示日常质量控制研究中,应注重实验室内温湿度的记录,尤其对于具有引湿性的品种更需重视,应尽量控制环境湿度,避免样品引入水

分影响分析。可根据样品的引湿性强弱和熔点高低,有针对性地优化检测方法,减少烘箱干燥至恒重所需时间,节约珍贵稀缺的化学药品标准物质,降低检测成本,准确应用 DSC 法分析样品的纯度。

参考文献

- [1] 中华人民共和国药典 2020 年版. 四部[S]. 2020: 1088
ChP 2020. Vol IV [S]. 2020: 1088
- [2] GAO JM, DING LX, HU CQ. A comparative uncertainty study of the purity assessment of chemical reference substances using differential scanning calorimetry (DSC) and mass balance method [J]. *Thermochimica Acta*, 2011, 525 (1-2): 1
- [3] 吴锐, 林兰, 严菁, 等. 差示扫描量热熔点分析法的应用性分析 [J]. *化学试剂*, 2020, 42 (3): 285
WU R, LIN L, YAN J, *et al.* Applicability studies of differential scanning thermal melting point analysis [J]. *Chem Reag*, 2020, 42 (3): 285
- [4] BRUNI G, MONTEFORTE F, MAGGI L, *et al.* Probenecid and benzamide: DSC applied to the study of an “impossible” pharmaceutical system [J]. *J Therm Anal Calorim*, 2021, 145 (2): 391
- [5] 张雅军, 吴先富, 肖新月. 差示扫描量热法测定磺胺类化学对照品的纯度 [J]. *中国现代应用药学*, 2022, 39 (1): 93
ZHANG YJ, WU XF, XIAO XY. Determination of the purity of sulfonamide chemical reference materials by differential scanning calorimetry [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2022, 39 (1): 93
- [6] 刘毅, 覃玲, 郭贤辉, 等. 热重和差示扫描量热分析技术在药物分析中的应用进展 [J]. *中国药物警戒*, 2024, 21 (3): 283
LIU Y, QIN L, GUO XH, *et al.* Applications of TGA and DSC in pharmaceutical analysis [J]. *Chin J Pharmacovigil*, 2024, 21 (3): 283
- [7] 吴锐, 刘朝霞, 黄海伟, 等. 化学药品标准物质 DSC 纯度的应用性规律探讨 [J]. *药物分析杂志*, 2020, 40 (8): 1494
WU R, LIU ZX, HUANG HW, *et al.* Discussion on the applicable regularity of DSC purity for chemical reference substances [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2020, 40 (8): 1494
- [8] 刘毅, 刘朝霞, 吴锐, 等. 热分析技术研究物质纯度的探讨 [J]. *中国药事*, 2020, 34 (3): 330
LIU Y, LIU ZX, WU R, *et al.* Purity investigation by thermal analysis [J]. *Chin Pharm Aff*, 2020, 34 (3): 330
- [9] ASTM E928-08. Standard Test Method for Purity by Differential Scanning Calorimetry [S]. 2008

(本文于 2024 年 11 月 5 日收到)