

NMR

Fourier 80全自动测定泊洛沙姆中的氧乙烯含量

文：Michal Stricker、Barbara Czarniecki和Clemens Anklin

秉持诚信 不断创新

泊洛沙姆是由疏水的氧丙烯两端连接亲水的氧乙烯组成的合成嵌段共聚物。两亲性和表面活性剂特性，使其在药物递送和化妆品等领域实现了广泛且高价值的应用。测定氧乙烯含量具有重要意义。泊洛沙姆的自组装和成热凝胶等能力与它的组成密切相关。USP-NF《美国药典/国家处方集》建议用核磁共振波谱法测定泊洛沙姆中的氧乙烯质量百分比。[1]布鲁克的FT-NMR台式波谱仪Fourier 80能全自动地执行USP-NF这一官方定量方法。

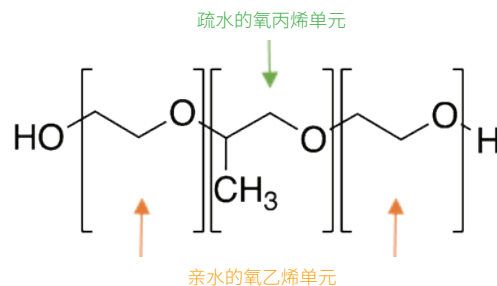


图1: 泊洛沙姆重复单元的一般结构

商品名为Kolliphor®、Pluronic®和Synperonic®的各种市售泊洛沙姆，拥有不同的重复单元含量。它们通过典型的泊洛沙姆编号“xyz”来识别，其中，数字xy乘以100对应氧丙烯的近似分子量，数字z乘以10对应氧乙烯含量(%)。¹ 泊洛沙姆的¹H 1D NMR谱图显示出两个主要谱峰区域；一组谱峰位于约3.7 ppm处，对应-CH₂和-CH基团；一个双峰位于约1.1 ppm处，对应氧丙烯单元的甲基。

¹注：泊洛沙姆编号仅与Kolliphor®而非Pluronic®和Synperonic®的商品名中所显示的数字一致。

研究一系列不同浓度和不同溶剂中的泊洛沙姆样品 (Kolliphor®、Pluronic®和Synperonic®)。取60 mg泊洛沙姆溶于600 μL CDCl₃, TMS作为内标。浓度、溶剂和内标的选择基于USP-NF。[1] USP-NF推荐用D₂O作为溶剂, 用DSS作为内标。但由于泊洛沙姆在D₂O中溶解度有限, 测得的水基质样品中氧乙烯含量不准确。

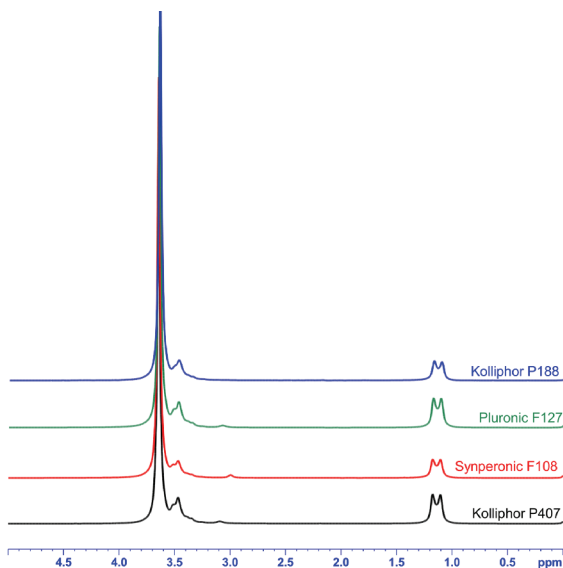


图2: 4种市售泊洛沙姆的¹H 1D NMR谱图, 显示出两个特征谱峰区域。该谱图未显示完整的化学位移范围。

可利用下列公式, 由这两个谱峰区域的积分比计算泊洛沙姆中的氧乙烯含量:

$$wt\% \text{ oxyethylene} = \frac{3300\alpha}{33\alpha + 58}$$

其中, $\alpha = \frac{I_2}{I_1} - 1$, I_1 代表1.1 ppm处的双峰面积, I_2 代表约3.7 ppm处的谱峰面积。

将常规质量百分比计算公式 $wt\% \text{ oxyet} = \frac{m_{oxyet}}{m_{oxyet} + m_{oxyprop}}$

与通过谱峰的积分和其对应质子的含量给出的信息相结合, 得出这一关系式:

$$n_{oxyet} = \frac{I_{oxyet}}{N_{oxyet}} = \frac{m_{oxyet}}{MW_{oxyet}}, n_{oxyprop} = \frac{I_{oxyprop}}{N_{oxyprop}} = \frac{m_{oxyprop}}{MW_{oxyprop}}, \text{ where } \frac{I_{oxyet}}{N_{oxyet}} = \frac{I_2 - I_1}{4} \text{ and } \frac{I_{oxyprop}}{N_{oxyprop}} = \frac{I_1}{3} \text{ and } MW_{oxyprop} = 58 \frac{g}{mol} \text{ and } MW_{oxyet} = 44 \frac{g}{mol}.$$

下表中列出了4种泊洛沙姆中的测定氧乙烯含量, 以及生产厂家公布的含量和它们的POE号。³

泊洛沙姆	POE号	测定的POE含量	公布的POE含量
Kolliphor® P188	P188	80.4%	80.3%
Kolliphor® P407	P407	72.7%	72.5%
Synperonic® F108	P308	80.2%	约80%
Pluronic® F127	P367	72.6%	约70%

表1: 泊洛沙姆的定量结果。

对于积分, 在为分析而设计的AU程序中执行了最新的TopSpin命令“sigreg”, 实现了基于人工智能可靠的1D ¹H谱图的自动信号区域检测。[3]

³所有被测泊洛沙姆均由Merck提供。Kolliphor® P188和Kolliphor® P407提供有分析报告, 但Synperonic®和Pluronic®的POE含量只能通过命名进行大致推断 (P308中的“8”代表80%, P367中的“7”代表70%)。

误差估计

对Kolliphor® P188样品进行一系列测试,来计算该方法的误差。利用8个相同但单独制备的样品(60 mg Kolliphor® P188溶于CDCl₃中)重复进行定量实验。

测定POE含量的平均值	标准差
80.4%	0.2%

表2:方法的误差估计。

0.2%的标准差意味着该方法具有较好的可靠性和再现性。

利用Fourier 80波谱仪分析CDCl₃中的低浓度Kolliphor® P188样品,以了解它的能力和检测限。结果显示,即使在1 mM以下(1 mg Kolliphor® P188溶于600 μL CDCl₃中,得到的浓度为约0.2 mM)的低浓度下,也能获得合理的定量结果,如下表中所示。

Kolliphor® P188	测定POE含量	信噪比
4 mg	80.3%	47.89
2 mg	80.1%	27.55
1 mg	79.8%	11.83

表3:泊洛沙姆的自动定量结果。谱图处理时无谱线加宽。

浓度越低,信噪比越低。相对标准差与信噪比成反比。[2]因此,浓度越低,测定的POE含量越不准确,这与表3中给出的测量结果一致。这种偏差增大是由积分时存在的误差所致。在测量中进行了16次扫描。应当指出的是,即使在低浓度下,只要时间允许,也可通过增加扫描次数来达到更高信噪比。

自动化

所有测量都能全自动地进行,利用处理脚本得到样品的测定氧乙烯含量,无需用户执行任何进一步操作。可以借助GoScan或IconNMR来实现这种全自动定量。

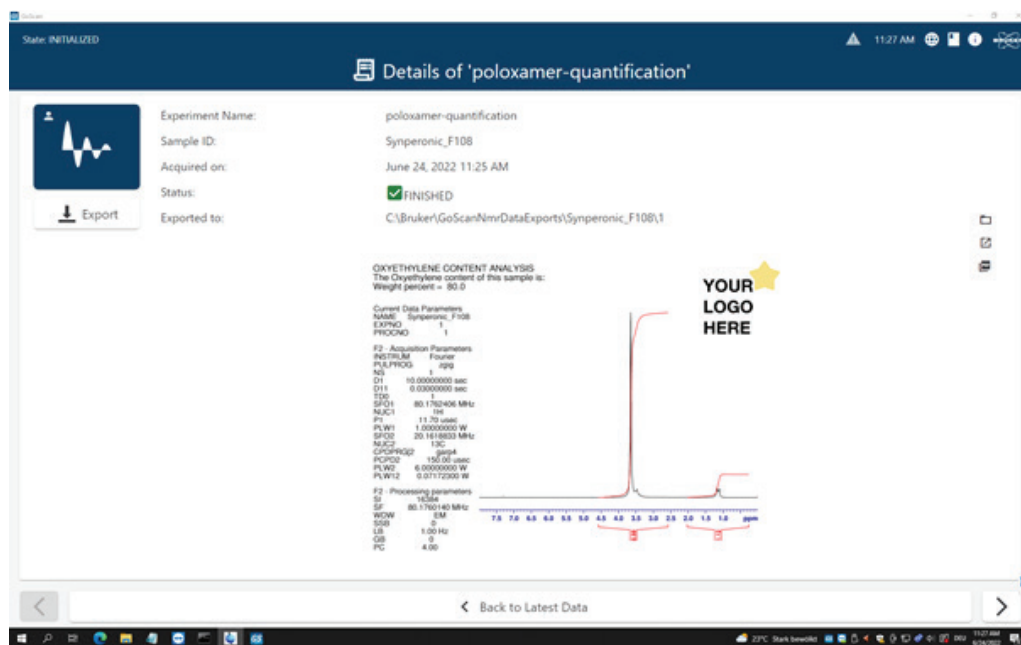


图3:借助自动化软件GoScan进行定量实验的结果。

结论

Fourier 80可自动且准确地测定泊洛沙姆中的氧乙烯含量。正如前文所展示的，它是一键操作的分析解决方案。选择一台无需专家操作的台式波谱仪，轻松实现NMR波谱法的相关应用！

参考文献：

1. United States Pharmacopeia (2022). NF Monographs, Poloxamer. USP-NF. Rockville, MD: United States Pharmacopeia. DOI: https://doi.org/10.31003/USPNF_M66210_05_01
2. https://enfsi.eu/wp-content/uploads/2017/06/qNMR-Guideline_version001.pdf
3. https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/mr/nmr-software/topspin/_jcr_content/root/sections/more_information/sectionpar/linklist/contentpar-1/calltoaction.download-asset.pdf/links/item0/T181072_Automatic%20Signal%20Region%20Detection.pdf



布鲁克磁共振微信公众号

● 布鲁克 (北京) 科技有限公司

网址: www.bruker.com
E-mail: sales.bbco.cn@bruker.com
布鲁克应用技术咨询:
400-898-5858
布鲁克售后技术支持:
400-898-1088

布鲁克 (北京) 科技有限公司
北京市海淀区西小口路66号
中关村东升科技园B-6号楼C座8层
邮编: 100192
电话: (010) 58333000
传真: (010) 58333299

上海办公室
上海市闵行区合川路
2570号1号楼9楼
邮编: 200233
电话: (021) 51720800
传真: (021) 51720810

广州办公室
广州市海珠区新港东路
618号南丰汇6楼A12单元
电话: (020) 22365885/
(020) 22365886