

葛根素-吡乙酰胺共晶的制备与表征

金 炆¹, 陆 祥², 蒋成君¹

(1. 浙江科技学院 生物与化学工程学院, 杭州 310023; 2. 桐庐县中医院, 杭州 310028)

摘 要: 药物共晶是改善难溶性药物葛根素溶解度的一种有效方法。以葛根素为药物活性成分(API), 对共晶形成物(CCF)进行筛选。研究表明, 当葛根素与吡乙酰胺的摩尔比为 1 : 2 时, 通过溶液结晶的方法可以制备得到共晶。共晶的熔点为 163.78 °C, 处于葛根素与吡乙酰胺的熔点之间。共晶在溶解性上也有明显的改观, 在纯水中的溶解度是葛根素溶解度的 20 倍。

关键词: 葛根素; 共晶; 溶解度; 吡乙酰胺

中图分类号: R913

文献标志码: A

文章编号: 1671-8798(2019)01-0030-06

Preparation and characterization of puerarin-piracetamide cocrystal

JIN Yang¹, LU Xiang², JIANG Chengjun¹

(1. School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310023, Zhejiang, China; 2. Tonglu Traditional Chinese Hospital, Hangzhou 310028, Zhejiang, China)

Abstract: Drug cocrystal is an effective method to improve solubility of puerarin, which is an insoluble drug. The cocrystal former(CCF) was screened with puerarin as an active pharmaceutically ingredient (API). The results show that cocrystal can be prepared by means of solution crystallization, when the molar ratio of puerarin to piracetamide being 1 : 2. The cocrystal has a melting point of 163.78 °C, which lies between puerarin and piracetamide. Solubility of the cocrystal is improved dramatically, resulting in its solubility in pure water 20 times that of puerarin.

Keywords: puerarin; cocrystal; solubility; piracetamide

葛根素是从葛根中提取的一种异黄酮类化合物,能够扩张冠状动脉、增强心肌收缩力、保护心肌细胞、促进血液循环、降低血压、预防心律失常、抗血小板聚集及提高机体免疫力,对冠心病的治疗起到很好的作用^[1-3]。然而,葛根素水溶性差,导致口服给药后生物利用度低,影响其药效,这成为制约葛根素制剂

收稿日期: 2018-06-05

基金项目: 杭州市科技计划项目(20163501Y132)

通信作者: 蒋成君(1981—),男,浙江省杭州人,高级工程师,博士,主要从事制药工程研究。E-mail: jcyj312@zust.edu.cn。

应用的瓶颈之一^[4]。为解决葛根素水溶性差的问题,药学工作者尝试了很多方法,张焦等^[5]采用纳米晶作为固体微粒稳定剂制备 Pickering 乳液,将水难溶性药物葛根素溶解于油相中;冯玉兰等^[6]制备了葛根素 PEG-PE 纳米胶束。但是目前这些方法仍然存在一些问题,如 Pickering 乳液引入了甘油酯、油等油相组成,PEG-PE 纳米胶束难以稳定等。因此,解决葛根素的溶解度低问题是当前药学工作者面临的难题。药物共晶无需改变活性药物分子的结构,通过共晶形成物修饰药物理化性质,这提供了一个改善难溶性有效成分溶解性的新方案^[7]。张建军等^[8]以咖啡因共晶形成物,制备成难溶性药物槲皮素的共晶,共晶在 50%乙醇水溶液中的溶解度为 3.627 mg/mL,共晶溶解度相对于槲皮素提高了 13.6 倍。Sowa 等^[9]通过溶剂辅助碾磨法制备了漆黄素异烟酰胺、咖啡因和烟酰胺的共晶,在 50:50(V/V)乙醇-水溶液中研究其溶解度,漆黄素的溶解度为 2.89 mg/mL,漆黄素异烟酰胺、漆黄素咖啡因、漆黄素烟酰胺的溶解度分别为 4.43、5.29 和 7.43 mg/mL。共晶技术是提高黄酮类化合物溶解度的重要方法^[10-11],但目前鲜见对葛根素共晶的报道。黄酮类化合物易与酰胺类化合物形成共晶,因此,笔者对异烟酰胺、茶碱、吡乙酰胺这 3 种酰胺类化合物进行筛选,制备葛根素共晶,并对其溶解性进行研究。

1 试验部分

1.1 试剂与仪器

葛根素,纯度 98%;吡乙酰胺,纯度 99%;异烟酰胺,纯度 98%,购于萨恩化学技术有限公司;碱纯度 98%,购于梯希爱化成工业有限公司。差示扫描量热分析仪 STA449F3,德国耐驰仪器公司;傅里叶红外光谱仪 VERTEX 70,布鲁克科技有限公司;X 射线衍射仪 Ultima IV 系列,日本津岛公司;扫描电子显微镜 SU1510,日本日立高新技术公司;紫外可见分光光度计 UV-5500,上海元析仪器有限公司。

1.2 葛根素共晶的制备

准确称取葛根素与异烟酰胺、茶碱、吡乙酰胺分别按摩尔比 1:1,1:2,1:3 投料,置于烧杯中,在超声下用甲醇:水=1:1(V/V)的溶液将其溶解,室温条件下缓慢挥发溶剂,得到固体,过滤,减压干燥得到不同摩尔比组成的固体,待用。

1.3 X 射线衍射分析

通过粉末 X 射线衍射来初步判断样品是否有可能是共晶。若有新的衍射峰生成则有可能是共晶。X 射线衍射,射线源为 Cu/K α ($\lambda=0.154$ nm),扫描范围为 $5^{\circ}\sim 40^{\circ}(2\theta)$,扫描步长为 0.05° ,扫描速度为 $6^{\circ}/\text{min}$,电源设置为 40 kV,40 mA。

1.4 差示扫描量热分析

以空白坩埚为参比,待测样品 10 mg 左右,在氮气保护的条件下进行测试,测试温度范围为 $50\sim 250^{\circ}\text{C}$,升温速率为 $5\text{ K}/\text{min}$ 。

1.5 傅里叶红外光谱分析

样品通过溴化钾压片的方式进行测定,扫描范围为 $4\,000\sim 400\text{ cm}^{-1}$,分辨率为 4 cm^{-1} 。

1.6 电子扫描显微镜分析

直接将样品粘在导电胶带上进行喷金,在 5.0 kV 电压下获得不同放大倍数的扫描电子显微镜照片。

1.7 葛根素共晶的溶解度测试

1.7.1 确定入射光波长的最大值 λ_{max}

称取 0.037 9 g 葛根素,在 25 mL 容量瓶中定容,得到质量浓度为 1.516 mg/mL 的葛根素标准溶液,以去离子水为基液,用紫外可见分光光度计的波长扫描功能对葛根素标准溶液进行波长扫描,得到最大吸收波长为 331 nm。同理得到吡乙酰胺的最大吸收波长为 192 nm,共晶的最大吸收波长为 267 nm。

1.7.2 绘制标准曲线

称取 0.1 g 葛根素,在 100 mL 容量瓶中定容,得到质量浓度为 1 mg/mL 的溶液,再用规格为 5 mL

的移液枪精密吸取 5 mL 于 50 mL 容量瓶中定容,此时标准溶液质量浓度为 $100 \mu\text{g/mL}$ 。取 7 支试管,精密配制一系列不同质量浓度的葛根素、制吡乙酰胺、共晶溶液,每种质量浓度再重复做 3 组,求平均值。以去离子水为空白,使用紫外可见分光光度计在波长 331 nm 处测定溶液的吸光度,以吸光度为纵坐标,以溶液的质量浓度为横坐标绘制标准曲线。

1.7.3 配制饱和溶液

分别称取若干葛根素、吡乙酰胺及共晶于烧杯中,加入适量去离子水,超声 15 min 后静置,直到有少量看得见的固体,否则就继续加入葛根素以达到饱和状态。过滤溶液,取滤液清液稀释若干倍,在选定的入射波长下测定吸光度,代入标准曲线中得到溶液质量浓度,从而得到溶质的溶解度。

2 结果与讨论

2.1 葛根素共晶的筛选

葛根素的结构中有 6 个羟基,存在与共晶形成物通过多种化学计量比形成共晶的可能。然而,如果共晶形成物与葛根素的摩尔比过大,容易导致共晶形成物单一物质的析出,不能形成共晶。筛选异烟酰胺、茶碱、吡乙酰胺,分别按摩尔比 1:1、1:2、1:3 通过溶剂挥发结晶的方法得到不同比例组成固体,X 射线衍射(X-ray diffraction, XRD)分析如图 1 所示。

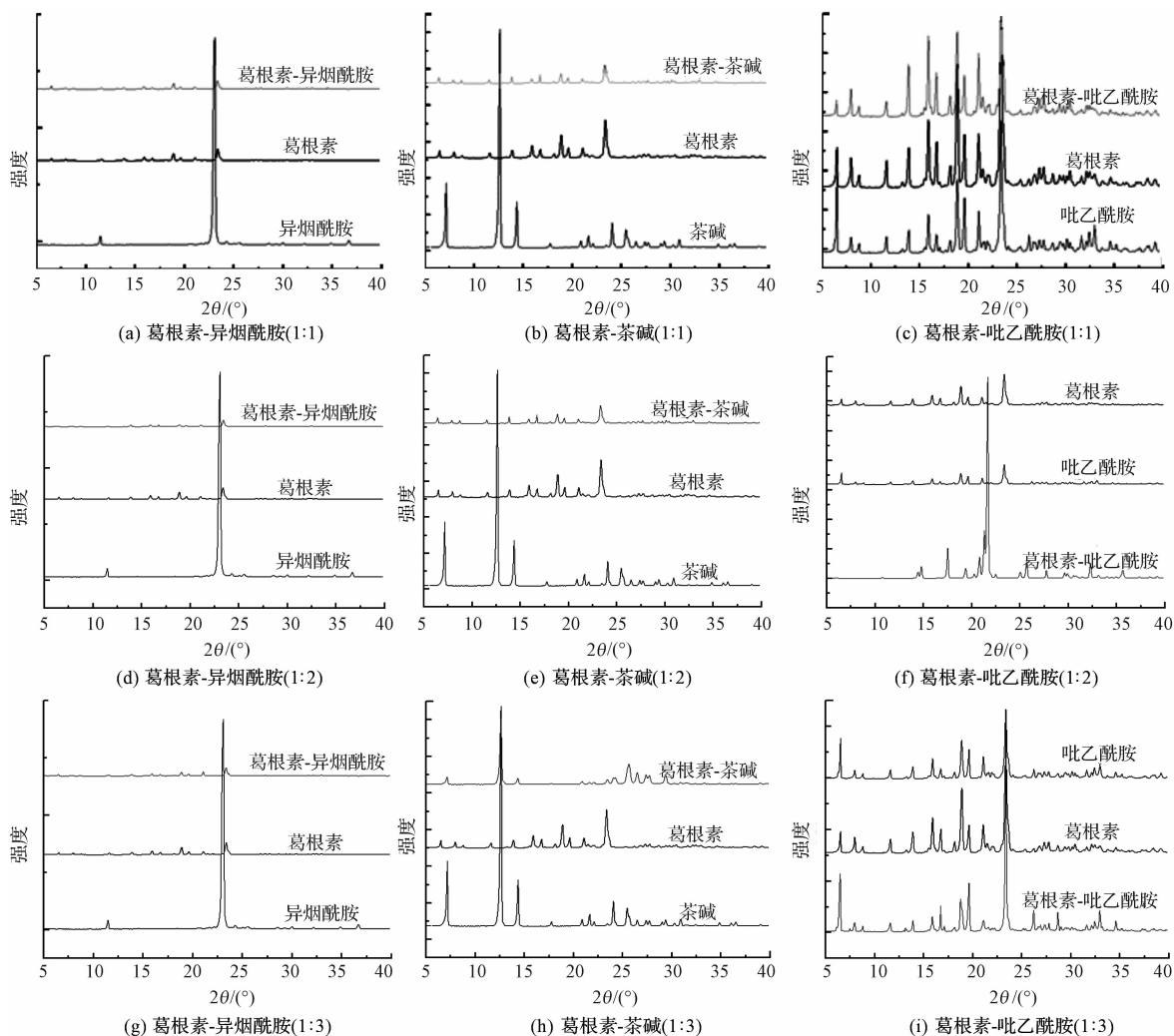


图 1 不同比例组成固体的 XRD 图谱

Fig. 1 XRD pattern of samples with different proportions

由图 1 可知,只有当葛根素-吡乙酰胺以 1:2 组成时,XRD 图显示在 15.9、19.6、21.05、23.35、26.2

有新的特征峰出现,而原先葛根素中 6.5、7.95、11.6、13.85 的特征峰以及吡乙酰胺在 6.4、14.45、17.5 的特征峰均消失了,这符合共晶形成的标志。然而葛根素与吡乙酰胺都有氢键合成元结构,如图 2 所示,但两者以何种方式形成共晶有待进一步研究。

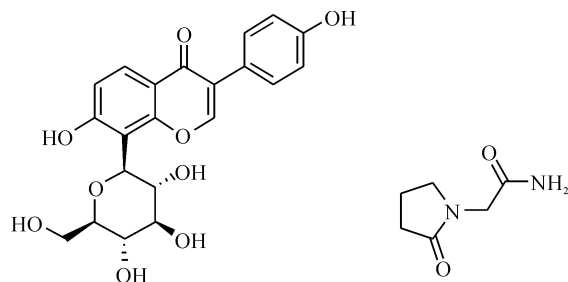


图 2 葛根素与吡乙酰胺的化学结构式

Fig. 2 Chemical structure formula of puerarin and piracetamide

2.2 差示扫描量热分析

葛根素-吡乙酰胺共晶的粉末差示扫描量热(differential scanning calorimetry, DSC)分析结果如图 3 所示。

如图 3 所示,产物在 163.78 °C 有一个吸热峰,不同于葛根素 179.34 °C 以及吡乙酰胺 158.15 °C 的熔点而是产生了一个新的熔点,这也进一步证明了有新的物质生成,这个新的吸热峰即共晶的熔点。

2.3 傅里叶红外光谱分析

图 4 所示为葛根素-吡乙酰胺共晶的傅里叶红外光谱(Fourier transform infrared, FTIR)分析谱图。

由图 4 可知,葛根素位于 $3\,429\text{ cm}^{-1}$ 时的羟基—OH 伸缩振动和位于 $1\,635\text{ cm}^{-1}$ 的,羰基振动峰,以及吡乙酰胺位于 $3\,450\text{ cm}^{-1}$ 的氨基—NH 伸缩振动和位于 $1\,690\text{ cm}^{-1}$ 的酰胺中羰基的振动峰,在葛根素-吡乙酰胺共晶中发生了偏移,分别到了 $3\,398\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,630\text{ cm}^{-1}$ 的较低波数。这是因为葛根素的羟基作为氢键的给体,吡乙酰胺中的羰基作为氢键的受体形成了氢键;也可能是葛根素的羰基为氢键的受体,吡乙酰胺中的氨基作为氢键的给体也形成了氢键。红外谱图显示形成共晶后,基团的特征吸收并没有消失,这可能与葛根素、吡乙酰胺有多个可以成氢键的基团有关。

2.4 扫描电子显微镜分析

将葛根素、吡乙酰胺晶体及葛根素-吡乙酰胺共晶进行扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)分析,结果如图 5 所示。

从扫描电镜中可以发现共晶与两个原料药的形态有明显的不同。葛根素粉末在放大 2 000 倍的条件下,形态为柱状;吡乙酰胺晶体在放大 1 100 倍的条件下,形态为棱柱状;葛根素-吡乙酰胺共晶在放大 100 倍的条件下,形态特性为片状。这进一步验证了共晶的形成。

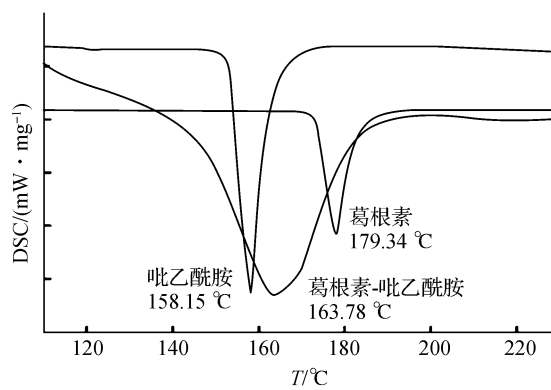


图 3 葛根素-吡乙酰胺共晶的 DSC 图

Fig. 3 DSC spectra of puerarin-piracetamide cocrystal

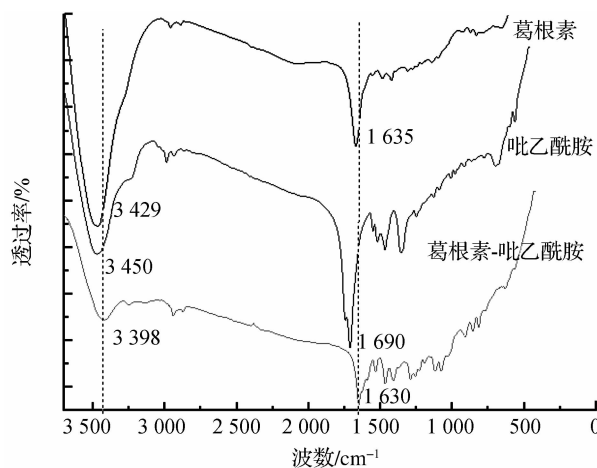


图 4 葛根素-吡乙酰胺共晶的 FTIR 图

Fig. 4 FTIR spectra of puerarin-piracetamide cocrystal

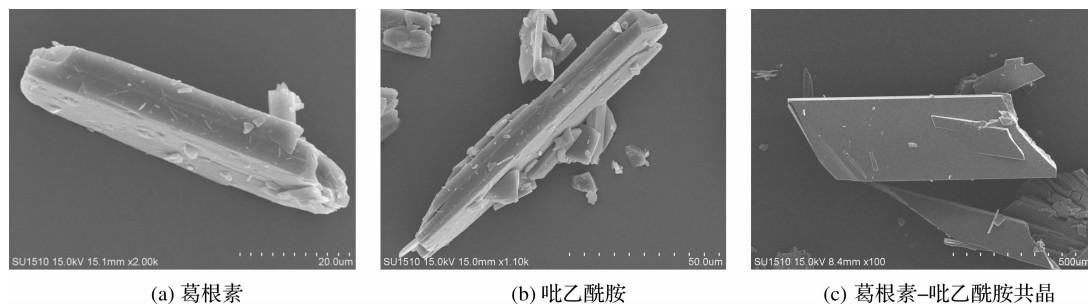


图 5 葛根素、吡乙酰胺及其共晶的扫描电镜图

Fig. 5 SEM of puerarin, piracetamide and their cocrystal

2.5 溶解度测试结果

葛根素、吡乙酰胺以及共晶的标准曲线如图 6 所示。

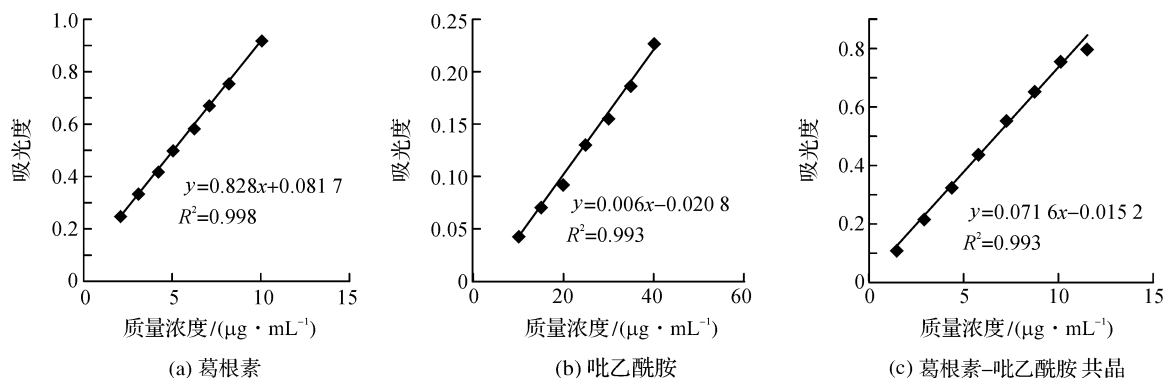


图 6 葛根素、吡乙酰胺及其共晶的标准曲线

Fig. 6 Standard curves of puerarin, piracetamide and their cocrystal

由图 6 可知,葛根素、吡乙酰胺及共晶的吸光度与质量浓度之间呈线性关系, R^2 分别为 0.998、0.993 和 0.993,适合用于溶解度分析。将制备得到的葛根素、吡乙酰胺及共晶的饱和溶液分别置于紫外可见分光光度计中测吸光度,测得的吸光度值分别为 0.169 5、0.522 2、0.459 1,根据稀释倍数得到葛根素的溶解度为 0.003 g/mL,吡乙酰胺的溶解度为 0.532 g/mL,共晶的溶解度为 0.062 g/mL,共晶的溶解度介于二者之间,是葛根素溶解度的 20 倍。

3 结 语

筛选异烟酰胺、茶碱、吡乙酰胺为共晶形成物,分别按摩尔比 1:1、1:2、1:3 通过溶剂挥发结晶的方法得到不同比例组成的固体。将制备的样品进行 XRD 分析表征,当葛根素与吡乙酰胺以摩尔比 1:2 组成得到的晶体在图谱上分别是 15.9、19.6、21.05、23.35、26.2 的特征峰,而葛根素中 6.5、7.95、11.6、13.85 的特征峰以及吡乙酰胺 6.4、14.45、17.5 的特征峰均消失了。采用 DSC 分析,结果表明,有新的熔点产生,共晶在 163.78 °C 左右有一个吸热峰,不同于葛根素的 179.34 °C 以及吡乙酰胺 158.15 °C 的熔点,这也进一步证明了有新的物质生成。用傅里叶红外光谱分析葛根素-吡乙酰胺样品,出现了特征峰的偏移;用扫描电子显微镜分析葛根素、吡乙酰胺与葛根素-吡乙酰胺共晶形态,观察到表面形态有着较大的区别,进一步确定了葛根素和吡乙酰胺产生了共晶,共晶体的溶解度是葛根素溶解度的 20 倍。

参考文献:

- [1] 张环宇,李大伟,史彩虹. 葛根素的临床应用研究进展[J]. 现代药物与临床,2012,27(1):75.
- [2] 刘景文. 葛根素在冠心病治疗中应用及研究进展[J]. 中国处方药,2017,15(3):16.
- [3] ZHOU Y X, ZHANG H, PENG C. Puerarin: a review of pharmacological effects[J]. Phytotherapy Research,2014, 28(7):961.

- [4] 侯成波,汪国鹏,张强,等. 中药生物药剂学分类系统中多成分环境对葛根素溶解度的影响[J]. 中国中药杂志,2014,39(23):4499.
- [5] 张焦,王帆,王计瑞,等. 葛根素纳米晶自稳定 Pickering 乳液的制备可行性研究[J]. 中草药,2017,48(1):75.
- [6] 冯玉兰,柴薇薇,李健和,等. 葛根素 PEG-PE 纳米胶束的制备及在急性心肌缺血模型小鼠体内的组织分布[J]. 中国药理学杂志,2017,52(21):1918.
- [7] 周新波,吴素香,孙梦莹,等. 中药难溶性有效成分共晶的研究进展[J]. 中草药,2016,47(2):336.
- [8] 张建军,刘娟,郑雪琴,等. 槲皮素咖啡因共晶:CN103980276A[P]. 2014-08-13.
- [9] SOWA M, SLEPOKURA K, MATCZAK J E. Improving solubility of fisetin by cocrystallization[J]. CrystEngComm, 2014,16(46):10592.
- [10] SINHA A S, MAGUIRE A R, LAWRENCE S E. Cocrystallization of nutraceuticals[J]. Crystal Growth & Design, 2015,15(2):984.
- [11] KUMINEK G, CAO F J, ROCHAABO D A, et al. Cocrystals to facilitate delivery of poorly soluble compounds beyond-rule-of-5[J]. Advanced Drug Delivery Reviews,2016,101(1):143.

~~~~~  
(上接第 29 页)

- [14] 彭道刚,张浩,李辉,等. 基于 Modbus 协议的 ARM 嵌入式监测平台设计与实现[J]. 电力自动化设备,2009,29(1):115.
- [15] 郭占苗. 基于 STC15F2K60S2 单片机波形发生器设计[J]. 国外电子测量技术,2017,36(7):98.
- [16] JIANG M C, CHEN J C, LIU Y W. WLAN-centric authentication in integrated GPRS-WLAN networks[C]// Vehicular Technology Conference. Orlando: IEEE,2003:2242.
- [17] 孔令彬,黄敏. 基于 Modbus 协议的多机通信系统的设计与实现[J]. 电子技术,2009(10):15.
- [18] 金鹰. 基于 MODBUS 的主从通信系统的设计[J]. 南通大学学报(自然科学版),2007,6(3):76.