



晶体微结构对恩格列净溶出性能的影响

代 帅¹, 朱建政², 梁陈静¹, 沈意周¹, 陈正国¹, 石玲玲¹, 张国庆¹

(1. 浙江理工大学材料科学与工程学院, 杭州 310018; 2. 烟台市环境卫生管理中心, 山东烟台 264000)

摘 要: 为研究晶体微结构对恩格列净溶出性能的影响, 采用蒸发溶剂的方法制备了具有不同微结构的恩格列净晶体产品, 分别利用 X 射线粉末衍射仪(PXRD)、扫描电子显微镜(SEM)、高效液相色谱(HPLC)和紫外分光光度计(UV)对制备的不同微结构恩格列净进行表征分析, 并通过溶出试验对比晶体微结构导致的溶出性能差异。结果表明: 在乙醇和乙酸乙酯中分别蒸发结晶得到了具有棒状结构和块状结构的恩格列净, 从 XRD 衍射图谱可以观察到同样特征峰位置的峰强存在差异, 说明不同溶剂析出的恩格列净晶体, 其微结构差异显著; 通过恩格列净亲脂性分析发现, 棒状结构的恩格列净表面极性更大, 更具亲水性; 液相色谱结果显示棒状结构的恩格列净表观溶解度更高, 为 0.0344 mg/mL; 溶出度测试结果显示, 溶出时间 180 min 后, 棒状结构和块状结构的恩格列净溶出度分别达到 94.6% 和 92.0%, 棒状结构显示出较高的溶出度。该研究表明不同微结构的恩格列净对该药物制剂的溶出性能有影响, 因此通过调控药物微结构可提高难溶药物制剂的溶出度。

关键词: 恩格列净; 微结构; 重结晶; 表观溶解度; 溶出度

中图分类号: R917

文献标志码: A

文章编号: 1673-3851 (2022) 05-0357-06

The influence of crystal microstructure on the dissolution performance of Empagliflozin

DAI Shuai¹, ZHU Jianzheng², LIANG Chenjing¹, SHEN Yizhou¹,
CHEN Zhengguo¹, SHI Lingling¹, ZHANG Guoqing¹

(1. School of Materials Science & Engineering, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China; 2. Yantai Environmental Sanitation Management Center, Yantai 264000, China)

Abstract: In order to investigate the effect of crystal microstructure on the dissolution performance of Empagliflozin, Empagliflozin crystal products with microstructures were prepared by means of solvent evaporation. The characterization analysis was performed on Empagliflozin with different microstructures using X-ray powder diffraction (PXRD), scanning electron microscopy (SEM), high performance liquid chromatography (HPLC), and ultraviolet spectroscopy (UV), respectively. The results showed that rod-structured Empagliflozin and block-structured Empagliflozin were obtained through evaporative crystallization from ethanol and ethyl acetate, respectively. At the same time, it was observed from the XRD diffraction pattern that there existed difference in the peak intensity at the same characteristic peak position, indicating that the Empagliflozin crystals precipitated from different solvents have significantly different microstructures. The analysis of the lipophilicity of Empagliflozin showed that rod-structured Empagliflozin had better polarity and hydrophilicity than block-structured Empagliflozin. The liquid chromatogram results showed that the apparent solubility of rod-structured Empagliflozin was 0.0344 mg/

收稿日期: 2021-09-26 网络出版日期: 2021-12-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(22075252)

作者简介: 代 帅(1998—), 男, 湖北襄阳人, 硕士研究生, 主要从事药物晶型方面研究。

通信作者: 张国庆, E-mail: zgq@zstu.edu.cn

mL, higher than block-structured Empagliflozin. The dissolution experiment results showed that after 180 min dissolution, the net dissolution rates of rod-structured Empagliflozin and block-structured Empagliflozin reached 94.6% and 92.0%, respectively. The rod-structured Empagliflozin exhibited a higher dissolution rate. The study has shown that Empagliflozin with different microstructures can affect the dissolution properties of the pharmaceutical preparation and the regulation of pharmaceutical microstructure can enhance the dissolution rate of some insoluble drugs.

Key words: Empagliflozin; microstructure; recrystallization; apparent solubility; dissolution rate

0 引言

恩格列净又名艾格列净、依帕列净,化学名称为(1S)-1,5-脱水-1-C-[4-氯-3-[[4-[(3S)-四氢-3-咪喃基]氧基]苯基]甲基]苯基]-D-葡萄糖醇,相对分子质量为450.91^[1]。恩格列净是一种钠-葡萄糖协同转运蛋白2(SGLT2)抑制药物,可不通过胰岛素的作用达到良好的降糖效果^[2]。同时,该药不论是单独使用,还是联合其他降糖药物使用,都可以控制并降低患者体内血糖水平^[3]。目前,恩格列净公开的主要晶型有A晶型、B晶型^[4]、单晶^[5]、I晶型和II晶型^[6]、水合物^[7]及无定型等^[8]。其中A晶型因稳定性好、颗粒较小,作为药用晶型广泛用于制剂^[9]。

药物的溶出性能受一些常见晶体特征的影响,例如多晶型、粒径和微结构^[10]。许多研究已经证明了多晶型和粒径对溶出度的影响^[11],近年来的研究发现药物微结构差异也会影响其理化性能。晶体生长过程中由于受外界环境的影响,晶面生长速率不同,从而影响晶体形貌以及暴露在外的表面性质,如极性、氢键结合能力等,会影响药物的理化性质和性能^[12-13]。针状晶体甲苯磺酸索拉菲尼的表面极性要比块状晶体的极性高,表现出更高的水溶性^[14]。并且微结构也会影响药物的堆积密度、振实密度和压缩性,从而影响后续的制剂研发和下游工业过程,如过滤、洗涤、干燥和包装等^[15-16]。影响药物微结构的因素有溶剂、温度、pH值、过饱和度和添加剂等,目前研究主要集中在溶剂对微结构形成的影响^[17],少有微结构对溶出性能影响的研究。特别是对一些难溶药物,通过改变微结构来提高药物溶解度,不仅简便可行,同时可以降低生产以及研发成本。在对恩格列净晶型的研究^[18]中发现,作为药用晶型的A晶型易受到溶剂的影响,从而结晶出不同形貌的样品,同时恩格列净A晶型难溶于水,有可能通过改变微结构提高水溶性来改善其生物利用度。

本文通过不同的溶剂重结晶技术制备了不同微结构的恩格列净,研究了不同溶剂下生成的恩格列

净晶体的微观形貌、择优取向和溶出性能,利用结构模拟探索了微结构的存在对恩格列净溶出性能的影响,为该药制剂的生产提供一定的理论参考。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

仪器:电子分析天平(AG135,上海梅特勒-托利多仪器有限公司);超纯水仪(Milli-Q,德国默克密理博公司);恒温磁力搅拌器(DF-101S,杭州旌斐仪器科技有限公司);压片机(TDP-0,上海天祺制药机械有限公司);电热鼓风恒温干燥箱(JET-6000,上海力辰邦西仪器科技有限公司);扫描电子显微镜(GeminiSEM500,德国蔡司公司);X射线多晶粉末衍射仪(D8 Advance,德国布鲁克公司);差示扫描量热仪(Pyris diamond,美国铂金埃尔默公司);高效液相色谱仪(Agilent 1100,美国安捷伦公司)。

试剂:恩格列净粗品,由浙江宏元药业有限公司提供;无水乙醇(分析纯)、氯化钠,和浓盐酸(分析纯),购自浙江杭州双林化工试剂有限公司;乙酸乙酯和三氟乙酸(分析纯),购于上海麦克林生化科技有限公司;乳糖、微晶纤维素(工业级),购自德国美剂乐集团;低取代羟丙基纤维素、羟甲基纤维素、二氧化硅和硬脂酸镁(工业级),购自安徽山河药用辅料股份有限公司;超纯水,电导率1 $\mu\text{S}/\text{cm}$,实验室自制。

1.2 实验方法

恩格列净棒状结构的制备:称取0.2 g恩格列净粗品,以乙醇和水为溶剂,料液比为1:50,在60 $^{\circ}\text{C}$ 温度下溶解并保温120 min,最后将溶液放置在80 $^{\circ}\text{C}$ 下蒸发溶剂得到微结构恩格列净粉末(该样品命名为E1)。

块状结构的制备:称取0.2 g恩格列净粗品,以乙酸乙酯为溶剂,料液比为1:100,在65 $^{\circ}\text{C}$ 温度下溶解并保温120 min,最后将溶液放置在85 $^{\circ}\text{C}$ 下蒸发溶剂得微结构恩格列净粉末(该样品命名为E2)。

片剂制备:将上述制备出的E1和E2放入研钵

中研磨,过 100 目筛。1 g 恩格列净的辅料采用 18.75 g 乳糖、3.75 g 微晶纤维素、0.5 g 低取代羟丙基纤维素、0.75 g 羟甲基丙基纤维素、0.125 g 二氧化硅和 0.125 g 硬脂酸镁。将上述比例辅料与过筛后的 E1 和 E2 分别混匀,混合后的粉末置于压片机进料仓进行压片制得恩格列净片剂。

1.3 测试分析

1.3.1 形貌分析

恩格列净样品的表观形貌通过扫描电子显微镜进行观察并记录。具体制样方法为:将样品均匀分散,固定在导电胶上,利用离子溅射仪(JFC-1600)镀金(10 mA,120 s),完成后置于扫描电镜(GeminiSEM500)中进行观察。

1.3.2 微结构测试

恩格列净微结构的晶体学参数由粉末多晶 X 射线衍射仪(Bruker D8)测定。具体测试方法:取 0.1 g 的恩格列净粉末分别置于样品池中,制好样后在 PXRD 上进行测定。测试条件为: Cu-K α 靶,电压和电流设置为 40 kV 和 40 mA,扫描范围为 5°~40°。

1.3.3 热性能测试

使用差示扫描量热仪(Pyris diamond)对两种微结构的样品进行热分析测试。测试过程:称取 3.0~8.0 mg 的各粉末样品置于铝盘中,放入 DSC 中进行测试,在 20 mL/min 的氮气流下以 10 °C/min 的速率从 40 °C 加热至 200 °C,通过热分析谱中的吸热峰计算其熔点。

1.3.4 分子建模

使用 SYBYL-X 2.1 中的 MOLCAD 程序用于生成和可视化恩格列净的亲脂性电位。针对小分子模拟调整了计算,并生成恩格列净亲脂性电位。分别用方框和圆圈来表示较低和较高的亲脂性,并分析了择优取向晶面上的分子排列。

1.3.5 表观溶解度测试

利用高效液相色谱仪(Agilent 1100 HPLC)测

定恩格列净微结构样品在水中的表观溶解度。测试条件为:使用孔径为 10 nm 的十八烷基硅烷键合硅胶色谱柱,0.01% 三氟乙酸溶液-乙腈作为流动相^[19],线性梯度洗脱 0~10 min,检测波长 224 nm,流速 1.0 mL/min,柱温 25 °C。

1.3.6 溶出实验

恩格列净体外溶出度测定实验参考文献[18]。首先配置溶出介质,取氯化钠 2.00 g 和浓盐酸 7 mL 置于容量瓶中,用超纯水稀释至 1000 mL,摇匀即可得到 pH 值 1.2 的盐酸盐溶液,取 900 mL 作为溶出介质。取恩格列净片剂 6 片,分别放入上述溶出介质中,按照溶出度测定法(中国药典 2015 版二部附录 XC 第二法),转速设置为 50 r/min,并在 5、10、20、40、60 min 间隔内取 10 mL 溶液并立即补充 10 mL 空白介质以保持总体积不变,将溶液用 0.45 μ m 滤膜滤过。利用紫外分光光度计(TU-1950)分析溶出溶液的恩格列净浓度,在 224 nm 处测定吸光度,绘制溶出曲线,比较不同微结构恩格列净的溶出效果。

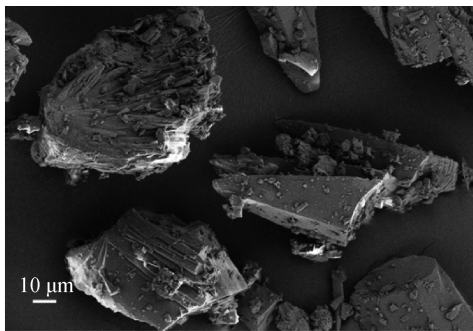
2 结果与分析

2.1 扫描电子显微镜分析

晶体生长会受到溶剂的性质如极性、氢键等的影响,从而诱导不同形态的晶体^[20]。在不同的重结晶条件下,由于溶剂的影响,晶体的晶面生长速率不同,会造成某些晶面消失或出现,从而导致在尺寸的变化同时也会改变晶体的形貌^[20]。恩格列净微结构的扫描电镜图如图 1 所示。从图 1 中可以看出,在不同溶剂下析晶出来的恩格列净的形貌是有显著差异。E1 主要是长棒状为主,纵横比为 1:6~1:10;E2 晶体呈块状,纵横比为 1:1~1:2。恩格列净形貌的差异结果表明不同溶剂会对恩格列净晶体的形貌和纵横比产生影响。



(a) E1



(b) E2

图1 样品 E1 和 E2 扫描电镜图

2.2 不同微结构恩格列净的 XRD 分析

图 2 为不同微结构恩格列净 XRD 图谱。与恩格列净 A 晶型单晶对比,E1 和 E2 的特征峰角度分别为:13.24°、14.58°、18.76°、19.06°、20.12°、23.41°和 25.36°,与恩格列净晶型 A 单晶的结果一致,表明恩格列净微结构的存在没有改变其晶型,均属于晶型 A。晶体生长引发的晶体尺寸和习性的差异一般体现在特征峰强度变化上^[14]。E1 和 E2 的相对峰强度与无取向单晶衍射峰不同。E1 样品最强衍射峰在 13.24°,对应于(002)晶面。该结果表明 E1 恩格列净晶体的主要生长方向是(002)方向。E2 最强衍射峰在 14.80°,对应于(101)晶面,与单晶及 E1 图谱相比其择优取向不明显,结合上述电镜形貌照片,E2 晶体生长基本以单晶为模板。

2.3 亲脂性分析

图 3 通过模拟分子表面的亲脂性(LP),显示了恩格列净两部分的亲水和疏水性能。图 3(a)为模

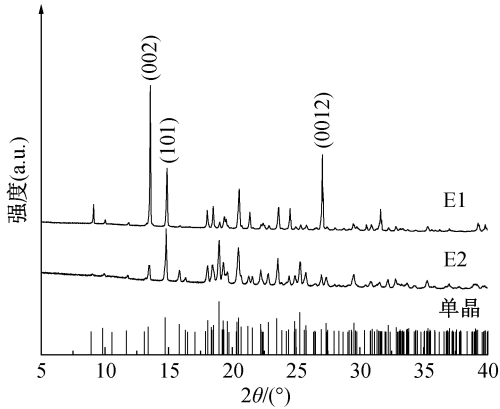
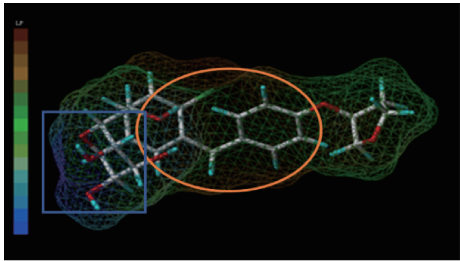
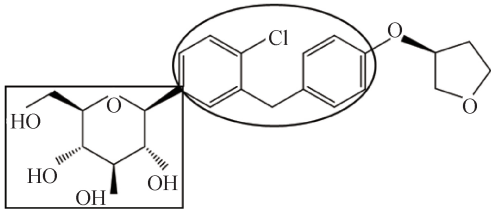


图 2 样品 E1 和 E2 以及恩格列净单晶 PXRD 图

拟恩格列净的分子表面的亲水性,亲水及疏水部分分别用方框和圆圈呈现,其相应的官能团在图 3(b)上显现出来,用方形和圆圈分别圈出。以上结果表明:恩格列净的羟基表现出明显的极性,而其双苯环则显现出明显的疏水性,不同表面暴露的不同极性的官能团可能会引起恩格列净热性能以及溶解性能的差异。



(a) 模拟计算恩格列净亲疏水图



(b) 与(a)图对应的官能团

图 3 恩格列净分子表面的亲脂性分析

恩格列净结构的分子主要晶面的表面堆积有助于观察这些晶面表面上暴露最多的化学基团^[14]。图 4 为恩格列净(002)和(101)晶面堆积图,从 XRD 中可知对晶体表面有贡献的主要平面是(002)和(101)平面。由图 4 可知(101)面恩格列净分子显示出疏水性化学基团(双苯环),而它们阻碍了羟基基团的暴露,从而导致更疏水的表面。(002)面上的恩格列净分子暴露出羟基,使表面更具亲水性。E1 晶体比 E2 晶体更亲水,可能导致 E1 比 E2 具有更高的溶解性能。

2.4 热性能

E1 和 E2 表面暴露官能团的不同可能会造成热性能的差异,利用差示扫描量热仪对 E1 和 E2 进行测试,其 DSC 图如图 5 所示。图 5 显示 E1 和 E2 熔融峰均在 158℃,表明 2 种晶体结构保持一致^[14],微结构的存在并不会引起恩格列净内部结构的改变而形成新晶型或成为溶剂化物。

由 DSC 的图谱计算了恩格列净的相关参数,结果如表 1 所示。热焓值越高,说明结晶完善度越好,结晶度越高^[21]。由表 1 可知,E1 和 E2 的熔程相差明显,而 E2 的热焓值为 100.1 J/g,要高于 E1。E2 是以单晶为模板生长的,而 E1 则是存在择优取向,择优取向的存在会降低晶体的结晶度,这导致了 E1 的热焓值要低于 E2。

表 1 E1 和 E2 的热力学数据

样品	熔点/℃	熔程/℃	热焓值/(J·g ⁻¹)
E1	158	9	60.9
E2	158	10	100.1

2.5 表观溶解度分析

微结构的差异会造成药物分子表面的各向异性,从而影响到药物的溶解度^[20]。恩格列净微结构样品 E1 和 E2 的高效液相色谱图和相关溶解参数分别如图 6 和表 2 所示。由图 6 和表 2 可知,不

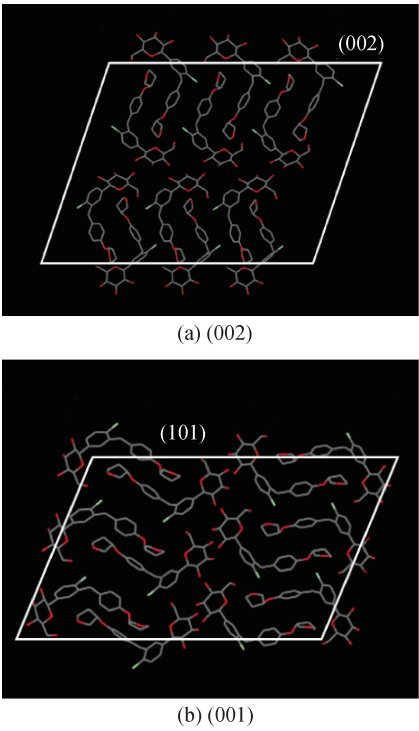


图 4 恩格列净(002)及(101)晶面堆积图

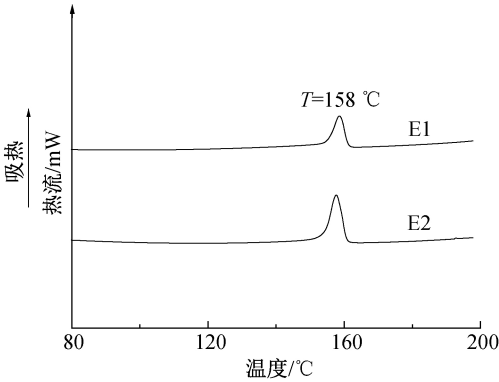


图 5 E1 和 E2 的 DSC 图谱

同恩格列净微结构样品的保留时间相同,均在 6.336 min,表明 E1 和 E2 同属于恩格列净化合物。

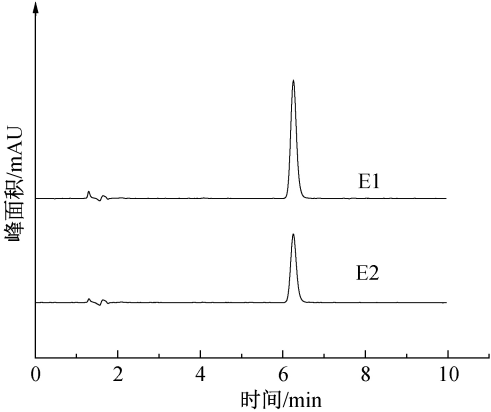


图 6 E1 和 E2 的高效液相谱图

表 2 不同微结构恩格列净在水中的溶解参数			
样品	保留时间/min	峰面积/(mAU·min)	溶解度/(mg·mL ⁻¹)
E1	6.336	50.769	0.0344
E2	6.336	30.396	0.0299

根据 HPLC 测得的峰面积与浓度数据来绘制表观溶解度曲线,如图 7 所示。将标准溶液所测得的峰面积及其对应的浓度进行线性回归计算^[18],得到的 E1 和 E2 的表观溶解度的标准曲线的线性回归方程分别为: $Y=50617X$ ($R^2=0.999$)、 $Y=29024X$ ($R^2=0.999$)。E1 和 E2 在水中饱和溶解度数据如表 2 所示,由表 2 可知,以乙醇作为溶剂,得到的恩格列净 E1 溶解度较高,为 0.0344 mg/mL。根据上述模拟计算结果,E1 表面极性更大,亲水性更好,从而提高了溶解度。

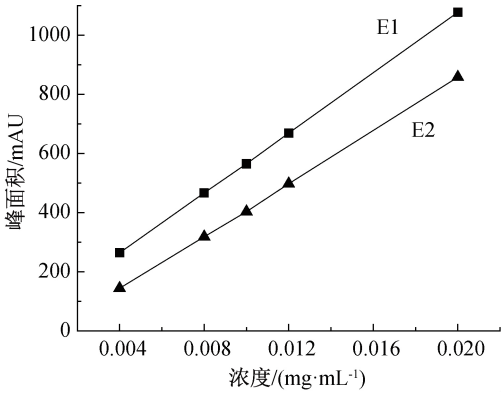


图 7 E1 和 E2 表观溶解度标准曲线

2.6 溶出度分析

E1 和 E2 的累计溶出度曲线如图 8 所示。

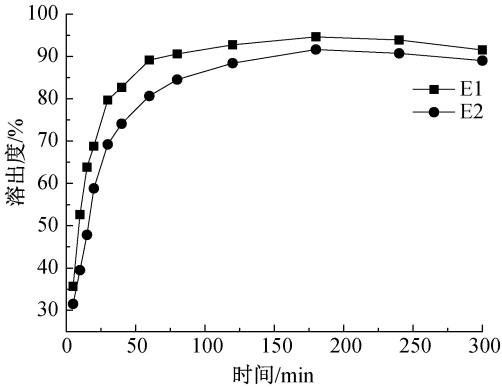


图 8 恩格列净微结构 E1 和 E2 的溶出度图

从图 8 中可以看出 E1 和 E2 在 5 min 的溶出度分别为 35.9%和 31.5%,且同时在 180 min 时累积溶出度达到最高,分别为 94.6%和 92.0%,之后再无药物活性成分溶出。在 60 min 前,不同微结构的恩格列净溶出速率趋势相同。E1 在同时间段的溶出度都要高于 E2,其最高溶出度可达到 94.6%。

E2 恩格列净溶出速率则较慢,最后累积溶出度 92.0%。E1 和 E2 溶出度的差异,是由于 E1 分子表面更具极性,使溶出度得到了提高。

一般认为,高的溶出速率和溶出度有助于更快的给药,更高的生物利用度,从而促进药物制剂的疗效。上述不同微结构研究结果对恩格列净制剂生产提供了有益的参考。

3 结 论

本文为研究微结构对恩格列净溶出性能的影响,制备出具有不同微结构的恩格列净晶体,测试了其溶解度及溶出度,结果发现晶体微结构对恩格列净的溶出性能有较明显影响。主要结论如下:

a)通过使用乙醇和乙酸乙酯两种溶剂,在低压下蒸发溶剂得到具有棒状结构和块状结构的恩格列净。

b)棒状和块状的微结构差异不仅体现在微观形貌上,也体现在理化性能上。进一步对两种微结构样品进行亲脂性计算模拟分析,发现棒状比块状的表面极性大,表现为较高的表观溶解度。

c)溶出实验表明,表面极性大的棒状样品具有更高的溶出速率和溶出度,表明了微结构对药物生物利用度及疗效有切实的影响。

参考文献:

- [1] 曲颖,吴敬德. 恩格列净合成路线图解[J]. 中国药物化学杂志, 2017, 27(1): 84-86.
- [2] 张路平,任悦,秦兰,等. 钠-葡萄糖共转运体 2 抑制剂研究进展[J]. 中国新药杂志, 2016, 25(10): 1139-1144.
- [3] 徐静. 恩格列净的临床研究进展[J]. 医学理论与实践, 2020, 33(11): 1750-1752.
- [4] 徐洪根,许瑞,蒋玉伟,等. 恩格列净 B 晶型及其制备: CN104788438B1[P]. 2018-02-02.
- [5] 徐助雄,孙梦颖,崔健,等. 恩格列净单晶及其制备方法和用途: CN106317035A[P]. 2017-01-11.
- [6] 劳海萍,盛晓红,盛晓霞,等. 依帕列净的晶型及其制备方法、药物组合物和用途: CN105384730A[P]. 2016-03-09.
- [7] 严洁. 一种恩格列净水合物化合物: CN107286142A[P]. 2017-10-24.
- [8] 林蒙,谢峰,张检,等. 一种恩格列净无定型物及其制备方法: CN105481843A[P]. 2016-04-13.
- [9] 赖姝彦,金辉,余春暖,等. 恩格列净无定型的制备及性能[J]. 医药导报, 2021, 40(2): 248-252.

- [10] Serrano D R, O Connell P, Paluch K J, et al. Cocrystal habit engineering to improve drug dissolution and alter derived powder properties[J]. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2016, 68(5): 665-677.
- [11] Rasenack N, Müller B W. Micron-size drug particles: Common and novel micronization techniques[J]. Pharmaceutical Development and Technology, 2004, 9(1): 1-13.
- [12] Tari T, Szabó-Révész P, Aigner Z. Comparative study of different crystallization methods in the case of cilostazol crystal habit optimization[J]. Crystals, 2019, 9(6): 295-309.
- [13] Laad P, Shete G, Modi S R, et al. Differential surface properties of commercial crystalline telmisartan samples[J]. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2013, 49(2): 109-116.
- [14] Phan C U, Shen J, Yu K X, et al. Impact of crystal habit on the dissolution rate and in vivo pharmacokinetics of sorafenib tosylate[J]. Molecules, 2021, 26(11): 3469-3477.
- [15] Yang G Y, Kubota N, Sha Z L, et al. Crystal shape control by manipulating supersaturation in batch cooling crystallization[J]. Crystal Growth & Design, 2006, 6(12): 2799-2803.
- [16] Dattir S R, Kumar D, Kumar P, et al. Study of different crystal habits of aprepitant: Dissolution and material attributes[J]. Applied Sciences, 2021, 11(12): 5604-5619.
- [17] Nokhodchi A, Bolourtchian N, Dinarvand R. Dissolution and mechanical behaviors of recrystallized carbamazepine from alcohol solution in the presence of additives[J]. Journal of Crystal Growth, 2005, 274(3/4): 573-584.
- [18] 赖姝彦. 降血糖药物恩格列净的晶型研究[D]. 杭州: 浙江理工大学, 2020: 43-48.
- [19] Zhu D, Zhang S H, Cui P P, et al. Solvent effects on catechol crystal habits and aspect ratios: A combination of experiments and molecular dynamics simulation study[J]. Crystals, 2020, 10(4): 316-331.
- [20] Kumar D, Thipparaboina R, Sreedhar B, et al. The role of surface chemistry in crystal morphology and its associated properties[J]. Cryst Eng Comm, 2015, 17(35): 6646-6650.
- [21] 余春暖,张帅,徐新良,等. 球形厄贝沙坦晶型 A 的制备及其性能[J]. 浙江理工大学学报(自然科学版), 2021, 45(2): 290-294.

(责任编辑:张会巍)