

白藜芦醇-盐酸巴马汀共晶水合物的制备、晶体结构及溶解性研究

梁 玲, 李延广, 郭全虎, 娄本勇*

闽江学院材料与化学工程学院, 福州市药物制剂与检测行业技术创新中心, 福建 福州 350108

摘要: 目的 开发新的共晶以提高白藜芦醇的溶解度, 进而为改善白藜芦醇生物利用度提供参考。方法 采用溶剂悬浮法制备了一种新的白藜芦醇-盐酸巴马汀共晶水合物 (resveratrol-palmatine chloride cocrystal hydrate, RES-2PCl·H₂O), 利用单晶 X 射线衍射、粉末 X 射线衍射和傅里叶变换红外光谱对其结构进行表征, 并利用差示扫描量热、动态水蒸汽吸附、高效液相色谱分析等对共晶水合物的稳定性、溶解度及溶出速率等进行考察。结果 所制备的 RES-2PCl·H₂O 具有较高的纯度和均匀性, 分子间存在较强的氢键作用, 白藜芦醇、盐酸巴马汀及水分子通过 O-H···O 与 O-H···Cl⁻ 的氢键作用形成一维链状结构, 链与链间又通过 C-H···O 作用形成二维层状结构, 层与层之间通过分子间弱作用力进而形成堆积结构。药物稳定性测试证实共晶水合物在高温、高湿或强光照射等长期储存条件下是物理稳定的。溶解性研究表明不溶性白藜芦醇与可溶性盐酸巴马汀共结晶影响了 2 种药物的溶解性能, 且促进了白藜芦醇的释放同时延缓了盐酸巴马汀的释放。结论 制备并系统表征了一种新的 RES-PCl 共晶水合物, 为利用共结晶技术开发白藜芦醇药物-药物共晶提供借鉴。

关键词: 药物共晶; 白藜芦醇; 盐酸巴马汀; 氯离子; 溶解度; 生物利用度; 溶剂悬浮法

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)11-3659-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.11.009

Preparation, crystal structure, and dissolution analysis for cocrystal hydrate of resveratrol with palmatine hydrochloride

LIANG Ling, LI Yanguang, GUO Quanhu, LOU Benyong

Technology Innovation Center of Fuzhou Pharmaceutical Preparations and Testing Industry, College of Materials and Chemical Engineering, Minjiang University, Fuzhou 350108, China

Abstract: Objective To develop novel cocrystal to improve the solubility of resveratrol, and then provide reference for improving the bioavailability of resveratrol. **Methods** Resveratrol-palmatine chloride cocrystal hydrate (RES-2PCl·H₂O) was prepared by solvent suspension method. The structure was characterized by single crystal X-ray diffraction, powder X-ray diffraction and Fourier transform infrared spectroscopy. The stability, solubility and dissolution rate of cocrystal hydrate were investigated systematically by differential scanning calorimetry, dynamic water vapor adsorption and high performance liquid chromatography. **Results** The prepared RES-2PCl·H₂O has high purity and uniformity. In crystal structure of the cocrystal hydrate, there is strong hydrogen bonding between molecules. Resveratrol, palmatine hydrochloride and water molecules form one-dimensional chain structure through O-H···O and O-H···Cl⁻ hydrogen bonding, and two-dimensional layer structure is formed between chains through C-H···O interaction, and stacking structure is formed between layers through intermolecular weak force. Pharmaceutical stability testing confirms the cocrystal hydrate is physically stable under long-term storage conditions such as high temperature, high humidity or strong light irradiation. Solubility studies show that cocrystallization between soluble palmatine hydrochloride and insoluble resveratrol compromises the dissolution properties of the two drugs. The release of resveratrol was improved while the release of palmatine hydrochloride was delayed. **Conclusion** A new kind of RES-PCl cocrystal hydrate is prepared and systematically characterized, which provides reference for the development of resveratrol drug-drug cocrystal by co-crystallization technology.

Key words: pharmaceutical cocrystal; resveratrol; palmatine hydrochloride; chloride ion; solubility; bioavailability; solvent suspension method

收稿日期: 2023-12-14

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (2023J05245); 福建省中青年教师教育科研项目 (JAT220328)

作者简介: 梁 玲 (1990—), 女, 博士, 实验师, 主要从事中药超分子化学研究。Tel: (0591)83568092 E-mail: liangling@mju.edu.cn

*通信作者: 娄本勇 (1977—), 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事药物固态化学研究。Tel: (0591)83763589 E-mail: lby@mju.edu.cn

植物源性多酚由于具有预防和治疗多种疾病的特性，在制药、化工和食品工业等领域引起广泛关注^[1-2]。白藜芦醇(resveratrol, 图 1)是一种天然多酚，存在于葡萄皮、蔓越莓、可可等植物中，具有抗氧化、抗炎、保护心脏和抗癌等生物活性^[3-4]。此外，白藜芦醇对阿尔茨海默病、帕金森病和癫痫等神经系统疾病也有神经保护作用^[5-6]。该化合物在自然界中以反式和顺式 2 种异构体的形式存在，但反式异构体更丰富，生物活性更高^[7]。然而，白藜芦醇较低的水溶性、生物利用度限制了其在人体中的吸收和生物利用有效性^[8]。

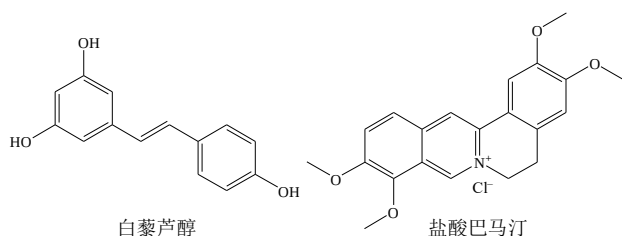


图 1 白藜芦醇及盐酸巴马汀的分子结构

Fig. 1 Molecular structures of resveratrol and palmatine hydrochloride

药物共晶是活性药物成分和共晶形成物按一定化学计量比在非共价键相互作用下自组装而成的固体结晶材料^[9-10]，共晶中存在的氢键或其他非共价作用，会改变原药物晶体的结构，通过降低晶格能、提高溶剂的亲合力，从而改善药物在共晶中的溶解度^[11]。因此，药物共晶技术成为解决药物生物利用度低的新途径、新领域。通过药物共晶技术提高药物生物利用度是今后药物开发新的研究方向。近年来，白藜芦醇共晶和多晶型用于提高其溶解度和生物利用度已有报道，如氨基苯甲酰胺^[12]、异烟肼与烟酰胺^[13]、乙烯基二吡啶^[14]等共晶。不同共晶之间白藜芦醇的构象和分子堆积是灵活的，且白藜芦醇共晶的物理化学性质与其晶体堆积模式密切相关。基于共晶策略优势，利用高水溶性生物活性药物增强白藜芦醇的溶解度和生物利用度，同时有助于发挥 2 种药物在抗炎、抗病毒功效等方面协同作用，如白藜芦醇-金刚烷胺盐酸盐共晶^[15]。

盐酸巴马汀(palmatine chloride, PCI, 图 1)又名黄藤素，是一类典型的异喹啉生物碱，主要存在于黄柏、黄连、三棵针、南天竹等天然中草药植物中^[16-17]。PCI 易溶于热水，具有抗菌、抗炎、抗病毒与抗肿瘤等药用价值，在临床上常用于治疗妇科炎症、菌痢、肠炎、呼吸道和泌尿道感染以及眼

结膜炎等症状^[16,18-19]。PCI 结构中含有 1 个季铵盐阳离子与氯离子(Cl^-)，其中 Cl^- 是一类潜在的氢键受体，不仅空间位阻小，还具有良好的空间适应性和几何延展性，可以同时接纳多个氢键给体，与氨基、羧基、羟基等官能团可形成较强的电荷辅助氢键^[20-21]，利用含 Cl^- 的 PCI 作为共晶形成物为药物共晶开发提供了新的思路。本课题组前期系统研究了 PCI 作为共晶形成物与外消旋橙皮素的药物共晶多晶型，2 种共晶均存在 $\text{O-H}\cdots\text{Cl}^-$ 氢键相互作用，对温度、湿度和光表现出很高的稳定性，共晶的形成降低了盐酸巴马汀的溶解度，提高了橙皮素的溶解度。同时，在纯水中实现了盐酸巴马汀的缓释和增强橙皮素的释放^[22]。本实验基于 Cl^- 与羟基之间易形成 $\text{O-H}\cdots\text{Cl}^-$ 氢键作用，研究了白藜芦醇与 PCI 的共结晶。采用溶剂悬浮法成功制备了一种新的白藜芦醇-盐酸巴马汀共晶水合物($\text{RES-2PCI}\cdot\text{H}_2\text{O}$)，利用单晶 X 射线衍射、粉末 X 射线衍射和傅里叶红外光谱对其结构进行表征，并利用差示扫描量热、动态水蒸汽吸附、高效液相色谱分析等对共晶水合物的稳定性、溶解度及溶出速率等进行了考察。

1 仪器与材料

Smart Lab SE 型粉末 X 射线衍射仪，日本理学公司；Super Nova CCD 型单晶 X 射线衍射仪，美国安捷伦科技有限公司；DSC 214 Nevio 型差示扫描量热仪、TG 209 F3 型热重分析仪，德国耐驰仪器制造有限公司；Intrinsic Plus 型动态水蒸汽吸附仪，英国 Surface Measurement Systems 公司；LC-20AD 型高效液相色谱，日本岛津仪器有限公司；Nicolet iS 50 型衰减全反射傅里叶红外光谱仪，美国赛默飞世尔科技公司；LHH-150SD 型综合药品稳定性试验箱，上海一恒科学仪器有限公司；RC806ADK 型溶出度测试仪，天津市天大天发科技有限公司；SHH-100GD-2 型药品强光照射试验箱，重庆市永生实验仪器厂。

盐酸巴马汀三水合物($\text{PCI}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$)、白藜芦醇，质量分数均为 97%，购自大连美仑生物技术有限公司；甲醇为色谱纯，购自上海泰坦科技股份有限公司；磷酸为色谱纯，购自上海阿拉丁试剂有限公司。其他试剂均为分析纯，购自国药集团药业股份有限公司。

2 方法与结果

2.1 样品的制备

2.1.1 白藜芦醇-盐酸巴马汀单晶的制备 取白藜

芦醇 (22.8 mg, 0.1 mmol) 与 $\text{PCl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (44.2 mg, 0.1 mmol) 混合均匀后加入 20 mL 甲醇溶液, 加热搅拌至完全溶解后滤过。将溶液放于避光环境下缓慢蒸发, 2~3 d 后有橘红色块状晶体析出, 即为白藜芦醇-盐酸巴马汀单晶。

2.1.2 RES-2PCl·H₂O 共晶水合物的制备 取白藜芦醇 (114.0 mg, 0.5 mmol) 与盐酸巴马汀三水合物 (442.0 mg, 1 mmol) 混合均匀后加入 10 mL 的甲醇溶液, 在室温条件下密封搅拌 48 h 后滤过。将固体放于自然条件下干燥即可得到 RES-2PCl·H₂O 共晶水合物。

2.2 固态表征

2.2.1 单晶 X 射线衍射 (single crystal X-ray diffraction, SC-XRD) 利用 Super Nova CCD 单晶衍射仪测试待测样品, 在 100 K 条件下收集晶体参数, 入射光束为 Cu-K α 射线 ($\lambda=0.154\ 184\ \text{nm}$), 利用 CrysAlisPro 程序进行经验吸收校正^[23]。采用 SHELX 程序对晶体结构进行直接法求解, 通过全矩阵最小二乘方法对 F^2 进行精修^[24-25]。非氢原子在无约束位移参数下进行各向异性细化, 氢原子则放置在合适的几何位置上。单晶结构解析表明, RES-2PCl·H₂O 为单斜晶系, P21/c 空间群, 在晶体结构中含有 2 个 PCl 分子、1 个白藜芦醇分子与 1 个水分子。如图 2 所示, 白藜芦醇结构中的 3 个酚羟基均参与了氢键的形成, 其中 2 个酚羟基与 2 个 Cl 形成 $\text{O}-\text{H}\cdots\text{Cl}$ 氢键作用, 而另 1 个酚羟基则与水分子形成 $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}$ 氢键作用。水分子又同时与 2 个 Cl 形成 $\text{O}-\text{H}\cdots\text{Cl}$ 氢键作用。白藜芦醇分子、水分子与 Cl 间通过上述的多种氢键作用相连接, 形成了一维链状结构。形成的链与链间通过不同白藜芦醇分子间的 $\text{C}-\text{H}\cdots\text{O}$ 作用相连接, 进而形成二维层状结构 (图 3)。在分子间弱作用力下, 层与层之

间进而形成堆积结构 (图 4)。RES-2PCl·H₂O 共晶水合物的晶体学数据见表 1, 共晶水合物中氢键的参数见表 2。

2.2.2 粉末 X 射线衍射 (powder X-ray diffraction,

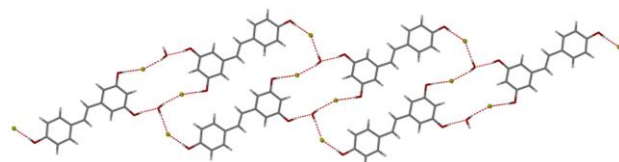


图 2 RES-2PCl·H₂O 一维链状结构

Fig. 2 1D hydrogen-bonding structure of RES-2PCl·H₂O

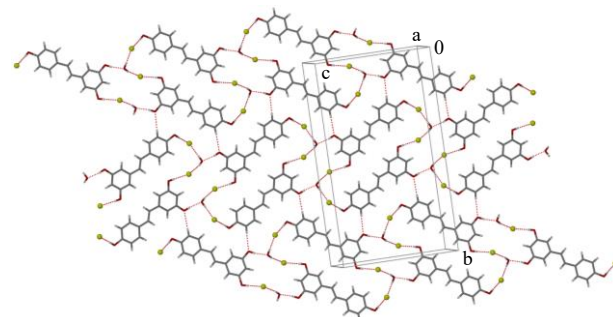


图 3 RES-2PCl·H₂O 中链与链间通过 $\text{C}-\text{H}\cdots\text{O}$ 弱作用力形成的二维结构

Fig. 3 2D layered structure formed by $\text{C}-\text{H}\cdots\text{O}$ interactions among chains of RES-2PCl·H₂O

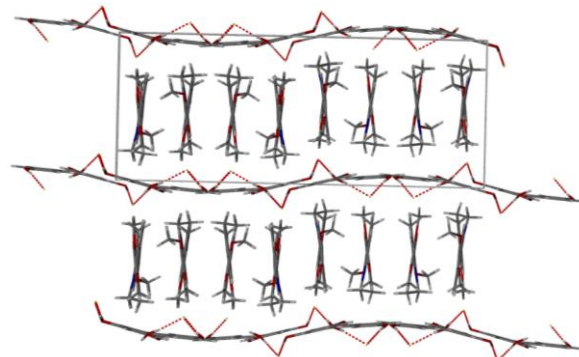


图 4 RES-2PCl·H₂O 的堆积结构

Fig. 4 Stacking structure of RES-2PCl·H₂O

表 1 RES-2PCl·H₂O 晶体学数据

Table 1 Crystal data of RES-2PCl·H₂O

晶体参数	晶体数据	晶体参数	晶体数据	晶体参数	晶体数据
分子式	$\text{C}_{56}\text{H}_{58}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_{12}$	α	90°	衍射点收集	19 122
相对分子质量	1 021.94	β	$91.365(3)^\circ$	独立衍射点	9 525
晶体尺寸	$0.11\ \text{mm}\times 0.10\ \text{mm}\times 0.08\ \text{mm}$	γ	90°	R_{int}	0.055 3
晶系	单斜晶系	V	$4.866\ 8(3)\ \text{nm}^3$	参数	624
空间群	P21/c	Z	4	拟合优度	1.025
a	$1.106\ 44(3)\ \text{nm}$	D_c	$1.395\ \text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$	残差因子	0.059 9
b	$2.768\ 96(9)\ \text{nm}$	$F(000)$	2 152	基于所有数据的结构因子的残差	0.155 3
c	$1.588\ 98(5)\ \text{nm}$	$2\theta_{\text{max}}$	73.53°		

表2 RES-2PCI·H₂O 的氢键参数
Table 2 Hydrogen-bonding parameters of RES-2PCI·H₂O

D-H···A	键长/nm			D-H···A 键角/(°)	对称操作码
	D-H	H···A	D···A		
O3-H3A···Cl1	0.088 (4)	0.218 (4)	0.305 7(2)	175(4)	
O1-H1···Cl2	0.095 (5)	0.206 (5)	0.299 4(2)	170(4)	
O4-H4A···Cl2	0.090 (4)	0.219 (4)	0.308 30(14)	173(4)	$x, y, z-1$
O4-H4B···Cl1	0.086 9(10)	0.223 5(14)	0.308 87(10)	167(4)	$2-x, 1-y, -z$
O2-H2A···O4	0.089 (4)	0.173 (4)	0.261 4(2)	172(4)	
C2-H2···O2	0.095	0.249	0.343 8(2)	172.8	$x, 3/2-y, 1/2+z$

PXRD) 将待测样粉末均匀铺满样品槽后开始测量。入射光束为 Cu-K α 射线, 工作电压为 40 kV, 工作电流为 15 mA, 2θ 范围取 $5^\circ \sim 45^\circ$, 步长 0.02° 。如图 5 所示, RES-2PCI·H₂O 的 PXRD 谱图与白藜芦醇、PCI·3H₂O 2 种原料药均不同, 在 10.6° 、 13.1° 、 14.0° 、 14.5° 、 16.2° 、 21.5° 、 26.7° 、 28.2° 等处出现新的特征峰, 且图谱中并未显现 PCI·3H₂O 在 9.7° 、 17.8° 等处的特征峰, 表明所制备的产物形成了新的晶相。此外, RES-2PCI·H₂O 的 PXRD 图谱与其单晶结构的模拟图谱吻合较好, 证实所制备的共晶水合物具有较高的纯度和均匀性。

2.2.3 衰减全反射傅里叶变换红外光谱 (attenuated total reflection fourier transform infrared spectroscopy, ATR-FTIR) 将待测样均匀铺于 iD7 ATR 附件上, 扫描次数为 32, 分辨率为 4 cm^{-1} , 波长范围为 $550 \sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$ 。如图 6 所示, RES-2PCI·H₂O 与 PCI·3H₂O 的图谱中均存在有水分子的伸缩振动峰, 与单晶结

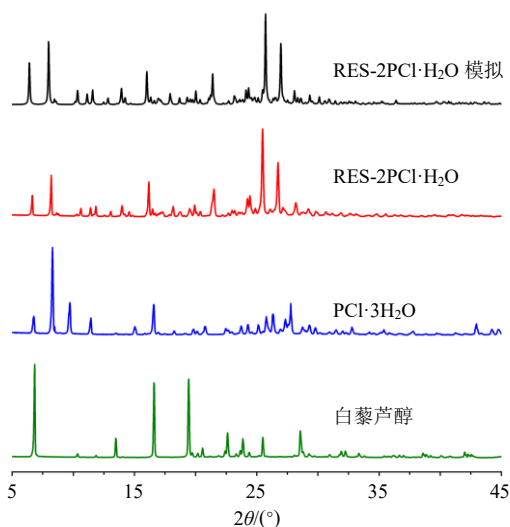


图5 白藜芦醇、PCI·3H₂O 及 RES-2PCI·H₂O 的 PXRD 图
Fig. 5 PXRD patterns of resveratrol, PCI·3H₂O and RES-2PCI·H₂O

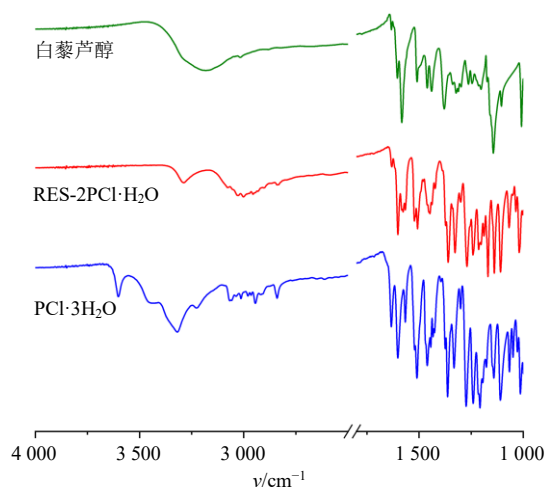


图6 白藜芦醇、PCI·3H₂O 及 RES-2PCI·H₂O 的 ATR-FTIR
Fig. 6 ATR-FTIR spectra of resveratrol, PCI·3H₂O and RES-2PCI·H₂O

构中存在的水分子相对应。在 PCI·3H₂O 中, 水分子的伸缩振动峰为 $3\,602 \sim 3\,227\text{ cm}^{-1}$, 而共晶水合物中水分子的伸缩振动峰为 $3\,292\text{ cm}^{-1}$ 。在形成强分子间氢键时, -OH 伸缩振动峰会发生红移 ($100 \sim 693\text{ cm}^{-1}$) [26-27]。白藜芦醇中 -OH 的伸缩振动峰在 $3\,200\text{ cm}^{-1}$ 左右, 而共晶水合物中 -OH 的伸缩振动峰显著红移至在 $3\,002\text{ cm}^{-1}$, 表明白藜芦醇和 PCI·3H₂O 分子间具有较强的氢键相互作用。同时, 在形成共晶水合物后, 白藜芦醇中 -OH 的弯曲振动峰从 $1\,145\text{ cm}^{-1}$ 偏移至 $1\,170\text{ cm}^{-1}$, 归因于白藜芦醇上的 -OH 同 PCI、水分子间均存在较强的氢键作用。

2.2.4 差示扫描量热/热重分析 (differential scanning calorimetry/thermal gravity analysis, DSC/TGA) 称取适量白藜芦醇、PCI·3H₂O、RES-2PCI·H₂O 分别放于铝制坩埚中, 密封、扎孔后进行 DSC 测试。以同样的空坩埚作为参比, 将其放置于仪器中预热、平衡至读数稳定后, 将待测样品放于空坩埚中进行 TGA 测试, 温度范围为 $30 \sim 300^\circ\text{C}$,

升温速率 10 K/min, 通氮气作为保护气, 体积流量为 40 mL/min。如图 7-a 所示, 白藜芦醇在 268.1 °C 处有 1 个吸热熔融峰, $\text{PCI} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 在 204.2 °C 处出现吸热熔融峰。 $\text{RES} \cdot 2\text{PCI} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 在 136 °C 附近存在 1 个宽的脱水吸热峰, 在 230.5 °C 附近存在熔融吸热峰。共晶水合物的熔点介于 2 个原料药之间, 是不同于原料药的新晶型。由 TGA 图谱 (图 7-b) 可知, 白藜芦醇在 30 ~ 150 °C 没有明显质量变化, $\text{PCI} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 在 105 °C 失重比为 11.3%。相较于 2 原料药, $\text{RES} \cdot 2\text{PCI} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 在 136 °C 附近的失重比为 2.8%, 与其理论的失水质量比 (2.8%) 一致, 进一步证实共晶水合物结构中存在 1 个水分子。

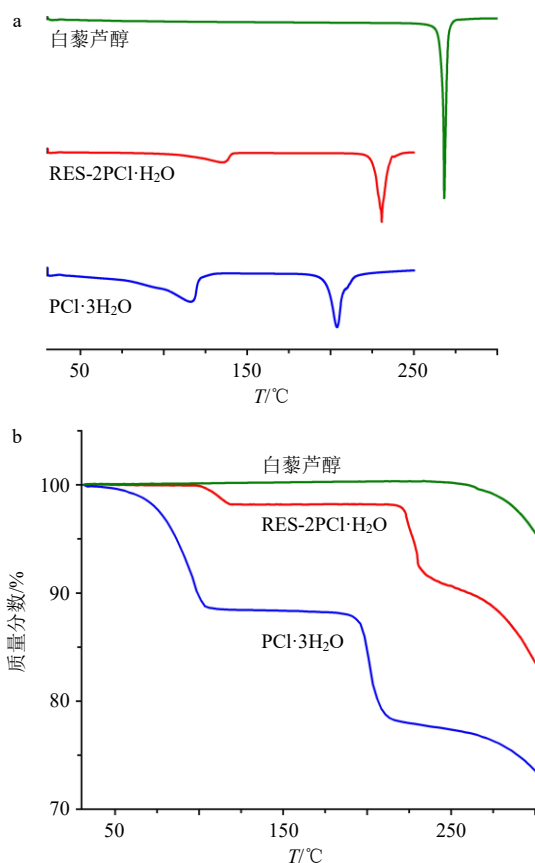


图 7 白藜芦醇、 $\text{PCI} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 及 $\text{RES} \cdot 2\text{PCI} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的 DSC (a) 与 TGA (b) 图

Fig. 7 DSC (a) and TGA (b) curves of resveratrol, $\text{PCI} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ and $\text{RES} \cdot 2\text{PCI} \cdot \text{H}_2\text{O}$

2.3 物理稳定性研究

2.3.1 稳定性分析 根据《中国药典》2020 年版药物稳定性试验, 评价温度、湿度、光照等环境参数对所制备共晶水合物物理稳定性的影响。将 $\text{RES} \cdot 2\text{PCI} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 分别储存于烘箱、湿稳定性箱及光稳定性箱中, 放置 10 d 后取出进行 PXRD 表征。如图 8 所示,

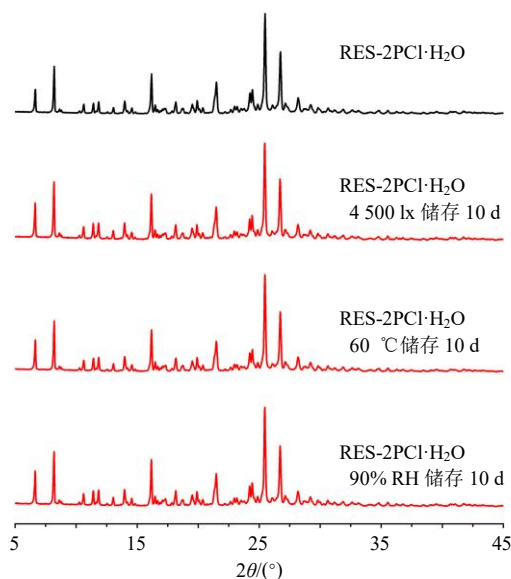


图 8 $\text{RES} \cdot 2\text{PCI} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 药物稳定性测试的 PXRD 图谱

Fig. 8 PXRD patterns of $\text{RES} \cdot 2\text{PCI} \cdot \text{H}_2\text{O}$ before and after pharmaceutical stability testing

在 60 °C, 90% 相对湿度 (RH), 或 4500 lx 条件下储存 10 d 后, $\text{RES} \cdot 2\text{PCI} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的 PXRD 图谱保持不变, 说明所制备共晶水合物在恶劣的储存条件下未发生晶型的变化, 具有物理稳定性。

2.3.2 动态水蒸汽吸附 (dynamic vapor sorption, DVS) 分析 称取适量待测样品置于动态水蒸气吸附仪中, 设定温度为 25 °C, 在体积流量为 200 mL/min 氮气下测量, 模式选择为 0 ~ 95% ~ 0 相对湿度吸附、脱附水蒸汽全循环, 步长 5%, 平衡标准为粉体质量变化 (dm/dt) $\leq 0.002\%$ /min。如图 9-a 所示, $\text{PCI} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 吸湿量随着相对湿度增加而逐步增大。相比于 $\text{PCI} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 白藜芦醇、 $\text{RES} \cdot 2\text{PCI} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 吸湿量基本不变, 说明白藜芦醇可有效减少 $\text{PCI} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 吸湿量。根据局部放大图 (图 9-b), 在 95% 相对湿度下, $\text{RES} \cdot 2\text{PCI} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 共晶水合物吸湿量仅为 0.16%, 吸湿性极低。此外, 共晶水合物的吸附与脱附曲线基本重合, 表明在吸附过程中仅存在物理吸附水, 共晶水合物未发生任何固态变化, 具有良好的吸湿稳定性。

2.4 体外溶出度研究

2.4.1 色谱条件 白藜芦醇、PCI 的色谱分析采用 Kristl 等建立的方法^[28]及《中国药典》2020 年版一部黄藤素含量测定, 并进行适当修改。色谱柱为中谱蓝 XR- C_{18} 柱 (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm), 采用双波长模式, 白藜芦醇的吸收波长 306 nm, PCI 的吸收波长 345 nm, 体积流量 1 mL/min, 进样量 5 μL ,

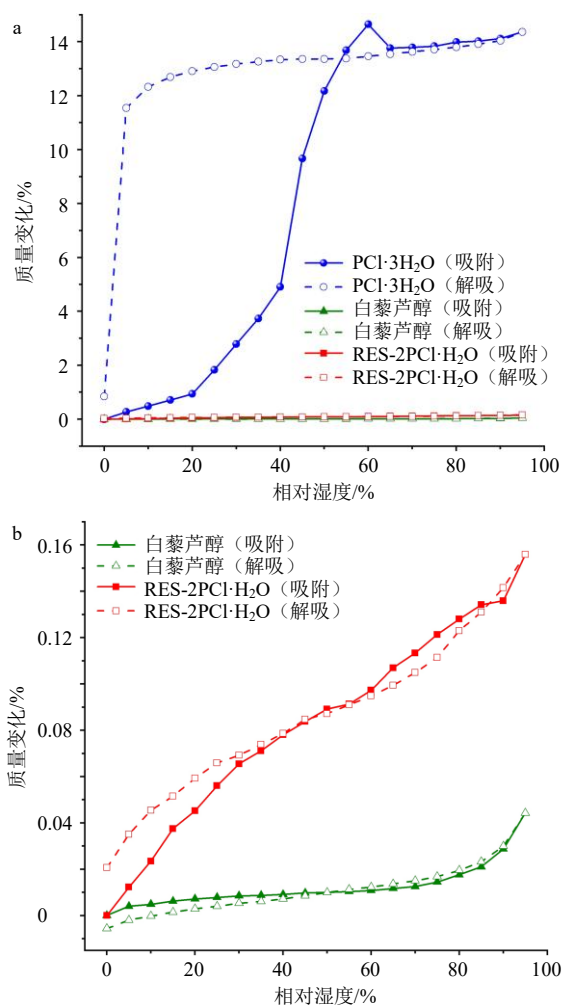


图9 白藜芦醇、 $\text{PCI}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 及 $\text{RES}\cdot 2\text{PCI}\cdot \text{H}_2\text{O}$ 的 DVS 图 (a) 及其局部放大图 (b)

Fig. 9 DVS isotherm plots (a) and enlarged view of DVS isotherm plots (b) of resveratrol, $\text{PCI}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ and $\text{RES}\cdot 2\text{PCI}\cdot \text{H}_2\text{O}$

柱温 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，流动相为甲醇-0.2%磷酸水溶液 (50 : 50)，洗脱方式为等度洗脱。

2.4.2 对照品储备液的制备 精密量取 250 mg 白藜芦醇置于 50 mL 量瓶中，甲醇定容，摇匀即得 5 mg/mL 白藜芦醇对照品储备液，同法制备 5 mg/mL $\text{PCI}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 对照品储备液。

2.4.3 线性关系考察 采用甲醇将“2.4.2”项下对照储备液分别稀释成 5、10、20、50、100、200、

500 $\mu\text{g/mL}$ 系列对照品溶液，按照“2.4.1”项下色谱条件测定各质量浓度 (C) 的峰面积 (A)。方法学结果表明， PCI 的线性回归方程为 $A=23\,744\,C+22\,055$ ， $R^2=1.000\,0$ ，结果表明 PCI 在 10~500 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。白藜芦醇的线性回归方程为 $A=42\,114\,C-161.8$ ， $r=1.000\,0$ ，结果表明白藜芦醇在 5~100 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.4.4 供试品溶液的制备 精密量取 5 mg $\text{RES}\cdot 2\text{PCI}\cdot \text{H}_2\text{O}$ 至 50 mL 量瓶中，甲醇定容，摇匀即得 $\text{RES}\cdot 2\text{PCI}\cdot \text{H}_2\text{O}$ 供试品溶液。

2.4.5 专属性考察 取稀释后的对照品溶液、供试品溶液，分别按上述色谱条件进样，结果见图 10，供试品溶液中白藜芦醇与 PCI 出峰时间与对照品溶液一致，分离度大于 1.5，峰形良好，表明该色谱条件适用性良好。

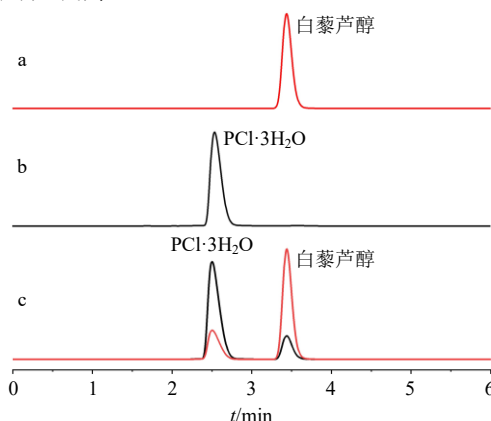


图10 白藜芦醇 (a)、 $\text{PCI}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (b) 及 $\text{RES}\cdot 2\text{PCI}\cdot \text{H}_2\text{O}$ (c) HPLC 图

Fig. 10 HPLC of resveratrol (a), $\text{PCI}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (b) and $\text{RES}\cdot 2\text{PCI}\cdot \text{H}_2\text{O}$ (c)

2.4.6 平衡溶解度实验 选用醋酸/醋酸盐缓冲液 (pH 4.5) 与纯水作为缓冲介质^[15,29]，称取过量待测样品加入少量介质溶液，得到过饱和溶液。37 $^{\circ}\text{C}$ 振荡 48 h，取上层液 0.45 μm 滤膜滤过，纯水稀释后利用高效液相色谱仪测量其质量浓度，得到待测样品的饱和平衡溶解度，平行样为 3 组。实验结束后，收集未溶解的残留固体，室温干燥后进行 PXRD 表征。结果如表 3 所示，在纯水中，白藜芦醇的溶解

表3 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下白藜芦醇、 $\text{PCI}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 及 $\text{RES}\cdot 2\text{PCI}\cdot \text{H}_2\text{O}$ 在不同介质中的溶解度 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 3 Solubility of resveratrol, $\text{PCI}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ and $\text{RES}\cdot 2\text{PCI}\cdot \text{H}_2\text{O}$ in different buffer solutions at 37 $^{\circ}\text{C}$ ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

介质	白藜芦醇溶解度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$		PCI 溶解度/ $(\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1})$	
	原料药	$\text{RES}\cdot 2\text{PCI}\cdot \text{H}_2\text{O}$	$\text{PCI}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$	$\text{RES}\cdot 2\text{PCI}\cdot \text{H}_2\text{O}$
pH 4.5	53.710 ± 0.231	507.820 ± 5.120	27.070 ± 0.364	1.760 ± 0.015
纯水	55.100 ± 0.669	378.020 ± 5.272	24.130 ± 0.670	1.340 ± 0.018

度为 $(55.100 \pm 0.669) \mu\text{g/mL}$, $\text{PCI} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 的溶解度 $(24.130 \pm 0.670) \text{mg/mL}$ 。与之相比较, 白藜芦醇、 $\text{PCI} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 在 pH 4.5 缓冲液中的溶解度基本不变。值得注意的是, 共晶水合物中白藜芦醇溶解度在 2 种介质中均显著提高, 尤其在 pH 4.5 缓冲液中, 共晶水合物中白藜芦醇溶解度提高约 10 倍。而共晶水合物中 PCI 溶解度在 2 种介质中均显著降低, 在 pH 4.5 缓冲液中, 溶解度降低到 $(1.760 \pm 0.015) \text{mg/mL}$ 。上述结果均表明通过白藜芦醇与 PCI 形成共晶策略极大提高了白藜芦醇溶解度, 同时降低了 PCI 溶解度。此外, 溶解度测定后将未溶解的固体残渣收集后进行 PXRD 表征, 图谱结果表明 2 种介质处理后的残渣与 $\text{RES-2PCI} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的 PXRD 图谱基本吻合(图 11), 未发现明显的相变。

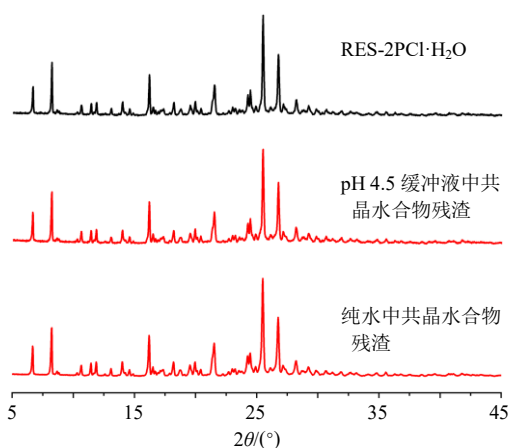


图 11 溶解度测定后残留固体粉末的 PXRD 图

Fig. 11 PXRD patterns of residual solid powder after solubility experiments

2.4.7 溶出速率评估 实验在 RC806ADK 溶出测试仪上进行, 采用小杯桨法, 桨转速为 75 r/min, 温度为 37 °C。选用醋酸/醋酸盐缓冲液 (pH 4.5) 与纯水作为溶出介质, 溶出介质体积为 250 mL。精密称取 100 mg 的 $\text{RES-2PCI} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 粉末, 86.5 mg 的 $\text{PCI} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 粉末以及 22.3 mg 的白藜芦醇粉末, 待介质温度稳定后往介质投料。设置不同时间点进行取样, 每次取样 1 mL 后随即补充 1 mL 缓冲液。所有样品溶液均过 0.45 μm 膜后, 使用 HPLC 测量其质量浓度, 平行样为 3 组。如图 12-a 可知, 在 2 种介质中, 白藜芦醇原料药释放缓慢, 4 h 后最大累积释放仅约 45%; 形成共晶水合物后, $\text{RES-2PCI} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 中白藜芦醇在纯水与 pH 4.5 缓冲液中的溶出行为基本一致, 溶出速率均增加, 溶出释放量较白藜芦醇原料药显著提高, 在 1 h 附近达到最大值, 分别为

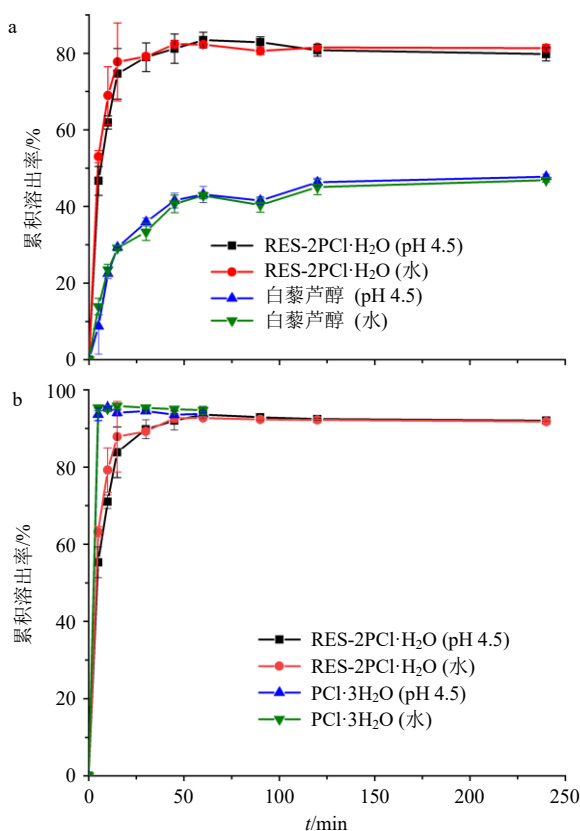


图 12 白藜芦醇及其在 $\text{RES-2PCI} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 中 (a) 和 PCI 在 $\text{PCI} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{RES-2PCI} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 中 (b) 的溶出曲线 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig. 12 Dissolution profiles of resveratrol in resveratrol and $\text{RES-2PCI} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (a) and dissolution profiles of PCI in $\text{PCI} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ and $\text{RES-2PCI} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (b) ($\bar{x} \pm s, n=3$)

82.26%与 83.43%。与白藜芦醇溶出不同的是, $\text{PCI} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 在 2 种介质中 5 min 内几乎完全溶解, 共晶水合物中 PCI 的溶出速率较 $\text{PCI} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 有效减缓, 1 h 后达到最大累积释放量 (图 12-b)。

综合上述溶出结果表明, 相比于白藜芦醇原料药, 通过与 $\text{PCI} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 形成共晶水合物, 可有效促进白藜芦醇的溶出、同时延缓 PCI 的释放。

3 讨论

将水溶性较高的药物与难溶性药物形成药物-药物共晶, 有利于平衡两者的溶解度^[11]。利用水溶性较好的 PCI [$(24.13 \pm 0.67) \text{mg/mL}$] 与难溶性白藜芦醇 [$(55.100 \pm 0.669) \mu\text{g/mL}$] 通过分子间相互作用形成共晶, 有望优化两者溶解度和溶出速率。本研究采用溶剂悬浮法成功制备了新的 $\text{RES-2PCI} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 共晶水合物。 $\text{RES-2PCI} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的 PXRD 图谱与其单晶结构的模拟图谱吻合较好, 证实所制备的共晶水合物具有较高的纯度和均匀性。

DSC 测试结果显示, $\text{RES-2PCI} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的熔点介

于 2 个原料药之间,进一步证实该共晶水合物是不同于原料药的新晶型。通过单晶结构分析,该共晶水合物存在 O-H $\cdots$ Cl $^-$ 氢键作用且含有水分子。白藜芦醇上的 2 个羟基与 2 个 Cl $^-$ 形成 O-H $\cdots$ Cl $^-$ 氢键,而水分子通过 O-H $\cdots$ O 与 O-H $\cdots$ Cl $^-$ 的氢键作用分别与白藜芦醇、PCl 相连并形成一维链状结构。链与链间又通过 C-H $\cdots$ O 作用形成二维层状结构,层与层之间通过分子间弱作用力进而形成堆积结构。

TGA 表征结果显示,RES-2PCl $\cdot$ H $_2$ O 实际失水质量与理论失水质量相一致,进一步证实该共晶水合物结构中存在 1 个水分子。ATR-FTIR 显示,RES-2PCl $\cdot$ H $_2$ O 中,水分子伸缩振动峰和白藜芦醇的-OH 伸缩振动峰、弯曲振动峰均发生了明显偏移,表明白藜芦醇中的-OH 与 PCl、水分子间均存在较强的氢键作用,2 原料药间发生了相互作用。

药物稳定性测试证实,RES-2PCl $\cdot$ H $_2$ O 在高温、高湿或强光照射等恶劣条件下长期储存具有较好的物理稳定性,与非吸湿性白藜芦醇共结晶后,PCl 的抗湿稳定性得到显著提高。为研究 PCl 对白藜芦醇溶解度影响,评估了共晶水合物在纯水与醋酸/醋酸钠缓冲液介质中的平衡溶解度,并与原料药溶解度对比分析。结果显示,可溶性 PCl 与不溶性白藜芦醇共结晶同时影响了 2 种药物的溶解性能。在所制备的共晶水合物中,白藜芦醇溶解度明显提高、PCl 溶解度显著降低。

为探究 RES-2PCl $\cdot$ H $_2$ O 共晶水合物形成后白藜芦醇、PCl 溶出速率变化,对比在纯水与 pH 4.5 缓冲液 2 种介质中共晶水合物与原料药的溶出速率。溶出结果表明 PCl 作为白藜芦醇共晶形成的共形成物,显著促进白藜芦醇的释放同时延缓 PCl 的释放。本研究阐明了 PCl 作为白藜芦醇药物共晶形成物的可行性,为利用共结晶技术开发白藜芦醇药物共晶提供新的借鉴。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Cheynier V, Tomas-Barberan F A, Yoshida K. Polyphenols: From plants to a variety of food and nonfood uses [J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(35): 7589-7594.
- [2] Durazzo A, Lucarini M, Souto E B, et al. Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health [J]. *Phytother Res*, 2019, 33(9): 2221-2243.
- [3] Chen Y, Tseng S H, Lai H S, et al. Resveratrol-induced cellular apoptosis and cell cycle arrest in neuroblastoma cells and antitumor effects on neuroblastoma in mice [J]. *Surgery*, 2004, 136(1): 57-66.
- [4] Baur J A, Sinclair D A. Therapeutic potential of resveratrol: The *in vivo* evidence [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2006, 5(6): 493-506.
- [5] Karlsson J, Emgard M, Brundin P, et al. Trans-resveratrol protects embryonic mesencephalic cells from tert-butyl hydroperoxide: Electron paramagnetic resonance spin trapping evidence for a radical scavenging mechanism [J]. *J Neurochem*, 2000, 75(1): 141-150.
- [6] Marambaud P, Zhao H T, Davies P. Resveratrol promotes clearance of Alzheimer's disease amyloid-beta peptides [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(45): 37377-37382.
- [7] Stervbo U, Vang O, Bonnesen C. A review of the content of the putative chemopreventive phytoalexin resveratrol in red wine [J]. *Food Chem*, 2007, 101(2): 449-457.
- [8] Neves A R, Lucio M, Lima J L, et al. Resveratrol in medicinal chemistry: A critical review of its pharmacokinetics, drug-delivery, and membrane interactions [J]. *Curr Med Chem*, 2012, 19(11): 1663-1681.
- [9] Qiao N, Li M Z, Schlindwein W, et al. Pharmaceutical cocrystals: An overview [J]. *Int J Pharm*, 2011, 419(1/2): 1-11.
- [10] Guan D, Xuan B F, Wang C G, et al. Improving the physicochemical and biopharmaceutical properties of active pharmaceutical ingredients derived from traditional Chinese medicine through cocrystal engineering [J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(12): 2160.
- [11] Thakuria R, Delori A, Jones W, et al. Pharmaceutical cocrystals and poorly soluble drugs [J]. *Int J Pharm*, 2013, 453(1): 101-125.
- [12] Zhou Z Z, Li W Y, Sun W J, et al. Resveratrol cocrystals with enhanced solubility and tabletability [J]. *Int J Pharm*, 2016, 509(1/2): 391-399.
- [13] Pessoa A S, Aguiar G P S, Vladimir Oliveira J, et al. Precipitation of resveratrol-isoniazid and resveratrol-nicotinamide cocrystals by gas antisolvent [J]. *J Supercrit Fluids*, 2019, 145: 93-102.
- [14] Peng B, He H Y, Li M Q, et al. Comparison of the crystal structures and physicochemical properties of novel resveratrol cocrystals [J]. *Acta Crystallogr B*, 2019, 75(Pt 6): 1186-1196.
- [15] Wang L Y, Zhao M Y, Bu F Z, et al. Cocrystallization of amantadine hydrochloride with resveratrol: The first drug-nutraceutical cocrystal displaying synergistic antiviral activity [J]. *Cryst Growth Des*, 2021, 21(5): 2763-2776.

- [16] Tarabasz D, Kukula-Koch W. Palmatine: A review of pharmacological properties and pharmacokinetics [J]. *Phytother Res*, 2020, 34(1): 33-50.
- [17] Zhang Y N, Li Y J, Chang L, *et al*. Improving hygroscopic stability of palmatine chloride by forming a pharmaceutical salt cocrystal of palmatine chloride-gallic acid with neutral molecule [J]. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2021, 66: 102839.
- [18] Long J Y, Song J W, Zhong L, *et al*. Palmatine: A review of its pharmacology, toxicity and pharmacokinetics [J]. *Biochimie*, 2019, 162: 176-184.
- [19] Ekeuku S O, Pang K L, Chin K Y. Palmatine as an agent against metabolic syndrome and its related complications: A review [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 4963-4974.
- [20] Fotović L, Stilić V. Halogenide anions as halogen and hydrogen bond acceptors in iodopyridinium halogenides [J]. *CrystEngComm*, 2020, 22(23): 4039-4046.
- [21] Zhang Y N, Zhang Y F, Chang L, *et al*. Crystalline palmatine saccharinate pharmaceutical salt without reducing solubility and improving its hygroscopic stability with regard to palmatine chloride [J]. *J Mol Struct*, 2021, 1230: 129631.
- [22] Zhang Y J, Li Y G, Liu L, *et al*. Two cocrystal polymorphs of palmatine chloride with racemic hesperetin [J]. *Cryst Growth Des*, 2022, 22(2): 1073-1082.
- [23] Rigaku Oxford Diffraction. *CrysAlisPro: Empirical Absorption Correction Using Spherical Harmonics, Implemented in SCALE3 ABSPACK Scaling Algorithm* [M]. Yarnton: Agilent Technologies Ltd., 2015.
- [24] Sheldrick G M. A short history of SHELX [J]. *Acta Crystallogr A*, 2008, 64(1): 112-122.
- [25] Sheldrick G M. Crystal structure refinement with SHELXL [J]. *Acta Crystallogr C*, 2015, 71(Pt 1): 3-8.
- [26] Katsyuba S A, Vener M V, Zvereva E E, *et al*. Quantification of conventional and nonconventional charge-assisted hydrogen bonds in the condensed and gas phases [J]. *J Phys Chem Lett*, 2015, 6(21): 4431-4436.
- [27] Nechipadappu S K, Reddy I R, Tarafder K, *et al*. Salt/cocrystal of anti-fibrinolytic hemostatic drug tranexamic acid: Structural, DFT, and stability study of salt/cocrystal with GRAS molecules [J]. *Cryst Growth Des*, 2019, 19(1): 347-361.
- [28] Zupančič Š, Lavrič Z, Kristl J. Stability and solubility of *trans*-resveratrol are strongly influenced by pH and temperature [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2015, 93:196-204.
- [29] He H Y, Zhang Q, Wang J R, *et al*. Structure, physicochemical properties and pharmacokinetics of resveratrol and piperine cocrystals [J]. *Cryst Eng Comm*, 2017, 19(41): 6154-6616.

[责任编辑 郑礼胜]