

# 聚乙烯吡咯烷酮抑制葛根素一水合物在溶出过程中向二水合物的转变

仲昭毅<sup>1</sup>, 吴敏<sup>1</sup>, 钱帅<sup>1</sup>, 张建军<sup>2</sup>, 高缘<sup>1\*</sup>

(中国药科大学 1. 中药制剂教研室, 2. 药剂教研室, 江苏 南京 210009)

**摘要:** 葛根素为异黄酮类化合物, 具有抗炎、抗氧化及神经保护的作用, 目前临床上主要用于心脑血管疾病。本文报道了市售葛根素原料药为一水合物, 且该一水合物在饱和溶出过程中葛根素浓度经平台期后显著下降至另一个低的平台。为揭示该现象的内在原因, 对溶出后的剩余固体进行粉末 X 射线衍射 (PXRD)、热重分析和卡尔费休水分测定, 结果表明剩余固体为水溶性更低的葛根素二水合物。此外, 还考察了在溶出介质中加入聚乙烯吡咯烷酮类聚合物 (PVPK12、PVPK30 和 PVPK90) 对葛根素一水合物向二水合物转变的影响, 结果表明聚合物可抑制该转变, 使溶出过程中葛根素浓度维持在更高的水平。

**关键词:** 葛根素; 水合物; 聚合物; 溶出; 转变

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 02-0302-07

## Inhibition of transformation from puerarin monohydrate to puerarin dihydrate by polyvinylpyrrolidones during dissolution

ZHONG Zhao-yi<sup>1</sup>, WU Min<sup>1</sup>, QIAN Shuai<sup>1</sup>, ZHANG Jian-jun<sup>2</sup>, GAO Yuan<sup>1\*</sup>

(1. Department of Traditional Chinese Pharmaceutics, 2. Department of Pharmaceutics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

**Abstract:** Puerarin (PUE), an isoflavone with anti-inflammation, anti-oxidation and neuroprotection effects, has been widely applied to the treatment of cardiovascular diseases in clinics in China. In the current study, we reported that the active pharmaceutical ingredient (API) of marketed products was the PUE monohydrate (PUEMH). During its supersaturated dissolution, the PUE concentration quickly reached a plateau, followed by a gradually concentration decrease to another lower plateau. In order to explore the internal mechanism of above phenomenon, the solid residues after saturated dissolution test were characterized by powder X-ray diffraction (PXRD), thermal gravity analysis (TGA) and Karl Fisher titration (KFT). PXRD suggested that a novel PUE crystal different from PUEMH formed during its dissolution, the following TGA and KFT confirmed the generation of PUE dihydrate (PUEDH) with much lower solubility. Moreover, polyvinylpyrrolidones (PVPK12, PVPK30 and PVPK90) were added in the dissolution medium to investigate their potential inhibition effects on such crystal transformation during dissolution process. We observed that polymers could inhibit the transformation from PUEMH to PUEDH and result in much higher PUE concentration level than that in pure water.

**Key words:** puerarin; hydrate; polymer; dissolution; transformation

收稿日期: 2016-10-19; 修回日期: 2016-11-24.

基金项目: 国家科技重大专项资助项目 (2011ZX09201-101-02); 国家自然科学基金资助项目 (81202988); 中央高校基本科研基金资助项目 (JKP2011006); 江苏省高校品牌专业建设工程资助项目。

\*通讯作者 Tel: 86-13605199029, E-mail: newgaoyuan@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2016-1015

活性药物成分 (API) 的固态相转变 (如形成水合物、溶剂化物和无定形) 对其理化性质 (如溶解度和溶出度等) 有重要的影响。当 API 处于无定形态或多晶型亚稳态时, 可快速溶出产生过饱和态, 提高药物的吸收和生物利用度<sup>[1]</sup>。然而这些亚稳态固体在体内易发生固相转变或过饱和溶液结晶, 形成低溶解

性的稳态晶体而失去快速溶出的优势。有些晶体药物在溶出过程中亦会发生无水物向水合物或一水合物向多水合物的转变, 如茶碱<sup>[2]</sup>、呋喃妥因<sup>[3]</sup>和氨氯地平<sup>[4]</sup>等。水合物或多水合物的形成通常可导致药物溶解度的下降<sup>[5]</sup>, 从而使固体制剂溶出速率减缓。为抑制亚稳态晶体向稳态晶体转变, 通常可在处方中加入聚合物作为结晶状态, 如聚乙烯吡咯烷酮、羟丙甲纤维素琥珀酸酯, 羟丙甲纤维素等加入可延缓非洛地平无定形在水中的转晶而维持较高的过饱和度<sup>[6]</sup>。

葛根素 (puerarin, PUE) 为豆科植物葛根 (*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi.) 的干燥根中提取的异黄酮类化合物, 化学名为 8- $\beta$ -D-葡萄糖吡喃糖-4',7-二羟基异黄酮。研究发现葛根素具有抗炎、抗氧化及神经保护等药理活性, 可用于心脑血管疾病、高血糖症<sup>[7]</sup>、神经性损伤和帕金森<sup>[8]</sup>等疾病的预防与治疗, 临床上以静脉注射给药, 然而在其注射剂的制备中使用了大量的丙二醇用以提高葛根素的溶解度, 长期注射易引起过敏、溶血等不良反应<sup>[9]</sup>, 因此对葛根素口服给药的研究一直是关注热点。目前认为葛根素水溶性差是导致其口服生物利用度低的原因, 并利用各种手段以提高其溶解度和口服生物利用度, 如制备纳晶<sup>[10, 11]</sup>、磷脂复合物<sup>[12]</sup>、自乳化系统<sup>[13]</sup>和脂质纳米粒<sup>[14]</sup>等, 但对葛根素的溶解过程及其水合物的研究一直处于空白。本文发现了市售的葛根素原料药为一水合物 (puerarin monohydrate, PUEMH), 且在其过饱和和溶出过程中形成溶解度更低的二水合物 (puerarin dihydrate, PUEDH)。另外, 还考察了高分子材料聚乙烯吡咯烷酮及其类型 (PVPK12、PVPK30 和 PVPK90) 对延缓或抑制 PUEMH 向 PUEDH 转变过程的影响。

## 材料与方法

**药品和试剂** 葛根素原料 (纯度 99.98%, 浙江震元制药有限公司。经固态表征表明其为一水合物 PUEMH); 甲醇 (色谱纯, Merck 公司); PVPK12、PVPK30 和 PVPK90 (德国 BASF 公司); 实验用水 (Milli-Q 水纯化系统自制, 美国 Millipore 公司); 其他试剂均为分析纯。

**葛根素二水合物的制备** 取过量的葛根素原料药 PUEMH (约 4 g) 于烧杯中, 混悬于 50 mL 水中, 37 °C 下搅拌 72 h, 过滤, 收集固体于 25 °C 真空干燥箱中干燥, 过 80 目筛, 贮存于干燥器中, 备用。采用 MettlerTolodo V20 卡尔费休水分测定仪 (瑞士

MettlerTolodo International Inc. 公司) 对样品水分进行确认, 考察了烘干时间对水分的影响。将 PUEMH 和 PUEDH 在 25 °C 真空干燥箱中干燥 24、48、72 和 96 h 后测定样品中的水分含量。干燥 48 h 后含水量处于平稳状态, 表明游离水已经被除去。

### 固态表征

**热重分析法 (TGA)** 采用 TG209C 热重分析仪 (德国 NETZSCH-Gerätebau GmbH 公司)。样品置铝制样品池中, 升温速度为 10 °C·min<sup>-1</sup>, 升温范围为 25~300 °C。数据使用 PerkinElmer Thermal Analysis 软件进行处理。

**粉末 X 射线衍射法 (PXRD)** 分别将样品过 200 目筛, 通过 D8 Advance 粉末 X 射线衍射仪 (德国 Bruker Scientific Inc. 公司) 进行分析, 采用 Cu-K $\alpha$  靶, 波长为 1.5406 Å, 管电压、管电流分别为 40 kV、40 mA, 步长为 0.02°, 扫描速度为 4°·min<sup>-1</sup>, 扫描范围为 3~40°/2 $\theta$ 。

**差示扫描量热分析 (DSC)** 采用 Pyris 1 DSC (美国 PerkinElmer 公司) 对 PUEMH 和 PUEDH 进行分析。将样品置于一个敞口的铝制坩埚中, 在室温下对坩埚进行平衡, 升温速度为 10 °C·min<sup>-1</sup>, 所得到的数据使用 NETZSCH-Proteus 热分析软件 (Version 4.2) 进行处理。

**傅里叶变换红外光谱 (FT-IR)** 采用 Nicolet Impact 410 FT-IR 分光光度计 (美国 Thermo Fisher Scientific Inc. 公司)。将样品与 KBr 压成薄片, 在 400~4000 cm<sup>-1</sup> 内扫描。数据经 Nicolet Omnic 红外光谱软件 (Version 8.0) 处理。

**拉曼光谱 (Raman)** 将 PURMH 和 PURDH 分别用激光共聚焦拉曼光谱仪 (日本 LabRAM HR Evolution 公司) 进行扫描。光谱范围 500~2000 cm<sup>-1</sup>, 光谱分辨率为 1 cm<sup>-1</sup>, 激光激发波长为 800 nm, 高速光栅尺步长为 100 nm。

**扫描电子显微镜 (SEM)** 用扫描电子显微镜 (Sigma HD, 德国 Zeiss 公司) 分别观察葛根素两种固体形态的晶型。将 PURMH 和 PURDH 置于样品台上, 进行喷金镀膜处理 (厚度 $\approx$ 15~20 nm), 置于扫描电镜下观察, 工作电压为 0.800 kV。

**两种水合物在水中的过饱和和溶出** 按照《中国药典》2015 版四部通则 0931 第三法 (小杯法) 装置, 在 37 °C 条件下进行 PUEMH 过饱和和溶出实验, 以 200 mL 水为溶出介质, 转速为 100 r·min<sup>-1</sup>, 将过量的 PUEMH 和 PUEDH (约 2 g) 投入溶出介质中, 分别于 0.167、0.5、1、2、4、6、8、12、24 及 48 h 取样

3 mL, 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤, 续滤液经流动相适当稀释后通过以下高效液相色谱法 (HPLC) 测定 PUE 浓度, 各组实验平行 3 次。采用 Shimadzu LC-2010AHT HPLC 系统 (日本 Shimadzu Corporation 公司), 色谱柱为 Inertsil ODS-SP  $\text{C}_{18}$  柱 (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), 柱温设为 30  $^{\circ}\text{C}$ , 流动相为 35% 甲醇水溶液, 流速为 1.0 mL $\cdot\text{min}^{-1}$ , 检测波长设为 250 nm。在该色谱条件下, PUE 的保留时间为 4.8 min, 在 6~14  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  浓度内与色谱峰面积呈良好的线性关系 ( $r^2 = 0.9995$ ), 日内日间精密度 RSD 小于 3.7%, 准确度在 98.5%~102.0% 之间。

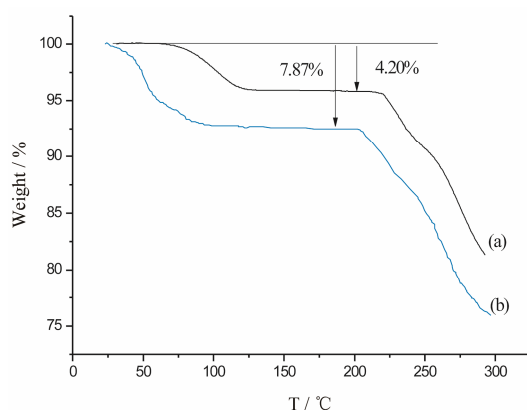
在 37  $^{\circ}\text{C}$  条件下重复进行 PUEMH 的过饱和和溶出实验, 考察过饱和和溶出过程中的晶型转变。分别于 1、4、8 和 24 h 抽取混悬液, 抽滤, 得到的固体糊状物置 25  $^{\circ}\text{C}$  真空干燥箱中, 所得干燥样品过 80 目筛后进行粉末 X 射线衍射、卡尔费休水分测定等分析。

**聚合物对 PUEMH 过饱和溶出的影响** 按照《中国药典》2015 版四部通则 0931 第三法 (小杯法) 装置, 在 37  $^{\circ}\text{C}$  条件下进行过饱和和溶出实验。分别以 PVPK12、PVPK30 和 PVPK90 水溶液 200 mL 为溶出介质, 转速为 100  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 投入过量的 PUEMH (约 2 g), 分别于 0.167、0.5、1、2、4、6、8 和 12 h 取样考察 3 种聚合物对 PUEMH 过饱和和溶出过程的影响。重复进行此实验, 分别于 1、2、4、8 和 12 h 抽取混悬液, 抽滤, 得到的固体糊状物置 25  $^{\circ}\text{C}$  真空干燥箱, 所得干燥样品用卡尔费休水分测定法分析。

## 结果与讨论

### 1 固态表征

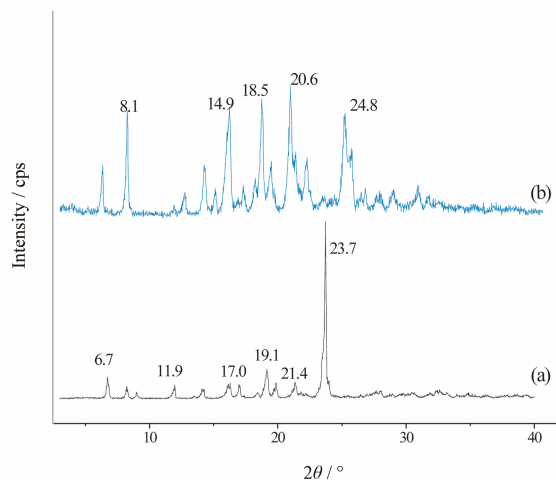
**1.1 葛根素原料和经水混悬干燥后固体的水分测定** 葛根素原料药和经水混悬干燥后固体进行 TGA, 结果如图 1 所示。葛根素原料药 (图 1a) 从 75 至 125  $^{\circ}\text{C}$  发生第 1 次失重, 失重比例为 4.20%; 而经水混悬干燥后固体 (图 1b) 从 50 至 110  $^{\circ}\text{C}$  发生第 1 次失重, 失重比例为 7.87%。随着温度升高, 两者均在 210  $^{\circ}\text{C}$  左右发生第 2 次失重, 可能是由于降解引起。经卡尔费休法测定葛根素原料药和经水混悬干燥后固体的水分含量分别为 4.37% 和 8.42%, 这与它们在 TGA 中第 1 次失重的比例基本一致, 根据比重计算水分子与药物摩尔比表明它们分别为葛根素一水合物与葛根素二水合物。与卡尔费休法测得的水分含量相比, TGA 测得的水分失重略低, 这很可能是由于热重分析仪运行前会在初始时通干燥的氮气流, 使样品表面的



**Figure 1** Thermal gravity analysis curves of puerarin monohydrate (a) and puerarin dihydrate (b)

吸附水失去。

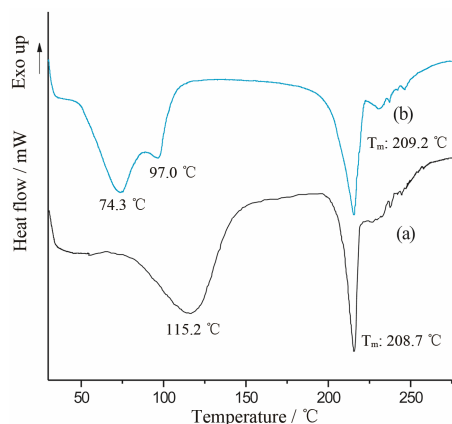
**1.2 粉末 X 射线衍射法** 葛根素原料 (PUEMH) 及制备得到的 PUEHD 的 PXRD 图谱如图 2 所示。PUEMH (图 2a) 在  $2\theta = 6.73^{\circ}$ 、 $8.2^{\circ}$ 、 $9.0^{\circ}$ 、 $11.9^{\circ}$ 、 $13.5^{\circ}$ 、 $14.2^{\circ}$ 、 $16.2^{\circ}$ 、 $17.0^{\circ}$ 、 $18.4^{\circ}$ 、 $19.1^{\circ}$ 、 $19.9^{\circ}$ 、 $21.4^{\circ}$ 、 $23.4^{\circ}$ 、 $23.7^{\circ}$  和  $24.0^{\circ}$  处具有特征衍射峰, 表明其具有高度的结晶状态, 与文献所述一致<sup>[15, 16]</sup>。PURDH (图 2b) 的特征衍射峰为  $6.2^{\circ}$ 、 $8.1^{\circ}$ 、 $11.7^{\circ}$ 、 $12.5^{\circ}$ 、 $14.1^{\circ}$ 、 $14.9^{\circ}$ 、 $16.0^{\circ}$ 、 $17.0^{\circ}$ 、 $18.0^{\circ}$ 、 $18.5^{\circ}$ 、 $19.1^{\circ}$ 、 $20.6^{\circ}$ 、 $21.0^{\circ}$ 、 $21.9^{\circ}$ 、 $24.8^{\circ}$ 、 $25.3^{\circ}$ 。与 PUEMH 相比, PUEHD 的 PXRD 中峰的数目、位置和强度均有明显不同, 最大的差别在于 PURMH 中强度为 100% 的特征衍射峰 ( $23.7^{\circ}$ ) 消失。



**Figure 2** Powder X-ray diffraction patterns of puerarin monohydrate (a) and puerarin dihydrate (b)

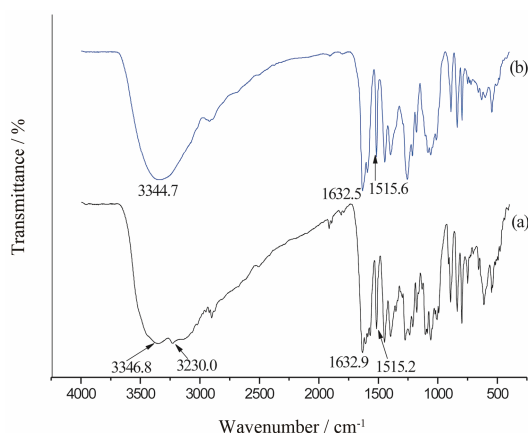
**1.3 差示扫描量热分析** PUEMH 及 PUEHD 的 DSC 图谱如图 3 所示。由图可知, PURMH 的 DSC 图谱 (图 3a) 上有两个吸热峰, 其中, 115.2  $^{\circ}\text{C}$  处宽的吸热峰为脱水峰, 这与 TGA 在 75~125  $^{\circ}\text{C}$  的第 1 次失重相符,

208.7 °C处尖锐的吸热峰为 PUEMH 脱一分子水后形成 PUE 的熔点, 与文献所述一致<sup>[16]</sup>。PUEDH 有两个脱水峰, 分别位于 74.3 °C和 97.0 °C, 与 TGA 在 50~110 °C的第1次失重相符, 209.2 °C处吸热峰为PUEDH 脱去两分子水后形成 PUE 的熔点。



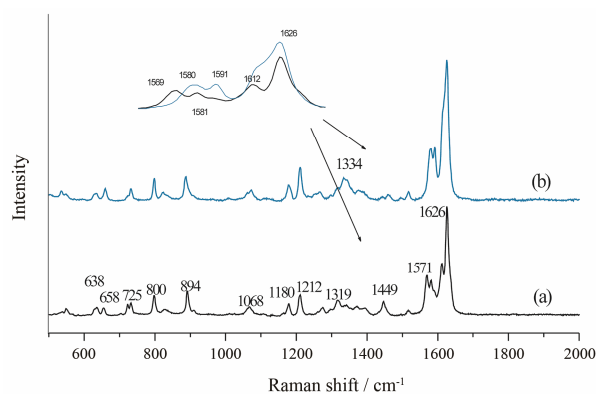
**Figure 3** Differential scanning calorimetry thermograms of puerarin monohydrate (a) and puerarin dihydrate (b)

**1.4 傅里叶变换红外光谱** PUEMH 及 PUEDH 的 FT-IR 图谱如图 4 所示。PUEMH 的 FT-IR 图谱 (图 4a) 中, 3346.8 和 3230.0  $\text{cm}^{-1}$  处为 O-H 的伸缩振动峰, 1632.9  $\text{cm}^{-1}$  处为 C=O 的特征伸缩振动峰, 与文献报道一致<sup>[17,18]</sup>。与 PUEMH 相比, PUEDH 的 FT-IR 图 (图 4b) 中, 仅有 1 个峰形更宽的吸收振动峰 (3344.7  $\text{cm}^{-1}$ ), 可能是因为两个吸收峰发生重合或晶格中新加入的水分子造成的。与 PURMH 相比, 其余的伸缩振动峰 (如 C=O 吸收峰在 1632.5  $\text{cm}^{-1}$  处, C 伸缩振动峰在 1515.6  $\text{cm}^{-1}$  处, PURMH 为 1515.2  $\text{cm}^{-1}$ ) 位移较小, 仅峰形宽化, 这可能是由于 PUEDH 中氢键的作用方式不同于 PUEMH。



**Figure 4** Fourier transform infrared spectroscopy spectra of puerarin monohydrate (a) and puerarin dihydrate (b)

**1.5 拉曼光谱** PUEMH 和 PUEDH 两种水合物的 Raman 光谱如图 5 所示, PUEMH 强度最大的峰 1626  $\text{cm}^{-1}$  为苯环上 C=C<sub>ring</sub> 和 C=O 伸缩振动的混合峰, 1571 和 1449  $\text{cm}^{-1}$  为 O-H 弯曲振动峰, 1300~1400  $\text{cm}^{-1}$  区为 C-H 的伸缩振动, 1068 和 1319  $\text{cm}^{-1}$  区为 C-O 的伸缩振动, 894 和 800  $\text{cm}^{-1}$  苯环 C-C 的伸缩振动, 725  $\text{cm}^{-1}$  为 C-H 弯曲振动, 658 和 638  $\text{cm}^{-1}$  为 O-H 面外弯曲振动, 这与文献报道一致<sup>[19]</sup>。



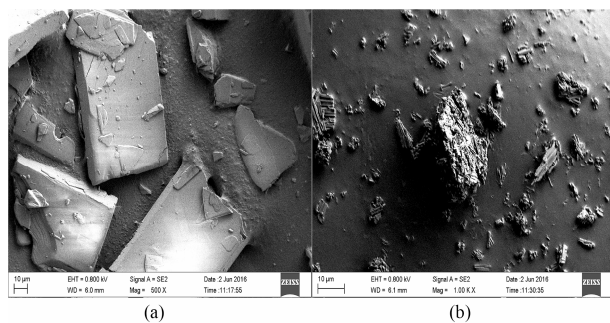
**Figure 5** Raman spectra of puerarin monohydrate (a) and puerarin dihydrate (b)

与 PUEMH 相比, PURDH 结构中的对称振动峰如苯环上 C=C<sub>ring</sub>、C-C 未见任何变化, 表明 PUE 的 C-C 骨架环境未发生变化; 而 PURDH 中非对称振动峰发生较大的位移, 如 O-H 弯曲振动峰蓝移至 1580 和 1591  $\text{cm}^{-1}$  处, 1612  $\text{cm}^{-1}$  处的 C=O 伸缩振动亦发生蓝移而被 C=C<sub>ring</sub> 包含, 这可能是在 PUEMH 形成 PUEDH 的过程中由于水分子的介入与原有 PUEMH 中的氢键给予体 (如-OH) /受体 (如 C=O) 之间发生氢键作用, 使药物分子内部极性基团的环境发生改变所致。

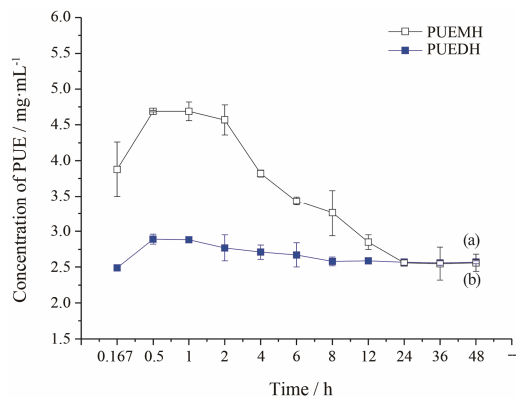
**1.6 电子扫描电镜** PURMH 和 PURDH 两种水合物的 SEM 如图 6 所示, PURMH (图 6a) 为板状晶体, 表面光滑; 而 PURDH (图 6b) 为细条状, 呈簇排列。推测这可能是在混悬液法制备 PUEDH 过程中, PUEMH 先溶解后再析出溶解度更小的 PUEDH 晶体, 而非在 PUEMH 晶体的晶格中直接插入水分子形成更大晶体的 PUEDH。另外, 室温下将 PUEMH 置于高湿环境 (92.5% RH, 饱和硝酸钾溶液) 中 15 天, 经 PXRD 及卡尔费休法测定表明 PUEMH 吸湿后并未形成结晶水转化成 PUEDH, 这也从另一个侧面表明 PUEDH 是由于 PUEMH 先溶解再析出而形成。

## 2 在水中过饱和条件下的溶出

PUEMH 及 PUEDH 在水中的溶出曲线如图 7 所



**Figure 6** Scanning electron microscopy images of puerarin monohydrate (a) and puerarin dihydrate (b)

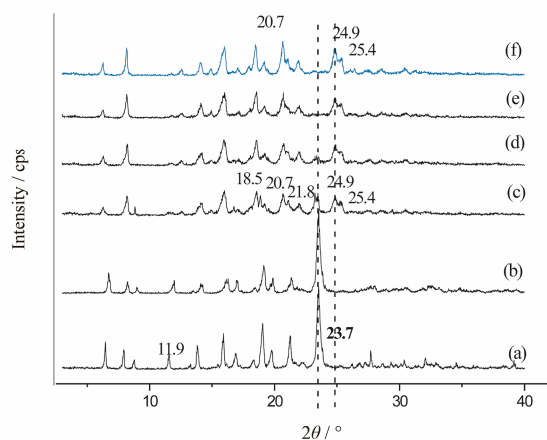


**Figure 7** Dissolution profiles of puerarin (PUE) monohydrate (PUEMH, a) and puerarin dihydrate (PUEDH, b) in water ( $n=3$ ) at 37 °C

示, 在 30 min 时过量 PUEMH 溶出过程中达到第一个 PUE 浓度平台, 从 2 h 开始 PUE 的浓度呈显著下降趋势, 并在 24 h 后达到第二个浓度平台, 平衡质量浓度为  $2.56 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。而过量 PUEDH 在溶出过程中于 1 h 左右即达到 PUE 的最大浓度, 随后维持稳定, 且达到的平衡浓度与 PUEMH 的相近。PUEMH 在溶出过程中 PUE 浓度先升高后降低至平衡的现象很可能是由于其转化成溶解度更低的 PUEDH 所引起。为验证这一假设, 在 PUEMH 溶出过程中取样并进行 PXRD 表征及卡尔费休水分测定。

PUEMH 在过饱和溶出的不同时间点取样真空干燥后 PXRD 结果如图 8 所示。随着溶出时间的延长, PUEMH 最强吸收的特征衍射峰 ( $2\theta=23.7^\circ$ ) 强度逐渐降低, 在 24 h 时完全消失; 此外, 在 PUEMH 溶出 2 h 时, 在  $2\theta$  为  $24.8^\circ$  与  $25.3^\circ$  处出现了两个新的衍射峰, 且强度随着时间逐渐增强。在溶出 24 h 后的残留物经干燥后 PXRD 与 PUEDH 一致, 表明 PUEMH 在溶出过程中不断向二水合物 PUEDH 转变。

除 PXRD 表征外, 还对 PUEMH 过饱和溶出过程中的残留物采用卡尔费休法进行水分测定, 见表 1。结果表明, PUEMH 晶体在溶出过程中的含水量不断



**Figure 8** Powder X-ray diffraction (PXRD) patterns of puerarin monohydrate during its supersaturated dissolution. PXRD patterns showing, from bottom to top, (a) 0 h; (b) 1 h; (c) 4 h; (d) 8 h; (e) 24 h; (f) puerarin dihydrate

**Table 1** Water content of residues during supersaturated dissolution of PUEMH.  $n=3, \bar{x} \pm s$

Sample	Water content/%	H <sub>2</sub> O/mol·L <sup>-1</sup>
PUEMH 0 h	$4.37 \pm 0.23$	$1.06 \pm 0.06$
1 h	$5.33 \pm 0.28$	$1.30 \pm 0.07$
4 h	$8.06 \pm 0.36$	$1.95 \pm 0.09$
8 h	$8.12 \pm 0.33$	$1.97 \pm 0.08$
24 h	$8.52 \pm 0.30$	$2.07 \pm 0.07$
PUEDH	$8.42 \pm 0.32$	$2.04 \pm 0.08$

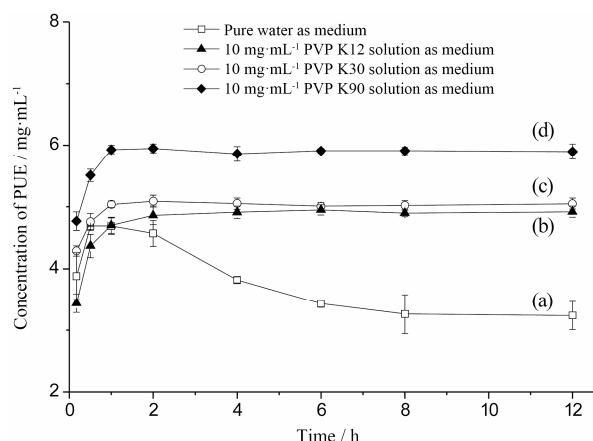
增加, 在 24 h 时, 与 PUEDH 的结晶水含水量一致, 表明 PUEMH 在溶出过程中不断向 PUEDH 转化, 这与 PXRD 的结果吻合。

### 3 聚合物对 PUEMH 过饱和溶出的影响

37 °C 条件下 PUEMH 在不同型号  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  PVP 水溶液中的过饱和和溶出曲线如图 9 所示, 与 PUEMH 在纯水中先升高后降低的溶出曲线相比, 溶出介质中加入聚合物 PVP 后, PUEMH 在 1 h 左右迅速达到平稳的溶出平台, 且随后 PUE 的浓度维持不变, 其中 PVPK90 为溶出介质的 PUE 平衡浓度达到最高, 为在水中的 1.8 倍。

将 PUEMH 过饱和和溶出过程中的残留固体真空干燥, 并采用卡尔费休法进行含水量测定, 见表 2。结果表明, 在含有聚合物 PVP 的溶出介质中, 残留固体的含水量在 12 h 溶出过程中未发生变化, 结晶水数目仍为 1, 即 PUEMH。因此, PVPK12、PVPK30 和 PVPK90 可延缓或抑制 PUEMH 在溶出过程中向 PUEDH 转变。

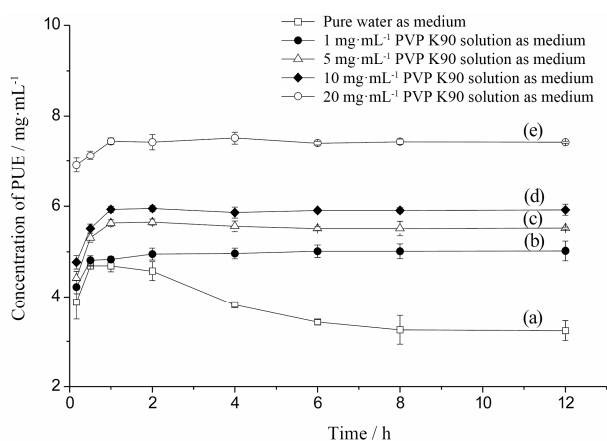
PUEMH 在不同浓度 PVPK90 溶液中的溶出曲线如图 10 所示。与 PUEMH 在纯水中 (图 10a) 相比, 溶出介质中加入不同浓度的聚合物 PVPK90 后,



**Figure 9** Dissolution profiles of puerarin monohydrate in presence or absence of polyvinylpyrrolidone (PVPs). Medium: Pure water (a); 10 mg·mL<sup>-1</sup> PVPK12 solution (b); 10 mg·mL<sup>-1</sup> PVPK30 solution (c); 10 mg·mL<sup>-1</sup> PVPK90 solution (d)

PUEMH 均在 1 h 左右迅速达到平稳的溶出平台, 且随后 PUE 的浓度维持不变, 其中 20 mg·mL<sup>-1</sup> PVPK90 为溶出介质时 PUE 平衡浓度达到最高, 为纯水中的 2.7 倍。

在最初的过饱和溶出过程中, 少量的 PUEMH 晶体在水中溶解解离形成 PUE 分子, 随着 PUEMH 的不断溶解达到 PUEMH 晶体与热力学不稳定的 PUE 过饱和溶液共存的平衡体系, 当 PUE 分子与两分子水结合形成溶解度更低的 PUEDH 晶核, 不断长大析

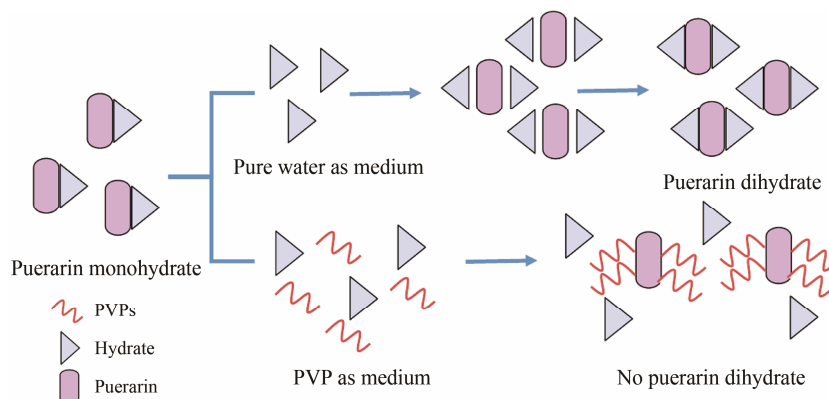


**Figure 10** Dissolution profiles of puerarin monohydrate in presence or absence of PVPK90. Medium: Pure water (a); 1 mg·mL<sup>-1</sup> PVPK90 solution (b); 5 mg·mL<sup>-1</sup> PVPK90 solution (c); 10 mg·mL<sup>-1</sup> PVPK90 solution (d); 20 mg·mL<sup>-1</sup> PVPK90 solution (e)

出 PUEDH 晶体, 上述共存平衡体系被打破, 溶解平衡向析出 PUEDH 晶体的方向移动, 在溶解 PUEMH 的同时不断析出溶解度更低的 PUEDH, 直至 PUEMH 完全溶解。当溶出介质中加入聚合物 PVPs 后, 溶解的 PUE 分子可能与聚合物分子之间形成分子间作用力 (如氢键)<sup>[20, 21]</sup>, 占据了 PUE 与水形成氢键的位置, 从而不形成 PUEDH 晶核而保持 PUEMH 晶体与过饱和 PUE 溶液共存的体系, 使得最终残留固体为 PUEMH 晶体 (图 11)。

**Table 2** Water content determination of puerarin hydrates in the presence of various PVP by Karl Fisher titration (KFT) after vacuum-dried at different times.  $n=3, \bar{x} \pm s$

Time/h	PVPK12		PVPK30		PVPK90	
	Water content/%	H <sub>2</sub> O/mol·L <sup>-1</sup>	Water content/%	H <sub>2</sub> O/mol·L <sup>-1</sup>	Water content/%	H <sub>2</sub> O/mol·L <sup>-1</sup>
1	4.37 ± 0.23	1.08 ± 0.06	4.12 ± 0.25	1.02 ± 0.06	4.04 ± 0.23	0.99 ± 0.06
2	4.31 ± 0.34	1.07 ± 0.06	4.43 ± 0.54	1.10 ± 0.14	4.08 ± 0.34	1.00 ± 0.08
4	4.58 ± 0.38	1.13 ± 0.06	4.29 ± 0.29	1.08 ± 0.07	4.12 ± 0.39	1.02 ± 0.10
8	4.16 ± 0.47	1.03 ± 0.06	4.23 ± 0.44	1.05 ± 0.11	4.14 ± 0.42	1.02 ± 0.10
12	4.45 ± 0.54	1.10 ± 0.06	4.31 ± 0.28	1.07 ± 0.07	4.18 ± 0.32	1.04 ± 0.08



**Figure 11** Schematic illustration of potential mechanism for inhibition of the transformation from PUEMH to PUEDH by PVPs during dissolution

## 结论

本研究首次发现了葛根素原料为一水合物, 且在水中可向溶解度更低的二水合物转变。聚乙烯吡咯烷酮类聚合物的加入可有效抑制/延缓该转变, 为葛根素口服制剂的研究提供了重要的理论基础。

## References

- [1] Brouwers J, Brewster ME, Augustijns P. Super saturating drug delivery systems: the answer to solubility-limited oral bioavailability? [J]. *J Pharm Sci*, 2009, 98: 2549–2572.
- [2] De Smidt JH, Fokkens JG, Grijseels H, et al. Dissolution of theophylline monohydrate and anhydrous theophylline in buffer solutions [J]. *J Pharm Sci*, 1986, 75: 497–501.
- [3] Otsuka M, Teraoka R, Matsuda Y. Rotating-disk dissolution kinetics of nitrofurantoin anhydrate and monohydrate at various temperatures [J]. *Pharm Res*, 1992, 9: 307–311.
- [4] Aaltonen J, Heinänen P, Peltonen L, et al. *In situ* measurement of solvent-mediated phase transformations during dissolution testing [J]. *J Pharm Sci*, 2006, 95: 2730–2737.
- [5] Imaizumi H, Nambu N, Nagai T. Stability and several physical properties of amorphous and crystalline form of indomethacin [J]. *Chem Pharm Bull*, 1980, 28: 2565–2569.
- [6] Konno H, Taylor LS. Ability of different polymers to inhibit the crystallization of amorphous felodipine in the presence of moisture [J]. *Pharm Res*, 2008, 25: 969–978.
- [7] Shen ZF, Xie MZ. Hypoglycemic effect of the combined use of puerarin and aspirin in mice [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 1985, 20: 863–865.
- [8] Zhang B, Wei XB, Liu HQ, et al. Protective effects of hydroxyethylpuerarin against brain astrocytes injury induced by hydrogen peroxide [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2006, 41: 171–174.
- [9] Zhou YX, Zhang H, Peng C. Puerarin: a review of pharmacological effects [J]. *Phytother Res*, 2014, 28: 961–975.
- [10] Tu L, Yi Y, Wu W, et al. Effects of particle size on the pharmacokinetics of puerarin nanocrystals and microcrystals after oral administration to rat [J]. *Int J Pharm*, 2013, 458: 135–140.
- [11] Li S, Yue J, Zhou W, et al. An investigation into the preparation, characterization and antioxidant activity of puerarin/cyclodextrin inclusion complexes [J]. *Mol Recognit Chem*, 2015, 82: 453–460.
- [12] Li Y, Pan WS, Chen SL, et al. Pharmacokinetic, tissue distribution, and excretion of puerarin and puerarin-phospholipid complex in rats [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2006, 32: 413–422.
- [13] Luo CF, Yuan M, Chen MS, et al. Pharmacokinetics, tissue distribution and relative bioavailability of puerarin solid lipid nanoparticles following oral administration [J]. *Int J Pharm*, 2011, 410: 138–144.
- [14] Quan D, Xu G, Wu X. Studies on preparation and absolute bioavailability of a self-emulsifying system containing puerarin [J]. *Chem Pharm Bull*, 2007, 55: 800–803.
- [15] Xie J, Yang F, Shi X, et al. Improvement in solubility and bioavailability of puerarin by mechanochemical preparation [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2013, 39: 826–835.
- [16] Li Y, Yang DJ, Chen SL, et al. Comparative physicochemical characterization of phospholipids complex of puerarin formulated by conventional and supercritical methods [J]. *Pharm Res*, 2008, 25: 563–577.
- [17] Tao H, Meng Q, Li M, et al. HP- $\beta$ -CD-PLGA nanoparticles improve the penetration and bioavailability of puerarin and enhance the therapeutic effects on brain ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2013, 386: 61–70.
- [18] Chen AZ, Li Y, Chau FT, et al. Application of organic nonsolvent in the process of solution-enhanced dispersion by supercritical CO<sub>2</sub> to prepare puerarin fine particles [J]. *J Supercrit Fluids*, 2009, 49: 394–402.
- [19] Wong KH, Razmovski-Naumovski V, Li KM, et al. The quality control of two Pueraria species using Raman spectroscopy coupled with partial least squares analysis [J]. *J Raman Spectrosc*, 2015, 46: 361–368.
- [20] Lovette MA, Browning AR, Griffin DW, et al. Crystal shape engineering [J]. *Ind Eng Chem Res*, 2008, 47: 9812–9833.
- [21] Raghavan SL, Trividic A, Davis AF, et al. Crystallization of hydrocortisone acetate: influence of polymers [J]. *Int J Pharm*, 2001, 212: 213–221.