

晶体工程改善硝苯地平光稳定性研究

孟欣, 邹瑶, 刘梅菊, 邢逞, 龚宁波*, 吕扬

(北京协和医学院、中国医学科学院药物研究所, 晶型药物研究北京市重点实验室, 北京 100050)

摘要: 为改善硝苯地平光稳定性差的问题, 本研究基于晶体工程原理设计共晶并采用悬浮液法制备得到硝苯地平-咪唑新共晶。利用粉末X-射线衍射法、红外光谱法、差示扫描量热法、热重分析法对新共晶进行表征, 确证共晶物质的形成。使用粉末X-射线衍射法与高效液相色谱法考察了硝苯地平原料和共晶的光稳定性。结果表明, 硝苯地平-咪唑共晶在一定程度上改善了硝苯地平的光敏性。本研究为硝苯地平共晶开发以及成药性改善提供指导。

关键词: 晶体工程; 硝苯地平; 共晶; 表征; 光稳定性

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2024)12-3374-05

Study on improving the photostability of nifedipine by crystal engineering

MENG Xin, ZOU Yao, LIU Mei-ju, XING Cheng, GONG Ning-bo*, LÜ Yang

(Beijing Key Laboratory of Polymorphic Drugs, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: In order to improve the poor photostability of nifedipine, this study designed a cocrystal based on the principles of crystal engineering and prepared nifedipine-imidazole cocrystal by suspension method. The new cocrystal was characterized by powder X-ray diffraction (PXRD), differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetric analysis (TG) and infrared spectroscopy (IR) to confirm the formation of the cocrystal. The photostability of nifedipine and its cocrystal was measured by powder X-ray diffraction and high-performance liquid chromatography (HPLC). The results showed that the nifedipine-imidazole cocrystal improved the photostability of nifedipine to a certain extent. This study provides guidance for the development of nifedipine cocrystals and the improvement of its druggability.

Key words: crystal engineering; nifedipine; cocrystal; characterization; photostability

“晶体工程”是现代化学中一个蓬勃发展的研究领域, 是将超分子化学的原理和方法应用于晶体的设计与生长, 在一系列分子识别和有序组装过程的共同作用下, 得到结构可调并具有特定理化性质与功能的新晶体^[1,2]。21世纪以来, 药物固态化学研究逐渐成为晶体工程研究的一个活跃领域。药物共晶作为一个重要的分支, 可以通过合理设计与构建超分子合子来调节

原料药的结晶状态, 在不损害原料药生物活性的前提下改善药物的溶解度、生物利用度、稳定性等理化性质。近年来, 药物共晶技术在老药新用、多药联用和改进药物成药性方面发挥了重要的作用并获得了巨大的成功^[3-7]。

硝苯地平 (nifedipine, 图 1a) 化学结构为 1,4-二氢-2,6-二甲基-4-(2-硝基苯基)-3,5-吡啶二羧酸二甲酯, 是第一代二氢吡啶类钙通道阻滞剂, 具有扩张外周血管的作用, 主要用于治疗高血压、心绞痛等心血管疾病^[8,9]。硝苯地平由德国拜耳公司首次研发, 临床应用中发现硝苯地平普通片易引起血压下降过快、过低, 从

收稿日期: 2024-07-22; 修回日期: 2024-09-05.

基金项目: 北京市自然科学基金 (7222261); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (2022-I2M-1-015).

*通讯作者 Tel: 86-10-63030566, E-mail: gnb@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2024-0701

而诱发一系列疾病,故改用硝苯地平缓释片^[10],在血浆中的治疗浓度为25~100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ^[11]。原研药物制剂中的主要晶型是稳定型 α 晶型,难溶于水且具有较高的光敏感性^[12],给临床用药带来很大困扰。

为改善硝苯地平光稳定性差的问题,作者开展了硝苯地平的共晶研究工作。文献^[13-17]调研发现,硝苯地平已有 α 、 β 、 β' 、 γ 、 γ' 、 δ 、无定形、二水合物、DMSO合物、DMA合物、DMF合物、甲醇合物、四氢呋喃合物等多种晶型和溶剂合物报道。Hatanaka等^[18]基于晶体工程的原理,通过喷雾干燥技术制备了硝苯地平和酮康唑的共无定形,该药-药共晶在很大程度上提高了两种疏水性化合物的溶解度和渗透性。利用共晶制备技术,硝苯地平还可以与瑞舒伐他汀钙以1:1/2:1的比例制成共无定形,用于改善其稳定性和溶解度^[19]。通过文献^[20-22]调研可知,硝苯地平光降解反应的本质是经过分子内的氧化还原反应,得到4-(2-亚硝基苯基)吡啶等一系列二氢吡啶环芳构化衍生物的过程。本研究试图通过构建硝苯地平-NH-基团与咪唑(imidazole,图1b)叔胺基团的氢键合分子,抑制二氢吡啶环的氧化过程,进而达到改善硝苯地平光稳定性的目的。

本文采用晶 α 型硝苯地平原料药,通过悬浮液法制备得到硝苯地平-咪唑共晶;利用粉末X-射线衍射法、红外光谱法、差示扫描量热法、热重分析法对新共晶进行表征,确证共晶物质的形成;并通过粉末X-射线衍射法与高效液相色谱法考察了硝苯地平原料和共晶的光稳定性,以期对硝苯地平共晶药物的开发及成药性评价提供指导。

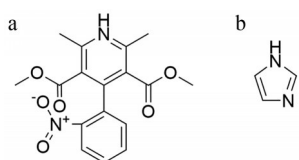


Figure 1 Molecular structures of nifedipine (a) and imidazole (b)

材料与amp;方法

仪器 粉末X-射线衍射仪(Smartlab型,日本理学公司);差示扫描量热仪(DSC1型);热重分析仪(TGA/DSC1型)和电子天平(XS105 DualRange型),瑞士Mettler Toledo公司;傅里叶变换红外光谱仪(Spectrum 400型,美国PerkinElmer公司);集热式恒温加热磁力搅拌器(DF-101S型,郑州长城科工贸有限公司);电热鼓风干燥箱(DHG-9035A型)和药品稳定性试验箱(LHH-SG型),上海一恒科学仪器有限公司;高效液相色谱仪(Agilent 1200型,美国Agilent公司)。

试药 硝苯地平(批号:20220614,纯度 $\geq 98\%$),

武汉远成科技发展有限公司;咪唑(批号:20220506,纯度 $\geq 98\%$),国药集团化学试剂有限公司;实验中使用的溶剂均为分析纯,实验用水为纯净水。

样品制备 称取硝苯地平、咪唑各1 mmol,置于西林瓶中,加入乙酸乙酯3 mL,在室温、转速300 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下搅拌48 h,置于电热鼓风干燥箱中40 $^{\circ}\text{C}$ 条件下干燥12 h即得。

粉末X-射线衍射法 分别称取硝苯地平、咪唑、共晶各50 mg,研磨过筛后上机测试。测试条件为:CuK α 靶电压40 kV、电流150 mA,2 θ 扫描范围3 $^{\circ}$ ~40 $^{\circ}$,步长0.02 $^{\circ}$,扫描速度为8 $^{\circ}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

差示扫描量热法 分别精密称取硝苯地平、咪唑和共晶各3~5 mg,在30~200 $^{\circ}\text{C}$ 温度内测试差示扫描量热曲线,气氛为静态空气,升温速率为10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

热重分析法 精密称取硝苯地平-咪唑共晶约10 mg,升温速率为5 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$,在30~500 $^{\circ}\text{C}$ 升温区间内测定失重曲线,气氛为氮气,流速为50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

红外光谱分析法 分别称取硝苯地平、咪唑、共晶各2 mg,采用衰减全反射法记录光谱数据,光谱扫描范围为4 000~400 cm^{-1} ,扫描次数为16次,分辨率为4 cm^{-1} 。

光稳定性研究 根据中国药典(2020年版)药物稳定性试验方法,称取硝苯地平原料和共晶样品各50 mg,储存于药品稳定性试验箱,在光照强度(4 500 \pm 500) lx条件下考察样品光稳定性,并于第0、5、10天对样品进行粉末X-射线衍射分析;同时,定量称取约5 mg的原料和硝苯地平-咪唑共晶样品,用甲醇定容至50 mL,选用Agilent 1200型高效液相色谱仪进行含量测定。色谱条件:Eclipse XRD-C18色谱柱(4.6 mm \times 250 mm,5 μm);流动相为甲醇-水(65:35);流速为1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;检测波长为235 nm;柱温为30 $^{\circ}\text{C}$;进样量为10 μL 。

结果

1 粉末X-射线衍射分析

粉末X射线衍射分析是多晶粉末进行物相鉴别的权威方法,衍射图谱具有特征性,衍射峰位置、强度、拓扑形状变化可用于晶型药物的定性、定量分析^[23,24]。硝苯地平、咪唑及其共晶的粉末X-射线衍射图谱见图2。与原料比较可知,在硝苯地平-咪唑的粉末X-射线衍射图谱中,属于硝苯地平的2 θ 为8.12 $^{\circ}$ 、11.84 $^{\circ}$ 、16.24 $^{\circ}$ 、17.14 $^{\circ}$ 、19.64 $^{\circ}$ 、22.74 $^{\circ}$ 、25.92 $^{\circ}$ 的特征峰消失,属于咪唑的2 θ 为20.46 $^{\circ}$ 、20.74 $^{\circ}$ 、26.06 $^{\circ}$ 、30.84 $^{\circ}$ 的特征峰消失,而在2 θ 为10.72 $^{\circ}$ 、12.62 $^{\circ}$ 、14.34 $^{\circ}$ 、14.86 $^{\circ}$ 、18.64 $^{\circ}$ 、20.22 $^{\circ}$ 、21.48 $^{\circ}$ 、22.70 $^{\circ}$ 、23.78 $^{\circ}$ 、25.34 $^{\circ}$ 处出现了新衍射峰,证明有新物相生成。

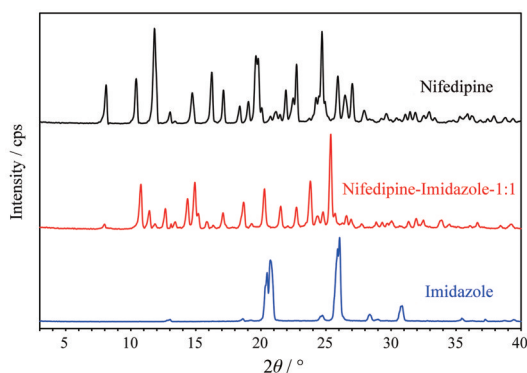


Figure 2 PXRD patterns of nifedipine, imidazole and cocrystal

2 差示扫描量热分析

差示扫描量热法是一种药物共晶的重要表征技术, 可以通过检测不同晶型物质吸热或放热峰的数量、位置等热力学参数的变化, 判断是否有新的物相生成, 现常作为多组分药物共晶的定性鉴别工具^[25,26]。硝苯地平、咪唑和硝苯地平-咪唑共晶的差示扫描量热分析曲线见图3。由图可知, 硝苯地平-咪唑共晶在118.58 °C形成了新的吸热峰, 该吸热峰介于硝苯地平173.46 °C和咪唑91.59 °C之间, 且不含溶剂, 峰形尖锐, 证明形成了新的纯物相。

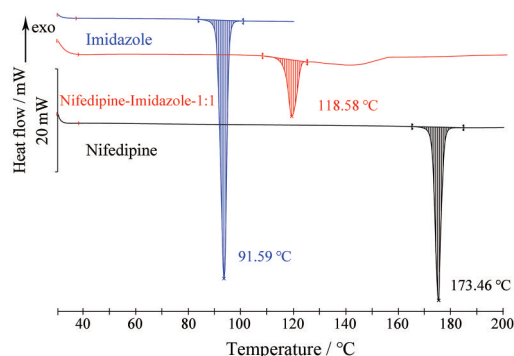


Figure 3 DSC thermograms of nifedipine, imidazole and cocrystal

3 热重分析法

热重分析法是在程序控温下考察待测样品的质量与温度变化关系的一种热分析技术, 可以通过分析样品的失重温度和失重百分比, 初步判断样品的热稳定性^[25,27]。硝苯地平-咪唑共晶的热重分析曲线以及失重信息见图4。由图可知, 在该程序升温下共晶的热力学变化包括两个失重台阶。第一级台阶失重温度在60~230 °C内, 失重百分比为17.88%, 第二级台阶失重温度在230~430 °C内, 失重百分比为64.76%。共晶在30~105 °C内没有失重台阶, 表明其没有溶剂峰, 降解过程发生在共晶熔点之后, 证明产物的热稳定性较好。

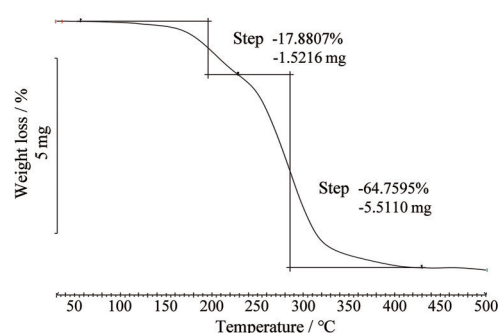


Figure 4 TG profiles of nifedipine-imidazole cocrystal

4 红外光谱分析

红外光谱法是药物多晶型分析与表征的辅助手段之一, 可根据红外光谱中吸收带的迁移以及官能团特征峰的经验解释, 推测未知物的结构信息, 分析不同晶型的分子间作用力^[28,29]。根据图5可知, 硝苯地平3321 cm^{-1} 处的特征峰归属于-NH的伸缩振动, 硝苯地平-咪唑共晶中硝苯地平的-NH-伸缩振动峰红移至3270 cm^{-1} , 且峰强变弱, 证明了硝苯地平与咪唑之间氢键的形成, 可用来作为共晶形成的辅助鉴别手段。

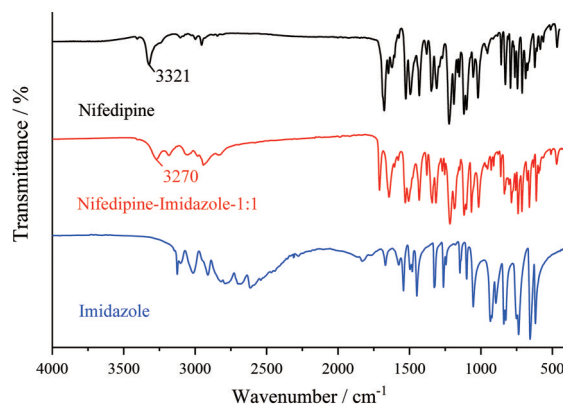


Figure 5 IR graphs of nifedipine, imidazole and cocrystal

5 光稳定性评价

药物的稳定性评价贯穿了药品的整个生命周期, 对保障药品的安全、有效和质量可控具有重要意义。目前, 许多已上市的药品仍存在稳定性问题, 在影响药品的疗效的同时, 毒性产物的蓄积甚至会危及生命。随着对稳定效应背后分子机制的深入理解, 针对不稳定的药物活性成分提出一种量身定制的超分子组装策略, 充分发挥共晶的潜力, 是解决稳定性问题的有效方式^[30-32]。

硝苯地平原料和共晶样品光稳定性试验的粉末X-射线衍射图谱见图6。通过图谱可知, 硝苯地平原料及共晶在光照条件下衍射图谱产生了新的杂质峰(如图6红色虚框所示), 推测是二氢吡啶环氧化产生的

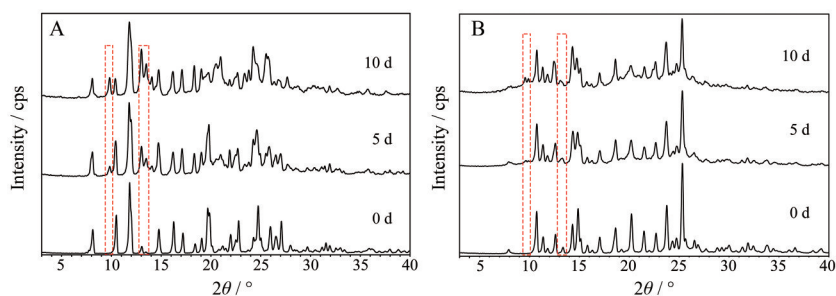


Figure 6 PXRD patterns of nifedipine (A) and cocrystal (B) photostability testing

杂质所致; 随着时间的增加, 杂质的衍射峰逐渐增强。

采用高效液相色谱法检测光照条件下原料与共晶中硝苯地平的含量。硝苯地平-咪唑共晶光照 10 d 的高效液相色谱图见图 7, 最大峰面积对应的化合物为硝苯地平, 其保留时间在 6.35 min 左右, 主要降解杂质的保留时间在 5.45 min 左右且峰面积随着光照时间的延长而增加, 初步推测为二氢吡啶环芳构化衍生物。含量测定结果表明, 在强光照 10 d 后, 共晶物中硝苯地平的剩余含量约为原料药的 1.5 倍(表 1), 证明了硝苯地平-咪唑共晶在一定程度上改善了硝苯地平原料的光敏性。这可能是因为共晶物中硝苯地平的二氢吡啶环与咪唑之间形成了分子间氢键, 从而使得二氢吡啶环更难被氧化。

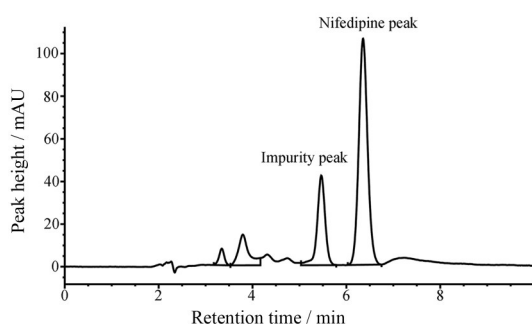


Figure 7 HPLC pattern of nifedipine-imidazole cocrystal (10 d)

Table 1 The residual content of nifedipine in photostability testing

No.	Compound	Residual content of nifedipine /%		
		0 d	5 d	10 d
1	Nifedipine	100	74.9	50.6
2	Cocrystal	100	88.3	73.8

讨论

为改善硝苯地平光稳定性差的问题, 本研究基于晶体工程原理与硝苯地平光降解的分子机制设计了一种以硝苯地平-NH-基团为氢键供体, 咪唑叔胺基团为氢键受体的超分子合子, 并采用悬浮液法制备得到硝苯地平-咪唑共晶。利用粉末 X-射线衍射法、红外光

谱法、差示扫描量热法、热重分析法对新共晶进行表征, 确证了共晶物质的形成。对硝苯地平原料和共晶进行光稳定性评价实验, 结果表明: 硝苯地平-咪唑共晶光敏性较原料有一定程度的改善, 但仍需避光保存。综上所述, 本文获得的硝苯地平-咪唑共晶从分子水平上改善了硝苯地平原料的成药性, 但仍有很大提升空间, 值得进一步研究。本研究证明了基于晶体工程原理设计共晶并利用其解决药物稳定性问题的理念具有可行性, 为硝苯地平共晶的开发以及成药性改善提供指导。

作者贡献: 孟欣完成了文献调研、实验方法建立、结果处理及论文初稿的撰写; 邹瑶与刘梅菊负责样品制备、表征实验和结果处理; 邢逞负责数据分析; 龚宁波负责课题设计和论文指导、修改; 吕扬负责课题的指导、论文的润色。

利益冲突: 本文所有作者声明不存在利益冲突关系。

References

- [1] Desiraju GR. Crystal engineering: a holistic view [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2007, 46: 8342-8356.
- [2] Desiraju GR. Crystal engineering: from molecule to crystal [J]. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 9952-9967.
- [3] Bolla G, Sarma B, Nangia AK. Crystal engineering of pharmaceutical cocrystals in the discovery and development of improved drugs [J]. *Chem Rev*, 2022, 122: 11514-11603.
- [4] Varshosaz J, Ghassami E, Ahmadi-pour S. Crystal engineering for enhanced solubility and bioavailability of poorly soluble drugs [J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 24: 2473-2496.
- [5] Zhou Y, Wang J, Xiao Y, et al. The effects of polymorphism on physicochemical properties and pharmacodynamics of solid drugs [J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 24: 2375-2382.
- [6] Saha A, Ahangar AA, Dar AA, et al. Pharmaceutical cocrystals: a perspective on development and scale-up of solution cocrystallization [J]. *Cryst Growth Des*, 2023, 23: 7558-7581.
- [7] Yu H, Zhang B, Liu M, et al. Theoretical and experimental cocrystal screening of temozolomide with a series of phenolic acids, promising cocrystal cofomers [J]. *Chin Chem Lett*, 2024, 35: 109032.

- [8] Schulz J, Schmidt J, Ruck W. The value of nifedipine in the treatment of hypertension, coronary heart disease and myocardial infarction (post-infarction therapy) [J]. *Curr Med Res Opin*, 1996, 13: 397-408.
- [9] Katz AM, Leach NM. Differential effects of 1,4-dihydropyridine calcium channel blockers: therapeutic implications [J]. *J Clin Pharmacol*, 1987, 27: 825-834.
- [10] Chen R. Consistency Evaluation of Three Nifedipine Oral Formulations (三种硝苯地平口服制剂一致性评价) [D]. Jinan: Shandong University, 2013.
- [11] Caira MR, Robbertse Y, Bergh JJ, et al. Structural characterization, physicochemical properties, and thermal stability of three crystal forms of nifedipine [J]. *J Pharm Sci*, 2003, 92: 2519-2533.
- [12] Sadana GS, Ghogare AB. Mechanistic studies on photolytic degradation of nifedipine by use of ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectroscopy [J]. *Int J Pharm*, 1991, 70: 195-199.
- [13] Yu QH. Solid State Chemistry Research of Nifedipine (硝苯地平的固态化学研究) [D]. Nanchang: Nanchang University, 2018.
- [14] Gui Y, Yao X, Guzei IA, et al. A mechanism for reversible solid-state transitions involving nitro torsion [J]. *Chem Mater*, 2020, 32: 7754-7765.
- [15] Klimakow M, Rademann K, Emmerling F. Toward novel pseudo-polymorphs of nifedipine: elucidation of a slow crystallization process [J]. *Cryst Growth Des*, 2010, 10: 2693-2698.
- [16] Schultheiss N, Roe M, Smit JP. Nifedipine - pyrazine (2/1) [J]. *Acta Crystallogr Sect E Struct Rep Online*, 2010, 66: 2297-2298.
- [17] Jones ECL, Goldsmith KE, Ward MR, et al. Exploring the thermal behaviour of the solvated structures of nifedipine [J]. *Acta Crystallogr B Struct Sci Cryst Eng Mater*, 2023, 79: 164-175.
- [18] Hatanaka Y, Uchiyama H, Kadota K, et al. Improved solubility and permeability of both nifedipine and ketoconazole based on coamorphous formation with simultaneous dissolution behavior [J]. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2021, 65: 102715.
- [19] Wang XY. Design, Synthesis and Characterization of the Multi-component Drugs of Famciclovir and Nifedipine (法匹拉韦、硝苯地平多组分药物的设计合成及性质研究) [D]. Jinan: Shandong University, 2021.
- [20] De Luca M, Ioele G, Ragno G. 1,4-Dihydropyridine antihypertensive drugs: recent advances in photostabilization strategies [J]. *Pharmaceutics*, 2019, 11: 85.
- [21] Fasani E, Dondi D, Ricci A, et al. Photochemistry of 4-(2-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridines. Evidence for electron transfer and formation of an intermediate [J]. *Photochem Photobiol*, 2006, 82: 225-230.
- [22] Yu Q, Yan Z, Bao J, et al. Taming photo-induced oxidation degradation of dihydropyridine drugs through cocrystallization [J]. *Chem Commun (Camb)*, 2017, 53: 12266-12269.
- [23] Lou Y, Zuo L. Quantification of losartan potassium polymorphs using powder X-ray diffraction [J]. *J AOAC Int*, 2021, 104: 579-584.
- [24] Raheem Thayyil A, Juturu T, Nayak S, et al. Pharmaceutical cocrystallization: regulatory aspects, design, characterization, and applications [J]. *Adv Pharm Bull*, 2020, 10: 203-212.
- [25] Li Y, Zhang Y, Xu H, et al. Synthesis and characterization of supramolecular assembly probenecid cocrystal [J]. *J Mol Struct*, 2024, 1298: 136786.
- [26] Patel RD, Raval MK. Differential scanning calorimetry: a screening tool for the development of diacerein eutectics [J]. *Results Chem*, 2022, 4: 100315.
- [27] Ferreira LT, Alarcon RT, Perpétuo GL, et al. Investigation and characterization by TG/DTG - DTA and DSC of the fusion of riboflavin, and its interaction with the antibiotic norfloxacin in the screening of cocrystal [J]. *J Therm Anal Calorim*, 2019, 136: 581-588.
- [28] Chavan RB, Bhargavi N, Lodagekar A, et al. Near infra red spectroscopy: a tool for solid state characterization [J]. *Drug Discov Today*, 2017, 22: 1835-1843.
- [29] Kendall DN. Identification of polymorphic forms of crystals by infrared spectroscopy [J]. *Anal Chem*, 1953, 25: 382-389.
- [30] Wong SN, Chen YCS, Xuan B, et al. Cocrystal engineering of pharmaceutical solids: therapeutic potential and challenges [J]. *CrystEngComm*, 2021, 23: 7005-7038.
- [31] Ermer J, Arth C, De Raeve P, et al. Precision from drug stability studies [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2005, 38: 653-663.
- [32] Liu L, Wang JR, Mei X. Enhancing the stability of active pharmaceutical ingredients by the cocrystal strategy [J]. *CrystEngComm*, 2022, 24: 2002-2022.