

## 葛根素钠螯合物形成的热力学动力学机制研究

蒋卫<sup>1</sup>, 朱峻霄<sup>2</sup>, 陈慧<sup>3</sup>, 张静文<sup>3</sup>, 张建军<sup>3</sup>, 高缘<sup>2</sup>, 钱帅<sup>2</sup>, 魏元锋<sup>2\*</sup>

(1. 浙江震元制药有限公司, 浙江 绍兴 312000; 2. 中国药科大学中药学院, 江苏 南京 211198;  
3. 中国药科大学药学院, 江苏 南京 211198)

**摘要:** 片剂是制药行业最受欢迎的口服固体剂型, 葛根素一水合物 (puerarin monohydrate, PUEM) 是天然抗高血压药物葛根素的市售固体形式, 但低水溶性阻碍了其片剂剂型的研发。本研究采用反应结晶法成功制备出葛根素钠螯合物 (PUE-Na·7H<sub>2</sub>O), 通过单晶技术表征了其晶体结构, 明确了其金属螯合物的结构特性。热力学研究表明, PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 的形成包括 PUE 的脱质子、PUE<sup>-</sup> 和 Na<sup>+</sup> 的络合两步, 且这两步反应几乎是同时发生, 该过程是一个自发放热反应, 温度的降低有利于螯合物形成; 成核动力学研究表明, 在低温、高浓度及高转速的环境中, 该螯合物分子更易于成核结晶。与市售 PUEM 相比, PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 的水溶性得到显著提升, 溶解度增加了 33.5 倍, 特性溶出速率提高了 37.6 倍。本研究表明, 药物-钠螯合物是一种能显著改善药物水溶性的固体形式。通过明确其热力学和动力学形成机制, 不仅为相关产品的研发提供了新的策略, 也展现了巨大的商业前景。

**关键词:** 葛根素; 钠螯合物; 热力学; 动力学; 水溶性

中图分类号: R943 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2024)09-2648-11

## Investigation on thermodynamics and kinetics of puerarin sodium chelate

JIANG Wei<sup>1</sup>, ZHU Jun-xiao<sup>2</sup>, CHEN Hui<sup>3</sup>, ZHANG Jing-wen<sup>3</sup>, ZHANG Jian-jun<sup>3</sup>,  
GAO Yuan<sup>2</sup>, QIAN Shuai<sup>2</sup>, WEI Yuan-feng<sup>2\*</sup>

(1. Zhejiang Zhenyuan Pharmaceutical Co., Ltd., Shaoxing 312000, China; 2. School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China; 3. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

**Abstract:** Tablets represent the most widely used oral solid dosage form in the pharmaceutical industry. Puerarin monohydrate (PUEM), a solid form of the natural antihypertensive drug puerarin, is commercially available. However, the low solubility of PUEM poses a significant challenge for the development of its tablet dosage form. In this study, we successfully prepared the sodium chelates of puerarin (PUE-Na·7H<sub>2</sub>O) using reactive crystallization techniques. The crystal structure of PUE-Na·7H<sub>2</sub>O was analyzed using single crystal technology, which revealed the structural characteristics of its metal chelate. Our thermodynamic studies demonstrated that the formation of PUE-Na·7H<sub>2</sub>O involved the simultaneous deprotonation of PUE and the chelation of PUE<sup>-</sup> and Na<sup>+</sup>. This reaction process was spontaneous and exothermic ( $\Delta G < 0$ ,  $\Delta H < 0$ ), and reducing the temperature facilitated the formation of the chelate. Nucleation kinetics studies revealed that chelate molecules were more likely to nucleate and crystallize under low temperature, high concentration, and high rotational speed conditions. Compared to commercially available PUEM, PUE-Na·7H<sub>2</sub>O showed significantly improved water solubility, with a 33.5-fold increase in solubility and a 37.6-fold decrease in intrinsic dissolution rate. Our study

收稿日期: 2023-11-28; 修回日期: 2024-06-18.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82373824, 82104401, 82274217, 82204636); 中央高校基本科研业务费重点资助项目 (2632021ZD15).

\*通讯作者 Tel: 86-15251756256, E-mail: weiyuanfengyuer@yeah.net

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2023-1340

identified drug-sodium chelation as an effective means for improving drug solubility and elucidated the mechanisms governing its formation kinetics and thermodynamics. These findings could provide new solutions for related product development and tremendous commercial opportunities.

**Key words:** puerarin; sodium chelate; thermodynamics; kinetics; solubility

超过 80% 的活性药物成分 (active pharmaceutical ingredients, API) 采用固体形式开展制剂研发<sup>[1]</sup>。固体药物的分子层次结构和周期性将导致不同的固体形态, 包括多晶型<sup>[2]</sup>、溶剂态<sup>[3]</sup>、共晶<sup>[4]</sup>、通过离子键形成的盐态和通过配位键形成的金属螯合物<sup>[5]</sup>。这些形态在溶解度、流动性、力学性能和吸湿性等方面存在明显的区别, 它们理化性质差异可能会对药物的制造性、稳定性、体外溶出度, 甚至口服后的药物吸收产生显著的影响<sup>[6]</sup>。因此, 选择合适的固体形式在药物研发过程中具有关键作用。然而, 另一个问题也不容忽视, 75% API 具有低水溶性, 导致 API 在体内较低的生物利用度, 进而影响药物治疗效果<sup>[7]</sup>。如何巧妙地对 API 进行改造, 在不影响其基本化学结构的前提下, 兼得合适的固体形式同时改善 API 固有的水溶性难题, 在物理药剂学领域具有非常重大的研究意义与商业价值, 同时也是一个挑战。基于本课题组前期探索, 作者认为药物金属螯合物可能是突破这一挑战的有效途径。

由于金属螯合物具有独特的化学和物理性质, 已经成为药物制剂领域的重要研究方向<sup>[8]</sup>。与常规药物固体形态相比, 金属螯合物通过金属离子与药物配体之间的桥接和配位络合形成复杂的结构, 从而显著改善药物的溶解性、吸收性和代谢性能。例如, 环丙沙星和诺氟沙星这两种抗生素的铝 (III) 螯合物的研究表明, 溶解度分别增加了 97 和 14 倍<sup>[9]</sup>, 为这些药物在临床应用中的有效性提供了重要保障。除了针对难溶性药物溶解性的改善, 金属螯合物在晶体的高效率制备、稳定性、环境友好性和原材料的可获取性展现出显著的优势, 上述优势促使钠螯合物成为提高药物制剂水平的有力工具<sup>[10]</sup>。尽管钠螯合物在药物制剂改进方面展现出巨大的潜力, 但关于其形成的热力学和动力学机制, 以及如何精确控制螯合过程以改善药物的水溶性等方面的研究还不够深入, 相关基础研究仍未得到系统阐释。

葛根素 (puerarin, PUE) 是中药野葛干燥根中提取出的主要活性成分之一, 在临床上得到了广泛的应用<sup>[11,12]</sup>。然而, 市售的葛根素原料药是其一水合物结晶 (puerarin monohydrate, PUEM), 该物质的水溶性较低, 临床上常用的药物剂型主要为注射溶液剂和冻干粉针剂<sup>[13,14]</sup>, 这两种剂型在临床使用中存在一定的安

全隐患。PUE 注射溶液剂的处方中含有高达 45% 的丙二醇, 且 PUE 注射液剂量高达每天 0.4 g, 给药周期长达每疗程 10~20 天, 制剂中大量丙二醇容易产生溶血、过敏、肝肾损害等不良反应<sup>[15]</sup>。因此, 企业将其升级为冻干粉针剂, 作者前期在冻干粉针剂开发过程中发现, 其在复溶时容易出现浑浊, 可能存在较高的安全风险。此外, 本课题组前期筛选获得了葛根素不同的固体形态, 包括葛根素水合物<sup>[3,16]</sup> (葛根素无水物、二水合物等) 及与不同配体制备的葛根素-糖精共无定形<sup>[17]</sup>、葛根素-氯诺昔康共晶<sup>[18]</sup>等。但是, 溶出速率虽有提高却仍不理想。

本研究探索性研究了碱金属钠离子与药物形成配合物的可能性, 以 PUEM 作为模型药物, 使用反应结晶法制备 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 钠螯合物, 并通过单晶表征确定其晶体结构。从热力学角度研究钠螯合物的形成, 包括原料药和配体在溶剂中不断溶解、钠螯合物分子形成及钠螯合物分子的溶解-沉淀平衡; 从动力学的角度研究不同的温度、溶液浓度和搅拌转速对 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 成核速率的影响, 综合热力学、动力学理论阐释葛根素-钠螯合物的形成机制。此外, 本研究将考察 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 在水和不同 pH 值介质中的溶解度和特性溶出速率, 明确药物-钠螯合物技术对难溶性药物水溶性改善的积极价值。本研究有助于更加深入理解药物-钠螯合物的内在机制, 为优化药物-钠螯合物的结晶方法提供理论基础, 为批量制备药物提供重要的参考。

## 材料与方法

**试药** 葛根素一水合物 (PUEM, 纯度 99.9%, 浙江震元股份有限公司); 氢氧化钠、盐酸、磷酸二氢钾 (分析纯, 南京化学试剂股份有限公司); 甲醇 (色谱纯, 上海安谱实验科技股份有限公司)。

**仪器** 单晶 X 射线衍射仪 (APEX-II CCD, 德国 Bruker 公司); 高效液相色谱仪 (LC-2010A HT, 日本 Shimadzu 公司); 浊度仪 (LH-NTU3M, 中国连华科技有限公司); 溶出仪 (708-DS, 美国 Agilent 公司)。

**PUEM 钠螯合物的制备** PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 螯合物采用反应结晶法制备。将 868 mg PUEM 和 80 mg NaOH 精确称量, 加入至直径为 20 mm 的西林瓶中, 再加入 1 mL 纯化水, 以 200 r·min<sup>-1</sup> 的搅拌速度在 25 °C 下

溶解,直至出现白色糊状沉淀。随后,将混合物过滤,在30℃下真空干燥24 h。用80目筛网对样品进行筛分后,放入装有无水氯化钙的干燥器中维持25℃环境,待进一步使用。

#### 单晶X射线衍射 (single crystal X-ray diffraction, SCXRD)

**PUEM钠螯合物单晶的制备** PUE-Na·7H<sub>2</sub>O螯合物单晶使用降温结晶法制备。将434 mg PUEM和40 mg NaOH精确称量,加入直径为20 mm的西林瓶中,并加入2 mL纯化水,形成混悬液。将瓶口密封后,置于40℃水浴中,启动磁力搅拌器以200 r·min<sup>-1</sup>进行持续搅拌,待澄清透明液体形成。每隔3 h将其降温5℃,直至析出无色透明长方形柱状单晶。

**SCXRD测试方法** 取PUE-Na·7H<sub>2</sub>O单晶0.22 mm × 0.18 mm × 0.16 mm,使用单晶X射线衍射仪进行单晶结构测试,采用Cu K $\alpha$ 辐射 $\lambda = 1.541\ 78\ \text{\AA}$ 的单晶衍射仪收集数据。取合适大小的PUEM (0.120 mm × 0.110 mm × 0.080 mm)单晶置于带有Mo K $\alpha$ 辐射 $\lambda = 0.710\ 73\ \text{\AA}$ 的单晶衍射仪上收集数据。

**PUE体系在不同条件水溶液中的溶解度测定** 采用恒温水浴锅磁力搅拌法测定PUEM和PUE-Na·7H<sub>2</sub>O粉末在不同水溶液条件下的溶解度。37℃环境下,pH条件分别为:pH 1.2、2.0 HCl溶液,pH 3.8、4.5、6.8和7.4磷酸盐缓冲液(PBS)及纯水。在纯水环境下,温度分别为:298、303、308、313和318 K。

将过量的PUE和PUE-Na·7H<sub>2</sub>O粉末(粒径35~85  $\mu\text{m}$ )分别加入到西林瓶中,然后分别加入上述不同pH的溶剂3 mL或纯水,胶塞封口置于25℃条件的恒温水浴锅中磁力搅拌24 h,停止搅拌后恒温25℃静置8 h,使用0.22  $\mu\text{m}$ 的水相滤膜过滤,获得的续滤液采用对应的pH溶剂稀释适当倍数后进行HPLC分析,测定溶液中PUE的浓度,每个实验重复3次。

参照2020版《中华人民共和国药典》中葛根素注射剂的色谱条件,采用(Ultimate XB-C 185.6 mm × 150 mm 5  $\mu\text{m}$ ),柱温为30℃;以甲醇/0.1%枸橼酸(25:75 v/v)为流动相等度洗脱,流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长为250 nm,进样质量浓度为50  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,进样体积10  $\mu\text{L}$ 。葛根素采用外标法测定,标准对照溶液质量浓度为50  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

**PUE-Na·7H<sub>2</sub>O螯合物热力学机制研究** 基于PUE-Na·7H<sub>2</sub>O螯合物在不同条件NaOH溶液中的溶解度,进而对其热力学机制进行分析。在298、303、308、313和318 K环境下,配置一系列不同浓度(0.000 1、0.000 5、0.001、0.001 25、0.001 5、0.001 75、0.002、0.008、0.016和0.1 mol·L<sup>-1</sup>)的NaOH溶液。将过量的

PUE-Na·7H<sub>2</sub>O加入到不同条件的溶液中,密封后进行恒温振荡,直至溶解平衡。恒温静置8 h之后,取液体通过0.22  $\mu\text{m}$ 水相滤膜过滤,进行适当倍数稀释后,使用HPLC测定葛根素浓度。

**PUE-Na·7H<sub>2</sub>O螯合物成核动力学研究** 通过测定饱和溶液在单位时间单位体积内形成的晶核数量,利用浊度仪测定溶液浊度,以此推算诱导成核时间。

**温度对PUE-Na·7H<sub>2</sub>O螯合物成核速率的影响** 在200 mL蒸馏水中溶解NaOH后,加入PUEM,设定NaOH和PUE的浓度为0.35 mol·L<sup>-1</sup>转速为100 r·min<sup>-1</sup>。实验在298、308和318 K的环境下进行,使用浊度仪动态测定溶液浊度。

**浓度对PUE-Na·7H<sub>2</sub>O螯合物成核速率的影响** 在200 mL蒸馏水中溶解NaOH后,加入PUEM,设定NaOH和PUE的浓度分别为0.25、0.3和0.35 mol·L<sup>-1</sup>,转速为100 r·min<sup>-1</sup>。实验在298 K环境下进行,使用浊度仪动态测定溶液浊度。

**转速对PUE-Na·7H<sub>2</sub>O螯合物成核速率的影响** 在200 mL蒸馏水中溶解NaOH后,加入PUEM,设定NaOH和PUE的浓度为0.3 mol·L<sup>-1</sup>。实验在298 K环境下进行,转速设定为100、150和200 r·min<sup>-1</sup>,使用浊度仪动态测定溶液浊度。

#### 钠螯合物在不同pH介质中的特性溶出速率研究

**PUE体系样品制备** 称量250 mg PUEM和PUE-Na·7H<sub>2</sub>O粉末(粒径35~85  $\mu\text{m}$ ),使用液压机在74 MPa压片压力下将PUEM或PUE-Na·7H<sub>2</sub>O粉末压制成药片,压片持续时间是15 s。然后,将每个完整的、表面平坦的片剂固定在蜂蜡模具中,以确保只有顶面与溶出介质接触。

**溶出条件** 采用溶出仪进行实验,按照中国药典2020年版通则0931溶出度与释放度测定第二法(浆法),取PUE压片样品分别置于纯水、pH 6.8磷酸盐缓冲液和pH 1.2 HCl中进行溶出试验,介质体积为500 mL,温度为37℃,转速为50 r·min<sup>-1</sup>,分别于1、3、5、10、20、30、60、90、120 min时取样3 mL,经0.22  $\mu\text{m}$  PTFE水相滤膜过滤,同时补充相同体积的介质。将续滤液稀释至适宜浓度,HPLC测定溶液中PUE的含量。每个样品平行测定3份。

**特性溶出速率 (intrinsic dissolution rate, IDR) 的计算** 采用Noyes-Whitney equation方程式<sup>[9]</sup> (1)进行IDR计算:

$$\text{IDR} = \frac{Vdc}{dt} \times \frac{1}{A} \quad (1)$$

其中, $V$ 代表溶出介质体积, $c$ 是药物在介质中溶解的浓度, $A$ 是样品的表面积, $t$ 是时间。根据这个方

程,当采用药物的累积溶出量对时间作图时,进行线性拟合,方程的斜率就是IDR值。

**钠螯合物溶剂化自由能计算** 溶剂化吉布斯自由能与实验溶解度 $S$ 有关,如方程式(2)所示<sup>[5]</sup>。

$$\Delta G_{\text{solv}}^* = -RT \ln(SV_m) \quad (2)$$

其中, $R$ 是气体常数8.314, $T$ 是实验温度, $S$ 是溶解度, $V_m$ 是晶体的摩尔体积,可以从方程式(3)获得<sup>[5]</sup>:

$$V_m = \frac{N_A V_{\text{cell}}}{ZZ'} \quad (3)$$

其中, $N_A$ 和 $V_{\text{cell}}$ 分别是Avogadro常数和测量的晶胞体积, $Z$ 和 $Z'$ 分别是晶胞中的不对称单元数和不对称单元中的分子数。

## 结果与讨论

### 1 SCXRD单晶X射线衍射

PUEM和PUE-Na·7H<sub>2</sub>O的单晶结构,PUEM分子在三斜晶系P1空间群中结晶,并在晶胞中形成2个非对称单元( $Z=2$ ),每个单元中都含有1个PUEM分子( $Z'=1$ )。相关晶体学数据可查阅,晶胞示意图如图1A所示。值得注意的是,该晶体的H<sub>2</sub>O(18)和H<sub>2</sub>O(19)被PUE分子隔开,并不存在相邻水分子间的相互作用,因此可以确定其为孤立型水合物<sup>[3]</sup>。经过绝对构型Flack参数法的计算,PUE分子的手性可确定为 $D$ 构型,并发现Flack值为0.02,接近0,证明手性合理<sup>[20]</sup>。该晶体结构已获英国剑桥晶体学数据中心认证,CCDC号为2052656。

PUE-Na·7H<sub>2</sub>O分子在单斜晶系P21空间群中结晶,并在晶胞内形成两个非对称单元( $Z=2$ ),每个单元包括1个PUE分子、1个Na<sup>+</sup>和7个水分子( $Z'=1$ )。通过测定得知,PUE分子的绝对构型仍为 $D$ 构型,且Flack参数为0.03,符合合理的手性<sup>[21]</sup>,证明PUE与Na<sup>+</sup>的螯合并未影响到原化合物的手性。PUE-Na·7H<sub>2</sub>O的CCDC

号为1865670,晶体结构示意图如图1B所示。

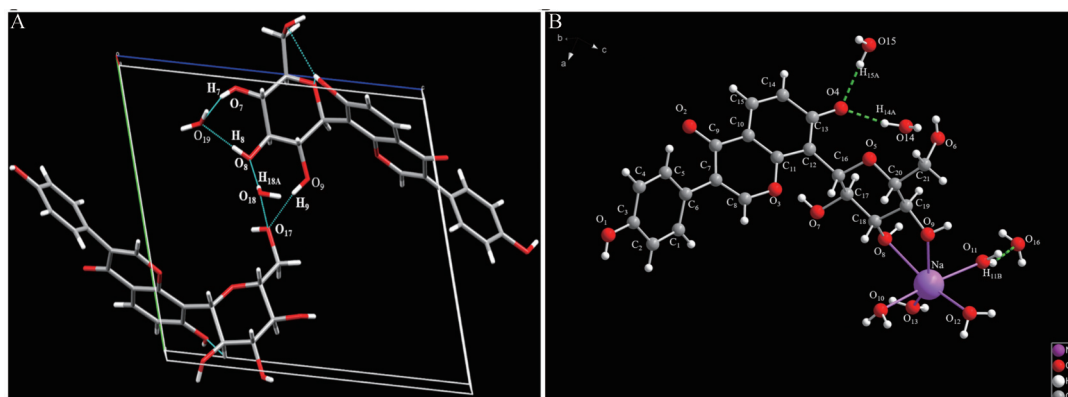
在PUE-Na·7H<sub>2</sub>O的不对称单元中,PUE分子的C(13)-OH位置发生了质子脱离,形成了PUE<sup>-</sup>离子。PUE-Na·7H<sub>2</sub>O晶体中包含了通道水分子O(14)、O(15)、O(16),及离子配位水分子O(10)、O(11)、O(12)、O(13)。PUE-Na·7H<sub>2</sub>O呈现两种不同的氢键螺旋,一种呈管状螺旋几何结构,围绕晶轴 $b$ 并环绕 $a$ 轴;另一种是围绕 $c$ 轴形成的DNA状单螺旋结构。

### 2 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O螯合物形成过程的pH和Na<sup>+</sup>电位同步监测

PUEM在等摩尔NaOH水溶液溶解过程中,pH值和Na<sup>+</sup>电位的变化情况如图2A、B所示,将PUEM加入等摩尔NaOH水溶液,其pH值在瞬间从13.1降低至9.3,表明NaOH溶液中的H<sup>+</sup>离子浓度迅速上升。这是由于PUEM中的弱酸性H质子与溶液中的OH<sup>-</sup>离子进行了酸碱中和反应,这个过程是极短的,几乎可以视为瞬间完成。同时,观察到溶液中的Na<sup>+</sup>电位在瞬间从155.4 mV降低至139.3 mV,这是因为Na<sup>+</sup>与溶液中的PUE<sup>-</sup>迅速形成了络合态的PUE-Na分子,导致溶液中游离的Na<sup>+</sup>数量减少。上述变化表明PUEM的脱质子反应和PUE<sup>-</sup>与Na<sup>+</sup>的络合过程几乎是同步进行的,它们一起促成了PUE-Na·7H<sub>2</sub>O螯合物的快速形成。

### 3 葛根素钠螯合物在水溶液中的溶解-沉淀机制

PUE-Na·7H<sub>2</sub>O证实是由PUE<sup>-</sup>、Na<sup>+</sup>和H<sub>2</sub>O构成的三元体系,摩尔比为1:1:7。此外,钠离子电极显示在水溶液中Na<sup>+</sup>与PUE<sup>-</sup>离子存在络合作用,络合程度在55.84%~86.99%之间。因此,可以认为在饱和PUE-Na·7H<sub>2</sub>O水溶液中,Na<sup>+</sup>与PUE<sup>-</sup>离子存在1:1的络合。进而可采用二元共晶水合物1:1络合模型进行数据分析,通过针对PUE-Na·7H<sub>2</sub>O在298 K不同浓度NaOH水溶液中的相溶解度实验线性拟合,对PUE-Na·7H<sub>2</sub>O螯合物在饱和水溶液(平衡状态)中各组分存在状态



**Figure 1** Crystal structures of PUEM and PUE-Na·7H<sub>2</sub>O. A: PUEM; B: PUE-Na·7H<sub>2</sub>O. PUEM: Puerarin monohydrate; PUE: Puerarin. Grey, red, white, and purple atoms represent carbon, oxygen, hydrogen, and sodium, respectively, and the green dashed lines represent hydrogen bonds

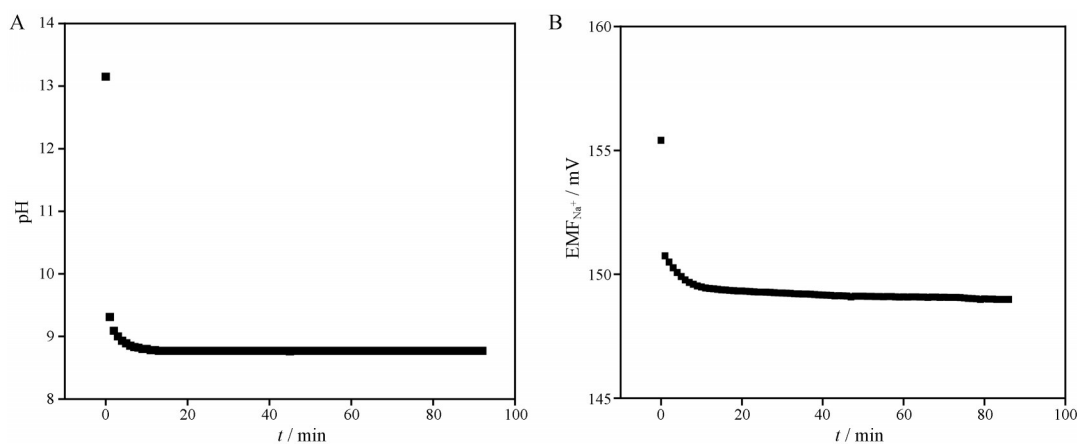
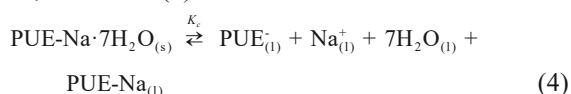


Figure 2 Changes in pH (A) and  $\text{Na}^+$  potential (B) during the dissolution of PUE-Na·7H<sub>2</sub>O chelate

的假设,可通过式(4)表达:



该方程阐释了 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 螯合物在水溶液中的溶解-沉淀机制。在 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 螯合物的溶解过程中,涉及到一部分游离状态的 PUE 和 Na<sup>+</sup> 及部分已形成的 PUE-Na 络合物。随着溶液中浓度的逐渐增加,参与络合的 PUE 和 Na<sup>+</sup> 数量也随之增多。然而,即便在此情况下,系统中仍然存在未参与络合的游离 PUE 和 Na<sup>+</sup>。这一现象对于电极测定 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 饱和溶液中的络合程度产生了影响,导致测定值未能达到理论的 100%。实际观测到的饱和溶液中的络合程度大约为 87%,这一现象可能与 PUE-Na 络合物在达到一定浓度后,超过其溶解度而开始沉淀有关。这表明即使在 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 螯合物形成过程中,游离的 PUE 和 Na<sup>+</sup> 也能在溶液中保持一定的存在,反映了溶解和沉淀平衡过程的动态性和复杂性。

PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 的沉淀能力与 PUE 和 Na<sup>+</sup> 的络合能力相关,且均受温度影响。对此,通过拟合相溶解度数据模型,得出 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 的溶解常数和络合常数分别为  $K_c = 6.65 \times 10^{-7}$ ,  $K_{11} = 43\,606.65$ 。易溶解的有机盐和无机盐的  $K_c$  一般为  $1^{[22]}$  和大于  $1^{[23,24]}$ , 而 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 的溶解常数显著低于此,进一步证实其非普通盐类性质,而为螯合物。此外,大部分具有络合作用的共晶的络合常数  $K_{11}$  一般在  $1 \sim 12$  之间<sup>[6,25-27]</sup>, 而 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 螯合物的  $K_{11}$  则超过共晶络合常数 4 300 倍以上,说明其在饱和水溶液中的络合能力强大,远超过普通的盐类或共晶。

另一方面,常规钠离子络合剂 15-冠-5 (15C5) 在 298 K 水中与 Na<sup>+</sup> 络合形成的 Na(15C5)<sup>+</sup> 的络合常数为 12 302.69<sup>[28]</sup>。而 PUE 络合 Na<sup>+</sup> 形成的 PUE-Na 的络合常数与其在同一数量级,这表明 PUE 具有天然高效的

钠离子络合能力。

#### 4 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 形成的热力学研究

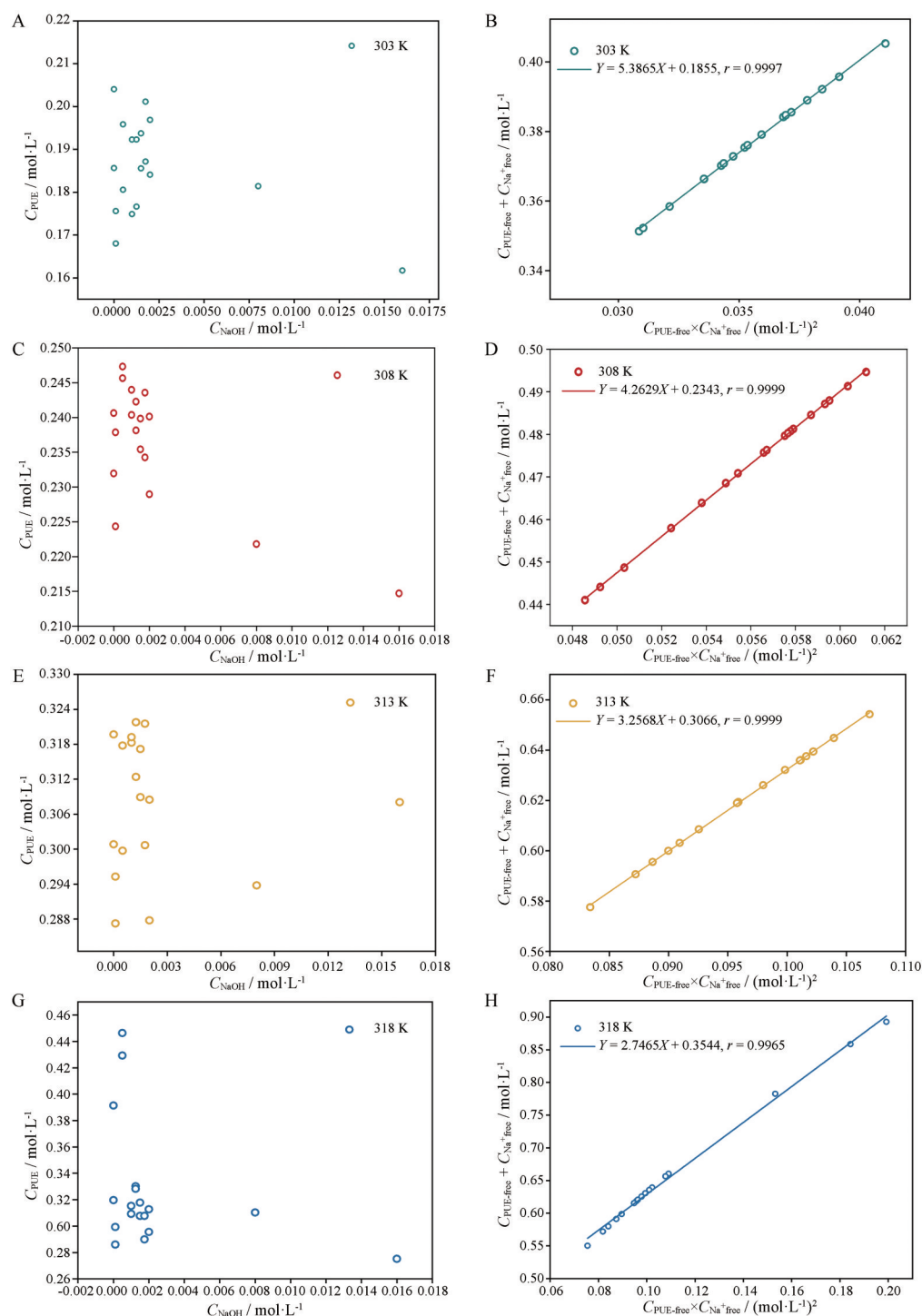
##### 4.1 温度对螯合物溶解常数和络合常数的影响

依照项 3 下方法,可得方程式(5):

$$(X + Y) = \frac{1}{\sqrt{K_c \times K_{11}}} \cdot XY + \left( \sqrt{K_c \times K_{11}} - \frac{1}{K_{11}} \right) \quad (5)$$

如图 3A、C、E、G 所示,通过实验测试得到 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 螯合物在不同温度条件 NaOH 溶液中的溶解度。随后,分别以  $X \cdot Y$  为横坐标,  $X + Y$  为纵坐标进行线性拟合, PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 在 303、308、313 和 318 K 相溶解度拟合曲线如图 3B、D、F、H 所示。在 303 K 条件下,通过相溶解度试验拟合的曲线为  $Y = 5.386\,5X + 0.185\,5$ ,  $r = 0.999\,7$  (图 3B); 在 308 K 条件下,通过相溶解度试验拟合的曲线为  $Y = 4.262\,9X + 0.234\,3$ ,  $r = 0.999\,9$  (图 3D); 在 313 K 条件下,通过相溶解度试验拟合的曲线为  $Y = 3.256\,8X + 0.306\,6$ ,  $r = 0.999\,9$  (图 3F); 在 318 K 条件下,通过相溶解度试验拟合的曲线为  $Y = 2.746\,5X + 0.354\,4$ ,  $r = 0.996\,5$  (图 3H)。通过拟合曲线的  $r$  值均接近 1,验证了方程式的合理性。

在拟合方程中,斜率为  $\frac{1}{\sqrt{K_c \times K_{11}}}$ , 截距为  $\sqrt{K_c \times K_{11}} - \frac{1}{K_{11}}$ 。分别代入计算得到 303、308、313、318 K 条件下的  $K_c$  和  $K_{11}$  值,随后通过相溶解度模型拟合计算得到的  $K_c$  和  $K_{11}$  值,汇总如表 1 所示。结果表明,随着温度升高,络合常数  $K_{11}$  的值逐渐减小,表明络合过程变得不利,而溶解常数  $K_c$  的值逐渐增大,表明溶解过程变得有利。当络合作用大于溶解作用时,螯合物分子会析出。在较高温度下,有利于螯合物的溶解而不利于络合,因此螯合物不易析出;在较低温度下,有利于络合而不利于溶解,从而有利于螯合物分子的形成和析出。

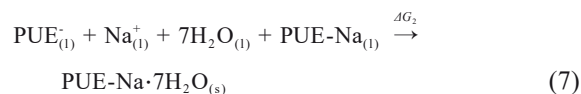
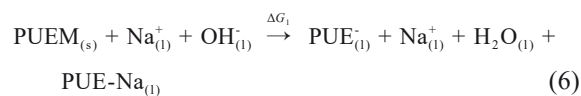


**Figure 3** Solubility of PUE-Na·7H<sub>2</sub>O chelate in NaOH aqueous solutions of different concentrations at 303 K (A, B), 308 K (C, D), 313 K (E, F), and 318 K (G, H). Figures (A, C, E, G) show data before fitting, and figures (B, D, F, H) show data after fitting

**Table 1** Dissolution and chelation constants of PUE-Na·7H<sub>2</sub>O chelate in water at 303, 308, 313, and 318 K

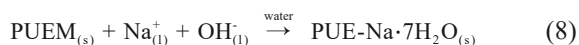
T/K	Slope	Intercept	$K_{11}$	$K_c$
303	5.39	0.19	7 178.32	4.80E-06
308	4.27	0.23	3 544.94	1.55E-05
313	3.26	0.31	2 336.56	4.03E-05
318	2.76	0.35	119.35	1.10E-03

#### 4.2 螯合物形成过程中吉布斯自由能的计算



(6) + (7) 得 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 螯合物的形成反应方程,

如 (8) 所示:



PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 螯合物形成反应的吉布斯自由能:

$$\Delta G_{\text{PUE-Na} \cdot 7\text{H}_2\text{O}_{(s)}} = \Delta G_1 + \Delta G_2 \quad (9)$$

$$\Delta G_{\text{PUE-Na} \cdot 7\text{H}_2\text{O}_{(s)}} = -RT \ln \left( \frac{[\text{Na}^+] \cdot [\text{PUE}^-] \cdot [\text{PUE-Na}]}{K_c} \right) \quad (10)$$

计算不同温度下螯合物形成反应的吉布斯自由能 ( $\Delta G$ ), 结果如表 2 所示。不同温度下反应的  $\Delta G < 0$ , 表明在实验温度下反应自发地向 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 螯合物生成的方向进行, 且当温度升高,  $|\Delta G|$  逐渐减小, 表明反应过程中的自发性逐渐减弱, 反应越不容易进行。

**Table 2**  $\Delta G$  of the formation reaction of PUE-Na·7H<sub>2</sub>O chelate

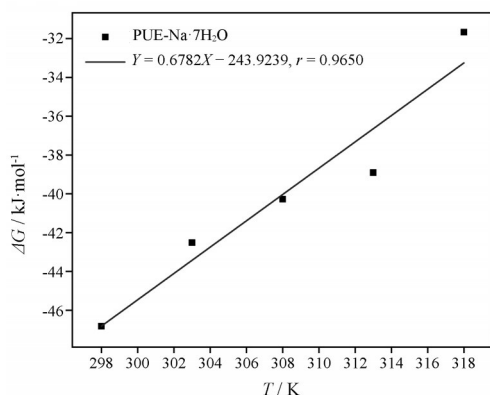
T/K	298	303	308	313	318
$\Delta G/\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$	-46.82	-42.51	-40.27	-38.90	-31.67

### 4.3 螯合物形成反应的反应热与熵的计算

PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 形成的吉布斯自由能与反应热 ( $\Delta H$ ) 和熵 ( $\Delta S$ ) 的关系可用于求得反应热:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (11)$$

以  $\Delta G$  对  $T$  进行线性回归, 由直线的斜率和截距得到生成 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 螯合物形成反应的焓变  $\Delta H = -243.9 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$  和熵变  $\Delta S = -0.6782 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$  (图 4)。  $\Delta H < 0$ , 表明其形成反应是放热反应, 因此, 温度升高时, 螯合物的形成反应速度减慢, 而螯合物易于溶解。  $\Delta S < 0$ , 显示 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 螯合物的形成反应是熵减反应, 温度升高使体系变得更有序。当温度升高至一定值时,  $\Delta H = -T\Delta S > 0$ , 反应自发反应停止。



**Figure 4** Linear regression analysis of the effect of temperature ( $T$ ) on  $\Delta G$  for PUE-Na·7H<sub>2</sub>O chelate

## 5 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 螯合物成核动力学研究

### 5.1 过饱和度对成核速率的影响

成核速率与过饱和度的关系可以表示为:

$$J = AS \exp \left( -\frac{B}{\ln^2 S} \right) \quad (12)$$

其中,  $J$  为成核速率,  $S$  为过饱和度,  $A$  为成核动力学参数,  $B$  为成核热力学参数。

$$\Delta\mu = RT \ln \frac{\gamma C}{\gamma_{eq} C_{eq}} \quad (13)$$

其中,  $\gamma$  是活度系数,  $\gamma_{eq}$  是溶解平衡时溶液的活度系数,  $C$  是待结晶物质在过饱和条件下的浓度,  $C_{eq}$  是溶解平衡时的溶质浓度。狭义的过饱和度为:

$$\sigma = \ln \frac{c}{C_{eq}} = \ln \frac{c}{s} \quad (14)$$

其中,  $c$  代表亚稳态的表观溶解度,  $s$  代表稳态的平衡溶解度。

**5.1.1 体系温度对过饱和度的影响** PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 在 298、303、308、313 和 318 K 水中的平衡溶解度分别为 0.16、0.20、0.24、0.30 和 0.32 mol·L<sup>-1</sup>。根据方程 (14), 计算得出在同一浓度、不同温度下的 PUEM 和 NaOH 反应体系的狭义饱和溶解度 (图 5A)。同一浓度下, 随着温度升高, 体系的过饱和度逐渐降低。例如, 在 0.24 mol·L<sup>-1</sup> 浓度下, 298、303、308、313 和 318 K 的狭义过饱和度分别为 0.39、0.28、0.02、-0.25、-0.28。因此, 从溶液过饱和度的角度分析, 增加温度不利于螯合物生成。

**5.1.2 体系浓度对过饱和度的影响** 同一温度下, 对于不同浓度的 PUEM 和 NaOH 反应体系, 投料浓度越大, 反应体系中 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 溶液的过饱和度越大。例如, 在 298 K 条件下, 0.24、0.30 和 0.35 mol·L<sup>-1</sup> 浓度的 PUEM 和 NaOH 反应体系中, PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 的狭义过饱和度分别为 0.39、0.61、0.76 (图 5A)。因此, 从溶液过饱和度的角度分析, 较大的投料浓度有利于螯合物结晶。

### 5.2 成核诱导时间对成核速率的影响

成核诱导时间与成核速率的关系表示为方程式 (15)。

$$t_{ind} = \frac{1}{JV} \quad (15)$$

其中,  $t_{ind}$  是成核诱导时间,  $J$  是单位体积的成核速率,  $V$  是体积。形成的晶核数量 ( $N$ ) 可表示为  $N = JVt$ , 当  $N = 1$  时, 即形成一个晶核, 此时  $t = t_{ind}$ 。上述方程式可以用来确定成核现象发生的情况, 通过检测晶核的数量。成核诱导时间越短, 单位体积的成核速率就越快<sup>[29]</sup>。

**5.2.1 体系温度对成核速率的影响** 在 PUEM 和 NaOH 反应结晶体系中, 固定结晶液的浓度 (0.35 mol·L<sup>-1</sup>) 和结晶转速 (100 r·min<sup>-1</sup>), 改变结晶液的温度, 观察 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 螯合物晶核形成过程中结晶液的浊度变化 (图 5B)。

在仅改变结晶液温度的条件下,会导致晶体的成核诱导时间明显不同。在 25、35 和 45 °C 条件下, PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 螯合物的成核诱导时间分别为 10、27 和 600 min。这表明较高的结晶温度不利于晶体成核。

**5.2.2 体系浓度对成核速率的影响** 在 PUEM 和 NaOH 反应结晶体系中,固定结晶液的温度 (298 K) 和结晶转速 (100 r·min<sup>-1</sup>),改变结晶液的浓度,观察 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 螯合物晶核形成过程中结晶液的浊度变化 (图 5C)。只改变结晶液浓度,会导致结晶的成核诱导时间不同。在结晶液浓度为 0.25、0.30 和 0.35 mol·L<sup>-1</sup> 时, PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 螯合物的成核诱导时间分别为 82、33 和 10 min。这表明较高的结晶液浓度有利于晶体成核。

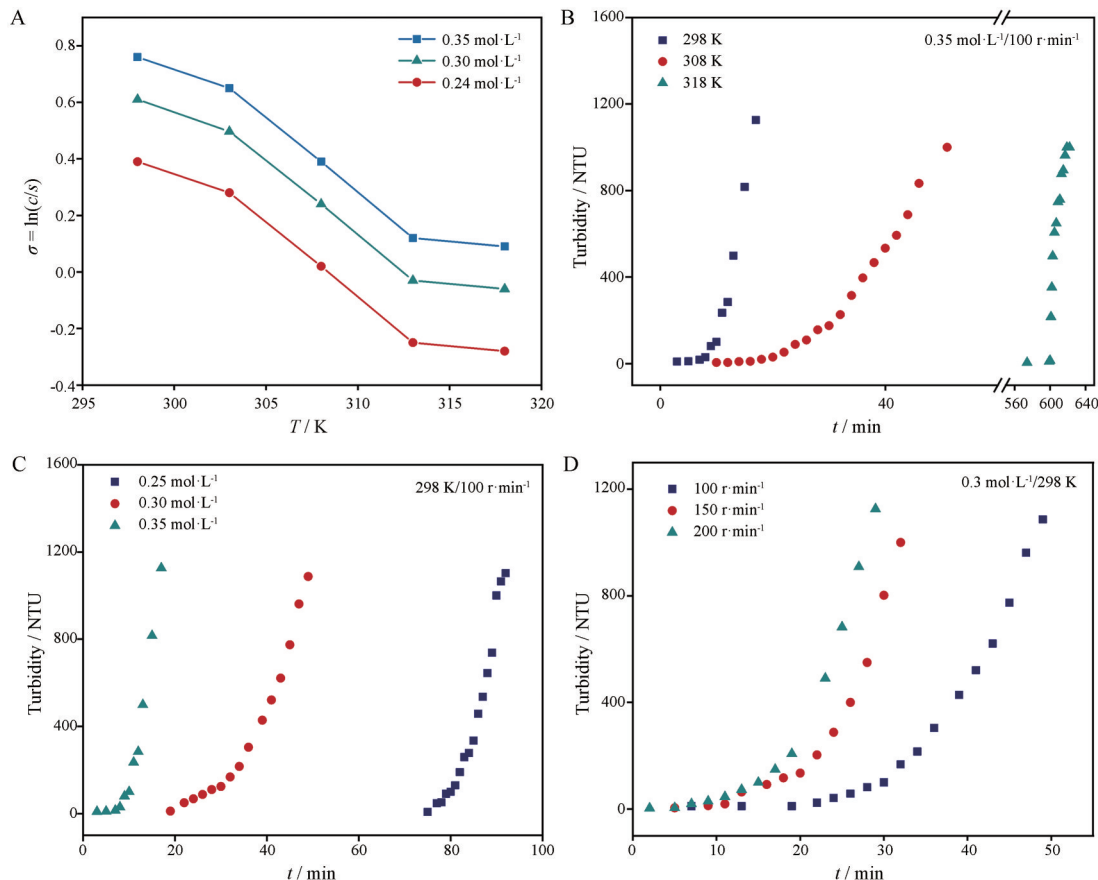
**5.2.3 结晶转速对成核速率的影响** 在 PUEM 和 NaOH 反应结晶体系中,固定结晶液的浓度 (0.3 mol·L<sup>-1</sup>) 和温度 (298 K),改变结晶转速,观察 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 螯合物晶核形成过程中结晶液浊度的变化 (图 5D)。不同的搅拌转速会导致晶体的诱导成核时间不同,在 100、150 和 200 r·min<sup>-1</sup> 转速条件下, PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 螯合物的成核诱导时间分别对应 36、22 和 18 min。这表明较高的转速有助于减少结晶成核时间,利于晶体成核。

## 6 PUEM、NaOH 及 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 在不同温度纯水中的溶解度

PUEM、PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 和 NaOH 的溶解度在 298、308 和 318 K 下进行了测定。PUEM 在 298、303、308、313 和 318 K 下的平衡溶解度分别为 1.91、2.05、3.10、3.59 和 4.86 mg·mL<sup>-1</sup>。相应的, PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 在这些温度下的平衡溶解度分别为 68.11、82.89、98.30、125.13 和 133.00 mg·mL<sup>-1</sup>, 而 NaOH 的溶解度对应为 1 010.00、1 090.00、1 110.99、1 190.00 和 1 330.00 mg·mL<sup>-1</sup>。在 298、308 和 318 K 下, PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 的平衡溶解度相比 PUEM 的提高了 27.37~41.38 倍。

## 7 37 °C 下 PUE 钠螯合物在不同 pH 水溶液中的溶解度

图 6A 展示了 PUEM 和 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 粉末在 pH 1.2 HCl~PBS 7.4 介质中的溶解度。由于 PUEM 是一种 pKa = 7.4 的弱酸性药物,随着介质 pH 值的增加, PUEM 的溶解度也增加。在 pH ≤ 4.5 的酸性介质中, PUEM 的溶解度 < 2 mg·mL<sup>-1</sup>; 而在 PBS 6.8 和水中,溶解度分别为 3.1 和 3.4 mg·mL<sup>-1</sup>; 在 PBS 7.4 的碱性介质中,溶解度达到 4.7 mg·mL<sup>-1</sup>。相比酸性、中性介质,碱性介质中的溶解度明显增大。



**Figure 5** Factors affecting nucleation rate and degree of supersaturation: A: Impact of temperature on the degree of supersaturation in the reaction solution; B: Nucleation rate; C: Effect of concentration on nucleation rate; D: Effect of rotation speed on nucleation rate

PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 粉末在 pH 1.2 HCl~PBS 7.4 介质中的溶解度在 12.8~116.5 mg·mL<sup>-1</sup> 内, 相比 PUEM, 无论在酸性还是碱性介质中, 其溶解度都显著提高, 达到 7.1~53.6 倍。PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 粉末显著提高的溶解度对改善 PUE 的口服吸收有帮助。

### 8 钠螯合物在不同 pH 介质中的特性溶出速率实验

IDR 是药物的重要属性, 常被用于评估原料药在单位面积、单位时间的溶出量, 通常在制剂处方前研究中被考察<sup>[30]</sup>。药物的 IDR 越大, 意味着药物在体内溶出释放速率可能更快<sup>[31]</sup>, 利于药物的口服吸收。

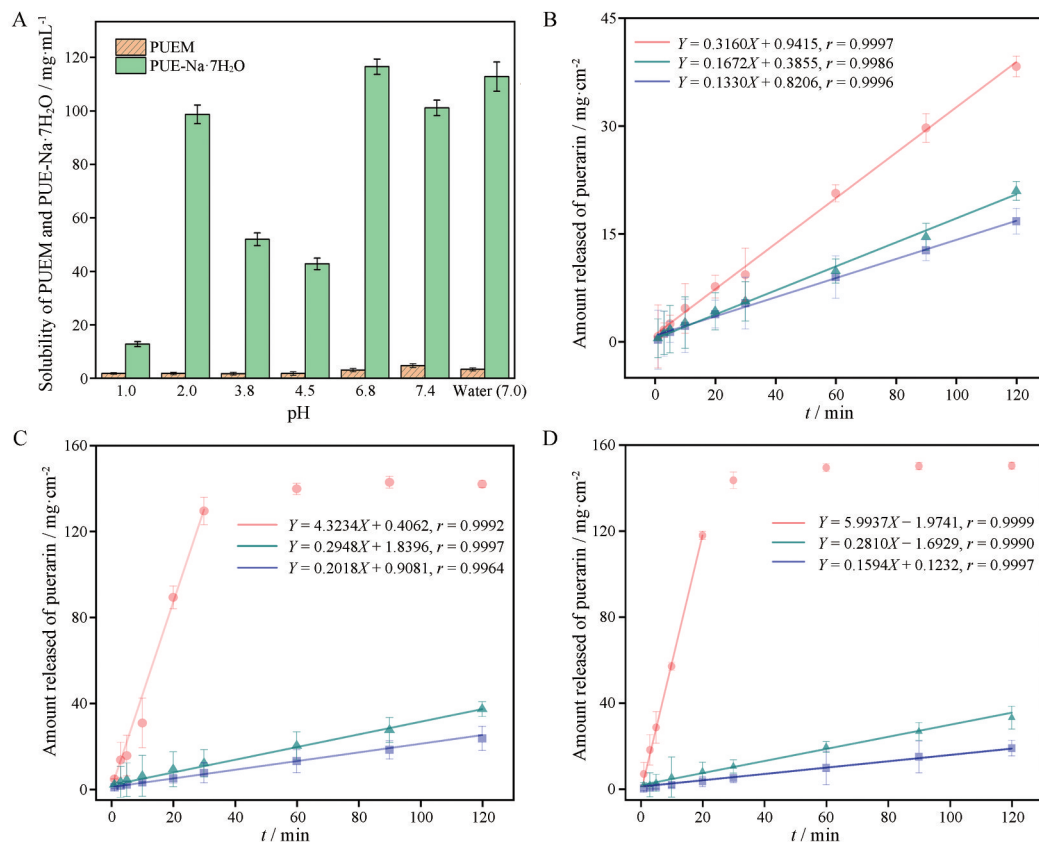
如图 6B~D 所示, PUEM 和 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 片剂在 pH 1.2 HCl、PBS 6.8 和水中的 IDR 结果均表现增强的特性。其中, PUEM 在这 3 种介质中表现出典型的线性溶出行为, 其 IDR 值分别为 0.133 0、0.201 8 和 0.159 4 mg·cm<sup>-2</sup>·min<sup>-1</sup>。相较而言, PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 片剂在 pH 1.2 HCl 中也表现出线性溶出特征, 其 IDR 值提高了 2.4 倍。然而, PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 片剂在 PBS 6.8 和纯水中的溶出行为却呈现出双相特征, 其在 30 min 内快速溶解, 几乎完全溶出。此时, 该片剂 IDR 值较 PUEM 明显提高, 增幅约为 21.4 到 37.6 倍, 具体值为

4.323 4 和 5.7 mg·cm<sup>-2</sup>·min<sup>-1</sup>。为了排除 NaOH 对 PUEM 的 IDR 影响, 进一步进行了等摩尔比 (1:1) 的 PUEM 和 NaOH 物理混合物的 IDR 实验。结果显示, 该“物理混合物”的 IDR 值较原始 PUEM 提高约 1.3 至 1.8 倍, 这说明碱性 NaOH 对 PUEM 的溶解影响并不显著。此外, 溶解过程完成后, 溶液的 pH 偏差均低于 ±0.2, 进一步证明了这一结论。

### 9 溶质-溶质与溶质-溶剂间相互作用的竞争对溶解度的影响

在药物晶体的溶解过程中, 溶质分子间的相互作用与溶质与溶剂分子间的相互作用存在竞争关系<sup>[32]</sup>。溶质分子间的作用力主要源自分子内外的非共价键、离子键等, 其强度可通过升华能来量化, 即使 1 mol 晶体分解成气态分子或离子所需的能量。升华能的增加意味着溶质分子间的相互作用增强<sup>[5]</sup>。而溶质与溶剂之间的作用力则体现在它们之间的络合强度上, 可通过络合的吉布斯自由能或水合能来度量<sup>[32]</sup>。这两种作用力的竞争直接决定了晶体的溶解性, 即晶格能与水合能的相对大小。

从热力学角度考虑, 晶体溶解是一个涉及溶剂化



**Figure 6** Intrinsic dissolution study of PUE-Na·7H<sub>2</sub>O, A: Bar chart of solubility of PUEM and PUE-Na·7H<sub>2</sub>O in different pH media; intrinsic dissolution curves of PUEM (■), physical mixture of PUEM and NaOH (▲), PUE-Na·7H<sub>2</sub>O (●) in pH 1.2 HCl (B), PBS 6.8 (C), and pure water (D).  $n = 3, \bar{x} \pm s$

反应的过程: 晶体首先升华, 打破晶格能的限制, 将组分释放至气相, 随后通过水合作用, 气态分子与水分子相互作用并被水包裹, 形成了一个闭合的热力学循环, 即波恩循环, 如方程式 (16) 所示<sup>[5,19]</sup>:

$$\Delta G_{\text{solv}}^* = \Delta G_{\text{hyd}}^* + \Delta G_{\text{sub}}^* \quad (16)$$

其中,  $\Delta G_{\text{solv}}^*$ 、 $\Delta G_{\text{hyd}}^*$  和  $\Delta G_{\text{sub}}^*$  分别指溶剂化吉布斯自由能、水合能和升华能。这一循环涵盖了升华、水合与溶剂化等关键步骤, 决定了晶体的溶解动力学和热力学特性。通过引入溶剂化自由能这一概念, 用以量化溶质-溶剂与溶质-溶剂间相互作用竞争的强度<sup>[33]</sup>。由于药物晶体的升华能和水合能很难直接计算得到, 但是, 其溶剂化吉布斯自由能却可以根据晶体的晶胞参数、溶解度, 通过方程式 (2) 和 (3) 计算得到。

通过计算, 得到了 PUEM 和 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 在 37 °C 下不同 pH 介质中的溶剂化吉布斯自由能  $\Delta G_{\text{solv}}^*$ , 对 PUEM 而言, 在 pH 1.2 HCl、水和 PBS 6.8 溶液中的  $\Delta G_{\text{solv}}^*$  值分别为 18.81、18.61 和 17.54 kJ·mol<sup>-1</sup>。与 PUEM 相比, PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 的  $\Delta G_{\text{solv}}^*$  值显著减小, 在上述介质中分别减小了 60%、230% 和 200%。从理论上讲, 溶剂化自由能较低意味着溶质更易溶解, 因为需要克服的晶格能较小, 而溶剂化带来的能量补偿更高, 因此 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 具有更高的水溶性。

## 结论

本研究选择水溶性较差的弱酸性药物葛根素作为模型药物, 在碱性条件下, 使其与钠离子反应结晶, 制备得到 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O。在 PUE-Na·7H<sub>2</sub>O (CCDC No.: 1865670) 的单位晶胞中, 中心钠离子分别与药物、水分子通过六根配位键桥接形成扭曲的八面体结构, 两根配位键使药物分子与钠离子成环, 表现出金属螯合物特征。进一步研究了钠螯合物的形成机制, 结果表明其形成包括脱质子和络合两步反应, 且两者几乎同时进行。通过模型拟合饱和溶液中钠螯合物各组分的存在状态方程, 阐明了钠螯合物的溶解-沉淀机制。PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 螯合物形成热力学和成核动力学结果说明钠螯合物的形成是一个自发的放热反应 ( $\Delta G < 0$ ,  $\Delta H < 0$ ), 即较低的温度将有利于螯合物结晶。相比市售的 PUEM, PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 展现了显著提高的水溶性, 溶解度和特性溶出速率分别提高了 33.5 和 37.6 倍, 具有改善药物口服吸收的潜力。此外, 通过研究晶体结构与水溶性间的关系发现, 相比于市售 PUEM, PUE-Na·7H<sub>2</sub>O 螯合物晶体具有更低的溶剂化自由能, 表明钠螯合物在热力学上更容易溶解。本研究为原料药优化和产品开发提供了有前景的策略, 也为理解钠螯合物的形成机制、晶体结构与其改善水溶性之间的关联

提供了科学的指导。未来研究可拓展至更多金属螯合物的探索、螯合物的药效学与安全性评价、剂型开发、分子设计及跨学科的综合应用, 旨在为难溶性药物的改良提供更科学有效的解决方案。

**作者贡献:** 蒋卫负责实验、数据分析、文章构思和初稿撰写; 朱峻霄负责数据分析、背景调研和文章构思; 陈慧参与热力学部分实验辅助; 张静文参与动力学部分实验辅助与背景调研; 张建军负责项目监督与数据管理; 高缘负责项目监督与项目管理; 钱帅负责论文审阅和修订; 魏元锋负责为研究提供资金支持、论文审阅和修订。

**利益冲突:** 本文所有作者声明不存在利益冲突关系。

## References

- [1] Zhong H, Chan G, Hu YJ, et al. A comprehensive map of FDA-approved pharmaceutical products [J]. *Pharmaceutics*, 2018, 10: 263.
- [2] Guo M, Ding WX, Peng B, et al. Development and prospects of predicting drug polymorphs technology [J]. *Acta Pharm Sin (药科学报)*, 2024, 59: 76-83.
- [3] Pang ZT, Wei YF, Chen H, et al. Thermodynamic and kinetic studies on the polymorphic transformations of puerarin hydrates [J]. *Int J Pharm*, 2021, 597: 120374.
- [4] Hua Y, Wu YS, Zheng DY, et al. Enhanced dissolution and tableability of lornoxicam by cocrystallization [J]. *Acta Pharm Sin (药科学报)*, 2022, 57: 1163-1171.
- [5] Sacchi P, Loconte L, Macetti G, et al. Correlations of crystal structure and solubility in organic salts: the case of the antiparasitodal drug piperazine [J]. *Cryst Growth Des*, 2019, 19: 1399-1410.
- [6] Heng WL, Su ML, Cheng H, et al. Incorporation of complexation into a coamorphous system dramatically enhances dissolution and eliminates gelation of amorphous lurasidone hydrochloride [J]. *Mol Pharm*, 2020, 17: 84-97.
- [7] Zhu JX, Wei YF, Zhang JJ, et al. Are all poorly soluble drugs dissolved in deep eutectic solvents true solutions? [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2023, 645: 813-822.
- [8] Stein BW, Morgenstern A, Batista ER, et al. Advancing chelation chemistry for actinium and other +3 f-elements, Am, Cm, and La [J]. *J Am Chem Soc*, 2019, 141: 19404-19414.
- [9] Breda SA, Jimenez-Kairuz AF, Manzo RH, et al. Solubility behavior and biopharmaceutical classification of novel high-solubility ciprofloxacin and norfloxacin pharmaceutical derivatives [J]. *Int J Pharm*, 2009, 371: 106-113.
- [10] Flaig KS, Raible B, Mormul V, et al. Generation of annelated dicarbenes and their alkali-metal chelate complexes in solution: equilibrium between hetero- and homoleptic NHC lithium complexes [J]. *Organometallics*, 2018, 37: 1291-1303.
- [11] Sun SC, Gong DF, Yuan TY, et al. Puerarin reduces oxidative

- damage to vascular endothelial cells by improving mitochondrial respiratory function [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2022, 57: 1352-1360.
- [12] Wang XN, Kong JQ. Research progress on the puerarin derivatization through biocatalysis [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2020, 55: 1590-1603.
- [13] Pang ZT, Wei YF, Wang NN, et al. Gel formation of puerarin and mechanistic study during its cooling process [J]. *Int J Pharm*, 2018, 548: 625-635.
- [14] Li Y, Yu Y, Wang H, et al. Effect of process parameters on the recrystallization and size control of puerarin using the supercritical fluid antisolvent process [J]. *Asian J Pharm Sci*, 2016, 11: 281-291.
- [15] Zhou YX, Zhang H, Peng C. Puerarin: a review of pharmacological effects [J]. *Phytother Res*, 2014, 28: 961-975.
- [16] Zhong ZY, Wu M, Qian S, et al. Inhibition of transformation from puerarin monohydrate to puerarin dihydrate by polyvinylpyrrolidones during dissolution [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2017, 52: 302-309.
- [17] Wei YF, Ma MJ, Lin YN. Co-amorphous substance of puerarin saccharin and preparation method thereof: CP, 201811105313.8 [P]. 2019-01-11.
- [18] Hua Y, Luo MQ, Xue YF. Lornoxicam and puerarin eutectic crystal and preparation method thereof: CP, 201911271716.4 [P]. 2021-08-31.
- [19] Issa MG, Ferraz HG. Intrinsic dissolution as a tool for evaluating drug solubility in accordance with the biopharmaceutics classification system [J]. *Dissolut Technol*, 2011, 18: 6-13.
- [20] Chen XM. Principle and Practice of Single Crystal Structure Analysis (单晶结构分析的原理与实践) [M]. Beijing: Science Press, 2007: 65-110.
- [21] Parsons S. Determination of absolute configuration using X-ray diffraction [J]. *Tetrahedron Asymmetry*, 2017, 28: 1304-1313.
- [22] Lange L, Schleinitz M, Sadowski G. Predicting the effect of pH on stability and solubility of polymorphs, hydrates, and cocrystals [J]. *Cryst Growth Des*, 2016, 16: 4136-4147.
- [23] Plewa A, Kalita M, Siekierski M. Estimation of ion pair formation constants of lithium salts in mixtures of glymes and 1,4-dioxane [J]. *Electrochim Acta*, 2007, 53: 1527-1534.
- [24] Kudo Y, Wakasa M, Ito T, et al. Determination of ion-pair formation constants of univalent metal-crown ether complex ions with anions in water using ion-selective electrodes: application of modified determination methods to several salts [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2005, 381: 456-463.
- [25] Wei YF, Zhang L, Wang N, et al. Mechanistic study on complexation-induced spring and hover dissolution behavior of ibuprofen-nicotinamide cocrystal [J]. *Cryst Growth Des*, 2018, 18: 7343-7355.
- [26] Fan YJ, Song YT, Zhang YQ, et al. Effect of solvents on the formation thermodynamics of baicalein-nicotinamide cocrystals [J]. *J China Pharm Univ (中国药科大学学报)*, 2016, 47: 437-441.
- [27] Xia YM, Wei YF, Chen H, et al. Competitive cocrystallization and its application in the separation of flavonoids [J]. *IUCrJ*, 2021, 8: 195-207.
- [28] Yasuyuki T, Chihiro T. Solvent effects on extraction of sodium picrate with 15-Crown-5. The determination of ion-pair formation constant of crown ether-metal salt 1: 1: 1 complex in water [J]. *Bull Chem Soc Jpn*, 1994, 67: 56-60.
- [29] Pang ZT, Weng X, Wei YF, et al. Modification of hygroscopicity and tableability of L-carnitine by a cocrystallization technique [J]. *Crystengcomm*, 2021, 23: 2138-2149.
- [30] Teleki A, Nylander O, Bergström CAS. Intrinsic dissolution rate profiling of poorly water-soluble compounds in biorelevant dissolution media [J]. *Pharmaceutics*, 2020, 12: 493.
- [31] Khan A, Iqbal Z, Khan I, et al. Intrinsic dissolution testing: a tool for determining the effect of processing on dissolution behavior of the drug [J]. *Dissolut Technol*, 2017, 24: 14-22.
- [32] James KC. Solubility and Related Properties (Drugs and the Pharmaceutical Sciences) [M]. New York: CRC Press, 1986: 28.
- [33] Mohammadian E, Rahimpour E, Barzegar-Jalali M, et al. Solubility of celecoxib in 1-propanol + water mixtures at  $T = (293.2 - 313.2) \text{ K}$ : experimental data and thermodynamic analysis [J]. *Phys Chem Liq*, 2018, 58: 175-183.