·实验研究·

溶剂对普拉格雷硫酸氢盐晶型转变过程的影响机制

卢　敏[1],宫　月[1],杜　威[1],王学魁[1],唐　娜[1],尹秋响[2]
(1 天津科技大学化工与材料学院,天津 300457;2 天津大学化工学院,天津 300072)

[摘要]　**目的:**为了确定普拉格雷硫酸氢盐多晶型体系的稳定性关系,阐明溶剂对其多晶型成核的影响规律,并揭示普拉格雷硫酸氢盐的转晶机制。**方法:**本文以普拉格雷硫酸氢盐晶型Ⅰ和晶型Ⅱ为研究对象,聚焦其溶剂介导的转晶过程,离线监测了转晶过程中悬浮固相的晶型组成和溶液浓度随时间的变化趋势,并揭示溶剂对其晶型转变过程的影响机制。**结果:**通过X-射线衍射法测定了普拉格雷硫酸氢盐Ⅰ晶型向Ⅱ晶型的溶剂介导转晶过程,结果表明该转晶过程的速率控制步骤为普拉格雷硫酸氢盐Ⅱ晶型的成核与生长。**结论:**综合考虑普拉格雷硫酸氢盐在丁酮、乙酸甲酯、甲基异丁基甲酮3种溶剂的转晶速率以及Ⅱ晶型在3种溶剂中的溶解度关系可知,普拉格雷硫酸氢盐Ⅱ晶型的成核过程除了受到溶解度的影响,还与普拉格雷硫酸氢盐分子和溶剂分子间氢键的强弱有关。

[关键词]　普拉格雷硫酸氢盐;多晶型;溶剂介导转晶;X-射线衍射;成核生长
[中图分类号]　R914　　[文献标志码]　A　　[文章编号]　1003－3734(2021)17－1616－05

The effect of solvent on crystal transformation process of prasugrel hydrogen sulfate and its mechanism

LU Min[1], GONG Yue[1], DU Wei[1], WANG Xue-kui[1], TANG Na[1], YIN Qiu-xiang[2]
(1 *Tianjin University of Science and Technology, College of Chemical Engineering and Materials Science, Tianjin* 300457, *China*; 2 *School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin* 300072, *China*)

[**Abstract**]　**Objective**: To determine the stable relationship of the polymorph system of prasugrel hydrogen sulfate, to clarify the influence rule of solvent on the polymorph nucleation of prasugrel hydrogen sulfate, and to reveal the crystal transformation mechanism of prasugrel hydrogen sulfate. **Methods**: In this study, crystal forms Ⅰ and Ⅱ of prasugrel hydrogen sulfate were selected as the research subjects, focusing on their solvent-mediated transcrystallisation proces, the off-line monitoring of the crystal form composition of suspended solid phase and the change of the solution concentration with time during the crystallization process. The influence mechanism of solvent on the crystal transformation process was also revealed. **Results**: Solvent-mediated crystallization of Prasugrel hydrogen sulfate form Ⅰ to form Ⅱ was monitored by X-ray diffraction, the results of which indicated that the rate-determining step during this process was the nucleation and growth of the prasugrel hydrogen sulfate form Ⅱ. **Conclusion**: Consider the crystal transformation rate of prasugrel hydrogen sulfate in three solvents, including butanone, MIK and methyl acetate, and the solubility relationship of crystal form Ⅱ in them, it can be concluded that the nucleation process of prasugrel hydrogen sulfate form Ⅱ is affected not only by solubility, but also by the strength of hydrogen bond between the molecules.

[基金项目]　国家自然科学基金青年基金资助项目(21506162);天津市自然科学基金青年基金资助项目(17JCQNJC13200)
[作者简介]　卢敏,女,硕士研究生,研究方向:盐化工及晶体形貌。E-mail:282303158@qq.com。
[通讯作者]　杜威,男,博士,硕士生导师,研究方向:药物结晶及晶体形态学研究。E-mail:duwei@tust.edu.cn。

[**Key words**] prasugrel hydrogen sulfate; polymorphs; solvent-mediated polymorphic transformation; X-ray diffraction; nucleation and growth

普拉格雷硫酸氢盐具有良好的口服吸收性、代谢活性和血小板凝聚抑制作用,毒性低,因此是一种很有发展前途的用于预防或治疗人的血栓形成或栓塞引起的疾病的抗凝药[1-2]。普拉格雷硫酸氢盐的结构式见图 1。一般情况,凡具有链状结构的化合物都有可能存在多晶型。在不同的溶剂或者不同的制备条件下进行结晶,分子链扭曲、化学键旋转以及局部构象变化等,导致溶质分子在各自晶胞里的排列数目和位置以及空间点阵形式不同,最终导致晶体结构不同[3-5]。

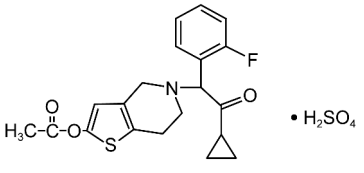


图 1 普拉格雷硫酸氢盐分子式结构

对于多晶型药物来说,必然会涉及多晶型之间的稳定性关系及其多晶型间的相互转变[6]。介稳晶型的吉布斯自由能高于稳定晶型,在一定条件下介稳晶型在能量差的推动下向稳定晶型转变[7]。多晶型之间的转变通常在溶剂中容易发生,一般将转晶过程分为介稳晶型的溶解、稳定晶型的成核、稳定晶型的生长 3 个步骤[8]。随着离线和在线监测等过程分析仪器的不断发展,溶剂介导转晶的过程可以被很好监测研究,这对于优化结晶工艺和多晶型新药的开发有重要意义。

材料与方法

1 药品

普拉格雷硫酸氢盐Ⅰ晶型和Ⅱ晶型(实验室制备,纯度 >97.0%);乙酸甲酯、甲基异丁基甲酮(天津风船化学试剂有限公司,分析纯);丁酮(天津科威有限公司,分析纯)。

2 仪器

XRD-6100 X 射线衍射仪(日本岛津公司);EL 204 分析天平(瑞士 Metler Toledo 公司);EMS-10 磁力搅拌器(天津欧诺仪器仪表有限公司);50/300 mL 玻璃夹套结晶器(天津友丰技术玻璃工作室);XOYS-2006 程序控温水浴槽(南京先欧仪器有限公司);SHZ-D(Ⅲ)循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限公司);XMTD-8222 真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。

3 表征方法

采用 X-射线衍射分析方法(PXRD)测定,称取一定量的普拉格雷硫酸氢盐晶体,压片制样,扫描范围为 5°~40°,扫描速度 1°·min^{-1},电压 40 kV,管电流 40 mA。

4 普拉格雷硫酸氢盐转晶过程测定

4.1 悬浮固相中普拉格雷硫酸氢盐多晶型定量表征 普拉格雷硫酸氢盐转晶过程采用离线 X 射线粉末衍射法,需要绘制定量分析标准曲线。该方法的主要依据是某种晶型其特征衍射峰强与该晶型在固体混合物中的质量百分比成正比,该方法在实验中得到了广泛的应用[9-10]。标准曲线绘制方法如下:① 取一定量的普拉格雷硫酸氢盐Ⅰ晶型和Ⅱ晶型,按照不同的质量配比混合制备成一系列的混合物,控制Ⅰ晶型的含量从 0 到 100%;将混合物在玛瑙研钵中研磨 30 min,其中确保轻轻研磨,避免因研磨压力过大引起晶体晶型发生变化。② 将配制好的混合样品用 X-射线衍射仪进行定量分析,首先确定各晶型的特征峰出峰位置,实验过程中每个样品重复测定 3 次,特征峰强度取 3 次测量的平均值。③ 按照式(1)计算每个样品中Ⅰ晶型和Ⅱ晶型特征峰强度比例,然后以Ⅰ晶型含量为横坐标,计算比例值为纵坐标作图,线性回归散点,得到标准曲线方程。

$$R_{\mathrm{I}} = \frac{I_{\mathrm{I}}}{I_{\mathrm{I}} + I_{\mathrm{II}}} \qquad \text{式(1)}$$

其中,I_{I} 为Ⅰ晶型的全部特征峰强度的和,I_{II} 为Ⅱ晶型全部特征峰强度的和。用标准方差(RSD)对标准曲线进行可靠性评估,标准方差计算公式见式(2)。

$$\mathrm{RSD} = \sqrt{\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}(y_i - Y_i)^2} \qquad \text{式(2)}$$

其中,y_i 为实际值,Y_i 为计算值,n 为测定次数。

④ 重新配制不同比例的多晶型混合物,用上述方法进行测定,将测定数值带入标准曲线计算,通过实验值和计算值的比较来对标准曲线进行检验。

4.2 普拉格雷硫酸氢盐转晶过程的实验测定 溶剂介导转晶过程分为介稳晶型的溶解、稳定晶型的

成核和稳定晶型的生长 3 个步骤，为了确定转晶过程的速率控制步骤，需要测定转晶过程中悬浮固相的晶型组成随时间的变化趋势以及转晶过程中溶液浓度的变化趋势。本实验采用离线 X-射线粉末衍射法来监测转晶悬浮固相晶型组成随时间的变化趋势，采用静态法来测定转晶过程中溶液浓度随时间的变化趋势，步骤如下：① 量取一定体积的溶剂置于结晶器中，开启恒温槽控制结晶器温度，加入过量的普拉格雷硫酸氢盐Ⅰ晶型，开启磁力搅拌使晶体悬浮均一，保持一定的固相负载量。② 开始计时，控制一定的取样时间间隔，使用注射器取一定量的悬浮液，固液分离后，固相进行 X-射线粉末衍射定量分析，且液相采用静态法测定其浓度。③ 采用离线分析固相 X-射线粉末衍射图谱，显示固相测定均为Ⅱ晶型时，即晶型完全转变，转晶过程结束，停止实验。

结　果

1　标准曲线的绘制

通过对比Ⅰ晶型和Ⅱ晶型的 X-射线粉末衍射图谱，2 种晶型的特征峰有很多，在选择特征峰的时候应结合 2 种晶型混合固相 X-射线粉末衍射图谱选择峰强最强且特征峰不叠加的峰。如图 2A 所示，本文选择Ⅰ晶型特征峰的衍射角为 22.5°，Ⅱ晶型特征峰的衍射角为 24.2°。特征峰的强度定义为从特征峰的顶点至该处零点的距离，是一个绝对值，见图 2B。

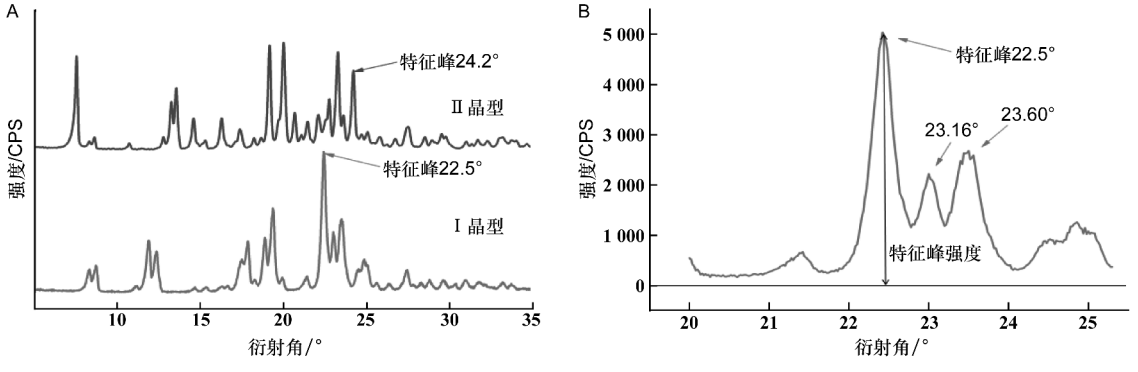


图 2　普拉格雷硫酸氢盐 2 种晶型的 X 射线衍射图谱

普拉格雷硫酸氢盐 2 种晶型不同混合比例的固相 X-射线粉末衍射图谱，见图 3。从图 3 中可以看出，随着Ⅰ晶型含量的增加其特征峰也在逐渐增强，而Ⅱ晶型特征峰强度则呈现相反的趋势。

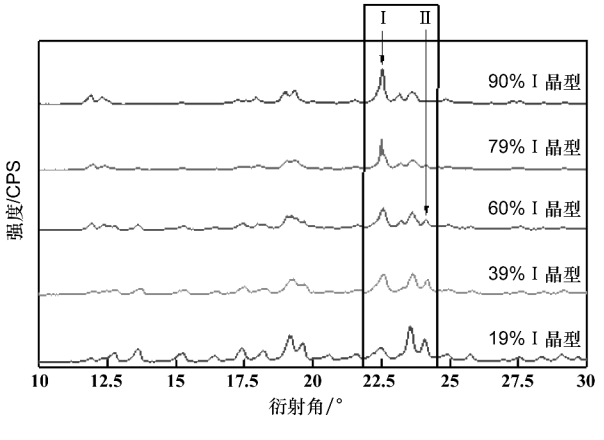


图 3　普拉格雷硫酸氢盐多晶型混合物 X 射线衍射图谱

将混合晶型测定结果进行线性回归得到标准曲线，回归结果见图 4，得到回归方程为 $R_1 = 0.943\,68X_1 + 0.078\,2$，$R^2 = 0.990\,91$，RSD = 0.053 148，其中 R_1 为混合固相中Ⅰ晶型特征峰强度的比例，X_1 为Ⅰ晶型在混合固相中的含量。

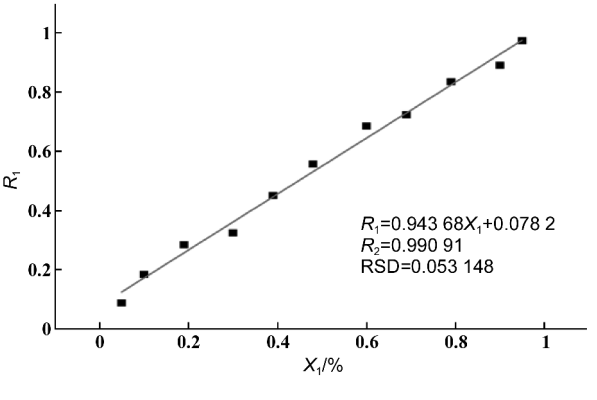


图 4　X 射线衍射定量分析标准曲线

为了检验 X-射线粉末衍射定量分析下限，又配制了含有微量Ⅱ晶型的混合固相，Ⅱ晶型含量约为 4.1%，3.0% 和 1.5%，通过对比纯Ⅰ晶型和Ⅱ晶型

的图谱,发现当Ⅱ晶型含量低于3.0%时,谱图中特征峰的强度和纯Ⅰ晶型保持一致,没有明显的峰强衰减,表明此时因Ⅱ晶型含量过低,超过了X-射线衍射仪的分辨下限,因此本实验认为X-射线粉末衍射对普拉格雷硫酸氢盐多晶型的检测下限质量分数为3.0%。

2 普拉格雷硫酸氢盐溶剂介导转晶过程的速率控制步骤

普拉格雷硫酸氢盐溶剂介导转晶速率控制步骤的确定是在40 ℃条件下乙酸甲酯溶液中进行的,离线取样分析结果见图5。一方面,最开始配制的是具有一定固含量的悬浮液,此时溶液中悬浮粒子均为普拉格雷硫酸氢盐Ⅰ晶型,Ⅱ晶型含量几乎接近于零(<3%),溶液浓度保持在一个较高的平台,平台出现一段时间前Ⅱ晶型并没有成核,说明Ⅰ晶型的溶解速率大于Ⅱ晶型的成核速率,即Ⅱ晶型成核所消耗的过饱和度可以通过Ⅰ晶型的迅速溶解补充;另一方面,之后Ⅰ晶型含量逐渐降低,Ⅱ晶型含量开始上升,表示Ⅱ晶型开始成核生长,当Ⅰ晶型固体含量降低接近消失的时候,溶液浓度还维持在较高的平台,说明Ⅱ晶型的生长速率小于Ⅰ晶型的溶解速率,即Ⅱ晶型生长所消耗的过饱和度通过Ⅰ晶型的溶解可以充分弥补。

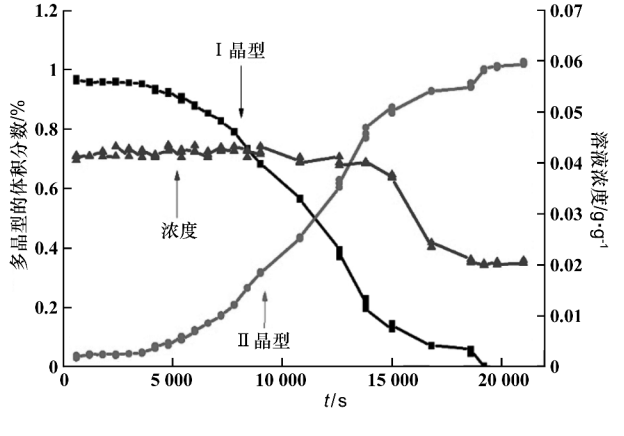


图5 在40 ℃乙酸甲酯溶剂中普拉格雷硫酸氢盐Ⅰ晶型的溶剂介导转晶过程

综上,普拉格雷硫酸氢盐溶剂介导转晶过程的速率控制步骤为Ⅱ晶型的成核与生长,即稳定晶型的成核和生长过程是该转晶过程的速率控制步骤。

3 溶剂对普拉格雷硫酸氢盐介导转晶过程的影响

选取乙酸甲酯、丁酮、甲基异丁基甲酮作为介导溶剂进行转晶实验,同样采用离线X-射线衍射法来监测转晶过程中各晶型含量随时间的变化趋势,转晶实验温度为40 ℃,实验结果见图6。

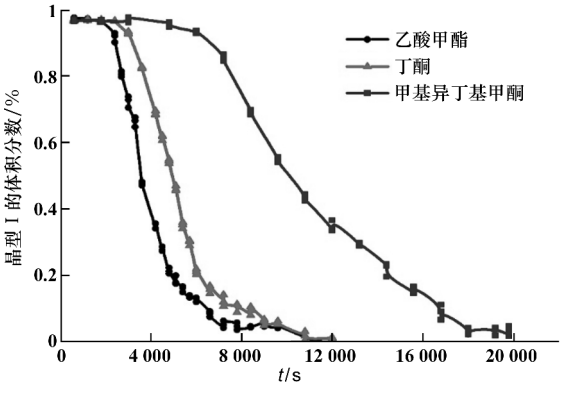


图6 Ⅰ晶型在乙酸甲酯、丁酮、甲基异丁基甲酮中向Ⅱ晶型的溶剂介导转晶过程

由图6可以看出,在40 ℃条件下,普拉格雷硫酸氢盐Ⅰ晶型在乙酸甲酯溶剂中完全转为Ⅱ晶型需要的时间最短,在这3种溶剂中完成转晶所需时间顺序为乙酸甲酯<丁酮<甲基异丁基甲酮。普拉格雷硫酸氢盐溶剂介导转晶实验表明,普拉格雷硫酸氢盐溶剂介导转晶过程的速率控制步骤是Ⅱ晶型的成核与生长,因此,影响Ⅱ晶型成核和生长速率的因素可能会进一步影响转晶速率。根据经典成核理论,溶质在溶剂中的溶解度越大,其在该溶剂中的成核速率越快。为此,本文采用静态法测定了普拉格雷硫酸氢盐Ⅱ晶型在这3种溶剂中的溶解度。实验结果见图7。

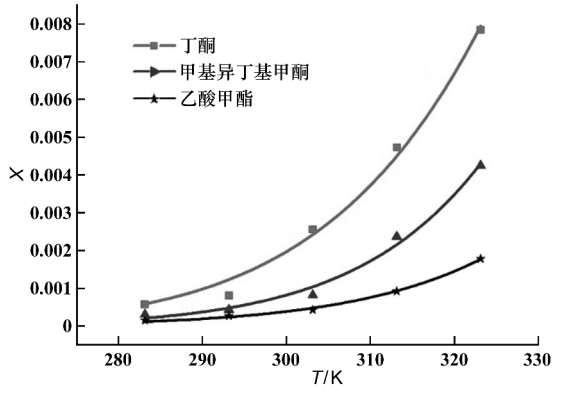


图7 普拉格雷硫酸氢盐Ⅱ晶型在丁酮、甲基异丁基甲酮和乙酸甲酯溶剂中溶解度

从图7中可以看出,Ⅱ晶型在3种溶剂中的溶解度大小顺序为丁酮>甲基异丁基甲酮>乙酸甲酯。根据经典成核理论,稳定晶型Ⅱ在丁酮中的溶

解度大于其在甲基异丁基甲酮和乙酸甲酯中的溶解度,那么,Ⅱ晶型在丁酮中的成核速率应该大于在甲基异丁基甲醇和乙酸甲酯中的成核速率,然而,实验测定的Ⅱ晶型在丁酮中的成核速率虽然大于其在乙酸甲酯中的成核速率,但是小于其在甲基异丁基甲酮中的成核速率,因此,经典成核理论为简化过程对分子之间相互作用力的忽略适用于普拉格雷硫酸氢盐多晶型的成核过程。Ⅰ晶型在 3 种溶剂中形成的溶液为非理想溶液,其溶剂分子与溶质分子之间的相互作用力不可忽视。溶液中溶质分子与溶剂分子之间的作用力主要为氢键和范德华力,氢键的强弱需要考察溶剂的氢键供体能力和氢键受体能力,范德华力的大小需要通过溶剂的极性/极化度来衡量。从表 2 可以看出,这 3 种溶剂的氢键受体能力(β)都比较接近,而氢键供体能力(α)和极性/极化度(π^*)差异显著。乙酸甲酯的氢键供体能力是 3 种溶剂中最小的,尽管其极性/极化度比丁酮大,但其与溶质分子的总体相互作用力最小,导致其与普拉格雷硫酸氢盐分子之间的脱除容易发生,从而促进了Ⅱ晶型的成核。丁酮的氢键供体能力虽然比甲基异丁基甲酮大,但其极性/极化度比甲基异丁基甲酮小很多,其整体上与溶质分子间的相互作用力小于甲基异丁基甲酮,从而导致普拉格雷硫酸氢盐Ⅱ晶型在丁酮中的成核速率大于其在甲基异丁基甲酮中的成核速率。因此,溶剂分子-溶质分子间相互作用力大小需同时考虑溶剂分子-溶质分子间的氢键和范德华力,而且溶解度和分子间相互作用力之间的平衡共同决定了成核速率的大小进而影响溶剂介导的转晶过程。

表 1 溶剂的性质

溶剂	α	β	π^*
乙酸甲酯	0	42	60
甲基异丁基甲酮	2	48	68
丁酮	6	48	42

结　论

本文主要通过 X-射线衍射法测定了普拉格雷硫酸氢盐Ⅰ晶型向Ⅱ晶型的溶剂介导转晶过程,用静态法测定了溶剂介导转晶过程中悬浮液浓度随时间的变化趋势,并考察了溶剂对普拉格雷硫酸氢盐溶剂介导转晶过程的影响机制。

通过 X-射线衍射法测定了普拉格雷硫酸氢盐的溶剂介导转晶过程,实验结果表明该转晶过程的速率控制步骤为普拉格雷硫酸氢盐Ⅱ晶型的成核与生长。通过普拉格雷硫酸氢盐在丁酮、乙酸甲酯、甲基异丁基甲酮 3 种溶剂中的转晶实验,以及Ⅱ晶型在 3 种溶剂中的溶解度可知,普拉格雷硫酸氢盐溶剂介导的转晶过程受溶解度和分子间相互作用力之间的平衡共同决定。

[参 考 文 献]

[1] 周云松, 王平保, 刘颖, 等. 噻吩并四氢吡啶衍生物的合成及其抗血小板聚集活性研究[J]. 药学学报, 2011, 46(1): 70 – 74.

[2] 何雷,魏娜,丁长坤,等. 普拉格雷有关物质的合成[J]. 中国医药工业杂志, 2018,49(1): 57 – 61.

[3] ZHAO ZQ. The hydrosulfate of prasugrel, its pharmaceutical combination and use thereof: US,20110124675[P]. 2011 – 05 – 26.

[4] HANMI HOLDINGS CO, LTD. PARK, CHANG HEE BAEK, *et al*. Novel polymorphic form of Prasugrel-hydrogen sulfate: US, WO2010KR05632[P]. 2011 – 03 – 10.

[5] TUKSAR M, BILJAN T, ZEGARAC M. Crystalline forms of prasugrel salts:US, 9012641[P]. 2015 – 04 – 21.

[6] BECHTLOFF B, NORDHOFF S, ULRICH J. Pseudopolymorphs in industrial use[J]. *Cryst Res Technol*, 2001, 36(12): 1315 – 1328.

[7] 王娜, 陶晓龙, 史欢欢, 等. 过程分析技术在晶体多晶型研究中的应用[J]. 化学工业与工程, 2017, 34(2): 1 – 9.

[8] 汤伟伟, 李斯, 龚俊波. 有机晶体成核分子机理研究进展[J]. 化学工业与工程, 2018, 35(3): 2 – 11.

[9] 肖燕, 王静康, 尹秋响, 等. 固体药物晶型定量分析方法[J]. 石油化工, 2015, 44(1): 11 – 18, 10.

[10] 马乐伟, 杜葳, 赵春顺. 药物晶型定量分析方法的研究进展[J]. 药学学报, 2011, 46(8): 896 – 903.

[11] DU W, YIN QX, HAO HX, *et al*. Solution-mediated polymorphic transformation of prasugrel hydrochloride from form Ⅱ to form Ⅰ[J]. *Ind Eng Chem Res*, 2014, 53(14): 5652 – 5659.

[12] GU CH, YOUNG V, GRANT DJ. Polymorph screening: influence of solvents on the rate of solvent-mediated polymorphic transformation[J]. *J Pharm Sci*, 2001, 90(11): 1878 – 1890.

[13] KHAMAR D, ZEGLINSKI J, MEALEY D, *et al*. Investigating the role of solvent-solute interaction in crystal nucleation of salicylic acid from organic solvents[J]. *J Am Chem Soc*, 2014, 136(33): 11664 – 11673.

[14] MURPHY D, RODRÍGUEZ-CINTRÓN F, LANGEVIN B, *et al*. Solution-mediated phase transformation of anhydrous to dihydrate carbamazepine and the effect of lattice disorder[J]. *Int J Pharm*, 2002, 246(1 – 2): 121 – 134.

[15] GIORDANO F. Polymorphism in pharmaceutical solids[J]. *J Control Release*, 2001, 71(3): 354 – 355.

[16] YANG LQ, YIN QX, HOU BH, *et al*. Solubility and thermodynamic stability of the enantiotropic polymorphs of 2, 3, 5-trimethyl-1, 4-diacetoxybenzene[J]. *Ind Eng Chem Res*, 2013, 52(7): 2477 – 2485.

[17] GU CH, YOUNG V, GRANT DJ. Polymorph screening: influence of solvents on the rate of solvent-mediated polymorphic transformation[J]. *J Pharm Sci*, 2001, 90(11): 1878 – 1890.

[18] MAHER A, CROKER DM, RASMUSON ÅC, *et al*. Solution mediated polymorphic transformation: form Ⅱ to form Ⅲ piracetam in ethanol[J]. *Cryst Growth Des*, 2012, 12(12): 6151 – 6157.

[19] CROKER D, HODNETT BK. Mechanistic features of polymorphic transformations: the role of surfaces[J]. *Cryst Growth Des*, 2010, 10(6): 2806 – 2816.

编辑:刘卓越/接受日期:2021 – 05 – 07