

不同晶习他克莫司一水合物晶型的表征研究及稳定性考察

吴萍¹, 黄国传¹, 刘文鹏¹, 高庆峰¹, 龚胜¹, 金美英¹, 俞卡茜² (1.杭州中美华东制药有限公司, 杭州 310011; 2.浙江大学化学系, 杭州 310028)

摘要: 目的 对2种不同晶习的他克莫司一水合物晶型(tacro-A和tacro-B)的结构进行表征研究及加速稳定性考察。方法 采用X-射线单晶衍射和X-射线粉末衍射技术结合BFDH模型理论,对晶体结构进行表征研究;通过扫描电镜技术获得2种晶习样品的微观晶体形态;采用6个月加速稳定性试验对2种晶体进行稳定性考察。结果 呈柱状的tacro-B加速稳定性优于呈薄片状的tacro-A,tacro-B在6个月加速稳定性考察下无新增杂质。结论 在保持药物内部结构(即晶型)不变的情况下,通过调节其外部结构(如晶习),也是改变药物性质如溶解性、稳定性的重要途径,值得研究和关注。

关键词: 他克莫司;晶习;晶体结构;稳定性

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2022)14-1856-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.14.010

引用本文: 吴萍,黄国传,刘文鹏,等.不同晶习他克莫司一水合物晶型的表征研究及稳定性考察[J].中国现代应用药学,2022,39(14):1856-1862.

Study on the Characterization and Stability of Different Crystal Habits of Tacrolimus Monohydrate

WU Ping¹, HUANG Guochuan¹, LIU Wenpeng¹, GAO Qingfeng¹, GONG Sheng¹, JIN Meiyi¹, YU Kaxi² (1.Hangzhou Zhongmei Huadong Pharmaceutical Co., Ltd., Hangzhou 310011, China; 2.Department of Chemistry, Zhejiang University, Hangzhou 310028, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the structure characterization and accelerated stability of tacrolimus monohydrate (tacro-A and tacro-B) with different crystal habits. **METHODS** The crystal structure was characterized by X-ray single crystal diffraction and X-ray powder diffraction combined with BFDH model theory. The micro crystal morphology of the two samples were obtained by scanning electron microscopy. The stability of the two crystals were investigated by 6-month accelerated stability test. **RESULTS** The column shape tacro-B was better than the sheet shape tacro-A in the accelerated stability test, and there was no new impurity in tacro-B after 6 months of accelerated stability test. **CONCLUSION** It is an important way to change the drug properties such as solubility and stability by adjusting its external structure (such as crystal habit) while keeping the internal structure (i.e. crystal form) unchanged.

KEYWORDS: tacrolimus; crystal habit; crystal structure; stability

他克莫司是全球首个获批准的非皮质类固醇类外用免疫调节剂,是一种从链霉菌发酵中分离得到的23元环强效的大环内酯类免疫抑制剂^[1-2],1994年被FDA批准用于实体器官移植抗排斥反应,上市以来已广泛用于肝、肾和骨髓等移植的急慢性排斥治疗^[3-4],已成为预防移植排斥反应的一线用药^[5]。它的主要药理作用在于能有效抑制T细胞释放白细胞介素IL-2、IL-3、干扰素 γ (IFN- γ),以及抑制IL-2R的表达而发挥其强大的免疫抑制作用^[6-8]。他克莫司结构中存在多个手性中心,常以结合一分子水的形式存在,一水合物晶型目前作为药物活性成分(active pharmaceutical ingredients, API)广泛应用于临床,具有极大的商

业价值。但他克莫司在强光、高温等条件下会引起结构破坏,溶解在含有水分的极性溶剂里(如乙醇、乙腈、丙酮、氯仿等),容易发生哌啶羧酸部位的差向异构,形成他克莫司异构体I和异构体II,异构体结构处于亚稳态,异构体和他克莫司能相互转化,溶解在上述极性溶剂里静置>3 h会达到异构动态平衡^[9]。笔者在质量研究中发现,他克莫司一水合物对温度和湿度敏感,在长期稳定性和加速稳定性试验中时有发生部分降解现象,产生一些工艺杂质之外的未知降解杂质。

药物的固体形式对其理化性质和后续产品性能有相当大的影响,不同的固体形式具有热力学参数和物理化学特性差异,固体形式包括结晶形

基金项目:浙江省科技计划项目(2019C03087)

作者简介:吴萍,女,工程师 E-mail: wuping@eastchinapharm.com

和无定形；而晶面生长速率差异化导致晶体出现不同的晶习^[10-12]。对同一种药物来说，不同的晶型常常会有不同的溶解性、熔点、溶出度、稳定性等，但研究发现，药物的同种晶型因其晶习(也叫晶癖)不同，也会导致其溶解性、稳定性、加工性等的差异^[13-17]。目前，对药物的晶习研究越来越得到广泛的关注和足够的重视。因此，通过改变晶习来优化晶体性能，为改变药物物理化学性质提供了一种新方法。

本研究通过调整结晶工艺参数，制备具有不同晶习的他克莫司一水合物(图1)。利用X-射线单晶衍射和X射线粉末衍射的方法系统地对他克莫司一水合物晶体的结构进行表征研究；基于BFDH模型理论预测他克莫司晶体的晶习，揭示他克莫司晶习与稳定性的相互关联，确认不同晶习他克莫司一水合物对稳定性的影响。

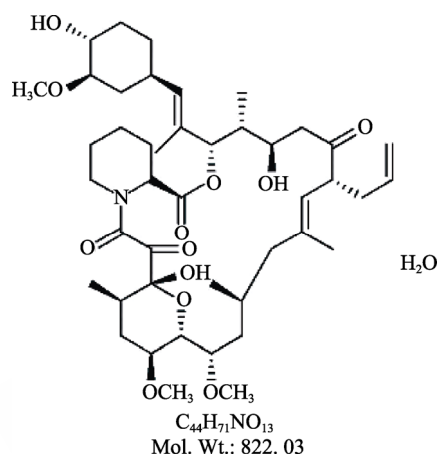


图1 他克莫司一水合物化学结构式

Fig. 1 Chemical diagram of tacrolimus monohydrate

1 仪器与试剂

Rigaku D/Max-2550PC X射线粉末衍射仪(日本 Rigaku 公司); APEX-II CCD X射线单晶衍射仪(德国 Bruker 公司); Agilent1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); KBF720 恒温恒湿箱(德国 BINDER 公司); SU8010 扫描电镜(日本 Hitachi 公司)。

他克莫司(杭州中美华东制药有限公司, 含量>99%; 批号: 190151FK); 他克莫司对照品(浙江省食品药品检验研究院, 纯度: 99.0%; 批号: 20190527); 乙醇(分析纯)、磷酸(分析纯)均购自国药集团化学试剂有限公司; 乙腈(色谱纯)、甲基叔丁基醚(色谱纯)均购自默克化工技术(上海)有限公司。

2 方法

2.1 他克莫司结晶试验

他克莫司晶习 A(tacro-A)制备方法: 他克莫司在乙醇和水中溶解, 通过快速降温得到结晶性粉末。结晶过程为他克莫司在乙醇中溶清(常温), 边搅拌边加水, 一次性加入水后快速降温到 4℃ 过滤, 50℃ 干燥得到晶体, 他克莫司: 乙醇: 水=1:5:5。

他克莫司晶习 B(tacro-B)制备方法: 在 tacro-A 的基础上, 通过改变反溶剂(水)的加入方式进行制备。与 tacro-A 的主要区别是结晶的初期状态、搅拌速率和降温速率。结晶过程为他克莫司加入乙醇中, 加热至 40℃ 溶清, 然后控制反溶剂滴加速度在 0.5 mL·min⁻¹, 边搅拌边滴加水, 滴加完成后, 在搅拌情况下进行缓慢降温, 降温至 4℃ 时过滤, 50℃ 干燥得到晶体。他克莫司: 乙醇: 水=1:5:5。

他克莫司单晶培养方法: 将适量的他克莫司溶解在乙醇和水的混合溶剂中(乙醇: 水=3:2)配成近饱和溶液, 置于室温下数天后获得大小合适的单晶。

2.2 X射线粉末衍射

取适量他克莫司一水合物晶型样品(颗粒度约 300 目), 置于玻璃样品板上制样, 在 Rigaku D/Max-2550PC X射线粉末衍射仪上测定。测试条件为: CuKα 射线($\lambda=1.54059 \text{ \AA}$), 电压 40 kV, 电流 250 mA, 扫描范围 3°~40°(2 θ), 步宽 0.02°, 扫描速度 5 mL·min⁻¹。所得数据用 MDI-Jade version 7.5.1 软件处理。

2.3 X射线单晶衍射

挑选尺寸为 0.35 mm×0.13 mm×0.06 mm 的晶体置于 APEX-II CCD X射线单晶衍射仪的测角仪上, 采用 ω 和 ϕ 扫描方式在 3.233°~68.368°的 θ 范围内采集单晶衍射数据, 数据采集温度为 170 K。共收集衍射数据 53 838 点, 其中独立衍射有 8 482 点, $I>2\sigma(I)$ 有 8 214 点。晶体结构由直接法解析得到, 对全部非氢原子坐标及各向异性温度因子用全矩阵最小二乘法进行修正。氢原子的位置通过差值 Fourier 法确定, 但采用理论加氢方式加氢, 并采用 riding 模式进行修正。结构解析和修正采用的是 SHELXS 97 和 SHELXL 97 软件^[18-19]。用 Murcury^[20]和 Diamond^[21]软件来画图。

2.4 扫描电镜

采用 Hitachi SU8010 扫描电镜表征他克莫司晶体的晶习形貌,操作电压 5 kV,电流 10 μ A,样品表层喷金后固定于样品台上,推入样品仓测定。

2.5 API 加速稳定性试验考察

加速稳定性试验考察药物的化学或物理变化,探讨药物的稳定性。采用加速条件是参考 ICH-Q1A 及中国药典 2020 版四部原料药物与制剂稳定性试验指导原则中的加速试验方法:将供试品(API 用聚乙烯袋和铝塑复合袋密封外包装)在温度(40 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C、相对湿度(75 $\pm$ 5)% RH 的条件下放置 6 个月。在 3 个时间点(0, 3, 6 个月)取样进行 HPLC 有关物质检测。

2.6 晶习的模拟计算

使用 Materials Studio 软件进行 BFDH 模型预测。

2.7 他克莫司美国药典液相检测方法

HPLC 检测不同晶习的他克莫司一水合物晶型光学异构体、有关物质及含量,实验中采用的 HPLC 参考美国药典 42 中他克莫司标准有关物质 HPLC 检测方法。

实验采用 C₁₈ Luna 色谱柱(4.6 mm $\times$ 150 mm, 3 μ m);流速:1.5 mL $\cdot$ min⁻¹;波长:220 nm;柱温:60 $^{\circ}$ C;进样量:20 μ L;稀释剂:乙腈-水(7:3);样品浓度:30 mg 样品至 10 mL 量瓶中,加稀释剂溶解至刻度(3 000 μ g $\cdot$ mL⁻¹);流动相 A 为 6 mmol $\cdot$ L⁻¹ 磷酸溶液, B 为乙腈-甲基叔丁基醚(81:19), C 为 A-B(8:2), D 为 A-B(2:8), 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱表

Tab. 1 Gradient elution table

t/min	流动相 C/%	流动相 D/%
0	72	28
30	72	28
53	15	85
54	72	28
60	72	28

3 结果

3.1 他克莫司一水合物晶体结构分析

晶体结构解析结果表明,他克莫司样品分子式为 C₄₄H₆₉NO₁₂ $\cdot$ H₂O,晶体结构见图 2,属正交晶系, P2₁2₁2₁(19#)空间群,晶胞参数: a =10.827(4) $\text{\AA}$, b =15.849(4) $\text{\AA}$, c =27.011(8) $\text{\AA}$, V =4635(2) $\text{\AA}^3$, Z =4。

单晶衍射结果显示,其最小不对称单元中含有 1 个他克莫司分子和 1 个水分子,水分子和他克莫司分子通过氢键连接,水分子作为桥原子通过氢键 O5-H5 $\cdots$ O13, O13-H13A $\cdots$ O3ⁱ[对称关系: (i)1- x , -1/2+ y , 1/2- z]将他克莫司分子接成一沿 b 方向无限延伸的分子链(图 3),此分子链又通过分子间的氢键作用 O10-H10 $\cdots$ O9ⁱⁱ 和 O12-H12 $\cdots$ O7ⁱⁱⁱ[对称关系: (ii)1/2+ x , 1/2- y , 1- z ; (iii) 1/2- x , 1- y , -1/2+ z]连接,并沿 c 方向平行堆叠形成二维氢键网络,见图 4,因此结构中的水分子具有较好的稳定性。即其为他克莫司一水合物晶型。晶体学数据和氢键见表 2~3。

表 2 他克莫司一水合物的晶体学数据

Tab. 2 Crystallographic data of tacrolimus monohydrate

项目	他克莫司一水合物
中文名	17-烯丙基-1,14-二羟基-12-[2-(4-羟基-3-甲氧基环己基)-1-甲基乙烯基]-23,25-二甲氧基-13,19,21,27-四甲基-11,28-二噁-4-氮杂环 [22.3.1.04,9] 二十八烷-18-烯-2,3,10,16-四酮一水合物
化学分子式	C ₄₄ H ₆₉ NO ₁₂ $\cdot$ H ₂ O
晶体形状、颜色、尺寸	针状、无色透明; 0.35 mm $\times$ 0.13 mm $\times$ 0.06 mm
晶系	Orthorhombic
空间群	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
晶胞参数	a =10.827(4) $\text{\AA}$, b =15.849(4) $\text{\AA}$, c =27.011(8) $\text{\AA}$
晶胞体积	V =4 635(2) $\text{\AA}^3$
单位晶胞分子数	4
分子量(Mr)	822.01
计算密度(Dc)	1.178 g $\cdot$ cm ⁻³
吸收系数(μ)	0.701 mm ⁻¹
F(000)	1 784.0
最终 R 因子	R_1 =0.0516, wR_2 =0.1360
Goodness-of-fit on F2 (S)	1.023
shift/su_max(δ/σ)	0.000
残差	0.579e-/ $\text{\AA}^3$ (max), -0.345e-/ $\text{\AA}^3$ (min)
绝对构型确认方法	ad
Flack 值	-0.03(4)
衍射数据采集及结构分析的相关信息:	
X 射线种类、波长	CuK α , λ =1.541 78 $\text{\AA}$
总衍射数据/独立衍射	53 838/8 482
I 大于 2 σ (I)	8 214
数据完整度	99.9%
修正变量/约束数目	537/2
结构修正方式	基于 F2 的全矩阵最小二乘修正
衍射数据采集温度	170 K

3.2 他克莫司一水合物 X 射线多晶衍射分析

不同晶习的他克莫司 tacro-A 和 tacro-B 样品的 X 射线粉末衍射图谱(图 5)显示,二者的衍射峰

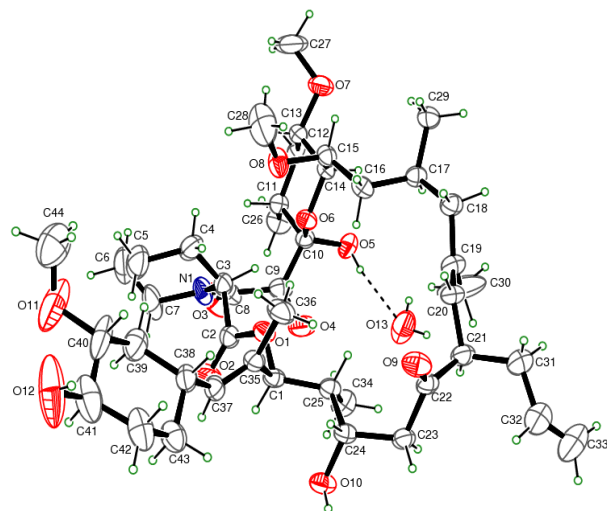


图2 他克莫司一水合物的晶体结构图
Fig. 2 Crystal structure of tacrolimus monohydrate

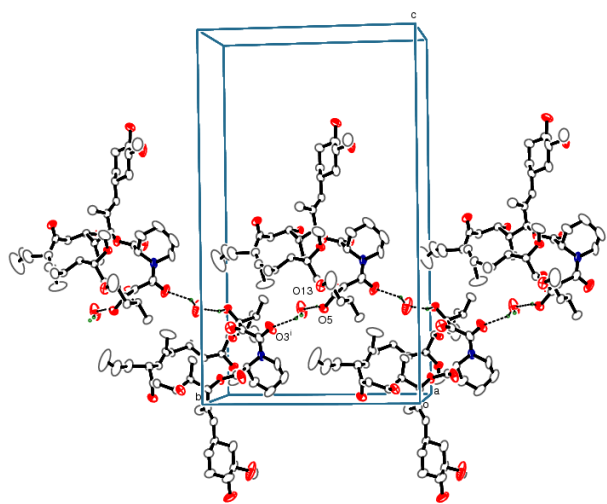


图3 他克莫司一水合物晶型的氢键连接图(沿b方向)
Fig. 3 Hydrogen bond connection diagram of tacrolimus monohydrate(along the b direction)

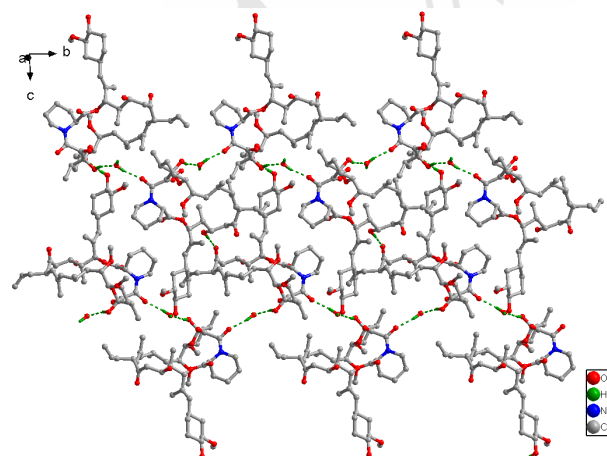


图4 他克莫司一水合物晶型的二维氢键网络(沿bc方向)
Fig. 4 Two-dimensional hydrogen-bond networks of tacrolimus monohydrate(along bc plane)

表3 他克莫司一水合物的氢键

Tab. 3 Hydrogen-bond of tacrolimus monohydrate

D-H...A	d(D-H)/Å	d(H-A)/Å	d(D-A)/Å	D-H-A/(°)
O5-H5...O4	0.84	2.31	2.710(4)	109.9
O5-H5...O13	0.84	1.96	2.774(5)	163.2
O10-H10...O9 ¹	0.84	2.04	2.858(3)	165.2
O12-H12...O7 ²	0.84	1.98	2.814(4)	170.9
O13-H13A...O3 ³	0.87	1.94	2.771(5)	160.4
O13-H13B...O12 ⁴	0.87	2.54	3.384(7)	165.4

注: 对称关系为(1) $1/2+X, 1/2-Y, 1-Z$; (2) $1/2-X, 1-Y, -1/2+Z$; (3) $1-X, -1/2+Y, 3/2-Z$; (4) $3/2-X, 1-Y, 1/2+Z$ 。

Note: Symmetric relation were (1) $1/2+X, 1/2-Y, 1-Z$; (2) $1/2-X, 1-Y, -1/2+Z$; (3) $1-X, -1/2+Y, 3/2-Z$; (4) $3/2-X, 1-Y, 1/2+Z$.

数量和位置相同,主要特征衍射峰与文献[22]报道和用单晶衍射数据计算得到的他克莫司一水合物晶型的特征衍射谱线一致,在衍射角 2θ 值为 6.4° , 8.6° , 10.3° , 11.2° , 12.6° , 13.8° , 14.2° , 15.3° , 17.2° , 19.1° 等处有相同的特征衍射峰,但是 tacro-A 和 tacro-B 样品的有些特征衍射峰的相对强度存在明显差异(表 4),主要区别在衍射角 2θ 值为 8.6° , 10.3° , 11.2° , 12.6° , 分别对应于(012)、(102)、(013)和(103)晶面。

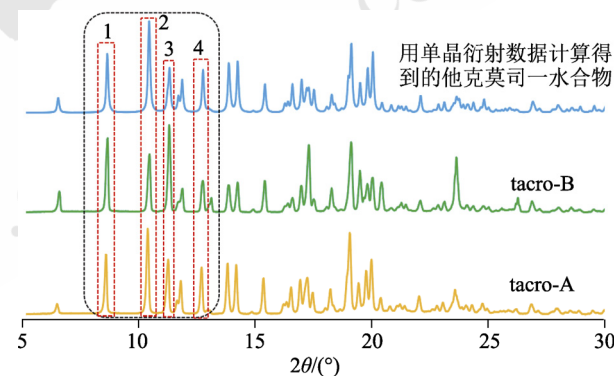


图5 不同晶习的他克莫司一水合物晶型的X射线粉末衍射图

Fig. 5 X-ray powder diffraction diagram of tacrolimus monohydrate having different crystal habit

表4 2种晶习的他克莫司一水合物特征X射线粉末衍射谱线表

Tab. 4 X-ray powder diffraction diagram of tacrolimus monohydrate crystal habits

编号	$2\theta/(^\circ)$	晶面	相对强度(I/I_0)/%	
			tacro-A	tacro-B
1	8.6	012	71.3	84.8
2	10.3	102	100.0	67.2
3	11.2	013	65.0	100.0
4	12.6	103	56.3	37.9

3.3 他克莫司一水合物晶习的模拟计算和晶面指标分析

他克莫司一水合物的 BFDH 模型见图 6, 他克莫司一水合物的理论晶习使用 Materials Studio 软件根据 BFDH 模型预测, BFDH 模型是快速预测晶体形貌中最易形成的晶习的一种方法, 常常用来初步确定晶体的晶面^[23-25]。BFDH 模型认为晶面的相对生长速率与晶面间距成反比, 晶面间距越小时, 晶面生长速度越快, 在最终晶体形貌中可能消失, 因此最重要的晶面有最大的晶面间距。对于他克莫司一水合物晶体, 其晶体形态呈多面体, 其中比较重要的晶面是(011)及其相关的(012), (013)和(101)及其相关的(102)、(103), 这些晶面生长速度出现互相竞争的趋势, 其中与氢键方向相关的晶面(012)和(013)为优势生长面, 因此易出现薄、长的晶体, 用扫描电镜拍摄到的晶体形态见图 7, 与模拟的外形吻合。

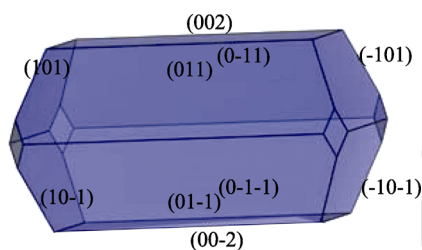


图 6 他克莫司一水合物的 BFDH 计算形态模拟

Fig. 6 Morphology predictions for tacrolimus by means of BFDH calculation

从图 7 可以看出, tacro-A 和 tacro-B 的晶体形状不同, 主要是长度和厚度不同。tacro-A 晶体长宽比 $>5:1$, 呈薄片状, tacro-B 晶体长宽比较接近, 较厚, 呈柱状晶体。

3.4 不同晶习他克莫司一水合物加速稳定性结果对比

将他克莫司不同工艺制备的 API 供试品, 统一过 200 目筛网后, 进行加速稳定性考察, 分别取 0, 3, 6 个月的供试品进行 HPLC 液相检测其有关物质, 结果见表 5。

tacro-A 样品在加速稳定性考察中较不稳定, 加速 3 个月时已降解产生多个小杂质, 6 个月时杂质明显增多, 杂质个数达到了 6 个, 最大未知杂质为 0.19%, 已 $>0.10\%$ 限度; tacro-B 样品在加速稳定性 6 个月时未有杂质产生。

异构体比例两者变化不大, 但 tacro-A 在第 6

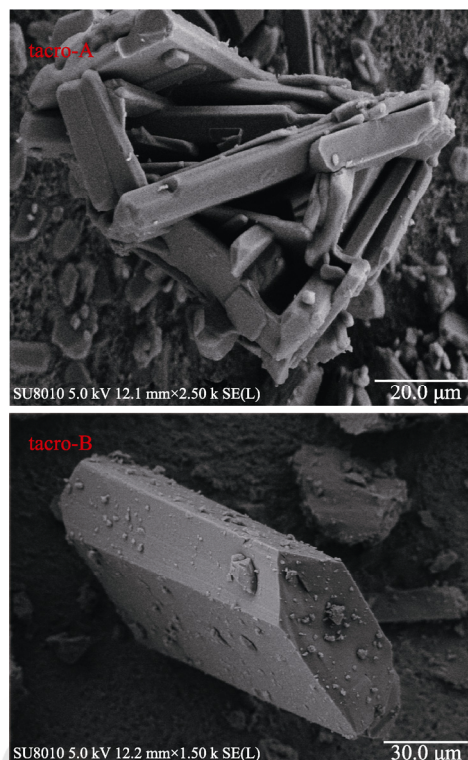


图 7 Tacro-A 晶体和 tacro-B 晶体外观

Fig. 7 Crystal shape for tacro-A and tacro-B

个月加速稳定性检测中含量从 98.56%降至 97.38%, 有一定程度的下降。而 tacro-B 样品的含量在 6 个月加速试验中基本保持不变。tacro-A 和 tacro-B 在 6 个月加速稳定性试验中晶型均未发生变化。

4 讨论

晶体的晶习是指晶体在一定的物理化学条件下所表现出的形态特征。晶体的最终形态与晶体各晶面相对生长速率相关, 生长快的晶面裸露少, 生长慢的晶面显露多。晶体的形态是晶体的内部结构和形成时的物理化学条件的综合反映^[26]。对他克莫司一水合物单晶结构的研究表明, 晶体生长是由晶格中氢键网络形成所驱动的, tacro-A 晶体是在无外界干扰、静置状态下慢慢成核生长, 其自然沿着氢键(012)和(013)方向生长速度比较快, 相应的这 2 个晶面的裸露比较少, 对应的特征衍射峰强度较小, 从而形成薄片晶体。tacro-B 晶体是通过调节结晶条件如温度、过饱和度、冷却速率、搅拌速率等来改变生长速率和方向, 使其减小沿氢键形成方向的生长速率, 在其他晶面同时诱导生长, 从而改变晶体的厚度及长宽比, (012)、(013)面裸露较多, 这 2 个方向的衍射峰相对强度变强, 因此, 晶体的长宽比变小, 厚度变大。

表 5 tacro-A 和 tacro-B 加速稳定性对比

Tab. 5 Comparison of accelerated stability between tacro-A and tacro-B

0 个月		tacro-A	tacro-B
有关物质	$W_{\Sigma}/\%$	N/A	N/A
	$W_{\text{单大}}/\%$	N/A	N/A
	杂质数/个	0	0
	USP 中已知杂质	N/A	N/A
异构体/%	异构体I(RRT=0.52)	3.28	3.37
	异构体II(RRT=0.63)	7.80	7.23
	含量(未折干水含量)/%	98.56	98.16
晶型		他克莫司 一水合物	他克莫司 一水合物
3 个月		tacro-A	tacro-B
有关物质	$W_{\Sigma}/\%$	0.11	N/A
	$W_{\text{单大}}/\%$	0.05	N/A
	杂质数/个	3	0
	未知杂质 1 (RRT=0.28)/%	0.05	N/A
	未知杂质 2 (RRT=0.30)/%	0.02	N/A
	未知杂质 3 (RRT=1.65)/%	0.04	N/A
	USP 中已知杂质	N/A	N/A
	USP 中已知杂质	N/A	N/A
异构体/%	异构体I(RRT=0.52)	2.89	3.29
	异构体II(RRT=0.63)	6.07	7.09
	含量(未折干水含量)/%	98.18	98.59
晶型		他克莫司 一水合物	他克莫司 一水合物
6 个月		tacro-A	tacro-B
有关物质	$W_{\Sigma}/\%$	0.46	N/A
	$W_{\text{单大}}/\%$	0.19	N/A
	杂质数/个	6	0
	未知杂质 1 (RRT=0.28)/%	0.19	N/A
	未知杂质 2 (RRT=0.30)/%	0.08	N/A
	未知杂质 3 (RRT=1.55)/%	0.05	N/A
	未知杂质 4 (RRT=1.60)/%	0.04	N/A
	未知杂质 5 (RRT=1.63)/%	0.05	N/A
	未知杂质 6 (RRT=1.65)/%	0.05	N/A
	USP 中已知杂质	N/A	N/A
	USP 中已知杂质	N/A	N/A
	USP 中已知杂质	N/A	N/A
异构体/%	异构体I(RRT=0.52)	3.48	3.16
	异构体II(RRT=0.63)	7.15	7.01
	含量(未折干水含量)/%	97.38	98.46
晶型		他克莫司 一水合物	他克莫司 一水合物

注: 26.4 min 为主峰他克莫司, 异构体I和异构体II为他克莫司的差向异构体, 其异构结构转化已有文献报道, 不归为有关物质^[27]。

Note: 26.4 min was the main peak of tacrolimus. Isomer I and isomer II were epimers of tacrolimus. The isomeric structure transformation of tacrolimus had been reported in literature and were not classified as related substances^[27].

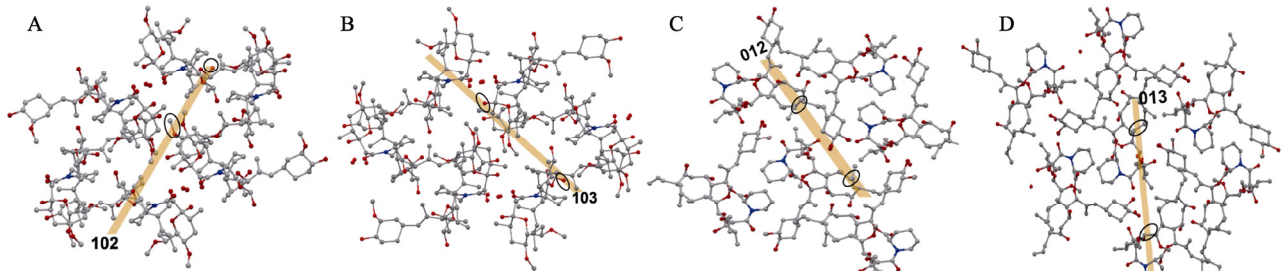


图 8 沿着(102)面(A)、(103)面(B)、(012)面(C)和(013)面(D)的表面结构

Fig. 8 Surface chemistry structure packing along (102) face(A), (103) face(B), (012) face(C) and (013) face(D)

tacro-A 和 tacro-B 在加速稳定性考察中表现出不同的稳定性, tacro-A 晶体在温度(40±2)°C、相对湿度(75±5)% RH 的条件下放置 6 个月, 产生了 6 个未知的降解杂质, 最大单杂已达到 0.19%, > 0.10%警戒限度; 而 tacro-B 晶体在 6 个月放置过程中未产生降解杂质, 这是由于晶习不同导致暴露的官能团比例不同, 从而导致其稳定性的差异。tacro-A 和 tacro-B 晶体在(102)、(103)、(012)、(013)晶面的相对丰度差异显著, tacro-A 晶体在(102)和(103)方向相对丰度远高于 tacro-B 晶体。(102)晶面是他克莫司分子中羟基(-OH)和甲氧基(-OCH₃)暴露的晶面, (103)晶面则有极易发生差向异构的哌啶羧酸部位裸露在外, 这使得该表面更加敏感, 而(012)、(013)晶面裸露的基本上是惰性基团, 结果见图 8。因此, 笔者认为(102)晶面和(103)晶面相对强度的减少使得晶体中羟基(-OH)和甲氧基(-OCH₃)暴露在表面的程度减少, 从而提高了他克莫司的晶体稳定性。加速稳定性考察试验结果也表明 tacro-B 晶体稳定性确实优于 tacro-A 晶体。

长宽比>10:1 或者 5:1 的药物晶体经粉碎后, 虽然表面上能使晶体长宽比变小, 但粉碎的过程是杂乱无序的, 并不能像通过调节工艺参数来有序获得长宽比变小的晶体, 且粉碎后晶体比表面积变大, 暴露基团更多, 活化能变大, 导致无法获得更好的晶体物理化学稳定性。

5 结论

采用不同的工艺制备不同晶习的他克莫司一水合物晶体, 虽然它们具有相同的晶体结构, 但它们的稳定性有显著差异, 这可能是由于晶体暴露的表面各向异性和丰度的不同造成的。因此在保持药物内部结构(即晶型)不变的情况下, 通过调节其外部结构(如晶习), 也不失为一条改变药物性质如溶解性、稳定性的重要途径, 非常值得研究和关注。

REFERENCES

- [1] BARREIRO C, MARTÍNEZ-CASTRO M. Trends in the biosynthesis and production of the immunosuppressant tacrolimus (FK506)[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2014, 98(2): 497-507.
- [2] KIM H S, PARK Y I. Isolation and identification of a novel microorganism producing the immunosuppressant tacrolimus [J]. J Biosci Bioeng, 2008, 105(4): 418-421.
- [3] AKIMOTO K, KUSUNOKI Y, NISHIO S, et al. Safety profile of tacrolimus in patients with rheumatoid arthritis[J]. Clin Rheumatol, 2008, 27(11): 1393-1397.
- [4] DU Y, ZHANG S F, MU Y, et al. Advances in the effects of gene polymorphisms on pharmacokinetics of tacrolimus after kidney transplantation[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2021, 38(21): 2741-2747.
- [5] FANG H H, GUO J, GUI S Y, et al. Preparation and *in vitro* dissolution of tacrolimus solid dispersions[J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2016, 36(9): 710-714.
- [6] 文爱东, 王为忠, 赵磊, 等. 他克莫司在活体小肠移植患者体内的药代动力学[J]. 中华器官移植杂志, 2001, 22(20): 189.
- [7] WANG L M, MIN Z L, ZHU Y H, et al. Clinical research of FK506 therapeutic window concentration in renal transplant recipients[J]. Chin J Organ Transplant(中华器官移植杂志), 2000, 21(3): 145-146.
- [8] 王华光, 王鹤尧, 龙江. 他克莫司临床应用的新进展[J]. 中国药物应用与监测, 2004(2): 5-7.
- [9] NAMIKI Y, KIHARA N, KODA S, et al. Tautomeric phenomenon of a novel potent immunosuppressant (fk506) in solution[J]. J Antibiot, 1993, 46(7): 1149-1155.
- [10] MULLIN J W. Crystallization[M]. Butterworth-Heinemann, Oxford, 2001: 181-284.
- [11] PERUMAL O P, PODARALLA S K. Role of preformulation in development of solid dosage forms[M]//Pharmaceutical Manufacturing Handbook. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2007: 933-975.
- [12] SUN C C. Materials science tetrahedron: A useful tool for pharmaceutical research and development[J]. J Pharm Sci, 2009, 98(5): 1671-1687.
- [13] MITTAL A, MALHOTRA D, JAIN P, et al. Studies on aspirin crystals generated by a modified vapor diffusion method[J]. AAPS PharmSciTech, 2016, 17(4): 988-994.
- [14] SERRANO D R, O'CONNELL P, PALUCH K J, et al. Cocrystal habit engineering to improve drug dissolution and alter derived powder properties[J]. J Pharm Pharmacol, 2016, 68(5): 665-677.
- [15] MISHNEV A, STEPANOV D. Crystal structure explains crystal habit for the antiviral drug rimantadine hydrochloride[J]. Zeitschrift Für Naturforschung B, 2014, 69(7): 823-828.
- [16] MAGHSOODI M. Role of solvents in improvement of dissolution rate of drugs: Crystal habit and crystal agglomeration[J]. Adv Pharm Bull, 2015, 5(1): 13-18.
- [17] MODI S R, DANTULURI A K R, PURI V, et al. Impact of crystal habit on biopharmaceutical performance of celecoxib[J]. Cryst Growth Des, 2013, 13(7): 2824-2832.
- [18] SHELDRICK G M. SHELXT—Integrated space-group and crystal-structure determination[J]. Acta Cryst Sect A, 2015, 71(1): 3-8.
- [19] SHELDRICK G M. A short history of SHELX[J]. Acta Crystallogr A, 2008, 64(Pt 1): 112-122.
- [20] DOLOMANOV O V, BOURHIS L J, GILDEA R J, et al. OLEX2: a complete structure solution, refinement and analysis program[J]. J Appl Cryst, 2009, 42(2): 339-341.
- [21] MACRAE C F, BRUNO I J, CHISHOLM J A, et al. Mercury CSD 2.0—new features for the visualization and investigation of crystal structures[J]. J Appl Cryst, 2008, 41(2): 466-470.
- [22] KERI V, MELCZER I, KOVACSNE-MEZEI A, et al. Crystallization and purification of macrolides: US2006169199 [P]. 2006-08-03.
- [23] CHEN G, XIA M Z, LEI W, et al. A study of the solvent effect on the morphology of RDX crystal by molecular modeling method[J]. J Mol Modeling, 2013, 19(12): 5397-5406.
- [24] ORIVE J, SIVASAMY R, FERNÁNDEZ DE LUIS R, et al. $K_2MnH_2(H_2O)_2C_2O_4(HPO_3)_2$: a new 2D manganese(ii) oxalato-phosphite with double-layered honeycomb sheets stabilized by potassium ions[J]. CrystEngComm, 2018, 20(3): 301-311.
- [25] ZHOU X B, ZHU J R, GU J M, et al. A new polymorph of the gastrokinetic drug cisapride monohydrate[J]. Acta Crystallogr C, 2018, 74(6): 690-695.
- [26] 王步国. 晶体的习性机制与实际形态控制[J]. 人工晶体学报, 1997, 26(3): 198.
- [27] LI G Q. Study on quality and stability of tacrolimus[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2007.

收稿日期: 2021-11-12

(本文责编: 陈怡心)