

杨继, 吴亿勤, 杨柳, 等. 烟碱龙胆酸盐的制备、表征和缓释性能研究[J]. 中国烟草学报, 2020, 26(1). YANG Ji, WU Yiqin, YANG Liu, et al. Preparation, characterization and sustained-release properties of nicotinic gentisate[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2020, 26(1). doi: 10.16472/j.chinatobacco.2018.257

烟碱龙胆酸盐的制备、表征和缓释性能研究

杨继¹, 吴亿勤¹, 杨柳¹, 雷萍¹, 高茜¹, 申钦鹏¹, 段沅杏¹,
赵杨¹, 陈永宽^{1*}, 张双双², 杜巧红², 李晖²

1 云南中烟工业有限责任公司技术中心, 昆明市北市区红锦路367号 650231;

2 四川大学化学工程学院, 成都市武侯区一环路南一段24号 610065

摘要: 【目的】为了研发适用于新型烟草制品, 具有缓释烟碱效果的烟碱有机酸盐, 【方法】在可与烟碱成盐的有机酸中, 以 $pK_a < 4.5$ (优选 $pK_a < 3.5$)、含有羧基和羟基、可作为食品添加剂等为原则, 结合分子对接模拟(YASARA)软件, 筛选出烟碱龙胆酸盐。利用 X-射线单晶衍射技术解析其晶体结构。以离体猪口腔颊黏膜为跨膜载体, 通过药物透皮扩散体外模拟实验, 研究对比了不同 pH 下烟碱及烟碱龙胆酸盐的跨膜扩散行为。【结果】(1) 烟碱龙胆酸盐相对分子质量为 316.35, 晶体密度为 1.342 mg/m^3 , 属单斜晶系, 空间群为 $P2_1$ 。(2) 烟碱龙胆酸盐在低 pH 介质中具有相对偏慢的渗透速率, 跨膜扩散慢。(3) 在相同 pH 条件下, 表现出初始浓度越高, 稳态渗透速率越大, 即跨膜扩散越快。【结论】总体而言, 烟碱龙胆酸盐具有明显的缓释扩散特性, 且在低 pH 介质中缓释效果更为显著, 可用于新型烟草制品开发。

关键词: 烟碱; 烟碱龙胆酸盐; 晶体结构; 猪口腔粘膜; 跨膜扩散

烟碱是烟叶中天然生物碱的主要化学成分, 分子结构(图 1a)是由两个氮杂环构成, 吡咯环 $pK_a = 7.87$, 吡啶环 $pK_a = 3.15$ 。吡啶环中的氮原子由于芳香化的影响, 碱性很弱, 与芳胺的碱性相近。吡咯烷环中的氮原子属于叔胺, 由于此环没有芳香化, 其碱性与脂肪族叔胺碱性相近, 所以, 烟碱易和酸进行化学反应。已有报道指出, 烟碱在烟叶中主要以柠檬酸、苹果酸等有机酸盐的形式存在^[1]; 烟碱与硅钨酸作用生成烟碱硅钨酸^[2]。这些结果说明, 合成烟碱的有机酸盐, 代替单体烟碱, 用于制品配方, 研发新型烟草制品的技术路线是可行的。而且结合态的烟碱不仅可以改善口感, 而且影响烟碱的溶出行为, 能持续提供生理满足感和口感。最近, 据《国际烟草》和烟业通讯网报道, 美国帕克斯实验室推出一款新的智

能电子烟, 该电子烟是以“尼古丁盐”为核心原料, 而非传统电子烟中游离态的烟碱。美国杜克大学 Jed E. Rose 教授成功合成了烟碱丙酮酸盐, 并进行了相关药代动力学方面的研究^[3]。同时, 有关烟碱酒石酸盐^[4], 水杨酸和烟碱共晶体的相关研究也有报道^[5]。烟碱与有机酸成盐, 使得烟碱以固态形式存在, 相较于易挥发且易被氧化的烟碱单体^[6], 固体烟碱盐具有良好的储藏稳定性。烟碱的不同存在形式(包括烟碱盐), 对烟碱的释放以及跨膜渗透速率有不同的影响^[7]。有研究表明, 质子态的烟碱相较于中性游离态烟碱, 由于分配系数以及扩散率更小, 在口腔粘膜中的渗透速率小^[8]; 烟碱的质子化可以减缓烟碱的透膜扩散, 改善烟碱在体内的代谢行为^[9]。因此, 利用固体有机酸固化液态烟碱, 形成烟碱的固态盐形

基金项目: 中国烟草总公司科技重大专项项目“胶基型无烟气烟草制品质量稳定性关键技术研究”110201601005(2016xx-05); 云南中烟工业公司科技开发计划项目“以舒适感和口腔健康为导向的口含烟关键技术研究”(2018CP07); 云南中烟工业公司科技开发计划项目“新型烟草产品关键技术开发”(2019XY02); 云南省科技厅项目“烟草材料在加热非燃烧状态下烟气释放特征研究”(2017FD047)

作者简介: 杨继(1980—), 硕士, 主要从事烟草化学研究, Tel: 0871-65869613, Email: yangji052@163.com

通讯作者: 陈永宽(1966—), 研究员/博士, 主要从事烟草化学研究, Email: cyk1966@163.com

收稿日期: 2018-08-20; **网络出版日期:** 2020-01-21

式, 可以作为新的烟碱引入形式, 应用于新型烟草制品的研发。

龙胆酸 (gentisic acid), 即 2, 5- 二羟基苯甲酸 (图 1b), 是一种多羟基酸, 具有解热镇痛的功效^[10], 也用作医药中间体, 易与碱性物质成盐。本文利用化学合成方法, 制备烟碱龙胆酸盐, 培养单晶体, 解析其结构。将制备的烟碱龙胆酸盐作为模型分子, 利用药物透皮扩散技术, 以离体猪口腔颊黏膜为载体, 研究了不同酸碱度下烟碱龙胆酸盐的跨膜扩散行为, 并和纯烟碱进行了对比, 对其烟碱的释放规律进行了探究。本研究可为无烟制品配方设计、改进及应用提供实验和理论参考。

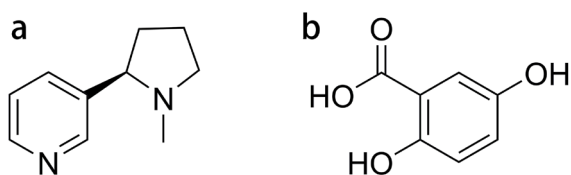


图 1 (a) 烟碱分子结构 (b) 龙胆酸分子结构

Fig.1 (a) Molecular structure of nicotine (b) Molecular structure of gentian acid

1 实验部分

1.1 试剂及仪器

1.1.1 试剂

烟碱标准从由陕西港华生物科技有限公司购置, 纯度 99% (HPLC 纯度); 龙胆酸 (纯度 99%) 由成都市科龙化工试剂厂购置; 甲醇 (色谱纯) 由德国默克密理博试剂公司购置; 其他所用试剂均为分析纯。水为高纯水, 由 Millipore Synergy 超纯水系统制备。

1.1.2 仪器

X- 射线单晶衍射仪: CCDX-caliburNova 型, 牛津衍射有限公司; 高效液相色谱仪: Agilent 1200 series (美国安捷伦科技有限公司); pH 计: 上海精密科学仪器有限公司; METTLER TOLEDO 分析天平: 感量 0.0001 g, 德国 METTLER TOLEDO 公司; 13 mm×0.45 μm 水相针式滤器: 上海安谱科学仪器有限公司; HY-8 调速振荡器: 常州国华电器有限公司; KQ-700DE 型数控超声波清洗器: 昆山市超声仪器有限公司。Milli-Q50 超纯水仪: 美国 MILLIPORE 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 烟碱龙胆酸盐的制备

取 0.95 g 龙胆酸于锥形瓶中, 加入 5 mL 乙醇使其完全溶解, 再加入 15 mL 的超纯水, 搅拌至混合

均匀。对锥形瓶进行遮光处理后, 置于恒温搅拌器中, 在充分搅拌下滴加 1.01 g 烟碱, 控制反应温度为 35 °C, 30 min 滴加完毕。控制溶液 pH 在 5.5~6.0 之间搅拌至反应结束。

过滤反应后所得溶液, 将滤液置于常温避光处静置 24 h 后, 溶液转移至真空干燥箱。在温度 35 °C、真空度 0.8 MPa 条件下进行真空干燥, 一周后得到棕黄色粘稠液体。黄色粘稠液体在常温避光下进行晶体培养, 数周后得到棕黄色透明针状晶体。

1.2.2 单晶结构测定

选择尺寸大小合适的棒状晶体, 利用 CCD Xcalibur E 型 X- 射线单晶衍射仪 (瑞士 Bruker 公司) 进行 X- 射线单晶衍射测试。MoKα 辐射, λ = 0.71073, 293K, θ 扫描范围 3.13-26.37°。Olex2-1.1 (SHELX-97) 软件包用于结构解析与精修。

1.2.3 烟碱定量分析方法

准确移取 50 μL 烟碱标准品于 5.0 mL 棕色容量瓶, 用超纯水稀释, 超声处理约 2.0 min 后准确定量至 5.0 mL, 制备成烟碱浓度为 101 mg/mL 的储备液。配制烟碱系列浓度, 检测波长设定为 259 nm, 瑞典 Kromasil C18 色谱柱 (250×4.6 mm i.d), 绘制工作曲线。线性关系为: $y=10786.1x-69.9$, $R^2=0.9999$ 。测定烟碱龙胆酸盐中烟碱含量测定时, 准确称取所制备的烟碱龙胆酸盐 5.08 mg, 于 5.0 mL 带塞的棕色容量瓶中, 滴加适量 3 次蒸馏水使其溶解。超声约 10 min 后, 用 3 次蒸馏水定容至刻度, 摇匀得浓度分别为 1.016 mg/mL 的烟碱龙胆酸盐样品溶液。分析前经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后, 直接进样测定。

1.2.4 跨膜扩散实验样品制备

人工模拟口腔唾液配方见表 1, 准确称取表 1 中各物质, 溶于 1L 超纯水中, 待溶解完全后即得模拟唾液储备液。分别取一定量模拟唾液储备液, 用稀盐酸调节 pH, 调至 pH=6.7 和 pH=5.5, 得到 pH 分别为 6.7 和 5.5 的模拟唾液储备液。准确取烟碱 200 mg 两份以及当量的烟碱龙胆酸盐 (452 mg) 两份, 分别用对应 pH 的模拟唾液储备液溶解, 加入一定量稀盐酸使得最终定容后溶液 pH 为 6.7 和 5.5, 并用对应 pH 的储备液定容于 100 mL 容量瓶, 得到 pH 分别为 6.7 和 5.5 的 2 mg/mL 烟碱储备液和烟碱龙胆酸盐储备液。准确取烟碱 100 mg 两份以及当量的烟碱龙胆酸盐 (226 mg) 两份, 分别用对应 pH 的模拟唾液储备液溶解并定容于 100 mL 容量瓶, 并加入微量稀盐酸调节其 pH 至 6.7 和 5.5, 得到 pH 分别为 6.7 和 5.5 的 1 mg/mL 烟碱储备液和烟碱龙胆酸盐储备液。

1.2.5 烟碱龙胆酸盐跨膜扩散实验

统一选取体质量为 (110 ± 5) kg的健康生猪进行口腔颊黏膜采集。选取当天屠宰且未经开水烫过的新鲜猪首,剪下猪首口腔中颊膜连带肌肉组织,剥离皮下脂肪层和结缔组织,获得约 $4 \times 4 \text{ cm}^2$ 大小的颊黏膜。选取光滑正常(未出现红肿、溃疡等病态)且表面干净无异物的口腔粘膜,用生理盐水冲洗2次后,浸泡在生理盐水中,并做好标记。采集的颊黏膜厚度通常在 $2.0 \sim 3.0 \text{ mm}$ 之间,如图2所示,实验前对黏膜不光滑一侧进行再次切割,使得黏膜厚度控制在 $(1.0 \pm 0.1) \text{ mm}$ 。每次实验均使用新鲜的猪口腔颊黏膜,为保证的实验一致性,实验前离体时间控制在 $(6 \pm 0.5) \text{ h}$,并且为保持其活性,用Krebs液平衡 $1.5 \text{ h}^{[11]}$ 。Krebs液是一种用于模拟生理条件的体外营养液或灌流液^[12],其组成见表1。

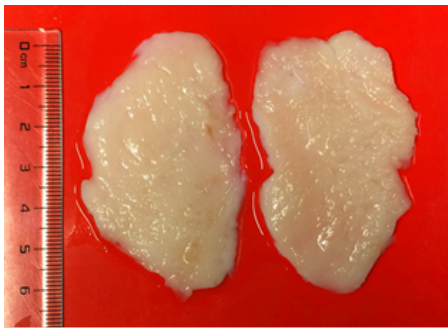


图2 采集的猪口腔颊粘膜

Fig.2 Buccal mucosa of pig mouth

表1 Krebs液配方

Tab.1 Formula of Krebs solution

组成	浓度/(mmol·L ⁻¹)	1 L所需质量/g
NaCl	118.4	6.919
KCl	4.7	0.350
KH ₂ PO ₄	1.2	0.163
葡萄糖	11.7	2.108
NaHCO ₃	26.5	2.226
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1.2	0.296
CaCl ₂ ·2H ₂ O	2.5	0.368

采用TP-6型药物透皮扩散试验仪进行烟碱的跨口腔黏膜扩散研究。实验过程中,将采集的新鲜猪口腔颊黏膜夹在扩散池(供给池)与接受池之间,光滑的颊膜外侧朝向烟碱供给池,有褶皱颊膜内侧表面沉浸在接受介质中^[9,11]。准确移取6 mL样品储备液(烟

碱单体储备液、烟碱龙胆酸盐储备液)置于扩散池,6 mL具有相同pH的空白模拟唾液置于接受池,在 $(37 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$,磁力搅拌转速350 rpm下进行跨膜扩散实验。在时间梯度为(0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 20, 30, 40, 50, 60 min)下,从接受池中抽取500 μL 样品溶液,并补加相应体积相同pH的模拟唾液介质。每一组对照实验同时进行,12组平行实验分12批进行。在进行烟碱样品的跨膜扩散实验时,同步进行扩散池中无烟碱的空白实验,以最大程度排除猪口腔黏膜在扩散过程中释放的物质对烟碱含量测定的影响。按1.2.3测得烟碱浓度,代入下式计算烟碱累积渗透量 Q (mg/cm^2)^[13-14]:

$$Q = \frac{VC_n + \sum_{i=1}^{n-1}(C_i \times 0.5)}{S} \quad (1)$$

式中 Q 为累积透过量($\mu\text{g}/\text{cm}^2$); V 为接受池中接收液的体积(mL); C_n 为第 n 个取样点测得的药物质量浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$); S 为有效扩散面积(cm^2)(本研究中 $S=3.14 \text{ cm}^2$)。

以药物累积渗透量 Q 为纵坐标,以时间 t 为横坐标作图,可以得到烟碱累积渗透量与扩散时间的关系图。对所得数据进行线性回归得到 Q 关于 t 线性方程,其斜率即为烟碱跨口腔黏膜扩散的稳态渗透速率 J_{ss} ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$)。

此外,烟碱的表观渗透系数 P_{app} (cm/s)与其稳态渗透速率(J_{ss})及供给室的烟碱浓度 C_0 通常存在如下关系:

$$P = J_{ss}/C_0 \quad (2)$$

由方程(2)即可求得烟碱的表观渗透系数。

2 结果与讨论

2.1 烟碱龙胆酸盐形貌晶体结构分析

龙胆酸晶体结构(图3)显示,晶体整体呈片层结构,每一层呈波浪形展开,层与层之间上下错落有致,其形貌正好与后续的晶体堆积结果形成相互验证。

2.2 烟碱龙胆酸盐晶体结构分析

X-射线单晶衍射结构分析表明,烟碱龙胆酸盐由1个加氢的烟碱阳离子(一价)与1个龙胆酸根离子(一价)组成。该化合物属单斜晶系,单个分子相对分子质量为316.35, $P2_1$ 空间群,密度为 $1.342 \text{ g}/\text{cm}^3$ 。晶胞参数和结果氢键分别见表2和表3,晶体结构如图4所示,晶体结构堆积图如图5,原子编号见图6。

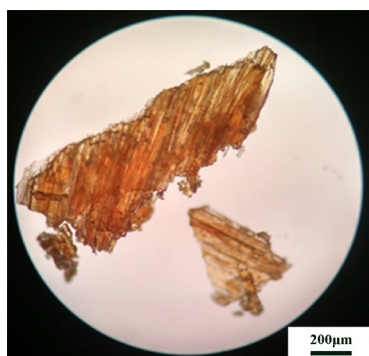


图3 烟碱龙胆酸盐晶体光学显微形貌 (放大 100 倍)

Fig. 3 Optical microscopic morphology of nicotinic gentisate crystal (100 times magnification)

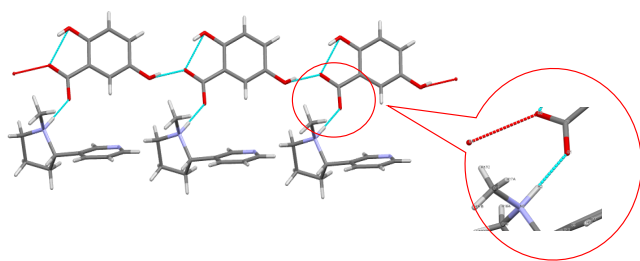


图4 烟碱龙胆酸盐单晶晶体结构

Fig. 4 Single crystal structure of nicotinic gentisate

表2 晶体数据

Tab. 2 Crystal data

晶系	单斜晶系
空间群	P21
T/K	293.15
a/ Å	8.2073(7)
b/ Å	11.0590(7)
c/ Å	9.3300(8)
α /(deg)	90.00
β /(deg)	112.40
γ /(deg)	90.00
V/Å ³	782.94(12)
Z	2
ρ /(g·cm ⁻³)	1.342
μ /mm ⁻¹	0.096
F000	336.0
独立衍射点	2454
R1/wR2 [I>2 σ (I)]	0.0492/0.1126
R1/wR2 [all data]	0.0630/0.1232

表3 烟碱龙胆酸盐中氢键键长键角结果

Tab. 3 Results of hydrogen bond length and bond angle in nicotinic gentisate

D-H...A	d (D-H)/Å	d (H...A)/Å	d (D...A)/Å	$\angle$ (D-H...A)/deg	对称性
O3-H3...O2	0.820	1.837	2.547	144.01	—a
O4-H4...O2	0.820	1.872	2.681	168.50	x+1, y, z
N2-H2...O1	0.980	1.702	2.682	178.10	-x+1, y+1/2, -z+1
C16-H16A...O4	0.970	2.563	3.181	121.65	-x+2, y+1/2, -z+1
C16-H16B...N1	0.970	2.509	3.461	166.91	x+1, y, z
C17-H17C...O4	0.960	2.483	3.283	140.63	-x+2, y+1/2, -z+1

注: a 分子内氢键。

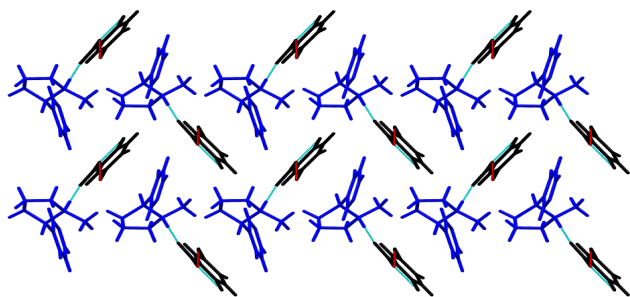


图5 烟碱龙胆酸盐晶体结构堆积图

Fig. 5 Accumulation diagram of nicotinic gentisate crystal structure

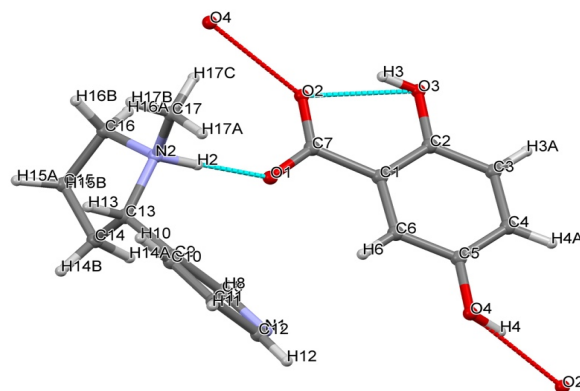


图6 烟碱龙胆酸盐晶体结构图

Fig. 6 Crystal structure of nicotinic gentisate

化合物通过离子键紧密结合, 烟碱吡咯环上的氮(N2)结合一个龙胆酸的羧基氢(H2), 整体带一个正电荷, 且通过氢键 $N2-H2 \cdots O1$ 与一个龙胆酸根离子相连, 形成 1:1 的烟碱龙胆酸盐。

烟碱吡咯环上的氢(H16B)与旁边的烟碱吡啶环上的氮(N1)通过氢键 $C16-H16B \cdots N1$ 结合; 龙胆酸的羟基氢(H4)与旁边龙胆酸羧基上的双键氧(O2)通过氢键 $O4-H4 \cdots O2$ 结合。晶体结构以烟碱(蓝色)/龙胆酸(黑色) 1:1 结合为最小单元, 烟碱分子之间通过氢键依次结合, 且吡咯环中心处于同一平面, 与烟碱结合的龙胆酸依次上下交替排列, 嵌插在 2 个烟碱平面之间, 且相邻的龙胆酸分子之间以氢键相互结合。

2.3 烟碱龙胆酸盐含量的测定

利用所建 HPLC 分析方法, 测定烟碱龙胆酸盐中烟碱的含量。色谱结果如图 7 所示。样品连续测定 3 次, 记录其烟碱峰面积并计算其平均值为 4752.5 mAU。图 7 显示, 烟碱在 8.0 min 左右出峰, 在约 3.0 min 时观察到一微弱的吸收峰, 经鉴定为残留的未成盐的游离龙胆酸。根据标准曲线方法, 计算出烟碱龙胆酸盐中烟碱的体积平均浓度为 0.447 mg/mL, 质量平均浓度为 0.443 mg/mg。

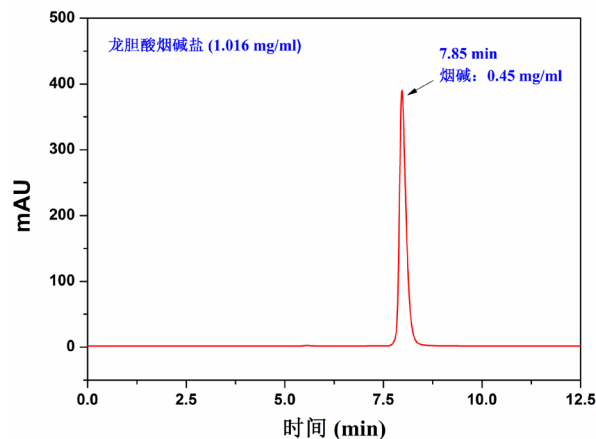


图 7 烟碱龙胆酸盐的 HPLC 色谱图

Fig. 7 HPLC chromatogram of nicotinic gentisate

2.4 烟碱龙胆酸盐跨膜扩散特性研究

按照 1.2.5 实验操作进行取样及测定, 扣除空白后测定烟碱含量, 绘制不同 pH 和初始烟碱单体及烟碱-龙胆酸盐浓度和跨膜扩散接受池中烟碱浓度-时间关系曲线, 结果如图 8 所示。

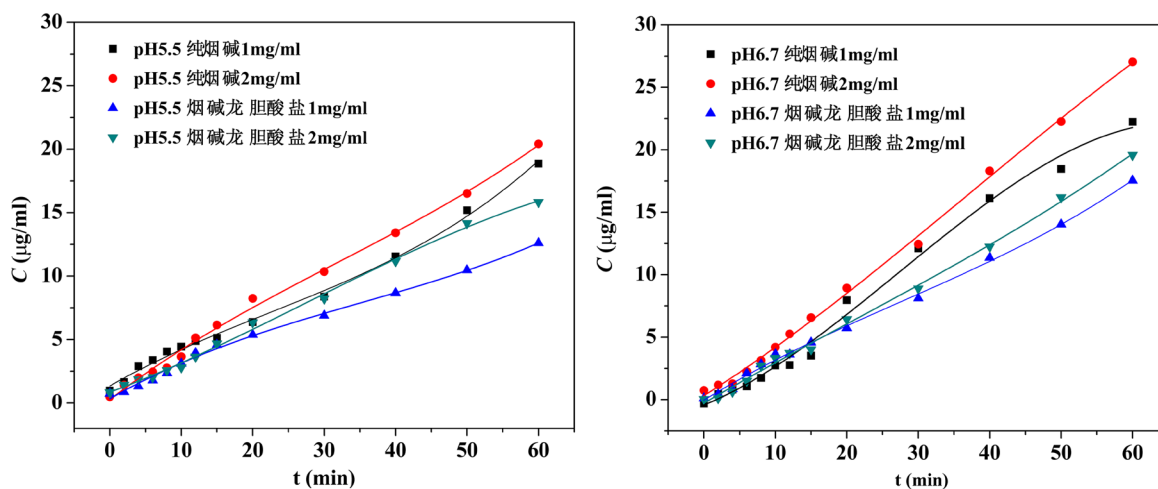


图 8 不同 pH 和浓度下烟碱龙胆酸盐跨膜扩散接受池烟碱浓度-时间曲线

Fig. 8 Nicotine concentration-time curves of nicotinic gentisate in transmembrane diffusion acceptor

由图 8 可知, 在 pH5.5 和 pH6.7 两种扩散介质中, 烟碱龙胆酸盐和烟碱单体接收池内的烟碱浓度均随着时间延长, 表现出显著增加的趋势。由于猪口腔粘膜状态存在一定的差异, 扩散开始前 15 min 内, 烟碱透过粘膜屏障过程还没有达到稳态, 因而各条件下烟碱及烟碱龙胆酸盐未表现出各自的扩散特性。对比

15 min 后各条件下接收池中烟碱浓度可以得出, 一定初始浓度以及 pH 条件下, 烟碱龙胆酸盐的扩散速率明显低于相应初始浓度及 pH 条件下烟碱单体的扩散速率, 说明烟碱龙胆酸盐具有缓释烟碱的特性。同时, 对比烟碱单体在不同 pH 下的扩散情况可知, 随着介质 pH 值的减小, 烟碱的跨膜扩散速率减小。这是由

于烟碱在溶液中以中性烟碱分子、单质子态烟碱正离子和双质子态烟碱正离子 3 种形态存在；而质子态的烟碱与中性烟碱分子透过口腔粘膜的方式存在差异，导致质子态的烟碱透膜速率低于中性烟碱分子^[8]。随着溶液 pH 的减小，烟碱质子化程度加大，从而透过口腔粘膜的速率减小。对比烟碱龙胆酸盐在不同 pH 条件下的透膜扩散浓度曲线可知，相较于 pH6.7 的介质环境，烟碱龙胆酸盐在 pH5.5 的介质中表现出更为缓慢的释放特性，说明介质 pH 越低，烟碱龙胆酸盐对烟碱的缓释效果更突出。分析不同初始浓度下的扩散情况可知，烟碱龙胆酸盐在不同初始浓度下，对烟碱的缓释效果也表现出一定程度的差异。综合上述猪口腔跨膜扩散结果，烟碱龙胆酸盐具有显著的缓释烟碱扩散的效果，且缓释效果与介质 pH 和烟碱盐的初始浓度有关。

同上，各取样点对应的烟碱平均累积渗透量结果见表 4。根据表 4 数据，线性回归得到不同 pH 下的 Q-t 线性关系及烟碱龙胆酸盐跨膜扩散的稳态渗透速率 (J_{ss})，并由方程 (2) 可计算出烟碱表观渗透系数 (P_{app})，结果见表 5。

烟碱累积渗透量与扩散时间的关系图，见图 9。结合图 9 及表 5 的结果可知，在 pH5.5 和 pH6.7 介质中的表观渗透系数均大于 2×10^{-6} ，说明烟碱龙胆酸盐在该 pH 范围内的渗透性较好，容易跨膜扩散。在相同的初始浓度条件下，烟碱龙胆酸盐在 pH5.5 介质中的稳态渗透速率小于 pH6.7 介质中的稳态渗透速率，表明，烟碱龙胆酸盐在低 pH 介质中具有相对偏慢的渗透速率，即具有更为显著的缓释特性。在相同

表 4 不同 pH 及浓度下的烟碱龙胆酸盐接受池中烟碱平均累积渗透量 (n=12)

Tab. 4 The average cumulative nicotine permeability of nicotinic gentisate at different pH and concentration in transmembrane diffusion acceptor (n=12)

取样时间 /min	烟碱平均累积渗透量 / ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)			
	pH 5.5 (1 mg/mL)	pH 5.5 (2 mg/mL)	pH 6.7 (1 mg/mL)	pH 6.7 (2 mg/mL)
0	1.424	1.576	0.217	0.056
2	1.800	2.836	0.822	0.204
4	2.673	3.767	1.692	1.213
6	3.620	4.143	4.166	2.979
8	4.788	5.230	5.767	5.393
10	6.33	5.757	7.422	6.772
12	8.038	7.391	7.509	7.646
15	9.414	9.516	9.329	8.265
20	11.025	12.865	11.671	12.933
30	14.029	16.701	16.426	18.003
40	17.655	22.652	22.998	24.791
50	21.386	28.832	28.616	32.872
60	25.769	32.497	35.748	39.988

pH 条件下，表现出初始浓度越高，稳态渗透速率越大，即跨膜扩散越快。总体来看，烟碱单体在两种 pH 环境下均表现出良好的跨膜扩散特性，烟碱龙胆酸盐具有明显的缓释扩散特性，且在低 pH 介质中缓释效果更为显著。

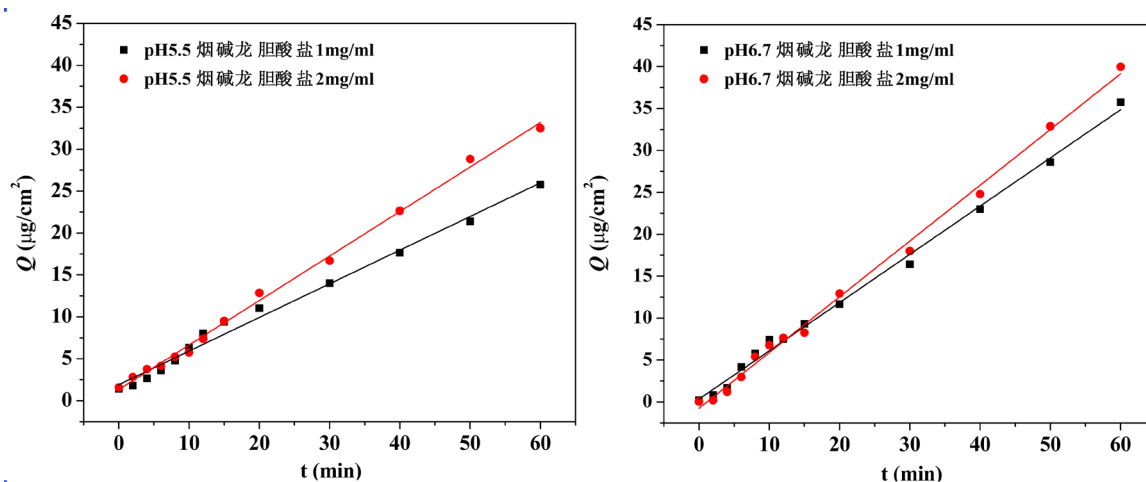


图 9 不同 pH 及浓度下烟碱龙胆酸盐的烟碱跨膜扩散 Q-t 关系图

Fig. 9 Q-t diagram of nicotine transmembrane diffusion of nicotinic gentisate at different pH and concentration

表 5 不同 pH 及浓度下烟碱龙胆酸盐的烟碱跨膜扩散稳态渗透速率及表观渗透系数

Tab. 5 Permeability rate and apparent permeability coefficient of nicotine transmembrane diffusion of nicotinic gentisate at different pH and concentration

pH 及浓度	Q - t 方程	R	$J_{ss}/(\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min})$	$P_{app}/(\text{cm}/\text{s})$
5.5 (1 mg/mL)	$Q = 0.4012t + 1.9103$	0.9879	0.4012	6.687×10^{-6}
5.5 (2 mg/mL)	$Q = 0.5307t + 1.3371$	0.9965	0.5307	4.422×10^{-6}
6.7 (1 mg/mL)	$Q = 0.5752t + 0.3512$	0.9951	0.5752	9.587×10^{-6}
6.7 (2 mg/mL)	$Q = 0.6650t - 0.7521$	0.9959	0.6650	5.542×10^{-6}

2.5 基于烟碱龙胆酸盐的产品开发

目前大多数无烟气烟草制品烟碱引入方式主要是通过直接添加烟碱或烟草粉末，这会带来三方面的主要问题：一是劲头过大引起消化道的不适；二是释放过快不能提供持续长效的生理满足感；三是口感较差，刺激性大。从以上研究可以看出，烟碱龙胆酸盐具有明显的缓释扩散特性，在无烟气烟草制品开发中可以将其作为烟碱的替代形式，丰富产品的配方设计。新烟碱形式的引入，可以减缓烟碱的释放速率，延长生理满足感和口感，可在一定程度上调控烟草制品本身的苦涩感。

3 结论

成功合成了烟碱龙胆酸盐，培养获得单晶体，首次报道了该盐的晶体结构。龙胆酸的羧基部分与烟碱发生反应，生成由 1 个加氢烟碱阳离子与 1 个龙胆酸根离子组成的烟碱龙胆酸盐。体外模拟口腔环境的跨膜扩散实验表明了烟碱龙胆酸盐具有显著的缓释扩散效果。本研究可为新型烟草制品研发新的烟碱引入形式提供参考和借鉴，为打造新型烟草技术新优势提供支撑。

参考文献

[1] 王美兰. 烟碱的提取与纯化 [D]. 无锡: 江南大学, 2007.
WANG Meilan, Extraction and purification of nicotine [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2007.

[2] 吴川彦, 烟碱测定方法的研究 [J]. 华西药理学杂志, 1998, 3(13): 198.
WU Chuanyan. Study on the determination method of nicotine[J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 1998, 3(13): 198.

[3] Rose JE. Pulmonary delivery of nicotine pyruvate: Sensory and pharmacokinetic characteristics [J].Experimental and Clinical Psychopharmacology, 2010,18(5): 385-394.

[4] Hwa Jung B. Different pharmacokinetics of nicotine following intravenous administration of nicotine base and nicotine hydrogen tartarate in rats [J]. Journal of Controlled Release, 2001. 77(3): 183-190.

[5] Smith G, Wermuth UD. Crystal structures and hydrogen bonding

in the proton-transfer salts of nicotine with 3,5-dinitrosalicylic acid and 5-sulfosalicylic acid[J]. Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online, 2014, 70(11): 430-434.

[6] Pongjanyakul T, Suksri H. Nicotine-loaded sodium alginate-magnesium aluminum silicate (SA-MAS) films: Importance of SA-MAS ratio [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 80(4):1018-1027.

[7] Rao S, Song Y, Peddie F, et al. A novel tri-layered buccal mucoadhesive patch for drug delivery: assessment of nicotine delivery [J]. Journal of Pharmacy & Pharmacology, 2011, 63(6):794-799.

[8] Chen L L H, Chetty D J, Chien Y W. A mechanistic analysis to characterize oramucosal permeation properties [J]. International Journal of Pharmaceutics (Amsterdam), 1999, 184(1):63-72.

[9] 艾明欢, 陈超英, 郑赛晶, 等. 基于猪口腔黏膜模型的口含烟碱渗透速率的影响因素 [J]. 烟草科技, 2017, 49(6):57-62.
AI Minghuan, CHEN Chaoying, ZHENG Saijing, et al. Factors influencing nicotine permeation rate from snus usage based on pig's oral mucosa model [J]. Tobacco Science & Technology, 2017, 49(6):57-62.

[10] 周石洋, 陈玲, 杨善彬. 医药中间体 2,5- 二羟基苯甲酸的合成及表征 [J]. 沈阳大学学报 (自然科学版), 2016, 28(5):361-364.
ZHOU Shiyang, CHEN Ling, YANG Shanbin. Synthesis and characterization of pharmaceutical intermediates 2,5-Dihydroxybenzoic acid[J]. Journal of Shenyang University (Natural Science), 2016, 28(5):361-364.

[11] 田卫群, 罗勇, 高秋华, 等. 磷酸盐缓冲介质促进胰岛素透口腔黏膜扩散作用机制研究 [J]. 中国药理学通报, 2003, 19(12): 1354-1358.
TIAN Weiqun, LUO Yong, GAO Qiuhua, et al. Investigation of enhancing insulin across buccal mucosa in phosphate buffer system[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2003, 19(12): 1354-1358.

[12] LI J, CAO YX, LIU Y, et al. Minimally modified LDL upregulates endothelin type B receptors in rat basilar artery[J]. Microvascular Research, 2011, 83(2): 178-184.

[13] 陈晓兰, 杜守颖, 陆洋, 等. 丹皮酚体外黏膜渗透性及影响因素的考察 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(23): 3207-3210.
CHEN Xiaolan, DU Shouying, LU Yang, et al. Study on in vitro mucosal permeation properties and factors affecting mucosal permeability of paeonol[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2009, 34(23): 3207-3210.

[14] 陆洋, 杜守颖, 姚宗玲, 等. 梔子提取物黏膜渗透影响因素研究 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(3): 272-274.
LU Yang, DU Shouying, YAO Zongling, et al. Study on factors affecting mucosal permeability of gardenia extract[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2009, 34(3): 272-274.

Preparation, characterization and sustained-release properties of nicotinic gentisate

YANG Ji¹, WU Yiqin¹, YANG Liu¹, LEI Ping¹, GAO Qian¹, SHENG Qinpeng¹, DUAN Yuanxing¹,

ZHAO Yang¹, CHEN Yongkuan^{1*}, ZHANG Shuangshuang², DU Qiaohong², LI Hui²

¹ R&D Center of China Tobacco Yunnan Industrial Co., Ltd., Kunming 650231, China

² College of Chemical Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, Sichuan, China

Abstract: This study aims to develop sustained-release nicotinic organic acids for new tobacco products. Since organic acids ($\text{PKa} < 4.5$ (preferably $\text{pKa} < 3.5$)) containing carboxyl and hydroxyl groups can be used as food additives, YASARA software was used for screening nicotinic gentisate. The structure of nicotine gentisate crystal was characterized with single crystal X-ray diffraction technique. Using buccal mucosa as the transmembrane carrier, the diffusion behaviors of nicotinic acid and nicotinic gentisate at different pH condition were compared through the simulation experiment of drug transdermal diffusion in vitro. The results indicated that the relative molecular weight of the compound was 316.35, the crystal density was 1.342 mg/m^3 , the crystal belonged to monoclinic crystal system and the spatial group was P2_1 . Nicotinic gentisate had relatively slow permeation rate and slow transmembrane diffusion in low pH medium. Under the same pH condition, the higher the initial concentration, the higher the steady permeability rate, that is, the faster the transmembrane diffusion. In general, nicotinic gentisate has obvious slow-release diffusion characteristics, and the slow-release effect is more significant in low pH medium, so it can be used in the development of new tobacco products.

Keywords: nicotine; nicotine gentisate; crystal structure; pig buccal mucosa; cross-membrane diffusion

*Corresponding author. Email: cyk1966@163.com

《烟草科技》2020年第2期目次

· 烟草农学

- 不同烤烟品种烟叶衰老特性与内源激素的关系
.....魏 星, 武云杰, 阚洪赢, 等
- 感染赤星病烟草叶际细菌的多样性分析
.....刘 畅, 汪汉成, 谢红炼, 等
- 不同植物材料对烟草甲的引诱效果分析
.....赵艳珍, 邓宾玲, 郭建华, 等
- 基于机器视觉的烟青虫和棉铃虫雌雄蛹的分类识别
.....张红涛, 刘迦南, 谭 联, 等

· 烟草化学

- UPLC-MS 法测定烤后烟叶中的 5 种游离态甾醇
.....郭乐乐, 张晓平, 刘芳, 等
- 圆周及滤嘴通风对卷烟主流烟气碱性香味成分释放量的影响
.....楚文娟, 王宏伟, 田海英, 等
- 国内口用型无烟气烟草制品专利分析
.....刘亚丽, 李 鹏, 王金棒, 等
- 初烤烟叶辣感关键成分的感官导向分析
.....赖燕华, 汪军霞, 陶 红, 等

- 产香酵母菌筛选、条件优化及发酵产物在电子烟烟液中的应用
.....巩效伟, 刀 娅, 赵 伟, 等
- 基于 NSGA- II 遗传算法的烟用香精数字化调香研究及应用
.....孔 波, 蔡佳校, 邹 有, 等

· 烟草工艺

- 基于片烟图像处理面积及 feret 直径的分形分析
.....李 晓, 袁 帅, 姚二民, 等
- 基于近红外光谱相似的烟叶替代与卷烟配方维护
.....李石头, 廖 付, 何文苗, 等

· 烟草工艺

- 基于精英自适应遗传聚类算法的烟草物流配送优化研究
.....李存兵, 谢林君, 杨金欣
- YB618 型硬条及条外透明纸包装机烟包输入通道的改进
.....余有芳, 普靖锋, 李惠峰, 等

· 信息技术

- 烟草科研数据现状调查与分析
.....王 锐, 邱纪青, 郑新章, 等