

羟丙基- β -环糊精/格列吡嗪包结物的制备及其光谱研究

张毅民, 李 潇, 孙聪善, 陈春风

天津大学绿色合成与转化教育部重点实验室, 天津大学化工学院, 天津 300072

摘 要 研究了羟丙基- β -环糊精对格列吡嗪的包结作用, 考察了包结物的性质。通过相溶解度法确定了羟丙基- β -环糊精与格列吡嗪二者的包结摩尔比和包结稳定常数, 采用中和法制备了羟丙基- β -环糊精/格列吡嗪固体包结物, 并通过傅里叶变换红外光谱、差式扫描量热分析、X射线粉末衍射光谱对羟丙基- β -环糊精/格列吡嗪固体包结物进行了表征。结果表明, 格列吡嗪与羟丙基- β -环糊精的相溶解度图为典型的 A_L 型, 两者形成了 1:1 的可溶性包结物, 在 25 °C 时包结物平衡常数($K_{1:1}$)为 359 L·mol⁻¹。羟丙基- β -环糊精/格列吡嗪包结物的光谱研究结果表明, 羟丙基- β -环糊精/格列吡嗪包结物是格列吡嗪以无定形状态分散到羟丙基- β -环糊精中。包结物的水溶性实验结果表明包结后格列吡嗪的溶解度增加了 25 倍。

关键词 格列吡嗪; 羟丙基- β -环糊精; 包结物; 红外光谱; X射线粉末衍射光谱

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2008)03-0711-04

引 言

格列吡嗪(glipizide, GZ)是第二代口服磺酰脲类降血糖药。它通过刺激胰岛 β 细胞分泌胰岛素, 能够有效降低人体的血糖水平, 改善糖尿病人的代谢, 并延缓糖尿病病人血管并发症的发生, 副作用小, 是目前临床上治疗非胰岛素依赖型糖尿病(II型)较为有效的常用药物。然而, 由于GZ水溶性差导致生物利用度非常低, 其临床应用受到了很大的限制^[1]。因此, 寻找一种有效的提高GZ溶解度的新方法, 在药学上具有重要的意义。

β -环糊精(β -cyclodextrin, β -CD)作为一种药用辅料已经被广泛的用于增加难溶药物的水溶性、稳定性、溶出速率和生物利用度, 它以其特殊的“外亲水, 内疏水”的分子结构可以与一些极性、大小、形状及性质相匹配的客体分子或某些客体分子的疏水性基团形成包结物^[2-5]。然而, 由于 β -CD本身的低溶解度和对肾脏的毒性在一定程度上限制了它的使用^[6], 对 β -CD进行化学修饰, 特别是合成亲水性的 β -CD衍生物以及用于药物载体的研究近几年在国内外受到重视^[7-9]。在众多 β -CD衍生物中, 羟丙基- β -环糊精(Hydroxypropyl- β -cyclodextrin, HP- β -CD)由于水溶性好, 对热稳定, 对肾无毒, 对肌肉和粘膜几乎无刺激, 溶血作用低, 被认为是最有前途的药物载体材料之一, 是美国FDA批准的第一个可供静脉注射的 β -CD衍生物^[10, 11]。Esclusa-Díaz等研究了HP- β -

CD对格列本脲的包结性能, 结果表明HP- β -CD可以明显提高格列本脲的溶解性能^[12]。Veiga等通过给家兔口服甲苯磺丁脲的 β -CD包结物, 发现包结物可以明显降低家兔的血糖水平, 提高口服吸收量^[13]。本文研究了HP- β -CD对GZ的包结作用并制备了包结物, 采用光谱手段对包结物的性质进行了研究, 试图为羟丙基- β -环糊精/格列吡嗪(HP- β -CD/GZ)包结物新制剂的制备和临床应用提供基础实验数据。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

格列吡嗪(GZ, 威海迪沙药业有限公司, 批号: 20060129, 含量不少于98.5%); HP- β -CD(西安得立生物化工有限公司, 取代度为7.18); 其余试剂均为分析纯, 未经处理直接使用。

HZQ-F全温震荡培养器(哈尔滨东联电子); PHS-29A数显酸度计(上海精密科学仪器有限公司); 日立U3010紫外-分光光度计(日本日立株式会社); MAGNA560型傅里叶变换红外光谱仪(美国尼力高公司); DSC-50调制式差式扫描量热仪(日本岛津公司); X'Pert Pro X射线衍射仪(荷兰帕纳科公司)。

1.2 标准曲线的确定

称取干燥至恒重的GZ固体50 mg, 用pH 7.4磷酸缓冲溶液配制浓度范围为5~50 μ g·mL⁻¹的GZ系列溶液, 在波

收稿日期: 2006-11-02, 修订日期: 2007-03-06

基金项目: 天津市科委自然科学基金项目(030024)资助

作者简介: 张毅民, 1961年生, 天津大学化工学院副教授 e-mail: zhangym001@263.net

长为 275 nm 处测定吸光度(A), 经线性回归得标准曲线方程。

1.3 相溶解度研究

参照 Higuchi^[14] 的方法, 以 pH 7.4 磷酸缓冲溶液配制浓度为 0~8 mmol·L⁻¹ 的 HP-β-CD 系列溶液。取上述系列溶液 5 mL 分别置于 25 mL 的容量瓶中, 加入过量的 GZ 固体粉末, 密塞, 然后置于全温震荡培养器振摇 (25 ± 0.5) °C, 160 r·min⁻¹, 72 h 达到平衡, 迅速用 0.22 μm 的微孔滤膜过滤, 取滤液用 pH 7.4 的磷酸缓冲溶液稀释适当倍数, 在 275 nm 处测定吸光度 A, 代入标准曲线方程, 得到饱和溶液的浓度。以 HP-β-CD 浓度 (mmol·L⁻¹) 为横坐标, GZ 浓度 (mmol·L⁻¹) 为纵坐标, 作相溶解度图。HP-β-CD/GZ 包结物的平衡常数(K) 根据(1)式计算

$$K = \frac{\text{斜率}}{\text{截距}(1 - \text{斜率})} \quad (1)$$

1.4 固体包结物的制备

HP-β-CD/GZ 包结物的制备采用中和法。精确称取 0.223 0 g 格列吡嗪(0.5 mmol), 用 0.05 mol·L⁻¹ 的 NaOH 水溶液 25 mL 溶解后置于 100 mL 三口瓶中, 室温持续搅拌下加入 0.775 0 g HP-β-CD(0.5 mmol), 继续搅拌 12 h, 此后缓慢滴加 1 mol·L⁻¹ HCl, 调节溶液的 pH 至 7.0, 此时, 溶液出现白色沉淀物, 将其转移到 50 mL 烧杯中静置并在冰箱冷藏 24 h 后, 用 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 所得白色固体经干燥后, 用少量丙酮洗涤 2~3 次, 除去未反应的 GZ, 产品于 40 °C 真空干燥。

1.5 包结物的表征

1.5.1 红外吸收光谱(IR)

用 KBr 将 GZ、HP-β-CD、HP-β-CD/GZ 物理混合物、HP-β-CD/GZ 包结物压片, 在 500~4 000 cm⁻¹ 处分别测试红外吸收光谱。

1.5.2 差式扫描量热分析(DSC)

对 GZ、HP-β-CD、HP-β-CD/GZ 物理混合物、HP-β-CD/GZ 包结物进行差式扫描量热分析, 升温速率为 10 °C·min⁻¹, 扫描范围为 50~300 °C, 测定气体为氮气。

1.5.3 X 射线粉末衍射(XRD)

对 GZ、HP-β-CD、HP-β-CD/GZ 物理混合物、HP-β-CD/GZ 包结物进行 X 射线粉末衍射实验, 测试条件为 Co 靶, 管电压 45 kV, 管电流 30 mA, 角度 5°~60°。

1.6 水溶性的测定

称取过量的 GZ、HP-β-CD/GZ 物理混合物、三批 HP-β-CD/GZ 包结物样品分别置于 10 mL 容量瓶中, 加水配成过饱和溶液, 于 (25 ± 0.5) °C 全温震荡培养器震荡 72 h 后迅速用 0.22 μm 的微孔滤膜过滤, 取滤液用磷酸缓冲溶液 (pH 7.4) 稀释适当的倍数, 于 275 nm 处测定吸光度 A, 代入标准曲线方程, 经计算得到 GZ、HP-β-CD/GZ 物理混合物、HP-β-CD/GZ 包结物样品在水中的溶解度。

2 结果与讨论

2.1 标准曲线

在上述测定条件下, 测得 GZ 标准曲线方程为 $c(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}) = 41.919A + 0.0024$, ($r = 0.9996$; $n = 6$), 结果表明 GZ 在测定的浓度范围内具有良好的线性关系。

2.2 相溶解度研究

图 1 为 GZ 和 HP-β-CD 的相溶解度图。可以看出, 随着 HP-β-CD 浓度的增加, GZ 浓度成线性增加, 根据 Higuchi 和 Connors 理论可知, 该相溶解度图为典型的 AL 型, 在溶液中有可溶性的包结物形成^[14]。同时, 相溶解度图的斜率为 0.0034 (小于 1), 表明 GZ 和 HP-β-CD 形成了 1:1 摩尔包结物^[15, 16]。由公式(1)计算 25 °C 时包结物平衡常数 $K_{1:1}$ 为 359 L·mol⁻¹。

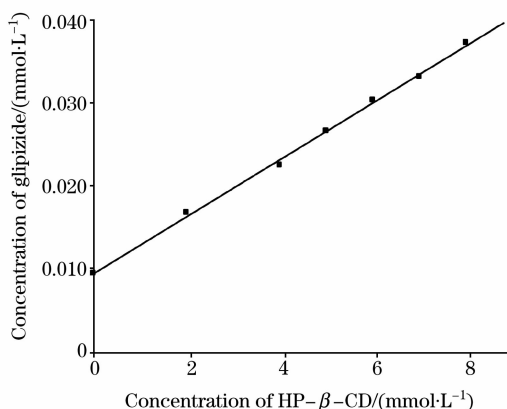


Fig. 1 Phase solubility diagram of GZ in the HP-β-CD solution

2.3 红外吸收光谱的分析

图 2 给出了 GZ、HP-β-CD 和 HP-β-CD/GZ 物理混合物、HP-β-CD/GZ 包结物红外光谱变化。图 2a 为 GZ 的红外光谱, 3 326 和 3 259 cm⁻¹ 处为 N—H 不对称和对称伸缩振动吸收峰, 1 689 和 1 649 cm⁻¹ 处为 C=O 不对称和对称伸缩振动吸收峰, 1 341 和 1 160 cm⁻¹ 处为 S=O 不对称和对称伸缩振动吸收峰, 与文献^[17]一致。图 2b 是 HP-β-CD 的红外光谱, 3 405 cm⁻¹ 处为 O—H 伸缩振动吸收峰, 2 929 和 1 463 cm⁻¹ 处为 CH₃ 和 CH₂ 伸缩振动吸收峰, 1 373 和 1 035 cm⁻¹ 处为 CH₃ 面内对称弯曲振动和 C—O 伸缩振动吸收峰。图 2c 为 HP-β-CD/GZ 物理混合物红外光谱, 由图 2c 可见, HP-β-CD/GZ 物理混合物红外光谱图为 GZ 红外光谱吸收峰与 HP-β-CD 红外光谱吸收峰的叠加。图 2d 为 HP-β-CD/GZ 包结物的红外光谱, 从图 2d 可以清楚地看出, C=O 的对称和不对称伸缩振动吸收峰移向波数 1 660 cm⁻¹ 处, 峰形变宽; S=O 不对称伸缩振动吸收峰 1 341 cm⁻¹ 移向波数 1 367 cm⁻¹, S=O 对称伸缩振动吸收峰从 1 160 移向 1 155 cm⁻¹, 这表明 HP-β-CD 与 GZ 形成包结物后, 不仅改变了原有主-客体化合物固有的红外吸收峰的位置和形状, 而且产生了新的特有吸收峰^[18]。另一方面, 随着包结物的形成, N—H 伸缩振动在 3 326 和 3 259 cm⁻¹ 处的吸收峰消失了, 这是因为 HP-β-CD 宽而强的 O—H 吸收峰掩盖了 N—H 吸收峰^[15]。这些结果也表明, HP-β-CD 与 GZ 形成了包结物且由于这些变化涉及到 HP-β-CD 的 C—H,

C—O 基团,因此在包结过程中氢键起着主要作用^[19]。

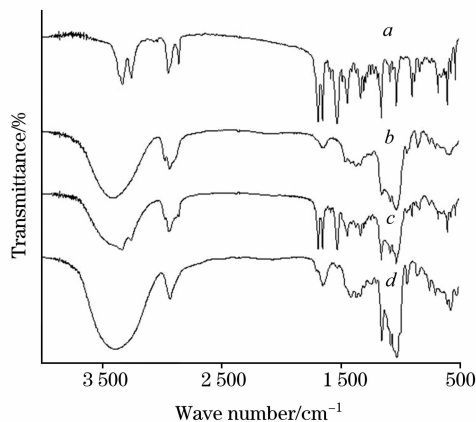


Fig. 2 IR spectra of the samples

a: GZ; b: HP-β-CD; c: HP-β-CD/GZ physical mixture;
d: HP-β-CD/GZ complex

2.4 差式扫描量热分析

GZ, HP-β-CD 和 HP-β-CD/GZ 物理混合物和 HP-β-CD/GZ 包结物的 DSC 图谱见图 3。从图 3a 可以看出,当温度为 216 °C 时,图中出现了一个强吸热峰,表明 GZ 开始熔化,与文献报道的 GZ 熔点一致^[17]。图 3b 为 HP-β-CD 的谱图,分析图 3b 的结果可见,HP-β-CD 为无定形粉末,50~120 °C 的吸热峰是由于 HP-β-CD 脱水作用引起的^[20],175 °C 开始的放热峰表明 HP-β-CD 在氮气氛围中开始分解。在图 3c 中出现了 GZ 的吸热峰,同时伴有 HP-β-CD 的脱水峰和分解峰,说明 HP-β-CD 与 GZ 只是简单的物理混合。图 3d 为 HP-β-CD/GZ 包结物的谱图,在研究的温度范围内,图中即没有出现 GZ 自身的吸热峰,同时也没有 HP-β-CD 的分解峰,这是由于包结物的形成是 GZ 以无定形态分散在 HP-β-CD 中,且 HP-β-CD 能稳定其无定形态。

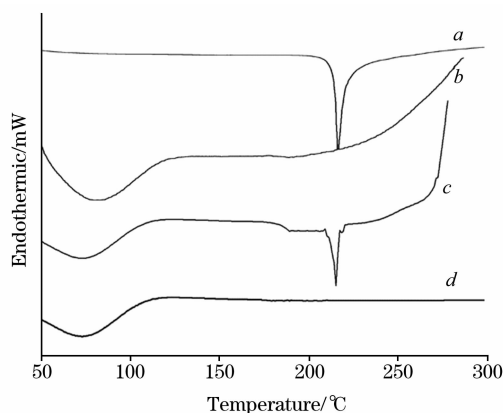


Fig. 3 DSC thermograms of the samples

a: GZ; b: HP-β-CD; c: HP-β-CD/GZ physical mixture;
d: HP-β-CD/GZ complex

2.5 X 射线粉末衍射分析

图 4 为 GZ(a), HP-β-CD(b) 和 HP-β-CD/GZ 物理混合物(c) 和 HP-β-CD/GZ 包结物(d) 的 X 射线粉末衍射图谱。从

图 4 可以看出, GZ 的 X 射线粉末衍射图有强而且尖的特性结晶衍射峰出现, HP-β-CD 衍射图则没有明显的晶型峰出现,说明为无定形粉末,这与 DSC 的结果是一致的。HP-β-CD/GZ 物理混合物图谱是 HP-β-CD 与 GZ 双重衍射峰的叠加^[21], GZ 在 $2\theta=12.66^\circ, 18.09^\circ, 25.26^\circ$ 处的衍射峰仍然可以清楚的看到,然而,由于 HP-β-CD 的影响, GZ 的衍射峰强度均降低,说明两者仅为简单的机械混合。从图 4d HP-β-CD/GZ 包结物的图谱可以发现,其图谱形状与 HP-β-CD/GZ 物理混合物图谱完全不同,而与 HP-β-CD 的衍射峰相似,进一步证实了包结物是 GZ 以无定形态分散在 HP-β-CD 中的形式存在的。

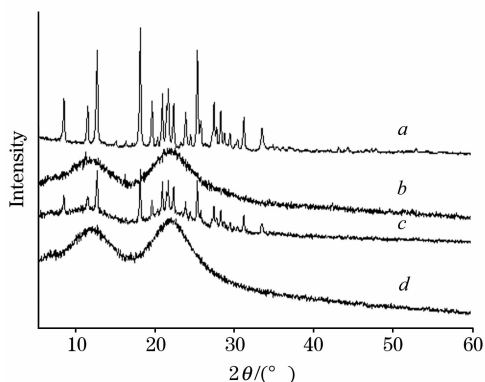


Fig. 4 X-ray diffraction patterns of the samples

a: GZ; b: HP-β-CD; c: HP-β-CD/GZ physical mixture;
d: HP-β-CD/GZ complex

2.6 水溶性的测定

将方法 1.6 测得的数据代入标准曲线方程,得到 GZ、HP-β-CD/GZ 物理混合物、HP-β-CD/GZ 包结物在水中的溶解度,见表 1。由表 1 可见, GZ 在水中的溶解度为 $4.067 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, HP-β-CD/GZ 物理混合物在水中的溶解度比 GZ 的溶解度增加了约 3 倍,而 HP-β-CD/GZ 包结物的溶解度比 GZ

Table 1 Results of the solubility

样品	溶解度 $/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	平均值	增溶倍数	平均增溶倍数
GZ	3.94			
	4.11	4.067	0	—
	4.15			
HP-β-CD/GZ 物理混合物	11.19			
	10.66	11.143	2.74	2.74
	11.58			
HP-β-CD/GZ 包结物 1	100.91			
	101.38	101.512	24.96	
	102.27			
HP-β-CD/GZ 包结物 2	105.31			
	106.11	106.123	25.13	25.30
	106.95			
HP-β-CD/GZ 包结物 3	103.97			
	102.18	104.925	25.80	
	108.62			

增加了 25 倍。因此, GZ 通过与 HP- β -CD 包结, 其亲水性得到了显著的提高。

3 结 论

(1)用相溶解度法确定了 GZ 和 HP- β -CD 的相溶解度图,

该图属于典型的 A_L 型, GZ 与 HP- β -CD 形成 1 : 1 包结物, 包结稳定常数为 359 L · mol⁻¹; (2)通过 IR、DSC、XRD 对 HP- β -CD/GZ 包结物的表征发现, 包结物是 GZ 以无定形粉末分散到 HP- β -CD 中; (3)GZ 与 HP- β -CD 包结后在水中的溶解度提高了 25 倍。

参 考 文 献

- [1] Patel J K, Pakesh P P, Amin A F, et al. AAPS. Pharm. Sci. Tech. , 2005, 6(1):49.
- [2] Echezarreta-Lopez M, Torres-Labandeira J J, Castineiras-Seijo L, et al. Eur. J. Pharm. Sci. , 2000, 9: 381.
- [3] Liu Y, Chen G S, Chen Y, et al. Bioorg. Med. Chem. , 2005, 13: 4037.
- [4] Challa R, Ahuja A, Ali J, et al. AAPS. Pharm. Sci. Tech. , 2005, 6(2): 329.
- [5] FENG Guang-zhu, LU Kui, LI He-ping(冯光柱, 卢奎, 李和平). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(9): 1099.
- [6] Beker O, Uijtendaal E V, Beijnen J H, et al. Drug Dev. Ind. Pharm. , 1991, 17(11): 1503.
- [7] Liu Y, Zhang Y M, Sun S X, et al. J. Chem. Soc. Perkin Trans. , 2, 1997, 8: 1609.
- [8] Qu Q, Tucker E, Christian S D. J. Inclusion Phenom. , 2002, 43(3-4): 213.
- [9] ZHANG Yi-min, ZHANG Zhi-fei, ZHOU Qin, et al(张毅民, 张志飞, 周琴, 等). Chinese J. Anal. Chem. (分析化学), 2006, 34(5): 713.
- [10] Suihko E, Korhonen O, Jarvinen T, et al. Int. J. Pharm. , 2001, 215: 137.
- [11] Szente L, Szejtli J. Adv. Drug. Delivery Rev. , 1999, 36: 17.
- [12] Esclusa-Diaz M T, Torres-Labandeira J J, Kata M. Eur. J. Pharm. Sci. , 1994, 1: 291.
- [13] Veiga F, Fernandes C, Teixeira F. Int. J. Pharm. , 2000, 202: 165.
- [14] Higuchi T, Connors K A. Adv. Anal. Chem. Instr. , 1965, 4: 212.
- [15] Baboota S, Dhaliwal M, Kohli K. AAPS. Pharm. Sci. Tech. , 2005, 6(1): 83.
- [16] Pose-Vilarnovo P, Perdomo-lopez I, Echezarreta-Lopez, et al. Eur. J. Pharm. Sci. , 2001, 13(3): 325.
- [17] Verma R K, Garg S. J. Pharm. Biomed. Anal. , 2005, 38: 633.
- [18] Ammar H O, Salama H A, Ghorab M, et al. Int. J. Pharm. , 2006, 309: 129.
- [19] Ozkan Y, Atay T, Dikmen N, et al. Pharm. Acta Helv. , 2000, 74: 365.
- [20] Babu R J, Pandit J K. Int. J. Pharm. , 2004, 271: 155.
- [21] ZHANG Jing, LIU Wan-yi, ZHANG Xia(张境, 刘万毅, 张霞). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(3): 517.

The Study on the Preparation and Spectroscopic Properties of Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin/Glipizide Inclusion Complex

ZHANG Yi-min, LI Xiao, SUN Cong-shan, CHEN Chun-feng

Key Laboratory for Green Chemical Technology, Ministry of Education, School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China

Abstract The interaction of glipizide and hydroxypropyl- β -cyclodextrin was investigated in the present paper. The stability constant and molar ratio of glipizide and hydroxypropyl- β -cyclodextrin was calculated from the phase solubility diagram. The solid state inclusion complex of hydroxypropyl- β -cyclodextrin/glipizide prepared by neutralization method was characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), differential scanning calorimetry (DSC) and powder X-ray diffraction(XRD). It was found that the phase solubility diagram of the HP- β -CD solution showed a typical AL-type, suggesting the formation of a soluble complex of 1 : 1 molar ratio, and the stability constant was 359 L · mol⁻¹ at 25 °C. The spectra of IR, thermograph of DSC and XRD pattern of the inclusion complex were remarkably different from the glipizide and hydroxypropyl- β -cyclodextrin/glipizide physical mixture, and indicated that hydroxypropyl- β -cyclodextrin/glipizide inclusion complex displayed amorphous characteristic. The experiment of solubility of inclusion complex indicated that the solubility of inclusion complex increased 25-fold.

Keywords Glipizide; Hydroxypropyl- β -cyclodextrin; Inclusion complex; IR; XRD

(Received Nov. 2, 2006; accepted Mar. 6, 2007)