

环维黄杨星 D 和羟丙基-β-环糊精的包合作用研究

刘思园¹, 陆亚鹏², 朱俐² (1. 南通大学生命科学学院, 江苏南通 226007; 2. 南通大学航海医学研究所, 江苏南通 226001)

摘要 [目的] 研究环维黄杨星 D 和羟丙基-β-环糊精的包合作用, 寻找改善环维黄杨星 D 制剂性能的方法。[方法] 采用相溶解度法研究环维黄杨星 D 和羟丙基-β-环糊精在水溶液中的包合作用; 溶液搅拌法制备包合物; 差示扫描量热法验证包合物的形成。比较了环维黄杨星 D 和包合物体外溶出度。[结果] 在水溶液中环维黄杨星 D 和羟丙基-β-环糊精能够形成摩尔比为 1:1 的包合物, 包合反应是可以自发进行的放热过程。包合后环维黄杨星 D 10 min 内的溶出度由 14.7% 提高到 86.4%。[结论] 环糊精包合技术显著提高了环维黄杨星 D 的溶解度和溶出度。

关键词 环维黄杨星 D; 羟丙基-β-环糊精; 相溶解度; 溶出度

中图分类号 Q946.91 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)35-15302-02

Study on the Inclusion Complex of Cycloviobuxine D and Hydroxypropyl-β-cyclodextrin

LIU Si-yuan et al (College of Life Sciences, Nantong University, Nantong, Jiangsu 226007)

Abstract [Objective] The inclusion complex of cycloviobuxine D and hydroxypropyl-β-cyclodextrin was investigated to improve the performance of the cycloviobuxine D preparation. [Method] In aqueous solution, the inclusion complex of cycloviobuxine D/hydroxypropyl-β-cyclodextrin was studied by phase solubility. The inclusion complex was prepared by solution-agitation technology and was confirmed by DSC. At the same time, the dissolution of cycloviobuxine D and inclusion complex were measured. [Result] A molar ratio inclusion complex (1:1) of cycloviobuxine D with hydroxypropyl-β-cyclodextrin in aqueous solution was spontaneously thermopositive process. Inclusion with hydroxypropyl-β-cyclodextrin, the dissolution rate of cycloviobuxine D in 10 minutes increased from 14.7% to 86.4%. [Conclusion] The solubility and dissolution of cycloviobuxine D were improved remarkably with hydroxypropyl-β-cyclodextrin.

Key words Cycloviobuxine D; Hydroxypropyl-β-cyclodextrin; Phase solubility; Dissolution

环维黄杨星 D (Cycloviobuxine-D, CVB-D) 系从黄杨科植物小叶黄杨 (*Buxus microphylla* Sieb. et Zucc. Var. *Sinica* Rehd. et Wils) 及其同属植物中提取的植物活性单体, 具有正性肌力、抗心律失常、抗心肌缺血等作用, 临床上用于治疗冠心病及心律失常^[1]。但 CVB-D 是脂溶性生物碱, 水溶性差, 溶出慢, 生物利用度低^[2], 因此, 改善 CVB-D 水溶性, 提高其生物利用度对于 CVB-D 新制剂的开发具有重要意义。羟丙基-β-环糊精 (HP-β-CD) 是一种低毒、安全、高效的水溶性包合材料, 可有效改善药物水溶性, 提高生物利用度^[3]。关于环维黄杨星 D 和环糊精类材料的包合作用研究, 国内外目前尚未见相关报道。笔者首次制备了 CVB-D/HP-β-CD 包合物, 并对 CVB-D 和 HP-β-CD 的包合作用进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料 CVB-D (南京青泽医药科技开发有限公司, 98%); HP-β-CD (陕西礼泉化工实业有限公司)。溴麝香草酚蓝 (上海三爱思试剂有限公司); 甲醇、乙醇 (分析纯, 禹城化工厂); 氯仿、磷酸二氢钠、无水硫酸钠 (分析纯, 汕头市西陇化工厂)。UV-2450 型紫外分光光度计 (日本 SHIMADZU 公司); 空气浴恒温振荡器 (太仓市科教器材厂); KQ5200 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限责任公司); 90-3 型双向定时恒温磁力搅拌器 (上海沪西分析仪器厂有限公司); DZF6020 真空干燥箱 (杭州蓝天化验仪器厂); Pyris Diamond DSC (美国 PERKIN-ELMER 公司); ZRS8G 智能溶出仪 (天津大学无限电厂)。

1.2 方法

1.2.1 相溶解度研究。

1.2.1.1 标准曲线的绘制。CVB-D 无紫外吸收, 采用酸性

染料比色法^[4-5], 以吸光度值 (A) 为纵坐标, CVB-D 浓度 (C, μg/ml) 为横坐标作图, 绘制 CVB-D 标准曲线, 得回归方程: $A = 0.0878C + 0.0577$, $r = 0.9997$ 。

1.2.1.2 相溶解度试验。 配制 0.5、10、15、20、25 mmol/L 的 HP-β-CD 水溶液, 分别加入过量的 CVB-D, 超声 30 min 后, 于 20、37、50 °C 在恒温振荡器中平衡 3 d, 之后迅速用 0.45 μm 滤膜过滤。取滤液适当稀释, 测定含量, 计算饱和溶液中 CVB-D 浓度。以 HP-β-CD 水溶液浓度 (mol/L) 为横坐标, CVB-D 表观溶解度 (mol/L) 为纵坐标, 作线性回归, 绘制 CVB-D 在不同温度条件下的相溶解度曲线。

1.2.1.3 包合过程的热力学研究。 由公式 $K_a = b/(1-b) \times a$, 求得不同温度条件下包合反应的表现稳定常数 K_a 。由公式 $\Delta G = -RT \ln K_a$ 计算不同温度下包合过程的吉布斯自由能变化 ΔG 。再根据 Van't Hoff 方程 $\ln K_a = -\Delta H/RT + \Delta S/R$, 以 $\ln K_a$ 对 $1/T$ 作线性回归, 由回归方程的斜率 ($\Delta H/R$) 与截距 ($\Delta S/R$), 求得包合过程中的焓变 (ΔH) 和熵变 (ΔS)^[6-7]。

1.2.2 包合物的制备和含量测定。 称取 CVB-D 250 mg, 加无水乙醇 50 ml 溶解。另称取 HP-β-CD 1 100 mg, 置于 100 ml 三角烧瓶中, 加蒸馏水 10 ml 溶解。将 HP-β-CD 水溶液置于磁力搅拌器上, 50 °C 下磁力搅拌, 同时逐滴加入 CVB-D 乙醇溶液。全部滴加完后, 保温搅拌 1 h, 室温下逐渐降温, 并继续搅拌至糊状, 50 °C 真空干燥 4 h。将干燥物用乙醇洗涤后干燥得 CVB-D/HP-β-CD 包合物。精密称取 CVB-D/HP-β-CD 包合物适量, 用磷酸盐缓冲液 (0.05 mol/L) 溶解, 按“1.2.1.1”所得标准曲线测定包合物中 CVB-D 的含量。

1.2.3 热分析法验证包合物的形成。 取样品 5 mg, 采用差示扫描量热法, 升温速率为 10 °C/min, 升温范围为 20 ~ 300 °C, 分别绘制 CVB-D、HP-β-CD、CVB-D/HP-β-CD 包合物和物理混合物的 DSC 图谱。

1.2.4 溶出度的测定。 分别称取 80 目筛的 CVB-D (原料药) 10 mg 及包合物 65 mg (相当于 10 mg CVB-D), 与适量乳

基金项目 江苏省高校自然科学基金研究计划 (06KJD350149)。

作者简介 刘思园 (1976 -), 女, 江苏宿迁人, 助教, 从事药物制剂研究。

收稿日期 2008-10-06

糖混合均匀,灌制胶囊,制备 3 粒 CVB-D 及其包合物胶囊,采用转篮法测定溶出度。以磷酸盐缓冲液(0.05 mol/L)250 ml 为溶出介质,温度为(37 ± 0.5) °C,转篮转速为 100 r/min;于 5、10、20、30、45 min 取样 10 ml,每次取样时同时补充磷酸盐缓冲液 10 ml,取出液立即用 0.45 μm 微孔滤膜过滤。取滤液稀释,测定 CVB-D 含量,计算累积溶出度。

2 结果与分析

2.1 相溶解度研究的结果 由图 1 可知,CVB-D 在 20、37 和 50 °C 温度的情况下,在 0 ~ 25 mmol/L HP-β-CD 水溶液中的相溶解度曲线均为 A_L 型,说明 CVB-D 可与 HP-β-CD 形成 1:1 摩尔比的包合物^[8]。20、37 和 50 °C 条件下的 CVB-D 相溶解度曲线方程分别为: $y=0.0259x+6 \times 10^{-5}$ ($r=0.9993$, $n=6$); $y=0.031x+2 \times 10^{-4}$ ($r=0.9981$, $n=6$); $y=0.0395x+4 \times 10^{-4}$ ($r=0.9997$, $n=6$)。随着温度的升高和 HP-β-CD 浓度的增大,CVB-D 的相溶解度相应地增加。HP-β-CD 对 CVB-D 的增溶效应明显,但随着温度的升高,增溶效果下降。

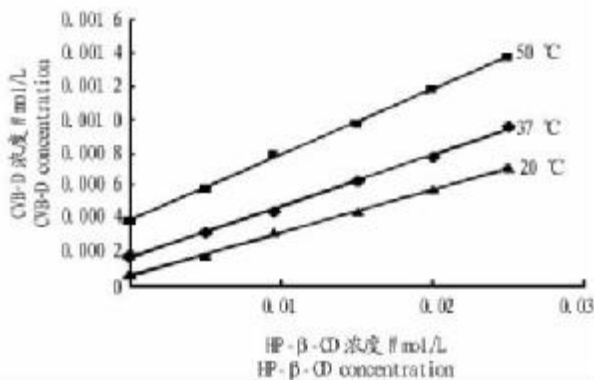


图 1 CVB-D 在 HP-β-CD 中的相溶解度

Fig. 1 Phase solubility of CVB-D in different concentrations of HP-β-CD solutions

CVB-D 和 HP-β-CD 包含过程中的动力学参数见表 1。根据相溶解度曲线方程求得:20、37 和 50 °C 条件下的表观稳定常数 K_a 分别为 443.1、160.0、102.8 L/mol。由公式 $\Delta G = -RT \ln K_a$ 求得的包含过程中的吉布斯自由能变化(ΔG)均为负值。随着温度的升高, K_a 减小, ΔG 的绝对值减小。以 $\ln K_a$ 对 $1/T$ 作线性回归,得方程 $\ln K_a = 4.905T^{-1} - 10.593$ ($r=0.9989$),由回归方程的斜率与截距求得的包含过程中的焓变和熵变分别为 -40.8 kJ/mol 和 -88.1 J/(mol·K)。

表 1 不同温度下包合物的动力学参数

Table 1 Kinetic parameters of CVB-D / HP-β-CD inclusion compound at different temperatures

温度 / °C Temperature	K_a L/mol	ΔG kJ/mol	ΔH kJ/mol	ΔS J/(mol·K)
20	443.1	-14.8		
37	160.0	-13.1	-40.8	-88.1
50	102.8	-12.4		

2.2 差示扫描量热法鉴定包合物形成的结果 CVB-D、HP-β-CD 及其物理混合物和 CVB-D/HP-β-CD 包合物的 DSC 曲线见图 2。由图 2 可知,CVB-D 在 224.5 °C 左右有一熔融吸热峰,HP-β-CD 在 80.7 °C 左右有一个脱水吸热峰,CVB-D、HP-β-CD 的物理混合物基本保持了 CVB-D 和 HP-β-CD 的吸

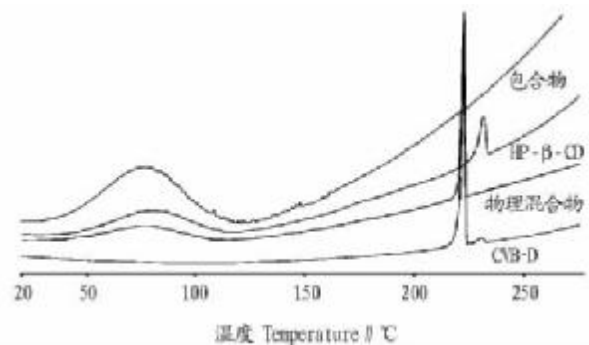


图 2 差示热分析图

Fig. 2 DSC diagram

热峰,而在 CVB-D/HP-β-CD 包合物的图谱上,CVB-D 原有的特征熔融峰消失,在 78.3 °C 左右的吸热峰强度显著增强。由此可知,CVB-D 和 HP-β-CD 形成了新的物相,推测包合物已形成。

2.3 溶出度的测定结果 通过溶液搅拌法制备包合物 1.237 mg,包合物中 CVB-D 的含量为 15.4%,溶出度的测定结果见图 3。由图 3 可知,包合物在 10 min 内累积溶出度达 86.4%,远远高于原料药的 14.7%。原料药在 30 min 内累积溶出度仅为 53.2%,而包合物则达 100.2%。结果表明,包合物明显比原料药溶解速度快,溶出度高。

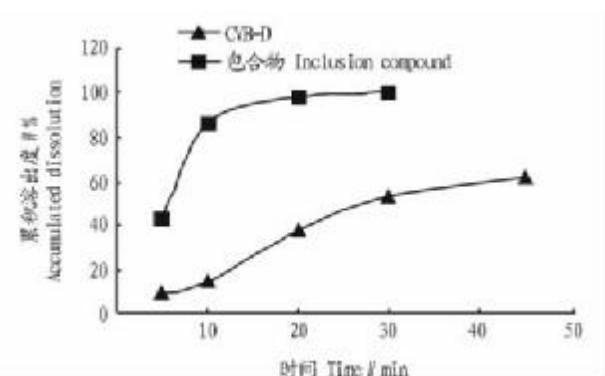


图 3 包合技术对 CVB-D 溶出度的影响

Fig. 3 Effects of inclusion technique on the CVB-D dissolution

3 结论与讨论

(1) 笔者利用相溶解度法研究了 CVB-D 和 HP-β-CD 的包合作用,测定了不同温度下的包合平衡常数 K_a ,并利用热动力学方法探讨了包含过程可能的包含机制,发现 $\Delta G < 0$,这表明在恒温恒压条件下,包含反应是可以自发进行的放热反应。随着温度的升高, K_a 减小, ΔG 的绝对值减小,表明包含过程向相反方向进行,因此适当降低温度有利于包合物的形成和稳定。 $\Delta H < 0$ 及 $\Delta S < 0$,表明该包含反应是一个焓驱动的反应。相对高的负熵和负焓表明氢键、范德华力以及疏水作用力是该包含反应的驱动力。

(2) 研究表明,笔者首次制备得到的 CVB-D/HP-β-CD 包合物,达到了较为理想的增溶效果,并显著提高了溶出度,解决了 CVB-D 溶解度低、溶出慢的弊端,为 CVB-D 新制剂的开发研究奠定了基础。

参考文献

- [1] 徐济民,黄震华,黄杨宁抗冠心病心绞痛即时疗效[J].中成药,1991,13(4):22-23.

增加和相对分子质量减小,高吸水树脂的吸水率也减小。若引发剂用量过少,则聚合速度减慢,甚至不聚合。交联度小,高吸水树脂的吸水率也会变小。控制合成温度 80 ℃,丙烯酸与浓 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的质量比为 10.0:2.4,交联剂的用量为反应物总质量的 0.4% 时,考察引发剂用量对合成的高吸水树脂吸水性能的影响(图 2)。由图 2 可知,当引发剂用量小于反应物总质量的 0.2% 时,高吸水树脂的吸水率随着引发剂用量的增加而增加;当引发剂的用量大于反应物总质量的 0.2% 时,高吸水树脂的吸水率随引发剂用量的增加而减少。

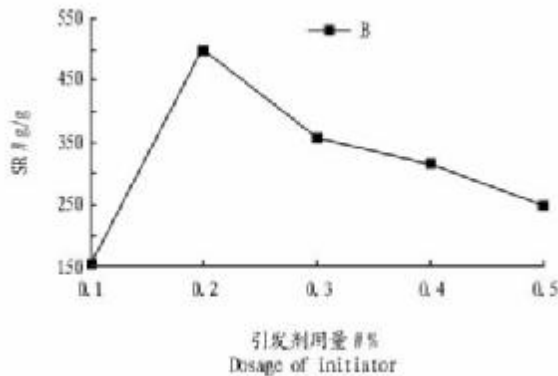


图 2 引发剂用量对高吸水树脂吸水率的影响

Fig. 2 Effects of the dosage of initiator on the water absorption of super absorbent resin

2.3 pH 值对吸水树脂吸水性能的影响 控制合成温度 80 ℃,丙烯酸与浓 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的质量比为 10.0:2.4,引发剂的用量为总质量的 0.2%,交联剂的用量为反应物总质量的 0.4% 时,将高吸水树脂分别浸泡在用 NaOH 和 HCl 配制的不同的 pH 值溶液中,浸泡温度为 25 ℃,测试高吸水树脂的吸水率(图 3)。由图 3 可知,在一定的 pH 值范围内,试样的吸水率随 pH 值的增大而增大,但当 pH 值增大到一定程度时,吸水率的趋势增加不明显,这是因为丙烯酸与 Al^{3+} 形成的共聚物中存在羧基,在 pH 值低时,有氢键的存在和高吸水树脂中亲水基团的相互作用,当 pH 值由 8 升高到 11 时,因为丙烯酸上的羧基在碱性条件下相互排斥,使树脂的交联性网络空间变大,使树脂的整体亲水性增强。

2.4 高吸水树脂的 pH 值可逆性研究 先将 4 个试样浸泡在 pH 值为 9.2 的碱性溶液中吸水至平衡,然后放入 pH 值为 4.2 的酸性水溶液中吸水至平衡,最后在 pH 值为 9.2 的碱性

水溶液中吸水至平衡(表 1)。由表 1 可见,制备的高吸水树脂具有一定的 pH 可逆性。由此可见,高吸水树脂的吸水和收缩与介质的 pH 密切相关。

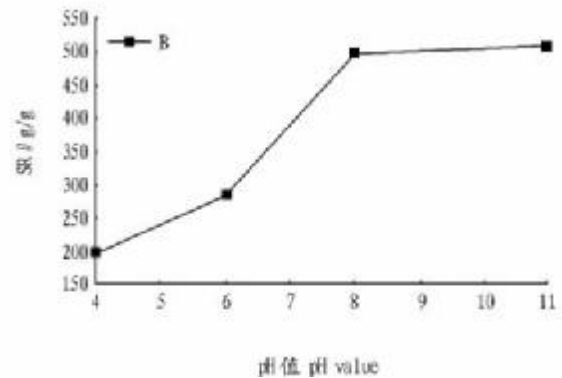


图 3 pH 值对高吸水树脂吸水率的影响

Fig. 3 Effects of pH value on the water absorption of super absorbent resin

表 1 高吸水树脂的 pH 可逆试验结果

Table 1 Result of the pH invertible test of super absorbent resin

试样序号 Sample code	不同 pH 值高吸水树脂吸水率//g/g Water absorption of super absorbent resin under different pH values		
	9.2	4.2	9.2
A	495.2	195.3	495.5
B	494.1	194.2	494.6
C	496.8	195.8	495.6

3 小结

以丙烯酸、 $\text{Al}(\text{OH})_3$ 和浓 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 为原料制备了高吸水树脂,最佳的合成条件是:温度 80 ℃,丙烯酸与浓 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的质量比为 10.0:2.4,引发剂用量为总质量的 0.2%,交联剂用量为反应物总质量的 0.4%。制备的高吸水树脂具有显著 pH 敏感性和 pH 可逆性。

参考文献

- [1] MINA M F, ALAM M M. Swelling behavior of acrylamide hydrogel in different solvents and pHs [J]. Chinese J Polym Sci, 2005, 23(3): 269-274.
- [2] CHERN C S, IU C W. Effect of short-chain alcohols on the oil-in-water microemulsion polymerization of styrene [J]. Colloid Polym Sci, 2000, 7: 278-329.
- [3] 陈莉. 智能高分子材料[M]. 北京:化学工业出版社, 2005.
- [4] 柳明珠, 詹发禄, 江洪申. 超强吸水剂结构与性能研究[J]. 兰州大学学报:自然科学版, 2003, 39(3): 46-49.

(上接第 15303 页)

- [2] 邓兰, 黄衡, 徐鸣夏, 等. 环维黄杨星 D 的前药改造及生物活性研究[J]. 药学学报, 2005, 40(9): 820-824.
- [3] 陈国广, 陈振华, 刘伯成, 等. 羟丙基-β-环糊精对黄芪甲苷包合作用的研究[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(6): 1457-1458.
- [4] 冯芳, 马永建, 张正行, 等. 酸性染料比色法在黄杨宁及其片剂质量控制中的应用[J]. 中国药科大学学报, 1999, 30(2): 34-36.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2000 一部[M]. 北京:化学工业

出版社, 2000: 575.

- [6] 陆亚鹏, 任勇, 王亚娜, 等. 阿莫西林/β-环糊精包合作用研究[J]. 中国药学杂志, 2005, 40(10): 757-759.
- [7] NINA S S. The thermodynamic parameters of the formation of a complex between cyclodextrins and steroid hormones [J]. J Chromatography A, 1996, 728(1/2): 89-95.
- [8] HIGUCHI T, CONNORS K A. Phase-solubility techniques [J]. Adv Anal Chem Instrum, 1965, 4: 117.