

木犀草素羟丙基- β 环糊精包合物的制备及其鉴定

王灵杰¹, 郑彩虹² (1. 浙江省嵊州市妇幼保健院, 浙江 嵊州 312400; 2. 浙江大学医学院附属妇产科医院, 杭州 310006)

摘要:目的 制备木犀草素 羟丙基- β 环糊精包合物并加以鉴定, 考察木犀草素与羟丙基- β 环糊精构成的摩尔质量比。方法 用溶液 搅拌法和冷冻干燥法制备木犀草素 羟丙基- β 环糊精包合物; 用红外光谱分析法和差示扫描量热分析法对木犀草素 羟丙基- β 环糊精包合物进行鉴定。结果 形成的包合物主客分子比为 1:1; 木犀草素与羟丙基- β 环糊精形成包合物后, 使其溶解度由 $8.51 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 增加至 $104.9 \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 增加了 12326 倍。结论 应用羟丙基- β 环糊精对木犀草素包合的方法可显著增大药物的水溶性。

关键词: 木犀草素; 羟丙基- β 环糊精; 包合物

中图分类号: R943.4 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2006)06-0477-03

Preparation and identification of luteolin-HP- β -cyclodextrin inclusion compound

WANG Ling-jie¹, ZHENG Cai-hong² (1. Shengzhou Maternity and Child Care Hospital, Shengzhou 312400, China; 2. Women's Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare and identify luteolin hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) inclusion compound, as well as to study the molecule stoichiometry between luteolin and HP- β -CD. **METHODS** The luteolin-HP- β -CD inclusion complex was prepared by aqueous solution-stirring method and lyophilization, the IR absorption spectroscopy and differential scanning calorimetry confirmed the successful formation of the inclusion compound. **RESULTS** The analysis showed that the molecular ratio of luteolin to HP- β -CD was 1:1. The solubility of luteolin was increased from $8.51 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ to $104.9 \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ after the drug was included in HP- β -CD, which was 12326 times as much as non-inclusion. **CONCLUSION** The method of inclusion of luteolin with HP- β -CD was feasible to increase the solubility of luteolin markedly.

KEY WORDS: luteolin; hydroxypropyl- β -cyclodextrin; inclusion compound

木犀草素为黄酮类化合物中的代表性成分, 存在于菊花、四方蒿、忍冬花等许多天然药物和蔬菜、水果中, 是菊花等许多中药的主要活性成分, 具有止咳、祛痰、消炎等功效。但由于该药几乎不溶于水, 稳定性差, 影响了其临床应用^[1]。

木犀草素的 β 环糊精包合物已见报道^[1-2], 而羟丙基- β 环糊精 (HP- β -CD) 较 β -CD 更具优势, 它不仅水溶性好, 对热稳定, 对肾无毒, 对肌肉和黏膜几乎无刺激, 对难溶性药物的增溶作用也更强^[3-4]。为此, 笔者对木犀草素 羟丙基- β 环糊精

基金项目: 浙江省中医药科技计划项目 (No. 2005C054)

作者简介: 王灵杰, 男, 42岁, 本科, 研究方向: 药物制剂及质量控制, Tel: (0575)-3185786

包合物的包合技术进行了研究。

1 材料和仪器

木犀草素(陕西慧科植物开发有限公司); HP- β -CD(中国医药上海化学试剂公司); 甲醇等试剂均为分析纯。

紫外分光光度计(TU-180Q 北京通用仪器设备有限公司); 红外光谱仪(BrickVector200); 差示扫描量热分析仪(DSC Q10Q USA TA Instrument); 电子天平(FA1104 上海天平仪器厂); 磁力搅拌器(78-1, 江苏金坛市江南仪器厂)。

2 方法

2.1 标准曲线的制备

以 50% 甲醇溶液为溶剂, 配制木犀草素溶液及木犀草素和 HP- β -CD 溶液进行紫外扫描, 在 355nm 处木犀草素有最大吸收, HP- β -CD 在紫外区无吸收。精密称取 105℃ 干燥至恒重的木犀草素适量, 用 50% 甲醇作溶剂配成标准溶液系列, 浓度范围 $2 \sim 10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 以溶剂为空白, 于 $\lambda_{\text{max}} = 355\text{nm}$ 处测其吸收度。

2.2 包合物的制备

称取 HP- β -CD 1.55g 置于烧杯中, 用 30mL 水溶解, 放于磁力加热搅拌器上, 60℃ 恒温, 另取木犀草素 0.286g 用适量甲醇溶解, 缓慢滴加到 HP- β -CD 溶液中, 保持温度继续搅拌 2~3h 静置, 抽滤, 取滤液, 冷冻干燥, 得固体粉末。

2.3 红外光谱检查

把木犀草素、HP- β -CD、木犀草素和 HP- β -CD 的物理混合物、木犀草素-HP- β -CD 包合物分别与 KBr 混匀压片, 检测红外光谱。

2.4 差示扫描量热分析

取木犀草素、HP- β -CD、木犀草素和 HP- β -CD 的物理混

合物、木犀草素-HP- β -CD 包合物约 3~5mg 置样品室中, 调节升温速率为 $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, 温度测定范围为 $25 \sim 320^\circ\text{C}$, 分别记录样品的差示扫描升温曲线。

2.5 含量测定

取包合物 13.8mg 置于 50mL 量瓶中, 用 50% 的甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀。移取 2mL 上述包合物的稀甲醇溶液至 10mL 量瓶, 用 50% 的甲醇溶液稀释至刻度。用 50% 的稀甲醇做空白, 在 355nm 处测其吸光度。代入回归方程, 求出包合物中木犀草素的含量。

2.6 溶解度测定

在 0.3mL 的水中溶解过量的木犀草素, 摇床振摇 5d 离心, 取少量上清液, 以 50% 甲醇为溶剂, 定容, 摇匀, 于 $\lambda_{\text{max}} = 355\text{nm}$ 处测其吸收度, 代入回归方程, 得木犀草素包合物在水中的溶解度。

2.7 包合物摩尔组成的确定

用移液管移取 8mL 一系列不同浓度的 HP- β -CD 置于 10mL 的离心管中, 再分别加入过量的木犀草素, 密封, 37℃ 摇床振摇 24h 离心取上清液, 用 50% 甲醇作为溶剂, 定容, 摇匀, 在 $\lambda_{\text{max}} = 355\text{nm}$ 处测其吸收度, 代入回归方程, 测定上清液中木犀草素的浓度。

3 结果

3.1 红外图谱的分析

包合物和物理混合物的图谱明显不同。在包合物中木犀草素的 1609 1501 1365 1266cm^{-1} 等特征峰消失或减弱, 而在物理混合物中仍然存在。包合物和 HP- β -CD 的峰形相似, 只在 1380cm^{-1} 处出现一个较尖锐的新波形。综合各红外图谱表明木犀草素-HP- β -CD 包合物已形成。见图 1。

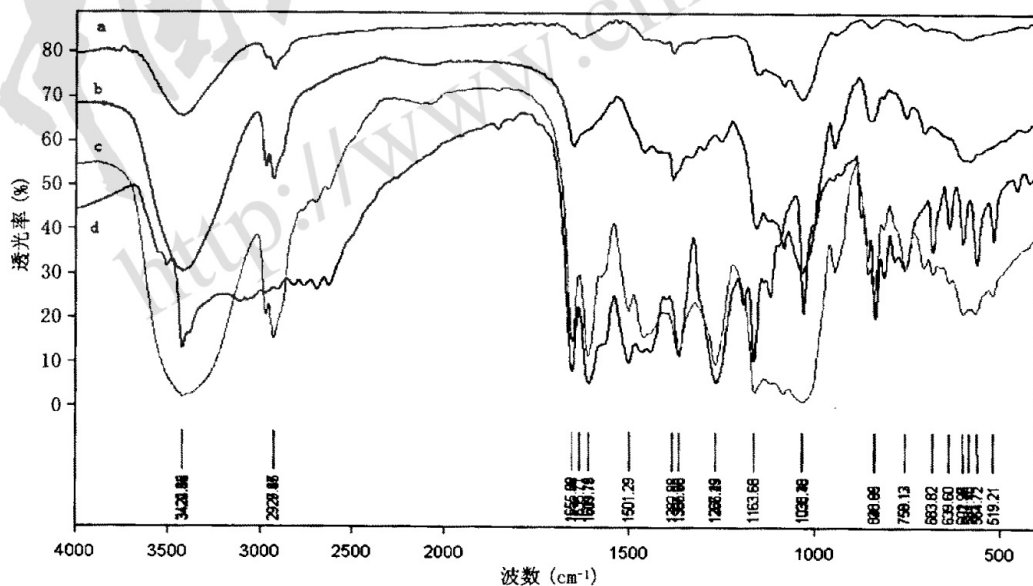


图 1 样品的红外图谱

Fig 1 IR spectra of samples

a γ -HP- β -CD; b luteolin; c physical mixture; d inclusion compound

a HP- β -CD; b luteolin; c physical mixture; d inclusion compound

3.2 差示扫描量热分析

HP-β-CD 在 311.34℃ 开始就熔融、分解了,木犀草素在 111℃ 出现一个吸热峰,在 237℃ 出现一个放热峰,这些峰在机械混合物中都有体现,但是包合物的 DSC 图谱与 HP-β-CD、木犀草素和机械混合物的图谱完全不同,药物 111℃ 的吸热峰和 237℃ 的放热峰消失了,而在 47.83℃ 和 277.22℃ 出现了两个新的峰,证明木犀草素-HP-β-CD 包合物出现了一种新的物相。见图 2。

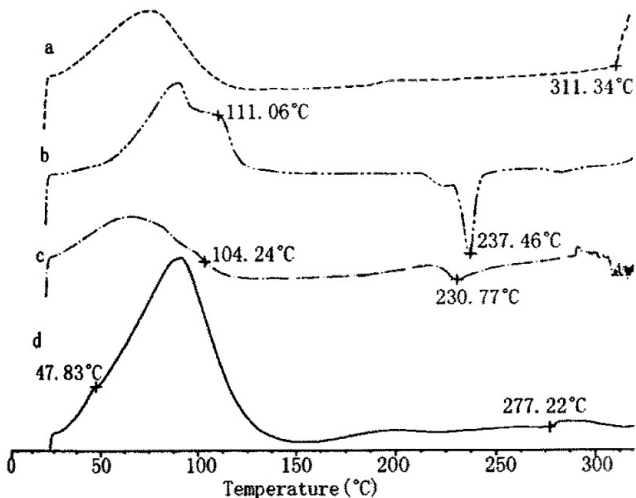


图 2 样品的差示扫描量热分析图谱

Fig 2 Differential scanning calorimetry of samples

a 羟丙-β-环糊精; b 木犀草素; c 机械混合物; d 包合物
a HP-β-CD; b luteolin; c physical mixture; d inclusion compound

3.3 含量测定

线性回归得方程 $C = 12.1014 + 0.4364$ 相关系数 $r = 0.9990$ 。将“2.5”测定的吸收度代入回归方程,计算包合物中木犀草素的含量为 5.50%,包合率为 29.81%。

3.4 溶解度测定

由“2.6”方法测得数据代入回归方程得木犀草素-HP-β-CD 包合物得溶解度为 $104.9 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($\text{RSD}\% = 2.36\%$),木犀草素的溶解度为 $8.51 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,可见制成包合物后木犀草素的溶解度增加了 12326 倍。

3.5 包合物摩尔组成的确定

$$S + L = SL \dots \dots K1$$

$$SL + L = SL2 \dots \dots K2$$

若木犀草素与 HP-β-CD 若形成摩尔比为 1:1 的包合物,则有:

$$[S]t = \frac{K1[S]}{1 + K1[S]} [L]t + [S]$$

$[S]t = [S] + [SL] + [SL2]$, 即溶液中药物的总浓度; $[S]$ 为游离药物的浓度。

$[L]t = [L] + [SL] + [SL2]$, 即溶液中 HP-β-CD 的浓度; $[L]$ 为游离 HP-β-CD 的浓度。若形成的包合物摩尔比不是 1:1, 则 $[S]t$ 与 $[L]t$ 之间不成线性关系。按方法

“1.8”项测得的数据, $[L]t (\text{mmol/L})$ 4 8 10 12 16 $[S]t (\text{g/L})$ 0.329 0.592 0.68 0.759 0.945。

经线性回归得回归方程 $[S]t = 0.0478 [L]t + 0.1905$ $r = 0.9949$ 。这说明木犀草素与 HP-β-CD 以 1:1 的摩尔比形成包合物。

4 讨论

HP-β-CD 是 β-CD 的羟烷基化衍生物,且与其母体 β-CD 完全不同的理化性质及药理学特性,在药剂学领域被认为是前景最为看好的优良药用辅料之一^[5]。对疏水性药物进行包合以增加其水溶性及药物稳定性是人们对 HP-β-CD 的主要研究兴趣所在;此外,由于 HP-β-CD 对胃肠道及局部组织刺激性轻微,经口服后几乎不被吸收,反复使用无蓄积效应,在提高药物生物利用度方面极具优势^[6]。

分析结果表明,木犀草素与 HP-β-CD 形成包合物后,溶解度增加了 12326 倍,由难溶于水变成易溶于水,解决了木犀草素因水溶性差而限制其应用的缺点。差示扫描量热分析和红外扫描分析对形成的包合物进行初步鉴定,充分显示了包合物的独特表征。HP-β-CD 对木犀草素极好的包合作用,展示了 HP-β-CD 在中药领域的应用前景,有望解决一些中药活性成分存在难溶性、挥发性、不稳定性及刺激性等问题。

参考文献

- [1] CHAN JY. Discussion on the stability of luteolin hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion compound [J]. Heilongjiang Medicine Pharmacy (黑龙江医药科学), 2004, 27(1): 49-49
- [2] LI J L, LI X L, YU D C, et al. Preparation of β-cyclodextrin inclusion compound of luteolin [J]. Chinese J New Drugs (中国新药杂志), 2004, 13(6): 524-526
- [3] WANG L, ZHANG F X, XUE X Z. Application of hydroxypropyl-β-cyclodextrin in preparation of Chinese traditional medicine [J]. Shanxi J Traditional Chinese Medicine (陕西中医), 2005, 26(2): 172-173
- [4] XIE B T, YANG G W, XIE W M. The characteristic and application in medicine of hydroxypropyl-β-cyclodextrin and its safety [J]. World Clinical Drugs (国外医药-合成药生化药制剂分册), 2002, 23(5): 302-306
- [5] LI J M, YANG H P. Hydroxypropyl-β-cyclodextrin's application and its research development [J]. China New Medicine (中国新医药), 2004, 3(8): 63-65
- [6] ZUO Z, TAM Y K, DIAKUR J, et al. Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin-flutamide inclusion complex. II. Oral and intravenous pharmacokinetics of flutamide in the rat [J]. J Pharm Pharm Sci, 2002, 5(3): 292-298

收稿日期: 2005-12-16