

羟丙基- β -环糊精对匹诺塞林的包合作用研究

戚燕, 杨庆云, 吴松* (中国医学科学院中国协和医科大学药物研究所, 北京 100050)

摘要: 目的 测定匹诺塞林在不同浓度羟丙基- β -环糊精溶液中的溶解度曲线, 以及包合物的组成量比例和稳定性常数。方法 在25 °C运用相溶解度法进行实验, 采用紫外分光光度法测定匹诺塞林在溶液中的浓度。结果 随着羟丙基- β -环糊精浓度增加和pH的增大, 匹诺塞林的溶解度显著提高。计算了表观稳定常数、确定了不同pH条件下包合物的摩尔比。结论 难溶性药物匹诺塞林与羟丙基- β -环糊精可形成1:1包合物。

关键词: 羟丙基- β -环糊精; 匹诺塞林; 溶解度

中图分类号: R943.4

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2009)10-0837-04

作者简介: 戚燕, 女, 助理研究员

Tel: (010)63165223

E-mail: qy@imm.ac.cn

***通信作者:** 吴松, 男, 硕士, 研究员

Tel: (010)83163542 **E-mail:** ws@imm.ac.cn

Study of Pinocembrin-hydroxypropyl- β -cyclodextrin Inclusion Compound

QI Yan, YANG Qingyun, WU Song* (Institute of Materia Medica, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the solubilization effects of the inclusion complex of pinocembrin with hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) in aqueous solutions at various pH and to determine the constitutive molar ratio of pinocembrin-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex and its stability constant. **METHODS** The solubilization experiment was performed by the phase-solubility method at 25 °C. The concentration of pinocembrin was determined by the UV spectrophotometric method. **RESULTS** The apparent solubility of pinocembrin was enhanced noticeably with the increase of HP- β -CD concentration and the increasing pH values. The apparent stability constants were calculated respectively. The molar ratio of the inclusion complex at various pH were studied. The application of HP- β -CD to parenteral formulations of pinocembrin was discussed preliminarily. **CONCLUSION** An inclusion complex of pinocembrin and HP- β -CD can be formed.

KEY WORDS: hydroxypropyl- β -cyclodextrin; pinocembrin; solubility

匹诺塞林(pinocembrin)是由本所研制的一种新型脑保护药,在临床上用于急性期脑卒中的治疗,可有效减少脑卒中后遗症的发生率和严重程度。由于匹诺塞林不溶于水,因此将匹诺塞林制成注射剂必须首先解决其溶解性的问题。羟丙基- β -环糊精(hydroxypropyl- β -cyclodextrin, HP- β -CD)是一种低毒、安全、有效的水溶性包含材料^[1]。本试验通过相溶解度法(phase-solubility method)系统地探讨了不同pH值下HP- β -CD对匹诺塞林的增溶作用,计算了表观稳定常数,为制剂的制备和临床应用提供了依据。

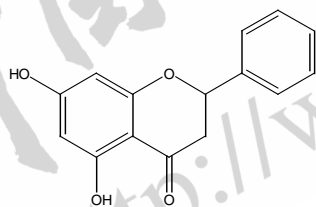


图1 匹诺塞林化学结构式

Fig 1 Structure of pinocembrin

1 材料

匹诺塞林对照品(自制,含量99.5%);匹诺塞林原料药(自制);HP- β -CD(西安德立生物化工有限公司);UV-2501PC型紫外-可见分光光度计(日本岛津);DF-101S型集热式恒温加热磁力搅拌器(郑州长城科工贸有限公司);AND型分析天平(日本);精密pH计(上海雷磁仪器厂)。

2 方法与结果

2.1 检测波长的确定

取一定量的匹诺塞林对照品及适量HP- β -CD,用磷酸盐缓冲液(pH 7.0)分别配制成澄清溶液,以

磷酸盐缓冲液(pH 7.0)为空白,在200~400 nm内扫描,结果表明匹诺塞林在290 nm处有最大吸收,且HP- β -CD在此处无吸收,故选290 nm波长为测定波长。

2.2 标准曲线绘制

精密称取匹诺塞林对照品20 mg,置100 mL量瓶中,加无水乙醇溶解并稀释至刻度,作为贮备液。精密量取贮备液0.8, 1.0, 3.0, 5.0, 6.0 mL,置100 mL量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀,在290 nm处测定吸光度,以吸光度对浓度进行线性回归,回归方程为: $Y=0.0755X-0.0058$, $r=0.9999$,结果表明匹诺塞林吸光度与浓度在1.6~12.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内呈良好的线性关系。

2.3 仪器精密度试验

用磷酸盐缓冲液(pH 7.0)配制6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 匹诺塞林溶液,连续测定6次,其吸光度的RSD为0.51%,连续测定5 d,每天测定1次,其吸光度的RSD为0.89%。

2.4 回收率试验

精密称取匹诺塞林对照品约20 mg,置100 mL量瓶中,加入110 mg HP- β -CD,加无水乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取该溶液3.0 mL,置100 mL量瓶中,加磷酸盐缓冲液(pH 7.0)稀释至刻度,摇匀,照分光光度法在290 nm测定吸光度,代入回归方程计算匹诺塞林的回收率。测定结果平均回收率为98.6%($n=6$),RSD为0.48%。

2.5 溶液稳定性试验

用磷酸盐缓冲液(pH 7.0)配制6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 匹诺塞林溶液,在室温下放置1, 2, 4, 8, 12, 24 h,在290 nm处测定其吸光度, RSD为0.55%,表明匹诺

塞林在24 h内吸光度相对稳定。

2.6 HP-β-CD对匹诺塞林的增溶试验^[2]

根据中国药典2005年版, 分别配制pH为5, 7, 9的磷酸盐缓冲液, 再加入不同量HP-β-CD制成浓度为0, 20, 40, 80, 100 mmol·L⁻¹的HP-β-CD溶液, 将过量的匹诺塞林加入上述各溶液中, 超声10 min, 置于25 °C磁力搅拌器中搅拌, 24 h使溶解达平衡, 离心, 取上清液用0.45 μm微孔滤膜过滤, 滤液稀释适当倍数, 在290 nm处测定吸光度, 按标准曲线法计算匹诺塞林的浓度。以HP-β-CD浓度为横坐标, 药物浓度为纵坐标, 绘制平衡相溶解度图, 结果见图2。

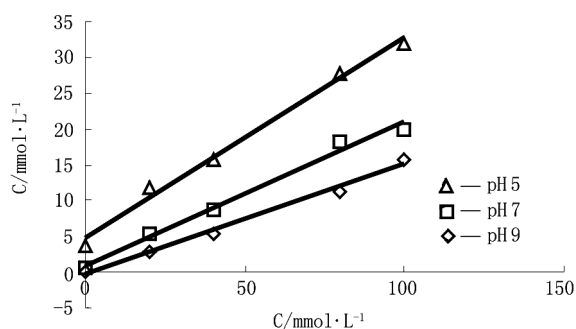


图2 不同pH下的平衡相溶解度图($n=3$)

Fig 2 The phase solubility of pinocembrin at different pH as a function of HP-β-CD concentrations ($n=3$)

2.7 包合体系表观稳定常数的测定

一般常用表观稳定常数(K_c)来衡量包合作用的强弱, 表示溶液中游离药物分子与被包合的药物分子之间存在一个动态平衡, K_c 值越大, HP-β-CD对药物的包合作用越强^[2-3]。以匹诺塞林溶解度($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)对HP-β-CD($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)浓度进行线性回归, 得回归方程, 包合物的稳定常数(K_c)计算公式: $K_c = \text{斜率} / \text{截距}(1 - \text{斜率})$ 。计算结果见表1。

表1 不同pH下的表观稳定常数

Tab 1 The apparent stability constants for pinocembrin at different pH

pH	回归方程	r	$K_{1:1} / \text{L}\cdot\text{mol}^{-1}$
5	$Y = 0.1537X - 0.3431$	0.9960	529.3
7	$Y = 0.1474X - 0.4379$	0.9891	394.8
9	$Y = 0.279X + 4.7556$	0.9955	74.2

2.8 包合物的制备

称取HP-β-CD 10 g置锥形瓶中, 加入70 mL水溶解, 开动电动搅拌机, 称取匹诺塞林1 g, 加入上述HP-β-CD水溶液中; 在搅拌状态下缓慢滴加10%氢氧化钠水溶液, 调节并保持溶液pH值在8.4~8.5之间, 25 °C恒温搅拌4 h, 抽滤, 滤液真空冷冻干燥后研细, 过80目筛即得匹诺塞林

HP-β-CD包合物。

2.9 包合物样品分析^[4]

2.9.1 包合物中匹诺塞林含量分析 称取匹诺塞林-HP-β-CD包合物20 mg置于25 mL量瓶中, 加入5 mL无水乙醇, 置振荡器上振摇20 min溶解, 经磷酸盐缓冲液适当稀释后测定吸收度, 测得包合物的平均收率为94.5% ($n=5$)、平均载药量为8.95% ($n=5$)。

2.9.2 包合物溶解度测定 取匹诺塞林-HP-β-CD包合物和匹诺塞林适量, 加水使成饱和液, 置振荡器上振摇20 min, 经0.45 μm微孔滤膜过滤后取滤液0.5 mL, 置于25 mL量瓶中, 溶解, 经磷酸盐缓冲液适当稀释后测定吸收度, 带入标准曲线计算匹诺塞林的溶解度。包合物中匹诺塞林的溶解度为54 g·L⁻¹, 而匹诺塞林在水中的溶解度仅为0.009 2 g·L⁻¹, 可见形成包合物后, 匹诺塞林在水中的溶解度增大5 870倍。

2.10 包合物的确定

2.10.1 红外光谱法 用KBr将包合物、物理混合物、HP-β-CD以及匹诺塞林压片, 分别测试红外光谱。由红外光谱图可以看出, HP-β-CD分别在3 388和2 929 cm⁻¹处可见游离-OHs和缔合-OHs的振动吸收峰。物理混合物的匹诺塞林图谱叠加了衰减的匹诺塞林特征峰和HP-β-CD的特征。包合物的图谱显示, 羰基峰发生红移: 1 638 cm⁻¹, 出现一个新的峰: 1 372 cm⁻¹, 并且1 900~1 500 cm⁻¹波数的峰强度明显改变。以上均显示匹诺塞林与HP-β-CD已形成包合物。

2.10.2 差示热分析法 对包合物、物理混合物、HP-β-CD以及匹诺塞林4种样品进行差热分析。图谱显示, 匹诺塞林在其熔点202 °C附近有尖锐的特征吸热峰。HP-β-CD在30~70 °C有特征的较宽而扁平的吸热峰, 物理混合物在匹诺塞林熔点附近也有明显的吸热峰, 但峰强度较小。而包合物特征吸热峰消失, 表明包合物中的匹诺塞林以分子或微晶分散在HP-β-CD中。

3 讨论

由图1说明随着HP-β-CD的增加匹诺塞林的相溶解度呈线性增加, 根据Higuchi等的分类, 匹诺塞林的相溶解度图呈A_L型^[2-3], 表明HP-β-CD对匹诺塞林以1:1摩尔比例进行包合, 同时随着HP-β-CD浓度的增加和pH的增大, 匹诺塞林溶解度显著提高, 但是包合作用降低, 表现在 K_c 值随着pH升高而减小。说明由于pH值的升高, 匹诺塞林的解离度升高, 疏水性减弱, 使HP-β-CD包合的作用减弱。匹诺塞

林为难溶性药物，经与HP- β -CD包合后，其溶解性能得到较大改善，制成HP- β -CD/匹诺塞林包合物是制备注射用匹诺塞林的有效方法之一。

REFERENCES

- [1] TAO T. Characteristics and pharmaceutical applications of hydroxypropyl-beta cyclodextrin [J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2002, 33(6): 304-309.
- [2] SUN Y H, SHI J M, ZHONG H. Utilization of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin as the solubilizer of meloxicam [J]. J Shenyang Pharm Univ (沈阳药科大学学报), 2004, 1(2): 81-83.
- [3] CHEN G G, ZHANG H Y, LI X M. Evaluation of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin as a solubilizing and stabilizing agent for ketoprofen [J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药学), 2007, 24(1): 39-42.
- [4] LIU Y W, YU X B, WU H X. Study of ketoprofen-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion compound [J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药学), 2006, 23(5): 377-379.

收稿日期: 2009-02-18