

右美沙芬掩味分子包合物的制备和评价

柳珊¹, 谭群友², 刘娟^{1,3}, 吉柳¹, 任勇³, 张景勃^{1*} (1.重庆医科大学药物高校工程研究中心, 重庆医科大学生物化学与分子药理学重点实验室, 重庆 400016; 2.第三军医大学大坪医院野战外科研究所, 重庆 400042; 3.南京师范大学生命科学学院新药研究中心, 南京 210097)

摘要: 目的 制备氢溴酸右美沙芬-β-环糊精包合物并考察有关性质。方法 采用研磨法制备氢溴酸右美沙芬-β-环糊精包合物。采用显微镜法、差示扫描量热法、溶解性试验、计算机模拟计算法验证包合物的形成并研究其性质。采用紫外分光光度法测定包合物的载药量和包合率。结果 氢溴酸右美沙芬能够与β-环糊精形成物质的量比为1:3的包合物。包合物的载药量和包合率分别为9.83%和92.10%。结论 采用研磨法,以物质的量比1:3可以制备得到载药量和包合率较高的氢溴酸右美沙芬-β-环糊精包合物。

关键词: 右美沙芬; 包合物; 掩味

中图分类号: R943.4

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)05-0414-05

Study on Taste-Masking Inclusion Compound of Dextromethorphan

LIU Shan^{1,3}, TAN Qunyou², LIU Juan², JI Liu¹, REN Yong³, ZHANG Jingqing^{1*} (1. *Medicine Engineering Research Center of Chongqing Medical University, Chongqing Key Laboratory of Biochemical & Molecular Pharmacology, Chongqing 400016, China*; 2. *Daping Hospital & Research Institute of Surgery, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China*; 3. *Center of Drug Discovery, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare the inclusion compound of dextromethorphan hydrobromide (DH)-β-cyclodextrin (β-CD) and investigate its properties. **METHODS** The inclusion complex was prepared by grinding method and confirmed by microscope observation, change of differential scanning calorimetry, solubility test and computer simulation methods. The drug loading and the entrapment efficiency were determined by ultraviolet spectrophotometry. **RESULTS** The inclusion complexes consisted of β-CD and DH at a molar ratio of 1:3. The drug loading and the entrapment efficiency were determined as 9.83% and 92.10%, respectively. **CONCLUSION** The inclusion complexes with high drug loading and entrapment efficiency could be formed at a molar ratio of 1:3 of DH and β-CD.

KEY WORDS: dextromethorphan; inclusion complex; taste masking

氢溴酸右美沙芬(dextromethorphan hydrobromide, DH)是人工合成的吗啡衍生物,为中枢性镇咳药物,其镇咳作用强度与同等剂量的可待因相当,且不存在成瘾性的弊端,临床上常用于治疗感冒和上呼吸道感染等各种原因引起的咳嗽^[1-2]。由于本品味道极苦,患者服用顺应性差,其临床应用受到限制。β-环糊精(β-cyclodextrin, β-CD)为环状麦芽七糖,具有圆筒形空间结构,是目前研究较全面、安全性较好的药用辅料^[3-4]。将DH包合于β-CD后,可以掩盖其苦味。本实验研究了β-CD对DH的包合作用,为进一步将DH制成其他剂型提供依据。

1 仪器与材料

UV-2501PC 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司); XTTD-7 型温度定时控制仪(余姚温度仪表厂); 分析电子天秤(Mettler Toledo 仪器公司); SHZ-88 型台式水浴恒温振荡器(江苏太仓市实验设备厂); CX-250 型超声波清洗器(北京医疗设备二厂); STA 449C 型综合热分析仪(德国耐驰仪器制造有限公司); 85-2 型恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器有限公司)。DH(肇庆市定康药业有限公司,批号: S-3071107,纯度>99.0%); β-环糊精(江苏泰兴新鑫医药辅料有限公司,批号: 20080324); 其余试剂均为分析纯。

基金项目: 重庆市教育委员会资助(首批高等学校优秀人才资助, KJ090308); 2009 年高等学校博士学科点专项科研基金课题(2009550312008)

作者简介: 柳珊, 女, 硕士研究生 Tel: 13667649923 E-mail: liushan58454@sina.com *通信作者: 张景勃, 女, 教授 Tel: (023)68485816 E-mail: zjqrae01@163.com

2 方法与结果

2.1 DH 含量测定方法

2.1.1 测定波长的确定 称取一定量 DH 对照品和 β -CD, 分别用适量蒸馏水充分溶解。以蒸馏水为空白, 在 200~400 nm 内扫描, 结果显示 DH 在 278 nm 处有最大吸收, 而 β -CD 在此处无吸收, 辅料无干扰, 故选择 278 nm 作为 DH 的紫外检测波长。

2.1.2 标准曲线的绘制 精密称取 DH 对照品 135.0 mg, 加蒸馏水溶解并稀释、定容, 作为 $2.7 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ DH 储备液。分别精密量取储备液 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0 mL 于 100 mL 量瓶中, 加蒸馏水定容, 以蒸馏水为空白, 在 278 nm 处测定吸光度, 以浓度(C)对吸光度(A)进行线性回归, 得线性回归方程: $A=5.4383C-0.0047$, $r=0.9999$ ($n=3$)。结果表明, DH 的浓度在 $54\sim 135 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内与吸光度呈良好的线性关系。

2.1.3 回收率实验 分别精密量取 DH 储备液 ($2 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) 0.3, 0.4, 0.5 mL 置 10 mL 量瓶中, 按 DH 与 β -CD 物质的量比 1:3 加入 β -CD, 蒸馏水定容, 根据公式: 加样回收率 = 实测浓度/理论浓度。求得回收率为 $(99.94\pm 0.73)\%$ ($n=9$), RSD 小于 1%。

2.2 DH- β -CD 包合物的制备

2.2.1 包合比例的确定

2.2.1.1 以紫外吸收值差异测定包合比例^[5] 精密称取 DH 和 β -CD 适量, 分别置于 100 mL 量瓶中, 用蒸馏水溶解并稀释至刻度, 使两者物质的量浓度相同。精密量取上述 2 种溶液, 按比例混合, 使 DH 与 β -CD 的物质的量比分别为 1:3, 1:2, 2:3, 1:1, 3:2, 2:1, 3:1, 于 278 nm 处测定吸收值(A_0), 计算与相同浓度的 DH 溶液吸收值(A_1)之差 ΔA ($\Delta A = A_0 - A_1$), ΔA 值最大处对应的物质的量比即为最佳包合比。测定得 ΔA 分别为 0.014, 0.013, 0.010, 0.043, 0.026, 0.020, 0.005, 物质的量比为 1:1 时紫外吸收值相差最大, 即选择 DH 与 β -CD 以物质的量比为 1:1 进行包合。

2.2.1.2 以苦味为评价指标确定包合比例 以 DH 与 β -CD 摩尔比为 1:1、1:1.5、1:2、1:3、1:4 制备得到不同的包合物。再将包合物分别配制成同样浓度的溶液(相当于含 $5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ DH), 由 10 个志愿者进行苦味评估试验。苦味评价方法为: 先用温水漱口 3 次, 再将待测液含于口中, 10 s 后吐出, 漱口至无溶液味道(至少 10 次以上), 再检测第

2 种溶液, 每种溶液重复测试 5 次^[6], 评价结果见表 1。当 DH 与 β -CD 的摩尔比达到 1:3 及以上时, 制得的包合物溶液能完全掩盖 DH 的苦涩味。所以选择制备包合物的包合比例为 1:3。

表 1 苦味评估试验

Tab 1 Results of bitterness test

DH : β -CD (摩尔比)	苦味评价/人数		
	苦味明显	略有苦味	没有苦味
1 : 0	10	0	0
1 : 1	6	4	0
1 : 1.5	8	2	0
1 : 2	0	2	8
1 : 3	0	0	0
1 : 4	0	0	0

2.2.2 包合物的制备 按照主客分子不同物质的量的比称取 β -CD 置研钵中, 加入比例量蒸馏水, 研磨至 β -CD 分散均匀, 分次加入 DH, 边加边研磨至呈糊状, 55°C 烘箱中干燥 2 h, 滤过, 用 75% 乙醇洗涤沉淀 3 次, 每次 1 mL。沉淀于 55°C 烘箱中干燥至恒重, 过 100 目筛即得 DH- β -CD 包合物^[7-8]。

2.2.3 包合物载药量与包合率的测定^[9-10] 精密称取 DH- β -CD 包合物适量, 95% 乙醇定容至 10 mL (配制成约含 DH $0.1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液), 超声振荡 30 min 后, 量取 2 mL 于 100 mL 的量瓶中, 用蒸馏水定容, 摇匀。以蒸馏水为空白溶液, 在 278 nm 处测定吸光度, 代入标准曲线方程, 计算载药量和包合率。包合物中 DH 的含量计算公式为: (DH 的量/包合物的量) $\times 100\%$, 包合率计算公式为 (包合物中 DH 含量/DH 投入量) $\times 100\%$ 。包合物收得率计算公式为: (包合物的量/总投入物的量) $\times 100\%$ 。测定包合物中 DH 的含量为 $(9.830 \pm 0.052)\%$, 包合率为 $(92.10 \pm 4.26)\%$, 包合物收得率为 $(95.93 \pm 1.61)\%$ 。

2.2.4 包合工艺的优化 考虑到包合的主要目的是矫味, 因此只用了适量的乙醇洗涤未被包合的 DH, 而未洗涤多余的 β -CD。同时为了适合大生产的需要, 未进行包合温度的考察, 选择在常温下制备。

2.2.4.1 研磨时间的考察 按主、客分子物质的量比 1:3 制备 DH- β -CD 包合物, DH 加入量为 0.5 g, 加入相当于 β -CD 质量一倍量的水, 手工研磨不同的时间, 以包合物收得率、包合率、包合物载药量为指标考察研磨时间的影响。将包合率的权重定为 0.7, 收得率的权重定为 0.2, 包合物载药量的权重

定为0.1, 综合评分=包合率×0.7+收得率×0.2+含药量×0.1^[11], 用综合评分确定最佳工艺, 结果见表2。从综合评分结果来看, 研磨时间确定为1 h。

表2 研磨时间的考察

Tab 2 Investigation of grinding time

研磨时间/h	载药量/%	包封率/%	收率/%	综合评分
0.17	8.40	75.29	88.15	71.17
0.5	9.82	87.39	94.07	80.97
1.0	9.84	95.67	96.73	87.30
1.5	9.83	93.26	96.98	85.66
2.0	9.83	84.59	90.27	78.25

2.2.4.2 加水量的考察 按主、客分子比1:3制备DH-β-CD包合物, 加入不同比例的水, 研磨1 h。采取“2.2.4.1”项下的评分方法来确定最佳工艺, 从综合评分结果来看, 选择加入1倍量的水即可。试验结果见表3。

表3 加水量的考察

Tab 3 Study on multiple of added water

加水比例	载药量/%	包封率/%	收率/%	综合评分
1:1	9.84	95.67	96.73	87.30
3:1	9.83	77.05	86.05	72.13
5:1	9.84	80.43	93.42	75.97

2.2.4.3 优化工艺的包合物制备 按主、客分子比1:3制备DH-β-CD包合物, 加入1倍量的水, 研磨至β-CD分散均匀, 分次加入DH, 边加边研磨1 h使呈糊状, 55 °C烘箱中干燥2 h, 滤过, 用75%乙醇洗涤沉淀3次, 每次1 mL。沉淀于55 °C烘箱中干燥至恒重, 过100目筛即得DH-β-CD包合物。测得3批包合物载药量为(9.830±0.052)%, 包合率为(92.10±4.26)%, 包合物收得率为(95.93±1.61)%。

2.3 包合物的鉴定^[12-14]

2.3.1 显微镜观察法 取β-CD, DH, β-CD与DH

的物理混合物、DH的包合物, 装片后分别于40×10镜下观察。β-CD晶体为方晶状; DH晶体为不规则状; β-CD与DH的物理混合物其形态与各自原本形态无异, 可见两者物理混合物不能形成包合物; DH-β-CD包合物形态与前发生变化, 呈不规则细小树枝状脉络形, 见图1。

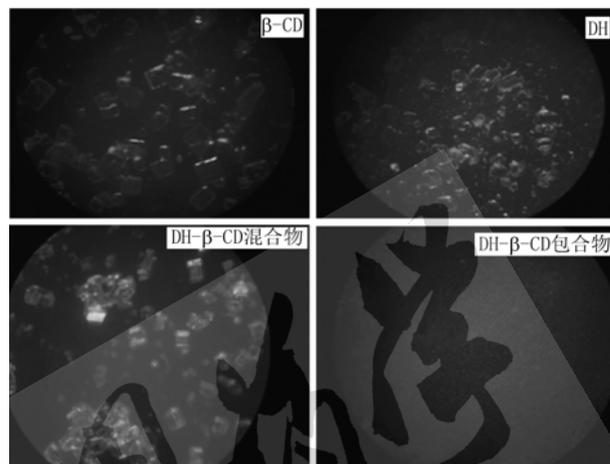


图1 样品的显微观察照片(40×10)

Fig1 Microscopic photograph of the samples(40×10)

2.3.2 差示扫描量热法 (differential scanning calorimetry, DSC) 分别对DH, β-CD, 二者的物理混合物及包合物进行差示扫描量热分析。以Al₂O₃为参比, 样品取样量约5.0 mg, 量程为±25 V, 升温范围为30~350 °C, 升温速率为10 °C·min⁻¹, 测定气体为氮气。DH在121 °C有一个相变峰, 即药物熔融峰; β-CD在80 °C左右有一较宽的吸热脱水峰; 物理混合物图谱在80 °C和121 °C分别出现DH和β-CD的吸热峰; 包合物图谱中DH吸热峰消失, 表明DH与β-CD形成了包合物, 而非简单的物理混合物。结果见图2。

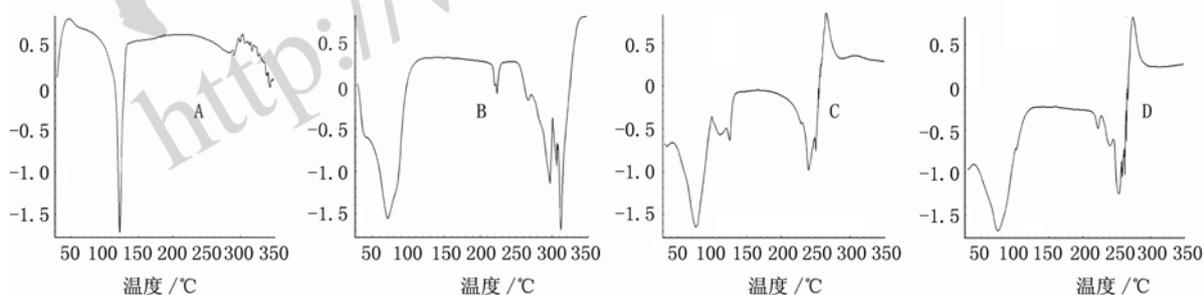


图2 DSC 图谱

A-DH; B-β-CD; C-物理混合物; D-DH-β-CD 包合物

Fig 2 The differential scanning calorimetry spectra

A-DH; B-β-cyclodextrin; C-physical mixture; D-inclusion complex

2.3.3 红外分光光度法 比较 DH 包合前后在红外区的吸收特征, 根据吸收峰的变化情况(如降低、

发生位移或消失)判断包合物是否形成。将 β-CD, DH, β-CD 和 DH 的物理混合物及包合物溴化钾压

片,测定参数:扫描范围 4 000~400 cm^{-1} ,累加扫描次数 8 次,分辨率 4 cm^{-1} 。物理混合物基本是 DH 和 β -CD 图谱的叠加。包合物与混合物图谱明显不同,在包合物图谱中药物特征吸收峰: 3 469,

2 859, 2 664, 2 578, 1 427 cm^{-1} 峰消失, 1 616, 1 577, 1 498, 1 463, 1 303, 1 244, 1 041, 824 cm^{-1} 八个峰强度明显减弱。以上均表明 β -CD 和 DH 形成包合物。红外光谱图见图 3。

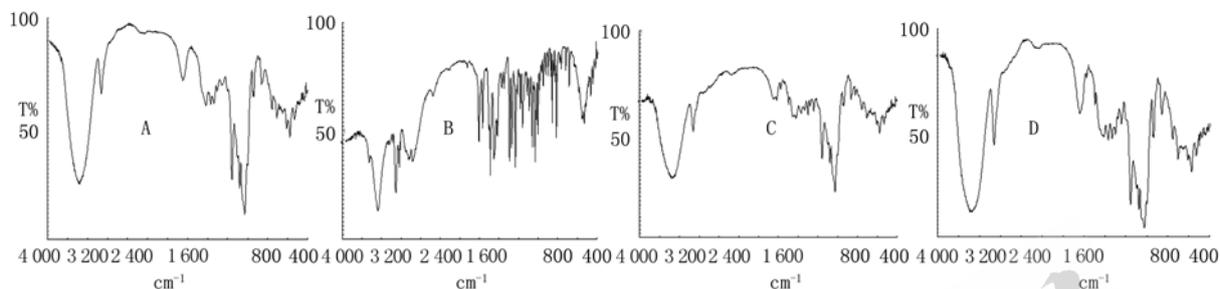


图 3 红外吸收图谱

A- β -CD; B-DH; C-物理混合物; D-包合物

Fig 3 Infrared absorption spectra

A- β -CD; B-DH; C-mixture of DH and β -CD; D-inclusion compound of DH and β -CD

2.3.4 溶解性试验

取 DH 100.0 mg, 分别置 A、B 两个小烧杯中, B 杯中按 1:1 摩尔比加入 β -CD 306.0 mg, 分别加 15 mL 水于 2 杯中搅拌使溶解, 然后再分别逐滴加入 1%NaOH 溶液调节溶液 pH 值, 观察溶解现象。当 pH 为 8.22 左右时, A 杯中溶液开始出现浑浊, 随着 pH 升高, 浑浊度逐渐增大; 至 pH 为 8.45 左右时浑浊度基本恒定; 随后加入 1:1 摩尔比的 β -CD 后溶液变得澄清, 直至 pH 9.28 左右才又出现浑浊, 此后溶液浑浊度随 pH 增加而增大。而 B 杯中溶液保持澄清, 无明显变化, 直至 pH 9.28 左右才出现与 A 杯相同的浑浊度。另取 DH 100.0 mg, 加 15 mL 水使溶解, 调 pH 至 8.45, 在产生大量沉淀物时按 1:1 摩尔比加入 β -CD 306.0 mg 搅拌, 结果溶液立即变澄清, 而若仅以 306.0 mg β -CD 加入 15 mL 水, 在 pH 为 8.45 时搅拌 β -CD 不能全部溶解(β -CD 在 25 $^{\circ}\text{C}$ 水中的溶解度为 1.85 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ [12])。实验可见, β -CD 能使 DH 在 pH 8.45 的水溶液中的溶解度提高, DH 又能使 β -CD 在水溶液中的溶解度增大, 此现象可提示包合产物的形成。

2.3.5 计算机模拟包合可能性^[5] 采用 CAChe 6.1.8 Worksystem Pro. (FUJITSU 2002, 日本) 计算机分子模拟程序模拟 DH 和 β -CD 的化学结构, 并分别计算 DH 与 β -CD 在包合前后的能量及其变化, 结果见表 4。结果显示包合后体系能量下降, 提示 β -CD 能够与 DH 形成稳定包合物。

表 4 计算机模拟包合可能性计算结果

Tab 4 The calculation results of the computer simulation on inclusion possibility

参 数	能量/ $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$		
	包合前	包合后	能量差
键伸缩能	13.318	13.051	0.267
键角能	36.731	38.730	-1.999
伸缩弯折能	2.014	2.007	0.007
二面角能	8.994	2.683	6.311
非正常二面角能	0.106	0.014	0.092
二面角伸缩能	-1.549	-1.512	-0.037
弯折作用能	-0.398	-0.351	-0.047
范德华力	91.625	77.680	13.945
电子总能量	290.860	290.031	0.829
氢键	-2.647	-3.245	0.598
总能量	439.054 0	419.086 6	19.967 4

3 讨论

目前制备 β -CD 包合物的方法主要有饱和溶液法、研磨法、冷冻干燥法、喷雾干燥法、液-液法或气-液法、固相包合法等^[12]。具体试验中需要根据主客体性质选择适宜的包合方法, 溶媒种类、用量等包合条件。尝试过用饱和水溶液法及超声波法制备包合物, 但效果都不太好。考虑到工业化大生产和包合的目的主要是矫味, 通过查阅文献和预实验, 笔者最终选用研磨法。

采用研磨法制备包合物, 需要考察主客分子比, 研磨时间以及加水量等因素。试验中以连续递变法确定的最佳包合比为 1:1, 与大多数文献报道一致, 但为了得到较佳的矫味效果, 笔者加大了 β -CD 的用量, 使 DH 的苦味基团被充分掩蔽, 满

足矫味需要。笔者选择载药量、包封率和收率对包合工艺进行优化, 试验发现研磨时间和加水量对载药量影响不大, 但对包封率和收率影响较大, DH 属亲水性药物, 1 倍量的水使其在包合体系中以较高浓度的分子形式存在, 有利于包合平衡的右移。

以 CAChe6.1.8 Worksystem Pro.(FUJITSU 2002) 计算机辅助化学软件系统, 模拟 DH 和 β -CD 的化学结构分子模型, 选用具 MM3 算法的 MOPAC2004 程序进行 DH 和 β -CD 非包合体系, 采用分子对接操作构建包合物结构, MM3 算法计算各化学成分包合前后体系总能量的变化^[5]。结果提示 DH 与 β -CD 具备形成稳定包合物的可能。

REFERENCES

- [1] BANKEN J, FOSTER H. Dextromethorphan [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1139: 402-411.
- [2] MEYYANATHAN S N, RAJAN S, MURALIDAHARAN S, et al. Formulation and evaluation of dextromethorphan hydrobromide sustained release tablets [J]. *Drug Del*, 2008, 15(7): 429-435.
- [3] PASQUALI I, BETTINI R. Are pharmaceuticals really going supercritical [J]. *Int J Pharm*, 2008, 364(2): 176-187.
- [4] CHALLA R, AHUJA A, ALI J, et al. Cyclodextrins in drug delivery: An updated review [J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2005, 6(2): 329-357.
- [5] MA X Q, REN Y, FU X. Studies on the hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complexes of 10-hydroxycampothecin [J]. *Chin J New Drugs* (中国新药杂志), 2007, 16(17): 1385-1387.
- [6] WANG Y J, XU D, FENG Y. Studies on taste-masking technology of traditional Chinese medicine compounds [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2007, 32(13): 1285-1288.
- [7] SALUSTIO P, FEIO G, FIGUEIRINHAS J, et al. The influence of the preparation methods on the inclusion of model drugs in a beta-cyclodextrin cavity [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2009, 71(2): 377-386.
- [8] OMATR A, BHANUDAS K, YOGESH P, et al. Effect of β -cyclodextrin and hydroxypropyl β -cyclodextrin complexation on physicochemical properties and antimicrobial activity of cefdinir [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, 47(3): 535-540.
- [9] WANG J, LI X, XU S. Characterization of the inclusion complexes of nitrendipine with β -cyclodextrin [J]. *J Chongqing Univ: Nat Sci Ed* (重庆大学学报 自然科学版), 2007, 30(7): 124-129.
- [10] LI G, JIANG H, XU D, et al. Optimizing the inclusion technology of cinnamon volatile oil- β -cyclodextrin inclusion complex [J]. *Chin Pharm* (中国药房), 2007, 18(21): 1623-1625.
- [11] YAN Y P, LI C, SONG X, et al. Research of inclusion technology for volatile oil of biyuangling granule by rubbing [J]. *Mod Chin Med* (中国现代中药), 2007, 9(8): 25-27.
- [12] HE Z G. The cyclodextrin inclusion technology (环糊精包合技术) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008: 85-103.
- [13] HE J, DENG L, YANG S. Synthesis and characterization of beta-cyclodextrin inclusion complex containing di(8-hydroxyquinoline) magnesium [J]. *Spectrochim Acta A*, 2008, 70(4): 878-883.
- [14] ZHAO L, CAO D, FENG X, et al. Preparation of inclusion complex of cetirizine- β -cyclodextrin [J]. *West China J Pharm Sci* (华西药学杂志), 2004, 19(1): 30-32.