

人参皂苷 Rh₂-羟丙基-β-环糊精包合物的鉴定和热力学参数考察张 蓓¹, 林东海^{2*}, 肖 楠², 刘 珂²

(1. 天津中医药大学, 天津 300193; 2. 烟台大学, 山东 烟台 264005)

摘 要:目的 研究人参皂苷 Rh₂ 与羟丙基-β-环糊精在水溶液中形成的包合物的鉴定及包合过程中的热力学参数变化。方法 分别采用薄层色谱法、差热扫描法、红外光谱法和相溶度法研究人参皂苷 Rh₂ 与 HP-β-CD 的包合物及包合过程中的热力学参数变化。结果 在水溶液中, 人参皂苷 Rh₂ 与 HP-β-CD 形成包合物的相溶度图呈 A_L-型; 人参皂苷 Rh₂ 与 HP-β-CD 在水溶液中的包合过程可自发进行 ($\Delta G < 0$), 且为放热反应 ($\Delta H < 0$), 同时也是熵减过程 ($\Delta S < 0$)。结论 人参皂苷 Rh₂ 与 HP-β-CD 在水溶液中可自发形成包合物, 使其溶解度增加近 80 倍。选择适宜的包合温度将有利于包合过程的进行。

关键词: 人参皂苷 Rh₂; 羟丙基-β-环糊精; 包合物; 热力学参数

中图分类号: R286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)11-1635-03

Identification and thermodynamic parameter of ginsenoside Rh₂
with HP-β-CD in aqueous solution

ZHANG Bei¹, LIN Dong-hai², XIAO Nan², LIU Ke²

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 2. Yantai University, Yantai 264005, China)

Abstract: **Objective** To identify the inclusion compound of ginsenoside Rh₂ with hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HP-β-CD) in aqueous solution, and to investigate the change of thermodynamic parameters during the inclusion process. **Methods** The measurements of the inclusion mechanism, inclusion molar ratio of the host and guest molecules, and change of thermodynamic parameters were carried out by the following methods separately; thin layer chromatography (TLC), differential scanning calorimetry (OSC), infrared (IR) spectrometry, phase solubility method, and thermodynamic method, respectively. **Results** That all the phase solubility diagrams showed a typical A_L-type in various temperatures and suggested the formation of a soluble complex of 1 : 1 molar ratio. TLC and IR Spectroscopy confirmed that the significant interaction between the host and guest molecules was probably due to the inclusion of aglycone of Rh₂ molecule into the hydrophobic cavity of HP-β-CD molecule. The change in the thermodynamic parameters suggested that the inclusion could proceed spontaneously ($\Delta G < 0$) along with the release of heat ($\Delta H < 0$) and the decrease of entropy ($\Delta S < 0$). **Conclusion** An 1 : 1 molar ratio inclusion complex of Rh₂ with HP-β-CD could be formed spontaneously and, hence, the solubility of Rh₂ in aqueous solution increases to 80 times. Appropriate temperatures probably favor the progress of inclusion procedure.

Key words: ginsenoside Rh₂; hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HP-β-CD); inclusion compound; thermodynamic parameter

人参皂苷 Rh₂ 是人参二醇类皂苷, 可诱导肿瘤细胞逆转和凋亡, 并有一定的体内抑瘤活性和免疫增强作用。目前国外已有人参皂苷 Rh₂ 胶囊上市。人参皂苷 Rh₂ 的分子中只有一个葡萄糖, 在水中几乎不溶, 以传统的方式口服给药, 其生物利用度低^[1]。本实验采用饱和水溶液法制备人参皂苷 Rh₂ 的羟丙基-β-环糊精包合物 (Rh₂-HP-β-CD), 大大增

加了人参皂苷 Rh₂ 在水中的溶解度。同时采用相溶度法、薄层色谱法、差热扫描法、红外光谱法研究人参皂苷 Rh₂ 与 HP-β-CD 的包合作用与特点, 旨在为研制人参皂苷 Rh₂ 的环糊精包合物制剂提供参考。

1 仪器与材料

Agilent 高效液相色谱仪 (安捷伦科技有限公司); 1090B 型差示扫描分析仪 (美国杜邦公司);

收稿日期: 2007-01-25

作者简介: 张蓓 (1981—), 女, 江苏连云港人, 天津中医药大学 04 级硕士研究生, 研究方向为药剂学。

* 通讯作者 林东海 Tel: (0535) 6706022 E-mail: ldh@luyue-pharm.com

Brucker 300—DMX 型 300 MHz 核磁共振光谱仪(德国 Bruker 公司);Tensor27 红外光谱仪(德国 Bruker 公司);DSC—7 型差示量热扫描仪(Perkin-Elmer 公司)

人参皂苷 Rh_2 对照品(烟台大学药学院提供,质量分数大于 98.8%);人参皂苷 Rh_2 原料(烟台大学药学院提供,质量分数大于 82%);HP- β -CD(西安立德生物化工有限公司);甲醇、乙醇(色谱纯,天津四友生物技术有限公司)。

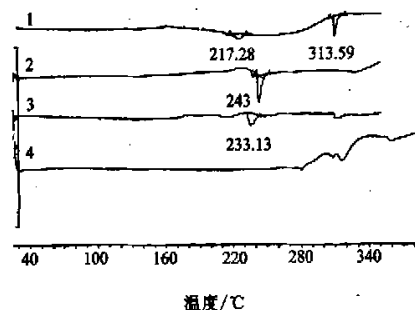
2 方法与结果

2.1 包合物的制备:称取处方量的人参皂苷 Rh_2 与 HP- β -CD 分别放置烧杯中,加入无水乙醇使人参皂苷 Rh_2 溶解,在 60 °C 磁力搅拌条件下逐滴加到 HP- β -CD 水溶液中,继续搅拌 2 h,室温下搅拌 1 h,冷冻干燥得白色粉末,即为人参皂苷 Rh_2 -HP- β -CD 包合物。

2.2 薄层色谱法鉴定:分别吸取稀释相同倍数的包合物(先用 80%乙醇洗涤,除去吸附在包合物表面的药物,再用水稀释)、环糊精与药物物理混合物(用甲醇稀释)和人参皂苷 Rh_2 (用甲醇稀释)3 种溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(65:35:10)的上层澄清液(加入 2%磷酸防止拖尾)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以硫酸-乙醇(20:80)溶液,在 110 °C 烘至斑点显色清晰。结果包合物、物理混合物和人参皂苷 Rh_2 各只有 1 个斑点, R_f 值分别为 0.71、0.70、0.71。结果表明包合物已形成,并且包合前后的主成分人参皂苷 Rh_2 没有发生变化,包合过程为物理过程。

2.3 差示扫描量热法(DSC)鉴定:对人参皂苷 Rh_2 、HP- β -CD 与药物物理混合物以及包合物进行 DSC 扫描,走纸速度 2.5 mm/min,升温速率为 10 °C/min,升温范围为 30~350 °C,测定气体为氮气。差示热分析图谱见图 1。人参皂苷 Rh_2 和 HP- β -CD 分别在 313.59 °C 和 243.11 °C 出现一个吸热峰,与两者的熔点基本一致。两者的物理混合物在对应的熔点处也有明显的吸热峰;包合物中人参皂苷 Rh_2 和 HP- β -CD 各自的熔点峰则消失了,没有明显的峰出现。说明形成了包合物。

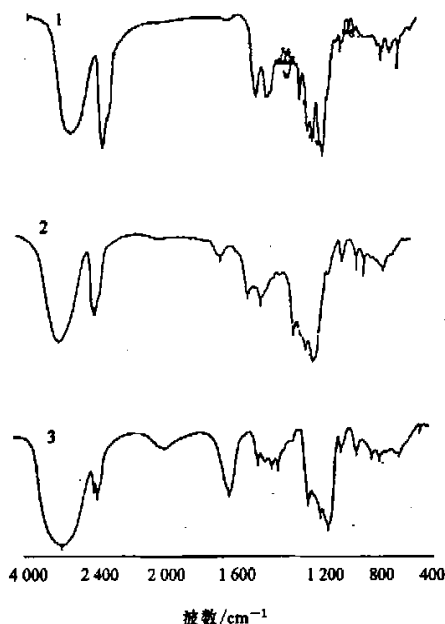
2.4 红外光谱法鉴定:分别取 HP- β -CD,人参皂苷 Rh_2 、包合物和 HP- β -CD 与人参皂苷 Rh_2 的物理混合物适量,经 KBr 压片,用红外光谱仪绘制红外吸收曲线。结果见图 2。与人参皂苷 Rh_2 的图谱相比,物理混合物的吸收峰表现为 HP- β -CD 和人参皂苷



1-人参皂苷 Rh_2 2-HP- β -CD 3-物理混合物 4-包合物
1-ginsenoside Rh_2 2-HP- β -CD 3-physical mixture of ginsenoside Rh_2 and HP- β -CD 4-inclusion compound

图 1 差示扫描量热图

Fig. 1 Patterns of DSC



1-人参皂苷 Rh_2 2-人参皂苷 Rh_2 与 HP- β -CD 的物理混合物 3-包合物
1-ginsenoside Rh_2 2-physical mixture of ginsenoside Rh_2 and HP- β -CD 3-inclusion compound

图 2 红外光谱图

Fig. 2 Patterns of IR

Rh_2 的红外光谱吸收的加和性,而包合物的羟基峰由 3367.04 cm^{-1} 红移至 3391.09 cm^{-1} ,因此可以推断人参皂苷 Rh_2 和 HP- β -CD 形成包合物后发生了氢键缔合作用;包合物在 2974.47 cm^{-1} 处包合碳氢键的伸缩振动明显减弱,这也说明人参皂苷 Rh_2 和 HP- β -CD 之间不是简单的物理加合。

2.5 相溶解度的测定

2.5.1 人参皂苷 Rh_2 的 HPLC 法测定^[2]

色谱条件:色谱柱:Discovery C_{18} (150 mm $\times$

4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-水-磷酸(545:455:1); 柱温: 35 $^{\circ}$ C; 体积流量: 1 mL/min; 检测波长: 203 nm; 进样体积: 20 μ L。

干扰试验: 空白辅料的色谱图在药物出峰位置未见其他杂质峰, 说明对药物测定无干扰。

标准曲线的制备: 以峰面积为横坐标, 以质量浓度为纵坐标, 进行线性回归, 得标准曲线方程为: $A=9.1779C+24.764(r=0.9981)$, 线性范围: 28~280 μ g/mL。

2.5.2 相溶解度方程的比较: 配制一系列不同质量浓度的 HP- β -CD 的水溶液, 分别于 50、60、70 $^{\circ}$ C 条件下, 以 HP- β -CD 溶液质量浓度(g/mL)为横坐标, Rh₂ 的质量浓度(g/mL)为纵坐标, 进行线性回归, 结果人参皂苷 Rh₂ 的相溶解度的方程分别为 $Y=0.0318X-0.0033(r=0.9928)$; $Y=0.0373X-0.0054(r=0.9954)$; $Y=0.0369X-0.0033(r=0.9958)$ 。可见人参皂苷 Rh₂ 的溶解度随着 HP- β -CD 溶液质量浓度的增加而呈线性增加, 均符合 Higuchi 的 A_L-型相溶解度图。另外, 在未包合前, 人参皂苷 Rh₂ 在水中的溶解度很低, 仅为 93 μ g/mL, 而将其制成 HP- β -CD 包合物后, 溶解度增加近 80 倍, 达到 7.5 mg/mL, 大大增加其溶解度。

2.6 包合过程中的热力学参数: 将包合物的表观稳定常数 K_a , 代入 $\Delta G=-RT\ln K_a$ 计算不同温度下包合过程的吉布斯自由能变化 ΔG 。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($\Delta H/RT$)与截距($\Delta S/R$)可求得包合过程的焓变(ΔH)和熵变(ΔS)。结果见表 1。包合过程中的吉布斯自由能变化(ΔG)、焓变(ΔH)和熵变(ΔS)均为负值。表明包合反应可以自发地进行, 所得包合物的结合常数较大, 可推断的形成的包合物具有较好的稳定性。

3 讨论

经计算包合反应热力学参数, 自由能 ΔG 为负值, 但是并不是 K_c 越大越好, 值太大, 药物很难从包合物中解离出来。通过相溶解度实验, 得到包合物的形成常数 K_c 随着温度的升高而逐渐减小, 说明包合物可能趋于离解, 客体分子又从环糊精腔内重

表 1 人参皂苷 Rh₂ 与 HP- β -CD 包合过程中的有关热力学参数

Table 1 Thermodynamic parameters related in inclusion of ginsenoside Rh₂ with HP- β -CD in aqueous solution

T/K	$K_c/$ (L $\cdot$ mol ⁻¹)	$\Delta G/$ (kJ $\cdot$ mol ⁻¹)	$\Delta H/$ (kJ $\cdot$ mol ⁻¹)	$\Delta S/$ (J $\cdot$ mol ⁻¹ $\cdot$ K ⁻¹)
323.12	232 15	-26.993	-41.460 4	-0.044 9
333.12	146 37	-26.551	-41.460 4	-0.044 9
343.12	943 3	-26.095	-41.460 4	-0.049 9

新进入水相, 包合物的稳定性降低。从作用机制上分析, 可能是由于温度升高引起分子运动加剧而导致这种现象。因此升高温度不利于包合反应的进行。而 $\Delta H<0$, 说明人参皂苷 Rh₂ 与 HP- β -CD 在溶液中的包合为放热过程^[3]。提示在制备包合物的过程中, 适当降低温度有利于反应的进行。包合过程的 ΔS 为负值, 说明包合过程为熵值减小的过程^[4]。原因可能是, 随着包合过程的进行, 原来可自由运动的客分子人参皂苷 Rh₂ 由于被包合进入 HP- β -CD 分子的空穴中, 其自由运动受到明显的限制, 结果使得整个包合体系的混乱度减小, 熵值变小。根据热力学第二定律, 熵值减小的过程将不利于反应的进行。但此包合过程的焓变(ΔH)的绝对值远大于熵变(ΔS), 弥补了熵变的不利影响。

本实验通过薄层色谱、红外光谱、差热扫描法验证了人参皂苷 Rh₂-HP- β -CD 包合物的形成, 但还不能揭示 HP- β -CD 对人参皂苷 Rh₂ 的包合机制, 因此需要通过核磁共振等方法对其包合机制做进一步研究, 这些方面将在以后的工作中进行探讨。

References:

- [1] Gu Y, Wang G J, Sun J, et al. Pharmacokinetic study of ginsenoside 20(R)-Rh₂ in Beagle dogs by LC-ESI-MS [J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther* (中国临床药理学与治疗学), 2006, 11(3), 256-260.
- [2] Jiang L, Zhao S J, Liang Y L, et al. Determination of ginsenoside Rh₂ in enzyme conversion by HPLC [J]. *Spec Wild Econ Ani Plant Res* (特产研究), 2004, (1), 41-44.
- [3] Zhang X N, Tang L H, Yan X Y, et al. Identification of irisquinone hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion compound and its thermodynamic stability [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(2), 198-202.
- [4] Gu F G, Cui F D, Gao Y L. The complexation of prostaglandin E₁ with hydroxypropyl- β -cyclodextrin in aqueous solution [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2004, 39(9): 742-746.

考察

作者: [张蓓](#), [林东海](#), [肖楠](#), [刘珂](#), [ZHANG Bei](#), [LIN Dong-hai](#), [XIAO Nan](#), [LIU Ke](#)
 作者单位: [张蓓, ZHANG Bei \(天津中医药大学, 天津, 300193\)](#), [林东海, 肖楠, 刘珂, LIN Dong-hai, XIAO Nan, LIU Ke \(烟台大学, 山东, 烟台, 264005\)](#)
 刊名: [中草药](#) **ISTIC** **PKU**
 英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
 年, 卷(期): 2007, 38 (11)
 被引用次数: 4次

参考文献(4条)

1. [Gu Y;Wang G J;Sun J](#) Pharmacokinetic study of ginsenoside 20(R)-Rh2 in Beagle dogs by LC-ESI-MS[期刊论文]-[中国临床药理学与治疗学杂志](#) 2006 (03)
2. [Jiang L;Zhao S J;Liang Y L](#) Determination of ginsenoside Rh2 in enzyme conversion by HPLC[期刊论文]-[特产研究](#) 2004 (01)
3. [Zhang X N;Tang L H;Yan X Y](#) Identification of irisquinone hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion compound and its thermodynamic stability[期刊论文]-[中草药](#) 2005 (02)
4. [Gu F G;Cui F D;Gao Y L](#) The complexation of prostaglandin E1 with hydroxylpropyl-β-cyclodextrin in aqueous solution[期刊论文]-[药学报](#) 2004 (09)

本文读者也读过(10条)

1. [周慧](#), [韩玉梅](#), [郑一敏](#), [胥秀英](#), [傅善权](#), [王琳琳](#), [曾品涛](#), [ZHOU Hui](#), [HAN Yu-mei](#), [ZHENG Yi-min](#), [XU Xiu-ying](#), [FU Shan-quan](#), [WANG Lin-lin](#), [ZENG Pin-tao](#) 咯萘啶-羟丙基-β-环糊精包合物的制备[期刊论文]-[重庆工学院学报 \(自然科学版\)](#) 2009, 23 (4)
2. [芒果苷-羟丙基-β-环糊精包合物的制备](#)[期刊论文]-[重庆工学院学报 \(自然科学版\)](#) 2009, 23 (9)
3. [郁引飞](#), [金瓯](#), [徐宏祥](#) 阿昔洛韦羟丙基-β-环糊精包合物滴眼液的制备及质量控制[期刊论文]-[中国医院药学杂志](#) 2007, 27 (8)
4. [崔翰明](#), [张春光](#), [武凤兰](#), [CUI Han-ming](#), [ZHANG Chun-guang](#), [WU Feng-lan](#) 双硒唑烷的羟丙基-β-环糊精包合物的制备和包合机制探讨[期刊论文]-[中国药学杂志](#) 2007, 42 (10)
5. [张雯雯](#), [戴玉杰](#), [朱凌云](#) 阿克他利-羟丙基-β-环糊精包合物胶囊的制备及溶出度考察[期刊论文]-[中国药房](#) 2008, 19 (22)
6. [葛竹兴](#), [张小华](#), [Ge Zhuxing](#), [Zhang Xiaohua](#) 甲矾霉素-羟丙基-β-环糊精包合物的制备和鉴定[期刊论文]-[南京师大学报 \(自然科学版\)](#) 2008, 31 (4)
7. [詹国平](#), [潘道丽](#), [ZHAN Guo-ping](#), [PAN Dao-li](#) 蔡普生-β-环糊精包合物的制备[期刊论文]-[合成化学](#) 2007, 15 (1)
8. [訾伟旗](#), [杜斌](#) 盐酸尼卡地平 β-环糊精包合物及其回腔崩解片的研究[期刊论文]-[河南科技](#) 2010 (8)
9. [谢超](#), [王忠义](#), [何惠明](#), [韩颖](#), [温静](#), [XIE Chao](#), [WANG Zhong-yi](#), [HE Hui-ming](#), [HAN Ying](#), [WEN Jing](#) 暂时修复树脂材料聚合放热的体外研究[期刊论文]-[中国美容医学](#) 2007, 16 (10)
10. [卞艳红](#), [张丹雁](#), [熊清平](#), [BIAN Yan-hong](#), [ZHANG Dan-yan](#), [XIONG Qing-ping](#) 猪去氧胆酸-β-环糊精包合物的制备[期刊论文]-[中药材](#) 2007, 30 (11)

引证文献(4条)

1. [谷薇薇](#) 几种常用包合物表征方法所存在的问题[期刊论文]-[中国当代医药](#) 2010 (2)
2. [王博](#), [任晓文](#), [徐为人](#), [王玮](#), [汤立达](#) 羟丙基-β-环糊精对苯基丙烯酸类结构包合作用的理论研究[期刊论文]-[中草药](#)

药 2009(4)

3. 欧水平, 王森, 张海燕, 马鸿雁, 杨明, 苏柘僮 中药液体制剂的关键技术——难溶性成分的增溶方法[期刊论文]-中国药师 2009(2)
4. 郝晶晶, 李海亮, 龚慕辛 挥发油环糊精包合技术的研究进展及存在问题分析[期刊论文]-中国实验方剂学杂志 2013(2)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200711012.aspx