

分以及这些成分的体内代谢物和结合性成分均能很好的分离。对样品测定无干扰,方法选择性较好;同时通过系统方法考察,表明本方法回收率高,4个浓度下测得的回收率均大于90%,方法灵敏度较高,芍药苷的最低检测质量浓度为1.49 ng/ μ L。

用赤芍提取物灌胃小鼠后,分别于30、60、90、120、150、180 min测定小鼠血浆中芍药苷浓度,结果表明在灌胃后60 min芍药苷血药浓度达峰值。再给小鼠按一定的剂量和比例分别给予赤芍、赤芍胡椒复方、赤芍肉桂复方、赤芍小茴香复方、赤芍吴茱萸复方、赤芍花椒复方、赤芍丁香复方、赤芍干姜复方灌胃,并于60 min时测定各组血浆中芍药苷浓度,结果发现实验组中赤芍胡椒复方、赤芍肉桂复方、赤芍小茴香复方、赤芍吴茱萸复方、赤芍花椒复方、较对照组芍药苷浓度明显提高($P < 0.01$)。说明在上述温里药与赤芍配伍的复方中,胡椒、肉桂、小茴香、吴茱萸、花椒均可提高赤芍主要有效成分芍药苷的血药浓度。

本研究从复方效应成分药动力学的角度揭示了温

里药与活血药赤芍配伍后,温里药提高了赤芍主要效应成分芍药苷的血药浓度这一活血温里复方配伍的科学内涵。本研究方法的建立为活血温里复方药物配伍机制的深入研究奠定了方法学基础。

References:

- [1] Wang Y S, Deng W L. *Pharmacology and Applications of Chinese Materia Medica* (中药药理与应用) [M]. 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1998.
- [2] Huang T K. *Handbook of Composition and Pharmacological Action of Commonly-used Traditional Chinese Medicine* (常用中药成分与药理手册) [M]. Beijing: Chinese Medicopharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1994.
- [3] Guo L W. *The Method and Application of Pharmacokinetics of Chinese Traditional Drugs* (中药药物动力学方法与应用) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002.
- [4] Han G Z. *Pharmacokinetics of Chinese Traditional and Herbal Drugs* (中草药药代动力学) [M]. Beijing: Chinese Medicopharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1999.
- [5] Sun L H, Hu Y M, Ma J H, et al. HPLC determination of paeoniflorin in Ganfukang Granule [J]. *Chin J New Drugs* (中国新药杂志), 2002, 11(4): 296-297.
- [6] Lu Q Z, Wang X H, An R, et al. Determination of ferulic acid and paeoniflorin in Huoxue Mistura by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2002, 24(9): 668-669.

马蔺子素-羟丙基- β -环糊精包合物的鉴定及热力学稳定性研究

张学农¹, 唐丽华¹, 阎雪莹², 张强³

(1. 苏州大学 药学院, 江苏 苏州 215007; 2. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040;
3. 北京大学药学院 药剂系, 北京 100083)

摘要:目的 制备和鉴定马蔺子素-羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)包合物,并考察了马蔺子素与HP- β -CD之间的包合机制及构成摩尔质量比。方法 采用冷冻法制备马蔺子素-HP- β -CD包合物,摩尔梯度法和连续递变法考察了包合物中主客分子之间的包合摩尔比;分别采用X射线衍射(XRD)和差示扫描量热法(DSC)对包合物进行鉴定。结果 主客分子摩尔梯度和反应热力学结果显示,25、35、45 $^{\circ}$ C下HP- β -CD与马蔺子素包合摩尔质量比为2:1,具有最大的增溶特性和较大结合常数,其冻干粉经鉴别已形成包合物。结论 马蔺子素包合物能显著增大药物的溶解度和稳定性。

关键词:马蔺子素;包合物;冷冻干燥;X射线衍射;差示扫描量热法

中图分类号:R286.02 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2005)02-0198-05

Identification of irisquinone hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion compound and its thermodynamic stability

ZHANG Xue-nong¹, TANG Li-hua¹, YAN Xue-ying², ZHANG Qiang³

(1. Department of Pharmacy, Suzhou University, Suzhou 215007, China; 2. Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 3. Department of Pharmaceutics, School of Pharmaceutical Science, Peking University, Beijing 100083, China)

Abstract: Objective To prepare and identify the irisquinone-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (irisquinone-HP- β -CD) inclusion compound. The inclusion mechanism and mol ratio of irisquinone and

收稿日期:2004-06-09

作者简介:张学农(1962—),男,河南西平人,教授,博士后,主要从事药物新剂型研究。

Tel: (0512) 66998384 E-mail: zhangxuenong@163.com

HP- β -CD were studied simultaneously. **Methods** The irisquinone-HP- β -CD was prepared with lyophilization technique. The mol ratio between host and guest moleculars was also researched by molecular gradient and continuing variational methods in inclusion processing. At the same time, the inclusion compound was identified by X-ray diffraction (XRD) and differential scanning calorimetry (DSC) methods, respectively. **Results** The above-mentioned systems showed the mol ratio of HP- β -CD-irisquinone (2 : 1) and the inclusion compound enhanced remarkably the most solubilization and more combined constant of irisquinone in 25, 35, and 45 °C. The lyophilized powder had been formed inclusion compound by identifying. **Conclusion** It is advantageous to increase the solubilization and to strengthen the stability of irisquinone by preparing inclusion compound.

Key words: irisquinone; inclusion compound; lyophilization; X-ray diffraction (XRD); differential scanning calorimetry (DSC)

马蔺子素 (irisquinone) 是由鸢尾科植物马蔺 *Iris lactea* Pall. var. *chinensis* (Fisch.) Koidz. 中提取的抗癌活性成分, 主要为马蔺子甲素 (irisquinone A)。体内外试验结果表明马蔺子甲素不仅对小鼠宫颈癌 U₁₄、淋巴肉瘤、肝癌实体、肝癌腹水、艾氏腹水瘤等瘤株有明显的抑制作用外, 还具有较强的抗癌增敏作用。经临床试验证明, 马蔺子素与放疗药物合用, 可使肿瘤的 CR 提高 20% 以上, 并显著提高 1~5 年的生存率^[1,2]。由于马蔺子甲素为醌式结构, 其母核与侧链上有多个不饱和双键, 化学性质不稳定, 对光不稳定, 水溶液易受酸碱催化降解。同时, 马蔺子素疏水性强, 在水和胃肠液中几乎不溶解, 直接影响生物利用度和疗效。为增大马蔺子素的溶解性和化学稳定性, 提高其生物利用度, 本实验选择毒性低、水溶性大的羟丙基- β -环糊精 (hydroxypropyl-cyclodextrin, HP- β -CD) 为包合材料, 采用冷冻干燥法制备马蔺子素-HP- β -CD, 采用 X 射线衍射、DSC 对包合物进行鉴定, 同时还考察了药物与包合材料之间的包合作用及定量摩尔比。

1 仪器与材料

TU—1901 型 UV-Vis 分光光度计 (北京通用仪器公司), Christ Alpha2 型真空冷冻干燥仪 (德国), 1090B 型差示扫描热分析仪 (美国杜邦公司), XRD—D_{max}/2000 型 X 衍射仪 (日本电子公司), 78—1 型磁力加水搅拌器 (江苏金坛保庆分析设备厂)。

马蔺子素原料 (纯度为 95.21%) 和马蔺子甲素对照品 (纯度为 98.44%) 由天津市医药科学研究所提供。HP- β -CD 注射用辅料 (西安立德生物化工有限公司), 甲醇、乙醇为色谱级 (美国 Fisher Scientific Co.)。

2 方法与结果

2.1 标准曲线的制备^[3]: 精密称取马蔺子素 50.0

mg 置 25 mL 量瓶中, 加入无水甲醇至刻度, 使成 2 mg/mL 贮备液。精密吸取此贮备液 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.6、0.8、1.0、1.5、2.0 mL 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 使成质量浓度分别为 0、2、4、6、8、12、16、20、30、40 μ L/mL 的系列对照品溶液, 在 266 nm 处测定吸光度 (*A*) 值, 以质量浓度 (*C*) 对 *A* 回归, 得马蔺子素溶液的标准曲线方程为 $C = 93.247 A + 0.5627$, $r = 0.9998$, 线性范围为 2~40 μ g/mL。

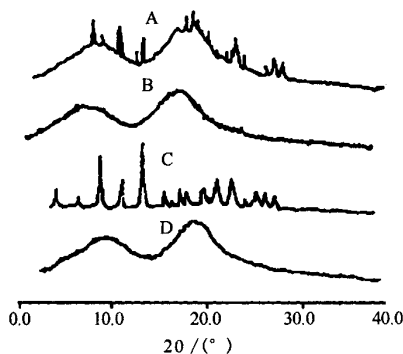
2.2 马蔺子素-HP- β -CD 的制备^[4]: 按照主客分子 2 : 1 摩尔比分别称取 HP- β -CD 和马蔺子素置烧杯中, 加入 60% 乙醇 20 mL, 溶解, 800 r/min 搅拌 6 h, 减压回收乙醇, 溶液置 -60 °C 冰箱预冻 24 h, 真空干燥得马蔺子素-HP- β -CD。

2.3 包合物的鉴定

2.3.1 X 射线衍射法: Cu 靶/石墨单色器, 电压 30 kV, 电流 20 mA, 扫描速度 0.1°/s, 采样时间为 1 s, 扫描范围 4.8~60°, 分别得马蔺子素、HP- β -CD、马蔺子素-HP- β -CD、马蔺子素和 HP- β -CD 混合物进行粉末 X 射线衍射图, 结果见图 1。HP- β -CD 的 X 射线图无明显的晶型峰产生, 说明为无定型粉末; 马蔺子素粉末衍射图谱中有多个特异性结晶峰产生, 马蔺子素和 HP- β -CD 的物理混合物的峰形为两种物质的叠加, 由于受环糊精量的影响, 马蔺子素峰均有下降, 但其特征峰均存在, 说明马蔺子素未被包合, 两者仅为物理混合; 马蔺子素-HP- β -CD 包合物衍射图谱中马蔺子素的特征峰已消失, 提示由于主客分子之间的相互作用, 环糊精分子将马蔺子素包合, 马蔺子素的晶型特征消失, 形成新的物相。

2.3.2 差示扫描量热法: 取马蔺子素、HP- β -CD、马蔺子素-HP- β -CD、马蔺子素和 HP- β -CD 混合物粉末适量置样品室中, 调节升温速度为 10 °C/min, 温度测定范围为 25~360 °C, 分别记录样品的差示热

扫描升温曲线。见图 2。马蔺子素和 HP-β-CD 分别在 41.84℃ 和 335.9℃ 出现 1 个吸热峰,与两者熔点基本一致;两者的物理混合物在对应的熔点处也有明显的吸热峰;包合物中马蔺子素和 HP-β-CD 各自的熔点峰已消失,而在 190.94℃ 产生 1 个新的吸热峰。



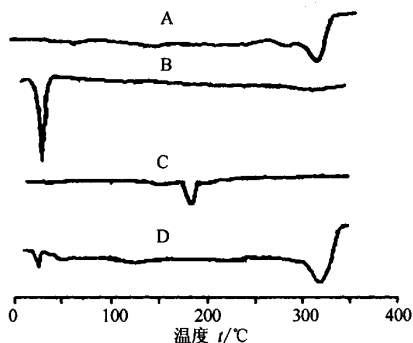
A-马蔺子素和 HP-β-CD 的混合物 B-马蔺子素-HP-β-CD
C-马蔺子素 D-HP-β-CD

A-mixture of irisoquinone and HP-β-CD

B-irisoquinone-HP-β-CD C-irisoquinone D-HP-β-CD

图 1 X 射线衍射图

Fig. 1 X-ray diffraction patterns



A-HP-β-CD B-马蔺子素 C-马蔺子素-HP-β-CD

D-马蔺子素和 HP-β-CD 的混合物

A-HP-β-CD B-irisoquinone C-irisoquinone-HP-β-CD

D-mixture of irisoquinone and HP-β-CD

图 2 差示扫描量热图

Fig. 2 Differential scanning calorimetry patterns

2.4 表观溶解度(摩尔梯度法)^[5]:称取 HP-β-CD 加水配制成 $0, 1.72 \times 10^{-5}, 3.45 \times 10^{-5}, 6.92 \times 10^{-5}, 13.8 \times 10^{-5}, 27.6 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 溶液。分别吸取 10 mL 置具塞试管中,各加入约 20 mg 马蔺子素粉、涡旋 1 min,固定试管于 25、35、45℃ 恒温振荡器中,调整振荡频率为 40 次/min,振荡 24 h,溶液用 $0.2 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,在 266 nm 处测定 A 值,并计算马蔺子素的质量分数,结果见图 3。同时,计

算不同温度下包合材料对包合体系中马蔺子素增溶作用,结果见表 1。

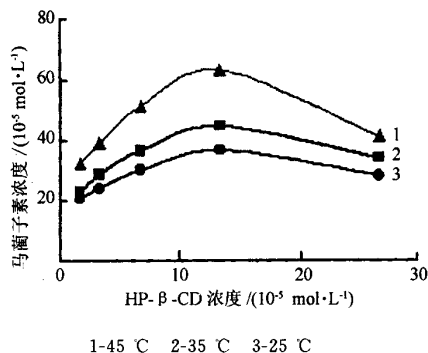


图 3 马蔺子素在不同质量浓度 HP-β-CD 溶液中的溶解度曲线

Fig. 3 Solubility curve of irisoquinone in different concentration of HP-β-CD solution

表 1 不同质量浓度 HP-β-CD 溶液对马蔺子素的增溶作用

Table 1 Irisoquinone solubilization in different concentration of HP-β-CD solutions

HP-β-CD/ ($10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	马蔺子素/ ($10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)			增溶倍数 S_1/S_2		
	25℃	35℃	45℃	25℃	35℃	45℃
0(水)	2.84	3.33	4.70	—	—	—
1.72	24.78	23.11	32.50	7.32	7.70	6.91
3.45	25.11	29.68	41.13	8.84	8.91	8.71
6.92	28.29	35.78	51.30	9.96	10.74	10.91
13.8	36.84	44.64	63.20	12.92	13.40	13.45
27.6	28.35	37.24	41.06	9.98	11.18	8.73

S_1 -马蔺子素在 HP-β-CD 中的溶解度, S_2 -马蔺子素在水中溶解度

S_1 -solubility of irisoquinone in HP-β-CD solution, S_2 -solubility of irisoquinone in water

根据不同温度下药物浓度随 HP-β-CD 变化的平衡相图,对最大增溶浓度前的直线部分回归,得各温度下的增溶特性方程: $Y=0.1263X+1.959 \times 10^{-5}$, $r=0.9914$ (25℃); $Y=0.1677X+2.245 \times 10^{-5}$, $r=0.9781$ (35℃); $Y=0.2386X+3.184 \times 10^{-5}$, $r=0.9732$ (45℃)。

由溶解曲线方程可知,HP-β-CD 浓度及温度对马蔺子素的增溶作用有关,根据 Higuchi 原理,利用平衡相图的直线回归方程的截距 s_0 和斜率 $\text{tg}\varphi$ 可计算各温度下包合作用的结合常数(k_c)。

$$k_c = \frac{\text{tg}\varphi}{s_0(1-\text{tg}\varphi)}$$

将相关数据代入上式,分别得 25、35、45℃ 下包合物的结合常数。

根据 Gibbs 定律,包合反应物形成常数 k_c 与温度 T 成反比,即应符合下式: $\lg k_c = \frac{-\Delta H}{2.303RT} +$

$\frac{\Delta s}{2.303 R}$ 以 $\lg k_c$ 对 $1/T$ 回归, 得: $\lg k_c = -740.28 \frac{1}{T} + 6.356$

进一步计算得包合反应的热焐值 ΔH 和熵值 Δs : $\Delta H = -2.303 \times R \times (-740.28) = -2.303 \times 8.314 \times (-740.28) = 14.17 \text{ kJ/mol}$, $\Delta s = 6.356 \times 2.303 \times 8.314 = 121.70 \text{ J/mol}$.

根据 Gibbs 方程计算反应自由能(吉布斯能): $\Delta G = \Delta H - T\Delta s$, 计算得 HP- β -CD 与马蔺子素包合作用的热力学参数见表 2。

表 2 马蔺子素-HP- β -CD 包合作用的热力学参数
Table 2 Thermodynamic parameters of irisquinone-HP- β -CD inclusion effects

温度 / °C	k_c / (mol · L ⁻¹)	ΔG / (kJ · mol ⁻¹)	ΔH / (kJ · mol ⁻¹)	Δs / (J · mol ⁻¹)
25	7 379.91	-22.10		
35	8 979.05	-23.31	14.17	121.70
45	9 842.02	-23.76		

3 种温度条件下, 包合作用的自由能均为负值, 表明在恒温和恒压下, 包合反应在机械力作用下可以自发地进行, 反应中马蔺子素可部分地嵌入主分子的立体空穴中形成结合常数较大的包合物, 从而预测其包合物具有一定的稳定性。

2.5 包合物组成的摩尔比(连续递变试验): 用缓冲溶液(pH=7.0)配制总浓度相同, 马蔺子素与 HP- β -CD 浓度呈不同比例的系列溶液, 以对应的主体溶液为空白, 于 266 nm 处测定 A 值, 以与相同浓度的马蔺子素溶液 A 值之差(ΔA)对组份比作图, 即为包合物组成摩尔比(图 4)。从马蔺子素的增溶曲线可以看出, 线段前部分随着 HP- β -CD 比例的增加, 马蔺子素 A 值明显增大, 但达到一定比例后其 A 值又呈现缓慢下降趋势, 提示包合材料与药物之间的相互作用存在特定的分子比例, 即当主客分子比为 2:1 时药物呈现最大的增溶作用。

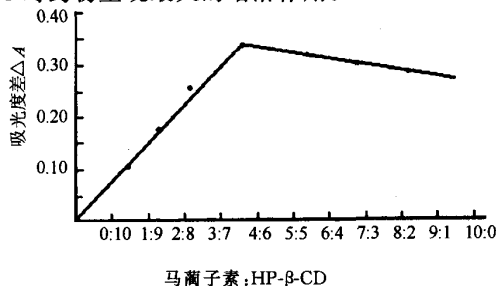


图 4 马蔺子素-HP- β -CD 包合作用连续递变曲线
Fig. 4 Continuing variational curve of irisquinone-HP- β -CD

3 讨论

在 25~45 °C 内, HP- β -CD 对马蔺子素的增溶作用在一定浓度范围内随着温度增大而增加, 但是当到达某一浓度时, 随着 HP- β -CD 的增加, 马蔺子素的溶解度又逐渐减小, 提示这种增溶机制可能是由于包合材料与药物之间部分形成包合物后, 降低了药物本身的疏水性, 从而达到增大客分子物质的溶解度作用。同时, 包合物的形成与主客分子之间摩尔数有关, 存在一定定量关系。从增溶曲线可以看出, 3 种温度条件下, 在 HP- β -CD 浓度为 $13.8 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 时, 具有最为显著的增溶作用, 其中 45 °C 下增溶作用最为显著, 且此时马蔺子素的浓度为 $63.2 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$, 主客分子摩尔质量比为 2:1。经计算包合反应热力学参数, 其自由能为负值, 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。连续摩尔梯度试验进一步证实, 当 HP- β -CD 与马蔺子素摩尔浓度比例为 2:1 时, 马蔺子素的增溶作用最大, 说明包合作用受主客分子配比的影响, 结合马蔺子素的分子结构推断, 2 分子 HP- β -CD 可包含 1 分子的马蔺子素^[6]。

X 射线衍射试验结果表明, 马蔺子素有很强的衍射峰, 载体 HP- β -CD 为无定型粉末, 几乎无衍射峰, 两者的物理混合物中药物仍然保留其特征峰, 但是马蔺子素-HP- β -CD 中药物衍射峰也消失, 提示可能是马蔺子素溶解后以分子形成嵌入包合材料的亲水空穴中所致。经热重分析测定, 马蔺子素的熔程为 287~355.6 °C, 马蔺子素为 42.13 °C。差示扫描量热曲线中马蔺子素和 HP- β -CD 分别在 41.84 °C 和 335.9 °C 均出现 1 个较强的吸热峰, 与两者熔点基本一致; 物理混合物在对应的熔点也有明显的吸热峰; 包合物中马蔺子素和 HP- β -CD 各自的熔点峰已消失, 而在 190.94 °C 产生 1 个新的吸热峰。提示马蔺子素与 HP- β -CD 经机械混合并未发生相互作用, 而经过冻干燥法制备的包合物马蔺子素分子已部分或全部嵌入到环糊精母环的空穴中新成新的物相, 致使熔点改变。

本实验通过对马蔺子素-HP- β -CD 包合机制进行研究, 揭示了包合物形成的内在的规律。HP- β -CD 是由天然 β -环糊精与 1,2-环氧丙烷缩合后生成, 其在水中溶解度大于 700 g/L。与天然 β -环糊精比较, 经衍生化的 HP- β -CD 具有良好的生物相容性好, 几乎无溶血性, 已成为替代环糊精的新型包合材料, 尤其将难溶性药物制成注射制剂等方面具有广阔

前景。

马蔺子甲素原料及其对照品均由天津市医药科学研究所李德华研究员提供。

References:

- [1] Li D H, Hao X G, Zhang S K, *et al.* Antitumor action and toxicity of 6-methoxy-2-delta 10'-cis-heptadecenyl-1,4-benzoquinone (irisquinone) [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1981, 2(2): 131-134.
- [2] Zhang L, Mao Z D, Zhang E P, *et al.* Clinical study on the radiosensitive effect of irisquinones (IQ7611) [J]. *Chin J Cancer* (癌症), 1999, 18(1): 52-55.

- [3] Ma P L, Chen R Z. Spectrometric measurement of methyl-irisquinone emulsion [J]. *Chin Med Ind J* (中国医药工业杂志), 1994, 25(2): 72-74.
- [4] Zhang X N, Yan X Y, Tang L H, *et al.* Optimize the preparation techniques of irisquinone-HP- β -CD inclusion complex with orthogonal design [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2004, 26(9): 695-698.
- [5] Hou X B. *Physical Chemistry* (物理化学) [M]. 4th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000.
- [6] Zhang X N, Miao A D, Zhou H, *et al.* Studies on the physico-chemical properties and inclusion effect [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2001, 36(11): 742-745.

均匀设计法优选痹痛宁贴剂的处方基质配比

刘继勇¹, 顾清², 胡晋红¹, 田景振^{3*}

(1. 第二军医大学长海医院 药理学部, 上海 200433; 2. 济南市槐荫人民医院, 山东 济南 250021;
3. 山东中医药大学, 山东 济南 250014)

摘要:目的 优选痹痛宁贴剂的处方基质配比, 对其体外透皮吸收行为进行考察。方法 采用 $U_6(6^6)$ 均匀设计安排试验, 利用改良 Franz 扩散池进行离体皮肤体外渗透实验。以东莨菪碱和乌头碱 24 h 累积渗透量为指标优选处方配比。结果 基质比例分别为 PVA 11.02%、PVP 29.93%、甘油 7.42%、氮酮 4.95%、丙二醇 11.06%, 贴剂具有最大的累积释药量, 释药曲线符合 Higuchi 方程。结论 采用均匀设计法优选的配方组成符合骨架控释型透皮给药系统的要求。

关键词:痹痛宁贴剂; 均匀设计; 东莨菪碱; 乌头碱; HPCE

中图分类号:R286.02 **文献标识码:**B **文章编号:**0253-2670(2005)02-0202-04

Optimization for formulation matrix proportion of Bitongning Patch by uniform design

LIU Ji-yong¹, GU Qing², HU Jin-hong¹, TIAN Jing-zhen³

(1. Department of Pharmacy, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China;
2. Huai-yin People's Hospital of Jinan City, Jinan 250021, China; 3. Shandong University
of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China)

Abstract: **Objective** To optimize the prescription matrix proportion of Bitongning Patch and observe its percutaneous absorption *in vitro*. **Methods** $U_6(6^6)$ Uniform design was performed to investigate the influence of scopolamine and aconitine in the proportion for 24 h cumulative permeation *in vitro*. The drug permeation behavior through excised mouse skin was studied with improved Franz diffusion cell. **Results** With the matrix ratio for PVA: 11.02%, PVP: 29.93%, glycerol: 7.42%, azone: 4.95%, and propanediol: 11.06%, respectively, the Patch had the maximal cumulative permeation amount and cumulative permeation curve coincided with the Higuchi Equation. **Conclusion** The prescription composition optimized by uniform design meets the requirement of skeleton-controlled transdermal delivery system.

Key words: Bitongning Patch; uniform design; scopolamine; aconitine; HPCE

痹痛宁贴剂是在中医验方的基础上, 采用现代制剂技术研制开发的骨架控释型透皮给药制剂。透

皮给药系统 (transdermal drug delivery systems, TDDS, 或 transdermal therapeutic systems, TTS)

收稿日期: 2004-04-27

作者简介: 刘继勇 (1976—), 男, 山东济南人, 博士研究生, 从事中药新药开发及皮肤药理学研究。

Tel: (021) 25070674 E-mail: jiyong_liu@citiz.net

* 通讯作者 Tel: (0531) 2613129 Fax: (0531) 2613428