

苦、涩味,对口腔黏膜刺激性大,常规的矫味方法难以达到掩味目的。本实验采用了粉末包衣新技术掩盖了模型药的不良口感,包衣后,模型药物金银花提取物的苦、涩味有明显改善。

制粒时,应用了流化床一步制粒技术。电镜观察结果表明,流化床制得的颗粒,圆整性明显优于搅拌制粒;相同粒径的两种颗粒比较,流化床顶喷制的颗粒表面结构疏松,可见大孔隙结构,由此制成的片剂

崩解时间短,符合口腔崩解片的要求。

本实验采用了粉末包衣新技术来掩盖模型药的不良口感;制粒时,应用了流化床一步制粒技术,制成的片剂口感较好,有一定硬度,崩解时间符合口腔崩解片的要求。实验结果表明,这些新技术的应用,与国外用冷冻干燥工艺和固态溶液技术制备口腔崩解片相比,工艺简单,易于工业化生产和推广,同时可以提升中药制剂的水平。

穿心莲内酯-羟丙基- β -环糊精包合物的鉴定和热力学稳定性研究

任科,张志荣,鞠静红,刘阳,龚涛*

(四川大学华西药学院 靶向药物及传递系统教育部重点实验室,四川 成都 610041)

摘要:目的 制备和鉴定穿心莲内酯-羟丙基- β -环糊精包合物,并考察穿心莲内酯和羟丙基- β -环糊精之间的包合摩尔比及包合过程的热力学常数。方法 采用冷冻干燥法制备穿心莲内酯-羟丙基- β -环糊精包合物,采用差示扫描量热法(DSC)、X射线衍射(XRD)和红外光谱法(IR)对包合物进行鉴定,通过表观溶解度法考察包合物中主客分子之间的包合摩尔比及包合过程的热力学常数。结果 25、35、45℃下穿心莲内酯和羟丙基- β -环糊精能形成1:1摩尔比包合物,相溶解度图呈 A_L 型,包合过程为放热反应。结论 穿心莲内酯-羟丙基- β -环糊精包合物能显著增大药物的溶解度。

关键词:穿心莲内酯;包合物;差示扫描量热法;红外光谱法;X射线衍射;相溶解度法

中图分类号:R284.4;R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)04-0518-04

Identification of andrographolide hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion compound and study on its thermodynamic stability

REN Ke, ZHANG Zhi-rong, JU Jing-hong, LIU Yang, GONG Tao

(Key Laboratory of Drug Targeting and Novel Drug Delivery Systems, West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: Objective To prepare and identify the andrographolide-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (andrographolide-HP- β -CD) inclusion compound. The mol ratio between andrographolide and HP- β -CD and the thermodynamic constants in inclusion were studied simultaneously. **Methods** The andrographolide-HP- β -CD inclusion compound was prepared with lyophilization technique. Meanwhile, the inclusion compound was identified by differential scanning calorimetry (DSC) methods, infrared spectrometry (IR), and X-ray diffraction (XRD), respectively. The mol ratio between host and guest moleculars and the thermodynamic constants during the inclusion process were also researched by phase solubility method. **Results** An 1:1 molar ratio inclusion complex of andrographolide with HP- β -CD could be formed at 25, 35, and 45℃. The phase diagram was A_L type and the procedure of inclusion was a heat release process. **Conclusion** The solubility of andrographolide-HP- β -CD inclusion compound can be increased obviously by the above-mentioned preparing techniques.

Key words: andrographolide; inclusion compound; differential scanning calorimetry (DSC); infrared spectrometry (IR); X-ray diffraction (XRD); phase solubility

穿心莲内酯为爵床科植物穿心莲 *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees 中提取得到的

二萜内酯类化合物,又称穿心莲乙素,是穿心莲的主要有效成分之一,具有抗菌消炎、抗病毒、解热等作

收稿日期:2007-06-08

作者简介:任科(1983—),女,四川成都人,硕士研究生,研究方向为药物新剂型与新药剂。E-mail:renke123@126.com

*通讯作者 龚涛 E-mail:gongtaoy@126.com

用^[1]。穿心莲内酯水溶性差,在25℃水中溶解度小于0.1 mg/mL。为了将穿心莲内酯制成合格的注射液,就必须提高其在水中的溶解度。羟丙基-β-环糊精(hydroxypropyl-β-cyclodextrin, HP-β-CD)是β-环糊精的水溶性衍生物,与母体β-环糊精相比,其水溶性有明显提高,毒性明显降低,是一种低毒、安全、有效的药物增溶剂^[2],是美国FDA批准的第一个可供静脉注射的β-环糊精衍生物^[3]。本实验选择羟丙基-β-环糊精为包合材料制备穿心莲内酯-羟丙基-β-环糊精包合物,采用差示扫描量热法、X射线衍射法、红外光谱法对包合物进行鉴定,同时通过相溶解度法考察药物与环糊精之间的包合物质的量比,计算表观稳定常数,为穿心莲内酯注射剂的制备和临床应用提供依据。

1 仪器与材料

BP211D型Sartorius电子天平(德国),Büchi Rotavapor R-114旋转蒸发仪(瑞士),81-2型恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器厂),200SXV红外光谱仪(美国Nicolet),Cary100紫外分光光度计(瓦里安),XRD射线衍射仪(菲利普X'pert PRO MPO),DSC-200PC热流型差示扫描热量计(德国耐施仪器公司)。

穿心莲内酯原料药为五粮液集团宜宾制药厂惠赠,质量分数为99.79%;穿心莲内酯对照品(批号110797-200307,中国药品生物制品检定所),HP-β-CD(注射级,西安德立生物化工有限公司),乙腈(色谱级,天津科密欧化学试剂开发中心)。

2 方法与结果

2.1 穿心莲内酯的测定

2.1.1 测定波长的选择^[4,5]:取适量穿心莲内酯、HP-β-CD、穿心莲内酯-HP-β-CD,用乙腈-水(1:1)溶解,以空白乙腈-水(1:1)作为对照,分别将3种溶液在紫外分光光度计的200~500 nm波长进行扫描,结果在226 nm处穿心莲内酯和包合物有最大吸收,而HP-β-CD在此波长处无吸收,故确定穿心莲内酯的测定波长为226 nm。

2.1.2 标准曲线的制备:精密称取穿心莲内酯对照品适量,加乙腈-水(1:1)溶解制成200 μg/mL贮备液。精密吸取贮备液0.05、0.5、1、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 mL置10 mL量瓶中,加乙腈-水(1:1)稀释至刻度,使成质量浓度分别为1、10、20、30、40、50、60、70、80 μg/mL对照品溶液。以乙腈-水(1:1)为空白,在226 nm处测定吸光度值。以质量浓度(C)对吸光度(A)回归得标准曲线,其标准曲线

方程为 $C = 0.0341A + 0.0005$, $r = 0.9999$,线性范围为1~80 μg/mL。

2.2 穿心莲内酯-HP-β-CD的制备:按照主客分子质量比20:1分别称取HP-β-CD和穿心莲内酯适量置锥形瓶中,加入乙醇适量,500 r/min搅拌2 h,减压回收乙醇,固体加入适量水溶解,滤过,滤液冷冻干燥得穿心莲内酯-HP-β-CD。

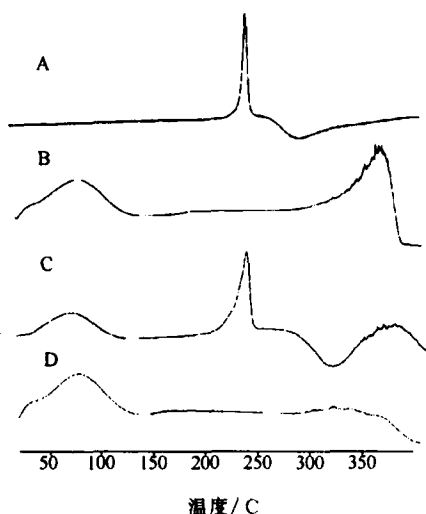
2.3 包合率的测定^[6,7]:精密称取冻干后的穿心莲内酯-HP-β-CD样品10 mg,乙腈-水(1:1)溶解稀释后于226 nm处测定吸光度,代入标准曲线方程计算穿心莲内酯的质量浓度,再计算包合率(包合率=包合物中穿心莲内酯的质量/包合物质量×100%)和包合物得率[包合物得率=包合物质量/(HP-β-CD质量+穿心莲内酯质量)×100%],得3批包合物的平均包合率为4.56%,RSD为1.06%,得率为95.87%,RSD为0.94%。

2.4 包合物的鉴定

2.4.1 差示扫描量热法:取穿心莲内酯、HP-β-CD以及两者的物理混合物和穿心莲内酯-HP-β-CD适量置样品室中,调节升温速度为10℃/min,温度测定范围为25~400℃,分别记录样品的差示热扫描曲线,见图1。表明穿心莲内酯在235℃左右有1个吸热峰,在340℃左右有1个放热峰,估计为穿心莲内酯分解所致;HP-β-CD在100℃和350℃处各有1个吸热峰,前者是由于失水所致(HP-β-CD中存在3%的水分);物理混合物的DSC曲线为两者的叠加;包合物的主药峰完全消失,350℃左右HP-β-CD的吸热峰也消失,估计是包合物的融化吸热与穿心莲内酯分解放热相互抵消所致。

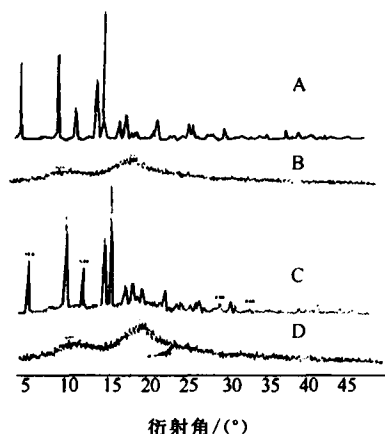
2.4.2 X射线衍射鉴别:Cu靶/石墨单色器,管压40 kV,管流40 mA,扫描速度4.8°/min,采样时间为1 s,扫描范围5°~50°,分别对穿心莲内酯、HP-β-CD、两者的物理混合物和穿心莲内酯-HP-β-CD进行粉末X射线衍射分析,结果见图2。穿心莲内酯粉末衍射图谱有多个特异性结晶峰产生;HP-β-CD的X射线衍射图无明显的晶型峰产生,说明为无定型粉末;HP-β-CD与穿心莲内酯的物理混合物的峰为两种物质的叠加,由于受环糊精量的影响,穿心莲内酯峰均有下降,但其特征峰均存在,说明穿心莲内酯未被包合,两者仅为物理混合物;包合物中穿心莲内酯的特征峰消失,提示因主客分子之间的相互作用,环糊精分子将穿心莲内酯包合,后者的晶型特征消失,形成新的物相。

2.4.3 红外光谱分析:采用KBr压片法测定穿心



A-穿心莲内酯 B-HP-β-CD C-穿心莲内酯与 HP-β-CD 的物理混合物 D-穿心莲内酯-HP-β-CD
A-andrographolide B-HP-β-CD C-mixture of andrographolide and HP-β-CD D-andrographolide-HP-β-CD

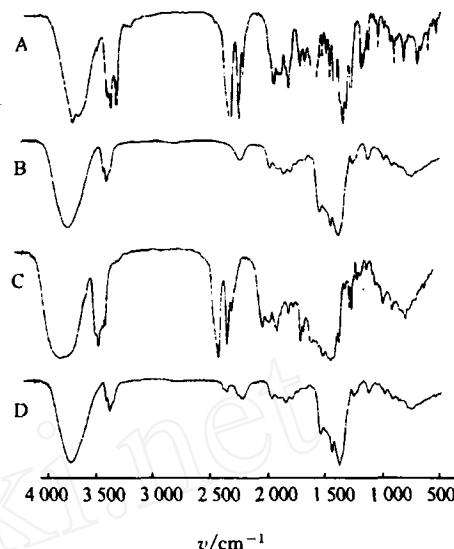
图 1 差示扫描量热图
Fig. 1 Patterns of DSC



A-穿心莲内酯 B-HP-β-CD C-穿心莲内酯和 HP-β-CD 的物理混合物 D-穿心莲内酯-HP-β-CD
A-andrographolide B-HP-β-CD C-mixture of andrographolide and HP-β-CD D-andrographolide-HP-β-CD

图 2 X 射线衍射图
Fig. 2 Patterns of XRD

莲内酯、HP-β-CD、两者的物理混合物、穿心莲内酯-HP-β-CD 的红外光谱,分辨率为 2 cm^{-1} , $4\ 000\sim 400\text{ cm}^{-1}$ 全谱扫描,结果见图 3。可见,穿心莲内酯-HP-β-CD 与物理混合物的 IR 图谱明显不同,包合物有 5 个峰发生红移,分别为 $3\ 402.52$ 、 $1\ 736.62$ 、 $1\ 374.24$ 、 $1\ 036.35$ 、 589.79 cm^{-1} ,有 3 个峰发生紫移,分别为 $1\ 637.00$ 、 949.57 、 855.10 cm^{-1} ,有 4 个峰消失,分别为 $1\ 676.89$ 、 $1\ 459.17$ 、 $1\ 298.49$ 、 909.60 cm^{-1} ,有 5 个峰强度明显降低,分别为 $3\ 402.52$ 、 $2\ 930.62$ 、 $1\ 736.62$ 、 $1\ 636.00$ 、 $1\ 374.24\text{ cm}^{-1}$,所有这些变化均表明,穿心莲内酯与 HP-β-



A-穿心莲内酯 B-HP-β-CD C-HP-β-CD 和穿心莲内酯的物理混合物 D-穿心莲内酯-HP-β-CD
A-andrographolide B-HP-β-CD C-mixture of andrographolide and HP-β-CD D-andrographolide-HP-β-CD

图 3 红外图谱

Fig. 3 IR Spectrum

CD 形成了新的物相。

2.5 表观溶解度试验(摩尔梯度法)^[8]:称取 HP-β-CD 加水配制成 0 、 6.65 、 13.31 、 33.27 、 66.53 、 133.07 、 199.60 、 266.13 mmol/L 溶液。分别吸取 10 mL 置具塞试管中,各管均加入 250 mg 穿心莲内酯固体,超声 20 min ,固定试管于 25 、 35 、 45 °C 恒温振荡器中,调整振荡频率为 100 次/min ,振荡 72 h 。溶液用 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,稀释一定倍数,在 226 nm 处测定吸光度值,并代入标准曲线方程计算并换算为对应的穿心莲内酯浓度。以 HP-β-CD 浓度为横坐标,穿心莲内酯浓度为纵坐标,绘制平衡相溶解度图,结果见图 4。

根据 Higuchi 的分类法^[9],该体系相溶解度图

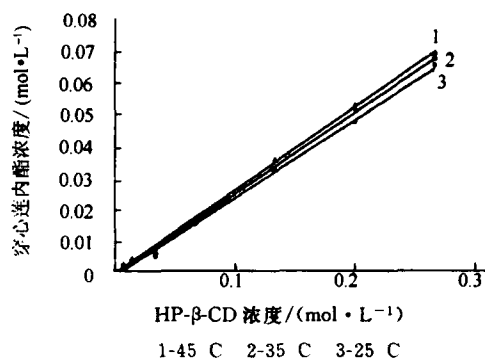


图 4 穿心莲内酯在 HP-β-CD 中的平衡相溶解度图 ($n=3$)

Fig. 4 Solubility curve of andrographolide in different concentrations of HP-β-CD solutions ($n=3$)

属于 A_L 型,表示体系中形成了 1:1 包合物。表观稳定常数(K_c)是衡量包合物稳定性的重要参数,溶液中游离药物分子与被包合药物分子之间存在一个动态平衡, K_c 值越大,HP- β -CD 对药物稳定作用越强。根据不同温度下药物浓度随 HP- β -CD 变化的平衡相图得各温度下的增溶特性方程。利用平衡相图的直线回归方程的截距 S_0 和斜率 $\lg \varphi$ 可计算各温度

下包合作用的表观稳定常数 K_c [$K_c = \frac{\lg \varphi}{S_0(1 - \lg \varphi)}$], 分别得到 25、35、45 °C 下包合物的表观稳定常数。根据 Gibbs 定律, $\lg K_c = \frac{-\Delta H}{2.303RT} + \frac{\Delta S}{2.303R}$ 。以 $\lg K_c$ 对 $1/T$ 回归,得: $\lg K_c = 709.97$

表 1 不同温度下包合物的动力学参数

Table 1 Thermodynamic parameters of andrographolide-HP- β -CD inclusion compound at different temperatures

温度/°C	方程	r	$K_c/$ (L · mol ⁻¹)	G/ (kJ · mol ⁻¹)	$\Delta H/$ (kJ · mol ⁻¹)	$\Delta S/$ (kJ · mol ⁻¹)
25	$Y = 0.2475X - 0.0011$	0.9990	1551.4	-18.20		
35	$Y = 0.2578X - 0.0008$	0.9988	1321.4	-18.40	-13.59	15.53
45	$Y = 0.2638X - 0.0001$	0.9990	1099.2	-18.51		

3 讨论

由于穿心莲内酯的紫外吸收波长较低,甲醇、乙醇等溶剂在此波长处均有干扰,故本实验采用色谱乙腈-水(1:1)作为溶剂测定穿心莲内酯的紫外吸收。

穿心莲内酯在水中溶解度很低,用饱和水溶液法制备包合物时,穿心莲内酯的醇溶液滴到饱和 HP- β -CD 水溶液中立刻有白色固体析出,导致包合率较低。鉴于穿心莲内酯和 HP- β -CD 在乙醇中均具有较好的溶解度,本实验以乙醇作为溶剂,将两者均溶于乙醇中,搅拌一定时间后旋干乙醇,得到的固体加水可以完全溶解,证明穿心莲内酯已经被完全包合在 HP- β -CD 中,同时乙醇可以回收重复利用。

相溶解度图(即药物分子浓度对环糊精浓度的函数图)通常分为 A 型和 B 型^[10]。A 型是药物浓度随环糊精能够浓度增大而增加,表现为增溶作用,其可进一步分为 3 个亚型: A_L 、 A_P 和 A_N 。若环糊精对药物以 1:1 物质的量比例进行包合,相溶解度图呈线性增加,表现为 A_L 型, A_P 和 A_N 分别为线性增加的正偏差和负偏差。B 型分为 B_s 和 B_i 2 个亚型, B_s 型为随环糊精浓度增加,药物溶解度先上升,再经历平台期,最后由于微晶态的包合物沉淀出现而下降; B_i 型为随环糊精浓度增加,药物溶解度起初不变,然后逐渐下降,表明难溶性包合物的形成。穿心莲内酯的相溶解度图呈 A_L 型,即呈线性增加,由此可判定 HP- β -CD 对穿心莲内酯以 1:1 物质的量比例进

$\frac{1}{T} + 0.811$ 。由直线的斜率和截距可以计算出包合反应的热焓值 ΔH 和熵值 ΔS ,再根据公式 $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$,计算出反应自由能,结果见表 1。在不同温度下,穿心莲内酯的溶解度均随 HP- β -CD 浓度的增加而呈线性增加,相溶解度图均为 A_L 型。包合物热力学参数测定结果表明,随着温度增高,包合物的表观稳定常数减小,表明升温不利于包合物的形成,因此在制备包合物时,应选择合适的温度进行包合。包合过程的 ΔS 为正值,说明包合过程为熵值增大的过程,包合过程中的吉布斯自由能变化(ΔG)为负值,表明在恒温恒压下,包合反应在机械力作用下可以自发地进行。

行包合,随着 HP- β -CD 浓度的增加,穿心莲内酯的溶解度显著提高。

本实验制备并鉴定了穿心莲内酯-HP- β -CD 包合物,使穿心莲内酯在水中的溶解度可达到注射剂的要求(约 8 mg/mL)。与天然 β -环糊精比较,经衍生化的 HP- β -CD 水溶性好,具有良好的生物相容性,几乎无溶血性和肾毒性,是美国 FDA 批准的第一个可以静脉注射的 β -环糊精衍生物,将穿心莲内酯制备成 HP- β -CD 包合物,为进一步穿心莲内酯注射剂的研制奠定了基础。

参考文献:

- [1] 刘国利,刘永琼. 穿心莲内酯的研究进展[J]. 医药导报, 2006, 25(1): 48-50.
- [2] 何仲贵,唐星,陈宜福,等. β -环糊精及其衍生物 2-羟丙基 β -环糊精对布洛芬的增溶作用[J]. 沈阳药科大学学报, 1998, 15(4): 235-237.
- [3] 陶涛. 羟丙基倍他环糊精的特性及其药剂学应用[J]. 中国医药工业杂志, 2002, 33(6): 304-308.
- [4] 王景云. 穿心莲滴丸及穿心莲内酯片释放度的比较实验[J]. 河南中医药学刊, 2002, 17(4): 29.
- [5] 周兰,赵朝伟. 穿心莲内酯片的体外溶出度研究[J]. 中国药业, 2005, 149(8): 57.
- [6] 曹正雨,胡正明,陈建明. 正交法优选替硝唑-羟丙基- β -环糊精包合工艺[J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(9): 521-522.
- [7] 张学农,阎雪莹,唐丽华,等. 正交试验优化马离子素-羟丙基- β -环糊精包合物的制备工艺[J]. 中成药, 2004, 26(9): 695-698.
- [8] 候新朴. 物理化学[M]. 第 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2000.
- [9] Brewster M E, Simpkins J W, Hora M S, et al. The potential use of cyclodextrins in parenteral formulations[J]. J Parent Sci Tech, 1989, 4(5): 231-240.
- [10] Takeru H, Kenneth A. Connors phase-solubility techniques[J]. Adv Anal Chem Instr, 1965, 4: 117.