

异穿心莲内酯- β -环糊精包合作用的研究

韩光, 李景华

(河南大学天然药物研究所, 河南 开封 475004)

摘要:目的 利用紫外分光光度法、红外分光光度法及核磁共振法研究 β -环糊精对异穿心莲内酯的包合作用。方法 采用微波辅助饱和水溶液法制备异穿心莲内酯- β -环糊精包合物, 紫外分光光度法测定包合物的包合常数, 并确定异穿心莲内酯- β -环糊精的包合比例, 红外分光光度法和核磁共振法验证包合物的形成且验证包合比例。结果 异穿心莲内酯与 β -环糊精形成了包合物, 包合常数为140.845 L/mol, 包合比例为1:1。结论 β -环糊精可以包合异穿心莲内酯, 且包合效果较好。

关键词:异穿心莲内酯; 包合物; 红外分光光度法; 核磁共振法

中图分类号:R286.1 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2008)08-1165-03

Inclusion effect of isoandrographolide- β -cyclodextrin

HAN Guang, LI Jing-hua

(Institute of Nature Medicinal Products, Henan University, Kaifeng 475004, China)

Abstract: **Objective** To study the inclusion effect of isoandrographolide- β -cyclodextrin by method of UV, IR, and $^1\text{H-NMR}$. **Methods** The inclusion compound of isoandrographolide- β -cyclodextrin was prepared by saturated solution method assist microwave, equilibrium constants of inclusion complexes and molar ratio of isoandrographolide- β -cyclodextrin were determined by the UV. The inclusion compound and their molar ratio were confirmed by IR and $^1\text{H-NMR}$. **Results** The isoandrographolide and β -cyclodextrin formed inclusion compound. The equilibrium constants of inclusion complexes were 140.845 L/mol and the molar ratio was 1:1. **Conclusion** The isoandrographolide could be included by β -cyclodextrin and the inclusion effect is better.

Key words: isoandrographolide; inclusion complexes; IR; $^1\text{H-NMR}$

穿心莲为爵床科植物穿心莲 *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees 的干燥地上部分, 具有解热、抗炎、镇痛、抗菌、抗病毒之功效^[1,2]。其活性成分主要是以穿心莲内酯为代表的二萜内酯类化合物及其葡萄糖衍生物。异穿心莲内酯为穿心莲内酯的结构修饰物, 具有较好的抗炎和抗肿瘤活性^[3,4], 但其脂溶性较强, 使其应用受到限制。为增加其水溶性, 本实验采用微波辅助饱和水溶液法制备了异穿心莲内酯- β -环糊精包合物, 以紫外分光光度法测定了包合常数, 红外分光光度法、核磁共振法验证了包合物的形成。

1 仪器与材料

Bruker Advance 400 核磁共振仪(德国 Bruker 公司), AVATAR360 傅立叶变换红外光谱仪(美国 Nicolet 公司), 三乐微波炉 WP750-1 型(中国南京三乐电气总公司), KQ-300CDE 型双频数控超声

波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), UV1600 紫外可见分光光度计(北京瑞利分析仪器公司), 电子天平 AG135(Mettler Toledo)。

异穿心莲内酯由河南大学天然药物研究所天然药物分子设计室提供, 质量分数大于99%; β -环糊精(孟州市华兴生物化工有限责任公司, 质量分数为99.3%); 水为二次蒸馏水。

2 方法及结果

2.1 包合物的制备: 称取异穿心莲内酯 69.6 mg (0.199 mmol) 和 β -环糊精 468.0 mg (0.428 mmol) 置入 100 mL 锥形瓶中, 加入适量蒸馏水及乙醇, 置于微波炉中, 中档加热 120 s, 产物于冰箱保鲜层中放置 12 h, 抽滤, 滤饼用适量的蒸馏水洗涤, 50 $^{\circ}\text{C}$ 干燥, 干燥物用适量无水乙醇洗涤, 50 $^{\circ}\text{C}$ 干燥, 即得。

2.2 物理混合物制备: 称取异穿心莲内酯 63.2 mg (0.180 mmol) 及 β -环糊精 202.0 mg (0.178 mmol),

收稿日期: 2007-11-07

作者简介: 韩光(1966—), 女(蒙古族), 北京人, 博士, 教授, 主要研究方向: 天然活性成分的研究及新药开发。

E-mail: hang@henu.edu.cn

均匀混合得物理混合物。

2.3 包合常数的测定:用 pH 6.86 的缓冲液配制 成 5.43×10^{-5} mol/L 异穿心莲内酯溶液,进行全波扫描,选择合适的波长范围作为测定波长。再用 pH 6.86 缓冲液配制异穿心莲内酯过饱和溶液,0.45 μ m 微孔滤膜滤过,弃去初滤液,得续滤液,即得。

取 141.1 mg β -环糊精置于 10 mL 量瓶中,加入适量的 pH 6.86 缓冲液,超声溶解,缓冲液定容后,得 12.4 mmol/L β -环糊精溶液。

取一定量异穿心莲内酯过饱和溶液于比色皿中,于所选波长范围内紫外扫描得特定波长下的紫外吸光度,依次向体系中加入不同量的 12.4 mmol/L β -环糊精溶液后进行紫外扫描,得到不同 β -环糊精浓度体系的紫外吸收,由公式(1)的斜率和截距及公式(2)的斜率可计算得包合常数 K_a ^[5]。

$$1/\Delta A = (1/\epsilon K_a [G]_0)(1/[CD]_0) + 1/\epsilon [G]_0 \quad (1)$$

$$\Delta A = -(1/K_a)(\Delta A/[CD]_0) + \Delta \epsilon [G]_0 \quad (2)$$

ϵ -摩尔吸光分数 A -吸光度 $[G]_0$ -药物起始浓度 $[CD]_0$ -环糊精起始浓度

异穿心莲内酯分子在 208 nm 附近有一最大吸收,当体系中存在高浓度 β -环糊精时,异穿心莲内酯紫外吸收随 β -环糊精浓度的增加而明显增强,而且二者成明显的正比关系。由公式(1)得回归方程 $Y = 0.0074X + 1.0524$ ($R = 0.9999$),得 $K_a = 142.216$ L/mol。由公式(2)得回归方程 $Y = -0.0071X + 0.9495$ ($R = 0.9987$),得 $K_a = 140.845$ L/mol。

求得的 K_a 值有一些差距,可能公式(1)的推导

中简化了许多的影响因素,如 β -环糊精的吸收等,易获得较好线性关系,但是不够准确。另外公式(2)考虑到 $A = A_{CD-G} + A_{CD} + A_G$ 的情况,较公式(1)更接近实际,也更严格,对实验操作要求更高,较难获得良好的线性关系,但求得的 K_a 值较准确。包合常数是衡量包合水平的一个重要参数。当 K_a 值为 $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^5$ L/mol 时包合效果最好,太小不宜包合,太大则脱包困难。根据以上结果可判定异穿心莲内酯可以和 β -环糊精发生包合。公式(1)也叫 Benesi-Hildebrand 方程,以 $1/\Delta A$ 对 $1/[CD]_0$ 做图,如为一条直线,则表明客分子与 CDs 形成了 1:1 包合物^[6],本结果与此相符,证实异穿心莲内酯与 β -环糊精形成了 1:1 的包合物。

2.4 包合物的红外分光光度法确证:KBr 压片法分别测定异穿心莲内酯、 β -环糊精、物理混合物和包合物的红外光谱,结果见图 1。物理混合物与包合物相比,异穿心莲内酯的特征峰发生了改变。物理混合物中,异穿心莲内酯的羰基($C=O$)伸缩振动在 1747.85 cm^{-1} ,而包合物的相应峰移到 1755.67 cm^{-1} ,向低波数方向移动,13、14 位双键伸缩振动吸收峰在 1635.61 cm^{-1} ,而包合物的相应峰移到了 1634.02 cm^{-1} ,向高波数方向移动,说明客体分子双键的伸缩振动受到了限制,异穿心莲内酯中的五元内酯环很可能插入到了 β -环糊精的空腔中。而物理混合物的 IR 谱基本上就是异穿心莲内酯、 β -环糊精的 IR 谱的重叠谱,以上事实确证了包合物的形成。

2.5 包合物的氢核磁共振法确证:DMSO- d_6 作溶

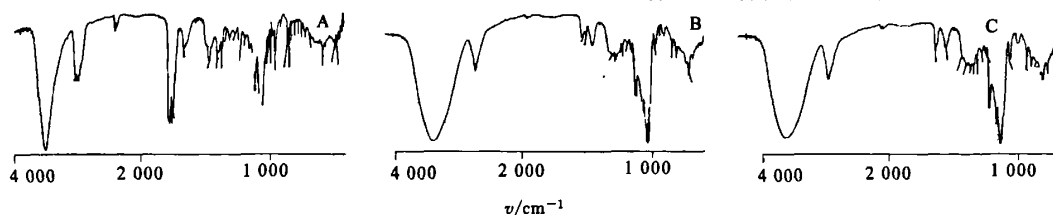


图 1 异穿心莲内酯(A)、物理混合物(B)和包合物(C)的红外光谱图

Fig. 1 Infrared spectrogram of isoandrographolide (A), physics mixture (B), and inclusion compound (C)

剂,分别测定 1A、 β -CD、物理混合物和包合物的核磁共振谱,结果见图 2。可见包合前后环糊精的 6 个氢原子的化学位移都发生了变化,H-1、H-2、H-4、H-6 向低场移动了 $\delta 0.0120$ 、 0.0206 、 0.0021 、 0.0085 ;H-3、H-5 向高场移动 $\delta 0.0040$ 、 0.0322 ,而单体与物理混合物相比,基本上没发生移动,这一事实确证了包合物的形成。

3 讨论

异穿心莲内酯分子的骨架包含十氢萘环和五元

内酯环两部分,均易被 β -环糊精包合,故导致其与 β -环糊精作用时,可能会产生两种 1:1 的包合产物或一种 1:2 的包合产物,本实验证明异穿心莲内酯与 β -环糊精形成了 1:1 的包合物,推断产物可能为两种 1:1 包合物,即一种包含十氢萘环,另一种包含五元内酯环,这也可以由形成包合物前后异穿心莲内酯的 1H -NMR 化学位移变化推断出,如十氢萘环上的 H-17、H-18、H-19、H-20 的化学位移分别向高场发生了移动, $\Delta\delta$ 分别为 -0.0041 、 -0.0036 、

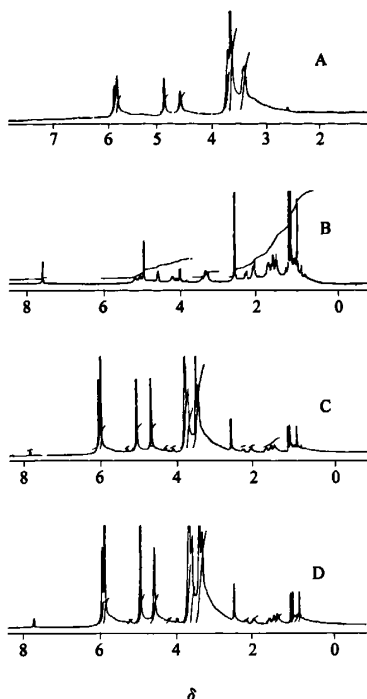


图 2 β -环糊精(A)、异穿心莲内酯(B)、物理混合物(C)和包合物(D)的核磁共振氢谱

Fig. 2 ^1H -NMR Spectrogram of β -CD (A), isoandrographolide (B), physics mixture (C), and inclusion compound (D)

—0.002 5、—0.109 6。由此说明萘环部分氢原子受到屏蔽,十氢萘环全部或者部分插入了 β -环糊精的疏水空腔中;包合后 H-12、H-14、H-15 的化学位移分别向高场发生了移动, $\Delta\delta$ 分别为 —0.008 7、

—0.009 0、—0.003 0。说明五元内酯环上的氢原子受到屏蔽,五元内酯环全部插入了 β -环糊精的疏水空腔中。综上可以推断异穿心莲内酯与 β -环糊精形成了 1:1 的包合物,包合产物为包合十氢萘环和五元内酯环的两种包合物的混合物;经计算机辅助软件 CAChe 6.1 计算,异穿心莲内酯的五元内酯环和十氢萘环可以被包合。这也与实际的验证结果相符。

自 20 世纪初环糊精被分离得到以来,在医药方面得到了广泛的应用。一些药物制成环糊精包合物后,溶解度、生物利用度、化学稳定性、刺激性等方面都得到了明显的改善,因此环糊精作为一种药物辅料在医药方面有着重要的应用价值。本实验采用微波辅助饱和水溶液法将异穿心莲内酯做成包合物,可提高其稳定性,增加了其水溶性,为异穿心莲内酯在医药方面的应用提供参考。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.
- [2] Madar S, Tripathi H C, Tan D, *et al.* Antipyretic and antiallergogenic effects of andrographolide [J]. *India J Pharm Sci*, 1995, 57(3): 121.
- [3] 韩光. 穿心莲的超分子提取和穿心莲内酯衍生物的合成及活性研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2005.
- [4] 韩光, 曾超, 杜钢军, 等. 穿心莲内酯衍生物的合成及其抗炎免疫活性[J]. *中草药*, 2006, 37(12): 1771-1775.
- [5] 王亚娜, 孙俊梅, 余丽丽, 等. 环糊精及衍生物/药物包合常数的测定方法及应用[J]. *药学进展*, 2004, 28(1): 23-28.
- [6] 谷福根, 高永良, 崔福德. 环糊精包合物研究进展[J]. *中国新药杂志*, 2005, 14(5): 686-693.

生地黄中低聚糖的提取和纯化研究

唐 岚¹, 刘 力^{2*}, 徐德生²

(1. 浙江工业大学药学院, 浙江 杭州 310014; 2. 上海中医药大学附属曙光医院, 上海 200021)

摘要:目的 研究从生地黄中提取分离低聚糖的工艺。方法 以水苏糖的量指标, 采用正交试验优化水提取工艺, 考察了除杂工艺中大孔树脂种类、洗脱液用量及活性炭脱色方法, 并采用葡聚糖凝胶柱纯化得到生地黄低聚糖。结果 优选的水提取工艺为: 12 倍量水, 煎煮 3 次, 每次 0.5 h。水提取液经 D-101 大孔吸附树脂除杂, 0.1% 活性炭脱色 3 次, Sephadex G15 葡聚糖凝胶分离纯化获得生地黄低聚糖部位, 其中水苏糖质量分数大于 60%。结论 该工艺从生地黄中提取分离低聚糖部位, 工艺合理、可行, 低聚糖部位收率达药材量的 26%。

关键词: 生地黄; 低聚糖; 提取; 分离纯化

中图分类号: R286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)08-1167-05

收稿日期: 2007-11-02

基金项目: 上海市科委资助项目(05dz19102)

作者简介: 唐 岚(1974—), 女, 广西柳州人, 讲师, 博士, 主要从事中药、天然药活性成分及制剂研究。 E-mail: tanglan@zjut.cn

* 通讯作者 刘 力 Tel: (021)53821650-721 Fax: (021)53825761 E-mail: liuli2750@hotmail.com

异穿心莲内酯-β-环糊精包合作用的研究

作者：[韩光](#)，[李景华](#)
作者单位：[河南大学天然药物研究所, 河南开封, 475004](#)
刊名：[中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年，卷(期)：2008, 39 (8)

参考文献(6条)

1. [江苏新医学院](#) [中药大辞典](#) 1986
2. [Madar S.](#) [Tripathi H C.](#) [Tan D.](#) [ez al](#) [Antipyretic and antialcerogenic effects of andrographolide](#) 1995 (03)
3. [韩光](#) [穿心莲的超分子提取和穿心莲内酯衍生物的合成及活性研究](#) [学位论文] 2005
4. [韩光](#). [曾超](#). [杜钢军](#) [穿心莲内酯衍生物的合成及其抗炎免疫活性](#) [期刊论文] - [中草药](#) 2006 (12)
5. [王亚娜](#). [孙俊梅](#). [余丽丽](#) [环糊精及衍生物/药物包合常数的测定方法及应用](#) [期刊论文] - [药学进展](#) 2004 (01)
6. [谷福根](#). [高永良](#). [崔福德](#) [环糊精包合物研究进展](#) [期刊论文] - [中国新药杂志](#) 2005 (05)

本文链接：http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200808017.aspx