

甲砷霉素-羟丙基- β -环糊精包合物的制备和鉴定

葛竹兴, 张小华

(江苏畜牧兽医职业技术学院, 江苏 泰州 225300)

[摘要] 采用溶液搅拌法制备甲砷霉素-羟丙基- β -环糊精 (TAP-HP- β -CD) 包合物, 用 X 射线衍射法 (XRD)、差示扫描量热法 (DSC) 和红外分光光度法 (IR) 对包合物进行鉴定, 并用高效液相色谱法 (HPLC) 分别测定 TAP 在水中和包合物溶液中的溶解度. 结果表明: 甲砷霉素与羟丙基- β -环糊精能形成包合物, 且能显著提高其溶解度.

[关键词] 甲砷霉素, 羟丙基- β -环糊精, 包合物, 制备, 鉴定

[中图分类号] O 641. 3 [文献标识码] A [文章编号] 1001-4616(2008)04-0074-06

Preparation and Identification of Inclusion Complex of Thiamphenicol-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin

Ge Zhuxing Zhang Xiaohua

(Jiangsu Animal Husbandry and Veterinary College, Taizhou 225300, China)

Abstract Thiamphenicol-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex was prepared by the stirring method. At the same time, the inclusion complex was identified by X-ray diffraction (XRD), differential scanning calorimetry (DSC) and infrared absorption spectroscopy (IR). The results indicate that the solubility of thiamphenicol are significantly increased when the drug is included by hydroxypropyl- β -cyclodextrin.

Key words thiamphenicol, hydroxypropyl- β -cyclodextrin, inclusion complex, preparation, identification

包合物是近年来分子化学研究的热点^[1-10]. 羟丙基- β -环糊精 (HP- β -CD) 是分子化学中最重要的物质之一, 其水溶性很高, 是低毒、安全、有效的药物增溶剂. 其高水溶性源于在化学结构上内氢键的破坏及无定型的物理状态.

甲砷霉素 (TAP) 是 1 种新型合成抗生素, 抑制细菌 70S 核糖体, 与 50S 亚基结合抑制肽酰基转移, 从而抑制肽链的延伸, 干扰细菌蛋白质的合成. TAP 抗菌谱广, 对革兰氏阴性菌、阳性菌均有杀灭作用, 衣原体、钩端螺旋体、立克次氏体对本品敏感. TAP 不易产生耐药性, 抗菌穿透力强, 吸收快, 药物吸收后广泛分布于各种组织和血液中, 在兽医临床上用于替代禁用的氯霉素. 但由于其溶解度小, 兽医临床常用剂型为散剂, 生物利用度不高. 为此, 作者试图通过羟丙基- β -环糊精疏水腔与药物的包合作用提高甲砷霉素药物的溶解度, 从而提高被包合甲砷霉素的生物利用度^[6]. 能否形成包合物是研究的关键, 作者用 X 射线粉末衍射法、差示扫描量热法、红外分光光度法对包合物进行了鉴定, 并且用高效液相色谱法测定 TAP 在水中和 TAP-HP- β -CD 包合物溶液中的溶解度. 结果表明: 包合物已经形成, 形成的包合物能显著提高药物的溶解度.

1 仪器与材料

1.1 仪器

X Pert-Pro MPD 型 X 射线衍射仪 (荷兰帕纳科公司); Pyris-1 差示扫描量热仪 (美国 PE 公司); IR Pres-

收稿日期: 2008-05-07

基金项目: 江苏省科技攻关基金 (BE2005615) 资助项目.

通讯联系人: 葛竹兴, 副教授, 研究方向: 药物分析、药物研发. E-mail: tzfdgzx@yahoo.com.cn

type-21傅里叶变换红外光谱仪(日本岛津); 高效液相色谱仪(配有 SCL-10AVP 系统控制器, LC-10ATVP 泵, CTO-10ATVP 柱温箱, SPD10AVP 二极管阵列紫外检测器, CLASS-V P6.14 色谱工作站, 日本岛津); KQ3200DB 超声波清洗器(江苏昆山市超声仪器有限公司); 1810B 自动双重纯水蒸馏器(上海嘉定生声玻璃仪器厂); BS110S 电子天平(北京赛多利斯仪器有限公司); SHAB 恒温振荡器(常州国华电器有限公司).

1.2 材料

乙腈(色谱级); 甲磺霉素(江苏倍康药业有限公司提供, 纯度 98.22%); 羟丙基-β-环糊精(西安立德生物化工有限公司提供).

2 实验方法

2.1 TAP-HP-β-CD 包合物的制备^[7,9]

用蒸馏水配制 20% 的 HP-β-CD 溶液, 在不断搅拌的条件下, 按 1:1 摩尔比加入 TAP, 于 35℃ 恒温振荡或搅拌 5h 冷却至室温, 即得 TAP-HP-β-CD 的包合物溶液. 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤后, 然后置冰箱中预冻 24h 再真空冷冻干燥得 TAP-HP-β-CD 包合物.

2.2 TAP-HP-β-CD 包合物的鉴定^[1,4,7,8,10]

2.2.1 X 射线衍射鉴别^[8]

取 TAP、HP-β-CD、TAP-HP-β-CD 混合物粉末适量, 分别测定其 X 射线衍射图谱. 测定参数为: Cu 靶/石墨单色器, 电压 40 kV, 电流 40mA, 扫描速度 4°/min, 扫描范围 4.8~60°.

2.2.2 差示扫描量热分析

取 TAP、HP-β-CD、TAP-HP-β-CD 及 TAP 与 HP-β-CD 混合物粉末适量, 分别进行差示扫描量热分析, 记录 DSC 图谱. 测定参数: 10℃/min, 温度测定范围为 25~300℃.

2.2.3 红外吸收光谱鉴定

取 TAP、HP-β-CD、TAP-HP-β-CD、TAP 和 HP-β-CD 混合物粉末适量与溴化钾压片后, 分别测定其红外光谱图. 测定参数: 扫描范围 400~4000 cm⁻¹, 分辨率 4 cm⁻¹.

2.3 TAP 的溶解度测定^[9]

2.3.1 色谱条件

shin-pack ODS-C18 色谱柱 (150 mm × 6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水 (体积比 1:4), 流速为 1.0 mL/min; 柱温为 40℃; 检测波长 225 nm; 进样量 20 μL.

2.3.2 测定法

精密称取 TAP 对照品 50 mg 置于 100 mL 棕色量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为储备液. 从中吸取 2.0 mL 置于 50 mL 棕色量瓶中, 再以流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液. 称取过量的 TAP、TAP-HP-β-CD 包合物分别置于 2 只 50 mL 棕色量瓶内, 加水配成过饱和溶液, 于 25℃ 水浴振荡器振荡使其达到溶解平衡, 迅速用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液稀释适当倍数, 取 20 μL 注入高效液相色谱仪, 按外标法分别测定水中和包合物溶液中 TAP 的量, 并求算在 25℃ TAP 在水中及包合物水溶液中的溶解度.

3 结果与讨论

3.1 TAP-HP-β-CD 包合物

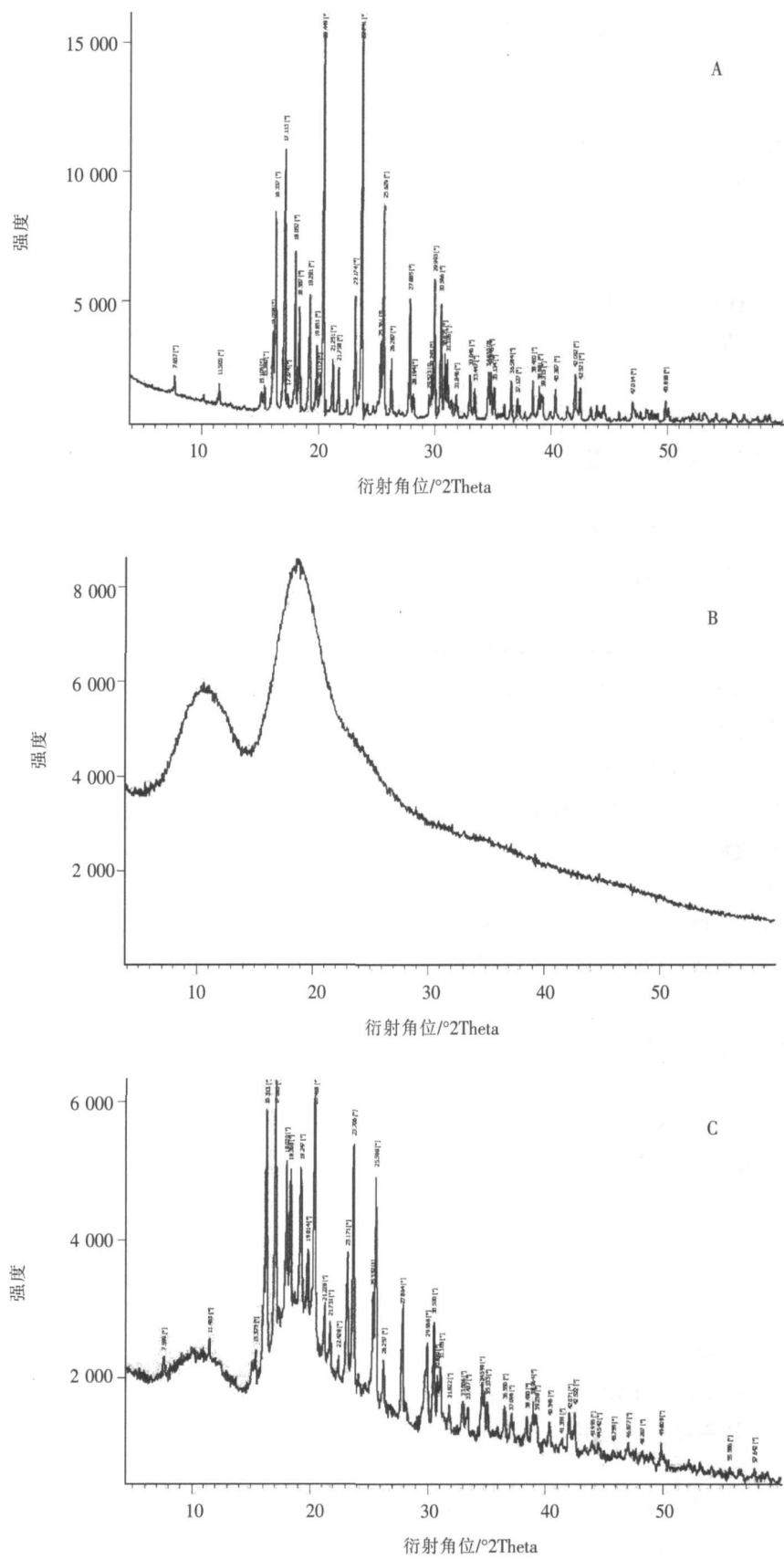
经真空冷冻干燥制得的 TAP-HP-β-CD 包合物, 为 1 种易溶于水的白色疏松多孔固体物质.

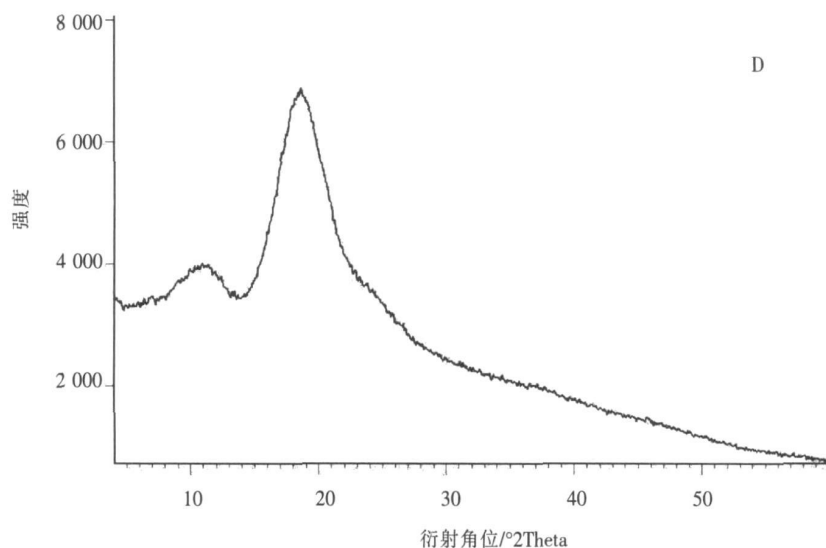
3.2 TAP-HP-β-CD 包合物的鉴定

3.2.1 X 射线衍射鉴别

TAP、HP-β-CD、TAP 和 HP-β-CD 混合物、TAP-HP-β-CD 包合物的粉末 X 射线衍射分析结果如图 1 所示. 图 1 中 A 为 TAP 粉末衍射图谱, 有多个特异性结晶峰产生; B 为 HP-β-CD, X 射线图无明显的晶型峰产生, 说明为无定型粉末; C 为 TAP 和 HP-β-CD 的物理混合物, 峰形为 2 种物质的叠加, 由于受环糊精量的影响, TAP 峰均有下降, 但其特征峰均存在, 说明 TAP 未被包合, 二者仅为物理混合; D 为包合物衍射图

谱, TAP的特征峰已消失, 表明主客分子之间发生相互作用, 环糊精分子将 TAP 包合, 后者的晶型特征消失, 形成新的物相.





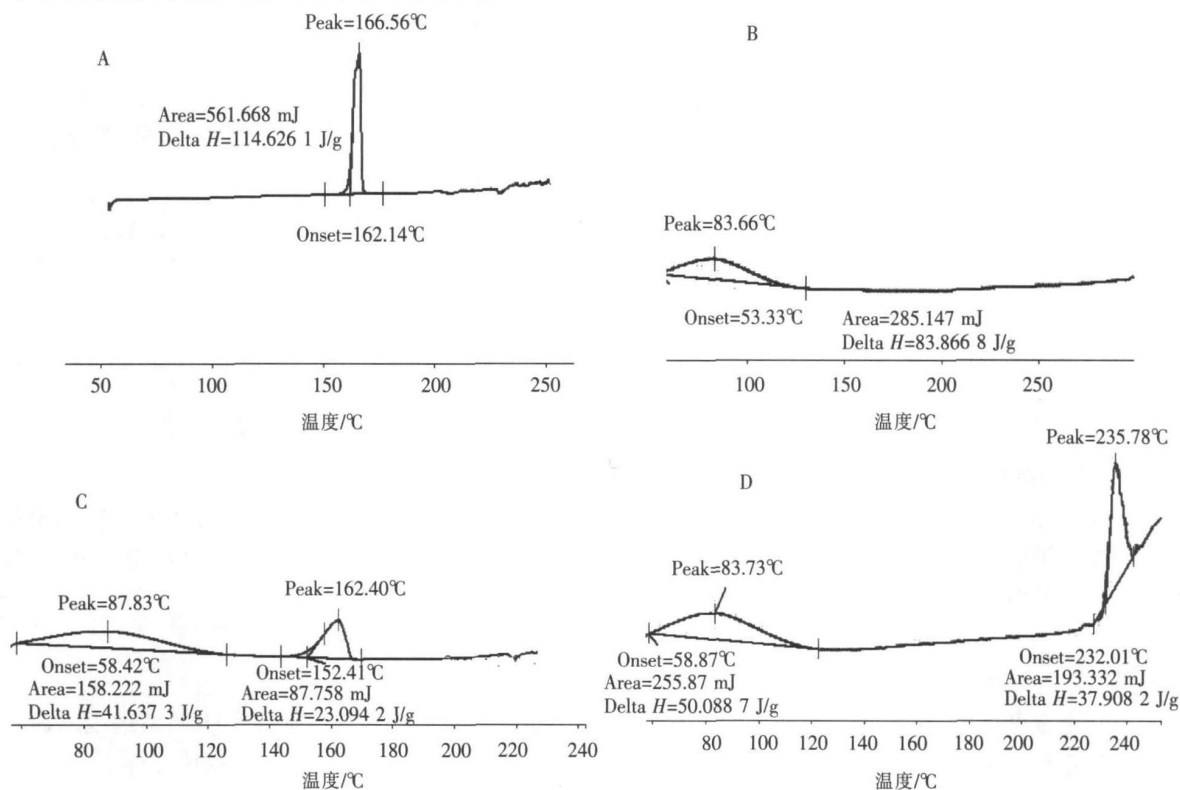
A.TAP; B.HP-β-CD; C. HP-β-CD and TAP; D. TAP-HP-β-CD

图1 X射线衍射图

Fig.1 X-ray diffraction spectra of the samples

3.2.2 差示扫描量热分析

TAP、HP-β-CD、TAP和 HP-β-CD混合物、TAP-HP-β-CD包合物样品的 DSC 曲线如图 2(A、B、C和 D)所示。DSC 曲线中, TAP在其熔点 166℃附近出现 1 个尖锐的特征吸热峰, 与其熔点基本一致; HP-β-CD在 83℃附近出现 1 个特征吸热峰; 二者的物理混合物在 162℃处也有明显的吸热峰, 与 TAP 熔点也比较接近; 包合物中 TAP的熔点峰已消失, 而在 235℃产生 1 个新的吸热峰. 包合物与混合物的图谱(图 2中 C和 D)有明显差异, 说明包合物形成了新的物相.



A.TAP; B.HP-β-CD; C. HP-β-CD and TAP; D. TAP-HP-β-CD

图2 差示扫描量热分析图

Fig.2 Differential scanning calorimetry curves of the samples

3.2.3 红外吸收光谱鉴定

TAP、HP-β-CD、TAP 和 HP-β-CD 混合物、TAP-HP-β-CD 包合物样品的红外吸收光谱如图 3(A、B、C 和 D)所示。TAP 在 1 692、1 560 cm⁻¹ 处分别有羰基 C=O、芳基 C=C 键伸缩振动的特征吸收峰, HP-β-CD 在 3 386、2 929、1 031 cm⁻¹ 处分别有游离 -OH、缔合 -OH、碳氧键 C-O 的伸缩振动的特征吸收峰。物理混合物的红外吸收光谱图叠加了衰减的 TAP 特征吸收峰和 HP-β-CD 特征吸收峰, 表明混合物具有 TAP 和 HP-β-CD 的特征。包合物红外吸收光谱图中 TAP 在 1 692、1 560 cm⁻¹ 处分别有羰基 C=O、芳基 C=C 键伸缩振动的特征吸收峰明显减弱或消失, 说明药物与环糊精产生了包合作用。这些都证明包合物物相已形成。另外, 由于包合物红外吸收光谱图中也未见新的吸收峰, 表明包合物中无新的化学键产生。

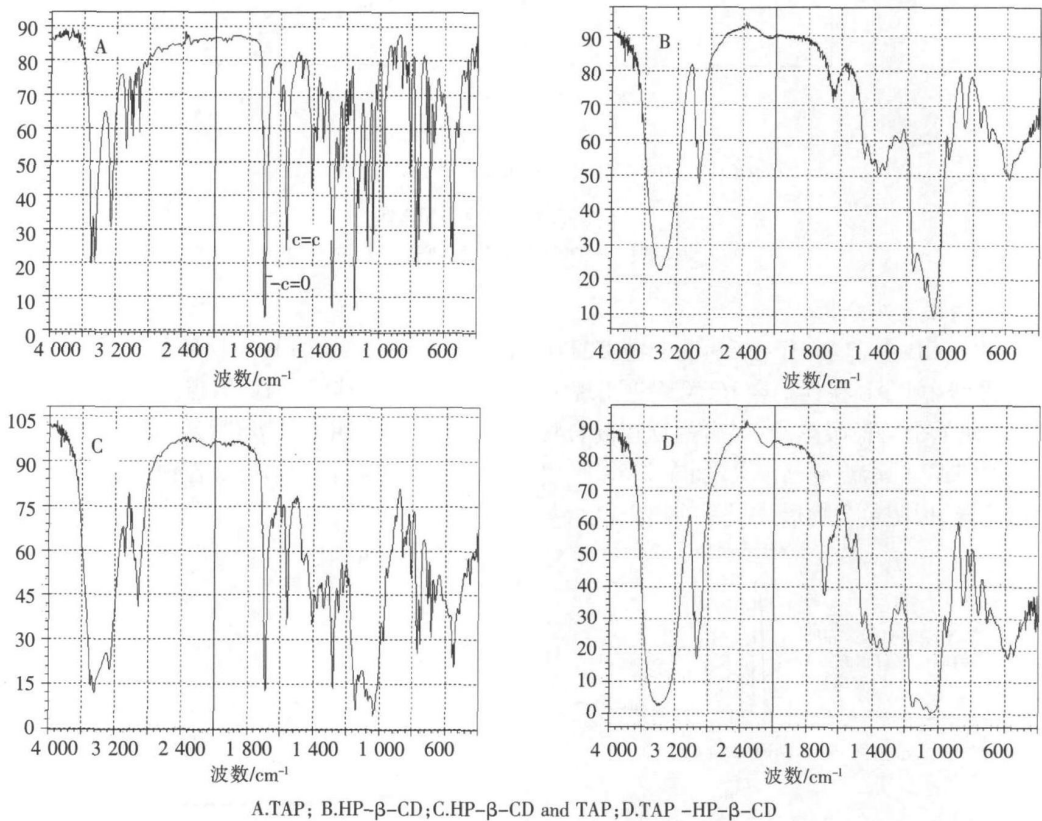


图 3 红外吸收光谱图
Fig.3 IR spectra of the samples

3.3 TAP 在水中与包合物水溶液中的溶解度

根据外标法测得水中和包合物溶液中 TAP 的量, 其色谱图如图 4 所示。经计算, 在 25℃TAP 在水中及包合物水溶液的溶解度分别为 5.16 mg/mL、212.9 mg/mL ($n=3$), 结果表明: TAP 从包合物中解离, 出峰时间与对照品溶液基本一致。TAP 被包合后, 药物的溶解度提高了 41 倍。

4 结论

在一定温度条件下, HP-β-CD 能通过包合作用与 TAP 形成包合物, 并显著提高 TAP 的溶解度。因此, 采用适当制剂工艺技术可将 TAP 包合物制成易溶解于水的粉剂或注射剂, 以提高药物的生物利用度。

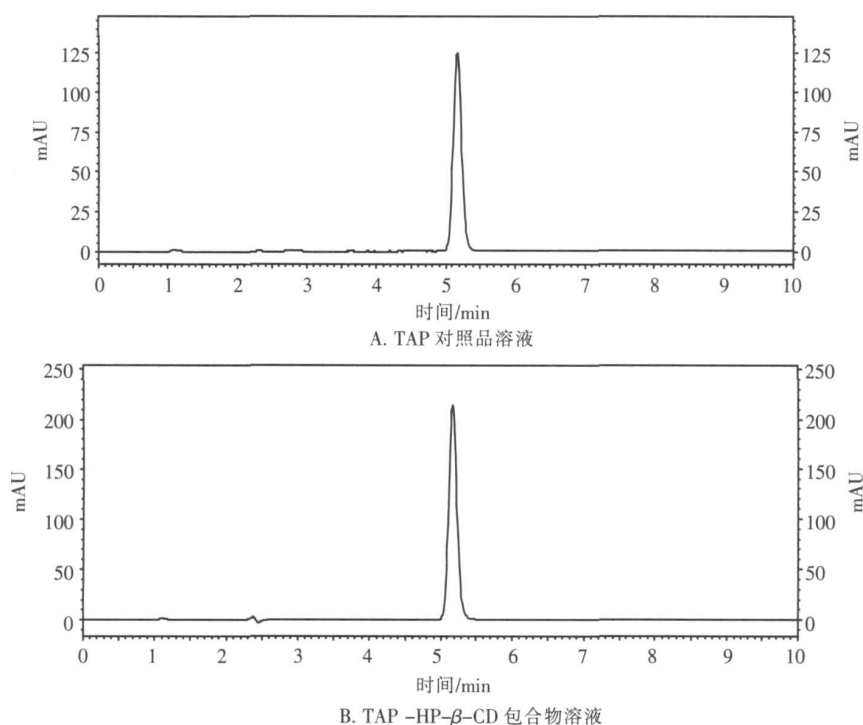


图4 TAP 对照品和 TAP-HP-β-CD 包合物色谱图

Fig.4 Chromatograms of TAP and TAP-HP-β-CD

[参考文献]

- [1] 王灵杰, 郑彩虹. 木犀草素羟丙基-β-环糊精包合物的制备及其鉴定 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2006, 23(6): 477-479
- [2] Wang L, Zhang F X, Xue X Z. Application of hydroxypropyl-β-cyclodextrin in preparation of Chinese traditional medicine [J]. Shanxi Journal of Traditional Chinese Medicine, 2005, 26(2): 172-173
- [3] 崔翰明, 王建伟, 刘春艳, 等. 双硒唑烷的羟丙基-β-环糊精包合物的制备和包合过程热力学参数的测定 [J]. 中国新药杂志, 2006(2): 106-110
- [4] 马学琴, 任勇, 付雪艳. 羟基喜树碱/羟丙基-β-环糊精包合作用研究 [J]. 中国新药杂志, 2007, 16(17): 1386-1387
- [5] 李金贵, 朱奎. 青蒿素包合物的表征及其对鸡球虫病的防治评价 [J]. 中国兽药杂志, 2007, 42(2): 36-38
- [6] 刘玉雯, 余祥彬, 吴宏霞. 2-羟丙基-β-环糊精对酮洛芬的包合作用研究 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2006, 23(5): 377-379
- [7] 谢俊, 张春来, 贺静, 等. 羟丙基-β-环糊精对双氯芬酸钠的包合作用研究 [J]. 中国新药杂志, 2005, 14(1): 61-63
- [8] 张学农, 阎雪莹, 唐丽华, 等. 马蔺子素-羟丙基-β-环糊精包合物的制备、鉴定及包合作用 [J]. 药学学报, 2005, 40(4): 369-372
- [9] 张小华, 葛竹兴, 郁杰, 等. 甲磺霉素-羟丙基-β-环糊精包合作用的研究 [J]. 泰州职业技术学院学报, 2007, 37(6): 44-46
- [10] 闫金红, 张翠萍, 杨频. 羟丙基-β-环糊精与丹参酮 IIA 包合作用的研究 [J]. 化学学报, 2006, 64(7): 652-656

[责任编辑: 顾晓天]