



## 羟丙基- $\beta$ -环糊精与醋酸可的松包结物的制备与表征

包慧珂<sup>1</sup>, 马印虎<sup>1</sup>, 袁东超<sup>2</sup>, 王敏<sup>1</sup>

(1. 工业微生物教育部重点实验室, 天津科技大学生物工程学院, 天津 300457;  
2. 天津市津津药业有限公司, 天津 300380)

**摘要:** 考察了羟丙基- $\beta$ -环糊精(HP- $\beta$ -CD)与醋酸可的松(Cortisone Acetate,简称CA)包结物的制备方法,结果表明冷冻干燥法包结效果最好. 采用相溶解度实验对HP- $\beta$ -CD的增溶效应进行了评价,CA在水中的溶解度随着HP- $\beta$ -CD浓度增加呈线性增加,确定其包结物质的量比为1:1,34℃时包结稳定常数为1581.3 L/mol. 同时通过显微熔点测定和红外光谱法对包结物进行了表征.

**关键词:** 醋酸可的松; 羟丙基- $\beta$ -环糊精; 包结物; 制备; 表征

中图分类号: R944.9 文献标志码: A 文章编号: 1672-6510(2009)06-0013-03

## Preparation and Characterization of HP- $\beta$ -CD Inclusion Complex with Cortisone Acetate

BAO Hui-ke<sup>1</sup>, MA Yin-hu<sup>1</sup>, YUAN Dong-chao<sup>2</sup>, WANG Min<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Industrial Microbiology, Ministry of Education, College of Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China; 2. Tianjin Jinjin Pharmaceutical Co., Ltd, Tianjin 300380, China)

**Abstract:** The preparation of hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (HP- $\beta$ -CD) inclusion complex with Cortisone Acetate (CA) was studied. It was found that the method of refrigerate drying was the best. The result from phase solubility method indicated that the apparent solubility of CA was enhanced with the increase of HP- $\beta$ -CD concentration, the molar ratio of the CA-HP- $\beta$ -CD complex was 1:1, the constant of inclusion stability was 1581.3 L/mol at 34℃. The inclusion complex was characterized by the micro-melting point testing and infrared spectra (FTIR).

**Keywords:** Cortisone Acetate; hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin; inclusion complex; preparation; characterization

简单节杆菌催化甾体化合物 C<sub>1,2</sub> 脱氢反应是抗炎、抗过敏甾体药物生产中重要的反应之一<sup>[1]</sup>,在甾体母核 C<sub>1,2</sub> 位置引入双键后,能成倍增加糖皮质激素活性,并降低副作用<sup>[2]</sup>. 然而,甾体化合物在水中溶解度很低,降低了转化反应速率,是制约甾体化合物生物转化的一大难题<sup>[3]</sup>. 在保持生物催化剂活性和稳定性的同时,通过引入环糊精等介质来提高甾体底物在水溶液中的溶解度是提高转化反应效率的重要途径,也是目前该领域的研究热点之一<sup>[4-7]</sup>. 羟丙基- $\beta$ -环糊精(hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin, HP- $\beta$ -CD)是 $\beta$ -环糊精的衍生物. 由于其具有独特的外亲水、内疏水的

环状结构,可以作为主体化合物包结疏水性的甾体化合物,提高甾体化合物醋酸可的松(Cortisone Acetate,简称CA)的 C<sub>1,2</sub> 位脱氢反应速率,同时能有效降低产物抑制效应<sup>[8]</sup>. 本文在上述研究的基础上进一步考察了HP- $\beta$ -CD对CA的增溶效果,并对HP- $\beta$ -CD与CA包结物进行了表征.

### 1 材料与方法

#### 1.1 试剂与仪器

醋酸可的松(CA,纯度98.5%),天津市津津药业

收稿日期: 2009-04-27; 修回日期: 2009-09-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20776111); 教育部新世纪优秀人才计划(NECT-08-0911)

作者简介: 包慧珂(1979—),女,内蒙古人,硕士研究生; 通信作者: 王敏,教授, minw@tust.edu.cn.

有限公司;HP- $\beta$ -CD(取代度 6.52),西安德立生物化工有限公司;其余试剂均为分析纯. 1100 型高效液相色谱仪,美国安捷伦公司;LD5-10 型低速大容量离心机,北京医用离心机厂;X-6 型显微熔点测定仪,北京泰克仪器有限公司;Bruker Vector 22 型傅里叶变换红外光谱仪,Bruker Optics 公司.

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 包结物的制备<sup>[9]</sup>

**研磨法:**称取 HP- $\beta$ -CD 4.29 g 和 CA 1.13 g 于研钵中,加入蒸馏水 50 mL 研磨 30 min,经真空冷冻干燥后研细,过 80 目筛即得包结物.

**饱和溶液析出法:**称取 HP- $\beta$ -CD 4.29 g,加入约 200 mL 蒸馏水使之饱和,加热溶解后冷却到 60 °C,置恒温磁力搅拌器上;另取 CA 1.13 g 于 30 mL 无水乙醇中溶解,缓慢滴加到 HP- $\beta$ -CD 溶液中,60 °C 恒温搅拌 3 h,冷藏过夜,抽滤,收集沉淀物,洗涤,真空干燥后研细,过 80 目筛即得包结物.

**冷冻干燥法:**称取 HP- $\beta$ -CD 4.29 g,加入约 200 mL 蒸馏水使之饱和,加热溶解,冷却到 60 °C,置恒温磁力搅拌器上;另取 CA 1.13 g 于 30 mL 无水乙醇中溶解,缓慢滴加到 HP- $\beta$ -CD 溶液中,60 °C 恒温搅拌 3 h,经 0.45  $\mu$ m 微孔膜过滤,所得滤液经真空冷冻干燥后研细,过 80 目筛即得包结物.

**喷雾干燥法:**称取 HP- $\beta$ -CD 4.29 g,加入约 200 mL 蒸馏水使之饱和,加热溶解,冷却到 60 °C,置恒温磁力搅拌器上;另取 CA 1.13 g 于 30 mL 无水乙醇中溶解,缓慢滴加到 HP- $\beta$ -CD 溶液中,60 °C 恒温搅拌 3 h 后,溶液经喷雾干燥处理,过 80 目筛即得包结物.

### 1.2.2 包结物包结率和包含量的计算

称取干燥至恒重的 CA-HP- $\beta$ -CD 包结物 30 mg 置于 50 mL 容量瓶中,加入蒸馏水 20 mL,振摇 20 min 溶解,定容.适当稀释后用高效液相色谱法测定 CA 浓度,计算不同制备方法所得包结物中 CA 的含量,代入公式(1)和(2)计算包结物包结率和包含量.

$$\text{包结率} = \frac{\text{被包结的CA的物质的量}}{\text{包结物中CA的物质的量}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{包含量} = \frac{\text{被包结的CA的质量}}{\text{包结物的质量}} \times 100\% \quad (2)$$

### 1.2.3 溶解度的测定<sup>[10]</sup>

称取适量 HP- $\beta$ -CD,配制成浓度分别为 10、20、30、40、60、80、100 mmol/L 的溶液.取上述溶液各 10 mL,加入过量的 CA,于 34 °C 水浴振荡 28 h.取上清液,用 0.45  $\mu$ m 的微孔膜过滤,作为样品溶液.高效液相色谱法测定 CA 浓度,以 CA 浓度为纵坐标,环

糊精浓度为横坐标,绘制相溶解度图,计算包结物稳定常数  $K_s$ ,其中  $S_0$  为本征溶解度.

$$K_s = \frac{\text{斜率}}{S_0 \times (1 - \text{斜率})} \quad (3)$$

### 1.2.4 包结物的表征

**显微熔点测定:**样品固体粉末,采用 X-6 型显微熔点测定仪,检测温度从室温升至 300 °C.

**红外光谱(FTIR)分析:**按文献[11]方法分别对 CA、HP- $\beta$ -CD、CA/HP- $\beta$ -CD 物理混合物及包结物进行傅里叶红外扫描,测定条件为 KBr 压片,扫描范围 400 ~ 4 000  $\text{cm}^{-1}$ .

## 2 结果与讨论

### 2.1 包结物制备方法对包结效果的影响

制备环糊精包结物的方法很多,然而对不同的客体,应选择适合的条件和方法,没有一个通用的方法适合所有的包结客体<sup>[9]</sup>.以包结物的包结率为评价指标,分析比较了 4 种制备方法,即研磨法、饱和溶液析出法、冷冻干燥法、喷雾干燥法对 CA-HP- $\beta$ -CD 包结效果的影响.

表 1 的实验结果表明,不同的包结物制备方法所得到的包结物的包结率和包含量有所差异,其中冷冻干燥法的包结率和包含量分别达到 51.8% 和 7.51%,包结效果较好.

表 1 不同包结方法的 CA-HP- $\beta$ -CD 包结效果的分析  
Tab.1 Effect of different inclusion methods on CA-HP- $\beta$ -CD inclusion result

制备方法	包结率/%	包含量/%
研磨法	30.1	5.75
饱和溶液析出法	6.0	5.49
冷冻干燥法	51.8	7.51
喷雾干燥法	9.6	4.59

### 2.2 表观溶解度及包结比的确定

从图 1 中不同浓度 HP- $\beta$ -CD 对 CA 在水中溶解度的影响结果表明,HP- $\beta$ -CD 在 0 ~ 100 mmol/L 浓度范围内,CA 的表观溶解度随 HP- $\beta$ -CD 浓度的增大呈线性增加.根据 Higuchi<sup>[10]</sup>对相溶解图的分类法,可以将 HP- $\beta$ -CD 与 CA 的包结模式归属于  $A_L$  型包结,表明体系中 HP- $\beta$ -CD 与 CA 形成了物质的量比为 1 : 1 的包结物,即 CA 与 HP- $\beta$ -CD 包结物质的量比为 1 : 1.

将相溶解度曲线的初始阶段回归线性方程,可求环糊精与 CA 的增溶系数 Slope 及包结稳定常数

$K_s^{[10]}$ . 经实验测得 HP- $\beta$ -CD 的本征溶解度  $S_0$  为 0.076 mmol/L, 34 °C 下相溶解度图的斜率为 0.109 8, 由式(3)计算包结稳定常数  $K_s$  为 1 581.3 L/mol, 说明 HP- $\beta$ -CD 对 CA 具有较好的包结效果.

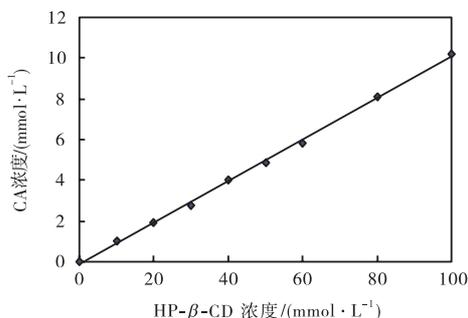


图1 CA在不同浓度 HP- $\beta$ -CD 水溶液中的相溶解图(34 °C)

Fig.1 Solubility curves of the CA in the presence of different concentration of HP- $\beta$ -CD at 34 °C

## 2.3 CA-HP- $\beta$ -CD 包结物的结构表征

### 2.3.1 CA-HP- $\beta$ -CD 包结物的显微熔点测定

HP- $\beta$ -CD 溶解温度范围为 238.0 ~ 258.3 °C, 未见明显熔点. CA 的熔点为 251.5 °C. 包结物溶解温度范围为 228.4 ~ 237.9 °C, 亦未见有明显熔点. 这一结果说明, 包结物与 CA 不同, 已形成新的物相.

### 2.3.2 FTIR 图谱分析

HP- $\beta$ -CD 与化合物 CA 形成包结物, 由于彼此相互影响, 某些基团的振动频率发生了改变, 可以根据基团振动频率变化来判断 HP- $\beta$ -CD 与化合物 CA 是否形成包结物及其包结结构.

图 2(a, b, c, d) 分别是 CA、HP- $\beta$ -CD、HP- $\beta$ -CD 与 CA 物理混合物和形成包结物的红外光谱图. 图 2(a) 中 3 430  $\text{cm}^{-1}$  处为 CA 羟基的伸缩振动峰, 2 869 ~ 2 968  $\text{cm}^{-1}$  处为其侧链甲基的吸收峰. 图 2(b) 中 HP- $\beta$ -CD 分别在 3 415  $\text{cm}^{-1}$  和 2 930  $\text{cm}^{-1}$  处可见游离和缔合羟基的伸缩振动峰, 2 869 ~ 2 968  $\text{cm}^{-1}$  处为其侧链甲基的吸收峰. 图 2(c) 中物理混合物的红外图谱叠加了衰减的 CA 特征峰和 HP- $\beta$ -CD 的特征峰, 表明混合物为机械混合. 图 2(d) 中醋酸可的松在 2 968  $\text{cm}^{-1}$  处的  $-\text{CH}_3$  不对称伸缩振动峰和 2 896  $\text{cm}^{-1}$  处的  $-\text{CH}_3$  不对称伸缩振动峰在包结后消失, 只表现为 2 934  $\text{cm}^{-1}$  处左右的峰, 这是 HP- $\beta$ -CD 中  $-\text{CH}_2$  的反对称伸缩峰, 说明 CA 的两个  $-\text{CH}_3$  基团被包结. 1 614 ~ 1 705  $\text{cm}^{-1}$  处为羰基或酮基的吸收峰, 948 ~ 1 134  $\text{cm}^{-1}$  处为甾体环振动的吸收峰, 包结后甾体环振动消失, 表明产生了屏蔽作用, 证明包结物形成. 包结物图谱中也未出现新的吸收峰, 表明包结物中无新的化学键产生, 它们之间只是分子间力或氢键相互

作用.

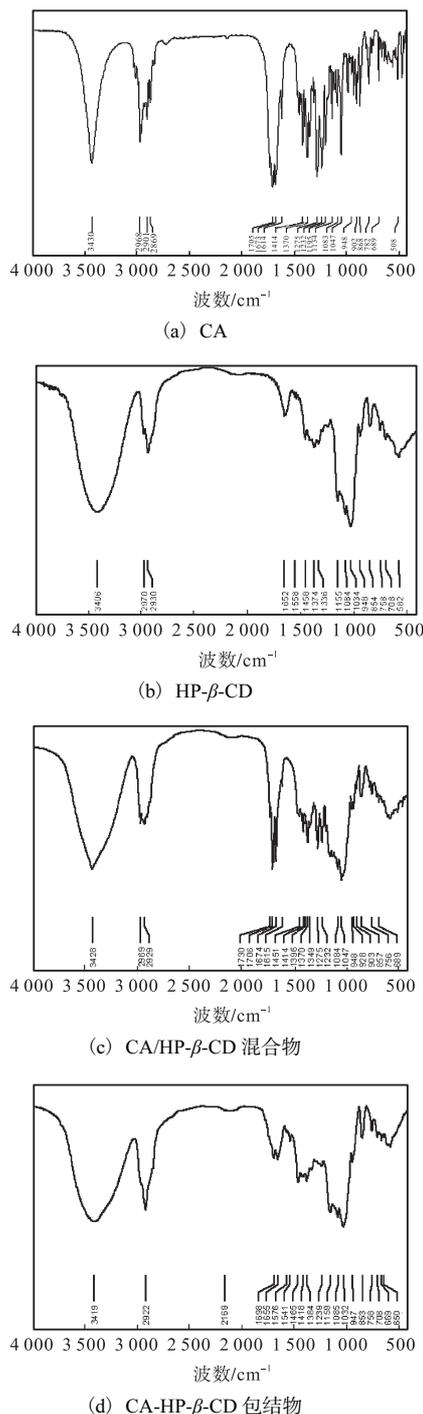


图2 CA-HP- $\beta$ -CD 包结物的红外光谱图

Fig.2 FTIR spectra of CA-HP- $\beta$ -CD inclusion complexes

## 3 结 论

不同的包结物制备方法所得到的包结物的包结率和含量有所差异, 其中冷冻干燥法的包结率和包结效果较好. HP- $\beta$ -CD 的加入对 CA 溶解度的提高 (下转第 25 页)