



β -环糊精对阿克他利的包合作用

张雯雯, 戴玉杰, 高伟, 朱凌云
(天津科技大学生物工程学院, 天津 300457)

摘要: 考察了 β -环糊精 (β -CD) 对阿克他利 (Actarit, 简称 Acta) 的包合作用. 应用旋光度法确定包合比例为 1 : 1; 相溶解度法表明, 随着 β -CD 浓度的增大, 阿克他利的溶解度随之增加; 比较包合物的不同制备方法发现, 饱和水溶液法收率和载药量最高, 并用饱和水溶液法制备了 Acta- β -CD 包合物, 同时, 采用红外光谱和差示扫描量热法对其性质进行了表征.

关键词: 阿克他利; β -环糊精; 包合物; 旋光度法; 相溶解度法

中图分类号: R944.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-6510 (2008) 01-0021-04

Inclusion Effect of Actarit with β -Cyclodextrin

ZHANG Wen-wen, DAI Yu-jie, GAO Wei, ZHU Ling-yun

(College of Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: The inclusion effect of actarit with β -cyclodextrin was studied. The inclusion ratio of actarit to β -cyclodextrin was 1 : 1 according to the optical activity. The result from phase solubility method indicated that the apparent solubility of actarit is enhanced with the increase of β -cyclodextrin concentration. Different preparation methods are compared and it is found that the output and drug loading percent from the method of saturated aqueous solution are the highest. The inclusion complex is prepared by saturated aqueous solution method and characterized with infrared spectra (FTIR) and differential scanning calorimeter (DSC).

Keywords: actarit; β -cyclodextrin; inclusion complex; optical activity method; phase solubility method

阿克他利 (Actarit, 简称 Acta) 即对乙酰氨基苯乙酸, 是日本三菱化成工业公司及日本新药公司开发的抗风湿药^[1], 已经于 1994 年在日本上市^[2], 对迟缓型过敏反应有抑制作用, 可通过降低血清中一氧化氮的浓度, 从而改善类风湿关节炎 (RA) 的早期症状^[3], 主要用于 RA 的治疗. 但由于 Acta 水溶性较差, 临床上的应用受到了限制, 且临床使用中的主要不良反应有胃部不适、胃烧灼感、厌食、恶心、胃痛、腹胀、便秘等消化系统反应^[4]. β -环糊精 (β -CD) 是由 7 个吡喃葡萄糖单元以 α -1, 4 糖苷键相结合而成的环状低聚糖, 整个分子成截顶圆锥状花环. β -CD 以其特殊的“内疏水、外亲水”的分子结构与许多客体分子形成包结配合物, 是高效、低毒、安全有效的

药物增溶剂, 它可以增加药物溶解度, 控制药物释放, 增强药物疗效, 降低药物不良反应^[5]. 有关 β -CD 与 Acta 的固体包结配合物, 国内外还未见有文献报道. 本文用旋光度增量法^[6]对 Acta- β -CD 包合比进行了确定, 筛选了制备方法, 制备了包合物, 并对其性质进行了表征.

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

Acta, 北京同庆普天科技发展有限公司; β -CD, 北京奥博星生物技术责任有限公司; 其他试剂均为分析纯.

收稿日期: 2007-06-29; 修回日期: 2007-10-11

基金项目: 天津科技大学自然科学基金资助项目 (20050205)

作者简介: 张雯雯 (1982—), 女, 天津人, 硕士研究生.

UV-1240 型紫外可见分光光度计,日本岛津公司;WZZ-2B 型自动旋光仪,上海精密科学仪器有限公司;KQ3200DE 型数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;DF-101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器,上海东玺制冷仪器设备有限公司;VECTOR22 型傅里叶变换红外光谱仪,德国 Bruker 公司;DSC141 型差示扫描量热仪,法国 SETARAM 公司.

1.2 实验方法

1.2.1 旋光度测定

精密称取 β -CD 2.84 g 和 Acta 0.48 g, 分别配制 $0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ β -CD 水溶液和 $0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Acta 乙醇溶液. 保持 β -CD 和 Acta 总浓度不变, 充分混合不同体积比例的溶液, 使两者摩尔比递变, 于恒定温度 25°C 测定其旋光度.

1.2.2 Acta 的含量测定

(1) 测定波长的选择: Acta 在 245 nm 处有最大紫外吸收, 而在此波长下 β -CD 无吸收, 选择 245 nm 作为紫外检测波长测定样品或溶液中 Acta 的含量.

(2) 标准曲线的建立: 取干燥至恒重的 Acta 对照品 11.5 mg , 精密称定, 置于 100 mL 量瓶中, 溶于体积分数为 80% 乙醇中, 并稀释至刻度, 摇匀作为标准储备液备用. 分别精密量取储备液 $0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 \text{ mL}$ 置 25 mL 量瓶中, 加体积分数为 80% 的乙醇至刻度, 在最大吸收波长 (245 nm) 处测定吸光度. 以吸光度 (A) 对浓度 (C) 进行线性回归, 得回归方程为: $A=0.0489C - 0.0168$, $R=0.9999$.

1.2.3 Acta 表观溶解度的测定^[7,8]

精密配置一系列不同浓度的 β -CD 水溶液, 分别吸取 10 mL 置 25 mL 量瓶中, 加入过量的 Acta 粉约 200 mg 至上述溶液中, 密塞, 超声 5 min , 固定量瓶于 $25^\circ\text{C}, 37^\circ\text{C}, 45^\circ\text{C}$ 恒温振荡器中, 调整振荡频率为 $100 \text{ 次}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡 24 h , 至溶解达到平衡后, 取上清液用 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤, 取一定量滤液经适当倍数稀释后在 245 nm 处测定吸光度, 由标准曲线及稀释倍数计算得其溶解度.

1.2.4 包合物的制备

(1) 研磨法: 称取 Acta 1.36 g 加 80% 乙醇溶解; 另取 β -CD 8 g , 加 10 mL 蒸馏水, 于研钵中研磨 10 min , 加入 Acta 乙醇液, 继续研磨 30 min , 置冰箱中冷藏过夜, 抽滤, 再分别用水和乙醇洗涤, 沉淀于 40°C 真空干燥后研细, 过 80 目筛, 即得.

(2) 超声法: 称取 β -CD 8 g , 加 100 mL 蒸馏水

加热溶解, 冷却至 40°C , 另取 Acta 1.36 g 加 80% 乙醇溶解, 缓慢滴加到 β -CD 溶液中, 超声 30 min , 冷藏过夜, 抽滤, 洗涤, 沉淀于 40°C 真空干燥后研细, 过 80 目筛, 即得.

(3) 饱和水溶液法: 称取 β -CD 8 g , 加一定量的水使之饱和, 加热溶解, 冷却到 40°C , 置于恒温磁力搅拌器上, 另取 Acta 1.36 g , 用 80% 乙醇溶解, 缓慢加入到 β -CD 溶液中, 40°C 恒温搅拌 3 h , 冷藏过夜, 抽滤, 洗涤, 收集沉淀物, 真空干燥后研细, 过 80 目筛, 即得.

1.2.5 包合物收率和载药量计算

根据不同制备方法所得包合物中 Acta 的含量, 代入下式计算包合物收率和载药量:

$$\text{包合物收率} = \frac{\text{包合物收得量}}{\beta\text{-CD投入量} + \text{Acta投入量}} \times 100\%$$

$$\text{载药量} = \frac{\text{包合物中Acta含量}}{\text{包合物收得量}} \times 100\%$$

1.2.6 红外光谱分析 (FTIR)

分别对 Acta、 β -CD、Acta/ β -CD 物理混合物及包合物进行傅里叶红外扫描, 测定条件为 KBr 压片, 扫描范围 $4000\sim 400 \text{ cm}^{-1}$.

1.2.7 差示扫描量热分析 (DSC)

将 Acta、 β -CD、Acta/ β -CD 物理混合物及包合物用 DSC 分析仪进行差示扫描热分析, 测定条件为以空铝坩埚为参比物, 升温速率 $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, 扫描范围 $30\sim 300^\circ\text{C}$, 测定气氛为 N_2 .

2 结果与讨论

2.1 包合比的确定

包合比是指包合物中 β -CD 与 Acta 的摩尔比 $n_{\beta\text{-CD}}/n_{\text{Acta}}$. 本文采用旋光度法测定^[6].

β -CD 为高旋光性物质, Acta 旋光度为零, 当两者形成包合物后, 分子的空间形象及分子对称性发生了较大的改变, 因此, β -CD 及组成不同的包合物应该有各自的旋光特征.

当配置不同摩尔比例的 β -CD 和 Acta 溶液并在液相条件下反应后, 由于 Acta 自身无旋光性, 所以, 反应液的旋光度应仅与 β -CD 的浓度相关而与 Acta 的浓度无关. 倘若溶液的旋光度与加入的 β -CD 浓度成非线性关系, 则该系列溶液的旋光度又与所生成的包合物浓度有关. 旋光度增量 ($\Delta\alpha$) 应为包合物的形成而引起的差值, $\Delta\alpha$ 越大, 说明形成的包合物越多. 由实验数据可知, 当 Acta 与 β -CD 的比例为 $1:1$

时, $\Delta\alpha$ 最大, 所以确定包合物的包合比为 1 : 1, 结果 如表 1 所示.

表 1 不同 $n_{\beta\text{-CD}}/n_{\text{Acta}}$ 旋光度变化

Tab.1 Optical activity changes with molar ratio of β -CD to Acta

编号	β -CD 液/mL	Acta 乙醇液/mL	$n_{\beta\text{-CD}}/n_{\text{Acta}}$	α_{H}	α_{I}	$\Delta\alpha$
1	15	35	1 : 2.3	+0.495	+0.485	0.010
2	20	30	1 : 1.5	+0.680	+0.665	0.015
3	25	25	1 : 1	+0.830	+0.810	0.020
4	30	20	1.5 : 1	+1.005	+0.990	0.015
5	35	15	2.3 : 1	+1.105	+1.100	0.005

注: α_{H} 为 β -CD 溶液旋光度, α_{I} 为 Acta 和 β -CD 混合液的旋光度.

2.2 β -CD 浓度对 Acta 表观溶解度的影响

以 β -CD 浓度为横坐标, Acta 溶解度为纵坐标, 绘制不同温度的相溶解曲线, 见图 1.

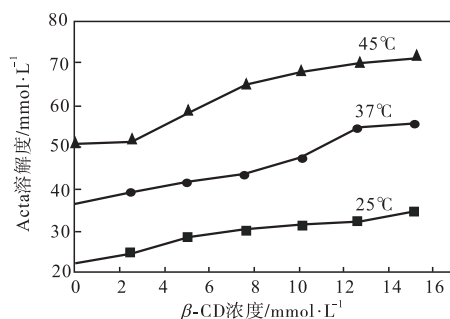


图 1 β -CD 在不同温度下对 Acta 溶解度的影响

Fig. 1 Effect of β -CD on the solubility of Acta at different temperatures

由图 1 可见, 在不同温度下, Acta 的溶解度随 β -CD 浓度的增加而增加, 说明 β -CD 的加入对 Acta 溶解度的提高有促进作用, 且二者呈良好的线性关系, 符合 T. Higuchi^[9] 确立的相溶解度曲线的 A_L 型, 再次证明了 β -CD 对 Acta 以 1 : 1 摩尔比进行包合.

2.3 包合物制备方法的比较

不同制备方法制备的包合物的收率和载药量见表 2. 由表 2 可见, 饱和水溶液法无论从收率和载药量上均高于其他方法, 因此, 采用饱和水溶液法制备包合物.

表 2 包合物的收率和载药量

Tab. 2 Output and drug loading percent of the inclusion complex

制备方法	收率/%	载药量/%
研磨法	69.4	8.87
超声法	66.2	9.75
饱和水溶液法	74.8	11.9

2.4 红外光谱分析

Acta、 β -CD、Acta/ β -CD 物理混合物和 Acta 的 β -

CD 包合物的红外光谱见图 2.

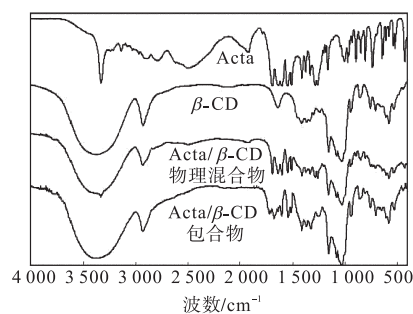


图 2 不同样品的红外光谱图

Fig. 2 FTIR spectra of the different samples

从图中可以看出, Acta 在 3 331, 2 787, 1 695 和 1 602 cm^{-1} 处分别有 $-\text{NH}$ 的伸缩振动、 $-\text{CH}_3$ 的对称伸缩振动、 $-\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动强吸收峰和苯环的骨架振动吸收峰, 在 2 505 cm^{-1} 处还有一宽峰, 是由于羧酸分子间形成氢键, $-\text{OH}$ 的吸收位向低波数方向移动形成的. β -CD 在 945, 579, 480 cm^{-1} 处的吸收为糖环骨架的特征吸收, 1 645 cm^{-1} 处的吸收为 β -CD 的特征吸收, 3 376 cm^{-1} 处的宽、强吸收峰对应为羟基伸缩振动吸收峰. 混合物的红外光谱只是 β -CD 与 Acta 红外光谱的简单叠加, 说明 β -CD 与 Acta 只是简单的机械混合, 并未发生作用; 而包合物的图谱中未见 Acta 的特征吸收峰, 表明 β -CD 已经包合了 Acta, 产生了屏蔽作用, 证明包合物形成. 包合物图谱中也未出现新的吸收峰, 表明包合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.

2.5 差示扫描量热分析

Acta、 β -CD、Acta/ β -CD 物理混合物及包合物的 DSC 的扫描曲线见图 3.

Acta 在 166.92 $^{\circ}\text{C}$ 时出现一吸热峰, 该峰为 Acta 的熔点; β -CD 在 94.04 $^{\circ}\text{C}$ 和 218.13 $^{\circ}\text{C}$ 出现吸热峰, 为其晶型转变峰, β -CD 的熔点大约在 308 $^{\circ}\text{C}$ ^[10], 所以在这一范围内未见其熔点峰. 物理混合物图谱为 Acta 和 β -CD 图谱的简单叠加, 表明混合物为机械混

合;而包合物完全形成一个新的曲线,吸热峰移至 108.08 °C,而对应的 Acta 的吸热峰消失,证明包合物已形成。

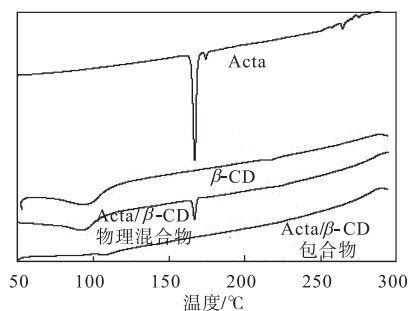


图3 不同样品的 DSC 谱图

Fig. 3 DSC curves of the different samples

3 结 论

由不同温度下 β -CD 对 Acta 的增溶作用可以看出,Acta 的溶解度随 β -CD 浓度的增加而增加,说明 β -CD 的加入对 Acta 溶解度的提高有促进作用。旋光度法表明溶液中 Acta 和 β -CD 的包合比为 1 : 1。经过实验筛选,从收率和载药量两方面综合考虑,采用饱和水溶液法制备 Acta- β -CD 固体包合物较好,经红外光谱法和差示扫描量热法验证了 Acta 和 β -CD 包合物的形成。

参 考 文 献:

[1] Sakurai T, Iso T, Inoue H, et al. Effect of actarit combin-

ation therapy in patients with active rheumatoid arthritis resistant to gold agents [J]. Ryumachi, 2001, 41 (3): 635—645.

- [2] 贺俊峰, 恽榴红. 化学合成免疫调节剂研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2005, 14 (5): 547—550.
- [3] Nakamura H, Ueki Y, Sakito S, et al. Clinical effects of actarit in rheumatoid arthritis: improvement of early disease activity mediated by reduction of serum concentrations of nitric oxide [J]. Clin Exp Rheumatol, 2000, 18 (4): 445—450.
- [4] 朱琦, 周嘉陵, 何东仪. 阿克他利治疗 68 例类风湿关节炎病人的随机双盲对照试验 [J]. 中国新药与临床杂志, 2004, 23 (5): 276—278.
- [5] Susana S, Paulo R, Martyn P, et al. Interactions of omeprazole and precursors with β -cyclodextrin host molecules [J]. Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 2003, 47: 47—52.
- [6] 武雪芬, 白雁, 张广照. 旋光度法测定 β -环糊精-双氯芬酸钠的包合比 [J]. 中国药学杂志, 2001, 36 (8): 548—550.
- [7] Paola M, Faucci M T, Gian P B. The influences of polyvinylpyrrolidone on naproxen complexation with hydroxypropyl- β -cyclodextrin [J]. Eur J Pharm Sci, 2001, 13 (2): 187—190.
- [8] 赵立平, 曹德英, 冯香萍, 等. 盐酸西替利嗪- β -环糊精包合物的研制 [J]. 华西药理学杂志, 2004, 19 (1): 30—34.
- [9] Higuchi T, Connors K A. Phase solubility techniques [J]. Adv Anal Instr, 1965, 4: 117.
- [10] 童岩, 姬小明, 郑纯宁, 等. 美多心安- β -环糊精包合物的鉴定 [J]. 河南科学, 2005, 23 (3): 359—361.

作者署名须知

为使作者署名规范化, 现将《中华人民共和国国家标准》(GB7713—87)中的有关规定节录于下:

“在封面和题名页上, 或学术论文的正文前署名的个人作者, 只限于那些对于选定研究课题和制订研究方案、直接参加全部或主要部分研究工作并作出主要贡献、以及参加撰写论文并能对内容负责的人, 按其贡献大小排列名次。至于参加部分工作的合作者、按研究计划分工负责具体小项的工作者、某一项测试的承担者、接受委托进行分析检验和观察的辅助人员等, 均不列入。这些人可以作为参加工作的人员一一列入致谢部分, 或排于脚注”。

本刊编辑部