



β -环糊精与化合物 RSA 包合物的制备及表征

肖克胜, 王 敏

(天津市工业微生物重点实验室, 天津科技大学生物工程学院, 天津 300457)

摘要: 将 17 α -羟基孕甾-4-烯-3, 20-二酮-21-醋酸酯 (RSA) 和 β -环糊精 (β -CD) 经超声波处理 40 min, 再于 120 r/min, 28 °C 振荡处理 12 h, 以制取包合物. 极性差异、FTIR、TG 和 DSC 分析证实了 β -CD 和 RSA 通过以上实验条件形成了 β -CD-RSA 包合物, 而且 β -CD-RSA 包合物的紫外吸收特征与化合物 RSA 一致.

关键词: β -环糊精; 包合物; 化合物 RSA

中图分类号: R914 文献标识码: A 文章编号: 1672-6510 (2007) 04-0011-04

Preparation and Characterization of β -CD-RSA Inclusion Complex

XIAO Ke-sheng, WANG Min

(Tianjin Key Laboratory of Industrial Microbiology, College of Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: The β -CD-RSA inclusion complex was prepared by ultrasonic treat for 40min, following shaking at 120r/min, 28 °C for 12h. Using polarity difference, FTIR, TG and DSC analysis could substantiate the formation of β -CD-RSA inclusion complex. And the ultraviolet spectra of β -CD-RSA inclusion complex is consistent with RSA.

Keywords: β -CD; Inclusion complex; Compound RSA

甾体化合物是一类含有环戊烷多氢菲核的化合物, 甾体的结构决定了甾体分子在水相易彼此作用而聚集, 限制了甾体分子与生物细胞的有效接触, 制约甾体生物转化率的提高. β -环糊精 (β -CD) 是 7 个吡喃葡萄糖单元组成的环状化合物, 具有环外亲水、环内疏水性. 这一特殊结构使得其能作为主体包结疏水性甾体, 提高甾体的溶解度. β -CD 提高甾体生物转化率近年有一定报道, 在皱绒青霉 (*Penicillium raistrickii*) 进行的 15 α -羟基化反应中, 采用添加 16 g/L 的 β -CD 使底物 13-乙基-4-孕甾-3, 17-二酮的溶解度和生物稳定性分别比添加 2% 甲醇的提高了 18 倍^[1]. Chincholkar 等^[2]研究了在 β -CD 存在时新月弯孢霉 (*Currularia lunata*) VKMF-644 对化合物 RS 的 11 β -羟化反应, 当化合物 17 α -羟基孕甾-4-烯-3, 20-二酮 (RS) 与 β -CD 摩尔比为 1.0 : 0.6 时, 氢化可的松的产率由 40% ~ 50% 提高到 70% ~ 75% (底物质量浓度为 4 g/L). Hesselink^[3]等报道, β -CD 与

底物的最适摩尔比为 2 : 1, 会导致分枝杆菌 (*Mycobacterium sp.*) NRRL-B3683 对雄甾-4-烯-3-酮 (AD) 侧链降解活性提高 1.7 ~ 3.0 倍, AD 的收率从转化 175 h 后的 35% ~ 40% 提高到转化 120 h 的 80% 以上. 以上研究均局限于转化工艺的研究. β -环糊精还可广泛用于药物的包结, 提高药物的生物利用度. 张玉叶, 张晓乐^[5]研究了酮康唑 β -环糊精包合物的制备; 袁曦, 洪清, 林巧舟等研究了氯化红霉素- β -环糊精包合物的制备^[6]. β -环糊精包合物的表征方法也有不少研究. 李俊芬, 许志成, 董川应用红外光谱分析了隐丹参酮与环糊精包结物的形成^[7]; 董川, 杨频^[8]应用红外光谱及热重分析等研究了多种环糊精包结物的形成.

本文以 17 α -羟基孕甾-4-烯-3, 20-二酮-21-醋酸酯 (RSA) 为客体, 采用超声法^[4], β -CD 包结, 制备得到了 β -CD-RSA 包合物, 为甾体化合物生物转化机理和技术的研究提供理论基础.

收稿日期: 2007-03-28

基金项目: 天津市应用基础研究重点基金资助项目 (043802511)

作者简介: 肖克胜 (1984—), 男, 安徽人, 硕士研究生.

1 材料与方法

1.1 材料

化合物 RSA, 天津市津津药业有限公司; β -CD, 天津大茂化学试剂厂。

SP-2102UV 紫外分光光度计, 上海光谱仪器有限公司; LD5-10 型高速离心机, 北京医用离心机厂; Bruker Vector 22 傅里叶变换红外光谱仪, Bruker Optics 公司; DSC141 型分析仪, 美国 SETARAM 公司; STA409 热重分析仪, 德国 Netzsch 公司。

1.2 β -CD-RSA 包合物的制备

采用超声法制备。精密称取 1.80 g 的 β -CD 溶于 100 mL 蒸馏水中, 室温下用超声波振荡, 使之成为饱和溶液; 另称取化合物 RSA 1.30 g, 用 10 mL 乙醇溶解, 于超声波振荡下将其缓缓滴入 β -CD 饱和溶液中, 超声振荡处理 40 min 后置于 120 r/min, 28℃ 摇床振荡 12 h, 抽滤, 固体物用氯仿洗去未包结的 RSA, 经冷冻真空干燥, 制得 β -CD 与 RSA 包合物的固体粉末。

$$\text{得率} = \frac{\text{包结物质量} \times \text{包结物中 RSA 的质量分数}}{\text{RSA 的初始投入质量}}$$

1.3 β -CD-RSA 包合物的鉴定

1.3.1 极性差异分析

取一定量已制备的 β -CD-RSA 包合物, 加入一定量的氯仿, 用超声波溶解 30 min, 过滤, 将不溶于氯仿的沉淀烘干成粉末状, 粉末状物质再用一定量的蒸馏水洗涤, 由于包合物和 RSA 及 β -CD 极性不同, 则不溶于蒸馏水的沉淀即为 β -CD-RSA 包合物。

1.3.2 红外光谱分析

取待测样品 0.50 ~ 2.0 mg 于玛瑙研钵中, 加入 100 ~ 200 mg 干燥的 KBr, 混合均匀后研成粉末, 加入压膜内, 制成直径 13 mm 的薄片, 然后将此薄片放入 Bruker Vector 22 傅里叶变换红外光谱仪光束中测定 (量程 400 ~ 4 000 cm^{-1})。

1.3.3 热重分析 (TG)

包合物固体粉末, 采用 STA409 热重分析仪, 升温速率 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, 检测温度 40 ~ 400 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.3.4 差热分析 (DSC)

包合物固体粉末, 采用 DSC141 型分析仪, 铂坩埚, 升温速率 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, 检测温度 40 ~ 400 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.4 β -CD 对化合物 RSA 的紫外光谱的测定

1.4.1 β -CD 对化合物 RSA 最大吸收波长的测定

室温下配制化合物 RSA 的饱和水溶液, β -CD-

RSA 包合物的水溶液, 在波长 200 ~ 350 nm 范围内进行紫外扫描。

1.4.2 不同浓度的 β -CD 对化合物 RSA 紫外吸光值的测定

在化合物 RSA 的饱和水溶液中, 加入不同浓度的 β -CD, 加热至微沸, 超声振荡 40 min 后置于 120 r/min, 28 $^{\circ}\text{C}$ 摇床上振荡 12 h。于 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 测定 A_{246} 。

2 结果与讨论

2.1 β -CD-RSA 包合物的得率

制得包合物粉末后, 称量其质量, 经过计算得到包合物的得率约为 30%。

2.2 β -CD-RSA 包合物的鉴定与表征

2.2.1 极性差异分析

β -CD 溶于水、RSA 易溶于氯仿, 而 β -CD-RSA 在水和氯仿中都不易溶解, 利用三者的极性差异来证明 β -CD 和 RSA 是否形成包合物^[9]。结果表明, 按照 1.2 中的方法所制得的固体粉末为 β -CD-RSA 包合物。

2.2.2 β -CD-RSA 包合物的红外光谱

β -CD 与化合物 RSA 有各自的基团振动频率。 β -CD 与化合物 RSA 形成包合物, 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 β -CD 与化合物 RSA 是否形成包合物及其包合方式。图 1 分别是 β -CD、RSA、 β -CD-RSA 包合物和 β -CD 与 RSA 物理混合物的红外光谱图。

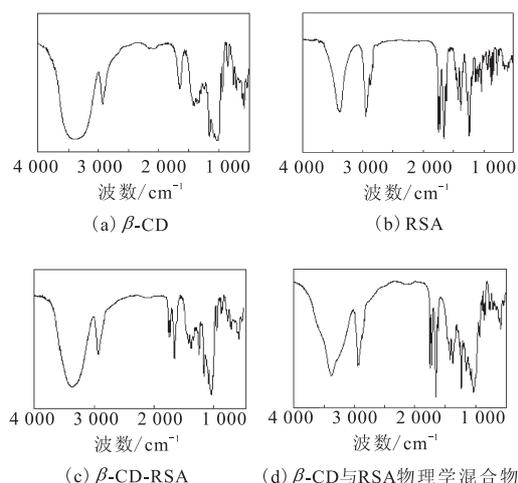


图 1 不同物质的红外光谱图

Fig. 1 FTIR spectra of different substance

图 1 (c) 中波数为 2 872 cm^{-1} 的 $-\text{CH}_3$ 反对称伸缩振动减小, 波数为 1 613 cm^{-1} 与 $\text{C}=\text{O}$ 共轭的 $\text{C}=\text{C}$

伸缩振动吸收峰减小,说明 RSA 甙核 A 环进入了 β -CD 的空腔.

2.2.3 热重及差热分析

图 2 是 β -CD、RSA、 β -CD-RSA 包合物的 TG-DSC 图谱.

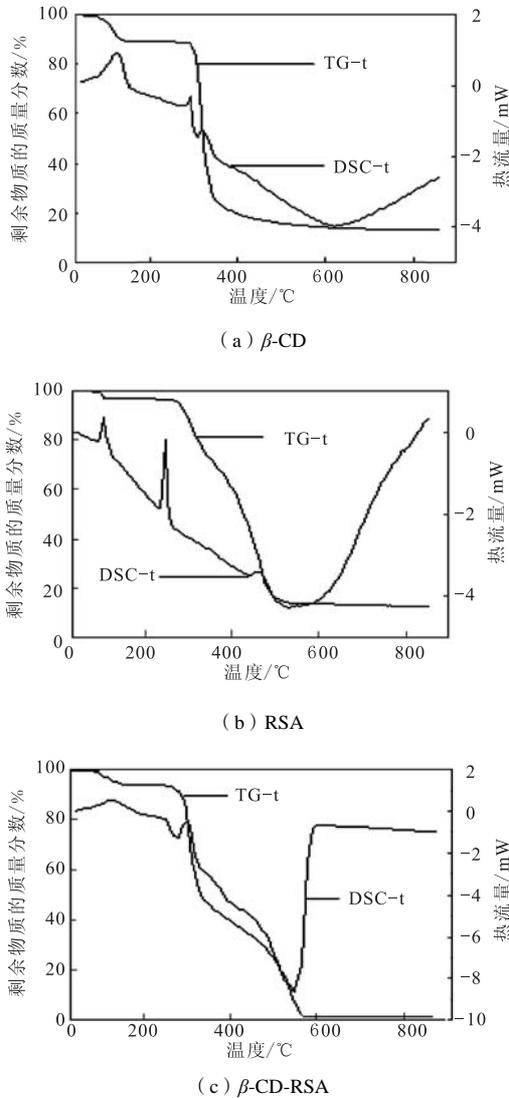


图 2 不同物质的 TG-DSC 图

Fig. 2 TG-DSC traces of different substance

图 2 (a) β -CD 的 DSC 曲线中 128.7°C 有吸热峰,这是 β -CD 腔内水分子的释放峰,对应的 TG 曲线减少 11.04%,图 2 (c) 则无此峰且 β -CD 在 278.1 ~ 620.9°C 失重 75.96%,295.3°C、324.7°C 为 β -CD 的吸热峰,这是 β -CD 脱水形成的.图 2 (b) 中化合物 RSA 在 100.5°C 有一吸热峰,失重 3.23%,这是与 RSA 结合水分子的释放峰;242.7°C 出现一尖锐的吸热峰,伴随开始失重,这是 RSA 分子间或内的脱水吸热峰.由图 2 (c) 可以得出:化合物 RSA 的 242.7°C 吸热峰消失,且不失重,说明它已被 β -CD 全

部包结; β -CD 腔内水分子的释放峰降低到 117.8°C,说明水分子与 β -CD 腔内的结合作用减弱,这是由于 RSA 占据了 β -CD 的空腔,减少了水分子与 β -CD 腔内的结合作用;RSA 进入 β -CD 的空腔,游离 RSA 分子减少,与水分子结合减少,因此,100.5°C 的 RSA 与水分子的吸热峰消失.

2.3 β -CD-RSA 包合物的紫外吸收光谱表征

2.3.1 β -CD 对化合物 RSA 最大吸收波长的影响

图 3 是不同物质的紫外光谱图.图 3 显示,化合物 RSA 的最大吸收波长为 246 nm (图 3 (a)), β -CD-RSA 包合物的最大吸收波长也在 246 nm (图 3 (b)).可见 β -CD 与化合物 RSA 形成包合物时,并没有改变化合物 RSA 最大吸收波长.这样,在利用 β -CD-RSA 包结物投料进行生物转化时, β -CD 的存在不影响底物 RSA 的高效液相色谱检测的波长.

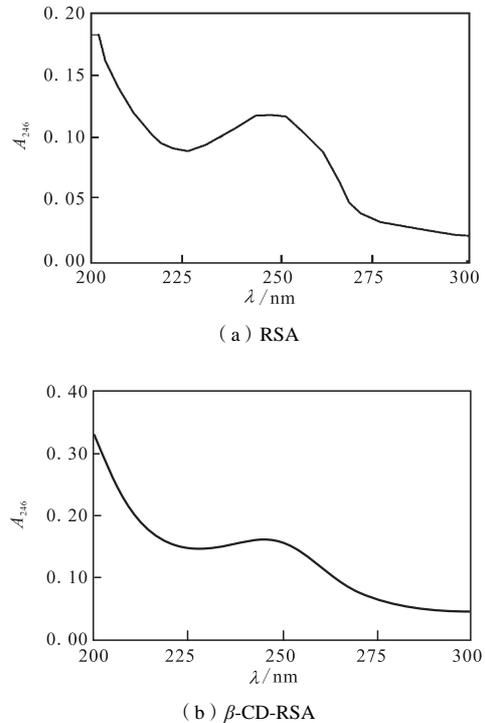


图 3 不同物质的紫外光谱图

Fig. 3 UV spectrum of different substance

2.3.2 不同浓度的 β -CD 对化合物 RSA 紫外吸光值的影响

表 1 是在化合物 RSA 的饱和水溶液中,加入不同浓度的 β -CD,测定 A_{246} .从实验数据可以看出,随着 β -CD 加入量的升高,其在 246 nm 下的吸光值却保持相对一致,充分表明 β -CD 不影响化合物 RSA 的紫外吸光值.故在利用 β -CD-RSA 包结物投料进行生物转化时, β -CD 的存在同样不影响底物 RSA 的高效液相色谱检测的准确性.

表1 β -CD对化合物RSA的 A_{246} 的影响Tab. 1 Effect of β -CD on A_{246} of RSA

实验号	RSA 饱和 水溶液	β -CD		
		20 mg/L	40 mg/L	60 mg/L
1	0.110	0.109	0.112	0.110
2	0.108	0.111	0.110	0.109
3	0.110	0.113	0.110	0.113
4	0.109	0.108	0.113	0.110
平均值	0.109	0.110	0.111	0.111

3 结 论

化合物RSA和 β -CD饱和溶液经超声波处理40 min, 在120 r/min, 28℃振荡处理12 h, 形成包合物。极性差异、FTIR、TG和DSC分析证实了 β -CD-RSA包合物的形成, 而且 β -CD-RSA包合物的紫外光谱与化合物RSA一致。

参 考 文 献:

[1] Schlosser D, Irrgang S, Schmauder H P. Steroid hydroxylation with free and immobilized cells of *Penicillium raistrickii* in the presence of β -cyclodextrin[J]. Appl

Microbiol Biotechnol, 1993, 39: 16—20.

- [2] Chincholkar S B, Sukhodolskaya G V, Baklashova T G, et al. Peculiarities of the 11 β -hydroxylation of steroid compound by the mycelium of *Curvularia lunata* VFM F-644 in the presence of β -cyclodextrins[J]. Prikl Biokhim Mikrobiol, 1992, 28 (5): 685—693.
- [3] Hesselink P G M, Vliet S V, Vries H, et al. Optimization of steroid side chain cleavage by *Mycobacterium sp.* in the presence of cyclodextrins[J]. Enzyme Microb Technol, 1989, 11 (7): 398—404.
- [4] 姜立群, 翟所迪, 杨 丽, 等. 氢化可的松-羟丙基- β -环糊精包结物制备工艺的研究[J]. 中国新药杂志, 2003, 12 (10): 837.
- [5] 张玉叶, 张晓乐. 酮康唑- β -环糊精包合物的制备[J]. 中国药学杂志, 2001, 36 (10): 677—677.
- [6] 袁 曦, 洪 清, 林巧舟, 等. 氯化红霉素- β -环糊精包合物的制备[J]. 中国药学杂志, 2001, 36 (6): 389.
- [7] 李俊芬, 许志成, 董 川. 隐丹参酮与环糊精包结物的制备与光谱研究[J]. 分析科学学报, 2004, 20 (3): 229—232.
- [8] 董 川, 杨 频. 环糊精包结物的形成及光谱表征[J]. 光谱实验室, 2000, 17 (3): 247—256.
- [9] 文宗河, 李 萍, 王建华. 丹皮酚- β -环糊精包合物的制备研究[J]. 中国药业, 2005, 14 (4): 51.

科技论文的规范表达

引 言

论文的引言又叫绪论, 写引言的目的是向读者交代本项研究的来龙去脉, 其作用在于唤起读者的注意, 使读者对论文先有一个总体的了解。

引言中要写的内容大致有如下几项:

(1) 研究的理由、目的和背景。包括问题的提出, 研究对象及其基本特征, 前人对这一问题做了哪些工作, 存在哪些不足; 希望解决什么问题, 该问题的解决有什么作用和意义; 研究工作的背景是什么。

如果要回答的问题比较多, 则只能采取简述的方法, 通常用一两句话即把某一问题交待清楚。

(2) 理论依据、实验基础和研究方法。如果是沿用已有的理论、原理和方法, 只需提及一笔, 或注出有关的文献。如果要引出新的概念或术语, 则应加以定义或阐明。

(3) 预期的结果及其地位、作用和意义, 要写得自然、概括、简洁和确切。