

薄荷脑-羟丙基- β -环糊精包合物的拉曼光谱分析陈勤¹, 郭鹏²

(1. 中国地质大学医院, 武汉 430074 2. 病毒学国家重点实验室, 武汉大学药学院, 武汉 430072)

摘要 目的: 使用拉曼光谱分析鉴定羟丙基- β -环糊精对薄荷脑包合后的产物, 确定薄荷脑-羟丙基- β -环糊精包合物形成并表述其分子结构信息。方法: 采用 RENISHAW RM-1000型激光共聚焦拉曼光谱仪和 RENISHAW inVia Raman Microscope显微拉曼光谱仪分别采集了薄荷脑、羟丙基- β -环糊精以及薄荷脑-羟丙基- β -环糊精包合物不同配比时制备的包合物的拉曼光谱并进行对照分析。结果: 将薄荷脑与它的羟丙基- β -环糊精包合物的拉曼光谱互相对照, 薄荷脑的许多特征峰在包合物中消失了, 而另一些特征峰分别向高波数或低波数方向发生了位移; 将羟丙基- β -环糊精与薄荷脑包合物的拉曼光谱相比较, 可以看出虽然大多数峰的形状、数量和强度都很相似, 但仍有明显差异。结论: 拉曼光谱表征说明薄荷脑与羟丙基- β -环糊精分子间相互作用形成氢键, 使薄荷脑嵌入羟丙基- β -环糊精的疏水空腔从而形成了包合物, 增加了薄荷脑的极性从而增强了它的溶解度和吸收速率。

关键词: 薄荷脑; 羟丙基- β -环糊精; 包合物; 拉曼光谱

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)09-1528-05

Study on the inclusion compound of menthol with hydroxypropyl- β -cyclodextrin by Raman spectroscopyCHEN Q in¹, GUO Peng²

(1. Affiliated University Hospital, China University of Geosciences, Wuhan 430074, China)

(2. Key Laboratory of Virology, College of Pharmacy, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract Objective To identify the inclusion compound of menthol with hydroxypropyl- β -cyclodextrin in the solid state with Raman spectroscopy and to reveal the structural features **Methods** The Raman spectra of menthol, hydroxypropyl- β -cyclodextrin and the inclusion compound was obtained with RENISHAW RM-1000 laser confocal Raman spectrometer and RENISHAW inVia Raman Microscope **Results** To compare the Raman spectrum of menthol with the Raman spectrum of its inclusion compound, some marker bands of menthol disappeared in the Raman spectrum of the inclusion compound and other marker bands were shifted To compare the Raman spectrum of hydroxypropyl- β -cyclodextrin with the Raman spectrum of the inclusion compound, they have significant differences in spite of their similarity **Conclusion** The Raman spectra indicated that menthol stabilized by interaction with hydroxypropyl- β -cyclodextrin via hydrogen bonds and form the inclusion compound The dipolar character of the inclusion compound improves the solubility and the dissolution rate of menthol and thus its rate of absorption

Key words menthol, hydroxypropyl- β -cyclodextrin, inclusion compound, Raman spectroscopy

薄荷脑 (menthol), 属单环单萜化合物, 是一种白色条状或柱状结晶, 分子式 $C_{10}H_{20}O$, 相对分子质量 156 熔点 $42\sim 44\text{ }^{\circ}\text{C}$, 极易挥发, 难溶于水, 易溶于乙醇、精油、酯、含氯溶剂等。薄荷脑^[1]是 2005 年版中国药典已载入的中药。薄荷脑的毒副作用十分

少见, 即可内服, 又可外用, 临床应用广泛。但由于薄荷脑易挥发和升华, 且在水中溶解度小, 吸收差等原因影响了它的临床应用。尤其是制成水溶型制剂存在一定的困难。长期以来, 薄荷脑注射液使用乙醇为增溶剂, 对患者存在较强的刺激性, 且对乙醇过

敏的患者不能使用。基于这些因素,参考大量文献资料,本文考虑选用环糊精衍生物^[2,3]作为增溶剂以提高薄荷脑的水溶性,减少薄荷脑的挥发,增强药物的稳定性,提高药效,促进薄荷脑在临床上的进一步应用。

为了克服薄荷脑易挥发,难溶于水的缺点,采用羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)作为增溶剂对薄荷脑进行包合^[4,5],通过偏光显微境、差示扫描量热分析、气相色谱分析^[4]、红外光谱和拉曼光谱分析等分析技术从不同的角度研究了薄荷脑-羟丙基- β -环糊精包合物的形成过程。

红外光谱和拉曼光谱常用来表征药物及其包合物的分子结构,它们同属于分子振动光谱。它们相互结合,相互补充,可提供药物及其包合物完整的分子光谱信息,因而在药物分析和临床试验中常常采用。特别是拉曼光谱,无论样品是无定形粉末、结晶还是水溶液,它都可进行研究。已有不少作者采用 FT-IR 和 Raman 光谱研究过各种药物及其环糊精包合物^[6-9]。这些研究指出,在药物的包合物中,药物和环糊精之间可能产生宿主-客体分子间的相互作用,借助于氢键或电子间的作用药物客体分子可被嵌入环糊精宿主分子的疏水空腔中,从而形成包合物,而且这种偶极特性使包合物增加了溶解度和吸收速率,促使它更易释放、溶解。

本文将采用拉曼光谱方法对薄荷脑-羟丙基- β -环糊精包合物做进一步的研究和讨论,提供更完整的分子结构信息并对其结构做进一步的描述和表征。

1 仪器与材料

英国 RENISHAW RM-1000 型激光共聚焦拉曼光谱仪及 RENISHAW inVia Raman Microscope 显微拉曼光谱仪。

薄荷脑:上海新华香料厂,符合中国药典 2005 年版标准;羟丙基- β -环糊精:西安德立生物化工有限公司产品,符合企业标准;薄荷脑-羟丙基- β -环糊精包合物:按文献^[4,5]的方法自制;其他所用试剂均为分析纯。

2 拉曼光谱研究

2.1 氦离子激光器 514.5 nm 激发

采用 RENISHAW RM-1000 型激光共聚焦拉曼光谱仪,狭缝 50 μm , 514.5 nm 激光功率 2.5 mW 激发,物镜 $\times 50$ 目镜 $\times 10$ 扫描范围 300~4000 cm^{-1} , CCD 曝光时间 30 s,扫描次数 3 次的实验条

件,分别采集了薄荷脑、羟丙基- β -环糊精以及薄荷脑-羟丙基- β -环糊精包合物(inclusion compound)的拉曼光谱。

图 1 列出了用 514.5 nm 激光激发的薄荷脑、羟丙基- β -环糊精及薄荷脑-羟丙基- β -环糊精包合物的拉曼光谱。

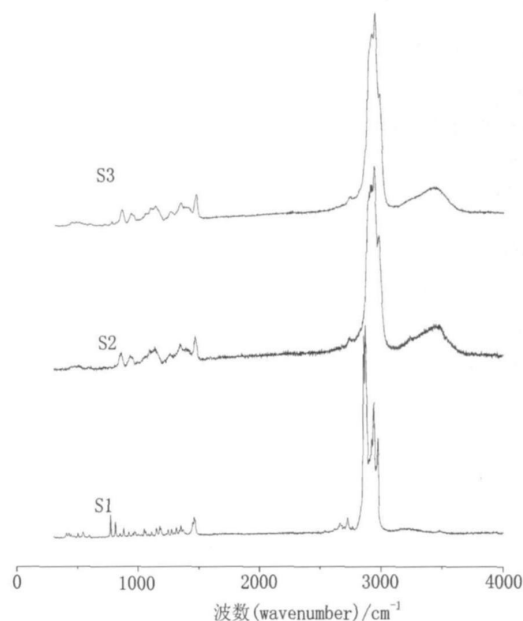


图 1 用 514.5 nm 激光激发的拉曼光谱

Fig 1 The 514.5 nm laser excitation of Raman spectroscopy

S1: 薄荷脑(menthol) S2: 羟丙基- β -环糊精(hydroxypropyl- β -cyclodextrin) S3: 包合物(inclusion compound)

将薄荷脑与它的羟丙基- β -环糊精包合物的拉曼光谱互相对照(见图 1 中 S1 和 S3),可以看出形成包合物后拉曼光谱特征发生了明显的变化。

薄荷脑的许多特征峰在包合物中消失了。如: 2861, 2853, 2766, 2662, 2617, 1447, 1367, 1349, 1312, 1270, 1245, 1176, 1147, 1107, 1060, 968, 878, 810, 542, 427, 408 cm^{-1} 。

而薄荷脑的另一些特征峰分别向高波数方向发生了位移,如 2969 $\text{cm}^{-1} \rightarrow$ 2977 cm^{-1} , 2724 $\text{cm}^{-1} \rightarrow$ 2733 cm^{-1} , 1459 $\text{cm}^{-1} \rightarrow$ 1467 cm^{-1} , 1335 $\text{cm}^{-1} \rightarrow$ 1339 cm^{-1} , 921 $\text{cm}^{-1} \rightarrow$ 929 cm^{-1} 。最为明显的是在包合物的拉曼光谱中,分子间缔合羟基的特征频率向低波数方向位移 3477 $\text{cm}^{-1} \rightarrow$ 3419 cm^{-1} ,而分子内缔合羟基特征峰则向高波数方向发生了位移,从 3229 $\text{cm}^{-1} \rightarrow$ 3246 cm^{-1} , 2724 $\text{cm}^{-1} \rightarrow$ 2733 cm^{-1} 。这些光谱表征说明薄荷脑与羟丙基- β -环糊精分子间相互作用形成氢键,使薄荷脑嵌入羟丙基- β -环

糊精的疏水空腔从而形成了包合物。

将羟丙基- β -环糊精的拉曼光谱与薄荷脑包合物的拉曼光谱(见图1中S2和S3)相比较,可以看出不仅峰的形状、数量还是强度都很相似,说明包合作用确已实现。但仔细分析可看出两者仍有差别。包合物的分子间缔合羟基特征峰向低波数发生位移 $3442\text{ cm}^{-1} \rightarrow 3419\text{ cm}^{-1}$, 分子内及环状缔合羟基特征峰则向高波数发生位移 $3233\text{ cm}^{-1} \rightarrow 3246\text{ cm}^{-1}$, $2729\text{ cm}^{-1} \rightarrow 2733\text{ cm}^{-1}$, 烷基特征峰也向低波数方向分别位移, 如 $2981\text{ cm}^{-1} \rightarrow 2977\text{ cm}^{-1}$, $2940\text{ cm}^{-1} \rightarrow 2935\text{ cm}^{-1}$, $1132\text{ cm}^{-1} \rightarrow 1128\text{ cm}^{-1}$, $1091\text{ cm}^{-1} \rightarrow 1086\text{ cm}^{-1}$ 。而环骨架振动特征峰则向高波数发生了位移如: $942\text{ cm}^{-1} \rightarrow 950\text{ cm}^{-1}$, $925\text{ cm}^{-1} \rightarrow 929\text{ cm}^{-1}$, $851\text{ cm}^{-1} \rightarrow 855\text{ cm}^{-1}$, 同时薄荷脑环骨架振动特征 768 cm^{-1} 、 495 cm^{-1} 在包合物中仍保留而羟丙基- β -环糊精的环变形振动 1384 cm^{-1} , 向高波数方向位移至 1397 cm^{-1} 。这些光谱特征说明, 拉

曼光谱更适于表征包合物的大环结构和骨架结构。它们再次证明由于薄荷脑与羟丙基- β -环糊精分子间的相互作用, 形成了氢键从而实现了其包含过程, 增加了薄荷脑的极性从而增强了它的溶解度和吸收速率。这一点与文献[10]中的结果和论述都非常吻合。

2.2 氦氖激光器 632.8 nm 激光激发

采用 RENISHAW Raman Microscope 激光拉曼光谱仪, 以氦氖激光器 632.8 nm 激光 17 mW 功率激发, 光栅 1800 刻线, 物镜 $\times 50$ 采集时间 10 s 扫描次数 $5\sim 20$ 次, 扫描范围 $100\sim 4000\text{ cm}^{-1}$ 的实验条件测得了薄荷脑、羟丙基- β -环糊精以及薄荷脑-羟丙基- β -环糊精包合物不同配比时制备的包合物的拉曼光谱。

图2列出了薄荷脑、羟丙基- β -环糊精以及其包含物 2、3、4 的拉曼光谱, 图3列出了薄荷脑、羟丙基- β -环糊精以及其包含物 5、6、7 的拉曼光谱。

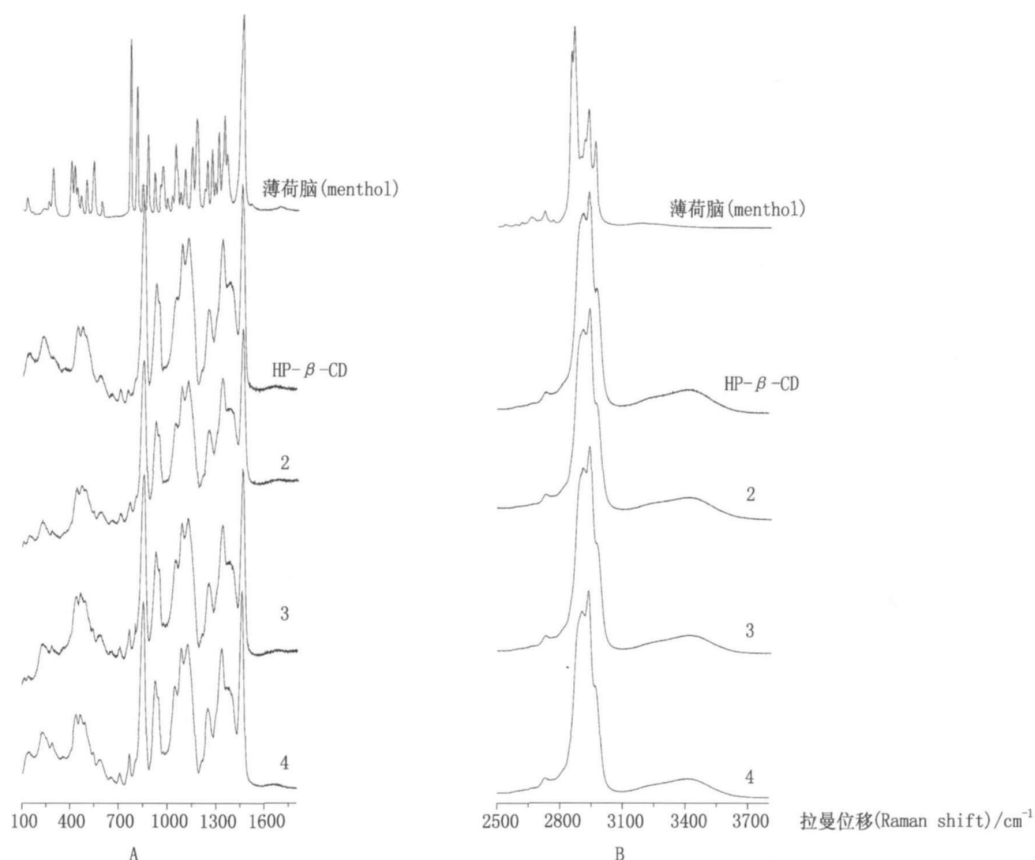


图2 薄荷脑、羟丙基- β -环糊精以及其包含物 2、3、4 的拉曼光谱

Fig 2 Raman spectra of menthol, hydroxypropyl- β -cyclodextrin and the inclusion complex 2, 3, 4

A. $100\sim 1800\text{ cm}^{-1}$ B. $2500\sim 3800\text{ cm}^{-1}$

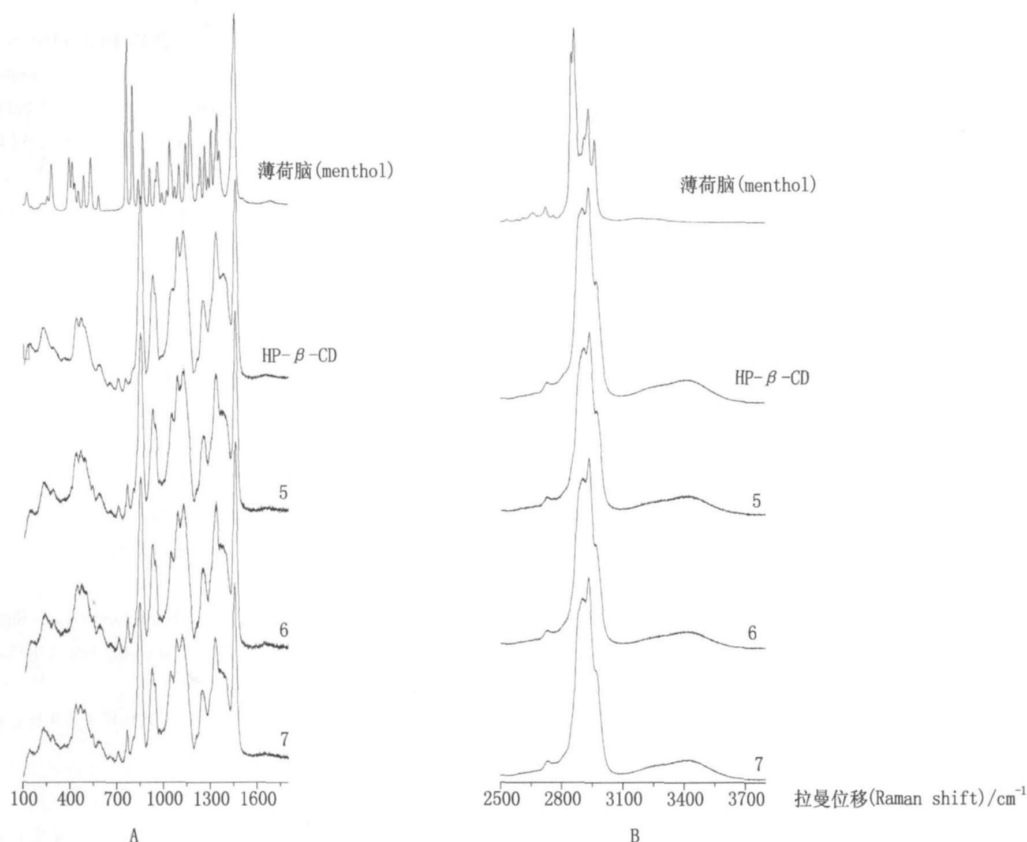


图 3 薄荷脑、羟丙基-β-环糊精以及其包含物 5、6、7 的拉曼光谱

Fig 3 Raman spectra of menthol, hydroxypropyl-β-cyclodextrin and the inclusion complex 5, 6, 7

A. 100~1800 cm^{-1} B. 2500~3800 cm^{-1}

将薄荷脑的拉曼光谱与其包含物的拉曼光谱相互对照(见图 2 和图 3), 其差别非常明显, 薄荷脑的许多拉曼特征峰如 2859, 1363, 1309, 1240, 1175, 1105, 995, 969, 875, 807, 425, 404 cm^{-1} 都由于羟丙基-β-环糊精的包合作用, 在包含物的光谱中消失。烷基伸缩振动分别向高波数方向位移 2963 $\text{cm}^{-1} \rightarrow 2969 \text{ cm}^{-1} \rightarrow 2971 \text{ cm}^{-1}$, 2929 $\text{cm}^{-1} \rightarrow 2935 \text{ cm}^{-1}$ 。而薄荷脑的大环呼吸振动 765~767 cm^{-1} , 骨架振动或环变形振动 542 cm^{-1} 、500 cm^{-1} , 晶格振动或砧环骨架振动 292 cm^{-1} 则都在包含物中出现并随着包含物中薄荷脑含量的增加, 其相对峰强度也随之增加。说明拉曼光谱更适于表征分子的骨架振动和晶格振动。

羟丙基-β-环糊精及其薄荷脑包含物的拉曼光谱极其相似, 其大环骨架振动频率 1125, 1085, 1045, 927, 851, 590, 473, 442 cm^{-1} 均几乎相同。说明薄荷脑嵌入羟丙基-β-环糊精疏水空腔后大大增加了它们之间的相融性和相似性。它们之间的差异仅表现在以下方面: 第一, 包含物形成后, 分子间

缔合羟基特征峰 3440 cm^{-1} 向低波数位移至 3415~3420 cm^{-1} 。环缔合羟基特征峰 2735 cm^{-1} 也向低波数位移至 2725~2732 cm^{-1} ; 第二, 烷基伸缩振动 2975 cm^{-1} 向低波数稍有位移至 2969~2971 cm^{-1} , 而 2903 cm^{-1} 则向高波数位移至 2907~2909 cm^{-1} 。

文献[11]报道了薄荷脑饱和乙醇溶液和结晶的拉曼光谱。他们将 293 cm^{-1} 、266 cm^{-1} (很弱的肩峰) 归属于晶格振动。本文实验结果与之对照非常吻合。

3 结论

拉曼光谱与红外光谱相结合, 可为药物分析和临床研究提供更广泛更完整的分子光谱特征信息, 是药物研究中一种不可缺少的工具和技术。特别当药物为无定形粉末或水溶液(注射液)时拉曼光谱均可进行测定和研究。这正是它比红外光谱优越之处。

在不同条件下进行的拉曼光谱有力地阐明了制备和研究的薄荷脑-羟丙基-β-环糊精包含物的形成和结构特征, 证明由于分子间氢键的作用, 薄荷

脑被嵌入羟丙基- β -环糊精疏水空腔形成包合物后,增强了它的极性,增加了薄荷脑的溶解度,提高了它的稳定性,减少了挥发,有利于薄荷脑水溶液或注射液的研制,同时为薄荷脑在其他剂型上的应用提供了重要的参考。

参考文献

- 1 ChP(中国药典). 2005 VolI (一部): 284
- 2 YAO Li(姚力), YAO Jing(姚静), YU Hong-sheng(于洪生). New application of cyclodextrins in pharmaceuticals(环糊精在药物制剂方面的新应用). *Prog Pharm Sci*(药学进展), 2003, 27(5): 279
- 3 GAO Shen(高申). New Dosage Forms and New Technologies of Modern Medicines(现代药物新剂型新技术). Beijing(北京): People's Military Medical Press(人民军医出版社), 2002: 90
- 4 CHEN Qin(陈勤), GUO Peng(郭鹏). Study on the inclusion compound of menthol with hydroxypropyl- β -cyclodextrin(薄荷脑-羟丙基- β -环糊精包合物的研究). *China Med Bull*(中华医学丛刊), 2004, 4(4): 31
- 5 Piha J Milecki J Fales H, et al Hydroxypropyl- β -cyclodextrin preparation and characterization effects on solubility of drugs *Int J*

Pharm, 1986, 29: 73

- 6 XU Cun-hua(徐存华), HE hua(何华), NAN Kun(南坤). Spectroscopic studies on the interaction of cyclodextrin and its derivatives with drug in liquid media(溶液中环糊精及其衍生物与药物相互作用的光谱学研究). *Prog Pharm Sci*(药学进展), 2003, 27(4): 221
- 7 Chao Jianbin Li Jiansong Meng Dongping et al Preparation and study on the solid inclusion complex of sparfloxacin with HP- β -cyclodextrin. *Spectrochim Acta A*, 2003, 59: 705
- 8 Chao Jianbin Meng Dongping Li Jiansong et al Preparation and study on the novel solid inclusion complex of ciprofloxacin with HP- β -cyclodextrin. *Spectrochim Acta A*, 2004, 60: 729
- 9 Vlachou M, Papaioannou G. Preparation and characterization of the inclusion complex of furosemide with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *J Biomater Appl* 2003, 17(3): 197
- 10 Bertoluzza A, Rossi M, Taddei P, et al FT-Raman and FT-IR studies of 1:2.5 piroxicam- β -cyclodextrin inclusion compound. *J Mol Struct*, 1999, 480-481: 535
- 11 Findlay W P, Bugay DE. Utilization of Fourier transform-Raman spectroscopy for the study of pharmaceutical crystal forms. *J Pharm Biomed Anal* 1998, 16(6): 921

(本文于 2009 年 4 月 9 日收到)

贺争鸣处长等赴意大利参加第七届生命科学研究中 动物实验替代方法世界大会

2009 年 8 月 31 日至 9 月 3 日,实验动物管理处处长贺争鸣研究员和巩薇副研究员应邀参加了在意大利罗马举办的第一届生命科学研究中动物实验替代方法世界大会。| 同参加会议的还有科技部实验动物项目 管理办公室荣瑞章教授。会议共邀请了来自 50 个国家、地区和国际组织约 800 余人参加,包括:欧洲食品安全管理局(European Food Safety Authority EFSA)、美国 FDA、世界卫生组织(WHO)、美国环境保护局、美国动物检验替代方法中心、英国医学研究动物替代基金会、巴西国家卫生检验所、比利时欧洲毒理学会、意大利健康与环境保护研究所联合研究中心欧洲委员会、加拿大实验动物管理委员会等,另外还有美国动物保护协会、美国仁慈协会、欧洲动物小组等。

本次大会共设立 3 个主题,分别为新的技术、概念与探索;实验动物应用;生命科学研究领域的进展。

动物实验替代方法(3R)研究在化妆品安全性评价中受到高度重视,近年来发展较快。欧洲化妆品条例的第 7 次修订对该领域的研究起着革新性的促进作用。

WHO(2005 年)推荐要进一步研发和使用体外分析方法,目前用于生产过程的质量控制。尽管在签发阶段还需要做许多的验证试验,但管理当局还是期望能够确保有效性的效力实验。生产过程 GMP 和质量控制是保证产品均性的根本,这也有利于体外检测方法替代动物体内试验。

详见:www.nicbp.org.cn