

β -环糊精与佐匹克隆包合作用的研究

陈圆圆¹, 刘佳佳¹, 唐课文^{1,2}

1. 中南大学化学化工学院, 湖南 长沙 410083

2. 湖南理工学院化学化工系, 湖南 岳阳 414000

摘要 采用相溶解度法研究了佐匹克隆在不同 pH 和不同摩尔浓度的 β -环糊精水溶液中的溶解度及二者的表观稳定常数, 随着 β -环糊精浓度的增加和 pH 的提高, 佐匹克隆的溶解度增加, 表观稳定常数升高; 采用热力学方法研究了温度对包合反应的影响, 计算了包合过程的熵变 ΔS 、焓变 ΔH 及自由能变化 ΔG 均为负值, 说明包合反应是放热反应且能自发进行, 焓变是形成超分子复合体的主要驱动力; 用研磨法制备了佐匹克隆-环糊精包合物, 并用红外光谱和差示扫描量热分析对固体包合物进行了表征。结果表明, 佐匹克隆与 β -环糊精可形成 1:1 包合物, β -环糊精对于难溶性药物佐匹克隆是较理想的增溶剂。

关键词 β -环糊精; 佐匹克隆; 相溶解度法; 包合物; 热动力学

中图分类号: O657.3 **文献标识码**: A **DOI**: 10.3964/j.issn.1000-0593(2008)10-2380-04

引言

佐匹克隆(zopiclone, ZPC, 图 1)是第三代吡咯酮类速效催眠药, 化学名称为(±)-6-(5-氯-2-吡啶)-7-(4-甲基-1-哌嗪)-羰氧基-6,7-二氢[5H]吡咯[3,4-b]吡嗪-5-酮, 其消旋体已在临床应用 20 余年。与消旋的佐匹克隆相比, 右旋佐匹克隆具有药效更强, 不良反应较少的特点^[1], 目前正在作为一种新药进行临床研究。由于其难溶于水, 其药物的使用及药效的发挥受到了很大的限制。为了使它更好地得到应用, 就必须提高 ZPC 的溶解度和稳定性。通常采用有机溶剂、助溶剂、表面活性剂等途径来解决此问题, 但由于毒性、刺激性等原因, 限制了这些方法的运用。

β -环糊精(β -cyclodextrin, CD)是一种亲水性物质, 对碱、热和光稳定, 作为药用辅料主要用作增溶剂、稳定剂和促渗剂等。由于 CD 低毒安全、有效, 被认为是极有潜力的注射用辅料^[2]。本实验采用相溶解度法(Phase solubility method)考察了 CD 对 ZPC 的增溶作用^[3,4], 使 ZPC 更好地得到利用。

1 仪器与试剂

TU-1901 双光束紫外-可见分光光度计, 10 mm 石英比色皿(北京谱析通用仪器有限公司), HZS-H 水浴振荡器

(哈尔滨市东联电子技术开发有限公司), KQ3200 超声波仪器(昆山市超声仪器有限公司)。佐匹克隆(Zopiclone)对映体(上海延长生化技术有限公司), β -CD (Aldrich 产品), 其余试剂均为分析纯。实验用水为三次蒸馏水。

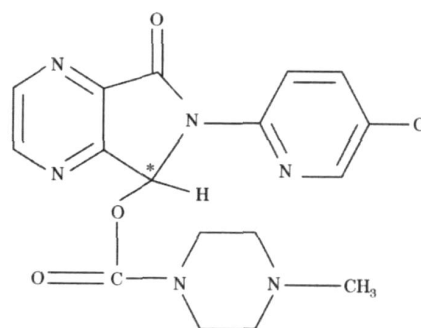


Fig 1 Chemical structure of zopiclone

2 方法与结果

2.1 增溶作用研究

2.1.1 测定波长的选择

配制 $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的佐匹克隆甲醇溶液, 取定量用水稀释至 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ZPC 标准溶液。配制 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ β -CD 水溶液。分别对两溶液从 190 ~ 400 nm 作紫外扫描。结果表明, ZPC 在 303 nm 处有明显的吸收峰, 而 β -CD 除有末端吸收外无明显的吸收峰, 故选择 303 nm 作为 ZPC 的测定波

收稿日期: 2007-10-08, 修订日期: 2008-01-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(20376085)和中国博士后科学基金项目(2004035650)资助

作者简介: 陈圆圆, 女, 1982 年生, 中南大学化学化工学院硕士研究生 e-mail: cyy622811@126.com

长。

2.1.2 紫外标准曲线的制备

精确称取 ZPC 对映体 20 mg 溶于 10 mL 甲醇中,再用蒸馏水定容到 100 mL,作为原液。再用原液配制成 2~90 mg·L⁻¹ 系列溶液,以试剂空白为参比,于波长 303 nm 处测定吸光度,以吸光度(A)对浓度(c)进行线性回归,回归方程为: $A = 647.7039c + 0.11073$, $r^2 = 0.99988$ (c 以 mol·L⁻¹ 为单位)。结果表明, ZPC 在 2~90 mg·L⁻¹ 范围内,浓度和吸光度线性关系良好。-CD 存在时, ZPC 吸收强度不受影响,故标准曲线可以用于 ZPC 于 -CD 共存体系下 ZPC 的测定。

2.1.3 平衡相溶解度曲线的制备

按试剂手册,用 NaH₂PO₄·2H₂O, Na₂HPO₄·12H₂O 配制 0.1 mol·L⁻¹ 的 pH 3.5, 6.2, 7.4, 8.2 的磷酸盐缓冲溶液,以此磷酸缓冲溶液作为溶剂,配制 0, 2, 4, 6, 8, 10 mmol·L⁻¹ 系列浓度的 -CD 溶液,将过量的 ZPC 粉末分别加入上述溶液中,超声 30 min,置于 25℃ 水浴振荡器中振荡 48 h (100 t·min⁻¹)。待溶液达到平衡,取上清液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,得母液,再用缓冲溶液稀释适当倍数,在 303 nm 处测吸光度,按外标一点法计算药物浓度,以 -CD 摩尔浓度为横坐标,药物浓度为纵坐标,绘制平衡相溶解度图,结果见图 2。

2.1.4 讨论

由图 2 可得,在各 pH 下, ZPC 得溶解度随着 -CD 浓度的增大而提高,表明 -CD 对 ZPC 有较好的增溶效果。根据 Higuchi 等的分类,该体系相溶解度图属于 A_L 型,表明体系中形成 1:1 包合物,以 ZPC 溶解度 (mol·L⁻¹) 对 -CD 浓度 (mol·L⁻¹) 进行线性回归,得回归方程。根据回归方程,计算形成常数 K_f ^[5],计算公式为: $K_f = \text{斜率} / S_0(1 - \text{斜率})$,其中斜率为回归方程的斜率, S_0 为截距。结果见表 1。

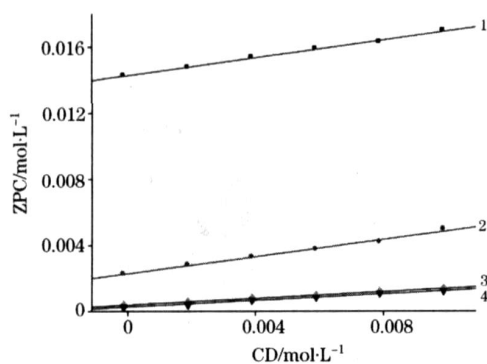


Fig 2 Phase solubility curves of ZPC in -CD

1: pH 3.5; 2: pH 6.3; 3: pH 7.4; 4: pH 8.2

Table 1 Stability constants K_f of ZPC at different pH

pH	线性方程	r^2	K_f
3.5	$Y = 0.26429c + 0.0143$	0.9981	25.1
6.2	$Y = 0.25683c + 0.00225$	0.9954	153.6
7.4	$Y = 0.10035c + 3.7631 \times 10^{-4}$	0.9962	296.4
8.0	$Y = 0.09844c + 2.5773 \times 10^{-4}$	0.9975	423.1

通常环糊精与小分子通过氢键、疏水键、 π - π 键等作用力相互作用^[6,7],而氢键是形成这类主客体包合体系中最重要的作用力之一。通过研究 pH 值对形成包合物的影响就可以反映出氢键的作用。环糊精含有的羟基与佐匹克隆可以形成氢键,这与环糊精和其他客体分子的相互作用相似^[8-10]。疏水键通常发生在非极性分子或分子的疏水基团之间,尽管这种作用力较弱,但在极性溶剂(比如水)中这种作用力便大大加强^[11]。-CD 的内腔是疏水的空腔,因此在水中时,佐匹克隆的疏水基团就极易进入 -CD 的空腔而形成包合物。

由表 1 可以看出在酸性条件下佐匹克隆的溶解度很高,随着 pH 的增加佐匹克隆的表现稳定常数增加。这可能是由于佐匹克隆具有 3 个处于不同位置的氮原子,分别是哌嗪基上的氮原子(N-CH₃)、吡啶基上的氮原子、吡嗪基上的氮原子(图 1),当减小 pH 时这些氮原子能被质子化。当 pH 值在 3.0~5.5 之间的时候匹克隆对映体主要是以离子态存在的。当 pH 值大于等于 6.7 时,超过 50% 的匹克隆对映体可能没有被质子化,这导致匹克隆对映体与 -CD 形成的包合物的稳定性发生了改变^[11,12]。也使得包合物的稳定常数 (K_f) 发生相应的改变,同时它们之间的结合力也发生了显著的增强。

2.2 热力学法研究包合作用

2.2.1 温度对包合反应的影响

在环糊精与客体分子形成包合物的过程中,温度是影响包合作用的一个重要因素。通过一系列实验研究不同温度下 ZPC-CD 的包合过程,得到不同温度下该包合物的形成常数 K_f ,如图 3 所示。随着温度的升高,包合体系的稳定常数逐渐减少,说明包合物可能趋于离解,客体分子又从环糊精腔内重新进入水相,包合物的稳定性降低。从作用机理上分析,可能是由于温度升高引起分子运动加剧而导致这种现象。由此实验现象可以得出如下结论,升高温度不利于包合反应的进行。

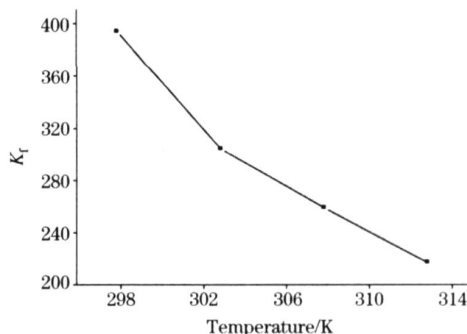


Fig 3 Effect of temperature on the equalization constants K_f of complexes of ZPC-CD

2.2.2 热力学方法计算包合反应得熵变、焓变及自由能变化

根据范霍夫方程 $\ln K_f = -rHm / (RT) + rSm / R$,将 $\ln K_f$ 对 $1/T$ 作图(图 4)。

由直线得截距可计算反应得熵变, ZPC-CD 得线性回归方程为: $\ln K_f = 398.2 T^{-1} - 7.3748$ ($r = 0.9986$) 经计算

$rSm = -61.314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$; 根据方程: $rGm = -RT \ln K_f$ 可求得不同温度下自由能变化, 再将方程 $rHm = rGm + T rSm$, 可以计算不同温度下的焓变。

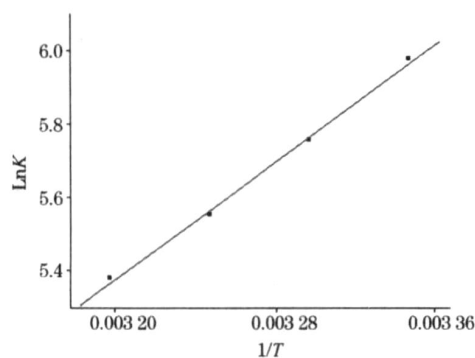


Fig 4 Curves of $\ln K_f$ vs. $1/T$ of complexes of ZPC -CD

由表 2 可以看出, 包含反应的 rHm 均为负值, 说明包含过程是一个放热过程; rSm 为负值, 说明包含反应的主要驱动力是焓, 范德华力, 疏水作用力以及氢键作用力等, 分子内识别是包含过程中有利焓变的主要来源; 计算所得 rGm 也为负值, 说明包含反应过程是一个自发过程。

Table 2 Effect of temperature on K_f , rSm , rGm and rHm of the inclusion complex of ZPC -CD

T/ K	K_f / $(\text{L}^2 \cdot \text{mol}^{-2})$	rSm / $(\text{J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1})$	rGm / $(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	rHm / $(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$
298	393.8	-61.314	-14.804	-33.075
303	303.8	-61.314	-14.399	-32.977
308	258.6	-61.314	-14.219	-33.103
313	217.1	-61.314	-14.000	-33.191

2.3 红外光谱研究^[13]

2.3.1 包合物的制备

按摩尔比 1 : 1 称取 ZPC 和 -CD 适量, 用少量蒸馏水将 -CD 磨匀, 分次加入 ZPC, 置研钵中充分磨成糊状, 于 40 干燥, 过 80 目筛即得。

2.3.2 红外图谱研究

比较 -CD, ZPC, -CD 和 ZPC 混合物及 ZPC -CD 包合物的红外光谱 (如图 5), 发现 ZPC 的羰基的振动吸收峰在 1709 cm^{-1} , -CD 和 ZPC 混合物中羰基的振动吸收峰没有移动, 而在 ZPC -CD 包合物中羰基的振动吸收峰向短波方向移动到 1724 cm^{-1} , 这是由于在 ZPC -CD 包合物中形成了氢键的作用。

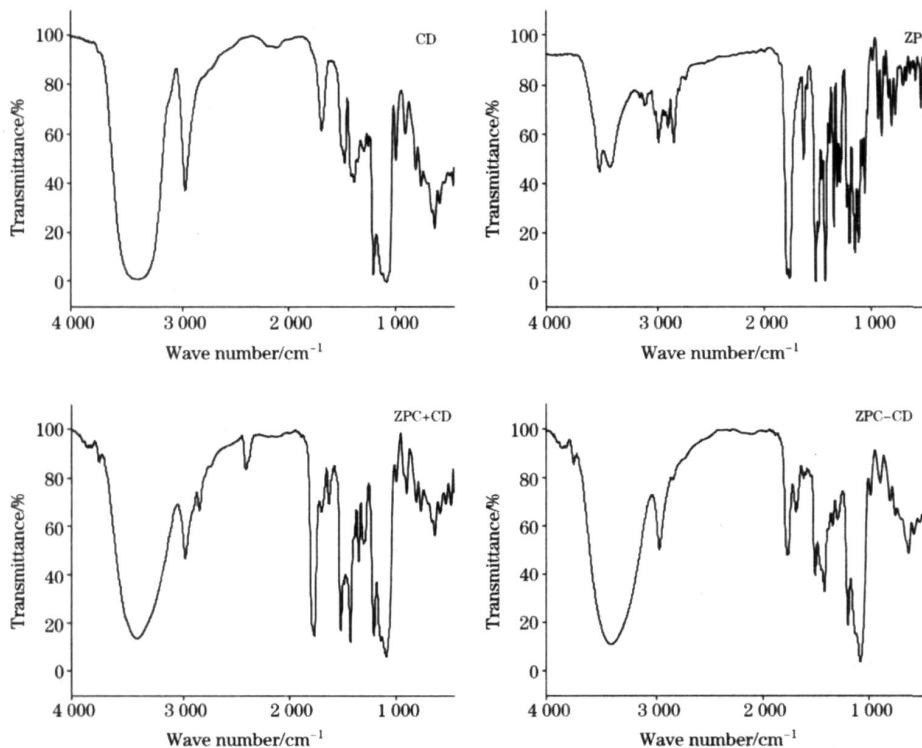


Fig 5 IR spectra of (1) -CD alone (2) ZPC alone (3) mixture of -CD and ZPC, and (4) inclusion complex

2.4 差示扫描量热分析(DTA)

分别取 ZPC、-CD、二者的物理混合物、包合物四种样品进行差示扫描热分析: 以 Al_2O_3 为参比物, 在空气气氛下, 升温速度 $10 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, DTA 结果见图 6。

ZPC 在 148 和 183 左右分别有一相变峰和熔融峰, -CD 在 256 和 354.3 处各有 1 个峰, 分别是 -CD 的脱水峰和熔融峰。物理混合物基本上是单一化合物图谱的简单叠加, 而在包合物的图谱上各个峰的位置和形状都发生了变化,

故推测包合物已形成。

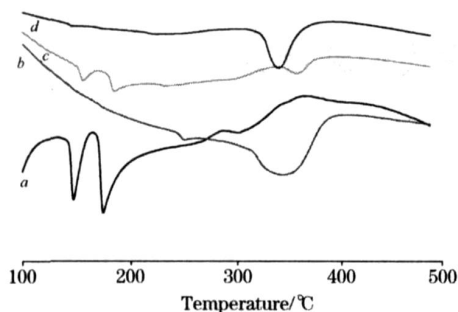


Fig 6 Dsc of (a) ZPC alone; (b) β -CD alone; (c) mixture of β -CD and ZPC; and (d) inclusion complex

3 结 论

本文采用相溶解度法证明了 ZPC- β -CD 包合物的形成, 得知二者形成 1:1 的包合物, 通过改变溶液的酸碱度, 可知表观稳定常数随 pH 的增大而增大。另外, 本实验用热动力学方法研究了温度变化对包合反应的影响, 探讨了包合过程可能的包合机制, 从热动力学角度揭示了包合反应的驱动力, 根据范霍夫方程及相应的能量公式求出了 rSm , rGm 及 rHm 等热力学参数, 从而得出升高温度不利于包合反应的进行, 包合过程是一个放热的自发过程, 包合反应的驱动力是焓, 有利于焓变的主要来源是分子内识别, 即范德华力和疏水作用力的结论。最后, 通过红外光谱及差热分析对固体包合物进行表征, 充分证实了 ZPC- β -CD 包合物的形成。

参 考 文 献

- [1] Jeffrey N C, Rene H, Jennifer W, et al. Eur. J. Pharm., 2001, 415: 181.
- [2] HE Zhong-gui, TANG Xing, CHEN Xuan-fu, et al (何仲贵, 唐 星, 陈宣富, 等). J. Shenyang Pharm. Univ. (沈阳药科大学学报), 1998, 15: 235.
- [3] SHI Jie-min, HE Zhong-gui, XING Nan, et al (施洁明, 何仲贵, 邢 楠, 等). J. Chin. Pharm. (中国药理学杂志), 2004, 39, 5: 353.
- [4] SHUANG Shao-min, GUO Si-yuan, PAN Jing-hao, et al (双少敏, 郭祀远, 潘景浩, 等). Chin. J. Anal. Chem. (分析化学), 1998, 26, 5: 564.
- [5] Brewster M E, Simphins J M, Hora M S. J. Parent. Sci. Technol., 1989, 43: 231.
- [6] Zhang Y L, Agbaria R A, Warner I M. Supramolecular Chemistry, 1997, 8: 309.
- [7] YAO Hong, WEI Tai-bao, XU Wei-xia, et al (姚 虹, 魏太保, 徐维霞, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2006, 26(9): 1664.
- [8] Chowdary K P R, Reddy G K, Int. J. Pharm. Excip., 2002, 3: 12.
- [9] Chowdary K P R, Reddy G K. Indian J. Pharm. Sci., 2002, 64: 142.
- [10] Worthington M S, Glass B D, Penkler L J. J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. Chem., 1996, 25: 153.
- [11] Higuchi T, Connors K A. Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation, 1965, 4: 117.
- [12] Stavroula Piperaki, Maria Parissi-Poulou. Journal of Chromatography A, 1996, 729: 19.
- [13] SUN De-mei, WU Xue-fen, ZHANG Shu-ling (孙德梅, 武雪芬, 张淑玲). J. Anhui Agric. Sci. (安徽农业科学), 2005, 33: 596.

Study on Inclusion Complexes of β -Cyclodextrin with Zopiclone

CHEN Yuan-yuan¹, LIU Jia-jia¹, TANG Ke-wen^{1,2}

1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha 410083, China

2. Department of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan Institute of Science and Technology, Yueyang 414000, China

Abstract The inclusion complex formation of zopiclone with β -cyclodextrin was studied by using phase solubility method, and the formation constant for zopiclone- β -cyclodextrin was determined. The solubility of zopiclone and the formation constant were enhanced with the increase in β -cyclodextrin concentration and pH. The effect of temperature on the reaction was studied through thermodynamics, and the changes in entropy S , enthalpy H and free energy G of the reaction were all negative, suggesting that the inclusion complexation is exothermic and can spontaneously occur by the balance of enthalpy driving and entropy opposing. The inclusion complex of zopiclone and β -cyclodextrin was prepared by a method of solidgrinding. Stable inclusion complex in solid state was characterized by IR spectra and DTA. Results showed that zopiclone- β -cyclodextrin inclusion complex could be formed, and β -cyclodextrin is a desirable solubilizer for zopiclone.

Keywords β -cyclodextrin; ZPC; Phase solubility method; Inclusion; Thermodynamics

(Received Oct. 8, 2007; accepted Jan. 16, 2008)