

文章编号: 1006-2858(2006)10-0630-03

双硫仑-羟丙基- β -环糊精包合常数测定与包合物形成的热力学性质考察

于凤波¹, 费学萍², 李德馨¹, 苏德森¹, 王思玲¹

(1. 沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2. 中国医科大学 附属第四医院, 辽宁 沈阳 110032)

摘要: 目的 测定双硫仑-羟丙基- β -环糊精(DSF- β -CD_{HP})的包合常数; 研究包合物形成的热力学性质。方法 采用RP-HPLC法。测定溶液中双硫仑含量, 由测定结果计算各浓度的 β -CD_{HP}溶液中双硫仑的溶解度, 以双硫仑溶解度对 β -CD_{HP}浓度作图, 得到相溶解度图; 测定不同色谱条件下双硫仑-羟丙基- β -环糊精的保留时间, 根据保留时间计算稳定常数及不同温度下的包合常数 K 。结果 当羟丙基- β -环糊精浓度较低时, 可形成 1:1 包合物; 30℃ 时 DSF- β -CD_{HP} 的包合常数为 $1\,624.41\text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$; 其包合反应的焓变(ΔH)为 $-25.25\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, 吉布斯自由能(ΔG)和熵变(ΔS)分别为 $-12.60\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 与 $-41.74\text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ 。结论 双硫仑与羟丙基- β -环糊精的包合作用为一放热过程, 是分子间氢键和范德华力作用的结果; 采用较低的温度有利于双硫仑完全形成包合物。
关键词: 双硫仑; 羟丙基- β -环糊精; 包合物; 反相高效液相色谱法; 平衡常数; 热力学参数
中图分类号: R 94 **文献标识码:** A

环糊精及其衍生物通过对药物的包合作用能够在很大程度上改善药物的溶解性和稳定性, 促进药物吸收, 提高生物利用度, 减少不良反应^[1]。双硫仑是一种活性较高的抗白内障活性化合物, 用水溶性好的 β -CD_{HP}进行包合, 能够增加药物的溶解度, 并提高制剂的抗白内障疗效^[2]。作者以环糊精作为流动相的手性添加剂^[3], 采用RP-HPLC法测定双硫仑-羟丙基- β -环糊精(DSF- β -CD_{HP})的包合常数, 研究药物与环糊精包合过程中的热力学性质, 为双硫仑-羟丙基- β -环糊精包合物的制备提供基础理论研究。

1 仪器与材料

7500 高效液相色谱系统(日本日立公司), 791 磁力加热搅拌器(上海南汇电讯器材厂)。

Accusil C₁₈ 色谱柱(150 mm × 4.6 mm, 10 μ m, 天津琛航科技仪器有限公司)。

双硫仑(DSF, 日本和光工业株式会社), NaDDC·3H₂O(瑞典 Fluca 公司), 羟丙基- β -环糊精(日本食品化工株式会社), 三氟醋酸(德国 Merck 公司), 吡哆美辛(沈阳第六制药厂), 甲醇、乙腈(色谱纯, 山东禹王实业有限公司)。

2 方法与结果

2.1 双硫仑相溶解度测定

色谱条件为色谱柱: Accusil C₁₈柱(150 mm × 4.6 mm, 10 μ m); 流动相: 体积分数为 0.1% 的三氟醋酸, 乙腈-甲醇-水(体积比为 45:32:28); 流速: 0.8 mL·min⁻¹; 进样量: 20 μ L; 检测波长: 215 nm; 柱温: (25 ± 1)℃; 内标物: 吡哆美辛(5 mg L⁻¹)。

将定量过量的双硫仑分别加入到不同浓度的 β -CD_{HP}的重蒸水溶液中(7.250、21.75、36.25、58.00、72.50、108.8、145.0、181.3、217.5 mmol L⁻¹), 于(25 ± 1)℃下磁力搅拌 24 h, 取上清液用 0.45 μ m 微孔滤膜过滤; 取续滤液 0.1 mL, 用甲醇稀释至 25 mL, 用 RP-HPLC 法测定溶液中双硫仑含量。

由测定结果计算不同浓度的 β -CD_{HP}溶液中双硫仑的溶解度, 以双硫仑溶解度对 β -CD_{HP}浓度作图, 得到相溶解度图, 结果见图 1。

双硫仑在溶液中的包合是一个平衡过程, 符合质量作用定律, 当 β -CD_{HP}的浓度较低时, 由相溶解度图判断形成 1:1 包合物, 此时在固定相和流动相中存在以下平衡:

收稿日期: 2005-12-25

作者简介: 于凤波(1981-), 女(汉族), 黑龙江牡丹江人, 硕士研究生, E-mail yfb526@126.com; 王思玲(1962-), 女(汉族), 辽宁沈阳人, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事生物大分子非注射给药系统及微粒分散药物制剂研究, Tel. 024-23986348, E-mail silingwang@hotmail.com。

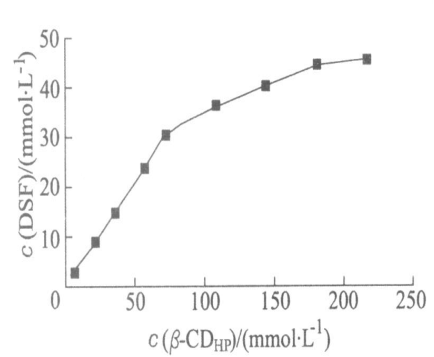
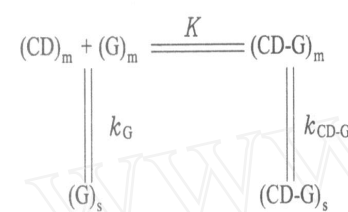


Fig. 1 Phase-solubility diagram of DSF with β-CD_{HP} in water at 25



其中,s、m 分别代表固定相和流动相, k_G 、 k_{CD-G} 分别是双硫仑及其包合物的分配系数。 K 表示包合物的稳定常数。 K 与流动相中加入环

Table 1 Retention time (min) of DSF in different mobile phases for K determination

φ (methanol) / %	w (β-CD _{HP}) / %					$K / (L \cdot mol^{-1})$
	0.00	0.10	0.25	0.50	1.0	
60	28.525	24.313	19.254	14.943	9.903	208.57
65	17.660	15.625	13.191	10.628	7.991	177.64
70	10.530	9.853	9.084	8.083	6.843	148.17
75	7.531	7.391	7.242	7.015	6.643	125.35

实验发现,环糊精包合常数 K 的对数值与流动相中甲醇的体积分数呈良好的线性关系^[6]。因此,再以 $\ln K$ 对甲醇的体积分数作线性回归,由回归方程 $\ln K = 7.3929 - 3.4154\varphi$ ($r = 0.9995$) 外推至甲醇体积分数为 0 的 K 值为 $1\,624.41\,L \cdot mol^{-1}$,即为纯水中 30 时双硫仑与 β-CD_{HP} 形成包合物的包合常数。与 25 时相溶解度法测得的包合常数 $1\,772.77\,L \cdot mol^{-1}$ 相比较^[2],这一数值较小,但考虑到温度的影响,可以认为二者基本一致。

2.3 包合反应热力学常数计算

以体积分数为 70 % 的甲醇水溶液以及分别添加了质量分数为 0.10 %、0.25 %、0.50 %、1.0 % 的 β-CD_{HP} 的 70 % 甲醇水溶液作为流动相,分别测定柱温为 30、35、40、45、50 时样品的保留时间,以此先计算出不同温度下的包合常数 K ,结果见表 2。

糊精后药物的保留时间 t_{obs} 、流动相中无环糊精时药物保留时间 t_G 和包合物的保留时间 t_{CD-G} 之间有如下关系^[4,5]:

$$\frac{1}{t_G - t_{obs}} = \frac{1}{K(t_G - t_{CD-G})} \cdot \frac{1}{C_{(CD)_m}} + \frac{1}{t_G - t_{CD-G}}$$

(1)

以 $\frac{1}{t_G - t_{obs}}$ 对 $\frac{1}{C_{(CD)_m}}$ 作图,得一直线,由直线的斜率和截距可求得 K 。

2.2 包合物稳定常数测定

色谱条件为色谱柱:Accusil C₁₈柱(150 mm × 4.6 mm, 10 μm);流动相:体积分数为 60 %、65 %、70 %、75 % 甲醇水溶液和以上各流动相中分别加入质量分数为 0.10 %、0.25 %、0.50 %、1.0 % 的 β-CD_{HP};流速:0.8 mL · min⁻¹;检测波长:215 nm;柱温:(30 ± 1);样品:双硫仑(10 mg L⁻¹)的甲醇溶液;进样量:20 μL。

测定各条件下样品的保留时间,根据式(1)计算稳定常数,结果见表 1。

双硫仑与 β-CD_{HP} 包合反应的热力学参数,即吉布斯自由能 (ΔG^0)、热焓变化 (ΔH^0) 和熵变 (ΔS^0) 可以通过温度依赖的包合物稳定常数 K ,随热力学温度 (T) 的变化求得^[7]。反应的吉布斯自由能由 $\Delta G^0 = -RT \ln K$ 计算。在实验条件下可以认为 ΔH^0 是与温度无关的常数,则 K 与 T 有如下关系:

$$\ln K = \frac{-\Delta H}{R} \cdot \frac{1}{T} + C。$$

因此,以 $\ln K$ 对 $1/T$ 作图,由线性回归曲线的斜率可求得 ΔH^0 。又有 $\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0$,则反应熵变由式(2)求得:

$$\Delta S = \frac{\Delta H - \Delta G}{T}。$$

(2)

由上述公式计算得到双硫仑-β-CD_{HP} 包合反应热力学参数列于表 3。

Table 2 Retention time (min) of DSF in different mobile phases at various temperatures

$\theta/$	$w(\beta\text{-CD}_{\text{HP}})/\%$					$K/(\text{L}\cdot\text{mol}^{-1})$
	0.00	0.10	0.25	0.50	1.0	
30	10.53	9.853	9.084	8.083	6.843	148.20
35	9.880	9.357	8.753	7.920	6.802	126.59
40	9.123	8.741	8.320	7.657	6.687	114.01
45	8.570	8.263	7.857	7.380	6.575	92.74
50	7.837	7.643	7.402	6.983	6.604	79.67

Table 3 Thermodynamic parameters of DSF- $\beta\text{-CD}_{\text{HP}}$ inclusion complexation reaction

$\theta/$	$K/(\text{L}\cdot\text{mol}^{-1})$	$\Delta G^0/(\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$	$\Delta H^0/(\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$	$\Delta S^0/(\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1})$
25	177.65	- 12.84	- 25.25	- 41.63
30	148.17	- 12.60	- 25.25	- 41.74
35	126.59	- 12.40	- 25.25	- 41.70
40	114.01	- 12.33	- 25.25	- 41.26
45	92.74	- 11.98	- 25.25	- 41.71
50	79.67	- 11.76	- 25.25	- 41.75

3 讨论

由表 3 中所得的热力学函数可知 ΔG^0 为负值,说明双硫仑与 $\beta\text{-CD}_{\text{HP}}$ 包合作用是一放热过程。熵减少,是由于包和物形成后双硫仑被限制在 $\beta\text{-CD}_{\text{HP}}$ 的空穴周围,自由度减少,因此熵为负值。热函数变化小于一般化学反应热,说明包合作用没有共价键形成,是分子间氢键、范德华力作用的结果。同时也可以看出,随着温度的升高, K 值减小(表 2),说明溶液中形成包和物的趋势降低。因此,在制备 DSF- $\beta\text{-CD}_{\text{HP}}$ 包合物时,如果采用较低的温度将有利于双硫仑完全形成包合物。但是在实际操作中还要考虑反应进行的快慢等因素,应综合考虑选择适宜的制备温度及反应工艺。

参考文献:

[1] 黎洪珊,王培玉. β -环糊精衍生物的研究进展及在药剂学上的应用 [J]. 中国药理学杂志,1999,34(4):220-223.
[2] Wang Si-ling,Li De-xin,Ito Yoshimasa,et al.Bioavailability and anticataract effects of a topical ocular drug

delivery system containing disulfiram and hydroxypropyl-beta-cyclodextrin on selenite-treated rats [J]. Current Eye Research,2004,29(1):51-58.

[3] Liang Hong-xi,Durham D G. The investigations into β -cyclodextrin as HPLC mobile phase chiral additives I. The adsorption of β -cyclodextrin and its methylated derivative on an ODS stationary phase [J]. Journal of China Pharmaceutical University,1997,28(1):31-35.
[4] 王亚娜,孙俊梅,余丽丽,等. 环糊精及衍生物/药物包合常数的测定方法及其应用 [J]. 药学进展,2004,28(1):23-27.
[5] Martin Del Valle E M. Cyclodextrins and their uses:a review [J]. Process Biochemistry,2004,39:1033-1046.
[6] 梁宏,Durham D G. HPLC β -环糊精手性流动相添加剂的研究. β -环糊精手性选择性包合稳定常数的简化计算及验证 [J]. 中国药科大学学报,1997,28(4):218-221.
[7] 吴文娟,庄礼天,林颖华,等. β -环糊精与阿司匹林包合反应的热力学研究 [J]. 广东药学院学报,1995,11(1):1-3.

(下转至第 640 页)

teridensis BRIQ. and consideration of structure-activity relationship [J]. Biol Pharm Bull, 2002, 25(7): 875 - 879.

[11] Park J C, Lee J H. A flavone diglycoside from *Cirsium Japonicum* Var *Ussuriense* [J]. Phytochemistry, 1995, 39(1): 261 - 262.

Chemical constituents of *Scutellaria barbata* D. Don

XIAO Hai-tao, LI Xian

(School of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract : Objective To study the active parts of the *Scutellaria barbata* D. Don and isolate and identify the chemical constituents from active parts. **Methods** The solvent extraction together with silica gel column chromatography were used for isolation of chemical constituents. Physicochemical characters and spectroscopic evidence were employed for the structural identification. **Results** Eight compounds were isolated, and identified as *p*-hydroxybenzaldehyde (1), 3,4-dihydroxybenzoic acid (2), *p*-hydroxyacetophenone (3), 5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavone (4), 5,7,4'-trihydroxy-6-methoxyflavone (5), 5,7,4'-trihydroxyflavone (6), 5,4'-dihydroxy-6,7,3',5'-tetramethoxyflavone (7), 5-hydroxy-4'-methoxyflavone-7-O- α -L-rhamnosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside (8), respectively. **Conclusion** Compound 7, 8 are isolated from *Scutellaria barbata* D. Don for the first time.

Key words : *Scutellaria*; *Scutellaria barbata* D. Don; chemical constituents

(上接第 632 页)

Studies on equilibrium constants of DSF- β -CD_{HP} inclusion complexes and thermodynamic properties

YU Feng-bo¹, FEI Xue-ping², LI De-xin¹, SU De-sen¹, WANG Si-ling¹

(1. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. Nursing Department of the Fourth Hospital, China Medical University, Shenyang 110016, China)

Abstract : Objective To study the thermodynamic properties of disulfiram-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (DSF- β -CD_{HP}) inclusion complexes and determine the equilibrium constants of the inclusion complex. **Methods** The reverse-phase high performance liquid chromatogram was employed to determine the retention times of DSF- β -CD_{HP} under different conditions, then the equilibrium constants and thermodynamic parameters were calculated. **Results** The inclusion complexes containing equimolar disulfiram (DSF) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (β -CD_{HP}) were formed when the concentration of β -CD_{HP} was low. The equilibrium constant of inclusion complexes was confirmed to be 1 624.41 L $\cdot$ mol⁻¹ at 30 °C through the way of RP-HPLC. The changes of enthalpy (ΔH^0), Gibbs' free energy (ΔG^0) and entropy (ΔS^0) of the system during the formation of DSF- β -CD_{HP} were - 25.25 kJ $\cdot$ mol⁻¹, - 12.60 kJ $\cdot$ mol⁻¹ and - 41.74 J $\cdot$ mol⁻¹ K⁻¹ respectively. **Conclusions** The negative free energy change of this reaction demonstrate the spontaneous formation of DSF- β -CD_{HP}, which caused by the intermolecular hydrogen bond and Van der Waals forces. The low temperature is useful for the formation of inclusion complexes.

Key words : disulfiram; hydroxypropyl- β -cyclodextrin; inclusion complex; RP-HPLC; inclusion complexes equilibrium constants; thermodynamic parameter