

二氢吡啶- β -环糊精包合物的制备及其稳定性

赵元, 欧阳五庆*, 冯仁蕊

(西北农林科技大学 动物医学院, 陕西杨凌 712100)

摘 要: 探讨应用 β -环糊精包合技术, 制备二氢吡啶- β -环糊精包合物以提高二氢吡啶溶解度和稳定性的方法。以二氢吡啶利用率为指标, 采用正交设计研究饱和水溶液法制备包合物的最佳处方工艺。经普通光学显微镜, 紫外光谱鉴定, 确证为包合物并测定对比其溶解度。制备包合物的最佳主客分子质量比为 5:1, 最佳包合温度为 75℃, 最佳包合时间为 4 h。9 批包合物包合率在 31.8%~48.2% 之间。二氢吡啶经 β -环糊精包合后, 溶解度约为原料药的 4.6 倍, 在光照条件下, 包合物的抗氧化能力约为原料药的 4.5 倍。二氢吡啶- β -环糊精包合物可提高其溶解度和稳定性。

关键词: 二氢吡啶; β -环糊精; 包合物

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 1004-1389(2009)04-0085-04

Preparation of Inclusion Compound of Diludine- β -cyclodextrin and Its Stability

ZHAO Yuan, OUYANG Wuqing* and FENG Renrui

(College of Veterinary Medicine, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi 712100, China)

Abstract: To prepare Diludine- β -cyclodextrin inclusion compounds in order to increase the dissolving quality of diludine in water, and its stability. The inclusion compounds were prepared with saturation water solution. The optimum formulation and preparative process for inclusion were investigated by orthogonal design method. The inclusion compound was identified by using microscope and UV-Vis absorption spectra. The optimum preparation conditions for diludine- β -cyclodextrin inclusion compounds were: β -cyclodextrin : diludine = 5 : 1 (w/w). The inclusion temperature was 75℃ and the inclusion time was 4 hours. The rates of inclusion were 31.8%~48.2% for nine samples. Inclusion complex can not only enhance 4 times the stability to light, but also gain 4.6 times the solubility of Diludine. The stability and solubility of Diludine were increased when the drug was included by β -cyclodextrin.

Key words: Diludine; β -cyclodextrin; Inclusion compound

二氢吡啶(Diludine)的化学名称为 2,6-二甲基-3,5-二乙酯基-1,4-二氢吡啶, 现已有大量的试验结果表明, 二氢吡啶对 vA、vE 和胡萝卜素有较强的稳定作用, 能提高畜禽的受胎(精)率、孵化率、产蛋率、精液品质、产奶量、日增重和饲料报酬, 降低饲养成本, 并可以降低奶牛隐性乳房炎的

发病率, 是一种用量少、效益高的多功能型饲料添加剂, 应用前景十分广阔^[1-3]。但由于其溶解度小, 在外界条件下容易被氧化, 化学性质不稳定, 生物利用度低。而 β -环糊精(β -CD) 由于其结构具有“外亲水, 内疏水”的特殊性及无毒的优良性能, 可与多种客体包结形成 β -CD 包合物, 以增加

收稿日期: 2008-12-10 修回日期: 2009-03-05

基金项目: 国家科技支撑计划(2006BAD04A11)。

作者简介: 赵元(1983-), 男, 宁夏人, 在读硕士, 专业方向: 泌乳生理与兽药制剂研发。

* 通讯作者: 欧阳五庆(1960-), 男, 陕西凤翔人, 教授, 博士生导师, 主要从事生物工程制药与细胞工程研究。E-mail: oywq@sina.com

药物的溶解度,并提高其稳定性^[46]。因此,笔者利用饱和水溶液法探索出制备二氢吡啶- β -CD 包合物的方法,经普通光学显微镜,紫外光谱鉴定^[7],确证为包合物并对其溶解度及其稳定性进行了对照试验。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Specord 50 紫外分光光度计(德国耶拿分析仪器公司);数显恒温水浴锅(国华电器有限公司 CHH-6);普通光学显微镜(重庆奥特光学仪器有限公司);高速乳化均质机(北京华远航实验设备厂);KH-500DB 型数控超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司);78HW-1 型恒温磁力加热搅拌机(杭州仪表电机厂);电热恒温干燥箱(北京科伟永兴仪器有限公司);循环水式真空泵(巩义市英峪予华仪器厂)。二氢吡啶; β -环糊精(天津市科密欧化学试剂开发中心);聚乙烯吡咯烷酮;蒸馏水;其余试剂均为分析纯。

1.2 试验方法

通过查阅相关文献^[8-11]及预试验可知,影响包合率的主要因素有:A(β -CD 与二氢吡啶分子质量比)、B(搅拌温度,℃)和 C(搅拌时间,h)。以此 3 种因素为考察对象,每个因素各取 3 个水平(表 1),选用 $L_9(3^4)$ 正交试验表进行试验,以利用率为考察指标,确定最佳制备工艺。

表 1 正交试验因素和水平

Table 1 The factors and levels of orthogonal experiment

水平 Levels	β -CD 与二氢 吡啶分子质量比(A) β -cyclodextrin, diludine	温度(B)/℃ Temperature	时间(C)/h Time
1	3:1	65	2
2	4:1	70	3
3	5:1	75	4

通过 $L_9(3^4)$ 正交试验表安排,精密称取二氢吡啶,置于 20 mL 无水乙醇中,避光超声溶解 1 h^[12],放入设定温度水浴锅中完全溶解。按比例称取 β -CD,少量聚乙烯吡咯烷酮,加 6 至 8 倍量蒸馏水,水浴锅中用均质乳化机搅拌形成饱和溶液。将前液缓慢加入后液中,避光搅拌至规定时间后取出,自然冷却。冷却液放入 4℃ 冰箱中避光 24 h,得黄色混悬液,抽滤,沉淀物先用无水乙醇洗涤,再用蒸馏水洗 2~3 次,充分洗去未包合二氢吡啶。60℃ 避光干燥 4 h,最终得到疏松的淡黄色固体,即为包合物。精密称量,计算包合物收率并通过紫外分析测其含量,计算药物利用

率。包合物收率=包合物收得量/(β -CD 投入量+二氢吡啶投入量) $\times 100\%$,药物利用率=(包合物收率 $\times 60\%$ +包封率 $\times 40\%$) $\times 100\%$ 。

1.2.1 包合物含量测定 精密称取二氢吡啶和 β -CD 适量,分别用无水乙醇和蒸馏水稀释成 10 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,用紫外分光光度计在 200~400 nm 波长进行扫描,结果显示二氢吡啶醇溶液在 238 nm 处有强吸收峰,而 β -CD 在此波长出无吸收,因此确定 238 nm 波长为二氢吡啶的测定波长(图 1)。

1.2.2 标准曲线的制备 精密称取 105℃ 避光干燥的二氢吡啶 20 mg,置 200 mL 容量瓶中,用无水乙醇溶解稀释至刻度,得标准储备液。精密吸取上述溶液 1、2、3、4、5 mL 置 10 mL 容量瓶中,无水乙醇稀释至刻度,浓度 C 分别为 10、20、30、40、50 $\mu\text{g/mL}$ 。采用紫外分光光度法,以无水乙醇为空白,在 238 nm 波长处测定 A 值。以浓度 C 对吸收度 A 回归,得标准曲线方程为: $C=16.738A+0.7487(r=0.9953)$ 。结果表明,二氢吡啶浓度在 10~50 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好。

1.2.3 药物含量的测定 精密称取包合物 45 mg 九份,用 100 mL 无水乙醇溶解,0.45 μm 微孔滤膜过滤,置 200 mL 容量瓶中稀释至刻度。摇匀精密吸取 1 mL 与 10 mL 容量瓶中,无水乙醇稀释至刻度。无水乙醇为空白,238 nm 处测吸光度 A,代入标准曲线方程中计算包合物中药物含量和包封率。包合物含药量=(样品中二氢吡啶的质量/包合物样品质量) $\times 100\%$,二氢吡啶包封率=(样品中二氢吡啶的含量/二氢吡啶投入量) $\times 100\%$ 。

1.2.4 溶解度的测定 精密称取二氢吡啶 15 mg 以及含有相同二氢吡啶量的包合物,加入 10 mL 蒸馏水,室温(25℃)放置,放置中每天定时摇匀 2 次,48 h,取上清液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,吸取续滤液 2 mL 置 10 mL 容量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度,238 nm 波长处测其吸光度 A,由标准曲线方程计算溶解度。

1.2.5 回收率的测定 取各批包合物样本适量,精密测定,按照“1.2.3”方法测定其吸光度 A,另取二氢吡啶原料药制备相同浓度的溶液,同法测定,根据两者吸光度计算样品含量,与加入量相比计算回收率,所得结果为平均回收率 98.93%,RSD=0.93%。

1.2.6 光稳定性考察 分别取二氢吡啶及相当量的包合物,在光照强度为(4500±500)lx的强光照射30 d后,按照“1.2.3”方法测定其吸光度A,测定样品中二氢吡啶含量并计算光照前后含量下降率。含量下降率=(光照前含量-光照后含量)/光照前含量×100%。

1.3 包合物的物相鉴定^[13-14]

1.3.1 显微镜下观察 分别取二氢吡啶原料药、二氢吡啶-β-环糊精包合物少许,另按1:5比例分取二氢吡啶原料药、β-CD少许,混合后置于研钵中研细,作为物理混合物,置于载玻片上,将载有样品的载玻片置于显微镜物镜下,调节放大倍数为10×40,分别采集各样品图像(图2)。

1.3.2 紫外光谱 将二氢吡啶原料药、二氢吡啶-β-环糊精包合物溶于无水乙醇中,按照“1.2.1”方法进行扫描,二氢吡啶包合前后光谱吸收峰一样,而在相同范围内β-CD无吸收峰,初步证明已形成包合物。

2 结果与分析

2.1 正交试验结果

用SPSS软件进行分析,从极差值可以看出,各因素对二氢吡啶包合物包合效果的影响顺序为A>B>C,由平均值和方差分析可知优选的包合工艺为A₃B₃C₃,即β-CD:二氢吡啶的质量比5:1,搅拌温度75℃,搅拌时间为4 h。

表2 正交试验结果

Table 2 The results of orthogonal experiment					
试验号 No.	A.质量比 w/w	B.温度/℃ Temperature	C.时间/h Time	D	利用率/% Utilize ratio
1	1	1	1	1	31.8
2	1	2	2	2	37.8
3	1	3	3	3	42.9
4	2	1	2	3	35.3
5	2	2	3	1	42.6
6	2	3	1	2	41.2
7	3	1	3	2	43.5
8	3	2	1	3	47.8
9	3	3	2	1	48.2
K1	112.5	110.6	120.8	122.6	T371.1
K2	119.1	128.2	121.3	122.5	
K3/	139.5	132.3	129.0	126.0	
K1/3	37.5	36.9	40.3		
K2/3	39.7	42.7	40.4		
K3/3	46.5	44.1	43.0		
R(极差)	9	7.2	2.7		

表3 正交试验方差分析

Table 3 Results of variance analysis					
方差来源 Variability source	平方和 Sum of square	自由度 df	均方 Mean square	F值 F	显著性 Sig.
A	132.08	2	66.04	49.65	*
B	88.61	2	44.31	33.32	*
C	14.09	2	7.05	5.30	
误差(D) Error	2.65	2	1.33		

注: F_{0.05(2,2)} = 19.00, F_{0.01(2,2)} = 99.00, * P<0.05 差异显著; ** P<0.01 差异极显著。

2.2 二氢吡啶最大吸收波长

二氢吡啶最大吸收波长见图1。

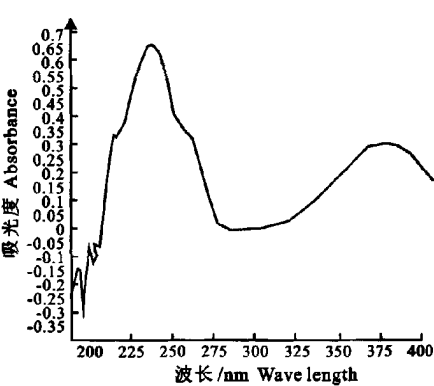


图1 二氢吡啶最大吸收波长

Fig. 1 The absorb wave-length of diludine

2.3 溶解度结果

二氢吡啶、二氢吡啶-β-环糊精包合物的溶解度分别为(0.57±0.02)mg/L和(2.63±0.05)mg/L,由结果可以看出二氢吡啶-β-环糊精包合物的溶解度有显著提高,约为原料药的4.6倍。经单侧t检验,包合前后溶解度存在极显著差异(P<0.01)。

2.4 稳定性结果

在长期强光照射后,二氢吡啶原料药颜色明显变深,包合物颜色变化不明显。经紫外分光光度法测试计算后,二氢吡啶在原料药中的含量下降率约为24.5%,包合物中药物含量下降率约为5.6%,后者的抗氧化率为前者的4.5倍,从而证明形成包合物后光稳定性增强。

2.5 二氢吡啶-β-CD包合物的鉴定结果

由图2可以看出,二氢吡啶原料药为晶体长条薄片状;β-CD为矩形状结晶体状;二氢吡啶与β-CD物理混合物其形态与各自原本形态无变化,可见纯物理混合不能形成包合物;二氢吡啶-β-CD包合物形态与之前发生变化,呈不规则颗粒状结晶。

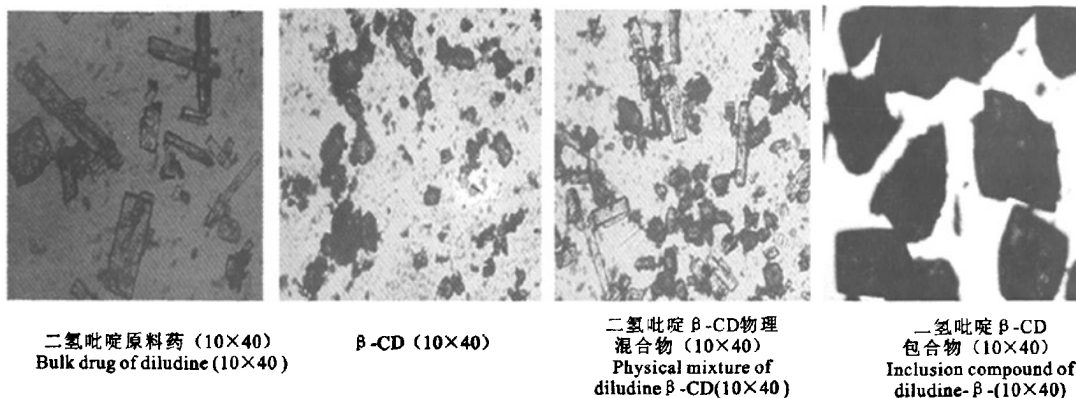


图2 显微镜检测结果

Fig. 2 The results of microscope test

3 讨论

3.1 β -CD 是超分子化学中最重要的基础物质之一,分子形状呈圆筒状,它具有独特的内疏水、外亲水结构,使得 β -CD 能作为“宿主”包合不同“客体”分子形成主客包合物,从而改变客体分子的光物理或光化学性质。由于二氢吡啶难溶于水并容易见光分解氧化,从而导致其性质不稳定,生物利用度低。所以笔者采用饱和水溶液法制备二氢吡啶- β -CD 包合物,提高药物的溶解度和生物利用度。

3.2 通过查阅相关文献可知有机溶剂可使溶剂疏水性增加,从而影响二氢吡啶进入 β -CD 所提供的疏水腔道以形成包合物;而水溶性高聚物聚乙烯吡咯烷(PVP)在包合反应中可以使包合反应的 ΔH 负值增大,同时 ΔS 负值也增大可以增加药物与 β -CD 的包合作用。本试验中利用无水乙醇溶解二氢吡啶,从而影响了药物进入 β -CD 所提供的疏水腔道,导致包合物的含药量降低。通过加入少量水溶性高聚物聚乙烯吡咯烷酮(PVP),降低无水乙醇对包合作用的影响,从而提高包合物的含药量,但水溶性高聚物聚乙烯吡咯烷(PVP)具体的作用机理还有待于进一步的研究。

3.3 二氢吡啶原料药见光后易被氧化,被包合后,可能其不稳定部分被包含在 β -CD 的空穴中,一定程度上减少了外界的影响,使光稳定性提高,同时也证明了二氢吡啶- β -CD 包合物的形成。

3.4 由于二氢吡啶遇光不稳定,易氧化分解,故

试验须在避光条件下进行。

参考文献:

- [1] 王彦波. 多功能饲料添加剂二氢吡啶的研究进展[J]. 饲料博览, 2005(6): 35-37.
- [2] 屈海, 绿野, 汪保生. 日粮中添加二氢吡啶对肉兔受胎率和精液质量的影响[J]. 中国养兔杂志, 1994(6): 6-7.
- [3] 郑晓中, 李克驴, 黄应祥. 二氢吡啶和维生素 E 对奶牛应用效果研究[J]. 动物营养学报, 1998(1): 60-63.
- [4] 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.
- [5] 贺国芳, 祁晓红, 林芳, 等. 正交实验法优选克拉霉素- β -环糊精包合工艺[J]. 医药导报, 2005, 24(10): 927-928.
- [6] 李萍, 陈善, 丁建新, 等. 正交实验考察单苄基提取物 β -环糊精包合物包合工艺[J]. 军事医学科学院院刊, 2006, 30(3): 236.
- [7] 董川, 杨频. 环糊精包合物的形成及光谱表征[J]. 光谱实验室, 2000, 17(3): 247-256.
- [8] 丁燕飞, 姚瑶, 周彦彬, 等. 尼群地平- β -环糊精包合物的研制[J]. 中国医院药学杂志, 2003, 23(8): 461-462.
- [9] 关清香, 林天慕, 丁志英, 等. 尼群地平- β -环糊精包合物的制备[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2005, 31(5): 811-813.
- [10] 冯桂芬, 李引乾, 姜成. 吡啶酮-羟丙基- β -环糊精包合物的制备[J]. 西北农业学报, 2007, 16(4): 206-209.
- [11] 宋素芳. 生物统计学(第1版)[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1998: 217-227.
- [12] 邓师勇, 马柏林, 刘树芳. 超声法提取鸡骨草总生物碱的工艺研究[J]. 西北农业学报, 2007, 16(3): 204-207.
- [13] 唐跃年, 张尧陵, 吴晓明. 全反式维甲酸- β -环糊精包合物的制备与鉴定[J]. 中国医院药学杂志, 1995, 15(2): 55-57.
- [14] 董岩, 姬小明, 郑纯宁, 等. 姜多心安- β -环糊精包合物的鉴定[J]. 河南科学, 2005, 23(3): 359-361.

二氢吡啶-β-环糊精包合物的制备及其稳定性

刊名: [西北农业学报](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名: [ACTA AGRICULTURAE BOREALI-OccIDENTALIS SINICA](#)
年, 卷(期): 2009, 18(4)

参考文献(14条)

1. 王彦波 [多功能饲料添加剂二氢吡啶的研究进展](#) [期刊论文]-[饲料博览](#) 2005(06)
2. 屈海; 绿野; 汪保生 [日粮中添加二氢吡啶对肉兔受胎率和精液质量的影响](#) 1994(06)
3. 郑晓中; 李克驹; 黄应祥 [二氢吡啶和维生素E对奶牛应用效果研究](#) 1998(01)
4. Schlosser D; Irrgang S; Schmauder H P [Steroid hydroxylation with free and immobilized cells of *Penicillium raistrickii* in the presence of β-cyclodextrin](#) 1993
5. 贺国芳; 祁晓红; 林芳 [正交实验法优选克拉霉素-β-环糊精包合工艺](#) 2005(10)
6. 李萍; 陈善; 丁建新 [正交实验考察葎草提取物β-环糊精包合物包合工艺](#) [期刊论文]-[军事医学科学院院刊](#) 2006(03)
7. 董川; 杨频 [环糊精包合物的形成及光谱表征](#) 2000(03)
8. 丁燕飞; 姚瑶; 周彦彬 [尼群地平-β-环糊精包合物的研制](#) 2003(08)
9. 关清香; 林天慕; 丁志英 [尼群地平-β-环糊精包合物的制备](#) [期刊论文]-[吉林大学学报\(医学版\)](#) 2005(05)
10. 冯桂芬; 李引乾; 姜成 [吡嗪酮-羟丙基-β-环糊精包合物的制备](#) [期刊论文]-[西北农业学报](#) 2007(04)
11. 宋素芳 [生物统计学](#) 1998
12. 邓师勇; 马柏林; 刘树芳 [超声法提取鸡骨草总生物碱的工艺研究](#) [期刊论文]-[西北农业学报](#) 2007(03)
13. 唐跃年; 张莞陵; 吴晓明 [全反式维甲酸-β-环糊精包合物的制备与鉴定](#) 1995(02)
14. 童岩; 姬小明; 郑纯宁 [美多心安-β-环糊精包合物的鉴定](#) [期刊论文]-[河南科学](#) 2005(03)

本文读者也读过(10条)

1. 吴莉. 龚金红. 刘扬. 张玮. 张学农. WU Li. GONG Jin-hong. LIU Yang. ZHANG Wei. ZHANG Xue-nong [冰片-β-环糊精包合物理化性质及稳定性研究](#) [期刊论文]-[抗感染药学](#) 2008, 5(4)
2. 周叶红. 王秀萍. 双少敏. ZHOU Yehong. WANG Xiuping. SHUANG Shaomin [β-胡萝卜素包合物的制备及稳定性研究](#) [期刊论文]-[中国药房](#) 2007, 18(34)
3. 魏世超. 杜光. 张慧玲. 贺国芳. 闵敏. WEI Shi-chao. DU Guang. ZHANG Hui-ling. HE Guo-fang. MIN Min [苯巴比妥钠包合物的制备及其在液体制剂中的稳定性](#) [期刊论文]-[中国医院药学杂志](#) 2007, 27(1)
4. 郭义明. 周兵. 刘艳华. 王子忱. Guo Yiming. Zhou Bing. Liu Yanhua. Wang Zichen [γ-亚麻酸甲酯包合物的制备及热稳定性研究](#) [期刊论文]-[中国药业](#) 2010, 19(2)
5. 王正宽. WANG Zheng-kuan [胶体磨法包合肉桂油及包合物稳定性考察](#) [期刊论文]-[安徽中医学院学报](#) 2009, 28(6)
6. 黄德凤. 韦文俊. 邓巍. 毛曦晔. 余文燕. 王晓明. 谢佳伶 [八角茴香油β-环糊精包合物的稳定性考察](#) [期刊论文]-[广西中医药](#) 2010, 33(4)
7. 陆亚鹏. 赵育. LU Ya-peng. ZHAO Yu [虾青素-羟丙基-β-环糊精包合物的制备与稳定性](#) [期刊论文]-[江苏大学学报\(医学版\)](#) 2008, 18(6)
8. 廖正根. 平其能. 邹红. 仲艳. LIAO Zheng-gen. PING Qi-Neng. ZOU Hong. ZHONG Yan [丹皮酚β-环糊精包合物的制备工艺研究](#) [期刊论文]-[中草药](#) 2005, 36(6)
9. 陈航. 邓丽明. CHEN Hang. DENG Li-ming [抗病毒口服液中挥发油羟丙基-β-环糊精包合物的稳定性考察](#) [期刊论文]-[药学与临床研究](#) 2010, 18(4)

10. [刘夺奎, 董振礼](#) [环糊精包合客体分子机理的研究](#) [期刊论文] - [染料与染色](#) 2004, 41 (3)

引用本文格式: [二氢吡啶- \$\beta\$ -环糊精包合物的制备及其稳定性](#) [期刊论文] - [西北农业学报](#) 2009 (4)