

阿魏酸/钾/ β -环糊精金属有机骨架包合物的制备工艺优化[△]

杨小宁*,张秀梅,吴连贺,沙靖全#,杨西亚,方 璐(佳木斯大学药学院,黑龙江 佳木斯 154007)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)07-936-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.07.22

摘要 目的:制备阿魏酸/钾/ β -环糊精金属有机骨架包合物(FA/K/ β -CD/MOF),并优化其制备工艺。方法:利用溶剂热法制备K/ β -CD/MOF,以其为包合材料、FA为主药,采用研磨法制备FA/K/ β -CD/MOF。以主药-包合材料摩尔比、研磨时间、滴加时间、包合温度为考察因素,以包合率为评价指标,通过正交设计优化处方工艺。采用红外光谱和差示扫描量热法对所制FA/K/ β -CD/MOF进行鉴定,并测定其包合率和溶解度。结果:最优处方工艺为主药-包合材料摩尔比3:1、滴加时间60 min、包合温度40 ℃、包合时间60 min;所制得的FA/K/ β -CD/MOF已经构成一种新的物相,其平均包合率为(18.0±1.6)%,RSD为0.9%(n=6),其溶解度是FA的15倍(9.582 mg/ml vs. 0.647 mg/ml)。结论:成功制得FA/K/ β -CD/MOF,且处方工艺合理、可行。

关键词 阿魏酸;环糊精金属有机骨架;包合物;正交设计

Optimization of the Preparation Technology of Ferulic Acid/K/ β -CD/Metal Organic Framework Inclusion

YANG Xiaoning, ZHANG Xiumei, WU Lianhe, SHA Jingquan, YANG Xiya, FANG Lu (School of Pharmacy, Jiamusi University, Heilongjiang Jiamusi 154007, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare Ferulic acid/K/ β -CD/metal organic framework (FA/K/ β -CD/MOF) inclusion, and to optimize its preparation technology. METHODS: K/ β -CD/MOF was synthesized by solvothermal method as inclusion material. Using FA as main component, FA/K/ β -CD/MOF was prepared by grinding method. The preparation technology was optimized by orthogonal test using mole ratio of main component-inclusion material, grinding time, dropping time and inclusion temperature as factors, inclusion rate as index. Prepared FA/K/ β -CD/MOF was indentified by IR spectrum and DSC, and inclusion rate and dissolution rate were determined. RESULTS: Optimized preparation technology was as follows as mole ratio of main main component to inclusion material 3:1, dropping time 60 min, inclusion temperature 40 ℃, inclusion time 60 min. Prepared FA/K/ β -CD-MOF had already formed a new kind of phase, and its average inclusion rate was (18.0±1.6)% (RSD=0.9%, n=6); its solubility was 15 times as much as FA (9.582 mg/ml vs. 0.647 mg/ml). CONCLUSIONS: FA/K/ β -CD/MOF is prepared successfully; and the preparation technology is reasonable and feasible.

KEYWORDS Ferulic acid; Cyclodextrin metal organic framework; Inclusion complex; Orthogonal design

阿魏酸(FA)化学名为4-羟基3-甲氧基肉桂酸,具有抗血小板聚集、抑制血小板5-羟色胺释放、增强前列腺素活性、镇痛、缓解血管痉挛等作用^[1-3]。但其水溶性差、溶出度低,影响了FA在给药系统中的应用^[4-7]。为提高FA的溶解性,目前已经有FA与 β -环糊精(β -CD)^[8-9]及其衍生物^[10-11]的包合研究。但利用CD类金属有机骨架材料(Metal organic frameworks, MOFs)^[12-13]包合药物分子还未见报道。2010年美国科学家Stoddart利用 γ -环糊精(γ -CD)与碱金属合成了具有生物相容及可再生特性的CD-MOFs,为天然分子构筑材料家族增添了新的成员^[14-15]。本试验采用溶剂热法制备了钾(K)/ β -CD/MOF,并研究了其包合FA的最佳包合工艺。

1 材料

1.1 仪器

UV757CRT型紫外分光光度计(上海精科实业有限公司);KQ-500DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);DF-101S型集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市英峪予华仪器

厂);FAC004型电子分析天平(上海天平仪器厂);VERTEX70型傅里叶变换红外光谱仪(天津瑞岸科技有限公司)。

1.2 药品与试剂

FA对照品(国药集团化学试剂有限公司,医药级,批号:20100303,纯度:>98.0%); β -CD(中国医药集团上海化学试剂公司,医药级);无水甲醇、无水乙醇(天津博迪化工有限公司,分析纯);其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 K/ β -CD/MOF的合成

准确称取1.135 g(1 mmol)纯化后 β -CD和0.448 g(8 mmol)的KOH分别加入到10 ml乙醇溶液中($V_{乙醇}:V_{水}=6:4$),室温下搅拌30 min后,转移到15 ml的聚四氟乙烯的低压反应釜中,100 ℃条件下恒温反应3 d后冷却至室温,得到白色块状晶体,洗涤,干燥,产率约为43%(以K计)。

2.2 包合物的制备

按主药-包合材料摩尔比称取经五氧化二磷(P_2O_5)干燥至恒质量的FA和K/ β -CD/MOF,在包合温度下将K/ β -CD/MOF置于研钵中,加入乙醇研匀。研磨状态下逐滴滴加FA的饱和乙醇溶液,并在指定时间下研磨成糊状,再用少量无水乙醇洗涤3次,得到FA/K/ β -CD/MOF。将制备好的FA/K/ β -CD/MOF

[△] 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.21271089)

* 研究生。研究方向:药物化学、药物制剂。E-mail: 854664970@qq.com

通信作者:教授。研究方向:创新药物的设计与合成。E-mail: shajq2002@126.com

放入 50 °C 烘箱里干燥 12 h。

2.3 包合物的含量测定^[8]

精密称取 FA 20 mg, 加入适量蒸馏水, 超声溶解, 定容至 50 ml 量瓶中, 摇匀; 吸取 2 ml, 置于 50 ml 量瓶中, 加蒸馏水至刻度, 摇匀; 再分别吸取 2、4、6、8、10 ml, 分别置于 10 ml 量瓶中, 定容至刻度, 制成质量浓度分别为 0.003 2、0.006 4、0.009 6、0.012 8、0.016 0 mg/ml 的溶液。以蒸馏水为空白, 用紫外分光光度计于 313 nm 波长处测定吸光度(A)。以 A 为纵坐标、质量浓度(c)为横坐标, 进行线性回归, 得回归方程为 $A = 90.813c + 0.011$ ($r^2 = 0.999 2$)。FA 在 0.003 2~0.016 0 mg/ml 质量浓度的范围内与其吸光度呈良好线性关系。另精密称取 FA/K/β-CD/MOF 12.5 mg, 置于 25 ml 量瓶中, 加入适量蒸馏水超声振荡释放被包合的 FA, 加入蒸馏水定容, 摇匀, 于 313 nm 波长处测定吸光度, 代入回归方程计算 FA 的含量。

2.4 FA 包合率的计算

FA 的包合率是衡量其包合效率的重要指标, 其值越高说明包合效果越好。按公式计算包合率, 包合率(%) = 包合物中 FA 的质量/投入 FA 的质量 × 100%。

2.5 正交试验优化工艺

由于主药-包合材料摩尔比、研磨时间和滴加时间影响主药与包合材料间的作用效果, 包合温度影响包合速率, 为了寻找 FA 和 K/β-CD/MOF 的最佳包合工艺, 笔者以主药-包合材料摩尔比(A)、滴加时间(B, min)、包合温度(C, °C)、研磨时间(D, min)为考察因素, 以包合率为指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验筛选 FA/K/β-CD/MOF 的最佳包合工艺。采用 Matlab R2014a 对正交试验结果每个因素中各个水平的影响值进行分析。因素与水平见表 1; 正交试验设计与结果见表 2; 方差分析结果见表 3; 各因素中各水平的影响值曲线见图 1。

表 1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素			
	A	B, min	C, °C	D, min
1	1:1	20	30	60
2	1:3	40	40	90
3	1:5	60	50	120

表 2 正交试验设计与结果

Tab 2 Design and result of orthogonal test

编号	因素				包合率, %
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	8.5
2	1	2	2	2	4.6
3	1	3	3	3	4.0
4	2	1	3	3	13.4
5	2	2	2	1	15.5
6	2	3	1	2	13.9
7	3	1	3	2	13.3
8	3	2	1	3	10.4
9	3	3	2	1	18.1
X_1	17.1	35.2	32.8	42.1	
X_2	42.8	30.5	38.1	31.8	
X_3	41.8	36.0	30.7	27.8	
K_1	5.7	11.7	10.9	14.0	
K_2	14.3	10.2	12.7	10.6	
K_3	13.9	12.0	10.2	9.3	
R	8.6	1.8	2.5	4.7	

表 3 方差分析结果

Tab 3 Results of variance analysis

变异来源	离均差平方和	自由度	均方	F	P
A	141.286 7	2	70.643 3	58.382 9	<0.05
B	5.886 7	2	2.943 3	2.432 5	
C	2.420 0	2	1.210 0	1.000 0	
D	36.286 7	2	18.143 3	14.994 5	
误差	2.420 0	2	1.210 0		
总和	185.880 0	8			

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

Note: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

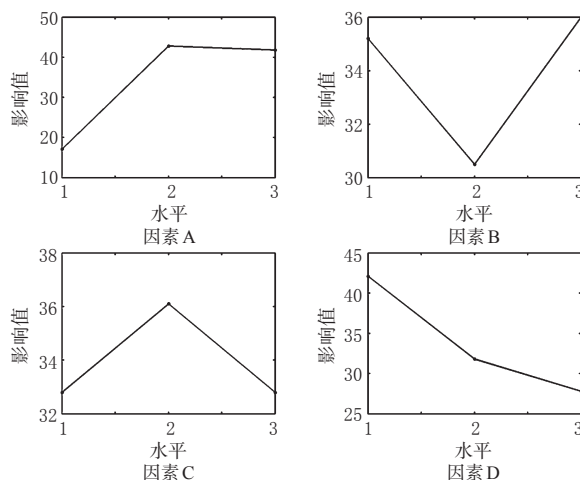


图 1 各因素中各水平的影响值曲线

Fig 1 Influence value curve of each level in corresponding factor

由表 2 可以看出, 影响包封率的因素顺序依次为 $A > D > C > B$ 。由表 3 可以看出, A 对包合物包封率有显著影响 ($P < 0.05$)。由图 1 可以看出, A 第 2 个水平(1:3)、B 第 3 个水平(60 min)、C 第 2 个水平(40 °C)和 D 第 1 个水平(1 h)影响最大。综合考虑, 包合物的最佳工艺为 $A_2B_3C_2D_1$, 即主药-包合材料摩尔比为 1:3、滴加时间为 60 min、包合温度为 40 °C, 研磨时间为 60 min。按最佳工艺制备 6 批包合物进行验证, 经测定平均包合率为 $(18.0 \pm 1.6)\%$, RSD 为 0.9% ($n = 6$)。结果表明, 所得包合物的包合率均高于正交试验其他条件下的包合率, 表明所选工艺合理、可行。

2.6 包合物的鉴定

2.6.1 红外光谱的测定 用 KBr 分别将 FA、K/β-CD/MOF、FA 与 K/β-CD/MOF 的物理混合物和 FA/K/β-CD/MOF 包合物压片, 进行红外光谱测定, 红外光谱见图 2。

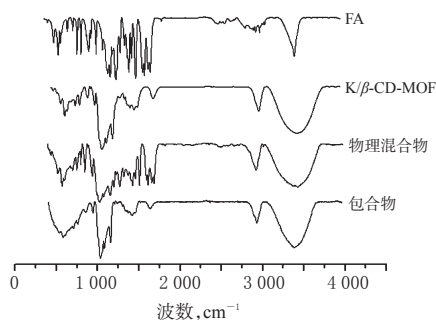


图 2 红外光谱图

Fig 2 IR spectra

由图2可见,包合物与物理混合物的红外图谱明显不同,包合物有3处峰发生红移: 2 927.89、1 031.91、954.11 cm^{-1} ;有1处峰发生蓝移: 3 380.2 cm^{-1} ;有4处峰消失: 1 691.55、1 517.96、1 465.88、852.52 cm^{-1} ;有3处峰吸收强度明显增加: 1 147.69、999.12、758.01 cm^{-1} ;有3处峰吸收强度明显减弱: 534.27、657.72、1 332.79 cm^{-1} 。所有这些峰值的变化均表明,FA与K/ β -CD已经形成新的物相。

2.6.2 差示扫描量热法的测定 采用差示扫描量热法分别测试FA、K/ β -CD/MOF、FA与K/ β -CD/MOF的物理混合物和FA/K/ β -CD/MOF包合物。测试条件:升温范围0~400 $^{\circ}\text{C}$,升温速度15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$,空坩埚为参比,液氮冷却。差示扫描量热分析图谱见图3。

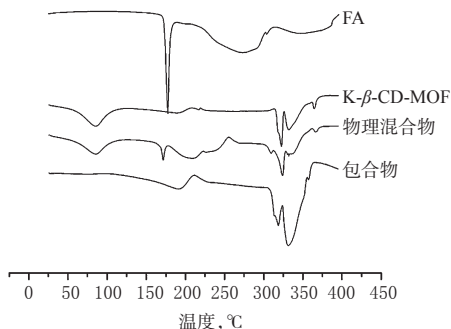


图3 差示扫描量热分析图谱

Fig 3 Differential scanning calorimetry analysis patterns

由图3可见,FA在175 $^{\circ}\text{C}$ 有1个尖的内热峰,为FA的主药峰;K/ β -CD/MOF有3个内热峰,在62~100 $^{\circ}\text{C}$ 有1个分解峰,融化峰在313~315 $^{\circ}\text{C}$;物理混合物的图谱上仍存在主药峰,而包合物的主药峰完全消失,主药被完全包封在K/ β -CD/MOF分子腔内,而在329 $^{\circ}\text{C}$ 出现1个强的峰值,表明包合物已构成一种新的物相。

2.7 溶解度的测定

称取过量FA及FA/K/ β -CD/MOF包合物分别置于10 ml量瓶内,加入磷酸盐缓冲液稀释至刻度,制备成过饱和溶液。于室温下在振荡器中振荡48 h,使之溶解达到平衡。离心,吸取上清液以0.22 μm 微孔滤膜过滤并以磷酸盐缓冲液稀释适当倍数后用紫外分光光度计于313 nm波长处测定吸光度,根据回归方程计算FA及FA/K/ β -CD/MOF包合物的溶解度。结果FA的溶解度为0.647 mg/ml,包合物的平均溶解度为9.582 mg/ml,比FA溶解度增大15倍。

3 讨论

与CD相比,CD-MOFs是由多个CD与金属配位形成了具有较大的孔洞或笼状的结构,具有更大的比表面积,从而具有很高的药物装载能力;另外金属与有机配体之间的配位键容易断裂,具有好的生物降解能力,尤其是CD-MOFs是利用可食用的产物来合成,对人体没有副作用。本研究成功地合成了一种新型的K/ β -CD/MOF,利用K/ β -CD/MOF的高载药能力

与FA制成了包合物,经红外光谱法、差示扫描量热法验证已形成包合物并确定了最佳包合工艺条件为:阿魏酸与K/ β -CD/MOF的摩尔比为1:3、滴加时间为60 min、40 $^{\circ}\text{C}$ 下研磨60 min。这将为FA制成溶液型制剂提供了实验依据。

参考文献

- [1] 吴建良,沈敏敏,杨水新,等.阿魏酸对小胶质细胞炎症反应的抑制作用[J].中国药理学通报,2015,31(1):97.
- [2] 郝庆秀,赵不文,牛建昭,等.阿魏酸对人类乳腺癌细胞增殖作用机制的实验研究[J].中国中药杂志,2010,35(20):2 752.
- [3] 殷华芳,钱晓萍,刘宝瑞.阿魏酸抗肿瘤作用机制研究进展[J].现代中西医结合杂志,2010,19(32):4 238.
- [4] 柳永兵,胡大军.阿魏酸钠联合缬沙坦治疗IgA肾病的临床观察[J].中国药房,2010,21(36):3 417.
- [5] 邹全飞,马坤,陆榕.阿魏酸药动学研究进展[J].药物评价研究,2013,36(4):297.
- [6] 黄自知,孙汉洲,孙丽,等.阿魏酸分子结构和振动光谱的理论研究[J].分子科学学报,2012,28(2):123.
- [7] 杨冰,杜守颖,白洁,等.阿魏酸的微针透皮给药研究[J].中国中药杂志,2014,39(24):4 773.
- [8] 高瑞英,慕丹,傅中.阿魏酸/ α -环糊精包合物的制备及表征[J].日用化学工业,2010,40(2):94.
- [9] 赵燕燕,李丽,刘宇.阿魏酸环糊精包合物的制备及体外经皮通透性的评价[J].中国医药工业杂志,2010,41(5):339.
- [10] 谷福根,吴春芝,李汉蕴.阿魏酸-羟丙基- β -环糊精包合物的研制[J].中国药房,2003,14(10):599.
- [11] 王宏阳,蒋剑平,盛云杰,等.椒目油的 β -环糊精包合工艺研究[J].中草药,2011,42(3):491.
- [12] 李光喜,宿爱山,王淑美.正交试验优选浊淋清胶囊中牡丹皮挥发油的提取工艺及 β -环糊精包合物的包合工艺[J].中国药房,2010,21(31):2 903.
- [13] Gao X, Cui Y, Levenson RM, et al. In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots[J]. *Nat Biotech*, 2004, 22(8):969.
- [14] Smaldone RA, Forgan RS, Furukawa H, et al. Metal-Organic frameworks from edible nature products[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2010, 122(46): 8 713.
- [15] Gassensmith JJ, Furukawa H, Samldone RA, et al. Strong and reversible binding of carbon dioxide in green metal-organic framework[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2011, 133(39):15 312.

(收稿日期:2015-05-08 修回日期:2015-10-16)

(编辑:邹丽娟)