DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.11.017

论著

文章编号:1000-5404(2004)11-0984-03

格列齐特-羟丙基-β-环糊精包合物的制备

何 静,王章阳,刘松青 (第三军医大学西南医院药剂科,重庆 400038)

提 要:目的 制备格列齐特-羟丙基-β-环糊精包合物增加其溶解度。方法 采用喷雾干燥法、冷冻干燥法、研磨法等不同方法制备格列齐特-羟丙基-β-环糊精包合物,经相溶解度图法、红外分光光度法、热分析以及溶解度测定、铵限量检查法等对包合物进行测定。结果 格列齐特-羟丙基-β-环糊精包合物在三种方法中均可形成,主、客分子比为1∶1;但冷冻干燥法包合物有铵残留。结论 采用研磨法和喷雾干燥法可制备格列齐特-羟丙基-β-环糊精包合物,并明显提高格列齐特的溶解度。

关键词:格列齐特;羟丙基-β-环糊精;包合物;溶解度
中图法分类号:R943;R977.15 文献标识码:A

Preparation of gliclazide-hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion complexes

HE Jing, WANG Zhang-yang, LIU Song-qing (Department of Pharmacy, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: **Objective** To prepare gliclazide (GZ)-hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HP-β-CD) inclusion complexes in order to enhance its aqueous solubility. **Methods** Inclusion complexes, prepared using 3 different methods of spray-drying, freeze-drying, and grinding, were identified by phase solubility analysis, infrared spectrophotometry, thermal analysis, and determination of the limited ammonium concentration. **Results** The HP-β-CD inclusion complexes could be prepared by using the 3 different methods. The ratio of host/guest molecules was 1∶1. Ammonium residues were detected in inclusion complexes prepared by the freeze-dried method. **Conclusion** The inclusion complexes can be prepared by the spray-drying and grinding methods. The solubility of gliclazide can be significantly increased in the inclusion complexes.

Key words: gliclazide; hydroxypropyl-β-cyclodextrin; inclusion complex; solubility

格列齐特(gliclazide, GZ)是第2代口服磺酰脲类降血糖药,既可治疗糖尿病代谢紊乱,又可防止血管病变,改善视网膜病变和肾功能,适用于非胰岛素依赖性糖尿病、肥胖型糖尿病、老年性糖尿病及伴心血管并发症的糖尿病[1],已逐渐成为一线用药。但由于GZ水溶性小、溶解速率慢,生物利用度个体差异大[2~4],影响了GZ的临床应用效果。羟丙基-β-环糊精(Hydroxypropyl-beta-Cyclodextrin, HP-β-CD)是一种具有广阔发展前景的优良药用辅料。它不仅水溶度高(75 g/100 ml),对热稳定,且对肾无毒,对肌肉和粘膜几乎无刺激,难溶性药物被HP-β-CD包合后,能增加药物的溶解度和溶解速度,提高药物生物利用度和稳定性[5,6]。本研究拟采用HP-β-CD对GZ进行包合以期能增加其溶解度。

1 材料方法

1.1 材料

GZ(天津新新药业,批号020292);GZ对照品(中国药品生物制品检定所);HP-β-CD(西安德立生物化工有限公司,批号20020120),所用试剂均为分析纯。

1.2 仪器

贝克曼DU-650紫外分光光度仪(美国贝克曼公司);B-191喷雾干燥仪(瑞士);78HW-1恒温磁力搅拌器(江苏中大仪器厂);SAVANT冷冻干燥机(美国Savant instrument INC.);日本理学电机热分析仪(Rigaku);370FT-IR傅立叶转换-红外分光光度仪(Nicolet)。

1.3 方法

1.3.1 紫外吸收测定 参照中华人民共和国药典[7]的方法,以磷酸盐缓冲液(pH 8.6)为溶剂,紫外扫描得GZ、HP-β-CD紫外吸收曲线,GZ吸收峰为226 nm,HP-β-CD在该处没有吸收。

作者简介:何 静(1970-),女,重庆市人,讲师,主要从事药物制剂方面的研究,现在重庆市药剂学校药剂教研室。电话:(023)86262045

收稿日期:2004-01-05;修回日期:2004-05-01

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.3.2　标准曲线的制备　　精密称取干燥至恒重的 GZ 对照品 2 mg, 加磷酸盐缓冲液(pH 8.6)溶解, 定容至 50 ml, 再精密量取 1、2、3、4、5 ml 于 10 ml 容量瓶中, 加磷酸盐缓冲液(pH 8.6)稀释、定容, 于 226 nm 处测吸收度 A。以浓度 C(μg/ml)对吸收度 A 回归, 得标准曲线方程: C(μg/ml)= −0.0024+25.5271 A, r= 0.9999。

1.3.3　相溶解度研究　　参照 Higuchi 等[9] 的方法, 将过量 GZ 加入于一系列 HP-β-CD 水溶液(0%~20%)中, 置 10 ml 容量瓶中密闭, 于 25 ℃在水浴震荡器(140 r/min)平衡 3 d, 迅速用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液用磷酸盐缓冲液(pH 8.6)稀释适当倍数, 于 226 nm 处测吸收度 A, 代入标准曲线方程, 测得饱和溶液浓度。以 HP-β-CD 浓度为横坐标, GZ 溶解度为纵坐标做图, 得相溶解度图, 见图 1, GZ 溶解度随 HP-β-CD 浓度的增加而成线性增加, 其相溶解度图为典型的 AL 型, 说明 HP-β-CD 在该浓度范围内, GZ 与 HP-β-CD 可形成 1∶1 摩尔包合物。回归方程为 [GZ] = 8.943× 10^{-5} + 1.35× 10^{-2} [HP-β-CD], r= 0.997。由公式 $K_{1:1}$= 斜率/截距×(1-斜率)计算 25℃的包合物表观稳定常数 $K_{1:1}$ 为 153。

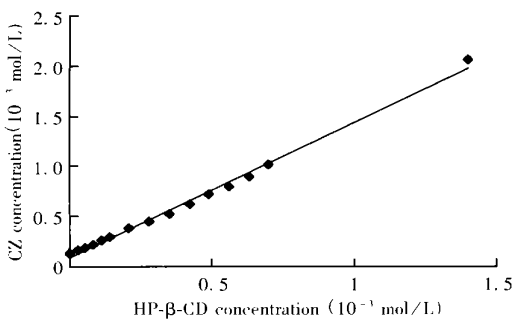


图 1　GZ 在 HP-β-CD 溶液中的相溶解度图

Fig 1　Phase solubility diagram of GZ in the HP-β-CD solution

1.3.4　包合物的制备

1.3.4.1　喷雾干燥法　　参照 Veiga 等[9] 的方法, 称取 GZ 3 g, 加 2 ml 无水乙醇润湿, 加入 50 ml 稀氨溶液溶解, 称取 HP-β-CD 13.22 g(摩尔比 1∶1), 加水 50 ml 溶解, 电磁搅拌下将 GZ 溶液滴加入 HP-β-CD 溶液中, 继续搅拌至 3 h, 喷雾干燥(进口温度 145 ℃, 出口温度 100 ℃)。

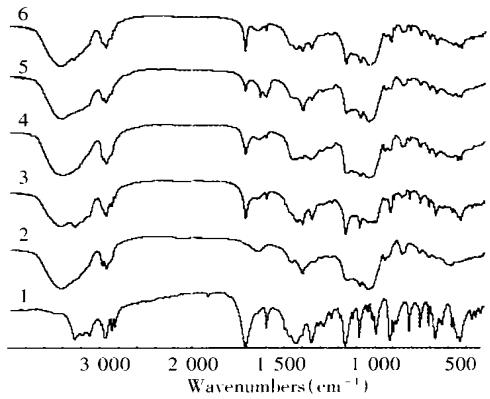
1.3.4.2　冷冻干燥法　　按 1.3.4.1 喷雾干燥法, 电磁搅拌下将 GZ 溶液滴加入 HP-β-CD 溶液中, 继续搅拌至 3 h, 冷冻干燥。

1.3.4.3　研磨法　　参照 Veiga 等[9] 的方法, 称取 GZ3 g, HP-β-CD 13.22 g, 用等量递加法在乳钵中混匀, 加入少量乙醇-水(1∶3)混合溶剂研磨 1 h, 40 ℃干燥, 取固体研磨而得。

2　结果

2.1　红外吸收光谱(IR)的测定

用 KBr 压片, 分别测定 GZ、HP-β-CD、GZ 与 HP-β-CD 混合物、三种方法制备的 GZ-HP-β-CD 包合物红外光谱, 见图 2。



1: GZ; 2: HP-β-CD; 3: Physical mixture of GZ and HP-β-CD; 4: GZ-HP-β-CD inclusion complexes by spray-drying method; 5: GZ-HP-β-CD inclusion complexes by freeze-drying method; 6: GZ-HP-β-CD inclusion complexes by grinding method

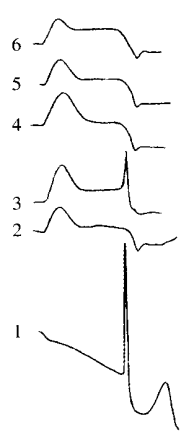
图 2　样品的红外图谱

Fig 2　Infrared spectrogram of the samples

图 2 可见, 混合物基本为 GZ 与 HP-β-CD 两组份图谱的叠加, 包合物与混合物的图谱明显不同, 包合物有 2 个峰发生红移, 分别为: 578, 3427 cm^{-1}, 1 个峰发生紫移是 1 347 cm^{-1}, 6 个峰消失: 分别为 471、632、1 021、1 241、2 868、3 273 cm^{-1}, 且包合物的峰强度有改变。这均表明 HP-β-CD 与 GZ 产生了包合作用[10]。另外, 三种包合物的红外图谱略有差别, 提示包合状态可能存在细微差异。

2.2　差示热分析图谱(DTA)的测定

对 GZ、HP-β-CD、GZ 与 HP-β-CD 物理混合物、三种方法制备的 GZ-HP-β-CD 包合物进行了差示热分析, 走纸速度 2.5 mm/min, 升温速率为 10 ℃/min, 升温范围为 30~220 ℃, 测定气体为空气。差示热分析图谱见图 3。



1: GZ; 2: HP-β-CD; 3: Physical mixture of GZ and HP-β-CD; 4: GZ-HP-β-CD inclusion complexes by spray-drying mehod; 5: GZ-HP-β-CD inclusion complexes by freeze-drying mehod; 6: GZ-HP-β-CD inclusion complexes by grinding mehod

图 3　样品的差示热分析图谱

Fig 3　DTA curves

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

包合物与混合物的图谱有明显的差别，物理混合物为GZ与HP-β-CD两组分热分析曲线图型的叠加，而包合物完全形成新的热分析图，GZ在164 ℃的吸热峰(GZ熔点)消失，说明GZ与HP-β-CD形成包合物[11]。

2.3 溶解度测定

定量称取过量的GZ(25 mg)、GZ与HP-β-CD的物理混合物和三种方法制备的GZ-HPβ-CD包合物(相当于25 mg GZ)分别置于10 ml量瓶内，加水配成过饱和溶液，于25 ℃水浴震荡器(50 r/min)平衡1 d，迅速用0.45 μm微孔滤膜过滤，取续滤液用磷酸盐缓冲液(pH 8.6)稀释适当倍数，于226 nm处测吸收度*A*，代入标准曲线方程，经计算得到GZ在水中的溶解度分别为(42±1.6)、(77±1.8)、(175±2.7)、(252±4.1)、(157±3.6) μg/ml(n=3)，在上述实验条件下，物理混合物的溶解度比原料增加约1.8倍、喷雾干燥法和研磨法所得包合物的溶解度比原料增加约4倍，冷冻干燥包合物溶解度增加6倍。

2.4 铵限量检测

冷冻干燥法与喷雾干燥法在干燥前工艺相同，但冷冻产品溶解度明显大于喷雾产品，故参照中华人民共和国药典[7]的方法，分别取冷冻干燥法与喷雾干燥法制备的包合物适量(相当于GZ 30 mg)，分别加无氨蒸馏水溶解稀释至200 ml，加氧化镁1 g，加热蒸馏，馏出液导入加有稀盐酸1滴与无氨蒸馏水5 ml的纳氏比色管中，俟馏出液达40 ml时，停止蒸馏，加氢氧化钠试液5滴，加无氨蒸馏水至50 ml，加碱性碘化汞钾试液2 ml，摇匀，放置15 min，如显色，与标准氯化铵溶液(取氯化铵31.5 mg，加无氨水适量使溶解并稀释成1 000 ml)2 ml按上述方法制成的对照液比较，不得更深。结果，喷雾干燥法包合物氨限量合格，冷冻干燥法包合物氨限量不合格。

3 讨论

本研究采用了喷雾干燥法、冷冻干燥法、研磨法等3种方法制备格列齐特-羟丙基-β-环糊精包合物，经相溶解度图法、红外分光光度法以及热分析、溶解度测定、氨限量检查等方法对包合物进行测定。3种方法均能形成GZ-HP-β-CD包合物。在相溶解度研究中，本实验参照Higuchi等[8]的方法，测得GZ在不同HP-β-CD水溶液(0%～20%)中的溶解度，GZ溶解度随HP-β-CD浓度的增加而成线性增加，其相溶解度图为典型的AL型，25 ℃的包合物表观稳定常数$K_{1:1}$为153，提示HP-β-CD在该浓度范围内，GZ与HP-β-CD可形成1∶1摩尔包合物。IR图谱中，混合物基本为GZ与HP-β-CD两组份图谱的叠加，包合物与混合物的图谱明显不同，包合物有多峰的位置和峰强度均有改变，表明HP-β-CD与GZ产生了包合作用[10]。另外，3种包合物的红外图谱略有差别，提示包合状态可能存在细微差异。3种方法形成的GZ-HP-β-CD包合物的DTA图谱与物理混合物的图谱也有明显的差别，物理混合物图谱为GZ与HP-β-CD两组份热分析曲线图型的叠加，而3种包合物中GZ在164 ℃的吸热峰(GZ熔点)消失，完全形成新的热分析图，说明GZ-HP-β-CD包合物已经形成。

通过溶解度测定，在我们的包合条件下，物理混合物的溶解度比原料增加约1.8倍、喷雾干燥法和研磨法所得包合物的溶解度比原料增加约4倍，冷冻干燥包合物溶解度增加6倍。说明包合物的形成显著提高药物在水中的溶解度。

为了便于包合物的制备，用稀氨水溶解GZ[9]，冷冻干燥法与喷雾干燥法在干燥前工艺相同，但冷冻产品溶解度明显大于喷雾产品，其原因可能为氨未完全挥发所致，经铵限量检测证实喷雾干燥法所得包合物铵限量合格，冷冻干燥法所得包合物氨限量不合格。因此包合物GZ-HP-β-CD的制备在上述实验条件下应采用喷雾干燥法或研磨法。GZ-HP-β-CD包合物明显提高GZ的溶解度。

包合物制备工艺有待进一步优化，相关研究正在进行中。

参考文献：

[1] 陈新谦，金有豫. 新编药物学[M]. 北京：人民卫生出版社，1997. 464.

[2] Palmer K J, Brogden R N. Gliclazide. An update of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in non-insulin-dependent diabetes mellitus[J]. Drugs. 1993, 46(1): 92－125.

[3] 刘皋林，高 申，王世祥，等. 国产及进口格列齐特片的药物动力学特征及其生物利用度比较[J]. 中国药学杂志，1993，28(3)：144.

[4] 杨汉初，李永来，刘雁鸣，等. 格列齐特片人体相对生物利用度的质量研究[J]. 药物分析杂志，1999，19(3)：203－205.

[5] 丁平田，吴雪梅. 药物制剂的新型辅料2-羟丙基-β-环糊精[J]. 国外医药 合成药，生化药，制剂分册，1996，17(2)：107，111.

[6] Veiga F, Fernandes C, Teixeira F. Oral bioavailability and hypoglycaemic activity of tolbutamide/cyclodextrin inclusion complexes[J]. Int J Pharm, 2000, 202(1－2): 165－171.

[7] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京：化学工业出版社，2000. 703，附录62.

[8] Higuchi T, Connors K A. Phase solubility techniques[J]. Adv Anal Chem Instrum, 1965, 4: 117－212.

[9] Veiga F, Kedzierewicz F, Sousa A, *et al*. Inclusion complexation of tolbutamide withβ-cyclodextrin and hydroxypropyl-β-cyclodextrin[J]. International Journal of Pharmaceutics, 1996, 129(1－2): 63－71.

[10] 王思玲，苏德森，计志忠. WB-B-852-β-环糊精包合物的研究[J]. 药学学报，1990，25(6)：477－480.

[11] 涂家生，王 平. 硝苯地平-β-环糊精包合物的研究[J]. 中国医药工业杂志，1996，27(12)：539－542.

(编辑 刘洪娥)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net