

王春艳,任 勇,郝 佳,等. 吡啶丁酸/ $\beta$ -环糊精包合作用研究[J]. 江苏农业科学,2013,41(7):81-83.

# 吡啶丁酸/ $\beta$ -环糊精包合作用研究

王春艳,任 勇,郝 佳,张敏敏,丁丽莺,袁 放,高 茜

(南京师范大学生命科学学院/江苏省医药超分子材料及应用重点实验室,江苏南京 210023)

**摘要:**研究了吡啶丁酸与  $\beta$ -环糊精的包合作用,探讨利用包合技术来改进吡啶丁酸的理化性质。结果表明, $\beta$ -环糊精能够包合吡啶丁酸(包合常数  $K_a$  为 1 974 L/mol),可形成 1:9 的稳定包合物,包合技术能够明显提高吡啶丁酸的溶解度,加快溶出速率,增强其稳定性。

**关键词:**吡啶丁酸; $\beta$ -环糊精;包合作用;溶解度;稳定性

**中图分类号:**S482.8<sup>+</sup>91 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)07-0081-03

吡啶丁酸(4-indole-3-butanoic acid, IBA)是一种重要的植物生长调节剂。主要用于促进多种植物插枝生根及某些移栽作物的早生根、多生根,还用于促进番茄、辣椒、黄瓜、无花果、草莓、黑树莓、茄子等坐果或单性结实<sup>[1]</sup>,已广泛应用于种植业<sup>[2]</sup>。但在水中溶解度低(50 mg/L, 20 ℃)、极易氧化分解、溶出速度慢等特点严重阻碍了 IBA 的应用。 $\beta$ -环糊

收稿日期:2012-12-17

作者简介:王春艳(1987—),女,山东临沂人,硕士研究生,主要研究方向为超分子材料及应用技术。Tel: (025) 85891591; E-mail: jianichunyan@163.com。

通信作者:任 勇,博士,副教授。Tel: (025) 85891591; E-mail: ren Yong@njnu.edu.cn。

势,播种密度越大裸大麦产量越低;门源县试点属高位山旱地生态类型区,在一定范围内裸大麦产量随着施氮量、施磷量、种植密度的增加而升高,达到产量最大值后,如继续增加农艺措施水平,裸大麦产量则呈下降趋势。

在西宁市试点,氮肥施用量与播种量的交互效应对裸大麦品种昆仑 13 号的影响较强;在门源县试点,氮肥与磷肥交互作用对昆仑 13 号产量的影响较大。

综合考虑单因素效应分析和交互作用分析结果,决选出不同生态区下裸大麦栽培措施方案的最优组合,详见表 11。

表 11 裸大麦栽培措施方案的最优组合 kg/hm<sup>2</sup>

生态区	纯氮	纯磷	播种量
低位水地生态区	77.25~114.45	35.10~52.65	150.00~187.50
高山旱地生态区	49.05~99.60	43.95~65.70	262.50~318.75

## 3 结论与讨论

良种良法配套是实现裸大麦高产、优质、高效的重要途径<sup>[7]</sup>,目前有关裸大麦栽培技术尤其是优质栽培技术还未见报道。本研究提出了不同生态区昆仑 13 号栽培措施方案的最优组合,旨在为裸大麦高产栽培提供依据。

裸大麦生育期短,生长发育快,生育前期对肥料反应敏感,吸收养分速度快而集中<sup>[8]</sup>。根据资料,每生产 100 kg 裸大麦籽实大约须吸收纯氮 2.80 kg、纯磷 1.55 kg,出苗期至分蘖期吸收磷量占全生育期吸收总量的 46%,分蘖期是吸收

精( $\beta$ -cyclodextrin,  $\beta$ -CD)是一种“内疏水,外亲水”的环状低聚糖,能够包合多种疏水性底物<sup>[3]</sup>,无毒,价廉易得,能显著改善药物的理化性质<sup>[4]</sup>。本研究通过对 IBA/ $\beta$ -CD 包合作用的探讨,对增溶、溶出及稳定性等方面进行考察,取得了预期结果,为解决实际问题提供重要理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

IBA(江苏华通生化有限公司提供,药用级); $\beta$ -CD(安徽山河药用辅料股份有限公司提供,药用级);乙醇、磷酸(国药集团化学试剂有限公司提供,分析纯);甲醇(上海国医药公司提供,色谱纯);纯净水(自制)。

氮、磷量最大的时期,分蘖期至拔节期吸收氮、磷量占生育期吸收总量的 75%<sup>[9]</sup>。本研究中裸大麦产量数据与所施肥料比例基本符合裸大麦高产栽培技术理论。本研所得施肥量和种植密度方案可为制定裸大麦配套栽培技术方案奠定基础,为良种良法配套提供参考。

## 参考文献:

- [1]赵慧芬,栾运芳,冯西博. 不同农艺措施对西藏春青稞  $\beta$  葡聚糖含量的影响[J]. 麦类作物学报,2008,28(5):888-892.
- [2]强小林,迟德钊,冯继林. 青藏高原区域青稞生产与发展[J]. 西藏科技,2008(3):11-17.
- [3]祁如英,汪青春,马占良. 青稞产量形成的气象条件分析评价[J]. 麦类作物学报,2008,28(3):518-522.
- [4]伊春发. 三因素二次饱和-D 最优设计在高寒牧区无芒雀麦优化栽培技术研究[J]. 养殖与饲料,2008(5):86-89.
- [5]徐中儒. 农业试验最优回归设计[M]. 哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,1988:359-368.
- [6]唐启义,冯明光. 实用统计分析及计算机处理平台[M]. 北京:中国农业出版社,1997:70-84.
- [7]郭振升,张慎举,侯乐新,等. 综合农艺措施与强筋小麦产量及品质关系的研究[J]. 中国农学通报,2007,23(3):198-201.
- [8]王 兵. 春青稞生育期农业气候资源评价[J]. 中国农业气象,1997,18(6):41-43.
- [9]杜 军,向毓文. 高原春青稞成穗数与气象条件关系[J]. 中国生态农业学报,2001,9(1):92-94.

## 1.2 主要仪器

UV-2450 型紫外可见分光光度计、LC-20V 型高效液相色谱仪、TA-60 型差热分析仪(日本岛津公司);KQ-250DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);Explorer 电子分析天平(美国 Ohaus 公司);DHG-9123A 电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏试验设备有限公司);RP-250A 智能人工气候培养箱(南京恒裕仪器设备制造有限公司)。

## 1.3 试验方法

1.3.1 检测波长的选择 用 pH 值 6.86 的磷酸盐缓冲液配制 IBA 溶液,在 200~400 nm 范围进行扫描,根据紫外吸收光谱,选择 280 nm 作为 IBA 的测定波长,在此波长处  $\beta$ -CD 无吸收。

1.3.2 包合常数( $K_a$ )测定 根据文献[5-8]方法,取 pH 值 6.86 的磷酸缓冲液(25 mmol/L)溶解 IBA 配制溶液 A (0.012  $\mu$ mol/L),取溶液 A 配制 9.45 mmol/L 的  $\beta$ -CD 溶液 B。取一定量 A 液进行紫外扫描,并依次向体系中加入 50  $\mu$ L 的 B 液,记录体系紫外吸光度  $D$  的变化  $\Delta D$ 。由  $1/\Delta D = (1/[G]_0 \Delta \epsilon K_a)(1/[CD]_0) + 1/[G]_0 \Delta \epsilon$  的关系式,通过截距/斜率求得  $\beta$ -CD 与 IBA 的包合常数( $K_a$ )。式中  $\Delta D$  是加入  $\beta$ -CD 后体系紫外吸光度的变化,  $[CD]_0$  是  $\beta$ -CD 的总浓度,  $[G]_0$  是 IBA 的总浓度,  $\Delta \epsilon$  是 IBA 与  $\beta$ -CD 形成包合物前后摩尔吸收系数之差。

1.3.3 包合物的制备 精确称取一定量的 IBA 和  $\beta$ -CD,蒸馏水溶解;另取一定量的 IBA 用乙醇溶解后缓慢滴入  $\beta$ -CD 溶液中,磁力搅拌 2 h 后,减压去乙醇,余液冷冻干燥得固体包合物。过 100 目筛,得白色粉末备用。

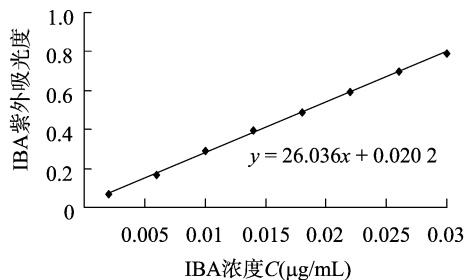
1.3.4 包合物的鉴定 热分析法:取 IBA、 $\beta$ -CD、二者的物理混合物(1:9)及包合物(1:9)进行试验。检测条件,参比:  $Al_2O_3$ ;测定气氛:  $N_2$ ;样品量:约 4.0 mg;升温速率:10  $^{\circ}C/min$ ;升温范围:30~400  $^{\circ}C$ 。

1.3.5 溶解度试验 (1)标准曲线绘制:精确称取 IBA 20.0 mg,用无水乙醇溶解并稀释成 2.0~30 g/mL 系列浓度的试液,测定 280 nm 吸光度,以浓度为横坐标,吸光度为纵坐标。线性方程为  $y = 26.036x + 0.0202$  ( $r = 0.9996$ ),如图 1-a。(2)溶解度测定:配制 IBA 和包合物的过饱和溶液,25  $^{\circ}C$  下避光振荡 24 h,过滤,移取滤液,稀释。280 nm 处测定吸光度,依标准曲线得 IBA 和包合物 25  $^{\circ}C$  的溶解度。

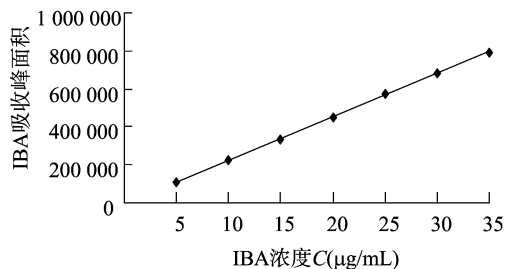
1.3.6 溶出度试验 取相同质量包合物(1:9)和 IBA,以蒸馏水为介质,在  $(25.0 \pm 0.5)$   $^{\circ}C$  以 50 r/min 搅拌,于 5、15、30 min 和 1.5、12 h 分别取样 5 mL,并及时补充等量蒸馏水,用 0.45  $\mu$ m 微孔膜过滤,将滤液适当稀释,用紫外分光光度法在 280 nm 处测定,计算 IBA 的累积溶出百分率。

1.3.7 稳定性试验 (1)液相条件<sup>[9]</sup>:  $C_{18}$  色谱柱(150 mm  $\times$  4.6 mm;5  $\mu$ m);流动相:甲醇-水溶液(体积比 60:40, pH 值=5);流速:1.0 mL/min;柱温:25  $^{\circ}C$ ;检测波长:280 nm;进样量:20  $\mu$ L;测定时间:15 min。(2)稳定性检测:取甲醇配制浓度为 1 mg/mL 的 IBA 母液,流动相将母液稀释为 1~40 g/mL 系列浓度,280 nm 检测并以吸收峰面积(A)为纵坐标,质量浓度(C)为横坐标进行线性回归,得方程  $y = 23019x - 8496.3$  ( $r = 0.9998$ ),如图 1-b。

取 IBA 及包合物置于 60  $^{\circ}C$  和  $(4500 \pm 500)$  lx 光强下,分别在 0.5、10 d 测定样品中 IBA 含量。



a. IBA 紫外标准曲线



b. IBA 液相标准曲线

图1 线性方程

## 2 结果与讨论

### 2.1 $K_a$ 测定

药物与环糊精(CD)的包合是 CD 在药学方面得以广泛应用的前提,确定 CD 是否适合于某种药物或一种药物是否适合于某种 CD,其包合平衡常数是重要的指标。故包合常数应作为 IBA/ $\beta$ -CD 应用研究的起点,同时也是  $\beta$ -CD 包合技术在 IBA 试验应用中不可缺少的数据之一。CD 与客体分子的包合是一个动态平衡过程,包合后会使客体分子的吸收光谱产生位移或吸光强度发生变化<sup>[10]</sup>。根据吸光度变化及  $\beta$ -CD 浓度可求出  $K_a$ 。 $K_a$  反映  $\beta$ -CD 与 IBA 分子的包合强度,在一定范围内,值越大越易形成稳定的包合物。通过  $1/\Delta D$  和  $1/[CD]$  进行线性回归,根据回归方程的截距/斜率得到的  $K_a$  为 1974 L/mol。说明应用  $\beta$ -CD 包合技术有制备得到稳定包合物的可能。

### 2.2 包合物的鉴定

2.2.1 热分析法 本研究采用热分析(DTA、TGA)方法对 IBA 与  $\beta$ -CD 的包合情况进行鉴定,分析图谱具有明显差异(图2)。d(IBA)在 125  $^{\circ}C$  尖锐熔融峰(吸热)为 IBA 熔点峰,熔点峰至 230~310  $^{\circ}C$  的宽吸热峰为 IBA 受热分解; b( $\beta$ -CD)在 81  $^{\circ}C$  和 310  $^{\circ}C$  处分别出现脱水峰和熔融分解峰; c(物理混合物)出现明显的  $\beta$ -CD 和 IBA 吸热峰特征;而 a(包合物)中 IBA 在 125  $^{\circ}C$  的熔融峰和 230~310  $^{\circ}C$  处的分解峰消失,包合物分解峰(325  $^{\circ}C$ )拖后。说明 IBA 经  $\beta$ -CD 包合后,分解温度升高,热稳定性增强。

此外, TGA 显示 d(IBA)在 210~300  $^{\circ}C$  分解失重; b( $\beta$ -CD)在 100  $^{\circ}C$  前脱去包合水分,260~340  $^{\circ}C$  熔融分解失重;而 c(物理混合物)中非包合的 IBA 呈现出 100  $^{\circ}C$  前的  $\beta$ -CD 脱水峰和 300  $^{\circ}C$  后的分解失重特征; a(包合物)虽然保持了  $\beta$ -CD 的脱水特征峰,但无明显的 IBA 失重变化特征,280~350  $^{\circ}C$  的失重变化与物理混合物及单纯  $\beta$ -CD 的失重

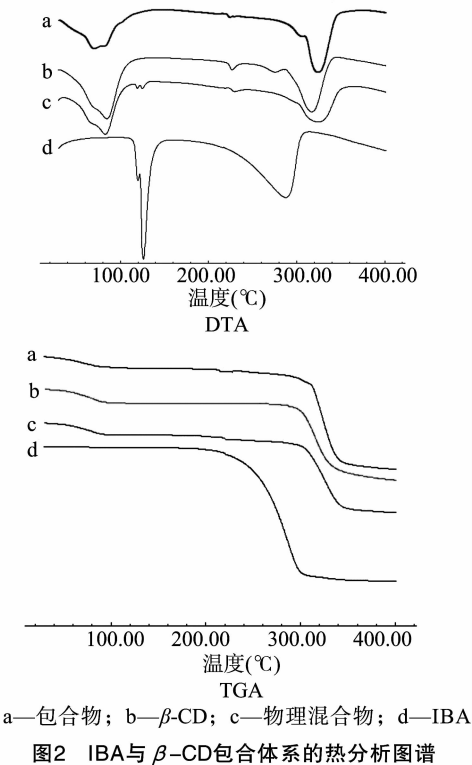


图2 IBA与β-CD包合体系的热分析图谱

峰有明显的分解失重拖后现象。结合 DTA 结果可判断包合物已经形成。

2.3 溶解度试验

根据标准曲线( $y = 26.036x + 0.0202$ )得 IBA 和包合物在 25 °C 下的溶解度,不同包合比的包合物溶解度见表 1。从表 1 可以看出,各包合比的包合物溶解度皆大于 IBA,虽然包合比为 1 : 9 时只增溶 2 倍,但完全可以达到实际使用时的溶解度。

表 1 不同包合比的 IBA 包合物的溶解度及增溶倍数

IBA/β-CD	溶解度 (mg/mL)	增溶倍数
1 : 0	0.53	1.0
1 : 9	1.06	2.0
1 : 11	1.02	1.92
1 : 14	0.97	1.83
1 : 19	0.69	1.30

2.4 溶出度试验

包合物(1 : 9)和 IBA 的溶出度曲线如图 3。IBA 的溶出速度极慢,在 60 min 时它的溶出率为 72%。包合技术可以加快 IBA 溶出的速率,15 min 溶出率即可达到 90%,而此时 IBA 的溶出率仅为 35%。说明 β-CD 包合可以显著地增加 IBA 的溶出度,对于实际应用具有重要意义。

2.5 稳定性研究

在高温、强光照条件下,IBA 与 IBA 包合物放置 0、5、10 d 后的含量变化见表 2。由表 2 可知 IBA 在各种极端条件下降解明显,如光照(4 500 ± 500) lx 条件下原料 IBA 的相对含量从 0 d 的 100%下降到 10 d 的 57.58%,高温(60 °C)条件下原料 IBA 的相对含量下降到 10 d 的 56.98%;光照(4 500 ± 500) lx 和高温(60 °C)条件下包合物 10 d 后的有效含量分别为 87.56%、92.71%。虽然包合物也有一定程度的降解,在

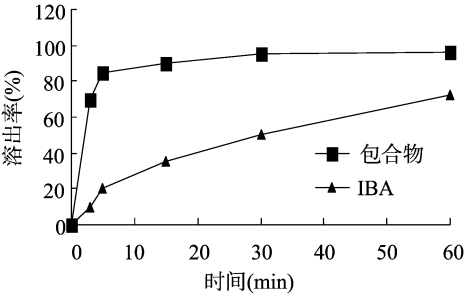


图3 IBA与包合物的溶出度曲线

表 2 不同试验条件下 IBA 及包合物含量变化

IBA/β-CD	IBA 含量 (%)					
	(4 500 ± 500) lx			60 °C		
	0 d	5 d	10 d	0 d	5 d	10 d
1 : 0	100.00	81.41	57.58	100.00	83.51	56.98
1 : 9	100.00	100.20	87.56	100.00	101.40	92.71

实际应用中也需常温避光保存,但其有效含量明显高于原料,为制备高质量的 IBA 制剂提供了必要的技术支持。

3 结论

紫外分光光度法考察包合的可行性,测定  $K_a$  为 1 974 L/mol,预测 IBA 与 β-CD 能够包合;溶液法分别制备不同比例的包合物,采用热分析(DTA、TGA)方法验证包合物的形成;包和技术使 IBA 溶解度有明显提高且最佳包合比为 1 : 9,完全可以达到实际使用时的溶解度,溶出度试验进一步体现了包和技术的良好实际应用价值;采用高效液相色谱法测定极端条件下 IBA 及其包合物的稳定性,结果表明包合技术制得的包合物有效含量明显高于原料,同时这对药物的储存也有指导意义。本试验采用 β-CD 包合技术改进 IBA 的理化性能取得了良好结果,对于实际应用具有潜在应用价值。

参考文献:

[1] 朱惠香,张宗俭,张宏军,等. 常用植物生长调节剂应用指南[M]. 2 版. 北京:化学工业出版社,2010:69-71.  
[2] 龙文清. 浊点萃取预富集胶束增温磷光法测定吡啶-3-丁酸[J]. 分析测试学报,2007,26(1):77-80.  
[3] 任 勇,陈文华. 药物-环糊精超分子体系研究进展[C]//药学前沿. 北京:中国医药科学技术出版社,2001:46-59.  
[4] 鲁晓凤,夏 震,徐芳萍,等. 水溶液中香料分子与 β-环糊精包合反应的光谱研究[J]. 分析化学,1996,24(6):621-625.  
[5] 刘秀莲,吴月燕,陈德恩. 吡啶丁酸对石楠组培苗多酚氧化酶的影响及其与生根的关系[J]. 浙江万里学院学报,2007,20(5):63-66.  
[6] 王亚娜,孙俊梅,任 勇,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):23-28.  
[7] 马坤芳,任 勇,王 宣,等. 银翘挥发油/β-环糊精包合常数的测定研究[J]. 中国中药杂志,2004,29(8):740-742.  
[8] 张 乐,任 勇. 胰岛素/β-环糊精包合性质的研究[J]. 中国医学生物技术应用杂志,2003(3):53-56.  
[9] 徐 永. 吡啶丁酸原药的高效液相色谱分析[J]. 农药科学与管理,2004,25(10):1-3.  
[10] 王 敏,任 勇,马学琴,等. 盐酸哌唑嗪/羟丙基-β-环糊精包合作用研究[J]. 中国药科大学学报,2005,36(5):423-426.