

# Characterization and Preparation of Inclusion Complex of Rutin-Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin Prepared by Antisolvent Method

Yanjie Liu, Xiuhua Zhao\*, Lin Qiu, Weiwei Wu, Yuanyuan Li, Li Wang

Key Laboratory of Forest Plant Ecology, Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin Heilongjiang  
Email: \*xiuhua Zhao@nefu.edu.cn

Received: Apr. 21<sup>st</sup>, 2018; accepted: May 14<sup>th</sup>, 2018; published: May 21<sup>st</sup>, 2018

## Abstract

**Objective:** To improve the solubility of rutin in water, the inclusion complex of rutin-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (RU-HP-CD) was prepared by antisolvent method and characterized. In addition the dissolution rate of RU-HP-CD was also investigated. **Methods:** Rutin (RU) and hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (HP-CD) were dissolved in dimethylformamide in a molar ratio of 1:1, and acetone was used as an antisolvent. The content of rutin in the inclusion complexes was determined by high performance liquid chromatography. X-ray diffraction (XRD), infrared spectroscopy (IR), and scanning electron microscopy (SEM) were used to identify the inclusion complex. The dissolution rates of rutin and inclusion complex *in vitro* were determined. **Results:** The results of XRD and IR showed that inclusion complex of rutin and hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin was obtained using antisolvent method, containing 26.5% rutin. SEM results showed the specific morphology of the inclusion complex. The solubility in water and *in vitro* dissolution rate of the inclusion complex were 15 and 4 times that of the rutin respectively. **Conclusions:** The water solubility of RU-HP-CD obtained by antisolvent method was improved. A new method for the preparation of cyclodextrin inclusion compound was provided in this study.

## Keywords

Rutin, Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin, Inclusion Complex, Antisolvent Method, Saturation Solubility, *In Vitro* Dissolution

# 芦丁-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物的反溶剂法制备与表征

刘艳杰, 赵修华\*, 邱琳, 吴微微, 李媛媛, 王力

\*通讯作者。

**文章引用:** 刘艳杰, 赵修华, 邱琳, 吴微微, 李媛媛, 王力. 芦丁-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物的反溶剂法制备与表征[J]. 植物学研究, 2018, 7(3): 277-282. DOI: 10.12677/br.2018.73035

东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨  
Email: \*xiuhuazhao@nefu.edu.cn

收稿日期: 2018年4月21日; 录用日期: 2018年5月14日; 发布日期: 2018年5月21日

## 摘要

目的: 为提高芦丁在水中的溶解度, 本实验采用反溶剂法制备芦丁-羟丙基- $\beta$ -环糊精(RU-HP-CD)包合物, 对其结构进行表征, 并考察了包合物的体外释放情况。方法: 采用反溶剂法, 将芦丁(RU)和羟丙基- $\beta$ -环糊精(HP-CD)以摩尔比1:1溶解在二甲基甲酰胺中, 并用丙酮作为反溶剂制备包合物。利用高效液相色谱法测定包合物的含药量, X-射线衍射(XRD)、红外光谱(IR)和扫描电镜(SEM)对包合物进行鉴定, 并对芦丁原药和包合物的体外溶出速率进行了比较。结果: 经XRD和IR检测, 确定芦丁与羟丙基- $\beta$ -环糊精形成包合物, 含药量为26.5%。SEM结果呈现出包合物的特殊形态。包合物的水中溶解度和体外溶出速率分别是原药的15倍和4倍。结论: 反溶剂法获得了高含药量的RU-HP-CD, 并改善了芦丁的水溶性, 也为环糊精包合物的制备提供了新的方法。

## 关键词

芦丁, 羟丙基- $\beta$ -环糊精, 包合物, 反溶剂法, 饱和溶解度, 体外溶出

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

芦丁(Rutin)又称芸香苷, 广泛存在于豆科植物槐花蕾和蓼科植物苦荞中[1] [2], 是自然界中常见的一种具有生物活性的黄酮成分。芦丁有抗菌, 抗炎, 抗氧化等多种活性, 可以降低毛细血管异常通透性和脆性, 临床主要用于高血压病的辅助治疗[3] [4]。另外, 在食品工业中芦丁是很好的天然黄色素和抗氧化剂[5]。但芦丁的水溶性较差, 限制其在体内的吸收及其他应用。目前通过芦丁-HPMC 控释片、固体分散体、环糊精包合、纳米粒等技术来改善其水溶性并提高生物利用度[6] [7]。目前环糊精包合技术一般通过饱和水溶液法、溶液法、研磨法或超临界流体技术得到包合物[8] [9]。因芦丁在常用挥发性溶剂甲醇、乙醇、丙酮等中的溶解度较小, 采用上述方法制备包合物的效率较低。本实验基于 HP- $\beta$ -CD 在 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中溶解度较大而在丙酮中溶解度较小的特点, 采用反溶剂法制备环糊精包合物, 并对其表征确定包合物的形成。另外考察了芦丁包合后水溶性及体外溶出的改善情况。

## 2. 仪器与材料

Waters 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), SHJ-A4 水浴恒温磁力搅拌器(常州华奥仪器制造有限公司), LXJ-IIB 型离心机(上海安亭科学仪器厂), Philips X-射线衍射仪(XRD, 荷兰 Philip 公司); S4800 扫描电镜(SEM, 日本 Hitachi 公司)。

RU 标准品(纯度为 99.9%, 上海源叶生物科技有限公司); RU 原粉(纯度  $\geq 98%$ , 阿拉丁试剂); HP- $\beta$ -CD (阿拉丁试剂)、二甲基甲酰胺(DMF)、丙酮(天津市天力化学试剂有限公司), 分析纯; 冰乙酸(天津市致远

化学试剂有限公司), 分析纯; 甲醇、(山东禹王实业有限公司), 色谱纯; 水为去离子水。

### 3. 方法与结果

#### 3.1. 反溶剂法制备芦丁-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物

根据 Tien An Nguyen 等[10]的研究可知 RU 和 HP- $\beta$ -CD 的最佳投料比为摩尔比 1:1。将 RU 和 HP- $\beta$ -CD 按比例溶解在 DMF 中, 溶液室温下搅拌 30 min, 以体积比 1:5 将 DMF 溶液加入丙酮中, 反应 3 min, 3500 r/min 离心获得沉淀, 并用丙酮洗涤 3 次, 抽滤得包合物, 50 $^{\circ}$ C 真空干燥 12 h。

#### 3.2. 芦丁含量测定

取适量 RU-HP- $\beta$ -CD 溶于 10 mL 甲醇溶液中, 利用高效液相色谱检测包合物中芦丁的含量[11]。Waters C<sub>18</sub> 反相柱(250  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m, 中国), 柱温为 25 $^{\circ}$ C, 甲醇: 0.5%冰醋酸的 = 60:40(v/v)作为流动相, 流速为 0.8 mL/min, 进样量是 5  $\mu$ L, 检测波长为 354 nm [10]。进样前所有样品经过 0.22  $\mu$ m 滤膜处理。结果显示包合物中芦丁含量为 26.5%。

#### 3.3. 芦丁-羟丙基- $\beta$ -环糊精表征

##### 3.3.1. XRD

取适量芦丁、HP- $\beta$ -CD、芦丁和 HP- $\beta$ -CD 的物理混合物(以下简称物理混合物)及芦丁与 HP- $\beta$ -CD 的包合物(以下简称包合物), 使用 X 衍射仪对其晶型结构进行分析。检测条件为: 衍射角范围 4 $^{\circ}$ ~50 $^{\circ}$ , 扫描速率为 4 $^{\circ}$ /min, 电压 40 kV, 电流 30 mA。图 1 中显示, 芦丁有明显的晶体结构衍射峰, HP- $\beta$ -CD 为无定形态, 两者的物理混合物中, 环糊精在一定程度上减弱了芦丁的衍射峰, 但在 2 $\theta$  = 26 $^{\circ}$ 有芦丁的特征峰, 而包合物中芦丁的衍射峰消失, 说明芦丁已经被环糊精包合, 以无定形态存在。XRD 的检测结果与苏彩娟等人的研究(文章编号 1673-2383(2011)01-0053-05)一致。

##### 3.3.2. IR

分别称取适量干燥后的芦丁、HP- $\beta$ -CD、物理混合物及包合物样品与 KBr 压片, 放入红外光谱仪进行检测。薄片在 400~4000  $\text{cm}^{-1}$  波数处检测, 分辨率为 4  $\text{cm}^{-1}$ 。如图 2 所示, 物理混合物在 1208~1652  $\text{cm}^{-1}$

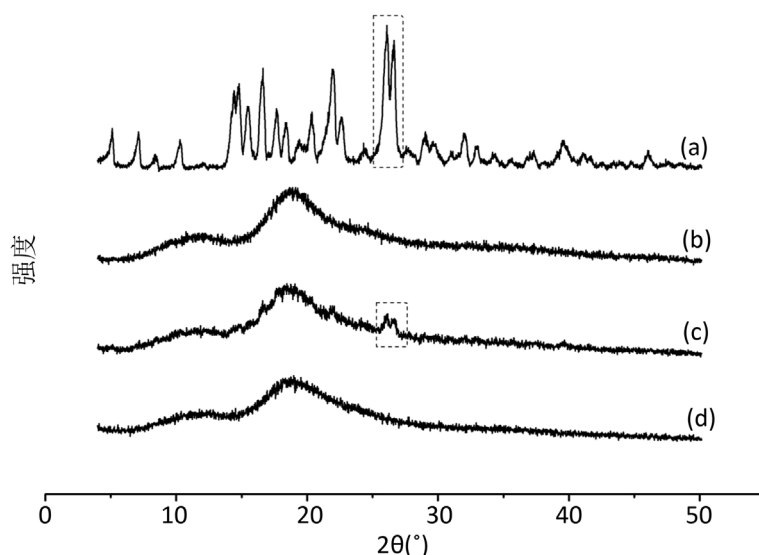


Figure 1. XRD results of Rutin (a); HP- $\beta$ -CD (b); Physical mix (c); Inclusion complex (d)  
图 1. XRD 图芦丁(a); 羟丙基- $\beta$ -环糊精(b); 物理混合物(c); 包合物(d)

之间完全显示出芦丁的特征峰，而包合物在这段区域峰有明显减少，这结果说明芦丁与 HP- $\beta$ -CD 形成了包合物而不是简单的物理混合。红外检测结果与 XRD 相符。

### 3.3.3. SEM

为了进一步证实包合物的形成，将芦丁、HP- $\beta$ -CD 和包合物真空下镀金使用 S4800 型扫描电镜对其形貌进行观察分析。图 3 为三种样品的 SEM 图。图 3a 可以看出，芦丁呈规则棒状结构，HP- $\beta$ -CD 呈球形，由于主客分子的相互作用，包合物形态发生了明显的变化。HP- $\beta$ -CD 具有很好的水溶性特征，与其形成包合物后，芦丁的水溶性将会得到改善。

### 3.4. 溶解度的测定

取适量的芦丁、物理混合物和包合物置于 10 mL 的小瓶中，加入 5 mL 的蒸馏水，放入  $37.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$  的水浴锅中，以 100 r/min 搅拌 48 h。反应结束后从瓶中各取 1 mL 样品离心 10 min 取上清，离心速度为 10,000 g。用甲醇稀释后取 5  $\mu\text{L}$  通过高效液相色谱进行检测。实验重复 3 次取平均值。图 4 中显示了芦丁、物理混合物和包合物在水中饱和溶解度的结果。芦丁、物理混合物和包合物的溶解度分别为 0.12，

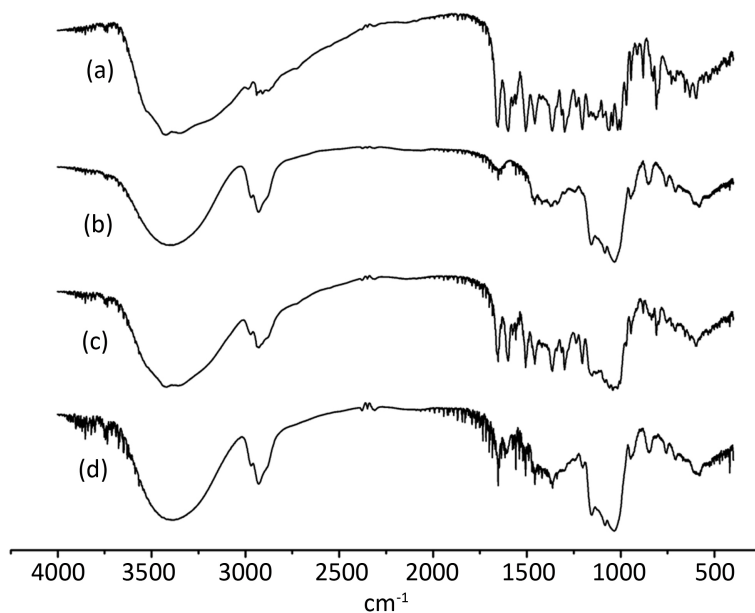


Figure 2. Infrared spectrum of rutin (a); HP- $\beta$ -CD (b); physical mix (c); inclusion complex (d)

图 2. 芦丁(a); 羟丙基- $\beta$ -环糊精(b); 物理混合物(c); 包合物(d)的红外图谱

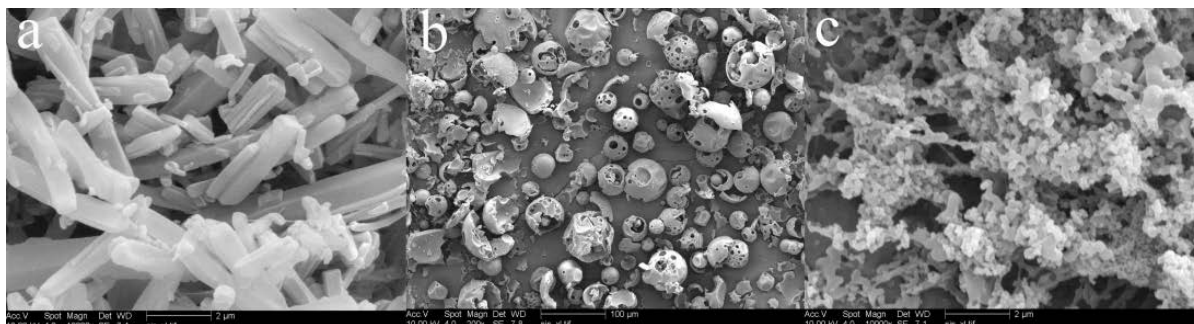
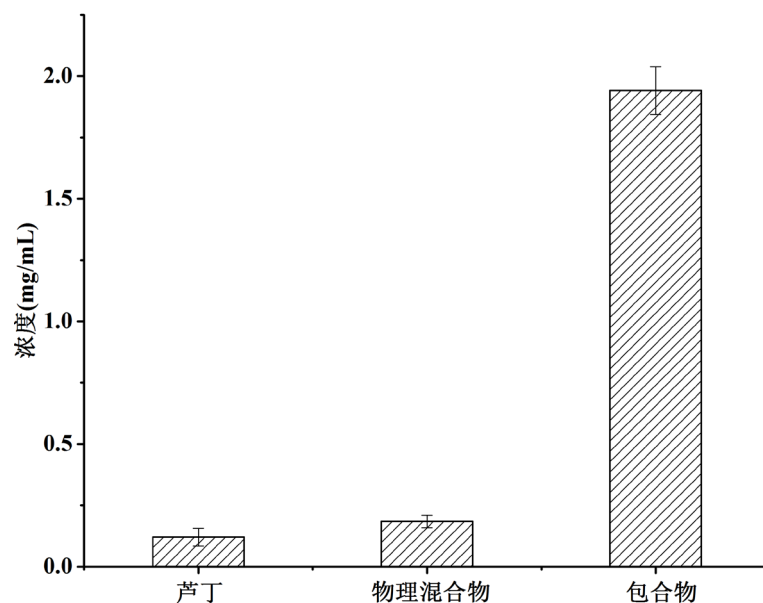
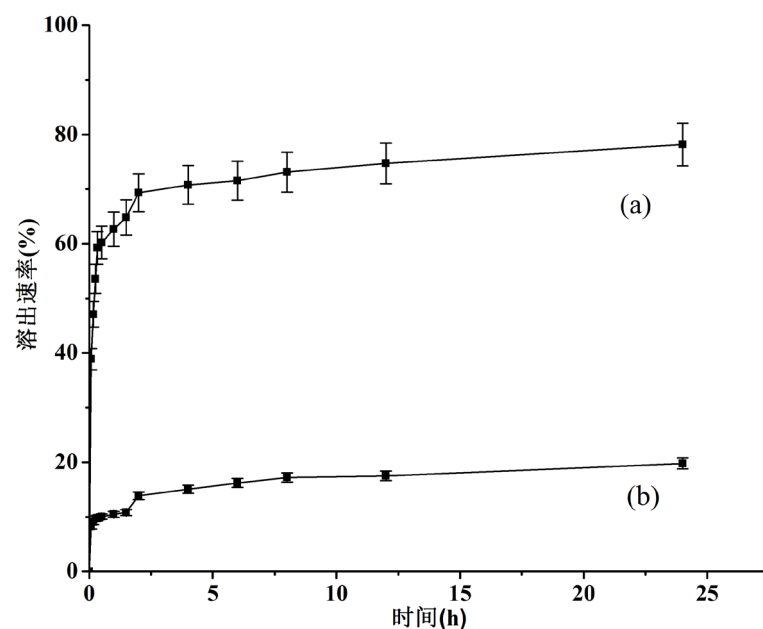


Figure 3. SEM graphs of Rutin (a); HP- $\beta$ -CD (b) and inclusion complex (c)

图 3. 芦丁(a)、HP- $\beta$ -CD (b)和包合物的 SEM 图谱



**Figure 4.** Equilibrium solubility of rutin, physical mix, inclusion complex in water  
**图 4.** 芦丁、物理混合物和包合物在水中的饱和溶解度



**Figure 5.** Dissolution profiles of rutin (a) and inclusion complex (b) in water  
**图 5.** 芦丁(a)和包合物(b)在水中的溶出速率

0.18, 1.94 mg/mL。HP- $\beta$ -CD 对芦丁有一定的助溶作用，但包合物的溶解度明显高于芦丁原粉和物理混合物。由于 HP- $\beta$ -CD 在水中有很好的水溶性，在芦丁与 HP- $\beta$ -CD 形成包合物后，芦丁进入环糊精的空腔，使包合物表现出环糊精易溶于水的特性，改善了芦丁的水溶性。因此，可以通过反溶剂重结晶法获得环糊精包合物。

### 3.5. 体外溶出速率测定

为了研究包合物在体外释放的规律，本实验中分别取芦丁和包合物(含芦丁 77.6 mg)置于 200 mL 水

溶液中,并在  $37.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$  和 300 rpm 的恒温振荡器中进行搅拌。在不同的时间间隔(0.083, 0.16, 0.25, 0.33, 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 12 和 24 小时)中取 1 mL 样品进行离心,取上清利用高效液相色谱检测芦丁浓度,液相条件同 3.2,计算芦丁在不同时间点的溶出速率。此实验重复 3 次获得平均值。

图 5 显示了芦丁原粉和包合物在不同时间点的溶出速率,可以看出,包合物的溶出速率远高于原粉,在水中溶出速率提高了约 4 倍,可释放 80%左右,而由于芦丁的水溶性较差在 24 h 后只释放出 20%。在 Kouzou Miyake [12]等人的研究中, RU-HP- $\beta$ -CD 的溶出速率是原药的 2 倍,而本实验中通过反溶剂法制备的羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物的溶出速率提高了 4 倍。

## 4. 讨论

环糊精包合物近年来在药物制备方面获得了广泛的应用。包合物与原药相比具有更好的亲水性和缓释效果,更利于人体吸收。另外包合物可以改善药物的稳定性,如对光热敏感、易分解的药物,且没有毒副作用[13]。在本研究中,改变传统获得包合物的方法,利用反溶剂重结晶法获得芦丁-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物,并用 XRD, SEM, 红外对其进行表征,包合物表现出更多环糊精的特征形态,说明可以利用反溶剂法获得包合物。另外所得包合物很大程度上改善了芦丁的溶解度和体外溶出速率,有助于人体内更好的吸收,提高其生物利用度。

## 基金项目

国家重点研发计划课题(No.2017YFD060070601)。

## 参考文献

- [1] 尤洁. 槐米中芦丁的提取条件研究[J]. 亚太传统医药, 2016, 12(13): 43-44.
- [2] 杨德全, 叶建阳. 从苦荞麦中提取芦丁的研究[J]. 延安大学学报: 自然科学版, 1997(4): 69-71.
- [3] 苏彩娟, 王金水, 刘本国, 陈永生, 胡立志. 芦丁/羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物的表征及其抗氧化能力研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2011, 32(1): 53-57.
- [4] 张平, 陈睿, 王彦, 闫超. 复方芦丁片溶出度测定方法的研究[J]. 药学服务与研究, 2016, 16(3): 225-229.
- [5] 杨德全, 叶建阳. 从苦荞麦中提取芦丁的研究[J]. 延安大学学报: 自然科学版, 1997(4): 69-71.
- [6] Wei, Q., Keck, C.M. and Müller, R.H. (2017) Preparation and Tableting of Long-Term Stable Amorphous Rutin Using Porous Silica. *European Journal of Pharmaceutics & Biopharmaceutics*, **113**, 97-107. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.11.009>
- [7] 臧志和, 曹丽萍, 钟铃. 芦丁药理作用及制剂的研究进展[J]. 医药导报, 2007, 26(7): 758-760.
- [8] Huang, Y., Zu, Y., Zhao, X., Wu, M., Feng, Z., Deng, Y., *et al.* (2016) Preparation of Inclusion Complex of Apigenin-Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin by Using Supercritical Antisolvent Process for Dissolution and Bioavailability Enhancement. *International Journal of Pharmaceutics*, **511**, 921-930. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.08.007>
- [9] Bergonzi, M.C., Bilia, A.R., Di, B.L., Mazzi, G. and Vincieri, F.F. (2007) Studies on the Interactions between Some Flavonols and Cyclodextrins. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **17**, 5744-5748.
- [10] Nguyen, T.A., Liu, B., Zhao, J., Thomas, D.S. and Hook, J.M. (2013) An Investigation into the Supramolecular Structure, Solubility, Stability and Antioxidant Activity of Rutin/Cyclodextrin Inclusion Complex. *Food Chemistry*, **136**, 186-192. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.104>
- [11] Nguyen, T.A., Liu, B., Zhao, J., Thomas, D.S. and Hook, J.M. (2013) An Investigation into the Supramolecular Structure, Solubility, Stability and Antioxidant Activity of Rutin/Cyclodextrin Inclusion Complex. *Food Chemistry*, **136**, 186-192. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.104>
- [12] Miyake, K., Arima, H., Hirayama, F., Yamamoto, M., Horikawa, T., Sumiyoshi, H., *et al.* (2000) Improvement of Solubility and Oral Bioavailability of Rutin by Complexation with 2-Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin. *Pharmaceutical Development & Technology*, **5**, 399-407. <https://doi.org/10.1081/PDT-100100556>
- [13] Savic, I.M., Savic-Gajic, I.M., Nikolic, V.D., Nikolic, L.B., Radovanovic, B.C. and Milenkovic-Andjelkovic, A. (2016) Enhancement of Solubility and Photostability of Rutin by Complexation with  $\beta$ -Cyclodextrin and (2-Hydroxypropyl)- $\beta$ -Cyclodextrin. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, **86**, 33-43.

**知网检索的两种方式：**

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2168-5665，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：[br@hanspub.org](mailto:br@hanspub.org)