

羟丙基- β -环糊精与 4-羟基查尔酮的包合作用研究

陈春刚¹, 袁超², 李嘉琪¹, 莫海珍¹, 马汉军¹, 刘本国¹

(1. 河南科技学院食品学院, 河南新乡 453003) (2. 安阳工学院生物与食品工程学院, 河南安阳 455000)

摘要: 本研究为了系统研究羟丙基- β -环糊精与查尔酮的包合作用, 采用相溶解度法测定了 β -环糊精(β -CD)和羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)包含 4-羟基查尔酮过程中的热力学参数, 并运用红外(IR)、X-射线衍射(XRD)、热重及差示扫描量热联用(TG/DSC)等分析手段对该包合物的理化性质进行了系统研究。相溶解度实验表明 HP- β -CD 对 4-羟基查尔酮的包合效果优于 β -CD, 而热力学分析发现 4-羟基查尔酮和 HP- β -CD 的包合是一个自由能降低过程, 反应具有自发性, 其结合过程受疏水作用力驱动。红外和 X-射线衍射分析表明 4-羟基查尔酮与 HP- β -CD 包合后, 其物相发生了重大改变, 4-羟基查尔酮以无定形的状态完全分散在 HP- β -CD 中。热重及差示扫描量热联用分析发现通过与羟丙基- β -环糊精的包合, 4-羟基查尔酮的热稳定性得到了显著提高。

关键词: 查尔酮; 羟丙基- β -环糊精; 包合作用; 理化性质

文章编号: 1673-9078(2014)10-115-119

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.10.020

Effect of Inclusion of 4-Hydroxychalcone in Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin

CHEN Chun-gang¹, YUAN Chao², LI Jia-qi¹, MO Hai-zhen¹, MA Han-jun¹, LIU Ben-guo¹

(1.School of Food Science, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China)

(2.School of Biotechnology and Food, Anyang Institute of Technology, Anyang 455000, China)

Abstract: In order to study the inclusion mechanism of the complex of hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) and chalcone, the thermodynamic parameters of the inclusion process of β -CD, HP- β -CD and 4-hydroxychalcone were measured by phase solubility study. And the physicochemical properties of the complex were investigated by infrared spectrometry (IR), X-ray diffractometry (XRD) and thermogravimetric/differential scanning calorimetry (TG/DSC). It was found the inclusion effect of HP- β -CD on 4-hydroxychalcone was higher than that of β -CD. And the Gibbs energy values were negative for the formation of the complex of HP- β -CD and 4-hydroxychalcone. And the inclusion was a spontaneous process, which was driven by hydrophobic force. IR and XRD analysis showed that the physical phase of 4-hydroxychalcone had been changed, which were completely dispersed in HP- β -CD. TG/DSC analysis found the heat stability of 4-hydroxychalcone had been significantly enhanced by complexing with HP- β -CD.

Key words: chalcone; hydroxypropyl- β -cyclodextrin; inclusion mechanism; physicochemical property

查尔酮化合物是广泛存在于自然界中的一种类黄酮化合物, 其基本结构为 1,3-二苯基丙烯酮, 具有较大的分子柔性, 能与不同的受体相结合, 因而拥有广泛的生物活性, 如抗氧化、抑菌、抗炎、抗病毒、抗肿瘤等¹⁻³, 其在功能性食品和医药领域具有良好的应用前景。但由于其在水中的溶解度和稳定性过低, 限制了它的广泛应用。

利用羟丙基- β -环糊精 (hydroxypropyl- β -cyclodextrin, HP- β -CD) 包合则是一条提高其水溶性和稳定性

收稿日期: 2014-04-25

基金项目: 国家自然科学基金 (31101232, 31201315); 河南省高校科技创新团队支持计划项目 (13IRTSTHN006)

作者简介: 陈春刚 (1978-), 男, 硕士, 讲师, 主要从事食品化学研究

通讯作者: 刘本国 (1978-), 男, 博士, 副教授, 主要从事食品化学研究

的可行之路。羟丙基- β -环糊精是 β -环糊精的醚化衍生物, 其呈无定形, 常温下其在水中的溶解程度一般超过 50%, 且在人体内基本上不被分解代谢, 也不累积, 非肠道摄入时基本上全部随尿液排出体外, 且可促使被包合物质迅速释放, 表面活性和溶血活性低, 使用更安全, 其正逐渐替代其母体 β -环糊精更多地应用于医药、功能性食品和食品等各个领域⁴⁻⁶。

目前国内外对于羟丙基- β -环糊精与查尔酮的包合作用尚缺乏系统研究。有鉴于此, 本研究以 4-羟基查尔酮 (图 1) 为研究对象, 采用相溶解度法测定了 β -CD 和 HP- β -CD 包含其过程中的热力学参数, 并运用红外 (IR)、X-射线衍射 (XRD)、热重及差示扫描量热联用 (TG/DSC) 等分析手段对包合物的理化性质进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料

4-羟基查尔酮, 日本东京化工有限公司; β -环糊精(分子量 1135)、羟丙基- β -环糊精(平均分子量 1460), 美国 Sigma 公司。

1.1.2 仪器

TENSOR 27 型红外光谱仪, 德国 Bruker 公司; D8 型 X-射线衍射仪, 德国 Bruker 公司; Q600 型热重及差示扫描量热同步测定仪, 美国 TA 公司; Alpha1-2LD 冷冻干燥机, 德国 CHRIST 公司; Multifuge X1R 型台式高速冷冻离心机, 美国 Thermo Scientific 公司; TU-1810PC 型紫外可见光光度计, 北京普析通用仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 相溶解度测定方法

相溶解度的测定参照文献^[7]进行。向不同浓度的 β -CD 和 HP- β -CD 溶液中分别加入 4-羟基查尔酮, 得到的混合液分三组, 分别在 20 °C、30 °C、40 °C 水浴中振荡 72 h, 使包合反应达到动态平衡。过滤后采用紫外法测定上清液中的 4-羟基查尔酮浓度。用 4-羟基查尔酮浓度对环糊精浓度作图, 获得包合物的相溶解度图, 依据 Higuchi-Connors 方程 (1) 计算获得不同温度下的表观稳定常数 K_s 。依据 Van't Hoff 方程 (2) 和 Gibbs 方程 (3) 获得包合过程的热力学参数 (自由能变、焓变、熵变等)。

$$K_s = \frac{\text{slope}}{\text{Intercept}(1 - \text{slope})} \quad (1)$$

式中 K_s 为一定温度下的稳定常数, Intercept 为回归方程的截距, Slope 为回归方程的斜率。

$$\ln K_s = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \quad (2)$$

式中 K_s 为一定温度下的稳定常数, R 为热力学常数, T 为温度 (K), ΔH 为焓变、 ΔS 为熵变。

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (3)$$

式中 ΔG 自由能变, T 为温度 (K), ΔH 为焓变、 ΔS 为熵变。

1.2.2 包合物的制备

将 1.460 g HP- β -CD (1 mmol) 用 25 mL 蒸馏水溶解, 加入 0.224 g 4-羟基查尔酮 (1 mmol), 室温下在 40 °C 水浴中振荡 72 h, 离心, 得到上清液, 冷冻干燥, 得浅黄色固体, 即为 4-羟基查尔酮/HP- β -CD 包

合物。

1.2.3 物理混合物的制备

称取 4-羟基查尔酮 0.224 g、HP- β -CD 1.460 g 室温下在研钵中搅拌混匀, 得 4-羟基查尔酮与 HP- β -CD 的物理混合物。

1.2.4 红外分析方法

取适量的 HP- β -CD、4-羟基查尔酮、及它们的物理混合物和包合物, 分别用溴化钾压片后, 置于红外光谱仪中记录其红外光谱。

1.2.5 X 衍射分析方法

取适量的 HP- β -CD、4-羟基查尔酮、及它们的物理混合物和包合物, 进行 X 射线衍射, 采用 CuK α 靶, 石墨单色器衍射单色化, 衍射角扫描范围为 5°~80°。

1.2.6 热重及差示扫描量热同步分析方法

将 5.0 mg 左右的 HP- β -CD、4-羟基查尔酮、及其包合物分别均匀地铺在坩埚中放入热重及差示扫描量热同步测定仪中, 在氮气环境下进行扫描分析, 扫描速率为 20 °C/min, 扫描区间温度范围为 30 °C~500 °C。采用 Universal Analysis 2000 软件对数据进行处理。

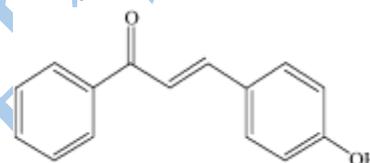


图 1 4-羟基查尔酮的结构式

Fig.1 Chemical structure of 4-hydroxychalcone

2 结果与讨论

2.1 相溶解度实验分析

相溶解度法是研究环糊精包合过程的常用方法, 本实验获得的相溶解曲线如图 2 所示, 4-羟基查尔酮的溶解度随环糊精的浓度增加线性增加, 其溶解曲线为 AL 型, 表明主客体按 1:1 结合^[8], 利用 Higuchi-Connors 方程可计算包合物组成为 1:1 时的结合常数 K_s , 结果如表 1 所示。在所有的测定温度下, HP- β -CD 与 4-羟基查尔酮的稳定常数均高于对应的 β -CD 与 4-羟基查尔酮的稳定常数, 表明与其母体 β -CD 相比, HP- β -CD 能更好的包合 4-羟基查尔酮。并且随着温度的上升, 稳定常数也迅速上升, 表明温度的提高有利于主客体的结合过程。依据温度和稳定常数的关系, 利用 Van't Hoff 方程 (2) 和 Gibbs 方程 (3) 可以获得 4-羟基查尔酮和环糊精包合过程的自由能变 (ΔG)、焓变 (ΔH) 和熵变 (ΔS)。如表 1 所示, 4-羟基查尔酮和环糊精包合过程的自由能变化值为负, 表明二者的结合是一个自由能降低过程, 反应具有自发性。而

ΔH 及 ΔS 均为负值, 这与 Jullian 等研究 HP- β -CD 包合桑色素的过程中观察到的现象相类似^[9], 表明二者的结合需破坏 4-羟基查尔酮分子外的溶剂层, 包合过程受疏水作用力的驱动。

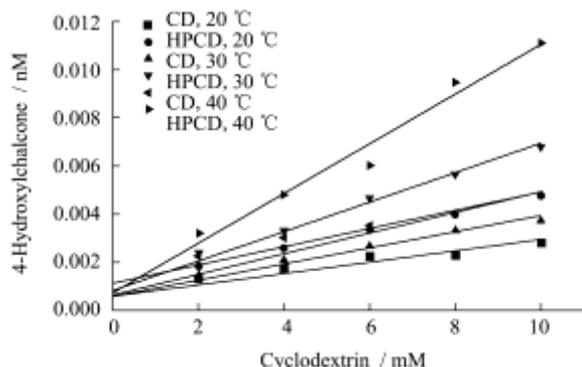


图 2 4-羟基查尔酮与环糊精的相溶解度图

Fig.2 Phase-solubility diagram of 4-hydroxylchalcone and cyclodextrins

表 1 查尔酮与环糊精间包合作用的表现稳定常数及热力学参数

Table 1 Apparent stability constants and thermodynamic parameters of the inclusion effect between 4-hydroxylchalcone and cyclodextrins

	温度 / °C	Ks / M ⁻¹	ΔG / (kJ/mol)	ΔH / (kJ/mol)	ΔS / (J/mol)
4-羟基查尔酮	20	436.94	-14.88		
	30	610.99	-16.00	17.97	112.12
	40	698.61	-17.12		
HP- β -CD	20	783.89	-16.16		
	30	1114.85	-17.84	33.11	168.15
	40	1872.33	-19.52		

2.2 红外光谱分析

红外光谱是物质定性分析的重要方法之一, 能够提供许多关于化合物官能团的信息。从图 3 可以发现, HP- β -CD 红外图谱具有羟基 (3387 cm^{-1}), 醚键 (1083 cm^{-1}) 等特征峰。4-羟基查尔酮的红外图谱具有酚羟基 (3122 cm^{-1}), 苯环 (1566、1512、1494、1442 cm^{-1}), 羰基 (1646 cm^{-1}) 的特征吸收峰。而 4-羟基查尔酮和 HP- β -CD 的特征吸收峰在物理混合物的吸收光谱中均可发现, 其表现为 4-羟基查尔酮和 HP- β -CD 的吸收光谱的叠加。但是在包合物图谱中, 4-羟基查尔酮在 400 cm^{-1} 到 1500 cm^{-1} 之间一些小的特征吸收峰几乎被 HP- β -CD 掩盖, 同时包合物在扫描范围内没有出现新的吸收峰。这表明, 4-羟基查尔酮与 HP- β -CD 在包合物的形成过程中, 两者之间没有形成共价键, 4-羟基查尔酮和 HP- β -CD 在包合物中仍然各自保留其基本

的化学结构^[10]。

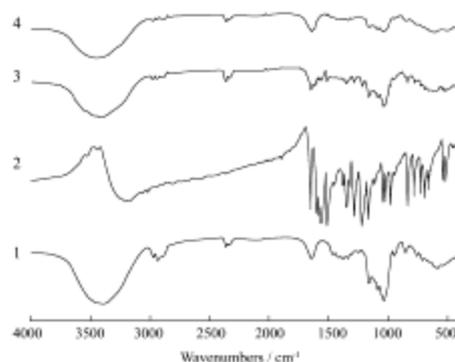


图 3 HP- β -CD (1)、4-羟基查尔酮 (2)、4-羟基查尔酮/HP- β -CD 的物理混合物 (3) 及包合物 (4) 的红外图谱

Fig.3 IR spectra of HP- β -CD (1), 4-hydroxylchalcone (2), 4-hydroxylchalcone/ HP- β -CD physical mixture (3) and complex (4)

2.3 X-衍射分析

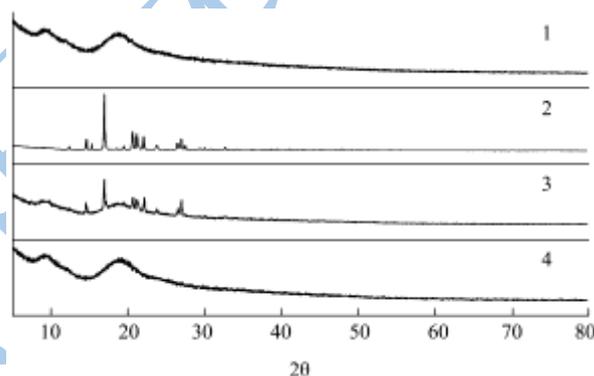


图 4 HP- β -CD (1)、4-羟基查尔酮 (2)、4-羟基查尔酮/HP- β -CD 的物理混合物 (3) 及包合物 (4) 的 X 衍射图

Fig.4 XRD patterns of HP- β -CD (1), 4-hydroxylchalcone (2), 4-hydroxylchalcone/ HP- β -CD physical mixture (3) and complex (4)

X 衍射分析是利用晶体形成的 X 射线衍射, 对物质内部原子在空间分布状况进行分析的方法。将具有一定波长的 X 射线照射到结晶性物质上时, X 射线因在结晶内遇到规则排列的原子或离子而发生散射, 散射的 X 射线在某些方向上相位得到加强, 从而显示与结晶结构相对应的特有的衍射现象^[11]。X-衍射分析表明 (图 4), 4-羟基查尔酮具有尖锐的晶体衍射峰; 而 HP- β -CD 作为一种无定形物质存在, 没有尖锐的衍射峰。在二者的物理混合物中, 4-羟基查尔酮尖锐的晶体衍射峰仍然清晰可见, 但在包合物中却突然消失。这表明 4-羟基查尔酮已完全分散在 HP- β -CD 中, 与 HP- β -CD 形成了一种无定形物质^[12]。

2.4 热重及差示扫描量热联用分析

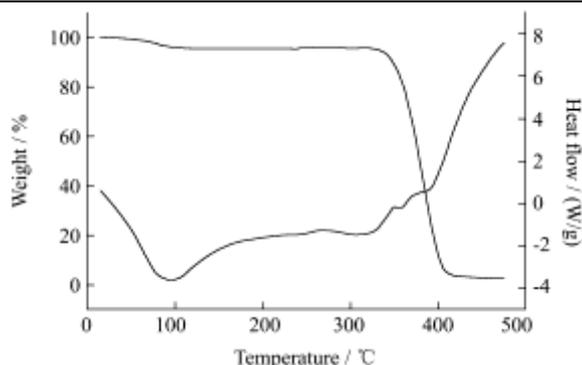


图5 HP-β-CD的热重及差示扫描量热图

Fig.5 TG/DSC curve of HP-β-CD

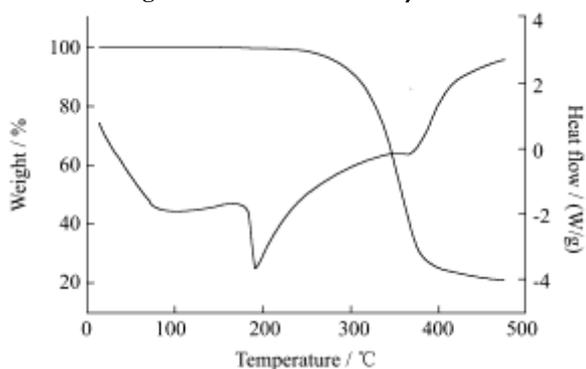


图6 4-羟基查尔酮的热重及差示扫描量热图

Fig.6 TG/DSC curves of 4-hydroxylchalcone

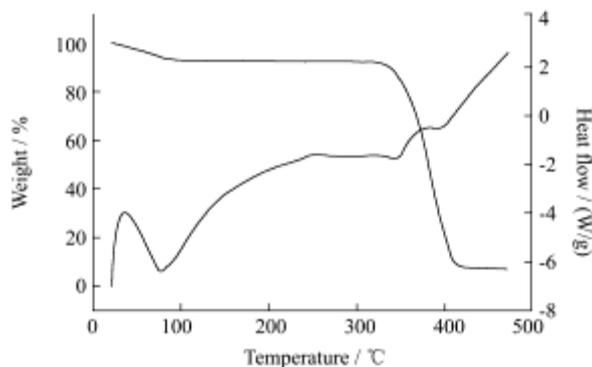


图7 4-羟基查尔酮/HP-β-CD的包合物的热重及差示扫描量热图

Fig.7 TG/DSC curves of 4-hydroxylchalcone/HP-β-CD inclusion complex

热重 (TG) 和差示扫描量热法 (DSC) 是目前对环糊精及其包合物的固体热性质进行精确研究的首选方法, 而热重/差示扫描量热法 (TG/DSC) 是其热分析技术的最新发展, 其可以同时测试样品在升温过程中的重量变化和吸放热^[13]。HP-β-CD 的 TG/DSC 实验结果如图 5, 其在 300 °C 之前 HP-β-CD 基本没有重量损失, 说明 HP-β-CD 样品水分和易挥发杂质含量很少。在 300~400 °C 之间有明显的失重阶段, 这主要是 HP-β-CD 分解引起的, 含碳分解物挥发造成重量损失。而 400 °C 以后继续升温样品重量基本恒定, 说明

HP-β-CD 降解完成, 只剩下小部分耐高温碳核。由 DSC 曲线可知, 在 300~400 °C 左右有一个明显的吸热峰, 峰值温度大概 328 °C, 这是由于 HP-β-CD 吸热分解造成的。图 6 和 7 分别是 4-羟基查尔酮和 HP-β-CD/4-羟基查尔酮包合物的 TG/DSC 曲线。4-羟基查尔酮的 TG 和 DSC 曲线可以看出, 它们的热重损失只有一步, 吸放热变化也只有一个峰, 说明它是高纯度的单一组分化合物。在 4-羟基查尔酮的 DSC 曲线上在 191 °C 处有一个明显的吸热峰, 这时 TG 曲线并没有重量损失, 说明 191 °C 处的峰是 4-羟基查尔酮的熔融吸热造成的。在 250 °C 左右 4-羟基查尔酮的 TG 曲线开始显示重量损失, 说明 4-羟基查尔酮在 250 °C 左右开始热分解, 而到 500 °C 左右时分解结束。与此对应的 DSC 曲线有一个不太明显的宽吸热峰, 峰值温度在 370 °C 左右。包合物的 TG 曲线依然显示一步降解, 开始温度 320 °C 左右。这也从侧面证明了包合物的形成。同步的包合物 DSC 曲线则显示两个明显的吸热峰, 分别在 330 °C 和 380 °C。330 °C 的峰应该是 HP-β-CD 的分解吸热峰, 380 °C 是 4-羟基查尔酮的熔融和分解吸热峰, 由于 HP-β-CD 的保护, 原本在 191 °C 熔融, 在 250 °C 热降解的 4-羟基查尔酮直到 HP-β-CD 分解后才在高温下迅速熔融并分解, 这表明通过与羟丙基-β-环糊精的包合, 4-羟基查尔酮的热稳定性得到了显著提高。

3 结论

本研究采用相溶解度法测定了 β-CD 和 HP-β-CD 包合 4-羟基查尔酮过程中的热力学参数, 发现 HP-β-CD 对 4-羟基查尔酮的包合效果优于 β-CD, 且二者的结合过程是一个自由能降低过程, 反应具有自发性, 受疏水作用力驱动。IR 和 XRD 分析表明 4-羟基查尔酮与 HP-β-CD 包合后, 其物相发生了重大改变, 4-羟基查尔酮以无定形状态完全分散在 HP-β-CD 中。TG/DSC 研究表明被羟丙基-β-环糊精的包合, 4-羟基查尔酮的热稳定性得到了显著提高。

参考文献

- [1] 李湘洲, 郭远良, 旷春桃, 等. 查尔酮的结构修饰及抗癌、抗炎活性研究进展[J]. 中南林业科技大学学报, 2011, 31(2): 95-99
- LI Xiang-zhou, GUO Yuan-liang, KUANG Chun-tao, et al. Research progress of the anti-cancer, anti-inflammatory activities of chalcone as bioactive plant constituents [J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology, 2011, 31(2): 95-99
- [2] Dimmock J R, Elias D W, Beazely M A, et al. Bioactivities of

- chalcones [J]. Current Medicinal Chemistry, 1999, 6(12): 1125-1149
- [3] Yu L, Zhang F, Hu Z, et al. Novel prenylated bichalcone and chalcone from *Humulus lupulus* and their quinone reductase induction activities [J]. Fitoterapia, 2014, 93: 115-120
- [4] 苏健裕,陈建平,陈玲,等.羟丙基- β -环糊精包合对右旋龙脑性质的影响[J].华南理工大学学报(自然科学版), 2012, 40(8): 122-127
- SU Jian-yu, CHEN Jian-ping, CHEN Ling, et al. Effect of hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion on characteristics of *d*-borneol [J]. Journal of South China University of Technology, 2012, 40(8): 122-127
- [5] 袁超,金征宇,檀亦兵.羟丙基- β -环糊精的热稳定性及分解动力学[J].中国粮油学报,2007,22(3):59-61
- YUAN Chao JIN Zheng-yu, TAN Yi-bing. Thermal stability and decomposition kinetic of hydroxypropyl- β -cyclodextrins [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2007, 22(3):59-61
- [6] Yuan C, Lu Z, Jin Z. Characterization of an inclusion complex of ethyl benzoate with hydroxypropyl- β -cyclodextrin [J]. Food Chemistry, 2014, 152(1): 140-145
- [7] Liu B, Nguyen T A, Zhao J. Empirical, thermodynamic and quantum-chemical investigations of inclusion complexation between flavanones and (2-hydroxypropyl)-cyclodextrins [J]. Food Chemistry, 2012, 134(2): 926-932
- [8] Liu B, Li W, Zhao J. Physicochemical characterisation of the supramolecular structure of luteolin/cyclodextrin inclusion complex [J]. Food Chemistry, 141(2): 900-906
- [9] Jullian C, Orosteguis T, Pérez-Cruz F, et al. Complexation of morin with three kinds of cyclodextrin a thermodynamic and reactivity study [J]. Spectrochimica Acta Part A, 2008, 71(1): 269-275
- [10] Wang J, Cao P, Sun B, et al. Characterisation of inclusion complex of trans-ferulic acid and hydroxypropyl- β -cyclodextrin [J]. Food Chemistry, 2008, 124(3): 1069-1075
- [11] 刘本国,张瑞婷,吴晓楠,等.橙皮苷/羟丙基- β -环糊精包合物的理化性质研究[J].现代食品科技,2013,29(10):2349-2352
- LIU Ben-guo, ZHANG Rui-ting, WU Xiao-nan, et al. Physicochemical properties of the complex of hesperidin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(10): 2349-2352
- [12] Veiga F, Teixeira-Dias J J C, Kedzierewicz F, et al. Inclusion complexation of tolbutamide with β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin [J]. International Journal of Pharmaceutics, 1996, 129(1): 63-71
- [13] Yuan C, Du L, Jin Z. Storage stability and antioxidant activity of complex of astaxanthin with hydroxypropyl- β -cyclodextrin [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 91(1): 385-389