

胶束及反胶束微环境中的槲皮素金属配合物

李 方^{*1} 张 进¹ 张新申² 李 波²

(¹ 四川大学化学学院, 成都 610064)

(² 四川大学皮革化学与工程教育部重点实验室, 成都 610065)

关键词: 槲皮素配合物; 胶束; 磷脂反胶束; 油/水分配

中图分类号: O611.6

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2005)04-0565-06

Study on Quercetin-Metal Complexes in Micelle Solutions and Reversed Micellar Systems

LI Fang^{*1} ZHANG Jin¹ ZHANG Xin-Shen² LI Bo²

(¹ College of Chemistry, Sichuan University, Chengdu 610064)

(² The Key Laboratory of Leather Chemistry and Engineering of Ministry of Education, Sichuan University, Chengdu 610065)

Abstract: The critical micelle concentrations (cmc) of surfactants in the Quercetin-metal coordination complex solutions have been determined by using the method of conductance ratio. In Quercetin coordination complex solution there were two cmc values at the lower concentration area of CTAB [$C_{16}H_{33}N(CH_3)_3Br$]. And this phenomenon about two cmc points was much similar to that of natural bio-surfactant. All the CTAB, SDBS ($C_{12}H_{25}C_6H_4SO_3Na$) and Tween-80 could improve the water-solubility of Quercetin coordination complexes when the concentrations of these surfactants were above the cmc values, but only CTAB increased the oil-solubility of these complexes. Therefore, Quercetin-metal-CTAB micelle congeries could go into the octanol phase through oil-water interface. In phospholipid reversed micellar system, the transfer efficiency of complex between the two phases was influenced by pH of the water phase, and around pH 7 the complexes were easy to enter the phospholipid-octanol phase.

Key words: quercetin complex; micelle; phospholipid reversed micelle; oil/water partition

无机金属元素可与中药活性有机化合物通过配位键结合形成配合物,进而影响药物的生理活性^[1]。但配合物的形成往往改变了原有机成分的溶解性能(如水溶性或脂溶性),而表面活性胶束体系可使金属有机配合物的水溶性或脂溶性得到明显改善,从而提高药物的生物利用度和改善药物的吸收。然而,胶束体系中已有的研究多是针对单纯的有机化合物^[2]或生物分子如蛋白质^[3]等,而涉及金属配合物胶束溶液的则很少,尤其是反胶束微环境中的中药金属配合物。

反胶束亦称 W/O 型微乳液,是双亲物质在非极

性有机溶剂中自发形成的具有纳米尺寸的含有水核的微小胶团聚集体。由于反胶束体系具有非常大的相接触面积,对油溶性和水溶性的物质都具有良好的溶解性能,故在生物质或药物的分离纯化^[4,5]、研究两相界面性质^[6]、用作纳米级微反应器^[7]等方面得到了广泛的研究与应用。反胶束体系在结构和许多性质上同生物膜相似,其“微水池”核的环境接近细胞环境,因此反胶束常作为生物膜模拟体系^[8]。

本文以中药活性成分槲皮素(Quercetin, Que)与金属离子形成的配合物为对象,研究了水溶液中金属配合物胶束体系的 cmc;以正辛醇/水为分配体系

收稿日期:2004-08-10。收修改稿日期:2004-11-09。

四川省科技厅应用基础研究基金资助项目(No.02GY029-038)。

*通讯联系人。E-mail: beifl@yahoo.com.cn

第一作者:李 方,女,48岁,教授;研究方向:天然产物分析。

探讨了配合物的两相分配情况; 并采用更接近细胞内微环境的生物表面活性剂——卵磷脂 (PC)-正辛醇反胶束模拟生物膜体系研究了金属配合物在两相间的传输。得到了一些有意义的结果, 有助于中药活性成分——无机金属元素配合物作用于生物体的深入研究。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

DDS-11A 型电导率仪 (上海第二分析仪器厂); UV240 型紫外-可见分光光度计 (日本岛津公司)。

槲皮素 (生化试剂, 中国医药集团上海化学试剂公司) 乙醇溶液; 铜、锌、铁离子溶液 (均用相应的盐配制成一定浓度的溶液); 十二烷基苯磺酸钠 (SDBS, 上海化学试剂厂); 十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB, 北京旭东化工厂); 吐温-80 (上海化学试剂厂); 卵磷脂 (生化试剂, 四川大学生化技术实验厂)。所用试剂除注明的外均为分析纯, 所用水为二次亚沸蒸馏水。

1.2 实验方法

1.2.1 槲皮素-金属配合物的合成

合成方法在文献^[9]的基础上作了进一步的改进。以槲皮素 (Quercetin) 与金属离子 (Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 或 Fe^{3+}) 的摩尔比为 1:1 的比例, 将配体槲皮素溶液和金属盐溶液置入圆底烧瓶中, 调节溶液至 pH 6~8。水浴加热回流 30 min。室温冷却后过滤, 无水乙醇洗涤, 干燥, 得槲皮素-金属配合物粉末状固体化合物。

1.2.2 配合物胶束溶液 cmc 的测定

将 1.2.1 中所得的金属配合物固体溶解后, 分取同量的溶解液 (测试液中配合物浓度 $2.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 加入表面活性剂 (测试液中 SDBS 浓度 $1.6 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 6.4 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; CTAB 浓度 $1.1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 3.3 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。在恒温槽中恒温至 25 $^{\circ}\text{C}$, 于电导率仪上测定其电导率, 绘制电导率-表面活性剂浓度曲线。

1.2.3 配合物及配合物-表面活性剂胶束溶液的油/水分配试验

取适量的槲皮素-金属配合物溶液于分液漏斗中, 不加表面活性剂或加入不同量的表面活性剂, 再加入等体积的正辛醇。混合振摇, 静置分层后分取正辛醇相测其紫外-可见吸收光谱图, 考察配合物两相分配情况; 再测定分配前后水相中槲皮素-金属配合物的浓度, 用差减法求出配合物在两相中的浓度, 计算其分配系数 P 。

1.2.4 卵磷脂-正辛醇-水反胶束体系萃取配合物的实验

将 PC 配成透明的 PC-正辛醇反胶束溶液, 使 PC 的浓度为 $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。再将此反胶束溶液置于盛有金属配合物溶液的分液漏斗中, 迅速混合振摇, 静置分层后取有机相测其紫外-可见吸收光谱, 以研究金属配合物传输进入 PC 反胶束体系的情况。

2 结果与讨论

2.1 槲皮素-金属配合物-表面活性剂溶液的电导率-表面活性剂浓度曲线

本文选择十二烷基苯磺酸钠 (SDBS) 和十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB) 作为阴离子表面活性剂和阳离子表面活性剂的代表, 用电导率法测定了槲皮素-金属配合物胶束溶液的临界胶束浓度 (cmc)。同时考察了无机元素 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 溶液中 CTAB 胶束的 cmc 值 (结果示于图 1b、图 2b、图 3b), 以便与相应的配合物胶束溶液作一比较。

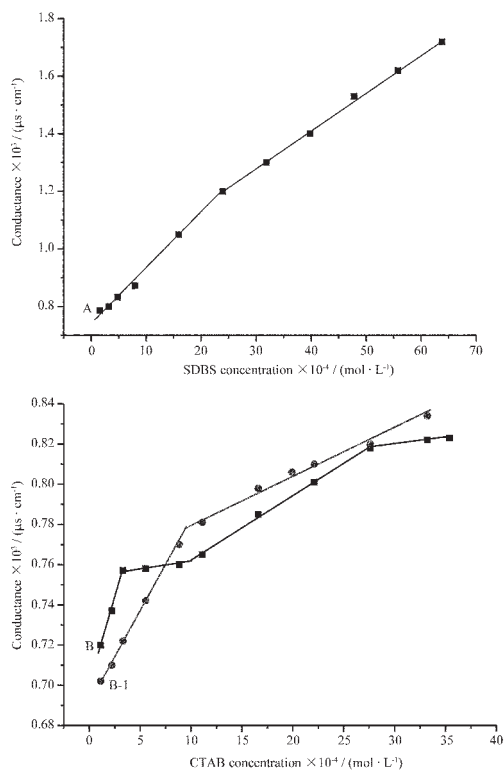


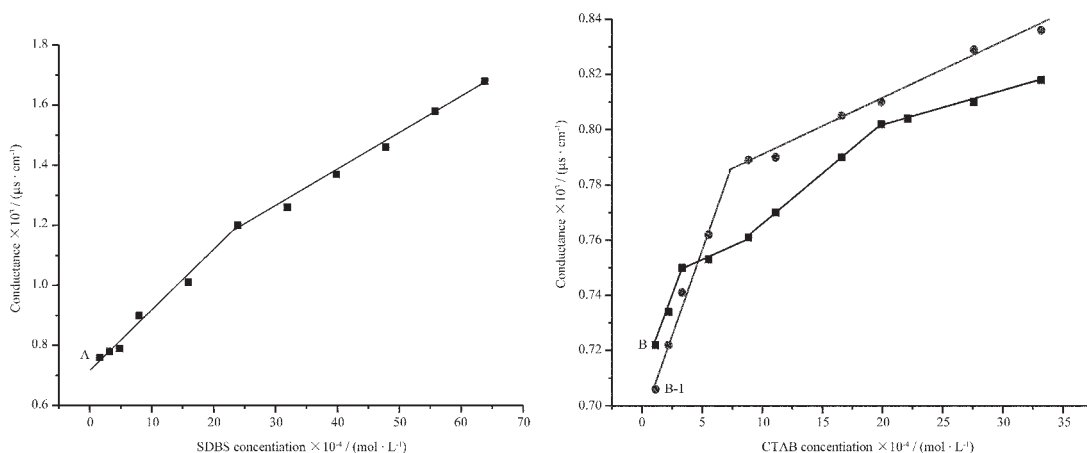
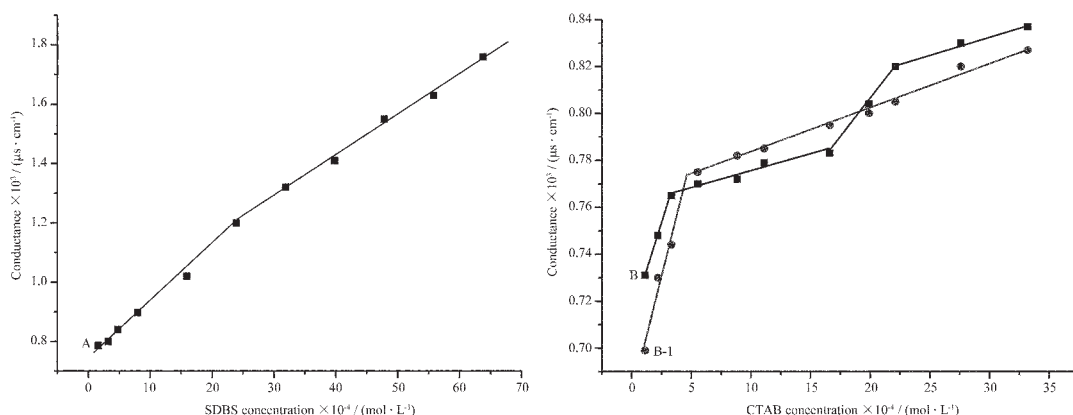
图 1 槲皮素- Zn^{2+} 溶液及 Zn^{2+} 溶液的电导率-表面活性剂浓度曲线

Fig.1 Curves of conductance ratio vs concentration of surfactant in the Quercetin- Zn^{2+} solution or Zn^{2+} solution

A: curve of SDBS in Que- Zn^{2+} solution;

B: curve of CTAB in Que- Zn^{2+} solution;

B-1: curve of CTAB in Zn^{2+} solution.

图2 槲皮素- Cu^{2+} 溶液及 Cu^{2+} 溶液的电导率-表面活性剂浓度曲线Fig.2 Curves of conductance ratio vs concentration of surfactant in the Quercetin- Cu^{2+} solution or Cu^{2+} solutionA: curve of SDBS in Que- Cu^{2+} solution; B: curve of CTAB in Que- Cu^{2+} solution; B-1: curve of CTAB in Cu^{2+} solution.图3 槲皮素- Fe^{3+} 溶液及 Fe^{3+} 溶液的电导率-表面活性剂浓度曲线Fig.3 Curves of conductance ratio vs concentration of surfactant in the Quercetin- Fe^{3+} solution or Fe^{3+} solutionA: curve of SDBS in Que- Fe^{3+} solution; B: curve of CTAB in Que- Fe^{3+} solution; B-1: curve of CTAB in Fe^{3+} solution.

由图1~图3可以得到SDBS和CTAB在槲皮素配合物溶液中的cmc值(列于表1中),这些cmc与纯水中胶束的cmc不同(纯水中SDBS的cmc为 $1.6 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,CTAB的cmc为 $9.6 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。在配合物-阴离子表面活性剂SDBS体系中,3种溶液的cmc值一样,说明金属元素的不同并不影响SDBS的cmc值。而配合物-阳离子表面活性剂CTAB胶束溶液中出现了两个不同的临界胶束浓度

(cmc_1 均为 $3.32 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; cmc_2 值却随金属元素的不同有所差异),这种情况类似于某些天然生物表面活性物质^[10],当溶液中表面活性物质浓度较低时即可形成两个不同的临界胶束浓度。在表面活性体系中,表面活性剂随其浓度增加依次以单体分子、预胶束、球形胶束、棒状胶束等结构形式存在^[11]。第一临界胶束浓度(cmc_1)为表面活性剂由单体或预胶束转变为球形胶束的浓度,第二临界胶束浓度(cmc_2)是

表1 槲皮素配合物溶液中SDBS和CTAB的cmc值

Table 1 Data of cmc for SDBS and CTAB in quercetin complex solutions

Complex	cmc of SDBS $\times 10^{-3} / (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	cmc of CTAB	
		$\text{cmc}_1 \times 10^{-4} / (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	$\text{cmc}_2 \times 10^{-3} / (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$
Quercetin- Zn^{2+}	2.39	3.32	2.76
Quercetin- Cu^{2+}	2.39	3.32	2.00
Quercetin- Fe^{3+}	2.39	3.32	2.21

由球形胶束转变为棒状胶束的浓度^[11,12]。显然,金属元素-槲皮素配合物的存在既有利于 CTAB 球形胶束的生成,又有利于球形胶束向棒状胶束的转变,提高了 CTAB 体系的表面活性。

另外,考察金属离子影响 cmc 值的结果(见表 2)可以说明,CTAB 的 cmc 值由于金属离子的存在而降低,并且高价金属离子(Fe^{3+})对 CTAB 的 cmc 值的影响大于低价金属离子(Zn^{2+} 、 Cu^{2+})的影响。但是,金属离子溶液中 CTAB 的 cmc 值在所考察的浓度区域内仍只有一个,说明金属元素对胶束体系表面活性的影响不及配合物的影响大。

表 2 金属离子溶液中 CTAB 的 cmc 值

Table 2 cmc of CTAB in metallic ion solutions

Ion	Zn^{2+}	Cu^{2+}	Fe^{3+}
cmc / ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	9.44×10^{-4}	7.37×10^{-4}	4.78×10^{-4}

胶束微环境体系中由于金属元素-槲皮素配合物的存在而使其 cmc 值改变的现象,是由于胶束表面扩散双电层被压缩的反离子效应^[13]以及熵驱动效应的结果。由于胶团的形成过程主要是熵驱动过程,取决于表面活性剂疏水基的疏水效应。对于 CTAB 体系,作为反离子的荷电配合物对表面活性剂胶束的扩散双电层产生影响,因配合物可存在于胶束的栅栏中,降低了表面活性剂离子头基之间的静电排斥力,压缩了离子头基的离子氛厚度,使双电层平均厚度减小,从而使表面活性剂分子排列得较为紧密,有利于胶束的形成及形状的转变。对于 SDBS 体系,配合物的存在使其 cmc 增加,说明配合物与阴离子型表面活性剂作用使得 SDBS 的亲水性增强,疏水基的疏水相互作用减弱,因而表面活性降低。

2.2 表面活性物质对槲皮素配合物油/水分配的影响

2.2.1 表面活性剂类型的影响

药物最常用的油/水分配性质是以正辛醇-水为分配体系测定的,因为这一体系可以较好的模拟人

体类脂膜^[14]来预测药物被吸收的情况。故本文利用所测得的配合物胶束溶液的 cmc 值,研究了阳离子表面活性剂(CTAB)、阴离子表面活性剂(SDBS)和非离子型表面活性剂(吐温-80)对槲皮素配合物在正辛醇-水两相分配中的影响。结果表明,当表面活性剂浓度在 cmc 值以上时,均可在一定程度上提高配合物在水中的溶解性能。但 SDBS 和吐温-80 均不能增加配合物的脂溶性,配合物在正辛醇-水体系中不易进入油相;CTAB 却可极大地提高配合物的脂溶性,使配合物易于进入正辛醇相(见图 4)。

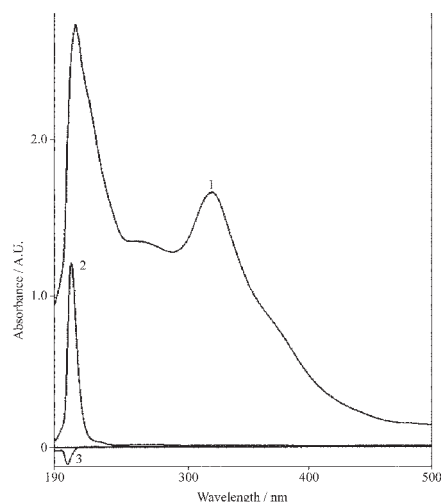


图 4 正辛醇相的紫外-可见吸收光谱图

Fig.4 UV-Visible absorption spectra of octanol phase

- 1: curve of coordination complex,
2: curve of CTAB,
3: curve of coordination complex without CTAB.

2.2.2 CTAB 浓度的影响

油/水分配系数是指溶质在油、水两相中分配达平衡后,油相中的溶质活度与水相中的溶质活度之比,通常浓度不大时,可用浓度代替活度,即 $P = C_o / C_w$ (式中 C_o 和 C_w 分别为溶质在油相和水相中的浓度)。本文测定了配合物-CTAB 胶束在辛醇/水两相中的分配系数(见表 3),以衡量配合物在该体系中的亲油性。表 3 数据说明,配合物萃入有机相的行为要

表 3 配合物在辛醇/水两相中的分配系数

Table 3 Octanol/water partition coefficients for quercetin complexes

Concentration of CTAB / ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Partition coefficients		
	Zn^{2+} -quercetin complex	Cu^{2+} -quercetin complex	Fe^{3+} -quercetin complex
0	0.035 5	0	0.046 2
1.83×10^{-3}	0.701	1.02	1.66
6.88×10^{-3}	5.07	3.98	1.89
9.63×10^{-3}	12.5	15.9	3.75

受到表面活性剂 CTAB 浓度的影响。增加水相中 CTAB 浓度,配合物在两相中的分配系数也随之增加。但 CTAB 的浓度不可太高,过高时(如 $C_{\text{CTAB}}=0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)水相则乳化。

由图 4 和表 3 可知,阳离子表面活性剂(CTAB)增强了配合物的脂溶性,说明阳离子型表面活性剂胶束与金属配合物之间的相互作用具有部分疏水特性^[5],可以提高活性金属配合物在生物体内透过细胞膜的能力而发挥其生理作用。这一过程实质上也是双亲物质在有机溶剂中聚集而形成的具有纳米尺寸的反胶束(reversed micelle)体系,这种体系对脂溶性的有机化合物和水溶性的极性化合物都具有良好的溶解性能,因此可用于改变天然植物药活性成分配合物的溶解性能,提高其稳定性^[6]。并可通过选择合适的反胶束聚集材料,使金属元素-有机配合物形成化学修饰聚集体,组控药物的缓释作用,增强药物的靶向性。

2.3 卵磷脂反胶束微环境中槲皮素-金属配合物的萃取行为

生化反应多是发生在生物膜上的,而磷脂是构成生物细胞膜主要成分之一的生理活性物质。它具有两性分子结构,其双分子层结构具生物膜的骨架。

本文选用卵磷脂为生物相容性两亲分子,以磷脂反胶束溶液作为生物膜模拟体系;正辛醇作为有机溶剂,同时也具有表面活性剂的功能。该体系可视为模拟生物膜的热力学稳定模式^[7],故以此体系来探讨配合物在反胶束体系中的萃取行为。

实验结果表明,槲皮素-金属配合物在一定条件下可进入卵磷脂反胶束有机相中。但水相中的 pH 对配合物在两相中的传输有一定的影响(见表 4)。随 pH 值的增加,配合物在两相中的分配系数降低。而水相中盐浓度(在一定范围内)对配合物萃取行为的影响却很小,其分配系数基本不随盐浓度的增加而改变。这些现象表明,配合物由水相向反胶束油相传输的效率取决于两相参数^[8](如 pH、反胶束的大小、水相中离子浓度等)。由于槲皮素-金属配合物的分子量不太大,体积较小,因此一般情况下受盐浓度影响的反胶束体积效应并不明显。但配合物中的配体槲皮素为多羟基化合物,则其离解受溶液 pH 的影响,当溶液中的 pH 提高时,羟基的离解度增加,配合物进入反胶束相的效率反而降低,这可能与配合物在不同 pH 下荷电情况发生变化有关。因此可利用体系的这一特点,通过调整体系的 pH 来控制金属配合物在反胶束有机相中的溶解行为。

表 4 反胶束体系中 pH 对配合物分配系数的影响

Table 4 Effect of pH on partition coefficients in phospholipid reversed micellar system

pH	7.8	9.3	10.2	10.4	10.5
Partition coefficients	8.95	2.54	2.48	2.40	2.24

3 结 论

槲皮素-金属离子-CTAB 化学修饰胶束聚集体系在较低的 CTAB 浓度区域即出现两个 cmc 值,表明胶束溶液由于配合物的存在更易于球形胶束的形成,并且使球形胶束更容易转变为排列更为紧密的棒状胶束。正是由于胶束聚集体系这些性质的变化影响到配合物性能(如水溶性、脂溶性、油/水分配等)的改变,因而 CTAB 可提高槲皮素-金属配合物在辛醇/水两相中的分配系数。在卵磷脂反胶束体系中,槲皮素-金属配合物可以通过油/水界面进入卵磷脂反胶束有机相中,但这种两相界面间的传输受体系中 pH 的影响,配合物进入有机相的量随 pH 的增加而有所降低。这些结果表明,由金属配合物-表面活性物质组成的反胶束或 W/O 微乳液体系有潜力为溶液中的聚集体系提供独特的特性,这是纯有机表

面活性剂体系所无法获得的。

参考文献:

- [1] LIU Wen-Sheng(刘文胜), LO Wei-Zao(罗维早), ZHANG Zhi-Rong(张志荣), et al. *Huaxi Yaoxue Zazhi(West China Journal of Pharmaceutical Sciences)*, **2001**,**16**(4):293~294
- [2] QIAN Shao-Hua(钱少华), QIAN Jun-Hong(钱俊红), GUO Rong(郭 荣). *Wuli Huaxue Xuebao(Acta Phys. -Chim. Sin.)*, **2003**,**19**(12):1127~1132
- [3] Takumi K, Aki K, Emiko M, et al. *Separation and Purification Technology*, **2003**,**31**:251~259
- [4] LI Xia-Lan(李夏兰), WENG Lian-Jin(翁连进). *Zhongguo Kangshengsu Zazhi(Chinese J. Antibiotic)*, **2003**,**28**(9):576~578
- [5] DUAN Ji-You(段金友), FANG Ji-Nian(方积年). *Fenxi Huaxue(Chinese Journal of Analytical Chemistry)*, **2002**,**30**

- (3):365~371
- [6] Lairion F, Filler R, Disalvo E A. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **2002**,**25**:369~371
- [7] MA Tian(马 天), YANG Jin-Long(杨金龙), ZHANG Li-Ming(张立明), et al. *Wuji Huaxue Xuebao(Chinese J. Inorg. Chem.)*, **2004**,**20**(2):121~127
- [8] MIAO Wei(缪 炜), YAO Song-Nian(姚松年). *Wulihuaxue Xuebao (Acta Physico-Chimica Sinica)*, **1999**,**15** (10):930 ~ 937
- [9] LI Yang-Feng(李延峰), LIANG Shao-Rong(梁绍蓉), GEN Hui(耿 晖). *Shizhen Guoyi Guoyao(Lishizhen Medicine and Material Medica Research)*, **1999**,**10**(2):152~153
- [10] CHEN Lu-Sheng(陈鲁生), ZHOU Wu(周 武), JIAN Yun-Sheng(姜云生). *Huaxue Yanjiu Yu Yingyong(Chemical Research and Application)*, **1997**,**9**(1):73~75
- [11] ZHAO Guo-Xi(赵国玺), ZHU Bu-Yao(朱 瑶). *Principles of Surfactant Action(表面活性剂作用原理)*. Beijing: China Light Industry Press, **2003**.
- [12] Almgren M, Brown W, Hvidt S. *Coll. Polym. Sci.*, **1995**,**273**: 2~15
- [13] Andrew D W C, Aaron M L, Xin W, et al. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, **2003**,**212**:147~153
- [14] DING Ping-Tian(丁平田), LIU Jun-Tian(刘军田), ZHENG Jun-Min(郑俊民). *Zhongguo Yiyao Gongye Zazhi(Chinese Journal of Pharmaceuticals)*, **1998**,**29**(4):186~190
- [15] Loginova L P, Chernysheva O S. *Journal of Molecular Liquids*, **2000**,**85**:351~359
- [16] Mutanon L, Phenae T. *Controlled Release Drugs React Polym.*, **1997**,**23**:241~263
- [17] Sosaku I, Shinji S, Mitsutoshi N, et al. *Biochemical Engineering J.*, **2000**,**6**:193~199
- [18] Qiang L, Hongyan C, Kuanhong L, et al. *Biochemical Engineering J.*, **1998**,**1**:45~52