

曲札芪苷平衡溶解度和表观油水分配系数的测定*

方 芳, 陈云建[△], 安利贞, 龚云麒

(昆明制药集团股份有限公司, 云南 昆明 650100)

摘要: **目的** 测定曲札芪苷在不同介质中的平衡溶解度, 在正辛醇—水和正辛醇—缓冲液体系中的表观油水分配系数, 为曲札芪苷制剂的开发研究提供基础。 **方法** 采用紫外分光光度—摇瓶法测定曲札芪苷的平衡溶解度及表观油水分配系数, 测定波长为 319nm。 **结果** 37℃时, 曲札芪苷在水中的溶解度为 5.77mg/mL, 在 0.1mol/L HCl 溶液中的溶解度为 4.53mg/mL, 在生理盐水中的溶解度为 5.21mg/mL, 在其他不同 pH 的磷酸盐缓冲溶液中随着 pH 的升高逐渐升高; 曲札芪苷在正辛醇—水相的表观油水分配系数 P_{app} 为 3.12; 当 pH 在 2~8 之间时, 受 pH 影响无规律, 表现为亲油性。 **结论** 曲札芪苷在水中的平衡溶解度及油水分配系数与介质的 pH 值有关, 可以通过改变 pH 值, 增加该药物新剂型的稳定性。其测定结果对进一步研究曲札芪苷的提取分离、制剂及其在生物体内的吸收、分布和代谢过程具有重要的参考价值。

关键词: 曲札芪苷; 平衡溶解度; 表观油水分配系数

中图分类号: R283

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2015)01-0010-04

曲札芪苷为拉萨大黄的主要脂溶性成分, 是一种二苯乙烯苷类化合物。据文献报道二苯乙烯类的化合物具有多种药理活性, 如降血脂^[1]、神经保护^[2]、并能显著减轻脑梗塞后的缺血再灌注造成的损伤^[3-5]。药物的理化参数与其在生物体内膜渗透性具有很大相关性, 有助于预测药物动力学性状, 本文对曲札芪苷的平衡溶解度、油水分配系数进行测定^[6-15], 为曲札芪苷的吸收研究、新剂型的开发及其他药学研究提供参考。

1 仪器与试剂

日本岛津 UV-2450 紫外/可见分光光度计, 梅特勒—托利多 FE20 型实验室 pH 计, 德国 Julabo SW22 型恒温水浴振荡器 (Julabo 技术有限公司)。曲札芪苷对照品由昆明制药集团股份有限公司药物研究院自制; 盐酸、氯化钠、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、磷酸二氢钠、氢氧化钠、正辛醇等均为分析纯, 水为自制重蒸水。

2 方法与结果

2.1 最大吸收波长的确定

精密称取曲札芪苷适量用 75% 甲醇配制浓度

度为 (6 μ g/mL) 的对照品溶液, 在波长 190~700nm 的波长范围内扫描, 曲札芪苷溶液的最大吸收波长为 319nm, 见图 1。

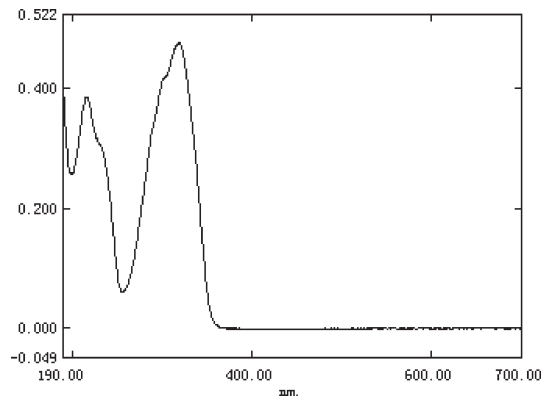


图 1 曲札芪苷紫外扫描图

2.2 曲札芪苷标准曲线的建立

精密称取曲札芪苷储备液适量, 加蒸馏水稀释至刻度分别制得浓度为 3.06, 4.08, 5.10, 8.16, 9.18, 10.2 μ g/mL 的一系列标准溶液, 照紫外可见分光光度法, 用紫外分光光度计在 319 nm 波长处测定吸收度。以吸光度为纵坐标, 浓度为横坐标, 绘制标准

* 基金项目: 云南省科技厅重点新产品开发专项资助(2012ZA002)

收稿日期: 2014-12-17

作者简介: 方芳(1979-), 女, 云南个旧人, 高级工程师, 主要从事新药研发质量标准研究工作。

[△]通信作者: 陈云建, E-mail: chyjkm@163.com

曲线,以测定结果计算得线性回归方程为: $Y=0.0709x+0.0169$, $r^2=0.9992$,表明曲札芪苷在浓度 $3.06\sim 10.2\mu\text{g/mL}$ 范围内吸光度与浓度呈良好线性关系。

2.3 准确度与精密度考察

按“标准曲线的制备”方法,配制浓度分别为 $4.02, 5.12, 6.24\text{mg/L}$ 的曲札芪苷水溶液,在 319nm 处测定各溶液的吸光度,带入标准曲线技术实测浓度,每个浓度平行测定6次,各浓度下测定结果的相对标准偏差(RSD)均小于 1.0% ,低、中、高3个浓度下的平均回收率分别为 $99.04\%, 99.48\%, 98.06\%$ 。结果表明,该测定方法的准确度和精密度良好。

2.4 水溶液稳定性考察

精密称取曲札芪苷 5.0mg 于 50mL 容量瓶中,加适量水超声至溶解,加水并定容至刻度,精密量取 2mL 至 50mL 容量瓶中,加水稀释并定容,得到浓度为 $4.0\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。按照紫外分光光度法,分别于 $0, 10, 20, 30, 40\text{min}$ 测定其吸光度,测定结果的RSD均小于 2.0% ,表明曲札芪苷水溶液在 40min 内有较好的稳定性,结果见表1。

测定结果表明KPC-XM18水溶液在 40min 内有较好的稳定性。

2.5 0.1mol/L HCL 溶液稳定性考察

精密称取曲札芪苷 5.0mg 于 50mL 容量瓶中,加适量 0.1mol/L HCL溶液超声至溶解,加 0.1mol/L HCL溶液定容至刻度,精密量取 2mL 至 50mL 容量瓶中,加 0.1mol/L HCL溶液稀释并定容,得到浓度为 $4.0\mu\text{g/mL}$ 的溶液。按照紫外分光光度法,分别于 $0, 10, 20, 30, 40\text{min}$ 测定其吸光度,测定结果的RSD均小于 2.0% ,表明曲札芪苷水溶液在 40min 内有较好的稳定性,结果见表1。

表1 不同溶液的稳定性考察结果

测定时间 /min	0	10	20	30	40	均值	RSD/%
水溶液 吸光度	0.298	0.298	0.298	0.298	0.297	0.298	0.15
0.1mol/L HCL 溶液吸光度	0.294	0.295	0.294	0.296	0.295	0.295	0.28

2.6 不同 pH 缓冲盐的配制

按《中华人民共和国药典》2010年版附录配制pH为 $3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0$ 的磷酸盐缓冲液用pH计验证,若有偏离,用 0.1mol/L 的HCL或 0.1mol/L

的NaOH校正酸度为所需数值。最后校正结果的pH分别为 $3.11, 4.13, 5.00, 6.00, 7.12, 8.05$ 。

2.7 平衡溶解度的测定

称取曲札芪苷约 0.4g 数份,分别置于 50mL 具塞三角瓶中,分别加入水、 0.1mol/L HCL、生理盐水、pH3.11磷酸盐缓冲溶液、pH4.13磷酸盐缓冲溶液、pH5磷酸盐缓冲溶液、pH6磷酸盐缓冲溶液、pH7.12磷酸盐缓冲溶液、pH8.05磷酸盐缓冲溶液各 40mL ,置于 $37\pm 0.5^\circ\text{C}$ 的恒温水浴中, 130r/min 匀速震荡。分别在 $2, 6, 10, 24\text{h}$ 吸取上清液,用 $0.45\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤弃去初滤液,取续滤液做适当稀释后,按照紫外分光光度法进行测定。每种介质平行操作3份,结果见下表2。

表2 不同介质中曲札芪苷溶解度结果

不同介质	不同时间取样点浓度/(mg/mL)				
	2h	6h	10h	24h	30h
水	5.18	5.56	6.09	5.87	5.58
0.1mol/L HCL	3.98	4.07	4.48	4.53	4.64
生理盐水	5.10	5.32	5.60	5.21	5.19
pH3.11 磷酸缓冲盐	4.67	5.08	5.05	5.04	5.08
pH4.13 磷酸缓冲盐	4.91	5.15	5.12	5.10	5.03
pH5 磷酸缓冲盐	5.09	5.25	5.20	5.29	5.15
pH6 磷酸缓冲盐	5.22	5.56	5.61	5.58	5.46
pH7.12 磷酸缓冲盐	5.56	5.95	5.98	5.85	5.79
pH8.05 磷酸缓冲盐	5.89	6.80	7.18	6.78	6.70

取 24h 所测得的浓度为平衡溶解度做出不同pH的平衡溶解度曲线,如图2。

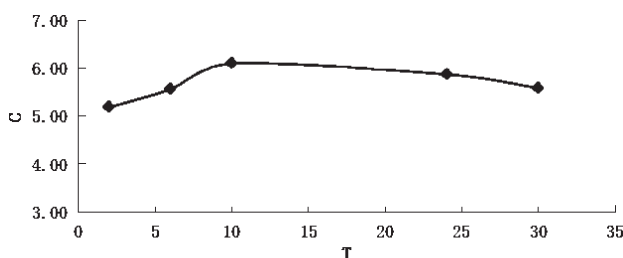


图2 曲札芪苷在不同 pH 的平衡溶解度

由图可以看出:随着pH的不断增加,曲札芪苷的平衡溶解度亦呈增加的趋势。

2.8 表观油水分配系数的测定

精密称取曲札芪苷原料药适量溶解于水饱和的正辛醇中,配成质量浓度约为 $15\mu\text{g/mL}$ 的溶液,精密量取该溶液 20mL 置于具塞三角瓶中,再分别

加入被正辛醇饱和的水、pH2.00 磷酸盐缓冲溶液、pH3.01 磷酸盐缓冲溶液、pH4.02 磷酸盐缓冲溶液、pH5.01 磷酸盐缓冲溶液、pH6.02 磷酸盐缓冲溶液、pH7.00 磷酸盐缓冲溶液、pH8.00 磷酸盐缓冲溶液 20mL,放入 37℃恒温水浴振荡器中振摇 24h,分别取上、下层液体按照紫外分光光度法在 319nm 波长处测定其各自的吸光度,根据公式 $P_{app}=C_o/C_w$ 计算其油水分配系数。公式中 P_{app} 为各介质中的表观油水分配系数、 C_o 为分配平衡时测得曲札芪苷在正辛醇中的浓度、 C_w 为分配平衡时测得曲札芪苷在水相中的浓度。曲札芪苷在不同的 pH 值缓冲液中的正辛醇/缓冲液表观分配系数见表 3。

表 3 不同的 pH 值缓冲液中的正辛醇/缓冲液表观分配系数

缓冲盐	A_o	A_w	P	lgP
PH2.00 磷酸缓冲液	0.27	0.91	3.40	0.53
PH3.01 磷酸缓冲液	0.24	0.83	3.51	0.54
PH4.02 磷酸缓冲盐	0.28	0.82	3.24	0.51
PH5.01 磷酸缓冲盐	0.24	0.83	3.46	0.54
PH6.02 磷酸缓冲盐	0.24	0.86	3.59	0.56
PH7.00 磷酸缓冲盐	0.24	0.73	3.06	0.48
PH8.00 磷酸缓冲盐	0.30	0.85	2.87	0.45

注: A_o 为曲札芪苷在正辛醇中的吸光度; A_w 为曲札芪苷在水中的吸光度; P 为油水分配系数值; lgP 为油水分配系数比值的对数值。

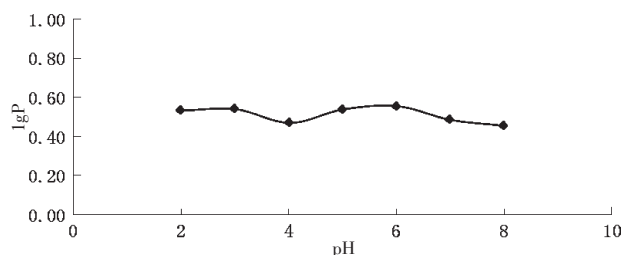


图 3 曲札芪苷在不同 pH 缓冲液中表观油水分配系数

图 3 结果表明:在酸性、中性、偏碱性条件下,正辛醇/缓冲液分配系数受缓冲液的 pH 值影响不大。

3 讨论

①油水分配系数的测定方法有很多,如摇瓶法、HPLC 法和产生柱法,其中以摇瓶法最为简便。本研究采用紫外分光光度测定曲札芪苷的浓度,并且用此种方法测得的线性、重复性和回收率均符合要求,表明该测定方法可行。

②人体的生理环境大致在 pH3.0~8.0,参考中国药典及相关专著中缓冲液的 pH 范围,设计并考

察曲札芪苷在 pH3.11,4.13,5.00,6.00,7.12,8.05 时的平衡溶解度和表观油水分配系数。为了模拟生物体内药物在水相和生物相之间的分配情况,许多实验都曾用多种有机溶剂来模拟生物相,如氯仿、橄榄油和正辛醇等,目前认为正辛醇更近似生物相,其主要原因是由于正辛醇的极性和溶解性比其他惰性溶剂好,其溶解度参数与生物膜的溶解度参数 21.07 MPa^{1/2} 一致,可以选用正辛醇作为模拟生物膜的有机溶剂,因此本研究采用正辛醇-水为模拟系统。

③曲札芪苷的水溶性较差,在水中的平衡溶解度仅为 5.77mg/mL,油水分配系数 P 为 3.12 (lgP=0.49),因此疏水性强,但这不是限制曲札芪苷口服吸收的重要原因(一般 lgP 大于 5 的药物不易吸收)。药物溶解度较小导致的溶出速度较慢,是导致药物口服生物利用度低的主要原因之一。所以对曲札芪苷表观油水分配系数及平衡溶解度的测定,不仅可为曲札芪苷新剂型的处方工艺提供基础数据,还为曲札芪苷的构效关系、吸收代谢研究提供参考。

参考文献:

- [1] 王春英,张兰桐,袁志芳,等. 何首乌醋酸乙酯提取部位与二苯乙烯苷的调血脂作用 [J]. 中草药,2008,39 (1):78-83.
- [2] 张兰,邢颖,赵玲,等. 不同时程 APP 转基因小鼠学习记忆致变及参乌胶囊、二苯乙烯苷的干预作用[J]. 中国行为医学科学,2006,15(3):193-196.
- [3] 赵玲,李春阳,张丽,等. 二苯乙烯苷对局灶性脑缺血大鼠脑组织细胞凋亡的影响 [J]. 中草药,2008,39 (3):394-397.
- [4] 熊国祚,彭鹏,蒋杰,等. 二苯乙烯对大鼠颈动脉球囊损伤后内膜增生的作用 [J]. 中南医学科学杂志,2014,42(1):25-30.
- [5] 王齐,陈晓宇,刘梅梅,等. 二苯乙烯苷对沙鼠脑缺血/再灌注引发海马损伤的保护作用[J]. 中国临床解剖学杂志,2013,31(2):180-183.
- [6] 张伟,荣娜娜,催文博,等. 灯盏花乙素苷元离解常数和油水分配系数测定[J]. 云南中医学院学报,2010,33(5):28-32.
- [7] 徐文,孙进,张婷婷,等. HPLC 法测定冬凌草甲素的平衡溶解度和表观油水分配系数 [J]. 沈阳药科大学学报,2007,24(4):220-222.
- [8] 杨小明,梁健,王驰芳,等. 银杏酸平衡溶解度和表观油水分配系数的测定[J]. 时珍国医国药,2010,21(10):2586-2587.

- [9] 钟玲,臧志和,鲁朝江. 芦丁的溶解度及油水分配系数研究[J]. 中国药业,2009,18(19):10-11.
- [10] 胡荣,黄华,杜洋,等. 佐米曲普坦在不同 pH 条件下的平衡溶解度和表观油水分配系数 [J]. 重庆医科大学学报,2010,35(8):1235-1237.
- [11] 杨建宏,王莉,王彤. 苦参碱平衡溶解度及表观油水分配系数测定[J]. 宁夏医科大学学报,2011,33(5):498-499.
- [12] 徐雅贞,杨兆祥,张伟. 紫外分光光度法测定曲杞芪苷的解离常数[J]. 云南中医学院学报,2012,35(3):43-46.
- [13] 单进军,狄留庆,赵晓莉,等. 瑞香素平衡溶解度和表观油水分配系数的测定[J]. 南京中医药大学学报,2011,27(5):449-450,458.
- [14] 于秀珍,何垢,钱一鑫,等. HPLC 法测定大豆苷元的平衡溶解度和表观油水分配系数 [J]. 安徽农业科学,2009,37(10):4367-4368.
- [15] 杨秀丽,孙进,何仲贵. 格列吡嗪油水分配系数和平衡溶解度的测定[J]. 中国药剂学杂志,2009,7(3):121-126.
- (编辑:杨阳)

Determine the Equilibrium Solubility and Apparent Oil/Water Partition Coefficient of Piceatannol 3'-O-β-D-glucopyranoside

FANG Fang, CHEN Yun-jian, AN Li-zhen, GONG Yun-qi
(Kunming Pharmaceutical Corp, Kunming 650100, China)

ABSTRACT: Objective To determine the equilibrium solubility of Piceatannol 3'-O-β-D-glucopyranoside by UV Spectrophotometry in different media and the octanol-water and octanol in a buffer fluid system apparent oil-water partition coefficient to provide a basis for the development of design Piceatannol 3'-O-β-D-glucopyranoside preparations. **Methods** Measuring the equilibrium solubility of Piceatannol 3'-O-β-D-glucopyranoside in different medium. Using the shake flask method for the determination of Piceatannol 3'-O-β-D-glucopyranoside apparent oil-water partition coefficient, measuring wavelength of 319nm. **Results** The equilibrium solubility of Piceatannol 3'-O-β-D-glucopyranoside in water was 5.77 mg/ml at 37 °C, and the solubility was 4.53mg/mL in 0.1mol/L HCl, in physiological saline was 5.21mg/mL, in a phosphate buffer solution of different pH value, its solubility gradually increased with the increase of pH;Piceatannol 3'-O-β-D-glucopyranoside in n-octanol and water relative to the performance of oil-water partition coefficient, Papp was 3.12;when pH is during 2 to 8, there is no significantly affected by pH influence performance hydrophilic. **Conclusion** The equilibrium solubility in water and oil-water partition coefficient of Piceatannol 3'-O-β-D-glucopyranoside are correlated to pH of the medium, The stability of the new formulation of the drugs can be increased by changing the pH value. Its measurement results are important to further research to Piceatannol 3'-O-β-D-glucopyranoside, formulation research and in vivo absorption, distribution and metabolic processes important reference.

KEY WORDS: piceatannol 3'-O-β-D-glucopyranoside; equilibrium solubility; apparent oil-water partition coefficient

(原文见第5页)

Preparation of Panaxadiol Derivatives with Acid Anhydrides

ZHANG Lian-qing¹, DUAN Wen-yue¹, ZOU Cheng¹, CHEN Yan-mei¹,
ZHAO Qing², ZHAO Pei-ji³, HU Jian-lin¹

(1. School of Pharmaceutical Sciences & Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming 650500, China; 2. Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China;

3. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in Western China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

ABSTRACT: Objective To design and synthesize panaxadiol derivatives. **Methods** A series of panaxadiol derivatives have been synthesized with simple acylation of hydroxy group of panaxadiol. The chemical structures of these derivatives were identified by NMR. **Results** Five derivatives were obtained and four of them were new compounds. **Conclusion** These derivatives can be obtained readily, thus a large number of derivatives can be synthesized similarly for bioassay. This provides a new approach for the research and development of Panax notoginseng.

KEY WORDS: Panaxadiol; Panaxadiol derivatives; acylation reaction; synthesize