

灯盏花素的溶解度与油水分配系数的测定

卢秀霞, 何琳, 陈莉, 吴伟昂, 史锐标, 龙晓英

(广东药学院 中山校区, 广东 中山 528458)

摘要: 目的 考察灯盏花素的平衡溶解度与油水分配系数, 为制剂研究奠定基础。方法 采用摇瓶-紫外分光光度法测定灯盏花素在水、不同 pH 值磷酸盐缓冲液中的平衡溶解度及其油水分配系数。结果 灯盏花素在水及 pH1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、6.5 磷酸盐缓冲液中的平衡溶解度分别为 212.088、2.801、2.812、3.413、4.758、48.047、424.167、5 675.584 $\mu\text{g/mL}$, 油水分配系数分别为 0.923、1.931、1.753、1.350、0.826、0.525、0.222、0.212。结论 本文建立的测定方法简单可行, 37 $^{\circ}\text{C}$ 时灯盏花素极微溶于水, 且溶解度随 pH 值升高而增大, 油水分配系数随 pH 值升高而减小。

关键词: 灯盏花素; 平衡溶解度; 油水分配系数

中图分类号: R284.1 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1006-8783.2011.01.001

文章编号: 1006-8783(2011)01-0001-04

Determination of equilibrium solubility and oil-water partition coefficient of scutellarin

LU Xiu-xia, HE Lin, CHEN Li, WU Wei-ang, SHI Rui-biao, LONG Xiao-ying

(Guangdong Pharmaceutical College, Zhongshan, Guangdong 528458, China)

Abstract: **Objective** To investigate the equilibrium solubility and the oil-water partition coefficient of scutellarin laying the foundation for the research of its preparations. **Methods** The equilibrium solubility and the oil-water partition coefficient of scutellarin in water and different phosphate buffers were measured by shaking flask-UV spectrophotometry. **Results** The equilibrium solubility of scutellarin in water, pH 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 and 6.5 phosphate buffer were 212.088, 2.801, 2.812, 3.413, 4.758, 48.047, 424.167 and 5 675.584 $\mu\text{g/mL}$, and the oil-water partition coefficients were 0.923, 1.931, 1.753, 1.350, 0.826, 0.525, 0.222 and 0.212 respectively. **Conclusion** The determination method is easy and feasible. Scutellarin is slightly soluble in water at 37 $^{\circ}\text{C}$, the solubility of which increases as pH value goes up and the oil-water partition coefficient is reduced.

Key words: scutellarin; equilibrium solubility; oil-water partition coefficient

灯盏花素是从菊科植物灯盏细辛干燥全草中提取的葡萄糖酸黄酮苷类药物, 其主要成分为灯盏乙素^[1], 含少量的灯盏甲素。灯盏乙素又名野黄芩苷^[2], 化学名为 5,6,4'-三羟基黄酮-7-O- β -D-吡喃葡萄糖苷, 分子式 $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{12}$ 。具有散寒解表、祛风除湿、通经活络、扩张血管、改善脑血液循环、降低血管阻力和抗血小板凝聚等作用^[3]。临床主要用于风寒湿痹痛、胸痹心痛、冠心病、心绞痛以及脑血管、脑栓塞等脑血管意外所致瘫痪的治疗^[4-5]。

药物吸收需要适宜的水溶性和脂溶性, 以便透过脂质双分子层生物膜^[6]。溶解度与油水分配系数在设计以脂质辅料为基础的药物传递系统中是重要的参数, 因此测定溶解度与油水分配系数, 有助于预测药物在体内溶解、吸收、分布、转运, 尤其是经胃肠道与黏膜的吸收情况^[7-9], 为制剂处方筛选、工艺设计以及生物药剂学等方面研究提供参考。

目前有关灯盏花素的研究主要集中在新剂型^[10]以及临床药效研究方面^[11-12], 而有关灯盏花

收稿日期: 2010-11-29

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(30973953C1909)

作者简介: 卢秀霞(1982-), 女, 硕士, 初级实验师, Email: luxiuxian@163.com; 通讯作者: 龙晓英(1960-), 女, 博士, 教授, 从事药物新剂型与新技术研究, 电话: 020-39352559, Email: longxy3156@163.com。

网络出版时间: 2011-01-21 16:20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1413.R.20110121.1620.009.html>

素理化性质的研究报道并不多^[13]。本文将系统测定灯盏花素在水及不同 pH 缓冲液中的溶解度及油水分配系数,为该药的制剂设计与研究提供参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器

BP211D 十万分之一电子天平(德国赛多利斯);KQ-500 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);PHS23TC 精密酸度计(上海天达仪器有限公司);UV1102 紫外分光光度计(上海天美仪器有限公司);CHA-S 数显气浴恒温振荡器(江苏金坛市宏华仪器厂)。

1.2 试药

灯盏花素对照品(中国药品生物制品检定所,质量分数 $\geq 98\%$,批号 200605);灯盏花素原料药(冕宁杰象药物原料有限公司,质量分数为 96.07%,批号 20100101);pH1.0-pH6.5 磷酸盐缓冲液:以 NaH_2PO_3 、 KH_2PO_3 、 H_3PO_3 、水分别配制;正辛醇、无水乙醇等试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 灯盏花素 UV 测定方法的建立

2.1.1 样品溶液制备 精密称取灯盏花素对照品 2.00 mg,蒸馏水溶解并定容至 100 mL,精密量取该液 5.0 mL,蒸馏水稀释并定容至 10 mL,摇匀,制得质量浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的灯盏花素对照液。精密称取 2.00 mg 灯盏花素原料药,同法制得质量浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的灯盏花素供试液。

2.1.2 测定波长选择 取灯盏花素对照液、供试液适量,分别于 200~600 nm 进行紫外扫描,见图 1。结果表明,灯盏花素最大紫外吸收波长为 333 nm,因此选择 333 nm 作为灯盏花素的检测波长。

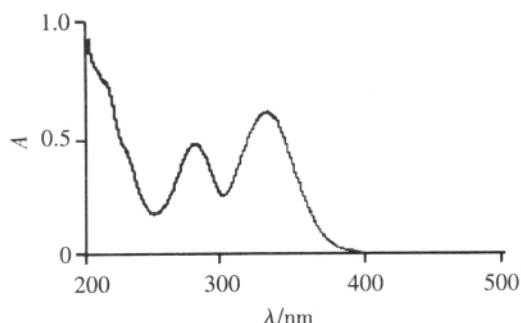


图 1 灯盏花素在水中的紫外扫描图谱

Figure 1 UV spectrogram of scutellarin in water

2.1.3 标准曲线 精密称取灯盏花素对照品 2.00

mg,置 100 mL 容量瓶中,蒸馏水超声溶解并定容至刻度,摇匀,制得质量浓度为 20.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的灯盏花素标准储备液。精密吸取该储备液 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,蒸馏水稀释至刻度,摇匀,制得系列质量浓度灯盏花素对照液。取各对照液分别于 333 nm 处测定吸光度,以吸光度(A)对质量浓度(ρ)作线性回归,得回归方程: $A = 0.0514\rho - 0.0404$, $r = 0.9999$ 。结果表明灯盏花素在 6.00~16.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内,其吸光度与质量浓度线性关系良好。

2.1.4 精密度试验 分别精密吸取质量浓度为 20.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的灯盏花素标准储备液 8.0、6.0、3.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,蒸馏水稀释至刻度,制得质量浓度为 16、12、6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的灯盏花素对照液。分别取各对照液于 333 nm 处测定吸光度,连续测定 5 次。结果高、中、低质量浓度溶液的吸光度平均值分别为 0.892、0.618、0.286, RSD 分别为 0.42%、0.49%、1.18% ($n=5$),表明仪器精密度良好。

2.1.5 稳定性试验 分别取质量浓度为 16、12、6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的灯盏花素对照液各 5 份,分别于室温放置 24、48、72 h 后按上述方法测定紫外吸光度,每天测 1 次,连续测 3 d。结果高、中、低质量浓度溶液的日间 RSD 平均值分别为 1.872%、1.815%、1.857% ($n=5$),表明灯盏花素对照液于室温下存放 3 d 较稳定。

2.2 溶解度测定

2.2.1 灯盏花素在水中的溶解度 将过量的灯盏花素原料药置具塞三角烧瓶中,加入蒸馏水适量,超声 30 min 直至药物不再溶解,分别于 25、37 $^{\circ}\text{C}$ 气浴恒温振荡 72 h,取出静置,吸取上清液,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液用蒸馏水稀释并定容至一定刻度,于 333 nm 处测定吸光度,代入“2.1.3”项标准曲线,计算灯盏花素在蒸馏水中的平衡溶解度,结果见表 1。从表可见 25 $^{\circ}\text{C}$ 时灯盏花素不溶于水,37 $^{\circ}\text{C}$ 时的溶解度较 25 $^{\circ}\text{C}$ 的增大了 3.6 倍,极微溶于水。

表 1 灯盏花素在蒸馏水中的平衡溶解度

Table 1 The equilibrium solubility of scutellarin in water

样品	$\theta_1 = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$		$\theta_2 = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$	
	溶解度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	RSD / %	溶解度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	RSD / %
1	58.307		211.440	
2	59.183	0.92	212.996	0.38
3	58.210		211.829	

2.2.2 灯盏花素在不同 pH 值磷酸盐缓冲液中的溶解度 精密称取灯盏花素对照品 5.00 mg, pH6.5 磷酸盐缓冲液超声溶解并定容至 10 mL, 得质量浓度为 500 $\mu\text{g/mL}$ 的灯盏花素标准储备液。精密量取该储备液适量置 10 mL 容量瓶中, 分别用 pH1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、6.5 磷酸盐缓冲液稀释至刻度, 制得系列质量浓度灯盏花素对照液, 分别于 333 nm 处测定吸光度, 以吸光度 (A) 对质量浓度 (ρ) 作线性回归, 见表 2。

将过量的灯盏花素原料药置 25 mL 具塞三角烧

瓶中, 分别加入适量的 pH1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、6.5 磷酸盐缓冲液, 超声溶解 30 min 直至过饱和, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 气浴恒温振荡 72 h。取续滤液用相应 pH 值缓冲液稀释并定容, 于 333 nm 处测定吸光度, 代入相应 pH 值缓冲液标准曲线计算灯盏花素在不同 pH 值磷酸盐缓冲液的平衡溶解度, 结果见表 2。从表 2 可见, 灯盏花素的平衡溶解度随 pH 值升高而增大, 当 pH 值为 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 时均不溶解, 当 pH 值为 6.0 时极微溶, 当 pH 值为 6.5 时溶解度明显增大, 为 pH 值 5.0 时的 118 倍, 微溶。

表 2 灯盏花素在 pH1.0 ~ pH6.5 磷酸盐缓冲液中的标准曲线和平衡溶解度

Table 2 The standard curve and equilibrium solubility of scutellarin in pH1.0 - pH6.5 buffer solution ($\bar{x} \pm s, n = 3, \theta = 37^{\circ}\text{C}$)

pH	标准曲线	溶解度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	RSD/%
1.0	$A = 0.0836\rho - 0.0832, r = 0.9997$	2.801 ± 0.00	0.00
2.0	$A = 0.0768\rho - 0.0433, r = 0.9990$	2.812 ± 0.03	1.07
3.0	$A = 0.0895\rho - 0.1221, r = 0.9990$	3.413 ± 0.04	1.17
4.0	$A = 0.0809\rho - 0.1102, r = 0.9990$	4.758 ± 0.05	1.05
5.0	$A = 0.0585\rho - 0.0378, r = 0.9996$	48.047 ± 0.26	0.54
6.0	$A = 0.0930\rho - 0.2139, r = 0.9990$	424.167 ± 2.44	0.58
6.5	$A = 0.0855\rho - 0.1623, r = 0.9990$	5675.584 ± 13.27	0.23

2.3 油/水分配系数测定

2.3.1 标准曲线 精密称取灯盏花素对照品 1.0 mg, 无水乙醇溶解并定容至 25 mL, 制得质量浓度为 40 $\mu\text{g/mL}$ 的灯盏花素贮备液。精密吸取该贮备液 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL, 无水乙醇分别稀释并定容至 10 mL, 得系列质量浓度的灯盏花素对照液, 于 333 nm 处测定吸光度。以吸光度 (A) 对质量浓度 (ρ) 作线性回归, 得回归方程 $A = 0.0734\rho - 0.0648$, $r = 0.9990$ 。表明灯盏花素在 4.0 ~ 12.0 $\mu\text{g/mL}$ 范围内, 吸光度与质量浓度线性关系良好。

2.3.2 灯盏花素在正辛醇/水的油水分配系数 精密称取灯盏花素原料药适量, 用正辛醇饱和的水超声溶解, 于 333 nm 处测定吸光度 A 。精密量取该液 10.00 mL 置具塞三角烧瓶中, 加水饱和的正辛醇 10.00 mL 摇匀, 分别于 25、37 $^{\circ}\text{C}$ 气浴恒温振荡 72 h 直至平衡。取出, 静置分层, 吸取水层 1 mL, 无水乙醇稀释并定容至 5 mL, 测吸光度 A_w , 分别将 A 、 A_w 代入“2.3.1”项标准曲线求得平衡前水中药物总浓度 C 、平衡后水层药物浓度 C_w , 根据 $K_{o/w} = (C - C_w) / C_w$ 计算灯盏花素在正辛醇/水的油水分配系数。结果在 25 $^{\circ}\text{C}$ 、37 $^{\circ}\text{C}$ 时, 灯盏花素的 $K_{o/w}$ 分别为 0.466、0.923, RSD 值分别为 2.15%、2.17% ($n = 3$), 表明灯盏花素在正辛醇/水的油水分配系数

随温度升高而略有增大。

2.3.3 灯盏花素在正辛醇/pH1.0 - pH6.5 磷酸盐缓冲液的油水分配系数 正辛醇/pH1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 缓冲液: 药物在油相溶解度较大, 测定正辛醇层浓度; 正辛醇/pH6.0、6.5 缓冲液: 药物在水相溶解度较大, 测定水层浓度。具体操作如下: 精密称取灯盏花素适量, 分别用 pH1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 缓冲液饱和的正辛醇或正辛醇饱和的 pH6.0、6.5 缓冲液溶解, 配制一定浓度的母液, 于 333 nm 处测定吸光度 A 。精密量取母液 10.00 mL 置具塞三角烧瓶中, 分别加 10.00 mL 正辛醇饱和的 pH1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 缓冲液或 pH6.0、6.5 缓冲液饱和的正辛醇, 37 $^{\circ}\text{C}$ 气浴恒温振荡 72 h 直至平衡。取出, 静置分层, 吸取正辛醇层或缓冲液层, 无水乙醇稀释并定容, 测定吸光度 A_o 或 A_w , 分别将 A 、 A_o 或 A_w 代入“2.3.1”标准曲线, 乘以相应稀释倍数得平衡前总浓度 C 、平衡后醇层浓度 C_o 或缓冲液层浓度 C_w 。根据 $K_{o/w} = C_o / (C - C_o)$ 计算灯盏花素在正辛醇/pH1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 缓冲液的油水分配系数, 根据 $K_{o/w} = (C - C_w) / C_w$ 计算灯盏花素在正辛醇/pH6.0、6.5 缓冲液的油水分配系数, 结果见表 3。从表 3 可见, 灯盏花素油水分配系数 $K_{o/w}$ 随 pH 值升高而逐渐减小。

表 3 灯盏花素在正辛醇/pH1.0 ~ pH6.5 磷酸盐缓冲液的油水分分配系数

Table 3 The oil-water partition coefficients of scutellarin in n-octanol/ pH1.0 - pH6.5 buffer solution($n=3$)

pH 值	C_o	C_w	$K_{o/w}$	RSD/%
1.0	4.510	2.336	1.931	0.00
2.0	4.492	2.562	1.753	1.12
3.0	4.322	3.202	1.350	0.93
4.0	4.589	5.557	0.826	2.07
5.0	3.948	7.527	0.525	1.73
6.0	2.103	9.487	0.222	3.60
6.5	1.977	9.343	0.212	2.83

3 讨论

3.1 溶解度

研究结果显示,温度及 pH 值对灯盏花素溶解度影响较大,37℃ 时水中溶解度比 25℃ 增加了 3.6 倍;pH 值对溶解度的影响更明显,pH5 以上溶解度开始显著增加,特别是 pH6.5 时溶解度为 5 675.584 6 $\mu\text{g/mL}$,与水相比增加了 26.76 倍;这是与黄酮类化合物分子中具有多个酚羟基而显酸性,在碱性水溶液中离解成盐有关。灯盏花素临床剂量一般为 20 mg,在胃中难以溶解,而在肠道特别是空肠以后,溶解度不会成为吸收的限速过程,制成口服固体制剂无需考虑增溶问题,但如果制备液体制剂,则需要适当增溶。

3.2 油水分分配系数

温度与 pH 值对灯盏花素的油水分分配系数有一定影响。温度升高,油水分分配系数增加,37℃ 时灯盏花素在正辛醇/水的油水分分配系数比 25℃ 增加约 1.98 倍,不如温度对溶解度的影响大。油水分分配系数随 pH 值升高而逐渐降低,这与灯盏花素溶解度随 pH 值升高而增大相吻合,由于药物随 pH 升高溶解度增加,油水分分配系数自然就会减小,但 pH 对油水分分配系数的影响不如对溶解度的影响大,pH1.0 与 pH6.5 之间仅差 9 倍,且灯盏花素油水分分配系数比较低。值得注意的是,pH7.0、pH7.4 时灯盏花素在 335 nm 处没有吸收峰,油水两相均无法测定其浓度,自然也无法计算油水分分配系数。据文献报道,灯盏花素在水中容易发生 β 糖苷键水解,其相邻酚羟基易被氧化成醌式结构而不稳定^[13];当黄酮类化合物分子中有邻二酚羟基或 3,4'-二羟基取代时,在碱性溶液中易被氧化而产生沉淀^[14];灯盏花素注射液

经贮藏后发生分解^[15]。根据以上文献及本文结果,推测药物在正辛醇与 pH7.0、pH7.4 磷酸盐缓冲液油水分分配时发生了某种化学变化,致使灯盏花素结构改变,导致其紫外吸收峰发生变化,具体原因需要进一步研究。

溶解度与油水分分配系数是影响药物在胃肠道吸收的两个重要的因素,对灯盏花素而言,也许油水分分配系数是影响药物吸收的主要因素,可能会影响药物穿透生物膜的能力,这将在今后作进一步的研究。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010 年版一部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 100 - 101.
- [2] 张卫东, 陈万生, 王永红, 等. 灯盏花黄酮类化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2000, 25(9): 536 - 538.
- [3] 陈新谦, 金有豫, 汤光, 等. 新编药理学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 363 - 364.
- [4] 王桂霞. 灯盏花素药理及临床应用 [J]. 时珍国医国药, 1999, 10(8): 639.
- [5] 张峻, 李雪松, 张卫东. 中药灯盏花化学成分与药理活性研究进展 [J]. 药学实践杂志, 2002, 20(2): 103 - 107.
- [6] 姚媛, 廖琼峰, 曾丽英, 等. 穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯表观油水分分配系数的测定及 pH 值对其的影响 [J]. 中药材, 2009, 32(10): 1610 - 1612.
- [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分配系数 [J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(4): 220 - 222.
- [8] 杨秀丽, 孙进, 何仲贵. 格列吡嗪油水分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.
- [9] 袁飞, 何琳, 丁沐淦, 等. 静态法与动态法测定药物水中溶解度的探讨 [J]. 广东药学院, 2010, 26(5): 462 - 464.
- [10] 邵云, 平其能, 操锋, 等. 灯盏花素新制剂、新剂型及其结构修饰研究进展 [J]. 中国天然药物, 2007, 5(3): 229 - 234.
- [11] 崔建梅, 吴松. 灯盏花素的研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15(3): 255 - 258.
- [12] 史小琴, 陈玉敏, 王宇, 等. 灯盏花素的研究进展 [J]. 河北职工医学院学报, 2008, 25(4): 80 - 84.
- [13] 石森林, 徐莲英, 毛展凯, 等. 灯盏花素的理化性质及其稳定性影响因素研究 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(7): 843 - 847.
- [14] 姚新生, 吴立军, 吴继洲, 等. 天然药物化学 [M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 184.
- [15] 张世轩, 牛玉娟, 吕浩然, 等. HPLC 法测定灯盏花素注射液中亚黄芩苷 [J]. 中成药, 2002, 24(2): 95 - 97.

(责任编辑: 陈翔)