

蜘蛛香总缬草三酯的平衡溶解度、表观油水分配系数和稳定性测定*

刘开萍^{1**}, 程盛勇¹, 郁林娜¹, 杨军², 刘兴赋¹, 尹航¹, 罗喜荣^{1***}

(1. 贵州医科大学 药学院, 贵州 贵阳 550025; 2. 中国科学院地球化学研究所, 贵州 贵阳 550081)

[摘要] 目的: 测定蜘蛛香总缬草三酯的平衡溶解度及表观油水分配系数, 考察其在水及酸、碱缓冲液中的稳定性。方法: 采用紫外分光光度法测定蜘蛛香总缬草三酯在 10 种有机溶剂(甲醇、乙腈、乙醇、丙酮、异丙醇、乙酸乙酯、正辛醇、二氯甲烷、石油醚及正己烷) 的平衡溶解度, 应用摇瓶法测定蜘蛛香总缬草三酯在正辛醇饱和的水及缓冲溶液中的表观油水分配系数, 利用紫外分光光度法考察蜘蛛香总缬草三酯在水及酸碱缓冲液中的稳定性。结果: 蜘蛛香总缬草三酯在异丙醇、丙酮、乙醇等有机溶剂中溶解度大, 在正辛醇饱和的水中的表观油水分配系数为 494.667($\lg P = 2.694$)。在水及酸、碱缓冲液中均不稳定。结论: 蜘蛛香总缬草三酯水溶性及稳定性差, 脂溶性好。

[关键词] 蜘蛛香; 总缬草三酯; 药剂学; 理化性质; 平衡溶解度; 表观油水分配系数; 紫外分光光度法; 稳定性

[中图分类号] R917 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2018)03-0285-04

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2018.03.008

Determination of Equilibrium Solubility, Apparent Oil/Water Partition Coefficient and Stability of Total Valepotriates from *Valeriana jatamansi*

LIU Kaiping¹, CHENG Shengyong¹, YU Linna¹, YANG Jun², LIU Xingfu¹, YIN Hang¹, LUO Xirong¹

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, Guizhou, China;

2. Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550081, Guizhou, China)

[Abstract] Objective: To determine equilibrium solubility and apparent oil/water partition coefficient of total valepotriates from *Valeriana jatamansi*, and to investigate its aqueous and pH chemical stability. **Methods:** Ultraviolet spectrophotometry was employed to determine the equilibrium solubility of total valepotriates from *Valeriana jatamansi* in 10 kinds of organic solvents, while the apparent oil/water partition coefficient for the n-octanol/water and buffer salt solution system was determined by shaking flask method. The aqueous and pH chemical stability of total valepotriates was determined by ultraviolet spectrophotometer method. **Results:** The equilibrium solubility of total valepotriates was high in organic solvents such as isopropyl alcohol, acetone, and ethanol, and its partition coefficient was 494.667($\lg P = 2.694$) in the n-octanol/water system. It was unstable in water and buffer solution. **Conclusion:** Total valepotriates from *Valeriana jatamansi* has poor solubility in water and poor stability. While it has high lipophilicity.

[Key words] *Valeriana jatamansi* Jones; total valepotriates; pharmaceutics; physicochemical property; equilibrium solubility; apparent oil/water partition coefficient; ultraviolet spectrophotometry; stability

* [基金项目] 贵州省社发攻关项目 [黔科合 SY 字(2015)3032 号]; 贵州省中药现代化专项项目 [黔科合 ZY 字(2012)3010 号]; 贵州省联合基金项目 [黔科合 LH 字(2014)7091 号]

** 贵州医科大学 2018 届硕士研究生

*** 通信作者 E-mail: 1341323603@qq.com

网络出版时间: 2018-03-20 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20180320.1721.002.html>

蜘蛛香总缬草三酯是从蜘蛛香 (*Valeriana Jat-amansi* Jones) 中提取的活性成分,具有镇静催眠、抗焦虑、抗抑郁、抗肿瘤、抗病毒及抑菌等多种药理作用,但易氧化、水解、热降解及对光不稳定,临床应用受限^[1-12]。药物的油水分配系数和溶解度与药物的吸收密切相关,是药物剂型设计的重要理化参数^[13]。本研究通过测定蜘蛛香总缬草三酯在不同介质中的平衡溶解度和表观油水分配系数,为其剂型设计和开发应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

仪器有 UV2700 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司)、BSA224S 型电子天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司)、TGL-46G 型高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂)、MX-S 型涡旋仪(北京大龙新创实验仪器有限公司)、PHS-3C 型 pH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司)及 SHZ-C 型水浴恒温振荡器(上海浦东物理光学仪器厂),试剂有缬草三酯(四川维克奇生物科技有限公司,批号 wkq16011203,纯度 98.21%)、蜘蛛香总缬草三酯(实验室自制,质量分数 52.96%)、水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

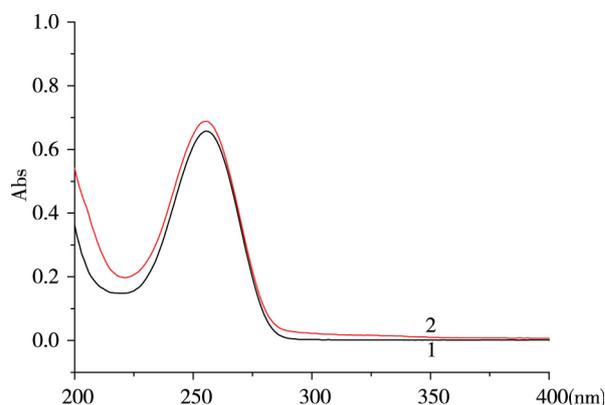
1.2 方法

1.2.1 溶液的制备 (1) 对照品溶液的制备:精密称取缬草三酯对照品 4 mg,置于 100 mL 棕色量瓶,加甲醇溶解并定容、摇匀,得对照品储备液。精密移取对照品储备液 1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 及 4.5 mL,分别置 10 mL 棕色量瓶,加甲醇稀释至刻度,摇匀,配制系列标准溶液。(2) 供试品溶液的制备:称取蜘蛛香总缬草三酯 10 mg,置于 100 mL 棕色量瓶,加甲醇溶解并定容,摇匀,得供试品储备液;移取供试品储备液 2 mL,置于 10 mL 棕色量瓶,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得供试品溶液。(3) 缓冲液的配制:按文献^[14]制备 pH 为 1.0、2.0 的盐酸溶液和 pH 为 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0 及 12.0 的磷酸盐缓冲液,精密 pH 计测定,用 0.1 mol/L 的盐酸溶液或 0.2 mol/L 的氢氧化钠溶液校正至所需数值。

1.2.2 测定波长的确定 以甲醇为空白对照,取缬草三酯对照品溶液和供试品溶液,在 200~400 nm 范围内扫描,由图 1 可知两者均在 256 nm 处有最大吸收。

1.2.3 平衡溶解度的测定 取过量蜘蛛香总缬草三酯于 5 mL 离心管中,分别加入 1 mL 有机溶剂(包含甲醇、乙腈、乙醇、丙酮、异丙醇、乙酸乙酯、

正辛醇、二氯甲烷、石油醚及正己烷),涡旋混合 10 min,于(37±0.5)℃ 恒温振荡器中 100 r/min 振摇 24 h,静置后 4 000 r/min 离心 10 min,取上清液适量,用甲醇适当稀释后,在 256 nm 处测定吸光度,计算其溶解度。



注:1 为对照品溶液 2 为供试品溶液

图 1 缬草三酯对照品溶液及供试品溶液的紫外光谱

Fig. 1 The UV spectra of valtrate standard solution and sample solution

1.2.4 表观油水分配系数的测定 取蜘蛛香总缬草三酯适量溶于水饱和的正辛醇中,制成饱和溶液,静置后 5 000 r/min 离心 10 min,取上清液 0.5 mL 于 10 mL 离心管中,分别加入正辛醇饱和的水及缓冲液各 5 mL,涡旋混合 10 min,于(37±0.5)℃ 振荡器中 100 r/min 振摇 24 h,静置后 5 000 r/min 离心 10 min,精密吸取平衡前后正辛醇适量,用甲醇适当稀释后,在 256 nm 处测定吸光度,计算其浓度,按公式 $P = C / (C_0 - C)$ (式中 C_0 、 C 分别为混合前后正辛醇相中药物的浓度) 计算其表观油水分配系数。

1.2.5 水及酸碱稳定性 取过量蜘蛛香总缬草三酯于棕色 EP 管中,加入 2 mL 水及缓冲液,涡旋混合 10 min,于(37±0.5)℃ 恒温振荡器中 100 r/min 振摇 24 h,静置后 4 000 r/min 离心 10 min,取上清液适量,用甲醇适当稀释后,在 200~400 nm 范围内扫描。

2 结果

2.1 方法学考察

2.1.1 线性关系考察 取缬草三酯系列标准溶液,分别在 256 nm 处测定吸光度,以缬草三酯浓度为横坐标(X),吸光度为纵坐标(Y) 绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 0.0363X + 0.0024$ $r = 0.9999$,

表明在 6 ~ 18 mg/L 范围内缬草三酯浓度与吸光度具有良好的线性关系。

2.1.2 精密度试验 取低、中、高浓度的对照品溶液,分别在 256 nm 处测定吸光度,重复测定 6 次,结果 *RSD* 分别为 0.42%、0.25% 及 0.24%,表明仪器精密度良好。

2.1.3 重复性试验 取同一供试品溶液 6 份,分别在 256 nm 处测定吸光度,结果 *RSD* 为 0.42%,表明该方法重复性良好。

2.1.4 稳定性试验 取低、中、高浓度的对照品溶液,分别于室温放置 0、2、4、6、8、12 及 24 h 后,在 256 nm 处测定吸光度,结果 *RSD* 分别为 1.05%、0.58%、0.39%,表明对照品溶液于室温存放 24 h 稳定。

2.1.5 回收率试验 取对照品溶液适量,加入已知含量的供试品溶液中,配制成低、中、高浓度的样品溶液各 3 份,分别在 256 nm 处测定吸光度,计算总缬草三酯含量,结果平均加样回收率为 97.71% ~ 101.45%,*RSD* 为 1.11% ~ 1.44%,表明该方法准确度良好。

2.2 平衡溶解度

按“1.2.3”项下方法测定蜘蛛香总缬草三酯的平衡溶解度,结果显示蜘蛛香总缬草三酯易溶于有机溶剂,在异丙醇中的溶解度最大为 386.829 g/L。见图 2。

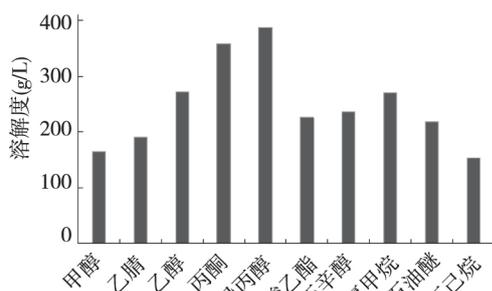


图 2 蜘蛛香总缬草三酯在不同有机溶剂中的平衡溶解度

Fig. 2 Equilibrium solubility of total valepotriates from *Valeriana jatamansi* in different organic solvents

2.3 表观油水分配系数

按“1.2.4”项下方法测定蜘蛛香总缬草三酯的表观油水分配系数,结果蜘蛛香总缬草三酯在正辛醇-水中的表观油水分配系数为 494.667 ($\lg P = 2.694$),在正辛醇-缓冲液中的表观油水分配系数见图 3。图 3 表明蜘蛛香总缬草三酯在正辛醇-缓冲液中的表观油水分配系数随 pH 值增加

先增大后减小, pH 7.0 时达最大为 999.333 ($\lg P = 3.000$)。

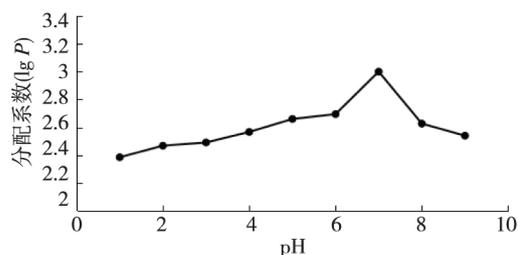
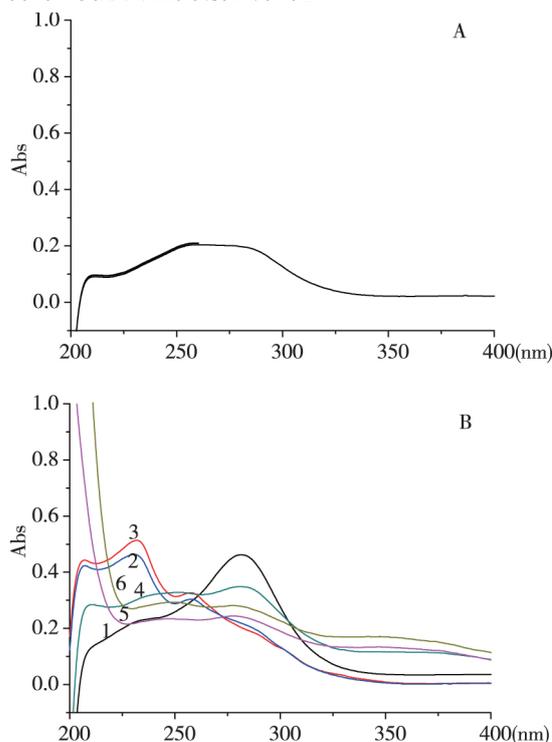


图 3 蜘蛛香总缬草三酯在正辛醇-缓冲溶液中的表观油水分配系数

Fig. 3 Apparent oil/water partition coefficient for the n-octanol/buffer solution systems of total valepotriates from *Valeriana jatamansi*

2.4 水及酸、碱稳定性

按“1.2.5”项下方法考察蜘蛛香总缬草三酯在水及缓冲液中的稳定性,结果见图 4。比较图 1 和图 4 可知蜘蛛香总缬草三酯在水及缓冲液中紫外光谱图形状变化明显,提示其在水、酸性和碱性条件下可能发生降解或转化。



注: A 为水, B 为缓冲液; 1 为 pH 1, 2 为 pH 3, 3 为 pH 5, 4 为 pH 7, 5 为 pH 9, 6 为 pH 11

图 4 蜘蛛香总缬草三酯紫外光谱的变化

Fig. 4 The UV spectral changes of total valepotriates from *Valeriana jatamansi*

3 讨论

平衡溶解度是指在一定温度(气体在一定压力下)下,药物在一定量溶剂中达饱和时溶解的最大药量,是反映药物溶解性的重要理化指标,对制剂设计具有指导意义^[15]。药物吸收需要适宜的脂溶性,才能扩散并透过生物膜,本研究考察了蜘蛛香总缬草三酯的平衡溶解度,发现蜘蛛香总缬草三酯易溶于异丙醇、丙酮、乙醇、二氯甲烷等有机溶剂,在异丙醇中的溶解度最大为 386.829 g/L,表明其具有较大的亲脂性。水溶性是药物在体内吸收的先决条件,本研究考察了蜘蛛香总缬草三酯在水中的溶解度,发现蜘蛛香总缬草三酯遇水即分解,处于不溶状态,属水敏感性药物,因其分子结构中含有酯键、环氧乙烷结构,这些官能团遇水容易分解,因此溶出速度是其口服吸收的限速步骤。故在蜘蛛香总缬草三酯新剂型设计时,可考虑采用自微乳等制剂技术改善其水溶性,增加其溶出度,提高其生物利用度。

药物的油水分配系数是指当药物在水相和油相达到平衡时,药物在油相中的量与在水相中的量之比,对药物在胃肠道吸收速度和程度有较大影响,是药物成药性的考察指标之一。体外测定表观油水分配系数可模拟生物体内药物在水相和生物相之间的分配情况,从而预测药物在胃肠道中的吸收性能。通常认为 $\lg P$ 在 1~4 范围内的药物,其生物膜渗透性较高,有利于药物体内吸收^[16]。本研究测定了蜘蛛香总缬草三酯的表观油水分配系数,结果蜘蛛香总缬草三酯在水及缓冲液中的 $\lg P$ 为 2.331~3.000,表现为疏水性,提示其膜渗透性好,在胃肠道各部位均能被吸收,适合口服给药。

药物的化学稳定性是影响药物制剂处方工艺的重要因素。稳定性试验表明,蜘蛛香总缬草三酯在水、酸性和碱性条件下稳定性差,易降解或转化,提高其溶解度可能会提高药物口服吸收效率及其口服制剂的生物利用度,因此在其制剂研发过程中应避免水、酸性和碱性物质加入。

综上,蜘蛛香总缬草三酯易溶于异丙醇、丙酮、乙醇、二氯甲烷等有机溶剂,具有较大的亲脂性;但遇水即分解,处于不溶状态,属水敏感性药物,溶出速度是其口服吸收的限速步骤;蜘蛛香总缬草三酯在水及缓冲液中的 $\lg P$ 为 2.331~3.000,表现为疏水性,其膜渗透性好,在胃肠道各部位均能被吸收,适合口服给药。在水、酸性和碱性条件下稳定性差,易降解或转化,其制剂研发过程中应避免水、酸性和碱性物质加入。

4 参考文献

- [1] 罗喜荣,苑天红,杨军,等.超临界 CO₂ 萃取蜘蛛香中总缬草三酯的工艺研究[J].广东农业科学,2012,39(16):119-121.
- [2] 陈磊,康鲁平,秦路平,等.总缬草素的质量标准和镇静催眠活性研究[J].中成药,2003,25(8):663-665.
- [3] 王延丽,石晋丽,郭建友,等.缬草素抗焦虑活性研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(6):126-128.
- [4] 王延丽,刘勇,石晋丽,等.缬草素抗焦虑作用及其机制的初探[J].中国药理学通报,2011,27(4):501-504.
- [5] 翟欣,孔周扬,王素娟,等.蜘蛛香提取物及总缬草素的抗焦虑活性研究[J].中草药,2016,47(8):1361-1365.
- [6] Müller L G, Salles L A, Stein A C, et al. Antidepressant-like effect of Valeriana glechomifolia Meyer (Valerianaceae) in mice[J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2012, 36(1):101-109.
- [7] Lin S, Zhang Z X, Chen T, et al. Characterization of chlorinated valepotriates from Valeriana jatamansi [J]. Phytochemistry, 2013, 85:185-193.
- [8] Lin S, Chen T, Fu P, et al. Three decomposition products of valepotriates from Valeriana jatamansi and their cytotoxic activity[J]. J Asian Nat Prod Res, 2015, 17(5):455-461.
- [9] Tamura S, Shimizu N, Fujiwara K, et al. Bioisostere of valtrate anti-HIV principle by inhibition for nuclear export of Rev [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2010, 20(7):2159-2162.
- [10] Xu K, Lin Y, Zhang R, et al. Evaluation of safety of iridoids rich fraction from Valeriana jatamansi Jones: Acute and sub-chronic toxicity study in mice and rats[J]. J Ethnopharmacol, 2015, 172:386-394.
- [11] Wu A, Ye X, Huang Q, et al. Anti-epileptic Effects of Valepotriate Isolated from Valeriana jatamansi Jones and Its Possible Mechanisms[J]. Pharmacogn Mag, 2017, 13(51):512-516.
- [12] 王鹏娇,孟小夏,高秀丽.龙血竭、苦参、蜘蛛香的体外抑菌作用研究[J].贵阳医学院学报,2014,39(4):508-510.
- [13] 罗喜荣,任荣,钱志瑶,等.HPLC法测定柠檬苦素的平衡溶解度和表观油水分配系数[J].药物分析杂志,2013,33(10):1711-1714.
- [14] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].4部.北京:中国医药科技出版社,2015:324-326.
- [15] 陈蓓,赵军,张海波,等.阿苯达唑的平衡溶解度和表观油水分配系数的测定[J].中国药房,2015,26(22):3092-3095.
- [16] 房启龙,刘宏尉,刘江云,等.败酱皂苷 H₁ 平衡溶解度和表观油水分配系数的测定[J].中国药房,2016,27(3):364-366.

(2017-12-03 收稿 2018-01-29 修回)

中文编辑:吴昌学;英文编辑:苏晓庆