

HPLC法测定龙胆苦苷的表观油水分配系数

赵文娜, 尚平平, 孙文基*

(西北大学陕西省生物医药重点实验室, 西安 710069)

摘要 目的: 测定龙胆苦苷在正辛醇-水中的表观油水分配系数和在不同溶剂中的溶解度。方法: 采用 HPLC 法测定龙胆苦苷的浓度, 使用 YWG ODS 色谱柱 (10 μm, 4.6 mm × 250 mm), 以甲醇-水为流动相 (体积比 50: 50), 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长 270 nm, 摇瓶法测定龙胆苦苷的表观油水分配系数。结果: 龙胆苦苷的表观油水分配系数 $\lg P = -1.21$; 23 °C, 龙胆苦苷在水中的溶解度为 7.65 g/100 g 在正辛醇中的溶解度为 0.0578 g/100 g。结论: 以 HPLC 法测定龙胆苦苷的表观油水分配系数简便、快捷。

关键词: 龙胆苦苷; 表观油水分配系数; 高效液相色谱法

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)07-1093-03

HPLC determination of apparent *n*-octanol/water partition coefficient of gentiopicroside

ZHAO Wen-na, SHANG Ping-ping, SUN Wen-ji*

(Biomedicine Key Laboratory of Shaanxi Province Northwest University, Xi'an 710069, China)

Abstract Objective To determine the *n*-octanol/water partition coefficient and the solubility in various media of gentiopicroside by HPLC. **Methods** An HPLC method was established to detect the concentration of gentiopicroside. The YWG ODS was used for separation column (10 μm, 4.6 mm × 250 mm) with *n*-octanol/water as mobile phase (1.0 mL · min⁻¹) and detection at 270 nm. The partition coefficients for the *n*-octanol/water solution systems of gentiopicroside were determined by shaking flask method. **Results** The solubility of gentiopicroside in water was 7.65 g/100 g and in *n*-octanol was 0.0578 g/100 g at 23 °C; $\lg P$ of gentiopicroside was -1.21. **Conclusion** The HPLC method is simple and rapid to determine the oil-water partition coefficient of gentiopicroside.

Key words gentiopicroside; apparent *n*-octanol/water partition coefficient; HPLC

龙胆苦苷 (gentiopicroside) 是龙胆科植物特征性成分^[1] (结构见图 1), 具有很好的生理活性^[2,3], 是在研一类中药新药。龙胆苦苷的表观油水分配系数理论值为 -1.41, 但实测值未见文献报道, 温度对龙胆苦苷表观油水分配系数理论值也有很大影响。为了更好地选择龙胆苦苷的剂型及给药途径, 本文用 HPLC 法实测了龙胆苦苷的表观油水分配系数, 考察了不同的影响因素, 方法简便, 结果可靠, 为新药研究积累了基本数据。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪: Hitachi L-7100 输液泵, Hitachi L-7420 紫外-可见光检测器 (日本 Hitachi

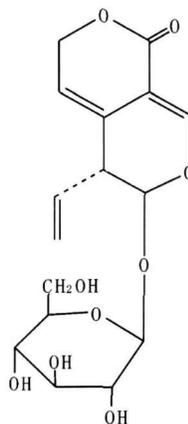


图 1 龙胆苦苷结构

Fig 1 The structure of gentiopicroside

* 通讯作者 Tel: (029) 88304569 E-mail: cxhm@mwu.edu.cn

公司); YCQ-300 超声波清洗器 (上海凯波超声设备有限公司); 离心机 (Anke TGL-16G 型, 上海安亭科学仪器厂制造); B-220 恒温水浴锅 (上海亚荣生化仪器厂); ChemDraw Ultra 10.0 (Cambridge-Soft Corporation); 微孔滤膜 0.2 μm (天津市色谱科学技术公司)。

龙胆苦苷购自中国药品生物制品检定所 (批号: 110770-200004); 正辛醇 ($\text{C}_8\text{H}_{18}\text{O}$) 和甲醇皆为分析纯 (西安化学试剂厂); 水为双蒸馏水并经 0.2 μm 水系滤膜过滤。

2 色谱条件

色谱柱: YWG ODS (10 μm , 4.6 mm \times 250 mm); 流动相: 甲醇-水 (50:50), 流速为 1.0 mL \cdot min $^{-1}$; 紫外检测波长 270 nm; 柱温: 室温; 进样量 20 μL 。在上述色谱条件下, 龙胆苦苷色谱峰理论塔板数为 2498 采用外标法计算浓度。

3 供试品溶液的制备

精密称量龙胆苦苷 25.0 mg 于 50 mL 量瓶中, 以水饱和的正辛醇为溶剂超声溶解并定容, 制成浓度为 0.5 mg \cdot mL $^{-1}$ 的溶液, 精密量取此溶液 2 mL 注入离心管中, 在分别准确加入用正辛醇饱和过的水 2 mL, 超声 30 min, 离心力 4262 g 条件下离心 5 min, 在水层取样, 清液即为供试品溶液。

4 方法学考察

4.1 线性关系考察 精密称取龙胆苦苷 12.5 mg 置 25 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得龙胆苦苷储备液。精密量取上述龙胆苦苷储备液 2.0 4.0 6.0 8.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 制得不同浓度的溶液。分别精密吸取上述不同浓度的溶液各 20 μL 进样测定, 记录峰面积。以进样浓度 (mg \cdot mL $^{-1}$) 为横坐标, 以峰面积积分值为纵坐标进行线性回归, 得回归方程:

$$Y = 5.0 \times 10^7 X + 3.0 \times 10^6 \quad r = 0.9994$$

龙胆苦苷进样浓度在 0.001~0.500 mg \cdot mL $^{-1}$ 之间线性关系良好。

4.2 精密度试验 精密吸取“4.1”项所述浓度为 0.5 mg \cdot mL $^{-1}$ 的溶液 20 μL , 在同样的条件下连续进样 6 次, 测定峰面积, 计算 RSD 为 1.1%。试验表明, 精密度良好。

4.3 稳定性试验 精密吸取上述浓度为 0.5 mg \cdot mL $^{-1}$ 的溶液于配制后 0 2 4 8 12 24 h 各进样 20 μL , 测定峰面积, 计算 RSD 为 1.6%。结果表明龙胆苦苷溶液在 24 h 内基本稳定。

4.4 重复性试验 按“3”项下方法平行配制 0.5

mg \cdot mL $^{-1}$ 的溶液 6 份, 各取水层 20 μL 进样, 测定峰面积, 计算表观油水分配系数的平均值为 1.21, RSD 为 0.40%。

5 表观油水分配系数测定

5.1 表观油水分配系数计算公式^[4]

表观油水分配系数 (PC) 是药物理化性质的一个重要内容, PC 可以预测药物在水中或者混合溶液中的溶解度以及药物的某些理化活性。正辛醇-水体系是研究药物在角质层-水中分配的良好模型。药物表观油水分配系数 (P) 的数学表达式为:

$$P = C_o / C_w \quad (1)$$

C_o 为油相中药物的浓度; C_w 为水相中药物的浓度。实验中, 因为水相和油相的体积相等, 故在药物分配达到平衡时 $C_o = C_{o0} - C_w$, 即油相中药物的浓度等于初始油相中药物的浓度与水相中药物的浓度测定后的差值。

$$P = (C_{o0} - C_w) / C_w \quad (2)$$

本实验用公式 (2) 计算龙胆苦苷的表观油水分配系数。

5.2 不同时间下测定 按“3”项下方法配制浓度为 0.5 mg \cdot mL $^{-1}$ 的溶液在室温下静置 1 2 4 6 8 h 后分别在水层取样, 进行 HPLC 测定, 进样量为 20 μL , 测定色谱峰面积, 以外标法计算浓度, 并根据 $P = (C_{o0} - C_w) / C_w$ 计算表观油水分配系数, 结果见表 1。

表 1 表观油水分配系数计算结果 ($n=3$)

Tab 1 The results of partition coefficient

时间 (time) / h	C_{o0} / mg \cdot mL $^{-1}$	C_w / mg \cdot mL $^{-1}$	P	lg P
1	0.500	0.372	0.344	-0.469
2	0.500	0.399	0.253	-0.597
4	0.500	0.470	0.0630	-1.20
6	0.500	0.471	0.0616	-1.21
8	0.500	0.471	0.0616	-1.21

5.3 不同温度下测定 溶液分别在不同温度条件下保温 5 h 分别取水层清液进样, 进样量为 20 μL , 测定色谱峰面积, 以外标法计算浓度, 并根据 $P = (C_{o0} - C_w) / C_w$ 计算表观油水分配系数, 温度对 lg P 的影响见图 2。

5.4 龙胆苦苷在水和正辛醇中溶解度 23 $^{\circ}\text{C}$ 时, 分别配制龙胆苦苷的正辛醇和水饱和溶液, 吸取 100 μL 饱和龙胆苦苷水溶液稀释 500 倍, 同时吸取 100 μL 饱和龙胆苦苷正辛醇溶液稀释 10 倍后分别进样分析。测定结果: 龙胆苦苷在水中的溶解度为 7.65 g/100 g 在正辛醇中的溶解度为 0.0578 g/100 g

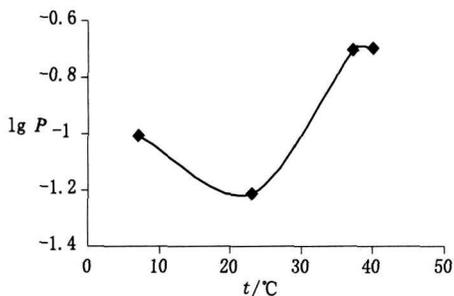


图 2 不同温度对龙胆苦苷 $\lg P$ 的影响

Fig 2 Effect of different temperature to the $\lg P$ of gentiopicroside

6 讨论

6.1 本文采用摇瓶法及 HPLC 法测定龙胆苦苷的表观油水分配系数, 通过数据 (表 1) 可以看出: 龙胆苦苷在 4 h 后在两相中达到一个比较稳定的数值, 即 $\lg P = -1.21$, 通过化学软件 Chemdraw 10.0 进行龙胆苦苷油水分配系数的理论测定, 结果为 $\lg P = -1.41$, 实测值和理论预测值结果相近。

6.2 药物的表观油水分配系数与其透皮吸收速率之间存在着一定关系, 也影响着口服吸收。龙胆苦苷在 23 °C 下的表观油水分配系数 $\lg P = -1.21$, 表明龙胆苦苷的亲水性较强, 脂溶性较差。制成常规口服制剂或透皮贴剂存在吸收问题, 所以可以考虑制成注射用制剂。

6.3 物质的溶解度与温度有很大的关系, 通过试验也可以看出, 油水分配系数值也与温度有很大关系。

6.4 正辛醇-水体系是研究药物在角质层-水中分配的良好模型, 是研究药物表观油水分配系数的最好两相体系^[5]。

参考文献

- 1 Jingsu New Medical College (江苏新医学院). Dictionary of Chinese Materia Medica (中药大辞典) Shanghai (上海): Shanghai Science and Technology Publishers (上海科学技术出版社), 1977. 1764
- 2 LIU Zhan-wen (刘占文), CHEN Chang-xun (陈长勋), JIN Ruo-min (金若敏), et al. Studies on liver-protection and promoting bile secretion of gentiopicroside (龙胆苦苷的保肝作用研究). *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(1): 47
- 3 Kondo Y, Takano F, Hojo H. Suppression of chemically and immunologically induced hepatic injuries by gentiopicroside in mice. *Plant Med*, 1994, 60(5): 414
- 4 CAI Wei (蔡巍), DU Hong-guang (杜洪光), ZHANG En-hong (张恩宏), et al. Determination of oil-water coefficient of levonorgestrel by HPLC (高效液相色谱法测左炔诺孕酮的油水分系数). *Anal Instrum* (分析仪器), 2007, 1: 30
- 5 Jan T Andersson, Wolfgang Schrader. A method for measuring n-octanol/water partition coefficients. *Anal Chem*, 1999, 71: 3610

(本文于 2008 年 5 月 13 日收到)

《药物残留溶剂分析》一书出版

胡昌勤 编著 978-7-122-03619-3 16开精装 45.00元 2009-01出版

特点: 药品残留溶剂分析是当今药物分析的热点之一, 已经成为药品质量控制的重要组成部分, 是药品检验实验室的常规检测项目。本书在总结实践经验的基础上, 针对药品残留溶剂分析中的常见问题, 从理论和实践两方面探讨解决方案。书中简要介绍了残留溶剂控制标准的沿革和残留溶剂分析方法的沿革; 较系统地介绍了顶空气相色谱法的原理及其在残留溶剂分析中的应用现状; 重点探讨了在药品生产工艺复杂的情况下, 如何实现药品中的残留溶剂进行准确定性问题, 以及残留溶剂分析中的快速定量问题; 总结了药品残留溶剂测定中的各类常见问题, 并提出解决方案; 介绍了如何利用计算机辅助优化药品残留溶剂测定中色谱柱、色谱条件的选择等问题; 最后探讨了如何制定药典各论品种的残留溶剂检测方法。

读者: 本书对从事药物分析, 特别是从事药品检验、新药研发等方面的科研工作者有参考和实用价值, 亦可作为大专院校高年级学生和研究生色谱分析、药物分析课的参考书。

(摘自化学工业出版社)