

维他昔布表观油水分配系数和平衡溶解度的测定

宋 颂^{1,2*}, 华 洁², 吕鹏月³, 张玉丹³, 侯文彬^{2#}(1.天津中医药大学, 天津 300193; 2.天津药物研究院, 天津 300193; 3.北京欧博方医药科技有限公司, 北京 100085)

中图分类号 R913 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)25-2332-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.25.11

摘要 目的:研究维他昔布在不同介质溶液中的表观油水分配系数和平衡溶解度。方法:采用高效液相色谱法和饱和溶解度法测定维他昔布 37 ℃时在 0.1 mol/L 盐酸, pH 2.0、5.8、6.8、7.4 的磷酸盐缓冲液(PBS液), 水, 0.5% 十二烷基硫酸钠和 0.5% 聚山梨酯 80 的溶液中的平衡溶解度;通过维他昔布分配平衡后在油相(正辛醇)和水相的浓度比, 计算表观油水分配系数的 lg 值(lgP)。结果:维他昔布在上述溶液中的平衡溶解度分别为 6.62、8.66、6.65、14.41、27.38、55.65、96.17、18.37 μg/ml, lgP 分别为 0.45、0.61、0.43、0.40、0.44、0.47、0.35、0.21。结论:维他昔布是亲脂性药物, 在水中溶解度小, 在 0.5% 十二烷基硫酸钠溶液中的溶解度最大, 推测其在体内吸收较差。

关键词 维他昔布; 表观油水分配系数; 平衡溶解度; 高效液相色谱法

Determination of Apparent Oil-water Partition Coefficient and Equilibrium Solubility of Vitacoxib

SONG Song^{1,2}, HUA Jie², Lü Peng-yue³, ZHANG Yu-dan³, HOU Wen-bin²(1.Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China; 2.Tianjin Institute of Medica Materia Research, Tianjin 300193, China; 3.Beijing Oubofang Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Beijing 100085, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the equilibrium solubility and the apparent oil-water partition coefficient of vitacoxib in different medium. METHODS: The equilibrium solubility of vitacoxib in 0.1 mol/L hydrochloric acid, PBS solution (pH 2.0, 5.8, 6.8, 7.4), water, 0.5% sodium dodecyl sulfate solution and 0.5% Polysorbate 80 solution at 37 ℃ were determined by HPLC and saturation method. The apparent oil-water partition coefficient was calculated with concentration ratio of vitacoxib in oil phase (n-octanol) and water phase after partition equilibrium. RESULTS: The equilibrium solubility of vitacoxib were 6.62, 8.66, 6.65, 14.41, 27.38, 55.65, 96.17 and 18.37 μg/ml; and the lgP of apparent oil-water partition coefficient of vitacoxib were 0.45, 0.61, 0.43, 0.40, 0.44, 0.47, 0.35 and 0.21, respectively. CONCLUSIONS: Vitacoxib is a lipophilic drug, and the solubility of vitacoxib in water is poor. The solubility of vitacoxib in 0.5% sodium dodecyl sulfate solution is the largest, which indicates that *in vivo* absorption of vitacoxib is not good.

KEY WORDS Vitacoxib; Apparent oil-water partition coefficient; Equilibrium solubility; HPLC

环氧化酶 2(COX-2)的过度表达可引起炎症前列腺素类物质的合成和聚积, 尤其是前列腺素 E2(PGE2), 导致炎症、水肿和疼痛的发生。维他昔布(Vitacoxib)为 COX-2 抑制剂, 可特异性地抑制 COX-2, 阻止炎症前列腺素类物质的产生, 起到抗炎、镇痛及退热作用, 适用于缓解关节炎引起的疼痛和炎症, 用于骨或软组织围手术期治疗。药物的表观油水分配系数和平衡溶解度与药物的体内吸收密切相关, 对于剂型设计至关重要^[1]。笔者通过查阅相关文献, 未见有关维他昔布平衡溶解度及表观油水分配系数的报道。因此本研究通过饱和溶解度法, 考察其溶解特性; 采用经典的摇瓶法, 测定其在 0.1 mol/L 盐酸, pH 2.0、5.8、6.8、7.4 的磷酸盐缓冲液(PBS液), 水, 0.5% 十二烷基硫酸钠及 0.5% 聚山梨酯 80 与正辛醇体系中的表观油水分配系数, 为研制维他昔布片及进行其体内外评价提供试验基础。维他昔布的化学结构式见图 1。

1 材料

* 硕士研究生。研究方向: 新药的制剂及其质量标准。电话: 022-23006903。E-mail: tjzyysongsong@163.com

通信作者: 研究员, 硕士研究生导师。研究方向: 中药新药及天然产物的研究与开发。电话: 022-23006295。E-mail: houwb@tjipr.com

1.1 仪器

HP1100 液相色谱仪(美国惠普公司); SYC-L 立式摇床(上海联环生物工程设备有限公司); PHB-3 型 pH 计(上海三信仪器厂); 高速离心机(上海医用分析仪器厂); EQ2200E 型超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

维他昔布对照品(批号: 30080-098A1, 纯度: 99.8%)、原料药(批号: 20111012, 纯度: 99.7%)均由北京欧博方医药科技有限公司提供; 十二烷基硫酸钠(天津市津科精细化工研究所, 批号: 20111205, 分析纯); 吐温 80、乙腈为色谱纯, 水为娃哈哈纯净水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(37:63), 流速: 1 ml/min; 检测波长: 244 nm; 进样量: 10 μl; 柱温: 30 ℃。取“2.2.1”项下对照品溶液和

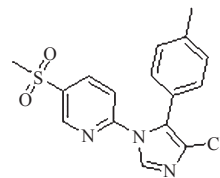


图 1 维他昔布的化学结构式

Fig 1 Chemical structure of vitacoxib

供试品溶液进样测定。结果显示,理论板数按维他昔布峰计算不低于9 000,维他昔布峰与相邻杂质峰的分度符合要求。色谱见图2。

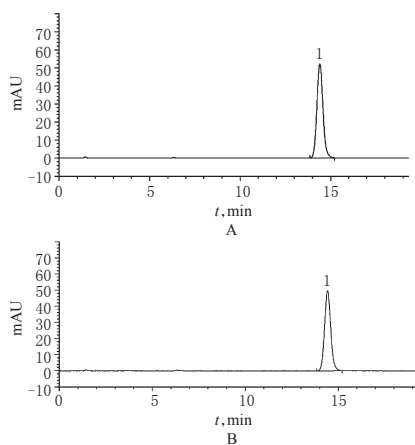


图2 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;1.维他昔布

Fig 2 HPLC chromatograms

A. substance control; B. test samples; 1. vitacoxib

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液。精密称取维他昔布对照品适量,用甲醇溶解制成约0.04 mg/ml的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液。精密称取维他昔布原料药适量,用甲醇溶解制成约0.04 mg/ml的供试品溶液。

2.3 标准曲线的制备

取维他昔布对照品2.62 mg,置于25 ml量瓶中,用乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,即得对照品贮备液。分别吸取上述对照贮备液0.5、1、2、4、6、8、10 ml,置于10 ml量瓶中,用乙腈稀释至刻度,摇匀,即得质量浓度分别为5.24、10.48、20.96、41.92、62.88、83.84、104.8 $\mu\text{g/ml}$ 的系列溶液。精密吸取上述系列溶液10 μl 注入液相色谱仪,记录峰面积。以峰面积(y)为纵坐标、质量浓度(c)为横坐标,进行线性回归。得回归方程为 $y=3\ 153.618\ 11c+0.554\ 25$ ($r=0.999\ 9$)。结果表明,维他昔布检测质量浓度的线性范围为5.24~104.8 $\mu\text{g/ml}$ 。

2.4 精密度试验

分别取质量浓度为41.92 $\mu\text{g/ml}$ 的维他昔布对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件连续进样6次,记录色谱。结果,峰面积RSD为0.46%,表明该仪器的精密度良好。

2.5 回收率试验

精密称取适量样品,采用加样回收法,分别精密添加相当于全量约80%、100%、120%的对照品溶液各3份,测定样品的含量,精密吸取上述各溶液10 μl 注入液相色谱仪,记录色谱,计算回收率。结果,维他昔布的平均回收率为101.6%,RSD为1.67%,表明试验方法较准确。

2.6 不同溶液中维他昔布平衡溶解度和表观油水分配系数的测定

2.6.1 不同溶液中维他昔布平衡溶解度的测定。取过量的维他昔布原料药置于10 ml具塞试管中,分别加入0.1 mol/L盐酸,pH 2.0、5.8、6.8、7.4 PBS液,水,0.5%十二烷基硫酸钠和0.5%聚山梨酯80溶液,超声至维他昔布不再溶解,放入恒温摇床中,温度保持在37 $^{\circ}\text{C}$,振摇24 h。将饱和溶液以3 000 r/

min离心10 min,取上清液用乙腈稀释后过滤,取10 μl 注入液相色谱仪,记录峰面积。结果显示,37 $^{\circ}\text{C}$ 下,维他昔布在0.1 mol/L盐酸,pH 2.0、5.8、6.8、7.4 PBS液,水,0.5%十二烷基硫酸钠和0.5%聚山梨酯80溶液中的平衡溶解度分别为6.62、8.66、6.65、14.41、27.38、55.65、96.17、18.37 $\mu\text{g/ml}$ 。由上可知,维他昔布在pH 2.0~7.4时平衡溶解度略有增大趋势,但即使在pH为7.4 PBS液中其溶解度也较低,所以需要加入适当的表面活性剂促进其溶解。因此,本试验考察了2种常用的表面活性剂(0.5%十二烷基硫酸钠和0.5%聚山梨酯80)对维他昔布的增溶效果,结果以十二烷基硫酸钠的增溶效果较大。

2.6.2 不同溶液中维他昔布表观油水分配系数的测定。取维他昔布原料药适量,溶解于被水饱和的正辛醇中,配成质量浓度为0.402 mg/ml的正辛醇溶液。精密量取该溶液1 ml,置于具塞塑料管中,再分别加入被正辛醇饱和的0.1 mol/L盐酸,pH 2.0、5.8、6.8、7.4 PBS液,水,0.5%十二烷基硫酸钠和0.5%吐温80各1 ml,放入恒温摇床中,温度保持37 $^{\circ}\text{C}$,振摇24 h,直至平衡。以3 000 r/min离心10 min,将上层正辛醇相移至10 ml量瓶中,用乙腈稀释至刻度后过滤,取10 μl 注入液相色谱仪,记录峰面积,按外标法分别以峰面积计算维他昔布的质量浓度进而计算其表观油水分配系数(P),计算公式如下: $P=c_{\text{油}}/(c_0-c_{\text{水}})$ 。其中, P 为维他昔布的表观油水分配系数; c_0 为维他昔布在正辛醇相中的初始浓度; $c_{\text{水}}$ 为维他昔布分配平衡时在正辛醇相中测得的维他昔布浓度。取 P 的lg值与1.0进行比较,lg $P>1.0$ 时,表明化合物体内吸收可能较好;lg $P<1.0$ 时,表明化合物体内吸收可能较差,结果见表1。

表1 37 $^{\circ}\text{C}$ 下维他昔布在不同介质溶液中的表观油水分配系数

Tab 1 Apparent oil-water partition coefficient of vitacoxib in different solutions at 37 $^{\circ}\text{C}$

介质	正辛醇相质量浓度(c_0),mg/ml	水相质量浓度($c_{\text{水}}$),mg/ml	P	lg P
0.1 mol/L 盐酸	0.297	0.105	2.82	0.45
pH 2.0 PBS液	0.323	0.079	4.08	0.61
pH 5.8 PBS液	0.294	0.108	2.71	0.43
pH 6.8 PBS液	0.288	0.114	2.51	0.40
pH 7.4 PBS液	0.295	0.107	2.77	0.44
水	0.300	0.102	2.95	0.47
0.5%十二烷基硫酸钠	0.278	0.124	2.24	0.35
0.5%聚山梨酯80	0.249	0.153	1.62	0.21

由表1结果可知,维他昔布在不同介质溶液中的lg P 均<1.0,表明维他昔布的体内吸收较差。

3 讨论

人体的生理环境大致在pH 3.0~8.0,因此本试验设计并考察维他昔布在0.1 mol/L盐酸,pH 2.0、5.8、6.8、7.4 PBS液,水中的表观油水分配系数和平衡溶解度。正辛醇极性与多数有机体液的极性相差不大,其溶解度参数与生物膜的溶解度参数基本一致,所以选用正辛醇作为模拟生物膜相的有机溶剂,故本试验表观油水分配系数的测定中采用正辛醇-水体系^[2]。

药物在溶剂中的溶解度是药物分子和溶剂分子间相互作用的结果,大多数难溶性的药物和制剂的研发常常需要考虑其溶解以及与之密切相关的吸收问题。而药物在体内的溶解、吸收、分布、转运与药物的水溶性和脂溶性有关,即与油水分配系数有关。因此本试验研究维他昔布的表观油水分配系数,将对其体内的药动学性质的研究提供依据^[3]。

糖尿病模型大鼠红细胞内山梨醇浓度与心肌损伤的相关性研究

田恩圣*(淄博市食品药品检验所, 山东 淄博 255000)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)25-2334-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.25.12

摘要 目的:研究糖尿病模型大鼠红细胞内山梨醇浓度与心肌损伤的相关性。方法:大鼠腹腔注射链脲佐菌素52 mg/kg建立糖尿病模型,按血糖水平和体质量均分为4组,每组8只,分别为第3、6、9、12周组,于分组后对应时间测定模型大鼠的血糖、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、磷酸肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)含量和红细胞内山梨醇的浓度(初始浓度和终浓度);称体质量,处死,取心脏观察病理变化。另设正常大鼠为空白对照组进行比较。结果:与空白对照组比较,第3、6、9、12周组大鼠体质量明显降低、血糖水平明显增加、红细胞内山梨醇初始浓度和终浓度均明显增加($P<0.01$),AST、CK、LDH含量均明显增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与第3周组比较,第6、9、12周组大鼠的山梨醇终浓度和LDH含量均明显增加($P<0.01$)。与空白对照组比较,第3周组大鼠心肌组织病理变化不大,第6周组大鼠开始心肌纤维部分嗜酸变性,出现坏死等现象,随着时间的延长,心脏损伤越严重。结论:糖尿病模型大鼠红细胞内山梨醇可作为判断心脏损伤发生的先行指标,其浓度越大,心肌损伤越严重。

关键词 糖尿病;红细胞;山梨醇;心肌损伤;大鼠

Correlation of Erythrocyte Sorbitol Concentration and Myocardial Injury in Diabetic Rats

TIAN En-sheng(Zibo Institute for Food and Drug Control, Shandong Zibo 255000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the correlation of erythrocyte sorbitol concentration with myocardial injury in diabetic rats. **METHODS:** Diabetic rats model were induced by intraperitoneal injection of 52 mg/kg streptozocin. The model rats were divided into 4 groups according to blood glucose and body weight with 8 rats in each group, i.e. 3rd, 6th, 9th, 12th week groups. The contents of blood glucose, AST, CK, LDH and the blood concentrations (initial concentration and final concentration) of erythrocyte sorbitol were determined at corresponding time points. They were sacrificed after weighing. The heart samples were collected to observe pathological change, and compared with normal rats in blank control group. **RESULTS:** Compared with blank control group, the body weight of rats decreased significantly in 3rd, 6th, 9th, 12th week groups, while the blood glucose, initial and final concentrations of sorbitol increased significantly ($P<0.01$) and the contents of AST, CK and LDH also increased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with 3rd week group, sorbitol final concentration and LDH content increased significantly in 6th, 9th, 12th week groups ($P<0.01$). Compared with blank control group, there was no significant pathological change in myocardial tissue in 3rd week group, and part of myofibrosis became acidophilic and showed signs of degeneration and necrosis in 6th week group. Heart injury was increasing as time went on. **CONCLUSIONS:** Erythrocyte sorbitol in diabetic rats can be used as a leading indicator for heart damage occurs, the higher the concentration, the severer myocardial injury.

KEY WORDS Diabetes methitus; Erythrocyte; Sorbitol; Myocardial injury; Rats

维他昔布作为一种新型化合物,其用于治疗人关节炎引起的疼痛和炎症等症状,目前处于研究阶段。通过对维他昔布*P*值的研究可以推测,维他昔布是亲脂性药物,但lg*P*值较小,表明其在体内吸收较差,而药物本身需要有适宜脂溶性和水溶性以便于通过生物膜的脂质双分子层以达到较好的体内吸收^[3]。由维他昔布的化学结构分析,维他昔布含有含氮的咪唑环、吡啶环以及芳环,其中,芳环的疏水性可能起主导作用,使其表现出了亲脂性。因此在制剂研究中需要加入表面活性剂增加药物的水溶性,使药物的水溶性和脂溶性适宜,以促进药物在体内的吸收。在多种介质中的平衡溶解度的试验显示,维他昔布在0.5%十二烷基硫酸钠溶液中的平衡溶解度最

大,也就是说十二烷基硫酸钠作为表面活性剂可以增加维他昔布的水溶性。本试验为维他昔布片的处方研究和下一步溶出度的研究提供了初步的依据。

参考文献

- [1] 刘璐,崔颖,张秋燕.磺胺二甲嘧啶的溶解度及油水分配系数的研究[J].中国药房,2008,19(10):750.
- [2] 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.
- [3] 姚媛,廖琼峰,曾丽英,等.新穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯表观油水分配系数的测定及pH值对其的影响[J].中药材,2009,32(10):1610.

* 主管药师,硕士。研究方向:糖尿病。电话:0533-3585083。E-mail:zbyjtes@163.com

(收稿日期:2012-08-24 修回日期:2012-11-26)