

# $\alpha$ -常春藤皂苷的平衡溶解度及表观油水分配系数的测定

何明珍<sup>1,2,3</sup>, 梁起栋<sup>3</sup>, 饶小勇<sup>2</sup>, 欧阳辉<sup>3</sup>, 苏丹<sup>3</sup>, 孙勇兵<sup>3</sup>, 孟拓<sup>4</sup>, 冯育林<sup>3\*</sup>, 杨世林<sup>1,2,3\*</sup>

(1. 黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040; 2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330006;  
3. 江西中医药大学, 南昌 330004; 4. 中国药科大学, 南京 210009)

**[摘要]** 目的: 测定 $\alpha$ -常春藤皂苷的平衡溶解度及表观油水分配系数( $P_{app}$ )。方法: 采用HPLC测定 $\alpha$ -常春藤皂苷在水、有机溶剂及缓冲液中平衡溶解度, 在正辛醇-水及缓冲盐溶液中表观油水分配系数, 流动相乙腈-0.2%磷酸水溶液(45:55), 检测波长203 nm。结果: 25℃时, $\alpha$ -常春藤皂苷在水中平衡溶解度 $0.011\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $P_{app} = 24.73$  ( $\log P_{app} = 1.39$ ), 在正丁醇和乙醇中平衡溶解度分别为 $86.10, 28.18\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。结论:  $\alpha$ -常春藤皂苷的水溶性较差, 改善其口服制剂的溶出度有利于提高体内生物利用度。

**[关键词]**  $\alpha$ -常春藤皂苷; 平衡溶解度; 表观油水分配系数; 正辛醇-水系统

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)13-0052-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014130052

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140513.1542.025.html>

**[网络出版时间]** 2014-05-13 15:42

## Determination of Equilibrium Solubility and Apparent Oil-water Partition Coefficient of $\alpha$ -Hederin

HE Ming-zhen<sup>1,2,3</sup>, LIANG Qi-dong<sup>3</sup>, RAO Xiao-yong<sup>2</sup>, OUYANG Hui<sup>3</sup>, SU Dan<sup>3</sup>,  
SUN Yong-bing<sup>3</sup>, MENG Tuo<sup>4</sup>, FENG Yu-lin<sup>3\*</sup>, YANG Shi-lin<sup>1,2,3\*</sup>

(1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 2. National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Mateia Medica, Nanchang 330006, China;  
3. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;  
4. China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

**[Abstract]** **Objective:** To determine equilibrium solubility and apparent oil-water partition coefficient ( $P_{app}$ ) of  $\alpha$ -hederin. **Method:** HPLC was adopted to determine equilibrium solubilities of  $\alpha$ -hederin in water, organic solvents and buffer solutions, then determine partition coefficients in *n*-octanol/water and buffer salt solutions, mobile phase of acetonitrile-0.2% phosphoric acid (45:55), detection wavelength was set at 203 nm. **Result:** At 25℃, equilibrium solubility of  $\alpha$ -hederin was  $0.011\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  in water and  $P_{app}$  was 24.37 ( $\log P_{app} = 1.39$ ); Equilibrium solubilities of  $\alpha$ -hederin were  $86.10$  and  $28.18\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  in *n*-butyl alcohol and ethanol, respectively. **Conclusion:**  $\alpha$ -Hederin was a hydrophobic drug, increasing dissolution of  $\alpha$ -hederin from its oral drug delivery system had possibility to enhance its bioavailability.

**[Key words]**  $\alpha$ -hederin; equilibrium solubility; apparent oil-water partition coefficient; *n*-octanol/water system

**[收稿日期]** 20131015(024)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2012ZX09103201-008);江西省科技支撑计划项目(20111BBG70005-2);江西省自然科学基金(20114BAB215046);江西省卫生厅项目(2012A028);南昌市科技支撑计划项目(洪财企[2012]80号社发支撑-3)

**[第一作者]** 何明珍,在读博士,讲师,从事中药活性成分研究,Tel:0791-87119633,E-mail:hzm07@163.com

**[通讯作者]** \* 冯育林,博士,教授,从事中药活性成分研究,Tel:0791-87119632,E-mail:fengyulin2003@126.com;

\* 杨世林,博士,教授,从事中药新药研究,Tel:0791-87119638,E-mail:slyang3636@126.com

$\alpha$ -常春藤皂苷为洋常春藤<sup>[1]</sup>、预知子<sup>[2]</sup>、黄褐毛忍冬<sup>[3]</sup>等植物的有效成分之一,具有抗癌<sup>[4]</sup>、止痉<sup>[5]</sup>、保肝<sup>[6]</sup>、抗菌<sup>[7]</sup>等生物活性,前期药理研究证实其具有很强的抗肺癌、抗结肠癌等作用,开发前景很好。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质,如平衡溶解度与释药速度直接相关,油水分配系数对药物透过脂质膜的有效性起决定性作用<sup>[8]</sup>。目前国内外对 $\alpha$ -常春藤皂苷的药理作用研究很多,而测定其理化参数的研究却未见报道,故本实验拟通过测定该成分的平衡溶解度和表观油水分配系数,为后续剂型设计及体内外相关性研究等提供参考。

## 1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),TGL-16C 型台式离心机(上海安亭科学仪器厂),BS124S 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),pH-3C 型精密 pH 计(上海雷磁仪器厂),ZHWHY-200D 型恒温培养振荡器(上海智城分析仪器制造有限公司),Millipore-Simplicity 型超纯水处理系统(默克密理博公司)。

$\alpha$ -常春藤皂苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号 111880-201001), $\alpha$ -常春藤皂苷原料<sup>[9]</sup>(自制,经 ESI-MS,<sup>1</sup>H-NMR,<sup>13</sup>C-NMR 鉴定,纯度 > 98%),乙腈为色谱纯,水为纯净水,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的配制

**2.1.1 不同 pH 磷酸盐缓冲液** 按 2010 年版《中国药典》附录<sup>[10]</sup>配制 pH 1.2 盐酸溶液和 pH 分别为 2.0,5.0,5.8,6.8,7.0,7.6,8.0 的系列磷酸盐缓冲液。

**2.1.2  $\alpha$ -常春藤皂苷对照品储备液** 精密称取 $\alpha$ -常春藤皂苷对照品适量,加甲醇制成  $1.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的溶液,即得。

**2.1.3 供试品溶液** 取适量样品,氮气吹干,加适量甲醇复溶,滤过,取续滤液,即得。

**2.2 色谱条件** 参照 2010 年版《中国药典》预知子项下 $\alpha$ -常春藤皂苷的含量测定方法<sup>[10]</sup>。Cosmosil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),流动相乙腈-0.2% 磷酸水溶液(45:55),检测波长 203 nm,流速  $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ,柱温 25  $^{\circ}\text{C}$ ,进样量 20  $\mu\text{L}$ 。

### 2.3 方法学考察

**2.3.1 线性关系考察** 精密量取储备液适量,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,得 0.016,

0.031,0.063,0.125,0.25,0.50  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的系列溶液,按 2.2 项下色谱条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程  $Y = 5790.9X + 53.598$  ( $r = 0.9998$ ),线性范围 0.016 ~ 0.5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**2.3.2 精密度试验** 取高、中、低质量浓度(0.5, 0.125, 0.031  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )的 $\alpha$ -常春藤皂苷对照品溶液,按 2.2 项下色谱条件连续进样 6 次,记录峰面积,计算日内 RSD 分别为 2.5%,1.9%,2.2%,连续测定 3 d,计算日间 RSD 分别为 2.0%,2.4%,1.6%,表明仪器精密度良好。

**2.3.3 准确度试验** 取高、中、低浓度(0.5, 0.125, 0.031  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) $\alpha$ -常春藤皂苷对照品溶液 0.5 mL,氮气吹干,加甲醇 0.5 mL 复溶,按 2.2 项下色谱条件测定,计算准确度分别为 98%,101%,96%,表明该方法准确度良好。

**2.3.4 回收率试验** 分别精密称取含量已知的 $\alpha$ -常春藤皂苷原料 10 mg,共 9 份,分别置于 10 mL 量瓶中,等分为 3 组,依次加入 80%,100%,120% 的对照品溶液适量,加甲醇溶解并定容至刻度,精密量取 0.2 mL,氮气吹干,加甲醇 1.0 mL 复溶,按 2.2 项下色谱条件测定,计算平均回收率分别为 97%,103%,105%,RSD 分别为 2.0%,2.5%,1.9%,表明该方法准确可靠。

**2.4 平衡溶解度的测定** 在 4 mL 离心管中分别加入 3 mL 有机溶剂(甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯、正丁醇、三氯甲烷、二氯甲烷)、水和 2.1.1 项下系列磷酸盐缓冲液,加入过量 $\alpha$ -常春藤皂苷,涡旋,超声,直至管壁上挂有不溶解的粉末为止。用封口膜封口,于 25  $^{\circ}\text{C}$  恒温培养振荡器中振摇 24 h,取出,离心(14 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 5 min,下同),底部仍有不溶物。其中有机溶剂组二氯甲烷、三氯甲烷除外,分别取上清液 0.1 mL,加甲醇稀释后进样 20  $\mu\text{L}$ ;二氯甲烷、三氯甲烷、水及缓冲液组各取上清液 1.5 mL,氮气吹干,各加入甲醇 0.2 mL 复溶,按 2.2 项下色谱条件测定,计算 $\alpha$ -常春藤皂苷在有机溶剂和水中平衡溶解度分别为 14.80, 28.18, 5.94, 0.35, 86.10, 0.01, 0.01, 0.011  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,在 pH 1.2 盐酸溶液及系列磷酸盐缓冲液中平衡溶解度依次为 0.006 5, 0.007 9, 0.007 9, 0.010 6, 0.009 3, 0.011 2, 0.023 5, 0.054 8  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**2.5 表观油水分配系数的测定** 取过量 $\alpha$ -常春藤皂苷溶于水饱和的正辛醇中,超声,涡旋,静置后离心,精密吸取上清液 1 mL 于 10 mL 离心管中,分别加入正辛醇饱和的水、pH 1.2 盐酸溶液及 pH 2.0,

5.0, 5.8, 6.8, 7.0, 7.6, 8.0 的磷酸盐缓冲液各 4.0 mL, 密封后置于 25 °C 恒温培养振荡器中振摇 72 h, 取出, 静置后吸取上层有机相 0.2 mL, 氮气吹干, 加甲醇 0.4 mL 溶解, 滤过, 按 2.2 项下色谱条件测定。另取适量用水饱和的正辛醇配制的  $\alpha$ -常春藤皂苷饱和溶液, 按 2.2 项下色谱条件测定, 计算表观油水分配系数 ( $P_{app}$ )。

$$C_w = (C_1 - C_o) \times V_o / V_w$$

$$P_{app} = C_o / C_w$$

式中  $C_1$  为在正辛醇中初始质量浓度,  $V_o$  为被水饱和的正辛醇体积 (1 mL),  $C_w$  为药物分配平衡时在水相中质量浓度,  $C_o$  为药物分配平衡时在正辛醇中质量浓度,  $V_w$  为水相体积 (4 mL)。结果  $\alpha$ -常春藤皂苷在正辛醇-水中  $P_{app} = 24.73$  ( $\log P_{app} = 1.39$ ), 在 pH 1.2 盐酸溶液及系列磷酸盐缓冲液中  $\log P_{app}$  ( $n = 3$ ) 分别为 1.69, 1.51, 3.23, 1.67, 1.39, 2.02, 1.90, 1.08。

### 3 讨论

$P_{app}$  的测定常采用摇瓶法、产生柱法和 RP-HPLC, 其中产生柱法测定步骤较多且达平衡时间长, RP-HPLC 需要系列已知  $P_{app}$  的同系物来建立标准曲线且成本较高, 故选择摇瓶法。为模拟生物体内药物在水相和生物相间的分配情况, 采用了正辛醇-水系统。

$\alpha$ -常春藤皂苷为水难溶性化合物, 在不同 pH 缓冲液中平衡溶解度随 pH 增大而增大, 当 pH > 7 后, 溶解度明显增高。这可能与  $\alpha$ -常春藤皂苷的化学结构中含有的一个羧基有关, 当碱性增大后, 羧基与羟基发生酸碱反应形成盐。

研究认为  $\log P_{app} < 1$  的化合物吸收较差,  $\log P_{app} > 1$  的化合物吸收较好, 具有较大表观油水分配系数的药物更容易穿透细胞膜转运和吸收。但  $\alpha$ -常春藤皂苷在水及胃肠道 pH 环境中溶解性差, 虽具有较大的表观油水分配系数, 但由于不能在胃肠水性黏液层中充分溶解而难以进入细胞膜转运, 吸收亦会受影响, 故预测  $\alpha$ -常春藤皂苷在整个胃肠道中吸收不会很好。该结果与作者前期对其口服生

物用度测定的试验结果一致。因此, 在  $\alpha$ -常春藤皂苷的制剂设计时, 可考虑通过结构修饰或制剂手段提高其溶解性, 以促进吸收, 增大体内生物利用度。

### [参考文献]

- [1] Mendel M, Chlopecka M, Dziekan N, et al. The effect of the whole extract of common ivy (*Hedera helix*) leaves and selected active substances on the motoric activity of rat isolated stomach strips[J]. J Ethnopharmacol, 2011, 134(3):796.
- [2] 江纪武, 肖庆祥. 植物药有效成分手册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986:920.
- [3] 程纯, 张永萍. HPLC 法测定黄褐毛忍冬总皂苷中  $\alpha$ -常春藤皂苷的含量[J]. 微量元素与健康研究, 2013, 30(3):59.
- [4] Rooney S, Ryan M F. Effect of alpha-hederin and thymoquinone, constituents of *Nigella sativa*, on human cancer cell lines [J]. Anticancer Res, 2005, 25(3B):2199.
- [5] Sieben A, Prenner L, Sorkalla T, et al. Alpha-hederin, but not hederacoside C and hederagenin from *Hedera helix*, affects the binding behavior, dynamics, and regulation of 2-adrenergic receptors[J]. Biochem, 2009, 48(15):3477.
- [6] Shi J Z, Liu G T. Effect of  $\alpha$ -hederin and sapindoside B on hepatic microsomal cytochrome P-450 in mice[J]. Acta Pharmacol Sin, 1996, 17(3):264
- [7] Choi J, Huh K, Kim S H, et al. Antinociceptive and anti-rheumatoid effects of *Kalopanax pictus* extract and its saponin components in experimental animals [J]. J Ethnopharmacol, 2002, 79(2):199.
- [8] 刘冰, 吕佳. HPLC 测定苦参碱平衡溶解度和表观油水分配系数[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(20):43
- [9] 侯雄军, 刘岩庭, 张武岗, 等. 预知子中  $\alpha$ -常春藤皂苷提取工艺研究[J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(2):204.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010:附录 XV D, 279.

[责任编辑 刘德文]