

异鼠李素的平衡溶解度及溶解热力学分析

张慧杰, 陈林, 王萌, 陈丽娜, 刘亚男, 任晓亮*, 邓雁如, 戚爱棣
(天津中医药大学, 天津 300193)

[摘要] **目的:**测定异鼠李素在水及正辛醇中的溶解度,计算热力学参数,为异鼠李素剂型设计与体内过程预测提供依据。**方法:**采用 HPLC 测定不同温度下异鼠李素在水、正辛醇中的平衡溶解度,测定常温下该成分在正辛醇-水中的表观油水分配系数,流动相甲醇-0.1% 甲酸水溶液(70:30),检测波长 370 nm。**结果:**异鼠李素水溶性差,易溶于正辛醇中,采用 Apelblat 经典模型对异鼠李素溶解度数据进行拟合,在水、正辛醇中的溶解度拟合方程为 $\ln x_{\text{cal}} = 879.18 - 53\ 895.05/T - 126.30\ln T$ ($r = 0.999\ 7$), $\ln x_{\text{cal}} = -1.32 - 2\ 699.36/T + 0.35\ln T$ ($r = 0.999\ 8$),表明该模型拟合结果与实验数据吻合良好。异鼠李素在水和正辛醇中的溶解过程均为吸热和熵增加的过程,常温下异鼠李素的表观油水分配系数 P 为 5 163 ($\lg P = 3.71$)。**结论:**异鼠李素为脂易溶性化合物,水溶性较差,通过优化制剂工艺等方法增加其水溶解度可能会提高其口服吸收效率及生物利用度。

[关键词] 异鼠李素; 溶解度; 溶解热力学; 表观油水分配系数; 正辛醇

[中图分类号] R283.6;O645.12;R284.1;O642.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)17-0015-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016170015

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160705.1434.010.html>

[网络出版时间] 2016-07-05 14:34

Equilibrium Solubility and Dissolution Thermodynamic Analysis of Isorhamnetin

ZHANG Hui-jie, CHEN Lin, WANG Meng, CHEN Li-na, LIU Ya-nan, REN Xiao-liang*,
DENG Yan-ru, QI Ai-di
(Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

[Abstract] **Objective:** To determine equilibrium solubility of isorhamnetin in water and 1-octanol, then calculate thermodynamic parameters, which might be important for its further studies on formulation development and *in vivo* absorption. **Method:** HPLC was established to determine equilibrium solubility of isorhamnetin in water and 1-octanol at different temperatures and its apparent partition coefficient in 1-octanol-water solution system. **Result:** Solubility of isorhamnetin in water and 1-octanol increased with increasing of temperature. Isorhamnetin was more soluble in 1-octanol than in water. Solubility data of isorhamnetin were fitted with Apelblat classic model, its regression equations in water and 1-octanol were $\ln x_{\text{cal}} = 879.18 - 53\ 895.05/T - 126.30\ln T$ ($r = 0.999\ 7$), $\ln x_{\text{cal}} = -1.32 - 2\ 699.36/T + 0.35\ln T$ ($r = 0.999\ 8$). The dissolution processes in water and 1-octanol over the experimental temperature range were endothermic with increasing of entropy. The apparent oil-water partition coefficient of isorhamnetin at room temperature was 5 163 ($\lg P = 3.71$). **Conclusion:** Isorhamnetin is a fat soluble compound, its water-solubility is poor. By optimizing preparation process and other methods can improve its oral absorption efficiency and bioavailability.

[Key words] isorhamnetin; solubility; thermodynamics; apparent oil-water partition coefficient; 1-octanol

[收稿日期] 20160413(013)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81473543)

[第一作者] 张慧杰,在读博士,从事中药学和中药分析研究,Tel:022-59596221,E-mail:jyhuijie@163.com

[通讯作者] *任晓亮,博士,副教授,从事中药学及中药分析研究,Tel:022-59596221,E-mail:xiaoliang_ren@sina.com

异鼠李素是一种黄酮类化合物,存在于银杏、沙棘等多种药用植物中^[1-2],结构见图 1。研究发现异鼠李素具有抗心肌缺氧缺血、抗心率失常、抗氧化、抗炎、抗肿瘤等活性^[3-5]。药物的溶解度等理化性质与其在生物体内膜渗透性相关,可以影响药物在体内的吸收、分布等过程,对于药物的发现与新药的开发具有重要意义,是筛选新药的重要标准^[6]。平衡溶解度与表观油水分配系数是药物理化性质的重要参数,二者的测定有助于预测药物体内过程,还可为剂型开发研究提供参考^[7-9]。课题组前期对槲皮素的平衡溶解度进行了测定^[10],但目前尚无关于异鼠李素在水及正辛醇中平衡溶解度及表观油水分配系数的研究报道。本实验采用饱和溶液法和经典摇瓶法,通过 HPLC 测定异鼠李素的溶解度和表观油水分配系数,采用数学模型对异鼠李素的溶解过程进行拟合计算体系达到平衡状态的热力学参数,为异鼠李素的剂型开发与体内过程预测提供参考。

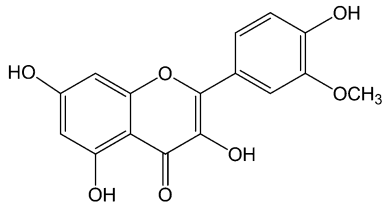


图 1 异鼠李素结构式

Fig. 1 Chemical structure of isorhamnetin

1 材料

LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司), BT125D 型电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司), TG16-WS 型台式高速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司)。异鼠李素(南京泽朗医药公司,纯度 $\geq 98\%$),水为娃哈哈纯净水,甲醇、甲酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Waters Symmetry ShieldTM RP18 色谱柱(3.9 mm \times 150 mm, 5 μ m),流动相甲醇-0.1% 甲酸水溶液(70:30),检测波长 370 nm,流速 1 mL \cdot min⁻¹,进样量 20 μ L。见图 2。

2.2 线性关系考察 精密称取异鼠李素对照品适量,加甲醇溶解配制储备液,用甲醇逐级稀释成质量浓度分别为 10.32, 5.16, 2.58, 1.29, 0.64 mg \cdot L⁻¹ 的系列对照品溶液,以及质量浓度分别为 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01 mg \cdot L⁻¹ 的系列对照品溶液,按 2.1 项下条件测定,以峰面积为纵坐标,质量浓度

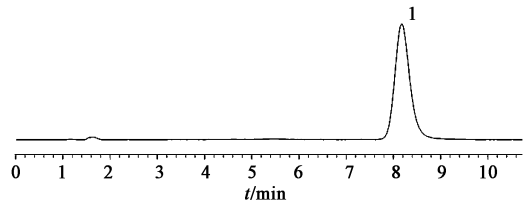


图 2 异鼠李素(1)样品 HPLC

Fig. 2 HPLC chromatogram of isorhamnetin(1)

为横坐标,得回归方程分别为 $Y = 40\ 401X - 13\ 629$ ($r = 0.999\ 8$), $Y = 23\ 236X + 1\ 063$ ($r = 0.996\ 6$),线性范围依次为 0.64 ~ 10.32, 0.01 ~ 0.32 mg \cdot L⁻¹。

2.3 精密度试验 取质量浓度为 2.58, 0.02 mg \cdot L⁻¹ 的异鼠李素对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件在 1 d 内连续进样 6 次,计算峰面积的 RSD 分别为 0.3%, 0.6%,表明该方法日内精密度良好。取质量浓度为 2.58, 0.02 mg \cdot L⁻¹ 的异鼠李素对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件每天进样 3 次,连续进样 3 d,计算峰面积的 RSD 均为 1.1%,表明该方法日间精密度良好。

2.4 准确度试验 取质量浓度为 2.58, 0.02 mg \cdot L⁻¹ 的异鼠李素对照品溶液,按 2.1 项下条件测定,计算准确度分别为 97.86%, 103.11%,表示该方法准确度良好。

2.5 平衡溶解度的测定

2.5.1 平衡溶解度的测定 取过量的异鼠李素置于 10 mL 棕色量瓶中,分别用水、正辛醇定容后置于 25, 30, 35, 40, 45 $^{\circ}$ C 温度下的恒温振荡器中振荡 48 h,以 15 000 r \cdot min⁻¹ 离心 5 min,取上清液,稀释至标准曲线浓度范围内,经 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,按 2.1 项下条件测定($n = 3$),计算溶质摩尔分数,结果见表 1。

$$x_e = \frac{m_1/M_1}{m_1/M_1 + m_2/M_2}$$

式中 x_e 为溶质摩尔分数的实测值, m_1 和 m_2 分别代表溶质和溶剂的质量, M_1 和 M_2 分别代表溶质和溶剂的相对分子质量。结果显示异鼠李素在正辛醇中的溶解度较大,为脂易溶型化合物,在水及正辛醇中的溶解度均随温度的升高而增加,且在水中溶解度增加的幅度较大,说明温度对其在水中的溶解度影响更大。

通过溶解度数据的关联,可由少数试验点得到完整的溶解度曲线,采用 Apelblat 模型^[11-12]对异鼠李素在水和正辛醇中的平衡溶解度数据进行关联。由溶解度的实验值与关联值计算得到均方根偏差(RMSD)^[13]。

表 1 温度对异鼠李素在水和正辛醇中平衡溶解度及热力学参数的影响

Table 1 Equilibrium solubility and thermodynamic parameters of isorhamnetin in water and 1-octanol at different temperatures

溶剂	温度 / $^{\circ}\text{C}$	溶解度 / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	溶质摩尔分数	ΔH_{sol}^0 / $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	ΔS_{sol}^0 / $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	ΔG_{sol}^0 / $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
水	25	0.01	7.80×10^{-10}	135.02	276.47	52.59
	30	0.02	13.46×10^{-10}	129.77	259.01	51.25
	35	0.06	34.38×10^{-10}	124.51	241.84	49.99
	40	0.13	75.95×10^{-10}	119.26	224.94	48.82
	45	0.27	150.67×10^{-10}	114.01	208.32	47.74
正辛醇	25	466.89	2.31×10^{-4}	23.32	8.63	20.74
	30	549.67	2.72×10^{-4}	23.33	8.67	20.70
	35	638.87	3.16×10^{-4}	23.34	8.72	20.66
	40	731.08	3.62×10^{-4}	23.36	8.77	20.61
	45	849.26	4.20×10^{-4}	23.37	8.82	20.57

$$\ln x_{\text{cal}} = A + B/T + C \ln T$$

$$\text{RMSD} = \left[\frac{1}{N} \sum_{i=1}^n \left(\frac{x_{\text{cal}} - x_{\text{e}}}{x_{\text{e}}} \right)^2 \right]^{1/2}$$

式中 x_{cal} 为溶质摩尔分数的模型计算值; A, B, C 为拟合参数; T 为温度 (K), N 为数据点的数目 (5)。结果采用 Apelblat 模型对异鼠李素在水、正辛醇中的平衡溶解度数据进行关联, 得相关系数 r 分别为 0.999 7 和 0.999 8, RMSD 分别为 0.104 6 和 0.004 4, 表明异鼠李素平衡溶解度数据与 Apelblat 模型关联度较好, 通过所建立的模型可较为准确地计算该成分在水及正辛醇中的溶解度。

2.5.2 溶解热力学参数的计算 根据 2.5.1 项下所述 Apelblat 模型及 Van't Hoff 公式计算异鼠李素在水、正辛醇 2 种体系下平衡溶解过程的热力学常数^[14-15]。

$$\Delta G_{\text{sol}}^0 = -RT \ln \alpha_2$$

$$\partial(\ln \alpha_2) / \partial T = \Delta H_{\text{sol}}^0 / RT^2$$

$$\Delta G_{\text{sol}}^0 = \Delta H_{\text{sol}}^0 - T \cdot \Delta S_{\text{sol}}^0$$

式中 $\Delta H_{\text{sol}}^0, \Delta S_{\text{sol}}^0, \Delta G_{\text{sol}}^0$ 分别表示异鼠李素溶解平衡状态下的焓变、熵变及吉布斯自由能变; α_2 为活度系数, T 为绝对温度, R 为阿佛加德罗常数, 见表 1。结果表明异鼠李素在水和正辛醇中的溶解过程是吸热的 ($\Delta H_{\text{sol}}^0 > 0$), 并且是熵增加 ($\Delta S_{\text{sol}}^0 > 0$) 的过程。

2.6 表观油水分配系数的测定 将等量的正辛醇和水混合, 超声震荡后静置 24 h, 配制成正辛醇饱和溶液。取过量异鼠李素加入正辛醇饱和溶液中, 超

声振荡 5 min 至溶解, 取溶液 1 mL 离心 (15 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 5 min, 下同), 上清液稀释至标准曲线浓度范围内, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 续滤液进样分析。按标准曲线计算得质量浓度 C_1 。精密量取含有过量异鼠李素的正辛醇饱和溶液 3 mL, 置于具塞玻璃管中, 加入被正辛醇饱和的水 3 mL, 密封后放入 25 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴振荡器中, 振摇 48 h, 使其在两相中可以充分平衡。静置后取下层水液 1 mL, 离心, 取上清液, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 续滤液进样分析, 按标准曲线计算得质量浓度 C_2 。按 $P = (C_1 - C_2) / C_2$ 计算表观油水分配系数 (P) 5 163, $\lg P = 3.71$ 。

3 讨论

药物进入体内经过吸收、分布后才能到达作用部位, 进而发挥药理作用。由于药物的药代动力学特征在很大程度上取决于其体内的一系列跨膜转运过程, 因此药物的细胞膜渗透性对于其发挥疗效起着重要作用, 并且药物的活性、毒性等其他生理过程都与其生物膜的渗透性相关, 由于正辛醇的溶解度参数与生物膜的溶解度参数相近, 根据相似相溶原理, 药物在正辛醇中的溶解度可用于预测药物透过生物膜的情况, 因此测定药物在水和正辛醇中的平衡溶解度对于预测药物在体内的吸收分布情况至关重要。

本文对异鼠李素于不同温度下, 在水、正辛醇中的溶解度进行了测定, 结果表明异鼠李素更易溶于正辛醇中, 且温度对异鼠李素在水中的溶解度影响较大。随后本研究采用经典的 Apelblat 模型对溶解度进行关联, 结果显示该模型在一定温度范围内可很好地描述、预测异鼠李素在水及正辛醇中的溶解行为。通过对异鼠李素溶解热力学的研究发现, 异鼠李素在水和正辛醇中的溶解过程是吸热, 且是熵增加的过程。溶解吸热过程表明温度升高有助于异鼠李素的溶解, 且其在水中的溶解焓明显高于在正辛醇中, 说明异鼠李素溶于水中需要更多的热量, 如 2.5.1 项下所述, 异鼠李素在水中的溶解度受温度影响较大, 与热力学研究结果一致; 溶解过程的熵增加是由于当溶质分子异鼠李素进入溶剂时扰乱了溶剂分子的排列, 使体系的有序度降低, 混乱度增加, 故而熵增加。

黄酮类化合物是广泛存在于天然药物中的一类化学成分, 异鼠李素作为一种黄酮类成分, 由于其心血管保护作用、抗肿瘤等生物活性, 其药用价值日益受到国内外的关注。本文通过测定异鼠李素在水、正辛醇中的平衡溶解度及表观油水分配系数, 表明

异鼠李素为脂溶性化合物,水溶性较差,其作为新药进行研究开发时溶解度可能是限制其体内吸收的重要因素之一,可通过优化制剂工艺等方法来增加其水溶解度,从而提高其口服吸收效率及生物利用度。

[参考文献]

[1] 胡丹,何珺,杨佳年. 沙棘果渣中异鼠李素超声辅助提取工艺研究[J]. 安徽农业大学学报,2014,41(4): 575-578.

[2] 陆敏,张文娜. 银杏叶中黄酮类化合物的提取、纯化及测定方法的研究进展[J]. 理化检验:化学分册,2012,48(5):616-620.

[3] 赵增光,刘应才. 异鼠李素的心血管保护作用[J]. 医学综述,2008,14(15):2321-2323.

[4] 胡珊,邓甬川. 异鼠李素对乳腺癌细胞的作用机制[J]. 中国药科大学学报,2013,44(6):563-567.

[5] 李垚,王鹏祖,张慧颖. 异鼠李素对人胃癌细胞生长的抑制作用[J]. 中国初级卫生保健,2008,22(6): 58-59.

[6] 胡程耀,黄培. 固体溶解度测定方法的近期研究进展[J]. 药物分析杂志,2010,30(4):761-766.

[7] 谈唯,丁冬梅,张振海,等. 淫羊藿黄酮类组分表观溶解度和油水分配系数的测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(10):5-7.

[8] 何明珍,梁起栋,饶小勇,等. α -常春藤皂苷的平衡溶解度及表观油水分配系数的测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(13):52-54.

[9] 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.

[10] 陈丽娜,任晓亮,刘亚男,等. 槲皮素平衡溶解度的测定及热力学计算[J]. 药物分析杂志,2015,35(6): 1006-1009.

[11] Manzurola E, Apelblat A. Solubilities of L-glutamic acid, 3-nitrobenzoic acid, *p*-toluic Acid, calcium-L-lactate, calcium gluconate, magnesium-DL-aspartate, and magnesium-L-lactate in water[J]. J Chem Therm,2002, 34(7):1127-1136.

[12] Williamson A T. The exact calculation of heats of solution from solubility data [J]. Trans Faraday Soc, 1944,doi:10.1039/TF9444000421.

[13] Bhat M A, Haq N, Shakeel F. Solubility and dissolution thermodynamics of *N*-(4-chlorophenyl)-2-(pyridin-4-ylcarbonyl) hydrazinecarbothioamide in PEG 400 + water co-solvent mixtures at 298.15 K to 338.15 K [J]. Thermochim Acta,2014,593(10):37-42.

[14] Perlovich G L, Ryzhakov A M, Strakhova N N, et al. Thermodynamic aspects of solubility process of some sulfonamides [J]. J Pharm Biomed Anal,2011,54(1): 222-224.

[15] Zhang C L, Yan W. Determination and correlation for solubilities of ofloxacin, norfloxacin, lomefloxacin, ciprofloxacin, pefloxacin, and pipemidic acid in 1-octanol from (293.15 to 333.15) K [J]. J Chem Eng Data, 2010,55(9):4033-4035.

[责任编辑 刘德文]