

蒿甲醚在不同介质中的平衡溶解度及表观油水分配系数的测定

王晓蕾, 孙艺丹, 王锐利, 白小红, 张淑秋

山西医科大学 药学院, 山西 太原 030001

摘要: **目的** 测定蒿甲醚在正辛醇-水/缓冲体系中的表观油水分配系数 (IgP) 及其在常用的注射用油、乳化剂及助乳化剂等不同介质中的平衡溶解度。**方法** 使用摇瓶法测定蒿甲醚在正辛醇-水中的 IgP ; 采用高效液相色谱法 (HPLC) 测定蒿甲醚在各种介质中的浓度。**结果** 在 37 °C 下, 蒿甲醚在水及 pH 5.0、6.8、7.4、8.0 的磷酸盐缓冲液中的 IgP 分别为 2.2、1.6、1.5、2.6、2.2。在 37 °C 时, 蒿甲醚在注射用油中链甘油三酯 (MCT)、橄榄油、大豆油、蓖麻油及肉豆蔻酸异丙酯 (IPM) 中的平衡溶解度分别为 306.9、246.6、222.8、265.0、273.3 mg/mL。在乳化剂 (6 mg/mL 胶束溶液) 泊洛沙姆 188 (F68)、壬基酚聚氧乙烯醚 (OP 乳化剂)、聚山梨酯 80、大豆卵磷脂、聚氧乙烯氢化蓖麻油 (RH40) 中的平衡溶解度分别为 0.1、1.4、0.5、0.6、0.6 mg/mL。在水乙醇、1,2-丙二醇、丙三醇、异丙醇、正丁醇中的平衡溶解度分别为 177.3、37.0、3.4、204.1、303.1 mg/mL。**结论** 蒿甲醚表观油水分配系数随水相 pH 不同而不同; 蒿甲醚在注射用油 MCT、OP 乳化剂、助乳化剂正丁醇中的溶解度较大。

关键词: 蒿甲醚; 平衡溶解度; 表观油水分配系数; 高效液相色谱法

中图分类号: R94 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2013)02-0114-005

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.02.009

Determination of equilibrium solubility of artemether in various media and its apparent partition coefficients in octanol-aqueous systems

WANG Xiao-lei, SUN Yi-dan, WANG Rui-li, BAI Xiao-hong, ZHANG Shu-qiu

Faculty of Pharmacy College, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Abstract: Objective To determine the apparent partition coefficients (IgP) of artemether in octanol-water/buffer systems as well as its equilibrium solubility in various media, such as oil for injection, surfactants, and co-surfactants. **Methods** Waving bottle method was adopted to determine the IgP of artemether in octanol-water/buffer. High performance liquid chromatography (HPLC) was used to determine the concentration of artemether in different media. **Results** IgP values of artemether in octanol-water or buffer solutions (pH 5.0, 6.8, 7.4, and 8.0) were 2.2, 1.6, 1.5, 2.6, and 2.2, respectively. The equilibrium solubility of artemether in injection oil media-chain triglycerides (MCT), olive oil, soybean oil, castor oil, and isopropyl myristate (IPM) at 37 °C was 306.9, 246.6, 222.8, 265.0, and 273.3 mg/mL, respectively. The equilibrium solubility of artemether in surfactant (6 mg/mL micellar solution), such as Poloxamer 188 (F68), OP emulsifier (OP), polysorbate 80, soybean lecithin, and cremophor-RH40 (RH40) was 0.1, 1.4, 0.5, 0.6, and 0.6 mg/mL, respectively. The equilibrium solubility of artemether in cosurfactants ethanol, propylene glycol, glycerin, isopropyl alcohol, and *n*-butanol was 177.3, 37.0, 3.4, 204.1, and 303.1 mg/mL, respectively. **Conclusion** The IgP of artemether is different in buffer with difference of pH values. Artemether has a higher solubility in MCT, surfactant OP, and cosurfactant *n*-butanol.

Key words: artemether; equilibrium solubility; apparent partition coefficient; high performance liquid chromatography

蒿甲醚 (artemether) 为青蒿素的衍生物, 是一种具有内过氧桥的倍半萜内酯类化合物 (结构式见图 1)。研究发现青蒿素及其衍生物除具有抗疟作用外, 尚有多方面的药理作用和临床应用, 如抗血吸虫、抗心律失常、平喘、抗系统性红斑狼疮、抗内

毒素、抗变态反应、免疫抑制、抗癌等作用^[1]。有研究表明该类药的抗疟机制为其结构中的内过氧桥与二价的铁离子发生还原反应, 断裂时产生一种或几种氧自由基, 对疟原虫蛋白进行烷基化或共价修饰从而破坏虫体^[2-3]。蒿甲醚主要用于抗氯喹恶性

收稿日期: 2013-01-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30973589); 山西省回国留学人员科研项目 (2009-47)

作者简介: 王晓蕾 (1989—), 女, 硕士研究生, 研究方向为药剂学。Tel: 15903467032 E-mail: wx119890405@126.com

疟及重症疟疾的治疗，抗疟活性较青蒿素大6倍^[4]。其抗疟特点为作用快、耐受性好、罕见耐药性；但多剂量口服给药后可能存在自身诱导代谢使药物的总体清除率下降，导致疟疾复燃率较高^[5]，使得该类药作为目前抗疟的一线用药在应用中受到限制。测定蒿甲醚的油水分分配系数和它在各种溶剂中的溶解度可以了解药物在水和非极性溶剂中的溶解性，可以估计药物在体内的分配行为和药物的生物膜渗透性^[6]，并且可以为蒿甲醚的新型给药系统如微乳或纳米粒的处方设计、制备工艺及药动学研究提供理论基础。

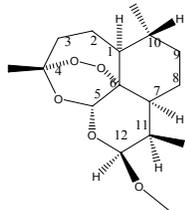


图1 蒿甲醚结构

Fig. 1 Chemical structure of artemether

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent1200 高效液相色谱仪（美国 Agilent 公司）；TU—1901 双光束紫外可见分光光度计（北京普析通用仪器有限责任公司）；TDL—5—A 低速台式离心机（上海安亭科学仪器厂）；FA1104 型电子天平（上海民桥精密科学仪器有限公司）；TDQ—250 超声波清洗器（北京医疗设备二厂）；PHS—3E 型 pH 计（上海精密科学仪器有限公司）；SHZ—82 恒温振荡器（国华企业）。

1.2 试剂

蒿甲醚（质量分数>99%，重庆华立武陵山制药有限公司，批号 20100803）；MCT（上海东土化工有限公司），IPM、橄榄油（成都科龙化工试剂厂）；大豆油（浙江天雨山药用油有限公司）；蓖麻油（天津市大茂化学试剂厂）；聚山梨酯 80、异丙醇、丙二醇（天津市风船化学试剂科技有限公司）；丙三醇（天津市光复科技发展有限公司）；正辛醇（天津市河东区红岩试剂厂）；正丁醇（天津市永大化学试剂有限公司）；泊洛沙姆 188、大豆磷脂、OP 乳化剂（天津市登峰化学试剂厂）；RH40（北京偶合科技有限公司）；甲醇（色谱纯，山东禹王实业有限公司）；磷酸二氢钠，磷酸氢二钠，冰醋酸、无水乙醇（分析纯，天津市北辰方正试剂厂）；去离子水。

2 方法和结果

2.1 HPLC 含量测定的建立

2.1.1 检测波长的选择 分别以甲醇-水（85.4：13.6）、甲醇-水-冰醋酸（85：4：13.6：1，pH 3.65）、甲醇-水-磷酸（85.4：13.6：1，pH 3.65）、甲醇-水-盐酸（85.4：13.6：1，pH 3.65）为溶解介质，于 30℃ 下配制 0.2 mg/mL 蒿甲醚溶液，以各介质为空白对照，在 200~400 nm 波长进行扫描，记录光谱图，结果蒿甲醚仅在甲醇-水-冰醋酸（85.4：13.6：1）介质中于 230 nm 处有最大吸收波长，溶剂对测定无干扰。因此本实验选择以甲醇-水-冰醋酸（85.4：13.6：1）为溶剂和流动相，在 230 nm 处进行测定。

2.1.2 色谱条件 色谱柱为安捷伦 C₁₈ 柱（150 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为甲醇-水-冰醋酸（85.4：13.6：1，pH 3.7），检测波长 230 nm，柱温 30℃，体积流量 1.0 mL/min，进样量 20 μL。

2.1.3 系统适用性实验 配制一定浓度的蒿甲醚溶液，并以空白溶剂作为对照，在上述色谱条件下，分别进样 20 μL，记录色谱图，见图 2。以蒿甲醚峰面积计算理论塔板数为 7 925，保留时间约为 5.1 min，与相邻峰的分离度为 11。

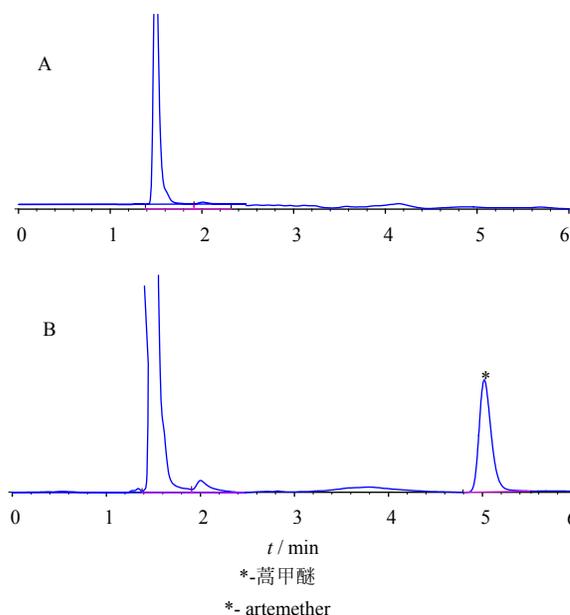


图2 空白溶剂(A)和蒿甲醚(B)的色谱图
Fig. 2 Chromatograms of blank solvent (A) and artemether (B)

2.1.4 线性范围 精密称取蒿甲醚 50 mg，置于 50 mL 量瓶，用流动相溶解并稀释至刻度，摇匀，作为储备液。分别精密量取储备液 1、3、5、7、9 mL 至 10 mL 量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀。分

别取 20 μL 注入高效液相色谱仪进行测定, 记录峰面积 (A)。以质量浓度 (C , $\mu\text{g}/\text{mL}$) 为横坐标, A 为纵坐标进行线性回归, 得到标准曲线方程为 $A = 329.96C + 4.545$, $r = 0.9997$ 。表明蒿甲醚在质量浓度 100~900 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 线性关系良好。

2.1.5 精密度 精密称取蒿甲醚适量, 配制高、中、低浓度溶液, 分别在 1 天内测定 5 次, 得日内精密度; 3 个浓度的溶液每天测定一次, 连续测定 3 d, 得日间精密度, 结果见表 1。结果表明, 日内、日间精密度 $\text{RSD} < 2\%$, 符合《中国药典》2010 年版的规定。

表 1 精密度实验结果
Table 1 Accuracy results

$C/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	RSD/%	
	日内($n=5$)	日间($n=3$)
100.1	1.7	1.3
500.5	1.7	0.3
900.9	0.6	0.3

2.1.6 回收率 精密称取蒿甲醚 50 mg, 置于 50 mL 量瓶, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为储备液。分别精密量取储备液 1、5、9 mL 置 10 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 分别取 20 μL 注入高效液相色谱仪进行测定, 记录峰面积, 计算回收率。结果平均回收率为 99.0%, RSD 为 0.7%, 表明方法准确。

2.2 表观油水分配系数的测定^[7-8]

将正辛醇用去离子水或 pH 5.0、6.8、7.4、8.0 的磷酸盐缓冲液饱和, 作为油相; 去离子水或 pH 5、6.8、7.4、8 的磷酸盐缓冲液分别用正辛醇饱和, 作为水相。精密称取蒿甲醚 400 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 分别用油相溶解并稀释至刻度, 摇匀后分别取 200 μL 置于 10 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 测其质量浓度为 C_1 。将未稀释的蒿甲醚油溶液与水相按 1:10 混合后置于具塞试管中, 摇匀, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中震荡 72 h, 使分配达平衡。取上层油相各 200 μL 置于 10 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过。取 20 μL 续滤液注入液相色谱仪, 记录峰面积, 将峰面积值代入随行的标准曲线可得质量浓度 C_0 , 分别平行做 3 组。

表观油水分配系数 $\lg P = \lg(C_0/C_w)$

式中 C_0 为分配平衡时蒿甲醚在油相中的质量浓度 (mg/mL); C_w 为分配平衡时蒿甲醚在水相中的质量浓度

(mg/mL), $C_w = (C_1 - C_0) \times V_o/V_w$, 其中 C_1 为蒿甲醚在油相中的初始质量浓度 (mg/mL); V_o 为油相体积; V_w 为水相体积

经测定, 蒿甲醚在正辛醇-水及 pH 5.0、6.8、7.4、8.0 磷酸盐缓冲液中的 $\lg P$ 分别为 2.2、1.6、1.5、2.6、2.2, 结果见图 3。

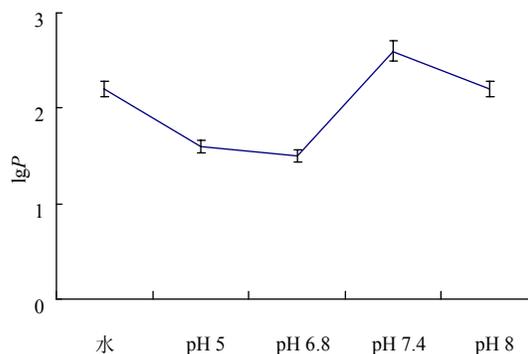


图 3 蒿甲醚在水及不同 pH 缓冲液中的表观油水分配系数 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 3 Apparent partition coefficients of artemether in water and buffer with difference of pH values ($\bar{x} \pm s$)

2.3 蒿甲醚在各种介质中的平衡溶解度

2.3.1 蒿甲醚在注射用油中的平衡溶解度 将过量的蒿甲醚分别加入 2 mL 注射用油 MCT、橄榄油、大豆油、蓖麻油及 IPM 中, 涡旋 0.5 h 混匀, (37 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 水浴中振荡 72 h 达平衡。后于 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 20 μL 置于 10 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀后滤过。取 20 μL 续滤液注入液相色谱仪, 记录峰面积。将峰面积值 A 代入随行的标准曲线可得质量浓度 (C)。平行做 3 组, 求药物在油中的平衡溶解度。结果见图 4。

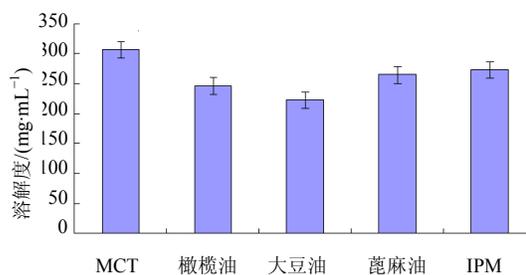


图 4 蒿甲醚在注射用油中的平衡溶解度

Fig. 4 Equilibrium solubility of artemether in injection oil

2.3.2 蒿甲醚在乳化剂中的平衡溶解度 将过量的蒿甲醚分别置于乳化剂 F68、OP 乳化剂、聚山梨酯 80、大豆卵磷脂、RH40 的 6 mg/mL 胶束水溶液中, 涡旋 0.5 h 后, (37 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 振荡 72 h, 使达平衡。3 000 r/min 离心 10 min。除 F68 直接测定外, 其余的分

别精密量取上清液 5 mL 于 10 mL 量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀后滤过。取 20 μ L 续滤液注入液相色谱仪，记录峰面积。将峰面积值 A 代入随行的标准曲线可得质量浓度 C (mg/mL)。平行 3 组，求蒿甲醚在乳化剂中的平衡溶解度，结果见图 5。

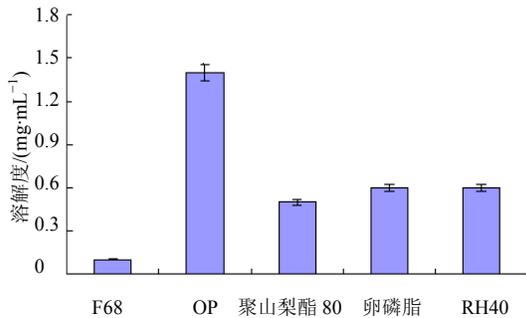


图 5 蒿甲醚在不同乳化剂中的平衡溶解度
Fig. 5 Equilibrium solubility of artemether in different surfactants

2.3.3 蒿甲醚在助乳化剂中的平衡溶解度 将过量的高甲醚分别置于 2 mL 助乳化剂无水乙醇、1, 2-丙二醇、丙三醇、异丙醇、正丁醇中，涡旋 0.5 h, (37 \pm 2) $^{\circ}$ C 振荡 72 h 达平衡。3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液，用流动相稀释适当的倍数，滤过。取 20 μ L 续滤液注入液相色谱仪，记录峰面积。将峰面积值 A 代入随行的标准曲线可得质量浓度 C (mg/mL)。平行做 3 组，求蒿甲醚在助乳化剂中的平衡溶解度，结果见图 6。

3 讨论

蒿甲醚的分子结构中无共轭基团，其甲醇溶液在 205 nm 处有末端吸收，直接测定时可选择 210 nm

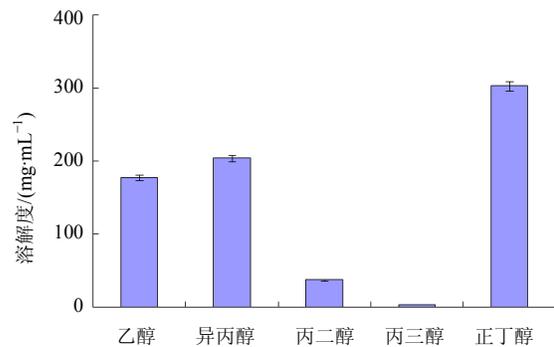


图 6 蒿甲醚在助表面活性剂中的平衡溶解度
Fig. 6 Equilibrium solubility of artemether in cosurfactants

作为检测波长^[9-11]。本研究发现蒿甲醚在 1%冰醋酸-甲醇溶液(甲醇-水-冰醋酸 85.4 : 13.6 : 1, pH 3.65)中在 230 nm 处产生最大吸收，与文献报道一致^[12]；而蒿甲醚在 1%磷酸甲醇溶液(甲醇-水-磷酸 85.4 : 13.6 : 1, pH 3.65)、1%盐酸甲醇溶液(甲醇-水-盐酸 85.4 : 13.6 : 1, pH 3.65)中在 230 nm 处均无吸收，仅在 202 nm 附近有末端吸收。因此可知蒿甲醚在 1%冰醋酸甲醇溶液中吸收波长会红移，且此红移与质子无关，而与酸的种类有关。其红移的机制可能是蒿甲醚与冰醋酸分子间成氢键，形成了如图 7 所示的化合物 a，蒿甲醚的 C₁₂-H 和 C₁₂-OCH₃ 的氧原子分别与醋酸分子羧基中 -C=O 的氧原子和 -OH 的氢原子成氢键而形成七元环；在形成化合物 a 时，C₁₂ 的构象发生变化，利于 C₁₂ 所在的上下两个环共平面，化合物分子的刚性增加，共轭增强，从而使最大吸收波长红移。

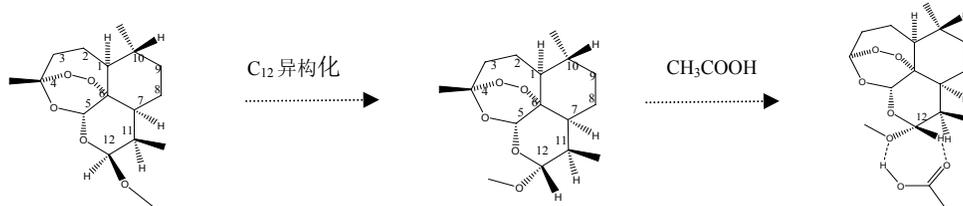


图 7 化合物 a 的形成机制

Fig. 7 Formation mechanism of compound a

使用摇瓶法测定油水分配系数时，由于蒿甲醚的脂溶性较大，所以在进行油水分配时，药物大多留在油相，只有少量进入水相中，油水两相中药物浓度相差大，导致分析误差比较大。为了减小误差，在满足 HPLC 测定最小浓度的条件下，应该减小正辛醇相/水相的比例，因此本实验选择体积比 1 :

10，以此提高蒿甲醚在水相中的溶解量。结果显示水相 pH 不同，蒿甲醚的油水分系数不同，但 pH 对 lgP 的影响并不显著 (1.51~2.56)。这可能与其结构中无酸或碱性官能团，且在缓和的酸碱条件下不发生水解有关。因此在今后的蒿甲醚制剂研究工作中，可以考虑不将 pH 作为影响溶解度的主要因

素进行考察。

从实验结果可知,蒿甲醚在正辛醇-水中的油水分配系数为 2.18,说明蒿甲醚的脂溶性较高。蒿甲醚在注射用油和助表面活性剂中的溶解度均较大,这也很好地印证了该药脂溶性较高的结论。故而可以考虑将其制成 O/W 型微乳或纳米粒等剂型,提高其生物利用度。

参考文献

- [1] 杨耀芳. 青蒿素及其衍生物的药理作用和临床应用 [J]. 中国临床药理学杂志, 2003, 12(4): 253-257.
- [2] Wu W M, Yao Z J, Wu Y L, et al. Ferrous ion induced cleavage of the peroxy bond in qinghaosu and its derivatives and the DNA damage associated with this process [J]. *Chem Commun*, 1996, 18: 2213-2214.
- [3] Robert A, Coppel Y, Meunier B. Alkylation of heme by the antimalarial drug artemisinin [J]. *Chem Commun*, 2002, 5: 414-415.
- [4] 管韩宾, 黄文锦, 龚建章, 等. 体外微量测定抗疟药药效的方法 [J]. 药学学报, 1982, 17(2): 139-142.
- [5] Xing J, Bai K H, Zhang S Q, et al. The multiple-dosing pharmacokinetics of artemether, artesunate, and their metabolite dihydroartemisinin in rats [J]. *Xenobiotica*, 2011, 41(3): 252-258.
- [6] 李学涛, 田景振, 唐 凌. 异长春花碱油水分配系数及 pH 值对其的影响 [J]. 食品与药品, 2010, 12(3): 105-107.
- [7] 杨秀丽, 孙 进, 何仲贵. 格列吡嗪油水分配系数和平衡溶解度的测定 [J]. 中国药理学杂志, 2009, 7(3): 121-126.
- [8] 张立军, 潘岳峰, 张多婷. 高效液相色谱法测定去氧氟尿苷在不同介质中的平衡溶解度和表观油水分配系数 [J]. 中南药学, 2009, 7(12): 923-926.
- [9] 中国药典 [S]. 二部. 2010.
- [10] 李美琴, 范 琦, 张晓松. HPLC 同时测定复方双氢青蒿素片中磷酸哌嗪与甲氧苄啶的含量 [J]. 华西药理学杂志, 2004, 19(3): 221-223.
- [11] 张志荣, 胡海燕, 洪 净, 等. 蒿甲醚缓释片在狗体内的药代动力学 [J]. 华西药理学杂志, 2000, 15(5): 335-337.
- [12] 王效义, 王凌云. 高效液相色谱法测定蒿甲醚含量方法的研究 [J]. 解放军药理学学报, 1988, 15(4): 7-9.

SFDA 批准拉帕替尼用于晚期乳腺癌治疗

葛兰素史克 (GSK) 日前宣布, 其抗肿瘤新药甲苯磺酸拉帕替尼片 (简称拉帕替尼) 已获得 SFDA 批准, 与卡培他滨联用, 治疗 HER2 过表达且既往接受过包括蒽环类、紫杉类和曲妥珠单抗治疗的晚期或转移性乳腺癌。该药成为葛兰素史克在中国获批的第一个肿瘤靶向治疗药物。

拉帕替尼是一种小分子的可逆性酪氨酸激酶抑制剂 (TKI), 口服吸收良好, 可以口服给药。它可以进入细胞内, 直接强效抑制 ErbB1 和 ErbB2 受体的酪氨酸激酶, 不受细胞外 ErbB2 空间结构的影响。其小分子、双靶向的特点将为肿瘤脑转移患者带来治疗的新希望。一项全球多中心临床研究 (EGF100151) 证实, 与卡培他滨单药治疗相比, 拉帕替尼联合卡培他滨组在主要终点 TTP (至疾病进展时间) 上能够显著获益, 且耐受性较好, 严重不良事件发生率较低。至今, 拉帕替尼已获得包括中国在内的 100 多个国家和地区的上市批准。

(本刊讯)