

双氯芬酸钠平衡溶解度和表观油水分配系数的研究

任国莲¹, 张吉星², 谢茵¹, 刘丽清¹, 于秋菊¹, 田青平^{1*}

1. 山西医科大学 药学院, 山西 太原 030001

2. 山西省中医学校, 山西 太原 030012

摘要: 目的 测定双氯芬酸钠平衡溶解度及表观油水分配系数, 为药物评价、新剂型设计与开发提供试验依据。方法 采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)测定双氯芬酸钠在不同介质中的平衡溶解度, 使用 Diamonsil C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 甲醇-水-磷酸(80:19:1)为流动相, 体积流量为 0.8 mL/min, 检测波长为 276 nm, 柱温为 32 ℃; 采用摇瓶法测定双氯芬酸钠在正辛醇-水/缓冲液体系中的表观油水分配系数。结果 32 ℃时, 双氯芬酸钠在蒸馏水和生理盐水中的平衡溶解度分别为 18.2、5.52 mg/mL; 在肉豆蔻酸异丙酯(IPM)、油酸乙酯中的平衡溶解度分别为 0.637、1.97 mg/mL; 在正辛醇/水体系中的表观油水分配系数为 1.41 (lgP=0.15); 在 pH 5.0~7.4 缓冲液中, 其平衡溶解度随 pH 值升高而增大, 表观油水分配系数随 pH 值升高而降低; 结论 pH 对双氯芬酸钠的平衡溶解度和表观油水分配系数有较大影响。

关键词: 双氯芬酸钠; 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)06-0448-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.06.011

Research on equilibrium solubility and apparent octanol/water partition coefficient of diclofenac sodium

REN Guo-lian¹, ZHANG Ji-xing², XIE Yin¹, LIU Li-qing¹, YU Qiu-ju¹, TIAN Qing-ping¹

1. School of Pharmacy, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001 China

2. Shanxi School of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030012 China

Abstract: Objective To determine the equilibrium solubility and apparent oil/water partition coefficient of diclofenac sodium, and to provide the experimental basis for the drug evaluation and the research and development of new dosage form design of diclofenac sodium. **Methods** RP-HPLC method was used to determine the concentration of diclofenac sodium in different media. A column of Diamonsil C₁₈ was used for separation column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase was consisted of methanol-water-K₃PO₄ (80:19:1). The flow rate was 0.8 mL/min. The detective wavelength was set at 276 nm, and the column temperature was 32 ℃. The apparent oil/water partition coefficients for the octanol-water/buffer solution systems of diclofenac sodium were determined by shaking flash method. **Results** The equilibrium solubility of diclofenac sodium in water and normal saline was 18.2 and 5.52 mg/mL at 32 ℃ respectively, and the equilibrium solubility of diclofenac sodium in isopropyl myristate (IPM) and ethyl acetate were 0.637 and 1.97 mg/mL respectively; The apparent partition coefficient of diclofenac sodium in the octanol-water solution system was 1.41 (lgP = 0.15); The equilibrium solubility and apparent partition coefficient of diclofenac sodium were increased and diminished respectively when pH value increased from 5.0 to 7.4 in various pH buffer solutions. **Conclusion** The equilibrium solubility and apparent oil/water partition coefficient of diclofenac sodium are greatly influenced by the pH value of media.

Key words: diclofenac sodium; equilibrium solubility; apparent oil/water partition coefficient; HPLC

双氯芬酸钠(diclofenac sodium)半衰期短(1.8 h), 口服吸收迅速, 给药次数频繁, 易引起峰谷效应、胃肠道刺激等不良反应, 降低了患者的顺应性^[1], 其结构式见图 1。经皮给药制剂可直接作用于靶组

织, 避免峰谷效应、对胃肠道的刺激及全身毒副作用, 而在新剂型的开发和研究中药物的理化性质是一项关键因素, 如溶解度、油水分配系数等理化性质是影响药物经皮渗透性能和胃肠道吸收最重要的

收稿日期: 2013-08-01

基金项目: 山西省科技厅基础研究项目(2012011007-5); 山西医科大学青年基金项目(02200908)

*通信作者 田青平 E-mail: tianqp123456@163.com

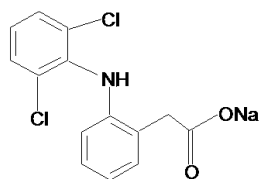


图1 双氯芬酸钠结构式

Fig. 1 Structure of diclofenac sodium

因素^[2-4]。为了更好地对双氯芬酸钠进行药物评价以及选择双氯芬酸钠的新剂型及给药途径,本文采用RP-HPLC法考察双氯芬酸钠在不同介质中的平衡溶解度和表观油水分配系数,为开发和研制双氯芬酸钠新剂型及体内外评价等提供试验依据。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(美国 Agilent 1200);FA1104N 电子天平(上海民桥精密仪器厂);恒温振荡器 SHZ82(常州国华电器有限公司);pH S—2C 精密酸碱计(上海理达仪器厂);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);TCQ—250 超声波清洗器(北京医疗设备二厂)。

双氯芬酸钠对照品(武汉银河化工有限公司,批号 100198-200904,质量分数 99.8%);双氯芬酸钠原料药(武汉银河化工有限公司,批号 090708,质量分数 99.6%);乙腈、甲醇(色谱纯,山东禹王实业有限公司);其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 分析方法的建立

2.1.1 检测波长的选择 称取双氯芬酸钠对照品适量,加甲醇溶解并稀释成 5.0 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,以甲醇作空白,于紫外区(200~400 nm)扫描,结果在 276 nm 处,双氯芬酸钠有最大吸收峰,故选定双氯芬酸钠的测定波长为 276 nm。

2.1.2 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱为 Diamonsil C_{18} 柱(150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水-磷酸(80:19:1),检测波长为 276 nm,体积流量 0.8 mL/min,柱温 32 $^{\circ}\text{C}$,进样量 20 μL 。

将双氯芬酸钠配成一定浓度的溶液,采用空白溶剂为对照,在上述色谱条件下进样,双氯芬酸钠保留时间为 8.465 min,理论塔板数以双氯芬酸钠峰面积计算不低于 5 000,且空白不干扰药物的测定,高效液相色谱图见图 2。

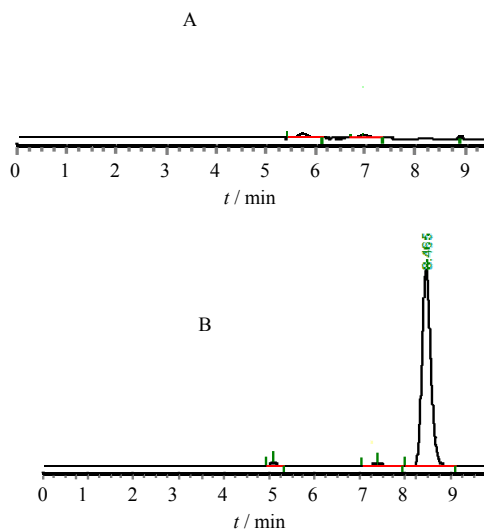


图2 空白溶液(A)与双氯芬酸钠溶液(B)的高效液相色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of blank solution (A) and diclofenac sodium solution (B)

2.1.3 标准曲线的绘制 称取干燥至恒质量的双氯芬酸钠对照品适量,置 50 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,得到质量浓度为 250 $\mu\text{g/mL}$ 的储备液。分别移取此溶液 0.2、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL,置于 25 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,制得不同质量浓度的双氯芬酸钠溶液,分别取上述不同浓度的双氯芬酸钠溶液 20 μL 进液相色谱仪,以峰面积(A)为纵坐标,质量浓度(C , $\mu\text{g/mL}$)为横坐标进行线性回归。得回归方程: $A=47.503C+0.8579$, $r^2=0.9999$ 。结果表明双氯芬酸钠在 2~40 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度与峰面积线性关系良好。

2.1.4 精密度试验 用流动相配制高、中、低(35、20、10 $\mu\text{g/mL}$) 3 种不同质量浓度的双氯芬酸钠对照品溶液,分别在 1 天内连续测定 3 次,得日内精密度,3 种溶液每天测定 1 次,连续测 3 d,得日间精密度,结果见表 1。

表1 双氯芬酸钠精密度试验结果 ($n=3$)

Table 1 Precision test of diclofenac sodium ($n=3$)

$C/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	RSD/%	
	日间	日内
10.0	0.79	0.53
20.0	0.57	0.49
35.0	0.35	0.44

表1结果表明该方法日内、日间精密度均小于1%，符合《中国药典》2010年版的规定，说明该方法精密度良好。

2.1.5 回收率试验 精密称取双氯芬酸钠12.5 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1.0、2.0、3.5 mL置25 mL量瓶中，用流动相稀释至刻度，分别取20 μ L注入高效液相色谱仪进行测定，记录峰面积，计算回收率（每种浓度制备3份）。结果高、中、低3种浓度的平均回收率分别为99.7%、100.2%、100.4%，RSD分别为0.44%、0.49%、0.53%，表明方法准确。

2.2 平衡溶解度的测定

取生理盐水，蒸馏水，pH 5.0、5.8、6.8、7.0、7.4、7.8、9.0的磷酸盐缓冲溶液，肉豆蔻酸异丙酯（IPM），油酸乙酯适量，加入过量的双氯芬酸钠，采用TCQ—250超声波清洗器超声0.5 h，将溶液置于（32 $\pm$ 1） $^{\circ}$ C恒温振荡器中，恒温振荡，72 h后离心取上清液，0.45 μ m微孔滤膜滤过，取适量续滤液，用流动相稀释并定容，摇匀，进样20 μ L，根据回归方程计算药物在各种介质中的平衡溶解度。双氯芬酸钠在不同介质中的平衡溶解度结果见表2。

表2 双氯芬酸钠在不同介质中的平衡溶解度
（ $\bar{x} \pm s$, $n = 3$ ）

Table 2 Equilibrium solubility of diclofenac sodium in various media ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

介质	溶解度/(mg·mL ⁻¹)
蒸馏水	18.20 $\pm$ 0.36
生理盐水	5.52 $\pm$ 0.35
pH 5.0 磷酸盐缓冲液	0.48 $\pm$ 0.02
pH 5.8 磷酸盐缓冲液	0.70 $\pm$ 0.01
pH 6.8 磷酸盐缓冲液	11.00 $\pm$ 0.99
pH 7.0 磷酸盐缓冲液	11.30 $\pm$ 0.08
pH 7.4 磷酸盐缓冲液	11.80 $\pm$ 0.14
pH 7.8 磷酸盐缓冲液	4.10 $\pm$ 0.12
pH 9.0 磷酸盐缓冲液	16.40 $\pm$ 0.08
IPM	0.64 $\pm$ 1.35
油酸乙酯	1.97 $\pm$ 0.17

双氯芬酸钠平衡溶解度在pH 5.0~7.4时随着pH值的增大而增大；双氯芬酸钠在IPM和油酸乙酯中的平衡溶解度没有明显增大。

2.3 表观油水分配系数的测定

取适量双氯芬酸钠溶于已被水饱和过的正辛醇

中，制成双氯芬酸钠的饱和正辛醇溶液，并测定其浓度（ C_0 ）。精密量取该饱和溶液5 mL置于具塞试管中，分别加入被正辛醇饱和过的蒸馏水及pH 5.0、5.8、6.8、7.0、7.4、7.8、9.0的缓冲溶液5 mL后，超声后放入恒温振荡器中，恒温振荡，保持温度（32 $\pm$ 1） $^{\circ}$ C，72 h后分离，取下层水相适量用甲醇稀释并定容，摇匀，0.45 μ m微孔滤膜过滤，取续滤液20 μ L进液相，测定药物在水相中浓度（ C_w ）；药物的表观油水分配系数由下公式计算：

$$P = C_{\text{油}}/C_{\text{水}} \quad C_{\text{油}} = C_0 - C_{\text{水}}$$

式中 P 为表观油水分配系数， $C_{\text{油}}$ 为平衡后油相中药物的浓度， $C_{\text{水}}$ 为平衡后水相中药物的浓度， C_0 为油相中药物的初始浓度。

结果表明，32 $^{\circ}$ C时双氯芬酸钠在正辛醇/水体系中的表观油水分配系数为1.41，在pH 5.0~9.0缓冲液中，lg P 随双氯芬酸钠平衡溶解度的增大而减小，但pH 7.8时，其lg P 增大为1.08，在pH 9.0时lg P 为0.43，结果见表3。

表3 双氯芬酸钠在正辛醇/缓冲溶液体系中的表观油/水分配系数

Table 3 Apparent oil/water partition coefficient of diclofenac sodium in *n*-octanol/buffer solution systems

pH	$C_{\text{油}}/(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$	$C_{\text{水}}/(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$	P	lg P
5.0	23.8	0.22	110.00	2.04
5.8	22.1	0.39	57.20	1.76
6.8	20.6	3.42	6.02	0.78
7.0	20.4	3.61	5.65	0.75
7.4	20.2	3.83	5.27	0.72
7.8	22.2	1.84	12.10	1.08
9.0	17.6	6.41	2.74	0.43

3 讨论

本试验建立了RP-HPLC法测定双氯芬酸钠浓度的方法，结果均符合《中国药典》2010年版的要求，为测定药物浓度提供了简单、准确、精密的方法。双氯芬酸钠在蒸馏水中的平衡溶解度为18.2 mg/mL，在各pH值缓冲溶液中的溶解度均小于蒸馏水中的溶解度，说明其他离子的存在影响双氯芬酸钠的溶解性。在pH 5.0~7.4缓冲液中，其平衡溶解度随pH值增大而增大，说明在此阶段解离度随pH值增大而增大；pH 7.8时，平衡溶解度下降，原因可能是双氯芬酸钠在溶液中解离生成双氯芬酸根离子和钠离子，而在不同pH值缓冲溶液中，pH 7.8

时钠离子浓度最大,产生了抑制药物解离的同离子效应^[5-6],所以其平衡溶解度降低;pH 9.0时溶解度最大,可能是由于所配制的pH 9.0磷酸盐缓冲液中不含有抑制药物解离的钠离子所致,由此建议在双氯芬酸钠新剂型的研究开发中应考虑离子强度对药物溶解性的影响。

药物表观油水分配系数是影响药物经皮吸收非常重要的因素,也影响着口服吸收,而具有一定脂溶性的药物生物膜透过性能较好,有利于药物吸收,从而提高生物利用度,故可用此参数预测药物的胃肠道吸收、经皮渗透行为^[7-9]。本实验结果表明在pH 5.0~7.8,双氯芬酸钠lgP在0.72~2.04,表明其透过生物膜的性能较好,脂溶性较高,但pH值对双氯芬酸钠的表观油水分配系数有较大的影响,因此对双氯芬酸钠进行剂型的改革时应考虑制剂的pH值,使药物保持较高的脂溶性,以期提高其生物利用度。

参考文献

- [1] 刘松根. 双氯芬酸钠乳膏工艺研究及质量控制 [J]. 海峡药学, 2008, 20(8): 14-15.
- [2] 华 卡. 经皮给药促渗透化学方法研究进展 [J]. 中国医药导报, 2008, 5(13): 19-20.
- [3] Kienzler J L, Gold M, Nollevaux F. Systemic bioavailability of topical diclofenac sodium gel 1% versus oral diclofenac sodium in healthy volunteers [J]. *J Clin Pharmacol*, 2010, 50(1): 50-61.
- [4] 陈 菲, 李 溯, 徐世希, 等. 提取物纯度对吴茱萸碱和吴茱萸次碱溶解度与表观分配系数的影响 [J]. 中国医药工业杂志, 2011, 42(3): 183-186.
- [5] 刘丽清, 于秋菊, 谢 茵, 等. pH对右旋布洛芬体外透皮性能的影响研究 [J]. 中国药房, 2011, 22(37): 3489-3491.
- [6] 于秋菊, 刘丽清, 谢 茵, 等. pH值对吡罗昔康理化性质及其经皮渗透性能的影响 [J]. 中国新药杂志, 2012, 21(4): 443-447.
- [7] 郑俊民. 经皮给药新剂型 [M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 558-559.
- [8] 高伟祺, 栾淑伟, 王锐利, 等. 青蒿素在不同溶剂中平衡溶解度和表观油水分配系数的测定 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(1): 35-38.
- [9] 王晓蕾, 孙艺丹, 王锐利, 等. 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 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(2): 114-118.