

阿齐沙坦油水分配系数的测定

米楠, 苏慕君, 臧可昕

天津药物研究院, 天津 300193

摘要: **目的** 测定阿齐沙坦的油水分配系数。**方法** 配制不同 pH 值的磷酸盐缓冲液, 以正辛醇-磷酸盐缓冲液作为分散系统, 摇瓶法作为测定方法, 照紫外-可见分光光度法(《中国药典》2010 年版附录 IV A) 进行测定。通过阿齐沙坦分配平衡后在油相(正辛醇)和水相的浓度比, 计算油水分配系数。**结果** 在正辛醇-磷酸盐缓冲液体系中, pH=3.0 时阿齐沙坦的油水分配系数为 3.78, pH=7.0 时阿齐沙坦的油水分配系数为-0.30。**结论** 应用摇瓶-紫外分光光度法, 能够准确测定阿齐沙坦的油水分配系数, 并由此推测其体内过程。

关键词: 阿齐沙坦; 油水分配系数; 紫外分光光度法

中图分类号: R94 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2013)06-0452-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.06.012

Determination of oil-water partition coefficient of Azilsartan

MI Nan, SU Mu-jun, ZANG Ke-xin

Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: **Objective** To determine the oil-water partition coefficient of Azilsartan. **Methods** A shake flask-ultraviolet spectrophotometry method was applied to determining the oil-water partition coefficient of Azilsartan in *n*-octanol-buffer solution systems with different pH values. **Results** The LgP of Azilsartan under pH 3.0 was 3.78 and pH 7.0 was -0.30. **Conclusion** The shake flask-ultraviolet spectrophotometry method can be used to determine the oil-water partition coefficient of Azilsartan, and help to predict the *in vivo* process.

Key words: Azilsartan; oil-water partition coefficient; ultraviolet spectrophotometry

阿齐沙坦(Azilsartan)是新一代选择性 AT₁ 亚型血管紧张素 II 受体拮抗剂(ARBs)类抗高血压药, 由日本武田制药公司研制, 于 2012 年 1 月获得在日本的上市批准。阿齐沙坦的前药阿齐沙坦酯(azilsartan medoxomil)已经在美国及欧洲等上市销售, 与其他血管紧张素受体拮抗剂类降压药物相比, 阿齐沙坦具有更优的降压能力和更大的受体结合力, 与血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI)类降压药物相比, 具有平稳降压、不会引起干咳的优点。阿齐沙坦作为一种血管紧张素 II 受体拮抗剂, 可单独使用或与其他降血压药物一起使用, 被视作坎地沙坦酯的下一代产品^[1-4]。作为新型降压药, 测定该药的油水分配系数对研究其体内过程和指导临床用药有重要意义, 且对剂型研究有一定帮助。目前国内外尚无阿齐沙坦油水分配系数测定方法的文献。

本文参考相关文献^[5-7], 以正辛醇-磷酸盐缓冲

液作为分散系统, 采用摇瓶-紫外分光光度法测定了阿齐沙坦的油水分配系数。根据人体胃肠道不同部位体液 pH 环境的不同, 研究了阿齐沙坦在不同 pH 值缓冲体系中的油水分配系数。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Perkin Elmer Lambda12 紫外分光光度计; XW—80A 型旋涡混合器(上海沪西分析仪器厂); TGL—16C 离心机(上海安亭科学仪器厂); SB—5200D 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司); pH S—25 型酸度计(上海伟业仪器厂)。

1.2 药物与试剂

阿齐沙坦(天津药物研究院化药部提供, 批号 120507); 无水磷酸氢二钠、无水枸橼酸、磷酸二氢钾、氢氧化钠、正辛醇(天津市光复精细化工研究所, 分析纯); 甲醇(天津市康科德科技有限公司,

收稿日期: 2013-06-17

作者简介: 米楠(1985—), 女, 满族, 辽宁, 研究实习员, 硕士。Tel: (022)23006839 E-mail: min@tjipr.com

分析纯); 水为蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 溶液配制

pH 3.0 的磷酸盐缓冲液: 用枸橼酸溶液调节磷酸氢二钠溶液至 pH 3.00 ± 0.05 , 经测定 pH 值为 3.00。pH 7.0 的磷酸盐缓冲液: 取磷酸二氢钾适量, 加水溶解, 用氢氧化钠溶液调节 pH 至 7.00 ± 0.05 , 经测定 pH 值为 7.01。不同 pH 值磷酸盐缓冲液与正辛醇相互饱和, 备用。

阿齐沙坦正辛醇储备液: 精密称取阿齐沙坦 12 mg 置 50 mL 量瓶中, 加正辛醇(经不同 pH 值磷酸盐缓冲液饱和) 溶解并定容至刻度, 得质量浓度为 0.24 mg/mL 阿齐沙坦正辛醇溶液。

2.2 最大吸收波长的确定

精密移取 5 mL 阿齐沙坦正辛醇储备液, 置 100 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 在 200~400 nm 波长进行扫描, 在 247 nm~257 nm 处吸收峰平缓, 选择公共波长 254 nm 作为测定波长。

2.3 标准曲线的绘制

精密量取阿齐沙坦正辛醇储备液, 用甲醇稀释配制质量浓度为 2.40、4.80、7.20、9.60、12.00、16.80 $\mu\text{g/mL}$ 的系列标准溶液, 照紫外-可见分光光度法(《中国药典》2010 年版附录IVA), 在 254 nm 波长处测定吸光度, 以吸光度对质量浓度进行线性回归, 阿齐沙坦正辛醇-pH3.0 磷酸盐缓冲体系中, 回归方程为: $Y=0.042\ 4X+0.002\ 5$, $r=0.999\ 9$; 阿齐沙坦正辛醇-pH 7.0 磷酸盐缓冲体系中, 回归方程为: $Y=0.043\ 1X+0.000\ 5$, $r=0.999\ 9$, 结果表明阿齐沙坦在 2.40~16.80 $\mu\text{g/mL}$ 内线性关系良好。

2.4 准确性

分别向 100 mL 量瓶中加入 0.24 mg/mL 阿齐沙坦正辛醇储备液 2、5、7 mL, 用甲醇稀释至刻度, 在 254 nm 处测吸光度, 计算药物浓度、准确性。准确度=测定浓度值/真实浓度值。结果 pH 3.0 的正辛醇-磷酸盐缓冲液的准确度为 $(100.2 \pm 1.002)\%$, RSD 值为 1.00%, pH7.0 的正辛醇-磷酸盐缓冲液的准确度为 $(100.5 \pm 0.811)\%$, RSD 值为 0.81%。该方法准确性良好, 可用于阿齐沙坦油水分配系数的测定。

2.5 涡旋时间考察

取 0.60 mg/mL 阿齐沙坦正辛醇储备液 3 mL, 加入磷酸盐溶液 3 mL, 分别涡旋 10、20、30 min, 各平行 3 份, 4 000 r/min 离心 10 min。取上层油相

1 mL 以甲醇稀释到 50 mL, 于 254 nm 处测定吸光度, 根据标准曲线, 并乘以稀释倍数, 算出油相浓度(C_o); 水相浓度(C_w)=初始浓度(C)- C_o ; 油水分配系数(P)= C_o/C_w 。见表 1。

表 1 涡旋时间对油水分配的影响

Table 1 Effect of swirl time on oil-water partition

涡旋时间/min	$C_o/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$C_w/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$P(C_o/C_w)$	$\lg P$
0	12.24	—	—	—
10	3.887	8.353	0.465	-0.33
20	4.026	8.274	0.487	-0.31
30	4.049	8.191	0.494	-0.31

取 0.60 mg/mL 阿齐沙坦正辛醇储备液 20 mL, 加入磷酸盐溶液 20 mL, 振摇 15 min, 静置分层, 分别于平衡 24、48、60 h 后取上层油相和下层水相各 1 mL, 上层油相以甲醇稀释到 50 mL, 平行 3 份, 于 254 nm 处测定吸光度, 计算油水分配系数。见表 2。

表 2 平衡时间对油水分配的影响

Table 2 Effect of equilibration time on oil-water partition

平衡时间/h	$C_o/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$C_w/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$P(C_o/C_w)$	$\lg P$
0	12.24	—	—	—
24	3.925	8.315	0.472	-0.33
48	4.118	8.122	0.498	-0.30
60	4.107	8.133	0.505	-0.30

结果表明, 涡旋 20 min 后, 油相浓度不再降低, 与传统方法平衡放置 48 h 的油水分系数值无显著性差异, 认为已达到分配平衡, 且涡旋离心方便、省时, 因此选择涡旋时间为 20 min。

2.6 磷酸盐浓度对油水分配的影响

配制浓度分别为 0.05、0.01、0.2 mol/L 的 pH 7.0 磷酸盐缓冲液, 不同浓度磷酸盐缓冲液与正辛醇相互饱和, 备用。取 0.60 mg/mL 阿齐沙坦正辛醇储备液 3 mL, 分别加入不同浓度的磷酸盐溶液 3 mL, 各平行 3 份, 涡旋 20 min, 4 000 r/min 离心 10 min。取上层油相 1 mL 以甲醇稀释到 50 mL, 于 254 nm 处测定吸光度, 根据标准曲线, 并乘以稀释倍数, 算出 C_o 、 C_w 、 P , 结果见表 3。

由结果可知, 在不同浓度的磷酸盐缓冲液-正辛醇系统中, 阿齐沙坦的油水分系数值不同。

2.7 不同浓度阿齐沙坦溶液油水分配系数的测定

取不同质量浓度的阿齐沙坦正辛醇溶液(0.60、0.24 mg/mL) 3 mL, 加入 pH7.0 的磷酸盐缓冲液 3

表3 不同磷酸盐浓度对油水分配的影响
Table 3 Effect of phosphate buffer concentration on oil-water partition

浓度/(mol·L ⁻¹)	C _o /(μg·L ⁻¹)	C _w /(μg·L ⁻¹)	P(C _o /C _w)	lgP
0.01	6.467	5.793	1.116	0.05
0.05	3.820	8.460	0.452	-0.34
0.20	4.026	8.274	0.487	-0.31

mL, 每个浓度各两份, 按油水分配系数测定方法项下操作、测定。在 pH7.0 条件下, 质量浓度为 0.60 mg/mL 时, $\lg P = -0.30$; 质量浓度为 0.24 mg/mL 时, $\lg P = -0.31$ 。

2.8 不同 pH 阿齐沙坦溶液油水分配系数的测定

取 0.60 mg/mL 阿齐沙坦正辛醇溶液 3 mL, 分别加入 pH3.0 和 pH7.0 磷酸盐缓冲液 3 mL, 每个 pH 各两份, 按油水分配系数测定方法项下操作、测定。在相同浓度条件下, pH3.0 时, $\lg P = 3.78$; pH 7.0 时, $\lg P = -0.30$ 。

3 讨论

药物的脂溶性是影响生物膜吸收的重要因素, 被广泛用于评价药物的吸收、通透性、分布容积、血浆蛋白结合、代谢和毒性。油水分配系数是用于表示化合物亲脂性和透过生物膜能力的重要参数, 正辛醇-缓冲溶液分配系数在预测药物定量结构-吸收上具有重要意义^[8-10]。

油水分配系数的测定有摇瓶法、产生柱法和反相高效液相色谱法。产生柱法测定步骤较多, 达平衡时间过长, 而反相高效液相色谱法需要用一系列已知油水分配系数值的同系物来建立标准曲线, 成本高, 故而选用经典的摇瓶法来测定阿齐沙坦的油水分配系数, 该法操作简便, 结果准确^[11]。

测定药物的油/水相分配系数时, 可选择油、水相互溶解度比较小的有机溶剂, 在处方设计中多选择正辛醇, 其溶解度参数与生物膜的整体溶解度参数很接近, 正辛醇是常用于求分配系数时模拟生物膜相的溶剂^[12], 但实际测定中应避免产生乳状液影响分离测定的准确性。

油水分配系数的测定受盐离子浓度、pH 值、平衡时间、温度等因素影响, 不同条件下测定的油水分配系数值不同, 由此可以推测, 油水分配系数的测定在特定的条件下才有意义。体内胃肠道 pH 值范围在 1.4~8.0^[13], 本文选择了 pH3.0 和 pH7.0 两种缓冲系统, pH3.0 时, $\lg P = 3.78$, 表现为亲脂性;

pH7.0 时, $\lg P = -0.30$, 表现为亲水性。根据 pH 分配理论, 药物吸收取决于解离状态及油水分配系数, 一定范围内, 油水分配系数越大吸收越好, 由此推测阿齐沙坦在胃内可能具有较好的吸收性和组织分布。文献报道阿齐沙坦的绝对生物利用度约 60%, 口服后 1.5~3 h 内阿齐沙坦达到血药峰浓度, 与本文结论相一致。

本文建立摇瓶-紫外分光光度法测定了阿齐沙坦的油水分配系数, 该方法操作简便, 结果准确, 为进一步研制阿齐沙坦制剂提供了理论和试验依据。

参考文献

- [1] 张亚安, 傅志贤, 张征林. 抗高血压新药选择性 AT₁ 亚型血管紧张素 II 受体拮抗剂——阿齐沙坦酯 [J]. 药学与临床研究, 2011, 19(3): 262-264.
- [2] 邢爱敏. 抗高血压药物阿齐沙坦酯 [J]. 药学进展, 2011, 35(5): 235-236.
- [3] Sum L. Azilsartan A newly approved angiotensin II receptor blocker [J]. *Cardiol Rev.* 2011, 19(6): 300-304.
- [4] Shuster J E, Bleske B E, Dorsch M P. Clinical utility of azilsartan-chlorthalidone fixed combination in the management of hypertension [J]. *Vascul Health Risk Manag*, 2012, (8)381-387.
- [5] 宋桂军, 柳 茵, 冯 芳, 等. 替米沙坦油水分配系数的测定及其意义 [J]. 药物分析杂志, 2007, 27(11): 1704-1706.
- [6] 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]. 中国药剂学杂志, 2009, 7(3): 121-126.
- [7] 何艺兵, 赵元慧, 王连生, 等. 有机化合物正辛醇/水分配系数的测定 [J]. 环境化学, 1994, 13(3): 195-197.
- [8] 张喜武, 窦金金, 李永吉. 中药单体丁香苦昔油水分配系数的测定 [J]. 中医药学报, 2012, 40(3): 113-114.
- [9] 陆 彬. 药物新剂型和新技术 [M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 384.
- [10] 张双庆. 介绍物理化学方法研究药物吸收、分布、代谢和排泄 [J]. 中国药事, 2012, 26(6): 641-645.
- [11] 郭波红, 程 怡, 林绿萍, 等. 甘草次酸平衡溶解度和表观油水分配系数的测定 [J]. 广东药学院学报, 2011, 27(3): 221-223.
- [12] 崔福德. 药剂学 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 314.
- [13] Dressman J B, Amidon G L, Reppas C, et al. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: Immediate release dosage forms [J]. *Pharm Res*, 1998, 15(1): 11-22.