

[制 剂]

12 种黄酮化合物油水分配系数的测定

张慧杰, 王 萌, 陈丽娜, 刘亚男, 任晓亮*, 戚爱棣
(天津中医药大学, 天津 300193)

摘要: **目的** 测定 12 种黄酮化合物的油水分配系数。**方法** 采用经典摇瓶法与 HPLC 法测定油水分配系数, 并进行比较。**结果** 白杨素、芹菜素、木犀草素、山柰酚、桑色素、杨梅素、橙皮素、柚皮素、花旗松素、二氢杨梅素、刺芒柄花素、大豆黄素的 Log *P* 值分别为 4.38、2.69、2.89、4.87、4.62、4.23、2.44、3.77、1.76、1.36、4.15、3.88。**结论** 花旗松素与二氢杨梅素在体内能被较好地吸收, 透过生物膜能力良好, 而芹菜素、木犀草素和橙皮素亲脂性较强。黄酮化合物的油水分配系数与其结构有着密切关系。
关键词: 黄酮化合物; 油水分配系数; 经典摇瓶法; HPLC
中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2016)08-1708-04
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.08.010

Determination of twelve flavonoids' oil-water partition coefficients

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

ABSTRACT: **AIM** To determine the oil-water partition coefficients of twelve flavonoids. **METHODS** The oil-water partition coefficients determined by classical shake-flask and HPLC methods were then compared. **RESULTS** The Log *P* values of chrysin, apigenin, luteolin, kaempferol, morin hydrate, myricetin, hesperetin, naringenin, taxifolin, dihydromyricetin, formononetin and daidzein were 4.38, 2.69, 2.89, 4.87, 4.62, 4.23, 2.44, 3.77, 1.76, 1.36, 4.15 and 3.88, respectively. **CONCLUSION** With good transmembrane capacities, taxifolin and dihydromyricetin can be well absorbed *in vivo*. And apigenin, luteolin and hesperetin show good lipophilic properties. The oil-water partition coefficients of flavonoids depend greatly on their structures.
KEY WORDS: flavonoids; oil-water partition coefficients; classical shake-flask method; HPLC

黄酮类化合物是母核结构为 2-苯基色原酮的多酚类化合物, 作为次生代谢产物广泛分布于各种植物中, 常以黄酮糖苷或游离黄酮苷元两种形式存在, 是中草药主要有效成分之一^[1]。目前, 已报道的黄酮类化合物数量已经超过 10 000 种^[2], 其结构类型主要包括黄酮、二氢黄酮、黄酮醇、二氢黄酮醇等。大量研究发现, 黄酮类化合物具有调脂、抗炎、抗氧化、抗病毒、防治糖尿病、治疗心血管疾病、抗肿瘤、抗感染等多种药理活性^[3-5]。

随着研究不断深入, 黄酮类化合物逐渐实现了化学合成, 其作为药物或营养添加剂的单体制剂正

受到关注, 具有较好的开发前景。药物的理化参数与其在生物体内吸收、分布等具有很大的相关性, 有助于预测药物动力学性质^[6], 若以分子形式通过生物膜时, 必须同时具备一定亲水性以及亲脂性, 才能在肠道中被吸收和转运^[7]。

油水分配系数反映了药物的亲水亲油性, 对其透过脂质膜起到决定性作用, 是用于预测其跨膜转运的重要参数。本实验测定了 12 种黄酮的油水分分配系数 (结构见图 1), 并对其进行比较, 以期对该类化合物的生物药剂学分类提供数据支撑, 为其剂型设计提供参考。

收稿日期: 2016-03-28

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81473543)

作者简介: 张慧杰 (1988—), 女, 硕士, 研究方向为药物分析。E-mail: jyhuijie@163.com

* 通信作者: 任晓亮 (1980—), 男, 博士, 副教授, 研究方向为中药分析。Tel: (022) 59596221, E-mail: xiaoliang_ren@sina.com

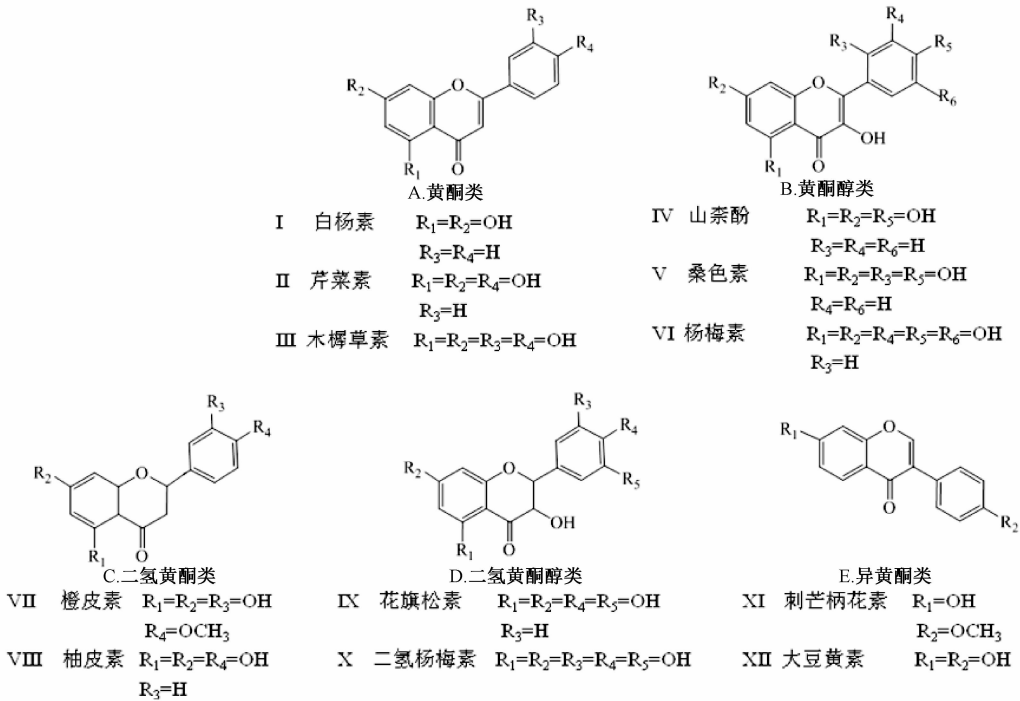


表 2 黄酮化合物线性关系

Tab. 2 Linear relationships of flavonoids

化合物	质量 浓度	回归方程	<i>r</i>	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
白杨素	H	$Y = 103\ 696X - 12\ 112$	0.999 8	0.675 0 ~ 10.800 0
	L	$Y = 82\ 192X + 1\ 024.9$	0.997 4	0.005 3 ~ 0.337 5
芹菜素	H	$Y = 56\ 938X + 330.04$	0.999 5	0.628 1 ~ 10.050 0
	L	$Y = 56\ 367X + 489.13$	0.999 8	0.019 6 ~ 0.314 1
木犀草素	—	$Y = 47\ 715X - 4\ 576.2$	0.999 7	0.177 3 ~ 11.350 0
山柰酚	H	$Y = 38\ 957X - 94\ 119$	0.999 8	7.025 0 ~ 112.400 0
	L	$Y = 24\ 412X - 683.83$	0.996 3	0.043 9 ~ 0.702 5
桑色素	H	$Y = 67\ 974X - 196\ 671$	0.999 7	3.256 3 ~ 104.2
	L	$Y = 31\ 949X - 2\ 270.4$	0.996 5	0.050 9 ~ 1.628 1
杨梅素	H	$Y = 57\ 325X - 429\ 452$	0.997 1	6.412 5 ~ 102.600 0
	L	$Y = 17\ 812X - 6\ 902.8$	0.998 4	0.200 4 ~ 3.206 3
橙皮素	H	$Y = 67\ 333X - 70\ 287$	0.999 6	3.484 4 ~ 55.750 0
	L	$Y = 56\ 222X + 1\ 560.9$	0.999 9	0.027 2 ~ 0.871 1
柚皮素	H	$Y = 66\ 226X - 312\ 525$	0.999 5	6.837 5 ~ 109.400 0
	L	$Y = 24\ 826X - 791.5$	0.999 2	0.053 4 ~ 0.854 7
花旗松素	—	$Y = 61\ 783X + 59\ 621$	0.999 9	16.031 3 ~ 513.00
二氢杨梅素	—	$Y = 67\ 164X - 201\ 296$	0.999 1	3.346 9 ~ 107.10
刺芒柄花素	H	$Y = 109\ 557X - 28\ 578$	0.999 9	1.548 4 ~ 49.55
	L	$Y = 103\ 617X + 1\ 053.6$	0.999 0	0.006 0 ~ 0.096 8
大豆黄素	H	$Y = 50\ 671X - 66\ 490$	0.999 3	1.406 3 ~ 22.5
	L	$Y = 20\ 675X - 629.57$	0.999 6	0.043 9 ~ 1.406 3

注：H 表示高质量浓度，L 表示低质量浓度

表 3 精密度和准确度试验结果

Tab. 3 Results of precision and accuracy tests

化合物	质量 浓度	日内精密度 RSD	日间精密度 RSD	准确度/%
		(<i>n</i> = 6)/%	(<i>n</i> = 18)/%	
白杨素	H	0.39	0.85	102.59
	L	0.91	1.02	105.44
芹菜素	H	0.40	1.04	98.78
	L	0.48	1.21	101.34
木犀草素	—	0.51	1.11	103.58
山柰酚	H	0.37	0.79	95.60
	L	0.39	0.95	95.45
桑色素	H	0.24	1.09	101.16
	L	0.35	1.37	104.88
杨梅素	H	0.24	0.82	104.46
	L	0.33	1.31	103.68
橙皮素	H	0.47	0.97	97.02
	L	0.55	1.22	99.53
柚皮素	H	0.62	1.00	101.47
	L	0.83	1.34	101.93
花旗松素	—	0.22	0.67	100.69
二氢杨梅素	—	0.15	0.24	96.22
刺芒柄花素	H	0.05	0.75	99.38
	L	0.32	1.65	103.77
大豆黄素	H	0.17	0.23	97.74
	L	0.55	0.63	99.33

注：H 表示高质量浓度，L 表示低质量浓度

2.5 油水分分配系数的测定 采用经典摇瓶法，将
1710

等量正辛醇和水混合，超声振荡后静置 24 h，制得正辛醇饱和溶液，加入过量黄酮化合物，超声振荡 5 min 溶解。取 1 mL，15 000 r/min 离心 5 min，上清液溶液稀释至标准曲线范围内，0.45 μm 微孔滤膜过滤，续滤液进样分析，记录峰面积，按标准曲线计算质量浓度 C_1 。精密量取 3 mL，置于具塞玻璃管中，加入正辛醇饱和水溶液 3 mL，密封后放入 25 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴振荡器中振摇 48 h，使其在两相中充分平衡，静置，取下层水液 1 mL，15 000 r/min 离心 5 min，取上清液，0.45 μm 微孔滤膜过滤，续滤液进样分析，记录峰面积，按标准曲线计算质量浓度 C_2 。按照公式 $P = (C_1 - C_2) / C_2$ 计算表观油水分分配系数 (P)，结果见表 4。

表 4 黄酮化合物的油水分分配系数

Tab. 4 Oil-water partition coefficients of flavonoids

类型	化合物	<i>P</i>	Log <i>P</i>
黄酮类	白杨素	23 829.10	4.38
	芹菜素	493.58	2.69
	木犀草素	776.92	2.89
黄酮醇类	山柰酚	74 791.00	4.87
	桑色素	42 155.60	4.62
	杨梅素	16 830.90	4.23
二氢黄酮类	橙皮素	278.50	2.44
	柚皮素	5 868.20	3.77
二氢黄酮醇	花旗松素	56.90	1.76
	二氢杨梅素	23.04	1.36
异黄酮类	刺芒柄花素	14 130.10	4.15
	大豆黄素	7 529.60	3.88

3 结论与讨论

油水分分配系数是表示化合物亲脂性、透过生物膜能力的一种参数，药物在体内的溶解、吸收、分布、转运均与其密切相关。Log*P* < 0 时，药物不易在肠道中被吸收，仅适于血管给药；*P* 值过低 (Log*P* < -2)，化合物水溶性太强，不能穿过脂质膜；*P* 值过高 (Log*P* > 3)，化合物脂溶性太强，从细胞膜另一侧很难释放出来进入附近的血管或淋巴管；0 < Log*P* < 3 时，可从胃肠道给药吸收，而且最佳 *P* 值为 -1 < Log*P* < 2^[7-9]。

本实验采用经典摇瓶法结合 HPLC 法测定 12 种黄酮化合物的油水分分配系数，结果显示，芹菜素与木犀草素 0 < Log*P* < 3，表明两者可经胃肠吸收，而白杨素 Log*P* > 3，为强疏水性化合物。从三者结构上看，白杨素与其他两个化合物的差别在于其 B 环上没有羟基存在，表明该基团可以增加黄酮类化合物的亲水性；山柰酚、桑色素与杨梅素的 Log*P* 均大于 4，表明三者均为强疏水性化合物，在 B 环

上连接的氢基数目对其油水分配系数影响不大，而 C 环 3 位上连接的羟基可减少亲水性，增强亲脂性；二氢黄酮类化合物橙皮素 $0 < \text{Log}P < 3$ ，表明其可经胃肠吸收，而柚皮素 $\text{Log}P > 3$ ，提示 B 环上连接甲氧基可能会增强二氢黄酮类化合物的亲水性；花旗松素、二氢杨梅素均为二氢黄酮醇类化合物，两者 $\text{Log}P$ 值分别为 1.76、1.36，均落在了最佳范围内（ $-1 < \text{Log}P < 2$ ），提示二氢黄酮醇类化合物较易透过脂质膜而被吸收，推测 C 环 2、3 位的单键连接可增强黄酮化合物的亲水性，其连接方式对油水分配系数的影响可能大于 C 环 3 位上羟基；异黄酮类化合物刺芒柄花素、大豆黄素 $\text{Log}P$ 值均大于 3，推测 B 环的连接位置会影响其亲水亲油性。

综上所述，花旗松素和二氢杨梅素的亲水亲油值最佳，在体内能被较好地吸收，芹菜素、木犀草素和橙皮素亲脂性较强，而其他化合物具有强疏水性，在体内吸收较差。在黄酮化合物的结构中，B 环上是否连接羟基，C 环 3 位上是否连接羟基，C 环 2、3 位的连接方式以及 B 环在 C 环上的连接位置均可以影响黄酮化合物的油水分配系数，通过以上结构信息可初步推测其油水分配系数范围。对于油水分配系数值不在理想范围内的化合物，可通过加入促渗剂、制备亚微乳等制剂方法来提高其体内吸收^[10-11]。

本实验通过测定并比较 12 个黄酮化合物的油水分配系数，可为其生物药剂学研究提供数据支撑，并为相关制剂开发提供参考依据。

参考文献：

- [1] 杨丽霞, 姜良恩, 王志程, 等. 中草药黄酮类化合物防治糖尿病肾病的实验研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(5): 230-234.
- [2] Weston L A, Mathesius U. Flavonoids: their structure, biosynthesis and role in the rhizosphere, including allelopathy[J]. *J Chem Ecol*, 2013, 39(2): 283-297.
- [3] 赵雪巍, 刘培玉, 刘 丹, 等. 黄酮类化合物的构效关系研究进展[J]. 中草药, 2015, 46(21): 3264-3271.
- [4] 方一杰, 徐岩成, 安毛毛, 等. 黄酮类化合物的药动学和药理作用研究进展[J]. 药学服务与研究, 2015, 15(1): 6-9.
- [5] Beecher G R. Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake [J]. *J Nutr*, 2003, 133 (10): 3248S-3254S.
- [6] 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[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(13): 52-54.
- [7] 林俊芝, 邹 亮, 傅超美, 等. 红景天苷和酪醇油水分配系数的测定及大鼠小肠吸收动力学研究[J]. 中成药, 2013, 35(3): 483-486.
- [8] 薛王景, 贾晓斌, 谭晓斌, 等. 雷公藤甲素表观油水分配系数的测定及其对吸收预测的研究[J]. 中国药学杂志, 2009, 44(20): 1560-1563.
- [9] Abraham D J. Burger's medicinal chemistry and drug discovery. Vol 2: Drug discovery and drug development[M]. 6th ed. New Zealand: John Wiley Sons Inc., 2003: 249-293.
- [10] 刘 芸, 赵 鹏, 张丽华, 等. 槲皮素亚微乳的制备及特性表征研究[J]. 中成药, 2014, 36(5): 1077-1080.
- [11] 张 定, 王承潇, 杨晓艳, 等. 促渗剂对三七中人参皂苷 Rh_1 体外透皮的影响[J]. 中成药, 2015, 37(3): 511-517.