

# pH 值对吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物表观油水分配系数的影响

凌伟<sup>1,2</sup>, 唐静怡<sup>2</sup>, 石磊<sup>3</sup>, 戴智勇<sup>1</sup>, 徐智<sup>1\*</sup> (1.中南大学湘雅医院, 长沙 410008; 2.中南大学药学院, 长沙 410013; 3.湖南大学化学化工学院, 长沙 410082)

**摘要:** 目的 测定盐酸吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物的表观油水分配系数并探讨 pH 值和结构改造对其的影响。方法 用摇瓶法测定盐酸吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物在正辛醇缓冲液体系中的表观油水分配系数, 建立紫外分光光度法测定其含量。结果 25 °C 时盐酸吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物在 pH 为 4 时其表观油水分配系数最大。结论 盐酸吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物的表观油水分配系数与介质的 pH 和结构改造中引入基团的极性等因素有关。

**关键词:** 盐酸吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物; 表观油水分配系数; 酸碱度; 引入基团

中图分类号: R927.14

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)10-0903-04

## Effect of pH on Apparent Oil/Water Partition Coefficient of Prodrugs of Indomethacin

LING Wei<sup>1,2</sup>, TANG Jingyi<sup>2</sup>, SHI Lei<sup>3</sup>, DAI Zhiyong<sup>1</sup>, XU Zhi<sup>1\*</sup> (1. Department of Pharmacy of Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China; 2. College of Pharmacy, Central South University, Changsha 410013, China; 3. College of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To study the effect of pH on apparent oil/water partition coefficient of prodrugs of indomethacin. **METHODS** The apparent oil/water partition coefficient of prodrugs of indomethacin was measured by shaking flask method. The concentration of prodrugs of indomethacin was determined by UV. **RESULTS** When the temperature was 25 °C, the prodrugs of indomethacin have the highest partition coefficients in *n*-octanol/pH 4 buffer solution system. **CONCLUSION** The apparent oil/water partition coefficients of prodrugs of indomethacin are correlated to pH of the medium and the polarity of group which is added.

**KEY WORDS:** prodrug of indomethacin; apparent oil/water partition coefficient; pH; added group

非甾体抗炎药(NSAIDs)具有抗炎、解热及镇痛作用, 但胃肠道等方面的不良反应一直影响到其临床的安全使用<sup>[1]</sup>。鉴于非甾体抗炎药当化学结构有差异时可能会产生不完全相同的临床效果,

因此各国药物化学家以 COX-2 和 COX-1 结构差异为基础合成了一系列 COX-2 选择性抑制剂<sup>[2-3]</sup>, 期望得到选择性好、不良反应少的非甾体抗炎药物。近年有大量文献报道表明 COX-2 抑制剂还有预防

作者简介: 凌伟, 女, 硕士生 Tel: 13548653342 E-mail: lingwei19851103@163.com  
药师 Tel: (0731)43274555 E-mail: xuzhi927@163.com

\*通信作者: 徐智, 女, 硕士, 硕导, 副主任

和治疗癌症、避孕等药理方面的效果<sup>[4-5]</sup>, 临床应用前景广泛。然而不容忽视的是在减轻胃肠道不良反应同时出现的心脑血管事件为 COX-2 选择性抑制剂的进一步开发与临床应用带来了困扰<sup>[6]</sup>。为设计合成更安全有效的选择性环氧化酶抑制剂, 本实验讨论的吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物是在吲哚美辛母体结构的基础上引入具有抗氧化和抗动脉粥样硬化的吗啉环结构<sup>[7-9]</sup>。

药物的表观油水分配系数不仅反映药物的极性, 还可以预测药物的溶解度及其在体内的分配系数和药物的黏膜渗透性<sup>[10]</sup>。药物适当的脂溶性有利于药物的扩散并透过生物膜, 而水溶性则有利于药物在体液内转运, 达到作用部位与受体结合, 从而产生药物效应<sup>[11]</sup>。本实验采用摇瓶法测定在不同 pH 条件下吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物的表观油水分配系数, 为吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物进行生物利用度研究及体内外评价提供参考。待测定的 7 个吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物结构式见图 1。

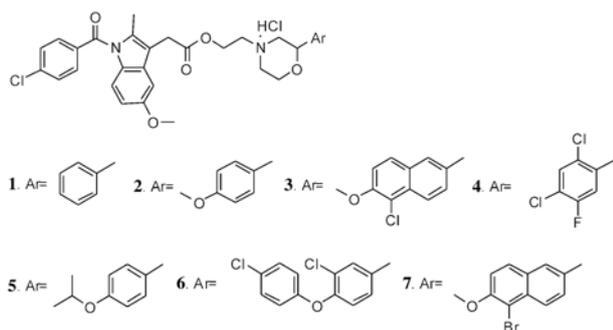


图 1 吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物的结构式(1~7)  
Fig 1 Structures of prodrugs of indomethacin(1~7)

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

UV-VIS 分光光度计(美国 PE 公司); Delta320 酸度计(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司); TDZ4-WS 低速台式离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司); LSZ-300 冷冻水浴恒温振荡器(太仓市华美生化仪器厂); AG285 万分之一精密天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司); 超声清洗仪(宁波科生仪器厂)。

### 1.2 试剂与药品

7 种吲哚美辛的吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物(湖南大学化学化工学院药物研究所, 纯度均 >96%); 正辛醇(分析纯); 水为重蒸馏水。

## 2 方法与结果

### 2.1 测定吲哚美辛吗啉酯衍生物表观油水分配系数的条件考察

**2.1.1 测定条件的选择** 精密称取 7 种吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物依次为 10, 10, 10, 10, 10, 5, 5 mg 于 100 mL 量瓶中, 加被水饱和的正辛醇至刻度, 超声充分溶解, 用有机微孔滤膜过滤, 制备浓度为  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  储备液。精密量取适量储备液分别用被水饱和的正辛醇稀释成浓度为  $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的标准溶液, 以被水饱和的正辛醇为空白, 分别取 7 种化合物的标准溶液在 200~600 nm 内进行扫描, 其最大吸收波长分别为 320, 320, 320, 320, 325, 325, 325 nm。

**2.1.2 线性关系考察** 精密量取按“2.1.1”项下储备液分别用水饱和的正辛醇稀释成相应浓度为 20, 40, 60, 80,  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  与浓度为 10, 20, 30, 40,  $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的系列标准溶液。在相对应波长下测得的吸光度(A)为纵坐标, 浓度(C)为横坐标, 进行线性回归, 得回归方程见表 1, 结果表明化合物 1~5 在  $20\sim 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 化合物 6, 7 在  $10\sim 50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  内与吸光度线性关系良好。

表 1 吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物的线性回归方程

Tab 1 Equation of linear regression of prodrugs of indomethacin

化合物类型	回归方程	r 值
1	$A=0.0113C+0.0258$	0.9995
2	$A=0.0094C-0.0161$	0.9990
3	$A=0.0091C-0.0010$	0.9991
4	$A=0.0088C+0.0016$	0.9998
5	$A=0.0101C-0.0006$	0.9999
6	$A=0.0083C+0.0043$	0.9998
7	$A=0.0113C-0.0068$	0.9990

**2.1.3 仪器精密度试验** 按中国药典 2010 年版二部附录<sup>[12]</sup>, 用 Delta320 酸度计配制 pH 7.0 磷酸盐缓冲液。分别量取 4 mL 7 种化合物储备液置于 10 mL 的具塞刻度离心管中, 分别加入 4 mL pH 7.0 磷酸盐缓冲液, 25 °C 下涡旋 30 min, 转速  $1800 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 使分配达到平衡。将离心管置入离心机  $3000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 15 min, 用 7 种化合物在 pH 7.0 条件下的磷酸盐缓冲液制备的正辛醇-水混合体系, 取上层油相约 3 mL 于比色皿中, 分别测定 7 个吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物的含量, 重复测定 3 次, 测定的 7 种化合物的平均浓度依次为 95.82, 98.77, 94.22, 98.66, 96.43, 49.01,  $49.91 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , RSD 值依次为 0.010 8%, 0.016 2%, 0.029 8%。

0.016%, 0.015 7%, 0.063 5%, 0.072 8%。

**2.1.4 重复性试验** 按“2.1.3”项下方法,用7种化合物分别制备5份在pH 7.0条件下的磷酸盐缓冲液制备的正辛醇-水混合体系,分别测定每份表观油水分配系数 $\log P$ 值,7种化合物分配系数的平均值依次为:1.368, 1.954, 1.202, 1.882, 1.490, 1.697, 2.682, RSD值分别为0.550 2%, 1.518 2%, 0.911 3%, 0.444 6%, 1.061 1%, 1.616 3%, 1.776 5%。

## 2.2 吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物表观油水分配系数的测定

按“2.1.3”项下方法分别配制pH 2.5, 3.0, 4.0, 5.0, 5.8, 6.8, 7.0, 7.6, 7.8~8.0磷酸盐缓冲液。分别精密量取4 mL 7种化合物储备液置于10 mL的具塞刻度离心管中,向各离心管中分别加入4 mL pH 2.5, 3.0, 4.0, 5.0, 5.8, 6.8, 7.0, 7.6, 7.8~8.0磷酸盐缓冲液,25 °C下涡旋30 min,转速为1 800 r·min<sup>-1</sup>,使分配达到平衡。将离心管置入离心机3 000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min。取上层油相3 mL测定其吸光值,计算油相浓度 $C_{油}$ 。药物油水分配系数的数学表达式为: $P=C_{正辛醇}/C_{水}=C_{油}V_{油}/(M-C_{油}V_{油})$ 。式中 $M$ 为加入离心管中吲哚美辛衍生物的质量,计算在吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物不同pH条件下的表观油水分配系数,结果见表2。

表2 不同pH缓冲液-正辛醇条件下的表观油水分配系数吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物

Tab 2 Apparent oil/water partition coefficients of prodrugs of indomethacin in different buffer solution

pH 值	LogP						
	1	2	3	4	5	6	7
2.5	1.26	1.98	1.06	2.07	1.47	2.40	2.09
3.0	1.35	2.06	1.07	2.19	1.48	1.85	2.16
4.0	1.38	2.54	1.21	2.87	1.58	2.99	3.75
5.0	1.24	2.13	1.15	2.09	1.53	2.58	3.27
5.8	1.24	2.07	1.05	1.96	1.50	1.76	2.32
6.8	1.24	2.05	1.07	1.87	1.48	1.69	2.70
7.0	1.36	1.91	1.07	1.84	1.43	1.67	1.93
7.6	1.34	1.88	1.05	1.82	1.37	1.56	1.91
7.8~8.0	1.46	1.87	1.05	1.80	1.40	1.46	3.05

## 3 讨论

本实验在摸索条件时发现此类化合物在水相中的溶解度低而油相中正辛醇的黏度很高,挥发性很低,因此最终建立采用紫外分光光度法测定系列吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物含量,避免了采用反相HPLC测定油相吲哚美辛衍生物浓度对色

谱柱和仪器造成的损害,并克服了测定水相浓度仪器响应值低等缺点,实验表明该方法灵敏、迅速、准确。

通过预实验发现吲哚美辛吗啉酯化合物在强酸与碱性条件下不太稳定,因此为了减少误差,本实验中缩短了涡旋时间(控制在30 min),加快了涡旋速度(控制在1 800 r·min<sup>-1</sup>),使吲哚美辛衍生物在短时间内迅速达到充分平衡。

实验过程中发现化合物6和7在正辛醇中的溶解度相对较低,故配制储备液时改用浓度为50 mg·L<sup>-1</sup>。化合物6和7在正辛醇的溶解度较低可能与化合物6的空间结构过大,化合物7引入的基团中含溴与甲基,分子量较大有关。

本实验模拟理想条件下测定一系列在胃肠道的表观油水吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物分配系数,胃肠道不同的pH值分别为胃1~3,十二指肠4~6,空肠6~7,回肠7,结肠8。故设计考察的是吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物在pH为2.5, 3.0, 4.0, 5.0, 5.8, 6.8, 7.0, 7.6, 7.8~8.0范围内的表观油水分配系数。

药物的脂溶性是影响跨膜转运的重要因素,其脂溶性取决于药物本身的分子结构,以及在不同pH条件下所处的分子型比例<sup>[12]</sup>。本实验通过测定发现随着吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物中不同极性的基团引入,脂水分配系数明显不同,如化合物3和化合物7分别在萘环5位引入的是氯原子和溴原子,数据显示引入溴原子的表观油水分配系数比引入氯原子的表观油水分配系数要大,引入萘基时表观油水分配系数也明显增大。另外实验显示此类吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物在pH为4的缓冲液中,表观油水分配系数为最大,说明在此pH条件下分子型比例可能处于最大。通过对上述系列吲哚美辛芳基吗啉酯衍生物的测定,结果表明其表观油水分配系数不仅与介质的pH有关,还可能与药物改造中引入基团的极性、分子的大小以及药物分子的空间构型等相关。

## REFERENCES

- [1] WOODS K W, MCCROSKEY R W, MICHAELIDES M R, et al. Thiazole analogues of the NSAID indomethacin as selective COX-2 inhibitors [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2001, 11(10): 1325-1328.
- [2] YADAV M R, PAWAR V P, MARVANIYA S M, et al. Site specific chemical delivery of NSAIDs to inflamed joints: Synthesis, biological activity and  $\gamma$ -imaging studies of

- quaternary ammonium salts of tropinol esters of some NSAIDs or their active metabolites [J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16(21): 9443-9449.
- [3] KONKLEM E, HARGROVE T Y, KLESHCHENKO Y Y, et al. Indomethacin amides as a novel molecular scaffold for targeting trypanosoma cruzi sterol 14 $\alpha$ -demethylase [J]. *J Med Chem*, 2009, 52(9): 2846-2853.
- [4] MUSTAFA A, KRUGER W D. Suppression of tumor formation by a COX-2 inhibitor and a PPAR  $\gamma$  agonist in an *in vivo* mouse model of spontaneous breast cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(15): 4935-4942.
- [5] HESTER K E, HARPER M J, DUFFY D M. Oral administration of the cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor meloxicam blocks ovulation in non-human primates when administered to simulate emergency contraception [J]. *Hum Reprod*, 2010, 25(2): 360-367.
- [6] DANIEL H, SOLOMON R J, GLYNNKENNETH J R, et al. Subgroup analyses to determine cardiovascular risk associated with nonsteroidal antiinflammatory drugs and coxibs in specific patient groups [J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 11(8): 1097-1104.
- [7] MICHAEL C C, ELENI A R, IOANNA C S, et al. Nitric oxide releasing morpholine derivatives as hypolipidemic and antioxidant agents [J]. *J Med Chem*, 2002, 45(24): 5406-5409.
- [8] GEORGE N Z, EILENI A R, ANTONIOS M G, et al. New analogues of butylated hydroxytoluene as anti-inflammatory and antioxidant agents [J]. *Bioorg Med Chem*, 2006, 8(13): 5616-5650.
- [9] ANGELIKI P K, CHRISTO S C, ELENI A R, et al. Lipid-lowering(Hetero) aromatic tetrahydro-1,4-oxazine derivatives with antioxidant and squalene synthase inhibitory activity [J]. *J Med Chem*, 2008, 8(51): 5861-5865.
- [10] ZHANG T T, XU W, HU S L, et al. The determination of the equilibrium solubility and apparent oil/water partition coefficients in different medium on silybin [J]. *China Pharm J(中国药学杂志)*, 2006, 41(20): 156-159.
- [11] WANG X M, DENG Y J, ZHAO C J, et al. The determination on  $\beta$ -elemene about apparent oil/water partition [J]. *Shenyang Pharm Univ(沈阳药科大学学报)*, 2005, 22(4): 289-291.
- [12] Ch.P(2010)Vol II (中国药典 2010 年版. 二部) [S]. 2010: Appendix XV D, 176-177.
- [13] WANG Y Z, REN T C, SUN X M. The correlation study on lappaconitine of apparent oil/water partition and the transdermal absorption rate constant [J]. *Shandong Univ Tradit Chin Med(山东中医药大学学报)*, 2006, 30(2): 156-158.