

药物分子 SK&F 96067 与 β -环糊精 之间形成包合物的研究¹⁾

付云峰 沈兴海²⁾

徐宝财

(北京大学技术物理学系,北京,100871)

(北京工商大学化工学院,北京,100037)

摘要 3-丁酰基-8-甲氧基-4-(2-甲基苯基氨基)喹啉(SK&F 96067)是新合成的 $H^+ - K^+$ -ATP 酶抑制剂,它难溶于水。通过紫外吸收光谱、分子荧光光谱和¹H-NMR 的方法研究该药物分子与 β -环糊精(β -CD)之间包合物的形成。研究发现在水环境中该药物分子的紫外吸收光谱有明显的等吸光度点;而且其荧光强度随着 β -CD 浓度的增大而增强,两者的拟合结果表明在水溶液中该药物分子能够与 β -CD 形成 1:1(客体:主体)的包合物;¹H-NMR 的谱图显示该药物分子喹啉环上的质子信号向低场迁移,这是由于其喹啉环部分地进入了 β -CD 疏水腔的结果。

关键词 3-丁酰基-8-甲氧基-4-(2-甲基苯基氨基)喹啉(SK&F 96067); β -环糊精(β -CD); 包合物; 分子荧光; ¹H-NMR

中图分类号 O 641.4

0 引言

环糊精(cyclodextrin, CD)是环状低聚葡萄糖类化合物,常见的 α -、 β -、 γ -CD 分别含有 6, 7, 8 个葡萄糖结构单元,每个葡萄糖单元均为 C₁ 椅式构象,且彼此间通过 α -1,4 糖苷键连接。环糊精分子呈截面锥形,其内腔是疏水性的,外腔是亲水性的,因此它可与许多客体药物分子形成包合物^[1]。

最近几年,人们对新型客体药物分子和环糊精之间形成包合物的研究产生了浓厚的兴趣^[2-6]。药物分子和环糊精形成的包合物,可以改变药物分子的物理化学性质^[2,3],如水溶性、稳定性和生物适用性^[5]。尤其是包合物的水溶性比药物分子大很多,例如,维生素 A 酸(tretinoin)水溶性很小(8×10^{-3} mg/100 mL),而它和 β -CD 的包合物的水溶性可增加到 2.7×10^3 mg/100 mL^[2]。这将有利于促进药物分子在人体中的消化和吸收,提高药效。因此,对药物分子和环糊精之间包合物形成的研究具有理论意义和实际应用价值。

新合成的药物分子 SK&F 96067 是可逆性质子泵^[7]。它作用于 $H^+ - K^+$ -ATP 酶,以抑制胃酸分泌的药物。其分子式为 C₂₁H₂₂N₂O₂,结构式见图 1。本文选择该药物分子来研究其与 β -CD 的作用机理。通过紫外吸收光谱和分子荧光光谱的方法求得包合物组成的化学计量系数

1) 国家自然科学基金(29901001)资助项目

2) 通讯联系人

收稿日期: 2001-04-11; 修回日期: 2001-06-05

和结合常数,并用 $^1\text{H-NMR}$ 谱进一步研究包合物的结构特征。

1 实验部分

1.1 仪器

FL-4500 荧光分光光度仪,日本日立公司生产; Bruker ARX-400MHZ 核磁共振波谱仪,瑞士 Bruker 公司生产;UV-3100 紫外分光光度计(分辨率为 0.1 nm),日本岛津公司生产。

1.2 实验试剂

表 1 SK&F 96067 核磁共振氢谱谱图

Table 1 $^1\text{H-NMR}$ Spectra of SK&F 96067

序号	化学位移 / 10^{-6}	峰形	氢数/个
1	1.05	三重峰	3
2	1.84	六重峰	2
3	2.36	单峰	3
4	3.11	三重峰	2
5	4.06	单峰	1
6	7.10	多重峰	7
7	9.22	单峰	1
8	11.91	单峰	1

说明:溶剂为 CDCl_3 。

1.3 实验方法

取少量的 SK&F 96067 的甲醇溶液($0.01 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$)于 5 mL 容量瓶中,加入一定浓度的 α -CD 溶液混合,加水定容得到待测的澄清溶液。在 UV 测试中,SK&F 96067 的浓度为 $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$,在荧光测试中为 $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 。荧光测试中,SK&F 96067 的激发波长选在最大吸收强度的 256 nm 处,发射波长为 330 nm,出射和入射夹缝为 5 nm。所有荧光强度值均已标准化。

适量 SK&F 96067 样品溶解在 99.9% (体积分数)的 D_2O 中,化学位移以微量甲醇作内标($\delta = 3.30 \times 10^{-6}$)^[11],在 Bruker ARX-400MHZ 上作 $^1\text{H-NMR}$ 。其中 α -CD 的测试浓度为 $1 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$,样品 SK&F 96067 的测试浓度为 $2 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$,所有实验均在约 20 $^\circ\text{C}$ 室温下进行。

2 实验结果及讨论

2.1 SK&F 96067 与 α -CD 作用的谱图特征

2.1.1 吸收光谱图

图 2 为 SK&F 96067 在不同 α -CD 浓度下的吸收光谱,由图 2 可见,随着 α -CD 浓度的增大,其吸收强度逐渐增加,表明 SK&F 96067 可能进入了 α -CD 的疏水腔中。从图 2 上还可看出,

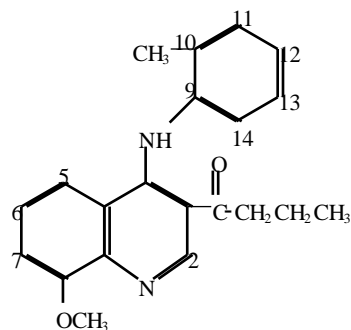


图 1 SK&F 96067 的分子结构式

Fig. 1 Molecular structure of SK&F 96067

实验所用水为 3 次蒸馏水; α -CD (中国华北地区特种试剂开发中心),用 3 次蒸馏水重结晶 3 次;甲醇为北京化工厂产品,分析纯,使用前经过蒸馏、分馏处理;核磁用 D_2O 由美国 ISP 公司提供,纯度为 99.9%;SK&F 96067 在文献[8,9]的基础上合成得到^[10],对产品以 CDCl_3 作溶剂进行核磁共振氢谱分析:由表 1 中对各峰的指认,可以确证 SK&F 96067 的结构。纯度从色谱图上可知为 97.8%。使用前用硅胶色谱柱纯化,并用石油醚重结晶两次。

SK&F 96067 的最大吸收峰波长略有红移(从 253 到 254 nm)。在 274 nm 处有明显的等吸光度点出现,表明有新物质的形成。

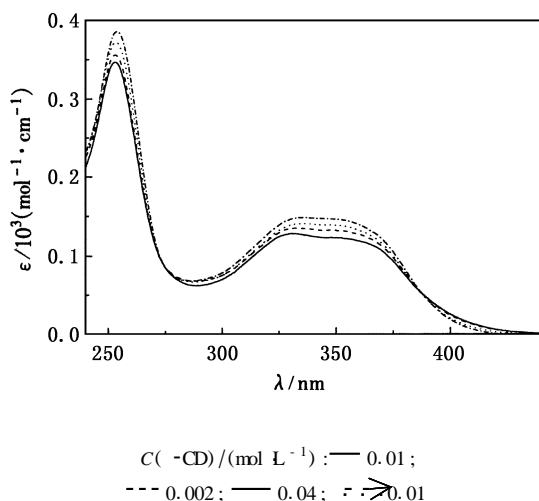


图 2 SK&F 96067 在不同 -CD 浓度下的吸收光谱图

Fig. 2 Absorption spectra of SK&F 96067 at different concentrations of -CD

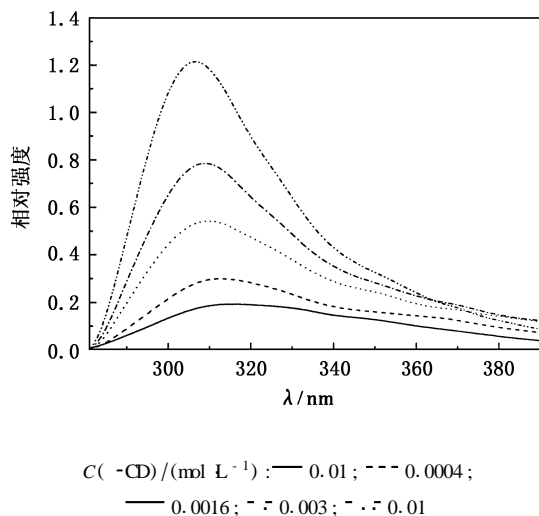


图 3 SK&F 96067 在不同 -CD 浓度下的荧光光谱图

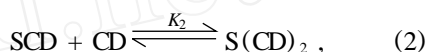
Fig. 3 Fluorescence spectra of SK&F 96067 at different concentrations of -CD

2.1.2 荧光光谱图

图 3 是在不同浓度的 -CD 时,SK&F 96067 的荧光光谱图。随着 -CD 浓度的增加,SK&F 96067 的荧光强度显著增强,且峰位发生蓝移(310 ~ 306 nm)。这些变化也表明 SK&F 96067 与 -CD 之间可能形成了包合物。

2.2 计量系数和结合常数

考虑到 SK&F 96067 分子的尺寸与 -CD 内腔的尺寸,可假设在该分子与 -CD 的二元体系中形成了 1:1 和 1:2 (客体:主体)的包合物,则有如下的平衡式:



此处 S 代表 SK&F 96067, SCD 和 S(CD)₂ 分别代表 1:1 和 1:2 型包合物, K₁ 和 K₂ 分别表示为形成 1:1 和 1:2 型包合物的结合常数。若在低浓度下,整个荧光强度(I)可由下式表示^[12-16]:

$$I = \frac{I_0 + I_1 K_1 C_0 (-CD) + I_2 K_1 K_2 C_0 (-CD)^2}{1 + K_1 C_0 (-CD) + K_1 K_2 C_0 (-CD)^2}. \quad (3)$$

式中 I₀, I₁, I₂ 分别表示药物分子在水中,在 1:1 型包合物中和在 1:2 型包合物中的荧光强度, C₀(-CD) 表示 -CD 的起始浓度。

在此体系中,若只含有 1:1 型二元包合物,则(3)式可简化为:

$$I = \frac{I_0 + I_1 K_1 C_0 (-CD)}{1 + K_1 C_0 (-CD)}, \quad (4)$$

若只含有 1:2 型包合物,则(3)式可简化为:

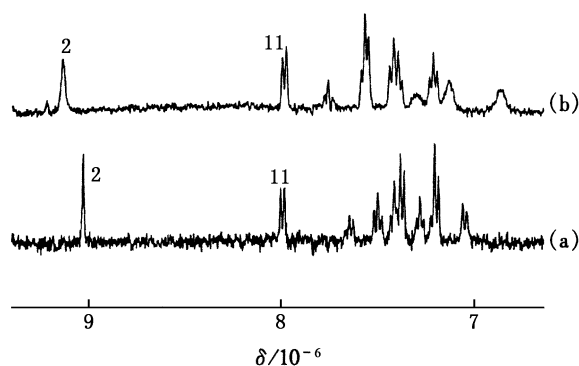
$$I = \frac{I_0 + I_2 K_1 K_2 C_0 (-CD)^2}{1 + K_1 K_2 C_0 (-CD)^2}, \quad (5)$$

按方程(3),(4),(5)进行非线性拟合。结果发现,只有以方程(4)拟合时,才可得到合理的结果(如图 4 所示, r² = 0.997), 结合常数 K₁ 为 (234 ± 17) mol⁻¹ L。这表明,该药物分子与 -环

糊精之间能够以化学计量比 1:1 的方式形成包合物。

2.3 包合物的结构特征

图 5 是 SK&F 96067 和 SK&F 96067/ β -CD 包合物在 D_2O 中的 1H -NMR 谱。SK&F 96067 苯环上甲基取代基上氢的化学位移在水中为 2.171×10^{-6} , 而在 β -CD 中为 2.173×10^{-6} , 其化学位移基本上没有变化。苯环上 11 位上氢的化学位移为 7.984×10^{-6} , 也没有变化。喹啉环上 CH_3O -取代基上氢的化学位移正好位于甲醇的化学位移峰中, 因此不能判断其化学位移的变化。但是从图 5 中可以看出, 加入 β -CD 后 2 位氢的化学位移从 9.030×10^{-6} 变为 9.119×10^{-6} , 非常明显向



(a) SK&F 96067; (b) SK&F 96067/ β -CD

图 5 SK&F 96067 和 SK&F 96067/ β -CD 的包合物在 D_2O 中的 1H -NMR 谱

Fig. 5 1H -NMR spectra of SK&F 96067 in the absence and in the presence of β -CD

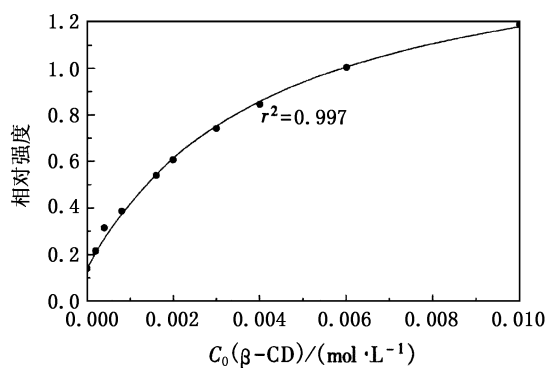


图 4 SK&F 96067 的相对荧光强度对 $C_0(\beta$ -CD) 的拟合结果

Fig. 4 The nonlinear regression of the relative fluorescence intensity of SK&F 96067 versus $C_0(\beta$ -CD)

低场迁移。上述结果表明 SK&F 96067 的喹啉环部分地进入了 β -CD 的疏水腔中, 而甲基苯基团不与 β -CD 作用。

3 结 论

1) 紫外吸收光谱和分子荧光光谱研究表明药物分子 SK&F 96067 和 β -CD 之间形成了 1:1 型包合物, 其结合常数 K_1 为 $(234 \pm 17) \text{ mol}^{-1} \text{ L}$ 。

2) 用 1H -NMR 谱进一步研究了包合物中 SK&F 96067 的取向, 结果表明该分子的喹啉环部分地进入了 β -CD 的疏水腔中。

参 考 文 献

- 1 Saenger W. Inclusion Compounds in Research and Industry. *Angew Chem, Int Ed Engl*, 1980, 19: 344 ~ 362
- 2 Bibby D C, Davies N M, Tucker Ian G. Mechanisms by Which Cyclodextrins Modify Drug Release from Polymeric Drug Delivery Systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 2000, 197: 1 ~ 11
- 3 Ficarra R, Ficarra P, Di Bella M R, et al. Study of β -Blockers and β -Cyclodextrins Inclusion Complexes by NMR, DSE, X-ray and SEM Investigation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2000, 23: 33 ~ 40
- 4 Valentino J S, Venkatramana M R, Erika A Z, et al. Mechanisms of Drug Release from Cyclodextrin Complexes. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1999, 36: 3 ~ 16
- 5 Frömning K H, Szejtli J (Eds.). *Cyclodextrin in Pharmacy*. Dordrecht: Kluwer, 1994, 105 ~ 115

- 6 Albers E, Müller B W. Cyclodextrin Derivatives in Pharmaceuticals. *Crit Rev Therap Drug Carrier Syst*, 1995, 12: 311 ~ 337
- 7 Rhoden K J, Giovanni T, Douglas J S. $H^+ - K^+$ ATPase Inhibitors Cause Relaxation of Guinea Pig and Human Airway Smooth Muscle in Vitro. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1996, 276(3): 897 ~ 903
- 8 Andrews Ian P, Bannister R, Eridge S K, et al. Phosphorus Mediated Cyclisation of a α -Arylaminoacrylamide to a Quinoline: A Simple Synthesis of SK&F 96067. *Tetrahedron Letters*, 1995, 36(42): 7 743 ~ 7 746
- 9 Pak C S, Yang H C, Choi E B. Aminolysis of 5-Acyl-2, 2-dimethyl-1, 3-dioxane-4, 6-diones (Acyl Meldrum 's Acids) as a Versatile Method for the Synthesis of α -Oxo Carboxamides. *Synthesis*, 1992, 11: 1 213 ~ 1 214
- 10 冀振玉, 徐宝财. 3-丁酰基-8-甲氧基-4-(2-甲基苯基氨基)喹啉的合成研究: [学位论文]. 北京: 北京工商大学, 2000
- 11 Matshui Y, Tokunaga S. Internal Reference Compounds Available for the Determination of Binding Constants for Cyclodextrin Complexes by 1H NMR Spectrometry. *Bull Chem Soc Jpn*, 1996, 69: 2 477 ~ 2 480
- 12 Nigam S, Durocher G. Spectral and Photophysical Studies of Inclusion Complexes of Some Neutral 3H Indoles and Their Cations and Anions with α -Cyclodextrin. *J Phy Chem(B)*, 1996, 100: 7 135 ~ 7 142
- 13 Nigam S, Durocher G. Inclusion Complexes of Some 3H Indoles with Cyclodextrins Studied through Excited State Dynamics and Steady State Absorption and Fluorescence Spectroscopy. *J Photochem and Photobio(A): Chem*, 1997, 103: 143 ~ 152
- 14 Shen X, Bellet \hat{e} M, Durocher G. Quantitative Study of the Hydrophobic Interaction Mechanism between Urea and Molecular Probe Used in Sensing Some Microheterogeneous Media. *J Phy Chem(B)*, 1997, 101: 8 212 ~ 8 220
- 15 Shen X, Bellet \hat{e} M, Durocher G. Studies of the Inclusion Complexation between a 3H Indole and α -Cyclodextrin in the Presence of Urea, Sodium Dodecyl Sulfate and n-Propanol. *Langmuir*, 1997, 13: 5 830 ~ 5 836
- 16 Shen X, Bellet \hat{e} M, Durocher G. Spectral and Photophysical Studies of the 1:3 (Guest/Host) Rotaxane-like Inclusion Complex Formed by a 3H Indole and α -Cyclodextrin. *J Phy Chem(B)*, 1998, 102: 1 877 ~ 1 883

Study of the Formation of the Inclusion Complex between Drug SK&F 96067 and α -Cyclodextrin

FU Yunfeng SHEN Xinghai

(Technical Physics Department, Peking University, Beijing, 100871)

XU Baocai

(Chemical Engineering Institute, Beijing Technology and Business University, Beijing, 100037)

Abstract 3-butyl-8-methoxy-4-(2-ethylphenylamino) quinoline (SK&F 96067) has been used as an $H^+ - K^+$ ATPase inhibitor. It is insoluble in water. The formation of the inclusion complex between drug SK&F 96067 and α -CD was studied by UV absorption, fluorescence and 1H NMR spectroscopy. In the aqueous environment a clear isosestic point was observed in the absorption spectra. The fluorescence intensity of SK&F 96067 increased as the concentration of α -CD increased. Continuous variation plot by fluorescence study suggested that 1:1 (guest: host) stoichiometric complex was formed in the solution. The spectral analysis of 1H NMR measurement showed that the signals of the quinoline protons of SK&F 96067 were shifted downfield, resulting from the interaction of α -CD with quinoline ring of SK&F 96067.

Key words 3-butyl-8-methoxy-4-(2-ethylphenylamino) quinoline (SK&F 96067); α -cyclodextrin (α -CD); inclusion complexes; Fluorescence; 1H NMR