

磺胺甲噁啉及其酰化物与低聚物的pH敏感性研究

郝堂娜^{1*}, 李 镇², 乔明曦³, 黄俊梓¹, 裘旭东¹, 陈大为^{3#}(1.大连医科大学附属第二医院药剂科, 辽宁大连 116027; 2.大连医科大学药学院, 辽宁大连 116044; 3.沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)13-1174-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.13.08

摘要 目的:考察磺胺甲噁啉(SM₁)、磺胺甲噁啉酰化物(SM₁M)和磺胺甲噁啉低聚物(OSM₁)的pH敏感性,为将其设计成pH敏感单体提供依据。方法:制备SM₁、SM₁M和OSM₁的NaOH溶液,采用电位滴定法,用0.01 mol/L的盐酸溶液进行滴定,测定SM₁、SM₁M和OSM₁的解离常数(pKa)。采用紫外分光光度法,在256、270、268 nm波长处测定SM₁、SM₁M、OSM₁在6.0、6.5、7.0、7.2、7.4、7.5、8.0 pH下的溶解度。结果:SM₁、SM₁M、OSM₁的pKa分别为6.21、6.64、7.21;随着pH的增加,SM₁、SM₁M、OSM₁的溶解度均有增大的趋势,但对pH变化的敏感程度表现不同。结论:SM₁、SM₁M和OSM₁具有不同程度的pH敏感性,将其作为pH敏感单体具有一定的应用价值。

关键词 磺胺甲噁啉;磺胺甲噁啉酰化物;磺胺甲噁啉低聚物;pH敏感性

Study on pH Sensitive Properties of Sulfamerazine and Its Acylate and Oligomers

HAO Tang-na¹, LI Zhen², QIAO Ming-xi³, HUANG Jun-zi¹, QIU Xu-dong¹, CHEN Da-wei³(1.Dept. of Pharmacy, The Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116027, China; 2.School of Pharmacy, Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116044, China; 3.School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the pH sensitive properties of sulfamerazine (SM₁), sulfamerazine acylate (SM₁M) and sulfamerazine oligomers (OSM₁), and to provide reference for the design of pH sensitivity site. METHODS: NaOH solution of SM₁, SM₁M and OSM₁ were prepared, and dissociation constant (pKa) of SM₁, SM₁M and OSM₁ were determined by potentiometric titration using 0.01 mol/L hydrochloric acid. The solubility of SM₁, SM₁M and OSM₁ under the condition of pH 6.0, 6.5, 7.0, 7.2, 7.4, 7.5 and 8.0 were determined by UV spectrophotometry in 256 nm, 270 nm, 268 nm. RESULTS: The pKa of SM₁, SM₁M and OSM₁ were 6.21, 6.64 and 7.21, respectively. The solubility of SM₁, SM₁M and OSM₁ increased with pH increasing at different levels. CONCLUSIONS: SM₁, SM₁M and OSM₁ possess pH sensitive properties at different levels obviously, holding high potential as pH sensitive units.

KEYWORDS Sulfamerazine; Sulfamerazine acylate; Sulfamerazine oligomers; pH sensitivity

F对映体的纯度在99.5%。虽然收率稍微降低,但是较好地保证了化合物A对映体的纯度。

工艺中革除了文献^[4,8]报道使用的二苯醚、石油醚、四氢呋喃、甲苯、氰化钠、氯化钠等危险试剂操作,安全性得到提高。

综上所述,化合物A改进后的合成工艺,操作简单、反应条件温和易控、成本低、产品纯度高,适合工业化大生产。化合物A在国内外以注射剂上市,原料药注册标准高,市场前景看好,改进后工艺有很好的推广价值。

参考文献

- [1] 赖鑫芬,黄耀东,宗矩.新型心力衰竭治疗药物研究进展[J].世界临床药物,2007,28(3):157.
- [2] 纪木火,李仁奇,张庆伟,等.钙增敏剂左西孟旦的研究进展[J].药物与临床研究,2010,18(5):458.
- [3] 孙晋瑞,王功霞,梁大连.新型抗心衰药:左西孟旦[J].齐鲁药事,2004,23(7):2359.
- [4] 孟繁浩,刘翔宇,刘雅茹,等.新型抗心力衰竭药左西孟旦

* 主管药师,硕士研究生。研究方向:缓控释给药系统及高分子药物载体。电话:0411-84671291-5331。E-mail:hao_na_024@163.com

通信作者:教授,博士研究生导师。研究方向:药物新剂型及其新载体。电话:024-23986308。E-mail:chendawei@syphu.edu.cn

的合成[J].化学与生物工程,2006,23(12):50.

- [5] 张丽娟,宋宏锐,王玉玲,等.6-(4-氨基苯基)-5-甲基-4,5-二氢-3(2H)-吡嗪酮的拆分及左西孟旦的合成[J].沈阳药科大学学报,2004,21(1):22.
- [6] Owing FF, Fox M, Kowalski CJ, *et al.* An enantioselective synthesis of SK & F93505 LR, a key intermediate for preparing cardiotonic agents[J]. *J Org Chem*, 1991, 56(5):1963.
- [7] 陈桂荣,陈玉彬.钙增敏剂:左西孟旦的合成[J].化学工程与装备,2011(3):23.
- [8] 郑士才,谢艳,吕延文,等.左西孟旦中间体6-(4-氨基苯基)-5-甲基-4,5-二氢-3(2H)-吡嗪酮的合成新方法[J].中国新药杂志,2011,20(6):553.
- [9] Robert Greenhouse, Joseph M Muchowski. *Process for preparing 5-aryl 1, 2-dihydro-3H-pyrrolo[1, 2-a]pyrrole-1-carboxylic acids and novel intermediates therein*: US, 4347187 A[P].1982-08-31.
- [10] Baeckstroem R, Haarala J. *Pyridazine derivative*: GB, 2251615[P].1995-06-13.

(收稿日期:2013-11-01 修回日期:2013-12-10)

磺胺类化合物早在1908年就被发现,最初应用于染料业,迄今发现的磺胺类化合物及其衍生物大约有15 000多种,大多作为抗菌药物广泛应用。近几十年不断有研究发现其还可用作电解质、螯合剂、胶片材料以及获得性免疫缺陷综合征和癌症的辅助治疗药物等^[1-2]。文献报道,磺胺类化合物及其衍生物由于—SO₂NH—上取代基R的不同,而具有不同的解离常数(pKa),其范围为3~11^[3]。由于人体内环境pH在7.4左右,即使某一部位发生病变,pH变化也在0.2~0.4个单位范围内波动,这对pH敏感单体的选择提出了更高的要求。将磺胺类化合物进行酰化聚合后,不同的聚合度产生不同的取代基R',又导致其低聚物具有不同的pKa,因而具有不同程度的pH敏感性,甚至对pH的微小变化(0.2个单位)可以应答,将其作为pH敏感单体具有一定的应用价值^[4]。本文以磺胺甲噁啉(Sulfamerazine, SM₁)为单体,先后合成了磺胺甲噁啉酰化物(Sulfamerazine monomer, SM₁M)和磺胺甲噁啉低聚物(Sulfamerazine oligomers, OSM₁),并对三者的pH敏感性进行研究。SM₁的化学结构式见图1,磺胺类化合物解离方程式见图2(图中,R':聚合基团或聚合物;R:供电基团或吸电基团)。

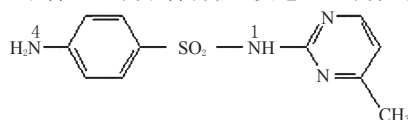


图1 磺胺甲噁啉的化学结构式

Fig 1 Chemical structural formula of sulfamerazine

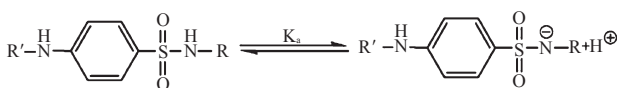


图2 磺胺类化合物解离方程式

Fig 2 Ionization equilibrium equation of sulfonamide compounds

1 材料

1.1 仪器

FA1104电子天平(上海民桥精密科学仪器有限公司); ZDJ-4A电位滴定仪(上海康仪仪器有限公司); pH-2TC精密数pH计(浙江象山县石浦海天电子仪器厂); ZD-85A气浴恒温振荡器(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司); UV-9100型紫外-可见分光光度计(北京瑞利分析仪器公司); 2201型紫外扫描分光光度计(日本岛津公司)。

1.2 药品与试剂

SM₁(美国Sigma公司,批号:55-46826,含量:≥99.0%); SM₁M和OSM₁(沈阳药科大学自制,含量:≥90.0%); 偶氮二异丁腈(AIBN,上海第四试剂厂); N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、磷酸氢二钾(K₂HPO₄)、氢氧化钠(NaOH)均购自天津市博迪化工有限公司; 盐酸(HCl,沈阳经济技术开发区试剂厂); 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 pKa测定

采用自由基引发溶液聚合法,分别以丙酮-水溶液(1:1, V/V)、DMF为溶剂,AIBN为引发剂,合成pH敏感单体SM₁M和OSM₁^[5]。分别称取SM₁、SM₁M和OSM₁各100 mg,溶解于50 ml 0.01 mol/L的NaOH溶液中,用pH计测定其pH分别为10.10、10.94、11.20。分别量取上述SM₁、SM₁M、OSM₁的NaOH溶液各20 ml,采用电位滴定法,用0.01 mol/L的HCl进行滴定,记录滴定终点,每份样品平行测定3次,取平均值,结果见

表1。

表1 SM₁、SM₁M和OSM₁的pKa(25 ℃)
Tab 1 pKa of SM₁, SM₁M and OSM₁(25 ℃)

编号	SM ₁	SM ₁ M	OSM ₁
1	6.21	6.64	7.21
2	6.38	6.88	7.37
3	6.47	6.72	7.16
平均值	6.35	6.75	7.25

2.2 不同pH下溶解度测定

2.2.1 分析方法的建立。以pH 8.0的磷酸盐缓冲液(PBS)为溶剂,配制2 μg/ml的SM₁、SM₁M、OSM₁溶液,在200~400 nm波长范围内进行紫外扫描。结果显示,SM₁纯品的紫外吸收波长为256 nm;而SM₁M和OSM₁为自制合成产物,存在一定的杂质,200~250 nm波长范围内为杂质干扰,确定SM₁M、OSM₁的紫外吸收波长分别为270、268 nm。光谱图见图3。

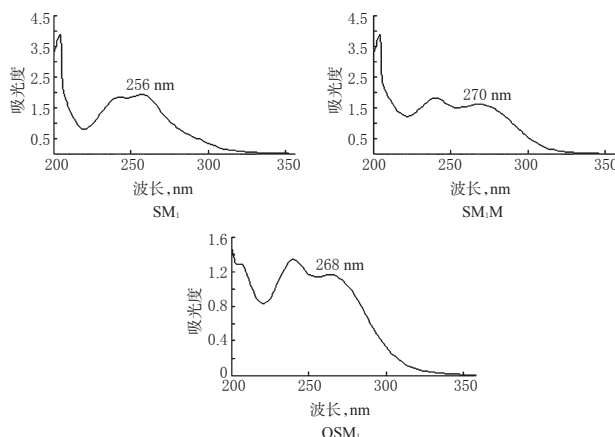


图3 SM₁、SM₁M、OSM₁的紫外扫描光谱(PBS 8.0)

Fig 3 UV scanning spectrum of SM₁, SM₁M and OSM₁(PBS 8.0)

2.2.2 标准曲线的绘制。分别精密称取10 mg的SM₁、SM₁M、OSM₁,置于10 ml量瓶中,以DMF为溶剂,配制成质量浓度为1 mg/ml的贮备液;精密移取1 ml,置于25 ml量瓶中,用pH 8.0的PBS稀释成质量浓度为40 μg/ml的贮备液;再精密移取SM₁贮备液0.25、0.5、0.75、1.0、1.25 ml,SM₁M、OSM₁贮备液各0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 ml,均分别置于10 ml量瓶中,用pH 8.0的PBS稀释至刻度,配制一系列标准溶液。按紫外分光光度法,以吸光度(y)为纵坐标、质量浓度(x)为横坐标进行线性回归,线性关系试验结果见表2。

表2 线性关系试验结果

Tab 2 Test result of linear relationship

样品	回归方程	r	线性范围, μg/ml
SM ₁	y=0.114x-0.004 9	0.999 5	1~5
SM ₁ M	y=0.058x+0.034 6	0.999 6	2~10
OSM ₁	y=0.057x+0.078 9	0.999 7	2~10

2.2.3 回收率与精密度试验。分别精密称取SM₁、SM₁M、OSM₁适量,以DMF为溶剂、pH 8.0的PBS为稀释液,配制低、中、高3个质量浓度(SM₁: 2、3、4 μg/ml; SM₁M、OSM₁: 4、6、8 μg/ml)的供试品溶液,采用紫外分光光度法测定其吸光度,计算回收率。结果SM₁ 3个质量浓度样品的方法回收率分别为100.1%、99.9%、99.8%,SM₁M 3个质量浓度样品的方法回收率分别为99.9%、99.8%、99.8%,OSM₁ 3个质量浓度样品的方法回收率分别为100.1%、99.7%、99.8%。同法制备样品溶液

5份,同日内重复测定5次,考察日内精密性,结果RSD为0.43%、0.26%、0.51% ($n=5$);每日测定3次,连续测定5d,考察日间精密性,结果RSD为1.20%、1.17%、1.28% ($n=5$)。

2.2.4 pH依赖溶解度的测定。配制一系列pH为6.0、6.5、7.0、7.2、7.4、7.5、8.0的PBS,分别称取过量的SM₁、SM₁M、OSM₁,置于25 ml不同pH的PBS中,采用摇床法模拟人体生理条件,于37℃、100 r/min振摇24 h,采用紫外分光光度法检测相应的溶解度,绘制溶解度曲线。不同pH下SM₁、SM₁M、OSM₁的溶解度曲线见图4。

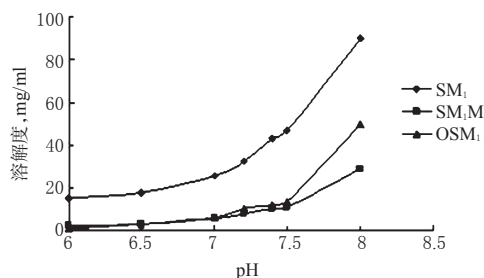


图4 不同pH下SM₁、SM₁M、OSM₁的溶解度曲线(37℃)

Fig 4 Dissolution curves of SM₁, SM₁M and OSM₁ under different pH(37℃)

3 讨论

3.1 SM₁、SM₁M和OSM₁的pKa测定^[9]

由表1结果显示,SM₁、SM₁M和OSM₁具有不同的pKa。磺胺类化合物及其衍生物结构中的磺胺基团是一种弱酸性基团,因为—SO₂NH—中的O原子具有较高的电负性,吸引S原子的电子,导致N—H键的电子云移向N原子从而发生离子化^[6]。不同的磺胺类化合物由于N1位取代基不同,可发生不同程度的离子化,从而具有不同的pKa。将SM₁的N4位进行酰化取代和不同程度的酰化聚合后,必将影响其N4原子周围电子云密度,从而导致SM₁、SM₁M和OSM₁具有不同的pKa。

文献报道测定pKa的常见方法主要有电位滴定法^[7]、紫外分光光度法^[8]、毛细管电泳法^[9]等,本试验采用电位滴定法进行测定。由于SM₁、SM₁M和OSM₁为水溶性较差的弱酸性化合物,故将其溶于NaOH溶液中,使其形成强碱弱酸盐的水溶液,根据Henderson-Hasselbalch方程,则有 $\text{pH}=\text{pKa}+\lg\left(\frac{[\text{N}^-]}{[\text{NH}]}\right)$,计算出pKa。从表1中的数据可以看出,SM₁M的pKa略高于SM₁,说明SM₁经甲基丙烯酰氯取代后,存在吸电效应,使得离子化基团N4位电子云密度增大,致使pKa增大。当SM₁M形成低聚物时,多个SM₁M单元之间存在协同效应,从而导致OSM₁的pKa高于SM₁M。

3.2 SM₁、SM₁M和OSM₁在不同pH下的溶解度测定

SM₁、SM₁M和OSM₁具有不同程度的pH敏感性,因此在相同的pH条件下,其溶解度必然不同。由图4结果显示,随着pH的增大,SM₁、SM₁M和OSM₁的溶解度均有增大的趋势,但对pH变化的敏感程度表现不同。在相同pH条件下,与SM₁相比,SM₁M的溶解度明显降低,但pH敏感性却增强了,这主要是由于SM₁中—NH₂基团被甲基丙烯酰氯取代后疏水性增强,只有在—NH—基团离子化程度较高时才能克服SM₁M的疏水作用力。pH较低时,绝大部分的SM₁、SM₁M和OSM₁未发生离子化,由于分子内部苯环上 π - π 共轭的存在具有较强的疏水相互作用,加之分子间又存在氢键相互作用,结果导致大部分的SM₁、SM₁M和OSM₁以粒子形式存在。pH越低,粒子大小

越大,从而形成不溶性沉淀^[10]。随着pH逐渐增大,SM₁、SM₁M和OSM₁发生不同程度的离子化,当溶液中85%~90%的可离子化基团发生离子化后,则会发生不溶解-溶解的溶解性转变,导致溶解度增大。随着OSM₁中SM₁M含量的增大,即聚合度的增加,OSM₁的pKa并没有发生明显的变化,但发生溶解性转变时的pH却明显升高。这种特性区别于其他pH敏感聚合物,如聚丙烯酸、聚甲基丙烯酸,这些聚合物即使在较宽的pH变化范围内,也不存在不溶解-溶解的溶解性转变^[9]。

4 结语

本文对已合成的SM₁、SM₁M和OSM₁的pKa值及其在不同pH下的溶解度进行考察,验证了其不同程度的pH敏感性,甚至对pH的微小变化(pH 7.5~8.0)可以产生应答,将其作为pH敏感单体具有一定的应用价值。在环境pH发生变化时接受或给予质子,导致亲水/疏水性发生变化。利用其pH敏感性可以调节和控制药物的扩散和释放速率,使得设计有针对性的靶向释药系统成为可能^[11]。

参考文献

- [1] Kojima T, Takano T, Komiyama T. Selective permeation of metal ions through cation exchange membrane carrying N-(8-quinolyl)-sulfonamide as a chelating ligand[J]. *J Membr Sci*, 1995, 102(1/2): 49.
- [2] Chan WH, Lam-Leung SY, Ng CF, et al. Synthesis and characterization of random poly(amide-sulfonamide)s: 3. Copolymers from two diamino monomers[J]. *Polymer*, 1995, 36(23): 4 503.
- [3] Kang SI, Bae YH. pH-induced solubility transition of sulfonamide-based polymers[J]. *J Control Release*, 2002, 80(1/3): 145.
- [4] Han SK, Na K, Bae YH. Sulfonamide based pH-sensitive polymeric micelles: physicochemical characteristics and pH-dependent aggregation[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng Aspects*, 2003, 214(1): 49.
- [5] 郝堂娜, 乔明曦, 古建春, 等. 嵌段共聚物 OSM₁-PCLA-PEG-PCLA-OSM₁ 的合成及其 pH 和温度敏感性[J]. *高等学校化学学报*, 2008, 29(10): 2 101.
- [6] Park SY, Bae YH. Novel pH-sensitive polymers containing sulfonamide groups[J]. *Macromol Rapid Commun*, 1999, 20(5): 269.
- [7] 王孙维, 杨俊英. 电位法滴定多元酸解离常数计算方法的改进[J]. *分析化学*, 1990, 18(3): 275.
- [8] 李广领, 张育平, 邓沛栖, 等. 水杨酸 pKa 的紫外-可见分光光度法测定[J]. *河南科技学院学报: 自然科学版*, 2005, 33(1): 75.
- [9] 刘海兴, 杨更亮, 王德先, 等. 毛细管电泳法测定电离平衡常数[J]. *分析化学*, 2002, 30(1): 125.
- [10] Kang SI, Na K, Bae YH. Sulfonamide-containing polymers: a new class of pH-sensitive polymers and gels[J]. *Macromol Symp*, 2001, 172(1): 149.
- [11] 郝堂娜, 李镇, 乔明曦, 等. 5-氟尿嘧啶可注射缓释凝胶体外释放及其体内药动学研究[J]. *中国药房*, 2010, 21(13): 1 176.

(收稿日期:2013-07-29 修回日期:2013-10-19)