

• 研究论文 •

## 用胶束液相色谱模拟生物膜预测药物的醇-水分配系数 $\log P$

贾宏瑛<sup>a</sup> 杨更亮<sup>\*,a,b</sup> 辛培勇<sup>a</sup> 陈 义<sup>a</sup>

(<sup>a</sup> 中国科学院化学研究所 北京 100080)

(<sup>b</sup> 河北大学药学院 保定 071002)

**摘要** 通过比较药物在不同类型表面活性剂的胶束液相色谱中的容量因子与药物的醇-水分配系数( $\log P$ )的相关性,发现药物在非离子型表面活性剂 Brij35 作为流动相的胶束液相色谱中的容量因子与其文献中报道的  $\log P$  间有一定的相关性,进一步考察了 Brij35 浓度对药物保留的影响,并建立了药物在不同浓度的 Brij35 胶束液相色谱中的容量因子与文献中  $\log P$  的相关关系,该方法简单、快速,将为药物的疏水性评价提供重要的参考价值。

**关键词** 胶束液相色谱; Brij35 表面活性剂; 醇-水分配系数  $\log P$

## Prediction of Octanol-Water Partition Coefficients ( $\log P$ ) of Drugs by Micellar Liquid Chromatography Simulating Biomembrane

JIA, Hong-Ying<sup>a</sup> YANG, Geng-Liang<sup>\*,a,b</sup> XIN, Pei-Yong<sup>a</sup> CHEN, Yi<sup>a</sup>

(<sup>a</sup> Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080)

(<sup>b</sup> College of Pharmacy, Hebei University, Baoding 071002)

**Abstract** Brij35 micellar liquid chromatography (MLC) was presented for prediction of the octanol-water partition coefficient ( $\log P$ ) of drugs by comparing the retention factors of drugs in different surfactants with  $\log P$  in literature. The results showed that the retention factors of drugs in Brij35 MLC were related with  $\log P$  of drugs in literature. The effect of Brij35 concentration on the retention of drugs was studied and the relationship was established between the retention factors of drugs in surfactant of different concentration and  $\log P$ . This method is simple, rapid and can provide valuable reference information for hydrophobicity of drugs.

**Keywords** micellar liquid chromatography; surfactant Brij35; octanol-water partition coefficient  $\log P$

疏水性是影响药物的吸收、血浆蛋白的结合、药物-受体相互作用以及药代动力学的重要的物化性质。在定量构效关系研究中,药物的醇-水分配系数( $\log P$ )是衡量其疏水性最常用的参数。随着现代新药的迅速发展,能够简单、快速地预测药物的  $\log P$ ,对药物的设计和开发具有特殊的意义,所以一直是该领域研究的热点之一。

传统的  $\log P$  的测定方法是通过 shake-flask 法<sup>[1]</sup>,由正辛醇(octanol)-水(water)模拟生物相和水相,测定药物在该体系中的分配比来进行的,该法耗时长、操作繁杂,而且需要大量纯度较高的样品。因此人们一直致力于寻

找一种更为简便快速地预测  $\log P$  的方法以满足药物迅速发展的需求。RP-HPLC 法的发展为药物  $\log P$  的预测提供了一种新的途径,由于其方便、省时,所需样品量少以及对样品纯度要求不高而备受青睐。但由于药物在 RP-HPLC 系统中与在生物相、水相间的分配原理存在很大差异,使得此法只能给出一个粗略的估计。

用胶束液相色谱法,对药物药理性能进行预测是近几年兴起的新方法,它已成功地应用于药物的吸收<sup>[2,3]</sup>、毒性<sup>[4-6]</sup>和生物富集度<sup>[7]</sup>等的预测。用它来模拟生物膜,对药物在生物相-水相间的分配比做出预测,进而对药

\* E-mail: glyang@iccas.ac.cn; Tel.: 010-82627290.

Received September 26, 2006; revised and accepted December 1, 2006.

物的  $\log P$  进行预测, 将比 RP-HPLC 系统所得的结果更接近真实情况.

论文中通过不同类型表面活性剂的对比, 选择以非离子型表面活性剂 Brij35 作为胶束液相色谱, 来模拟生物膜, 以喹诺酮类药物和降血糖类药物为研究对象, 考察它们在胶束液相色谱中的容量因子与药物的醇-水分配系数( $\log P$ )的关系, 进而在该色谱条件下建立容量因子和药物的醇-水分配系数( $\log P$ )的相关模型, 并对该模型的预测性能进行了评价.

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂:

试剂: 聚氧乙烯(23)十二醇(Brij35) (Acros organics); 十二烷基硫酸钠(SDS)和十六烷基三甲基溴化铵(CTAB) (99%, 北京欣经科生物技术有限公司); 磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、正丙醇(分析纯, 北京益利精细化学

有限公司); 盐酸(含量 36%~38%, 天津文达稀贵试剂化工厂); 氢氧化钠(分析纯, 北京化工厂); 甲醇(色谱纯, 天津市康科德科技有限公司); 盐酸二甲双胍, 盐酸苯乙双胍, 格列吡嗪, 格列齐特, 那格列奈, 甲苯磺酸托氟沙星, 奥复星, 司帕沙星, 盐酸左氧氟沙星, 诺氟沙星, 依诺沙星, 洛美沙星(Sigma); 格列喹酮, 格列苯脲, 盐酸环丙沙星(Merck).

仪器: 高效液相色谱仪, 含 LC-10AT 型高压恒流泵以及 SPD-10A(V)型紫外可见检测器(日本岛津公司), HW-2000 色谱工作站(南京千谱), PHS-3C 型精密 pH 计(上海雷磁仪器公司).

### 1.2 实验样品的制备:

本实验选用了 5 种降血糖药和 9 种抗菌药作为研究对象, 其结构及参考  $\log P$  如表 1 所示. 储备液是将 1 mg 的药品溶于 2 mL 的甲醇或 2 mL 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 的磷酸缓冲液中制得并用 0.45  $\mu\text{m}$  滤头过滤后储存于冰箱中备用. 测定时用流动相稀释至所需浓度.

表 1 药物名称、结构及  $\log P$   
Table 1 Names, structures and  $\log P$  of drugs

| 药物名称   | 结构式 | $\log P^a$ |
|--------|-----|------------|
| 盐酸二甲双胍 |     | 0.23       |
| 格列齐特   |     | 2.12       |
| 格列喹酮   |     | 4.65       |
| 格列本脲   |     | 3.8        |
| 格列吡嗪   |     | 1.91       |
| 那格列奈   |     | 4.17       |
| 盐酸环丙沙星 |     | -1.51      |

续表

| 药物名称     | 结构式 | $\log P^a$ |
|----------|-----|------------|
| 司帕沙星     |     | 1.07       |
| 依诺沙星     |     | -0.20      |
| 诺氟沙星     |     | -1.03      |
| 甲苯磺酸托氟沙星 |     | 0.23       |
| 盐酸左氧氟沙星  |     | -0.40      |
| 盐酸洛美沙星   |     | 0.31       |
| 奥复星      |     | -0.39      |

<sup>a</sup> 药物的  $\log P$  从 <http://esc.syrres.com/interkow/webprop.exe> 中查得

### 1.3 流动相的配制

分别配制  $0.1125 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  SDS-正丙醇 ( $V:V=10\%$ );  $0.02 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CTAB 及  $0.02, 0.04, 0.06 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 Brij35 水溶液并用  $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  磷酸缓冲液调其 pH 至 7.4 以保持和生理环境下 pH 值一致. 为了模拟体液中的离子强度及渗透压, 向流动相中加入 NaCl, 使其浓度为  $9.2 \text{ g/L}$ , 用  $0.45 \mu\text{m}$  的微孔过滤膜过滤后倒入储液瓶, 然后超声波消泡后即可应用.

### 1.4 色谱条件

分别用不同组成的胶束溶液做流动相冲 Spherisorb  $\text{C}_{18}$  柱 ( $5 \mu\text{m}, 125 \text{ mm}\times 4.6 \text{ mm I. D.}$ ), 流速为  $1.0 \text{ mL/min}$ , 平衡大约 2 h 后, 开始进样分析, 检测波长  $233 \text{ nm}$ . 药物在该色谱系统中的容量因子数按下式计算:  $k=(t-t_0)/t_0$ , 式中,  $t$  为药物的保留时间,  $t_0$  为每个药物谱图中的第一个色谱峰, 每种药物的容量因子数是测量三次后所得结果的平均值.

## 2 结果与讨论

### 2.1 表面活性剂类型的选择

实验中考察了三种不同类型的表面活性剂: 阴离子表面活性剂十二烷基硫酸钠(SDS), 阳离子表面活性剂十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)以及非离子表面活性剂聚乙氧基月桂醚(Brij35)作流动相时, 用药物的容量因子预测  $\log P$  的可行性, 其散点相关性如图 1 所示.

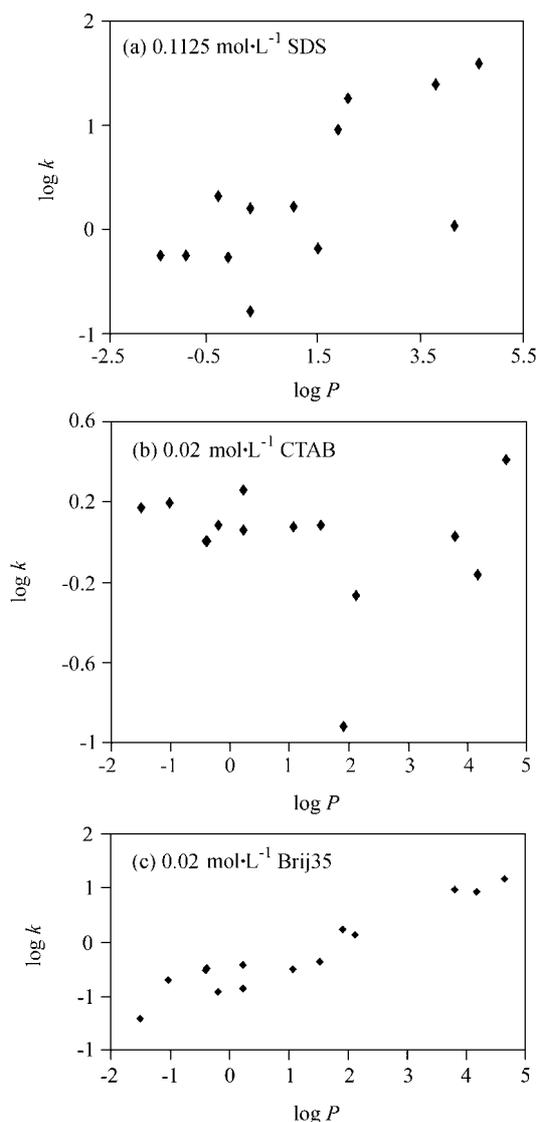


图 1 药物在胶束液相色谱中的  $\log k$  和  $\log P$  的相关点

Figure 1 Relationship plots between  $\log k$  of drugs in MLC and  $\log P$

从图 1 可看出, 所研究的这些药物在阴离子表面活性剂 SDS 胶束液相色谱及阳离子表面活性剂 CTAB 胶束液相色谱中的容量因子和药物的疏水参数  $\log P$  之间没有明显的相关性. 而其在非离子表面活性剂中的容量因子与药物的  $\log P$  间有一定的线性相关性. 这表明以表面活性剂 Brij35 为流动相的胶束液相色谱是较好的一种模拟生物膜的体系. 这主要是由于在离子型的胶束液

相色谱中, 胶束相和固定相上存在过强的负电性或正电性, 药物在这种体系下的保留主要取决于疏水和静电等作用<sup>[8]</sup>. 而生理状态下药物与细胞膜的分配作用以疏水为主、静电其次, 所以离子型胶束液相色谱适用于色谱分离而不适用于模拟药物与生物膜的作用. 而非离子型表面活性剂在水中不解离, 其胶束溶液不会产生过强的电性, 在该体系中, 固定相与溶质的作用以疏水作用为主, 静电作用较弱, 更接近于药物与细胞膜的作用. 因此选择非离子型表面活性剂 Brij35 作流动相的胶束液相色谱来预测药物的疏水性.

### 2.2 Brij35 浓度对药物保留性能的影响

实验中分别考察了药物在 0.02, 0.04, 0.06 mol·L<sup>-1</sup> 的 Brij35 中的保留情况, 表面活性剂 Brij35 的浓度对药物保留的影响如图 2 所示. 从图 2 可以看出, 药物的保留强度随流动相中表面活性剂浓度的增加而减小. 特别是对于强疏水性的药物如格列类的降血糖药其影响更

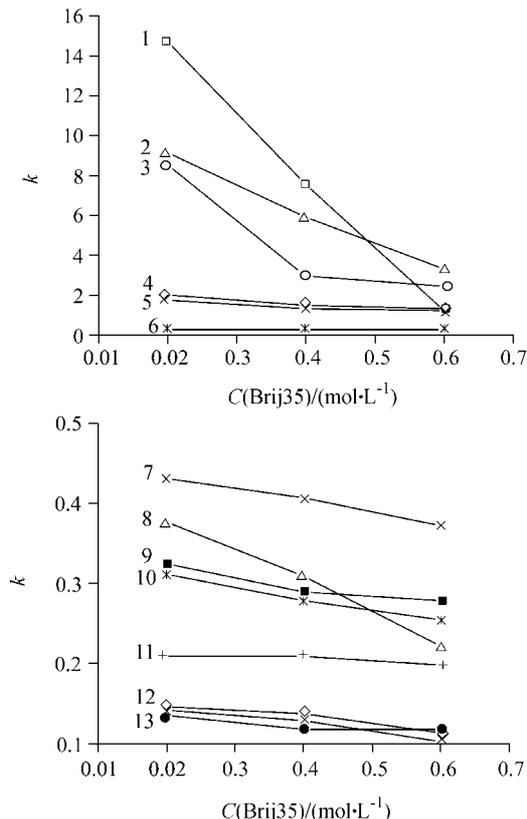


图 2 表面活性剂 Brij35 的浓度对药物保留的影响

(1) 格列喹酮, (2) 格列苯脲, (3) 那格列奈, (4) 格列齐特, (5) 格列吡嗪, (6) 盐酸左氧氟沙星, (7) 盐酸洛美沙星, (8) 甲苯磺酸托氟沙星, (9) 奥复星, (10) 司帕沙星, (11) 诺氟沙星, (12) 盐酸二甲双胍, (13) 盐酸环丙沙星, (14) 依诺沙星

Figure 2 Effect of concentration of Brij35 on the retention of drugs

(1) Gliquidone, (2) Glibenclimide, (3) Nateglinide, (4) Gliclazide, (5) Glipizide, (6) Levofloxacin hydrochloride, (7) Lomefloxacin hydrochloride, (8) Tosufloxacin tosylate, (9) Ofloxacin, (10) Sparfloxacin, (11) Norfloxacin, (12) Metformin hydrochloride, (13) Ciprofloxacin hydrochloride, (14) Enoxacin

为显著. 但对弱疏水性的药物如抗菌药, 其容量因子受流动相中表面活性剂浓度的影响较小. 这主要是由于当流动相中表面活性剂的浓度高于其临界胶束浓度时, 吸附在固定相中的表面活性剂单体的数目会保持动态平衡, 不再随表面活性剂浓度的改变而改变, 而流动相中的胶束数量会随着表面活性剂浓度的增加而增加. 所以当浓度增加时, 流动相的洗脱能力就会增强. 图 3 为一些药物在 Brij35 胶束液相中的色谱图.

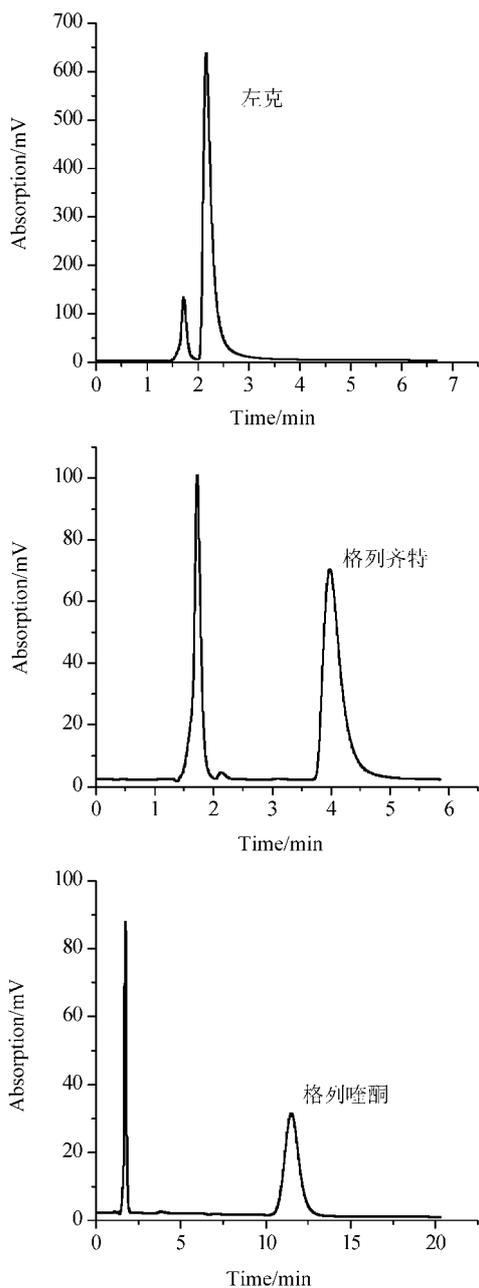


图 3 几种代表药物在  $0.06 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Brij35 中的色谱图  
Figure 3 Chromatograms of some representative drugs studied obtained in  $0.06 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Brij35 mobile phase

### 2.3 药物在不同浓度 Brij35 胶束液相色谱中的容量因子与 $\log P$ 的关系

实验中将药物在不同浓度 Brij35 中的容量因子取对数后与药物的醇-水分配系数  $\log P$  进行拟合, 结果如图 4 所示.

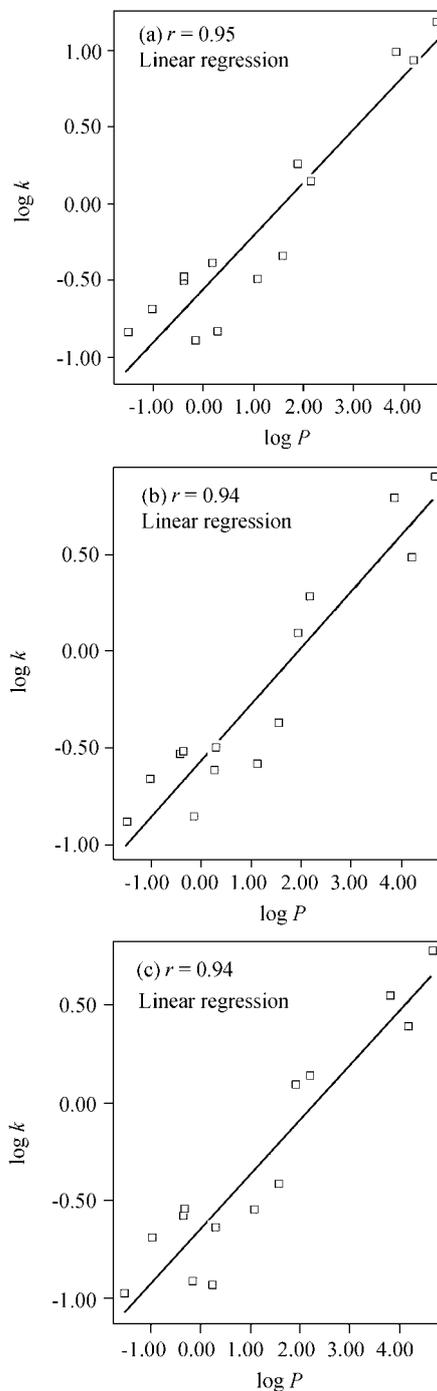


图 4  $\log P$  与药物在不同浓度的 Brij35 中的容量因子的对数  $\log k$  的相关关系

Figure 4 Relationship between  $\log k$  of drugs in different concentration of Brij35 and  $\log P$

(a)  $0.02 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; (b)  $0.04 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; (c)  $0.06 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$

由图 4 可以看出, 药物在 Brij35 胶束液相色谱中的容量因子与药物的醇-水分配系数  $\log P$  之间存在一定的线性相关性, 表面活性剂的浓度对其相关性的影响很小. 在本论文中, 当表面活性剂浓度为  $0.02 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 其相关性较其它浓度稍好, 而且表面活性剂浓度小时, 其流动相的粘度较小, 柱压也较低, 产生气泡的机会较小, 所以实验中可选用药物在较低浓度时的容量因子来进行  $\log P$  的预测.

### 3 结论

本论文采用胶束液相色谱模拟生物膜来预测药物的醇-水分配系数  $\log P$ , 通过不同类型表面活性剂的比较, 非离子型表面活性剂 Brij35 较阴离子型和阳离子型表面活性剂的模拟效果更好, 进一步考察了 Brij35 的浓度对药物保留的影响, 并建立了药物在不同浓度 Brij35 胶束液相色谱中的容量因子的对数  $\log k$  与  $\log P$  间的相关关系, 发现浓度对其相关性的影响很小, 所以可选用较低浓度如  $0.02 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Brij35 模拟生物膜, 此关系的建立将为快速、简单地预测药物的活性提供一定的参考价值.

### References

- 1 OECD Guideline to Test Chemical Products 107, Partition Coefficient (*n*-Octanol/Water), Shake Flask Method, OECD, Paris, France, 1981.
- 2 Molero-Monfort, M.; Escuder-Gilabert, L.; Villanueva-Camanas, R. M.; Sagrado, S.; Medina-Hernandez, M. J. *J. Chromatogr. B* 2001, 753, 225.
- 3 Escuder-Gilabert, L.; Martínez-Pla, J. J.; Sagrado, S.; Villanueva-Camañas, R. M.; Medina-Hernández, M. J. *J. Chromatogr. B* 2003, 797, 21.
- 4 Escuder-Gilabert, L.; Martín-Biosca, Y.; Sagrado, S.; Villanueva-Camañas, R. M.; Medina-Hernández, M. J. *Anal. Chim. Acta* 2001, 448, 173.
- 5 Bermúdez-Saldaña, J. M.; Escuder-Gilabert, L.; Medina-Hernández, M. J.; Villanueva-Camañas, R. M.; Sagrado, S. *J. Chromatogr. B* 2005, 814, 115.
- 6 Bermúdez-Saldaña, J. M.; García, M. A.; Medina-Hernández, M. J.; Marinab, M. L. *J. Chromatogr. A* 2004, 1052, 171.
- 7 Bermúdez-Saldaña, J. M.; Escuder-Gilabert, L.; Medina-Hernández, M. J.; Villanueva-Camañas, R. M.; Sagrado, S. *J. Chromatogr. A* 2005, 1063, 153.
- 8 Mao, J.-J.; Sun, J.; Li, J. Gao, K.; He, Z.-G. *Chin. J. Anal. Chem.* 2005, 33, 1247 (in Chinese). (毛晶晶, 孙进, 李洁, 高坤, 何仲贵, 分析化学, 2005, 33, 1247.)

(A0609263 ZHU, H. F.; DONG, H. Z.)