

# 双苯氟嗪的解离常数及油水分配系数的测定<sup>△</sup>

闫佳文<sup>1\*</sup>, 杨欢<sup>2</sup>, 王静<sup>2#</sup> (1. 南京师范大学化学与材料科学学院, 南京 210023; 2. 河北医科大学药学院, 石家庄 050017)

中图分类号 R942 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)41-3868-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.41.10

**摘要** 目的: 测定双苯氟嗪的解离常数( $pK_b$ )和油水分配系数( $lgP$ )。方法: 采用非对数滴定法, 以不同比例的乙醇-水(70:30、60:40、50:50、40:60,  $V/V$ )为溶剂配制不同浓度(0.01、0.02、0.03 mmol/L)的双苯氟嗪溶液, 用盐酸溶液滴定, 经数学计算推算出双苯氟嗪的 $pK_b$ ; 以正辛醇-水为模拟系统, 采用摇瓶法-紫外分光光度法测定油水分配平衡(正辛醇与水相体积比为1:1、1:3)后双苯氟嗪的浓度, 计算双苯氟嗪的 $lgP$ 。结果: 双苯氟嗪的 $pK_b$ 为8.11; 正辛醇与水相体积比为1:1、1:3时双苯氟嗪的 $lgP$ 分别为 $0.59 \pm 0.038$ 、 $0.85 \pm 0.046$ 。结论: 双苯氟嗪属于脂溶性强的药物。

**关键词** 双苯氟嗪; 解离常数; 油水分配系数; 测定

## Determination the Dissociation Constant and Oil/Water Partition Coefficient of Dipfluzine

YAN Jia-wen<sup>1</sup>, YANG Huan<sup>2</sup>, WANG Jing<sup>2</sup> (1. School of Chemistry and Materials Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To determine the dissociation constant ( $pK_b$ ) and oil/water partition coefficient ( $lgP$ ) of dipfluzine. METHODS: The  $pK_b$  of dipfluzine was determined by non-logarithmic potentiometric titration method. Different proportions of ethanol-water mixtures (70:30, 60:40, 50:50, 40:60,  $V/V$ ) were used to prepare different concentrations of dipfluzine solutions (0.01, 0.02 and 0.03 mmol/L) which were titrated by hydrochloric acid solution. Using n-octyl alcohol-water simulation system, the concentration of dipfluzine was determined and  $lgP$  of dipfluzine was calculated by shake flask-ultraviolet spectrophotometry after balancing oil/water partition (volume ratio of n-octyl alcohol to water as 1:1 and 1:3). RESULTS: The  $pK_b$  of dipfluzine was 8.11;  $lgP$  of dipfluzine were  $0.59 \pm 0.038$  and  $0.85 \pm 0.046$  when the volume ratio of n-octyl alcohol to water was 1:1 and 1:3, respectively. CONCLUSIONS: Dipfluzine is fat soluble drug.

**KEY WORDS** Dipfluzine; Dissociation constant; Oil/water partition coefficient; Determination

药物的解离常数( $pK_b$ )和油水分配系数( $lgP$ )是药物重要的理化性质, 可用于推测药物的溶解、溶出以及体内分布、代谢和排泄等方面的性质, 是药物剂型设计的重要参数。体外测定 $lgP$ 是为了模拟生物体内药物在水相和生物相之间的分配情况, 从而预测其在体内的吸收。测定 $pK_b$ 的方法有: 分光光度法<sup>[1]</sup>、电位滴定法<sup>[2]</sup>、毛细管电泳<sup>[3]</sup>等。上述方法均使用半中和点法求算 $pK_b$ , 由于半中和点法要求药物在水中有足够的溶解度, 因此不适用于难溶性药物 $pK_b$ 的测定。双苯氟嗪(Dipfluzine, DF)是新一代哌嗪类钙拮抗药, 可以选择性地扩张脑血管。其作用强于同类药物桂利嗪和氟桂利嗪, 提示其作为脑血管疾病治疗新药的潜在价值<sup>[4]</sup>, 其 $pK_b$ 、 $lgP$ 等重要理化性质国内外尚未见相关文献报道。笔者采用非对数滴定法测定了双苯氟嗪的 $pK_b$ , 用摇瓶法-紫外分光光度法测定了其油水分配

平衡后的浓度, 据此再计算其 $lgP$ , 可为研究双苯氟嗪的体内过程及剂型开发提供一定的参考。

双苯氟嗪化学结构式见图1。

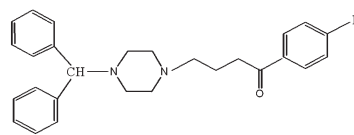


图1 双苯氟嗪化学结构式

Fig 1 Chemical structure of dipfluzine

## 1 材料

### 1.1 仪器

THZ-82A 水浴恒温振荡器(江苏金坛市中大仪器厂); MIA-6型常规分析仪器工作站(南京传滴仪器设备有限公司); TU-1901 双光束紫外分光光度计(北京普析通用仪器责任有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

双苯氟嗪原料药(河北医科大学, 批号: 031188, 纯度: >98.5%); 无水乙醇、正辛醇均为分析纯; 试验用水为蒸馏水。

<sup>△</sup> 基金项目: 河北省教育厅2009年科学研究计划项目(No. 2009148)

\* 在读本科生。研究方向: 分析化学。E-mail: yjw\_1019@163.com

# 通信作者: 教授, 博士。研究方向: 药物分析。电话: 0311-86265622。E-mail: jingwang@home.ipe.ac.cn

## 2 方法与结果

### 2.1 pK<sub>b</sub>的测定

2.1.1 非对数滴定法测定 pK<sub>b</sub>的原理<sup>[5-6]</sup>。假设 B 为一元弱碱，向体积为 V<sub>0</sub>(ml)、浓度为 c<sub>0</sub>的 B 弱碱性溶液中，用浓度为 c<sub>T</sub>的标准盐酸滴定，得到平衡反应式：B+H<sup>+</sup>=HB<sup>+</sup>，电荷平衡为：

$$[H^+]+[HB^+]=[OH^-]+[Cl^-] \quad \dots\dots\dots (1)$$

令：Z=[HB<sup>+</sup>]，代入式(1)中得：

$$Z=[OH^-]+[Cl^-]-[H^+] \quad \dots\dots\dots (2)$$

HB<sup>+</sup>的酸解离常数(K<sub>a</sub>)为：

$$K_a=[H^+][B]/[HB^+] \quad \dots\dots\dots (3)$$

根据物料平衡：

$$c_0=[B]+[HB^+] \quad \dots\dots\dots (4)$$

将式(2)、(4)代入式(3)得：

$$Z=c_0-Z \times K_a/[H^+] \quad \dots\dots\dots (5)$$

另设一元弱碱 B 的碱解离常数(K<sub>b</sub>)，B 与 HB<sup>+</sup>互为共轭酸碱对，又因为：K<sub>a</sub>×K<sub>b</sub>=10<sup>-14</sup>，[H<sup>+</sup>][OH<sup>-</sup>]=10<sup>-14</sup>，整理式(5)得：

$$Z=c_0-Z \times [OH^-]/K_b=c_0-(Z \times [OH^-]) \times \frac{1}{K_b} \quad \dots\dots\dots (6)$$

令 y=Z, x=Z×[OH<sup>-</sup>]，则式(6)为 y=c<sub>0</sub>-x/K<sub>b</sub>。以 y 对 x 作图，斜率即为 -(1/K<sub>b</sub>)。由此，求出不同浓度下、不同比例乙醇-水溶液中双苯氟嗪的 pK<sub>b1</sub>；在同一浓度下，以测得的 pK<sub>b1</sub> 为纵坐标、相应的乙醇-水比值为横坐标作图，外推到乙醇为 0 时即为该浓度条件下纯水中的 pK<sub>b2</sub>；然后再以 pK<sub>b2</sub> 为纵坐标、相对应的药物浓度为横坐标作图，外推至无限稀溶液中的值即为双苯氟嗪的 pK<sub>b</sub>。

2.1.2 双苯氟嗪 pK<sub>b</sub>的测定。采用文献<sup>[7]</sup>的方法，分别以乙醇-水体积比为 70:30、60:40、50:50、40:60 作为溶剂，配制浓度为 0.01、0.02、0.03 mmol/L 的双苯氟嗪溶液，将标定好的盐酸标准液(精确标定浓度为 0.101 8 mol/L)分别用不同比例的乙醇-水溶液稀释 1 000 倍作为滴定剂，滴定对应溶剂、不同浓度的药物溶液。设定被滴定液的体积为 20 ml，于 FJA-1 型常规分析仪器工作站上进行滴定。

2.1.3 双苯氟嗪 pK<sub>b</sub>的计算。以浓度为 c<sub>T</sub>的盐酸标准液滴定浓度为 c<sub>0</sub>的弱碱性药物，滴定曲线见图 2。

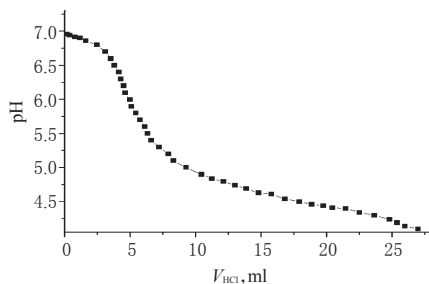


图2 盐酸滴定双苯氟嗪的滴定曲线

Fig 2 The titration curves of dipfluzine by using HCl

测定加入滴定剂后溶液的 pH，直到溶液的 pH 不再变化，记录滴定的体积 V<sub>T</sub>及相应的 pH，此时溶液中各离子浓度分别为：[H<sup>+</sup>]/c<sup>0</sup>=10<sup>-pH</sup>(c<sup>0</sup>=1 mol/L)，[OH<sup>-</sup>]=K<sub>w</sub>/[H<sup>+</sup>][Cl<sup>-</sup>]=c<sub>T</sub>V<sub>T</sub>/(V<sub>0</sub>+V<sub>T</sub>)。计算 y(Z)及 x(Z×[OH<sup>-</sup>])，以 y 对 x 作图，进行回归分析，由此求出不同浓度双苯氟嗪在不同比例的乙醇-水溶液中

的 pK<sub>b1</sub>，回归方程见表 1。

表 1 不同浓度和乙醇-水比例下双苯氟嗪滴定曲线的线性回归方程

Tab 1 The linear regression equations of the titration curve of different concentrations of dipfluzine under different proportions of ethanol-water

双苯氟嗪浓度, mmol/L	乙醇-水体积比	线性回归方程	r (n=6)
0.01	70:30	y=2×10 <sup>-5</sup> -1×10 <sup>7</sup> x	0.993 6
	60:40	y=4×10 <sup>-5</sup> -1.5×10 <sup>7</sup> x	0.991 4
	50:50	y=2×10 <sup>-5</sup> -2×10 <sup>7</sup> x	0.993 5
0.02	40:60	y=2×10 <sup>-5</sup> -3×10 <sup>7</sup> x	0.998 9
	70:30	y=3×10 <sup>-5</sup> -1×10 <sup>7</sup> x	0.998 9
	60:40	y=4×10 <sup>-5</sup> -1.6×10 <sup>7</sup> x	0.995 4
0.03	50:50	y=3×10 <sup>-5</sup> -2×10 <sup>7</sup> x	0.994 4
	40:60	y=3×10 <sup>-5</sup> -3×10 <sup>7</sup> x	0.994 4
	70:30	y=4×10 <sup>-5</sup> -1×10 <sup>7</sup> x	0.998 7
	60:40	y=4×10 <sup>-5</sup> -1.7×10 <sup>7</sup> x	0.990 9
	50:50	y=3×10 <sup>-5</sup> -2×10 <sup>7</sup> x	0.993 4
	40:60	y=3×10 <sup>-5</sup> -3×10 <sup>7</sup> x	0.995 6

在同一浓度条件下，以求得的 pK<sub>b1</sub> 对乙醇-水比例作图，外推到水中即乙醇为零时(方程的截距)，即为该浓度条件下双苯氟嗪在水中的 pK<sub>b2</sub>。pK<sub>b1</sub> 结果见表 2，pK<sub>b1</sub>(y) 与乙醇-水(x) 的线性回归方程及 pK<sub>b2</sub> 见表 3。

表 2 不同浓度双苯氟嗪在乙醇-水混合体系中的 pK<sub>b1</sub>

Tab 2 pK<sub>b1</sub> of different concentrations of dipfluzine in different ratio of ethanol-water mixtures

双苯氟嗪浓度, mmol/L	不同乙醇-水混合体系中 pK <sub>b1</sub>			
	70:30	60:40	50:50	40:60
0.01	7.00	7.17	7.30	7.48
0.02	7.00	7.20	7.30	7.48
0.03	7.00	7.23	7.30	7.48

表 3 不同浓度双苯氟嗪的 pK<sub>b1</sub> 与乙醇-水的线性回归方程及 pK<sub>b2</sub>

Tab 3 The pK<sub>b1</sub>/ethanol-water linear regression equations of different concentrations of dipfluzine and pK<sub>b2</sub>

双苯氟嗪浓度, mmol/L	线性回归方程	pK <sub>b2</sub>
0.01	y=1.57x+8.101	8.101
0.02	y=1.54x+8.092	8.092
0.03	y=1.51x+8.083	8.083

以求得的 pK<sub>b2</sub>(b)对浓度(a)作图，得方程 a=-0.9b+8.11 (r=0.999 9)，根据方程的截距得无限稀释浓度的 pK<sub>b2</sub> 为 8.11，即双苯氟嗪的 pK<sub>b</sub> 为 8.11。

### 2.2 lgP 的测定

基于正辛醇的结构和理化性质的特点，近似生物相，故本文应用正辛醇模拟生物角质层，采用摇瓶-紫外分光光度法<sup>[8-9]</sup>测定双苯氟嗪的 lgP。

2.2.1 测定波长的选择。准确量取 0.20 ml 的双苯氟嗪正辛醇贮备液(500 μg/ml)，置于 10 ml 量瓶中，正辛醇稀释至刻度，以正辛醇为空白，在 200~400 nm 内进行扫描。结果表明，在 228 nm 波长处双苯氟嗪吸光度较大而且远离紫外末端吸收，故选用 228 nm 为测定波长。光谱图见图 3。

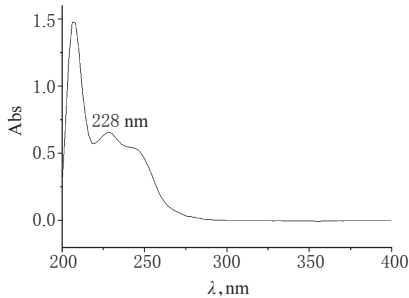


图3 双苯氟嗪在正辛醇溶液中的紫外光谱图

Fig 3 The ultraviolet spectrum of dipfluzine in octanol solution

2.2.2 标准曲线的制备。准确量取0.05、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30、0.35 ml的双苯氟嗪正辛醇贮备液,分别置于10 ml量瓶中,正辛醇稀释至刻度,摇匀,在228 nm波长处测定吸光度。以吸光度( $A$ )与质量浓度( $c$ )进行线性回归,得回归方程为 $A=0.0374c+0.0097$  ( $r=0.9998$ ),双苯氟嗪检测质量浓度的线性范围为2.50~17.5  $\mu\text{g/ml}$ 。

2.2.3 回收率试验。准确量取双苯氟嗪贮备液0.16、0.20、0.24 ml,分别置于10 ml量瓶内,加入相应量被水饱和的正辛醇液,摇匀,正辛醇定容,每个浓度平行3份,在228 nm波长处测定吸光度,计算回收率,结果见表4。结果表明,双苯氟嗪的平均回收率为99.74%,RSD为0.56% ( $n=3$ ),故紫外分光光度法可定量测定双苯氟嗪的含量。

表4 回收率试验结果 ( $n=3$ )

Tab 4 Results of relometry test ( $n=3$ )

加入量, $\mu\text{g/ml}$	测得量, $\mu\text{g/ml}$	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
8.000	7.916	98.95		
8.000	7.922	99.03		
8.000	8.048	100.60		
10.00	9.998	99.98		
10.00	9.945	99.45	99.74	0.56
10.00	10.02	100.20		
12.00	11.94	99.50		
12.00	12.02	100.20		
12.00	11.97	99.75		

2.2.4 精密度试验。分别准确配制低、中、高质量浓度(8、10、12  $\mu\text{g/ml}$ )的双苯氟嗪正辛醇溶液,于同一日内平行测定5次,连续测定5 d,考察日内及日间精密度。结果,平均日内RSD为0.45%,平均日间RSD为0.51% ( $n=5$ ),表明日内及日间精密度均符合方法学要求。

2.2.5  $\lg P$ 的测定。准确移取双苯氟嗪的正辛醇溶液(500  $\mu\text{g/ml}$ )5 ml,分别按照油(正辛醇)-水体积比例1:1、1:3移取相应体积的水相至50 ml锥形瓶中,置于25  $^{\circ}\text{C}$ 水浴恒温振荡器,转速180 r/min,振荡72 h平衡后分液;取上层正辛醇溶液,移取0.25 ml至10 ml量瓶中稀释至刻度。以正辛醇溶液作空白,于最大吸收峰波长228 nm处测定吸光度,代入回归方程求出双苯氟嗪在正辛醇溶液中浓度。

药物 $\lg P$ 的数学表达式为: $P=c_o/c_w$  ( $c_o$ 为油相中药物的浓度, $c_w$ 为水相中药物的浓度),药物分配达到平衡时 $c_w=c-c_o=$

$(cV_o-c_oV_o)/V_w$  ( $c$ 为油相中加入药物的初始浓度, $V_w$ 、 $V_o$ 分别为水相和油相的体积),则 $P=c_o/c_w=c_oV_w/(c-c_o)V_o$ ,代入该式计算 $\lg P^{[8-9]}$ ,结果见表5。

表5 不同油水分配比例下双苯氟嗪的 $\lg P$  ( $n=3$ )

Tab 5  $\lg P$  of dipfluzine in different ratio of oil/water ( $n=3$ )

油-水体积比	$c_o, \mu\text{g/ml}$	$c_w, \mu\text{g/ml}$	$\lg P$	$\lg P$ 平均值
1:1	390.05	109.95	0.55	0.59 $\pm$ 0.038
	402.52	97.48	0.62	
	400.75	99.25	0.61	
1:3	364.29	45.24	0.91	0.85 $\pm$ 0.046
	345.63	51.46	0.83	
	345.42	51.53	0.83	

### 3 讨论

本文曾经尝试紫外分光光度法测定双苯氟嗪的 $pK_a$ ,但发现双苯氟嗪在 $\text{pH}>6$ 的缓冲液中溶解度很小,在溶液配制过程中,出现浑浊现象,故不能采用紫外分光光度测定双苯氟嗪在不同 $\text{pH}$ 值缓冲液中的吸光度。本文选用的非对数滴定法,采用乙醇-水的混合溶剂来代替纯水,再用外推法得出纯水中的 $pK_a$ ,是测定双苯氟嗪 $pK_a$ 行之有效的方法。

用正辛醇模拟生物角质层,应用摇瓶-紫外分光光度法预测 $\lg P$ ,当正辛醇与水相体积比为1:1时, $\lg P>0$  ( $\lg P=0.59 \pm 0.038$ ),双苯氟嗪在油相中的浓度是其在水相中的3.9倍;且油-水体积比越大,双苯氟嗪在油相中的浓度越大,即双苯氟嗪脂溶性较好。

### 参考文献

- [1] 黄群莲,邓以平,徐绍友.紫外分光光度法测定氧氟沙星的解离常数[J].中国药房,2010,21(41):3907.
- [2] 朱志良,梁晓明,张荣华.聚天冬氨酸解离常数的测定[J].分析化学,2005,33(12):1722.
- [3] 陈晓峰,翟红林,李存红,等.毛细管电泳同时测定酚类系列化合物的表观解离常数[J].兰州大学学报:自然科学版,2005,41(1):52.
- [4] 刘会臣,杜玉民,王永利.双苯氟嗪在大鼠体内的代谢途径[J].药理学报,2005,40(2):168.
- [5] 王春霞,刘玉玲.非对数滴定法测定氯雷他定的解离常数[J].中国药理学杂志,2003,38(11):860.
- [6] 黎艳刚,陈海芳,涂明珠,等.非对数滴定法测定葡萄内酯的解离常数[J].时珍国医国药,2011,22(6):1304.
- [7] Benet LZ, Goyan JE. Nonlogarithmic titration curves for the determination of dissociation constants and purity[J]. J Pharm Sci, 1965, 54(8):1179.
- [8] 宋桂军,柳菡,冯芳.替米沙坦油水分配系数的测定及其意义[J].药物分析杂志,2007,27(11):1704.
- [9] 方大树,胡思星,张检.罗格列酮油水分配系数的测定[J].中国药房,2010,21(5):410.

(收稿日期:2013-01-24 修回日期:2013-03-20)