

PAMAM 树状大分子对酮基布洛芬溶解度的影响*

张怀敬¹ 何 华^{1,2**} 吕燕妮¹ 顾 艳¹ CHUONG Pham-Huy³

(¹中国药科大学基础部 ²药物质量与安全预警教育部重点实验室 南京 210009)

(³ Faculty of Pharmacy, University of Paris V, 4 avenue de l'Observatoire 75006, Paris, France)

摘 要 以酮洛芬为模型药物,研究聚酰胺-胺(PAMAM)树状大分子对酮洛芬的增溶作用,并探讨其作用机理.采用紫外光谱法测定了 G1.0、G1.5、G2.0、G2.5、G3.0、G3.5 PAMAM 在不同浓度和不同 pH 时对酮洛芬的增溶量.并运用计算机模拟方法对 PAMAM 与酮洛芬相互作用的机理进行了探讨.实验结果表明,酮洛芬的溶解度随溶液 pH 值变化而变化,在 pH 4.0~6.0 范围内,PAMAM 树状大分子对酮洛芬的增溶量随着 PAMAM 的代数、浓度和溶液 pH 的增加而增大.整代和半代都具有增溶作用.然而,在同一 pH 条件下,对于具有相同官能团数目的整代和半代,整代增溶效果要高于半代.计算机模拟结果表明 PAMAM 与酮洛芬主要靠静电作用力结合.增溶机理可能是酮洛芬的羧基与 PAMAM 的伯胺和叔胺发生静电作用.

关键词 PAMAM 树状大分子, 酮洛芬, 增溶作用

酮洛芬(ketoprofen),化学名称 2-(3-苯甲酰基苯基)丙酸,属于苯丙酸类非甾体抗炎药,兼有镇痛和解热特性,临床上主要用于治疗关节强直性脊柱炎、类风湿性关节炎及骨关节炎,国外还用于术后止痛、牙科疼痛、急性内脏痛、急性肌损伤痛、慢性癌痛及原发性痛经等^[1].酮洛芬难溶于水,对胃肠道有强烈的刺激性,生物利用度低^[2].为了改善其水溶性,采用了加入表面活性剂,生成水溶性盐来提高溶解和吸收效率,或增加药物湿润性和微粉化来提高其生物利用度和水溶性.然而,采用这些方法效果不是很显著.

树枝状大分子(dendrimer)^[3]是 20 世纪 80 年代中期被合成的一种特殊结构的新型高分子,具有高度支化、结构规整、单分散等独特的结构^[4],表面具有大量可修饰官能基团,内部具有大量空腔,可以包裹药物分子,且水溶性好.这些特点使之有希望成为新一代药物载体.常见的提高药物水溶性的方法包括使用表面活性剂作为增溶剂、制成固体分散体和制成包合物等.而用 PAMAM 树状高分子将药物包合起来以增加药物溶解度是一种较新的增溶手段.目前文献报道用 PAMAM 树状大分子及其衍生物来增溶烟酸等药物^[5~8].PAMAM 树状高分子也可以作为药物传递系统的载体,通过设计实现药物的靶向传递^[9].此外,树状大分子也可作为基因载体,其研究主要集中在将基因或者基因抑制剂运输至细胞

核,用于基因治疗或者反义治疗.树状大分子已成为当前高分子化学的一大研究热点,其特殊结构决定了它独特的性质,因此有广阔的应用前景.

虽然树状大分子作为药物载体已有文献报道,但同时考察整代和半代增溶药物并比较其增溶效果的报道较少,而且 PAMAM 对药物增溶机理的研究国内外均处于探索阶段.近年来,随着计算机模拟技术的发展,通过计算机模拟从分子水平解释分子间相互作用的报道日渐增多.分子模拟可以提供分子构象的直观形象,并可以对一些通常无法实现的实验进行模拟,是分子间相互作用机理研究的一个有益补充.因此,本文以酮洛芬为模型药物,系统地研究了整代和半代 PAMAM 对其增溶效果,通过对接和动力学方法模拟,从分子水平探讨了它们的相互作用,试图解释 PAMAM 对药物分子增溶作用的成因.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

UV-1800 型紫外分光光度计(日本岛津公司),pHS-25 型酸度计(上海伟业仪器厂),BS 124S 型电子天平(赛多利斯科学仪器(北京)有限公司),数显恒温水浴锅(常州国华电器有限公司),TGL-16G 台式高速离心机(上海医疗器械(集团)有限公司手术器械厂),磁力加热搅拌器(国华仪器厂),LGJ-10 冷冻干燥机(北京松源华

* 2009-08-11 收稿,2009-11-03 修稿;** 通讯联系人,E-mail:dochehua@163.com

兴科技发展有限公司), FTIR-8400S(日本岛津公司)。

酮洛芬(武穴市迅达药业有限公司), 1.0 ~ 3.5 GPAMAM(实验室自制), 三羟甲基氨基甲烷 Tris(上海精析化工科技有限公司), 无水甲醇, 盐酸, 二次去离子水。

1.2 实验方法

1.2.1 酮洛芬的标准曲线 精密称取干燥至恒重的酮基布洛芬 10.1 mg, 置 50 mL 容量瓶中, 加 75% 甲醇至刻度, 摇匀, 制得 202 $\mu\text{g/mL}$ 的贮备液。精密量取 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 mL 的储备液, 分别置于 10 mL 容量瓶中, 加 75% 甲醇定容至刻度, 即分别制得浓度为 2.02, 4.04, 6.06, 8.08, 10.10, 12.12 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液。酮洛芬在 75% 甲醇溶液中的最大吸收波长为 258 nm, PAMAM 与酮洛芬形成复合物后酮洛芬的吸收峰形和吸收波长均没有改变, 因此, PAMAM 对酮洛芬的增溶实验中, 其吸光度均在 258 nm 下测定^[10]。在该波长下, 通过线性回归求得酮洛芬的标准曲线方程为 $A = 0.0677c - 0.0028$ (c , $\mu\text{g/mL}$), $R^2 = 0.9999$, 酮洛芬的浓度在 2.02 ~ 12.12 $\mu\text{g/mL}$ 的范围内, 其浓度和吸光度有较好的线性关系。

1.2.2 各代 PAMAM 对酮洛芬增溶的考察

为了研究 PAMAM 的增溶效果, 获得其结合的酮洛芬的最大数目, 我们考察了酮洛芬: PAMAM 为不同比例的增溶情况。

将 PAMAM 溶于重蒸水中, 加入酮洛芬, 酮洛芬与 PAMAM 摩尔比为 10:1, 20:1, 30:1, 混合物避光搅拌 24 h, 使用针筒式过滤器过滤, 然后取滤液, 用 75% 甲醇稀释, 258 nm 下测定吸收值, 并根据回归方程计算酮洛芬的溶解度。

1.2.3 PAMAM-酮洛芬复合物的制备及其 FTIR 绘制 参照文献 [5] 方法, 将适量 G3.0PAMAM 溶解于去离子水中, 再加入过量酮洛芬, 避光搅拌 24 h, 用针筒式过滤器过滤, 将滤液冷冻干燥后, 得黄色固体物质。同法制备 G2.5PAMAM-酮洛芬复合物。

采用溴化钾压片法制样, 扫描波长范围为 4000 ~ 400 cm^{-1} , 扫描次数为 10^[11], 获得酮洛芬原料、G2.5PAMAM、G2.5PAMAM-酮洛芬复合物、G3.0PAMAM、G3.0PAMAM-酮洛芬复合物的 IR 图谱。

1.2.4 pH 对 PAMAM 增溶酮洛芬的影响 在

37℃ 条件下, 测定酮洛芬在 pH 2.0 ~ 10.0 (Tris-HCl 缓冲液) 下的溶解度, 离子强度为 0.5 mol/L KCl。

将不同代数的 PAMAM (整代 G1.0 ~ G3.0, 半代 G1.5 ~ G3.5) 树状大分子, 分别用 pH = 4.0 的 Tris-HCl 缓冲液配成 1, 2, 3, 4, 5 mg/mL 的溶液 (pH = 5.0, 6.0 的配制同此)。取过量酮洛芬分别溶于不同质量浓度 (1 ~ 5 mg/mL) 的上述各类 PAMAM 树状大分子溶液中, 于 37℃ 恒温水浴中充分溶解平衡, 以 10000 r/min 的转速离心 3 min, 重复 3 次, 以保证酮洛芬在 PAMAM 树状大分子的溶液中达到溶解平衡^[12]。平衡后的上清液用 75% 甲醇溶液稀释, 于 258 nm 下测定吸收值, 并计算酮洛芬的溶解度。

1.2.5 计算机模拟研究 PAMAM 树状大分子增溶酮洛芬作用机理 PAMAM 树状大分子和酮洛芬分子的分子建模及动力学模拟均是在 InsightII2005 平台上进行, 主要采用软件包中的 Builder 和 Discover-3 模块。

首先在 Builder 模块中分别建模各代 PAMAM 树状大分子的二维结构, 将其转化成三维结构, 然后对 PAMAM 分子外端的氨基进行质子化。在 Discover 程序下指定 CVFF 力场对分子分配电荷, 为了消除分子建模过程中分子结构中的不合理部分, 我们采用分子力学和动力学结合的方式, 在无截断值, 采用距离介电常数的条件下采用最陡下降法依次对分子结构进行优化, 然后对分子进行动力学模拟。得到最优构象, 供对接研究用。

酮洛芬的建模, 首先在 Builder 模块中建模酮洛芬的二维结构, 转化成三维结构。在 Discover 程序下指定 CVFF 力场对分子分配电荷。在无截断值, 采用距离介电常数的条件下采用最陡下降法、共轭梯度法依次对分子结构进行优化, 然后对分子进行动力学模拟。在 CVFF 力场下, 用 Discover-3 模块对分子进行 NVT 动力学模拟, 最终得到的稳定构象在最陡下降法、共轭梯度法依次对分子结构进行优化, 供后面的分子对接研究。

为了考察药物分子和 PAMAM 分子相互作用时能量变化, 我们首先读取 PAMAM 经过优化的分子构象, 然后将酮洛芬对接到 PAMAM 分子中, 对接过程中不断的调整药物分子相对于 PAMAM 分子的方位, 然后对所得的复合物构象进行对接, 采用 Affinity 模块中模拟退火对接方法搜寻酮洛芬分子在空腔内的最优初始构象, 为避免能量值

跳跃过大,采用 Quartic-Vdw-non-Coub 选项仅计算立体相互作用能量,并设 Scale Vdw 系数为 0.1,得到的复合物模型采用最陡下降法,共轭梯度法依次对分子结构进行 2000 步的分子力学优化,能量收敛依据为 $0.042 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{\AA}^{-1}$,进而 MD,在 300 K 下优化 500 ps,最后在最陡下降法,共轭梯度法进行 2000 步的优化,收敛标准为 $0.042 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{\AA}^{-1}$,随后考察详细能量项,分析相互作用机理。

2 结果与讨论

2.1 PAMAM 树状大分子对酮洛芬增溶的考察

整代 PAMAM 树状大分子末端为一级胺,内部为三级胺,而半代末端为酯基,内部为三级胺。为了考察 PAMAM 树状大分子对酮洛芬的最大包含量,我们研究了不同数目酮洛芬在 2 种不同表面基团

($-\text{NH}_2, -\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_3$) 的树状大分子溶液中的溶解效果。实验中,我们加入酮洛芬与 PAMAM 树状大分子的摩尔比 10:1, 20:1, 30:1。其增溶结果见图 1。对于 G1.0 PAMAM 树状大分子溶液中,随着加入酮洛芬数目的增加,每个 PAMAM 分子载药数目没有增加,说明酮洛芬与 G1.0 的摩尔比为 10:1 时,载药量已达到饱和。而对于 G3.0 PAMAM 树状大分子溶液,随着加入酮洛芬数目的增加,溶解于其中的酮洛芬也增加,酮洛芬与 G3.0 的摩尔比为 20:1 时,每个 PAMAM 分子载药数目要多于摩尔比为 10:1 时的数目,当继续增加酮洛芬数目(酮洛芬: G3.0 = 30:1),每个 PAMAM 分子载药数目并未增加,由此说明,当酮洛芬与 G3.0 的摩尔比 20:1 时,载药量已达到饱和。

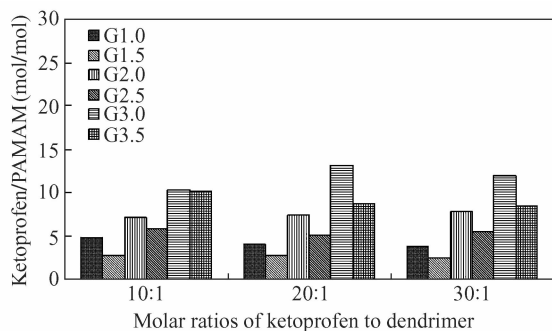


Fig. 1 Ketoprofen encapsulation or complexation with PAMAM dendrimers

Molar ratios of furoseimide to dendrimer added were 10:1, 20:1 and 30:1, respectively

根据上述结果,我们求得各代 PAMAM 树状大分子所结合的最大酮洛芬数目,见表 1。

Table 1 Selected characteristics of PAMAM dendrimers and the maximum number of ketoprofen molecules incorporated per dendrimer molecule determined experimentally

Gn	Molecular weight ^[13] *	No. of tertiary nitrogens	No. of surface groups	No. of ketoprofen molecules/dendrimer molecule
G1.0	516	2	4	4
G1.5	1204	6	8	3
G2.0	1428	6	8	8
G2.5	2804	14	16	6
G3.0	3252	14	16	13
G3.5	6004	30	32	10

* Data in the original literature is experimental value.

从表 1 可以看出,每个 PAMAM 树状大分子的载药数目与代数有关,对于整代而言(G1.0 ~ G3.0),代数越高,载药数目越大,半代(G1.5 ~ G3.5)亦如此。同时也与树状大分子的官能团有关,PAMAM -G2.0 含有 6 个三级胺和 8 个一级胺,每个分子能结合 8 个酮洛芬分子,而 PAMAM-G1.5 含有 6 个三级胺,其末端为酯基官能团,不含一级胺,每个大分子仅能结合 3 个酮洛芬。这表明,与 $-\text{COOCH}_3$ 相比, $-\text{NH}_2$ 能与酮洛芬分子产生更强的作用。对比整代和半代树状大分子的结构可知,半代树状大分子末端没有活性官能团,但对酮洛芬仍然具有增溶效果,因此推测内部基团与酮洛芬分子也存在相互作用。

为了进一步研究 PAMAM 大分子与酮洛芬的相互作用,对酮洛芬原料、G2.5PAMAM、G2.5PAMAM-酮洛芬复合物的 IR 图谱(见图 2A)和 G3.0PAMAM、G3.0PAMAM-酮洛芬复合物的 IR 图谱(见图 2B)进行剖析。

由图 2 发现,酮洛芬的特征吸收峰为 3000 cm^{-1} 附近羟基的伸缩振动宽峰, 1697.41 cm^{-1} , 1653.05 cm^{-1} 可归属于羰基 ($\text{C}=\text{O}$), 1591.33 cm^{-1} 为苯环的骨架振动。G2.5PAMAM-酮洛芬复合物中,酮洛芬的这些特征峰移到了不同的位置,羰基吸收峰移到了 1662.91 cm^{-1} 。G2.5PAMAM 树状大分子的酰胺 I 带峰 ($\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动, 1647.70 cm^{-1}), 酰胺 II 带峰 ($\text{N}-\text{H}$ 弯曲振动, 1541.02 cm^{-1}) 也发生了改变,在 1550 cm^{-1} 处形成了小宽峰。这些说明酮洛芬与 PAMAM 分子形成了氢键,从而导致了酮洛芬 $\text{C}=\text{O}$ 吸收峰向低频移动及 PAMAM 酰胺峰的变化。此外,

G2.5PAMAM 的 $C=O$ 峰(酯基基团)在复合物中相同波长处(1735 cm^{-1})依然存在,说明 G2.5 表

面官能团的酯基并没有完全形成氢键.

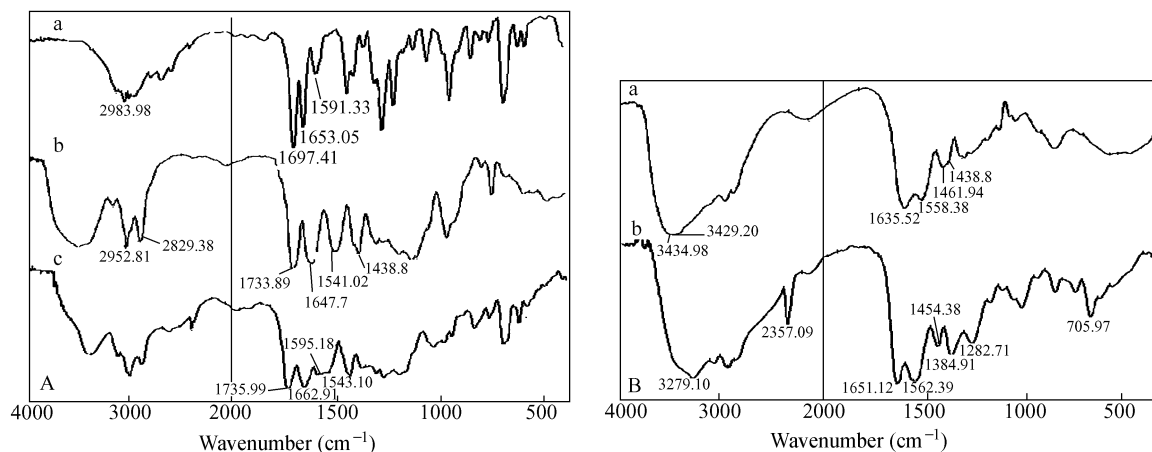


Fig. 2 (A) FTIR spectra of (a) ketoprofen, (b) G2.5 PAMAM and (c) ketoprofen-G2.5PAMAM; (B) FTIR spectra of (a) G3.0PAMAM and (b) ketoprofen-G3.0PAMAM

G3.0PAMAM-酮洛芬复合物同样出现特征基团的移动(见图2B).复合物中,G3.0的伯胺双峰($3434.98, 3429.20\text{ cm}^{-1}$)移到低频区 3279.10 cm^{-1} ,说明伯胺与酮洛芬分子存在相互作用.酮洛芬的 $C=O$ 伸缩振动峰也移到低频区($1697.41 \sim 1651.12\text{ cm}^{-1}$).G3.0PAMAM 的酰胺 I 带峰(1635.52 cm^{-1})和酰胺 II 带峰(1558.38 cm^{-1})在复合物中也发生了变化.

2.2 pH 值对 PAMAM 增溶酮洛芬的影响

37°C 条件下,酮洛芬在 pH 2.0 ~ 10.0 (Tris-HCl 缓冲液)下的溶解曲线图如图3所示.

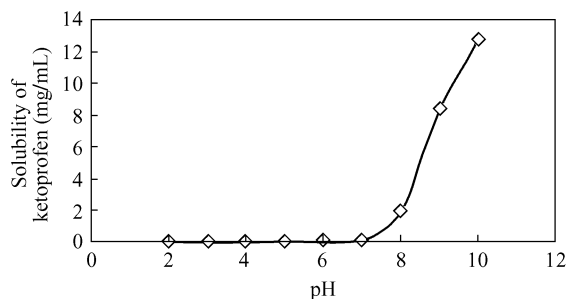


Fig. 3 pH-solubility profile of ketoprofen in Tris-HCl buffers at $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$

为了进一步研究酮洛芬与 PAMAM 树状大分子的相互作用,我们考察了 pH 值对酮洛芬溶解度的影响.图3为随溶液 pH 值的增加,酮洛芬溶解度的变化情况.酮洛芬的溶解度由 pH 2.0 时的 $1.43\text{ }\mu\text{g/mL}$ 增加到 pH 10.0 时的 12.6 mg/mL .原因在于酮洛芬为弱酸类物质,当 $\text{pH} > \text{pK}_a$ 时,酮洛芬完全电离,而离子的形成是其溶解度增加

的重要原因(与水形成很强的极化作用).根据酮洛芬 pH 溶解曲线,利用 Henderson-Hasselbalch 平衡方程式计算酮洛芬的 pK_a 和特性溶解度 S_0 .对于弱酸性药物有:

$$1/[\text{H}_3\text{O}^+] = S/K_a S_0 - 1/K_a \quad (1)$$

式中, $[\text{H}_3\text{O}^+]$ 为氢离子浓度, K_a 为弱酸解离平衡常数, S 为溶液中药物的总浓度(即表观溶解度), S_0 为未解离药物的饱和浓度(又称固有溶解度).以表观溶解度 S 对相应的氢离子浓度(或氢离子浓度的倒数)作图,即可从直线截距得到药物的 pK_a 值并从斜率计算出特性溶解度.

根据酮洛芬的 pH 溶解曲线,以 $1/[\text{H}_3\text{O}^+]$ 对 S 作图^[14],在 pH 4.0 ~ 6.0 呈线性,见图4.进而求得酮洛芬 37°C 的 pK_a 和 S_0 分别为 5.1 和 $6.37\text{ }\mu\text{g/mL}$.

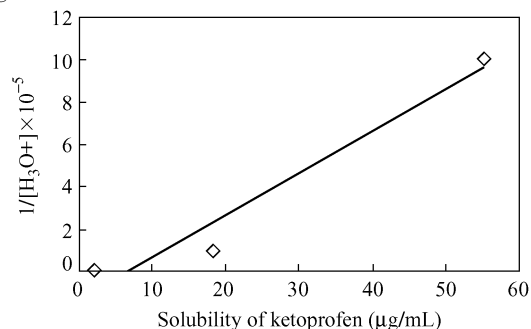


Fig. 4 $1/[\text{H}_3\text{O}^+]$ versus solubility plot of ketoprofen plotted according to the Henderson-Hasselbalch equation $y = 19669x - 125347$, $R = 0.9771$, $K_a = 7.98 \times 10^{-4}$, $\text{pK}_a = 5.1$, $S_0 = 6.37\text{ }\mu\text{g/mL}$

酮洛芬为弱酸难溶性药物,实验中求得其解离平衡常数为 5.1,而溶液的 pH 值将影响酮洛芬的解离,为此,选择溶液的 pH 为 4.0~6.0,考察

PAMAM 对酮洛芬溶解度的影响.

37℃ 下,整代(G1.0、G2.0、G3.0)PAMAM 在不同浓度下对酮洛芬的增溶作用见图 5.

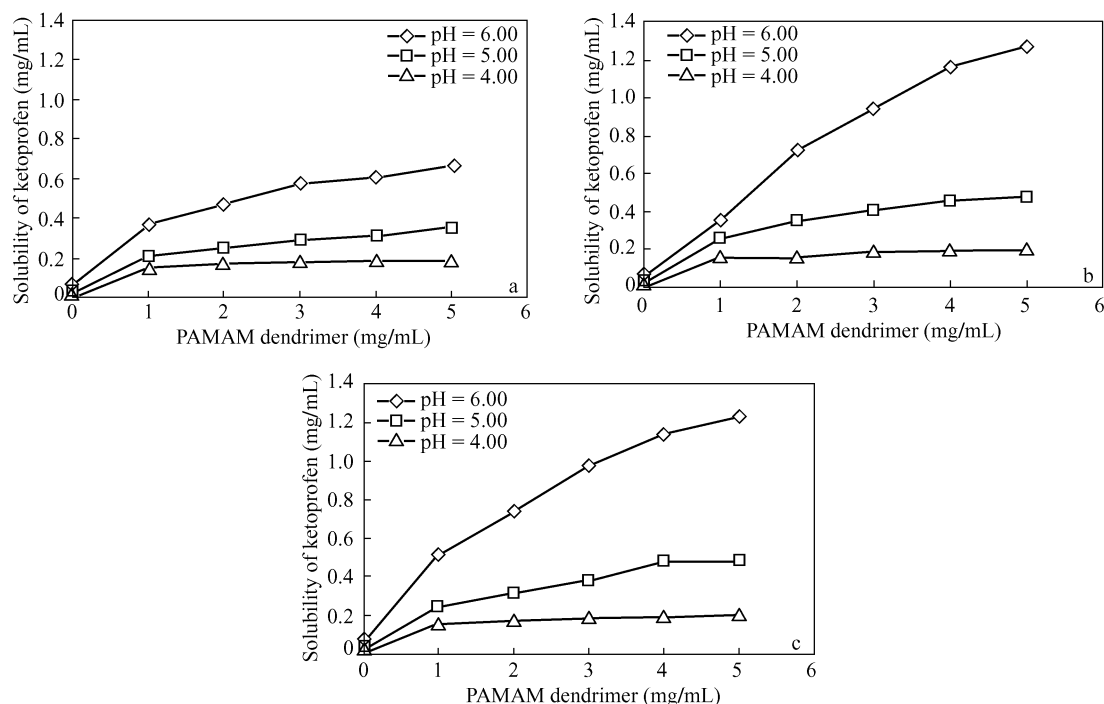


Fig. 5 The solubility of ketoprofen in the presence of increasing concentrations of PAMAM G1.0, G2.0 and G3.0 at pH 4.0, pH 5.0 and pH 6.0 (a G1.0; b G2.0; c G3.0)

从图 5 可以看出, PAMAM 树状大分子增加了难溶性药物酮洛芬的溶解度,例如,在二次去离子水中,酮洛芬的饱和浓度约为 0.055 mg/mL,而在 pH=6.0 的 1 mg/mL G3.0 溶液中,其饱和浓度为 0.51 mg/mL. PAMAM 树状大分子能对药物分子产生增溶作用的主要原因有(1)PAMAM 树状大分子外围氨基和药物分子羧基的静电作用^[15]; (2) PAMAM 树状大分子疏水性和开放性的空腔能够容纳药物分子^[16]; (3) PAMAM 树状大分子空腔内酰胺基和客体分子的氢键作用^[17,18].

酮洛芬的饱和浓度受 PAMAM 浓度、代数及溶液 pH 的影响,结果见图 5. 随着 PAMAM 浓度的增加,酮洛芬的溶解度也增加,原因在于随着 PAMAM 浓度的增加, PAMAM 分子增多,其末端氨基,内部空腔均增多,能结合的药物分子数量也随之增多,因此,酮洛芬的溶解度增大. 另外,随着代数的增加,酮洛芬的溶解度也增加,如质量浓度为 5 mg/mL 时, pH=5.0, G3.0、G2.0、G1.0 PAMAM 溶液中酮洛芬的饱和浓度分别为 0.49、0.48、0.35 mg/mL. 这是因为随着 PAMAM 代数的增加,所包含的伯胺和叔胺的数量也增加,高代 PAMAM 的内

部空腔也增多,能结合更多的酮洛芬分子. 此外, pH 值也对酮洛芬的浓度有重要影响,结果如图 5 所示,对于给定的树状大分子, pH 越高,酮洛芬的溶解度越大. 37℃ 时酮洛芬的 $pK_a = 5.1$, 当 $pH > 5.1$ 时,酮洛芬完全电离,形成较多的 $-COO^-$, 与 PAMAM 的 $-NH_4^+$ 发生静电作用. 因此,酮洛芬溶解度的增加,与 PAMAM 分子本身氨基的质子化程度及酮洛芬的电离有关.

半代(G1.5、G2.5、G3.5)PAMAM 树状大分子,在不同载体浓度下对酮洛芬的增溶作用如图 6.

由图 6 可以看出,半代 PAMAM 对酮洛芬也表现出增溶作用,半代 PAMAM 末端基团为酯基,末端基团无法与酮洛芬的羧基产生静电作用,根据其增溶效果,我们推测增溶部位在其内部. 增溶机理有 3 点: (1) 空腔内酰胺基和客体分子的氢键作用; (2) PAMAM 树状大分子疏水性和开放性的空腔能够容纳药物分子; (3) 当 pH 值为 3.0~6.0 时, PAMAM 的内部三级胺也会质子化,生成 $-NH_4^+$, 进而与酮洛芬的 $-COO^-$ 产生静电结合^[14].

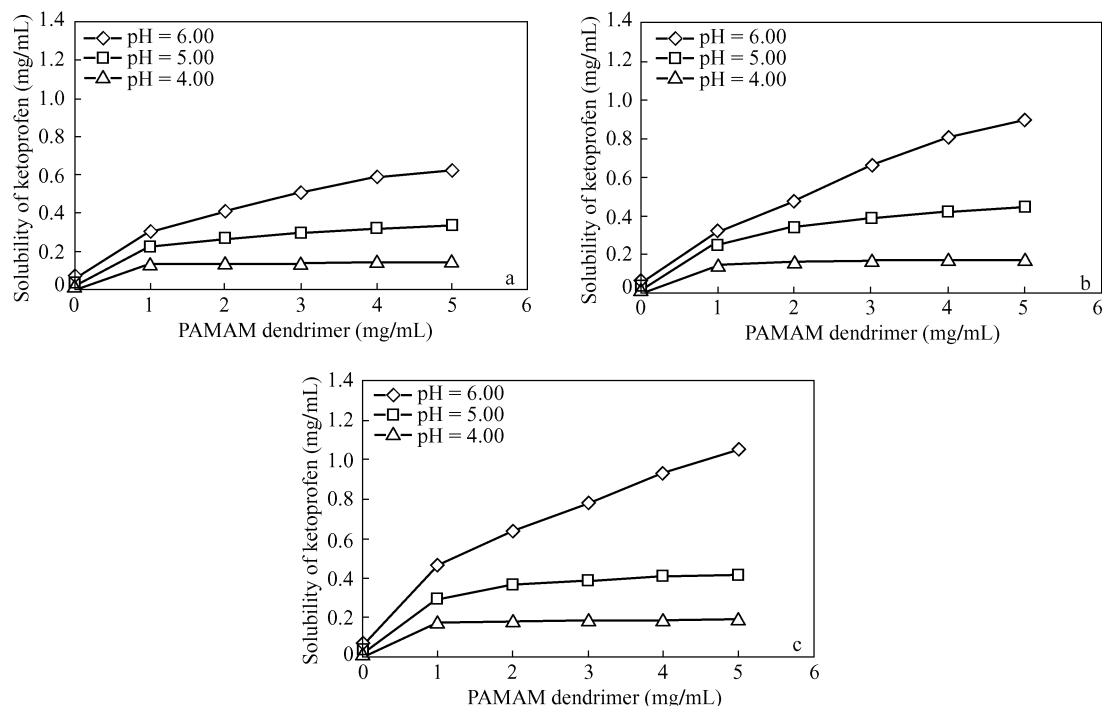


Fig. 6 The solubility of ketoprofen in the presence of increasing concentrations of PAMAMG1.5, G2.5 and G3.5 at pH 4.0, pH 5.0 and pH 6.0 (a G1.5; b G2.5; c G3.5)

半代 PAMAM 的增溶效果也受 PAMAM 浓度、代数及溶液 pH 的影响. 随着 PAMAM 浓度的增加, 酮洛芬的溶解度也增加, 结果见图 6. 对于给定浓度和 pH 值的 PAMAM, 增溶效果 $G3.5 > G2.5 > G1.5$, 如质量浓度为 1 mg/mL 时, pH = 6.0, G3.5、G2.5、G1.5 PAMAM 溶液中酮洛芬的溶解度分别为 0.46、0.32、0.30 mg/mL. 对于给定的 PAMAM, 酮洛芬的溶解度随溶液 pH 值的增加而增加, 结果见图 6, 原因在于, pH 值增加, 酮洛芬解离增加, 可以与内部质子化三级胺产生静电作用, 从而增加了酮洛芬溶解度.

整代 PAMAM 表面为一级胺基团, 内部含三级胺, 半代表面为酯基, 内部含三级胺. 文献报道^[14]表面一级胺的 pK_a 值为 7.0 ~ 9.0, 内部三级胺为 3.0 ~ 6.0, 生理条件下, 大多数一级胺质子化, 本实验选择的 pH 值为 4.0 ~ 6.0, 内部三级胺也会质子化. 因此, 改变溶液的 pH 值, 也会改变 PAMAM 的质子化水平, 而这将会影响 PAMAM 对酮洛芬的增溶能力. 在给定 pH 值时, 对于相应的半代和整代, 整代增溶效果要高于半代, 如质量浓度为 1 mg/mL, pH = 6.0 时, G3.0、G2.5 PAMAM 溶液中酮洛芬的饱和浓度分别为 0.51、0.32 mg/mL, 增溶效果 $G3.0 > G2.5$, 半代较整代相比, 少了末端一级胺, 而质子化的末端一级胺能与酮洛

芬的羧基产生静电作用, 进而增溶药物.

2.3 计算机模拟 PAMAM 与酮洛芬相互作用

PAMAM 动力学模拟之后, 模型分子呈不规则的球状, 分子的溶剂可及性表面(图 7)上有很多的凸起和凹槽, 再加上分子表面能形成氢键的氨基和羰基氧原子, 这些亲水性的基团或原子对分子的溶解性起到很大作用, 因此 PAMAM 能溶于水. 同时 PAMAM 分子表面也提供了药物分子酮洛芬等结合的位点, 通过与 PAMAM 分子表面契合, 形成稳定的复合物, 如图 8, 这是药物分子能被增溶的原因之一. 另外, 在其分子内部具有较多的分子空腔, 药物分子有可能进入形成的分子空腔, 从而起到增溶的作用.

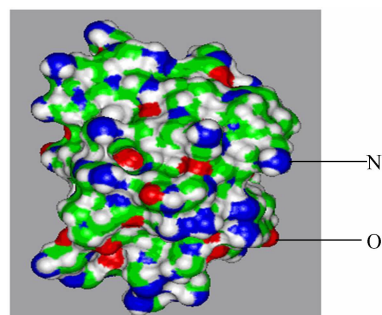


Fig. 7 Contact surface of 3.0G PAMAM dendrimer after MD

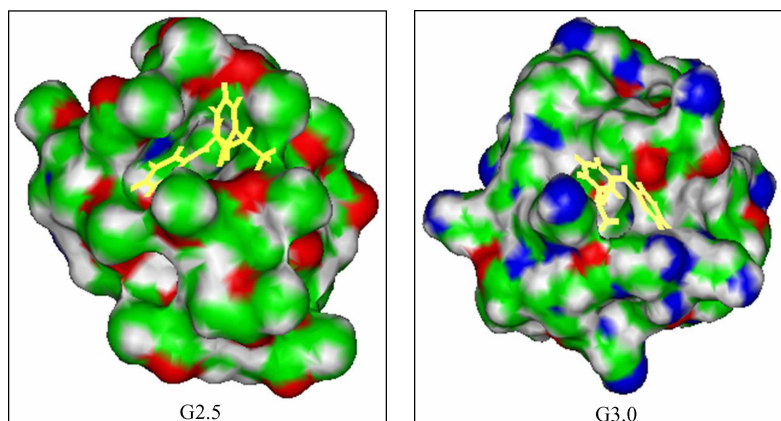


Fig. 8 Conformation of the Ketoprofen-PAMAM compound

Table 2 MD results of Ketoprofen-2.5G and Ketoprofen-3.0G PAMAM compound (kJ/mol)

Ketoprofen-PAMAM compound	Total potential energy	Internal	Nonbond	Vdm	Electrostatic
Ketoprofen-PAMAMG2.5 compound	86.4711	835.7986	-749.3274	177.3200	-926.6474
Ketoprofen-PAMAMG3.0 compound	-452.2443	836.0885	-1288.3328	118.1232	-1406.4560

进一步从能量角度研究了 PAMAM 与酮洛芬间相互作用,结果如表 2 所示.由表 2 可见,总势能是由键合作用力和非键作用力组成,其中非键作用力占主要地位.非键作用力主要包括范德华力和静电力,其中静电力占主导地位.因此认为静电作用力是 PAMAM 增加酮洛芬溶解度的主要因素.

3 结论

本文主要研究了整代与半代 PAMAM 树状大

分子对酮洛芬的增溶作用,比较整代与半代的增溶效果,同时考察了 pH 值对增溶效果的影响,并采用计算机模拟法探讨 PAMAM 与酮洛芬相互作用机理.研究表明,PAMAM 树枝状高分子对酮洛芬具有良好的增溶作用,其效果高代优于低代;整代优于半代;同时,酮洛芬的溶解度与 pH 密切相关.从能量角度分析认为,PAMAM 对酮洛芬的增溶作用以静电为主.PAMAM 内部空腔包裹酮洛芬对其溶解度产生的影响有待进一步研究.

REFERENCES

- Ma Biao(马骥),Zhang Ning(张宁),Wang Fengshan(王凤山). Food and Drug(食品与药物),2007,9(4):44~46
- Jachowicz R,Numberg E, Pieszczyk B,Kluczykowska B,Maciejewska A. Int J Pharm,2000,206:13~21
- Tomalia D A,Baker H,Dewald J,Hall M,Kallos M,Martin S,Roeck J,Ryder J,Smith P. Polym J,1985,17:117~132
- Tomalia D A, Naylor A M, Goddard W A. Angew Chem Int Ed Engl,1990,29:138~175
- Ye Ling(叶玲),Yang Hua(杨华),He Manlin(何满林),Tang Yajuan(唐亚娟),Chen Shuangling(陈双玲),Yuan Yang(原阳),Yun Liuhong(恽榴红). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),2006,(1):32~36
- Wang Jun(王俊),Wan Jiaqi(万家齐),Li Jie(李杰),Li Cuiqin(李翠勤). Applied Chemical Industry(应用化工),2004,33(3):13~17
- Kong Shuyi(孔淑仪),Tang Guotao(唐国涛),Pei Yuanying(裴元英),Jiang Yanyan(姜嫣嫣). Chin Pharm J(中国药理学杂志),2008,43(14):1085~1091
- Dai Huazhou(戴华胄),Ma Lifang(马丽芳),Guo Li(郭丽),He Shichao(贺世超),Zeng Guocheng(曾国城). West China Journal of Pharmaceutical Sciences(华西药理学杂志),2009,24(2):115~117
- Quintana A,Raczka E,Piehl L,Lee I,Myc A,Majoros I,Patri A K,Thomas T,Mule J,Baker J R. Pharm Res,2002,19:1310~1316
- Yang Hua(杨华),Ye Ling(叶玲),Tang Jingcheng(唐静成),Shen Xiaopei(沈小沛),Peng Wei(彭伟),Wang Ying(王颖). Journal of Shenyang Pharmaceutical University(沈阳药科大学学报),2005,22(3):168~170
- Shen Yinghua(申迎华),Zhang Xiangying(张向英),Li Xiaolin(李晓琴),Wu Liuwang(武六旺),Zhao Yansheng(赵彦生),Guo Jian(郭健). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),2009,(9):917~921
- Ma M L,Cheng Y Y, Xu Z H,Xu P,Qu H O,Fang Y J,Xu T W,Wen L P. Eur J Med Chem,2007,42:93~98

- 13 Zhou Yulan(周玉兰), Liu Yongli(刘永利), Yang Hua(杨华), Ye Ling(叶玲). Journal of Capital University of Medical Sciences(首都医科大学学报), 2001, 22(4): 321 ~ 326
- 14 Devarakonda B, Otto D P, Judefeind A, Hill R A, Villiers M M. Int J Pharm, 2007, 345: 142 ~ 153
- 15 Milhem O M, Myles C, McKeown N B, Attwood D, D'Emanuele A. Int J Pharm, 2000, 197: 239 ~ 241
- 16 Devarakonda B, Hill R A, Liebenberg W, Brits M, De Villiers M M. Int J Pharm, 2005, 304: 193 ~ 209
- 17 Devarakonda B, Hill R A, De Villiers M M. International Journal of Pharmacy, 2004, 284: 133 ~ 140
- 18 Cheng Y Y, Qu H O, Ma M L, Xu Z H, Xu P, Fang Y J, Xu T W. Eur J Med Chem, 2007, 42: 1032 ~ 1038

EFFECTS OF PAMAM DENDRIMERS ON THE SOLUBILITY OF KETOPROFEN

ZHANG Huaijing¹, HE Hua^{1,2}, LÜ Yanni¹, GU Yan¹, CHUONG Pham-huy³

(¹ Department of Basic Sciences, China Pharmaceutical University,

² Key Laboratory of Drug Quality Control and Pharmacovigilance(China Pharmaceutical University), Ministry of Education, Nanjing 210009)

(³ Faculty of Pharmacy, University of Paris V, 4 avenue de l'Observatoire 75006, Paris, France)

Abstract The aim of this study was to study the effect of polyamidoamine (PAMAM) dendrimers on the aqueous solubility of ketoprofen and investigate the mechanism of solubilization. PAMAM dendrimers of G1.0, G1.5, G2.0, G2.5, G3.0 and G3.5 were used as drug carriers of ketoprofen. The effects of pH and concentration of the dendrimers on the solubility of ketoprofen were studied by UV spectroscopy. In addition, the computational simulation was used to investigate the mechanism of interaction between PAMAM dendrimers and ketoprofen. Results showed that the pH, generation size, and concentration influenced the solubilization of ketoprofen. The solubility of ketoprofen increased with the increase of pH, generation size, and concentration of PAMAM dendrimers at pH 4.0 ~ 6.0. Both amino and ester terminated dendrimers caused the increase in ketoprofen solubility. However, at each pH, the solubility of ketoprofen was greater in the presence of amino-terminated dendrimers compared to the ester-terminated dendrimers possessing the same number of surface functional groups. The results of computational simulation show that interaction between ketoprofen and PAMAM dendrimers is mainly electrostatic force. Its mechanism of solubilization maybe an electrostatic interaction between the carboxyl group of ketoprofen and the primary amines or tertiary amines of PAMAM dendrimers.

Keywords PAMAM dendrimer, Ketoprofen, Solubilization