

# Síntesis y evaluación de los ésteres de doble acción del ketorolaco y de la aspirina

*Synthesis and evaluation of dual acting esters of aspirin and ketorolac*

HALEN PK, # YADAV MR,\* # CHAGTI KK, # RESHMI CS, # GIRIDHAR R. #

# Pharmacy Department, Faculty of Technology and Engineering, Kalbahavan, The M.S. University of Baroda, Vadodara-390001. India

\* e-mail: mryadav11@yahoo.co.in

## RESUMEN

Se sintetizaron y evaluaron cinco ésteres aminoetílicos N,N-disustituidos derivados del ketorolaco y la aspirina para eliminar su toxicidad gástrica. Se diseñaron especialmente ésteres intactos para satisfacer el requisito estructural de disponer de una actividad anticolinérgica antes de la separación. Además de bloquear el grupo carboxilato ácido mediante esterificación, esta actividad se incorporó a los ésteres sintetizados, con el beneficio adicional esperado de la reducción de la secreción de ácido gástrico y la consecuente eliminación de la irritación local mediante un mecanismo dual. En este estudio se describen la síntesis, la cinética de la hidrólisis y la actividad biológica de estos ésteres. Todos los ésteres derivados permanecieron estables en tampones (pH 2,0 y 7,4) durante un período de tiempo suficiente, lo que aseguró su absorción en estado intacto y la eliminación de la irritación gástrica local producida por el fármaco principal. Se observó una rápida hidrólisis enzimática de todos los derivados en un 80% de suero humano combinado. Se descubrió que los ésteres sintetizados poseían la actividad anticolinérgica propuesta. El potencial ulcerogénico de los derivados evaluados se redujo de forma significativa. Sin embargo, la actividad anti-inflamatoria en el caso de los derivados de la aspirina fue mucho menor.

PALABRAS CLAVE: Aspirina. Ketorolaco. Irritación local.

## ABSTRACT

*To overcome the gastric toxicity of aspirin and ketorolac five different N,N-disubstituted aminoethyl ester derivatives for each were synthesized and evaluated. The intact esters were specially designed to satisfy the structural requirement for possessing the anticholinergic activity before cleavage. Besides blocking the acidic carboxyl group by esterification this activity was incorporated into the synthesized esters with an expected additional benefit of having reduced gastric acid secretion and thereby abolishing the local irritation by a dual mechanism. This report describes the synthesis, hydrolysis kinetics and the biological activity of these esters. All the ester derivatives were found to be stable in buffers (pH 2.0 and 7.4) for sufficient time period, assuring them to be absorbed intact and to successfully overcome the local gastric irritation of the parent drug. A fast enzymatic hydrolysis was observed for all the derivatives in 80% pooled human serum. The synthesized esters were found to possess the proposed anticholinergic activity. The ulcerogenic potential of the evaluated derivatives was significantly reduced. However, the anti-inflammatory activity in case of aspirin derivatives was much lower.*

KEY WORDS: Aspirin. Ketorolac. Local irritation.

## INTRODUCCIÓN

La utilidad clínica de los fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (AINE) ácidos sigue estando limitada debido a sus efectos

## INTRODUCTION

The clinical utility of acidic non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) continues to be limited because of their undesired side

secundarios nocivos, principalmente en el trato gastrointestinal<sup>1</sup>. La propuesta de profármaco para bloquear el grupo ácido de los fármacos AINE se ha utilizado en parte para eliminar la toxicidad gastrointestinal inducida por el efecto del contacto directo<sup>2,3</sup>. Hemos estudiado con éxito una propuesta para eliminar la toxicidad gastrointestinal local mediante la evaluación de ésteres de aminoalcohol sintetizados y diseñados especialmente del diclofenaco del fármaco<sup>4</sup>. Los ésteres se diseñaron para asemejarse estructuralmente a la clase de éster de aminoalcohol de los agentes anticolinérgicos<sup>5</sup> en la forma intacta y liberar el fármaco principal después de la absorción. Se obtuvieron resultados prometedores de los diversos ésteres del diclofenaco que, tal como se esperaba, mostraron la actividad anticolinérgica en la forma intacta y la antiinflamatoria al administrarlos de forma oral a varios modelos de roedores. Las observaciones de una reducción significativa de la ulcerogenicidad nos llevan a concluir que además del grupo ácido bloqueado mediante un éster, la actividad anticolinérgica inherente había añadido la ventaja de un mayor descenso de la toxicidad gastrointestinal mediante la reducción de la secreción de ácido gástrico. Los interesantes resultados obtenidos en el caso de los ésteres del diclofenaco nos animaron a estudiar esta propuesta relacionada con el ketorolaco y la aspirina. Este estudio describe la síntesis, los estudios de estabilidad y la evaluación biológica de cinco ésteres aminoalcohólicos N,N-disustituidos distintos del ketorolaco (4) y la aspirina (1).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los reactivos y las sustancias químicas fueron de grado analítico. El ketorolaco (4) y la aspirina (1) se recibieron como muestras gratuitas y se utilizaron tal cual. Los aminoalcoholes y el carragenato (Tipo IV, Lambda) se adquirieron en Sigma Aldrich. Se utilizó agua destilada en la preparación de las soluciones tampón. Los puntos de fusión se determinaron en capilares abiertos y no están corregidos. Las mediciones espectrales de PMR se realizaron en  $\text{CDCl}_3$  en un instrumento de 200 MHz. Los espectros de infrarrojos se registraron en un espectrómetro Shimadzu-8300 FTIR con un disco de KBr o muestras puras. Los estudios espectrofotométricos se realizaron en un espectrofotómetro Shimadzu

effects mainly on gastrointestinal (GI) tract<sup>1</sup>. The prodrug approach to mask the acidic group of NSAIDs has been exploited in part to overcome the direct contact effect induced GI toxicity<sup>2,3</sup>. An approach towards abolishing local GI toxicity by evaluating the specially designed and synthesized aminoalcohol esters of the drug diclofenac has been already successfully explored by us<sup>4</sup>. The esters were designed to structurally resemble the aminoalcohol ester class of anticholinergics<sup>5</sup> in the intact form and release the parent drug after absorption. Promising results were obtained for the various esters of diclofenac which, as expected exhibited the anticholinergic activity in the intact form and the anti-inflammatory upon oral administration in rodent models. The observations of significantly reduced ulcerogenicity lead us to conclude that besides the blocked acidic group as ester functionality the inherent anticholinergic activity has added advantage of further decreasing the GI toxicity by decreasing the gastric acid secretion. Interesting results in case of diclofenac esters encouraged us to explore this approach for the drugs aspirin and ketorolac. We report here the synthesis, stability studies and the biological evaluation of five different N,N-disubstituted aminoethyl esters of aspirin (1) and ketorolac (4) each.

## MATERIALS AND METHODS

All the chemicals and reagents were of analytical grade. Aspirin (1) and ketorolac (4) were received as gift samples and were used as such. The aminoalcohols and carrageenan (Type IV, Lambda) were purchased from Sigma Aldrich. Distilled water was used in preparation of buffer solutions. The melting points were taken in open capillaries and are uncorrected. PMR spectra were recorded in  $\text{CDCl}_3$  on a 200 MHz instrument. The IR spectra were recorded on a Shimadzu-8300 FTIR using KBr disc or neat samples. The spectrophotometric studies were carried out on a Shimadzu UV-1601 spectrophotometer. All the compounds gave satisfactory elemental data (analyzed on Carlo-Erba/Perkin-Elmer elemental analyzer). Purity of the compounds was tested on TLC plates (Silica gel G, E Merck). The spots were located by exposure to iodine vapors. Anhydrous sodium sulphate was used as the drying agent.

UV-1601. Todos los compuestos proporcionaron datos de elementos satisfactorios (analizados en un analizador de elementos Carlo-Erba/Perkin-Elmer). La pureza de los compuestos se analizó en placas de CCF (gel de sílice G, E Merck). Los puntos se localizaron por exposición a vapores de yodo. Se utilizó sulfato sódico anhidro como agente secante.

## SÍNTESIS

### *Síntesis de 2-aminoetil ésteres N,N-disustituídos derivados de la aspirina (1a-e)*

Se sometieron a reflujo aspirina (1), (1,0 g, 5,55 mmol) y cloruro de tionilo (13,5 mmol, 1,0 ml) durante 3 horas en tolueno seco (5,0 ml) en condiciones anhidras. Se eliminó el exceso de cloruro de tionilo y disolvente en vacío, y el cloruro ácido obtenido se disolvió en cloroformo seco sin alcohol (20 ml) y se le añadió carbonato potásico anhidro (2,0 g). Se disolvió 2-dimetilaminoetanol (2a) (20,0 mmol, 2,0 ml) en cloroformo seco sin alcohol (10 ml) y se añadió a la solución de cloruro ácido bien agitada gota a gota a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se volvió a agitar durante 15 minutos y, a continuación, se sometió a reflujo al baño María durante 2 horas. El estímulo dio lugar a un residuo oleoso que se secó al vacío, se disolvió en anhídrido acético (3,0 ml) y unas gotas de ácido sulfúrico concentrado, y, a continuación, se calentó al baño María durante una hora. A la mezcla de reacción se le añadió hielo picado, se basificó con bicarbonato sódico, se extrajo con cloroformo (5 x 20 ml) y se secó; a continuación, se eliminó el disolvente completamente y se obtuvo un aceite marrón oscuro. El material oleoso se disolvió en éter isopropílico seco y la solución se pasó por cloruro de hidrógeno seco. El clorhidrato sólido (1a) obtenido se cristalizó a partir del éter de acetato de isopropilo para proporcionar sal de clorhidrato pura. Se adoptó este método para la síntesis de los derivados (1b y 1e) de 2-dimetilaminoetanol y 2-(4-morfolino)etanol, respectivamente. Los derivados 1c y 1d no se convirtieron en sus sales de clorhidrato. Los compuestos se caracterizaron mediante sus análisis espectrales.

## SYNTHESES

### *Synthesis of 2-[N,N-disubstituted amino]ethyl esters of aspirin (1a-e)*

Aspirin, (1) (1.0 g, 5.55 mmol) and thionyl chloride (13.5 mmol, 1.0 ml) were refluxed for 3 hours in dry toluene (5.0 ml) under anhydrous conditions. The excess of the thionyl chloride and solvent were removed off under vacuum and the acid chloride so obtained was dissolved in dry, alcohol-free chloroform (20 ml) and anhydrous potassium carbonate (2.0 g) was added to it. 2-Dimethylaminoethanol, (2a) (20.0 mmol, 2.0 ml) was dissolved in dry, alcohol-free chloroform (10 ml) and added to the well-stirred acid chloride solution dropwise at room temperature. The reaction mixture was further stirred for 15 minutes followed by refluxing on a water bath for 2 hours. The work up yielded an oily residue, which, was vacuum dried, dissolved in acetic anhydride (3.0 ml) and a few drops of concentrated sulphuric acid, followed by heating on a water bath for one hour. The reaction mixture was added into crushed ice, basified with sodium bicarbonate, extracted with chloroform (5x20 ml), dried and the solvent removed completely to yield a dark brown oil. The oily material was dissolved in dry isopropyl ether and dry hydrogen chloride passed through the solution. The solid hydrochloride (1a) so obtained was crystallized from acetone-isopropyl ether to give pure hydrochloride salt. This method was adopted for the synthesis of derivatives (1b and 1e) from 2-diethylaminoethanol and 2-(4-morpholino)ethanol respectively. The derivatives 1c and 1d were not converted to their hydrochloride salts. The compounds were characterized by their spectral analysis.

### *Synthesis of 2-[N,N-disubstituted amino]ethyl esters of ketorolac(4a-e)*

2-Dimethylamino ethanol (2a)(10.0 mmol, 1.0 ml) was treated dropwise with thionyl chloride (0.02 mol, 1.5ml) in dry chloroform (20 ml) under stirring at room temperature and refluxed for 15 minutes on a water bath. The reaction mixture was then cooled to room temperature and ice cold water (20 ml) was added to it. Phase transfer catalyst (PTC) (Tetraethyl ammonium bromide) (1.5g), potassium iodide (300mg), ketorolac (4)

### *Síntesis de 2-aminoetil ésteres N,N-disustituidos derivados del ketorolaco (4a-e)*

A 2-dimetilaminoetanol (2a) (10,0 mmol, 1,0 ml) se le agregó gota a gota cloruro de tionilo (0,02 mol, 1,5 ml) en cloroformo seco (20 ml) con agitación a temperatura ambiente y se sometió a reflujo durante 15 minutos al baño María. A continuación, se enfrió la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se le añadió agua helada (20 ml). Se añadió catalizador de transferencia de fase (PTC) (bromuro de tetraetilamonio) (1,5 g), yoduro potásico (300 mg), ketorolaco (4) (6,20 mmol, 1,5 g) y bicarbonato sódico (3,5 g) a la solución anterior y se agitó la mezcla de reacción durante 15-18 horas. El estímulo dio lugar al producto oleoso amarillo (4a). Los derivados (4b-e) se sintetizaron mediante la reacción del ketorolaco con 2-dimetilaminoetanol (2b), 2-piperidino-etanol (2c), 2-pirrolidino-etanol (2d) y 2-(4-morfolino) etanol (2e), respectivamente. Los compuestos se caracterizaron mediante sus datos espectrales.

### *Estudios de hidrólisis*

Cinética de la hidrólisis de los ésteres (1a-e) en una solución acuosa.

Se ha descrito el procedimiento llevado a cabo para el estudio de los derivados (1a) en tampones. La reacción se inició mediante el mantenimiento de una solución de concentración (1,0 mg/ml) del derivado (1a) en tampón (pH 2,0 o pH 7,4) a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  al baño María. Se extrajeron alícuotas (1,0 ml) de esta solución a intervalos de tiempo regulares de 0, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0 y 6,0 horas, y se transfirieron por separado a embudos independientes con tampón (9,0 ml, pH 2,0). Esta solución acidificada se extrajo con éter isopropílico (2 x 5 ml) para todas las alícuotas. Se secó el extracto orgánico combinado, almacenado en tubos de ensayo taponados, y se midió la absorbencia a 279 y 305 nm. El blanco se obtuvo mediante un tratamiento similar de tampón (pH 2,0 o pH 7,4), pero sin la solución del derivado. El estudio se realizó por triplicado y la hidrólisis se controló mediante un método espectrofotométrico UV. Las constantes de velocidad, k, para la hidrólisis de los compuestos se determinaron gráficamente mediante la regresión lineal de los

(6,20 mmol, 1,5g) and sodium bicarbonate (3.5 g) were added to the above solution and the reaction mixture was stirred for 15 -18 hours. The workup yielded the yellow oily product (4a). Derivatives (4b-e) were synthesized by reacting ketorolac with 2-diethylaminoethanol(2b), 2-piperidino-ethanol(2c), 2-pyrrolidinoethanol(2d) and 2-(4-morpholino)ethanol(2e) respectively. The compounds were characterized by their spectral data.

### *Hydrolyses studies*

Kinetics of hydrolyses of esters (1a-e) in aqueous solution.

The procedure carried out for the study of derivative (1a) in buffers has been described. Reaction was initiated by maintaining a solution of concentration (1.0 mg/ml) of the derivative (1a) in buffer (pH 2.0 or pH 7.4) at  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  in a water bath. Aliquots (1.0 ml) were withdrawn from this solution at regular time intervals of 0, 0.5 1.0, 2.0, 4.0 and 6.0 hours, transferred separately to separating funnels containing buffer (9.0 ml, pH 2.0). This acidified solution was extracted into isopropyl ether (2x 5 ml) for all the aliquots. The pooled organic extract, collected in stoppered test tubes was dried and absorbance measured at 279 and 305 nm. Blank was obtained by a similar treatment of buffer (pH 2.0 or pH 7.4) but without the derivative solution. Study was performed in triplicate and the hydrolysis was monitored by a UV spectrophotometric method. The rate constants, k, for hydrolysis of compounds were determined by linear regression of log of residual ester versus time plots. Triplicate samples were analyzed and  $t_{1/2}$  was calculated (equation  $t_{1/2} = 0.693/k$ ) (Table 1). The above described procedure was followed for studying the derivatives (1b-e) in buffers of pH 2.0 and 7.4.

Kinetics of hydrolysis of esters (1a-e) in 80% human serum

The procedure is exemplified for derivative (1a). Pooled human serum (4.0 ml) was taken in a stoppered conical flask and maintained at  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  in a water bath. A solution (1.0 ml, 5



logaritmos del éster residual frente a las líneas de tiempo. Se analizaron muestras triplicadas y se calculó  $t_{1/2}$  (ecuación  $t_{1/2} = 0,693/k$ ) (Tabla 1). El procedimiento descrito anteriormente se realizó para estudiar los derivados (1b-e) en tampones de pH 2,0 y 7,4.

#### Cinética de la hidrólisis de los ésteres (1a-e) en 80% de suero humano

El procedimiento ilustrado corresponde al derivado (1a). Se introdujo suero humano combinado (4,0 ml) en un matraz cónico taponado y se mantuvo a  $37 \pm 1$  °C al baño María. Se agregó una solución de derivado (1a) (1,0 ml, 5 mg/ml en pH 7,4) al suero humano combinado anterior. A intervalos de tiempo adecuados (0, 15, 30, 60 y 120 minutos) se extrajeron alícuotas (0,5 ml) que se transfirieron a embudos independientes con ácido tricloroacético (1,0 ml, 10%). Posteriormente, se agregaron 8,5 ml de tampón (pH 2,0) y esta solución se extrajo con éter isopropílico (2 x 5 ml) para todas las alícuotas. Se secó el extracto orgánico combinado, almacenado en tubos de ensayo taponados, y se midió la absorbencia a 279 y 305 nm en un espectrofotómetro UV. El blanco se obtuvo mediante un tratamiento similar de tampón (pH 2,0 o pH 7,4), pero sin la solución del derivado. El estudio se realizó por triplicado. Se determinó el porcentaje medio de liberación del ácido salicílico para cada derivado (Tabla 1). Se siguió el procedimiento descrito anteriormente para estudiar los compuestos (1b-e).

#### Cinética de la hidrólisis de los ésteres (4a-e) en una solución acuosa.

La reacción se inició mediante el mantenimiento de una solución de concentración (1,0 mg/ml) del derivado (4a) en tampón (pH 2,0 o pH 7,4) a  $37 \pm 1$  °C al baño María. Se extrajeron alícuotas (1,0 ml) de esta solución a intervalos de tiempo regulares de 0, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 6,0 y 8,0 horas, y se transfirieron por separado a embudos independientes con tampón (9,0 ml, pH 2,0). Esta solución acidificada se extrajo con éter isopropílico (2 x 5 ml) para todas las alícuotas. Se secó el extracto orgánico combinado, almacenado en tubos de ensayo taponados, y se midió la absorbencia a 307 nm. El blanco se obtuvo

mg/ml in pH 7.4) of derivative (1a) was added to the above-pooled human serum. At appropriate time intervals (0, 15, 30, 60 and 120 minutes) aliquots (0.5 ml) were withdrawn and transferred to separating funnels containing trichloroacetic acid (1.0 ml, 10%). Further 8.5 ml of buffer (pH 2.0) was added and this solution was extracted with isopropyl ether (2x 5 ml) for all the aliquots. The pooled organic extract collected in stoppered test tubes was dried and the absorbance measured at 279 and 305 nm on a UV spectrophotometer. Blank was obtained by similar treatment of buffer (pH 2.0 or pH 7.4) but without the derivative solution. Study was performed in triplicate. The average percent release of salicylic acid was determined for each derivative (Table 1). The above described procedure was followed for studying the compounds (1b-e).

#### Kinetics of hydrolyses of esters (4a-e) in aqueous solution.

Reaction was initiated by maintaining a solution of concentration (1.0 mg/ml) of the derivative (4a) in buffer (pH 2.0 or pH 7.4) at  $37 \pm 1$  °C in a water bath. Aliquots (1.0 ml) were withdrawn from this solution at regular time intervals of 0, 0.5 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 and 8.0 hours, and transferred separately to separating funnels containing buffer (9.0 ml, pH 2.0). This acidified solution was extracted into isopropyl ether (2x 5 ml) for all the aliquots. The pooled organic extract, collected in stoppered test tubes was dried and absorbance measured at 307 nm. Blank was obtained by similar treatment of buffer (pH 2.0 or pH 7.4) but without the derivative solution. Study was performed in triplicate and the rate of hydrolysis of the esters was monitored by a UV spectrophotometric method. The above described procedure was followed for performing the studies for the derivatives (4b-e) in both the buffers and the  $t_{1/2}$  was calculated (Table 1).

mediante un tratamiento similar de tampón (pH 2,0 o pH 7,4), pero sin la solución del derivado. El estudio se realizó por triplicado y la velocidad de hidrólisis de los ésteres se controló mediante un método espectrofotométrico UV. Se siguió el procedimiento descrito anteriormente para realizar los estudios de los derivados (4b-e) en ambos tampones y se calculó  $t_{1/2}$  (Tabla 1).

**TABLA 1.** Hidrólisis enzimática y química de los derivados de los ésteres (1a-e) y (4a-e).  
**TABLE 1.** Chemical and Enzymatic Hydrolysis of esters (1a-e) and (4a-e).

Compuesto <i>Compound</i>	$t_{1/2}$ (h) Tampón pH 7,4 <i>Buffer pH 7,4</i>	(80% de suero humano) Porcentaje de liberación de ácido salicílico (80% human serum) <i>% Release of salicylic acid</i>		
		$1/2$ h	1 h	2 h
		1a	NH	48,4
1b	NH	75,8	80,4	92,2
1c	NH	11,8	16,4	30,9
1d	NH	16,7	20,1	26,6
1e	NH	21,8	32,3	78,0
		Porcentaje de liberación de ketorolaco <i>% Release of ketorolac</i>		
2a	83	41,9	66,9	71,4
2b	191	52,2	54,3	61,4
2c	53	30,3	59,9	76,9
2d	32	16,1	16,8	19,2
2e	68	12,4	22,5	44,1

NH: No se observó hidrólisis hasta transcurrido un período de 6 horas.

*NH: No hydrolysis was observed till a period of 6 hours.*

#### Cinética de la hidrólisis de los ésteres (4a-e) en 80% de suero humano

Se introdujo suero humano combinado (4,0 ml) en un matraz cónico taponado y se mantuvo a  $37 \pm 1$  °C al baño María. Se agregó una solución de derivado (VIII) (1,0 ml, 5 mg/ml en pH 7,4) al suero humano combinado anterior. A intervalos de tiempo adecuados (0, 15, 30, 60 y 120 minutos) se extrajeron alícuotas (0,5 ml) que se transfirieron a embudos independientes con solución de ácido tricloroacético (1,0 ml, 10%). Posteriormente, se agregaron 8,5 ml de tampón (pH 2,0) y esta solución se extrajo con éter isopropílico (2 x 5 ml) para todas las alícuotas. Se secó el extracto orgánico combinado, almacenado en tubos de ensayo taponados, y se midió la absorbencia a 307 nm. El blanco se obtuvo mediante un tratamiento similar de

#### Kinetics of hydrolyses of esters (4a-e) in 80% human serum.

Pooled human serum (4.0 ml) was taken in a stoppered conical flask and maintained at  $37 \pm 1$  °C in a water bath. A solution (1.0 ml, 5 mg/ml in pH 7.4) of derivative (4a) was added to the above pooled human serum. At appropriate time intervals (0, 15, 30, 60 and 120 minutes) aliquots (0.5 ml) were withdrawn and transferred to separating funnels containing trichloroacetic acid solution (1.0 ml, 10%). Further 8.5 ml of buffer (pH 2.0) was added and this solution was extracted with isopropyl ether (2x 5 ml) for all the aliquots. The pooled organic extract, collected in stoppered test tubes was dried and the absorbance measured at 307 nm. Blank was obtained by similar treatment of buffer (pH 2.0 or pH 7.4) but without the derivative solution.

tampón (pH 2,0 o pH 7,4), pero sin la solución del derivado. El estudio se realizó por triplicado y se calculó el porcentaje medio de liberación de fármaco principal (Tabla 1). Se siguió el procedimiento descrito anteriormente para los compuestos (4a-e).

#### *Evaluación biológica*

El ketorolaco (4) y la aspirina (1) (fármacos principales), se administraron de forma oral como suspensión en carboximetilcelulosa (1% p/v). Se administraron los derivados de la aspirina en agua destilada en una dosis equimolar a sus fármacos principales y, de forma similar, también se administraron los derivados del ketorolaco en una dosis equivalente a sus fármacos principales en polietileno glicol 400 (5% v/v) en agua destilada. El protocolo para los experimentos realizados con animales fue aprobado por el IAEC (Institutional Animal Ethics Committee, Comité de ética animal institucional) de conformidad con lo estipulado por el CPCSEA (Committee for the Purpose of Control and Supervision of Experiments on Animals, Comité de control y supervisión de experimentos en animales).

#### Actividad anticolinérgica sobre preparado de tejido aislado de íleon de rata

La actividad anticolinérgica se determinó en íleon aislado de rata<sup>6</sup>. Las ratas que pesaban 150-200 g se mantuvieron en ayuno toda la noche, con agua a su disposición. Se alojaron de forma independiente, se les diseccionó el abdomen y se introdujo el íleon en una solución de Tyrode a  $37 \pm 1$  °C con ventilación. Se tensó una sección de tejido de 1,0-1,5 cm de longitud (1 g). El tejido se estabilizó con lavados de solución de Tyrode fresca cada 10 minutos y se registró la curva dosis-respuesta (CDR) hasta que se obtuvo la respuesta máxima para la acetilcolina. A continuación, se permitió que el tejido estuviera en contacto con la solución de Tyrode que contenía los derivados (1a-e o 4a-e) o el sulfato de atropina durante media hora y se volvió a registrar la CDR para la acetilcolina. Se calculó el porcentaje de respuesta para ambas CDR y se trazó frente al logaritmo [M] de acetilcolina en el mismo papel del gráfico para buscar el  $EC_{50}$  en presencia y

Study was performed in triplicate and average percent release of the parent drug (Table 1) was calculated. The procedure described above was followed for the compounds (4a-e).

#### *Biological Evaluation*

The parent drugs aspirin (1) and ketorolac (4) were given orally as suspension in carboxymethylcellulose (1%w/v). The derivatives of aspirin were administered in distilled water at dose equimolar to their parent drug and similarly the derivatives of ketorolac were also administered orally at dose equivalent to their parent drug in polyethylene glycol 400 (5 % v/v) in distilled water. The protocol for the animal experiments performed was approved by the IAEC (Institutional Animal Ethics Committee) as registered under CPCSEA (Committee for the Purpose of Control and Supervision of Experiments on Animals).

#### Anticholinergic activity on isolated tissue preparation of rat ileum

Anticholinergic activity was determined on isolated rat ileum<sup>6</sup>. Rats weighing 150-200 g were fasted overnight having access to water. They were housed single, the abdomen was dissected and the ileum was placed in Tyrode solution at  $37 \pm 1$  °C with aeration. A 1.0-1.5 cm length of the tissue was mounted under tension (1 g). The tissue was stabilized with washings of fresh Tyrode every 10 minutes and dose response curve (DRC) was recorded till maximum response was got for acetylcholine. The tissue was then allowed to be in contact with the Tyrode containing the derivatives (1a-e or 4a-e) or atropine sulphate for half an hour and the DRC was repeated for acetylcholine. The percentage response was calculated for both the DRCs and plotted against log [M] of acetylcholine on the same graph paper to find the  $EC_{50}$  in presence and absence of the antagonist (ester derivative or atropine sulphate). The  $pA_2$  value was calculated by the following formula:

$pA_2 = -\log[M] + \log(x-1)$  where,  $\log[M]$  = molar conc. of antagonist and

$x = \frac{EC_{50} \text{ found in presence of antagonist}}{EC_{50} \text{ found in absence of antagonist}}$

en ausencia del antagonista (derivado del éster o sulfato de atropina). El valor de  $pA_2$  se calculó con la siguiente fórmula:

$pA_2 = -\log[M] + \log(x-1)$ , donde  $\log[M]$  = concentración molar de antagonista y

$x = EC_{50}$  encontrado en presencia de antagonista /  $EC_{50}$  encontrado en ausencia de antagonista.

Actividad antiinflamatoria en la prueba del edema en patas traseras de ratas

Se utilizaron ratas Sprague Dawley de ambos sexos ( $n = 6$ , 150-200 g). La actividad antiinflamatoria aguda de los compuestos se analizó mediante el ensayo del edema inducido por carragenatos en patas traseras de ratas conforme al método de Winter et al<sup>7</sup>. Los animales se mantuvieron en ayuno durante 24 horas con agua ad libitum antes de la administración del fármaco. A cada animal se le inyectó por vía subcutánea 0,1 ml de suspensión de carragenato (1% p/v) en solución salina normal en la región subplantar de la pata trasera izquierda una hora después de la administración del fármaco. El volumen de la pata se midió inmediatamente después de la inyección y transcurridas 3 horas con un pletozómetro de desplazamiento de agua (Ugo Basile). Al grupo de control no se le administró ningún fármaco. Se administró aspirina (1) en una dosis de 20 mg/kg de peso corporal y se administraron los derivados (1a, 1b, 1c y 1e) en una dosis equivalente a 20 mg/kg de aspirina. De forma similar, se administró ketorolaco (4) en una dosis de 20 mg/kg de peso corporal y se administraron los derivados (4a, 4b, 4c y 4e) en una dosis equivalente a 20 mg/kg de ketorolaco. El porcentaje de inhibición de la dilatación se calculó con la fórmula:

Porcentaje de inhibición de edema de la pata =  $(1 - Ed_{\text{fármaco}} / Ed_{\text{control}}) \times 100$

$Ed_{\text{fármaco}}$  y  $Ed_{\text{control}}$  representan el volumen del edema en las ratas del grupo tratado con fármaco y el grupo de control, respectivamente.

Estudios de ulcerogenicidad

Se utilizaron ratas Sprague Dawley de ambos sexos ( $n = 6$ , 150-200 g). Las ratas se mantuvieron en ayuno durante 36 horas con agua ad libitum antes de la administración de las soluciones de

Anti-inflammatory activity in rat hind paw edema test

Sprague Dawley rats of either sex ( $n = 6$ , 150-200 g) were used. The acute anti-inflammatory activity of the compounds was screened by the carrageenan induced rat hind paw edema assay according to method of Winter et al<sup>7</sup>. The animals were fasted 24 h with water ad libitum prior to drug administration. Each animal was injected s.c. with 0.1 ml of carrageenan suspension (1% w/v) in normal saline into the subplantar region of left hind paw after one hour of drug administration. The paw volume was measured immediately after injection and after 3 h using a water displacement plethysmometer (Ugo Basil). The control group received no drug. Aspirin (1) was given at a dose of 20 mg/kg body weight and derivatives (1a, 1b, 1c and 1e) were administered at dose equivalent to 20 mg/kg of aspirin. Similarly ketorolac (4) was given at a dose of 20 mg/kg body weight and the derivatives (4a, 4b, 4c and 4e) were administered at dose equivalent to 20 mg/kg of ketorolac. The percentage inhibition of swelling was calculated by the formula,

% Inhibition of paw edema =  $(1 - Ed_{\text{drug}} / Ed_{\text{control}}) \times 100$

$Ed_{\text{drug}}$  and  $Ed_{\text{control}}$  are the edema volume in drug treated and control group rats.

Ulcerogenicity studies

Sprague Dawley rats ( $n = 6$ , 150-200 g) of either sex were used. The rats were fasted for 36 h with water *ad libitum* prior to administration of drug solutions and for 4 h post dosing. The control group received no drug. Aspirin (1) (100 mg/kg) was given orally and derivatives (1a, 1c and 1e) at dose equivalent to 100 mg/kg of aspirin. Ketorolac (4) was given 75 mg/kg orally and derivatives (4a, 4b, 4c and 4d) were given at dose equivalent to 75 mg/kg of ketorolac. The animals were sacrificed and their stomach was dissected out, cut along the greater curvature, washed with normal saline and kept in 5% formalin for 15 minutes and gastric mucosa was observed for the lesions using a 2x2 binocular magnifier and the results were expressed as ulcer index<sup>8</sup>.

Ulcer index =  $10 (Au/Am)$

where,  $Am$  = total mucosal area,  $Au = Al + Ac + Ap$ ,  $A_1$  = area of linear lesions ( $l \times b$ ),  $Ac$



fármaco y durante 4 horas tras la administración de las dosis. Al grupo de control no se le administró ningún fármaco. Se administró aspirina (1) (100 mg/kg) por vía oral y los derivados (1a, 1c y 1e) en una dosis equivalente a 100 mg/kg de aspirina. Se administraron 75 mg/kg de peso corporal de ketorolaco (4) de forma oral y los derivados (4a, 4b, 4c y 4d) en una dosis equivalente a 75 mg/kg de ketorolaco. Se sacrificaron los animales y se diseccionaron por la curvatura mayor del estómago, que se lavó con solución salina normal y se mantuvo en formol al 5% durante 15 minutos. Se observó la mucosa gástrica para examinar las lesiones utilizando una lupa binocular de 2x2 y se expresaron los resultados como un índice de úlcera<sup>8</sup>.

Índice de úlcera =  $10 (Au/Am)$

donde Am = área de mucosa total, Au = Al + Ac + Ap, A<sub>l</sub> = área de lesiones lineales (lxb), Ac = área de lesiones circulares y Ap = Número total de lesiones de tamaño inferior a 5 mm.

= area of circular lesions and Ap = Total no. of piteaches/5

## RESULTS

### *Synthesis*

Scheme A and B (Figure 1) were adopted for the synthesis of the desired derivatives of aspirin (1a-e) and ketorlac (4a-e) The spectral data for the synthesized compounds has been discussed further.

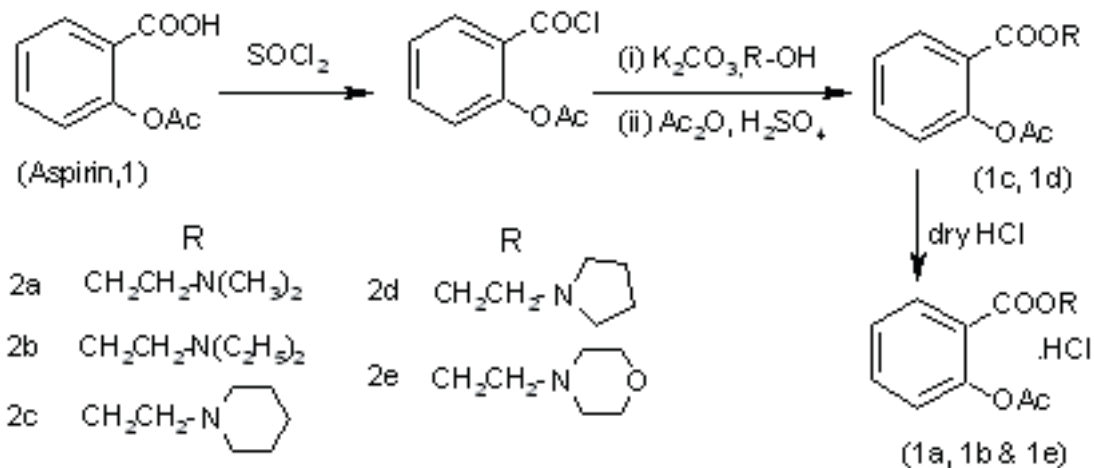
## RESULTADOS

### *Resumen*

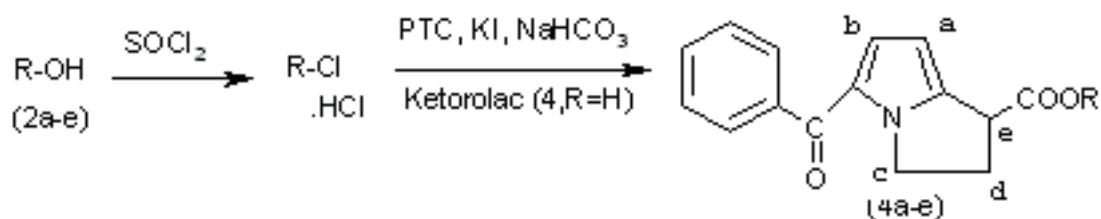
Se adoptaron el Esquema A y el Esquema B (Figura 1) para la síntesis de los derivados de la aspirina (1a-e) y el ketorolaco (4a-e) deseados. Los datos espectrales de los compuestos sintetizados se discuten más adelante.

FIGURA 1. Síntesis de los ésteres del kerotolaco y de la aspirina.  
 FIGURE 1. Synthesis of esters of aspirin and kerotolac.

### Scheme A



### Scheme B



Esquema A  
 (Aspirina 1)  
 ClH seco  
 1a, 1b y 1e.  
 Esquema B  
 Kerotolaco (4,R=H)

Esquema A  
 (Aspirina 1)  
 ClH seco  
 1a, 1b y 1e.  
 Esquema B  
 Kerotolaco (4,R=H)

### Estudios de hidrólisis

La hidrólisis química y enzimática de los ésteres derivados (1a-e) y (4a-e) se realizó en soluciones tampón acuosas (pH 2,0 y pH 7,4) y en suero humano (80%), respectivamente. En la Tabla 1 aparecen las vidas medias en solución tampón y el porcentaje de liberación de los compuestos al producirse la hidrólisis enzimática.

### Evaluación biológica

La potencia anticolinérgica de todos los derivados se determinó en una preparación de íleon aislado de rata con acetilcolina como agonista y sulfato de atropina como antagonista estándar. Los resultados se han expresado como el valor de pA<sub>2</sub> (Tabla 2). La actividad antiinflamatoria

### Hydrolyses studies

Chemical and enzymatic hydrolyses of the ester derivatives (1a-e) and (4a-e) were performed in aqueous buffer solutions (pH 2.0 and pH 7.4) and in human serum (80%), respectively. The half-lives in buffer solution and percent release of the compounds upon enzymatic hydrolysis are given in Table 1.

### Biological evaluation

The anticholinergic potency for all the derivatives was determined on isolated rat ileum preparation against acetylcholine as agonist and atropine sulphate as the standard antagonist. The results have been expressed as pA<sub>2</sub> value (Table 2). The acute anti-inflammatory activity for the

aguda de los derivados se determinó mediante el ensayo de edema inducido por carragenatos en las patas traseras de ratas y los resultados se expresan como el porcentaje de inhibición del edema de patas traseras en comparación con el grupo de control. La toxicidad gástrica de los derivados y el fármaco principal se evaluó en ratas y el valor del índice de úlcera aparece en la Tabla 2.

derivatives was determined by the carrageenan-induced rat-hind paw edema assay and the results are expressed as percent inhibition of paw edema in comparison to control group. The gastric toxicity of the derivatives and parent drug was evaluated in rats and the value for ulcer index is given in Table 2.

**TABLA 2.** Actividad antiinflamatoria y anticolinérgica, y ulcerogenicidad de la aspirina, el kerotolaco y sus derivados.

**TABLA 2.** Anticholinergic, anti-inflammatory activity and ulcerogenicity of aspirin, ketorlac and their derivatives.

Compuesto <i>Compound</i>	pA <sub>2</sub>	VOLUMEN DEL EDEMA ± ESM <i>EDEMA VOLUME ± SEM</i>	PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL EDEMA (3 <sup>a</sup> h) % <i>INHIBITION OF EDEMA (3<sup>a</sup> H)</i>	Índice de úlcera <i>Ulcer index</i>
Control	-	0,920±0,059	0,00	0,000
Aspirina <b>Dosis (mg/kg)</b> <i>Aspirina</i> <b>Dose (mg/kg)</b>		0,458±0,055 <b>20,0</b>	50,21	0,797±0,029 <b>100,0</b>
1a	4,83	0,602±0,115	34,56*	0,341±0,046*
1b	5,18	0,684±0,148	25,65*	-
1c	4,87	0,660±0,052	27,61*	0,265±0,067*
1d	3,62	-	-	-
1e	5,27	0,663±0,060	28,26*	0,317±0,058*
Ketorolaco <b>Dosis (mg/kg)</b> <i>Ketorolac</i> <b>Dose (mg/kg)</b>	-	0,230±0,017 <b>20,0</b>	75,00	0,484±0,030 <b>75,0</b>
4a	4,35	0,284±0,146	69,13	0,237±0,120*
4b	4,82	0,295±0,061	73,36	0,219±0,075*
4c	5,32	0,243±0,079	73,64	0,219±0,058*
4d	4,16	-	-	0,213±0,051*
4e	4,00	0,336±0,055	72,83	-

\* p<0,05 en relación con el fármaco principal respectivo. Los resultados se expresan como la media ± el error estándar de la media. Los cálculos estadísticos se realizaron mediante la prueba t-Student.

\* p<0.05 with reference to the respective parent drug. Results are expressed as Mean ± Standard error of mean. Statistical calculations were done by Student's t-test.

## DISCUSIÓN

### *Síntesis y caracterización de los derivados de la aspirina (1a-e)*

La aspirina (1) en tratamiento con cloruro de tionilo en tolueno seco dio lugar al cloruro ácido, que se hizo reaccionar con exceso de 2-dimetilaminoetanol (2a) en presencia de carbonato potásico anhidro en cloroformo (Esquema

## DISCUSSION

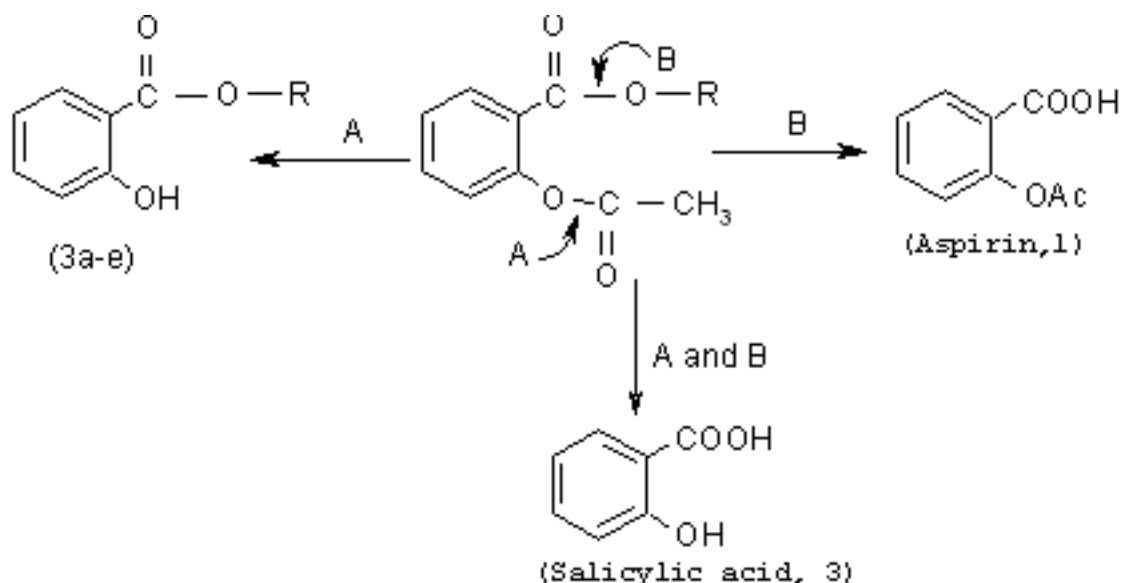
### *Synthesis and characterization of derivatives of aspirin (1a-e)*

Aspirin (1) on treatment with thionyl chloride in dry toluene yielded the acid chloride, which was reacted with excess of 2-dimethylaminoethanol (2a) in presence of anhydrous potassium carbonate in chloroform (Scheme A, Figure 1). During the work

A, Figura 1). Durante el estímulo de la mezcla de reacción, se retiró el exceso de aminoalcohol mediante lavados sucesivos con agua fría para obtener un residuo oleoso que se convirtió en sal de clorhidrato al pasar gas de cloruro de hidrógeno seco por la solución del aceite en éter isopropílico seco. El producto obtenido se identificó como éster desacetilado (3a Figura 2) basándose en las evidencias espectrales UV  $\lambda_{\max}$  305 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1678  $\text{cm}^{-1}$  (Ar-CO). PMR ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  2,97 (s, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 3,58 (t, 2H,  $-\text{CH}_2\text{N}$ ), 4,88 (t, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 6,87-7,89 (m, 4H, ArH), 10,40 (s, 1H,  $-\text{OH}$ ), 12,81 (b, 1H,  $\cdot\text{NHCl}$ ). Por tanto, para obtener el éster de la aspirina deseado, el residuo oleoso obtenido se sometió a acetilación (Figura 1) con anhídrido acético en condiciones ácidas. El estímulo de la reacción y la conversión en sal de clorhidrato dio lugar al compuesto deseado. El compuesto 1a se identificó mediante los siguientes datos analíticos: MP 128-130 °C, UV  $\lambda_{\max}$  279 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1763 ( $-\text{O}-\text{COCH}_3$ ) y 1724  $\text{cm}^{-1}$  (Ar-CO). PMR ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  2,35 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2,60 (s, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 3,48 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 4,75 (t, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 7,08-8,08 (m, 4H, ArH) y 12,60 (b, 1H,  $\cdot\text{NHCl}$ ). Los compuestos 1c y 1d resultaron ser inestables como sales de clorhidrato y se conservaron como aceites. Todos los ésteres se caracterizaron mediante los datos espectrales que se muestran a continuación.

up of the reaction mixture excess of the amino alcohol was removed by successive washings with cold water to yield an oily residue, which was converted to the hydrochloride salt by passing dry hydrogen chloride gas through the solution of the oil in dry isopropyl ether. The product obtained was identified as the deacetylated ester (3a, Figure 2) on the basis of spectral evidences UV  $\lambda_{\max}$  305 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1678  $\text{cm}^{-1}$  (Ar-CO). PMR ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  2.97 (s, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 3.58 (t, 2H,  $-\text{CH}_2\text{N}$ ), 4.88 (t, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 6.87-7.89 (m, 4H, ArH), 10.40 (s, 1H,  $-\text{OH}$ ), 12.81 (b, 1H,  $\cdot\text{NHCl}$ ). So to get the desired ester of aspirin the oily residue obtained was subjected to acetylation (Figure 1) with acetic anhydride under acidic condition, the work up of the reaction and conversion to hydrochloride salt yielded the desired compound. The compound 1a was identified by the following analytical data MP 128-130°C, UV  $\lambda_{\max}$  279 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1763 ( $-\text{O}-\text{COCH}_3$ ) and 1724  $\text{cm}^{-1}$  (Ar-CO). PMR ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  2.35 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2.60 (s, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 3.48 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 4.75 (t, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 7.08-8.08 (m, 4H, ArH) and 12.60 (b, 1H,  $\cdot\text{NHCl}$ ). The compounds 1c and 1d were found to be unstable as hydrochloride salts and were preserved as oil. All the esters were characterized on basis of following spectral data.

FIGURE 2. Possible cleavage pathways for aspirin esters.



#### Compuesto 1b

MP 101-103 °C, UV  $\lambda_{\max}$  279 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1765 (-O-COCH<sub>3</sub>) y 1724 cm<sup>-1</sup> (Ar-CO), PMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  1,43 (t, 6H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2,36 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 3,15-3,29 (m, 4H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) y 3,38 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4,85 (t, 2H, OCH<sub>2</sub>), 7,11-8,01 (m, 4H, ArH).

#### Compuesto 1c

UV  $\lambda_{\max}$  279 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1769 (-O-COCH<sub>3</sub>) y 1725 cm<sup>-1</sup> (Ar-CO), PMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  1,72-1,76 (m, 6H, 3(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 2,35 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 2,98-3,04 (m, 4H, N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 3,07 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4,60 (t, 2H, OCH<sub>2</sub>), 7,14-8,00 (m, 4H, ArH).

#### Compuesto 1d

UV  $\lambda_{\max}$  279 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1769 (-O-COCH<sub>3</sub>) y 1725 cm<sup>-1</sup> (Ar-CO), PMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  1,93-1,96 (m, 4H, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 2,35 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 3,04-3,07 (m, 4H, N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 3,21-3,27 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4,61 (t, 2H, OCH<sub>2</sub>), 7,09-8,02 (m, 4H, ArH).

#### Compuesto 1e

MP 158-160 °C, UV  $\lambda_{\max}$  279 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1769 (-O-COCH<sub>3</sub>) y 1722 cm<sup>-1</sup> (Ar-CO), PMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  2,36 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 3,51 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N), 3,95-4,02 (m, 4H, N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 4,29 (t, 4H, CH<sub>2</sub>O CH<sub>2</sub>), 4,90 (t, 2H, OCH<sub>2</sub> CH<sub>2</sub>), 7,12-7,96 (m, 4H, ArH) y 13,74 (b, 1H, .NHCl)

#### Compound 1b

MP 101-103°C, UV  $\lambda_{\max}$  279 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1765 (-O-COCH<sub>3</sub>) and 1724 cm<sup>-1</sup> (Ar-CO), PMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  1.43 (t, 6H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2.36 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 3.15-3.29 (m, 4H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) and 3.38 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4.85 (t, 2H, OCH<sub>2</sub>), 7.11-8.01 (m, 4H, ArH).

#### Compound 1c

UV  $\lambda_{\max}$  279 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1769 (-O-COCH<sub>3</sub>) and 1725 cm<sup>-1</sup> (Ar-CO), PMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  1.72-1.76 (m, 6H, 3(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 2.35 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 2.98-3.04 (m, 4H, N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 3.07 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4.60 (t, 2H, OCH<sub>2</sub>), 7.14-8.00 (m, 4H, ArH).

#### Compound 1d

UV  $\lambda_{\max}$  279 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1769 (-O-COCH<sub>3</sub>) and 1725 cm<sup>-1</sup> (Ar-CO), PMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  1.93-1.96 (m, 4H, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 2.35 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 3.04-3.07 (m, 4H, N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 3.21-3.27 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4.61 (t, 2H, OCH<sub>2</sub>), 7.09-8.02 (m, 4H, ArH).

#### Compound 1e

MP 158-160°C, UV  $\lambda_{\max}$  279 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1769 (-O-COCH<sub>3</sub>) and 1722 cm<sup>-1</sup> (Ar-CO), PMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  2.36 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 3.51 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N), 3.95-4.02 (m, 4H, N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 4.29 (t, 4H, CH<sub>2</sub>O CH<sub>2</sub>), 4.90 (t, 2H, OCH<sub>2</sub> CH<sub>2</sub>), 7.12-7.96 (m, 4H, ArH) and 13.74 (b, 1H, .NHCl)

#### *Síntesis y caracterización de los derivados del ketorolaco (4a-e)*

Se descubrió que el ketorolaco (4) se degradaba al tratarlo con cloruro de tionilo. Por ello, no se pudo utilizar el método del cloruro ácido para la síntesis de los ésteres del ketorolaco. Se utilizó el Esquema B (Figura 1) con un catalizador de transferencia de fase (PTC). El 2-dimetilaminoetanol (2a) se convirtió en un derivado clorado al tratarlo con cloruro de tionilo y, a continuación, se hizo reaccionar con el ketorolaco en un medio bifásico en condiciones alcalinas mediante el bromuro de tetraetilamonio catalizador. El estímulo de la mezcla de reacción dio lugar al residuo oleoso, que demostró ser altamente inestable al convertirse en sal de clorhidrato. La sal se precipitó al pasar la solución por gas de clorhidrato seco, pero se disolvió inmediatamente, lo que proporcionó un residuo negro que no presentó ningún pico para el grupo carbonilo del éster

#### *Synthesis and characterization of derivatives of ketorolac (4a-e)*

Ketorolac (4) was found to degrade on treatment with thionyl chloride hence, the acid chloride method could not be adopted for the synthesis of esters of ketorolac. Scheme B (Figure 1) using a phase transfer catalyst (PTC) was adopted. The 2-dimethylethanol (2a) was converted to the chloro derivative upon treatment with thionyl chloride and this was then made to react with ketorolac in a biphasic medium under alkaline conditions using the catalyst tetraethylammonium bromide. The work up of the reaction mixture yielded the oily residue, which was found to be highly unstable upon conversion to hydrochloride salt. The salt precipitated out upon passing dry hydrochloride gas but immediately it dissolved giving a black residue that did not show any peak for the ester carbonyl in the IR spectrum. Hence, all the esters were preserved as oils



en los espectros de infrarrojos. Por ello, todos los ésteres se conservaron como aceites y se caracterizaron basándose en los datos espectrales que se muestran a continuación.

#### Compuesto 4a

UV  $\lambda_{\max}$  307 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1733 (Ar-COO), PMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  1,21-1,30 (m, 2H, d-CH<sub>2</sub>), 2,30-2,34 (s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2,62-2,67 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N) y 2,75-2,95 (m, 3H, c-CH<sub>2</sub>, e-CH).  $\sigma$  4,42-4,62 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), los protones aromáticos mostraron señales en  $\delta$  6,10-6,12 (d, 1H, Ar-a-CH), 6,79-6,81 (d, 1H, Ar-b-CH), 7,41-7,81 (m, 5H, ArH).

#### Compuesto 4b

UV  $\lambda_{\max}$  307 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1733 (Ar-COO), PMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  1,02-1,06 (t, 6H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1,22-1,26 (m, 2H, d-CH<sub>2</sub>), 2,58-2,63 (m, 4H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2,76 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N), 2,92-2,94 (m, 2H, c-CH<sub>2</sub>), 3,00-3,02 (m, 1H, e-CH), 4,35-4,62 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 6,10-6,12 (d, 1H, Ar-a-CH), 6,81-6,82 (d, 1H, Ar-b-CH), 7,42-7,82 (m, 5H, ArH).

#### Compuesto 4c

UV  $\lambda_{\max}$  307 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1733 (Ar-COO), PMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  1,25-1,30 (m, 2H, d-CH<sub>2</sub>), 1,58-1,89 (m, 6H, (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>), 2,75-3,06 (m, 9H, e-CH, c-CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>N, N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 4,31-4,54 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 6,10-6,12 (d, 1H, Ar-a-CH), 6,79-6,81 (d, 1H, Ar-b-CH), 7,38-7,81 (m, 5H, ArH).

#### Compuesto 4d

UV  $\lambda_{\max}$  307 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1739 (Ar-COO), PMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  1,25-1,30 (m, 2H, d-CH<sub>2</sub>), 1,80-2,03 (t, 2H, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 2,65-2,90 (m, 6H, CH<sub>2</sub>N, N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 3,08-3,12 (m, 3H, c-CH<sub>2</sub>, e-CH), 4,32-4,59 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 6,10-6,11 (d, 1H, Ar-a-CH), 6,79-6,81 (d, 1H, Ar-b-CH), 7,40-7,81 (m, 5H, ArH).

#### Compuesto 4e

UV  $\lambda_{\max}$  307 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1739 (Ar-COO), PMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  1,25-1,30 (m, 2H, d-CH<sub>2</sub>), 2,62-2,66 (m, 6H, CH<sub>2</sub>N, N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 2,80-2,91 (m, 3H, c-CH<sub>2</sub>, e-CH), 3,68-3,80 (m, 4H, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 4,50-4,57 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 6,10-6,12 (d, 1H, Ar-a-CH), 6,80-6,82 (d, 1H, Ar-b-CH), 7,44-7,81 (m, 5H, ArH).

and characterized on the basis of the following spectral data.

#### Compound 4a

UV  $\lambda_{\max}$  307 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1733 (Ar-COO), PMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  1.21-1.30 (m, 2H, d-CH<sub>2</sub>), 2.30-2.34 (s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2.62-2.67 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N) and 2.75-2.95 (m, 3H, c-CH<sub>2</sub>, e-CH).  $\sigma$  4.42-4.62 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), aromatic protons gave signals at  $\delta$  6.10-6.12 (d, 1H, Ar-a-CH), 6.79-6.81 (d, 1H, Ar-b-CH), 7.41-7.81 (m, 5H, ArH).

#### Compound 4b

UV  $\lambda_{\max}$  307 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1733 (Ar-COO), PMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  1.02-1.06 (t, 6H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.22-1.26 (m, 2H, d-CH<sub>2</sub>), 2.58-2.63 (m, 4H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2.76 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N), 2.92-2.94 (m, 2H, c-CH<sub>2</sub>), 3.00-3.02 (m, 1H, e-CH), 4.35-4.62 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 6.10-6.12 (d, 1H, Ar-a-CH), 6.81-6.82 (d, 1H, Ar-b-CH), 7.42-7.82 (m, 5H, ArH).

#### Compound 4c

UV  $\lambda_{\max}$  307 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1733 (Ar-COO), PMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  1.25-1.30 (m, 2H, d-CH<sub>2</sub>), 1.58-1.89 (m, 6H, (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>), 2.75-3.06 (m, 9H, e-CH, c-CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>N, N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 4.31-4.54 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 6.10-6.12 (d, 1H, Ar-a-CH), 6.79-6.81 (d, 1H, Ar-b-CH), 7.38-7.81 (m, 5H, ArH).

#### Compound 4d

UV  $\lambda_{\max}$  307 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1739 (Ar-COO), PMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  1.25-1.30 (m, 2H, d-CH<sub>2</sub>), 1.80-2.03 (t, 2H, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 2.65-2.90 (m, 6H, CH<sub>2</sub>N, N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 3.08-3.12 (m, 3H, c-CH<sub>2</sub>, e-CH), 4.32-4.59 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 6.10-6.11 (d, 1H, Ar-a-CH), 6.79-6.81 (d, 1H, Ar-b-CH), 7.40-7.81 (m, 5H, ArH).

#### Compound 4e

UV  $\lambda_{\max}$  307 nm, IR  $\nu_{\max}$ : 1739 (Ar-COO), PMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  1.25-1.30 (m, 2H, d-CH<sub>2</sub>), 2.62-2.66 (m, 6H, CH<sub>2</sub>N, N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 2.80-2.91 (m, 3H, c-CH<sub>2</sub>, e-CH), 3.68-3.80 (m, 4H, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 4.50-4.57 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 6.10-6.12 (d, 1H, Ar-a-CH), 6.80-6.82 (d, 1H, Ar-b-CH), 7.44-7.81 (m, 5H, ArH).

### *Estudios de hidrólisis de los derivados de la aspirina (1a-e)*

Es posible dividir los derivados de la aspirina (Figura 2) en el punto B para obtener el fármaco deseado, aspirina (1), en el punto A para obtener los productos desacetilados (por ejemplo, 3a) o en ambos puntos (A y B) para obtener ácido salicílico libre (3). No se sabía por adelantado de qué forma iba a proceder la reacción de la hidrólisis en tampones (pH 2,0 y 7,4) y en el suero. Por tanto, se establecieron métodos para las estimaciones de todas estas especies. Se sacó provecho de la existencia de diferencias en su absorción máxima en la espectrofotometría UV y de la diferencia en las propiedades fisicoquímicas de los ácidos libres (1 y 3) y sus ésteres. Los productos desacetilados (3 y 3a) mostraron una absorción máxima a 305 nm mientras que los productos acetilados (1 y 1a-e) mostraron la absorción máxima a 279 nm. Se prepararon las curvas de calibración para determinar la liberación de ácido salicílico o aspirina en un espectrofotómetro UV. Se realizaron estudios *in vitro* en tampones (pH 2,0 y 7,4) a  $37 \pm 1$  °C descritos anteriormente. Sin embargo, para nuestra sorpresa, no se observó absorbencia a 279 nm para el derivado (1a) en tampones (pH 2,0 y 7,4), lo que indicó que la hidrólisis de este derivado no se había producido hasta transcurrido un período de seis horas en cualquiera de estos tampones.

Otra posibilidad pudo ser la formación del producto desacetilado (3a). Si se formó este producto, entonces permaneció en la fase acuosa en la forma protonada con una absorbencia máxima de UV de 305 nm. Para comprobar esta posibilidad, se exploraron las capas acuosas acidificadas de todas las alícuotas para cualquier absorbencia a 305 nm, pero no se observó ninguna absorbencia en estas longitudes de onda. Aparecieron mayores bandas a 279 nm, que se correspondían con el derivado intacto (1a). También se comprobó cualquier absorbencia de la capa orgánica a 305 nm, para buscar la presencia de ácido salicílico liberado que se hubiera formado durante la hidrólisis. No obstante, no se observó absorbencia para el extracto orgánico a 305 nm. Por tanto, se concluyó que el derivado (1a) permanece intacto en los tampones hasta transcurrido un período de 6 horas. Las observaciones fueron similares para el resto de derivados de la aspirina. Para

### *Hydrolyses studies of derivatives of aspirin (1a-e)*

The derivatives of aspirin may cleave (Figure 2) at site-B to afford the desired drug, aspirin (1), at site-A to offer the deacetylated products (e.g. 3a) or at both the sites (A and B) to give free salicylic acid (3). It was not known in advance which way hydrolysis reaction would proceed in buffers (pH 2.0 and 7.4) and in the serum. So, methods were established for the estimations of all of these species. Advantage was taken of the existence of differences in their absorption maxima in UV spectrophotometry and the difference in physicochemical properties of the free acids (1 and 3) and their esters. Deacetylated products (3 and 3a) showed absorption maxima at 305 nm while the acetylated products (1 and 1a-e) showed the maxima at 279 nm. Calibration curves were prepared for determining the release of aspirin or salicylic acid on a UV spectrophotometer. *In vitro* studies were performed by in buffers (pH 2.0 and 7.4) at  $37 \pm 1$  °C described previously. But, to our surprise no absorbance was observed at 279 nm for the derivative (1a) in buffers (pH 2.0 and 7.4) indicating that no hydrolysis occurred for this derivative till a period of six hours in either of these buffers.

Another possibility was that there might be formation of the deacetylated product (3a). If this product was formed then it would remain in the aqueous phase in the protonated form with a UV maximum of 305 nm. To check this possibility the acidified aqueous layers for all the aliquots were scanned for any absorbance at 305 nm but no absorbance was observed at this wavelengths. Strong bands appeared at 279 nm, which corresponded for the intact derivative (1a). The organic layer was also checked for any absorbance at 305 nm, for presence of liberated salicylic acid if formed during the hydrolysis. But no absorbance was observed for the organic extract at 305 nm. Hence, it was concluded that the derivative (1a) remains intact in the buffers till a period of 6 hours. The observations were similar for all the other derivatives of aspirin. For studying the enzymatic susceptibility of aspirin esters the derivative (1a) solution (1 mg/ml) was maintained at  $37 \pm 1$  °C in human serum (80%). Aliquots (0.5 ml) were withdrawn at different time intervals, treated with TCA (to precipitate the serum proteins), extracted into isopropyl ether,

el estudio de la vulnerabilidad enzimática de los ésteres de la aspirina, la solución del derivado (1a) (1 mg/ml) se conservó a  $37 \pm 1$  °C en suero humano (80%). Se extrajeron alícuotas (0,5 ml) a distintos intervalos de tiempo, se trataron con TCA (para precipitar las proteínas de suero), se extrajeron con éter isopropílico, se secaron y se midió la absorbancia a 279 nm y 305 nm. Se observó la absorbancia de todas las alícuotas sólo a 305 nm, sin que se observara absorbancia a 279 nm. Este hecho confirmó la formación de ácido salicílico (3) al producirse la hidrólisis de (1a), sin que se produjera la formación de aspirina (1). Además, se filtró la solución acuosa precipitada en cada caso y se comprobó su absorbancia a 305 nm para observar la formación de producto desacetilado (3a), pero no se observó absorbancia en esta longitud de onda. Esto confirmó que el derivado (1a) se hidrolizaba en suero para liberar ácido salicílico libre (3), que se extrajo con pH ácido (~2,0) en la capa orgánica presentando absorbancia a 305 nm.

La hidrólisis de los ésteres (1a-e) en tampones mostró que ninguno de los ésteres se había hidrolizado hasta transcurrido un período de seis horas en ambos tampones (pH 2,0 y 7,4). No obstante, la hidrólisis enzimática reveló que los ésteres no se hidrolizaron para liberar aspirina (fármaco principal), tan sólo se formó ácido salicílico. Se puede decir que el grupo carboxilato ácido podría bloquearse con éxito hasta la absorción, ya que no se observó hidrólisis para ninguno de los ésteres en tampón. Sin embargo, estos ésteres no actúan como verdaderos derivados de la aspirina para la administración oral ya que se observó que el ácido salicílico se liberó al producirse la hidrólisis en suero humano combinado en lugar de la aspirina compuesta deseada. El porcentaje de liberación de ácido salicílico aparece en la Tabla 1.

#### *Estudios de hidrólisis de los derivados del ketorolaco (4a-e)*

La solución del derivado (4a) (1 mg/ml) se conservó a  $37 \pm 1$  °C. Se extrajeron alícuotas (1,0 ml) a distintos intervalos de tiempo y, después de convertir el pH en ácido (~2), las alícuotas acidificadas se extrajeron en éter isopropílico de tal modo que se pudiera extraer el fármaco principal liberado (forma no iónica) dejando el derivado

dried and absorbance measured at 279 nm and 305 nm. For all the aliquots absorbance was observed only at 305 nm with no absorbance at 279 nm. This confirmed the formation of salicylic acid (3) upon hydrolysis of (1a) with no formation of aspirin (1). Further, the precipitated aqueous solution in each case was filtered and checked for absorbance at 305 nm to observe the formation of deacetylated product (3a) but, no absorbance was observed at this wavelength. This confirmed that the derivative (1a) is getting hydrolyzed in serum to liberate free salicylic acid (3) which in acidic pH (~2.0) got extracted into the organic layer giving absorbance at 305 nm.

The hydrolysis of esters (1a-e) in buffers showed that none of the esters hydrolyzed till a period of six hours in both the buffers (pH 2.0 and 7.4). However the enzymatic hydrolysis revealed that the esters did not hydrolyze to release the parent drug aspirin but only salicylic acid was formed. It can be said that the acidic carboxyl group would be successfully blocked till absorption since no hydrolysis was observed for all the esters in buffer. However, these esters do not act as true derivatives of aspirin for oral administration since salicylic acid was observed to be liberated upon hydrolysis in pooled human serum instead of the desired compound aspirin. The percent release of salicylic acid has been given in Table 1.

#### *Hydrolyses studies of derivatives of ketorolac (4a-e)*

Solution of the derivative (4a) (1 mg/ml) was maintained at  $37 \pm 1$  °C. Aliquots (1.0 ml) were withdrawn at different time intervals and after bringing the pH to acidic side (~2), the acidified aliquots were extracted into isopropyl ether so that the released parent drug (non-ionic form) would be extracted leaving the (ionic) intact derivative in the aqueous solution without partitioning into the organic layer. The pooled organic extract was dried and absorbance measured at 307 nm. The absorbance data was given mathematical treatment and half-life was calculated using equation  $t_{1/2} = 0.693/k$ . All the derivatives were similarly evaluated. No observable hydrolysis occurred for the compounds (4a-e) till 8 hours in buffer (pH 2.0) indicating them to be highly stable in the acidic environment of the stomach.

intacto (forma iónica) en la solución acuosa sin división en la capa orgánica. Se secó el extracto orgánico combinado y se midió la absorbencia a 307 nm. Los datos de absorbencia se trataron matemáticamente y se calculó la vida mediante la ecuación  $t_{1/2} = 0,693/k$ . Todos los derivados se evaluaron de forma similar. No se produjo hidrólisis visible para los compuestos (4a-e) hasta transcurridas 8 horas en tampón (pH 2,0), lo que indicó que eran altamente inestables en el entorno ácido del estómago. Las vidas medias largas (de 32 a 191 horas) observadas (Tabla 1) para los compuestos en tampón pH 7,4 nos indicaron que eran estables durante el período de tiempo suficiente para ser absorbidos de forma intacta por el tracto gastrointestinal y evitar el efecto del contacto directo con el fármaco principal, ketorolaco (4).

Se conservó una solución de prueba del derivado (4a) del ketorolaco en una concentración 1,0 mg/ml en suero humano a  $37 \pm 1$  °C. Una vez extraídas las alícuotas (0,5 ml), se trataron con TCA y la solución de proteína precipitada se extrajo con éter isopropílico, se secó y se midió la absorbencia a 307 nm frente al blanco obtenido mediante el mismo tratamiento pero sin la solución del derivado. Todos los ésteres mostraron una hidrólisis enzimática rápida para liberar ketorolaco (Tabla 1).

### *Evaluación biológica*

De acuerdo con nuestra hipótesis acerca de la existencia de actividad anticolinérgica en estos derivados, todos los derivados del ketorolaco y la aspirina presentaron esta actividad con un valor de  $pA_2$  (Tabla 2) que osciló entre 3,62 y 5,32. No obstante, presentaron una actividad mucho más débil que el sulfato de atropina estándar ( $pA_2$  8,20 bajo nuestras condiciones de laboratorio).

La actividad antiinflamatoria (Tabla 2) mostrada por los derivados de la aspirina fue significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) que la de la aspirina. El ácido salicílico es un inhibidor de la enzima ciclooxigenasa más débil que la aspirina<sup>1</sup>; es posible que la liberación de ácido salicílico en lugar de aspirina durante la hidrólisis enzimática pueda ser el motivo de esta reducción en la actividad antiinflamatoria. Los derivados del ketorolaco evaluados para comprobar su actividad antiinflamatoria mostraron una actividad comparable

The long half-lives (32 to 191 hours) observed (Table 1) for these compounds in buffer pH 7.4 indicate them to be stable for sufficient time period to be absorbed intact from the GIT and prevent the direct contact effect of the parent drug, ketorolac (4).

A test solution of derivative (4a) of ketorolac of concentration (1.0 mg/ml) was maintained in human serum at  $37 \pm 1$  °C. Aliquots (0.5 ml) upon withdrawal were treated with TCA and the protein-precipitated solution was extracted with isopropyl ether, dried and the absorbance measured at 307 nm against a blank obtained by giving similar treatment without the derivative solution. All the esters exhibited a fast enzymatic hydrolysis to release ketorolac (Table 1).

### *Biological Evaluation*

As per our hypothesis regarding the existence of anticholinergic activity in these derivatives all the ester derivatives of aspirin and ketorolac exhibited this activity with  $pA_2$  value (Table 2) ranging from 3.62 to 5.32 though, they showed much weaker activity than the standard atropine sulphate ( $pA_2$  8.20 under our laboratory conditions).

The anti-inflammatory activity (Table 2) exhibited by the derivatives of aspirin was significantly less ( $p < 0.05$ ) than aspirin. Salicylic acid is a weak inhibitor of cyclooxygenase enzyme than aspirin<sup>1</sup> and the release of salicylic acid instead of aspirin on enzymatic hydrolysis may be the reason for this reduced anti-inflammatory activity. The derivatives of ketorolac evaluated for anti-inflammatory activity exhibited a comparable activity to the parent drug ketorolac. It was observed that the ulcer index of all the derivatives evaluated for their ulcerogenic potential are significantly ( $p < 0.05$ ) less than their corresponding parent drugs. This observation supports the results of the kinetic studies performed for these derivatives in buffers indicating the successful blockade of acidic carboxyl group to prevent local GI irritation. Further, the existence of inherent anticholinergic activity of the derivatives might have also contributed in decreasing the ulcerogenicity by decreasing the gastric acid secretions.



al ketorolaco (fármaco principal). Se observó que el índice de úlcera de todos los derivados evaluados para comprobar su potencial ulcerogénico era significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) que el de sus fármacos principales correspondientes. Esta observación confirma los resultados de los estudios cinéticos realizados para dichos derivados en tampones, que demostraron el exitoso bloqueo del grupo carboxilato ácido que evita la irritación gastrointestinal local. Además, la existencia de actividad anticolinérgica intrínseca en los derivados también podría haber contribuido a reducir la ulcerogenicidad mediante el descenso de las secreciones de ácido gástrico.

### CONCLUSIONES

En conclusión, los derivados del éster de la aspirina dieron lugar a fracciones con efectos secundarios gastrointestinales mucho más leves en comparación con los fármacos principales, con una solubilidad en agua mayor, y una estabilidad adecuada en soluciones acuosas para bloquear con éxito la irritación local causada por la propiedad ácida del compuesto principal. No obstante, estos derivados no pueden ser mejores sustitutos de la aspirina para la administración oral debido a que no liberan el fármaco principal deseado al producirse la hidrólisis enzimática. Los derivados del ketorolaco mostraron una rápida liberación enzimática de fármaco principal y un descenso significativo del potencial ulcerogénico, lo que retuvo la actividad farmacológica deseada.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento al AICTE (All India Council of Technical Education) de Nueva Delhi por la ayuda financiera recibida por la beca de investigación proporcionada a través del proyecto de investigación principal TAPTEC.

### CONCLUSIONS

In conclusion, the ester derivatives of aspirin have resulted in moieties with much reduced GI side effects compared to the parent drugs, with a high water solubility and adequate stability in aqueous solutions to successfully block the local irritation due to the acidic functionality of the parent compound. However, they cannot be better substitutes to aspirin for oral administration due to their failure to release the desired parent drug upon enzymatic hydrolysis. The derivatives of ketorolac exhibited a fast enzymatic release of parent drug and a significant decrease in ulcerogenic potential retaining the desired pharmacological activity.

### ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful for the financial support from AICTE (All India Council of Technical Education), New Delhi for providing research grant in the form of TAPTEC Major Research Project.

### BIBLIOGRAFÍA/BIBLIOGRAPHY

1. Insel PA. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 9<sup>th</sup> ed. New York: Mc Graw-Hill; 1996.
2. Rainsford KD, Whitehouse MN. Gastric irritancy of aspirin and its congeners: anti-inflammatory activity without this side effect. *J.Pharm.Pharmacol.* 1976; 28:599-600.
3. Whitehouse W, Rainsford KD. Esterification of acidic anti-inflammatory drugs suppress their gastro toxicity without adversely affecting their anti-inflammatory activity in rats. *J. Pharm. Pharmacol.* 1980; 32:795-796.



4. Yadav MR, Halen PK, Chagti KK, Hemalatha B, Giridhar R. A Novel approach towards therapeutic optimization of diclofenac. *ARS Pharmaceutica* (In Press) 2005.
5. Gearien JE, Karin MA. Principles of Medicinal Chemistry. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lea and Febiger; 1981.
6. Kulkarni SK. Handbook of experimental pharmacology. 3<sup>rd</sup> ed. Delhi: Nirali Prakashan;1995.
7. Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Carrageenan induced edema in hind paw of rats as an assay for anti-inflammatory activity. *Proc. Soc. Exp. Biol.Med.* 1962; 111:544-547.
8. Parmar NS, Desai JK. A review of current methodology for the evaluation of gastric and duodenal antiulcer agents. *Indian J. Pharmacol.* 1993; 25:120-126.