Farmacie 6-06 28.11.2006 7:31 Str. 272
proLékaře.cz | 1.5.2025

ČESKÁ A SLOVENSKÁ FARMACIE
Ročník LV – Číslo 6 – LISTOPAD 2006

POTENCIOMETRICKÉ STANOVENIE DISOCIAČNÝCH KONŠTÁNT ALKYLESTEROV KYSELINY 2-, 3-, 4-{2-HYDROXY-3-[(4-DIFENYLMETYL)PIPERAZIN-1-YL]PROPOXY}FENYLKARBÁMOVEJ, POTENCIÁLNYCH BLOKÁTOROV ß-ADRENERGNÝCH RECEPTOROV NEROZPUSTNÝCH VO VODE

LIŠKOVÁ A., BLEŠOVÁ M.

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Farmaceutická fakulta, Ústav chemických léčiv

SÚHRN

Potenciometrické stanovenie disociačných konštánt alkylesterov kyseliny 2-, 3-, 4-{2-hydroxy-3-[(4-difenylmetyl)piperazin-1-yl]propoxy}fenylkarbámovej, potenciálnych blokátorov ß-adrenergných receptorov nerozpustných vo vode

Potenciometrická titrácia v zmesiach voda – metanol bola použitá na stanovenie zdanlivých ionizačných konštánt (${}_{w}^{s}pK_a$) potenciálnych liečiv, 12 protonizovaných báz, alkylesterov kyseliny 2-, 3-, 4-{3-(4-difenylmetyl-piperazin-1-yl)-2-hydroxy-propoxy}fenylkarbámovej vo forme dihydrochloridov. Hodnoty pK_a pre vodné prostredie boli získané extrapoláciou závislosti Yasuda–Shedlovsky; zvolený postup bol overený použitím modelovej zlúčeniny trimekaín–hydrochloridu. Prvá ionizačná konštanta študovaných látok sa pohybovala v rozmedzí od 2,7 do 3,2, druhá od 6,5 do 7,2. V homologických radách bol pozorovaný len mierny pokles ionizačných konštánt s rastúcim počtom uhlíkov. Experimentálne získané pK_a boli porovnané s disociačnými konštantami získanými výpočtovým programom SPARC.

K ľ ú č o v é s l o v á: disociačná konštanta – potenciometria – zmesi voda/metanol – protonizované bázy

Čes. slov. Farm., 2006; 55, 272–277

SUMMARY

Potentiometric Determination of Aqueous Dissociation Constants of 2-,3-,4-{3-(4-Benzhydryl-piperazine-1-yl)-2-hydroxy-propoxy}-phenylcarbamic Acid Alkylesters, Water Insoluble Potential Blockers of ß-Adrenergic Receptors

Apparent ionization constants (${}_{w}^{s}pK_a$) of potential drugs, a series of twelve protonated bases, 2-,3-,4-{3-(4-benzhydryl-piperazine-1-yl)-2-hydroxy-propoxy}-phenylcarbamic acid alkylesters dihydrochlorides, were determined by automated potentiometric titrations in mixtures water – methanol. Aqueous pK_a were assessed by means of Yasuda-Shedlovsky equation. Approach for pK_a determination was evaluated using trimecaine hydrochloride as the model compound. The first values of ionization constants ranged approximately from 2.7 to 3.2, the second ones from 6.5 to 7.2. Only a slight decrease in ionization constants with the number of carbon atoms was observed in homological series. Experimentally determined dissociation constants were compared with the values predicted by the computer program SPARC.

K e y w o r d s: dissociation constant – potentiometry – mixtures water/methanol – protonated bases

Čes. slov. Farm., 2006; 55, 272–277 *Má*

proLékaře.cz | 1.5.2025

Úvod

Ionizácia ovplyvňuje nielen fyzikálno–chemické vlastnosti liečiv, napríklad rozpustnosť a lipohydrofilitu, ale má vplyv aj na viacero parametrov vo vzťahu k interakcii bunky s liečivom, akými sú penetrácia tkanivami, priepustnosť biologických membrán, väzba na proteíny v mieste účinku a metabolizmus. Schopnosť prechádzať cez lipoidnú bariéru biologických membrán majú zväčša nedisociované liečivá, čo je podmienené tým, že nedisociovaná forma je obyčajne lepšie rozpustná v lipidoch, ktoré tvoria súčasť membrán. Ionizovaná forma je z transmembránovej difúzie prakticky vylúčená [1, 2].

Tradičnou metódou stanovenia disociačných konštánt je acidobázická titrácia s potenciometrickou indikáciou, založená na stanovení pomeru ionizovanej a neionizovanej formy liečiva ako funkcie pH prostredia. Použitím vysokokvalitnej sklenenej elektródy, jej správnou kalibráciou, vylúčením prítomnosti okolitého oxidu uhličitého a presným použitím veľmi malých objemov titrantu možno stanovovať pK_a látok v koncentráciách už od 1.10^{-3} mol.dm^{-3} [3]. K výhodám tejto metódy patrí rýchlosť, presnosť a reprodukovateľnosť, stanovenie je však často sťažené obmedzenou rozpustnosťou vzorky vo vode. Altenatívnym spôsobom stanovenia pK_a je v tomto prípade meranie tzv. zdanlivej ionizačnej konštanty v zmesiach voda – organické rozpúšťadlo, s rozličnými pomermi oboch zložiek. Z organických rozpúšťadiel (metanol, etanol, propanol, acetón, 1,4-dioxán, N, N-dimetylsulfoxid, N,N-dimetylformamid, tetrahydrofurán) sa najčastejšie používa metanol, pretože jeho solvatačný efekt sa najviac podobá solvatačnému efektu vody.

Ak stanovenie prebieha v zmesi voda – metanol, nameranú ionizačnú konštantu je potrebné vyjadriť v aktivitnej stupnici zodpovedajúcej zmesi. Táto podmienka môže byť splnená kalibráciou elektródy pomocou pufrov pripravených v zmesi s rovnakým zložením, alebo prepočtom hodnoty pK_a vyjadrenej v pH škále vodného prostredia, (${}^{s}_{w}$pK_a) na hodnotu, ktorá sa vzťahuje k prostrediu v ktorom bolo stanovenie uskutočnené (${}^{s}_{s}$pK_a). Požadovaný prepočet umožňuje vzťah [1] [4–6]:

$$ {}^{s}_{s}\mathrm{pH} = {}^{s}_{w}\mathrm{pH} - \delta \qquad [1] $$

Podľa nomenklatúry IUPAC [6] používanej na popis pH, resp. pK_a, ľavý horný index použitých symbolov označuje prostredie, v ktorom prebieha meranie, ľavý dolný index sa vzťahuje k prostrediu, ktoré je pri nekonečnom zriedení charakterizované jednotkovým iónovým aktivitným koeficientom.

Parameter δ zahŕňa kvapalinový potenciál elektródového systému v danej zmesi vyjadrený v jednotkách pH ($\bar{E}_j$) a záporný logaritmus aktivitného koeficientu vodíkových iónov v prostredí, $-\log({}^{s}_{w}\gamma^{o}_{H})$ známy ako tzv. primárny efekt prostredia:

$$ \delta = \bar{E}_j - \log({}^{s}_{w}\gamma^{o}_{H}). \qquad [2] $$

V prípade, že veľkosť kvapalinového potenciálu elektródy je vzhľadom k veľkosti primárneho efektu prostredia zanedbateľná, člen závisí výhradne na použitom organickom rozpúšťadle. Za tohto predpokladu boli pre zmesi voda – metanol experimentálne stanovené hodnoty δ s použitím vodíkovej [5, 7, 8] a kombinovanej sklenenej [9] elektródy. Zo závislosti týchto hodnôt na obsahu metanolu bol odvodený empirický vzťah [9]:

$$ \delta = (0{,}09\phi - 0{,}11\phi^2)/(1 - 3{,}15\phi + 3{,}5\phi^2 - 1{,}35\phi^3) \qquad [3] $$

kde ϕ je objemový zlomok metanolu v zmesi.

Disociačná konštanta látky vo vode, označovaná ako ${}^{w}_{w}$pK_a, sa obvykle získa extrapoláciou hodnôt zdanlivých ionizačných konštánt na nulový obsah metanolu. V prácach [10, 11] bola hodnota ${}^{w}_{w}$pK_a určená z úseku b_w, závislosti zdanlivých ionizačných konštánt ${}^{s}_{s}$pK_a od obsahu organického rozpúšťadla vyjadrenom v hmotnostných percentách (w):

$$ {}^{s}_{s}\mathrm{p}K_a = a_w w + b_w \qquad [4] $$

Pretože táto závislosť nie je vždy lineárna [11] (obvykle má parabolický tvar), hľadali sa nové závislosti vhodné na extrapoláciu. Yasuda a Shedlovsky pomocou Bjerrumovej teórie asociácie iónov [12] a rozšírením platnosti Bornovho elektrostatického modelu [13] odvodili pre potreby výpočtu ionizačnej konštanty vo vode vzťah:

$$ {}^{s}_{s}\mathrm{p}K_a + \log[H_2O] = a/\varepsilon + b \qquad [5] $$

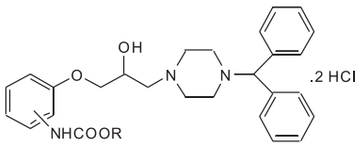
kde log [H_2O] je molárna koncentrácia vody v príslušnej zmesi, ε je dielektrická konštanta zmesi, symbol a predstavuje smernicu priamky a b je regresná konštanta [14].

Hodnotu pK_a pre vodné prostredie možno získať po dosadení hodnôt vyjadrujúcich látkovú koncentráciu (55,56 mol.dm^{-3}) a dielektrickú konštantu vody (78,3). Uvedená závislosť vykazuje lineárny priebeh len pre zmesi s dielektrickou konštantou $\varepsilon > 50$ [11].

Cieľom práce bolo stanoviť disociačné konštanty alkylesterov kyseliny 2-, 3-, 4- {2-hydroxy-3-[(4--difenylmetyl)piperazin-1-yl]propoxy}fenylkarbámovej vo forme dihydrochloridov (obr. 1).

U študovaných látok sa predpokladá antagonistický účinok na β-adrenergné receptory. Postup syntézy a niektoré fyzikálno–chemické vlastnosti týchto zlúčenín boli popísané v práci [15]. Potenciometrické stanovenie disociačných konštánt v zmesiach voda – metanol a následné odvodenie ionizačnej konštanty pre vodné prostredie, bolo najprv overené s použitím trimekaín–hydrochloridu [16], ako modelovej zlúčeniny s popísanou hodnotou pK_a, ktorá rovnako ako študované látky patrí medzi katiónové kyseliny. Stanovenie disociačných konštánt u týchto potenciálnych liečiv bolo potrebné pre štúdium ich farmakodynamických a farmakokinetických vlastností. Stanovené hodnoty pK_a poslúžia pri výbere optimálnych podmienok pri analýze látok chromatografickými a elektroforetickými metódami.

Farmacie 6-06 28.11.2006 7:31 Str. 274
proLékaře.cz | 1.5.2025



označenie látky	R	poloha NHCOOR
UCHL 18	$-CH_3$	2-
UCHL 19	$-C_2H_5$	2-
UCHL 20	$-C_3H_7$	2-
UCHL 21	$-C_4H_9$	2-
UCHL 1	$-CH_3$	3-
UCHL 2	$-C_2H_5$	3-
UCHL 51	$-C_3H_7$	3-
UCHL 3	$-C_4H_9$	3-
UCHL 22	$-CH_3$	4-
UCHL 23	$-C_2H_5$	4-
UCHL 24	$-C_3H_7$	4-
UCHL 25	$-C_4H_9$	4-

Obr. 1. Štruktúra študovaných zlúčenín

POKUSNÁ ČASŤ

Chemikálie

Študované látky boli nasyntetizované na Ústave chemických léčiv Farmaceutickej fakulty VFU Brno. Všetky ostatné chemikálie boli čistoty p.a. Kyselina amidosírová a 0,1M-NaOH Titrisol boli získané od firmy Merck (Darmstadt, Nemecko), trimekaín-hydrochlorid ČL 97 od firmy Chemifarm, s.r.o. (Otrokovice, ČR), HCl 36 % od firmy Onex (Rožnov p. R., ČR), metanol od firmy Lach-Ner., s.r.o. (Neratovice, ČR), KCl od firmy Fluka (Buchs, Švajčiarsko), tlmivé roztoky od firmy Mettler Toledo (Urdorf, Švajčiarsko); pH 2,00 (kyselina citrónová, chlorid sodný, kyselina chlorovodíková), pH 4,01 (hydrogénftalát draselný), pH 7,00 (dihydrogénfosforečnan draselný, hydrogénfosforečnan sodný), pH 9,21 (tetraboritan sodný). Na prípravu všetkých roztokov bola použitá demineralizovaná voda (Aqua Dem, Tišnov, ČR) zbavená CO_2 povarením.

Pracovný postup

Titrácie boli prevedené s použitím automatického titrátora DL 55 a kombinovanej sklenenej elektródy DG 115-SC (Mettler Toledo, Greifensee, Švajčiarsko). Elektróda bola kalibrovaná pomocou štandardných tlmivých roztokov. Roztok vzorky bol pripravený z návažky približne 0,08 g, celkový objem titrovaného roztoku bol 30 ml. Za účelom zabezpečenia kompletnej ionizácie bol roztok okyslený 0,1M-HCl na pH 1,8–2,0. Na titráciu bol použitý čerstvo pripravený odmerný roztok 0,1M-NaOH, titer ktorého bol stanovený na základnú látku, kyselinu amidosírovú. Titrácie boli uskutočnené v zmesiach voda – metanol s počiatočným obsahom metanolu ϕ = 40 % až 65 % v závislosti na rozpustnosti látky. V každej zmesi boli vykonané 3 paralelné titrácie. Analýza bola uskutočnená pri teplote 22±1 °C a iónová sila roztokov bola pomocou KCl upravená na hodnotu $I = 0{,}1$ mol.dm^{-3}.

V prípade trimekaínu bol postup rovnaký, titrácie boli uskutočnené v zmesiach voda – metanol s počiatočným obsahom metanolu ϕ = 20 % až 60 %. pK_a trimekaínu bolo navyše stanovené titráciou vo vodnom prostredí.

Pri titrácii v zmesiach voda – metanol bolo pK_a trimekaínu a pK_a 1 študovaných látok vyhodnotené zo spotreby odmerného roztoku a zodpovedajúcej hodnoty pH medzi prvým a druhým inflexným bodom. pK_a 2 nových zlúčenín bolo analogicky vyhodnotené zo spotreby a zodpovedajúceho pH v oblasti medzi 2 a 3 inflexným bodom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Disociačné konštanty trimekaín-hydrochloridu namerané elektródou kalibrovanou štandardnými tlmivými roztokmi, ${}^{s}_{w}pK_a$, boli v zmysle rovnice [1] vyjadrené v aktivitnej stupnici zmesí voda – metanol (tab. 1).

Tab. 1. Hodnoty δ, ${}^{s}_{w}pK_a$ *a* ${}^{s}_{s}pK_a$ *trimekaín-hydrochloridu získané z 3 sérií paralelných potenciometrických stanovení v zmesiach voda – metanol*

Obsah CH_3OH v zmesi ϕ (%)	w (%)	δ	${}^{s}_{w}pK_a$	${}^{s}_{s}pK_a$
18,95	15,59	0,0252	7,85	7,82
28,44	23,89	0,0468	7,79	7,74
37,93	32,56	0,0774	7,63	7,55
47,37	41,56	0,1181	7,51	7,39
56,87	51,02	0,1634	7,41	7,25
18,96	15,60	0,0252	7,86	7,83
28,44	23,89	0,0468	7,79	7,74
37,92	32,55	0,0774	7,66	7,58
47,33	41,52	0,1180	7,52	7,40
56,77	50,92	0,1630	7,41	7,25
18,97	15,61	0,0252	7,85	7,82
28,41	23,87	0,0467	7,79	7,74
37,91	32,54	0,0773	7,68	7,60
47,32	41,51	0,1179	7,53	7,41
56,87	51,02	0,1634	7,42	7,26

Hodnoty δ sa vypočítali s ohľadom na zloženie zmesi v ekvivalentnom bode podľa vzťahu [3]. Z vypočítaných ${}^{s}_{s}pK_a$ bola zostrojená závislosť definovaná vzťahom [5]. Dielektrické konštanty zmesí voda – metanol boli vypočítané podľa rovnice:

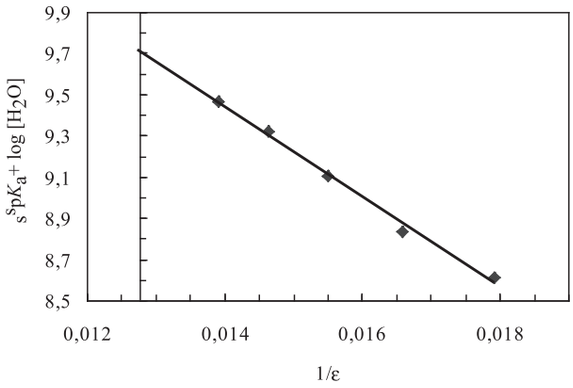
$$\varepsilon = 32{,}91 + 0{,}208x + 0{,}00246x^2, \qquad [6]$$

kde x prestavuje množstvo vody v zmesi vyjadrenej v mólových percentách [17].

Extrapoláciou získaných závislostí k nulovému obsahu metanolu v zmesi boli odvodené ${}^{w}_{w}pK_a$. Priebeh závislosti ${}^{s}_{s}pK_a$ + log [H_2O] na $1/\varepsilon$ trimekaín-hydrochloridu v zmesi voda – metanol ilustruje obrázok 2.

Vysoké hodnoty korelačných koeficientov poukazujú na vysokú mieru lineárnej závislosti súčtu ${}^{s}_{s}pK_a$ + log [H_2O] na prevrátenej hodnote dielektrickej konštanty

proLékaře.cz | 1.5.2025



Obr. 2. Extrapolácia Yasuda–Shedlovsky trimekaín--hydrochloridu v zmesi voda – metanol
y = – 218,4x + 12,498, r = 0,9972

zmesi. Interval spoľahlivosti pre vypočítanú priemernú hodnotu disociačnej konštanty trimekaín–hydrochloridu (7,96) na hladine významnosti α = 0,05 bol pre stanovenie v zmesi voda – metanol 0,013. Porovnanie hodnoty

Tab. 2. Porovnanie disociačných konštánt trimekaín--hydrochloridu

	pK_a
extrapolácia Yasuda-Shedlovsky	
v zmesi voda – metanol	7,96±0,013[a]
stanovenie vo vode	8,00±0,006[b]
literatúra [18)]	7,99

[a] interval spoľahlivosti na hladine významnosti α = 0,05
[b] smerodajná odchýlka

$_w^wpK_a$, ktorá bola získaná extrapoláciou, s hodnotou pK_a stanovenou titráciou vo vodnom prostredí a publikovanou hodnotou uvádza tabuľka 2.

Na základe dobrej zhody výsledkov získaných pri stanovení ionizačnej konštanty trimekaín–hydrochloridu v zmesi voda – metanol sme zvolili rovnaký prístup k stanoveniu pK_a aj u nových zlúčenín, alkylesterov kyseliny 2-, 3-, 4- [3-(4-difenylmetyl-piperazin-1-yl)-2--hydroxy-propoxy]fenylkarbámovej vo forme dihydrochloridov. Priame stanovenie pK_a vo vode nebolo kvôli ich nedostatočnej rozpustnosti možné. Dolná hranica obsahu metanolu bola určená rozpustnosťou jednotlivých látok, horná vyplynula zo skutočnosti, že závislosť [5], extrapoláciou ktorej boli získané výsledné hodnoty, je lineárna len pre zmesi s dielektrickou konštantou ε > 50. U použitých zmesí to zodpovedá maximálnemu obsahu metanolu ϕ = 65 %. Dielektrické konštanty zmesí voda – metanol boli vypočítané podľa vzťahu [6]. V tabuľkách 3 a 4 sú ako príklad spracovania experimentálnych dát uvedené výsledky pre látku UCHL 22, konkrétne disociačné konštanty namerané elektródou kalibrovanou štandardnými tlmivými roztokmi $_w^spK_a$ a vypočítané hodnoty $_s^spK_a$.

Tab. 3. Hodnoty δ, $_w^spK_a$ 1 a $_s^spK_a$ 1 látky UCHL 22 získané z troch sérií paralelných potenciometrických stanovení v zmesiach voda – metanol

Obsah CH_3OH v zmesi ϕ (%)	w (%)	δ	$_w^spK_a$ 1	$_s^spK_a$ 1
38,83	33,40	0,0809	2,76	2,68
43,73	38,04	0,1013	2,77	2,67
48,75	42,90	0,1248	2,72	2,60
53,79	47,91	0,1493	2,68	2,53
58,71	52,90	0,1710	2,68	2,51
63,70	58,09	0,1846	2,65	2,47
38,95	33,51	0,0813	2,75	2,67
43,57	37,89	0,1006	2,75	2,65
48,84	42,99	0,1252	2,71	2,58
53,90	48,02	0,1498	2,67	2,52
58,49	52,68	0,1701	2,69	2,52
63,83	58,23	0,1848	2,64	2,46
38,97	33,53	0,0814	2,75	2,67
43,61	37,93	0,1008	2,75	2,65
48,87	43,02	0,1253	2,72	2,59
53,83	47,95	0,1495	2,68	2,53
58,55	52,74	0,1704	2,69	2,52
63,85	58,25	0,1848	2,64	2,46

Tab. 4. Hodnoty δ, $_w^spK_a$ 2 a $_s^spK_a$ 2 látky UCHL 22 získané z troch sérií paralelných potenciometrických stanovení v zmesiach voda – metanol

obsah CH_3OH v zmesi ϕ (%)	w (%)	δ	$_w^spK_a$ 2	$_s^spK_a$ 2
38,28	32,88	0,0788	7,02	6,94
43,13	37,47	0,0987	6,98	6,88
48,17	42,34	0,1220	6,95	6,83
53,25	47,36	0,1467	6,96	6,81
58,21	52,39	0,1690	6,93	6,76
63,15	57,52	0,1838	6,91	6,73
38,40	33,00	0,0792	7,01	6,93
42,95	37,29	0,0979	6,99	6,89
48,29	42,45	0,1225	6,95	6,83
53,34	47,45	0,1471	6,95	6,80
57,93	52,10	0,1679	6,94	6,77
63,25	57,62	0,1840	6,88	6,70
38,44	33,03	0,0794	7,01	6,93
43,09	37,43	0,0985	6,98	6,88
48,34	42,50	0,1228	6,95	6,83
53,40	47,51	0,1474	6,95	6,80
58,05	52,23	0,1684	6,93	6,76
63,33	57,71	0,1841	6,87	6,69

Hodnoty korelačných koeficientov závislosti definovanej vzťahom [5] sú v prípade látky UCHL 22 uvedené spolu s parametrami regresnej závislosti v tabuľke 5.

Vysoké hodnoty korelačných koeficientov (r > 0,98) boli zaznamenané aj u ostatných látok, a teda rovnako ako u trimekaín–hydrochloridu aj pri tomto stanovení vykazuje závislosť súčtu $_s^spK_a$ + log [H_2O] na prevrátenej

proLékaře.cz | 1.5.2025

Tab. 5. Parametre regresnej závislosti [5] látky UCHL 22 v zmesiach voda – metanol a hodnoty ${}^{w}_{w}pK_a$ 1 a ${}^{w}_{w}pK_a$ 2 získané jej extrapoláciou na nulový obsah metanolu v zmesi

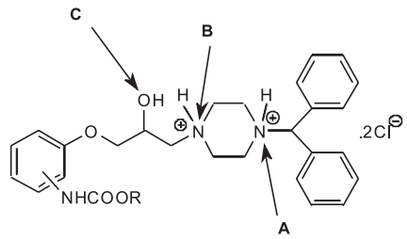
a	*b*	*r*	${}^{w}_{w}pK_a$ 1
–129,6	6,233	0,9934	2,83
–125,5	6,153	0,9933	2,80
–125,7	6,159	0,9960	2,81
			2,81±0,039*
a	*b*	*r*	${}^{w}_{w}pK_a$ 2
–123,1	10,365	0,9947	7,05
–128,4	10,451	0,9978	7,07
–130,3	10,480	0,9983	7,07
			7,06±0,026*

* interval spoľahlivosti na hladine významnosti α = 0,05

Tab. 6. Disociačné konštanty stanovené experimentálne a výpočtovým programom SPARC

Látka	${}^{w}_{w}pK_a$ [5]	${}^{w}_{w}pK_a$(SPARC)	N
UCHL 18	2,73±0,065 6,59±0,052		5
UCHL 19	2,80±0,078 6,54±0,065	2,37 6,61	4
UCHL 20	2,77±0,039 6,48±0,052		4
UCHL 21	2,87±0,091 6,67±0,039		4
UCHL 1	2,95±0,052 6,90±0,026		6
UCHL 2	2,87±0,052 6,80±0,026	2,53 6,84	5
UCHL 51	2,99±0,039 6,99±0,065		4
UCHL 3	3,01±0,078 7,05±0,078		4
UCHL 22	2,81±0,039 7,06±0,026		6
UCHL 23	2,90±0,052 7,09±0,065	2,57 6,96	5
UCHL 24	3,15±0,078 7,10±0,065		4
UCHL 25	3,22±0,039 7,17±0,078		4

N – počet zmesí voda – metanol, v ktorých bolo meranie uskutočnené



Obr. 3. Miesta ionizácie študovaných zlúčenín

hodnote dielektrickej konštanty zmesi vysokú mieru linearity. Záporné hodnoty smerníc potvrdzujú správanie katiónových kyselín popísaných v literatúre [3, 4]. Extrapoláciou získaných závislostí k nulovému obsahu metanolu v zmesi boli odvodené ${}^{w}_{w}pK_a$ a pre ich priemerné hodnoty boli vypočítané intervaly spoľahlivosti na hladine významnosti α = 0,05 (tab. 6).

Ako alternatívny spôsob na stanovenie disociačných konštánt bol použitý program SPARC [19], ktorý využíva algoritmy založené na teórii základnej chemickej štruktúry. Detaily tejto metódy sú popísané v prácach [20–24]. Model SPARC bol testovaný aj u molekúl s viacnásobným počtom miest ionizácie a vzhľadom k tomu, že sa uplatnil pri výpočte ionizačných konštánt u 2500 organických molekúl a bol validovaný na 4338 hodnotách pK_a vo vodnom prostredí, pripisuje sa mu vysoká miera robustnosti. Výsledky získané týmto programom (tab. 6) boli u členov homologických radov rovnaké a nižšie ako experimentálne získané hodnoty.

U študovaných zlúčenín možno predpokladať 3 miesta ionizácie, oba protonizované atómy dusíka piperazínu (A a B) a kyslík hydroxylovej skupiny (C) (obr. 3).

Potenciometrickou titráciou bolo možné stanoviť len prvé dve z uvedených ionizačných konštánt, prislúchajúce postupnej deprotonizácii dvoch atómov dusíka. pK_a 1 vyjadruje vzťah medzi pH a pomerom koncentrácií foriem $R'HN^+_{(A)}HN^+_{(B)}$ a $R'N_{(A)}HN^+_{(B)}$, pričom ako R' je označený zvyšok molekuly nepodliehajúci ionizácii:

$$pK_a\,1 = pH + \log \frac{[R'HN^+_{(A)}HN^+_{(B)}]}{[R'N_{(A)}HN^+_{(B)}]} \qquad [7]$$

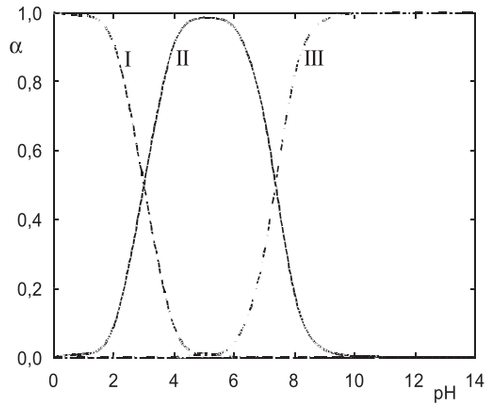
Analogicky pK_a 2 vyjadruje vzťah medzi pH a pomerom koncentrácií foriem $R'N_{(A)}HN^+_{(B)}$ a $R'N_{(A)}N_{(B)}$:

$$pK_a\,2 = pH + \log \frac{[R'N_{(A)}HN^+_{(B)}]}{[R'N_{(A)}N_{(B)}]} \qquad [8]$$

Kým pK_a hydrochloridu piperazínu je 9,82 [25] a N-difenylmetylpiperazínu 9,23 [19] u študovaných látok možno pozorovať zvýšenie acidity vplyvom zvyšku molekuly až k hodnotám pK_a 2 v oblasti 6,5–7,2.

Zo stanovených hodnôt prvej a druhej ionizačnej

proLékaře.cz | 1.5.2025



Obr. 4. Distribučný diagram látky UCHL 22,
pK_a 1 = 2,81; pK_a 2 = 7,06
I = $R'HN^+_{(A)}HN^+_{(B)}$; II = $R'N_{(A)}HN^+_{(B)}$; III = $R'N_{(A)}N_{(B)}$

konštanty možno zostrojiť distribučný diagram, znázorňujúci závislosť pomerného zastúpenia jednotlivých foriem látky v rovnovážnom systéme od hodnoty pH prostredia a predpovedať tak schopnosť látok vstrebávať sa z jednotlivých častí organizmu. Podiel jednotlivých foriem v rovnovážnej zmesi, označených ako α, vyjadrujú rovnice [9–11]:

$$\alpha = (R'HN^+_{(A)}HN^+_{(B)}) = \frac{[R'HN^+_{(A)}HN^+_{(B)}]}{([R'HN^+_{(A)}HN^+_{(B)}] + [R'N_{(A)}HN^+_{(B)}] + [R'N_{(A)}N_{(B)}])} = \frac{[H^+]^2}{([H^+]^2 + K_a1[H^+] + K_a1K_a2)} \quad [9]$$

$$\alpha = (R'N_{(A)}HN^+_{(B)}) = \frac{[R'N_{(A)}HN^+_{(B)}]}{([R'HN^+_{(A)}HN^+_{(B)}] + [R'N_{(A)}HN^+_{(B)}] + [R'N_{(A)}N_{(B)}])} = \frac{K_a1[H^+]}{([H^+]^2 + K_a1[H^+] + K_a1K_a2)} \quad [10]$$

$$\alpha = (R'N_{(A)}N_{(B)}) = \frac{[R'N_{(A)}N_B)]}{([R'HN^+_{(A)}HN^+_{(B)}] + [R'N_{(A)}HN^+_{(B)}] + [R'N_{(A)}N_{(B)}])} = \frac{K_a1K_a1}{([H^+]^2 + K_a1[H^+] + K_a1K_a2)} \quad [11]$$

Distribučný diagram látky UCHL 22 je znázornený na obrázku 4.

Vzhľadom k podielu nedisociovanej formy v rovnovážnej zmesi možno predpokladať, že potenciál látky absorbovať sa z alkalického a neutrálneho prostredia je vyšší ako z prostredia kyslého. Toto tvrdenie možno zovšeobecniť pre celú skupinu študovaných látok, keďže typ substituenta v karbamátovom reťazci a jeho poloha na aromatickom jadre nemá podľa výsledkov výraznejší vplyv na hodnotu disociačnej konštanty.

LITERATÚRA

1. **Ishihama, Y., Nakamura, M., Miwa, T. et al.:** J. Pharm. Sci. 2002; 91, 933-942.
2. **Cairns, D.:** Essentials of Pharmaceutical Chemistry. 2 vyd. London, Pharmaceutical Press, 2003.
3. **Takács–Novák, K., Box, K. J., Avdeef, A.:** Int. J. Pharm. 1997; 151, 235-248.
4. **Šůcha, L., Kotrlý, S.:** Teoretické základy analytické chemie. Praha, SNTL, 1987.
5. **Bates, R. G.:** Determination of pH: Theory and practice. 2. vyd. New York, John Wiley & Sons, 1973.
6. IUPAC Compendium of Analytical Nomenclature. Definitive Rules 1997. 3. vyd. Oxford, Blackwell, 1998.
7. **DeLigny, C. L., Rehbach, M.:** Rec. Trav. Chim. 1960; 79, 727-730.
8. **Bates, R. G., Paabo, M., Robinson, R. A.:** J. Phys. Chem. 1963; 67, 1833-1838.
9. **Canals, I., Oumada, F. Z., Rosés, M., Bosch, E.:** J. Chromatogr. A. 2001; 911, 191-202.
10. **Mizutani, M.:** Z. Physik. Chem. 1925; 116, 350-358.
11. **Avdeef, A., Comer, J. E. A., Thomson, J. S.:** Anal. Chem. 1993; 65, 42-49.
12. **Hawes, J. L., Kay, R. L.:** J. Phys. Chem. 1965; 69, 2420-2431.
13. **Sarmini, K., Kenndler, E.:** J. Biochem. Biophys. Methods 1999; 38, 123-137.
14. **Avdeef, A., Box, K. J., Comer, J. E. A. et al.:** J. Pharm. Biomed. Anal. 1999; 20, 631-641.
15. **Opatřilová, R., Mokrý, P., Csöllei, J., Blešová, M.:** Čes. slov. Farm. 2002; 51, 305-309.
16. Český lékopis 2005. Praha, Grada Publishing 2005, s. 3129.
17. **Solntsev, K. M., Huppert, D., Agmon, N., Tolbert, L. M.:** J. Phys. Chem. A 2000; 104, 4658-4669.
18. **Pešák M., Štolc S., Beneš, L.:** Čes. slov. Farm. 1980; 29, 272-275.
19. http://ibmlc2.chem.uga.edu/sparc/, 25.04.2006
20. **Karickhoff, S. W., McDaniel V. K., Melton, C. M. et al.:** Environ. Toxicol. Chem. 1991; 10, 1405-1416.
21. **Hilal, S. H., Carreira, L. A., Melton C. M., Karickhoff, S. W.:** Quant. Struct. Act. Relat. 1993; 12, 389-396.
22. **Hilal, S. H., Carreira, L. A., Melton C. M. et al.:** J. Phys. Org. Chem. 1994; 7, 122-141.
23. **Hilal, S. H., Carreira, L. A., Karickhoff, S. W.:** In: Quantitative Treatment of Solute/Solvent Interactions: Theoretical and Computational Chemistry (Polizer, P., Murray, J. S., ed.), Vol. 1, Amsterdam, Elsevier, 1994.
24. **Hilal, S. H., Carreira, L. A., Karickhoff, S. W.:** Quant. Struct. Act. Relat. 1995; 14, 348-355.
25. **Perrin, D. D., Dempsey, B., Serjeant, E. P.:** pK_a Prediction for Organic Acids and Bases. London, Chapman and Hall, 1981.

Došlo 8. 6. 2006.
Přijato ke zveřejnění 25. 7. 2006.

RNDr. Anna Lišková
Palackého 1/3, 612 42 Brno
e-mail: liskovaa@vfu.cz