

# Zárványkomplex-mikroegyensúlyok

## III. A lineáris szabadenergia-összefüggések különleges esete

Kun Csilla<sup>1</sup>, Tőkés Béla<sup>2</sup>, Donáth-Nagy Gabriella<sup>2</sup>, Vancea Szende<sup>2</sup>  
Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem, <sup>1</sup>Analitikai Kémia Tanszék, <sup>2</sup>Fizikai Kémia Tanszék

### Microechilibre la complexi de incluziune III. Un caz particular al relațiilor liniare de energie liberă

Scopul acestei lucrări este extinderea regulilor valabile în cazul proceselor de repartiție asupra formării complexilor de incluziune ai ciclodextrinelor, considerând aceste interacțiuni ca microechilibre de repartiție ale moleculei gazdă între cavitatea apolară a ciclodextrinei și mediul exterior polar. Am obținut relații liniare între constanta de stabilitate a complexilor de incluziune ale acizilor dicarboxilici și între logaritmul coeficientului de repartiție calculată. Aceste rezultate confirmă și documentează din mai multe direcții presupunerea noastră inițială referitoare la microechilibre.

*Cuvinte cheie:* complexi de incluziune, ciclodextrine, coeficient de repartiție, acizi dicarboxilici

### Microequilibria at inclusion complexes III. A particular case of the Linear Free-Energy Relations

The aim of this work is to expand the rules applicable to the partition processes on the formation of inclusion complexes of cyclodextrins, considering these interactions as partition microequilibria of the host molecule between the nonpolar cyclodextrin cavity and the polar external environment. We obtained relations between the stability constants of inclusion complexes of dicarboxylic acids and the calculated n-octanol/water partition coefficients. These results confirmed and documented from several directions our initial assumption concerning microequilibria.

*Key-words:* inclusion complexes, cyclodextrins, partition coefficient, dicarboxylic acid

Orvostudományi Értesítő, 2009, 82 (1): 39-10

www.orvtudert.ro

## Elméleti megfontolások

Az előzőekben [7,8] levezettük, hogy a CD-es zárványkomplexek stabilitási állandója ( $K_{st}$ ), valamint a ciklodextrinek (CD) apoláris kavitása és a vizes oldat – mint hidrofíli környezet közötti mikro-megoszlási egyensúly  $K_{ow}$  paramétere (P, megoszlási állandó) között szigorúan meghatározott kapcsolatnak kell lennie, azaz a két jellemző egyenértékű. Mi ezt a kapcsolatot kiterjesztettük a HLB-re is, azaz:  $HLB \sim \log K_{ow} \equiv \log P \sim \log K_{st}$ .

(A következőkben, a IUPAC-féle ajánlásnak megfelelően, a hagyományos P helyett a  $K_{ow}$  jelölést használjuk.) Mindhárom paraméter additív és konstitutív.

A biológiai válasz magyarázatában, a QSAR kutatásokban a  $\log K_{ow}$  (felfogásunk szerint a  $\log K_{st}$  is) alapvető. A többi (elektron szerkezeti, szterikus) tényező a receptorhoz való eljutás sebességét és a vele bekövetkező kölcsönhatást határozzák meg, de a lipofilitás mindenütt dominál. A szerkezet – hatás kapcsolata és a lineáris szabadenergia-összefüggések tartalma és különböző alakjaihoz kiindulópontként Collander egyenlete [7] szolgálhat:

$$\lg K_{bio} = a \lg K_{oktanol} + b$$

Ez kongenerikus vegyületsor esetén kiterjeszthető bármely nem elegyedő oldószerpárra:

$$\lg K_{ow2} = a \lg K_{ow1} + b$$

Áttérés a lineáris szabadenergia-összefüggések megfo-

galmazásában 1962-ben észlelhető, amikor Hansch és munkatársai [4] a biológiai hatást a Hammett-féle  $\sigma$ , a Taft-féle  $E_s$  és a  $\pi$  hidrofobicitási állandókkal kapcsolták össze. Hansch és munkatársai bebizonyították az egyenletükben megjelenő  $\pi^2$ -es tag bevezetésének szükségességét, feltételezve, hogy a biológiai hatás és a megoszlásos állandó között Gauss-féle eloszlás érvényes. Tehát a lineáris szabadenergia (entalpia) összefüggések általános alakja (Hansch-féle egyenlet):

$$-\Delta\Delta G^0/2,3 RT = \lg K_{ow,x}/K_{ow,H} = k_0 + k_1 \pi + k_2 \pi^2 + k_3 \sigma + k_4 E$$

tudva, hogy

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T \Delta S^0$$

Az egyenlettel összhangban a megoszlás sok esetben  $\pi$  szerint parabolikus (Penniston-modell). A szállítás, felszívódás függése a megoszlástól egy sor farmakokinetikai modell kidolgozásához vezetett. Penniston és mtsai. [5] egy non-stacionárius modellt fejlesztettek ki. A direkt és fordított irányú sebességállandók aránya éppen a megoszlásos állandó. Úgy tűnik, hogy a Penniston-modell a legrealisabb és a legrugalmasabb. Talán a legfőbb erénye, hogy az időtényezőt is figyelembe veszi. Dearden [3] módosította Penniston elképzelését és többkompartmanos modellt javasolt. A kompartmanok számának növelésével fokozatosan megjelenik (szigmoid görbéből indulva) a maximumon áthaladó ( $\lg C$ ,  $\lg K_{ow}$ ) görbe (parabola) is.

Az utóbbi években, a szerkezeti modellek tanulmányozása során, érdeklődést keltettek a molekuláris konnektivitásnak nevezett topológiai indexek, egyes kvantumkémiai paraméterek (polaritás, töltéssűrűség stb.) és a lipofilitás közötti korrelációk [3].

A kutatások azt mutatták, hogy a megoszlásos állandók felhasználhatók szterikus vizsgálatokra, beleértve a konformációs viszonyokat is. A konformációk biológiai hatásukban (kapcsolódásuk a receptorokhoz) is különböznek.

Kun Csilla

Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem

Marosvásárhely – Târgu Mureș

Gh. Marinescu u., 38 sz.

E-mail: kuncsilla@yahoo.com

## Anyag és módszer

A kísérleti adatokat részben saját mérésekből, részben pedig a szakirodalomból [1,2,6] vettük. Az irodalmi adatokat felfogásunknak megfelelően, célszerűen dolgoztuk fel, és az ebből kapott eredmények eredeti következtetések alapjául szolgáltak. A saját kísérleti méréseket p.a. minőségű vegyszerekkel végeztük. A rendszert óvatosan ráztuk, amíg az egyensúly be nem állt (15 perc és 1 óra között). A fázisokat választótölcsérrrel, vagy centrifugálással különítettük el. A savkoncentrációk meghatározására alkalmas analitikai módszert választottunk. A  $K_{OW}$  gyors laboratóriumi meghatározására a HPLC-t ajánlják, mivel a  $\lg t_R$  és a  $\lg K_{OW}$  között lineáris kapcsolat áll fenn. Ez utóbbi eljárást egyes esetekben az eredmények ellenőrzésére használtuk. A kísérleti adatokat számítógépes matematikai program (Microsoft Excel) segítségével dolgoztuk fel.

## Eredmények és megbeszélésük

A  $\lg K_{st}$  és  $\lg K_{OW}$  közötti kapcsolat szemléltetésére és bebizonyítására a szakirodalomban közölt irodalmi adatok [2] célszerű feldolgozása eredményeképpen megállapítottuk, hogy a dikarboxisavak homológ sorában a  $(\lg K_{st}, n)$  közötti kapcsolat kitűnően lineáris. A  $\lg K_{OW}$  (illetve a HLB) additivitása alapján:

$$\lg K_{OW} = 2 a_{COOH} + n b_{CH_2} + c, \text{ ahol } n = 0, 1, 2, 3, 4$$

Mivel itt csak az  $n$  változik, következik, hogy ha a  $(\lg K_{st}, n)$  lineáris, akkor a  $(\lg K_{st}, \lg K_{OW})$  korrelációnak is lineárisnak kell lennie:

$\lg K_{st} = B \lg K_{OW} + A = B(2 a_{COOH} + n b_{CH_2} + c) + A = B b_{CH_2} n + (2B a_{COOH} + Bc + A)$ , azaz  $\lg K_{st} = B' n + A'$ , ahol  $B' = B b_{CH_2}$  és  $A' = 2B a_{COOH} + Bc + A$ .

Tehát a  $(\lg K_{st}, n)$  és a  $(\lg K_{st}, \lg K_{OW})$  korrelációs egyenlet regressziós együtthatói egymásba valóban átszámíthatók:  $B = B'/b_{CH_2}$  és  $A = A' - 2B a_{COOH} - Bc$

Először kiszámítjuk a  $B$ -t (a  $b_{CH_2}$  ismeretében), majd az  $A$ -t (az  $a_{COOH}$  és a  $c$  ismeretében). A töredék-értékek homológ sorok tanulmányozásából adódnak.

Vizsgáljuk meg az elmondottakat a  $HOOC-(CH_2)_n-COOH$  dikarbonsav homológ sor kapcsán (1. táblázat).

Az egyenesláncú tagok ( $K_1, n$ ) korrelációját vizsgáltuk (1. ábra).

A kísérletileg meghatározott értékekhez legjobban simuló görbe egy másodfokú parabola egyenletével írható le:

$$K_1 = 9,821 n^2 - 12,876 n + 6,263$$

$$r = 0,998, n = 5$$

A vázolt gondolatmenetnek megfelelően, elsősorban a linearizált  $(\lg K_1, n)$  regressziós egyenlet értelmezhető (1. táblázat). Az így kapott korrelációs egyenletet kitűnő linearitás jellemzi:

$$\lg K_1 = 0,369 n + 0,570$$

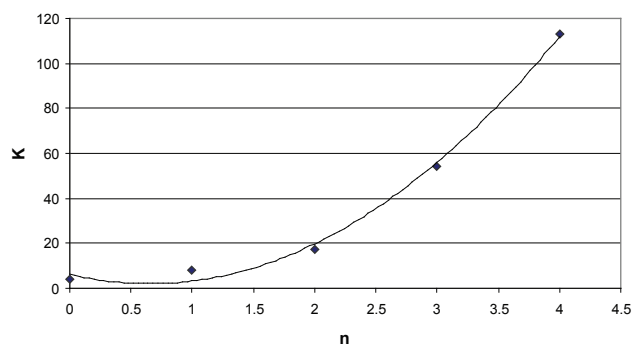
$$r = 0,996, n = 5$$

Látható, hogy a  $(\lg K_1, n)$ , azaz a  $(\lg K_{st}, \lg K_{OW})$  lineáris korrelációs egyenlet, a dikarbonsavak esetén mind elvileg, mind pedig a kísérleti adatok feldolgozásából egyértelműen érvényes. Felvethető, hogy a kísérleti adatokból kiszámított linearitás még nem bizonyítéka annak, hogy a  $\lg K_{OW}$  (illetve  $\lg K_{st}$ ) értékek a ciklodextrinek belvilága (kavitása) és a környezetük közötti megoszlást jellemzi, lehetséges ugyanis, Collander egyenletével összhangban, hogy a  $(\lg K_{st}, \lg K_{OW})$  lineáris kapcsolat bármely víz/szerves oldószer (c-hexán stb.) rendszer esetén ugyanúgy fennáll. Természetesen, ez utóbbi esetben, a lineáris korreláció regressziós paramétere (meredekség, tengelymetszet) szerves oldószerként változó lesz. Mégis, az irodalmi adatok alapján, amelyek a ciklodextrinek üregére 2 és 20 közötti relatív dielektromos permittivitás között ingadoznak, elfogadható hogy a víz/1-oktanol és a víz/CD-kavitás analógiája reális ( $\epsilon_{1\text{-oktanol}} \approx 10$ ).

A tanulmányozott dikarbonsavak nem-disszociált ( $K_1$ ) és disszociált alakjai ( $K_2, K_3$ ) értékeinek összehasonlítása (2. táblázat) is igen tanulságos, többféle szempontból is. Egyrészt, várható módon, a lánc növekedésével a stabilitás nő, ugyanis az apoláris csoportok részaránya nő. Különösen kihangsúlyozódik ez az elágazásos láncok esetén, pl. a dimetil-malonsav  $K_1$  értéke (324,3) mind a malonsavéhoz (8,1), illetve a szukcinsavéhoz képest (17,5), mind pedig a

**1. táblázat.** Dikarboxi-savak  $\beta$ -ciklodextrinnel képzett stabilitási állandói semleges ( $K_1$ ) illetve disszociált állapotban ( $K_2, K_3$ )

Sav	$-(CH_2)_n-$	$K_1$	$K_2$	$K_3$	$\lg K_1$	$\log K_{OW}$
oxálsav	0	4,2			0,62	-1,232
malonsav	1	8,1			0,91	-0,786
szukcinsav	2	17,5	6,6		1,24	-0,340
glutársav	3	54,2	10,5		1,73	0,106
adipinsav	4	113,2	33,2	9,6	2,05	0,552
dimetil-malonsav	1+2	324,3	127,0	5,5		0,108
fumársav	2(CH)	53,6	12,3	9,2		-0,604
maleinsav	2(CH)	18,2	31,5	7,1		-0,604



**1. ábra.** Az egyenesláncú dikarbonsavak ( $K_1, n$ ) korrelációja

**2. táblázat.** Dikarboxisavak  $\alpha$ -CD-nel képezett zárványkomplexeinek termodinamikai paraméterei ( $T = 298$  K, az energiákat kJ/mol-ban fejeztük ki)

Sav	$\log K_{st}$	$\Delta G^\circ$	$\Delta H^\circ$	$T\Delta S^\circ$	$\lg K_{ow,add}$
fumársav	3,24	- 18,5	- 41,7	- 22,8	- 0,604
maleinsav	1,40	- 8,0	- 29,0	- 21,0	- 0,604
hidrogénmaleát	1,83	- 10,4	- 33,1	- 22,8	- 0,738
oxálsav	1,40	- 8,0	- 29,3	- 20,3	- 1,232
malonsav	1,19	- 6,8	- 23,6	- 16,8	- 0,786
hidrogénmalonát	1,51	- 8,6	- 26,8	- 18,2	- 0,920
szukcinsav	2,01	- 11,4	- 33,1	- 21,6	- 0,340
glutársav	2,48	- 14,1	- 37,2	- 23,1	0,106
adipinsav	2,51	- 14,3	- 34,7	- 20,2	0,552
heptandisav	2,87	- 16,4	- 35,1	- 18,7	0,998
hidrogénheptandiát	2,60	- 14,8	- 31,7	- 17,0	0,944
heptandiát	1,43	- 8,1	- 14,6	- 6,7	0,809
oktándisav	3,15	- 18,0	- 34,7	- 16,7	1,444
oktandiát	3,18	- 18,2	- 20,9	- 2,7	1,390

glutársavéhoz viszonyítva (54,2) ugrásszerűen nő. Az első két esetben a metilén-csoport hidrogénatomjainak rendre metil-csoportokkal történő szubsztitúciója, az utóbbiban lánclágazás következte. Míg a szubsztitúció aránylag kis – bár nem arányos – változásokat okoz, beleértve akár az adipinsavat is, ahol szubsztituensként egy metilén- és egy etilén-csoportot tekinthetünk, a lánclágazás következménye sokkal szembeötlőbb. Ez más vegyület-sorozatoknál is észrevehető. Hasonlóképpen jelentős változások lépnek fel, ha az összehasonlítást a semleges alakok és a részben vagy teljesen disszociált savak zárványkomplexeinek a stabilitásai között tesszük. Ez esetben, természetesen, a stabilitás ebben az irányban csökken, mivel a vegyületek polaritása nő. Különösen érdekes következtetésekhez vezet a maleinsav és a fumársav összehasonlítása, mind a megfelelő telített vegyülettel (szukcinsav), mind pedig egymás között, a geometriai izomériára való tekintettel. Míg a cisz-izomer maleinsav semleges alakja ( $K_1 = 18,2$ ) csak kis mértékben különbözik a szukcinsavétól ( $K_1 = 17,5$ ), a transz-fumársav zárványkomplexének a stabilitási állandója ennek többszöröse (53,6). Lényeges eltérés van a disszociált alakok zárványkomplexeinek értékei között (szukcinsav  $K_2 = 6,6$ , maleinsav 31,5, fumársav 12,3). Itt feltételezhető, hogy a konfigurációs és konformációs különbségek mellett, a térhatás (mezőhatás) is szerepet játszik, elsősorban a maleinsav esetén. A teljesen disszociált alakok megfelelő értékei nem különböznek lényegesen.

Más forrásokból [6] átvett termodinamikai paraméterek a **2. táblázatban** láthatók. A sorozat tagjainak egy metilén-csoportra vonatkoztatott inkrementumait a **3. táblázatban** foglaltuk össze.

Az 1. és 2. táblázatokban közölt stabilitási állandók közötti különbségeket az eltérő módszerekkel, illetve kísér-

**3. táblázat.** Metilén-csoportra vonatkoztatott inkrementumok  $\alpha$ - és  $\beta$ -CD-es zárványkomplexeinél (kJ/mol)

Vendég	$\alpha$ -CD		$\beta$ -CD	
	$\Delta\Delta G^\circ$	$\Delta\Delta H^\circ$	$\Delta\Delta G^\circ$	$\Delta\Delta H^\circ$
alkanát	- 3,2	- 2,6	- 3,3	- 6,2
alkánsav	- 2,3	- 6,0	- 2,2	- 1,3
alkándiát	- 2,8	- 3,0		
alkándisav	- 0,8	- 12,2		

leti körülményekkel magyarázzuk.

Összehasonlításképpen, Buchwald és Bodor [1] QLOGP additív sémája segítségével, kiszámítottuk a vizsgált vegyületek megoszlásos állandóit. Az egyes csoportok inkrementumait az idézett dolgozatból vettük.

Ezek a következők voltak: H: 0,086;  $\text{>C<}$ : 0,182;  $-\text{CH}_2-$ : 0,314;  $-\text{CH}_2-$ : 0,446;  $-\text{CH}_3$ : 0,579;  $-\text{COO}-$ : -0,750;  $-\text{COOH}$ : -0,616. Az inkrementumok statisztikai számításához felhasznált vegyületek száma  $n = 145$ , a kiválasztott módszer prediktív képessége  $r^2 = 0,952$ . Az így kapott  $K_{ow}$  értékek és a kísérletes  $K_{st}$  stabilitási állandók között a következő regressziós egyenleteket kaptuk (alfa-ciklodextrin):

$$\log K_{ow} = 1.5255 \log K_{st} - 3.4117$$

$$R = 0.989 \quad N = 6$$

és a  $\log K_{ow} - \log K_1$  közötti korreláció (béta-ciklodextrin):

$$\log K_{ow} = 1.2024 \log K_1 - 1.9151$$

$$R = 0.996 \quad N = 5$$

A korrelációk kitűnően lineárisak.

## Következtetések

A megoszlásos állandók és a stabilitási állandók logaritmusai között lineáris kapcsolat áll fenn. Ez az eredmény egybevetve a Collander-féle egyenlettel azt sugalmazza, hogy a mikroegyensúlyokra vonatkozó eredeti elképzelésünk helyes. Az additív felfogás alapján számított megoszlási állandók és a kísérletes stabilitási állandók logaritmusai közötti összefüggés ugyancsak lineáris. Az adatok és eredmények értelmezése lehetővé teszi szerkezeti következtetések levonását.

## Irodalom

1. Buchwald P, Bodor N. – *Octanol-water partition: Searching for predictive models*, Current Medicinal Chemistry, 1998, 5:353-380.
2. Csernák O. – *The effect of protonation on the stability of cyclodextrin inclusion complexes*, PhD Thesis. Semmelweis University, Budapest, 2008.
3. Dearden J.C. – *Partitioning and lipophilicity in quantitative*

- structure-activity relationships*. Environ Health Perspect, 1985; 61:203-228.
4. Hansch C. – *On the structure of medicinal chemistry*. J Med Chem. 1976, 19(1):1-6.
  5. Penniston J.T., Beckett L., Bentley D.L. et al. – *Passive permeation of organic compounds through biological tissue: a non-steady-state theory*, Mol Pharmacol., 1969, 5(4):333-341.
  6. Rekharsky M.V., Inoue Y. – *Complexation thermodynamics of cyclodextrins*, Chem. Rev., 1998, 98:1875-1917.
  7. Tőkés B., Donáth-Nagy G., Váncea Sz. et al. – *Microequilibria at inclusion complexes*. I. Theoretical Basis, EMT, 14th International Conference on Chemistry, Kolozsvár 2008, 146-150.
  8. Tőkés B., Kun Cs., Donáth-Nagy G. et al. – *Microechilibre ale complexilor de incluziune*. II. Aspecte practice, prezentare orală, Zilele Universității de Medicină și Farmacie din Târgu Mureș, Sesiunea de Comunicări Științifice, Tg. Mures 2008, Revista de Medicină și Farmacie – Orvosi és Gyógyszerészeti Szemle.