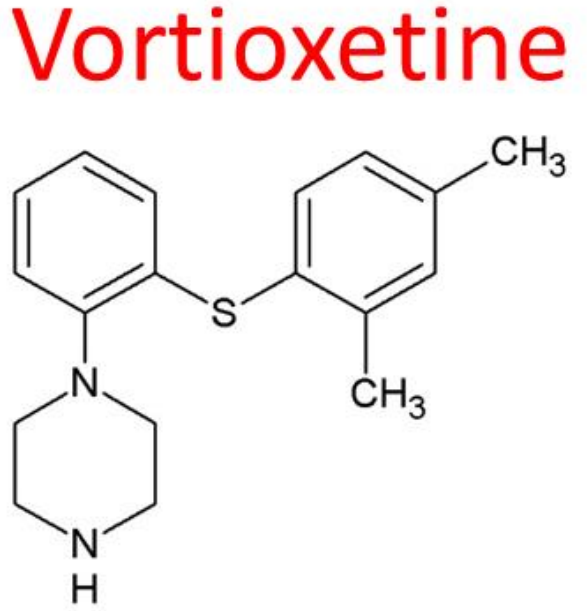
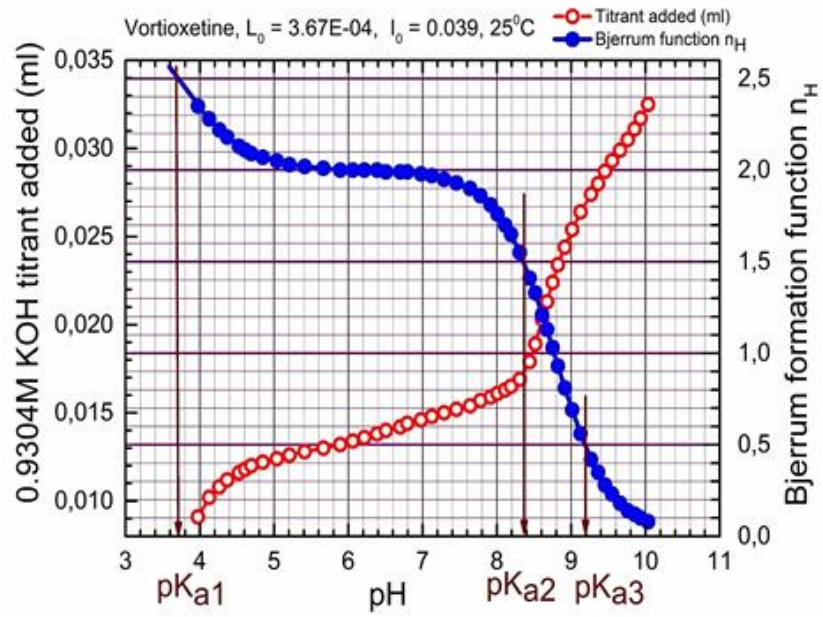
Thermodynamické disociační konstanty antidepresiva Vortioxetinu

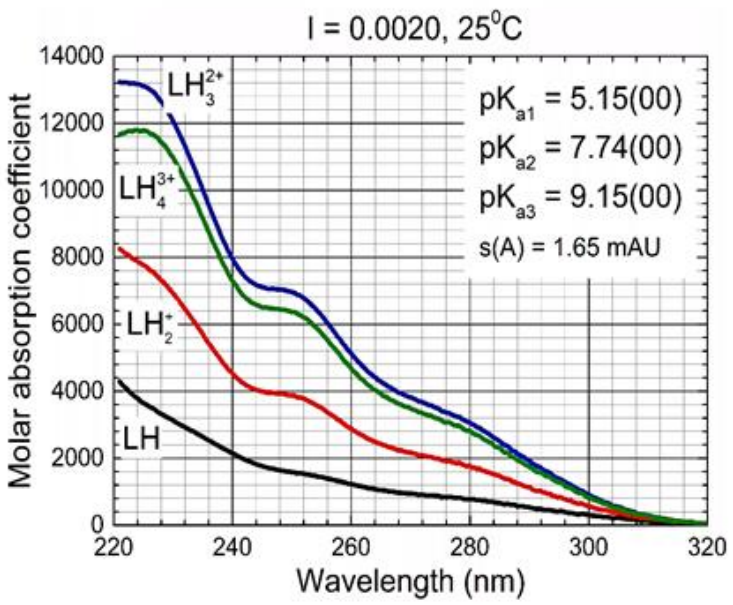
Aneta Čápová, Bc
Katedra analytické chemie,
Chemicko-technologická fakulta, Univerzita Pardubice,
CZ 532 10 Pardubice,
Česká republika

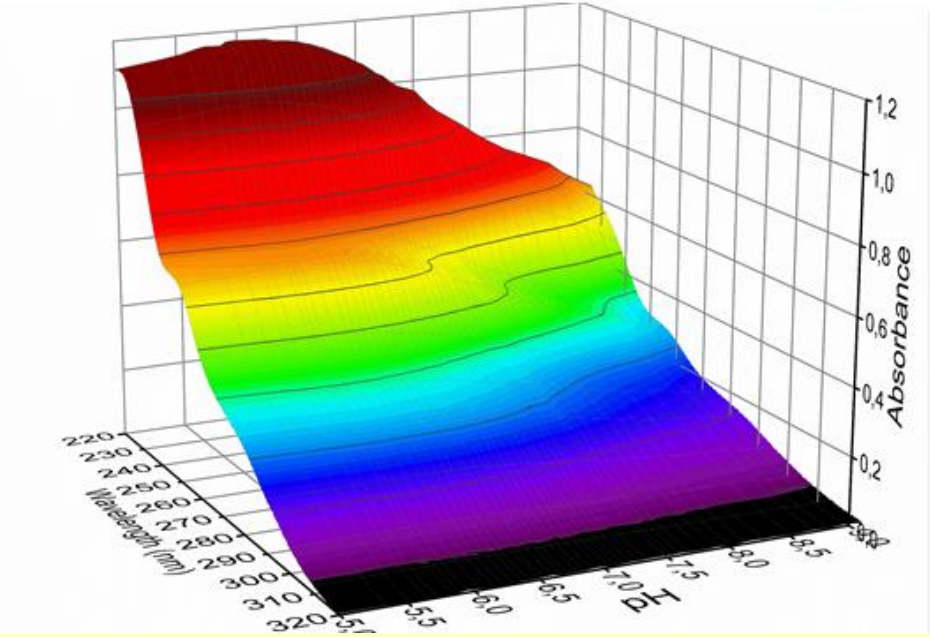
st38457@student.upce.cz

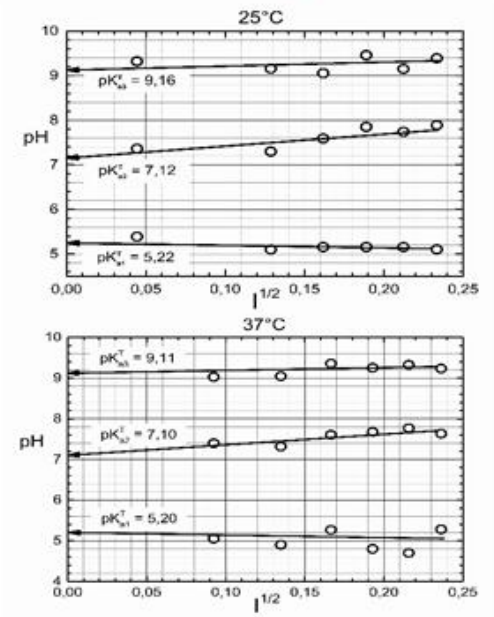
Grafický abstrakt: protonační rovnováhy léčiva Vortioxetinu

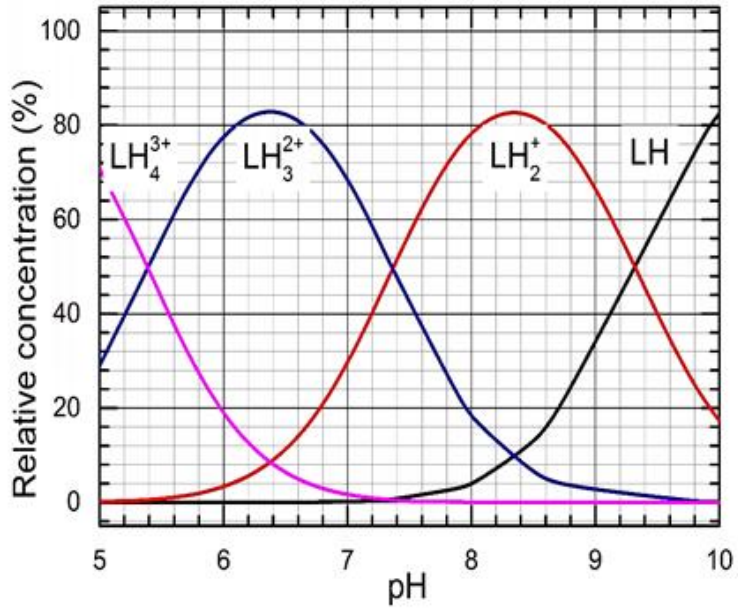












Téma: Studium protonačních rovnováh Vortioxetinu

- **Důvod:** nebyla dosud naměřena spektra a protonace Vortioxetinu
- **Metody:** stanovení pK a protonačního modelu dvěma metodami:
  - A-pH titrace v UV-VIS oblasti,
  - Potenciometrická pH-titrace
- **Cíl studie:** stanovení blízkých disociačních konstant Vortioxetinu při malých změnách v UV-VIS spektru u obtížně rozpustného léčiva od Zentivy Praha
- **Význam p*K*:** určení rozsahu absorpce léčiva, porozumění farmakokinetickým a farmakodynamickým vlastnostem léčiva, metabolismu, lipofilita, rozpustnost a propustnost přes biologické membrány

Vlastnosti: 1- [2- (2,4-dimethylfenylsulfanyl) fenyl]piperazin, lék názvu Brintellix

Sumární vzorec: $C_{18}H_{22}N_2S$

Molekulová hmotnost: 298.448 g/mol

Léčba: chronické lymfocytární a Waldenstromovy makroglobunémie, závažné depresivní poruchy

Zaměření: na malignity B-buněk

Rozpustnost: v GITu a propustnost přes biologické membrány

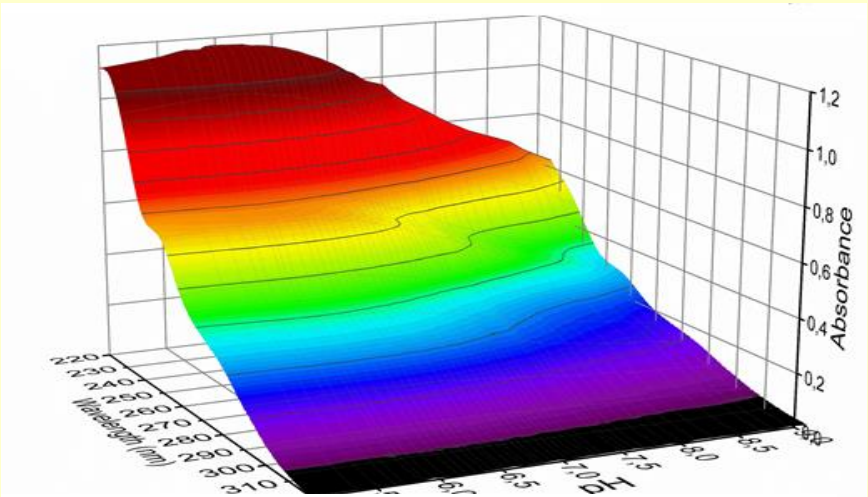
Rozsah ionizace: klíčová role při absorpci, distribuci, metabolismu a vylučování

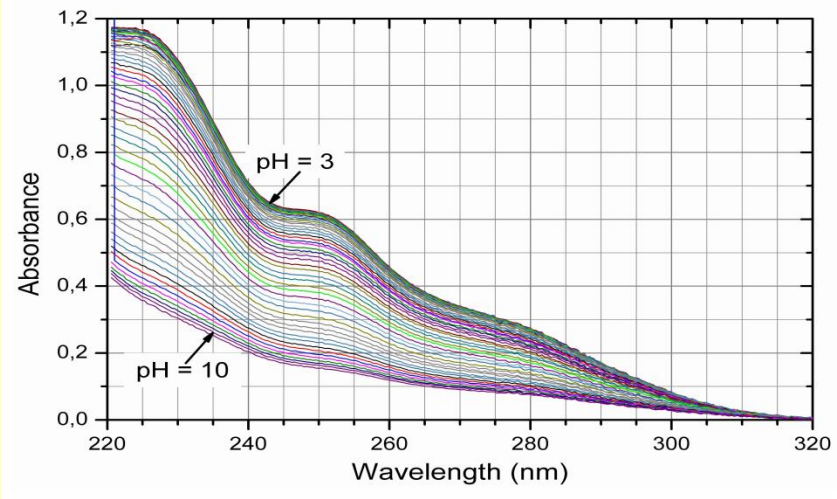
Analýza dat

Spektrofotometrie (UV-VIS)

Analýza spekter: software REACTLAB, SQUAD

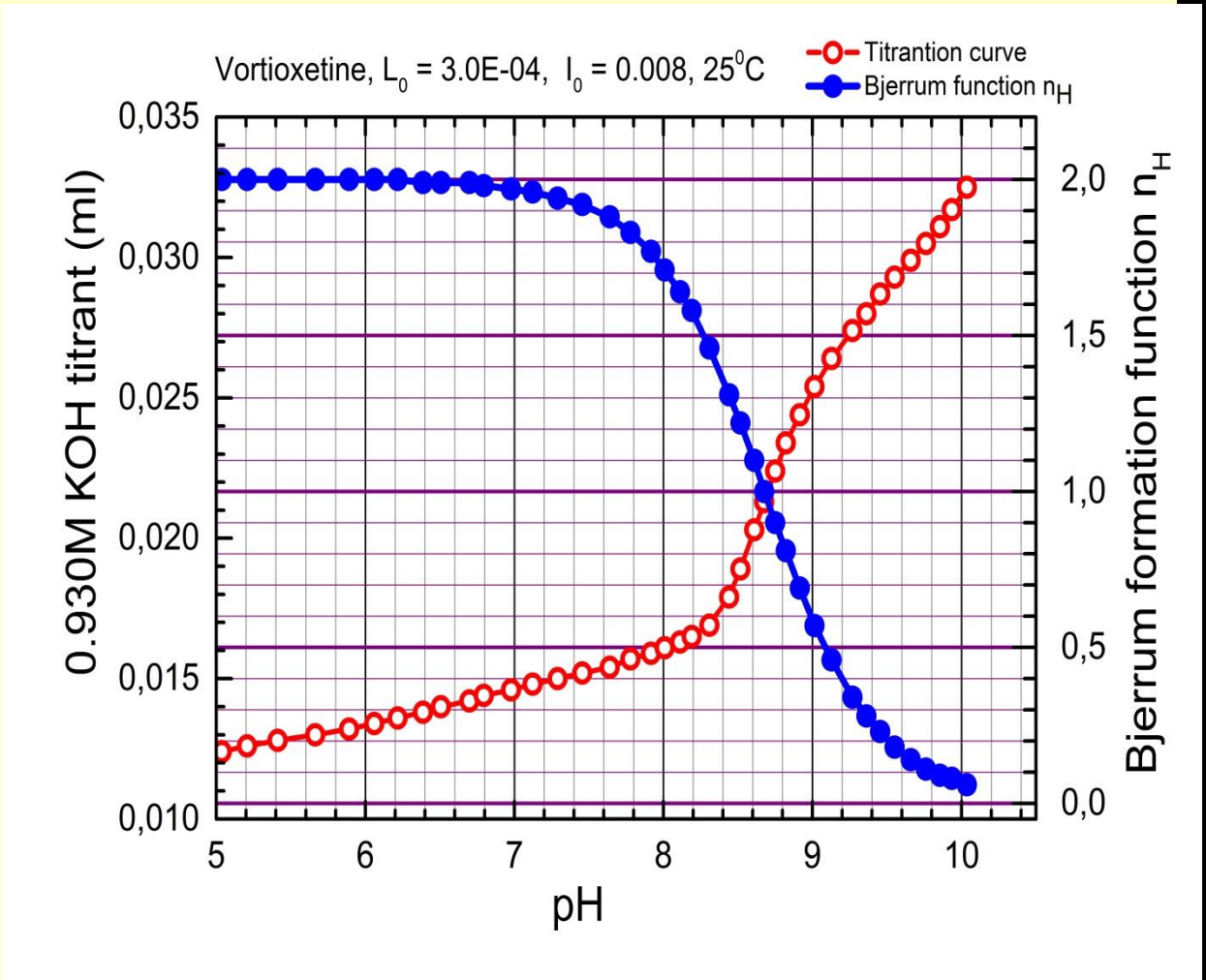
Výstavba protonačního modelu



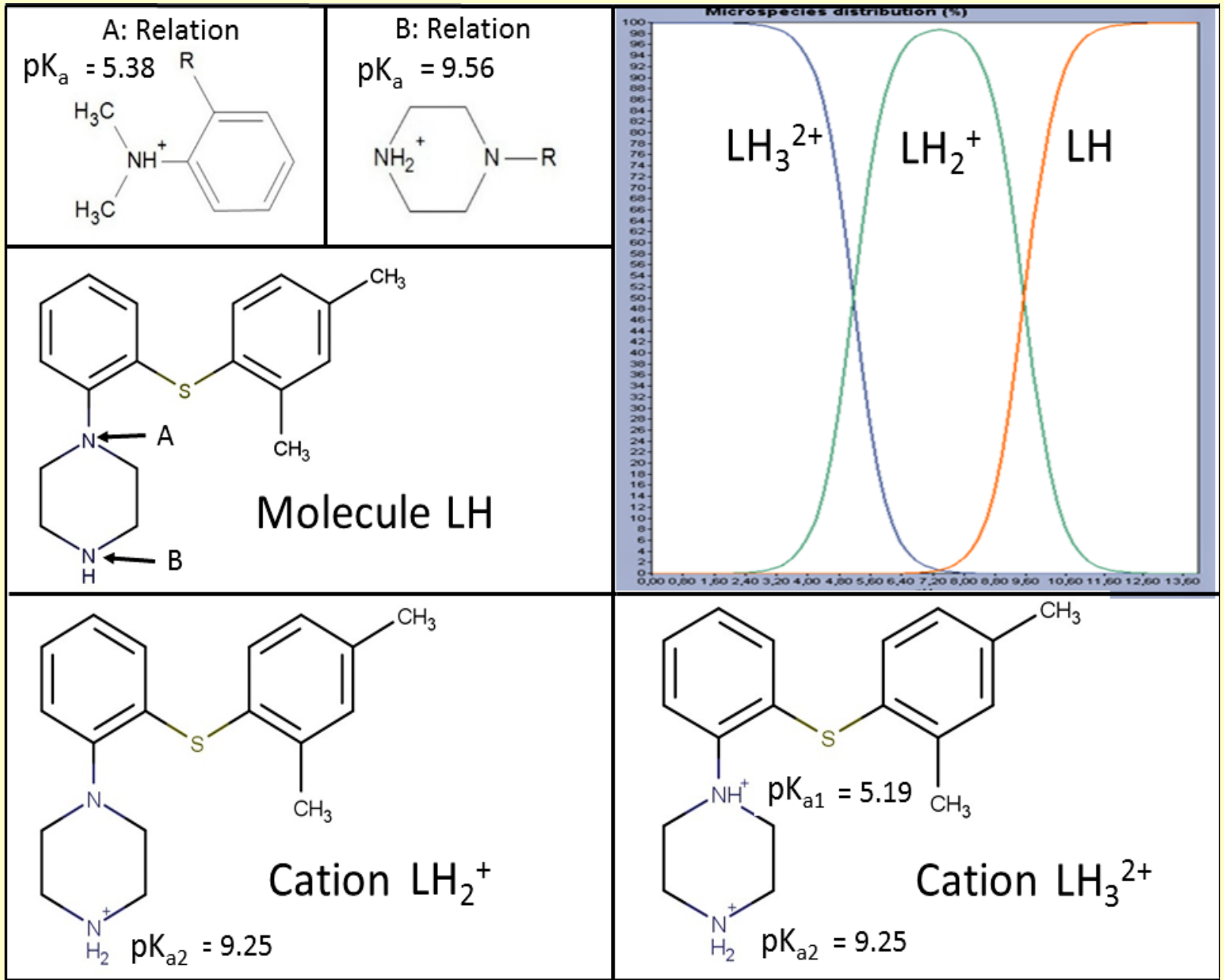


Potenciometrie

Analýza potenciometrických titračních křivek: software ESAB

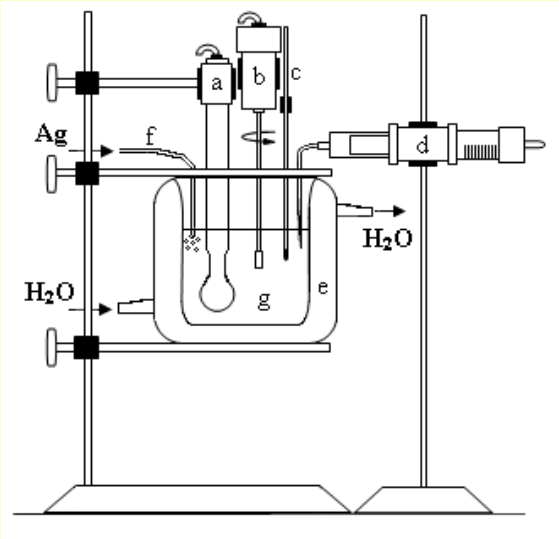


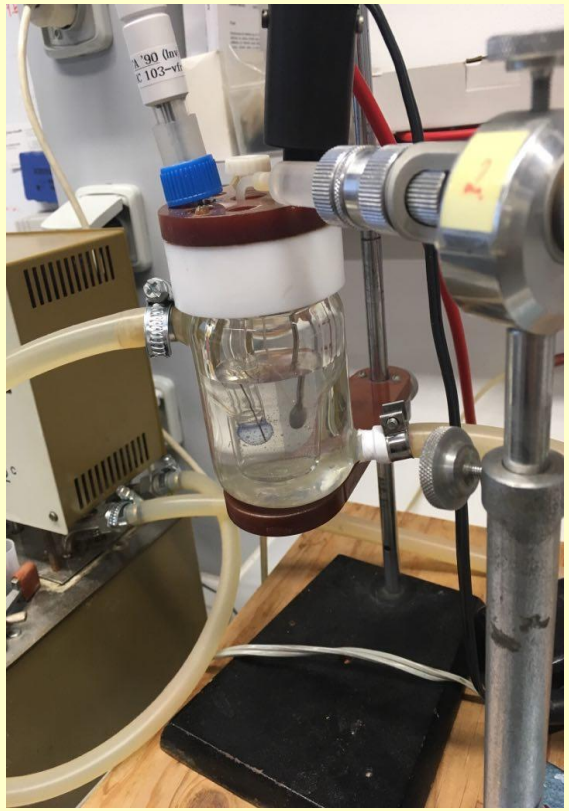
Predikce fyzikálně-chemických vlastností (pK)



Predikce hodnot disociačních konstant na základě kvantově-chemických výpočtů ze strukturního vzorce molekuly léčiva a jí podobných molekul softwarem **Marvin, ACD/Percepta**

Experimentální uspořádání





Skleněná elektroda HC103 (THETA ´90) – vysoká přesnost, rychlá odezva

Digitální pH metr HANNA HI 3220 (měření pH v rozsahu -2.00 až 20.00 s přesností ± 0.002 pH)

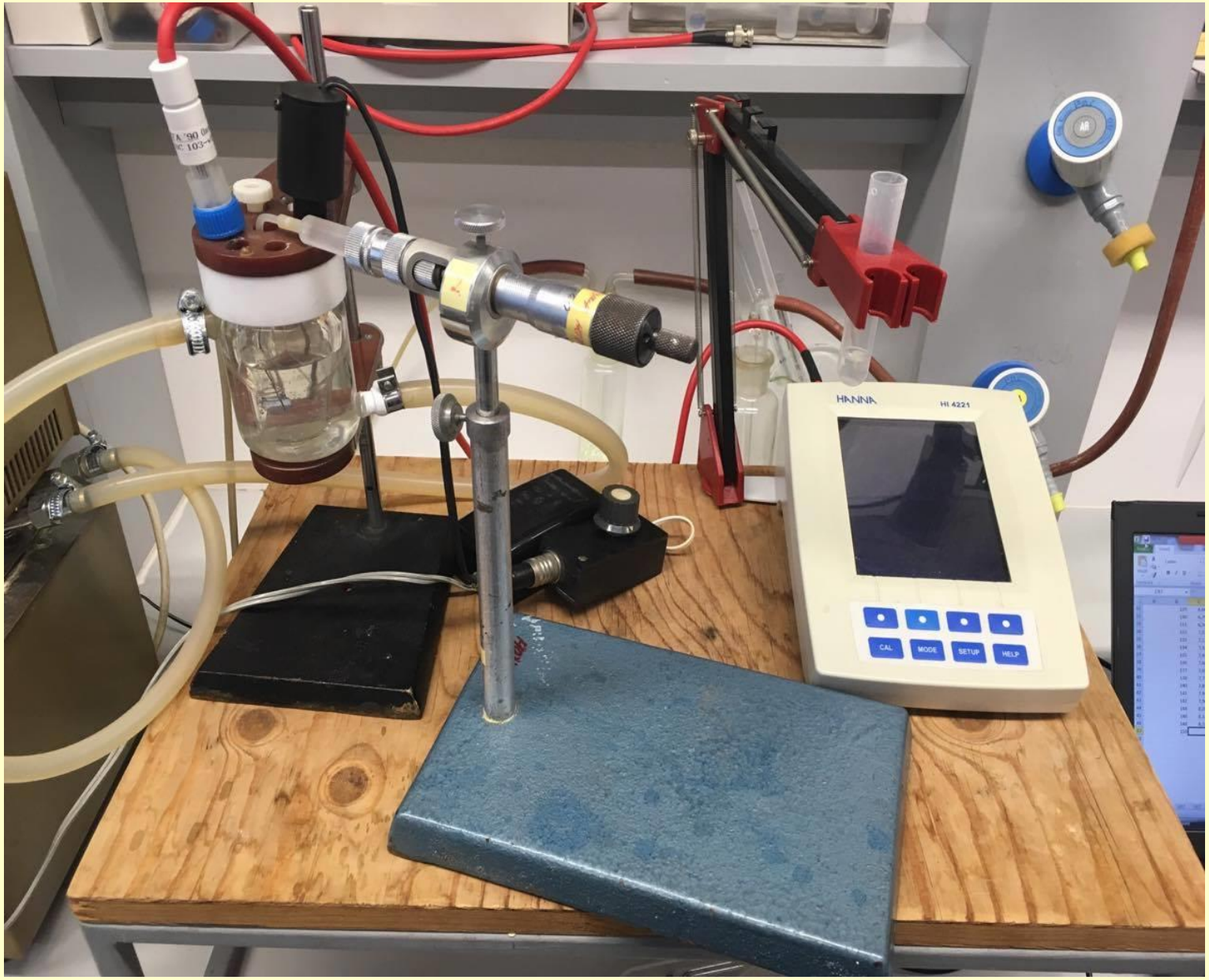
Průtočný termostat ED-5 (JULABO), rtuťový teploměr – konstantní teplota v reaktůrku

Elektrické míchadlo – homogenizace roztoku

Přívod argonu polyethylenovou hadičkou pro prostředí bez CO_2

Pístová mikrobyreta – přesné dávkování (±0,1µL) odměrného roztoku (KOH, HCl)

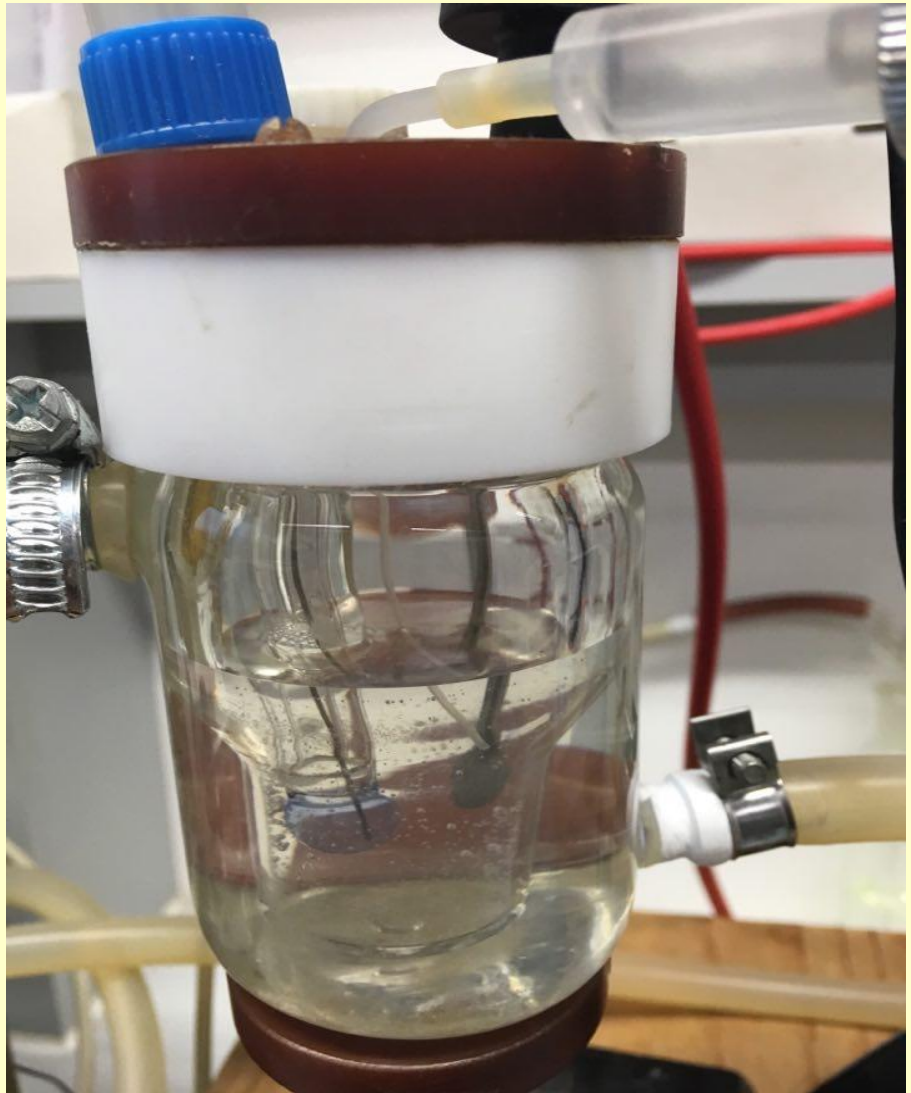
Experimentální uspořádání



V průběhu potenciometrické pH-titrace je odečítána hodnota přídavku odměrného roztoku (KOH, HCl) na pístové mikrobyretě s přesností (±0,1 μL) a hodnota pH na pH-metru.

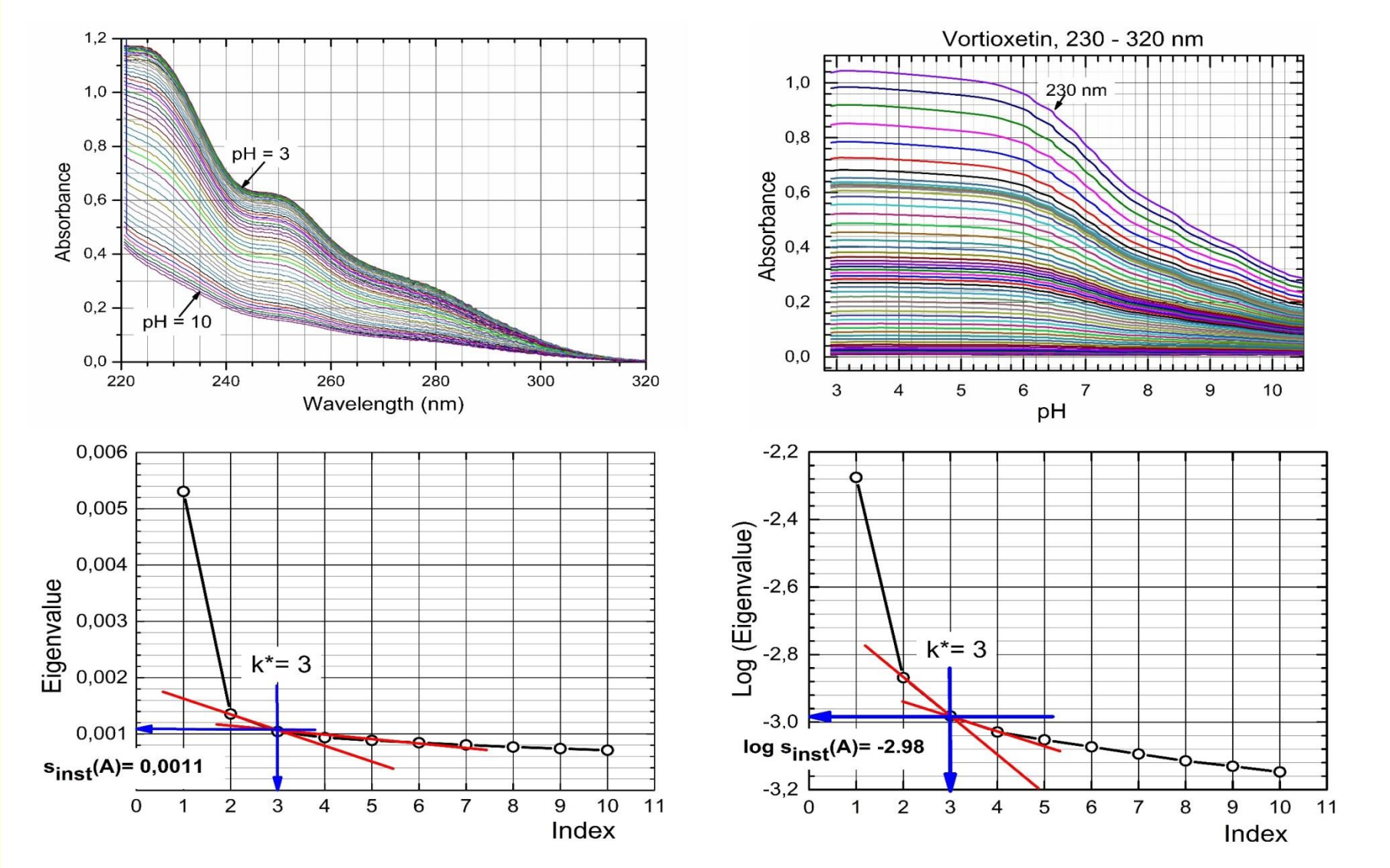
Strategie experimentu

V průběhu A-pH titrace je roztok po každé změně pH 1) zaznamenán pro potenciometrii **V-pH**, nebo 2) veden peristaltickým čerpadlem do kyvety spektrofotometru CINTRA pro **spektrum**.



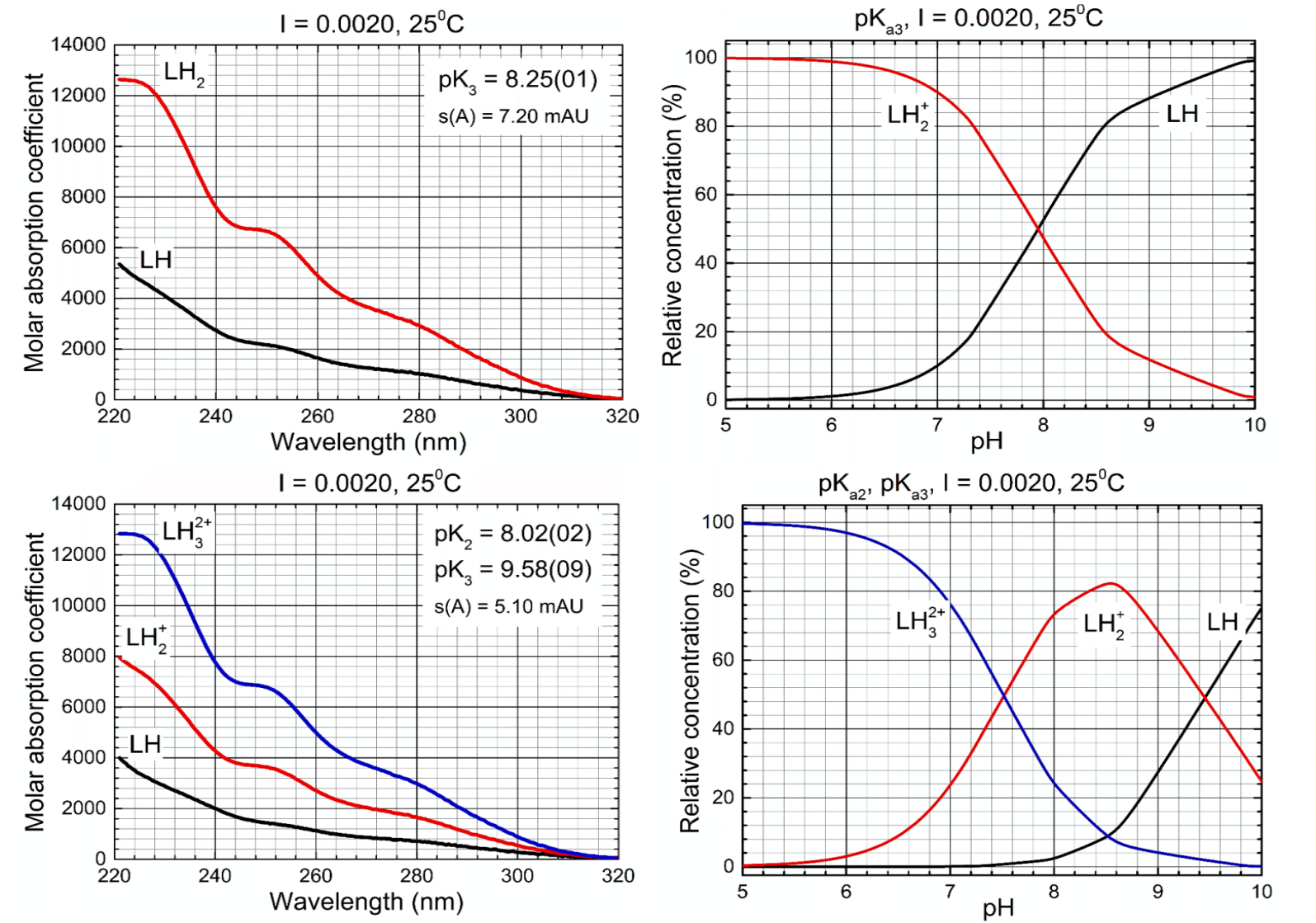
Faktorová analýza spekter

Faktorovou analýzou vějíře spekter se z Cattelova indexového grafu (Scree plot) odečte **hodnost** absorbanční matice, která se zde rovná **počtu** barevných částic v rovnovážně směsi v kyvetě.

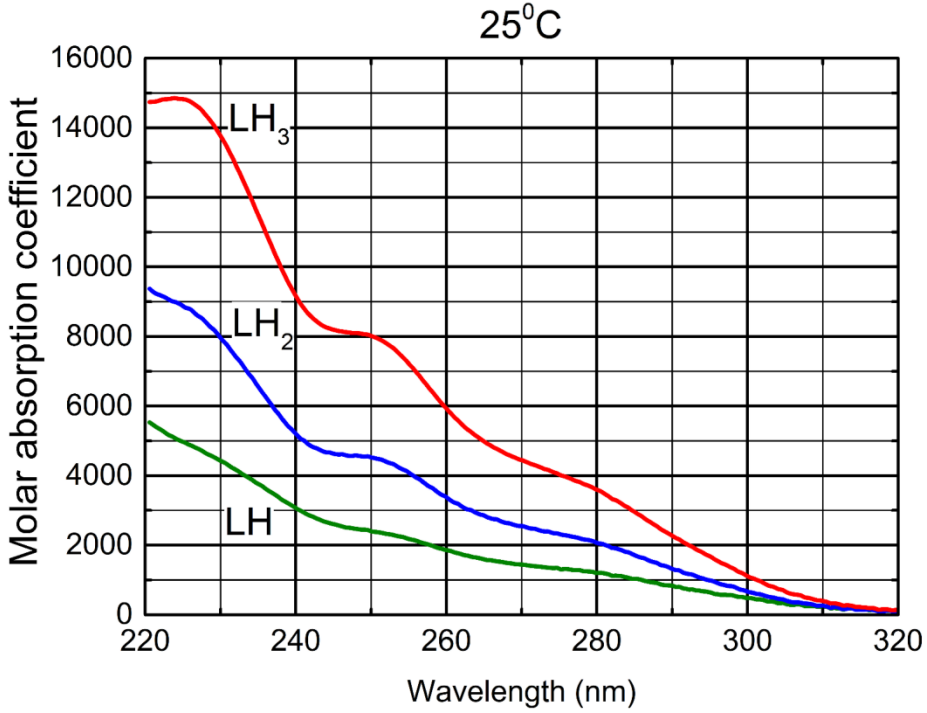


Výstavba protonačního modelu

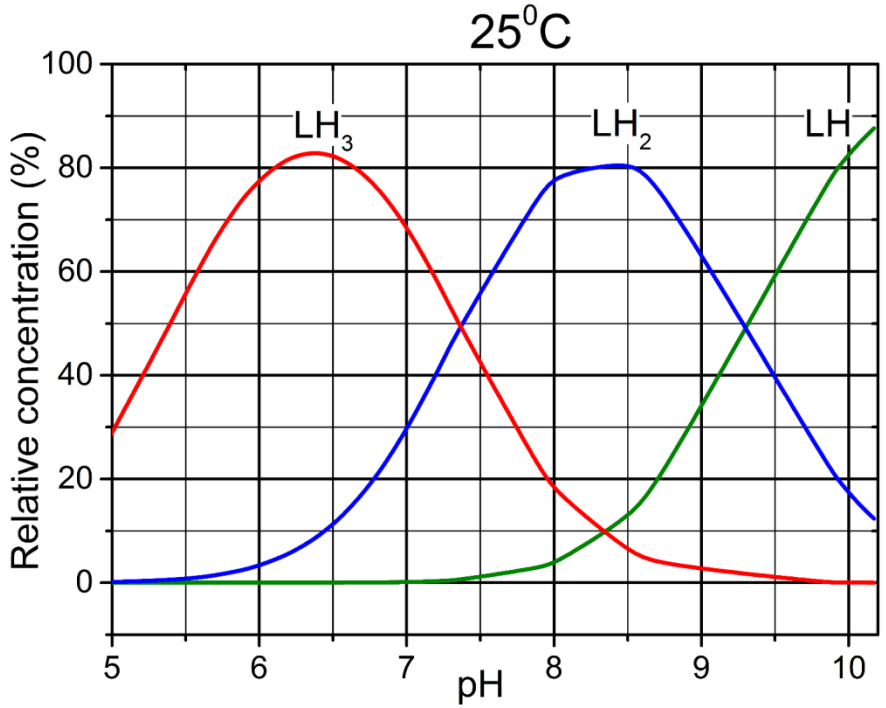
Výstavba nelineárního regresního modelu spočívá v hledání počtu a odhadů disociačních konstant pK a distribučního diagramu relativního zastoupení rozličně protonovaných částic.



Hledání protonačního modelu



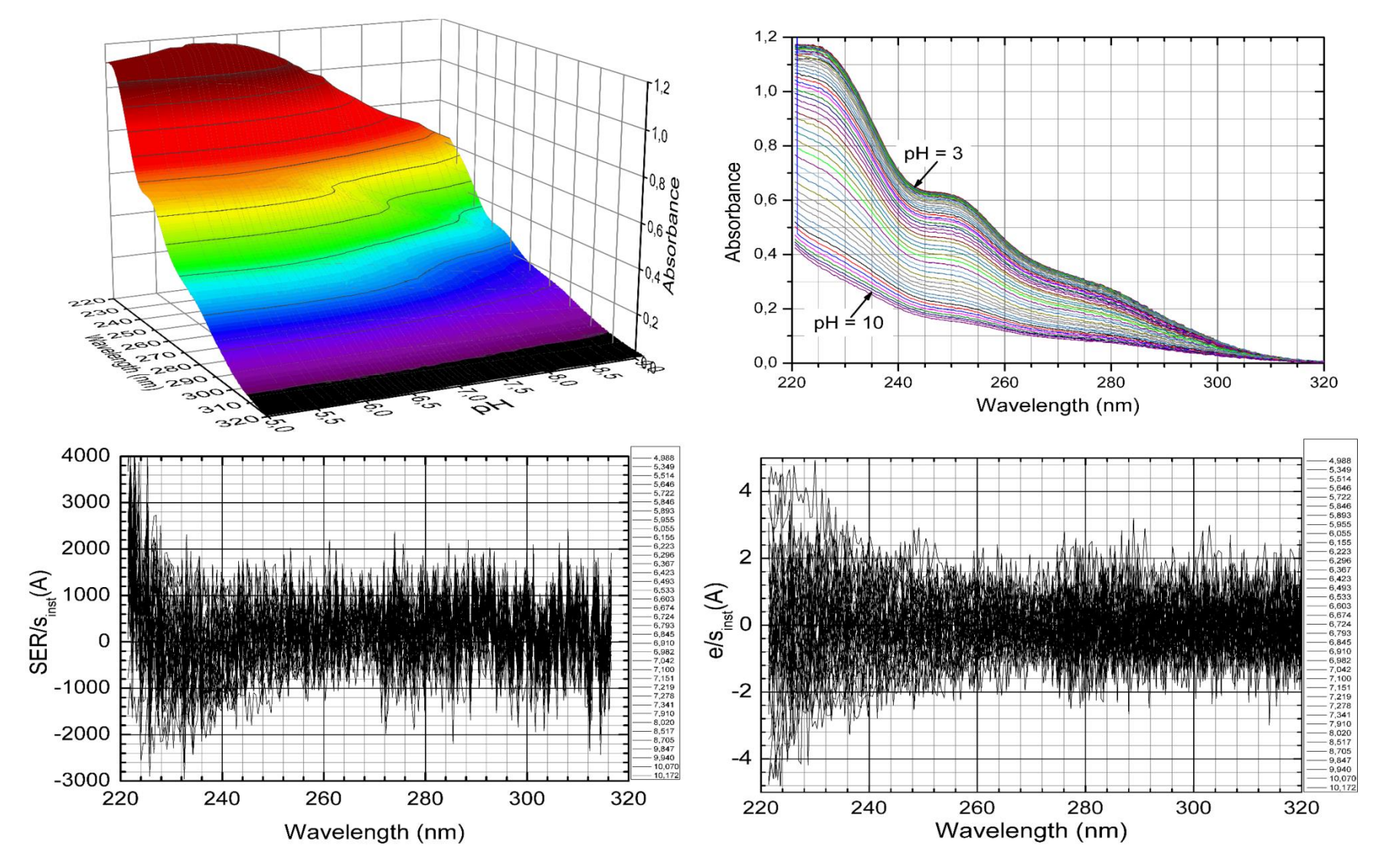
Graf molárních absorpčních koeficientů všech rozličně protonovaných částic nalezeného protonačního modelu nelineární regresí vějíře spekter



Distribuční diagram koncentrací relativního zastoupení všech rozličně protonovaných částic Vortioxetinu

Věrohodnost nalezených odhadů disociačních konstant

Porovnání velikosti reziduí jejich statistickou analýzou vůči velikosti šumu absorbance je mírou věrohodnosti nalezených regresních odhadů disociačních konstant.



Statistická analýza reziduí spektra při 25°C

Kritériem věrohodnosti nalezeného regresního modelu je statistická analýza reziduí k posouzení těsnosti proložení vypočtené absorbanční responzní plochy experimentálními body vejíře spektra.

Ionic strength		0.0262	0.0357	0.0451	0.0544
Cattel´s scree plot indicating the rank of the absorbance matrix (INDICES)					
Number of spectra measured, n_s		33	35	41	31
Number of wavelengths, n_w		96	95	95	97
Number of light-absorbing species, k^*		2	2	2	2
Residual standard deviation, $s_k^*(A)$ [mAU]					
Estimates of dissociation constants in the searched protonation model					
pK_{a1} (s_1), $LH_4^{3+} = H^+ + LH_3^{2+}$	SQUAD84	7.80(04)	8.05(04)	8.03(11)	8.09(06)
	REACTLAB	7.79(07)	8.04(01)	8.02(01)	8.09(01)
pK_{a2} (s_2), $LH_3^{2+} = H^+ + LH_2^+$	SQUAD84	9.27(03)	9.20(03)	9.60(09)	9.55(05)
	REACTLAB	9.23(02)	9.58(02)	9.55(04)	9.54(03)
Goodness-of-fit test with the statistical analysis of residuals					
Mean residual $E\lvert\bar{e}\rvert$ [mAU]	SQUAD84	11.50	15.35	14.5	13.32
	REACTLAB	11.47	15.21	14.43	13.16
Standard deviation of residuals s(ê) mAU	SQUAD84	17.79	29.05	30.50	26.90
[mAU]	REACTLAB	16.96	27.79	29.33	25.21
Sigma from ReactLab [mAU]	REACTLAB	17.22	28.19	29.69	25.98
Hamilton R-factor from SQUAD84 [%]	SQUAD84	0.021	0.035	0.029	0.027
Conclusion: The protonation model is					

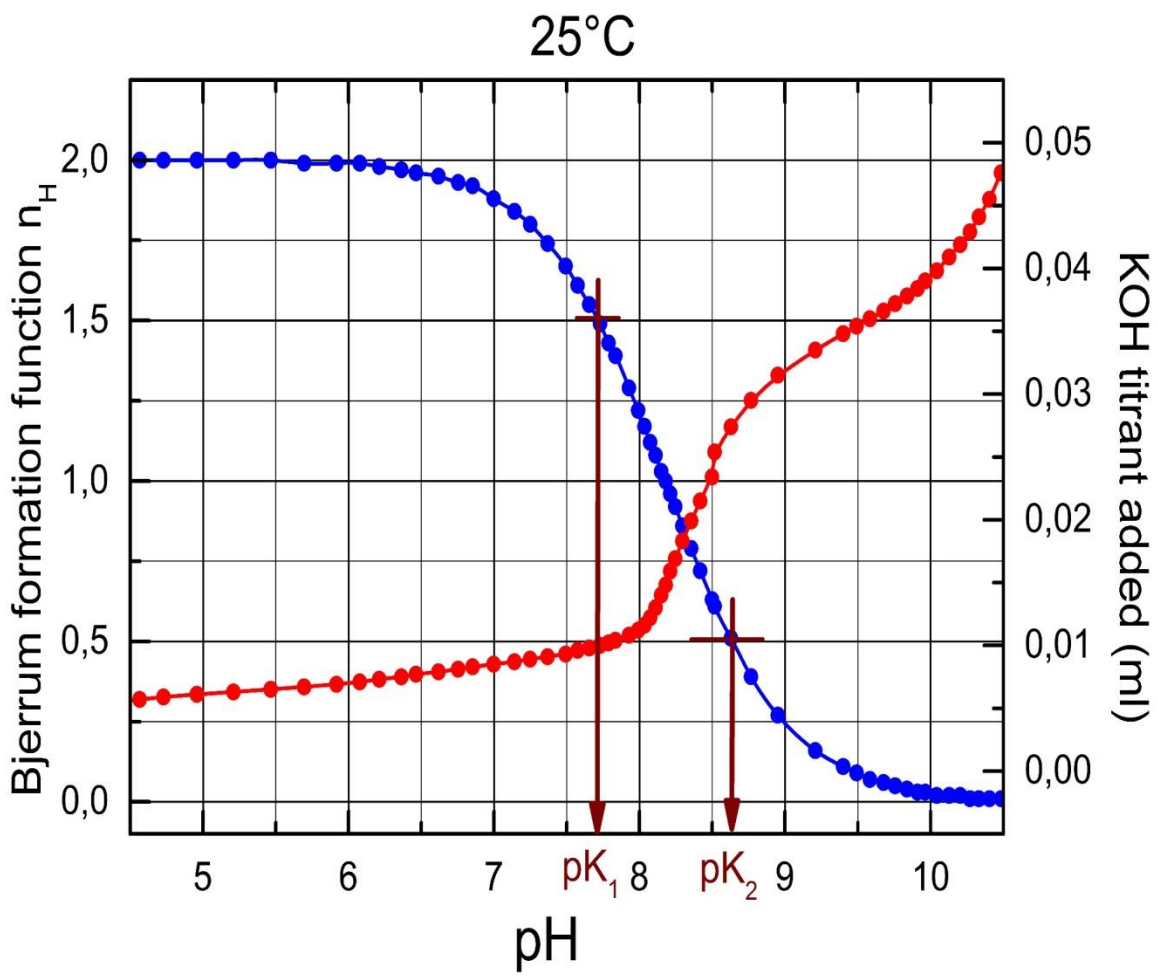
Statistická analýza reziduí spektra při 37°C

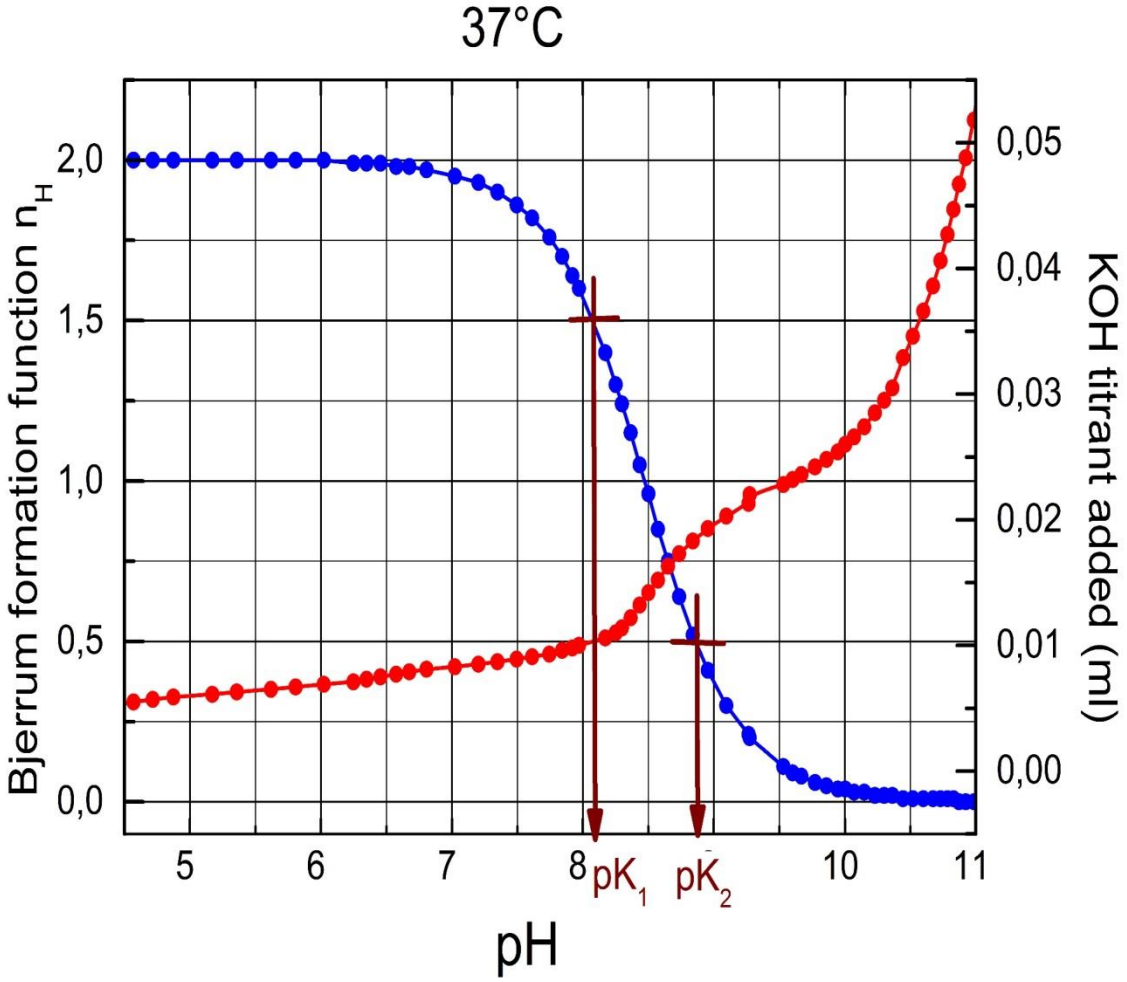
Kritériem věrohodnosti nalezeného regresního modelu je statistická analýza reziduí k posouzení těsnosti proložení vypočtené absorbanční responzní plochy experimentálními body vejíře spektra.

Ionic strength		0.0085	0.0181	0.0277	0.0372	0.0466	0.0558
Cattel´s scree plot indicating the rank of the absorbance matrix (INDICES)							
Number of spectra measured, n_s		46	53	49	50	49	47
Number of wavelengths, n_w		234	117	117	117	117	117
Number of light-absorbing species, k^*		2	2	2	2	2	2
Residual standard deviation, $s_k^*(A)$ [mAU]							
Estimates of dissociation constants in the searched protonation model							
pK_{a1} (s_1), $LH_4^{3+} = H^+ + LH_3^{2+}$	SQUAD84	7.58(02)	7.50(02)	7.77(02)	7.93(04)	8.08(06)	7.89(02)
	REACTLAB	7.58(00)	7.50(01)	7.76(00)	7.93(01)	8.03(01)	7.89(01)
pK_{a2} (s_2), $LH_3^{2+} = H^+ + LH_2^+$	SQUAD84	9.15(01)	9.19(01)	9.49(01)	9.48(03)	9.66(05)	9.38(02)
	REACTLAB	9.14(01)	9.18(01)	9.47(01)	9.47(02)	9.54(03)	9.38(01)X
Goodness-of-fit test with the statistical analysis of residuals							
Mean residual $E\|\bar{e}\|$ [mAU]	SQUAD84	68.50	4.56	6.11	10.9	15.61	8.01
	REACTLAB	2.29	5.09	4.27	7.62	10.69	7.98
Standard deviation of residuals s(ê) [mAU]	SQUAD84	16.30	9.65	11.80	24.70	35.25	19.70
	REACTLAB	4.58	6.01	7.48	15.71	22.27	9.54
Sigma from ReactLab [mAU]	REACTLAB	19.90	9.47	11.63	24.23	34.45	19.25
Hamilton R-factor from SQUAD84 [%]	SQUAD84	0.028	0.019	0.021	0.043	0.058	0.029

Potenciometrická pH-titrační křivka

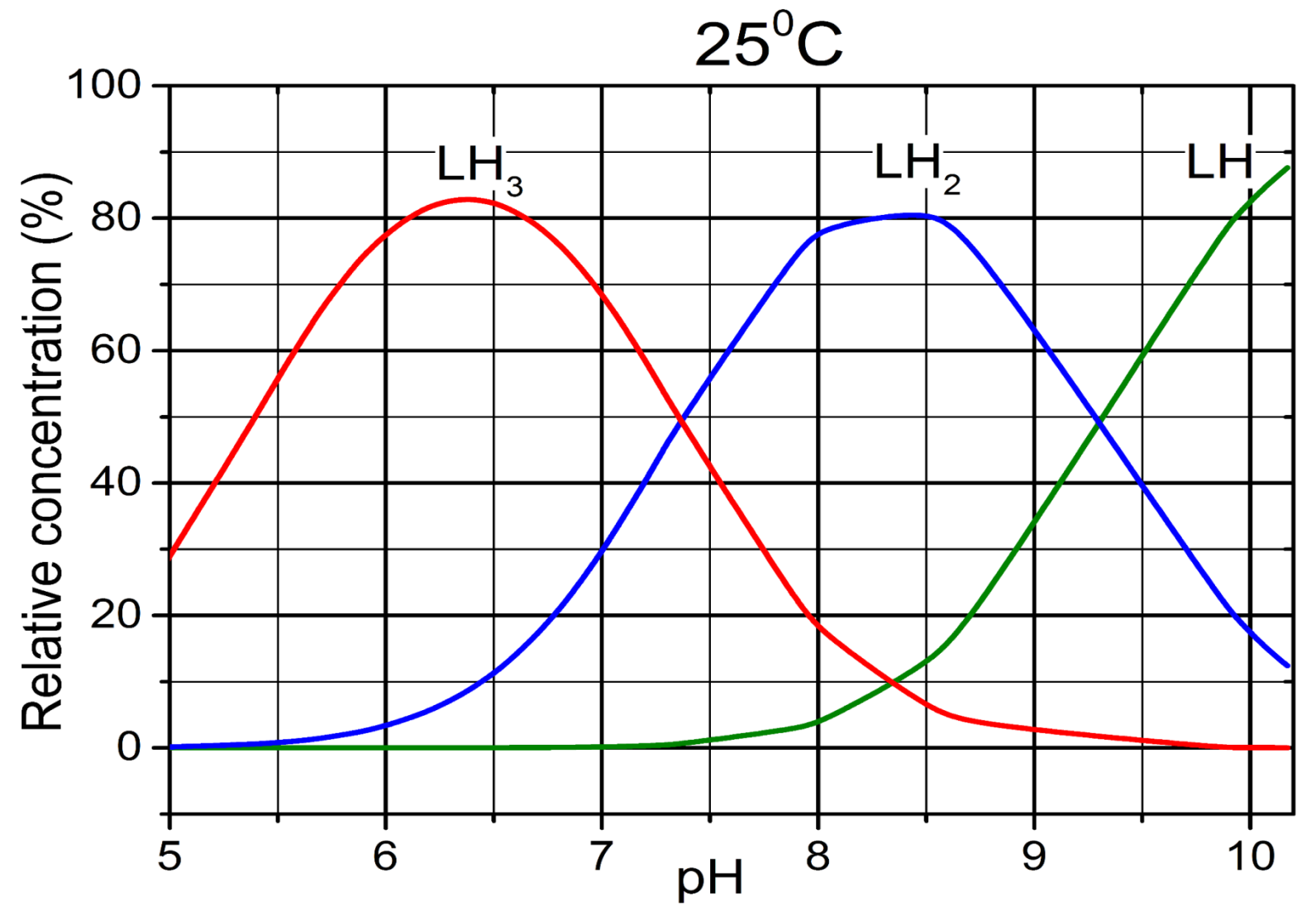
Potenciometrická titrační křivka Vortioxetinu okyseleného HCl je titrovaná s KOH a je vynesena společně s Bjerrumovou tvornou funkcí protonační křivky (ESAB, ORIGIN) .





Distribuční diagram

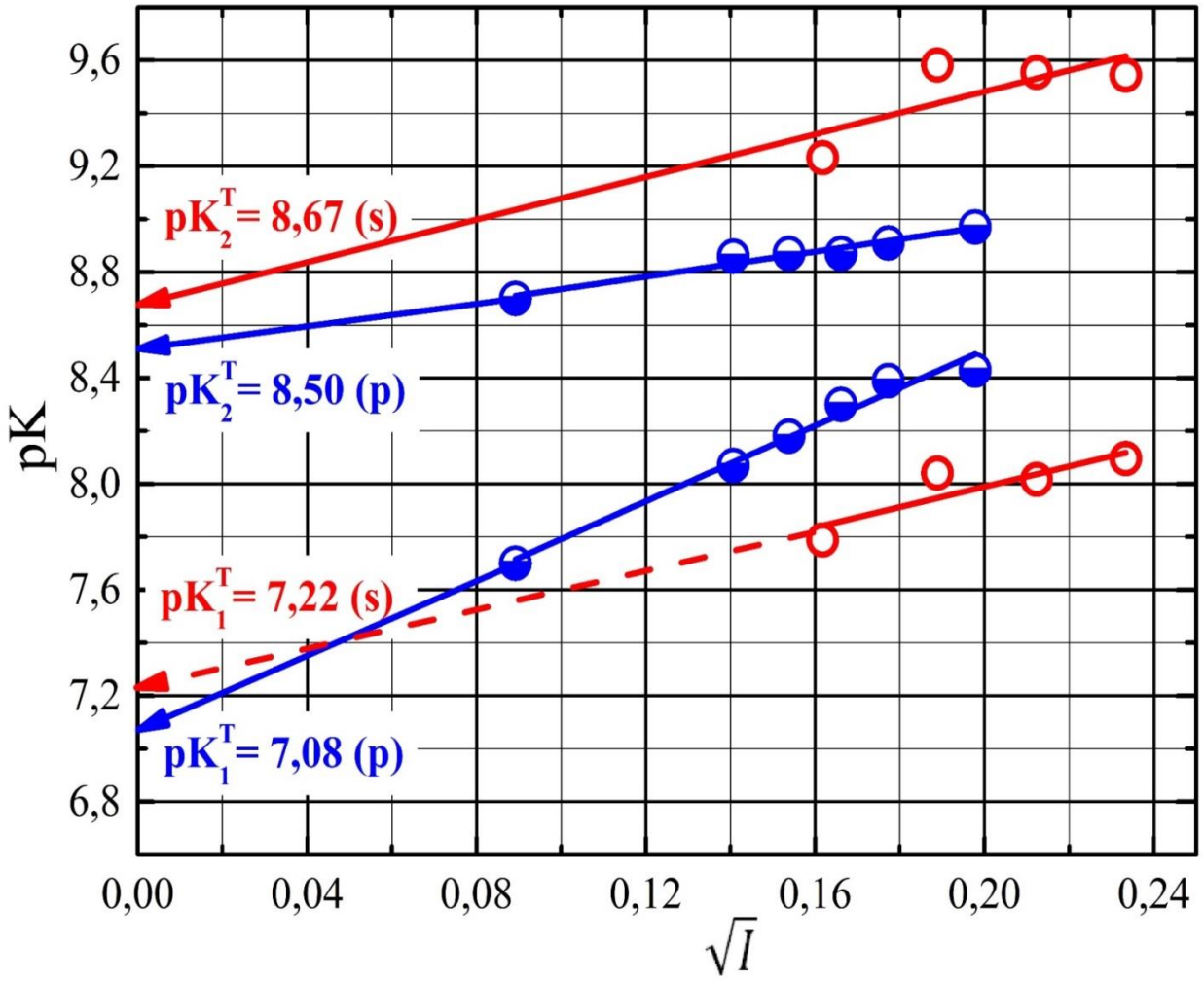
Distribuční diagram relativní koncentrace různě protonovaných částic protonačního modelu.



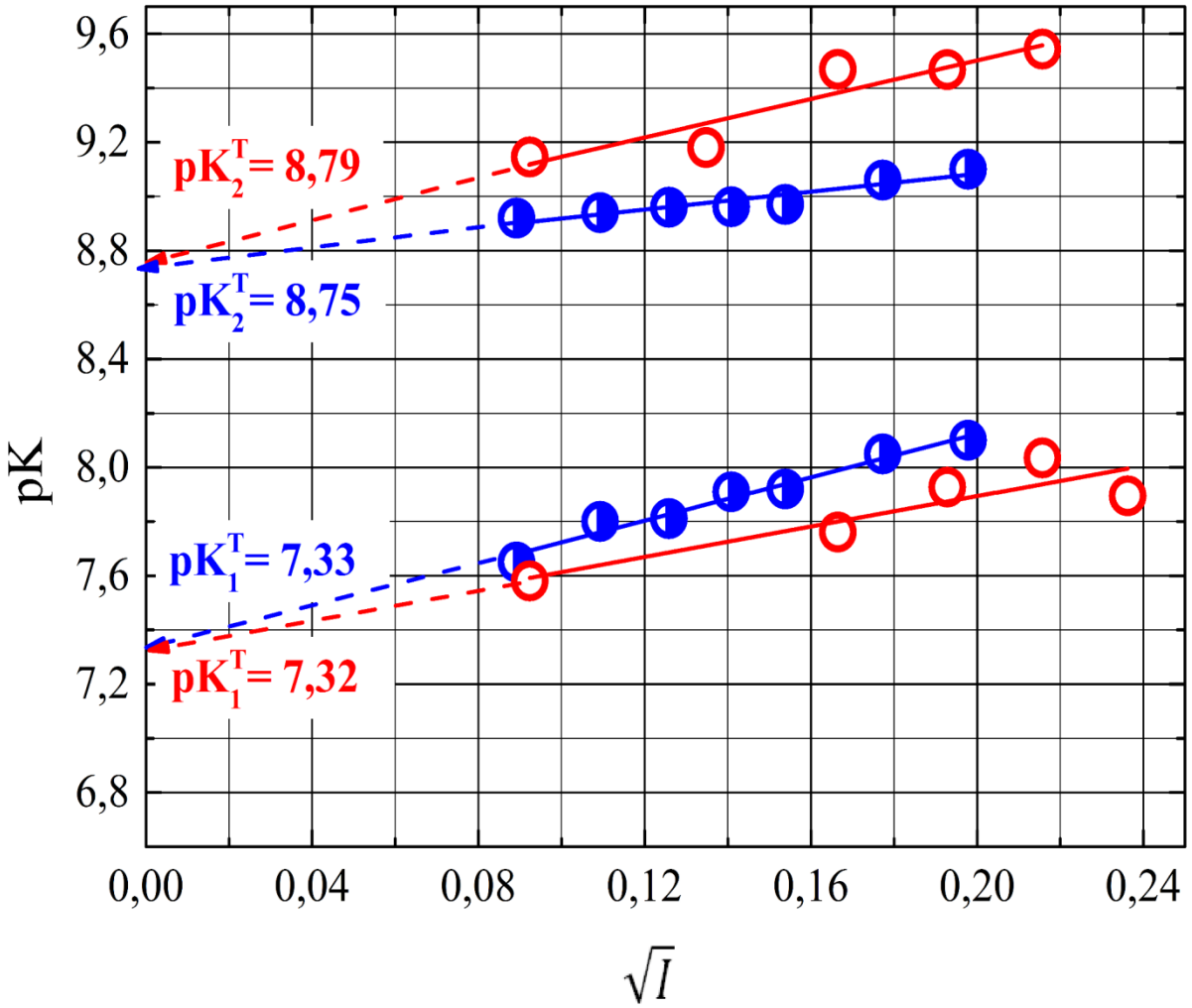
Porovnání odhadů pK z A-pH spekter vůči pH-titraci

Přehled dvou termodynamických disociačních konstant pK stanovených spektrofotometricky (s) a potenciometricky (p).

25°C



37°C



Aneta Čápová, Bc.

Děkuji za pomoc

Konzultantce

Mgr. Lucie Pilařové, Bc.

Školiteli Prof. RNDr. Milanu Melounovi, DrSc.

Všem posluchačům děkuji za pozornost.