

Collegium Medicum  
Uniwersytetu Jagiellońskiego  
Wydział Farmacji  
Katedra Chemii Organicznej



**Zastosowanie metody TLC w  
badaniach lipofilowości  
wybranych grup związków**

*Elżbieta Kępczyńska*

*Rozprawa doktorska*

*Promotor*

*Prof. dr hab. Jacek Bojarski*

**Kraków 2005**

*Składam serdeczne podziękowania*

*Panu Prof. dr hab. Jackowi Bojarskiemu  
za naukową opiekę, cenne rady i wskazówki  
podczas prowadzonych badań i opracowywania  
wyników oraz wielką życzliwość.*

*Dziękuję:*

*Pani dr hab. Barbarze Malawskiej z Katedry Chemii Farmaceutycznej  
CM UJ za możliwość skorzystania z programów PALLAS i CAChe*

*Wszystkim moim Koleżankom i Kolegom z Katedry Chemii  
Organicznej CM UJ za ich duchowe wsparcie i pomoc w trakcie  
wykonywania tej pracy*

## Spis treści

1. WSTĘP .....	3
2. CZĘŚĆ TEORETYCZNA .....	4
2.1. Lipofilowość –rys historyczny .....	4
2.2. Metody obliczeń lipofilowości .....	6
2.3 Cienkowarstwowa chromatografia z odwróconymi fazami w wyznaczaniu lipofilowości .....	7
2.3.1. Faza stacjonarna i ruchoma w chromatografii RP-TLC .....	9
2.3.1.1. Sztuczne błony biologiczne IAM .....	11
2.3.2. Zalety chromatografii RP-TLC .....	12
2.4. Parametry molekularne: indeksy wiązalności molekularnej i parametr objętości molekularnej .....	13
3. CEL PRACY .....	14
3.1. Badane grupy związków .....	15
4. CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA .....	18
4.1. Aparatura i odczynniki .....	18
4.2. Metodyka pracy .....	21
5. WYNIKI .....	24
5.1. Badania <i>N</i> -alkilowych pochodnych 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny .....	24
5.2. Badania <i>N</i> -(2-etylobutyrylo)- <i>N'</i> -podstawnych pochodnych biuretu .....	34
5.3. Pochodne kwasu barbiturowego .....	41
5.3.1 Badania 5,5-dipodstawnych pochodnych kwasu barbiturowego .....	41
5.3.2. Badania pochodnych kwasu barbiturowego z wykorzystaniem sztucznych błon biologicznych (IAM) .....	50
5.3.3. Badania pochodnych kwasu 5-arylidenobarbiturowego i 1,3-dimetylo-5-arylidenobarbiturowego .....	60
5.4. Badania pochodnych 2-tiohydantoiny .....	72
6. Dyskusja wyników .....	80
6.1. <i>N</i> -alkilowe pochodne 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny .....	80
6.2. <i>N</i> -(2-etylobutyrylo)- <i>N'</i> -podstawne pochodne biuretu .....	81
6.3. Pochodne kwasu barbiturowego .....	82

6.3.1. 5,5-dipodstawne pochodne kwasu barbiturowego .....	82
6.3.2. Pochodne kwasu barbiturowego badane z wykorzystaniem sztucznych błon biologicznych (IAM).....	84
6.3.3. Pochodne kwasu 1,3-dimetylo-5-arylidenobarbiturowego i 5-arylidenobarbiturowego .....	85
6.4. Pochodne 2-tiohydantoiny .....	87
6.5. Podsumowanie .....	88
7. STRESZCZENIE .....	89
8. LITERATURA.....	92

# 1. WSTĘP

Lipofilowość już od ponad wieku jest uznawana za znaczący parametr w badaniach zależności aktywności od struktury związku, opisujący aspekty aktywności farmakodynamicznej, farmakokinetycznej i toksycznej leku. Ogromny wkład w tym kierunku dał Hansch wprowadzając współczynnik podziału jako parametr lipofilowości i standaryzując układ do jego wyznaczenia oraz wskazując na addytywny charakter lipofilowości.

Przez długi czas współczynnik podziału był stosowany jako eksperymentalne wyznaczenie lipofilowości związku. Jednakże z powodu pewnych ograniczeń i wad natury technicznej poszukiwano także innych metod pozwalających na wyznaczenie lipofilowości.

Metoda chromatograficzna okazała się ważną alternatywą w wyznaczaniu lipofilowości. Przystosowanie tej metody do eksperymentalnego określenia lipofilowości doprowadziło do powstania chromatografii z odwróconymi fazami, w której hydrofilową, polarną fazę stacjonarną zastąpiono hydrofobową, niepolarną.

W prezentowanej pracy zastosowano taką właśnie metodę, a właściwie jedną z jej odmian, tj. cienkowarstwową chromatografię z odwróconymi fazami do wyznaczenia lipofilowości wybranych grup związków.

## 2. CZĘŚĆ TEORETYCZNA

### 2.1. Lipofilowość –rys historyczny [1-3]

Lipofilowość jest jedną z ważniejszych właściwości molekularnych związków biologicznie aktywnych. Decyduje o biodostępności związku chemicznego i ma znaczenie np. przy przekraczaniu przez cząsteczki leku barier biologicznych oraz podczas oddziaływań z receptorami.

Definicja lipofilowości sugerowana przez IUPAC brzmi następująco: „Lipofilowość reprezentuje powinowactwo danej cząsteczki lub jej fragmentu do środowiska lipofilowego. Jest ona zwykle mierzona poprzez podział tego związku pomiędzy fazy w układzie dwufazowym ciecz-ciecz lub ciecz-ciało stałe”.

Badania nad lipofilowością zapoczątkowano pod koniec XIX wieku. Pierwszą definicję współczynnika podziału podali w 1872 roku Berthelot i Jungfleisch. W 1899 roku Overton i Meyer niezależnie od siebie podali liniową zależność narkotycznej aktywności związków i lipofilowości, wyrażonej poprzez współczynnik podziału olej/woda. Następne lata to próby opisanie zależności biologicznej aktywności i fizykochemicznych właściwości związanych z lipofilowością. W 1959 roku Gaudette i Brodie zwrócili uwagę na możliwość użycia współczynnika podziału do prezentowania właściwości lipofilowych i wpływu lipofilowości na procesy farmakokinetyczne. Współczynnik podziału (a właściwie wartość jego logarytmu,  $\log P$ ) jako parametr lipofilowości został po raz pierwszy użyty przez Hanscha i jego współpracowników w roku 1964. Grupa ta była pionierem pomiaru wartości współczynnika podziału metodą wytrząsania, popularnie zwaną „shake-flask”, wprowadzając jednocześnie układ *n*-oktanol:woda jako standardowy dla wyznaczenia lipofilowości.

Hansch zapoczątkował też systematyczne badania ilościowej zależności pomiędzy strukturą - opisywaną poprzez fizykochemiczne właściwości, a biologiczną

aktywnością leku (QSAR).

Od roku 1964 powszechną metodą wyznaczenia współczynnika podziału jest metoda „shake-flask” w układzie wzorcowym, *n*-oktanol:woda. W warunkach równowagi, stosunek pomiędzy stężeniem substancji w *n*-oktanolu  $c_o$  i w wodzie  $c_w$  zdefiniowany jest jako współczynnik podziału:

$$P = \frac{c_o}{c_w} \quad (1)$$

Dla związków podatnych na jonizację stosuje się tzw. współczynnik dystrybucji *D*. Opierając się na założeniu, że jony nie przechodzą do fazy lipidowej, współczynnik ten definiuje się jako stosunek stężenia niezjonizowanej części w niepolarniej fazie do stężenia zjonizowanej i niezjonizowanej części w fazie wodnej.

Mimo, iż układ *n*-oktanol:woda jest standardowym układem dla określania lipofilowości, stosowane są też inne układy rozpuszczalnikowe w badaniach nad współczynnikami podziału. Są to: chloroform:woda, cykloheksan:woda, eter dietylowy:woda, triglicerydy:woda, *n*-heptan:woda oraz inne. Współczynniki podziału wyznaczone w różnych układach rozpuszczalnikowych są ze sobą powiązane równaniem Collandera:

$$\log P_a = \rho \log P_b + q \quad (2)$$

gdzie  $P_a$  i  $P_b$  są współczynnikami podziału, zaś  $\rho$  i  $q$  są stałymi, które charakteryzują zastosowane dwa układy rozpuszczalnikowe *a* i *b*.

Z powodu praktycznych wad techniki „shake-flask”, przy wyznaczeniu współczynnika podziału stosuje się alternatywne chromatograficzne parametry lipofilowości związane z podziałem pomiędzy stacjonarną i ruchomą fazę w układzie chromatograficznym. Powszechnie używane są chromatograficzne techniki takie jak: cienkowarstwowa chromatografia z odwróconymi fazami (RP - TLC), wysokosprawna chromatografia cienkowarstwowa z odwróconymi fazami (RP - HPTLC) i wysokosprawna chromatografia cieczowa z odwróconymi fazami (RP - HPLC).



## 2.2. Metody obliczeń lipofilowości

Pierwszą próbę obliczenia wartości  $\log P$  podjęła grupa Hanscha i Fujity w 1964 roku [1, 2]. Metoda ta opiera się na użyciu stałych podstawnikowych  $\pi$  określonych według równania:

$$\log P_X = \log P_H + \pi_X \quad (3)$$

gdzie  $\pi_X$  stanowi wkład lipofilowości podstawnika X, a  $P_X$  i  $P_H$  są współczynnikami podziału w układzie *n*-oktanol:woda podstawionego i niepodstawionego związku. Równanie to zostało wyprowadzone w oparciu o zależność podaną wcześniej przez Hammetta dla podstawionych pochodnych benzenu:

$$\log\left(\frac{K_X}{K_H}\right) = \rho\sigma_X \quad (4)$$

gdzie  $K_X$ ,  $K_H$  są stałymi szybkości lub równowagi reakcji odpowiednio, w obecności podstawnika i przy braku podstawnika;  $\rho$  stałą reakcji związaną z danym typem reakcji oraz warunkami, w których ta reakcja zachodzi, a  $\sigma$  stałą podstawnika będącą miarą efektu elektronowego wywieranego przez podstawnik (względem atomu wodoru) w położeniu meta i para pierścienia fenyłowego, niezależną od rodzaju reakcji. Dla wyznaczenia stałych  $\sigma$  przyjęto, że  $\rho$  jest równe jedności dla standardowej reakcji dysocjacji kwasu benzoowego w wodzie, przy temperaturze 25 °C.

W przeciągu następnych lat równanie to doczekało się szeregu przekształceń uwzględniających zmienność  $\sigma$  [4, 5].

Występowanie efektów sterycznych i elektronowych w układach aromatycznych podstawionych w pozycji *orto* znacznie komplikowało stosowanie powyższego równania. Problem ten rozwiązał Taft uwzględniając w swej analizie rozdzielanie elektronowych, sterycznych i rezonansowych efektów podstawników [4].

W pracach Hammetta i Tafta znajduje się wiele stałych podstawnikowych

wykorzystywanych w różnych dziedzinach [6-8].

Rekker i jego grupa badawcza rozwinęli pierwszy system fragmentacji [2, 9, 10]. System hydrofobowych stałych fragmentacji (wartości  $f$ ), przypisanych do wybranych fragmentów strukturalnych, jest oparty na równaniu:

$$\log P = \sum_{i=1}^n a_i f_i + \sum_{j=1}^m b_j F_j \quad (5)$$

gdzie  $a_i$  wskazuje liczbę danych fragmentów  $i$  w cząsteczce,  $F_j$  oznacza poprawkę na oddziaływania elektronowe i steryczne pomiędzy różnymi fragmentami w cząsteczce,  $b_j$  zaś liczbę poprawek  $j$ . Metoda ta została rozwinięta później przez Leo.

Szereg badaczy rozwinęło metodę fragmentacji na atomy [10], opartą na sumowaniu udziałów od poszczególnych atomów zgodnie z równaniem:

$$\log P = \sum_{i=1}^n n_i a_i \quad (6)$$

gdzie  $n_i$  jest liczbą atomów typu  $i$ , a  $a_i$  jest udziałem atomu typu  $i$ .

### **2.3 Cienkowarstwowa chromatografia z odwróconymi fazami w wyznaczeniu lipofilowości [1-3]**

Martin i Synge w roku 1940 wykazali, że wartość parametru  $R_F$  otrzymana w chromatografii TLC może być powiązana z współczynnikiem podziału  $P$  zgodnie z równaniem:

$$P = a \left( \frac{1}{R_F} - 1 \right) \quad (7)$$

gdzie  $a$  jest stałą równania, zaś  $R_F$  jest zdefiniowane jako stosunek odległości migracji

substancji oznaczanej X ( $Z_X - Z_0$ ) do odległości migracji fazy ruchomej ( $Z_F - Z_0$ ):

$$R_F = \frac{Z_X - Z_0}{Z_F - Z_0} \quad (8)$$

Bate-Smith i Westall wprowadzili wyrażenie:

$$R_M = \log\left(\frac{1}{R_F} - 1\right) \quad (9)$$

Powyższe równanie daje liniową zależność od  $\log P$ , a co za tym idzie, parametr  $R_M$  ma analogiczne znaczenie jak wartość logarymiczna współczynnika podziału  $P$ .

Wzorując się na równaniu (3) możemy zapisać jego wersję dla chromatografii RP – TLC, wyrażającą efekt podstawienia atomu wodoru innym atomem bądź grupą na migrację po powierzchni płytki chromatograficznej [9]:

$$\Delta R_M = R_M(X) - R_M(H) \quad (10)$$

Łącząc równania (8) i (9) otrzymujemy:

$$R_M = \log\left(\frac{Z_F - Z_X}{Z_X - Z_0}\right) \quad (11)$$

$R_M$  wyraża logarymiczny stosunek odległości między plamką substancji oznaczanej a frontem fazy ruchomej (czyli miary oddziaływania substancji oznaczanej z lipofilową fazą stacjonarną) i odległości migracji substancji oznaczanej (czyli miary migracji substancji oznaczanej z hydrofilową fazą ruchomą).

W roku 1965 Boyce i Milborrow opublikowali pierwszą pracę, w której zastosowali parametr  $R_M$  wyrażający lipofilowość w korelacjach z biologiczną aktywnością związków.

Biagi i współpracownicy byli pierwszymi autorami, którzy zastosowali, a następnie rozwinęli chromatografię cienkowarstwową z odwróconymi fazami dla wyznaczenia lipofilowości. Oni też wprowadzili wartość  $R_{M0}$ , czyli wartość  $R_M$

ekstrapolowaną do zerowego stężenia organicznego modyfikatora w fazie ruchomej zgodnie z równaniem:

$$R_M = R_{M0} + bC \quad (12)$$

gdzie  $R_M$  jest wartością lipofilowości badanego związku przy zawartości  $C\%$  objętościowego organicznego modyfikatora w fazie ruchomej,  $R_{M0}$  jest teoretyczną wartością  $R_M$  ekstrapolowaną do zerowej zawartości organicznego modyfikatora w fazie ruchomej, a  $b$  jest zmianą wartości  $R_M$  przypadającą na zmianę stężenia organicznego modyfikatora o jedną jednostkę.

Wartość  $R_{M0}$  jest przyjmowana za najbardziej dokładną miarę lipofilowości uzyskaną przy zastosowaniu chromatografii RP-TLC wykorzystywaną w badaniach QSAR.

### 2.3.1. Faza stacjonarna i ruchoma w chromatografii RP-TLC

W chromatografii RP-TLC stosuje się hydrofobową, niepolarną fazę stacjonarną. Najczęściej stosowane są adsorbenty niepolarne typu RP. Są to żele krzemionkowe z przyłączonymi łańcuchami alkilowymi:  $C_2$ ,  $C_4$ ,  $C_8$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{18}$  na drodze [11]:

- tworzenia wiązań typu Si – O - R w wyniku reakcji powierzchniowych grup silanolowych z alkoholami,
- tworzenia wiązań typu Si – O - SiR<sub>3</sub> w wyniku reakcji powierzchniowych grup silanolowych z alkilochlorosilanami,
- tworzenia wiązań Si - C z wykorzystaniem chlorku tionylu i związków litoorganicznych.

Polarność fazy stacjonarnej jest uwarunkowana długością i ilością łańcuchów alkilowych [12]. Największe znaczenie mają fazy stacjonarne z 2, 8 i 18 atomami węgla w łańcuchu alkilowym. Najbardziej popularnym adsorbentem RP jest faza oktadecylosilanowa (ODS), o 18 atomach węgla w łańcuchu alkilowym ( $C_{18}$ ). Faza ta

jest fazą niepolarną i charakteryzuje się wysoką selektywnością względem homologów. Można ją stosować do rozdziału związków niepolarnych (lipidy oraz związki aromatyczne) i polarnych (substancje aktywne farmakologicznie o charakterze zasadowym i kwaśnym). Fazę  $C_8$ , która jest fazą średnio polarną, można wykorzystać do wstępnego, orientacyjnego rozdzielania mieszanin o nieznanym składzie. Natomiast fazę  $C_2$  stosuje się głównie do chromatografowania związków wielkocząsteczkowych.

Płytki pokryte adsorbentami RP mogą być zwilżalne wodą, co tłumaczy ich powszechne użycie w oznaczaniu lipofilowości metodą TLC. Jednakże przy stosowaniu płytek z takimi adsorbentami (zwłaszcza RP-18) należy liczyć się z tym, że tylko część grup silanolowych jest zetyfikowana (22%). W fazie ruchomej z wysoką zawartością wody grupy silanolowe są osłaniane przez cząsteczki wody i chromatograficzny proces jest typowy dla chromatografii z odwróconymi fazami. Przy niskiej zawartości wody w fazie ruchomej wzrasta możliwość polarnych oddziaływań wolnych grup silanolowych i polarnych części badanego związku (polarna adsorpcja), co skutkuje znacznym podwyższeniem wartości parametru  $R_M$  i odchyleniem liniowej zależności  $R_M$  od stężenia organicznego modyfikatora [1, 13].

Można uniknąć tego efektu stosując płytki RP-HPTLC, w których eteryfikacja grup silanolowych jest wyższa. Jednakże płytki takie są trudno zwilżalne przez fazę ruchomą zawierającą więcej niż 40 % wody, co znów daje mniejszą dokładność wyznaczenia ekstrapolowanej wartości  $R_{M0}$  [1, 13]. Dla porównania, płytki typu RP są dobrze zwilżalne przez fazę ruchomą zawierającą aż do 60 % wody [1].

Ostatnio dostępne są modyfikowane płytki typu RP (np. płytki RP-18W), dla których uzyskuje się zwilżalność wodą w całym zakresie stężeń [3, 11].

Retencja na niepolarnej fazie stacjonarnej zachodzi na zasadzie „wymuszonej” adsorpcji. Część związku mająca charakter hydrofobowy tworzy asocjat z hydrofobowymi łańcuchami fazy stacjonarnej słabymi siłami van der Waalsa oraz na skutek wpływu polarnego rozpuszczalnika jakim jest woda. Woda mając bardzo duże napięcie powierzchniowe wypycha niepolarną część związku, wtłaczając ją pomiędzy łańcuchy alkilowe fazy stacjonarnej. Polarna część związku jest zawsze zwrócona w kierunku fazy ruchomej [14].

Jako fazy ruchome są stosowane mieszaniny wody (lub buforu) i organicznego modyfikatora, najczęściej metanolu, acetonu lub acetonitrylu, rzadziej dioksanu i tetrahydrofuranu [1]. Związki ze średnią lub wysoką lipofilowością wykazują nieznaczną migrację w czystej wodzie, co oczywiście uniemożliwia dokładny pomiar wiarygodnej wartości  $R_M$ . Dodatek organicznego modyfikatora powoduje zmniejszenie polarności fazy ruchomej (zmieniając tym samym bilans oddziaływań polarnych i apolarnych pomiędzy fazą stacjonarną, ruchomą i oznaczanym związkiem) i wzrost rozpuszczalności oznaczanego związku, co powoduje wydłużenie migracji, a tym samym zwiększenie wartości parametru  $R_F$  [15]. Jako modyfikator organiczny preferowany jest metanol, co jest podyktowane podobieństwem fizykochemicznych właściwości do wody [1].

Z teoretycznego punktu widzenia, opierając się na założeniu, że ekstrapolowana wartość  $R_{M0}$  reprezentuje podział związku pomiędzy fazę stacjonarną i wodę, niezależnie od rodzaju użytego organicznego modyfikatora powinna to być taka sama wartość. Jednakże stosowane modyfikatory organiczne różnią się między sobą właściwościami, np. napięciem powierzchniowym, siłą elucyjną, co wpływa nieznacznie na otrzymywane wartości  $R_M$  [1].

Zaobserwowano też wpływ pH na wartość  $R_M$ , który uwidacznia się zwłaszcza dla mocnych zasad przy wzroście stężenia organicznego modyfikatora w fazie ruchomej [1].

### *2.3.1.1. Sztuczne błony biologiczne IAM*

Do określania lipofilowości w chromatografii TLC i HPLC jako fazę stacjonarną głównie używa się fazy oktadecylosilanowej (ODS). W ostatnich latach duże zainteresowanie skupia się na sztucznych membranach – liposomach, micelach i tak zwanej sztucznej błonie biologicznej IAM.

Sztuczna błona IAM została wprowadzona jako faza stacjonarna w RP-HPLC przez Pidgeona i jego współpracowników [16]. Faza taka jest otrzymywana poprzez kowalencyjne przyłączenie monowarstwy fosfolipidów (z polarną grupą czołową i niepolarnym łańcuchem węglowodorowym) do cząsteczek krzemionki. Na wzór

biomembrany, polarne czołowe grupy wystają poza hydrofobową warstwę i są pierwszym miejscem kontaktu pomiędzy badanym związkiem a sztuczną błoną biologiczną IAM.

Taki model fazy stacjonarnej jest bardziej podobny do naturalnej błony niż faza stacjonarna stosowana w chromatografii z odwróconymi fazami. Na tej podstawie Pidgeon i inni [17] stwierdzili, że współczynnik retencji uzyskany przy zastosowaniu kolumny IAM daje lepsze możliwości przewidywania transportu leku przez bariery biologiczne niż parametr retencji uzyskany przy zastosowaniu typowej kolumny ODS w RP-HPLC i logarytm współczynnika podziału  $\log P$ . Potwierdzają to też prace innych autorów [17-27].

### 2.3.2. Zalety chromatografii RP-TLC

Chromatografia cienkowarstwowa z odwróconymi fazami jest atrakcyjną alternatywą w stosunku do dosyć czasochłonnej metody pomiaru współczynnika podziału metodą „shake-flask”, czy też w porównaniu z chromatografią HPLC, o ile jest przeprowadzana w warunkach gwarantujących dokładność i powtarzalność wartości parametru  $R_M$  (np. temperatura, densytometryczna ocena punktu startowego i punktu plamki po rozwinięciu chromatogramu, ekstrapolacja do zerowego stężenia organicznego modyfikatora) [1].

Do jej zalet można zaliczyć:

- szybkość pomiaru,
- badane związki nie muszą być czyste,
- do oznaczenia potrzeba jest niewielka ilość związku,
- jednocześnie można analizować wiele związków o dosyć zróżnicowanej lipofilowości,
- pozwala zmierzyć lipofilowość w dużo szerszym zakresie; dla porównania, wg Braumanna [28] w chromatografii RP-HPLC dla ekstrapolowanych wartości  $\log k_0$  zakres ten wynosi od 0,0 do 7,0, a dla chromatografii RP-TLC zakres ten dla wartości  $R_{M0}$  wynosi od około  $-1,0$  do  $+7,0$ .

Czynniki te sprawiają, że chromatografia RP-TLC jest dogodną metodą oznaczania lipofilowości różnych związków, w tym również czynnych biologicznie, a uzyskany przy jej pomocy parametr  $R_{M0}$  wykorzystywany jest w badaniach QSAR [29-38].

#### **2.4. Parametry molekularne: indeksy wiązalności molekularnej i parametr objętości molekularnej**

Na lipofilowość danego związku ma wpływ budowa jego cząsteczki. W badaniach QSAR używane są parametry molekularne opisujące strukturę cząsteczki.

Jednymi z szeroko stosowanych takich parametrów są indeksy wiązalności molekularnej  ${}^m\chi^v$  o różnym stopniu  $m$  [39-41]. Indeksy te wywodzą się z teorii grafów, które są zbiorem punktów obrazujących atomy w cząsteczce oraz linii reprezentujących wiązania. Indeksy wiązalności molekularnej są wartością liczbową powiązaną z budową chemiczną, którą można stosować do korelacji między strukturą i właściwościami fizykochemicznymi oraz farmakologicznymi, szczególnie do zależności pomiędzy strukturą i retencją oraz przy ocenianiu lipofilowości związków metodami chromatograficznymi [29, 42-50].

Stosując indeksy wiązalności molekularnej jako parametr do bezpośredniej korelacji wymagane jest założenie, że korelowana wielkość musi być zależna od struktury cząsteczki (objętość, długość łańcuchów węglowych, wielkość pierścienia, miejsce rozgałęzienia, obecność i położenie wiązań wielokrotnych).

Innym parametrem opisującym cząsteczkę jest objętość cząsteczkowa  $V$ , tzw. objętość van der Waalsa ( $V_w$ ), będąca sumą objętości tworzących ją atomów, obliczonych na podstawie promienia oddziaływań van der Waalsa. Od tej sumy odejmuje się sumę poprawek dla poszczególnych wiązań wynikających z nakładania się promieni van der Waalsa oraz poprawek uwzględniających rozgałęzienie [51]. Parametr objętości cząsteczkowej jest stosowany do korelacji różnych parametrów, także lipofilowości [52-54].



### 3. CEL PRACY

Celem pracy była ocena lipofilowości następujących grup związków:

- *N*-alkilowych pochodnych 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny,
- *N*-(2-etylobutyrylo)-*N'*-podstawnych pochodnych biuretu,
- pochodnych kwasu barbiturowego,
- pochodnych 2-tiohydantoiny

metodą chromatografii cienkowarstwowej z odwróconymi fazami, z metanolem jako organicznym modyfikatorem. Otrzymane wartości parametru lipofilowości  $R_{M0}$  analizowano poszukując powiązań między budową związków a ich lipofilowością. Następnie wartości parametru  $R_{M0}$  skorelowano z parametrami lipofilowości otrzymanymi innymi metodami, również obliczeniowymi ( $\log P_{Pallas}$ ,  $\log P_{CACh}$ , dla niektórych związków z  $\log k_{IAM}$ ), poszukując ich liniowej zależności.

Dla niektórych związków wartość parametru  $R_{M0}$  porównano również z dostępnymi literaturowo danymi biologicznymi oraz innymi parametrami, co w wielu przypadkach pozwoliło na wykazanie liniowej zależności pomiędzy nimi.

Jako, że badane pochodne należą do grup związków, w których stwierdzono pewne aktywności biologiczne, wydaje się być uzasadnione badanie pod kątem określenia ich lipofilowości - parametru odgrywającego ważną rolę przy wchłanianiu leku z miejsca podania, jego dystrybucji wewnątrz organizmu poprzez transport przez błony komórkowe do wydalenia włącznie.

### 3.1. Badane grupy związków.

Badane *N*-alkilowe pochodne 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny, będące nową klasą ligandów receptorów serotoninowych typu 5-HT<sub>1A</sub> [55], charakteryzują się systematycznymi modyfikacjami strukturalnymi - długością łańcucha węglowego pomiędzy układem tetrahydroizochinoliny a grupą amidową oraz podstawnikami węglowodorowymi we fragmencie amidowym. Uzasadnia to analizę wpływu lipofilowości na aktywność biologiczną badanych związków.

Lipofilowość pochodnych 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny była również badana przy użyciu chromatografii RP-HPLC przez Bojarskiego i Mokrosz [53]. Otrzymany przez nich parametr retencji,  $\log k'$ , był porównywany z teoretycznie obliczonym współczynnikiem podziału, parametrem objętości podstawnika i powinowactwem badanych pochodnych do serotoninowych receptorów 5-HT<sub>1A</sub>. Otrzymano w rezultacie dobrą korelację pomiędzy nimi.

Lipofilowość ligandów serotoninowych była badana też przez Chilmończyka i współpracowników [52]. Badali oni lipofilowość analogów buspironu, będących ligandami serotoninowymi, przy użyciu chromatografii RP-HPLC. Otrzymane wartości  $\log k'$  porównywali oni z obliczonymi i wyznaczonymi eksperymentalnie wartościami  $\log P$  oraz parametrem objętości cząsteczki, otrzymując liniowe zależności.

Biagi i współpracownicy [56] badali lipofilowość ligandów receptorów 5-HT, które należały do różnych typów związków, przy użyciu chromatografii RP-TLC. Jako organiczny modyfikator stosowali aceton, acetonitryl lub metanol. Dla kilku związków, wykazujących migrację przy zerowej zawartości modyfikatora, autorzy wyznaczyli wartości  $R_M$  stosując bufor jako fazę ruchomą. Następnie porównywali te wartości z tymi, które otrzymali w wyniku ekstrapolacji do zerowego stężenia modyfikatora. Otrzymano dobrą zgodność pomiędzy tymi parametrami. W dalszej kolejności porównywali ze sobą ekstrapolowane wartości  $R_{M0}$  otrzymane dla stosowanych typów układów rozwijających. Różnice w ekstrapolowanych wartościach  $R_{M0}$  były niewielkie i zostały uśrednione. Tak uzyskaną średnią wartość  $R_{M0}$

porównywali z wartością  $R_{M0}$  wyznaczoną przy użyciu chromatografii RP-HPLC i acetonu jako organicznego modyfikatora, uzyskując zależność liniową. Oba te chromatograficzne parametry były też porównywane z obliczonymi wartościami  $\log P$ . Uzyskano w wyniku dobrą korelację.

Glennon i współpracownicy [57] badali wpływ elektronowy i lipofilowość podstawników (stosując stałą podstawnikową  $\sigma$  i  $\pi$ ) arylowych pochodnych guanidyny na powinowactwo do receptorów 5-HT<sub>3</sub>. Stwierdzili, że jeżeli podstawniki znajdowały się w pozycji *meta* pierścienia benzenowego, to zaznaczał się w większym stopniu efekt elektronowy na powinowactwo do receptorów 5-HT<sub>3</sub>. Natomiast, jeśli podstawniki były obecne w pozycji *para*, to większy wpływ na powinowactwo miała ich lipofilowość.

*N*-acylo-*N'*-podstawione pochodne biuretu wykazują między innymi działanie uspokajające, hipnotyczne [58], przeciwzapalne i przeciwgorączkowe [59]. Kajitani i współpracownicy [60] otrzymywali pochodne biuretu i badali je pod kątem działania przeciwbólowego i przeciwzapalnego. Pandeya i współpracownicy [61] podobnym kątem badali izoditiobiurety i ditiobiurety. Yamakita i współpracownicy [62] badali teratogenność 1,1,3-trimetylo-5-fenylobiuretu jako nowego środka antyreumatycznego.

Kwas barbiturowy, sam nie wykazujący działania farmakologicznego, jest związkiem macierzystym znacznej grupy połączeń, potocznie zwanych barbituranami. Pochodne 5,5-dipodstawne są słabymi kwasami ( $pK_a$  zmienia się od 7.1 do 8.1 [63]), łatwo rozpuszczalnymi w lipidach, co warunkuje ich duże powinowactwo do lipidowych struktur mózgu. Pochodne te, w zależności od budowy, wykazują dosyć zróżnicowane działanie farmakologiczne: nasenne, przeciwdrgawkowe, antydepresyjne i znieczulające ogólnie [64, 65].

Alkilowanie jednego atomu azotu w pierścieniu pirymidynowym prowadzi do zwiększenia szybkości, skrócenia czasu działania i pogłębienia działania nasennego aż do narkotycznego (metylofenobarbital, czyli kwas 5-etylo-5-fenylo-1-metylobarbiturowy, heksobarbital, czyli kwas 5-(1-cykloheksenylo)-1,5-dimetylobarbiturowy) [66]. Zastąpienie atomu tlenu w pozycji 2 atomem siarki (pochodne kwasu 2-tiobarbiturowego) powoduje zwiększenie lipofilowości danego

związku, a co za tym idzie, zwiększenie działania i skrócenie jego czasu [64, 66, 67].

W ostatnim czasie podejmowano badania mające na celu zsyntetyzowanie nowych pochodnych kwasu barbiturowego i tiobarbiturowego, wykazujących działanie przeciwdrgawkowe, z wyeliminowaniem ich jednoczesnego działania uspokajającego i nasennego [68].

Pochodne kwasu barbiturowego znalazły również zastosowanie w otrzymywaniu nowych barwników solwatochromowych [69, 70], a pochodne kwasu tiobarbiturowego jako fluorofory absorbujące w długofalowym zakresie światła widzialnego i mogące być wykorzystane w licznych biologicznych zastosowaniach, zwłaszcza dotyczących połączeń DNA [71].

W badaniach prowadzonych z pochodnymi kwasu 5-ylidenobarbiturowego stwierdzono między innymi, że: niektóre z nich wzmagają i przedłużają efekt nasenny wodzianu chloralu i heksenalu [72], hamują wzrost bakterii *Staphylococcus aureus* [73, 74], wykazują działanie antydepresyjne [75], przeciwnowotworowe w stosunku do niektórych rodzajów leukemii [76, 77] oraz obniżają barierę immunologiczną [78].

Pochodne kwasu barbiturowego są grupą leków, dla których prowadzono szereg badań nad ich lipofilowością oraz korelacjami ich bioaktywności z różnymi parametrami lipofilowości [48, 49, 71, 79-88].

Związki będące pochodnymi hydantoiny są stosowane w leczeniu jako leki przeciwpadaczkowe [64, 65]. Pochodne hydantoiny i 2-tiohydantoiny wykazują działanie przeciwnowotworowe [89, 90], przeciwdrgawkowe [91], antybakteryjne [92-94], antymykobakteryjne [93-96] i przeciwgruźlicze [97]. Wykazano również działanie pochodnych 2-tiohydantoiny przeciwko wirusowi opryszczki zwykłej [98] i wirusowi HIV [99].

Arylowe pochodne hydantoiny i 2-tiohydantoiny, znakowane jodem promieniotwórczym, były także badane pod kątem wykorzystania ich jako radioligandów receptora androgenowego w diagnostyce raka prostaty [100].

Badane w pracy pochodne 2-tiohydantoiny wykazują działanie przeciwdrgawkowe [101-104].

## 4. CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

### 4.1. Aparatura i odczynniki

W badaniach wykorzystano następującą aparaturę:

- wagę elektroniczną WPS 600C, Radwag, Polska,
- elektrodę kombinowaną AAgP-201W, Gliwice, Polska,
- pH-metr N517, Mera Tronik, Polska,
- lampę UV typu Ha-05, Haland – Warszawa, Polska,
- strzykawki Hamiltona, 50µl, Hamilton Comp., USA,
- aluminiowe płytki TLC RP-18 F<sub>254s</sub> (20 × 20 cm) firmy Merck, Niemcy, o grubości warstwy adsorbentu 0,2 mm.

Używane w badaniach płytki chromatograficzne są płytkami z odwróconym układem faz, o 18 atomach węgla w łańcuchu alkilowym, na podłożu z folii aluminiowej. Ich adsorbent zawiera czynnik fluoryzujący, F<sub>254</sub> (stosowany jest siarczek kadmu lub krzemian magnezu), ułatwiający obserwację chromatogramów. Fluorescencję tego czynnika powoduje światło o długości fali 254 nm. Na chromatogramie, używając lampy emitującej światło o takiej długości fali, widoczne są plamy substancji gaszących fluorescencję czynnika fluoryzującego bądź mających inną długość fali światła emitowanego (niż czynnik fluoryzujący) pod wpływem wzbudzenia [12]. Wskaźnik „s” oznacza odporność czynnika fluoryzującego na działanie kwasów.

Stosowano następujące odczynniki:

- metanol do chromatografii, Merck, Niemcy,
- alkohol etylowy 96%, POCh S.A. Gliwice,
- aceton, cz.d.a., POCh S.A. Gliwice,
- kwas solny 0,1mol/l, odważka analityczna, CHEMED Gliwice,

- dekahydrat tetraboranu disodowego ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \times 10\text{H}_2\text{O}$ ) cz.d.a., Chempur – Piekary Śląskie,
- wodę redestylowaną.

Pochodzenie badanych związków:

- *N*-alkilowe pochodne 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny zostały zsyntetyzowane w Instytucie Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie [55],
- pochodne biuretu zostały otrzymane w Katedrze Chemii Organicznej CM UJ w Krakowie [105],
- 5-ylidenowe pochodne kwasu barbiturowego zostały otrzymane w Katedrze Chemii Organicznej CM UJ w Krakowie [8],
- pochodne 2-tiohydantoiny zostały otrzymane w Katedrze Chemii Akademii Pedagogicznej w Krakowie [101-104],
- 5,5-dipodstawne, 1,5,5-tripodstawne i 1,3,5,5-tetrapodstawne pochodne kwasu barbiturowego – patrz Tabela 1.

**Tabela 1.** Pochodzenie 5,5-dipodstawnych, 1,5,5-tripodstawnych i 1,3,5,5-tetrapodstawnych pochodnych kwasu barbiturowego.

Źródło	kwas barbiturowy
Polfa	5,5-dietylo- 5-etylo-5-fenilo- 5,5-diallilo- 5-(1-cykloheksenilo)-5-etylo- 5-etylo-5-fenilo-1-metylo-
McNeil Laboratories	5-etylo-5- <i>sec</i> -butylo-
Winthrop	5-allilo-5- <i>sec</i> -butylo-
Gehe and Co. A.G.	5-metylo-5-fenilo-
Koch-Light	5,5-dimetylo-

c. d. **Tabeli 1**

The Upjohn Co.	5-allilo-5-(2-cyklopentenylo)-
Merck Sharp & Dohme Laboratories	5-etylo-5-(1-metylo-1-butenylo)-
Rhône-Poulenc	5-allilo-5-izobutylo- 5-allilo-5-izopropylo-
Eli Lilly and Co.	5-etylo-5-izopentylo- 5-allilo-5-(1-metylobutylo)- 5-allilo-1-metylo-5-(1-metylo-2-pentynylo)-
Hoffmann-La Roche	5-allilo-5-izopropylo-1-metylo-
VEB Arzneimittelwerk Dresden	5-(1-cykloheksenylo)-1,5-dimetylo-
Abbott Laboratories	5-etylo-5- <i>n</i> -pentylo- 5-etylo-5- <i>n</i> -oktylo- 5-etylo-5-(1-metylobutylo)- 5,5-di(2-butenylo)- 5,5-di(2-propino)- 5-etylo-5-(4,4-dimetyloheksylo)- 5-etylo-5-(3-metylocykloheksylo)- 5-(2-butenylo)-5-(2-metylo-2-propenylo)- 5,5-dietylo-1-metylo-
związki zsyntetyzowane w Katedrze Chemii Organicznej CM UJ [106, 107]	5,5-diallilo-1-metylo- 5-fenylo-1,3,5-trimetylo- 5-(1-cykloheksenylo)-1,3,5-trimetylo- 5,5-diallilo-1,3-dimetylo- 5,5-dietylo-1,3-dimetylo- 5-etylo-5-fenylo-1,3-dimetylo-

## 4.2. Metodyka pracy

Związki наносzono na płytki chromatograficzne przy pomocy strzykawki Hamiltona w formie 1% roztworów:

- w acetonie dla *N*-alkilowych pochodnych 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny i 2-tiohydantoiny,
- w etanolu dla pochodnych biuretu i kwasu barbiturowego.

Po naniesieniu związków płytki umieszczano w pozycji pionowej w komorze chromatograficznej, nasyconej wcześniej fazą ruchomą przez okres 1 godziny.

Fazę ruchomą dla wszystkich badanych pochodnych stanowiły mieszaniny metanolu oraz wody w różnych stosunkach objętościowych. Dla 5,5-dipodstawnych pochodnych kwasu barbiturowego oprócz fazy ruchomej metanol:woda stosowano również fazę ruchomą metanol:bufor boranowy Batesa-Bowera o pH = 8,35 [108].

Zawartość metanolu zmieniała się co 5% w zakresie:

- od 60 do 100% obj. dla *N*-alkilowych pochodnych 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny,
- od 50 do 90% obj. dla pochodnych biuretu,
- od 40 do 100% obj. dla 5,5-dipodstawnych pochodnych kwasu barbiturowego,
- od 55 do 90% obj. dla pochodnych kwasu 5-arylidenobarbiturowego i 1,3-dimetylo-5-arylidenobarbiturowego,
- od 60 do 90% obj. dla pochodnych 2-tiohydantoiny.

Chromatogramy były rozwijane na dystansie:

- 15 cm w temperaturze  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  dla *N*-alkilowych pochodnych 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny,
- 12 cm w temperaturze  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  dla pochodnych biuretu,
- 12 cm w temperaturze  $21 \pm 1^\circ\text{C}$  dla 5,5- dipodstawnych pochodnych kwasu barbiturowego,
- 12 cm w temperaturze  $21 \pm 1^\circ\text{C}$  dla pochodnych kwasu 5-arylidenobarbiturowego i 1,3-dimetylo-5-arylidenobarbiturowego,



- 12 cm w temperaturze  $21 \pm 1^\circ\text{C}$  dla pochodnych 2-tiohydantoiny.

Po rozwinięciu i wysuszeniu plamy wizualizowano stosując światło ultrafioletowe o długości fali  $\lambda = 254$  nm. Dodatkowo stosowano pary jodu dla pochodnych 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny i światło ultrafioletowe o długości fali  $\lambda = 366$  nm dla pochodnych kwasu 5-arylidenobarbiturowego i 1,3-dimetylo-5-arylidenobarbiturowego, niektóre z plam związków dla tych pochodnych widoczne były w świetle widzialnym.

Wartości parametru  $R_F$  były określane jako średnia z dwóch pomiarów.

Wartość parametru  $R_M$  dla każdego badanego związku obliczono zgodnie z równaniem (9), zaś wartość  $R_{M0}$  wyznaczono poprzez ekstrapolację według równania (12).

Teoretyczne wartości  $\log P$  obliczono przy pomocy programów PALLAS 1.2 [109] i CAChe 6.1 [110]. Programy te opierają się na następujących algorytmach, które są wykorzystywane do obliczeń lipofilowości:

- CAChe – algorytm opracowany przez Ghose’a i współpracowników, opierający się na metodzie fragmentacyjnej; oblicza sumę skorygowanych udziałów atomowych, pochodzących od poszczególnych typów atomów [110-113],
- Pallas – algorytm fragmentacyjny opracowany przez CompuDrug Chemistry Ltd.; oblicza średnią ważoną z wartości  $\log P$  uzyskanych za pomocą dwóch osobnych baz danych, opracowanej przez Rekkera bazy hydrofobowych stałych cząstkowych i opracowanej przez Ghose’a bazy udziałów od poszczególnych typów atomów [109, 114, 115].

Wartości parametru retencji  $\log k_{IAM}$  [116] zostały otrzymane w chromatografii HPLC z wykorzystaniem układu Waters LC Module I Plus HPLC (Waters Corporation, Milford, MA, USA), wyposażonego w detektor UV i komputer PC Digital Venturius 466 z oprogramowaniem do zbierania danych i kontroli procesu oraz kolumny IAM.PC.MG (150 mm długości, 4,6 mm średnicy, średnica porów 300 Å) firmy Regis (Morton Grove, IL, USA). Jako ruchomej fazy używano mieszaniny złożonej z 10% obj. acetonitrylu i 90% obj. 0,1 M buforu  $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{K}_2\text{HPO}_4$  o  $\text{pH} =$

6,8. Szybkość przepływu eluentu wynosiła 1ml/min. Jako markera czasu martwego używano 1% roztworu  $\text{NaNO}_3$ .

Równania regresji liniowej zostały obliczone metodą najmniejszych kwadratów przy pomocy programu STATISTICA 5.1 [117].

Znaczenie podawanych w pracy wartości [117, 118]:

r – współczynnik korelacji,

s – standardowy błąd estymacji,

F – wartość testu F badającego istotność efektu liniowego,

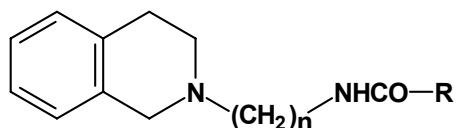
$\alpha$  – poziom istotności, równy 0,05 – wartość przyjęta jako próg do oceny istotności statystycznej, tzn. wynik jest istotny statystycznie, jeśli wartość prawdopodobieństwa p, wynikająca z wartości F i danej liczby stopni swobody (1 i n-2), jest mniejsza niż 0,05,

n – liczba par danych użyta do obliczeń.

## 5. WYNIKI

### 5.1. Badania *N*-alkilowych pochodnych 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny [119]

Badaniom zostały poddane trzy serie *N*-alkilowych pochodnych 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny, różniących się ilością grup metylenowych pomiędzy układem heterocyklicznym i podstawnikiem amidowym, o ogólnym wzorze:



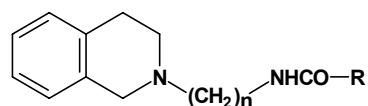
Struktura badanych związków oraz wyznaczone *in vitro* stałe wiązania z receptorami 5-HT<sub>1A</sub> są zebrane w Tabeli 2.






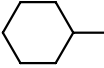
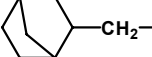
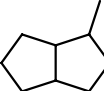
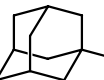
Obliczone wartości  $R_M$  dla różnych stężeń metanolu w mieszaninie rozwijającej są zebrane w Tabeli 3. Opierając się na liniowej zależności  $R_M$  od stężenia metanolu w fazie ruchomej dla wszystkich badanych związków (Rys. 1), wyznaczono wartości parametru  $R_{M0}$  (Tabela 4) poprzez ekstrapolację do zerowej zawartości metanolu w fazie ruchomej. Następnie wartości te były korelowane z logarytmami współczynnika podziału obliczonymi teoretycznie (Tabela 4 –  $\log P_{\text{Pallas}}$ ,  $\log P_{\text{CACHe}}$ ) oraz z powinowactwem badanych związków do serotoninowych receptorów 5-HT<sub>1A</sub>, oszacowanym na podstawie ich zdolności do wypierania miareczkowanej 8-hydroksy-2-(di-*n*-propyloamino)tetraliny ([3H]-8-OH-DPAT) [55] i wyrażonym poprzez ujemny logarytm ze stałych wiązania  $K_i$ . Wartości  $pK_i$  porównano również z logarytmami współczynnika podziału obliczonymi teoretycznie.

Korelacje zostały obliczone dla wszystkich związków oraz osobno dla każdej serii związków (A, B, C). W niektórych przypadkach odrzucono pojedyncze punkty wykazujące największe odstępstwa od liniowości. Parametry równań korelacyjnych są przedstawione w Tabeli 5. Na Rysunku 2 przedstawiono przykładowe zależności dla

związków serii B:  $\log P_{\text{Pallas}} = f(R_{M0})$ ,  $pK_i = f(R_{M0})$ ,  $pK_i = f(\log P_{\text{Pallas}})$ .

**Tabela 2.** Struktura badanych pochodnych 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny oraz wartości stałych wiązania  $K_i$  z receptorami 5-HT<sub>1A</sub>; wzór ogólny badanych pochodnych:



R	n = 2 (seria A)		n = 3 (seria B)		n = 4 (seria C)	
	nr związku	$K_i$ 5-HT <sub>1A</sub> ± SEM (nM)	nr związku	$K_i$ 5-HT <sub>1A</sub> ± SEM (nM)	nr związku	$K_i$ 5-HT <sub>1A</sub> ± SEM (nM)
<b>H<sub>3</sub>C-</b>	<b>1</b>	4414 ± 114	<b>11</b>	11225 ± 775	<b>21</b>	5720 ± 410
	<b>2</b>	4365 ± 105	<b>12</b>	1850 ± 50	<b>22</b>	899 ± 63
	<b>3</b>	2498 ± 85	<b>13</b>	1268 ± 52		
	<b>4</b>	1800 ± 74	<b>14</b>	874 ± 47	<b>23</b>	173 ± 14
	<b>5</b>	2047 ± 52	<b>15</b>	868 ± 38	<b>24</b>	923 ± 30
	<b>6</b>	447 ± 16	<b>16</b>	585 ± 41	<b>25</b>	92 ± 9
	<b>7</b>	40 ± 1,4	<b>17</b>	36 ± 2,5	<b>26</b>	25,5 ± 1,5
	<b>8</b>	81 ± 3	<b>18</b>	89 ± 5	<b>27</b>	77 ± 11
	<b>9</b>	54 ± 4	<b>19</b>	64 ± 15	<b>28</b>	2,4 ± 0,05
	<b>10</b>	14,6 ± 0,2	<b>20</b>	68 ± 1	<b>29</b>	0,95 ± 0,04

**Tabela 3.** Wartości parametru  $R_M$  badanych pochodnych 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny (1-29) dla fazy ruchomej metanol:woda.

% obj. metanolu	$R_M$									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
100		-0,084		-0,133			-0,117			
95		-0,078	-0,114	-0,068	-0,126	-0,063	0,009	0,017	0,035	0,146
90	-0,033	0,169	0,012	0,091	0,138	0,117	0,165	0,196	0,315	0,468
85	0,231	0,226	0,224	0,226	0,233	0,290	0,368	0,443	0,395	0,560
80	0,304	0,317	0,319	0,479	0,425	0,525	0,530	0,717	0,562	0,822
75	0,450	0,432	0,570	0,616	0,616	0,667	0,785	0,959	0,931	1,073
70	0,753	0,479	0,737	0,818	0,803	0,917	1,016	1,227	1,110	1,252
65	0,895	0,853	0,899	1,016	1,010	1,117	1,235	-	1,428	1,495
60	1,067	1,110	1,079	1,195	1,288	1,297		-		

c.d. **Tabeli 3**

% obj. metanolu	$R_M$									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
100			0,038				0,016	-0,078	-0,056	0,131
95	0,189		0,149	0,137	0,198	0,265	0,140	0,252	0,335	0,286
90	0,257	0,187	0,222	0,254	0,389	0,425	0,333	0,552	0,562	0,454
85	0,385	0,402	0,399	0,508	0,470	0,540	0,491	0,641	0,659	0,737
80	0,562	0,583	0,562	0,591	0,695	0,695	0,753	0,841	0,886	0,989
75	0,740	0,743	0,767	0,882	0,886	0,737	0,845	1,144	1,079	1,203
70	0,874	0,959	1,010	1,043	1,073	1,130	1,203	1,172	1,307	1,440
65	0,994	1,085	1,085	1,211	1,235			1,591	1,591	
60	1,172		1,307					1,669	1,762	

c.d. Tabeli 3

% obj. metanolu	R <sub>M</sub>								
	21	22	23	24	25	26	27	28	29
100				-0,030		-0,064			-0,185
95	-0,493	0,154	0,010	0,180	-0,037	0,115	-0,049	0,380	-0,037
90	0,000	0,229	0,216	0,269	0,277	0,263	0,358	0,565	0,167
85	0,084	0,459	0,442	0,496	0,452	0,532	0,659	0,704	0,406
80	0,493	0,659	0,626	0,664	0,676	0,673	0,917	0,895	0,496
75	0,630	0,810	0,661	0,945	0,895	1,032	1,117	1,172	0,757
70	0,818	1,061	0,945	1,079	1,158	1,123	1,440	1,347	1,016
65	0,940	1,151	1,187	1,235	1,307	1,337		1,541	1,713
60	1,327		1,440					1,737	1,848

**Tabela 4.** Wartości  $R_{M0}$ , parametry regresji liniowej ( $R_M = R_{M0} + bC$ ) i logarytmy teoretycznie obliczonych współczynników podziału ( $\log P_{Pallas}$ ,  $\log P_{CAChe}$ ) badanych pochodnych 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny.

nr związku	$R_{M0}$	b	r	s	F	n	$\log P_{Pallas}$	$\log P_{CAChe}$
1	3,244	-0,036	0,992	0,054	321	7	0,487	0,951
2	2,619	-0,028	0,963	0,114	90	9	1,224	1,638
3	3,155	-0,035	0,998	0,030	1364	8	1,660	2,142
4	3,247	-0,035	0,995	0,049	743	9	1,723	2,034
5	3,530	-0,038	0,996	0,047	708	8	2,041	2,807
6	3,661	-0,039	0,999	0,023	3148	8	2,297	2,430
7	3,744	-0,039	0,995	0,051	635	8	2,796	2,827
8	4,654	-0,049	0,998	0,029	1245	6	2,948	2,752
9	4,285	-0,045	0,989	0,080	222	7	3,121	2,984
10	4,333	-0,044	0,996	0,045	667	7	3,372	3,475
11	2,900	-0,029	0,996	0,033	833	8	0,842	1,003
12	3,459	-0,036	0,999	0,024	971	6	1,579	1,690
13	3,236	-0,033	0,993	0,057	489	9	2,016	2,194
14	3,617	-0,037	0,995	0,044	492	7	2,079	2,086
15	3,504	-0,035	0,997	0,033	771	7	2,396	2,859
16	3,185	-0,031	0,966	0,086	56	6	2,653	2,482
17	3,813	-0,039	0,991	0,063	261	7	3,152	2,879
18	4,264	-0,043	0,991	0,085	373	9	3,303	2,804
19	4,356	-0,043	0,995	0,064	680	9	3,477	3,036
20	4,571	-0,045	0,997	0,042	790	7	3,727	3,527
21	4,125	-0,047	0,985	0,109	197	8	1,352	1,455
22	3,507	-0,036	0,994	0,045	437	7	2,089	2,141
23	3,719	-0,039	0,992	0,065	380	8	2,588	2,537
24	3,658	-0,037	0,996	0,042	805	8	2,906	3,310
25	4,239	-0,045	0,997	0,037	1007	7	3,162	2,934
26	4,024	-0,041	0,995	0,053	631	8	3,661	3,330
27	5,445	-0,057	0,995	0,062	365	6	3,813	3,255
28	4,103	-0,039	0,998	0,032	1560	8	3,987	3,487
29	4,802	-0,051	0,974	0,175	129	9	4,237	3,979



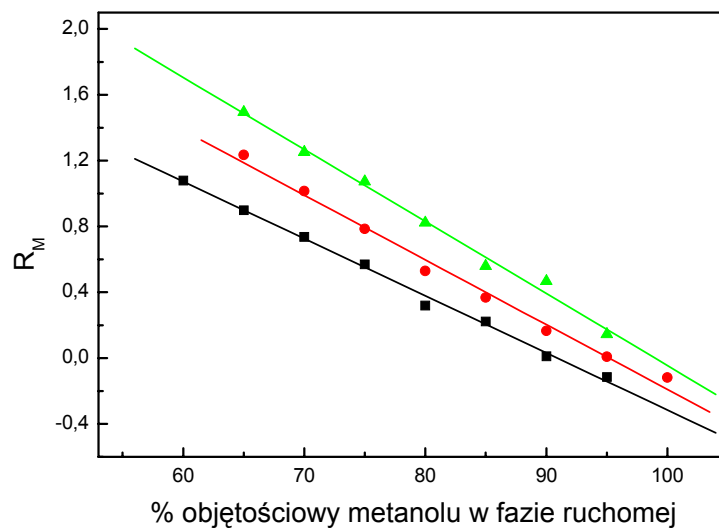
**Tabela 5.** Parametry liniowej korelacji ( $Y = A + BX$ )  $R_{M0}$  z logarytmami teoretycznie obliczonych wartości współczynników podziału ( $\log P_{Pallas}$ ,  $\log P_{CAChe}$ ) i stałą wiązania  $K_i$  z receptorami 5-HT<sub>1A</sub>.

seria związków	Y	X	A	B	r	s	F	n	nr równania
<b>A – C</b>	$\log P_{Pallas}$	$R_{M0}$	-2,131 ( $\pm 0,717$ )	1,230 ( $\pm 0,185$ )	0,788	0,610	44	29	13
<b>A - C (bez 1, 11, 21)</b>			-1,570 ( $\pm 0,562$ )	1,120 ( $\pm 0,143$ )	0,847	0,442	61	26	13a
<b>A – C</b>	$\log P_{CAChe}$		-0,664 ( $\pm 0,649$ )	0,849 ( $\pm 0,167$ )	0,698	0,552	26	29	14
<b>A - C (bez 1, 11, 21)</b>			-0,070 ( $\pm 0,507$ )	0,729 ( $\pm 0,129$ )	0,755	0,399	32	26	14a
<b>A</b>	$\log P_{Pallas}$		-2,343 ( $\pm 1,021$ )	1,237 ( $\pm 0,276$ )	0,845	0,519	20	10	15
<b>A (bez 1)</b>			-1,630 ( $\pm 0,559$ )	1,079 ( $\pm 0,149$ )	0,939	0,274	52	9	15a
<b>A</b>	$\log P_{CAChe}$		-0,793 ( $\pm 1,015$ )	0,876 ( $\pm 0,275$ )	0,748	0,516	10	10	16
<b>A (bez 1)</b>			-0,128 ( $\pm 0,654$ )	0,730 ( $\pm 0,175$ )	0,845	0,320	17	9	16a
<b>B</b>	$\log P_{Pallas}$		-2,843 ( $\pm 1,059$ )	1,454 ( $\pm 0,284$ )	0,875	0,470	26	10	17
<b>B (bez 16)</b>			-3,680 ( $\pm 0,836$ )	1,652 ( $\pm 0,221$ )	0,943	0,347	56	9	17a
<b>B</b>	$\log P_{CAChe}$		-1,532 ( $\pm 1,021$ )	1,081 ( $\pm 0,274$ )	0,813	0,454	16	10	18
<b>B (bez 16)</b>			-2,086 ( $\pm 1,016$ )	1,211 ( $\pm 0,268$ )	0,863	0,421	20	9	18a
<b>C</b>	$\log P_{Pallas}$		-0,540 ( $\pm 2,083$ )	0,868 ( $\pm 0,494$ )	0,554	0,849	3*	9	19
<b>C (bez 21)</b>			-0,181 ( $\pm 1,362$ )	0,833 ( $\pm 0,322$ )	0,726	0,554	7	8	19a
<b>C</b>	$\log P_{CAChe}$		0,744 ( $\pm 1,844$ )	0,525 ( $\pm 0,437$ )	0,413	0,752	1*	9	20
<b>C (bez 21)</b>			1,053 ( $\pm 1,263$ )	0,494 ( $\pm 0,298$ )	0,560	0,513	3*	8	20a

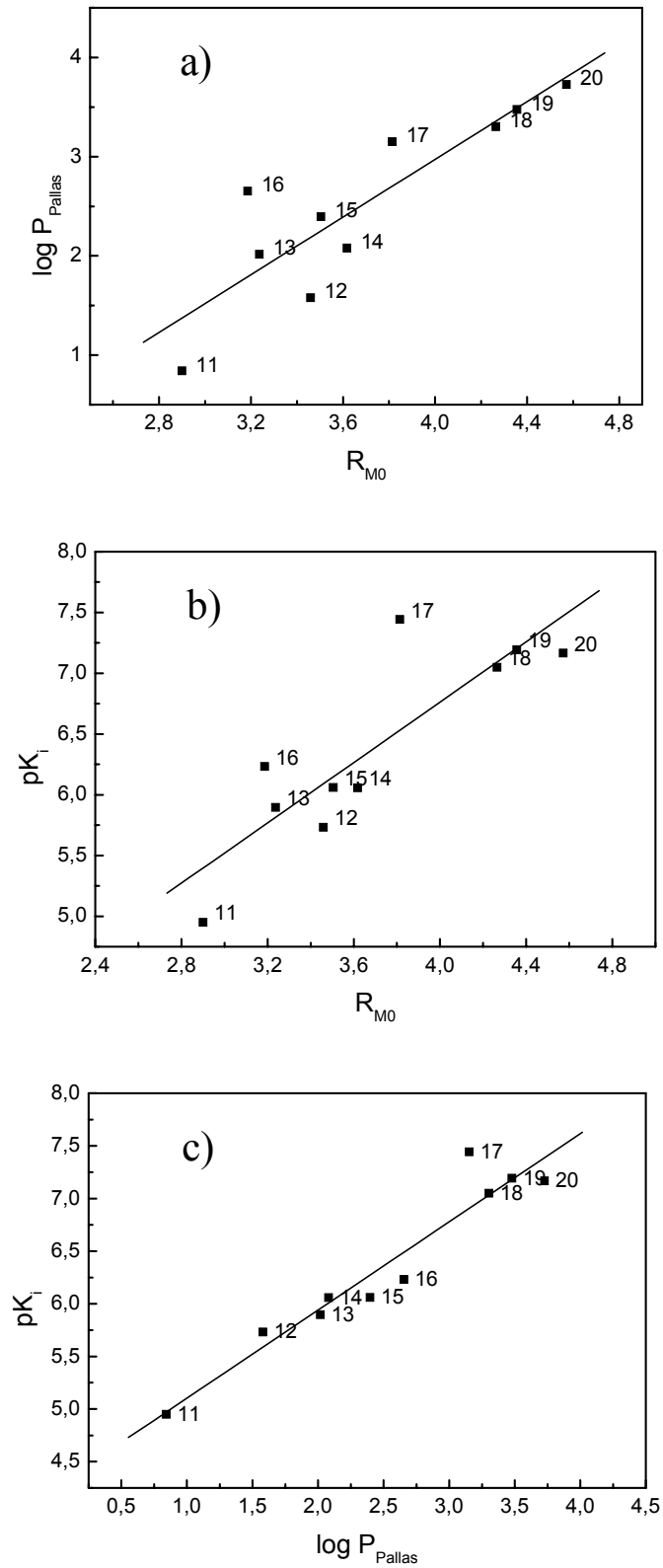
c.d. Tabeli 5

<b>A – C</b>	pK <sub>i</sub>		2,130 (±0,846)	1,164 (±0,218)	0,716	0,719	28	29	21	
<b>A</b>			1,671 (±1,018)	1,288 (±0,276)	0,856	0,518	22	10	22	
<b>A (bez 7)</b>			1,671 (±0,827)	1,261 (±0,224)	0,905	0,421	32	9	22a	
<b>B</b>			1,795 (±0,993)	1,242 (±0,266)	0,855	0,441	22	10	23	
<b>B (bez 17)</b>			1,861 (±0,672)	1,197 (±0,181)	0,928	0,297	44	9	23a	
<b>C</b>			3,471 (±2,910)	0,857 (±0,690)	0,425	1,187	1*	9	24	
<b>A – C</b>			log P <sub>Pallas</sub>	4,132 (±0,222)	0,952 (±0,081)	0,915	0,416	139	29	25
<b>A</b>				4,297 (±0,314)	0,957 (±0,134)	0,929	0,370	51	10	26
<b>B</b>				4,265 (±0,236)	0,838 (±0,089)	0,958	0,244	89	10	27
<b>C</b>				3,447 (±0,655)	1,167 (±0,204)	0,908	0,550	33	9	28
<b>A – C</b>			log P <sub>CAChe</sub>	3,630 (±0,359)	1,142 (±0,133)	0,855	0,535	73	29	29
<b>A</b>				3,802 (±0,633)	1,068 (±0,253)	0,831	0,557	18	10	30
<b>B</b>	4,006 (±0,460)	0,966 (±0,180)		0,884	0,397	29	10	31		
<b>C</b>	3,136 (±0,986)	1,334 (±0,326)		0,840	0,712	17	9	32		

\* korelacja, która nie jest istotna statystycznie przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  (wartość  $p \geq 0,05$ )



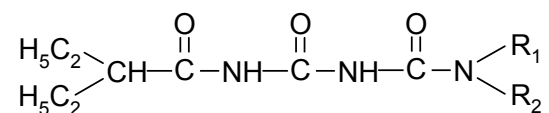
**Rys. 1.** Zależność pomiędzy wartością  $R_M$  i zawartością metanolu w fazie ruchomej dla: ■ - związku nr 3, ● - związku nr 7, ▲ - związku nr 10.



**Rys. 2.** Przykłady korelacji dla pochodnych 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny serii B: a)  $\log P_{\text{Pallas}} = f(R_{M0})$  (Tabela 5, równanie 17); b)  $pK_i = f(R_{M0})$  (Tabela 5, równanie 23); c)  $pK_i = f(\log P_{\text{Pallas}})$  (Tabela 5, równanie 27).

## 5.2. Badania *N*-(2-etylobutyrylo)-*N'*-podstawnych pochodnych biuretu

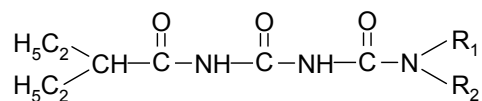
Badana była seria *N*-(2-etylobutyrylo)-*N'*-podstawnych pochodnych biuretu o ogólnym wzorze:

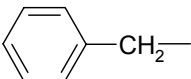
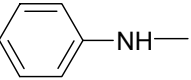
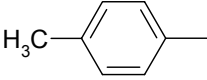
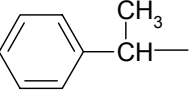
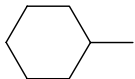


dla których struktury podane są w Tabeli 6.

Wartości parametru  $R_M$  zebrane zostały w Tabeli 7. Opierając się na liniowej zależności  $R_M$  od stężenia metanolu w fazie ruchomej dla wszystkich badanych związków (Rys. 3), wyznaczono wartości parametru  $R_{M0}$  (Tabela 8) poprzez ekstrapolację do zerowej zawartości metanolu w fazie ruchomej. Wartości te były następnie korelowane z logarytmami współczynnika podziału obliczonymi teoretycznie (Tabela 9 –  $\log P_{\text{Pallas}}$ ,  $\log P_{\text{CACHe}}$ , Rys. 4). Wyniki zostały przedstawione w Tabeli 10. Wartości parametrów lipofilowości  $R_{M0}$ ,  $\log P_{\text{Pallas}}$  i  $\log P_{\text{CACHe}}$  skorelowano również z indeksem wiązalności molekularnej  $^1\chi^v$  i parametrem objętości cząsteczki  $V_w$  (dane wzięte z pracy [54], zebrane w Tabeli 9). W niektórych przypadkach odrzucono pojedyncze punkty wykazujące największe odstępstwa od liniowości. Wyniki przedstawiono w Tabeli 10.

**Tabela 6.** Struktura badanych pochodnych biuretu; wzór ogólny badanych pochodnych:



nr związku	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
1		H—
2		H—
3	HOOC—(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> —	H—
4		H—
5		H—
6	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> —	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> —
7	H <sub>3</sub> C—(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> —	H—
8		H—
9	H <sub>3</sub> C—	H—
10	—CH <sub>2</sub> —CH <sub>2</sub> —CH <sub>2</sub> —CH <sub>2</sub> —CH <sub>2</sub> —	

**Tabela 7.** Wartości  $R_M$  badanych pochodnych biuretu (1-10) dla fazy ruchomej metanol:woda.

% obj. metanolu	wartość $R_M$									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
90	-0,230	-0,430	-0,456	-0,051	-0,169	-0,306	-0,218	-0,084	-0,406	-0,220
85	-0,003	-0,187	-0,380	0,202	0,091	-0,105	-0,009	0,165	-0,248	-0,047
80	0,118	-0,094	-0,286	0,406	0,277	0,009	0,178	0,356	-0,154	0,075
75	0,347	0,103	-0,121	0,650	0,498	0,182	0,380	0,594	0,003	0,286
70	0,532	0,250	-0,073	0,799	0,689	0,284	0,532	0,778	0,049	0,404
65	0,799	0,496	-0,030	1,172	1,016	0,516	0,841	1,079	0,273	0,664
60	1,144	0,737	0,200	1,453	1,227	0,671	1,079	1,392	0,419	0,849
55	1,428	0,989	0,333	1,557	1,574	0,849	1,337	1,557	0,547	1,038
50		1,235	0,517	1,737		1,038	1,541		0,704	

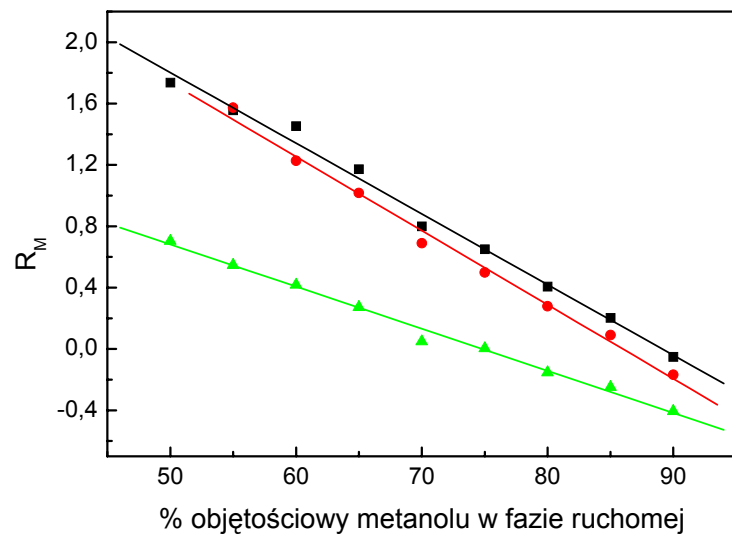
**Tabela 8.** Parametry liniowej korelacji pomiędzy wartościami  $R_M$  badanych pochodnych biuretu i zawartością metanolu w fazie ruchomej.

nr związku	$R_{M0}$	b	r	s	F	n
1	3,895	-0,047	0,991	0,082	343	8
2	3,201	-0,041	0,994	0,064	601	9
3	1,622	-0,024	0,986	0,059	238	9
4	4,108	-0,046	0,996	0,063	804	9
5	4,153	-0,048	0,996	0,054	845	8
6	2,658	-0,033	0,998	0,032	1640	9
7	3,741	-0,044	0,997	0,046	1372	9
8	4,178	-0,048	0,998	0,044	1243	8
9	2,055	-0,028	0,996	0,036	887	9
10	3,000	-0,036	0,997	0,037	985	8

**Tabela 9.** Wartości logarytmów teoretycznie obliczonych współczynników podziału –  $\log P_{Pallas}$ ,  $\log P_{CACHe}$  oraz indeksu wiązalności molekularnej  $^1\chi^v$  i parametru objętości cząsteczki  $V_w$ .

nr związku	$\log P_{Pallas}$	$\log P_{CACHe}$	$^1\chi^v$	$V_w$ [ $\text{nm}^3 \times 10^{-5}$ ]
1	2,603	2,427	6,9994	2,698
2	2,639	2,007	6,7922	2,698
3	0,862	0,626	6,5165	3,377
4	3,362	2,800	6,9530	2,698
5	3,137	2,841	7,4469	2,740
6	2,159	1,582	6,4018	2,387
7	2,475	1,858	6,4423	2,442
8	3,052	2,236	7,4867	3,336
9	0,994	0,651	4,8816	1,988
10	2,254	1,619	6,9876	2,500



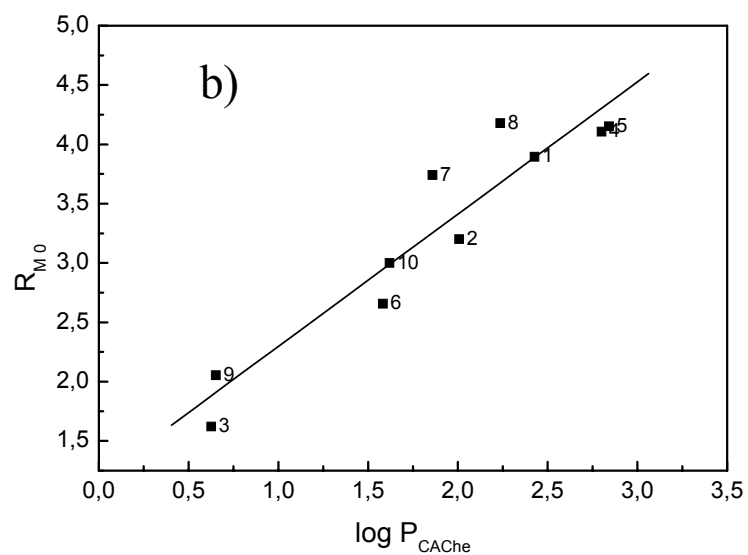
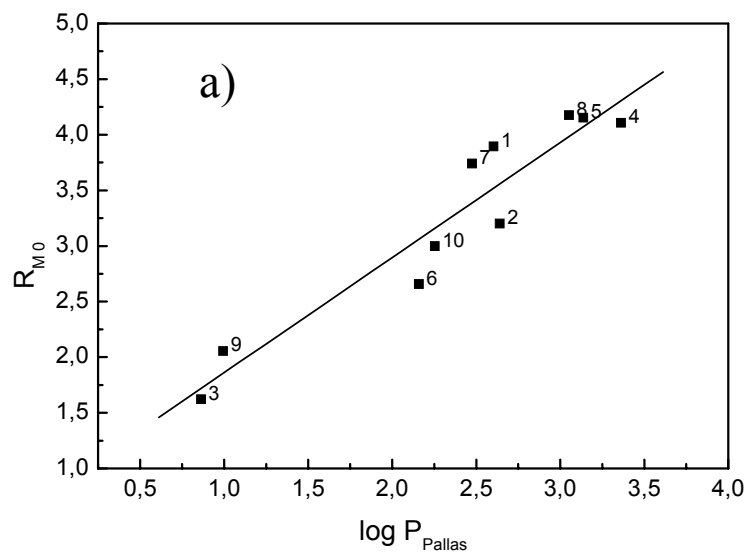


**Rys. 3.** Zależność pomiędzy wartością  $R_M$  i zawartością metanolu w fazie ruchomej dla: ■ - związku nr 4, ● - związku nr 5, ▲ - związku nr 9.

**Tabela 10.** Porównanie korelacji ( $Y=A+BX$ ) pomiędzy parametrami lipofilowości  $R_{M0}$ ,  $\log P_{Pallas}$ ,  $\log P_{CAChe}$ , indeksem wiązalności molekularnej  ${}^1\chi^v$  i parametrem objętości cząsteczki  $V_w$ .

Y	X	A	B	r	s	F	n	poprawki	nr równania
$R_{M0}$	$\log P_{Pallas}$	0,826 ( $\pm 0,293$ )	1,035 ( $\pm 0,118$ )	0,952	0,298	77	10		33
	$\log P_{CAChe}$	1,182 ( $\pm 0,269$ )	1,115 ( $\pm 0,134$ )	0,947	0,314	69	10		34
$R_{M0}$	${}^1\chi^v$	-2,538 ( $\pm 2,110$ )	0,867 ( $\pm 0,314$ )	0,699	0,695	8	10	bez 3, r = 0,834; F = 16, n = 9	35
$\log P_{Pallas}$		-3,409 ( $\pm 1,779$ )	0,861 ( $\pm 0,264$ )	0,755	0,586	11	10	bez 3, r = 0,901; F = 30, n = 9	36
$\log P_{CAChe}$		-3,428 ( $\pm 1,653$ )	0,791 ( $\pm 0,246$ )	0,751	0,545	10	10	bez 3, r = 0,853; F = 19, n = 9	37
$R_{M0}$	$V_w$	2,681 ( $\pm 2,247$ )	0,215 ( $\pm 0,824$ )	0,092	0,968	0,07*	10	bez 3, r = 0,763; F = 10, n = 9	38
$\log P_{Pallas}$		1,824 ( $\pm 2,067$ )	0,196 ( $\pm 0,758$ )	0,091	0,891	0,07*	10	bez 3, r = 0,750; F = 9, n = 9	39
$\log P_{CAChe}$		1,375 ( $\pm 1,908$ )	0,181 ( $\pm 0,700$ )	0,091	0,822	0,07*	10	bez 3, r = 0,652; F = 5*, n = 9	40

\* korelacja, która nie jest istotna statystycznie przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  (wartość  $p \geq 0,05$ )

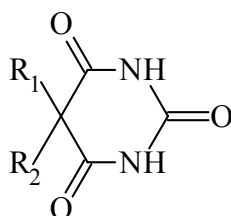


**Rys. 4.** Korelacje dla badanych pochodnych biuretu: a)  $R_{M0} = f(\log P_{Pallas})$  (Tabela 10, równanie 33), b)  $R_{M0} = f(\log P_{CAChe})$  (Tabela 10, równanie 34).

### 5.3. Pochodne kwasu barbiturowego

#### 5.3.1 Badania 5,5-dipodstawnych pochodnych kwasu barbiturowego [120]

Badana była seria pochodnych kwasu barbiturowego o ogólnym wzorze:



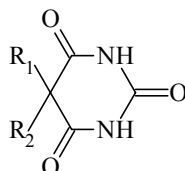
dla których struktury podane są w Tabeli 11.

Pochodne 5,5-dipodstawne są słabymi kwasami. Dlatego do badań zastosowano dwie fazy ruchome – metanol:woda (mw) oraz metanol:bufor boranowy Batesa-Bowera o pH = 8,35 (mb), aby stwierdzić ewentualne różnice w tak otrzymanych wartościach  $R_{M0}$  i porównać je ze sobą. Wartości parametru  $R_M$  dla układu metanol:woda zebrane zostały w Tabeli 12, zaś dla układu metanol:bufor boranowy o pH = 8,35 w Tabeli 13. W Tabeli 14 zestawiono parametry liniowej korelacji pomiędzy wartościami  $R_M$  badanych barbituranów i zawartością metanolu w fazie ruchomej. Na Rysunku 5 przedstawiono dla przykładowych związków zależność wartości  $R_M$  w funkcji stężenia metanolu. Otrzymane wartości  $R_{M0}$  dla obu stosowanych układów rozwijających porównano ze sobą, wynik został przedstawiony w Tabeli 16. Wyznaczone wartości parametru  $R_{M0}$  były następnie korelowane z wartościami parametrów lipofilowości uzyskanymi innymi metodami (Tabela 15), tj. logarytmami współczynnika podziału obliczonymi teoretycznie  $\log P_{Pallas}$ ,  $\log P_{CACHe}$  i znalezionymi w literaturze  $\log P_1$  [121, 122] oraz wartościami parametru retencji  $\log k_{IAM}$  [116]. Wyniki tych korelacji oraz korelacji pomiędzy  $\log k_{IAM}$ ,  $\log P_{Pallas}$ ,  $\log P_{CACHe}$  i  $\log P_1$  przedstawiono w Tabeli 16.

W Tabeli 17 zestawiono równania korelacyjne otrzymane przy porównaniu parametrów lipofilowości  $R_{M0}$  (otrzymanych dla obu stosowanych układów rozwijających),  $\log k_{IAM}$ ,  $\log P_{Pallas}$ ,  $\log P_{CACHe}$  i  $\log P_1$  z wybranymi biologicznymi

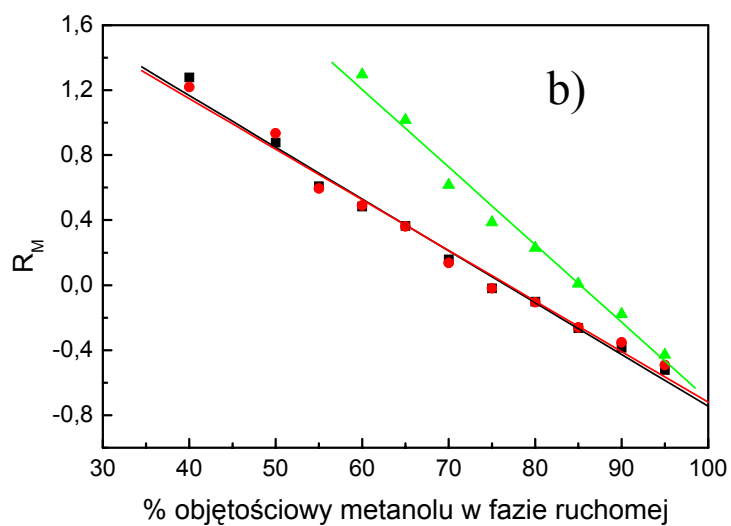
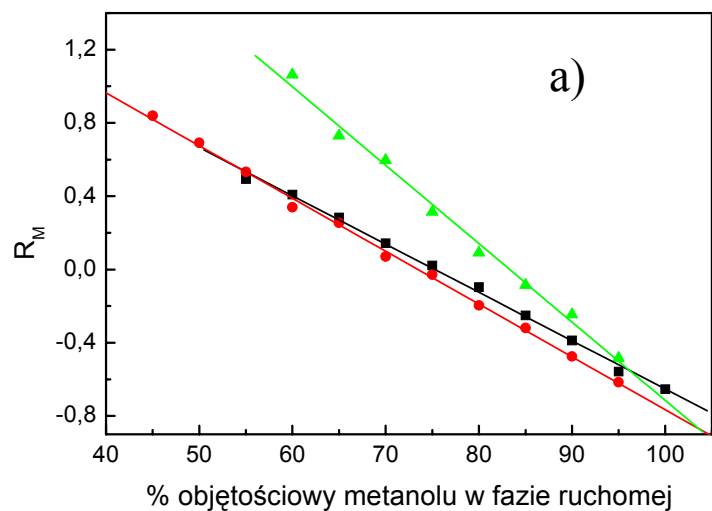
właściwościami badanych barbituranów (dane dotyczące biologicznych właściwości – Tabela 20, numeracja związków – Tabela 11 i 18).

**Tabela 11.** Struktury 5,5-dipodstawnych pochodnych kwasu barbiturowego; wzór ogólny badanych pochodnych:



nr związku	podstawniki (R <sub>1</sub> , R <sub>2</sub> ) w pozycji 5 pierścienia kwasu barbiturowego	nazwa leku*
1	5,5-dietylo-	Barbital
2	5-etylo-5-(1-metylobutylo)-	Pentobarbital
3	5-etylo-5- <i>n</i> -pentylo-	
4	5-etylo-5- <i>n</i> -oktylo-	
5	5-etylo-5- <i>sec</i> -butylo-	Butabarbital
6	5-etylo-5-izopentylo-	Amobarbital
7	5-etylo-5-(4,4-dimetyloheksylo)-	
8	5-etylo-5-(3-metylocykloheksylo)-	
9	5-etylo-5-fenylo-	Fenobarbital
10	5-allilo-5-izopropylo-	Aprobarbital
11	5-allilo-5-izobutylo-	Butalbital
12	5-allilo-5- <i>sec</i> -butylo-	Talbutal
13	5-allilo-5-(2-cyklopentenilo)-	Cyklopal

\* międzynarodowe nazwy leków wg Międzynarodowej Organizacji Zdrowia



**Rys. 5.** Zależność pomiędzy wartościami  $R_M$  i zawartością metanolu w fazie ruchomej dla: ■ - związku nr 3, ● - związku nr 6, ▲ - związku nr 7, w układzie rozwijającym: a) metanol:woda, b) metanol:bufor boranowy o pH = 8,35.

**Tabela 12.** Wartości  $R_M$  5,5-dipodstawnych pochodnych kwasu barbiturowego (1-13) dla fazy ruchomej metanol:woda.

% obj. metanolu	wartość $R_M$												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
100	-0,805	-0,613	-0,654		-0,781				-0,949	-0,892	-0,763	-0,720	-0,723
95	-0,688	-0,542	-0,558	-0,401	-0,675	-0,616	-0,484	-0,516	-0,767	-0,722	-0,657	-0,635	-0,596
90	-0,667	-0,325	-0,388	-0,124	-0,459	-0,476	-0,246	-0,314	-0,610	-0,602	-0,464	-0,431	-0,399
85	-0,609	-0,220	-0,251	0,040	-0,359	-0,319	-0,085	-0,177	-0,498	-0,436	-0,352	-0,310	-0,282
80	-0,523	-0,094	-0,096	0,232	-0,316	-0,197	0,091	-0,061	-0,339	-0,335	-0,246	-0,191	-0,150
75	-0,485	-0,035	0,022	0,446	-0,112	-0,028	0,314	0,084	-0,299	-0,299	-0,145	-0,095	-0,083
70	-0,294	0,117	0,143	0,589	-0,039	0,070	0,597	0,236	-0,162	-0,154	-0,042	0,022	0,014
65	-0,194	0,233	0,284	0,882	0,076	0,254	0,730	0,397	-0,085	-0,083	0,072	0,140	0,149
60	-0,082	0,394	0,409	1,070	0,157	0,339	1,063	0,594	0,009	0,000	0,163	0,223	0,240
55	-0,079	0,459	0,493		0,355	0,533		0,792	0,198	0,208	0,366	0,413	0,405
50	0,055	0,704			0,460	0,692		0,979	0,406	0,348	0,514	0,504	0,547
45	0,147	0,855			0,570	0,839			0,462	0,457	0,655	0,649	0,692
40											0,833		

**Tabela 13.** Wartości  $R_M$  5,5-dipodstawnych pochodnych kwasu barbiturowego (1-13) dla fazy ruchomej metanol:bufor boranowy o  $pH = 8,35$ .

% obj. metanolu	wartość $R_M$												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
100					-0,602								
95	-0,796	-0,562	-0,522	-0,368	-0,477	-0,491	-0,428	-0,410	-0,679	-0,638	-0,522	-0,515	-0,583
90	-0,581	-0,378	-0,385	-0,131	-0,358	-0,352	-0,178	-0,261	-0,581	-0,530	-0,395	-0,432	-0,454
85	-0,552	-0,277	-0,263	0,057	-0,290	-0,261	0,009	-0,117	-0,419	-0,391	-0,308	-0,317	-0,362
80	-0,475	-0,211	-0,101	0,246	-0,180	-0,106	0,229	0,021	-0,321	-0,302	-0,269	-0,189	-0,226
75	-0,406	-0,061	-0,019	0,391	-0,073	-0,019	0,387	0,138	-0,242	-0,218	-0,135	-0,098	-0,085
70	-0,317	0,085	0,158	0,641	0,056	0,137	0,616	0,347	-0,096	-0,092	0,009	0,019	-0,024
65	-0,154	0,323	0,364	0,940	0,226	0,362	1,016	0,552	0,080	0,068	0,216	0,192	0,183
60	-0,130	0,425	0,484	1,180	0,364	0,491	1,297	0,704	0,174	0,165	0,329	0,315	0,286
55	0,075	0,613	0,608		0,374	0,594		0,837	0,257	0,235	0,452	0,484	0,448
50	0,091	0,861	0,878		0,608	0,935		1,097	0,461	0,421	0,644	0,633	0,621
45	0,229								0,575	0,530	0,796	0,803	0,750
40	0,408		1,279			1,219		1,440	0,799	0,764	1,038	1,016	1,010



**Tabela 14.** Parametry liniowej korelacji pomiędzy wartościami  $R_M$  badanych pochodnych kwasu barbiturowego i zawartością metanolu w fazie ruchomej.

nr związku	faza ruchoma metanol:woda						faza ruchoma metanol:bufor boranowy o pH = 8,35					
	$R_{M0}$	b	r	s	F	n	$R_{M0}$	b	r	s	F	n
1	0,920	-0,018	0,991	0,075	540	12	1,141	-0,020	0,991	0,051	561	12
2	1,957	-0,026	0,996	0,046	1122	12	2,279	-0,030	0,992	0,063	476	10
3	1,984	-0,026	0,998	0,024	2555	10	2,443	-0,032	0,994	0,063	774	11
4	3,514	-0,041	0,998	0,035	1411	8	3,707	-0,043	0,996	0,052	713	8
5	1,661	-0,024	0,997	0,037	1526	12	1,725	-0,023	0,995	0,041	912	11
6	2,118	-0,029	0,999	0,022	4600	11	2,394	-0,031	0,993	0,070	598	11
7	3,566	-0,043	0,996	0,049	812	8	4,063	-0,048	0,992	0,080	376	8
8	2,537	-0,032	0,997	0,040	1364	10	2,738	-0,034	0,997	0,044	1747	11
9	1,564	-0,024	0,994	0,049	910	12	1,754	-0,026	0,996	0,043	1320	12
10	1,476	-0,023	0,995	0,045	942	12	1,636	-0,024	0,995	0,044	1096	12
11	1,783	-0,026	0,996	0,045	1490	13	2,031	-0,028	0,991	0,071	548	12
12	1,739	-0,024	0,998	0,029	2551	12	2,018	-0,028	0,994	0,055	897	12
13	1,764	-0,024	0,997	0,036	1618	12	2,015	-0,028	0,995	0,054	965	12

**Tabela 15.** Wartości parametru retencji  $\log k_{IAM}$ , i logarytmów współczynników podziału  $\log P_{Pallas}$ ,  $\log P_{CACHe}$  i  $\log P_1$ .

nr związku	$\log P_{Pallas}$	$\log P_{CACHe}$	$\log k_{IAM}$	$\log P_1^*$
1	0,268	0,740	-0,363	0,65
2	1,583	1,863	0,712	1,95
3	1,797	1,929	0,796	2,15
4	3,326	3,118		
5	1,073	1,467	0,348	1,45
6	1,583	1,863	0,675	1,95
7	2,921	3,089		
8	1,918	2,086		
9	0,905	1,561	0,336	1,42
10	0,720	1,251	0,162	1,15
11	1,230	1,648	0,403	1,65
12	1,230	1,648	0,521	1,65
13	0,877	1,280	0,477	0,99

\* wartość współczynnika podziału P dla kwasu 5,5-dietylobarbiturowego i 5-etylo-5-fenylobarbiturowego była wyznaczona eksperymentalnie w układzie *n*-oktanol:woda, dla pozostałych związków wartość ta została obliczona w oparciu o stałe podstawnikowe  $\pi$  i wartość  $\log P$  wyznaczoną eksperymentalnie w układzie *n*-oktanol:woda dla kwasu barbiturowego [121, 122]

**Tabela 16.** Porównanie korelacji ( $Y=A+BX$ ) pomiędzy parametrami lipofilowości uzyskanymi różnymi metodami dla badanych pochodnych kwasu barbiturowego.

nr związku	Y	X	A	B	r	s	F	n	nr równania
1-13	$R_{M0(mw)}$	$R_{M0(mb)}$	-0,088 ( $\pm$ 0,090)	0,926 ( $\pm$ 0,037)	0,991	0,104	627	13	41
1-13	$R_{M0(mw)}$	$\log P_{Pallas}$	0,751 ( $\pm$ 0,099)	0,865 ( $\pm$ 0,058)	0,976	0,173	221	13	42
		$\log P_{CAChe}$	0,034 ( $\pm$ 0,129)	1,110 ( $\pm$ 0,067)	0,980	0,157	272	13	43
1-3, 5-6, 9-13		$\log P_1$	0,768 ( $\pm$ 0,197)	0,618 ( $\pm$ 0,126)	0,866	0,178	24	10	44
		$\log k_{IAM}$	1,297 ( $\pm$ 0,042)	0,981 ( $\pm$ 0,082)	0,973	0,082	143	10	45
1-13	$R_{M0(mb)}$	$\log P_{Pallas}$	0,923 ( $\pm$ 0,114)	0,923 ( $\pm$ 0,067)	0,972	0,198	191	13	46
		$\log P_{CAChe}$	0,155 ( $\pm$ 0,145)	1,186 ( $\pm$ 0,075)	0,979	0,175	249	13	47
1-3, 5-6, 9-13		$\log P_1$	0,824 ( $\pm$ 0,215)	0,746 ( $\pm$ 0,137)	0,887	0,194	29	10	48
		$\log k_{IAM}$	1,474 ( $\pm$ 0,051)	1,155 ( $\pm$ 0,098)	0,972	0,098	138	10	49
1-3, 5-6, 9-13	$\log k_{IAM}$	$\log P_{Pallas}$	-0,360 ( $\pm$ 0,104)	0,680 ( $\pm$ 0,086)	0,941	0,119	62	10	50
		$\log P_{CAChe}$	-0,913 ( $\pm$ 0,171)	0,866 ( $\pm$ 0,109)	0,942	0,119	62	10	51
		$\log P_1$	-0,530 ( $\pm$ 0,185)	0,624 ( $\pm$ 0,118)	0,882	0,166	28	10	52
1-3, 5-6, 9-13	$\log P_1$	$\log P_{Pallas}$	0,378 ( $\pm$ 0,096)	0,996 ( $\pm$ 0,079)	0,976	0,109	158	10	53
		$\log P_{CAChe}$	-0,430 ( $\pm$ 0,159)	1,266 ( $\pm$ 0,101)	0,975	0,110	156	10	54

$R_{M0(mw)}$  - wartość  $R_{M0}$  uzyskana dla fazy ruchomej metanol:woda

$R_{M0(mb)}$  - wartość  $R_{M0}$  uzyskana dla fazy ruchomej metanol:bufor boranowy o pH = 8,35

**Tabela 17.** Porównanie korelacji ( $Y=A+BX$ ) pomiędzy biologicznymi właściwościami badanych pochodnych kwasu barbiturowego i parametrem lipofilowości uzyskanym różnymi metodami.

nr związku	Y	X	A	B	r	s	F	n	nr równania
1-3, 6, 9-11	log 1/c <sup>a</sup>	R <sub>M0(mw)</sub>	0,216 (±0,265)	1,269 (±0,153)	0,965	0,154	68	7	55
		R <sub>M0(mb)</sub>	0,179 (±0,194)	1,114 (±0,097)	0,982	0,113	132	7	56
		log k <sub>IAM</sub>	1,855 (±0,085)	1,288 (±0,158)	0,964	0,156	67	7	57
		log P <sub>1</sub>	0,814 (±0,176)	0,988 (±0,108)	0,972	0,139	84	7	58
		log P <sub>Pallas</sub>	1,250 (±0,106)	0,957 (±0,084)	0,981	0,113	130	7	59
		log P <sub>CAChe</sub>	0,508 (±0,291)	1,191 (±0,182)	0,946	0,190	43	7	60
1, 2, 6, 9-11	log 1/c <sup>b</sup>	R <sub>M0(mw)</sub>	-0,023 (±0,211)	1,551 (±0,126)	0,987	0,119	152	6	61
		R <sub>M0(mb)</sub>	-0,124 (±0,294)	1,409 (±0,153)	0,977	0,158	85	6	62
		log k <sub>IAM</sub>	1,983 (±0,083)	1,653 (±0,172)	0,979	0,152	92	6	63
		log P <sub>1</sub>	0,638 (±0,244)	1,283 (±0,159)	0,971	0,179	65	6	64
		log P <sub>Pallas</sub>	1,216 (±0,200)	1,238 (±0,174)	0,963	0,201	51	6	65
		log P <sub>CAChe</sub>	0,288 (±0,301)	1,496 (±0,195)	0,967	0,188	58	6	66
1, 2, 5, 6, 9-12	log 1/c <sup>c</sup>	R <sub>M0(mw)</sub>	2,474 (±0,238)	0,649 (±0,142)	0,835	0,187	21	8	67
		R <sub>M0(mb)</sub>	2,391 (±0,251)	0,617 (±0,133)	0,840	0,184	22	8	68
		log k <sub>IAM</sub>	3,290 (±0,063)	0,760 (±0,132)	0,887	0,157	33	8	69
		log P <sub>1</sub>	2,672 (±0,174)	0,593 (±0,115)	0,864	0,171	26	8	70
		log P <sub>Pallas</sub>	2,925 (±0,125)	0,585 (±0,111)	0,869	0,168	28	8	71
		log P <sub>CAChe</sub>	2,542 (±0,214)	0,670 (±0,140)	0,846	0,181	23	8	72

<sup>a</sup> c jest stężeniem powodującym 50% powstrzymanie podziału komórek *Arbacia Egg* (Cloves i współpracownicy, 1940 [123], cytowane w Hansch i Anderson, 1967 [121])

<sup>b</sup> dane dotyczące hamowania przez pochodne kwasu barbiturowego zużycia tlenu w mózgu szczurów (Fuhrman i Field, 1943 [124], cytowane w Hansch i Anderson, 1967 [121])

<sup>c</sup> c jest molowym stężeniem stosowanej pochodnej kwasu barbiturowego powodującej hipnozę (Volwiler, 1925 [125]; Shonle i Moment, 1923 [126]; Tabern i Volwiler, 1934 [127], Cope i Hancock, 1939 [128], cytowane w Hansch i współpracownicy, 1968 [122])

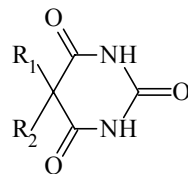
### 5.3.2. *Badania pochodnych kwasu barbiturowego z wykorzystaniem sztucznych błon biologicznych (IAM) [116]*

Dla serii pochodnych kwasu barbiturowego, których struktury są podane w Tabeli 18, przeprowadzono korelacje dla parametru  $\log k_{IAM}$  [116], otrzymanego w chromatografii HPLC przy zastosowaniu sztucznej błony biologicznej i eluentu acetonitryl:bufor fosforanowy o  $pH = 6,8$  z wartościami  $\log P_1$  [121, 122] znalezionymi w literaturze oraz z  $\log P_{Pallas}$  i  $\log P_{CACHe}$  obliczonymi teoretycznie (Tabela 18). Parametry równań korelacyjnych są zestawione w Tabeli 19.

W Tabeli 21 są przedstawione równania korelacyjne dla fizykochemicznych i biologicznych właściwości wybranych barbituranów (dane zebrane w Tabeli 20) z wartościami  $\log k_{IAM}$ ,  $\log P_1$ ,  $\log P_{Pallas}$  i  $\log P_{CACHe}$ .

W niektórych przypadkach odrzucono pojedyncze punkty wykazujące największe odstępstwa od liniowości.

**Tabela 18.** Badane pochodne kwasu barbiturowego, wartości parametru retencji  $\log k_{IAM}$  i współczynników podziału:  $\log P_1$ ,  $\log P_{Pallas}$  i  $\log P_{CACHe}$ ; ogólny wzór badanych pochodnych:



nr związku	podstawniki (R <sub>1</sub> , R <sub>2</sub> ) w pozycji 5 pierścienia kwasu barbiturowego	nazwa leku*	$\log k_{IAM}$	$\log P_1^{**}$	$\log P_{Pallas}$	$\log P_{CACHe}$
1	5,5-dietylo-	Barbital	-0,363	0,65	0,268	0,740
2	5-etylo-5-fenylo-	Fenobarbital	0,336	1,42	0,905	1,561
3	5-allilo-5-izobutylo-	Butalbital	0,403	1,65	1,230	1,648
4	5-etylo-5-(1-metylobutylo)-	Pentobarbital	0,712	1,95	1,583	1,863
5	5-metylo-5-fenylo-	Heptobarbital	0,139		0,395	1,164
6	5-etylo-5-izopentylo-	Amobarbital	0,675	1,95	1,583	1,863
7	5,5-diallilo-	Allobarbital	0,008	1,05	0,582	1,102
8	5-allilo-5-(1-metylobutylo)-	Sekobarbital	0,883	2,15	1,740	2,044

c. d. **Tabeli 18**

9	5-etylo-5-(1-metylo-1-butenylo)-	Vinbarbital	0,276	1,65	1,322	1,426
10	5-allilo-5-izopropylo-	Aprobarbital	0,162	1,15	0,720	1,251
11	5-allilo-5- <i>sec</i> -butylo-	Talbutal	0,521	1,65	1,230	1,648
12	5-etylo-5- <i>sec</i> -butylo-	Butabarbital	0,348	1,45	1,073	1,467
13	5-allilo-5-(2-cyklopentenylo)-	Cyklopal	0,477	0,99	0,877	1,280
14	5,5-dimetylo-		-1,025		-0,752	-0,053
15	5,5-di(2-butenylo)-		0,583		1,411	1,805
16	5-etylo-5- <i>n</i> -pentylo-		0,796	2,15	1,797	1,929
17	5-(1-cykloheksenylo)-5-etylo-	Cyklobarbital	0,376	1,20	1,417	1,318
18	5,5-di(2-propino)-		-0,344		-0,437	0,168
19	5-(2-butenylo)-5-(2-metylo-2-propenylo)-		0,493		1,479	1,607
20	5,5-dietylo-1-metylo-	Metarbital	-0,071		0,087	0,986
21	5-etylo-5-fenylo-1-metylo-	Metylofenobarbital	0,606		0,724	1,807

c. d. Tabeli 18

22	5-(1-cykloheksenylo)-1,5-dimetylo-	Heksobarbital	0,452		0,726	1,168
23	5-allilo-1-metylo-5-(1-metylo-2-pentylo)-	Metoheksital	0,958		1,454	2,197
24	5-allilo-5-izopropilo-1-metylo-	Narconumal	0,452		0,539	1,498
25	5,5-diallilo-1-metylo-		0,305		0,400	1,349
26	5-fenylo-1,3,5-trimetylo-		0,579		0,447	1,657
27	5-(1-cykloheksenylo)-1,3,5-trimetylo-		0,661		0,959	1,414
28	5,5-diallilo-1,3-dimetylo-		0,543		0,634	1,595
29	5,5-dietylo-1,3-dimetylo-		0,173		0,320	1,233
30	5-etylo-5-fenylo-1,3-dimetylo-		0,846		0,957	2,054

\* międzynarodowe nazwy leków wg Międzynarodowej Organizacji Zdrowia

\*\* wartość współczynnika podziału P dla kwasu 5,5-dietylobarbiturowego i 5-etylo-5-fenylobarbiturowego była wyznaczona eksperymentalnie w układzie *n*-oktanol:woda, dla pozostałych związków wartość ta została obliczona w oparciu o stałe podstawnikowe  $\pi$  i wartość  $\log P$  wyznaczoną eksperymentalnie w układzie *n*-oktanol:woda dla kwasu barbiturowego [121, 122]



**Tabela 19.** Porównanie korelacji ( $Y=A+BX$ ) pomiędzy parametrami lipofilowości uzyskanymi różnymi metodami dla badanych pochodnych kwasu barbiturowego.

nr związku	Y	X	A	B	r	s	F	n	nr równania
1-19	log $k_{IAM}$	log $P_{Pallas}$	-0,315 ( $\pm 0,061$ )	0,621 ( $\pm 0,051$ )	0,946	0,154	145	19	73
		log $P_{CACHe}$	-0,787 ( $\pm 0,080$ )	0,790 ( $\pm 0,054$ )	0,962	0,130	211	19	74
1-25	log $k_{IAM}$	log $P_{Pallas}$	-0,193 ( $\pm 0,072$ )	0,581 ( $\pm 0,065$ )	0,881	0,211	79	25	75
		log $P_{CACHe}$	-0,765 ( $\pm 0,074$ )	0,783 ( $\pm 0,050$ )	0,956	0,130	244	25	76
1-30	log $k_{IAM}$	log $P_{Pallas}$	-0,108 ( $\pm 0,077$ )	0,553 ( $\pm 0,073$ )	0,819	0,242	57	30	77
		log $P_{CACHe}$	-0,756 ( $\pm 0,074$ )	0,786 ( $\pm 0,049$ )	0,949	0,133	256	30	78
20-25	log $k_{IAM}$	log $P_{Pallas}$	-0,017 ( $\pm 0,075$ )	0,714 ( $\pm 0,097$ )	0,965	0,099	54	6	79
		log $P_{CACHe}$	-0,611 ( $\pm 0,231$ )	0,707 ( $\pm 0,149$ )	0,922	0,147	22	6	80
26-30	log $k_{IAM}$	log $P_{Pallas}$	0,085 ( $\pm 0,184$ )	0,717 ( $\pm 0,259$ )	0,848	0,151	8*	5	81
		log $P_{CACHe}$	-0,509 ( $\pm 0,405$ )	0,672 ( $\pm 0,251$ )	0,840	0,154	7*	5	82
1-4, 6-13, 16, 17	log $k_{IAM}$	log $P_1$	-0,549 ( $\pm 0,154$ )	0,631 ( $\pm 0,098$ )	0,881	0,162	42	14	83
1-4, 6-13, 16, 17	log $P_1$	log $P_{Pallas}$	0,424 ( $\pm 0,143$ )	0,927 ( $\pm 0,115$ )	0,919	0,118	65	14	84
		log $P_{CACHe}$	-0,359 ( $\pm 0,143$ )	1,234 ( $\pm 0,093$ )	0,968	0,120	177	14	85

\* korelacja, która nie jest istotna statystycznie przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  (wartość  $p \geq 0,05$ )

**Tabela 20.** Biologiczne i fizykochemiczne właściwości badanych pochodnych kwasu barbiturowego.

nr związku	log 1/c <sup>a</sup>	log 1/c <sup>b</sup>	log 1/c <sup>c</sup>	log 1/c <sup>d</sup>	log 1/c <sup>e</sup>	log P <sup>f</sup>	log P <sup>g</sup>	R <sub>m0</sub> <sup>h</sup>	σ <sup>i</sup>	log k <sub>0</sub> <sup>j</sup>
1	1,49	1,32	2,91 3,09	1,89	1,96	0,666	-0,155	60,1	13,50	0,78
2	2,02	2,36	3,46 3,32	1,26	2,96	1,434	0,681	93,4	13,00	2,15
3	2,41	2,80	3,63				1,021		11,95	1,13
4	2,92	3,07	4,05		3,51	2,100	1,447	154,8	11,75	1,46
5						0,911				
6	2,82	3,12	3,75 3,59		3,52					
7	1,79		3,54	1,46		1,146	0,328		12,85	
8	3,62	3,19	4,20				1,705	179,6	11,30	1,87
9			3,65							
10	2,01	2,41	3,60	1,27		1,366	0,690	82,4	12,40	1,07
11			3,78							
12			3,63	0,60				99,3		0,93
13		2,90						114,5		
14						0,440				0,31
16	2,82							170,3		1,38
17	2,24			0,65	2,64		1,143	118,5	12,40	1,12

*Objaśnienia do Tabeli 20.*

<sup>a</sup> c jest stężeniem powodującym 50% powstrzymanie podziału komórek *Arbacia Egg* (Cloves i współpracownicy, 1940 [123], cytowane w Hansch i Anderson, 1967 [121])

<sup>b</sup> dane dotyczące hamowania przez pochodne kwasu barbiturowego zużycia tlenu w mózgu szczurów (Fuhrman i Field, 1943 [124], cytowane w Hansch i Anderson, 1967 [121])

<sup>c</sup> c jest molowym stężeniem stosowanej pochodnej kwasu barbiturowego powodującej hipnozę (Volwiler, 1925 [125], Shonle i Moment, 1923 [126], Tabern i Volwiler, 1934 [127], Cope i Hancock, 1939 [128], cytowane w Hansch i współpracownicy, 1968 [122])

<sup>d</sup> c jest średnim % zmienionego barbituranu wydzielonego z ustroju (Maynert i Van Dyke, 1949 [129], cytowane w Hansch i współpracownicy, 1968 [122])

<sup>e</sup> c jest stężeniem barbituranu powodującym 50% zahamowania utlenienia NADH (Giuditta i Di Prisco, 1963 [130], cytowane w Hansch i Anderson, 1967 [121])

<sup>f</sup> P jest to eksperymentalnie wyznaczony współczynnik podziału w układzie *n*-oktanol:woda (Pranker i McKeown, 1994 [131])

<sup>g</sup> P jest to eksperymentalnie wyznaczony współczynnik podziału w układzie chloroform:woda (Schanker, 1959 [132]; Kakemi i współpracownicy, 1967 [133], cytowane w Khalil i współpracownicy, 1983 [134])

<sup>h</sup> wartości  $R_{m0}$  (obliczone z wartości  $R_F$  pomnożonych przez 100) otrzymane w chromatografii TLC w układzie etanol:woda, ekstrapolowane do 0% zawartości etanolu (Cserhádi i współpracownicy, 1986 [82])

<sup>i</sup> parametr rozpuszczalności (Khalil i współpracownicy, 1976 [135], cytowane w Khalil i współpracownicy, 1983 [134])

<sup>j</sup>  $k_0$  jest to współczynnik pojemności ekstrapolowany do 0% zawartości metanolu w układzie metanol:woda (Forgács i Cserhádi, 1994 [83])

**Tabela 21.** Porównanie korelacji ( $Y=A+BX$ ) pomiędzy biologicznymi i fizykochemicznymi właściwościami barbituranów a parametrami lipofilowości:  $\log k_{IAM}$ ,  $\log P_1$ ,  $\log P_{Pallas}$ ,  $\log P_{CACHe}$ .

nr związku	Y	X	A	B	r	s	F	n	poprawki	nr równania
1-4, 6-8, 10, 16, 17	$\log 1/c^a$	$\log k_{IAM}$	1,802 ( $\pm 0,108$ )	1,535 ( $\pm 0,198$ )	0,939	0,231	60	10	bez 8, $r = 0,967$ ; $F = 99$ , $n = 9$	86
		$\log P_1$	0,664 ( $\pm 0,257$ )	1,142 ( $\pm 0,160$ )	0,930	0,248	51	10	bez 8, 17, $r = 0,975$ ; $F = 115$ , $n = 8$	87
		$\log P_{Pallas}$	1,135 ( $\pm 0,229$ )	1,081 ( $\pm 0,178$ )	0,907	0,284	37	10	bez 8, 17, $r = 0,984$ ; $F = 181$ , $n = 8$	88
		$\log P_{CACHe}$	0,276 ( $\pm 0,324$ )	1,396 ( $\pm 0,205$ )	0,924	0,258	46	10	bez 8, $r = 0,948$ ; $F = 62$ , $n = 9$	89
1-4, 6, 8, 10, 13	$\log 1/c^b$	$\log k_{IAM}$	2,011 ( $\pm 0,087$ )	1,548 ( $\pm 0,159$ )	0,970	0,163	95	8	bez 13, $r = 0,974$ ; $F = 93$ , $n = 7$	90
		$\log P_1$	1,216 ( $\pm 0,428$ )	0,961 ( $\pm 0,273$ )	0,821	0,382	12	8	bez 13, $r = 0,970$ ; $F = 79$ , $n = 7$	91
		$\log P_{Pallas}$	1,424 ( $\pm 0,258$ )	1,098 ( $\pm 0,213$ )	0,903	0,287	27	8	bez 13, $r = 0,964$ ; $F = 66$ , $n = 7$	92
		$\log P_{CACHe}$	0,664 ( $\pm 0,431$ )	1,294 ( $\pm 0,273$ )	0,889	0,307	22	8	bez 13, $r = 0,969$ ; $F = 78$ , $n = 7$	93
1-4, 6-12	$\log 1/c^c$	$\log k_{IAM}$	3,327 ( $\pm 0,060$ )	0,785 ( $\pm 0,123$ )	0,879	0,166	41	14		94
		$\log P_1$	2,675 ( $\pm 0,160$ )	0,615 ( $\pm 0,103$ )	0,864	0,175	35	14		95
		$\log P_{Pallas}$	2,950 ( $\pm 0,119$ )	0,593 ( $\pm 0,102$ )	0,859	0,178	34	14		96
		$\log P_{CACHe}$	2,554 ( $\pm 0,200$ )	0,695 ( $\pm 0,130$ )	0,839	0,190	28	14		97

c. d. **Tabeli 21**

1, 2, 7, 10, 12, 17	log 1/c <sup>d</sup>	log k <sub>IAM</sub>	1,409 (±0,120)	-1,525 (±0,403)	0,884	0,257	14	6	bez 2, r = 0,963; F = 39, n = 5	98
		log P <sub>1</sub>	2,469 (±0,339)	-1,002 (±0,253)	0,893	0,248	16	6	bez 12, r = 0,981; F = 76, n = 5	99
		log P <sub>Pallas</sub>	2,146 (±0,192)	-1,157 (±0,212)	0,939	0,190	30	6	bez 12, r = 0,986; F = 105, n = 5	100
		log P <sub>CAChe</sub>	2,746 (±0,708)	-1,256 (±0,558)	0,747	0,366	5*	6	bez 2, r = 0,934; F = 20, n = 5	101
1, 2, 4, 6, 17	log 1/c <sup>e</sup>	log k <sub>IAM</sub>	2,413 (±0,126)	1,455 (±0,242)	0,961	0,209	36	5		102
		log P <sub>1</sub>	1,210 (±0,055)	1,191 (±0,036)	0,999	0,040	1089	5		103
		log P <sub>Pallas</sub>	1,773 (±0,425)	0,995 (±0,338)	0,862	0,383	9*	5		104
		log P <sub>CAChe</sub>	0,875 (±0,133)	1,391 (±0,087)	0,994	0,082	254	5		105
1, 2, 4, 5, 7, 10, 14	log P <sup>f</sup>	log k <sub>IAM</sub>	1,154 (±0,093)	0,908 (±0,181)	0,913	0,246	25	7	bez 14, r = 0,939; F = 30, n = 6	106
		log P <sub>1</sub>	0,018 (±0,128)	1,064 (±0,098)	0,988 <sup>k</sup>	0,094	119	5		107
		log P <sub>Pallas</sub>	0,764 (±0,096)	0,734 (±0,114)	0,944	0,198	41	7	bez 14, r = 0,988; F = 159, n = 6	108
		log P <sub>CAChe</sub>	0,260 (±0,199)	0,818 (±0,162)	0,915	0,244	26	7	bez 14, r = 0,949; F = 36, n = 6	109
1-4, 7, 8, 10, 17	log P <sup>g</sup>	log k <sub>IAM</sub>	0,382 (±0,057)	1,513 (±0,119)	0,982	0,123	163	8	bez 2, r = 0,992; F = 304, n = 7	110
		log P <sub>1</sub>	-0,718 (±0,282)	1,123 (±0,191)	0,923	0,250	35	8	bez 17, r = 0,987; F = 181, n = 7	111
		log P <sub>Pallas</sub>	-0,347 (±0,099)	1,141 (±0,085)	0,984	0,116	181	8		112

c. d. Tabeli 21

1, 2, 4, 8, 10, 12, 13, 16, 17	$R_{M0}^h$	log $P_{CAChe}$	-1,044 ( $\pm 0,322$ )	1,320 ( $\pm 0,215$ )	0,929	0,241	37	8	bez 17, r = 0,976; F = 99, n = 7	113
		log $k_{IAM}$	76,734 ( $\pm 7,457$ )	102,575 ( $\pm 13,663$ )	0,943	14,574	56	9	bez 1, r = 0,984; F = 183, n = 8	114
		log $P_1$	16,685 ( $\pm 19,022$ )	70,384 ( $\pm 12,356$ )	0,907	18,470	32	9		115
		log $P_{Pallas}$	31,974 ( $\pm 11,598$ )	75,639 ( $\pm 9,266$ )	0,951	13,519	67	9		116
		log $P_{CAChe}$	-17,171 ( $\pm 24,324$ )	91,239 ( $\pm 15,757$ )	0,910	18,223	33	9		117
1-4, 7, 8, 10, 17	$\sigma^i$	log $k_{IAM}$	12,921 ( $\pm 0,147$ )	-1,677 ( $\pm 0,305$ )	0,913	0,316	30	8	bez 2, r = 0,980; F = 120, n = 7	118
		log $P_1$	14,246 ( $\pm 0,361$ )	-1,321 ( $\pm 0,245$ )	0,911	0,320	29	8		119
		log $P_{Pallas}$	13,705 ( $\pm 0,288$ )	-1,242 ( $\pm 0,248$ )	0,898	0,341	25	8		120
		log $P_{CAChe}$	14,552 ( $\pm 0,483$ )	-1,498 ( $\pm 0,323$ )	0,884	0,362	21	8	bez 2, r = 0,989; F = 219, n = 7	121
1-4, 8, 10, 12, 14, 16, 17	log $k_0^j$	log $k_{IAM}$	1,036 ( $\pm 0,128$ )	0,698 ( $\pm 0,212$ )	0,759	0,365	11	10	bez 2, r = 0,931; F = 46, n = 9	122
		log $P_1$	0,566 ( $\pm 0,450$ )	0,494 ( $\pm 0,281$ )	0,553 <sup>1</sup>	0,398	3*	9	bez 2, r = 0,853; F = 16, n = 8	123
		log $P_{Pallas}$	0,756 ( $\pm 0,217$ )	0,465 ( $\pm 0,175$ )	0,685	0,409	7	10	bez 2, r = 0,904; F = 31, n = 9	124
		log $P_{CAChe}$	0,308 ( $\pm 0,274$ )	0,662 ( $\pm 0,182$ )	0,789	0,345	13	10	bez 2, r = 0,928; F = 43, n = 9	125

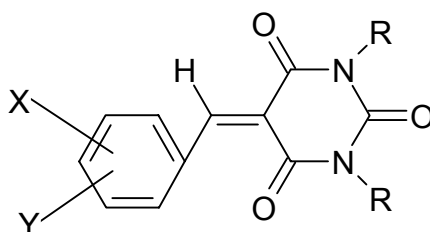
<sup>k</sup> obliczenia bez związków 5 i 14

<sup>1</sup> obliczenia bez związku 14

\* korelacja, która nie jest istotna statystycznie przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  (wartość  $p \geq 0,05$ )

### 5.3.3. Badania pochodnych kwasu 5-arylidenobarbiturowego i 1,3-dimetylo-5-arylidenobarbiturowego

Badane były dwie serie pochodnych kwasu barbiturowego: 1,3-dimetylo-5-arylidenobarbiturowego (R = CH<sub>3</sub>, seria **A**) oraz 5-arylidenobarbiturowego (R = H, seria **B**), o ogólnym wzorze:



Struktura badanych związków, wartości parametrów lipofilowości ( $R_{M0}$ ,  $\log P_{Pallas}$ ,  $\log P_{CACHe}$ ) oraz wartości stałej podstawnikowej Hammetta,  $\sigma$ , zostały zebrane w Tabeli 24. Wartości parametru  $R_M$  przedstawiono w Tabeli 22. W Tabeli 23 zestawione są parametry liniowej korelacji pomiędzy wartościami  $R_M$  badanych barbituranów i zawartością metanolu w fazie ruchomej. Na Rysunku 6 przedstawiono dla przykładowych związków zależność wartości  $R_M$  w funkcji stężenia metanolu.

Wyznaczone wartości parametru  $R_{M0}$  były następnie korelowane z wartościami  $\log P_{Pallas}$  i  $\log P_{CACHe}$ . Korelacje przeprowadzono w obrębie poszczególnych serii związków i łącznie dla wszystkich związków. Wyniki tych korelacji są przedstawione w Tabeli 25. Na Rysunku 7 przedstawiono zależność parametru  $R_{M0}$  od teoretycznie obliczonych wartości  $\log P$  dla wszystkich badanych pochodnych (1-26).

Z uwagi na widoczny wpływ podstawników w ugrupowaniu benzyldenowym na wartość parametru  $R_{M0}$ , przeprowadzono korelacje wartości parametru  $R_{M0}$  ze stałą podstawnikową  $\sigma$  według równania Hammetta (patrz rozdział 2.3, równanie 10):

$$\Delta R_{M0} = R_{M0 X} - R_{M0} = A + \sigma\rho$$

gdzie:  $R_{M0 X}$ ,  $R_{M0}$  odpowiadają wartościom  $R_{M0}$  związku podstawionego w pierścieniu

fenylowym podstawnikiem X i związku niepodstawionego, A jest przesunięciem prostej regresji, zaś  $\sigma$  i  $\rho$  odpowiadają stałej podstawnikowej i stałej reakcji.

Zastosowanie równania Hammetta do korelacji chromatograficznych wymaga założenia, że o sorpcji cząsteczek w obrębie danej serii związków decyduje ten sam fragment cząsteczki, na który podstawniki wywierają wpływ elektronowy [4]. Założono, że takim fragmentem dla badanych związków jest pierścień kwasu barbiturowego.

Korelacje przeprowadzono w obrębie obu serii związków jak i dla wszystkich związków dla trzech podstawień: (i) *orto*, *meta*, *para*, (ii) *orto* oraz (iii) *meta*, *para*. Wyniki korelacji są zebrane w Tabeli 25.

W niektórych przypadkach odrzucono pojedyncze punkty wykazujące największe odstępstwa od liniowości.

Na Rysunku 8 przedstawiono zależność  $\Delta R_{M0}$  w funkcji stałej podstawnikowej  $\sigma$  dla wszystkich związków dla trzech typów podstawienia: (i) *orto*, *meta*, *para*, (ii) *orto* oraz (iii) *meta*, *para*.



**Tabela 22.** Wartości  $R_M$  badanych pochodnych kwasu barbiturowego (1-26) dla fazy ruchomej metanol:woda.

% obj. metanolu	wartość $R_M$												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
90	-0,006	-0,238	0,123			0,110	-0,323		-0,224	-0,133	-0,621	-0,537	
85	0,202	-0,083	0,342	0,009	0,233	0,304	-0,130	-0,003	-0,023	0,063	-0,331	-0,358	-0,169
80	0,420	0,050	0,616	0,130	0,546	0,479	0,032	0,153	0,141	0,192	-0,215	-0,248	0,036
75	0,553	0,168	0,799	0,219	0,585	0,585	0,138	0,373	0,263	0,406	-0,057	-0,118	0,092
70	0,790	0,310	1,088	0,373	0,888	0,874	0,356	0,579	0,410	0,586	0,056	0,003	0,255
65	0,942		1,327	0,497	1,043	1,043	0,546	0,801	0,568	0,745	0,187	0,145	0,346
60	1,147			0,599	1,270	1,293	0,737	1,021	0,703	0,969	0,335	0,266	0,483
55				0,783			0,906		0,886	1,073	0,493	0,421	0,599

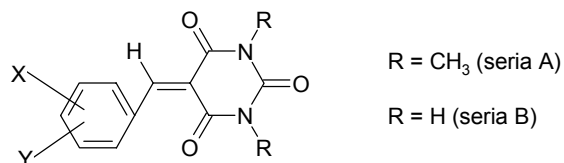
c. d. Tabeli 22

% obj. metanolu	wartość $R_M$												
	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
90	-0,470	-0,262	-0,404			-0,508						-0,372	
85	-0,082	-0,107	-0,309	-0,131	-0,217	-0,227	-0,076	-0,099	-0,099	-0,068	-0,267	-0,277	-0,208
80	0,099	0,090	-0,175	0,036	-0,127	-0,096	0,086	0,059	0,062	0,114	-0,157	-0,172	-0,092
75	0,285	0,158	-0,105	0,219	0,020	0,064	0,305	0,263	0,239	0,314	-0,046	-0,044	0,058
70	0,451	0,372	0,017	0,332	0,157	0,184	0,499	0,444	0,454	0,491	0,016	0,042	0,187
65	0,505	0,621	0,219	0,514	0,331	0,327	0,640	0,573	0,661	0,704	0,226	0,258	0,407
60	0,831	0,809	0,315	0,678	0,445	0,479	0,947	0,703	0,794	0,849	0,308	0,323	0,561
55	1,029	1,117	0,452	0,792	0,594	0,640	1,133		1,024	1,076	0,356	0,445	0,704

**Tabela 23.** Parametry liniowej korelacji pomiędzy wartościami  $R_M$  badanych pochodnych kwasu barbiturowego i zawartością metanolu w fazie ruchomej.

	nr związku	$R_{M0}$	b	r	s	F	n
seria A	1	3,422	-0,038	0,999	0,023	1938	7
	2	2,197	-0,027	0,999	0,011	1572	5
	3	4,454	-0,048	0,999	0,024	1806	6
	4	2,142	-0,025	0,987	0,023	809	7
	5	3,652	-0,040	0,989	0,061	187	6
	6	3,574	-0,039	0,995	0,045	514	7
seria B	7	2,820	-0,035	0,998	0,028	1651	8
	8	3,499	-0,041	0,999	0,021	1654	6
	9	2,555	-0,030	0,999	0,021	2216	8
	10	3,044	-0,035	0,998	0,026	1912	8
	11	2,129	-0,030	0,993	0,046	428	8
	12	1,867	-0,026	0,999	0,016	2997	8
	13	1,961	-0,025	0,995	0,030	483	7
	14	3,169	-0,039	0,988	0,082	236	8
	15	3,119	-0,038	0,991	0,070	313	8
	16	1,799	-0,025	0,985	0,032	613	8
	17	2,523	-0,031	0,998	0,020	1616	7
	18	2,116	-0,028	0,998	0,020	1305	7
	19	2,344	-0,031	0,995	0,042	564	8
	20	3,347	-0,041	0,997	0,038	793	7
	21	2,699	-0,033	0,996	0,029	555	6
	22	3,075	-0,037	0,999	0,023	1948	7
	23	3,143	-0,038	0,999	0,016	4017	7
	24	1,598	-0,022	0,990	0,037	240	7
	25	1,768	-0,024	0,995	0,030	654	8
	26	2,427	-0,031	0,997	0,028	879	7

**Tabela 24.** Struktura badanych pochodnych kwasu barbiturowego, wartości parametrów lipofilowości  $R_{M0}$  i  $\log P$ , stała podstawnikowa  $\sigma$  [5, 136, 137]; wzór ogólny badanych pochodnych:

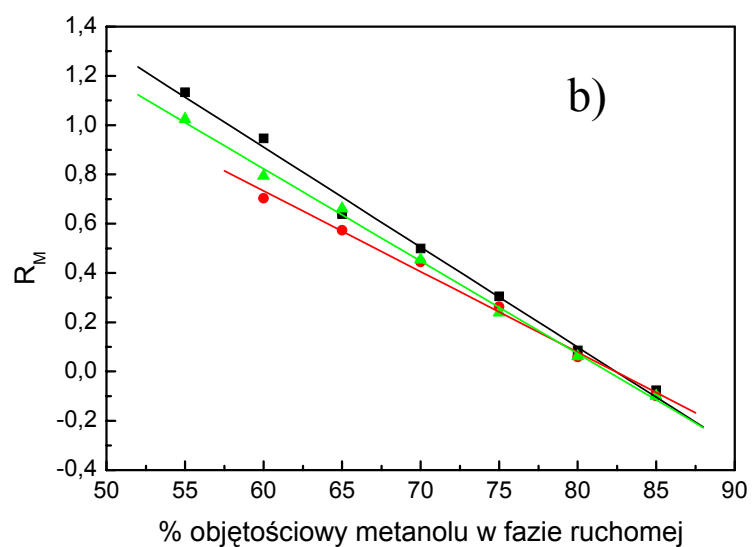
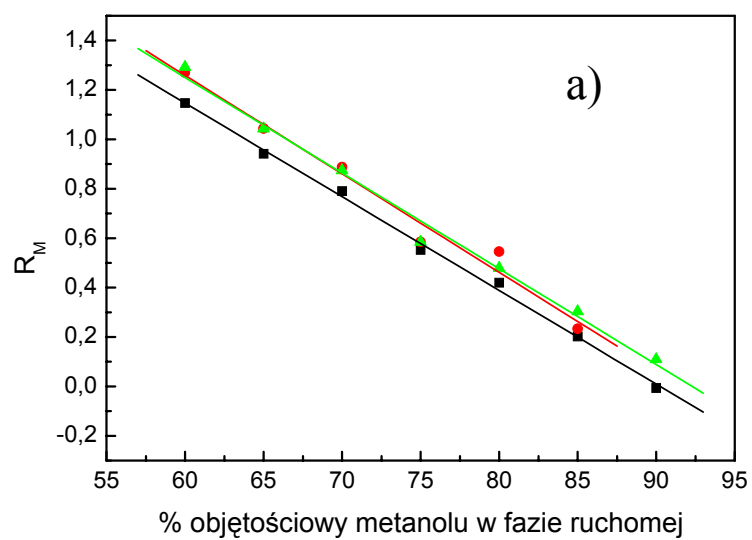


nr związku		podstawnik		$R_{M0}$		$\log P_{\text{Pallas}}$		$\log P_{\text{CACHe}}$		stała podstawnikowa $\sigma$	
seria A	seria B	X	Y	seria A	seria B	seria A	seria B	seria A	seria B	seria A	seria B
1	7	-	-	3,422	2,820	1,024	0,972	1,183	0,690	0,0	0,0
-	8 <sup>m</sup>	-	-	-	3,499	-	2,191	-	1,692	-	-
-	9	3'-CH <sub>3</sub>	-	-	2,555	-	1,512	-	1,157	-	-0,069
2	-	4'-CH <sub>3</sub>	-	2,197	-	1,460	-	1,650	-	-0,17	-
-	20	2'-Cl	-	-	3,347	-	1,686	-	1,208	-	0,20
3	21	3'-Cl	-	4,454	2,699	1,807	1,755	1,701	1,208	0,373	0,373
-	22	4'-Cl	-	-	3,075	-	1,698	-	1,208	-	0,227
4	23	4'-Br	-	2,142	3,143	1,910	1,858	1,975	1,482	0,391	0,232
-	13	2'-OCH <sub>3</sub>	-	-	1,961	-	0,934	-	0,437	-	-0,39
5	14	4'-OCH <sub>3</sub>	-	3,652	3,169	0,980	0,928	0,930	0,437	-0,268	-0,268

c. d. Tabeli 24

6	26	4'-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-	3,574	2,427	0,991	0,939	1,448	0,954	-0,83	-0,83
-	11	2'-OH	-	-	2,129	-	0,431	-	0,406	-	-
-	12	4'-OH	-	-	1,867	-	0,425	-	0,406	-	-0,37
-	24	2'-NO <sub>2</sub>	-	-	1,598	-	0,880	-	0,644	-	0,80
-	25	4'-NO <sub>2</sub>	-	-	1,768	-	0,892	-	0,644	-	0,778
-	10	2'-CH <sub>3</sub>	4'-CH <sub>3</sub>	-	3,044	-	1,828	-	1,625	-	-0,34
-	19	3'-OCH <sub>3</sub>	4'-OH	-	2,344	-	0,366	-	0,153	-	-0,255
-	15	2'-OCH <sub>3</sub>	4'-OCH <sub>3</sub>	-	3,119	-	0,869	-	0,185	-	-0,658
-	16	3'-OCH <sub>3</sub>	4'-OCH <sub>3</sub>	-	1,799	-	0,869	-	0,185	-	-0,153
-	17	2'-OCH <sub>3</sub>	5'-OCH <sub>3</sub>	-	2,523	-	0,869	-	0,185	-	-0,275
-	18	2'-OCH <sub>3</sub>	3'-OCH <sub>3</sub>	-	2,116	-	0,896	-	0,185	-	-0,275

<sup>m</sup> w położeniu 5 pierścienia kwasu barbiturowego jest (2-naftylo)metylen



**Rys. 6.** Zależność pomiędzy wartością  $R_M$  i zawartością metanolu w fazie ruchomej dla: a) ■ - związku nr 1, ● - związku nr 5, ▲ - związku nr 6 (seria A), b) ■ - związku nr 20, ● - związku nr 21, ▲ - związku nr 22 (seria B).

**Tabela 25.** Porównanie korelacji ( $Y = A + BX$ ) pomiędzy parametrami lipofilowości  $R_{M0}$ ,  $\log P_{Pallas}$  i  $\log P_{CACHe}$  oraz  $\Delta R_{M0}$  i stałą podstawnikową  $\sigma$ .

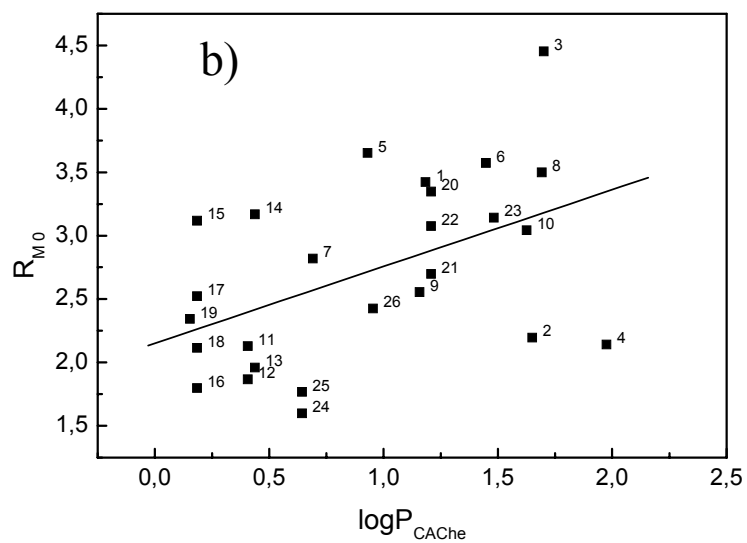
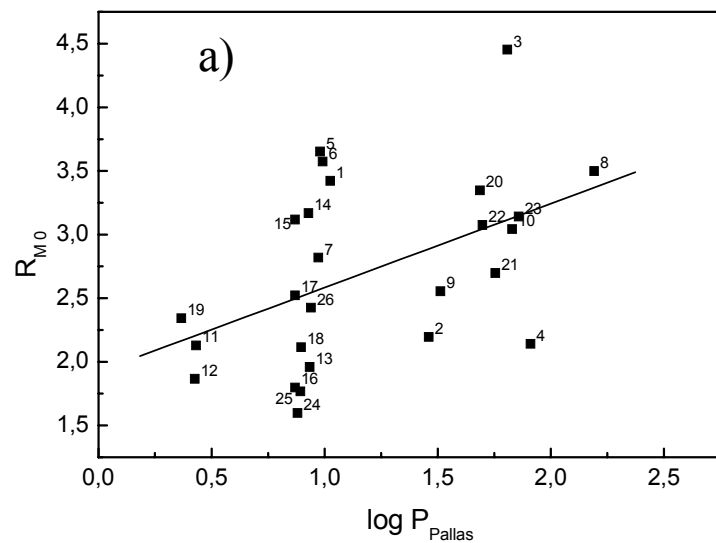
korelowane związki	typ podstawienia	Y	X	A	B	r	s	F	n	poprawki	nr równania
1-6	meta, para	$R_{M0}$	$\log P_{Pallas}$	4,002 ( $\pm$ 1,450)	-0,559 ( $\pm$ 1,024)	0,263	0,974	0,3*	6	bez 3 $r= 0,929$ ; $F=19$ , $n=5$	126
1-6			$\log P_{CACHe}$	4,782 ( $\pm$ 1,636)	-1,041 ( $\pm$ 1,076)	0,436	0,909	0,9*	6	bez 3 $r= 0,863$ ; $F=9^*$ , $n=5$	127
1-6		$\Delta R_{M0}$	$\sigma$	-0,196 ( $\pm$ 0,419)	-0,180 ( $\pm$ 0,987)	0,091	1,006	0,03*	6	bez 3 $r= 0,631$ ; $F=2^*$ , $n=5$	128
7-26	orto, meta, para	$R_{M0}$	$\log P_{Pallas}$	1,683 ( $\pm$ 0,235)	0,760 ( $\pm$ 0,187)	0,691	0,435	16	20	bez 14,15 $r= 0,804$ ; $F=29$ , $n=18$	129
7-26			$\log P_{CACHe}$	2,043 ( $\pm$ 0,194)	0,671 ( $\pm$ 0,214)	0,594	0,484	10	20	bez 14,15 $r= 0,777$ ; $F=24$ , $n=18$	130
7, 9, 10, 12-26		$\Delta R_{M0}$	$\sigma$	-0,316 ( $\pm$ 0,137)	-0,233( $\pm$ 0,317)	0,181	0,573	0,5*	18	bez 20, 21, 22, 23 $r= 0,515$ ; $F=4^*$ , $n=14$	131
7, 10, 13, 15, 17, 18, 20, 24	orto			-0,318 ( $\pm$ 0,227)	-0,544 ( $\pm$ 0,519)	0,393	0,619	1*	8	bez 20 $r= 0,650$ ; $F=4^*$ , $n=7$	132
7, 9, 10, 12, 14-19, 21, 22, 23, 25, 26	meta, para			-0,273 ( $\pm$ 0,141)	-0,142 ( $\pm$ 0,342)	0,114	0,520	0,2*	15	bez 21,22,23 $r= 0,416$ ; $F=2^*$ , $n=12$	133

c. d. Tabeli 25

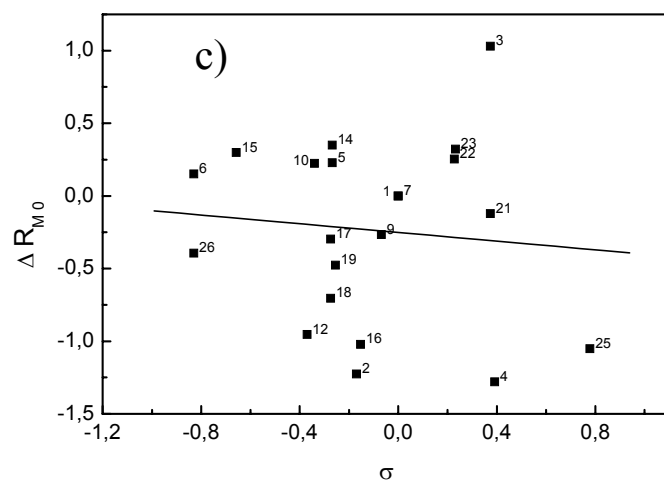
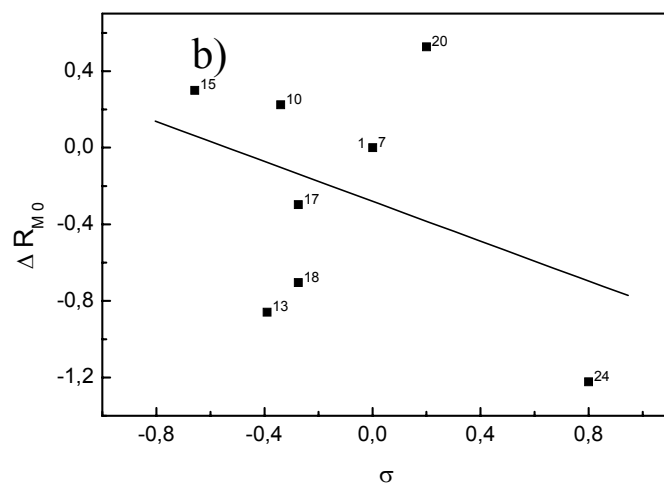
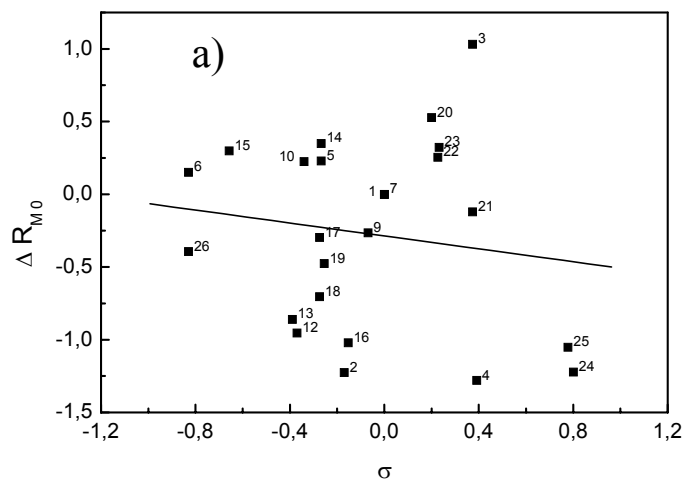
1-26		$R_{M0}$	$\log P_{Pallas}$	1,924 ( $\pm$ 0,326)	0,659 ( $\pm$ 0,252)	0,471	0,644	7	26	bez 3 $r=0,414$ ; $F=5$ , $n=25$	134
1-26			$\log P_{CAche}$	2,151 ( $\pm$ 0,240)	0,605 ( $\pm$ 0,222)	0,486	0,638	7	26		135
1-7, 9, 10, 12-26	orto, meta, para	$\Delta R_{M0}$	$\sigma$	-0,286 ( $\pm$ 0,135)	-0,222 ( $\pm$ 0,314)	0,149	0,652	0,5*	24	bez 3 $r=0,276$ ; $F=2^*$ , $n=23$	136
1, 7, 10, 13, 15, 17, 18, 20, 24	orto			-0,280 ( $\pm$ 0,201)	-0,521 ( $\pm$ 0,487)	0,374	0,584	1*	9	bez 20 $r=0,596$ ; $F=3^*$ , $n=8$	137
1-7, 9, 10, 12, 14-19, 21, 22, 23, 26	meta, para			-0,251 ( $\pm$ 0,143)	-0,150 ( $\pm$ 0,345)	0,099	0,632	0,2*	20	bez 3 $r=0,267$ ; $F=1^*$ , $n=19$	138

\* korelacja, która nie jest istotna statystycznie przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  (wartość  $p \geq 0,05$ )





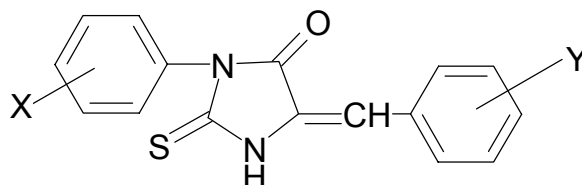
**Rys. 7.** Wykresy zależności parametru  $R_{M0}$  od: a)  $\log P_{Pallas}$ , b)  $\log P_{CAChe}$  dla badanych pochodnych kwasu barbiturowego (1-26).



**Rys. 8.** Zależność pomiędzy wartością  $\Delta R_{M0}$  i stałą podstawnikową  $\sigma$  dla typu podstawienia: a) orto, meta, para; b) orto; c) meta, para.

## 5.4. Badania pochodnych 2-tiohydantoiny

Badana była seria pochodnych 3-arylo-5-benzylidenowych 2-tiohydantoiny o ogólnym wzorze:



Struktura badanych pochodnych 2-tiohydantoiny, wartości parametrów  $\log P_{\text{Pallas}}$  i  $\log P_{\text{CACHe}}$  oraz stałej podstawnikowej  $\sigma$  [5] jest przedstawiona w Tabeli 26. Wartości parametru  $R_M$  są zestawione w Tabeli 27, zaś parametry liniowej korelacji pomiędzy wartościami  $R_M$  badanych pochodnych 2-tiohydantoiny i zawartością metanolu w fazie ruchomej w Tabeli 28. Na Rysunku 9 przedstawiono dla przykładowych związków zależność wartości  $R_M$  w funkcji stężenia metanolu.

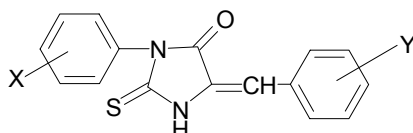
Algorytm, jaki wykorzystuje program CACHe, nie rozróżnia izomerów konstytucyjnych. Dlatego otrzymano dwie wartości  $\log P$ , jedną dla pochodnych 2-tiohydantoiny z podstawnikiem metylowym w ugrupowaniu benzylidenowym oraz drugą, dla pochodnych z atomem chloru w tym ugrupowaniu (patrz Tabela 26). Z tego powodu, wyznaczone wartości parametru  $R_{M0}$  były korelowane tylko z wartościami  $\log P_{\text{Pallas}}$ . Korelacje przeprowadzono w obrębie poszczególnych serii związków (serie: 3-*o*-tolilo-, 3-*m*-tolilo-, 3-*p*-tolilo-) i łącznie dla wszystkich związków. Wyniki tych korelacji są przedstawione w Tabeli 29. Na Rysunku 10 przedstawiono zależność parametru  $R_M$  w funkcji  $\log P_{\text{Pallas}}$  dla wszystkich badanych pochodnych (związki 1-18) oraz dla pochodnych serii 3-*p*-tolilo- (związki 13-18).

W celu stwierdzenia zależności między stałą podstawnikową Hammetta i parametrem  $R_{M0}$  przeprowadzono korelacje wg równania typu Hammetta (patrz rozdział 5.3.3.). Założono, że fragmentem decydującym o sorpcji cząsteczek, na który podstawniki wywierają wpływ elektronowy jest pierścień 2-tiohydantoiny [4].

Z uwagi na brak związku niepodstawionego w obrębie ugrupowania benzylidenowego do powyższego równania wzięto wartości  $R_{M0}$  poszczególnych

pochodnych. Korelacje przeprowadzono dla trzech typów podstawienia: (i) *orto*, *meta*, *para*, (ii) *orto* oraz (iii) *meta*, *para*. Wyniki są przedstawione w Tabeli 29. Na Rysunku 11 przedstawiono zależność parametru  $R_{M0}$  w funkcji stałej podstawnikowej  $\sigma$  dla typu podstawienia (i) *orto*, *meta*, *para* oraz (ii) *meta*, *para*.

**Tabela 26.** Struktura badanych pochodnych 2-tiohydantoiny, wartości parametrów  $\log P_{\text{Pallas}}$  i  $\log P_{\text{CACHe}}$  oraz stałej podstawnikowej  $\sigma$ ; wzór ogólny badanych pochodnych:



nr związku	X	Y	$\log P_{\text{Pallas}}$	$\log P_{\text{CACHe}}$	stała podstawnikowa $\sigma$
1	o-CH <sub>3</sub>	2'-CH <sub>3</sub>	2,891	4,35	-0,17
2	o-CH <sub>3</sub>	3'-CH <sub>3</sub>	2,989	4,35	-0,069
3	o-CH <sub>3</sub>	4'-CH <sub>3</sub>	2,884	4,35	-0,17
4	o-CH <sub>3</sub>	2'-Cl	3,163	4,401	0,20
5	o-CH <sub>3</sub>	3'-Cl	3,232	4,401	0,373
6	o-CH <sub>3</sub>	4'-Cl	3,175	4,401	0,227
7	m-CH <sub>3</sub>	2'-CH <sub>3</sub>	2,989	4,35	-0,17
8	m-CH <sub>3</sub>	3'-CH <sub>3</sub>	3,088	4,35	-0,069
9	m-CH <sub>3</sub>	4'-CH <sub>3</sub>	2,983	4,35	-0,17
10	m-CH <sub>3</sub>	2'-Cl	3,261	4,401	0,20
11	m-CH <sub>3</sub>	3'-Cl	3,331	4,401	0,373
12	m-CH <sub>3</sub>	4'-Cl	3,274	4,401	0,227
13	p-CH <sub>3</sub>	2'-CH <sub>3</sub>	2,884	4,35	-0,17
14	p-CH <sub>3</sub>	3'-CH <sub>3</sub>	2,983	4,35	-0,069
15	p-CH <sub>3</sub>	4'-CH <sub>3</sub>	2,878	4,35	-0,17
16	p-CH <sub>3</sub>	2'-Cl	3,156	4,401	0,20
17	p-CH <sub>3</sub>	3'-Cl	3,226	4,401	0,373
18	p-CH <sub>3</sub>	4'-Cl	3,168	4,401	0,227

**Tabela 27.** Wartości  $R_M$  badanych pochodnych 2-tiohydantoiny (1-18) dla fazy ruchomej metanol:woda.

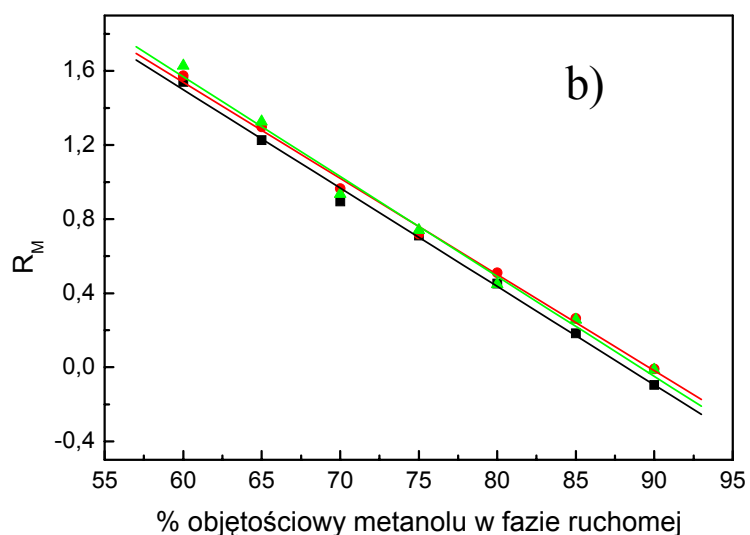
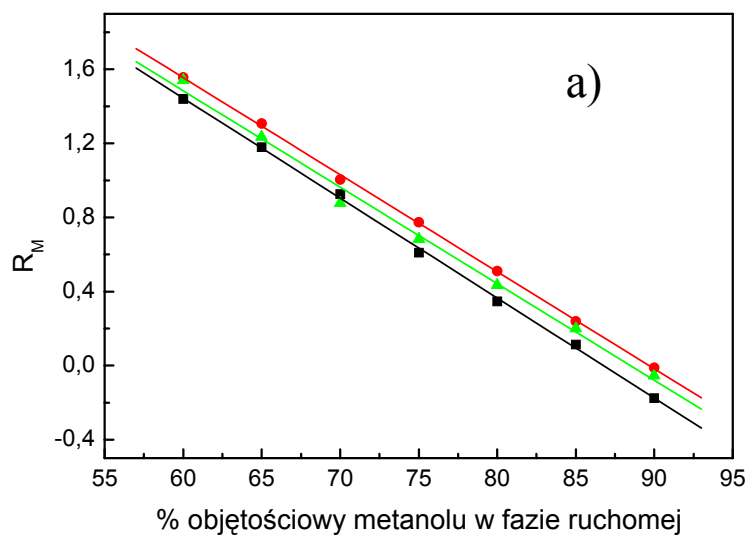
% obj. metanolu	wartość $R_M$								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
90	-0,176	-0,085	-0,108	-0,096	-0,063	-0,059	-0,012	0,016	-0,021
85	0,114	0,207	0,171	0,183	0,248	0,214	0,239	0,311	0,267
80	0,347	0,475	0,425	0,452	0,479	0,477	0,510	0,583	0,520
75	0,610	0,740	0,717	0,711	0,750	0,689	0,774	0,826	0,753
70	0,926	0,989	0,891	0,895	0,964	0,912	1,005	1,085	0,989
65	1,180	1,358	1,227	1,227	1,358	1,270	1,307	1,327	1,337
60	1,440	1,648	1,541	1,541	1,574	1,525	1,557	1,648	1,609

**c.d. Tabeli 27**

% obj. metanolu	wartość $R_M$								
	10	11	12	13	14	15	16	17	18
90	-0,009	0,043	0,014	-0,054	0,028	0,002	-0,014	0,023	-0,030
85	0,263	0,315	0,292	0,200	0,282	0,254	0,257	0,302	0,277
80	0,510	0,581	0,530	0,434	0,503	0,459	0,448	0,540	0,470
75	0,720	0,788	0,774	0,683	0,764	0,727	0,740	0,803	0,803
70	0,964	1,005	1,055	0,878	0,969	0,959	0,935	1,158	1,187
65	1,297	1,317	1,369	1,235	1,369	1,307	1,327	1,510	1,481
60	1,574	1,648	1,574	1,541	1,609	1,648	1,628	1,628	1,669

**Tabela 28.** Parametry liniowej korelacji pomiędzy wartościami  $R_M$  badanych pochodnych 2-tiohydantoiny i zawartością metanolu w fazie ruchomej.

nr związku	$R_{M0}$	b	r	s	F	n
1	4,684	-0,054	0,999	0,019	5669	7
2	5,055	-0,057	0,999	0,034	2001	7
3	4,726	-0,054	0,998	0,039	1334	7
4	4,689	-0,053	0,998	0,039	1308	7
5	4,839	-0,054	0,998	0,042	1179	7
6	4,628	-0,052	0,998	0,039	1258	7
7	4,700	-0,052	0,999	0,014	9917	7
8	4,808	-0,053	0,999	0,022	3930	7
9	4,796	-0,054	0,998	0,034	1710	7
10	4,655	-0,052	0,998	0,037	1363	7
11	4,694	-0,052	0,997	0,044	952	7
12	4,743	-0,053	0,999	0,025	3035	7
13	4,613	-0,052	0,997	0,049	792	7
14	4,744	-0,053	0,997	0,051	746	7
15	4,807	-0,054	0,996	0,058	602	7
16	4,806	-0,054	0,996	0,060	568	7
17	5,057	-0,056	0,996	0,060	610	7
18	5,241	-0,059	0,997	0,057	742	7



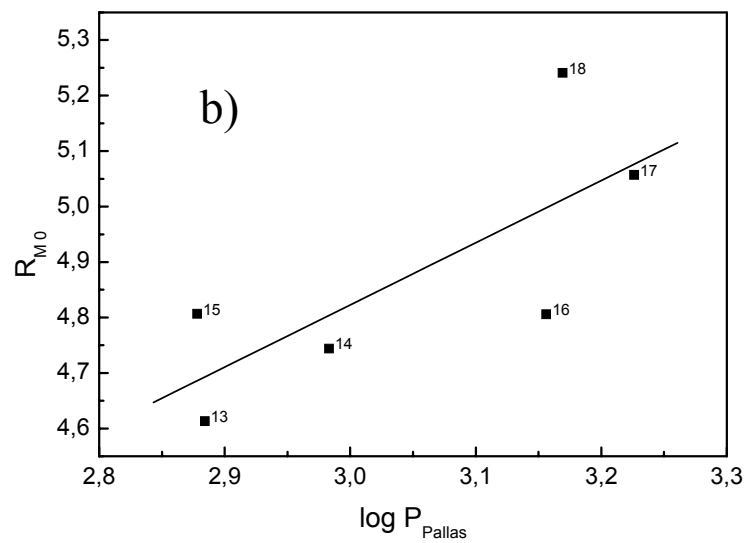
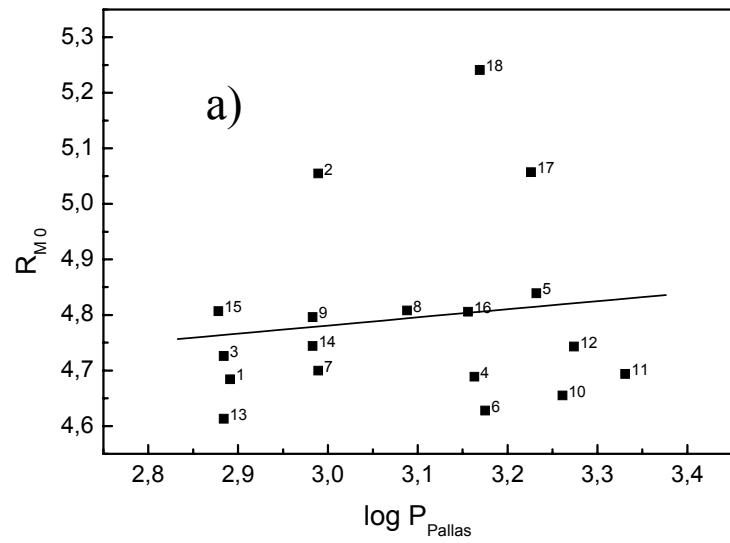
**Rys. 9.** Zależność pomiędzy wartością  $R_M$  i zawartością metanolu w fazie ruchomej dla: a) ■ - związku nr 1, ● - związku nr 7, ▲ - związku nr 13; b) ■ - związku nr 4, ● - związku nr 10, ▲ - związku nr 16.

**Tabela 29.** Porównanie korelacji ( $Y = A + BX$ ) pomiędzy parametrami lipofilowości  $R_{M0}$  i  $\log P_{Pallas}$  oraz stałą Hammetta  $\sigma$ .

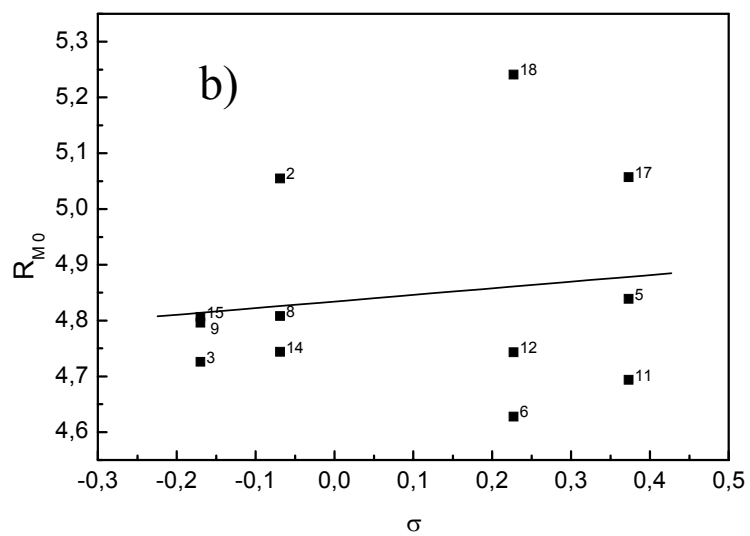
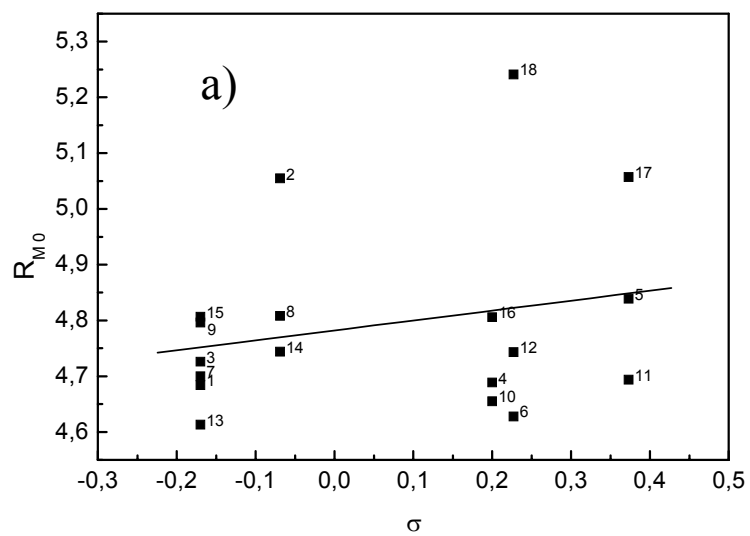
korelowane związki	typ podstawienia	Y	X	A	B	r	s	F	n	nr równania
1-6		$R_{M0}$	$\log P_{Pallas}$	5,049 ( $\pm 1,550$ )	-0,091 ( $\pm 0,507$ )	0,090	0,174	0,03*	6	139
7-12				5,383 ( $\pm 0,531$ )	-0,206 ( $\pm 0,168$ )	0,522	0,058	2*	6	140
13-18				1,460 ( $\pm 1,500$ )	1,121 ( $\pm 0,491$ )	0,752	0,169	5*	6	141
1-18				4,342 ( $\pm 0,835$ )	0,146 ( $\pm 0,270$ )	0,134	0,170	0,3*	18	142
1-18	orto, meta, para	$R_{M0}$	$\sigma$	4,782 ( $\pm 0,041$ )	0,178 ( $\pm 0,186$ )	0,232	0,167	1*	18	143
1, 4, 7, 10, 13, 16	orto			4,689 ( $\pm 0,027$ )	0,138 ( $\pm 0,143$ )	0,434	0,065	1*	6	144
2, 3, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 17, 18	meta, para			4,834 ( $\pm 0,058$ )	0,119 ( $\pm 0,246$ )	0,151	0,186	0,2*	12	145

\* korelacja, która nie jest istotna statystycznie przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  (wartość  $p \geq 0,05$ )





**Rys.10.** Zależność parametru  $R_{M0}$  w funkcji  $\log P_{Pallas}$  dla związków: a) nr 1-18; b) nr 13-18.



**Rys.11.** Zależność parametru  $R_{M0}$  w funkcji stałej podstawnikowej  $\sigma$  dla typu podstawienia: a) orto, meta, para; b) meta, para.

## 6. Dyskusja Wyników

### 6.1. *N*-alkilowe pochodne 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny

Zależność wartości  $R_M$  od stężenia metanolu w fazie ruchomej dla wszystkich badanych związków jest liniowa (Tabela 4, Rys. 1.). Współczynniki korelacji są wyższe niż 0,99 poza kilkoma wyjątkami (związki 2, 9, 16, 21 i 29), ale nie niższe niż 0,96.

Porównując wartości parametru  $R_{M0}$  można wysnuć następujące wnioski:

- wzrost rozgałęzienia podstawnika w ugrupowaniu amidowym powoduje podwyższenie lipofilowości (związki: 1, 3, 5 dla serii A oraz 11, 13, 15 dla serii B; za wyjątkiem związku 1),
- powiększenie pierścienia podstawnika w ugrupowaniu amidowym skutkuje większą lipofilowością (związki: 2, 4, 6, 7 dla serii A, 12, 14, 16, 17 dla serii B oraz 22, 23, 25, 26 dla serii C; za wyjątkiem związku 16),
- zwiększenie cykliczności tegoż podstawnika powoduje podwyższenie lipofilowości związku w stosunku do związku z podstawnikiem monocyklicznym i acyklicznym (związki: 8, 9, 10 dla serii A, 18, 19, 20 dla serii B, oraz 27, 28, 29 dla serii C w porównaniu do pozostałych związków),

Analizując wartości parametru  $R_{M0}$  otrzymanych dla związków z danym rodzajem podstawnika w ugrupowaniu amidowym dla poszczególnych serii (A, B, C), można stwierdzić, że najbardziej lipofilowe są pochodne dla serii C (czyli z najdłuższym łańcuchem węglowodorowym pomiędzy układem tetrahydroizochinoliny a grupą amidową), najmniej lipofilowe zaś dla serii A. Wyjątkiem od tej prawidłowości są związki: 1, 5 (lub 15), 16, 8 (lub 18) i 28. Odstępstwa te mogą być przypisane, z jednej strony, niedokładności w wyznaczeniu wartości  $R_F$ , a z drugiej strony temu, że parametr  $R_{M0}$  otrzymywany jest na drodze ekstrapolacji i ma wartość jedynie szacunkową.

Wartości parametru  $R_{M0}$  zbliżają się do liniowej zależności z obliczonymi teoretycznie wartościami  $\log P$  dla wszystkich związków (Tabela 5, równanie 13, 14). Korelacje poprawiają się po odrzuceniu związków z podstawnikami metylowymi (Tabela 5, równanie 13a, 14a). Korelacje dla poszczególnych serii związków są wyższe i poprawiają się znacząco po odrzuceniu jednego związku (Tabela 5, np. równanie 15 i 15a, 16 i 16a). Najwyższe współczynniki korelacji i najwyższą wartość testu F uzyskano dla wartości  $\log P$  wyliczonych przy pomocy programu Pallas.

Korelacje pomiędzy wartościami  $R_{M0}$  i powinowactwem badanych związków do receptorów 5-HT<sub>1A</sub> wyrażonym poprzez ujemny logarytm stałej wiązania ( $K_i$ ) są znaczące, szczególnie dla związków z łańcuchem dwu- i trzywęglowym i poprawiają się po wykluczeniu pojedynczych związków (Tabela 5, równanie 22 i 22a, 23 i 23a). Dla związków z łańcuchem czterowęglowym korelacja ta jest gorsza (Tabela 5, równanie 24).

Pewne odstępstwa korelacji od liniowości mogą być przypisane, z jednej strony, niedokładności w wyznaczeniu wartości  $R_F$ , a z drugiej strony wpływem innych czynników obok lipofilowości na powinowactwo badanych związków do receptorów 5-HT<sub>1A</sub>.

Najlepszą korelację wartości  $pK_i$  z wartościami  $\log P$  uzyskano dla związków z serii B i dla  $\log P$  obliczonych przy pomocy programu Pallas (Tabela 5, równanie 27).

## 6.2. *N*-(2-etylobutyrylo)-*N'*-podstawne pochodne biuretu

Zależność wartości  $R_M$  od stężenia metanolu w fazie ruchomej dla wszystkich badanych związków jest liniowa (Tabela 8, Rys. 3.). Współczynniki korelacji są wyższe niż 0,99. Wyjątek stanowi związek 3, dla którego otrzymano nieco niższą wartość współczynnika korelacji (0,986).

Porównując otrzymane wartości parametru  $R_{M0}$  stwierdzono, że:

- najbardziej lipofilowymi właściwościami charakteryzuje się związek 8, mający w końcowym ugrupowaniu amidowym pierścień cykloheksylowy,

- najmniej lipofilowy jest związek 3, co związane jest z wprowadzeniem polarnej grupy COOH do łańcucha węglowodorowego w końcowym ugrupowaniu amidowym,
- obecność pierścienia benzenowego skutkuje znacznym wzrostem lipofilowości związku (związki 2, 1, 4, 5 w porównaniu ze związkiem 9),
- wzrost długości łańcucha węglowodorowego (związki 9, 7 oraz 1, 4, 5 – traktując wprowadzenie pierścienia benzenowego jako wydłużenie łańcucha) oraz jego rozgałęzienie (związki 1, 5) powodują również podwyższenie lipofilowości,
- wprowadzenie drugiego podstawnika do końcowego ugrupowania amidowego (związki 6, 10 w porównaniu ze związkiem 9) powoduje wzrost lipofilowości związku, aczkolwiek nie tak duży jak powodował to pierścień benzenowy, czy wydłużenie łańcucha węglowodorowego.

Zależność parametru  $R_{M0}$  w funkcji teoretycznie obliczonych wartości  $\log P$  jest liniowa (Tabela 10, Rys. 4). Wyższy współczynnik korelacji i wartość testu F uzyskano dla wartości  $\log P$  wyliczonych przy pomocy programu Pallas (Tabela 10, równania 33, 34). Gorsze korelacje otrzymano przy porównaniu  $R_{M0}$  z parametrami strukturalnymi - indeksem wiązalności molekularnej  ${}^1\chi^v$  i parametrem objętości cząsteczki  $V_w$  (Tabela 10, równania 35 – 40), pomimo tego, że korelowany parametr lipofilowości jest zależny od budowy cząsteczki. Korelacja z indeksem wiązalności molekularnej  ${}^1\chi^v$  poprawia się po odrzuceniu związku 3.

### 6.3. Pochodne kwasu barbiturowego

#### 6.3.1. 5,5-dipodstawne pochodne kwasu barbiturowego

Zależność wartości  $R_M$  od stężenia metanolu w fazie ruchomej dla wszystkich badanych związków jest liniowa (Tabela 14, Rys. 5.). Otrzymane wartości  $R_{M0}$  dla obu stosowanych układów rozwijających (metanol:woda i metanol:bufor boranowy o  $\text{pH} =$

8,35) pozostają w liniowej zależności (Tabela 16, równanie 41).

Badane pochodne kwasu barbiturowego wykazują wyższe wartości parametru lipofilowości  $R_{M0}$  dla układu rozwijającego metanol:bufor boranowy o  $pH = 8,35$ . W obu układach rozwijających te same związki charakteryzują się najwyższą (związek 7) i najniższą lipofilowością (związek 1). Dla pozostałych związków kolejność nieznacznie się zmienia (związki 5 i 9, 12 i 13, 3 i 6). Różnice wartości  $R_{M0}$  dla tych związków w układzie metanol:bufor są na tyle niewielkie (zwłaszcza dla związków 5 i 9, 12 i 13), że można to przypisać błędowi przy wyznaczaniu wartości parametru  $R_F$ .

Porównując otrzymane wartości parametru  $R_{M0}$  stwierdzono, że:

- wzrost długości łańcucha węglowodorowego oraz jego rozgałęzienie powodują podwyższenie lipofilowości (związki 1, 5, 2, 3, 6, 4, 7 oraz 10, 12, 11),
- wprowadzenie nasyconego cyklicznego podstawnika znacznie podwyższa lipofilowość w porównaniu z podstawnikiem aromatycznym i cyklicznym nienasyconym (związki 9, 13, 8).

Wartości parametru  $R_{M0}$  dla obu układów rozwijających wykazują liniową zależność z obliczonymi teoretycznie i znalezionymi w literaturze wartościami  $\log P$  (Tabela 16, równania 42-44 oraz 46-48) oraz z wartościami parametru retencji  $\log k_{IAM}$  (Tabela 16, równania 45 i 49). Korelacje te są nieznacznie lepsze dla układu metanol:woda. Wyższe wartości współczynników korelacji i testu F uzyskano dla wartości  $\log P$  wyliczonych przy pomocy programu CAChe. Nieznacznie niższe korelacje uzyskano porównując  $R_{M0}$  z  $\log k_{IAM}$ , aczkolwiek są one również znaczące. Najniższe korelacje uzyskano dla wartości  $\log P$  znalezionych w literaturze (Tabela 16, równania 44 i 48).

Zależności pomiędzy  $\log k_{IAM}$ ,  $\log P_{Pallas}$ ,  $\log P_{CAChe}$  i  $\log P_1$  (Tabela 16, równania 50-54) są liniowe. Najniższy współczynnik korelacji uzyskano przy porównaniu  $\log k_{IAM}$  i  $\log P_1$ .

Parametry  $R_{M0}$  (otrzymane dla obu układów rozwijających),  $\log k_{IAM}$ ,  $\log P_{Pallas}$ ,  $\log P_{CAChe}$  i  $\log P_1$  korelują zupełnie dobrze z wybranymi biologicznymi właściwościami badanych barbituranów (dane dotyczące biologicznych właściwości – Tabela 20, numeracja związków – Tabela 11 i 18), co potwierdza wyniki prac innych autorów o możliwości porównania chromatograficznych parametrów barbituranów z

ich lipofilowością i aktywnością biologiczną (patrz rozdział 3.1.).

Uzyskane wartości parametru  $R_{M0}$  były wykorzystane w pracach [50, 120].

### 6.3.2. Pochodne kwasu barbiturowego badane z wykorzystaniem sztucznych błon biologicznych (IAM)

Korelacja  $\log k_{IAM}$ ,  $\log P_{Pallas}$  i  $\log P_{CACHe}$  dla 5,5-dipodstawionych barbituranów (Tabela 19, związki 1-19, równania 73, 74) pogarsza się po dodaniu *N*-metylo- i *N*, *N'*-dimetylopodstawionych związków (równania 75, 77 i 76, 78). Wyższe współczynniki korelacji i najwyższe wartości testu F uzyskano dla wartości  $\log P$  wyliczonych przy pomocy programu CACHe. Najniższą korelację uzyskano przy użyciu wartości  $\log P_1$  (Tabela 19, równanie 83 w porównaniu z równaniem 73 i 74).

Dla pochodnych *N*-metylowych i *N*, *N'*-dimetylowych korelacje te okazały się lepsze z wartościami  $\log P$  wyliczonymi przy pomocy programu Pallas (Tabela 19, równania 79, 81 i 80, 82).

Korelacja fizykochemicznych i biologicznych właściwości wybranych barbituranów z wartościami  $\log k_{IAM}$ ,  $\log P_1$ ,  $\log P_{Pallas}$  i  $\log P_{CACHe}$  (Tabela 21) pokazuje, że wartości parametru  $\log k$  otrzymane przy zastosowaniu sztucznej błony biologicznej są porównywalne z wartościami  $\log P$  i często dają lepsze korelacje z danymi fizykochemicznymi i aktywnością biologiczną.

Znacząca wydaje się korelacja wartości  $\log k_{IAM}$  z hamowaniem przez pochodne kwasu barbiturowego zużycia tlenu w mózgu szczurów (Tabela 21, równanie 90). Zaobserwowane różnice w tej korelacji pomiędzy  $\log k_{IAM}$  a parametrami  $\log P_1$ ,  $\log P_{Pallas}$  i  $\log P_{CACHe}$  (Tabela 21, równania 91, 92, 93 w stosunku do równania 90) mogłyby sugerować, że wartości  $\log k_{IAM}$  szczególnie nadają się do przewidywania bioaktywności leków zależnej od ich zdolności do przenikania bariery krew - mózg. Pomimo tego, że Salminen [21] i Ducarme [22] podkreślili szczególną użyteczność faz stacjonarnych ze sztuczną błoną biologiczną IAM przy modelowaniu przenikania leku przez barierę mózg- krew, nie można tej metody przyjąć za

decydującą w odniesieniu do omawianej korelacji z powodu zbyt małej liczby rozpatrywanych barbituranów. Potwierdzają to też wyniki uzyskane przy korelacji w rozdziale 5.3.1 – Tabela 17, równania 61-66, gdzie przy mniejszej liczbie barbituranów, różnice w korelacji dla poszczególnych parametrów lipofilowości nie są aż tak znaczne.

Korelacja  $\log k_{IAM}$  oraz  $\log P_1$ ,  $\log P_{Pallas}$  i  $\log P_{CACHe}$  z różnymi, eksperymentalnie wyznaczonymi współczynnikami podziału jest wysoka (Tabela 21, równania 106 – 113).

Dobrą korelację otrzymano również pomiędzy  $\log k_{IAM}$ ,  $\log P_1$ ,  $\log P_{Pallas}$ ,  $\log P_{CACHe}$  i wartością parametru  $R_{m0}$ , uzyskanego w podziałowej chromatografii cienkowarstwowej (Tabela 21, równania 114 – 117). Korelacja pomiędzy  $\log k_{IAM}$ ,  $\log P_1$ ,  $\log P_{Pallas}$ ,  $\log P_{CACHe}$  i wartościami  $\log k_0$  uzyskanymi w chromatografii HPLC jest bardzo niska (Tabela 21, równania 122 – 125). Może to być spowodowane specyficznymi właściwościami adsorpcyjnymi fazy stacjonarnej, a co za tym idzie, mechanizm podziału nie jest decydujący dla retencji w tym układzie.

Wszystkie parametry lipofilowości ( $\log k_{IAM}$ ,  $\log P_1$ ,  $\log P_{Pallas}$ ,  $\log P_{CACHe}$ ) korelują się zupełnie dobrze z parametrem rozpuszczalności (Tabela 21, równania 118 – 121). Być może jest to wynikiem bliskiego podobieństwa strukturalnego danej grupy barbituranów, dla których były dostępne dane dotyczące rozpuszczalności.

### 6.3.3. *Pochodne kwasu 1,3-dimetylo-5-arylidenobarbiturowego i 5-arylidenobarbiturowego*

Wyznaczone wartości parametru  $R_M$  zachowują liniową zależność od stężenia metanolu w fazie ruchomej dla wszystkich badanych związków (Tabela 23, Rys 6).

Wprowadzenie grup metylowych na atomy azotu pierścienia kwasu barbiturowego skutkuje zwiększeniem lipofilowości cząsteczki związku. Obrazują to wyższe wartości parametru  $R_{M0}$  dla związków serii A w porównaniu do ich niepodstawionych analogów z serii B (Tabela 23, wyjątek związek 23, seria B).



Najniższą wartość parametru  $R_{M0}$  mają związki: 4 dla serii A i 24 dla serii B, najwyższą zaś: 3 dla serii A i 8 dla serii B.

Porównując otrzymane wartości parametru  $R_{M0}$  można stwierdzić, że:

- wprowadzenie w położenie 5 pierścienia kwasu barbiturowego (2-naftylo)metylenu (związek 8) zamiast ugrupowania benzylidenu powoduje znaczne podwyższenie wartości parametru  $R_{M0}$  (związki 1, 7, 8),
- pochodne z grupą nitrową (związki 24, 25), będącą podstawnikiem polarnym i silnie elektronoakceptorowym charakteryzują się najniższą lipofilowością,
- wprowadzenie drugiego podstawnika metylowego zwiększa lipofilowość związku (związki 7, 9, 10),
- podstawnik w położeniu orto w ugrupowaniu benzylidenu zwiększa wartość parametru  $R_{M0}$  (związki: 20, 21, 22; 11, 12 i 15, 16, 17, 18); odstępstwem od tego są związki nr 13 i 14 (podstawnik: 2'-OCH<sub>3</sub> i 4'-OCH<sub>3</sub>) oraz nr 24 i 25 (podstawnik: 2'-NO<sub>2</sub> i 4'-NO<sub>2</sub>), gdzie podstawienie w pozycję para powoduje podwyższenie wartości parametru  $R_{M0}$ , co może być spowodowane efektem rezonansowym i sterycznym wywieranym przez dany podstawnik,
- porównując związki z takimi samymi podstawnikami: 15 (podstawniki: 2'-OCH<sub>3</sub> i 4'-OCH<sub>3</sub>), 17 (podstawniki: 2'-OCH<sub>3</sub> i 5'-OCH<sub>3</sub>) i 18 (podstawniki: 2'-OCH<sub>3</sub> i 3'-OCH<sub>3</sub>) daje się zauważyć wpływ efektu rezonansowego podstawnika w położeniu para, powodującego wzrost lipofilowości związku, jednakże biorąc pod uwagę jeszcze związek 16 (podstawniki: 3'-OCH<sub>3</sub> i 4'-OCH<sub>3</sub>) wpływ ten nie jest tak duży, jaki daje podstawienie w położenie orto (związki 16, 17, 18 w porównaniu ze związkiem 15),
- porównując związki: 16 (podstawniki: 3'-OCH<sub>3</sub> i 4'-OCH<sub>3</sub>) i 19 (podstawniki: 3'-OCH<sub>3</sub> i 4'-OH) daje się zauważyć paradoksalnie silniejszy wpływ grupy -OH powodujący podwyższenie lipofilowości związku. Efekt ten najprawdopodobniej spowodowany możliwością tworzenia wiązań wodorowych przez grupę -OH i asocjacji cząsteczek związku, co w rezultacie może zawyżać uzyskiwaną wartość lipofilowości.

Zależność parametru  $R_{M0}$  od  $\log P_{Pallas}$  i  $\log P_{CACh}$  wykazuje charakter liniowy,

aczkolwiek współczynniki korelacji nie są wysokie (Tabela 25, równania 126, 127; 129, 130 i 134, 135; Rys. 7). Korelacja poprawia się po odrzuceniu związku nr 3. Przyczyną tak niskiej korelacji może być fakt, że oba programy obliczające wartości  $\log P$  (zwłaszcza CAChe) nie uwzględniają struktury przestrzennej cząsteczki.

Nie stwierdzono znaczących korelacji pomiędzy  $\Delta R_{M0}$  a stałą podstawnikową  $\sigma$  zarówno dla związków serii A jak i dla związków serii B oraz łącznie dla wszystkich związków (Tabela 25, Rys. 8). Można wnioskować jedynie, że największy wpływ ma efekt steryczny, co uwidoczniło się w wypadku podstawienia *orto* w badanych pochodnych (Tabela 25, równania 132, 137).

#### 6.4. Pochodne 2-tiohydantoiny

Wyznaczone wartości parametru  $R_M$  zachowują liniową zależność od stężenia metanolu w fazie ruchomej dla wszystkich badanych związków (Tabela 28, Rys. 9). Najwyższą wartość parametru  $R_{M0}$  wśród badanych pochodnych 2-tiohydantoiny ma związek 18, najniższą związek 13. W obrębie poszczególnych serii najwyższe wartości lipofilowości wykazują związki posiadające w ugrupowaniu benzyliidenowym podstawniki:

- seria 3-*o*-tolilo- : 3'-metylo-, związek 2,
- seria 3-*m*-tolilo- : 3'-metylo-, związek 8,
- seria 3-*p*-tolilo- : 4'-chloro-, związek 18.

Wartości parametru  $R_{M0}$  badanych pochodnych są zbliżone (Tabela 28). Powodem tego jest mała różnica w budowie badanych związków – rodzaj podstawnika ( $\text{CH}_3$ - i Cl-) i miejsce jego położenia w ugrupowaniu benzyliidenowym (2', 3' i 4'), co w rezultacie w niewielkim stopniu wpływa na wartość lipofilowości.

Korelacja wartości  $R_{M0}$  od  $\log P$  jest bardzo niska (Tabela 29, równania 139 – 142). Liniowej zależności  $R_{M0}$  od  $\log P$  można się dopatrywać jedynie dla serii 3-*p*-tolilo- (Tabela 29, równanie 141, Rys. 10). Wy tłumaczeniem może być fakt, że program obliczający wartości  $\log P$  nie uwzględnia w dostatecznym stopniu izomerów

konstytucyjnych badanych pochodnych. Odzwierciedleniem tego są niewielkie różnice w obliczonych wartościach  $\log P$  (Tabela 26).

Nie stwierdzono wpływów elektronowych podstawników na uzyskane wartości parametru  $R_{M0}$  poprzez zastosowanie do korelacji stałych podstawnikowych typu Hammetta (Tabela 29, równania 143 –145, Rys. 11).

## 6.5. Podsumowanie

Przeprowadzone badania parametru retencji w chromatografii cienkowarstwowej z odwróconymi fazami potwierdziły jego przydatność do szacowania lipofilowości badanych serii związków organicznych o spodziewanej i stwierdzonej aktywności biologicznej. Korelacje tego parametru z innymi parametrami szacującymi lipofilowość oraz niektórymi właściwościami badanych związków, w tym także aktywnością biologiczną, pozwalają na wysnucie wniosku, że metoda RP-TLC daje wyniki porównywalne, a niekiedy lepsze od innych parametrów stosowanych do oznaczeń lipofilowości. Tym niemniej, analiza korelacyjna wykazała także pewne ograniczenia tej metody, związane z upraszczającymi założeniami oraz wpływem dodatkowych uwarunkowań strukturalnych na proces retencji chromatografowanych substancji.

## 7. STRESZCZENIE

W pracy przedstawiono wyniki badań lipofilowości następujących grup związków:

- *N*-alkilowych pochodnych 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny,
- *N*-(2-etylobutyrylo)-*N'*-podstawnych pochodnych biuretu,
- 5,5-dipodstawnych pochodnych kwasu barbiturowego,
- pochodnych kwasu 1,3-dimetylo-5-arylidenobarbiturowego i 5-arylidenobarbiturowego,
- pochodnych 2-tiohydantoiny

metodą chromatografii cienkowarstwowej z odwróconymi fazami.

Fazę ruchomą stanowiły mieszaniny metanolu i wody w różnych stosunkach objętościowych dla wszystkich badanych pochodnych. Dla pochodnych 5,5-dipodstawnych kwasu barbiturowego oprócz fazy ruchomej metanol:woda stosowano również fazę ruchomą metanol:bufor boranowy Batesa-Bowera o pH = 8,35.

Opierając się na liniowej zależności  $R_M$  od stężenia metanolu w fazie ruchomej dla wszystkich badanych związków wyznaczono wartości parametru  $R_{M0}$  poprzez ekstrapolację do zerowej zawartości metanolu w fazie ruchomej. Dla wszystkich badanych związków zależność  $R_M$  w funkcji stężenia metanolu w fazie ruchomej była liniowa o dosyć wysokich współczynnikach korelacji.

Otrzymane wartości chromatograficznego parametru lipofilowości  $R_{M0}$  analizowano w oparciu o budowę związków, uwzględniając takie elementy jak: długość łańcucha węglowego, rodzaj podstawnika i jego miejsce podstawienia w pierścieniu, polarność podstawnika, ewentualne wpływy elektronowe.

Otrzymane wartości  $R_{M0}$  były następnie korelowane z logarytmami współczynnika podziału obliczonymi teoretycznie –  $\log P_{Pallas}$ ,  $\log P_{CACHe}$ , otrzymując liniowe zależności w większości przypadków o dosyć zadowalających współczynnikach korelacji.

W przypadku pochodnych 2-tiohydantoiny korelacja  $R_{M0}$  i  $\log P$  była bardzo

niska (korelacje przeprowadzono tylko z log P wyliczonym przy pomocy programu Pallas). Powodem tego jest bardzo mała różnica w budowie badanych związków.

Wy tłumaczeniem gorszych korelacji  $R_{M0}$  i log P może być fakt, że oba programy, Pallas i CAChe, obliczające wartości log P nie uwzględniają struktury przestrzennej cząsteczki (zwłaszcza CAChe), która ma jednak znaczenie jeśli chodzi o lipofilowość związku.

Dla *N*-alkilowych pochodnych 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny wartości  $R_{M0}$  porównano z powinowactwem badanych związków do serotoninowych receptorów 5-HT<sub>1A</sub> wyrażonym poprzez ujemny logarytm ze stałych wiązania  $K_i$ . Wartości  $pK_i$  porównano również z logarytmami współczynnika podziału obliczonymi teoretycznie, otrzymując w obu przypadkach zależności o charakterze liniowym.

Wartości  $R_{M0}$  dla pochodnych biuretu porównano z dostępnymi w literaturze indeksami wiązalności molekularnej  $^1\chi^v$  i parametrami objętości cząsteczki  $V_w$ . Pomimo tego, że korelowany parametr lipofilowości jest zależny od budowy cząsteczki, nie stwierdzono znaczących korelacji pomiędzy  $R_{M0}$  a wyżej wymienionymi parametrami.

Dla 5,5-dipodstawnych pochodnych kwasu barbiturowego wartości parametru  $R_{M0}$  porównano z wartościami parametru retencji log  $k_{IAM}$  oraz ze znalezionymi w literaturze wartościami log  $P_1$ . Parametry te wraz z teoretycznie obliczonymi log  $P_{Pallas}$  i log  $P_{CAChe}$  skorelowano z wybranymi biologicznymi właściwościami badanych barbituranów, stwierdzając zupełnie dobrą korelację. Gorsze korelacje otrzymano porównując  $R_{M0}$  z log  $k_{IAM}$  i log  $P_1$ .

Dla szerszej grupy barbituranów przeprowadzono korelacje log  $k_{IAM}$ , log  $P_{Pallas}$ , log  $P_{CAChe}$  i log  $P_1$  między sobą oraz z fizykochemicznymi i biologicznymi właściwościami wybranych barbituranów. O ile wyniki korelacji parametrów lipofilowości log  $k_{IAM}$ , log  $P_{Pallas}$ , log  $P_{CAChe}$  i log  $P_1$  były niezbyt wysokie i uzależnione od typu podstawienia kwasu barbiturowego, to korelacja fizykochemicznych i biologicznych właściwości z tymi parametrami lipofilowości pokazuje, że wartości parametru log  $k$  otrzymane przy zastosowaniu sztucznej błony biologicznej są porównywalne z wartościami log P i często dają lepsze korelacje z danymi fizykochemicznymi i aktywnością biologiczną.

Dla pochodnych kwasu 1,3-dimetylo-5-arylidenobarbiturowego i 5-arylidenobarbiturowego oraz ylidenowych pochodnych 2-tiohydantoiny przeprowadzono korelacje wartości parametru  $R_{M0}$  ze stałą podstawnikową  $\sigma$  według równania typu Hammetta. Dla pochodnych 2-tiohydantoiny, z uwagi na brak związku niepodstawionego w obrębie ugrupowania benzylidenu, do powyższego równania wzięto wartości  $R_{M0}$  poszczególnych pochodnych.

Nie stwierdzono znaczących korelacji pomiędzy  $\Delta R_{M0}$  a stałą podstawnikową  $\sigma$  dla pochodnych kwasu barbiturowego. Można było jedynie wnioskować, że największy wpływ ma efekt steryczny, co uwidoczniło się w wypadku podstawienia *orto* w badanych pochodnych. Dla pochodnych 2-tiohydantoiny nie stwierdzono wpływów elektronowych podstawników na uzyskane wartości parametru  $R_{M0}$  poprzez zastosowanie do korelacji stałych podstawnikowych typu Hammetta.

## 8. LITERATURA

1. V. Pliška, B. Testa, H. Van de Waterbeemd, Eds.; Lipophilicity in Drug Action and Toxicology; VCH: Weinheim, 1996.
2. G. L. Biagi, M. Recanatini, A. M. Barbaro, P. A. Borea, *Process Control Qual.*, **10**, 129 (1997).
3. A. Nasal, D. Siluk, R. Kaliszan, *Curr. Med. Chem.*, **10**, 381 (2003).
4. J. Shorter, *Analiza korelacyjna w chemii organicznej*, PWN, Warszawa, 1998.
5. L. P. Hammett, *Fizyczna chemia organiczna*, PWN, Warszawa, 1976.
6. P. Sharma, S. Sharma, N. Rane, *Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 3135 (2004).
7. L. C. Tavares, A. Tavares do Amaral, *Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 1377 (2004).
8. J. L. Mokrosz, L. Ekiert, *Chromatographia*, **18**, 401 (1984).
9. R. F. Rekker, *J. Chromatogr.*, **300**, 109 (1984).
10. R. Mannhold, R. F. Rekker, K. Dross, G. Bijloo and G. de Vries, *Quant. Struct.-Act. Relat.*, **17**, 517 (1998).
11. G. Matysik, *Problemy optymalizacji chromatografii cienkowarstwowej*, Akademia Medyczna w Lublinie, Lublin 1997.
12. Z. Witkiewicz, *Podstawy chromatografii*, WNT, Warszawa, 1995.
13. K. Dross, C. Sonntag, R. Mannhold, *J. Chromatogr. A*, **673**, 113 (1994).
14. Z. Grodzińska-Zachwieja, J. Bojarski, *Farmacja Polska*, XXXVII, 9, (1981).
15. G. L. Biagi, A. M. Barbaro, A. Saponi, *J. Chromatogr. A*, **662**, 341 (1994).
16. C. Pidgeon, U. V. Venkatarum, *Anal. Biochem.*, **176**, 36 (1989).
17. C. Pidgeon, S. Ong, H. Liu, X. Qiu, M. Pidgeon, A. H. Dantzig, J. Munroe, W. J. Hornback, J. S. Kasher, L. Glunz, T. Szczerba, *J. Med. Chem.*, **38**, 590 (1995).
18. R. Kaliszan, A. Kaliszan, I. W. Wainer, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **11**, 505 (1993).
19. R. Kaliszan, A. Nasal, A. Buciński, *Eur. J. Med. Chem.*, **29**, 163 (1994).
20. F. Barbato, M. La Rotonda, F. Quaglia, *J. Pharm. Sci.*, **86**, 225 (1997).
21. T. Salminen, A. Pulli, J. Taskinen, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **15**, 470 (1997).
22. A. Ducarme, M. Neuwels, S. Goldstein, R. Massingham, *Eur. J. Med. Chem.*, **33**,

- 215 (1998).
23. D. K. Lloyd, A.-F. Aubry, E. De Lorenzi, *J. Chromatogr. A*, **792**, 349 (1997).
  24. K. Valkó, M. Plass, C. Bevan, D. Reynolds, M. H. Abraham, *J. Chromatogr. A*, **797**, 41 (1998).
  25. J. A. Massucci, G. W. Caldwell, J. P. Foley, *J. Chromatogr. A*, **810**, 95 (1998).
  26. G. W. Caldwell, J. A. Masucci, M. Evangelisto, R. White, *J. Chromatogr. A*, **800**, 161 (1998).
  27. F. Pehourcq, C. Jarry, B. Bannwarth, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **33**, 137 (2003).
  28. T. Braumann, *J. Chromatogr.*, **373**, 191 (1986).
  29. A. Pyka, M. Miszczyk, *Chromatographia*, **61**, 37 (2005).
  30. C. Sârbu, D. Casoni, M. Darabantu, C. Maioreanu, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **35**, 213 (2004).
  31. K. Mazák, J. Vámos, A. Nemes, Á. Rácz, B. Noszál, *J. Chromatogr. A*, **996**, 195 (2003).
  32. S. Boryczka, K. Kulig, B. Malawska, *J. Planar Chromatogr.*, **16**, 117 (2003).
  33. K. Kulig, B. Malawska, *Biomed. Chromatogr.*, **17**, 318 (2003).
  34. T. Sławik, C. Kowalski, *J. Chromatogr. A*, **952**, 295 (2002).
  35. C. Sârbu, B. Malawska, *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.*, **23**, 2143 (2000).
  36. S. A. Teijeiro, G. N. Moroni, M. I. Motura, M. C. Briñón, *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.*, **23**, 855 (2000).
  37. B. Malawska, K. Kulig, M. Wiśniewska, *J. Planar Chromatogr.*, **13**, 187 (2000).
  38. G. Cimpan, M. Hadaruga, V. Miclaus, *J. Chromatogr. A*, **869**, 49 (2000).
  39. Q. S. Wang, L. Zhang, *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.*, **22**, 1 (1999).
  40. L. Ekiert, J. Bojarski, J. L. Mokrosz, *Wiadomości Chemiczne*, **40**, 65 (1986).
  41. E. Estrada, E. Uriarte, *Curr. Med. Chem.*, **8**, 1573 (2001).
  42. A. Pyka, *Topological Indices, Use in HPLC*; w: J. Cazes, Eds.; Encyclopedia of Chromatography, Marcel Dekker, Inc. New York, 2005.
  43. A. Niestrój, A. Pyka, J. Klupsch, J. Śliwiok, *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.*, **27**, 2449 (2004).
  44. A. Pyka, K. Bober, *J. Planar Chromatogr.*, **15**, 59 (2002).
  45. A. Niestrój, A. Pyka, J. Śliwiok, *J. Planar Chromatogr.*, **15**, 177 (2002).



46. A. Pyka, *J. Planar Chromatogr.*, **14**, 152 (2001).
47. J. Dai, S. You, Y. Ding, L. Wang, *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.*, **22**, 2271 (1999).
48. M. J. M. Wells, C. R. Clark, R. M. Patterson, *J. Chromatogr. Sci.*, **19**, 573 (1981).
49. J. Bojarski, L. Ekiert, *Chromatographia*, **15**, 172 (1982).
50. A. Pyka, E. Kępczyńska, J. Bojarski, *Indian J. Chem.*, **42A**, 1405 (2003).
51. I. Moriguchi, Y. Kanada, K. Komatsu, *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 1799 (1976).
52. Z. Chilmończyk, H. Ksycińska, J. Cybulski, A. Woźniakowska-Szelejewska, *Pharmazie*, **51**, 12 (1996).
53. A. J. Bojarski, M. J. Mokrosz, *Pharmazie*, **54**, 828 (1999).
54. L. Ekiert, J. Bojarski, *J. Planar Chromatogr.*, **2**, 447 (1989).
55. M. J. Mokrosz, A. J. Bojarski, B. Duszyńska, E. Tatarczyńska, A. Kłodzińska, A. Dereń-Wesołek, S. Charakchieva-Minol, E. Chojnacka-Wójcik, *Bioorg. Med. Chem.*, **7**, 287 (1999).
56. G. L. Biagi, A. M. Barbaro, A. Sapone, P. A. Borea, K. Varani, M. Recanatini, *J. Chromatogr. A*, **723**, 135 (1996).
57. R. A. Glennon, M. K. Daoud, M. Dukat, M. Teitler, K. Herrick-Davis, A. Purohit, H. Syed, *Bioorg. Med. Chem.*, **11**, 4449 (2003).
58. F. Kurzel, *Chem. Rev.*, **56**, 95 (1956).
59. A. J. Eid, F. A. Ragab, H. Nour El-Din, *Bull. Fac. Pharm. Cairo Univ.*, **14**, 39 (1975); *Chem. Abstr.*, **88**, 22323 (1978).
60. M. Kajitani, T. Yamazaki, S. Yamada, M. Tanaka, K. Ogawa, T. Honna, H. Miyake, T. Yabuuchi, H. Fujimura, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **323**, 355 (1990).
61. S. N. Pandeya, A. Kumar, B. N. Singh, D. N. Mishra, *Pharm. Res.*, **4**, 321 (1987).
62. O. Yamakita, R. Yoshida, M. Shinomiya, M. Koida, K. Imamura, A. Kashihara, K. Morita, *J. Toxicol. Sci.*, **11**, 71 (1986).
63. M. E. Krahl, *J. Phys. Chem.*, **44**, 449 (1940).
64. *Chemia leków*, pod red. A. Zejca i M. Gorzycy, PZWL, Warszawa 1998.
65. *Farmakodynamika*, pod red. W. Jańca, J. Krupińskiej, PZWL, Warszawa 1995.
66. *Anestezjologia*, pod red. A. Küblera, Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, Wrocław, 1996.

67. S. Rolski, *Chemia środków leczniczych*, PZWL, Warszawa, 1961.
68. Archana, V. K. Srivastava, A. Kumar, *Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 1257 (2004).
69. M. C. Rezende, P. Flores, J. Guerrero, L. Villaroel, *Spectrochim. Acta Part A*, **60**, 1637 (2004).
70. M. C. Rezende, P. Campodonico, E. Abuin, J. Kossanyi, *Spectrochim. Acta Part A*, **57**, 1183 (2001).
71. N. Klonis, N. H. Quazi, L. W. Deady, A. B. Hughes, L. Tilley, *Anal. Biochem.*, **317**, 47 (2003).
72. A. I. Zhvalevskaya, V. M. Vvedenskii, M. V. Korablev, *Zdravookhr. Beloruss.*, **18**, 44 (1972); *Chem. Abstr.*, **77**, 71 044t, 1972.
73. S. S. Tiwari, M. M. Zaidi, R. Agarwal, R. K. Satsangi, *J. Ind. Chem. Soc.*, **57**, 1039 (1980).
74. P. V. Prisyazhnik, G. K. Palii, Yu. L. Volydnskii, A. I. Lopushanskii, E. P. Opanasenko, *Khim.-Farm. Zh.*, **10**, 46 (1976); *Chem. Abstr.*, **85**, 108 607x, 1976.
75. S. S. Tiwari, R. Agarwal, R. K. Satsangi, *Pol. J. Pharmacol. Pharm.*, **33**, 115 (1981).
76. A. Kreutzberger, *Arzneim.-Forsch.*, **28**, 1684 (1978).
77. A. Kreutzberger, E. Kreutzberger, S. Leyke-Roechling, *Arch. Pharm.*, **312**, 115 (1979).
78. N. I. Baram, R. Z. Paizieva, A. I. Ismailov, *Khim.-Farm. Zh.*, **12**, 73 (1978); *Chem. Abstr.*, **89**, 314t, 1978.
79. D. Henry, J. H. Block, J. L. Anderson, G. R. Carlson, *J. Med. Chem.*, **19**, 386 (1976).
80. J. M. Plá-Delfina, J. Moreno, J. Durn, A. Del Pozo, *J. Pharmacokin. Biopharm.*, **3**, 115 (1975).
81. D. A. Brent, J. J. Sabatka, D. J. Minick, D. W. Henry, *J. Med. Chem.*, **26**, 1014 (1983).
82. T. Cserhádi, J. Bojarski, E. Fenyvesi, J. Szetli, *J. Chromatogr.*, **351**, 356 (1986).
83. E. Forgács, T. Cserhádi, *J. Chromatogr. B*, **656**, 233 (1994).
84. M. Cuenca-Benito, S. Sagrado, R. M. Villanueva-Camañas, M. J. Medina-Hernández, *J. Chromatogr. A*, **814**, 121 (1998).

85. P. Jandera, J. Fischer, H. Effenberg, *J. Chromatogr. A*, **807**, 57 (1998).
86. Y. Martin-Biosca, M. Molero-Monfort, S. Sagrado, R. M. Villanueva-Camañas, M. J. Medina-Hernández, *Quant. Struct.-Act. Relat.*, **19**, 247 (2000).
87. M. Molero-Monfort, Y. Martin-Biosca, S. Sagrado, R. M. Villanueva-Camañas, M. J. Medina-Hernández, *J. Chromatogr. A*, **870**, 1 (2000).
88. A. Jakab, G. Schubert, M. Prodan, E. Forgács, *J. Liq. Chromatogr. & Rel. Technol.*, **25**, 1 (2002).
89. S. Suzen, E. Buyukbingol, *Il Farmaco*, **55**, 246 (2000).
90. A. A. Al-Obdail, H.I. El-Subbagh, A. I. Khodair, M. M. A. Elmazar, *Anticancer Drugs*, **7**, 873 (1996).
91. R. L. Hudkins, D. L. DeHaven- Hudkins, R. Doukas, *Bioorg. Med. Chem.Lett.*, **7**, 979 (1997).
92. K. Kieć-Kononowicz, E. Szymańska, M. Motyl, W. Holzer, A. Białecka, A. Kasprowicz, *Pharmazie*, **53**, 680 (1998).
93. E. Szymańska, K. Kieć-Kononowicz, A. Białecka, A. Kasprowicz, *Il Farmaco*, **57**, 39 (2002).
94. E. Szymańska, K. Kieć-Kononowicz, *Il Farmaco*, **57**, 355 (2002).
95. E. H. C. Menezes, A. J. S. Goes, M. B. S. Diu, S. L. Galdino , I. R. Pitta, C. Luu-Duc, *Pharmazie*, **47**, 457 (1992).
96. K. Kieć-Kononowicz, E. Szymańska, *Il Farmaco*, **57**, 909 (2002).
97. E. Szymańska, rozprawa doktorska nt. „Synteza i badania nad aromatycznymi pochodnymi hydantoiny o spodziewanym działaniu przeciwgruźliczym”, Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych, CM UJ, Kraków, 2004.
98. A. A. El-Barbary , A. I. Khodair, E. B. Pedersen, C. Nielsen. *J. Med. Chem.*, **37**, 73 (1994).
99. A. I. Khodair, H. I. El-Subbagh, A. A. El-Eman, *Bull. Soc. Chim. Farm.*, **136**, 561 (1997).
100. M. E. Van Dort, Y.-W. Jung, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**, 5285 (2004).
101. L. Musiał, M. J. Korohoda, *Roczniki Chemii*, **40**, 997 (1966).
102. L. Musiał, M. J. Korohoda, *Roczniki Chemii*, **41**, 1491 (1967).
103. L. Musiał, M. J. Korohoda, A. Szadowska, H. Szmigielska, *Acta Polon. Pharm.*,

XXIX, 573 (1966).

104. M. J. Korohoda, Z. Kleinrok, E. Przegaliński, *Pol. J. Pharmacol. Pharm.*, **28**, 329 (1976).
105. H. J. Bartoń, M. H. Paluchowska, J. L. Mokrosz, E. Szneler, *Synthesis*, **2**, 156 (1987).
106. J. Bojarski, *Roczniki Chemii*, **47**, 1417 (1973).
107. J. Bojarski, J. Mokrosz, M. Klimczak, *Pol. J. Chem.*, **52**, 1457 (1978).
108. *Poradnik fizykochemiczny, Praca zbiorowa*, WNT, Warszawa, 1974.
109. *Pallas 1.2*, CompuDrug Chemistry Ltd., 1995.
110. *CAChe WorkSystem Pro Version 6.1*, Fujitsu Limited, 2000-2003.
111. A. K. Ghose, A. Pritchett, G. M. Crippen, *J. Comp. Chem.*, **9**, 80 (1988).
112. V. N. Viswanadhan, A. K. Ghose, G. N. Revankar, R. K. Robins, *J. Chem. Inform. Comp. Sci.*, **29**, 163 (1989).
113. A. K. Ghose, V. N. Viswanadhan, J. J. Wendoloski, *J. Phys. Chem. A*, **102**, 3762 (1998).
114. R. F. Rekker, H. M. de Kort, *Eur. J. Med. Chem.*, **14**, 479 (1979).
115. R. F. Rekker, R. Mannhold, *Calculation of drug lipophilicity*, VCH, Weinheim, 1992.
116. E. Kępczyńska, J. Bojarski, P. Haber, R. Kaliszan, *Biomed. Chromatogr.*, **14**, 256 (2000).
117. *STATISTICA wersja 5.1*, StatSoft, Inc., USA, 1997.
118. J. Czermiński, A. Iwasiewicz, Z. Paszek, A. Sikorski, *Metody statystyczne w doświadczalnictwie chemicznym*, PWN, Warszawa, 1974.
119. E. Kępczyńska, J. Bojarski, A. J. Bojarski, *Chem. Anal.*, **43**, 575 (1998).
120. E. Kępczyńska, J. Bojarski, A. Pyka, *J. Liq. Chromatogr. & Rel. Technol.*, **26**, 3277 (2003).
121. C. Hansch, S. M. Anderson, *J. Med. Chem.*, **10**, 745 (1967).
122. C. Hansch, A. S. Steward, S. M. Anderson, D. Bentley, *J. Med. Chem.*, **11**, 1 (1968).
123. G. H. A. Clowes, A. K. Keltch, M. E. Krahl, *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **68**, 312 (1940).

124. F. A. Fuhrman, J. Field, *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **77**, 392 (1943).
125. E. H. Volwiler, *J. Am. Chem. Soc.*, **47**, 2236 (1925).
126. H. A. Shonle, A. Moment, *J. Am. Chem. Soc.*, **45**, 243 (1923).
127. D. L. Tabern, E. H. Volwiler, *J. Am. Chem. Soc.*, **56**, 1139 (1934).
128. A. C. Cope, E. M. Hancock, *J. Am. Chem. Soc.*, **61**, 776 (1939).
129. E. W. Maynert, H. B. Van Dyke, *Pharmacol. Rev.*, **1**, 217 (1949).
130. A. Giuditta, G. Di Prisco, *Biochim. Biophys. Acta*, **77**, 394 (1963).
131. R. J. Pranker, R. H. McKeown, *Int. J. Pharm.*, **112**, 1 (1994).
132. L. S. Schanker, *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **126**, 283 (1959).
133. K. Kakemi, T. Arita, R. Hori, R. Konishi, *Chem. Pharm. Bull.*, **15**, 1534 (1967).
134. S. A. Khalil, O. Y. Abdallah, M. A. Moustafa, *Pharm. Acta Helv.*, **58**, 307 (1983).
135. S. A. Khalil, O. Y. Abdallah, M. A. Moustafa, *Can. J. Pharm. Sci.*, **11**, 121 (1976).
136. H. Maskill, *The Physical Basis of Organic Chemistry*, Oxford Science Publications, Oxford-New York, 1990.
137. J. Shorter, *Correlation Analysis in Organic Chemistry: an introduction to linear free-energy relationships*, Oxford, 1973.