

## PŮVODNÍ PRÁCE

**Štúdium lokálnych anestetík: Časť 205\*****Štúdium stability heptakaíniumchloridu a karbizokaíniumchloridu zrýchleným neizotermickým testom****Studies of local anaesthetics: Part 205\*****Studies of stability of heptacainium chloride and carbisocainium chloride using an accelerated non-isothermal test**

Mária Stankovičová • Andrea Lašáková • Veronika Medlenová • Želmíra Bezáková • Jozef Čižmárik

Došlo 27. května 2014 / Přijato: 25. června 2014

**Súhrn**

Práca sa zaoberá štúdiom kinetiky alkalické hydrolyzy a stability za neizotermických podmienok heptakaíniumchloridu a karbizokaíniumchloridu v prostredí vodno-etanového roztoku hydroxidu sodného  $c = 0,1 \text{ mol/l}$  a tmivých roztokov s hodnotami pH 7,0 a pH 8,0. Výsledky štúdia kinetiky hydrolyzy neizotermickým testom – rýchlostné konštanty a hodnoty aktivačnej energie sú podkladom pre exaktné vyhodnotenie stability týchto potenciálnych liečiv. Práca svojím zameraním nadväzuje na predchádzajúce štúdie týchto látok.

**Kľúčové slová:** heptakaíniumchlorid • karbizokaíniumchlorid • stabilita • neizotermická kinetika

**Summary**

The paper studies the kinetics of alkaline hydrolysis and stability under non-isothermal conditions of heptacainium chloride and carbisocainium chloride in the medium of aqueous-ethanolic solution of sodium hydroxide  $c = 0.1 \text{ mol/l}$  and buffer solutions of values of

pH 7.0 and pH 8.0. The results of the study of the kinetics of hydrolysis by means of a non-isothermal test – rate constants and activation energy values served as the basis for exact evaluation of the stability of these potential pharmaceuticals. The objective of the paper links up with the previous studies of these substances.

**Keywords:** heptacainium chloride • carbisocainium chloride • stability • non-isothermal kinetics

**Úvod****Študované látky heptakaíniumchlorid a karbizokaíniumchlorid**

V rámci štúdia stability derivátov kyseliny fenylkarbámovej v práci hodnotíme heptakaíniumchlorid a karbizokaíniumchlorid, potenciálne liečivá s chemickým názvom: 1-2-(2-(heptyloxyfenylkarbamoyloxy))-etylpiiperidíniumchlorid a N-(2-metyl-2-(2-heptyloxyfenylkarbamoyloxy)-etyl)-dietylamóniumchlorid. Látky boli pripravené na Katedre farmaceutickej chémie Farmaceutickej fakulty UK v Bratislave ako potenciálne liečivá, u ktorých bol preukázaný lokáloanestetický a antidysrhythmický účinok<sup>1-4)</sup>, preto boli pre výhodné terapeutické parametre podrobené mnohostrannému výskumu<sup>5-11)</sup>.

Heptakaíniumchlorid bol pripravený v rámci štúdia vplyvu alkoxy substitúcie na lokálne anestetickú účinnosť základných esterov kyseliny fenylkarbámovej. Patrí do homologickej série 30 látok, piperidinoetylésterov kyseliny 2-, 3-, 4-alkoxy (metoxy až decyloxy) fenylkarbámovej<sup>1)</sup>. Podrobné farmakologické testy ukázali, že táto látka je 100-krát účinnejšia pri povrchovej anestézii ako kokaín a 171-krát účinnejšia pri infiltračnej anestézii ako štandard prokaín, pri toxicite 500 mg/kg. Výhodné farmakologické parametre heptakaínu boli dôvodom pre jeho hlbší farma-

doc. RNDr. Mária Stankovičová, CSc. (✉) • A. Lašáková • V. Medlenová • Ž. Bezáková • J. Čižmárik  
Katedra farmaceutickej chémie, Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského  
Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, SR  
e-mail: stankovicm@fpharm.uniba.sk

\*Časť 204: Čes. slov. Farm. 2014; 63, 22–25.

kologický, morfológický a histologický výskum<sup>3</sup>). Antiarytmická účinnosť heptakaínu sa experimentálne potvrdila po aplikácii arytmogénneho adrenalínu<sup>4</sup>). Látka bola podrobená štúdiu stability<sup>6</sup>) a kinetike alkalickéj hydrolyzy<sup>8</sup>) aj v porovnaní s bázičými analógami heptakaínu<sup>9,10</sup>). Novšie štúdie heptakaíniumchloridu boli zamerané na separáciu metódou HPLC spolu s karbizokaíniumchloridom a pentakaíniumchloridom<sup>11</sup>) ako aj s polohovými izomérm<sup>12</sup>). Metóda HPLC sa využila aj pri štúdiu degradácie heptakaíniumchloridu a karbizokaíniumchloridu v moči, ľudskom a králičom sére<sup>13</sup>). Štúdium interakcie homológov heptakaíniumchloridu s biologickými membránami a ich lipidovými dvojvrstvami fosfatidylcholínu získanými z vaječného žltka sa pozorovali pomocou spin label ESR spektroskopie. Lokálne anestetický účinok a inhibičný účinok na aktivitu (Ca-Mg) ATPázy sarkoplazmatického retikula sa zvyšoval s počtom atómov uhlíka v alkyloxy substituentu po heptyloxy a hexyloxy derivát<sup>14</sup>). Ďalšie práce boli zamerané na stanovenie kritickej micelárnej koncentrácie (CMC) heptakaíniumchloridu a jeho derivátov pomocou spektrofotometrie v UV oblasti spektra v prítomnosti rôznych aditív<sup>15,16</sup>) a rozpúšťadiel<sup>17</sup>). Pozornosť bola venovaná formulácii heptakaíniumchloridu do hydrogélv na báze chitosanu<sup>18</sup>), sledovaniu vplyvu pomocných látok na uvoľňovanie tohto liečiva a na jeho lokálne-anestetický účinok<sup>19</sup>).

Karbizokaíniumchlorid bol pripravený zahriatím ekvimolárneho množstva bázičého alkoholu a odpovedajúceho izokyanátu v prostredí bezvodého toluénu päťhodinovým zahrievaním zmesi. Po ochladení bol toluénový roztok pretrepaný vodou, toluénová vrstva vysušená, prefiltrovaná a toluén oddestilovaný. Zvyšok bol rozpustený v bezvodom éteri a konečné látky vo forme hydrochloridu alebo oxalátu boli získané pridaním ekvimolárneho množstva éterického roztoku suchého chlorovodíku alebo kyseliny šťaveľovej. Látky boli prekryštalizované z vhodného rozpúšťadla a podrobené ďalšiemu štúdiu<sup>2</sup>). Index lokálnoanestetického účinku karbizokaínu pri povrchovej anestézii dosahuje hodnotu 251 pri porovnaní s účinnosťou kokaínu, pri infiltračnej anestézii hodnotu 416 pri porovnaní s účinnosťou prokaínu. Látka vykazuje aj antiarytmickú účinnosť<sup>2</sup>). V rámci komplexného štúdia karbizokaíniumchloridu boli vypracované niektoré postupy pre analytické hodnotenie substancie. Boli sledované termické vlastnosti, spektrálne charakteristiky, rozpustnosť a chromatografické chovanie. K stanoveniu obsahu bola navrhnutá acidimetrická titrácia v nevodnom prostredí, extrakčná titrácia v dvojfázovom systéme a extrakčné fotometrické stanovenie na základe tvorby iónového páru s farbivom<sup>5</sup>). Ďalej bola hodnotená stabilita karbizokaíniumchloridu a jeho 1% vodného roztoku, ktoré boli pripravené v čase potreby pomocou skúšok odolnosti. Sledovali sa pôsobenie zmeny teploty, vplyv elektromagnetického žiarenia v UF oblasti spektra, vplyv kyslého prostredia za použitia kyseliny octovej, vplyv oxidačného skúmadla peroxidu vodíka o rôznej koncentrácii. Pre vyhodnotenie testov sa zvolili fyzikálno-chemické metódy: tenkovrstvová chromatografia a spektrofotometria v ultrafialovej oblasti. Stabilita vodného roztoku karbizokaíniumchloridu s koncentráciou 0,1% sa sledovala v závislosti od času. Zmeny v zložení roztoku karbizokaínu, uchovávaného na svetle a v tme pri laboratórnej

teplote, sa sledovali v pravidelných mesačných intervaloch už spomenutými metódami. Merala sa absorbancia roztoku pri vlnovej dĺžke druhého absorpčného maxima. Roztok sa vyhodnocoval aj organolepticky<sup>7</sup>). Výsledky štúdia kinetiky alkalickéj hydrolyzy karbizokaíniumchloridu v prostredí vodno-etanolových roztokov hydroxidu sodného  $c = 0,1 \text{ mol/l}$  ako aj v prostredí tlmivých roztokov sú v práci<sup>8</sup>). Pozornosť bola venovaná aj HPLC separácii tejto látky<sup>11,13</sup>). Lokálne anestetikum karbizokaín má chirálne centrum v spojovacom reťazci, tvorí dva optické izoméry. Predpokladá sa, že tieto dva enantioméry majú rôzne farmakologické vlastnosti a biologické aktivity. Z tohto dôvodu bolo cieľom oddelenie enantiomérov pomocou HPLC s cyklodextrínom ako stacionárnou fázou<sup>20</sup>).

### Neizotermické testy stability

Neizotermické testy stability boli navrhnuté ako atraktívny a alternatívny druh metód ku konvenčným izotermickým testom stability. Ich výhoda spočíva v určení kinetických parametrov reakcie pri jednom pokuse, čím sa skráti dĺžka jeho trvania. Hlavným princípom neizotermických testov je zmena teploty v priebehu pokusu pomocou vopred nastaveného programu, napr. s využitím teplotného gradientu. Skutočnosť, že sa teplota mení s časom, musí byť zohľadnená pri vyčíslení rýchlosti reakcie. Táto metóda má aj určité nevýhody. Jednou z nich sú náklady na meraciu techniku a komplikovanejšie vyhodnotenie pokusu, ktoré spočíva v matematickom vyjadrení diferenciálnych rovníc opisujúcich závislosť reakčnej rýchlosti od teploty a času<sup>21</sup>).

Mnohí autori opísali a navrhli rôzne teplotné programy rastu teploty. Jedným z nich bol aj Rogers, ktorý využíval logaritmický rast teploty v priebehu pokusu a použil nasledovnú teplotno-časovú funkciu<sup>22</sup>):

$$1/T_0 - 1/T_t = b \cdot \ln(1 + t), \quad [1]$$

kde  $T_0$  je teplota v K na začiatku experimentu,  $T_t$  je teplota v príslušnom čase  $t$ ,  $t$  je čas (h) a  $b$  je konštanta úmernosti charakterizujúca rast teploty ( $\text{K}^{-1}$ ).

Aplikovaním do Arrheniovej rovnice dostaneme<sup>23</sup>):

$$\ln f = \ln k_0 - \ln(1 + E_A \cdot b/R) + (1 + E_A \cdot b/R) \cdot \ln(1 + t), \quad [2]$$

kde  $k_0$  je rýchlostná konštanta na začiatku experimentu,  $E_A$  je aktivačná energia,  $R$  je univerzálna plynová konštanta  $8,315 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ ,  $b$  je konštanta úmernosti charakterizujúca rast teploty a  $f$  je pre reakciu prvého poriadku ( $\ln(A_0/A_t)$ ).

Nanásaním hodnôt  $\ln(\ln A_0/A_t) = f[\ln(t + 1)]$  dostaneme priamku, kde smernicou priamky je  $[(E_A \cdot b/R) + 1]$  a úsek na osi  $y$  je rovný  $\ln k_0 - \ln((E_A \cdot b/R) + 1)$ .  $A_0$  je absorbancia v čase  $t = 0$ ,  $A_t$  je absorbancia v čase  $t$ . Pri známej hodnote konštanty úmernosti rastu teploty  $b$  a hodnoty  $R$  môžeme vypočítať aktivačnú energiu rozkladnej reakcie a z úseku na osi  $y$  môžeme vypočítať  $k_0$ . Pomocou hodnôt  $E_A$  a  $k_0$  môžeme vypočítať rýchlostnú konstantu pre zvolenú teplotu<sup>21,23</sup>) podľa vzťahu:

$$\ln k_{20} = \ln k_0 - E_A \cdot (1/T_1 - 1/T_2)/R \quad [3]$$

**Pokusná časť****Študované látky, použité chemikálie a prístroje**

Študované látky heptakaíniumchlorid,  $M_r = 398,98$  a karbizokaíniumchlorid,  $M_r = 400,99$  boli pripravené vo forme hydrochloridov na Katedre farmaceutickej chémie FaF UK<sup>1, 2)</sup>. Všetky použité chemikálie boli čistoty p.a. Pre sledovanie priebehu spektier látok v UF oblasti spektra sme použili UV-1800 SHIMADZU UV Spektrofotometer a na temperovanie roztokov Termostat Memmert WB 10, Nemecko.

**Sledovanie stability študovaných látok neizotermickým testom vo vodno-etanolovom roztoku NaOH****a v tlmivých roztokoch s hodnotou pH 7,0 a pH 8,0**

Roztoky študovaných látok s koncentráciou 0,001 mol/l sme podrobili hydrolyze vo vodno-etanolovom roztoku NaOH  $c = 0,1$  mol/l, kde koncentrácia etylalkoholu bola 50 % V/V, vo vodno-etanolovom tlmivom roztoku s hodnotou pH 7,0 a iónovou silou  $\mu = 0,1$  mol/l pripravenom z 0,58 g NaOH, 3,40 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a 0,78 g KCl na celkový objem 500,0 ml v zmesi prevarenej destilovanej vody a s objemom 250,0 ml etylalkoholu; vo vodno-etanolovom tlmivom roztoku s hodnotou pH 8,0 a iónovou silou  $\mu = 0,1$  mol/l pripravenom rovnakým spôsobom z 0,92 g NaOH, 3,40 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a 0,145 g KCl. Priebeh hydrolyzy sme sledovali pomocou spektrofotometrie v UV oblasti spektra. Spektrum pripravených roztokov sme zmerali a zaznamenali absorbanciu pri štyroch vlnových dĺžkach – 280 nm, 236 nm, 294 nm a 296 nm oproti slepému roztoku. Táto absorbancia prislúchala hodnote  $A_0$  v čase  $t = 0$  h. Roztok sme preliali do 100,0 ml

odmernej banky a vložili do vytemperovaného termostatu na požadovanú teplotu. V rámci experimentu sme v určitých časových intervaloch postupne odoberali vzorku, ochladili ju na laboratórnu teplotu, zmerali jej absorbanciu pri štyroch vlnových dĺžkach 280 nm, 236,60 nm, 294 nm a 296 nm oproti slepému roztoku a zvyšovali teplotu. Pre uvedené intervaly rastu teploty sme zvlášť vyhodnotili konštanty úmernosti rastu teploty  $b$  podľa rovnice [1]. Z nameraných hodnôt absorbancie sme pomocou rovnice [2] vyhodnotili neizotermický test stability študovaných látok.

**Výsledky a diskusia****Heptakaíniumchlorid**

Princípom neizotermických testov je zvyšovanie teploty v pravidelných časových intervaloch podľa zvoleného teplotného programu. Výhoda použitia tejto progresívnej neizotermickej kinetiky spočíva v získaní hodnôt potrebných pre určenie kinetických koeficientov rozkladných reakcií, resp. v predpovedaní stability za oveľa kratší čas v priebehu jedného pokusu. V priebehu sledovania kinetiky alkalické hydrolyzy vo vodno-etanolovom roztoku NaOH ( $c = 0,1$  mol/l) s koncentráciou etanolu 50 % V/V sme odoberali vzorku každých 20 min a zvyšovali teplotu v rozsahu 40–82 °C, každých 30 min sme zvyšovali teplotu v rozsahu 66–90 °C, a každých 40 min v rozsahu 66–88 °C. Na začiatku pokusu ( $t = 0$  h) sme zmerali absorbanciu  $A_0$  vzorky, ktorú sme ešte nepodrobili hydrolyze pri vlnových dĺžkach  $\lambda = 236$  nm; 280 nm; 294 nm; 296 nm. Pri rovnakých vlnových dĺžkach sme postupne zaznamenávali  $A$  v príslušnom

Tab. 1. Hodnoty  $b$  ( $\text{K}^{-1}$ ) pre rast teploty a koeficienty lineárnych závislostí na výpočet hodnôt  $E_A$  ( $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) a  $k_0$  ( $\text{h}^{-1}$ ) hydrolyzy heptakaíniumchloridu za neizotermických podmienok

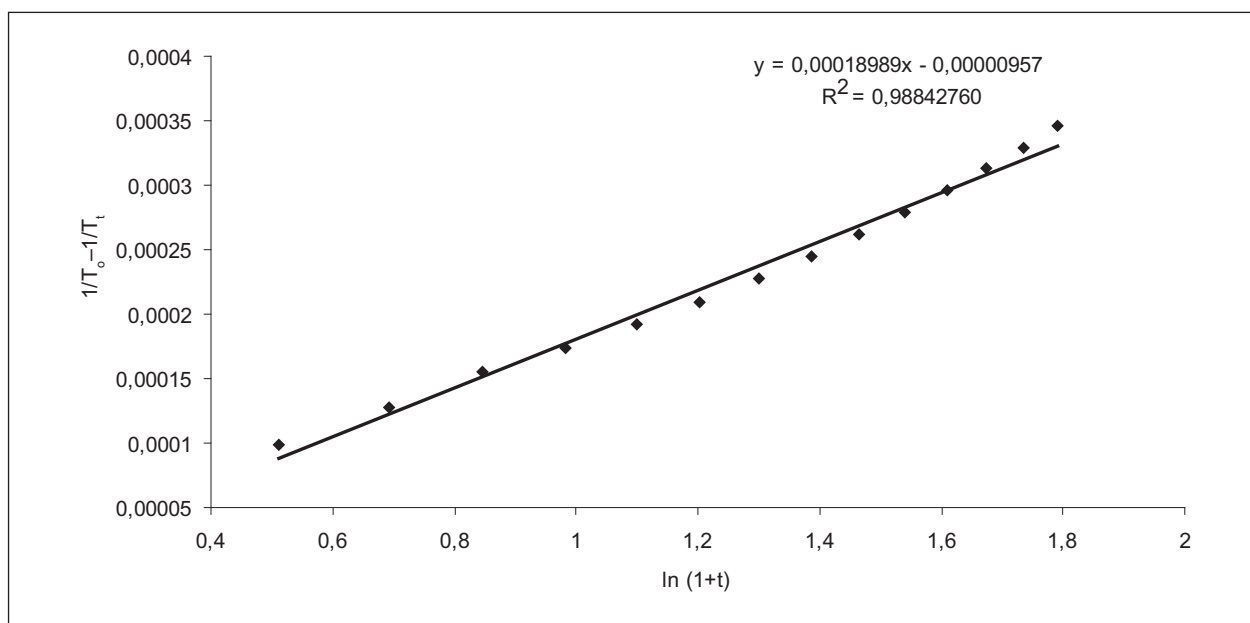
Krivka rastu teploty				Krivka závislosti $\ln(\ln(A_0/A_t))$ od $\ln(1+t)$			
Rozsah teplôt (°C)	$b$ ( $\text{K}^{-1}$ )	$n$	$r$	$a_0$	$a_1$	$n$	$r$
<b>NaOH 0,1 mol/l</b>							
40–82	$1,90 \times 10^{-4}$	14	0,994	–4,68	2,69	14	0,989
66–90	$1,12 \times 10^{-4}$	11	0,983	–3,69	1,85	11	0,998
66–88	$9,20 \times 10^{-5}$	9	0,983	–3,58	1,70	9	0,998
<b>pH 7</b>							
66–86	$1,33 \times 10^{-4}$	6	0,997	–6,74	2,42	6	0,912
66–86	$9,55 \times 10^{-5}$	6	0,988	–6,57	2,00	6	0,925
<b>pH 8</b>							
60–86	$1,24 \times 10^{-4}$	7	0,992	–6,35	2,16	7	0,817
66–86	$1,02 \times 10^{-4}$	5	0,993	–5,94	1,90	5	0,950

Tab. 2. Prehľad výsledkov štúdia stability heptakaíniumchloridu vo vodno-etanolovom roztoku NaOH  $c = 0,1$  mol/l pri neizotermickom teste

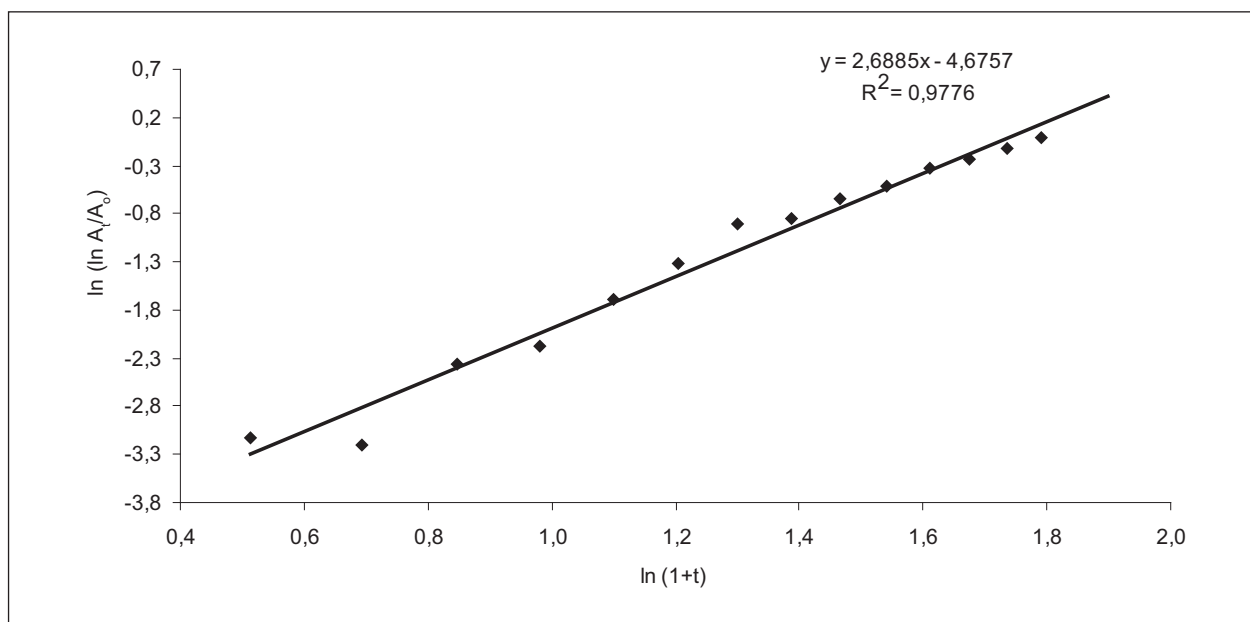
Rozsah teplôt (°C)	Rýchlostná konštanta $k_0$ ( $\text{h}^{-1}$ ) pri začiatkovej teplote	Polčas rozkladu $t_{1/2}$ (h)	Aktivačná energia $E_A$ ( $\text{kJ/mol}$ )	Rýchlostná konštanta $k_{20}$ ( $\text{h}^{-1}$ ) pri 20 °C	Polčas rozkladu $t_{1/2}$ (h)
40–82	$2,505 \times 10^{-2}$	27,7	73,9	$3,54 \times 10^{-3}$	195,5
66–90	$4,619 \times 10^{-2}$	15,0	63,6	$1,37 \times 10^{-3}$	506,1
66–88	$4,741 \times 10^{-2}$	14,6	62,9	$1,46 \times 10^{-3}$	474,3

Tab. 3. Prehľad výsledkov štúdia stability heptakáiniumchloridu v tlmivých roztokoch pri neizotermickej hydrolýze

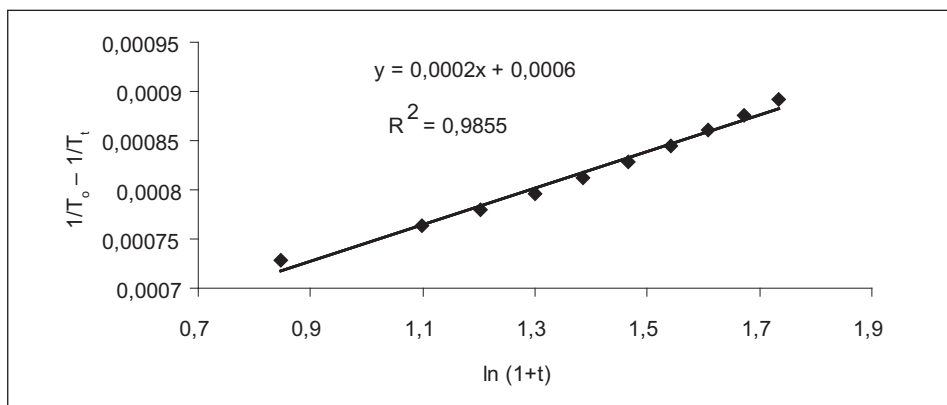
Rozsah teplôt (°C)	Číslo merania	Rýchlostná konštanta $k_0$ ( $\text{h}^{-1}$ ) pri začiatočnej teplote	Polčas rozkladu $t_{1/2}$ (h)	Aktivačná energia $E_A$ (kJ/mol)	Rýchlostná konštanta $k_{20}$ ( $\text{h}^{-1}$ ) pri 20 °C	Polčas rozkladu $t_{1/2}$ (h)
<b>pH 7,0</b>						
66–86	1	$2,88 \times 10^{-3}$	240,6	89,1	$2,08 \times 10^{-5}$	33270
	2	$2,79 \times 10^{-3}$	248,4	87,1	$2,25 \times 10^{-5}$	30746
<b>pH 8,0</b>						
60–86	1	$3,76 \times 10^{-3}$	184,3	77,6	$8,23 \times 10^{-5}$	8420,4
66–86	1	$4,99 \times 10^{-3}$	138,9	73,8	$8,19 \times 10^{-5}$	8458,7



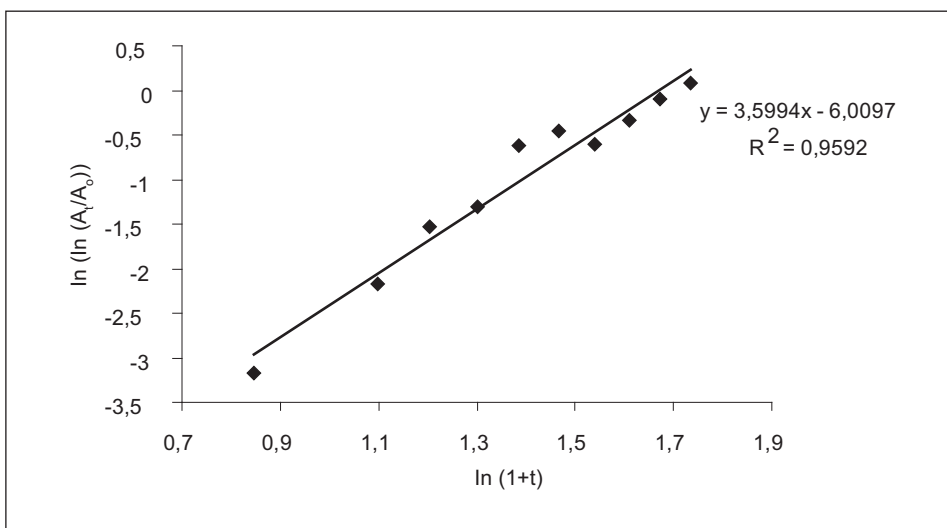
Graf 1. Rast teploty ( $K^{-1}$ ) v rozsahu 40–82 °C pre heptakáiniumchlorid



Graf 2. Vyhodnotenie neizotermického testu heptakáiniumchloridu v rozsahu teplôt 40–82 °C v prostredí vodno-etanolového roztoku hydroxidu sodného  $c = 0,1 \text{ mol/l}$



Graf 3. Rast teploty ( $K^{-1}$ ) v rozsahu 60–88 °C pre karbizokainiumchlorid



Graf 4. Vyhodnotenie neizotermického testu karbizokainiumchloridu v rozsahu teplôt 60–88 °C v prostredí vodno-etanolového roztoku hydroxidu sodného  $c = 0,1 \text{ mol/l}$

Tab. 4. Hodnoty  $b$  ( $K^{-1}$ ) pre rast teploty a koeficienty lineárnych závislostí na výpočet hodnôt  $E_A$  ( $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) a  $k_0$  ( $\text{h}^{-1}$ ) hydrolyzy karbizokainiumchloridu za neizotermických podmienok

Rozsah teplôt (°C)	Krivka rastu teploty			Krivka závislosti $\ln(\ln(A_t/A_0))$ od $\ln(1+t)$			
	$b$ ( $K^{-1}$ )	$n$	$r$	$a_0$	$a_1$	$n$	$r$
<b>NaOH 0,1 mol/l</b>							
60–88	$1,86 \times 10^{-4}$	10	0,993	-6,01	3,60	10	0,979
<b>pH 7,0</b>							
66–88	$1,60 \times 10^{-4}$	5	0,996	-7,65	3,42	5	0,961
<b>pH 8,0</b>							
66–88	$1,28 \times 10^{-4}$	5	0,997	-6,10	2,81	5	0,997

čase. Pre každý teplotný program sme vykonali dve paralelné merania, v práci uvádzame výsledky len z jedného merania pre daný interval teplôt. Pre zistenie hodnoty aktivačnej energie bolo potrebné vypočítať pre každé meranie rast teploty  $b$  (odvodený z Rogersovho vzťahu [1]), ktorý bol číselne vyjadrený smernicou priamky funkcie  $1/T_0 - 1/T_t = f[\ln(1+t)]$ , kde  $T_0$  je termodynamická teplota na začiatku pokusu,  $T_t$  v príslušnom čase  $t$ . Rozborom nameraných hodnôt absorpcií sme zistili, že je výhodnejšie kvôli eliminácii pozadia použiť rozdiel

absorbancií pri vlnových dĺžkach ( $A_{280 \text{ nm}} - A_{294 \text{ nm}}$ ) pri teplotnom programe v rozsahu teplôt 66–90 °C, 66–88 °C. Pri meraní v rozsahu teplôt 40–82 °C sme využili absorbcie nameranú pri vlnovej dĺžke  $\lambda = 294 \text{ nm}$ , ktorá počas celého experimentu rástla. Pre výpočty rýchlostných konštánt hydrolyzy  $k_0$  pri začiatočnej teplote sme použili lineárnu časť závislosti funkcie  $\ln[\ln(A_t/A_0)] = f[\ln(1+t)]$  pre rozsah teplôt 66–90 °C, 66–88 °C,  $\ln[\ln(A_t/A_0)] = f[\ln(1+t)]$  pre rozsah teplôt 40–82 °C. Takýto postup je doporučený na elimináciu



Tab. 5. Prehľad výsledkov štúdia stability karbizokaíniumchloridu v roztoku hydroxidu sodného  $c = 0,1 \text{ mol/l}$  a v tlmivých roztokoch pri neizotermickej hydrolyze

Rozsah teplôt (°C)	Rýchlostná konštanta $k_0$ ( $\text{h}^{-1}$ ) pri začiatkovej teplote	Polčas rozkladu $t_{1/2}$ (h)	Aktivačná energia $E_A$ (kJ/mol)	Rýchlostná konštanta $k_{20}$ ( $\text{h}^{-1}$ ) pri 20 °C	Polčas rozkladu $t_{1/2}$ (h)
<b>NaOH 0,1 mol/l</b>					
60–88	$8,86 \times 10^{-3}$	78,2	116,5	$2,84 \times 10^{-5}$	24439
<b>pH 7,0</b>					
66–86	$1,63 \times 10^{-3}$	425	126,1	$1,52 \times 10^{-6}$	455211
<b>pH 8,0</b>					
66–86	$6,31 \times 10^{-3}$	110	117,3	$9,59 \times 10^{-6}$	72267

prípadných odchýliek od linearitý autormi Kerstenom a Göberom<sup>21</sup>). Hodnoty rýchlostných konštánt pri začiatkovej teplote sme vypočítali podľa rovnice [2], kde výraz  $[\ln k_0 - \ln (1 + E_A \cdot b/R)]$  predstavuje úsek priamky uvedenej funkcie. Hodnotu aktivačnej energie  $E_A$  sme vypočítali zo smernice priamky, s použitím  $b$ , konštanty úmernosti charakterizujúcej rast teploty a  $R$  univerzálnej plynovej konštanty. Z kinetickej rovnice 1. poriadku sme vypočítali príslušný polčas rozkladu chemickej reakcie  $t_{1/2}$ . Podľa rovnice [3] sme vypočítali rýchlostnú konštantu reakcie pri  $t = 20$  °C. V tabuľke 1 sú uvedené koeficienty lineárnych závislostí pre rovnice [2] a [3]. Hodnota  $a_1$  je smernica,  $a_0$  je úsek,  $n$  je počet meraní,  $r$  je korelačný koeficient. Výsledné hodnoty rýchlostných konštánt  $k_0$ , polčasu rozkladu spolu s aktivačnými parametrami pre hydrolyzu heptakaíniumchloridu vo vodno-etanolovom roztoku NaOH  $c = 0,1 \text{ mol/l}$  sú zhrnuté v tabuľke 2. V tabuľke 3 sú uvedené výsledky stability v tlmivých roztokoch. V grafe 1 sú uvedené závislosti pre rast teploty v intervale 40–82 °C v grafe 2 je príklad vyhodnotenia neizotermického testu.

Dosiahnuté výsledky štúdia priebehu alkalického hydrolyzy heptakaíniumchloridu neizotermickým testom v intervale teplôt v rozsahu 40–82 °C sa približne zhodujú s už dosiahnutými výsledkami pri izotermickom teste v práci<sup>8</sup>), kde výsledná hodnota aktivačnej energie  $E_A = 78,2 \text{ kJ/mol}$  a rýchlostná konštanta 1. poriadku pri teplote 40 °C je  $1,83 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ .

### Karbizokaíniumchlorid

Priebeh hydrolyzy karbizokaíniumchloridu za neizotermických podmienok sme vyhodnocovali pomocou spektrofotometrie v ultrafialovej oblasti v prostredí vodno-etanolového roztoku hydroxidu sodného s koncentráciou  $c = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  a v tlmivých roztokoch s hodnotami pH 7,0 a pH 8,0. Priebeh hydrolyzy sme sledovali v intervale rastu teploty 60–88 °C v prostredí hydroxidu sodného 0,1 mol/l a v intervale 66–86 °C v prostredí tlmivých roztokov. Pre získanie presnejších výsledkov boli uskutočnené dve paralelné merania, v prostredí tlmivých roztokov tri merania. Predchádzajúce výsledky štúdia kinetiky hydrolyzy tejto látky poukázali, že rýchlosť reakcie je nižšia v porovnaní s heptakaínom. V spojovacom reťazci v polohe  $\alpha$  metyl tieni karbamátovú funkčnú skupinu, a tým znižuje možnosť prístupu  $\text{OH}^-$  iónov k nej. Pri nižších teplotách sa hodnoty absorbancí karbizokaínu menia len nepatrne aj napriek niekoľkohodinovému

zahrievaniu, resp. sa vracajú na počiatkovú hodnotu<sup>8</sup>). Preto sme zvolili vyššiu teplotu na začiatku reakcie. Príklad rastu teploty v rozsahu teplôt 60–88 °C je v grafe 3. V grafe 4 je príklad vyhodnotenia neizotermického testu hydrolyzy karbizokaíniumchloridu v prostredí hydroxidu sodného 0,1 mol/l pri neizotermickej hydrolyze v rozsahu teplôt 60–88 °C pri vlnovej dĺžke 294 nm. V tabuľkách 4 a 5 sú výsledky hydrolyzy karbizokaíniumchloridu za neizotermických podmienok v uvedených prostrediach.

Porovnaním výsledkov štúdia kinetiky hydrolyzy karbizokaíniumchloridu za neizotermických podmienok s výsledkami štúdia dosiahnutými v experimentoch za izotermických podmienok<sup>8</sup>) môžeme konštatovať, že hodnota aktivačnej energie v práci<sup>8</sup>) sa zhoduje s výsledkom neizotermického testu. Rovnako hodnoty rýchlostných konštánt v prostredí tlmivého roztoku pH 7,0 a v prostredí hydroxidu sodného 0,1 mol/l sú rádoovo blízke.

Metóda štúdia stability liečiv neizotermickým testom má výhodu v tom, že v rámci jedného experimentu sa dajú získať parametre potrebné na výpočet času použiteľnosti liečiva, čím sa ušetrí čas aj energia. Na druhej strane je nevyhnutné si vopred zistiť vhodné podmienky experimentu pre študované liečivo, na čo je potrebné štúdium stability, resp. kinetiky hydrolyzy za izotermických podmienok.

**Stret záujmov:** žiadny.

### Literatúra

- Čižmárik J., Borovanský A., Švec P. Štúdium lokálnych anestetik LII. Piperydinoylestery kyselín alkoxyfenylkarbamátových. Acta Facult. Pharm. Univ. Comenianae 1976; 29, 76–77.
- Beneš P., Švec P., Kozlovský J., Borovanský A. Bazické estery kyselín o-alkoxykarbanilových s lokálně anestetickým a antiarytmickým účinkem. Čes. slov. Farm. 1978; 27, 167–172.
- Švec P., Čižmárik J., Bédarová E., Borovanský A. Štúdium lokálnych anestetik LIII. Farmakologické vlastnosti heptakaínu. Acta Facult. Pharm. Univ. Comenianae 1976; 29, 96–99.
- Kozlovský J., Čižmárik J., Pešák M., Inczinger F., Borovanský A. Antiarrhythmic activity of heptacaine and some of its derivatives. Arzneim.-Forsch 1982; 32, 1032–1036.
- Blešová M., Bachratá M., Bezáková Ž., Beneš L., Borovanský A. Analytické hodnotenie karbizokaíniumchloridu. Čes. slov. Farm. 1985; 34, 163–167.
- Bezáková Ž., Čižmárik J., Blešová M., Bachratá M., Borovanský A. Štúdium lokálnych anestetik. LXXXII. Stabilita heptakaíniumchloridu. Farm. Obzor 1986; 55, 19–24.
- Bezáková Ž., Bachratá M., Blešová M., Borovanský A. Stabilita

- karbizokaíniumchloridu a pentakaíniumchloridu. Farm. Obzor 1986; 55, 195–203.
8. **Stankovičová M., Bachratá M., Bezáková Ž., Blešová M., Čížmárik J., Borovanský A.** Štúdium kinetiky alkalické hydrolyzy karbizokaíniumchloridu, pentakaíniumchloridu a heptakaíniumchloridu. Čes. slov. Farm. 1987; 36, 9–15.
  9. **Stankovičová M., Čížmárik J., Bachratá M.** Kinetics of alkaline hydrolysis of heptacaine chloride basic analogues. Chem. Papers 1990; 44, 171–176.
  10. **Stankovičová M., Bezáková Ž., Lukášová-Masná P., Lukáš L.** Kinetics of alkaline hydrolysis of potential local anaesthetics – The basic esters of phenylcarbamic acids. Acta Facult. Pharm. Univ. Comeniana. 2009; 56, 128–135.
  11. **Čížmárik J., Lehotay J., Bednáriková A.** Štúdium lokálnych anestetík CLVII. Chromatografické vlastnosti pentakaínu, karbizokaínu, heptakaínu a jeho 3- a 4-polohových izomérov v RP systéme HPLC. Čes. slov. Farm. 2001; 50, 233–237.
  12. **Lehotay J., Čížmárik J., Hromuláková K.** HPLC of heptacaine position isomers. Pharmazie 1996; 51, 731–733.
  13. **Lehotay J., Čížmárik J., Branšterová E.** Study of local anaesthetics. Part 128. HPLC study of the degradation of heptacaine and carbisocaine in urine, human and rabbit serums. Acta Pharmaceutica Hungarica, 1995; 65, 95–96.
  14. **Gallová J., Andriamainty F., Uhríková D., Balgavý P.** Interaction of local anesthetic heptacaine homologs with phosphatidylcholine bilayers: spin label ESR study. Biochim. Biophys. Acta – Biomembranes. 1997; 1325, 189–196.
  15. **Andriamainty F., Čížmárik J., Malík I., Horváth S.** Štúdium lokálnych anestetík: Časť 183. Micelizácia a termodynamické parametre heptakaíniumchloridu v prostredí KBr. Čes. slov. Farm. 2008; 57, 119–125.
  16. **Gališínová J., Čížmárik J., Andriamainty F., Malík I.** Štúdium lokálnych anestetík: Časť 193. Štúdium vplyvu teploty a prídavku soli na micelizáciu heptakaínium-perchlorátu vo vodnom prostredí. Čes. slov. Farm. 2010; 59, 272–276.
  17. **Čížmárik J., Andriamainty F., Malík I., Sedlárová E.** Štúdium lokálnych anestetík. Časť 176. Štúdium micelizácie a termodynamických parametrov heptakaíniumchloridu vo vodnom a alkoholickom prostredí. Farm. Obzor 2007; 76, 133–138.
  18. **Čížmárik J., Vitková Z., Herdová P.** Štúdium lokálnych anestetík: Časť 196. Formulation of the local anaesthetic heptacaine into hydrogel on the basis of chitosan. Čes. slov. Farm. 2012; 61, 60–61.
  19. **Vitková Z., Gardavská K., Čížmárik J., Rak J.** Influence of auxiliary substances on the release of heptacaine from the drug form. Acta Pharmaceutica Hungarica. 1996; 66, 191–195.
  20. **Čížmárik J., Lehotay J., Hromuláková K., Pokorná M., Lacuška M.** HPLC separation of enantiomers of carbisocaine. Pharmazie 1997; 52, 402.
  21. **Kersten D., Göber B.** Chemische Stabilitätsprüfung von Arzneimitteln im Lang- und Kurzzeittest-Methodenvergleich. Pharmazie 1984; 39, 218–219.
  22. **Rogers A. R.** An accelerated storage test with programmed temperature rise. J. Pharm. Pharmacol. 1963; 15, 101T–105T.
  23. **Beňo P., Truplová E., Ostrovská V., Stankovičová M.** Stabilita liečiv a liekov. 1. vyd. Bratislava: Veda 2003.

**FN Brno, Odbor obchodu a marketingu**  
**Oddělení nákupu**  
**Jihlavská 20, Brno**

**vyhlašuje výběrové řízení na obsazení pracovní pozice**

## VEDOUCÍHO ODDĚLENÍ NÁKUPU

### Kvalifikační předpoklady:

- ukončené VŠ vzdělání v oboru farmacie
- se specializací v oboru nemocniční lékárenství nebo klinická farmacie
- praxe v lékárně min. 3 roky, praxe v nemocniční lékárně výhodou
- morální a občanská bezúhonnost

### Náplň pracovní pozice:

- tvorba specifických koncepčních záměrů v oblasti zdravotnických prostředků, koordinace plnění závazků ze smluv, včetně participace na jejich tvorbě,
- koordinace při tvorbě pozitivních listů (hospitalizační, ambulantní),
- vedení obchodních jednání s dodavateli, provádění revize současného stavu a návrh řešení v oblasti farmacie, zdravotnických materiálů, včetně speciálního,
- koordinaci činností s vedoucí nemocniční lékárny a vedoucí úseku zdravotnického materiálu
- tvorba a koncepce obchodního zaměření organizace.

### Nabízíme:

- práci v příjemném prostředí
- zaměstnanecké výhody

### Nástup: dohodou

**Kontakt:** Profesní životopis včetně motivačního dopisu a osobního dotazníku zasílejte náměstkovi pro obchod a marketing panu Pavlu Zemánkovi, e-mail: pavel.zemanek(zavinac)ex.fnbrno.cz do 31. 8. 2014.