

## Zur physikalisch-chemischen Charakterisierung von 5-Amino-1-aryl-1H-tetrazolen: Kinetik der Verteilung im Zweiphasensystem Octan-1-ol/Wasser

Thomas Schelenz

Halle/S., Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Physikalische Chemie

Eingegangen am 03. Mai bzw. 06. September 1999

### On the Physicochemical Characterization of 5-Amino-1-aryl-1H-tetrazoles: Kinetics of Distribution in the Two-Phase System Octan-1-ol/Water

**Keywords:** Heterocycles, Kinetics, Substituent effects, Octanol/water partition coefficients, Tetrazoles

**Abstract.** The kinetics of distribution of 27 5-amino-1-aryl-1H-tetrazoles in the two-phase system octan-1-ol/water were investigated UV/Vis-spectrophotometrically at various temperatures. Studies on relationships between the obtained first-order rate constants ( $\log k_1$ ,  $\log k_2$ ) and the hydrophobicity of the tetrazoles described by their partition coefficients ( $\log P$ ) show a nearly constant rate of transport from the aqueous to

the organic phase ( $k_1$ ) above  $\log P = 1,5$  while the reverse rate ( $k_2$ ) strongly depends on hydrophobicity. In the whole  $\log P$  range investigated the kinetic behaviour can be described by bilinear relationships between  $\log k$  and  $\log P$  corresponding to known kinetic models for distribution processes in two-layer systems.

Zur Beurteilung der hydrophil-hydrophoben Eigenschaften potentieller Wirkstoffe sind neben thermodynamischen Daten zur Kennzeichnung der Lage von Verteilungsgleichgewichten wie Verteilungskoeffizienten  $P$  [1] und daraus abgeleiteten Substituentenkonstanten  $\pi$  [2] Informationen über Transportgeschwindigkeiten und deren Beziehungen zu  $P$  von Interesse.

In Fortsetzung einer Publikationsfolge [3] zur physikalisch-chemischen Charakterisierung algistatisch aktiver [4] 5-Amino-1-aryl-1H-tetrazole wird in dieser Arbeit über Ergebnisse verteilungskinetischer Untersuchungen im Lösungsmittelsystem Octan-1-ol/Wasser berichtet, die mit einer im Arbeitskreis entwickelten Meßtechnik erhalten wurden [5–7].

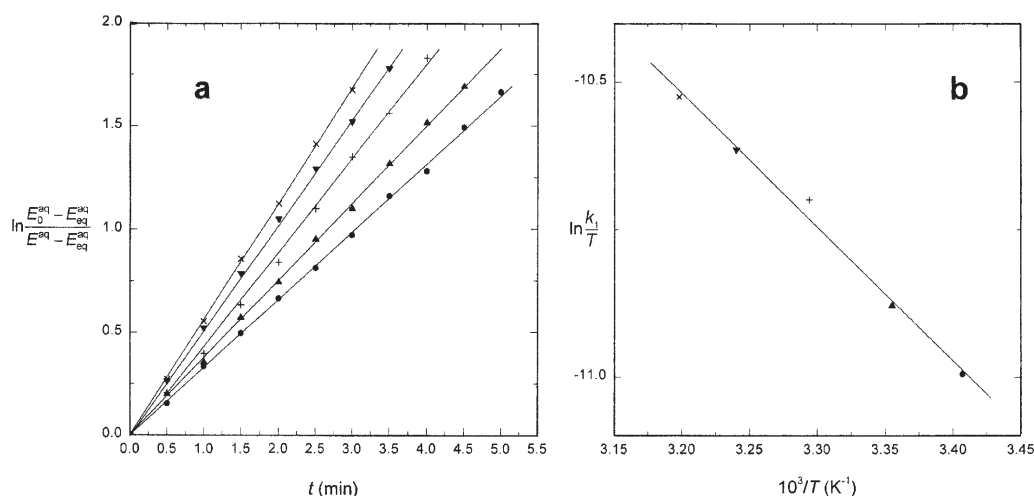
### Ergebnisse und Diskussion

Die Geschwindigkeit der Verteilung einer Substanz A zwischen wäßriger ( $A^{\text{aq}}$ ) und organischer Phase ( $A^{\text{org}}$ )



folgt einem Zeitgesetz reversibler Prozesse 1. Ordnung,

$$-\frac{dc_A^{\text{aq}}}{dt} = k_1 c_A^{\text{aq}} - k_2 c_A^{\text{org}} \quad (2)$$



**Abb. 1** Ermittlung der Geschwindigkeitskonstanten  $k_1$  (a) bei 5 Temperaturen ( $\bullet$   $T = 293,6$  K,  $\blacktriangle$   $T = 298,1$  K,  $+$   $T = 303,6$  K,  $\blacktriangledown$   $T = 308,7$  K,  $\times$   $T = 312,7$  K) und daraus resultierendes Eyring-Diagramm (b) für die Überführung von 5-Amino-1-(4-chlorphenyl)-1H-tetrazol aus der wäßrigen in die organische Phase

das nach Erreichen des Gleichgewichtszustands ( $-dc_A^{aq}/dt = 0$ ) in die Beziehung

$$\frac{k_1}{k_2} = P = \frac{c_{A,eq}^{org}}{c_{A,eq}^{aq}} = \frac{c_{A,0}^{aq} - c_{A,eq}^{aq}}{c_{A,eq}^{aq}} \cdot \frac{v^{aq}}{v^{org}} \quad (2.1)$$

übergeht. Hierbei sind  $k_1$  und  $k_2$  die beobachteten Geschwindigkeitskonstanten für beide Transportrichtungen,  $c_{A,0}^{aq}$ ,  $c_{A,eq}^{aq}$ ,  $c_{A,eq}^{org}$  und  $c_{A,0}^{org}$  die zu den Zeiten  $t_0$  und  $t$  sowie im Gleichgewicht vorliegenden Konzentrationen in Wasser und Octan-1-ol;  $P$  ist der Verteilungskoeffizient der Verbindung A im gegebenen Zweiphasensystem mit dem Volumenverhältnis  $v^{aq}/v^{org}$ .

Aus der Integration des Zeitgesetzes (2) und der Gleichgewichtsbeziehung (2.1) ergibt sich nach Ersetzen der Konzentrationen durch die zu den jeweiligen Zeiten in der wässrigen Phase gemessenen Extinktionen ( $E_0^{aq}$ ,  $E^{aq}$ ,  $E_{eq}^{aq}$ ) die Beziehung (3) zur Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten  $k_1$  über die Regressionsanalyse des linearen Zusammenhangs von  $\ln[(E_0^{aq} - E_{eq}^{aq})/(E^{aq} - E_{eq}^{aq})]$  und  $t$  (Abb. 1a).

$$\ln \frac{E_0^{aq} - E_{eq}^{aq}}{E^{aq} - E_{eq}^{aq}} = \frac{k_1 \left( P + \frac{v^{aq}}{v^{org}} \right)}{P} \cdot t \quad (3)$$

Die Geschwindigkeitskonstanten  $k_2$  für die Überführung der Verbindungen aus der organischen in die wässrige Phase sind bei bekannten  $k_1$  mit Gl. (2.1) zugänglich. Die für beide Berechnungen erforderlichen Verteilungskoeffizienten  $P$  wurden [3] entnommen und wegen der von null nicht wesentlich verschiedenen Verteilungsenthalpien  $\Delta_v H^\circ$  im gegebenen Temperaturintervall als konstant betrachtet.

Aus Messungen der Geschwindigkeitskonstanten  $k_1$  bei mehreren Temperaturen lassen sich die Aktivierungsparameter  $\Delta H_1^\ddagger$  und  $\Delta S_1^\ddagger$  über die Eyring-Gleichung ermitteln (Abb. 1b).

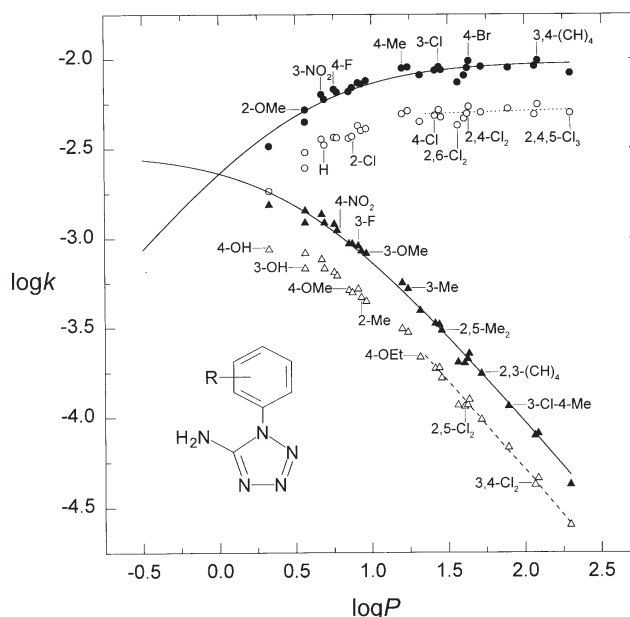
Für die entsprechenden Größen des gegengerichteten Prozesses folgen aus dem Zusammenhang der Geschwindigkeitskonstanten (2.1), der Eyring-Gleichung und der van't Hoffschen Reaktionsisobaren bei  $\Delta_v H^\circ = 0$  die Beziehungen

$$\Delta H_2^\ddagger = \Delta H_1^\ddagger = \Delta H^\ddagger \quad (4)$$

und

$$\Delta S_2^\ddagger = \Delta S_1^\ddagger - R \ln P \quad (5)$$

Tabelle 1 enthält neben den verwendeten  $\log P$ -Werten die so erhaltenen Aktivierungsparameter und die dekadischen Logarithmen der über die jeweilige Eyring-Gleichung für die Temperaturen 293 K und 313 K geschätzten bzw. nach Gleichung (2.1) berechneten Geschwindigkeitskonstanten  $k_1$  und  $k_2$ .



**Abb. 2** Beziehungen zwischen den Logarithmen der Transportgeschwindigkeitskonstanten  $k_1$  ( $\circ$   $T = 293$  K,  $\bullet$   $T = 313$  K) bzw.  $k_2$  ( $\Delta$   $T = 293$  K,  $\blacktriangle$   $T = 313$  K) und der durch  $\log P$  beschriebenen Hydrophobizität von 5-Amino-1-aryl-1H-tetrazolen; eingezeichnet sind die bilinearen Kurven (—) zu Gl. (6.2) und (7.2) für den gesamten Stichprobenumfang sowie die Regressionsgerade (---) zu Gl. (8.1) für Verbindungen mit  $\log P > 1,5$ ; die annähernde Parallele zur Abszisse (····) verdeutlicht die Hydrophobizitätsunabhängigkeit der  $k_1$  in diesem  $\log P$ -Gebiet

Ihre Hydrophobizitätsabhängigkeit im untersuchten  $\log P$ -Bereich (Abb. 2) kann durch bilineare Beziehungen beschrieben werden, die durch Iteration aus den experimentellen Daten erhalten wurden:

$$\log k_{1(293K)} = \log P - \log(0,304 P + 1) - 2,784 \quad (6.1)$$

$n = 27, r = 0,954, s = 0,034, F = 253,4^1$ )

$$\log k_{1(313K)} = \log P - \log(0,312 P + 1) - 2,522 \quad (6.2)$$

$n = 27, r = 0,947, s = 0,036, F = 218,1$

$$\log k_{2(293K)} = -\log(0,304 P + 1) - 2,784 \quad (7.1)$$

$n = 27, r = 0,997, s = 0,034, F = 4438,9$

$$\log k_{2(313K)} = -\log(0,312 P + 1) - 2,522 \quad (7.2)$$

$n = 27, r = 0,997, s = 0,035, F = 4058,4$

Oberhalb  $\log P = 1,5$  (Verbindungen **10**, **16–18**, **22**, **23**, **26**, **27**) können die Beziehungen (7.1) und (7.2) zur Beschreibung der Hydrophobizitätsabhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten  $k_2$  durch einfache lineare Zusammenhänge approximiert werden (Abb. 2):

<sup>1)</sup>  $n$  = Stichprobenumfang,  $r$  = Korrelationskoeffizient,  $s$  = Standardabweichung der Regression,  $F$  = Testgröße zur Prüfung der Regressionsgleichung auf Signifikanz; die statistischen Angaben zu (6.1) –(7.2) charakterisieren die Anpassung der experimentell ermittelten Daten an die mit der jeweiligen Gleichung berechneten Werte.

**Tab. 1** Thermodynamische und kinetische Parameter für die Verteilung von 5-Amino-1-aryl-1H-tetrazolen im Zweiphasensystem Octan-1-ol/Wasser

Verb.	R	log <i>P</i> a)	log <i>k</i> <sub>1(293K)</sub> b)	log <i>k</i> <sub>1(313K)</sub> b)	log <i>k</i> <sub>2(293K)</sub> b)	log <i>k</i> <sub>2(313K)</sub> b)	Δ <i>H</i> <sup>‡</sup> (kJ mol <sup>-1</sup> )	Δ <i>S</i> <sub>1</sub> <sup>‡</sup> (J K <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup> )	Δ <i>S</i> <sub>2</sub> <sup>‡</sup>
1	H	0,688	-2,482	-2,226	-3,170	-2,914	20,0	-224,1	-237,3
2	3-F	0,909	-2,374	-2,134	-3,284	-3,043	18,6	-226,7	-244,1
3	3-Cl	1,440	-2,287	-2,045	-3,726	-3,484	18,7	-224,7	-252,3
4	3-Me	1,236	-2,292	-2,047	-3,528	-3,283	19,0	-223,9	-247,5
5	3-NO <sub>2</sub>	0,669	-2,449	-2,199	-3,118	-2,867	19,5	-225,2	-238,0
6	3-OH	0,561	-2,609	-2,353	-3,170	-2,914	19,9	-226,6	-237,4
7	3-OMe	0,962	-2,391	-2,122	-3,353	-3,085	21,1	-218,6	-237,1
8	4-F	0,752	-2,439	-2,170	-3,191	-2,922	21,1	-219,5	-233,9
9	4-Cl	1,413	-2,318	-2,065	-3,730	-3,478	19,7	-222,0	-249,0
10	4-Br	1,635	-2,268	-2,012	-3,903	-3,647	20,0	-220,0	-251,3
11	4-Me	1,198	-2,309	-2,052	-3,507	-3,250	20,1	-220,5	-243,4
12	4-NO <sub>2</sub>	0,770	-2,441	-2,186	-3,210	-2,956	19,8	-223,9	-238,6
13	4-OH	0,326	-2,737	-2,488	-3,063	-2,814	19,3	-231,2	-237,4
14	4-OMe	0,848	-2,444	-2,183	-3,292	-3,031	20,4	-222,0	-238,2
15	4-OEt	1,315	-2,352	-2,091	-3,667	-3,406	20,4	-220,3	-245,5
16	3,4-Cl <sub>2</sub>	2,064	-2,313	-2,041	-4,377	-4,105	21,4	-216,1	-255,6
17	3-Cl-4-Me	1,891	-2,280	-2,050	-4,171	-3,941	17,7	-228,2	-264,4
18	3,4-(CH) <sub>4</sub>	2,084	-2,256	-2,009	-4,341	-4,093	19,2	-222,3	-262,2
19	2-Cl	0,870	-2,434	-2,161	-3,305	-3,032	21,4	-218,2	-234,8
20	2-Me	0,930	-2,401	-2,141	-3,332	-3,071	20,3	-221,4	-239,2
21	2-OMe	0,562	-2,522	-2,285	-3,084	-2,847	18,3	-230,6	-241,4
22	2,4-Cl <sub>2</sub>	1,625	-2,308	-2,051	-3,933	-3,676	20,1	-220,5	-251,6
23	2,5-Cl <sub>2</sub>	1,606	-2,334	-2,093	-3,941	-3,700	18,6	-225,9	-256,6
24	2,6-Cl <sub>2</sub>	1,563	-2,372	-2,132	-3,935	-3,695	18,6	-226,8	-256,8
25	2,5-Me <sub>2</sub>	1,455	-2,328	-2,062	-3,783	-3,517	20,9	-218,1	-246,0
26	2,3-(CH) <sub>4</sub>	1,715	-2,301	-2,044	-4,016	-3,759	20,0	-220,5	-253,3
27	2,4,5-Cl <sub>3</sub>	2,297	-2,303	-2,080	-4,599	-4,376	17,1	-230,6	-274,6

a) Dekadische Logarithmen der Octan-1-ol/Wasser-Verteilungskoeffizienten (aus [3]). b) Logarithmen der Geschwindigkeitskonstanten (*k* in s<sup>-1</sup>); aus der jeweiligen Eyring-Gleichung für *T* = 293 K und *T* = 313 K entnommen (log*k*<sub>1</sub>) bzw. gemäß Gl. (2.1) berechnet (log*k*<sub>2</sub>).

$$\lg k_{2(293K)} = -0,979(\pm 0,096) \log P - 2,335(\pm 0,180)^2 \quad (8.1)$$

*n* = 8, *r* = -0,995, *s* = 0,027, *F* = 628,7

$$\lg k_{2(313K)} = -1,000(\pm 0,112) \log P - 2,047(\pm 0,210) \quad (8.2)$$

*n* = 8, *r* = -0,994, *s* = 0,032, *F* = 478,3

Aus den von 1 nicht wesentlich verschiedenen Regressionskoeffizienten *d*log*k*<sub>2</sub>/*d*log*P* dieser Beziehungen resultiert nach Gl. (2.1) die beobachtete Hydrophobizitätsunabhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten *k*<sub>1</sub> (*d*log*k*<sub>1</sub>/*d*log*P* ≈ 0) im Bereich höherer Hydrophobizität (Abb. 2). Auf die Angabe dieser statistisch nicht signifikanten Regressionsgleichungen wird daher verzichtet.

Bilineare und lineare Zusammenhänge zwischen Transportgeschwindigkeit (log*k*) und Hydrophobizität (log*P*) folgen nach [8] aus der postulierten Beziehung

$$k_2 = -\beta k_1 + c \quad (9)$$

(*β*, *c* = Konstanten) und der in (2.1) ausgewiesenen Verknüpfung der Geschwindigkeitskonstanten mit

$$\log k_1 = \log P - \log(\beta P + 1) + \log c \quad (10)$$

und

$$\log k_2 = -\log(\beta P + 1) + \log c \quad (11)$$

Beide Beziehungen werden über einen weiten log*P*-Bereich durch bilineare Kurven repräsentiert, die sich wegen Gl. (2.1) bei log*P* = 0 schneiden. Sie vereinfachen sich oberhalb einer genügenden Hydrophobizität zu (12) und (13), womit auch die nachgewiesene Hydrophobizitätsunabhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten *k*<sub>1</sub> sowie die für *k*<sub>2</sub> berechneten linearen Beziehungen (8.1) und (8.2) im Gebiet log*P* > 1,5 eine mathematische Fundierung erfahren.

$$\log k_2 = -\log P + \log \frac{c}{\beta} \quad (12)$$

$$\log k_1 = \log \frac{c}{\beta} \quad (13)$$

Die Natur der Konstanten *β* und *c* in diesen Zusammenhängen kann durch ein transportkinetisches Verteilungsmodell [9–12] erklärt werden, das die Vorgänge im Phasengrenzgebiet flüssig/flüssig als eine in drei reversiblen Schritten ablaufende Prozeßfolge betrachtet. Dabei wird das (substituentenunabhängige) Heran- oder Wegdiffundieren in der wäßrigen Diffusionsschicht (*k*<sub>aq</sub>) gefolgt vom hydrophobizitätsabhängigen Austausch der Solvathülle an der unmittelbaren

<sup>2)</sup> in Klammern sind die Konfidenzintervalle zur Irrtumswahrscheinlichkeit *α* = 0,05 angegeben.

Phasengrenze und den entsprechenden Diffusionsprozessen ( $k_{\text{org}}$ ) im organischen Phasengrenzgebiet ("two-film theory"). Unter Annahme quasistationärer Zustände für die Konzentrationen auf beiden Seiten der theoretischen Phasengrenze resultieren für die beobachteten Geschwindigkeitskonstanten  $k_1$  und  $k_2$  die bereits diskutierten Beziehungen (10) und (11) mit

$$\beta = \frac{k_{\text{org}}}{k_{\text{aq}}} \quad (14)$$

und

$$c = k_{\text{org}} \quad (15)$$

Aus den Parametern der für die untersuchte Stichprobe erhaltenen bilinearen Zusammenhänge (6.1) – (7.2) sind damit die Diffusionsgeschwindigkeitskonstanten  $k_{\text{aq}}$  und  $k_{\text{org}}$  zugänglich, die in Gebieten ausreichend niedriger ( $\log k_2 = \log k_{\text{org}}$ ) und hoher Hydrophobizität ( $\log k_1 = \log k_{\text{aq}}$ ) die (dann substituentenunabhängige) Transportgeschwindigkeit bestimmen:

$$\log k_{\text{aq}(293\text{K})} = -2,267 \quad (16.1)$$

$$\log k_{\text{aq}(313\text{K})} = -2,017 \quad (16.2)$$

$$\log k_{\text{org}(293\text{K})} = -2,784 \quad (17.1)$$

$$\log k_{\text{org}(313\text{K})} = -2,522 \quad (17.2)$$

Wegen (13), (14) und (15) entspricht  $\log k_{\text{aq}}$  zudem den Regressionskonstanten (Ordinatenabschnitten) der oberhalb  $\log P = 1,5$  gefundenen linearen Beziehungen (8.1) und (8.2) zwischen  $\log k_2$  und  $\log P$ , die sich nicht wesentlich von den in (16.1) und (16.2) angegebenen Werten unterscheiden.

Die im Rahmen dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse stützen somit anerkannte transportkinetische Modellvorstellungen und können zur Abschätzung optimaler Verteilungskoeffizienten bei pharmakokinetischen Überlegungen herangezogen werden.

Herrn J. Vogel sei für die Unterstützung bei den experimentellen Untersuchungen, Herrn Prof. Dr. W. Schäfer für die Förderung der Arbeit herzlich gedankt.

## Beschreibung der Versuche

Die zu charakterisierenden 5-Amino-1-aryl-1H-tetrazole (Tab. 1) wurden nach bekannten Verfahren über die in [3] beschriebene Mehrstufenreaktion synthetisiert. Ihre verteilungskinetische Untersuchung im Zweiphasensystem Octan-1-ol/Wasser (Phosphatpuffer pH 7,4) erfolgte bei mindestens fünf Tem-

peraturen zwischen 288 und 313 K photometrisch an einem SPECORD UV VIS der Firma Carl Zeiss JENA mit der in [6] dargestellten Meßanordnung. Dazu wurden zum Zeitpunkt  $t_0$  2,4 ml der thermostatierten octanolgesättigten wäßrigen Lösung des jeweiligen Aminotetrazols geeigneter Konzentration ( $E_0^{\text{aq}} = 1$ ) in einer thermostatierbaren Quarzküvette ( $10 \times 10 \times 45$  mm) mit 0,8 ml puffergesättigtem Octan-1-ol gleicher Temperatur überschichtet. Während der Messungen wurde das Zweiphasensystem zur Förderung des Verteilungsprozesses über eine in die wäßrige Phase tauchende Kanüle mit temperiertem Argon konstanter Strömungsgeschwindigkeit ( $20 \text{ ml min}^{-1}$ ) gerührt. Die Abnahme der Tetrazolkonzentration in der Unterphase konnte über die bei konstanter Wellenlänge in Nähe des längstwelligen Absorptionsmaximums oberhalb  $\lambda = 225 \text{ nm}$  gemessene Extinktion kontinuierlich bis zur Einstellung des Verteilungsgleichgewichts nach maximal 25 min verfolgt werden.

## Literatur

- [1] A. Leo, C. Hansch, D. Elkins, Chem. Rev. **1971**, 71, 525
- [2] T. Fujita, J. Iwasa, C. Hansch, J. Am. Chem. Soc. **1964**, 86, 5175
- [3] Th. Schelenz, W. Schäfer, J. Prakt. Chem. **1999**, 341, 499
- [4] Th. Schelenz, in Vorbereitung
- [5] Th. Schelenz, I. Ullrich, C.-R. Kramer, Wiss. Z. Päd. Hochsch. Halle-Köthen **1989**, XXVII, 39
- [6] C.-R. Kramer, U. Henze, Th. Schelenz, Z. Phys. Chem. (Leipzig) **1990**, 271, 1155
- [7] Th. Schelenz, C.-R. Kramer, U. Henze, K. Lübeck, J. Prakt. Chem. **1993**, 335, 273
- [8] H. Kubinyi, J. Pharm. Sci. **1978**, 67, 262
- [9] H. van de Waterbeemd, S. van Boeckel, A. Jansen, K. Geritsma, Eur. J. Med. Chem. - Chim. Ther. **1980**, 15, 279
- [10] J. Th. M. van de Waterbeemd, A. C. A. Jansen, Pharm. Weekbl., Sci. Ed. **1981**, 3, 71
- [11] H. van de Waterbeemd, P. van Bakel, A. Jansen, J. Pharm. Sci. **1981**, 70, 1081
- [12] H. van de Waterbeemd, The Theoretical Basis for Relationships Between Drug Transport and Partition Coefficients, in Pharmacology Library, Vol. 6: Quantitative Approaches to Drug Design (J. C. Dearden, Ed.), Elsevier, Amsterdam 1983, pp. 183–192

Korrespondenzanschrift:

Dr. Th. Schelenz

Institut für Physikalische Chemie

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Kurt-Mothes-Straße 2

D-06120 Halle (Saale)

Fax: Internat. code (0)345 5527028

e-Mail: schelenz@chemie.uni-halle.de