

Szybkości zmian właściwości układu

1. Kinetyka – zagadnienia ogólne

Kinetyka reakcji chemicznej, czyli w skrócie – kinetyka, opisuje zależności stanu układu od czasu. Za pomocą praw kinetyki możemy opisywać różne zjawiska, takie jak reakcje chemiczne, przemiany fizyczne i mikrobiologiczne, oraz wiele innych zdarzeń. Obserwacje kinetyczne są ściśle związane z procesami syntezy, zagadnieniami trwałości związków chemicznych (rozdz. 22) oraz z procesami spadku stężeń substancji czynnych zawartych w lekach obserwowanymi w organizmie (rozdz. 7).

Uogólniając, przebieg zmian stanu układu w czasie można opisać za pomocą matematycznych funkcji przybliżonych do łatwo mierzalnych, charakterystycznych dla danego układu, wielkości, takich jak np. stężenie składnika układu lub wybrana wielkość fizyczna. Funkcje te powinny tworzyć nieskomplikowane zależności oraz możliwie uproszczone analogie formalne. Na przykład na zmiany stężeń substancji czynnej w plazmie ma wpływ wiele procesów cząstkowych, które należy rozpatrywać wyłącznie jako jedną, nierozdzielalną całość. Takie postępowanie umożliwia uzyskanie znacznie uproszczonych matematycznych obliczeń, wystarczająco dokładnie opisujących zmiany stężeń substancji w plazmie. Jednocześnie możliwe jest również, w przypadku prostych reakcji chemicznych lub procesów fizycznych, aby ze znanych zależności wyprowadzić funkcje opisujące stan rzeczywisty.

Zasadniczo można wyróżnić kinetykę układów homogenicznych i heterogenicznych. Z kinetyką układu **homogenicznego** mamy do czynienia wówczas, gdy rozważane przemiany przebiegają wyłącznie wewnątrz jednej i tej samej fazy układu, takie jak na przykład reakcja hydrolizy substancji czynnej rozpuszczonej w roztworze wodnym, sedymentacja cząstek w zawiesinie bądź dyfuzja substancji w roztworze. Jeśli w przypadku rozpatrywanych przemian dochodzi do przekroczenia granic faz lub na grani-

cy faz występuje adsorpcja albo desorpcja, wówczas mamy do czynienia z kinetyką w układzie **heterogenicznym**.

Rozróżniamy również kinetykę liniową i nieliniową. Kinetyka **liniowa** jest kinetyką, w ramach której w odniesieniu do całego procesu jego szybkość pozostaje stała lub jest wprost proporcjonalna do zmian jednej lub więcej wielkości. Przez pojęcie kinetyki **nieliniowej** rozumiemy zatem równie proste zależności stanowiące możliwie najlepsze przybliżenie określonego fragmentu procesu. Do tej kategorii należą na przykład reakcje enzymatyczne, w których w przypadku wysokich stężeń substratu układ może osiągnąć stan nasycenia.

1.1. Kinetyka liniowa

1.1.1. Rząd i cząsteczkowość reakcji

Cząsteczkowość reakcji chemicznej określa, ile cząstek (w ujęciu stechiometrycznym) bierze udział w reakcji. Ponieważ w ogólności reakcja chemiczna jest efektem reakcji elementarnych, z których jedna jest najwolniejsza i tym samym limituje wypadkową szybkość reakcji, na podstawie rzędu reakcji na ogół nie można wnioskować o jej cząsteczkowości.

Często mamy do czynienia z przypadkiem, że w najwolniejszej reakcji elementarnej limitującej szybkość reakcji wypadkowej bierze udział więcej niż jeden składnik powodujący zrównanie szybkości reakcji, a tym samym badanie kinetyczne daje jako wynik wartość rzędu reakcji równą 1.

Przykładem jest reakcja substancji *A* oraz jednej cząsteczki obecnego w nadmiarze rozpuszczalnika *B* lub reakcja cząsteczki estru z jonem hydroksylowym w buforowanym roztworze zasadowym. W pierwszym przypadku reakcja *A* ze znikomo małą częścią *B* może być przedstawiona jako: $B_0 - B \approx B_0$; w drugim przypadku zaś – stężenie jonów hy-

droksylowych jest podtrzymywane przez tworzącą bufor parę kwas–zasada. W obu przypadkach mamy do czynienia z reakcją dwucząsteczkową, przy czym znacząco zmienia się stężenie tylko jednego z reagentów, podczas gdy stężenie drugiego pozostaje stałe. Równanie (12) dla reakcji drugiego rzędu ulega zatem znacznemu uproszczeniu do postaci:

$$B_0 \gg A_0,$$

a ponieważ $B_t \approx B_0$, otrzymujemy:

$$-\frac{dA}{dt} = {}^2k \cdot B_0 \cdot A = {}^1k' \cdot A. \quad (20)$$

Tego typu reakcji dwucząsteczkowej nie można odróżnić od reakcji jednocząsteczkowej na podstawie badań kinetycznych. Dlatego też powszechnie spotyka się wyrażenie „reakcja pseudopierwszego rzędu”, podobnie też lepsze jest współczesne ujęcie rzędu reakcji oraz cząsteczkowości w badaniach zjawisk kinetycznych, w których nie zawsze można zaobserwować obecność danych cząsteczek.

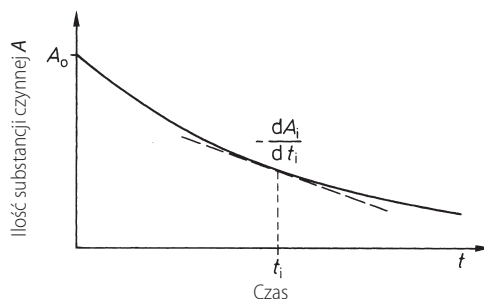
Dzięki utrzymywaniu się stałego stężenia jednego z reagentów reakcja dwucząsteczkowa może wykazywać kinetykę charakterystyczną dla reakcji pierwszego rzędu. Podobnie, w określonych warunkach, reakcja jedno- lub dwucząsteczkowa może również wykazywać zerowy rząd reakcji, jeśli w etapach reakcji determinujących jej szybkość nie zmieniają się stężenia reagentów (por. równanie 3). Przykładem może być reakcja substancji, której nasycony roztwór pozostaje w równowadze z substancją nierozpuszczoną.

W zawiesinie, przy odpowiednich założeniach, mamy do czynienia z sytuacją, kiedy szybkość procesu rozpuszczania się substancji jest znacznie większa od szybkości zachodzącej reakcji chemicznej. Równanie (3) przechodzi wówczas w równanie (21).

$$-\frac{dA}{dt} = {}^1k \cdot A_s, \quad (21)$$

gdzie A_s odpowiada ilości substancji rozpuszczonej w roztworze nasyconym, przy czym owe ilości A_s pozostają stałe w określonej objętości preparatu leczniczego tak długo, jak długo rozpatrywany roztwór pozostaje nasycony. Otrzymany wynik postaci ${}^1k \cdot A_s$ można zatem sprowadzić do stałej szybkości reakcji zerowego rzędu (równanie 22):

$$-\frac{dA}{dt} = {}^0k'. \quad (22)$$



Ryc. 3.1. Często obserwowany przebieg zależności opisującej ubytek pozostałej ilości substancji lub spadek stężenia pozostałej substancji A w postaci leku od czasu t ; szybkość reakcji w chwili czasowej t jest równa wartości tangensa kąta nachylenia stycznej do krzywej w punkcie (A, t) .

Współczynnik szybkości reakcji ${}^0k'$ zawiera zatem jako współczynnik sumę stałych A_s .

Dopiero gdy całe ciało stałe znajdzie się w roztworze, osiągamy wartości zmienne, mniejsze od wartości A_s . Rząd reakcji zmienia wówczas wartość z 0 na 1.

1.1.2. Reakcje różnych rzędów

Często zdarza się, że przedstawienie graficzne zależności pozostałości A lub stężenia pozostałej substancji czynnej $c(A)$ w zależności od czasu wykazuje przebieg podobny do krzywej przedstawionej na rycinie 3.1.

Zmiany pozostałej ilości substancji czynnej A w czasie to chwilowa szybkość reakcji RG . Jest ona podana w każdym punkcie czasowym t_i jako tangens kąta nachylenia stycznej do powyższej krzywej, wyrażona jest jako różniczka postaci:

$$RG = -\frac{dA}{dt}. \quad (1)$$

Na rycinie 3.1 w chwili $t = 0$ krzywa ma największą wartość współczynnika nachylenia, powoli malejącą wraz z rosnącym ubytkiem substancji A :

$$\frac{dA}{dt} = k \cdot A_t^\alpha \cdot B_t^\beta \cdot C_t^\gamma \dots$$

rząd reakcji zaś jest wyrażony następująco:

$$n = \alpha + \beta + \gamma + \dots$$

Rząd reakcji n jest równy sumie wykładników przy wyrażeniach opisujących ilości lub stężenia substratów znajdujących się po prawej stronie równania szybkości reakcji.

Reakcje pierwszego rzędu

Najprostszym założeniem do opisu wyżej wymienionego związku jest równanie proporcjonalności, tzw. zmiana zbioru A w czasie t jest proporcjonalnie ilości pozostałej (przebieg wykładniczy):

$$- \frac{dA}{dt} \sim A_t. \quad (2)$$

Po wprowadzeniu stałej proporcjonalności można sformułować z tego równanie prędkości:

$$- \frac{dA}{dt} = k \cdot A_t. \quad (3)$$

Stała k jest stałą szybkości reakcji. Jej wymiarem w tym przypadku jest (czas^{-1}) .

W równaniu (3) szybkość reakcji zależy tylko od jednego wyrażonego zbioru. Reakcję opisaną w ten sposób nazywa się reakcją pierwszego rzędu.

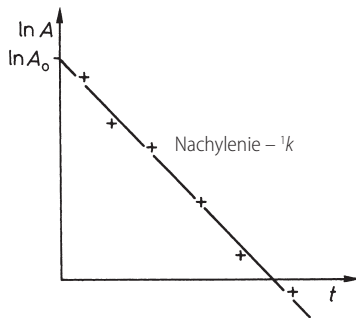
W celu odpowiedniego oznaczenia stała szybkości często jest przedstawiana jest z przedrostkiem, np. dla reakcji pierwszego rzędu jako 1k .

Scalenie równania (3) w granicach $t = 0$ i $t \rightarrow \infty$ prowadzi do równania (4):

$$A_t = A_0 \cdot e^{-kt} \quad (4)$$

$$\ln A_t = \ln A_0 - {}^1kt \quad \text{albo} \quad (5a)$$

$$\log A_t = \log A_0 - \frac{{}^1kt}{2,303} \quad (5b)$$



Ryc. 3.2. Graficzne wyznaczenie stałej szybkości reakcji pierwszego rzędu

To umożliwia obliczenie pozostałej ilości A do dowolnego czasu t lub odczytanie z wykresu graficznego (ryc. 3.2) równania (5a) jako prostej; 1k jest przy tym nachyleniem prostej.

Zamiast 1k o wymiarze (czas^{-1}) często używa się wyrażen, które mają taki wymiar (czas). Podczas oceny trwałości uwzględniany jest czas, w którym deklarowana ilość substancji czynnej w danej postaci leku uwalnia się w 90%. Ten czas nazywamy $t_{90\%}$. W kinetyce reakcyjnej i biofarmacji często stosuje się okres połowicznej przemiany $t_{50\%}$. Te wielkości w najprostszym sposobie są związane ze stałą szybkości reakcji pierwszego rzędu, co należy pokazać dla $t_{90\%}$.

W logarytmicznym równaniu kinetycznym (równanie 5a) zamiast zmiennej t umieszczany jest parametr $t_{90\%}$ w celu jednoczesnego stwierdzenia, że $A_{t_{90\%}}$ jest równe $9/10 A_0$.

$$\ln \frac{9}{10} A_0 = \ln A_0 - {}^1k \cdot t_{90\%}, \quad (6)$$

Rozwiązanie z równania (6) dla $t_{90\%}$ daje równanie (7):

$$t_{90\%} = \frac{\ln(10/9)}{{}^1k} = \frac{0,105}{{}^1k}. \quad (7)$$

Analogicznie dla okresu połowicznej przemiany:

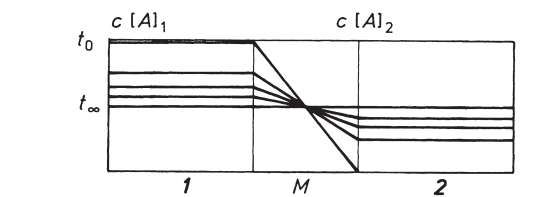
$$t_{50\%} = \frac{\ln 2}{{}^1k} = \frac{0,693}{{}^1k} \quad (6)$$

Wynik oznacza, że parametry $t_{90\%}$ i $t_{50\%}$ w reakcji pierwszego rzędu są niezależne od ilości. Dlatego też w miejsce A_0 można wstawić dowolną wielkość A_t .

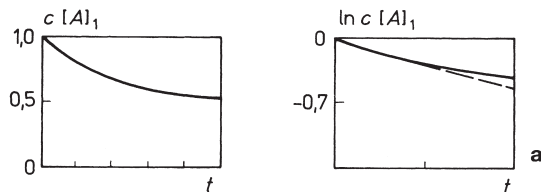
Znajomość okresu połowicznej przemiany w reakcji pierwszego rzędu umożliwia wyznaczenie czasu do całkowitego zakończenia reakcji: po pięciu okresach połowicznej przemiany stężenie wyjściowe spada do $3,125 (2^{-5})$ swojej wartości, po dziesięciu okresach połowicznej przemiany zmniejsza się do wartości mniejszej niż 1 promil (2^{-10}).

Logarytmiczna forma równania kinetycznego (równanie 5a i 5b) umożliwia prostą i zazwyczaj wystarczającą kontrolę tego, czy reakcja eksperymentalna może być zadowalająco opisana równaniem (3) do równania (5a i 5b). Przyjmuje się to, jeśli analogicznie do ryciny 3.2 obie wielkości $(\ln A, t)_i$ obliczone na podstawie wartości pomiarowych są ułożone przypadkowo wokół prostej regresji.

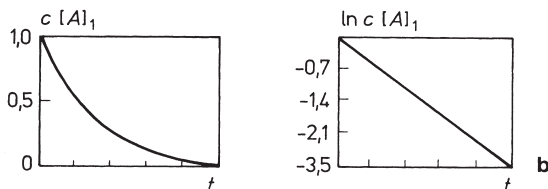
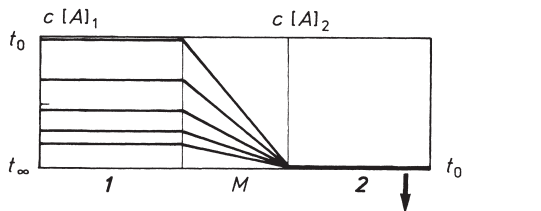
Nie pozwala to jednak na obliczenie, lecz tylko oszacowanie parametrów A_0 i 1k za pomocą regresji



Ryc. 3.3. Dyfuzja substancji A przez membranę M z przedziału 1 do przedziału 2 w układzie zamkniętym (a) i w warunkach malejącego stężenia układu otwartego (b);



a – w układzie zamkniętym z wyrównanym stężeniem nałożenie $\ln c(A)_1$ względem t nie daje prostej;



b – w warunkach malejącego stężenia substancja A nagromadzona w przedziale 2 zostaje natychmiast odprowadzana, ↓ – spadek stężenia

liniowej (podrozdz. 2.6); opiera się to na założeniu, że odchylenia są przypadkowe, tzn. wykazują rozkład normalny wokół średniej wartości; transformacja A_1 do $\ln A_1$ sprawia, że odchylenia są asymetryczne i tym samym powstają błędy systematyczne (zob. rozdz. 2, podrozdz. 1).

Kinetyka pierwszego rzędu, również poza obszarem reakcji chemicznych, daje przydatny model do przybliżonego opisu zmian, jak to pokazano na przykładzie dyfuzji.

Dyfuzja rozpuszczonej materii w ramach jednej i tej samej fazy następuje zasadniczo zgodnie z kinetyką pierwszego rzędu, według pierwszego prawa Ficka (rozdz. 4, podrozdz. 2.3.5). Następnie szybkość dyfuzji proporcjonalnie do gradientu stężenia, tzn. do różnicy stężeń przez grubość membrany, który poprzez strumień dyfuzji rozkłada się wolniej lub szybciej. Jeśli dwa przedziały różnego stężenia

oddzielone są od siebie cienką membraną, przez którą rozpuszczone cząsteczki przedostają się z trudem, gradient stężenia jest ograniczony w istocie do samej membrany. Szybkość dyfuzji jest wówczas proporcjonalna do różnicy stężeń w obu przedziałach. Jeśli układ zamyka się, strumień dyfuzji zatrzymuje się, kiedy oba przedziały osiągną równe stężenie. Z punktu widzenia kinetyki szybkości przejścia materii z przedziałów w inną materię są takiej samej wielkości, tak że panuje równowaga.

Podobne zjawisko ilustruje rycina 3.3a. Stężenie w przedziale 1 danej substancji A oznaczone jest jako $c(A)_1$, podczas gdy stężenie w przedziale 2 określane jest za pomocą $c(A)_2$. W czasie t_0 wartość $c(A)_1$ jest duża i $c(A)_2 = 0$. W czasie t_∞ mamy $c(A)_1 = c(A)_2$. Jeśli obydwa przedziały są jednakowej wielkości, to w czasie t_∞ w obydwu występuje połowa stężenia wyjściowego przedziału pierwszego. Nanosząc stę-

żenie przedziału pierwszego w czasie, otrzymuje się opadającą krzywą ze stężenia wyjściowego asymptotycznie wchodzącą w wartość równowagi. Wykres $\ln c(A)_t$ do t nie jest tutaj liniowy, dopiero $\ln(c(A)_{1, \infty} - c(A)_t)$ do t przedstawia prostą malejącą.

Możliwa jest również druga sytuacja, a mianowicie, że całkowita ilość substancji występująca w przedziale 2 jest natychmiast eliminowana, np. poprzez szybkie przejście w trzeci przedział lub w drodze przemiany chemicznej. W takim przypadku w przedziale 2 panuje tylko niewielkie stężenie, którego wpływ na kinetykę wnikania masy nie jest tak istotny (stężenie malejące).

Całkowity gradient stężenia przez membranę odpowiada wtedy praktycznie stężeniu A w przedziale 1. Tym samym szybkość dyfuzji jest wprost proporcjonalna do $c(A)_1$. Szybkość dyfuzji wyniesie 0, a wnikanie masy zakończy się, jeśli w przedziale 1 stężenie osiągnie 0. Zjawisko to przedstawiono schematycznie na rycinie 3.3b.

Proporcja ta występuje często np. podczas wchłaniania substancji czynnej z leków do żywego organizmu (zob. rozdz. 7, podrozdz. 1). Jeśli zatem przedział 1 symuluje światło przewodu pokarmowego, przedział 2 oznaczałby pojemności płynów ustrojowych; szybki odpływ z przedziału 2 (ryc. 3.3b) symuluje wtedy usunięcie A z płynów ustrojowych, zwane eliminacją.

Innym przykładem jest szybkość, z jaką ciecz wpływa z otworu w dnie zbiornika. Jest ona proporcjonalna do panującego ciśnienia hydrostatycznego h i tym samym do danej wysokości słupa cieczy ponad otworem, tzn. $-dV/dt \sim h$.

Podobnie kondensator elektryczny po zwarciu rozładowuje się z prędkością proporcjonalną do pozostałego ładunku kondensatora. Oba wskazane przypadki stosuje się w biofarmacji podczas symulacji przebiegu stężeń substancji czynnych w organizmie (hydrauliczny albo elektroniczny model analogowy).

Model reakcji pierwszego rzędu stosuje się również w celu opisanego czasowego spadku liczby mikroorganizmów, N , wychodząc od wartości początkowej (zanieczyszczenie biologiczne), N_0 , w skażonym środowisku pod warunkiem:

$$N = N_0 \cdot \exp(-kt). \quad (9)$$

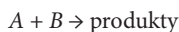
Analogicznie do pochodnej wartości $t_{90\%}$ (s. 00, równanie 6) (blok) można wyprowadzić z tego czas, w którym liczba mikroorganizmów zmniejszyła się ze 100 do 10% (lub o 90%). W technologii sterylizacji gorącym wartość tę określa się jako wartość D

(redukcja dziesiętna) z wymiarem (czasu) (rozdz. 5, podrozdz. 5.1.1):

$$t_{10\%} = D = \ln 10 / k. \quad (10)$$

Reakcje drugiego rzędu

Kiedy wykres par wartości pomiarowych w przebiegu krzywej jest zgodny z typem przedstawionym na rycinie 3.1, a pary wartości obliczone na podstawie par wartości pomiarowych ($\ln A, t$), nie dają prostej zgodnie z ryciną 3.2, szybkość reakcji jest nie tylko proporcjonalna do danej istniejącej ilości (równanie 2). Właściwe mogłoby być założenie, że w reakcji biorą udział dwa substraty:



i wspólnie określają szybkość reakcji. Szybkość reakcji RG jest wtedy proporcjonalna do ilości obu substratów (równanie 11):

$$RG = -\frac{dA}{dt} = -\frac{dB}{dt} \sim A \cdot B. \quad (11)$$

Odpowiednio równanie (12):

$$-\frac{dA}{dt} = -^2k \cdot A \cdot B. \quad (12)$$

Wielkość stałych szybkości reakcji zależy od wielkości A i B , tzn. przy zastosowaniu np. ilości (czas⁻¹ · ilość⁻¹). W równaniu (12) szybkości po prawej stronie odpowiadają dwa wyrażenia ilości, każdorazowo z wykładnikiem 1. Zgodnie z tym reakcja nazywana jest reakcją drugiego rzędu, stała szybkości reakcji zaś często jest oznaczana przedrostkiem 2 (2k).

Po scałkowaniu równania (12) otrzymujemy równanie (13):

$$\ln \frac{B_t}{B_0} - \ln \frac{A_t}{A_0} = (A_0 - B_0) \cdot ^2kt. \quad (13)$$

W wyjątkowej sytuacji, gdy na początku reakcji ilość A jest równa ilości B , równanie (12) upraszcza się do:

$$-\frac{dA}{dt} = ^2k \cdot A^2, \quad (14)$$

po scałkowaniu równania (14) uzyskujemy równanie (15):

$$\frac{1}{A_t} = \frac{1}{A_0} + {}^2kt. \quad (15)$$

Wykresy funkcji według równania (13) oraz (15) przedstawiono na rycinie 3.4.

Półokres reakcji $t_{50\%}$ reakcji drugiego rzędu oblicza się w prostszych przypadkach ($A_0 = B_0$) według wzoru:

$$t_{50\%} = \frac{1}{A_0 \cdot {}^2k} \quad (16)$$

i jest on odwrotnie proporcjonalny do ilości początkowej. Nie jest już on niezależny od stężenia jak w reakcjach pierwszego rzędu.

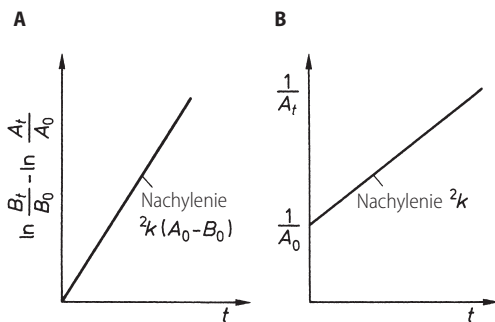
Reakcje rzędu zerowego

Jeśli przy nałożeniu pozostałej ilości A względem czasu powstanie prosta jak na rycinie 3.5, wówczas szybkość reakcji jest stała, tzn. co jednostkę czasową jest przekształcana ta sama ilość substancji. Dzieje się tak w przypadku, kiedy szybkość np. w reakcji fotochemicznej zostaje określona poprzez ilość zaabsorbowanego światła lub w reakcji katalizowanej poprzez ograniczoną powierzchnię styku katalizatora kałkowicie pokrytą reagującymi cząsteczkami.

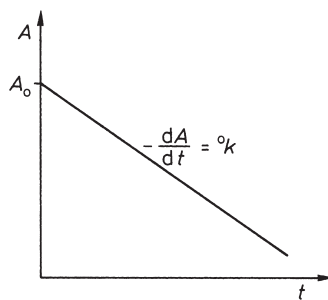
Zgodnie z ryciną 3.5 równanie szybkości można w łatwy sposób wyznaczyć według równania (17):

$$-\frac{dA}{dt} = {}^0k. \quad (17)$$

Suma wykładników wyrażen dla ilości po prawej stronie równania (17) wynosi zero, gdyż ilość występuje formalnie jako $A^0 = 1$. Rząd, zgodnie z definicją rzędów reakcji, wynosi tutaj zero. Stała szybkość re-



Ryc. 3.4. Wykresy funkcji liniowych reakcji drugiego rzędu; $a - A_0 \neq B_0$, $b - A_0 = B_0$



Ryc. 3.5. Przebieg reakcji rzędu zerowego

akcji ma wielkość (ilość \cdot czas $^{-1}$) w przypadku, gdy została zmierzona pozostała ilość materii. Po scałkowaniu równania (17) otrzymujemy równanie wzoru czasu (18):

$$A_t = A_0 - {}^0k \cdot t. \quad (18)$$

Półokres reakcji wynosi (równanie 19):

$$t_{50\%} = \frac{A_0}{2 \cdot {}^0k} \quad (19)$$

i zależy w ten sposób od początkowej ilości substancji czynnej w przeciwieństwie do reakcji pierwszego rzędu.

1.1.3. Porównanie szybkości reakcji zerowego, pierwszego i drugiego rzędu

Jak wspomniano na początku rozdziału 3, równania kinetyki reakcji chemicznych są stosowane w technologii farmaceutycznej przede wszystkim jako narzędzia matematyczne w celu interpolacji wartości mierzonych w ramach określonej dokładności. Przypisanie do określonego rzędu reakcji ma w związku z tym raczej formalny, matematyczno-statystyczny charakter.

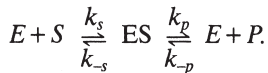
Przyjmując, iż reakcje modelowe zerowego, pierwszego i drugiego rzędu posiadają liczbowo takie same stałe szybkości reakcji, uzyskujemy przebieg krzywych przedstawiony na rycinie 3.6, najniższy rząd oznacza najszybszą zmianę.

Na początku przebieg krzywych, nawet jeśli systematyczny, nie różni się za bardzo; często błędne założenie zbyt niskiego rzędu prowadzi do tolerowanego błędu, o ile tylko obszar początkowy odgrywa jakąś rolę. W zakresie trwałości leków (rozd. 22)

znaczenie może zyskać inny punkt widzenia: jeśli przebieg krzywej dla reakcji drugiego rzędu na rycinie 3.6 opisuje rozpad substancji czynnej, wówczas mylne założenie reakcji zerowego rzędu przy większych wartościach t bądź większej utracie A prowadzi wprawdzie do systematycznej różnicy pomiędzy rzeczywistą ilością końcową substancji czynnej a wyekstrapolowanymi ilościami według odpowiedniego równania, ekstrapolacja jednak zawsze daje za małe wartości końcowe. W ten sposób termin przydatności lekarstwa ulega skróceniu.

1.2. Kinetyka nieliniowa

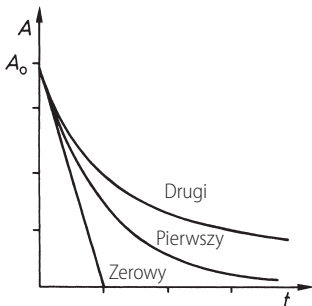
Ważnym przypadkiem kinetyki nieliniowej w systemach homogennych jest enzymatyczna przemiana substancji czynnych przy różnych proporcjach stężeń substratu bądź enzymu (kinetyka Michaelisa-Menten). Zakłada się, że enzym E i jego substrat S reagują wspólnie podczas tworzenia niestabilnego kompleksu ES , w którego rozpadzie powstaje produkt reakcji P oraz wolny enzym E :



Ponieważ $k_{-p} < k_p$, szybkość v przemiany S lub powstania P wynosi:

$$v = - \frac{dc(S)}{dt} \approx k_p \cdot c(ES). \quad (23)$$

Jeśli substrat jest większy od enzymu, cały enzym ma formę kompleksu, a szybkość reakcji osiąga maksimum (v_{\max}).



Ryc. 3.6. Porównanie przebiegu reakcji przy założeniu różnych rzędów (zerowego, pierwszego i drugiego) z liczbowo jednakowymi stałymi szybkości

Z szybkości tworzenia ES z E i S oraz zaniku ES w obu kierunkach w stanie stacjonarnym, tj. w równowadze przepływu, uzyskujemy:

$$\frac{[c(E) - c(ES)] \cdot c(S)}{c(ES)} = \frac{(v_{\max} - v) \cdot c(S)}{v} = \frac{k_{-s} + k_p}{k_s} = K_m. \quad (25)$$

W wyniku przekształcenia otrzymujemy **równanie Michaelisa-Menten**:

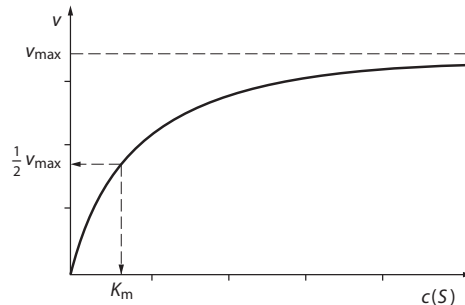
$$v = \frac{v_{\max} \cdot c(S)}{K_m + c(S)}, \quad (25a)$$

K_m – stała Michaelisa

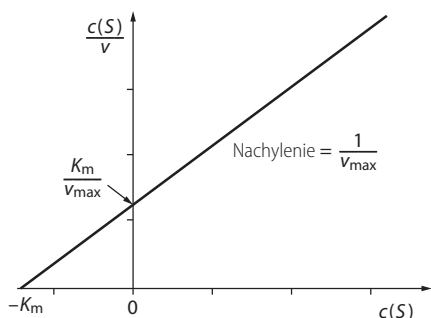
K_m można określić eksperymentalnie poprzez pomiar szybkości v przy wzrastającym stężeniu substratu $c(S)$. Z równania (25a) wynika, iż K_m odpowiada stężeniu substratu przy $v = 1/2 v_{\max}$. Widać to po bezpośrednim naniesieniu v względem $c(S)$ (ryc. 3.7). Ponieważ nigdy nie można osiągnąć całkowicie samego v_{\max} , v_{\max} i K_m najlepiej ustala się poprzez linearyzację równania (25a), np. w formie wykresu Hanesa (ryc. 3.8) według równania (25b), które powstaje poprzez iloraz odwrotności równania (25a) i $c(S)$:

$$\frac{c(S)}{v} = \frac{c(S)}{v_{\max}} + \frac{K_m}{v_{\max}} \quad (25b)$$

Ze względu na równomierne granice błędów przy stałym absolutnym błędzie odwzorowanie graficzne



Ryc. 3.7. Wykres zależności szybkości v reakcji enzymatycznej od stężenia substratu $c(S)$



Ryc. 3.8. Ustalenie K_m i v_{\max} za pomocą funkcji liniowej równania Michaelisa–Menten wg Hanesa.

Hanesa jest bardziej odpowiednie niż wielokrotnie stosowane podwójnie odwrotne odwzorowanie równania Michaelisa–Menten według Lineweavera–Burka.

Poza tym poprzez przekształcenie równania (25) w licznych etapach można otrzymać szybkość reakcji $v = -dc(S)/dt$ dla metabolizowania substratu:

$$- \frac{dc(S)}{dt} = \frac{v_{\max}}{K_m + c(S)} \cdot c(S). \quad (26)$$

Zamiast prostych stałych szybkości reakcji k równania (3) uzyskujemy wyrażenie uzależnione od stężenia substratu prowadzące do nieliniowego przebiegu.

Jeśli $c(S)$ jest o wiele większe w stosunku do K_m , równanie (26) upraszcza się do:

$$- \frac{dc(S)}{dt} = v_{\max}. \quad (27)$$

Równanie (27) jest identyczne jak równanie (17) dla reakcji rzędu zerowego. Stały opad po reakcji rzędu zerowego obserwuje się zawsze przy wysokich stężeniach substratu bądź bardzo niskich stężeniach enzymów, np. w rozkładzie etanolu w organizmie człowieka.

Przy bardzo niskich stężeniach substratów w stosunku do pojemności enzymów obowiązuje $c(S) < K_m$:

$$- \frac{dc(S)}{dt} = \frac{v_{\max}}{K_m} c(S) = k' \cdot c(S). \quad (28)$$

Równanie (28) jest identyczne jak równanie (3) opisane w podrozdz. 1.1.1 dla reakcji pierwszego rzędu. Jest to normalny przypadek podczas metabo-

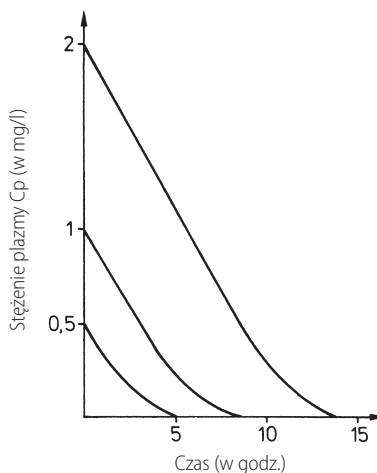
lizowania substancji czynnych. Jednakże także przy niskich stężeniach etanolu rozpad przechodzi w obszar nieliniowy (ryc. 3.9).

Tym samym w farmakokinytyce reakcje zerowego i pierwszego rzędu są przypadkami granicznymi kinetyki Michelisa–Menten.

1.3. Reakcje heterogeniczne

Jak już wspomnieliśmy wcześniej (rozdz. 1), w układach wielofazowych zachodzą reakcje heterogeniczne. Jeśli przeważa udział objętościowy jednorodnych faz ciekłych, tak jak w przypadku np. zawiesin, mogą zachodzić proste rzędy reakcji (podrozdz. 1.1.1).

Wzbogacenie reagentów lub środowisk reakcji, takich jak np. rozpuszczalniki, na powierzchniach granicy faz i rozdzielenie reagentów między różnymi fazami jednego układu mogą mieć wpływ na mechanizm, szybkość i rozmiar reakcji. Stała wiązania dla reagentów na granicy faz, tzn. stała równowagi między adsorpcją a desorpcją, zarówno w przypadku sorpcji chemicznej, jak i fizycznej, odgrywa analogiczną rolę do zdolności wiązania powierzchni granicy faz. W przypadku substancji buforowych i komprymatów następuje sorpcja na granicy faz stałej/gazowej, a w przypadku zawiesin na granicy faz stałej/ciekłej. Reagenty na warstwach emulgatorów w emulsjach i na tworzących wiązania komponentach koloidalnych żelów mogą, w ograniczonym wymiarze, tworzyć wiązania zwrotne. W emulsjach



Ryc. 3.9. Przebieg stężenia etanolu przy różnych wielkościach stężenia początkowego

i kremach reagenty ulegają rozdzielaniu między fazy, tak więc współczynniki podziału i dyfuzji mogą mieć wpływ na kinetykę reakcji. W podobny sposób kinetykę reakcji może określać przenikalność reagentów gazowych, np. pary wodnej lub tlenu przez warstwy materiału osłonowego, opakowania bądź warstw już wytworzonych produktów reakcji.

Przebieg procesu jest jeszcze mniej przejrzysty, gdy poprzez reakcję zmienia się rodzaj i liczba faz. Produkty reakcji mogą być ciekłe i wykazywać dużą rozpuszczalność w reagentcie. Stąd na przykład hydroliza, która najpierw zachodzi w fazie stałej z małymi ilościami adsorbowanej wody lub z pojedynczymi cząsteczkami wody ze strefy lotnej, może przejść w reakcję, która rozwinię się w roztworze stężonym lub nasyconym. Za przykład może posłużyć wysoka rozpuszczalność kwasów p-aminosaliicylowych w produkcie ich dekarboksylacji m-aminofenolu. Produkt może także obniżyć temperaturę stopnienia reagenta i poprzez eutektyk utworzyć fazę ciekłą o zmienionej kinetyce.

Reakcje heterogeniczne mogą zachodzić podczas procesów wytwarzania i wpływać na jakość produktu, np. w przypadku polimeryzacji monomeru emulgowanego w emulsji wodnej. W procesie wytwarzania są one częściej ograniczone do zmian fizycznych. Heterogeniczne reakcje chemiczne zachodzą zaś często podczas składowania dyspersyjnych postaci leków i tym samym mają znaczenie dla trwałości produktu (rozdz. 22). Przy tym jeśli dotyczy to zawartości substancji określanej przez analizę chemiczną, bardzo często udaje się opisać prostymi zależnościami czasowymi ubywanie resztkowych ilości substancji czynnej w czasie w jedynie niewielkim interesującym nas obszarze 10% (podrozdz. 1.1.3). Po raz kolejny zostaje podkreślony fakt, że reakcje chemiczne jedynie bardzo rzadko można opisać, używając aparatu matematycznego.

2. Wielkości wpływające na kinetykę reakcji

Kataliza i funkcja log k/pH

Katalizatory zwiększają szybkości reakcji chemicznych, ale same nie stają się składnikami produktów reakcji. Dotyczy to zarówno reakcji nieodwracalnych, jak i obu etapów reakcji odwracalnych. Istotną jest w tym przypadku specyficzna kataliza kwasowo-zasadowa, tzn. kataliza przez dodanie H_3O^+ i OH^- , oraz ogólna kataliza kwasowo-zasadowa, np. przez

sprężone pary kwasowo-zasadowe substancji buforowych.

Reakcje między jonami a roztworami są determinowane w swej kinetyce także przez stężenia jonów i biegunowość rozpuszczalnika.

Wiele solwolitycznych reakcji substancji czynnych w postaciach leków, które są istotne dla trwałości, zachodzi z udziałem katalizy kwasowo-zasadowej, takie jak np. hydroliza estrów w roztworze wodnym. Spośród etapów reakcji sumarycznej dla kinetyki reakcji decydujący jest ten, który zachodzi najwolniej i tym samym wyznacza szybkość reakcji.

Ten znaczący dla szybkości reakcji etap to – np. w reakcjach katalizowanych przez jony hydroniowe – protonowanie estru na grupie karboksylowej:

$$- \frac{dc(A)}{dt} = k_{H^+} \cdot c(A) \cdot c(H_3O^+). \quad (29)$$

W przypadku katalizy przez jony hydroksylowe taki jon przyłącza się w etapie określającym szybkość do dodatnio naładowanego węgla spolaryzowanej grupy karbonylowej:

$$- \frac{dc(A)}{dt} = k_{OH^-} \cdot c(A) \cdot c(OH^-). \quad (30)$$

Ponadto może zajść spontaniczna hydroliza bez udziału katalizatora:

$$- \frac{dc(A)}{dt} = k_0 c(A).$$

W pobliżu punktu stateczności obojętnej sumują się pojedyncze reakcje i równania:

$$- \frac{dc(A)}{dt} = [k_{H^+} \cdot c(H_3O^+) + k_{OH^-} \cdot c(OH^-) + k_0]c(A). \quad (31)$$

Gdy reakcja zachodzi w roztworze kwaśnym, $c(OH^-)$ jest bliskie zeru i tym samym można także ominąć iloczyn $k_{OH^-} \cdot c(OH^-)$ w równaniu (31). Jeśli roztwór zostanie zbuforowany, tak iż ogólna kataliza kwasowo-zasadowa zajdzie bez udziału substancji buforowej, czynnik $c(H_3O^+)$ pozostanie stały. Zachodzi wówczas reakcja pierwszego rzędu (podrozdz. 1.1.1). Podobna zasada obowiązuje dla hydrolizy w roztworze alkalicznym. Obserwowana stała szybkości reakcji k_{obs} jest zadana przez sumę stałej szybkości dla rozpatrywanej katalizy i stężenia jonów biorących udział w reakcji, przy czym dla

uproszczenia należy założyć, że spontaniczna hydrolyza jest bez znaczenia:

$$k_{\text{obs.}} = k_{\text{H}^+} \cdot c(\text{H}_3\text{O}^+) \quad (32a)$$

$$k_{\text{obs.}} = k_{\text{OH}^-} \cdot c(\text{OH}^-). \quad (32b)$$

Jeśli zlogarytmujemy równania (32a) i (32b), $c(\text{H}_3\text{O}^+)$ zaś zostanie wyrażone przez pH, a $c(\text{OH}^-)$ przez $\text{p}K_w$, powstaną równania liniowe:

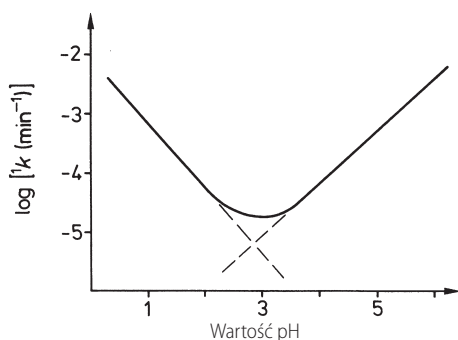
$$\log k_{\text{obs.}} = \log k_{\text{H}^+} - \text{pH} \quad (33a)$$

$$\log k_{\text{obs.}} = \log k_{\text{OH}^-} - \text{p}K_w + \text{pH}. \quad (33b)$$

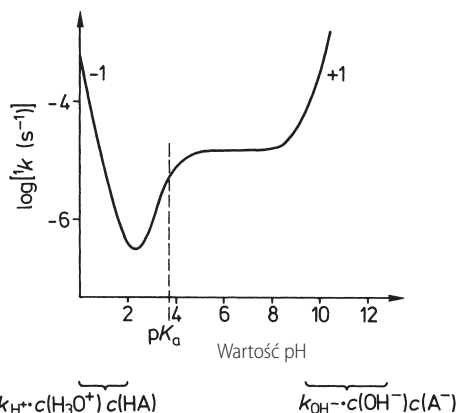
Wykres logarytmu obserwowanych stałych szybkości reakcji względem wartości pH daje **zależność $\log k/\text{pH}$** , krzywą złożoną z dwóch prostych z nachyleniem ujemnym w środowisku kwaśnym i rosnącym w środowisku alkalicznym.

Nachylenia przyjmują wartość -1 lub $+1$, za każdym razem, gdy jeden jon wejdzie w reakcję z cząsteczką estru. Z różnicy wartości liczbowych dla k_{H^+} i k_{OH^-} , która w przypadku estrów i amidów kwasów karboksylowych jest najczęściej większa od k_{H^+} , wynika położenie minimum funkcji logarymicznej $\log k/\text{pH}$ (ryc. 3.10). Jeśli k_{OH^-} jest większe od k_{H^+} , wówczas minimum dla $k_{\text{obs.}}$, a tym samym maksimum stabilizacji, znajduje się przy $\text{pH} < 7$.

W przypadku substancji jonowych przebieg funkcji jest bardziej skomplikowany (ryc. 3.11), co jest widoczne na przykładzie kwasu acetylosalicylowego. Anion kwasu zostaje ustabilizowany przez ujemny ładunek pod wpływem tak samo naładowanego jonu hydroksylowego. Wzrost wartości pH jest wprost proporcjonalny do stężenia jonów OH, ale i niektórych anionów substancji czynnej.



Ryc. 3.10. Zależność $\log k/\text{pH}$ hydrolyzy estru jako reakcji pierwszego rzędu



Ryc. 3.11. Funkcja $\log k/\text{pH}$ dla hydrolyzy kwasu acetylosalicylowego

Efekty te kompensują się nad określonym wąskim obszarem wartości pH. Następny, szeroki obszar szybkości hydrolyzy niezależnej od pH, w którym wartości pH rosną, jest determinowany przez wpływ wody. Ten zaś jest katalizowany przez wewnątrzcząsteczkowe nukleofilowe podstawienie grupy karboksylowej. Pośrednim produktem reakcji jest mieszaną bezwodnik kwasu salicylowego. Tym samym przesuwają się także kinetyczna kontrola całej reakcji; na etapie istotnym dla szybkości reakcji następuje hydrolyza tego bezwodnika. Dopiero gdy wartość pH jest wyraźnie większa, funkcja uzyskuje znów oczekiwany wzrost do $+1$.

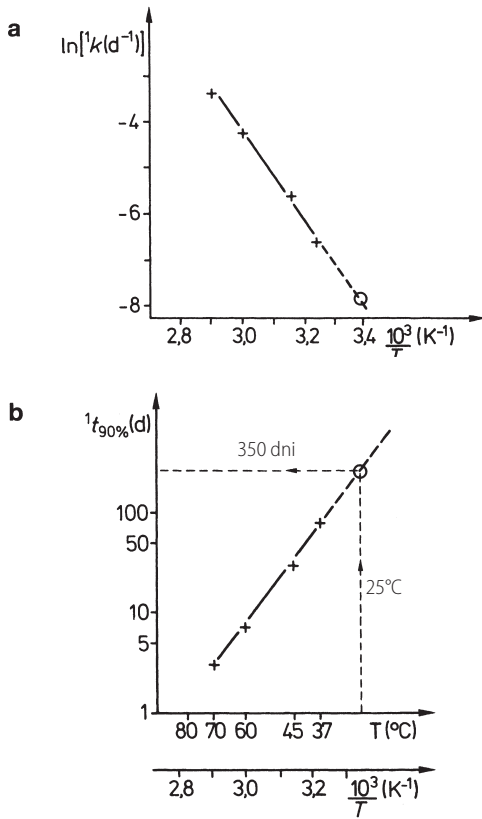
Temperatura

Wzrost temperatury zazwyczaj przyspiesza reakcje chemiczne. Dzieje się to za sprawą energii kinetycznej, która wzrasta u reagentów tak, aby przy zderzeniach stworzyć kompleks aktywny, jaki następnie będzie mógł wejść w reakcje z produktami o niskiej entalpii swobodnej, oraz dochodzi do zmiany entropii. Jeśli stopień uporządkowania zwiększa się w stanie przejściowym, a tak dzieje się najczęściej, zmiana entropii jest ujemna.

Zmianę stałych szybkości reakcji z temperaturą przedstawia równanie różniczkowe:

$$\frac{d \ln k(T)}{dT} = - \frac{E(T)}{RT^2} \quad (34)$$

gdzie E to wartość energii aktywacji ($\text{J} \cdot \text{mol}^{-1}$), T – temperatura absolutna (K), a R – ogólna stała gazowa ($\text{J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$).



Ryc. 3.12. Związek między stałymi szybkości reakcji a temperaturą. W przypadku zależności liniowej między $\ln k$ a $1/T$ (a) lub $\log t_{90\%}$ i $1/T$ (b) istnieje możliwość, aby z zachowaniem bezpieczeństwa statystycznego ekstrapolować z temperatur podwyższonych do temperatury pokojowej

Po scałkowaniu równania (34) otrzymujemy równanie (35):

$$\ln k = \text{const.} - \left(\frac{E(T)}{R \cdot T} \right). \quad (35)$$

Stała w równaniu (35) posiada ten sam wymiar co k . Określa się ją mianem czynnika przedwykładniczego; uwzględni ona rozkład energii zderzających się molekuł i ich orientację określającą prawdopodobieństwo reakcji po zderzeniu.

Jeśli weźmiemy A jako **czynnik przedwykładniczy** (stała szybkości reakcji przy $1/T \rightarrow 0$ lub $T \rightarrow \infty$) i $E(T) = E_A$ jako w przybliżeniu niezależną od temperatury **molową energię aktywacji**, otrzymamy

równanie Arrheniusa (równanie 36), w formie wykładniczej przedstawione następująco:

$$-k = A \cdot e^{-\frac{E_A}{R \cdot T}}, \quad (36)$$

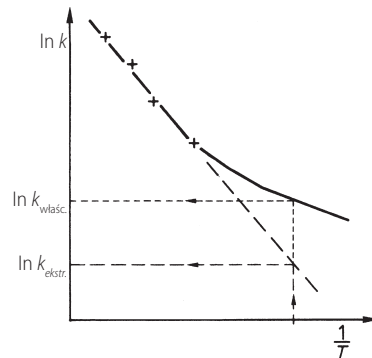
w równaniu tym wykładnik obrazuje teorię zderzeń.

Po zlogarytmowaniu równania (35), zależność czynnika $\ln k$ względem odwrotności wartości temperatury przedstawia prostą, z której nachylenia można obliczyć energię aktywacji (ryc. 3.12a).

W przypadku (b) skala rzędnej jest logarytmiczna, odcięta w dolnej skali jest liniowa („papier półlogarytmiczny”). Tym samym na rzędnej można nanieść i odczytać $t_{90\%}$.

Ponieważ w przypadku reakcji pierwszego rzędu okres połowicznej przemiany $f_{50\%}$ i $f_{90\%}$ jest odwrotnie proporcjonalny do stałych szybkości (podrozdz. 1.1.1), wykres Arrheniusa można także narysować, używając tych parametrów (ryc. 3.12b). Ma to wartość praktyczną, zwłaszcza w przypadku rozpatrywania okresu ważności środka leczniczego. Podczas takiej analizy należy pamiętać o tym, że nachylenie może obejmować wartości energii dla temperaturowych zmian parametrów. Uwzględnia się je już na poziomie stałej szybkości reakcji, np. entalpia swobodna w zawiesinach.

Jeśli k_{obs} składa się z wielu indywidualnych stałych szybkości reakcji kompleksowej, powyższych wartości nie dodaje się do energii aktywacji E_A . Dlatego też w tym przypadku wykres Arrheniusa nie przyjmie kształtu prostej. Dzieje się tak, gdy



Ryc. 3.13. Wykres Arrheniusa w przypadku zmiany mechanizmu lub etapu określającego szybkość w obszarze ekstrapolowanym oraz ryzyko otrzymania zbyt małej wartości $\ln k$ w wyniku ekstrapolacji

w obrębie obserwowanego przedziału temperatur przemieści się etap reakcji określający szybkość lub kiedy zmieni się mechanizm. Ekstrapolacja stałych szybkości reakcji na temperaturę pokojową w przypadku wyższych temperatur, jak się to dzieje w przyspieszaniu testów trwałości (rozdz. 22, podrozdz. 5.1.2), jest zatem obarczona pewnym ryzykiem błędu (ryc. 3.13).

Literatura

- Bisswanger, H. (2000), *Enzymkinetik, Theorie und Methoden*, 3. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, New York, Chichester, Brisbane, Singapore, Toronto.
- Carstensen, J. Th. (1972), *Theory of Pharmaceutical Systems*, Vol. II, Academic Press, New York, London, S. 295 ff.
- Frost, A. A., Pearson, R. G. (1973), *Kinetik und Mechanismen homogener chemischer Reaktionen*, Verlag Chemie, Weinheim.
- Karlson, P., Doenecke, D., Koolman, J. (1994), *Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
- Leuenberger, H. (Martin, A. N. [2002]), *Physikalische Pharmazie*, 4. Aufl., Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, Kap.8.
- Moore, W. J., Hummel, D. O. (1986), *Physikalische Chemie*, Walter de Gruyter Verlag, Berlin, New York.
- Schwetlick, K. (1971), *Kinetische Methoden zur Untersuchung von Reaktionsmechanismen*, Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin.
- Swinborne, E. S. (1975), *Auswertung kinetischer Messungen*, Taschentext 37, Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, Florida, Basel.