

*Aktuelne teme/  
Current topics*

LIPOFILNOST LEKOVA -  
ODREĐIVANJE I ZNAČAJ U TERAPIJI

**Correspondence to:**

Doc. Dr Sc Pharm **Snežana Djordjevic**

Docent na medicinskoj hemiji Visoke  
medicinske škole

Akademskih studija VMA,

Centar za kontrolu trovanja,

Vojnomedicinska akademija

Crnotravska 17

11000 Beograd

011-36-09-481

Mob.tel. 060-336-70-38

E-mail: ivezicnela@yahoo.com

LIPOPHILICITY OF DRUGS –  
DETERMINATION AND THERAPEUTIC  
IMPORTANCE

Maja Marinković<sup>1</sup>, Snežana Đorđević<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Apoteka Orlean plus

<sup>2</sup> Centar za kontrolu trovanja, Vojnomedicinska akademija, Beograd

*Sažetak*

Procesi farmakokinetike i farmakodinamike lekovite supstance zavise od sposobnosti molekula da intereaguje sa nevodenom (ćelijska membrana) i vodenom sredinom (unutrašnjost ćelije i međućelijski prostor). Ćelijska membrana je ambifilni fosfolipidni dvosloj zbog čega je kretanje većine molekula neometano. Hematoencefalna (HE) barijera je zbog čvrstih veza među endotelnim ćelijama nepropusna za velike i hidrofilne molekule, dok mali i lipofilni molekuli lako prolaze. Za lekove koji svoje dejstvo ostvaruju u CNS-u neophodna je mogućnost prolaza barijere u većem stepenu. Lipofilnost je određena parametrima, koeficijentom lipofilnosti, P, i njegovim logaritmom, logP, koji je češće u upotrebi. Lipofilnost leka utiče na davanje prednosti izvesnim predstavnicima farmakoloških grupa. Male promene u hemijskoj strukturi menjaju koeficijent lipofilnosti, distribuciju, mesto vezivanja za receptor, stepen prolaska kroz HE barijeru, što utiče na terapijski efekat. Strukturne promene utiču na ekstenzivnost metabolizma, selektivnost za određeni podtip receptora, ispoljavanje toksičnih efekata i primenu odgovarajuće antidotske terapije u slučaju trovanja. Zbog toga rezultati ispitivanja lipofilnosti lekovitih supstanci imaju primenu u razvoju lekova i optimizaciji savremene farmakoterapije.

*Ključne reči*

Lipofilnost, lekovi, hemijska struktura

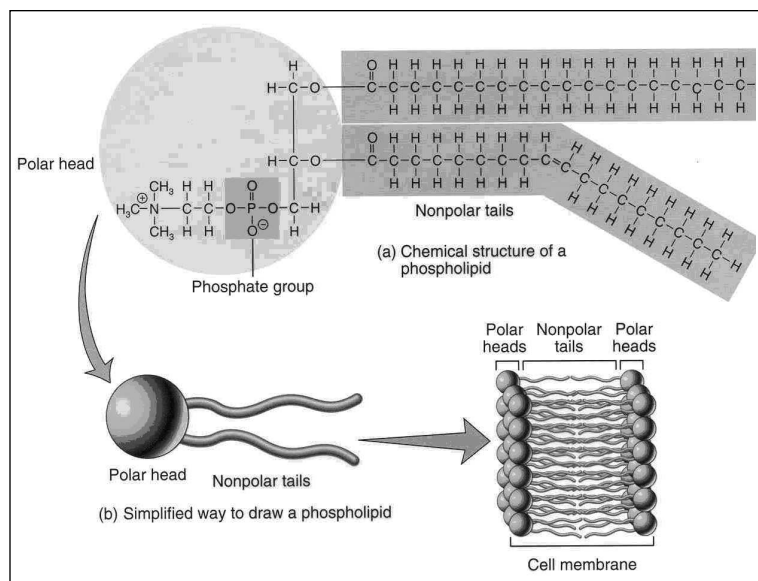
*Key words*

Lipophilicity, drugs, chemical structure

*UVOD*

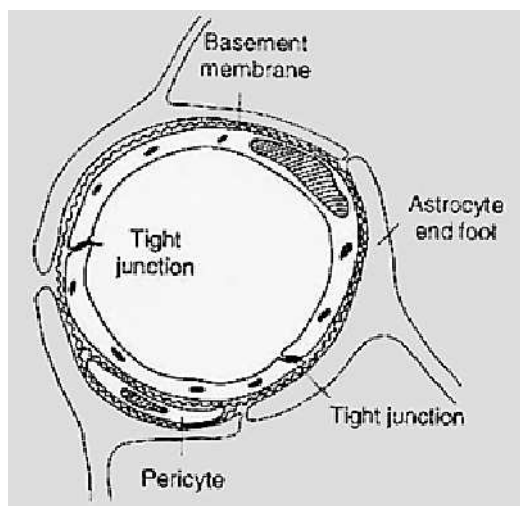
Biološka aktivnost lekovite supstance uslovljena je njenim fizičko-hemijskim karakteristikama. Procesi farmakokinetike i farmakodinamike zavise od sposobnosti molekula da intereaguje sa dve različite sredine: nevodenom (ćelijska membrana) i vodenom (unutrašnjost ćelije). Svojevremeno je pojamom *lipofilnost*. Put molekula leka kroz organizam i interakcije sa specifičnim mestom dejstva zavise od njegove interakcije sa ćelijskom membranom i unutarćelijskim sadržajem, odnosno, zavise od njegove lipofilnosti.<sup>(1)</sup> Ćelijska membrana je složena mikrostrukturna tvorevina, ali se pojednostavljeno može posmatrati kao ambifilni fosfolipidni (hidrofilno/lipofilno/hidrofilni) dvosloj, sa prisustvom hidrofilnih proteinskih molekula (sl.1). Zbog ovakve prirode membrane, većina lekovitih supstanci neometano prodire unutar ćelije (difuzija, osmoza), dok je za određene potreban poseban način prenosa (aktivni transport, olakšana

difuzija posredovana nosačem ili jonskim kanalom, endocitoza, egzocitoza).<sup>(2-5)</sup>



*Slika 1.: Fosfolipidi (Wissmann, P., Anatomy Textbook )*

Lipofilnost molekula igra važnu ulogu pri prolasku lekovite supstance kroz *hemoencefalnu (HE) barijeru* (sl.2). Specifičnost strukture ove membrane je u prisustvu tzv. „čvrstih veza” među endotelnim ćelijama kapilara. Čvrste veze su sačinjene od transmembranskih proteina (klaudin, okcludin itd.) i onemogućavaju slobodan prolaz supstanci iz krvotoka u nervni system. HE barijera je praktično nepropusna za velike i hidrofilne molekule, dok mali ( $O_2$ ,  $CO_2$ ,  $H_2O$ ) i lipofilni molekuli lako prolaze.<sup>(6-9)</sup> Optimalna lipofilnost leka za prolazak kroz HE barijeru je pri logP 2-3.



Slika 2: Moždana barijera (2010, Chodobsky, Brain Barriers)

### Parametri lipofilnosti

Parametri lipofilnosti opisuju raspodelu leka između lipidne i vodene faze, odnosno, afinitet leka za lipidnu, ili vodenu fazu. To su *koeficijent raspodele, P* i njegova logaritamska vrednost, *logP*, koja se češće koristi. Kao optimalan model ponašanja molekula leka u organizmu, autori Fujita, Iwasa i Hansch smatrali su odnos rastvorljivosti leka u dvofaznom sistemu *oktanol/voda*. Zato se ovaj model i danas koristi pri eksperimentalnim metodama određivanja lipofilnosti.<sup>(5)</sup>

$$P = \frac{[\text{nejonizovani oblik}]_{\text{oktanol}}}{[\text{nejonizovani oblik}]_{\text{voda}}}$$

$$\log P = \log [\text{nejonizovani oblik}]_{\text{oktanol}} - \log [\text{nejonizovani oblik}]_{\text{voda}}$$

Koeficijent raspodele predstavlja odnos koncentracija nejonizovanih oblika jedinjenja rastvorenih u dve faze koje se ne mešaju i koje su u ravnoteži (npr. oktanol/voda). Za jedan isti rastvarač predstavlja konstantu pri standardnim uslovima. Sa porastom lipofilnosti, vrednosti logP se kreću od negativnih ka pozitivnim. Supstance čije su vrednosti logP veće od 5, visoko su lipofilne i pokazuju toksičnost.<sup>(1,5)</sup> Kada supstanca pokazuje reakciju sa nekim od rastvarača (jonizacija, agregacija, stvaranje jonskih parova), logP nije najbolji pokazatelj lipofilnosti. Lipofilnost se u tom slučaju izražava preko *efektivnog koeficijenta raspodele, D*, odnosno, njegovog logaritma, *logD*.

$$D = \frac{[X^- + HX]_{\text{oktanol}}}{[X^- + HX]_{\text{voda}}}$$

### Metode određivanja lipofilnosti

Tradicionalna, referentna, metoda određivanja lipofilnosti je *shake flask* metoda. Određena količina ispitivane supstance dodaje se u smešu oktanol i vode, ili druga dva rastvarača koji se ne mešaju. Rastvarači moraju biti puferovani, jer se lipofilnost, odnosno koeficijent P i logP određuju pri konstantnom pH<sup>(7,4)</sup>. Koncentracija supstance se meri nekom od instrumentalnih metoda (spektrofotometrija, visokoeffikasna tečna hromatografija, gasna hromatografija). Metoda ima i nedostatke kao što su slaba reproduktivnost, nemogućnost primene na veoma lipofilne ili hidrofilne supstance i dužina trajanja eksperimenta.<sup>(1,6)</sup>

Pored *shake flask* metode, za određivanje lipofilnosti koriste se i hromatografske metode koje omogućavaju brzo i lako određivanje lipofilnosti na osnovu retencionih parametara, i iz relativno malih količina uzorka.<sup>(1,6)</sup>

Izračunavanje lipofilnosti HPLC metodom zasniva se na određivanju retencionih vremena supstanci na osnovu kojih se može izračunati *logaritma retencionog faktora, logk*.

$$\log k = \log \left[ \frac{R_t - R_{tmf}}{R_{tmf}} \right]$$

$R_t$  je retenciono vreme ispitivane supstance, a  $R_{tmf}$  retenciono vreme mobilne faze, odnosno jedinjenja koje je prošlo kroz kolonu bez zadržavanja.

Primena reverzno-fazne i gradijentne HPLC u ispitivanju lipofilnosti supstance pokazuju dobro slaganje sa vrednostima logP dobijenih klasičnom *shake flask* metodom.<sup>(1)</sup>

Danas se u određivanju lipofilnosti lekovitih supstanci koristi i *IAM metoda – metoda veštačkih imobilisanih membrana*. Suština metode je u fiksiranju fosfolipidnih membrana na kolone hromatografa, pri čemu se lek na koloni zadržava u zavisnosti od logP.<sup>(1,6)</sup> *pH-metrijska metoda* zasniva se na merenju koncentracije lekovite supstance pri promeni pH vrednosti, prvo u vodenoj fazi, zatim u dvofaznom sistemu.

Pored navedenih instrumentalnih metoda, koriste se i *metode kvantitativnih odnosa* :

**QSAR** metoda – *Quantitative structure-activity relationship*

- definiše kvantitativne odnose strukture i dejstva leka matematičkim modelima

**QSPR** metoda – *Quantitative structure-property relationship*

- definiše kvantitativne odnose strukture i svojstva leka matematičkim modelima

Metode se zasnivaju na matematičkim, teoretskim modelima i činjenici da je vezivanje molekula za receptore u zavisnosti od strukture liganda i receptora. Biološki efekat

leka je funkcija molekulske strukture leka, kao što je svako svojstvo (aktivnost) supstance koje se ispituje, u odgovarajućoj matematičkoj zavisnosti (linearnoj, nelinearnoj) od odgovarajućih molekulskih parametara vezanih za ispitivano svojstvo. Cilj QSAR analize je bolje razumevanje odnosa strukture i dejstva leka, predviđanje svojstava molekula pre sinteze i dizajniranje lekova sa poboljšanim svojstvima.<sup>(1-4,6)</sup>

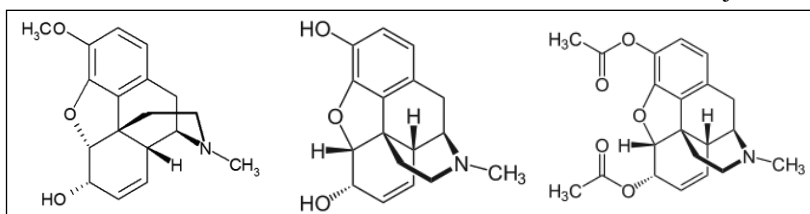
Autor C.A. Lipinski je, proučavajući odnos strukture supstance, veličine molekula, njene lipofilnosti s jedne, i biološke aktivnosti s druge strane, došao do nekoliko pravila u predviđanju dobre resorpcije i permeabilnosti supstance:

- molekulska težina manja od 500 daltona
- logP<5
- manje od 5 donora vodoničnih veza (OH, NH)
- manje od 10 akceptora vodoničnih veza (N, O)

Svaki od brojeva u pravilima, deljiv je sa brojem 5, odakle potiče naziv „rule of five”.<sup>(5-6,10)</sup>

### Primeri uticaja lipofilnosti molekula na biološku aktivnost

Morfinski derivati su dobar primer uticaja strukture molekula i njene lipofilnosti na intenzitet farmakološkog dejstva. Morfin je snažan analgetik, ispoljava svoje dejstvo na opijatnim receptorima, delimično prolazi HE barijeru, i pored analgetskog, ispoljava dejstvo u promeni ponašanja, raspoloženja i vrlo brzo izaziva zavisnost. Nezamenjiv je u terapiji jakog bola. Kodein je u terapiji prisutan zbog dejstva na centar za kašalj, i najzastupljeniji je kao terapeutik, u odnosu na druge derivate. U organizmu se metaboliše u morfin. U literaturi su poznata trovanja odojčadi morfinom, nakon primene kodeina u terapiji kašlja kod majki. Diacilmorfin, heroin, polusintetski derivat, ima izuzetno naglašeno psihoaktivno dejstvo. Utiče na raspoloženje, subjektivni doživljaj stvarnosti, otklanja osećaj straha i brige, izaziva snažnu euforiju i snažnu fizičku zavisnost. U visokom stepenu prolazi HE barijeru, a u mozgu se metaboliše u morfin, i ispoljava analgetsko dejstvo. Acetilacija -OH grupa na C3 i C6 atomu morfina povećala je lipofilnost molekula, uticala na kinetiku, dinamiku i povećala toksičnost supstance.<sup>(5,7-8,11)</sup>



KODEIN logP=0,6      MORFIN logP=0,9      HEROIN logP=1,5

### BENZODIAZEPINI

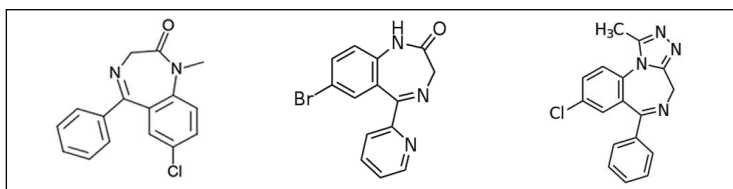
Na osnovu dužine dejstva, benzodiazepine delimo na ultrakratke (alprazolam, midazolam), kratkododelujuće (lorazepam) i dugododelujuće (hlordiazepoksid, diazepam). Odnos vrednosti parametra lipofilnosti i poluvremena eliminacije pokazuje obrnuto-linearnu zavisnost, odnosno, sa porastom lipofilnosti strukture, raste ekstenzivnost metabolizma (tabela 1.)<sup>(7-8,12)</sup> Dejstvo nekih benzodiazepina

produženo je stvaranjem farmakološki aktivnih metabolita. Metabolit diazepam, N-desmetildiazepam, farmakološki je aktivan, manje lipofilan, ima produženo poluvreme eliminacije, i izlučuje se putem urina kao hidrosolubilni glukuronid.<sup>(12)</sup>

**Tabela 1.:** Primeri benzodiazepina – odnos lipofilnosti i poluvremena eliminacije (2004, PubChem)

Benzodiazepin	logP	t1/2 (h)
midazolam	3,79	2,2-6,8
alprazolam	2,50	6,3-26,9
lorazepam	2,38	10-20
klonazepam	2,52	18-50
diazepam	2,81	40-120
hlordiazepoksid	2,16	40-120

Veliki značaj benzodiazepina u terapiji i česta primena kod različitih psihijatrijskih, kardioloških, hroničnih patoloških stanja uzrok je lakoj dostupnosti, čestoj samomedikaciji, zloupotrebi, predoziranju i trovanju, zadesnom ili namernom. Poznavanje kinetike pojedinih predstavnika od izuzetne je važnosti, kako zbog racionalizovanja terapije, tako i zbog izbegavanja nepoželjnih ishoda primene.



DIAZEPAM logP=2,81      BROMAZEPAM logP=2,05      ALPRAZOLAM logP=2,50

### ZAKLJUČAK

Savremene metode proučavanja lipofilnosti i drugih svojstava molekula imaju veliku mogućnost predviđanja farmakokinetike i farmakodinamike leka, omogućavaju nova, korisna znanja, koristeći jednostavne matematičke modele, dok su u relativno bliskoj prošlosti, za takve rezultate bili neophodni sati eksperimentalnog laboratorijskog i kliničkog rada. Rezultati ispitivanja lipofilnosti lekovitih supstanci imaju veliku primenu u razvoju novih lekova i optimizaciji savremene farmakoterapije. Ciljevi optimizacije su prihvatljivost načina primene leka, poželjan farmakološki odgovor, smanjena učestalost ili izostanak neželjenih dejstava i nepoželjnih interakcija, smanjen rizik ispoljavanja toksičnog dejstva i primena odgovarajuće antidotske terapije u slučaju trovanja.

## Abstract

The processes of pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs depend on the ability of molecules to interact with non-aqueous (cell membrane) and aqueous environment (cytoplasm and intercellular space). Cellular membrane is a complex amphiphilic phospholipid bilayer, and most of the molecules pass through easily. Blood-brain barrier is, due to tight junctions between endothelial cells, tight for large, hydrophilic molecules, while small, lipophilic molecules pass easily. For drugs that achieve effects in the CNS, the ability to pass barrier in a greater degree is required. Lipophilicity is determined by parameters, lipophilicity coefficient,  $P$ , and its logarithm,  $\log P$ , which is more common. Lipophilicity of the drug affects by giving priority to certain representatives of the pharmacological groups. Small changes in the chemical structure, change lipophilicity, distribution, binding site of the receptor, the degree of passing through the BB barrier, which affects the therapeutic effect. Structural changes affect the extensiveness of metabolism, the selectivity for particular receptor subtype, appearance of toxicity and application of appropriate antidote treatment in case of poisoning. Results of lipophilicity tests are used in drug development and optimization of modern pharmacotherapy.

## LITERATURA

1. J. Odović, J. Trbojević-Stanković, Hromatografske metode u proučavanju lipofilnosti biološki aktivnih supstanci, Hem. Ind; 63 (1): 33-37
2. N. Chirico, P. Gramatica. Real external predictivity of QSAR models. Part 2. New intercomparable thresholds for different validation criteria and the need for scatter plot inspection, 2012, J Chem Inf Model 52 (8): 2044-58
3. C. Nantasenamat, C. Isarankura-Na-Ayudhya, V. Prachayasittikul, Advances in computational methods to predict the biological activity of compounds, 2010, Expert Opin. Drug Discov.5: 633-54
4. C. Nantasenamat, C. Isarankura-Na-Ayudhya, T. Naenna, V. Prachayasittikul, A practical overview of quantitative structure-activity relationship, 2009, Excli J. 8: 74-88.
5. G. Thomas, Medicinal Chemistry, An Introduction, 2nd Edition, John Wiley and Sons, West Sussex, 2007.
6. A.C. Moffat, M.D. Osselton, B. Widdop, L.Y. Galichet, Clarke's Analysis of Drugs and Poisons, 4th Edition, 2011
7. F. Lombardo, M. Shalaeva, K. Tupper, F. Gao, ElogDoct: A Tool for Lipophilicity Determination in Drug Discovery. 2. Basic and Neutral Compounds, J. Med. Chem., 2001, 44 (15), pp 2490-2497
8. J. Arnott, S. Planey, The influence of lipophilicity in drug discovery and design, 2012, Expert Opin Drug Discov, 7(10): 863-75
9. P. Wills, A. Warnery, V. Phung-Ba, S. Legrain, D. Scheman, High lipophilicity decreases drug transport across intestinal epithelial cells, 1994, J. Pharmacol. Exp. Ther, 269(2):654-8
10. T.L. Lemke, Review of Organic Functional Groups, Introduction to Medicinal Organic Chemistry, 4th Edition, Williams and Wilkins, Baltimore, 2003
11. B. Testa, P. Crivori, M. Reist, P.A. Carrupt, The influence of lipophilicity on the pharmacokinetic behavior of drugs: Concept and examples, 2000, Perspective in Drug discovery and Design, 19:179-211
12. K. Parker, L. Brunton, L. Goodman, J. Lazo, A. Gilman, Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics (11 ed.). New York, 2006