

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC  
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

## ИНТЕГРИСАНЕ АКАДМЕСКЕ СТУДИЈЕ ФАРМАЦИЈЕ

Б13 - Медицинска хемија 1

# Физичко-хемијске особине молекула лекова

Друга недеља наставе

# Значај физичко-хемијских особина молекула лекова

- Већина лекова у медицини, се налази у облику раствора слабих киселина, слабих база, цвитер јона или амфолита.
- На основу физичко-хемијских особина лекова може се објаснити зашто се налазе у облику база и киселина, као и како јонизација утиче на фармакокинетичке особине лекова.
- Могу се утврдити и стратегије за одвајање смеша лекова на основу разлика растворљивости у различитим растварачима.

# Најважније физичко-хемијске особине молекула лекова

- Као наважније физичко-хемијске особине издвајају се:
  - степен јонизације (углавном нејонизовани облик лека пролази кроз ћелијску мембрану),
  - липофилност (пермеабилност лека кроз липидну мембрану),
  - растворљивост (у води, али и у ГИТ-у и крвној плазми).
- Међутим, значајну улогу имају и:
  - хидрофобне,
  - електронске и
  - стерне особине.

# Хидрофобне особине молекула лекова

- Хидрофобни карактер лека је круцијалан за пролазак лека кроз ћелијску мембрану и за остваривање интеракција са рецептором.
- Промене супституената на молекулу лека могу имати значајан утицај на хидрофобни карактер, а самим тим и на биолошку активност.
- Хидрофобни карактер лекова може се експериментално утврдити на основу **релативне дистрибуције лека**, израчунавањем партиционог коефицијента (коефицијента расподеле) - *P*.

## Хидрофобне особине молекула лекова

- За експериментално израчунавање партиционог коефицијента, као стандардни систем, користи се смеша *n*-октанола и воде.
- Хидрофобни молекули ће се више растварати у слоју *n*-октанола, овог двофазног система, док ће се хидрофилни молекули више растварати у воденом слоју. Хидрофилна једињења ће имати ниже вредности, док ће липофилна једињења имати више вредности партиционог коефицијента.
- Партициони коефицијент се најчешће изражава као  $\log P$  и израчунава се помоћу следеће једначине:

$$P = \frac{\text{концентрација лека у } n - \text{октанолу}}{\text{концентрација лека у воденом раствору}}$$

# Хидрофобне особине молекула лекова

- Константа хидрофобности супституента представља меру хидрофобности супституента у односу на водоник.
- Константа хидрофобности ( $\pi$ ) супституента (**X**) израчунава се преко експериментално одређених вредности партиционих коефицијената на основу следеће једначине:

$$\pi = \log P_x - \log P_H$$

$P_H$  – партициони коефицијент несупституисаног једињења (стандардног једињења);

$P_X$  – партициони коефицијент супституисаног стандардног једињења.

- Позитивна вредност  $\pi$  указује да је супституент липофилнији од водоника, док негативна вредност указује да је супституент хидрофилнији од водоника.

## Електронски ефекат молекула лекова

- Расподела електрона у молекулу лека има утицај на дистрибуцију и активност лека у организму.
- Такође, електронски ефекат различитих супституената утиче на јонизацију и поларност молекула лекова, а самим тим и на степен проласка кроз мембрану и јачину везивања за рецептор.
- Неполарни и поларни лекови у нејонизованом облику лакше пролазе кроз ћелијску мембрану у односу на лекове у јонизованом облику.

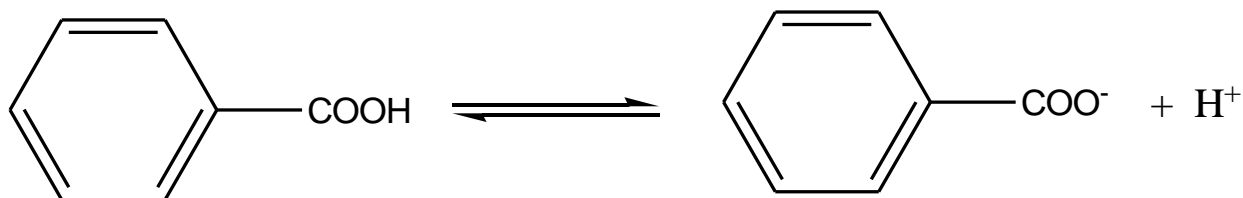
## Електронски ефекат молекула лекова

- Када молекул лека дође до циљног протеинског ефектора, врста веза које ће наградити зависе од расподеле електрона у структури молекула лека.
- На овај начин се објашњава и чињеница да електронска расподела у структури молекула лека утиче на биолошку активност лека.
- *Louis Plack Hammett* је 1940. године први покушао да квантификује електронске ефекте супституената и њихов утицај на физичко-хемијске особине једињења.



## Hammett-ова једначина

- **Hammett** је проучавао ефекте супституената на равнотежно стање јонизације бензоеве киселине и њених деривата.
- Бензоева киселина је слаба киселина која делимично јонизује у води.



$$K_H = 6,46 \times 10^{-5}$$

## *Hammett*-ова једначина

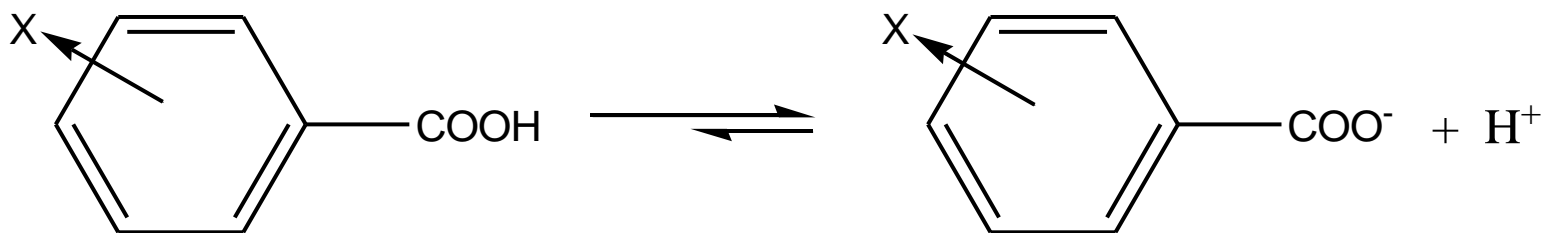
- Равнотежа је успостављена између јонизујућег и нејонизујућег облика, при чему је њихов однос познат као равнотежна константа, односно константа дисоцијације  $K_H$  (индекс  $H$  значи да нема супституената на ароматичном прстену).

$$K_H = \frac{[PhCOO^-]}{[PhCOOH]}$$

- Hammett* је указао на чињеницу да дистрибуција електрона унутар молекула зависи од природе електрон-акцепторских и електрон-донорских група присутних у структури молекула лека.

## Hammett-ова једначина

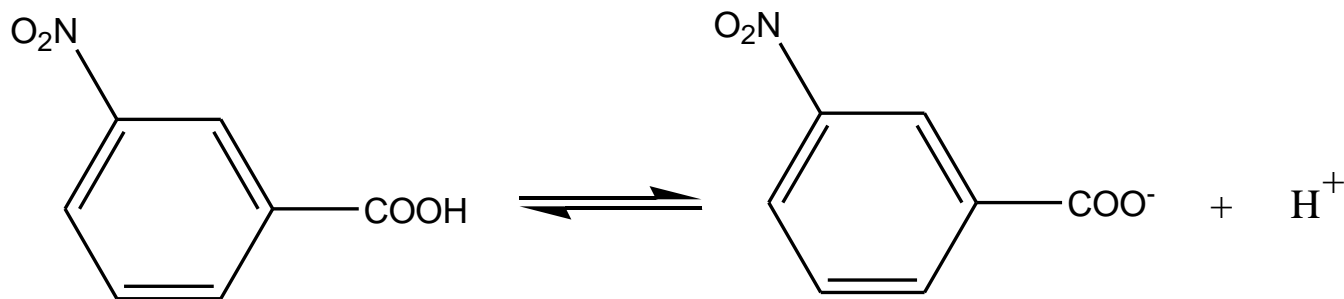
- Електрон-акцепторска група ( $\text{NO}_2$ ,  $\text{Cl}$ ,  $\text{CN}$ ,  $\text{CF}_3$ ...) везана за ароматични прстен има јачи електрон-акцепторски и стабилизујући ефекат на карбоксилатни анјон. У том случају, равнотежа ће се померити више ка јонизованом облику јер је супституисана бензоева киселина много јача од бензоеве киселине и има веће вредности  $K_X$  (индекс  $X$  означава супституент на ароматичном прстену).



## Hammett-ова једначина

Пример:

- Нитро група у *мета* положају повећава константу дисоцијације јер индуктивни ефекат утиче на електрон-акцепторску групу, што доводи до стабилизације негативне шарже на карбоксилатном анјону.

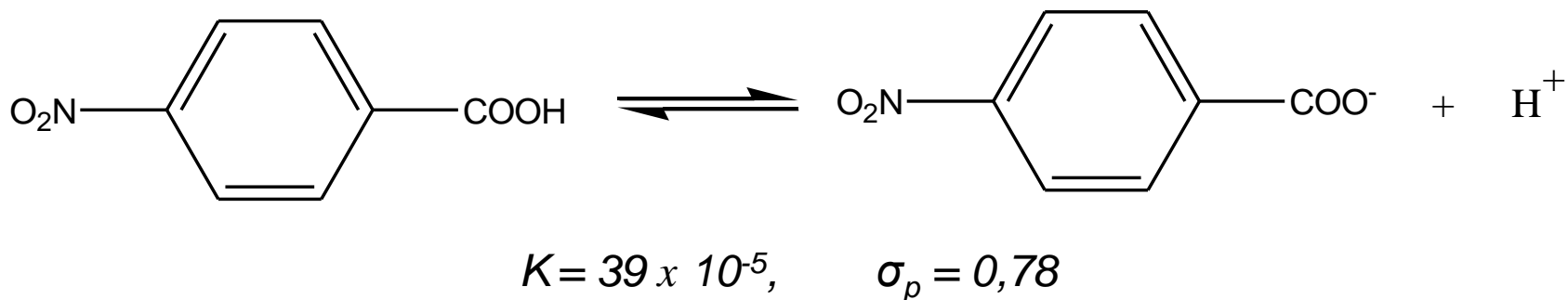


$$K = 32 \times 10^{-5}, \quad \sigma_m = 0,71$$

## Hammett-ова једначина

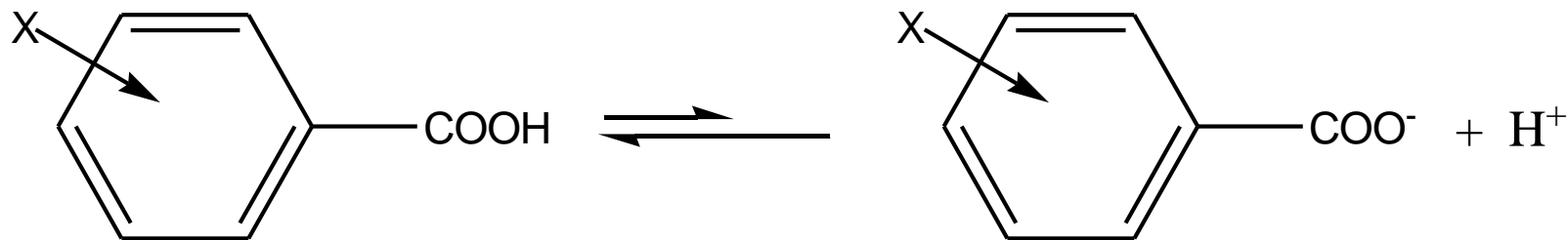
Пример:

- Нитро група у *пара* положају повећава константу дисоцијације јер је у том случају израженији ефекат нитро групе као електрон-акцепторске групе, због утицаја и индуктивног и резонантног ефекта.



## Hammett-ова једначина

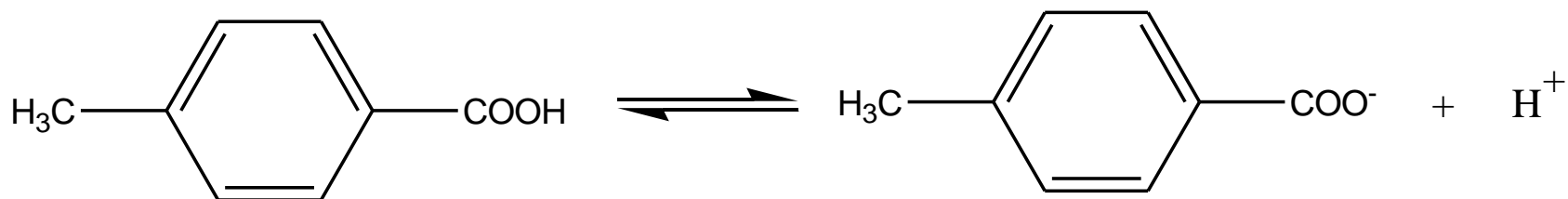
- Електрон-донорска (*Me*, *Et*, *n-Bu*...) група везана за ароматични прстен, има мању способност да стабилизује карбоксилатни анјон. У том случају, равнотежа се помера у лево, а бензоева киселина супституисана електрон-донорском групом је слабија и имаће ниже вредности  $K_X$  од несупституисане бензоеве киселине.



## Hammett-ова једначина

Пример:

- Метил група (електрон-донорска група) у *пара* положају смањује константу дисоцијације, што утиче на дестабилизацију негативне шарже на карбоксилатном анјону.



$$K = 4,3 \times 10^{-5}, \quad \sigma_p = -0,17$$

## *Hammett*-ова константа

- *Hammett*-ова константа ( $\sigma_X$ ) представља меру електронских ефеката супституента на степен дисоцијације.
- Дефинише се на основу следеће једначине:

$$\sigma_X = \log \left( \frac{K_X}{K_H} \right) = \log K_X - \log K_H$$

$$pK_a = -\log K_a$$

$$\sigma_x = pK_H - pK_x$$



## *Hammett*-ова константа

- Вредности *Hammett*-ове константе зависе од природе супституената.
- Негативне вредности  $\sigma_x$  указују да је супституент електрон-донорска група јер је  $K_H > K_x$ .
- Позитивне вредности  $\sigma_x$  указују да је супституент електрон-акцепторска група јер је  $K_x > K_H$ .
- *Hammett*-ова константа узима у обзир и резонантни и индуктивни ефекат и зато се вредности  $\sigma_x$  мењају у зависности од положаја супституента у молекулу, тј. да ли се налази у *мета* или *пара* положају.

## Вредности константи за поједине супституенте

Супституент	<i>Hammett</i> -ова константа		Индуктивна константа	<i>Taft</i> -ова константа	<i>Swain-Lupton</i> константа	
	$\sigma_m$	$\sigma_p$	$\sigma_I$	$\sigma^*$	$F$	$R$
<b>-H</b>	0,00	0,00	0,00	0,49	0,00	0,00
<b>-CH<sub>3</sub></b>	-0,07	-0,17	-0,05	0,00	-0,04	-0,13
<b>-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub></b>	-0,07	-0,15	-0,05	-0,10	-0,05	-0,10
<b>-Ph</b>	0,06	-0,01	0,10	0,60	0,08	-0,08
<b>-OH</b>	0,12	-0,37	0,25	-	0,29	-0,64
<b>-Cl</b>	0,37	0,23	0,47	-	0,41	-0,15
<b>-NO<sub>2</sub></b>	0,71	0,78	-	-	0,67	0,16

Табела са вредностима *Hammett*-ове, индуктивне, *Taft*-ове, *Swain-Lupton*-ове константе ( $F$  – индуктивни ефекат,  $R$  – резонантни ефекат) за поједине супституенте.

## Ограничења *Hammett*-ове константе

- *Hammett*-ова константа се не може израчунати за супституент у *орто* положају јер се у том случају занемарују битне стерне и електронске особине, као и интрамолекуларске водоничне везе.
- С обзиром на то да се *Hammett*-ова константа може израчунати само код супституената који су директно везани за бензенов прстен, у *QSAR* студије се уводе и многе друге електронске константе.
- Покушаји да се биолошка активност одреди на основу *Hammett*-ове и сличних константи, су у великој мери неуспешни јер расподела електрона у молекулу лека није једини фактор који утиче на његову активност.

# Стерни параметри

- Молекул лека мора да буде одговарајуће волуминозности, величине и облика да би дошло до одговарајуће интеракције са циљним протеинским ефектором.
- Израчунавање стерних особина је веома тешко, теже чак и од квантификовања хидрофобних и електронских особина.
  - Волуминозан супституент може да се понаша као „штит“ и самим тим да омета интеракцију између молекула лека и протеинског ефектора. Међутим, понекад може да помогне у оријентацији молекула лека и омогући максимално везивање за протеински ефектор, а самим тим и да појача активност молекула лека.
- Данас постоји велики број дескриптора који се баве овом проблематиком, а најчешће се користе:
  - *Taft*-ов стерни параметар,
  - моларна рефрактивност и
  - *Verloop*-ов стерни параметар.

## *Taft*-ов стерни параметар ( $E_S$ )

- Први параметар који се користио у циљу повезивања величине и облика молекула лека, димензије циљног места дејства лека и активности лека.  $E_S$  представља меру стерних ефеката супституената.
- *Taft* је 1956. године употребио релативне односе константи хидролизе у киселим условима  $\alpha$ -супституисаних метил ацетата у циљу дефинисања његових стерних параметара.
- Метил-ацетат је коришћен као стандард, при чему је *Taft*-ов стерни параметар дефинисан на следећи начин:

$$E_S = \log \frac{k_{(XCH_2COOCH_3)}}{k_{(CH_3COOCH_3)}} = \log k_{(XCH_2COOCH_3)} - \log k_{(CH_3COOCH_3)}$$

$k$  - вредност константе посматране хидролизе

## *Taft*-ов стерни параметар ( $E_S$ )

Супституент	$E_S$	Супституент	$E_S$	Супституент	$E_S$
<b>H-</b>	1,24	<b>F-</b>	0,78	<b>CH<sub>3</sub>O-</b>	0,69
<b>CH<sub>3</sub>-</b>	0,00	<b>Cl-</b>	0,27	<b>HO-</b>	0,19
<b>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>-</b>	-0,07	<b>F<sub>3</sub>C-</b>	-1,16	<b>CH<sub>3</sub>CONH-</b>	-0,38
<b>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH-</b>	-0,47	<b>O<sub>2</sub>N-</b>	-2,06	<b>CH<sub>3</sub>CO-</b>	-0,33

Табела са вредностима *Taft*-овог стерног параметра за поједине супституенте.

- Приказане вредности могу се применити и за друге структуре које садрже ове функционалне групе.
- Недостатак *Taft*-овог стерног параметра је се одређује експериментално.

## Моларна рефрактивност ( $MR$ )

- Моларна рефрактивност је мера запремине једињења и његове способности поларизације.
- Дефинисана је следећом једначином:

$$MR = \frac{(n^2 - 1)M}{(n^2 + 2)\rho}$$

$n$  – индекс рефракције  
 $M$  – релативна молекулска маса  
 $\rho$  – густина једињења

- Однос  $M/\rho$  је мера моларне запремине, а рефракторни индекс је мера поларизабилности једињења.

## Моларна рефрактивност ( $MR$ )

Супституент	$MR$	Супституент	$MR$	Супституент	$MR$
<b>H-</b>	1,03	<b>F-</b>	0,92	<b>CH<sub>3</sub>O-</b>	7,87
<b>CH<sub>3</sub>-</b>	5,65	<b>Cl-</b>	6,03	<b>HO-</b>	2,85
<b>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>-</b>	10,30	<b>F<sub>3</sub>C-</b>	5,02	<b>CH<sub>3</sub>CONH-</b>	14,93
<b>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH-</b>	14,96	<b>O<sub>2</sub>N-</b>	7,63	<b>CH<sub>3</sub>CO-</b>	11,18

Табела са вредностима моларне рефрактивности за поједине супституенте.



## *Verloop*-ов стерни параметар

- *Verloop*-ов стерни параметар се израчунава помоћу компјутерског програма (*STERIMOL*) на основу:
  - *Van der Waals*-овог полупречника,
  - дужине веза,
  - углова које граде везе и
  - могућих конформација супституената.
- Супротно од *Taft*-овог, *Verloop*-ов стерни параметар се може израчунати за све супституенте.

## Остали параметри

- Сви параметри се могу поделити на оне који описују делове молекула или оне који описују целе молекуле.
- Поред претходно описаних параметара, првобитно су се користили параметри као што су:
  - *van der Waals*-ов полупречник и
  - *Charton*-ова стерна константа, а касније и:
    - релативна молекулска маса и
    - моларна запремина.
- Сви параметри се користе у циљу повезивања биолошке активности и структуре.

## *Hansch*-ова анализа

- *Hansch*-ова анализа се бави проценом биолошке активности на основу мерљивих физичко-хемијских особина ( $P$ ,  $\log P$ ,  $\sigma$ ,  $E_s$ ,  $MR$ , и других).
- Према овој анализи биолошка активност молекула лека се може поделити на две фазе:
  - транспорт молекула лека до циљног места деловања и
  - везивање молекула лека за циљно место.
- Обе фазе зависе од физичко-хемијских особина молекула лека, али и од самог циљног места деловања.

## *Hansch*-ова анализа

- *Hansch* је постулирао да биолошка активност молекула лека може зависити од свих физичко-хемијских параметара, а њихова међусобна зависност се може представити следећом једначином:

$$\log \frac{1}{C} = k_1 + k_2 + k_3 + k_4$$

$k_1$  – партициони параметар

$k_2$  – електронски параметар

$k_3$  – стерни параметар

$k_4$  – неки од других параметара

$C$  – минимална концентрација која може да изазове специфични биолошки одговор;

$k_1, k_2, k_3, k_4$  – нумеричке константе добијене компјутерском обрадом статистичких података.

## *Hansch*-ова анализа

- Једначина се може приказати и на следећи начин:

$$\log \frac{1}{C} = k_1 \log P + k_2 \sigma + k_3 E_S + k_4 = -k_1 (\log P)^2 + k_2 (\log P) + k_3 \sigma + k_4 E_S + k_5$$

$$\log \frac{1}{C} = k_1 P - k_2 P^2 + k_3 \sigma + k_4 E_S + k_5$$

- Вредности ових параметара могу се добити из литературних података ( $\sigma$ ,  $E_S$  и др.) или на основу експеримената ( $C$ ,  $P$  и др.).

## *Hansch*-ова анализа

- Прецизност *Hansch*-ове анализе зависи од:
  - броја коришћених аналога
    - што је већи број аналога који се користе, већа је и вероватноћа добијања прецизне *Hansch*-ове анализе;
  - тачности биолошких података који се користе у анализи;
  - избора параметара.
- Вредности параметара у *Hansch*-овој анализи треба да буду у одговарајућем опсегу, јер би у супротном значило да биолошка активност зависи и од других фактора који нису укључени у анализу.

## Значај *Hansch*-ове анализе

- *Hansch*-ова једначина може да се користи у циљу предвиђања биолошке активности неког, до сада несинтетисаног аналога. На овај начин медицинска хемија теоријски издваја аналоге који ће се синтетисати и даље испитивати.
- На основу *Hansch*-ове анализе може се утврдити и који од параметара има улогу у механизму деловања молекула лека.

Пример:  $\log \frac{1}{C} = 1,78\pi - 0,12\sigma + 1,674$

- Позитивне вредности константе хидрофобности супституента указују да је супституент липофилан.
- Ниске (негативне) вредности *Hammett*-ове константе указују да електронски ефекат нема битну улогу у механизму дејства лека.

## *Craig*-ов графикон

- *Craig*-ов графикон представља дводимензионални графикон на коме је представљена зависност два параметра (најчешће приказује зависност *Hammett*-ове или *Taft*-ове константе у односу на хидрофобност).
- График је подељен на четири квадранта у зависности од вредности параметара.
- Користи се у комбинацији са *Hansch*-овом једначином за серију повезаних ароматичних једињења са циљем да се одаберу ароматични супституенти који ће имати велики утицај на активност нових аналога.



# Craig-ов график

