

Stereohemijski aspekti dejstva i farmakokinetike lekova

Slavica Eric¹, Marko Kalinić¹, Vladimir Savić^{2*}

¹ Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku hemiju, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

² Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, Katedra za organsku hemiju, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

* Autor za korespondenciju: e-mail: vladimir.savic@pharmacy.bg.ac.rs
telefon: +381 (0)11 3951-243 fax: +381 (0)11 3972-840

Kratak sadržaj

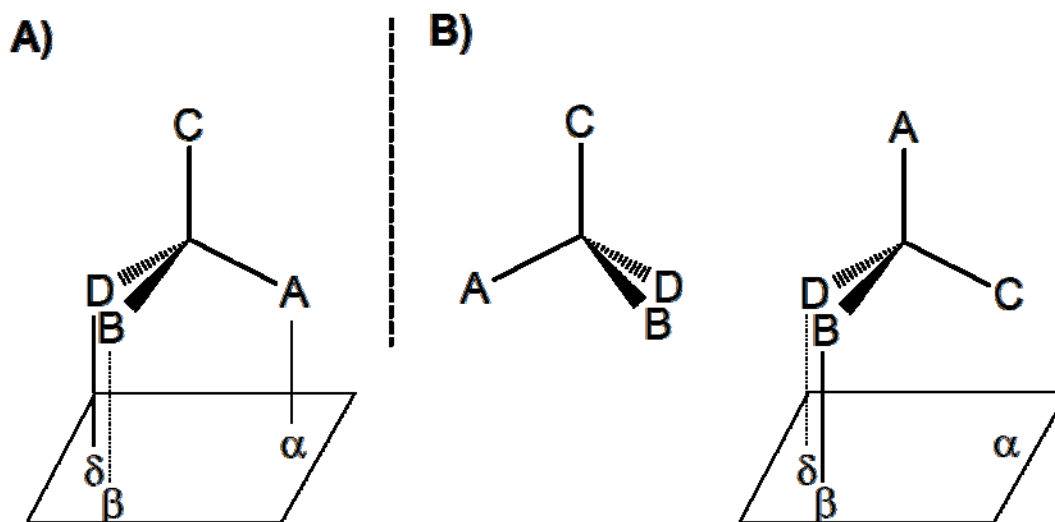
Dejstvo i sudbina leka u organizmu zavise od hiralnosti samih lekova kao i endogenih makromolekula sa kojima stupaju u interakciju. Razmatranje stereohemijskih aspekata dejstva i farmakokinetike lekova intenzivirano je početkom 80-tih godina prošlog veka i doprinelo je opsežnom dokumentovanju značajnih razlika između stereoizomernih oblika jednog leka. Enantiomeri tako mogu posedovati različitu efikasnost, mogu ispoljavati drugačije farmakološke i toksikološke efekte i sledstveno mogu imati različite bezbednosne profile. Sve veći broj dokaza o važnosti stereohemije, podsticaji regulatornih agencija, razvoj metoda asimetrične sinteze i analitike – doveli su do suštinskih promena u načinu na koji se novi hiralni lekovi razvijaju, ispituju, registruju i tržišno plasiraju. Enantiomere je danas neophodno tretirati kao zasebne entitete i zasebno ih ispitivati. Razvoj enantiomerno čistih formulacija lekova može omogućiti smanjenje ukupne količine ksenobiotika kojoj se pacijent izlaže, omogućiti precizniju procenu odnosa doze i efekta, pojednostaviti farmakokinetička ispitivanja i terapijski monitoring. Stoga je stereohemijske osobine biološki aktivnih jedinjenja neophodno razmatrati od najranijih faza procesa stvaranja novog leka da bi se blagovremeno napravio racionalan izbor jednog enantiomera za terapijsku primenu, kad god je to opravdano.

Ključne reči: enantiomeri; razvoj lekova; hiralnost

1. Uvod

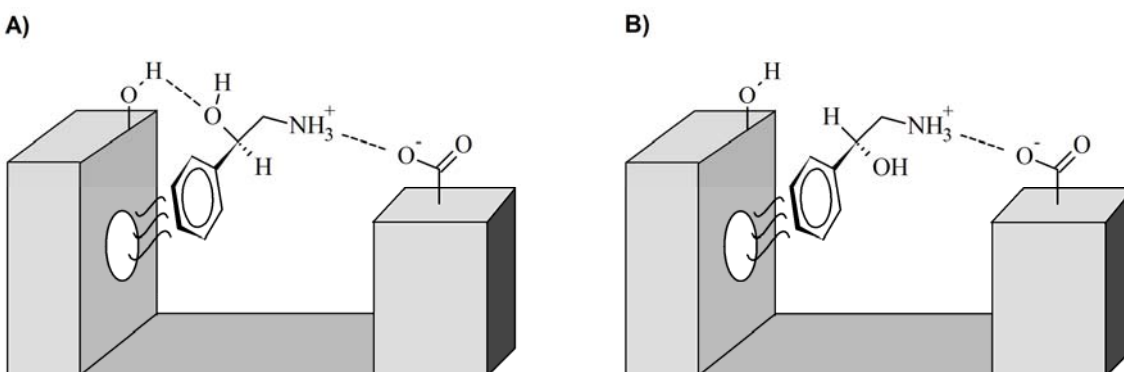
Osnovne gradivne jedinice živog sveta – aminokiseline, ugljeni hidrati, proteini i nukleinske kiseline – predstavljaju hiralne molekule. U prirodi se ova jedinjenja dominantno javljaju u vidu jednog enantiomera, pri čemu se smatra da homohiralnost jeste inherentno svojstvo hemije živog sveta (1,2). Kako biološki sistemi, dakle, predstavljaju hiralna okruženja, enantiomeri jednog jedinjenja mogu ispoljavati različite biološke efekte. Tako je samo 30 godina nakon Pasterovog razdvajanja enantiomera vinske kiseline, Pruitti dokumentovao prvi primer ovog fenomena, utvrdivši da (+)-asparagin poseduje sladak, a (–)-asparagin neutralan ukus (3).

Opšte objašnjenje razlike u biološkoj aktivnosti enantiomera ponudili su Easson i Steadman 1933. godine, kroz „princip interakcije u tri tačke” između enantiomera i njegovog receptorskog mesta. Uzevši da je molekulu u prostoru moguće najjednostavnije topološki prikazati kao tetraedarski sistem, razlika u afinitetu vezivanja enantiomera za asimetričnu površinu receptora proizilazi iz razlike u broju mogućih interakcija koje se obrazuju (Slika 1.).



Slika 1. Ilustracija Easson-Steadman-ovog principa „interakcije u tri tačke”
Figure 1. An illustration of the Easson-Steadman's „three-point interaction” principle

Pod pretpostavkom da je interakcija u sve tri tačke (α -A, β -B, δ -D) od značaja za vezivanje, enantiomer prikazan pod A) poseduje veći afinitet za receptor (eutomer) od suprotnog enantiomera prikazanog pod B), koji može obrazovati interakcije samo sa dve tačke na receptorskoj površini (distomer). Easson-Stedman-ov i slični, noviji modeli (4), ukazuju na činjenicu da hiralnost leka – kao jedinjenja čije je ciljno mesta dejstva najčešće hiralna makromolekula – može usloviti postojanje značajne razlike u efektima njegovih različitih enantiomernih oblika. Raspored funkcionalnih grupa u enantiomerima utiče na oblik molekule i odražava se na mogućnost pristupa leka ciljnom mestu dejstva i na njegovu interakciju sa funkcionalnim grupama u sastavu receptora ili enzima. Kao što je ilustrovano na Slici 2 (5), hipotetički receptor, koji u svom vezivnom mestu sadrži dve aminokiseline, sa visokim afinitetom može prepoznati samo eutomer.



Slika 2. Ilustracija interakcije između hipotetičkog receptorskog mesta i enantiomernog para. Enantiomer prikazan pod A) predstavlja eutomer i obrazuje tri interakcije sa aminokiselinskim reziduama aktivnog mesta. Pod B) je prikazan distomer koji sa receptorom interaguje sa manjim afinitetom usled prevelike udaljenosti alkoholne grupe liganda od odgovarajuće rezidue u strukturi receptora. Prilagođeno iz reference (5).

Figure 2. Illustration of an interaction between a hypothetical receptor site and an enantiomer pair. Enantiomer shown under A) is the eutomer capable of forming three interactions with amino acid residues of the active site. Distomer, shown under B), interacts with the receptor with lesser affinity due to a large distance between the hydroxyl group of the ligand and the corresponding residue. Adapted from (5).

Eutomer, nakon uklapanja u geometrijski precizno aktivno mesto, stupa u interakcije sa odgovarajućim aminokiselinskim reziduama, pri čemu je jačina interakcija uslovljena optimalnim rastojanjem između rezidua i funkcionalnih grupa eutomera. Distomer, usled različitog oblika molekule i rasporeda funkcionalnih grupa, neće aktivirati taj hipotetički receptor što, međutim, ne isključuje njegovu interakciju sa

drugim ciljnim mestom, sa kojim postiže bolje uklapanje i jače interakcije sa odgovarajućim reziduama aktivnog mesta. U tom slučaju, distomer postaje eutomer – sa drugačijim farmakološkim odnosno toksikološkim efektom, što ukazuje na relativnu prirodu ovih pojmova koja zavisi od ciljne makromolekule koja se razmatra (princip leve i desne šake i rukavice).

Iako dobro dokumentovane i mehanistički razjašnjene, ove činjenice dugo su bile zanemarivan aspekt farmakologije i farmakokinetike terapijski korišćenih hiralnih lekova (6). Sa izuzetkom prirodnih proizvoda koji su izolovani kao čisti enantiomeri, većina hiralnih lekova je bila nekritički upotrebljavana u obliku racemata, čak i kada je bilo poznato da je za aktivnost odgovoran samo jedan stereoizomer. Slično, farmakokinetička ispitivanja lekova su većinom sprovedena uz razmatranje samo ukupnih koncentracija leka, bez razlikovanja enantiomernih oblika. Napredak u razumevanju uticaja stereochemije na dejstvo i sudbinu lekova u organizmu, razvoj metoda asimetrične sinteze, odgovarajućih analitičkih metoda, kao i komercijalni i regulatorni razlozi, doprineli su, međutim, izraženom interesovanju za razvoj i upotrebu enantiomerno čistih oblika lekova, što predstavlja trend u savremenoj farmaceutskoj industriji (7).

2. Uticaj stereochemije na dejstvo i sudbinu lekova u organizmu

2.1. Uticaj stereochemije na dejstvo lekova

U pogledu razlika u farmakološkoj aktivnosti dva enantiomerna oblika leka, moguće je izdvojiti nekoliko opštih slučajeva za koje je u literaturi dokumentovan veći broj primera (8,9):

- oba enantiomerna oblika leka mogu biti podjednako aktivna (ekvipotentna);
- enantiomeri mogu ispoljavati kvalitativno iste efekte, ali se njihova potentnost može razlikovati do mere u kojoj je samo jedan enantiomer dominantno odgovoran za farmakološke efekte;
- oba enantiomera mogu posedovati izvesnu farmakološku aktivnost, ali se priroda njihovih efekata kvalitativno može značajno razlikovati, uključujući i mogućnost da efekte ispoljavaju preko različitih ciljnih mesta dejstva;
- efekti racemata mogu biti drugačiji od efekata koje je moguće predvideti na osnovu osobina bilo kog od enantiomera, primenjenog pojedinačno.

Primeri ekvipotentnosti enantiomera jednog leka relativno su retki i obuhvataju pojedine antiaritmike (npr. flekainid), alkilirajuće agense (ciklofosfamid), antimalarike (meflohin) kao i psihotropne lekove kao što je fluoksetin (9,10). Fluoksetin, međutim, predstavlja primer da ekvipotentnost enantiomera na nivou ciljnog mesta dejstva ne znači da će i ukupni efekti ova dva enantiomera u organizmu biti identični. Naime, iako

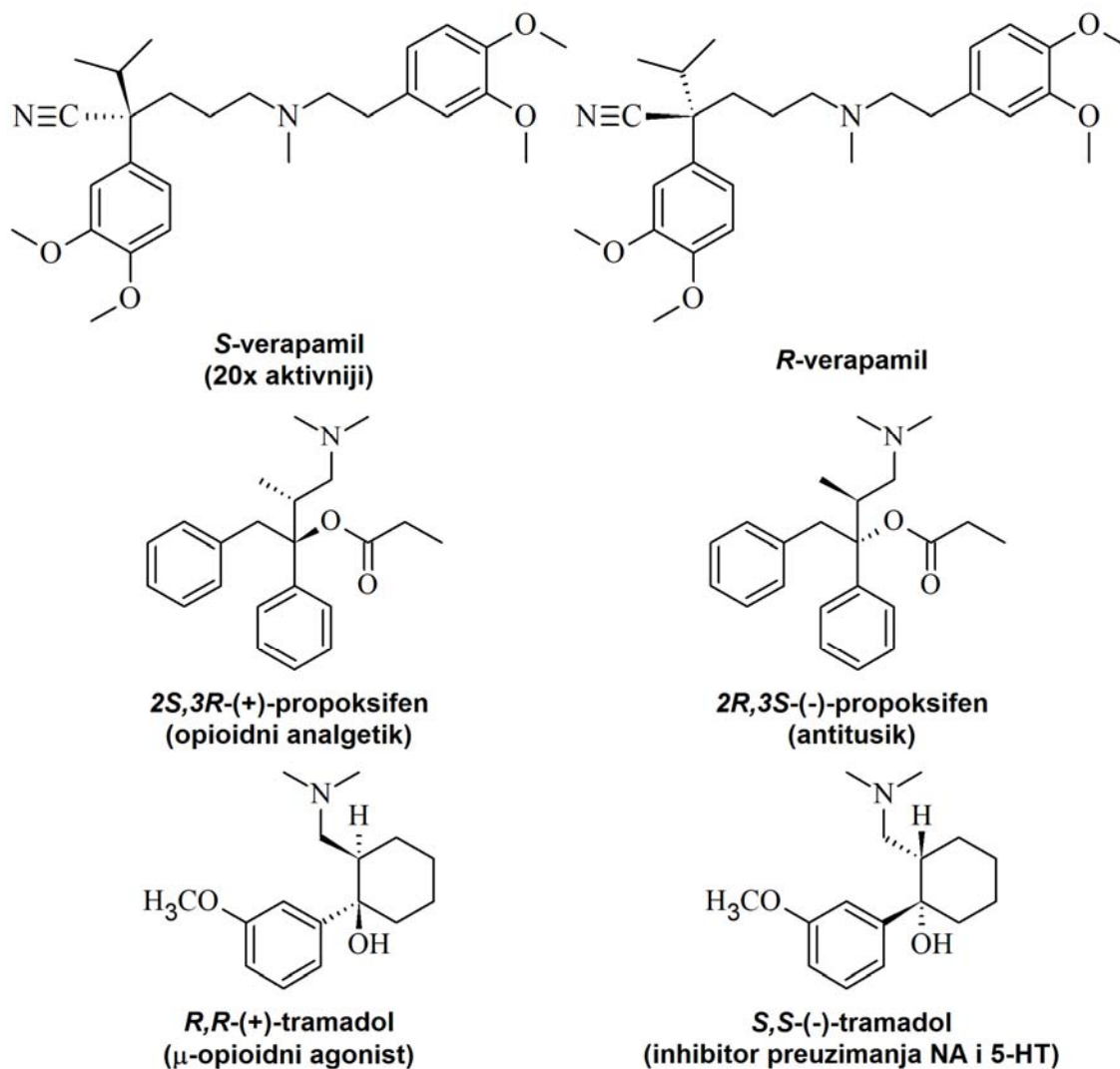
R- i *S*-fluoksetin podjednako efikasno inhibiraju preuzimanje serotonina, enantiomerni oblici norfluoksetina, kao aktivnog metabolita fluoksetina, razlikuju se oko 20 puta po svojoj aktivnosti (11). Čak i u slučaju ekvipotentnosti enantiomera, dakle, neophodno je razmotriti celokupan farmakološki i farmakokinetički profil leka, imajući u vidu i uticaj stereohemije na farmakokinetiku, što je detaljnije opisano u odeljku 2.2.

Daleko češće, enantiomeri međusobno pokazuju kvantitativne razlike u farmakološkoj aktivnosti. U slučaju verapamila, blokatora kalcijumovih kanala, *S*-enantiomer je oko 20 puta efikasniji negativni dromotropni agens od *R*-enantiomera. Ova razlika je kod većine beta-adrenergičkih antagonista izražena u toj meri da je za efekte na nivou β -adrenergičkih receptora odgovoran gotovo isključivo *S*-enantiomer, sa aktivnošću oko 100 puta većom od *R*-stereoizomera, koji se posmatra kao neaktivan oblik leka (9). U takvim slučajevima, primena racemata može doprineti neželjenim efektima leka. Primera radi, *R*-propranolol doprinosi histaminoliberatornim neželjenim efektima racemata propranola iako ne doprinosi antihipertenzivnoj aktivnosti (6). Dodatno, čak i kada neaktivni enantiomer ne utiče nepovoljno na bezbednosni profil leka, primena racemata može biti zabrinjavajuća sa aspekta dospeća veće količine kontaminanata u životnu sredinu (7).

Najizraženije razlike u dejstvu enantiomera prisutne su u slučajevima kada oni ostvaruju kvalitativno različite farmakološke efekte. Tako je (+)-propoksifen jak analgetik, dok je (–)-propoksifen efikasan centralno-delujući antitusik bez analgetičkih efekata. U pojedinim slučajevima, jedan enantiomer ispoljava željene terapijske efekte, dok je drugi odgovoran za neželjena i toksična dejstva. *S,S*-etambutol predstavlja tuberkulostatik, dok njegov enantiomer, *R,R*-etambutol izaziva optički neuritis. U drugim slučajevima, međutim, razlike u dejstvu dva enantiomera mogu povoljno uticati na farmakološki profil racemata. *R,R*(+)-tramadol je slab agonista μ -opioidnih receptora čijim metaboličkim O-demetilovanjem nastaje *R,R*-desmetiltramadol, koji takođe deluje kao opioidni agonist. S druge strane, *S,S*(–)-tramadol deluje kao inhibitor preuzimanja noradrenalina i serotonina, a nema afinitet za opioidne receptore. Analgetički efekat racemata izražen je zahvaljujući sinergizmu između njegove opioidne komponente, za koju je odgovoran prevashodno desnogiri enantiomer, i neopioidne, monoaminergičke komponente, čiji je nosilac prevashodno levogiri enantiomer tramadola (12–14). Strukture nekih od navedenih enantiomernih parova, sa opisanim razlikama u aktivnosti, prikazane su na Slici 3.

Racemat, dakle, može ispoljavati efekte koji su kvalitativno i/ili kvantitativno drugačiji od onih koji bi bili očekivani na osnovu efekata enantiomera pojedinačno (8). (*R/S*)-propafenon koristi se kao antiaritmik za čije je efekte odgovorna blokada natrijumovih kanala. *S*-propafenon, dodatno, deluje i kao antagonist beta-adrenergičkih receptora. Blokada ovih receptora je, međutim, izraženija prilikom primene racemata, nego prilikom primene ekvivalentne doze samog *S*-propafenona. Naime, *R*-propafenon

utiče na usporenu eliminaciju *S*-enantiomera i time potencira efekte racemata na beta-adrenergičke receptore. Ovaj primer ukazuje na to da farmakološke efekte racemata nije moguće aproksimirati na osnovu poznavanja efekata pojedinačnih enantiomera (15).



Slika 3. Primeri lekova čiji enantiomeri pokazuju različit stepen ili prirodu farmakološke aktivnosti.

Figure 3. Examples of enantiomeric drugs with differing level or nature of pharmacological activity.

2.2. Uticaj stereochemijskih osobina na farmakokinetiku lekova

2.2.1. Resorpcija

Za većinu lekova, resorpcija iz gastrointestinalnog trakta predstavlja pasivan proces koji zavisi od fizičko-hemijskih karakteristika samog leka i osobina primenjenog farmaceutskog oblika. Uticaj stereochemije na brzinu i stepen resorpcije je, stoga, slabo izražen i mali je broj dokumentovanih primera razlike u procesu resorpcije između enantiomernih oblika leka (16). Ipak, ukoliko je u proces resorpcije uključen određeni transporter, javlja se mogućnost postojanja stereoselektivnih interakcija usled čega razlika između enantiomera može biti izraženija.

P-glikoprotein, kao efluksni transporter eksprimiran na apikalnoj površini enterocita, može ograničiti resorpciju lekova koji predstavljaju njegove supstrate. Enantioselektivna inhibicija P-glikoproteina dokumentovana je u slučaju meflohina, pri čemu njegov levogiri stereoisomer može smanjiti aktivnost P-glikoproteina i time uticati na povećanu biološku raspoloživost tipičnih supstrata ovog transportera. Zabeleženi su primeri stereochemijskog efekta na regulaciju ekspresije P-glikoproteina – *R*-cetirizin povećava ekspresiju P-glikoproteina, dok je *S*-cetirizin smanjuje – što se takođe može odraziti na resorpciju drugih, istovremeno primenjenih lekova (17).

Uopšteno, međutim, stereoselektivnost intestinalne resorpcije nije uobičajen fenomen i uticaj stereochemije najmanje je izražen u ovom delu farmakokinetičkog profila većine lekova.

2.2.2. Raspodela

Značajan faktor raspodele lekova u organizmu jeste stepen njihovog vezivanja za proteine plazme i tkiva. Stereoselektivnost vezivanja za proteine plazme je opsežno proučavan fenomen, pa je tako poznat niz primera enantioselektivnog vezivanja za humani serumski albumin, alfa₁-kiselni glikoprotein kao i serumske lipoproteine (18,19). U Tabeli I prikazani su neki od primera lekova koji enantioselektivno interaguju sa proteinima plazme. Kako je samo slobodna frakcija leka farmakološki aktivna i podleže metaboličkim transformacijama i izlučivanju, enantioselektivnost u vezivanju za proteine plazme može se odraziti na dejstvo i eliminaciju lekova. Ova činjenica naglašava značaj upotrebe analitičkih metoda koje razlikuju enantiomerne strukture u praćenju koncentracije lekova u biološkim materijalima, što je od posebnog značaja kada je reč o enantiomerima koji nisu ekvipotentni (17).

Molekularna osnova enantioselektivnosti u vezivanju za proteine plazme je različita za različite lekove, pa može obuhvatiti: vezivanje oba enantiomera za isto vezivno mesto sa različitim afinitetom, vezivanje za dva različita vezivna mesta ili postojanje brojnih, slabije definisanih vezivnih mesta na proteinu (19). U zavisnosti od molekularne osnove ovog fenomena zavisi i opseg mogućnosti interakcije enantiomera

međusobno, kao i njihove interakcije sa drugim lekovima na nivou vezivanja za proteine plazme. Molekularna osnova enantioselektivnosti može diktirati i analitički pristup određivanju enantiomera u biološkom materijalu.

Tabela I Primeri lekova za koje je utvrđena enantioselektivnost u vezivanju za proteine plazme. Prilagođeno iz reference (16).

Table I Example of drugs with established enantioselectivity in plasma protein binding. Adapted from reference (16).

Lek	Odnos slobodnih frakcija ¹
Bupivakain	1,5 (R:S)
Hlorohin	1,7 (R:S)
Dizopiramid	2,0 (R:S)
Etodolak	2,5 (S:R)
Tiamilal	1,61-1,76 (R:S)
Verapamil	1,3-2,0 (S:R)
Varfarin	1,3 (R:S)

¹ Predstavlja srednji odnos udela nevezanih frakcija enantiomera u plazmi; navedeni podaci se odnose na parametre utvrđene kod čoveka.

Pored enantioselektivnog vezivanja za proteine plazme, raspodela enantiomera može biti i pod uticajem njihovog selektivnog vezivanja za proteine tkiva (16), kao i stereoselektivnih interakcija sa transporterima eksprimiranim na krvno-moždanoj i sličnim barijerama koje ograničavaju raspodelu leka u posebne prostore organizma (17).

2.2.3. Metabolizam

Budući da uključuju formiranje kompleksa leka sa enzimima, reakcije biotransformacije učestalo pokazuju izvestan stepen stereoselektivnosti koji je veoma značajan u farmakokinetici većine hiralnih lekova i koji uslovljava ispoljavanje značajnih razlika u sudbini dva enantiomera.

Razlika u afinitetu enantiomera za metaboličke enzime može biti odgovorna za različite brzine njihove eliminacije. U Tabeli II prikazani su primeri značajnih razlika u kinetici metaboličkih reakcija između dva enantiomerna oblika pojedinih lekova. Pored izmenjene kinetike, afinitet enantiomera za metaboličke enzime može predstavljati i osnovu za postojanje potpuno zasebnih puteva biotransformacije.

Varfarin, klinički značajan antikoagulans, poseduje hiralni centar u položaju C(9) (Slika 4.) i terapijski se koristi kao racemat. *R*-varfarin, farmakološki manje aktivan enantiomer, dominantno metaboliše izoenzim CYP1A2, hidroksilacijom položaja C(6) i C(8) kumarinskog jezgra. *S*-varfarin, međutim, dominantno metaboliše izoenzim CYP2C9, hidroksilacijom položaja C(7). Regioselektivnost metabolizma varfarina razjašnjena je na molekularnom nivou proučavanjem kristalne strukture kompleksa

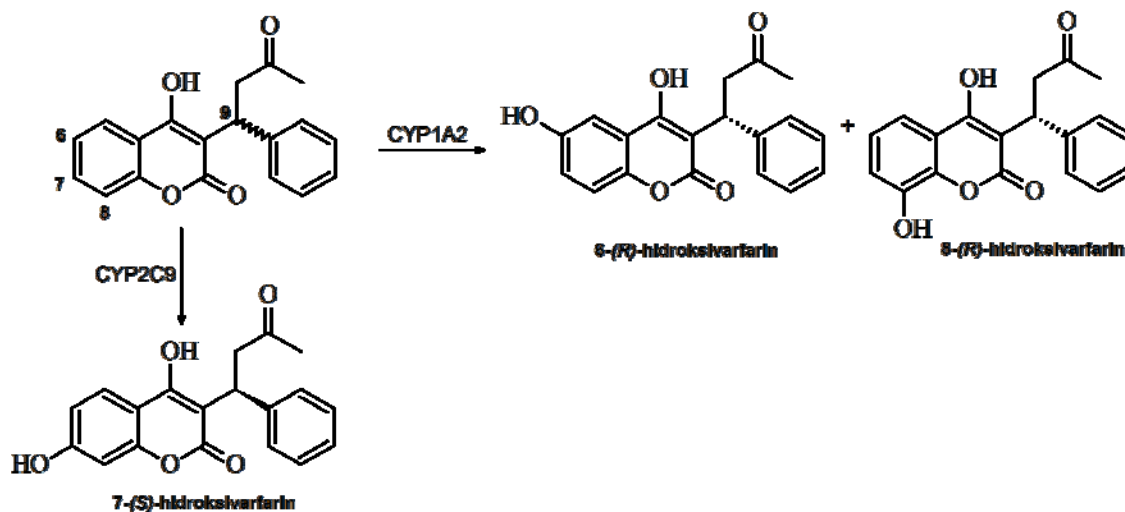
CYP2C9 i *S*-varfarina, kao i doking studijama *R*-varfarina uz upotrebu strukture spomenutog kompleksa. Tako je utvrđeno da je priroda interakcije sa ovim enzimom posledica prevelike udaljenosti položaja C(7) *R*-varfarina od aktiviranog kiseonika u strukturi CYP2C9 (20).

Tabela II Primeri lekova za koje je utvrđena različita brzina metabolizma enantiomera. Prilagođeno iz reference (16).

Table II Example of drugs with established differences in metabolism rates of enantiomers. Adapted from reference (16).

Lek	Enzimi i metabolički put	Odnos Km vrednosti enantiomera ¹
Albuterol	Humana fenolsulfotransferaza (sulfonovanje)	0,10 (R:S)
Dizopiramid	Humani CYP3A4 (monodealkilovanje)	1,08 (R:S)
Felodipin	Izolovani humani mikrozomi (reakcije oksidacije)	2,00 (S:R)
Ifosamid	Humani CYP3A4 (dehloroetilovanje)	0,56 (S:R)
Verapamil	Humani CYP2C8 (norverapamil)	0,82 (R:S)

¹ Prikazan je odnos *in vitro* eksperimentalno određenih srednjih vrednosti Mihelis-Mentenine konstante (Km) odgovarajućih reakcija



Slika 4. Šema oksidativnog metabolizma varfarina. Enantiomeri pokazuju različit afinitet za citohromalne enzime i daju različite glavne proizvode biotransformacije.

Figure 4. A schematic overview of warfarin's oxidative metabolism route. Enantiomers vary in affinity for cytochrome enzymes and yield different principal biotransformation products.

Dodatnom nivou složenosti proučavanja metabolizma hiralnih lekova doprinosi činjenica da stereochemija polaznog leka može biti izmenjena metaboličkim reakcijama, što se može odraziti na njegovo dejstvo, toksičnost i brzinu eliminacije. U takvim reakcijama može doći do nastanka ili eliminacije hiralnog centra u molekuli, ili pak inverzije konfiguracije na postojećem hiralnom atomu (21).

Reakcije redukcije nesimetričnih ketona predstavljaju najčešći vid prelaska prohiralnih supstrata u hiralne metabolite, pri čemu ovaj tip biotransformacije veoma često pokazuje enantioselektivnost, dajući alkohole *S* konfiguracije u udelu od 80% ili više. Ova metabolička transformacija može biti veoma značajna sa toksikološkog aspekta, jer na stereochemiju proizvoda reakcije, koji je potencijalni uzrok toksičnih efekata leka, nije moguće uticati na nivou supstrata, već je ona određena strukturom i funkcijom enzima uključenih u reakciju (21).

Prevođenje supstrata sa jednim hiralnim centrom u diastereoizomerne metabolite značajna je karakteristika većeg broja reakcija konjugacije sa endogenim hiralnim molekulama, kao što su glukuronska kiselina ili glutation. Enzimi uključeni u reakcije konjugacije mogu pokazivati enantioselektivnost, dok se diastereoizomerni proizvodi ovih reakcija mogu eliminisati različitim brzinama. Ova dva faktora zbirno mogu doprineti izraženim razlikama u izloženosti organizma enantiomerima, za šta je karprofen tipičan primer. Glukuronidacija *S*-enantiomera ovog leka favorizovana je enantioselektivnošću odgovarajuće transferaze, dok je istovremeno renalni klirens *D*-glukuronida dvostruko veći od klirensa njegovog epimera. Rezultat je višestruko brža eliminacija *S*-karprofena nasuprot njegovog *R*-enantiomera (21).

Još jedan značajan vid promene stereochemije leka u interakciji sa metaboličkim enzimima jeste „hiralna inverzija”. Metabolička inverzija konfiguracije hiralnog centra široko je proučavana u okviru grupe derivata 2-arilpropanske kiseline, koji se terapijski koriste kao nesteroidni antiinflamatorni lekovi, a prvobitno je uočena u slučaju ibuprofena. Za *in vitro* farmakološke efekte ibuprofena odgovoran je prevashodno *S*-enantiomer. Razlika u dejstvu između enantiomera, međutim, značajno je manje izražena u *in vivo* uslovima, usled metaboličke inverzije hiralnosti *R*-ibuprofena, koji je slab inhibitor ciklooksigenaze. Mehanizam ove promene obuhvata stereoselektivno formiranje tioestra *R*-ibuprofena sa koenzimom A, uz dalju racemizaciju i hidrolizu nastalog proizvoda, čime se oslobađa aktivni *S*-ibuprofen (21,22).

2.2.4. Izlučivanje

Stereoselektivnost renalnog i bilijarnog izlučivanja lekova može biti posledica selektivnosti u interakciji enantiomera sa transporterima uključenim u procese aktivnog izlučivanja, ali može predstavljati i rezultat stereoselektivnosti nekog od prethodno opisanih farmakokinetičkih procesa (enantioselektivno vezivanje za proteine plazme ili metabolizam). Primera radi, glomerularna filtracija i pasivna tubularna reapsorpcija, kao

nestereoselektivni procesi, jesu značajne odrednice klirensa pojedinih lekova. Izlučivanje takvih lekova, iako mehanistički nestereoselektivno, ipak može imati karakteristike enantioselektivnog procesa ukoliko postoje značajne razlike u stepenu vezivanja dva enantiomera za proteine plazme, imajući u vidu da je samo nevezana frakcija leka ona koja prelazi u glomerularni filtrat (23).

Kod drugih lekova, međutim, brzina izlučivanja može biti prevashodno uslovljena aktivnošću transportera eksprimiranih na površini kanalikularnih ćelija hepatocita odnosno tubularnih ćelija bubrega, kao što su P-glikoprotein i transporteri organskih anjona i katjona. Za neke od ovih transportera postoje dokazi o stereoselektivnosti u interakciji sa lekovima i njihovim metabolitima, što je već opisano za P-glikoprotein u odeljku 2.2.1. Enantioselektivan transport verapamila, propranolola, atenolola, pseudoefedrina, hinina/hinidina, kao i enantioselektivna inhibicija dizopiramidom utvrđena je i u slučaju humanog transportera organskih katjona (hOCT1) (24), koji ima značajnu ulogu u aktivnoj sekreciji lekova u bubrežima.

Eksperimentalno potvrđivanje enantioselektivnosti procesa izlučivanja je otežano usled činjenice da se praćenjem enantiomera u urinu ili žuči ne stiče uvid u mehanizam samog procesa, već razlike u izmerenim koncentracijama mogu biti posledica već spomenutih razlika u farmakokinetičkim procesima koji prethode izlučivanju (16). Ova činjenica doprinela je tome da je identifikovan relativno mali broj lekova kod kojih stereohemija ključno utiče na izlučivanje, među kojima su cetirizin, feksofenadin, hinin/hinidin i karbenicilin, čija je tubularna sekrecija stereoselektivna; odnosno ketoprofen, koji podleže enantioselektivnom izlučivanju putem žuči (23,25,26).

2.2.5. Toksičnost

Prepoznavanje uticaja stereohemije na toksičnost lekova može biti od suštinskog značaja u proceni bezbednosnog profila pojedinačnih enantiomera, odnosno racemata. U nekim slučajevima, toksični efekti su svojstveni samo jednom od enantiomera, pri čemu on može istovremeno biti i nosilac terapijskih efekata, dok u drugim slučajevima oba enantiomera mogu posedovati slične toksikološke karakteristike (27).

Terodilin je terapijski korišćen kao racemat kod urinarne inkontinencije, ali je povučen sa tržišta zbog neželjenih efekata na produženje QT intervala i razvoj srčanih aritmija. Ispitivanja su pokazala da je za efekte na mokraćnu bešiku odgovoran prevashodno *R*-(+)-terodilin ali da je ovaj enantiomer istovremeno i nosilac aritmogenog potencijala racemske smeše. Terodilin tako predstavlja primer leka gde su i toksični i terapijski efekti svojstveni jednom od enantiomera, što onemogućava poboljšanje bezbednosnog profila leka kroz upotrebu enantiomerno čiste formulacije (8).

Talidomid predstavlja sličan primer. Iako su rezultati studija teratogenosti u određenoj meri oprečni, smatralo se da je za terapijske, sedativne efekte talidomida

odgovoran *R*-(+)-talidomid, dok su teratogeni efekti pripisivani *S*-(-)-enantiomeru. Ovo je navelo pojedine autore da zaključe kako bi talidomidska katastrofa bila izbegnuta da je terapijski korišćen samo *R*-(+)-enantiomer. Međutim, za talidomid je naknadno utvrđeno da u humanom organizmu brzo podleže hiralnoj inverziji, te da bi primena formulacije *R*-(+)-talidomida rezultovala izloženosti fetusa i drugom enantiomeru. U ovom slučaju, čak iako je toksičnost ograničena na jedan enantiomer, *in vivo* hiralna inverzija za posledicu ima slične bezbednosne profile racemske smeše i hiralno čiste formulacije (17).

Citalopram je klinički važan antidepresiv čiji je *S*-(+)-stereoizomer preko 100 puta efikasniji inhibitor preuzimanja serotonina u odnosu na suprotni enantiomer. Jedan od neželjenih efekata citaloprama jeste i produženje QT intervala za koje je odgovoran didemetilcitalopram (DDMC), kao sporedni metabolit ovog leka koji se u slučaju predoziranja može akumulirati u organizmu. Pojedine studije su pokazale da je nosilac kardiotoksičnosti prevashodno *R*-(-)-DDMC što, zajedno sa zanemarljivom aktivnošću *R*-(-)-citaloprama, ukazuje na potencijal za značajno unapređenje bezbednosnog profila leka kroz razvoj formulacije samog *S*-enantiomera (27). Escitalopram (*S*-(+)-citalopram) je danas komercijalno dostupan, a njegove prednosti nad citalopramom su i klinički potvrđene (28).

2.2.6. Značaj upotrebe analitičkih metoda koje razlikuju enantiomere u farmakokinetičkim ispitivanjima

Iz opisanih razlika u sudbini enantiomera u organizmu, jasno je da merenjem ukupnih koncentracija leka u uzorcima biološkog materijala nije moguće dobiti kompletan uvid u farmakokinetički profil leka, posebno ne sa aspekta razmatranja odnosa doze i efekta (17). Ova činjenica je danas u velikoj meri prihvaćena i farmakokinetička ispitivanja novih hiralnih lekova koncipiraju se tako da se enantiomeri tretiraju kao zasebni hemijski entiteti i tako određuju. Klinička ispitivanja se izvode korišćenjem selektivnih testova čak i kada pretklinička ispitivanja na laboratorijskim životinjama ukazuju na nestereoselektivnu farmakokinetiku leka, budući da su razlike u efektima između vrsta dobro dokumentovane u slučaju više lekova i čine ekstrapolaciju sa životinja na čoveka neopravdanom (16).

Područje u kojem postoji manje izražen konsenzus jeste upotreba stereoselektivnih metoda u farmakokinetičkim ispitivanjima biološke ekvivalencije preparata racemata (29). Regulatorne agencije za sada ne zahtevaju sprovođenje stereoselektivnih ispitivanja prilikom podnošenja zahteva za registraciju novih preparata na osnovu biološke ekvivalentnosti sa postojećim. Ipak, više autora ukazuje na značaj primene takvih ispitivanja u slučaju lekova sa izraženo enantioselektivnom farmakokinetikom, posebno u delu presistenskog metabolizma (30). S obzirom da izbor formulacije utiče na oslobađanje leka, u slučaju kada eutomer i distomer pokazuju

značajne razlike u presistemsom metabolizmu i ukupna izloženost organizma svakom od enantiomera može biti značajno izmenjena. U tom slučaju, ekvivalentnost formulacija, koja konačno podrazumeva ekvivalentnost efekata na osnovu izmerenih farmakokinetičkih parametara, ne može biti izvesna na osnovu merenja ukupnih koncentracija leka.

3. Analitičke metode za razdvajanje i određivanje enantiomera

Analiza hiralnih lekova i njihovih metabolita treba da obezbedi pouzdanu kvantifikaciju svakog od enantiomera u ispitivanim uzorcima. U zavisnosti od ispitivanja i samog leka, analiti su u uzorcima ponekad prisutni u veoma niskim koncentracijama (reda veličine pg/mL), što često predstavlja dodatan izazov u razvoju i validaciji odgovarajuće enantioselektivne metode. Uopšteno, mogu se izdvojiti dva glavna pristupa farmaceutskoj analizi hiralnih lekova (31):

- separacionom metodom (dominantno hromatografski ili elektroforetski) enantiomeri se razdvajaju a za njihovu kvantifikaciju koriste se detektori koji sami po sebi ne omogućavaju razlikovanje enantiomera;
- bez prethodne separacije, enantiomeri se selektivno identifikuju i određuju upotrebom specifičnih elektrohemijskih senzora i biosenzora, ili primenom NMR spektroskopije pod posebnim uslovima.

U slučaju prvog pristupa, razdvajanje enantiomera moguće je obezbediti (32):

- derivatizacijom analita pomoću odgovarajućeg hiralnog agensa uz formiranje diastereoizomernih derivata koje je moguće razdvojiti na osnovu različitih fizičko-hemijskih osobina;
- primenom hiralnih kolona sposobnih da razdvoje analizirane enantiomere;
- retko, dodatkom hiralnog aditiva mobilnoj fazi.

Derivatizacione hromatografske tehnike nekada su bile važan deo analitike hiralnih jedinjenja, ali se danas znatno manje koriste usled ekspanzije hiralnih stacionarnih faza. Od hromatografskih i elektroforetskih tehnika koje se nalaze u rutinskoj primeni najznačajnije su: visoko-efikasna tečna hromatografija (engl. *high-performance liquid chromatography*, HPLC), gasna hromatografija (engl. *gas chromatography*, GC), kapilarna elektroforeza (engl. *capillary electrophoresis*, CE) i kapilarna elektro-hromatografija (engl. *capillary electro-chromatography*, CEC). Ovi sistemi su najčešće spregnuti sa veoma osetljivim detektorima (maseni spektrometar ili tandem MS) što omogućava kvantifikaciju niskih koncentracija analita. Enantioselektivnost metode obezbeđuje separacioni deo sistema koji počiva na korišćenju odgovarajućih hiralnih agenasa koji enantioselektivno interaguju sa analitima i uslovljavaju njihovu različitu retenciju u stacionarnoj fazi. Hiralne stacionarne faze obuhvataju (31):

- prirodne polimere, kao što su proteini (alfa₁-kiselni glikoprotein, avidin, himotropsin), oligosaharidi (ciklodekstrini, maltodekstrini) i polisaharidi;
- polusintetske polimere, većinom derivatizovane oligo- i polisaharide;
- sintetske hiralne stacionarne faze (Pirkle kolone, paliakrilamidi, poliakrilati, krunski etri).

Iako najviše korišćene, hromatografske metode analize enantiomera imaju više nedostataka (npr. mala razlika u stabilnosti između kompleksa dva enantiomera i stacionarne faze, zametna priprema uzorka itd.) i ne predstavljaju uvek najbolji analitički izbor.

Kao alternativni pristup, danas je na raspolaganju veći broj metoda koje počivaju na upotrebi elektrohemijskih senzora ili biosenzora koji registruju enantioselektivno vezivanje analita za supstancu specifične strukture ili pak enantioselektivnu katalizu od strane izabranog enzima (31). U osnovi ovih metoda je prepoznavanje tipa „ključ i brava” između posebno dizajnirane hiralne komponente senzora i jednog od enantiomera. Ta hiralna supstanca može biti posebno hemijski modifikovan polimer (imitira receptor sa takvim rasporedom funkcionalnih grupa da omogućava vezivanje samo jednog enantiomera) ili pak antitelo, odnosno, može se raditi o enzimu koji selektivno katalizuje transformaciju samo jednog od enantiomera. Prednosti ovog pristupa, iako je on još uvek slabo rasprostranjen, mogu biti brojne, a ogledaju se u jednostavnijoj, bržoj i pouzdanijoj analitici hiralnih jedinjenja (31).

Konačno, veoma važno mesto u analitici hiralnih jedinjenja zauzima nuklearna magnetna rezonanca (engl. *nuclear magnetic resonance*, NMR). Slično spektroskopskim metodama koje se koriste u sprezi sa hromatografijom, NMR sama po sebi ne omogućava razlikovanje enantiomera jer su rezonance jezgara stereogenog centra dva enantiomera izohrone. NMR spektri diastereoizomera, međutim, nisu istovetni što otvara mogućnost upotrebe hiralnih derivatizacionih agenasa za prevođenje enantiomera u smešu odgovarajućih diastereoizomera čije je signale moguće razlikovati i integracijom kvantifikovati (33).

Pomoćni reagensi koji se koriste u NMR spektroskopiji enantiomera mogu se podeliti u tri velike grupe: hiralne derivatizacione agense, hiralne rastvarače i hiralne reagense hemijskog pomeranja. Derivatizacioni agensi sa analitima formiraju kovalentne veze, pri čemu je preduslov za njihovu primenu u kvantitativnoj analizi da reakciju ne karakteriše racemizacija proizvoda, kako bi udeo nastalih diastereoizomera odgovarao enantiomernoj čistoći polaznog uzorka. Hiralni rastvarači stupaju u nekovalentne interakcije sa enantiomerima pri čemu pomeranje spektara može biti posledica formiranja diastereoizomernih kompleksa ili rezultat različitog afiniteta enantiomera za odabrani hiralni rastvarač. Kao reagensi hemijskog pomeranja, u NMR spektroskopiji najviše se koriste kompleksna jedinjenja lantanida, prevažodno

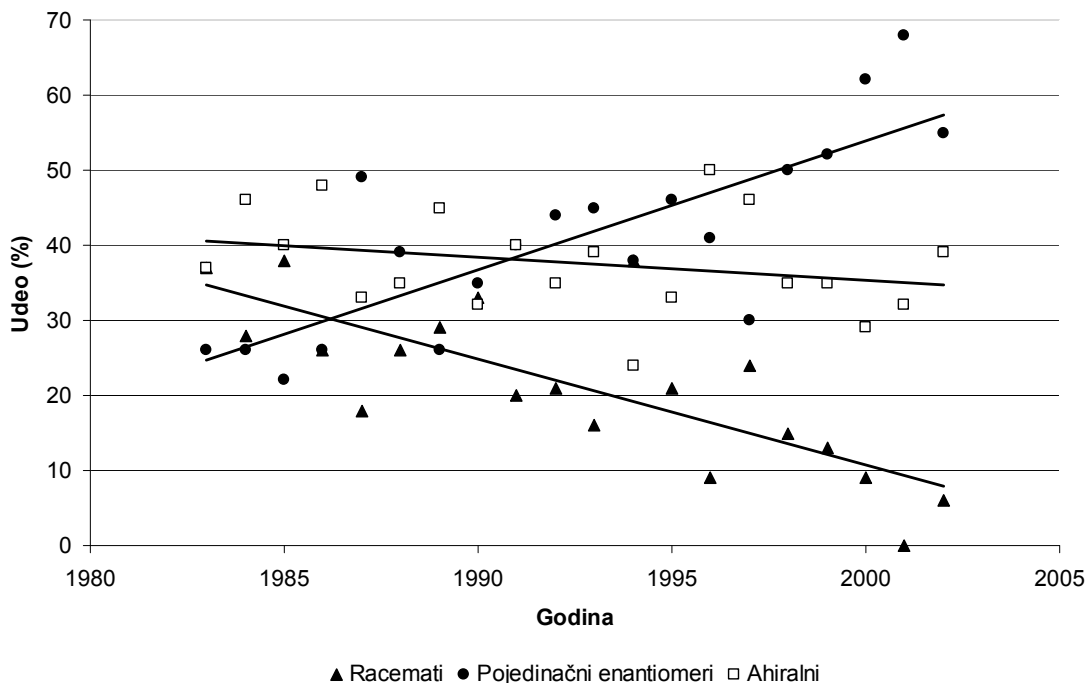
europijuma (III). Dodatak optički aktivnih jedinjenja ovog tipa uslovljava pomeranje signala i omogućava razlikovanje enantiomera, pri čemu se ova grupa pomoćnih reagenasa posebno izdvaja po svojoj širokoj primenljivosti i prilagodljivosti (34,35). Savremeni trend u NMR spektroskopiji hiralnih jedinjenja podrazumeva upotrebu hiralnih tečnih kristala kao agenasa za razlikovanje enantiomera, pri čemu se očekuje da će njihova primena imati sve veći značaj u budućnosti (35).

4. Položaj regulatornih agencija i trendovi razvoja hiralnih lekova

Do kasnih 80-tih godina 20. veka, zahtevi u pogledu dokumentovanja kvaliteta, efikasnosti i bezbednosti novih hiralnih lekova nisu se suštinski razlikovali od zahteva za ahiralne lekove. Američka Uprava za hranu i lekove (engl. *Food and Drug Administration*, FDA) je 1987. godine prvi put, u sklopu opštih zahteva za dopunsku dokumentaciju u postupku registracije novih lekova, navela i neophodnost zasebne hemijske, toksikološke i farmakološke karakterizacije oba enantiomera hiralnih lekova, što je predstavljalo prvi korak u detaljnijoj regulaciji ove oblasti (36).

Konkretne smernice za razvoj i registraciju novih hiralnih lekova FDA je usvojila 1992. godine (37), dok je analogna evropska regulativa stupila na snagu 1994. godine (38). Princip evropskih, FDA, kanadskih i japanskih zahteva za registraciju hiralnih lekova je sličan (39). Prema važećim smernicama, regulatorne agencije ne nameću razvoj enantiomerno čistih oblika lekova, niti eksplicitno obeshrabruju razvoj racemata, već je izbor prepušten samom podnosiocu zahteva za registraciju. Od njega se, međutim, zahteva da detaljno obrazloži izbor, razmatrajući odnos koristi i rizika, kao i da priloži dokumentaciju iz prekliničkih i kliničkih ispitivanja o farmakološkim i farmakokinetičkim svojstvima svakog od enantiomera ponaosob, odnosno racemata. Toksikološka ispitivanja enantiomera obično nisu neophodna ukoliko racemska smeša pokazuje povoljan profil. Sve regulatorne agencije nalažu rani razvoj i validaciju enantioselektivnih analitičkih metoda za primenu na uzorcima iz *in vitro* i *in vivo* ispitivanja (36).

Razvoj metoda asimetrične sinteze, odgovarajućih analitičkih metoda, kao i šire prepoznavanje svih prednosti enantiomerno čistih oblika lekova doprinelo je ekspanziji u njihovom razvoju, posebno u oblasti kardiovaskularnih lekova i antiinfektiva (40). Ovaj trend je ilustrovan na Slici 5.



Slika 5. Dijagram udela ahiralnih lekova, enantiomerno čistih oblika i racemskih smeša hiralnih lekova u odobrenim registracijama na svetskom nivou. Podaci za period 1983-2002. (41)

Figure 5. Plot illustrating the share of achiral drugs, single enantiomer preparations and racemic chiral drugs, respectively, in newly approved registered therapeutics worldwide. Data gathered for the 1983-2002 time period. (41)

Primetno je da odnos ahiralnih i hiralnih jedinjenja u novoregistrovanim lekovima ne beleži značajnije promene u periodu od 20 godina, dok je jasno izražen značajan pad u udelu racemata nasuprot enantiomerno čistih oblika lekova. Pored napretka koji je učinio razvoj pojedinačnih enantiomera mogućim i jednostavnijim, opisana regulativa sa početka 1990-tih je verovatno takođe favorizovala interesovanje za njihovu terapijsku upotrebu (41). Iako registracija racemata ostaje kao mogućnost, pragmatičnost procesa razvoja novog leka većinom usmerava ka razvoju hiralno čistih oblika. Naime, razvoj racemata je opravdan samo onda kada hiralni centar lako podleže inverziji, kada enantiomeri imaju slične farmakološke i toksikološke profile i/ili kada je razvoj formulacije čistog enantiomera neopravdano skup. Kako, s druge strane, pojedinačni enantiomeri poseduju predvidljivije odnose doze i efekta, a često i brojne druge prednosti, dokumentovanje opravdanosti razvoja racemata retko je najpragmatičniji izbor.

5. Specifičnosti patentnog prava u oblasti hiralnih lekova

Veći broj inovativnih farmaceutskih kompanija pokazao je interesovanje da obezbedi produženje patentne zaštite svojih postojećih lekova, zaštićenih u obliku racemata, kroz strategiju označenu kao hiralni prelaz (engl. *chiral switch*). Hiralni prelaz podrazumeva podnošenje novog zahteva za patentnu zaštitu jednog od enantiomera prethodno registrovanog i patentno zaštićenog racemata (dodatni patent), čime se potencijalno smanjuje i do 30 meseci odlaže mogućnost da generičke kompanije pristupe razvoju sopstvenih preparata tog leka (42,43). Stoga ova strategija predstavlja značajnu mogućnost za produženje „životnog veka” i maksimizaciju finansijske dobiti od prethodno razvijenog racemata (44,45).

Iako postoje specifičnosti u zahtevima nadležnih organa u različitim zemljama, da bi pronalazak mogao da dobije patentnu zaštitu neophodno je da (46):

- bude *koristan*;
- bude *inovativan*, što podrazumeva da je potpuno nov, a ne sličan ili funkcionalno istovetan postojećem;
- bude *neočigledan*, što podrazumeva da se „ne može patentirati pronalazak, čak iako nije istovetan nekom prethodno opisanom, ukoliko je takav da je njegovo postojanje u trenutku otkrića očigledno osobi koja je prosečno umešna iz oblasti kojoj otkriće pripada” (§103, Zakon o patentima (1952.), SAD).

U SAD je ostao zabeležen veliki broj primera sudskih sporova koji se odnose na patentiranje pojedinačnih enantiomera kada je racemska smeša već poznata, pri čemu najraniji datiraju čak iz 1948. godine. Patentna zaštita enantiomera se osporava po osnovu nedostatka inovativnosti i očiglednosti, pri čemu su dosadašnje sudske odluke različite, ali se uopšteno može zaključiti (47):

- da se za enantiomere može tvrditi inovativnost bez obzira na prethodno opisanu racemsku smešu. Američki sudovi dosledno primenjuju drugostepenu odluku Žalbenog suda za običaje i patente iz 1948. po kojoj „postojanje jedinjenja kao sastojka druge supstance ne negira inovativnost čistog jedinjenja, iako može, naravno, učiniti patentni zahtev neosnovanim u pogledu neočiglednosti”.
- da su enantiomeri *prima facie* (na prvi pogled) očigledni, što ne implicira da ih nije moguće patentirati, već prebacuje teret dokazivanja neočiglednosti na podnosioca zahteva.

Glavni izazov u patentnoj zaštiti enantiomera prethodno zaštićene racemske smeše, jeste, dakle, argumentovanje neočiglednosti. Najčešće to podrazumeva dokumentovanje „neočekivanih rezultata”, odnosno svojstva enantiomera koja predstavljaju značajno unapređenje u odnosu na racemat i to u meri koja ne bi bila očekivana osobi prosečne umešnosti u datoj oblasti. Unapređenje se može odnositi na

povoljnije farmaceutske i/ili farmakološke karakteristike, odnosno smanjenu toksičnost, ali granična vrednost tog unapređenja za koju se može tvrditi „neočekivanost” nije jasno definisana. Pojedini autori navode da unapređenje treba da bude barem dvostruko ili veće (48), ali se odluke patentnih sudova većinom donose na individualnim osnovama i zavise od sadržaja prethodne patentne dokumentacije. Dodatan argument u korist neočiglednosti mogu biti i takozvana sekundarna razmatranja ili pokazatelji neočiglednosti: neuspeh drugih u dobijanju enantiomera, izražena potreba za čistim enantiomerom, namera konkurencije da izvrši kopiranje, skeptičnost stručne javnosti povodom pronalaska itd. U određenim slučajevima, neočiglednost je argumentovana i prethodnim nepostojanjem odgovarajućeg postupka za dobijanje čistog enantiomera opisane racemske smeše (47).

Pokušaji ostvarivanja hiralnog prelaza do sada su bili neuniformno uspešni i oslanjali su se na različite strategije.

Atorvastatin kalcijum (*Lipitor*[®], originator *Pfizer*) je inicijalno razvijen i patentno zaštićen kao racemat, pri čemu je do 2008. godine dostigao status najprodavanijeg leka u svetu. Neposredno pred istek patentne zaštite (2011. u SAD), *Pfizer* je u periodu između 2005. i 2008. podneo zahtev za patentnu zaštitu jedinog biološki aktivnog stereoizomera atorvastatina (*R,R*-konfiguracije) pred nadležnim organima u više zemalja, pri čemu je u svim zemljama traženi patent poništen na osnovu nedostatka inovativnosti i očiglednosti.

Omeprazol (*Prilosec*[®], originator *AstraZeneca*), još jedan blokbuster (engl. *blockbuster drug*, lek koji postigne godišnji promet veći od milijardu dolara), takođe je inicijalno patentno zaštićen kao racemska smeša sa istekom zaštite u 1999. godini u EU, odnosno 2001. u SAD. Pre isteka patentne zaštite nad racematom, 1999. godine, *AstraZeneca* je podnela zahtev za patent nad *S*-omeprazolom (esomeprazol) uz tvrdnje o većoj doznoj efektivnosti i manjim interindividualnim varijacijama naspram racemata. Kako patent nije osporen, *AstraZeneca* je pre isteka zaštite nad omeprazolom na tržište plasirala esomeprazol (*Nexium*[®]) i uz marketing novog proizvoda (zaštićenog u SAD do 2014. godine) osigurala da generički omeprazol ne umanjuje tržišni udeo kompanije u antiulkusnim lekovima. Iako su generičke kompanije u međuvremenu osigurale poništenje patenta nad esomeprazolom u Kanadi i EU, strategija hiralnog prelaza u slučaju omeprazola se često citira kao jedan od najuspešnijih primera primene ove strategije (3,7). Sličan primer, gde je hiralni prelaz uspešno ostvaren zahvaljujući dokumentovanju značajno veće efikasnosti jednog od enantiomera, jeste i levofloksacin (*S*-(-)-ofloksacin), koji je pored antibiotske efikasnosti dodatno 9 puta rastvorljiviji od racemata (iako to nije inherentno svojstvo samo levogirog enantiomera) i manje toksičan. Prilikom pokušaja osporavanja patenta nad enantiomerom, sudovi u SAD, Kanadi i Velikoj Britaniji citirali su zbir ovih karakteristika kao dovoljnu argumentaciju neočiglednosti pronalaska (48).

Pojedine kompanije su uspešno obezbedile niz patenata nad enantiomerima lekova koje su inicijalno razvile druge kompanije. *Sepracor* (od 2010. *Sunovion*), kompanija koju pojedini autori označavaju kao specijalizovanu za hiralne prelaze (49), tako je patentno zaštitila levalbuterol (*R*-albuterol), eszopiklon (*S*-zopiklon), *S*-cetirizin, arformoterol (*R,R*-formoterol) i niz drugih lekova ili njihovih savremenih formulacija, kroz tvrdnje o otkriću neočekivano boljih karakteristika u poređenju sa odgovarajućim racematima (3). *Sepracor* je uspešno podneo čak i zahteve za patentnu zaštitu oba enantiomera fluoksetina, navodeći otkriće povoljnih karakteristika *S*-fluoksetina u terapiji migrene, odnosno *R*-fluoksetina u terapiji depresije, koje nadilaze efikasnost i bezbednosni profil racemata (50). Razvoj enantiomera je, međutim, prekinut tokom kliničkih studija.

Patentno pravo u oblasti hiralnih lekova bogato je različitim presedanima i predmet je intenzivnog interesovanja, posebno u kontekstu činjenice da velikom broju racemskih blokaster lekova u neposrednoj budućnosti ističe patentna zaštita. Iako pojedini autori smatraju da praksa hiralnih prelaza predstavlja zloupotrebu patentnog prava i ugrožava interese pacijenata (51), patentna zaštita enantiomera uopšteno ne ograničava razvoj generičkih preparata racemata (42) i sama po sebi, bez odgovarajuće investicije u marketing „novog” proizvoda, ne predstavlja univerzalni pristup produženju ekskluzivne eksploatacije postojećih lekova. Kako pojedini autori zaključuju, pokušaji patentne zaštite enantiomera često predstavljaju prvi korak u dugim sudskim sporovima koji se zaključuju dogovorom između prvobitnog vlasnika patenta i generičke kompanije (48). Konačno, ova oblast još jednom naglašava značaj poznavanja uticaja stereohemije lekova na njihovo dejstvo i sudbinu u organizmu, jer argumentovanje (ne)očiglednosti enantiomera kao pronalaska u celosti zavisi od dokumentovanja superiornosti njegovih karakteristika nad prethodno poznatim racematom.

6. Zaključak

Više od 60% lekova registrovanih u svetu u protekle 3 decenije jesu hiralna jedinjenja. Do danas je dokumentovan veliki broj primera koji jasno pokazuju da stereohemija leka može imati ključan uticaj na njegove efekte i sudbinu u organizmu, te da enantiomeri pre kao pravilo nego izuzetak – poseduju različite farmakološke, farmakokinetičke i/ili toksikološke karakteristike. Prednost upotrebe pojedinačnih enantiomera umesto racemata u formulacijama lekova obuhvata: smanjenje ukupno primenjene doze leka, pojednostavljivanje farmakokinetike leka, precizniju procenu odnosa doze i efekta, veću terapijsku širinu, smanjenu interindividualnu varijabilnost odgovora na lek i jednostavniji terapijski monitoring (8,41). Daleko ređe, racemat može imati jasne terapijske prednosti nad svakim od enantiomera pojedinačno. Zaključak o

opravdanosti upotrebe hiralno čistog leka odnosno racemata treba doneti ispitivanjem efekata i farmakokinetike pojedinačnih enantiomera i racemske smeše (8).

Razvoj asimetričnih sinteza, analitičkih metoda kao i regulatorni podsticaji doveli su do značajne promene u trendu razvoja novih hiralnih lekova, sa izraženom dominacijom enantiomerno čistih lekova u novoregistrovanim preparatima. U narednom periodu, istek patentne zaštite nad brojnim lekovima prethodno zaštićenim u obliku racemata i želja inovativnih kompanija da odlože razvoj odgovarajućih generičkih preparata doprineće porastu broja hiralnih prelaza i sve većem tržišnom udelu enantiomerno čistih lekova.

Iako nekada predmet intenzivne debate, danas se čini izvesnim da su farmaceutska industrija, regulatorne agencije, kao i kliničari, jedinstveni u posvećenosti da se uticaj stereochemije na dejstvo i sudbinu hiralnih lekova u organizmu ispituje od najranijih faza njegovog otkrića, te da razvoj leka treba da bude okrenut racionalnom izboru samo jednog od enantiomera koji će biti formulisan u tržišno dostupan preparat.

Zahvalnica

Autori zahvaljuju Ministarstvu prosvete i nauke Republike Srbije na finansijskoj podršci projekta 172009.

Literatura

1. Barron LD. Chirality and Life. *Space Sci Rev.* 2007;135(1-4):187–201.
2. Podlech J. Origin of organic molecules and biomolecular homochirality. *Cell Mol Life Sci.* 2001;58(1):44–60.
3. Agrawal YK, Bhatt HG, Raval HG, Oza PM, Gogoi PJ. Chirality – A New Era of Therapeutics. *Mini Rev Med Chem.* 2007;7(5):451–60.
4. Burke D, Henderson DJ. Chirality: a blueprint for the future. *Br J Anaesth.* 2002;88(4):563–76.
5. Patrick GL. *An Introduction to Medicinal Chemistry.* 4th ed. Oxford: Oxford University Press; 2009.
6. Ariens EJ. Stereochemistry, a basis for sophisticated nonsense in pharmacokinetics and clinical pharmacology. *Eur J Clin Pharmacol.* 1984;26:663–8.
7. Núñez MC, García-Rubiño ME, Conejo-García A, Cruz-López O, Kimatrai M, Gallo MA, et al. Homochiral Drugs: A Demanding Tendency of the Pharmaceutical Industry. *Curr Med Chem.* 2009;16(16):2064–74.
8. Triggler DJ. Stereoselectivity of drug action. *Drug Discov Today.* 1997;2(4):138–47.
9. Kasprzyk-Hordern B. Pharmacologically active compounds in the environment and their chirality. *Chem Soc Rev.* 2010;39(11):4466–503.

10. Davies NM, Teng XW. Importance of Chirality in Drug Therapy and Pharmacy Practice: Implications for Psychiatry. *Adv Pharm.* 2003;1(3):242–52.
11. Baumann P, Zullino DF, Eap CB. Enantiomers' potential in psychopharmacology – a critical analysis with special emphasis on the antidepressant escitalopram. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2002;12(5):433–44.
12. Grond S, Sablotzki A. Clinical Pharmacology of Tramadol. *Clin Pharmacokinet.* 2004;43(13):879–923.
13. Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, Shank RP, Codd EE, Vaught JL, et al. Complementary and synergistic antinociceptive interaction between the enantiomers of tramadol. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993;267(1):331–40.
14. Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, Shank RP, Codd EE, Vaught JL. Opioid and nonopioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an „atypical” opioid analgesic. *J Pharmacol Exp Ther.* 1992;260(1):275–85.
15. Kroemer HK, Fromm MF, Bull K, Terefe H, Blaschke G, Eichelbaum M. An enantiomer-enantiomer interaction of (S)- and (R)-propafenone modifies the effect of racemic drug therapy. *Circulation.* 1994;89(5):2396–400.
16. Brocks DR. Drug disposition in three dimensions: an update on stereoselectivity in pharmacokinetics. *Biopharm Drug Dispos.* 2006;27(8):387–406.
17. Smith SW. Chiral Toxicology: It's the Same Thing...Only Different. *Tox Sci.* 2009;110(1):4–30.
18. Howard ML, Hill JJ, Galluppi GR, McLean MA. Plasma Protein Binding in Drug Discovery and Development. *Comb Chem High Throughput Screen.* 2010;13(2):170–87.
19. Bertucci C, Domenici E. Reversible and Covalent Binding of Drugs to Human Serum Albumin: Methodological Approaches and Physiological Relevance. *Curr Med Chem.* 2002;9(15):1463–81.
20. Campo VL, Bernardes LSC, Carvalho I. Stereoselectivity in Drug Metabolism: Molecular Mechanisms and Analytical Methods. *Curr Drug Metab.* 2009;10(2):188–205.
21. Caldwell J. Stereochemical determinants of the nature and consequences of drug metabolism. *J Chromatogr A.* 1995;694(1):39–48.
22. Knihinicki RD, Day RO, Williams KM. Chiral inversion of 2-arylpropionic acid non-steroidal anti-inflammatory drugs—II Racemization and hydrolysis of (R)- and (S)-ibuprofen-CoA thioesters. *Biochem Pharmacol.* 1991;42(10):1905–11.
23. Strolin Benedetti M, Whomsley R, Poggesi I, Cawello W, Mathy F-X, Delporte M-L, et al. Drug metabolism and pharmacokinetics. *Drug Metab Rev.* 2009;41(3):344–90.
24. Moaddel R, Ravichandran S, Bigli F, Yamaguchi R, Wainer IW. Pharmacophore modelling of stereoselective binding to the human organic cation transporter (hOCT1). *Br J Pharmacol.* 2007;151(8):1305–14.
25. Notterman DA, Drayer DE, Metakis L, Reidenberg MM. Stereoselective renal tubular secretion of quinidine and quinine. *Clin Pharmacol Ther.* 1986;40(5):511–7.
26. Itoh T, Ishida M, Onuki Y, Tsuda Y, Shimada H, Yamada H. Stereoselective renal tubular secretion of carbenicillin. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993;37(11):2327–32.
27. Shah RR. Improving Clinical Risk/Benefit Through Stereochemistry. In: Eichelbaum M, Testa B, Somogyi A, editors. *Stereochemical Aspects of Drug Action and Disposition.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2003. p. 401–32.
28. Leonard B, Taylor D. Review: Escitalopram—translating Molecular Properties into Clinical Benefit: Reviewing the Evidence in Major Depression. *J Psychopharmacol.* 2010;24(8):1143–52.
29. Cook CS. Current Issues on Bioavailability and Bioequivalence Determination. *J Bioequiv Bioavailab.* 2011;S1(1).

30. Srinivas NR. Role of Stereoselective Assays in Bioequivalence Studies of Racemic Drugs: Have We Reached a Consensus? *J Clin Pharmacol.* 2004;44(2):115–9.
31. Izake EL. Chiral discrimination and enantioselective analysis of drugs: An overview. *J Pharm Sci.* 2007;96(7):1659–76.
32. Marzo A, Heftmann E. Enantioselective analytical methods in pharmacokinetics with specific reference to genetic polymorphic metabolism. *J Biochem Biophys Methods.* 2002;54(1–3):57–70.
33. Parker D. NMR Determination of Enantiomeric Purity. *Chem Rev.* 1991;91(7):1441–57.
34. Kumar AP, Jin D, Lee Y-I. Recent Development on Spectroscopic Methods for Chiral Analysis of Enantiomeric Compounds. *Appl Spectrosc Rev.* 2009;44(4):267–316.
35. Wenzel TJ, Chisholm CD. Using NMR spectroscopic methods to determine enantiomeric purity and assign absolute stereochemistry. *Prog Nucl Magn Reson Spectrosc.* 2011 Jul;59(1):1–63.
36. Shah RR, Branch SK. Regulatory Requirements for the Development of Chirally Active Drugs. In: Eichelbaum M, Testa B, Somogyi A, editors. *Stereochemical Aspects of Drug Action and Disposition.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2003. p. 379–99.
37. U.S. Food and Drug Administration. Development of New Stereoisomeric Drugs [Internet]. 1992. Available from: <http://www.fda.gov/drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm122883.htm>
38. European Communities Commission. Directorate-General for Industry, Pharmaceuticals and Cosmetics. *EudraLex, Vol. 3: Investigation of Chiral Active Substances (3CC29a).* 1993.
39. Daniels JM, Nestmann ER, Kerr A. Development of Stereoisomeric (Chiral) Drugs: A Brief Review of Scientific and Regulatory Considerations. *Drug Inf J.* 1997;31(3):639–46.
40. Federsel H. Facing chirality in the 21st century: Approaching the challenges in the pharmaceutical industry. *Chirality.* 2003;15(S1):S128–S142.
41. Caner H, Groner E, Levy L, Agranat I. Trends in the development of chiral drugs. *Drug Discov Today.* 2004;9(3):105–10.
42. Parker S, Mooney K. Is evergreening a cause for concern? A legal perspective. *J Commer Biotech.* 2007;13(4):235–43.
43. Agranat I, Caner H, Caldwell J. Putting chirality to work: the strategy of chiral switches. *Nat Rev Drug Discov.* 2002;1(10):753–68.
44. Gupta H, Kumar S, Roy SK, Gaud RS. Patent protection strategies. *J Pharm Bioallied Sci.* 2010;2(1):2–7.
45. Whitehead B, Jackson S, Kempner R. Managing generic competition and patent strategies in the pharmaceutical industry. *J Intellect Property Law Pract.* 2008;3(4):226 –235.
46. Miller CP, Ullrich JW. A consideration of the patentability of enantiomers in the pharmaceutical industry in the United States. *Chirality.* 2008;20(6):762–70.
47. Darrow JJ. The Patentability of Enantiomers: Implications for the Pharmaceutical Industry. *Stanford Technol Law Rev.* 2007;2.
48. Agranat I, Wainschtein SR. The strategy of enantiomer patents of drugs. *Drug Discov Today.* 2010;15(5-6):163–70.
49. Stinson SC. Chiral Pharmaceuticals. *Chem Eng News.* 2001;79(40):79–97.
50. Agranat I, Caner H. Intellectual property and chirality of drugs. *Drug Discov Today.* 1999;4(7):313–21.
51. Dwivedi G, Hallihosur S, Rangan L. Evergreening: A deceptive device in patent rights. *Technol Soc.* 2010;32(4):324–30.

Stereochemical aspects of drug action and pharmacokinetics

Slavica Erić¹, Marko Kalinić¹, Vladimir Savić^{2*}

¹ University of Belgrade – Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

² University of Belgrade – Faculty of Pharmacy, Department of Organic Chemistry, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

* Corresponding author: e-mail: vladimir.savic@pharmacy.bg.ac.rs
telephone: +381 (0)11 3951-243
fax: +381 (0)11 3972-840

Summary

The action and fate of drugs in the organism are determined by their interactions with endogenous macromolecules which are predominantly chiral in character. Consideration of the stereochemical aspects of drug action and pharmacokinetics has been intensified since the 1980s and has led to extensive documentation of significant differences existing between stereoisomeric forms of a single drug. Enantiomers can possess different efficacies, exhibit different pharmacological and toxicological effects, and consequently be characterized by different safety profiles. The growing wealth of evidence on the importance of stereochemistry, regulatory incentives, development of asymmetric synthesis methods and analytics – all contributed to fundamental changes in the way new chiral drugs are developed, tested, registered and market-managed. Today, enantiomers need to be treated as separate chemical entities and investigated correspondingly. Development of single enantiomer drugs can facilitate the reduction of total dose of xenobiotic administered to patients; improve the accuracy of dose-response estimation; simplify pharmacokinetic studies and therapeutic monitoring. The stereochemical characteristics of biologically active compounds should, therefore, be considered from the earliest stages of drug development. Based on the established impact of stereochemistry, a single enantiomer formulation should be favored, whenever justified.

Key words: enantiomers; drug development; chirality
