

# Farmaceutski značaj procesa stereoizomerizacije

L. Hok,<sup>a</sup> D. Šakić,<sup>b</sup> V. Vrčec<sup>c</sup> i R. Vianello<sup>a\*</sup>

Ovo djelo je dano na korištenje pod  
Creative Commons Attribution 4.0  
International License



<sup>a</sup> Institut Ruđer Bošković, Zavod za organsku kemiju i biokemiju, Laboratorij za računalni dizajn i sintezu funkcionalnih materijala, Bijenička cesta 54, 10 000 Zagreb

<sup>b</sup> Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zavod za analitičku kemiju, Ul. Ante Kovačića 1, 10 000 Zagreb

<sup>c</sup> Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zavod za organsku kemiju, Ul. Ante Kovačića 1, 10 000 Zagreb

## Sažetak

Proučavanje procesa stereoizomerizacije od iznimne je važnosti u farmaceutskoj kemiji i biomedicini. Različiti izomeri mogu pokazivati značajne razlike u interakciji s biološkim makromolekulama, što može dovesti do razlika i u njihovim farmakokinetičkim i farmakodinamičkim svojstvima te, u konačnici, u terapijskim i neželjenim učincima. Iako postoji velik broj primjera koji svjedoče o važnosti stereokemije, u ovome radu dan je pregled nekoliko najznačajnijih i najreprezentativnijih slučajeva u farmaciji.

## Cljučne riječi

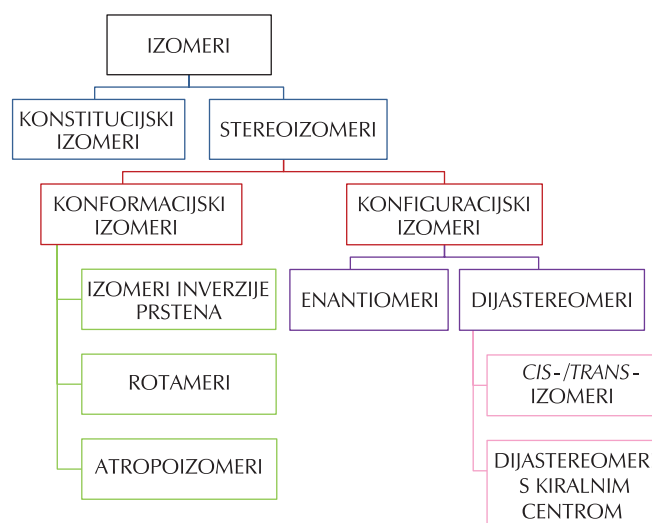
Stereoizomeri, konfiguracijska nestabilnost, farmakološka i farmaceutska vremenska skala, kiralni lijekovi

## 1. Uvod

### 1.1. Temeljna i fluktuirajuća svojstva molekula

Poznavanje molekulske strukture predstavlja ključni koncept u svim područjima kemijskih znanosti. Prostorni odnosi između atoma unutar molekule mogu znatno utjecati na fizičko, kemijsko i biološko ponašanje, a zbog specifičnosti za svaku kemijsku vrstu definiraju se kao temeljna ili konstantna svojstva molekule. Konstantna svojstva spojeva uključuju broj i vrstu atoma (kompozicija), povezanost atoma (konstitucija) te prisutnost jednog ili više stereogenih elemenata (konfiguracija). Promjena konstitucije ili konfiguracije dovodi do nastanka drugog kemijskog entiteta – izomera.<sup>1</sup> Izomeri (grč. *isos* = jednak + grč. *meros* = dio) su spojevi različite strukturne, ali iste molekulske formule. Mogu se podijeliti na konstitucijske (strukturne) izomere i stereoizomere (slika 1). Konstitucijski izomeri imaju istu molekulsku formulu, ali različit redoslijed kovalentno vezanih atoma te različita fizikalno-kemijska svojstva. Stereoizomeri imaju jednaku molekulsku formulu, isti redoslijed kovalentno vezanih atoma, ali različit prostorni raspored (usmjerenje) tih atoma.<sup>2,3</sup>

Stereoizomerija opisuje konformacijska i konfiguracijska svojstva. Konfiguracijska svojstva konstantna su za pojedini kemijski entitet, a čine osnovnu razliku između enantiomernih i diastereomernih spojeva. Enantiomeri su spojevi koje odlikuje kiralnost koja se javlja kao posljedica asimetrije, tj. odsustva nekog od elemenata simetrije – ravnine, osi ili centra simetrije. Zbog posjedovanja kiralnih svojstava enantiomeri se odnose kao predmet i njegova zrcalna slika, a međusobno se ne mogu preklopiti. Molekule s *n* kiralnih centara imaju 2<sup>*n*</sup> stereoizomera. Za razliku od aki-



Slika 1 – Klasifikacija izomera

Fig. 1 – Classification of isomers

ralnih, kiralni spojevi nemaju simetrične konformacije i niti jedna od njih ne izmjenjuje se sa svojom zrcalnom slikom.<sup>3</sup>

Dijastereomeri su konfiguracijski stereoizomeri koji nisu u zrcalnom odnosu, tj. ne odnose se kao predmet i njegova zrcalna slika, zbog čega posjeduju različita fizikalno-kemijska svojstva. To su spojevi koji mogu ili ne moraju imati kiralne centre, a kad ih nemaju nazivaju se *cis/trans* izomerima.

Za razliku od diastereomera, enantiomere obično karakteriziraju jednaka fizikalno-kemijska svojstva, osim zakretanja ravnine polariziranog svjetla. Naime, i jedan i drugi

\* Autor za dopisivanje: dr. sc. Robert Vianello  
e-pošta: [robert.vianello@irb.hr](mailto:robert.vianello@irb.hr)

enantiomer zakreće polariziranu svjetlost za isti kut, ali u suprotnom smjeru. To svojstvo označava se s plus (+) za desnorotirajući (smjer kazaljke na satu), odnosno s minus (–) za lijevorotirajući enantiomer (obrnuto od smjera kazaljke na satu). Nadalje, također je poznato da enantiomeri mogu kristalizirati u različitim oblicima, ali i pokazivati razlike u afinitetima prema biološkim metama, o čemu će biti govora dalje u tekstu.<sup>2,3</sup>

Razlikovanje enantiomernih i diastereomernih odnosa među molekulama veoma je važno prilikom istraživanja procesa interkonverzije različitih stereooizomernih geometrija. U slučaju interkonverzije enantiomernih struktura konačnu ravnotežnu smjesu činit će jednak udio dvaju enantiomera koji se ne razlikuju u energiji zbog ranije navedene istovjetnosti fizikalno-kemijskih svojstava. Suprotno tome, rezultat interkonverzije diastereomera dovodi do nastanka ravnotežne smjese s nejednakim udjelima dvaju izomera kao posljedica razlike u njihovim stabilnostima te različite reaktivnosti i fizikalno-kemijskih svojstava.<sup>1</sup> Izomer s nižom energijom bit će zastupljeniji u smjesi nakon uspostavljanja ravnoteže prema jednadžbi:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_{\text{eq}}, \quad (1)$$

gdje  $\Delta G^\circ$  predstavlja promjenu standardne Gibbsove energije,  $R$  označava opću plinsku konstantu ( $8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ),  $T$  temperaturu u kelvinima, a  $K_{\text{eq}}$  ravnotežnu konstantu.

Osim temeljnih konformacijskih svojstava, stereooizomerija proučava i konformacijske promjene spojeva koje pripadaju fluktuirajućim svojstvima.<sup>4</sup> Fluktuirajuća svojstva su promjenjiva i ovise o okolišu u kojem se molekula nalazi, a imaju važnu ulogu u točnom i potpunom opisivanju trodimenzionalne građe kao dopuna temeljnim svojstvima. Osim konformacije, fluktuirajućim svojstvima pripadaju i vibracijski odnosi (promjena duljine veza i kutova), ionizacija, tautomerija te niz konformacijsko ovisnih svojstava koja se sumarno nazivaju poljima molekulske interakcije (engl. *molecular interaction fields*).<sup>5</sup> Iako ionizacija i tautomerija uključuju promjenu kompozicije i/ili konstitucije, pripadaju fluktuirajućim svojstvima jer predstavljaju o okolišu ovisan, reverzibilan proces međusobne konverzije dvaju oblika iste kemijske specije.<sup>1</sup>

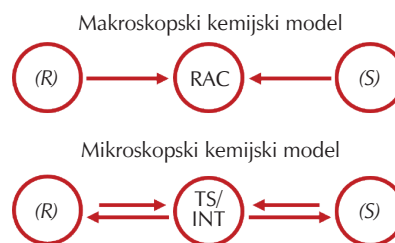
Na temelju opisa fluktuirajućih svojstava, konformacijske stereooizomere možemo podijeliti na rotamere, izomere inverzije prstena i atropoizomere (slika 1). Atropoizomerija ili torzijska kiralnost vrsta je kiralnosti koja ne zahtijeva asimetriju molekule. Javlja se kad ograničenje rotacije oko jednostruke veze omogućuje razdvajanje dvaju izomera. Najpoznatiji primjer su bifenilni spojevi, npr. poliklorirani bifenili kod kojih je, zbog neveznog odbijanja sterički zahtjevnih skupina u *ortho*-položajima aromatičnih prstena, ograničena slobodna rotacija oko jednostruke veze koja povezuje takva dva prstena.<sup>2</sup>

## 1.2. Konfiguracijska nestabilnost

Prilikom istraživanja procesa izomerizacije važno je znati je li konfiguracijska stabilnost međusobno konvertirajućih oblika dovoljno velika da omogući zasebna kemijska i biološka ispitivanja pojedinih izomera, pri čemu je nužno

poznavati vremensku skalu reakcija izomerizacije. Drugim riječima, ako je reakcija pretvorbe iz jednog oblika u drugi spora, bit će moguće izolirati stereooizomere i ispitati njihovu selektivnost u interakciji s biomolekulama. Također se postavlja pitanje postoje li dogovorene referentne vrijednosti energije aktivacije ( $\Delta G^\ddagger$ ) i vremena poluizomerizacije ( $t_{1/2}$ ) koje definiraju granicu između konformacijskih i konfiguracijskih stereooizomera.<sup>1</sup> Neki autori smatraju da bi kriterij razlučivanja konformacijskih od konfiguracijskih stereooizomera trebao zadovoljiti vrijednost  $t_{1/2}$  većeg od 1000 s (tj.  $t_{1/2} > 17$  min pri 25 °C), što odgovara konstanti brzine izomerizacije ( $k$ ) manjoj od  $7 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  i  $\Delta G^\ddagger \approx 90 \text{ kJ mol}^{-1}$ ,<sup>6</sup> dok drugi autori predlažu fleksibilnije vrijednosti:  $\Delta G^\ddagger \approx 95 \text{ kJ mol}^{-1}$ ,  $k \approx 8 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ ,  $t_{1/2} \approx 2 - 3 \text{ h}$  pri 25 °C.<sup>7</sup> Ako promatramo biološke sustave, onda je važno imati na umu da su, pri normalnoj tjelesnoj temperaturi od 36 do 37 °C, izvedive reakcije s energetskom barijerom i do  $\Delta G^\ddagger \approx 105 \text{ kJ mol}^{-1}$ , pa izomerizacijski procesi ksenobiotika s takvim kinetičkim parametrima mogu biti itekako klinički značajni.

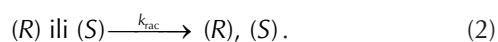
Konfiguracijska nestabilnost molekula može se promatrati na dvjema razinama, makroskopskoj i mikroskopskoj. Makroskopska, tj. statistička razina obuhvaća proces formiranja ravnotežne smjese dvaju stereooizomera polazeći od jednog, čistog stereooizomera, dok mikroskopska, odnosno molekulska razina podrazumijeva reverzibilnu konverziju jednog stereooizomera u drugi i odvija se kinetikom prvog reda (slika 2).<sup>8</sup>



Slika 2 – Shematski prikaz makroskopskog i mikroskopskog kemijskog modela. (R), (S) enantiomeri; RAC racemična smjesa; TS/INT prijelazno stanje ili međuprodukt<sup>8</sup>

Fig. 2 – Schematic representation of macroscopic and microscopic chemical models. (R), (S) enantiomers; RAC racemic mixture; TS/INT transition state or intermediate<sup>8</sup>

Racemizacija je makroskopski proces ireverzibilne transformacije jednog enantiomera u racemičnu smjesu. Također se definira i kao proces gubitka optičke aktivnosti neke supstancije tijekom vremena. Konstanta brzine racemizacije ( $k_{\text{rac}}$ ) odnosi se na brzinu formiranja racemične smjese, tj. proces u kojem 50 % molekula početnog enantiomera konvertira u drugi enantiomer (jedn. (2)).



Enantiomerizacija je mikroskopski proces koji se događa na razini individualnih molekula, a predstavlja reverzibilnu konverziju jednog enantiomera u drugi. Mikroskopski kemijski model pokazuje da enantiomer mijenja konfigu-

raciju prolazeći kroz prijelazno stanje i/ili preko međuproducta (slika 2). Konstanta brzine enantiomerizacije ( $k_{\text{enant}}$ ) odnosi se na proces konverzije enantiomera (R) u (S) ili (S) u (R) (jedn. (3)), a jednaka je polovini konstante brzine racemizacije:  $k_{\text{enant}} = \frac{1}{2}k_{\text{rac}}$ .

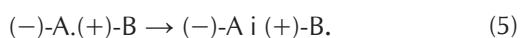


Stoga, prilikom proučavanja kinetike, tj. izračuna energija aktivacije za procese konfiguracijske nestabilnosti kiralnih spojeva, vrlo je važno naznačiti odnose li se konstante brzina na interkonverziju enantiomera (enantiomerizacija) ili na proces nastanka racemične smjese (racemizacija).

Slično enantiomerizaciji, proces pretvorbe jednog diastereomera u drugi, promatrano na molekularnoj razini, naziva se diastereomerizacija. Makroskopski proces formiranja ravnotežne smjese dvaju diastereomera, počevši od jednoga, naziva se mutarotacija. Za razliku od enantiomera, diastereomeri se razlikuju u energiji, što znači da udio diastereomera u ravnotežnoj smjesi neće biti jednak. Posljedica različitih energija dvaju diastereomera jesu i različite konstante brzine njihove međusobne pretvorbe u odnosu na reverzibilni proces.<sup>9</sup>

Procesi stereoisomerizacije odvijaju se kemijskim ili biokemijskim putem, a oba su važna pri ispitivanju konfiguracijske stabilnosti molekula u biološkim sustavima. Kemijski procesi mogu biti spontani ili kiselo/bazno katalizirani. Biokemijska, odnosno enzimska stereoisomerizacija ovisi o količini, aktivnosti i selektivnosti enzima prema pojedinom stereoisomernom supstratu.<sup>1</sup>

Ranije je spomenuto da se diastereomeri razlikuju u fizikalno-kemijskim svojstvima što im omogućuje relativno jednostavno odvajanje. Enantiomeri se mogu odvojiti mehaničkom, inokulacijskom i biokemijskom metodom te pretvorbom u diastereomerni par. Mehaničko odvajanje može se primijeniti samo ako enantiomeri kristaliziraju u različitim kristalnim sustavima. Inokulacijska metoda provodi se tako da se zasićenoj otopini racemata doda čisti kristal jednog enantiomera oko kojeg kristalizira odgovarajući enantiomer. Biokemijska metoda razdvajanja ograničena je na sustave za koje postoji enzim koji selektivno razgrađuje samo jedan enantiomer. Razdvajanje putem diastereomera najefikasnija je i najčešće primjenjivana tehnika. Racemat ( $\pm$ )-A reagira s optički aktivnim reagensom, npr. (+)-B, pri čemu nastaju dva diastereomera (+)-A.(+)-B i (-)-A.(+)-B koji se mogu odvojiti frakcijskom kristalizacijom. Nakon odvajanja diastereomere je potrebno prikladnim reakcijama prevesti u polazne enantiomere (jedn. (4) i (5)).

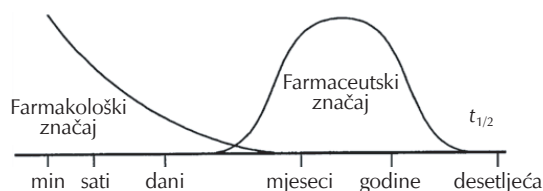


Ako je polazni racemat organska kiselina, obično se kao bazično sredstvo upotrebljava optički aktivan amin, najčešće alkaloid, npr. (-)-brucin, (-)-strijhinin, (-)-kinin, (+)-kinidin. Pri razdvajanju racemičnih baza za stvaranje diastereomernih soli upotrebljavaju se optički aktivne kiseline, npr. (+)-vinska, (-)-jabučna, (+)-10-kamfor-sulfonska ili (-)-glutaminska kiselina.<sup>2</sup>

### 1.3. Farmakološka i farmaceutska vremenska skala

Poznavanje konfiguracijske stabilnosti stereoisomera od velike je važnosti za farmakologiju i farmaceutsku tehnologiju. Prilikom istraživanja i razvoja lijekova relevantne su dvije vremenske skale: farmakološka i farmaceutska (slika 3). Farmakološka vremenska skala (engl. *pharmacological time scale*) odnosi se na vrijeme zadržavanja lijeka u organizmu pri fiziološkim uvjetima (37 °C, pH = 7,4). Ako je  $t_{1/2}$  izomerizacije dulje od mjesec dana, konverzija nema farmakološki i terapijski značaj jer je većina lijekova u tom razdoblju u potpunosti eliminirana iz organizma. Vrlo kratko  $t_{1/2}$  izomerizacije (u sekundama ili minutama) značajno je u pogledu interakcija lijek-transportni protein, lijek-receptor ili lijek-enzim. Ako se  $t_{1/2}$  izomerizacije poklapa s farmakološkom vremenskom skalom, vrlo je važno poznavati kinetiku izomerizacije takvoga lijeka.

Vrijeme poluizomerizacije u tjednima, mjesecima ili godinama od velikog je značaja za proces oblikovanja lijekova jer je nužno održati optičku čistoću tijekom proizvodnje i predviđenog roka trajanja proizvoda. Farmaceutska vremenska skala (engl. *pharmaceutical time scale*) pokriva razdoblje proizvodnje i skladištenja lijeka.<sup>9</sup>



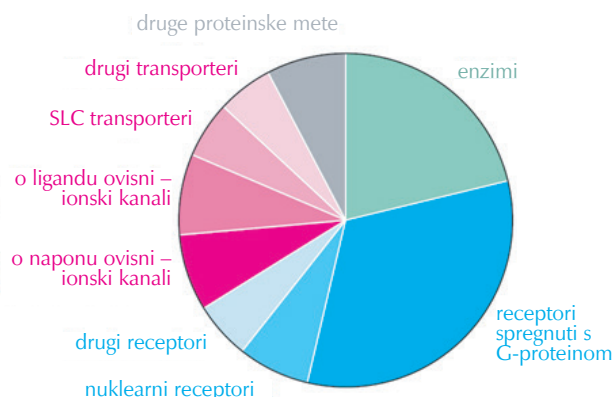
Slika 3 – Farmakološka i farmaceutska vremenska skala<sup>9</sup>  
Fig. 3 – Pharmacological and pharmaceutical time scales<sup>9</sup>

## 2. Važnost stereokemije u istraživanju i razvoju lijekova

### 2.1. Cis/trans izomeri peptida

Peptidi i proteini najprisutnije su makromolekule u biosustavima, a imaju ključnu ulogu u svim esencijalnim biološkim procesima. Sudjeluju u metabolizmu, transportu i skladištenju endobiotika ili ksenobiotika, omogućuju mehaničku potporu i imunološku zaštitu, odgovorni su za pokretanje i provođenje živčanih impulsa te kontroliraju rast i diferencijaciju stanica.<sup>10</sup> Osim što predstavljaju najvažniju metu djelovanja lijekova u trenutačnoj upotrebi (slika 4),<sup>10,11</sup> sve više lijekova koji danas dolaze na tržište peptidnog je karaktera.<sup>12</sup> Trodimenzionalna struktura takvih lijekova, koja omogućuje adekvatno pozicioniranje unutar aktivnog mjesta te stvaranje optimalnih interakcija, ključ je njihova terapijskog učinka.

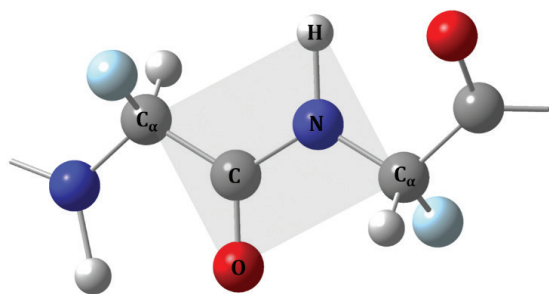
Amidna skupina dio je peptida, ali i mnogih nepeptidnih lijekova, prema tome igra važnu ulogu u biokemiji i farmaceutskoj kemiji. Osnovna svojstva amidne veze ograničeni su kapacitet rotacije i sposobnost stvaranja vodikovih veza koje su ključne u procesima biomolekularskog prepoznavanja. Delokalizacija slobodnog elektronskog para iz amidnog dušika čini N–C vezu parcijalno dvostrukom



Slika 4 – Udio različitih proteinskih meta djelovanja lijekova u trenutačnoj upotrebi<sup>10,11</sup>

Fig. 4 – Proportion of different protein targets for drugs in current use<sup>10,11</sup>

zbog čega zauzima planarnu konformaciju (slika 5). Takvo prostorno uređenje odgovorno je za smanjenje bazičnog karaktera dušikova atoma te povećanu nukleofilnost kisikova centra.<sup>1</sup>



Slika 5 – Shematski prikaz planarne peptidne (amidne) veze

Fig. 5 – Schematic representation of the planar peptide (amide) bond

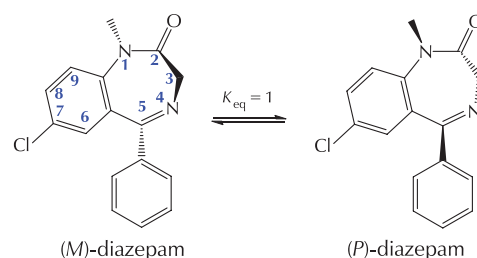
Rotacija parcijalno dvostruke veze u amidima karakterizirana je relativno visokom energetsom barijerom  $\Delta G^\ddagger \approx 80 - 90 \text{ kJ mol}^{-1}$  u fiziološkim uvjetima, ovisno o drugim strukturnim svojstvima molekule.<sup>13</sup> Zbog torzijskih ograničenja i visoke barijere rotacije peptidi su većinom prisutni kao *trans* izomeri, a takvo usmjerenje odgovorno je za specifično nastajanje vodikovih veza i tvorbu sekundarnih proteinskih struktura (u  $\alpha$ -uzvojnici C=O skupina aminokiseline *i* stvara vodikovu vezu s NH skupinom aminokiseline *i* + 4; vodikove veze u  $\beta$ -pločama nastaju između pojedinih slojeva).<sup>10</sup> Specifičnost peptida s prolinskim aminokiselinskim ostatkom jest u povećanoj učestalosti stvaranja *cis* izomera u odnosu na peptide s drugim aminokiselinama jer piroolidinski prsten uzrokuje usporedive steričke smetnje u oba izomera.<sup>14</sup> *Cis-trans* izomerizacijski procesi peptida s prolinom utječu na smatanje proteina i moduliraju njihovu ulogu u staničnom signaliziranju i genskoj ekspresiji, a promjene u trodimenzionalnoj građi pro-

teina mogu dovesti do nastanka karcinoma i Alzheimerove bolesti.<sup>15</sup>

## 2.2. Atropoizomeri diazepama

Diazepam je najkorišteniji lijek iz skupine benzodiazepina koji djeluju kao pozitivni alosterički modulatori GABA<sub>A</sub> receptora, a upotrebljavaju se u terapiji anksioznih poremećaja i napadaja panike, opsesivno-kompulzivnog i posttraumatskog stresnog poremećaja te nesаницe.<sup>16</sup>

Diazepam je 1,4-benzodiazepin-2-on s vezanim klorom na položaju 7 te metilnom skupinom na N1 atomu (slika 6). 1,4-diazepinski prsten zauzima iskrivljenu konformaciju lađe gdje metilenska skupina C3 izlazi izvan ravnine fuzioniranog benzenskog prstena i stvara dva moguća konformera. Konformer s negativnim torzijskim kutom C2-C3-N4-C5 označava se stereodeskriptorom (*M*) – minus, a konformer s pozitivnim kutom kao (*P*) – plus. (*M*) i (*P*) konformeri zrcalne su slike iako molekula nema asimetričan ugljikov atom. S obzirom na to da ne postoji funkcionalna skupina na C3-položaju koja bi, zbog steričkih odbijanja, preferirala pseudoekvatorijalni položaj, (*M*) i (*P*) konformeri diazepama su izoenergetski.<sup>1,17</sup>



Slika 6 – Atropoizomeri diazepama

Fig. 6 – Atropisomers of diazepam

Prostorni raspored skupina u molekuli ključan je za interakciju s enzimima, receptorima, transportnim proteinima i DNA pa je, unatoč jednakoj energiji, uočena stereoselektivnost atropoizomera diazepama pri vezanju na biokromokule. (*M*)-oblik dominantno se veže na albumin,<sup>18</sup> dok  $\alpha$ 1-kiseli glikoprotein ima stereospecifični afinitet za (*P*)-atropoizomer,<sup>19</sup> što utječe na koncentraciju konformera u plazmi te na raspodjelu, metabolizam i eliminaciju lijeka iz organizma. Takve razlike mogu biti klinički značajne jer je kod nekoliko derivata diazepama s nesupstituiranim C3-položajem potvrđena razlika u afinitetima prema GABA<sub>A</sub> receptoru ovisno o torzijskoj kiralnosti, zbog čega postoji opravdana sumnja da kod većine benzodiazepina samo jedan atropoizomer ima eutomerna svojstva.<sup>20</sup>

## 2.3. Proces i racemizacije i optička stabilnost lijekova

Ljudsko tijelo kiralni je sustav: proteini i peptidi sastavljeni su od L-aminokiselina, D-ugljikohidrati osnovni su izvor energije, a DNA molekula i  $\alpha$ -uzvojnica (sekundarna struktura proteina) desno su zavijene. U takvom okolišu procesi

kao što su apsorpcija, vezanje na proteine plazme i DNA, transport, interakcija s enzimima i receptorima te metabolizam, uvelike ovise o kiralnosti molekula. Posljedica toga mogu biti različita farmakokinetika, farmakodinamika te terapijski i neželjeni učinci za pojedine enantiomere i njihovu ekvimolarnu smjesu.<sup>21</sup>

U nekim metaboličkim putovima događaju se procesi inverzije konfiguracije, najčešće u sekvencijskom nizu od dvije ili tri reakcije, pri čemu nastaju jedan ili dva stabilna međuprodukta.<sup>9</sup> Izolirano je, identificirano i karakterizirano nekoliko enzima koji sudjeluju u reakcijama racemizacije:  $\alpha$ -metilacil-CoA racemaza, racemaza *N*-acilamino-kiselina, racemaza bademove kiseline, alanin-, aspartat-, glutamat- i hidantoin-racemaza. Nadalje, i u reakcijama oksidoredukcije, konjugacije te u ravnotežnim reakcijama sulfoksid/sulfid i *N*-oksid/tercijarni amin, može doći do enzimi kataliziranih kiralnih inverzija.<sup>8</sup> U takvim procesima gubi se stereoinformacija i nastaju prokiralni produkti, a povratnim reakcijama u ishodne spojeve nastaju oba stereo-oblika, tvoreći pritom racemat.

### 2.3.1. Derivati 2-arilpropanskih kiselina

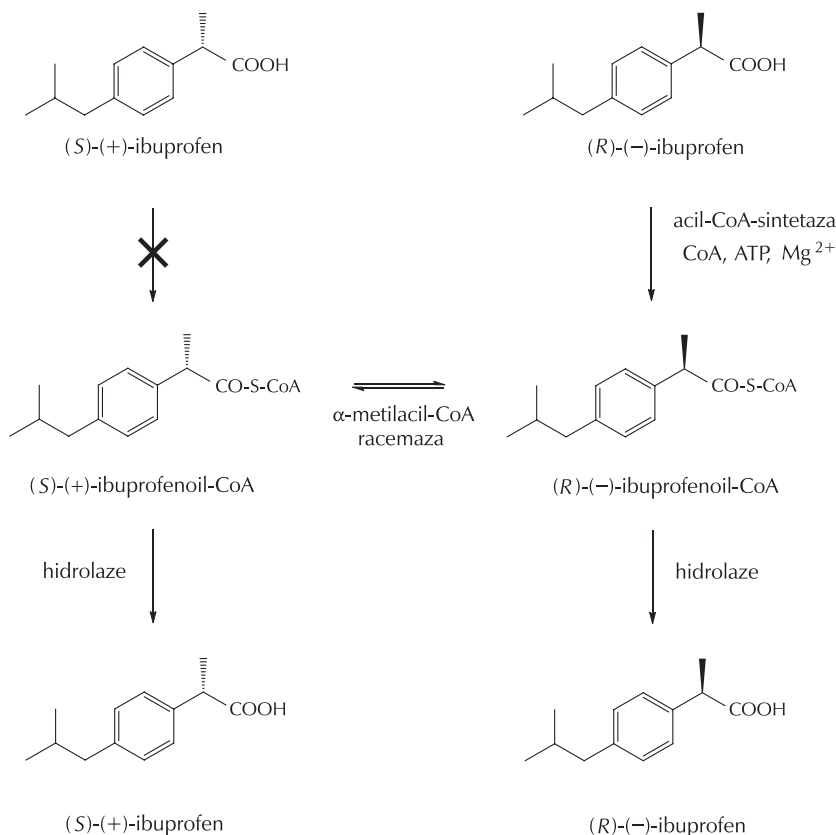
Primjer ireverzibilne kiralne inverzije kao metaboličke aktivacije nastanak je aktivnih (*S*)-enantiomera iz neaktivnih (*R*)-enantiomera protuupalnih nesteroidnih 2-arilpropanskih kiselina, poznatijih kao profena (slika 7). U testovima *in vitro* uočeno je da (*S*)-izomer ibuprofena pokazuje 160

puta jaču aktivnost u sprječavanju nastajanja proupalnih prostaglandina od (*R*)-izomera. Naime, (*S*)-enantiomer s podjednakom efikasnošću inhibira obje izoforme ciklo-oksigenaze – COX-1 i COX-2, dok (*R*)-enantiomer pokazuje znatno slabiju aktivnost prema COX-1 u odnosu na (*S*)-enantiomer, a na COX-2 izoformu nema nikakvog učinka. Osim toga, (*R*)-enantiomer povezuje se i s gastrointestinalnim nuspojavama karakterističnima za primjenu racemata ibuprofena.<sup>22,23</sup>

Racemizaciji prethodi konjugacija s acetil-CoA koju katalizira CoA-ligaza dugog lanca (acil-CoA-sintetaza). Reakcija konjugacije je enantioselektivna, a samo neaktivni (*R*)-enantiomer podliježe reakciji. Nastali tioester (*R*)-ibuprofena prevodi se u (*S*)-enantiomer posredstvom  $\alpha$ -metilacil-CoA racemaze, a nakon stereo-neselektivne hidrolize konačna smjesa obogaćena je aktivnim (*S*)-enantiomerom ibuprofena.<sup>22</sup>

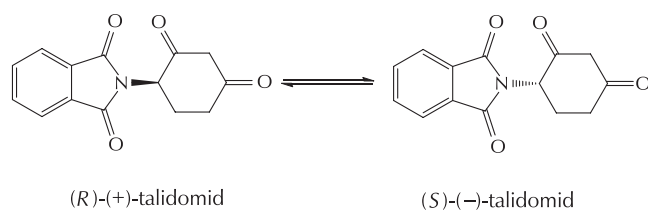
### 2.3.2. Talidomid

Najpoznatiji te ujedno najtragičniji primjer koji govori o važnosti stereokemije u farmaciji zasigurno je talidomid. Njegova upotreba kao sedativa i antiemetika u trudnoći započela je 50-ih godina prošloga stoljeća i trajala sve do 1961. godine kad je povučen s tržišta zbog teratogenosti. U navedenom razdoblju u Europi, Australiji i Japanu rođeno je 10 000 djece s fkomelijom – sindromom koji se manifestira malformacijama i redukcijom udova te raznim



Slika 7 – Racemizacija ibuprofena<sup>22</sup>  
Fig. 7 – Racemisation of ibuprofen<sup>22</sup>

drugim poremećajima vida, sluha, kardiovaskularnog i reproduktivnog sustava, kao posljedica inhibicije angiogeneze i faktora rasta.<sup>24</sup> Talidomid je kiralni lijek koji se primjenjivao kao racemična smjesa (slika 8). Teratogeni učinak pripisuje se (*S*)-enantiomeru, dok se (*R*)-talidomid smatra sigurnim i zaslužnim za sedativno djelovanje. Ipak, talidomidska katastrofa ne bi bila izbjegnuta niti primjenom čistog (*R*)-enantiomera jer u organizmu dolazi do brze racemizacije katalizirane bazičnim medijem i serumskim albuminom.<sup>25</sup> Keto-enolna tautomerija glavni je mehanizam racemizacije talidomida, a odvija se u dva koraka: prijenos protona s kiralnog centra na kisikov atom susjedne karbonylne skupine i rotacija glutarimidnog prstena.<sup>26</sup>



Slika 8 – Ravnotežni proces racemizacije talidomida  
Fig. 8 – Equilibrium process of thalidomide racemisation

Dramatične razlike u djelovanju i toksičnosti pojedinih enantiomera te napredak tehnologije u razvoju i istraživanju lijekova potakle su regulatorne agencije FDA (engl. *Food and Drug Administration*) i EMA (engl. *European Medicines Agency*) da 1992., odnosno 1993. godine donesu nove, rigoroznije zahtjeve za razvoj kiralnih lijekova i njihovo stavljanje na tržište.<sup>27,28</sup> Kiralno-specifični zahtjevi uključuju adekvatnu proizvodnu kontrolu (uklanjanje diastereomernih onečišćenja), ispitivanje stabilnosti (racemizacija tijekom skladištenja), evaluaciju farmakokinetike (krivulje doza-odgovor) za različite enantiomere i ispravnu interpretaciju različitih podataka o farmakokinetičkim svojstvima dobivenima na animalnim i humanim modelima. Prema novim pravilnicima sastav kiralnog lijeka primijenjenog u farmakološkim, toksikološkim i kliničkim studijama mora biti poznat, a lijekovi koji su prethodno registrirani kao racemati postaju kandidati za kiralno prebacivanje (engl. *chiral switch*), tj. razvoj enantiomera s boljim farmakokinetičkim i farmakodinamičkim profilom. Ujedno, takva karakterizacija osigurava farmaceutskim tvrtkama pravo na produljenje patentne zaštite. Zahtjevi regulatornih agencija doveli su do toga da se danas na tržište u najvećoj mjeri plasiraju pojedinačni enantiomeri, a ne smjese enantiomera ili diastereomera kao što je to ranije bio slučaj.<sup>29</sup>

### 2.3.3. Benzodiazepini

Većina reakcija racemizacije i enantiomerizacije imaju farmaceutski, a ne farmakološki značaj. Međutim, velik broj benzodiazepina s asimetričnim C3-atomom karakterizira optička nestabilnost, tj. racemizacija unutar farmakološke vremenske skale. S obzirom na to da su studije *in vivo* pokazale da postoji znatna razlika u farmakokinetici i farmakodinamici enantiomera benzodiazepina, za tu skupinu

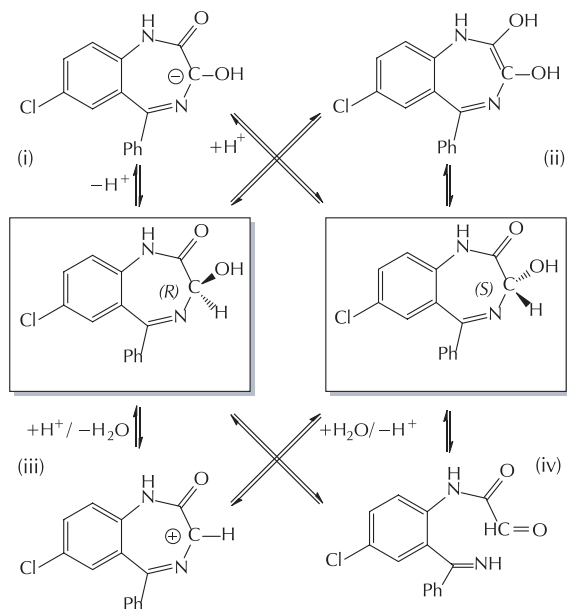
spojeva iznimno je važno poznavati uzroke stereokemijske nestabilnosti.<sup>30</sup>

Stereoselektivnost se očituje u vezanju na primarnu biološku metu benzodiazepina – GABA<sub>A</sub> receptor. Naime, (*S*)-(+)-enantiomeri pokazuju veći afinitet, a posljedica toga je da (*S*)-(+)-oksazepam djeluje kao 100 – 200 puta potentniji anksiolitik i sedativ u odnosu na (*R*)-enantiomer.<sup>31</sup> Slično vrijedi i za druge biološke mete. Nedavno je zapaženo da benzodiazepini djeluju kao potentni inhibitori proteina koji sadrže bromodomene, posebice onih iz BET porodice, koji reguliraju gensku ekspresiju vežući se na acetilirane lizinske ostatke histona, te na taj način ostvaruju važnu ulogu u patofiziološkoj pozadini upala i tumorskih oboljenja. Detaljan uvid u način vezanja pojedinih enantiomera pokazao je da, zbog steričkih smetnji s aminokiselinskim ostacima na bromodomenu, eksperimentalni (*S*)-benzodiazepini ne posjeduju inhibitornu aktivnost.<sup>32</sup> Također je uočeno da (*S*)-(+)-enantiomeri lorazepama i oksazepama lakše istiskuju diazepam i flurazepam s receptora u sinapsama mozga štakora nego (*R*)-(-)-enantiomeri.<sup>30</sup> Stereoselektivnost je prisutna i kod enzimske hidrolize i metabolizma. Naime, pokazano je da esterase u ljudskom mozgu stereoselektivno hidroliziraju (*S*)-(+)-enantiomer oksazepam acetata.<sup>33</sup> Metabolizam diazepama započinje *N*-demetilacijom uz CYP2C19, pri čemu nastaje nordiazepam – prokiralni lijek koji se hidroksilira na položaju C3 djelovanjem CYP3A4 enzima stvarajući pritom oksazepam i to 90 % kao (*S*)-enantiomer.<sup>34</sup>

Ranije je navedeno da neki benzodiazepini, npr. oksazepam, pokazuju stereokemijsku nestabilnost, čak i pri fiziološkim uvjetima. S obzirom na to da je oksazepam aktivni metabolit najpropisivanijeg anksiolitika diazepama, potreba za detaljnom karakterizacijom tog procesa postaje još važnija. Takva znanja mogu biti korisna i farmaceutskim tvrtkama prilikom planiranja strukturnih modifikacija s ciljem smanjenja optičke nestabilnosti unutar farmakološke vremenske skale, ali i pri odabiru kandidata za razvoj enantiomera s boljim terapijskim profilom.

Iako se u literaturi već dugo raspravlja o potencijalnom mehanizmu, tek je odnedavno poznato da je za optičku nestabilnost oksazepama odgovoran proces tzv. prsten-lanac tautomerije.<sup>35</sup> Kvantno-kemijskim metodama ispitana je relevantnost nekoliko predloženih mehanizama (slika 9). Najjednostavniji mogući proces uključuje deprotoniranje kiralnog centra i nastanak karbaniona (slika 9, i). Kiselo-bazna ravnoteža dovodi do konfiguracijske izomerizacije na C3 položaju jer gubitkom sp<sup>3</sup> kiralnog centra nakon deprotoniranja vjerojatnost da će ponovno nastati isti enantiomer iznosi 50 %. Međutim, predloženi mehanizam malo je vjerojatan zbog niske kiselosti C3–H skupine, posebice u takvom okruženju gdje je na tom centru izravno vezana znatno kiselija hidroksilna skupina. Kao potencijalni uzrok optičke nestabilnosti oksazepama razmotren je i mehanizam keto-enolne tautomerije, (slika 9, ii). Intramolekulskim prijenosom protona s C3-položaja na C2=O karbonylnu skupinu dolazi do gubitka sp<sup>3</sup> kiralnog centra i nastanka sp<sup>2</sup> prokiralnog C-atoma, nakon čega je vjerojatnost nastanka oba enantiomera jednaka, ali kinetičkim i termodinamičkim izračunima utvrđeno je da taj mehanizam nije relevantan za opis enantiomerizacije oksazepama. Treći mogući proces obuhvaća protoniranje

C3–OH skupine, dehidraciju uz nastanak karbokationa te reverzibilnu hidraciju (slika 9, iii). S obzirom na to da je C3–OH skupina najmanje bazičan položaj u oksazepamu, taj mehanizam ne smatra se odgovornim za enantiomerizaciju. Izračunati parametri za četvrti ispitani mehanizam prsten-lanac tautomerije u skladu su s eksperimentalno izmjerenom energijskom barijerom od  $91 \text{ kJ mol}^{-1}$ , a uključuje prijenos protona s C3–OH na N4 atom. Stoga je zaključeno da je, između predloženih mehanizama, prsten-lanac tautomerija proces odgovoran za optičku nestabilnost oksazepama (slika 9, iv).<sup>35</sup>

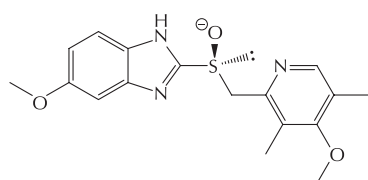


Slika 9 – Ispitani mehanizmi enantiomerizacije oksazepama<sup>35</sup>

Fig. 9 – Investigated mechanisms of enantiomerisation of oxazepam<sup>35</sup>

### 2.3.4. [Es]omeprazol

Primjer primjene kiralnosti kao jednostavne i jeftine strategije poboljšanja svojstava postojećih lijekova (engl. *chiral switch*) dolazak je na tržište (S)-enantiomera omeprazola nakon isteka patentne zaštite prethodno registriranog racemata. U omeprazolu kiralni centar je atom sumpora, a slobodni elektronski par čini tetraedar (slika 10). Esomeprazol i omeprazol djeluju kao ireverzibilni inhibitori  $\text{H}^+/\text{K}^+$ -ATP-aze (protonske pumpe) na membrani parijetalnih stanica želuca. Upotrebljavaju se u terapiji gastroezofagealne refluksne bolesti (GERB), želučanog i duodenalnog ulkusa,



Slika 10 – Struktura esomeprazola

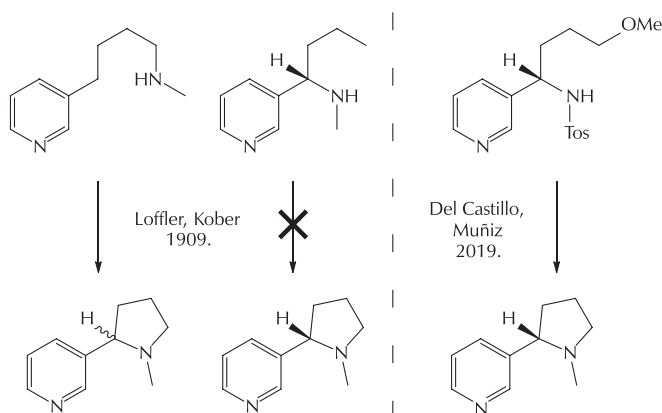
Fig. 10 – Structure of esomeprazole

Zollinger-Ellisonova sindroma, u profilaksi gastropatije kod bolesnika na kontinuiranoj terapiji nesteroidnim protuupalnim lijekovima te za eradikaciju *Helicobacter pylori* u kombinaciji s antibioticima.<sup>36</sup>

Za razliku od talidomida i kiralnih benzodiazepina, esomeprazol je optički stabilan pri  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $\Delta G^\ddagger \approx 170 \text{ kJ mol}^{-1}$ ).<sup>37</sup> (S)-enantiomer ima sličan sigurnosni profil kao i omeprazol, ali pokazuje bolja farmakokinetička svojstva: bolju oralnu raspoloživost, manju podložnost metaboličkim reakcijama i sporije izlučivanje. Primjenom jednake doze esomeprazola postiže se dva puta veća koncentracija aktivnog izomera, čime se povećava aktivnost lijeka.<sup>38</sup>

### 2.3.5. Sinteza nikotina

Početak 20. stoljeća znanstvenici su pokušali sintetizirati potentne alkaloidne spojeve i njihove derivate u istraživačke svrhe te kao zamjenu za izolaciju iz biljnog materijala. Među istraživanim alkaloidima zanimljiv problem predstavlja sinteza nikotina koji u prirodi dolazi kao (–)-izomer. Međutim, drugi stereoizomer, (+)-nikotin pokazuje znatno slabije toksične učinke pri istoj dozi, pa su se znanstvena istraživanja usmjerila prema enantioselektivnoj sintezi. Za prvi sintetski postupak zaslužni su Löffler i Kober, koji su 1909. godine primjenom Hofmann, Löffler, Freytag (HLF) reakcije uspjeli sintetizirati nikotin, ali kao racemičnu smjesu dvaju enantiomera (slika 11).<sup>39</sup> Daljnji pokušaji dobivanja enantiomerno čistog produkta nisu bili uspješni sve do 2019. godine, kad su *Muniz i sur.* primjenom iste reakcije, ali s drugim aktiviranim prekursorima u šest sintetskih koraka uspjeli doći do željenog stereoizomera.<sup>40</sup> Potraga za strukturnim značajkama i/ili reakcijskim prekidačima koji će usmjeriti HLF reakciju prema produktima visoke optičke čistoće i dalje se intenzivno nastavlja.<sup>41</sup> Potrebe farmaceutske industrije za proizvodnjom optički čistih produkata potaknuli su znanstvenu zajednicu na razvijanje inovativnih postupaka kojima bi se omogućilo što bolje iskorištenje uz što veću stereoselektivnost.



Slika 11 – Sintezu nikotina. Lijevo: sinteza racemične smjese nikotina i neuspješna sinteza (–)-nikotina. Desno: sinteza (–)-nikotina

Fig. 11 – Nicotine synthesis. Left: synthesis of nicotine racemic mixture and unsuccessful synthesis of (–)-nicotine. Right: synthesis of (–)-nicotine

### 3. Zaključak

U prirodi je važnost stereokemije nemjerljiva – od DNA molekule u kojoj je pohranjena genetička informacija, preko peptidne veze koja je odgovorna za specifična svojstva proteina, do šećera iz kojih se dobiva energija. Ne treba začuditi da se u takvom okolišu djelovanje različitih izomera endo- i ksenobiotika može dramatično razlikovati. Stoga je proučavanje stereokemijskih procesa, posebice onih koji uključuju kiralne efekte, od velikog značaja u istraživanju i razvoju lijekova. Zbog napretka tehnologije i strožih zahtjeva regulatornih agencija, u posljednjih dvadesetak godina zanimanje za kiralne molekule postalo je goruća tema u akademskoj zajednici. U prilog tome govori i Nobelova nagrada za kemiju 2021. godine dodijeljena Benjaminu Listu i Davidu MacMillanu za otkriće asimetričnih organokatalitičkih reakcija koje su pomogle u razvoju novih lijekova te bržim, učinkovitijim i zelenijim načinima njihove pripreme. Analiza tržišta lijekova iz 2018. godine upućuje na zaključak da je razdvajanje racemičnih smjesa postao novi trend u farmaceutskoj industriji,<sup>42</sup> a može se naslutiti da će takva vrsta priznanja u obliku Nobelove nagrade biti dodatan vjetar u leđa razvoju enantiomerno čistih lijekova.

#### ZAHVALA

Rad je nastao unutar projekta "Inovativna rješenja u katalitičkim proizvodnim procesima za potrebe farmaceutske industrije" (CAT PHARMA, KK.01.1.1.04.0013) u okviru Operativnog programa "Konkurentnost i kohezija 2014. – 2021.", koji je financiran iz europskih strukturalnih i investicijskih fondova. Autori se zahvaljuju i uspostavnom istraživačkom projektu "Svjetlošću pogonjena funkcionalizacija nereaktivnih pozicija korištenjem oksidacijske aminacije" (LIGHT-N-RING, UIP-2020-02-4857), financiranom od strane Hrvatske zaklade za znanost. L.H. se zahvaljuje Hrvatskoj zakladi za znanost na doktorskoj stipendiji kroz Projekt razvoja karijera mladih istraživača – izobrazba novih doktora znanosti (DOK-2020-01-3482).

#### Literatura

#### References

1. B. Testa, G. Vistoli, A. Pedretti, Mechanisms and pharmaceutical consequences of processes of stereoisomerisation – A didactic excursion, *Eur. J. Pharm. Sci.* **88** (2016) 101–123, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2016.04.007>.
2. S. H. Pine, *Organska kemija*, Školska knjiga, Zagreb, 1994., str. 132–178.
3. L. G. ml. Wade, *Organska kemija*, Školska knjiga, Zagreb, 2017., str. 169–209.
4. G. Vistoli, B. Testa, A. Pedretti, Organic stereochemistry. Part 6. The conformation factor in molecular pharmacology, *Helv. Chim. Acta.* **96** (2013) 1005–1030, doi: <https://doi.org/10.1002/hlca.201200474>.
5. G. Ermondi, G. Caron, Molecular interaction fields based descriptors to interpret and compare chromatographic indexes. *J. Chromatogr. A* **1252** (2012) 84–89, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.06.069>.
6. R. J. Friary, M. Spangler, R. Osterman, L. Schulman, J. H. Schwerdt, Enantiomerisation of an atropisomeric drug, *Chirality* **8** (1996) 364–371, doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-636X\(1996\)8:5<364::AID-CHIR2>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-636X(1996)8:5<364::AID-CHIR2>3.0.CO;2-E).
7. H. O. Kalinowski, H. Kessler, Fast isomerizations about double bonds, *Topics Stereochem.* **7** (1973) 295–383, doi: <https://doi.org/10.1002/9780470147160.ch4>.
8. M. Reist, B. Testa, P. A. Carrupt, Drug Racemization and Its Significance in Pharmaceutical Research, u K. Starke, G. Y. R. Born, M. Eichelbaum, D. Ganten, H. Herken, F. Hofmann, L. E. Limbird, W. Rosenthal, G. Rubanyi (ur.), *Handbook of Experimental Pharmacology*. Vol. 153, Springer-Verlag, Berlin, 2003., str. 91–112.
9. M. Reist, B. Testa, P. A. Carrupt, M. Jung, V. Schurig, Racemization, enantiomerization, diastereomerization, and epimerization: Their meaning and pharmacological significance, *Chirality* **7** (1995) 396–400, doi: <https://doi.org/10.1002/chir.530070603>.
10. J. M. Berg, J. L. Tymoczko, G. J. ml. Gatto, L. Stryer, Protein Composition and Structure, u: I. Vartanoff, M. Heston (ur.), *Biochemistry*. W. H. Freeman and Company, New York, 2015., str. 27–40.
11. M. Rask-Andersen, M. S. Almén, H. B. Schiöth, Trends in the exploitation of novel drug targets, *Nat. Rev. Drug Discov.* **10** (2011) 579–590, doi: <https://doi.org/10.1038/nrd3478>.
12. J. L. Lau, M. K. Dunn, Therapeutic peptides: Historical perspectives, current development trends, and future directions, *Bioorg. Med. Chem.* **26** (2018) 2700–2707, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.06.052>.
13. L. Bednarova, P. Malon, P. Bour, Spectroscopic properties of the nonplanar amide group: a computational study, *Chirality* **19** (2007) 775–786, doi: <https://doi.org/10.1002/chir.20462>.
14. W. J. Wedemeyer, E. Welker, H. A. Scherag, Proline cis-trans isomerization and protein folding, *Biochemistry*, **41** (2002) 14637–14644, doi: <https://doi.org/10.1021/bi020574b>.
15. C. Dugave, L. Demange, Cis-trans isomerization of organic molecules and biomolecules: Implications and applications, *Chem. Rev.* **103** (2003) 2475–2532, doi: <https://doi.org/10.1021/cr0104375>.
16. A. J. Trevor, Sedative-Hypnotic Drugs, u: B. G. Katzung and A. J. Trevor (ur.), *Basic & clinical pharmacology*, McGraw-Hill Education, New York, 2015., str. 369–383.
17. B. Pem, V. Vrček, Substituent effects on the stability of 1,4-benzodiazepin-2-one tautomers: A density functional study, *Int. J. Quantum Chem.* **118** (2018) e25523, doi: <https://doi.org/10.1002/qua.25523>.
18. M. Pistolozzi, C. Bertucci, Species-dependent stereoselective drug binding to albumin: A circular dichroism study, *Chirality* **20** (2008) 552–558, doi: <https://doi.org/10.1002/chir.20521>.
19. I. Fitos, J. Visy, F. Zsila, G. Mady, M. Simonyi, Conformation selectivity in the binding of diazepam and analogues to alpha1-acid glycoprotein, *Bioorg. Med. Chem.* **15** (2007) 4857–4862, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.04.060>.
20. S. Lee, T. Kamide, H. Tabata, H. Takahashi, M. Shiro, H. Natsugari, Axial chirality and affinity at the GABA<sub>A</sub> receptor of pyrimido[1,2-a][1,4]benzodiazepines and related compounds, *Bioorg. Med. Chem.* **16** (2008) 9519–9523, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.09.037>.
21. S. W. Smith, Chiral toxicology: it's the same thing... only different, *Toxicol. Sci.* **110** (2009) 4–30, doi: <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfp097>.
22. J. Siódmiak, T. Siódmiak, A. Tarczykowska, K. Czirson, J. Dulęba, M. P. Marszałł, Metabolic chiral inversion of 2-arylpropionic acid derivatives (profens), *Med. Res. J.* **2** (2017) 1–5, doi: <https://doi.org/10.5603/MRJ.2017.0001>.



23. A. Bonabello, M. R. Calmozzi, R. Canaparo, G. C. Isaia, L. Serpe, E. Muntoni, G. P. Zara, Dexibuprofen (S+-isomer ibuprofen) reduces gastric damage and improves analgesic and antiinflammatory effects in rodents, *Anesth. Analg.* **97** (2003) 402–408. doi: <https://doi.org/10.1213/01.ANE.0000073349.04610.42>.
24. J. K. Kim, A. R. Scialli, Thalidomide: the tragedy of birth defects and the effective treatment of disease, *Toxicol. Sci.* **122** (2011) 1–6, doi: <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfr088>.
25. S. K. Teo, W. A. Colburn, W. G. Tracewell, K. A. Kook, D. I. Stirling, M. S. Jaworsky, M. A. Scheffler, S. D. Thomas, O. L. Laskin, Clinical pharmacokinetics of thalidomide, *Clin. Pharmacokinet.* **43** (2004) 311–327, doi: <https://doi.org/10.2165/00003088-200443050-00004>.
26. C. Tian, P. Xiu, Y. Meng, W. Zhao, Z. Wang, R. Zhou, Enantio-merization mechanism of thalidomide and the role of water and hydroxide ions, *Chem. Eur. J.* **18** (2012) 14305–14313, doi: <https://doi.org/10.1002/chem.201202651>.
27. URL: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/development-new-stereoisomeric-drugs> (23. 1. 2022.),
28. URL: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/investigation-chiral-active-substances\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/investigation-chiral-active-substances_en.pdf) (23. 1. 2022.),
29. I. Agranat, H. Caner, J. Caldwell, Putting chirality to work: the strategy of chiral switches, *Nat. Rev. Drug Discov.* **1** (2002) 753–768, doi: <https://doi.org/10.1038/nrd915>.
30. L. A. Nguyen, H. He, C. Pham-Huy, Chiral drugs: an overview, *Int. J. Biomed. Sci.* **2** (2006) 85–100, PMID: 23674971.
31. P. Salvadori, C. Bertucci, E. Domenici, G. Giannaccini, Chiral 1,4-benzodiazepin-2-ones: relationship between stereochemistry and pharmacological activity, *J. Pharm. Biomed.* **7** (1989) 1735–1742, doi: [https://doi.org/10.1016/0731-7085\(89\)80188-8](https://doi.org/10.1016/0731-7085(89)80188-8).
32. S. G. Smith, R. Sanchez, M. M. Zhou, Privileged diazepine compounds and their emergence as bromodomain inhibitors, *Chem. Biol.* **21** (2014) 573–583, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2014.03.004>.
33. S. K. Yang, A. Huang, J. D. Huang, Enantioselectivity of esterase in human brain, *Chirality* **5** (1993) 565–568, doi: <https://doi.org/10.1002/chir.530050714>.
34. S. Rendić, M. Medić-Šarić, Metabolizam lijekova i odabranih ksenobiotika, Medicinska naklada, Zagreb, 2013., str. 258, 317–318.
35. L. Hok, L. Božičević, H. Sremec, D. Šakić, V. Vrček, Racemization of oxazepam and chiral 1,4-benzodiazepines. DFT study of the reaction mechanism in aqueous solution, *Org. Biomol. Chem.* **17** (2019) 1471–1479, doi: <https://doi.org/10.1039/C8OB02991A>.
36. K. R. McQuaid, Drugs Used in the Treatment of Gastrointestinal Diseases, u B. G. Katzung and A. J. Trevor (ur.), *Basic & clinical pharmacology*, McGraw-Hill Education, New York, 2015., str. 1056–1060.
37. H. Marom, I. Agranat, Racemization of the gastrointestinal antisecretory chiral drug esomeprazole magnesium via the pyramidal inversion mechanism: A theoretical study, *Chirality* **22** (2010) 798–807, doi: <https://doi.org/10.1002/chir.20839>.
38. S. Thitiphuree, N. J. Thalley, Eesomeprazole, a new proton pump inhibitor: pharmacological characteristics and clinical efficacy, *Int. J. Clin. Pract.* **54** (2000) 537–541, PMID: 11198734.
39. K. Löffler, S. Kober, Über die Bildung des *i*-Nicotins aus *N*-Methyl-*p*-pyridyl-butylamin (Dihydrometanicotin), *Eur. J. Inorg. Chem.* **42** (1909) 3431–3438, doi: <https://doi.org/10.1002/cber.19090420378>.
40. E. Del Castillo, K. Muñiz, Enantioselective Synthesis of Nicotine via an Iodine-Mediated Hofmann–Löffler Reaction, *Org. Lett.* **21** (2019) 705–708, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.8b03909>.
41. S. Shkunnikova, H. Zipse, D. Šakić, Role of substituents in the Hofmann–Löffler–Freytag reaction. A quantum-chemical case study on nicotine synthesis, *Org. Biomol. Chem.* **19** (2021) 854–865, doi: <https://doi.org/10.1039/D0OB02187C>.
42. A. Calcaterra, I. D'Acquarica, The market of chiral drugs: Chiral switches versus *de novo* enantiomerically pure compounds, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **147** (2018) 323–340, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.07.008>.

## SUMMARY

### Pharmaceutical Significance of the Stereoisomerisation Process

Lucija Hok,<sup>a</sup> Davor Šakić,<sup>b</sup> Valerije Vrčec,<sup>c</sup> and Robert Vianello<sup>a\*</sup>

Investigation of the stereoisomerisation process is of the utmost importance in pharmaceutical chemistry and biomedicine. Different isomers can exhibit significant differences when interacting with biological macromolecules, which may result in their modified pharmacokinetic and pharmacodynamic properties, thereby showing different therapeutic and undesirable effects. Although there are numerous examples illustrating the importance of stereochemistry, this article presents an overview of the most significant and representative cases in pharmacy.

#### Keywords

*Stereoisomers, configurational instability, pharmacological and pharmaceutical time scales, chiral drugs*

<sup>a</sup> Ruđer Bošković Institute, Division of Organic Chemistry and Biochemistry, Laboratory for the Computational Design and Synthesis of Functional Materials, Bijenička cesta 54, 10 000, Zagreb, Croatia

<sup>b</sup> University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, Department of Analytical Chemistry, Ul. Ante Kovačića 1, 10 000 Zagreb, Croatia

<sup>c</sup> University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, Department of Organic Chemistry, Ul. Ante Kovačića 1, 10 000 Zagreb, Croatia

Review  
Received May 3, 2022  
Accepted June 3, 2022