

HROMATOGRAFSKE METODE U PROUČAVANJU LIPOFILNOSTI BIOLOŠKI AKTIVNIH SUPSTANCI

U ovom radu dat je pregled metoda koje nalaze primenu u proučavanju hidrofobnosti biološki aktivnih supstanci, što je njihova veoma značajna osobina. Biološka aktivnost neke supstance uslovljena je procesima njene farmakokinetike i farmakodinamike, koji zavise od sposobnosti molekula da interaguje sa dve različite sredine: nevodenom (ćelijska membrana) i vodenom (unutrašnjost ćelije), odnosno od njegove lipofilnosti. Danas se velika pažnja pridaje proučavanju i sistematskom određivanju lipofilnosti lekovitih supstanci. U ovim ispitivanjima hromatografske metode zauzimaju značajno mesto.

Biološka aktivnost neke supstance zavisi od njenih strukturalnih, fizičkih i hemijskih osobina. Povezanost strukture i aktivnosti, odnosno strukture i osobina nekog biološki aktivnog jedinjenja danas se ispituje QSAR (analize odnosa strukture i aktivnosti – *Quantitative Structure–Activity Relationship*), odnosno QSPR (analize odnosa strukture i osobina – *Quantitative Structure–Property Relationships*) studijama [1].

Prema Hansch-u biološka aktivnost nekog jedinjenja uslovljena je njegovom farmakokinetikom (put od mesta ulaska u telo do mesta dejstva) i farmakodinamikom (interakcije sa specifičnim mestom dejstva). Ovi procesi zavise od sposobnosti molekula da interaguje sa dve različite sredine: nevodenom (ćelijska membrana) i vodenom (unutrašnjost ćelije), odnosno od njegove lipofilnosti [1]. Međumolekulske interakcije u biološkoj sredini mogu se uporediti sa interakcijama koje postoje u hromatografskoj sredini. S obzirom na ovu sličnost hromatografija, koja daje precizne, kvantitativno uporedljive i reproduktivne rezultate pogodna je za proučavanje ponašanja i osobina biološki aktivnih supstanci. Odnos hromatografskog ponašanja i strukture izučava se QSRR studijama (analiza odnosa strukture i retencionog ponašanja – *Quantitative Structure–Retention Relationships*). QSRR izučavanja daju važne informacije o osobinama ispitivanih molekula, što omogućava da se iz velikog broja jedinjenja izabere hemijska struktura sa željenim osobinama i odgovarajućom biološkom aktivnošću [1–4].

Lipofilnost je osobina koja značajno utiče na biološku aktivnost supstanci, njihovu resorpciju, raspodelu, metabolizam i eliminaciju. Molekuli veće lipofilnosti se bolje resorbuju, bolje prodiru u tkiva i imaju veći stepen raspodele u odnosu na manje lipofilne molekule sličnih osobina. Pored toga, lipofilnost produžava dejstvo lekovitih supstanci i utiče na puteve eliminacije – malo

lipofilni lekovi se dobro eliminišu putem urina, dok veoma lipofilni često imaju i hepaticni put eliminacije [5–9]. Stoga se danas velika pažnja pridaje upravo proučavanju lipofilnosti lekovitih supstanci.

POJAM LIPOFILNOSTI

Pojam hidrofobnosti uveli su Fujita, Iwasa i Hansch 1964. godine [4]. Prema ovim autorima put molekula leka kroz organizam mogao bi da odgovara njegovoj raspodeli između 1-oktanola i vode. Stoga su hidrofobnost izrazili preko particionog koeficijenta, $\log P$ vrednosti, definišući ga kao logaritam odnosa koncentracije ispitivane supstance u obe faze zasićenog dvofaznog sistema koji se sastoji od 1-oktanola i vode [4].

$$\log P = \log \frac{c_0}{c_w} \quad (1)$$

gde je c_0 koncentracija komponente u 1-oktanolu, c_w koncentracija komponente u vodi kada je sistem u ravnoteži.

Međutim, particioni koeficijent, $\log P$ parametar, nije pogodan pokazatelj hidrofobnosti supstanci koje stupaju u interakcije sa jednom od faza (jonizacija, agregacija, formiranje jonskih parova). Lipofilnost ovakvih supstanci može se izraziti preko $\log D$ particionog koeficijenta. U slučaju da ispitivane supstance jonizuju u vodenoj fazi postoji veza između njihovih $\log P$ i $\log D$ vrednosti [10].

Za slabe kiseline:

$$\log D = \log P_{HX} - \log (1 + 10^{(pK_a - pH)}) \quad (2)$$

Za slabe baze:

$$\log D = \log P_X - \log (1 + 10^{(pH - pK_a)}) \quad (3)$$

gde HX i X predstavljaju neutralni oblik slabe kiseline i baze. Ako su poznate vrednosti $\log P$ i pK_a , za odabranu pH vrednost se može izračunati $\log D$ ispitivane supstance [10].

Autor za prepisku: J. Odović, Institut za Analitičku hemiju, Farmaceutski fakultet, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija.

E-pošta: jodovic@pharmacy.bg.ac.yu

Rad primljen: 27. novembar 2008.

Rad prihvaćen: 19. decembar 2008.

METODE ODREĐIVANJA LIPOFILNOSTI

Shake flask metoda

Tradicionalni metod za određivanje lipofilnosti, odnosno, log P vrednosti, molekula je *shake flask* metod. Poznata količina analizirane supstance unese se u određenu količinu 1-oktanol i vode i nakon raspodele analiza između dve faze njegova koncentracija u svakoj fazi se odredi odabranom metodom (spektrofotometrija, visoko-efikasna tečna hromatografija, gasna hromatografija). Međutim, ova metoda ima i izvesne nedostatke: slaba reproduktivnost, dužina trajanja eksperimenta, nemogućnost primene na veoma hidrofilne ili veoma lipofilne komponente [10,11].

Pored *shake flask* metode za određivanje lipofilnosti biološki aktivnih supstanci, koriste se hromatografske metode. Prvenstveno se primenjuju reversno-fazne (*reversed-phase* RP) hromatografske metode: reversno-fazna visoko-efikasna tečna hromatografija (*high performance liquid chromatography* – HPLC) i reversno-fazna tankoslojna hromatografija (*thin layer chromatography* – TLC) [12–30]. Pored njih primenu u određivanju hidrofobnosti nalazi i normalno-fazna (*normal-phase*, NP) TLC metoda [31–34].

Osim eksperimentalnih metoda za određivanje log P vrednosti koriste se i teorijske metode izračunavanja. Različiti matematički modeli mogu se primeniti u izračunavanju hidrofobnih parametara, odnosno, log P vrednosti molekula [35–40].

Hromatografske metode

Hromatografske metode omogućavaju jednostavno i brzo određivanje lipofilnosti biološki aktivnih supstanci na osnovu njihovih retencionih parametara i to iz malih količina uzoraka. Ovo je moguće zahvaljujući sličnosti koja postoji između intermolekulskih dejstava koja određuju ponašanje jedinjenja u biološkoj i hromatografskoj sredini, odnosno sličnosti u raspodeli supstanci u sistemu oktanol – voda i njihovog hromatografskog ponašanja [1–3,10].

Izučavanje lipofilnosti HPLC metodom zasniva se na određivanju retencionih vremena ispitivanih supstanci na osnovu kojih se može izračunati logaritama retencionog faktora, log k , vrednost [12,13]:

$$\log k = \log \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad (4)$$

gde je t_R retenciono vreme ispitivane supstance, t_M vreme mobilne faze, odnosno retenciono vreme jedinjenja koje je prošlo kroz kolonu bez zadržavanja.

Vrednost logaritma retencionog faktora (log k vrednost) može se korelisati sa koncentracijom organske komponente u mobilnoj fazi i dobijena zavisnost se može prikazati jednačinom prave:

$$\log k = \log k_w + SC \quad (5)$$

gde je C udeo organske komponente u mobilnoj fazi, S nagib prave, log k_w odsečak prave.

Kao mera lipofilnosti ispitivane supstance koristi se vrednost log k_w (odsečak prave), odnosno log k vrednost ekstrapolisana na nulu koncentracije organske komponente, dok vrednost nagiba, S , odgovara specifičnoj hidrofobnoj površini ispitivane supstance i takođe se može primeniti kao mera njene lipofilnosti [3,12,13].

Valko i Slegel [14] su izračunali iz vrednosti odsečka i nagiba prave (log k_w i S) još jedan parametar hidrofobnosti biološki aktivnih supstanci, φ_0 :

$$\varphi_0 = -\frac{\log k_w}{S} \quad (6)$$

Autori su ovaj parametar definisali kao koncentraciju organske komponente u mobilnoj fazi (% v/v) za koju je raspodela komponenti između mobilne i stacionarne faze jednaka (1:1), a log $k = 0$ [14].

Pored HPLC i TLC metoda se pokazala pogodnom za proučavanje hidrofobnosti različitih biološki aktivnih supstanci. Retenciono ponašanje supstanci ispitivanih na odgovarajućim sorbentima uz upotrebu binarnih sistema rastvarača u kojima se menja udeo organske komponente može dati informacije o njihovim fizičko-hemijskim i biohemijskim osobinama među kojima je lipofilnost jedna od značajnijih [1–3,15].

Iz eksperimentalno određenih R_F vrednosti može se izračunati R_M vrednost:

$$R_M = \log \left(\frac{1}{R_F} - 1 \right) \quad (7)$$

gde R_F predstavlja odnos puta koji pređe supstanca i puta koji pređe mobilna faza tokom razvijanja hromatograma.

Dobijeni rezultati mogu se grafički prikazati kao zavisnost R_M vrednosti od udela organske komponente u mobilnoj fazi. Ovaj odnos se prikazuje jednačinom prave:

$$R_M = R_M^0 + mC \quad (8)$$

Vrednost odsečka, R_M^0 , predstavlja R_M vrednost ekstrapolisana na nulu koncentracije organske komponente. Vrednosti odsečka pravih predstavljaju meru lipofilnosti ispitivane supstance, dok vrednosti nagiba, m , odgovaraju specifičnoj hidrofobnoj površini ispitivane supstance i takođe se mogu primeniti kao mera njene lipofilnosti [15].

Bieganowska sa saradnicima [32] iz dobijenih parametara R_M^0 i m izračunava parametar hidrofobnosti C_0 , slično ranije definisanom φ_0 parametru:

$$C_0 = -\frac{R_M^0}{m} \quad (9)$$

Parametar C_0 definisan je kao udeo organske komponente u mobilnoj fazi (% v/v) za koji je $R_M = 0$ [32].

Parametri hidrofobnosti dobijeni HPLC metodom, $\log k_w$, S i φ_0 vrednosti i parametri dobijeni metodom tankoslojne hromatografije, R_M^0 , m i C_0 , mogu se porediti međusobno kao i sa kompjuterski izračunatim parametrima lipofilnosti.

Primenom reversno-fazne HPLC metode, Meng i saradnici [16] izučavali su hidrofobnost sedam lokalnih anestetika. Kao meru njihove lipofilnosti autori su uzeli vrednosti eksperimentalno dobijenih $\log k_w$ parametara i ove vrednosti korelirali sa $\log P$ vrednostima dobijenim tradicionalnom *shake flask* metodom. Dobro slaganje ukazalo je na mogućnost primene HPLC metode u izučavanju lipofilnosti biološki aktivnih supstanci.

Kaliszan i saradnici [17] ispitivali su lipofilnost niza analita (anilina, fenola, benzena, indazola, pirena i drugih) gradijentalnom HPLC metodom. Kao meru njihove lipofilnosti autori su uzeli vrednosti eksperimentalno dobijenih $\log k_w$ parametara i uporedili ih sa ranije određenim hidrofobnim parametrima, $\log P$ vrednostima. Dobro slaganje koreliranih parametara hidrofobnosti ukazalo je da je gradijentna HPLC metoda pogodna za izučavanje lipofilnosti.

Janjić sa saradnicima [15] ispitivala je primenom HPTLC metode lipofilnost nekih derivata dehidroepiandrosterona. Proučavanja su vršena na RP-18 silika gelu uz primenu dvo-komponentnih sistema rastvarača: voda-aceton i voda-dioksan. Hromatografski dobijeni parametri hidrofobnosti, R_M^0 vrednosti, korelirani su sa izračunatim hidrofobnim parametrima $\log P$ vrednostima. Zadovoljavajuće slaganje hidrofobnih parametara ukazalo je na pogodnost primene reversno-fazne tankoslojne hromatografije u proučavanju lipofilnosti biološki aktivnih supstanci.

Janjić i saradnici [18] proučavali su hidrofobnost nekih derivata estradiola primenom metoda tačne hromatografije – RP-HPLC i RP-HPTLC. Hromatografski dobijene hidrofobne parametre ($\log k_w$, φ_0 i R_M^0) autori su uporedili međusobno kao i sa kompjuterski izračunatim parametrima hidrofobnosti, $\log P$ vrednostima. Dobijeni rezultati potvrdili su mogućnost primene kako RP-HPLC tako i RP-HPTLC metode za određivanje lipofilnosti biološki aktivnih supstanci.

Puka i Miszczyk [19] proučavali su lipofilnost odabranih pesticida RP-HPLC i RP-HPTLC metodom. Hromatografski dobijene parametre hidrofobnosti ($\log k_w$, φ_0 i R_M^0 , C_0) uporedili su međusobno kao i sa izračunatim $\log P$ vrednostima, pri čemu su dobijene dobre korelacije.

Metoda tankoslojne hromatografije isoljavanja (*Salting out thin layer chromatography* – SOTLC) primenjena je za proučavanje hromatografskog ponašanja i lipofilnosti pet makrolidnih antibiotika. Korelacija eksperimentalno dobijenih parametara lipofilnosti (R_M^0 i C_0)

sa izračunatim $\log P$ vrednostima pokazala je da je SOTLC metoda omogućava brzo i jednostavno određivanje hidrofobnosti [20].

Reversno-fazna TLC metoda na RP-18 silika gelu primenjena je za određivanje hidrofobnosti nekih 1-arilpiperazina. Dobro slaganje hromatografski dobijenih i izračunatih hidrofobnih parametara potvrdilo je mogućnost primene RP-TLC metode za održavanje lipofilnosti biološki aktivnih supstanci [21].

Bieganovska i saradnici [32] ispitivali su mogućnost primene normalno-fazne TLC metode za sistematsko proučavanje hidrofobnosti sulfonamida. Ispitivanja u uslovima NP-TLC su vršena na silika-gelu, poliamidu i florisilu primenom dvokomponentnih mobilnih faza (dihlormetan-acetonitril, dihlormetan-etanol, dihlormetan-metil-etil-eton, dihlormetan-tetrahidrofuran, dihlormetan-dioksan) uz promenu odnosa komponenata. Kao meru hidrofobnosti sulfonamida, autori su, analogno reversno-faznoj TLC metodi, koristili eksperimentalno određene parametre R_M^0 i C_0 . Parametre hidrofobnosti dobijene NP-TLC metodom autori su uporedili sa parametrima hidrofobnosti dobijenim metodom RP-TLC. Zadovoljavajuće slaganje ukazalo je da je metoda NP-TLC pogodna za proučavanje lipofilnosti ispitivanih supstanci.

Janjić sa saradnicima [33] je ispitala mogućnost primene normalno-fazne HPTLC metode za proučavanje lipofilnosti derivata androstena. Ispitivanja su vršena na silika-gel HPTLC pločama uz primenu dvo-komponentnih mobilnih faza uz promenu udela komponenata. Eksperimentalno dobijene parametre hidrofobnosti R_M^0 i C_0 autori su uporedili sa kompjuterski izračunatim $\log P$ vrednostima i dobili su zadovoljavajuću korelaciju. Takođe su dobili dobro slaganje između R_M^0 parametara dobijenih u ovom radu i R_M^0 parametara dobijenih prethodnim proučavanjem derivata androstena RP-HPTLC metodom, na osnovu čega su zaključili da je normalno-fazna HPTLC metoda pogodna za proučavanje lipofilnosti biološki aktivnih supstanci.

Janjić je [34] primenila NP-HPTLC metodu na tankom sloju silika gela za proučavanje hidrofobnosti derivata uracila. Zadovoljavajuće slaganje eksperimentalno dobijenih parametara hidrofobnosti metodama NP-HPTLC i RP-HPTLC, kao i slaganje hidrofobnih parametara dobijenih NP-HPTLC metodom sa izračunatim parametrima hidrofobnosti potvrdilo je mogućnost primene NP-HPTLC metode u proučavanjima hidrofobnosti.

Odović sa saradnicima se bavila sistematskim ispitivanjem lipofilnosti različitih biološki aktivnih supstanci primenom metoda tankoslojne hromatografije.

Hromatografsko ponašanje i hidrofobnost nekih antimikotika (bifonazol, klotrimazol, fentikonazol, flukonazol, ketokonazol, mikonazol, metronidazol, itrakonazol) Odović i saradnici [22,23] ispitivali su RP-TLC metodom na silika gelu primenom tri dvokomponentna sistema rastvarača: aceton-*n*-hexan, metanol-toluen i

metil-etil keton–toluen, uz promenu udela komponenta. Hromatografski dobijene parametre hidrofobnosti autori su korelisali sa izračunatim pri čemu je dobijeno zadovoljavajuće slaganje.

Pod uslovima tankoslojne hromatografije izolovanja, SOTLC metode, Odović i saradnici [24] ispitivali su hromatografsko ponašanje i lipofilnost nekoliko miorelaksana na tankom sloju silika gela uz mobilnu fazu koju su činili rastvori $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ različitih koncentracija. Eksperimentalno dobijeni hidrofobni parametri pokazali su zadovoljavajuće slaganje sa računski dobijenim parametrima, log P vrednostima.

Odović i saradnici [25] proučavali u hromatografsko ponašanje i lipofilnost šest anestetika (droperidol, flormidal, etomidat, lidokain, fentanil i prokain) SOTLC metodom, na tankom sloju celuloze uz primenu rastvora $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ različitih koncentracija. Poređenjem hromatografski dobijenih parametara hidrofobnosti sa izračunatim log P vrednostima dobijene su zadovoljavajuće zavisnosti.

Odović sa saradnicima [26–31] sistematski je proučavala lipofilnost pet inhibitora angiotenzin konvertujućeg enzima, ACE inhibitora, (enalapril, kvinapril, fisinopril, lizinopril i cilazapril) i njihovih odgovarajućih metabolita (enalaprilat, kvinaprilat, fosinoprilat, cilazaprilat) primenom metoda tankoslojne hromatografije.

Metodom tankoslojne hromatografije izolovanja, SOTLC metodom, autori su na silika gelu, celulozi i PANS-u, uz primenu rastvora $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ različitih koncentracija, proučavali lipofilnost odabranih ACE inhibitora i njihovih metabolita [26,27].

Hidrofobnost ACE inhibitora i njihovih metabolita, isti autori izučavali su RP–TLC metodom na reversno-faznom C18 silika gelu primenom dvokomponentnih sistema rastvarača: voda–metanol, voda–aceton i voda–etanol [28,29].

Hromatografsko ponašanje i hidrofobnost ACE inhibitora Odović i saradnici [30] proučavali su na tankom sloju celuloze uz primenu polarnih sistema rastvarača: voda–metanol, voda–aceton i voda–etanol.

Takođe, lipofilnost ispitivanih supstanci autori su izučavali i primenom normalno-fazne TLC metode na silika gelu uz primenu dvokomponentnih rastvarača: etanol–toluen, etanol–metilketon i etanol–ugljenetrahlorid [31].

Kao meru lipofilnosti ACE inhibitora i njihovih aktivnih metabolita u ovim proučavanjima Odović i saradnici [26–31] koristili su eksperimentalno dobijene parametre R_M^0 i C_0 . Hromatografski dobijene parametre hidrofobnosti autori su poredili sa izračunatim parametrima hidrofobnosti, log P vrednostima. Zadovoljavajuće slaganje hromatografski dobijenih hidrofobnih parametara sa izračunatim potvrdilo je da je planarna hromatografija, kako reversno-fazna tako i normalno-fazna, pogodna za proučavanje lipofilnosti biološki aktivnih supstanci.

ZAKLJUČAK

Jedna od najvažnijih osobina molekula koja utiče na biološku aktivnost je njegova lipofilnost. Veza između lipofilnosti lekovitih supstanci i njihove biološke aktivnosti je značajna i danas se intenzivno izučava u hemiji. Takođe, u poslednje vreme je objavljen veliki broj radova koji se bave sistematskim proučavanjem lipofilnosti biološki aktivnih supstanci. U ovim izučavanjima primenu nalaze tradicionalna *shake flask* metoda, hromatografske metode kao i različite metode izračunavanja hidrofobnosti. Posebno značajno mesto pripada hromatografskim metodama: brzom i efikasnoj metodi visoko-efikasne tečne hromatografije kao i metodi planarne hromatografije.

Metoda planarne hromatografije s obzirom na svoju jednostavnost, brzinu, mogućnost istovremenog ispitivanja većeg broja analita u ovim proučavanjima zauzima posebno važno mesto. Primenjuju se prvenstveno reversno-fazne TLC metode, mada su se i metode normalno-fazne TLC pokazale pogodnim za proučavanje hidrofobnosti biološki aktivnih supstanci.

Parametri lipofilnosti dobijeni različitim hromatografskim metodama kao i izračunati pokazuju zadovoljavajuća slaganja, što ukazuje na pogodnost primene hromatografskih metoda u proučavanju lipofilnosti biološki aktivnih supstanci.

LITERATURA

- [1] J. Trifković, Primena planarne hromatografije u analizama kvantitativnog odnosa strukture i aktivnosti i strukture i hromatografskog ponašanja, Seminarski rad, Hemijski fakultet, Beograd, 2006.
- [2] R. Kaliszan, Chem. Rev. **107** (2007) 3212-3246.
- [3] K. Heberger, J. Chromatogr. A, **1158** (2007) 273-305.
- [4] T. Fujita, J. Iwasa, C. Hansch, J. Am. Chem. Soc. **86** (1964) 5175-5180.
- [5] R. Razzetti, D. Acerbi, Am. J. Cardiol. **75** (1995) 7F-12F.
- [6] T. Saruta, K. Nishikawa, Am. J. Hipertens. **2** (1991) 23S-28S.
- [7] M. Miyazaki, T. Kawamoto, H. Okunishi, Am. J. Hiperten. **8** (1995) 63S-67S.
- [8] H. Conen, H.R. Brunner, Am. Hearth J. **125** (1993) 152S-1531.
- [9] S.A. Ranadive, A.X. Chen, T.M. Serajuddin, Pharm. Res. **9** (11) (1992) 1480-1486.
- [10] S.K. Poole, C.F. Poole, J. Chromatogr., B **797** (2003) 3-19.
- [11] A. Berthod, S. C. Broch, J. Chromatogr., A **1037** (2004) 3-14.
- [12] K. Valko, J. Chromatogr., A **1037** (2004) 299-310.
- [13] X. Liu, H. Tanaka, A. Yamauchi, B. Testa, H. Chuman, J. Chromatogr. A, **1091** (2005) 51-59.
- [14] K. Valko, P. Slegel, J. Chromatogr., A **639** (1993) 49-61.
- [15] N.P. Janjić, T.Đ. Sekulić, K.P. Gaši, Chromatographia **60** (2004) S201-S205.

- [16] Q.C. Meng, H. Zou, J.S. Johansson, R.G. Eckenhoff, *Anal. Biochem.* **292** (2001) 102-106.
- [17] R. Kaliszan, P. Haber, T. Baczek, D. Siluk, *Pure Appl. Chem.* **73** (2001) 1465-1475.
- [18] T.Đ. Sekulić, M. Ačanski, N.P. Janjić, *J. Chromatogr. B* **766** (2001) 67-75.
- [19] A. Pyka, M. Miszczyk, *Chromatographia* **61** (2005) 37-42.
- [20] T. Tosti, K. Drljević, D. Milojković-Opsenica, Ž. Tešić, *J. Planar Chromatogr.* **18** (2005) 415-418.
- [21] J. Veličković, Ž. Tešić, D. Milojković-Opsenica, *J. Planar Chromatogr.* **18** (2005) 358-363.
- [22] M. Aleksić, S. Erić, D. Agbaba, J. Odović, D. Milojković-Opsenica, Ž. Tešić, *J. Planar Chromatogr.* **15** (2002) 414-417.
- [23] M. Aleksić, S. Erić, D. Agbaba, J. Odović, D. Milojković-Opsenica, Ž. Tešić, in: *Planar Chromatography 2002*, Heviz, Hungary, 2002, Sz. Nyiredy, Ed., Proceedings of the International Symposium on Planar Separations, pp. 157-161.
- [24] M. Aleksić, J. Odović, D. Milojković-Opsenica, Ž. Tešić, *J. Planar Chromatogr.* **16** (2003) 144-146.
- [25] M. Aleksić, J. Odović, D. Milojković-Opsenica, Ž. Tešić, in: *Planar Chromatography 2004*, Visegrad, Hungary, 2004, Sz. Nyiredy, Ed., Proceedings of the International Symposium on Planar Separations, pp. 187-192.
- [26] J. Odović, B. Stojimirović, M.B. Aleksić, D. Milojković-Opsenica, Ž. Tešić, *J. Planar Chromatogr.* **18** (2005) 102-107.
- [27] J. Odović, B. Stojimirović, M. Aleksić, D. Milojković-Opsenica, Ž. Tešić, in: *Planar Chromatography 2004*, Visegrad, Hungary, 2004, Sz. Nyiredy, Ed., Proceedings of the International Symposium on Planar Separations, pp. 497-502.
- [28] J. Odović, B. Stojimirović, M. Aleksić, D. Milojković-Opsenica, Ž. Tešić, *J. Serb. Chem. Soc.* **71** (2006) 621-628.
- [29] J. Odović, B. Stojimirović, M. Aleksić, D. Milojković-Opsenica, Ž. Tešić, XLIV Meeting of the Serbian Chemical Society, Belgrade, Serbia, 2006, R. Marković, Đ. Janačković, A. Dekanski, Eds., Book of Abstracts, pp. 22, 23.
- [30] J. Odović, B. Stojimirović, M. Aleksić, Ž. Tešić, in: *The Jubilee XXXth Symposium, Chromatographic Methods of Investigating the Organic Compounds*, Katowice Poland, 2006, Institute of Chemistry Silesian University Katowice, Book of Abstracts, p. 118.
- [31] J. Odović, Ispitivanje lipofilnosti ACE inhibitora metodom tečne hromatografije, Doktorska disertacija, Hemijski fakultet, Beograd, 2007.
- [32] M.L. Bieganowska, A.D. Szopa, A. Petruczynnik, *J. Planar Chromatogr.* **8** (1995) 122-128.
- [33] N.P. Janjić, T.Lj.Đ. Sekulić, S.Z. Stojanović, K.M.P. Gaši, *Steroids* **70** (2005) 137-144.
- [34] N.P. Janjić, G.S. Usčumlić, N. Valentić, *J. Planar Chromatogr.*, **18** (2005) 92-97.
- [35] Interactive Analysis logP predictors, www.chemsilico.com (novembar 2008)
- [36] Interactive Analysis logP predictors, www.molinspiration.com (novembar 2008)
- [37] Interactive Analysis logP predictors, www.q-pharm.com (novembar 2008)
- [38] R.F. Rekker, *The Hydrophobic Fragmental Constant*, Elsevier, Amsterdam, 1978.
- [39] R.F. Rekker, R. Mannhold, *Calculation of Drug Lipophilicity, The hydrophobic fragmental constant approach*, VCH, Weinheim, 1992.
- [40] M. Stefaniak, A. Niestroj, J. Klupsch, J. Sliwiok, A. Puka, *Chromatographia* **62** (2005) 87-89.

SUMMARY

CHROMATOGRAPHY METHODS IN INVESTIGATION OF LIPOPHILICITY OF THE BIOLOGICAL ACTIVE SUBSTANCES

Jadranka Odović¹, Jasna Trbojević-Stanković²

¹Institute of Analytical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

²Clinical Center "Dr Dragiša Mišović", Heroja Milana Tepića 1, 11000 Beograd, Serbia

(Review paper)

This paper presents the review of the methods used in research of the biological active substances hydrophobicity, a very important property. The biological activity of some substances depends on their pharmacokinetics and pharmacodynamics. These processes depend on the molecule's capability to interact with two different media: aqueous (cells interior) and non-aqueous (cells membrane), or on the molecule lipophilicity. Today, great attention is given to investigation and systematic determination of drugs lipophilicity. In these researches chromatography methods have an important role.

Key words: Lipophilicity • Hydrophobicity • Shake flask method • High performance liquid chromatography • Thin layer chromatography
 Ključne reči: Lipofilnost • Hidrofobnost • *Shake flask* metoda • Visoko-efikasna tečna hromatografija • Tankoslojna hromatografija