

HERRAMIENTAS PARA EL DISEÑO DE COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ANÁLISIS CUANTITATIVO DE RELACIÓN ESTRUCTURA QUÍMICA-BIORESPUESTA (Q.S.A.R.)

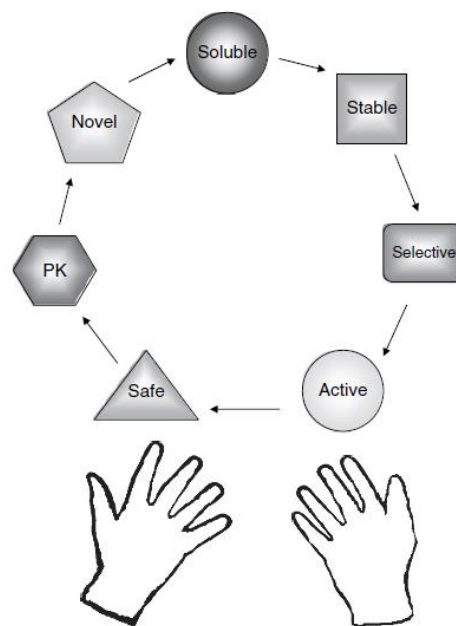
CURSO DE PROFUNDIZACIÓN PEDECIBA-QUÍMICA

NOVIEMBRE 2022

Compuestos + actividad biológica



Nuevos compuestos con actividad biológica mejorada.



Dr. Hugo Cerecetto
Dr. Marcos Couto

Algo de historia del Quantitative structure-activity relationships (QSAR)

1868: Crum-Brown y Fraser expresó la idea de que la acción fisiológica de una sustancia en un determinado sistema biológico (Φ) era una función (f) de su composición química y constitución (C).

$$\Phi = f C$$

Así, una alteración en la constitución química, ΔC , se reflejaría en una alteración en la actividad biológica $\Delta\Phi$

$$\Delta\Phi = f \Delta C$$

Algo de historia del Quantitative structure-activity relationships (QSAR)

1868: Richardson expresó la estructura química en función de la solubilidad.

1884: Mills desarrolló un modelo **QSPR** (Quantitative structure property relationships) para la predicción de los puntos de fusión y ebullición en series homólogas, los resultados fueron precisos en más de un grado.

Algo de historia del Quantitative structure-activity relationships (QSAR)

1893: Richet correlacionó las toxicidades de un conjunto de alcoholes, éteres y cetonas con su respectiva solubilidad acuosa y demostró que sus citotoxicidades están inversamente relacionadas con sus correspondientes solubilidades en agua

1897-1899: Overton y Meyer correlacionaron los coeficientes de partición de un set de compuestos orgánicos con sus potencias anestésicas y concluyeron que la actividad narcótica (depresora) depende de la lipofilia de las moléculas.

Algo de historia del Quantitative structure-activity relationships (QSAR)

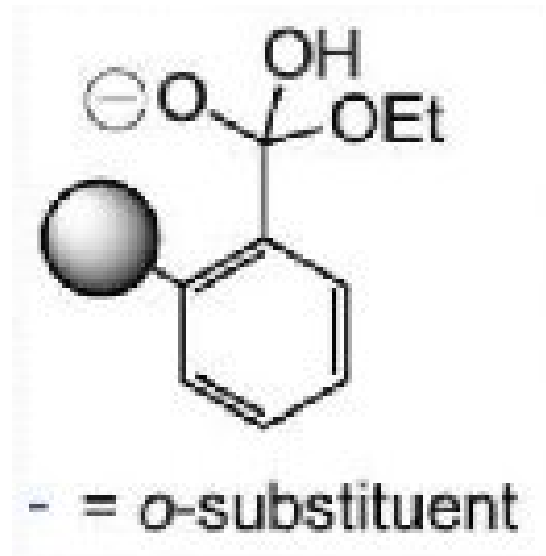
1934-1937: El trabajo seminal de Hammett dio lugar a la “cultura $\sigma\rho$ ”. Correlacionó el efecto de la adición de un sustituyente en el ácido benzoico con la constante de disociación, postuló constantes electrónicas **sigma-rho** y estableció el principio de relación lineal de energía libre (LFER).

Algo de historia del Quantitative structure-activity relationships (QSAR)

Hammett descubrió que se producía una relación lineal cuando se hacían sustituciones (en -orto y -para) de diferentes grupos en compuestos aromáticos (derivados del Ác. Benzoico)

Algo de historia del Quantitative structure-activity relationships (QSAR)

Los anillos aromáticos sustituidos en orto no caen en la línea (outliers) debido a los efectos estéricos y de espacio. Existe mayor apilamiento (crowding effect) en el intermedio tetraédrico



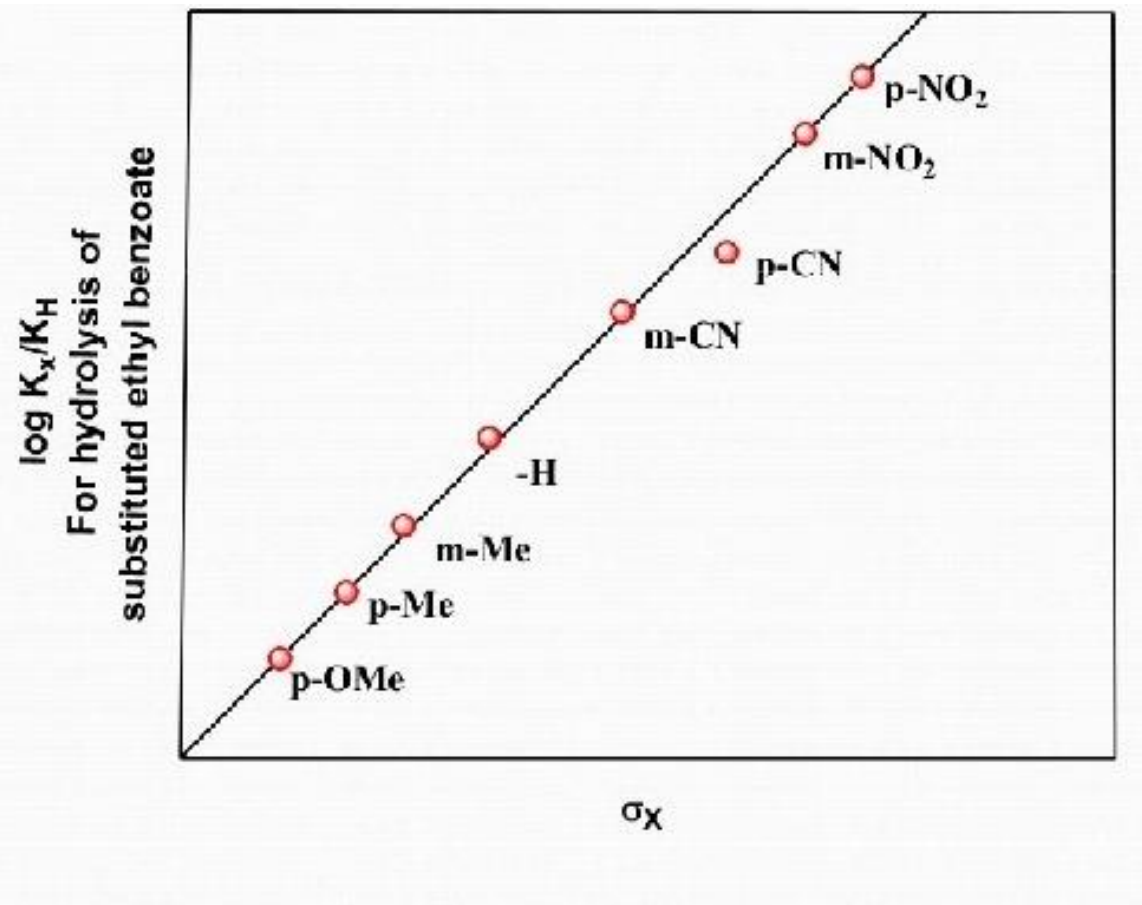
Algo de historia del Quantitative structure-activity relationships (QSAR)

$$\log \frac{K}{K_0} = \rho \log \frac{K'}{K_0} = \rho \sigma$$

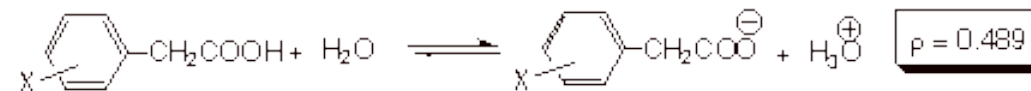
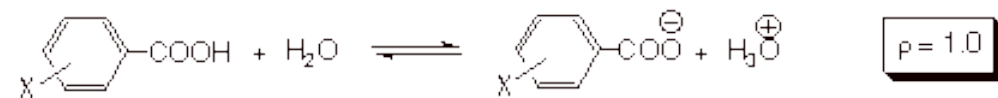
K_0 y K_0' son constantes de equilibrio para compuestos no sustituidos y K y K' son las constantes de equilibrio para compuestos sustituidos.

Hammett usó ácido benzoico como compuesto de referencia y obtuvo el σ de referencia.

Para interpretar esta ecuación, si la relación lineal define $\rho > 1$, entonces el efecto de las sustituciones es mayor que hacer las mismas sustituciones en el ácido benzoico. El σ describe las propiedades de los grupos de sustitución. Si σ es positivo, el grupo es atractor de electrones. Si σ es negativo, el grupo es donador de electrones. La magnitud de σ indica el grado de estos efectos



El valor de **rho**, depende de la reacción específica que se esté estudiando y se denominó constante de reacción (constante de Hammett). La ecuación de Hammett propone que los cambios relativos de energía libre ocasionados por los cambios en el sustituyente son proporcionales a los mismos cambios en la serie del ácido benzoico, o para el caso a cualquier otra serie de equilibrios. La magnitud de rho, en efecto, determina qué tan grandes son los cambios de energía libre en una serie de reacciones, es decir, qué tan grandes son los efectos de los sustituyentes. Si $K > 1$, los efectos de los sustituyentes son mayores que en la ionización estándar con ácido benzoico. Si $K < 1$, los efectos de los sustituyentes son menores que en la reacción estándar



$$\rho = 0.489$$

Algo de historia del Quantitative structure-activity relationships (QSAR)

1939: Ferguson. Los principios termodinámicos pueden aplicarse a la actividad de los fármacos en un estado de equilibrio simple.

Si la respuesta o actividad biológica es proporcional a la constante de equilibrio de la interacción, según Ariens, y ésta depende exponencialmente de la variación de energía libre de interacción, la actividad dependerá en consecuencia también de dicha variación

$$\text{actividad} = a \cdot e^{(-\Delta G^\circ/RT)}$$

Algo de historia del Quantitative structure-activity relationships (QSAR)

Tomando logaritmos en la ecuación anterior se obtiene la expresión, que evidencia la dependencia lineal del logaritmo de la actividad farmacológica con la variación de la energía libre estándar de la interacción:

$$\text{actividad} = a \cdot e^{(-\Delta G^\circ/RT)} \quad \longrightarrow \quad \text{Log}(1/\text{actividad}) = m\Delta G^\circ + n$$

Algo de historia del Quantitative structure-activity relationships (QSAR)

La variación de la energía libre de interacción puede considerarse como la suma de las contribuciones del fármaco y del receptor

$$\Delta G^{\circ} = \Delta G_{F}^{\circ} + \Delta G_{R}^{\circ}$$

Algo de historia del Quantitative structure-activity relationships (QSAR)

Pero la aportación del receptor a la energía libre de interacción, se considera constante, ya que es prácticamente insensible a las variaciones del fármaco; es decir, el mecanismo de interacción no se modifica apreciablemente cuando el fármaco sufre una variación, siempre y cuando se conserve la estructura común de la serie

$$\Delta G^{\circ} = \Delta G_F^{\circ} + \text{cte.}$$

Algo de historia del Quantitative structure-activity relationships (QSAR)

y por tanto, sustituyendo esta expresión $\Delta G^\circ = \Delta G_F^\circ + \text{cte.}$

en la $\text{Log}(1/\text{actividad}) = m\Delta G^\circ + n$



$$\text{Log}(1/\text{actividad}) = k.\Delta G_F^\circ + k'$$

Algo de historia del Quantitative structure-activity relationships (QSAR)

La contribución del fármaco a la variación de la energía libre de interacción puede descorazonarse en varios terminos, siempre que cada uno de ellos conserve un sentido físico. Hansch propone la siguiente descomposición



$$\Delta G_F^\circ = \Delta G_{LIP}^\circ + \Delta G_{EL}^\circ + \Delta G_{EST}^\circ$$

$$\Delta G_F^\circ = \Delta G_{LIP}^\circ + \Delta G_{EL}^\circ + \Delta G_{EST}^\circ$$

donde ΔG_{LIP}° es la contribución de los factores de enlace lipófilo; ΔG_{EL}° de los factores electrónicos (distribución de cargas) y ΔG_{EST}° , la contribución de los factores estéricos. Estas contribuciones son función de las correspondientes constantes de los sustituyentes: ΔG_{LIP}° (π , Δ_{RM} . etc), ΔG_{EL}° (σ , σ° , σ^* , etc) y ΔG_{EST}° (E_s , MR , V_w , etc.). Según esto, considerando que la respuesta depende de la concentración del fármaco (C), la ecuación puede tomar, por ejemplo, la forma

$$\text{Log}(1/C) = k_1 \cdot \pi + k_2 \cdot \sigma + k_3 \cdot MR + k_4$$

Y de forma general:

$$\text{Log}(1/C_i) = a_1 P_1(i) + a_2 P_2(i) + a_3 P_3(i) + \dots + a_m P_m(i) + C$$

donde C_i es la concentración del fármaco en la zona de aplicación del mismo -exobiofase-, que produce una equirespuesta determinada; a_1, \dots, a_m son los coeficientes que afectan a los parámetros P_1, \dots, P_m C es una constante.

Algo de historia del Quantitative structure-activity relationships (QSAR)

1942: Bell y Roblin estudiaron las actividades antibacterianas de una serie de sulfanilamidas en términos de sus ionizaciones.

1948: Albert examinó los efectos de la ionización/distribución de electrones y el acceso estérico en las potencias de una multitud de aminoacridinas.

Algo de historia del Quantitative structure-activity relationships (QSAR)

1952: Taft postuló un método para separar los efectos polares, estéricos y de resonancia e introdujo el primer parámetro estérico, E_s .

1962: Hansch y Muir correlacionaron las actividades biológicas de los reguladores del crecimiento vegetal con las constantes de Hammett y la hidrofobicidad.

Algo de historia del Quantitative structure-activity relationships (QSAR)

Taft y Hansch

Usando el sistema octanol/agua, se midió toda una serie de coeficientes de partición, y así se introdujo una nueva escala hidrofóbica. El **parámetro π** , que es la hidrofobicidad relativa de un sustituyente, se definió de manera análoga a la definición de sigma

$$\pi_X = \log P_X - \log P_H$$

P_X y P_H representan los coeficientes de partición de un derivado y la molécula original, respectivamente.

LogP y LogD

Log P: Logaritmo del coeficiente de reparto del compuesto entre una fase orgánica (p. ej., octanol) y una fase acuosa (p. ej., buffer) a un pH en el que todas las moléculas del compuesto están en forma neutra.

$$\text{Log P} = \log\left(\frac{[\text{Compound}_{\text{organic}}]}{[\text{Compound}_{\text{aqueous}}]}\right)$$

Log D: Logaritmo del coeficiente de distribución del compuesto entre una fase orgánica (p. ej., octanol) y una fase acuosa (p. ej., tampón) a un pH especificado (x). Una porción de las moléculas del compuesto puede estar en forma iónica y una porción puede estar en forma neutra.

$$\text{Log } D_{\text{pHx}} = \log\left(\frac{[\text{Compound}_{\text{organic}}]}{[\text{Compound}_{\text{aqueous}}]}\right)$$

Algo de historia del Quantitative structure-activity relationships (QSAR)

Las contribuciones de Hammett y Taft sentaron las bases para el desarrollo del paradigma **QSAR de Hansch y Fujita (1964)**, que combinaron las constantes hidrofóbicas con las constantes electrónicas de Hammett para producir la ecuación lineal de Hansch y sus muchas formas extendidas.

$$\text{Log } 1/C = a\sigma + b\pi + ck$$

PX y PH representan los coeficientes de partición de un derivado y la molécula original, respectivamente.

Quantitative structure-activity relationships (QSAR)

En términos generales, el análisis QSAR intenta correlacionar descriptores estructurales o de propiedades fisicoquímicas de un compuesto con su actividad biológica.

Estos descriptores, los cuales incluyen parámetros tales como lipofilia, hidrofilia, topología, propiedades electrónicas y efectos estéricos pueden obtenerse bien por medida experimental directa, bien por cálculo según modelo teórico o bien por extrapolación a partir de una base de datos.

QSAR

Intenta identificar y cuantificar las propiedades fisicoquímicas de un fármaco y ver si alguna de estas propiedades tiene un efecto sobre la actividad biológica de la droga.

Si tal relación es válida,

- se puede trazar una ecuación que cuantifique la relación y permite al químico médico:
 - Decir con cierta confianza que la propiedad (o propiedades) tiene un papel importante en la farmacocinética o mecanismo de acción de la droga.
 - También permite al químico médico cierto nivel de predicción

QSAR

Al cuantificar las propiedades fisicoquímicas, debería ser posible calcular de antemano cuál podría ser la AB de un nuevo análogo.

Hay dos ventajas en esto.

En primer lugar:

- permite al químico médico centrar sus esfuerzos en los análogos que deberían haber mejorado la AB y, por lo tanto, reducir el número de análogos que deben sintetizarse.

En segundo lugar:

- si se descubre un análogo que no se ajusta a la ecuación, implica que algún otro característica es importante y proporciona una pista para futuras desarrollo .

QSAR

El químico médico elabora una ecuación que cuantifica la relación y permite predecir (hasta cierto punto) la AB.

Drug distribution *Rat kidney tissue*¹³ (Table 11):

$$\log K = 0.50(\pm 0.10)C \log P - 0.03(\pm 0.27) \quad (11)$$

$n = 8, r^2 = 0.961, s = 0.170, q^2 = 0.933, \text{outlier: } C_5H_{11}.$

*Rat stomach tissue*¹³ (Table 12):

$$\log K = 0.74(\pm 0.09)C \log P - 0.92(\pm 0.24) \quad (12)$$

$n = 9, r^2 = 0.982, s = 0.157, q^2 = 0.965.$

Rat pancreas tissue (Table 13):¹³

$$\log K = 0.72(\pm 0.13)C \log P - 0.93(\pm 0.34) \quad (13)$$

$n = 9, r^2 = 0.961, s = 0.226, q^2 = 0.921.$

*Rat spleen tissue*¹³ (Table 14):

Para un ajuste perfecto, **$r = 1$** , en cuyo caso las actividades observadas serían las mismas que las calculadas por la ecuación.

QSAR

La ecuación QSAR es para **cuantificar la bondad de ajuste**.

El coeficiente de regresión o correlación (r) es una medida de qué tan bien la ecuación explica la variación en la actividad observada en términos de los parámetros fisicoquímicos en la ecuación.

Para un ajuste perfecto, $r = 1$, en cuyo caso las actividades observadas serían las mismas que las calculadas por la ecuación. Tal perfección es imposible con datos biológicos, por lo que se consideran aceptables valores de r superiores a 0,9. El coeficiente de regresión a menudo se cita como r^2 , en cuyo caso valores superiores a 0,8 se consideran un buen ajuste.

Un análisis QSAR comprende varias etapas:

- 1- Planteamiento de los objetivos
- 2- Determinación de la AB de los compuestos a estudiar
- 3- Descripción de sus parámetros fisicoquímicos
- 4- Análisis estadísticos de los datos y establecimiento de una relación matemática
- 5- Interpretación de la relación establecida

Un análisis QSAR comprende varias etapas:

- 1- Planteamiento de los objetivos
- 2- Determinación de la AB de los compuestos a estudiar
- 3- Descripción de sus parámetros fisicoquímicos
- 4- Análisis estadísticos de los datos y establecimiento de una relación matemática
- 5- Interpretación de la relación establecida

Las propiedades fisicoquímicas de un fármaco tienen un rol preponderante en todas las etapas claves de su respuesta biológica.

Hansch y col. conceptualizaron la acción de un fármaco como dependiente de dos procesos o fases:

Fase **FARMACODINÁMICA** de acción de un fármaco (etapa de reconocimiento molecular). La afinidad del mismo por su receptor es el resultado de la sumatoria de un conjunto de fuerzas de interacción de sus grupos farmacofóricos con aquellos complementarios de la biomacromolécula.

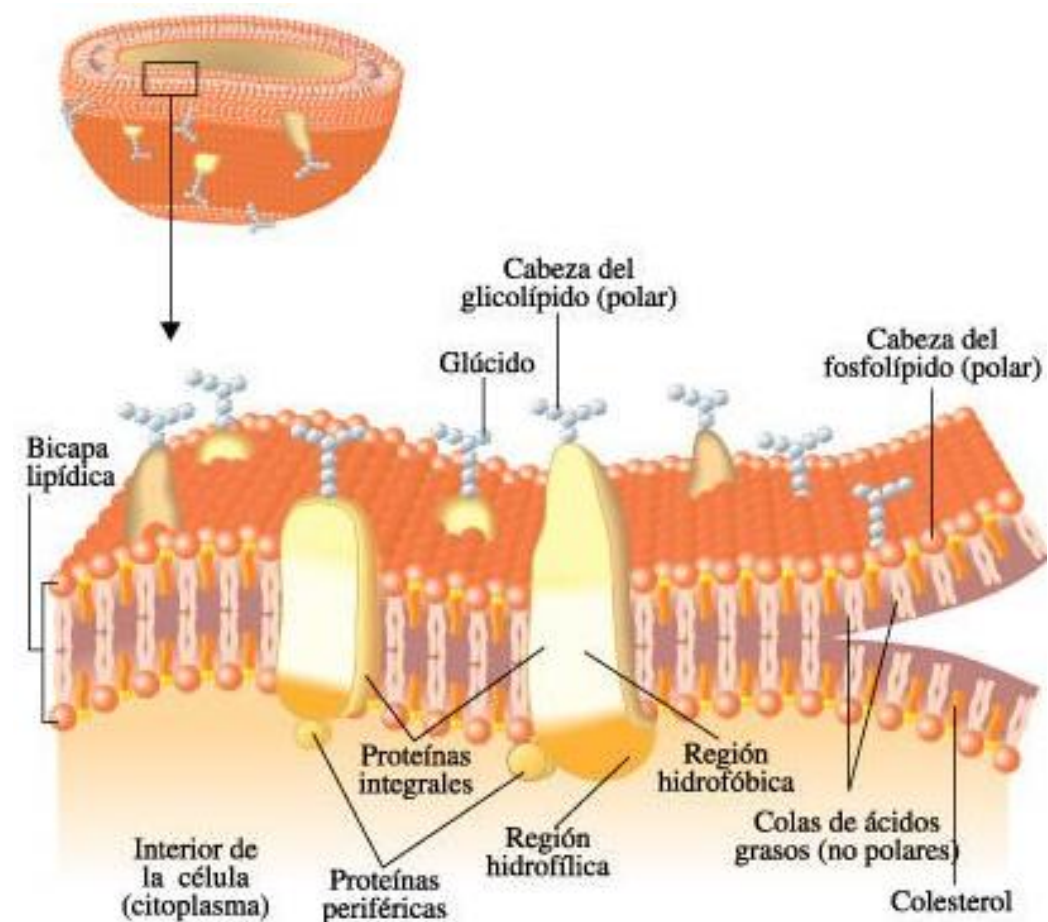
Fase **FARMACOCINÉTICA**, que involucra los procesos ADME de un fármaco y que repercute directamente en la biodisponibilidad y el tiempo de vida media de un fármaco en la biofase.

El perfil farmacoterapéutico de una molécula puede ser modulado por ciertas propiedades fisicoquímicas:

El perfil farmacoterapéutico de una molécula puede ser modulado por ciertas propiedades fisicoquímicas:

- 1- **Coeficiente de reparto (P) ó coeficiente de partición**, el cual expresa la lipofilicidad relativa de la molécula
- 2- **Grado de ionización**, expresado por el pKa, el cuál indica el grado de contribución relativa de las especies neutras e ionizadas de los agrupamientos ionizables.

Considerando que la gran mayoría de los fármacos son absorbidos pasivamente, debiendo atravesar la bicapa lipídica de las membranas celulares, queda claro la importancia de estas propiedades fisicoquímicas (lipofilicidad y pKa) para que el fármaco logre concentraciones plasmáticas capaces de reproducir los efectos biológicos evidenciados en los experimentos *in vitro*



Las interacciones hidrofóbicas, que se relaciona con la propiedad molecular lipofilicidad, son aquellos fenómenos en los que los solutos apolares tienden a evitar el contacto con el agua y a entrar en una fase hidrofóbica, siempre que sea posible.

Estas interacciones son muy importantes para la vida dado que contribuyen a estabilizar membranas y biomacromoléculas y participan en gran número de procesos biológicos.

Ecuación de Hansch

El análisis está basado en la **relación parabólica** (ec. de Hansch) entre la potencia de una droga ($\log 1/C$) y el $\log P$

$$\text{Log } (1/C_{50}) = k_1 (\log P) - k_2 (\log P)^2 + k_3 \sigma + k_4 E_s + k_5$$

Debido a la relación curvilínea o bilineal entre $\log 1/C_{50}$ y la hidrofobicidad que normalmente se encuentra en las pruebas de dosis única (dosis dija), el término π_2 cuadrático se introdujo más tarde en el modelo.

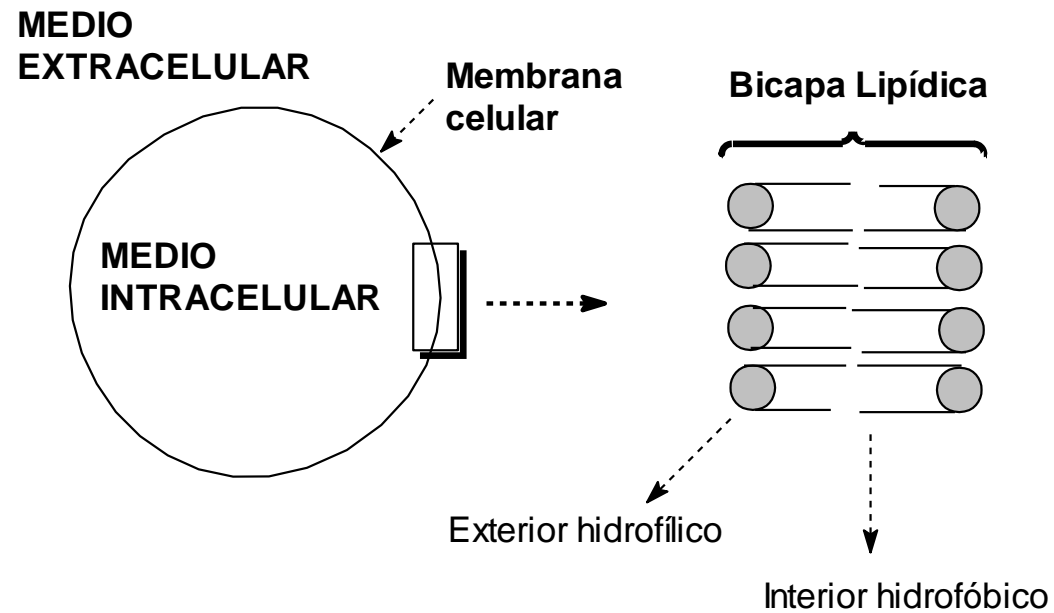
En 1969 Hansch desarrolló la ecuación parabólica de Hansch para manejar rangos de hidrofobicidad extendidos.

El análisis está basado en la **relación parabólica** (ec. de Hansch) entre la potencia de una droga ($\log 1/C$) y el $\log P$

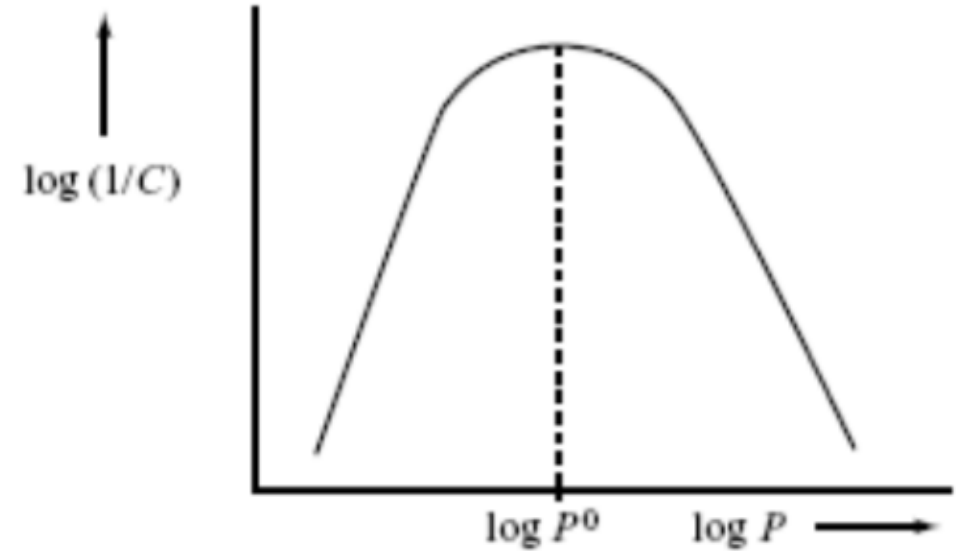
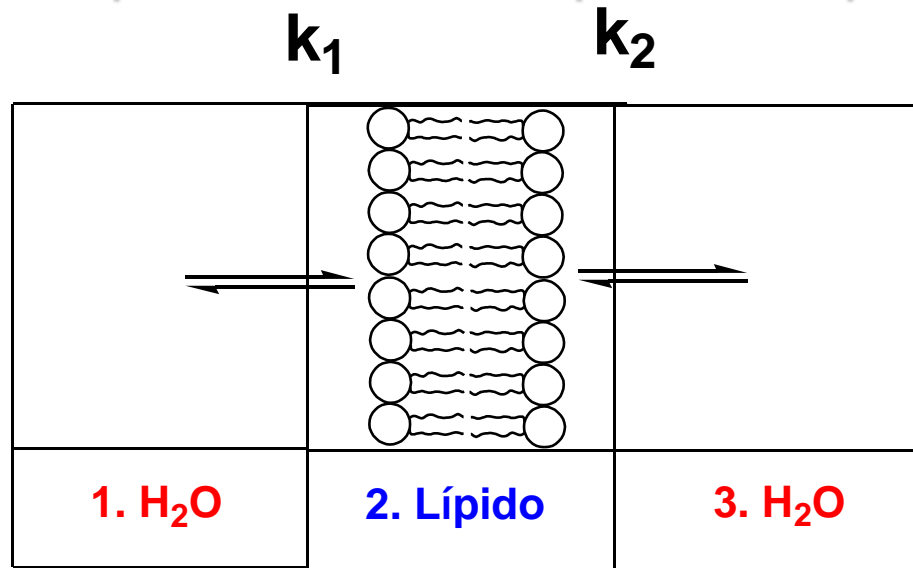
$$\text{Log } (1/C) = k_1 (\log P) - k_2 (\log P)^2 + k_3 \sigma + k_4 E_s + k_5$$

La inversa de la concentración ($1/C$) revela el hecho de que una gran potencia biológica está asociada a bajas dosis.

K_1-k_5 son coeficientes de ajuste que indican la contribución de las variables independientes a la biorespuesta



¿Por qué la dependencia con lipofilia es parabólica?



Suponiendo, $k_1 = \text{org} / \text{aq}$ y $k_2 = \text{aq} / \text{org}$

Con $k_1 \gg k_2$ el fármaco quedará confinado en la capa lipídica, con $k_1 \ll k_2$ el fármaco se confinará en la capa acuosa

Por ende, deben existir valores óptimos de k_1 y k_2 (lipofilia)



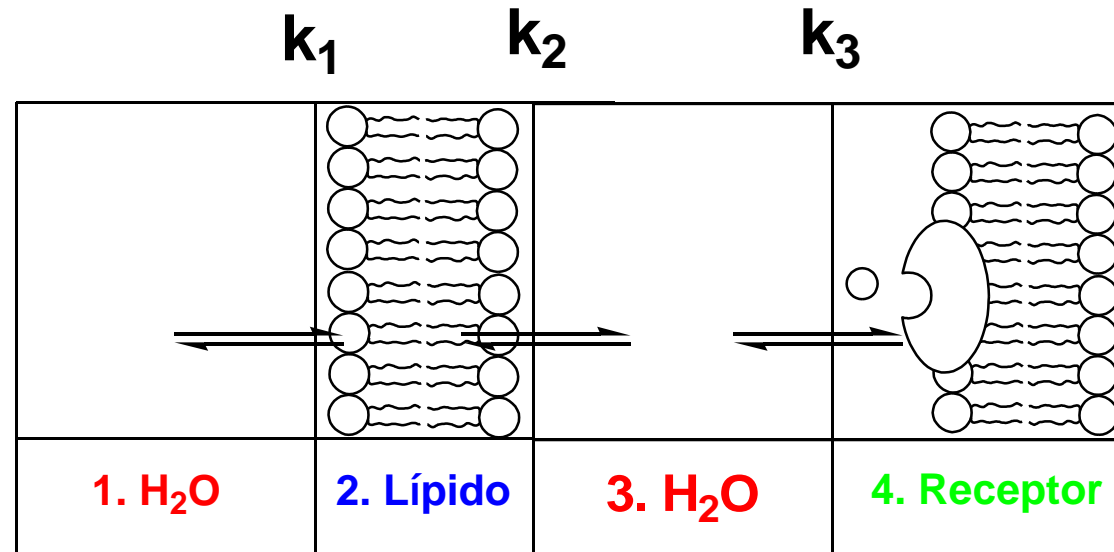
La probabilidad de que el fármaco interaccione con el sitio activo está normalmente distribuida con respecto a $\log P$. Esto se resuelve matemáticamente como un **PROCESO PARABÓLICO**

Problemas:

- Existen desviaciones al modelo parabólico con lipofilia

Modificación de **Kubinyi** (modelo bilineal):

- Naturaleza lipídica del receptor y de las membranas de transportes son diferentes.
- Volumen de fase acuosa : fase lipídica diferentes.



Modificación de **Kubinyi** (modelo bilineal):

La probabilidad de que el fármaco interaccione con el sitio activo en un sistema multicompartimentalizado tendrá respecto a logP una resolución matemática **BILINEAL**

$$\text{Log (A)} = a \log P - b \log (\beta P + 1) + \text{constantes}$$

$$\text{Log (1/C)} = k_1 \pi - k_2 \log (\beta \pi + 1) + k_3 \sigma + k_4 E_s + k_5$$

AUNQUE REPRESENTAN MEJOR LA R.E.A., TIENE COMO DESVENTAJAS:

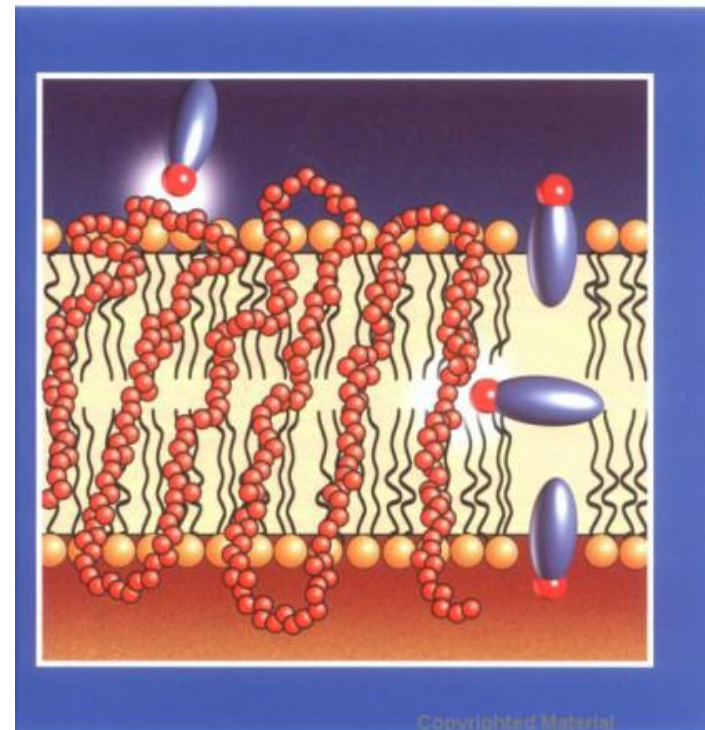
- SE REQUIERE UNA VARIABLE MÁS (β)
- SE REQUIEREN CÁLCULOS ITERATIVOS

LA VARIANZA DE LOS DATOS BIOLÓGICOS, MUCHAS VECES, ES LO SUFICIENTEMENTE GRANDE COMO PARA EXPRESARLO COMO MODELO PARABÓLICO CON BUENOS PARÁMETROS ESTADÍSTICOS

Modificación de **Kubinyi** (modelo bilineal):



Analysis, Drug Distribution, Modeling



Methods
and Principles
in Medicinal
Chemistry

Volume 15

Edited by
R. Mannhold,
H. Kubinyi,
G. Folkers

Ej.:

MIC de RNH_3^+ en *Sarcina sp.*

$$\text{Log } (1/C) = 0.57(\pm 0.20) \text{ Log } P - 1.66 (\pm 0.60) \text{ Log } (\beta P + 1) + 2.61 (\pm 0.42)$$

$$n = 12, r^2 = \mathbf{0.852}, s = 0.387, P_o = 3.7$$

LA VARIANZA DE LOS DATOS BIOLÓGICOS, MUCHAS VECES, ES LO SUFICIENTEMENTE GRANDE COMO PARA EXPRESARLO COMO MODELO PARABÓLICO CON BUENOS PARÁMETROS ESTADÍSTICOS

Tiene similitudes con

MIC de RNH_2 en *Staphylococcus aureus*

$$\text{Log } (1/C) = 0.52(\pm 0.10) \text{ Log } P + 2.80 (\pm 0.24)$$

$$n = 10, r^2 = \mathbf{0.945}, s = 0.220$$

MIC de RNH_2 en *Diplococcus pneumonia*

$$\text{Log } (1/C) = 0.60(\pm 0.15) \text{ Log } P + 3.14 (\pm 0.31)$$

$$n = 9, r^2 = \mathbf{0.924}, s = 0.274$$

Descriptores de los efectos hidrófobos

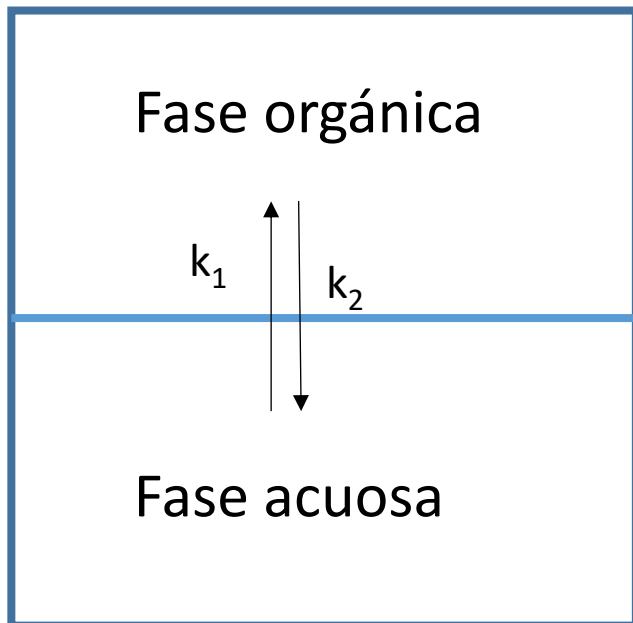
La lipofilia de las moléculas es un descriptor fisicoquímico de gran importancia ya que es una medida de la tendencia relativa que tiene un soluto por preferir un entorno no acuoso de uno acuosa.

La lipofilia de un fármaco es decisiva en su absorción, distribución y eliminación, pero también para la unión a su receptor farmacológico, debido a que las interacciones hidrofóbicas que se producen, tras la desolvatación de ambas entidades, constituyen la primera interacción fármaco-receptor, antes de establecerse otras interacciones polares.

Descriptores de los efectos hidrófobos

El coeficiente de partición P se define como el cociente de concentraciones de una especie única entre dos fases y en condiciones de equilibrio.

Este modelo resulta, en general, satisfactorio como modelo de las interacciones de un fármaco con las proteínas y las regiones hidrofóbicas de las membranas celulares.



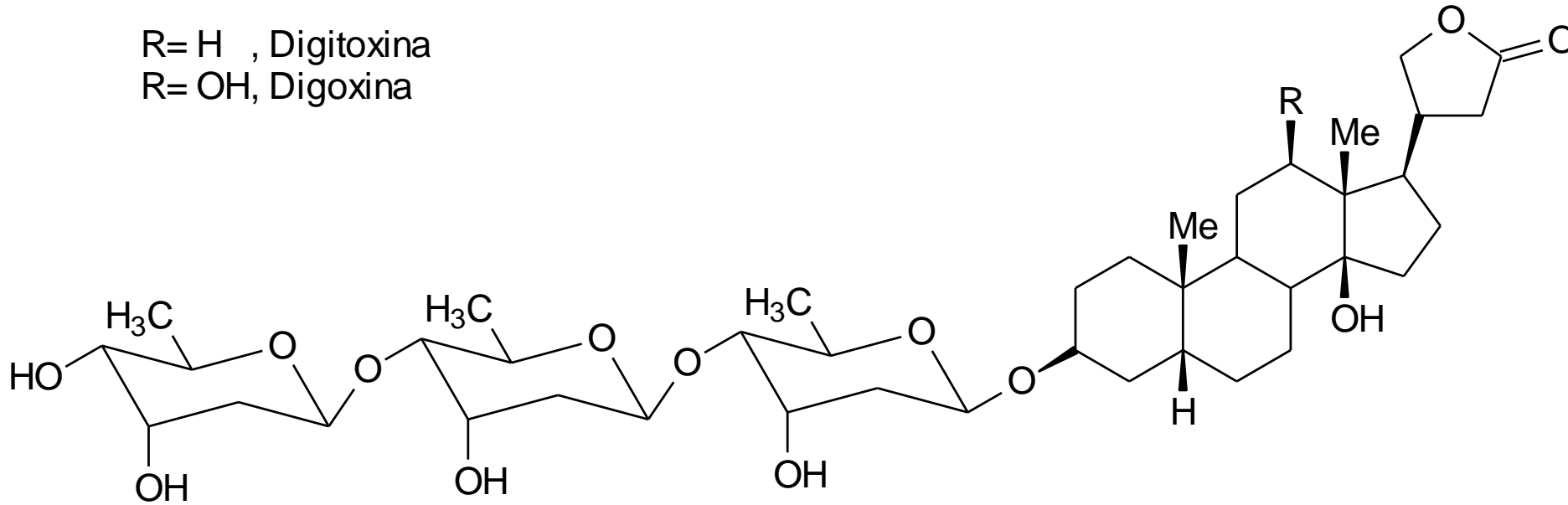
$$P = \frac{C_{org}}{C_{aq}}$$

$$K_1 \times C_{ac} = K_2 \times C_{org}$$

$$P = \frac{k_1}{k_2}$$

Ej. Coeficiente de reparto y absorción gastrointestinal de fármacos cardiotónicos:

R= H , Digitoxina
R= OH, Digoxina



Fármaco	Coeficiente de reparto, P [CHCl ₃ /MeOH:H ₂ O (16:84)]	Absorción gastrointestinal (%)	Tiempo de vida media (h)
Digitoxina	96.5	100	144
Digoxina	81.5	70-85	38

Coeficiente de reparto y QSAR:

- En estudios **QSAR** generalmente la fase orgánica usada para la determinación de **P** es **OCTANOL**.

¿Por qué se usa **OCTANOL**?

- Gran capacidad de disolución de compuestos orgánicos.
- El grupo OH puede formar EDH.
- Puede establecer interacciones hidrofóbicas.
- Es inmiscible con agua.
- No es volátil a temperatura ambiente.
- Su máximo de absorbancia aparece a λ inferiores que la mayoría de los fármacos por lo que se puede usar directamente en medidas UV.

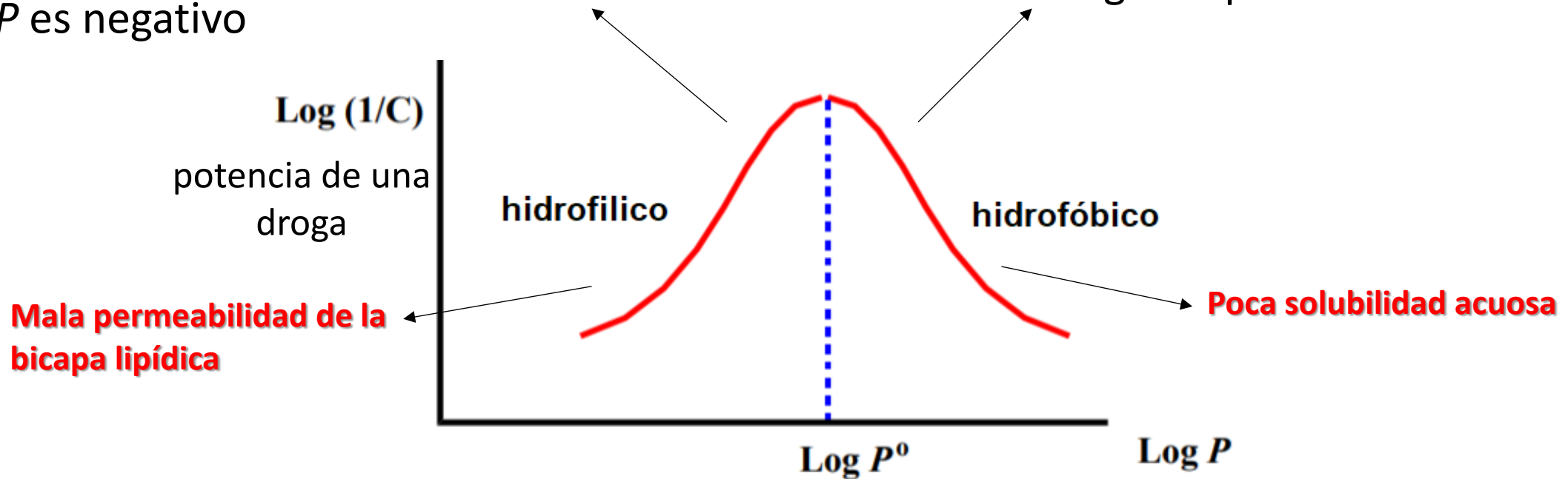
Inconvenientes en la Medida de P:

- Rango de medida: $-3 < \log P < +3$
- Método tedioso, grandes cantidades de muestra y muestras de alta pureza.

Descriptores de los efectos hidrófobos

cuando un compuesto es más soluble en agua que en 1-octanol:
 P es menor que 1
 $\log P$ es negativo

cuando un compuesto es más soluble en 1-octanol que en agua:
 P es mayor que 1
 $\log P$ es positivo



ENTRE $P=0$ Y $P=INFINITO$ HABRÁ UN VALOR DE $\log P$ LLAMADO $=\log P^0$ en el que la droga tenga menos impedimento para llegar a través de las macromoléculas, a su sitio de acción.

P^0 es el valor óptimo de coeficiente de partición para determinada actividad biológica

Impacto de $\log D_{7.4}$ en las drug-like properties

$\log D_{7.4} < 1$: Hay buena solubilidad pero baja absorción y penetración cerebral, debido a la baja permeabilidad mediante difusión pasiva. Estos compuestos tienden a tener un alto *clearance* por el riñón, debido a su polaridad. Estos compuestos pueden exhibir permeación paracelular si el peso molecular es bajo.

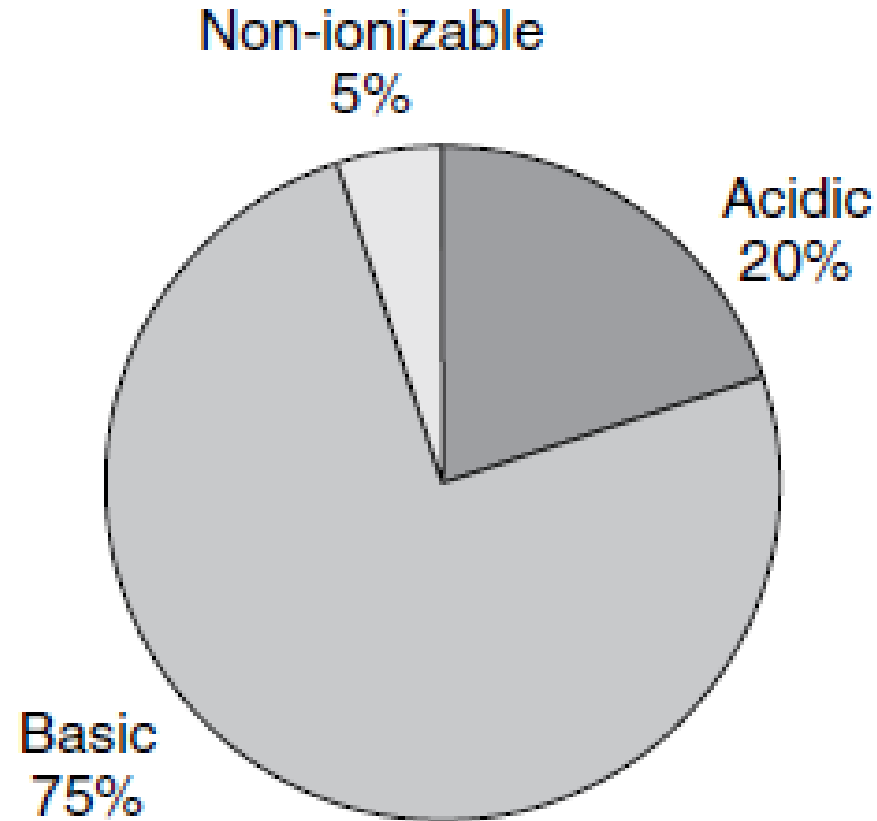
$1 < \log D_{7.4} < 3$: Este es un rango ideal. Estos compuestos generalmente tienen buena absorción intestinal, debido a un buen equilibrio de solubilidad y permeabilidad a la difusión pasiva. El metabolismo se minimiza debido a la menor unión a las enzimas metabólicas.

$3 < \log D_{7.4} < 5$: Estos compuestos tienen buena permeabilidad pero la absorción es menor, debido a la menor solubilidad. El metabolismo aumenta en este rango, debido a una mayor unión a enzimas metabólicas.

$\log D_{7.4} > 5$: Los compuestos en este rango tienden a tener baja absorción y biodisponibilidad, debido a su baja solubilidad. El *clearance* metabólico es alto debido a la gran afinidad por las enzimas metabólicas. *Vd* y la vida media son altas porque los compuestos se dividen y permanecen en los tejidos.

Coeficiente de distribución D

Si un soluto es ácido o básico su carga cambia cuando cambia el pH. Dado que los ácidos débiles, su ionización depende del pH, la interpretación correcta de D debe tener en cuenta si el soluto es ácido o básico.



$$\log D = \log P_n - \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

$$\log D_{\text{ácidos}} = \log P_n - \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

$$\log D = \log P_n - \log \frac{[B]}{[BH^+]}$$

$$\log D_{\text{bases}} = \log P_n - \log \frac{[B]}{[BH^+]}$$

Most drugs are ionizable.

P_n es el coeficiente de reparto de la forma neutra no ionizada

Descriptores de los efectos hidrófobos: PARÁMETROS FRAGMENTARIOS

En el análisis QSAR se suele observar que la actividad biológica de un fármaco es proporcional al coeficiente de reparto P .

En 1964 Hansch y Fujita demostraron que la contribución de un determinado sustituyente al logaritmo del coeficiente de reparto ($\log P$) aceite/agua es un valor constante. Esta constante para un sustituyente X en una estructura $R-X$, se denomina π (**constante hidrofóbica del sustituyente**)

$$\pi(X) = \log P_{(R-X)} - \log P_{(R-H)}$$

Siendo $P_{(R-X)}$ y $P_{(R-H)}$ los coeficientes de reparto n -octanol/agua de la forma neutra de la molécula sustituida y sin sustituir respectivamente.



Descriptores de los efectos hidrófobos

Cuanto más positivo es el valor de π más lipófilo será el sustituyente y viceversa.

Sustituyente	π arom.	π alif.
Br	0.86	0.60
Cl	0.71	0.39
F	0.14	-0.17
I	1.12	1.00
NO ₂	-0.28	-0.85
NH ₂	-1.23	-1.19
NHCH ₃	-0.47	-0.67
N(CH ₃) ₂	0.18	-0.30
OH	-0.67	-1.12
OCH ₂ CH ₃	0.38	0.03
CN	-0.57	-0.84
CH ₃	0.56	0.50
COCH ₂ CH ₃	0.06	-0.21
CO ₂ CH ₃	-0.01	
CH ₂ CO ₂ H	-0.72	

Descriptores de los efectos hidrófobos




Como el caso de otros descriptores moleculares (σ , constante de la Ec. de Hammett), los valores de π son **aditivos** y **constitutivos**.

Aditivos: muchos sustituyentes ejercen una influencia igual a la suma de los constituyentes individuales.

Constitutivos: indica que el efecto de un sustituyente puede diferir dependiendo de la molécula a la que esté unido o de su entorno.

Descriptores de los efectos hidrófobos

Los grupos alquilo son algunos de los **menos constitutivos**. Por ejemplo: Los grupos metilo unidos a las posiciones *orto*, *meta* o *para* de 15 derivados del benceno diferentes, tienen π CH₃ con una desviación estándar de 0.5 ± 0.04 .

Substituent X	Aliphatic systems R-X	 -X	O ₂ N-  -X	HO-  -X
-H	0.00	0.00	0.00	0.00
-CH ₃	0.50	0.56	0.52	0.49
-F	-0.17	0.14		0.31
-Cl	0.39	0.71	0.54	0.93
-OH	-1.16	-0.67	0.11	-0.87
-NH ₂		-1.23	-0.46	-1.63
-NO ₂		-0.28	-0.39	0.50
-OCH ₃	0.47	-0.02	0.18	-0.12

Descriptores de los efectos hidrófobos

Debido a su **aditividad**, los valores de π_{CH_2} pueden ser determinados de la siguiente manera:

Dado que, por definición $\pi_{\text{H}} = 0$  $\pi_{\text{CH}_3} = \pi_{\text{CH}_2} + \pi_{\text{H}} = \pi_{\text{CH}_2} + 0 = 0.50$

Las ramificaciones en las cadenas alquílicas (una de las modificaciones moleculares frecuentes) **disminuye el log P o π** resultado de un **mayor volumen molar** para los compuestos ramificados.

Descriptores de los efectos hidrófobos

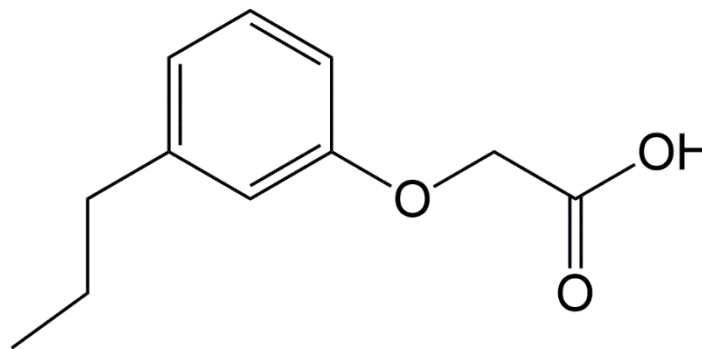
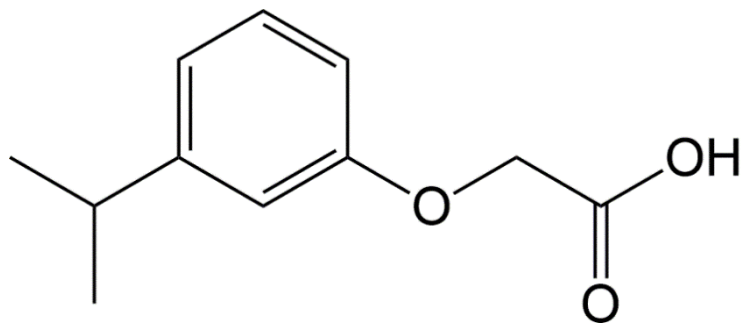
Las ramificaciones en las cadenas alquílicas (una de las modificaciones moleculares frecuentes) disminuye el $\log P$ o π resultado de un mayor volumen molar para los compuestos ramificados.

REGLA GENERAL: EL VALOR DE $\log P$ ó π DISMINUYE EN 0.2 POR CADA RAMIFICACIÓN CON RESPECTO A LA CADENA LINEAL

Ejemplo: π *i*-pr en el ácido 3-isopropilfenoxiacético = 1.30

$$\pi_{pr} = 3(0.5) = 1.5$$

$$\pi_{ipr} - \pi_{pr} = 1.3 - 1.5 = -0.2$$



Ejemplos para mostrar la aditividad de las constantes π para predecir valores de $\log P$

Cabe destacar que el valor de $\log P$ no utiliza la suma de los valores de π , sino la suma de las constantes hidrofóbicas π al $\log P$ de un compuesto de referencia.

Dicho de otra manera, el valor de $\log P$ de un compuesto YRX puede calcularse si se conoce el $\log P$ del compuesto HRH del que deriva, mediante la adición de los valores de π de los sustituyentes

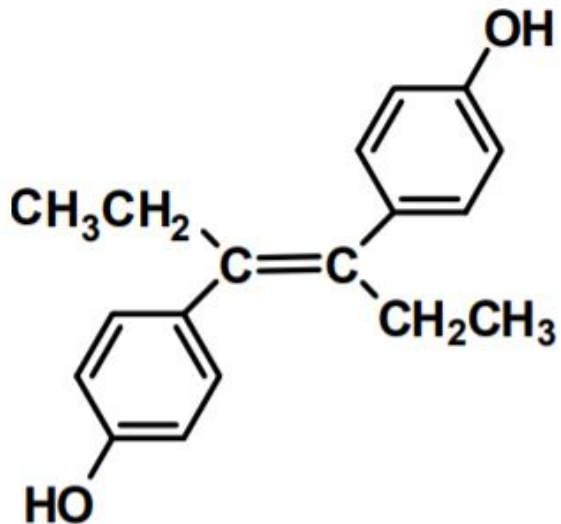
$$\log P_{(YRX)} = \log P_{(HRH)} + \pi_y + \pi_x$$

Por eso siempre es conveniente fragmentar las moléculas complejas de varias formas distintas, y realizar el cálculo partiendo de los valores de $\log P$ de distintos compuestos o fragmentos padres, para corroborar si los resultados son congruentes.

Ejemplos para mostrar la aditividad de las constantes π para predecir valores de $\log P$

El cálculo del $\log P$ para el anticancerígeno dietilestilbestrol se realiza de la siguiente manera:

$$\text{Calc } \log P = 2 \pi \text{ CH}_3 + 2 \pi \text{ CH}_2 + \pi \text{ CH}=\text{CH} + 2 \log P \text{ PhOH} - 0.40 = 2 (0.50) + 2 (0.50) + 0.69 + 2 (1.46) - 0.40 = 5.21$$



$$\pi \text{ CH}=\text{CH} = \frac{1}{2} (\pi \text{ CH}=\text{CHCH}=\text{CH}) = 1.38/2 = 0.69$$

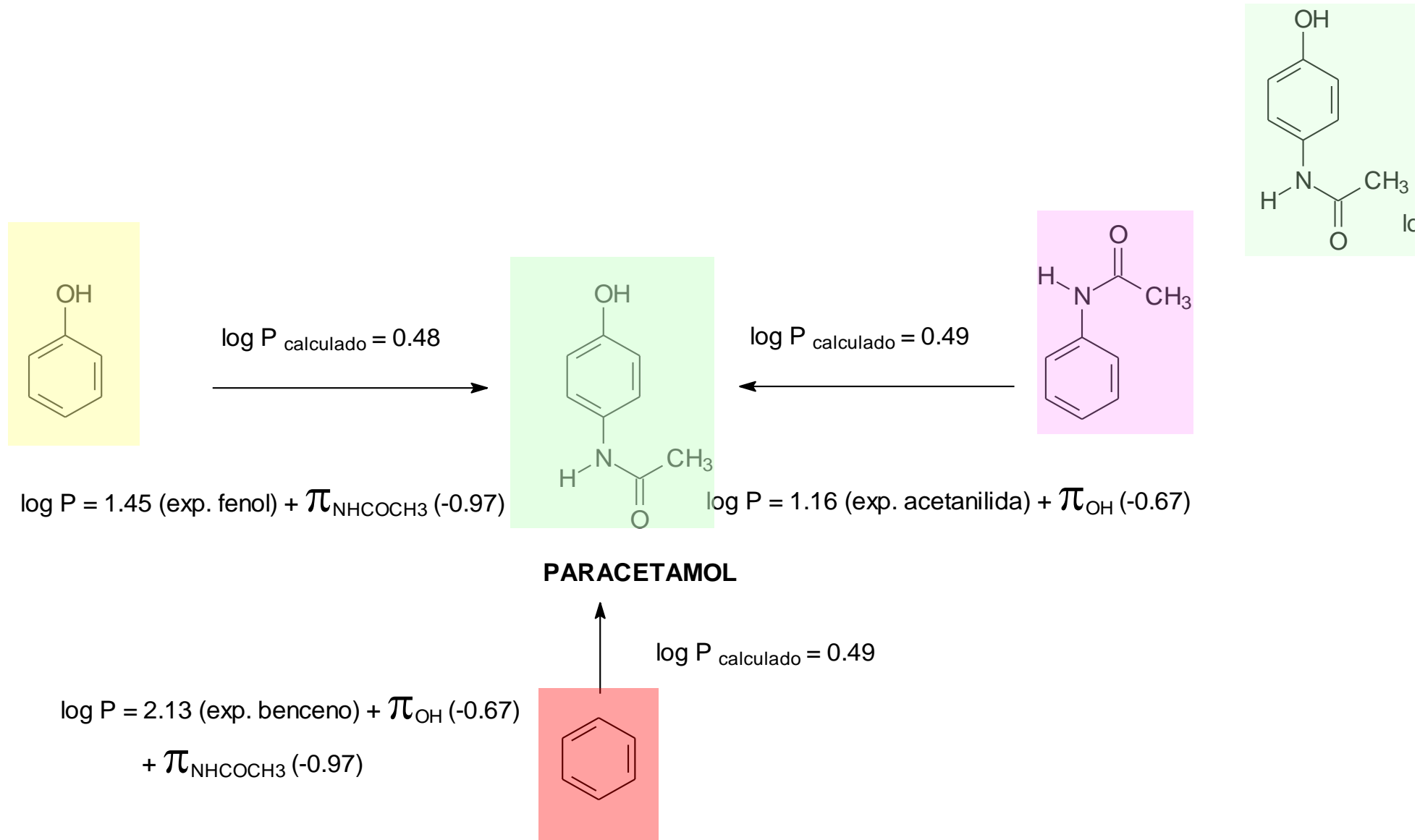
-0.40 se corresponde a las dos ramificaciones

El valor de $\log P$ calculado fue **5.21**, mientras que el valor obtenido de forma **experimental** resulta ser **5.07**

Ejemplos para mostrar la aditividad de las constantes π para predecir valores de $\log P$

Otro ejemplo interesante del empleo de esta ecuación es cálculo de $\log P$ para el analgésico paracetamol, a partir de valores experimentales obtenidos para el fenol, la acetanilida y el benceno

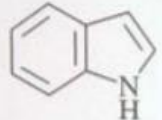

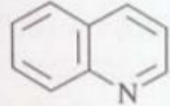

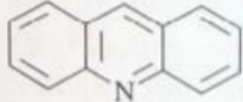
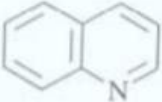
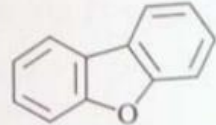
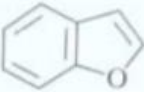
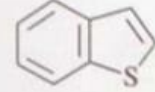




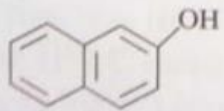
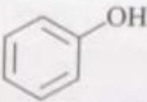
Ej. Cálculo teórico del Log P de un fármaco, Paracetamol (**Log P_{OW}, exp. = 0.46**):



Descriptores de los efectos hidrófobos

Otro caso donde los valores de π son casi constantes es en el de los sistemas conjugados CH=CHCH=

TABLE 2.7 ► Constancy of π for $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-^a$

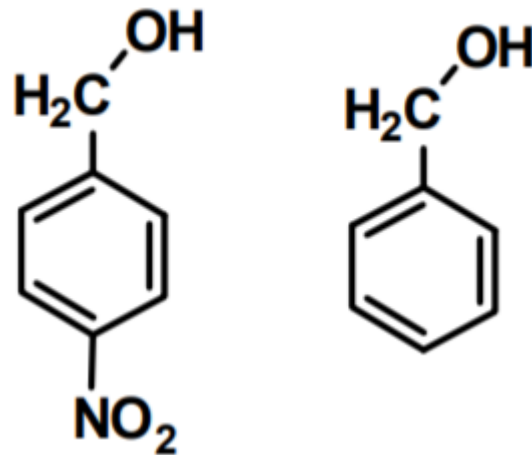
		$\pi_{\text{CH}=\text{CHCH}=\text{CH}}$		
$\log P$		$-\log P$		$= 2.14 - 0.75 = 1.39$
$\log P$		$-\log P$		$= 2.03 - 0.65 = 1.38$
$\log P$		$-\log P$		$= 3.40 - 2.03 = 1.37$
$\log P$		$-\log P$		$= 4.12 - 2.67 = 1.45$
$\log P$		$-\log P$		$= 3.12 - 1.81 = 1.31$
$\log P$		$-\log P$		$= 3.45 - 2.13 = 1.32$
$2/3 \log P$				$= 2/3(2.13) = 1.42$
$\log P$		$-\log P$		$= 2.84 - 1.46 = 1.38$

PROMEDIO 1.38 ± 0.05

Efecto inductivo y su influencia en la lipofilicidad

En general un grupo atractor de electrones aumenta los valores de π cuando hay involucrados grupos que forman enlaces de hidrógeno.

Por ejemplo el valor de π CH_2OH (en $\text{Ph-CH}_2\text{OH}$) varía en función de la proximidad a grupos nitro. Esto es como consecuencia del efecto atractor de electrones del grupo nitro, resultando en que los electrones no enlazantes del grupo hidroxilo estén menos disponibles para formar enlaces de hidrogeno. Por lo tanto reducen la afinidad de este grupo por la fase acuosa.



Efecto **resonante** y su influencia en la **lipofilidad**

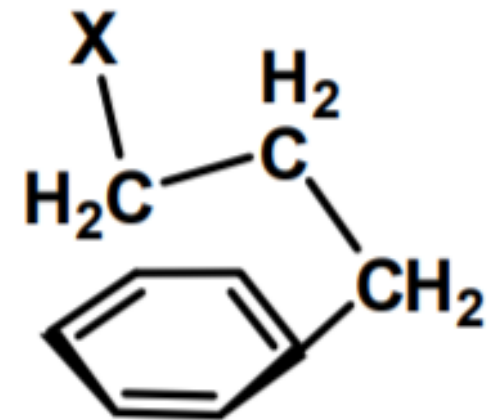
Los efectos resonantes también son importantes, y afectan la lipofilidad de una molécula en la misma dirección que los efectos inductivos. La deslocalización de electrones no enlazantes, disminuyen su disponibilidad para formar enlaces de hidrogeno, por lo tanto reducen la afinidad de este grupo por la fase acuosa.

Influencia de los efectos **conformacionales** en la **lipofilidad**

Los valores de πX para $\text{Ph}(\text{CH}_2)_3X$ son bastante menores (más solubles en agua) que los valores de πX para $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3X$

Por ejemplo para $X = \text{OH}$ $\pi \text{OH}(\text{aromático}) = -1.80$ y $\pi \text{OH}(\text{alifático}) = -1.16$

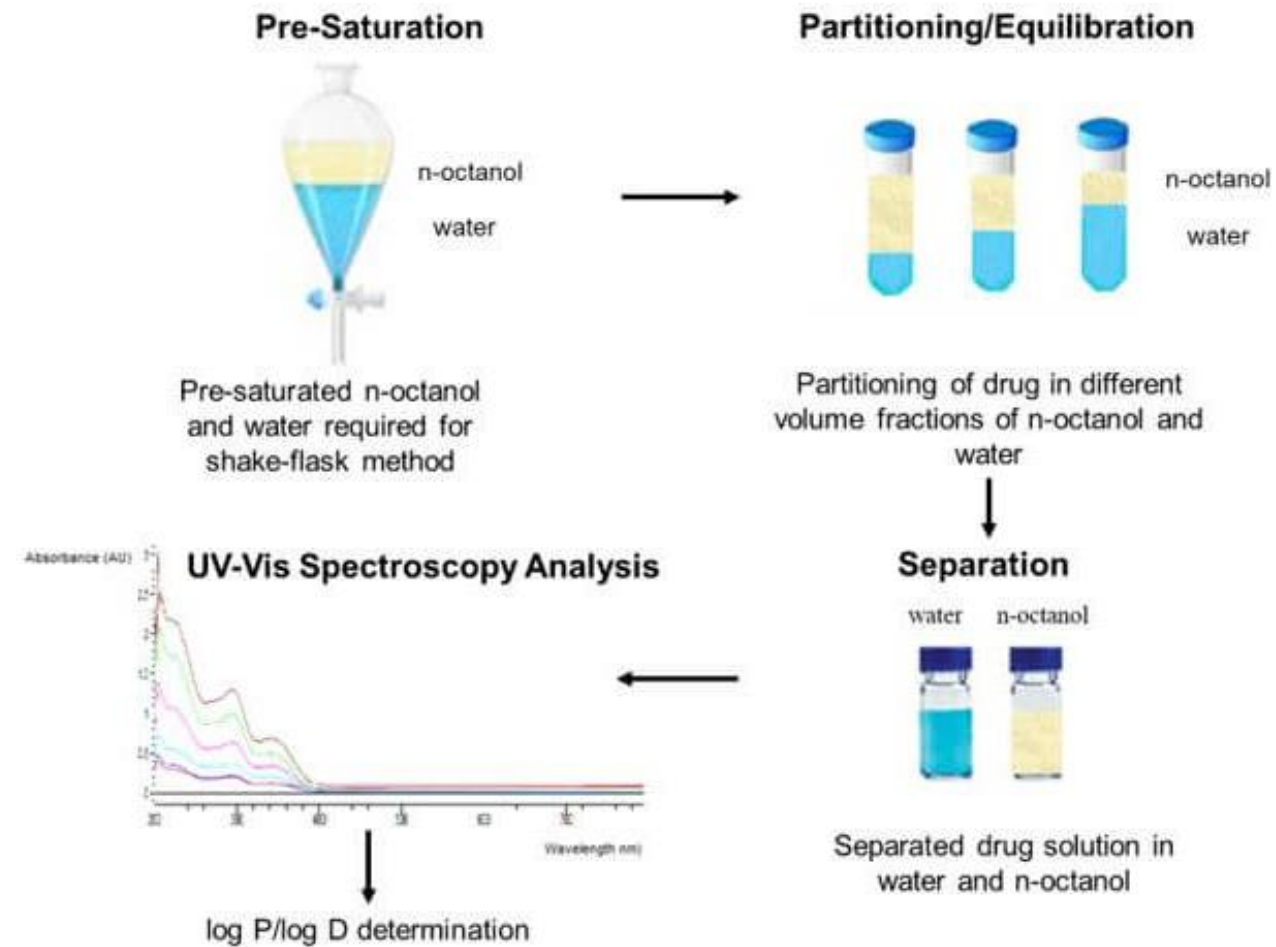
Este fenómeno es el resultado del plegamiento de las cadenas laterales sobre el anillo aromático lo que deja menores superficies no polares expuestas a los solventes orgánicos. Este plegamiento puede ser causado por la interacción del dipolo CH_2-X formado con los electrones π del fenilo y por interacciones hidrofóbicas intramoleculares



Determinación experimental del coeficiente de partición y lipofilia

Los valores de P se pueden determinar experimentalmente por el método **shake-flask**.

Dado que los iones son mucho más polares que los compuestos neutros, la ionización complica la medida e interpretación del valor de $\log P$ de diferentes modos. De esta manera muchas veces la **fase acuosa es tamponeada con buffer fosfato pH 7.4**, de forma tal de acercarse al pH fisiológico ($\log D$). Esto corrige además la relación ácido/base conjugada que puede presentar el fármaco *in vivo*.



Determinación experimental del coeficiente de partición y lipofilia

La determinación de $\log P$ es tediosa y consume mucho tiempo. Además, algunos fármacos son también inestables y pueden degradarse total o parcialmente durante el procedimiento, y de esa forma llegar a un sistema con una pureza insuficiente en el momento de la medida. Esto ha conducido a la búsqueda de métodos de determinación alternativos que sean precisos y más rápidos.

Algunas aproximaciones utilizadas usan técnicas cromatográficas, **HPLC** y **TLC**. En ambos casos la fase estacionaria es no polar y la fase móvil contiene algunos solventes orgánicos miscibles con el agua a los efectos de poder solubilizar una cantidad suficiente de fármaco cuyo cociente de partición se pretende determinar (en determinadas situaciones se puede utilizar buffer).

Determinación experimental del coeficiente de partición y lipofilia

Método RP-TLC (reversed-phase thin layer chromatography) para cuantificar lipofilia

La lipofilia se calcula a través de un parámetros denominado R_M , que se calcula según:

$$\log P = \log C + R_M$$

fase estacionaria: C_{18}

fase móvil: polar (mezclas de agua con disolventes orgánicos polares)

$$R_M = \log \left(\frac{1}{R_f} - 1 \right) = \log \frac{Z_f - Z_x}{Z_x - Z_o}$$

$Z_f - Z_x$ = distancia entre el frente del disolvente y la mancha del soluto

$Z_x - Z_o$ = distancia entre el origen y la mancha del soluto

C = es una constante que depende de la fase móvil y se calcula por regresión utilizando diferentes patrones

Ejemplos:

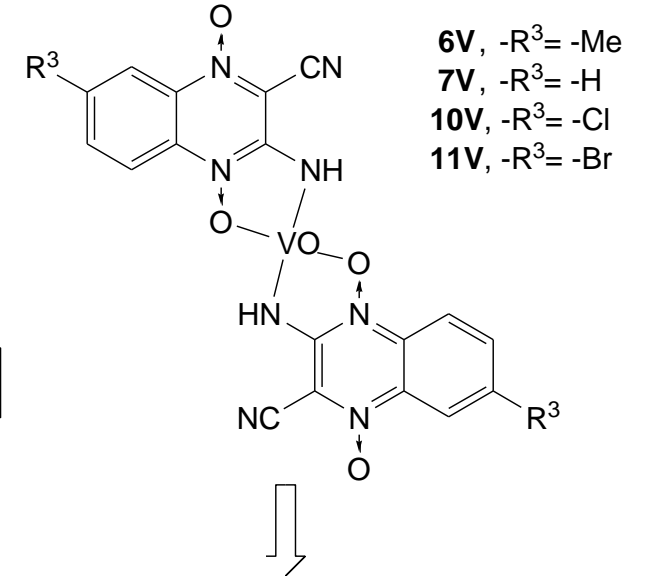
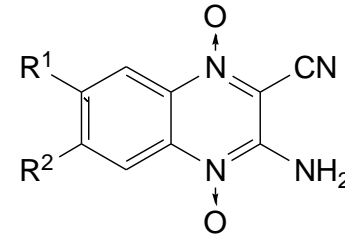
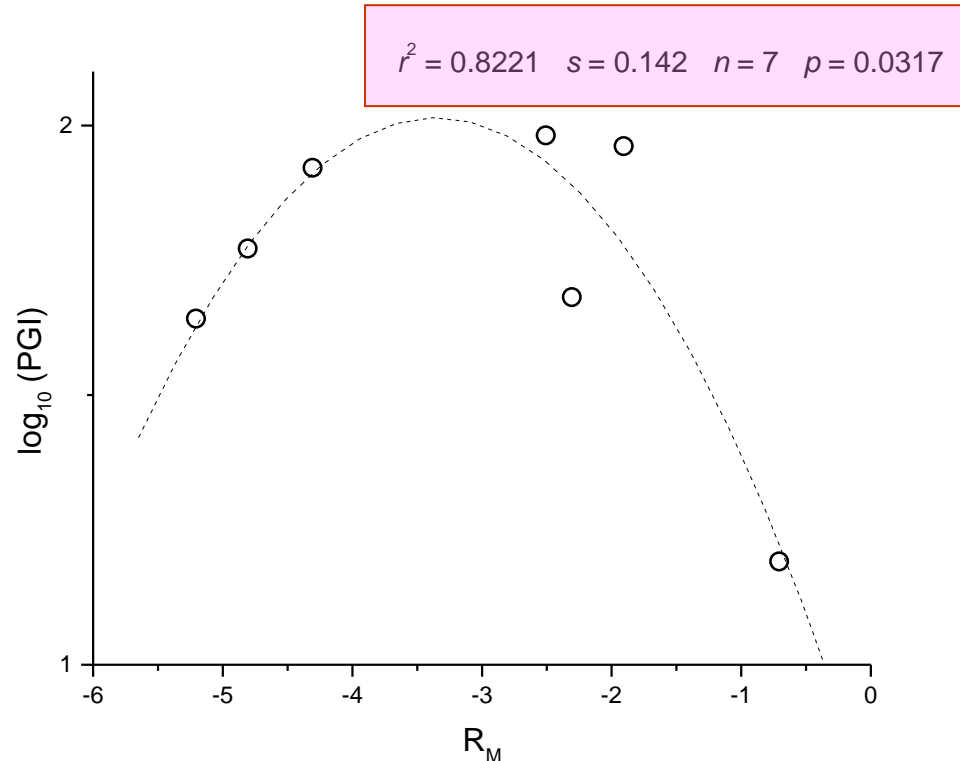
1) Coeficiente de retención en CCF (TLC)

$$R_M = \log \left(\frac{1}{R_f} - 1 \right)$$

fase estacionaria: C₁₈

fase móvil: polar (mezclas de agua con disolventes orgánicos polares)

Ej. Actividad anti-T.cruzi de Complejos de Vanadio y Quinoxalina



ref.	-R ¹	-R ²	% _{inh.} <i>T.cruzi</i> at 25μM
5	-Cl	-Cl	25
6	-Me	-H	5
7	-H	-H	25
8	-OMe	-H	25

New anti-*T. cruzi* agents

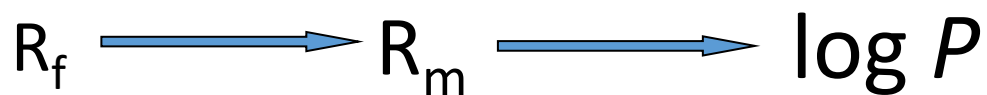
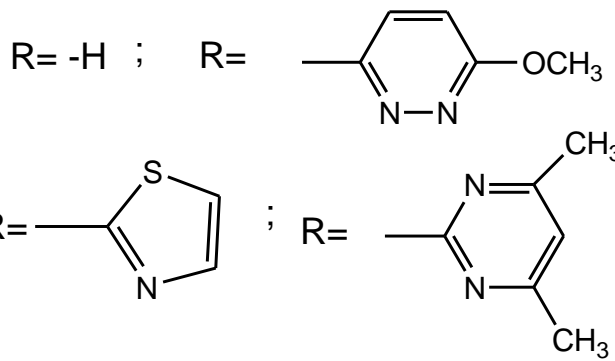
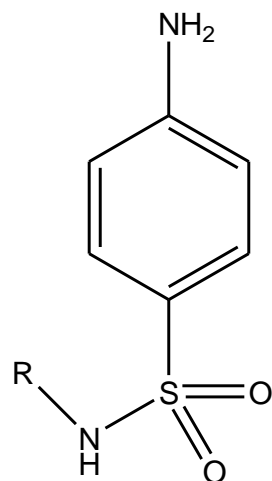
A. Tsantili-Kakoulidou, A. Antoniadou-Vyza, *J. Chromatogr.* 1988, 448, 317

C. Urquiola, M. Vieites, G. Aguirre, A. Marín, B. Solano, G. Arrambide, P. Noblía, M.L. Lavaggi, M. H. Torre, M. González, A. Monge, D. Gambino, H. Cerecetto, *Bioorg.*

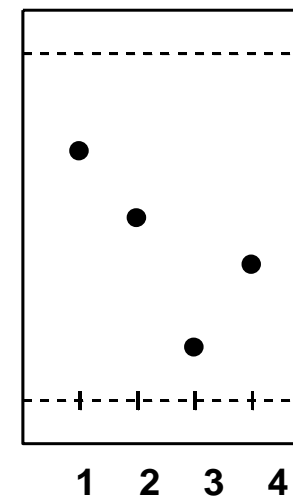
Med. Chem. 2006.

Ej. Determinación de lipofia de sulfonamidas sustituidas

Utiliza placas de sílica embebidas en OCTANOL para simular la fase apolar



Fase móvil: buffer pH= 7.4



Ej. Correlación de bioactividad y lipofilicidad

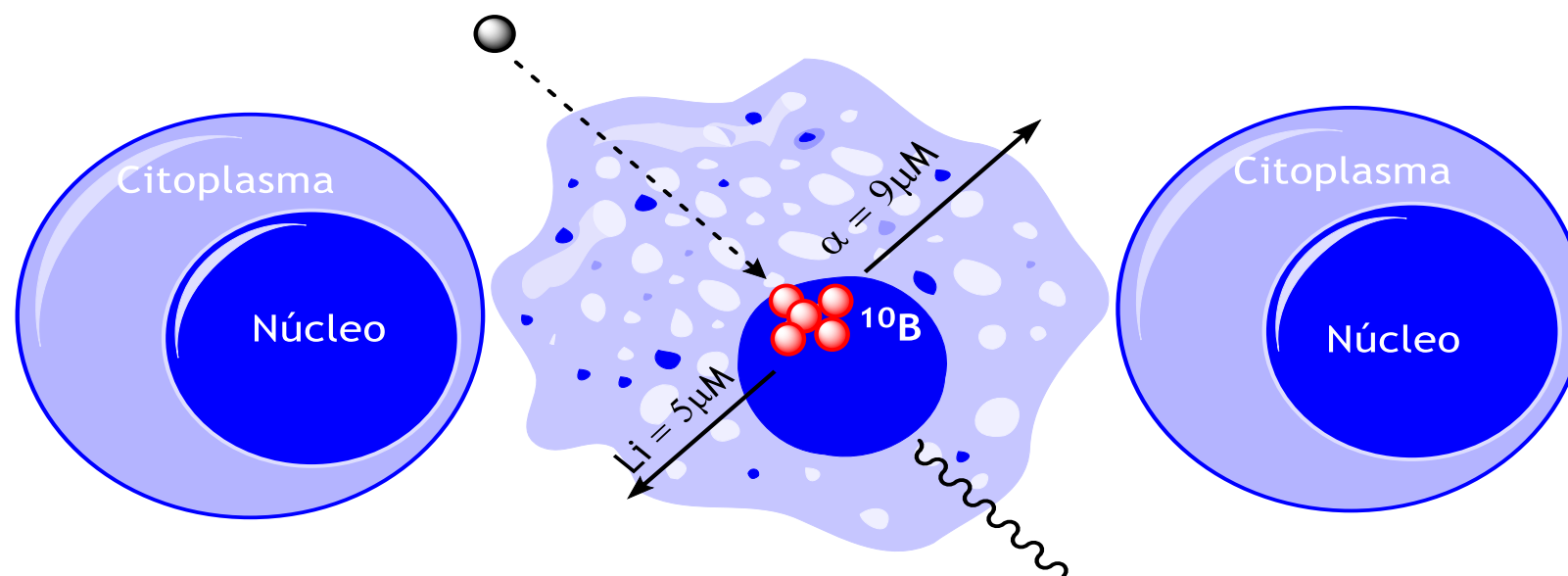
■ Synthetic Methods | *Hot Paper* |

DOI: 10.1002/chem.201701965

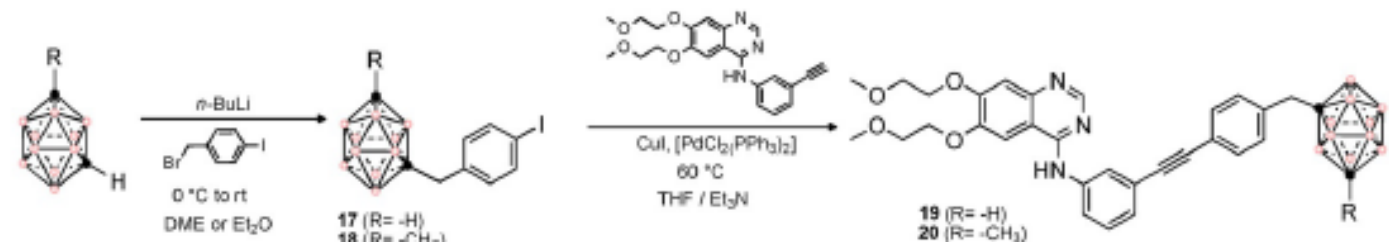
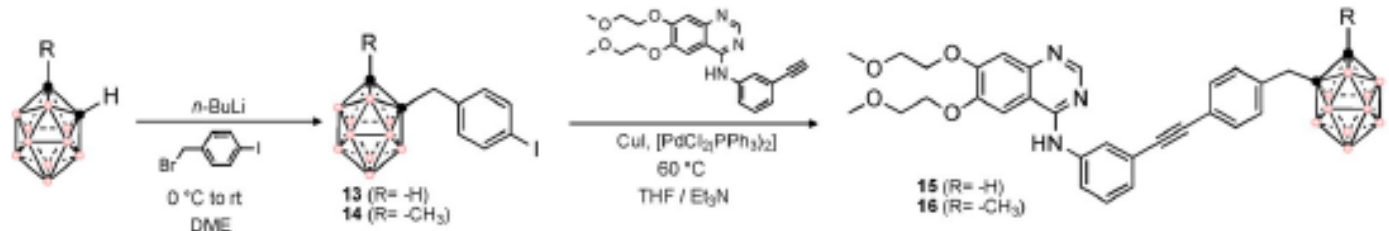
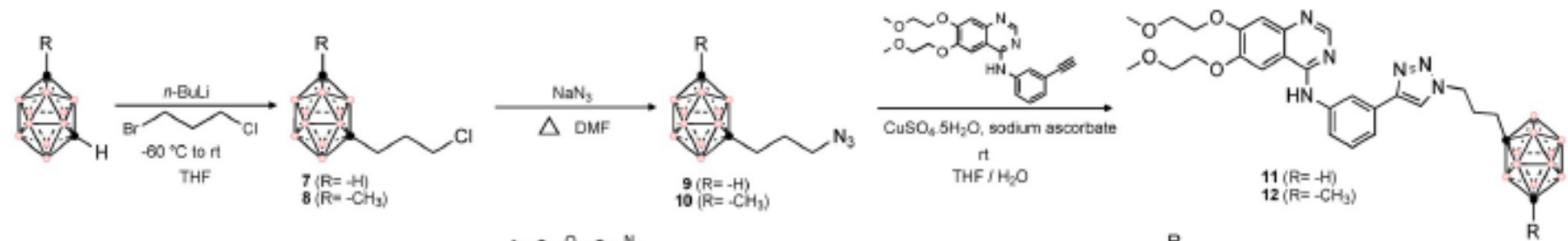
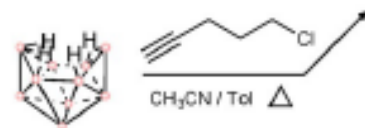
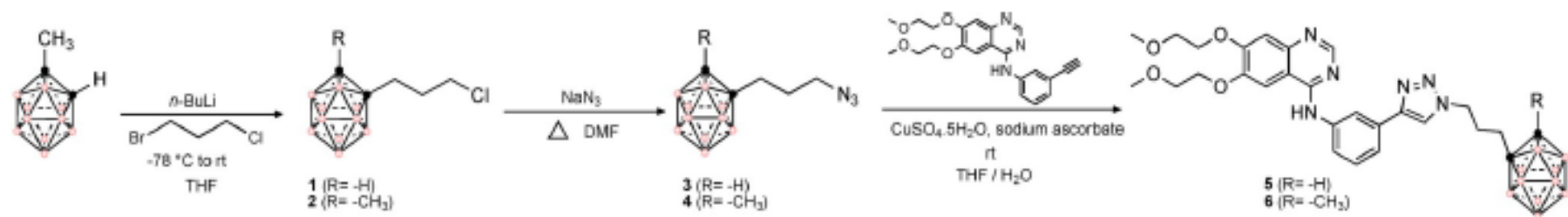
CHEMISTRY
A European Journal
Communication

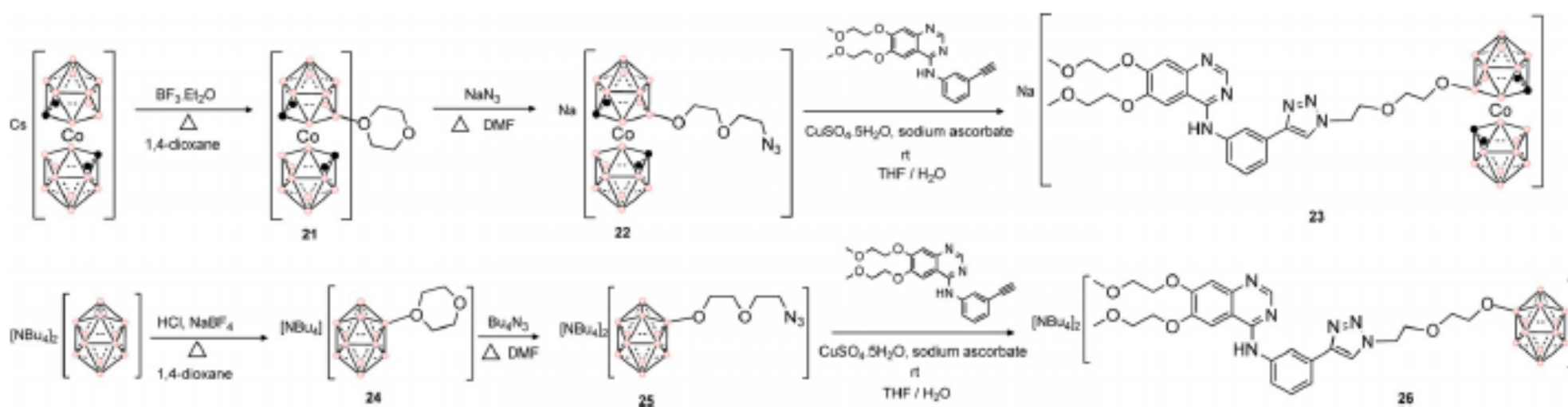
Small-Molecule Kinase-Inhibitors-Loaded Boron Cluster as Hybrid Agents for Glioma-Cell-Targeting Therapy

Marcos Couto,^[a, b, c] Ignacio Mastandrea,^[d, e] Mauricio Cabrera,^[d] Pablo Cabral,^[c]
Francesc Teixidor,^[b] Hugo Cerecetto,^{*[a, c]} and Clara Viñas^{*[b]}

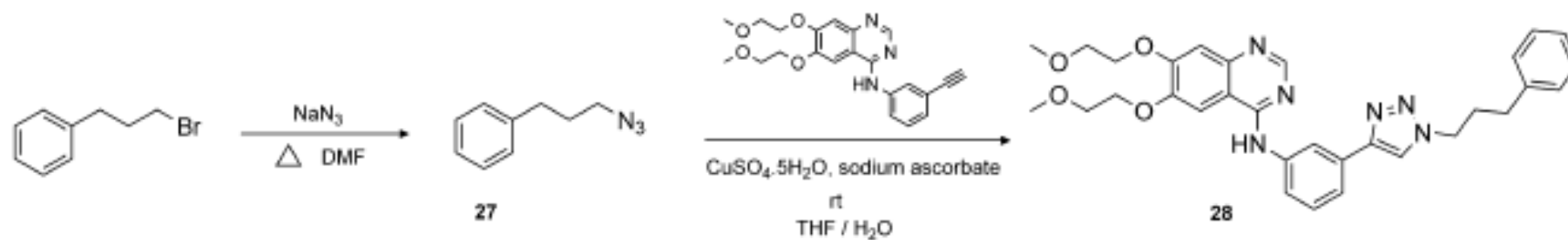


Ej. Correlación de bioactividad y lipofilicidad



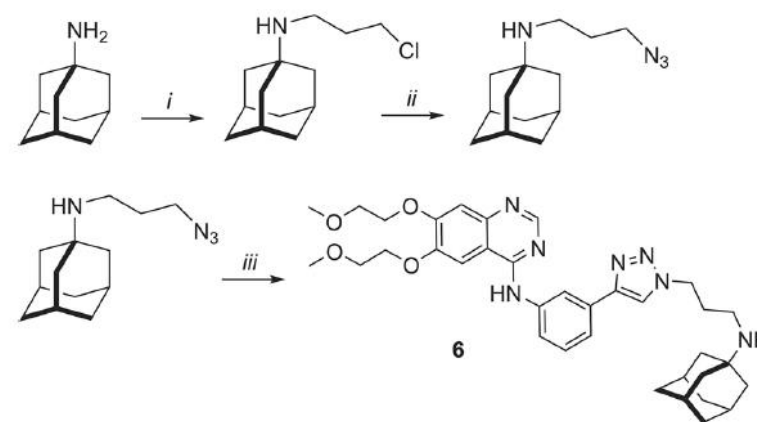


Scheme 2. Synthesis of anionic cobaltabisdicarbollidequinazoline (**23**) and dodecaboranylquinazoline (**26**).



Discovery of Potent EGFR Inhibitors through the Incorporation of a 3D-Aromatic-Boron-Rich-Cluster into the 4-Anilinoquinazoline Scaffold: Potential Drugs for Glioma Treatment

Marcos Couto,^[a, b, c] María Fernanda García,^[c] Catalina Alamón,^[a] Mauricio Cabrera,^[d] Pablo Cabral,^[c] Alicia Merlino,^[e] Francesc Teixidor,^[b] Hugo Cerecetto,^{*,[a, c]} and Clara Viñas^{*,[b]}



Ej. Correlación de bioactividad y lipofilicidad

Table 1. Effect of the hybrids on C6 glioma cells; lipophilicity values (determined in terms of R_M) and the most active hybrids (5, 11, and 23) on a mix of primary glial cells.

Compd	$IC_{50,C6}$ [μM] ^[a]	R_M	Compd	$IC_{50,mix}$ [μM] ^[b,c]	SI ^[d]
5	34 ± 7	0.738	5	> 100	> 2.9
6	> 100	0.857	11	> 100	> 3.3
11	30 ± 4	0.766	23	> 100	> 2.3
12	99 ± 4	0.966	Erlotinib	> 100	-
15	> 100	1.420			
16	> 100	1.370			
19	> 100	1.440			
20	> 100	1.320			
23	44 ± 6	0.150			
26	> 100	-0.857			
28	79 ± 4	0.209			
Erlotinib	> 100	-0.209			

[a] Compound concentrations required to inhibit the C6 growth by 50% were determined from dose-response plots. Assays were run in triplicate.

[b] Compound concentrations required to inhibit mix of primary glial cell culture growth by 50%. Assays were run in triplicate. [c] Higher doses than 100 μM could not be evaluated due to solubility problems. [d] SI: Selectivity index, defined as $IC_{50,mix}$ of primary glial cells / $IC_{50,C6}$ cells*

[d] SI: Selectivity index, defined as $IC_{50,mix}$ of primary glial cells / $IC_{50,C6}$ cells*

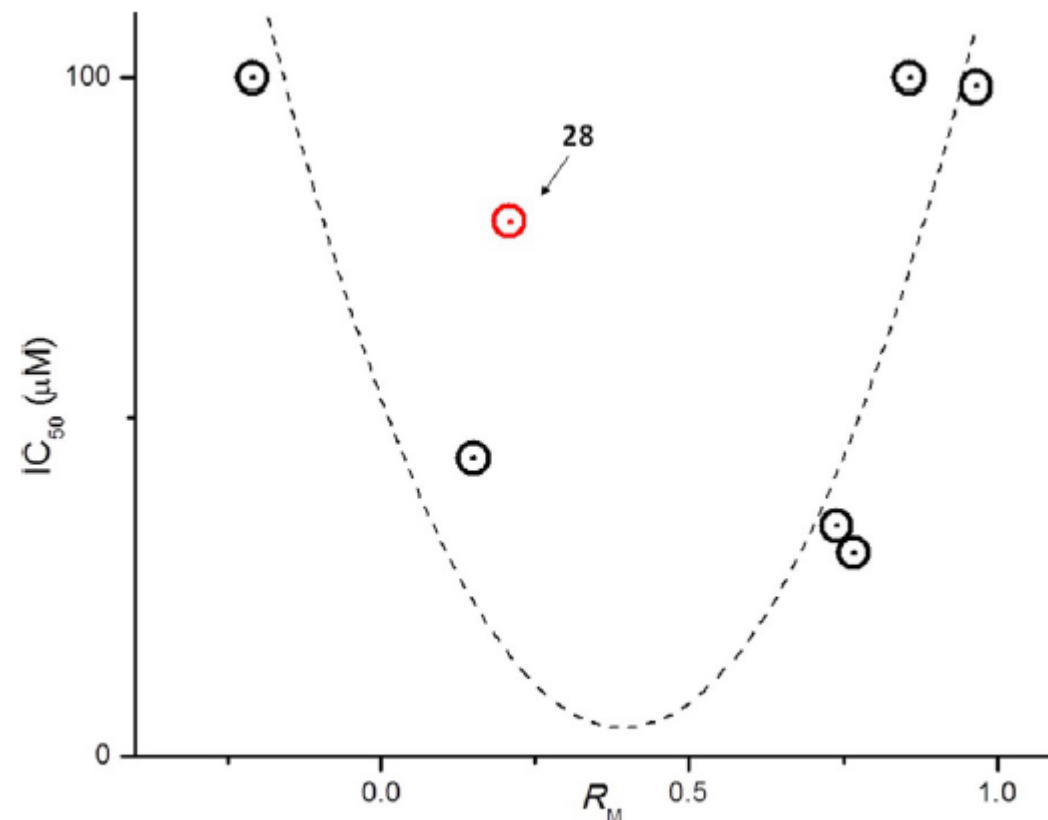


Figure 3. Relationship between IC_{50} and lipophilicity (expressed as R_M).

When only the structural related compounds were considered, that is, triazole-connector derivatives 5, 6, 11, 12, 23 and 26, a statistic quadratic fitted curve was obtained r^2_{adj} 0.9815

SAR

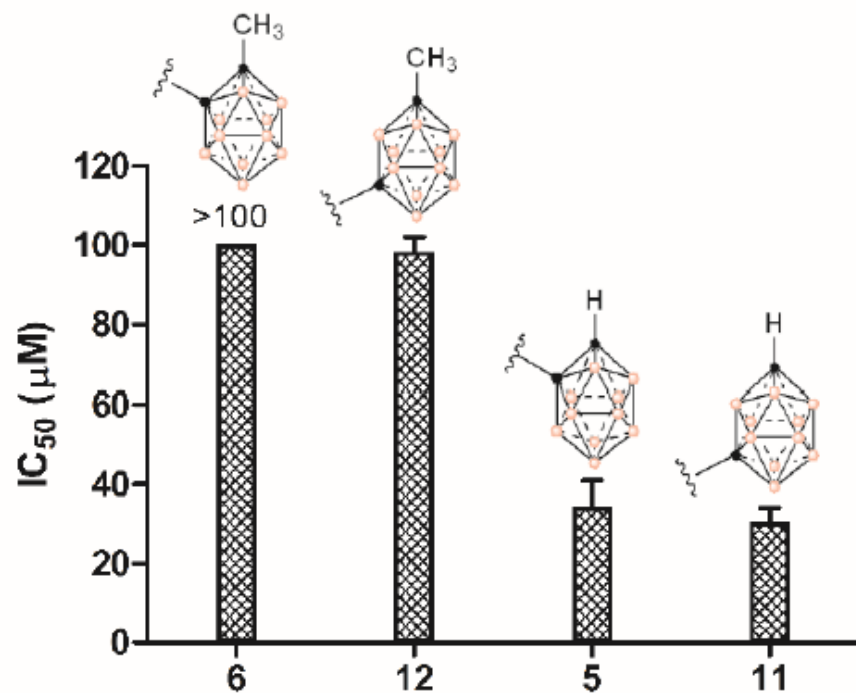


Fig. S2 Structure-activity relationship. IC_{50} s for methyl- and de-methyl-derivatives and *ortho*- and *meta*-isomers belonging to the triazole-linker series.

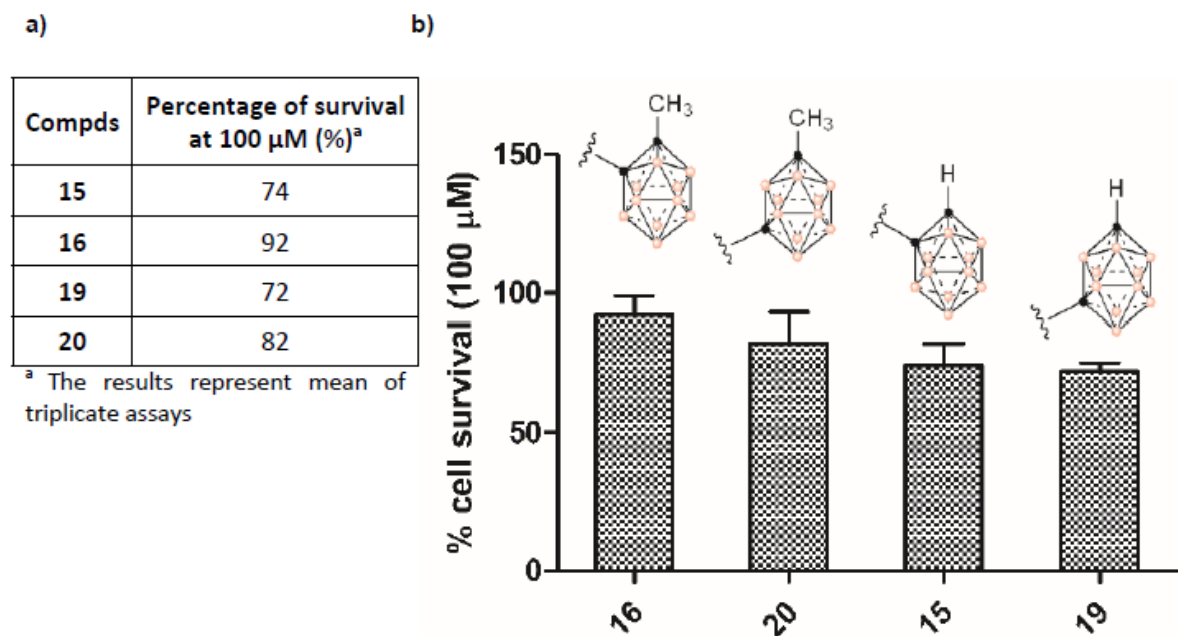


Fig. S3 Structure-activity relationship. (a) *In vitro* C6 percentage of survival of derivatives belonging to ethynylbenzyl-linker series. (b) Relationship of percentage of cell survival and structure of derivatives belonging to the ethynylbenzyl-linker series.

Determinación experimental del coeficiente de partición y lipofilia

Método RP-HPLC para cuantificar lipofilia

En este método se utiliza la ecuación:

$$\log P = \log C + \log K'$$

Donde K' se denomina factor de capacidad, y se determina de acuerdo:

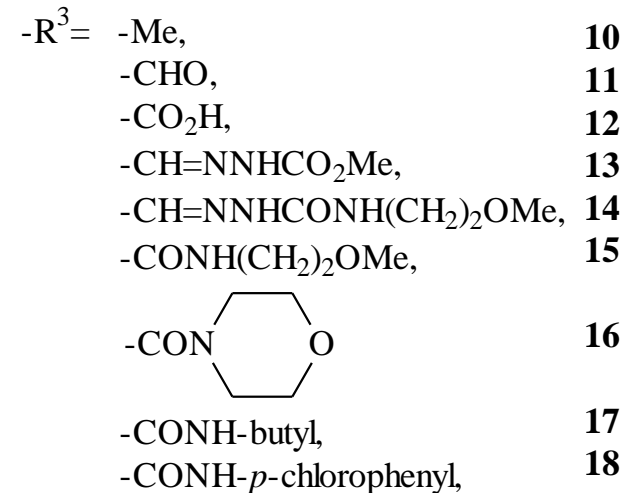
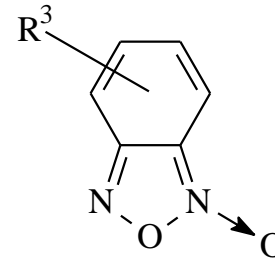
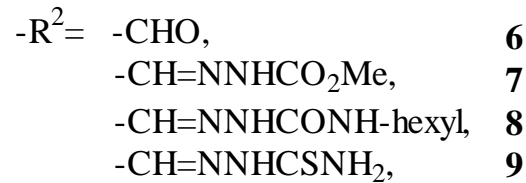
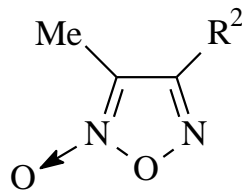
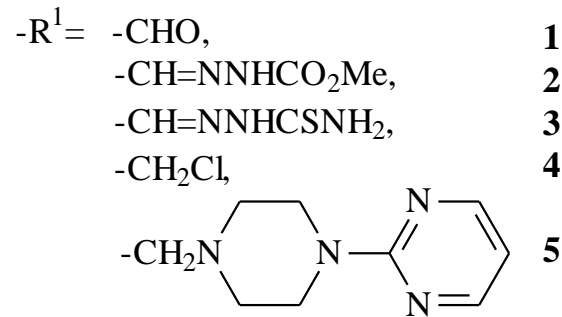
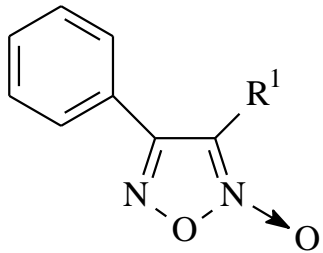
$$\log K' = \log \frac{t_r - t_o}{t_o}$$

t_r y t_o = *tiempos de retención del soluto y de un patrón no retenido en la columna*

2) Tiempo de retención en HPLC (Fase reversa)

$$\text{Log } k' = \log (t_R - t_0 / t_0) \rightarrow \text{Log } k'_w$$

Ej. *N*-óxido de 1,2,5-Oxadiazol y Benzofuroxano como Herbicidas



$$\text{Log } k'_w = (1.3 \pm 0.2) \text{ Log } P_{o/w} - (2.0 \pm 0.6)$$

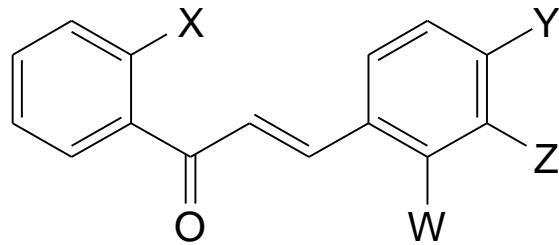
$$r^2 = 0.8491 \quad n = 11$$

J. Dorsey, M. Khaledi. *J. Chromatogr.* 1993, 656, 485.

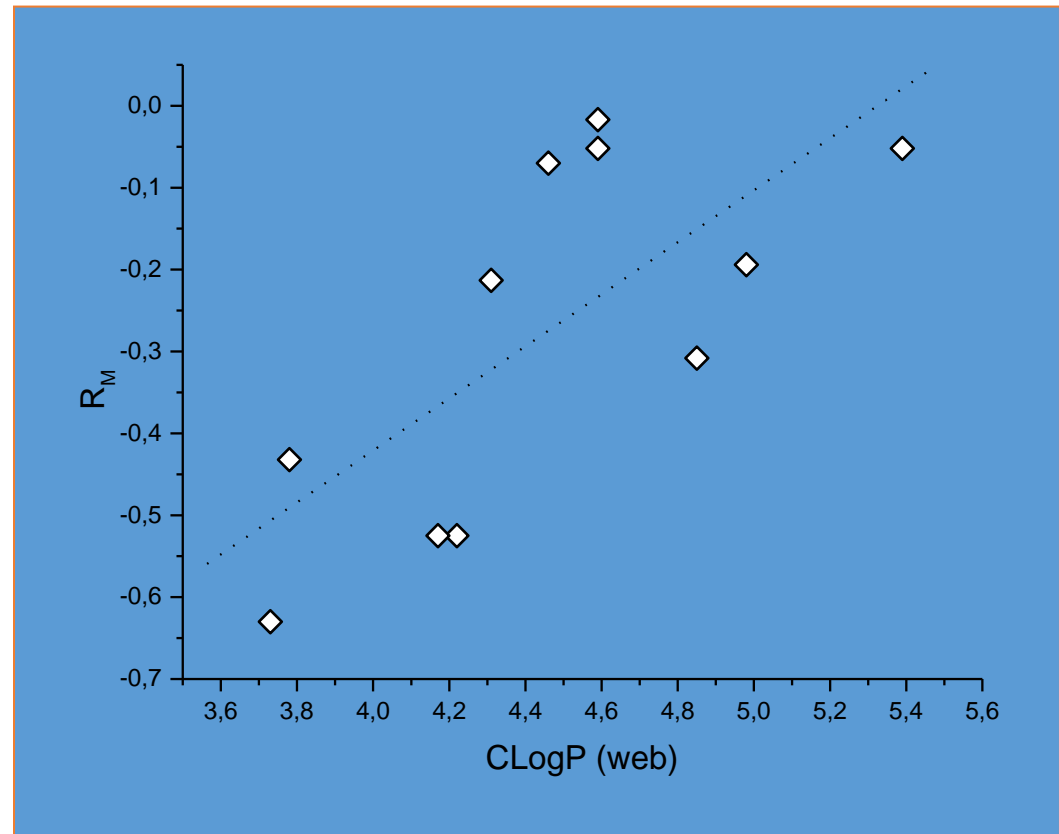
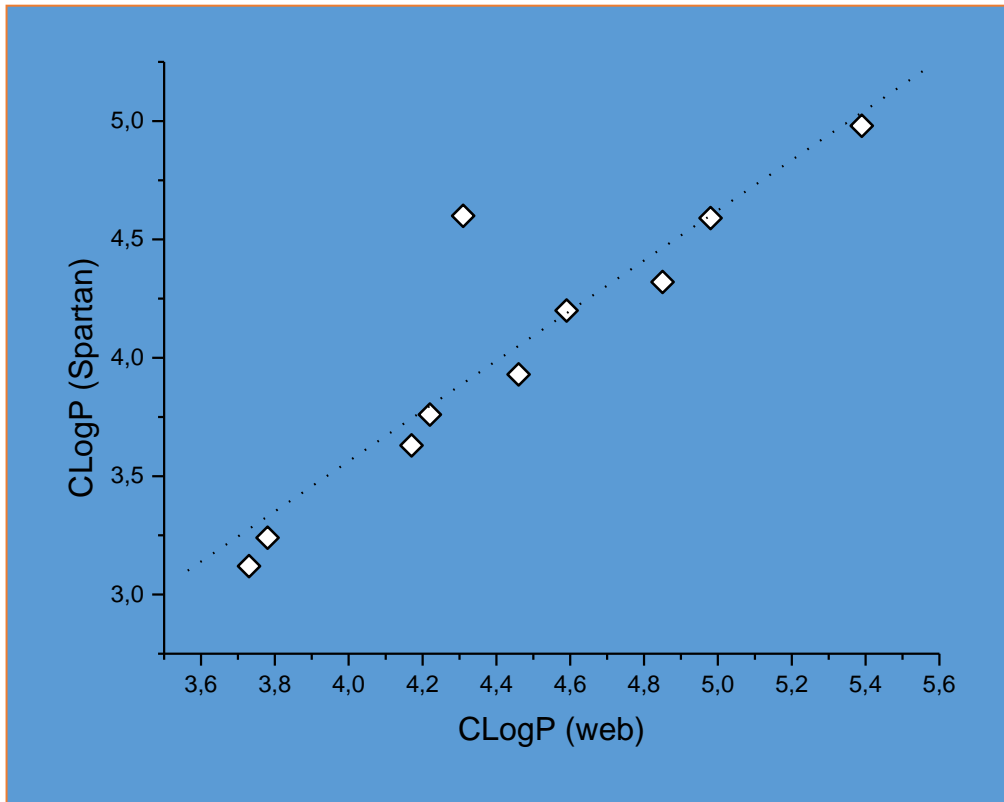
L. A. Fernandez, M. R. Santo, M. Reta, L. Giacomelli, R. Cattana, J. J. Silber, M. Risso, H. Cerecetto, M. González

C. Olea-Azar, *Molecules*, 2005, 10, 1197.

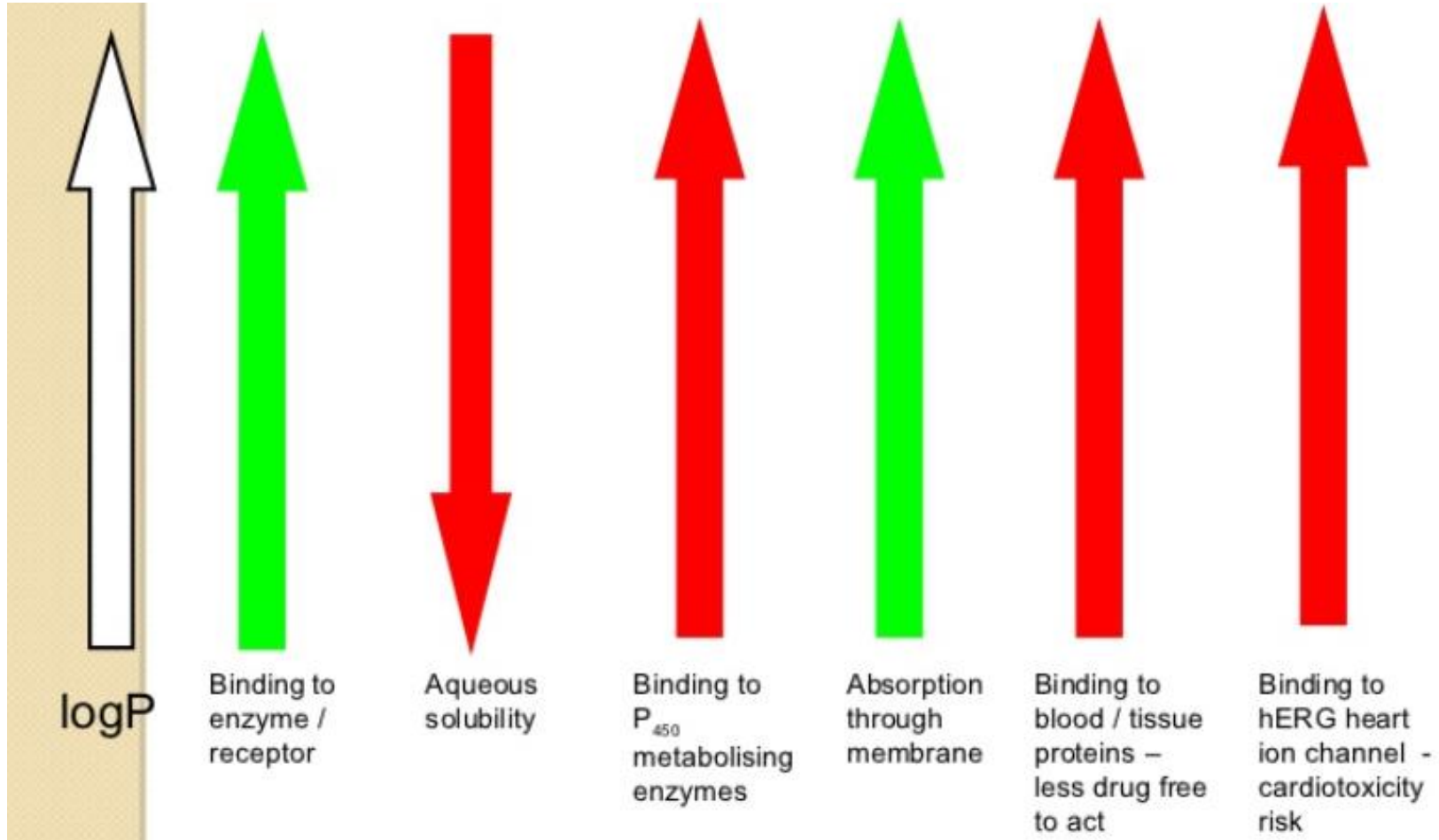
Ej. BÚSQUEDA DE CORRELACIONES ENTRE DIFERENTES $\log P$ EN UNA FAMILIA DE FLAVONOIDES CON ACTIVIDAD ANTITUMORAL



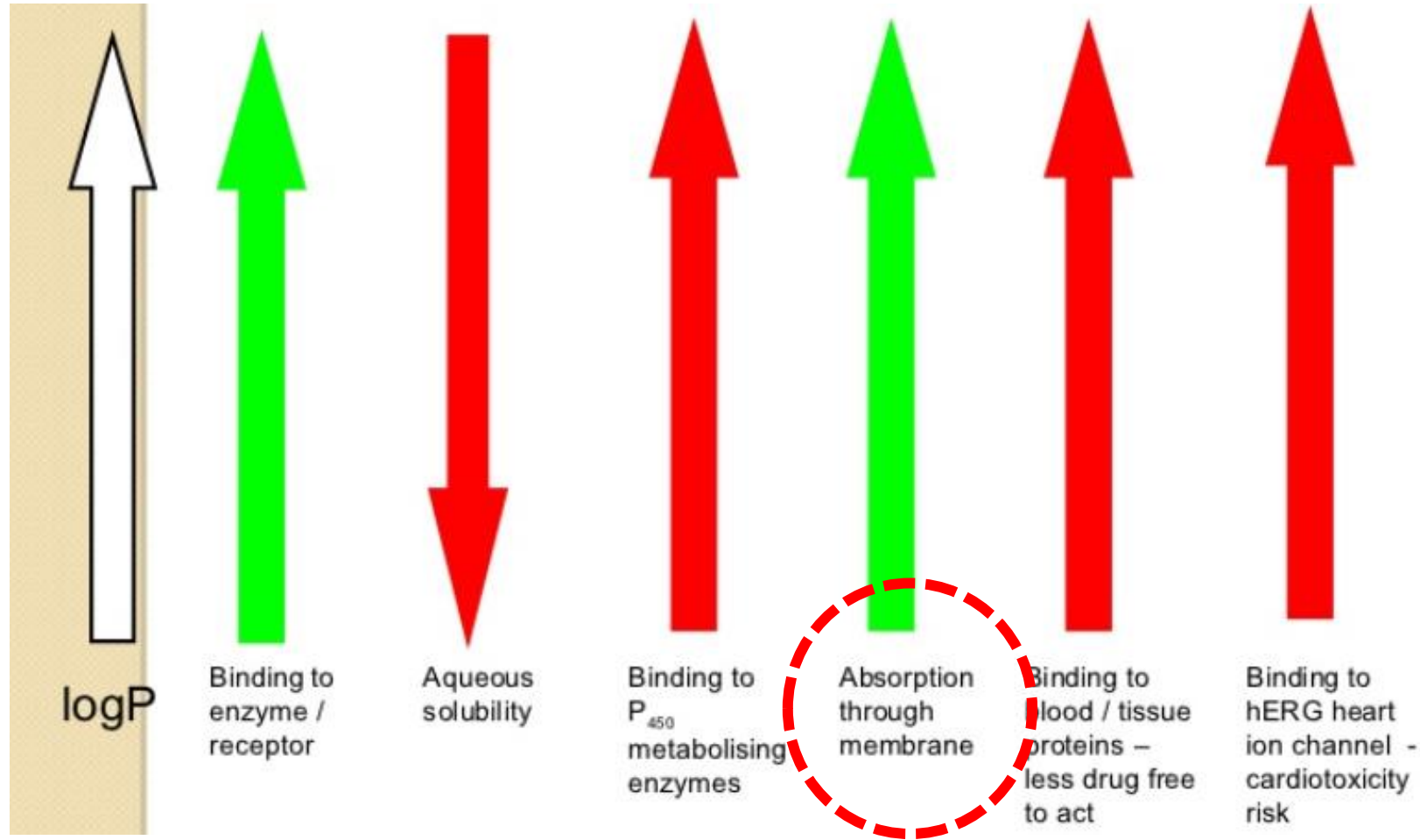
Y= H, Br, Cl, OMe, OCH₂Ph
Z= H, I, OMe
W= H, Br



¿Qué más afecta $\log P$?



¿Qué más afecta $\log P$?



La biodisponibilidad de los fármacos administrados oralmente depende de su absorción y de su metabolismo.

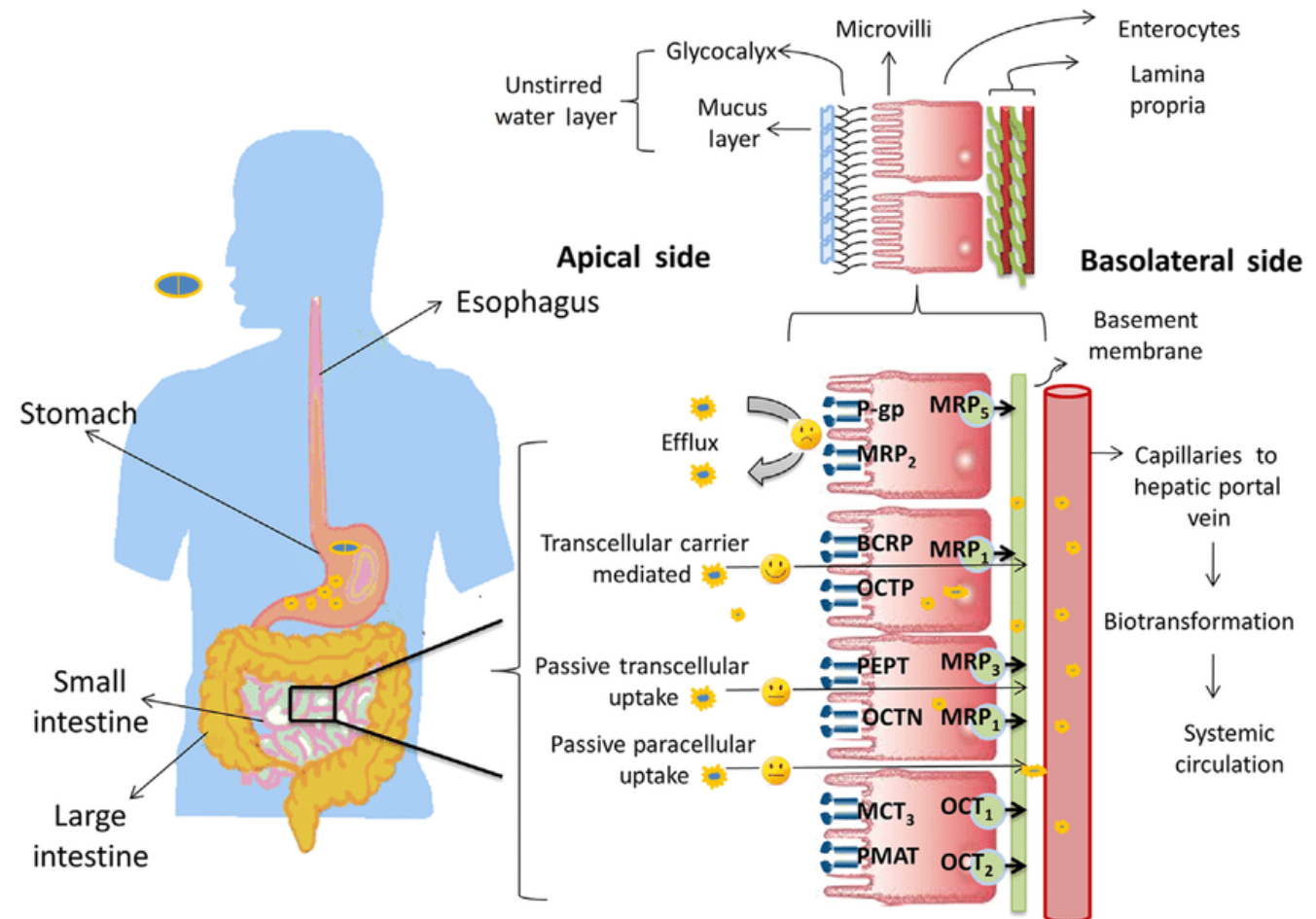
Técnicas de complejidad variable para evaluar la absorción de fármacos

Métodos *In Silico* de permeabilidad gastrointestinal

Técnicas de complejidad variable para evaluar la absorción de fármacos

Métodos *In Silico* de permeabilidad gastrointestinal

La aplicación exitosa de un modelo *in vitro* depende de en qué medida dicho modelo incorpore las características relevantes de la barrera biológica *in vivo*. A pesar de las dificultades obvias asociadas al tratar de reproducir *in vitro* todas las características de la mucosa intestinal.



Técnicas de complejidad variable para evaluar la absorción de fármacos

Métodos *In Silico* de permeabilidad gastrointestinal

TABLE 26.1 ▶ Partial List of Commercial Software for Permeability

Name (prediction)	Company	Web site
GastroPlus (human intestinal)	Simulations Plus	www.simulations-plus.com
ADME Boxes (passive intestinal)	Pharma Algorithms	www.ap-algorithms.com
ADME Index (database of marketed drugs)	Lighthouse Data Sol.	www.lighthousedatasolutions.com
KnowItAll (human intestinal)	Biorad	www.biorad.com
CSHIA (human intestinal)	ChemSilico	www.chemsilico.com
Admensa (human intestinal)	Inpharmatica	www.inpharmatica.com
QikProp (Caco-2, MDCK)	Schrodinger	www.schrodinger.com
ADMET Predictor (MDCK, human jejunal)	Simulations Plus	www.simulations-plus.com

Técnicas de complejidad variable para evaluar la absorción de fármacos

Modelos **Experimentales *In Vitro***

Técnicas de complejidad variable para evaluar la absorción de fármacos

Modelos Experimentales *In Vitro*

Varios sistemas han sido desarrollados para imitar, a diferentes niveles, las propiedades de barrera relevantes de la mucosa intestinal. Estos sistemas incluyen:

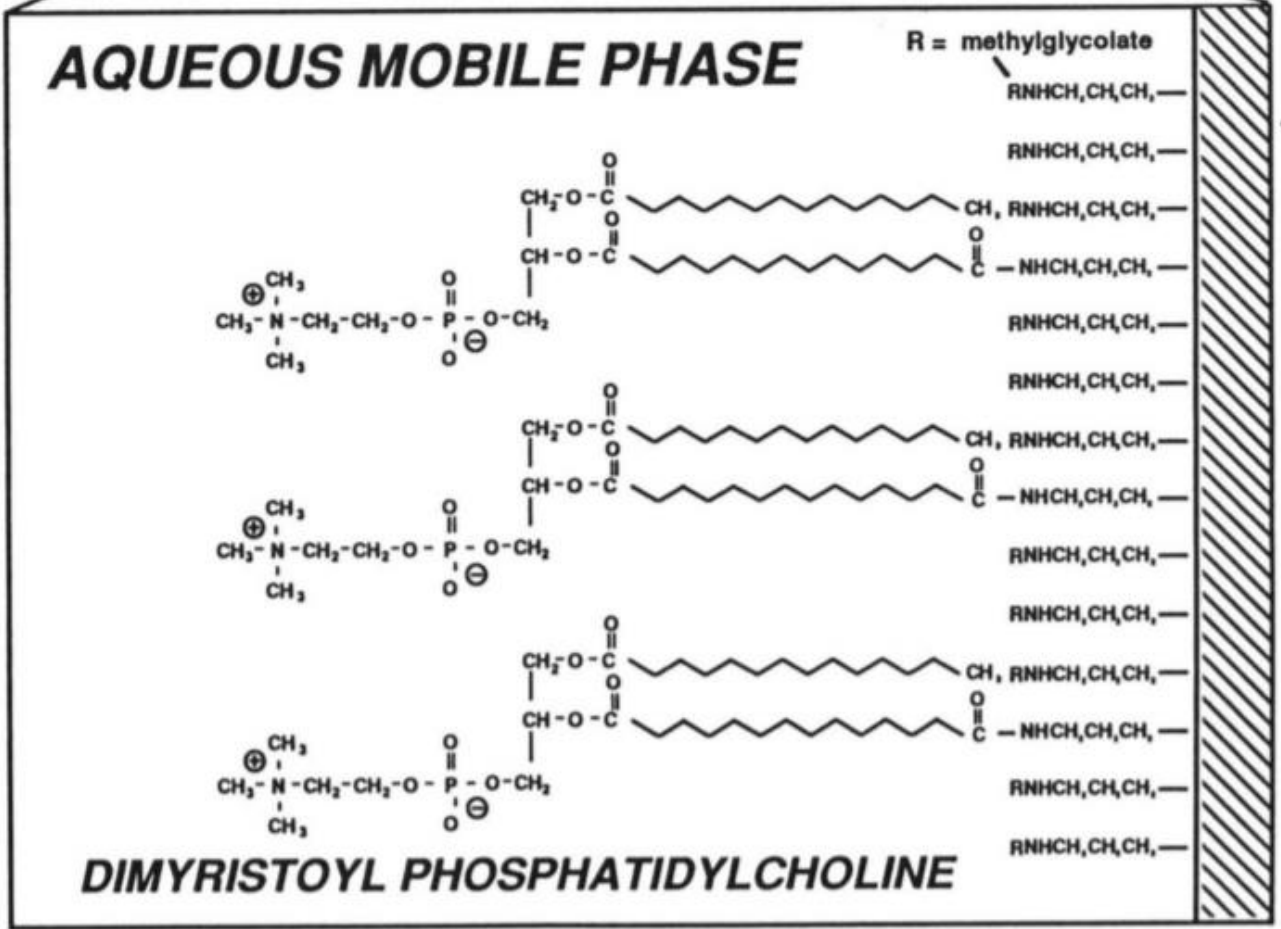
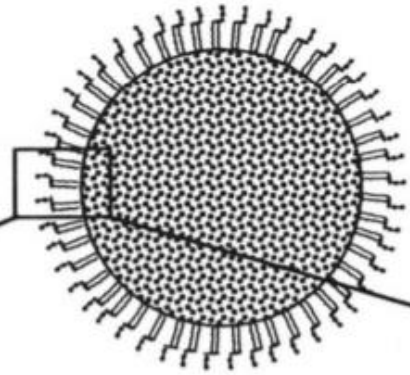
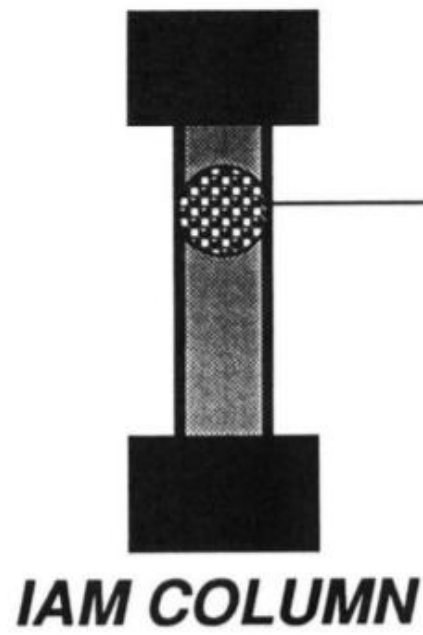
- 1) Métodos fisicoquímicos ($\log P_{o/w}$)
- 2) Métodos con membranas artificiales
- 3) Métodos empleando líneas celulares
- 4) Tejidos extraídos

Técnicas de complejidad variable para evaluar la absorción de fármacos

2) Métodos con membranas artificiales inmovilizada (immobilized artificial membrane, IAM)

Las IAM están constituidas por columnas cromatográficas de fase reversa en las cuales la cubierta hidrocarbonada del soporte sólido es reemplazada por lípidos para imitar el ambiente lipídico de la membrana celular.

El método se fundamenta en la premisa de que la permeación de solutos a través de la membrana celular es dependiente de su partición en las capas lipídicas



Técnicas de complejidad variable para evaluar la absorción de fármacos

2) Métodos con membranas artificiales

Ventajas:

- reproducibilidad
- permite la realización de ensayos múltiples simultáneos
- debido a que se elimina el uso de sistemas biológicos hace que los tiempos de ensayo sean más cortos
- ha mostrado una buena correlación con los valores observados con las monocapas de células Caco-2.

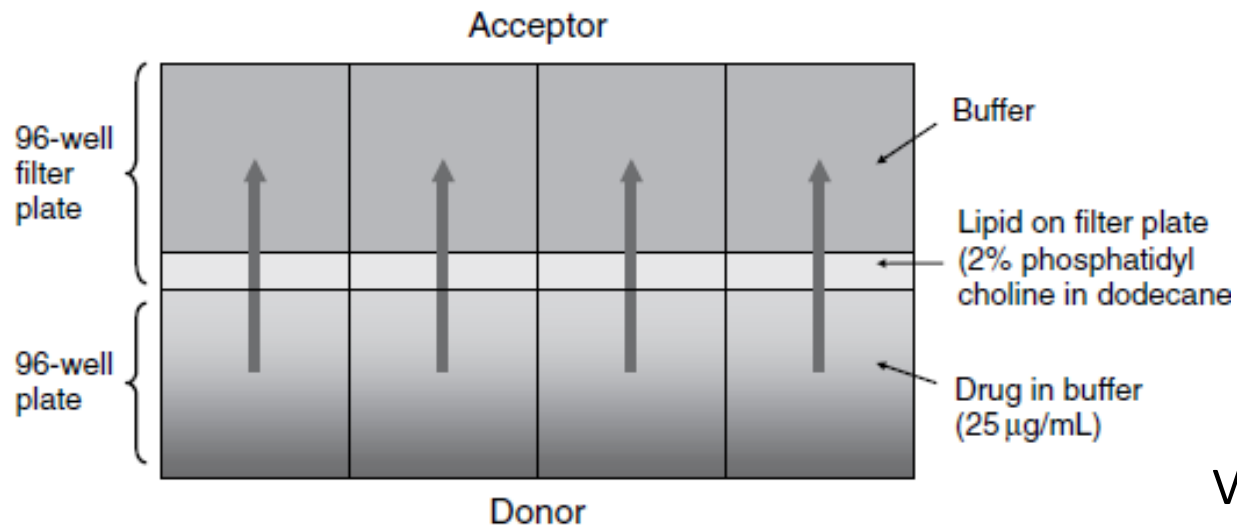
Desventajas:

- ausencia de enzimas y de transportadores; metabolismo y eflujo
- en su mayoría estos métodos no están conformados como bicapas lipídicas.

Técnicas de complejidad variable para evaluar la absorción de fármacos

2) Métodos con membranas artificiales: *Ensayo de Permeación con Membranas Artificiales en Paralelo (PAMPA)*

La absorción transcelular **pasiva** depende sobre todo del paso del compuesto por la membrana celular de la mucosa: bicapa lipídica

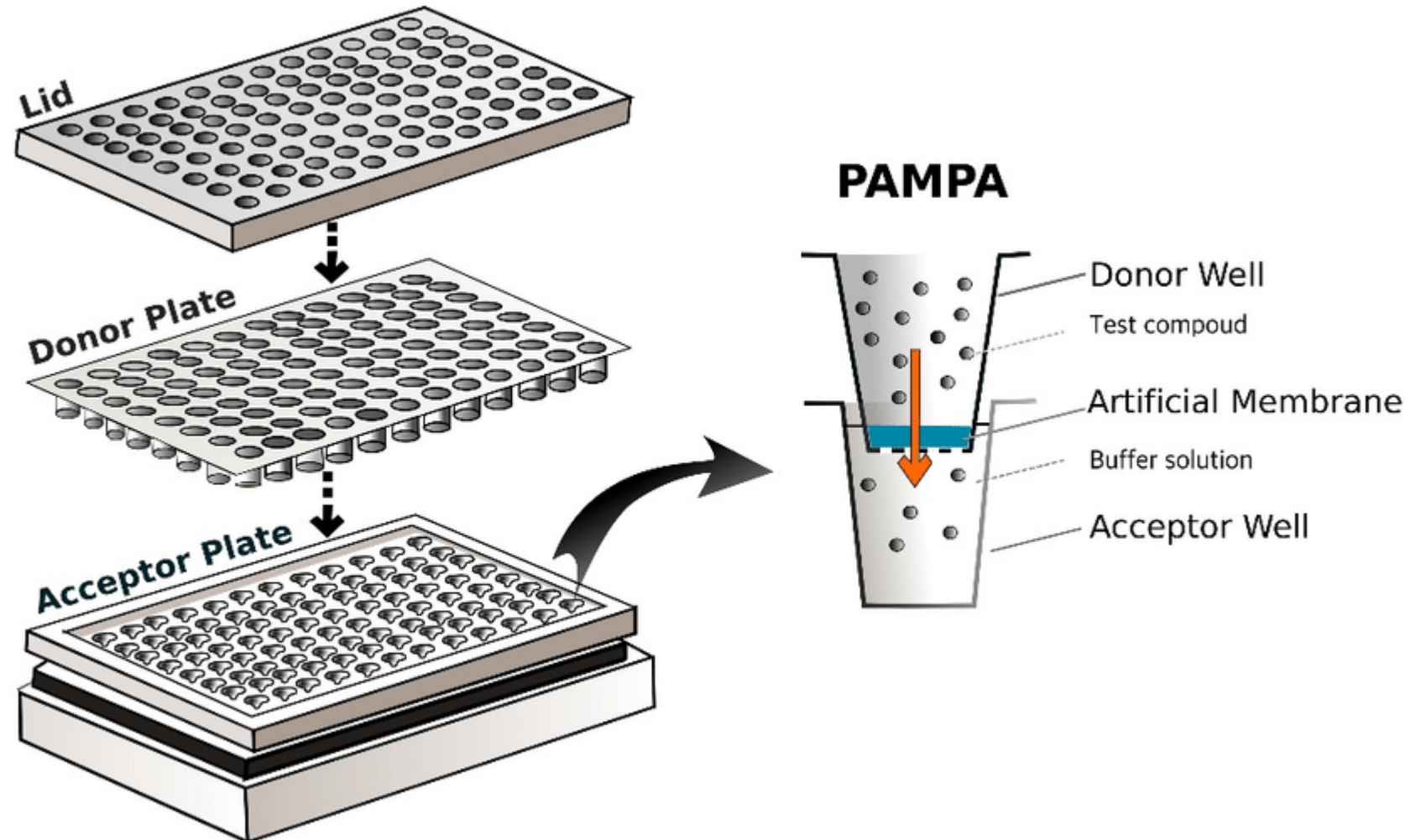


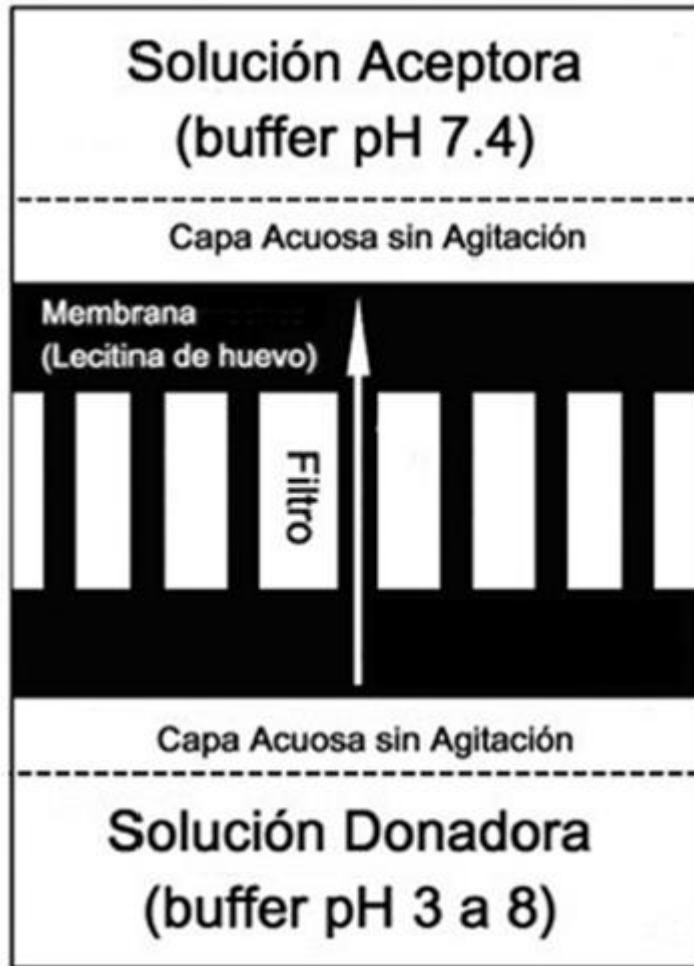
Se desarrolla en placas de 96 pozos (compartimiento donador), se coloca un aditamento donde está un soporte (filtro) para colocar la solución de lípidos que generara el modelo de membrana celular. Arriba de este soporte se encuentra el compartimiento aceptor.

Ventaja: NO REQUIERE MANTENIMIENTO CELULAR. La barrera artificial se crea en el momento del experimento. La capacidad de utilizar el lector de placa UV permite que el método tenga un alto rendimiento.

Técnicas de complejidad variable para evaluar la absorción de fármacos

2) Métodos con membranas artificiales: *Ensayo de Permeación con Membranas Artificiales en Paralelo (PAMPA)*





Se toman muestras de los pocillos receptores, se retira la placa del filtro y se toman muestras de los pocillos donantes.

La concentración de compuesto en los pocillos se cuantifica utilizando un instrumento de lector de placa LC/MS, LC/ultravioleta (UV) o simplemente UV. La "solución donante" no utilizada que no se colocó en los pocillos de donante se utiliza como estándar para cuantificar la concentración de compuesto en los pocillos del donante y el aceptor, para calcular la permeabilidad. La permeabilidad a menudo se denomina *permeabilidad efectiva (Pe)*.

Técnicas de complejidad variable para evaluar la absorción de fármacos

3) Métodos empleando líneas celulares: Caco-2 y MDCK

Una de las principales ventajas de los cultivos celulares es que cuando se cultivan en forma de monocapas presentan un comportamiento polarizado que permite simular las condiciones del intestino.

Caco-2 desarrolla microvellosidades en su superficie apical que se asemejan a la morfología de las células epiteliales GI que recubren las vellosidades intestinales. Las células Caco-2 también expresan transportadores de membrana celular en la superficie apical, como la P-glicoproteína (Pgp), proteína de resistencia al cáncer de mama (BCRP) y proteína de resistencia a múltiples fármacos 2 (MRP2). Esto brinda la oportunidad de investigar diversos mecanismos de permeabilidad.

Técnicas de complejidad variable para evaluar la absorción de fármacos

3) Métodos empleando líneas celulares: **Caco-2** y MDCK

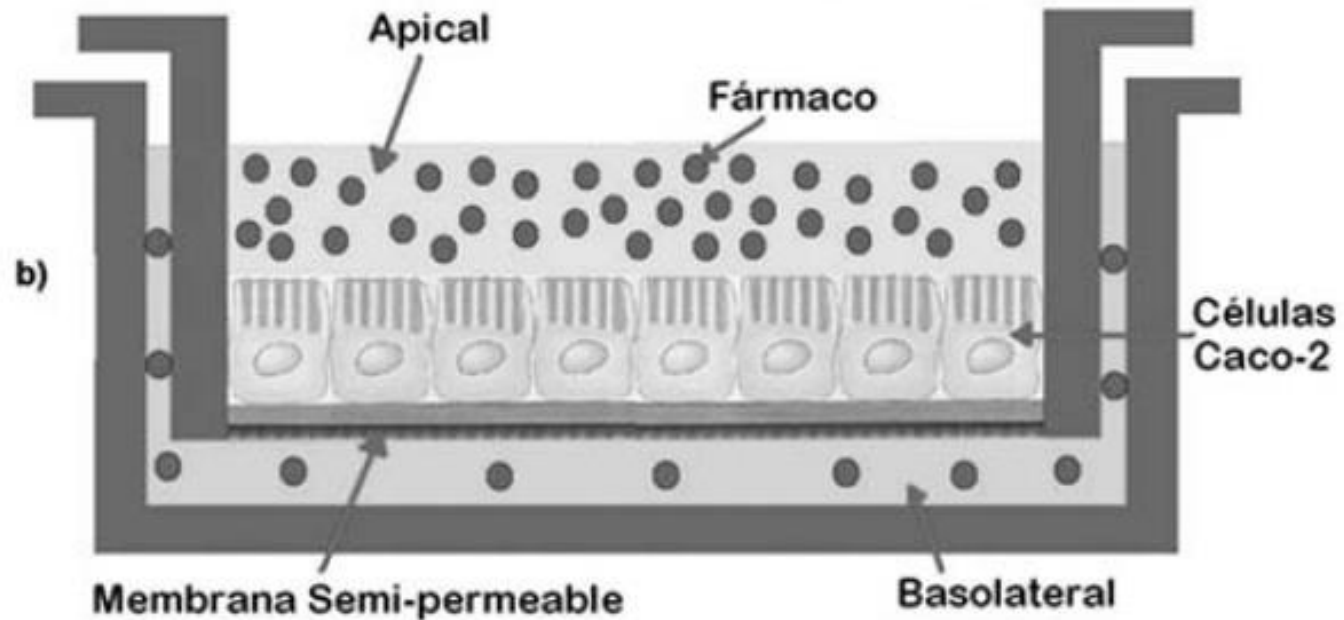


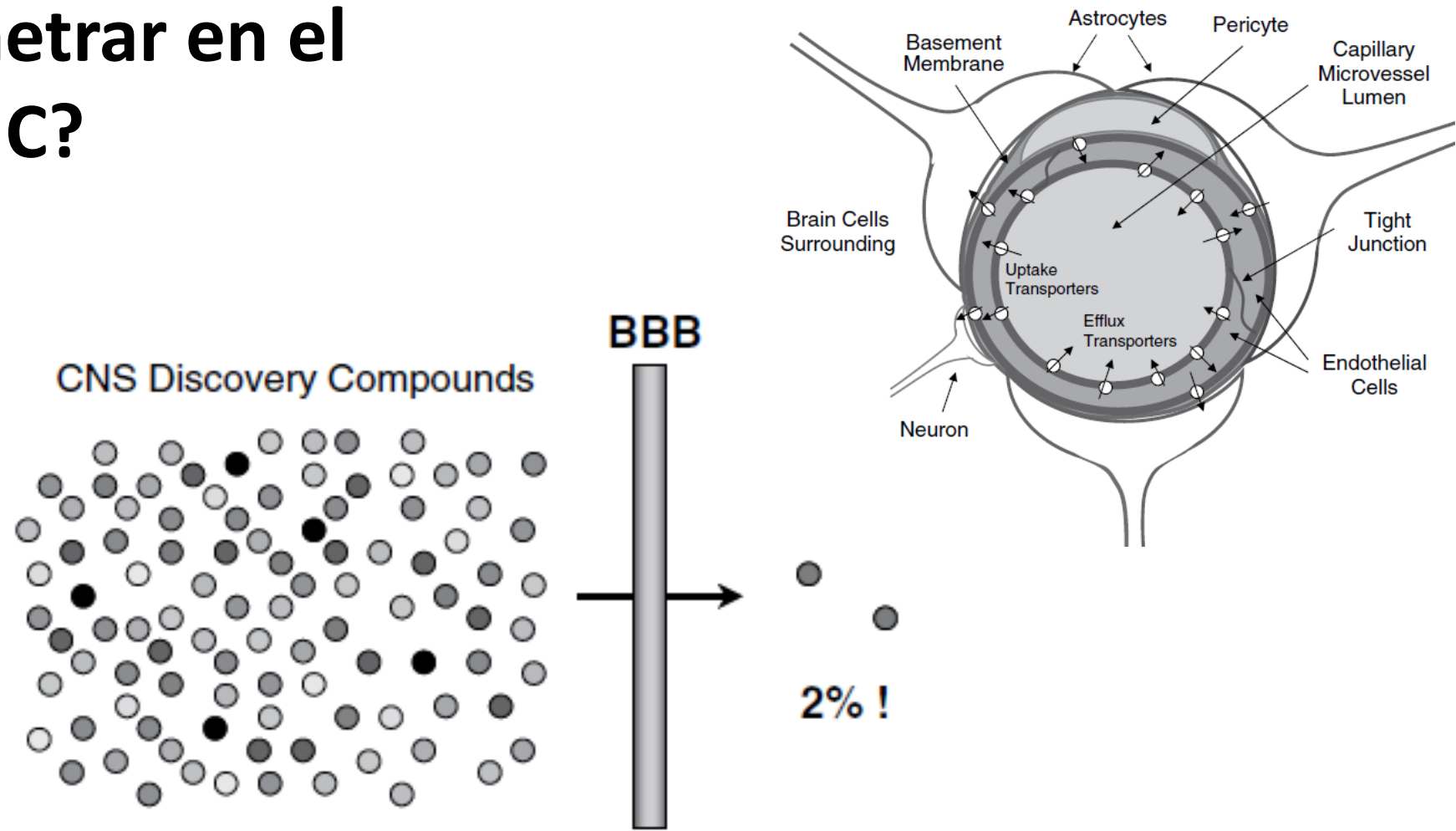
TABLE 26.2 ► Commercial Instruments and Products for the Measurement of Permeability

Method	Product Name	Company	Website
Caco-2	Transwell™	Corning	www.corning.com/lifesciences/
Caco-2	MultiScreen Caco-2™	Millipore	www.millipore.com
Caco-2	BioCoat™	BD Biosciences	www.bdbiosciences.com
Caco-2	BIOCOAT® HTS	BD Biosciences	www.bdbiosciences.com
Caco-2	Caco-2 Assay Kits	In Vitro Technologies	www.invitrotech.com
Caco-2	CAC-BD	Nichiryo	www.nichiryo.co.jp/e/pdf/cac-bd.pdf
Caco-2	EVOM, REMS TEER	World Precision Instr.	www.wpiinc.com
Caco-2	Biomek	Beckman Coulter	www.beckman.com
Caco-2	Caco-2 cells	ATCC	www.atcc.org
MDCK	MDCK cells	ATCC	www.atcc.org
MDCK	MDR1-MDCKII cells	Netherlands Cancer Ins.	p.borst@nki.nl
PAMPA	PAMPA Evolution™	pION Inc.	www.pion-inc.com
PAMPA	PAMPA Explorer™	pION Inc.	www.pion-inc.com
PAMPA	Gut-Box™	pION Inc.	www.pion-inc.com
PAMPA	AperW™	Analiza Inc.	www.analiza.com
PAMPA	MultiScreen PAMPA™	Millipore	www.millipore.com
IAM	IAM Columns	Regis Technologies	www.registech.com

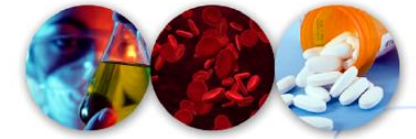
Clasificación de los modelos para evaluar la absorción intestinal en función de su grado de complejidad y características particulares

Clasificación		Modelo	Inversión	Tiempo	Modela Ventajas/desventajas
<i>In silico</i>		Algoritmos matemáticos	Computadora + software	Inmediato	Predicción de diversas propiedades y mecanismos.
<i>In vitro</i>	Físico -químicos	Log P	Reactivos	Horas	Lipofilicidad. “Regla de oro”, no animales, únicamente describe paso transcelular.
		MAI	1,400.00 USD por columna + reactivos	Un día	Uso fácil, no animales, buen mezclado, únicamente describe paso transcelular.
		PAMPA	Desde 200 USD (5 placas) + reactivos	Hasta 24 h	
	Líneas Celulares	MDCK-II	3500 USD por línea celular + reactivos y cuarto de cultivo	Tres días cultivo y 24 horas de ensayo	Permeación transcelular, paracelular y transportadores activos y de eflujo. Uso fácil, buen mezclado, transporte direccional, células animales y humanas, grosor de uniones estrechas más grande, transportadores, velocidad aparente.
		Caco-2		Veintiún días cultivo y 24 horas de ensayo	

Y para penetrar en el SNC?



The BBB excludes as much as 98% of potentially beneficial drugs and is a major challenge for CNS therapy.



metabolism • solubility • pharmacokinetics
permeability • CYP inhibition
toxicity • prodrugs

Edward H. Kerns and Li Di

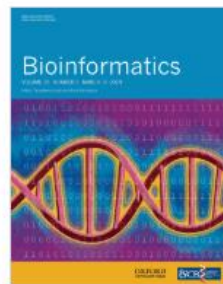
Blood–Brain Barrier Methods

Overview

- ▶ *Several in silico predictions for blood–brain barrier (BBB) have appeared as a result of the importance of brain penetration for drug research on neurological disorders.*
- ▶ *Various in vitro BBB methods are used: PAMPA-BBB, Log P, Δ Log P, brain-plasma dialysis, IAM HPLC, surface activity, and cell layer permeability (MDCK, Caco-2, BMEC).*
- ▶ *Brain penetration is studied in vivo using in situ perfusion, brain uptake, brain to plasma ratio (B/P), CSF sampling, and microdialysis.*

In Silico Methods for BBB

Software name	Company	Web site
Software		
ADMET Predictor	Simulations Plus	www.simulationsplus.com
Volsurf	Molecular Discovery	www.moldiscovery.com
Volsurf	Tripos	www.tripos.com
MedChem Explorer	Accelrys	www.accelrys.com
KnowItAll	Bio-Rad	www.biorad.com
ADME Boxes™ (Pgp)	Pharma Algorithms	www.ap-algorithms.com
Absolv	Pharma Algorithms	www.ap-algorithms.com/absolv.htm
QikProp	Schrodinger	www.schrodinger.com
CSBBB	ChemSilico	www.chemsilico.com
PreADME	Bioinformatics and Molecular Design Research Center	www.bmdrc.org/02_R&D/04_chem.asp
Admensa	Inpharmatica Ltd.	www.inpharmatica.co.uk
Products		
HTD 96	HTDialysis	www.htdialysis.com/
Dialyzer 96-well	Harvard Apparatus	www.harvardapparatus.com
Dialyzer Multi-Equil	Harvard Apparatus	www.harvardapparatus.com
IAM.PC.DD2	Regis Technologies	www.registech.com
Delta-8	Kibron	www.kibron.com
CT Bovial	Cellial Technologies	www.cellial.com



Volume 35, Issue 6
15 March 2019

< Previous Next >

admetSAR 2.0: web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties

Hongbin Yang, Chaofeng Lou, Lixia Sun, Jie Li, Yingchun Cai, Zhuang Wang, Weihua Li, Guixia Liu, Yun Tang ✉

Bioinformatics, Volume 35, Issue 6, 15 March 2019, Pages 1067–1069,

<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty707>

Published: 28 August 2018 **Article history** ▼

Views ▼ Cite Permissions Share ▼

Abstract

Summary

admetSAR was developed as a comprehensive source and free tool for the prediction of chemical ADMET properties. Since its first release in 2012 containing 27 predictive models, admetSAR has been widely used in chemical and pharmaceutical fields. This update, admetSAR 2.0, focuses on extension and optimization of existing models with significant quantity and quality improvement on training data. Now 47 models are available for either drug discovery or environmental risk assessment. In addition, we added a new module named ADMETopt for lead optimization based on predicted ADMET properties.

Availability and implementation

Free available on the web at <http://lmm.ecust.edu.cn/admetSar2/>

Supplementary information

Review: Biological
roles of glycans

By Ajit Varki



Read free online

GLYCOBIOLOGY

Discovery of Potent EGFR Inhibitors through the Incorporation of a 3D-Aromatic-Boron-Rich-Cluster into the 4-Anilinoquinazoline Scaffold: Potential Drugs for Glioma Treatment

Table 2. BBB cross penetration data and physicochemical properties for 1, 4, and erlotinib.

Compds.	Ability to cross BBB $\Delta\log P^{[a]}$	BBB theor. ^[b]	Stability				
			2.0 ^[c]	7.4 ^[c]	8.6 ^[c]	cf ^[d]	mf ^[d]
1	1.49 ± 0.15	+ BBB	S	S	S	NM	NM
4	4.05 ± 0.30	- BBB	S	S	S	M	M
Erlotinib	3.32 ± 0.30	+ BBB	S	S	S	PM	PM
Diazepam ^[e]	0.008 ± 0.002	-	-	-	-	-	-

[a] The LogP values were determined by HPLCs. $\Delta\log P = \log P(\text{octanol/PBS}) - \log P(\text{cyclohexane/PBS})$. Optimal $\Delta\log P$ for brain uptake is < 2 .

[b] Calculated according to <http://lmmd.ecust.edu.cn:8000/predict/>. [c] In aqueous-buffer solutions at the indicated pH. S: stable over a period of 24 h incubation, @ 37 °C. [d] cf: hepatic cytosolic fraction; mf: hepatic microsomal fraction. NM: non-metabolized over a period of 30 min incubation, @ 37 °C. M: complete metabolism over a period of 30 min incubation, @ 37 °C. PM: partial metabolism over a period of 30 min incubation, @ 37 °C. [e] Positive control.

Método fisicoquímico para estimar la penetración de la BBB: ΔLogP

El método se basa en estimar la contribución de los enlaces de hidrógeno.

Para ello es necesario determinar el coeficiente de partición **octanol-PBS** y el coeficiente de partición **ciclohexano-PBS**. Posteriormente estos valores son restados.

Técnicamente el octanol es capaz de establecer enlaces de hidrógeno con el fármaco, mientras que el ciclohexano no, simulando un contexto totalmente hidrofóbico como lo sería en el interior de una membrana celular.

$$\Delta\log P = \log P(\text{octanol/PBS}) - \log P(\text{cyclohexane/PBS})$$

Se establece que un valor de ΔLogP menor a 2 para un compuesto, es probable que este atraviese la BHE.

Table 2. BBB cross penetration data and physicochemical properties for 1, 4, and erlotinib.

Compds.	Ability to cross BBB $\Delta \log P^{[a]}$	theor. ^[b]	Stability			cf ^[d]	mf ^[d]
			2.0 ^[c]	7.4 ^[c]	8.6 ^[c]		
1	1.49 ± 0.15	+ BBB	S	S	S	NM	NM
4	4.05 ± 0.30	- BBB	S	S	S	M	M
Erlotinib	3.32 ± 0.30	+ BBB	S	S	S	PM	PM
Diazepam ^[e]	0.008 ± 0.002	-	-	-	-	-	-

[a] The LogP values were determined by HPLCs. $\Delta \log P = \log P(\text{octanol/PBS}) - \log P(\text{cyclohexane/PBS})$. Optimal $\Delta \log P$ for brain uptake is < 2 .
 [b] Calculated according to <http://lmmd.ecust.edu.cn:8000/predict/>. [c] In aqueous-buffer solutions at the indicated pH. S: stable over a period of 24 h incubation, @ 37 °C. [d] cf: hepatic cytosolic fraction; mf: hepatic microsomal fraction. NM: non-metabolized over a period of 30 min incubation, @ 37 °C. M: complete metabolism over a period of 30 min incubation, @ 37 °C. PM: partial metabolism over a period of 30 min incubation, @ 37 °C. [e] Positive control.

Table 2. BBB cross penetration data and physicochemical properties for 1, 4, and erlotinib.

Compds.	Ability to cross BBB $\Delta \log P^{[a]}$	theor. ^[b]	Stability			cf ^[d]	mf ^[d]
			2.0 ^[c]	7.4 ^[c]	8.6 ^[c]		
1	1.49 ± 0.15	+ BBB	S	S	S	NM	NM
4	4.05 ± 0.30	- BBB	S	S	S	M	M
Erlotinib	3.32 ± 0.30	+ BBB	S	S	S	PM	PM
Diazepam ^[e]	0.008 ± 0.002	-	-	-	-	-	-

[a] The LogP values were determined by HPLCs. $\Delta \log P = \log P(\text{octanol/PBS}) - \log P(\text{cyclohexane/PBS})$. Optimal $\Delta \log P$ for brain uptake is < 2 . [b] Calculated according to <http://lmmd.ecust.edu.cn:8000/predict/>. [c] In aqueous-buffer solutions at the indicated pH. S: stable over a period of 24 h incubation, @ 37 °C. [d] cf: hepatic cytosolic fraction; mf: hepatic microsomal fraction. NM: non-metabolized over a period of 30 min incubation, @ 37 °C. M: complete metabolism over a period of 30 min incubation, @ 37 °C. PM: partial metabolism over a period of 30 min incubation, @ 37 °C. [e] Positive control.

Table 2. BBB cross penetration data and physicochemical properties for 1, 4, and erlotinib.

Compds.	Ability to cross BBB	Stability	2.0 ^[c]	7.4 ^[c]	8.6 ^[c]	cf ^[d]	mf ^[d]
	$\Delta \log P^{[a]}$						
1	1.49 ± 0.15	+ BBB	S	S	S	NM	NM
4	4.05 ± 0.30	- BBB	S	S	S	M	M
Erlotinib	3.32 ± 0.30	+ BBB	S	S	S	PM	PM
Diazepam ^[e]	0.008 ± 0.002	-	-	-	-	-	-

[a] The LogP values were determined by HPLCs. $\Delta \log P = \log P(\text{octanol/PBS}) - \log P(\text{cyclohexane/PBS})$. Optimal $\Delta \log P$ for brain uptake is < 2 . [b] Calculated according to <http://lmmd.ecust.edu.cn:8000/predict/>. [c] In aqueous-buffer solutions at the indicated pH. S: stable over a period of 24 h incubation, @ 37 °C. [d] cf: hepatic cytosolic fraction; mf: hepatic microsomal fraction. NM: non-metabolized over a period of 30 min incubation, @ 37 °C. M: complete metabolism over a period of 30 min incubation, @ 37 °C. PM: partial metabolism over a period of 30 min incubation, @ 37 °C. [e] Positive control.

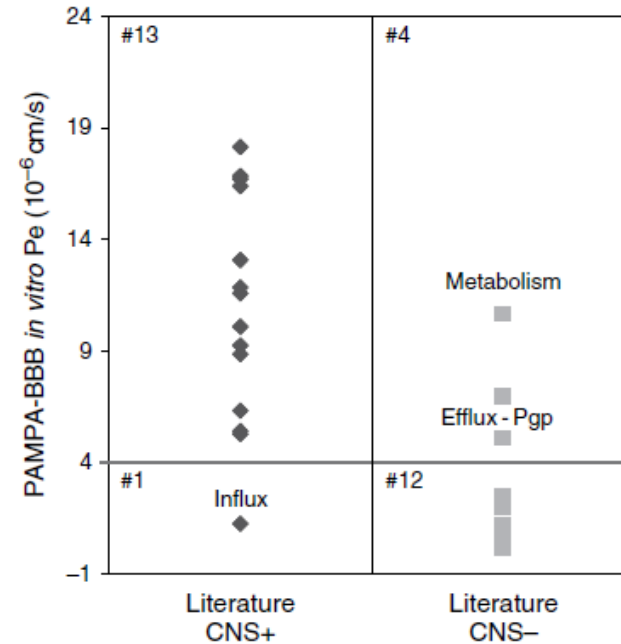
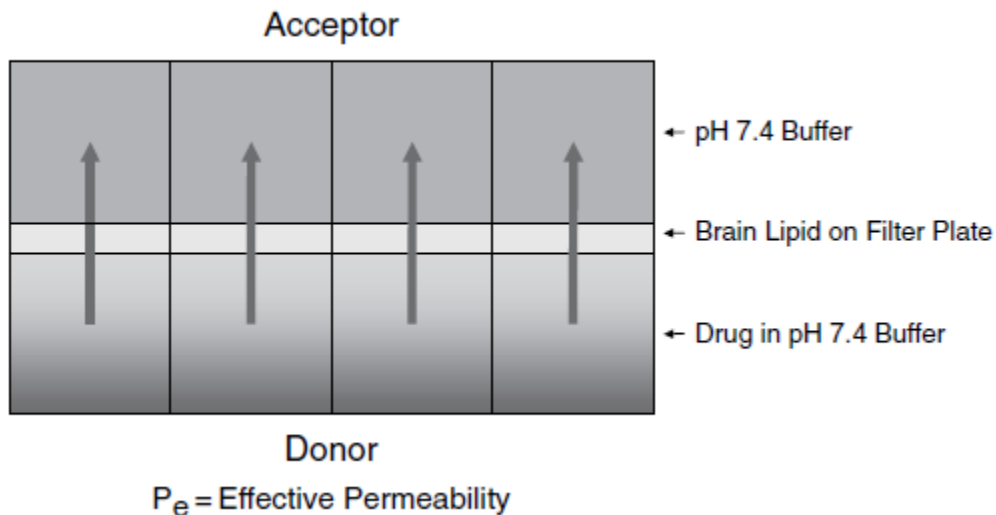


In Vitro Methods for BBB

Physicochemical Methods for BBB

PAMPA-BBB Method [BBB Permeability]

- Permeabilidad pasiva de BBB.
- Es un método rápido y de bajo costo
- PAMPA-BBB sigue el formato PAMPA pero utiliza lípidos cerebrales porcinos como membrana de permeabilidad artificial.



Application of PAMPA-BBB to 30 test compounds. (Reprinted with permission from [13].)

Cell-based In Vitro Methods [BBB Permeability]

Caco-2 fue desarrollado como un modelo de permeación para la absorción gastrointestinal. Algunas compañías han extendido su uso para detectar la permeabilidad de BBB.

Caco-2 incorpora membranas de bicapa lipídica, eflujo por Pgp y algunos otros transportadores.

Cell-based In Vitro Methods [BBB Permeability]

Caco-2 fue desarrollado como un modelo de permeación para la absorción gastrointestinal. Algunas compañías han extendido su uso para detectar la permeabilidad de BBB.

Caco-2 incorpora membranas de bicapa lipídica, eflujo por Pgp y algunos otros transportadores.

Las limitaciones de usar Caco-2 para la BBB es que **NO forma uniones estrechas como las células endoteliales del cerebro**, la mezcla lipídica de las células Caco-2 no es lo mismo que las células endoteliales BBB, por lo que puede mostrar diferentes características de difusión pasiva, y el perfil de sus transportadores (que transportadores y sus niveles de expresión) difieren de los de la BBB.



available at www.sciencedirect.com



www.elsevier.com/locate/brainres

**BRAIN
RESEARCH**

Research Report

Closing the gap between the in-vivo and in-vitro blood–brain barrier tightness

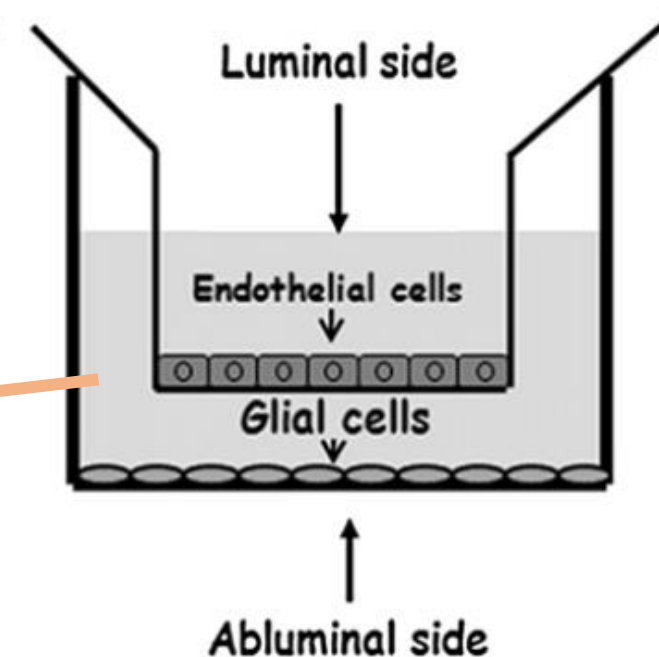
Katayun Cohen-Kashi Malina¹, Itzik Cooper¹, Vivian I. Teichberg*

Department of Neurobiology, The Weizmann Institute of Science, 76100 Rehovot, Israel



Células endoteliales capilares primarias del cerebro (BCEC) de porcinos

Non contact co-culture



Article
Sunitinib-Containing Carborane Pharmacophore with the Ability to Inhibit Tyrosine Kinases Receptors FLT3, KIT and PDGFR- β , Exhibits Powerful In Vivo Anti-Glioblastoma Activity





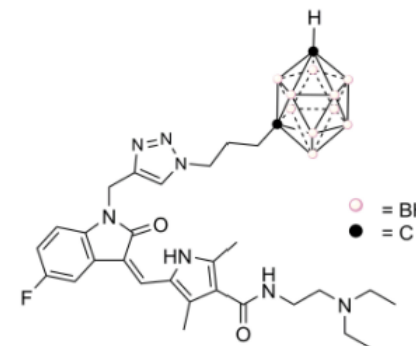
Catalina Alamón ^{1,†}, Belén Dávila ^{1,†}, María Fernanda García ², Carina Sánchez ¹, Mariángeles Kovacs ³, Emiliano Trias ³ , Luis Barbeito ³ , Martín Gabay ⁴, Nidal Zeineh ⁴, Moshe Gavish ⁴, Francesc Teixidor ⁵, Clara Viñas ^{5,*} , Marcos Couto ^{1,5,*} and Hugo Cerecetto ^{1,2,*} 

Table 4. Summary of Ames and BBB permeability tests for compound 1.



	Ames Test		BBB ¹	
	TA98	TA100	before BBB	after BBB
Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertants			
Positive control ²	295 \pm 11	704 \pm 6		[1] = 15 \pm 5 μM
0.45	12 \pm 1	67 \pm 3		[1] = 48 \pm 4 μM
0.15	9 \pm 1	56 \pm 3		
0.05	7.5 \pm 1.5	46.5 \pm 1.5		
0.016	6 \pm 1	37 \pm 6		
0.005	8 \pm 1	29.5 \pm 0.5		
0 ³	12 \pm 2	95.6 \pm 5.7		
Mutagenic	(-)	(-)		

¹ The concentration of compound 1 in the assay milieu before and after the BBB translocation was measured by HPLC. ² 4-Nitro-*o*-phenyldiamine (NPD). ³ Negative control: phosphate buffer and DMSO (10% *v/v*) (no effect on cell growth was observed by this mixture of solvents).

In Vivo Methods for BBB

B/P Ratio or Log BB [Brain Distribution]

La mayoría de las veces realizado por las industrias farmacéuticas

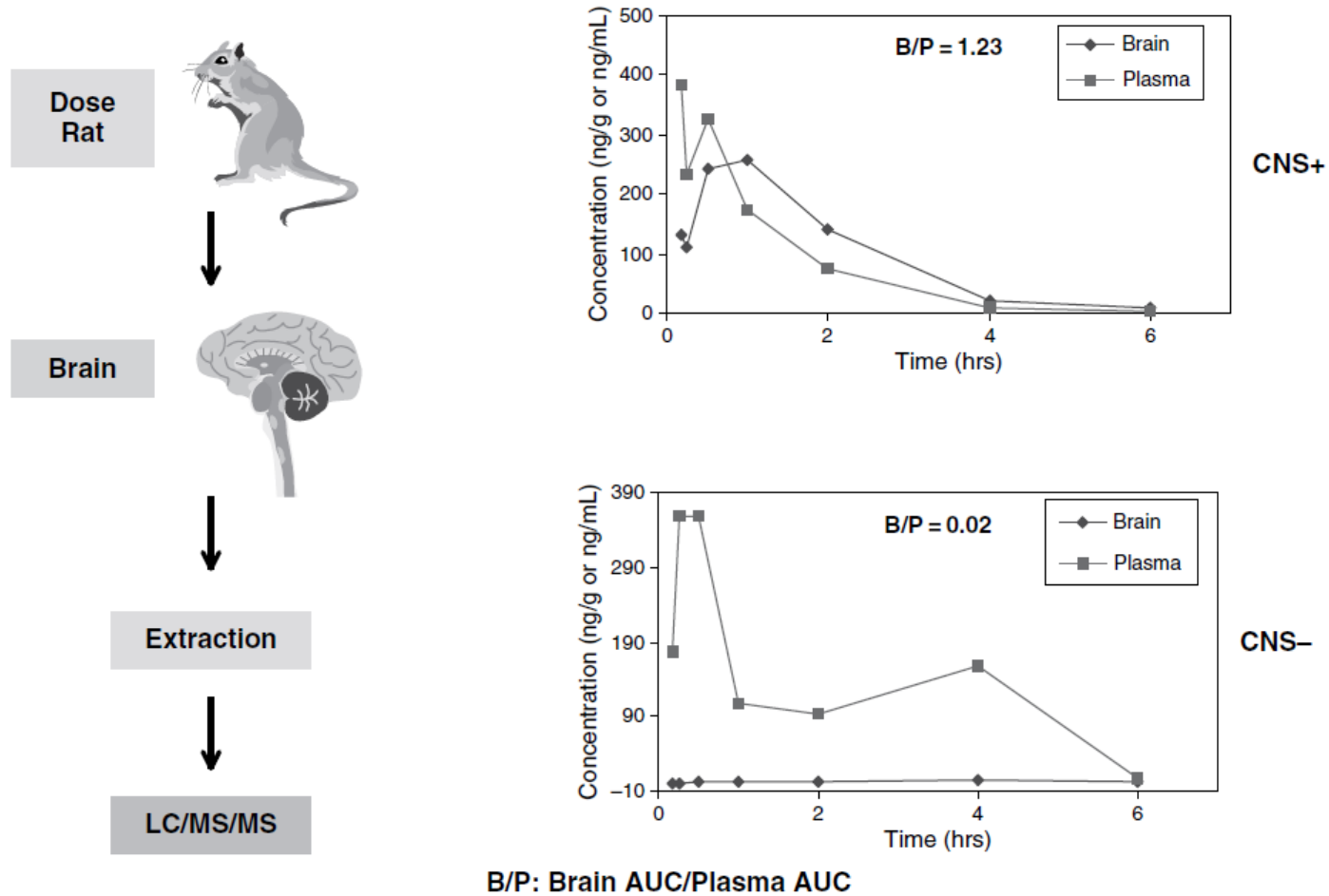


Figure 28.6 ► In vivo brain uptake experiment for B/P and Log BB determination.