

Estimació de la distribució sang-cervell de fàrmacs mitjançant tècniques cromatogràfiques

1. Sistemes cromatogràfics per a estimar propietats biològiques

Els fàrmacs dissenyats per actuar sobre el sistema nerviós central (CNS) han de ser transportats eficaçment a través de la **barrera hematoencefàlica**, una fina monocapa de cèl·lules endotelials que separen la sang del parènquima cerebral.

Les determinacions experimentals més fiables es duen a terme **in-vivo amb animals**, però acostumen a ser molt **costoses, llargues, complexes i èticament qüestionables**.

Els mètodes predictius basats en l'emulació de **sistemes biològics** a partir de **dades fisicoquímiques** permeten una primera estimació d'aquesta propietat de manera **econòmica i ràpida**, molt útil per a les etapes inicials del desenvolupament de fàrmacs.

Les **tècniques cromatogràfiques de biopartició** han anat en augment, particularment aquelles basades en **microemulsions (ME)**, ja que són fàcils de formular, estables i permeten una gran varietat de composicions que poden imitar les estructures biològiques [1].

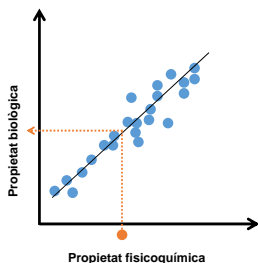


Fig 1. Representació esquemàtica de les correlacions entre propietats biològiques i els sistemes cromatogràfics que les emulen.

2. Caracterització de sistemes : el model d'Abraham

Permet caracteritzar sistemes biològics i fisicoquímics que impliquen el transport passiu de **soluts neutres** entre dues fases [2].

$$\log SP = c + eE + sS + aA + bB + vV \quad (1)$$

SP = propietat del solut (partició sang-cervell, factor de retenció)

E = contribució dels electrons no enllaçats

S = dipolaritat/polaritzabilitat del solut

A = acidesa per pont d'hidrogen del solut

B = basicitat per pont d'hidrogen del solut

V = volum de McGowan's

a, e, s, b i v = coeficients que caracteritzen el sistema

3. Metodologia de treball

Cerca bibliogràfica de dades biològiques contrastades i de qualitat ✓

Tècniques quimiomètriques (PCA i dendrogrames)

Cerca bibliogràfica de sistemes cromatogràfics de biopartició compatibles ✓

Establiment dels coeficients del sistema biològic, en cas de no disposar-ne, a partir de les dades sang-cervell ✓

Selecció de compostos representatius de la diversitat química esperable per a la caracterització de sistemes cromatogràfics ✓

Caracterització del sistema biològic utilitzant diferents paràmetres (log BB, log PS, log P₀^{BB}) ✓

Determinació dels coeficients de l'equació (1), mitjançant una regressió múltiple lineal entre el log k_{exp} i els descriptors d'Abraham (A, E, S, B i V) ✓

Selecció dels sistema de MELC òptim per emular la distribució hematoencefàlica ✓

4. Condicions experimentals

- HPLC amb detector UV de díodes alineats
- Columna Gemini C18 (150x4,6 mm, 5 µm)
- Temperatura: 37 °C
- Cabal: 1 mL min⁻¹
- Concentració dels soluts: 1 mg mL⁻¹ en ME
- Volum d'injecció: 10 µL
- Fase mòbil: ME

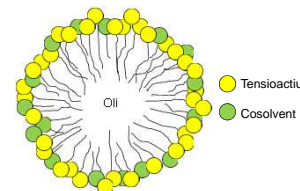


Fig 2. Representació esquemàtica d'una ME.

Constituents	Compost	ME 1	ME 2	ME 3
Tensioactiu	SDS (w/v)	3,3%	3,3%	3,3%
Cosolvent	1-Butanol (w/v)	6,6%	6,6%	6,6%
Oli	Heptà (w/v)	1,6%	0,8%	0%
Tampó aquós	NaH ₂ PO ₄ /Na ₂ HPO ₄	50 mM	50 mM	50 mM

5. Caracterització dels sistemes biològics i cromatogràfics estudiats

SISTEMES BIOLÒGICS

Sistemes biològics estudiats				
Paràmetre	Mesura	Experimental	Transport	Ionització
log BB [3]	Coefficient de partició cervell/plasma	Diversos	-	-
log P ₀ ^{BB} [4]	Permeabilitat cervell/sang intrínseca	Perfusió in situ al cervell de rosegadors	Passiu	Considerada
log PS [4]	Permeabilitat cervell/sang (mL g ⁻¹ s ⁻¹)			

• log P₀^{BB} i log PS representen dades de millor qualitat

• log P₀^{BB} es pot ajustar millor a un sistema cromatogràfic, basat en la partició de soluts entre dues fases

Caracterització dels sistemes biològics estudiats								
Sistema	a _u	e _u	s _u	b _u	v _u	n	R	SD
log BB	-0,436	0,308	-0,534	-0,401	0,519	148	0,843	0,367
log P ₀ ^{BB}	-0,163	0,079	-0,353	-0,558	0,728	141	0,833	0,643
log PS	-0,702	0,236	-0,128	-0,520	0,407	154	0,738	0,570

• Els sistemes biològics basats en la partició d'un solut entre dues fases (log BB i log P₀^{BB}) es poden caracteritzar correctament mitjançant el model d'Abraham

SISTEMES CROMATOGRÀFICS

Fase mòbil	a _u	e _u	s _u	b _u	v _u	n	R
ME 1	-0,163	-0,006	-0,241	-0,660	0,692	46	0,938
ME 2	-0,136	-0,006	-0,237	-0,652	0,708	45	0,952
ME 3	-0,096	-0,009	-0,203	-0,687	0,691	41	0,959

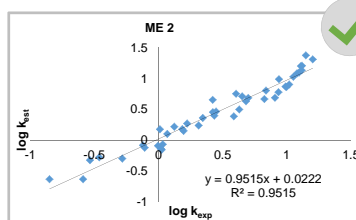


Fig 3. Representació gràfica de la caracterització del sistema ME 2, òptim per emular el sistema biològic de log P₀^{BB}

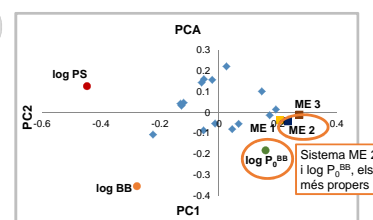


Fig 4. PCA dels sistemes escollits (ME 2 i log P₀^{BB}) juntament amb altres sistemes fisicoquímics i biològics

- Els coeficients dels sistemes cromatogràfics varien poc en l'interval de composicions estudiades
- El sistema cromatogràfic és semblant al sistema biològic log P₀^{BB}

6. Conclusions

- S'han caracteritzat sistemes biològics i cromatogràfics mitjançant el model d'Abraham.
- D'entre els tres sistemes MELC caracteritzats i dels biològics considerats es seleccionen el ME 2 i el log P₀^{BB} degut a la proximitat en el PCA.
- Queda pendent la validació interna com externa del model per assegurar la seva robustesa i fiabilitat a l'hora de predir valors de la propietat biològica.

7. Referències

- [1] J. Liu, J. Sun, Y. Wang, X. Liu, Y. Sun, H. Xu, Z. He, J. Chromatogr. A, 1164 (2007) 129-138.
- [2] M.H. Abraham, Chem. Soc. Rev., 22 (1993) 73-83.
- [3] J.A. Platts, M.H. Abraham, Y.H. Zhao, A. Hersey, L. Ijaz, D. Butina, Eur. J. Med. Chem. 36 (2001) 719-730.
- [4] A. Avdeef, Absorption and drug development: solubility, permeability, and charge state, N.J. Hoboken: John Wiley & Sons (2012), 2nd Edition.