

ADMET

Manuel Pastor e Ismael Zamora

manuel.pastor@upf.edu
Unitat de Recerca en Informàtica Biomèdica
Universitat Pompeu Fabra, Barcelona



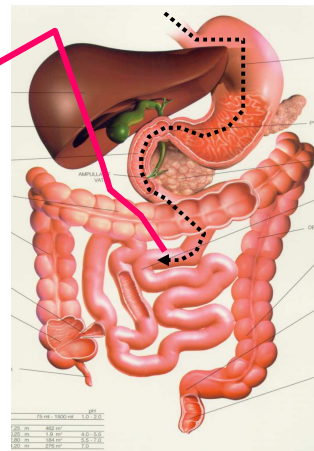
ADME(T)

Para que un fármaco ejerza su acción terapéutica debe poder alcanzar el sitio de unión de su diana farmacológica

Sitio de unión

El conjunto de procesos por los que pasa el fármaco desde que se administra hasta que llega a este sitio se suelen denominar procesos farmacocinéticos o ADME

Absorción, **D**istribución, **M**etabolismo y **E**xcrección



ADMET

La terminología ADMET también es muy frecuente. La T del final hace referencia a la Toxicidad

No es una terminología recomendable. Hay una gran diferencia entre ADME y T

ADME Lo que el organismo le hace al fármaco

T Lo que el fármaco le hace al organismo

Organización de este curso

Sesión 1

Introducción al ADME

Estudios farmacocinéticos experimentales en diseño de fármacos

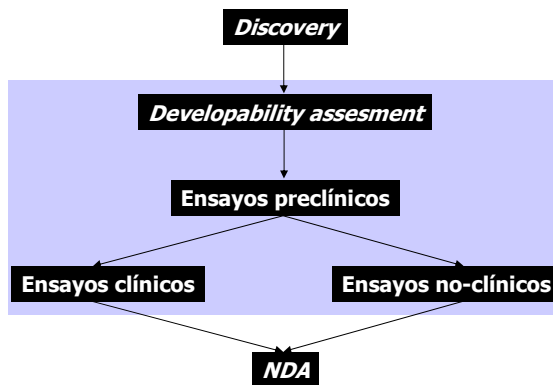
Sesión 2

Toxicidad en diseño de fármacos

Predicción computacional de propiedades farmacocinéticas y toxicológicas

Importancia del ADME (I) en desarrollo de fármacos

La evaluación de las propiedades farmacocinéticas y la seguridad de un fármaco forma parte integral del proceso de desarrollo de un nuevo candidato



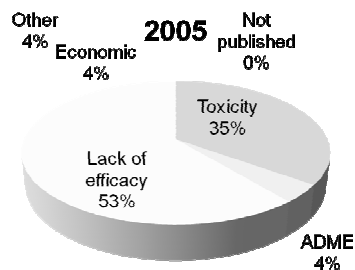
Estudios ADME

- Identificación de riesgos
- Priorización ensayos
- Selección candidatos
- Ensayos en animales
- Ensayos en humanos

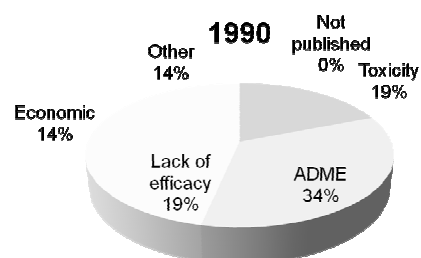
Manuel Pastor and Ismael Zamora. GRIB/CADD. Madrid. 2011

Importancia del ADME (II)

La mejora en el tratamiento de los problemas farmacocinéticos en las últimas décadas ha disminuido el número de fármacos retirados del proceso de desarrollo por este motivo



Schuster et al, Curr.Pharm. Des. 11, 3545-3559 (2005)



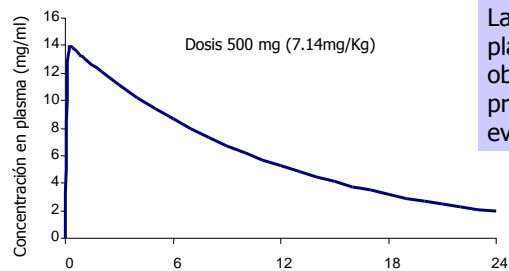
Prentis et al Br. J. Clin. Pharmacol., 25, 387-396 (1988)
Kennedy, Drug Discov. Today 2, 436-444 (1997)

Manuel Pastor and Ismael Zamora. GRIB/CADD. Madrid. 2011

Introducción | curvas de concentración plasmática

El objetivo de los estudios ADME es caracterizar la evolución de un (candidato a) fármaco en el organismo

Normalmente interesa conocer la concentración del compuesto en el sitio de unión. Esta concentración es muy difícil de determinar y puede asumirse que será parecida a la concentración en plasma

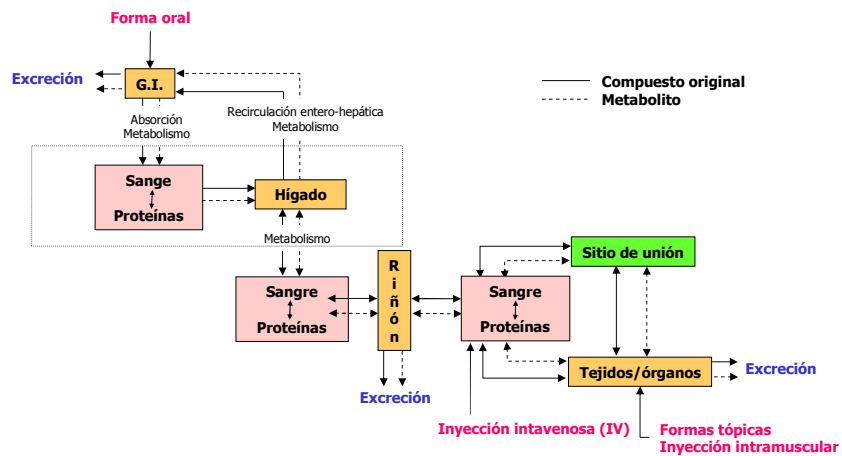


Las curvas de concentración plasmática frente a tiempo, obtenidas *in vivo*, nos dan una primera orientación de cómo evoluciona el compuesto

Manuel Pastor and Ismael Zamora. GRIB/CADD. Madrid. 2011

Introducción | esquema general

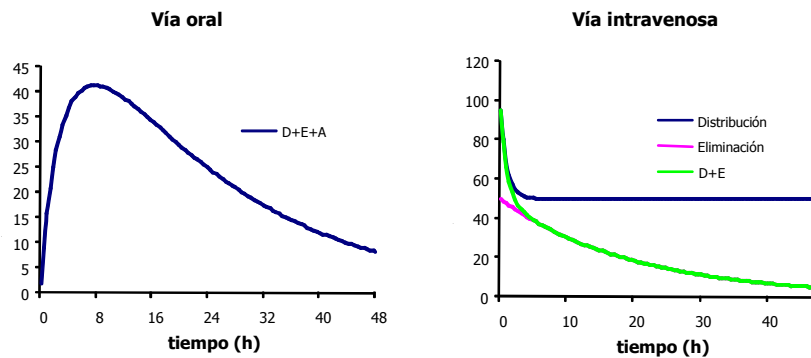
Las curvas de concentración plasmática reflejan el resultado de múltiples mecanismos que operan a la vez



Manuel Pastor and Ismael Zamora. GRIB/CADD. Madrid. 2011

Introducción | esquema general

Las curvas de concentración plasmática reflejan el resultado de múltiples mecanismos que operan a la vez



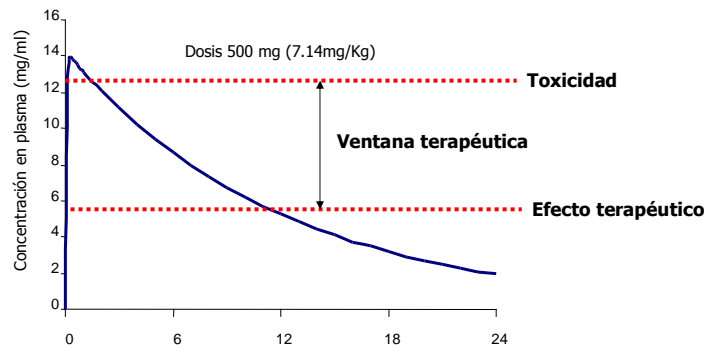
Manuel Pastor and Ismael Zamora. GRIB/CADD. Madrid. 2011

Introducción | ventana terapéutica

La acción terapéutica se obtiene solo cuando se alcanza cierta concentración plasmática (concentración efectiva)

A concentraciones altas comienza a aparecer efectos secundarios y toxicidad

La relación entre ambas define la "ventana terapéutica"

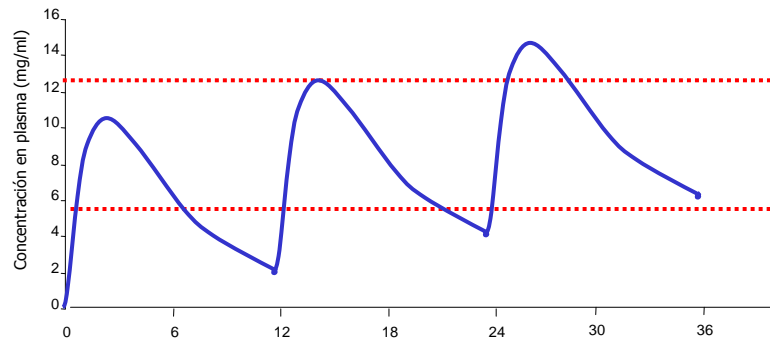


Manuel Pastor and Ismael Zamora. GRIB/CADD. Madrid. 2011

Introducción | ventana terapéutica

Idealmente, las propiedades farmacocinéticas del compuesto deben permitir mantener concentración terapéutica sin alcanzar concentraciones tóxicas

Cuidado con la variabilidad entre individuos o debida a múltiples factores



Manuel Pastor and Ismael Zamora. GRIB/CADD. Madrid. 2011

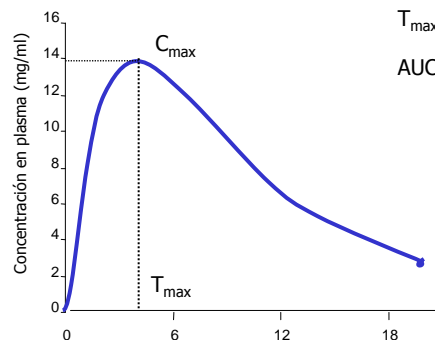
Conceptos básicos | C_{max} , T_{max} , AUC

Conviene caracterizar algunos parámetros que caracterizan esta curva

C_{max} : Máxima concentración en plasma

T_{max} : Tiempo que tarda en alcanzarse la C_{max}

AUC_{0-t} : Área bajo la curva desde el tiempo 0 al t



Manuel Pastor and Ismael Zamora. GRIB/CADD. Madrid. 2011

Conceptos básicos | aclaramiento

Aclaramiento (*Clearance*, CL): velocidad a la que un compuesto se elimina del cuerpo (cuanto más alta, más rápido se elimina). Se calcula como:

$$CL = \frac{\text{Dosis}}{AUC_{0-\infty}}$$

Cada órgano excretor (hígado, riñón) tiene su propio aclaramiento

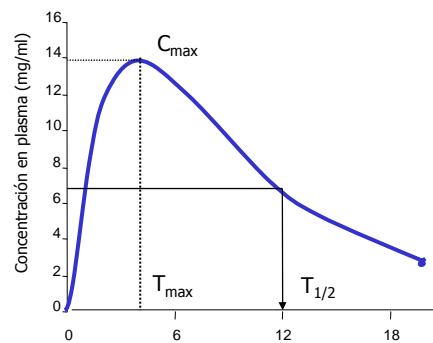
$$CL = CL_{\text{riñón}} + CL_{\text{hígado}}$$

El aclaramiento no es una constante, depende de:

- Peso corporal y peso del hígado
- Flujo sanguíneo del hígado y riñón
- Unión del compuesto a proteínas plasmáticas
- Metabolismo
- Transportadores
- Etc.

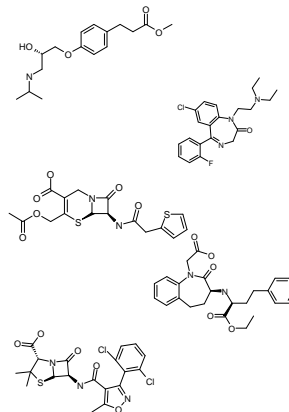
Conceptos básicos | semivida

Semivida (*half-life*, $T_{1/2}$): Tiempo que tarda el compuesto en alcanzar la mitad de la concentración máxima



Conceptos básicos | ejemplos (I)

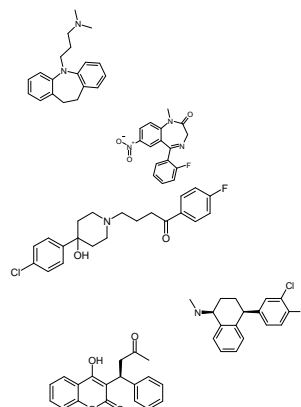
	Aclaramiento	Semivida (h)
Esmolol (S)	170,00	0,13
Flurazepam	9,00	0,20
Cephalothin	6,70	0,57
Benazepril	12,90	0,70
Dicloxacilin	1,60	0,70



Manuel Pastor and Ismael Zamora. GRIB/CADD. Madrid. 2011

Conceptos básicos | ejemplos (II)

	Aclaramiento	Semivida (h)
Imipramine	15,00	12,00
Flunitrazepam	3,50	15,00
Haloperidol	11,80	18,00
Sertraline	38,00	23,00
Warfarin (S)	0,06	32,00



Manuel Pastor and Ismael Zamora. GRIB/CADD. Madrid. 2011

Conceptos básicos | biodisponibilidad

Biodisponibilidad (*Bioavailability*, F): Porcentaje de la dosis del compuesto que alcanza el sitio de acción. Se calcula dividiendo las AUC obtenidas mediante administración oral e intravenosa:

$$F = \frac{AUC_{0-\infty(po)}}{AUC_{0-\infty(IV)}} \cdot 100$$

Utilidad de curvas de concentración plasmática

El estudio de las curvas de concentración plasmática *in vivo* permiten

- Diagnosticar el comportamiento general del candidato, detectando características no deseables (biodisponibilidad baja, acumulación en el organismo, semivida muy corta)
- Ajuste de dosis para pruebas in vivo
- Cinética de los procesos

Otras pruebas en ADME

Las propiedades ADME pueden usarse usando otro tipo de pruebas

- En fases tempranas, puede que no se disponga del compuesto en cantidades suficientes para hacer estudios in vivo
- El coste/tiempo de las pruebas no es adecuado para probar muchos compuestos
- El objetivo puede ser estudiar en detenimiento uno de los pasos

Las propiedades ADME pueden usarse usando otro tipo de pruebas

- Métodos in vitro
- Métodos computacionales (*in silico*)

Absorción | BCS

Hoy en día la mayoría de fármacos se administran por vía oral

Su **biodisponibilidad** depende de su solubilidad y de cómo pasen a través de las células del intestino delgado

La FDA ha propuesto un sistema de clasificación dependiendo de estas dos propiedades

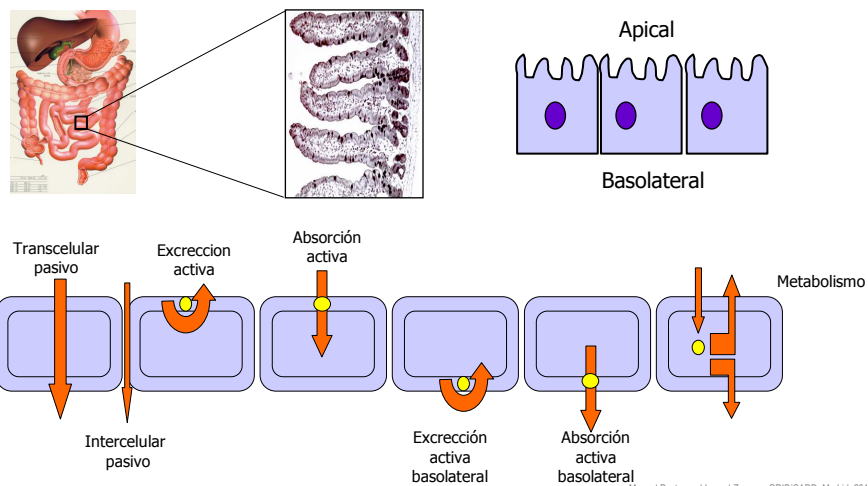
Biopharmaceutics classification system

II. Permeables Poco Solubles	I. Permeables Solubles
III. Poco permeables Poco solubles	IV. Poco permeables Solubles

Los compuestos muy permeables en el sistema GI y muy solubles no tendrán problemas de biodisponibilidad y pueden obtener un "In Vivo Bioavailability Waiver"

Absorción | membrana intestinal

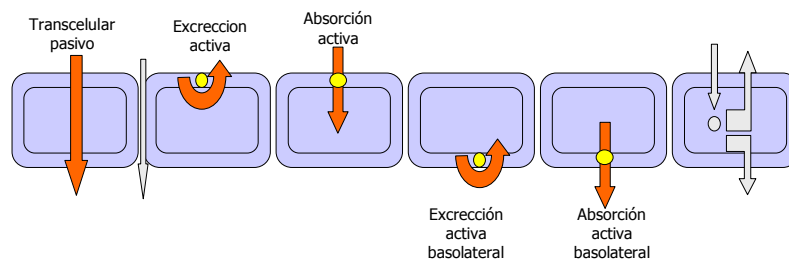
La absorción de un fármaco a través de la mucosa del intestino delgado es un proceso complejo, en el que intervienen diversos procesos



Absorción | ensayos

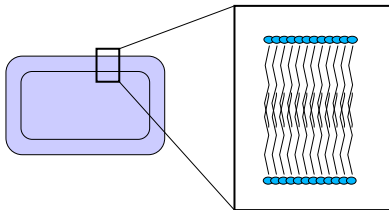
Hay diversos ensayos *in vitro* que pueden orientar sobre algunos de los componentes de este proceso

- Permeabilidad transcelular pasiva:
 - PAMPA
 - Caco2
- Transporte activo:
 - Transporte asimétrico Caco2
 - Células transfectadas con transportadores (eg. MDCK)

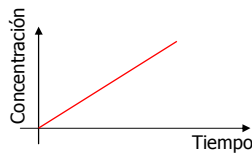
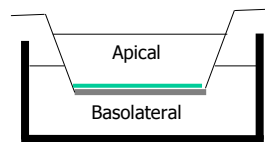


Absorción | PAMPA

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



En el ensayo PAMPA (Parallel Artificial Membrane Permeation Assay), se usa una membrana para simular el comportamiento de la membrana celular



Permeabilidad aparente

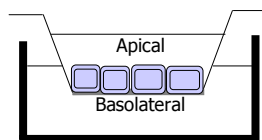
$$P_{app} = \frac{\Delta Q}{\Delta t} \times \frac{1}{A \times C_0}$$

Hidalgo IJ. Assessing the absorption of new pharmaceuticals. *Curr Top Med Chem.* **2001**;1(5):385-401

Manuel Pastor and Ismael Zamora. GRIB/CADD. Madrid. 2011

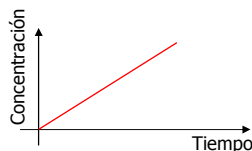
Absorción | Caco2

En el ensayo de Caco2 se utiliza una capa de células inmortales (obtenidas de un adenocarcinoma del epitelio colorectal)



Pros: mucho más representativa fisiológicamente (tienen transportadores, metabolismo, etc.)

Cons: muy heterogéneas, los resultados no son reproducibles.



Permeabilidad aparente

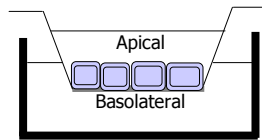
$$P_{app} = \frac{\Delta Q}{\Delta t} \times \frac{1}{A \times C_0}$$

Sun D, Yu LX, Hussain MA, Wall DA, Smith RL, Amidon GL. In vitro testing of drug absorption for drug 'developability' assessment: forming an interface between in vitro preclinical data and clinical outcome. *Curr Opin Drug Discov Devel.* **2004**;7(1):75-85.

Manuel Pastor and Ismael Zamora. GRIB/CADD. Madrid. 2011

Absorción | Caco2

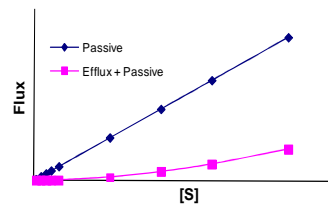
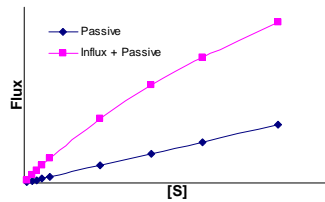
La prueba de Caco2 puede utilizarse para detectar cuando el transporte activo ejerce un efecto significativo



El transporte no es igual en ambas direcciones

$$\text{EffluxRatio} = \frac{P_{\text{app}}(a \rightarrow b)}{P_{\text{app}}(b \rightarrow a)}$$

Hay una dependencia con la concentración



Manuel Pastor and Ismael Zamora, GRIB/CADD, Madrid, 2011

Absorción | Caco2

Las células Caco2 expresan un gran número de transportadores que pueden afectar la permeabilidad

La expresión depende de los parámetros de incubación, resultados NO reproducibles

Los resultados obtenidos con diversos protocolos experimentales no son homogéneos: se usan compuestos patrón y curvas de calibración.

Otros problemas

- Ausencia de moco
 - No hay heterogeneidad celular
 - Expresión variable de transportadores y enzimas
 - No contienen citocromos
 - Problemas de adsorción al plástico
- etc.

Manuel Pastor and Ismael Zamora, GRIB/CADD, Madrid, 2011

Distribución

Una vez el compuesto es absorbido en el tracto GI llega a la sangre

El compuesto, disuelto en el plasma, puede unirse a las **proteínas plasmáticas**

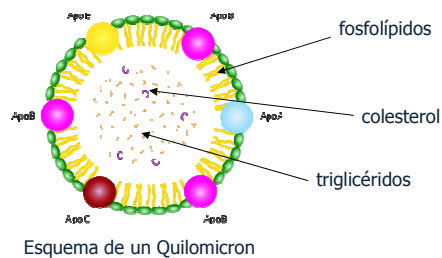
Si la fracción de fármaco unido no es muy alta (<90%) y las cinéticas de unión y disociación son normales, suele haber bastante fármaco para llegar al sitio de unión

Cuando la fracción de compuesto unido a proteínas es muy elevada (>90%), es necesario hacer estudios específicos

Distribución | unión a proteínas

Proteínas más relevantes

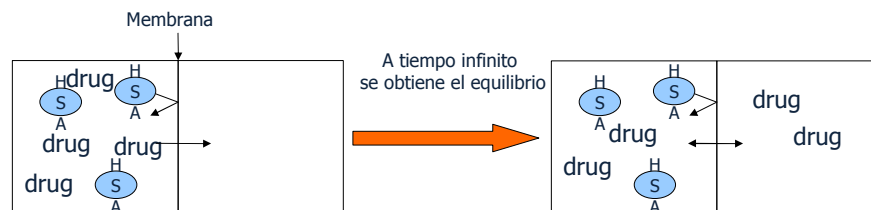
- Albumina: proteína de unos 65kDa, con dos sitios de unión: sitio I y sitio II
 α 1-acid glycoprotein: 40 kDa proteína que une fármacos neutros y básicos
- Lipoproteins: no son proteínas sino agregados macromoleculares que transportan lípidos en sangre y contienen fosfolípidos, triglicéridos, proteínas varias (ApoA, ApoB, ApoC and ApoE) y colesterol



Distribución | ensayos de unión a proteínas

Los ensayos de unión a proteínas pueden realizarse utilizando membranas de diálisis (que no permiten paso de las proteínas) en sistemas estáticos o en centrífugas

Se usan soluciones HSA (*human serum albumin*)



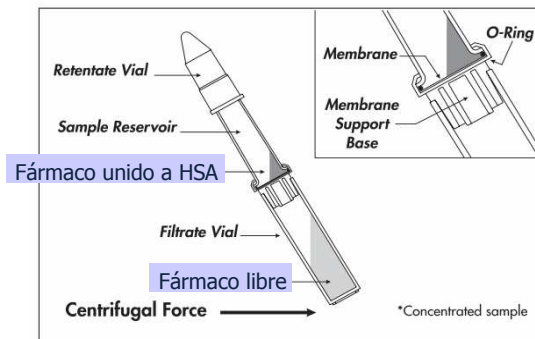
Pueden ser utilizados para pruebas in vitro o "ex vivo"

Manuel Pastor and Ismael Zamora. GRIB/CADD. Madrid. 2011

Distribución | ensayos de unión a proteínas

Los ensayos de unión a proteínas pueden realizarse utilizando membranas de diálisis (que no permiten paso de las proteínas) en sistemas estáticos o en centrífugas

Se usan soluciones HSA (*human serum albumin*)

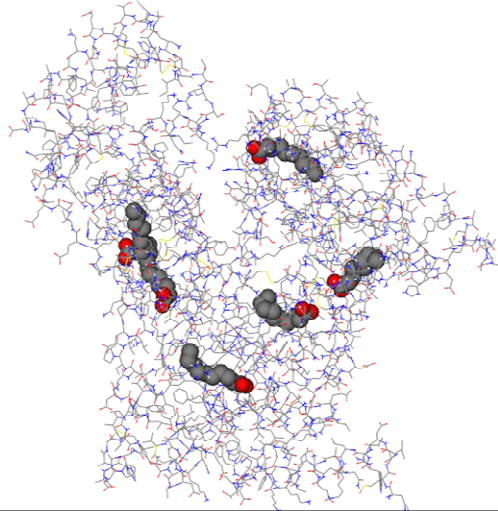


Pueden ser utilizados para pruebas in vitro o "ex vivo"

Manuel Pastor and Ismael Zamora. GRIB/CADD. Madrid. 2011

Distribución | predicción *in silico*

La afinidad de los fármacos por las proteínas plasmáticas también puede predecirse con más o menos fortuna usando métodos *in silico* de modelado molecular

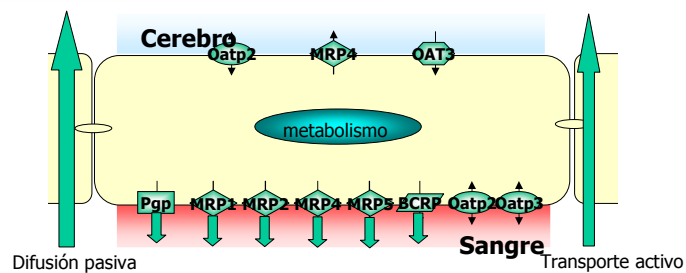
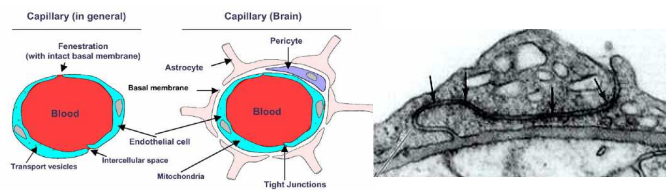


Estructura de albúmina humana co-cristalizada con naproxeno

Manuel Pastor and Ismael Zamora. GRIB/CADD. Madrid. 2011

Distribución | paso de la barrera hemato-encefálica

Cuando la diana farmacológica se encuentra en el SNC, el fármaco debe penetrar la barrera hematoencefálica (BBB), lo que hace necesario ensayos específicos



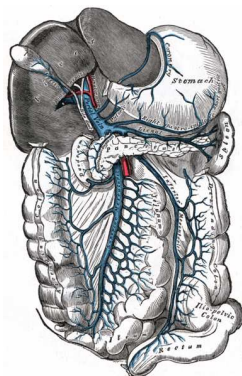
Adaptado de Gabriele Cruciani

Manuel Pastor and Ismael Zamora. GRIB/CADD. Madrid. 2011

Metabolismo

La mayor parte del metabolismo se lleva a cabo en el **hígado**:

- Es el órgano encargado de detoxificación, con gran contenido enzimático
- La circulación portal lleva los fármacos desde el intestino delgado directamente al hígado



Pueden distinguirse dos fases:

- Fase I. Introducción o exposición de un grupo funcional
- Fase II. Formación de un complejo con un fragmento polar

Manuel Pastor and Ismael Zamora. GRIB/CADD. Madrid. 2011

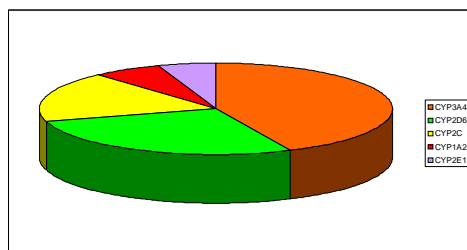
Metabolismo | fase I

Consiste en la introducción o exposición de un grupo funcional en el compuesto

Las reacciones pueden ser de: N-Dealquilación, O-Dealquilación, Hidroxilación, N-Oxidación, S-Oxidación, Deaminación, Hidrólisis.

Las principales enzimas encargadas involucradas son los **citocromos p450 (CYP)**

Existen diversos subtipos de CYP con preferencia por ciertos tipos de compuestos



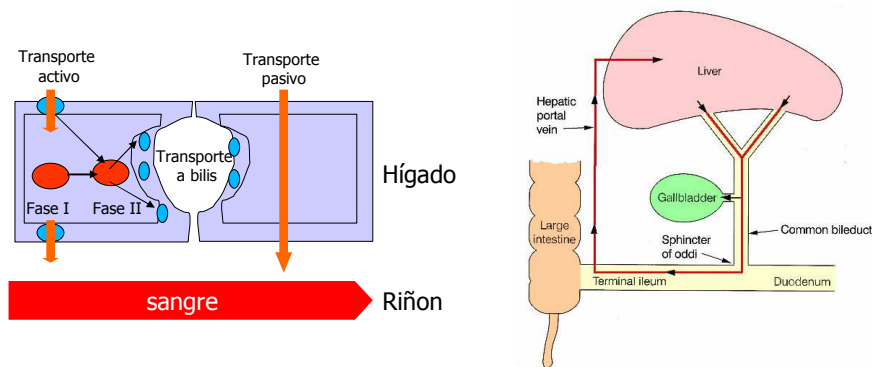
Número de reacciones en *Isis Base Reaction database*

Manuel Pastor and Ismael Zamora. GRIB/CADD. Madrid. 2011

Metabolismo | fase II

Se forma un enlace covalente con un ácido glucurónico, sulfato, glutatión, aminoácidos o acetato

El resultado es un compuesto más hidrosoluble, que es fácilmente excretable por vía renal. Parte pasa a la bilis y puede ser reabsorbido en el intestino (recirculación entero-hepática)



Manuel Pastor and Ismael Zamora. GRIB/CADD. Madrid. 2011

Metabolismo | relevancia en desarrollo de fármacos

Los aspectos relacionados con el metabolismo tienen una gran importancia

- El metabolismo produce derivados que pueden ser o no activos, condicionando la cantidad de compuesto en sangre y su evolución en el tiempo
- Los metabolitos pueden ser tóxicos y deben ser identificados
- Los compuestos pueden bloquear las enzimas, produciendo un tipo de toxicidad
- Cuando el metabolismo se produce principalmente por enzimas con gran polimorfismo, la biodisponibilidad en la población puede ser heterogénea

Manuel Pastor and Ismael Zamora. GRIB/CADD. Madrid. 2011

Metabolismo | tipos de ensayos

Los ensayos relacionados con el metabolismo persiguen distintos objetivos

- Identificar los metabolitos
- Identificar las principales enzimas implicadas

Tipos de experimentos:

- Aclaramiento *in-vivo*, semivida
- Secciones de hígado
- Hepatocitos (cultivos primarios, inmortalizados)
- Microsomas (de hígado humano, de rata)
- Citocromos recombinantes

Estudios con citocromos P450 (CYP):

- Inhibición: IC_{50} y tipo (competitiva, irreversible, etc.)
- Velocidad del metabolismo: V_{max}/K_m , semivida
- Sitio de metabolismo