

Методы прогнозирования кишечной проницаемости лекарственных веществ с применением компьютерного моделирования

И.Е. Шохин, Г.В. Раменская

Первый московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова, Москва

Контактная информация: ramenskaia@mail.ru Галина Владиславовна Раменская

Статья посвящена основным подходам, применяемым для оценки кишечной проницаемости лекарственных веществ с использованием компьютерного моделирования (методов *in silico*). Приведена взаимосвязь некоторых физико-химических параметров субстанций ($\log P$, $C \log P$, $\log D$) и коэффициента кишечной проницаемости, а также достоверность данной корреляции. Описаны основные компьютерные программы, применяемые для прогнозирования проницаемости, и модели, лежащие в основе их функционирования.

Ключевые слова: абсорбция, проницаемость, коэффициент распределения, методы *in silico*.

Важной задачей современной биомедицины и биофармации является понимание процесса доставки лекарственного вещества (ЛВ) до органов и клеток-мишеней при внутреннем применении.

Проницаемость ЛВ можно достоверно определить в исследованиях *in vivo* на здоровых добровольцах: например, определением абсолютной биодоступности (относительно внутривенного введения), анализом массового баланса, исследованиями методом кишечной перфузии [2-4]. Подобные данные являются наиболее точными, однако также трудоемкими и дорогостоящими, а также вовлекают в испытание здоровых добровольцев, что вызывает дополнительные этические сложности. Например, значение коэффициента кишечной проницаемости на здоровых добровольцах к настоящему моменту было определено лишь для 29 субстанций [5]. В связи с этим получение данных *in vivo* не может быть приемлемо для рутинного анализа или для скри-

ниговых целей при поиске новых лекарственных средств.

Поэтому перед исследователями в последние 15 лет стояла задача разработать косвенный метод оценки кишечной проницаемости. Среди моделей, позволяющих оценить проницаемость ЛВ без вовлечения здоровых добровольцев, можно выделить 3 основные группы: исследования *in situ* (например, на тонком кишечнике крыс) [6], исследования *in vitro* (например, на монослое клеток Caco-2) [7], а также исследования *in silico*, то есть путем компьютерного моделирования [5, 8, 9].

Взаимосвязь структуры и физико-химических свойств молекулы с проницаемостью

Двумя основными свойствами ЛВ, влияющими на его кишечную проницаемость, являются его растворимость в водных средах и его липофильность. Для того чтобы субстанция абсорбировалась

через стенку кишечника, она, с одной стороны, должна быть достаточно растворимой в средах ЖКТ, чтобы достигнуть слизистой оболочки, с другой стороны — достаточно липофильной, чтобы проникнуть через липидный бислой мембран энтероцитов путем пассивной диффузии. На данные параметры влияют, в первую очередь, ионизация вещества, его кислотно-основные свойства, молекулярная масса, водородные связи, распределение заряда и т.д. [10]. Общепринятым термином, характеризующим связь между структурой вещества, и каким-либо его свойством (в том числе и биологическим), является *QSAR* — *quantitative structure-activity relationship* (синоним *QSPR* — *quantitative structure-property relationship*) [11]. Среди многочисленных подходов оценки такой взаимосвязи между структурой вещества с его биодоступностью наибольшее распространение нашло «правило пяти», разработанное Lipinski. Данное правило утверждает, что оптимальной биодоступностью обладают субстанции, которые:

1. имеют молекулярную массу менее 500;
2. имеют значение коэффициента распределения октанол-вода ($\log P$) менее или равное 5;
3. количество доноров протонов (групп -NH и -OH) менее 5;
4. количество акцепторов протонов (атомов N- и O-) менее 10.

Если два или более из этих требований не будут соблюдены, существует высокий риск низкой биодоступности соединения [12].

Взаимосвязь проницаемости и липофильности молекул

Физико-химическим свойством моле-

кулы, вносящим наибольший вклад в ее проницаемость, является липофильность. Мерой липофильности является коэффициент распределения октанол-вода ($\log P$) — логарифм отношения концентраций неионизированной субстанции в системе двух несмешивающихся жидкостей — *n*-октанол и вода [11]. Для ионизируемых молекул липофильность более достоверно характеризуется коэффициентом $\log D$, который учитывает как неионизированную, так и ионизированную долю вещества в водной фазе. Коэффициент распределения, определенный экспериментально, имеет высокую степень корреляции, между таковым, определенным путем компьютерного моделирования с использованием методов QSAR. Коэффициент распределения, рассчитанный при помощи программы BioLoom (компания Biobyte, США), называется *C log PTM* (calculated $\log P$) и является «золотым стандартом» для прогнозирования липофильности *in silico* [13]. В настоящее время существует ряд программ, достоверно определяющих данный параметр на основании структуры молекулы [5].

Kasim с соавторами на основании предположения о ключевой роли липофильности в процессе всасывания ЛВ, оценили взаимосвязь между коэффициентами распределения $\log D$, $\log P$ (рассчитанные с помощью программы ChemDraw Ultra 6.0) и *C log P* (BioLoom 5.0) и коэффициентом проницаемости *Pe_{eff} in vivo*, полученным на здоровых добровольцах, для 29 ЛВ. В качестве стандартного вещества использовали метопролол — вещество с биодоступностью более 95 % ($\log P = 1,72$; *Pe_{eff} in vivo* = $1,34 \times 10^{-4}$ см/с) [5]. Среди исследуемых ЛВ было 14 субстанций, входящих в модельный перечень референтных веществ FDA [2] для оценки проницаемости косвенными методами.

По результатам проведенного исследования по показателю $\log P$ для 18 из 26 ЛВ была получена корректная классификация относительно метопролола (69 %); для референтных субстанций из модельного перечня FDA совпали данные 11 из 12 ЛВ (92 %). Для показателя $\log P$ данные *in vivo* и *in silico* качественно совпали для 18 из 28 субстанций (64 %), при этом для перечня FDA проницаемость была корректно классифи-

цирована для 11 из 13 ЛВ (85 %). Дополнительно, для коэффициента $\log D$ была получена правильная классификация для 13 из 15 исследуемых веществ (87 %) [5].

Для перечня FDA в целом правильная классификация проницаемости была получена для 14 из 20 субстанций (70 %) (табл. 1). Критерием «высокой» проницаемости было значение биодоступности 90 % и более.

Таблица 1

Корреляция между кишечной проницаемостью и коэффициентом распределения октанол-вода для модельного перечня референтных субстанций FDA

ЛВ	Проницаемость ¹	$\log P^2$
антипирин	высокая	низкий (л/о)
кофеин	высокая	низкий (л/о)
карбамазепин	высокая	высокий
флувастатин	высокая	высокий
кетопрофен	высокая	высокий
метопролол	высокая	высокий
напроксен	высокая	высокий
пропранолол	высокая	высокий
теофиллин	высокая	низкий (л/о)
верапамил	высокая	высокий
амоксциллин	низкая	низкий
атенолол	низкая	низкий
фуросемид	низкая	высокий (л/п)
гидрохлортиазид	низкая	низкий
маннитол	низкая	низкий
α -метилдофа	низкая	низкий
ПЭГ-400	низкая	низкий
ПЭГ-1000	низкая	низкий
ПЭГ-4000	низкая	низкий
ранитидин	низкая	низкий

данные таблицы приведены по [14]

1 — согласно руководству FDA [2]

2 — относительно метопролола ($\log P= 1,72$)

л/о — ложноотрицательный результат

л/п — ложноположительный результат

Недостатком модели всасывания, основанной на липофильности, является то, что она не учитывает механизмы всасывания ЛВ, которые отличаются от простой диффузии (активный транспорт с участием переносчиков). Среди исследуемых субстанций, которые были некорректно классифицированы на основании коэффициента распределения, 7 абсорбировались путем активного транспорта (ложноотрицательные результаты) и 2 являлись субстратами эфлюкс-транспортеров (ложноположительные результаты). Таким образом, из всего перечня исследуемых ЛВ 20 из 29 абсорбировались путем простой диффузии, при этом для 19 из них проницаемость, определенная *in silico*, качественно совпала с таковой, определенной *in vivo*, то есть достоверность описанного метода для подобных ЛВ составила 95 % [14].

Принципы работы компьютерных программ компьютерного моделирования абсорбции

Наиболее известными коммерчески доступными компьютерными программами для прогнозирования абсорбции, распределения, метаболизма и выведения ЛС являются GastroPlus™ (компания SimulationsPlus, США) и iDEA™ (компания Lion Biosciences, Германия) [15].

Принцип работы программы GastroPlus™ основан на оценке биодоступности ЛВ в ЖКТ исходя из его растворимости и коэффициента кишечной проницаемости. Первичными входными данными для программы является структурная формула молекулы. На основании структуры первый модуль программы рассчитывает его растворимость, ко-

эффициент распределения октанол-вода и другие физико-химические свойства. На основании растворимости и $\log P$ рассчитывается коэффициент проницаемости, что возможно благодаря значительному количеству данных по корреляции проницаемости с липофильностью, имеющемуся в программе [15]. Далее GastroPlus™ определяет проницаемость ЛВ при помощи модели ACAT (Advanced Compartmental Absorption and Transit), согласно которой кишечник подразделяется на 7 частей, каждой из которых соответствует определенный pH, среднее время нахождения ЛВ в данной части и объем среды растворения [16]. Кроме того, данная программа позволяет описать всю фармакокинетику, метаболизм, прохождение через ГЭБ, токсичность, лекарственное взаимодействие и ряд других свойств [17].

Базовые принципы программы iDEA™ не отличаются существенно от таковых у программы GastroPlus™ — она моделирует поведение потока жидкости с ЛВ в тонком кишечнике, который также подразделяется на несколько фрагментов. Для каждого из фрагментов рассчитывается доля всосавшегося ЛВ на основании его растворимости, проницаемости и площади поверхности кишечника. Для достоверной оценки биодоступности iDEA™ учитывает возможный эффект первичного прохождения через печень [15].

В целом, обе программы обеспечивают достоверность данных порядка 68%-79% (при качественной оценке биодоступности). GastroPlus™ является более многофункциональной программой, что требует высокого уровня квалификации персонала при работе с ней, в то время как iDEA™ является более простой и

удобной в обращении, однако не позволяет реализовать многие возможности, доступные в GastroPlus™ [15].

Очевидно, что методы компьютерного моделирования являются наиболее простыми при оценке кишечной проницаемости, однако поскольку они не учитывают ряда реальных физиологических факторов (например, роль белков-переносчиков, наличие слизи в ЖКТ, моторики и др.), методы *in silico* рекомендуется использовать для первичного прогнозирования и скрининговых целей при изучении абсорбции ЛВ.

Список литературы

1. **Amidon G.L., Lennerlas H., Shah V.P., Crison J.R.** A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: The correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability // *Pharmaceutical Research*. — 1995. — № 12. — p. 413–420.
2. Guidance for industry: Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a Biopharmaceutics Classification System. U.S., Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration (HHS-FDA), Center for Drug Evaluation and Research (CDER). — 2000.
3. Proposal to waive in vivo bioequivalence requirements for WHO Model List of Essential Medicines immediate-release, solid oral dosage forms. Technical Report Series, No 937, 40th Report, Annex 8 of WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. World Health Organization (WHO). — 2006.
4. Guidance on the Investigation of Bioequivalence. European Medicines Agency (EMA). Committee for Medicinal Products of Human Use (CHMP). — 2010.
5. **Kasim N.A., Whitehouse M., Ramachandran C., Bermejo M., Lennernäs H., Hussain A.S., Junginger H.E., Stavchansky S.A., Midha K.K., Shah V.P., Amidon G.L.** Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification // *Molecular Pharmaceutics*. — 2004. — Vol. 1. — № 1. — p. 85–96.
6. **Kim J.-S., Mitchell S., Kijek P., Tsume Y., Hilfinger J., Amidon G.L.** The suitability of an in situ perfusion model for permeability determinations: utility for BCS Class I biowaiver requests // *Molecular Pharmaceutics*. — 2006. — Vol. 3. — № 6. — p. 686–694.
7. **Yee S.** In vitro permeability across Caco-2 cells (colonic) can predict in vivo (small intestinal) absorption in man — Fact or myth // *Pharmaceutical Research*. — 1997. — Vol. 14. — № 6. — p. 763–766.
8. **Dahan A., Miller J.M., Amidon G.L.** Prediction of Solubility and Permeability Class Membership: Provisional BCS Classification of the World's Top Oral Drugs // *AAPS J.* — 2009. — Vol. 11. — № 6. — p. 740–746.
9. **Takagi T., Ramachandran C., Bermejo M., Yamashita S., Yu L.X., Amidon G.L.** Provisional biopharmaceutical classification of the top 200 oral drug products in the United States, Great Britain, Spain, and Japan // *Molecular Pharmaceutics*. — 2006. — Vol. 3. — № 6. — p. 631–643.
10. **Головенко Н.Я., Борсюк Ю.И.** Биофармацевтическая классификационная система — экспериментальная модель прогнозирования биодоступности лекарственных средств // *Биомедицинская химия*. — 2008. — Т. 54. — №. 4. — с. 392–407.

11. *Hansch C., Leo A., Meikapatia S.B., Kurup A.* QSAR and ADME // Bioorganic & Medicinal Chemistry. –2004. — № 12. — p. 3391–3400.
12. *Кубиньш Г.* В поисках новых соединений-лидеров для создания лекарств // Российский Химический Журнал. — 2006. — Т. 50. — № 2. — с. 5-17.
13. <http://www.biobyte.com/index.html>. Проверено 22.03.2011.
14. *Benet L., Amidon G.L., Barends D., Lennernäs H., Polli J.E., Shah V.P., Stavchansky S., Yu L. X.* Application of BDDCS to Predict Drug Disposition // Pharmaceutical Research. — 2008. — Vol. 52. — № 3. — p. 483–488.
15. *Boobisa A., Gundert-Remyb U., Kremersc P., Macherasd P., Pelkonen O.* In silico prediction of ADME and pharmacokinetics. Report of an expert meeting organised by COSTB15// European Journal of Pharmaceutical Sciences. — 2002. — Vol. 17. — p. 183–193.
16. *Johansson R., Paterson R.* Physiologically based in silico models for the prediction of oral drug absorption. In: Drug absorption studies. In situ, in vitro and in silico models. AAPS Press, NY, USA. — 2008. — P. 486-510.
17. <http://www.simulations-plus.com/Products.aspx?grpID=3&cID=16&pID=11>. Проверено 22.03.2011.

Methods of forecasting of the intestinal permeability of medicinal substances with the use of computer simulation

I.E. Shohin, G.V. Ramenskaya

Paper of Shohin I.E. and Ramenskaya G.V. is devoted to general approaches for evaluation of intestinal permeability of drugs using computer modeling (in silico methods). Relationship of several physical-chemical properties of drug substances ($\log P$, $C \log P$, $\log D$) and permeability coefficient, and reliability of this correlation. Main software programs using for intestinal permeability modeling and principles of their action are described.

Key words: absorption, permeability, partition coefficient, in silico methods.