

Acción de Drogas y Efecto Cut-off *

SUSANA M. SICARDI

*Instituto de la Química y Metabolismo del Fármaco,
Depto. de Farmacología. Facultad de Farmacia y Bioquímica,
Universidad de Buenos Aires, Junín 954, Buenos Aires 1113, Argentina*

RESUMEN. Para una serie de drogas antimicrobianas se obtuvieron gráficas de regresión que correlacionan la actividad frente a bacterias Gram-positivas y hongos con la lipofilicidad de los congéneres involucrados. De la determinación de propiedades fisicoquímicas y análisis posterior de los derivados más activos, surgen evidencias de que el Efecto de Corte (Cut-off) no puede ser atribuido a la formación micelar.

SUMMARY. Quantitative structure-activity relationships between antimicrobial action and lipophilicity were carried out for a series of 1-(Alkylamidocarbamoyl)-methyl-pyridinium chlorides. From the physicochemical properties and analysis of the more active agents, it is evident that the Cut-off effect cannot be attributed to the micelle formation.

Las drogas que actúan a nivel de membrana, por un mecanismo en el que sólo intervienen uniones hidrofóbicas, muestran una marcada correlación entre su actividad biológica y su carácter lipofílico. Tanto es así, que es posible establecer mediante un gráfico la variación de la actividad biológica en función de su lipofilicidad. Estos gráficos pueden ser lineales o parabólicos^{1,2} pero todos se caracterizan por presentar un punto óptimo, a partir del cual la actividad se anula o disminuye; este fenómeno fue originalmente descrito por Ferguson³, al que llamó Efecto de Corte o *Efecto Cut-off*.

Es conocida la capacidad micelar

de atrapar moléculas de droga y se ha postulado que especialmente en sistemas simples *in vitro*, esta posibilidad puede disminuir la concentración efectiva de droga, ocasionando el corte de la actividad. El objetivo del presente trabajo fue investigar la influencia de la formación micelar en este fenómeno, mediante el trazado de gráficas de regresión (Figs. 1 y 2) y análisis posterior de los compuestos más activos en función de sus propiedades fisicoquímicas (Tabla II).

Se eligió para el estudio una serie homóloga —previamente descrita⁴— de cloruros de 1-[(alquilamidocarbamoil)-metil]-piridinio, derivándose por el método de los cuadrados mínimos, a partir

* Comunicación preliminar presentada al VIII Congreso Farmacéutico y Bioquímico Argentino, Buenos Aires (Argentina), setiembre de 1982.

PALABRAS CLAVE: Efecto de corte, formación micelar, drogas antimicrobianas.
KEY WORDS: *Cut-off, micelle formation, antimicrobial drugs.*

de los datos descritos en la Tabla I, las ecuaciones 1-4. La variable dependiente corresponde al logaritmo de la inversa de la concentración inhibitoria mínima (CIM), obtenida *in vitro*, frente a distintos microorganismos de un mismo sis-

tema, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* para bacterias Gram-positivas y *Candida albicans*, *Aspergillus niger* y *Trichophyton mentagrophytes* para hongos.

1. *Staphylococcus aureus*

$$pCIM = 0,6510 \log P + 2,9993$$

$$\begin{aligned} n &= 5 \\ r &= 0,9993 \\ s &= 0,027 \\ F &= 5.663,058 (P < 0,01) \end{aligned}$$

2. *Streptococcus pyogenes*

$$pCIM = 0,5985 \log P + 3,1055$$

$$\begin{aligned} n &= 7 \\ r &= 0,9875 \\ s &= 0,398 \\ F &= 158,256 (P < 0,01) \end{aligned}$$

3. *Candida albicans*

$$pCIM = 0,5344 \log P + 2,8743$$

$$\begin{aligned} n &= 5 \\ r &= 0,9950 \\ s &= 0,169 \\ F &= 296,976 (P < 0,01) \end{aligned}$$

4. *A. niger* o *T. mentagrophytes*

$$pCIM = 0,7845 \log P + 2,3854$$

$$\begin{aligned} n &= 5 \\ r &= 0,9975 \\ s &= 0,122 \\ F &= 404,534 (P < 0,01) \end{aligned}$$

Para cada ecuación, n es el número de datos usados en el análisis de regresión, r es el coeficiente de correlación y s es la desviación estándar. La notación junto al estadístico F define un intervalo de confianza del 99,99%.

DISCUSION

Todas las ecuaciones obtenidas son de naturaleza lineal y los resultados del análisis de regresión son muy satisfactorios como puede apreciarse por los valores de F y el cálculo de $\Delta(pCIM)$ en la Tabla I. El único compuesto que es pobremente fijado por la ecuación res-

pectiva es el hexanoilderivado frente a *A. niger* y *T. mentagrophytes*, debido a que presenta una actividad ligeramente menor a su homólogo inferior ($C_{13}H_{27}$ -, CIM = $3,9 \times 10^{-5}$ M; $C_{15}H_{31}$ -, CIM = $3,7 \times 10^{-5}$ M). Posiblemente con más datos estos dos derivados formen parte de la curvatura superior de la parábola.

En la Fig. 1 se muestra la correlación entre actividad antibacteriana y lipofilicidad, obtenida a partir de las ecuaciones 1-2. El paralelismo entre las dos rectas es marcado, indicando similitud de acción de los integrantes de la serie frente a los dos microorganismos

Gram-positivos. Sin embargo, la actividad máxima frente a *S. aureus* aparece en el cloruro de 1-[(hexadecanamido-carbamoil)-metil]-piridinio, mientras que los homólogos superiores 6 y 7 resultaron los más activos frente a *S. pyogenes*. De la Fig. 2 se deduce que el compuesto más activo frente a *C. albicans* es el hexadecanoilderivado, mientras que para los otros hongos la actividad máxima se logra en el $C_{13}H_{27}$. En este último caso se observa el mismo paralelismo y similitud de acción de la serie estudiada frente a *A. niger* y *T. mentagrophytes*, tanto que ambas rectas se superponen.

Si se analizan los datos de la Tabla II, es evidente que el compuesto más tensioactivo y con mayor capacidad para formar micelas es el hexanoilderivado, mientras que los homólogos superiores resultaron más solubles, solubilidad que puede ser atribuida a un mayor plegamiento del resto hidrocarbonado. Por lo tanto siendo el hexanoilderivado el más activo en varios de los sistemas antes mencionados resulta evidente que el Efecto de Corte no puede ser atribuido a la formación micelar e inclina la racionalización de este fenómeno a la Teoría de la Tolerancia de Volumen⁵. Por otra parte, si se tiene en cuenta que existe una estrecha correlación entre estructura-lipoficidad-microorganismo es posible, por modificación molecular, variar el carácter lipohidrofílico de una droga tipo logrando una toxicidad selectiva para un agente patógeno determinado.

PARTE EXPERIMENTAL

Los parámetros biológicos y fisicoquímicos utilizados en el análisis de regresión se describen en la Tabla I. La respuesta biológica se expresa como pCIM, siendo CIM la concentración

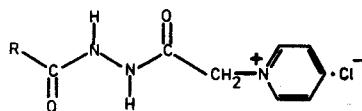
mínima molar de la droga necesaria para lograr la inhibición total del crecimiento de bacterias y hongos⁴. El log P es una medida relativa de la lipoficidad de la droga en estudio. En la Tabla II se encuentran los valores de tensión superficial (γ), concentración micelar crítica (CMC) y tensión superficial de las soluciones equitóxicas (γ' , γ'').

La CMC, obtenida por el método de la tensión superficial, indica para cada compuesto la solubilidad límite a partir de la cual comienza la formación micelar. γ' y γ'' han sido obtenidas por extrapolación de la CIM, graficando tensión superficial versus concentración.

Coefficiente de partición. El coeficiente de partición no fue medido para cada droga en particular, a causa de la elevada lipoficidad de los homólogos superiores. Exceptuando el 1-[(octanamido-carbamoil)-metil]-piridinio, los restantes P fueron calculados por medio del principio de aditividad⁶⁻⁸. El log P para el oleilderivado fue calculado a partir del análogo saturado de acuerdo a la regla: doble enlace en cadena hidrocarbonada = - 0,22. El coeficiente de partición aparente⁹ del octanoilderivado fue medido en un espectrofotómetro Beckman DB-G, en el sistema de referencia octanol/ H_2O y usado como referencia.

Análisis de regresión. Las rectas son gráficos promedios obtenidas a partir de las ecuaciones 1-4, resultantes de aplicar el método de los cuadrados mínimos. Se utilizó para los cálculos una computadora IBM P-602 alfa-numérica.

AGRADECIMIENTOS: Se agradece al Lic. R. Glanczpiegel por su asistencia técnica en los análisis de regresión.

1. *Coefficientes de partición*

Comp. N°	R	Log P
1	C ₇ H ₉ -	-0,36 ^a
2	C ₉ H ₁₉ -	0,64
3	C ₁₁ H ₂₃ -	1,64
4	C ₁₃ H ₂₇ -	2,64
5	C ₁₅ H ₃₁ -	3,64
6	C ₁₇ H ₃₅ -	4,64
7	Δ ⁹ - C ₁₇ H ₃₃ -	4,42

2. *Datos de la CIM sobre bacterias y hongos*

Comp. N°	Observado	Calculado	ΔpCIM
----------	-----------	-----------	-------

a. *Staphylococcus aureus* (Ecuación 1)

1	2,74958	2,76498	0,0154
2	3,43652	3,41598	0,0205
3	4,07212	4,06698	0,0514
4	4,70774	4,71798	0,0102
5	5,34009	5,36898	0,0288

b. *Streptococcus pyogenes* (Ecuación 2)

1	2,79860	2,8900	0,0914
2	3,43652	3,48847	0,0519
3	4,37469	4,08694	0,2877
4	4,70774	4,68541	0,0223
5	5,04096	5,28388	0,2429
6	5,95867	5,88223	0,0764
7	5,95867	5,87320	0,0854

c. *Candida albicans* (Ecuación 3)

1	2,70115	2,68179	0,0193
2	3,13549	3,21619	0,0807
3	3,77211	3,75059	0,0215
4	4,40671	4,28499	0,1217
5	4,73755	4,81939	0,0818

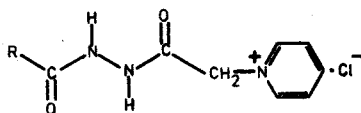
d. *Aspergillus niger* o *Trichophyton mentagrophytes* (Ecuación 4)

1	2,10403	2,10294	0,0010
2	2,83565	2,88739	0,0517
3	3,77211	3,67184	0,1002
4	4,40671	4,45629	0,0495
5	4,43665	b	

a: Calculado a partir del coeficiente de partición experimental.

b: El compuesto 5 es poco fijado por la ec. 4.

Tabla I – Parámetros utilizados en el análisis de regresión.



Comp. N°	R	γ^a (dinas/cm) \pm s	γ^b	γ^{bc}	CMC, mol/l
1	C ₇ H ₁₅	51,12 \pm 0,01	65,5	64,2	3,19 \times 10 ⁻²
2	C ₉ H ₁₉	45,21 \pm 0,01	62,0	61,0	3,70 \times 10 ⁻³
3	C ₁₁ H ₂₃	43,42 \pm 0,02	60,2	60,0	8,91 \times 10 ⁻⁴
4	C ₁₃ H ₂₇	41,51 \pm 0,01	59,5	59,5	3,20 \times 10 ⁻⁴
5	C ₁₅ H ₃₁	39,91 \pm 0,02	57,5	59,5	9,97 \times 10 ⁻⁵
6	C ₁₇ H ₃₅	40,52 \pm 0,01	72,0	—	1,58 \times 10 ⁻⁴
7	Δ^9 -C ₁₇ H ₃₃	41,50 \pm 0,02	72,6	—	4,89 \times 10 ⁻⁴

^a Tensión superficial de una sol. acuosa al 0,1%, 22° C (H₂O, 22° C = 72,6 dinas/cm).

^b Tensión superficial de la sol. equitóxica, frente a *Streptococcus pyogenes*.

^c Tensión superficial de la sol. equitóxica, frente a *Staphylococcus aureus*.

Tabla II — Propiedades Fisicoquímicas de haluros de 1-[(Alquilamidocarboxil)-metil]-piridinio.

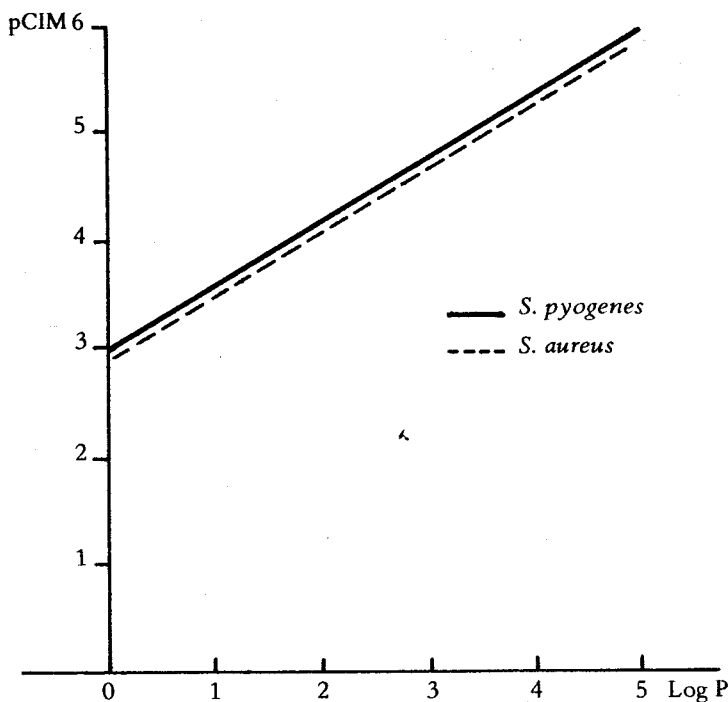


Fig. 1 — Actividad antibacteriana de Cloruros de 1-[(Alquilamidocarboxil)-metil]-piridinio frente a *Streptococcus pyogenes* y *Staphylococcus aureus*.

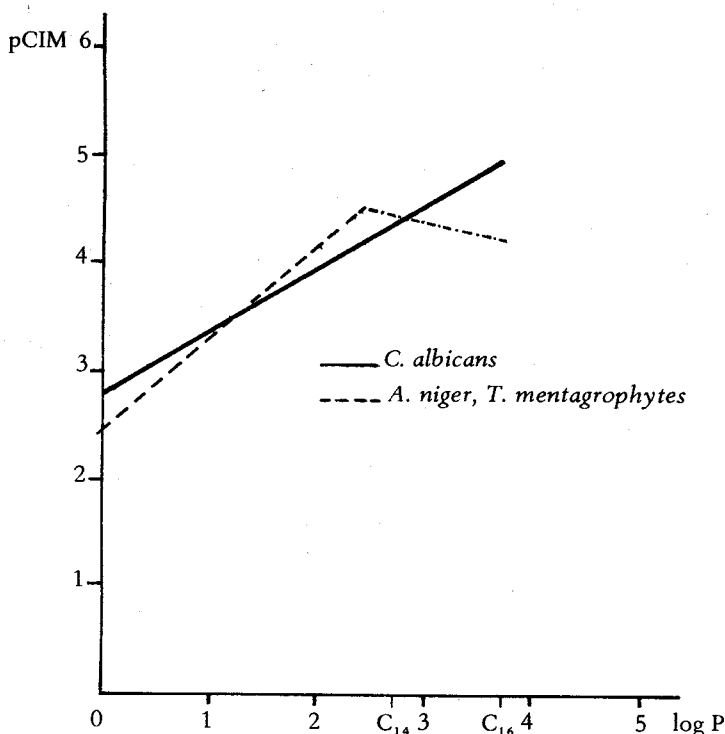


Fig. 2 – Rectas promedio de la actividad fungistática de los compuestos 1 a 7 en función de su lipofilicidad (ecuaciones 3 - 4). La correlación actividad-lipofilicidad para *Aspergillus niger* y *Trichophyton mentagrophytes* es idéntica, superponiéndose las rectas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Dohme, A. L., E. H. Cox y E. Miller (1926) *J. Amer. Chem. Soc.* 48: 1689-93.
2. Hansch, C. y J. M. Clayton (1973) *J. Pharm. Sci.* 62: 1-21.
3. Ferguson, J. (1939) *Proc. Roy. Soc., ser. B.* 127: 387-404.
4. Sicardi, S. M., C. M. Vega y E. B. Cimijotti (1980) *J. Med. Chem.* 23: 1139-42.
5. Baker, B. R. en "*Design of Active-Site-Directed Irreversible Enzyme Inhibitors*", Wiley, N. York, 1967.
6. Hansch, C. en "*Drug Design*", Academic Press, N. York, 1971, vol 1, pág. 271.
7. Norrington, F. E., R. M. Hyde, S. G. Williams y R. Wotton (1975) *J. Med. Chem.* 18: 604-7.
8. Sicardi, S. M. en "*Farmacología Molecular: Relaciones Cuantitativas Estructura-Actividad*" Centro Editor Argentino, Bs. Aires, 1981, pág. 35.
9. Hansch, C. y W.R. Glave, (1971) *Mol. Pharmacol.* 7: 337-54.