



Doctoral Thesis

Drug transport across membranes structure-property correlations in the prediction of passive membrane permeation

Author(s):

Camenisch, Gian Peter

Publication Date:

1996

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-001735603> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No. 11922

DRUG TRANSPORT ACROSS MEMBRANES:

**Structure-Property Correlations in the Prediction of Passive Membrane
Permeation**

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY (ETH)
for the degree of
Doctor of Natural Sciences

presented by

GIAN PETER CAMENISCH

Eidg. dipl. Apotheker
Universität Bern (Switzerland)
born July 24, 1967
Schluein and Ladir, Graubünden

accepted in the recommendation of
Prof. Dr. G. Folkers, examiner
PD Dr. H. van de Waterbeemd, co-examiner

Zürich 1996

SUMMARY

In the past it has been repeatedly shown that passive diffusion of a compound through a lipoidal membrane mainly depends on the partition coefficient between the membrane and the physiological aqueous environment. Partition coefficients encode two major structural features, namely a volume- or molecular size-related term and a polarity term reflecting mainly the H-bonding capacity of the solute. Thus, one of the objectives of this thesis was to predict the membrane permeabilities of compounds by using such descriptors. For the *in vitro* diffusion through Caco-2 cells, as a model for intestinal absorption, it could be demonstrated that using a linear combination of an appropriate calculated molecular size and hydrogen bonding descriptor, thus precluding knowledge of the experimental partition coefficient, reasonable estimates of permeability can be made. This may be done either via a graphical approach or by using a set of descriptors and multiple linear or partial least squares regression. The graphical approach allows a distinct separation between permeable and non-permeable drugs. Therefore, from this graphical representation the optimal ranges and combinations of the physicochemical properties can be estimated. It was demonstrated that strong polarity and a large molecular size are detrimental to appropriate membrane passage. In particular this could be shown for drug permeation through the blood-brain barrier.

In order to analyse the mechanisms of passive diffusion through biomembranes, for a heterogeneous data set the permeabilities through artificial membranes were determined and compared with the experimental Caco-2 permeation data. For the simulation of transcellular diffusion, the artificial polymeric membranes were impregnated with an appropriate lipophilic solvent (e.g. 1-octanol). Paracellular diffusion can be simulated by using the artificial membranes without primary treatment. In accordance with observations already made by others, a non-linear (sigmoidal) relationship between the measured Caco-2 permeability of compounds and their lipophilicities could be demonstrated. Outliers from such a general sigmoidal relationship could generally be explained in terms of molecular size. Based on the measured data for permeability through the artificial membranes, restriction of para- and transcellular diffusion are held responsible for this additional molecular size dependence of permeability. The artificial membranes appear to mimic the Caco-2 permeability very well. The use of such simple simulation models for absorption estimation may therefore be of future importance for high-throughput screening of new compounds in the pharmaceutical industry.

To rationalize the observed sigmoidal permeability-lipophilicity relationship, a new mathematical absorption model was derived. The model takes into account a quantitative permeation contribution of the paracellular pathway and the existence of stagnant aqueous diffusion layers over the membrane which represent a permeation impediment especially for highly lipophilic compounds. The above-mentioned molecular size dependence of para- and transcellular diffusion was also considered. The model suggests different non-linear permeability-lipophilicity dependencies for different molecular size ranges. Absence of paracellular diffusion and pH differences in the adjacent aqueous compartments may cause deviations from a general sigmoidal lipophilicity dependence of membrane permeability.

To test the suitability of the model, it was applied to experimental Caco-2 cell and skin absorption data. In both cases the theoretical model was able to rationalize the experimentally determined permeabilities. In contrast to Caco-2 cell membranes, paracellular aqueous diffusion does not quantitatively contribute to skin permeability. Additionally, transcellular lipoidal permeation through the skin is shifted to higher lipophilicity values compared to Caco-2 cells. Concerning the molecular size dependence of transcellular permeation, both membranes behave more or less similarly. By analyzing and describing the observed permeability-lipophilicity and permeability-molecular size relationships quantitatively, for both biomembranes mentioned a new physicochemical absorption model could be derived. This model now allows the graphical *ab initio* prediction of passive diffusion without any laborious permeation experiments by taking into account the compound's molecular weights, as a simple measure for molecular size, and their 1-octanol/water distribution coefficient, as a measure of lipophilicity.

The routine use of the physicochemical model as a possible high throughput method in the prediction of drug absorption in the drug discovery process is limited by the experimental determination of appropriate 1-octanol/water distribution coefficients. By comparing various reversed-phase chromatographic systems, a method has been evaluated to assess rapidly an alternative lipophilicity scale. It could be demonstrated that end-capped silica packings as well as some polymer based columns represent suitable alternatives to the 1-octanol/water distribution coefficient. A precondition is the absence of retention mechanisms based on steric hindrance and electronic interactions. The selection of an appropriate buffer system is therefore essential. As an example for other biomembranes considered in this study, based on experimental permeability data and measured chromatographic lipophilicity indices, a modified physicochemical absorption model was derived for Caco-2 cells.

KURZFASSUNG

Es wurde verschiedentlich gezeigt, dass der passive Diffusionvorgang einer Substanz durch eine Lipidmembran vorwiegend von ihrem Verteilungskoeffizienten zwischen Membran und dem die Membran umgebenden Medium abhängt. In der Literatur wird die Lipophilie öfters als eine lineare Funktion von Molekülgrößen- und Polaritätsdeskriptoren (v.a. Wasserstoffbindungsdeskriptoren) beschrieben. Aus dieser Tatsache entsprang die Idee, den Stoffdurchgang durch Biomembranen mit Hilfe solcher Deskriptoren vorauszusagen. Tatsächlich konnte für die *in vitro* Diffusion durch intestinale Zellkulturen (Caco-2 Zellen) gezeigt werden, dass durch eine lineare Kombination von verschiedenen berechneten Molekülgrößen- und Wasserstoffbindungsdeskriptoren eine approximative Abschätzung der Permeation möglich ist. Besonders befriedigend ist die graphische Darstellung dieser Beziehung, da sie eine klare Abgrenzung zwischen permeierenden und nicht permeierenden Substanzen erlaubt. Eindrücklich konnte dies für den Stoffdurchgang durch die Blut-Hirn-Schranke gezeigt werden. Aus solchen graphischen Darstellungen können auch diejenigen Bereiche und Kombinationen der physicochemischen Eigenschaften abgeschätzt werden, die einen sicheren Membrandurchgang noch gewährleisten. So zeigt sich, dass sowohl eine zu starke Polarität als auch eine übertriebene Molekülgrösse einer Membranpassage entgegenwirken.

Um die Gesetzmässigkeiten der passiven Diffusion durch Biomembranen detaillierter analysieren zu können, wurden für einen heterogenen Datensatz die Substanzdurchgänge durch künstliche Membranen gemessen und mit experimentellen Caco-2 Permeabilitäten verglichen. Für die Simulation der transzellulären Diffusion werden die künstlichen Membranen mit einem hydrophoben organischen Lösungsmittel (z.B. 1-Oktanol) imprägniert. Parazelluläre Diffusion kann simuliert werden, wenn auf eine Imprägnierung der Membranen verzichtet wird. In Uebereinstimmung mit früheren Beobachtungen konnte gezeigt werden, dass zwischen der totalen Membranpermeabilität von Substanzen und ihrer Lipophilie eine nicht-lineare (sigmoidale) Beziehung besteht. Durch eine gleichzeitig beobachtete Molekulargrößenabhängigkeit der Diffusion können allerdings Abweichungen von einer regelmässigen Permeabilitäts-Lipophilie Beziehung auftreten. Restriktion der parazellulären und der transzellulären Diffusion scheinen verantwortlich zu sein für diese Molekulargrößenabhängigkeit. Es zeigte sich, dass die passive Diffusion durch Caco-2 Zellen mit Hilfe von solchen imprägnierten künstlichen Membranen gut simuliert werden kann. Solche einfache Simulationssysteme könnten somit in Zukunft in der pharmazeutischen Industrie zur schnellen Abschätzung der intestinalen Absorption eingesetzt werden.

Um die beobachtete sigmoidale Permeabilitäts-Lipophilie Beziehung rationalisieren zu können, wurde ein mathematisches Modell hergeleitet, welches einen quantitativen Permeationsbeitrag des parazellulären Diffusionsweges und den Einfluss einer hydrodynamisch bedingten unbewegten Wasserschicht über der Membran, als ein Permeationshindernis für stark lipophile Substanzen, mitberücksichtigt. Der oben erwähnten Molekulargrößenabhängigkeit der parazellulären und transzellulären Diffusion wurde ebenfalls Rechnung getragen. Die theoretischen Berechnungen sagen

für die passive Membrandiffusion verschiedene nicht-lineare Permeabilitäts-Lipophilie Beziehungen für verschiedene Molekulargrößen voraus. Fehlen, respektive Wegfallen der parazellulären Diffusion und unterschiedliche pH-Verhältnisse in den angrenzenden wässrigen Kompartimenten können zu Abweichungen von der allgemeinen sigmoidalen Lipophilieabhängigkeit der Membranpermeation führen.

Anhand experimenteller Caco-2- und Hautpermeationsdaten wurde das neue mathematische Modell überprüft. Trotz der unterschiedlichen Art dieser Membranen war das Modell grundsätzlich beiderorts anwendbar. Im Gegensatz zu der intestinalen Zellkultur scheint bei der Haut die parazelluläre Diffusion keinen quantitativen Beitrag zur Gesamtpermeabilität zu leisten. Zudem ist die transzelluläre Diffusion in der Haut zu höheren Lipophiliewerten geschifftet im Vergleich zu den Caco-2 Zellen. Bezüglich der Molekulargrößenabhängigkeit der transzellulären Diffusion verhalten sich beide Biomembranen mehr oder weniger gleich. Durch quantitative Analyse und Beschreibung der beobachteten Permeabilitäts-Lipophilie- respektive Permeabilitäts-Molekulargrößenabhängigkeiten konnten für beide geschilderten biologischen Barrieren ein physikochemisches Modell abgeleitet werden, welches einem nun erlaubt mit Hilfe des Molekulargewichtes, als ein einfaches Mass der Molekulargröße, und mit Hilfe des 1-Oktanol/Wassers Verteilungskoeffizienten, als ein Mass für die Substanzlipophilie, die vermeintlichen Permeationswerte aus einer Graphik herauszulesen.

Der Einsatz dieses neuen physikochemischen Modells als ein routinemässiges Verfahren zur Absorptionvorhersage ist eingeschränkt durch die aufwendige Bestimmung des 1-Oktanol/Wasser Verteilungskoeffizienten. Durch den Vergleich verschiedener Umkehrphasenchromatographiesysteme wurde nach einer alternativen, schneller bestimmbar Lipophilieskala gesucht. Es konnte gezeigt werden, dass sowohl chemisch modifizierte Silanolpackungen als auch gewisse Säulen auf Polymerbasis geeignete Alternativen darstellen. Grundlage hierfür ist das Ausschliessen von Retentionsmechanismen aufgrund von Adsorptions- und Siebevorgängen sowie eine damit verbundene entsprechende Auswahl des Laufmittelsystemes. Stellvertretend für alle betrachteten Biomembranen wurde mit Hilfe von gemessen chromatographischen Retentionsindices das physikochemische Absorptionsmodell für die Vorhersage der passiven Caco-2 Zellpermeation entsprechend überarbeitet.