

Estudo comparativo de procedimentos experimentais e computacionais para cálculo da lipofilia molecular

Gonçalo Clemente¹

1. Técnico de Medicina Nuclear especializado em Química Inorgânica Biomédica, clemente.goncalo@gmail.com

RESUMO: Introdução – A lipofilia é uma das propriedades físico-químicas que mais influencia a capacidade de uma molécula se movimentar através de compartimentos biológicos. O coeficiente de partição octanol/água ($\log P$) permite, assim, obter uma estimativa da absorção dos fármacos no organismo. A existência de métodos indirectos para um cálculo rápido do $\log P$ pode revelar-se de grande importância na análise de listas de compostos com potencial acção farmacológica, reduzindo-as àqueles que se prevêem ter um melhor comportamento biológico. **Objectivos** – O propósito deste estudo é dar a conhecer um método cromatográfico de RP-HPLC desenvolvido para a determinação indirecta da lipofilia molecular e avaliar a *performance* de vários programas de cálculo computacional desse mesmo parâmetro. **Metodologias** – Seleccionaram-se 25 compostos químicos, avaliou-se o $\log P$ de cada um deles por RP-HPLC e confrontaram-se os resultados obtidos com os de sete programas computacionais. **Resultados** – O método RP-HPLC testado demonstrou ser vantajoso em comparação com o convencional *shake flask*. O programa de cálculo indirecto que proporcionou resultados mais próximos dos experimentais foi o *ALOGPS*® 2.1. **Conclusões** – A escolha ideal para a determinação da lipofilia de compostos cujo $\log P$ estimado esteja entre 0 e 6 é, sobretudo no que diz respeito à rapidez e simplicidade do processo, o método experimental indirecto RP-HPLC. Quanto aos métodos computacionais concluiu-se que nenhum dos programas, incluindo o *ALOGPS*® 2.1, demonstrou ser eficaz na avaliação de isómeros pelo que, para estes compostos, será sempre necessário recorrer ao método *shake flask* ou RP-HPLC.

Palavras-chave: lipofilia, log P, RP-HPLC, cálculo computacional

Comparative study of experimental and computational procedures for the calculation of molecular lipophilicity

ABSTRACT: Background – The lipophilicity is one of the physicochemical properties that most influences the ability of a molecule to move through biological compartments. The octanol/water partition coefficient ($\log P$) can give us an estimation of the drugs' absorption in the organism. The existence of indirect methods for a quick calculation of $\log P$ may have great importance in the analysis of lists of compounds with potential pharmacological action, reducing them to those who are expected to have a better biological behavior. **Objectives** – The purpose of this work is to present a RP-HPLC chromatographic method developed for indirect determination of the molecular lipophilicity and evaluate the performance of different computational programs that calculate this same parameter. **Methods** – For this study 25 compounds were selected, then the $\log P$ of each one was evaluated by RP-HPLC and finally the results were compared with those calculated by seven computational programs. **Results** – The tested RP-HPLC method proved to be advantageous in comparison to the conventional *shake flask* technique. The indirect calculation program that provides results closest to the experimentally obtained was *ALOGPS*® 2.1. **Conclusions** – The ideal choice for determining the lipophilicity of compounds whose $\log P$ is estimated to be between 0 and 6 is the experimental indirect method by RP-HPLC, especially regarding the quickness and simplicity of this procedure. For the computational methods it was concluded that none of the programs, including *ALOGPS*® 2.1, proved to be effective in the evaluation of isomers. For this kind of compounds it will be always necessary the *shake flask* or the RP-HPLC technique.

Keywords: lipophilicity, log P, RP-HPLC, computational calculation

Introdução

A lipofilia, geralmente definida como a tendência de um composto para se distribuir entre um solvente orgânico apolar e a água com ele imiscível, é uma das propriedades físico-químicas que mais influencia a capacidade de uma molécula se movimentar através de compartimentos biológicos. O papel deste parâmetro nos mecanismos de transporte transmembranar foi observado, em 1964, nos estudos pioneiros da equipa de Hansch e Fujita¹ e, anos mais tarde, Lipinski evidenciou a sua importância no planeamento racional de qualquer fármaco². O carácter lipofílico ou hidrofílico de um fármaco, ou seja, a sua capacidade de se dissolver mais facilmente em solventes apolares ou polares, é crucial para que desempenhe eficazmente a sua função no organismo, já que o percurso entre a sua administração e o local de actuação dentro da célula envolve tanto fases aquosas como não aquosas. O grau de solubilidade num solvente polar é uma indicação da maior ou menor facilidade com que o composto químico atravessa as membranas biológicas, enquanto a solubilidade na água permite elucidar o seu comportamento tanto no meio extracelular como no citoplasma.

Para se ter um fármaco que atravesse eficazmente a membrana celular deve chegar-se a um compromisso entre a lipofilia e a hidrofília, já que moléculas altamente lipofílicas têm tendência a ficar retidas nos tecidos gordos, a ligarem-se mais fortemente às proteínas plasmáticas, o que diminui a interacção com os receptores e a serem muito pouco solúveis na fase aquosa, o que faz com que não sejam eficazmente distribuídas no organismo. Aquelas muito hidrofílicas podem não ter a capacidade de atravessar membranas, ficando assim mais susceptíveis a serem rapidamente excretadas sem que ocorra a acção farmacológica pretendida.

O coeficiente de partição ($\log P$) é o valor utilizado para caracterizar a lipofilia e pode ser obtido por medição directa (técnica experimental *shake flask*) ou indirecta (como os métodos experimentais cromatográficos ou os teóricos computacionais)³. A técnica convencional por agitação em ampola de decantação, *shake flask*, consiste na dissolução da amostra, geralmente num sistema *n*-octanol/água onde, após agitação vigorosa, estabilização do sistema e separação das duas fases, se calcula o coeficiente de partição octanol/água. Chega-se assim directamente ao $\log P$, ou seja, ao logaritmo da razão da concentração do soluto na fase orgânica e na fase aquosa. Como alternativa a esta técnica foram desenvolvidas outras formas indirectas de se obter o $\log P$. Programas computacionais têm sido recentemente criados para a predição da lipofilia através da correlação de vários parâmetros moleculares e da contribuição individual dos átomos ou fragmentos que constituem o composto em análise. A determinação da lipofilia por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (RP-HPLC) também é uma técnica indirecta mas, no entanto, experimental, que se destaca pela determinação de um parâmetro cromatográfico correlacionado ao $\log P$, o factor de retenção (k'). Aqui, devido à natureza lipofílica da fase

estacionária, os compostos hidrofóbicos ficam retidos durante mais tempo que os hidrofílicos, um facto que acaba por ser análogo ao que se verifica na interface membrana-água dos sistemas biológicos⁴.

O comportamento *in vivo* de uma molécula está dependente do seu carácter lipofílico, por esta razão é importante conhecer antecipadamente este parâmetro de modo a que se possa incidir exclusivamente no estudo daquelas que apresentam características adequadas para a função que se pretende que desempenhem, podendo assim preterir-se as que demonstrarem não ser adequadas por terem uma natureza demasiado hidrofílica ou hidrofóbica. Este procedimento pode revelar-se de grande importância na análise de extensas bases de dados de compostos químicos com potencial acção farmacológica, reduzindo-as, numa primeira fase, àqueles que se prevêem ter melhor comportamento biológico.

Uma vez que o método directo para a medição do $\log P$ através da técnica *shake flask* é limitado para valores entre -2 e 4⁵, pode revelar-se bastante moroso e complexo devido aos processos de separação e determinação da concentração em cada uma das fases e, também pelo facto de ser bastante sensível à presença de impurezas, torna-se importante ter uma forma de mensuração da lipofilia rápida e prática. Assim, o objectivo deste trabalho passa por dar a conhecer um método de RP-HPLC desenvolvido para a determinação indirecta da lipofilia molecular, bem como avaliar a *performance* de vários programas computacionais de cálculo desse mesmo parâmetro.

Metodologia

Neste trabalho utilizaram-se 25 compostos químicos (cf. Tabela 1) para os quais se determinou o respectivo valor de $\log P$ através do método indirecto por RP-HPLC numa coluna C18 (Nucleosil® C18, 5 μ m, 4.6x150mm, *Macherey-Nagel*) acoplada a um detector de ultravioleta ($\lambda = 254$ nm). A fracção orgânica da fase móvel foi constituída por metanol com 0,25% (v/v) de *n*-octanol e a aquosa por tampão ácido 3-(*N*-morfolino)-propanossulfónico (MOPS) 0.02M com 0,15% de *n*-decilamina, ajustada a pH 7.4 com NaOH e, posteriormente, saturada com *n*-octanol. Dissolveu-se em metanol cada um dos compostos a estudar (0.1mg/ml) e o volume injectado na coluna de HPLC foi de 20 μ l. Fixou-se a taxa de fluxo volumétrico em 0.5ml.min⁻¹.

Efectuaram-se quinze cromatogramas por composto, respectivos a três repetições para cada uma de cinco variações na percentagem da fracção orgânica da fase móvel. Com os dados obtidos construíram-se gráficos $\log k'$ vs. % orgânica da fase móvel. Os valores de k' são definidos como $(t_R - t_0)/t_0$, onde t_R e t_0 são os tempos de retenção da substância analisada e do solvente (tempo morto da coluna), respectivamente. Estes valores de k' foram então extrapolados para os que ocorreriam numa fase móvel 100% aquosa, ou seja, $\log k'_{w}$, através das equações de relação linear obtidas com cada um dos gráficos. Os valores da lipofilia foram então calculados através da seguinte fórmula, que

demonstra uma correlação positiva perfeita entre as duas variáveis: $\log P = 0.13418 + 0.98452 \cdot \log k'_w$ ($r^2=0.996$)⁶⁻⁸.

De forma a comprovar a validade do sistema RP-HPLC utilizado, seleccionaram-se aleatoriamente nove compostos dos 25 estudados e determinou-se o $\log P$ de cada um pelo método directo *shake flask* (cf. Tabela 2). Este processo efectuou-se em duplicado e foi repetido três vezes para cada amostra, variando a proporção de *n*-octanol/água (1:1, 1:2 e 2:1). Após dissolução, os sistemas foram deixados a estabilizar durante 24h e, de seguida, as concentrações dos compostos, em cada uma das fases, foram determinadas por espectrofotometria. A lipofilia final de cada um dos 9 compostos resultou da média dos valores de $\log P$ obtidos.

Finalmente, calcularam-se os valores de $\log P$ dos 25 compostos utilizando sete programas computacionais recentemente desenvolvidos (*ALOGPS*® 2.1⁹⁻¹⁰, *HyperChem*™ 7.5¹¹, *CSLogPTM*¹², *XLOGP*® 2.0¹³, *KowWin*®¹⁴, *CLOGPTM*¹⁵ e *miLogP* 1.2¹⁶), que utilizam descritores baseados nas contribuições atómicas ou de fragmentos, em parâmetros estruturais, na estrutura electrotopológica ou na modelação por redes neuronais. A eficiência destes programas foi avaliada através da comparação dos seus resultados teóricos com os valores experimentalmente adquiridos em RP-HPLC (cf. Tabela 1). Para isto foi necessário criar computacionalmente a estrutura de cada uma das moléculas em notação SMILES (*Simplified Molecular Input Line Entry System*) através do programa *ChemDraw*® *Ultra* da *Cambridge Soft Corporation* que, posteriormente, foram introduzidas em todos os programas utilizados, excepto no *HyperChem*™ 7.5 e no *miLogP* 1.2 que têm a sua própria aplicação para construção da estrutura molecular.

Resultados

Os resultados obtidos são apresentados nas tabelas 1 e 2.

Discussão

A determinação indirecta dos coeficientes de partição octanol/água através de RP-HPLC, para além de mais simples, demonstrou algumas outras vantagens em relação ao método *shake flask*. O facto de em HPLC se conseguir uma purificação do composto em análise, por separação cromatográfica, faz com que o valor de $\log P$ determinado por este método não tenha associado um erro derivado de algum grau de impurezas que o analito possa conter. Isto não se verifica na técnica *shake flask* que é bastante sensível à presença de eventuais impurezas na amostra em análise. Outra vantagem diz respeito ao facto de ser possível, numa mesma corrida cromatográfica, injectar-se uma mistura de vários compostos de interesse com tempos de retenção distintos. Desta forma, a técnica por RP-HPLC torna-se mais vantajosa ao nível do tempo que é necessário despender para se determinar a lipofilia, já que num mesmo ensaio cromatográfico se podem estudar simultaneamente vários compostos distintos.

Importa, no entanto, realçar que nenhum dos métodos

pode substituir completamente o outro. Isto porque o espectro de análise do coeficiente de partição octanol/água encontra-se entre os -2 e 4 para a técnica *shake flask* e entre os 0 e 6 para a técnica RP-HPLC⁵. Esta dependência dos dois métodos foi verificada através da comparação dos valores de $\log P$ de 9 compostos obtidos experimentalmente por HPLC e pela técnica *shake flask* (cf. Tabela 2). Aqui pôde observar-se que a diferença entre os valores determinados pelos dois métodos para os compostos com $\log P$ inferior a 4 não é considerável. O mesmo já não se verifica para os que têm $\log P$ superior a 4, valor a partir do qual o método *shake flask* demonstra uma tendência para subestimar a lipofilia devido à concentração do compostos na fase aquosa ser excessivamente pequena e, assim, difícil de quantificar com precisão.

Numa primeira análise dos valores de $\log P$ obtidos pelos programas computacionais em análise e pelo método RP-HPLC (cf. Tabela 1) notou-se que os resultados comparativos dos compostos com $\log P_{(RP-HPLC)} < 3$ são mais homogéneos, não existindo tanta dispersão dos valores calculados computacionalmente com aqueles obtidos experimentalmente. Por esta razão optou-se por agrupar as moléculas estudadas em dois grupos, um para as que têm $\log P_{(RP-HPLC)} < 3$ e outro para as que têm $\log P_{(RP-HPLC)} > 3$. Estes dois grupos foram avaliados de acordo com o critério de Manhold e Dross¹⁷, ou seja, os programas aceitáveis serão aqueles cujas diferenças médias entre os seus valores e os obtidos experimentalmente sejam inferiores a ± 0.5 .

Para o lote dos compostos com $\log P_{(RP-HPLC)} < 3$, os valores médios das diferenças para cada programa são ± 0.2 (*ALOGPS*® 2.1, *CSLogPTM*, *KowWin*® e *CLOGPTM*), ± 0.3 (*HyperChem*™ 7.5 e *miLogP* 1.2) e ± 0.4 (*XLOGP*® 2.0). Nesta fase, todos os programas estão dentro do limite aceitável pré-estabelecido. O lote dos compostos com $\log P_{(RP-HPLC)} > 3$ apresenta uma maior dispersão entre os valores calculados por cada programa e também entre cada um destes e o valor obtido experimentalmente. Assim, neste último grupo, os valores médios das diferenças observados para cada programa são ± 0.3 (*ALOGPS*® 2.1), ± 0.5 (*miLogP* 1.2), ± 0.6 (*HyperChem*™ 7.5 e *XLOGP*® 2.0), ± 0.7 (*KowWin*®), ± 0.8 (*CLOGPTM*) e ± 1.0 (*CSLogPTM*). Neste conjunto, apenas o programa *ALOGPS*® 2.1 se encontra dentro do limite aceitável pré-estabelecido.

Com o desenvolvimento deste estudo verificou-se, no entanto, uma ineficácia total dos diversos programas computacionais para obter uma estimativa do $\log P$ de isómeros. Este fenómeno seria de esperar já que, por definição, isómeros são compostos com a mesma fórmula molecular que podem apresentar propriedades físicas e químicas diferentes e todos os programas computacionais testados utilizarem como ponto de partida uma simplificação da molécula a estudar, por exemplo, através da notação SMILES. Com isto, informações importantes como a distribuição dos átomos no espaço molecular e, por vezes, também a ordem com que os átomos estão associados na molécula, são desprezadas parcial ou totalmente. Desta forma, os métodos experimentais, quer directo quer indirecto, são o modo mais

Tabela 1: Lista dos valores de log *P* obtidos pelos programas computacionais em análise e pelo método RP-HPLC

	<i>ALOGPS</i> [®] 2.1	<i>Hyper Chem</i> [™] 7.5	<i>CSLogP</i> [™]	<i>XLOGP</i> [®] 2.0	<i>KowWin</i> [®]	<i>CLOGP</i> [™]	<i>miLogP</i> 1.2	RP-HPLC
Catequina	1.02	2.11	0.46	0.46	1.18	0.53	1.37	1.02
Fenol	1.39	1.76	1.35	1.62	1.51	1.47	1.46	1.44
Sissotrina	0.71	1.17	0.94	0.91	1.40	1.49	1.02	1.55
Acetofenona	1.65	1.36	1.63	1.86	1.67	1.58	1.84	1.61
Cloroanilina	1.95	1.78	1.84	1.83	1.72	1.91	1.69	1.80
Naringenina	2.47	1.99	2.45	1.15	2.61	2.44	2.12	2.30
Metilfenol	1.95	2.23	2.02	2.05	2.06	1.97	1.91	1.96
Quercetina	1.81	1.80	2.25	1.09	1.48	1.50	1.68	2.07
4-clorofenol	2.37	2.28	2.31	2.24	2.16	2.48	2.14	2.37
3-clorofenol	2.35	2.28	2.26	2.24	2.16	2.48	2.11	2.48
Estrona	4.03	4.54	3.73	3.63	3.43	3.38	3.24	3.21
Naftaleno	3.33	3.05	3.33	3.29	3.17	3.32	3.14	3.22
N-{4-[(3-cloro-4-fluorofenil) amino]quinazolina-6-il}-3-bromopropionamida	4.06	3.78	1.05	3.57	4.21	5.36	4.58	3.64
Etinilestradiol	3.63	4.02	3.34	4.25	4.12	3.86	3.66	3.74
Estradiol	3.57	4.01	3.35	4.23	3.94	3.78	3.43	3.82
3-metoxiestrona	4.16	4.57	4.15	3.95	3.99	3.97	3.78	4.04
3-metoxiestradiol	4.15	4.04	3.91	4.55	4.50	4.37	3.97	4.05
N-{4-[(3-cloro-4-fluorofenil) amino]quinazolina-6-il}-3-iodopropionamida	4.23	4.20	1.42	3.77	4.62	5.75	4.86	4.12
2-iodoestradiol	4.27	2.71	4.07	5.30	5.11	4.85	4.70	4.43
4-iodoestradiol	4.25	2.71	3.84	5.09	5.11	4.85	4.70	4.46
N-{4-[(3-cloro-4-fluorofenil) amino]quinazolina-6-il}-4-iodobenzamida	5.12	5.98	0.40	5.85	6.14	7.26	6.37	4.78
2,4-diiodoestradiol	4.31	6.52	4.30	6.16	6.28	5.73	5.71	5.33
N-{4-[(3-cloro-4-fluorofenil) amino]quinazolina-6-il}-3-iodobenzamida	5.12	5.98	0.43	5.85	6.14	7.26	6.35	5.53
2-iodo-1'-metoxibenzeno[4', 3', 16, 17]estra-1,3,5(10), 16-tetraeno-3-ol	5.93	6.82	5.93	6.54	7.51	7.22	6.57	5.69
4-iodo-1'-metoxibenzeno[4', 3', 16, 17]estra-1,3,5(10), 16-tetraeno-3-ol	5.91	6.82	5.89	7.38	7.51	7.22	6.57	6.05

Tabela 2: Comparação dos valores de log *P* obtidos pelos métodos experimentais indirecto e directo

	RP-HPLC	Shake flask
Fenol	1.44	1.46
Naringenina	2.30	2.41
Quercetina	2.07	1.92
Estrona	3.21	3.13
Naftaleno	3.22	3.30
Estradiol	3.82	4.01
4-iodoestradiol	4.46	3.40
2-iodo-1'-metoxibenzeno[4',3',16,17]estra-1,3,5(10),16-tetraeno-3-ol	5.69	3.76
4-iodo-1'-metoxibenzeno[4',3',16,17]estra-1,3,5(10),16-tetraeno-3-ol	6.05	2.53

eficaz para proceder a uma estimativa da lipofilia destes compostos, já que mimetizam o comportamento *in vivo* da molécula em estudo ao distribuírem-na numa fase orgânica e em outra aquosa.

Considerações finais

É inegável a importância da existência de métodos válidos e eficazes para se ter uma estimativa da lipofilia de potenciais fármacos ainda antes de estes serem sintetizados. A escolha de um método computacional adequado para este cálculo pode prever quais os compostos com maior probabilidade de terem uma biodistribuição, metabolismo e excreção eficazes sem que corram, em princípio, tanto risco de ficarem retidos nos tecidos gordos ou de serem impedidos pelas membranas biológicas.

Tendo em consideração que apenas o programa ALOGPS® 2.1 atinge os níveis fixados como satisfatórios em todas as fases que se estabeleceram para a comparação com os resultados experimentalmente obtidos por RP-HPLC, conclui-se ser este o melhor método computacional indirecto para o cálculo do coeficiente de partição octanol/água. Há, no entanto, que ter em conta que nenhum dos programas testados demonstrou ser eficaz no cálculo do log *P* de isómeros, pelo que, para este tipo de compostos, continuará sempre a ser necessário o método *shake flask* ou RP-HPLC para a determinação da lipofilia. O método experimental indirecto por RP-HPLC testado demonstrou-se mais vantajoso em comparação com o directo pela técnica *shake flask* sendo, por isso, a escolha ideal para a determinação da lipofilia de compostos cujo log *P* estimado esteja entre 0 e 6.

Referências Bibliográficas

- Hansch C, Fujita T. ρ - σ - π Analysis. A method for the correlation of biological activity and chemical structure. *J Am Chem Soc.* 1964;86(8):1616-26.
- Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 2001;46(1-3):3-26.
- Nandihalli UB, Duke MV, Duke SO. Prediction of RP-HPLC log *P* from semiempirical molecular properties of diphenyl ether and phenopylate herbicides. *J Agric Food Chem.* 1993;41(4):582-7.
- Braumann T. Determination of hydrophobic parameters by reversed-phase liquid chromatography; Theory, experimental techniques, and application in Studies on Quantitative Structure-Activity Relationships. *J Chromatogr.* 1986; 373(2):191-225.
- Joint Research Centre – Institute for Health and Consumer Protection. Testing-methods, Annex V – A.8. Partition coefficient: Directive 92/69/EEC. Official Journal of the European Communities. 1992;L(383A). Available from: <http://ecb.jrc.ec.europa.eu/documents/Testing-Methods/ANNEXV/A08web1992.pdf>
- Pomper MG, VanBrocklin H, Thieme AM, Thomas RD, Kiesewetter DO, Carlson KE, et al. 11 β -methoxy-, 11 β -ethyl- and 17 α -ethynyl-substituted 16 α -fluoroestradiols: receptor-based imaging agents with enhanced uptake efficiency and selectivity. *J Med Chem.* 1990; 33(12):3143-55.
- Ferber B, Top S, Vessibres A, Welter R, Jaouen G. Synthesis of optically pure *o*-formylcyclopentadienyl metal complexes of 17 α -ethynylestradiol: recognition of the planar chirality by the estrogen receptor. *Organometallics.* 2006; 25(24):5730-9.
- Hillard EA, Pigeon P, Vessières A, Amatore C, Jaouen G. The influence of phenolic hydroxy substitution on the electron transfer and anti-cancer properties of ferrocenyl compounds based on the 1,1-diphenyl-1-butene Motif. *Dalton Trans.* 2007;43:5073-81.
- Tetko IV, Tanchuk VY, Kasheva TN, Villa AE. Internet software for the calculation of the lipophilicity and aqueous solubility of chemical compounds. *J Chem Inf Comput Sci.* 2001; 41(2):246-52.
- Tetko IV, Tanchuk VY. Application of associative neural networks for prediction of lipophilicity in ALOGPS 2.1 program. *J Chem Inf Comput Sci.* 2002;42(5):1136-45.
- Ghose AK, Pritchett A, Crippen GM. Atomic physicochemical parameters for three dimensional structure directed quantitative structure-activity relationships III: modelling hydrophobic interactions. *J Comput Chem.* 1988;9(1):80-90.
- Kier LB, Hall LH. The e-state as an extended free valence. *J Chem Inf Comput Sci.* 1997;37(3):548-52.
- Wang R, Fu Y, Lai L. A new atom-additive method for calculating partition coefficients. *J Chem Inf Comput Sci.* 1997;37(3):615-21.
- Meylan WM, Howard PH. Atom/fragment contribution method for estimating octanol-water partition coefficients. *J Pharm Sci.* 1995;84(1):83-92.
- Hansch C, Leo A. Exploring Qsar: hydrophobic, electronic and steric constants. Washington-DC: American Chemical Society; 1995. XIX, 348 p. ISBN-13: 978-0841229921.

16. Ertl P, Rohde B, Selzer P. Fast calculation of molecular polar surface area as a sum of fragment-based contributions and its application to the prediction of drug transport properties. *J Med Chem.* 2000;43(20):3714-7.
17. Manhold R, Dross K. Calculation procedures for molecular lipophilicity: a comparative study. *Quant Struct-Act Relat.* 1996;15(5):403-9.

Agradecimentos

À Unidade de Ciências Químicas e Radiofarmacêuticas do Instituto Tecnológico e Nuclear por facultar os compostos químicos e toda a aparelhagem analítica necessária para o desenvolvimento deste projecto.

Artigo recebido em 16.02.2010 e aprovado em 02.11.2010.