

## **27. Afinidade vs. potência e suas constantes ( $K_d$ e $K_i$ ) vs. parâmetros ( $CE_{50}$ e $CI_{50}$ )**

François Noël, fevereiro 2022

(revisado pelo Dr. André Sampaio Pupo, UNESP-Botucatu)

O que melhor do que a curva log dose-efeito poderia caracterizar a farmacologia como disciplina? E no caso de um fármaco, qual poderia ser o seu cartão de visita farmacodinâmico? Acertou quem pensou em eficácia (ou seria eficácia intrínseca?) e potência (ou seria afinidade?).

Como o conceito de eficácia já foi abordado na [matéria 5 deste glossário](#), vamos dedicar esta matéria aos conceitos de afinidade e potência e às constantes ou parâmetros que os qualificam quantitativamente.

### **Afinidade (constantes $K_d$ e $K_i$ )**

A afinidade de um fármaco para seu receptor determina a estabilidade do complexo fármaco-receptor: quanto maior a afinidade, mais estável o complexo. Uma maneira simples e direta de medir a afinidade de um fármaco para seu receptor é através de um experimento de saturação com o fármaco marcado (radioativamente, por exemplo) ([Noël, 2017](#): vide capítulo 4). Geralmente, calcula-se a **constante\* de equilíbrio de dissociação ( $K_d$ )**, que representa o inverso da constante de associação ( $K_a$ ) e é, portanto, inversamente proporcional à afinidade (quanto menor o  $K_d$ , maior a afinidade); por parecer um tanto quanto contraintuitivo, basta nos lembrarmos de que o  $K_d$  representa a concentração molar do fármaco suficiente para ocupar 50% dos seus receptores e, portanto, quanto menor essa concentração, maior é a afinidade da interação. O  $K_d$  pode ser também definido, e calculado, pela razão entre a constante de velocidade de dissociação ( $k_{-1}$ ) e a constante de velocidade de associação ( $k_{+1}$ ), ou seja:  $K_d = k_{-1} / k_{+1}$ .

Na maioria dos casos, o pesquisador não tem acesso ao fármaco de interesse marcado, podendo então obter o valor de  $K_d$  de forma indireta, em ensaio chamado de competição ([Noël, 2017](#): vide capítulo 5) onde seu valor é calculado a partir do **parâmetro  $CI_{50}$**  (vide a seguir), sendo então denominado de  $K_i$  para indicar como foi obtido (o “i” vindo de “indireto” ou “inibição”, já que neste ensaio o fármaco de interesse esta competindo/inibindo a ligação de um fármaco padrão marcado radioativamente).

*NB. A constante de equilíbrio de dissociação de um antagonista competitivo reversível, determinada por meio de ensaio funcional, é representada pelo símbolo  $K_b$ .*

---

*\*De forma (exageradamente) simplificada, podemos considerar que uma constante é uma quantidade que tem o mesmo valor em todas as situações, enquanto que um parâmetro é uma quantidade cuja constância depende da situação particular, isto é, sob condições experimentais diferentes um parâmetro pode apresentar valores diferentes.*

NB. Graças às informações estruturais extremamente abrangentes obtidas através da cristalografia de raios-X, é possível estimar a afinidade (relativa e, às vezes, absoluta) de diferentes substâncias por um receptor através de técnicas de modelagem molecular, como o docking.

Através da técnica de *binding*, *a priori*, não é possível distinguir entre agonistas, agonistas parciais e antagonistas já que medimos apenas a ligação do fármaco ao receptor. Apesar desta crença inicial, protocolos mais sofisticados de “*binding* funcional” foram desenvolvidos para distinguir agonistas de antagonistas nos receptores acoplados à proteína G (Noël, 2017: vide capítulo 6.1.1.).

Apesar de ser bem menos comum do que para os GPCRs, podemos citar pelo menos um caso clássico de *binding* funcional para um receptor ionotrópico (Noël, 2017: vide capítulo 6.1.2). Em última instância, os ensaios de *binding* funcional se baseiam no fato de que os receptores podem assumir um grande número de estados conformacionais diferentes, seja em razão de suas entropias, ou em razão de efeitos alostéricos resultantes de interações diretas com outras entidades, tais como proteínas de transdução de sinal (e.g. proteína G), fosfolipídios de membrana ou até mesmo íons; é esperado que os fármacos que possuem algum grau de eficácia intrínseca (agonistas e agonistas inversos) apresentarão afinidades diferentes por esses estados conformacionais variados dos receptores, enquanto que aqueles fármacos “despossuídos” de eficácia intrínseca (os chamados antagonistas) interagirão com afinidades semelhantes pelos seus receptores nos seus diversos estados conformacionais.

### **Potência (CE<sub>50</sub> ou DE<sub>50</sub> e CI<sub>50</sub>)**

Num ensaio funcional, o que medimos é a **potência** do fármaco através do **parâmetro CE<sub>50</sub>, DE<sub>50</sub>** (se for um ensaio *in vivo* onde é expressa a dose administrada) ou **CI<sub>50</sub>**; estes são parâmetros e como tais, não há razão para esperarmos que eles sejam semelhantes quando determinados sob condições experimentais diferentes.

**CE<sub>50</sub>, ou concentração efetiva média**, é a concentração do agonista que causa 50% da sua resposta máxima, seja este efeito estimulatório ou inibitório. Esta concentração que causa 50% da resposta máxima depende não somente da afinidade do fármaco pelo receptor, mas também da sua eficácia intrínseca e de características do sistema biológico (presença de receptores de reserva, mecanismos ativos de remoção do agonista e barreira para acessibilidade do fármaco, por exemplo, em caso de receptores intracelulares). Assim sendo, a CE<sub>50</sub> é um parâmetro descritivo e não uma constante, como é muito claro no caso do fármaco com alta eficácia intrínseca (o chamado agonista pleno), o qual tem valor de CE<sub>50</sub> bem inferior ao seu  $K_d$ , quando atua num sistema biológico com grande quantidade de receptores de reserva. Já no caso dos fármacos com baixa eficácia intrínseca (os chamados agonistas parciais), a diferença entre os valores de CE<sub>50</sub> e  $K_d$  é muito menor, ou até mesmo inexistente.

*NB. Quando a resposta é uma diminuição e não aumento de uma função, certos autores usam alternativamente o parâmetro  $CI_{50}$ , apesar de ser desaconselhado pela IUPHAR por entender que neste caso temos um efeito agonístico inibitório (Neubig e cols., 2003). Concordamos com este conselho da IUPHAR, mesmo se há de convir que a prática de usar o termo  $CI_{50}$  neste caso é muito comum na literatura e não deveria ser considerada “errada”, a nosso ver.*

*NB. Às vezes, pode ser preferível expressar a atividade de um fármaco em termos da concentração que causa uma alteração da linha de base empiricamente definida (por exemplo, uma mudança de 20 mm Hg na pressão de perfusão). Se a terminologia  $EC_x$  for usada neste contexto, as unidades apropriadas devem ser incluídas (por exemplo,  $EC_{20mm}$ ) para evitar confusão com  $EC_{20}$  (concentração que produz 20% do efeito máximo do fármaco).*

**$CI_{50}$ , ou concentração inibitória média**, é a concentração de um antagonista de receptor, um inibidor enzimático ou de um ligante (no ensaio de *binding* de competição) que reduz a resposta do agonista, a atividade enzimática ou ligação do radioligante, respectivamente, em 50%.

Nota-se que os valores do parâmetro  $CI_{50}$  são influenciados pelas condições experimentais (como a concentração e identidade do agonista, do substrato ou do radioligante), havendo necessidade de correção para obter o valor da constante de inibição ( $K_i$ ).

### **Referências**

Copeland R.A. Evaluation of Enzyme Inhibitors in Drug Discovery. A Guide for Medicinal Chemists and Pharmacologists (2005), John Wiley & Sons, Inc, Publication Hoboken, New Jersey.

Neubig R.R., Spedding M., Kenakin T. & Christopoulos A. International Union of Pharmacology Committee on Receptor Nomenclature and Drug Classification. XXXVIII. Update on Terms and Symbols in Quantitative Pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 55: 597–606, 2003. <https://doi.org/10.1124/pr.55.4.4>

Noël F. Ensaios de binding: fundamentos teóricos, aspectos práticos e aplicações no desenvolvimento de fármacos (2017), e-book. François Germain Noël – Rio de Janeiro. ISBN 978-85-923439-0-3.

[https://www.sbfte.org.br/wp-content/uploads/2019/01/LIVRO\\_INTEIRO\\_SBFTE\\_3.pdf](https://www.sbfte.org.br/wp-content/uploads/2019/01/LIVRO_INTEIRO_SBFTE_3.pdf)