

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Kiril Lanevskij

VAISTINIŲ JUNGINIŲ ABSORBCIJA IR
PASISKIRSTYMAS AUDINIUOSE: KIEKYBINIO
STRUKTŪROS IR AKTYVUMO RYŠIO ANALIZĖ

Daktaro disertacijos santrauka
Fiziniai mokslai, biochemija (04 P)

Vilnius, 2011

Disertacija rengta 2007-2011 metais Vilniaus universiteto Gamtos mokslų fakulteto Biochemijos ir Biofizikos katedroje bendradarbiaujant su VŠĮ „Aukštieji algoritmai“.

Mokslinis vadovas:

dr. Remigijus Didžiapetris (VŠĮ „Aukštieji algoritmai“, fiziniai mokslai, biochemija – 04 P)

Disertacija ginama Vilniaus universiteto Biochemijos mokslo krypties taryboje:

Pirmininkė:

prof. dr. Vida Kirvelienė (Vilniaus Universitetas, fiziniai mokslai, biochemija – 04 P)

Nariai:

prof. dr. Rimantas Daugelavičius (Vytauto Didžiojo universitetas, fiziniai mokslai, biochemija – 04 P)

dr. Česlovas Venclovas (Vilniaus universitetas, fiziniai mokslai, biochemija – 04 P)

prof. habil. dr. Eugenijus Butkus (Vilniaus universitetas, fiziniai mokslai, chemija – 03 P)

doc. dr. Saulius Šatkauskas (Vytauto Didžiojo universitetas, biomedicinos mokslai, biofizika – 02 B)

Oponentai:

dr. Daumantas Matulis (Vilniaus universitetas, fiziniai mokslai, biochemija – 04 P)

prof. habil. dr. Rimvydas Simutis (Kauno technologijos universitetas, technologijos mokslai, informatikos inžinerija – 07 T)

Disertacija bus ginama viešame Biochemijos mokslo krypties tarybos posėdyje 2011 m. rugsėjo 30 d. 16 val. Vilniaus universiteto Gamtos mokslų fakulteto Didžiojoje auditorijoje. Adresas: M.K. Čiurlionio 21/27 – 214, LT-03101, Vilnius, Lietuva

Disertacijos santrauka išsiuntinėta 2011 m. rugpjūčio ___ d.

Disertaciją galima peržiūrėti Vilniaus universiteto ir Biochemijos instituto bibliotekose

VILNIUS UNIVERSITY

Kiril Lanevskij

ABSORPTION AND TISSUE DISTRIBUTION
OF DRUG-LIKE COMPOUNDS: QUANTITATIVE
STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIP ANALYSIS

Summary of Doctoral Dissertation
Physical Sciences, Biochemistry (04 P)

Vilnius, 2011

The dissertation work was carried out at the Department of Biochemistry and Biophysics, Vilnius University in collaboration with VŠĮ „Aukštieji algoritmai“ in 2007-2011.

Scientific supervisor:

dr. Remigijus Didžiapetris (VŠĮ „Aukštieji algoritmai“, Physical Sciences, Biochemistry – 04 P)

The doctoral thesis will be defended at the Council of Biochemistry of Vilnius University

Chair:

Prof. Dr. Vida Kirvelienė (Vilnius University, Physical Sciences, Biochemistry – 04 P)

Members:

Prof. Dr. Rimantas Daugelavičius (Vytautas Magnus University, Physical Sciences, Biochemistry – 04 P)

Prof. Dr. habil. Eugenijus Butkus (Vilnius University, Physical Sciences, Chemistry – 03 P)

Doc. Dr. Saulius Šatkauskas (Vytautas Magnus University, Biomedical Sciences, Biophysics – 02 B)

Opponents:

Dr. Daumantas Matulis (Vilnius University, Physical Sciences, Biochemistry – 04 P)

Prof. Dr. habil. Rimvydas Simutis (Kaunas University of Technology, Technological Sciences, Informatics Engineering – 07 T)

The thesis defense will take place in the open meeting held by Biochemistry Sciences doctoral thesis defense board on September 30, 2011 at 4 PM in the auditorium No. 214 at the Faculty of Natural Sciences of Vilnius University.

Address: M.K. Čiurlionio 21/27 – 214, LT-03101, Vilnius, Lithuania

The summary of the thesis was distributed on August ____, 2011.

The thesis is available at the Library of Institute of Biochemistry and the Library of Vilnius University.

IVADAS

Problemos aktualumas. ADME (nuo angl.: *Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion* – absorbcija, pasiskirstymas, metabolizmas, šalinimas) savybių nustatymas yra svarbi naujų vaistų kūrimo proceso dalis. Šios savybės turi didelę įtaką vaisto terapeutiniam efektyvumui, saugumui, taip pat jos lemia, kaip dažnai ir kokiomis dozėmis vaistas turėtų būti vartojamas. Siekiant išvengti nuostolių, kai tenka stabdyti projektą vėlyvose pakopose ir atsisakyti potencialaus vaisto dėl netinkamo farmakokinetinio profilio, būtina įvertinti vaistų kandidatų ADME savybes kiek įmanoma anksčiau^{1,2}. Šis klausimas ypač aktualus CNS vaistų projektuose, kadangi tanki hematoencefalinė užtvara, skirianti smegenų audinį nuo periferinės cirkuliacijos, efektyviai riboja daugelio cheminių junginių patekimą į smegenis³.

ADME savybių prognozavimas kompiuteriniais modeliais yra patraukli alternatyva eksperimentiniams tyrimams ankstyvose vaistų kūrimo pakopose. Skaičiavimai yra gerokai pigesni ir greitesni, nereikalauja turėti junginio mėginio, todėl gali būti taikomi dar prieš jo sintezę. Struktūros ir aktyvumo ryšio modeliavimui taikomus kompiuterinius metodus galima suskirstyti į dvi iš principo skirtingas grupes. Pirmą grupę – tai statistiniai metodai, kurie ieško empirinio ryšio tarp modeliuojamojo dydžio ir aprašomųjų parametrų (deskriptorių) matricos, o modelio gerumą vertina formaliais statistiniais kriterijais. Statistiniai metodai leidžia pasiekti gerų rezultatų tuomet, kai turima pakankamai daug eksperimentinių duomenų. Pavyzdžiui, jie tinka modeliuoti fizikochemines savybes (lipofiliškumą, jonizaciją, tirpumą), kai kurias vaistų toksiškumo charakteristikas. Naujas tokio pobūdžio metodas, pavadintas GALAS (angl.: *Global, Adjusted Locally According to Similarity* – globalus, pakoreguotas lokaliai atsižvelgiant į panašumą), buvo sukurtas ir aprašytas mūsų grupės mokslininkų^{4,5}.

Tiriant biologines savybes, tokias kaip absorbcija žarnyne ar pasiskirstymas audiniuose, dažnai stebima priešinga situacija – viešai publikuotų eksperimentinių duomenų (ypač *in vivo* matavimų) kiekis labai ribotas, o pats modeliuojamasis dy-

dis atspindi keletą skirtingais mechanizmais vykstančių procesų. Tokiais atvejais žymiai naudingesni mechanistiniai modeliai. Juose analizuojamas dydis teorinėmis lygtimis siejamas su paprastesniais parametrais, charakterizuojančiais pavienius procesus, o pastarieji aprašomi fizikocheminiais deskriptoriais. Bendrieji teoriniai principai galioja visiems junginiams, todėl mechanistinių modelių pritaikymo sritis mažiau priklauso nuo prieinamų duomenų kiekio ir jų padengiamos cheminės erdvės.

Pagrindinis šio **darbo tikslas** – atlikti vaistinių junginių savybių, apibūdinančių jų absorbciją bei pasiskirstymą tarp kraujo ir audinių, detalią fizikocheminę analizę kiekybinio struktūros ir aktyvumo ryšio modeliavimo metodais. Tikslui pasiekti buvo iškelti tokie **uždaviniai**:

1. Įvertinti GALAS metodo pritaikymo galimybes vaistų susijungimo su kraujo plazmos baltymais stiprumui modeliuoti.
2. Nustatyti, kokios fizikocheminės vaistinių junginių savybės lemia jų paprastos difuzijos pro biologines membranas greitį bei giminingumą audinių lipidams.
3. Sukurti matematinius modelius, kurie leistų prognozuoti hematoencefalinės užtvaros, žarnyno epitelio ir Caco-2 ląstelių monosluoksnių pralaidumą vaistams, taip pat jų pasiskirstymą tarp smegenų ir kraujo bei bendrą pasiskirstymo turį remiantis vien molekulių fizikocheminėmis savybėmis.
4. Palyginti jonizacijos įtaką vaistų difuzijos greičiui ir susijungimo su lipidais efektyvumui nagrinėtose sistemose.
5. Nustatyti, kaip vaistų pernašos į smegenis kiekybinės charakteristikos siejasi su kokybiniais duomenimis, apibūdinančiais vaistų patekimą į centrinę nervų sistemą.

Praktinis taikymas. Sukurti modeliai gali būti naudojami farmacijos pramonėje ar akademinuose tyrimuose molekulių savybių įvertinimui pagal jų cheminę struktūrą. $\log PS$ konstantas prognozuojančio modelio pritaikymo pavyzdys jau yra aprašytas literatūroje⁶. Svarbus fizikocheminių modelių taikymo aspektas yra

galimybė patikslinti skaičiavimus pakeičiant prognozuojamas $\log P$ ar pK_a reikšmes eksperimentiškai nustatytomis. Kitas privalumas yra tai, kad keičiant įvesties parametrų reikšmes galima tyrinėti nagrinėjamo dydžio priklausomybę nuo fizikocheminių savybių ir tokiu būdu įvertinti, kaip reikėtų modifikuoti junginio struktūrą norint pasiekti tinkamas ADME charakteristikas.

Mokslinis naujumas. Dauguma šiame darbe nagrinėtų savybių yra įprasti struktūros ir aktyvumo ryšio tyrimų objektai. Vis dėlto, ankstesnių darbų autoriai didžiausią dėmesį skiria geresnių statistinių rodiklių siekimui, ir daugelis jų visai nenagrinėja modeliuojamų reiškinių iš biologinės pusės. Šio darbo paskirtis priešinga – sukurti teoriškai pagrįstus ir lengvai interpretuojamus modelius, kurie susietų vaistų biologines savybes su jų fizikocheminėmis charakteristikomis.

Vienas iš svarbiausių darbo aspektų – nuodugni jonizacijos įtakos tiriamiems procesams analizė. Pristatomi modeliai suderina žinomas teorines lygtis, aprašančias pagrindinius vaistų absorbcijos ir pasiskirstymo audiniuose principus, su jonių formų specifinio pasiskirstymo išraiškėmis. Tokiu būdu, jonizacijos efektas nėra ekstrapoliuojamas iš kitų, geriau ištirtų sistemų, bet nustatomas kiekvienai sistemai atskirai.

Aprašomi vaistų pernašos pro hematoencefalinę užtvaramą ($\log PS$ ir $\log BB$) modeliai sukurti naudojant žymiai didesnius duomenų rinkinius lyginant su ankstesniais darbais. Iki šiol nebuvo publikuota $\log BB$ modelių, kurie ne tik atsižvelgtų į skirtingus procesus, lemiančius šios savybės vertes, bet ir pritaikytų teorines žinias netinkamų analizei eksperimentinių duomenų identifikavimui. Taip pat šiame darbe parodoma, kad išvardintų kiekybinių parametrų dėka galima atskirti potencialius CNS vaistus nuo junginių, kurie nepakankamai efektyviai pernešami į smegenis. Sukurtas klasifikacinis modelis yra teoriškai pagrindžiamas.

Disertacijos turinys. Disertaciją sudaro šios dalys: Įvadas, Literatūros apžvalga, Duomenys ir metodai, Teorija, Rezultatai ir jų aptarimas, Išvados, Priedai (4), Cituojami šaltiniai (231). Pateikiami 29 paveikslai, 17 lentelių. Iš viso – 156 psl. Disertacija parašyta anglų kalba.

GINAMIEJI TEIGINIAI

1. Vaistų susijungimo su plazmos baltymais (%*PPB*) modelis, sukurtas naudojant GALAS metodą, užtikrina pakankamą skaičiavimo tikslumą, kad prognozės būtų galima naudoti kaip deskriptorių modeliuojant tolimesnį vaistų pasiskirstymą organizme.
2. Vaistinių junginių paprastos difuzijos pro biologines membranas greitį galima aprašyti šiomis fizikocheminėmis savybėmis: jonizacija, lipofiliškumu, vandenilinių ryšių sudarymo potencialu bei molekulės dydžiu.
3. Jonizuoti junginiai difunduoja pro žarnyno epitelį ar smegenų kapiliarų endotelį 2-3 eilėmis lėčiau už neutralias molekules. Ryšio tarp difuzijos greičio ir jonizacijos pobūdis nepriklauso nuo analizuojamų ląstelių tipo.
4. Vaistų giminingumas audiniams gerai koreliuoja su molekulių lipofiliškumu. Neigiama jonizacijos įtaka nespecifinės sąveikos su lipidais stiprumui pasireiškia tik rūgštiniais junginiais.
5. Vaistus galima klasifikuoti pagal patekimą į centrinę nervų sistemą remiantis kiekybinių dydžių, apibūdinančių pusiausvyrinį pasiskirstymą tarp smegenų ir kraujo bei šios pusiausvyros pasiekimo greitį, tiesine kombinacija.
6. Pagal sukurtą klasifikacinį modelį junginys gali būti laikomas patenkančiu į centrinę nervų sistemą, jeigu jis pernešamas į smegenis pakankamai efektyviai, kad galėtų pasiekti stacionarųjį būvį.

DUOMENYS IR METODAI

Šiame darbe nagrinėjami kelių tipų kiekybiniai duomenys, tarp kurių yra tiek vaistų pernašos pro biologines membranas kinetinės charakteristikos, tiek termodinaminiai dydžiai, apibūdinantys junginių sąveiką su plazmos baltymais bei audinių lipidais.

Kinetiniai dydžiai:

- $\log PS$ (angl.: *Permeability-Surface area product*) – hematoencefalinės užtvartos pralaidumo ir smegenų kapiliarų paviršiaus ploto sandauga.
- %*HIA* (angl.: *Human Intestinal Absorption*) – absorbcijos žmogaus žarnyne efektyvumas, išreikštas procentinės absorbuotos dalies pavidalu.
- $\log P_e$ (angl.: *Effective Permeability*) – Caco-2 ląstelių monosluoksnių pralaidumo koeficientas.

Termodinaminiai dydžiai:

- %*PPB* (angl.: *Plasma Protein Binding*) – susijungusios su kraujo plazmos baltymais formos procentinė dalis.
- $\log BB$ (angl.: *Brain/Blood ratio*) – pasiskirstymo tarp smegenų ir kraujo konstanta stacionariajame būvyje.
- V_{SS} (angl.: *Volume of distribution at steady-state*) – stacionariojo būvio pasiskirstymo tūris, teorinė sąvoka, parodanti vaisto santykinį giminingumą audinių ir plazmos komponentams.

1 lentelė. Tiriamieji kiekybiniai parametrai ir atitinkamų duomenų rinkinių dydžiai.

Dydis	Junginių skaičius duomenų rinkinyje (<i>N</i>)			
	Apmokymo	Vidinės patikros	Išorinės patikros	
Kinetiniai dydžiai:				
$\log PS$	125	52	43	–
% <i>HIA</i>	567	–	25 ^a	22 ^a
$\log P_e$ (Caco-2)	473	209	300	–
Termodinaminiai dydžiai:				
% <i>PPB</i>	1162	291	–	–
$\log BB$	333	137	30 ^a	21 ^a
V_{SS}	346	150	352	90

^a Modelio patikrinimui panaudotas kitoks duomenų tipas nei apmokymui.

Eksperimentiniai duomenys buvo surinkti iš įvairių farmakokinetikos žinyų, vaistų informacinių lapelių, ankstesnių modeliavimo darbų bei daugybės originalių eksperimentinių straipsnių, kuriuose pateikiamos išmatuotos nagrinėjamų dydžių vertės. Duomenys buvo kritiškai analizuojami, įtraukiant į modeliavimui skirtą duomenų rinkinį tik tas vertes, kurios atspindi vaisto pernašos pro biologines membranas greitį ar pasiskirstymą audiniuose, sąlygotą paprastos difuzijos proceso. Reikšmės, paveiktos aktyviosios pernašos ar kitų pašalinių veiksnių, nebuvo naudojamos modelių kūrimui.

Šešių pagrindinių tiriamųjų savybių duomenų rinkinių dydžiai pateikti 1 lentelėje. Turimos reikšmės buvo suskirstytos į apmokymo duomenis, skirtus modelio parametrizavimui, bei patikrinimo duomenis modelio kokybės įvertinimui. Daugeliu atveju papildomai atlikta išorinė patikra naudojant naujų junginių duomenis, surinktus jau pasibaigus modeliavimui ($\log PS$, Caco-2, V_{SS}), arba kitą duomenų tipą, susijusį su modeliuojamuoju teorinėmis lygtimis ($\%HIA$, $\log BB$).

Labai svarbi vaistų savybė, turinti didelę įtaką visiems tolimesniems pasiskirstymo procesams, yra susijungimo su kraujo plazmos baltymais stiprumas ($\%PPB$). Siekiant sumažinti paklaidas dėl $\%PPB$ netikslumo, $\log BB$ ir V_{SS} modeliavimo metu buvo daugiausiai remiamasi eksperimentiniais $\%PPB$ duomenimis. Modelis, kuris galėtų pakankamai tiksliai prognozuoti $\%PPB$, kai eksperimentiniai duomenys neprieinami, buvo sukurtas naudojant GALAS modeliavimo metodą. Kitos 1 lentelėje paminėtos savybės aprašytos netiesinėmis lygčių sistemomis, siejančiomis atitinkamą dydį su fizikocheminiais deskriptoriais (lipofiliškumas, jonizacija, vandenilinių ryšių sudarymo potencialas, molekulės dydis). Modeliai buvo kuriami netiesinės regresijos (NLS) metodu R programoje. Siekiant užtikrinti, kad skirtingus procesus aprašantys parametrai būtų nustatyti nepriklausomai vieni nuo kitų, koeficientų parinkimas vyko keliais etapais. Pvz., kuriant $\log PS$ modelį pirmajame etape buvo sumodeliuotas hematoencefalinės užtvaros pralaidumas neutralioms molekulėms, ir tik po to į analizę įtraukti elektrolitai bei įvertinta difuzijos greičio priklausomybė nuo jonizacijos.

REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

1. Teorija

Bendrieji dėsningumai. Pagal termodinaminę elektrolitų pasiskirstymo teoriją junginio pasiskirstymas tarp dviejų fazių priklauso nuo jo jonizacijos būsenos, o skirtingos joninės formos pereina tarp fazių nepriklausomai viena nuo kitos. Klasikinis šios teorijos taikymo pavyzdys yra (1) lygtis, siejanti dvi molekulių lipofiliškumo charakteristikas – neutralios formos pasiskirstymo tarp 1-oktanolio ir vandens koeficientą $\log P_{o/w}$ ir nuo pH priklausomą pasiskirstymo koeficientą $\log D_{o/w}$.⁷

$$\log D_{o/w} = \log \left(\sum_i f_i \cdot P_i \right) = \log \left(\sum_i f_i \cdot 10^{\log P_{o/w} + \Delta_i} \right) \quad (1)$$

f_i žymi i -osios joninės formos dalį tirpale esant pasirinktam pH, P_i – jos pasiskirstymo koeficientą, o Δ_i – skirtumą tarp i -osios ir neutralios formos $\log P$.

Koeficientas $\log D_{o/w}$ dažnai naudojamas kaip deskriptorius struktūros ir aktyvumo ryšio modeliuose, kadangi šis parametras atspindi tiek lipofiliškumo, tiek jonizacijos efektą. Toks požiūris turi svarbų trūkumą – $\log D_{o/w}$ naudojimas reiškia, kad tiriamosios savybės priklausomybė nuo jonizacijos turėtų būti tokia pati, kaip ir 1-oktanolio/vandens atveju. Biologinėse sistemose šios priklausomybės pobūdis gali skirtis, ir konkrečioje sistemoje gali būti stebimos kitokios Δ_i reikšmės nei 1-oktanolioje. Atsižvelgiant į tai pasiskirstymo tarp dviejų fazių koeficientas (K_p) aprašomas joninių formų specifinio pasiskirstymo (angl.: *ion-specific partitioning*) lygtimi:

$$\log K_p = \log \left(\sum_i f_i \cdot K_p^i \right) = \log \left(\sum_i f_i \cdot 10^{\log K_p^0 + \Delta_i} \right) \quad (2)$$

(2) lygtyje $\log K_p$ priklausomybė nuo jonizacijos yra išreiškiama tokiu pat principu kaip ir $\log D_{o/w}$ atveju, tačiau Δ_i reikšmės nėra ekstrapolijuojamos iš oktanolio/vandens sistemos, o nustatomos kiekvienai savybei atskirai.

Neutralios formos $\log K_p^0$ galima aprašyti molekulės lipofiliškumu ($\log P_{o/w}$). Taip į modelį gali būti įtraukiami papildomi parametrai, atspindintys vandenilinių

ryšių sudarymo potencialą, (3) lygtyje toks parametras žymimas HB . Daugelio biologinių savybių priklausomybė nuo lipofiliškumo netiesinė – labai lipofiliniai junginiai yra sulaikomi membranoje, dėl to savybės vertė didėja tik iki tam tikro (optimalaus) $\log P_{o/w}$, o toliau didinant $\log P_{o/w}$, pradeda tolygiai mažėti. Tokį priklausomybės pobūdį geriausiai aprašo H. Kubinyi pasiūlyta bilinijinė lygtis⁸:

$$\log K_p^o = c_o + c_1 \log P_{o/w} + \alpha \log(1 + 10^{\log P_{o/w} - \beta}) + [c_2 HB] \quad (3)$$

c_o - c_2 , α ir β yra netiesinės regresijos metodu parenkami koeficientai.

Nagrinėjamų sistemų ypatumai. Biologinių membranų pralaidumas. Vaisių molekulės gali įveikti ląstelinius pernašos barjerus, tokius kaip žarnyno epitelis, dviem būdais – tarpląsteliniu (angl.: *paracellular*) ir viduląsteliniu (angl.: *transcellular*). Papildomą barjerą sudaro vadinamasis nemaišomas vandens sluoksnis (angl.: *UWL – unstirred water layer*). Bendras sistemos pasipriešinimas difuzijai (atvirksčias pralaidumo koeficientui P_e dydis) aprašomas (4) lygtimi:⁷

$$\frac{1}{P_e} = \frac{1}{P_{UWL}} + \frac{1}{P_{trans} + P_{para}} \quad (4)$$

P_{UWL} įtaka yra reikšminga tik labai lipofiliniams junginiams, laisvai difunduojantiems pro epitelio ląstelių membranas. *In vivo* žmogaus žarnyne P_{UWL} ribojamas absorbcijos efektyvumas eksperimentiškai neatskiriamas nuo 100%⁹. Difuzija pro vandeniui užpildytas poras glaudžiosiose jungtyse gali būti aprašyta Adson et al. pasiūlytu teoriniu modeliu¹⁰, pagal kurį tarpląstelinio kelio pralaidumas (P_{para}) priklauso nuo molekulės jonizacijos būsenos (dėl neigiamo transepitelinio potencialų skirtumo katijonai difunduoja greičiau) bei jos dydžio. Difuzijos greitis staigiai mažėja molekulės sferinio atitiktens spinduliui artėjant prie vidutinio poros spindulio, kuris žmogaus žarnyno epitelyje siekia apie 5,6 Å¹¹, o Caco-2 ląstelių monoslouksniuose – 4,6 Å. Viduląstelinio kelio pralaidumas (P_{trans}) aprašomas Fiko dėsniais. Analizuojant $\log PS$ duomenis nustatyta, kad apie 90% P_{trans} variacijos lemia junginio tirpumas fosfolipidinėje membranoje, modeliuojamas (2-3) pavidalo lygčių sistema. Toliau šioje santraukoje P_{UWL} ir P_{para} nėra aptariami, o 2 skyriuje pristatomi P_{trans} modeliavimo rezultatai.

Absorbcija žmogaus žarnyne. (4) lygties pagalba galima apskaičiuoti žarnyno epitelio efektyvųjį pralaidumą vaistams ($\log P_{eff}$). Absorbcijos efektyvumą (%HIA) galima susieti su $\log P_{eff}$ pirmojo laipsnio kinetine lygtimi, tačiau Yu ir Amidon parodė, kad eksperimentinius duomenis geriau atitinka septynių kompartmentų CAT (angl.: *Compartmental Absorption and Transit*) modelis¹², kuris ir buvo panaudotas šiame darbe:

$$\%HIA = 100\% \times \left(1 - \left(1 + C_A P_{eff}\right)^{-7}\right) \quad (5)$$

Hematoencefalinė užtvara. Dėl labai tankaus glaudžiųjų jungčių tinklo tarp kaimyninių smegenų kapiliarų endotelio ląstelių difuzija tarpląstelinio keliu beveik nevyksta ($P_{para} \approx 0$). Tam, kad patektų į smegenis, molekulės turi difunduoti pro ląsteles⁷. Nemaišomo vandens sluoksnio storis smegenų kapiliaruose taip pat artimas nuliui⁷, tačiau P_{UWL} narį (4) lygtyje šiuo atveju atstoja kitas veiksnys – kraujotakos greičio ribojama pernaša ($P_F \approx 0,1$ ml/s/g)¹³.

Pasiskirstymas tarp kraujo ir audinių. Pagrindinis skirtumas tarp biologinių membranų pralaidumo ir pasiskirstymo į audinius charakteristikų yra tai, kad pastaruoju atveju nagrinėjama pusiausvyra tarp dviejų vandeninių fazių (pvz., kraujo plazmos ir smegenų tarpląstelinio skysčio). Nuo junginio pernašos pro membraną greičio priklauso tik tai, ar ši pusiausvyra bus pasiekta.

Jeigu junginys pasyviai difunduoja pro ląstelinis pernašos barjerus, stacionariajame būvyje jo laisvos (t.y. nesusijungusios su baltymais ar lipidais) formos koncentracijos (c_u^{SS}) plazmoje ir tarpląsteliniam skystyje susilygina. Tuomet nesudėtingų matematinių veiksmų dėka galima įsitikinti, kad pusiausvyrinio pasiskirstymo koeficientas išreiškiamas junginio laisvos formos dalių (f_u) skirtinguose kompartmentuose santykiu, pvz., $\log BB$ atveju:

$$c_{u,pl}^{SS} = c_{u,br}^{SS} \Rightarrow \log BB = \log \frac{f_{u,pl}}{f_{u,br}} \quad (6)$$

Taigi, $\log BB$ reikšmę lemia junginio giminingumo plazmos baltymams ir smegenų audinio komponentams (daugiausiai lipidams ir lipoproteinams) skirtumai. Abiem atvejais susijungimo stiprumas priklauso nuo lipofiliškumo, ir šie

efektai kompensuoja vienas kitą. Šiame darbe pademonstruota, kad $\log BB$ visai nekoreliuoja su molekulių lipofiliškumu, nors tarp $\log P_{o/w}$ ir $pf_{u,br}$ (laisvos formos smegenyse $f_{u,br}$ neigiamas dešimtainis logaritmas) stebima aiški teigiama koreliacija¹⁴. Vienas fizikocheminis modelis negali aprašyti dviejų skirtingų procesų superpozicijos, todėl vaistų susijungimą plazmoje ir audiniuose atspindintys parametrai turi būti modeliuojami atskirai.

Daugeliui vaistų žinomos eksperimentinės %PPB reikšmės – jų pagrindų sukurta modelis junginio laisvos formos dalies plazmoje ($f_{u,pl}$) įvertinimui. Turint išmatuotą ar prognozuotą $f_{u,pl}$ iš eksperimentinių $\log BB$ duomenų pagal (6) lygtį galima apskaičiuoti junginio laisvos formos dalį smegenyse ($f_{u,br}$). Šis parametras savo ruožtu susiejamas su tariamąja giminingumo smegenų audiniui konstanta $K_{b,app}$, kurios kitimo skalė nėra apribota [0; 1] intervalu:

$$pf_{u,br} = -\log f_{u,br} = \log(1 + K_{b,app}) \quad (7)$$

$\log K_{b,app}$ priklausomybė nuo lipofiliškumo ir jonizacijos aprašoma (2-3) pavidalo lygčių sistema.

Pasiskirstymo tūris. Stacionariojo būvio pasiskirstymo tūrį (V_{SS}) su junginio laisvos formos dalimi plazmoje ($f_{u,pl}$) ir audiniuose ($f_{u,ti}$) sieja fiziologinė Øie-Tozer lygtis¹⁵. Čia pateikiama jos modifikuota išraiška, atsižvelgianti į žmogui būdingas fiziologinių konstantų (V_A , V_R) reikšmes bei indikatorinį kintamąjį ($I_P = 1/0$), nurodantį ar junginys nėra pernelyg hidrofiliškas, kad galėtų patekti į ląstelių vidų:

$$V_{SS} = V_A(1 + f_{u,pl}) + I_P V_R \frac{f_{u,pl}}{f_{u,ti}} \quad (8)$$

V_{SS} kitimą daugiausiai lemia $f_{u,pl}/f_{u,ti}$ reikšmių santykis, todėl ši savybė modeliuojama panašiai kaip $\log BB$: eksperimentinės V_{SS} vertės transformuojamos į $pf_{u,ti}$ ir $\log K_{b,app}$, o pastarasis dydis aprašomas (2-3) pavidalo lygčių sistema. Pažymėtina, kad ne visi turimi pasiskirstymo tūrio eksperimentiniai duomenys atitinka stacionariojo būvio sąlygas, tačiau daugeliui junginių skirtumas yra minimalus ir jo galima nepaisyti.

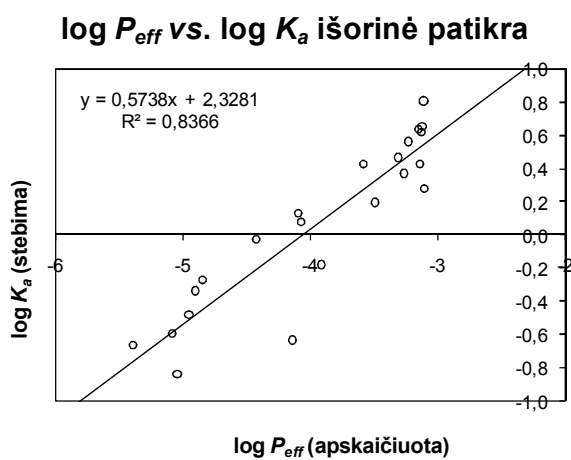
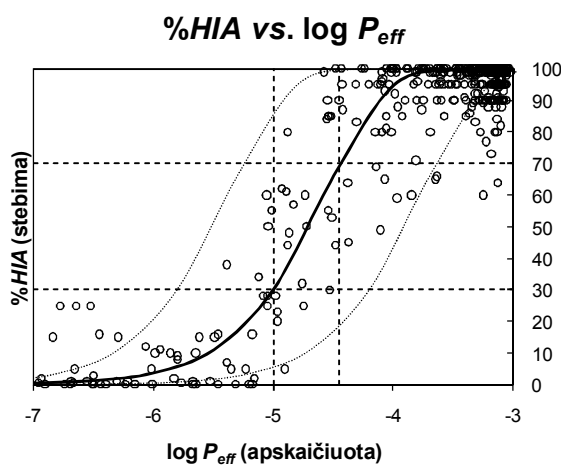
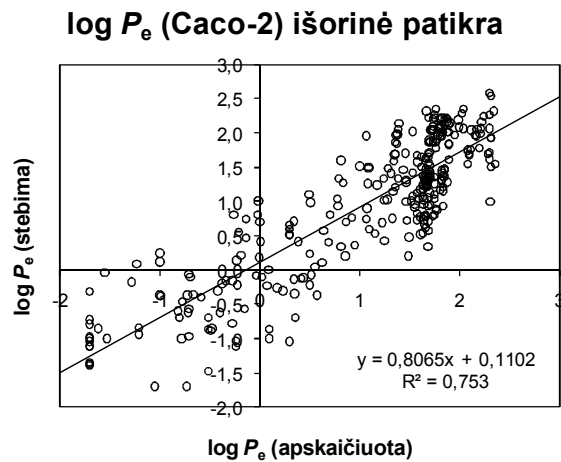
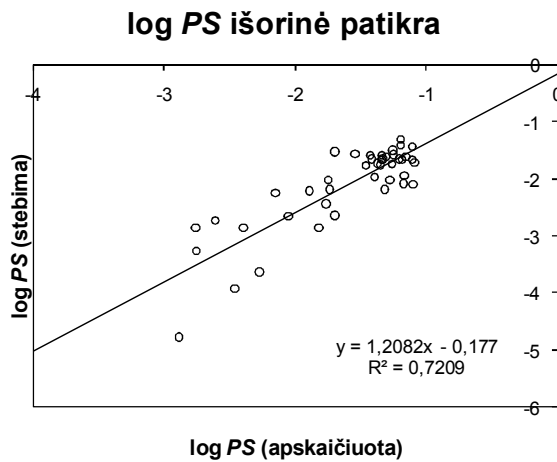
2. Biologinių membranų pralaidumo modeliai

Modelių apmokymo bei patikros statistiniai rezultatai apibendrinti 2 lentelėje. Tiek $\log PS$, tiek $\log P_e$ (Caco-2) atveju stebima labai gera koreliacija tarp eksperimentinių ir prognozuojamų savybių reikšmių (1 pav., viršuje), o panašūs statistiniai rodikliai gauti apmokymo ir patikrinimo duomenų rinkiniams rodo, kad sukurti modeliai nėra pernelyg prisitaikę prie apmokymui panaudotų junginių. Šiek tiek mažesnis determinacijos koeficientas $\log PS$ išorinės patikros atveju gaunamas dėl siauresnės reikšmių skalės – šį duomenų rinkinį sudaro tik CNS vaistai ir suprantama, kad beveik visų jų $\log PS$ patenka į viršutinę skalės dalį (nuo -3 iki -1), kai visa skalė apima 4 logaritminius vienetus (nuo -5 iki -1).

Absorbcijos žmogaus žarnyne modelio įvertinimui pritaikyta kiek neįprasta metodika – dėl analizei tinkamų duomenų stokos sigmoidinės kreivės centrinėje dalyje visi turimi procentiniai %HIA duomenys panaudoti modelio apmokymui. Patikra atlikta remiantis kitokio pobūdžio duomenimis – žarnyno perfuzijos metodu nustatytais pralaidumo koeficientais ($\log P_{eff}$) bei absorbcijos greičio konstantomis ($\log K_a$), kurios tiesiogiai proporcingos $\log P_{eff}$ (1 pav., apačioje). Pakankamai didelis šių konstantų prognozavimo tikslumas rodo, kad modelis, parametrizuotas naudojant %HIA reikšmes, gerai atspindi teorinį ryšį tarp skirtingų absorbcijos kiekybinių charakteristikų.

2 lentelė. Savybių, aprašančių biologinių membranų pralaidumą vaistams, modeliavimo rezultatai.

Modeliuojamasis dydis ir duomenų rinkinys	N	Statistiniai rodikliai	
		R^2	RMSE
$\log PS$ (apmokymo duomenys)	125	0,84	0,48
$\log PS$ (vidinė patikra)	52	0,82	0,49
$\log PS$ (išorinė patikra)	43	0,72	0,52
$\log P_e$ (Caco-2, apmokymo duomenys)	473	0,81	0,50
$\log P_e$ (Caco-2, vidinė patikra)	209	0,78	0,47
$\log P_e$ (Caco-2, išorinė patikra)	300	0,75	0,55
%HIA (apmokymo duomenys)	567	0,93	–
$\log P_{eff}$ (išorinė patikra)	25	0,72	0,45
$\log K_a$ (išorinė patikra)	22	0,84	0,35



1 pav. Eksperimentinių ir prognozuojamų savybių reikšmių palyginimas smegenų endotelio bei žarnyno epitelio pralaidumo vaistams modeliuose.

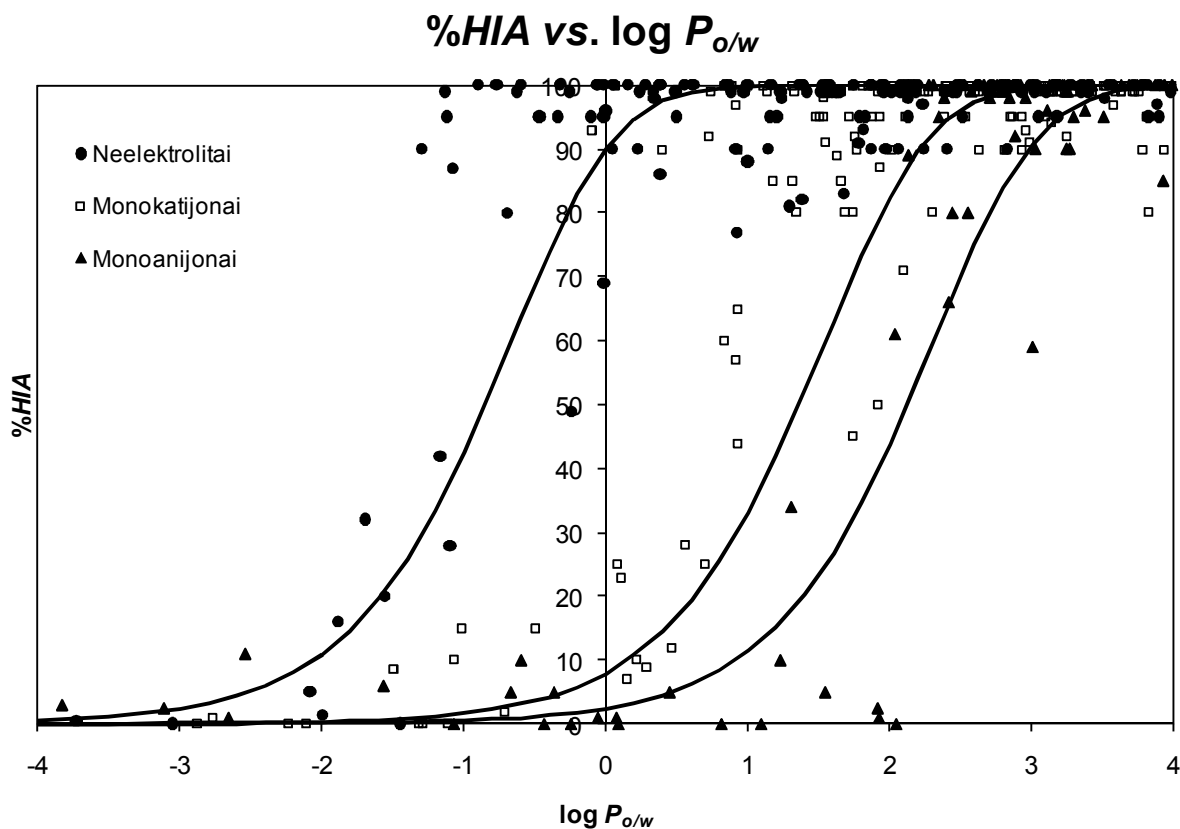
Deskriptorių įtaka. Statistiškai parinkti deskriptorių koeficientai smegenų endotelio bei žarnyno epitelio pralaidumo modeliuose apibendrinti 3 lentelėje. Didžiausią teigiamą efektą paprastos difuzijos viduląsteliniu keliu greičiui turėjo vaistų lipofiliškumas ($c_l = +0,5..+0,7$), o vandenilinių ryšių centrų skaičius turėjo neigiamą įtaką. BBB ir Caco-2 sistemose pastebėtas ryškus difuzijos greičio mažėjimas ($c_l + \alpha < 0$) viršijus optimalų $\log P_{o/w}$ dėl lipofilinių medžiagų sulaikymo membranose. Bilinijinė epitelio pralaidumo priklausomybė nuo lipofiliškumo nėra stebima analizuojant *in vivo* absorbcijos duomenis, nes visišką absorbciją (%HIA $\approx 100\%$) atitinka platus $\log P_{eff}$ reikšmių intervalas, ir bilinijinis efektas galėtų būti reikšmingas tik ypatingai lipofilinėms molekulėms, kurios nėra gerai reprezentuotos tarp turimų eksperimentinių duomenų.

3 lentelė. NLS metodu parinktos koeficientų reikšmės biologinių membranų pralaidumo modeliuose ir jų palyginimas su paprastomis *in vitro* sistemomis (OCT – 1-oktanolis, LIP – liposomos, BBB – hematoencefalinė užtvara, HIA – žmogaus žarnyno epitelis, Caco-2 – Caco-2 ląstelių monosluoksniai).

Parametrai	Paaiškinimas	OCT	LIP	BBB	HIA	Caco-2
Skalių sulyginimas	C_{para} P_{para} proporcingumo daugiklis	–	–	–	$7,0 \cdot 10^{-4}$	450
	C_A Sieja %HIA su P_{eff}	–	–	–	5300	–
	c_0 Laisvasis narys neelektrolitams	0,0		-1,7	-2,5	+2,2
Lipofiliškumas	c_1 $\log P_{o/w}$ koeficientas	+1,0	+0,8	+0,5	+0,7	+0,6
	α Savybės pokytis viršijus optimalų $\log P_{o/w}$ ($c_1 + \alpha$)	–	–	-1,25	–	-1,6
	β Reikšmė, artima optimaliam $\log P_{o/w}$	–	–	5	–	4
H-ryšiai	c_2 N_{HB} koeficientas	–	–	-0,2	-0,4	-0,4
Jonizacija	Δ_{\pm}/c_1 Elektrostatinis efektas.	-2,5	–	-1,4 ^a	-2,0	-1,4
	Δ_{+}/c_1 Skirtumas tarp jonizuotos ir neutralios formos	-3,1	-1,25	-1,8	-2,3	-1,8
	Δ_{-}/c_1 difuzijos greičio	-4,1	-2,5	-3,0	-3,3	-2,8
	Δ_{\pm}/c_1	–	–	–	–	-4,2

Jonogeninių grupių įtaką transmembraninės difuzijos greičiui aprašytuose modeliuose atspindi Δ_i koeficientai. Tam, kad galima būtų tiesiogiai palyginti jonizacijos efektą skirtingose sistemose, 3 lentelėje pateiktos koeficientų reikšmės, normuotos pagal $\log P_{o/w}$ koeficientą (Δ_i/c_1). Analizuojant lentelės duomenis galima padaryti išvadą, kad žarnyno epitelio ir smegenų endotelio pralaidumas elektrolitams žymiai didesnis, negu būtų galima tikėtis iš 1-oktanolio/vandens pasiskirstymo duomenų. Šį skirtumą iliustruoja 2 pav., kur %HIA sigmoidinių kreivių poslinkiai elektrolitams yra maždaug 1 logaritminiu vienetu mažesni, negu sektų iš OCT sistemai taikomos $\Delta \approx 3-4$ taisyklės⁷. Taigi, $\log D_{o/w}$ deskriptorius netinka jonizacijos įtakos aprašymui – jo panaudojimas įvestų į jonizuojamų junginių difuzijos greičio skaičiavimus ($\Delta_i - \Delta_i^{OCT}$) dydžio paklaidas. Panašus, bet dar labiau išreikštas nukrypimas nuo oktanolio/vandens Δ_i reikšmių stebėtas eksperimentiškai analizuojant junginių pasiskirstymą tarp vandens ir liposomų⁷.

^a Dėl aukštos kokybės log PS duomenų stokos cviterjoniniams junginiams, reikšmė ekstrapoliuota iš Caco-2 sistemos.



2 pav. Sigmoidinė priklausomybė tarp %HIA ir $\log P_{o/w}$. Tarpląstelinio kelio įtakos sumažinimui pavaizduoti tik tie junginiai, kurių $MW > 250$.

Kadangi liposomose nėra ekspresuojami jokie baltymai nešikliai, galima teigti, kad palyginti didelis pralaidumas organiniams jonams yra bendras fosfolipidinių membranų bruožas, nors tai ir prieštarauja nuo pH priklausomo pasiskirstymo teorijai, pagal kurią tik neutralios molekulės gali difunduoti pro membranas. Šis klausimas plačiai aptariamas literatūroje ir siūloma keletas galimų paaiškinimų, pvz., jonogeninių grupių pK_a poslinkis membranos aplinkoje.

Kitas svarbus pastebėjimas yra tai, kad visose tirtose biologinėse sistemose (BBB, HIA, Caco-2) gautos labai panašios Δ_i reikšmės: skirtumai tarp jų neviršija eksperimentinių duomenų paklaidos. Pagal analogiją su 1-oktanolio/vandens sistema, galima iškelti hipotezę, kad jonizacijos įtaką biomembranų pralaidumui galima aproksimuoti empirine $\Delta \approx 2-3$ taisykle (2 log vienetų skirtumas katijonams, 3 log vienetų – anijonams). Akivaizdi tolimesnių tyrimų kryptis – patikrinti ar ši hipotezė galioja ir kitose sistemose, pvz., modeliuojant absorbciją pro odą ar placentos užtvary.

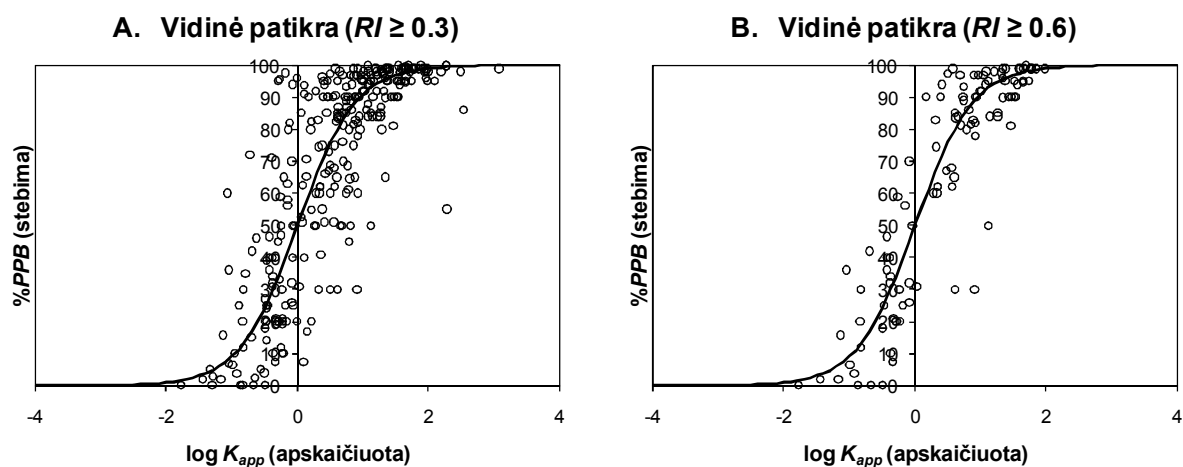
3. Pasiskirstymo tarp kraujo ir audinių modeliai

Susijungimas su plazmos baltymais. %PPB modelis buvo sukurtas naudojant GALAS (angl.: *Global, Adjusted Locally According to Similarity* – globalus, pakoreguotas lokaliai atsižvelgiant į panašumą) modeliavimo metodą. Kiekvieną GALAS modelį sudaro dvi dalys:

- **Globalusis (bazinis) modelis.** Aprašo tiriamosios savybės ryšio su molekulės struktūra bendrąsias tendencijas bei apibrėžia vadinamąjį dinaminio panašumo raktą. Tolydiems dydžiams kuriamas PLS statistinio metodo pagalba.
- **Lokalsios korekcijos procedūra.** Analizuoja bazinio modelio prognozių atitikimą eksperimentiniams duomenims lokaliaje cheminės erdvės srityje bei įveda reikiamas pataisas.

Įvertinus tiriamojo junginio panašumą į apmokomąjį rinkinį bei duomenų panašiausiems apmokomojo rinkinio junginiams (ne)prieštaringumą bazinio modelio prognozėms GALAS modelis pateikia kiekybinę prognozės tikslumo matą – patikimumo indeksą (*RI*, angl.: *Reliability Index*), kuris kinta nuo 0 iki 1. *RI* mažėjimas reiškia, kad junginys tolsta nuo modelio pritaikymo srities⁴.

%PPB dydis išreiškiamas procentinėje skalėje, taigi, pasižymi sigmoidine priklausomybe nuo struktūrinių ar kitų deskriptorių, atspindinčių surišimo energiją. Todėl prieš modeliavimą duomenis būtina „ištiesinti“.



3 pav. %PPB prognozavimo rezultatai patikrinimo duomenų rinkinio junginiams, esant dviems skirtingiems patikimumo indekso (*RI*) režiams: (A) junginiai, patenkantys į modelio pritaikymo sritį ($RI \geq 0,3$); (B) tik aukšto ar vidutinio patikimumo prognozės ($RI \geq 0,6$).

Šiam tikslui procentinės reikšmės buvo paverstos tariamosios giminingumo plazmos baltymams konstantomis $\log K_{app}$ pagal (9) lygtį. Tuomet, bazinio PLS modelio kūrimui bei korekcijai pagal panašumą panaudotos $\log K_{app}$ konstantos, kaip parodyta (10) lygtyje. Galutinė prognozuota $\log K_{app}$ reikšmė gali būti perskaičiuojama atgal į %PPB:

$$\log K_{app} = \log\left(\frac{\%PPB}{100\% - \%PPB}\right) \quad (9)$$

$$\log K_{app,progn.} = \log K_{app,bazinis} + \Delta \quad (10)$$

Modelio statistiniai rodikliai pateikti 4 lentelėje, o sigmoidinė priklausomybė tarp eksperimentinių %PPB ir apskaičiuotų $\log K_{app}$ pavaizduota 3 pav. Prognozavimo tikslumas palyginamas su literatūroje publikuotais modeliais, taip pat stebimas akivaizdus pagerėjimas filtruojant prognozes pagal *RI* reikšmes. Gauti rezultatai rodo, kad *GALAS* metodas tinka vaistų susijungimo su plazmos baltymais modeliavimui, o patikimumo indeksas leidžia atskirti tikslesnes prognozes nuo mažiau tikslių.

Pasiskirstymas tarp kraujo ir audinių. 4 lentelėje taip pat apibendrinti $\log BB$ ir V_{SS} dydžių modeliavimo rezultatai, o grafinis prognozių vaizdas patikrinamųjų rinkinių junginiams pateiktas 4 pav.

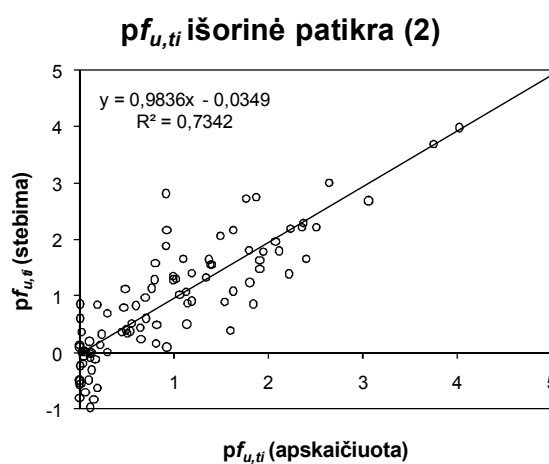
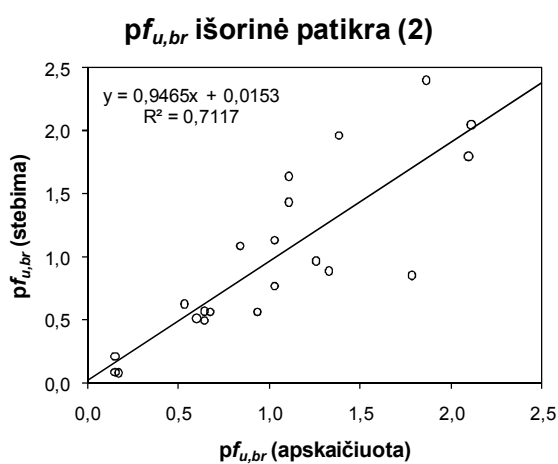
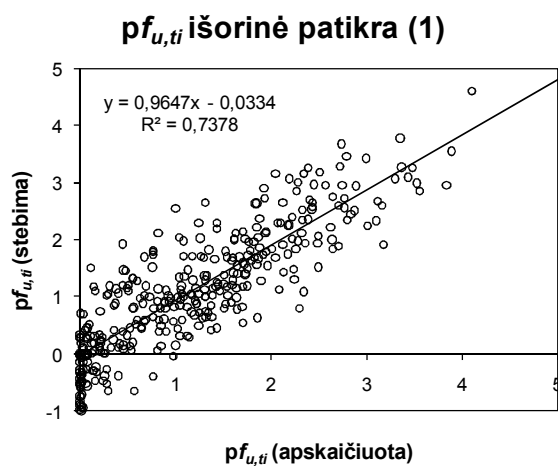
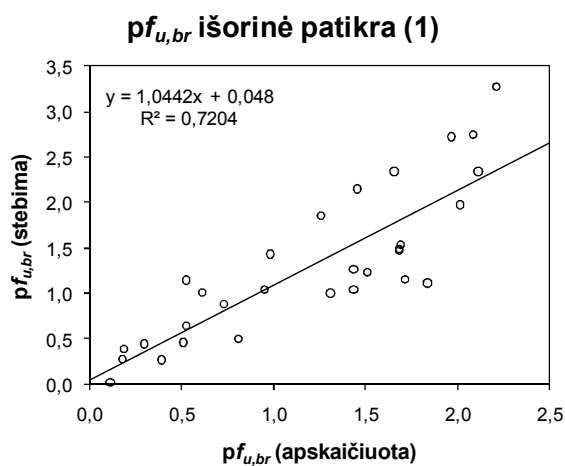
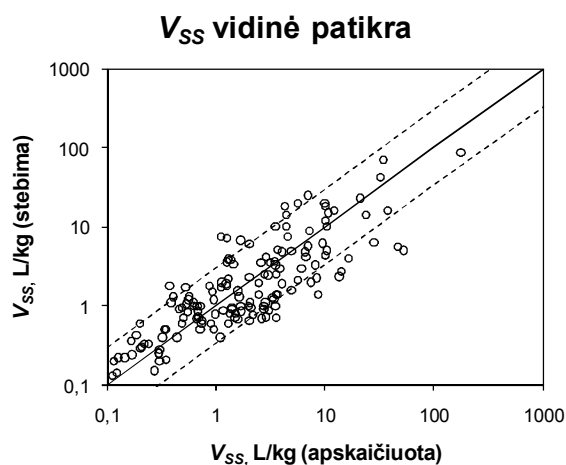
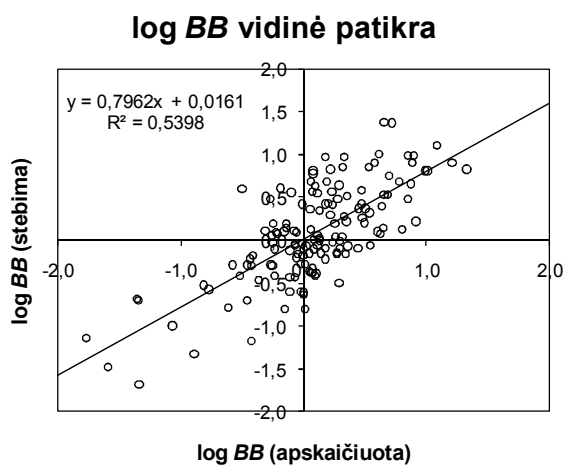
4 lentelė. Savybių, aprašančių vaistų giminingumą kraujo plazmos baltymams ir audinių lipidams, modeliavimo rezultatai.

Modeliuojamas dydis ir duomenų rinkinys	Statistiniai rodikliai			
	<i>N</i>	<i>R</i> ²	<i>RMSE</i>	<i>AFE</i>
%PPB (vidinė patikra, <i>RI</i> ≥ 0,3)	265	0,70	0,59	–
%PPB (vidinė patikra, <i>RI</i> ≥ 0,6)	107	0,82	0,51	–
$\log BB$ (apmokymo duomenys)	329	0,52	0,38	–
$\log BB$ (vidinė patikra)	141	0,54	0,39	–
$pf_{u,br}$ (apmokymo duomenys)	329	0,75	0,38	–
$pf_{u,br}$ (vidinė patikra)	141	0,74	0,39	–
$pf_{u,br}$ (išorinė patikra (1))	30	0,72	0,43	–
$pf_{u,br}$ (išorinė patikra (2))	21	0,72	0,35	–
V_{SS} (apmokymo duomenys)	346	0,75	0,44	2,03
V_{SS} (vidinė patikra)	150	0,80	0,41	1,96
V_{SS} (išorinė patikra (1))	352	0,74	0,50	2,28
V_{SS} (išorinė patikra (2))	90	0,73	0,47	2,09

Visais atvejais apskaičiuotos savybių vertės gerai atitinka eksperimentinius duomenis, o vidutinė kvadratinė prognozavimo klaida ($RMSE$) neviršija 0,4-0,5 logaritminio vieneto. Palyginimui, $\log BB$ nustatymo eksperimentinė paklaida vertinama apie 0,3 logaritminio vieneto¹⁶.

Nagrinėjant konkrečias savybes verta pažymėti didesnę skirtumą tarp giminingumo smegenų audiniui ($pf_{u,br}$) ir $\log BB$ skaičiavimo determinacijos koeficientų. Šių dviejų dydžių prognozės $RMSE$ yra visuomet vienodas pagal modelio apibrėžimą, tačiau skaičiuojant $\log BB$ konstantas gaunama gerokai mažesnė R^2 reikšmė. Taip atsitinka dėl analizuojamų duomenų pobūdžio – kaip jau minėta, $\log BB$ atspindi dviejų priešingomis kryptimis veikiančių procesų efektą. Abu procesai priklauso nuo lipofiliškumo ir iš dalies kompensuoja vienas kito poveikį. Todėl daugelio pasyviai transportuojamų junginių $\log BB$ reikšmės koncentruojasi apie nulį (žr. 4 pav.). Kituose $\log BB$ modeliavimo darbuose R^2 svyruoja gana plačiame intervale (0,5-0,9), tačiau geresni rodikliai gaunami tik tais atvejais, kai $\log BB$ skalė dirbtinai išplečiama įtraukiant aktyviai transportuojamus junginius. Gerokai svarbesnis modelio prognozuojamosios galios rodiklis yra tai, kad panašios $RMSE$ reikšmės gaunamos analizuojant išorinės patikros duomenų rinkinius, kuriuos sudaro tiesiogiai išmatuotos (o ne perskaičiuotos iš $\log BB$) $pf_{u,br}$ vertės.

Praktikoje lyginant vaistų pasiskirstymo tūrius V_{SS} dydis paprastai nėra verčiamas į logaritminę skalę. Todėl jo prognozavimo tikslumą patogiau vertinti naudojant AFE (angl.: *Average Fold Error*) statistiką, kuri parodo kiek kartų suskaičiuota reikšmė vidutiniškai skiriasi nuo eksperimentinės. Tuo tarpu, 4 lentelėje pateiktos R^2 ir $RMSE$ reikšmės charakterizuoja ne paties V_{SS} , o apskaičiuoto pagal (8) lygtį giminingumo audiniams ($pf_{u,ti}$) prognozavimo tikslumą. Tiek apmokymo, tiek patikros duomenų rinkiniuose AFE yra apie 2, o daugiau nei 90% junginių prognozuojama V_{SS} reikšmė nuo eksperimentinės skiriasi mažiau nei 3 kartus (atitinkamo intervalo ribos 4 pav. pažymėtos punktyrinėmis linijomis).



4 pav. log BB ir V_{SS} modelių vidinės bei išorinės patikros rezultatai.

4 pav. galima pamatyti, kad abiejuose V_{SS} išorinės patikros duomenų rinkiniuose kai kurie junginiai turėjo stebimą $pf_{u,ti} < 0$. Tokios reikšmės yra teoriškai neleistinos, nes jos atitinka $f_{u,ti} > 1$. Neigiamų reikšmių atsiradimą galima paaiškinti dviem priežastimis:

- Eksperimentinės klaidos ar pašalinių procesų, kurių negalima aprašyti Øie-Tozer lygtimi, poveikis nustatant V_{SS} reikšmes;
- Netikslių susijungimo su plazmos baltymais duomenų panaudojimas V_{SS} perskaičiavimui į $pf_{u,ti}$.

Pastaroji priežastis ypač aktuali pirmajame išorinės patikros rinkinyje, kuriame visų junginių $f_{u,pl}$ reikšmės suskaičiuotos skyriaus pradžioje aprašyto %PPB modelio pagalba (antrajame – daugumai junginių prieinami eksperimentiniai $f_{u,pl}$). Bet kuriuo atveju, neigiama $pf_{u,ti}$ reikšmė yra aiškus kriterijus, leidžiantis identifikuoti „problematus“ duomenis. Nepaisant keleto tokių junginių buvimo, vidutinė prognozavimo klaida išoriniuose rinkiniuose tik nežymiai didesnė lyginant su apmokomaisiais bei vidinės patikros duomenimis. Gauti rezultatai patvirtina V_{SS} modelio prognozuojamąją galią bei pademonstruoja, kad sukurtas %PPB modelis tinka vaistų sąveikos su plazmos baltymais apytiksliam įvertinimui tiriant jų pasiskirstymą tarp audinių ir kraujo.

Deskriptorių įtaka. log BB ir V_{SS} modelių kūrimo metu parinkti deskriptorių koeficientai apibendrinti 5 lentelėje.

5 lentelė. NLS metodu parinktos koeficientų reikšmės vaistų giminingumo audiniams modeliuose (BBB – pasiskirstymo tarp smegenų ir kraujo duomenys (log BB); V_{SS} – stacionariojo būvio pasiskirstymo tūrio duomenys).

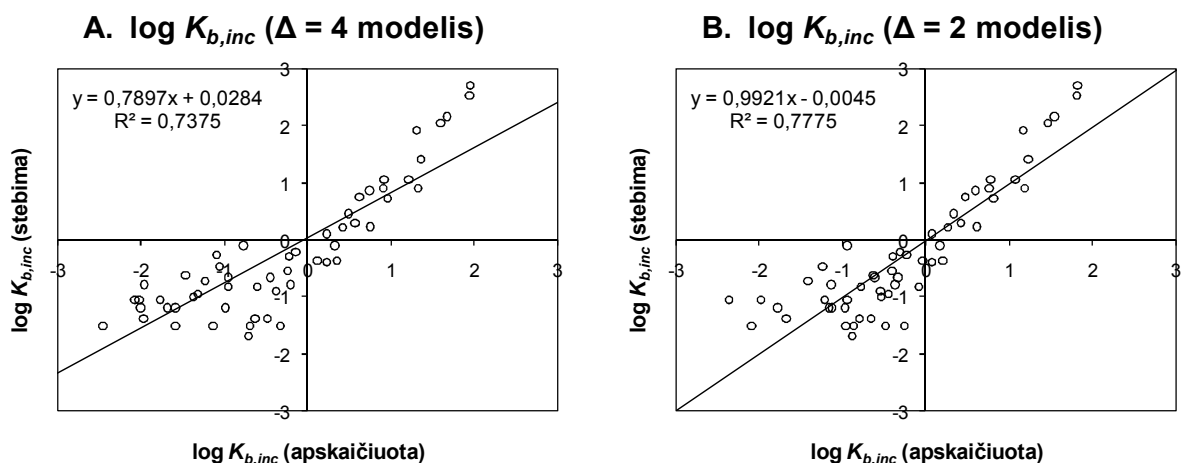
Parametrai		Paiškinimas	BBB	V_{SS}
Skalių sulyginimas	c_0	Laisvasis narys neelektrolitams	-0,7	-1,7
Lipofiliškumas	c_1	log $P_{o/w}$ koeficientas	+0,6	+0,5
	α	Savybės pokytis viršijus optimalų log $P_{o/w}$ ($c_1 + \alpha$)	-0,6	–
	β	Reikšmė artima optimaliam log $P_{o/w}$	5	–
Jonizacija	Δ_+/c_1	Elektrostatinis efektas. Skirtumas tarp joni-	-0,2	0,0
	Δ_+/c_1	zuotos ir neutralios formos giminingumo	-0,2	0,0
	$\Delta_/c_1$	audiniams.	-1,0	-1,8
	Δ_-/c_1		–	-2,8

Didžiausią teigiamą efektą vaistų sąveikai su lipidais turėjo jų lipofiliškumas ($c_l = +0,5..+0,6$). Analizuojant vaistų giminingumą smegenų audiniui pastebėtas jungimosi prie lipidų išisotinimas ($c_l + \alpha = 0$) pasiekus $\log P_{o/w} \approx 5$, tuo tarpu V_{SS} atveju tokio efekto neaptikta. Abiejuose modeliuose nepastebėta statistiškai reikšmingos vandenilinių ryšių sudarymo potencialo įtakos.

Didžiausią kokybinį skirtumą tarp sistemų, charakterizuojančių biomembranų pralaidumą ir pasiskirstymą į audinius, sudaro jonizacijos įtaka nagrinėjamiems procesams. Bazės bei cviterjonai jungiasi prie lipidų taip pat efektyviai, kaip ir nejonizuojami junginiai (bazės – prie anijoninių fosfolipidų (fosfatidilcholino), kitos joninės formos – prie neutralių fosfolipidų, pvz., fosfatidilserino)^{17,18}. Tik rūgštys pasižymi pastebimais mažesniu giminingumu audiniams dėl elektrostatinės stūmos nuo neigiamai įkrautų fosfolipidinių membranų paviršiaus. Taip pat yra akivaizdus kiekybinis skirtumas tarp anijoninių grupių įtakos BBB ir V_{SS} sistemose. Smegenyse Δ absoliutinė vertė yra mažesnė, kadangi silpnesnis anijonų susijungimas su lipidais iš dalies kompensuojamas jų stipresnės sąveikos su smegenų albuminu. Fiziologinėje V_{SS} skaičiavimo lygtyje jau atsižvelgta į tarpląsteliniam skystyje esančio albumino įtaką, todėl modeliuojamasis $pf_{u,ti}$ dydis atspindi vaistų sąveiką tik su lipidais ir „kompensacinis“ efektas nepasireiškia.

Kaip ir biomembranų pralaidumo atveju, galima manyti, kad vaistų jonizacijos įtaką jų giminingumui lipidams visose sistemose turėtų būti vienoda. Aprašytas V_{SS} modelis iš dalies jau yra tokio apibendrinimo pavyzdys, nes bendrasis pasiskirstymo tūris organizme prognozuojamas vienos lygties pagalba neskiriant įvairių audinių tipų. Remiantis šiuo modeliu iškelta hipotezė, kad teigiamai įkrautos ir cviterjoninės formos buvimas neturi įtakos vaistų susijungimo su lipidais stiprumui, tuo tarpu anijonai jungiasi apie 100 kartų silpniau ($\Delta \approx 2$).

Visgi, ši hipotezė remiasi tik vienos savybės modeliu, o $\log BB$ konstantos dėl būtinybės papildomai atsižvelgti į sąveiką su albuminu jos tikrinimui netinka. Dėl šios priežasties norint įvertinti iškeltos hipotezės tinkamumą kitoms sistemoms reikėjo kito parametro, atspindinčio molekulių sąveiką vien su lipidais.



5 pav. Vaistų susijungimo su kepenų mikrosomomis prognozavimo rezultatai: (A) Austin et al. modelis ($\Delta = 4$; $RMSE = 0,63$); (B) testuojamasis modelis ($\Delta = 2$; $RMSE = 0,52$).

Šiam tikslui buvo panaudoti duomenys, apibūdinantys vaistų susijungimą su kepenų mikrosomomis. Iš Austin et al. straipsnio¹⁹ surinktos 56 vaistų laisvos formos dalys mikrosomų inkubacijose ($f_{u,inc}$). Straipsnio autoriai pavertė $f_{u,inc}$ tariamosiomis giningumo mikrosomoms konstantomis ($\log K_{b,inc}$) ir pasiūlė paprastą fizikocheminį modelį pastarojo dydžio prognozavimui. Pagal jų modelį junginio rūgštinės formos $\log K_{b,inc}$ proporcinga $\log D_{o/w}$, o visų kitų joninių formų $\log K_{b,inc}$ proporcinga $\log P_{o/w}$. Taigi, Austin et al. modelis iš esmės sutampa su testuojamuoju modeliu, išskyrus vienintelį aspektą – anijoninės grupės įtaką jungimuisi prie mikrosomų (Δ). Šiame darbe laikoma, kad $\Delta = 2$, o Austin et al. darbe atitinkama reikšmė ekstrapoliuota iš oktanolio/vandens sistemos ($\Delta = 4$). Abiejų modelių užtikrinamas $\log K_{b,inc}$ prognozavimo tikslumas palyginamas 5 pav. Kadangi duomenų rinkinyje vyrauja neutralūs ir baziniai vaistai, kuriems prognozės iš principo nesiskiria, pereinant nuo vieno modelio prie kito bendras R^2 pakinta labai nežymiai. Esminis pokytis atsiranda apatinėje skalės dalyje, kur susikaupia rūgštiniai junginiai. „ $\Delta = 4$ “ modelis įveda pernelyg griežtą pataisą anijoninei formai, kas atsispindi tiek $RMSE$ statistikoje, tiek regresijos tiesės nuolinkio kampe (testuojamojo „ $\Delta = 2$ “ modelio atveju tiesė statesnė, artima $y = x$). Gauti rezultatai rodo, kad apibendrintas jungimosi prie lipidų modelis tinka ne tik pasiskirstymo tūriui, bet ir kitoms vaistų pasiskirstymą audiniuose charakterizuojančioms savybėms prognozuoti.

4. Patekimas į centrinę nervų sistemą

Apžvelgtos vaistų pernašos į smegenis kiekybinės charakteristikos aprašo konkrečius šio proceso kinetinius ar termodinaminius aspektus. Visgi, pagrindinis klausimas tiriant potencialius CNS vaistus yra bendresnis – ar pernaša vyksta pakankamai efektyviai, kad vaistas galėtų pasiekti savo taikinį smegenyse? Dėl šios priežasties be kiekybinių parametrų taip pat analizuojami ir kokybiniai duomenys, kuomet vaistai klasifikuojami į patenkančius ir nepatenkančius į smegenis (BBB+/-). Vienas iš šio darbo uždavinių buvo ryšio tarp tolydžiuųjų savybių ($\log PS$, $\log BB$) ir BBB+/- klasifikacijos radimas bei teorinis pagrindimas.

Kokybiniai duomenys. Analizei pasirinktas duomenų rinkinys, kurį sudarė apie 1600 vaistinių junginių iš WDI (angl.: *World Drug Index*) duomenų bazės, publikuotas Adenot ir Lahana straipsnyje²⁰. Teigiamais (BBB+) laikomi junginiai, priskirti neuroterapeutinių vaistų kategorijai, o neigiamais (BBB-) – vaistų klasės, apie kurias turima duomenų, liudijančių, kad šie junginiai nepatenka į smegenis.

Kiekybiniai parametrai. Galutiniame klasifikacijos modelyje panaudoti du tolydieji parametrai:

- $\log (PS \cdot f_{u,br})$ – dydis, atvirkščiai proporcingas pusiausvyros tarp smegenų ir kraujo pasiekimo puslaikiui ($t_{1/2}$)²¹. CNS vaistų atveju parodo, kaip greitai pasireiškia poveikis.
- $\log BB$ – vaisto koncentracijų smegenyse ir kraujyje santykis pasiekus pusiausvyrą, kurią apibrėžia $t_{1/2}$ dydis. Parodo CNS vaistų veikimo trukmę.

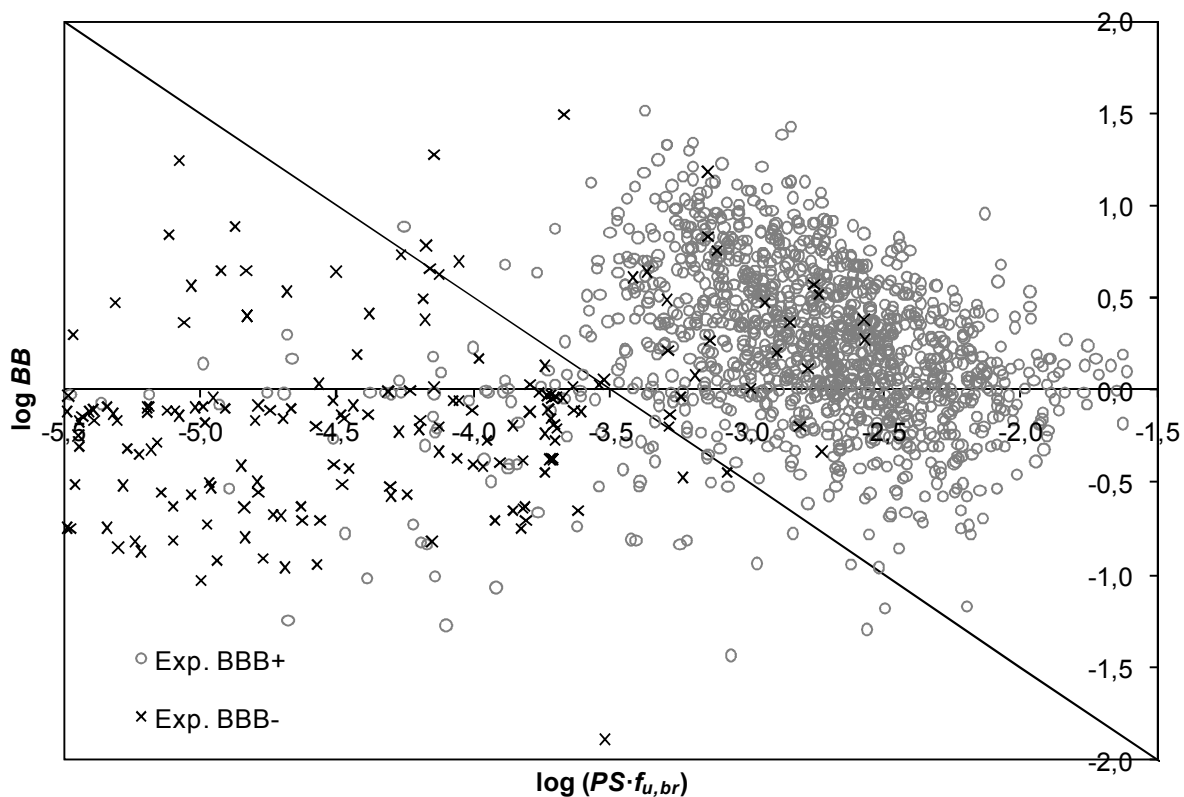
6 lentelė. Vaistų klasifikacijos pagal patekimą į CNS rezultatai (dažnių lentelė).

Stebima\prognozuota	BBB+	BBB-	Tikslumas
BBB+	1239	72	94.5% (jautris)
BBB-	26	244	90.4% (specifiškumas)
Tikslumas	97.9% (teigiamų prognozių tikslumas)	77.2% (neigiamų prognozių tikslumas)	93.8% (bendras tikslumas)

Klasifikacinis modelis. Junginių priskyrimas tam tikrai klasei vykdomas remiantis klasifikacijos įverčiu (S_{BBB}), kuris apibrėžiamas kaip aukščiau išvardintų kiekybinių parametų suma. Iš teorinių modelių seka, kad jei galioja pasyvios difuzijos prielaida, (11) lygtyje pateikta klasifikacijos įverčio išraiška gali būti supaprastinta iki vieno parametro – $\log(PS \cdot f_{u,pl})$. Šis dydis pagal savo prasmę atitinka *in vivo* hematoencefalinės užtvaros pralaidumą, t.y. $\log PS$, pakoreguotą pagal junginio laisvos formos dalį kraujo plazmoje:

$$S_{BBB} = \log(PS \cdot f_{u,br}) + \log BB = \log(PS \cdot f_{u,pl}) \quad (11)$$

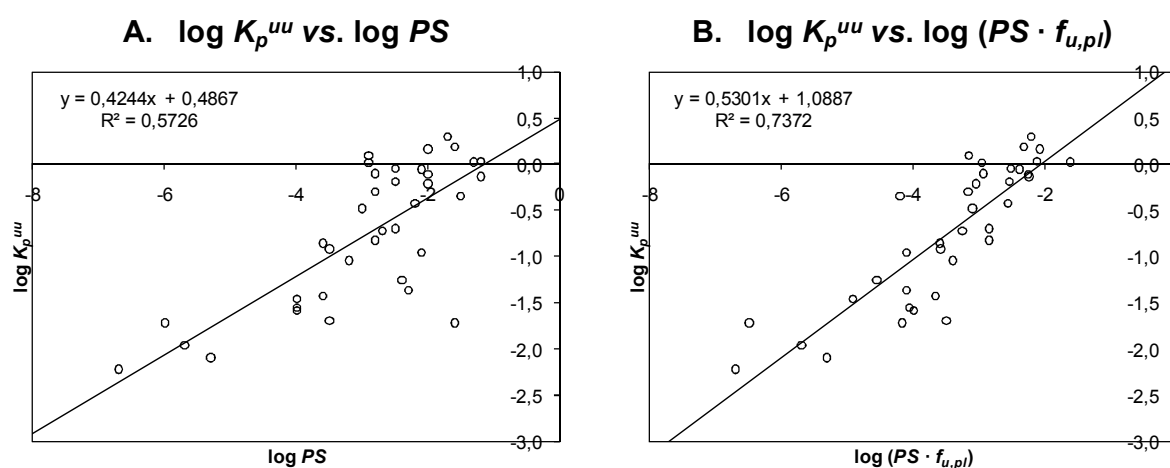
Ribinė įverčio reikšmė, skirianti dvi klases, buvo parinkta LDA (angl.: *Linear Discriminant Analysis*) metodu. Nustatyta, kad optimali ribinė reikšmė $S_{BBB} = -3.5$. Ją pritaikius gautas subalansuotas modelis, kurio tiek jautris, tiek specifiškumas didesnis už 90%, o bendras klasifikacijos tikslumas artimas 94% (žr. 6 lentelę ir 6 pav.). Pasiektas klasių atskyrimo lygis yra geresnis nei ankstesniuose darbuose, naudojančiuose tą patį duomenų rinkinį.



6 pav. Vaistų klasifikacijos pagal patekimą į CNS rezultatai. Įstrižainės taškai atitinka ribinę klasifikacijos įverčio reikšmę ($S_{BBB} = -3,5$). Junginiai virš įstrižainės priskiriami BBB+ klasei, junginiai žemiau įstrižainės – BBB– klasei.

Teorinis pagrindimas. Iš literatūros žinoma, kad junginių pernašos į smegenis efektyvumą gerai atspindi laisvos formos pasiskirstymo tarp smegenų ir kraujo koeficientas K_p^{uu} . Tiesioginiam modeliavimui šis parametras netinka, nes jo reikšmę daugiausiai lemia pernašos mechanizmas, o pasyviai difunduojantiems vaistams K_p^{uu} stacionariajame būvyje turėtų būti visuomet lygus vienetui²². Vis dėlto, net ir tiriant pasyviai pernešamus junginius sutinkamos reikšmės $K_p^{uu} < 1$. Galimas paaiškinimas yra toks: atitinkami junginiai difunduoja pernelyg lėtai ir nesugeba pasiekti stacionaraus būvio. Tokioje situacijoje galima tikėtis tam tikro ryšio tarp $\log K_p^{uu}$ ir $\log PS$. Iš tikrųjų, kaip parodyta 7 pav., (A), pašalinus P-gp nešiklio substratus, gauta nebloga koreliacija tarp $\log PS$ ir eksperimentinių $\log K_p^{uu}$ konstantų, surinktų iš Fridén et al. straipsnio²³. Dar svarbiau, koreliacija žymiai pagerėjo pakeitus $\log PS$ *in vivo* difuzijos greitį atspindinčiu parametru $\log(PS \cdot f_{u,pl})$ arba jam tapačiu CNS klasifikacijos įverčiu S_{BBB} (7 pav., (B)).

Iš šių rezultatų galima padaryti kelias išvadas. Pirma, sukurto klasifikacinio modelio veikimas pagrindžiamas tuo, kad klasifikacijos įvertis gerai atspindi molekulių patekimo į CNS kiekybinį matą. Antra, vaistai gali būti priskiriami BBB+ klasei, jeigu jų difuzijos pro hematoencefalinę užtvarą greitis pakankamas tam, kad būtų pasiekta pusiausvyra tarp smegenų ir kraujo.



7 pav. Koreliacija tarp $\log K_p^{uu}$ ir hematoencefalinės užtvaros pralaidumo charakteristikų: (A) eksperimentiškai (*in situ*) nustatomo $\log PS$; (B) *in vivo* pralaidumo mato $\log(PS \cdot f_{u,pl})$.

IŠVADOS

1. GALAS modeliavimo metodas sėkmingai pritaikytas vaistų susijungimo su kraujo plazmos baltymais stiprumo (%*PPB*) įvertinimui. Sukurto modelio prognozės pakankamai tikslios, kad jas būtų galima naudoti kaip deskriptorių modeliuojant tolimesnį vaistų pasiskirstymą organizme.
2. Paprastos difuzijos pro žarnyno epitelį ar smegenų kapiliarų endotelį greitis gali būti aprašytas vien molekulių fizikocheminėmis savybėmis, tokiomis kaip jonizacija, lipofiliškumas, vandenilinių ryšių sudarymo potencialas bei molekulės dydis.
3. Visose tirtose sistemose stebima panaši difuzijos greičio priklausomybės nuo jonizacijos kiekybinė išraiška: jonizuoti junginiai difunduoja pro biologines membranas 2-3 eilėmis lėčiau už neutralias molekules.
4. Didžiąją dalį vaistų giminingumo audiniams variacijos lemia jų lipofiliškumo skirtumai. Reikšminga priklausomybė nuo jonizacijos stebima tik rūgštiniais junginiais, tuo tarpu bazės ir cviterjonai jungiasi prie audinių lipidinių komponentų taip pat efektyviai kaip ir neutralios molekulės.
5. Remiantis aukščiau išdėstytais teiginiais sukurti fizikocheminiai modeliai, prognozuojantys hematoencefalinės užtvaros ($\log PS$) ir Caco-2 ląstelių monosluoksnių pralaidumą ($\log P_e$), absorbcijos žmogaus žarnyne efektyvumą (%*HIA*), pasiskirstymo tarp smegenų ir kraujo konstantą ($\log BB$) bei stacionariojo būvio pasiskirstymo tūrį (V_{SS}). Visų tiriamųjų savybių vidutinė kvadratinė prognozavimo klaida neviršija 0,4-0,5 logaritminio vieneto.
6. Pusiausvyrinio pasiskirstymo tarp smegenų ir kraujo bei šios pusiausvyros pasiekimo greičio tiesinė kombinacija leidžia 94% tikslumu klasifikuoti vaistus pagal jų patekimą į centrinę nervų sistemą.
7. Tolimesnė klasifikacinio modelio analizė parodė, kad vaistą galima laikyti patenkančiu į centrinę nervų sistemą, jeigu jo pernašos į smegenis efektyvumas pakankamas stacionariajam būviui pasiekti.

LITERATŪROS ŠALTINIAI

1. Gleeson MP, Hersey A, Hannongbua S. In-silico ADME models: a general assessment of their utility in drug discovery applications. *Curr Top Med Chem*. 2011;11(4):358-381.
2. Kerns E, Di L. *Drug-like Properties: Concepts, Structure Design and Methods: from ADME to Toxicity Optimization*. 1st ed. San Diego: Academic Press; 2008.
3. Reichel A. Addressing central nervous system (CNS) penetration in drug discovery: basics and implications of the evolving new concept. *Chem Biodivers*. 2009;6(11):2030-2049.
4. Sazonovas A, Japertas P, Didziapetris R. Estimation of reliability of predictions and model applicability domain evaluation in the analysis of acute toxicity (LD50). *SAR QSAR Environ Res*. 2010;21(1):127-148.
5. Didziapetris R, Dapkunas J, Sazonovas A, Japertas P. Trainable structure-activity relationship model for virtual screening of CYP3A4 inhibition. *J Comput Aided Mol Des*. 2010;24(11):891-906.
6. Guo Q, Brady M, Gunn RN. A biomathematical modeling approach to central nervous system radioligand discovery and development. *J Nucl Med*. 2009;50(10):1715-1723.
7. Avdeef A. *Absorption and Drug Development*. 1st ed. New York: Wiley-Interscience; 2003.
8. Kubinyi H. Quantitative structure--activity relationships. 7. The bilinear model, a new model for nonlinear dependence of biological activity on hydrophobic character. *J Med Chem*. 1977;20:625-629.
9. Obata K, Sugano K, Saitoh R, et al. Prediction of oral drug absorption in humans by theoretical passive absorption model. *Int J Pharm*. 2005;293(1-2):183-192.
10. Adson A, Raub TJ, Burton PS, et al. Quantitative approaches to delineate paracellular diffusion in cultured epithelial cell monolayers. *J Pharm Sci*. 1994;83(11):1529-1536.
11. Sugano K, Takata N, Machida M, Saitoh K, Terada K. Prediction of passive intestinal absorption using bio-mimetic artificial membrane permeation assay and the paracellular pathway model. *Int J Pharm*. 2002;241(2):241-251.
12. Yu LX, Amidon GL. A compartmental absorption and transit model for estimating oral drug absorption. *Int J Pharm*. 1999;186(2):119-125.
13. Summerfield SG, Read K, Begley DJ, et al. Central nervous system drug disposition: the relationship between in situ brain permeability and brain free fraction. *J Pharmacol Exp Ther*. 2007;322(1):205-213.
14. Lanevskij K, Dapkunas J, Juska L, Japertas P, Didziapetris R. QSAR analysis of blood-brain distribution: The influence of plasma and brain tissue binding. *J Pharm Sci*. 2011;100(6):2147-2160.

15. Waters NJ, Lombardo F. Use of the Øie-Tozer model in understanding mechanisms and determinants of drug distribution. *Drug Metab Dispos.* 2010;38(7):1159-1165.
16. Lobell M, Molnár L, Keserü GM. Recent advances in the prediction of blood-brain partitioning from molecular structure. *J Pharm Sci.* 2003;92(2):360-370.
17. Rodgers T, Leahy D, Rowland M. Physiologically based pharmacokinetic modeling 1: predicting the tissue distribution of moderate-to-strong bases. *J Pharm Sci.* 2005;94(6):1259-1276.
18. Rodgers T, Rowland M. Physiologically based pharmacokinetic modelling 2: predicting the tissue distribution of acids, very weak bases, neutrals and zwitterions. *J Pharm Sci.* 2006;95(6):1238-1257.
19. Austin RP, Barton P, Cockroft SL, Wenlock MC, Riley RJ. The influence of nonspecific microsomal binding on apparent intrinsic clearance, and its prediction from physicochemical properties. *Drug Metab Dispos.* 2002;30(12):1497-1503.
20. Adenot M, Lahana R. Blood-brain barrier permeation models: discriminating between potential CNS and non-CNS drugs including P-glycoprotein substrates. *J Chem Inf Comput Sci.* 2004;44(1):239-248.
21. Liu X, Smith BJ, Chen C, et al. Use of a physiologically based pharmacokinetic model to study the time to reach brain equilibrium: an experimental analysis of the role of blood-brain barrier permeability, plasma protein binding, and brain tissue binding. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005;313(3):1254-1262.
22. Hammarlund-Udenaes M, Fridén M, Syvänen S, Gupta A. On the rate and extent of drug delivery to the brain. *Pharm Res.* 2008;25(8):1737-1750.
23. Fridén M, Winiwarter S, Jerndal G, et al. Structure-brain exposure relationships in rat and human using a novel data set of unbound drug concentrations in brain interstitial and cerebrospinal fluids. *J Med Chem.* 2009;52(20):6233-6243.

PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS

Straipsniai recenzuojamuose žurnaluose:

1. Lanevskij K, Japertas P, Didziapetris R, Petrauskas A. Ionization-specific prediction of blood-brain permeability. *J Pharm Sci.* 2009;98(1):122-134.
2. Reynolds DP, Lanevskij K, Japertas P, Didziapetris R, Petrauskas A. Ionization-specific analysis of human intestinal absorption. *J Pharm Sci.* 2009;98(11):4039-4054.
3. Lanevskij K, Japertas P, Didziapetris R, Petrauskas A. Ionization-specific QSAR models of blood-brain penetration of drugs. *Chem Biodivers.* 2009;6(11):2050-2054.
4. Lanevskij K, Dapkunas J, Juska L, Japertas P, Didziapetris R. QSAR analysis of blood-brain distribution: the influence of plasma and brain tissue binding. *J Pharm Sci.* 2011;100(6):2147-2160.

Knygos skyrius:

Lanevskij K, Japertas P, Didziapetris R, Petrauskas A. Prediction of Blood-Brain Barrier Penetration by Drugs. In: Jain KK, ed. *Drug Delivery to the Central Nervous System*. Vol 45. 1st ed. Neuromethods. New York: Springer; 2010:63-83.

Konferencijų medžiaga:

Žodiniai pranešimai:

1. Lanevskij K, Japertas P, Didziapetris R, Petrauskas A. Ionization-Specific Prediction of Blood-Brain Permeability and Distribution of Drugs. LogP2009, Zürich, Switzerland, Feb. 8-11, 2009.
2. Lanevskij K, Japertas P, Didziapetris R. Ionization-Specific Prediction of Passive Permeability of Drugs Across Caco-2 Monolayers. Memtrans Workshop, Saarbrücken, Sep. 17-18, 2009.

Svarbiausi stendiniai pranešimai:

1. Petrauskas A, Lanevskij K, Japertas P, Didziapetris R. Passive Transport of Mono-Protic Drugs' Ions. LogP2009, Zürich, Switzerland, Feb. 8-11, 2009.
2. Lanevskij K, Japertas P, Didziapetris R. Classification of Drugs by CNS Activity Based on QSAR Models of the Rate and Extent of Brain Delivery. 16th North American ISSX Meeting, Baltimore, MD, USA, Oct. 18-22, 2009.
3. Lanevskij K, Japertas P, Didziapetris R. Trainable QSAR Model of Plasma Protein Binding and its Application for Predicting Volume of Distribution. The 240th ACS National Meeting, Boston, MA, Aug. 22-26, 2010.
4. Japertas P, Sazonovas A, Lanevskij K, Kassam K. Approach to quick lead optimization including physicochemical and ADME profiling. The 240th ACS National Meeting, Boston, MA, August 22-26, 2010.

CURRICULUM VITAE

Vardas, pavardė: Kiril Lanevskij
Gimimo data ir vieta: 1984 m. gruodžio 13 d., Vilnius
Kontaktiniai duomenys:
Adresas VšĮ „Aukštieji algoritmai“
A. Mickevičiaus g. 29, LT-08117
Vilnius, Lietuva

Biochemijos ir biofizikos katedra
Vilniaus universitetas
M.K. Čiurlionio g. 21/27, LT-03101
Vilnius, Lietuva
Telefonas +370 5 262 40 32, +370 5 262 34 08
Faksas +370 5 262 37 28
Elektroninis paštas kirill.lanevsky@gmail.com

Išsilavinimas:

2007-2011 Vilniaus universitetas, Gamtos mokslų fakultetas, biochemijos doktorantūros studijos.
2005-2007 Vilniaus universitetas, Chemijos fakultetas, biochemijos magistrantūros studijos (*Magna cum laude* diplomas).
2001-2005 Vilniaus universitetas, Chemijos fakultetas, biochemijos bakalauro studijos (*Cum laude* diplomas).
1991-2001 Vilniaus „Santaros“ vid. mokykla – vidurinysis išsilavinimas.

Profesinė veikla:

2003-dabar VšĮ „Aukštieji algoritmai“, biochemikas modeliuotojas.
Mokslinio domėjimosi sritys: Biologinių membranų pralaidumas vaistams, pasiskirstymas audiniuose, vaistų toksiškumas (genetinis toksiškumas, pašaliniai efektai).

Apdovanojimai:

Lietuvos studentų žinių lygos „Ateities lyderiai“ nugalėtojas (2011), intelektualaus žaidimo „Protmušis“ čempionas (2009), Lietuvos mokslų akademijos studentų mokslinių darbų konkurso pagyrimo raštas (2005), Lietuvos chemijos olimpiados prizininkas (1999-2001) ir laureatas (2001), Baltijos šalių chemijos olimpiados prizininkas (2001).

SUMMARY

Evaluating pharmacokinetic profiles of novel chemicals using computational methods has become an attractive alternative to experimental studies in the earliest stages of drug discovery projects. The objective of this work was to develop mechanistic quantitative structure activity relationship models that would facilitate the assessment of drug absorption and distribution in the body. The analysis involved several parameters reflecting the rate of passive diffusion across biological membranes (blood-brain barrier and Caco-2 monolayer permeability, extent of human intestinal absorption) as well as thermodynamic constants related to drug distribution between plasma and tissues: plasma protein binding strength, steady-state brain/blood partitioning ratio, steady-state volume of distribution.

Permeation through cellular transport barriers was modeled by nonlinear equations relating the passive diffusion rate to physicochemical properties of drugs: lipophilicity, ionization, hydrogen bonding potential and molecular size. The presented models of intestinal permeability accounted for both transcellular and paracellular transport routes. It was demonstrated that brain endothelium and intestinal epithelium exhibit a quantitatively similar pattern of permeability-ionization dependence – in all considered systems ionized species permeated 2 to 3 orders of magnitude slower than neutral molecules.

Analysis of tissue to plasma partitioning data revealed the necessity to split original experimental values into separate terms reflecting plasma and tissue binding strength. Drugs' affinity to tissues could then be described by their lipophilicity, whereas detrimental effect of ionization was only observed for acidic drugs. All developed models demonstrated good agreement between observed and predicted values with residual mean square error of predictions for validation set compounds in the range of 0,4-0,5 logarithmic units. Finally, it was shown that a linear combination of quantitative blood-brain barrier transport parameters allows classifying drugs according to their access to central nervous system with 94% overall accuracy.