



Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar
Kémiai és Környezeti Folyamatmérnöki Tanszék

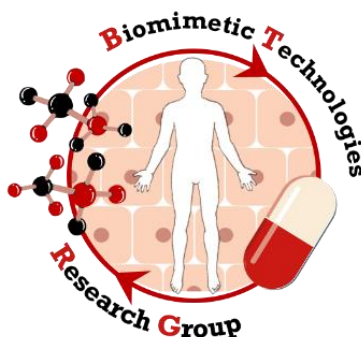
Eltérő lipidösszetételű permeabilitási rendszerek fizikai-kémiai jellemzése

Tudományos diákköri dolgozat

Bicsak Richárd

Témavezető: Dr. Balogh György Tibor, egyetemi tanár
Kémiai és Környezeti Folyamatmérnöki Tanszék

Konzulens: Vincze Anna, Ph. D. hallgató



2022

Köszönetnyilvánítás

Elsősorban szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Balogh György Tibor egyetemi tanárnak, a szakmai munkájáért, illetve a témaválasztásban nyújtott segítségéért. További köszönet illeti Vincze Anna Ph. D. hallgatót, aki a konzulensi tevékenységével segítette a mérési munkáim, valamint eme dolgozat létrejöttét szakmai tanácsaival. Külön köszönet illeti a KU Leuvenből Arany Ádámot és Formanek Andrást, akik a CELSA pályázat keretében *in silico* modellezéssel támogatják a munkát. Szeretném megköszönni Takács Gergőnek a t-SNE árba elkészítését.

Tartalomjegyzék

Köszönetnyilvánítás.....	2
Rövidítésjegyzék	5
1. Bevezetés	7
2. Irodalmi rész	9
2.1. Fizikai-kémiai paraméterek.....	9
2.1.1. Disszociációs állandó (pK_a).....	9
2.1.2. Lipofilitás, négy-egyensúly modell	12
2.1.3. Megoszlási hányados	13
2.1.4. Oldhatóság ($\log S$; $\log S_0$).....	14
2.2. Fizikai-kémiai paraméterek mérése, in silico meghatározása.....	16
2.2.1. Proton-disszociációs együttható (pK_a).....	16
2.2.2. Látszólagos megoszlás ($\log D$).....	17
2.2.3. Valódi megoszlás ($\log P$)	17
2.2.4. Látszólagos oldhatóság.....	18
2.2.5. Belső oldhatóság.....	18
2.3. Membránok felépítése és összetétele	19
2.4. Permeabilitás	20
2.4.1. A permeabilitás vizsgálata.....	22
3. Célkitűzések.....	25
4. Kísérleti rész	26
4.1. Felhasznált anyagok.....	26
4.2. Felhasznált eszközök	26
4.3. Kromatográfiás paraméterek.....	26
4.4. A kísérletek kivitelezése	27
4.5. A hatóanyagok kiválasztása, analitikai megfontolások	29
5. Eredmények és értelmezésük.....	30

5.1.	A hatóanyagok fizikai-kémiai tulajdonságainak eloszlása	30
5.2.	Összefüggések keresése egyparaméteres regressziós módszerekkel	33
5.2.1.	Logaritmikus effektív permeabilitás és fizikai-kémiai paraméterek korrelációja.	37
5.2.2.	Permeabilitás és sav bázis tulajdonságok kapcsolata lipidmembrán-rendszerek szerinti bontásban	Hiba! A könyvjelző nem létezik.
5.2.3.	Membránretenció és fizikai-kémiai paraméterek korrelációja	44
5.3.	Permeabilitás és membránretenció in silico jellemzése	52
6.	Összefoglalás	54
7.	Irodalomjegyzék:	56
	Függelékek:	59

Rövidítésjegyzék

(L)ADME	- (Liberation,) Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion – (Felszabadulás,) Abszorpció, Eloszlás, Metabolizmus, Kiürülés
BBB	- Blood-brain barrier – Vér-agy gát
DAD	- Diode-Array Detector – Diódasoros detektor
DOD	- Dodekán
DMSO	- Dimetil-szulfoxid
H	- Szív (Heart) lipidextraktumból készült membránrendszer
HPLC	- High Performance Liquid Chromatography – Nagy teljesítményű folyadékkromatográfia
K_a	- Savi disszociációs állandó
L	- Máj (Liver) lipidextraktumból készült membránrendszer
$\log D_{7,4}$	- 7,4-es pH-hoz tartozó látszólagos megoszlási hányados tízes alapú logaritmusa
$\log P$	- Semleges molekulaformához tartozó valódi megoszlási hányados tízes alapú logaritmusa
$\log S_{7,4}$	- 7,4-es pH-hoz tartozó látszólagos oldhatóság tízes alapú logaritmusa
$\log S_0$	- Semleges molekulaformához tartozó belső oldhatóság tízes alapú logaritmusa
MR	- Membránretenció, membránvisszatartás
Mw	- Molecular Weight – Molekulatömeg
PAMPA	- Paralell Artificial Membrane Permeability Assay – Mesterséges membrán alapú, párhuzamos permeabilitás vizsgálati módszer
PBS	- Phosphate Buffer Saline – Foszfát pufferoldat
PC	- Foszfatidilkolin
PCA	- Principal Component Analysis – Főkomponens analízis
PS	- Foszfatidilszerin
pK_a	- A savi disszociációs állandó negatív tízes alapú logaritmusa
SBT	- Sav-Bázis tulajdonság
t-SNE	- t-distributed Stochastic Neighbor Embedding - t-eloszlású sztochasztikus szomszédbeágyazás
TPSA	- Total Polar Surface Area – Teljes poláris molekulafelszín
QSAR	- Quantitative Structure-Activity Relationships – Kvantitatív szerkezet-aktivitás összefüggések

QSPR - Quantitative Structure-Property Relationships – Kvantitatív szerkezet-tulajdonság összefüggések

1. Bevezetés

A gyógyszerek terápiás célponthoz (szervhez, szövethez) való eljuttatásának folyamata meglehetősen összetett. A legtöbb gyógyszer végigmegy az ADME folyamatokon (A – Absorption, felszívódás; D – Distribution, eloszlás; M – Metabolism, metabolizmus; E – Excretion, kiürülés). A vérkeringésbe való eljutás folyamatát nevezik abszorpciónak (A), míg a keringéssel a szövetekhez történő eljutást eloszlásnak (D), hiszen a gyógyszerformák döntő többsége a szisztémás keringésen keresztül éri el a célszövetet (pl.: per os alkalmazott gyógyszerformák, intravénásan adott injekciók esetén). A hatóanyag a vérkeringésből a célszövetbe megfelelő koncentrációban kell, hogy eljusson, ehhez megfelelő mértékben kell, hogy penetráljon a sejtmembránokon, ami nem ideális fizikai-kémiai paraméterek mellett (pl.: túl nagy molekulatömeg, rossz oldhatóság, szélsőséges lipofilitás stb.) nehezen kivitelezhető.

A fent említett kritériumok vizsgálata elengedhetetlen az in vivo preklinikai vizsgálatok előtt, így célszerű a gyógyszer-jelöltek fizikai-kémiai szelektálása a még ezt megelőző felfedező kutatási fázisban. Amennyiben későbbi fázisban derül ki, hogy a hatóanyag nem teljesíti az elvárásokat, jelentős extra költséget jelenthet a gyógyszerfejlesztő cég számára [1]. A szelektálás legjobb módja, hogyha már a molekulaszervezetből meg tudjuk jósolni, várhatóan milyen hatást fejt ki az adott gyógyszer a szervezetre, illetve a szervezet milyen belépési kapui számára átjárható a hatóanyagmolekula. Ezt a megközelítést QSAR/QSPR (Quantitative Structure – Activity/Property Relationships - Mennyiségi Szerkezet – Aktivitás/Tulajdonság Összefüggések) névvel illetik és célja, hogy a molekula fizikai-kémiai, kémiai, biológiai paramétereinek ismeretében in silico, számítógépes modellek segítségével megjósoljuk annak szerkezetbeli sorsát.

A Biomimetikus Technológiák Kutatócsoport (BTRG) egy CELSA (Central European Leuven Strategic Alliance) pályázat (CELSA/21/019: Active learning and interpretation of computational model on tissue specific permeability for stock and virtual drug discovery library) keretében a KU Leuven keminformatikusaival közreműködve különböző mesterséges lipidmembránokon keresztüli hatóanyag-permeabilitási összefüggéseket vizsgál, melyhez az in vitro kísérletek kutatócsoportunk végzi el. A dolgozat keretein belül az így kapott in vitro effektív permeabilitás (P_e) és membránvisszatartás (MR) értékek, valamint egy predikációs szoftver által becsült fizikai-kémiai jellemzők (megoszlási hányados [$\log D_{7,4}$]; lipofilitás [$\log P$]; oldhatóság [$\log S$, $\log S_0$]; teljes poláris molekulafelszín [TPSA]) között fennálló

összefüggéseket vizsgáljuk egyszerűbb matematikai és statisztikai módszerek segítségével, míg a magasabb rendű összefüggéseket a belga kutatópartnereink keresik keminformatikai eszközök segítségével.

2. Irodalmi rész

2.1. Fizikai-kémiai paraméterek

Az emberi szervezet különböző belépési kapuján (gasztrointesztinális rendszer, bőr, vér-agy gát) keresztüli felszívódásra, célba hutásra a vegyületek más-más fizikai-, fizikai-kémiai- és kémiai-tulajdonságaik alapján képesek. Ezen tulajdonságok számszerűsített értékeinek tartománya tág határok (akár 10-15 nagyságrend) között mozognak. Az egyszerűsítés kedvéért a fizikai-kémiai paramétereket sok esetben logaritmizált értékként kezelik.

2.1.1. Disszociációs állandó (pK_a)

A gyógyszermolekulák jellemzően gyenge bázikus vagy savas karakterrel rendelkeznek, így protonáltsági állapotuk változik a pH változtatásával, az alábbi, (1) és (2) egyenletek szerint.

Monoprotikus savak disszociációja:



Monoprotikus bázisok disszociációja:



Az (1)-es és (2)-es egyenletekkel bevezetésre kerülnek az alábbi rövidítések: „HA” és „A⁻” a savas karakterű hatóanyagmolekula disszociált, illetve disszociálatlan alakja, továbbá a „B” és a „BH⁺” a bázikus karakterű hatóanyagmolekula szabad, illetve protonasszociált formája. Ezek mellett a „H⁺” a hidrogéniont jelöli.

Az általános proton-disszociációs folyamatot leíró egyensúlyi állandó (K_a) számításának módja:

Monoprotikus savak esetén:

$$K_a = \frac{[H^+] * [A^-]}{[HA]} \quad (3)$$

Monoprotikus bázisok esetén:

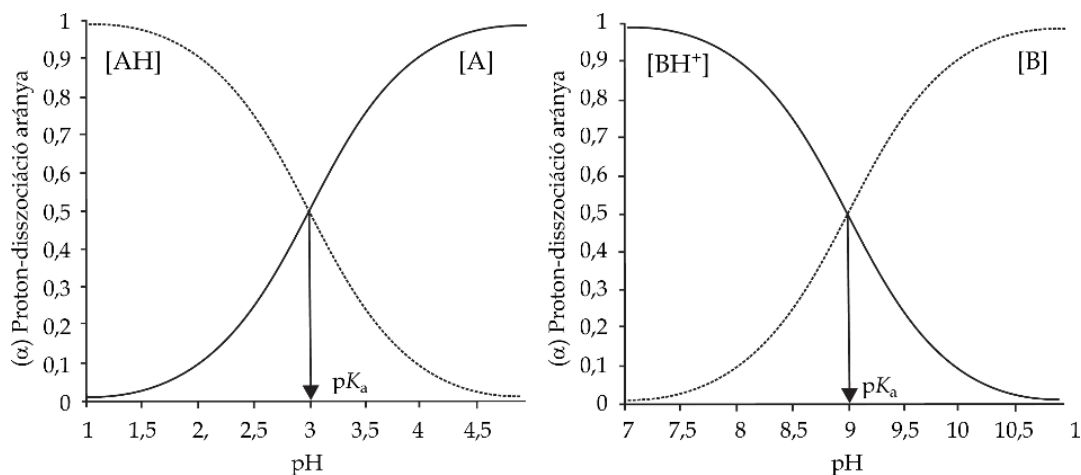
$$K_a = \frac{[B] * [H^+]}{[BH^+]} \quad (4)$$

A fenti egyenletekben:

K_a – savi egyensúlyi állandó;

[X] – a proton-disszociációs folyamatban résztvevő molekuláris formák koncentrációja

Mivel a K_a értéke konstans, a hidrogénion-koncentráció növelésével az ionizált forma koncentrációja a gyenge savak esetén visszaszorul, míg a gyenge bázisok esetén megnő. (ld.: **1. ábra**)



1. ábra Általánosan felírt monoprotikus sav és bázis ionizációjának aránya a pH függvényében

A fenti egyensúlyi egyenleteket átalakítva negatív tízes alapú logaritmusukat véve jutunk a Henderson-Hasselbalch egyenletekig:

Savak esetén:

$$-\lg K_a = pK_a = -\lg \frac{[H^+] \cdot [A^-]}{[HA]} = -\lg[H^+] + \left(-\lg \frac{[A^-]}{[HA]}\right) = pH + \lg \frac{[HA]}{[A^-]} \quad (5)$$

Bázisok esetén:

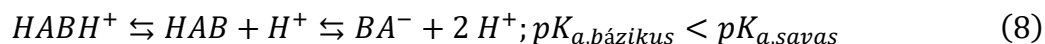
$$-\lg K_a = pK_a = -\lg \frac{[B] \cdot [H^+]}{[BH^+]} = -\lg[H^+] + \left(-\lg \frac{[B]}{[BH^+]}\right) = pH + \lg \frac{[BH^+]}{[B]} \quad (6)$$

Általánosítva:

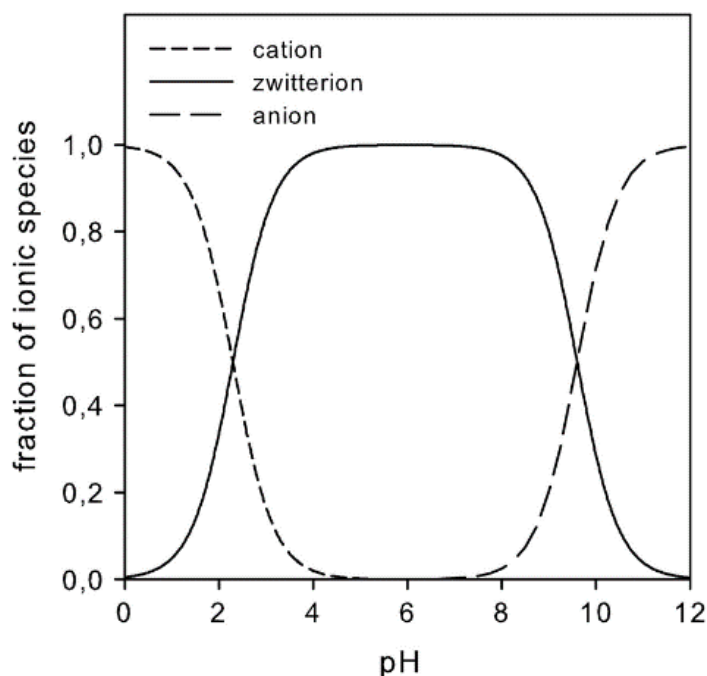
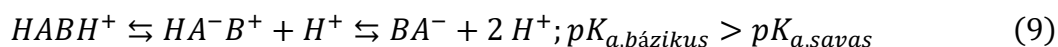
$$pK_a = pH + \lg \frac{[\text{proton donor}]}{[\text{proton akceptor}]} \quad (7)$$

A fenti egyenletek ((5), (6), (7)) arra vonatkoznak, mikor a vegyületnek csak egy proton donor, vagy csak egy proton akceptor csoportja van. Vannak olyan gyógyszervegyületek is, melyekben mindkét típusú funkciós csoport megtalálható egyazon molekulán belül. Ezeket amfotereknek hívjuk, és bár nem olyan népes csoport a gyenge savas/bázikus gyógyszermolekulákhoz képest, jelentős hányadot tesznek ki a gyógyszermolekulák között.

Az amfoter vegyületekre két pK_a értéket adhatunk meg, ahol az egyik a savas, másik a bázikus csoportra vonatkozik. Amennyiben ugyanazon molekula bázikus csoportjának pK_a értéke alacsonyabb, mint a savas csoporté, a két pK_a közötti pH tartományban a molekula semleges formájában van jelen. Ezeket nevezzük egyszerű amfotereknek. Egyensúlyi egyenletük:



Ellenkező esetben, mikor a savas csoport pK_a értéke alacsonyabb a bázikusénál, a két pK_a közötti pH tartományon a molekula nettó töltése ugyan zérus, de ikerionos formában van jelen. Egyensúlyi egyenletük:



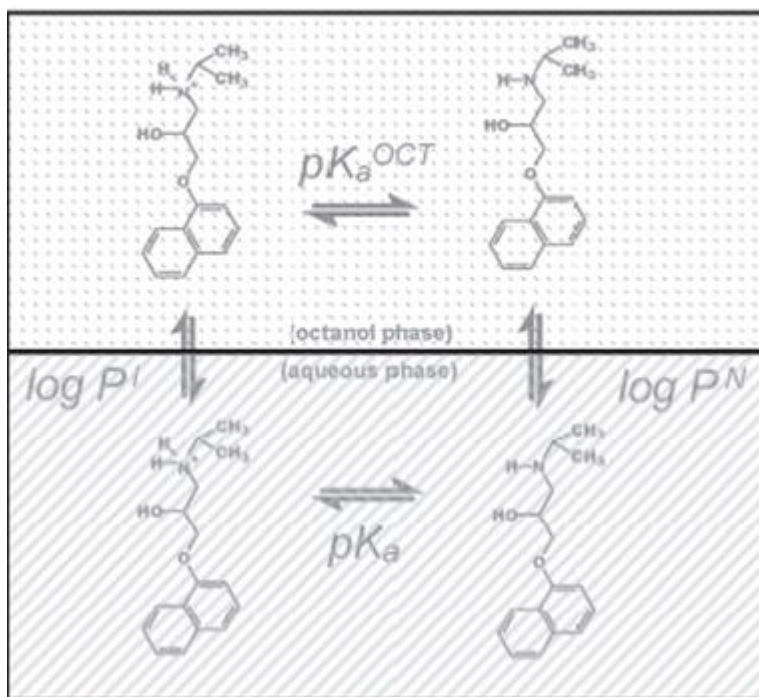
2. ábra Egy fiktív ikerionos amfoter vegyület töltöttségi állapotainak eloszlása a pH függvényében[2]

A fennmaradó gyógyszermolekulák, melyek a pH hatására nem változtatják meg a protonáltsági állapotukat, a nem ionizálható hatóanyagok (jellemzően szteroidok) szűk csoportjába soroljuk.

A továbbiakban az egyszerűség kedvéért a szerves savak mintájával fogok élni, ám az alábbi egyenletekre érvényes, hogy a protonált bázisokat (BH^+) konjugált savaknak (HA), míg a disszociált savakat (A^-) konjugált bázisoknak (B) tekintjük.

2.1.2. Lipofilitás, négy-egyensúly modell

A lipofilitás ($\log P$, vagy $\log P_N$), más néven a valódi megoszlási hányados a hatóanyag semleges formájában történő megoszlását jelenti két nem elegyedő oldószerek fázisai között, melyek jellemzően szerves oktanol és víz rendszere. Mivel a $\log P$ a vegyület töltés nélküli megoszlást adja meg, a semleges forma és az ellenion hatásának hiánya biztosítja a hatóanyag belső (saját) lipofilitási sajátosságának kifejezését.



3. ábra A négy-egyensúly modell bemutatása a propranolol példáján[3]

Azonban a két fázis közti megoszlás valójában jóval bonyolultabb rendszerként, úgynevezett négy-egyensúly modell (angolul: „tetrad of equilibria”) segítségével írható le [3]. A modell lényege, hogy feltételezi, hogy a vizsgált molekula mind ionizált, mind semleges formában jelen van mind a két fázisban (oktanol / víz). Az egyensúlyok kapcsolatát a **3. ábra** szemlélteti:

Az ábrán látható egyensúlyi folyamatokat egyenletek formájában történő megadása:

$$pK_a^{okt} = \lg \frac{[H^+]_{okt} * [A^-]_{okt}}{[HA]_{okt}}; \log P^I = \lg \frac{[A^-]_{okt}}{[A^-]}; \log P^N = \lg \frac{[HA]_{okt}}{[HA]}; pK_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} \quad (11)$$

Ahol:

- pK_a^{okt}** – Disszociációs együttható az oktanolos fázisban (Scherrer-/limitált- pK_a)
- $\log P^I$** – Az ionizált forma megoszlása a két fázis között
- $\log P^N$** – A neutrális forma megoszlása a két fázis között

- pK_a** – Disszociációs együttható a vizes rendszerben
- [X]** – Az „X” anyag koncentrációja a vizes oldatban
- [X]_{okt}** – Az „X” anyag koncentrációja az oktanolos oldatban

2.1.3. Megoszlási hányados

A megoszlási hányados ($\log D_{\text{pH}}$), más néven látszólagos megoszlási hányados egy adott hatóanyag két egymással nem elegyedő oldószerfázis közötti eloszlásának mértékét fejezi ki [4]. A két oldószer egyike jellemzően víz, melynek a pH-ja változtatásával módosul a megoszlási hányados. A másik általában valamilyen szerves fázis, legtöbb esetben oktanol.

A fenti definíció egyenlet formájában kifejezve:

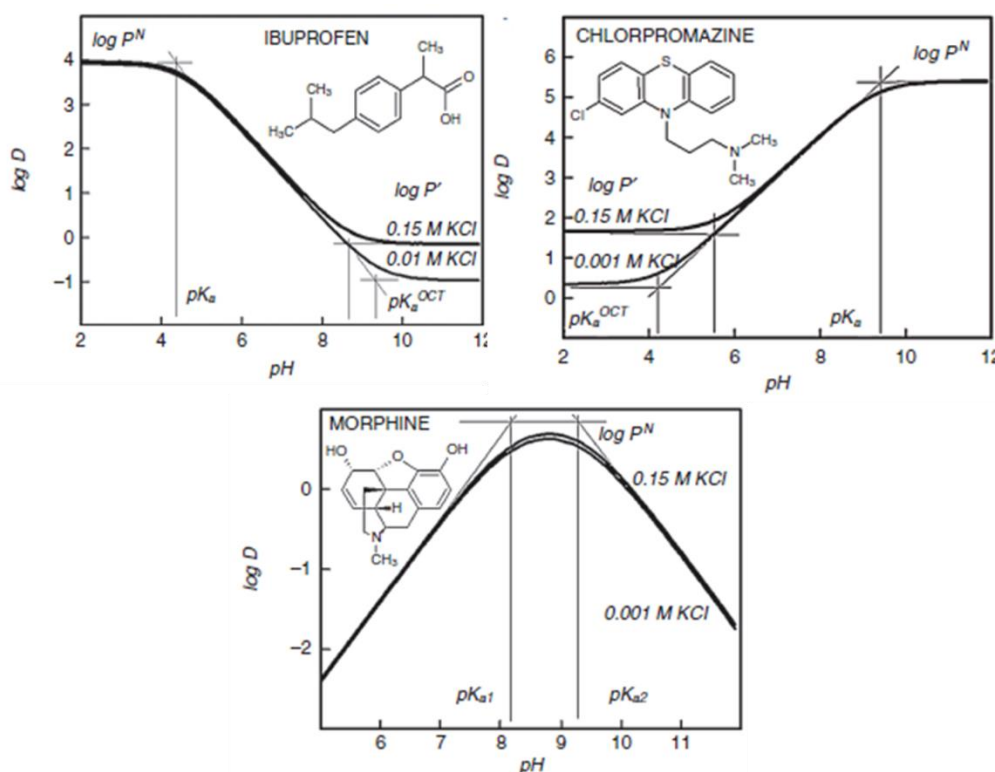
$$\log D_{\text{osz}_1/\text{osz}_2}^{\text{pH}} = \lg \frac{[X]_{\text{osz}_1, \text{pH}}}{[X]_{\text{osz}_2, \text{pH}}} \quad (12)$$

ahol:

- D** – megoszlási koefficiens,
- osz_{1/2}** – 1-es/2-es számú oldószer,
- [X]** – a hatóanyag bármely protonáltsági állapotában lévő formáinak összkoncentrációja

Jelen dolgozatban a 7,4-es pH-jú vizes puffer oldat és oktanol nem elegyedő fázisok közötti megoszlási értékek szerepelnek ($\log D_{7,4}$).

A $\log D$ érték a pH-val módosul, mert a lipofil oktanolos fázis a töltéssel rendelkező részecske teljesen képtelen, vagy nagyon kis mennyiségben képes megoszlani. A pH változtatásával a hatóanyag különböző protonáltsági állapotainak aránya változik, a töltés nélküli, neutrális (amely legkönnyebben oldódik oktanolban) hatóanyagforma koncentrációjával egyetemben. Az alábbi **4.ábra** alapján is látszik a látszólagos megoszlás pH függése, valamint a semleges, illetve az ionizált állapot lipofilitása ($\log P^N$, illetve $\log P^I$), de megfigyelhető a disszociációs együttható vizes és oktanolos fázisaihoz kapcsolódó értékének (pK_a és pK_a^{OCT}) kapcsolata is.



4. ábra Három vegyület (savas – ibuprofén, bázisus – klorpromazin, amfoter – morfin) $\log D$ – pH lefutása[5]

2.1.4. Oldhatóság ($\log S$; $\log S_0$)

A hatóanyag oldódása, kioldódása a gyógyszerformából az ADME folyamatok (A – absorption, felszívódás; D – distribution, eloszlás; M – metabolism, metabolizmus; E – excretion, kiürülés) előtti felszabadulás (L – Liberation) szakasz egyik fontos lépése. Az oldódás során a gyógyszerformát és a hatóanyagot a szervezetnek kedvezőbb szolvátburok veszi körbe.

Az oldhatóság az adott körülmények (hőmérséklet, oldószer, térfogat, egyéb oldott anyagok jelenléte stb.) között feloldható anyag maximális mennyisége [6]. Habár a definíció bármely oldószerre igaz, jelen dolgozat az oldhatóság alatt csak a vízoldhatóságot tárgyalja.

Bár a hatóanyagok oldhatósági értéke tág határok között mozoghat, a szervezetben mégsem cél a fokozott oldhatóság, hiszen a hatóanyagnak a hidrofil közegeken kívül lipofil közegekben (pl.: lipidmembrán) is meg kell oszlania, ami fokozott hidrofil tulajdonság mellett korlátozott.

Folyamatát tekintve először a szilárd halmazállapotú gyógyszer és a vizes oldat (pl.: nyál, gyomornedv stb.) határfelületén az egyes hatóanyagmolekulák elszakadnak a szilárd tömbfázistól, biztosítva szolvatációjukat. Végül ezen molekulák köré oldószermolekulák gyűlnek végleg, eltávolítva a szilárd tömbfázistól. Ezen részecske körüli oldószerrétegben (úgynevezett: diffúziós határréteg) a hatóanyagkoncentráció magasabb, mint a tömbfázisban.

Az oldás sebességét az úgynevezett Noyes-Whitney egyenlet írja le, mely szerint a koncentráció időbeli változása egyenesen arányos a szilárd gyógyszerforma felületével (a részecskék felülete töredékenként), valamint a gyógyszerészecskétől távolodva kialakuló koncentrációgradienssel.

Noyes-Whitney egyenlet:

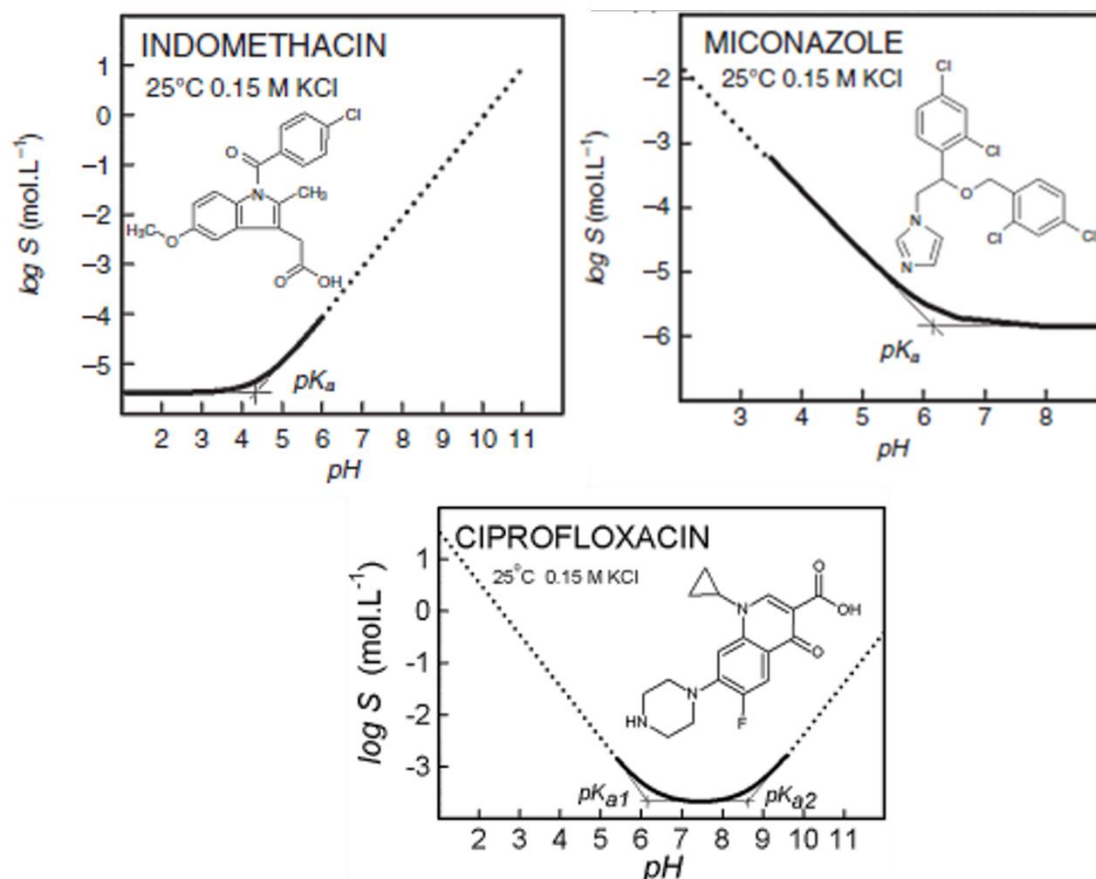
$$\frac{dC}{dt} = k * A * (C_d - C_t) \quad (13)$$

A fenti egyenletben:

- $\frac{dC}{dt}$ – A koncentráció időbeli változása $\left[\frac{mmol}{cm^3 \cdot min} \right]$;
- k – arányossági tényező $\left[\frac{cm}{min} \right]$,
- A – a gyógyszerészecske felülete $[cm^2]$,
- C_d – a gyógyszerészecske diffúziós rétegének hatóanyagkoncentrációja $\left[\frac{mmol}{cm^3} \right]$,
- C_t – a hatóanyagkoncentráció az oldat tömbfázisában $\left[\frac{mmol}{cm^3} \right]$.

Abban a pillanatban, amikor a részecske körüli diffúziós határrétegben a hatóanyagkoncentráció megegyezik az oldat tömbfázisának bármely pontjának koncentrációjával, termodinamikailag beállt az egyensúly és telített oldatról beszélünk.

A hatóanyag oldhatóságát, mind a gyógyszerforma, mind a hatóanyag kémiai állapota befolyásolja. Amennyiben a gyógyszerforma kristályos anyag az oldás során a molekulákat összetartó rácsenergiának megfelelő energiamennyiséget is be kell fektetni, de amorf forma esetén sokkalta nagyobb az oldódás mértéke, hiszen itt nincs olyan rendezett kristályrács (hanem véletlenszerű elhelyezkedésű részecskék), melyből ki kellene szakítani a hatóanyagmolekulát. A molekula kémiai állapota alatt elsősorban a molekula protonáltságát kell érteni. Az adott körülmények (elsősorban pH) között oldott molekula összes protonáltsági állapotát figyelembe véve a látszólagos oldhatóságról ($\log S$), míg a pH-tól független, töltésmentes hatóanyagra vonatkozóan belső oldhatóságról ($\log S_0$) beszélhetünk.



5. ábra Eltérő sav-bázis karakterű vegyület (sav – indomethacin, bázis – miconazole, amfoter – ciprofloxacin) oldhatósága a pH függvényében [7]

2.2. Fizikai-kémiai paraméterek mérése, in silico meghatározása

2.2.1. Proton-disszociációs együttható (pK_a)

A proton-disszociációs állandó (pK_a) meghatározásának egyik általános, gold standard módszere a potenciometrikus titrálás. A titrálási görbe inflexiós pontja adja meg a disszociációs állandó értékét. Továbbá egy vegyület pH-függő tulajdonságait is ki lehet használni a pK_a közvetett mérésére, mint például az UV-abszorbanciát, a retenciót a kromatográfiás rendszerekben, vagy az NMR-spektroszkópiához köthető kémiai eltolódást [8].

A pK_a in silico becslésére a legtöbb elérhető programcsomag a Hammet-Taft összefüggést, vagy annak belső adatbázissal kiegészített változatát használja [9]:

$$pK_a = pK_a^u + \rho * \Sigma \sigma$$

ahol:

pK_a^u - a szubsztituátlan vegyület disszociációs együttható

ρ - szenzitivitási konstans

2.2.2. Látszólagos megoszlás ($\log D$)

Definíció szerint a látszólagos megoszlás egy hatóanyag két egymással nem elegyedő fázis közötti egyensúlyi megoszlását fejezi ki.

A klasszikus eljárás szerint egyensúlyi rázótölcséres rendszerben mérték a hatóanyag két fázis közötti megoszlását [4], így az állandó hőmérséklet nehezebben biztosítható, illetve ebben az esetben relatíve nagy mintamennyiség, és meglehetősen munkaigényes eljárás biztosította a várt eredményt. Napjainkban a mintaszám növekedése miatt a vizsgálati térfogatok csökkentek, és 96-lyukú mérőtálca (plate) alapú technikák is rendelkezésre állnak a vizsgálatra. A plate celláiba bemért adott hatóanyagkoncentrációjú, és pH-jú oldatra oktanolt adagolnak, majd plate-en az egyensúly beálltaig rázatják, végül a két fázisból mintát vesznek. Az oldatokban kialakuló hatóanyag-koncentrációt arra alkalmas analitikai műszer segítségével határozzák meg. A (12)-es egyenletbe behelyettesítve, megkapható a látszólagos megoszlási hányados, vagy is a $\log D_{\text{pH}}$ értéke.

További lehetőség a fordított fázisú folyadékkromatográfiával történő meghatározás, ahol a retenciós tényező (k) értékét arányosítják a lipofilitással, megfelelően választott álló- és mozgófázis mellett [10]. Állófázisként jellemzően különböző hosszúságú szénláncokkal módosított, apoláris szilikagél származékokat használnak (C8, C18), míg mozgófázisként általában vizet alkalmaznak némi szerves módosítóval (acetonitril, metanol). Ezek elősegítik vizsgált molekuláa elúcióját.

2.2.3. Valódi megoszlás ($\log P$)

A fentebb említett módszerek (2.2.2. fejezet) mind alkalmasak a látszólagos megoszlás mellett a valódi megoszlás értékének meghatározására is. A különbség annyi, hogy a vizes fázis pH-ját annyira el kell tolni, hogy a vizsgált hatóanyag pK_a értékét ismerve elérjük, sőt túlmenjünk rajta (4. ábra) biztosítsuk, hogy a vegyületnek csak a neutrális formája legyen jelen.

A lipofilitás *in silico* becslésére számos módszer létezik, de a régebben alkalmazott, de gyors módszer a kémiai fragmensek, vagy atomok egyenkénti $\log P$ hozzájárulásai összegeként írják le [11].

2.2.4. Látszólagos oldhatóság

A látszólagos oldhatóság számszerűsítésével van a legkevesebb probléma, hiszen termosztált (igény esetén pufferált) vízbe feleslegben adjunk hatóanyag szilárd formáját, majd az egyensúly beállása után (jellemzően 1-2 nap) a koncentrációt alkalmas analitikai módszerrel határozzuk meg.

Az oldhatóság még különböző *in silico* becslési modellekkel is meghatározható, melyek közül az egyik legismertebb a Jain és Yalkowsky által leírt általános oldhatósági összefüggés (General Solubility Equation – GSE) [12]:

$$\log S = 0,5 - 0,01 * (T_{op} - 25) - \log P \quad (16)$$

ahol:

logS – A moláris oldhatóság tízes alapú logaritmus [lg(mol/dm³)]

T_{op} – Olvadáspont [°C]

logP – Lipofilitás [-]

2.2.5. Belső oldhatóság

A belső oldhatóság meghatározására Martin Stuart és Karl Box dolgozott ki eljárást [13], mely folyamatos kicsapások és újra feloldások egymásutáni lépéseiből álló titrálások sorozata. Az eljárást egyensúly kereséses oldhatóság vizsgálatának nevezék el („Chasing Equilibrium Solubility”, röviden „CheqSol”).

A számítógépes logS₀ meghatározás lényege, hogy a logS – pH görbéket (lásd: **5. ábra**) extrapolálni kell a pK_a értékig, majd az ott felvett érték lesz a keresett logS₀. Ezek természetesen az amfoter vegyületekre is vonatkoznak.

A monoprotikus savakra, illetve bázisokra vonatkozó oldhatósági egyenlet [14]:

$$S = S_0 * (10^{\pm(pH-pK_a)} + 1) \quad (17)$$

ahol:

S – oldhatóság

S₀ – belső oldhatóság

pK_a – savi disszociációs együttható

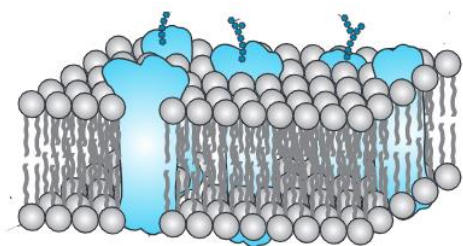
Az egyenletben megfigyelhető ± aszerint változik, hogy a vegyület savas (+), vagy bázikus (–) karakterű.

Amfoter vegyületek esetében az egyenletet az is befolyásolja, hogy az adott vegyületek hány protonaktív csoporttal rendelkeznek, valamint attól is, hogy a szilárd fázistól milyen formában szakadt le.

2.3. Membránok felépítése és összetétele

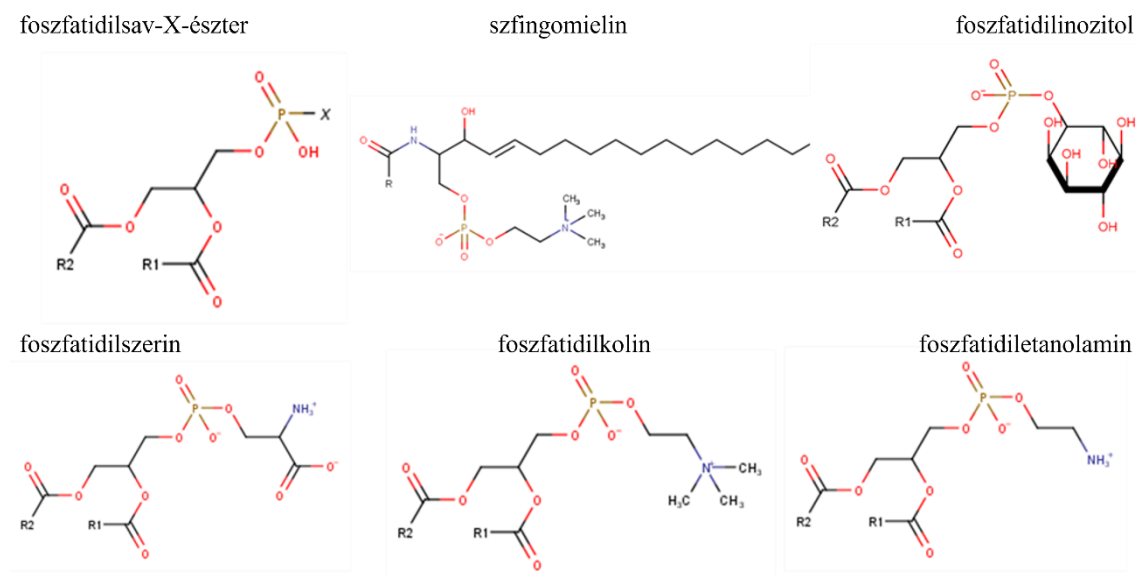
Az emberi szervezetben a lipofilitás értelmezésekor természetesen nem oktanol a lipofil fáziselem, hanem a sejtek határát képező membránréteget alkotó foszfolipidekből álló kettősréteg. A foszfolipidek olyan glicerolfoszfátidilsav észter származékok, melyek két zsírsavval, és egy foszforsavval képez észtert, ám a foszforsav egy másik hidroxilcsoportjával is észteresedik (**7. ábra**). A foszfolipidek előnyös tulajdonsága, hogy az egyik felük (a zsírsavláncok) lipofil karaktert, a másik fele (a glicerín-foszforsav-észter rész) hidrofil karaktert kölcsönöz, így amfifil jellegűek, amibiztosítja a foszfolipid kettősréteg kialakulását. A **6. ábrán** is látható, hogy ez nem egy egyszerű határréteg, mely egyik oldala hidrofób, másik oldala hidrofil (lásd: oktanol-víz rendszer), hanem egy lipid kettősréteg, melynek külső oldala poláros és hidrofil, míg a kettősréteg belseje a foszfolipid hosszú (14-20 szénatomot tartalmazó) telített, illetve telítetlen zsírsav láncokból áll, mely révén a foszfolipid ezen része hidrofób és lipofil karakterű.

A biológiai membrán nem egy komponensű, hanem a membránt alkotó foszfolipidek mellett fehérjék is alkotják melyek a membránfelszíni receptor szerep mellett endogén molekulák és a gyógyszermolekulák aktív transzportjáért is felelnek. Ha a membrán extracelluláris (külső) és intracelluláris (belső) oldala közötti anyagcseréjét olyan transzporterek végzik, melyek magas energiatartalmú molekulákat fogyasztanak, akkor az adott transzportfolyamat aktív. Az idealizált oktanol-víz határréteg rendezetlenségével szemben a lipidmembrán igencsak rendezett felépítésű, melynek jelenleg elfogadott formája a Singer-Nicholson-féle folyékony mozaik membrán modell. A folyékony szó nem véletlenül szerepel a modell nevében, hiszen itt a foszfolipid-részecskék egymásra hatva egy folyadékot idéző fluidumot alkotnak, melyben perifériás, illetve integráns fehérjék úsznak [15].



6. ábra Singer-Nicholson féle folyékony mozaik membrán modell[15]

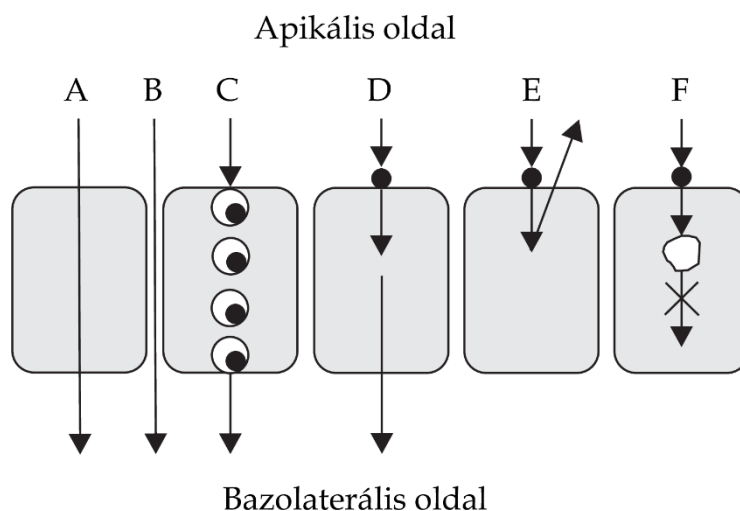
Az biológiai lipidmembrán főleg foszfolipidek alkotják, melyek közül a fontosabbak: foszfatidiletanolamin/kefalin (PE); foszfatidilkolin/lecitin (PC); foszfatidilszerin (PS), illetve foszfatidilinozitol (PI). A foszfoglicerideken kívül szfingomielt is meg kell említeni, mely szerkezete eltérő a többitől.



7. ábra A leggyakoribb membránalkotók.

2.4. Permeabilitás

A permeabilitás egy kinetikai paraméter, mely egy hatóanyag lipid kettősrétegen keresztüli penetrációs képességét írja le [16]. A felszívódás során a hatóanyag a sejtet körülvevő lipidmembrán apikális („külső”) oldaláról a bazolaterális („belső”) oldalára kerül. Mivel ezek a membránok a sejt határát képezik, a sejt működéséhez elengedhetetlen anyagcserék is ezen keresztül mennek végbe. Egy vegyület többféle úton is közlekedhet a membránon keresztül, ahogy azt a 8. ábra is szemlélteti.



8. ábra Egy biológiai membrán lehetséges transzportfolyamatai: A – transzcelluláris diffúzió; B – paracelluláris diffúzió; C – Endocitózis; D – Influx vagy Facilitált transzport; E – Efflux; F – Metabolizmus[16]

Az (A) és (B) jelű transzportfolyamatok a passzív diffúziót reprezentálják, melyet tisztán Fick I. törvénye alapján a membrán két oldala között kialakuló koncentrációgradiens hajt, az alábbi (18)-as egyenletnek megfelelően [17].

$$\frac{dn}{dt} = -D * A * \frac{dc}{dx} \quad (18)$$

ahol:

$\frac{dn}{dt}$ – Az anyagmennyiség időbeli változása (a diffúzió) $\left[\frac{mol}{s}\right]$

D – Diffúziós együttható $\left[\frac{m^2}{s}\right]$

A – Az áramlásra merőleges felület $[m^2]$

$\frac{dc}{dx}$ – Koncentrációgradiens $\left[\frac{\frac{mol}{m^3}}{m}\right]$

A (A) jelű folyamat a transzcelluláris (vagyis sejten keresztüli), a (B) jelű a paracelluláris (vagyis sejtek közötti pórusokon keresztüli) transzport. Az utóbbinak erősen korlátozott az áteresztőképessége, mert nagyban függ a molekula méretétől ($< \sim 200$ Da), töltöttségétől, hidrofilitásától. A (C) jelű transzportfolyamatot endocitózisnak nevezik és a nagy méretű lipofil karakterű vegyületek jellemzően ilyen módon jutnak az intracelluláris térbe. Az eddig megismert transzportfolyamatok mind passzív transzportfolyamatok voltak, vagyis energia befektetés nélkül is lejátszódnak.

A (D) és (E) aktív transzportfolyamatok energiát (általában ATP-t) használnak fel. Az előbbi(ek) az ún. influx, illetve a facilitált transzport, ahol a kettő közötti különbséget csak a

koncentrációgradiens iránya adja. Az influx az a koncentrációgradiens ellen, a facilitált transzport a gradiens irányába dolgozik. Az (E) betűvel jelzett efflux transzport, mely a sejtből való távozás energiaigényes (aktív) folyamata. Xenobiotikumok (a szervezet számára idegen anyagok) esetében az efflux okozza a legnagyobb problémát az ellenirányú transzporttal. Sok effluxtranszporter létezik, de hatóanyagok esetében leggyakrabban a P-glikoprotein (P-gp), vagy MDRP1 (multidrug resistance protein 1) transzporter felelős a folyamatért. Az (F)-fel jelzett folyamat speciális, mely arra utal, hogy a vegyület felszívódása során a sejtben spontán átalakulás, metabolizmus is végbe mehet [16].

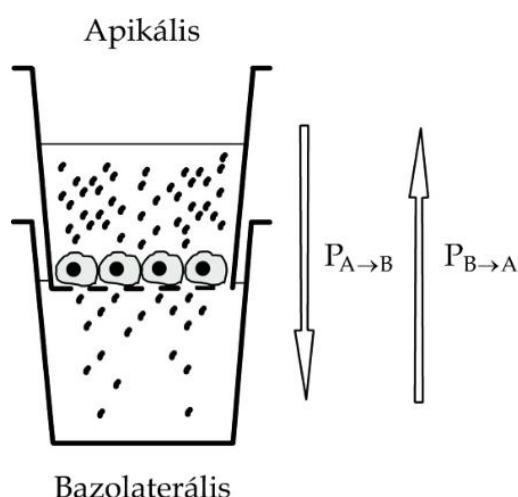
2.4.1. A permeabilitás vizsgálata

2.4.1.1. In vitro sejtes modellek

A permeabilitás gyakorlati jelentősége az élő szervezetbeli hatóanyag eloszlásának a modellezése. Mi sem reprezentálja ezt jobban, mint az élő sejt, melyben a passzív transzportok kívül az aktív transzport is jelen van.

A sejtes in vitro permeabilitási modellek esetében a CaCo-2 (emberi vastagbél adenokarcinóma), illetve MDCK (Mardin-Darby kutyaese epitélium) sejt vonalak használata a legelterjedtebb, melyekben metabolizáló enzimek és különböző aktív transzporterek is előfordulnak. [18]

A rendszer egy szendvicsplate alapú modell, ahol a felső plate celláinak szűrőmembránjára helyezik a sejteket egy rétegben. Tekintettel arra, hogy a sejtek oreintációja meghatározott, így fontos megkülönböztetni az apikális, illetve a bazolaterális oldalt (**9. ábra**).



9. ábra A sejtes in vitro permeabilitást mérő plate egy cellapárja[18]

A látszólagos permeabilitás ebben a modellben a következő egyenlettel írható le:

$$P_{app} = \frac{\frac{dQ}{dt}}{A * C_{d0}}; \left[\frac{cm}{s} \right] \quad (19)$$

ahol:

P_{app} – látszólagos permeabilitás [cm/s]

$\frac{dQ}{dt}$ – A hatóanyag megjelenésének sebessége az akceptor oldalon [mol/(s*cm)]

A – A szűrőmembrán felülete [cm²]

C_{d0} – Donor oldali kiindulási koncentráció [mol/cm³]

A modellben az apikális és a bazolaterális irányok nem felcserélhetőek az aktív transzporterek orientációja miatt. A két irány arányát az „PDR” aszimmetriaállandó jelöl:

$$PDR = \frac{P_{B \rightarrow A}}{P_{A \rightarrow B}} \quad (20)$$

ahol:

A – Apikális oldal

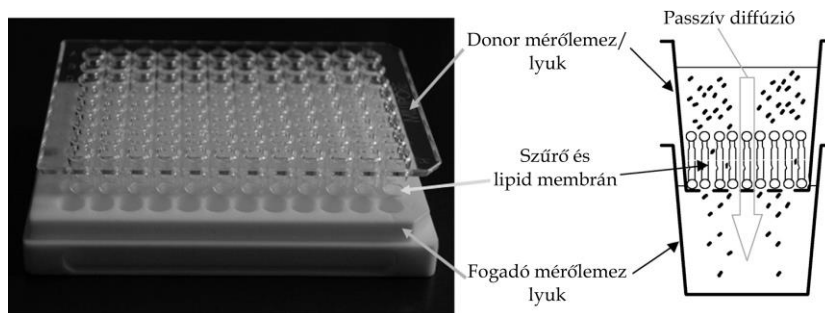
B – Bazolaterális oldal

P – A jobb alsó indexben jelzett irányok látszólagos permeabilitása

A sejtes modell előnye, hogy szinte az összes mechanisztikus lépését modellezi a permeabilitási dolyamatnak, hiszen az élő szervezetben lévő transzporterek megtalálhatóak bennük. Hátrányuk viszont, hogy a sejtvonal tenyésztése idő- (5-14 nap) és erőforrásigényes, ami a vizsgálatok szűk keresztmetszetévé válhat, valamint a biológiai bizonytalanság nehezen reprodukálhatóvá teszi a vizsgálatot. További hátrány, hogy az élő sejtek csak szűk pH tartományban (~ pH=6,5-7,4) képesek működni.

2.4.1.2. PAMPA modell

A PAMPA (parallel artificial mambrane permeability assay) szintén egy szendvicsszerűen elrendezett mérőlemezeken alapuló technika, azonban sejtek helyett foszfolipidek szerves oldószeres oldata modellezi a membránt. A felső (donor oldali) plate-en hidrofób szűrőmembránra vihető fel a kívánt lipidrendszer.



10. ábra A PAMPA szendvicsplate rendszerének felépítése[18]

A donor oldali cellákba a vizsgálni kívánt hatóanyag 100-500 μM -os koncentrációjú oldata, míg a fogadó (alsó) plate-be a bazolaterális oldalnak (ionerősségben és pH-ban) megfelelő pufferoldat kerül. A szendvicsplate-rendszert adott ideig inkubálják az egyensúlyi állapotot nem kizárva, ami függ az alkalmazott hőmérséklettől. Az inkubálási idő lejárta után koncentráció meghatározására alkalmas analitikai módszerrel a donor és a fogadó oldali hatóanyag-koncentrációt meg kell határozni, majd a következő képletbe helyettesítve megadható az effektív permeabilitás:

$$P_e = \frac{-2,303}{A(t - \tau_{ss})} * \left(\frac{V_a F_d}{V_a + V_d} \right) * \lg \left[1 - \left(\frac{V_a V_d}{(1 - MR)V_d} \right) * \frac{C_d(t)}{C_d(0)} \right] \quad (21)$$

$$MR = 1 - \frac{C_d(t)}{C_d(0)} - \frac{V_a C_a(t)}{V_d C_d(0)} \quad (22)$$

ahol:

P_e	– effektív permeabilitás [cm/s];
A	– A szűrőmembrán felülete [cm ²]
t	– inkubációs idő [s];
τ_{ss}	– a stacioner állapot beállításához szükséges idő [s]
$V_{a/d}$	– akceptor/donor térfogata [cm ³]
$C_d(t)$	– A donoroldali koncentráció t időpontban [mol/dm ³]
MR	– Membránretenció [– vagy %];

A PAMPA módszer előnye az élő sejt rendszerrel szemben, hogy a foszfolipidek olcsóbbak és egyszerűbb velük dolgozni. Az előnyökhöz sorolandó, hogy jól reprodukálható, nagyobb áteresztőképességű (96-lyukú plate alapú), valamint szélesebb pH tartományon (jellemzően pH 2-8) is lehet alkalmazni. Hátránya viszont, hogy mivel csak oldatokként felvitt lipidrendszer alakítja a membránt, nem lehet vele az aktív transzportot modellezni, csupán a passzív diffúziót. [19]

3. Célkitűzések

Munkánk céljaul tűztük ki a kiválasztott hatóanyagok szövetspecifikus, kereskedelembe is kapható poláris lipidkivonatokon való penetrációs képességének és membránvisszatartásának vizsgálatát. A kutatás során a PAMPA technika segítségével mértünk in vitro permeabilitást. A mért adatokat az ACD/Labs Percepta predikciós szoftvere által előrejelzett fizikai-kémiai paramétereivel összevetve, egyszerűbb, főként lineáris és exponenciális regresszió alapuló modellek kidolgozásával foglalkozunk, valamint magasabbrendű in silico predikciós modellek kidolgozásában is együttműködünk a KU Leuven keminformatikai csoportjával, egy a kutatócsoportunk által elnyert CELSA (CELSA/21/019: Active learning and interpretation of computational model on tissue specific permeability for stock and virtual drug discovery library) pályázat keretében. A dolgozatban az eddigi, összesen 80 vegyület felölelő, különböző lipidrendszerekhez kapcsolódó mérési és keminformatikai eredményeket mutatom be. Munkám és a CELSA pályázat megfogalmazott célja is, hogy nagyszámú vegyület vizsgálatával azonosítsam a különböző eredetű, szövetspecifikus poláris lipidkivonatokat és az azokat alkotó monolipidrendszerek permeabilitási viszonyait leíró paramétereiket, illetve az egyes lipidmodellek közötti különbségeket.

4. Kísérleti rész

4.1. Felhasznált anyagok

A kísérletek során felhasznált szövetspecifikus lipidextraktumok az Avanti Polar Lipids Inc. (Alabaster, USA) termékei. A hatóanyagok a Merck KGaA-tól (Darmstadt, Németország) származnak a betű-szám kódos hatóanyagok kivételével, melyek az EGIS Gyógyszergyár Zrt. által felajánlott kísérleti vegyületek. A pH 7,4-es pufferoldat előállításához használt só keveréket, a lipidextraktumok oldásához szükséges kloroform, hexán és dodekán, valamint a folyadékkromatográfiában felhasznált eluensek (hangyasav és aceto-nitril) szintén a Merck KGaA-tól kerültek beszerzésre. A foszfát pufferoldat (PBS) és az eluensek készítéséhez Milli-Q készülék által előállított tisztított vizet használtunk. A 7,4-es pH-jú pufferoldat előállításához 1 dm³ tisztított Milli-Q vízben egy tasak foszfát puffer-só keveréket oldottuk fel.

4.2. Felhasznált eszközök

A PAMPA vizsgálatokhoz 96-lyukú (well) mérőtálcákat (plate) használtunk. Mind PVDF membránnal ellátott (PAMPA plate) donor-, mind a teflonból készült fogadó-, mind a polipropilénből készült munkaplate a Merck-Millipore cég gyártmánya. A szilárd hatóanyagmintákat Mettler Toledo MS105DU analitikai mérlegen (pontosság: 0,01 mg) mértük ki. Az oldatokat, oldószereket Dragonlab és Eppendorf gyártmányú, egy- és többcsatornás pipettákkal mértük be. A kísérletek közbeni inkubálást a Heidolph Incubator 1000 készülékkel végeztük. Az oldatok homogenizálásához IKA Vortex 3 keverőt és Bandelin Sonorex Digitec ultrahangos fürdőt alkalmaztunk. A minták koncentrációit nagy hatékonyságú folyadékkromatográfiás (HPLC) készülékkel vizsgáltuk, melynek paraméterei 4.3 fejezetben láthatóak részletesen.

4.3. Kromatográfiás paraméterek

Folyadékkromatográfiás készülék: Agilent 1100 HPLC

A készülék egységei: Degasser, Kvaterner-pumpa, Autosampler, Oszloptermosztát és Diódasoros detektor (DAD)

Kolonna: (Az adott kolonnákon vizsgált anyagok a **F8. táblázatban** vannak feltüntetve)

(1) Kinetex® 2,6 µm C18 100Å (30×3 mm): (Kolonna-1)

(2) ACE 3 C18-PFP (150×4,6 mm): (Kolonna-2)

(3) Kinetex® 2,6 µm XB – C18 100Å (50×3 mm): (Kolonna-3)

Az eltérő kolonnák alkalmazása az egyes hatóanyagcsoportok eltérő polaritása és proton-disszociációs viszonyai miatt vált szükségessé.

Eluensek: **A:** Milli-Q víz, 0,1 V/V% hangyasav

B: 95,0 V/V% acetonitril, 4,9 V/V% Milli-Q víz, 0,1 V/V% hangyasav

Gradiens programok:

Kolonna-1		Kolonna-2		Kolonna-3	
idősáv (perc)	„B” eluens %	idősáv (perc)	„B” eluens %	idősáv (perc)	„B” eluens %
0-0,5	2	0-2	2	0-1	2
0,5-2,3	2→100	2-7,3	2→50	1-4	2→100
2,3-3,3	100	7,3-9,3	50	4-5,5	100
3,31-4,31	2	9,31-11,31	2	5,51-6,51	2

Áramlási sebesség: 1 ml/min

Kolonna tér hőmérséklete: 45,0°C

Injektált térfogat: 4 µl

Detektálás: DAD UV/VIS 220, 254 és 280 nm-en

Vezérlő, kiértékelő szoftver: ChemStation

Minőségi kiértékelés: Retenció idő és UV/VIS spektrum alapján

Mennyiségi kiértékelés: Csúcsterületek integrálásával 220, 254 vagy 280 nm-en

4.4. A kísérletek kivitelezése

A vizsgált hatóanyagokból nominálisan 100µM-os koncentrációjú PBS oldat elkészítéséhez szükséges tömeget az analitikai mérleg segítségével kimértük 20 ml-es üvegekbe, majd megfelelő mennyiségű foszfát pufferoldat hozzáadásával beállítottuk a célkoncentrációt. Az oldatokat előbb vortex keverővel, majd szükség esetén a szilárd anyag feloldását ultrahangos fürdővel segítettük elő. Az oldatokat elkészítésük után hűtőben tároltuk. A vizsgálat napján a hűtőből elővett oldatokat 10 percig ultrahangos fürdővel homogenizáltuk, szükség esetén melegítettük. Ezalatt a teflonból készült 96-lyukú fogadó plate-be cellánként 300 µl 7,4-es pH-jú foszfát pufferoldatot mértünk automata pipettával. Az ultrahangos kezelést követően az oldatokból, feljegyzett sorrendben, három párhuzamossal 300 µl-t mértünk be a munkaplate-re. Az adott lipidrendszerre jellemző extraktumból egy teljes PAMPA plate-hez 16 mg szükséges, majd ezt 600 µl oldószerkeverékben kell feloldani. Az extraktumot eppendorf csőbe mértük, majd zúzott jéggel töltött főzőpohárba helyeztük. A bemért extraktum tömegéhez számolt

oldószerkeverék összetétele 5 V/V% kloroform, 70 V/V% n-hexán és 25 V/V% dodekán a kutatócsoport korábbi tapasztalatainak megfelelően [20]. Az lipidextraktumhoz az oldószereket az imént említett sorrendben adtuk hozzá. Ha a bemért anyag nem oldódott fel megfelelően a szükséges mennyiségek hozzáadása után, jeges vízzel feltöltött ultrahangos fürdőben segítettük az oldódást. Amennyiben a lipid feloldódott, a donor plate szűrőmembránjára kellett felvinni 5 µl lipidoldatot cellánként, majd megvártuk, míg az oldószerkeverék kloroform és hexán tartalma elpárolog. Ezután a donor plate-et a pufferral töltött fogadó plate-be kellett illeszteni. A félretett munkaplate-ről a donor plate-re többcsatornás pipetta segítségével átpipettáztunk 150 µl hatóanyagoldatot cellánként. A szendvicsplate tetejére nedvesített szűrőpapírt helyeztünk (a párolgási veszteség csökkentésére), majd a PAMPA plate fedelével lezártuk. Az összeállított egységet 4 órán keresztül 37°C-os hőmérsékleten inkubáltuk. Eközben a munkaplate-en megmaradt mintákat feliratozott fiolákba tettük, és a párhuzamosonként 150 µl (50-50-50 µl) oldatot HPLC-vel vizsgáltuk. Az inkubációs idő letelte után a szendvics egység tálcáit szétválasztottuk, majd cellánként feliratozott fiolákba mértünk 100-100 µl-t, amit szintén HPLC vizsgálatnak vetettünk alá. A kapott koncentráció értékekből a (21) és a (22) képletekbe behelyettesítve megkapjuk a hatóanyag adott lipidrendszerre vonatkozó effektív permeabilitását (P_e), illetve a membránvisszatartását (MR).

A vizsgálatok során 6 különböző összetételű lipidrendszert felhasználva vizsgáltunk a hatóanyagok permeabilitását. Ezek közül három természetes lipidkivonat (BBB – vér-agy gát, H – szív, L – máj), kettő egykomponensű membránalkotó (PC, PS) és végül a dodekán (DOD), mint oldószer, melynek hatása önmagában szintén érdekes a vizsgálat szempontjából. A rövidítések magyarázatát az **1. táblázat** tartalmazza.

1. táblázat A vizsgált lipidrendszerek és jelölésük:

Lipidrendszerek rövidítése	A rövidítés jelentése
BBB	Vér-agy gát
DOD	Dodekán
H	Szív
L	Máj
PC	Foszfatidilkolin
PS	Foszfatidilszerin

4.5. A hatóanyagok kiválasztása, analitikai megfontolások

A hatóanyagok kiválasztásánál az elsődleges elv az volt, hogy a vegyületek fizikai-kémiai tulajdonságaikban és szerkezetükben eltérőek, megfelelően diverzek legyenek. Ha ennek a feltételnek egy hatóanyag megfelelt, DMSO-ból készített oldatát vizsgáltuk meg, hogy megfelelően detektálható-e HPLC-DAD rendszerben, a rendelkezésre álló különféle kolonnákon (ld. 4.2. pontban). Ha sikerült elérnünk a megfelelő elúciós viszonyokat és detektálási érzékenységet az anyag DMSO oldatával, akkor PBS (foszfát puffer oldat, pH=7,4) alapú oldatot is készítettünk belőle, amit szintén megvizsgáltunk a beállított analitikai rendszerben.

A vizsgált anyagok egy része sajnos az analitikai módszerkidolgozás feltételeit nem teljesítette (nem volt egységes csúcsalak, detektálási határ alatti jel nagyság stb.), vagy utólag derült ki róluk, hogy a vízzoldhatóságuk nem megfelelő.

2. táblázat A kiválasztás során kiesett vegyületek

Hatóanyag neve/jele	A nem megfelelőesség oka
Abendazol	Nem megfelelően detektálható*
Amoxicillin	Nem egységes csúcsalak
Colchicin	Nem megfelelően detektálható*
Cysteine	Nem alkalmas eluensrendszer
Dantrolene	Nem megfelelően detektálható*
Ethoxzolamide	Nem megfelelően detektálható*
Gabapentin	Nem alkalmas az eluensrendszer
MOE_0163	Nem egységes csúcsalak
Silibinin	Nem megfelelően detektálható*
Trimethoprim	Nem megfelelően detektálható*

* Az oka vagy a rossz vízzoldhatóság (ami adott esetben már szemmel is látható volt), vagy a hatóanyag nem megfelelő elnyelése az UV/VIS tartományban

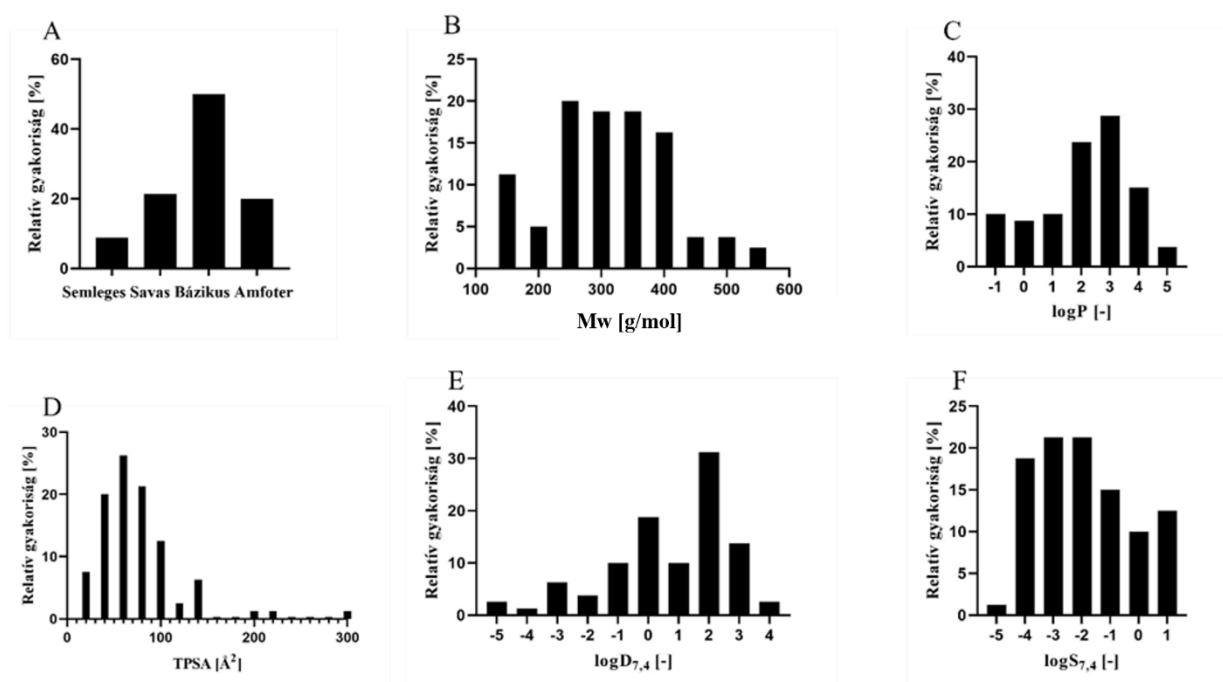
Főként ugyanazt az acetonitril-víz gradiens módszert használtuk a vegyületek vizsgálatára (lásd 4.3. fejezet), hiszen a PAMPA nagy áteresztőképessége mellett fontos az ezt támogató standardizált analitikai eljárás is. Volt azonban néhány vegyület, mely a kiemelkedő polaritása miatt nem volt vizsgálható (a rendszer holtidejétől nem mutatott elválást) az eredeti (Kinetex®-C18) kromatográfiás oszlopon, így egy másik, kevésbé hidrofób töltetű oszlopon kellett őket vizsgálni (ACE 3 C18–PPF) a megfelelő retenció elérése érdekében.

A jövőben az analitikai problémák miatt kiesző vegyület vizsgálata is fontos, hiszen ezek egy olyan fizikai-kémiai területet fednek le (pl. aminosavak, szélsőségesen lipofil vegyületek), amelyek szintén értékes információt hordozhatnak a szövetspecifikus permeabilitásra vonatkozóan. Célunk a jövőben az itt kiesző vegyületek vizsgálata is tömbösítetten, az analitikai rendszer / módszer ennek megfelelő változtatásával.

5. Eredmények és értelmezésük

5.1. A hatóanyagok fizikai-kémiai tulajdonságainak eloszlása

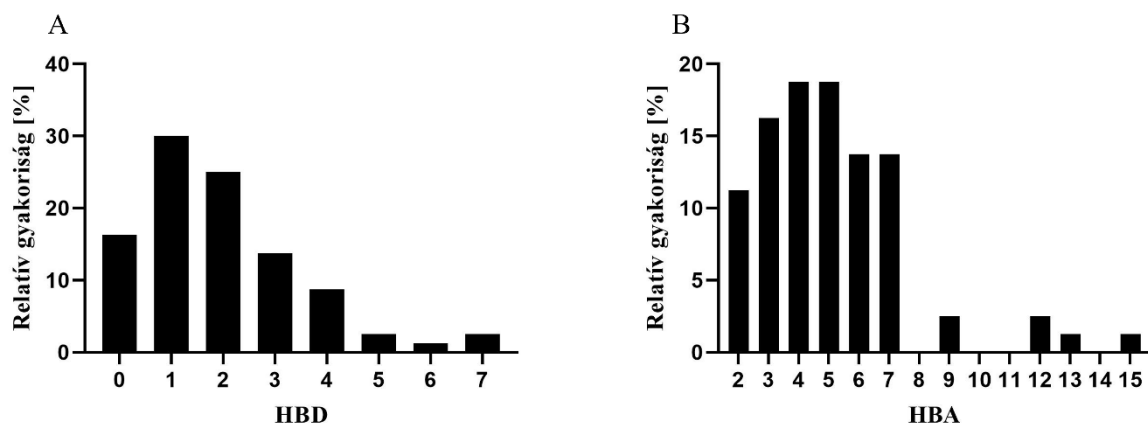
A hatóanyagok fizikai-kémiai diverzitásának szem előtt tartása fontos ahhoz, hogy minél átfogóbb képet kapjunk a permeabilitás és a fizikai-kémiai paraméterek között fennálló összefüggések kapcsolatáról. A legfontosabb fizikai-kémiai paraméterek eloszlását a kiválasztott hatóanyagokra vonatkozóan **11. ábra** hisztogramjai mutatják be.



11. ábra A vizsgált 80 hatóanyag esetén a legfontosabb fizikai-kémiai paraméterek relatív gyakorisága. A – Sav-bázis tulajdonságok; B – Molekulatömeg; C – Valódi megoszlási hányados; D – Teljes poláris molekulafelület; E – Látszólagos megoszlás; F – Oldhatóság

Látható, hogy legtöbb hisztogram (B és F kivételével) haranggörbeszerű lefutást követ néhány kiugró értékkel. Az A-val jelzett sav-bázis tulajdonságok eloszlását jellemző hisztogram remekül reprezentálja az elérhető gyógyszerkincs eloszlását a hatóanyagok sav-

bázis karaktere szempontjából. A bázikus vegyületekből van a legtöbb, míg a savas karakterűekből a legkevesebb. Az oldhatóságot ($\log S_{7,4}$) bemutató F hisztogram nem haranggörbe jellegű, ami a sav-bázis karakterű vegyületek nem egyenletes eloszlásából következhet (bázikus vegyületek inkább semleges, savas hatóanyagok inkább ionos formában vannak jelen pH 7,4-en).

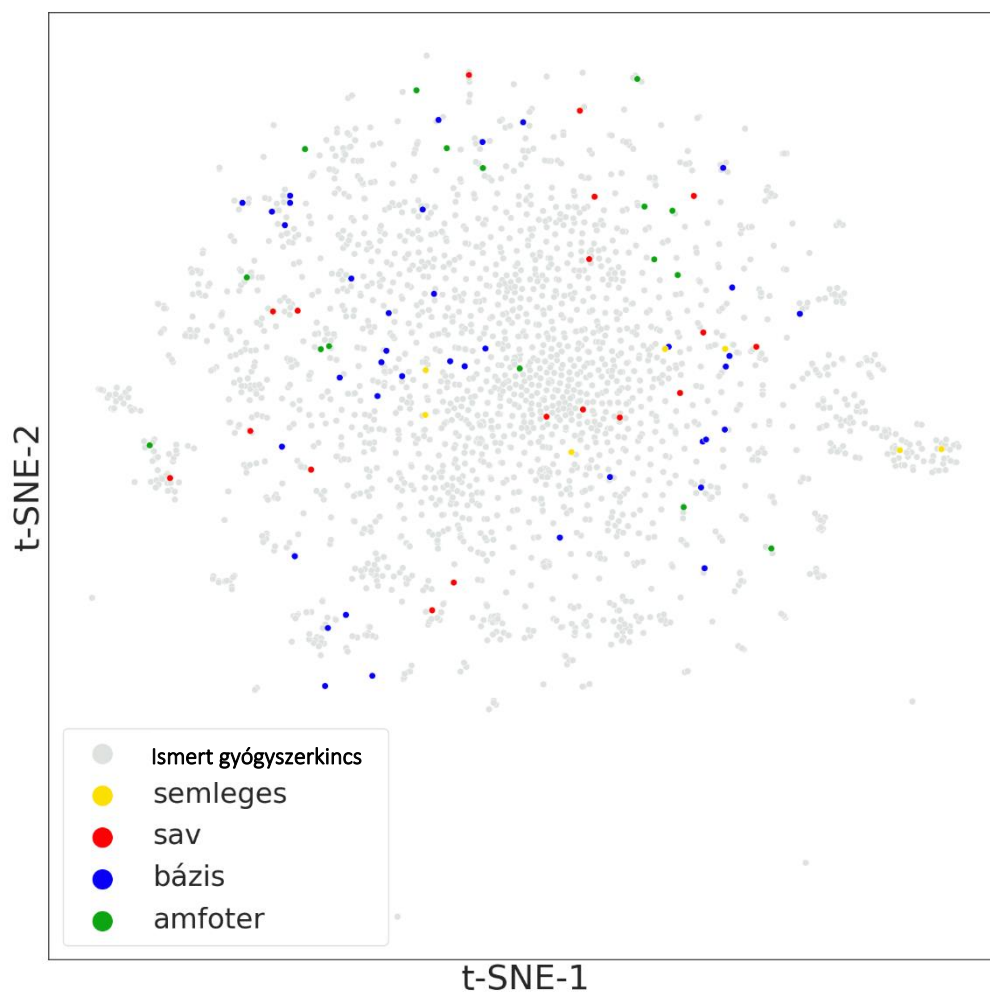


12. ábra A H-híd kötés donorok (A) és fogadók (B) száma

A paraméterek eloszlásának áttekintése alapján elmondható, hogy a kiválasztott hatóanyagok jól illeszkednek a *Lipinski szabály* által leírt paraméterterbe [21]. A *Lipinski szabály* értelmében:

- HBA (H-kötés akceptorok száma; 12/A hisztogram) nem lehet több 10-nél
- HBD (H-kötés donorok száma; 12/B hisztogram) nem lehet több 5-nél
- $\log P$ (valódi megoszlás; 11/C hisztogram) nem haladhatja meg az 5-ös értéket
- M_w (molekulatömeg; 11/B hisztogram) nem lehet 500 Da-nál (vagy g/mol-nál) nagyobb

Ezek szerint a vizsgált hatóanyagnak orális adagolása mellett megfelelő biohasznosulásuk valószínűsíthető.



13. ábra A vizsgált vegyületek szerkezeti diverzitását jellemző t-SNE ábra

A **13. ábrán** a forgalomban lévő (jóváhagyott) gyógyszerek láthatóak szürke ponttal jelezve, amelyek közül ki vannak emelve ezen dolgozatban vizsgált gyógyszerek pontjai (színkóddal jelölve sav-bázis karakterüket). Az adattérképen a távolságokat a hatóanyagok szerkezeteiből származtattuk.

A t-SNE (t-distributed Stochastic Neighbor Embedding – t-eloszlású sztochasztikus szomszéd beágyazási) nem-lineáris algoritmus a sokdimenziós adatfelhőből alkot 2 vagy 3 dimenziós adattérképet, melynek lényege, hogy az ábrán minél közelebb van egymáshoz két pont, annál több közöttük a hasonlóság. Viszont fordítva is igaz, hogy minél messzebb van az ábrán két pont, annál több közöttük a különbség [22]. A **13. ábra** alapján látható, hogy a színes

pontok a felület szinte minden részén megtalálhatók, ami biztosít minket afelől, hogy szerkezeti szempontból kellően gazdag (diverz) vegyületkört válogattunk össze.

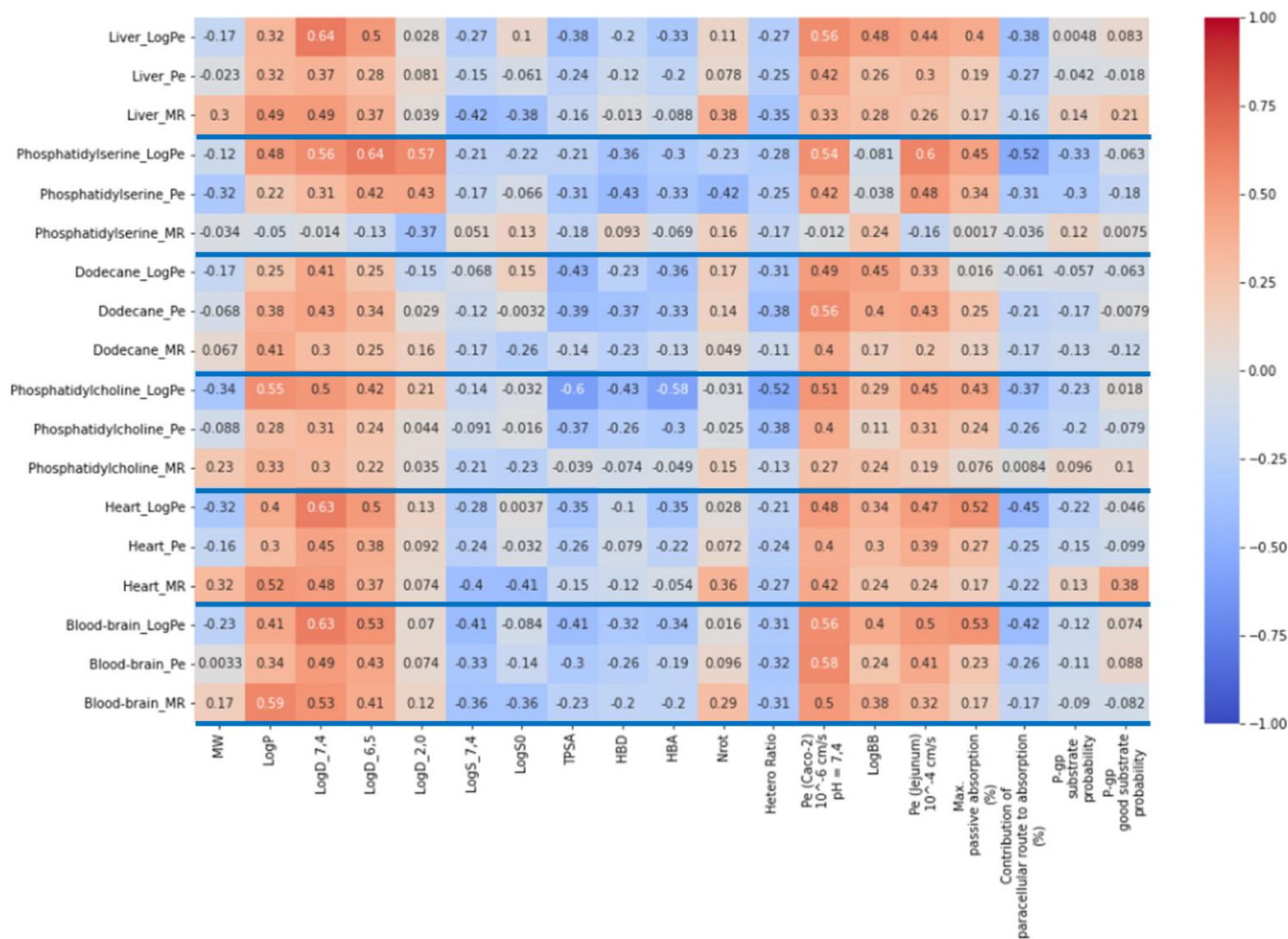
5.2. Összefüggések keresése egyparaméteres regressziós módszerekkel

Első megközelítésben az effektív permeabilitás értékek tízes alapú logaritmusából származtatott $\log P_e$ értékeit egy-egy fizikai-kémiai paraméterrel vetettük össze regressziós módszerek segítségével.

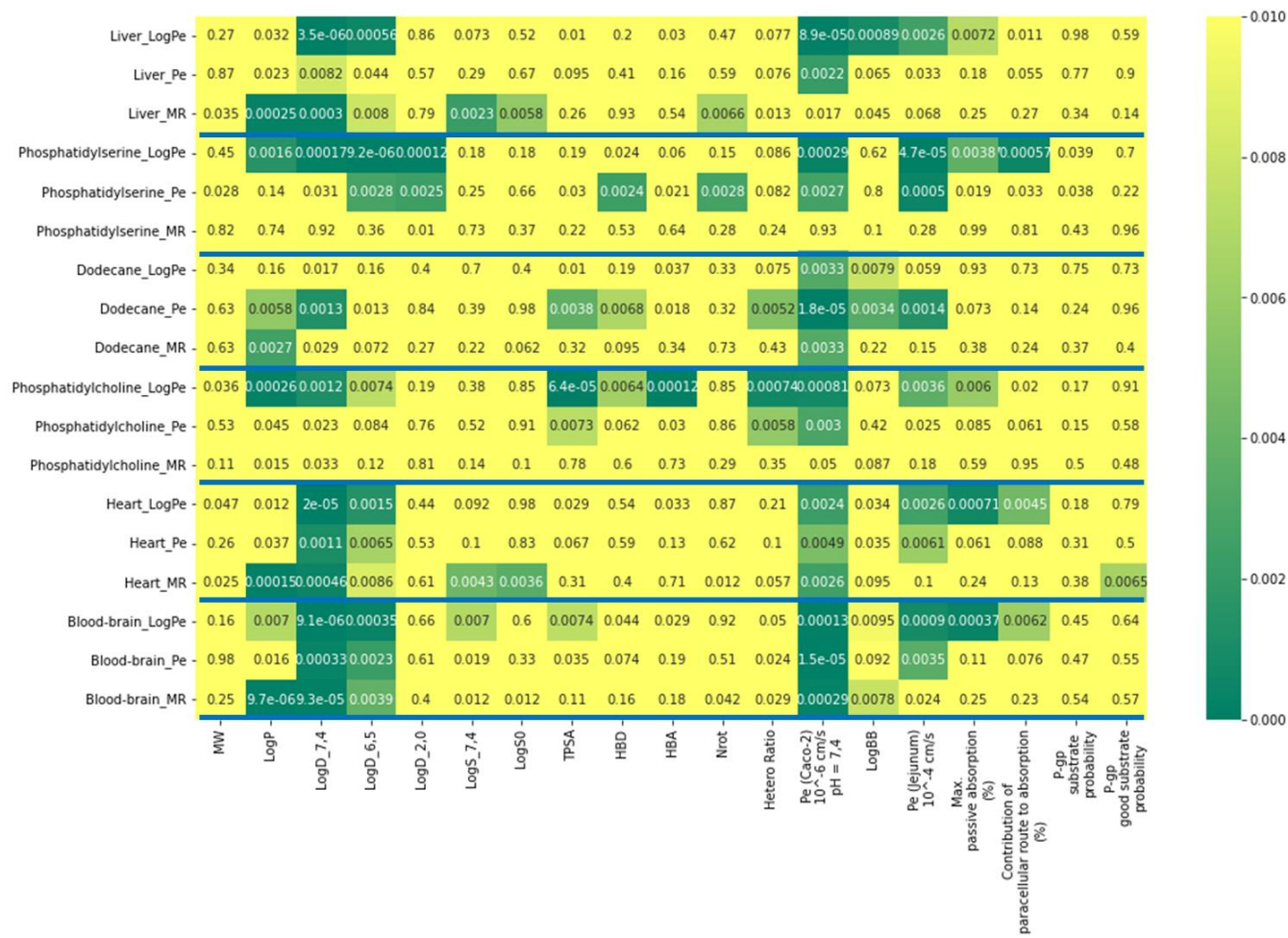
A **14. ábrán** az ún. *Pearson-korrelációs mátrixot* láthatunk a fizikai-kémiai jellemzők számadatai és a mérési eredmények adataiból alkotva. A *Pearson korreláció* egy lineáris korreláció, mely két változó kovarianciájának és az egyenkénti szórásuk szorzatának a hányadosa.

A **15. ábrán** ugyanezen korrelációs mátrixra vonatkozó p -értékeket láthatjuk. A p -érték annak a nullhipotézisnek a valószínűsége, hogy a fizikai-kémiai tulajdonságok nem korrelálnak a mérési eredményekkel. A p -érték 0,01-nél alacsonyabb értéke tipikusan a nullhipotézis elvetését jelenti, vagyis azt, hogy a mérési eredmények és az adott fizikai-kémiai paraméter között lineáris korreláció áll fenn (99%-os konfidenciaszinten).

A **14. és 15. ábrák** Python 3.9.7 használatával készültek Matplotlib 3.4.3 és Seaborn 0.11.2 segítségével. A statisztika számítások a következő csomagokkal végezték el a leuveni partnerek: Numfy 1.21.2, Pandas 1.3.4 és Scipy 1.7.1.



14. ábra A mért adatok és fizikai-kémiai paraméterek közötti *Pearson-korrelációs* mátrix



15. ábra A Pearson korrelációs mátrixhoz tartozó p-értékeik

Mivel a mátrix a színek erősségével állítja párhuzamba a pozitív (piros), illetve negatív (kék) korrelációt, így a **14. ábra** alapján megállapítható, hogy a foszfatidilkolin, foszfatidilszerin és dodekán rendszernek membránretenciójára a fizikai-kémiai paraméterekkel nem azonosíthatóak erős összefüggések.

Legszorosabb pozitív korrelációk a $\log P_e$ értékekkel a lipofilitási értékek, illetve a Percepta által becsült permeabilitási értékek között azonosítottuk – a dodekán rendszert nem számítva (CaCo-2 permeabilitás, jejunális vagyis egy bélszakaszra jellemző permeabilitás, illetve a passzív abszorpció becsült maximális mértéke).

A permeabilitási adatok ($\log P_e$ és P_e) a TPSA, HBA, HBD értékekkel negatív, 0,5 körüli összefüggést ad a mátrix adatai alapján. Általánosan minél polárosabb a molekulafelszín, annál kevésbé tud a hatóanyag penetrálni a mesterséges lipidrendszeren keresztül, illetve minél több a H-kötést alakítani képes atom vagy atomcsoport a molekulában, annál kisebb lesz a penetrációs készség.

A molekulatömeggel főként a membránretenciós (MR) értékek adnak pozitív, kb. 0,3-as korrelációkat, míg a $\log P_e$ -vel szintúgy 0,3 körüli korrelációkat kapunk csak negatív értékben. Ebből megállapítható, hogy minél nagyobb a molekula mérete annál nagyobb az MR mértéke, ezzel szemben minél kisebb, annál könnyebben jut keresztül a membránból a fogadóoldali közegbe (vagyis penetrál).

Érdekesség, hogy a foszfatidilszerin (PS) alapú monolipid-rendszer különbözik leginkább a többi mesterséges membránrendszertől. A PS monolipid mindhárom pH-n számolt megoszlási értékekkel ($\log D_{2,0;6,5;7,4}$) közel azonos mértékben pozitív korrelációt mutat. Ez azt jelenti, hogy a foszfatidilszerin monolipidréteg az ionizációs állapottól függetlenül segít hatóanyagokat penetrációját. Így a többi lipidrendszerrel szemben a PS mutatott legkisebb szelektivitást a hatóanyagok sav-bázis tulajdonságával szemben, ami azért meglepő, mert a másik monolipid alkotó semleges nettó töltésű, illetve pl. agyi lipid izolátum szintén jelentős PS tartalmú, ami egyetlen, mely bruttó negatív töltéssel rendelkezik.

A **15. ábrán** az látható, hogy szignifikánsnak, tehát tényleges korrelációnak a 0,4-0,5 körüli R^2 értékeket tekinthetjük, ezek alapján a mért értékeink és főként a számolt lipofilitás/permeabilitás között állapítható meg kapcsolat.

Mindent összevetve megállapítható, hogy a paraméterenkénti korreláltatás ezen a szinten túl nem fog további, részletesebb korrelációs összefüggés igazolásában eredményre vezetni, ezért

magasabb szintű, többdimenziós összefüggések keresése a vált indokoltta. Mivel a permeabilitás is összetett folyamat, a fizikai-kémiai paraméterek eredőjét érdemes vizsgálni.

Az egy-paraméteres lineáris vagy exponenciális korreláción kívül magasabb rendű korrelációs modellt lehet használni. Ilyen pl. MLR (Multiple Linear Regression – Többszörös lineáris regresszió), NN (Neural-Network – Neurális hálózatok) vagy GA (Genetic Algorithm – Genetikus Algoritmus) stb.

A **14. ábrán** alapján megállapítható, hogy a P_e - $\log P_e$ adatkör összehasonlításában átlagosan a $\log P_e$ esetében kaptunk kedvezőbb korrelációs értékeket, így a továbbiakban a $\log P_e$ értékeket alkalmazzuk az egyparaméteres regressziós vizsgálatokban.

5.2.1. Logaritmikus effektív permeabilitás és fizikai-kémiai paraméterek korrelációja

Az tízes alapú logaritmikus effektív permeabilitási ($\log P_e$) értékeket korreláltattuk a **11. ábrán** feltüntetett fizikai-kémiai paraméterekkel Graphpad Prism 9.4.1 szoftver segítségével. A tapasztalat szerint az illesztett függvény R^2 értéke (az illesztés jósága vagy determinációs együtthatója) 0,3 érték felett tendenciát, 0,5 felett gyenge korrelációt mutat a két változó között.

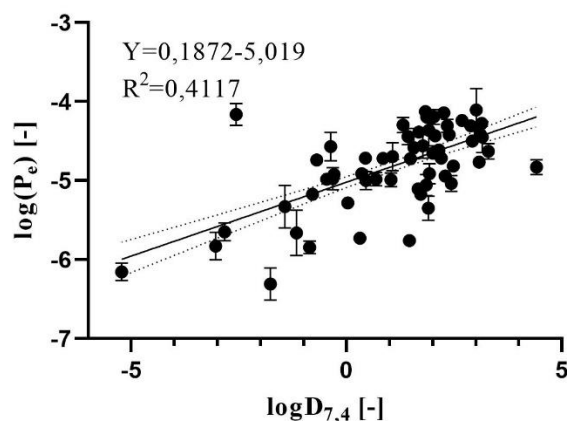
A következőkben a vizsgált rendszerek és a hozzájuk kapcsolódó fizikai-kémiai paraméterek függvényének determinációs együtthatóit táblázatba rendezve kerül bemutatásra, illetve a legnagyobb R^2 értékhez tartozó grafikonokat fogjuk bemutatni, esetenként értelmezni.

A vizsgált rendszerek $\log P_e$ értékei és a hozzájuk tartozó fizikai-kémiai paraméterek közötti regressziót jellemző jóság (R^2) a **3. táblázatban** összesítjük:

3. táblázat A lineáris regresszió R^2 értékei

	Mw	$\log P$	$\log D_{7,4}$	$\log S_{7,4}$	TPSA
BBB	0,0167	0,0878	0,2768	0,0675	0,1394
DOD	0,0129	0,0292	0,1172	7,26E-05	0,2491
H	0,0728	0,1761	0,4117	0,0555	0,2412
L	0,0391	0,0404	0,2428	0,0336	0,1350
PC	0,0585	0,1222	0,2007	0,0107	0,2115
PS	0,0427	0,0694	0,1437	0,0117	0,0851

Mint látható lineáris regresszióval a legnagyobb értéket ($R^2=0,4117$) a $\log D_{7,4}$ és szív specifikus lipidrendszeren kapott $\log P_e$ értékek között korreláció esetén kaptuk, ami magasan kiemelkedik ebben a vizsgálatban kapott többi érték közül. A korrelációt a **13. ábrán** is láthatjuk. Ezen kívül tendencia volt megfigyelhető a $\log P$ és a TPSA korreláltatása során.



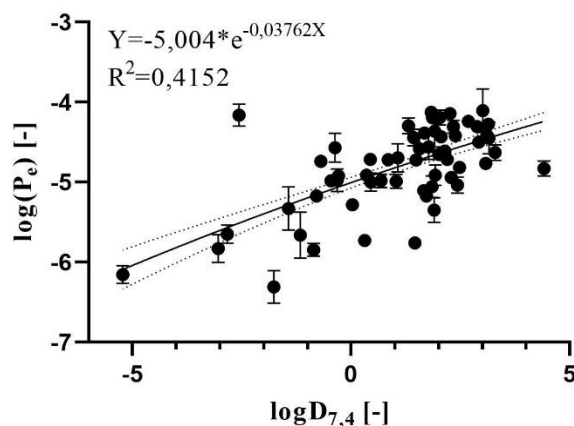
15. ábra A szív specifikus lipidkivonat-rendszeren mért hatóanyagok $\log P_e$ és $\log D_{7,4}$ értékeinek lineáris regressziója (folytonos vonal), valamint a 95%-os konfidenciaintervalluma (a pontozott vonalak közötti térrész)

Vizsgálataink kiterjedtek az összetettebb összefüggést hordozó exponenciális függvények illesztésre is, melyek segítségével a következő R^2 értékeket kaptuk:

4. táblázat Az exponenciális függvényillesztéshez tartozó R^2 értékek

Lipidrendszer	Mw	$\log P$	$\log D_{7,4}$	$\log S_{7,4}$	TPSA
BBB	0,0170	0,0879	0,2739	0,06792	0,1343
DOD	0,0132	0,0284	0,1112	7,37E-05	0,2471
H	0,0733	0,1776	0,4152	0,05539	0,2400
L	0,0397	0,0409	0,2363	0,03336	0,1337
PC	0,0621	0,1249	0,2273	0,01075	0,2038
PS	0,0424	0,0698	0,1422	0,01164	0,08424

Mint látható a $\log D_{7,4}$ értékek korrelációja a szív specifikus lipidrendszerben kapott $\log P_e$ értékekkel (**16. ábra**) közel azonos mértékű, mint lineáris esetben.

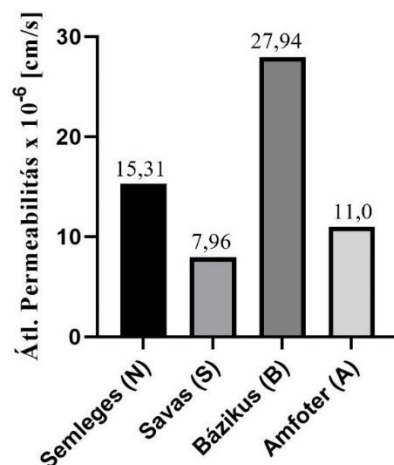


16. ábra A vér-agy gát (BBB) specifikus lipidkivonat-rendszeren mért hatóanyagok $\log P_e$ és $\log D_{7,4}$ értékeinek exponenciális függvényillesztése (folytonos vonal), valamint a 95%-os konfidenciaintervalluma (a pontozott vonalak közötti térrész)

Megállapítható továbbá, hogy a dodekán oldószer-membránon gátolt a permeabilitásuk a poláros vegyületeknek, viszont a csökkenő poláris molekulafelszíne (TPSA), fokozza a vegyület anyagátadását (**16. ábra**).

5.2.2. Az effektív permeabilitás és sav-bázis tulajdonságok kapcsolata

Mivel az egyesített fizikai-kémiai karakterű vegyületek korrelációi nem voltak kielégítőek, így megpróbáltuk a korrelációkat finomítani a kiválasztott hatóanyagok sav-bázis (ionizációs) tulajdonságuk alapján történő szétválogatásával. A vegyületeket így négy kategóriába osztottuk: Semleges/Neutrális (N); Savas (S); Bázikus (B) és Amfoter (A). Az átlagos effektív permeabilitási értékeket ennek megfelelő bontásban a négy kategóriába osztva mutatjuk be a **17. ábrán**.



17. ábra Az átlagos effektív permeabilitási értékek sav-bázis karakter szerinti bontásban

Mint a **17. ábra** is szemlélteti az átlagos P_e értékek nagyban függnének a vegyület sav-bázis (ionizációs) tulajdonságától. A bázikus vegyületek penetrációja láthatóan fokozottabbak, míg a savas kerekterű hatóanyagok a gátoltabb, a semleges és amfoter vegyületek átlagos permeabilitási értékei pedig e kettő közé eső, közepes méretű.

A bázikus vegyületek magas permeabilitása azzal magyarázható, hogy a vizsgálatokat 7,4-es pH-n végeztük, ami a gyógyszerkincsre jellemző gyenge bázisok számára már egy pK_a -hoz közeli érték, tehát a vegyületek ionos alakja mellett a semleges molekuláris forma is nagyobb arányba megjelenik. A vizsgált oldatokban a molekula semleges alakja (B) folyamatosan fogy a membránpenetráció miatt, viszont az asszociált forma (BH^+) proton-disszociációja a pK_a értékének megfelelően ellensúlyozza a fogyást. Az újonnan képződött semleges forma fogy, amit a protonált forma pótol és így tovább.

A savas vegyületek a vizsgálat pH-ján többnyire csak disszociált, töltéssel rendelkező, anionos formában (A^-) van jelen az oldatban, melynek a hidrofób térrészben (lipidmembránban) történő megoszlása erősen korlátozott, vagy nem lehetséges.

Ezek alapján várhatóan a semleges karakterű hatóanyagok $\log P_e$ értékei lennének a legnagyobbak. Az előzőekben csak a lipofil közegbe való penetrációt magyaráztuk, viszont a membránréteg felszínén töltéssel rendelkező poláris fejek helyezkednek el (a foszforsav-észterek), melyek elősegíthetik a permeabilitást. A felszíni töltéseloszlása jellemzően inhomogén, mert a membrán közvetlen felszínén helyezkedik el a negatív töltésű foszforsav. A foszforsavból ágazik le a szénlánc, melynek végén van a töltéssel rendelkező az oldallánc, mely vagy pozitív (pl. kolin) vagy bruttó semleges (pl. szerin). A lipidmembrán felszíne a semleges (+) és a negatív nettó töltésű lipidek arányától függően elektrosztatikus ion-ion kölcsönhatásba léphet az ionizált hatóanyagokkal, de egyéb másodlagos kölcsönhatások (pl. H-híd) is segíthetik a vegyületek permeabilitási viszonyait.

A fenti gondolatmenetet folytatva, az egyszerűség követhetőség miatt az eredeti (nem származtatott) átlagos P_e értékeket tovább kategorizáltuk a mesterséges membrán-rendszerek szerintibontásban, melyet az **5. táblázat** foglal össze.

5. táblázat Átlagos permeabilitási értékek sav-bázis tulajdonságuk és a vizsgálat membránrendszer szerinti bontásban:

	BBB	DOD	H	L	PC	PS
Semleges (N)	13,72	3,92	12,83	26,20	14,61	20,77
Savas (S)	5,46	3,28	7,11	6,53	5,10	22,06
Bázis (B)	29,09	33,38	27,70	27,75	28,55	20,92
Amfoter (A)	8,65	4,80	14,17	10,24	7,85	20,29

Az átlagos P_e értékek osztályozása: zöld $P_e > 20 \cdot 10^{-6}$ cm/s; narancs $10 \cdot 10^{-6}$ cm/s $< P_e < 20 \cdot 10^{-6}$ cm/s; piros $P_e < 10 \cdot 10^{-6}$ cm/s

Megfigyelhető, hogy a bázikus vegyületek átlagos P_e értéke minden lipidrendszerben a zöld osztályba került. Ezen felül általános trendnek tekinthető, hogy a savas karakterű hatóanyagok a PS rendszeren kívül a piros permeabilitási osztályba kerültek. Az egyes lipidrendszerekben fokozott eltérést a sav-bázis karakterek között a monolipid DOD rendszerben azonosítottunk, ahol a bázikus karakterű vegyületek átlagos permeabilitása kiemelten magas értéket vett fel, annak ellenére, hogy a többi sav-bázis karakter esetén piros, azaz gátolt permeabilitás volt tapasztalható.

A foszfatidilszerin rendszerben kapott fokozott permeabilitás egyik lehetséges magyarázata, hogy maga a szerin végcsoport ikerionos α -aminosav (7. ábra), ami mind a savakkal, mind a bázisokkal és mind az amfoter vegyületekkel képes lehet másodlagos (jellemzően H-híd és ionos) kötéseket kialakítani, a membránhoz való közeledésük során.

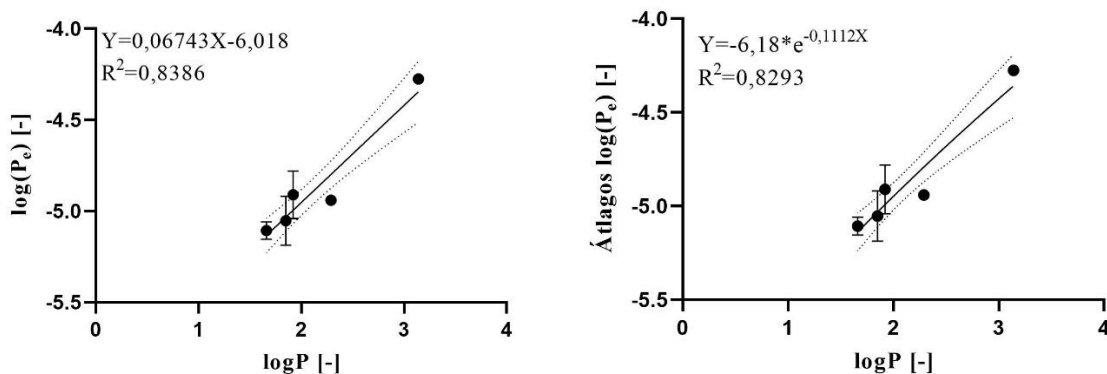
A következő alfejezetekben a sav-bázis tulajdonságok szerinti bontásban keressük a korrelációkat.

A. Semleges hatóanyagok korrelációi

A 80 vegyületből álló készletből összesen 7 vegyület képviseli a neutrális gyógyszerhatóanyagok szűk táborát. Értelmszerűen ezen vegyületek nem protonálhatók, pH függetlenül nem proton-disszociálhatók, így a $\log P$ és $\log D_{7,4}$ értékek megegyeznek, emiatt az értékelésben csak a $\log P$ értékeket vettük figyelembe.

Az alábbi R^2 értékeket kapjuk, ha a lipidekre szétválogatjuk és lineáris regressziót alkalmazunk (F9. táblázat).

A legjobb korrelációt a szív specifikus lipidrendszeren mért semleges vegyületek $\log P_e$ és $\log P$ értékeik között találtuk.



18. ábra A semleges karakterű vegyületek szív specifikus lipidrendszerben kapott $\log P_e$ - $\log P$ összefüggése (lineáris és exponenciális)

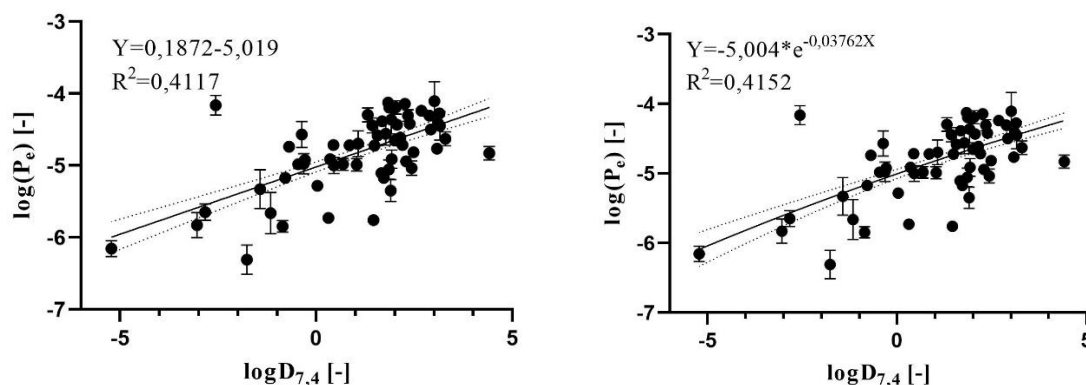
Az előzőekben is láthattuk, hogy a lineáris regresszióval szemben néha jobb eredményt képes adni az exponenciális függvényillesztés. Ezeket bemutatva az **F10. táblázata** függvényillesztés determinációs együtthatóit gyűjtöttem össze.

Láthatóan, hogy a $\log P$ -vel érhetőek el a legjobb korrelációk mind lineáris, mind exponenciális összefüggést keresve, kivétel az alól a máj specifikus lipid. A kevés adatra való tekintettel itt nem lehet messzemenő következtetéseket levonni.

B. Savas hatóanyagok korrelációi

A savas karakterű gyógyszerek P_e értékei átlagosan alacsonyok, ami azzal magyarázható, hogy a vizsgált pH=7,4-en a semleges, permeabilitás szempontjából kedvező formájuk nagyon kis koncentrációban van jelen a disszociált formájához képest. Ezért a lipofil és jellemzően nettó negatív/semleges karakterű lipidmembrán-rendszerekkel nehezen képesek kölcsönhatást kialakítani, mind az elektrosztatikus taszítás, illetve a relatíve hidrofíl formájuk jelenléte miatt.

Itt a BBB és a szív specifikus lipidek mutatnak kedvezőbb korrelációt a látszólagos megoszlással.



19. ábra A szív specifikus lipidrendszeren mért savas karakterű hatóanyag $\log P_e$ és a $\log D_{7,4}$ értékei közötti korrelációk (lineáris és exponenciális)

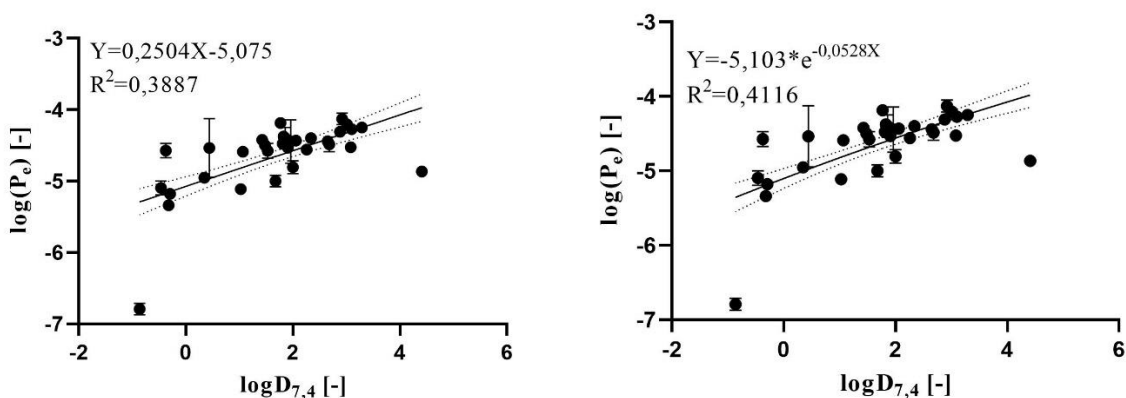
A függvényillesztések R^2 értékei a **F11. és F12. táblázatban** találhatóak.

Az általunk vizsgált hatóanyagok közül 18 volt savas karakterű. Ez már az előző esetről, a semleges vegyületeknél nagyobb elemszám, ami bár statisztikailag már elfogadhatóbb, de még mindig alacsony.

C. Bázikus hatóanyagok korrelációi

A bázikus hatóanyagok esetében kaptuk a legnagyobb permeabilitási értéket, melynek köszönhetően a gyógyszerek legnagyobb hányadát képviselik. Az általunk vizsgált 80 vegyület közül 39 volt bázikus karakterű, ami jól reprezentálja a kereskedelemben kapható gyógyszerek között elfoglalt részét.

Sajnos a lineáris regresszióval nem kaptunk jó illeszkedésű modellt, hiszen a legjobb determinációs együttható 0,3887 értékű, mely a BBB specifikus rendszer $\log P_e$ és $\log D_{7,4}$ értékük közötti kapcsolatot. (**20. ábra**)



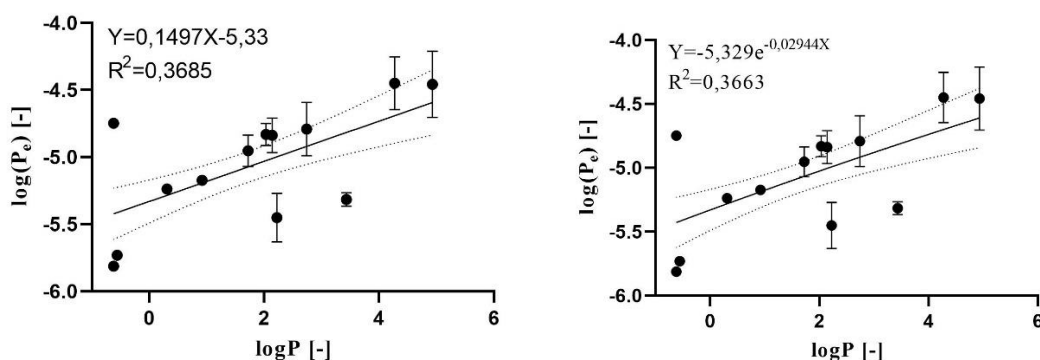
20. ábra A BBB specifikus lipidkivonat alapú rendszeren mért $\log P_e$ és $\log D_{7,4}$ közötti lineáris korreláció (lineáris és exponenciális függvényillesztés)

A **F13.** és **F14. táblázatokból** nem lehet általánosított megállapítást tenni, ami azt jelenti, hogy a vegyületek egyéb tulajdonságai erősebben befolyásolják a bázikus karakterű vegyületek $\log P_e$ értékét.

D. Amfoter hatóanyagok korrelációi

Mint korábban megállapíthattuk az amfoter hatóanyagok penetrációs képessége jellemzően kisebb mértékű a bázikus vegyületekénél. Ez azzal magyarázható, hogy az ikerionos karaktert hordozó vegyületek dimerformába tudnak rendeződni, ami az eredeti molekulatömeget, illetve ezzel arányosan molekulaméretet kétszeresére növeli.

Bár az effektív permeabilitás (P_e) esetében a molekulaméret meghatározó az amfoter vegyületek permeabilitásánál, $\log P_e$ érték inkább a lipofilitás értékével mutatjellemzőbb összefüggést. Ez utóbbira példa a máj specifikus lipidmembránon vizsgált hatóanyagok valódi megoszlási hányadossal alkotott korrelációi mind lineáris, mind exponenciális függvényillesztés esetén.



21. ábra A máj specifikus lipidrendszerben mért logaritmusos hatóanyagok $\log P_e$ a $\log D_{7,4}$ értékei közötti lineáris és exponenciális korreláció

A **F15.** és **F16. táblázat** alapján mind a lineáris, mind az exponenciális illeszkedést tekintve a máj specifikus lipidrendszer $\log P_e$ és $\log P$ értékei között találtuk, melyeket a **21. ábra** mutat be.

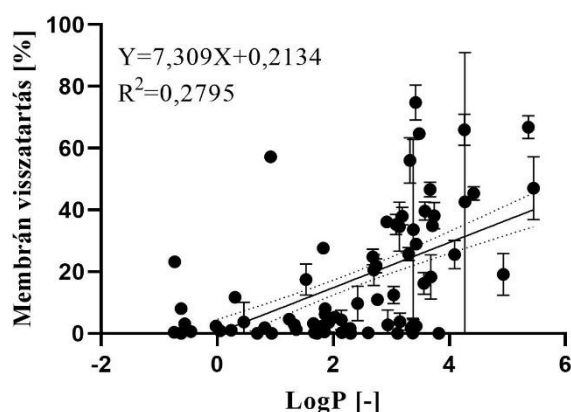
5.2.2. Membránretenció és fizikai-kémiai paraméterek korrelációja

A membránretenció, (MR) vagy membránvisszatartás a lipidréttegben visszamaradt gyógyszerhányadot jelenti. Ez valójában az donor- és fogadó oldat anyagmennyiségéből számolt anyagmérleg eltérése, ami a (22)-es képlet segítségével fejezhető ki.

6. táblázat A vizsgált rendszerek membránvisszatartása, illetve a hozzájuk tartozó fizikai-kémiai paraméterek korrelációját jellemző jóságfok (R^2)

Lipidrendszer	$\log P$	$\log D_{7,4}$	$\log S_{7,4}$	Mw	TPSA
BBB	0,2795	0,2127	0,0957	0,0417	0,0554
DOD	0,1640	0,1424	0,0774	0,0147	0,0327
H	0,2585	0,2327	0,1477	0,0671	0,0513
L	0,1166	0,1495	0,1189	0,0537	0,0146
PC	0,1445	0,1443	0,0770	0,0672	0,0062
PS	0,0458	0,0305	0,0039	0,0039	0,0521

A **6. táblázat** alapján is látható, hogy a teljes adatkészletre a lineáris regresszió nem hordoz kellő információt, mert a legjobb determinációs együttható is csak $R^2=0,2795$ (BBB lipid MR – $\log P$), ami gyenge tendenciát mutat. (**22. ábra**)



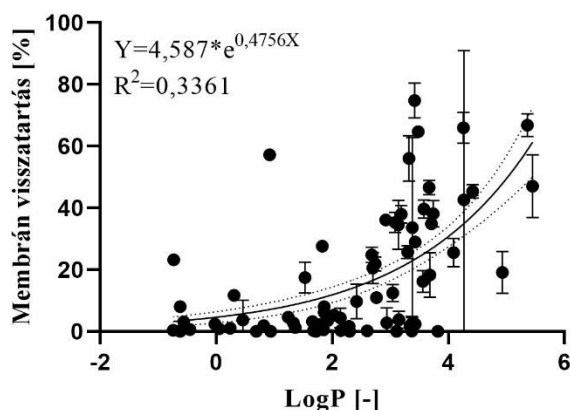
22. ábra A BBB rendszeren mért membránvisszatartás és $\log P$ lineáris regressziója

A **7. táblázatban** összegyűjtöttük az adott lipidrendszereken vizsgált hatóanyagok MR értékei és azoknak feltüntetett fizikai-kémiai adataira illesztett exponenciális függvény determinációs együtthatóit.

7. táblázat Az exponenciális függvényillesztéssel kapott R^2 értékek táblázata

Lipidrendszer	$\log P$	$\log D_{7,4}$	$\log S_{7,4}$	Mw	TPSA
BBB	0,3361	0,2901	0,0896	0,0328	0,0981
DOD	0,1993	0,1990	0,0851	0,0111	0,0458
H	0,3250	0,2857	0,1412	0,0550	0,0802
L	0,1256	0,1881	0,1227	0,0446	0,0199
PC	0,2459	0,2295	0,0887	0,0587	0,0110
PS	0,0489	0,0301	0,0038	0,0036	0,0866

A **7. táblázat** alapján a teljes adatkészletre jobban illik az exponenciális függvényillesztés, mert itt már több esetben is nagyobb R^2 értéket kaptunk a lineáris illesztéshez képest. Ilyen pl. a BBB specifikus lipidrendszeren mért MR – $\log P$ függés, melynél a $R^2=0,3361$ (**23. ábra**).



23. ábra A BBB specifikus lipidrendszeren mért membránvisszatartási értékek és azok $\log P$ értékeinek exponenciális függvényillesztése

Mivel az egyesített vegyületek korrelációi a P_e -hez hasonlóan a MR értékeknél sem voltak kielégítőek, így itt is próbálkoztunk szétválogatni a vegyületeket sav-bázis tulajdonságuk alapján. A négy kategória változatlan, amik: Semleges/Neutrális (N); Savas (S); Bázikus (B) és Amfoter (A). Az átlagos membránvisszatartás értékeket sav-bázis tulajdonság szerinti bontásban a **8. táblázat** szemlélteti.

8. táblázat Átlagos MR értékek sav-bázis tulajdonság (SBT) szerinti lebontásában:

SBT	Semleges (N)	Savas (S)	Bázikus (B)	Amfoter (A)
átlagos MR-érték [%]	10,31	7,43	25,84	15,91

Ahogy a **8. táblázat** is szemlélteti az effektív permeabilitáshoz hasonlóan a bázikus vegyületeknek van átlagosan a legnagyobb, míg a savas hatóanyagoknak van a legkisebb membránvisszatartása. A magyarázatok többnyire hasonlóak, amit 5.2-es fejezetben már megfogalmaztunk.

A hatóanyag csoportokat a sav-bázis tulajdonságon belül kisebb frakciókra osztva a vizsgált membránrendszer szerinti átlagos membránretenciót, akkor a **9. táblázatot** kapjuk meg.

9. táblázat Az átlagos membránretenció a sav-bázis karakter és a vizsgált membránrendszerek szerint [%]

	BBB	DOD	H	L	PC	PS
Semleges (N)	7,31	12,21	13,64	9,35	10,75	8,40
Savas (S)	1,82	11,11	4,01	4,13	16,07	5,61
Bázis (B)	24,68	20,60	28,86	24,56	23,93	32,47
Amfoter (A)	16,6	11,48	14,44	12,18	15,66	24,80

MR értékek három osztálya: piros MR<10%, narancs 10%<MR<20%, zöld MR>20%

A MR legnagyobb, zöld osztályú értékeit újfent a bázikus hatóanyagok csoportjában azonosítottuk az összes vizsgált lipidrendszeren, illetve az alacsonyabb átlagos MR értékeket szintén a savas, majd sorrendben a semleges karakterű vegyületeknél azonosítottuk.

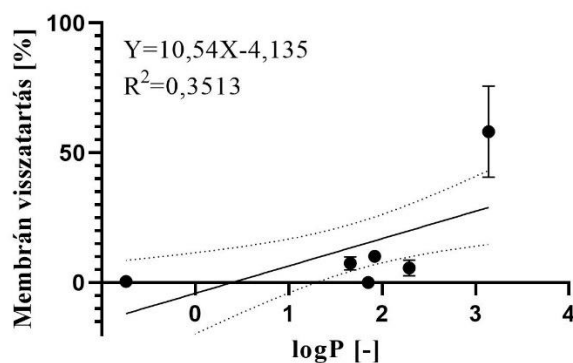
Meg kell azonban jegyezni, hogy a MR sokkal inkább egyenúlyi paraméter ellentétben a permeabilitással, ami dimenzióját is tekintve kinetikai jellemző. Így a P_e minél nagyobb értéket vesz fel, belső sajátágát tekintve is a fokozódó permeabilitást jelzi. Az MR esetében viszont ez korántsem ennyire egyértelmű, mert valójában a fokozott MR a lipidrétegben „megrekedt” hatóanyagmennyiséget jelzi, így a MR csak bizonyos mértékig segíti a hatóanyag permeabilitását, bizonyos határon felül (MR>60-80%) már gátolni fogja a hatóanyag megoszlását a fogadó oldal irányában. Vagyis az MR esetében az számít jónak, ha bevitt hatóanyag csupán közepes mértékű lipid-megoszlását jelzi, így kevesebb része halmozódik fel a lipidmembránban (biológiai rendszerre értelmezve a szövetekben), ezáltal egy közepes MR érték toxikológiai megfontolásokat is figyelembe véve kedvezőbb lehet.

A 5. és a 9. táblázatot összehasonlítva azt vehetjük észre, hogy a P_e értékek növekedésével növekszik a MR értékek is.

A) Semleges hatóanyagok korrelációi

A semleges karakterű hatóanyagok MR és megfelelő fizikai-kémiai paramétereinek közötti lineáris regresszió jóságát a 9. táblázat foglalja össze.

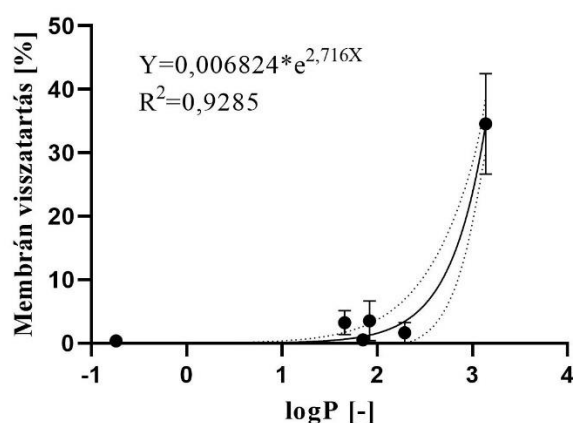
A F17. táblázat alapján lineáris korreláció nem azonosítható, kisebb tendenciát, a BBB a szív specifikus lipidkivonatokon mért MR és $\log P$ értékek között találtunk, utóbbit a 24. ábra mutatja.



24. ábra A szív specifikus lipidrendszeren mért MR adatok a $\log P$ függvényében

A korábbi elvet követve elvégeztük exponenciális illesztését, melynek eredményét a **F18. táblázat** foglalja össze.

Az exponenciális illesztés sokkal nagyobb R^2 értékekhez vezetett ebben az esetben. A táblázat alapján a két kiemelt összefüggést a BBB és szív (H) specifikus lipidmembrán MR és $\log P$ értékei között találtunk (rendre $R^2=0,9285$ (**25. ábra**) és $0,8870$).



25. ábra A BBB specifikus lipidrendszeren mért MR értékek a $\log P$ függvényében

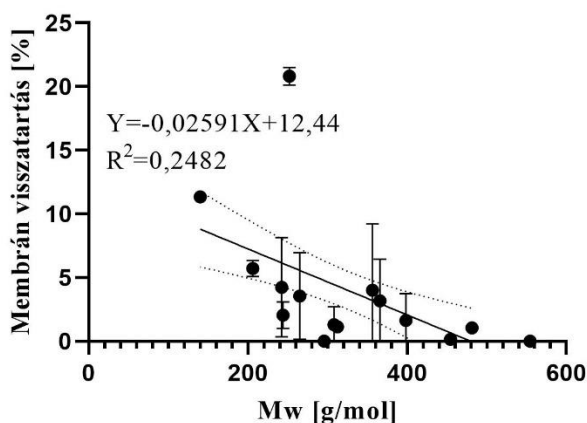
A vér-agy gát, dodekán és szív specifikus lipidrendszereken a megoszlási hányados ($\log P$), míg a máj, foszfatidilkolin és foszfatidilszerin rendszereken a molekulatömeg (M_w), illetve a teljes poláris molekulafelszín (TPSA) korrelációja volt kiemelkedő mértékű mindkét függvényillesztési módszernél.

Bár az exponenciális illesztés jósága kiemelkedőnek mondható, de mint az előző esetben is megállapítottuk (5.2.2.A) összesen 7 vegyület 6 pontjáról van szó. Ilyen minimális adatból nem lehet sokszáz-sokezer vegyületre kiterjedő általános szabályszerűséget megállapítani.

B) Savas hatóanyagok korrelációi

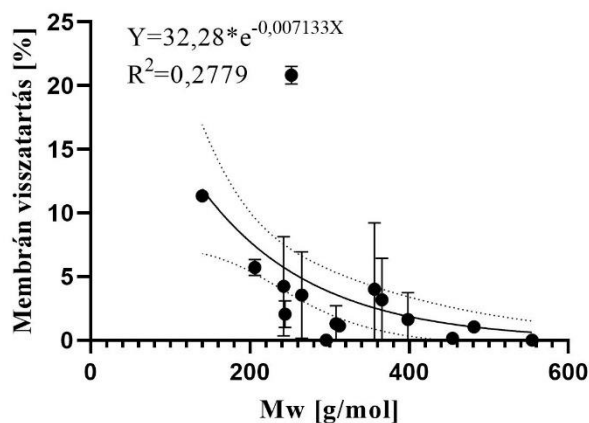
Mint korábban tárgyaltuk (5.2.1. fejezet) a mérés körülményei nem teszik lehetővé, hogy a savas karakterű molekula semleges formába kerüljön a membrán határfelületére, emiatt alacsony az effektív permeabilitása, ami összefüggésben áll a membránretenció értékével is. Emiatt a MR értéke is várható alacsony lesz, hiszen azon kevés töltéssel rendelkező részecske a hidrofób közegből hirtelen kilökődik a lipidréteg valamely oldalán és nem képes felhalmozódni.

A **F19. táblázatban** látható, hogy a savas karakterű hatóanyagok esetében a determinációs együtthatónak alacsony értékeket vesznek fel. Legnagyobb értéket a szív specifikus lipidrendszeren mért MR és a Mw közötti kapcsolat adta ($R^2=0,2482$, **26. ábra**).



26. ábra A szív specifikus lipidrendszeren mért MR értékek a Mw függvényében

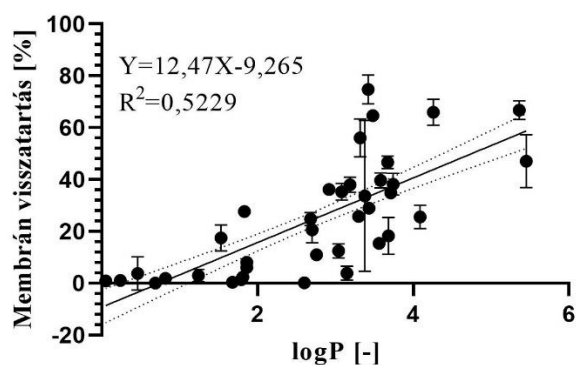
Ebben az esetben sem a lineáris, sem az exponenciális függvényillesztés nem hozott eredményt, nem sikerült kellően nagy R^2 - értéket azonosítanunk. A **F20. táblázat** alapján a legjobb illeszkedést ugyanúgy a szív specifikus lipidrendszeren mért hatóanyagok MR értékei és Mw (**27. ábra**) és a TPSA közötti exponenciális függvény adta.



27. ábra A szív specifikus lipidrendszeren mért MR értékek és a Mw értékek közötti exponenciális korreláció

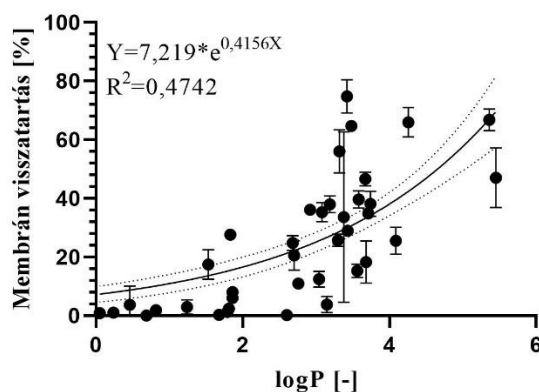
C) Bázikus hatóanyagok korrelációi

A bázikus hatóanyagok teszik ki a forgalomban lévő gyógyszerek legnagyobb részét, ami összefüggésben van jó permeabilitásuk miatti jó felszívódóképességükkel.



28. ábra A BBB specifikus lipidrendszeren mért MR értékek a valódi megoszlás szerint

A **F21. táblázat** mutatja, hogy több paraméter – lipidrendszer kombinációnak is 0,3 feletti az R^2 értéke, ami azt jelenti, hogy a lineáris regresszióval több esetben már tendenciát mutató összefüggéseket kaptunk, melyek közül a legjobb korrelációt a **28. ábra** szemlélteti.



29. ábra A BBB specifikus lipidrendszeren mért MR értékek és a $\log P$ értékek közötti exponenciális összefüggés

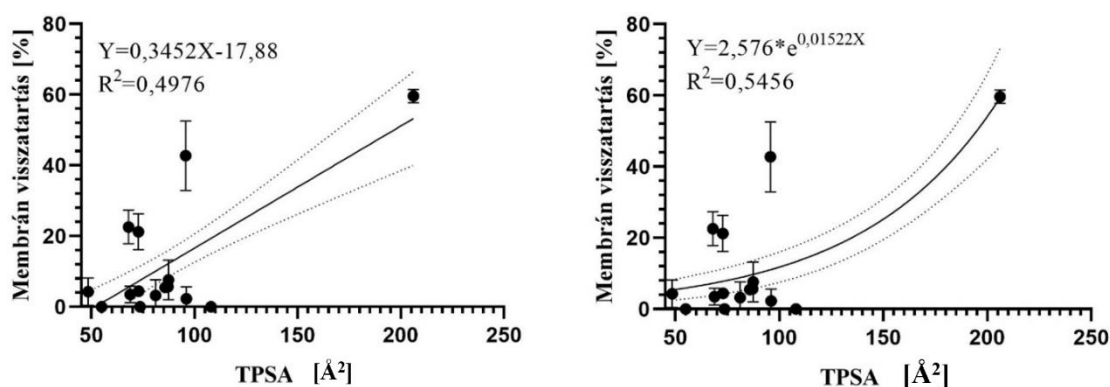
Az exponenciális függvényillesztés a lineáris regresszióval átlagosan alacsonyabb determinációs együtthatókat eredményez.

A két táblázat alapján megállapítható, hogy a bázikus hatóanyagok MR értékei a megoszlási hányadosaikkal, illetve az oldhatóságukkal ad magasabb R^2 értéket.

D) Amfoter hatóanyagok korrelációi

Az amfoter karakterű hatóanyagok közelítőleg a semleges karakterű hatóanyagok membránretenciós értékeivel azonos membránretenciós tulajdonsággal bírnak.

Az amfoter karakterű vegyületek MR értékeire vonatkozó lineáris korrelációkat a **F23. táblázat** szemlélteti, mely mutatja, hogy csupán a TPSA és a máj specifikus (L) lipidrendszerben kapott MR értékek között azonosítható számottevő lineáris összefüggés (**30. ábra**)



30. ábra A máj specifikus lipidrendszerben mért MR értékek és a TPSA közötti lineáris összefüggés (lineáris és exponenciális)

A **F24. táblázat** alapján a lineáris regresszióval jobb R^2 értékeket kaptunk az exponenciális függvényillesztéssel.

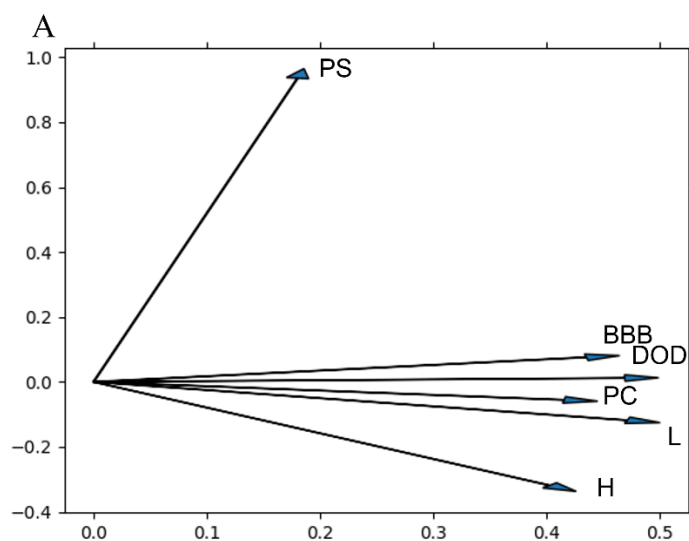
Az amfoter vegyületek esetében a Mw és a TPSA értékek domináltak a MR értékekkel szemben vizsgált korrelációk azonosítása során.

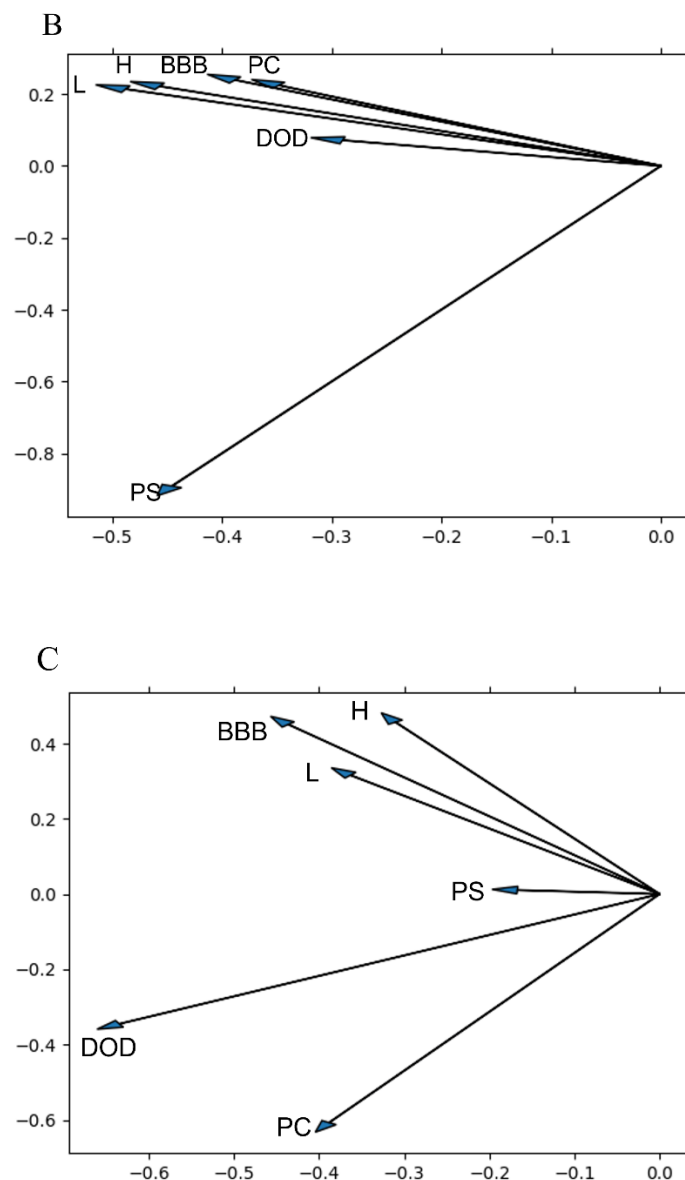
5.3. Permeabilitás és membránretenció *in silico* jellemzése

Mint a bevezetésben, illetve a célkitűzés fejezetekben leírtuk jelen dolgozat a KU Leuven-nel közreműködve jött létre a CELSA/21/019 pályázat keretén belül.

Az általuk elvégzett effektív permeabilitási (P_e , $\log P_e$) és membránvisszatartási (MR) adatokból a következő PCA (Principal Component Analysis – Főkomponens analízis) ábrákat kaptuk (**31. ábra**) a KU Leuven-i kollégáktól.

A főkomponens analízis egy adatredukciós technika, melyet nagydimenziós adatkészletre szoktak alkalmazni. Lényege, hogy az nagydimenziós adathalmazból egyszerűbb 2 vagy 3 dimenziós képet ad minimális információvesztéssel. Az így alkotott képen minél távolabbi két paraméter irányvektora, annál jobban elkülönül egymástól [23].





31. ábra Az effektív permeabilitás: P_e (A), a membránretenció: MR (B) és az effektív permeabilitás logaritmusos értékének: $\log P_e$ (C) PCA diagramjai.

Az ábrán látható a P_e és a MR ábrázoló diagrammokon (A és B), hogy a vizsgált 6 lipidrendszerből 5 közel egyirányba mutat, sőt a P_e PCA diagramján (A) még a hosszuk is körülbelül megegyezik. A nyilak mérete mellett az iránya is fontos. Ami felfelé mutat, annak meredekség függően egyre pozitívabb, ami lefelé mutat annak egyre negatívabb (tehát fordítottabb) a korrelációja/kapcsolata az adott főkomponenssel. Egyedül a foszfatidilszerin monolipidmodellhez tartozó P_e értékei különülnek el valószínűleg emiatt lehetnek egyedülállóak a P_e értékei a többi lipidhez képest. Ez annak köszönhető, hogy a foszfatidilszerin nettó negatív, míg a foszfatidilkolin semleges töltésű lipidréteget eredményez.

Ez a töltésben való különbség a penetrációs képességeket (effektív permeabilitás és membránretenció) nagy mértékben befolyásolja. A legnagyobb szöget a foszfatidilszerin (PS) és a szív (H) specifikus lipidrendszer zárja be, így ezek a leginkább különböző rendszereknek, emellett a szív a többihez képest szintén egy kicsit elkülönül és ellentétben a PS-el, már karakterisztikusan negatív korrelációt jelez. Az MR (**31. ábra B**) esetében, hasonlóan a Pe-hez a PS monolipid-rendszer elkülönülését lehetett azonosítani, csupán a korreláció iránya fordul meg a Pe-hez képest.

Végül fontos kiemelni, hogy a $\log P_e$ (**31. ábra C**) esetében a PCA modellben sokkal inkább elkülönülnek a lipid modellek, ami jó összefüggésben van a korábbi korrelációs adatokban kapott nagyobb értékekkel. Vagyis a $\log P_e$ érték sokkal jobb viszonyítási deskriptor mint a Pe vagy Mr érték. Fontos továbbá kiemelni, hogy ebben az esetben a szövetspecifikus lipidek egyirányba rendeződnek a PCA felületen és pozitív korrelációt jeleznek a $\log P_e$ -vel, míg a PS semleges a $\log P_e$ -vel szemben, továbbá a DOD és PC monolipid rendszerek egyre negatívabb korrelációs összefüggést mutatnak. A $\log P_e$ ez a fajta lipidmodellben megjelenő ortogonalitása a további munkában, modell kidolgozási tervben is fontos megfigyelésnek számít.

6. Összefoglalás

A kutatás során 80 vegyületnek mértük meg az in vitro effektív permeabilitását (P_e) és membránretencióját (MR) PAMPA rendszer segítségével poláris szövetspecifikus lipidkivonat (BBB, máj és szív) és monolipid (foszfatidilkolin: PC, foszfatidilszerin: PS) és egy-oldószer (dodekán) alapú rendszereken, illetve összevetettük azokat a hatóanyagok fizikai-kémiai paraméterével összefüggéseket keresve közöttük. A bemutatott illesztési modelleket (lineáris és exponenciális függvények) determinációs tényezőjük szerint vizsgáltuk.

A korrelációs mátrix alapján egyértelműen azonosítható, hogy az P_e esetében a logaritmikus értékek ($\log P_e$) alkalmazása jobb korrelációs adatokat szolgáltatott. Általánosan elmondható, hogy a permeabilitáshoz és a lipofilitáshoz kapcsolódó paraméterek ($\log P/D$) pozitív korrelációt, míg a molekulatömeg (M_w), teljes poláros molekulafelszín (TPSA), H-híd kötés donor, illetve -fogadó (HBD, HBA) negatívan korrelálnak. Ez azzal magyarázható, hogy minél polárosabb a molekulafelszín, annál kevésbé tud a hatóanyag penetrálni, illetve minél több a H-kötést alakítani képes atom vagy atomcsoport a molekulában, annál kisebb lesz a penetrációs hajlam. A megoszlási hányadosok közül a 7,4-es pH értékre becsült érték adta a legjobb determinációs együtthatót, míg a 6,5-es és 2,0-s pH értékei egyre rosszabbat. Ez nem meglepő, hiszen a kísérleteket 7,4-es pH-jú közegekben végeztük. Az esetek többségében erősebb pozitív

korreláció mutatható ki mind a P_e , mind a MR és a lipofilitást leíró paraméterek között ($\log P$; $\log D_{7,4}$), emellett a Percepta által becsült CaCo-2-es és jejunális permeabilitás, valamint a $\log BB$ és a becsült maximális passzív abszorpció mértéke jó korrelációt adott a mért értékeinkkel. A membránok között itt markáns különbségek nem azonosíthatók, kivéve a foszfatidilszerint (PS), amely kissé különböző „korrelációs mintázatot” adott a mátrixban. Azt is lehet látni, hogy a PS-re jellemző MR-t egyik paraméter sem írja le igazán jól.

Az lineáris és exponenciális korrelációk nem teljesen kielégítőek. Valószínűleg a penetrációs képességek értékét nem egyetlen fizikai-kémiai paraméter dominálja, emiatt szükséges magasabb rendű matematikai és számítógépes módszerekre az összefüggések kereséséhez.

A sav-bázis karakter szerint szétbontott vegyületcsoportokat vizsgálva az összefüggések azonosítása könnyebbé válik, hiszen a vegyületek permeabilitása nagyban függ attól, hogy ionos vagy semleges formában vannak-e jelen molekulák az adott pH-n. A $\log P$ és a $\log D_{7,4}$ a bázikus vegyületek esetében jobban, míg savas vagy amfoter vegyületek egyáltalán nem ad jó korrelációt. A savas és amfoter sav-bázis tulajdonságú vegyületek viselkedését inkább M_w és a TPSA írja le jobban. A membránretencióra (MR) hasonló megállapításokat tehetünk, illetve a membránretenció esetében kimondhatjuk, hogy a lineáris regressziónál többnyire jobb eredményeket szolgáltat az exponenciális.

Így, a vizsgált lipidrendszereken a hatóanyagok a P_e és a MR is elsősorban a $\log P$ és $\log D_{7,4}$ értékekkel, oldhatósági ($\log S_{7,4}$) értékükkel mutatott szorosabb összefüggést. Kivételt képez a foszfatidilszerin (PS), mely esetében a PCA diagramok (**31. ábra**) is mutatják, hogy a rajta vizsgált penetrációs tulajdonságok jellemzően mások voltak.

A CELSA/21/019 (Active learning and interpretation of computational model on tissue specific permeability for stock and virtual drug discovery library) pályázat 2023 szeptemberéig tart, ahol célunk, hogy a jelen TDK dolgozatban bemutatott eredményei nem csupán a modellparaméterek azonosításában, de a további vegyületkörök kiválasztásában is kulcsfontosságú (pl.: az alulreprezentált savas és neutrális karakterű vagy a nagyobb lipofilitású molekulákkal történő paraméter gazdagítás).

7. Irodalomjegyzék:

- [1] Faigl Ferenc, “A mai gyógyszerkutatás időigénye és költsége,” in *Gyógyszerek*, Budapest: Typotex, 2016, pp. 23–27.
- [2] K. Arand, D. Stock, M. Burghardt, and M. Riederer, “pH-dependent permeation of amino acids through isolated ivy cuticles is affected by cuticular water sorption and hydration shell size of the solute,” *J Exp Bot*, vol. 61, no. 14, pp. 3865–3873, Sep. 2010, doi: 10.1093/jxb/erq193.
- [3] Avdeef Alex, “Tetrad of Equilibria,” in *Absorption and Drug Development*, Second Edition., Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Inc., 2012, pp. 175–177.
- [4] Balogh György Tibor, “Fizikai-kémiai tulajdonságok kísérleti meghatározása ,” in *A gyógyszerkutatás kémiája*, Keserű György Miklós, Ed. Budapest: Akadémiai kiadó, 2011, pp. 339–341.
- [5] Avdeef Alex, “logD Lipophilicity porfiles,” in *Absorption and Drug Development*, Second., Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Inc., 2012, pp. 178–183.
- [6] Bátori Sándor, “Oldhatóság,” in *A gyógyszerkutatás kémiája*, Keserű György Miklós, Ed. Budapest: Akadémiai, 2011, p. 522.
- [7] Avdeef Alex, “Mathematical models for solubility - pH profiles,” in *Absorption and Drug Development*, Second., Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Inc., 2012, pp. 257–260.
- [8] Balogh György Tibor, “Fizikai-kémiai jellemzés,” in *A gyógyszerkutatás kémiája*, 1st ed., Keserű György, Ed. Budapest: Akadémiai Kiadó, 2011, p. 336.
- [9] Molnár László, “Fizikai-kémiai tulajdonságok előrejelzése,” in *A gyógyszerkutatás kémiája*, Keserű Miklós György, Ed. Budapest: Akadémiai Kiadó, 2011, p. 349.
- [10] C. Liang and H. Lian, “Recent advances in lipophilicity measurement by reversed-phase high-performance liquid chromatography,” *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 68, pp. 28–36, May 2015, doi: 10.1016/j.trac.2015.02.009.

- [11] Molnár László, “Fizikai-kémiai tulajdonságok előrejelzése,” in *A gyógyszerkutatás kémiája*, Keserű György Miklós, Ed. Budapest: Akadémiai Kiadó, 2011, p. 345.
- [12] Y. Ran, Y. He, G. Yang, J. L. H. Johnson, and S. H. Yalkowsky, “Estimation of aqueous solubility of organic compounds by using the general solubility equation,” *Chemosphere*, vol. 48, no. 5, pp. 487–509, Aug. 2002, doi: 10.1016/S0045-6535(02)00118-2.
- [13] M. Stuart and K. Box, “Chasing Equilibrium: Measuring the Intrinsic Solubility of Weak Acids and Bases,” *Anal Chem*, vol. 77, no. 4, pp. 983–990, Feb. 2005, doi: 10.1021/ac048767n.
- [14] Avdeef Alex, “Monoprotic Weak Acid, HA or Base B),” in *Absorption and Drug Development*, Second Edition., Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Inc., 2012, pp. 255–256.
- [15] Sarkadi Livia, “A biológiai membránok szerkezet,” in *Biokémia mérnöki szemmel*, Budapest: Typotex Kiadó, 2007, pp. 274–276.
- [16] Balogh György Tibor, “Permeabilitás - PAMPA és CaCo-2 modellek,” in *A gyógyszerkutatás kémiája*, Keserű György Miklós, Ed. Budapest: Akadémiai Kiadó, 2011, p. 352.
- [17] Simándi Béla, “Molekuláris diffúzió fluidumokban,” in *Vegyipari Műveletek II.-Anyagátadó műveletek és kémiai reaktorok*, 2. javított kiadás., Simándi Béla, Ed. Budapest: Typotex Kiadó, 2012, p. 21.
- [18] Balogh György Tibor, “Permeabilitás - PAMPA és CaCo-2 modellek,” in *A gyógyszerkutatás kémiája*, Keserű György Miklós, Ed. Budapest: Akadémiai Kiadó, 2011, pp. 355–356.
- [19] Balogh György Tibor, “Permeabilitás - PAMPA és CaCo-2 modellek,” in *A gyógyszerkutatás kémiája*, Keserű György Miklós, Ed. Budapest: Akadémiai Kiadó, 2011, pp. 353–354.
- [20] G. Dargó, A. Vincze, J. Müller, H. J. Kiss, Z. Z. Nagy, and G. T. Balogh, “Corneal-PAMPA: A novel, non-cell-based assay for prediction of corneal drug permeability,” *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 128, pp. 232–239, Feb. 2019, doi: 10.1016/j.ejps.2018.12.012.

- [21] C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, and P. J. Feeney, “Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings 1PII of original article: S0169-409X(96)00423-1. The article was originally published in *Advanced Drug Delivery Reviews* 23 (1997) 3–25. 1,” *Adv Drug Deliv Rev*, vol. 46, no. 1–3, pp. 3–26, Mar. 2001, doi: 10.1016/S0169-409X(00)00129-0.
- [22] van der Maaten Laurens and Hilton Geoffrey, “Visualizing Data using t-SEN,” *Journal of Machine Learning Research*, vol. 9, pp. 2579–2605, Nov. 2008.
- [23] I. T. Jolliffe and J. Cadima, “Principal component analysis: a review and recent developments,” *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, vol. 374, no. 2065, p. 20150202, Apr. 2016, doi: 10.1098/rsta.2015.0202.

Függelék:

ISM – Ismétlésre szoruló mérőpont

F1. táblázat A vizsgált hatóanyagok fizikai-kémiai paramétereit

Hatóanyag neve	$\log D_{7,4}[-]$	$\log S_{7,4}[-]$	$\log P[-]$	Mw[g/mol]	TSPA[Å ²]	SBT
Allopurinol	-0,67	-1,64	-0,66	136,11	70,14	savas
Ambroxol	1,31	-1,13	2,70	378,10	58,28	bázikus
Amethopterin	-5,22	-0,45	-0,56	454,44	210,54	savas
Amlodipine	1,91	-3,75	3,42	408,88	99,88	bázikus
Amodiaquine	2,20	-2,24	4,42	355,86	48,39	amfoter
Atenolol	-1,85	0,57	0,24	266,34	84,58	bázis
Atropine	-0,46	0,28	1,86	289,37	49,77	bázis
Barbituric acid	-2,99	0,88	-1,07	128,09	75,27	savas
Benzocaine	1,83	-1,76	1,83	165,19	52,32	bázikus
Bevantolol	1,07	-0,52	2,68	345,43	59,95	bázikus
Bupropion	2,88	-2,72	3,08	239,74	29,10	bázikus
Buspirone	2,68	-2,12	3,04	385,50	69,64	bázikus
Ceftriaxone	-4,55	0,24	-0,45	554,58	291,31	savas
Cephalexine	-3,62	-0,52	-0,34	347,39	138,03	amfoter
Chlorotiazide	-0,21	-3,49	-0,02	295,73	135,45	savas
Chlorpromazine	3,42	-3,64	5,36	318,86	31,78	bázikus
Cimetidine	0,37	-1,62	0,69	252,34	114,19	bázikus
Clofibrate	3,52	-3,35	3,52	242,70	35,53	semleges
Clonidine	1,03	-3,07	1,79	230,09	36,42	bázikus
Crotamiton	-2,56	0,74	-0,73	203,28	72,72	amfoter
Desipramine	1,56	-1,23	4,26	266,38	15,27	bázikus
Dexamethasone	1,92	-3,77	1,92	392,46	94,83	semleges
Dextromethorphan	1,86	-1,88	3,58	271,40	12,47	bázikus
Diazepam	2,92	-3,96	2,92	284,74	32,67	bázikus
Dibucaine	1,77	-1,78	3,67	343,46	54,46	bázikus
Diltiazem	2,06	-2,01	3,43	414,52	84,38	bázikus
Dimedone	-1,01	0,81	0,94	140,18	34,14	savas
Diphenhydramine	2,34	-2,03	3,71	255,35	12,47	bázikus
Dipyridamole	0,44	-3,66	0,46	504,63	145,44	bázikus
Disopyramide	0,35	-0,38	2,76	339,47	59,22	bázikus
Domperidone	3,15	-3,31	4,27	425,91	67,92	amfoter
Doxorubicin	-0,79	-2,10	0,92	543,52	206,07	amfoter
Enalapril	-1,43	0,42	2,14	376,45	95,94	amfoter
Enoxacin	-2,83	-2,52	-0,62	320,32	85,77	amfoter
Fentanyl	3,01	-2,69	4,09	336,47	23,55	bázikus
Fexofenadine	2,43	-4,17	4,93	501,66	81,00	amfoter
Flubriprofen	0,68	-1,15	3,82	244,26	37,30	savas
Flutamide	3,14	-3,67	3,14	276,21	74,92	semleges
Haloperidole	2,65	-3,96	3,48	375,86	40,54	bázikus
HK_275	1,48	-1,61	3,68	300,44	32,34	bázikus
HK_363	4,41	-3,31	5,45	382,56	60,58	bázikus
HK_416	3,08	-4,66	3,19	407,51	54,04	bázikus
HK_814	1,85	-2,50	1,85	219,28	49,33	semleges
HK_990	2,29	-3,81	2,29	338,42	84,09	semleges
Ibuprofen	0,45	-0,27	3,37	206,28	37,30	savas
Indapamide	2,14	-3,67	2,15	365,84	100,88	savas
Indoramin	2,00	-2,87	3,38	347,45	48,13	bázikus

Irbesartan	1,46	-1,48	3,43	428,53	87,13	amfoter
Labetalol	0,85	-1,33	2,74	328,41	95,58	amfoter
Lamotrigine	1,68	-4,07	1,68	256,09	90,71	bázikus
Levetiracetam	-0,74	-0,09	-0,74	170,21	63,40	semleges
Metoprolol	-0,29	0,57	1,81	267,36	50,72	bázikus
Metronidazole	0,05	-0,96	0,05	171,15	83,87	bázikus
MOE_0448	1,72	-2,94	1,72	191,23	54,88	amfoter
Nadolol	-0,86	0,51	1,24	309,40	81,95	bázikus
Nicotine	-0,37	0,79	0,82	162,23	16,13	bázikus
Nitrazepam	2,03	-3,82	2,03	281,27	87,28	amfoter
Norfloxacin	-3,04	-2,64	-0,56	319,33	72,88	amfoter
Oxybuprocaine	1,96	-1,50	3,74	308,42	64,79	bázikus
Papaverine	3,29	-3,81	3,32	339,39	49,81	bázikus
PGY_0072	1,90	-3,34	2,30	265,12	66,91	savas
Phenylglyoxylic acid	-2,92	0,82	0,82	150,13	54,37	savas
Phenytoin	2,38	-3,70	2,42	252,27	58,20	savas
Pindolol	-0,32	0,29	1,86	248,32	57,28	bázikus
Pirenzepine	0,03	-1,66	0,31	351,40	68,78	amfoter
Piroxicam	-1,16	-0,58	2,22	331,35	107,98	amfoter
Prednisolone	1,66	-3,26	1,66	360,44	94,83	semleges
Promamidine	-1,67	-0,82	1,33	312,37	118,2	savas
Pyridoxine	-0,69	0,65	-0,62	169,18	73,58	amfoter
Quetiapine	2,25	-3,89	2,34	383,51	73,60	bázikus
Risperidone	1,81	-3,28	2,60	410,48	61,94	bázikus
Rosuvastatin	-1,77	-0,76	1,36	481,54	149,3	savas
Sulfasalazine	0,22	-1,75	3,37	398,39	149,69	savas
Sulindac	0,30	-2,69	3,34	356,41	73,58	savas
Tetracain	2,26	-1,55	3,30	264,36	41,57	bázikus
Thiopental	2,48	-2,76	2,94	242,34	90,29	savas
Timolol	-0,32	0,50	1,53	316,42	107,98	bázikus
VB_253	3,10	-3,26	3,56	393,53	52,57	bázikus
Venlafaxine	1,43	-1,80	3,15	277,40	32,70	bázikus
Warfarin	0,31	-1,53	3,11	308,33	63,60	sav

F2. táblázat BBB effektív permeabilitási [10^{-6} cm/s] és membránretenció [%] értékek

Hatóanyag neve	Pe ₁	Pe ₂	Pe ₃	MR ₁	MR ₂	MR ₃
Allopurinol	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM
Ambroxol	26,64	51,64	41,78	26,07	19,29	16,31
Amethopterin	0	0	0	2,93	2,87	3,66
Amlodipine	24,77	32,83	31,41	80,77	74,01	69,57
Amodiaquine	15,15	14,18	15,57	47,59	45,2	43,31
Atenolol	0	0	0	1,4	1,46	0,32
Atropine	8,58	9,73	6,24	7,01	7,55	9,56
Barbituric acid	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM
Benzocaine	41,47	40,08	45,29	26	29,4	27,48
Bevantolol	27,76	24,67	25,73	27,64	22,99	23,7
Bupropion	43,87	50,31	54,2	38,06	36,14	31,69
Buspirone	26	42	32	14,9	9,5	12,9
Ceftriaxone	0,83	0	0	0,23	0,62	1,13
Cephalexine	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM
Chlorotiazide	0	0	0	1,99	3,32	1,79
Chlorpromazide	0	0	0	70,67	63,34	66,37
Cimetidine	0	0	0	0	0	0
Clofibrate						

Clonidine	8,95	6,46	8,11	0,34	3,45	0,18
Crotamiton	73	50	49	24,4	23,4	21,9
Desipramine	32,72	29,03	20,65	71,48	64,57	61,8
Dexamethasone	10,24	8,07	10,94	6,06	4,47	0
Dextromethorphan	56,99	38,24	28,9	42,94	38,64	37,34
Diazepam	60,44	83,75	82,87	35,84	37,51	35,02
Dibucaine	72,02	61,33	61,5	49,09	46,62	44,28
Diltiazem	40,07	41,05	30,65	29,35	28,34	29,18
Dimedone	7	8	8	0	0	0
Diphenhydramine	38,7	39,68	42,45	35,53	35,67	33,44
Dipyridamole	9,82	48,72	51,19	11,15	0	0
Disopyramide	11,19	9,98	12,7	11,54	11,3	10,05
Domperidone	0	16,36	20,21	95,8	30,71	1,31
Doxorubicin	8,82	11,22	7,06	58,86	56,18	56,63
Enalapril	0	0	2,86	6,44	6,08	0,72
Enoxacin	5,58	3,15	2,36	8,69	7,95	7,6
Fentanyl	54,58	61,67	70,93	30,34	24,98	21,21
Fexofenadine	2,81	1,73	2,75	26,79	13,64	17,05
Flubriprofen	2,5	2,08	2,22	0	0	0
Flutamide	44	65	52	43,7	29,7	30,3
Haloperidole	39,08	34,65	35,71	64,1	64,39	65,55
HK_275	30,35	31,61	27,53	23,37	21,35	10,08
HK_363	15,47	12,8	12,53	58,79	40,58	41,72
HK_416	54,14	52,7	55,1	41,26	36,56	36,07
HK_814	9,33	9,65	9,74	1,11	0,15	0,35
HK_990	4,45	6,33	4,91	3,51	0,62	0,85
Ibuprofen	3,34	3,09	3,84	0,29	0	0,15
Indapamide	5,64	7,96	6,19	0,79	0	0
Indoramin	12,94	19,69	15,43	52,05	48,75	0
Irbesartan	1	1	1	2,6	2,1	2,3
Labetalol	13,49	13,36	10,69	22,71	19,2	23,6
Lamotrigine	12,01	9,96	8,36	0	0,51	0,39
Levetiracetam	0	0	0	0	0	1,07
Metoprolol	6,89	5,56	7,83	2,72	3,43	1,05
Metronidazole	0	0	0	2,52	0,07	0
MOE_0448	6	7	5	0,1	0	
Nadolol	0,15	0,2	0,14	4,75	4,1	0,14
Nicotine	33,47	21,06	27,62	0	2,92	2,72
Nitrazepam	18,03	24,25	22,25	6,15	3,78	5,83
Norfloxacin	1,59	1,57	1,54	2,55	0,26	1,08
Oxybuprocaine	58,29	64,19	63,59	33,59	38,88	41,94
Papaverine	65	54	51	64,4	53,1	50,5
PGY_0072	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM
Phenylglyoxylic acid	4,04	4,91	3,76	0	0	0
Phenytoin	30,81	24,57	26,24	14,18	11,48	3,43
Pindolol	4,42	4,21	5,3	7,02	5,78	5,29
Pirenzepine	6,41	5,73	5,69	11,41	10,3	13,42
Piroxicam	17,82	17,8	17,83	0	0	0
Prednisolone	17,82	17,8	17,83	1,8	0,88	0
Promamidine	3,83	4,28	4,14	5,38	2,18	2,07
Pyridoxine	0	0	0	1,2	3,9	3,2
Quetiapine	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM
Risperidone	29,21	34,82	36,89	0,21	0,17	0,2
Rosuvastatin	0,36	0,42	0	1,76	1,13	0,91
Sulfasalazine	0	0	0	5,2	0,4	1,7

Sulindac	0	0	0	3	1,4	1
Tetracain	26,44	29,08	27,94	27,08	23,26	26,78
Thiopental	30	26	23	8,4	0	0
Timolol	0	0	0	11,81	19,17	21,32
VB_253	54,14	52,7	55,1	16,97	12,73	16,22
Venlafaxine	42,11	38,31	34,61	5,38	5,44	0,65
Warfarin	3	4	4	0	0	0,05

F3. táblázat Dodekán effektív permeabilitási [10^{-6} cm/s] és membránretenció [%] értékek

Hatóanyag neve	Pe ₁	Pe ₂	Pe ₃	MR ₁	MR ₂	MR ₃
Allopurinol	0	0	0	12,09	12,88	9,8
Ambroxol	47,45	45,44	41,54	29,29	19,89	19,97
Amethopterin	0	0	0	9,25	3,35	10,49
Amlodipine	11,22	13,66	10,8	28,41	26,5	26,1
Amodiaquine	37,51	35,38	33,99	32,14	34,07	27,79
Atenolol	0	0	0	0,8	0,32	0,9
Atropine	0	0	0	2,67	7,56	5,12
Barbituric acid	4,96	4,92	5,19	7,19	7,99	6,55
Benzocaine	70,3	75,71	111,31	7,3	6,77	0,43
Bevantolol	24,08	25,48	25,56	5,78	4,66	3,54
Bupropion	46,35	42,55	49,47	59,89	58,11	56,78
Buspirone	32,1	30,76	34,09	15,46	11,91	13,66
Ceftriaxone	0	0	0	3,28	0,79	0,52
Cephalexine	0	0	0	6,73	6,42	5,73
Chlorotiazide	0	0	0	2,26	9,41	9,8
Chlorpromazine	0	0	0	97,49	100	98,64
Cimetidine	0	0	0	0	1,29	0
Clofibrate	0	0	0	4,24	4,39	4,69
Clonidine	3,75	4,09	4,28	6,85	5,62	5,61
Crotamiton	103,07	68,72	50,46	13	15,94	16,59
Desipramine	150,8	91,51	65,03	19,3	24,59	17,39
Dexamethasone	0	0	0	4,45	0,85	0
Dextromethorphan	94,74	77,92	87,28	94,74	77,92	87,28
Diazepam	42,23	42,08	42,46	37,18	43,43	41,71
Dibucaine	65,98	65,07	57,32	43,55	33,4	32,53
Diltiazem	70,98	59,43	68,71	9,66	12,65	9,19
Dimedone	0	0	0	17,06	25,12	20,38
Diphenhydramine	69,47	63,63	60,72	15,25	20,95	9,08
Dipyridamole	3,41	6,77	12,52	9,17	0	0
Disopyramide	0	0	0	7,59	2,78	8,2
Domperidone	0	0	0	32	30	11
Doxorubicin	0	0	0	33,55	28,12	28,43
Enalapril	0	0	0	9,79	17,24	0
Enoxacin	0	0	0	0	0	1,19
Fentanyl	112,38	91,93	83,99	33,33	38,92	25
Fexofenadine	0	0,58	0	6,74	9,82	9,18
Flubriprofen	2,18	2,04	1,87	2,93	2,13	1,8
Flutamide	28,08	19,35	22,35	64,78	67,15	58,21
Haloperidole	38,76	34,77	40,53	36,72	32,49	27,24
HK_275	9,52	9,65	8,6	8,12	5,13	0
HK_363	33,45	24,04	27,73	10,66	0	0
HK_416	16,77	16,77	16,99	35,75	28,557	29,45
HK_814	2,4	2,79	2,29	0	0	0
HK_990	2,03	1,58	1,42	14,27	8,85	12,34

Ibuprofen	5,71	5,98	7,2	0	1	0
Indapamide	5,28	3,71	0	0	0	1,7
Indoramin	0	0	0	26,53	17,42	17,47
Irbesartan	0,19	0,22	0	5,83	4,93	6,69
Labetalol	0	0	0	5,554	2,35	3,46
Lamotrigine	0,61	0,73	0,96	0,64	2,06	1,63
Levetiracetam	0	0	0	0	4,05	1,16
Metoprolol	2,08	2,17	2,28	3,04	3,5	2,86
Metronidazole	0	0	0	8,44	3,36	1,53
MOE_0448	19,41	21,57	14,72	19,41	21,57	14,72
Nadolol	0	0	0	0	0	0
Nicotine	60,66	56,74	54,39	0	0	0
Nitrazepam	11,6	7,25	8,85	8,49	4,55	7,64
Norfloxacin	0	0	0	1,37	0,8	0,76
Oxybuprocaine	30,67	45,39	41,59	37,18	39,61	30,25
Papaverine	48,66	49,42	56,46	44,61	49,52	41,04
PGY_0072	0	0	0	0	0	0
Phenylglyoxylic acid	0	0	0	3,27	2,43	7,28
Phenytoin	0	0	0	4,95	0,05	4,23
Pindolol	0	0	0	3,04	2,74	0,56
Pirenzepine	0,39	0	0	1,46	2,22	2,04
Piroxicam	16,9	16,98	17,28	0	0	0
Prednisolone	16,9	16,98	17,28	22,25	19,93	19,47
Promamidine	0	0	0	1,84	2,87	2,22
Pyridoxine	0	0	0	3,4	3,44	4,1
Quetiapine	52,75	49,21	48,4	27,74	23,97	20,93
Risperidone	20,24	24,95	25,62	27,38	16,25	15,92
Rosuvastatin	0	0	0	2,94	0	0
Sulfasalazine	0,55	0,5	0,65	8,29	4,73	17,58
Sulindac	0,46	0,84	0,33	4,59	7,49	5,41
Tetracain	67,12	74,58	63,11	12,95	12,52	8,43
Thiopental	45,76	27,58	35,09	2,79	2,35	0
Timolol	4,04	0	0	55,35	58,44	58,79
VB_253	101,38	75,65	75,08	9,74	13,76	11,68
Venlafaxine	50,83	46,88	59,04	0,58	2,14	0
Warfarin	5,56	3,66	7,31	3,91	328	0,67

F4. táblázat Szív lipidkivonat effektív permeabilitási [10^{-6} cm/s] és membránretenció [%] értékek

Hatóanyag neve	Pe ₁	Pe ₂	Pe ₃	MR ₁	MR ₂	MR ₃
Allopurinol	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM
Ambroxol	61,07	53,4	39,62	35,55	30,77	31,28
Amethopterin	0,87	0,53	0,75	0,47	0	0
Amlodipine	29,46	38,78	71,94	80,05	69,4	65,99
Amodiaquine	16,98	21,14	19,94	49,71	53,16	51,95
Atenolol	0	0	0	5,54	3,61	5,69
Atropine	10,63	11,35	9,08	1,37	0	2,7
Barbituric acid	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM
Benzocaine	67,17	76,58	80,65	15	14,42	4,94
Bevantolol	27,77	12,51	23,36	38,67	41,67	36,13
Bupropion	41,49	50,66	58,1	44,65	39,99	41,06
Buspirone	56	55	63	0	1	2,1
Ceftriaxone	0	0	0	0	0	0
Cephalexine	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM
Chlorotiazide	0	0	0	0	0	0

Chlorpromazide	0	0	0	98,07	97,3	97,36
Cimetidine	0	0	0	4,32	3,73	2,92
Clofibrate	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM
Clonidine	8,14	11,23	11,8	3,78	3,02	4,4
Crotamiton	88	77	48	20,7	19,7	22,9
Desipramine	38,3	23,43	20,58	77,02	71,52	67,21
Dexamethasone	14,87	8,66	14,49	10,52	10,54	9,42
Dextromethorphan	59,13	66,37	68,25	47,01	38,82	37,37
Diazepam	33,7	28,52	32,63	34,04	39,28	34,26
Dibucaine	37,95	29,43	18,54	74,83	68,12	69,39
Diltiazem	35,62	37,58	38,12	36,72	32,03	31,69
Dimedone	0	0	0	11,5	11,6	10,9
Diphenhydramine	48,62	41,99	60,23	32,04	34,65	27,73
Dipyridamole	21,44	16,2	21,02	75,29	67,82	64,94
Disopyramide	10,71	13,43	12,71	7,82	4,96	3,01
Domperidone	25,55	49,34	0	42,92	29,18	53,22
Doxorubicin	6,36	6,68	7,28	48,02	44,34	46,83
Enalapril	2,3	7,11	6,43	0	0	0
Enoxacin	3,04	2,02	1,85	2,66	3,14	3,25
Fentanyl	37,71	111,05	113,43	42,46	15,32	12,06
Fexofenadine	11,93	8,74	7,64	18,83	14,51	13,02
Flubriprofen	8,42	12,52	10,72	3,23	1,21	1,73
Flutamide	0	55	52	78,3	49,4	46,8
Haloperidole	0	0	0	69,15	71,49	69,74
HK_275	17,16	19,92	19,91	21,22	11,75	14,7
HK_363	18,51	14,64	11,93	55,61	51,17	53,92
HK_416	16,97	18,13	16,27	43,63	38,76	40,31
HK_814	12,68	7,74	7,74	0	0	0
HK_990	11,95	10,88	11,51	9,16	3,98	3,87
Ibuprofen	10,54	12,88	7,57	6,29	5,05	5,79
Indapamide	22,93	24,56	25,92	6,53	3,03	0
Indoramin	23,32	20,73	22,54	63,39	38,88	5,76
Irbesartan	0	0	2	6	4,9	1,5
Labetalol	19,69	20,35	17,89	28,28	28,81	27,66
Lamotrigine	42,66	42,79	38,57	0	0	0
Levetiracetam	0	0	0	0	0	1,35
Metoprolol	11,95	12,61	11,32	3,8	3,43	4,43
Metronidazole	0	0	0	4,48	4,4	5,46
MOE_0448	7	6	7	2,1	1,1	0
Nadolol	1,69	1,18	1,43	1,9	2,17	1,84
Nicotine	38,29	30,11	16,94	2,12	3,28	0
Nitrazepam	55,3	58,39	83,16	0	0	0
Norfloxacin	1,89	1,85	0,93	2,08	1,16	2,76
Oxybuprocaine	17,17	18,19	23,8	26,05	24,25	26,09
Papaverine	22	20	30	37,6	43,6	25,9
PGY_0072	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM
Phenylglyoxylic acid	3,51	3,79	6,7	3,91	0	6,77
Phenytoin	44,94	36,61	33,54	20,03	21,18	21,26
Pindolol	14,77	10,43	7,79	1,14	3,79	6,4
Pirenzepine	4,98	5,11	5,6	1,02	2,21	0,58
Piroxicam	18,2	18,41	18,01	0	0	0
Prednisolone	18,2	18,41	18,08	0,71	1,1	0
Promamidine	8,43	8,06	6,99	10,3	5,71	6,24
Pyridoxine	0	0	0	1,5	1	0,9
Quetiapine						

Risperidone	0	0	0	57,81	52,26	55,65
Rosuvastatin	0,84	0,36	0,39	1,13	1,48	0,57
Sulfasalazine	0	0	0	4	0	0,9
Sulindac	0	0	0	1,4	0,6	10
Tetracain	74,37	70,68	72,75	24,71	25,62	24,21
Thiopental	14	16	15	5	0	7,7
Timolol	10,34	10,84	10,62	7,09	6,35	6,2
VB_253	33,35	44,86	39,25	22,54	20,1	16,59
Venlafaxine	33,32	30,49	48,04	9,63	2,96	2,34
Warfarin	2	2	2	2,8	0	1,1

F5. táblázat Máj lipidkivonat effektív permeabilitási [10^{-6} cm/s] és membránretenció [%] értékek

Hatóanyag neve	Pe ₁	Pe ₂	Pe ₃	MR ₁	MR ₂	MR ₃
Allopurinol	0	0	0	3,9	3,9	4,8
Ambroxol	49,57	58,44	55,35	32,1	24,84	24,71
Amethopterin	7,09	10,67	14,03	0	0	0
Amlodipine	27,36	17,3	13,49	88,339	82,97	80,2
Amodiaquine	8,31	11,4	10,64	5,22	0	7,6
Atenolol	0	0	0	5,17	19,05	4,75
Atropine	28,27	27,07	33,28	0	0	0
Barbituric acid	0	0	0	11,2	10,4	12,4
Benzocaine	50,21	51,26	54,01	4,63	7,07	9,26
Bevantolol	16,99	19,72	13,32	39,91	51,52	47,05
Bupropion	53,06	54,29	49,43	49,32	48,55	46,79
Buspirone	69,22	58,09	60,96	13,7	7,4	8,5
Ceftriaxone	2,61	1,38	1,72	0	0	0
Cephalexine	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM
Chlorotiazide	0	0	0	3,81	2,36	2,26
Chlorpromazide	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM
Cimetidine	0	0	0	5,23	5,83	4,94
Clofibrate	0	0	0	0	0	0
Clonidine	10,14	0	13,04	5,69	82,72	5,95
Crotamiton	75,73	38,61	52,59	23,2	25	15,4
Desipramine	3,29	3,76	5,51	26,54	24,34	27,89
Dexamethasone	21,01	17,76	16,1	8,57	13,03	14,82
Dextromethorphan	70,18	55,8	66,31	52,22	53,73	40,6
Diazepam	46,35	56,8	45,94	45,39	35,23	41,69
Dibucaine	47,44	40,6	31,73	66,7	59,46	58
Diltiazem	16,65	8,68	18,64	14,31	17,06	11,27
Dimedone	2,68	1,43	2,18	9,4	13,5	10,3
Diphenhydramine	13,56	16,27	18,06	30,88	14,84	3,5
Dipyridamole	17,84	19,42	14,25	0	55,3	64,24
Disopyramide	21,41	24,25	25,82	0	0	0,92
Domperidone	0	0	0	26,71	17,39	23,6
Doxorubicin	5,34	5,8	5,83	61,77	58,71	58,32
Enalapril	11,8	20,45	12,93	0,91	6,07	0
Enoxacin	1,6	1,4	1,61	5,55	5,57	5,33
Fentanyl	20,99	31,51	65,06	10,47	14,76	0
Fexofenadine	5,95	3,94	14,46	0	8,23	1,38
Flubriprofen	5,06	3,99	3,64	0	0	0
Flutamide	58,04	67,38	175,49	26	16	23,5
Haloperidole	39,75	36,89	0	66,38	63,35	85,14
HK_275	3,25	5,57	11,25	25,09	24,36	21,19
HK_363	0	0	0	69,88	69,18	70,35

HK_416	7,7	9,63	8,33	52,3	43,19	50,67
HK_814	18,04	3,35	11,56	0,83	3,67	0,26
HK_990	16,73	17,31	13,09	8,44	9,46	6,79
Ibuprofen	7,81	8,48	9,18	0	0	0
Indapamide	8,72	16,51	15,8	7,84	1,84	0,91
Indoramin	9,19	23,22	22,08	15,96	42,59	44,03
Irbesartan	5,51	4,7	4,37	6,4	4,5	6,2
Labetalol	27	14,49	11,03	54,04	36,21	38,11
Lamotrigine	18,05	12,71	14,14	0,27	0,71	1,54
Levetiracetam	24,17	28,06	29,03	0	0	0
Metoprolol	10,62	10,15	8,69	8,03	6,7	8,73
Metronidazole	ISM	ISM	ISM	0	0,97	0,48
MOE_0448	11,85	8,23	14,2	0	0,1	0
Nadolol	1,23	1,23	1,23	5,76	3,35	5,48
Nicotine	42,09	33,74	39,47	0	0	0
Nitrazepam	28,17	25,22	22,82	1,28	12,07	9,48
Norfloxacin	1,82	1,76	2,04	5,29	4,43	3,54
Oxybuprocaine	52,5	60,79	67,97	28,58	27,3	26,63
Papaverine	28,99	23,23	31,24	60,4	46,1	34,4
PGY_0072	0	0	0	5,4	4,4	1,1
Phenylglyoxylic acid	12,66	11,37	12,58	0	0,95	0
Phenytoin	37	33	34	31,2	32,7	26
Pindolol	8,15	7,84	7,35	0	7,15	3,44
Pirenzepine	6,37	5,46	5,59	5,39	0,91	4,16
Piroxicam	17,73	18,18	17,85	0	0	0
Prednisolone	17,73	18,18	17,85	0	0	0
Promamidine	18,06	7,18	7,91	52,57	5,32	7,12
Pyridoxine	0,43	0	0	3,3	4,9	2,2
Quetiapine	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM
Risperidone	43,6	47,15	48,08	0,18	0,09	0,05
Rosuvastatin	0	0	0	1,45	0,67	1,09
Sulfasalazine	0,29	0,37	0,54	5,4	0	0
Sulindac	2,37	2,1	1,82	0	0	0
Tetracain	79,61	69,08	74,34	28,03	26,39	26,75
Thiopental	28,83	23,3	17,37	0	0	0
Timolol	12,24	12,22	19,7	6,16	2	1,69
VB_253	26,82	34,59	45,62	8,06	1,54	0
Venlafaxine	45,18	41,31	49,25	10,91	12,95	6,32
Warfarin	3,82	3,75	4,04	2,6	0	0,8

F6. táblázat Foszfatidilkolin effektív permeabilitási [10^{-6} cm/s] és membránretenció [%] értékek

Hatóanyag neve	Pe ₁	Pe ₂	Pe ₃	MR ₁	MR ₂	MR ₃
Allopurinol	0	0	0	7,36	0	2,21
Ambroxol	38,35	52,61	53,28	39,78	32,6	32,16
Amethopterin	0	0	0	6,28	7,9	83,81
Amlodipine	15,35	17,29	19,12	56,53	45,23	49,66
Amodiaquine	46,52	50,93	53,9	35,35	36,65	33,58
Atenolol	0	0	-	2,12	2,38	-
Atropine	5,94	3,76	4,2	5,67	9,67	6,28
Barbituric acid	3,76	5,36	0	34,22	44,27	25,43
Benzocaine	80,5	88,23	0	13,05	12,95	0
Bevantolol	46,05	48,14	46,79	21,46	18,79	16,73
Bupropion	33,22	39,3	37,9	35,77	32,96	31,46
Buspirone	76,23	69,43	65,44	12,39	8,26	7,02

Ceftriaxone	1,36	1,25	0,78	22	51,75	7,32
Cephalexine	0	0	0	0	5,88	6,16
Chlorotiazide	0	0	0	0	0	0
Chlorpromazine	0	0	0	90,9	91,12	90,31
Cimetidine	0	0	0	3,43	3,75	3,46
Clofibrate	0	0	0	0	0	0
Clonidine	32,37	29,92	26,51	0	10,45	1,48
Crotamiton	0	77,31	71,59	37,76	34,49	32,27
Desipramine	91,44	44,98	34,02	33,69	26,68	28,57
Dexamethasone	8,96	6,35	19,55	21,92	18,91	16,31
Dextromethorphan	80,18	51,47	41,8	14,67	21,26	23,87
Diazepam	55,6	70,98	65,74	46,39	44,28	44,59
Dibucaine	50,46	35,51	26,33	41,73	32,97	40,35
Diltiazem	35,29	43,32	37,99	32,45	16,76	21,12
Dimedone	0	0	0	10,23	9,59	9,08
Diphenhydramine	47,3	49,06	60,48	18,05	21,39	18,37
Dipyridamole	21,13	9,77	9,72	23,15	0	12,35
Disopyramide	4,51	7,93	0	6,76	8,66	8,74
Domperidone	0	9,74	0	52,11	50,7	60,09
Doxorubicin	2,04	1,02	1,06	44,76	25,05	20,96
Enalapril	5,91	0	0	0	2,46	4,41
Enoxacin	0	3,1	6,53	2,14	0	0
Fentanyl	31,84	44,63	51,55	36,6	21	24,6
Fexofenadine	0	0	0,46	17,91	14,93	15,19
Flubriprofen	25,89	31,51	20,67	5,67	4,75	5,95
Flutamide	56,94	49,64	59,51	12,63	11,39	10,97
Haloperidole	30,17	29,95	31,34	44,8	43,79	47,48
HK_275	0	0	71,63	0	0	0
HK_363	0	0	0	72,02	61,73	57,82
HK_416	16,72	22,64	18,07	34,66	23,03	30,29
HK_814	14,3	12,81	14,49	20,21	20,26	13,18
HK_990	18,83	14,42	19,85	8,39	6,01	8,92
Ibuprofen	31,57	27,67	27,49	0	0	0
Indapamide	6,17	8,68	8,46	5,24	0	312
Indoramin	8,82	12,07	15,36	47,12	48,31	46,5
Irbesartan	0	0	0	5,74	4,92	5,85
Labetalol	12,48	3,17	3,63	115,85	18,17	18,1
Lamotrigine	4,13	4,3	3,16	8,15	8,78	9,06
Levetiracetam	0	0	0	1,76	8,79	11,72
Metoprolol	18,72	17,39	11,01	1,69	1,53	3,29
Metronidazole	0	3,66	5,24	7,57	0	0
MOE_0448	5,71	4,8	4,81	2,08	1,77	2,08
Nadolol	0	0	0	2,47	1,6	2,78
Nicotine	56,19	59,11	52,02	0	0	0
Nitrazepam	40,46	33,96	45,16	22,88	1,6	0
Norfloxacin	0	0	17,62	1,86	1,25	0
Oxybuprocaine	30,67	45,39	41,59	39,02	35,37	32,4
Papaverine	30,24	26,6	28,67	53,43	49,77	46,29
PGY_0072	0	0	0	8,9	6,77	0
Phenylglyoxylic acid	4,94	5,3	7,59	10,3	10,7	9,11
Phenytoin	12,32	7,88	9,71	32,54	28,23	32,71
Pindolol	28,56	8,52	9,97	0	1,08	0,25
Pirenzepine	0,61	0,25	0,72	4,24	3,72	4,09
Piroxicam	16,92	17,21	17,29	0	0	0
Prednisolone	16,92	17,21	17,29	0	4,76	0

Promamidine	4,07	3,62	3,54	11,81	11,05	11,42
Pyridoxine	0	0	0	2,2	2,34	2,88
Quetiapine	17,73	15,57	26,18	49,87	48,31	43,48
Risperidone	27,55	29,44	28,1	23,74	23,95	27,62
Rosuvastatin	0,3	0,36	0	4,76	4,73	4,73
Sulfasalazine	0	0	0	22,99	0	2,39
Sulindac	0	0	0	3,08	1,66	2,72
Tetracain	32,97	32,59	29,28	21,45	19,21	20,44
Thiopental	8,13	8,39	9,82	1,15	0	0
Timolol	13,57	17,45	14,93	57,43	56,71	56,71
VB_253	41,22	45,39	42,51	21,94	18,75	3,76
Venlafaxine	42,99	43,91	35,48	4,41	4,22	2,43
Warfarin	0	0	0	7	5,38	5,38

F7. táblázat Foszfatidilszerin effektív permeabilitási [10^{-6} cm/s] és membránretenció [%] értékek

Hatóanyag neve	Pe ₁	Pe ₂	Pe ₃	MR ₁	MR ₂	MR ₃
Allopurinol	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM
Ambroxol	49,57	58,44	55,35	47,87	50,62	48,41
Amethopterin	7,09	10,67	14,03	7,99	4,31	5,29
Amlodipine	27,36	17,3	13,49	45,21	33,05	39,13
Amodiaquine	8,31	11,4	10,64	48,88	47,54	45,63
Atenolol	0	0	0	18,26	20,33	23,7
Atropine	28,27	27,07	33,28	2,17	5,89	1,39
Barbituric acid	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM
Benzocaine	50,21	51,26	54,01	0	0	0
Bevantolol	16,99	19,72	13,32	88,24	90,29	86,18
Bupropion	53,06	54,29	49,43	80,79	84,68	80,14
Buspirone	69,22	58,09	60,96	0	0	0
Ceftriaxone	2,61	1,38	1,72	0	0	0
Cephalexine	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM
Chlorotiazide	0	0	0	7,99	0	2,44
Chlorpromazide	-	-	-	84,83	78,73	77,22
Cimetidine	0	0	0	10,03	9,94	10,13
Clofibrate	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM
Clonidine	10,14	0	13,04	18,21	8,69	14,14
Crotamiton	75,73	38,61	52,59	20,61	14,46	29,82
Desipramine	3,29	3,76	5,51	46,34	39,91	31,13
Dexamethasone	21,01	17,76	16,1	16,47	24,35	24,13
Dextromethorphan	70,18	55,8	66,31	92,48	91,74	84,1
Diazepam	46,35	56,8	45,94	48,34	46,31	46,11
Dibucaine	47,44	40,6	31,73	0,5	2,8	2,42
Diltiazem	16,65	8,68	18,64	38,91	38,79	32,1
Dimedone	2,68	1,43	2,18	41,46	43,52	45,03
Diphenhydramine	13,56	16,27	18,06	29,71	31,73	28,62
Dipyridamole	17,84	19,42	14,25	82,89	65,77	67,79
Disopyramide	21,41	24,25	25,82	10,7	8,08	8,53
Domperidone	0	0	0	64,88	59,51	63,9
Doxorubicin	5,34	5,8	5,83	53,1	49,93	47,31
Enalapril	11,8	20,45	12,93	13,38	11,29	8,35
Enoxacin	1,6	1,4	1,61	36,96	35,84	22,63
Fentanyl	20,99	31,51	65,06	28,64	25,28	24,67
Fexofenadine	5,95	3,94	14,46	18,1	18,03	17,73
Flubriprofen	5,06	3,99	3,64	0,05	0,77	0,79
Flutamide	58,04	67,38	175,49	15,51	12,62	2,9

Haloperidole	39,75	36,89	0	0	0	0
HK_275	3,25	5,57	11,25		27,09	16,41
HK_363	0	0	0	0	0	0
HK_416	7,7	9,63	8,33	36,6	34,99	34,73
HK_814	18,04	3,35	11,56	0,5	5,81	3,3
HK_990	16,73	17,31	13,09	1,82	0	4,23
Ibuprofen	7,81	8,48	9,18	0	0	0
Indapamide	8,72	16,51	15,8	0	0	0
Indoramin	9,19	23,22	22,08	76,21		72,1
Irbesartan	5,51	4,7	4,37	0	0	0
Labetalol	27	14,49	11,03	76,95	81,15	78,45
Lamotrigine	18,05	12,71	14,14	27,95	26,78	33,27
Levetiracetam	24,17	28,06	29,03	9,04	6,59	0,19
Metoprolol	10,62	10,15	8,69	22,06	23,41	23,55
Metronidazole	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM
MOE_0448	11,85	8,23	14,2	4,25	4,63	15,85
Nadolol	1,23	1,23	1,23	22,99	23,27	23,41
Nicotine	42,09	33,74	39,47	34,72	36,51	35,75
Nitrazepam	28,17	25,22	22,82	30,21	0	0
Norfloxacin	1,82	1,76	2,04	41,46	40,52	40,97
Oxybuprocaine	52,5	60,79	67,97	35,25	42,86	42,42
Papaverine	28,99	23,23	31,24	47,01	45,56	50,91
PGY_0072	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM
Phenylglyoxylic acid	12,66	11,37	12,58	4,36	9,03	11,8
Phenytoin	37	33	34	0	0	0
Pindolol	8,15	7,84	7,35	30,2	28,39	34,94
Pirenzepine	6,37	5,46	5,59	0	0	0
Piroxicam	17,73	18,18	17,85	0	0	0
Prednisolone	17,73	18,18	17,85	6,61	11,8	0
Promamidine	18,06	7,18	7,91	10,72	5	8,04
Pyridoxine	0,43	0	0	20,66	17,62	9,84
Quetiapine	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM	ISM
Risperidone	43,6	47,15	48,08	9,04	9,16	1,41
Rosuvastatin	0	0	0	0,84	0	0
Sulfasalazine	0,29	0,37	0,54	0	0	14,21
Sulindac	2,37	2,1	1,82	4,36	0	0,07
Tetracain	79,61	69,08	74,34			
Thiopental	28,83	23,3	17,37	0	0	0
Timolol	12,24	12,22	19,7	46,1	45,04	45,72
VB_253	26,82	34,59	45,62	18,52	10,59	12,98
Venlafaxine	45,18	41,31	49,25	64,37	59,75	66,69
Warfarin	3,82	3,75	4,04	0	0	0

F8. táblázat A kolonnákon vizsgált hatóanyagok gyűjteménye

Kinetex® 2,6 µm C18 100Å (Kolonna-1)			ACE 3 C18- PFP (Kolonna-2)	Kinetex® 2,6 µm XB – C18 100Å (Kolonna-3)		
Ambroxol	Atenolol	Amlodipine	Allopurinol	Amethopterin	Amodiaquine	Atropine
Bevantolol	Bupropion	Buspiron	Barbituric acid	Benzocaine	Desipramine	Diltiazem
Ceftriaxone	Cephalexine	Chlorotiazide	Clofibrate	Diphenhydramine	Disopyramide	Domperidone

Chlorpromazine	Cimetidine	Clonidine	Levetiracetam	Doxorubicin	Enalapril	Fentanyl
Crotamiton	Dexamethazone	Dextromethorphan	Metronidazole	Fexofenadine	HK_275	HK_416
Diazepam	Dimedone	Dipyridamole	Nicotine		VB_253	
Enoxacine	Flurbiprofen	Flutamide	Phenylglyoxylic			
Haloperidole	HK_363	HK_814	acid			
HK_990	Ibuprofen	Indapamide				
Indoramin	Labetalol	Lamotrigine				
Metoprolol	MOE_0448	Nadolol				
Nitrazepam	Norfloxacin	Oxybuprocain				
Papaverine	PGY_0072	Phenytoin				
Pindolol	Pirenzepine	Piroxicam				
Prednisolone	Propamidine	Pyridoxine				
Quetiapine	Risperidone	Roauvastatin				
Sulfasalazine	Sulindac	Tetracaine				
Thiopental	Timolol	Venlafaxine				
	Warfarin					

F9. táblázat A semleges hatóanyagok determinációs együtthatói különböző fizikai-kémiai paraméterekkel, adott lipidrendszereken (lineáris függvényillesztés)

Lipidrendszer	Mw	logP	logS _{7,4}	TPSA
BBB	0,1798	0,7213	0,02273	0,09512
DOD	0,02811	0,7712	0,07646	0,01467
H	0,02417	0,8386	0,1611	0,001249
L	0,02823	0,03514	0,000117	1,11E-05
PC	0,2214	0,8023	0,06005	0,1569
PS	0,02737	0,7465	0,4542	0,02013

F10. táblázat A semleges hatóanyagok determinációs együtthatói különböző fizikai-kémiai paraméterekkel, adott lipidrendszereken (exponenciális függvényillesztés)

Lipidrendszer	Mw	logP	logS _{7,4}	TPSA
BBB	0,1821	0,7098	0,0226	0,0987
DOD	0,0301	0,7502	0,0779	0,0154
H	0,0246	0,8293	0,1606	0,0013

L	0,0286	0,0329	0,0001	0,0000
PC	0,2267	0,8115	0,0586	0,1651
PS	0,0285	0,7486	0,4641	0,0201

F11. táblázat A savas karakterű hatóanyagok effektív permeabilitása és fizikai-kémiai paramétereikkel összefüggő lineáris regressziók R^2 értékei

	Mw	logP	logD _{7,4}	logS _{7,4}	TPSA
BBB	0,3359	0,0340	0,5127	0,2377	0,1584
DOD	0,3253	0,0472	0,0749	0,0036	0,0782
H	0,5362	0,3471	0,6642	0,4186	0,4368
L	0,0840	0,0001	0,1450	0,2321	0,0687
PC	0,1335	0,1925	0,2565	0,0384	0,1648
PS	0,0378	0,0000	0,0625	0,0790	0,0000

F12. táblázat A savas karakterű hatóanyagok effektív permeabilitásának és fizikai-kémiai paramétereikkel alkotott exponenciális függvényillesztés jósága

	Mw	logP	logD _{7,4}	logS _{7,4}	TPSA
BBB	0,3473	0,0358	0,4984	0,2308	0,1617
DOD	0,3391	0,0486	0,0685	0,0035	0,0821
H	0,5468	0,3536	0,6410	0,4133	0,4423
L	0,0854	0,0001	0,1355	0,2258	0,0686
PC	0,1282	0,1896	0,2951	0,0370	0,1440
PS	0,0374	0,0000	0,0618	0,0798	0,0000

F13. táblázat A bázikus karakterű hatóanyagok effektív permeabilitása és a fizikai-kémiai paramétereikkel alkotott lineáris regresszió R^2 értéke

	Mw	logP	logD _{7,4}	logS _{7,4}	TPSA
BBB	0,0173	0,1983	0,3887	0,2390	0,0644
DOD	0,0028	0,2236	0,1592	0,0032	0,2232
H	0,0059	0,1677	0,3395	0,1912	0,0718
L	0,0018	0,0524	0,2065	0,0870	0,0437
PC	0,0029	0,2172	0,2047	0,0123	0,2510
PS	0,0001	0,1125	0,3143	0,1405	0,1799

F14. táblázat A bázikus karakterű hatóanyagok effektív permeabilitása és a fizikai-kémiai paramétereikkel alkotott exponenciális regresszió determinációs együtthatójának értéke

	Mw	logP	logD _{7,4}	logS _{7,4}	TPSA
BBB	0,0170	0,2032	0,4116	0,2484	0,0619
DOD	0,0028	0,2272	0,1634	0,0033	0,2222
H	0,0058	0,1713	0,3553	0,1978	0,0703

L	0,0017	0,0532	0,2087	0,0889	0,0437
PC	0,0029	0,2166	0,2057	0,0126	0,2458
PS	0,0001	0,1117	0,3138	0,1423	0,1793

F15. táblázat Az amfoter karakterű vegyületek effektív permeabilitása és kiválasztott fizikai-kémiai paraméterek lineáris regressziós determinációs együtthatói

Lipidrendszer	Mw	logP	logD _{7,4}	logS _{7,4}	TPSA
BBB	0,2387	0,0606	0,0319	0,0472	0,1792
DOD	0,2985	0,0249	0,0102	0,0429	0,2346
H	0,1287	0,1112	0,0841	0,0557	0,0195
L	0,0053	0,3685	0,1126	0,0089	0,0124
PC	0,2766	0,0882	0,0292	0,0436	0,1590
PS	0,0045	0,1905	0,3447	0,0084	0,0276

F16. táblázat Az amfoter vegyületek effektív permeabilitása és kiválasztott fizikai-kémiai paraméterek exponenciális függvényillesztésének R² értéke

Lipidrendszer	Mw	logP	logD _{7,4}	logS _{7,4}	TPSA
BBB	0,1285	0,0531	0,0240	0,0489	0,0605
DOD	0,2494	0,0225	0,0083	0,0474	0,1734
H	0,0615	0,0587	0,0413	0,0438	0,0050
L	0,0051	0,3663	0,1151	0,0084	0,0123
PC	0,2135	0,0795	0,0232	0,0465	0,1069
PS	0,0043	0,1906	0,3609	0,0079	0,0271

F17. táblázat A semleges karakterű vegyületek membránretenciói fizikai-kémiai paramétereinek lineáris összefüggéseinek jóságfoka (R²):

Lipidrendszer	Mw	logP	logS _{7,4}	TPSA
BBB	0,3255	0,1125	6,835E-6	0,0013
DOD	0,1833	0,0977	3,231E-7	0,0111
H	0,3513	0,1495	0,0056	0,0126
L	0,0406	0,1477	0,2212	0,2833
PC	0,0254	0,0164	0,1133	0,2038
PS	0,0282	0,0949	0,2456	0,2481

F18. táblázat A semleges karakterű vegyületek membránretenció és a fizikai-kémiai paramétereinek exponenciális összefüggéseinek determinációs együtthatói (R²)

Lipidrendszer	Mw	logP	logS _{7,4}	TPSA
BBB	0,9285	0,1324	3,925E-6	0,0007
DOD	0,2133	0,1576	1,809E-7	0,0066
H	0,8870	0,1814	0,0034	0,0075
L	0,0272	0,1562	0,1777	0,2615
PC	0,0166	0,0151	0,1328	0,1922
PS	0,0262	0,1216	0,3759	0,2850

F19. táblázat A savas karakterű hatóanyagok membránretenciói és a fizikai-kémiai paramétereik közötti lineáris regressziós összefüggés jósfoka (R²)

Lipidrendszer	Mw	logP	logD _{7,4}	logS _{7,4}	TPSA
BBB	0,0029	0,0134	0,1001	0,0002	0,0009
DOD	0,0068	0,0015	0,0001	0,0003	0,0084
H	0,0389	0,1720	0,0351	0,2482	0,2183
L	0,0715	0,0368	0,0140	0,1137	0,0778
PC	0,0389	0,0010	0,0144	0,0150	0,0105
PS	0,0094	0,0292	0,1951	0,1786	0,0477

F20. táblázat A savas karakterű hatóanyagok membránretenciói és a feltüntetett fizikai-kémiai paramétereik közötti exponenciális függvényillesztés determinációs együtthatói (R²)

Lipidrendszer	Mw	logP	logD _{7,4}	logS _{7,4}	TPSA
BBB	0,0025	0,0745	0,01122	0,0001	0,0006
DOD	0,0101	0,0010	9,486E-5	0,0002	0,0084
H	0,0269	0,2221	0,0761	0,2779	0,2603
L	0,0099	0,0561	„Interrupted”	0,1105	0,0780
PC	0,0061	0,0118	0,1024	0,0146	0,0096
PS	0,0448	0,0174	„Unstable”	„Unstable”	„Unstable”

„Interrupted” – Iterációs ciklusok száma elért maximumot

„Unstable” – Nem határozható meg egy függvény. A függvény valamely paramétere túl nagy határok között mozog.

F21. táblázat A bázikus karakterű hatóanyagok membránretenciója és a feltüntetett fizikai-kémiai paramétereik közötti lineáris regresszió determinációs együtthatói (R²)

Lipidrendszer	Mw	logP	logD _{7,4}	logS _{7,4}	TPSA
BBB	0,5229	0,3909	0,2240	0,0613	0,0899
DOD	0,2302	0,1906	0,1626	0,0111	0,0816
H	0,3294	0,2770	0,3040	0,2460	0,0077
L	0,2297	0,2460	0,2808	0,1349	0,0048

PC	0,3873	0,3699	0,2316	0,1509	0,0044
PS	0,0308	0,0104	0,0207	0,0050	0,0182

F22. táblázat A bázikus karakterű hatóanyagok membránretenció értékei és a feltüntetett fizikai-kémiai paramétereik közötti exponenciális függvényillesztés jósfokai (R^2)

Lipidrendszer	Mw	logP	logD _{7,4}	logS _{7,4}	TPSA
BBB	0,4742	0,3546	0,2083	0,0460	0,0911
DOD	0,2189	0,1702	0,1707	0,0076	0,1019
H	0,3756	0,2481	0,2780	0,2383	0,0114
L	0,2413	0,2433	0,2788	0,1181	0,0053
PC	0,4484	0,4099	0,2318	0,1084	0,0041
PS	0,0294	0,0089	0,0215	0,0048	0,0349

F23. táblázat Az amfoter karakterű hatóanyagok membránretenciója és a feltüntetett fizikai-kémiai paramétereik közötti lineáris regresszió determinációs egyfthatói (R^2)

Lipidrendszer	Mw	logP	logD _{7,4}	logS _{7,4}	TPSA
BBB	0,0837	0,0709	0,0367	0,2158	0,1125
DOD	0,1824	0,1167	0,0193	0,0895	0,0412
H	0,1759	0,1198	0,0306	0,2053	0,0660
L	5,062E-6	1,172E-5	7,218E-5	0,1677	0,4976
PC	0,1321	0,1180	0,0123	0,0506	0,0007
PS	0,0641	0,0268	0,0723	0,0901	0,0157

F24. táblázat Az amfoter karakterű hatóanyagok membránretenciói és a feltüntetett fizikai-kémiai paramétereik közötti exponenciális függvényillesztés R^2 értékei

Lipidrendszer	Mw	logP	logD _{7,4}	logS _{7,4}	TPSA
BBB	0,0987	0,0827	0,0307	0,2704	0,1976
DOD	0,1674	0,1231	0,0173	0,1184	0,0852
H	0,2139	0,1510	0,0244	0,2366	0,1332
L	4,107E-6	1,011E-5	5,376E-5	0,3007	0,5456
PC	0,1434	0,1481	0,0118	0,0532	0,0014
PS	0,0692	0,0331	0,0562	0,0806	0,0227