

روش محاسباتی در پیش‌بینی توزیع خونی - مغزی کاندیداهای دارویی بازی با استفاده از کروماتوگرافی مایع مایسلی مرکب

دکتر ستار ارشادی*

۱- استادیار، گروه شیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: سد خونی- مغزی مانع اصلی در انتقال دارو به سیستم اعصاب مرکزی است. در این مطالعه توانایی کروماتوگرافی مایسلی توزیع زیستی (BMC) با استفاده از سیستم مایسلی مرکب (Brij-35/SDS, 85:15 mol/mol) در پیش‌بینی متغیر فارماکوسیتیک (توانایی نفوذ از سد خونی-مغزی) ۱۴ داروی بازی مطالعه شد.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی - تحلیلی توانایی کروماتوگرافی مایسلی توزیع زیستی با استفاده از سیستم مایسلی مرکب (Brij-35/SDS, 85:15 mol/mol) با غلظت ۰/۰۴ مولار در pH فیزیولوژیکی خون معادل ۷/۴ در پیش‌بینی متغیر فارماکوسیتیک (توانایی نفوذ از سد خونی-مغزی) ۱۴ داروی بازی ارزیابی شد. مدل رگرسیونی به منظور پیش‌بینی ضریب توزیع خونی-مغزی از آنالیز رگرسیون خطی چندتایی با استفاده از سری آموزشی در فاز متحرک مایسلی مرکب به دست آمده و توانایی پیش‌بینی مدل با روش‌های کمومتریکس (ارزیابی داخلی و خارجی) تعیین شد. توانایی پیش‌بینی مدل برای یک‌سری پیش‌بینی شامل ۵ ترکیب (کلرپرومازین، میانسیرین، پروپرانولول، سایمتیدین و تیوریدازین) ارزیابی شد. R2 مناسب نشانگر پایداری و توانایی پیش‌بینی خوب مدل توسعه یافته برای داروهایی که در مدل قرار نداشتند؛ است.

یافته‌ها: ارتباط بین داده‌های بازدارنده ۱۴ داروی بازی در سیستم کروماتوگرافی مایسلی توزیع زیستی و متغیر ضریب توزیع خونی-مغزی مربوطه در فاز متحرک، مدل خوبی به لحاظ آماری نشان داد ($R^2=0/822$ ، $F = 25/42$ ، $SE = 0/225$ ، $R2CV = 0/781$).

نتیجه‌گیری: محلول مایسلی مرکب در کروماتوگرافی مایسلی توزیع زیستی به عنوان ابزار غربالگری مقدماتی کارا قادر است اطلاعات کلیدی درباره توزیع خونی - مغزی داروهای بازی به صورت ساده و اقتصادی فراهم نماید.

کلیدواژه‌ها: سد خونی- مغزی، سدیم دودسیل سولفات، پلی اکسی اتیلن لوریل اتر، کروماتوگرافی مایسلی زیست توزیع

* نویسنده مسؤل: دکتر ستار ارشادی، پست الکترونیکی chemistry_arshadi@pnu.ac.ir

نشانی: تهران دانشگاه پیام نور، گروه شیمی، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵، تلفن ۰۲۱-۲۳۳۲۰۰۰۰، نمابر ۲۲۴۴۱۵۱۱

وصول مقاله: ۱۳۹۴/۵/۲۴، اصلاح نهایی: ۱۳۹۴/۱۱/۲۶، پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۱/۳۱

مقدمه

درون مغز جلوگیری می‌کند (۸و۷). در طراحی داروهای موثر بر سیستم اعصاب مرکزی که در بافت مغز یا نخاع فعالند؛ توانایی دارو برای نفوذ از سدخونی - مغزی بسیار ضروری و مهم بوده در حالیکه نفوذ کم از سدخونی - مغزی برای داروهای موثر بر اعصاب محیطی به منظور کاهش عوارض جانبی سیستم اعصاب مرکزی نیاز است (۹). پیش‌بینی عبور داروها از این سد بیولوژیکی بی‌ظنیراز اهمیت زیادی برخوردار است.

یکی از روش‌های تخمین توزیع دارو در مغز به صورت $\log BB$

$[\log BB = \log (C_{\text{brain}}/C_{\text{blood}})]$ تعریف می‌شود (۹).

کروماتوگرافی مایسلی توزیع زیستی (BMC) (biopartitioning micellar chromatography) به عنوان یک ابزار

توسعه شیمی ترکیبی سنتز صدها هزار داروی بالقوه فعال را ممکن ساخته است. انتخاب داروی مناسب برای توسعه بالینی بستگی به خواص فارماکوسیتیک و فارماکودینامیک دارو دارد. نیاز به یافتن ابزاری برای تخمین خواص فارماکولوژیکی ترکیبات جدید منجر به توسعه سیستم‌های *in vitro* به منظور اجتناب یا کاهش استفاده از حیوانات آزمایشگاهی، کاهش هزینه و زمان می‌گردد (۶-۱).

سد خونی - مغزی (Blood Brain Barrier: BBB) مرز جدا کننده مایع برون سلولی مغز در سیستم اعصاب مرکزی و جریان خون گردشی در بدن بوده و منظور از آن همان دیواره مویرگ‌های مغز است که از ورود بسیاری از عوامل درمانی و تشخیصی مهم به

دارویی بازی با استفاده از کروماتوگرافی مایع مایسلی مرکب انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی - تحلیلی توانایی کروماتوگرافی مایسلی توزیع زیستی با استفاده از سیستم مایسلی مرکب (Brij-35/SDS, 85:15 mol/mol) با غلظت ۰/۰۴ مولار در pH فیزیولوژیکی خون معادل ۷/۴ در پیش‌بینی متغیر فارماکوسیتیک (توانایی نفوذ از سد خونی-مغزی) ۱۴ داروی بازی ارزیابی شد مدل رگرسونی به منظور پیش‌بینی ضریب توزیع خونی-مغزی از آنالیز رگرسون خطی چندتایی با استفاده از سری آموزشی در فاز متحرک مایسلی مرکب به دست آمده و توانایی پیش‌بینی مدل با روش‌های کموتریکس (ارزیابی اعتبارسنجی داخلی و خارجی) تعیین شد (۲۵-۲۳).

شرایط کروماتوگرافی، منابع و پردازش داده‌ها و نرم افزار: دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) متشکل از پمپ حلال مدل 515 و مجهز به سیستم تزریق، مدل 7725i (شرکت waters, Milford, MA ساخت آمریکا) بود.

در همه آزمایش‌ها حجم تزریقی نمونه ۲۰/۰ میکرولیتر بود. دکتور UV (شرکت Perkin-Elmer ساخت آمریکا) در ۲۴۰ نانومتر برای بنزودیازپین‌ها، ۲۲۰ نانومتر برای ضدافسردگی‌ها و ۲۵۴ نانومتر برای فنوتیازین‌ها تنظیم شد.

ستون تجزیه‌ای استفاده شده BDS HYPERSIL C18 (5 μm, 125×3 mm) (Thermo, Peterborough, ON Canada K9J 6X9) بود. فاز متحرک مایسلی مرکب Brij-35/SDS با نسبت مولی ۸۵ به ۱۵ و غلظت ۰/۰۴ مولار از محلول‌های ذخیره‌ای آبی ۰/۱ مولار Brij-35 و ۰/۵ مولار SDS (فلوکا - سوئیس) تهیه و آن با بافر فسفات ۰/۰۵ M (تهیه شده با نمک‌های سدیم دی‌هیدروژن فسفات و دی‌سدیم هیدروژن فسفات) در ۷/۴ که pH فیزیولوژیکی خون است؛ تنظیم شد. برای ایجاد فشار اسمزی سیال‌های بیولوژیکی، نمک NaCl (مرکب - آلمان) با غلظت ۹/۲ gr/lit به فاز متحرک مایسلی اضافه شد. برای شبیه‌سازی دمای بدن، ستون کروماتوگرافی در ژاکت آب با دمای ۳۶/۵ درجه سانتی‌گراد ثابت نگه داشته شد و سرعت جریان فاز متحرک ۱/۰ میلی‌لیتر بر دقیقه تنظیم گردید.

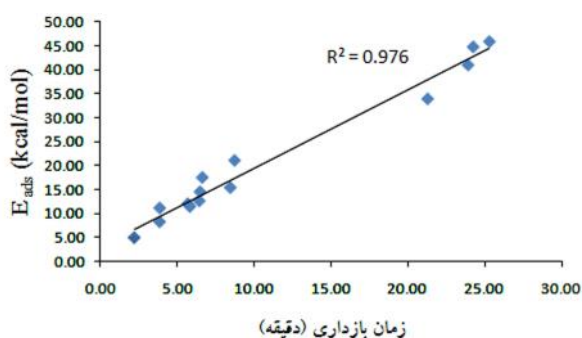
همه داروهای مورد مطالعه از کارخانه‌های داروسازی داخل کشور (سبحان، پارس دارو و عبیدی) تهیه شدند.

سری داده‌های ۱۹ ترکیب دارویی مختلف و مقادیر log BB مربوطه از مقالات جستجو شدند (۲۶-۳۲). از میان ۱۹ ترکیب، ۱۴ ترکیب شامل دیازپام، کلوزام، لورازپام، آلپرازولام، اکسازپام، میدازولام، لاموتریژین، کربامازپین، فنی‌توئین، پرمیدون، دسیپرامین، امی‌تریپتیلین، فلوفنازین و ایمپیرامین به عنوان سری آموزشی انتخاب شدند و مابقی برای سری پیش‌بینی استفاده شدند.

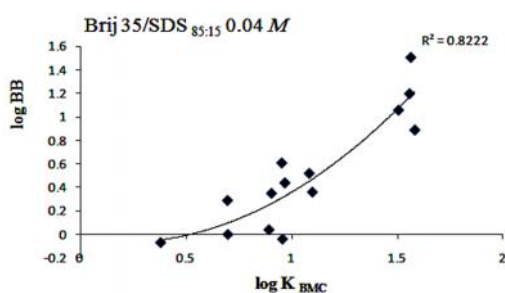
غربالگری مقدماتی غیرسلولی و کارا توجه زیادی را در پیش‌بینی رفتارهای فارماکولوژیکی مختلف داروها به خود جلب کرده است (۱۷-۱۰). کروماتوگرافی مایسلی توزیع زیستی نوعی از کروماتوگرافی مایسلی بهینه شده تحت شرایط آزمایشگاهی مناسب به منظور توصیف رفتار بیولوژیکی داروها است که متشکل از فاز ساکن هیدروفوب C18 و محلول‌های نمکی مایسل‌های Brij-35 به عنوان فاز متحرک است. این سیستم کروماتوگرافی شبیه‌سازی شده به توزیع زیستی دارو در غشاهای بیولوژیکی، کروماتوگرافی مایسلی توزیع زیستی شبیه‌گشاء بیولوژیکی و مایع خارج سلولی است. فاز ساکن با جذب سطحی هیدروفوبی و یا سیلانوفیلیک مونومرهای سورفاکتانت، اصلاح شده و از لحاظ ساختاری شبیه صف منظم زنجیرهای هیدروکربنی غشایی می‌شود. ویژگی دوگانه هیدروفیلی / هیدروفوبی سورفاکتانت‌های جذب سطحی شده بر روی فاز ساکن شبیه نواحی فسفولیپیدی غشاء سلولی بوده و در نتیجه بر روی فاز ساکن نقاط برهم‌کنشی هیدروفوبی و الکتروستاتیکی پدید می‌آید. فاز متحرک مایسلی تهیه شده در شرایط فیزیولوژیکی ویژه شبیه محیط مایسلی توزیع بیولوژیکی دارو هستند. بازدارنده ترکیبات در این سیستم کروماتوگرافی بستگی به برهم‌کنش آنها با فاز ساکن معکوس اصلاح شده و مایسل‌های موجود در فاز متحرک دارد. این برهم‌کنش‌ها توسط خواص هیدروفوبی، گروه شیمی، الکتروستاتیکی و فضای ترکیبات کنترل می‌شود. این خصوصیات نفوذپذیری غیرفعال (عبور چربی دوستی از طریق غشاء فسفولیپیدی) ترکیبات را از غشاهای سلولی تعیین می‌کند (۱۷). در کروماتوگرافی مایسلی توزیع زیستی پتانسیل غشا که نتیجه گرادیان غلظت یون‌ها در دو طرف غشاء سلول است؛ نمی‌تواند شبیه‌سازی شود. در شرایط فیزیولوژیکی، پتانسیل غشاء در حدود ۶۰- تا ۸۰- میلی‌ولت است (۱۸). مقدار پتانسیل زتای محلول Brij-35 خالص 0mV و سیستم مایسلی مرکب Brij-35/SDS با نسبت مولی ۸۵ به ۱۵ حدود ۴۵- میلی‌ولت است که بهترین شرایط به منظور مدل‌سازی محیط فیزیولوژیکی است (۱۹ و ۲۰). از آنجایی که سطح سلول‌های اندوتلیال مغز دارای تعدادی مولکول‌های آنیونی هستند (۲۱)؛ برای در نظر گرفتن برهم‌کنش‌های الکتروستاتیکی در کنار برهم‌کنش‌های اصلی آبگریزی، سورفاکتانت آنیونی SDS به منظور شبیه‌سازی بهتر الکترونگانگاتیویته غشاء سلولی به فاز متحرک اضافه شد. تعدادی از محققان چینی از سیستم مایسلی مرکب Brij-35/SDS به عنوان فاز متحرک در کروماتوگرافی مایسلی توزیع زیستی به منظور تخمین فعالیت‌های بیولوژیکی نظیر نیمه عمر دارو، پاکسازی و حجم توزیع دارو استفاده کرده‌اند (۱۹ و ۲۰ و ۲۲).

این مطالعه به منظور پیش‌بینی توزیع خونی - مغزی کاندیداهای

ضدخون نسبت به عامل بازداری داروهای بازی ضعیف نظیر داروهای آرام‌بخش افزایش چشمگیری داشت. این رفتار بازداری بیان می‌کند که بازداری دارو در سیستم مایسلی مرکب به برهم کنش‌های هیدروفوبی و الکتروستاتیکی آن با فاز ساکن بستگی دارد. در واقع افزایش چشمگیر عامل بازداری داروهای بازی قوی در BMC Brij-35/SDS، مربوط به اثر جاذبه الکتروستاتیکی بین داروهای با بار مثبت و فاز ساکن اصلاح شده با مونومرهای آنیونی SDS است (جدول یک). نتایج نشانگر ضریب همبستگی بسیار بالای مابین زمان‌های بازداری و انرژی‌های جذب (EAds) داروها با فاز ساکن اصلاح شده بود (نمودار یک).



نمودار ۱: ارتباط بین زمان‌های بازداری داروهای مدل با انرژی‌های جذب (EAds) دارو - فاز ساکن اصلاح شده



نمودار ۲: ارتباط بین ضریب‌های توزیع خونی - مغزی و داده‌های بازداری داروهای مدل

عوامل بازداری ترکیبات تحت مطالعه و مقادیر *in vivo* ضریب توزیع خونی - مغزی در جدول یک آمده است. نمودار ۲ ارتباط بین ضرایب توزیع خونی - مغزی و داده‌های بازداری داروهای مدل را در غلظت ۰/۰۴ مولار از فاز متحرک Brij-35/SDS 85:15 mol/mol نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود؛ بازداری در MLC ارتباط خطی با $\log BB$ نداشت.

در جدول ۲ خصوصیات پیش‌بینی مدل‌های QRAR به دست آمده با استفاده از فاز متحرک ۰/۰۴ M آمده است. انحراف استاندارد باقیمانده‌ها ۰/۲۲۵ است. مقدار بالای R^2 و مقدار کم SE آماره‌ها نشانگر موفق بودن مدل در پیش‌بینی $\log BB$ است. استفاده از SDS محیطی مشابه با سطح سلول‌های اندوتلیال مغز روی فاز

لگاریتم ضرایب توزیع آب - اکتانول ($\log Pow$)، ثابت‌های اسیدی (pKa) و لگاریتم مقادیر عامل بازداری ($\log k_{BMC}$) داروهای مدل تعیین شد. زمان‌های بازداری داروهای سری آموزشی (tR) با استفاده از فاز متحرک مایسلی مرکب Brij-35/SDS با نسبت مولی ۸۵ به ۱۵ در $pH=7/4$ و دمای ۳۶/۵ درجه سانتی‌گراد با دستگاه HPLC به دست آمد. زمان‌های بازداری در کروماتوگرافی مایسلی توزیع زیستی به صورت عامل بازداری $k_{BMC} = tR - t_0 / t_0$ محاسبه شدند که tR زمان بازداری ترکیب تست و t_0 زمان مرده ستون است ($t_0 = 0/647 \text{ min}$ میانگین). سپس ارتباط بین عوامل بازداری و ضرایب توزیع خونی - مغزی با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-20 مدل‌سازی شد و از نرم افزار Gaussian-98 برای اجرای آنالیزهای آماری رگرسیون خطی چندتایی MLR استفاده گردید. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

ارتباط عامل بازداری با ضریب توزیع خونی - مغزی ($\log BB$): در غیاب فرایندهای فعال، توانایی یک دارو برای رسیدن به سایت گیرنده قویاً بستگی به تمایلش به غشاء دارد. خصوصیات مولکولی داروها (به‌طور عمده آبرگریزی، یونیزاسیون و خواص فضایی) تمایل غشایی‌شان، برهم کنش دارو - گیرنده و متعاقباً فعالیت‌های بیولوژیکی آنها را تعیین می‌کند. از آنجایی که این خصوصیات مولکولی تعیین‌کننده بازداری ترکیبات در کروماتوگرافی مایسلی توزیع زیستی نیز هستند؛ ارتباط بازداری - فعالیت دور از انتظار نیست. امکان ایجاد ارتباط بین عوامل بازداری داروهای مدل و مقادیر $\log BB$ منطبق با آنها ارزیابی شد.

وابستگی غیرخطی که با عبارت درجه دوم فرمول‌بندی شده برای ترکیبات مدل بررسی شد. در معادله زیر، $\log BB$ متغیر وابسته و $\log k_{BMC}$ و $\log k_{BMC}$ متغیرهای مستقل (پیشگو) هستند و مدل آنالیز رگرسیون خطی چندتایی به دست آمد.

$$(\log BB) = a + b (\log k_{BMC}) + c (\log k_{BMC})^2$$

ارزیابی توانایی پیش‌بینی مدل QRAR: برای ارزیابی توانایی پیش‌بینی مدل، خطای برآزش (جذر میانگین مربعات خطای کالیبراسیون RMSEC)، خطای پیش‌بینی براساس ارزیابی تقاطعی (جذر میانگین مربعات خطای ارزیابی تقاطعی RMSECV)، پارامتری که اطلاعات درون‌یابی و برون‌یابی هر دو را شامل می‌شود و پارامتر RMSECV برای اندازه‌گیری فقط اطلاعات درونی‌یابی، مقایسه شدند. از دیدگاه کیفی تفاوت‌های کم بین این سه پارامتر به معنای توانمندی بالای مدل QRAR است.

یافته‌ها

داروهای روان‌درمان مطالعه شده آمین‌های نوع دوم و سوم با ساختارهای چند حلقه‌ای و خصلت آبرگریزی زیاد و در pH فیزیولوژیکی دارای بار مثبت بودند. عامل بازداری داروهای بازی قوی نظیر داروهای ضدافسردگی و

جدول ۱: لگاریتم مقادیر عامل بازداری در کروماتوگرافی مایسلی توزیع زیستی مرکب و ضریب توزیع خونی- مغزی داروهای مدل (۳۴-۲۸)

Log BB (in vivo)	log Pow	pKa	log k _{BMC} (0.04M) Brij-35/SDS molar ratio) (85:15	E Ads (kCal/mol)	زمان بازداری (دقیقه)	داروهای مدل (سری آموزشی)
۰/۵۲	۲/۸۰	۳/۳	۱/۰۸۱	۱۵/۴۰	۸/۴۴	دیازپام
۰/۳۵	۲/۱۲	خشتی	۰/۹۰۲	۱۱/۴۱	۵/۸۱	کلوزام
۰/۴۴	۲/۴۸	۱۱/۵ ۱/۳	۰/۹۶۵	۱۷/۵	۶/۶۲	لورازپام
۰/۰۴	۲/۱۲	۶/۲	۰/۸۹۰	۱۲/۰	۵/۶۷	آلپرازولام
۰/۶۱	۲/۲۴	۱/۷	۰/۹۵۱	۱۲/۶	۶/۴۲	اکسازپام
۰/۳۶	۴/۳۳	۶/۲	۱/۰۹۶	۲۱/۰۹	۸/۷۲	میدازولام
۰/۲۹	۱/۱۹	۵/۸۷	۰/۶۹۴	۸/۲۰	۳/۸۴	لاموتریزین
۰/۰۰	۲/۴۵	خشتی	۰/۶۹۵	۱۱/۱۰	۳/۸۵	کربامازپین
-۰/۰۴	۲/۴۷	۸/۳	۰/۹۵۴	۱۴/۵	۶/۴۷	فتی توئین
-۰/۰۷	۰/۹۱	-	۰/۳۷۷	۴/۹۰	۲/۱۹	پریمیدون
۱/۲۰	۴/۹۰	۱۰/۴۴	۱/۵۵۶	۴۱/۱	۲۳/۹۲	دسیپرامین
۰/۸۹	۵/۰۴	۹/۴۲	۱/۵۸۱	۴۶/۰۱	۲۵/۳۱	امی تریپتیلین
۱/۵۱	۴/۳۶	۸/۱	۱/۵۶۲	۴۴/۹	۲۴/۲۵	فلوفنازین
۱/۰۶	۴/۸۰	۹/۴۹	۱/۵۰۴	۳۴/۰	۲۱/۲۹	ایمپیرامین

QRAR در جدول ۲ نشان داد که مقادیر خطای RMSEC و RMSECVi شبیه بهم اما کوچکتر از مقادیر RMSEC است که بیانگر صحت بیشتر مقادیر درون یابی شده نسبت به مقادیر برون یابی شده بر اساس مدل QRAR حاصله است. بهر حال درباره مقادیر برون یابی شده (داده های پیش بینی شده توسط مدل) بایستی دقت بیشتری نمود.

جدول ۳: مقادیر فعالیت پیش بینی شده توسط مدل رگرسیونی در برابر مقادیر فعالیت تجربی

Log BB (in vivo) (۳۴-۲۸)	log BB مقادیر پیش بینی شده	سری پیش بینی
۱/۰۶	۲/۵۴	کلرپرومازین
۰/۹۹	۰/۶۴	میانسرین
۰/۶۴	۰/۹۸	پروپرانولول
-۱/۴۲	-۱/۳۹	سایمتیدین
۰/۲۴	۰/۱۰	تیوریدازین
۰/۷۷۱		R2

بحث

سودمندی کروماتوگرافی مایسلی توزیع زیستی در توصیف رفتار بیولوژیکی داروها می تواند به خصوصیات زیر نسبت داده شود. خصوصیات سیستم های کروماتوگرافی مایسلی توزیع زیستی شبیه غشاهای بیولوژیکی و مایعات خارج سلولی است و بازداری یک دارو در سیستم کروماتوگرافی Brij35/SDS BMC به طور عمده توسط خواص هیدروفوبی، الکتروستاتیکی و تا حدی کمتر ویژگی فضایی اش کنترل می شود و این خصوصیات ترکیبات همچون نفوذپذیری غیرفعال آنها را از غشاهای سلولی تعیین می کند. سیستم کروماتوگرافی مایسلی مرکب که دارای برهم کنش های اصلی بین داروها و غشاهای بیولوژیکی است؛ قادر

ساکن ایجاد نمود. مولکول های با بار مثبت به آسانی روی سطح سلول های اندوتلیال مغز تجمع یافتند و این یک عامل مطلوب برای نفوذپذیری در سد خونی - مغزی ارزیابی شد ($P < 0.001$).

جدول ۲: آنالیز آماری و ویژگی های پیش بینی مدل QRAR- log BB به دست آمده با استفاده از فاز متحرک مایسلی مرکب Brij-35/SDS 85:15 (mol/mol)

نتیجه	ضرایب و آماره های مدل
-۰/۰۳۸ (۰/۰۰۵)	a (p-value)
-۰/۲۷۹ (۰/۰۰۲)	b (p-value)
۰/۶۷۷ (۰/۰۰۶)	c (p-value)
۰/۸۲۲ (۰/۷۹۰)	* R ² (R ² adj)
۰/۲۲۵	** SE
۲۵/۴۲ (۰/۰۰۱)	*** f (p-value)
۱/۱۳۹	# RMSEC
۴/۱۲۰ (۰/۷۸۱)	## RMSECV (R ² cv)
۱/۰۹۵	### RMSECVi

* مجذور همبستگی تنظیم شده برای درجات آزادی؛ ** خطای استاندارد تخمین؛ *** نسبت فیشر؛ # جذر میانگین مربعات خطای کالیبراسیون؛ ## جذر میانگین مربعات خطای ارزیابی تقاطعی؛ ### جذر میانگین مربعات خطای ارزیابی تقاطعی برای داده بیرون انداخته شده

برای تعیین قدرت پیش بینی مدل به دست آمده، هر دو روش ارزیابی داخلی (ارزیابی تقاطعی - هر بار بیرون اندازی یک داده از سری آموزشی) و ارزیابی خارجی (با استفاده از سری پیش بینی شامل ۵ داروی بازی کلرپرومازین، میانسرین، پروپرانولول، سایمتیدین، تیوریدازین) اعمال شد و نتایج با استناد به مقادیر R2CV (۰/۷۸۱) جدول ۲) و R2cal محاسبه شده در جدول ۳، نشان داد که مدل به دست آمده کاملاً معتبر و پایدار است. به علاوه، پارامترهای آماری RMSEC، RMSECV و RMSECVi برای مدل -logBB

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که محلول مایسلی مرکب در کروماتوگرافی مایسلی توزیع زیستی به عنوان ابزار غربالگری مقدماتی کارا قادر است اطلاعات کلیدی درباره توزیع خونی - مغزی داروهای بازی به صورت ساده و اقتصادی فراهم نماید.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب (شماره ۹۳د/۱۰/۴۷۴۶) دانشگاه پیام نور استان مازندران بود. بدین وسیله از دانشکده داروسازی ساری به خاطر همکاری آزمایشگاهی و نیز از آقایان دکتر محمدعلی ابراهیم‌زاده و دکتر نادر بهرامی‌فر به خاطر راهنمایی‌هایی ارزنده تشکر می‌گردد.

References

- Molero-Monfort M, Escuder-Gilabert L, Villanueva-Camañas RM, Sagrado S, Medina-Hernández MJ. Biopartitioning micellar chromatography: an in vitro technique for predicting human drug absorption. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 2001 Apr; 753(2): 225-36.
- Odovi J, Markovi B, Vladimirov S, Karlijkovi -Raji K. In vitro modeling of angiotensin-converting enzyme inhibitor's absorption with chromatographic retention data and selected molecular descriptors. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2014 Mar; 953-54: 102-7. doi: 10.1016/j.jchromb.2014.02.004
- Wang S, Yang G, Zhang H, Liu H, Li Z. QRAR models for cardiovascular system drugs using biopartitioning micellar chromatography. *Journal of Chromatography B.* 2007 Feb; 846(1-2): 329-33. doi:10.1016/j.jchromb.2006.08.027
- Escuder-Gilabert L, Molero-Monfort M, Villanueva-Camañas RM, Sagrado S, Medina-Hernández MJ. Potential of biopartitioning micellar chromatography as an in vitro technique for predicting drug penetration across the blood-brain barrier. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2004 Aug; 807(2): 193-201.
- Molero-Monfort M, Martín-Biosca Y, Sagrado S, Villanueva-Camañas RM, Medina-Hernández MJ. Micellar liquid chromatography for prediction of drug transport. *J Chromatogr A.* 2000 Feb; 870(1-2): 1-11.
- Flaten GE, Palac Z, Engesland A, Filipovi -Gr i J, Vani Ž, Škalko-Basnet N. In vitro skin models as a tool in optimization of drug formulation. *Eur J Pharm Sci.* 2015 Jul; 75: 10-24. doi: 10.1016/j.ejps.2015.02.018
- Reese TS, Karnovsky MJ. Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase. *J Cell Biol.* 1967 Jul; 34(1): 207-17.
- Van Damme S, Langenaeker W, Bultinck P. Prediction of blood-brain partitioning: a model based on ab initio calculated quantum chemical descriptors. *J Mol Graph Model.* 2008 Jun; 26(8): 1223-36. doi: 10.1016/j.jmglm.2007.11.004
- Norinder U, Haeberlein M. Computational approaches to the prediction of the blood-brain distribution. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002 Mar; 54(3): 291-313.
- Hadjmohammadi M, Salary M. Biopartitioning micellar chromatography with sodium dodecyl sulfate as a pseudo (1)-acid glycoprotein to the prediction of protein-drug binding. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2013 Jan; 912: 50-5. doi: 10.1016/j.jchromb.2012.11.020

به ارایه پروفایل فارماکوسیتیک / فارماکودینامیکی سریع و ساده ترکیبات بوده و مزایای مهمی نسبت به دیگر روش‌های *in vitro* پیش‌بینی ضریب توزیع خونی - مغزی دارد. آماده‌سازی سیستم کروماتوگرافی سریع، ساده و اقتصادی است. تکرارپذیری داده‌های بازداری بسیار بالا است که اجازه تخمین خاصیت فارماکوسیتیک را با دقت بالا فراهم می‌سازد. همچنین این روش نیاز به استفاده از ستون‌های کروماتوگرافی خاص نداشته و از بکارگیری روی حیوانات آزمایشگاهی اجتناب می‌کند. استفاده از فقط یک توصیف‌کننده (عامل بازداری در کروماتوگرافی مایسلی توزیع زیستی) یکی از مهم‌ترین مزایای این روش است.

- Yin CR, Ma LY, Huang JG, Xu L, Shi ZG. Fast profiling ecotoxicity and skin permeability of benzophenone ultraviolet filters using biopartitioning micellar chromatography based on penetrable silica spheres. *Analytica Chimica Acta.* 2013; 804: 321-27. doi: 10.1016/j.aca.2013.10.040
- Salary M, Hadjmohammadi M. Human serum albumin-mimetic chromatography based hexadecyltrimethylammonium bromide as a novel direct probe for protein binding of acidic drugs. *J Pharm Biomed Anal.* 2015 Oct; 114: 1-7. doi: 10.1016/j.jpba.2015.04.040
- Waters LJ, Shahzad Y, Stephenson J. Modelling skin permeability with micellar liquid chromatography. *Eur J Pharm Sci.* 2013 Nov; 50(3-4): 335-40. doi: 10.1016/j.ejps.2013.08.002
- Wu LP, Chen Y, Wang SR, Chen C, Ye LM. Quantitative retention-activity relationship models for quinolones using biopartitioning micellar chromatography. *Biomedical Chromatography.* 2008; 22(1): 106-14. doi: 10.1002/bmc.907
- Dobri i V, Nikolic K, Vladimirov S, udina O. Biopartitioning micellar chromatography as a predictive tool for skin and corneal permeability of newly synthesized 17 -carboxamide steroids. *Eur J Pharm Sci.* 2014 Jun; 56: 105-12. doi: 10.1016/j.ejps.2014.02.007
- St pnik KE, Malinowska I, Rój E. In vitro and in silico determination of oral, jejunum and Caco-2 human absorption of fatty acids and polyphenols. *Micellar liquid chromatography.* *Talanta.* 2014 Dec; 130: 265-73. doi: 10.1016/j.talanta.2014.06.039
- St pnik KE, Malinowska I. The use of biopartitioning micellar chromatography and immobilized artificial membrane column for in silico and in vitro determination of blood-brain barrier penetration of phenols. *J Chromatogr A.* 2013 Apr; 1286: 127-36. doi: 10.1016/j.chroma.2013.02.071
- Jäckle J. The causal theory of the resting potential of cells. *J Theor Biol.* 2007 Dec; 249(3): 445-63.
- Wu LP, Cui Y, Xiong MJ, Wang SR, Chen C, Ye LM. Mixed micellar liquid chromatography methods: modelling quantitative retention-activity relationships of angiotensin converting enzyme inhibitors. *Biomed Chromatogr.* 2008 Nov; 22(11): 1243-51. doi: 10.1002/bmc.1053
- Chen Y, Wu LP, Chen C, Ye LM. Development of predictive quantitative retention-activity relationship models of alkaloids by mixed micellar liquid chromatography. *Biomedical Chromatography.* 2009; 24(2): 195-201. doi: 10.1002/bmc.1272
- dos Santos WL, Rahman J, Klein N, Male DK.

Distribution and analysis of surface charge on brain endothelium in vitro and in situ. *Acta Neuropathol.* 1995; 90(3): 305-11.

22. Wu LP, Chen C, Sun CJ, Ye LM. QRAR Models for Diuretics using mixed micellar liquid chromatography. *J Bioequiv Availab.* 2011; 3(7): 169-73. doi: 10.4172/jbb.1000079

23. Wold S. Cross-validatory estimation of the number of components in factor and principal components models. *Technometrics.* 1978 Nov; 20(4): 397-405. doi: 10.2307/1267639

24. Cramer RD, Patterson DE, Bunce JD. Comparative molecular field analysis (CoMFA). Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins. *J Am Chem Soc.* 1988 Aug; 110(18): 5959-67. doi: 10.1021/ja00226a005

25. Osten DW. Selection of optimal regression models via cross-validation. *Journal of Chemometrics.* 1988 Jan; 2(1): 39-48. doi: 10.1002/cem.1180020106

26. Feher M, Sourial E, Schmidt JM. A simple model for the prediction of blood-brain partitioning. *Int J Pharm.* 2000 May; 201(2): 239-47.

27. Quiñones-Torrel C, Sagrado S, Villanueva-Camañas RM, Medina-Hernández MJ. Development of predictive retention-activity relationship models of tricyclic antidepressants by micellar liquid chromatography. *J Med Chem.* 1999; 42(16): 3154-62. doi: 10.1021/jm9910369

28. Wan H, Ahman M, Holmén AG. Relationship between brain tissue partitioning and microemulsion retention factors of CNS drugs. *J Med Chem.* 2009 Mar; 52(6): 1693-700. doi: 10.1021/jm801441s

29. Martínez-Pla JJ, Sagrado S, Villanueva-Camañas RM, Medina-Hernández MJ. Retention-property relationships of anticonvulsant drugs by biopartitioning micellar chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications.* 2001; 757 (1): 89-99. doi:10.1016/S0378-4347(01)00124-4

30. Liu J, Sun J, Sui X, Wang Y, Hou Y, He Z. Predicting blood-brain barrier penetration of drugs by microemulsion liquid chromatography with corrected retention factor. *J Chromatogr A.* 2008; 1198-99: 164-72. doi: 10.1016/j.chroma.2008.05.065

31. Platts JA, Abraham MH, Zhao YH, Hersey A, Ijaz L, Butina D. Correlation and prediction of a large blood-brain distribution data set--an LFER study. *Eur J Med Chem.* 2001 Sep; 36(9): 719-30.

32. Vilar S, Chakrabarti M, Costanzi S. Prediction of passive blood-brain partitioning: straightforward and effective classification models based on in silico derived physicochemical descriptors. *J Mol Graph Model.* 2010 Jun; 28(8): 899-903. doi: 10.1016/j.jmgl.2010.03.010

Original Paper

Computational approach to the prediction of blood-brain partitioning of basic drug candidates using mixed micellar liquid chromatography

Arshadi S (Ph.D)*¹

¹Assistant Professor, Department of Chemistry, Payame Noor University, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objective: The blood–brain barrier (BBB) is considered to be the main barrier to drug transport into the central nervous system. In this study, the capability of biopartitioning micellar chromatography (BMC) using the mixed micellar system of Brij-35/sodium dodecyl sulfate (Brij-35/SDS, 85:15 mol/mol) has been studied to predict pharmacokinetic parameter (BBB penetration ability) of 14 basic drugs.

Methods: In this descriptive-analytical study, the potential of BMC using mixed micellar system (Brij-35/SDS, 85:15 mol/mol) in 0.04 M at physiological pH 7.4 was evaluated to predict pharmacokinetic parameter (BBB penetration ability) of 14 basic drugs. The regression model for the prediction of blood-brain distribution coefficient is derived from the multiple linear regression analysis using the training set in mixed micellar mobile phase. Also, the predictive ability of model was evaluated for a prediction set of 5 compounds (Chlorpromazine, Mianserin, Propranolol, Cimetidine, and Thioridazine). The fair R² indicates good stability and predictive ability of the developed model for the drugs not included in modeling.

Results: The relationship between the BMC retention data of 14 basic drugs and their log BB parameter showed a good statistically model (R²=0.822, F=25.42, SE=0.225, R²CV=0.781).

Conclusion: This study points out the usefulness of mixed micellar solution of Brij-35/SDS, 85:15 (mol/mol) in BMC as a high-throughput primary screening tool that can provide key information about the blood-brain distribution of basic drugs in a simple and economical way.

Keywords: Blood–brain barrier, Sodium dodecyl sulfate, Polyoxyethylene (23) lauryl ether (Brij-35), Biopartitioning micellar chromatography

* **Corresponding Author:** Arshadi S (Ph.D), E-mail: chemistry_arshadi@pnu.ac.ir

Received 15 Aug 2015

Revised 15 Feb 2016

Accepted 19 Apr 2016