

WPROWADZENIE

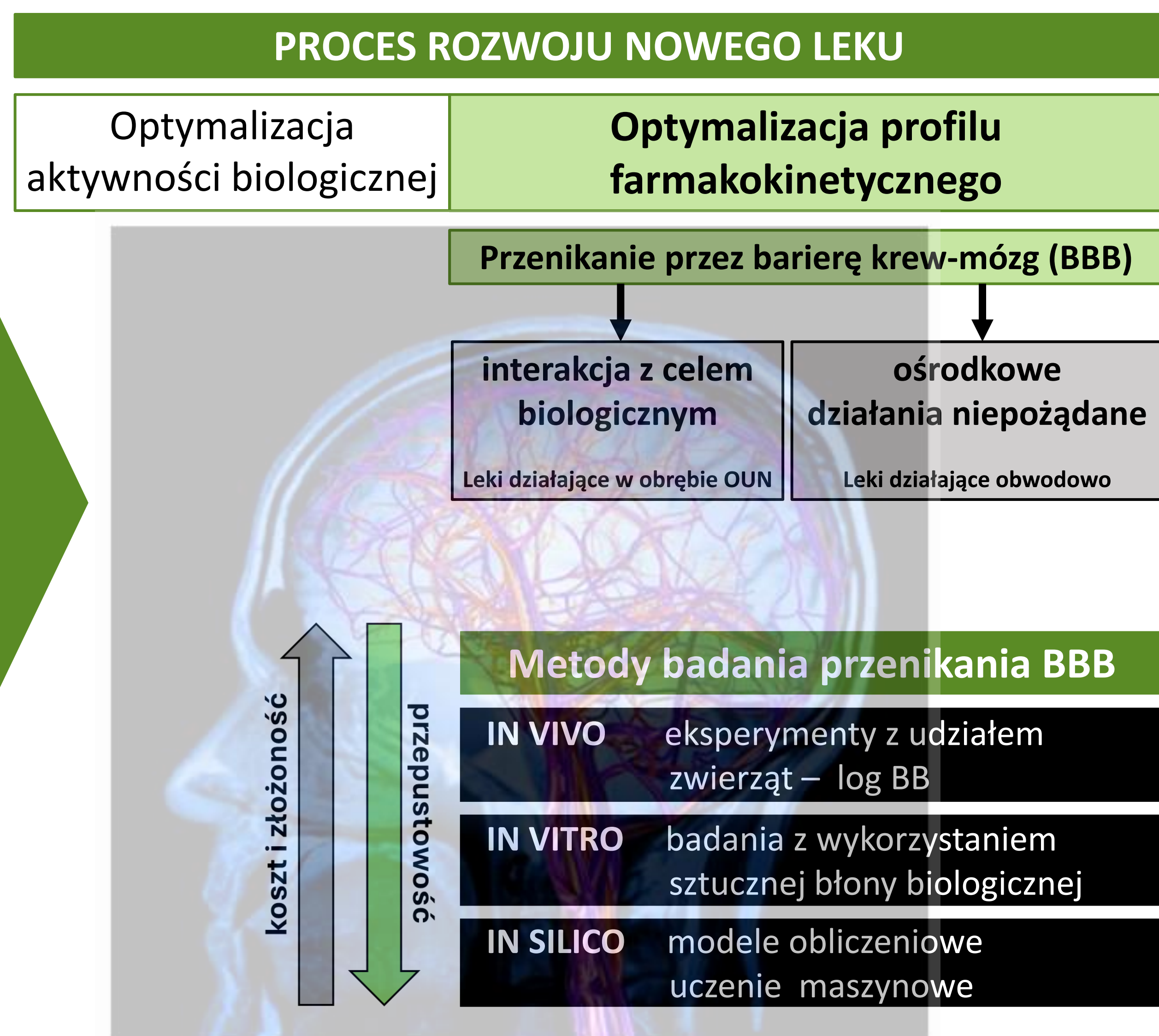
METODY *in silico*

WYNIKI

PODSUMOWANIE

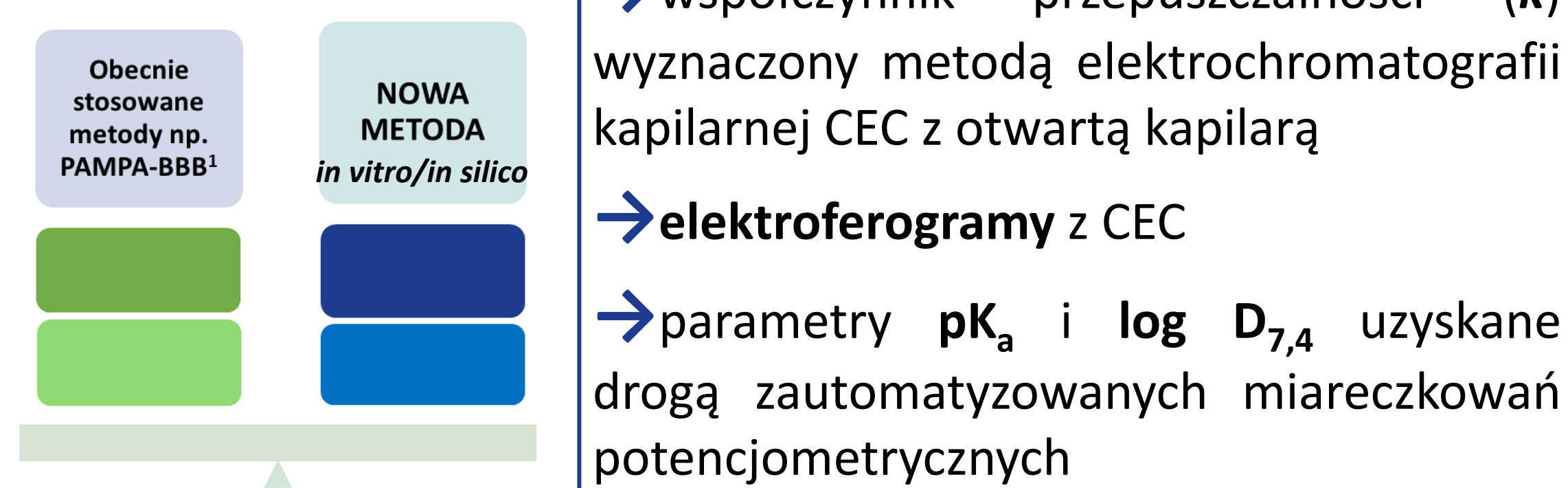
CEL BADAŃ

METODY *in vitro*



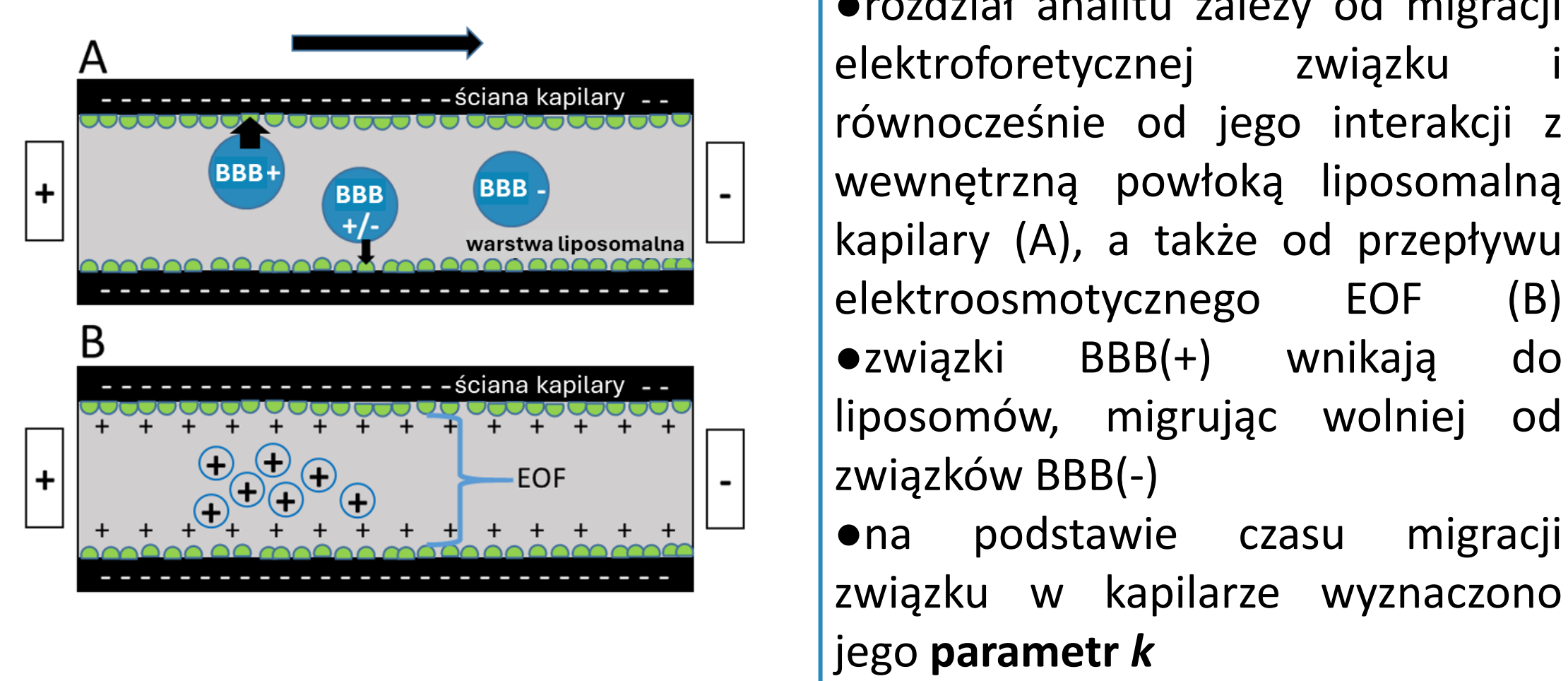
CEL BADAŃ - opracowanie innowacyjnej metody służącej do szybkiej, przesiewowej oceny przenikania związków do mózgu, poprzez przewidywanie ich parametru log BB.

NOWA METODA wykorzystuje dane eksperymentalne:



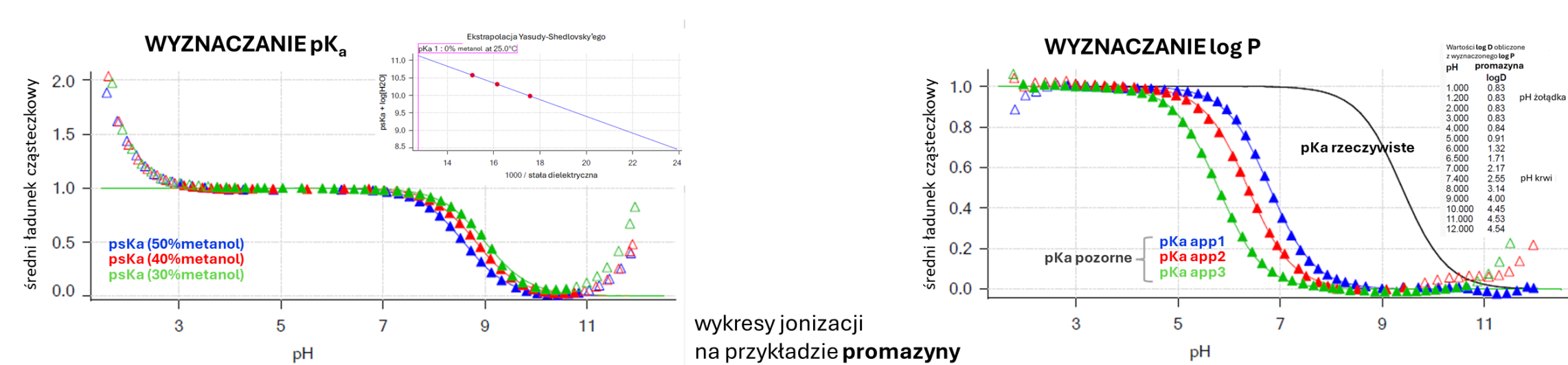
SZYBKA I TANIA alternatywa do obecnie stosowanych metod

ELEKTROCHROMATOGRAFIA KAPILARNA CEC Z OTWARTĄ KAPILARĄ



Parametr k stanowi współczynnik przenikania związków przez BBB, dzięki zastosowaniu w metodzie CEC kapilary z wewnętrzną powłoką liposomalną imitującą naturalną błonę biologiczną.

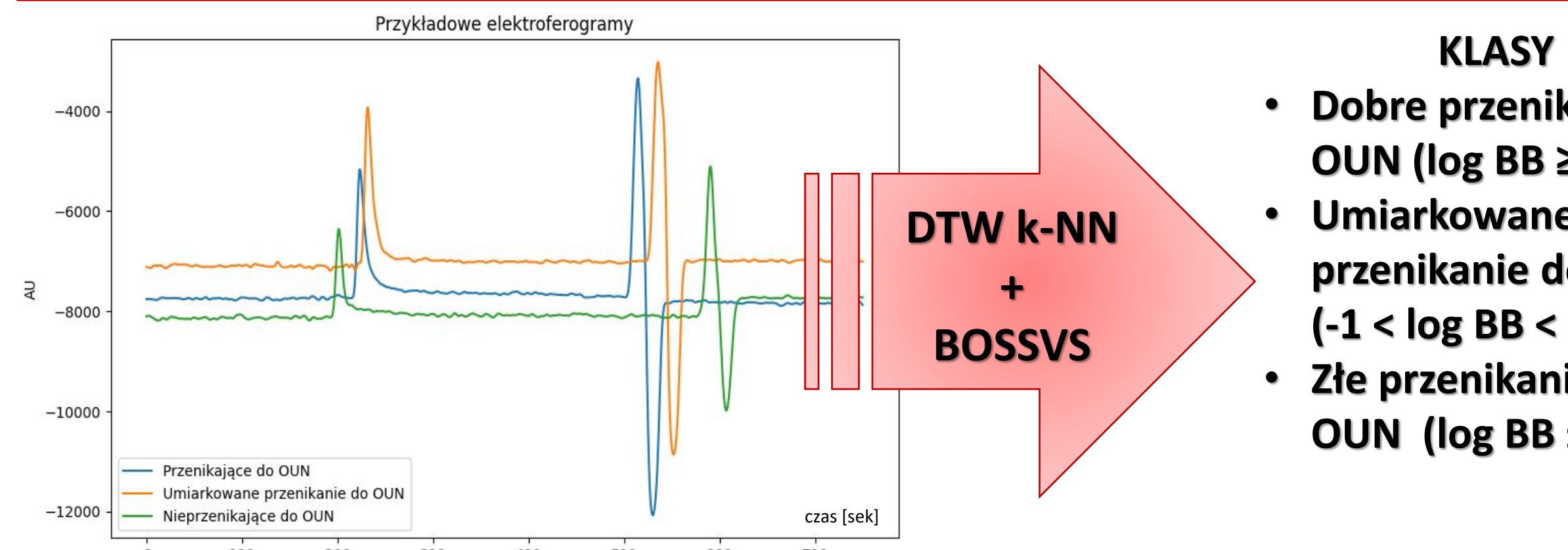
MIARECZKOWANIA POTENCJOMETRYCZNE Z UŻYCIEM APARATU SIRIUS T3



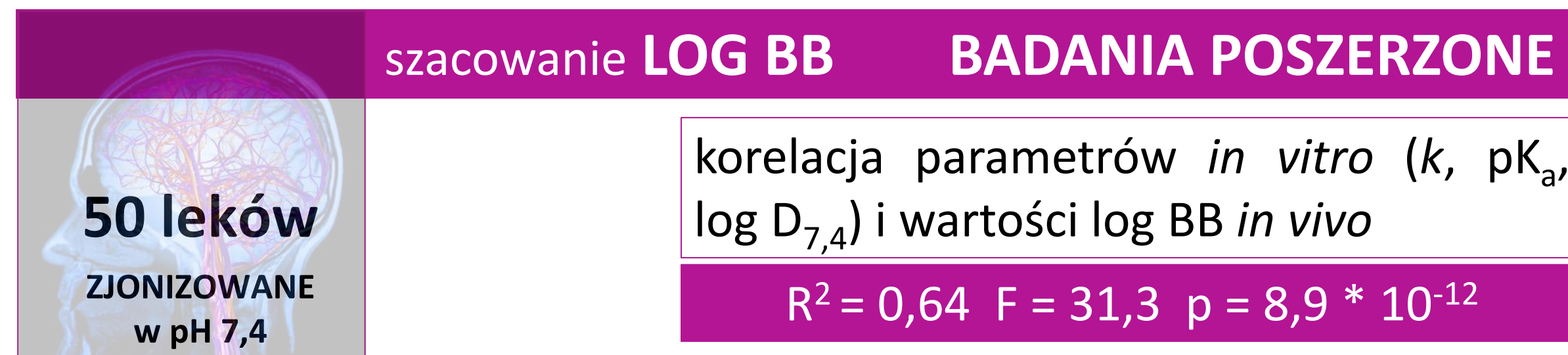
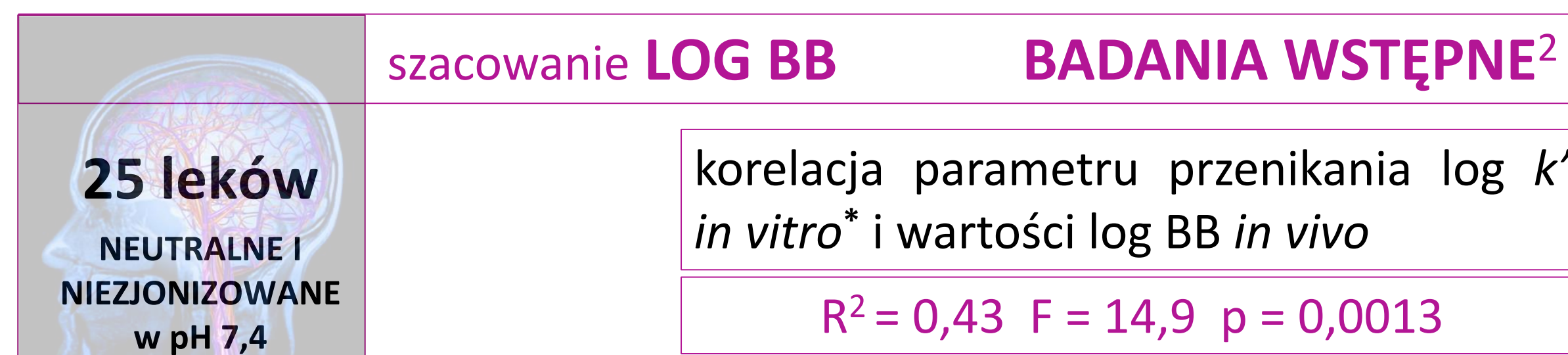
BADANIE WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNYCH – analiza WYKRESÓW BJERRUMA

- właściwości kwasowo-zasadowe – wyznaczenie pK_a badanego związku w środowisku wodnym lub wodno-oktanolowym (z ekstrapolacją)
- lipofilowość – wyznaczenie $\log P$ i $\log D_{7,4}$ w środowisku wodno-oktanolowym na podstawie rzeczywistego pK_a i pK_a pozornych

ZAUTOMATYZOWANA KLASYFIKACJA Z UŻYCIEM UCZENIA MASZYNOWEGO



Uzyskane w CEC elektroferogramy stanowią źródło danych pozwalających na bezpośrednią ocenę zdolności związków do przenikania do OUN na podstawie klasyfikacji opartej o log BB. Do tego celu wykorzystano połączenie modelu k -NN (k -Nearest Neighbours) wykorzystującego dynamiczną transformację czasową (DTW) jako funkcję opisującą odległość, z modelem BOSSVS (*Bag-of-SFA-Symbols in Vector Space*).



$$\log BB = -2,45 + 0,1 \cdot k + 0,3 \cdot \log D_{7,4} + 0,27 \cdot pK_a$$

log BB parametr przenikania *in vivo*; logarytm stosunku stężeń związku w mózgu i we krwi w stanie równowagi; dane eksperymentalne pozyskane z literatury³⁻⁶

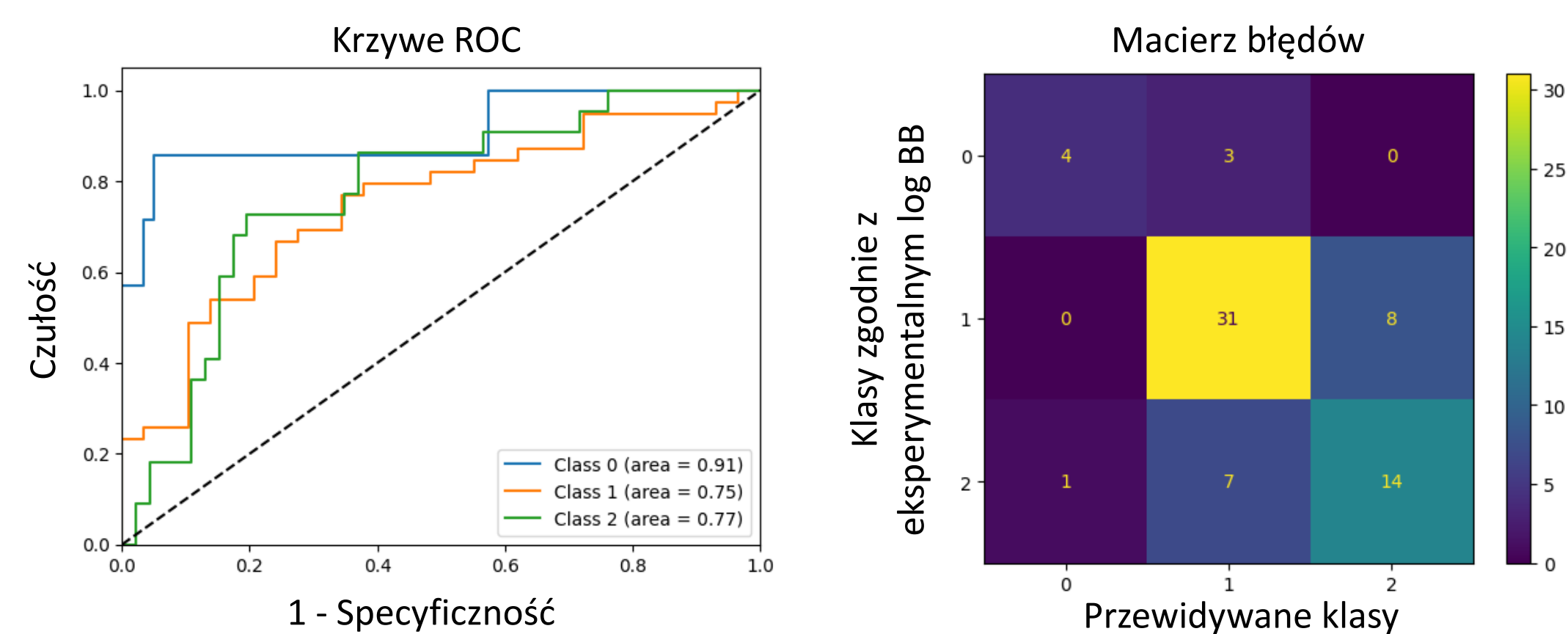
k parametr przenikania z CEC; $k = t_{Rf}(1/t_{EOF} + 1/t_{Rf} - 1/t_{EOF}) - 1$, gdzie⁷:
 t_{Rf} i t_{EOF} – czas migracji odpowiednio badanego związku i EOF w kapilarze pokrytej warstwą liposomalną
 t_{Rf} i t_{EOF} – analogiczne czasy migracji w kapilarze niepokrytej
 parametry rozdzielu: efektywna długość kapilary 49 cm; całkowita długość kapilary 59 cm; przyłożone napięcie 20 kV; kapilara krzemionkowa; średnica wewnętrzna kapilary 50 μ m; temperatura 25 °C; pH 7,4; liposomy POPC/PS duże jednowarstwowe
 * Parametr przenikania $\log k'$ z badań wstępnych² CEC; $\log k' = \log((t_{Rf} - t_{EOF})/t_{EOF})$; t_{Rf} i t_{EOF} – czasy migracji jak powyżej

pK_a parametry fizykochemiczne badanego związku wyznaczone eksperymentalnie ($\log D_{7,4}$ pośrednio na podstawie $\log P$). Warunki analizy: temperatura 25 °C; pomiar pK_a – środowisko wodne (0,15 M KCl) lub środowisko mieszane (dla związków trudno rozpuszczalnych): stosunek woda/kosolwent (w/w) – 70/30, 60/40 oraz 50/50
 $\log D_{7,4}$ wyznaczenie $\log P$ i $\log D_{7,4}$ – środowisko mieszane: stosunek woda/n-oktanol zależy od przewidywanej lipofilowości związku

szacowanie LOG BB MODEL OBLICZENIOWY

Na potrzeby opracowanego klasyfikatora leki podzielono na 3 klasy zależnie od wartości eksperymentalnie wyznaczonego $\log BB$ ³⁻⁶:

- Klasa 0 - Dobre przenikanie do OUN ($\log BB \geq 0,3$)
- Klasa 1 - Umiarkowane przenikanie do OUN ($-1 < \log BB < 0,3$)
- Klasa 2 - Złe przenikanie do OUN ($\log BB \leq -1$)



Opracowany model wykorzystuje technikę *Ensemble learning*, czyli metodę, która łączy kilka podstawowych modeli w celu stworzenia jednego optymalnego klasyfikatora. Mimo niewielkiej puli danych opracowany klasyfikator w czasie 5-krotnej walidacji krzyżowej wykazał dobrą zrównoważoną dokładność (*Balanced Accuracy*) równą **0,67** oraz zadowalającą wartość F1 (*F1 Score*) równą **0,72**.

- NOWA METODA** innowacyjna alternatywa dla obecnie stosowanych metod wysokoprzesiewowych, służących do analizy przenikania związków przez barierę krew-mózg
- gotowa do dalszej walidacji z użyciem większej biblioteki związków badanych
- narzędzie pozwalające na rozwój nowych potencjalnych leków