

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Katedra Fyzikální chemie

**Porovnání možností výpočtů rozdělovacího koeficientu
do membrán kůže**

Bakalářská práce

Autor práce: Veronika Kovaříková
Vedoucí práce: doc. RNDr. Karel Berka, Ph.D.
Konzultant: Mgr. Markéta Paloncýová

Studijní program: B 1407
Studijní obor: Aplikovaná chemie
Forma studia: Prezenční

Olomouc 2016

PALACKÝ UNIVERSITY IN OLOMOUC

FACULTY OF SCIENCE

Department of Physical Chemistry

Comparison of Calculation Methods of Skin Membrane Partition Coefficients

Bachelor Thesis

Author: Veronika Kovaříková
Supervisor: doc. RNDr. Karel Berka, Ph.D.
Consultant: Mgr. Markéta Paloncýová

Study programme: B 1407 Chemistry
Major: Applied chemistry
Study form: Daily

Olomouc 2016

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou v seznamu použité literatury,

Souhlasím s tím, že práce je prezenčně zpřístupněna v knihovně Katedry fyzikální chemie, Přírodovědecké Fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne:

Veronika Kovaříková

Tímto bych ráda poděkovala vedoucímu bakalářské práce doc. RNDr. Karlu Berkovi, Ph.D., za odborné vedení a vstřícnost při konzultacích. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Markétě Paloncýové, za pomoc s programy, které jsem ke své práci potřebovala.

Velký dík patří také mé rodině, příteli a přátelům, kteří mě při studiu vždy podporovali.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Veronika Kovaříková
Název práce: Porovnání možností výpočtu rozdělovacího koeficientu do membrán kůže
Typ práce: Bakalářská
Pracoviště: Katedra Fyzikální chemie, UP v Olomouci
Vedoucí práce: doc. RNDr. Karel Berka, Ph.D.
Konzultant: Mgr. Markéta Paloncýová
Rok obhajoby práce: 2016

Abstrakt:

Kůže je největším orgánem lidského těla a chrání tělo před vnějšími škodlivými vlivy. Stratum Corneum (SC) je nejvrchnější vrstvou kůže. SC slouží jako primární bariéra, která zamezuje samovolnému průniku cizorodých látek do těla. Průnik látky je funkcí jak difuze látky přes SC, tak jejím záchytem v SC. Záchyt látky v SC popisuje rozdělovací koeficient SC/voda ($\text{Log}K_{SC/W}$). Protože je SC komplikovanou strukturou střídající korneocyty a lipidovou matici, používají se k predikci tohoto koeficientu rozdělovací koeficienty získané na modelových systémech oktanol/voda ($\text{Log}P$) či liposom/voda ($\text{Log}K_{DOPC/W}$). Náplní této práce bylo porovnání predikcí rozdělovacích koeficientů $\text{Log}P$, $\text{Log}K_{SC/W}$ a $\text{Log}K_{DOPC/W}$ s dostupnými experimentálními hodnotami.

Klíčová slova: kůže, stratum corneum, rozdělovací koeficient, liposomy
Počet stran: 47
Jazyk: český

Bibliographic identification:

Author: Veronika Kovaříková
Title: Comparison of calculation methods of skin membrane partition coefficients
Type of Thesis: Bachelor
Department: Department of Physical Chemistry, UP Olomouc
Supervisor: doc. RNDr. Karel Berka, Ph.D.
Consultant: Mgr. Markéta Paloncýová
The Year of Presentation: 2016

Abstract:

Skin is the largest organ of the human body which protects the body from external harmful influences. The Stratum Corneum (SC) is the outermost layer of skin. SC serves as the primary barrier which inhibits spontaneous penetration of foreign substances into body. Penetration of substance is a function of diffusion through SC and detention of the substances in the SC. Detention of a substance can be described by the partition coefficient SC/water ($\text{Log}K_{\text{SC/W}}$). To predict the partition coefficients $\text{Log}K_{\text{SC/W}}$ the model systems octanol/water ($\text{Log}P$) or liposome/water ($\text{Log}K_{\text{DOPC/W}}$) are used, because SC is complicated structure with alternating corneocytes and lipid matrix. The aim of this study was to compare the prediction performance of partition coefficients $\text{Log}P$, $\text{Log}K_{\text{SC/W}}$ and $\text{Log}K_{\text{DOPC/W}}$ with available experimental data.

Keywords: skin, stratum corneum, partition coefficient, liposome
Number of Pages: 47
Language: Czech

Obsah

1. ÚVOD.....	1
2. TEORETICKÁ ČÁST	2
2.1. Kůže.....	2
2.2. Stratum Corneum.....	3
2.2.1. Korneocyty	4
2.2.2. Lipidy SC.....	4
2.2.2.1. Ceramidy	4
2.2.2.2. Cholesterol	6
2.2.2.3. Volné mastné kyseliny.....	6
2.3. Transdermální vstup látek do těla	7
2.4. Rozdělovací koeficient	8
2.4.1. Rozdělovací koeficient stratum corneum/voda	8
2.4.2. Rozdělovací koeficient oktanol/voda	9
2.4.3. Rozdělovací koeficient liposom/voda	10
2.5. Stanovení rozdělovacích koeficientů $\text{Log}P$	12
2.5.1. Experimentální metody.....	12
2.5.1.1. Metoda dělicí láhve	12
2.5.1.2. RP – HPLC	12
2.5.2. Výpočetní metody	13
2.5.2.1. ALogP a KOWWIN.....	14
2.5.2.2. ACD/LogP a miLogP.....	15
2.5.2.3. XLogP3.....	15
2.5.2.4. COSMOtherm a COSMOmic.....	16
2.6. Měření $\text{Log}K_{\text{SC/W}}$	16
2.7. Měření $\text{Log}K_{\text{LIP/W}}$	17
2.7.1. IAM chromatografie	17
2.7.2. Potenciometrická titrace	18
2.7.3. Rovnovážná dialýza.....	18
3. METODY	19
3.1. Použité počítačové programy a koeficienty	19
3.2. Ovládání programu COSMOtherm.....	19
3.3. Ovládání programu COSMOmic	20
3.4. Zpracování hodnot	21
4. VÝSLEDKY.....	22

4.1. Predikce $\text{Log}P$	22
4.2. Predikce $\text{Log}K_{\text{DOPC/W}}$	25
4.3. Predikce $\text{Log}K_{\text{SC/W}}$	27
5. ZÁVĚR.....	29
6. SUMMARY.....	30
7. POUŽITÁ LITERATURA	31
Seznam zkratek.....	35
8. PŘÍLOHY	36

1. ÚVOD

Lidská kůže je největším orgánem lidského těla. Chrání naše vnitřní orgány před škodlivými látkami, UV zářením, vysoušením. Plocha kůže u dospělého člověka činí 1,5 - 2 m², hmotnost tvoří 5-9% celkové hmotnosti jedince. Skládá ze tří částí - epidermis, dermis, hypodermis.

Hlavní bariérovou vrstvou epidermis je vrstva rohová neboli Stratum Corneum (SC), která slouží jako primární kožní bariéra, tenká 10 až 20 μm. Je nehomogenní, složena z korneocytů vložených do lipidové matice.¹ Struktura SC je často připodobňována modelu cihly a malty. Korneocyty jsou v něm znázorněny cihlou, lipidy maltou. Tato vrstva epidermis je odpovědná za většinu bariérové funkce kůže.

Rozdělovací koeficient udává poměr koncentrace látky rozdělující se mezi dvě fáze – organickou a vodnou. Nejužívanějším rozdělovacím koeficientem je koeficient s fází oktanol/voda, značící se $\text{Log}P$. Užívá se k určení lipofility látky a zjednodušuje pochopení zkoncentrování látky v tkáních, jelikož oktanol má podobné vlastnosti jako buněčná membrána. Koeficient SC/voda, $\text{Log}K_{\text{SC}/\text{W}}$, je důležitým při transdermálním podání léčiv, jelikož závisí na absorpci a permeabilitě kůže. Dalším koeficientem v této práci je liposom/voda, $\text{Log}K_{\text{LIP}/\text{W}}$, kde organickou fází je umělý liposom složený z lipidové dvouvrstvy.

Rozdělovací koeficienty představují důležité parametry při stanovení lipofility látek, tudíž k návrhu nových léčiv Z hodnot koeficientů získáváme informace, zda je látka vcházející do těla lipofilní, tudíž se bude zdržovat v buněčné membráně anebo zda je látka hydrofilní a bude se zdržovat spíše v tělních tekutinách. Lze je stanovit experimentálně.

Kromě jejich měření se tedy často predikují. K tomu se používají různé přístupy, nejčastěji QSAR, ale také COSMO – RS.

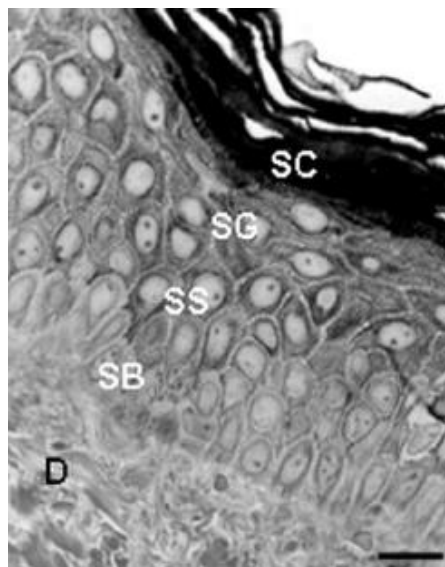
Cílem této práce je výpočet rozdělovacích koeficientů $\text{Log}P$ vybraných neutrálních sloučenin pomocí různých výpočetních metod: ALogP, KOWWIN, ACD/LogP, miLogP, XLogP3, COSMO_{therm} a následné srovnání těchto hodnot s nalezenými experimentálními a predikovanými rozdělovacími koeficienty. Dále porovnání rozdělovacích koeficientů nehomogenních membrán SC a liposomu, $\text{Log}K_{\text{SC}/\text{W}}$ a $\text{Log}K_{\text{LIP}/\text{W}}$, vypočítané programem COSMO_{mic} a porovnání s experimentálními hodnotami $\text{Log}P$ různých výpočetních metod.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Kůže

Lidská kůže (cutis, derma) je multifunkční biologická membrána. Slouží jako bariéra při odpařování vody z těla, při vniknutí cizorodých látek do těla a jako ochrana před UV zářením. Kůže je největším orgánem v těle, její celková plocha u průměrného dospělého člověka činí přibližně 2 m² s průměrnou tloušťkou 2,5 mm. Tloušťka se mění podle anatomické lokace na těle a na pohlaví. ¹ Kůži prochází i nejrůznější přívěsky jako jsou nehty, vlasové folikuly, potní, mazové a mléčné žlázy.

Tento vícevrstvý orgán je složen ze tří vzájemně oddělených částí epidermis, dermis, hypodermis. Každá z 3 hlavních vrstev se dělí na další podvrstvy. Vnější vrstva epidermis (Obrázek 1) se skládá ze čtyř strat – *stratum corneum* (SC), *stratum granulosum* (SG), *stratum spinosum* (SS), *stratum basale* (SB). ¹



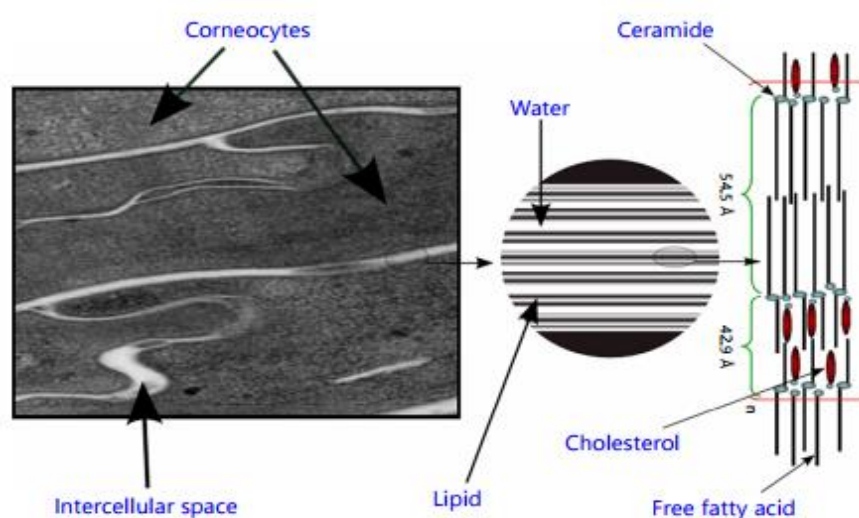
Obrázek 1 – Fotografie epidermis pomocí světelného mikroskopu s vysokým rozlišením. Na obrázku lze vidět vrstvy SC – *stratum corneum*, SG – *s. granulosum*, SS – *s. spinosum*, SB – *s. basale*, D – *dermis*. Převzato z Ref. ¹.

Vrstvy epidermis se liší svým tvarem, polohou, funkcí a stavem korneocytů. SG, SB a SS jsou součástí životaschopné epidermis, *stratum corneum* není. Většina obranných bariérových funkcí epidermis vůči malým molekulám je lokalizovaná ve *stratum corneum*.²

2.2. Stratum Corneum

SC neboli rohová vrstva, je nejvrchnější vrstva kůže a primární nepropustnou kožní bariérou. Tloušťka SC činí přibližně 15 – 20 μm a liší se v závislosti na počtu buněk a umístění v lidském těle. Tato vrstva je pro bariérové funkce kůže rozhodující. Za normálních podmínek se definuje jako suchá tkáň a obsahuje jen 10 – 30 % vázané vody.^{3,4}

SC je nehomogenní, vysoce hydrofobní vrstva zahrnující dva různé konstrukční prvky a to korneocyty vložené do lipidového matrixu (Obrázek 2).^{4,5}



Obrázek 2 – Struktura SC. Vlevo je zvětšená fotografie elektronovou mikroskopií zobrazující korneocyty a mezibuněčný prostor. Prostřední obrázek je model lipidové fáze s menším množstvím vody, která je obsažena v korneocytech. Vpravo je jedno z možných schémat uspořádání jednotlivých lipidů v membráně SC a jejich délky v Å. Převzato z Ref.⁵

Korneocyty a lipidy ve SC jsou znázorňovány jednoduchým modelem cihly a malty. Korneocyty jsou připodobňovány k cihlám a lipidy k maltě, neboť jsou lokalizovány do extracelulárních prostorů mezi korneocyty. Toto uspořádání znesnadňuje prostup molekulám kůží, střídáním hydrofilního a hydrofobního prostředí.

2.2.1.Korneocyty

Korneocyty jsou bezjaderné, zrohovatělé, zploštělé buňky strata cornea. Jsou vyplněné vodou a strukturálním proteinem keratinem. Množství tohoto proteinu se liší mezi jednotlivými vrstvami epidermis od přibližně 30% ve stratum basale až k 80 % ve stratum corneum.¹

2.2.2.Lipidy SC

Lipidy jsou amfifilní organické molekuly, které zastupují zhruba 5% celkové hmotnosti lidských buněk. Hlavními lipidy jsou volné mastné kyseliny, cholesterol a ceramidy (Tabulka 1), přičemž jejich zastoupení se liší podle umístění v těle. Kvalita bariérové funkce vrstvy SC závisí na množství těchto lipidů. ¹ Fosfolipidy jsou zde přítomny jen v zanedbatelné míře.

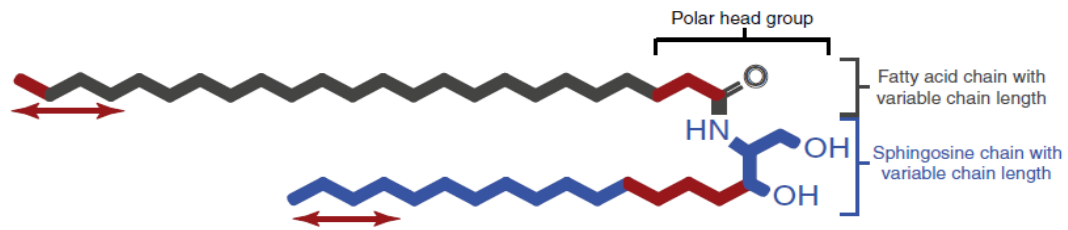
Tabulka 1 – Hmotnostní zastoupení jednotlivých lipidů SC a jejich rozdělení ⁶

Lipidy	Zastoupení ve SC [hm. %]
Ceramidy	50
Cholesteroly	25
Cholesterol sulfáty	15
Volné mastné kyseliny	10

Jelikož lipidy jsou amfifilní molekuly, jejich polární skupiny interagují s vodou pomocí vodíkových můstků a elektrostatických interakcí, zatímco hydrofobní řetězce tvoří nepolární vrstvu. Organizace těchto lipidů hraje zásadní roli v permeabilitě kůže. ⁵

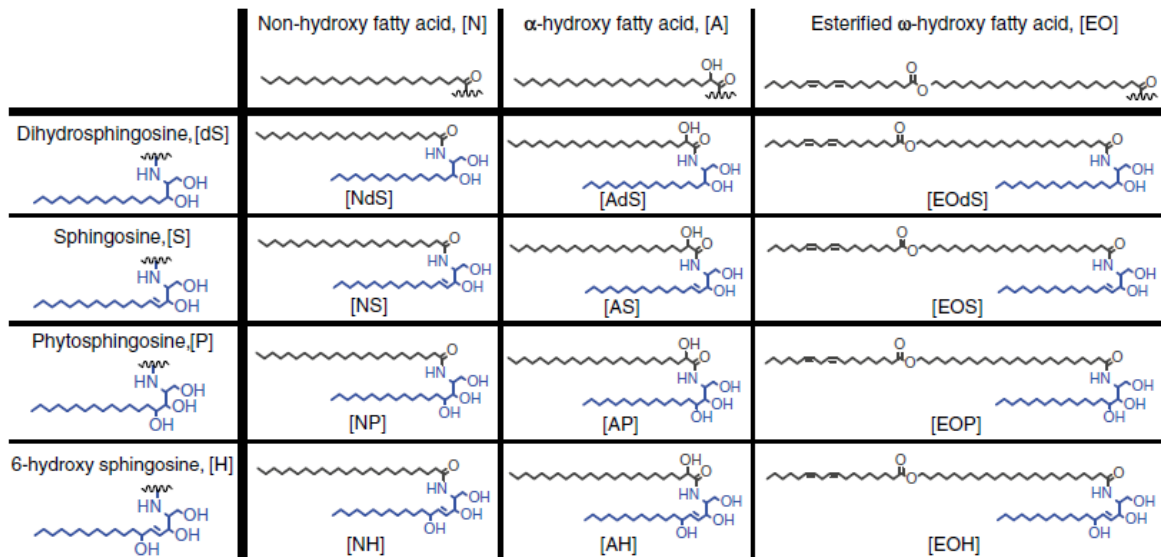
2.2.2.1. Ceramidy

Ceramidy spadají do skupiny sfingolipidů. Hojně se vyskytují ve SC a jsou jejich nezbytnou a nejdůležitější částí. Ceramidy jsou strukturálně heterogenní, skládají se z polární hlavy a dvou řetězců, sfingosinového a zbytku mastné kyseliny (Obrázek 3). Polární hlavy jsou velmi malé a obsahují několik funkčních skupin. ⁵



Obrázek 3 – Základní struktura ceramidu. Převzato z Ref. ².

Analýzou HPLC-ESI-MS bylo prokázáno v lidském SC až 350 druhů ceramidů. Tyto druhy ceramidů lze klasifikovat do dvanácti skupin (Obrázek 4), ² lišící se stavbou polární hlavy a průměrnou délkou řetězce. Sfingoidní báze jsou pomocí amidové vazby spojeny s řetězcem mastné kyseliny.



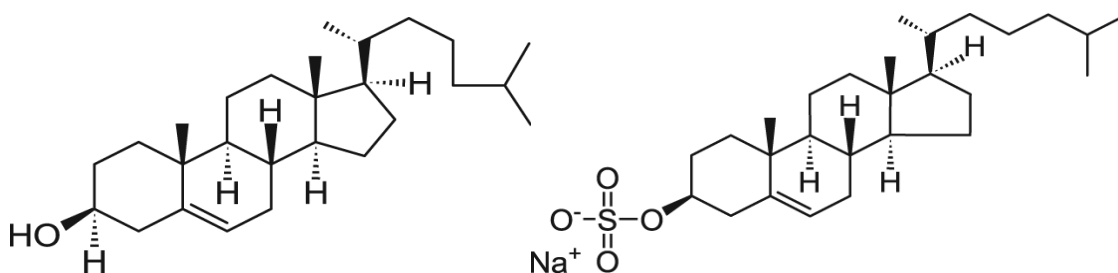
Obrázek 4 – Struktura a názvosloví dvanácti základních skupin ceramidů, složených z mastných kyseliny a sfingosinů. Převzato z Ref. ².

Zastoupení typů ceramidů se na různých částech těla liší. Vyšší podíl ceramidů byl zaznamenán ve rtech, tváři a na prstech. Pokožka hlavy obsahuje největší obsah [NdS] a [EOP]. Obsah jednotlivých ceramidů v kůži se liší také podle ročního období. ⁷ Také mnoho kožních onemocnění – atopická dermatitida, ichthyosis – je spojeno se změnou obsahu a typu ceramidů i jejich zkracování. ⁵

Ceramidy s krátkým řetězcem zvyšují propustnost membrán v porovnání s ceramidy běžně dlouhými řetězci. Kvalita ceramidové složky membrán tedy je jedním z hlavních faktorů určující bariérové vlastnosti kůže. ^{4,8}

2.2.2.2. Cholesterol

Důležitými lipidy ve SC jsou amfifilní steroly – cholesterol a cholesterol sulfát (Obrázek 5). Sulfátová skupina je napojena přes hydroxyl cholesterolu. I když je tento lipid přítomen v malých množstvích, hraje významnou roli v deskvamaci SC (odlupování horní vrstvy SC z epidermis).^{1,5}

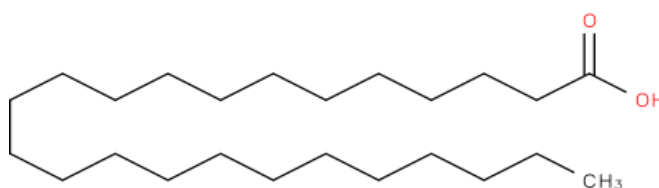


Obrázek 5 – Struktura cholesterolu (vlevo) a cholesterol sulfátu (vpravo). Převzato z Ref.⁹

2.2.2.3. Volné mastné kyseliny

Pokožka dále obsahuje i volné mastné kyseliny. Nacházejí se v epidermální buněčné membráně, ale také v lipidech umístěných mezi vrstvami korneocytů v SC.

Mastné kyseliny jsou alifatické monokarboxylové kyseliny. Délka řetězce mastné kyseliny se pohybuje v rozmezí C12 až C24.^{5,10} Nejhojnější jsou mastné kyseliny délek C24 a C26 (Obrázek 6). Volné mastné kyseliny jsou převážně nasycené a lineární.⁶ Podíl mastných kyselin v SC je menší, než u životaschopných vrstev.^{2,8}



Obrázek 6 – Struktura nasycené kyseliny lignocerové (C24). Převzato z Ref.¹¹

Nízký obsah volných mastných kyselin obecně indikuje atopické dermatidy a kůže se stává se suchou a podrážděnou.¹

2.3. Transdermální vstup látek do těla

Kůže představuje poměrně velkou a tedy snadno přístupnou plochu pro absorpci látek z vnějšího prostředí. Přesto látky neprostupují přes kůži snadno. Největší překážkou pro difundující látku je vrstva SC, která je charakteristická nízkou propustností.¹²

Látky do SC vstupují několika cestami. Vstup je buď transepidermální nebo transfolikulární. Transepidermální cesta převládá a rozlišuje se jako intercelulární a transcelulární. Intracelulární transport vede skrz korneocyty a transcelulární transport vede přes mezibuněčný prostor lipidovou maticí. Poslední cesta je transfolikulární – přes potní, mazové žlázy a vlasové folikuly, přičemž se předpokládá, že je zanedbatelná.¹³

Jelikož je SC převážně lipofilní, tak přes tuto vrstvu snadněji difundují a zachytávají lipofilní látky.¹² Pokud je látka příliš hydrofilní, bude mít tendenci akumulovat se spíše v tělních tekutinách, ale bude mít obtížnější propustnost přes SC.

Transdermální vstup látek do těla je významným způsobem podání léčiv do těla, kdy léčivé látky se mohou dostat do krevního řečiště a tím i do celého těla. Výhodou tohoto vstupu je, že látka neprostupuje zažívacím systémem a je zde k dispozici velká plocha k aplikaci léku. Nevýhodou podání přes kůži je rozdílná permeabilita kůže na různých částech těla a mezi jednotlivými jedinci. Permeabilitu látek přes SC popisuje permeabilitní koeficient $PC_{SC/W}$:

$$PC_{SC/W} = \frac{K_{SC/W} D_{SC}}{h_{SC}} [\text{cm h}^{-1}], \quad (1)$$

kde $K_{SC/W}$ je rozdělovací koeficient SC/W, D_{SC} je difuzní koeficient [$\text{cm}^2 \text{h}^{-1}$] a h_{SC} tloušťka SC [cm].^{12,14} Dle rovnice lze odvodit, že permeabilita roste s lipofilitou a klesá se zvyšující se tloušťkou SC.

Pro studium penetrace látek přes kůži tedy musíme stanovit jak difuzní koeficient, tak rozdělovací koeficienty. V této práci se zaměříme na rozdělovací koeficienty.

2.4. Rozdělovací koeficient

Rozdělovací koeficient charakterizuje rozdělení látky mezi dvě fáze, které jsou vzájemně nemísitelné nebo omezeně mísitelné. Je definován jako podíl koncentrací látky jednotlivých fází $K_{A/B}$:

$$K_{A/B} = \frac{c_A}{c_B} \quad (2)$$

kde c_A udává koncentraci stanovované látky ve fázi A, c_B je koncentrace látky ve fázi B. Dle konvence je organická fáze v čitateli (A), vodná fáze ve jmenovateli (B).¹⁵ Koeficient je bezrozměrný. Je-li hodnota rozdělovacího koeficientu větší než 1, vyšší podíl analyzované látky je obsažen ve fázi A. Je-li rozdělovací koeficient menší než 1, vyšší podíl látky je ve fázi B.¹⁶ Nejčastějšími fázemi jsou pro fázi A – oktanol (dále jen oktanol) a pro B voda, dohromady vytváří rozdělovací koeficient $K_{O/W}$.¹⁷

V této práci se zaměříme na rozdělovací koeficienty oktanol/voda, stratum corneum/voda a liposom/voda.

2.4.1. Rozdělovací koeficient stratum corneum/voda

Látky, které difundují přes kůži, prochází prvně přes SC. Jelikož SC obsahuje korneocyty a lipidy, musí se započítávat také tyto rozdělovací koeficienty – $K_{COR/W}$ a $K_{LM/W}$.

Rovnice pro výpočet rozdělovacího koeficientu $K_{SC/W}$ pomocí frakcí Φ_{LM} a Φ_{COR} :

$$K_{SC/W} = \Phi_{LM} K_{LM/W} + \Phi_{COR} K_{COR/W}, \quad (3)$$

Φ_{LIP} a Φ_{COR} jsou objemové frakce lipidové matrice a korneocytů, $K_{LM/W}$ a $K_{COR/W}$ jednotlivé rozdělovací koeficienty látky v lipidové matici a korneocytech.¹⁴

Vztah pro rozdělovací koeficient lipid/voda lze definovat pomocí koeficientu $\text{Log}P$,

$$K_{LM/W} = c(K_{O/W})^\beta, \quad (4)$$

Nebo

$$\log_{10} K_{LM/W} = \alpha + \beta \log_{10} K_{O/W}, \quad (5)$$

kde β je konstanta v rozsahu 0,70 - 0,76 – liší se od jednotlivých autorů; α je vyjádřena jako $\alpha = \log_{10} c$.¹⁴

Lze použít také rovnice pro výpočet $K_{LM/W}$ z $K_{SC/W}$

$$K_{LM/W} = \frac{K_{SC/W} - \Phi_{COR} K_{COR/W}}{\Phi_{LM}} \quad (6)$$

Rozdělovací koeficient $K_{SC/W}$ nekorresponduje s celkovým rozdělovacím koeficientem K_{LM} , jelikož SC obsahuje i korneocyty, které se do celkové hodnoty $K_{SC/W}$ musí zahrnout.¹⁸ K měření $K_{COR/W}$ se musí použít delipidovaná vrstva SC. Tato fáze se obtížně stanovuje, proto se ve výpočtech zanedbává.¹⁴

Rozdělovací koeficient stratum corneum/voda se stanovuje složitě, jelikož stratum corneum není homogenní membrána. Místo něj se častěji zavádí rozdělovací koeficient oktanol/voda a liposom/voda, u kterých oktanolová a liposomová fáze nahrazuje buněčné membrány.

2.4.2. Rozdělovací koeficient oktanol/voda

Rozdělovací koeficient $K_{O/W}$ je rozdělovací konstantou látky mezi organickou oktanolovou fází a vodou v rovnováze. Neboli je to vlastnost sloučeniny používaná k popisu lipofilních vlastností a míry polaridy. $K_{O/W}$ je široce využíván zejména v metodách studujících kvantitativní vztahy mezi strukturou a aktivitou (QSAR).¹⁹

Rozdělovací koeficient je dán jako poměr koncentrací oktanolu a vody

$$K_{O/W} = \frac{c_O}{c_W}, \quad (7)$$

kde c_O udává koncentraci látky v oktanolu, c_W je koncentrace látky ve vodě.

Voda zastupuje složku polární, oktanol nepolární. Tyto kapaliny se při laboratorní teplotě se mísí omezeně. Chemická struktura oktanolu je podobná amfifilním lipidům v buněčné membráně. Má také polární hydroxylovou hlavu a hydrofobní alkylový řetězec.^{17,20}

Logaritmus rozdělovacího koeficientu oktanol/voda, **LogP**, je jedním z nejdůležitějších parametrů v molekulárním návrhu léků.

$$\text{Log}P = \text{Log}(K_{O/W}) \quad (8)$$

Rozdělovací koeficient $\text{Log}P$ je bezrozměrný. Čím je $\text{Log}P$ větší, tím má látka hydrofobnější charakter. Silně polární látky (hydrofilní), jako je například voda, mají hodnoty záporné.²¹ To znamená, že čím vyšší hodnotu tento koeficient má, tím je větší pravděpodobnost, že se molekula bude lépe rozpouštět v oktanolu a tedy i v buněčných membránách. Mezi nepolární látky například patří organické sloučeniny. Ve vodě dobře rozpustné látky (polární) jsou nižší alifatické alkoholy, kyseliny a cukry.

Protože oktanol je homogenní fáze, přičemž lipidové membrány jsou obecně nehomogenní fází, podrobnější informaci o interakci látky s membránou lze získat z rozdělovacích koeficientů do liposomů.

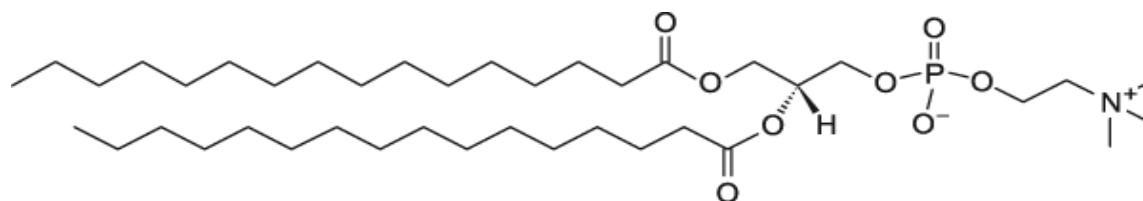
2.4.3. Rozdělovací koeficient liposom/voda

Liposomy jsou uměle vyrobené lipidové dvouvrstvé váčky. Slouží jako zjednodušený model buněčné membrány. Struktura liposomů je podobná buněčným membránám, ve kterých jsou uhlovodíkové řetězce orientovány směrem k sobě, hydrofilní hlavy poskytují polární povrch.¹⁰ Jádru liposomu je hydrofobní.

Liposomy obsahující jednu dvouvrstvu se nazývají unilamelární, liposomy zahrnující více dvouvrstev multilamelární liposomy. Mohou být připraveny z různých lipidů, nejčastěji z amfifilních fosfolipidů (Tabulka 2).²²

Tabulka 2 – Přehled několika lipidů vyskytujících se v liposomech²²

Lipid	Zkratka	Náboj
Dioleoylphosphatidylcholine	DOPC	0
Dimyristoylphosphatidylcholine	DMPC	0
Dipalmitoylphosphatidylcholine	DPPC	0
Egg phosphatidylcholine	EPC	0



Obrázek 7 – Struktura fosfolipidu DPPC. Převzato z Ref.⁹.

Liposomy jsou používány jako modelové membrány, proto se využívá jejich rozdělovací koeficient liposom/voda

$$K_{LIP/W} = \frac{c_{LIP}}{c_w} \quad (9)$$

kde c_{LIP} udává koncentraci látky v liposomu, c_w je koncentrace látky ve vodném prostředí.²³ Látka procházející liposomem se tedy koncentruje buď do lipidové fáze liposomu anebo do vodné fáze uvnitř liposomu.²⁴ Permeabilita liposomů se obecně zvyšuje s klesající délkou acylového řetězce.²²

Liposomy, vzhledem ke své podobnosti s biomembránami, jsou perspektivní formou podávání léčiv přímo do tkání, protože mají schopnost do sebe zabalit nejrůznější materiály. Jsou známy svou koncentrací v maligním nádoru, čehož se využívá k poslání léku obaleného v liposomu směrem k tumoru. Mohou se také slučovat s některými tkáněmi, což je nápomocné v genové terapii.^{21,24}

$K_{LIP/W}$ neutrálních látek dobře koreluje s $K_{O/W}$, proto se využívají pro studium rozdělovacího koeficientu membrána/voda (stratum corneum/voda). $K_{LIP/W}$ nabitých sloučenin nekoreluje tak dobře s $K_{O/W}$ jako neutrální sloučeniny.²⁵

2.5. Stanovení rozdělovacích koeficientů $\text{Log}P$

Existuje několik metod používaných k získání rozdělovacího koeficientu. $\text{Log}P$ lze měřit či odhadnout pomocí různých metod a měření. Existuje řada experimentálních metod, získané hodnoty experimentálních metod se ukládají do chemických databází. Vysoká pozornost se v poslední době dává počítačovým výpočtům využívající kvantitativních vztahů mezi chemickou strukturou a aktivitou (QSAR) k predikci $\text{Log}P$.

2.5.1. Experimentální metody

Při experimentálním měření se využívá metod třepací láhve a výhodnější kapalinové chromatografie. Tyto dvě metody patří také k nejvyužívanějším metodám.¹⁵

2.5.1.1. Metoda dělicí láhve

Tradiční metoda přímého stanovení $\text{Log}P$ pomocí dělicí lahve. V reakční láhvi, která obsahuje fázi oktanol/voda, se třepe analyzovaný vzorek, který se rozdělí mezi tyto dvě fáze. Po oddělení v reakční láhvi se koncentrace analytu měří například pomocí UV spektroskopie a HPLC technik.^{15,26,27} Metoda je vhodná pro látky s rozdělovacím koeficientem od 2 do 4.²⁸ Nevýhodou třepacích metod je velká spotřeba času a zapáchající, vysoce viskózní oktanol. Výhodnějšími metodami jsou metody chromatografické, neboť vyžadují malé množství materiálu a jsou rychlejší.

2.5.1.2. RP – HPLC

Kapalinová chromatografie LC je velmi účinná pro měření lipofility. Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s reverzní fází (RP - HPLC) slouží k nepřímému stanovení $\text{Log}P$. Stacionární fáze je nepolární (oktanol) a mobilní fáze je polární (např. metanol + voda).¹⁵ Stacionární fáze jsou chemicky vázané na nosič (silikagel, sklo). Podmínkou RP - HPLC je vzájemná nemísitelnost stacionární a mobilní fáze. Metoda je vhodná pro látky s rozdělovacím koeficientem 0 - 6. Tato separační metoda je rychlejší a levnější.^{16,19,26}

Experimentální měření bývá často pracné a časově náročné, proto se stále častěji využívá výpočetních metod.²³

2.5.2. Výpočetní metody

Bylo vyvinuto mnoho programů pro predikci $\text{Log}P$. Jedním ze základních a nejpoužívanějších druhů jsou tzv. metody QSAR, což je zkratka pro kvantitativní vztahy mezi strukturou a aktivitou.²⁹

QSAR pomáhá porozumět interakcím mezi skupinami v molekulách *in silico*.²⁶ První vztah mezi aktivitou látky a chemickou strukturou byl vysloven roku 1869 Crum - Brownem a Frazerem²⁸

$$A = f(X), \quad (10)$$

kde A je míra aktivity, f je matematická funkce, X je deskriptor.

Existují dvě široce používané metody pro odhad $\text{Log}P$, Hanschova a Rekkerova metoda.

První metoda vyhodnocení $\text{Log}P$ je **Hanschova substituentová π metoda**.³⁰

$$\pi = \text{Log}P(\text{PX}) - \text{Log}P(\text{PH}), \quad (11)$$

kde π je lipofilní konstanta - měřítko lipofility jednotlivých substituentů oproti vodíku, $\text{Log}P(\text{PX})$ je rozdělovacím koeficientem aromatické substituované látky, $\text{Log}P(\text{PH})$ rozdělovacím koeficientem nesubstituované látky. Pozitivní hodnota π udává, že substituent je hydrofobnější než vodík. Negativní hodnota udává, že substituent je méně hydrofobní.²¹ Tato metoda je vhodná pro aromatické látky, ale je nevhodná pro alifatické sloučeniny, pro které fragment π nešel vypočítat.²⁸

Tento problém (neschopnost hodnocení lipofility alifatických sloučenin) se pokusil řešit **Rekker** výpočtem fragmentárních konstant. Zvolil reduktivní přístup, který vychází od složitějších struktur po jednodušší.

$$\text{Log}P = \sum a_i f_i \quad (12)$$

kde a je násobek strukturních fragmentů (kolikrát se fragment vyskytuje v látce), f je fragmentová konstanta.^{28,30}

Hansch a Leo pak reakci na to rozdělili molekuly na základní fragmenty a vypočítali jejich $\text{Log}P$ součtem hydrofobních příspěvků všech těchto fragmentů. $\text{Log}P$ byl vypočítán jako

$$\text{Log}P = \sum a_i f_i + \sum b_j F_j, \quad (13)$$

kde f je fragmentová konstanta, F je korekční člen (definující intramolekulární interakce), a , b jsou násobky strukturních fragmentů.^{28,30}

Dnešní výpočetní metody pro určení $\text{Log}P$ se od sebe liší metodou přístupu:

Atomový přístup – ALogP, KOWWIN – založeny na metodě součtu hodnot jednotlivých atomů v molekule, metody jsou méně přesné

Přístup molekulových fragmentů – ACD/LogP, miLogP – založeny na rozkladu molekul na fragmenty a přidělí se jim fragmentové konstanty a korekční členy, ty se poté sčítají

Kromě QSAR metod je možné $\text{Log}P$ predikovat i z náročnějších kvantově chemických výpočtů, které studují vliv rozpouštědla na chemický potenciál látky:

Kvantový přístup – COSMOtherm, COSMOmic – umožňují počítat vlastnosti přímo z chemických struktur. Založené na molekulárně orbitálních výpočtů, interakce hustoty povrchového náboje.³¹

2.5.2.1. ALogP a KOWWIN

ALogP je jeden z nejrozšířenějších programů na výpočet lipofility. Byl vyvinut nařítováním parametrů na experimentální hodnoty $\text{Log}P$ více než 12 900 molekul.³²

KOWWIN je součástí softwarového balíčku EPI SuiteTM, což je sada programů používaných k predikci fyzikálních vlastností sloučenin. V databázi zahrnuje přes 12 000 hodnot a je kombinací přístupu atom – fragment.³¹⁻³³ Obsahuje 144 atom – fragmentových hodnot a 235 korelačních faktorů a je neustále obnovován.³⁴

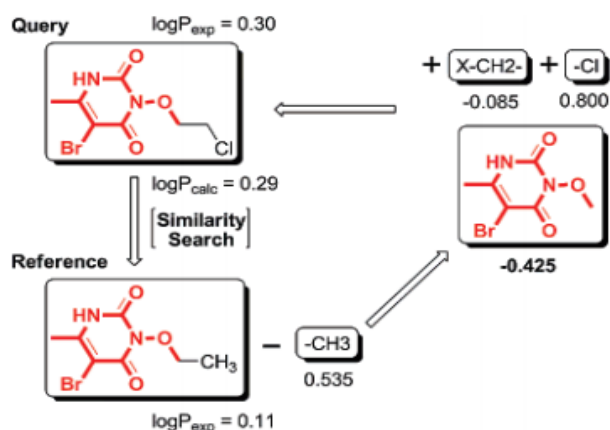
2.5.2.2. ACD/LogP a miLogP

Metoda ACD/LogP je součástí softwarového balíčku Advanced Chemistry Development. Byla vyvinuta nařítováním experimentálních hodnot více než 12 000 molekul.³⁵ Používá fragmentární přístup a je založena na izolaci skupin podle jednotlivých izolovaných uhlíků (IC). IC je takový uhlík, který není vázán dvojnou nebo trojnou vazbou k heteroatomu.^{36,37}

Molinspiration je chemický software, který byl založen na bratislavské univerzitě roku 1986. Zahrnuje nástroj miLogP, vytvořený k výpočtu lipofility, je nařítovaný na hodnoty LogP pro více než 12 000 látek a založen na sčítání atomů, vazeb, fragmentů a funkčních skupin. Zahrnuje 220 molekulárních fragmentů. Je schopen zpracovat téměř všechny organické sloučeniny a organometalické kovy.^{31,38}

2.5.2.3. XLogP3

XLogP3 je novější metoda navržená Chengem a spol., jejímž předchůdci jsou metody XLogP a XLogP2.³⁹ Tento model využívá 87 atomových příspěvků a zahrnuje 2 deskriptory jako korekční faktory. První korekční faktor představuje vnitřní vodíkové vazby, druhý korekční faktor je používán na organické sloučeniny s aminokyselinami. XLogP3 počítá hodnotu rozdělovacího koeficientu dotazované (query) sloučeniny použitím referenční (reference) sloučeniny se známým LogP. Rozdíl mezi dotazovanou a referenční sloučeninami se odhadne aditivní metodou (Obrázek 8).³⁹



Obrázek 8 – Schéma výpočtu XLogP3. Převzato z Ref.³⁹

2.5.2.4. COSMOtherm a COSMOmic

Predikce termodynamického chování směsí sloučenin je dlouholetým problémem i v průmyslu. Pro výpočet termodynamických vlastností kapalných fází se uplatňuje komerční software založený na kvantové chemii – COSMOtherm. COSMOtherm je založen na teorii COSMO-RS využívající chemické potenciály v kapalinách, přičemž popisuje nejdůležitější interakce, jako elektrostatické interakce a vodíkové vazby jednoduchými empirickými výrazy, založenými na hustotě polarizačního náboje – σ – vznikajícího na povrchu molekuly.⁴⁰

COSMOtherm dovoluje počítat pK_a , rozdělovací koeficienty, fázové diagramy, reakční konstanty a mnoho jiných vlastností kapalin.⁴¹

COSMOmic je rozšiřující podprogram COSMOtherm, který se umožňuje aplikovat teorii COSMO - RS na nehomogenní systémy jako jsou například membrány nebo micely.⁴⁰

2.6. Měření $\text{Log}K_{SC/W}$

Pro tento koeficient (jako je u $\text{Log}P$) není vybudovaný vhodný software k přímému výpočtu, jelikož je SC heterogenní membrána obsahující různé množství lipidů lišících se podle umístění na těle.¹⁸

Experimentální měření rozdělovacího koeficientu stratum corneum/voda je složité a vykonává se *in vitro*. Měření a analýza $K_{SC/W}$ se provádí s očištěnými vzorky vrstvy SC, které jsou získány od vhodných dárců. Principem je, že po inkubační době 24 hodin se jednotlivé vrstvičky separují pipetkami. Tímto se získá čistý vzorek SC, který se analyzuje dále. Měření rozdělovacího koeficientu se provádí po nanesení rozpuštěné látky pomocí speciálních náplastí.⁴²

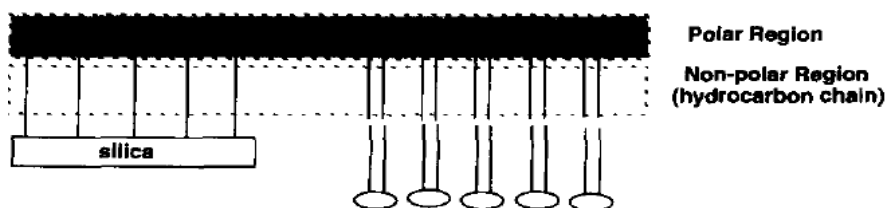
2.7. Měření $\text{Log}K_{\text{LIP/W}}$

IAM chromatografie a potenciometrická titrace jsou přímé metody a jedny z nejužívanějších k měření rozdělovacího koeficientu liposom/voda. COSMOmic dovoluje počítat heterogenní membrány, proto je používán k predikci $K_{\text{LIP/W}}$.

2.7.1. IAM chromatografie

ODS chromatografie (oktadecyl křemičitý) s reverzní fází (RP) se využívá pro stanovení rozdělovacího koeficientu oktanol/voda, protože stacionární fáze oktadekan zahrnuje pouze uhlovodíkový řetězec. To je důvodem, proč se začala využívat metoda IAM chromatografie (Immobilized artificial membrane) neboli chromatografie uměle zakotvené membrány na reverzní fázi.^{28,43} Pomocí ní jsme schopni měřit hodnoty $K_{\text{LIP/W}}$.

Povrch kolony je tvořen nosičem - oxidem křemičitým, na který jsou kovalentně vázány membránové fosfolipidy (například fosfatidylcholin [PC]) a tím napodobují povrch biologické buněčné membrány (Obrázek 9). Celý tento systém tvoří nepolární stacionární fázi.²⁶ Mobilní fáze je polární. Tato metoda je založena na vysokoúčinné kapalně chromatografii a její výhodou je rychlost stanovení a vysoká reprodukovatelnost a přesnost.^{16,44}



Obrázek 9 – Porovnání uspořádání chromatografické fáze IAM (levá strana) a DMPC dvojvrstvy jako modelu buněčné membrány (vpravo). Převzato z Ref.⁴⁴.

2.7.2. Potenciometrická titrace

Měření pomocí metody potenciometrické titrace je vhodné pouze pro ionizované látky. Používá se pro získání experimentální hodnoty $K_{LIP/W}$. Látka ve vodném roztoku se titruje kyselinou nebo zásadou, čímž se odvodí disociační konstanta pK_a . Titrace se opakuje, liposomová suspenze se titruje kyselinou nebo zásadou, čímž se odvodí druhá disociační konstanta pK_a . Konstantami pK_a se následně odvodí $\text{Log}P$. Spodní hranice pH titrace je 3,5 a horní 10,5.^{22,24}

2.7.3. Rovnovážná dialýza

Rovnovážná dialýza je obecně membránová separace, rozdělující dvě fáze polopropustnou membránou. V této separaci se oddělí liposomová suspenze a voda semipermeabilní membránou (například membrána vyrobená z celulózy), která umožňuje průchod látky, ale zadržuje liposomy. Rozpuštěná látka se přidává k liposomové suspenzi. Tato dialýza se vyhodnocuje pod různými teplotami. Přítomnost rozpuštěných látek se pak indikuje UV spektrometrií ve vodě a podle množství přidaného do analytického systému se stanoví poměr koncentrací a tedy i rozdělovací koeficienty do jednotlivých prostředí.^{22,24}

3. METODY

3.1. Použité počítačové programy a koeficienty

V experimentální části byly porovnávány experimentální a predikované hodnoty $\text{Log}P$. Predikované hodnoty $\text{Log}K_{\text{SC/W}}$ a $\text{Log}K_{\text{LIP/W}}$ byly porovnávány s experimentálními hodnotami $\text{Log}P$.

Predikované hodnoty $\text{Log}P$ byly získány z počítačových programů ALogP, KOWWIN, ACD/LogP, miLogP, XLogP3 a COSMOtherm. Pomocí online databází – PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), ChemSpider (<http://www.chemspider.com/>) – byly převzaty hodnoty ACD/LogP, KOWWIN, XLogP3. Hodnoty ALogP byly vypočítány z webové stránky <http://www.vcclab.org/web/alogps/> a miLogP z <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>. Sloučeniny byly do programů zadávány pomocí zkráceného 1D strukturního SMILE zápisu. Predikované COSMOtherm hodnoty $\text{Log}P$ byly počítány pomocí programu COSMOthermX.

Experimentální hodnoty $\text{Log}P$ byly převzaty z práce Hansche Ref. ⁴⁵. Tyto hodnoty byly v rozmezí -1,38 do + 6,91. Experimentální hodnoty $\text{Log}K_{\text{SC/W}}$ byly převzaty z Ref. ¹⁴. Tyto hodnoty byly v rozmezí -0,061 do 1,98. Experimentální hodnoty $\text{Log}K_{\text{LIP/W}}$ byly převzaty z Ref. ²⁵ a byly v rozmezí -0,36 do 4,71.

Predikované hodnoty $\text{Log}K_{\text{SC/W}}$ a $\text{Log}K_{\text{LIP/W}}$ byly získány pomocí programu COSMOmic. Jako liposom byl zvolen fosfatidylcholin DOPC.

3.2. Ovládání programu COSMOtherm

Sloučeniny analyzované programem COSMOtherm byly získány z interní databáze na TZVP úrovni anebo vložením nové struktury.

V TZVP databázi (přesněji na BP/TZVP úrovni) jsou sloučeniny popsány svým názvem, nábojem, konfigurací, CAS číslem, molekulovou hmotností, vzorcem a SMILE kódem. Nové molekuly se do TZVP databáze nahrávají pomocí SMILE nebo CAS čísla.

Pomocí panelu QM Calculations v COSMOthermX jsou vložené látky převedeny do souboru cosmo (soubor obsahující souřadnice molekuly a potenciál σ napočítaný na mřížce kolem molekuly). V panelu QM se vybírá *typ metody* (plynná fáze, cosmo, cosmo + plynná fáze), *úroveň výpočtů* (SVP, TZVP nebo TZVP – FINE) a *typ výstupního souboru* (cosmo).

S vybranou sloučeninou se pracuje dál v panelu Property. Při výpočtu $\text{Log}K_{O/W}$ se v panelu vybírá možnost log P / log D, která počítá rozdělovací a distribuční koeficienty vybraných sloučenin, následně se nastavují vhodné podmínky k výpočtu. Nastavené vlastnosti jsou převedeny tlačítkem ADD do sekce Property sections a výpočet se spouští tlačítkem RUN. Vypočtené výsledky se zobrazují v souborech table a output.

V této práci byly zadávány parametry: *metoda* – plynná fáze + cosmo, *úroveň* – TZVP, *výstupní soubor* – cosmo. Nastavené vlastnosti: 25°C, logP, fáze – voda a mokrá oktanol.

3.3. Ovládání programu COSMOmic

Program COSMOmic dovoluje počítat rozdělovací koeficienty pro membrány, proto byl v této práci použit pro výpočet $\text{Log}K_{SC/W}$ a $\text{Log}K_{LIP/W}$.

Sloučeniny byly do COSMOmic přidávány pomocí programu TmoleX 4.1., vkládány pomocí SMILE kódu. Pomocí příkazu wizard_calculations se sloučeniny generují do cosmo souboru.

Byl použit model podobný lipidové části SC, složen z ceramidů [nS24], kyseliny lignocerové (C₂₄H₄₈O₂) a cholesterolu. V COSMOmic se vybere model fáze, v tomto případě SC-mix. Molekuly k výpočtu $\text{Log}K_{SC/W}$ se zadávají podle příkazu vi solute.dat, příkazem Cosmo_distrib_mix.sh se spouští výpočet. Příkazem Run.sh + cat Distribution.xvg se výsledek zobrazí v tabulce pod hodnotou $\text{Log}K_{COSMO}$.

Jako model liposomu byl vybrán DOPC. COSMOmic počítá rozdělovací koeficient pro látku, která prochází lipidovou částí liposomu. Molekuly k výpočtu $\text{Log}K_{DOPC/W}$ se zadávají podle příkazu vi solute.dat, příkazem Cosmo_distrib.sh se spouští výpočet.

3.4. Zpracování hodnot

Srovnání experimentálních a predikovaných rozdělovacích koeficientů bylo provedeno pomocí lineárně korelační závislosti a následnou vypočítanou regresní rovnicí, která má tvar

$$y=kx + q, \quad (14)$$

kde k je směrnice rovnice, q je absolutní člen, y je závisle proměnná, x je nezávisle proměnná. Korelační koeficient R vyjadřuje míru linearity. Rovná-li se korelační koeficient jedné, jedná se o lineární závislosti, je-li korelační koeficient nulový, jedná se o lineární nezávislost. Koeficient determinace R^2 je druhou mocninou korelačního koeficientu v rozsahu $\langle 0,1 \rangle$. Jeho hodnota měří velikost lineární vztahu mezi veličinou x a y . Udává změnu hodnoty y při změně x .⁴⁶

Veškeré výpočty regresních rovnic byly provedeny pomocí kancelářského softwaru Excel. Hodnoty rozdělovacích koeficientů se vyhodnocovaly v XY grafech. Zvolena byla lineární spojnice trendu, s ní i výsledná rovnice grafu.

4. VÝSLEDKY

4.1. Predikce LogP

Nejprve jsme vyzkoušeli predikci LogP pomocí dostupných metod – převážně metod QSAR a také COSMOtherm. Predikované rozdělovací koeficienty byly vyneseny do grafů (Graf 1) oproti hodnotám experimentálních LogP z Ref. ⁴⁵. V tabulce 3 jsou uvedeny jednotlivé hodnoty rovnice lineární regrese jednotlivých predikčních metod pro výpočet LogP pro neutrální molekuly. Nejlépe vychází výpočty metodami KOWWIN, XLogP3, ACD/LogP a miLogP s Pearsonovskými koeficienty determinance přes 0,97. Těsně v závěsu je pak metoda ALogP a metoda COSMOtherm s koeficienty determinance přes 0,9. KOWWIN a ACD/LogP ukazují také nejlepší postihnutí trendu LogP, kdy se směrnice regresní přímky blíží hodnotě 1.

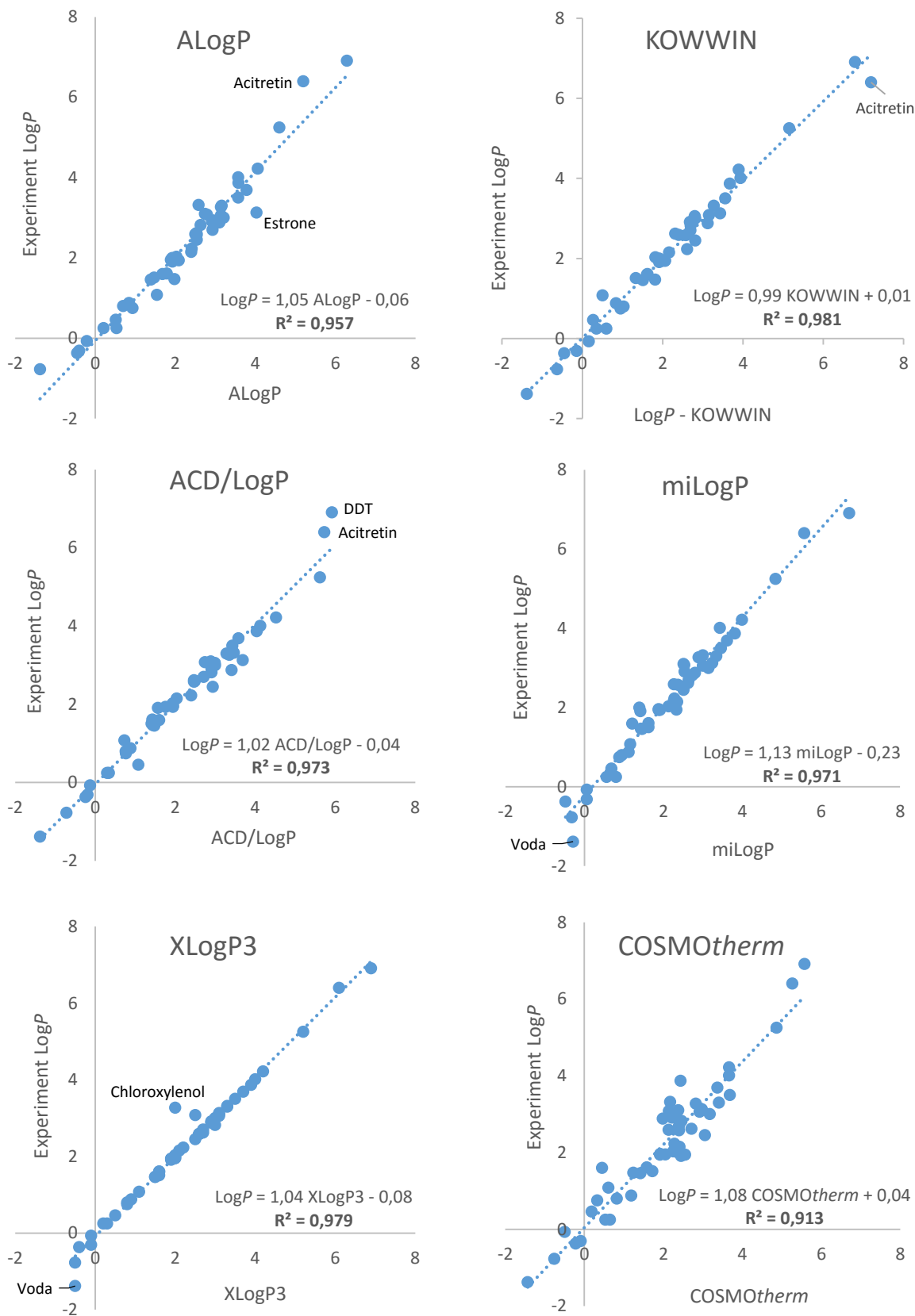
Tabulka 3 - Porovnání regresních rovnic jednotlivých metod

Metoda	<i>k</i>	<i>q</i>	R ²	δLogP
ALogP ^a	1,05	-0,06	0,957	0,22
KOWWIN ^b	0,99	0,01	0,982	0,18
ACD/LogP	1,02	-0,04	0,973	0,17
miLogP	1,13	-0,23	0,971	0,22
XLogP3	1,04	-0,08	0,979	0,11
COSMOtherm	1,08	0,04	0,913	0,38

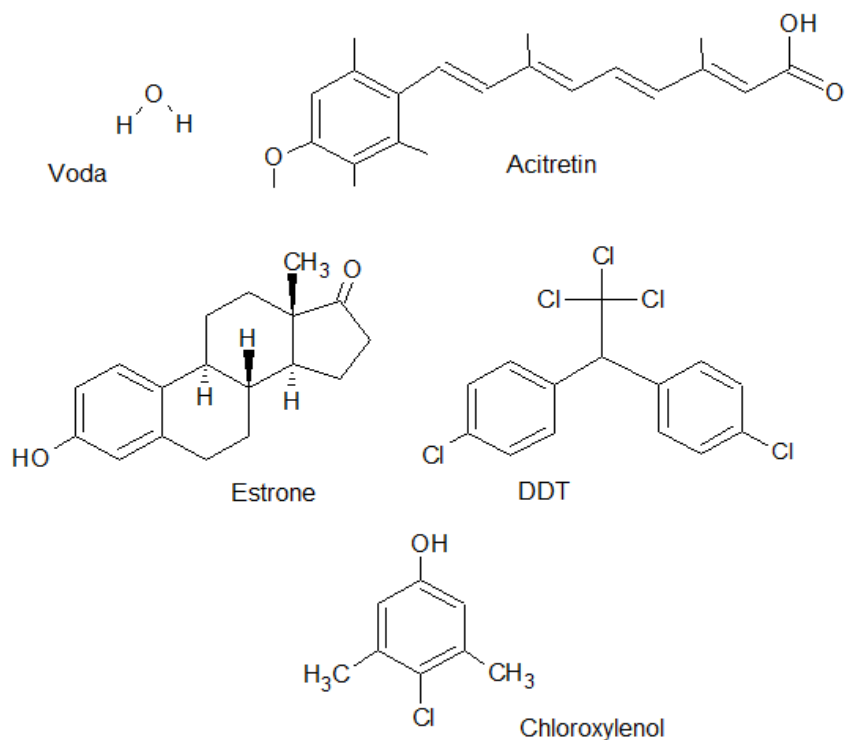
^a pro vodu nebyl vypočítán LogK_{o/w}, ^b pro sloučeniny m - cresol, chlorocresol, chloroxylenol, thymol a 2,4,6 - trichlorophenol nebyly nalezeny hodnoty KOWWIN

Metoda XLogP3 vítězí nad metodou KOWWIN jak v pokrytí dat, tak také průměrnou absolutní odchylkou, podle které se dá říct, že hodnota LogP predikovaná touto metodou má přesnost ± 0,11 log jednotek. Na druhou stranu, metoda COSMOtherm ukazuje největší rozptyl hodnot LogP s nejhůrší přesností ± 0,38 log jednotek, ale oproti QSAR metodám je COSMOtherm univerzálnější, neboť umožňuje počítat nejen LogP, ale také další veličiny (např. pK_a, LogD, Henryho konstanty, aj.).

Graf 1 – Srovnání metod predikce



Ukazuje se tedy, že metody QSAR jsou schopny velmi dobré predikce rozdělovacího koeficientu $\text{Log}P$ kromě případů molekul: voda, acitretin, estrone, DDT, chloroxylenol (Obrázek 10). KOWWIN hodnoty pro m-cresol, chlorocresol, chloroxylenol, thymol a 2,4,6-trichlorophenol nebyly nalezeny, hodnoty ALogP nebyly nalezeny pro vodu.



Obrázek 10 – Struktury nejvíce problematických sloučenin v predikcích $\text{Log}P$.

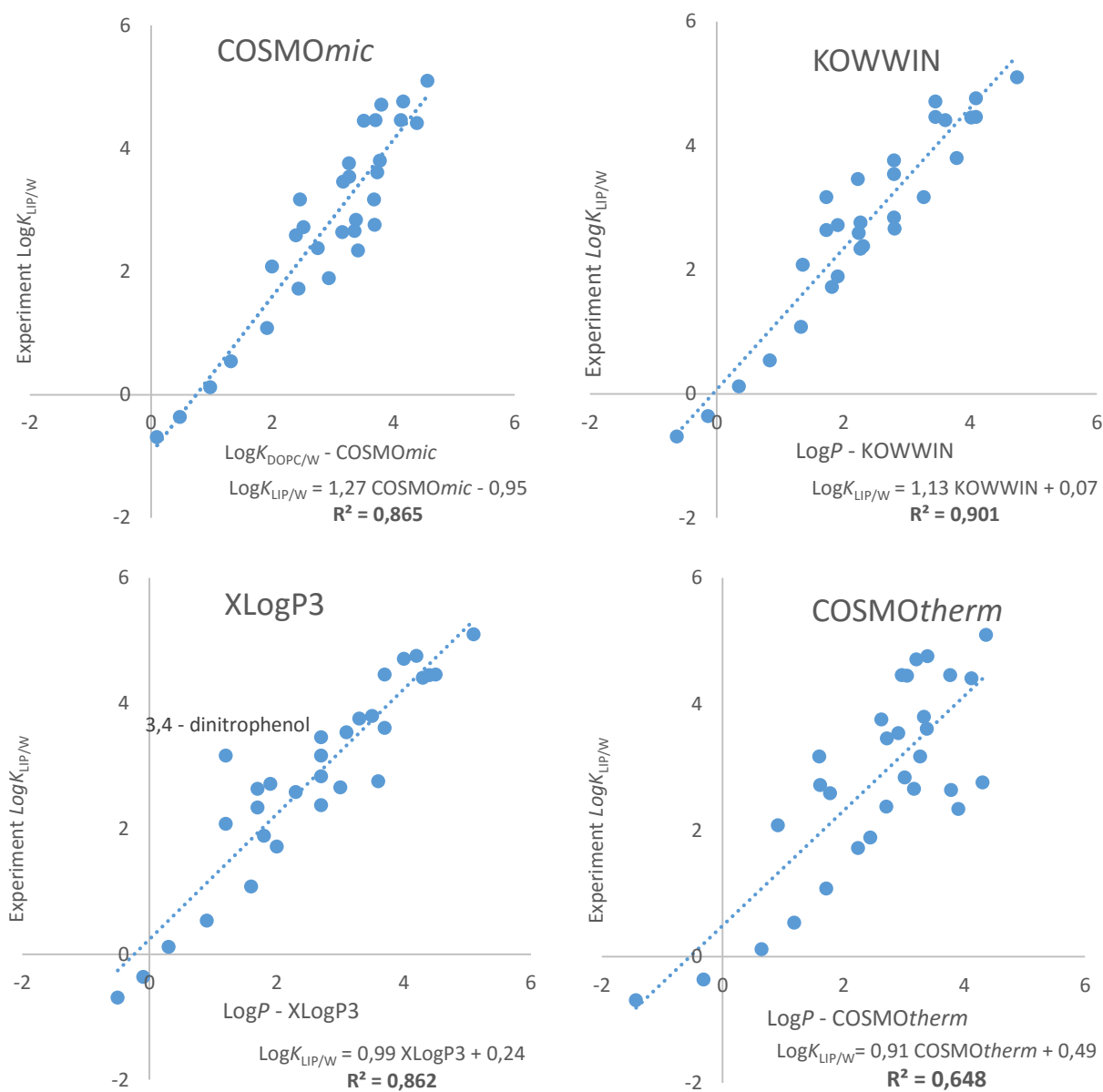
Voda se od regresní přímky odchyluje ve většině případů. Jelikož programy k predikci $\text{Log}P$ jsou většinou testovány na složitější organické struktury, může být problémem vody její unikátnost v tom, že patří mezi velmi malé a běžné molekuly. Acitretin byl také z většiny případů naměřen s velkou odchylkou, přičemž zde může být příčinou nenasycenost lineárního řetězce. V případě chloroxylenolu a DDT může být velká odchylka způsobena přítomnou aromatickou a halogenovou skupinou. Dalším důvodem může být, že experimentální hodnota u chloroxylenolu byla jako jediná hodnota použitá z Ref. ⁴⁷. Estrone obsahuje čtyři cykly, přičemž jeden je na rozdíl od většiny steroidních látek aromatický.

Metody výpočtu $\text{Log}P$ tedy selhávají pro sloučeniny, které jsou strukturně komplikované, ve své struktuře obsahují aromatické či halogenové skupiny. Speciální výjimkou je voda.

4.2. Predikce $\text{Log}K_{\text{DOPC}/\text{W}}$

K predikci $\text{Log}K_{\text{DOPC}/\text{W}}$ jsme použili dva rozdílné přístupy. Prvním přístupem byl výpočet $\text{Log}K_{\text{DOPC}/\text{W}}$ pomocí metody *COSMOmic* na připravené DOPC dvojvrstvě. Druhým přístupem pak bylo využití hodnot $\text{Log}P$ získaných pomocí zástupců metod z předchozí kapitoly – KOWWIN, XLogP3 a *COSMOtherm* pro porovnání citlivosti predikce $\text{Log}K_{\text{DOPC}/\text{W}}$ na kvalitě predikce $\text{Log}P$ (tabulka 4, graf 2).

Graf 2 – Predikce $\text{Log}K_{\text{DOPC}/\text{W}}$



Tabulka 4 – Výsledné hodnoty lineární regrese pro predikci $\text{Log}K_{\text{DOPC/W}}$ jednotlivými metodami. $\text{Log}K_{\text{DOPC/W}}$ byly převzaty z experimentálních rozdělovacích hodnot pro fosfolipidické liposomy ($K_{\text{LIP/W}}$) z Ref. ²⁵

Metoda	<i>k</i>	<i>q</i>	R ²	δLogK
COSMOmic	1,27	-0,95	0,865	0,45
KOWWIN ^a	1,13	0,07	0,901	0,48
XLogP3	0,99	0,24	0,862	0,43
COSMOtherm	0,91	0,49	0,648	0,76

^a pro sloučeninu 2,4,6 - trichlorophenol nebyla nalezena hodnota KOWWIN

Ukázalo se, že nejlepším programem k predikci $\text{Log}K_{\text{DOPC/W}}$ je využití $\text{Log}P$ získaný metodami KOWWIN, případně COSMOmic a XLogP3, které mají Pearsonův koeficient determinance 0,901, 0,865 a 0,862, respektive. Jelikož u metody KOWWIN chybí rozdělovací koeficient pro sloučeninu 2,4,6 – trichlorophenol, může to být důvodem, že korelace u metody KOWWIN je lepší než pro COSMOmic a XLogP3.

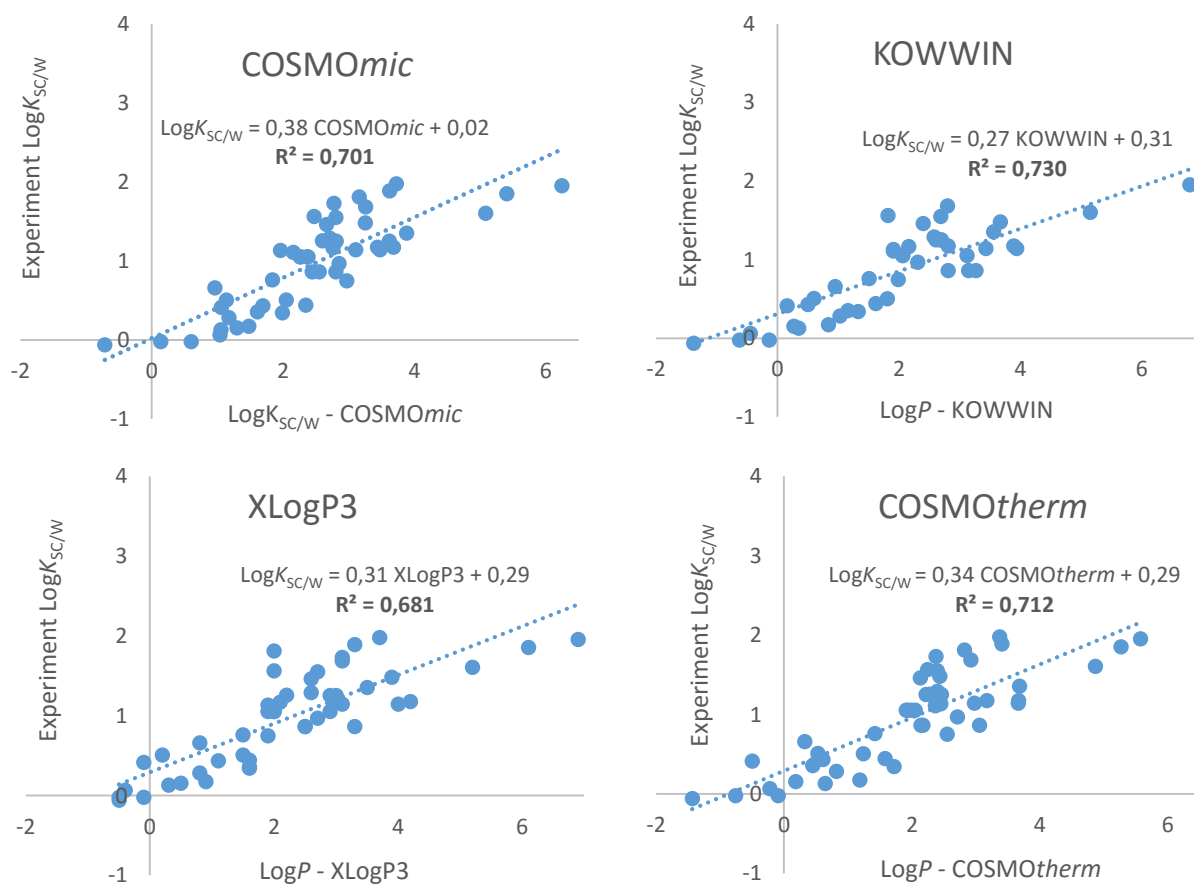
Průměrné odchylky pro predikci $\text{Log}K_{\text{DOPC/W}}$ byly mezi metodami COSMOmic, KOWWIN a XLogP3 skoro stejné – kolem $\pm 0,45$ log jednotek, zatímco odchylka pro COSMOtherm byla výrazně vyšší $\pm 0,76$ log jednotek. Metoda XLogP3 vykazuje jeden velmi odchylný bod, kterým je 3,4 – dinitrophenol. Tato značná odchylka může být dána přítomností dvou nitro skupin v molekule.

U metody COSMOtherm se ukázalo, jak moc je nepřesné stanovení $\text{Log}P$ problémem pro následné odvozování vztahů pro $\text{Log}K_{\text{DOPC/W}}$, kdy tato metoda měla Pearsonův koeficient determinance jen 0,648 a největší odchylku. A to i přesto, že koeficienty determinance se pro stanovení $\text{Log}P$ mezi metodami příliš nelišily a byly všechny větší než 0,9. I přes tuto nepřilíš povedenou ukázkou predikce se metoda COSMOmic naopak ukázala relativně schopnou, kdy její Pearsonův koeficient determinance je 0,865. Přidáním strukturní informace do metody COSMOtherm jsme tedy byli schopni do značné míry dohnat ztrátu na QSAR metody.

4.3. Predikce $\text{Log}K_{\text{SC}/\text{W}}$

K predikci $\text{Log}K_{\text{SC}/\text{W}}$ jsme použili také dva rozdílné přístupy. Prvním přístupem byl výpočet $\text{Log}K_{\text{SC}/\text{W}}$ pomocí metody *COSMOmic* na připraveném lipidovém modelu SC, složeného z ekvimolární směsi ceramidů, kyseliny lignocerové a cholesterolu. Druhým přístupem pak bylo opět využití predikovaných hodnot $\text{Log}P$ získaných metodami KOWWIN, XLogP3 a *COSMOtherm* jako v předchozí kapitole.

Grafy 3 – Predikce $\text{Log}K_{\text{SC}/\text{W}}$



Tabulka 5 – Výsledné hodnoty lineární regrese pro predikci $\text{Log}K_{\text{SC/W}}$ jednotlivými metodami. Experimentální hodnoty $\text{Log}K_{\text{SC/W}}$ byly převzaty z Ref. ¹⁴

Metoda	<i>k</i>	<i>q</i>	R²	δLogK
COSMOmic	0,38	0,02	0,701	0,28
KOWWIN ^a	0,27	0,31	0,730	0,24
XLogP3	0,31	0,29	0,681	0,27
COSMOtherm	0,34	0,29	0,712	0,26

^a pro sloučeniny *m* - cresol, chlorocresol, chloroxylenol, thymol a 2,4,6 - trichlorophenol nebyly nalezeny hodnoty KOWWIN

Nejvýhodnějším programem k predikci $\text{Log}K_{\text{SC/W}}$ je metoda KOWWIN, vykazující koeficient determinace 0,73, je tedy nejlineárnější korelací z použitých metod. Tento výsledek ale může být zapříčiněn tím, že nebyly započítány do regrese sloučeniny *m*-cresol, chlorocresol, chloroxylenol, thymol a 2,4,6 – trichlorophenol, jelikož pro tyto sloučeniny nebyly nalezeny hodnoty KOWWIN. Za metodou KOWWIN, je s koeficientem determinace 0,712 program COSMOtherm. Tyto dva programy se svými výsledky přibližují k determinaci 0,701 získané predikcí $\text{Log}K_{\text{SC/W}}$ programem COSMOmic proti experimentálním hodnotám. Méně vhodným je potom program XLogP3 s koeficientem determinace 0,681. Všechny programy pak mají velmi podobnou chybu predikce kolem $\pm 0,25$ log jednotek.

Zajímavé je, že ve srovnání mezi COSMOtherm a COSMOmic vychází na těchto datech COSMOtherm mírně lépe, ale vzhledem k tomu, jak těsný je rozdíl a jak malý rozsah hodnoty $\text{Log}K_{\text{SC/W}}$ mají tak je skoro neznatelný.

5. ZÁVĚR

Predikce $\text{Log}P$ se nejlépe daří metodám QSAR, přesněji řečeno metodám KOWWIN a XLogP3, přičemž hodnoty koeficientu determinace se u všech metod pohybovaly v rozmezí 0,91 – 0,98. Nejmenší hodnoty determinačního koeficientu 0,912 vykazuje program COSMOtherm. Tudíž lze usoudit, že nejvhodnějším programem pro predikci obecné hydrofobicity jsou programy KOWWIN a XLogP3 pracující na metodě sčítání příspěvků pro předem připravené fragmenty, přičemž průměrné odchylky pro jimi napočítané hodnoty $\text{Log}P$ se dají očekávat v rozmezí $\pm 0,11$ ev. 0,18 log jednotek. Tyto metody se v práci dále používaly pro predikci $\text{Log}K_{\text{DOPC/W}}$ a $\text{Log}K_{\text{SC/W}}$.

Predikce $\text{Log}K_{\text{DOPC/W}}$ se nejlépe dařila pomocí lineární regrese s hodnotami $\text{Log}P$ predikovanými QSAR metodami KOWWIN a XLogP3. Naopak zcela selhala lineární regrese s pomocí hodnot $\text{Log}P$ predikovaných pomocí metody COSMOtherm, což poukazuje na velkou citlivost na kvalitu použitých hodnot $\text{Log}P$. Nicméně doplnění strukturních informací o membráně pak metodě COSMOmic umožnilo opět relativně rozumnou predikci rozdělovacích koeficientů do liposomů $\text{Log}K_{\text{DOPC/W}}$. Hodnoty $\text{Log}K_{\text{DOPC/W}}$ lze zkoumanými metodami predikovat s menší přesností (kolem $\pm 0,45$ log jednotek) než pro hodnoty $\text{Log}P$.

Predikce $\text{Log}K_{\text{SC/W}}$ se dařila všem použitým metodám skoro stejně, přičemž překvapivě poslední skončila do té doby nejlepší metoda XLogP3. Hodnoty determinačního koeficientu se pohybovaly v rozmezí 0,681 až 0,730. Predikce $\text{Log}K_{\text{SC/W}}$ se zhruba stejně dařila programy KOWWIN, COSMOtherm a COSMOmic. Hodnoty $\text{Log}K_{\text{SC/W}}$ lze zkoumanými metodami predikovat s menší přesností (kolem $\pm 0,25$ log jednotek) než pro hodnoty $\text{Log}P$, ale kvůli menšímu rozmezí hodnot jde o relativně větší chybu, než u $\text{Log}K_{\text{DOPC/W}}$.

Na základě porovnání hodnot predikce $\text{Log}P$, $\text{Log}K_{\text{DOPC/W}}$, $\text{Log}K_{\text{SC/W}}$ jsme posoudili, že nejvhodnějšími programy pro výpočet rozdělovacích koeficientů $\text{Log}P$ jsou specializované QSAR metody, které počítají na principu sčítání příspěvku funkčních skupin (KOWWIN, XLogP3). Pro výpočet rozdělovacích koeficientů do liposomů a strata cornea nejsou tak obsáhlé experimentální hodnoty jako pro výpočty rozdělovacích koeficientů do oktanolu a program COSMOmic je v takových podmínkách podobně přesný jako metody založené na QSAR pro $\text{Log}P$.

6. SUMMARY

$\text{Log}P$ prediction is the best with QSAR methods KOWWIN and XLogP3, whereas Pearson's coefficient of determination of all methods is in the range from 0.91 to 0.98. The smallest value of the coefficient of determination 0.912 has program COSMO*therm*. Thus it can be concluded that the most appropriate programs for predicting hydrophobicity are programs KOWWIN and XLogP3 working on a method counting the contributions of fragments. $\text{Log}P$ values can be predicted with those methods within ± 0.11 or 0.18 log units. These methods were further used for prediction of $\text{Log}K_{\text{DOPC/W}}$ and $\text{Log}K_{\text{SC/W}}$.

$\text{Log}K_{\text{DOPC/W}}$ prediction was the best again with linear regression of the $\text{Log}P$ values predicted by QSAR methods KOWWIN and XLogP3. On the other hand, COSMO*therm* failed completely indicating a high sensitivity on the quality of used $\text{Log}P$ values. However, supplementation of structural information about the membrane with COSMO*mic* method enabled again relatively reasonable prediction of partition coefficients in liposomes. $\text{Log}K_{\text{DOPC/W}}$ values can be predicted within ± 0.45 log units.

$\text{Log}K_{\text{SC/W}}$ prediction was relatively the same with all methods used, while XLogP3 method showed the worst performance. Values of coefficient of determination ranged from 0.681 to 0.730, while the predictions of $\text{Log}K_{\text{SC/W}}$ was relatively similar with programs KOWWIN, COSMO*therm* and COSMO*mic*. $\text{Log}K_{\text{SC/W}}$ values can be predicted within ± 0.25 log units, but this error is relatively larger than in the case of $\text{Log}K_{\text{DOPC/W}}$.

The most suitable programs for calculating the partition coefficients $\text{Log}P$ are QSAR methods which works on the principle of counting atomic contributions (KOWWIN, XLogP3). COSMO*mic* program shows similar performance to QSAR methods when predicting partition coefficients into liposomes and stratum corneum as there are not such extensive experimental datasets as for the calculation of partition coefficients into octanol.

7. POUŽITÁ LITERATURA

- (1) Tobin, D. J. Biochemistry of Human Skin—our Brain on the Outside. *Chem. Soc. Rev.* **2005**, 35 (1), 52–67.
- (2) Van Smeden, J.; Janssens, M.; Gooris, G. S.; Bouwstra, J. A. The Important Role of Stratum Corneum Lipids for the Cutaneous Barrier Function. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids* **2014**, 1841 (3), 295–313.
- (3) Menon, G. K. New Insights into Skin Structure: Scratching the Surface. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2002**, 54, 3–17.
- (4) Bouwstra, J. A.; Honeywell-Nguyen, P. L.; Gooris, G. S.; Ponc, M. Structure of the Skin Barrier and Its Modulation by Vesicular Formulations. *Prog. Lipid Res.* **2003**, 42 (1), 1–36.
- (5) Sahle, F. F.; Gebre-Mariam, T.; Dobner, B.; Wohlrab, J.; Neubert, R. H. H. Skin Diseases Associated with the Depletion of Stratum Corneum Lipids and Stratum Corneum Lipid Substitution Therapy. *Skin Pharmacol. Physiol.* **2015**, 28 (1), 42–55.
- (6) Wertz, P. W. Lipids and Barrier Function of the Skin. *Acta Dermato-Venereologica, Suppl.* **1999**, No. 208, 7–11.
- (7) Ishikawa, J.; Shimotoyodome, Y.; Ito, S.; Miyauchi, Y.; Fujimura, T.; Kitahara, T.; Hase, T. Variations in the Ceramide Profile in Different Seasons and Regions of the Body Contribute to Stratum Corneum Functions. *Arch. Dermatol. Res.* **2013**, 305 (2), 151–162.
- (8) Paz Ramos, A.; Lafleur, M. The Chain Length of Free Fatty Acids Influences the Phase Behaviour of Stratum Corneum Model Membranes. *Langmuir* **2015**, 31, 11621–11629.
- (9) Avanti Polar Lipids, Inc. <http://avantilipids.com/> (accessed Apr 1, 2016).
- (10) Klouda, P. *Biochemie Zblízka*, 1. ed.; Pavko: Ostrava, 2012.
- (11) EMBL-EBI. Chemical Entities of Biological Interest (ChEBI) <http://www.ebi.ac.uk/about> (accessed Apr 15, 2016).
- (12) Naik, A.; Kalia, Y. N.; Guy, R. H. Transdermal Drug Delivery: Overcoming the Skin's Barrier Function. *Pharm. Sci. Technol. Today* **2000**, 3 (9), 318–326.

- (13) Komárek, P.; Rabišková, M. *Technologie Léků*, 3. ed.; Galén: Praha, 2006.
- (14) Nitsche, J. M.; Wang, T. F.; Kasting, G. B. A Two-Phase Analysis of Solute Partitioning into the Stratum Corneum. *J. Pharm. Sci.* **2006**, *95* (3), 649–666.
- (15) Berthod, A.; Carda-Broch, S. Determination of Liquid-Liquid Partition Coefficients by Separation Methods. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1037* (1-2), 3–14.
- (16) Klouda, P. *Moderní Analytické Metody*, 2. ed.; Pavel Klouda: Ostrava, 2003.
- (17) Ramos, U.; Hamwijk, C.; Holsteijn, I. Van; Blaauboer, B. J.; Seinen, W.; Verhaar, H. J. M.; Hermens, J. L. M.; Wouter, V. Solid Phase Microextraction as a Tool To Determine Membrane / Water Partition Coefficients and Bioavailable Concentrations in in Vitro Systems. *Chem. Res. Toxicol* **1997**, *10* (ii), 1067–1072.
- (18) Wang, L.; Chen, L.; Lian, G.; Han, L. Determination of Partition and Binding Properties of Solutes to Stratum Corneum. *Int. J. Pharm.* **2010**, *398* (1-2), 114–122.
- (19) Poole, S. K.; Poole, C. F. Separation Methods for Estimating Octanol-Water Partition Coefficients. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2003**, *797* (1-2), 3–19.
- (20) Dearden, J. C. Partitioning and Lipophilicity in Quantitative Structure-Activity Relationships. *Environ. Health Perspect.* **1985**, *61* (9), 203–228.
- (21) GL.Patrick. *An Introduction to Medicinal Chemistry*, 5th ed.; Oxford University Press: Oxford, 2013.
- (22) Szoka, F.; Papahadjopoulos, D. Comparative Properties and Methods of Preparation of Lipid Vesicles (Liposomes). *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* **1980**, *9*, 467–508.
- (23) Golius, A.; Gorb, L.; Michalkova Scott, A.; Hill, F. C.; Shukla, M.; Goins, A. B.; Johnson, D. R.; Leszczynski, J. Experimental and Computational Study of Membrane Affinity for Selected Energetic Compounds. *Chemosphere* **2016**, *148*, 322–327.
- (24) Van Balen, G. P.; Martinet, C. A. M.; Caron, G.; Bouchard, G.; Reist, M.; Carrupt, P. M.; Fruttero, R.; Gasco, A.; Testa, B. Liposome/Water Lipophilicity: Methods, Information Content, and Pharmaceutical Applications. *Med. Res. Rev.* **2004**, *24* (3), 299–324.
- (25) Bittermann, K.; Klamt, A.; Spycher, S.; Endo, S. Prediction of Phospholipid – Water Partition Coefficients of Ionic Organic Chemicals Using the Mechanistic Model

- COSMOmic. *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118* (51), 14833–14842.
- (26) Rutkowska, E.; Pajak, K.; Jozwiak, K. Lipophilicity - Methods of Determination and Its Role in Medicinal Chemistry. *Acta Pol. Pharm. - Drug Res.* **2013**, *70* (1), 3–18.
- (27) Andrés, A.; Rosés, M.; Ràfols, C.; Bosch, E.; Espinosa, S.; Segarra, V.; Huerta, J. M. Setup and Validation of Shake-Flask Procedures for the Determination of Partition Coefficients (Log D) from Low Drug Amounts. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2015**, *76*, 181–191.
- (28) Kuchař, M. *Výzkum a Vývoj Léčiv*, 1. ed.; VŠCHT Praha: Praha, 2008.
- (29) Hampl, F.; Rádl, S.; Paleček, J. *Farmakochemie*, 3. ed.; VŠCHT Praha: Praha, 2015.
- (30) Tehrany, E. A.; Fournier, F.; Desobry, S. Simple Method to Calculate Octanol-Water Partition Coefficient of Organic Compounds. *J. Food Eng.* **2004**, *64* (3), 315–320.
- (31) Estrada-Tejedor, R.; Sabaté, N.; Broto, F.; Nonell, S. Octanol-Water Partition Coefficients of Highly Hydrophobic Photodynamic Therapy Drugs: A Computational Study. *Afinidad* **2013**, *70* (564), 250–256.
- (32) Pyka, A.; Babuška, M.; Zachariasz, M. A Comparison of Theoretical Methods of Calculation of Partition Coefficients for Selected Drugs. *Acta Pol. Pharm.* **2006**, *63* (3), 159–167.
- (33) EPI Suite™-Estimation Program Interfac <https://www.epa.gov/tsca-screening-tools/epi-suitetm-estimation-program-interface> (accessed Apr 25, 2016).
- (34) Mannhold, R.; Petrauskas, a. Substructure versus Whole-Molecule Approaches for Calculating Log P. *QSAR Comb. Sci.* **2003**, *22* (4), 466–475.
- (35) Advanced Chemistry Development. ACD/LogP <http://www.acdlabs.com/> (accessed Apr 26, 2016).
- (36) Petrauskas, A. A.; Kolovanov, E. A. ACD / Log P Method Description. *Perspect. Drug Discov. Des.* **2000**, *19* (1), 99–116.
- (37) Pomona College. Daylight Chemical Information Systems, Inc. <http://www.daylight.com/> (accessed Mar 16, 2016).
- (38) Molinspiration Cheminformatics. molinspiration <http://www.molinspiration.com/> (accessed Mar 17, 2016).

- (39) Cheng, T.; Zhao, Y.; Li, X.; Lin, F.; Xu, Y.; Zhang, X.; Li, Y.; Wang, R.; Lai, L. Computation of Octanol–Water Partition Coefficients by Guiding an Additive Model with Knowledge. *J. Chem. Inf. Model.* **2007**, *47* (6), 2140–2148.
- (40) COSMOlogic GmbH & Co. KG. COSMOlogic Predicting Solutions <http://www.cosmologic.de/> (accessed Mar 18, 2016).
- (41) COSMOlogic GmbH & Co. KG. *COSMOtherm Users Manual*; Leverkusen, Germany, 2012.
- (42) Wagner, H.; Kostka, K. H.; Lehr, C. M.; Schaefer, U. F. Correlation between Stratum Corneum/water-Partition Coefficient and Amounts of Flufenamic Acid Penetrated into the Stratum Corneum. *J. Pharm. Sci.* **2002**, *91* (8), 1915–1921.
- (43) Pidgeon, C.; Ong, S.; Liu, H.; Qiu, X.; Pidgeon, M.; Dantzig, a H.; Munroe, J.; Hornback, W. J.; Kasher, J. S.; Glunz, L. IAM Chromatography: An in Vitro Screen for Predicting Drug Membrane Permeability. *J. Med. Chem.* **1995**, *38* (4), 590–594.
- (44) Ong, S.; Liu, H.; Pidgeon, C. Immobilized-Artificial-Membrane Chromatography: Measurements of Membrane Partition Coefficient and Predicting Drug Membrane Permeability. *J. Chromatogr. A* **1996**, *728* (1-2), 113–128.
- (45) Hansch, C., Leo, A., Hoekman, D. Exploring QSAR - Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants. Washington. *Am. Chem. Soc.* **1995**, *39*.
- (46) Kotouček, M.; Skopalová, J.; Adamovský, P. Multimediální učebnice “Příklady z analytické chemie” <http://ach.upol.cz/ucebnice/>.
- (47) Sangster, J. Octanol-Water Partition Coefficients of Simple Organic Compounds. *J. Phys. Chem. Ref. Data* **1989**, *18* (3), 1111–1229.

Seznam zkratk

$K_{COR/W}$	Rozdělovací koeficient korneocyt/voda
$K_{LIP/W}$	Rozdělovací koeficient liposom/voda
$K_{LM/W}$	Rozdělovací koeficient matice lipidu/voda ve Stratum Corneum
$K_{O/W}$	Rozdělovací koeficient oktanol/voda
$K_{SC/W}$	Rozdělovací koeficient Stratum Corneum/voda
$\text{Log}P$	Logaritmus rozdělovacího koeficientu oktanol/voda
$PC_{SC/W}$	Permeabilitní koeficient Stratum Corneum/voda
SC	Stratum Corneum

8. PŘÍLOHY

Tabulka 8 – Predikované a experimentální hodnoty Log*P* a Log*K*_{SC/W}

Sloučeniny	CAS	Exp. Log <i>P</i> Ref. ⁴⁵	Log <i>P</i> ALog <i>P</i>	Log <i>P</i> KOWWIN	Log <i>P</i> ACD/Log <i>P</i>	Log <i>P</i> miLog	Log <i>P</i> XLog <i>P</i> 3	Log <i>P</i> COSMOtherm	Exp. Log <i>K</i> _{SC/W} Ref. ¹⁴	Log <i>K</i> _{SC/W} COSMOmic
Voda	7732-18-5	-1,38		-1,38	-1,38	-0,29	-0,50	-1,43	-0,06	-0,71
Methanol	67-56-1	-0,77	-1,38	-0,63	-0,72	-0,32	-0,50	-0,76	-0,02	0,14
Ethanol	64-17-5	-0,31	-0,40	-0,14	-0,19	0,06	-0,11	-0,09	-0,02	0,60
Propanol	71-23-8	0,25	0,21	0,35	0,34	0,56	0,30	0,64	0,13	1,06
Butanol	71-36-3	0,88	0,84	0,84	0,88	1,12	0,90	1,18	0,17	1,48
Pentanol	71-41-0	1,51	1,47	1,33	1,41	1,62	1,60	1,72	0,34	1,99
Hexanol	111-27-3	2,03	2,03	1,82	1,94	2,13	2,00	2,25	1,56	2,48
Heptanol	111-70-6	2,62	2,53	2,31	2,47	2,63	2,70	2,72	0,97	2,85
Octanol	111-87-5	3,00	3,21	2,81	3,00	3,14	3,00	3,17	1,18	3,44
Progesterone	57-83-0	3,87	3,58	3,67	4,04	3,81	3,90	2,43	1,48	3,26
Pregnenolone	145-13-1	4,22	4,06	3,89	4,52	3,99	4,20	3,66	1,18	3,69
Cortexone	64-85-7	2,88	3,10	3,12	3,41	2,80	2,90	1,98	1,05	2,38
Testosterone	58-22-0	3,32	2,58	3,27	3,47	3,00	3,30	2,17	0,86	2,56
Cortisolone	152-58-9	3,08*	2,79	3,15	2,74	2,53	2,50	2,14	0,86	2,45
Corticosterone	50-22-6	1,94	2,09	1,99	1,76	1,88	1,90	2,55	0,75	2,97
Cortisone	53-06-5	1,47	1,98	1,81	1,44	1,43	1,50	1,24	0,51	2,05
Hydrocortisone	50-23-7	1,61	1,79	1,62	1,43	1,62	1,60	1,58	0,44	2,35
Aldosterone	52-39-1	1,08	1,54	0,5	0,73	1,16	1,10	0,61	0,43	1,70
Estrone	53-16-7	3,13	4,03	3,43	3,69	3,24	3,10	2,97	1,14	3,11
Estradiol	50-28-2	4,01	3,57	3,94	4,13	3,43	4,00	3,66	1,14	3,48
Estriol	50-27-1	2,45	2,54	2,81	2,94	2,51	2,50	3,05	0,86	2,80
Resorcinol	108-46-3	0,80	0,70	1,03	0,76	0,95	0,80	0,82	0,28	1,18
Phenol	108-95-2	1,46	1,39	1,51	1,48	1,46	1,50	1,42	0,76	1,84
<i>p</i> - cresol	106-44-5	1,94	1,95	2,06	1,94	1,91	1,90	1,91	1,05	2,27
<i>o</i> - cresol	95-48-7	1,95	1,89	2,06	1,94	2,33	2,00	2,05	1,05	2,37
<i>m</i> - cresol	108-39-4	1,96	1,93		1,94	1,88	2,00	1,92	1,05	2,26
<i>m</i> - nitrophenol	554-84-7	2,00	1,92	1,91	1,93	1,39	2,00	2,36	1,11	2,16
<i>p</i> - nitrophenol	100-02-7	1,91	1,93	1,91	1,57	1,42	1,90	2,45	1,13	1,97
<i>o</i> - chlorophenol	95-57-8	2,15	2,40	2,16	2,04	2,35	2,10	2,41	1,17	2,76
<i>p</i> - bromophenol	106-41-2	2,59	2,50	2,40	2,49	2,27	2,60	2,13	1,46	2,67

Sloučeniny	CAS	Exp. LogP Ref. ⁴⁵	LogP ALogP	LogP KOWWIN	LogP ACD/LogP	LogP miLog	LogP XLogP3	LogP COSMOtherm	Exp. LogK _{sc/w} Ref. ¹⁴	LogK _{sc/w} COSMOmic
2 – naphthol	135-19-3	2,70	2,93	2,69	2,71	2,64	2,70	2,39	1,55	2,81
2,4 – dichloro-phenol	120-83-2	3,06	3,14	2,80	2,99	3,00	3,10	2,92	1,68	3,26
Chlorocresol	59-50-7	3,10	2,74		2,89	2,51	3,10	2,37	1,73	2,78
Chloroxylenol	1321-23-9	3,27*	3,14		3,35	2,89	2,00	2,82	1,81	3,16
Thymol	89-83-8	3,30	3,16		3,28	3,34	3,30	3,41	1,89	3,63
2,4,6 – trichloro-phenol	88-06-2	3,69	3,78		3,58	3,61	3,70	3,37	1,98	3,73
4 - hydroxybenzyl alcohol	623-05-2	0,25	0,53	0,60	0,30	0,80	0,20	0,53	0,51	1,14
4 – hydroxyphenyl acetic acid	156-38-7	0,75	0,93	0,95	0,77	0,88	0,80	0,32	0,66	0,96
Acitretin	55079-83-9	6,40	5,20	7,19	5,73	5,57	6,10	5,26	1,85	5,41
Diazepam	439-14-5	2,82	2,63	2,70	2,91	2,74	3,00	2,46	1,25	3,62
4 - acetamidophenol	103-90-2	0,46	0,51	0,27	1,08	0,68	0,50	0,18	0,15	1,30
4 - cyanophenol	767-00-0	1,60	1,68	1,61	1,60	1,21	1,60	0,45	0,35	1,61
4 - iodophenol	540-38-5	2,91	2,92	2,68	2,91	2,54	2,90	2,22	1,25	2,81
4 - pentyloxyphenol	18979-53-8	3,50	3,57	3,56	3,43	3,46	3,50	3,68	1,35	3,88
DDT	50-29-3	6,91	6,29	6,79	5,92	6,71	6,90	5,57	1,95	6,25
Flufenamic acid	530-78-9	5,25	4,60	5,15	5,62	4,84	5,20	4,86	1,61	5,09
Nicotinamide	98-92-0	-0,37	-0,45	-0,45	-0,24	-0,48	-0,40	-0,22	0,06	1,04
3,4 – xylenol	95-65-8	2,23	2,41	2,61	2,40	2,28	2,20	2,28	1,26	2,60
p - ethylphenol	123-07-9	2,58	2,54	2,58	2,47	2,37	2,60	2,39	1,29	2,72

* experimentální hodnota použita z práce ⁴⁷

Tabulka 9 – Predikované a experimentální hodnoty $\text{Log}K_{\text{LIP/W}}$, $\text{Log}K_{\text{DOPC/W}}$

Sloučeniny	CAS	Exp. $\text{Log}K_{\text{LIP/W}}$ Ref. ²⁵	Lipid	$\text{Log}K_{\text{DOPC/W}}$ COSMOmic	$\text{Log}P$ KOWWIN	$\text{Log}P$ XLogP3	$\text{Log}P$ COSMOtherm
Methanol	67-56-1	-0,69	DMPC	0,09	-0,63	-0,50	-1,43
Ethanol	64-17-5	-0,36	DMPC	0,48	-0,14	-0,10	-0,31
Propanol	71-23-8	0,12	DMPC	0,98	0,35	0,30	0,65
Butanol	71-36-3	0,54	-	1,32	0,84	0,90	1,18
Pentanol	71-41-0	1,08	-	1,92	0,84	1,60	1,72
Hexanol	111-27-3	1,72	-	2,43	1,33	2,00	2,25
Heptanol	111-70-6	2,38	-	2,75	1,82	2,70	2,71
Octanol	111-87-5	2,66	-	3,36	2,31	3,00	3,17
2,4,5 - trichlorophenol	95-95-4	4,46	DPPC/DOPC	3,71	3,45	3,70	2,97
2,4,6 - trichlorophenol	88-06-2	3,61	Egg PC	3,73		3,70	3,38
2,4 - dichlorophenol	120-83-2	3,54	DPPC/DOPC	3,27	2,80	3,10	2,91
2,6 - dichlorophenol	87-65-0	2,84	DPPC/DOPC	3,39	2,80	2,70	3,02
3,4,5 - trichlorophenol	609-19-8	4,71	-	3,80	3,45	4,00	3,21
3,4 - dichlorophenol	95-77-2	3,76	-	3,27	2,80	3,30	2,63
Diclofenac	15307-86-5	4,45	DOPC	3,51	4,02	4,40	3,06
5 - phenylvaleric acid	2270-20-4	3,17	DOPC	2,46	3,27	2,70	1,60
Pentachlorophenol	87-86-5	5,10	Egg PC	4,56	4,74	5,10	4,36
Tetrachlorocatechol	1198-55-6	4,41	-	4,39	3,61	4,30	4,12
Salicylic acid	69-72-7	2,59	Egg PC	2,39	2,24	2,30	1,78
2,3,4,5 – tetrachlorophenol	4901-51-3	4,76	-	4,16	4,09	4,20	3,39
2,3,4,6 - tetrachlorophenol	58-90-2	4,46	-	4,12	4,09	4,50	3,77
4 – methyl - 2,6 – dinitrophenol	609-93-8	2,34	-	3,42	2,27	1,70	3,90
Ibuprofen	15687-27-1	3,80	DOPC	3,78	3,79	3,50	3,33

Sloučeniny	CAS	Exp. LogK_{LIP/W}	Lipid	LogK_{DOPC/W}	LogP	LogP	LogP
		Ref. ²⁵		COSMOmic	KOWWIN	XLogP3	COSMOtherm
Anthranilic acid	118-92-3	2,08	EPC	2,00	1,36	1,20	0,92
2 - nitrophenol	88-75-5	1,89	-	2,94	1,91	1,80	2,49
4 - nitrophenol	100-02-7	2,72	DOPC	2,52	1,91	1,90	1,62
2,4 - dinitrophenol	51-28-5	2,64	EPC	3,16	1,73	1,70	3,79
3,4 - dinitrophenol	577-71-9	3,17	-	3,68	1,73	1,20	3,27
Warfarin	81-81-2	3,46	DOPC	3,17	2,23	2,70	2,72