

UNIVERZITET U BEOGRADU

HEMIJSKI FAKULTET

Dragana Č. Dabić

**UTVRĐIVANJE VEZE IZMEĐU
STRUKTURE I RETENCIJE
OKSOTIAZOLIDINA PRIMENOM
MULTIVARIJANTNE ANALIZE**

doktorska disertacija

Beograd, 2013

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF CHEMISTRY

Dragana Č. Dabić

**QUANTITATIVE STRUCTURE-
RETENTION RELATIONSHIP STUDY OF
OXOTHIAZOLIDINES USING
MULTIVARIATE ANALYSIS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2013

Mentor:

dr Živoslav Tešić

redovni profesor Hemijskog fakulteta
Univerziteta u Beogradu

Članovi komisije:

dr Maja Natić

docent Hemijskog fakulteta
Univerziteta u Beogradu

dr Dušanka Milojković-Opsenica

vanredni profesor Hemijskog fakulteta
Univerziteta u Beogradu

dr Danica Agbaba

redovni profesor Farmaceutskog fakulteta
Univerziteta u Beogradu

dr Marija Baranac-Stojanović

docent Hemijskog fakulteta
Univerziteta u Beogradu

Datum odbrane:

Ova doktorska disertacija je urađena na Katedri za analitičku hemiju Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, pod mentorstvom dr Živoslava Tešića, redovnog profesora Hemijskog fakulteta u Beogradu.

Najiskrenije se zahvaljujem prof. dr Živoslavu Tešiću na dragocenoj pomoći u toku izrade i pisanja rada, na korisnim savetima i stručnom usmeravanju.

Dr Dušanki Milojković-Opsenici dugujem izuzetnu zahvalnost na dragocenim stručnim savetima i korisnim sugestijama tokom izrade doktorske disertacije.

Posebnu zahvalnost dugujem i dr Maji Natić na stalnom interesovanju, savetima i nesebičnoj pomoći pri postavci i izradi ove disertacije.

Zahvaljujem se dr Mariji Baranac-Stojanović, u okviru čije grupe su sintetisane supstance ispitivane u ovoj disertaciji, na savetima pri završnoj izradi rada, kao i dr Danici Agbabi na stručnoj pomoći.

Najsrdanije se zahvaljujem i svim svojim kolegama na rečima podrške i ohrabrenja.

Utvrđivanje veze između strukture i retencije oksotiazolidina primenom multivarijantne analize

Hromatografsko ponašanje 23 novosintetisana 2-alkiliden-4-oksotiazolidina ispitivano je u uslovima reverzno-fazne planarne hromatografije, uz upotrebu dve stacionarne faze (oktadecil-modifikovan (RP-18) i cijano-modifikovan (CN) silika-gel). Dvokomponentne smeše metanol/voda, acetonitril/voda i tetrahidrofuran/voda su korišćene kao mobilne faze. Linearna zavisnost R_M vrednosti od zapreminskog udela organske komponente u mobilnoj fazi utvrđena je za sva ispitivana jedinjenja, sa visokom vrednošću korelacionog koeficijenta ($r > 0,99$).

Ispitivani 4-oksotiazolidini predstavljaju kongenernu seriju jedinjenja, što potvrđuje značajan nivo korelacije dobijen pri poređenju R_M^0 vrednosti i drugih hromatografskih parametara (m , C_0 i $PC1$). Svi hromatografski parametri lipofilnosti (R_M^0 , m , C_0 i $PC1$) poređeni su sa izračunatim $\log P$ vrednostima. Statistički parametri ovih zavisnosti pokazali su da R_M^0 vrednosti mnogo pouzdanije opisuju lipofilnosti od preostalih hromatografskih parametara (m , C_0 i $PC1$).

Analiza glavnih komponenata je primenjena na retencione podatke u cilju utvrđivanja sličnosti i razlika između upotrebljenih hromatografskih sistema. Višestruka linearna regresija (MLR) i parcijalna regresija najmanjih kvadrata (PLS) su omogućile ispitivanje odnosa između molekulskih deskriptora ispitivanih N -supstituisanih 2-alkiliden-4-oksotiazolidina i retencionih podataka određenih primenom dva hromatografska sistema (tetrahidrofuran/voda na RP-18 i CN stacionarnoj fazi). Potpuna geometrijska optimizacija izvršena je pomoću AM1 semi-empirijske molekulsko-orbitalne metode, nakon čega je set fizičko-hemijskih molekulskih deskriptora izračunat iz optimizovanih struktura.

Poređenjem statističkih parametara odabran je model gde je na najbolji način opisana veza između seta izračunatih deskriptora i R_M^0 vrednosti. Dobra prediktivna moć MLR i PLS modela dobijenih za kalibracioni set podataka potvrđena je na podacima iz test seta. Molekulski deskriptori uključeni u odabrane MLR i PLS modele su slične prirode, a u sve dobijene modele uključen je parametar lipofilnosti ($\log P$) što ukazuje na značaj lipofilnosti i njen uticaj na retenciju N -supstituisanih 2-alkiliden-4-oksotiazolidina.

Ključne reči: Reverzno-fazna tankoslojna hromatografija, lipofilnost, analiza glavnih komponenata, višestruka regresiona analiza, parcijalna regresija najmanjih kvadrata, oksotiazolidini

Naučna oblast: Hemija

Uža naučna oblast: Analitička hemija

UDK broj: 543

Quantitative structure-retention relationship study of oxothiazolidines using multivariate analysis

The chromatographic behavior of 23 new 2-alkylidene-4-oxothiazolidine derivatives was investigated by means of the reversed-phase thin-layer chromatography (RP TLC) on RP-18 and CN stationary phases. Binary mixtures of methanol/water, acetonitrile/water and tetrahydrofuran/water were used as mobile phases. Linear relationships between the volume fraction of the organic mobile phase modifier and the R_M values were established for each solute with the high correlation coefficient values ($r > 0.99$).

The investigated 4-oxothiazolidines are a congeneric set of compounds, and significant correlations were obtained between the chromatographically determined R_M^0 and other retention parameters (m , C_0 , and $PC1$). All lipophilicity parameters (R_M^0 , m , C_0 , and $PC1$) obtained from the reversed-phase experiments were compared with the calculated $\log P$ values. Statistical parameters of these correlations showed that R_M^0 values were more suitable for lipophilicity estimation than other retention parameters (m , C_0 , and $PC1$).

Principal Component Analysis was performed on retention data in an attempt to reflect the similarities and differences among different chromatographic systems. Multiple linear regression (MLR) and partial least squares regression (PLS) were performed to investigate relation between the structural descriptors of *N*-substituted 2-alkylidene-4-oxothiazolidines and chromatographic retention determined for the two chromatographic systems (tetrahydrofuran/water on RP-18 and CN stationary phases). Full geometry optimization based on Austin Model 1 (AM1) semiempirical molecular orbital method was carried out and a set of physicochemical molecular descriptors was calculated from the optimized structures.

The best relationships in a set of calculated descriptors and R_M^0 values were chosen on the basis of comparison of the statistical parameters. The statistical parameters of MLR and PLS models built for training set show a significant predictive ability. The descriptors included in the chosen MLR and PLS models were of similar nature. Lipophilicity parameter ($\log P$) selected out of a large set of possible molecular

descriptors in all models, indicated the importance of lipophilicity and its influence on the retention behavior of the *N*-substituted 2-alkylidene-4-oxothiazolidines.

Keywords: Reversed-phase thin-layer chromatography, lipophilicity, principal component analysis, multiple linear regression, partial least squares, oxothiazolidines

Scientific field: Chemistry

Field of Academic Expertise: Analytical Chemistry

UDC Number: 543

Izvod

Abstract

1. Uvod	1
2. Opšti deo	4
2.1 Tankoslojna hromatografija	5
2.1.1 <i>Izbor stacionarne faze u normalno-faznoj i reverzno-faznoj tankoslojnoj hromatografiji</i>	6
2.1.2 <i>Mehanizmi odvajanja u tankoslojnoj hromatografiji</i>	11
2.1.3 <i>Izbor mobilne faze</i>	13
2.2 Proučavanje kvantitativne veze između strukture i svojstava molekula	20
2.2.1 <i>Kvantitativna veza između strukture i retencije, QSRR</i>	20
2.2.2 <i>Molekulski deskriptori kao svojstva strukture molekula</i>	23
2.2.3 <i>Parametar lipofilnosti</i>	30
2.3 Hemometrijske metode u funkciji proučavanja odnosa strukture i retencije	37
2.3.1 <i>Analiza glavnih komponentata, PCA</i>	38
2.3.2 <i>Višestruka regresiona analiza, MLR</i>	40
2.3.3 <i>Parcijalna regresija najmanjih kvadrata, PLS</i>	43
2.4 <i>N-supstituisani 2-alkiliden-4-okso-1,2,3,4-tiazolidini</i>	45
3. Eksperimentalni deo	48
3.1 Ispitivane supstance	49
3.2 Hromatografija na tankom sloju	49

3.3	Kompjuterska izračunavanja	52
3.3.1	<i>Geometrijska optimizacija i izračunavanje molekulskih deskriptora</i>	52
3.3.2	<i>Hemometrijske metode</i>	53
4.	Rezultati i diskusija	54
4.1	Retenciono ponašanje ispitivanih jedinjenja u uslovima reverzno-fazne hromatografije	55
4.1.1	<i>Uticao prirode stacionarne i mobilne faze na retenciju ispitivanih jedinjenja</i>	55
4.1.2	<i>Definisanje razlika između ispitivanih hromatografskih sistema primenom PCA analize</i>	60
4.2	Određivanje parametara lipofilnosti ispitivanih <i>N</i> -supstituisanih 2-alkiliden-4-oksotiazolidina	63
4.2.1	<i>Određivanje parametara lipofilnosti primenom reverzno-fazne tankoslojne hromatografije</i>	63
4.2.2	<i>Određivanje lipofilnosti ispitivanih jedinjenja računskim putem</i>	72
4.3	Ispitivanje veze između hromatografski određenih parametara lipofilnosti i izračunatih log <i>P</i> vrednosti	73
4.4	Modelovanje QSRR modela primenom hemometrijskih tehnika	80
4.4.1	<i>Višestruka linearna regresiona analiza, MLR</i>	81
4.4.2	<i>Parcijalna regresija najmanjih kvadrata, PLS</i>	88
5.	Zaključak	96
6.	Literatura	99
7.	Prilog	115

1. Uvod

Proučavanje odnosa između strukture i hromatografskog ponašanja (engl. *Quantitative structure-retention relationship*, QSRR) biološki aktivnih ili potencijalno aktivnih jedinjenja je predmet velikog broja istraživanja. Najranija istraživanja u oblasti QSRR-a datiraju iz 50-ih godina XX veka. Rezultati do kojih se došlo sugerišu da na hromatografsko ponašanje jedinjenja utiče njihova struktura (priroda supstituenata), te fizičko-hemijske karakteristike stacionarne i mobilne faze¹. Za QSRR istraživanja neophodno je postojanje dva tipa podataka (i) hromatografski retencioni podaci i (ii) odgovarajući molekularni deskriptori koji opisuju strukturalna svojstva molekula.

Najčešće primenjivane hromatografske tehnike u QSRR istraživanjima su savremene tehnike, visoko-efikasna tečna hromatografija (engl. *High-performance liquid chromatography*, HPLC) i gasna hromatografija (engl. *Gas chromatography*, GC). Tankoslojna hromatografija (engl. *Thin-layer chromatography*, TLC) je korišćena u najranijim istraživanjima u ovoj oblasti, ali zbog niza prednosti (ekonomičnost, jednostavnost, brzina, širok izbor stacionarnih faza), često je i danas hromatografska metoda izbora za određivanje parametara retencije². Pored toga, jedna od glavnih prednosti tankoslojne hromatografije je mogućnost hromatografisanja nekoliko uzoraka istovremeno uz upotrebu male količine mobilne faze i minimalnu pripremu uzorka. Reverzno-fazna tankoslojna hromatografija (engl. *Reversed-phase thin-layer chromatography*, RPTLC) se može smatrati opšte prihvaćenom metodom za određivanje lipofilnosti jedinjenja.

Molekularni deskriptori, koji se mogu izračunati primenom mnogobrojnih kompjuterskih programa, pružaju značajne strukturalne informacije i mogu se dovesti u vezu sa hromatografskim ponašanjem jedinjenja. Mnogobrojna istraživanja u ovoj oblasti pokazala su da veza između molekularnih deskriptora i retencije može biti iskorišćena za definisanje retencionog mehanizma, kao i za predviđanje parametara lipofilnosti²⁻⁵.

U okviru ovog rada planirano je proučavanje hromatografskog ponašanja novosintetisanih *N*-supstituisanih 2-alkiliden-4-oksotiazolidina u uslovima reverzno-fazne planarne hromatografije. Proučavanje oksotiazolidina je od značaja, jer oni predstavljaju važna bioaktivna jedinjenja⁶. Naročito se izdvajaju 4-oksotiazolidini, jer oni poseduju antikonvulzivnu, sedativno-hipnotičku i anksiolitičnu aktivnost^{7,8}. Iako

ova klasa jedinjenja nije pokazala značajnu antitumornu i antimikrobnu aktivnost, u literaturi postoje neki rezultati i u ovoj oblasti⁹⁻¹¹.

Kao stacionarne faze odabrani su alkil- i cijano-modifikovani silika-gelovi, dok će dvokomponentne smeše (acetonitril/voda, metanol/voda i tetrahidrofuran/voda) biti upotrebljene kao mobilne faze. Očekuje se da retencioni podaci pruže informacije o strukturi ispitivanih jedinjenja, ali i o prirodi interakcija u različitim hromatografskim sistemima. Analiza glavnih komponenata (engl. *Principal component analysis*, PCA) je hemometrijska metoda koja će u okviru ovog istraživanja biti primenjena na retencione podatke u cilju utvrđivanja razlika između upotrebljenih hromatografskih sistema.

Takođe, jedan od važnih ciljeva ovog rada je proučavanje veze između hromatografski određenih parametara lipofilnosti (R_M^0 , m , C_0 i $PC1$) i izračunatih $\log P$ vrednosti. Pored ovih jednostavnih korelacija, primenom multivarijantnih hemometrijskih metoda planirano je ispitivanje veze između kompjuterski izračunatih molekulskih deskriptora i parametara lipofilnosti. Dve hemometrijske tehnike, višestruka linearna regresija (engl. *Multiple linear regression*, MLR) i parcijalna regresija najmanjih kvadrata (engl. *Partial least squares regression*, PLSR) će biti primenjene za dobijanje modela koji bi na najbolji način kvantitativno opisivali vezu između R_M^0 i molekulskih deskriptora i koji bi se mogli koristiti za predviđanje retencije i lipofilnosti novih strukturno sličnih jedinjenja. Kvalitet ovako dobijenih QSRR modela biće procenjen i upoređen pomoću odgovarajućih statističkih parametara.

2. Opšti deo

2.1 Tankoslojna hromatografija

Razvoj hromatografije u prethodnih sto godina karakterisale su značajne prekretnice, pri čemu je svaka od njih označavala početak razvoja neke nove oblasti u hromatografiji. Sam početak razvoja hromatografskih tehnika vezuje se za eksperimentalni rad ruskog naučnika Tsvet-a s početka XX veka, kojim je započet razvoj kolonske hromatografije¹². Najznačajniji napredak u istorijskom razvoju hromatografije desio se 1944. godine kada su Martyn i Synge otkrili da filter papir, pun malih pora, može predstavljati zamenu za prah celuloze kojim su punjene kolone¹³. Njihovim pronalaskom došlo je do razvoja nove oblasti, planarne hromatografije, u koju se pored hromatografije na papiru svrstava i hromatografija na tankom sloju. Za razvoj gasne hromatografije zaslužan je takođe Martyn, koji je u saradnji sa James-om dao osnove za dalji, brz napredak gasne hromatografije¹⁴, a saradnja Martyn-a i Synge-a rezultirala je i postavljanjem osnova za razvoj visoko-efikasne tečne hromatografije tokom 60-ih godina XX veka.

Razvoj tankoslojne hromatografije je odličan primer kako su nova naučna dostignuća direktno proizilazila iz prethodnih istraživanja. Prva hromatografska ispitivanja na tankom sloju sproveli su Izmailov i Shraiber 1937. i 1938. godine¹⁵. U periodu između 1950. i 1954. godine Kirchner i saradnici su razvili tankoslojnu hromatografiju kakvu danas poznajemo, dok se sam termin tankoslojna hromatografija po prvi put pojavljuje kasnih 50-tih godina dvadesetog veka i vezuje se za nemačkog naučnika Stahl-a. Njegova istraživanja^{16,17} omogućila su da TLC postane opšteprihvaćena analitička tehnika. Istraživanja u oblasti tankoslojne hromatografije tokom sedamdesetih godina XX veka rezultovala su pojavom visoko-efikasnih ploča, pri čemu je klasična tankoslojna hromatografija postala visoko-efikasna tankoslojna hromatografija (engl. *High-performance thin-layer chromatography*, HPTLC).

Tankoslojna hromatografija je tehnika koja omogućava jednostavno i brzo razdvajanje i određivanje velikog broja jedinjenja istovremeno, čime se smanjuju vreme i troškovi analize u poređenju sa HPLC analizom^{18,19}. Potrošnja rastvarača koji se koriste kao komponente mobilne faze, kao i količina rastvarača koji završava u otpadu su minimalni u tankoslojnoj hromatografiji, što je naročito važno sa stanovišta zelene hemije²⁰. Takođe, veliki izbor različitih sorbenata i mobilnih faza u značajnoj meri

olakšava optimizaciju hromatografskog odvajanja i doprinosi širokoj upotrebi tankoslojne hromatografije. Osim toga, čak i uzorci koji nisu sasvim čisti mogu biti analizirani na tankom sloju, jer se svaka TLC ploča upotrebljava samo jednom, što nije slučaj sa visoko-efikasnom tečnom hromatografijom, gde postoji mogućnost uništavanja kolone.

2.1.1 Izbor stacionarne faze u normalno-faznoj i reverzno-faznoj tankoslojnoj hromatografiji

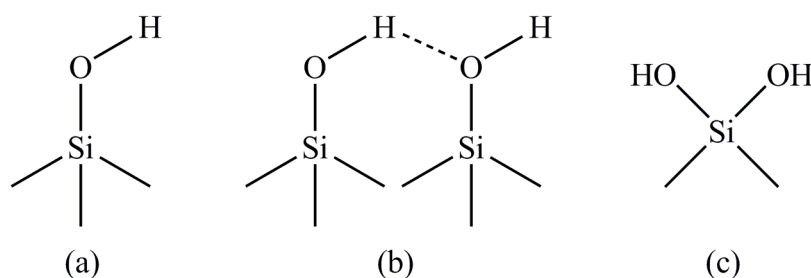
Izbor odgovarajuće stacionarne faze pri ispitivanju hromatografskog ponašanja jedinjenja je od izuzetne važnosti. Postoji veliki broj materijala koji su dostupni kao sorbenti u tankoslojnoj hromatografiji, pri čemu su neki od njih više u upotrebi od drugih. Neki sorbenti imaju vrlo usku oblast primene, kao npr. modifikovani silika-gel na čijoj su površini prisutni hiralni centri koji se kao takav koristi za odvajanje enantiomera. Sa druge strane, silika-gel i aluminijum oksid imaju široku primenu i mogu se koristiti za odvajanje različitih jedinjenja. Za izbor adekvatne stacionarne faze neophodno je poznavati strukturu i prirodu jedinjenja čije se hromatografsko ponašanje želi utvrditi. Karakteristike, kao što su polarnost, molekulska masa, oblik i veličina jedinjenja su veoma bitne pri izboru stacionarne i mobilne faze.

Normalno-faznim hromatografskim sistemom smatra se svaki sistem u kojem je stacionarna faza polarnija od mobilne. U ovakvim uslovima supstance veće polarnosti pokazuju veće zadržavanje, jer su specifične interakcije sorbenta i odvajanih supstanci izraženije. Postoji veliki broj sorbenata koji se mogu koristiti kao stacionarne faze u normalno-faznim hromatografskim sistemima. Silika-gel je svakako jedan od najčešće korišćenih i najdostupnijih sorbenata, ali su i aluminijum-oksidi, celuloza, pa čak i neki modifikovani silika-gelovi zastupljeni u velikom broju istraživanja u normalno-faznim hromatografskim sistemima.

Kada je reč o reverzno-faznim hromatografskim sistemima može se napraviti analogija sa ekstrakcijom jedinjenja iz vodene faze pomoću nekog organskog rastvarača. Stacionarna faza u reverzno-faznoj hromatografiji je nepolarnija od mobilne faze, pa raspodela jedinjenja između dve faze zavisi od hidrofobnosti ispitivanih jedinjenja. To znači da se polarna (hidrofilna) jedinjenja slabije zadržavaju na

nepolarnim stacionarnim fazama u poređenju sa hidrofobnim jedinjenjima. Najčešće primenjivane stacionarne faze u reverzno-faznim uslovima su alkil-modifikovani silika-gelovi (npr. dimetil-, oktil-, oktadecil-modifikovan silika-gel), ali se u značajnoj meri koriste i drugi sorbenti, poput cijano-propil ili amino-propil modifikovanih silika-gelova.

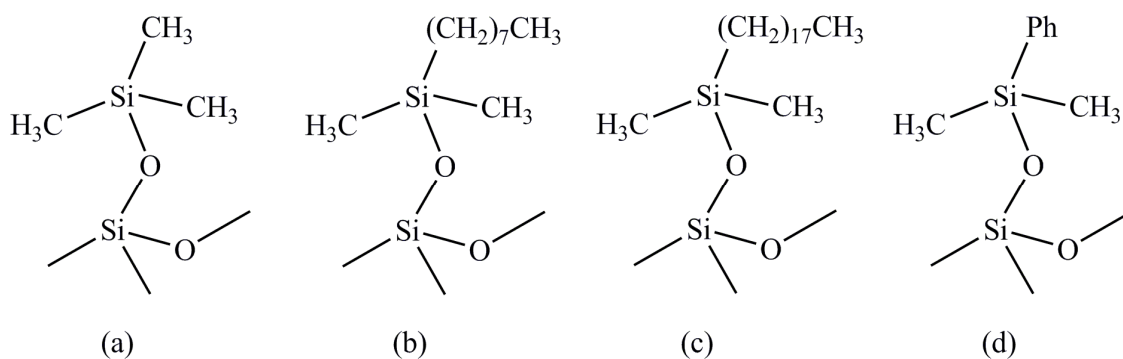
Silika-gel. Sa hemijske tačke gledišta, svaki silika-gel je silicijum-dioksid, gde je svaki atom silicijuma okružen sa četiri atoma kiseonika formirajući tetraedarsku strukturu. Na površini silika-gela dolazi do formiranja veza između kiseonika i vodonika (Si-O-H, silanolna grupa) ili kiseonika i drugog atoma silicijuma (Si-O-Si, siloksanska grupa)²¹. Silanolni aktivni centri mogu biti izolovani, vicinalni (susedni) i geminalni (**Slika 1**)²²⁻²⁴. Međumolekulske interakcije koje se ostvaruju između aktivnih centara silika-gela i molekula ispitivanih supstanci su rezultat formiranja vodoničnih veza, dipol-dipol i elektrostatičkih interakcija²⁵. Slobodne silanolne grupe su mnogo kiselijske od vodonično-vezanih i mogu dovesti do sorpcije rastvarača. Prisustvo veće koncentracije slobodnih silanolnih grupa na površini silika-gela dovodi do povećanja retencije i pojave „razvlačenja zona”. Kod ispitivanja hromatografskog ponašanja jedinjenja preporučuje se upotreba silika-gela čija je površina u najvećoj meri prekrivena geminalnim i vicinalnim silanolnim grupama.



Slika 1. Tri tipa silanolnih grupa koje se javljaju na površini silika-gela: (a) slobodna silanolna grupa, (b) susedna (vicinalna) silanolna grupa i (c) geminalna silanolna grupa²¹

Modifikovani silika-gelovi. Postojanje aktivnih centara na površini silika-gela omogućava njegovu hemijsku modifikaciju. Hemijsko vezivanje organskih liganada za silika-gel postiže se reakcijom između organo-silicijumovih jedinjenja i pristupačnih silanolnih grupa, što rezultira stvaranjem siloksanskih grupa. Organski ligandi koji se obično koriste za hemijsku modifikaciju silika-gela mogu se podeliti na hidrofobne (nepolarne) i hidrofilne (polarne). Najčešće primenjivani hemijski modifikovani silika-gelovi su: dimetil (RP-2), oktil (RP-8), oktadecil (RP-18), fenil (Ph), 3-cijano-propil (CN), 3-amino-propil (NH₂) i diol.

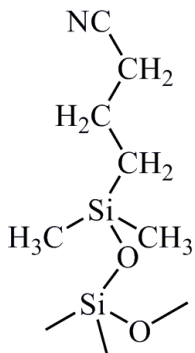
Alkil-modifikovani silika-gelovi. Najznačajniji komercijalno dostupni hidrofobni ligandi su dimetil, oktil i oktadecil (**Slika 2**)²⁶. Hidrofobnost sorbenata dobijenih hemijskom modifikacijom silika-gela ne zavisi samo od prirode liganda (što je alkil-lanac duži hidrofobnost datog sorbenta će biti veća), već zavisi i od pokrivenosti površine matriksa odgovarajućim alifatičnim ligandima (veća zastupljenost ugljovodoničnih lanaca obezbeđuje veću hidrofobnost datog sorbenta). Pri upotrebi hidrofobnih sorbenata uvek se koriste vodene mobilne faze. Ovakvi hromatografski sistemi, gde je mobilna faza polarnija od stacionarne nazivaju se reverzno-faznim hromatografskim sistemima.



Slika 2. Dimetil (a), oktil (b), oktadecil (c) i fenil (d) grupe hemijski vezane na površinu silika-gela

Primena alikil-modifikovanih silika-gelova u hromatografskim istraživanjima danas je veoma rasprostranjena. Pregled literature ukazuje na mogućnost korišćenja ovih sorbenata pri identifikaciji boja i tragova boja²⁷, odvajanju amino-kiselina²⁸, ispitivanju prirodnih flavonoida i fenola²⁹, odvajanju pesticida³⁰, kao i pri ispitivanju metil-estara masnih kiselina³¹. Takođe, upotreba reverzno-faznih sorbenata je izuzetno rasprostranjena pri određivanju parametara lipofilnosti³²⁻³⁶.

Cijano-modifikovan silika-gel. Cijano-modifikovana stacionarna faza (CN) dobija se hemijskom reakcijom cijano-propil supstituisanih silana sa silanolnom grupom matriksa (**Slika 3**)²⁶. Zahvaljujući hemijskoj strukturi cijano-propil grupe, koja se sastoji iz nepolnog dela (alkil-niz) i polarnog ostatka (cijano-grupa), ovaj sorbent se može koristiti i u normalno-faznim i u reverzno-faznim hromatografskim sistemima²⁶. Izborom odgovarajućih rastvarača kao komponenata mobilne faze ostvaruju se uslovi normalno-fazne ili reverzno-fazne hromatografije. U normalno-faznim hromatografskim uslovima ispitivana jedinjenja interaguju sa cijano-grupama, ali i sa nemodifikovanim silanolnim grupama, koje su prisutne na površini matriksa. Zbog ugljovodoničnog dela cijano-propil liganda, ovaj sorbent se ponaša kao nepolarna stacionarna faza u uslovima reverzno-fazne hromatografije. Zbog strukture cijano-propil liganda mehanizmi hromatografskog odvajanja na ovom sorbentu su veoma komplikovani, naročito kada se radi o normalno-faznim hromatografskim uslovima. Postoje istraživanja koja pokazuju da upotrebom mobilne faze koja sadrži vodu u kombinaciji sa nekim organskim rastvaračem dolazi do izražaja reverzno-fazna priroda CN stacionarne faze^{37,38}. Međutim, pri ispitivanju hromatografskog ponašanja izrazito polarnih jedinjenja na CN stacionarnoj fazi, uz upotrebu mobilnih faza karakterističnih za reverzno-fazne uslove (smeša vode i organskog rastvarača) retencija ispitivanih jedinjenja se smanjuje sa povećanjem udela organske komponente u mobilnoj fazi³⁹. Ovakvo hromatografsko odvajanje se zasniva na hidrofilnim interakcijama koje ispitivanja jedinjenja ostvaruju sa stacionarnom, odnosno mobilnom fazom, a sama tehnika se naziva hromatografija hidrofilnih interakcija (engl. *Hydrophilic-interaction chromatography*, HILIC).



Slika 3. Cijano-propil grupa hemijski vezana na površinu silika-gela

Cijano-modifikovani silika-gel se pokazao kao veoma dobar sorbent kod određivanja parametara lipofilnosti⁴⁰⁻⁴⁴. Mogućnost korišćenja CN-stacionarne faze pri određivanju parametra lipofilnosti može se pripisati sličnošću sa fosfolipidnom ćelijskom membranom. Dipolarnost cijano-propil fragmenta (polarni deo je cijano-grupa, a nepolarni deo je ugljovodonični lanac) je sličan dipolarnoj strukturi biološke membrane, koja ima hidrofilnu "glavu" i hidrofobni ugljovodonični lanac⁴⁵. Takođe, istraživanja su pokazala da je na CN-stacionarnoj fazi, u uslovima reverzno-fazne hromatografije, particija dominantan mehanizam razdvajanja⁴⁶.

2.1.2 Mehanizmi odvajanja u tankoslojnoj hromatografiji

Tankoslojna hromatografija se može definisati kao migracioni proces gde se komponente uzorka u različitom stepenu vežu na tanak sloj sorbenta, dok se rastvarač ili smeša rastvarača kreće dejstvom kapilarnih sila. Smatra se da mnogi faktori utiču na hromatografsko ponašanje u uslovima tankoslojne hromatografije. Retencija supstanci određena je interakcijama između ispitivanih supstanci i stacionarne faze, ispitivanih supstanci i mobilne faze, ali i interakcijama između mobilne i stacionarne faze. Hemijska priroda svake od komponenata hromatografskog sistema utiče na vrstu i jačinu ovih interakcija.

Tipovi interakcija koji se mogu javiti su: elektrostatičke interakcije, vodonična vezivanja, jonska izmena, istiskivanje na osnovu veličine, kao i van der Waals-ove sile. Sorbenti se biraju tako da budu inertni u odnosu na rastvarač ili smešu rastvarača koja se primenjuje za hromatografsko odvajanje²⁶. Postoje tri glavna mehanizma razdvajanja u tankoslojnoj hromatografiji:

- adsorpcioni
- particioni
- jonska izmena.

Adsorpcioni mehanizam. Adsorpcija je površinski fenomen, koji se zasniva na fizičkoj sorpciji molekula na aktivnim centrima prisutnim na površini stacionarne faze. Ako se radi o silika-gelu, ispitivana supstanca interaguje sa silanolnim grupama na površini silika-gela. Interakcije uključene u process adsorpcije su van der Waals-ove interakcije, elektrostatičke interakcije i vodonična vezivanja, a njihovo postojanje zavisi od prirode ispitivanih jedinjenja²⁶. Kako se mobilna faza kroz sorbent kreće dejstvom kapilarnih sila, ispitivane supstance koje se slabo adsorbuju kretaju se sa frontom rastvarača, dok će one koji se snažno vezuju za sorbent ostati blizu polazne mrlje. Do razdvajanja ispitivanih supstanci može doći samo ukoliko imaju različit afinitet vezivanja za aktivne centre na površini stacionarne faze, odnosno ako je intezitet interakcija koje određuju retenciju različit. Intezitet ovih interakcija zavisi od više faktora, kao što su broj aktivnih centara na adsorpcionoj površini, prisustvo funkcionalnih grupa u molekulu ispitivane supstance koje interaguju sa aktivnim centrima, i eluciona moć primenjene mobilne faze.

Iako je adsorpcija mehanizam karakterističan pre svega za polarne stacionarne faze, postoje istraživanja⁴⁷ koja razmatraju adsorpciju na alkil-modifikovanim stacionarnim fazama. Ovaj mehanizam u reverzno-faznim hromatografskim sistemima je ostvariv kada je gustina vezanih alkil-lanaca dovoljna da se ostvari interakcija između njih i pritom spreči prodiranje molekula u amorfono-kristalni ugljovodonični sloj na hromatografskoj površini. U tom slučaju krajevi vezanih alkil-lanaca grade površinu na kojoj se supstance adsorbuju, a retencija je vođena samo mehanizmom adsorpcije. Adsorpcija na hemijski modifikovanim stacionarnim fazama podrazumeva da su hidrofobne interakcije na dodiru između čvrste i tečne faze od najvećeg značaja, pri čemu hidrofobni delovi ispitivanih supstanci interaguju sa hidrofobnim grupama na površini stacionarne faze. Pored hidrofobnih interakcija, postoje i slabe dipol-dipol, dipol-indukovani dipol i indukovani dipol-indukovani dipol interakcije.

Particioni mehanizam. U partitionoj hromatografiji stacionarna faza je neisparljiva tečnost koja je adsorbovana ili hemijski vezana kao tanak sloj (ili film) na površini inertnog nosača^{48,49}. U idealnom slučaju, stacionarna faza je nerastvorljiva u mobilnoj fazi. Ispitivane supstance se raspodeljuju između stacionarne i mobilne faze, pri čemu njihova pokretljivost zavisi od rastvorljivosti u mobilnoj, odnosno stacionarnoj fazi. Supstance koje imaju veći afinitet prema mobilnoj fazi manje će se zadržavati u odnosu na one čiji je afinitet veći ka stacionarnoj fazi.

U reverzno-faznim hromatografskim sistemima particiona teorija podrazumeva da se supstanca raspodeljuje između vodene mobilne faze i organske stacionarne faze. Međutim, na sastav i konfiguracija alkil-modifikovanog silika-gela značajan uticaj ima sastav mobilne faze, jer solvatacija alkil-lanaca od strane organske komponente mobilne faze dovodi do neprecizne granice između mobilne i stacionarne faze⁵⁰⁻⁵². U literaturi se može pronaći nekoliko teorija koje daju opis konfiguracije stacionarne faze i partitionog mehanizma u reverzno-faznoj hromatografiji⁵³.

Jonska izmena. Jonska izmena je proces karakterističan za sorbente koji se sastoje od inertne matrice na kojoj su vezane funkcionalne grupe sposobne da otpuste jedne i vežu druge jone, iz uzorka ili mobilne faze. Izmjena jona zavisi od afiniteta jonskih vrsta, koje se odvajaju, prema sorbentu. Mobilne faze koje se primenjuju u jonoizmenjivačkoj hromatografiji su rastvori elektrolita. Pokretljivost komponenti

uzorka je pH zavisna, jer svaka komponenta ima ukupno naelektrisanje koje se menja sa povećanjem ili smanjenjem kiselosti mobilne faze²⁶.

Prilično često, u realnim uslovima, raspodela ispitivanih jedinjenja između stacionarne i mobilne faze ne može se pripisati jednom od ovih mehanizama, već je rezultat dva ili više različitih tipova navedenih interakcija. Ova pojava je naročito izražena kod hemijski modifikovanih stacionarnih faza, gde se dvojna priroda retencionog mehanizma može objasniti činjenicom da s jedne strane molekuli ispitivane supstance teže da interaguju sa organskim ligandima na stacionarnoj fazi preko disperzionih sila (particija), a s druge strane postoji kompeticija s mobilnom fazom za aktivna mesta na površini matriksa (adsorpcija).

2.1.3 Izbor mobilne faze

Selektivnost odvajanja u velikoj meri zavisi od izbora rastvarača ili smeše rastvarača koji čine mobilnu fazu. Izbor mobilne faze je kritična tačka pri optimizaciji hromatografskog odvajanja, jer često nepotpuno odvajanje, suviše jaka ili slaba retencija i razvučene zone mogu biti pripisani odabiru neadekvatne mobilne faze.

Pri izboru mobilne faze uvek treba težiti jednostavnosti, te ako je moguće pronaći pogodan rastvarač kojim se postiže dobro odvajanje, uvek prednost treba dati monokomponentnim u odnosu na višekomponentne mobilne faze. Takođe, treba posebnu pažnju posvetiti čistoći izabranih rastvarača. Smešu rastvarača je nepohodno dobro homogenizovati i koristiti odmah po pripremanju, jer komponente smeše mogu međusobno interagovati.

U normalno-faznim hromatografskim sistemima, pri odvajanju nepolarnih ili slabo polarnih jedinjenja kao eluenti se mogu koristiti nepolarni rastvarači (npr. pri odvajanju na silika-gelu kao eluenti se koriste rastvarači slabije elucione moći, kao što su heksan, benzen, toluen, cikloheksan ili dihlormetan). Međutim, ukoliko se na polarnoj stacionarnoj fazi (npr. silika-gel) ispituje hromatografsko ponašanje polarnih jedinjenja, za njihovo pokretanje neophodno je upotrebiti polarnije rastvarače jače elucione moći. Ovo je očekivano, imajući u vidu da i ispitivana jedinjenja i molekuli mobilne faze interaguju sa aktivnim centrima na površini stacionarne faze.

Pri hromatografskom ispitivanju u reverzno-faznim hromatografskim sistemima obično se koriste polarni organski rastvarači (npr. metanol, etanol ili acetonitril) ili smeša organskih rastvarača sa vodom (npr. metanol/voda, aceton/voda, tetrahidrofur/voda). Eluciona moć mobilne faze zavisi od udela organske komponente u njoj. Veći udeo organske komponente u mobilnoj fazi obezbeđuje veću elucionu moć mobilne faze i ovakve mobilne faze mogu se upotrebiti pri odvajanju nepolarnih jedinjenja u reverzno-faznim hromatografskim sistemima, gde je stacionarna faza izrazito nepolarna (npr. alkil-modifikovan silika-gel)²⁶.

Eluotropna serija. U cilju klasifikacije rastvarača prema njihovoj jačini, istraživači su predlagali parametre na osnovu kojih bi se mogla izvršiti klasifikacija. Prvobitno su rastvorljivost u vodi i dielektrična konstanta korišćeni kao parametri pri klasifikaciji⁵⁴. Iako su podaci o rastvorljivosti veoma korisni, oni ipak ne daju kompletnu sliku o jačini rastvarača. Dielektrične konstante pružaju više informacija, ali su i kod ovog parametra uočene neke abnormalnosti. Ovi nedostaci su doveli do zaključka da je za pouzdanu klasifikaciju rastvarača neophodno uzeti u obzir i karakteristike rastvarača, ali i karakteristike stacionarne faze. Nekoliko modela je predloženo, a kao najuniverzalniji prihvaćen je model koji je predložio Snyder^{55,56}. Parametar kojim se opisuje jačina rastvarača se obeležava sa ϵ^0 i definiše se kao adsorpciona energija po jedinici standardnog rastvarača i dat je za određenu kombinaciju rastvarač/stacionarna faza. Vrednosti parametra mogu biti izračunate za širok opseg rastvarača koji se koriste u tankoslojnoj hromatografiji, a tako formiran niz naziva se eluotropni niz. U **Tabeli 1** date su eluotropne serije za aluminijum-oksidi (eksperimentalno određen parametar ϵ^0) i silika-gel (teorijske vrednosti parametra ϵ^0 su izračunate za sve rastvarače, a za neke su date i eksperimentalno dobijene vrednosti)^{26,57,58}.

Ako se upotrebom nekog rastvarača postigne zadovoljavajuća retencija, odnosno pokretljivost, selektivnost može biti unapređena mešanjem dva ili tri rastvarača u takvom odnosu da ϵ^0 smeše rastvarača bude jednaka ϵ^0 rastvarača kojim je postignuta zadovoljavajuća retencija. Mogućnosti kombinacija dva ili više rastvarača su mnogobrojne, ali se često najbolji rezultati dobijaju modifikacijom početnog rastvarača male polarnosti dodatkom relativno male količine rastvarača mnogo veće polarnosti, pri čemu se njihov odnos odabira tako da se dostigne odgovarajuća ϵ^0 vrednost.

Naravno, izbor mobilne faze u velikoj meri zavisi i od prirode ispitivanih jedinjenja. Za postizanje odgovarajuće pokretljivosti nepolarnih jedinjenja na silika-gelu (npr. ugljovodonicima) primenjuju se mobilne faze male polarnosti i male elucione moći, dok će upotreba rastvarača veće elucione moći biti neophodna ukoliko se ispituje hromatografsko ponašanje jedinjenja koja sadrže veći broj polarnih grupa²⁶. Dodatak male količine kiseline (npr. mravlje, sirćetne, propanske ili hlorovodonične kiseline) ili baze (npr. rastvora amonijaka, piridina ili amina) u mobilnu fazu može znatno poboljšati rezoluciju hromatografskog odvajanja.

Tabela 1. Eluotropne serije za aluminijum-oksidi i silika-gel

Rastvarač	$\epsilon^0 (\text{Al}_2\text{O}_3)_{\text{eksp.}}$	$\epsilon^0 (\text{SiO}_2)_{\text{eksp.}}$	$\epsilon^0 (\text{SiO}_2)_{\text{izrač.}}$
n-Pentan	0,00	0,00	0,00
n-Heksan	0,01		0,01
Izooktan	0,01		0,01
Cikloheksan	0,04		0,03
Ciklopentan	0,05		0,04
Ugljentetrahlid	0,18	0,11	0,14
Izopropil etar	0,28		0,22
Toluen	0,29		0,22
Hlorbenzen	0,30		0,23
Benzen	0,32	0,25	0,25
Hloroform	0,40	0,26	0,31
Dihlormetan	0,42	0,32	0,32
Metil-izobutil-keton	0,43		0,33
Tetrahidrofuran	0,45		0,35
Dietil etar	0,46	0,38	0,38
1,2-Dihloretan	0,49		0,38
Aceton	0,56	0,47	0,43
1,4-Dioksan	0,56	0,49	0,43
Etilacetat	0,58	0,38	0,45
Metilacetat	0,60		0,46
Amil-alkohol	0,61		0,47
Anilin	0,62		0,48
Acetonitril	0,65	0,50	0,50
Piridin	0,71		0,55
2-Butoksietanol	0,74		0,57
1-Propanol	0,82		0,63
2-Propanol	0,82		0,63
Etanol	0,88		0,68
Metanol	0,95		0,73
Etandiol	1,11		0,85
Sirćetna kiselina	>1		>1
Voda	>>1		>>1

Kada je reč o reverzno-faznim hromatografskim sistemima, Snyder je 1979. godine sugerisao da je moguće vrednosti za jačinu rastvarača koje su dobijene za reverzno-faznu tečnu hromatografiju primeniti na uslove tankoslojne hromatografije (**Tabela 2**)⁵⁹. Eluciona moć smeše rastvarača izračunava se na osnovu vrednosti za jačinu svakog pojedinačnog rastvarača (S) u smeši i njihovog udela u smeši (V) prema jednačini:

$$S_{\text{smeša}} = V_A S_A + V_B S_B + \dots \quad (1)$$

Tabela 2. Jačine rastvarača (S) definisane za reverzno-faznu tečnu hromatografiju

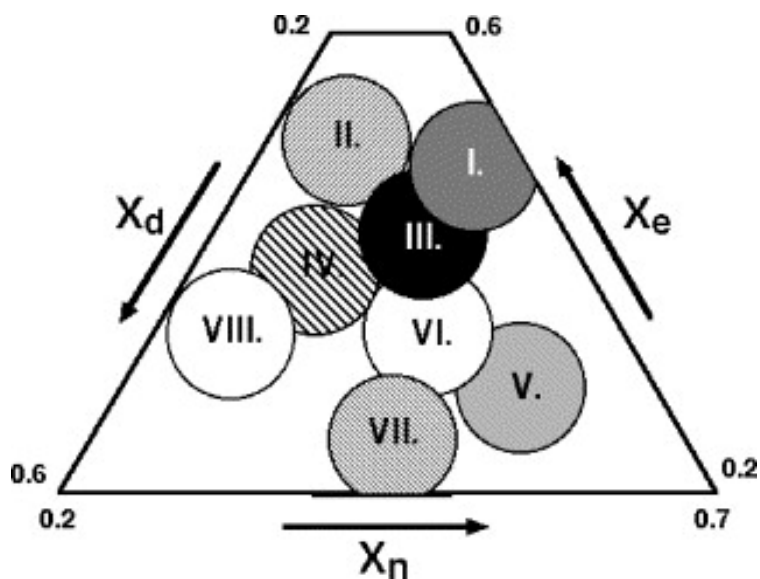
Rastvarač	Jačina rastvarača, S
Voda	0,0
Metanol	3,0
Acetonitril	3,1
Aceton	3,4
1, 4-Dioksan	3,5
Etanol	3,6
2-Propanol	4,2
Tetrahidrofur	4,4

Snyder-ov trougao selektivnosti. Snyder i Glajch su klasifikovali rastvarače u osam grupa na osnovu sličnih proton-akceptorskih (x_e), proton-donorskih (x_d) i doprinosa koje daju dipolne-interakcije (x_n)⁶⁰⁻⁶². Ova klasifikacija data je u **Tabeli 3**²⁶. Na osnovu ove klasifikacije Snyder je formirao trougao selektivnosti predstavljen na **Slici 4**⁶³, gde svaki ugao trougla predstavlja jedinični doprinos odgovarajućeg parametra.

Pri optimizaciji mobilne faze rastvarači se mogu odabrati tako da tri rastvarača iz različitih grupa, koje su blizu temenima originalnog trougla, formiraju trougao selektivnosti. Za odvajanja u normalno-faznim sistemima trougao selektivnosti mogu formirati npr. dietiletar, hloroform i dihlorometan, kojima se dodaje nepolaran n-heksan da bi se smanjila njihova eluciona moć. U slučaju reverzno-faznih sistema, acetonitril, metanol i tetrahidrofuran u smeši sa vodom formiraju trougao selektivnosti.

Tabela 3. Klasifikacija rastvarača prema selektivnosti koju su predložili Snyder i Glajch

Grupa	Rastvarači
I	Alifatični etri
II	Alifatični alkoholi
III	Piridin, tetrahidrofuran, glikol etri, amidi (sa izuzetkom formamida)
IV	Formamid, sirćetna kiselina, glikoli
V	Dihlorometan, 1,2-dihloretan
VI	Alifatični ketoni i estri, 1,4-dioksan, acetonitril
VII	Aromatični ugljovodonici i etri, aromatični halogenidi, aromatična azo-jedinjenja
VIII	Hloroform, voda, nitrometan, <i>m</i> -krezol



Slika 4. Snyder-ov trougao selektivnosti⁶³. Spisak rastvarača po grupama dat je u **Tabeli 3**

Iako se optimizacija mobilne faze često smatra nepotrebnim korakom i gubljenjem vremena, upravo adekvatan odabir mobilne faze može uticati na dobro odvajanje zona.

2.2 Pročavanje kvantitativne veze između strukture i svojstava molekula

Opšte je poznato da fizička svojstva hemijskih jedinjenja kao što su boja, miris, tačka topljenja, električna provodljivost, itd. zavise od strukture samih molekula. Takođe, hemijska reaktivnost i biološka aktivnost su u tesnoj vezi sa molekulskom strukturom. Ako se struktura molekula posmatra kao nezavisna promenljiva, fizičko-hemijska svojstva i biološku aktivnost možemo smatrati zavisno promenljivim. Upravo iz tog razloga, veliki broj istraživanja u poslednjim decenijama ima za cilj definisanje veze između strukture i karakteristika molekula^{3,32-36}.

Proučavanje odnosa između strukture i aktivnosti (engl. *Quantitative structure-activity relationship*, QSAR), koje su 60ih godina XX veka započeli Hansh i Fujita omogućio je razvoj jedne potpuno nove naučne oblasti⁶⁴. Pod okriljem QSAR ispitivanja, uz upotrebu istih principa, otpočelo je proučavanje veze između strukture i svojstava (engl. *Quantitative structure-property relationship*, QSPR), i došlo je do razvoja QSRR istraživanja kod kojih je akcenat stavljen na hromatografske parametre pri opisivanju odnosa između strukture i svojstava.

2.2.1 Kvantitativna veza između strukture i retencije, QSRR

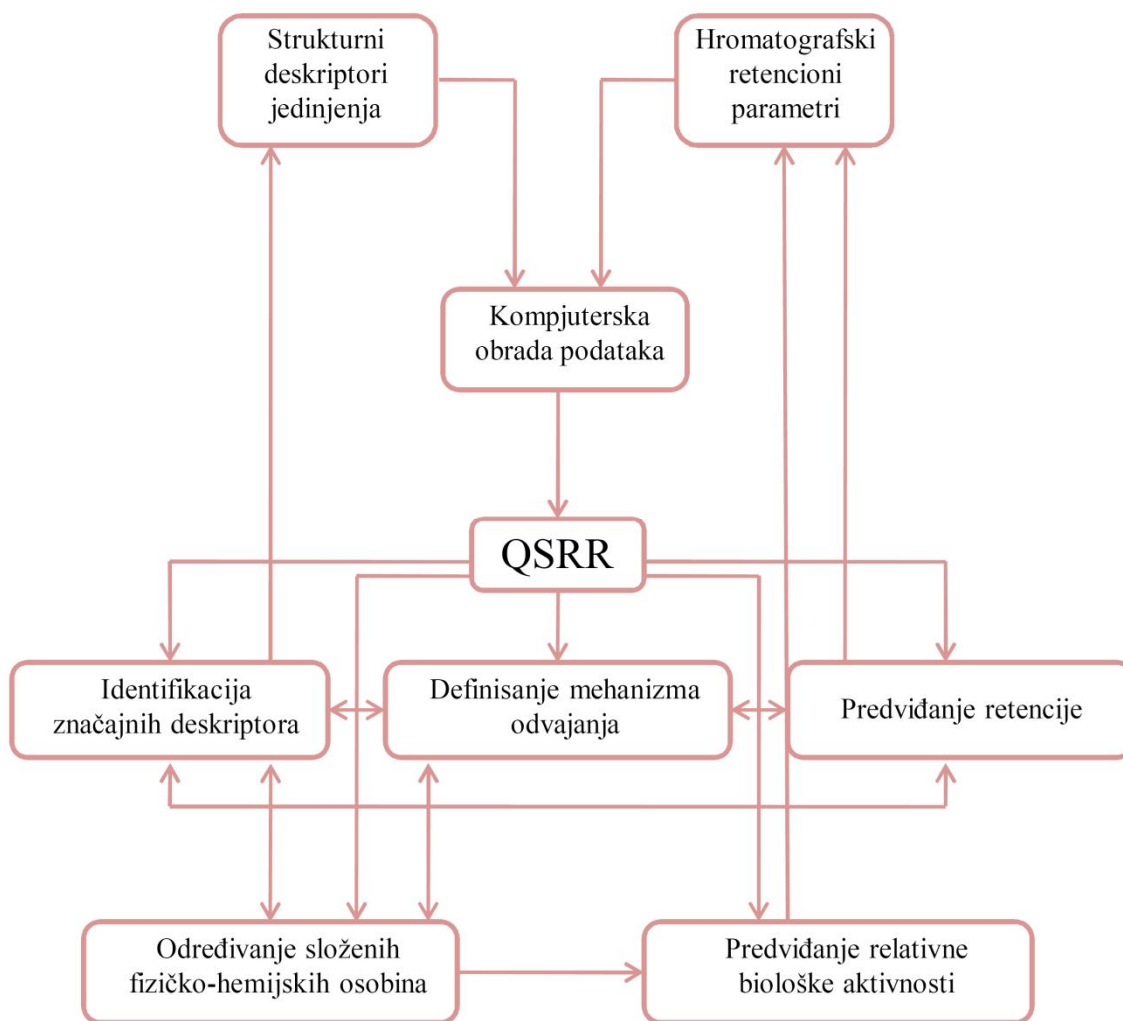
Kvantitativna veza koja opisuje odnos između retencije i strukture daje bitne informacije za hromatografska ispitivanja. Postavlja se pitanje šta se tačno podrazumeva pod terminom QSRR, imajući u vidu da je terminologija u literaturi zbunjujuća i nedosledna. Prvo, često se govori o „reaktivnosti“, a ne o retenciji; zatim, umesto kvantitativnog odnosa između strukture i retencije često se za opisivanje te veze koristi QSPR ili QSAR. Ipak, uopšteno gledano, može se reći da se pod QSRR ispitivanjima podrazumevaju sva istraživanja gde se retencionni podaci mogu predvideti na osnovu strukture molekula, ali i gde se fizičko-hemijski parametri predviđaju na osnovu retencionih podataka⁴.

Začetak razvoja QSRR istraživanja vezuje se za 1950. godinu kada je Martin ukazao da promene supstituenta, svojstava mobilne ili stacionarne faze utiču na promenu retencije jedinjenja¹. QSRR postaje moćan alat u hromatografskim

ispitivanjima sa pinorskim istraživanjima iz 1977. godine koje je predvodio Kaliszan^{65,66}.

U okviru QSRR istraživanja koriste se retencioni podaci iz gasne hromatografije, visoko-efikasne tečne hromatografije ili tankoslojne hromatografije. Odnos između retencionih podataka i fizičko-hemijskih parametara u vezi je sa aktivnošću leka, što doprinosi ključnom značaju QSRR istraživanja u dizajniranju novih, potencijalnih lekova. Svojstva molekula koje mogu biti predviđene na osnovu definisane veze sa retencijom su particioni koeficijent ($\log P$)⁶⁷⁻⁷⁰, tačka ključanja⁷¹, napon pare⁷², toplota isparavanja⁷³, Gibbs-ova slobodna energija⁷⁴ ili hiralna selektivnost⁷⁵.

Dve vrste ulaznih podataka su neophodne za QSRR istraživanja: hromatografski podaci za seriju jedinjenja, koji predstavljaju zavisno promenljive podatke i set različitih parametara koji opisuju strukturne karakteristike ispitivanih jedinjenja i koji predstavlja nezavisno promenljive podatke⁵. Primenom kompjuterskih tehnika ovi ulazni podaci se koriste za dobijanje QSRR jednačina. QSRR modeli mogu poslužiti za predviđanje retencionih podataka novih, još nesintetisanih jedinjenja, na osnovu njihovih strukturnih deskriptora. U mnogim slučajevima, preciznost i tačnost QSRR modela nije dovoljno dobra da bi se mogli koristiti za predviđanje retencije. Međutim, mogu se uspešno koristiti za objašnjavanje retencionog mehanizma, za optimizaciju odvajanja smeša složenog sastava, za identifikaciju najznačajnijih deskriptora, za određivanje kompleksnih fizičko-hemijskih osobina ili za procenu relativne biološke aktivnosti⁷⁶. Šematski prikaz veze između ulaznih podataka za građenje QSRR modela i karakteristika molekula dat je na **Slici 5**⁷⁷. Da bi se dobili relevantni QSRR modeli neophodno je da ulazni set podataka bude pouzdan, a preporučljivo je i da ispitivana jedinjenja pripadaju homolognoj seriji, jer se u tom slučaju mogu očekivati dobre korelacije između retencije i deskriptora koji opisuju strukturu⁴.



Slika 5. Metodologija i ciljevi QSRR ispitivanja.

Pored relevantnog ulaznog seta podataka, za formiranje statistički značajnih QSRR modela neophodno je odabrati pogodne statističke tehnike. Višestruka linearna regresija je svakako najčešće primjenjivana statistička metoda, često u kombinaciji sa prethodnom selekcijom varijabli (npr. genetski algoritam) u slučaju da je broj dostupnih deskriptora velik⁷⁸⁻⁸¹. Analiza glavnih komponenta i parcijalna regresija najmanjih kvadrata, su takođe moćne statističke tehnike koje se često koriste u QSRR istraživanjima^{34,80-82}.

Validacija modela je izuzetno važna u svakom QSAR ili QSRR modelovanju. Kvadrat korelacionog koeficijenta R^2 , korigovani R^2 (engl. *adjusted R^2*) i standardna greška (engl. *standard error*, SE) su statistički parametri koji se najčešće koriste za definisanje QSRR modela, mada se mora naglasiti da oni nisu uvek merodavni za

opisivanje prediktivnosti nekog modela. Da bi se optimalno odredio kvalitet nekog modela, različite tehnike validacije mogu biti primenjene. Koeficijent determinacije koji je dobijen unakrsnom validacijom (R_{cv}^2) pruža pouzdane informacije o sposobnosti predviđanja QSRR modela^{80,83}.

2.2.2 Molekulski deskriptori kao svojstva strukture molekula

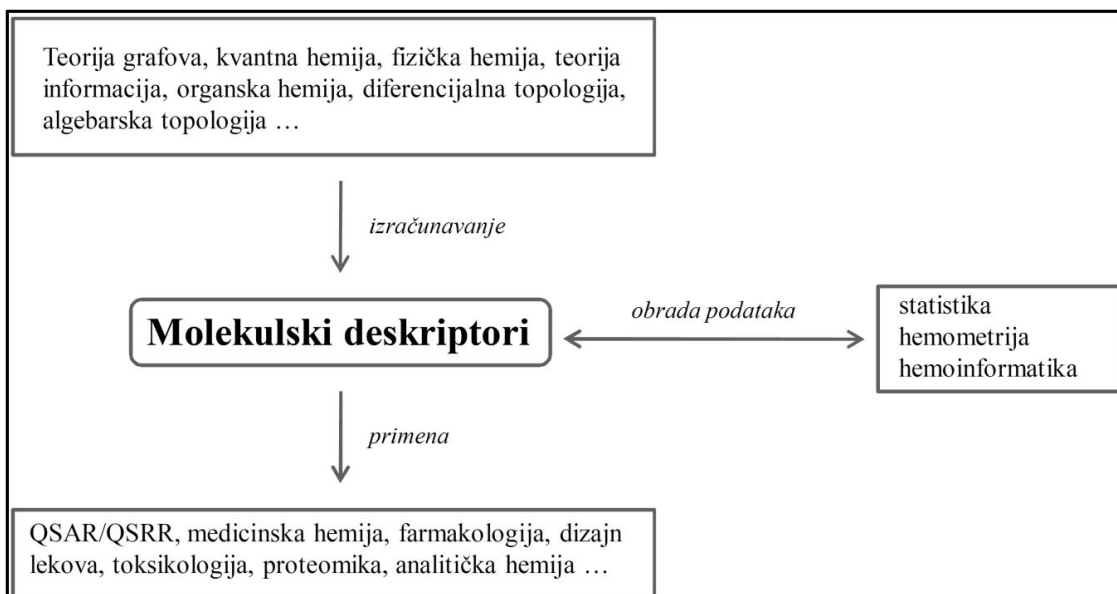
Molekulski deskriptori imaju ključnu ulogu u razvoju modela u oblasti hemije, farmaceutskih nauka, zaštite životne sredine, toksikologije, ekotoksikologije, medicine i kontrole kvaliteta. Dokaz o zainteresovanosti naučne zajednice za molekulske deskriptore se ogleda u velikom broju deskriptora koji se koriste u QSAR, QSRR i QSPR istraživanjima. Više od 5000 deskriptora⁸⁴, koji su dobijeni primenom različitih teorija i pristupa, definisani su i izračunati pomoću namenskih softvera.

QSAR, QSRR i QSPR modeli su konačan rezultat procesa koji otpočinje odabirom molekulskih deskriptora koji na odgovarajući način predstavljaju strukturu molekula, a završava se predviđanjem ponašanja molekula u prirodnom okruženju, biološkim ili fizičko-hemijskim sistemima. Ova istraživanja se zasnivaju na pretpostavci da struktura molekula (npr. njegova geometrijska, sterna i elektronska svojstva) mora sadržati svojstva odgovorna za njegova fizička, hemijska i biološka svojstva i da postoji mogućnost da se ova svojstva predstave jednim ili većim brojem računskih deskriptora. U poslednjih nekoliko decenija, mnoga naučna istraživanja usmerena su ka mogućnosti pronalaženja načina za „prevođenje“ informacija sadržanih u molekulskoj strukturi u brojčane vrednosti koje se mogu koristiti za definisanje veze između strukture i biološke aktivnosti ili strukture i drugih eksperimentalno određenih svojstava. Molekulski deskriptori predstavljaju konačan rezultat logičke i matematičke procedure, kojom se hemijska informacija sadržana u molekulskoj strukturi prevodi u numeričku vrednost⁸⁴.

Mnoge teorije i metodologije koje se bave proučavanjem veze između strukture i svojstava molekula dovele su do razvoja novog naučnog polja, što je rezultiralo razvojem nekoliko praktičnih aplikacija za izračunavanje molekulskih deskriptora. Molekulski deskriptori se mogu dobiti upotrebom principa iz nekoliko različitih teorija, kao što su kvantno-hemijska, teorija informacija ili teorija grafova. Deskriptori dobijeni na ovaj način koriste se za modelovanje različitih osobina jedinjenja, koja se

upotrebljavaju u naučnim istraživanjima u okviru toksikologije, analitičke hemije, fizičke hemije, medicinske hemije, farmakologije i ekologije⁸⁵.

U cilju dobijanja pouzdane procene molekulskih svojstava, identifikacije strukturnih karakteristika odgovornih za biološku aktivnost i odabira molekula za nove lekove, hemometrijske i hemoinformatičke metode se primenjuju za obradu molekulskih deskriptora. Konkretno, tokom poslednjih trideset godina, hemometrija je razvila metode klasifikacije i regresije koje su sposobne da obezbede, iako ne uvek, pouzdane modele za reprodukciju poznatih eksperimentalnih podataka i predviđanje nepoznatih vrednosti. Interesovanje za modele koji pouzdano predviđaju svojstva novosintetisanih jedinjenja raste tokom poslednjih godina i ovakvi modeli se sve više smatraju korisnim i pouzdanim za predviđanje podataka za nova jedinjenja. U poslednjih nekoliko godina upotreba informacionih tehnologija postala je značajan deo u procesu otkrivanja novih lekova⁸⁵. U stvari, hemoinformatika obuhvata kreiranje, organizaciju, upravljanje, pretraživanje, analizu, distribuciju, vizuelizaciju i upotrebu hemijskih informacija⁸⁶. Molekulski deskriptori, koji se dobijaju transformacijom hemijskih informacija u numeričke vrednosti, imaju fundamentalnu ulogu u svim ovim procesima i mogu se primeniti u informatičkim procedurama. Na **Slici 6** ilustrovan je značaj i uloga molekulskih deskriptora u naučnim istraživanjima⁸⁵.



Slika 6. Ilustracija povezanosti molekulskih deskriptora sa molekulskom strukturom, hemometrijskim tehnikama i primena u QSAR/QSRR modelovanju

Eksperimentalni i teorijski deskriptori. Molekulski deskriptori mogu biti eksperimentalno određeni (fizičko-hemijska svojstva) ili teorijski izračunati, pomoću matematičkih formula ili kompjuterskih algoritama. Osnovna razlika između teorijski dobijenih i eksperimentalno određenih deskriptora je ta što teorijski deskriptori ne sadrže statističku grešku koja potiče od merenja. Međutim, pretpostavke potrebne da se olakša izračunavanje i numeričke aproksimacije koje se primenjuju prilikom izračunavanja molekulskih deskriptora predstavljaju greške koje prate teorijski dobijene deskriptore. Prednost fizičko-hemijskih deskriptora je činjenica da su u većini slučajeva oni u direktnoj vezi sa retencijom ili nekim drugim fizičko-hemijskim svojstvima. Međutim, ovi deskriptori često nisu dostupni ili su dostupne vrednosti koje podrazumevaju veliku grešku. Sa druge strane, teorijski deskriptori koji se dobijaju iz fizičkih i fizičko-hemijskih teorija podudaraju se sa eksperimentalno određenim parametrima. U odnosu na eksperimentalno određene deskriptore, najveća prednost teorijskih deskriptora se najčešće, mada ne uvek, ogleda u pogledu troškova, vremena i dostupnosti⁸⁵.

Dostupnost molekulskih deskriptora ne samo da je obezbedila mogućnost za istraživanje novih veza, već je i stimulisala veće promene u istraživanjima u ovoj

oblasti. Zapravo, korišćenje molekulskih deskriptora, teorijski izračunatih, omogućilo je po prvi put uspostavljanje veze između eksperimentalnih saznanja i teorijskih informacija koje proizilaze iz molekulske strukture.

Sve do perioda između 1960. i 1970. godine molekulske modelovanje se uglavnom sastojalo u istraživanju veza između eksperimentalno dobijenih vrednosti, dok se danas uglavnom radi na ispitivanju odnosa između eksperimentalno određenih svojstava i kompjuterski izračunatih molekulskih deskriptora koji opisuju neku informaciju sadržanu u strukturi jedinjenja.

Prikaz molekulske strukture. Prikaz molekula je način na koji je molekul simbolički predstavljen, shodno odgovarajućoj proceduri i konvencionalnim pravilima. U zavisnosti od vrste algoritma primenjenog za izračunavanje deskriptora, razlikuju se *0D*-, *1D*-, *2D*-, *3D*- i *4D*- molekulske deskriptori⁸⁷.

Najjednostavniji prikaz molekula je hemijska formula (*molekulska formula*), koja sadrži samo informacije o vrsti i broju atoma u strukturi molekula. Ovakav prikaz molekula ne sadrži nikakve informacije o molekulske strukturi, pa se deskriptori dobijeni iz hemijskih formula mogu smatrati bezdimenzionalnim deskriptorima (*0D molekulske deskriptori*).

Jednodimenzionalni prikaz molekula obuhvata informacije o broju fragmenata, funkcionalnih grupa i supstituenata od interesa za molekul. Dakle, za jednodimenzionalni prikaz molekula nije neophodno potpuno poznavanje molekulske strukture. Deskriptori izvedeni iz jednodimenzionalnog prikaza molekula, koji se koriste u analizi podstruktura, sličnosti i razlika između molekula, kao i za dizajn molekulskih biblioteka, nazivaju se jednodimenzionalni (*1D molekulske deskriptori*). *0D* i *1D* deskriptori uvek se mogu jednostavno izračunati, laki su za tumačenje, ne zahtevaju optimizaciju molekulske strukture i nezavisni su od bilo kakvih konformacionih problema. Glavni nedostatak ovih deskriptora je što mnogi molekuli imaju iste vrednosti ovih deskriptora, kao što je slučaj sa izomerima. Međutim, iako je količina informacija koju nose ovi deskriptori mala, oni ipak mogu imati važnu ulogu u modelovanju nekih fizičko-hemijskih svojstava ili mogu biti uključeni u složenije modele.

Dvodimenzionalni prikaz molekula obuhvata informacije o načinu povezivanja atoma u molekulu, kao i informacije o prirodi hemijskih veza između atoma, nezavisno od drugih parametara kao što su ravnotežne udaljenosti između atoma, uglovi između

veza i uvijanje ugla veze. Ovakvo predstavljanje molekulske strukture zasnovano je na teoriji molekulskih grafova, a deskriptori dobijeni na ovaj način nazivaju se topološki ili dvodimenzionalni deskriptori (*2D molekulski deskriptori*).

Trodimenzionalni prikaz molekula posmatra molekul kao rigidni geometrijski objekat u prostoru i predstavlja prikaz ne samo prirode atoma i veza između atoma, nego i opširnu prostornu konfiguraciju molekula. Ovakav prikaz molekula naziva se geometrijski prikaz i definiše molekul u svetlu atoma koji su zastupljeni u molekulu i prostornih (x, y, z) koordinata molekula. Molekulski deskriptori koji se dobijaju iz ovog prikaza nazivaju se *3D molekulski deskriptori* ili geometrijski deskriptori. Neki od njih su predloženi kao mera veličine i sternih svojstava molekula.

Stereoelektronski prikaz molekula obuhvata molekulske deskriptore koji se odnose na karakteristike molekula koje proizilaze iz elektronske raspodele i interakcije polja ispitivanog molekula i atoma ili atomskih grupa (npr. molekul vode, metil grupa) iz njegovog okruženja. Deskriptori na ovom nivou mogu se smatrati *4D molekulskim deskriptorima*.

Kako *3D* i *4D* deskriptori sadrže više informacija nego neki jednostavni deskriptori, poput deskriptora povezanih sa dimenzijama molekula ili topoloških deskriptora, postoji stanovište da je u svim procesima modelovanja bolje koristiti geometrijske *3D* i *4D* deskriptore. Ipak, ovakvo razmišljanje nije potpuno opravdano, jer previše informacija sadržano u okviru nezavisnih varijabli, koje se dovode u korelaciju sa zavisno promenljivom, često za posledicu ima dobijanje nereproduktivnih modela. Ovo navodi na zaključak da ne postoje „najbolji deskriptori“ koji se mogu primeniti na sve probleme. Generalno govoreći, molekulski deskriptori, pored uobičajene nepromenljivosti svojstava, treba da zadovoljavaju određene osnovne zahteve. Da bi se molekulski deskriptor upotrebljavao u QSAR/QSRR istraživanjima, potrebno je da tumači strukturu, pokazuje dobru korelaciju sa najmanje jednim svojstvom molekula, ukoliko je moguće da pravi razliku među izomerima, da je primenljiv na delove strukture, da ga je moguće generalizovati na više deskriptore, da je nezavisan i jednostavan, da nije zasnovan na fizičko-hemijskim svojstvima, da nije u korelaciji sa drugim deskriptorima, da se lako izračunava, da može da se primenjuje na strukturno slične molekule i da se postepeno menja sa postepenim promenama u strukturi⁸⁸.

Kao što je već istaknuto, deskriptore je moguće klasifikovati na različite načine, pa se u zavisnosti od toga kakvu informaciju nose, molekularni deskriptori mogu podeliti na fizičko-hemijske, kvantno-hemijske, topološke i konstitucionalne deskriptore. Pored fizičko-hemijskih deskriptora (npr. $\log P$, oktanol-voda particioni koeficijent), deskriptori povezani sa veličinom molekula (npr. molekularna zapremina, polarizabilnost, molarna refraktivnost) i deskriptori povezani sa polarnošću (npr. polarna površina, dipolni moment, energija HOMO i LUMO orbitala) se takođe često koriste u QSRR istraživanjima. O korišćenju $\log P$ u QSRR ispitivanjima svedoči veliki broj publikacija, čije je cilj utvrđivanje uspešnosti korišćenja reverzno-faznih hromatografskih sistema kao alternativnih načina za određivanje parametara lipofilnosti i predviđanje lipofilnosti^{67,68}. Energetski parametri (npr. energije orbitala, maksimum i minimum elektrostatičkog potencijala, parcijalno naelektrisanje) su kvantno-hemijski deskriptori koji mogu poslužiti pri rasvetljavanju retencionog mehanizma⁶⁹, dok su topološki i elektronski topološki deskriptori često uključeni u definisanje veze između strukture i retencije dobijene primenom gasne^{70,89} ili visoko-efikasne tečne hromatografije⁹⁰. Glavni nedostaci kvantno-hemijskih deskriptora su prilično dugotrajan proces njihovog izračunavanja i činjenica da njihovo tumačenje nije uvek jednostavno. Sa druge strane, topološki deskriptori se mogu kompjuterski prilično jednostavno izračunati, ali nisu neophodno u direktnoj korelaciji sa retencijom. U **Tabeli 4** navedeni su molekularni deskriptori koji se najčešće koriste u QSRR istraživanjima, a podela je izvršena na osnovu njihove povezanosti sa određenim karakteristikama molekula.

Tabela 4. Neki strukturni deskriptori koji se koriste u QSRR istraživanjima

<i>Deskriptori povezani sa dimenzijom molekula (Konstitucioni deskriptori)</i>	<i>Fizičko-hemijski parametri (empirijski i semiempirijski)</i>
Ukupan broj atoma u molekulu, broj atoma određenog tipa (C, H, O, N...)	Hammett-ove konstante
Ukupan broj veza, vrste veza, broj prstenova	Hansch-ove konstante
Van der Waals-ova zapremina i površina	Taft-ove sterne konstante
Molekulska masa	Parametri rastvorljivost
Refraktivnost	Solvatohromni parametri
Polarizabilnost	Podeoni koeficijent ($\log P$)
Zapremina i površina molekula dostupna rastvaraču	Temperatura ključanja
Ukupna energija	pK _a vrednosti
<i>Deskriptori povezani sa geometrijom molekula</i>	<i>Deskriptori povezani sa polarnošću molekula</i>
Odnos dužine i širine molekula	Dipolni moment
Moment inercije	Parcijalno i ukupno naelektrisanje
<i>Topološki deskriptori (izvedeni na osnovu teorije grafova)</i>	Energije HOMO i LUMO orbitala
Molekulski indeksi konektivnosti	Lokalni i ukupni dipol
Kappa indeksi	
Valencioni indeksi	

2.2.3 Parametar lipofilnosti

Berthelot i Jungfleisch su još davne 1872. godine definisali particioni koeficijent kao ravnotežnu raspodelu supstance između dva nemišljiva rastvarača, na konstantnoj temperaturi⁹¹. Postojanje veze između rastvorljivosti u lipidima i biološkog dejstva leka istraživali su pre više od jednog veka Meyer⁹² i Overton⁹³. Nekoliko decenija kasnije, Pauling je otkrio vezu između lipofilnosti i anastetskog dejstva serije hemijskih jedinjenja⁹⁴.

Struktura i funkcija bilo kog biološkog sistema usko je povezana sa lipofilnim svojstvima njegovih molekula (komponenti). Hidrofobne interakcije snažno utiču na strukturu bioloških membrana, a takođe su transport i distribucija u okviru bioloških sistema u velikoj meri kontrolisani lipofilnošću komponenti sistema. Veoma hidrofobna unutrašnjost dvosloja membrane omogućava ili olakšava prolaz lipofilnih supstanci i sprečava slobodnu difuziju polarnih molekula, osim vode, u i iz ćelije. Takođe, lipofilnost igra dominantnu ulogu u ligand-receptor interakcijama (npr. u vezivanju hormona, neurotransmitera, modifikatora ćelijskih procesa i lekova za svoje receptore). Isto važi i za enzim-supstrat, enzim-inhibitor, antigen-antitelo i druge ligand-makromolekul interakcije.

Lipofilnost se obično izražava preko particionog koeficijenta između vode i organskog rastvarača nemešljivog sa vodom ($\log P$). Uobičajeno je odnos koncentracija u dve faze dat za slučaj kad je količina u organskoj fazi brojilac. Takođe, kada se govori o jonizujućim molekulima, $\log P$ se odnosi na neutralan oblik, dok je vrednost koja se određuje distribicioni koeficijent, $\log D$. Distribicioni koeficijent se odnosi na odnos ukupne koncentracije jonizujuće i nejonizujuće vrste u obe faze.

Mnoga prvobitna istraživanja u ovoj oblasti ukazivala su da vrednost particionog koeficijenta, $\log P$, zavisi najviše od interakcija ispitivane supstance sa vodenom fazom, bilo da je reč o odbojnim silama (hidrofobni efekat) ili o vodoničnim vezama i polarnim interakcijama (hidrofilni efekat). Ovakva objašnjenja dala su ohrabrenje za upotrebu termina „hidrofobnost“ u medicinskoj hemiji i QSAR istraživanjima.

Korišćenje termina „hidrofobnost“ u Hansch-ovim istraživanjima⁶⁴, koji je 1964. godine po prvi put koristio oktanol/vodu kao sistem rastvarača za merenje hidrofobnosti, može biti opravdano činjenicom da su karakteristike korišćenog para

rastvarača takve da su polarni efekti slični u obe faze. Oktanol ima hidroksilnu grupu koja može da učestvuje u polarnim interakcijama sa molekulima uzorka, baš kao što je slučaj i sa vodom. Štaviše, postoji značajna količina vode unutar oktanolne faze. Dakle, log P vrednosti dobijene za oktanol/voda sistem naglašavaju razlike u interakciji ugljovodoničnih delova sa vodom i organskom fazom, ali prikrivaju interakcije polarnih grupa molekula.

Međutim, tradicionalno objašnjavanje particije terminom „hidrofobnog vezivanja“ moralo je biti preispitano. Naime, termin „hidrofobno vezivanje“ opisuje tendenciju nepolarnih grupa da se grupišu u vodenim rastvorima, pri čemu se smanjuje stepen kontakta sa susednim molekulima vode⁹⁵, dok se pod pojmom „lipofilnosti“ podrazumeva afinitet molekula, ili dela molekula, ka lipofilnom okruženju⁹⁶.

Određivanje lipofilnosti metodom mućkanja (engl. „shake-flask“). Sa razvojem UV spektroskopije, određivanje particionog koeficijenta na ovaj način postalo je rutina za jedinjenja koja imaju dovoljnu rastvorljivost u vodi i dovoljno jako apsorbuju u UV oblasti.

Opšta upotreba log P vrednosti kao parametra lipofilnosti otpočela je tek 1964. godine sa Hasch-ovim proučavanjima, uz korišćenje oktanol/voda sistema za određivanje lipofilnosti, koji je sve do danas ostao standard u istraživanjima. Leo, Hansch i Elkins su 1971. godine objavili prvi sveobuhvatan pregled particionih koeficijenata, sa blizu 6000 vrednosti, uključujući i vlastitih 800, određenih za sistem oktanol/voda⁹⁷.

Iako je parametar lipofilnosti od 1964. godine tradicionalno određivan u sistemu oktanol/voda, u određene svrhe i za određen set jedinjenja, drugi parovi rastvarača su se pokazali adekvatnijim. Vrednosti particionih koeficijenata dobijenih za sistem oktanol/voda pokazale su se zadovoljavajućim za modelovanje lipofilnih interakcija sa biološkim membranama koje su pretežno izgrađene od proteina, dok za drugačije vrste bioloških membrana drugi sistemi rastvarača mogu biti pogodniji. Leahy i saradnici su 1989. godine svojim istraživanjima sugerisali da membrane (ili receptori) mogu imati različite karakteristike u pogledu mogućnosti ostvarivanja vodoničnih veza u odnosu na oktanol⁹⁸. Dakle, oni su sugerisali da postoje membrane koje ne sadrže ni proton-donorske, ni proton-akceptorske grupe, dok sa druge strane neke membrane sadrže velike amfiprotične grupe, velike proton-donorske grupe ili pak velike

proton-akceptorske grupe. Stoga se Leahy zalagao za korišćenje propilen glikol dipelargonata (engl. *propylene glycol dipelargonate*, PGDP) kao lipidne faze za modelovanje fosfolipidne membrane i shodno tome odredio je particione koeficijente za mnoga jedinjenja za sistem PGDP/voda⁹⁹.

Particioni koeficijent, P , određen za sistem oktanol/voda dugo vremena je prioritetno korišćen za definisanje lipofilnosti jedinjenja. Za mnoga jedinjenja, određivanje partitionih koeficijenata nije moguće primenom tradicionalnog načina mućkanjem, pa je ova metoda izgubila svoj primat¹⁰⁰. Kao nedostatci ove metode navode se slaba reproduktivnost, dužina trajanja eksperimenta, potreba za relativno velikom količinom supstance i što je najvažnije nemogućnost određivanja partitionog koeficijenta kod jedinjenja koja su veoma hidrofilna ili veoma lipofilna. Kod mnogih jedinjenja koja jonizuju, u slučaju slabo rastvornih jedinjenja ili jedinjenja koja slabo apsorbuju u UV oblasti postoje alternativne metode za merenje parametra lipofilnosti.

Određivanje lipofilnosti primenom reverzno-fazne tankoslojne hromatografije. Hromatografske tehnike (HPLC i TLC) su veoma važne alternativne eksperimentalne metode za određivanje lipofilnosti jedinjenja. Martin i Syngle su 1941. godine pokazali da R_F vrednost dobijena primenom reverzno-fazne tankoslojne hromatografije može da se dovede u vezu sa partitionim koeficijentom P ¹⁰¹. Retencija jedinjenja u hromatografiji je uglavnom regulisana procesima adsorpcije i particije. Da bi se odredili deskriptori lipofilnosti primenom hromatografskih tehnika, neophodno je ograničiti uticaj adsorpcije na retenciju jedinjenja. Adaptacija hromatografskih postupaka, gde je uobičajena hidrofilna, polarna, stacionarna faza zamenjena hidrofobnom, nepolarnom, stacionarnom fazom, omogućila je eksperimentalno određivanje lipofilnih svojstava jedinjenja u uslovima reverzno-fazne hromatografije,.

Upotreba hromatografskih tehnika u ispitivanjima lipofilnosti otpočela je sa radom Martin-a i Synge-a⁴⁸, a nastavila se sa istraživanjima Conseden-a¹⁰², koji je utvrdio odnos između retardacionog faktora (R_F vrednost), dobijenog u uslovima particione hromatografije, i partitionog koeficijenta.

Da bi definisali linearnu zavisnost između hromatografskog ponašanja i hemijske strukture, Bate-Smith i Westall¹⁰³ su uveli R_M vrednost:

$$R_M = \log \frac{1-R_F}{R_F} \quad (2)$$

Imajući u vidu da se retardacioni faktor jedinjenja definiše kao odnos puta koji je prešla supstanca (a) i puta koji je prešao rastvarač (b) jednačina (2) može da se predstavi i na sledeći način:

$$R_M = \log \frac{b-a}{a} \quad (3)$$

Dakle, R_M predstavlja logaritamsku vrednost odnosa rastojanja između zone supstance i fronta rastvarača (što je mera interakcije supstance sa lipofilnom fazom) i puta koji je prešla ispitivana supstanca (što je mera migracije supstance sa hidrofilnom mobilnom fazom). Manje polarne supstance jače interaguju sa stacionarnom fazom, što se reflektuje sniženjem R_F vrednosti, odnosno povećanjem R_M vrednosti. Prema jednačini (2), R_M vrednost će biti pozitivna ukoliko je R_F vrednosti ispod 0,5 i obrnuto. Prema tome, R_M vrednosti su u direktnoj korelaciji sa lipofilnošću jedinjenja, ukoliko su određene za hromatografski sistem u kojem dominira particioni mehanizam. Linearno povećanje R_M vrednosti sa povećanjem dužine alkil-lanca kongenerne serije jedinjenja pokazalo je odličnu primenljivost R_M umesto $\log P$ vrednosti, određenih standardnom metodom mućkanja. U velikom broju publikacija dobijene su dobre korelacije između R_M i $\log P$ vrednosti¹⁰⁴⁻¹⁰⁶ Boyce i Milborrow su 1965. godine publikovali prvi QSAR rad gde su R_M vrednosti, kao parametri lipofilnosti, korelisani sa biološkom aktivnošću¹⁰⁷.

Biagi i saradnici su prvi sistematski koristili RP-TLC za određivanje lipofilnosti. Baš ova grupa naučnika zaslužna je za uvođenje R_M^0 vrednosti, tj. R_M vrednosti ekstrapolisane na nulu koncentracije organske komponente, odnosno na čistu vodu. Odnos između R_M vrednosti i zapreminskog udela organske komponente (φ) može biti predstavljen jednačinom:

$$R_M = R_M^0 + m \cdot \varphi \quad (4)$$

gde je m nagib prave, a R_M^0 vrednost odsečka. Pored R_M^0 , m vrednosti se takođe mogu koristiti kao mera lipofilnosti jedinjenja¹⁰⁸. Parametar m je povezan sa specifičnom hidrofobnom površinom i u nekim slučajevima može da se koristi kao parameter lipofilnosti. Za homologe serije jedinjenja utvrđeno je postojanje značajne linearne korelacije između m i R_M^0 vrednosti:

$$R_M^0 = a + b \cdot m \quad (5)$$

gde su a i b linearni regresioni parametri. Biagi je, zajedno sa saradnicima, ukazao na međusobnu povezanost ovih parametara za nekoliko klasa farmakološki značajnih jedinjenja¹⁰⁹⁻¹¹¹.

Takođe parametar C_0 može biti upotrebljen za opisivanje lipofilnosti^{112,113}. Ovaj parametar se definiše kao odnos R_M^0 i m vrednosti:

$$C_0 = R_M^0 / m \quad (6)$$

Parametar C_0 se može shvatiti kao koncentracija organskog modifikatora u mobilnoj fazi za koju je raspodela supstance između dve faze jednaka ($R_F = 0,5$; $R_M = 0$). Takođe se može protumačiti kao hidrofobnost po jedinici specifične hidrofobne površine.

Izbor stacionarne i mobilne faze pri određivanju lipofilnosti upotrebom hromatografskih tehnika u velikoj meri može uticati na dobijene vrednosti. Kada se za određivanje lipofilnosti koriste reverzno-fazni hromatografski sistemi, kao stacionarna faza se koristi neki nepolaran sorbent, koji ima ulogu lipidne faze. U ove svrhe se može

primeniti veliki broj različitih sorbenata, ali se radi reproduktivnosti i mogućnosti upoređivanja preporučuje upotreba komercijalno dostupnih sorbenata. Najčešće su u upotrebi alkil-modifikovani silika-gelovi (npr. RP-2, RP-8 i RP-18), ali se i druge vrste hemijski modifikovanih silika-gelova mogu upotrebiti u svrhu određivanja parametara lipofilnosti (npr. CN- i NH₂-modifikovan silika-gel).

Mobilna faza u reverzno-faznim hromatografskim sistemima se sastoji od smeše vode (ili pufera) i organskog rastvarača (tzv. *modifikator*) u različitim odnosima. Primena dvokomponentnih smeša je obavezna čak i kod onih stacionarnih faza gde je moguće korišćenje čiste vode. Supstance sa srednjom i visokom lipofilnošću, ukoliko se čista voda koristi kao mobilna faza, pokazuju samo zanemarljive razlike u retenciji, što utiče na tačnost merenja.

Najčešće upotrebljavani organski modifikatori su metanol, aceton i acetonitril, dok su dioksan i tetrahidrofuran ređe u upotrebi. Braumann je preporučio upotrebu metanola kao organskog modifikatora, zbog izražene sličnosti njegovih fizičko-hemijskih svojstava sa vodom¹¹⁴. Sa teorijskog stanovišta R_M^0 vrednosti dobijene za različite sisteme rastvarača, bi trebalo da budu iste za sve upotrebljene rastvarače. Iako je Biagi¹⁰⁹ upotrebljavajući silika-gel impregnisan silikonskim uljem potvrdio ovo teorijsko pravilo, Cserhiti¹¹⁵ je upotrebljavajući silika-gel impregnisan parafinom utvrdio postojanje značajnih razlika u R_M^0 vrednostima, u zavisnosti od upotrebljenog organskog modifikatora (metanol, aceton ili acetonitril).

Pri hemijskoj modifikaciji silanolnih grupa na površini silika-gela, sterne smetnje sprečavaju da alifatični ligandi budu blizu jedan drugog, te na površini matriksa ostaje značajan deo slobodnih silanolnih grupa. Upravo iz tog razloga, retencija na stacionarnim fazama koje sadrže slobodne silanolne grupe, kao što je oktadecil silika-gel, zavisi od građenja vodoničnih veza i dipolnih interakcija, čije postojanje zavisi od elektronskih svojstava upotrebljenog modifikatora i mogućnosti građenja vodoničnih veza^{116,117}. Značajne prednosti RP-TLC tehnike u odnosu na metodu mućkanja su, između ostalog, to što ispitivana jedinjenja ne moraju da budu čista, a neophodna je samo mala količina supstance. Takođe, mogu se ispitivati jedinjenja širokog opsega lipofilnosti i na kraju, kvantitativno određivanje koncentracije jedinjenja nije neophodno (određivanje koncentracije je čest problem kod klasične metode mućkanja).

Kompjutersko izračunavanje lipofilnosti. U poslednje vreme raste interes za mogućnost izračunavanja $\log P$ vrednosti primenom različitih kompjuterskih programa, koji predstavljaju zamenu za eksperimentalne metode. Danas postoji bar dvadeset softverskih paketa za izračunavanje lipofilnosti. Na osnovu metodologije koja se primenjuje pri izračunavanju, sve računarske procedure mogu se podeliti na fragmentacione metode (npr. Σf , Clog P , AB/log P), atomske metode (npr. CHEMICALC, SMILOGP, HINT) i metode zasnovane na molekulskim svojstvima (npr. ASClog P , Alog P_s).

Fragmentacione metode uzimaju u obzir doprinos pojedinih fragmenata u molekulu i korekcionni faktor usled intramolekulskih interakcija^{118,119}, dok atomske metode uzimaju u obzir doprinos pojedinačnih atoma u molekulu¹²⁰. Kod metoda koje su zasnovane na molekulskim svojstvima izračunavanje se zasniva na empirijskim zavisnostima ili je zasnovano na 3D strukturi molekula.

Imajući u vidu da je često potrebno parametar lipofilnosti odrediti za veliki broj jedinjenja, neophodno je da procedura za određivanje lipofilnosti bude dovoljno brza. U tom kontekstu primena kompjutera superiorna je u odnosu na eksperimentalna određivanja. Takođe, prednost kompjuterskih metoda je mogućnost izračunavanja $\log P$ vrednosti čak i za izrazito lipofilna jedinjenja. Rutinska primena računskih postupaka, međutim, zahteva kontinuiranu proveru poređenjem sa eksperimentalnim procedurama, jer kod molekula sa složenim fragmentima ili funkcionalnim grupama koje se ne nalaze u bazi podataka, računarske metode pokazuju izvesne nepreciznosti.

2.3 Hemometrijske metode u funkciji proučavanja odnosa strukture i retencije

Termin „hemometrija“ koristi se od 1971. godine da bi opisao sve veću upotrebu matematičkih modela, statističkih principa i drugih logičkih metoda u oblasti hemije, a naročito analitičke hemije¹²¹. Hemometrija je zajedničko ime za različite statističke metode koje se primenjuju u hemiji, a čiji cilj je obezbeđivanje maksimalne količine informacija analizom hemijskih podataka. Neka od značajnijih područja primene hemometrije uključuju: (1) kalibraciju, validaciju i poređenje različitih setova rezultata; (2) optimizaciju hemijskih merenja i eksperimentalnih procedura; (3) ekstrakciju maksimalne količine hemijskih informacija iz analitičkih podataka i (4) planiranje eksperimenata (eksperimentalni dizajn).

Brz tehnološki razvoj, posebno u oblasti kompjuterizovanih instrumenata za analitičku hemiju, omogućio je značajan napredak u oblasti hemometrije u poslednjih tridesetak godina. Tokom većeg dela ovog perioda, fokus je bio na multivarijantnim metodama. Za najveći broj hemijskih pojava svojstvena je multivarijantnost, što zapravo znači da na jednu pojavu (zavisno promenljivu) utiče veći broj faktora (nezavisno promenljivih). Mnogi tradicionalni hemijski pristupi su univarijantni, ali se tom prilikom gubi velika količina informacija. Uzimajući u obzir distribuciju više varijabli istovremeno, može se dobiti više informacija nego kada bi se svaka promenljiva pojedinačno razmatrala. Ovo je jedna od prednosti multivarijantnih tehnika, jer kada se posmatra samo jedna varijabla, zanemaruju se korelacije između varijabli i u tom slučaju jedan deo ukupne slike nedostaje.

Istraživanje koje je sproveo Bro daje opis dodatnih prednosti multivarijantnih metoda u poređenju sa univarijantnim¹²². Smanjenje šuma je moguće kada se veći broj varijabli analizira simultano primenom odgovarajućih multivarijantnih metoda (npr. nizak nivo šuma moguće je dobiti kada se analiza glavnih komponenata, PCA, iskoristi da bi se izdvojilo nekoliko značajnih faktora). Još jedna značajna prednost multivarijantnih tehnika je mogućnost korišćenja delimično selektivnih merenja, gde se upotrebom multivarijantnih metoda dobija rezultat oslobođen efekta ometajućeg signala.

Izračunavanja i softveri. U većini slučajeva izračunavanja u okviru hemometrijske analize su suviše komplikovana da bi se izvršavala ručno ili pomoću kalkulatora, pa je neophodno korišćenje nekog softvera. Jedna od poteškoća pri hemometrijskoj analizi je upravo odabir odgovarajućeg softvera, koji će najviše odgovarati podacima kojima se raspolaže. Excel i Matlab su softveri koji se najčešće koriste u ove svrhe. Prednost Excel-a je jednostavna upotreba i fleksibilan pregled podataka, dok se prednost Matlab-a ogleda u orjentisanosti ka radu sa matricama, posebno imajući u vidu da je većina podataka multivarijantna. Paralelno korišćenje Excel-a i Matlab-a predstavlja optimalnu kombinaciju¹²³.

2.3.1 Analiza glavnih komponenta, PCA

Analiza glavnih komponenta (engl. *Principal component analysis*, PCA) predstavlja verovatno najrasprostranjeniju i najpopularniju multivarijantnu hemometrijsku tehniku. U literaturi postoji veliki broj podataka o začetima razvoja ove metode, pri čemu je jedan od verovatno najpoznatijih ranih radova Pearson-ov rad objavljen 1901. godine¹²⁴. Opšte je prihvaćeno da je revolucija u korišćenju PCA počela 30-ih i 40-ih godina XX veka sa radovima Hotellinga¹²⁵.

Jedna od važnijih primena PCA je u QSAR istraživanjima, gde je dostupan veliki broj fizičko-hemijskih parametara velikog broja jedinjenja. Jedan od problema sa multivarijantnim podacima je da njihov uobičajeni obim može otežati utvrđivanje odnosa među njima, tako da je cilj mnogih multivarijantnih metoda smanjivanje broja podataka. Takođe, često je korelacija među varijablama značajna, pa su zapravo neke od informacija suvišne. PCA je jedna od multivarijantnih metoda koja pruža mogućnost istraživanja postojanja pravilnosti u velikom setu podataka, pružajući informaciju o jedinjenjima koja se ponašaju na sličan način¹²⁶.

Princip PCA metode može se prikazati kao matemtička transformacija matrice originalnih podataka, X , u sledećem obliku:

$$X = T \cdot P + E \quad (7)$$

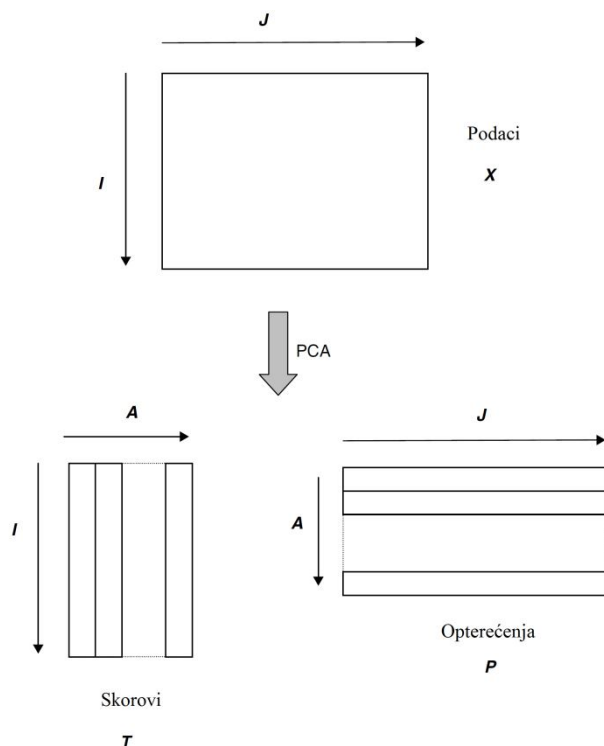
gde matrica T sadrži onoliko redova koliko ima i matrica polaznih podataka, a matrica P sadrži onoliko kolona koliko ima i matrica polaznih podataka. To znači da je broj kolona u matrici T jednak broju redova u matrici P . E je matrica reziduala (odstupanja).

PCA se može primeniti na matricu polaznih podataka bilo koje veličine, ali broj glavnih komponenti ne može biti veći od manje dimenzije originalnog seta podataka. Dakle, ako originalna matrica ima dimenzije $I \times J$ ($I < J$), ne može se izračunati više od I glavnih komponenti. Ako se broj glavnih komponenti označi sa A , tada su:

- dimenzije T : $I \times A$;
- dimenzije P : $A \times J$.

Matrica T se sastoji od niza vektora u kolonama, dok se matrica P sastoji od niza vektora u redovima. Prvi vektori matrice T i P često se nazivaju i svojstveni vektori prve glavne komponente, a ilustracija ovog data je na **Slici 7**. Važno je naznačiti da cilj PCA analize uključuje nalaženje matematičke funkcije koja sadrži određena svojstva koja se mogu povezati sa hemijskim faktorima.

Sledeći korak u analizi glavnih komponentata je određivanje broja značajnih faktora ili glavnih komponentata u matrici. Sa povećanjem broja glavnih komponentata povećava se i količina varijanse koja se opisuje datim modelom. Najveća količina varijanse sadržana je u prvih nekoliko glavnih komponentata. Po pravilu, broj glavnih komponentata koji se uzima za dalju obradu bi trebalo da objašnjava najmanje 80% ukupne varijanse podataka¹²⁷.



Slika 7. Šematski prikaz funkcionisanja PCA metode

2.3.2 Višestruka regresiona analiza, MLR

Kod proste linearne regresije, jedna zavisno promenljiva, Y , se dovodi u vezu sa jednom nezavisno promenljivom, X . Ova zavisnost se može predstaviti jednačinom:

$$Y = a + b \cdot X + c \quad (8)$$

gde je a odsečak, b nagib prave, a c greška za koju važi pretpostavka da je nezavisna i sa srednjom vrednošću nula¹²⁸.

U većini slučajeva zavisno promenljiva, Y , je određena većim brojem nezavisnih varijabli, pa je za definisanje te zavisnosti neophodno upotrebiti neku multivarijantnu analizu. Višestruka linearna regresija, MLR, je jedna od najčešće korišćenih regresionih metoda, sa širokom upotrebom u QSRR, QSAR i QSPR istraživanjima^{79-81,129-131}. MLR je pogodna regresiona metoda zbog svoje jednostavnosti i lakoće tumačenja modela koji daje linearnu vezu između svojstava jedinjenja, Y , i njegovih svojstvenih vektora,

označenih sa X , koji su obično molekulski deskriptori. Dakle, MLR omogućava predviđanje svojstava nepoznatih jedinjenja na osnovu postavljenog modela. Opšti izraz MLR modela može biti predstavljen sledećom jednačinom:

$$Y = a + b_1 \cdot X_1 + b_2 \cdot X_2 + b_k \cdot X_k + c \quad (9)$$

gde je a konstanta modela, X_1, \dots, X_k su molekulski deskriptori sa odgovarajućim koeficijentima b_1, \dots, b_k (za deskriptore od 1 do k)¹²⁸. Vrednosti koeficijenata mogu pokazati stepen uticaja pojedinačnih molekulskih deskriptora na svojstvo jedinjenja. Takođe, predznak koeficijenta ukazuje na pozitivan ili negativan doprinos datog deskriptora na ispitivano svojstvo. Međutim, ova tumačenja nisu tačna kod međusobno visoko korelisanih deskriptora, jer im u tom slučaju mogu biti dodeljene pogrešne vrednosti koeficijenata. Prema tome, molekulski deskriptori u modelu treba da budu nezavisni jedni od drugih i broj deskriptora koji ulaze u model bi trebalo da bude bar pet puta manji od broja jedinjenja¹³². Osim toga, pretpostavka da su svojstva jedinjenja u linearnoj korelaciji sa molekulskim deskriptorima čini MLR metodu manje pogodnom za modelovanje gde je zavisna varijabla neka složena karakteristika (npr. toksičnost, gde više mehanizama može uzajamno da izazove toksičnu reakciju).

Validacija QSAR i QSRR modela je vrlo važan korak, a njihov kvalitet se definiše statističkim parametrima. Najčešće se u ovu svrhu koriste kvadrat korelacionog koeficijenta R^2 , koji predstavlja meru odstupanja koja mogu biti objašnjena regresionom pravom, korigovani R^2 i standardna greška SE . Međutim, nekada ovi statistički parametri nisu dovoljni da u potpunosti definišu prediktivnu moć određenog modela, te se različite tehnike validacije primenjuju da bi se utvrdio kvalitet modela. Obično se složenost modela proverava primenom unakrsne validacije (engl. *Cross-validation*, CV), koja u svojoj najjednostavnijoj varijanti podrazumeva metodu izostavljanja jednog objekta (engl. *leave-one-out cross-validation*, LOO-CV)¹³³. Ceo proces se ponavlja sve dok svaki uzorak ne bude isključen. Statistički parametri koji definišu unakrsnu validaciju su koeficijent determinacije unakrsne validacije, R_{cv}^2 , koren srednjeg kvadratnog odstupanja određen za unakrsnu validaciju (engl. *Root mean squared error cross-validation*, RMSECV), kao i suma kvadrata odstupanja od predviđenih vrednosti (engl. *Predicted residual error sum of squares*, PRESS).

Vrednost R_{cv}^2 , definisana je jednačinom:

$$R_{cv}^2 = 1 - \frac{PRESS}{SSY} \quad (10)$$

gde je SSY suma kvadrata standardne devijacije srednje vrednosti zavisne promenljive (engl. *The sum of the squared deviations of the dependent variable values from their mean*). Da bi se dobile dobre korelacije između eksperimentalnih i predviđenih vrednosti potrebno je da SSY ima što nižu vrednost. U idealnom slučaju $SSY = 0$ i $R_{cv}^2 = 1$.

Selekcija varijabli je takođe bitan korak u svakoj MLR analizi, jer je cilj dobiti najbolji model sa najboljom prediktivnošću. Da bi se broj varijabli smanjio potrebno je pronaći i odbaciti deskriptore koji sadrže najmanje informacije i koji u najmanjoj meri doprinose zavisno promenljivoj, Y . Prvi korak u selekciji deskriptora je odbacivanje svih deskriptora koji imaju konstantnu vrednost za sva ispitivana jedinjenja ili čije vrednosti nisu dostupne za sva jedinjenja. Nakon ove „ručne“ selekcije deskriptora može se primeniti neki postupak za selekciju varijabli, da bi se broj deskriptora dodatno smanjio. Najčešće korišćene metode za selekciju varijabli su¹³⁰:

- Izbor unapred (engl. *Forward selection*) je metoda kod koje se prvo uključuje ona varijabla koja se u najvećoj meri koreliše sa zavisno promenljivom (najveća vrednost R^2). Sa svakom sledećom uključenom varijablom vrednost R^2 se dodatno povećava, a proces se prekida uključivanjem varijable čiji doprinos porastu parametra R^2 nije značajan. Primenom ove metode, jednom uključena varijabla ne može više biti isključena iz modela.
- Eliminacija unazad (engl. *Backward elimination*) u početni model uključuje sve varijable, a zatim se iz modela postepeno eliminišu varijable i to prvo ona sa najmanjim doprinosom vrednosti $PRESS$.
- Postepena regresija ili regresija u koracima (engl. *Stepwise regression*) je zapravo selekcija unapred, ali u svakom koraku postoji mogućnost izostavljanja varijable koja je prethodno bila uključena u model. U okviru ove selekcije potrebno je odabrati dva nivoa značajnosti, jedan niži, kao kriterijum za uključivanje novih varijabli i drugi za njihovo isključivanje. Broj varijabli koji ostaje u modelu zasniva se na ta dva nivoa značajnosti.

- Metoda međusobne regresije svih promenljivih (engl. *All possible regressions*) vrši selekciju varijabli na osnovu provere svih korelacija sa jednom, dve, tri varijable. Kriterijum za selekciju se beleži za svaku regresiju i na osnovu njega je moguće odabrati najbolji deskriptor za jednoparametrijsku ili više deskriptora za višeparametrijsku jednačinu.
- Multivarijantna selekcija varijabli (engl. *Multivariate variable selection*) u okviru većeg seta podataka traži manji set koji obezbeđuje maksimalnu vrednost R^2 . Nakon odabira prve varijable, program iz preostalog seta bira drugu varijablu koja zajedno sa prethodnom daje najveću vrednost R^2 . Pored toga, program proverava da li bi neka druga promenljiva mogla da zameni prvoizabranu promenljivu. Ukoliko postoji takva promenljiva, ona ulazi u sistem, a lošija varijabla biva uklonjena. Postupak traje sve dok zamena varijabli više ne utiče na povećanje vrednosti R^2 .

2.3.3 Parcijalna regresija najmanjih kvadrata, PLS

PLS regresija je tehnika koja objedinjuje i kombinuje karakteristike PCA i MLR. Ovo je izuzetno korisna tehnika kada treba predvideti set zavisnih varijabli iz velikog seta nezavisno promenljivih. Zanimljivo je istaći da je ova tehnika razvijena u okviru društvenih nauka¹³⁴⁻¹³⁶, ali je značajniju primenu pronašla upravo u hemometriji¹³⁷.

Ako matrica Y ima dimenzije $I \times K$ (I je broj objekata, npr. jedinjenja, a K broj zavisnih varijabli), a matrica X dimenzije $I \times J$, gde je J broj zavisno promenljivih, zadatak PLS regresije će biti definisanje veze između matrice zavisno promenljivih, Y , i matrice nezavisno promenljivi, X . Kada je broj varijabli u matrici X veći od broja objekata, nemoguće je primeniti višestruku linearnu regresiju, pa se u ovakvim okolnostima primenjuju neke druge metode, a jedna od njih je i PLS. Pristup PLS metode omogućava prevazilaženje problema sa kolinearnim varijablama, zamenjujući ih sa nekoliko latentnih, međusobno normalnih varijabli (PLS komponente)¹³⁸. Ove PLS komponente su linearne kombinacije originalnih varijabli X , a kriterijum za njihovo dobijanje je visoka korelacija sa zavisno promenljivom i maksimum kovarijanse između X (npr. matriks molekulskih deskriptora) i Y (npr. retencioni parametri). Latentne

varijable dobijene na ovaj način mogu se iskoristiti za predviđanje Y vrednosti, što može poslužiti za predviđanje osobina molekula.

Prilikom PLS regresije matrice X i Y se transformišu prema sledećim jednačinama:

$$X = T \cdot P + E \quad (11)$$

$$Y = U \cdot Q + F \quad (12)$$

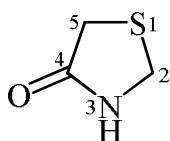
gde su T i U matrice skorova (PLS komponenti), P i Q su matrice koeficijenata latentnih varijabli, a E i F matrice reziduala (odstupanja).

Važno je razmatrati broj latentnih varijabli koji se koristi u PLS modelovanju, a optimalan broj latentnih varijabli se može odrediti primenom metode unakrsne validacije (LOO-CV), gde se deo podataka (objekata) koristi kao set za kalibraciju (engl. *training set*), a drugi deo se izdvaja kao set za testiranje (engl. *test set*) i koristi se za validaciju modela. Uvek je poželjno da samo nekoliko latentnih varijabli (PLS komponenata) opisuje najveći deo varijacija.

Kvalitet PLS modela definiše se na osnovu kvadrata višestrukog korelacionog koeficijenta za kalibraciju (R^2Y), kvadrata višestrukog korelacionog koeficijenta za unakrsnu validaciju (Q^2Y), korena srednjeg kvadratnog odstupanja za kalibraciju (engl. *Root mean square errors of calibration, RMSEC*) i korena srednjeg kvadratnog odstupanja za unakrsnu validaciju (*RMSECV*)^{127,139}.

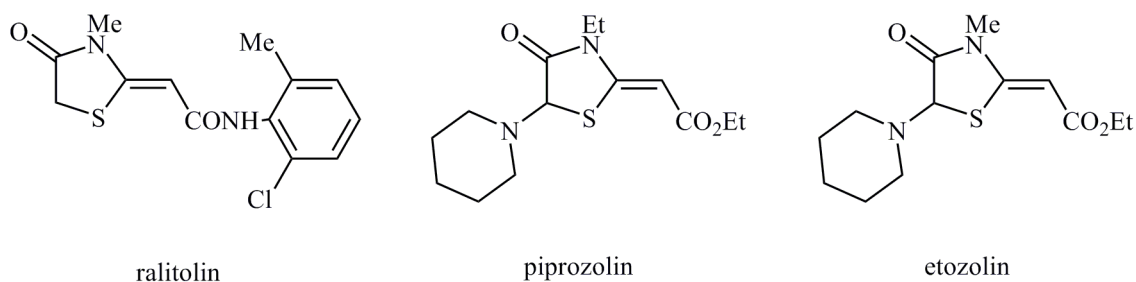
2.4 N-supstituisani 2-alkiliden-4-oksotiazolidini

Istraživanja su pokazala da 4-oksotiazolidinsko jezgro (**Slika 8**) predstavlja važan deo strukture biološki aktivnih jedinjenja^{140,141}. Ova klasa jedinjenja ima širok spektar farmakološkog dejstva i raznovrsnu primenu. Ustanovljeno je da jedinjenja koja u strukturi sadrže 4-oksotiazolidinski prsten imaju antibakterijsko^{9,142}, antivirusno¹⁴³, antiinflamatorno¹⁴⁴, antifungalno¹⁴⁵, analgetsko¹⁴⁶ i antikancersko dejstvo¹⁴⁷.



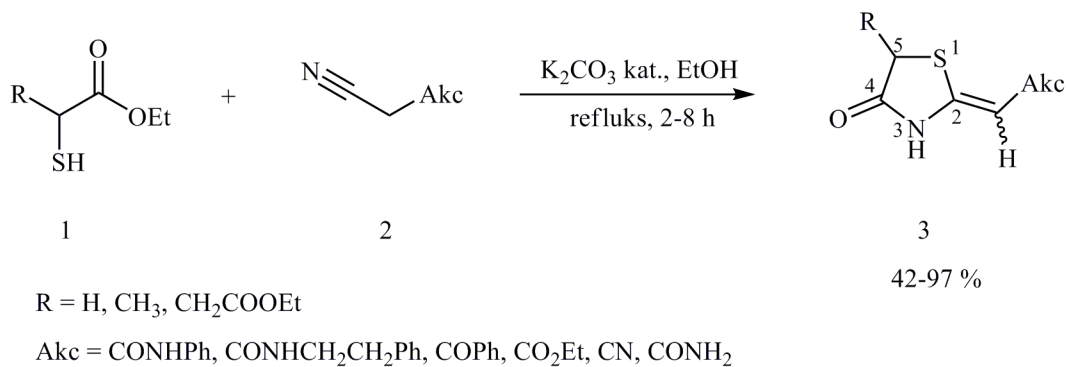
Slika 8. Struktura 4-oksotiazolidinskog prstena

U poslednje vreme, veliku pažnju hemičara privlače 4-oksotiazolidini koji u položaju C2 sadrže egzocikličnu dvostruku vezu. Neki od 2-alkiliden-4-oksotiazolidina se kao netoksične, aktivne supstance koriste u lečenju različitih oboljenja. Predstavnici ove klase jedinjenja su ralitolin koji se koristi kao antiepileptik¹⁴⁸, piprozolin koji se uporebljava kod oboljenja jetre i etozolin (diuretik) koji se koristi pri lečenju hipertenzije. Strukture ovih 2-alkiliden-4-oksotiazolidina, koji su registrovani kao lekovi, date su na **Slici 9**.



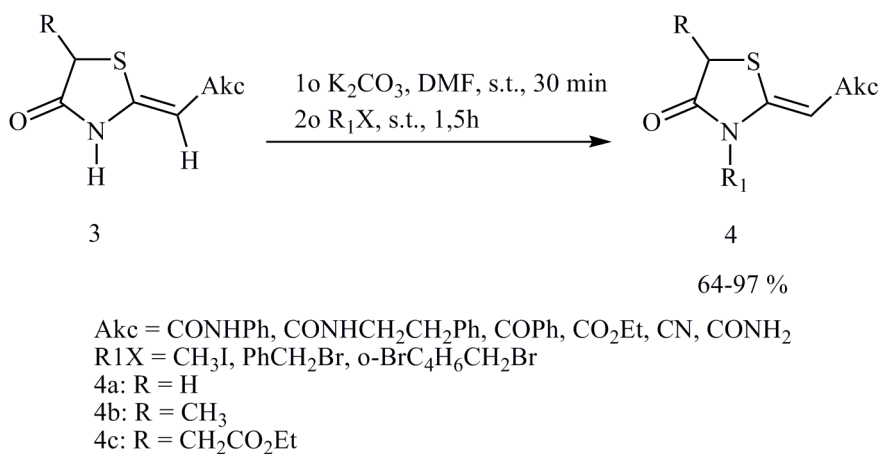
Slika 9. Strukture 2-alkiliden-4-oksotiazolidina koji su registrovani kao lekovi

Tiazolidinski derivati čije je hromatografsko ponašanje ispitivano u ovom radu sintetisani su regioselektivnom bazno katalizovanom reakcijom α -merkpto estara **1** i α -supstutuisanih nitrila **2** (Slika 10)^{149,150}. Reakcije su izvedene u apsolutnom etanolu u prisustvu katalitičke količine kalijum-karbonata, na temperaturi ključanja rastvarača.



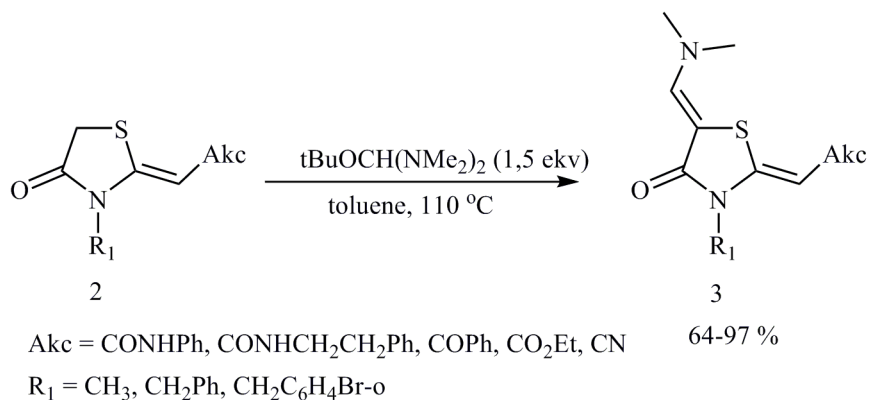
Slika 10. Šematski prikaz sinteze 2-alkiliden-4-oksotiazolidinskih derivata

Pod blagim reakcionim uslovima, upotrebom jednog ekvivalenta kalijum-karbonata, ostvareno je regioselektivno *N*-alkilovanje 2-alkiliden-4-oksotiazolidina **3** (Slika 11)¹⁵¹.



Slika 11. *N*-alkilovanje 2-alkiliden-4-oksotiazolidinskih derivata

Funkcionalizacija položaja C-5, *N*-supstituisanih 2-alkiliden-4-oksotiazolidina **4a**, bez supstituenta u tom položaju, ostvarena je reakcijom sa *tert*-butoksibis(dimetilamino)metanom (Bredereck-ov reagens) (**Slika 12**). Reakcije sinteze 5-(dimetilamino)metiliden derivata 2-alkiliden-4-oksotiazolidina **5** su izvedene u toluenu na temperaturi ključanja rastvarača.



Slika 12. Sinteza 5-(dimetilamino)metiliden derivata 2-alkiliden-4-oksotiazolidina

Sva sintetisana jedinjenja okarakterisana su na osnovu spektralnih podataka (IR, ¹H i ¹³C NMR, MS) i elementalne analize.

3. Eksperimentalni deo

3.1 Ispitivane supstance

Strukture 23 novოსინთეზისანა *N*-სუბსტიუისანა 2-ალკილენ-4-ოქსოთიაზოლიდინა¹⁵¹, კოჟი სუ იზოლოვანი კაო *Z*-იზომერი, პრეკაზანე სუ ნა **Slici 13**.

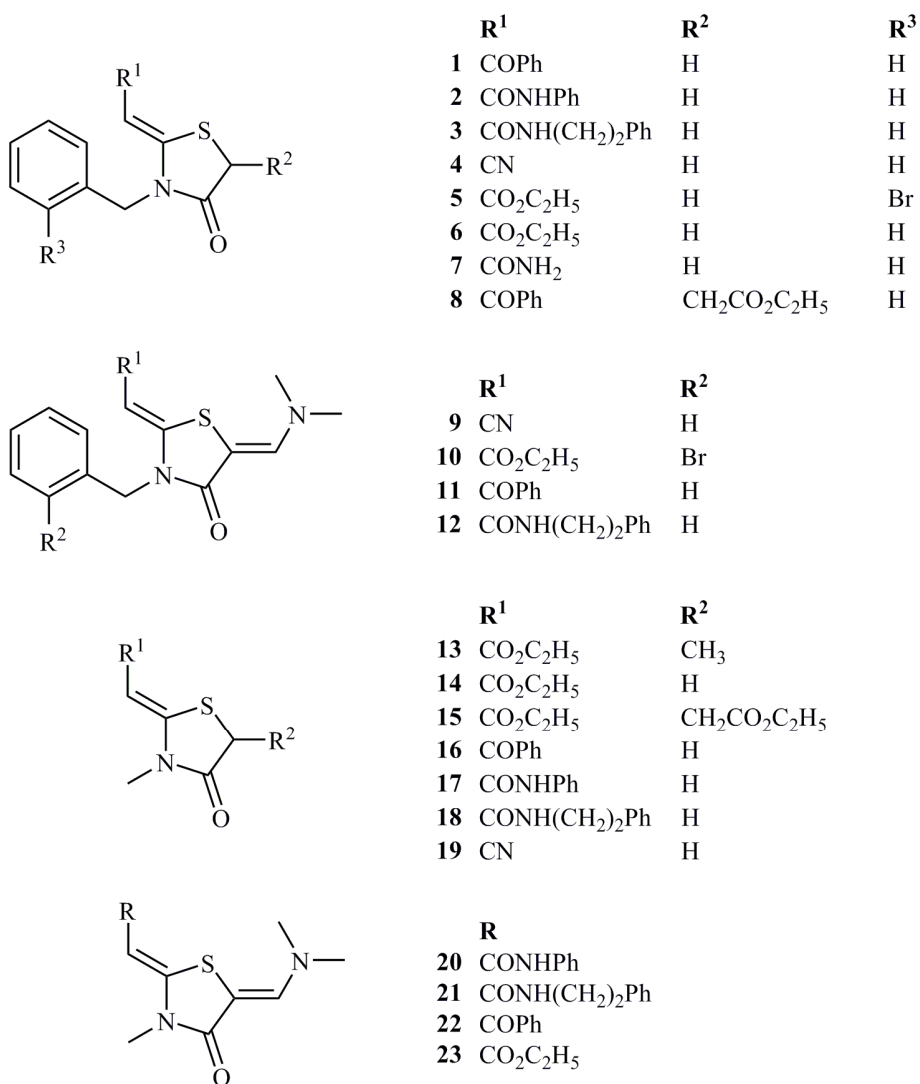
3.2 Hromatografija na tankom sloju

Za proučavanje hromatografskog ponašanja ispitivanih jedinjenja (**Slika 13**) primenjena je tehnika uzlazne tankoslojne hromatografije. TLC ispitivanja su izvedena na komercijalno dostupnim pločama dimenzija 10 × 10 cm. Korišćene su dve vrste stacionarnih faza: C₁₈ (E. Merck, Germany; Art. 5559) i HPTLC CN (E. Merck, Germany; 16464). Upotrebljene mobilne faze bile su dvokomponentne smeše (metanol (MeOH)/voda, acetonitril (ACN)/voda i tetrahidrofur (THF)/voda). Korišćeni su različiti zapreminski odnosi organskih komponenata (**Tabela 5**). Svi rastvarači upotrebljeni kao komponente mobilne faze bili su analitičkog stepena čistoće.

Ispitivane supstance su rastvorene u metanolu. Na ploče je nanošeno oko 2 μ l sveže pripremljenih rastvora približne koncentracije 1 mg/cm³.

Ploče su razvijane u vertikalnoj kadi, nakon što je atmosfera u kadi zasićena parama rastvarača tokom 15 minuta. Sva ispitivanja su izvršena na sobnoj temperaturi (22 \pm 2 °C). Hromatografske zone su detektovane pod UV lampom, na talasnoj dužini $\lambda = 254$ nm.

Na osnovu tri uzastopna merenja izračunate su prosečne R_F vrednosti za svaku ispitivanu supstancu.



Slika 13. Strukture ispitivanih *N*-supstituisanih 2-alkiliden-4-oksotiazolidina

Tabela 5. Primenjeni hromatografski sistemi

Stacionarna faza	Mobilna faza	Zapreminski udeo organske komponente
RP-18	Metanol/voda	0,95; 0,90; 0,85; 0,80; 0,75; 0,70
	Acetonitril/voda	0,90; 0,80; 0,70; 0,60; 0,50
	Tetrahidrofurano/voda	0,85; 0,80; 0,70; 0,60; 0,50
CN	Metanol/voda	1,00; 0,90; 0,80; 0,75; 0,70; 0,65; 0,60
	Acetonitril/voda	0,70; 0,60; 0,50; 0,45; 0,40
	Tetrahidrofurano/voda	0,60; 0,55; 0,50; 0,45; 0,40

3.3 Kompjuterska izračunavanja

3.3.1 Geometrijska optimizacija i izračunavanje molekulskih deskriptora

Dva kompjuterska programa, *Hyperchem* (verzija 7.0, Hypercube) i *Molecular Modeling Pro Plus* (MMP Plus) upotrebljena su za izračunavanje molekulskih deskriptora, a *Hyperchem* je iskorišćen i za geometrijsku optimizaciju^{152,153}.

Strukture ispitivanih *N*-supstituisanih 2-alkiliden-4-oksotiazolidina nacrtane su u *Hyperchem Release 7* programu. Prvi korak u optimizaciji molekulske strukture izveden je pomoću molekulsko-mehaničke MM+ metode, koja je zasnovana na MM2 algoritmu. U sledećem koraku molekulske strukture su optimizovane korišćenjem *Polak-Ribiere Conjugate Gradient (PRCG)* algoritma. Strukture optimizovane na ovaj način korišćene su kao polazne za semi-empirijsku optimizaciju. Potpuna geometrijska optimizacija svih struktura postignuta je primenom semi-empirijske molekulsko-orbitalne metode (Austin Model 1, AM1)¹⁵⁴, a urađena je primenom algoritma *Steepest Descent*, i na kraju *Conjugate Directions* algoritma.

Isti kompjuterski program, *Hyperchem*, upotrebljen je za izračunavanje molekulskih deskriptora. Izračunati su deskriptori koji se odnose na elektronska svojstva, optimizovane geometrije, ukupnu energiju, toplotu građenja i QSAR svojstva: ukupna energija (engl. *total energy*, TE), energija vezivanja (engl. *binding energy*, BE), toplota građenja (engl. *heat of formation*, HOF), dipolni moment (engl. *dipol moment*, DM), energija najviše popunjene orbitale (engl. *highest occupied molecular orbital energy*, HOMO), energija najniže nepopunjene orbitale (engl. *lowest unoccupied molecular orbital energy*, LUMO), površina (engl. *surface area (approx)*, SA), energija hidratacije (engl. *hydration energy*, HE), refraktivnost (engl. *refractivity*, R) i polarizabilnost (engl. *polarizability*, P).

Pomoću programa *Molecular Modeling Pro Plus* (MMP Plus) izračunati su deskriptori koji opisuju fizičko-hemijska svojstva i konstiticioni deskriptori: molekulska dužina (engl. *molecular length*, L), molekulska širina (engl. *molecular weight*, W), molekulska dubina (engl. *molecular depth*, D), Randić, Hall i Kier indeksi konektivnosti

0-4 (engl. *connectivity indices 0-4*, CI 0-4), Randić, Hall i Kier indeksi valentnosti 0-4 (engl. *valence indices 0-4*, VI 0-4), hidrofilno-lipofilni balans (engl. *hydrophilic-lipophilic balance*, HLB), parameter rastvorljivosti (engl. *solubility parameter*, SP), Hansen-ova disperzija (engl. *Hansen dispersion*, HD), Hansen-ova polarnost (engl. *Hansen polarity*, HP), Hansen-ovo vodonično vezivanje (engl. *Hansen hydrogen bonding*, HHB), akceptor vodonične veze (engl. *hydrogen bond acceptor*, HBA), donor vodonične veze (engl. *hydrogen bond donor*, HBD), rastvorljivost u vodi (engl. *water solubility*, SW), površinski napon (engl. *surface tension*, ST), hidrofilna površina (engl. *hydrophilic surface area*, HSA) i polarna površina (engl. *polar surface area*, PSA).

Parametri lipofilnosti su kompjuterski izračunati pomoću programa dostupnih na internetu (Alog P_s , AClog P , ABlog P , Milog P , Alog P , Mlog P , log P_{KOWWIN} , Xlog P_2 , Xlog P_3)¹⁵⁵, dok su Clog P vrednosti izračunate pomoću ChemDraw Ultra 9.0 softvera¹⁵⁶.

3.3.2 Hemometrijske metode

Linearna regresija urađena je primenom statističkog paketa *Data Analysis* u okviru Microsoft Office Excel-a (verzija 7.0).

NCSS 2004 softverski paket¹⁵⁷ je iskorišćen za analizu glavnih komponenata (PCA) i višestruku linearnu regresiju (MLR).

Parcijalna regresija najmanjih kvadrata (PLS) izvedena je primenom PLS Toolbox statističkog paketa (Eigenvector Research, Inc. v. 5.2.2.) u okviru MATLAB verzije 7.4.0.287 (R2007a) (MathWorks INC., Natick, MA).

4. Rezultati i diskusija

4.1 Retenciono ponašanje ispitivanih jedinjenja u uslovima reverzno-fazne hromatografije

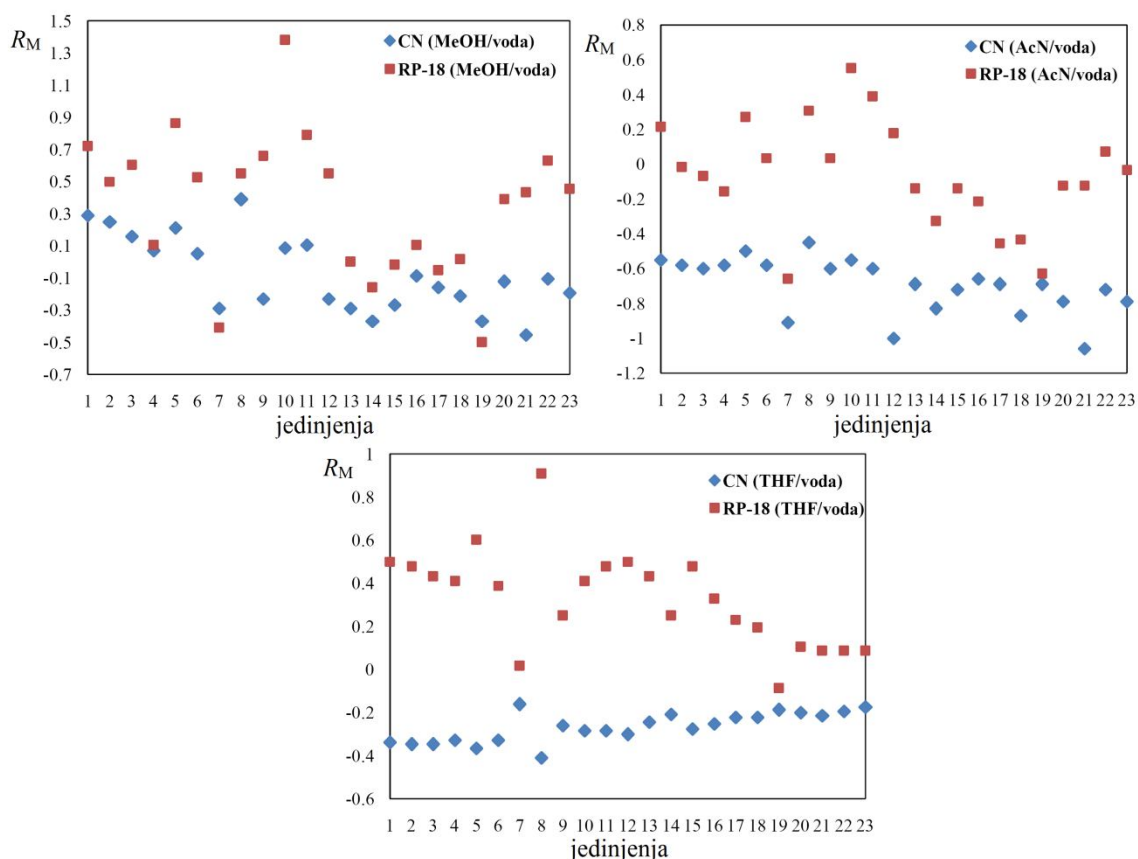
Hromatografsko ponašanje novosintetisanih *N*-supstituisanih 2-alkiliden-4-oksotiazolidina (**Slika 13**) ispitivano je u uslovima reverzno-fazne hromatografije. U cilju ispitivanja uticaja stacionarne i mobilne faze na retenciju jedinjenja, korišćene su dve stacionarne faze (RP-18 i CN-modifikovan silika-gel) i tri dvokomponentna sistema rastvarača (metanol/voda, acetonitril/voda i tetrahidrofuran/voda).

Oktadecil-modifikovan silika-gel, RP-18, odabran je kao stacionarna faza koja se najčešće koristi pri hromatografskom ispitivanju lipofilnosti, a CN-modifikovan silika gel je upotrebljen, jer se takođe pokazao kao veoma dobar sorbent kod određivanja lipofilnosti⁴⁰⁻⁴⁴.

Mobilna faza u reverzno-faznoj tankoslojnoj hromatografiji obično je dvo- ili više-komponentna smeša rastvarača od kojih je jedan uvek voda, a drugi je organski rastvarač-*modifikator*. Pri optimizaciji mobilne faze rastvarači se mogu odabrati tako da tri rastvarača, iz različitih grupa Snyder-ovog trougla^{55,56}, formiraju trougao selektivnosti. Za odvajanja u reverzno-faznim sistemima trougao selektivnosti mogu formirati acetonitril, metanol i tetrahidrofuran u smeši sa vodom, te su stoga baš oni odabrani kao organski modifikatori.

4.1.1 Uticaj prirode stacionarne i mobilne faze na retenciju ispitivanih jedinjenja

Karakteristike stacionarnih faza i prisustvo odgovarajućih funkcionalnih grupa na njihovim površinama utiču na različitu retenciju jedinjenja, kada se primeni RP-18, odnosno CN-modifikovan silika-gel. Retencioni podaci (R_F i R_M vrednosti) za sve hromatografske sisteme dati su u Prilogu (**Tabele P1-P6**). Na **Slici 14** upoređene su R_M vrednosti ispitivanih jedinjenja za hromatografske sisteme gde su upotrebljene dve različite stacionarne faze, dok su mobilne faze i udeli organskog modifikatora bili isti ($\varphi = 0,7$ za sisteme MeOH/voda i ACN/voda; $\varphi = 0,5$ za sistem THF/voda).



Slika 14. R_M vrednosti ispitivanih jedinjenja za RP-18 i CN stacionarnu fazu

Iz prikazanih rezultata (**Slika 14**) evidentno je da, bez obzira na upotrebljeni organski modifikator u mobilnoj fazi, ispitivana jedinjenja snažnije interaguju sa RP-18 stacionarnom fazom u poređenju sa CN-modifikovanim silika-gelom. Posledica jake retencije ispitivanih jedinjenja pri upotrebi RP-18 stacionarne faze može se objasniti izraženijim nespecifičnim interakcijama ispitivanih supstanci i ove stacionarne faze (disperzione i indukcione sile, odnosno hidrofobne interakcije) u odnosu na CN stacionarnu fazu, koja je manje hidrofobna od RP-18.

Pored nespecifičnih interakcija jedinjenja sa stacionarnom fazom, na retenciju utiču i specifične interakcije ispitivanih jedinjenja sa mobilnom fazom. Promena retencionih parametara se može očekivati kada se promeni organska komponenta mobilne faze, zbog toga što različiti organski modifikatori imaju različite proton-donorske i proton-akceptorske sposobnosti, te različite afinitete ka dipol-interakcijama.

Takođe, stacionarna faza dobijena hemijskom modifikacijom silika-gela (npr. RP-18, CN) pored hemijski modifikovanih silanolnih grupa i slobodnih silanolnih grupa sadrži i sorbovane molekule organskog modifikatora. Stoga je primenjeni organski modifikator odgovaran i za pojavljivanje razlika u svojstvima stacionarne faze usled promene organske komponente u mobilnoj fazi.

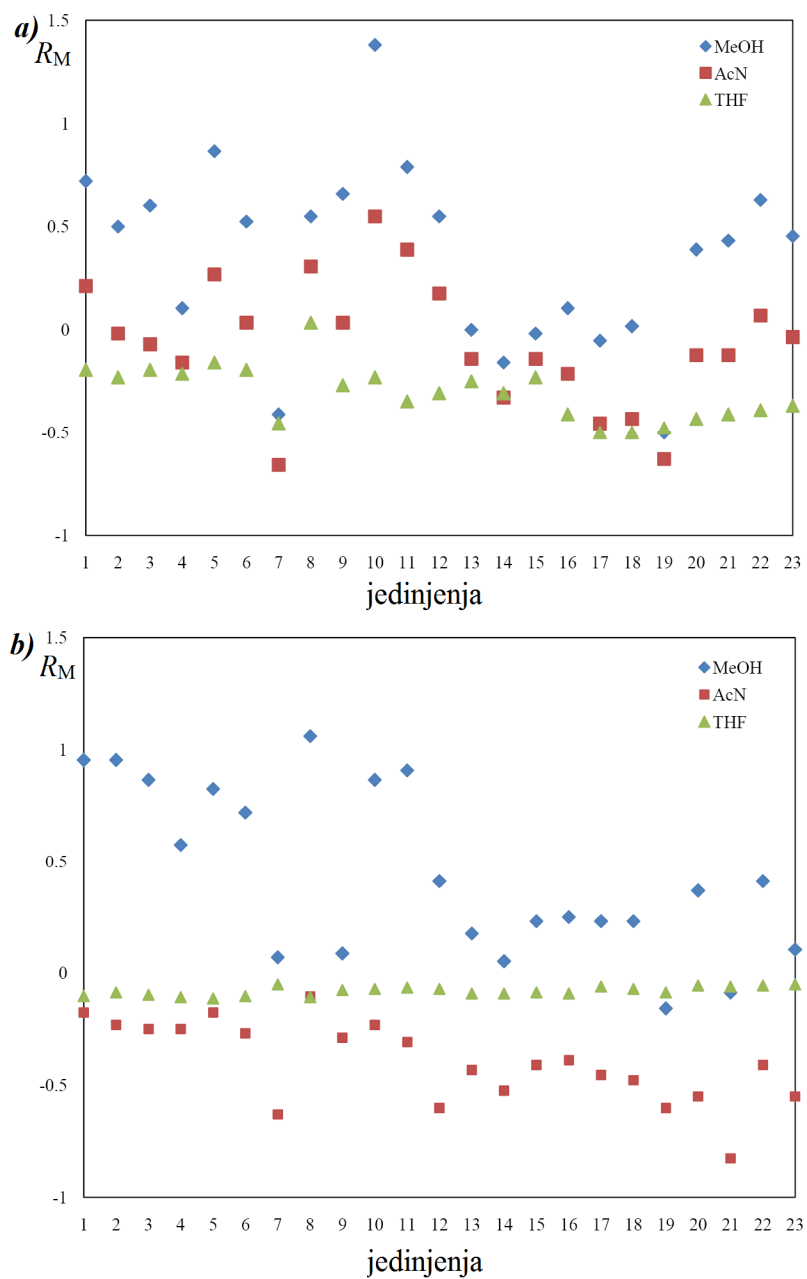
U okviru ovog rada upotrebljena su tri organska modifikatora (MeOH, ACN i THF) koja pripadaju različitim grupama Snyder-ovog trougla i odlikuju se različitim sposobnostima da doniraju ili prime proton prilikom vodoničnog vezivanja, kao i različitim mogućnostima u pogledu ostvarivanja dipol-interakcija. Vrednosti proton-akceptorskih (x_e), proton donorskih (x_d) i doprinosa koje daju dipol-interakcije (x_n) za upotrebljene organske rastvarače date su u **Tabeli 6**.

Tabela 6. Karakteristike primenjenih organskih modifikatora

Organski modifikatori	x_d	x_e	x_n
Metanol	0,48	0,22	0,30
Acetonitril	0,31	0,27	0,42
Tetrahidrofuran	0,38	0,20	0,42

Razlike u svojstvima upotrebljenih organskih komponenata ogledaju se i u njihovoj različitoj elucionoj moći. Eluciona moć upotrebljenih modifikatora, definisana za RP-18 stacionarnu fazu, raste u slećem nizu: MeOH ($S = 3,0$) < ACN ($S = 3,1$) < THF ($S = 4,0$).

Uticaj promene organskog modifikatora na retenciju jedinjenja ispitan je poređenjem R_M vrednosti dobijenih za hromatografske sisteme uz upotrebu različitih organskih modifikatora za isti zapreminski udeo organske komponente u mobilnoj fazi ($\varphi = 0,6$ za sve organske komponente za CN stacionarnu fazu i $\varphi = 0,7$ za sve organske komponente za RP-18 stacionarnu fazu). Rezultati ovog poređenja, za obe primenjene stacionarne faze, dati su na **Slici 15**.



Slika 15. Uticaj promene organskog modifikatora na retenciju jedinjenja na a) RP-18 i b) CN stacionarnoj fazi

Iz prikazanih rezultata (**Slika 15**) vidi se da pri istom zapreminskom udelu različitih organskih modifikatora u mobilnoj fazi ispitivane supstance imaju različite R_M vrednosti. To se može pripisati različitim interakcijama do kojih dolazi tokom hromatografskog procesa između rastvarača i ispitivane supstance, kao i uticaju primenjenih rastvarača na svojstva stacionarnih faza.

Rezultati poređenja R_M vrednosti dobijenih za RP-18 stacionarnu fazu ukazuju da je retencija kod svih jedinjenja najjača u slučaju kad je metanol primenjen kao organski modifikator, a za najveći broj jedinjenja retencija je najslabija pri upotrebi tetrahidrofurana kao organske komponente. Poredeći karakteristike upotrebljenih organskih rastvarača, date u **Tabeli 6** (x_d , x_e i x_n vrednosti), uočljivo je da najznačajnije razlike postoje u proton-donorskim sposobnostima, gde je sklonost metanola da interaguje kao proton-donor izuzetno jaka. Iako je metanol jači proton-donor od tetrahidrofurana, retencija pri upotrebi tetrahidrofurana je značajno slabija. Ovo se može objasniti činjenicom da je sorpcija metanola na RP-18 stacionarnoj fazi znatno manja od sorpcije tetrahidrofurana, koji zbog svoje hidrofobne strukture snažno interaguje sa ugljovodoničnim lancima RP-18 stacionarne faze. Snažna sorpcija tetrahidrofurana, pri čemu se na površini stacionarne faze formira monosloj organskog modifikatora tako da je polarni deo molekula tetrahidrofurana okrenut ka ispitivanim supstancama, sprečava interakcije ispitivanih jedinjenja sa stacionarnom fazom i samim tim dovodi do slabije retencije¹⁵⁸.

Retencioni parametri, R_M vrednosti, određeni pri upotrebi CN-modifikovanog silika-gela ukazuju da je za najveći broj ispitivanih jedinjenja retencija značajno jača uz upotrebu metanola kao organskog modifikatora. Sposobnost metanola da zbog posedovanja hidroksilne grupe jako interaguje sa molekulima vode značajno utiče na ponašanje jedinjenja u hromatografskim sistemima koji kao organsku komponentu mobilne faze sadrže metanol¹⁵⁹. Metanol-voda asocijat umanjuje efekat organskog modifikatora, smanjuje elucionu moć mobilne faze, što za posledicu ima jaču retenciju ispitivanih jedinjenja. Sa druge strane, acetonitril i tetrahidrofur su u značajno manjoj meri asosovani sa molekulima vode, pa je uticaj organske komponente u mobilnoj fazi izraženiji.

Rezultati predstavljeni na **Slici 15** ukazuju da kod CN-modifikovanog silika-gela R_M vrednosti dobijene uz upotrebu tetrahidrofurana kao organske komponente nisu najniže, što ukazuje na slabiju interakciju tetrahidrofurana sa CN stacionarnom fazom, pa je i sorpcija tetrahidrofurana smanjena.

4.1.2 Definisane razlike između ispitivanih hromatografskih sistema primenom PCA analize

Različite vrednosti retencionih parametra prikazanih u **Tabelama P1-P6** ukazale su na značajan uticaj organskog modifikatora, odnosno stacionarne faze na retenciju ispitivanih *N*-supstituisanih 2-alkiliden-4-oksotiazolidina. Da bi ove razlike bile još uočljivije analiza glavnih komponenata je primenjena na retencione parametre, sa ciljem definisanja razlika i sličnosti između primenjenih hromatografskih sistema.

PCA je primenjena na sve R_F vrednosti (**Tabele P1-P3**) određene za šest primenjenih hromatografskih sistema³⁴. Dimenzije početne matrice bile su 33 (broj hromatografskih sistema) \times 23 (broj jedinjenja), a za obradu podataka korišćena je matrica kovarijanse, bez prethodnog autoskaliranja.

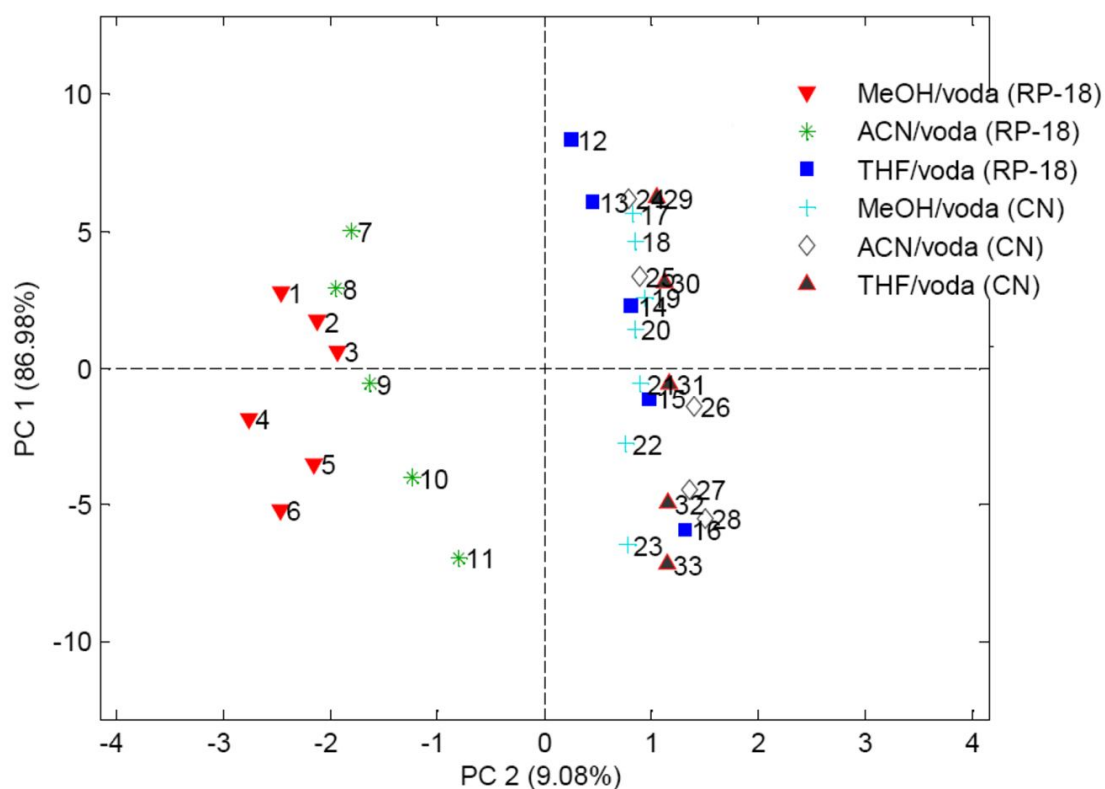
Svojtvene vrednosti matrice kovarijanse, zajedno sa pojedinačnim i zbirnim udelima date su u **Tabeli 7**. Na osnovu dobijenih vrednosti može se uočiti da tri glavne komponente opisuju 97,70% ukupne varijanse (varijabilnosti informacija). Prva komponenta prikazuje 86,98% ukupne varijanse, druga prikazuje 9,08%, dok treća prikazuje svega 1,64% ukupne varijanse.

Tabela 7. Svojtvene vrednosti i odnos varijansi objašnjeni pomoću prve tri glavne komponente korišćenjem matrice kovarijansi

Komponenta	Svojtvena vrednost	Pojedinačni udeo (%)	Zbirni udeo (%)	Scree Plot
PC1	1,052441	86,98	86,98	
PC2	0,073904	9,08	96,07	
PC3	0,019430	1,64	97,70	

Na **Slici 16** prikazana je vrednost skorova, odnosno njihova uzajamna projekcija, za prve dve glavne komponente. Ovaj grafički prikaz omogućava uočavanje raspodele hromatografskih sistema u *PC1-PC2* dvodimenzionalnom prostoru, ukazujući na sličnosti i razlike između ispitivanih hromatografskih sistema. Posmatrajući podatke u odnosu na *PC2* osu moguće je uvideti postojanje dve odvojene grupe podataka. Prva grupa obuhvata podatke koji se odnose na sisteme MeOH/voda (podaci 1-6) i ACN/voda (podaci 7-11) na RP-18 stacionarnoj fazi. Druga grupa obuhvata podatke dobijene za CN stacionarnu fazu, za sve primenjene mobilne faze (MeOH/voda, 17-23; ACN/voda, 24-28; THF/voda, 29-33). Ovi rezultati ukazuju na postojanje sličnosti u hromatografskim podacima u okviru stacionarnih faza, odnosno na postojanje razlika u retencionim parametrima dobijenim za dve stacionarne faze. Ovakvo grupisanje podataka moglo bi da ukaže i na postojanje različitih retencionih mehanizama kod ispitivanih stacionarnih faza.

Međutim, druga grupa, pored svih podataka koji se odnose na CN stacionarnu fazu uključuje i grupu podataka koja se odnosi na sistem THF/voda na RP-18 stacionarnoj fazi (podaci 12-16). Ovakvo ponašanje ispitivanih jedinjenja za dati hromatografski sistem može se pripisati svojstvima tetrahidrofurana i njegovoj jakoj sorpciji kad je reč o oktadecil-modifikovanom silika-gelu¹⁶⁰.



Slika 16. Grafik zavisnosti vrednosti *PC1* komponente od vrednosti *PC2* komponente pokazuje raspored hromatografskih sistema u *PC1-PC2* dvodimenzionalnom prostoru

4.2 Određivanje parametara lipofilnosti ispitivanih *N*-supstituisanih 2-alkiliden-4-oksotiazolidina

Pored standardne metode mućkanja⁹⁷ za određivanje lipofilnosti se koriste i druge metode. Osnovni nedostaci ove metode, kao što su niska reproduktivnost, dužina trajanja eksperimenta, nemogućnost primene na izrazito hidrofilne i lipofilne supstance, mogu se prevazići upotrebom hromatografskih tehnika za određivanje lipofilnosti ili kompjuterskih algoritama koji omogućavaju izračunavanje $\log P$ vrednosti.

4.2.1 Određivanje parametara lipofilnosti primenom reverzno-fazne tankoslojne hromatografije

Da bi ispitali uticaj sastava mobilne faze na retenciju jedinjenja na RP-18 i CN stacionarnoj fazi, variran je zapreminski udeo metanola, acetonitrila i tetrahidrofurana. Dobijeni rezultati (**Tabele P1-P6**) pokazuju da retencija ispitivanih jedinjenja opada sa povećanjem udela organske komponente u mobilnoj fazi za sve primenjene hromatografske sisteme.

Primenom jednačine (4) ispitana je zavisnost R_M vrednosti (**Tabele P1-P6**) od udela organske komponente, φ . Parametar lipofilnosti (R_M^0), određen je ekstrapolacijom R_M vrednosti na nula zapreminskog udela organske komponente. Ovako određene R_M^0 vrednosti, baš kao i vrednosti nagiba (m), te statistički parametri (koeficijent korelacije, r , i standardna devijacija, s) predstavljeni su u **Tabeli 8** (za RP-18 stacionarnu fazu) i **Tabeli 9** (za CN stacionarnu fazu). Dobijeni rezultati su pokazali zadovoljavajući korelacioni koeficijent ($r > 0,99$) za sve primenjene hromatografske sisteme, što ukazuje na statistički značajnu linearnu zavisnost.

R_M^0 vrednosti dobijene ekstrapolacijom ne bi trebalo da zavise od prirode organske komponente, pošto one predstavljaju retenciju u čistoj vodi¹⁰⁹. Međutim, kod RP-18 i CN stacionarne faze na površini postoje nemodifikovane silanolne grupe koje interaguju sa molekulima organskih modifikatora iz mobilne faze (vodonične veze, dipol-dipol interakcije). Mogućnost uspostavljanja ovih interakcija, kao i njihov stepen zavisice od svojstava (elektronska svojstva, mogućnost građenja vodoničnih veza) upotrebljenog organskog modifikatora^{116,117}.

Takođe, pored nespecifičnih interakcija ispitivanih supstanci sa funkcionalnim grupama na površini upotrebljenih stacionarnih faza, na retenciju u značajnoj meri utiču jake specifične interakcije između ispitivanih jedinjenja i komponenata mobilne faze (npr. mogućnost građenja vodoničnih veza povećava rastvorljivost jedinjenja u mobilnoj fazi i uslovljava slabiju retenciju).

Različit stepen interakcija ispitivanih jedinjenja sa stacionarnom, odnosno mobilnom fazom pri upotrebi različitih organskih rastvarača uticaće na razlike u R_M vrednostima, pa samim tim i na R_M^0 vrednosti. Iz **Tabele 8** evidentno je da je R_M^0 vrednost za najveći broj jedinjenja najveća kada je metanol korišćen kao komponenta mobilne faze. Ovakvi rezultati su u saglasnosti sa činjenicom da od upotrebljenih organskih modifikatora metanol ima najmanju elucionu moć na oktadecil-modifikovanom silika-gelu, kao i najmanju moć sorpcije. Rezultati predstavljeni u **Tabeli 9** jasno pokazuju da su parametri lipofilnosti svih hromatografisanih supstanci dobijeni na CN stacionarnoj fazi uz korišćenje tetrahidrofurana kao organskog modifikatora veći u odnosu na R_M^0 vrednosti dobijene pri korišćenju metanola, odnosno acetonitrila kao organskog modifikatora.

Tabela 8. Parametri lipofilnosti dobijeni za RP-18 stacionarnu fazu

Jedinjenja	MeOH/voda				ACN/voda				THF/voda			
	R_M^0	m	r	s	R_M^0	m	r	s	R_M^0	m	r	s
1	3,398	-3,989	-0,993	0,067	2,141	-2,915	-0,994	0,075	2,728	-4,313	-0,990	0,119
2	3,126	-3,844	-0,993	0,066	2,265	-3,370	-0,990	0,114	2,788	-4,455	-0,991	0,114
3	3,340	-4,051	-0,991	0,077	1,967	-2,877	-0,995	0,066	2,868	-4,493	-0,991	0,118
4	2,156	-3,006	-0,996	0,037	2,012	-3,235	-0,992	0,087	2,445	-3,940	-0,993	0,094
5	3,664	-4,114	-0,996	0,052	2,124	-2,695	-0,998	0,040	2,826	-4,268	-0,995	0,080
6	2,984	-3,619	-0,995	0,051	2,059	-2,913	-0,993	0,080	2,560	-4,071	-0,991	0,109
7	1,950	-2,983	-0,993	0,037	1,122	-2,460	-0,991	0,069	1,198	-2,430	-0,994	0,050
8	3,520	-4,000	-0,994	0,046	3,031	-3,892	-0,996	0,070	3,386	-5,015	-0,990	0,116
9	3,164	-3,675	-0,991	0,070	1,992	-2,747	-0,994	0,072	2,077	-3,543	-0,995	0,071
10	4,601	-4,650	-0,997	0,041	2,343	-2,532	-0,998	0,037	2,151	-3,515	-0,991	0,077
11	3,377	-3,429	-0,997	0,027	1,933	-2,186	-0,996	0,040	2,560	-4,208	-0,994	0,087
12	2,754	-3,100	-0,997	0,029	2,053	-2,690	-0,995	0,051	2,303	-3,734	-0,998	0,044
13	1,637	-2,211	-0,996	0,020	1,470	-2,317	-0,992	0,068	2,274	-3,680	-0,990	0,086
14	1,387	-2,086	-0,996	0,020	1,353	-2,366	-0,997	0,043	1,960	-3,389	-0,992	0,070
15	2,153	-2,857	-0,998	0,021	1,924	-2,940	-0,998	0,049	2,295	-3,715	-0,991	0,100
16	1,525	-2,091	-0,990	0,031	1,795	-2,860	-0,998	0,034	2,167	-3,801	-0,994	0,082
17	1,370	-2,057	-0,997	0,016	1,741	-3,120	-0,999	0,022	2,035	-3,685	-0,998	0,051
18	1,576	-2,280	-0,991	0,033	1,819	-3,214	-0,999	0,026	2,003	-3,703	-0,995	0,069
19	0,472	-1,370	-0,994	0,027	1,272	-2,753	-0,992	0,075	1,171	-2,416	-0,994	0,054
20	2,096	-2,470	-0,993	0,052	1,580	-2,350	-0,995	0,042	1,834	-3,261	-0,992	0,083
21	2,408	-2,840	-0,996	0,047	1,580	-2,350	-0,995	0,042	1,854	-3,286	-0,992	0,080
22	2,356	-2,500	-0,997	0,035	1,546	-2,017	-0,991	0,049	1,793	-3,174	-0,991	0,066
23	2,060	-2,300	-0,997	0,034	1,365	-1,925	-0,992	0,043	1,601	-3,174	-0,992	0,071

Tabela 9. Parametri lipofilnosti dobijeni za CN stacionarnu fazu

Jedinjenja	MeOH/voda				ACN/voda				THF/voda			
	R_M^0	m	r	s	R_M^0	m	r	s	R_M^0	m	r	s
1	2,823	-3,634	-0,992	0,048	2,528	-4,441	-0,993	0,076	3,580	-6,940	-0,998	0,035
2	3,072	-4,080	-0,997	0,028	2,391	-4,278	-0,994	0,066	3,768	-7,340	-0,998	0,044
3	2,857	-3,900	-0,996	0,032	2,390	-4,309	-0,995	0,057	3,676	-7,140	-0,998	0,040
4	1,896	-2,606	-0,993	0,033	2,056	-3,788	-0,994	0,057	3,078	-6,040	-0,998	0,035
5	2,810	-3,760	-0,993	0,041	2,438	-4,248	-0,991	0,081	3,466	-6,660	-0,999	0,023
6	2,322	-3,240	-0,997	0,023	2,292	-4,159	-0,993	0,067	3,222	-6,320	-0,998	0,037
7	1,000	-1,860	-0,998	0,012	1,199	-3,010	-0,995	0,041	2,208	-5,140	-0,994	0,050
8	3,541	-4,514	-0,991	0,064	2,879	-4,817	-0,993	0,077	3,966	-7,520	-0,997	0,054
9	1,772	-2,840	-0,996	0,022	2,049	-3,824	-0,990	0,075	3,042	-6,240	-0,999	0,031
10	2,560	-3,503	-0,992	0,046	2,378	-4,231	-0,990	0,083	3,270	-6,640	-0,995	0,059
11	1,886	-2,560	-0,996	0,020	2,355	-4,293	-0,990	0,085	3,400	-6,920	-0,997	0,049
12	1,158	-2,000	-0,998	0,013	1,767	-3,960	-0,997	0,042	3,508	-7,040	-0,996	0,058
13	1,293	-2,220	-0,991	0,028	1,418	-3,031	-0,996	0,036	2,172	-4,620	-0,997	0,034
14	0,620	-1,420	-0,999	0,006	1,303	-3,036	-0,997	0,034	1,772	-3,980	-0,999	0,019
15	1,494	-2,440	-0,991	0,030	1,785	-3,602	-0,995	0,049	2,528	-5,240	-0,995	0,046
16	1,576	-2,360	-0,991	0,030	1,500	-3,098	-0,997	0,034	2,420	-5,040	-0,997	0,035
17	1,289	-2,046	-0,996	0,020	1,381	-2,986	-0,995	0,043	2,664	-5,760	-0,993	0,064
18	1,324	-2,160	-0,995	0,023	1,647	-3,560	-0,995	0,051	2,524	-5,420	-0,996	0,044
19	0,463	-1,067	-0,997	0,015	0,745	-2,117	-0,990	0,048	1,478	-3,540	-0,993	0,039
20	1,895	-2,860	-0,997	0,021	1,535	-3,420	-0,991	0,073	2,658	-5,820	-0,997	0,040
21	0,820	-1,786	-0,998	0,014	0,840	-2,711	-0,994	0,046	2,702	-5,840	-0,991	0,070
22	0,810	-1,321	-0,997	0,014	1,322	-2,951	-0,992	0,058	2,566	-5,660	-0,995	0,051
23	1,656	-2,640	-0,991	0,032	1,226	-2,943	-0,991	0,063	2,324	-5,320	-0,994	0,053

Da bi se utvrdio uticaj prirode organskog modifikatora na parametar lipofilnosti, R_M^0 vrednosti dobijene za metanol/voda, acetonitril/voda i tetrahidrofur/voda hromatografske sisteme su poređene, a korelacioni koeficijenti dati su u **Tabeli 10** za RP-18 stacionarnu fazu i **Tabeli 11** za CN stacionarnu fazu.

Tabela 10. Korelaciona matrica R_M^0 vrednosti dobijenih za RP-18 stacionarnu fazu

	R_M^0 (MeOH/voda)	R_M^0 (ACN/voda)	R_M^0 (THF/voda)
R_M^0 (MeOH/voda)	1		
R_M^0 (ACN/voda)	0,729	1	
R_M^0 (THF/voda)	0,651	0,863	1

Tabela 11. Korelaciona matrica R_M^0 vrednosti dobijenih za CN stacionarnu fazu

	R_M^0 (MeOH/voda)	R_M^0 (ACN/voda)	R_M^0 (THF/voda)
R_M^0 (MeOH/voda)	1		
R_M^0 (ACN/voda)	0,911	1	
R_M^0 (THF/voda)	0,847	0,883	1

Rezultati ovog poređenja (**Tabele 10 i 11**) ukazuju da su razlike između upotrebljenih organskih modifikatora izraženije na RP-18 stacionarnoj fazi (niži koeficijenti korelacije), u poređenju sa CN stacionarnom fazom.

Niske vrednosti korelacionih koeficijenata (**Tabela 10**), dobijene za poređenje R_M^0 vrednosti za sistem MeOH/voda na RP-18 stacionarnoj fazi sa R_M^0 vrednostima za ACN/voda ($r = 0,729$) i THF/voda ($r = 0,651$), ukazuju da se metanol po svojstvima značajno razlikuje od acetonitrila i tetrahidrofurana. Rezultati dobijeni u sistemima rastvarača koji su sadržavali acetonitril i tetrahidrofur (aprotični) kao organsku komponentu mobilne faze, pokazali su se mnogo sličnijim ($r = 0,863$), nego rezultati postignuti sa metanolom kao modifikatorom (protični). To se može pripisati različitim interakcijama do kojih dolazi tokom hromatografskog procesa između rastvarača i ispitivanih jedinjenja, kao i između organske komponente mobilne faze i stacionarne faze.

Viši korelacioni koeficijenti dobijeni pri poređenju R_M^0 vrednosti za CN stacionarnu fazu (**Tabela 11**) ukazuju da je u ovim hromatografskim sistemima uticaj prirode organske komponente na retenciju manji.

Razlike između priroda stacionarnih faza moguće je utvrditi poredeći parametre lipofilnosti za dve stacionarne faze (RP-18 i CN) za isti sistem rastvarača u mobilnoj fazi. Rezultati poređenja R_M^0 vrednosti dobijenih na dve stacionarne faze uz primenu istih mobilnih faza dati su u **Tabeli 12**.

Tabela 12. Poređenje R_M^0 vrednosti dobijenih na primenjenim stacionarnim fazama (RP-18 i CN)

Organski modifikator	Jednačina	r	t^a	F^b
MeOH	$R_{M\text{ CN}}^0 = 0,930 + 0,872 \cdot R_{M\text{ RP-18}}^0$ (13)	0,768	5,495	30,254
ACN	$R_{M\text{ CN}}^0 = 0,712 + 0,630 \cdot R_{M\text{ RP-18}}^0$ (14)	0,878	8,406	70,901
THF	$R_{M\text{ CN}}^0 = 0,268 + 0,677 \cdot R_{M\text{ RP-18}}^0$ (15)	0,842	7,152	51,266

^a $t_{\text{krit.}} (\alpha = 0,05; v = 21) = 2,080$; ^b $F_{\text{krit.}} (\alpha = 0,05; v_1 = 1, v_2 = 21) = 4,325$

Koeficijenti korelacije dati u **Tabeli 12** ukazuju da su razlike između stacionarnih faza najizraženije kad je metanol korišćen kao organski modifikator. Statističkim testovima za proveru značajnosti linearne korelacije (t - i F -test) utvrđeno je da između R_M^0 vrednosti dobijenih na dve stacionarne faze uz primenu istih mobilnih faza postoji statistički značajna linearna zavisnost. Koeficijent korelacije (r) je veličina koja pokazuje koliko se dobro uklapaju podaci u jednačinu, tj. koliko je dobra korelacija (idealna linearna korelacija ima $r = \pm 1$), a F -vrednost ukazuje na verovatnoću da je dobijena jednačina statistički značajna.

Pored R_M^0 vrednosti i drugi hromatografski parametri mogu se koristiti za definisanje lipofilnosti jedinjenja. Parametar m u nekim slučajevima može da igra važnu ulogu u opisivanju lipofilnosti¹⁰⁸. Pored m vrednosti, za definisanje lipofilnosti može se koristiti i parametar C_0 ^{112,113}. Sârbu i saradnici su predložili da se skorovi dobijeni primenom analize glavnih komponenata na retencione podatke mogu koristiti za opisivanje lipofilnosti^{44,161,162}. Kada se PCA primeni na hromatografske podatke (dimenzije početne matrice su broj jedinjenja \times broj varijacija organske komponente za svaki sistem) obično prve dve glavne komponente opisuju najveću varijabilnost. Prva

glavna komponenta ($PC1$) najčešće pokazuje visoku korelaciju sa lipofilnošću. Vrednosti parametara C_0 i $PC1$ za sve primenjene hromatografske sisteme date su u Prilogu u **Tabelama P7 i P8**.

Da bi se ustanovilo da li je moguće koristiti m vrednosti kao parametre lipofilnosti, proverena je korelacija između R_M^0 i m vrednosti za sve upotrebljene hromatografske sisteme. Jednačine prave koje opisuju ovu zavisnost, kao i statistički parametri dati su u **Tabeli 13**. Vrednosti nagiba m , kao što se iz **Tabela 8 i 9** može videti, prate R_M^0 vrednosti ispitivanih jedinjenja. Naime, sa povećanjem R_M^0 vrednosti, veći je i nagib i obrnuto.

Statistički parametri dobijeni pri poređenju R_M^0 i m vrednosti pokazuju da se m vrednosti mogu koristiti za opisivanje lipofilnosti ispitivanih jedinjenja za sve primenjene hromatografske sisteme, a najlošija korelacija dobijena je za sistem ACN/voda na RP-18 stacionarnoj fazi. Brojni radovi su potvrdili da vrednost nagiba m zavisi od prirode organskog modifikatora, a takođe, i od molekulske strukture ispitivanih jedinjenja (npr. veličina supstance, broj i struktura polarnih funkcionalnih grupa), pa pošto R_M^0 vrednosti zavise od istih fizičko-hemijskih parametara, dobijena visoka korelacija je očekivana. Visoke vrednosti koeficijenta potvrda su da se ispitivani N -supstituisani 2-alkiliden-4-oksotiazolidini ponašaju kao serija srodnih jedinjenja u primenjenim hromatografskim uslovima.

Tabela 13. Statistički parametri linearne zavisnosti između R_M^0 i m vrednosti

Stacionarna faza	Mobilna faza	Jednačina		r	SE	F^a
RP-18	MeOH/voda	$m = -0,882 - 0,863 \cdot R_M^0$	(16)	0,966	0,226	295,829
	ACN/voda	$m = -1,317 - 0,763 \cdot R_M^0$	(17)	0,692	0,342	19,287
	THF/voda	$m = -1,166 - 1,149 \cdot R_M^0$	(18)	0,985	0,108	699,172
CN	MeOH/voda	$m = -0,711 - 1,086 \cdot R_M^0$	(19)	0,991	0,125	1183,002
	ACN/voda	$m = -1,518 - 1,156 \cdot R_M^0$	(20)	0,980	0,141	504,356
	THF/voda	$m = -1,166 - 1,149 \cdot R_M^0$	(21)	0,986	0,177	758,598

^a $F_{krit.} (\alpha = 0,05; v_1 = 1, v_2 = 21) = 4,325$

Poređenjem R_M^0 vrednosti sa C_0 i $PC1$ vrednostima provereno je da li ovi parametri mogu da se koriste za opisivanje lipofilnosti. Jendačine koje opisuju ove zavisnosti zajedno sa odgovarajućim statističkim parametrima date su u **Tabelama 14** i **15**.

Tabela 14. Poređenje R_M^0 i C_0 vrednosti za sve upotrebljene hromatografske sisteme

Stacionarna faza	Mobilna faza	Jednačina	r	SE	F^a
RP-18	MeOH/voda	$C_0 = 0,505 + 0,117 \cdot R_M^0$ (22)	0,807	0,084	39,206
	ACN/voda	$C_0 = 0,404 + 0,149 \cdot R_M^0$ (23)	0,545	0,099	8,864
	THF/voda	$C_0 = 0,388 + 0,091 \cdot R_M^0$ (24)	0,941	0,018	162,930
CN	MeOH/voda	$C_0 = 0,444 + 0,117 \cdot R_M^0$ (25)	0,903	0,046	92,460
	ACN/voda	$C_0 = 0,262 + 0,125 \cdot R_M^0$ (26)	0,960	0,022	248,714
	THF/voda	$C_0 = 0,356 + 0,043 \cdot R_M^0$ (27)	0,907	0,014	97,609

^a $F_{krit. (\alpha = 0,05; v1 = 1, v2 = 21)} = 4,325$

Retencioni parametri dati u **Tabeli 14** pokazuju da C_0 vrednosti određene pri upotrebi CN stacionarne faze mogu da se koriste umesto R_M^0 vrednosti za opisivanje lipofilnosti (koeficijenti korelacije su od 0,903 do 0,960). Kada se porede R_M^0 i C_0 vrednosti dobijene za RP-18 stacionarnu fazu, baš kao i pri poređenju m i R_M^0 vrednosti, najlošija korelacija je dobijena za sistem ACN/voda. Ova podudarnost je logična imajući na umu da je parametar C_0 izveden iz parametara m i R_M^0 .

Tabela 15. Poređenje R_M^0 i $PC1$ vrednosti za sve upotrebene hromatografske sisteme

Stacionarna faza	Mobilna faza	Jednačina		r	SE	F^a
RP-18	MeOH/voda	$PC1 = -2,245 + 0,905 \cdot R_M^0$	(28)	0,870	0,505	65,201
	ACN/voda	$PC1 = -2,390 + 1,294 \cdot R_M^0$	(29)	0,543	0,860	8,764
	THF/voda	$PC1 = -3,975 + 1,797 \cdot R_M^0$	(30)	0,954	0,308	211,023
CN	MeOH/voda	$PC1 = -1,863 + 1,047 \cdot R_M^0$	(31)	0,887	0,473	77,143
	ACN/voda	$PC1 = -2,980 + 1,655 \cdot R_M^0$	(32)	0,967	0,260	303,683
	THF/voda	$PC1 = -3,954 + 1,378 \cdot R_M^0$	(33)	0,909	0,426	100,025

$$^a F_{\text{krit.}} (\alpha = 0,05; v_1 = 1, v_2 = 21) = 4,325$$

Statistički parametri koji opisuju zavisnost između $PC1$ i R_M^0 vrednosti određenih na CN stacionarnoj fazi (**Tabela 15**) ukazuju da se $PC1$ vrednosti mogu koristiti za definisanje lipofilnosti ispitivanih jedinjenja. Sa druge strane, nizak korelacioni koeficijent ($r = 0,543$) dobijen za poređenje $PC1$ i R_M^0 vrednosti određenih pri upotrebi acetonitrila kao organskog modifikatora na RP-18 stacionarnoj fazi pokazuje da ni $PC1$ parametar, baš kao ni m i C_0 , ne može da se koristi umesto R_M^0 za opisivanje lipofilnosti.

4.2.2 Određivanje lipofilnosti ispitivanih jedinjenja računskim putem

Različiti kompjuterski programi omogućavaju brzo i jednostavno izračunavanje $\log P$ vrednosti. U okviru ovog istraživanja pored hromatografski određenih parametara lipofilnosti (R_M^0 , m , C_0 i $PC1$), lipofilnost jedinjenja okarektirasana je i izračunatim $\log P$ vrednostima.

U prilogu, u **Tabeli P9** date su $\log P$ vrednosti izračunate primenom kompjuterskih algoritama. Iako se ove vrednosti međusobno razlikuju, u idealnom slučaju, bez obzira na algoritam primenjen prilikom izračunavanja, korelacija između izračunatih $\log P$ vrednosti treba da bude potpuna ($r = 1$). Međutim, to nije uvek tako¹⁶³. To dokazuju i podaci iz **Tabele P10** u Prilogu, gde su prikazani koeficijenti korelacije dobijeni pri poređenju izračunatih $\log P$ vrednosti. Činjenica da postoje razlike između izračunatih $\log P$ vrednosti, kao i da korelacija između njih nije savršena, ukazuje da različite procedure za izračunavanje lipofilnosti rezultuju različitim $\log P$ vrednostima, jer se zasnivaju na različitim metodama.

4.3 Ispitivanje veze između hromatografski određenih parametara lipofilnosti i izračunatih log P vrednosti

Brojna istraživanja su pokazala statistički značajnu vezu između retencionih parametara (R_M^0 , m , C_0 i $PC1$) serije srodnih supstanci dobijenih primenom reverzno-fazne hromatografije i kompjuterski izračunatih log P vrednosti^{34,35,164}.

Da bi se ustanovilo koji hromatografski sistem može da se upotrebi za dobijanje parametara koji mogu da se koriste u opisivanju lipofilnosti, R_M^0 vrednosti za sve upotrebljene hromatografske sisteme su poređene sa izračunatim log P vrednostima. Ova zavisnost može da se izrazi jednačinom:

$$R_M^0 = a + b \cdot \log P \quad (34)$$

Rezultati poređenja R_M^0 vrednosti dobijenih primenom RP-18 stacionarne faze i izračunatih log P vrednosti dati su u **Tabeli 16**. U **Tabeli 17** date su jednačine prave i statistički parametri koji opisuju zavisnost između R_M^0 vrednosti dobijenih primenom CN stacionarne faze i izračunatih log P vrednosti.

Poređenjem eksperimentalno određenih R_M^0 vrednosti, dobijenih na RP-18 stacionarnoj fazi, i parametara lipofilnosti izračunatih pomoću različitih programa (**Tabela 16**), vidi se da je kod metanola kao modifikatora dobijen najviši stepen korelacije (korelacioni koeficijenti koji opisuju ove zavisnosti imaju najveće vrednosti za poređenje R_M^0 vrednosti određenih primenom metanola kao organskog modifikatora sa Alog P_s vrednostima). Takođe, rezultati u **Tabeli 16** ukazuju da se log P vrednosti izračunate upotrebom različitih algoritama u različitom stepenu korelišu sa eksperimentalno dobijenim R_M^0 vrednostima. Iako na osnovu ovih rezultata nije moguće ukazati na algoritam koji je najbolji za sve slučajeve i uvek primenljiv može se za svaki hromatografski sistem odabrati log P vrednost koja se najbolje korelišu sa R_M^0 vrednostima dobijenim za dati sistem.

Vrednosti statističkih parametara date u **Tabeli 17** pokazuju da je najbolje slaganje ostvareno između R_M^0 vrednosti i izračunatih log P vrednosti kada se tetrahidrofur koristi kao organska komponenta mobilne faze na CN stacionarnoj fazi

(srednja vrednost retencionog koeficijenta je $r = 0,900$), dok je najlošije slaganje dobijeno za sistem MeOH/voda ($r = 0,728$).

Cilj ispitivanja veze između eksperimentalno određenih i izračunatih parametara lipofilnosti je pronalaženje jednačine koja bi se mogla koristiti za predviđanje hromatografskog ponašanja novih jedinjenja, strukturno sličnih ispitivanim *N*-supstituisanim 2-alkiliden-4-oksotiazolidinima.

Poređenje statističkih parametara datih u **Tabeli 16** (r , SE i F vrednosti) ukazuje da najveći stepen podudarnosti postoji između R_M^0 vrednosti dobijenih za sistem MeOH/voda i izračunatih $Alog P_s$ vrednosti ($r = 0,901$; $F = 90,733$), kao i R_M^0 vrednosti dobijenih za sistem THF/voda i izračunatih $Clog P$ vrednosti ($r = 0,898$; $F = 87,808$). $Alog P_s$ vrednosti se najbolje korelišu sa R_M^0 vrednostima koje su određene za CN stacionarnu fazu pri upotrebi tetrahidrofurana kao organskog modifikatora ($r = 0,946$; $F = 178,901$). Vrednosti statističkih parametara za ove korelacije pružaju priliku da se jednačine koje opisuju ove zavisnosti koriste kao modeli za predviđanje retencije novih 2-alkiliden-4-oksotiazolidina. Kako su vrednosti statističkih parametara date za jednačine (35) i (64) slične, odlučeno je da sistem THF/voda na obe stacionarne faze bude sistem izbora pri daljim, detaljnijim proučavanjima odnosa između strukture i retencije kongenernih 4-oksotiazolidina.

Tabela 16. Korelacije između R_M^0 vrednosti dobijenih primenom tri organska modifikatora na RP-18 stacionarnoj fazi i izračunatih $\log P$ vrednosti

$R_M^0 = f(\log P)$	Modifikator	Jednačina	r	SE	F^a	
$R_M^0 = f(\text{Alog } Ps)$	MeOH	$R_M^0 = 0,621 + 0,869 \cdot \text{Alog } Ps$	(35)	0,901	0,426	90,733
	ACN	$R_M^0 = 1,085 + 0,354 \cdot \text{Alog } Ps$	(36)	0,842	0,232	51,040
	THF	$R_M^0 = 1,339 + 0,406 \cdot \text{Alog } Ps$	(37)	0,762	0,352	29,046
$R_M^0 = f(\text{AClog } P)$	MeOH	$R_M^0 = 0,566 + 0,902 \cdot \text{AClog } P$	(38)	0,848	0,522	53,549
	ACN	$R_M^0 = 0,998 + 0,400 \cdot \text{AClog } P$	(39)	0,861	0,218	60,137
	THF	$R_M^0 = 1,201 + 0,476 \cdot \text{AClog } P$	(40)	0,810	0,318	40,208
$R_M^0 = f(\text{ABlog } P)$	MeOH	$R_M^0 = 1,129 + 0,643 \cdot \text{ABlog } P$	(41)	0,782	0,641	32,988
	ACN	$R_M^0 = 1,291 + 0,264 \cdot \text{ABlog } P$	(42)	0,736	0,291	24,829
	THF	$R_M^0 = 1,510 + 0,334 \cdot \text{ABlog } P$	(43)	0,735	0,368	24,704
$R_M^0 = f(\text{Milog } P)$	MeOH	$R_M^0 = 0,956 + 0,854 \cdot \text{Milog } P$	(44)	0,884	0,460	74,983
	ACN	$R_M^0 = 1,266 + 0,326 \cdot \text{Milog } P$	(45)	0,838	0,235	49,378
	THF	$R_M^0 = 1,530 + 0,382 \cdot \text{Milog } P$	(46)	0,716	0,379	22,080
$R_M^0 = f(\text{Alog } P)$	MeOH	$R_M^0 = 0,881 + 0,747 \cdot \text{Alog } P$	(47)	0,803	0,587	38,071
	ACN	$R_M^0 = 1,119 + 0,340 \cdot \text{Alog } P$	(48)	0,772	0,273	31,020
	THF	$R_M^0 = 1,281 + 0,435 \cdot \text{Alog } P$	(49)	0,846	0,290	52,732
$R_M^0 = f(\text{Mlog } P)$	MeOH	$R_M^0 = 1,075 + 0,876 \cdot \text{Mlog } P$	(50)	0,865	0,493	62,555
	ACN	$R_M^0 = 1,329 + 0,323 \cdot \text{Mlog } P$	(51)	0,730	0,293	24,017
	THF	$R_M^0 = 1,593 + 0,386 \cdot \text{Mlog } P$	(52)	0,690	0,393	19,103
$R_M^0 = f(\log P_{\text{KOWWIN}})$	MeOH	$R_M^0 = 1,701 + 0,571 \cdot \log P_{\text{KOWWIN}}$	(53)	0,784	0,611	33,487
	ACN	$R_M^0 = 1,519 + 0,240 \cdot \log P_{\text{KOWWIN}}$	(54)	0,756	0,281	28,084
	THF	$R_M^0 = 1,749 + 0,339 \cdot \log P_{\text{KOWWIN}}$	(55)	0,843	0,293	51,404
$R_M^0 = f(\text{Xlog } P2)$	MeOH	$R_M^0 = 1,122 + 0,694 \cdot \text{Xlog } P2$	(56)	0,873	0,479	67,452
	ACN	$R_M^0 = 1,356 + 0,251 \cdot \text{Xlog } P2$	(57)	0,723	0,296	23,046
	THF	$R_M^0 = 1,638 + 0,293 \cdot \text{Xlog } P2$	(58)	0,667	0,405	16,858
$R_M^0 = f(\text{Xlog } P3)$	MeOH	$R_M^0 = 0,908 + 0,785 \cdot \text{Xlog } P3$	(59)	0,853	0,514	55,893
	ACN	$R_M^0 = 1,234 + 0,306 \cdot \text{Xlog } P3$	(60)	0,761	0,279	28,884
	THF	$R_M^0 = 1,470 + 0,370 \cdot \text{Xlog } P3$	(61)	0,728	0,372	23,680
$R_M^0 = f(\text{Clog } P)$	MeOH	$R_M^0 = 1,085 + 0,672 \cdot \text{Clog } P$	(62)	0,734	0,668	24,532
	ACN	$R_M^0 = 1,141 + 0,340 \cdot \text{Clog } P$	(63)	0,851	0,226	54,959
	THF	$R_M^0 = 1,268 + 0,454 \cdot \text{Clog } P$	(64)	0,898	0,239	87,808

^a $F_{\text{krit.}} (\alpha = 0,05; v_1 = 1, v_2 = 21) = 4,325$

Tabela 17. Korelacije između R_M^0 vrednosti dobijenih primenom tri organska modifikatora na CN stacionarnoj fazi i izračunatih log P vrednosti

$R_M^0 = f(\log P)$	Modifikator	Jednačina		r	SE	F
$R_M^0 = f(\text{Alog } Ps)$	MeOH	$R_M^0 = 0,370 + 0,655 \cdot \text{Alog } Ps$	(65)	0,771	0,552	30,727
	ACN	$R_M^0 = 0,752 + 0,487 \cdot \text{Alog } Ps$	(66)	0,831	0,333	46,846
	THF	$R_M^0 = 1,522 + 0,626 \cdot \text{Alog } Ps$	(67)	0,946	0,219	178,901
$R_M^0 = f(\text{AClog } P)$	MeOH	$R_M^0 = 0,264 + 0,714 \cdot \text{AClog } P$	(68)	0,761	0,562	28,958
	ACN	$R_M^0 = 0,626 + 0,554 \cdot \text{AClog } P$	(69)	0,855	0,310	57,091
	THF	$R_M^0 = 1,415 + 0,685 \cdot \text{AClog } P$	(70)	0,938	0,235	152,689
$R_M^0 = f(\text{ABlog } P)$	MeOH	$R_M^0 = 0,714 + 0,507 \cdot \text{ABlog } P$	(71)	0,699	0,610	20,091
	ACN	$R_M^0 = 1,021 + 0,371 \cdot \text{ABlog } P$	(72)	0,742	0,401	25,665
	THF	$R_M^0 = 1,810 + 0,503 \cdot \text{ABlog } P$	(73)	0,891	0,306	81,323
$R_M^0 = f(\text{Milog } P)$	MeOH	$R_M^0 = 0,722 + 0,592 \cdot \text{Milog } P$	(74)	0,695	0,623	19,674
	ACN	$R_M^0 = 0,966 + 0,467 \cdot \text{Milog } P$	(75)	0,795	0,363	36,170
	THF	$R_M^0 = 1,801 + 0,598 \cdot \text{Milog } P$	(76)	0,902	0,292	91,655
$R_M^0 = f(\text{Alog } P)$	MeOH	$R_M^0 = 0,387 + 0,651 \cdot \text{Alog } P$	(77)	0,793	0,528	35,596
	ACN	$R_M^0 = 0,731 + 0,500 \cdot \text{Alog } P$	(78)	0,882	0,282	73,854
	THF	$R_M^0 = 1,605 + 0,591 \cdot \text{Alog } P$	(79)	0,924	0,258	122,955
$R_M^0 = f(\text{Mlog } P)$	MeOH	$R_M^0 = 0,798 + 0,611 \cdot \text{Mlog } P$	(80)	0,685	0,631	18,579
	ACN	$R_M^0 = 1,052 + 0,467 \cdot \text{Mlog } P$	(81)	0,758	0,390	28,323
	THF	$R_M^0 = 1,854 + 0,632 \cdot \text{Mlog } P$	(82)	0,910	0,280	100,778
$R_M^0 = f(\log P_{\text{KOWWIN}})$	MeOH	$R_M^0 = 1,120 + 0,483 \cdot \log P_{\text{KOWWIN}}$	(83)	0,753	0,570	27,494
	ACN	$R_M^0 = 1,295 + 0,370 \cdot \log P_{\text{KOWWIN}}$	(84)	0,837	0,327	49,094
	THF	$R_M^0 = 2,292 + 0,422 \cdot \log P_{\text{KOWWIN}}$	(85)	0,845	0,361	52,286
$R_M^0 = f(\text{Xlog } P2)$	MeOH	$R_M^0 = 0,878 + 0,460 \cdot \text{Xlog } P2$	(86)	0,657	0,653	15,986
	ACN	$R_M^0 = 1,093 + 0,361 \cdot \text{Xlog } P2$	(87)	0,748	0,397	26,639
	THF	$R_M^0 = 1,920 + 0,484 \cdot \text{Xlog } P2$	(88)	0,888	0,311	77,951
$R_M^0 = f(\text{Xlog } P3)$	MeOH	$R_M^0 = 0,661 + 0,289 \cdot \text{Xlog } P3$	(89)	0,688	0,629	18,852
	ACN	$R_M^0 = 0,930 + 0,435 \cdot \text{Xlog } P3$	(90)	0,776	0,377	31,770
	THF	$R_M^0 = 1,714 + 0,577 \cdot \text{Xlog } P3$	(91)	0,912	0,277	103,379
$R_M^0 = f(\text{Clog } P)$	MeOH	$R_M^0 = 0,468 + 0,631 \cdot \text{Clog } P$	(92)	0,782	0,540	33,114
	ACN	$R_M^0 = 0,801 + 0,481 \cdot \text{Clog } P$	(93)	0,864	0,301	61,911
	THF	$R_M^0 = 1,775 + 0,526 \cdot \text{Clog } P$	(94)	0,837	0,369	49,325

^a $F_{\text{krit.}} (\alpha = 0,05; v_1 = 1, v_2 = 21) = 4,325$

Kao što je već istaknuto, pored R_M^0 vrednosti i drugi retencioni parametri (m , C_0 i $PC1$) mogu da se koriste za opisivanje lipofilnosti. Korelacija R_M^0 vrednosti i izračunatih $\log P$ vrednosti daje uvid koji hromatografski sistemi su najpodesniji za određivanje parametara lipofilnosti, pa su za poređenje sa izračunatim $\log P$ vrednostima korišćeni samo retncioni parametri dobijeni za sistem THF/voda na RP-18 i CN stacionarnoj fazi.

U **Tabeli 18** predstavljeni su korelacioni koeficijenti za poređenje retencionih parametara (m , C_0 i $PC1$) dobijenih primenom THF/voda mobilne faze na RP-18 stacionaranoj fazi sa izračunatim $\log P$ vrednostima.

Tabela 18. Korelacije između izračunatih $\log P$ vrednosti i retencionih parametara (m , C_0 i $PC1$) dobijenih za sistem THF/voda na RP-18 stacionarnoj fazi

	m	C_0	$PC1$
Alog Ps	-0,737	0,753	0,798
AClog P	-0,786	0,782	0,816
ABlog P	-0,716	0,698	0,713
Milog P	-0,696	0,709	0,738
Alog P	-0,824	0,788	0,819
Mlog P	-0,683	0,660	0,688
log P_{KOWWIN}	-0,828	0,794	0,821
Xlog P2	-0,652	0,653	0,684
Xlog P3	-0,715	0,699	0,723
Clog P	-0,867	0,870	0,885

Vrednosti korelacionih koeficijenata date u **Tabeli 18** govore da se m parametar, određen za sistem THF/voda na RP-18 stacionarnoj fazi, najbolje koreliše sa $Clog P$ vrednostima ($r = -0,867$), baš kao što se pokazalo i sa R_M^0 vrednostima (**Tabela 16**). Takođe, C_0 i $PC1$ parametri se najbolje korelišu sa $Clog P$ vrednostima ($r = 0,870$ za C_0 ; $r = 0,885$ za $PC1$). Međutim, iako je poređenje R_M^0 vrednosti sa drugim retencionim parametrima (m , C_0 i $PC1$) ukazalo da se oni mogu koristiti umesto R_M^0 vrednosti

(Tabele 13-15), koeficijenti korelacije dati u Tabelama 16 i 18 pokazuju da su ipak R_M^0 vrednosti parametri koji najbolje definišu lipofilnost ispitivanih jedinjenja.

Koeficijenti korelacije koji opisuju odnos između retencionih parametara (m , C_0 i $PC1$) dobijenih primenom THF/voda mobilne faze na CN stacionaranoj fazi i izračunatih $\log P$ vrednosti dati su u Tabeli 19. Poređenje korelacionih koeficijenata sa rezultatima u Tabeli 17 navodi na zaključak da se i parametar m u značajnoj meri koreliše sa izračunatim $\log P$ vrednostima i da je najveći koeficijent korelacije dobijen pri poređenju sa $A\log P_s$ vrednostima, baš kao što je slučaj i sa R_M^0 vrednostima dobijenim za primenjeni sistem. Koeficijenti korelacije dobijeni pri definisanju veze između C_0 , odnosno $PC1$ i izračunatih parametara lipofilnosti su značajno niži.

Tabela 19. Korelacije između računskih $\log P$ vrednosti i retencionih parametara (m , C_0 i $PC1$) za sistem THF/voda na CN stacionarnoj fazi

	m	C_0	$PC1$
Alog P_s	-0,942	0,825	0,825
AClog P	-0,915	0,861	0,876
ABlog P	-0,892	0,770	0,776
Milog P	-0,904	0,782	0,788
Alog P	-0,885	0,882	0,901
Mlog P	-0,929	0,755	0,749
log P_{KOWWIN}	-0,812	0,816	0,820
Xlog P_2	-0,904	0,734	0,737
Xlog P_3	-0,916	0,782	0,787
Clog P	-0,771	0,888	0,899

Poređenje svih retencionih parametara sa izračunatim $\log P$ vrednostima dalo je uvid u mogućnost njihovog korišćenja za definisanje parametra lipofilnosti. Vrednosti korelacionih koeficijenata izračunatih pri ispitivanju odnosa između retencionih parametara dobijenih primenom sistema THF/voda na RP-18 stacionarnoj fazi i izračunatih parametara lipofilnosti govore da parametar R_M^0 najpouzdanije određuje lipofilnost ispitivanih 4-oksotiazolidina. Iako je utvrđena linearna veza između R_M^0

vrednosti i drugih retencionih parametara (m , C_0 i $PC1$), njihove lošije korelacije sa izračunatim $\log P$ vrednostima pokazale su da ne mogu da se koriste umesto R_M^0 vrednosti za definisanje lipofilnosti.

Sa druge strane za sistem THF/voda na CN stacionarnoj fazi utvrđeno je da parametar m može biti upotrebljen umesto parametra R_M^0 da bi se definisala lipofilnost ispitivanih jedinjenja. Međutim, kako literaturni podaci favorizuju upotrebu R_M^0 vrednosti, a imajući i u vidu ipak nešto niže vrednosti koeficijenata korelacije kod poređenja m i $\log P$ vrednosti, R_M^0 vrednosti su korišćene u daljim QSRR istraživanjima.

Kako je utvrđeno da je uticaj stacionarne faze na retenciju ispitivanih jedinjenja značajan, u daljim QSRR analizama R_M^0 vrednosti dobijene za dva sistema, THF/voda na RP-18 i na CN stacionarnoj fazi, su korelisane sa molekulskim deskriptorima.

4.4 Modelovanje QSRR modela primenom hemometrijskih tehnika

Proučavanje odnosa između strukture i retencije ima za cilj pronalaženje matematičkih modela koji se koriste da povežu molekulske deskriptore sa hromatografskim ponašanjem odabrane serije jedinjenja.

Hemometrijska obrada hromatografskih podataka može otkriti bitne informacije o ispitivanim jedinjenjima (retenciju, fizičko-hemijska svojstva, relativnu biološku aktivnost), ali i o prirodi stacionarne faze na kojoj je vršeno hromatografsko ispitivanje (mehanizam hromatografskog odvajanja u datom hromatografskom sistemu, kvantitativno poređenje retencionih svojstava dobijenih na različitim stacionarnim fazama, otkrivanje koji su strukturni deskriptori pogodni za predviđanje retencije)¹⁶⁵.

Da bi se opisala veza između retencije i strukture novosintetisanih *N*-supstituisanih 2-alkiliden-4-oksotiazolidina osim jednostavne linearne regresije (poglavlje 4.2) uporebljene su višestruka linearna regresija i parcijalna regresija najmanjih kvadrata. Cilj primene ove dve regresione analize bio je dobijanje modela koji bi na najbolji način kvantitativno opisivali vezu između R_M^0 i molekulskih deskriptora i koji bi se mogli koristiti za predviđanje retencije i lipofilnosti novih strukturno sličnih jedinjenja.

Pre regresione analize podaci su podeljeni u dve grupe, na kalibracioni i test set, a odabir jedinjenja u određeni set izvršen je nasumično. Istraživanja su pokazala da veličina test seta utiče na kvalitet modela i da je optimalna količina podataka koju treba da sadrži test set 15-40% podataka iz osnovnog seta^{166,167}. U ovom radu test set je obuhvatao približno 26% jedinjenja nasumično odabranih iz osnovnog seta. Kalibracioni set se sastojao od 17 jedinjenja (**2, 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22**) koja su korišćena za konstruisanje modela, dok je test set obuhvatao preostalih 6 jedinjenja (**1, 4, 6, 14, 18, 23**) i korišćen je za proveru prediktivne moći dobijenih matematičkih modela.

4.4.1 Višestruka linearna regresiona analiza, MLR

Višestruka linearna regresija je jedna od najčešće primenjivanih hemometrijskih tehnika u QSRR istraživanjima⁷⁸. Prednost MLR metode je jednostavna interpretacija rezultata, jer daje direktnu korelaciju zavisno promenljive od varijabli (koeficijenti uz molekulske deskriptore govore o uticaju tih deskriptora na zavisno promenljivu). Sa druge strane, ograničen broj nezavisnih varijabli (broj nezavisnih varijabli mora biti manji od broja objekata) ističe se kao glavni nedostatak MLR analize. Takođe, bitan nedostatak ove regresione analize je nemogućnost korišćenja deskriptora koji se međusobno visoko korelišu.

Da bi se smanjio početni broj deskriptora i olakšalo uspostavljanje korelacije između hromatografske retencije i molekulskih deskriptora izvršena je njihova selekcija. Prvi korak u selekciji deskriptora bio je eliminisanje deskriptora čije su vrednosti približno jednake za sva jedinjenja, jer takvi deskriptori nisu pružali informaciju o razlikama između ispitivani 2-alkiliden-4-oksotiazolidina. Deskriptori zadržani nakon ovog koraka selekcije predstavljeni su u **Tabeli P11** u Prilogu. Dalje, ispitivanjem korelacije između R_M^0 vrednosti (dobijenih za sistem THF/voda na RP-18 i CN stacionarnoj fazi) i molekulskih deskriptora utvrđeno je da se od svih izračunatih deskriptora vrednosti $\log P$ najbolje korelišu sa R_M^0 ($\text{Clog } P$ se najbolje korelišu sa R_M^0 (THF/voda: RP-18), dok se $\text{Alog } P_s$ vrednosti najbolje korelišu sa R_M^0 (THF/voda: CN)). Ovaj podatak je iskorišćen u sledećem koraku selekcije deskriptora. Naime, proveravanjem korelacije između deskriptora došlo se do podataka kod kojih deskriptora postoji visoka međusobna korelacija i svi deskriptori koji su pokazali visoku korelaciju ($r > 0,800$) sa $\text{Clog } P$ i $\text{Alog } P_s$ vrednostima su eliminisani. Iz seta deskriptora predstavljenog u **Tabeli P11** u Prilogu eliminisani su sledeći deskriptori: SW, TE, BE, P i F. Korelaciona matrica molekulskih deskriptora zadržanih nakon selekcije, koji su korišćeni pri MLR analizi, data je u **Tabeli P12** u Prilogu. Pre MLR analize, vrednosti molekulskih deskriptora su centrirane u odnosu na srednju vrednost i izvršeno je skaliranje na jediničnu vrednost standardne devijacije.

Da bi se odabrao set molekulskih deskriptora koji će dati model sa najboljom prediktivnošću, selekcija varijabli izvršena je metodom postepene regresije. Statistički parametri korišćeni za proveru kvaliteta MLR modela bili su kvadrat korelacionog

koeficijenta, R^2 , standardna greška, SE , nivo značajnosti, P , i *Fischer*-ova vrednost značajnosti, F , pri čemu je nivo prihvatljivosti za pojedinačne nezavisne promenljive podešen na 95%-tni nivo pouzdanosti. Ocena prediktivne moć dobijenih MLR modela bila je okarakterisana parametrima R_{cv}^2 i *PRESS*.

Regresione jednačine dobijene za zavisnost R_M^0 vrednosti, određenih za sistem THF/voda na RP-18 i CN stacionarnoj fazi, od molekulskih deskriptora date su u **Tabeli 20**, a statistički parametri koji opisuju date jednačine prikazani su u **Tabeli 21**.

Tabela 20. Regresione jednačine koje definišu odnos između R_M^0 vrednosti i molekulskih deskriptora

Hromatografski sistem	Model	Jednačina	
THF/voda RP-18 s.f.	1	$R_M^0 = 1,166 + 0,488 \cdot \text{Clog } P$	(95)
	2	$R_M^0 = 2,847 + 0,455 \cdot \text{Clog } P - 0,647 \cdot \text{SP}$	(96)
	3	$R_M^0 = 3,439 + 0,461 \cdot \text{Clog } P - 0,079 \cdot \text{SP} - 0,375 \cdot \text{HBA}$	(97)
THF/voda CN s.f.	4	$R_M^0 = 1,534 + 0,609 \cdot \text{Alog } P_s$	(98)
	5	$R_M^0 = 1,455 + 0,560 \cdot \text{Alog } P_s + 0,550 \cdot \text{HBD}$	(99)
	6	$R_M^0 = -0,480 + 0,574 \cdot \text{Alog } P_s + 0,563 \cdot \text{HBD} - 0,218 \cdot \text{HOMO}$	(100)

Povećanje broja deskriptora u regresionoj jednačini rezultuje boljim prediktivnim karakteristikama modela, što pokazuju i statistički parametri dati u **Tabeli 21**. Međutim, uvođenjem prevelikog broja varijabli dobio bi se precenjeni model. Imajući u vidu da je opšte prihvaćeno da broj jedinjenja treba da bude najmanje pet puta veći od broja nezavisnih promenljivih¹³², regresione jednačine sa tri promenljive (**Tabela 20**) mogu se koristiti za definisanje kvantitativne veze između retencije i strukture ispitivanih 2-alkiliden-4-oksotiazolidina.

Tabela 21. Statistički parametri MLR modela

	Model	Deskriptori	P ^a	R ²	F	P ^b	R _{cv} ²	PRESS	PRESS/SSY	N ^c
RP-18 stacionarna faza	1	Clog <i>P</i>	0,0000	0,834	75,447	0,0000	0,801	0,875	0,199	17
	2	Clog <i>P</i> SP	0,0000	0,849	39,361	0,0000 0,2576	0,822	0,796	0,178	17
	3	Clog <i>P</i> SP HBA	0,0000	0,861	26,922	0,0000 0,1841 0,3039	0,839	0,731	0,161	17
CN stacionarna faza	4	Alog <i>Ps</i>	0,0000	0,892	124,051	0,0000	0,879	0,782	0,121	17
	5	Alog <i>Ps</i> HBD	0,0000	0,927	88,818	0,0000 0,0217	0,921	0,530	0,079	17
	6	Alog <i>Ps</i> HBD HOMO	0,0000	0,939	66,453	0,0000 0,0158 0,1409	0,935	0,445	0,065	17

^a Nivo značajnosti jednačine (modela).

^b Nivo značajnosti pojedinačnih deskriptora.

^c Broj jedinjenja u kalibracionom setu.

Regresione jednačine dobijene pri ispitivanju kvantitativne veze između retencije na RP-18 stacionarnoj fazi i deskriptora molekulske strukture ukazuju da je Clog *P* deskriptor koji u najvećoj meri određuje retenciju ispitivanih jedinjenja, jer je primenom metode postepene regresije baš Clog *P* uključen u jedno-parametarsku jednačinu (**Tabela 20**, *Model 1*). Pored Clog *P* deskriptora, na retenciono ponašanje ispitivanih jedinjenja na RP-18 stacionarnoj fazi utiču i deskriptor koji opisuje sposobnost jedinjenja da bude akceptor vodonične veze (HBA) i parametar rastvorljivosti (SP).

MLR modeli dobijeni pri poređenju retencije na CN stacionarnoj fazi sa molekulskim deskriptorima potvrđuju značajan uticaj parametra lipofilnosti na hromatografsko ponašanje ispitivanih jedinjenja. Prvi parametar uključen primenom metode postepene regresije bio je Alog *Ps*. Činjenica da za oba proučavana hromatografska sistema log *P* parametar u najvećoj meri određuje retenciju ukazuje na značaj hidrofobnih interakcija između ispitivanih jedinjenja i stacionarne faze. Iz regresionih jednačina, kojima su predstavljeni *Modeli 4* i *5* (**Tabela 20**) može se videti da su deskriptori od značaja za definisanje retencije na CN stacionarnoj fazi i energija

najviše popunjene molekulske orbitale (HOMO) i deskriptor koji opisuje sposobnost jedinjenja da bude donor vodoničnih veza (HBD).

Regresione jednačine date u **Tabeli 20** ukazuju da je samo parametar lipofilnosti, $\log P$, zajednički deskriptor za sve MLR modele. Imajući u vidu da su retencioni parametri korišćeni pri MLR analizi dobijeni primenom iste mobilne faze (THF/voda), može se zaključiti da su razlike u upotrebljenim stacionarnim fazama odgovorne za selekciju različitih deskriptora.

Vrednosti koeficijenata uz molekulske deskriptore govore o uticaju tih deskriptora na retenciju ispitivanih jedinjenja, pa tako pozitivna vrednost koeficijenta govori da sa povećanjem vrednosti datog molekuskog deskriptora dolazi do povećanja R_M^0 vrednosti.

Parametri lipofilnosti, $A\log P_s$ i $C\log P$ imaju pozitivne koeficijente (*Modeli 1-6*), što znači da jedinjenja sa višim $\log P$ vrednostima snažnije interaguju sa nepolarnim stacionarnim fazama, što za posledicu ima jaču retenciju, odnosno R_M^0 vrednosti. Ovakav uticaj parametra lipofilnosti na retenciju je očekivan, jer sa porastom lipofilnosti raste i mogućnost uspostavljanja hidrofobnih interakcija između jedinjenja i stacionarne faze.

Pozitivan uticaj na retenciju na CN stacionarnoj fazi ima i HBD deskriptor, što znači da će jedinjenja sa većom sposobnošću da budu donori vodoničnih veza snažnije interagovati sa CN stacionarnom fazom, koja ima dovoljnu elektronsku gustinu da učestvuje u građenju vodoničnih veza⁸⁴. Na isti način mogao bi se objasniti i negativan uticaj HOMO energije na retenciju na CN stacionarnoj fazi. Jedinjenja sa nižom vrednošću HOMO energije, koja je povezana sa jonizacionim potencijalom, su snažnije vezana za CN stacionarnu fazu u odnosu na jedinjenja sa višim vrednostima HOMO energije.

Negativne vrednosti koeficijenata koje stoje uz parametre SP i HBA ukazuju da jedinjenja koja se slabije rastvaraju u vodi (niže SP vrednosti) i kod kojih nisu izražene sposobnosti da se ponašaju kao akceptori vodoničnih veza (niže HBA vrednosti) snažnije interaguju sa nepolarnom RP-18 stacionarnom fazom, što za posledicu ima jaču retenciju.

Upoređujući statističke parametre dobijene za *Modele 1-3* (**Tabela 21**) može se zaključiti da se sa uvođenjem novih deskriptora (HBA i SP) poboljšavaju statistički parametri koji opisuju date modele. Uvođenjem deskriptora koji opisuje sposobnost ispitivanih molekula da budu akseptori vodoničnih veza (HBA) i parametra rastvorljivosti (SP) vrednost koeficijenta determinacije raste od $R^2 = 0,834$ (*Model 1*, **Tabela 21**) do $R^2 = 0,861$ (*Model 3*, **Tabela 21**).

Na sličan način, povećanje broja deskriptora u regresionim jednačinama koje opisuju zavisnost retencije na CN stacionarnoj fazi od strukture ispitivanih jedinjenja dovodi do poboljšanja statističkih parametara koji opisuju *Modele 4-6* (**Tabela 21**). Sa uključivanjem HOMO i HBD deskriptora u jednoparametarsku regresionu jednačinu vrednost koeficijenta determinacije R^2 raste.

Na prediktivnu moć modela ukazuju kvadrat korelacionog koeficijenta unakrsne validacije, R_{cv}^2 , vrednost parametra *PRESS* i količnik *PRESS/SSY*. Da bi QSRR model bio pouzdan količnik *PRESS/SSY* bi trebalo da bude manji od 0,4¹⁶⁸. Takođe, vrednost količnika *PRESS/SSY* koja je manja od 0,1 ukazuje da je postavljena jednačina prihvatljiva.

Poređenjem statističkih parametara datih za *Modele 3 i 6*, koji uključuju tri molekulska deskriptora može se zaključiti da su oba predložena modela statistički značajna. Oba modela imaju količnik *PRESS/SSY* manji od 0,4, a *Model 6* ima količnik *PRESS/SSY* manji od 0,1 te se može smatrati veoma dobrim modelom. Takođe, vrednost kvadrata korelacionog koeficijenta unakrsne validacije za *Model 6* ($R_{cv}^2 = 0,935$) pokazuju veoma dobru stabilnost prema varijaciji podataka u postupku unakrsne validacije.

Iako statistički parametri mogu poslužiti za opisivanje kvaliteta dobijenih MLR modela, provera prediktivne moći MLR modela izvršena je primenom regresionih jednačina na jedinjenja iz test seta. Regresione jednačine koje opisuju *Modele 3 i 6* su iskorišćene za izračunavanje R_M^0 vrednosti za jedinjenja iz test seta, a onda je njihova prediktivna moć ispitina upoređivanjem sa eksperimentalno dobijenim.

Statistički parametri dobijeni za ispitivanje zavisnosti između predviđenih i eksperimentalno određenih R_M^0 vrednosti prikazani su u **Tabeli 22**. Poređenjem statističkih parametara može se zaključiti da je preiktivna moć *Modela 6* dobijenog za retenciju na CN stacionarnoj fazi mnogo bolja u poređenju sa *Modelom 3* koji opisuje

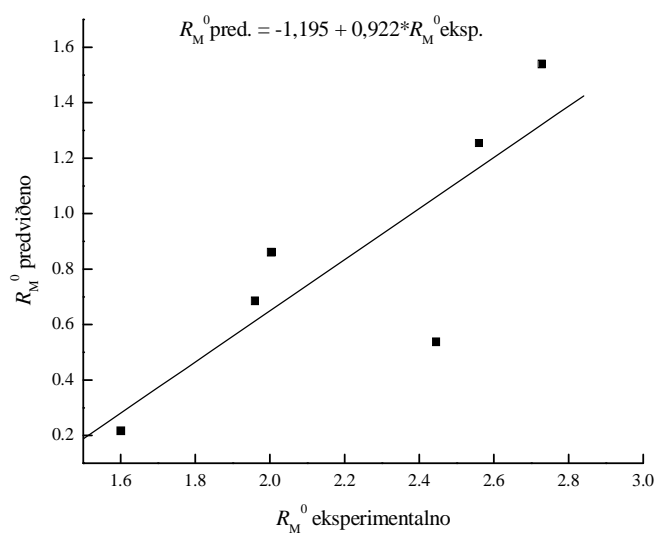
zavisnost retencije na RP-18 stacionarnoj fazi od molekulskih deskriptora. Visoka vrednost koeficijenta determinacije ($R^2 = 0,935$) i F -vrednosti ($F = 57,082$), te niske vrednosti parametara PRESS (0,145) i količnika PRESS/SSY ukazuju na dobru prediktivnu moć *Modela 6*.

Grafik zavisnosti R_M^0 vrednosti predviđenih na osnovu *Modela 3* (RP-18 stacionarna faza) od eksperimentalno određenih R_M^0 vrednosti dat je na **Slici 17**. Na **Slici 18** predstavljena je grafička zavisnost R_M^0 vrednosti dobijenih na osnovu *Modela 6* (CN stacionarna faza) od R_M^0 vrednosti eksperimentalno određenih za dati hromatografski sitem.

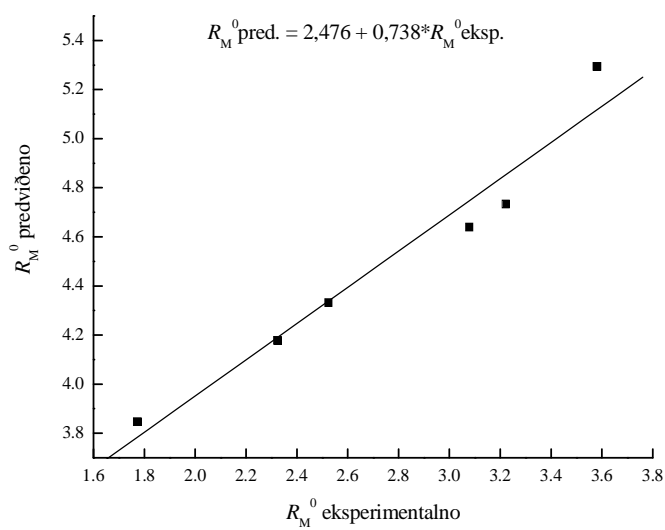
Tabela 22. Statistički parametri koji opisuju prediktivnu moć modela

Test set	Regresiona jednačina	R^2	F	R_{cv}^2	PRESS	PRESS/SSY	N^a
<i>Model 3</i>	$R_M^0_{pred.} = -1,195 + 0,922 \cdot R_M^0_{eksp.}$ (101)	0,765	12,994	0,692	0,217	0,308	6
<i>Model 6</i>	$R_M^0_{pred.} = -1,195 + 0,922 \cdot R_M^0_{eksp.}$ (102)	0,935	57,082	0,930	0,145	0,070	6

^a Broj jedinjenja u test setu.



Slika 17. Zavisnost R_M^0 vrednosti dobijenih na osnovu MLR modela za RP-18 stacionarnu fazu (*Model 3*) od eksperimentalno određenih R_M^0 vrednosti



Slika 18. Zavisnost R_M^0 vrednosti dobijenih na osnovu MLR modela za CN stacionarnu fazu (*Model 6*) od eksperimentalno određenih R_M^0 vrednosti

4.4.2 Parcijalna regresija najmanjih kvadrata, PLS

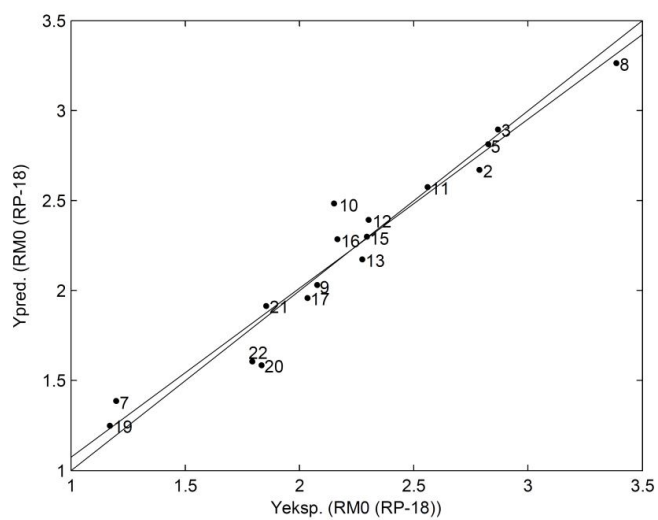
Da bi se utvrdila kvantitativna veza između retencije i strukture ispitivanih jedinjenja sve češće se koristi PLS analiza, koja je u velikoj meri i potisnula MLR. Prednosti PLS regresije u poređenju sa MLR metodom su sposobnost analize podataka koji su kolinearni, pa nije neophodna selekcija varijabli, kao i mogućnost upotrebe neograničenog broja deskriptora (broj deskriptora može biti veći od broja objekata).

PLS analiza je primenjena na retencione podatke u okviru kalibracionog seta. R_M^0 vrednosti određene za dva hromatografska sistema (THF/voda na RP-18 i CN stacionarnoj fazi) korelisane su sa molekulskim deskriptorima datim u **Tabeli P11** u Prilogu. Primenom unakrsne validacije metodom izostavljanja jednog objekta, *LOO-CV*, izvršena je kalibracija modela. Broj latentnih varijabli je odabran na osnovu minimalne vrednosti *RMSECV*. Za oba PLS modela (dobijena za dva ispitivana hromatografska sistema) minimalna vrednost *RMSECV* dobijena je za trikomponentni model (tri latentne varijable). Statistički parametri za dobijene PLS modele dati su u **Tabeli 23**.

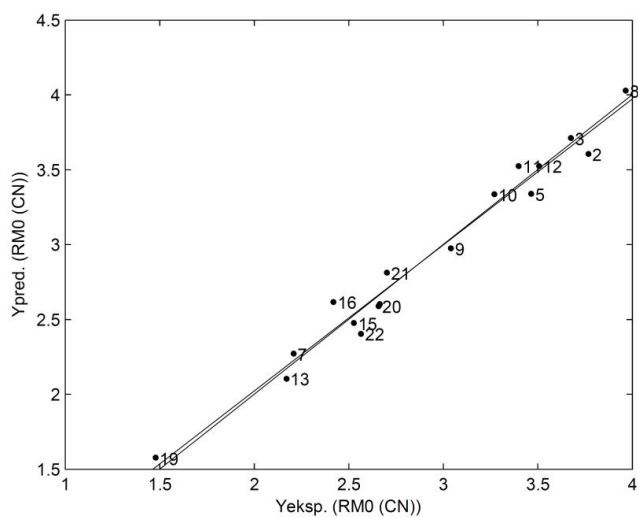
Tabela 23. Statistički parametri koji opisuju PLS modele dobijene za RP-18 i CN stacionarnu fazu

	R^2Y	Q^2Y	<i>RMSEC</i>	<i>RMSECV</i>	<i>N</i>
<i>PLS Model 1 (RP-18)</i>	0,939	0,774	0,138	0,265	17
<i>PLS Model 2 (CN)</i>	0,975	0,930	0,103	0,173	17

Rezultati predstavljeni u **Tabeli 23** su uporedivi sa statističkim parametrima koji opisuju MLR modele dobijene za dva hromatografska sistema (**Tabela 21**). Upoređujući statističke parametre dobijene za dva PLS modela može se zaključiti da je statistički značajniji model (više vrednosti R^2Y i Q^2Y , te niže vrednosti *RMSEC* i *RMSECV*), baš kao i pri MLR analizi, dobijen pri upotrebi retencionih parametara određenih na CN stacionarnoj fazi. Grafici zavisnosti R_M^0 vrednosti dobijenih na osnovu PLS modela od eksperimentano određenih R_M^0 vrednosti (**Slike 19** i **20**), potvrđuju dobro uklapanje predloženih modela u set podataka.



Slika 19. Grafik zavisnosti R_M^0 vrednosti predviđenih na osnovu *PLS Modela 1* (RP-18) od eksperimentalno određenih



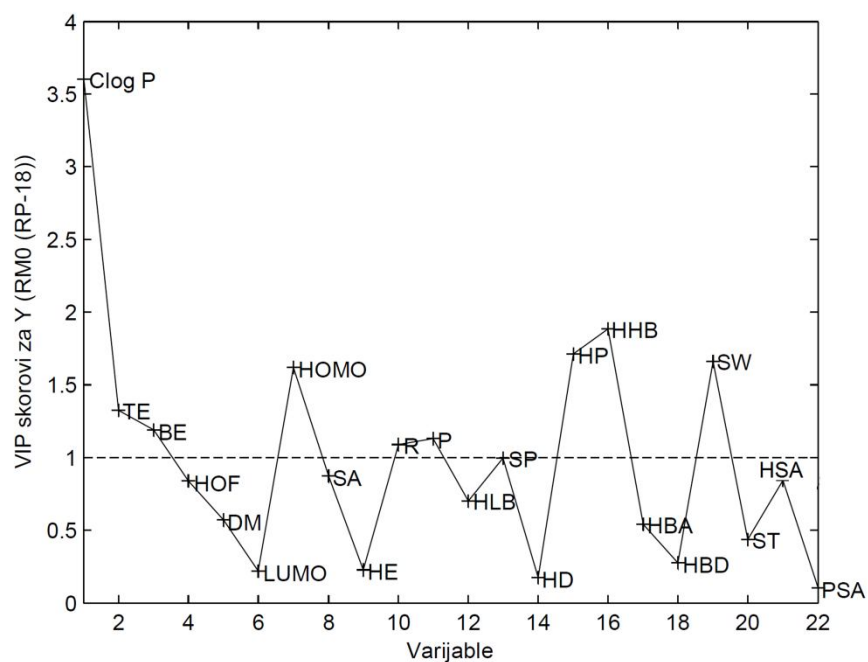
Slika 20. Grafik zavisnosti R_M^0 vrednosti predviđenih na osnovu *PLS Modela 2* (CN) od eksperimentalno određenih

Pri PLS modelovanju nezavisne varijable koje značajno utiču na vrednost zavisno promenljive karakteriše visoka vrednost regresionog koeficijenta, dok niska vrednost regresionog koeficijenta ukazuje na mali doprinos predikciji odgovora. Međutim, varijabla može biti značajna i za modelovanje matrice nezavisnih varijabli, što se manifestuje visokom vrednošću koeficijenata latentne varijable. Značaj neke nezavisne varijable u pogledu njenog uticaja na zavisnu varijablu ili varijansu nezavisno promenljivih, izražava se kroz vrednost koja definiše koliko je varijabla značajna za projekciju (engl. *Variable Importance for the Projection*, VIP). VIP vrednost se izračunava pomoću jednačine:

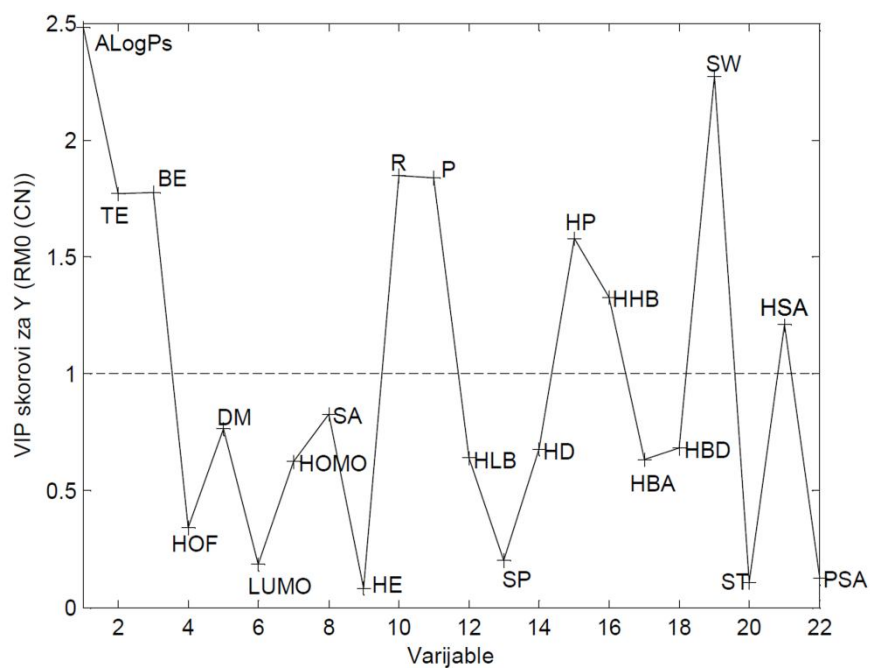
$$VIP_k = \sqrt{\frac{k \sum_{a=1}^A \omega_{ak} SS_a}{\sum_{a=1}^A SS_a}} \quad (103)$$

gde je k broj varijabli, w_{ak} je značaj k -te varijable za glavnu komponentu a , A je ukupan broj glavnih komponenti, a SS_a je suma kvadrata objašnjena pomoću glavne komponente a ¹⁶⁹.

Varijable sa VIP vrednostima većim od 1 smatraju se najrelevantnijim za objašnjenje zavisno promenljive i varijanse nezavisno promenljivih¹⁷⁰. Upravo se ova činjenica koristi pri selekciji varijabli, odnosno definisanju nezavisnih varijabli koje imaju najznačajniji doprinos predikciji zavisne varijable. Grafik zavisnosti VIP vrednosti, dobijenih za *PLS Model 1* (RP-18), od varijabli dat je na **Slici 21**, dok je zavisnost VIP skorova, dobijenih za *PLS Model 2* (CN), od nezavisnih varijabli predstavljena na **Slici 22**. Molekulski deskriptori koji imaju najveći uticaj na R_M^0 vrednosti određene na RP-18 stacionarnoj fazi su: Clog P , TE, BE, HOMO, R, P, HHB i SW. **Slika 22** pokazuje da su deskriptori koji u najvećoj meri utiču na R_M^0 vrednosti određene na CN stacionarnoj fazi (VIP > 1): Alog P_s , TE, BE, R, P, HP, HHB, SW i HSA. Poredeći VIP vrednosti za deskriptore (**Slike 21** i **22**) može se zaključiti da se najveći broj deskriptora sa VIP vrednostima većim od 1 podudara za oba dobijena PLS modela i da su od svih deskriptora parametri lipofilnosti, Clog P i Alog P_s , najznačajniji (najviše VIP vrednosti) za oba PLS modela.



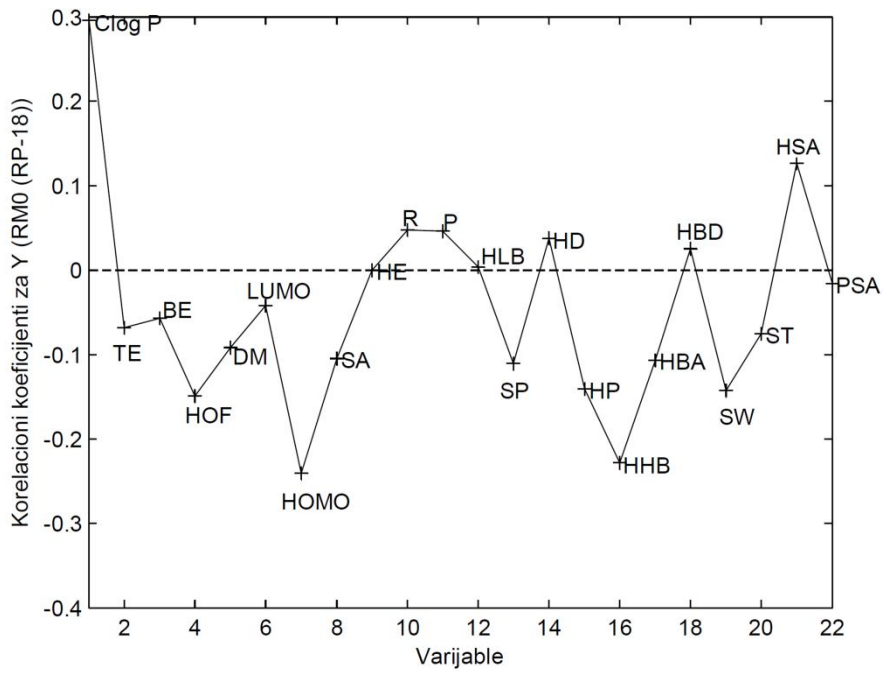
Slika 21. Grafik zavisnosti VIP vrednosti za *PLS Model 1* (RP-18) od varijabli



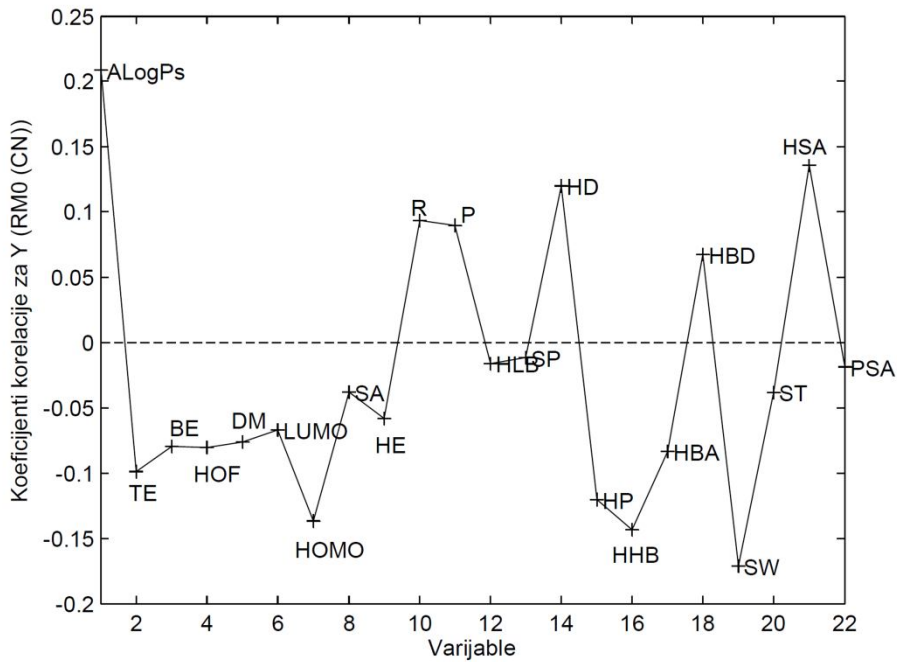
Slika 22. Grafik zavisnosti VIP vrednosti za *PLS Model 2* (CN) od varijabli

Dok VIP vrednosti govore o doprinosu nezavisnih varijabli na predikciju zavisne varijable, vrednosti korelacionih koeficijenata varijabli ukazuju da li nezavisno promenljiva ima pozitivan ili negativan uticaj na zavisno promenljivu. Vrednosti korelacionih koeficijenata varijabli u predloženim PLS modelima date su na **Slikama 23 i 24**.

Predznaci korelacionih koeficijenata deskriptora (**Slike 23 i 24**) pokazuju da deskriptori imaju isti efekat na retenciju na obe stacionarne faze. Najveći pozitivan uticaj na retencione parametre dobijene primenom oba ispitivana hromatografska sistema (THF/voda na RP-18 i CN stacionarnoj fazi) imaju parametri lipofilnosti (Clog P i Alog P_s), dok deskriptori povezani sa polarnim svojstvima jedinjenja imaju najviši negativan korelacioni koeficijent, tj. imaju najizraženiji negativan uticaj na R_M^0 vrednosti. Molekuli sa većom tendencijom da formiraju vodonične veze (visok korelacioni koeficijent za HHB deskriptor) i većom energijom dipolnih interakcija među molekulima (visok korelacioni koeficijent za HP deskriptor) se slabije vežu na obe stacionarne faze, što rezultuje slabijom retencijom na nepolarnim stacionarnim fazama¹⁷¹. Sličan efekat na retenciju ispitivanih jedinjenja imaju i drugi deskriptori koji opisuju elektronska svojstva molekula (TE, BE, SW i HOMO energija). Sa druge strane, polarizabilnost (P) i refraktivnost (R) su molekularni deskriptori, koji zavise od zapremine molekula i mogućnosti preraspodele elektronske gustine, koji imaju pozitivan efekat na retenciju u oba ispitivana hromatografska sistema, što potvrđuju pozitivni koeficijenti na **Slikama 23 i 24**.



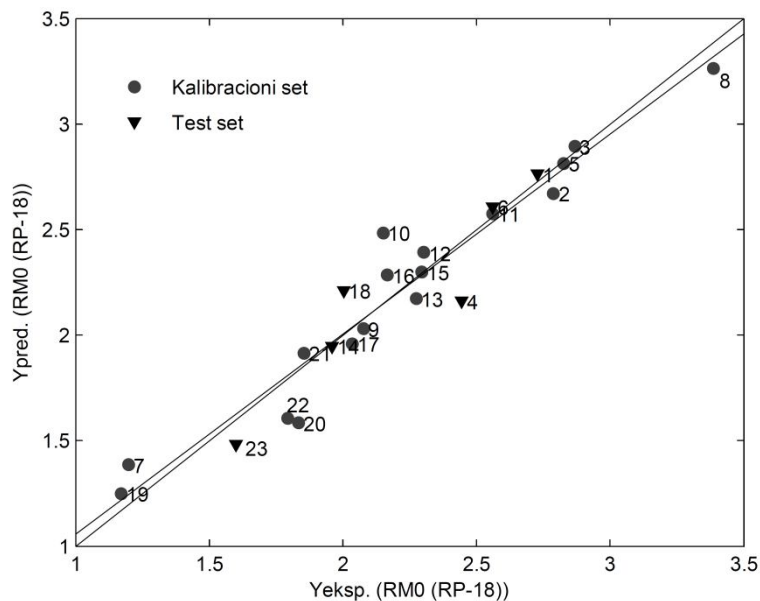
Slika 23. Vrednosti korelacionih koeficijenata varijabli u *PLS Modelu 1* (RP-18)



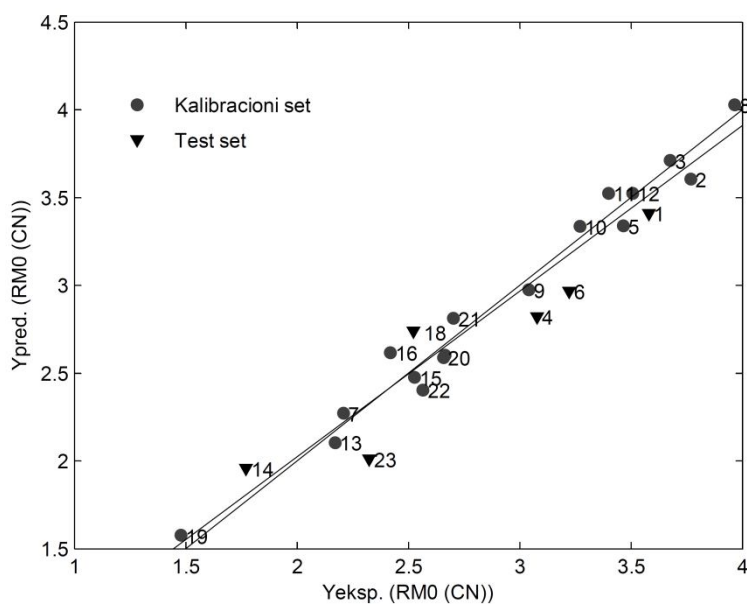
Slika 24. Vrednosti korelacionih koeficijenata varijabli u *PLS Modelu 2* (CN)

Prediktivne sposobnosti dobijenih PLS modela proverene su na podacima iz test seta. Statistički parametri koji opisuju prediktivnu moć PLS modela su R_{Pred}^2 i $RMSEP$. Baš kao i u slučaju MLR analize, prediktivna moć PLS modela dobijenog za CN stacionarnu fazu je veća od modela dobijenog za RP-18 stacionarnu fazu ($R_{\text{Pred}}^2 = 0,870$ i $RMSEP = 0,153$ za *PLS Model 1* (RP-18); $R_{\text{Pred}}^2 = 0,881$ i $RMSEP = 0,237$ za *PLS Model 1* (CN)). Grafici zavisnosti R_M^0 vrednosti, za kalibracioni i test set, od eksperimentalno određenih R_M^0 vrednosti dati su na **Slikama 25 i 26**.

Statistički parametri koji opisuju dobijene MLR i PLS modele pokazuju značajnu prediktivnu sposobnost. Poređenjem statističkih parametara koji opisuju MLR i PLS modele može se zaključiti da MLR i PLS modeli, dobijeni za hromatografski sistem THF/voda na CN stacionarnoj fazi, pokazuju bolju moć predviđanja u odnosu na modele dobijena za RP-18 stacionarnu fazu. Model sa najboljim statističkim parametrima, koji bi mogao da se koristi za predviđanje retencije je *MLR Model 6*, jednačina (100), gde je $R_{\text{Pred}}^2 = 0,94$.



Slika 25. Grafik zavisnosti predviđenih R_M^0 vrednosti za kalibracioni (●) i test set (▼) dobijenih na osnovu *PLS Modela 1* od eksperimentalno određenih



Slika 26. Grafik zavisnosti predviđenih R_M^0 vrednosti za kalibracioni (●) i test set (▼) dobijenih na osnovu *PLS Modela 2* od eksperimentalno određenih

5. Zaključak

U okviru ovog istraživanja ispitano je retenciono ponašanje 23 *N*-supstituisana 2-alkiliden-4-oksotiazolidina u uslovima reverzno-fazne planarne hromatografije. Kao stacionarne faze korišćeni su oktadecil-modifikovan (RP-18) i cijano-modifikovan (CN) silika-gel. Dvokomponentne smeše vode i organskih rastvarača (metanol, acetonitril i tetrahidrofuran) upotrebljene su kao mobilne faze.

Poređenjem retencionih parametara dobijenih primenom različitih hromatografskih sistema utvrđeno je da na retenciju ispitivanih jedinjenja u uslovima reverzno-fazne hromatografije utiču kako priroda stacionarne, tako i svojstva mobilne faze. Hromatografsko ponašanje ispitivanih jedinjenja u skladu je sa očekivanim u reverzno-faznim uslovima. Sa povećanjem sadržaja organske komponente u mobilnoj fazi slabi retencija, tj. R_F vrednosti ispitivanih jedinjenja su više što je veća koncentracija organskog modifikatora u binarnoj mobilnoj fazi. Analiza glavnih komponenata primenjena na retencione podatke ukazala je na razlike između upotrebljenih hromatografskih sistema.

Retencioni podaci, dobijeni primenom različitih hromatografskih sistema, upotrebljeni su za određivanje parametara lipofilnosti (R_M^0 , m , C_0 i $PC1$). Pored hromatografski određenih parametara lipofilnosti (R_M^0 , m , C_0 i $PC1$), lipofilnost jedinjenja okarektirasana je i izračunatim $\log P$ vrednostima.

Korelacija R_M^0 i $\log P$ vrednosti dala je uvid koji hromatografski sistemi su najpodesniji za određivanje parametara lipofilnosti, pa je na osnovu statističkih parametara koji opisuju date korelacije sistem tetrahidrofuran/voda na obe stacionarne faze (RP-18 i CN) odabran za detaljnije proučavanje odnosa strukture i retencije serije 2-alkiliden-4-oksotiazolidina.

Iako je utvrđena linearna veza između R_M^0 vrednosti i drugih retencionih parametara (m , C_0 i $PC1$), ispitivanje korelacije između ovih retencionih parametara i $\log P$ vrednosti pokazalo je da se oni u manjoj meri korelišu sa izračunatim $\log P$ vrednostima, te da ne mogu da se koriste umesto R_M^0 vrednosti za definisanje lipofilnosti.

Da bi se opisala veza između retencije i strukture novosintetisanih *N*-supstituisanih 2-alkiliden-4-oksotiazolidina osim jednostavne linearne regresije, uporebljene su višestruka linearna regresija (MLR) i parcijalna regresija najmanjih kvadrata (PLS). Pomoću MLR i PLS analize identifikovani su deskriptori koji u

najvećoj meri određuju hromatografsko ponašanje 2-alkiliden-4-oksotiazolidina u ispitivanim hromatografskim sistemima, a sve u cilju dobijanja matematičkih modela koji bi se mogli koristiti za predviđanje retencije i lipofilnosti novih strukturno sličnih jedinjenja.

Kao najznačajniji deskriptor u svim MLR i PLS modelima izdvojio se parametar lipofilnosti (Clog P i Alog P_s), koji je pozitivno korelisan sa retencijom ispitivanih jedinjenja.

MLR analiza je pokazala da pored parametra lipofilnosti na retenciju na RP-18 stacionarnoj fazi utiču i parametar rastvorljivosti (SP) i parametar koji ukazuje na sposobnost ispitivanih jedinjenja da budu akceptori vodoničnih veza (HBA). Za razliku od parametra lipofilnosti, molekularni deskriptori povezani sa polarnošću molekula (SP i HBA) imaju negativan uticaj na retenciju ispitivanih jedinjenja, tj. sa povećanjem vrednosti ovih deskriptora dolazi do smanjenja retencije ispitivanih jedinjenja na RP-18 stacionarnoj fazi.

Sa druge strane, MLR model dobijen pri poređenju retencionih parametara određenih na CN stacionarnoj fazi i molekularnih deskriptora, pored Alog P_s izdvaja kao deskriptore od značaja za definisanje retencije HBD (sposobnost jedinjenja da bude donor vodoničnih veza) i HOMO (energija najviše popunjene molekularne orbitale). Pozitivan uticaj HBD deskriptora na retenciju na CN stacionarnoj fazi pokazuje da elektronska gustina na CN-grupama pruža mogućnost građenja vodoničnih veza, pa se jedinjenja sa većom sposobnošću doniranja vodoničnih veza snažnije vezuju za CN stacionarnu fazu.

Molekularni deskriptori koji su pri PLS regresiji izdvojeni kao bitni za retenciju na obe stacionarne faze su slične prirode i imaju približno jednak uticaj na retenciju. Pored parametara lipofilnosti, deskriptori izdvojeni kao značajni za definisanje retencije na obe stacionarne faze su: TE, BE, R, P, HHB i SW.

Prediktivna moć svih MLR i PLS modela, predloženih za predviđanje retencije strukturno sličnih 4-oksotiazolidina, proverena je pomoću test seta. Statistički parametri koji opisuju zavisnost predviđenih od eksperimentalno određenih parametara retencije potvrdili su mogućnost korišćenja ovih modela za procenu lipofilnosti sličnih jedinjenja.

6. Literatura

1. A. J. P. Martin. Some theoretical aspects of partition chromatography, *Biochem. Soc. Symp.* **3** (1950) 4-20.
2. Q. S. Wang, L. Zhang, Review of research on quantitative structure-retention relationships in thin-layer chromatography, *J. Liq. Chrom. Relat. Tech.* **22** (1999) 1-14.
3. R. Kaliszan, Structure and Retention in Chromatography. A Chemometric Approach, Harwood Academic Publishers, Amsterdam (1997).
4. K. Heberger, Quantitative structure-(chromatographic) retention relationships, *J. Chromatogr. A* **1158** (2007) 273-305.
5. R. Kaliszan, M. A. van Straten, M. Markuszewski, C. A. Cramers, H. A. Claessens, Review of research on quantitative structure-retention relationships in thin-layer chromatography, *J. Chromatogr. A* **855** (1999) 455-486.
6. S. P. Singh, S. S. Parmar, K. Raman, V. I. Stenberg, Chemistry and biological activity of thiazolidinones, *Chem. Rev.* **81** (1981) 175-203.
7. D. J. Faulkner, Marine natural products, *Nat. Prod. Rep.* **15** (1998) 113-158.
8. N. Sokolenko, G. Abbenante, M. J. Scanlon, A. Jones, L. R. Gahan, G. R. Hanson, D. P. Fairlie, Cyclooligomerization of Thiazole-Containing Tetrapeptides. Symmetrical Macrocycles with up to 76 Amino Acids, *J. Am. Chem. Soc.* **121** (1999) 2603-2604.
9. Ş. G. Küçükgül, E. E. Oruç, S. Rollas, F. Şahin, A. Özbek, Synthesis, characterization and biological activity of novel 4-thiazolidino 1,3,4-oxadiazoles and some related compounds, *Eur. J. Med. Chem.* **37** (2002) 197-206.
10. V. Gududuru, E. Hurh, J. T. Dalton, D. D. Miller, Discovery of 2-arylthiazolidine-4-carboxylic acid amides as a new class of cytotoxic agents for prostate cancer, *J. Med. Chem.* **48** (2005) 2584-2588.
11. R. Ottanà, S. Carotti, R. Maccari, I. Landini, G. Chiricosta, B. Caciagli, M. G. Vigorita, E. Mini, E. In vitro antiproliferative activity against human colon cancer cell lines of representative 4-thiazolidinones. Part I, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **15** (2005) 3930-3933.
12. M. Tswett, Physical-chemical studies of chlorophyll. Adsorption, *Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft*, **24** (1906) 316-326.
13. A. J. Martin, Nobel Lectures- Chemistry, 1942–1962 , Elsevier, Amsterdam (1964).

14. A. T. James, A. J. Martin, Gas-liquid partition chromatography: the separation and microestimation of volatile fatty acids from formic acid to dodecanoic acid, *Biochem. J.* **50** (1952) 679-90.
15. C. F. Poole, Planar chromatography at the turn of the century, *J. Chromatogr. A* **856** (1999) 399-427.
16. E. Stahl, Dünnschicht-Chromatographie; Methode, Einflussfaktoren und einige Anwendungsbeispiele, *Pharmazie* **11** (1956) 633-637.
17. E. Stahl, Dünnschichtchromatographie, II. Standardisierung, Sichtbarmachung, Dokumentation und Anwendung, *Chemiker Ztg.* **82** (1958) 323-329.
18. C. F. Poole, Thin-layer chromatography: challenges and opportunities, *J. Chromatogr. A* **1000** (2003) 963-984.
19. C. F. Poole, S. K. Poole, Multidimensionality in planar chromatography, *J. Chromatogr. A* **703** (1995) 573-612.
20. C. J. Welch, N. Wu, M. Biba, R. Hartman, T. Brkovic, X. Gong, R. Helmy, W. Schafer, J. Cuff, Z. Pirzada, L. Zhou, Greening analytical chromatography, *Trends Anal. Chem.* **29** (2010) 667-680.
21. Fredric M . Rabel, Handbook of Thin-Layer Chromatography, Sorbents and Precoated Layers in Thin-Layer Chromatography, Taylor & Francis Group, New York, USA (2005).
22. J. Köhler, D. B. Chase, R. D. Farlee, A. J. Vega, J. J. Kirkland, Comprehensive characterization of some silica-based stationary phase for high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* **352** (1986) 275-305.
23. J. Nawrochi, Silica surface controversy, strong adsorption sites, their blockage and removal, Part I and Part II, *Chromatographia* **31** (1991) 177-92.
24. H. Enghelhardt, H. Low, W. Götzinger, Chromatographic characterization of silica-based reversed phases (review), *J. Chromatogr. A* **544** (1991) 371-79.
25. Sz. Nyiredy, Planar chromatography, A respective view for the third millennium, Springer, Budapest, Hungary (2001).
26. P. E. Wall, Thin-layer Chromatography, A Modern Practical Approach, VWR International Ltd, Poole, Dorset, UK (2005).
27. G. B. Proctor, R. W. Horobin, A widely applicable analytical system for biological stains: reverse-phase thin layer chromatography, *Stain Tech.* **60** (1985) 1-6.

28. J. Sherma, D. W. Armstrong, B. P. Sleckman, Chromatography of Amino Acids on Reversed Phase Thin Layer Plates, *J. Liq. Chrom. Relat. Tech.* **6** (1983) 95-108.
29. M. Vanhaelen, R. Vanhaelen-Fastre, Pregnenolone separation from cholesterol using Sephadex LH-20 mini-columns, *J. Chromatogr. A* **187** (1980) 255-260.
30. M. Miszczyk, A. Pyka, Comparison of normal and reversed-phase TLC for separation of selected pesticides, *J. Planar Chromatogr.* **19** (2006) 15-20.
31. A. Pyka, A. Niestroj, J. Śliwiok, Investigation of the Separation of Higher Fatty Acid Methyl Esters by Reversed-Phase HPTLC, *J. Planar Chromatogr.* **16** (2003) 227-229.
32. E. H. Rabtti, M. Natić, D. Milojković-Opsenica, J. Trifković, I. Vucković, V. Vajs, Ž. Tešić, RP TLC-Based Lipophilicity Assessment of Some Natural and Synthetic Coumarins, *J. Brazil. Chem. Soc.* **23** (2012) 522-530.
33. A. Atrog, M. Natić, T. Tosti, D. Milojković-Opsenica, I. Dordević, V. Tesević, M. Jadranin, S. Milosavljević, M. Lazić, S. Radulović, Z. Tesić, Lipophilicity of some guaianolides isolated from two endemic subspecies of *Amphoricarpos neumayeri* (Asteraceae) from Montenegro, *Biomed. Chromatogr.* **23** (2009) 250-256.
34. D. Dabić, M. Natić, Z. Džambaski, M. Stojanović, R. Marković, D. Milojković-Opsenica, Ž. Tešić, Estimation of lipophilicity of *N*-substituted 2-alkylidene-4-oxothiazolidines by means of reversed-phase thin-layer chromatography, *J. Liq. Chrom. Relat. Tech.* **34** (2011) 791-804.
35. J. Veličković, Ž. Tešić, D. Milojković-Opsenica, Evaluation of the lipophilicity of some 1-arylpiperazines by planar chromatography, *J. Planar Chromatogr.* **17** (2004) 323-327.
36. M. Natić, R. Marković, K. Anđelković, D. Milojković-Opsenica, Ž. Tešić, Reversed-phase thin-layer chromatography of stereodefined 2-alkylidene-4-oxothiazolidines and 1,2-dithioles, *J. Planar Chromatogr.* **17** (2004) 323-327.
37. J. G. Dorsey, W. T. Cooper, Retention mechanisms of bonded-phase liquid chromatography, *Anal. Chem.* **66** (1994) 857A-867A.
38. M. D. Foster, R. E. Synovec, Reversed phase liquid chromatography of organic hydrocarbons with water as the mobile phase, *Anal. Chem.* **68** (1996) 2838-2844.

39. A. Radoičić, H. Majstorović, T. Sabo, Ž. Tešić, D. Milojković-Opsenica, Hydrophilic-interaction planar chromatography of some water-soluble Co(III) complexes on different adsorbents, *J. Planar Chromatogr.* **22** (2009) 249-253.
40. A. Hawrył, E. Kuśmierz, P. Pisarczyk, M. Wujec, M. Waksmundzka-Hajnos, Determination of the lipophilicity of some new thiosemicarbaside derivatives by reversed-phase thin-layer chromatography, *Acta Chromatogr.* **24** (2012) 271-290.
41. R. D. Briciu, A. Kot-Wąsik, A. Wąsik, J. Namieśnik, C. Sârbu, The lipophilicity of artificial and natural sweeteners estimated by reversed-phase thin-layer chromatography and computed by various methods, *J. Chromatogr. A* **1217** (2010) 3702-3706.
42. D. Casoni, J. Petre, V. David, C. Sarbu, Prediction of pesticides chromatographic lipophilicity from the computational molecular descriptors, *J. Sep. Sci.* **34** (2011) 247-254.
43. C. Sarbu, D. Casoni, A. Kot-Wąsik, A. Wąsik, J. Namieśnik, Modeling of chromatographic lipophilicity of food synthetic dyes estimated on different columns, *J. Sep. Sci.* **33** (2010) 2219-2229.
44. D. Casoni, A. Kot-Wąsik, J. Namieśnik, C. Sârbu, Lipophilicity data for some preservatives estimated by reversed-phase liquid chromatography and different computation methods, *J. Chromatogr. A* **1216** (2009) 2456-2465.
45. J. H. Park, M. H. Yoon, Y. K. Ryu, B. E. Kim, J. W. Ryu, M. D. Jang, Characterization of some normal-phase liquid chromatographic stationary phases based on linear solvation energy relationships, *J. Chromatogr. A* **796** (1998) 249-258.
46. M. M. Acanski, Chromatographic Enantioresolution of Six Purine Derivatives Endowed with Anti-Human Breast Cancer Activity, *Chromatographia* **62** (2005) 475-482.
47. K. A. Dill, The mechanism of solute retention in reversed-phase liquid chromatography, *J. Phys. Chem.* **91** (1987) 1980-1988.
48. A. J. P. Martin, R. L. M. Synge, A new form of chromatogram employing two liquid phases, *J. Biochem.* **35** (1941) 1358-1368.

49. A. J. P. Martin, R. L. M. Synge, Gas-liquid partition chromatography; the separation and micro-estimation of volatile fatty acids from formic acid to dodecanoic acid, *J. Biochem.* **50** (1952) 679-690.
50. D. E. Martire, R. E. Boehm, A unified theory of retention and selectivity in liquid chromatography. 2. reversed-phased liquid chromatography with chemically bonded phases, *J. Phys. Chem.* **87** (1983) 1045-1062.
51. P. W. Carr, J. Li, A. J. Dallas, D. I. Eikens, L. C. Tan, Revisionist look at solvophobic driving forces in reversed-phase liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* **656** (1993) 113-133.
52. G. E. Berendsen, K. A. Pikaart, L. de Galan, Preparation of various bonded phases for HPLC using monochlorosilanes, *J. Liq. Chromatogr.* **3** (1980) 1437.
53. A. Vailaya, Cs. Horváth, Retention in reversed-phase chromatography: partition or adsorption, *J. Chromatogr. A* **829** (1998) 1-27.
54. J. C. Touchstone, Practice of thin layer chromatography, 3rd ed, J. Wiley, Chichester, UK (1992).
55. L. R. Snyder, Linear elution adsorption chromatography IX. Strong eluents and alumina. The basis of eluent strength, *J. Chromatogr. A* **16** (1964) 55-88.
56. L. R. Snyder, Linear elution adsorption chromatography: XIII. Further studies on a narrow pore silica, *J. Chromatogr. A* **25** (1966) 274-293.
57. J. M. Miller, Chromatography-Concepts and Contrasts, John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, USA (2005).
58. F. Geiss, Fundamentals of thin layer chromatography (planar chromatography), Hüthig, New York, USA (1987).
59. L. R. Snyder, J. J. Kirkland, Introduction to modern liquid chromatography, 2nd ed, Wiley-Interscience, New York, USA (1979).
60. L. R. Snyder, J. L. Glajch, Solvent strength of multicomponent mobile phases in liquid-solid chromatography: Binary-solvent mixtures and solvent localization, *J. Chromatogr. A* **214** (1981) 1-19.
61. L. R. Snyder, J. L. Glajch, Solvent strength of multicomponent mobile phases in liquid-solid chromatography: Mixtures of three or more solvents, *J. Chromatogr. A* **214** (1981) 21-34.

62. L. R. Snyder, J. L. Glajch, Solven strength of multicomponent mobile phases in liquid-solid chromatograph: Further study of different mobile phases and silica as adsorbent, *J. Chromatogr. A* **248** (1982) 165-182.
63. L. R. Snyder, Classification of the solvent properties of common liquids, *J. Chromatogr. A* **92** (1974) 223-230.
64. C. Hansch, T. Fujita, p - σ - π Analysis. A Method for the Correlation of Biological Activity and Chemical Structure, *J. Am. Chem. Soc.* **86** (1964) 1616-1626.
65. R. Kaliszan, H. Foks, The relationship between the R_M values and the connectivity indices for pyrazine carbothioamide derivatives, *Chromatographia* **10** (1977) 346-349.
66. R. Kaliszan, Correlation between the retention indices and the connectivity indices of alcohols and methyl esters with complex cyclic structure, *Chromatographia* **10** (1977) 529-531.
67. H. Van de Waterbeemd, M. Kansy, B. Wagner, H. Fischer, Lipophilicity in drug action and toxicology; Lipophilicity measurement by high performance liquid chromatography (RP-HPLC), Wiley-VCH, Weinheim (1996).
68. F. Lombardo, M. Y. Shalaeva, K.A. Tupper, F. Gao, $E_{\text{logD}_{\text{oct}}}$: A Tool for Lipophilicity Determination in Drug Discovery. 2. Basic and Neutral Compounds, *J. Med. Chem.* **44** (2001) 2490-2497.
69. X. Liu, H. Tanaka, A. Yamauchi, B. Testa, H. Chuman, Determination of lipophilicity by reversed-phase high-performance liquid chromatography: Influence of 1-octanol in the mobile phase, *J. Chromatogr. A* **1091** (2005) 51-59.
70. C. Giaginis, A. Tsantili-Kakoulidou, Current state of the art in HPLC methodology for lipophilicity assessment of basic drugs, *J. Liq. Chrom. Relat. Tech.* **31** (2008) 79-96.
71. K. Heberger, T. Kowalska, Thermodynamic significance of boiling point correlations for alkylbenzenes in gas chromatography: Extension of Trouton's rule, *J. Chromatogr. A* **845** (1999) 13-20.
72. D. A. Hinckley, T. F. Bidleman, W. T. Foreman, J. R. Tuschall, Determination of vapor pressures for nonpolar and semipolar organic compounds from gas chromatographic retention data, *J. Chem. Eng. Data* **35** (1990) 232-237.

73. K. Heberger, T. Kowalska, Thermodynamic properties of alkylbenzenes from retention-boiling point correlations in gas chromatography, *Chromatographia* **44** (1997) 179-186.
74. K. Heberger, T. Kowalska, M. Gorgenyi, Determination of the Gibbs free energy of one methylene unit from Kováts retention index-boiling point correlations on DB-210 stationary phase, *Acta Chromatogr.* **9** (1999) 25-37.
75. M. Szaleniec, A. Dudzik, M. Pawul, B. Kozik B, Quantitative structure enantioselective retention relationship for high-performance liquid chromatography chiral separation of 1-phenylethanol derivatives, *J. Chromatogr. A* **1216** (2009) 6224-6235.
76. R. Kaliszan, Quantitative structure-retention relationships, *Anal. Chem.* **64** (1992) 619A-631A.
77. R. Kaliszan, Chromatography and capillary electrophoresis in modelling the basic processes of drug action, trends in analytical chemistry, *TRAC Trend. Anal. Chem.* **18** (1999) 400-410.
78. R. Put, Y. van der Heyden, Review on modelling aspects in reversed-phase liquid chromatographic quantitative structure-retention relationships, *Anal. Chim. Acta* **602** (2007) 164-172.
79. M. Natić, R. Marković, D. Milojković-Opsenica, Ž. Tešić, Structure-retention relationship study of diastereomeric (Z)- and (E)-2-alkylidene-4-oxothiazolidines, *J. Sep. Sci.* **30** (2007) 2241-2248.
80. J. Trifković, F. Andrić, P. Ristivojević, D. Andrić, Ž. Lj. Tešić, D. M. Milojković-Opsenica, Structure-retention relationship study of arylpiperazines by linear multivariate modeling, *J. Sep. Sci.* **33** (2010) 2619-2628.
81. D. Dabić, M. Natić, Z. Džambaski, R. Marković, D. Milojković-Opsenica, Ž. Tešić, Quantitative structure-retention relationship of new *N*-substituted 2-alkylidene-4-oxothiazolidines, *J. Sep. Sci.* **34** (2011) 2397-2404.
82. J. Li, J. Sun, Z. He, Quantitative structure-retention relationship studies with immobilized artificial membrane chromatography; II: Partial least squares regression, *J. Chromatogr. A* **1140** (2007) 174-179.

83. C. Giaginis, A. Tsantili-Kakoulidou, Quantitative Structure-Retention Relationships as Useful Tool to Characterize Chromatographic Systems and Their Potential to Simulate Biological Processes, *Chromatographia* **76** (2013) 211-226.
84. R. Todeschini, V. Consonni, Handbook of Molecular Descriptors. Methods and Principles in Medicinal chemistry, Wiley-VCH, Weinheim (2000).
85. V. Consonni, R. Todeschini, Recent Advances in QSAR Studies: Methods and Applications, Molecular descriptors, Springer, New York, USA (2009).
86. J. Gasteiger, Handbook of chemoinformatics, From data to knowledge in 4 volumes. Wiley-VCH, Weinheim (2003).
87. P. C. Jurs, J. S. Dixon, L. M. Egolf, Chemometrics methods in molecular design, Representations of molecules, VCH Publishers, New York, USA (1995).
88. M. Randić, Generalized molecular descriptors, *J. Math. Chem.* **7** (1991) 155-168.
89. R. Ghavami, S. Faham, QSRR models for Kováts' retention indices of a variety of volatile organic compounds on polar and apolar GC stationary phases using molecular connectivity indexes, *Chromatographia* **72** (2010) 893-903.
90. J. C. Drosos, M. Viola-Rhenals, R. Vivas-Reyes, Quantitative structure-retention relationships of polycyclic aromatic hydrocarbons gas-chromatographic retention indices, *J. Chromatogr. A* **1217** (2010) 4411-4421.
91. M. Berthelot, E. Jungfleisch, On the laws that operate for the partition of a substance between two solvents, *Ann. Chim. Phys.* **26** (1872) 396-407.
92. H. Meyer, Zur theorie der alkoholnarkose, *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* **42** (1899) 109-118.
93. E. Overton, Studien iiber die Narkose, Fisher, Jena (1901).
94. L. Pauling, A Molecular Theory of General Anesthesia, *Science* **134** (1961) 15-21.
95. V. Pliška, B. Testa, H. van de Waaterbeemd, Lipophilicity in Drug Action and Toxicology, VCH-Weinheim (1996).
96. H. van de Waterbeemd, R. E. Carter, G. Grassy, H. Kubinyi, Y. C. Martin, M. S. Tute, P. Willet, Glossary of terms used in computational drug design, *Pure Chem.* **69** (1997) 1137-1152.
97. A. Leo, C. Hansch, D. Elkins, Partition coefficients and their uses, *Chem. Rev.* **71** (1971) 525-616.

98. D. E. Leahy, P. J. Taylor, A. R. Wait, Model solvent systems for QSAR. Part I. Propylene glycol dipelargonate (PGDP). A new standard solvent for use in partition coefficient determination, *Quant. Struct.-Act. Relat.* **8** (1989) 17-31.
99. D. E. Leahy, J. J. Morris, P. J. Taylor, A. R. Wait, Model solvent systems for QSAR. Part II. Fragment values ('f-values') for the 'critical quartet', *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **2** (1992) 723-731.
100. A. Brandstrom, A rapid method for the determination of distribution coefficient of bases for biological purposes, *Acta. Chem. Scand.* **17** (1963) 1218-1224.
101. H. Kubinyi, QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches, VCH-Weinheim (1993).
102. R. Consden, A. H. Gordon, A. J. Martin, Qualitative analysis of proteins: a partition chromatographic method using paper, *Biochem. J.* **38** (1944) 224-232.
103. E. C. Bate-Smith, R. G. Westall, Chromatographic behavior and chemical structure in some naturally occurring phenolic substances, *Biochem. Biophys. Acta* **4** (1950) 427-440.
104. J. Dorsey, M. Khaledi, Hydrophobicity estimations by reversed-phase liquid chromatography. Implications for biological partitioning processes, *J. Chromatogr. A* **656** (1993) 485-99.
105. A. Nasal, D. Siluk, R. Kaliszan, Chromatographic retention parameters in medicinal chemistry and molecular pharmacology, *Curr. Med. Chem.* **10** (2003) 381-426.
106. S. K. Poole, C. F. Poole, Separation methods for estimating octanol-water partition coefficients. *J. Chromatogr. B* **797** (2003) 3-19.
107. C. B. C. Boyce, B. V. Milborrow, A simple assessment of partition data for correlating structure and biological activity using thin-layer chromatography, *Nature* **208** (1965) 537-538.
108. T. Cserhádi, Determination of the lipophilicity of some aniline derivatives by reversed-phase thin-layer chromatography. The effect of the organic phase in the eluent, *Chromatographia* **18** (1984) 318-322.
109. G. L. Biagi, A. M. Barbaro, A. Sapone, M. Recanatini, Determination of lipophilicity by means of reversed-phase thin-layer chromatography: I. Basic aspects

- and relationship between slope and intercept of TLC equations, *J. Chromatogr. A* **662** (1994) 341-361.
110. G. L. Biagi, A. M. Barbaro, A. Sapone, M. Recanatini, Determination of lipophilicity by means of reversed-phase thin-layer chromatography: II. Influence of the organic modifier on the slope of the thin-layer chromatographic equation, *J. Chromatogr. A* **669** (1994) 246-253.
111. G. L. Biagi, A. M. Barbaro, M. Recanatini, Determination of lipophilicity by means of reversed-phase thin-layer chromatography III. Study of the TLC equations for a series of ionizable quinolone derivatives, *J. Chromatogr. A* **678** (1994) 127-137.
112. K. Dross, C. Sonntag, R. Mannhold, Determination of the hydrophobicity parameter R_{Mw} by reversed-phase thin-layer chromatography. *J. Chromatogr. A* **973** (1994) 113-124.
113. M. L. Bieganowska, A. Doraczynska, A. Petruczynik, The retention behavior of some sulfonamides on different TLC plates. 2. Comparison of the selectivity of the systems and quantitative determination of hydrophobicity parameters. *J. Planar Chromatogr.* **8** (1995) 122-128.
114. T. Braumann, Determination of hydrophobic parameters by reversed-phase liquid chromatography: theory, experimental techniques, and application in studies on quantitative structure-activity relationships, *J. Chromatogr. A* **373** (1986) 191-225.
115. T. Cserhati, Determination of the lipophilicity of some aniline derivatives by reversed-phase thin-layer chromatography. The effect of the organic phase in the eluent, *Chromatographia* **18** (1984) 318-322.
116. M. Verzele, E. van Damme, C. Dewaele, M. Ghijs, On the polarity of stationary phases in straight-phase LC, *Chromatographia* **24** (1987) 302- 308.
117. H. Lamparczyk, M. Atomura, K. Jinno, Qualitative description of dispersive and inductive electrostatic interactions in reversed-phase liquid chromatography, *Chromatographia* **23** (1987) 752-759.
118. A. Leo, Calculating log Poct from Structures, *Chem. Revs.* **93** (1993) 1281-1306.
119. R. F. Rekker, R. Mannhold, G. Bijloo, G. De Vries, K. Dross, The lipophilic behaviour of organic compounds. 3. The search for interconnections between

- reversed-phase chromatographic data and log Poct values, *Quant. Struct. Act. Relat.* **17** (1998) 549-557.
120. G. E. Kellogg, G. S. Joshi, D. J. Abraham, New Tools for Modeling and Understanding Hydrophobicity and Hydrophobic Interactions, *Med. Chem. Res.* **1** (1992) 444-453.
121. S. Wold, Chemometrics; what do we mean with it and what do we want from it, *Chemometr. Intell. Lab.* **30** (1995) 109–115.
122. R. Bro, Multivariate calibration. What is in chemometrics for the analytical chemist? *Anal. Chim. Acta*, **500** (2003) 185-194.
123. P. J. Gemperline, Practical guide to chemometrics, Introduction to Chemometrics, Taylor & Francis Group, New York, USA (2006).
124. K. Pearson, On lines and planes of closest fit to systems of points in space, *Philos. Mag.* **2** (1901) 559-572.
125. H. Hotelling, Analysis of a Complex of Statistical Variables Into Principal Components, *J. Educ. Psychol.* **24** (1933) 417-441.
126. R. G. Brereton, Chemometrics. Data analysis for the laboratory and chemical plant, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, England (2003).
127. K. Varmuza, P. Filzmoser, Introduction to multivariate statistical analysis in chemometrics. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida, USA (2009).
128. J.N. Miller, J.C. Miller, Statistics and chemometrics for analytical chemistry, 6th ed, Pearson Education Limited, Harlow, England (2010).
129. E. Pourbasheer, S. Riahi, M. R. Ganjali, P. Norouzi, Quantitative structure-activity relationship (QSAR) study of interleukin-1 receptor associated kinase 4 (IRAK-4) inhibitor activity by the genetic algorithm and multiple linear regression (GA-MLR) method, *J. Enzym. Inhib. Med. Ch.* **25** (2010) 844-853.
130. M. Fernandez, J. Caballero, QSAR models for predicting the activity of non-peptide luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) antagonists derived from erythromycin A using quantum chemical properties, *J. Mol. Model.* **13** (2007) 465-476.

131. G. B. Luilo, S. E. Cabaniss, Quantitative Structure-Property Relationship for Predicting Chlorine Demand by Organic Molecules, *Environ. Sci. Technol.* **44** (2010) 2503-2508.
132. J. G. Topliss, R. P. Edwards, Chance Factors in Studies of Quantitative Structure-Activity Relationships, *J. Med. Chem.* **22** (1979) 1238-1244.
133. A. R. Katritzky, V. S. Lobanov, M. Karelson, QSPR: The Correlation and Quantitative Prediction of Chemical and Physical Properties from Structure, *Chem. Soc. Rev.* **24** (1995) 279-287.
134. H. O. A. Wold, Research Papers in Statistics, Nonlinear estimation by iterative least squares procedures, Wiley, New York (1966).
135. H. O. A. Wold, Quantitative Sociology, Path Models with Latent Variables: The NIPALS, Academic Press, New York, (1975).
136. H. O. A. Wold, Systems under indirect observation, Part II, Soft modelling: the basic design and some extensions, North-Holland, Amsterdam (1982).
137. P. Geladi, B. Kowalski, Partial least-squares regression: A tutorial, *Anal. Chim. Acta* **185** (1986) 1-17.
138. K. Bodzioch, A. Durand, R. Kaliszan, T. Bączek, Y. Vander Heyden, Advanced QSRR modeling of peptides behavior in RPLC, *Talanta* **81** (2010) 1711-1718.
139. M. Otto, Chemometrics, Statistics and Computer Application in Analytical Chemistry, Wiley-VCH, Weinheim (1999).
140. A. K. Jain, A. Vaidya, V. Ravichandran, S. K. Kashaw, R. K. Agrawal, Recent developments and biological activities of thiazolidinone derivatives: a review, *Bioorg. Med. Chem.* **20** (2012) 3378-3395.
141. Y. S. Prabhakar, V. R. Solomon, M. K. Gupta, S. B. Katti, QSAR studies on thiazolidines: biologically privileged scaffold, *Top. Heterocycl. Chem.* **4** (2006) 161-249.
142. V. V. Vintonyak, K. Warburg, H. Kruse, S. Grimme, K. Hübel, D. Rauh, H. Waldmann, Identification of Thiazolidinones Spiro-Fused to Indolin-2-ones as Potent and Selective Inhibitors of the Mycobacterium tuberculosis Protein Tyrosine Phosphatase, *Angew. Chem. Int. Ed.* **49** (2010) 5902-5905.
143. R. K. Rawal, S. B. Katti, N. Kaushik-Basu, P. Arora, Z. Pan, Non-nucleoside inhibitors of the hepatitis C virus NS5B RNA-dependant RNA polymerase: 2-Aryl-

- 3-heteroaryl-1,3-thiazolidin-4-one derivatives, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **18** (2008) 6110-6114.
144. S. Allen, B. Newhouse, A. S. Anderson, B. Fauber, A. Allen, D. Chantry, C. Eberhardt, J. Odingo, L. E. Burgess, Discovery and SAR of trisubstituted thiazolidinones as CCR4 antagonists, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **14** (2004) 1619-1624.
145. S. A. Ahmed, S. Odde, P. R. Daga, J. J. Bowling, M. K. Mesbah, D. T. Youssef, S. I. Khalifa, R. J. Doerksen, M. T. Hamann, Latrunculin with a Highly Oxidized Thiazolidinone Ring: Structure Assignment and Actin Docking, *Org. Lett.* **9** (2007) 4773-4776.
146. L. J. S. Knutsen, C. J. Hobbs, C. G. Earnshaw, A. Fiumana, J. Gilbert, S. L. Mellor, F. Radford, N. J. Smith, P. J. Birch, J. R. Burley, S. D. C. Ward, I. F. James, Synthesis and SAR of novel 2-arylthiazolidinones as selective analgesic N-type calcium channel blockers, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **17** (2007) 662-667.
147. H. Zhou, S. Wu, S. Zhai, A. Liu, Y. Sun, R. Li, Y. Zhang, S. Ekins, P. W. Swaan, B. Fang, B. Zhang, B. Yan, Design, synthesis, cytoselective toxicity, structure-activity relationships, and pharmacophore of thiazolidinone derivatives targeting drug-resistant lung cancer cells, *J. Med. Chem.* **51** (2008) 1242-51.
148. D. M. Rock, M. J. McLean, R. L. Macdonald, W. A. Catterall, C. P. Taylor, Ralitoline (CI-946) and CI-953 block sustained repetitive sodium action potentials in cultured mouse spinal cord neurons and displace batrachotoxinin A 20-alpha-benzoate binding in vitro, *Epilepsy Res.* **8** (1991) 197-203.
149. R. Marković, M. Baranac, V. Jovanović, Z. Džambaski, Regioselective synthesis of a stereodefined heterocyclic push-pull alkene, *J. Chem. Educ.* **81** (2004) 1026-1029.
150. R. Marković, M. Baranac, Z. Džambaski, M. Stojanović, P. J. Steel, High regioselectivity in the heterocyclization of beta-oxonitriles to 4-oxothiazolidines: X-ray structure proof, *Tetrahedron* **59** (2003) 7803-7810.
151. Z. Džambaski, R. Marković, E. Kleinpeter, M. Baranac-Stojanović, *Tetrahedron* (2013), članak je u pripremi.
152. <http://www.hyper.com/>
153. <http://www.norgwyn.com/mmpplus.html>

154. M. J. S. Dewar, E. G. Zoebisch, E. F. Healy, J. J. P. Stewart, Development and use of quantum mechanical molecular models. 76. AM1: a new general purpose quantum mechanical molecular model, *J. Am. Chem. Soc.* **107** (1985) 3902-3909.
155. <http://www.vcclab.org/>
156. <http://www.cambridgesoft.com>
157. J. Hintze, *NCSS and PASS. Number Cruncher Statistical Systems*, Kaysville, Utah (2001), www.ncss.com.
158. R. M. McCormick, B. L. Karger, Distribution phenomena of mobile-phase components and determination of dead volume in reversed-phase liquid chromatography, *Anal. Chem.* **52** (1980) 2249-2257.
159. B. Natalini, R. Sardella, E. Camaioni, S. Natalini, R. Pellicciari, Dominant factors affecting the chromatographic behaviour of bile acids, *Chromatographia* **64** (2006) 343-349.
160. V. Meyer, *Practical High-Performance Liquid Chromatography*, 4th Ed, John Wiley & Sons, Germany (2004).
161. C. Sârbu, K. Kuhajda, S. Kevrešan, Evaluation of the lipophilicity of bile acids and their derivatives by thin-layer chromatography and principal component analysis, *J. Chromatogr. A* **917** (2001) 361-366.
162. C. Onisor, M. Poša, S. Kevrešan, K. Kuhajda, C. Sârbu, Estimation of chromatographic lipophilicity of bile acids and their derivatives by reversed-phase thin layer chromatography, *J. Sep. Sci.* **33** (2010) 3110-3118.
163. T. Djaković-Sekulić, A. Smolinski, N. Perišić-Janjić, M. Janicka, Chemometric characterization of (chromatographic) lipophilicity parameters of newly synthesized s-triazine derivatives, *J. Chemometrics* **22** (2008) 195-202.
164. M. M. Natić, R. M. Baošić, D. M. Milojković-Opsenica, Ž. Lj. Tešić, Estimation of the Hydrophobicity of Tris- β -diketonato Complexes from Reversed-Phase Thin-Layer Chromatographic Data, *J. Planar Chromatogr.* **18** (2005) 344-348.
165. R. Kaliszan, *Handbook of analytical separation*, Elsevier, The Netherlands (2000).
166. Z. Garkani-Nejad, Quantitative structure-retention relationship study of some phenol derivatives in gas chromatography, *J. Chromatogr. Sci.* **48** (2010) 317-323.

167. Z. Garkani-Nejad, M. Ahmadvand, Comparative QSRR modeling of nitrobenzene derivatives based on original molecular descriptors and multivariate image analysis descriptors, *Chromatographia* **73** (2011) 733-742.
168. S. Wold, Validation of QSAR's, *Quant. Struct.-Act. Relat.* **10** (1991) 191-193.
169. S. Gaudet, K. A. Janes, J. G. Albeck, E. A. Pace, D. A. Lauffenburger, P. K. Sorger, A Compendium of Signals and Responses Triggered by Prodeath and Prosurvival Cytokines, *Mol. Cell. Proteomics* **4** (2005) 1569-1590.
170. S. Wold, PLS for multivariate linear modeling. In QSAR: Chemometric methods in molecular design: methods and principles in medicinal chemistry. Wiley, Weinheim, Germany (1995).
171. C. Hansen, Solubility Parameters: A user's handbook, Second Edition, Boca Raton, Fla: CRC (2007).

7. Prilog

Prilog

Tabela P1. Retencioni podaci za hromatografski sistem RP-18 / MeOH:voda

Tabela P2. Retencioni podaci za hromatografski sistem RP-18 / ACN:voda

Tabela P3. Retencioni podaci za hromatografski sistem RP-18 / THF:voda

Tabela P4. Retencioni podaci za hromatografski sistem CN / MeOH:voda

Tabela P5. Retencioni podaci za hromatografski sistem CN / ACN:voda

Tabela P6. Retencioni podaci za hromatografski sistem CN / THF:voda

Tabela P7. Parametri lipofilnosti, C_0 i $PC1$, za RP-18 stacionarnu fazu

Tabela P8. Parametri lipofilnosti, C_0 i $PC1$, za CN stacionarnu fazu

Tabela P9. Izračunate $\log P$ vrednosti

Tabela P10. Korelaciona matrica $\log P$ vrednosti

Tabela P11. Molekulski deskriptori korišćeni za multivarijantnu analizu

Tabela P12. Korelaciona matrica molekulskih deskriptora korišćena u MLR analizi

Tabela P1. Retencioni podaci za hromatografski sistem RP-18 / MeOH:voda

Jedinjenje	95% ^a		90%		85%		80%		75%		70%	
	R _F	R _M	R _F	R _M	R _F	R _M	R _F	R _M	R _F	R _M	R _F	R _M
1	0,70	-0,37	0,60	-0,18	0,54	-0,07	0,42	0,14	0,30	0,37	0,16	0,72
2	0,75	-0,48	0,69	-0,35	0,62	-0,21	0,51	-0,02	0,40	0,18	0,24	0,50
3	0,74	-0,45	0,67	-0,31	0,61	-0,19	0,49	0,02	0,37	0,23	0,20	0,60
4	0,82	-0,66	0,79	-0,58	0,74	-0,45	0,65	-0,27	0,56	-0,10	0,44	0,10
5	0,63	-0,23	0,51	-0,02	0,44	0,10	0,30	0,37	0,23	0,52	0,12	0,87
6	0,74	-0,45	0,65	-0,27	0,59	-0,16	0,47	0,05	0,37	0,23	0,23	0,52
7	0,89	-0,91	0,84	-0,72	0,81	-0,63	0,74	-0,45	0,64	-0,25	0,72	-0,41
8	0,65	-0,27	0,56	-0,10	0,46	0,07	0,34	0,29	0,21	0,58	0,22	0,55
9	0,64	-0,25	0,59	-0,16	0,51	-0,02	0,43	0,12	0,30	0,37	0,18	0,66
10	0,37	0,23	0,30	0,37	0,20	0,60	0,12	0,87	0,07	1,12	0,04	1,38
11	0,42	0,14	0,35	0,27	0,24	0,50	0,19	0,63	0,14	0,79	0,14	0,79
12	0,60	-0,18	0,54	-0,07	0,43	0,12	0,33	0,31	0,26	0,45	0,22	0,55
13	0,74	-0,45	0,69	-0,35	0,64	-0,25	0,59	-0,16	0,50	0,00	0,50	0,00
14	0,80	-0,60	0,76	-0,50	0,70	-0,37	0,67	-0,31	0,59	-0,16	0,59	-0,16
15	0,79	-0,58	0,72	-0,41	0,65	-0,27	0,59	-0,16	0,48	0,03	0,51	-0,02
16	0,73	-0,43	0,70	-0,37	0,65	-0,27	0,59	-0,16	0,54	-0,07	0,44	0,10
17	0,79	-0,58	0,75	-0,48	0,70	-0,37	0,66	-0,29	0,61	-0,19	0,53	-0,05
18	0,79	-0,58	0,74	-0,45	0,71	-0,39	0,65	-0,27	0,59	-0,16	0,49	0,02
19	0,87	-0,83	0,86	-0,79	0,86	-0,79	0,81	-0,63	0,79	-0,58	0,76	-0,50
20	0,51	-0,02	0,60	-0,18	0,62	-0,21	0,40	0,18	0,41	0,16	0,29	0,39
21	0,52	-0,03	0,62	-0,21	0,63	-0,23	0,40	0,18	0,41	0,16	0,27	0,43
22	0,49	0,02	0,46	0,07	0,49	0,02	0,29	0,39	0,28	0,41	0,19	0,63
23	0,56	-0,10	0,52	-0,03	0,55	-0,09	0,35	0,27	0,36	0,25	0,26	0,45

^a Procenat organskog modifikatora u mobilnoj fazi.

Tabela P2. Retencioni podaci za hromatografski sistem RP-18 / ACN:voda

Jedinjenje	90% ^a		80%		70%		60%		50%	
	R _F	R _M	R _F	R _M	R _F	R _M	R _F	R _M	R _F	R _M
1	0,75	-0,48	0,60	-0,18	0,38	0,21	0,29	0,39	0,21	0,58
2	0,84	-0,72	0,70	-0,37	0,51	-0,02	0,36	0,25	0,27	0,43
3	0,82	-0,66	0,70	-0,37	0,54	-0,07	0,38	0,21	0,25	0,48
4	0,89	-0,91	0,80	-0,60	0,59	-0,16	0,46	0,07	0,35	0,27
5	0,66	-0,29	0,56	-0,10	0,35	0,27	0,23	0,52	0,15	0,75
6	0,78	-0,55	0,69	-0,35	0,48	0,04	0,37	0,23	0,22	0,55
7	0,91	-1,00	0,89	-0,91	0,82	-0,66	0,69	-0,35	0,58	-0,14
8	0,79	-0,58	0,53	-0,05	0,33	0,31	0,18	0,66	0,07	1,12
9	0,75	-0,48	0,64	-0,25	0,48	0,04	0,33	0,31	0,22	0,55
10	0,45	0,09	0,34	0,29	0,22	0,55	0,14	0,79	0,07	1,12
11	0,52	-0,04	0,43	0,12	0,29	0,39	0,19	0,63	0,12	0,86
12	0,68	-0,33	0,58	-0,14	0,40	0,18	0,29	0,39	0,15	0,75
13	0,80	-0,60	0,74	-0,45	0,58	-0,14	0,50	0,00	0,34	0,29
14	0,86	-0,79	0,79	-0,58	0,68	-0,33	0,56	-0,10	0,40	0,18
15	0,86	-0,79	0,73	-0,43	0,58	-0,14	0,40	0,18	0,28	0,41
16	0,80	-0,60	0,76	-0,50	0,62	-0,21	0,43	0,12	0,32	0,33
17	0,87	-0,83	0,85	-0,75	0,74	-0,45	0,56	-0,10	0,41	0,16
18	0,85	-0,75	0,85	-0,75	0,73	-0,43	0,55	-0,09	0,40	0,18
19	0,95	-1,28	0,89	-0,91	0,81	-0,63	0,66	-0,29	0,55	-0,09
20	0,76	-0,50	0,67	-0,31	0,57	-0,12	0,40	0,18	0,27	0,43
21	0,76	-0,50	0,67	-0,31	0,57	-0,12	0,40	0,18	0,27	0,43
22	0,63	-0,23	0,55	-0,09	0,46	0,07	0,30	0,37	0,22	0,55
23	0,68	-0,33	0,61	-0,19	0,52	-0,04	0,38	0,21	0,27	0,43

^a Procenat organskog modifikatora u mobilnoj fazi.

Tabela P3. Retencioni podaci za hromatografski sistem RP-18 / THF:voda

Jedinjenje	85% ^a		80%		70%		60%		50%	
	<i>R_F</i>	<i>R_M</i>	<i>R_F</i>	<i>R_M</i>	<i>R_F</i>	<i>R_M</i>	<i>R_F</i>	<i>R_M</i>	<i>R_F</i>	<i>R_M</i>
1	0,92	-1,06	0,80	-0,60	0,61	-0,19	0,47	0,05	0,24	0,50
2	0,93	-1,12	0,82	-0,66	0,63	-0,23	0,47	0,05	0,25	0,48
3	0,93	-1,12	0,80	-0,60	0,61	-0,19	0,47	0,05	0,27	0,43
4	0,93	-1,12	0,79	-0,58	0,62	-0,21	0,49	0,02	0,28	0,41
5	0,87	-0,83	0,76	-0,50	0,59	-0,16	0,41	0,16	0,20	0,60
6	0,91	-1,00	0,80	-0,60	0,61	-0,19	0,47	0,05	0,29	0,39
7	0,97	-1,51	0,86	-0,79	0,74	-0,45	0,65	-0,27	0,49	0,02
8	0,90	-0,95	0,79	-0,58	0,48	0,03	0,38	0,21	0,11	0,91
9	0,93	-1,12	0,84	-0,72	0,65	-0,27	0,55	-0,09	0,36	0,25
10	0,90	-0,95	0,79	-0,58	0,63	-0,23	0,51	-0,02	0,28	0,41
11	0,95	-1,28	0,81	-0,63	0,69	-0,35	0,52	-0,03	0,25	0,48
12	0,91	-1,00	0,81	-0,63	0,67	-0,31	0,48	0,03	0,24	0,50
13	0,90	-0,95	0,79	-0,58	0,64	-0,25	0,49	0,02	0,27	0,43
14	0,93	-1,12	0,81	-0,63	0,67	-0,31	0,56	-0,10	0,36	0,25
15	0,91	-1,00	0,79	-0,58	0,63	-0,23	0,47	0,05	0,25	0,48
16	0,93	-1,12	0,89	-0,91	0,72	-0,41	0,54	-0,07	0,32	0,33
17	0,93	-1,12	0,90	-0,95	0,76	-0,50	0,58	-0,14	0,37	0,23
18	0,94	-1,19	0,91	-1,00	0,76	-0,50	0,61	-0,19	0,39	0,19
19	0,90	-0,95	0,84	-0,72	0,75	-0,48	0,64	-0,25	0,55	-0,09
20	0,90	-0,95	0,84	-0,72	0,73	-0,43	0,60	-0,18	0,44	0,10
21	0,90	-0,95	0,85	-0,75	0,72	-0,41	0,58	-0,14	0,45	0,09
22	0,90	-0,95	0,83	-0,69	0,71	-0,39	0,57	-0,12	0,45	0,09
23	0,89	-0,91	0,81	-0,63	0,70	-0,37	0,59	-0,16	0,45	0,09

^a Procenat organskog modifikatora u mobilnoj fazi.

Tabela P4. Retencioni podaci za hromatografski sistem CN / MeOH:voda

Jedinjenje	100% ^a		90		80		75		70		65		60	
	R _F	R _M	R _F	R _M	R _F	R _M	R _F	R _M	R _F	R _M	R _F	R _M	R _F	R _M
1	0,76	-0,50	0,71	-0,39	0,57	-0,12	0,47	0,05	0,34	0,29	0,24	0,50	0,10	0,95
2	0,79	-0,58	0,73	-0,43	0,61	-0,19	0,51	-0,02	0,36	0,25	0,28	0,41	0,10	0,95
3	0,80	-0,60	0,74	-0,45	0,63	-0,23	0,56	-0,10	0,41	0,16	0,31	0,35	0,12	0,87
4	0,76	-0,50	0,72	-0,41	0,61	-0,19	0,55	-0,09	0,46	0,07	0,37	0,23	0,21	0,58
5	0,79	-0,58	0,72	-0,41	0,61	-0,19	0,54	-0,07	0,38	0,21	0,30	0,37	0,13	0,83
6	0,80	-0,60	0,74	-0,45	0,64	-0,25	0,58	-0,14	0,47	0,05	0,37	0,23	0,16	0,72
7	0,82	-0,66	0,79	-0,58	0,75	-0,48	0,72	-0,41	0,66	-0,29	0,62	-0,21	0,46	0,07
8	0,78	-0,55	0,75	-0,48	0,53	-0,05	0,47	0,05	0,29	0,39	0,18	0,66	0,08	1,06
9	0,80	-0,60	0,76	-0,50	0,75	-0,48	0,70	-0,37	0,63	-0,23	0,55	-0,09	0,45	0,09
10	0,83	-0,69	0,78	-0,55	0,63	-0,23	0,57	-0,12	0,45	0,09	0,32	0,33	0,12	0,87
11	0,80	-0,60	0,72	-0,41	0,58	-0,14	0,53	-0,05	0,44	0,10	0,24	0,50	0,11	0,91
12	0,86	-0,79	0,81	-0,63	0,74	-0,45	0,69	-0,35	0,63	-0,23	0,51	-0,02	0,28	0,41
13	0,84	-0,72	0,81	-0,63	0,75	-0,48	0,71	-0,39	0,66	-0,29	0,57	-0,12	0,40	0,18
14	0,83	-0,69	0,82	-0,66	0,77	-0,52	0,74	-0,45	0,70	-0,37	0,62	-0,21	0,47	0,05
15	0,85	-0,75	0,81	-0,63	0,73	-0,43	0,70	-0,37	0,65	-0,27	0,54	-0,07	0,37	0,23
16	0,77	-0,52	0,73	-0,43	0,67	-0,31	0,63	-0,23	0,55	-0,09	0,46	0,07	0,36	0,25
17	0,81	-0,63	0,78	-0,55	0,68	-0,33	0,65	-0,27	0,59	-0,16	0,51	-0,02	0,37	0,23
18	0,82	-0,66	0,80	-0,60	0,72	-0,41	0,67	-0,31	0,62	-0,21	0,53	-0,05	0,37	0,23
19	0,80	-0,60	0,76	-0,50	0,71	-0,39	0,73	-0,43	0,70	-0,37	0,64	-0,25	0,59	-0,16
20	0,81	-0,63	0,79	-0,58	0,70	-0,37	0,65	-0,27	0,57	-0,12	0,47	0,05	0,30	0,37
21	0,88	-0,87	0,86	-0,79	0,80	-0,60	0,77	-0,52	0,74	-0,45	0,68	-0,33	0,55	-0,09
22	0,76	-0,50	0,71	-0,39	0,64	-0,25	0,61	-0,19	0,56	-0,10	0,45	0,09	0,28	0,41
23	0,80	-0,60	0,77	-0,52	0,73	-0,43	0,69	-0,35	0,61	-0,19	0,55	-0,09	0,44	0,10

^a Procenat organskog modifikatora u mobilnoj fazi.

Tabela P5. Retencioni podaci za hromatografski sistem CN / ACN:voda

Jedinjenje	70% ^a		60%		50%		45%		40%	
	R_F	R_M	R_F	R_M	R_F	R_M	R_F	R_M	R_F	R_M
1	0,78	-0,55	0,60	-0,18	0,36	0,25	0,19	0,63	0,16	0,72
2	0,79	-0,58	0,63	-0,23	0,36	0,25	0,22	0,55	0,19	0,63
3	0,80	-0,60	0,64	-0,25	0,37	0,23	0,23	0,52	0,19	0,63
4	0,79	-0,58	0,64	-0,25	0,42	0,14	0,27	0,43	0,24	0,50
5	0,76	-0,50	0,60	-0,18	0,34	0,29	0,19	0,63	0,17	0,69
6	0,79	-0,58	0,65	-0,27	0,39	0,19	0,24	0,50	0,20	0,60
7	0,89	-0,91	0,81	-0,63	0,65	-0,27	0,57	-0,12	0,53	-0,05
8	0,74	-0,45	0,56	-0,10	0,25	0,48	0,14	0,79	0,11	0,91
9	0,80	-0,60	0,66	-0,29	0,45	0,09	0,27	0,43	0,25	0,48
10	0,78	-0,55	0,63	-0,23	0,36	0,25	0,21	0,58	0,19	0,63
11	0,80	-0,60	0,67	-0,31	0,39	0,19	0,23	0,52	0,20	0,60
12	0,91	-1,00	0,80	-0,60	0,65	-0,27	0,48	0,03	0,40	0,18
13	0,83	-0,69	0,73	-0,43	0,56	-0,10	0,44	0,10	0,40	0,18
14	0,87	-0,83	0,77	-0,52	0,62	-0,21	0,51	-0,02	0,47	0,05
15	0,84	-0,72	0,72	-0,41	0,52	-0,03	0,37	0,23	0,33	0,31
16	0,82	-0,66	0,71	-0,39	0,52	-0,03	0,42	0,14	0,37	0,23
17	0,83	-0,69	0,74	-0,45	0,57	-0,12	0,45	0,09	0,41	0,16
18	0,88	-0,87	0,75	-0,48	0,56	-0,10	0,45	0,09	0,41	0,16
19	0,83	-0,69	0,8	-0,60	0,67	-0,31	0,62	-0,21	0,54	-0,07
20	0,86	-0,79	0,78	-0,55	0,62	-0,21	0,52	-0,03	0,44	0,10
21	0,92	-1,06	0,87	-0,83	0,74	-0,45	0,69	-0,35	0,66	-0,29
22	0,84	-0,72	0,72	-0,41	0,63	-0,23	0,51	-0,02	0,44	0,10
23	0,86	-0,79	0,78	-0,55	0,67	-0,31	0,54	-0,07	0,51	-0,02

^a Procenat organskog modifikatora u mobilnoj fazi.

Tabela P6. Retencioni podaci za hromatografski sistem CN / THF:voda

Jedinjenje	60% ^a		55%		50%		45%		40%	
	R_F	R_M	R_F	R_M	R_F	R_M	R_F	R_M	R_F	R_M
1	0,79	-0,10	0,63	-0,20	0,46	-0,34	0,24	-0,62	0,14	-0,85
2	0,82	-0,09	0,64	-0,19	0,45	-0,35	0,23	-0,64	0,14	-0,85
3	0,80	-0,10	0,65	-0,19	0,45	-0,35	0,23	-0,64	0,14	-0,85
4	0,78	-0,11	0,64	-0,19	0,47	-0,33	0,28	-0,55	0,19	-0,72
5	0,77	-0,11	0,62	-0,21	0,43	-0,37	0,24	-0,62	0,14	-0,85
6	0,79	-0,10	0,64	-0,19	0,47	-0,33	0,27	-0,57	0,18	-0,74
7	0,89	-0,05	0,80	-0,10	0,69	-0,16	0,53	-0,28	0,44	-0,36
8	0,78	-0,11	0,60	-0,22	0,39	-0,41	0,18	-0,74	0,11	-0,96
9	0,84	-0,08	0,70	-0,15	0,55	-0,26	0,35	-0,46	0,23	-0,64
10	0,85	-0,07	0,70	-0,15	0,52	-0,28	0,31	-0,51	0,22	-0,66
11	0,86	-0,07	0,71	-0,15	0,52	-0,28	0,32	-0,49	0,21	-0,68
12	0,85	-0,07	0,69	-0,16	0,50	-0,30	0,28	-0,55	0,19	-0,72
13	0,81	-0,09	0,69	-0,16	0,57	-0,24	0,43	-0,37	0,34	-0,47
14	0,81	-0,09	0,72	-0,14	0,62	-0,21	0,50	-0,30	0,41	-0,39
15	0,82	-0,09	0,68	-0,17	0,53	-0,28	0,39	-0,41	0,29	-0,54
16	0,81	-0,09	0,68	-0,17	0,56	-0,25	0,39	-0,41	0,30	-0,52
17	0,87	-0,06	0,76	-0,12	0,60	-0,22	0,42	-0,38	0,34	-0,47
18	0,85	-0,07	0,74	-0,13	0,60	-0,22	0,42	-0,38	0,33	-0,48
19	0,82	-0,09	0,75	-0,12	0,65	-0,19	0,54	-0,27	0,49	-0,31
20	0,88	-0,06	0,77	-0,11	0,63	-0,20	0,46	-0,34	0,34	-0,47
21	0,87	-0,06	0,77	-0,11	0,61	-0,21	0,41	-0,39	0,34	-0,47
22	0,88	-0,06	0,77	-0,11	0,64	-0,19	0,46	-0,34	0,36	-0,44
23	0,89	-0,05	0,79	-0,10	0,67	-0,17	0,51	-0,29	0,42	-0,38

^a Procenat organskog modifikatora u mobilnoj fazi.

Tabela P7. Parametri lipofilnosti, C_0 i $PC1$, za RP-18 stacionarnu fazu

Jedinjenje	MeOH/voda		ACN/voda		THF/voda	
	C_0	$PC1$	C_0	$PC1$	C_0	$PC1$
1	0,852	0,590	0,735	0,627	0,632	0,903
2	0,813	0,121	0,672	0,035	0,626	0,806
3	0,825	0,280	0,684	-0,014	0,638	0,863
4	0,717	-0,837	0,622	-0,558	0,621	0,602
5	0,891	1,004	0,788	0,984	0,662	1,408
6	0,825	0,251	0,707	0,203	0,629	0,697
7	0,654	-1,672	0,725	0,355	0,493	-1,774
8	0,880	0,859	0,925	1,991	0,675	2,127
9	0,861	0,560	0,884	1,564	0,586	-0,130
10	0,989	1,811	0,763	0,861	0,612	0,706
11	0,985	1,449	0,634	-0,466	0,608	0,431
12	0,888	0,828	0,572	-0,974	0,617	0,277
13	0,740	-0,596	0,654	-0,250	0,618	0,199
14	0,665	-1,100	0,456	-1,905	0,578	-0,704
15	0,754	-0,581	0,779	1,172	0,618	0,603
16	0,729	-0,551	0,628	-0,421	0,570	-0,327
17	0,666	-0,987	0,558	-1,146	0,552	-0,758
18	0,691	-0,841	0,566	-1,064	0,541	-0,977
19	0,345	-2,243	0,462	-1,913	0,484	-1,914
20	0,849	0,166	0,673	0,000	0,562	-0,758
21	0,848	0,218	0,673	0,000	0,564	-0,733
22	0,942	0,829	0,766	0,657	0,565	-0,703
23	0,896	0,443	0,709	0,264	0,504	-0,843

Tabela P8. Parametri lipofilnosti, C_0 i $PC1$, za CN stacionarnu fazu

Jedinjenje	MeOH/voda		ACN/voda		THF/voda	
	C_0	$PC1$	C_0	$PC1$	C_0	$PC1$
1	0,777	1,464	0,569	1,176	0,516	1,173
2	0,753	1,255	0,559	1,014	0,513	1,190
3	0,733	0,987	0,555	0,959	0,515	1,190
4	0,728	0,650	0,543	0,688	0,510	0,856
5	0,747	1,089	0,574	1,204	0,520	1,277
6	0,717	0,655	0,551	0,876	0,510	0,912
7	0,538	-1,056	0,398	-1,191	0,430	-1,596
8	0,784	1,721	0,598	1,649	0,527	1,682
9	0,624	-0,809	0,536	0,586	0,488	0,174
10	0,731	0,865	0,562	1,042	0,492	0,396
11	0,737	1,181	0,549	0,870	0,491	0,373
12	0,579	-0,396	0,446	-0,739	0,498	0,650
13	0,582	-0,837	0,468	-0,370	0,470	-0,437
14	0,437	-1,200	0,429	-0,834	0,445	-1,048
15	0,612	-0,673	0,496	-0,002	0,482	-0,047
16	0,668	-0,140	0,484	-0,167	0,480	-0,144
17	0,630	-0,387	0,462	-0,440	0,463	-0,636
18	0,613	-0,547	0,463	-0,461	0,466	-0,557
19	0,434	-1,388	0,352	-1,310	0,418	-1,557
20	0,663	-0,155	0,449	-0,800	0,457	-0,857
21	0,459	-1,639	0,310	-1,953	0,463	-0,644
22	0,613	0,089	0,448	-0,722	0,453	-0,945
23	0,627	-0,729	0,417	-1,074	0,437	-1,405

Tabela P9. Izračunate log *P* vrednosti

Jedinjenje	Alog <i>P</i> ^a	AClog <i>P</i> ^a	ABlog <i>P</i> ^a	Milog <i>P</i> ^a	Alog <i>P</i> ^a	Mlog <i>P</i> ^a	log <i>P</i> _{KOWWIN} ^a	Xlog <i>P</i> 2 ^a	Xlog <i>P</i> 3 ^a	Clog <i>P</i> ^b
1	3,19	3,18	2,87	2,83	3,69	2,71	2,98	3,27	3,23	3,46
2	3,00	2,86	3,31	2,49	3,07	2,31	2,41	2,69	2,72	2,83
3	2,68	2,99	4,00	2,59	3,40	2,50	2,81	2,99	3,12	3,15
4	2,07	2,20	1,29	1,47	2,16	1,16	0,36	1,44	1,60	1,55
5	3,25	2,89	3,19	2,68	3,24	2,35	3,06	2,88	2,79	3,51
6	2,24	2,19	2,40	1,92	2,49	1,70	2,17	2,08	2,10	2,65
7	0,90	0,76	1,73	0,42	1,29	0,75	0,15	0,61	0,76	0,86
8	3,80	3,74	3,86	3,02	4,02	2,76	3,43	3,43	3,45	4,13
9	2,39	2,41	1,31	2,06	1,87	1,60	-0,10	2,17	2,01	1,31
10	3,56	3,09	3,21	3,27	2,94	2,74	2,60	3,60	3,20	3,06
11	3,36	3,38	2,89	3,42	3,40	3,05	3,52	4,00	3,63	2,83
12	3,35	3,20	4,02	3,18	3,11	2,83	2,35	3,72	3,52	3,11
13	1,14	1,38	1,12	0,89	1,28	0,54	0,88	0,66	1,01	1,93
14	0,72	0,82	0,73	0,52	0,91	0,23	0,47	0,37	0,61	1,41
15	1,49	1,38	1,71	0,71	1,24	0,58	0,92	0,52	0,83	2,02
16	1,47	1,81	1,20	1,43	2,11	1,42	1,28	1,57	1,73	2,24
17	1,76	1,49	1,64	1,09	1,49	1,02	0,70	0,98	1,22	1,60
18	1,49	1,63	2,33	1,20	1,82	1,29	1,11	1,28	1,62	1,92
19	0,14	0,83	-0,38	0,07	0,58	-0,47	-1,34	-0,27	0,11	0,32
20	2,17	1,70	1,66	1,48	1,19	1,48	0,24	1,70	1,63	1,10
21	2,12	1,83	2,35	1,59	1,52	1,71	0,64	2,01	2,03	1,34
22	1,86	2,02	1,22	1,83	1,81	1,86	0,81	2,29	2,14	1,06
23	1,35	1,03	0,75	0,92	0,61	0,80	0,00	1,09	1,01	0,43

^a log *P* vrednosti su izračunate primenom programa¹⁵⁵; ^b Clog *P* vrednosti su izračunate primenom programa¹⁵⁶.

Tabela P10. Korelaciona matrica log P vrednosti

	Alog P_s	AClog P	ABlog P	Milog P	Alog P	Mlog P	log P_{KOWWIN}	Xlog P_2	Xlog P_3	Clog P
Alog P_s	1									
AClog P	0,962	1								
ABlog P	0,869	0,842	1							
Milog P	0,969	0,973	0,842	1						
Alog P	0,901	0,956	0,874	0,914	1					
Mlog P	0,956	0,942	0,880	0,976	0,910	1				
log P_{KOWWIN}	0,853	0,866	0,881	0,866	0,928	0,873	1			
Xlog P_2	0,956	0,953	0,843	0,992	0,897	0,989	0,851	1		
Xlog P_3	0,956	0,971	0,880	0,988	0,935	0,989	0,885	0,992	1	
Clog P	0,827	0,862	0,865	0,815	0,928	0,796	0,948	0,776	0,829	1

Tabela P11. Molekulski deskriptori korišćeni za multivarijantnu analizu

Jedinjenje	Clog <i>P</i>	Alog <i>Ps</i>	TE	BE	HOF	DM	HOMO	LUMO	SA	HE	R	P
1	3,46	3,19	-81896,21	-4135,26	20,81	2,59	-8,75	-0,65	423,50	-3,93	97,61	34,66
2	2,83	3,00	-86970,56	-4279,07	42,10	4,30	-8,89	-0,36	447,52	-6,55	101,05	36,01
3	3,15	2,68	-94157,67	-4842,70	28,66	4,22	-8,82	-0,37	518,76	-5,78	109,97	39,68
4	1,55	2,07	-59978,43	-2870,17	53,49	2,31	-8,90	-0,41	362,98	-6,83	68,80	24,93
5	3,51	3,25	-85334,21	-3566,32	-59,61	1,48	-9,03	-0,56	485,71	-2,97	86,80	31,93
6	2,65	2,24	-77501,30	-3595,31	-63,24	2,04	-8,86	-0,39	424,26	-2,73	79,27	29,31
7	0,86	0,90	-68025,34	-3101,89	-14,47	3,33	-8,67	-0,24	356,94	-7,71	71,57	26,35
8	4,13	3,80	-110365,61	-5304,12	-32,76	3,05	-8,97	-0,75	465,22	-5,37	117,66	42,72
9	1,31	2,39	-75172,48	-3724,06	85,78	1,27	-8,66	-0,81	479,37	-6,61	87,45	31,60
10	3,06	3,56	-100527,62	-4419,56	-26,67	2,17	-8,64	-0,81	570,34	-2,37	105,45	38,60
11	2,83	3,36	-97072,81	-4971,70	70,55	2,89	-8,35	-0,27	490,15	-3,77	116,26	41,33
12	3,11	3,35	-109315,20	-5660,06	97,48	5,51	-8,16	-0,36	600,42	-4,41	128,62	46,35
13	1,93	1,14	-62125,09	-2675,40	-101,99	0,90	-8,95	-0,46	428,06	-1,53	55,01	21,48
14	1,41	0,72	-58533,78	-2395,83	-97,51	1,03	-8,97	-0,50	396,94	-1,84	50,51	19,65
15	2,02	1,49	-87041,23	-3602,76	-189,15	2,13	-9,06	-0,59	532,39	-2,89	70,56	27,71
16	2,24	1,47	-62924,82	-2931,91	-9,59	2,21	-8,81	-0,68	383,39	-2,56	68,86	25,00
17	1,60	1,76	-68017,87	-3094,42	-6,99	2,73	-8,92	-0,15	398,05	-5,13	72,30	26,35
18	1,92	1,49	-75206,15	-3659,21	-21,60	2,77	-8,76	-0,28	477,44	-4,35	81,22	30,02
19	0,32	0,14	-41006,77	-1666,55	23,36	2,26	-9,03	-0,53	322,36	-5,81	40,05	15,27
20	1,10	2,17	-83108,64	-3845,03	128,57	4,35	-8,62	-0,59	532,24	-4,89	90,95	33,02
21	1,34	2,12	-90295,09	-4407,99	115,80	3,87	-8,75	-0,48	614,49	-4,10	99,87	36,69
22	1,06	1,86	-78130,18	-3797,11	11,39	2,32	-7,79	-0,48	504,87	-2,21	87,51	31,66
23	0,43	1,35	-73623,02	-3144,91	39,59	2,19	-8,59	-0,59	523,49	-1,77	69,16	26,31

Tabela P11. Nastavak

Jedinjenje	HLB	SP	HD	HP	HHB	HBA	HBD	WS	ST	HSA	PSA
1	6,59	25,24	23,56	6,32	6,51	0,46	0,42	-2,95	47,67	4,06	43,70
2	10,00	25,70	23,79	6,26	7,42	0,70	0,69	-2,73	50,92	10,59	55,73
3	8,88	24,53	22,88	5,48	6,94	0,78	0,67	-3,77	48,40	10,84	55,73
4	11,56	26,23	23,08	9,76	7,76	0,33	0,23	-0,44	40,51	8,36	47,26
5	7,65	24,84	22,37	6,44	8,67	0,54	0,19	-2,56	36,31	8,31	52,93
6	8,92	24,02	21,69	6,12	8,31	0,54	0,23	-1,47	39,14	8,26	52,93
7	12,12	26,79	23,09	8,97	10,20	0,98	0,72	-0,46	65,72	9,33	69,72
8	7,67	24,16	22,37	5,15	7,53	0,80	0,42	-3,76	44,16	10,08	73,16
9	7,76	25,50	22,52	8,51	8,41	0,46	0,27	-0,57	36,21	7,68	52,19
10	5,91	24,58	22,05	6,11	8,99	0,68	0,23	-2,69	38,21	7,77	57,86
11	5,84	24,91	23,03	6,02	7,32	0,60	0,46	-3,09	31,59	8,25	48,63
12	6,56	24,35	22,52	5,33	7,56	0,91	0,71	-3,90	43,25	9,97	60,66
13	8,07	22,78	19,46	7,48	9,19	0,57	0,04	0,86	30,72	6,30	52,93
14	9,52	23,69	19,99	8,26	9,66	0,57	0,04	1,06	34,94	6,57	52,93
15	8,71	22,71	19,51	6,18	9,83	0,90	0,04	0,26	33,66	8,90	82,39
16	8,03	25,23	22,61	8,33	7,48	0,49	0,23	-0,42	44,49	6,10	43,70
17	11,18	25,80	22,94	8,21	8,50	0,72	0,51	-0,19	61,40	8,67	55,73
18	9,22	24,27	21,92	6,91	7,80	0,80	0,48	-1,23	57,01	8,63	55,73
19	13,42	27,53	21,40	14,49	9,46	0,35	0,05	2,09	35,69	6,63	47,26
20	8,36	25,26	22,43	7,43	8,93	0,77	0,31	-0,33	52,51	8,36	60,66
21	7,09	24,09	21,66	6,47	8,33	0,84	0,28	-1,37	46,71	8,66	60,66
22	5,81	24,79	22,16	7,52	8,19	0,53	0,04	-0,55	37,04	6,19	48,63
23	6,75	23,61	20,11	7,50	9,83	0,59	0,02	0,93	30,74	6,60	57,86

Tabela P12. Korelaciona matrica deskriptora korišćenih u MLR analizi

	Clog P	Alog Ps	HOF	DM	HOMO	LUMO	SA	HE
Clog P	1							
Alog Ps	0,827	1						
HOF	-0,701	0,274	1					
DM	-0,682	0,366	0,593	1				
HOMO	-0,160	0,223	0,471	0,332	1			
LUMO	0,194	-0,219	0,057	0,338	0,104	1		
SA	-0,107	0,508	0,268	0,418	0,432	-0,202	1	
HE	-0,147	-0,076	-0,449	-0,456	0,132	-0,254	0,280	1
HLB	0,240	-0,595	-0,136	-0,030	-0,551	0,405	-0,730	-0,581
SP	0,062	-0,117	0,461	0,191	0,008	0,172	-0,545	-0,716
HD	0,677	0,532	0,575	0,506	0,228	0,198	-0,115	-0,643
HP	0,680	-0,722	0,069	-0,318	-0,211	0,024	-0,670	-0,271
HHB	-0,414	-0,641	-0,388	-0,389	-0,197	-0,054	-0,110	0,195
HBA	-0,258	0,149	-0,045	0,601	0,102	0,293	0,502	-0,156
HBD	0,354	0,437	0,386	0,744	0,135	0,479	0,080	-0,641
ST	-0,708	-0,913	-0,255	-0,537	-0,233	-0,010	-0,451	0,184
HSA	-0,642	-0,012	0,235	0,534	-0,051	0,459	-0,156	-0,588
PSA	0,152	0,340	0,128	0,612	-0,093	0,366	0,298	-0,528

Tabela P12. Nastavak

	HLB	SP	HD	HP	HHB	HBA	HBD	ST	HSA	PSA
Clog P										
Alog Ps										
HOF										
DM										
HOMO										
LUMO										
SA										
HE										
HLB	1									
SP	0,582	1								
HD	0,061	0,670	1							
HP	0,696	0,645	-0,103	1						
HHB	0,314	-0,091	-0,665	0,415	1					
HBA	-0,079	-0,290	-0,017	-0,515	0,139	1				
HBD	0,117	0,324	0,727	-0,355	-0,494	0,540	1			
ST	0,472	0,075	-0,608	0,743	0,724	-0,327	-0,669	1		
HSA	0,405	0,435	0,571	-0,038	-0,165	0,510	0,724	-0,198	1	
PSA	0,202	0,017	0,278	-0,361	-0,115	0,649	0,636	-0,475	0,381	1

Biografija

Dragana Dabić je rođena 13. jula 1983. godine u Novoj Gradiški, Republika Hrvatska. Osnovnu školu završila je u Barandi, a srednju školu u Beogradu. Hemijski fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je školske 2002/03. godine, a diplomirala 2007. godine sa prosečnom ocenom 8,9. Doktorske studije pri Katedri za analitičku hemiju Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu upisala je 2007. godine.

Od 24.01.2008. bila je stipendista Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije. Kao istraživač-pripravnik, na Inovacionom centru Hemijskog fakulteta, zaposlena je od 01.01.2011. godine. U zvanje istraživača-saradnika, u kojem se i sada nalazi, izabrana je 01.05.2011. godine.

U toku svog istraživačkog rada Dragana Dabić je bila angažovana kao stipendista Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije na projektu broj 142062 od 2008. do 2010. godine. Od 2011. godine je angažovana na projektu finansiranom od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (projekat broj 172017) i FP7 RegPot projektu broj 256716. Tokom doktorskih studija honorarno je bila angažovana u izvođenju vežbi u okviru nastave iz Analitičke hemije 1, Odabranih oblasti analitičke hemije, kao i Hromatografskih metoda za studente osnovnih i master studija na različitim studijskim programima.

Dragana Dabić je koautor sedam naučnih radova koji su publikovani u međunarodnim časopisima. Koautor je četrnaest naučnih saopštenja na međunarodnim naučnim skupovima i na skupovima nacionalnog značaja.

Naučni radovi

1. Aleksandra V. Pavlović, **Dragana Č. Dabić**, Nebojša M. Momirović, Biljana P. Dojčinović, Dušanka M. Milojković-Opsenica, Živoslav Lj. Tešić, Maja M. Natić, Chemical Composition of Two Different Extracts of Berries Harvested in Serbia, *J. Agric. Food Chem.* 61 (17), **2013**, 4188-4194.
2. Sonja M. Davidović, Mile S. Veljović, Milica M. Pantelić, Rada M. Baošić, Maja M. Natić, **Dragana Č. Dabić**, Sonja P. Pecić, Predrag V. Vukosavljević, Physicochemical, antioxidant and sensory properties of peach wine made from Redhaven cultivar, *J. Agric. Food Chem.* 61 (6), **2013**, 1357-1363.
3. Tomislav Tosti, Maja Natić, **Dragana Dabić**, Dragana Milić, Dušanka Milojković Opsenica, Živoslav Tešić, Structure-retention relationship study of polyoxygenated steroids, *J. Sep. Sci.* 35 (20), **2012**, 2693-2698.
4. Maja Natić, **Dragana Dabić**, Dušanka Milojković-Opsenica, Biljana Dojčinović, Goran Roglić, Dragan Manojlović, Živoslav Tešić, Development and validation of a simple thin-layer chromatographic method for the analysis of *p*-chlorophenol in treated wastewater, *J. Serb. Chem. Soc.* 77 (11), **2012**, 1649-1659.
5. **Dragana Dabić**, Maja Natić, Zdravko Džambaski, Rade Marković, Dušanka Milojković-Opsenica, Živoslav Tešić, Quantitative structure-retention relationship of new *N*-substituted 2-alkylidene-4-oxothiazolidines, *J. Sep. Sci.* 34 (18), **2011**, 2397-2404.
6. **Dragana Dabić**; Maja Natić; Zdravko Džambaski; Milovan Stojanović; Rade Marković; Dušanka Milojković-Opsenica; Živoslav Tešić, Estimation of lipophilicity of *N*-substituted 2-alkylidene-4-oxothiazolidines by means of reversed-phase thin-layer chromatography, *J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol.* 34 (18), **2011**, 791-804.
7. Sanja Ilić, Maja Natić, **Dragana Dabić**, Dušanka Milojković-Opsenica, Živoslav Tešić, 2D TLC Separation of Phenols by Use of RP-18 Silica Plates with Aqueous and Non-Aqueous Mobile Phases, *J. Planar Chromatogr.* 24 (2), **2011**, 93-98.

Saopštenja

1. **D. Dabić**, U. Gašić, M. Natić, T. Ćirković Veličković, Ž. Tešić, The determination of phenolic profiles of Serbian polyfloral honeys, Belgrade Food International Conference: Food, health and well being, Belgrade, Serbia, November 26-28, **2012**, Book of abstract, p 89.
2. **D. Dabić**, A. Pavlović, Chemical composition of different berries harvested in Serbia, First International Conference of Young Chemists of Serbia, Belgrade, Serbia, October 19-20, **2012**, Book of abstract, p 18.
3. Silvio Kečkeš, Uroš M. Gašić, **Dragana Č. Dabić**, Dušanka M. Milojković-Opsenica, Maja M. Natić, and Živoslav Lj. Tešić, Rapid liquid chromatography-hybrid OrbiTrap mass spectrometry studies of polyphenols in Serbian honey, The XXXVth Symposium "Chromatographic Methods of Investigating the Organic Compounds", Szczyrk, Poland, May 30th - June 1st, **2012**, Book of abstracts, p 21.
4. Maja Natić, **Dragana Dabić**, Aleksandra Lazić, Živoslav Tešić, Determination of free and total ellagic acid in three different raspberry cultivars grown in Serbia, 5th International Symposium on Recent Advances in Food Analysis, Prague, Czech republic, November 1-4, **2011**, Book of abstract, p 259.
5. **D. Dabić**, M. Natić, A. Pavlović, Ž. Tešić, Total phenolic content and antioxidant properties of different berries harvested in Serbia, 2nd FCUB ERA Workshop-Food Chemistry and Biotechnology, Belgrade, Serbia, October 18-19, **2011**, Book of abstract, p 44.
6. **D. Dabić**, A. Lazić, U. Gašić, A. Radoičić, M. Natić, Ž. Tešić, Determination of free and total Ellagic acid content in berries grown in Serbia, 16th European Conference on Analytical Chemistry, Belgrade, Serbia, September 11-15, **2011**, Book of abstract, CH 06.
7. **D. Dabić**, M. Vojić, N. Stevanović, M. Aleksić, R. Baošić, Potentiometric determination of dissociation constants of some Schiff base ligands in binary water-organic solvent mixtures, 16th European Conference on Analytical Chemistry, Belgrade, Serbia, September 11-15, **2011**, Book of abstract, EC 09.

8. Kečkeš, S., Gašić, U., **Dabić, D.**, Natić, M., Milojković-Opsenica, D., Tešić, Ž., Identification and quantification of antioxidant components of Serbian honeys from various floral sources, 2nd CEFSER (Center of Excellence in food Safety and Emerging Risks) WORKSHOP, Novi Sad, Serbia, September 8-10, **2011**, Book of abstracts, p 64.
9. Maja Natić, Jelena Veljkovic, **Dragana Dabić**, Dušanka Milojković-Opsenica, Biljana Dojčinović, Goran Roglić, Dragan Manojlović, Živoslav Tešić, TLC densitometric investigation of the degradation of 4-chlorophenol using advanced oxidation processes (AOPs), The XXXIIIrd Symposium "Chromatographic Methods of Investigating the Organic Compounds", Szczyrk, Poland, May 25-27, **2010**, Book of abstracts, p 13.
10. Al Hadi M. A. Rabbti, **Dragana Č. Dabić**, Ivan Vučković, Maja M. Natić, Živoslav Lj. Tešić, Quantitative retention-activity relationships of some natural and synthetic coumarins, 48th Meeting of the Serbian Chemical Society, Novi Sad, Serbia, April 17-18, **2010**, Book of abstracts, p 16.
11. **Dragana Č. Dabić**, Jovana Tatar, Marija Baranac, Rade Marković, Maja M. Natić, Dušanka Milojković-Opsenica and Živoslav Tešić, Salting-Out Thin Layer Chromatography of Some Pyridinium Salts, The XXXIInd Symposium "Chromatographic Methods of Investigating the Organic Compounds", Szczyrk, Poland, June 3-5, **2009**, Book of abstracts, p 32.
12. **Dragana Č. Dabić**, Maja M. Natić, Zdravko D. Džambaski, Milovan Stojanović, Rade R. Marković, Dušanka M. Milojković-Opsenica, Živoslav Lj. Tešić, The lipophilicity of some new derivatives of 2-alkylidene-4-oxothiazolidines, 47th Meeting of the Serbian Chemical Society, Belgrade, Serbia, March 21, **2009**, Book of abstracts, p 13.
13. **Dragana Č. Dabić**, Maja M. Natić, Dušanka M. Milojković-Opsenica and Živoslav Lj. Tešić, Reversed-phase thin-layer chromatography of some phthalate esters, 6th Aegean Analytical Chemistry Days (ACCD), Denizli, Turkey, October 9-12, **2008**, Book of abstracts, p 93.
14. Maja M. Natić, Tomislav B. Tosti, Dragana R. Milić, **Dragana Č. Dabić**, Dušanka M. Milojković-Opsenica and Živoslav Lj. Tešić, Relationships between structure, retention and antiproliferative activity of some estrogen derivatives,

6th Aegean Analytical Chemistry Days (ACCD), Denizli, Turkey , October 9-12,
2008, Book of abstracts, p 287.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Драгана Ч. Дабић

број уписа ДХ 12/2007

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Утврђивање везе између структуре и ретенције оксотиазолидина применом

мултиваријантне анализе

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 03.06.2013. год.

Драгана Дабић

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Драгана Ч. Дабић

Број уписа ДХ 12/2007

Студијски програм Доктор хемијских наука

Наслов рада Утврђивање везе између структуре и ретенције оксотиазолидина
применом мултиваријантне анализе

Ментор др Живослав Тешић

Потписани Драгана Дабић

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 03.06.2013. год.

Драгана Дабић

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Утврђивање везе између структуре и ретенције оксотиазолидина применом

мултиваријантне анализе

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 03.06.2013. год.

Даријана Ладић