



UNIVERZITET U NOVOM SADU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu
životne sredine



Kristina Tot

KARAKTERIZACIJA
NOVOSINTETISANIH DERIVATA
CIKLOALKANSPIRO-5-HIDANTOINA
PRIMENOM TEČNE HROMATOGRFIJE

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor:

prof. dr Tatjana Đaković Sekulić

Novi Sad, 2022. godine

НАВЕСТИ НАЗИВ ФАКУЛТЕТА ИЛИ ЦЕНТРА

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА¹

Врста рада:	Докторска дисертација
Име и презиме аутора:	Кристина Тот
Ментор (титула, име, презиме, звање, институција)	др Татјана Ђаковић Секулић, редовни професор, Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет
Наслов рада:	Карактеризација новосинтетисаних деривата циклоалканспиро-5-хидантоина применом течне хроматографије
Језик публикације (писмо):	Српски (латиница)
Физички опис рада:	Унети број Страница 189 Поглавља 7 Референци 188 Табела 19 (11 у прилогу) Слика 41 (32 у прилогу) Графикона 0 Прилога 1
Научна област:	Хемија
Ужа научна област (научна дисциплина):	Хемија
Кључне речи / предметна одредница:	спирохидантоини; липофилност; течна хроматографија; QSRR; хемометрија
Резиме на језику рада:	Хроматографско понашање и липофилност 21 новосинтетисаног 3-(4-супституисани бензил)циклоалканспиро-5-хидантоина проучавана је у условима течне хроматографије на обрнутим фазама. Хроматографско понашање испитивано је применом течне хроматографије на танком слоју и течне хроматографије под високим притиском. Као непокретна фаза примењен је хемијски модификовани силика гел са ковалентно везаним С-18 групама. Као покретне фазе коришћене су двокомпонентне смеше воде и органског растварача у различитим запреминским односима. У хроматографији на танком слоју покретне фазе су садржале

¹ Аутор докторске дисертације потписао је и приложио следеће Обрасце:

5б – Изјава о ауторству;

5в – Изјава о истоветности штапане и електронске верзије и о личним подацима;

5г – Изјава о коришћењу.

Ове Изјаве се чувају на факултету у штапаном и електронском облику и не кориче се са тезом.

један од следећих органских растварача: етанол, *n*-пропанол, *i*-пропанол, *t*-бутанол, ацетонитрил, ацетон, тетраhydroфуран или 1,4-диоксан, док је у хроматографији под високим притиском као покретна фаза коришћена смеша воде и ацетонитрила.

На основу резултата испитивања дискутован је утицај природе органског растварача у покретној фази, утицај структуре спирохидантоина, као и утицај садржаја органског растварача на хроматографско понашање испитиваних једињења. Линеарна зависност R_M вредности од запреминског удела органског растварача у покретној фази утврђена је за сва испитивана једињења. На тај начин омогућено је израчунавање хроматографског параметара липофилности (R_M^0 , односно $\log k_w$). Израчунати хроматографски параметри липофилности су упоређени са рачунским параметрима липофилности ($\log P$) применом линеарне регресионе анализе и успостављене су линеарне зависности.

Подеоени коефицијенти $\log P$ за све испитиване спирохидантоине одређени су и индиректно уз помоћ референтних једињења, односно на основу калибрационих модела. LSER моделовање примењено како би се установило које интеракције доводе до расподеле у самим хроматографским ситемима, односно расподеле између покретне и непокретне фазе. Поред идентификације интеракција, LSER моделовање је примењено за утврђивање врсте, као и за одређивање јачине хемијских интеракција.

QSRR анализа је примењена за проналажење математичких модела којим се описује веза између хроматографских параметара липофилности и структуре новосинтетисаних деривата спирохидантоина. До одговарајућих QSRR модела дошло се применом методе вишеструке линеарне регресије (MLR). Способност предвиђања сваког модела је дефинисана интерним валидационим коефицијентом.

Правило Липинског је примењено са циљем да се провери да ли испитивани спирохидантоини имају добру (теоријску) оралну биодоступност.

Утицај органског растварача у покретној фази, као и утицај супституента на хроматографску липофилност процењен је применом метода мултиваријантне анализе, хијерархијском кластер анализом (HCA) и анализом главних компонената (PCA). Ове методе омогућавају груписање испитиваних деривата спирохидантоина, као и примењених покретних фаза према њиховој поларности. Применом ове две методе проучавана је и повезаност хроматографских параметара липофилности и потенцијалне биолошке активности спирохидантоина.

Датум прихватања теме од стране надлежног већа:	17.01.2019.
Датум одбране: (Попуњава одговарајућа служба)	
Чланови комисије: (титула, име, презиме, звање, институција)	Председник: др Ђенђи Ваштаг, редовни професор, Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет Члан: (ментор) др Татјана Ђаковић Секулић, редовни професор, Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет Члан: др Лидија Јеврић, редовни професор, Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет
Напомена:	-

KEY WORD DOCUMENTATION²

Document type:	Doctoral dissertation
Author:	Kristina Tot
Supervisor (title, first name, last name, position, institution)	dr Tatjana Đaković Sekulić, full professor, University of Novi Sad, Faculty of Sciences
Thesis title:	Characterization of newly synthesized cycloalkanespiro-5-hydantoin derivatives using liquid chromatography
Language of text (script):	Serbian language (latin)
Physical description:	Number of: Pages 189 Chapters 7 References 188 Tables 19 (11 appendice) Illustrations 41 (32 appendice) Graphs 0 Appendices 1
Scientific field:	Chemistry
Scientific subfield (scientific discipline):	Chemistry
Subject, Key words:	spirohydantoin, lipophilicity, liquid chromatography, QSRR, chemometrics
Abstract in English language:	The chromatographic behavior and lipophilicity of 21 newly synthesized 3-(4-substituted benzyl)cycloalkanespiro-5-hydantoin were studied in reversed-phase liquid chromatography conditions. Chromatographic behavior was analyzed by using thin-layer liquid chromatography and high-performance liquid chromatography. Chemically modified silica gel with covalently bonded C-18 groups was used as the stationary phase. Two-component mixtures of water and organic solvent in different volume ratios were used as mobile phases. In thin-layer chromatography, the mobile phases contained one of the following organic solvents: ethanol, n-propanol, i-propanol, t-butanol, acetonitrile, acetone, tetrahydrofuran, or 1,4-dioxane, while in high-performance liquid chromatography the mixture of water and acetonitrile was

² The author of doctoral dissertation has signed the following Statements:

56 – Statement on the authority,

5B – Statement that the printed and e-version of doctoral dissertation are identical and about personal data,

5r – Statement on copyright licenses.

The paper and e-versions of Statements are held at the faculty and are not included into the printed thesis.

	<p>used as mobile phase.</p> <p>Based on the test results, the influence of the nature of the organic solvent in the mobile phase, the influence of the structure of spirohydantoin, as well as the influence of the content of the organic solvent on the chromatographic behavior of the tested compounds was analyzed. The linear dependence of the RM value on the volume fraction of organic solvent in the mobile phase was determined for all tested compounds. In this way, it was possible to calculate the chromatographic parameters of lipophilicity (RM0, ie log kw). The calculated chromatographic parameters of lipophilicity were compared with the calculated parameters of lipophilicity (log P) using linear regression analysis and linear dependences were established.</p> <p>The partition coefficients log P for all tested spirohydantoins were determined indirectly, as well, with the help of reference compounds, based on calibration models. LSER modeling was used to determine which interactions lead to the partition in the chromatographic systems, that is the partition between the mobile and stationary phases. In addition to identifying interactions, LSER modeling was used to determine the type as well as the strength of chemical interactions.</p> <p>QSRR analysis was applied to find mathematical models for describing the relationship between chromatographic lipophilicity parameters and the structure of newly synthesized spirohydantoin derivatives. The corresponding QSRR models were obtained by using the multiple linear regression (MLR) method. The predictability of each model is defined by an internal validation coefficient.</p> <p>Lipinski's rule was applied to verify whether the tested spirohydantoins have good (theoretical) oral bioavailability.</p> <p>The influence of the organic solvent in the mobile phase, as well as the influence of the substituent on chromatographic lipophilicity, was assessed using multivariate analysis methods, hierarchical cluster analysis (HCA), and principal components analysis (PCA). These methods group the tested spirohydantoin derivatives, as well as the applied mobile phases based on their polarity. The relationship between chromatographic parameters of lipophilicity and the potential biological activity of spirohydantoin was analyzed using these two methods.</p>
Accepted on Scientific Board on:	17.01.2019.
Defended: (Filled by the faculty service)	

Thesis Defend Board: (title, first name, last name, position, institution)	President: dr Gyöngyi Vastag, full professor, University of Novi Sad, Faculty of Sciences Member (mentor) dr Tatjana Đaković Sekulić, full professor, University of Novi Sad, Faculty of Sciences Member: dr Lidija Jevrić, full professor, University of Novi Sad, Faculty of Technology
Note:	-

Zahvalnica

Ova doktorska disertacija rađena je na Katedri za opštu i neorgansku hemiju, Departmana za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, Prirodno-matematičkog fakulteta, Univerziteta u Novom Sadu, u okviru projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Najkrenije se zahvaljujem svom mentoru prof. dr Tatjani Đaković Sekulić na predloženoj temi, poklonjenom vremenu i stručnim savetima. Veliko hvala na pomoći, zalaganju i podršci u svim fazama izrade ove doktorske disertacije, kao i tokom naše višegodišnje saradnje.

Posebnu zahvalnost dugujem prof. dr Đendi Vaštag na stalnom interesovanju, prijateljskim savetima i stručnim primedbama prilikom završne izrade ove doktorske disertacije.

Veliko hvala prof. dr Lidiji Jevrić na iskrenoj pomoći, stručnim savetima i korisnim sugestijama.

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

Neizmernu zahvalnost od srca dugujem svojoj porodici na безусловnoj ljubavi, požrtvovanju, savetima, iskrenosti, veri, strpljenju i velikoj podršci koju su mi poklanjali svakog dana.

Kristina

SPISAK SKRAĆENICA

ADMET	– absorpcija, distribucija, metabolizam, ekskrecija i toksičnost (engl. <i>absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity</i>)
C-18	– oktadecil ugljovodonični niz
CA	– klaster analiza (engl. <i>Cluster analysis</i>)
DAD	– diodni detektor (engl. <i>Diode Array Detector</i>)
F-vrednost	– Fišerov test
HCA	– hijerarhijska klaster analiza (engl. <i>Hierarchical cluster analysis</i>)
HPLC	– tečna hromatografija pod visokim pritiskom (engl. <i>High performance liquid chromatograph</i>)
HPTLC	– visoko efikasna hromatografija na tankom sloju (engl. <i>High performance thin-layer chromatography</i>)
LESR	– linearni odnos energije solvatacije (engl. <i>Linear solvation energy relationship</i>)
$\log k$	– retenciona konstanta (HPLC)
$\log K_{ow}$	– podeoni koeficijent preuzet iz EPI Suite baze podataka
$\log k_w$	– retencija jedinjenja u čistoj vodi (HPLC)
$\log P$	– podeoni koeficijent
MLR	– višestruka linearna regresija (engl. <i>Multiple linear regression</i>)
PCA	– analiza glavnih komponenti (engl. <i>Principal component analysis</i>)
PRESS	– suma kvadrata odstupanja od predviđenih vrednosti (engl. <i>Predicted residual error sum squares</i>)
Q ²	– interni validacioni koeficijent
QSAR	– kvantitativna veza između strukture i aktivnosti jedinjenja (engl. <i>Quantitative structure-activity relationships</i>)
QSPR	– kvantitativna veza između strukture i fizičko-hemijskih svojstava jedinjenja (engl. <i>Quantitative Structure-Property Relationships</i>)
QSRR	– kvantitativna veza između strukture i retencije jedinjenja (engl. <i>Quantitative Structure Retention Relationships</i>)

r	– koeficijent korelacije
R^2_{adj}	– prilagođen koeficijent determinacije (engl. <i>Adjusted R²</i>)
R_F	– faktor zadržavanja
R_M	– retenciona konstanta (TLC)
R_M^0	– retencija jedinjenja u čistoj vodi (TLC)
RP	– obrnuta faza (eng. <i>Reversed Phase</i>)
RP-HPLC	– tečna hromatografija pod visokim pritiskom na obrnutim fazama (engl. <i>Reversed-phase high performance liquid chromatography</i>)
RP-LC	– tečna hromatografija na obrnutim fazama, (engl. <i>Reversed phase liquid chromatography</i>)
RP-TLC	– hromatografija na tankom sloju na obrnutim fazama (engl. <i>Reversed phase thin-layer chromatography</i>)
S	– retenciona konstanta
SLR	– prosta linearna regresija (engl. <i>Simple linear regression</i>)
THF	– tetrahidrofuran
TLC	– hromatografija na tankom sloju (engl. <i>Thin-layer chromatography</i>)

SKRAĆENICE KORIŠĆENIH MOLEKULSKIH DESKRIPTORA

ALOGP	– podeoni koeficijent oktanol-voda (engl. <i>Ghose-Crippen octanol-water partition coeff.</i>)
ALOGP2	– kvadrat podeonog koeficijenta oktanol-voda (engl. <i>squared Ghose-Crippen octanol-water partition coeff.</i>)
AMR	– molarna refrakcija (engl. <i>Ghose-Crippen molar refractivity</i>)
ARR	– aromatični odnos, (engl. <i>aromatic ratio</i>)
BBB	– krvno-moždana barijera (engl. <i>Blood Brain Barrier</i>)
ClogP	– podeoni koeficijent
DBI	– indeks grananja (engl. <i>Dragon branching index</i>)
ECC	– ekcentričnost (engl. <i>Eccentricity</i>)
Hy	– hidrofilni faktor (engl. <i>hydrophilic factor</i>)
HIA	– humana intestinalna absorpcija (engl. <i>Human intestinal absorption</i>)
IAC	– ukupan indeks koji pruža informaciju o atomskom sastavu, (engl. <i>total information index on atomic composition</i>)
ISIZ	– indeks koji pruža informaciju o veličini molekula, (engl. <i>information index on molecular size</i>)
$\log P_{\text{Brotto}}$	– podeoni koeficijent
$\log P_{\text{Crippen}}$	– podeoni koeficijent
$\log P_{\text{Viswanadhan}}$	– podeoni koeficijent
miLogP	– podeoni koeficijent
MLOGP	– Morigučijev podeoni koeficijent oktanol-voda, (engl. <i>Moriguchi octanol-water partition coeff.</i>)
MLOGP2	– kvadrat Morigučijevog podeonog koeficijenta oktanol-voda, (engl. <i>squared Moriguchi octanol-water partition coeff.</i>)
MW	– molekulska masa, (engl. <i>molecular weight</i>)
nAT	– ukupan broj atoma, (engl. <i>number of atoms</i>)
nBT	– ukupan broj veza, (engl. <i>number of bonds</i>)
nC	– broj atoma ugljenika, (engl. <i>number of Carbon atoms</i>)
nCl	– broj atoma hlora, (engl. <i>number of Chlorine atoms</i>)
nH	– broj atoma vodonika, (engl. <i>number of Hydrogen atoms</i>)

nHAcc	– broj atoma koji su akceptori u vodoničnoj vezi, (engl. <i>number of acceptor atoms for H-bonds</i>)
nHDon	– broj atoma koji su donori u vodoničnoj vezi, (engl. <i>number of donor atoms for H-bonds</i>)
nHet	– broj heteroatoma, (engl. <i>number of heteroatoms</i>)
nN	– broj atoma azota, (engl. <i>number of Nitrogen atoms</i>)
nO	– broj atoma kiseonika, (engl. <i>number of Oxygen atoms</i>)
nX	– broj atoma halogenih elemenata, (engl. <i>number of halogen atoms</i>)
PDI	– indeks gustine pakovanja, (engl. <i>packing density index</i>)
Pol	– broj koji ukazuje na polarnost molekula, (engl. <i>polarity number</i>)
PPB	– vezivanje za protein krvne plazme (engl. <i>Plasma protein binding</i>)
RBF	– udeo veza oko kojih je moguća slobodna rotacija, (engl. <i>rotatable bond fraction</i>)
RBN	– broj rotirajućih veza, (engl. <i>number of rotatable bonds</i>)
SAacc	– površina akceptorskih atoma, (engl. <i>surface area of acceptor atoms from P_VSA-like descriptors</i>)
SAtot	– ukupna površina, (engl. <i>total surface area from P_VSA-like descriptors</i>)
Se	– zbir atomskih Sanderson-ovih elektronegativnosti, (engl. <i>sum of atomic Sanderson electronegativities</i>)
Si	– zbir prvih jonizacionih potencijala, (engl. <i>sum of first ionization potentials</i>)
Sp	– zbir polarizabilnosti atoma, (engl. <i>sum of atomic polarizabilities</i>)
Sv	– zbir van der Vals-ovih zapremina atoma, (engl. <i>sum of atomic van der Waals volumes</i>)
TPSA(NO)	– topološka polarna površina izražena preko polarnog doprinosa atoma N i O, (engl. <i>topological polar surface area using N,O polar contributions</i>)

TPSA(Tot)	– topološka polarna površina izražena preko polarnog doprinosa atoma N, O, S i P, (engl. <i>topological polar surface area using N, O, S, P polar contributions</i>)
VvdwMG	– van der Vals-ova zapremina, (engl. <i>van der Waals volume from McGowan volume</i>)
VvdwZaz	– van der Vals-ova zapremina izračunata na osnovu Zao-Abraham-Zisimosove jednačine, (engl. <i>van der Waals volume from Zhao-Abraham-Zissimos equation</i>)
Vx	– zapremina, (engl. <i>McGowan volume</i>)
Uc	– broj nezasićenih veza, (engl. <i>unsaturation count</i>)
Ui	– indeks nezasićenosti, (engl. <i>unsaturation index</i>)

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPŠTI DEO	5
2.1. Hidantoini	6
2.2. Spirohidantoini.....	9
2.2.1. Fizička svojstva spirohidantoina.....	9
2.2.2. Hemijska svojstva spirohidantoina	9
2.2.2.1. Kiselost	9
2.2.2.2. Hidroliza	10
2.2.2.3. Supstitucija u položajima N1 i N3.....	10
2.2.3. Biološka aktivnost spirohidantoina.....	10
2.3. Lipofilnost.....	14
2.3.1. Podesni koeficijent <i>P</i>	14
2.3.2. Hromatografska lipofilnost.....	17
2.4. Hemometrijska analiza	20
2.4.1. Klaster analiza.....	20
2.4.2. Analiza glavnih komponenti.....	23
2.5. Kvantitativna veza između strukture i svojstva molekula	25
2.5.1. Kvantitativna veza između strukture i retencije jedinjenja, QSRR	25
2.5.2. Molekulski deskriptori	27
2.6. Linearni odnosi energije solvatacije	30
3. EKSPERIMENTALNI DEO	33
3.1. Ispitivana jedinjenja.....	34
3.2. Hromatografska analiza	35
3.2.1. Hromatografija na tankom sloju	35
3.2.2. Tečna hromatografija pod visokim pritiskom.....	36
3.3. Kompjuterska izračunavanja.....	38
3.3.1. Geometrijska optimizacija molekulske strukture ispitivanih jedinjenja i izračunavanje molekulskih deskriptora.....	38
3.3.2. Obrada eksperimentalnih rezultata.....	40

4. REZULTATI I DISKUSIJA.....	43
4.1. Retenciono ponašanje ispitivanih jedinjenja u uslovima tečne hromatografije.....	44
4.1.1. Uticaj prirode organskog rastvarača pokretne faze na retenciju ispitivanih jedinjenja u hromatografiji na tankom sloju	45
4.1.2. Uticaj sadržaja organskog rastvarača u pokretnoj fazi na retenciju ispitivanih jedinjenja	48
4.1.3. Uticaj strukture ispitivanih jedinjenja na retenciju	50
4.2. Određivanje parametara lipofilnosti ispitivanih 3-(4-supstituisani benzil)cikloalkanspiro-5-hidantoina	52
4.2.1. Određivanje hromatografskog parametra lipofilnosti primenom tečne hromatografije na tankom sloju	52
4.2.2. Određivanje hromatografskog parametra lipofilnosti primenom tečne hromatografije pod visokim pritiskom.....	58
4.2.3. Korelacija parametara lipofilnosti određenih eksperimentalnim putem	59
4.2.4. Indirektno određivanje log <i>P</i> vrednosti spirohidantoina.....	64
4.2.5. Određivanje lipofilnosti ispitivanih jedinjenja računskim putem	67
4.2.6. Korelacija hromatografskih parametara lipofilnosti i izračunatih log <i>P</i> vrednosti.....	69
4.2.7. QSRR modeli za predviđanje parametara lipofilnosti ispitivanih jedinjenja....	73
4.2.8. Analiza međumolekulskih interakcija primenom LSER pristupa.....	85
4.2.9. Primena pravila Lipinskog na ispitivane derivate spirohidantoina.....	89
4.3. Hemometrijska analiza	92
4.3.1. Hemometrijska analiza hromatografskih parametra lipofilnosti 3-(4-supstituisani benzil)ciklopentan-5-hidantoina	92
4.3.2. Hemometrijska analiza hromatografskih parametra lipofilnosti 3-(4-supstituisani benzil)cikloheksan-5-hidantoina.....	97
4.3.3. Hemometrijska analiza hromatografskih parametra lipofilnosti 3-(4-supstituisani benzil)cikloheptan-5-hidantoina	102
4.3.4. Hemometrijska analiza hromatografskih parametra lipofilnosti sve tri serije 3-(4-supstituisani benzil)cikloalkan-5-hidantoina.....	107
4.3.5. Hemometrijska analiza hromatografskih parametra lipofilnosti sve tri serije 3-(4-supstituisani benzil)cikloalkan-5-hidantoina i prediktora biološke aktivnosti.....	114

5. ZAKLJUČAK	119
6. LITERATURA	123
7. PRILOG	149
BIOGRAFIJA	189

IZVOD

Hromatografsko ponašanje i lipofilnost 21 novosintetisanog 3-(4-supstituisani benzil)cikloalkanspiro-5-hidantoina proučavana je u uslovima tečne hromatografije na obrnutim fazama. Hromatografsko ponašanje ispitivano je primenom tečne hromatografije na tankom sloju i tečne hromatografije pod visokim pritiskom. Kao nepokretna faza primenjen je hemijski modifikovani silika gel sa kovalentno vezanim C-18 grupama. Kao pokretne faze korišćene su dvokomponentne smeše vode i organskog rastvarača u različitim zapreminskim odnosima. U hromatografiji na tankom sloju pokretne faze su sadržale jedan od sledećih organskih rastvarača: etanol, *n*-propanol, *i*-propanol, *t*-butanol, acetonitril, aceton, tetrahidrofuran ili 1,4-dioksan, dok je u hromatografiji pod visokim pritiskom kao pokretna faza korišćena smeša vode i acetonitrila.

Na osnovu rezultata ispitivanja diskutovan je uticaj prirode organskog rastvarača u pokretnoj fazi, uticaj strukture spirohidantoina, kao i uticaj sadržaja organskog rastvarača na hromatografsko ponašanje ispitivanih jedinjenja. Linearna zavisnost R_M vrednosti od zapreminskog udela organskog rastvarača u pokretnoj fazi utvrđena je za sva ispitivana jedinjenja. Na taj način omogućeno je izračunavanje hromatografskog parametara lipofilnosti (R_M^0 , odnosno $\log k_w$). Izračunati hromatografski parametri lipofilnosti su upoređeni sa računskim parametrima lipofilnosti ($\log P$) primenom linearne regresione analize i uspostavljene su linearne zavisnosti.

Podeoni koeficijenti $\log P$ za sve ispitivane spirohidantoinne određeni su i indirektno uz pomoć referentnih jedinjenja, odnosno na osnovu kalibracionih modela. LSER modelovanje je primenjeno kako bi se ustanovilo koje interakcije dovode do raspodele u samim hromatografskim sistemima, odnosno raspodele između pokretne i nepokretne faze. Pored identifikacije interakcija, LSER modelovanje je primenjeno za utvrđivanje vrste, kao i za određivanje jačine hemijskih interakcija.

QSRR analiza je primenjena za pronalaženje matematičkih modela kojim se opisuje veza između hromatografskih parametara lipofilnosti i strukture novosintetisanih derivata spirohidantoina. Do odgovarajućih QSRR modela došlo se primenom metode višestruke linearne regresije (MLR). Sposobnost predviđanja svakog modela je definisana internim validacionim koeficijentom.

Pravilo Lipinskog je primenjeno sa ciljem da se proverí da li ispitivani spirohidantoini imaju dobru (teorijsku) oralnu biodostupnost.

Uticaj organskog rastvarača u pokretnoj fazi, kao i uticaj supstituenta na hromatografsku lipofilnost procenjen je primenom metoda multivarijantne analize, hijerarhijskom klaster analizom (HCA) i analizom glavnih komponenata (PCA). Ove metode omogućavaju grupisanje ispitivanih derivata spirohidantoina, kao i primenjenih pokretnih faza prema njihovoj polarnosti. Primenom ove dve metode proučavana je i povezanost hromatografskih parametra lipofilnosti i potencijalne biološke aktivnosti spirohidantoina.

ABSTRACT

The chromatographic behavior and lipophilicity of 21 newly synthesized 3-(4-substituted benzyl)cycloalkanespiro-5-hydantoins were studied in reversed-phase liquid chromatography conditions. Chromatographic behavior was analyzed by using thin-layer liquid chromatography and high-performance liquid chromatography. Chemically modified silica gel with covalently bonded C-18 groups was used as the stationary phase. Two-component mixtures of water and organic solvent in different volume ratios were used as mobile phases. In thin-layer chromatography, the mobile phases contained one of the following organic solvents: ethanol, n-propanol, i-propanol, t-butanol, acetonitrile, acetone, tetrahydrofuran, or 1,4-dioxane, while in high-performance liquid chromatography the mixture of water and acetonitrile was used as mobile phase.

Based on the test results, the influence of the nature of the organic solvent in the mobile phase, the influence of the structure of spirohydantoin, as well as the influence of the content of the organic solvent on the chromatographic behavior of the tested compounds was analyzed. The linear dependence of the R_M value on the volume fraction of organic solvent in the mobile phase was determined for all tested compounds. In this way, it was possible to calculate the chromatographic parameters of lipophilicity (R_M^0 , ie $\log k_w$). The calculated chromatographic parameters of lipophilicity were compared with the calculated parameters of lipophilicity ($\log P$) using linear regression analysis and linear dependences were established.

The partition coefficients $\log P$ for all tested spirohydantoins were determined indirectly, as well, with the help of reference compounds, based on calibration models. LSER modeling was used to determine which interactions lead to the partition in the chromatographic systems, that is the partition between the mobile and stationary phases. In addition to identifying interactions, LSER modeling was used to determine the type as well as the strength of chemical interactions.

QSRR analysis was applied to find mathematical models for describing the relationship between chromatographic lipophilicity parameters and the structure of newly synthesized spirohydantoin derivatives. The corresponding QSRR models were obtained by using the multiple linear regression (MLR) method. The predictability of each model is defined by an internal validation coefficient.

Lipinski's rule was applied to verify whether the tested spirohydantoins have good (theoretical) oral bioavailability.

The influence of the organic solvent in the mobile phase, as well as the influence of the substituent on chromatographic lipophilicity, was assessed using multivariate analysis methods, hierarchical cluster analysis (HCA), and principal components analysis (PCA). These methods group the tested spirohydantoin derivatives, as well as the applied mobile phases based on their polarity. The relationship between chromatographic parameters of lipophilicity and the potential biological activity of spirohydantoin was analyzed using these two methods.

1. UVOD

Derivati hidantoina predstavljaju grupu jedinjenja koja se široko primenjuju u farmaceutskoj i hemijskoj industriji. Medicinska primena derivata hidantoina poslednjih godina postala je veoma aktivna oblast istraživanja. Sam hidantoini prsten nema biološku aktivnost, međutim supstituisani derivati hidantoina pokazuju visoku biološku aktivnost i imaju širok spektar terapijske primene, kao antikonvulzivi, antiaritmici, hipnotici ili kao antibakterijski agensi. Samim tim su i od izuzetnog značaja za medicinu¹⁻³.

Dva najpoznatija derivata hidantoina koja se primenjuju u medicini su fenitoin (5,5-difenil-hidantoin) i mefenitoin (5-etil-3-metil-5-fenilhidantoin). Fenitoin je jedan od najstarijih lekova koji se uspešno primenjuje u sprečavanju epileptičnih napada. Utvrđeno je da je fenitoin najefikasniji antikonvulziv, iako je efikasan samo kod 30 % pacijenata. Desetak godina nakon otkrića fenitoina, otkriven je mefenitoin. Značajan metabolit mefenitoina je nirvanol (5-etil-5-fenil-hidantoin) koji se primenjivao kao hipnotik. Međutim, kada je ustanovljena toksičnost nirvanola, korišćenje mefenitoina je dozvoljeno jedino u slučaju nemogućnosti primene antikonvulzanata manje toksičnosti. Zbog ovog razloga mefenitoin je danas izbačen iz upotrebe^{2,4}.

Jedna grupa derivata hidantoina, koja se poslednjih godina intenzivno proučava, jesu spirohidantoini. Eksperimentalni i literaturni podaci su pokazali da se i spirohidantoini mogu primenjivati kao potencijalni lekovi u tretmanu različitih poremećaja nervnog sistema^{5,6}, kao psihotropni agensi⁷⁻⁹, zatim u tretmanu infektivnih i alergijskih oboljenja, kao i u lečenju kancera¹⁰⁻¹³.

U cilju proučavanja biološke aktivnosti spirohidantoina, neophodno je pre svega ispitati fizička, hemijska i strukturna svojstva koja u mnogome mogu doprineti predviđanju i razumevanju njihove potencijalne biološke aktivnosti. Naročito je važno da se prilikom ispitivanja novosintetisanih potencijalno aktivnih jedinjenja prvo odrede parametri koji su neophodni za fizičko-hemijsku karakterizaciju novih jedinjenja^{14,15}.

Zbog činjenice da biološka aktivnost jedinjenja u velikoj meri zavisi od istih fizičko-hemijskih svojstava od kojih zavisi i hromatografska retencija ispitivanog jedinjenja, u ovom radu za određivanje fizičko-hemijskih svojstava derivata spirohidantoina primenjena je tečna hromatografija na obrnutim fazama.

Cilj ovog rada jeste ispitivanje uticaja hemijske strukture, kao i rastvarača na hromatografsko ponašanje derivata spirohidantoina. Hromatografsko retenciono ponašanje svih ispitivanih derivata spirohidantoina biće eksperimentalno određeno primenom hromatografije na tankom sloju na obrnutim fazama (TLC) i tečne hromatografije pod visokim pritiskom na obrnutim fazama (HPLC). Primenom odgovarajućih retencionih modela koji opisuju promenu retencionog ponašanja u zavisnosti od sadržaja organskog rastvarača pokretne faze biće određen hromatografski parametar lipofilnosti.

Takođe, jedan od važnih ciljeva ovog rada jeste proučavanje veze između hromatografski određenih parametara lipofilnosti i izračunatih $\log P$ vrednosti. Pored ovih jednostavnih korelacija, primenom višestruke linearne regresije (MLR) biće izračunati matematički modeli kojima se definiše kvantitativni odnos između molekulskih deskriptora i hromatografskog parametra lipofilnosti. Kvalitet dobijenih QSRR modela biće procenjen na osnovu odgovarajućih statističkih parametara.

Radi dobijanja jasnije slike o tipu interakcija koje su zastupljne i dominantne u različitim hromatografskim sistemima biće primenjeno LSER modelovanje i Abrahamova solavatohromna jednačina. Dok pravilo Lipinskog će se primeniti sa ciljem da se proveriti da li ispitivani spirohidantoini imaju dobru (teorijsku) oralnu biodostupnost.

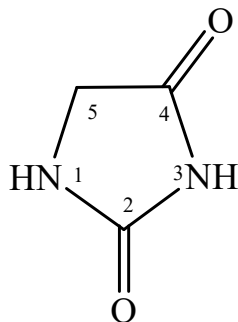
Primenom pogodnih hemometrijskih metoda, hijerarhijske klastera analize (Hierarchical Cluster Analysis, HCA) i analize glavnih komponenti (Principal Component Analysis, PCA) biće proučavane sličnosti i razlike između samih ispitivanih jedinjenja, između hromatografskih sistema, kao i svih parametara lipofilnosti (eksperimentalnih i izračunatih).

2. OPŠTI DEO

2.1. Hidantoini

Hidantoin je 1861. godine otkrio Bajer (Baeyer). Izučavajući mokraćnu kiselinu, Bajer je hidantoin izolovao iz smeše proizvoda nastalih hidrogenovanjem alantoina¹⁶. Alantoin je derivat hidantoina koji se javlja u prirodi i predstavlja proizvod oksidacije mokraćne kiseline u metaboličkoj razgradnji purina. Alantoin je u prirodi najzastupljeniji u korenu biljke gavez, nalazi se i u urinu većine životinja, izuzev viših primata i čoveka. Danas se u velikoj meri alantoin sintetički proizvodi. Hemijski sintetizovan alantoin je identičan sa prirodnim, nije toksičan i bezbedan je. Hidantoin se može izolovati iz nekoliko prirodnih izvora, iz pupoljaka orijentalnog drveta platana, izdanaka šećerne repe, trulog kitovog mesa, pigmenata krila leptira i urina¹⁷.

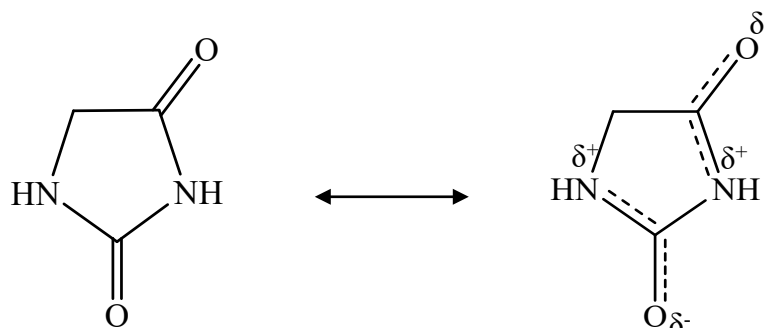
Tri godine nakon otkrića (1864), Bajer je uspeo da sintetiše hidantoin iz bromacetiluree, ali nije mogao da razjasni strukturu. Prvi koji je pretpostavio i utvrdio danas prihvaćenu strukturnu formulu hidantoina bio je Štreker¹⁸ (Strecker) (**slika 1**).



Slika 1. Hemijska struktura molekula hidantoina

Molekul hidantoina (imidazolidin-2,4-dion) je petočlani ciklični ureid sa dva atoma azota u prstenu koji se nalaze u položaju 1 i 3. Pored atoma azota u prstenu se nalaze i dve karbonilne grupe u položaju 2 i 4.

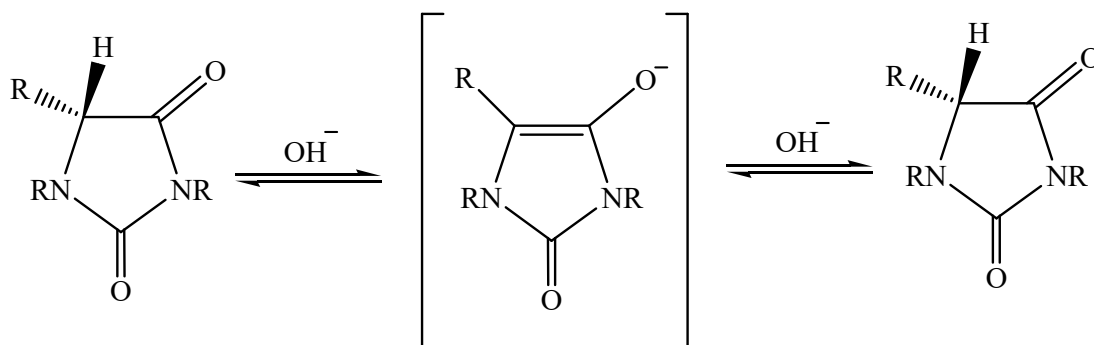
Kristalografska proćavanja strukture pokazuju da je hidantoini prsten približno planaran i da jedinjenja sa hidantoinim prstenom imaju veliku rigidnost strukture. Ova rigidnost strukture potiče od dva amida u prstenu koji stvaraju rezonantni oblik sa dvostrukom vezom u pozicijama 1-2 i 3-4 (**slika 2**)¹⁷.



Slika 2. Rezonantne strukture obe amidne grupe u hidantoinom prstenu

Prisustvo dve karbonilne grupe u hidantoinom prstenu omogućuje postojanje izomernih keto-enolnih oblika. Hidantoini i njegovi derivati su uglavnom u keto obliku, odnosno keto tautomeri pokazuju veću stabilnost. U amidnim jedinjenjima se i očekuje veća stabilnost keto tautomera, jer usled velike elektronegativnosti kiseonika elektroni su pomereni prema karbonilnoj grupi, uz to se amino grupa koja je vezana za karbonilnu grupu ponaša kao elektron-donor¹⁹.

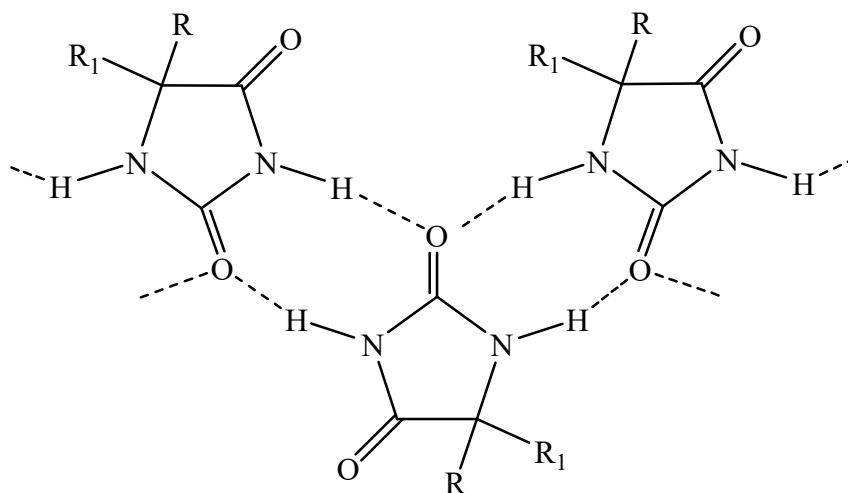
Međutim, optički aktivni hidantoini lako tautomerizuju u alkalnoj sredini što ukazuje na postojanje enolne strukture molekula hidantoina (**slika 3**).



Slika 3. Tautomerizacija optički aktivnih hidantoina u alkalnoj sredini

Druga vrsta tautomerije se uočava ako u položaju C-5 postoji dvostruka veza, a primeri takvih tautomera su cis/trans izomeri¹⁷.

U čvrstom stanju molekuli hidantoina grade intermolekulske vodonične veze sa dva susedna molekula. Vodonične veze se uspostavljaju između vodonikovih atoma u položajima N-1 i N-3 sa atomom kiseonika u položaju C-2 (**slika 4**).



Slika 4. Vodonične veze između molekula 5,5-disupstutuisanih hidantoina

Rastojanje između povezanih molekula je manje od 28,7 nm, a uglovi su veći od 169°. Zanimljivo je napomenuti, da atom kiseonika u položaju C-4 uopšte ne učestvuje u građenju vodoničnih veza²⁰.

2.2. Spirohidantoini

Cikloalkanspiro-5-hidantoini su jedinjenja koja se sastoje iz hidantoiniskog prstena (imidazolidin-2,4-diona) i cikloalkana koji je kondenzovan sa hidantoiniskim prstenom u položaju 5. Između dva prstena ostvaruje se spiro-veza, odnosno dva prstena su povezana preko jednog zajedničkog C atoma, tzv. spiro-atoma. Zahvaljući tetraedarskoj prirodi spiro C-atoma koji ih povezuje, ravni prstenova su orijentisane pod pravim uglom jedna u odnosu na drugu. Prisustvo krute spiro strukture doprinelo je većem interesovanju za detaljnije ispitivanje spiro jedinjenja.

2.2.1. Fizička svojstva spirohidantoina

Spirohidantoini su čvrste kristalne supstance, sa različitom tačkom topljenja. Za razliku od supstituisanih spirohidantoina koji se tope na nižim temperaturama, nesupstituisani analozi imaju visoke tačke topljenja, što je posledica veće polarnosti molekula i povećane mogućnosti međumolekulskog povezivanja vodoničnim vezama. Usled prisustva velikog broja heteroatoma i karbonilnih grupa u hidantoiniskom prstenu spirohidantoini su hidrofilni molekuli. Spirohidantoini se rastvaraju u toploj vodi, etanolu, sirćetnoj kiselini i alkalijama²⁰.

2.2.2. Hemijska svojstva spirohidantoina

Hemijska svojstva spirohidantoina uslovljena su strukturom prisutnih karbonilnih grupa, kao i reakcijama na oba atoma azota. Karakteristične reakcije za spirohidantoina su kiselost i bazna hidroliza i supstitucija u položajima 1 i 3 hidantoiniskog prstena.

2.2.2.1. Kiselost

Konstanta disocijacije hidantoina, koja ima vrednost $7,59 \cdot 10^{-10}$, pokazuje da su hidantoini i njegovi derivati slabe kiseline približno iste jačine kao fenoli, odnosno cijanovodonična kiselina. Posledica kiselosti hidantoina je prisustvo N-H veze u položaju 3 koja se nalazi između dve elektron-akceptorske karbonilne grupe koje doprinose polarnosti molekula i samim tim doprinose povećavaju kiselosti vodonika u položaju N3-hidantoiniskog prstena. Odnosno, posledica disocijacije na imidnom N3-H atomu je kiselost hidantoina. Supstitucijom u položaju 3 kiselost hidantoina se znatno smanjuje i postaje bliska kiselosti amida, s obzirom da u tom slučaju kiselost potiče od amidnog N1-H atoma^{21,22}.

2.2.2.2. Hidroliza

Hidroliza hidantoina i spirohidantoina može se izvoditi kako u kiseljoj, tako i u baznoj sredini. Međutim, znatno je češći postupak alkalne hidrolize, pri čemu se kao intermedijer formira hidantoininska kiselina, koja na kraju hidrolizuje do odgovarajuće α -aminokiseline kao krajnjeg proizvoda²³.

2.2.2.3. Supstitucija u položajima N1 i N3

Reakcije supstitucije kod hidantoina i njegovih derivata su moguće na oba atoma azota hidantoininskog prstena. Imidi proton, odnosno vodonik vezan za azot u položaju 3 hidantoininskog prstena je kiseliji od vodonika vezanog u položaju N1. Prema tome, položaj N3 je mnogo reaktivnije mesto za odigravanje reakcije supstitucije.

Piner (Pinner) je otkrio da se hidantoini mogu veoma lako alkilovati u položaju N3 dejstvom alkil-halogenida u baznoj sredini. Za razliku od položaja N3, gde se reakcija alkilovanja uglavnom odigrava bez poteškoća, u položaju N1 to nije slučaj. Odnosno, primenom istog postupka, tj. dejstvom alkil-halogenida u baznoj sredini nije moguće direktno alkilovanje hidantoina u N1 položaju. Osim u slučaju kada je u položaju C5 molekula hidantoina prisutna fenil-grupa ili dvostruka veza, jer prisustvo dvostruke veze aktivira azot u položaju N1 i na taj način se omogućava zamena atoma vodonika odgovarajućom alkil-grupom¹⁷.

Pored reakcija alkilovanja, hidantoini i njegovi derivati mogu da se ariluju ili acetiluju u položajima N1 i/ili N3 što zavisi od reakcionih uslova^{24,25}.

2.2.3. Biološka aktivnost spirohidantoina

Spirohidantoini i njegovi derivati predstavljaju veoma važnu farmakološku klasu jedinjenja, koja pokazuju široki spektar biološke aktivnosti. Generalno, za delovanje potencijalno biološki aktivnih jedinjenja u osnovi su najvažnije dve stvari:

- distribucija biološki aktivnog jedinjenja od mesta primene do mesta delovanja
- interakcija biološki aktivnog jedinjenja sa receptorom

Najvažnija primena hidantoina i njegovih derivata je u tretmanu poremećaja nervnog sistema kao što je epilepsija^{26,27}. Epilepsija je hronično neurološko oboljenje koje

karakterišu spontani epileptični napadi. Epileptični napadi su praćeni epizodnim visokofrekventnim pražnjenjem implusa za koje je zadužena grupa neurona u mozgu. Ovi napadi se klinički klasifikuju u dve kategorije: periodični (lokalno pražnjenje) i generalizovani (napadi obuhvataju ceo mozak)²⁸. Epilepsija se uglavnom leči lekovima i terapija mora da bude usmerena na suzbijanje napada. Lekovi za lečenje epilepsije se nazivaju antikonvulzivi. Antikonvulzivi su efikasni u suzbijanju epileptičnih napada kod 50–80% pacijenata, međutim neželjena dejstva ovih lekova su dosta česta. Iz tog razloga postoji konstanta potreba za pronalaženjem novih efikasnijih lekova sa manje nepoželjnih nuspojava²⁹.

Jedan od najznačajnijih antikonvulziva iz grupe hidantoina je fenitoin, odnosno 5,5-difenilhidantoin. Iako je njegova antikonvulzivna aktivnost otkrivena pre više od osam decenija, fenitoin je lek koji i dalje ima široku primenu jer je efikasan u terapijama različitih epileptičnih napada²⁸. Od otkrića fenitoina pa do danas sintetizovani su mnogi derivati hidantoina, obuhvatajući i spirohidantoina.

Aktivnost nekog molekula zavisi od interakcija koje se uspostavljaju između samog molekula i receptora. Proučavajući mehanizam delovanja fenitoina, naučnici su pretpostavili da se fenitoin vezuje za deo receptora uspostavljanjem vodoničnih veza preko karbonilne grupe u položaju 2 i NH grupe u položaju 3. U skladu sa pretpostavljenim mehanizmom delovanja, dve fenil grupe vezane za ugljenikov atom u položaju 5 štite vodonične veze koje se uspostavljaju između imidnog dela hidantoinnog prstena i proteinskog dela receptora od dejstva vode. Veoma značajna svojstva antikonvulzivnih derivata fenitoina su sposobnost da grade vodonične veze i stepen pokretljivosti fenil grupa^{30–33}.

Proučavanje hidantoina kao biološki aktivnih jedinjenja sa antikonvulzivnim dejstvom počelo je još 1938. godine. Na osnovu proučavanja strukturno različitih jedinjenja slične antikonvulzivne aktivnosti, naučnici su nastojali da definišu opšti farmakoforni model antikonvulziva i došli su do sledećih zaključaka:

- Kamerman i Kamerman (Camerman and Camerman) su uočili da je za antikonvulzivnu aktivnost neophodno prisustvo velikih hidrofobnih grupa sa sličnom orijentacijom u prostoru, kao i prisustvo dve elektron-donorske grupe takođe sličnog prostornog položaja i orijentacije^{34–36}.

- Džouns i Vudberi (Johnes and Woodbury) su predložili opšti model koji sadrži najmanje jednu aromatičnu grupu, jednu elektron-donorsku i jednu vodonik akceptorsko-donorsku grupu koje se nalaze jedna u odnosu na drugu pod određenim uglom³⁷⁻³⁹.
- Endrjuz (Andrews) i saradnici su predložili model koji se sastoji iz dva aromatična prstena odgovarajuće orijentacije i trećeg dela molekula koji je obično ciklični ureid sa velikim brojem funkcionalnih grupa koje su sposobne za uspostavljanje vodoničnih veza⁴⁰.

Veliki broj jedinjenja sa antikonvulzivnim dejstvom se uklapa u pomenute modele. Međutim, neka jedinjenja ne ispoljavaju biološku aktivnost i pored toga što u svojoj strukturi sadrže sve neophode grupe za antikonvulzivno dejstvo. To ukazuje da na biološku aktivnost jedinjenja značajan uticaj imaju i drugi faktori koji još uvek nisu poznati⁴¹.

Na osnovu navedenih strukturnih elemenata koje definišu aktivnost, postavljen je farmakoforni model za derivate hidantoina, koji uključuje postojanje vodonik akceptor-donorske grupe, elektronegativne grupe i aromatične grupe⁴².

Raznovrsna biološka aktivnosti spirohidantoina i njegovih analoga postiže se prilikom uvođenja različitih farmakofornih grupa, upravo iz tog razloga poslednjih godina spirohidantoini se često izučavaju. Jedan od najvažnijih faktora za biološku aktivnost, prolozак leka kroz biološke membrane, kao i prirodu interakcija sa receptorom jeste zadovoljavajuća lipofilnost derivata spirohidantoina⁴³.

Spirohidantoini, kao derivati hidantoina, pokazuju antikonvulzivnu⁴⁴⁻⁴⁶ aktivnost, što je i očekivano. Proučavanjem njihove antikonvulzivnosti uočava se da supstituenti na atomu azota značajno utiču na antikonvulzivnu aktivnost i lipofilnost molekula⁴². Derivati spirohidantoina pokazuju široki spektar bioloških aktivnosti vezanih za centralni nervni sistem, te se primenjuju i u lečenju depresije^{47,48}, što ukazuje na njihovu primenu kao antipsihotika i antidepresiva⁴⁹⁻⁵².

Dokazano je da derivati hidantoina sa specifičnim strukturnim elementima, kao što je cikloalkilspiro supstituent vezan za hidantoini prsten, pokazuju i antiproliferativnu^{44,53-58} aktivnost. Serija derivata cikloalkanaspriro-5-hidantoina, kod kojih je policiklična jedinica

preko hidantoinskog prstena povezana sa bočnim alkil lancem, deluje citotoksično na karcinom dojke i debelog creva⁵⁷.

Spirohidantoini pokazuju i antiinflamatornu aktivnost, pri čemu privlače pažnju kao potencijalni lekovi u lečenju infektivnih oboljenja (infekcija izazvana HIV-om), a i od značaja su za prevenciju ili tretman imunoregulatornih, kao i inflamatornih oboljenja⁵⁹. Veoma su delotvorni u lečenju dijabetesa⁴⁹, dok su spirohidantoini sa analgetskim dejstvom veoma efikasni u terapijskom lečenju migrene⁶⁰, a kod nekih spirohidantoina potvrđena je antimikrobna aktivnost⁶¹.

2.3. Lipofilnost

Lipofilnost predstavlja fizičko-hemijsko svojstvo koje opisuje sposobnost molekula da se više rastvara u lipidima nego u vodi i predstavlja jedno od najznačajnijih svojstava molekula koje je od velikog značaja u oblasti medicinske hemije, farmakologije i životne sredine. Izraz lipofilnost se često poistovećuje sa izrazom hidrofobnost, međutim njihovo značenje je sasvim drugačije. Lipofilnost predstavlja afinitet molekula, ili dela molekula prema lipofilnom okruženju. Dok se hidrofobnost opisuje kao grupisanje nepolarnih molekula ili molekula u vodenom okruženju koje nastaje usled tendencije vode da istisne nepolarne molekule^{62,63}.

Lipofilnost je svojstvo molekula koje je u direktnoj vezi sa pasivnim prolaskom molekula kroz biološke membrane, kao i njihovom rastvorljivosti. Takođe utiče i na uspostavljanje interakcija biološki aktivnog molekula i aktivnog mesta receptora. Lipofilnost je uslovljena procesima farmakokinetike i farmakodinamike samog molekula. Ovi procesi zavise od sposobnosti molekula da interaguje sa dve različite sredine, nevodenom (ćelijka membrana) i vodenom (unutrašnjost ćelije), odnosno zavise od lipofilnosti molekula. Lipofilnost molekula je od suštinskog značaja za biološku aktivnost molekula⁶⁴⁻⁶⁶.

2.3.1 Podeoni koeficijent P

Podeoni koeficijent P obično se koristi za izražavanje lipofilnosti. Predstavlja odnos koncentracije rastvorene supstance u vodenoj i organskoj fazi (jednačina (1))⁶⁷. Zbog velikog opsega vrednosti podeonog koeficijenta koristi se logaritamska vrednost podeonog koeficijenta, odnosno $\log P$.

$$\log P = \frac{c_o}{c_w} \quad (1)$$

gde je c_w koncentracija rastvorene supstance u vodenoj fazi, a c_o je koncentracija rastvorene supstance u nepolarnom organskom rastvaraču, n -oktanolu⁶⁸. Organski rastvarač n -oktanol je izabran zbog dugog ugljovodoničnog niza i prisustva $-OH$ grupe, koja može biti i donor i akceptor protona u vodoničnoj vezi⁶⁹. S obzirom na to, da podeoni sistem n -oktanol-voda predstavlja dobru laboratorijsku aproksimaciju biološke membrane odabran je kao referentni sistem rastvarača u procesima modelovanja^{70,71}.

Podeoni koeficijent predstavlja značajan parametar za razumevanje biološkog ponašanja ispitivanog jedinjenja u organizmu.

Vrednost logaritma podeonog koeficijenta nekog molekula može ukazati na ponašanje molekula u biološkom okruženju.

Ukoliko je:

- $\log P > 1$ molekul je lipofilan,
- $\log P < -1$ molekul je hidrofilan,
- $\log P = 0$ molekul je jednako rastvorljiv u vodi i nepolarnoj organskoj fazi,
- $\log P > 5$ molekul je toksičan⁷².

U slučaju kada rastvoreno jedinjenje jonizuje, podeoni koeficijent $\log P$ više ne predstavlja odgovarajući koeficijent lipofilnosti, jer on opisuje samo raspodelu neutralnih molekula. Lipofilnost ovakvih supstanci izražava se preko koeficijenta distribucije D . Koeficijent distribucije D se definiše kao odnos koncentracija jonizovanog i nejonizovanog oblika rastvorenog jedinjenja u organskoj i vodenoj fazi, odnosno definiše lipofilnost pri određenoj pH vrednosti⁷³.

Određivanje vrednosti podeonog koeficijenta ($\log P$) moguće je eksperimentalnim i računskim metodama. Klasične eksperimentalne metode za određivanje lipofilnosti jesu metoda mućkanja i metoda sporog mešanja.

Metoda mućkanja (eng. *shake flask*) se izvodi tako što se ispitivano jedinjenje mućka u sistemu dva rastvarača koja se međusobno ne mešaju (najčešće n -oktanol i voda). Nakon uspostavljene ravnoteže i razdvajanja slojeva rastvarača, određuje se koncentracija ispitivanog jedinjenja u svakoj od faza^{74,75}. Iako je jednostavna, nedostatak ove klasične metode je dužina trajanja eksperimenta i što zahteva relativno veliku količinu jedinjenja za analizu. Metodom mućkanja moguće je odrediti vrednosti podeonih koeficijenata samo kod jedinjenja čije su $\log P < 5$, u protivnom dolazi do stvaranja emulzije⁷⁵. Primenom ove metode nemoguće je odrediti podeoni koeficijent za izrazito hidrofилna jedinjenja.

Za neka jedinjenja nije moguće odrediti podeoni koeficijent primenom tradicionalne metode mućkanja⁷⁶. U ovakvim slučajevima primenjuje se modifikovana metoda mućkanja, odnosno metoda sporog mešanja. Obe metode se izvode na identičan način, s tim da se kod metode sporog mešanja rastvarači sporo mešaju do uspostavljanja

ravnoteže, pri čemu se sprečava nastajanje emulzije. Iako, primenom obe metode određivanje podelnog koeficijenta traje dugo, obe su pouzdane za određivanje lipofilnosti neutralnih rastvorenih jedinjenja, kao i jonizovanih jedinjenja u neutralnom obliku⁷⁷.

Osim klasičnih metoda, lipofilnost jedinjenja se može odrediti i drugim eksperimentalnim metodama, u koje se ubrajaju: hromatografija na obrnutim fazama, micelarna/mikroemulziona elektrokinetička hromatografija, pH-metrijska metoda, metoda filter probe, itd. Vodeće mesto među metodama za određivanje lipofilnosti ima tečna hromatografija, tj. tečna hromatografija na obrnutim fazama (RP-LC). Podjednako je rasprostranjena primena kako tečne hromatografije pod visokim pritiskom (HPLC) tako i hromatografije na tankom sloju (TLC).

Kao što je već ranije navedeno, pored eksperimentalnih metoda, za određivanje lipofilnosti mogu se koristiti i računске metode. Danas postoji veliki broj softverskih paketa koji se primenjuju za izračunavanje lipofilnosti.

Računske metode se mogu klasifikovati u dve grupe:

- metode koje se zasnivaju na podstrukturama molekula (Substructure-Based Methods). Postoje dva pristupa ovoj metodi: atomski, gde se sabiraju doprinosi pojedinačnih atoma u molekulu, i fragmentacioni, gde se posmatraju doprinosi fragmenata u molekulu⁷⁸⁻⁸⁰.
- metode koje se zasnivaju na odgovarajućim svojstvima molekula (Property-Based Methods). Ove metode podrazumevaju korišćenje deskriptora koji opisuje ceo molekul (trodimenzionalni i topološki deskriptori) i zasnivaju se na empirijskim ili na 3D strukturama^{79,81}.

Podela računskih metoda za izračunavanje $\log P$ vrednosti u zavisnosti od sadržaja složenosti informacija prikazana je u **tabeli 1**.

Tabela 1. Primenjeni algoritmi za izračunavanje $\log P$ vrednosti⁸²⁻⁸⁴

algoritam	izvor	pristup
ALOGP	www.vcclab.org/lab/edragon	atomski
ALOGP2	www.vcclab.org/lab/edragon	atomski
MLOGP	www.vcclab.org/lab/edragon	molekulski
MLOGP2	www.vcclab.org/lab/edragon	molekulski
ClogP	ChemDraw Ultra 7.0	fragmentacioni
$\log P_{\text{Crippen}}$	ChemDraw Ultra 7.0	fragmentacioni
$\log P_{\text{Viswanad}}$	ChemDraw Ultra 7.0	fragmentacioni
$\log P_{\text{Broto}}$	ChemDraw Ultra 7.0	fragmentacioni
miLogP	www.molinspiration.com/cgi-bin/properties	fragmentacioni
$\log P$	www.admet.scbdd.com/calcpred/index/#	atomski

Prednost računskih metoda u odnosu na eksperimentalne je to što ne traju dugo i pružaju mogućnost izračunavanja $\log P$ vrednosti čak i za molekule velike lipofilnosti. Međutim, nedostatak računskih metoda je taj što je većina softverskih paketa formirana za izračunavanje podeonih koeficijenata neutralnih molekula, zatim računске metode pokazuju izvesne nepreciznosti kod molekula kod kojih postoje interaktivne funkcionalne grupe ili kod složenih molekula sa fragmentima koji se ne nalaze u bazama podataka. Izračunavanja su najmanje precizna za tautomere, cviter-jonske i jonizovane molekule.

2.3.2. Hromatografska lipofilnost

Tečna hromatografija na obrnutim fazama je veoma pogodna metoda za određivanje lipofilnosti jedinjenja, koja omogućava jednostavno i brzo određivanje lipofilnosti ispitivanih jedinjenja na osnovu njihovih retencionih parametara. Ovo je moguće zahvaljujući sličnosti koja postoji između međumolekulskih interakcija koje određuju ponašanje jedinjenja u biološkoj i hromatografskoj sredini, odnosno na značajnu sličnost između hromatografske retencije i koeficijenta raspodele u sistemu *n*-oktanol-voda ($\log P$)⁸⁵⁻⁸⁸.

U slučaju hromatografije na tankom sloju, retencija ispitivanog jedinjenja se definiše pomoću tzv. faktora zadržavanja ili retardacionog faktora, R_F , kojim se opisuje položaj hromatografske mrlje. Odnosno, R_F vrednost predstavlja odnos pređenog rastojanja ispitivane supstance (l_r) i rastojanja fronta rastvarača (l_f) od starta, jednačina (2):

$$R_F = \frac{l_r}{l_f} \quad (2)$$

Pored R_F vrednosti često se definiše i tzv. R_M vrednost. Odnosno, na osnovu eksperimentalno određenih R_F vrednosti se računaju R_M vrednosti primenom jednačine⁸⁹:

$$R_M = \log\left(\frac{1}{R_F} - 1\right) \quad (3)$$

Odnos između R_M vrednosti i zapreminskog udela organskog rastvarača (φ) predstavljen je jednačinom⁹⁰:

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

gde je

φ - zapreminski udeo organskog rastvarača u pokretnoj fazi

R_M^0 – vrednost odsečak prave,

S – nagib prave

Odsečak prave, odnosno R_M^0 vrednost je dobijena ekstrapolacijom izračunate R_M vrednosti na 0 % udela organskog rastvarača, tj predstavlja retenciju u čistoj vodi. R_M^0 vrednost predstavlja hromatografsku retencionu konstantu, koja se vrlo često koristi kao merilo lipofilnosti jedinjenja. Međutim, ukoliko postoji linearna zavisnost između nagiba i odsečka prave u gore pomenutoj jednačini (4), vrednost nagiba se takođe može smatrati validnom merom lipofilnosti⁹¹.

U slučaju tečne hromatografije pod visokim pritiskom zadržavanje, odnosno retencija ispitivanog jedinjenja je zasnovana na izokratskim merenjima, izražava se retencionim faktorom k , koji je jednak:

$$k = \frac{t_r - t_0}{t_0} \quad (5)$$

gde je t_r retenciono vreme ispitivanog jedinjenja, a t_0 tzv. mrtvo vreme, odnosno retenciono vreme pokretne faze (retenciono vreme prvog pika na hromatogramu).

Retencija, odnosno zadržavanje ispitivanih jedinjenja izražena je kao logaritam retencionog faktora⁹², $\log k$, što je definisano jednačinom (6):

$$\log k = \log\left(\frac{t_r - t_0}{t_0}\right) \quad (6)$$

Vrednost logaritma retencionog faktora ($\log k$) se menja sa promenom zapreminskog udela organskog rastvarača u pokretnoj fazi, pri čemu se dobijena zavisnost može prikazati jednačinom (7):

$$\log k = \log k_w + S\varphi \quad (7)$$

gde φ predstavlja udeo organskog rastvarača u pokretnoj fazi, $\log k_w$ predstavlja odsečak prave, a S nagib prave.

Osnovne prednosti ovih metoda u odnosu na tradicionalni način određivanja lipofilnosti jeste dužina trajanja eksperimenta, reproduktivnost, neosetljivost na prisustvo nečistoća i degradacionih proizvoda koji nastaju tokom hromatografskog procesa, manje količine ispitivanih jedinjenja potrebne za analizu, kao i jednostavnija priprema ispitivanih jedinjenja za samu analizu.

2.4. Hemometrijska analiza

Hemometrija je multidisciplinarna naučna oblast koja primenjuje matematičke, informatičke, statističke i logičke metode za obradu podataka i prevazilaženje eksperimentalnih problema u prirodnim naukama. Na samom početku razvoja hemometrija se uglavnom primenjivala u oblasti analitičke hemije za izbor i optimizaciju analitičkih metoda. Međutim, hemometrijska analiza se pokazala veoma pogodnom za obradu velikog broja podataka i izdvajanje najbitnijih informacija iz njih, te se danas uspešno primenjuje u mnogim naučnim oblastima, kao što su organska hemija, biohemija, biotehnologija, biologija, molekularna biologija, forenzička hemija, itd⁹³⁻⁹⁵. Jedna od najznačajnijih oblasti primene hemometrije je predviđanje svojstava jedinjenja ili klasifikacija na osnovu podataka o molekularnoj strukturi i fizičko-hemijskim svojstvima nekog jedinjenja^{96,97}.

Multivarijantne tehnike koje se najčešće primenjuju u hemometrijskoj analizi su klaster analiza (engl. *Cluster analysis*, CA) i analiza glavnih komponenti (engl. *Principal component analysis*, PCA). Obe pomenute tehnike se primenjuju za uočavanje sličnosti ili razlika između ispitivanih jedinjenja i njihovo grupisanje⁹⁸.

2.4.1. Klaster analiza

Klaster analiza (engl. *Cluster analysis*, CA) predstavlja multivarijantnu tehniku čiji je osnovni zadatak grupisanje objekata (ispitanika, proizvoda ili drugih objekata) na osnovu njihovih karakteristika. Cilj klaster analize jeste adekvatno grupisanje pri čemu je sličnost među objektima unutar svake grupe maksimalna, a sličnost između grupa minimalna. U klaster analizi pre izvođenja samog postupka analize nije poznat ni broj grupa, kao ni karakteristike samih grupa. Grupe koje nastaju prilikom primene klaster analize nazivaju se klasteri (engl. *cluster*). Ukoliko se primenom klaster analize dobije neočekivano grupisanje objekata, postoji mogućnost da su identifikovane relacije između posmatranih objekata koje su do tad bile nepoznate i koje treba istražiti. Klaster analiza ima značajnu primenu u različitim oblastima, kao što su: biologija, hemija, medicina, psihologija, sociologija, inženjerstvo, ekonomija, marketing, statistika, itd.

Primenom klaster analize najčešće se želi sprovesti grupisanje objekata u izvestan manji broj grupa. Prema tome, slično analizi glavnih komponenti i klaster analiza se može primeniti za redukciju analiziranih podataka. Za razliku od PCA analize, kod CA analize redukcija podataka se sprovodi u odnosu na broj objekata, a ne u odnosu na broj promenljivih.

Postupak klaster analize se sastoji iz dva osnovna koraka, izbora odgovarajuće mere sličnosti i izbora algoritma klasterovanja. Mere sličnosti koje se najčešće koriste u klaster analizi su mere udaljenosti. Postoji nekoliko mera udaljenosti koje se primenjuju, pri čemu upotreba različitih mera udaljenosti rezultuje različitim rezultatima analize. Najčešće korišćena mera sličnosti jeste Euklidska udaljenost. Za rešavanje problema klasterovanja razvijene su različite metode, međutim najzastupljenije i najčešće korišćene metode jesu nehijerarhijske i hijerarhijske metode klasterovanja. Hijerarhijske metode se u osnovi sastoje iz procesa u kom se spajaju objekti u grupe, a u narednom koraku se spajaju objekti i predhodno formirane grupe, tako da se jednom formirane grupe samo proširuju novim objektima, bez mogućnosti prelaska objekata iz jedne grupe u drugu. Za razliku od hijerarhijskih metoda, nehijerarhijske metode dozvoljavaju mogućnost premeštanja objekata iz ranije formiranih grupa. Kod nehijerarhijskih metoda se pretpostavlja da je broj grupa unapred poznat. Sam postupak nehijerarhijskog grupisanja započinje inicijalnom podelom skupa objekata u izabrani broj grupa, potom se odredi odstojanje između svakog objekta i svake grupe i zatim se objekti između grupa premeštaju sve dok izabrana funkcija kriterijuma grupisanja to sugeriše^{96,98,99}.

Hijerarhijska klaster analiza

Hijerarhijska klaster analiza (engl. *Hierarchical cluster analysis, HCA*) je hemometrijska metoda koja se koristi za grupisanje sličnih objekata u klaster. Grupisanje objekata primenom HCA može se sprovesti na dva načina, primenom algomerativne metode ili divizione metode. Algomerativni metod polazi od pojedinačnih objekata, odnosno u prvom koraku svaki objekat čini jedan klaster, nakon čega se bliski objekti postepeno spajaju u jedan klaster. Metode koje spadaju u ovu grupu zajednički se nazivaju hijerarhijske metode udruživanja. Divizioni hijerarhijski metod funkcioniše obrnuto, odnosno od jednog klastera gde se nalaze svi objekti se formiraju dva nova klastera, a od njih sledeća dva, itd., sve dok se ne formira onoliko klastera koliko ima pojedinačnih objekata. Ove metode se zajednički nazivaju hijerarhijske metode deobe^{99,100}.

U okviru aglomerativne HCA analize postoje različite metode izračunavanja rastojanja, odnosno udaljenosti između klastera. U najpoznatije metode ubrajaju se sledeće:

1. metoda pojedinačnog povezivanja (engl. *single linkage clustering*) se zasniva na povezivanju dva objekta u dva različita klastera koja imaju najmanju međusobnu udaljenost (najveću sličnost), pri čemu ta dva objekta formiraju klaster. Nakon toga, posmatra se udaljenost između klastera i najbliži se spajaju. Proces se nastavlja sve dok se svi objekti ne nađu u jednom klasteru,
2. metoda potpunog povezivanja (engl. *complet linkage clustering*) je veoma slična metodi jednostrukog povezivanja i predstavljena je kao maksimalna udaljenost između svih objekata u dva različita klastera. Primenom ove metode povezuju se objekti koji imaju maksimalnu međusobnu udaljenost, odnosno objekti sa minimalnom sličnošću,
3. metoda prosečnog povezivanja (engl. *avrage linkage clustering*) definiše udaljenost između dva klastera kao prosek udaljenosti između svih parova koje se mogu definisati između dva objekta. Prednost ove metode u odnosu na prethodne dve je u tome što uzima u obzir sve parametre klastera,
4. metoda centroidna (engl. *Centroid clustering methods*) definiše udaljenost između dva klastera kao udaljenost između aritmetičkih sredina dva klastera, odnosno njihovih centroida¹⁰¹,
5. Vardova metoda (engl. *Wards clustering methods*), kod ove metode se za svaki klaster računa aritmetička sredina svake promenljive (varijable). Zatim se za svaki

objekat računa kvadratna Euklidska udaljenost do aritmetičke sredine klastera i svi objekti čija je ukupna (zajednička) suma ovih odstupanja minimalna spajaju se u klaster. U ovoj metodi udaljenost između dva klastera predstavlja sumu kvadrata između svih promenljivih koje su grupisane u dva klastera. Vardova metoda spada u jednu od najčešće primenjivanih metoda u naučnim istraživanjima¹⁰².

Rezultati algomerativne HCA analize se grafički predstavljaju u obliku dvodimenzionalnog hijerahijskog dijagrama, nalik stablu, poznat pod nazivom dendrogram. Vertikalna skala (rastojanje) na dendrogramu definiše sličnosti, odnosno razlike između analiziranih podataka, odnosno što je vertikalno rastojanje manje analizirani objekti su sličniji i obrnuto.

2.4.2. Analiza glavnih komponenti

Analiza glavnih komponenti (engl. *Principal component analysis*, PCA) predstavlja jednu od najjednostavnijih, najpopularnijih i najčešće primenjivanih multivarijantnih hemometrijskih tehnika. PCA analiza je tehnika koja se primenjuje za analizu skupa velikog broja podataka u slučaju kada ti podaci sadrže suvišne informacije⁹⁵. Cilj primene PCA analize jeste smanjenje broja podataka. Na taj način se analiza pojednostavljuje, veliki broj podataka se smanjuje na mnogo manji broj, pri čemu se zadržavaju skoro sve informacije sadržane u prvobitnom skupu podataka.

Primenom PCA analize originalne promenljive se transformišu u nove međusobno nezavisne promenljive koje se nazivaju glavne komponente (engl. *principal components*, PC). Svaka glavna komponenta (PC1, PC2,...PC_n) predstavlja linearnu kombinaciju originalnih promenljivih (X_1, X_2, \dots, X_n). Na primer prva i druga glavna komponenta se mogu izračunati na sledeći način:

$$PC1 = a_{11}X_1 + a_{12}X_2 + \dots + a_{1n}X_n \quad (8)$$

$$PC2 = a_{21}X_1 + a_{22}X_2 + \dots + a_{2n}X_n \quad (9)$$

gde $a_{11}-a_{1n}$ i $a_{21}-a_{2n}$ predstavljaju koeficijente glavnih komponenti

U toku analize se dobija onoliko glavnih komponenti koliko je promenljivih (n) bilo u skupu podataka. Prva glavna komponenta (PC1) opisuje najveći deo promenljivih originalnog skupa podataka. Druga glavna komponenta (PC2) opisuje maksimum

preostalih promjenljivih, a naredne komponente se formiraju tako da opisuju onaj deo promjenljivih koji nije opisan prethodno izdvojenim glavnim komponentama¹⁰³.

Treba napomenuti da se primenom PCA analize ne postiže uvek smanjenje velikog broja originalnih promjenljivih. Ukoliko originalne promjenljive nisu u međusobnoj korelaciji PCA analiza neće dati dobar rezultat. Najbolji rezultat se postiže kada su originalne promjenljive u visokoj korelaciji bilo pozitivnoj ili negativnoj⁹⁸.

Nakon dobijanja glavnih komponenti sprovodi se njihova redukcija i svode se na manji broj. Najveća količina promjenljivih sadržana je u prvih nekoliko glavnih komponenti i po pravilu, broj glavnih komponenti koji se uzima za dalju obradu bi trebao da opisuje što veći procenat ukupne varijanse, najmanje 80%¹⁰⁴.

Rezultati PCA analize se prikazuju pomoću grafika skorova (*score plot*) i grafika koeficijenata latentnih promjenljivih (*loading plot*). Grafik latentnih promjenljivih pokazuje koliko svaka promjenljiva doprinosi rasporedu objekata duž PC ose.

2.5. Kvantitativna veza između strukture i svojstva molekula

Opšte je poznato da struktura molekula u velikoj meri utiče na fizička svojstva jedinjenja, kao što su: boja, miris, rastvorljivost, gustina, tačka topljenja, električna provodljivost, itd. Osim fizičkih svojstava, vremenom je otkriveno da hemijska reaktivnost, kao i biološka aktivnost takođe zavise od molekulske strukture^{105,106}. Ukoliko se struktura molekula posmatra kao nezavisno promenljiva, fizička svojstva, hemijska reaktivnost i biološka aktivnost se mogu posmatrati kao zavisno promenljive. Prema tome, veliki broj naučnih istraživanja je doprineo razvoju, boljem razumevanju i definisanju veze između strukture i karakteristika molekula¹⁰⁷⁻¹⁰⁹. U zavisnosti od karakteristika molekula, razlikuju se tri pristupa:

- QSAR (Quantitative Structure - Activity Relationships) – opisuje kvantitativnu vezu između strukture i aktivnosti jedinjenja,
- QSRR (Quantitative Structure - Retention Relationships) – definiše kvantitativnu vezu između strukture i retencije jedinjenja,
- QSPR (Quantitative Structure - Property Relationships) – definiše kvantitativnu vezu između strukture i fizičko-hemijskih svojstava jedinjenja.

2.5.1. Kvantitativna veza između strukture i retencije jedinjenja, QSRR

Razvoju QSRR pristupa, kao i veoma značajnu ulogu QSRR modela doprinela su naučna istraživanja skraja devedestih godina, čiji je predvodnik bio Kalisan (Kaliszan)^{110,111}. QSRR analiza predstavlja kvantitativnu vezu koja opisuje odnos između hromatografskog ponašanja ispitivanih jedinjenja i njihove molekulske strukture. U sklopu QSRR istraživanja koriste se hromatografski retencioni podaci^{85,86}.

Za bliže definisanje kvantitativnih odnosa između strukture i retencije, QSRR, neophodne su dve vrste ulaznih podataka:

- set kvantitativno uporedivih retencionih podataka za dovoljno veliku grupu jedinjenja, koji predstavljaju zavisno promenljive podatke,
- set različitih parametara koji opisuju strukturne karakteristike ispitivanih jedinjenja i koji predstavljaju nezavisno promenljive podatke¹¹².

Primenom kompjuterskih tehnika ovi ulazni podaci se koriste za dobijanje QSRR modela. Za dobijanje adekvatnog QSRR modela neophodno je da ulazni set podataka bude relevantan, odnosno potreban je odgovarajući odabir molekula i njihovih molekulskih deskriptora, kao i da je model statistički značajan. Za linearnu zavisnost između retencionih podataka i molekulskih deskriptora primenom QSRR analize, preporučuje se da su ispitivana jedinjenja strukturno slična, u suprotnom linearna zavisnost se teško postiže¹¹³. Ukoliko se QSRR analiza primenjuje na jedinjenja koja su strukturno različita, za dobijanje odgovarajućih rezultata (modela), nepohodno je početni set podataka podeliti u grupe koje sadrže jedinjenja sa strukturno sličnim fragmentima¹¹⁴.

Pored adekvatnog ulaznog seta podataka, za formiranje statistički značajnih modela neophodno je odabrati odgovarajuće statističke tehnike. Za QSRR ispitivanja koriste se klasifikacione i regresione hemometrijske tehnike. Klasifikacione tehnike se koriste za uočavanje sličnosti ili razlika između ispitivanih jedinjenja i njihovo grupisanje. Dok regresione tehnike služe za analizu povezanosti između zavisno i nezavisno promenljivih, omogućavaju definisanje regresionih koeficijenata, kao i statističku evaluaciju pretpostavljenog regresionog modela. Najčešće statističke tehnike koje se koriste u QSRR studijama su: višestruka linearna regresija (engl. Multiple Linear Regression, MLR), analiza glavnih komponenti (engl. Principal Component Analysis, PCA), hijerarhijska klaster analiza (Hierarchical Cluster Analysis, HCA), parcijalna regresija najmanjih kvadrata (Partial Least Square, PLS), veštačke neuronske mreže (Artificial Neural Networks, ANN)¹¹⁵.

Statistički značajan QSRR model se može koristiti za predviđanje retencionog ponašanja, srodnih, novih, još nesintetisanih jedinjenja¹¹⁶, za identifikaciju najznačajnijih molekulskih deskriptora, za objašnjenje mehanizma razdvajanja u primenjenom hromatografskom sistemu¹¹⁷, za određivanje složenih fizičko-hemijskih svojstava jedinjenja¹¹⁸, kao i za procenu relativne biološke aktivnosti¹¹⁹.

2.5.2. Molekulski deskriptori

Da bi na adekvatan način definisali kvantitativnu vezu između retencije i strukture molekula koriste se različiti molekulski deskriptori. Molekulski deskriptori su brojevi koji na odgovarajući način definišu strukturu molekula¹²⁰. Molekulski deskriptori predstavljaju krajnji rezultat matematičke i logičke procedure, kojom se hemijska informacija sadržana u molekulu prevodi u numeričku vrednost koja simbolično predstavlja određenu karakteristiku molekula¹²¹.

Broj deskriptora koji se može izračunati za neko jedinjenje je praktično neograničen. U literaturi su opisane hiljade deskriptora, od jednostavnih koji daju broj veza ili broj atoma u molekulu, do složenih koji u obzir uzimaju trodimenzionalnu strukturu¹²². Za izračunavanje molekulskih deskriptora danas postoji veliki broj različitih softvera i moguće je izračunati preko 4000 molekulskih deskriptora, što potvrđuje njihov naučni značaj i veliku primenu¹²¹. Čak i najjednostavniji softverski paketi za crtanje hemijskih struktura molekula imaju opciju izračunavanja nekih jednostavnih molekulskih deskriptora.

Postoji nekoliko načina na osnovu kojih se molekulski deskriptori mogu klasifikovati. Jedna od najjednostavnijih podela je na osnovu načina dobijanja deskriptora, odnosno na **eksperimentalne i teorijske**.

Eksperimentalni molekulski deskriptori predstavljaju rezultat eksperimentalno izmerenih vrednosti i najčešće se odnose na fizičko-hemijska svojstva molekula, dok su **teorijski** deskriptori izračunati primenom različitih kompjuterskih programa i međusobno se mogu razlikovati prema načinu predstavljanja molekula. Osnovna razlika između eksperimentalnih i teorijskih molekulskih deskriptora je ta što teorijski deskriptori ne sadrže statističku grešku koja nastaje usled eksperimentalnog merenja¹²³.

Molekulski deskriptori, koji pripadaju grupi teorijskih deskriptora, u zavisnosti od složenosti i vrste primenjenog algoritma za njihovo izračunavanje mogu se podeliti na **bezdimezionalne (0D)**, **jednodimezionalne (1D)**, **dvodimezionalne (2D)**, **trodimenzionalne (3D)** i **četvorodimezionalne (4D)** molekulske deskriptore.

- **bezdimenzionalni deskriptori (0D)** – su najjednostavniji, bezdimenzionalni deskriptori koji se dobijaju na osnovu molekulske formule. **0D** molekularni deskriptori daju smo informacije o vrsti i broju atoma, ali ne i o samoj strukturi molekula. Ovoj grupi molekularnih deskriptora pripadaju molekularna masa, ukupan broj atoma u molekulu, broj atoma jednog elementa u molekulu, broj prstenova, broj atoma u prstenu, broj jednostrukih, dvostrukih, trostrukih veza, itd.
- **jednodimenzionalni deskriptori (1D)** – se odnose na funkcionalne grupe i fragmente koji su značajni za molekul. **1D** molekularni deskriptori daju informacije o broju određenih fragmenata i fizičko-hemijskim svojstvima molekula, kao i **0D** molekularni deskriptori, ni **1D** deskriptori ne sadrže informacije o molekularnoj strukturi. Ovoj grupi deskriptora pripada broj primarnih, sekundarnih, tercijarnih C-atoma, broj supstituisanih C-atoma, itd¹²¹.
- **dvodimenzionalni deskriptori (2D)** – se odnose na fleksibilnost, veličinu, lipofilnosti molekula, itd. **2D** deskriptori obuhvataju informacije o načinu povezivanja atoma u molekulu, kao i informacije o prirodi hemijskih veza između atoma, nezavisno od drugih parametara, kao što su rastojanje između jezgara, ugao veze i uvijanje ugla veze. Ovakvo predstavljanje molekulske formule zasniva se na teoriji molekularnih grafova, pri čemu se deskriptori dobijeni na ovaj način nazivaju još i topološki deskriptori.
- **trodimenzionalni deskriptori (3D)** – odnosno topografski deskriptori daju informacije o prostornoj orijentaciji i konformaciji molekula. Često se nazivaju još i prostorni deskriptori (npr. molekularna površina, molekularna zapremina, moment inercije, itd)¹²⁴. Ovoj grupi pripadaju različiti tipovi 3D deskriptora, kao na primer elektronski, sterni, itd.
- **čtetvorodimenzionalni deskriptori (4D)** – odnosno energetske deskriptori opisuju molekul u trodimenzionalnom prostoru, kao i interakcije sa atomima koji ga okružuju. Kao rezultat se dobija vektorsko polje energetskih interakcija datog molekula i okruženja¹²⁵.

Prednost **0D** i **1D** deskriptora je njihovo lako izračunavanje i tumačenje, jer ne obuhvataju konformacionu problematiku, a nedostatak ovih deskriptora je što nose mali sadržaj informacija i veliki broj različitih informacija mogu imati iste vrednosti ovih deskriptora. Iako **3D** i **4D** deskriptori nose više informacija u odnosu na jednostavne deskriptore, njihov nedostatak je što previše informacija često ima za posledicu dobijanje nereproduktivnih modela. Na osnovu čega se može zaključiti da najboji mogući deskriptori ne postoje.

Uopšteno govoreći, molekularni deskriptori mogu biti više ili manje korisni, jednostavni ili primenljivi, ali svaki dobar molekularni deskriptor treba da poseduje i druge važne karakteristike. Da bi se molekularni deskriptor primenjivao u QSAR/QSRR modelima potrebno je da omogućava strukturalno tumačenje, pokazuje dobru korelaciju sa najmanje jednim svojstvom molekula, ukoliko je moguće, pravi razliku među izomerima, da je primenljiv na delove strukture, da je nezavisan i jednostavan, da nije u korelaciji sa drugim deskriptorima, da se lako izračunava, da može da se primeni na strukturalno slične molekule i da se postepeno menja sa postepenim promenama u strukturi, da ne uključuje eksperimentalne podatke¹²⁶.

Prema prirodi informacije koju nose molekularni deskriptori se mogu podeliti na **fizičko-hemijske, topološke, talasno-mehaničke i biološke**.

Fizičko-hemijski deskriptori se odnose na sva fizičko-hemijska svojstva molekula. Fizičko-hemijski deskriptori karakterišu svojstva celog molekula jednom vrednošću (npr. lipofilnost ($\log P$), rastvorljivost, temperatura topljenja, zapremina molekula i dr). Od svih deskriptora najčešće se koristi $\log P$, deskriptor lipofilnosti molekula izražen kao logaritam podeonog koeficijenta P za sistem 1-oktanol-voda¹²⁷.

Topološki deskriptori su dvodimenzionalni deskriptori koji se dobijaju na osnovu molekularnih grafova i nose informacije o vrsti atoma i načinu njihovog povezivanja. Ovi deskriptori omogućavaju jednostavno određivanje veličine i oblika molekula, cikličnost, kao i određivanje račvanja u strukturi¹²⁸⁻¹³². Danas postoji veliki broj kompjuterskih programa za jednostavno i brzo izračunavanje topoloških deskriptora, što omogućava njihovu široku primenu u QSRR modelima.

Talasno-mehanički deskriptori, odnosno elektronski deskriptori sadrže informacije o raspodeli elektrona u molekularnim orbitalama, kao i energiji koja pripada određenoj raspodeli elektrona. Ovi molekularni deskriptori se najčešće primenjuju kod aromatičnih i

konjugovanih sistema. Primeri molekulskih deskriptora iz ove grupe su: gustina atomskog naelektrisanja, dipolni moment, energija najviših zauzetih orbitala, HOMO (engl. *Highest Occupied Molecular Orbitals*), energija najnižih slobodnih orbitala, LUMO (engl. *Lowest Unoccpied Molecular Orbitals*), itd¹²¹. Glavni nedostatak talasno-mehaničkih deskriptora jeste dugotrajan proces izračunavanja, kao i činjenica da je tumačenje i razumevanje ovih deskriptora često kompleksno.

Biološki ili ADMET deskriptori sadrže informacije o biološkim svojstvima molekula, koja su vezana za absorpciju, distribuciju, metabolizam, eliminaciju (izlučivanje) i toksičnost. Primeri deskriptora koji pripadaju ovoj grupi su: deskriptor absorpcije u gastrointestinalnom traktu, HIA % (engl. *Human Intestinal Absorption*)¹³³, deskriptor prolaska kroz krvno-moždanu barijeru, BBB (engl. *Blood Brain Barrier*)¹³⁴⁻¹³⁶, deskriptor vezivanja za proteine krvne plazme, PPB % (engl. *Plasma Protein Binding*)¹³⁷, deskriptori inhibicije ili aktivacije određenih enzima, deskriptori toksikoloških svojstava molekula¹³⁸, itd.

2.6. Linearni odnos energije solvatacije

Linearni odnos energije solvatacije (engl. Linear Solvation Energy Relationship, LSER) je model koji uzima u obzir različite interakcije (dipolarne, polarizabilne, vodonične veza) koje doprinose ukupnoj vrednosti neke fizičke veličine (npr. retencioni parametar u hromatografskim sistemima, pomeranje apsorpcionih maksimuma u spektroskopiji...).

Ovakav pristup je veoma značajan jer pomoću parametara koji opisuju interakcije u datom sistemu omogućava se prepoznavanje dominantnih interakcija, definisanje sposobnosti okruženja da intereaguje sa nekim jedinjenjem, kao i procenu parametara samog jedinjenja. Pored toga, LSER pristup omogućava i procenu interakcija koje su odgovorne za različite fizičko-hemijske procese. Zbog toga je od izuzetne važnosti imati uvid u interakcije koje su dominantne u datom sistemu.

Radi lakšeg i boljeg razumevanja različitih interakcija koje se dešavaju u datom sistemu najčešće se primenjuje jednačina koju je predložio Abraham i data je sledećim izrazom (10)^{139,140}.

$$SP = I + eE + sS + aA + bB + vV \quad (10)$$

U ovoj jednačini, SP predstavlja određeno svojstvo jedinjenja koje se, na primer, odnosi na njegovu raspodelu između dve faze. Parametri koji su zavisni od tipa/vrste jedinjenja su E , S , A , B i V (velika slova) i odnose se na: E je višak polarizabilnosti (u odnosu na n -alkan iste molarne zapremine), S opisuje dipolarnost jedinjenja, A opisuje sposobnost jedinjenja da bude donor protona pri uspostavljanju vodonične veze, B opisuje sposobnost jedinjenja da bude akceptor protona pri uspostavljanju vodonične veze i V odgovara molarnoj zapremini jedinjenja, a I je konstanta koja zavisi od svojstva sistema¹⁴¹⁻¹⁴⁵.

Koeficijenti u Abrahamovoj jednačini označeni malim slovima, e , s , a , b , i v , predstavljaju doprinose sistema: e predstavlja sposobnost sistema da interaguje sa jedinjenjem preko elektronskog para, s definiše dipolarnost, a i b opisuju donorsko-akceptorska svojstva pri uspostavljanju vodonične veze, dok v opisuje relativnu sposobnost formiranja šupljine u nepokretnoj i pokretnoj fazi. Odnosno, parametar v predstavlja uticaj zapremine samog molekula.

LSER model predložen od strane Abrahama se primenjuje u modelovanju particionih procesa¹⁴⁶⁻¹⁴⁸. Iako LSER model nije baš uvek najbolji izbor prilikom određivanja hromatografskih parametara, prednost LSER modela je u tome što pruža uvid u osnovne interakcije koje utiču na vrednost hromatografskih parametara.

3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1. Ispitivana jedinjenja

U ovom radu ispitivano je retenciono ponašanje 3-(4-supstituisani benzil)cikloalkanspiro-5-hidantoina. Ispitivana jedinjenja su sintetisana na Katedri za organsku hemiju Tehnološko-metalurškog fakulteta u Beogradu¹⁴⁹. Ispitivana jedinjenja su sintetisana prema modifikovanoj metodi koju su objavili Suzuki (*Suzuki*) i saradnici¹⁵⁰. Strukture ispitivanih jedinjenja date su u **tabeli 2**. Ispitivani derivati cikloalkanspiro-5-hidantoina se mogu svrstati u tri serije i to su: serija 1: 3-(4-supstituisani benzil)ciklopentanspiro-5-hidantoini, serija 2: 3-(4-supstituisani benzil)cikloheksanspiro-5-hidantoini i serija 3: 3-(4-supstituisani benzil)cikloheptanspiro-5-hidantoini. U okviru svake serije, jedinjenja se međusobno razlikuju prema supstituentu *R* (H, CH₃, OCH₃, Cl, Br, CN i NO₂) koji je u *para* položaju vezan za benzil-grupu u položaju 3 hidantoinskog prstena.

Tabela 2. Strukture ispitivanih 3-(4-supstituisani benzil)cikloalkanspiro-5-hidantoina.

serija I			serija II			serija III		
ciklopentanspiro-5-hidantoini			cikloheksanspiro-5-hidantoini			cikloheptanspiro-5-hidantoini		
Broj jedinjenja	n	R	Broj jedinjenja	n	R	Broj jedinjenja	n	R
I.1	3	H	II.1	4	H	III.1	5	H
I.2	3	CH ₃	II.2	4	CH ₃	III.2	5	CH ₃
I.3	3	OCH ₃	II.3	4	OCH ₃	III.3	5	OCH ₃
I.4	3	Cl	II.4	4	Cl	III.4	5	Cl
I.5	3	Br	II.5	4	Br	III.5	5	Br
I.6	3	CN	II.6	4	CN	III.6	5	CN
I.7	3	NO ₂	II.7	4	NO ₂	III.7	5	NO ₂

3.2. Hromatografska analiza

Retenciono ponašanje tri serije novosintetisanih derivata spirohidantoina ispitivano je primenom hromatografije na tankom sloju (TLC) i tečne hromatografije pod visokim pritiskom (HPLC).

3.2.1. Hromatografija na tankom sloju

U hromatografiji na tankom sloju kao *nepokretna faza* korišćene su gotove ploče, dimenzija 10x10 cm, modifikovanog silika gela RP-18 i fluorescentnim indikatorom (silica gel 60 RP-18 F_{254s}, HPTLC, Merck, Germany), a kao *pokretne faze* korišćene su dvokomponentne smeše vode i organskog rastvarača u različitim zapreminskim udelima. Pokretne faze su sadržale jedan od sledećih organskih rastvarača: etanol (Sigma-Aldrich), *n*-propanol (Sigma-Aldrich), *i*-propanol (Lachema), *t*-butanol (Sigma-Aldrich), acetonitril (J. T. Backer), aceton (Zorka-Pharma), tetrahidrofuran (THF) (Zorka-Pharma) ili 1,4-dioksan (Sigma-Aldrich). Svi upotrebljeni organski rastvarači u pokretnoj fazi bili su analitičke čistoće.

Zapreminski udeli organskih rastvarača u primenjenim pokretnim fazama varirani su u sledećem opsegu:

1. $\varphi_{(\text{etanol})} = 50\text{--}70\%$ v/v, sa priraštajem od 2–5%,
2. $\varphi_{(\text{n-propanol})} = 50\text{--}74\%$ v/v, sa priraštajem od 4–10%,
3. $\varphi_{(\text{i-propanol})} = 50\text{--}70\%$ v/v, sa priraštajem od 4–6%,
4. $\varphi_{(\text{t-butanol})} = 50\text{--}70\%$ v/v, sa priraštajem od 4–6%,
5. $\varphi_{(\text{acetonitril})} = 50\text{--}70\%$ v/v, sa priraštajem od 4–6%,
6. $\varphi_{(\text{aceton})} = 50\text{--}80\%$ v/v, sa priraštajem od 4–6%,
7. $\varphi_{(\text{THF})} = 40\text{--}70\%$ v/v, sa priraštajem od 4–6%,
8. $\varphi_{(\text{1,4-dioksan})} = 50\text{--}74\%$ v/v, sa priraštajem od 4–10%.

Pripremljeni su *rastvori ispitivanih jedinjenja* u etanolu. Sadržaj ispitivanih jedinjenja u rastvoru je bio 1 mg/cm³. Na nepokretnu fazu pomoću kapilare naneto je oko 2 μ l pripremljenog rastvora, na rastojanju od 5 mm od ivice ploče. Hromatogrami su razvijani jednodimenzionalnom uzlaznom tehnikom, bez prethodnog zasićenja atmosfere

hromatografske kade (CAMAG, Switzerland) parama rastvarača na sobnoj temperaturi (22 ± 2 °C). Nakon što je rastvarač prešao put od $\approx 4,5$ cm, hromatografski proces je prekinut, a ploče izvađene iz kade u kojoj su razvijane. Nakon razvijanja, na ploči je označena visina fronta pokretne faze, a zatim su hromatogrami sušeni na vazduhu. Ispitivana jedinjenja su detektovana pomoću UV lampe (CAMAG, Switzerland), na UV svetlosti talasne dužine 245 nm, pri čemu su se na fluorescentnoj osnovi javile tamne mrlje.

Nakon identifikacije, za svako ispitivano jedinjenje izmeren je pređeni put od starta, kao i put koji je prešao front pokretne faze. Nakon izmerenih rastojanja, za svako ispitivano jedinjenje izračunate su R_F vrednosti prema jednačini (2). Na osnovu izračunatih R_F vrednosti zatim su izračunate R_M vrednosti primenom jednačine (3). Retencioni podaci, R_M vrednosti za sve pokretne faze dati su u Prilogu (**tabele P1-P8**).

3.2.2. Tečna hromatografija pod visokim pritiskom

Kao *nepokretna faza* korišćena je C-18 kolona Poroshell 120 (Santa Clara, California, USA) (prečnik kolone je 3 mm, dužina kolone je 10 mm) sa veličinom čestica od 2,7 μm . Kolona je termostatisirana na temperaturi 40°C. Injekciona zapremina ispitivanih jedinjenja bila je 5 μl , a jedinjenja su detektovana pomoću DAD detektora na $210 \text{ nm} \pm 4 \text{ nm}$. Kao *pokretna faza* korišćena je smeša vode i acetonitrila (J. T. Backer) visokog stepena čistoće, HPLC kvaliteta. Zapremiski udeo acetonitrila u pokretnoj fazi se kretao u opsegu od 60 % do 80 % v/v, sa priraštajem od 5 %. Protok pokretne faze iznosio je 0,8 ml/min.

Za analizu hromatografijom pod visokim pritiskom *rastvori ispitivanih jedinjenja* pripremljeni su tako što je odmeren 1 mg ispitivanog jedinjenja i rastvoren u 1 cm^3 acetonitrila. Rastvori su zatim filtrirani kroz LLG Syringe PTFE filter (prečnik 25 mm, veličina pora 0,45 μm) (LLG Labware, Meckenheim, Germany). Korišćen je HPLC sistem serije Agilent Technologies 1100 (Santa Clara, California, USA) sa DAD detektorom i Agilent ChemStation softverom za obradu podataka, opremljen pumpom, degazerom i automatskim injektorom.

Sa hromatograma je očitano mrtvo retenciono vreme (t_0), odnosno prvi signal koji se pojavljuje na hromatogramu, kao i retenciona vremena ispitivanih jedinjenja (t_r). Na osnovu izmerenih retencionih vremena za svako ispitivano jedinjenje prema jednačini (5) izračunate su vrednosti retencionih faktora ispitivanih jedinjenja (k), odnosno logaritmi retencionih faktora ($\log k$) na osnovu jednačine (6). Retencioni podaci, odnosno $\log k$ vrednosti date su u Prilogu (**tabele P9**).

3.3. Kompjuterska izračunavanja

3.3.1. Geometrijska optimizacija molekulske strukture ispitivanih jedinjenja i izračunavanje molekulskih deskriptora

Primenom ChemDraw Ultra 7.0 programa¹⁵¹ nacrtane su 2D molekulske strukturne formule ispitivanih jedinjenja. Zatim su 2D molekulske strukture optimizovane pomoću Chem.3D.Ultra 7.0 programa, tako što su 2D strukture prevedene u 3D konformacione formule, i pomoću molekulske-mehaničke MM+ metode zasnovane na MM2 algoritmu određena je 3D konformacija sa minimalnom energijom.

3D formule sa minimalizovanom energijom korišćene su za izračunavanje molekulskih deskriptora kompjuterskim programom *Dragon 5.5*¹⁵². Izračunato je ukupno preko 2700 molekulskih deskriptora, od kojih je u radu korišćeno 40. Molekulski deskriptori korišćeni u radu izračunati kompjuterskim programom *Dragon 5.5* dati su u **tabeli 3**.

Tabela 3. Molekulski deskriptori korišćeni u radu izračunati programom *Dragon 5.5*

Broj	Oznaka	Značenje molekulskih deskriptora
1	MW	molekulska masa, (engl. <i>molecular weight</i>)
2	Sv	zbir van der Vals-ovih zapremina atoma, (engl. <i>sum of atomic van der Waals volumes</i>)
3	Se	zbir atomskih Sanderson-ovih elektronegativnosti, (engl. <i>sum of atomic Sanderson electronegativities</i>)
4	Sp	zbir polarizabilnosti atoma, (engl. <i>sum of atomic polarizabilities</i>)
5	Si	zbir prvih jonizacionih potencijala, (engl. <i>sum of first ionization potentials</i>)
6	nAT	ukupan broj atoma, (engl. <i>number of atoms</i>)
7	nBT	ukupan broj veza, (engl. <i>number of bonds</i>)
8	RBN	broj rotirajućih veza, (engl. <i>number of rotatable bonds</i>)
9	nH	broj atoma vodonika, (engl. <i>number of Hydrogen atoms</i>)
10	nC	broj atoma ugljenika, (engl. <i>number of Carbon atoms</i>)
11	nN	broj atoma azota, (engl. <i>number of Nitrogen atoms</i>)
10	nO	broj atoma kiseonika, (engl. <i>number of Oxygen atoms</i>)
13	nCl	broj atoma hlora, (engl. <i>number of Chlorine atoms</i>)
14	nHet	broj heteroatoma, (engl. <i>number of heteroatoms</i>)
15	nX	broj atoma halogenih elemenata, (engl. <i>number of halogen atoms</i>)
16	ARR	aromatični odnos, (engl. <i>aromatic ratio</i>)
17	nHAcc	broj atoma koji su akceptori u vodoničnoj vezi, (engl. <i>number of acceptor atoms for H-bonds</i>)

Tabela 3. Nastavak

Broj	Oznaka	Značenje molekulskih deskriptora
18	nHDon	broj atoma koji su donori u vodoničnoj vezi, (engl. <i>number of donor atoms for H-bonds</i>)
19	Hy	hidrofilni faktor, (engl. <i>hydrophilic factor</i>)
20	AMR	molarna refrakcija, (engl. <i>Ghose-Crippen molar refractivity</i>)
21	TPSA(NO)	topološka polarna površina izražena preko polarnog doprinosa atoma N i O, (engl. <i>topological polar surface area using N,O polar contributions</i>),
22	TPSA(Tot)	topološka polarna površina izražena preko polarnog doprinosa atoma N, O, S i P, (engl. <i>topological polar surface area using using N, O, S, P polar contributions</i>)
23	MLOGP	Morigučijev podeoni koeficijent oktanol-voda, (engl. <i>Moriguchi octanol-water partition coeff. (logP)</i>)
24	MLOGP2	kvadrat Morigučijevog podeonog koeficijenta oktanol-voda, (engl. <i>squared Moriguchi octanol-water partition coeff. (logP^2)</i>)
25	ALOGP	podeoni koeficijent oktanol-voda, (engl. <i>Ghose-Crippen octanol-water partition coeff. (logP)</i>)
26	ALOGP2	kvadrat podeonog koeficijenta oktanol-voda, (engl. <i>squared Ghose-Crippen octanol-water partition coeff. (logP^2)</i>)
27	Vx	zapremina, (engl. <i>McGowan volume</i>)
28	VvdwMG	van der Vals-ova zapremina, (engl. <i>van der Waals volume from McGowan volume</i>)
29	VvdwZaz	van der Vals-ova zapremina izračunata na osnovu Zao-Abraham-Zisimosove jednačine, (engl. <i>van der Waals volume from Zhao-Abraham-Zissimos equation</i>)
30	PDI	indeks gustine pakovanja, (engl. <i>packing density index</i>)
31	RBF	udeo veza oko kojih je moguća slobodna rotacija, (engl. <i>rotatable bond fraction</i>)
32	ECC	ekcentričnost, (engl. <i>Eccentricity</i>)
33	DBI	indeks grananja, (engl. <i>Dragon branching index</i>)
34	SAtot	ukupna površina, (engl. <i>total surface area from P_VSA-like descriptors</i>)
35	SAacc	površina akceptorskih atoma, (engl. <i>surface area of acceptor atoms from P_VSA-like descriptors</i>)
36	Uc	broj nezasićenih veza, (engl. <i>unsaturation count</i>)
37	Ui	indeks nezasićenosti, (engl. <i>unsaturation index</i>)
38	Pol	broj koji ukazuje na polarnost molekula, (engl. <i>polarity number</i>)
39	IAC	ukupan indeks koji pruža informaciju o atomskom sastavu, (engl. <i>total information index on atomic composition</i>)
40	ISIZ	indeks koji pruža informaciju o veličini molekula, (engl. <i>information index on molecular size</i>)

Osim podeonih koeficijenta ALOGP, ALOGP2, MLOGP i MLOGP2 koji su izračunati pomoću softvera *Dragon 5.5*, korišćeni su i drugi programi za izračunavanje vrednosti podeonog koeficijenta, kao što su Molinspiration¹⁵³ (miLogP), ChemDraw Ultra 7.0¹⁵¹ (ClogP, logP_{Crippen}, logP_{Viswanadhan} i logP_{Brotto}) i ADMETlab¹⁵⁴ (log P).

Pomoću programa ADMETlab¹⁵⁴ online su izračunate i vrednosti za log *D* (logaritam distribucionog koeficijenta pri pH = 7,4) i log *S* (logaritam rastvorljivosti u vodi). Programom PreADMET¹⁵⁵ izračunate su vrednosti farmakokinetičkih parametra: afinitet vezivanja jedinjenja za proteine plazme (engl. *Plasma Protein Binding*, PBB%), raspodela kroz krvno-moždanu barijeru (engl. *Blood Brain Barrier*, BBB) i humana intestinalna (crevna) absorpcija (engl. *Human Intestinal Absorption*, HIA%).

Abrahamovi solvatohromni parametri (velika slova *A*, *B*, *S*, *E* i *V*) u jednačini (10) za referentna jedinjenja preuzeti su iz UCF-LSER baze podataka¹⁵⁶.

3.3.2. Obrada eksperimentalnih rezultata

Za obradu eksperimentalnih rezultata korišćen je program Microsoft Office Excel 2007. Primenom statističkog paketa *Data Analysis*, koji se takođe nalazi u okviru Microsoft Office Excel-a urađena je prosta linearna regresija (engl. *Simple linear regression*, SLR), dok je za višestruku linearnu regresiju (engl. *Multiple linear regression*, MLR) primenjen program Statistica v.14.0 (StatSoft (Europe), GmbH, Hamburg).

Primenom MLR analize dobijeni su regresioni modeli gde su kao zavisno promenljive bili primenjeni hromatografski parametri lipofilnosti, odnosno R_M^0 vrednosti izračunate za osam različitih pokretnih faza (etanol–voda, *n*-propanol–voda, *i*-propanol–voda, *t*-butanol–voda, acetonitril–voda, aceton–voda, 1,4-dioksan–voda i THF–voda) na RP-18 modifikovanom silika-gelu. Pored R_M^0 vrednosti, u MLR analizi kao zavisno promenljiva primenjen je i parametar lipofilnosti log k_w , koji je određen primenom HPLC-a u pokretnoj fazi acetonitril–voda na RP-18 modifikovanoj nepokretnoj fazi. Kao nezavisno promenljive primenjeni su molekulski deskriptori.

Za statističku analizu hromatografskih podataka primenjena je hijerarhijska klaster analiza (HCA) i analiza glavnih komponenti (PCA). Ove dve analize odrađene su uz pomoć programa Statistica v.14.0 (StatSoft (Europe), GmbH, Hamburg).

Statistička analiza je prvo primenjena na pojedine serije ispitivanih jedinjenja, pri čemu su multivarijacione tehnike (HCA i PCA) izvedene na matricama podataka (7x8), gde parametri lipofilnosti određenih hromatografski u osam različitih pokretnih faza predstavljaju varijable (kolone), a redovi odgovaraju ispitivanim jedinjenjima jedne serije.

Nakon toga, HCA i PCA analize su primenjene na sva ispitivana jedinjenja, gde parametri lipofilnosti predstavljaju varijable (kolone), dok ispitivana jedinjenja predstavljaju redove formirane matrice (21x19).

Pre primene odabrane multivarijacione analize, podaci matrice su standardizovani kako bi uticaj svih analiziranih parametara bio jednak. Kod HCA analize kao mera udaljenosti, odnosno različitosti primenjena je Euklidova razdaljina, a klasteri su formirani primenom algomerativne Vard-ove metode.

Pravilo Lipinskog je primenjeno na ispitivane derivate spirohidantoina u cilju proučavanja njihove farmakokinetičke aktivnosti. Računske vrednosti tri molekulska deskriptora koja su obuhvaćena pravilom Lipinskog izračunati su pomoću softvera *Dragon* (verzija 5.5), dok je vrednost podeonog koeficijenta ($\log P$) izračunata različitim kompjuterskim programima. Primenom programa OSIRIS¹⁵⁷ izračunate su vrednosti parametara koji opisuju sličnost ispitivanog jedinjenja sa lekom, kao i vrednosti ocene leka.

4. REZULTATI I DISKUSIJA

4.1. Retenciono ponašanje ispitivanih jedinjenja u uslovima tečne hromatografije

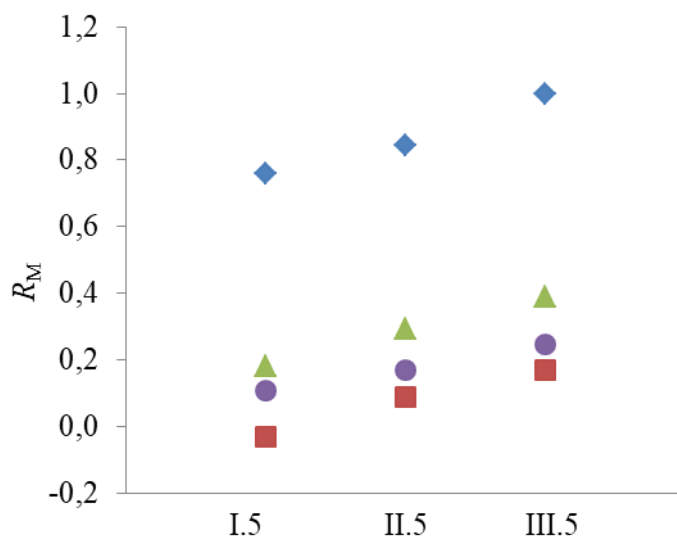
Retenciono ponašanje novosintetisanih derivata spirohidantoina ispitivano je primenom tečne hromatografije na tankom sloju i primenom tečne hromatografije pod visokim pritiskom. Kod obe primenjene hromatografske tehnike korišćena je oktadecil-modifikovana *nepokretna faza*, RP-18.

Pokretne faze su bile smeše vode i organskog rastvarača. Korišćeni su organski rastvarači koji su imali različita donorsko-akceptorska svojstva. Prema proton-donorskoj i proton-akceptorskoj sposobnosti rastvarači se mogu podeliti na protične i aprotične. Protični rastvarači imaju vezan vodonik za elektronegativan atom, mogu da ga predaju vodonik, pa se samim tim ponašaju kao proton donori u vodoničnoj vezi. Aprotični rastvarači nemaju vodonik, ali u svojoj strukturi sadrže jako elektronegativan atom¹⁵⁸, pa su akceptor protona u vodoničnoj vezi.

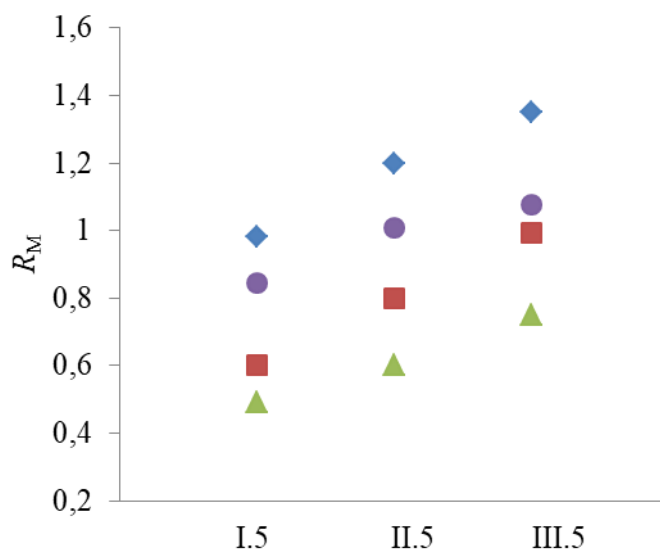
Od osam različitih pokretnih faza, četiri su kao organsku komponentu sadržale organski rastvarač iz grupe protičnih: etanol, *n*-propanol, *i*-propanol i *t*-butanol, a četiri iz grupe aprotični rastvarača: acetonitril, aceton, THF i 1,4-dioksan.

4.1.1. Uticaj prirode organskog rastvarača pokretne faze na retenciju ispitivanih jedinjenja u hromatografiji na tankom sloju

Uticaj prirode organskog rastvarača u pokretnoj fazi na retenciju spirohidantoina **I.5**, **II.5**, **III.5** prikazan je na **slici 5** (za protične rastvarače) i na **slici 6** (za aprotične rastvarače). Sastav pokretne faze je bio 50% voda i 50% organski rastvarač (zapreminski udeo).



Slika 5. R_M vrednosti ispitivanih supstanci (I.5, II.5, III.5) za različite protične organske rastvarače pri istom zapreminskom udelu u pokretnoj fazi: etanol (♦), i-propanol (▲), t-butanol (●) i n-propanol (■)



Slika 6. R_M vrednosti ispitivanih supstanci (I.5, II.5, III.5) za različite aprotične organske rastvarače pri njihovom istom zapreminskom udelu u pokretnoj fazi: aceton (♦), acetonitril (●), 1,4-dioksan (■), i THF (▲)

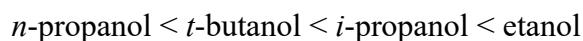
U hromatografiji na obrnutim fazama, pored nespecifičnih hidrofobnih interakcija ispitivanih jedinjenja sa nepokretnom fazom, na retenciju utiču specifične donorsko-akceptorske interakcije. Primenom različitih organskih rastvarača postižu se fine razlike u polarnim interakcijama ispitivanih jedinjenja sa pokretnom fazom što se odražava na razlike u R_M vrednostima (**slika 5 i 6**).

Prilikom tumačenja interakcija između molekula ispitivanih jedinjenja i *pokretne faze* u velikoj meri može pomoći poznavanje Hansenovih parametra rastvorljivosti rastvarača¹⁵⁹ koji su u sastavu *pokretne faze*. Takođe, poznavanje dielektrične konstante upotrebljenih organskih rastvarača (ϵ) je od koristi. Po Hansenu svaki rastvarač može biti okarakterisan sa ukupno tri parametra rastvorljivosti, a to su parametar δ_d , koji karakteriše jačinu disperzionih interakcija, parametar δ_p , koji opisuje merilo dipolnih interakcija i parametar δ_h , koji definiše sposobnost formiranja vodoničnih veza tog rastvarača (**tabela 4**).

Tabela 4. Hansenovi parametri i dielektrična konstanta upotrebljenih rastvarača

Rastvarač	δ_d	δ_p	δ_h	ϵ
etanol	15,8	8,8	19,4	24,3
n-propanol	16,0	6,8	17,4	20,1
i-propanol	15,8	6,1	16,4	18,3
t-butanol	15,2	5,1	14,7	10,9
acetonitril	15,3	18,0	6,1	37,5
aceton	15,5	10,4	7,0	20,7
THF	16,8	5,7	8,0	7,5
1,4-dioksan	19,0	1,8	7,4	2,3

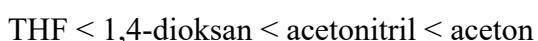
Odabrana jedinjenja **I.5**, **II.5** i **III.5** čija retencija je prikazana na **slikama 5 i 6** imaju isti supstituent R ($-\text{Br}$) a razlikuju se po veličini cikloalkil grupe u položaju 5 hidantoiniskog prstena. Na taj način možemo da uporedimo R_M vrednosti istog jedinjenja u različitim pokretnim fazama pri istom zapreminskom udelu organskog rastvarača. Kod protičnih rastvarača (**slika 5**) retencija raste sa porastom polarnosti rastvarača. Porast retencije je prema sledećem rasporedu:



Najveće R_M vrednosti kod protičnih rastvarača su sa etanolom, a najmanje sa n -propanolom (**slika 5**). Ovo se može objasniti činjenicom da je etanol od svih primenjenih protičnih rastvarača najpolarniji zbog čega ima najveću sklonost ka polarnim

interakcijama. Na ovo svojstvo etanola ukazuje i visoka vrednost Hansenovog parametara, δ_p , u odnosu na druge protične rastvarače (**tabela 4**).

I kod aprotičnih rastvarača retencija ispitivanih jedinjenja je u skladu sa njihovom polarnošću, a šta je u skladu sa vrednostima Hansenovog parametara dipolarnosti, δ_p , kao i vrednostima dielektrične konstante, ϵ (**tabela 4**). Sa **slike 6** se uočava da je retencija ispitivanih jedinjenja veća u slučaju polarnih aprotičnih rastvarača (acetonitril, aceton) u odnosu na nepolarne aprotične rastvarače (THF, 1,4-dioksan), gde retencija ispitivanih jedinjenja opada. Porast retencije je sledeći:



Acetonitril u odnosu na aceton ima veću polarnost na šta ukazuje i vrednost Hansenovog parametra, δ_p , (**tabela 4**). Prema tome očekivano je da retencija ispitivanih jedinjenja u acetonitrilu bude najveća. Međutim, najveća retencija je izmerena u acetonu kao organskom rastvaraču pokretne faze. Ovo se može biti povezano s činjenicom da aceton ($\delta_h = 7,0$) ima veću sposobnost građenja vodoničnih veza u odnosu na acetonitril ($\delta_h = 6,1$).

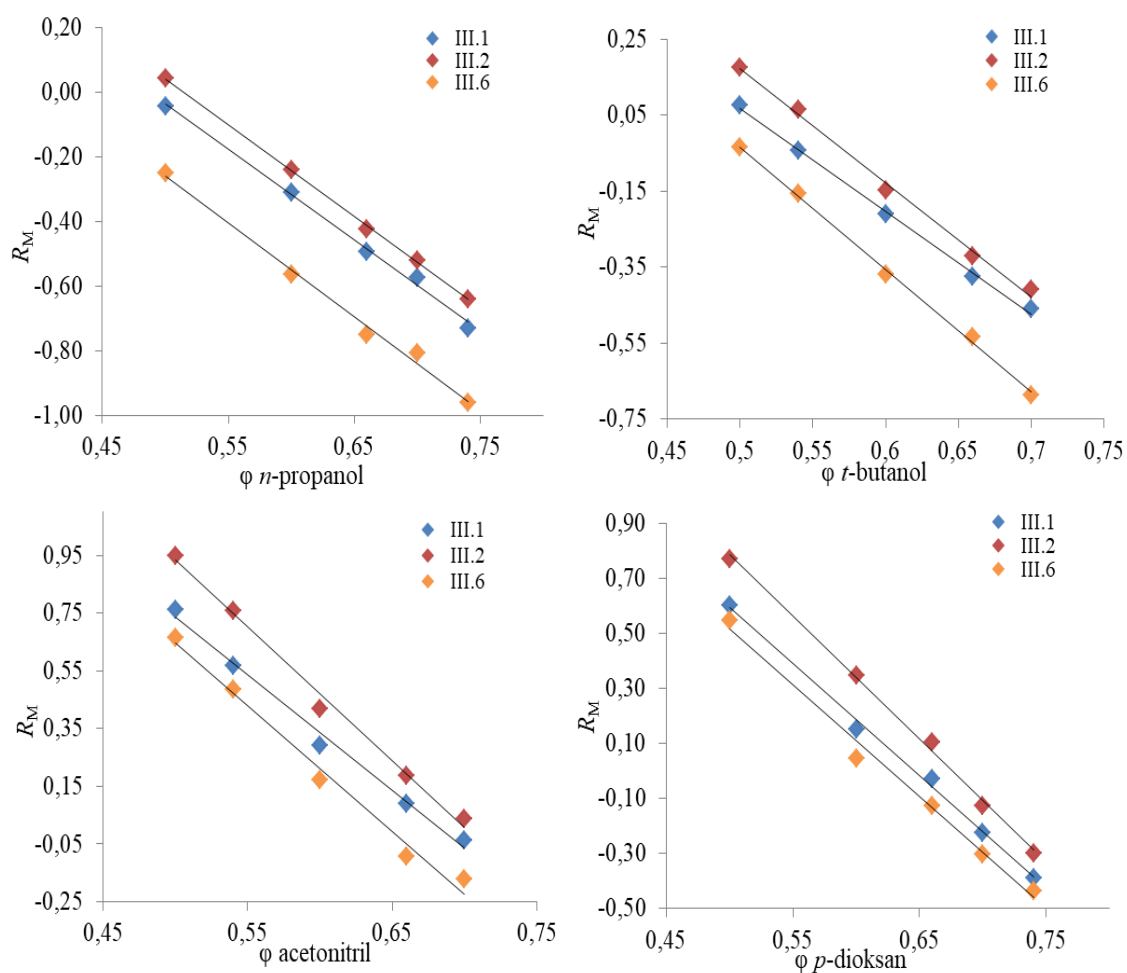
Takođe, iako je THF u odnosu na 1,4-dioksan polarniji na šta ukazuje vrednost Hansenovog parametra, δ_p , (**tabela 4**), retencija u THF-u je veća. Iako to Hansenovi parametri ne pokazuju, zbog prisustva jednog atoma kiseonika u svojoj strukturi, THF može da nagradi samo jednu vodoničnu vezu, u odnosu na 1,4-dioksan koji u svojoj strukturi ima dva elektronegativna atoma, odnosno dva atoma kiseonika koji mogu da grade dve vodonične veze.

Ovakvo retenciono ponašanje ispitivanih jedinjenja (**slike 5 i 6, tabela 4**) ukazuje na to da je retencija spirohidantoina uslovljena prirodom organskog rastvarača u pokretnoj fazi.

Na osnovu R_M vrednosti za sva ispitivana jedinjenja predstavljenih u **tabelama P1-P8 i slike P1 i P2** (Prilog) uočava se da je najveća retencija izmerena u etanolu, a najmanja u THF-u kao organskom rastvaraču. Prema tome, može se zaključiti da priroda rastvarača utiče na retenciju ispitivanih jedinjenja, odnosno retencija ispitivanih jedinjenja raste sa porastom polarnosti primenjenog rastvarača.

4.1.2. Uticaj sadržaja organskog rastvarača u pokretnoj fazi na retenciju ispitivanih jedinjenja

Radi ispitivanja uticaja sadržaja organskog rastvarača u pokretnoj fazi na retenciju ispitivanih jedinjenja urađeni su eksperimenti sa pokretnom fazama u kojima je variran zapreminski udeo organskih rastvarača, φ . Na **slici 7** su predstavljene R_M vrednosti za ispitivana jedinjenja **III.1** (-H), **III.2** (-CH₃) i **III.6** (-CN) primenom hromatografije na tankom sloju u funkciji zapreminskog udela organskog rastvarača.

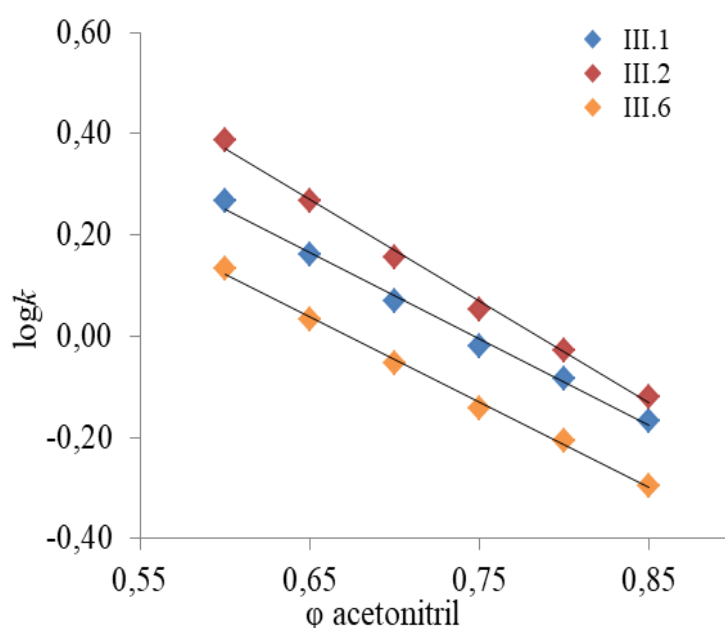


Slika 7. Zavisnost R_M vrednosti od zapreminskog udela organskog rastvarača za derivate spirohidantoina

Na gornja dva grafika **slike 7** su predstavljene zavisnosti R_M vrednosti od zapreminskog udela dva protična (*n*-propanol i *t*-butanol), a graficima u drugom redu za dva aprotična (acetonitril i 1,4-dioksan) rastvarača. R_M vrednosti linearno opadaju sa povećanjem

zapreminskog udela organskog rastvarača u pokretnoj fazi. Zavisnost R_M vrednosti od zapreminskog udela organskog rastvarača za preostala ispitivana jedinjenja, takođe linearno opada sa povećanjem zapremine primenjenog organskog rastvarača (Prilog, **slike P3-P8**).

Uticaoj sadržaja organskog rastvarača na $\log k$ vrednosti ispitivanih jedinjenja primenom tečne hromatografije pod visokim pritiskom na obrnutim fazama predstavljen je na **slici 8**. Na **slici 8** predstavljene su $\log k$ vrednosti za ispitivana jedinjenja **III.1** (-H), **III.2** (-CH₃) i **III.6** (-CN) sa različitim zapremiskim udelom acetonitrila (φ) u pokretnoj fazi.



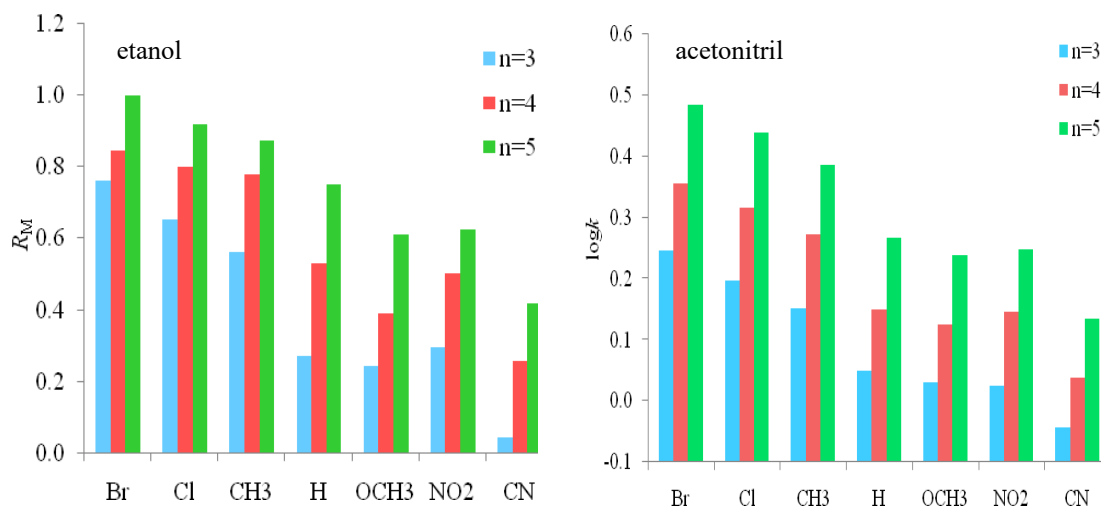
Slika 8. Zavisnost $\log k$ vrednosti od zapreminskog udela acetonitrila odabranih derivata spirohidantoina

Sa **slike 8** se može uočiti da se $\log k$ vrednosti za ispitivana jedinjenja **III.1**, **III.2** i **III.6** menjaju sa promenom zapreminskog udela acetonitrila, odnosno $\log k$ vrednosti linearno opadaju sa povećanjem zapreminskog udela acetonitrila. Grafički prikaz zavisnosti $\log k$ vrednosti od zapreminskog udela acetonitrila za sva ispitivana jedinjenja prikazan je na **slici P9** (Prilog), gde se može uočiti da promena zapreminskog udela organskog rastvarača na identičan način utiče na sva ispitivana jedinjenja, odnosno sa povećanjem zapremine acetonitrila, $\log k$ vrednosti za ispitivana jedinjenja linearno opadaju.

4.1.3. Uticaj strukture ispitivanih jedinjenja na retenciju

Na retenciono ponašanje jedinjenja spirohidantoina proučavan je uticaj hemijske strukture sve tri serije ispitivanih jedinjenja. Na **slici 9** prikazana je promena retencije (R_M i $\log k$ vrednosti) sve tri serije ispitivanih derivata spirohidantoina u zavisnosti od supstituenta R (**tabela 1**) i broja ugljenikovih atoma prisutnih u cikloalkil grupi. Prikazane R_M vrednosti su dobijene sa pokretnom fazom etanol-voda u kojoj je zapreminski udeo etanola bio 50%, odnosno, $\log k$ vrednosti određene sa pokretnom fazom acetonitril-voda u kojoj je zapreminski udeo acetonitrila bio 60%. Sa **slike 9** se uočava da prisustvo nepolarnih supstituenta, kao što su metil ($-\text{CH}_3$), hloro ($-\text{Cl}$) i bromo ($-\text{Br}$) supstituenti, koji povećavaju hidrofobnost molekula, uzrokuje veću retenciju u odnosu na nesupstituisani molekul, što se objašnjava izraženijim interakcijama između ispitivanih jedinjenja sa nepolarnim supstituentima R i nepokretne faze. Od nepolarnih R supstituenata u ispitivanim jedinjenjima bromid je najmanje polaran, što i rezultuje najvećom retencijom.

Suprotno nepolarnim supstituentima, polarne grupe u molekulu, kao što su metoksi ($-\text{OCH}_3$), cijano ($-\text{CN}$) i nitro ($-\text{NO}_2$) grupa, smanjuju retenciju u odnosu na nesupstituisani molekul. Iako je $-\text{NO}_2$ spada u polarne funkcionalne grupe, njeno prisustvo kod većine ispitivanih derivata dovodi do povećanja retencije u odnosu na nesupstituisani molekul. Razlog tome je najverovatnije postojanje mezomerne strukture, koja može dovesti do parcijalnog naelektrisanja na atomu azota¹⁶⁰. Najslabija retencija je uočena kod ispitivanih jedinjenja gde je supstituent R polarna cijano grupa (**slika 9**).



Slika 9. Promena R_M , odnosno $\log k$ vrednosti ispitivanih derivata spirohidantoina u zavisnosti od supstituenta R i broja ugljenikovih atoma prisutnih u cikloalkil grupi

Na retenciono ponašanje ispitivanih derivata spirohidantoina utiče i veličina prisutne cikloalkil grupe, odnosno broj ugljenikovih atoma prisutan u cikloalkil grupi. U skladu sa očekivanjima, sa **slike 9** se uočava da se retencija ispitivanih jedinjenja povećava, odnosno sa povećanjem broja ugljenikovih atoma u cikloalkil grupi dolazi do povećanja R_M ($\log k$) vrednosti ispitivanih derivata.

Uticaj hemijske strukture, odnosno uticaj prirode supstituenta R i veličine cikloalkil grupe na retenciju ispitivane tri serije derivata spirohidantoina za sve primenjene organske rastvarače prikazan je na **slikama P10 i P11** (Prilogu), gde se uočava slično retenciono ponašanje ispitivanih jedinjenja.

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da na retenciono ponašanje derivata spirohidantoina osim organskog rastvarača u pokretnoj fazi, veliki uticaj ima i njihova hemijska struktura, odnosno priroda supstituenata R koji je vezan u *para* položaju za benzil-grupu u položaju 3 hidantoinskog prstena, kao i veličina cikloalkil grupe prisutne u položaju 5 hidantoinskog prstena.

4.2. Određivanje parametra lipofilnosti ispitivanih 3-(4-supstituisani benzil)cikloalkanspiro-5-hidantoina

Parametri lipofilnosti ispitivanih derivata spirohidantoina su određeni primenom tečne hromatografije na tankom sloju (TLC) i tečne hromatografije pod visokim pritiskom (HPLC). Osim eksperimentalnih metoda za određivanje lipofilnosti primenjene su i teorijske metode izračunavanja, odnosno različiti matematički modeli za izračunavanje parametra lipofilnosti.

4.2.1. Određivanje hromatografskog parametra lipofilnosti primenom tečne hromatografije na tankom sloju

Hromatografski parametri lipofilnosti mogu se odrediti direktno na osnovu hromatografskih merenja primenom jednačine (4). Za svaku ispitivanu supstancu izračunate su vrednosti parametara jednačine (4), odsečak (R_M^0), nagib (S), kao i koeficijenti linearne korelacije (r) za protične (**tabela 5**) i aprotične (**tabela 6**) organske rastvarače u pokretnoj fazi.

Odsečak, odnosno R_M^0 vrednost, je hromatografski parametar kojim se izražava lipofilnost jedinjenja. Hromatografski parametar lipofilnosti (R_M^0) predstavlja ekstrapolisanu R_M vrednost na 0% organskog rastvarača, odnosno R_M^0 vrednost predstavlja retenciju u čistoj vodi. U tom slučaju, trebalo bi da zavisi samo od hemijske strukture ispitivanih jedinjenja, ali ne i od prirode organskog rastvarača u pokretnoj fazi¹⁶¹. Prema tome, očekiva se da će isto jedinjenje u različitim rastvaračima imati jednake R_M^0 vrednosti. Međutim, na osnovu podataka iz **tabele 5** i **tabele 6** može se uočiti da se vrednosti hromatografskog parametra lipofilnosti, R_M^0 , međusobno razlikuju, odnosno da zavise od hemijske strukture ispitivanih jedinjenja, ali i od primenjenog organskog rastvarača¹⁶²⁻¹⁶⁵.

Na osnovu podataka prikazanih u **tabelama 5** i **6** može se uočiti da kod derivata spirohidantoina uvođenje svakog narednog C atoma u cikloalkil grupi u ispitivanom jedinjenju rezultuje povećanjem R_M^0 vrednosti, što je i očekivano jer kako se povećava broj C atoma u molekulu, povećavaju se i lipofilna svojstva molekula.

Dobijeni rezultati (**tabele 5 i 6**) za koeficijente korelacije i niske vrednosti standardne devijacije (vrednosti date u zagradi) ukazuju na zadovoljavajuće vrednosti za sve primenjene hromatografske sisteme ($r > 0,98$; vrednosti standardne devijacije $< 0,439$), što potvrđuje statistički značajnu linearnu zavisnost.

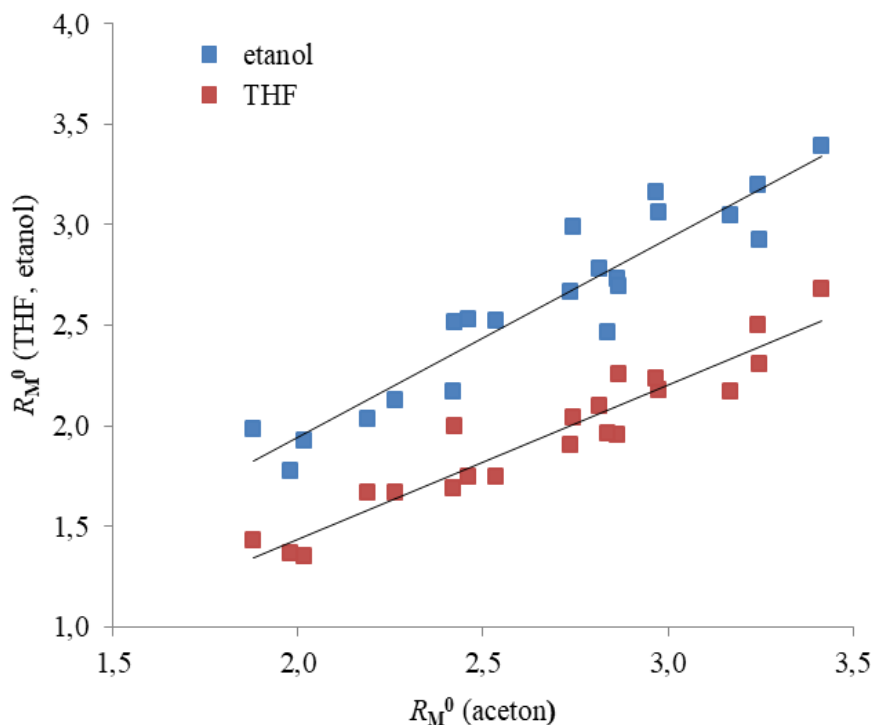
Tabela 5. Vrednosti odsečka (R_M^0), nagiba (S), i koeficijenta korelacije (r) linearne zavisnosti jednačine (4) za protične rastvarače

Ispitivana jedinjenja	etanol			<i>n</i> -propanol		
	R_M^0	$-S$	r	R_M^0	$-S$	r
I.1	1,926(±0,053)	3,312(±0,090)	0,999(±0,016)	1,189(±0,060)	2,732(±0,092)	0,998(±0,017)
I.2	2,528(±0,065)	3,975(±0,110)	0,998(±0,019)	1,441(±0,036)	2,880(±0,056)	0,999(±0,011)
I.3	1,985(±0,126)	3,490(±0,213)	0,993(±0,037)	1,145(±0,044)	2,679(±0,069)	0,999(±0,013)
I.4	2,665(±0,057)	4,056(±0,096)	0,999(±0,017)	1,302(±0,056)	2,740(±0,087)	0,998(±0,016)
I.5	2,783(±0,147)	4,116(±0,248)	0,993(±0,043)	1,329(±0,051)	2,757(±0,079)	0,999(±0,015)
I.6	1,776(±0,094)	3,665(±0,159)	0,996(±0,028)	0,884(±0,047)	2,611(±0,072)	0,999(±0,014)
I.7	2,033(±0,053)	3,449(±0,089)	0,999(±0,015)	1,090(±0,010)	2,609(±0,016)	1,000(±0,003)
II.1	2,523(±0,091)	4,008(±0,154)	0,997(±0,027)	1,416(±0,029)	2,860(±0,045)	1,000(±0,009)
II.2	3,057(±0,057)	4,537(±0,097)	0,999(±0,017)	1,354(±0,034)	2,771(±0,052)	0,999(±0,010)
II.3	2,169(±0,087)	3,551(±0,147)	0,997(±0,026)	1,219(±0,038)	2,757(±0,059)	0,999(±0,011)
II.4	3,046(±0,070)	4,468(±0,118)	0,999(±0,021)	1,408(±0,043)	2,799(±0,067)	0,999(±0,013)
II.5	2,925(±0,070)	4,162(±0,118)	0,998(±0,021)	1,532(±0,022)	2,900(±0,034)	1,000(±0,006)
II.6	2,129(±0,072)	3,934(±0,121)	0,998(±0,021)	1,362(±0,106)	3,285(±0,164)	0,996(±0,031)
II.7	2,513(±0,054)	4,034(±0,092)	0,999(±0,016)	1,095(±0,038)	2,645(±0,060)	0,999(±0,011)
III.1	2,988(±0,045)	4,489(±0,076)	0,999(±0,013)	1,366(±0,065)	2,806(±0,101)	0,998(±0,019)
III.2	3,159(±0,118)	4,526(±0,200)	0,996(±0,035)	1,464(±0,025)	2,843(±0,038)	1,000(±0,007)
III.3	2,729(±0,081)	4,215(±0,136)	0,998(±0,024)	1,267(±0,086)	2,796(±0,134)	0,996(±0,025)
III.4	3,196(±0,115)	4,495(±0,194)	0,996(±0,034)	1,518(±0,039)	2,867(±0,061)	0,999(±0,011)
III.5	3,390(±0,110)	4,715(±0,186)	0,997(±0,032)	1,621(±0,041)	3,000(±0,064)	0,999(±0,012)
III.6	2,466(±0,092)	4,268(±0,155)	0,997(±0,027)	1,189(±0,092)	2,998(±0,142)	0,996(±0,027)
III.7	2,692(±0,103)	4,085(±0,174)	0,996(±0,030)	1,259(±0,045)	2,749(±0,069)	0,999(±0,013)
Ispitivana jedinjenja	<i>i</i> -propanol			<i>t</i> -butanol		
	R_M^0	$-S$	r	R_M^0	$-S$	r
I.1	1,146(±0,037)	2,420(±0,062)	0,999(±0,010)	1,248(±0,075)	2,697(±0,125)	0,997(±0,021)
I.2	1,334(±0,051)	2,482(±0,084)	0,998(±0,014)	1,574(±0,092)	3,055(±0,152)	0,996(±0,025)
I.3	1,140(±0,047)	2,488(±0,078)	0,999(±0,013)	1,222(±0,049)	2,667(±0,082)	0,999(±0,013)
I.4	1,365(±0,025)	2,517(±0,042)	1,000(±0,007)	1,464(±0,035)	2,843(±0,059)	0,999(±0,010)
I.5	1,510(±0,060)	2,679(±0,100)	0,998(±0,016)	1,626(±0,051)	3,061(±0,084)	0,999(±0,014)
I.6	0,948(±0,043)	2,386(±0,071)	0,999(±0,012)	1,513(±0,084)	3,203(±0,138)	0,997(±0,023)
I.7	1,161(±0,056)	2,518(±0,093)	0,998(±0,015)	1,393(±0,015)	2,952(±0,025)	1,000(±0,004)
II.1	1,430(±0,029)	2,742(±0,049)	1,000(±0,008)	1,423(±0,067)	2,808(±0,112)	0,998(±0,018)
II.2	1,376(±0,093)	2,531(±0,154)	0,995(±0,025)	1,623(±0,066)	3,067(±0,110)	0,998(±0,018)
II.3	1,266(±0,064)	2,573(±0,105)	0,998(±0,017)	1,494(±0,081)	2,976(±0,134)	0,997(±0,022)
II.4	1,664(±0,060)	2,846(±0,100)	0,998(±0,016)	1,603(±0,026)	3,036(±0,043)	1,000(±0,007)
II.5	1,678(±0,080)	2,806(±0,133)	0,997(±0,022)	1,646(±0,045)	3,088(±0,075)	0,999(±0,012)
II.6	1,265(±0,091)	2,799(±0,151)	0,996(±0,025)	1,521(±0,077)	3,264(±0,127)	0,998(±0,021)
II.7	1,399(±0,046)	2,735(±0,076)	0,999(±0,013)	1,404(±0,036)	2,877(±0,060)	0,999(±0,010)
III.1	1,760(±0,087)	3,083(±0,145)	0,997(±0,024)	1,597(±0,043)	3,027(±0,071)	0,999(±0,012)
III.2	2,053(±0,063)	3,309(±0,104)	0,998(±0,017)	1,674(±0,071)	3,098(±0,117)	0,998(±0,019)
III.3	1,646(±0,067)	2,933(±0,110)	0,998(±0,018)	1,663(±0,056)	3,168(±0,093)	0,999(±0,015)
III.4	1,857(±0,094)	3,007(±0,156)	0,996(±0,026)	1,802(±0,075)	3,222(±0,124)	0,998(±0,020)
III.5	1,913(±0,075)	3,033(±0,124)	0,997(±0,020)	1,830(±0,057)	3,281(±0,095)	0,999(±0,016)
III.6	1,582(±0,122)	3,196(±0,201)	0,994(±0,033)	1,578(±0,050)	3,377(±0,082)	0,999(±0,014)
III.7	1,528(±0,027)	2,820(±0,045)	1,000(±0,007)	1,603(±0,037)	3,118(±0,061)	0,999(±0,010)

Tabela 6. Vrednosti odsečka (R_M^0), nagiba (S), i koeficijenta korelacije (r) linearne zavisnosti jednačine (4) za aprotične rastvarače

Ispitivana jedinjenja	acetonitril			acetone		
	R_M^0	$-S$	r	R_M^0	$-S$	r
I.1	2,344(±0,123)	3,696(±0,203)	0,996(±0,033)	2,018(±0,098)	3,014(±0,142)	0,997(±0,032)
I.2	2,961(±0,175)	4,457(±0,290)	0,994(±0,048)	2,463(±0,073)	3,413(±0,106)	0,999(±0,024)
I.3	2,259(±0,094)	3,593(±0,156)	0,997(±0,026)	1,880(±0,071)	2,769(±0,103)	0,998(±0,023)
I.4	2,999(±0,123)	4,511(±0,204)	0,997(±0,034)	2,737(±0,122)	3,672(±0,178)	0,997(±0,040)
I.5	3,137(±0,175)	4,670(±0,289)	0,994(±0,048)	2,814(±0,101)	3,691(±0,147)	0,998(±0,033)
I.6	2,403(±0,125)	3,957(±0,206)	0,996(±0,034)	1,980(±0,102)	3,003(±0,148)	0,996(±0,034)
I.7	2,383(±0,130)	3,780(±0,215)	0,995(±0,035)	2,189(±0,068)	3,058(±0,099)	0,998(±0,022)
II.1	2,675(±0,091)	4,078(±0,150)	0,998(±0,025)	2,537(±0,097)	3,462(±0,142)	0,997(±0,032)
II.2	2,516(±0,081)	3,658(±0,134)	0,998(±0,022)	2,972(±0,176)	3,900(±0,256)	0,994(±0,058)
II.3	2,593(±0,084)	4,013(±0,139)	0,998(±0,023)	2,421(±0,105)	3,383(±0,152)	0,997(±0,034)
II.4	3,040(±0,199)	4,403(±0,329)	0,992(±0,054)	3,168(±0,152)	4,074(±0,221)	0,996(±0,050)
II.5	3,237(±0,265)	4,616(±0,439)	0,987(±0,072)	3,248(±0,142)	4,143(±0,207)	0,996(±0,047)
II.6	2,451(±0,230)	3,868(±0,381)	0,986(±0,023)	2,264(±0,103)	3,153(±0,150)	0,997(±0,034)
II.7	2,667(±0,203)	4,107(±0,336)	0,990(±0,055)	2,424(±0,092)	3,233(±0,134)	0,997(±0,030)
III.1	2,734(±0,126)	3,998(±0,208)	0,996(±0,034)	2,744(±0,069)	3,603(±0,101)	0,999(±0,023)
III.2	3,242(±0,138)	4,620(±0,228)	0,996(±0,038)	2,967(±0,082)	3,743(±0,120)	0,998(±0,027)
III.3	2,788(±0,120)	4,173(±0,198)	0,997(±0,033)	2,865(±0,213)	3,766(±0,310)	0,990(±0,070)
III.4	3,458(±0,108)	4,844(±0,178)	0,998(±0,029)	3,245(±0,158)	4,045(±0,230)	0,995(±0,052)
III.5	3,480(±0,115)	4,828(±0,190)	0,998(±0,031)	3,414(±0,131)	4,169(±0,190)	0,997(±0,043)
III.6	2,816(±0,173)	4,342(±0,285)	0,994(±0,047)	2,836(±0,113)	3,812(±0,165)	0,997(±0,037)
III.7	3,058(±0,199)	4,590(±0,330)	0,992(±0,054)	2,869(±0,108)	3,693(±0,158)	0,997(±0,036)
Ispitivana jedinjenja	THF			1,4-dioksan		
	R_M^0	$-S$	r	R_M^0	$-S$	r
I.1	1,350(±0,085)	2,219(±0,159)	0,992(±0,036)	1,911(±0,083)	3,410(±0,129)	0,998(±0,024)
I.2	1,748(±0,100)	2,627(±0,187)	0,992(±0,043)	2,315(±0,068)	3,772(±0,105)	0,999(±0,020)
I.3	1,426(±0,052)	2,275(±0,098)	0,997(±0,022)	2,031(±0,079)	3,504(±0,122)	0,998(±0,023)
I.4	1,905(±0,075)	2,858(±0,141)	0,996(±0,032)	2,671(±0,103)	4,247(±0,160)	0,998(±0,030)
I.5	2,098(±0,111)	3,133(±0,207)	0,994(±0,047)	2,622(±0,140)	4,098(±0,216)	0,996(±0,041)
I.6	1,361(±0,065)	2,156(±0,121)	0,995(±0,028)	1,942(±0,075)	3,555(±0,116)	0,998(±0,022)
I.7	1,663(±0,068)	2,440(±0,127)	0,996(±0,029)	2,043(±0,098)	3,456(±0,151)	0,997(±0,028)
II.1	1,747(±0,087)	2,599(±0,163)	0,994(±0,037)	2,374(±0,053)	3,845(±0,082)	0,999(±0,015)
II.2	2,137(±0,135)	3,106(±0,252)	0,990(±0,058)	2,692(±0,128)	4,070(±0,198)	0,996(±0,037)
II.3	1,688(±0,083)	2,576(±0,156)	0,995(±0,036)	2,262(±0,076)	3,656(±0,117)	0,998(±0,022)
II.4	2,166(±0,108)	3,113(±0,203)	0,994(±0,046)	2,921(±0,070)	4,070(±0,108)	0,999(±0,020)
II.5	2,304(±0,111)	3,310(±0,209)	0,994(±0,048)	3,038(±0,075)	4,509(±0,117)	0,999(±0,022)
II.6	1,668(±0,037)	2,525(±0,069)	0,999(±0,016)	2,376(±0,114)	3,984(±0,176)	0,997(±0,033)
II.7	1,995(±0,051)	2,889(±0,096)	0,998(±0,022)	2,633(±0,047)	4,198(±0,072)	1,000(±0,014)
III.1	2,042(±0,084)	3,019(±0,158)	0,996(±0,036)	2,629(±0,093)	4,075(±0,145)	0,998(±0,027)
III.2	2,234(±0,070)	3,164(±0,131)	0,997(±0,030)	3,015(±0,085)	4,462(±0,132)	0,999(±0,025)
III.3	1,952(±0,089)	2,864(±0,167)	0,995(±0,038)	2,620(±0,111)	4,054(±0,172)	0,997(±0,032)
III.4	2,503(±0,124)	3,556(±0,232)	0,994(±0,053)	3,578(±0,115)	5,264(±0,178)	0,998(±0,033)
III.5	2,678(±0,082)	3,797(±0,153)	0,998(±0,035)	3,552(±0,087)	5,157(±0,134)	0,999(±0,025)
III.6	1,957(±0,053)	2,840(±0,098)	0,998(±0,023)	2,541(±0,148)	4,054(±0,230)	0,995(±0,043)
III.7	2,255(±0,022)	3,164(±0,041)	1,000(±0,009)	2,745(±0,170)	4,222(±0,264)	0,994(±0,050)

Iako se za različite organske rastvarače R_M^0 vrednosti međusobno razlikuju, između dobijenih R_M^0 vrednosti u različitim organskim rastvaračima postoji linearna zavisnost. Na **slici 10** su prikazane zavisnosti između R_M^0 vrednosti za pokretne faze koje su sadržale aceton i THF, odnosno aceton i etanol.



Slika 10. Zavisnost između vrednosti R_M^0 u acetonu i vrednosti R_M^0 u etanolu i THF-u

Sa **slike 10** se može videti da između upoređenih R_M^0 vrednosti postoji linearna zavisnost. Sličan trend je uočen i prilikom međusobne korelacije ostalih R_M^0 vrednosti.

Korelaciona matrica koja predstavlja koeficijente linearne zavisnosti između R_M^0 vrednosti dobijenih u različitim organskim rastvaračima data je u **tabeli 7**.

Tabela 7. Koeficijenti korelacije (r) hromatografskih parametara lipofilnosti (R_M^0 vrednosti) ispitivanih spirohidantoina dobijeni za različite organske rastvarače

rastvarač	etanol	<i>n</i> -propanol	<i>i</i> -propanol	<i>t</i> -butanol	acetonitril	acetone	THF	1,4-dioksan
etanol	1,000							
<i>n</i>-propanol	0,805	1,000						
<i>i</i>-propanol	0,903	0,759	1,000					
<i>t</i>-butanol	0,753	0,667	0,705	1,000				
acetonitril	0,854	0,760	0,835	0,822	1,000			
acetone	0,939	0,768	0,865	0,837	0,890	1,000		
THF	0,938	0,733	0,867	0,802	0,891	0,951	1,000	
1,4-dioksan	0,845	0,723	0,856	0,751	0,901	0,856	0,911	1,000

Između R_M^0 vrednosti izračunatih u različitim organskim rastvaračima (**tabela 7**) koeficijenti međusobne korelacije su u opsegu $0,667 < r < 0,951$. Na osnovu literaturnih podataka za 95%-ni interval poverenja i broj tačaka, $N = 20-22$, za značajnu linearnu zavisnost vrednost koeficijenta korelacije (r) treba da je veća od $0,444^{166}$. Prema tome, na osnovu izračunatih vrednosti korelacionih koeficijenta koje se kreću u opsegu $0,667-0,951$, može se zaključiti da postoji značajna međusobna zavisnost R_M^0 vrednosti, kako u protičnim, tako i u aprotičnim rastvaračima (iz literaturnih podataka posmatran je 95%-ni interval poverenja).

Visoki koeficijenti korelacije između R_M^0 vrednosti ukazuju na mogućnost zamene jednog organskog rastvarača drugim u cilju postizanja optimalnih radnih uslova.

4.2.2. Određivanje hromatografskog parametra lipofilnosti primenom tečne hromatografije pod visokim pritiskom

Hromatografsko određivanje lipofilnosti primenom hromatografije pod visokim pritiskom na obrnutim fazama zasniva se na jednačini (7), (**tabela 8**). Kao i kod hromatografije na tankom sloju, mera lipofilnosti ispitivanih jedinjenja je $\log k_w$, koja predstavlja $\log k$ vrednost ekstrapolisana na 0% organske komponente u pokretnoj fazi (čistoj vodi).

Tabela 8. Vrednosti odsečka ($\log k_w$), nagiba (S), i koeficijenta korelacije (r) izračunati prema jednačini (7)

Ispitivana jedinjenja	acetonitril		
	$\log k_w$	$-S$	r
I.1	0,814(±0,013)	1,280(±0,018)	1,000(±0,004)
I.2	1,091(±0,033)	1,581(±0,045)	0,998(±0,009)
I.3	0,791(±0,032)	1,284(±0,043)	0,998(±0,009)
I.4	1,190(±0,032)	1,672(±0,044)	0,999(±0,009)
I.5	1,251(±0,034)	1,693(±0,047)	0,998(±0,010)
I.6	0,670(±0,026)	1,195(±0,036)	0,998(±0,007)
I.7	0,861(±0,031)	1,409(±0,042)	0,998(±0,009)
II.1	1,033(±0,030)	1,488(±0,041)	0,998(±0,009)
II.2	1,305(±0,038)	1,743(±0,052)	0,998(±0,011)
II.3	0,940(±0,060)	1,378(±0,083)	0,993(±0,017)
II.4	1,424(±0,042)	1,868(±0,057)	0,998(±0,012)
II.5	1,504(±0,054)	1,943(±0,073)	0,997(±0,015)
II.6	0,868(±0,048)	1,403(±0,065)	0,996(±0,014)
II.7	1,056(±0,047)	1,543(±0,064)	0,997(±0,013)
III.1	1,280(±0,046)	1,713(±0,063)	0,997(±0,013)
III.2	1,579(±0,051)	2,013(±0,070)	0,998(±0,015)
III.3	1,235(±0,046)	1,678(±0,062)	0,997(±0,013)
III.4	1,697(±0,062)	2,126(±0,085)	0,997(±0,018)
III.5	1,775(±0,065)	2,185(±0,088)	0,997(±0,018)
III.6	1,135(±0,038)	1,687(±0,052)	0,998(±0,011)
III.7	1,330(±0,047)	1,828(±0,065)	0,998(±0,014)

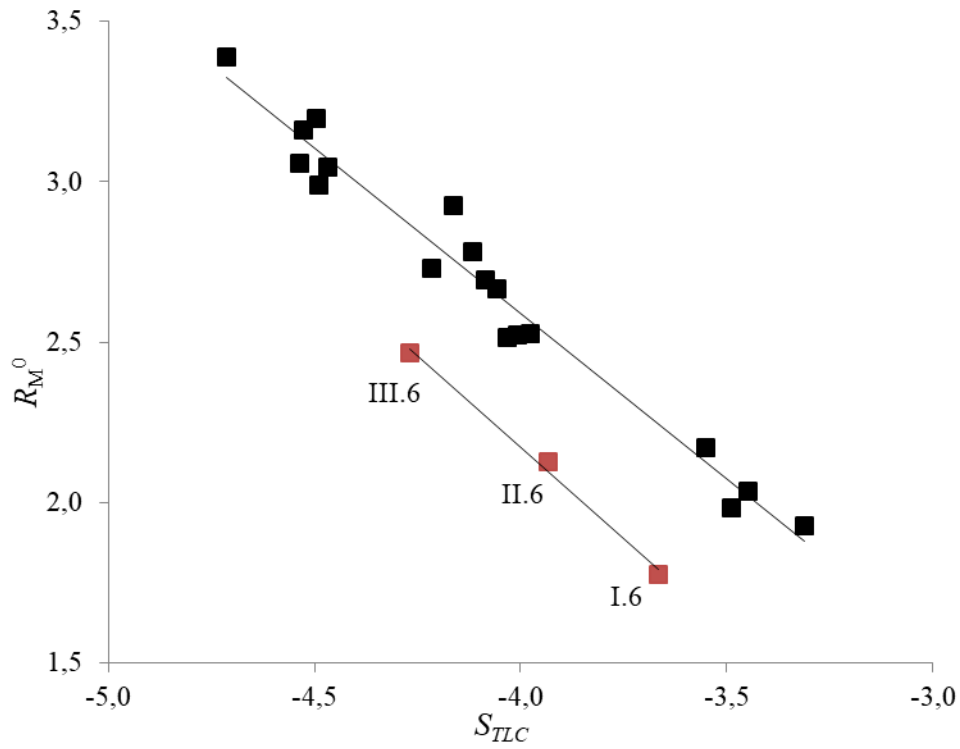
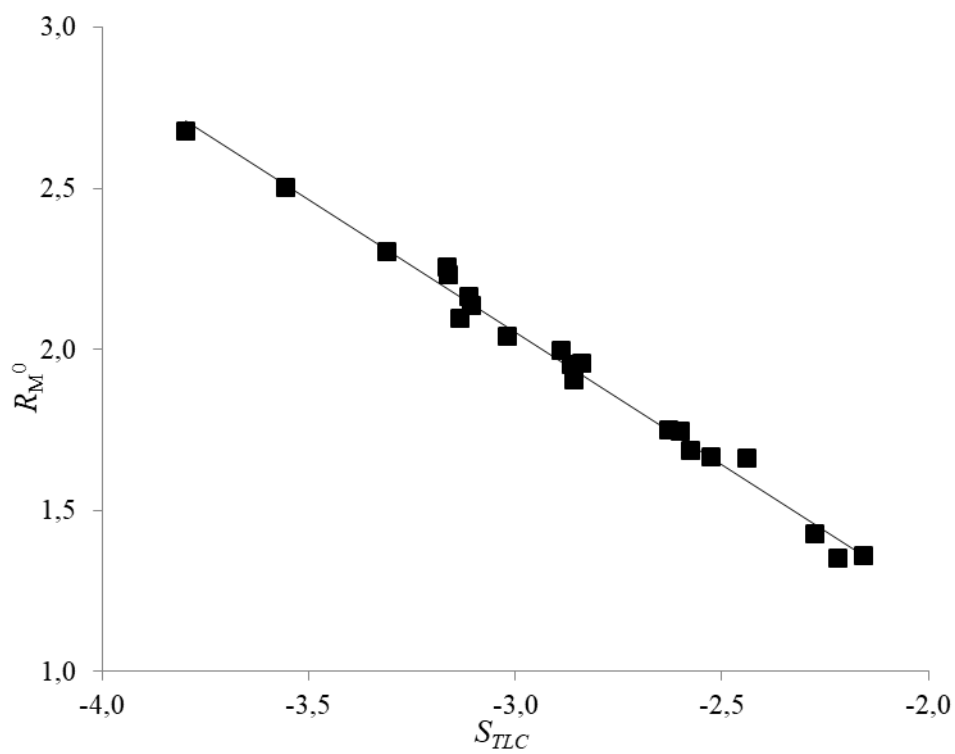
Na osnovu podataka prikazanih u **tabeli 8** takođe se može uočiti da parametar lipofilnosti $\log k_w$ kod derivata spirohidantoina zavisi od hemijske strukture ispitivanih jedinjenja, odnosno od prirode supstituenta R , kao i veličine cikloalkil grupe prisutne u ispitivanom jedinjenju. Slično kao kod TLC-a, porastom broja C atoma povećavaju se lipofilna svojstva jedinjenja.

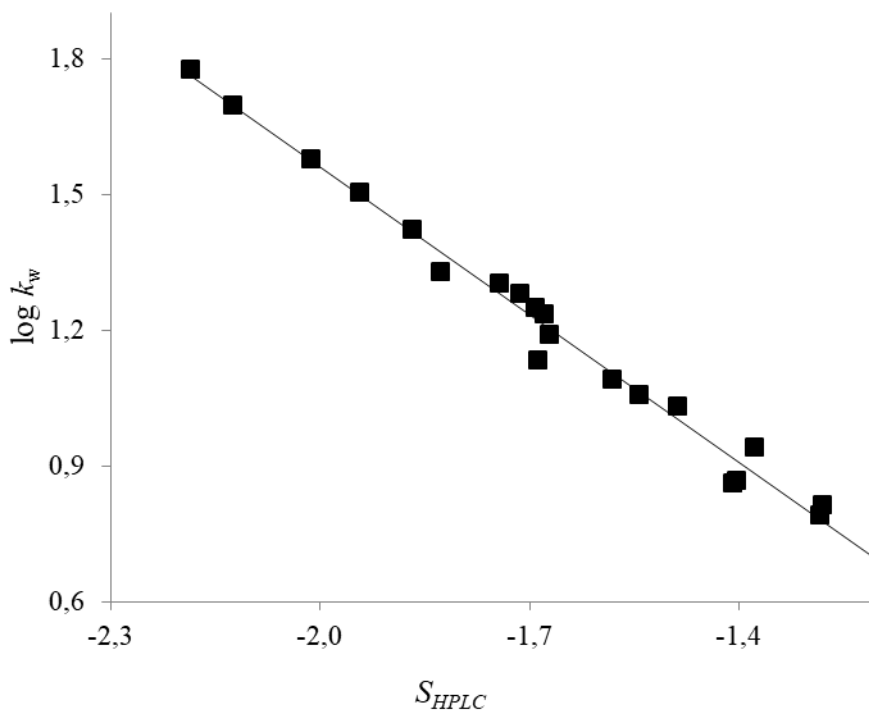
4.2.3. Korelacija parametara lipofilnosti određenih eksperimentalnim putem

Iz literature⁷¹ je poznato da u hromatografiji na obrnutim fazama, za seriju strukturno sličnih jedinjenja između vrednosti odečka, R_M^0 i $\log k_w$, i nagiba S , postoji linearna zavisnost. Iz tog razloga, međusobno su korelisane vrednosti odsečka i odgovarajućih nagiba.

Za definisanje lipofilnosti jedinjenja pored R_M^0 i $\log k_w$ vrednosti može se koristiti i nagib prave, $S^{167-170}$. Na osnovu podataka prikazanih u **tabelama 5 i 6** može se videti da vrednosti nagiba S , prate R_M^0 vrednosti ispitivanog jedinjenja, odnosno što je veća vrednost R_M^0 veći je i nagib i obrnuto. Takođe, na osnovu podataka prikazanih u **tabeli 8** može se videti da vrednosti nagiba S , prate $\log k_w$ vrednosti i da se kao alternativna mera lipofilnosti jedinjenja može koristiti i nagib prave S , koji je povezan sa specifičnom hidrofobnom površinom ispitivanih jedinjenja.

Na **slici 11** je prikazana zavisnosti R_M^0 od S za etanol kao predstavnika protičnih, na **slici 12** zavisnosti R_M^0 od S za THF kao predstavnika aprotičnih organskih rastvarača, dok je na **slici 13** prikazana međusobna korelacija odsečka, $\log k_w$, i nagiba, S za acetonitril (aprotični organski rastvarač). Na osnovu **slika 11–13** se vidi da i u slučaju spirohidantoina postoji linearna zavisnost navedenih parametara.

Slika 11. Zavisnost vrednosti R_M^0 od S u etanoluSlika 12. Zavisnost vrednosti R_M^0 od S u THF-u



Slika 13. Zavisnost vrednosti $\log k_w$ od nagiba, S u acetonitrilu

Na **slici 11** može se uočiti da kod etanola dolazi do izdvajanja tri jedinjenja (**I.6**, **II.6** i **III.6**), sva tri jedinjenja sa cijano grupom. U odnosu na ostala ispitivana jedinjenja njihov odsečak je manji od očekivanog. Pretpostavljamo da jedinjenja sa cijano grupom stupaju u jače polarne interakcije sa etanolom, kao protičnim organskim rastvaračem usled čega dolazi do odstupanja. Slično ponašanje je primećeno kod svih protičnih rastvarača. Kod aprotičnih rastvarača (**slika 12**) ovog odstupanja nema. Iz tog razloga, za dalja razmatranja zavisnosti između odsečka i nagiba (**tabela 9**) ispitivana jedinjenja sa cijano grupom nisu uključena prilikom izračunavanja kod protičnih rastvarača. Zato je broj tačaka kod protičnih organskih rastvarača bio $N = 18$, a kod aprotičnih je bio $N = 21$. Sa **slike 13** gde je kao organski rastvarač primenjen aprotični acetonitril, može se takođe uočiti da jedinjenja sa cijanom grupom ne odstupaju, a zavisnost između hromatografskih parametara, odsečka prave $\log k_w$ i nagiba S , je linearna. Linearna zavisnost R_M^0 od S je dobijena i za druge primenjene organske rastvarače (*n*-propanol, *i*-propanol, *t*-butanol, acetonitri, aceton i 1,4-dioksan). Grafici zavisnosti su dati u Prilogu, na **slikama P12-P17**.

Jednačine lineranih zavisnosti odsečaka i nagiba za sve primenjene rastvarače date su u **tabeli 9**.

Tabela 9. Jednačine linerane zavisnosti vrednosti odsečka od nagiba, S , i koeficijent linearne korelacije (r) za različite primenjene rastvarače

rastvarač	jednačina	r	N
etanol	$R_M^0 = -1,031(\pm 0,047) S - 1,539(\pm 0,193)$	0,984($\pm 0,080$)	18
<i>n</i> -propanol	$R_M^0 = -1,525(\pm 0,120) S - 2,918(\pm 0,335)$	0,954($\pm 0,047$)	18
<i>i</i> -propanol	$R_M^0 = -1,029(\pm 0,085) S - 1,320(\pm 0,235)$	0,949($\pm 0,088$)	18
<i>t</i> -butanol	$R_M^0 = -0,951(\pm 0,065) S - 1,305(\pm 0,194)$	0,965($\pm 0,045$)	18
acetonitril	$R_M^0 = -0,902(\pm 0,053) S - 0,996(0,225)$	0,969($\pm 0,093$)	21
acetone	$R_M^0 = -1,067(\pm 0,037) S - 1,133(\pm 0,132)$	0,989($\pm 0,067$)	21
THF	$R_M^0 = -0,823(\pm 0,019) S - 0,415(\pm 0,056)$	0,995($\pm 0,037$)	21
1,4-dioksan	$R_M^0 = -0,923(\pm 0,034) S - 1,182(\pm 0,138)$	0,988($\pm 0,074$)	21
acetonitril*	$\log k_w = -1,090(\pm 0,028) S - 0,620(\pm 0,047)$	0,994($\pm 0,035$)	21

*HPLC

Na osnovu podataka u **tabeli 9** može se videti da su za sve primenjene organske rastvarače dobijene visoke vrednosti koeficijenta korelacije $r \geq 0,949$, a niske vrednosti standardne devijacije. Najbolja zavisnost je dobijena za THF-u ($r = 0,995$), gde je vrednost koeficijenta uz odsečak najmanja. Najlošija zavisnost se uočava kod *i*-propanola kao organskog rastvarača ($r = 0,949$). Ovako visoke vrednosti korelacije ($r > 0,949$) u jednačinama mogu se objasniti činjenicom da i na odsečak, i na nagib utiču isti fizičko-hemijski parametri¹⁶¹.

S obzirom da postoji dobra linearna zavisnost između odsečka i nagiba (**tabela 9**) može se zaključiti da se pored odsečka (R_M^0 , odnosno $\log k_w$ vrednosti), za definisanje lipofilnosti može koristiti i nagib S .

Ako uporedimo hromatografske parametre lipofilnosti određene primenom dve hromatografske tehnike, TLC i HPLC, uočava se da se njihove brojčane vrednosti ne podudaraju, iako R_M^0 i $\log k_w$ predstavljaju isto - retenciju u čistoj vodi (**tabela 6** i **tabela 8**). Srednje vrednosti za R_M^0 su 2,82, a za $\log k_w$ su 1,18. Ipak hromatografski parametri lipofilnosti, R_M^0 i $\log k_w$ za sistem acetonitril-voda su u linearnoj zavisnosti koja se može prikazati jednačinom (11):

$$R_M^0 = 1,522(\pm 0,139) + 1,098(\pm 0,114) \log k_w \quad (11)$$

$$r = 0,911(\pm 0,155); F = 93,190; p < 0,000$$

Na osnovu vrednosti koeficijenta korelacije ($r = 0,911$) može se uočiti da hromatografski parametri lipofilnosti pokazuju zadovoljavajuća slaganja, što ukazuje na pogodnost primene obe hromatografske tehnike, i TLC i HPLC, u ispitivanju derivata spirohidantoina.

4.2.4. Indirektno određivanje log P vrednosti spirohidantoina

U cilju razvoja indirektno metode za određivanje podeonog koeficijenta log P primenom tačne hromatografije prvo su razmatrana referentna jedinjenja. Referentna jedinjenja obuhvataju niz standardnih jedinjenja koje je OECD (Organization for Economic Cooperation and Development)^{171,172} preporučila za određivanje lipofilnosti.

Referentna jedinjenja su odabrana na sledeći način:

- da ne podležu protolizi pri datim eksperimentalnim uslovima, odnosno da postoje u svom neutralnom obliku,
- broj referentnih jedinjenja je određen prema standardnoj proceduri predloženoj od strane OECD prema kojoj je najmanje 6 referentnih jedinjenja neophodno za dobru kalibraciju,
- log P vrednosti referentnih jedinjenja su u opsegu log P vrednosti ispitivanih spirohidantoina.

Za indirektnu procenu lipofilnosti ispitivanih jedinjenja odabrano je 10 referentnih jedinjenja koja su navedena u **tabeli 10**. S obzirom na to da struktura referentnih jedinjenja nije bila slična sa strukturom ispitivanih jedinjenja, pored 10 referentnih jedinjenja dodata su i dva hidantoina koja se koriste kao lekovi (mefenitoin i fenitoin) tako da je bilo ukupno 12 jedinjenja. Njihove eksperimentalno određene log P vrednosti preuzete su iz EPI Suite baze podataka (v. 4.11 US EPA)¹⁷³.

Referentna jedinjenja su korišćena za konstruisanje kalibracione krive tako što je određena njihova retencija pod istim hromatografskim uslovima kao i derivati spirohidantoina. Za određivanje retencije referentnih jedinjenja primenjene su obe hromatografske tehnike (TLC i HPLC), kao *nepokretna faza* korišćena je RP-18, a kao *pokretna faza* korišćena je smeša vode i acetonitrila. Primenom TLC analizirano je svih 12 referentnih jedinjenja, dok je HPLC analiza rađena sa manjim brojem jedinjenja, odnosno sa 8 referentnih jedinjenja. Na osnovu retencije izračunate su vrednosti odsečaka, R_M^0 i log k_w , (**tabela 10**) primenom jednačina (4) i (7).

Tabela 10. Referentna jedinjenja, njihove $\log P$ vrednosti (preuzete iz EPI Suite baze podataka) i hromatografski parametri lipofilnosti (HPLC i TLC)

Broj jedinjenja	Referentna jedinjenja	$\log K_{ow}$	HPLC	TLC
			$\log k_w$	R_M^0
1	mefenitoin	1,69	-	1,676
2	nitrobenzen	1,85	-	1,604
3	benzoeva kiselina	1,87	0,232	1,274
4	4-nitrofenol	1,91	0,520	1,558
5	naftilamin	2,25	0,976	1,688
6	4-hlorfenol	2,39	0,777	1,814
7	fenitoin	2,47	-	1,845
8	4-hlorbenzoeva kiselina	2,65	0,679	1,721
9	brombenzen	2,99	-	2,672
10	2,4-dihlorfenol	3,06	1,142	1,894
11	benzofenon	3,18	1,657	2,907
12	difenilamin	3,50	1,926	3,132

Na osnovu vrednosti R_M^0 i $\log k_w$ referentnih jedinjenja i vrednosti $\log K_{ow}$ preuzetih iz baze primenom linearne regresije izračunata su dva kalibraciona modela. Kalibracioni modeli, kao i statistički parametri modela prikazani su u **tabeli 11**.

Tabela 11. Kalibracioni modeli izračunati na osnovu hromatografskih podataka referentnih jedinjenja i statistički podaci regresionih jedanačina

Model	statistički parametri			Broj kalibracionog modela
	r	p	n	
$R_M^0 = 0,842 \log P_1 - 0,110$	0,859	<0,05	12	1
$\log k_w = 0,872 \log P_2 - 1,279$	0,919	<0,05	8	2

Oba dobijena kalibraciona modela su primenjena za izračunavanje $\log P$ vrednosti ispitivanih spirohidantoina. Vrednosti hromatografskih parametara lipofilnosti (R_M^0 i $\log k_w$) uvrštene su u odgovarajuće kalibracione modele, vrednosti za R_M^0 u modelu (1) i vrednosti za $\log k_w$ u modelu (2), i na taj način indirektno su izračunate $\log P$ vrednosti ispitivanih spirohidantoina.

Iz **tabele 11** se uočava da oba modela pokazuju statistički značajnu linearnu zavisnost ($p < 0,05$). Nešto bolji koeficijenti korelacije su dobijeni za hromatografski parametar lipofilnosti $\log k_w$, odnosno u slučaju kada je kao hromatografska tehnika primenjena tečna hromatografija pod visokim pritiskom (kalibracioni model (2)). Međutim, oba dobijena kalibraciona modela su približno ujednačenog kvaliteta na šta ukazuje i vrednosti koeficijenta korelacije. Na osnovu dobijenih modela može se zaključiti da oba parametra hromatografske lipofilnosti, odnosno R_M^0 i $\log k_w$, se mogu upotrebiti za kvantitativno indirektno određivanje lipofilnosti. Izračunate $\log P$ vrednosti ispitivanih jedinjenja date su u **tabeli P10** u Prilogu (indeks 1, odnosno 2 uz $\log P$ vrednost se odnosi na primenjen kalibracioni model).

4.2.5. Određivanje lipofilnosti ispitivanih jedinjenja računskim putem

Pored eksperimentalnih metoda za određivanje lipofilnosti, danas su dostupni i različiti kompjuterski programi, koji na osnovu molekulske strukture jedinjenja izračunavaju njegovu lipofilnost. Na ovaj način se omogućava jednostavno, efikasno i brzo izračunavanje $\log P$ vrednosti jedinjenja, što je od posebnog značaja prilikom preliminarnih ispitivanja.

U ovom radu primenjeni su različiti programi za izračunavanje $\log P$ vrednosti ispitivanih derivata spirohidantoina. U **tabeli 12** su prikazane njihove vrednosti.

Tabela 12. Vrednosti $\log P$ ispitivanih derivata spirohidantoina dobijene računskim putem

Ispitivana jedinjenja	ALOGP	ALOGP2	MLOGP	MLOGP2	ClogP	logP Crippen	logP Viswanad	logP Broto	miLogP	logP
I.1	2,10	4,41	1,78	3,16	2,14	1,80	1,80	2,35	2,04	2,05
I.2	2,59	6,69	2,04	4,14	2,63	2,28	2,31	2,76	2,49	2,36
I.3	2,09	4,35	1,52	2,30	2,05	1,67	1,59	2,48	2,10	2,06
I.4	2,77	7,65	2,30	5,30	2,85	2,36	2,36	2,97	2,72	2,71
I.5	2,85	8,12	2,43	5,90	3,00	2,63	2,64	3,24	2,85	2,81
I.6	1,98	3,92	1,43	2,05	1,57	1,83	1,88	1,85	1,80	1,92
I.7	2,00	3,98	1,83	3,33	1,88	-	-	2,31	2,00	1,96
II.1	2,56	6,54	2,04	4,14	2,69	2,22	2,24	2,80	2,55	2,44
II.2	3,04	9,26	2,28	5,22	3,19	2,70	2,71	3,22	3,00	2,75
II.3	2,54	6,46	1,76	3,11	2,61	2,09	1,99	2,93	2,61	2,45
II.4	3,22	10,38	2,55	6,51	3,41	2,77	2,76	3,42	3,23	3,10
II.5	3,31	10,93	2,67	7,15	3,56	3,04	3,03	3,69	3,36	3,20
II.6	2,44	5,93	1,68	2,83	2,13	2,25	2,28	2,31	2,31	2,31
II.7	2,45	6,01	2,08	4,33	2,44	-	-	2,76	2,51	2,35
III.1	3,01	9,08	2,28	5,22	3,25	2,63	2,64	3,26	3,06	2,83
III.2	3,50	12,25	2,53	6,39	3,75	3,12	3,11	3,67	3,50	3,14
III.3	3,00	8,98	2,01	4,03	3,17	2,51	2,39	3,39	3,11	2,84
III.4	3,68	13,53	2,80	7,81	3,97	3,19	3,16	3,88	3,73	3,49
III.5	3,76	14,15	2,92	8,50	4,12	3,46	3,43	4,15	3,86	3,59
III.6	2,89	8,37	1,93	3,71	2,69	2,67	2,68	2,77	2,81	2,70
III.7	2,91	8,46	2,33	5,44	3,00	-	-	3,22	3,01	2,74

U idealnom slučaju, bez obzira na primenjeni program prilikom izračunavanja, $\log P$ vrednosti za isto jedinjenje treba da budu što je moguće sličnije, a korelacija između njih treba da bude potpuna ($r = 1$). Međutim, to nije uvek tako¹⁷⁴. To dokazuju i podaci prikazani u **tabeli 12**, gde su za isto ispitivano jedinjenje izračunate različite vrednosti

podeonog koeficijenta, $\log P$. Činjenica da postoje razlike između izračunatih $\log P$ vrednosti, može se tumačiti kao posledica primene različitih programa koji se razlikuju po načinu izračunavanja, odnosno algoritmu za izračunavanje ovog parametra. Primenjeni algoritmi za izračunavanje $\log P$ vrednost prikazani su u **tabeli 1**.

Iz **tabele 12** se vidi da u okviru svake serije najveću vrednost podeonog koeficijenta, ima jedinjenje **I.5**, **II.5** odnosno **III.5** koje kao supstituent ima brom (-Br), a najmanju $\log P$ vrednost ima jedinjenje **I.6**, **II.6** odnosno **III.6** kod kog je supstituent cijano grupa (-CN). Ovo zapažanje je u skladu sa eksperimentalnim podacima (**tabele 5, 6 i 8**).

Međutim, iako se međusobno razlikuju, računске vrednosti $\log P$ opisuju isto svojstvo molekula i zbog toga je urađena međusobna korelacija svih izračunatih vrednosti podeonog koeficijenta, $\log P$. U **tabeli 13** su prikazane vrednosti međusobne korelacije.

Tabela 13. Korelacioni matiks $\log P$ vrednosti izračunatih pomoću različitih programa

	ALOGP	ALOGP ₂	MLOGP	MLOGP ₂	ClogP	logP _{Crippen}	logP _{Viswanad}	logP _{Broto}	miLogP	logP
ALOGP	1,000									
ALOGP₂	0,995	1,000								
MLOGP	0,914	0,913	1,000							
MLOGP₂	0,916	0,923	0,995	1,000						
ClogP	0,983	0,978	0,934	0,931	1,000					
logP_{Crippen}	0,981	0,979	0,923	0,924	0,941	1,000				
logP_{Viswanad}	0,965	0,962	0,920	0,921	0,918	0,996	1,000			
logP_{Broto}	0,959	0,954	0,928	0,926	0,987	0,912	0,880	1,000		
miLogP	0,993	0,988	0,917	0,918	0,990	0,962	0,938	0,981	1,000	
logP	0,990	0,987	0,929	0,936	0,978	0,969	0,949	0,966	0,989	1,000

Na osnovu prikazanih vrednosti korelacije u **tabeli 13** uočava se najbolja zavisnost između $\log P_{\text{Crippen}}$ i $\log P_{\text{Viswanad}}$. Vrednosti koeficijenta korelacije ($r > 0,880$) u **tabeli 13** ukazuju na dobre međusobne korelacije vrednosti $\log P$ dobijenih primenom različitih matematičkih metoda, odnosno ukazuju na veliku sličnost između svih izračunatih $\log P$ vrednosti.

4.2.6. Korelacija hromatografskih parametara lipofilnosti i izračunatih $\log P$ vrednosti

Nakon međusobne korelacije eksperimentalnih parametara lipofilnosti, ispitana je i podudarnost između eksperimentalnih i računskih $\log P$ vrednosti. Opšte je poznato¹⁷⁵ da između dva koeficijenta raspodele određena u dva različita podeona sistema postoji linearna veza. Ukoliko su to R_M^0 i računске $\log P$ vrednosti onda jednačina (12) zavisnosti glasi:

$$R_M^0 = a + b \cdot \log P \quad (12)$$

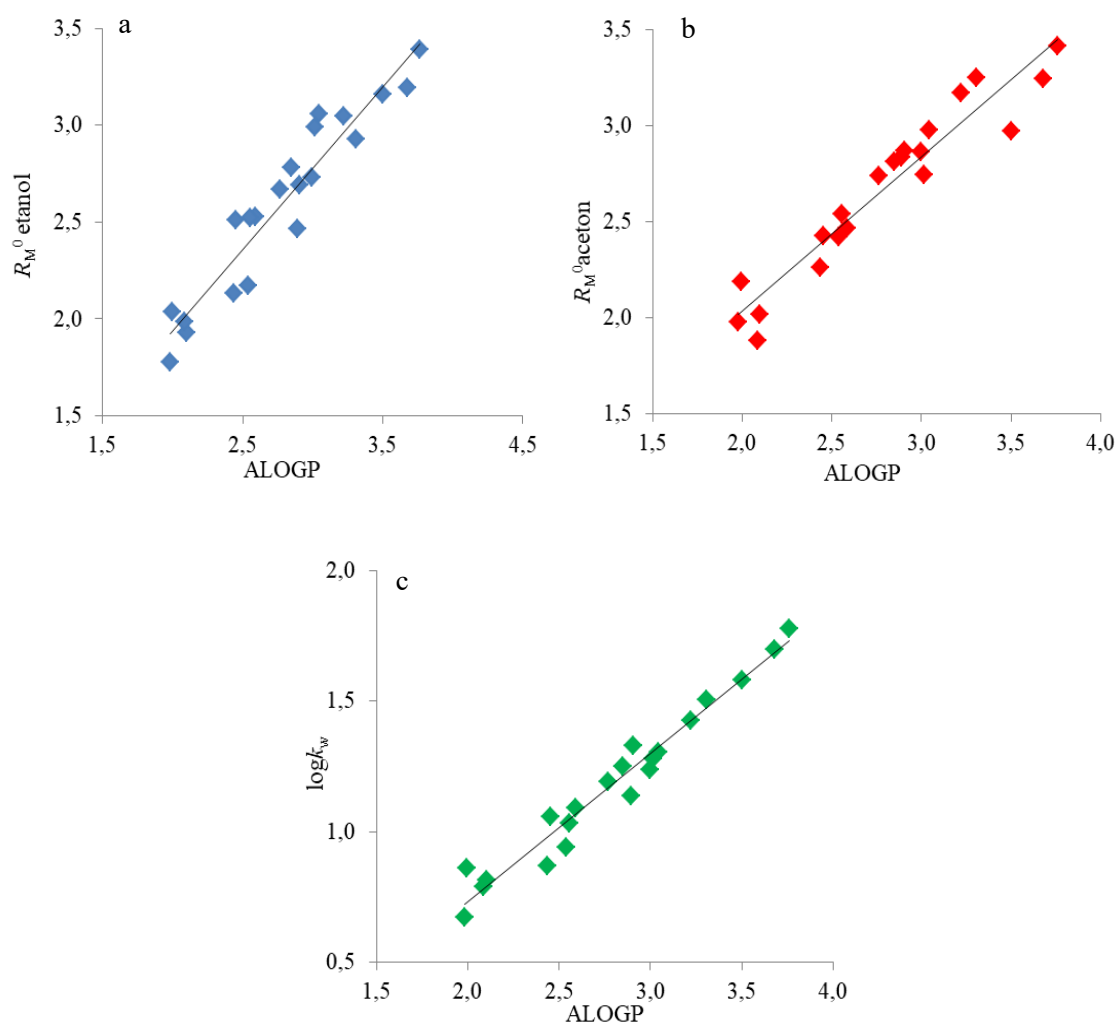
Brojni radovi ukazuju na statistički značajnu povezanost između R_M^0 vrednosti i kompjuterski izračunatih parametara lipofilnost, $\log P$, dobijenim primenom različitih teorijskih alogaritama, koji su integrisani u komercijalne softvere¹⁷⁶⁻¹⁷⁸. Shodno tome izračunate su međusobne i korelacije između R_M^0 vrednosti dobijenih u svim primenjenim organskim rastvaračima i svih izračunatih parametara lipofilnosti, $\log P$, koje su prikazane u tabeli 14.

Tabela 14. Korelacioni matriks vrednosti hromatografskih parametara lipofilnosti (R_M^0 i $\log k_w$) u svim primenjenim pokretnim fazama i različitih $\log P$ vrednosti i ispitivanih spirohidantoina

R_M^0	etanol	<i>n</i> -propanol	<i>i</i> -propanol	<i>t</i> -butanol	acetonitril	acetone	THF	1,4-dioksan	$\log k_w$	prosečna vrednost korelacije
ALOGP	0,952	0,818	0,934	0,827	0,899	0,959	0,937	0,909	0,979	0,913
ALOGP2	0,939	0,810	0,929	0,827	0,898	0,944	0,933	0,927	0,980	0,910
MLOGP	0,939	0,806	0,850	0,726	0,922	0,928	0,942	0,892	0,965	0,886
MLOGP2	0,925	0,803	0,841	0,737	0,925	0,919	0,939	0,914	0,966	0,886
ClogP	0,964	0,845	0,931	0,770	0,887	0,943	0,923	0,884	0,981	0,903
logP_{Crippen}	0,930	0,791	0,912	0,843	0,901	0,955	0,980	0,908	0,969	0,910
logP_{Viswand}	0,922	0,787	0,894	0,841	0,897	0,944	0,969	0,894	0,955	0,900
logP_{Broto}	0,941	0,814	0,909	0,745	0,880	0,930	0,928	0,878	0,970	0,888
miLogP	0,951	0,806	0,940	0,803	0,891	0,957	0,947	0,911	0,982	0,910
logP	0,937	0,812	0,917	0,813	0,913	0,963	0,939	0,930	0,976	0,911
prosečna vrednost korelacije	0,940	0,809	0,906	0,793	0,901	0,944	0,944	0,905	0,972	

Iz **tabele 14** se vidi da je najveći koeficijent korelacije između $\log k_w$ i izračunatih miLogP vrednosti ($r = 0,982$), dok je najlošija zavisnost postignuta između R_M^0 vrednosti sa pokretnom fazom *t*-butanol-voda i izračunatih MLOGP vrednosti ($r = 0,726$). Na osnovu prosečnih vrednosti koeficijenata korelacije (**tabela 14**) može se uočiti da je najveća srednja vrednost korelacionog koeficijenta sa računskim $\log P$ postignuta za $\log k_w$ vrednosti ($r = 0,972$). Zatim slede THF i acetone ($r = 0,944$) i etanol (0,940). Među svim izračunatim podeonim koeficijentima ($\log P$), vrednost ALOGP pokazuje najbolju prosečnu korelaciju sa hromatografskim eksperimentalnim vrednostima (R_M^0 i $\log k_w$) (**tabela 14**).

Ilustracije radi na **slici 14** prikazana je zavisnost podeonog koeficijenta ALOGP i R_M^0 vrednosti u jednom protičnom (**slika 14a**) i jednom aprotičnom (**slika 14b**) rastvaraču, kao i zavisnost između ALOGP i $\log k_w$ vrednosti (**slika 14c**). Sa **slike 14** se može uočiti postojanje linearne zavisnosti između računski i eksperimentalno određenih parametara lipofilnosti u odabranim rastvaračima. Primenom hromatografije na tankom sloju slična zavisnost je dobijena i u slučaju drugih organskih rastvarača, grafici zavisnosti prikazani su na **slikama P18-P23** u Prilogu.



Slika 14. Zavisnost R_M^0 vrednosti dobijenih u etanolu (a) i acetonu (b) od ALOGP i zavisnost $\log k_w$ vrednosti (c) od ALOGP

Sve prethodno navedeno ukazuje na postojanje linearne zavisnosti između R_M^0 , odnosno $\log k_w$ vrednosti i vrednosti računskih $\log P$. Međutim, izračunate $\log P$ vrednosti se različito korelišu sa hromatografskim eksperimentalnim vrednostima (R_M^0 i $\log k_w$). Ovo je rezultat činjenice da kompjuterski izračunati parametri lipofilnosti ($\log P$) uzimaju u obzir prosečne interakcije, ali ne i specifične interakcije do kojih dolazi u realnim uslovima. Te specifične interakcije se mogu utvrditi jedino i samo eksperimentalnim metodama. Takođe, pogodnost eksperimentalne metode je i ta što sa promenom rastvarača u kontrolisanim uslovima utičemo na retenciju, a samim tim indirektno i na međumolekulske interakcije. Pored standardnih organskih rastvarača u TLC-u moguća je upotreba i ostalih, nestandardnih organskih rastvarača, kao što su *i*-propanol, aceton, 1,4-dioksan, koji takođe mogu biti od koristi u analizi međumolekulskih interakcija u realnim podeonim sistemima. Sve ovo potvrđuje da je tečna hromatografija na obrnutim fazama pogodna za određivanje i proučavanje lipofilnosti novosintetisanih derivata spirohidantoina.

4.2.7. QSRR modeli za predviđanje parametara lipofilnosti ispitivanih jedinjenja

Proučavanje odnosa između strukture molekula i hromatografskog parametra lipofilnosti, ima za cilj pronalaženje matematičkih modela kojim se opisuje veza između hromatografskih parametara lipofilnosti i strukture novosintetisanih derivata spirohidantoina (QSRR). Da bi došli do odgovarajućih QSRR modela primenjena je metoda višestruke linearne regresije (MLR)^{179–181}.

MLR je jedna od najčešće primenjivanih metoda u QSRR istraživanjima¹⁸⁰. U MLR analizi, kao nezavisne promenljive uzimaju se fizičko-hemijski parametri (molekulski deskriptori), dok zavisnu promenljivu predstavlja hromatografski parametar lipofilnosti.

Međutim, kod MLR metode postoje ograničenja. Ne može se primeniti za modelovanje kompleksnog seta podataka u kojem broj nezavisno promenljivih (molekulskih deskriptora) prevazilazi broj objekata (jedinjenja). Prema tome, prilikom formiranja QSRR modela neophodno je voditi računa o odnosu broja molekulskih deskriptora i broja podataka (broj jedinjenja). Ukoliko je broj molekulskih deskriptora prevelik može se dobiti model sa umanjenom sposobnosti predviđanja povećavajući grešku predviđanja. Opšte prihvaćeno pravilo je da broj jedinjenja treba da bude pet puta veći od broja nezavisnih promenljivih¹⁸². Drugo ograničenje je da korišćeni deskriptori u konačnim QSRR modelima ne smeju biti u međusobnoj korelaciji. Dva deskriptora su međusobno nezavisna ukoliko je njihova uzajamna vrednost korelacionog koreficienta manja od 0,800¹⁸³.

Vrednosti izračunatih molekulskih deskriptora koji su korišćeni u analizi date se u **tabeli P11** u Prilogu. Pre same regresione analize i formiranja konačnog modela, neophodno je smanjiti broj deskriptora tako da njihov broj ne bude veći od dozvoljenog. Smanjenje broja deskriptora podrazumeva njihovu eliminaciju iz početnog skupa, koji sadrži preko 2700 molekulskih deskriptora. Selekcija molekulskih deskriptora je urađena na sledeći način:

- Prvo su eliminisani oni deskriptori čije su brojčane vrednosti jednake za sva ispitivana jedinjenja, jer kao takvi ne daju informacije o razlikama strukturno sličnih jedinjenja.
- Zatim su eliminisani oni deskriptori čije vrednosti nisu dostupne za sva ispitivana jedinjenja.
- Naredni korak u eliminaciji neadekvatnih molekulskih deskriptora podrazumevao je isključivanje iz analize onih deskriptora koji su pokazali veliki stepen međusobne korelacije, odnosno uzima se samo jedan od njih.

Broj molekulskih deskriptora koji je zadržan nakon selekcije i primenjen u analizi bio je 48. Da bi ispitali kvantitativnu vezu između vrednosti hromatografskih parametara lipofilnosti i računski dobijenih molekulskih deskriptora za ispitivana jedinjenja u devet različitih hromatografskih sistema korišćena je MLR. Konačne regresione jednačine za 21 ispitivano jedinjenje, dobijene su primenom dve metode: *Forward stepwise* metode (postepenog dodavanja promenljivih) i *Backward stepwise* metode (postepene eliminacije promenljivih). Nakon automatske selekcije molekulskih deskriptora, izračunate su konačne regresione jednačine zavisnosti hromatografskog parametra lipofilnosti od molekulskih deskriptora, kao i statistički parametri koji opisuju date jednačine (**tabela 15**). Statistički parametri definišu kvalitet dobijenih jednačina, odnosno modela.

Statistički parametri korišćeni za proveru kvaliteta QSRR modela (**tabela 15**) su prilagođen (*adjusted*) koeficijent determinacije R^2_{adj} , nivo značajnosti modela p ($p < 0,05$) i F vrednost (parametar značajnosti jednačine prema Fišerovom (Fischer) testu). Dodatno modeli su provereni internom validacijom. Interna validacija je neophodna iz razloga što modeli koji su naizgled adekvatni prema statističkim parametrima ne moraju obavezno imati dobru sposobnost predviđanja. Sposobnost predviđanja svakog modela je definisana inertnim validacionim koeficijentom koji se označava sa Q^2 . Odgovarajući model je validan ukoliko je vrednost Q^2 veća od 0,7, dok niske vrednosti za Q^2 ukazuju na nisku sposobnost predviđanja modela¹⁸⁴. Takođe, uz vrednosti regresionih koeficijenata date su njihove standardne devijacije, kao i nivo značajnosti svakog pojedinačnog molekulskog deskriptora ($p < 0,05$).

Tabela 15. QSRR modeli i statistički parametri datih modela

<i>Forward stepwise</i>		
Jednačina	Q ²	Broj modela
$R_M^0_{\text{etanol}} = 0,747(\pm 0,121) + 0,649(\pm 0,041)\text{ClogP}$ $p(\text{odsečka}) = 0,000; p(\text{ClogP}) = 0,000$ $R^2_{\text{adj}} = 0,925; F = 247,928; p = 0,000$	0,929	3
$R_M^0_{n\text{-propanol}} = 1,330(\pm 0,274) + 0,244(\pm 0,030)\text{ClogP} - 0,012(\pm 0,005)\text{IAC}$ $p(\text{odsečka}) = 0,000; p(\text{ClogP}) = 0,000; p(\text{IAC}) = 0,026$ $R^2_{\text{adj}} = 0,760; F = 32,628; p = 0,000$	0,784	4
$R_M^0_{i\text{-propanol}} = 0,166(\pm 0,111) + 0,469(\pm 0,039)\text{miLogP}$ $p(\text{odsečka}) = 0,150; p(\text{miLogP}) = 0,000$ $R^2_{\text{adj}} = 0,878; F = 145,597; p = 0,000$	0,885	5
$R_M^0_{t\text{-butanol}} = 0,832(\pm 0,092) + 0,256(\pm 0,032)\text{ALOGP}$ $p(\text{odsečka}) = 0,000; p(\text{ALOGP}) = 0,000$ $R^2_{\text{adj}} = 0,755; F = 62,655; p = 0,000$	0,767	6
$R_M^0_{\text{acetoniitril}} = 1,926(\pm 0,098) + 0,187(\pm 0,019)\text{MLOGP2}$ $p(\text{odsečka}) = 0,000; p(\text{MLOGP2}) = 0,000$ $R^2_{\text{adj}} = 0,825; F = 95,135; p = 0,000$	0,834	7
$R_M^0_{\text{aceton}} = 0,301(\pm 0,154) + 0,891(\pm 0,057)\text{logP}$ $p(\text{odsečka}) = 0,066; p(\text{logP}) = 0,000$ $R^2_{\text{adj}} = 0,924; F = 242,976; p = 0,000$	0,927	8
$R_M^0_{\text{THF}} = -4,185(\pm 0,494) + 0,791(\pm 0,034)\text{miLogP} + 1,516(\pm 0,171)\text{Uc} -$ $0,029(\pm 0,006)\text{Pol}$ $p(\text{odsečka}) = 0,000; p(\text{miLogP}) = 0,000; p(\text{Uc}) = 0,000; p(\text{Pol}) = 0,000$ $R^2_{\text{adj}} = 0,980; F = 322,182; p = 0,000$	0,985	9
$R_M^0_{1,4\text{-dioksan}} = -2,477(\pm 0,800) + 0,999(\pm 0,052)\text{logP} + 0,748(\pm 0,227)\text{Uc}$ $p(\text{odsečka}) = 0,006; p(\text{logP}) = 0,000; p(\text{Uc}) = 0,000$ $R^2_{\text{adj}} = 0,952; F = 198,896; p = 0,000$	0,957	10
$\log k_w = -0,639(\pm 0,099) + 0,493(\pm 0,016)\text{miLogP} + 0,109(\pm 0,017)\text{logD} +$ $3,867(\pm 1,073)\text{RBF}$ $p(\text{odsečka}) = 0,000; p(\text{miLogP}) = 0,000; p(\text{logD}) = 0,000; p(\text{RBF}) = 0,000$ $R^2_{\text{adj}} = 0,987; F = 523,248; p = 0,000$	0,989	11

Backward stepwise

Jednačina	Q ²	Broj modela
$R_{M^0}^{\text{etanol}} = 0,437(\pm 0,164) + 0,776(\pm 0,058)\text{miLogP}$ p (odsečka) = 0,015; p (miLogP) = 0,000 $R^2_{\text{adj}} = 0,900$; $F = 181,297$; $p = 0,000$	0,905	12
$R_{M^0}^{\text{n-propanol}} = 0,906(\pm 0,423) - 0,345(\pm 0,074)\text{Sv} + 0,343(\pm 0,067)\text{Sp}$ p (odsečka) = 0,046; p (Sv) = 0,000; p (Sp) = 0,000 $R^2_{\text{adj}} = 0,565$; $F = 13,990$; $p = 0,000$	0,609	13
$R_{M^0}^{\text{i-propanol}} = 0,380(\pm 0,101) + 0,384(\pm 0,035)\text{ClogP}$ p (odsečka) = 0,001; p (ClogP) = 0,000 $R^2_{\text{adj}} = 0,860$; $F = 123,471$; $p = 0,000$	0,867	14
$R_{M^0}^{\text{t-butanol}} = -0,374(\pm 0,292) - 0,087(\pm 0,019)\text{Se} + 0,209(\pm 0,033)\text{Sp}$ p (odsečka) = 0,217; p (Se) = 0,000; p (Sp) = 0,000 $R^2_{\text{adj}} = 0,721$; $F = 26,835$; $p = 0,000$	0,749	15
$R_{M^0}^{\text{acetonitril}} = -1,084(\pm 0,992) + 0,527(\pm 0,109)\text{Sp} - 0,244(\pm 0,060)\text{nAT}$ p (odsečka) = 0,255; p (Sp) = 0,000; p (nAT) = 0,000 $R^2_{\text{adj}} = 0,543$; $F = 12,904$; $p = 0,000$	0,589	16
$R_{M^0}^{\text{aceton}} = -2,842(\pm 1,005) + 0,615(\pm 0,119)\text{Sp} - 0,261(\pm 0,065)\text{nAT}$ p (odsečka) = 0,011; p (Sp) = 0,000; p (nAT) = 0,000 $R^2_{\text{adj}} = 0,624$; $F = 17,609$; $p = 0,000$	0,662	17
$R_{M^0}^{\text{THF}} = -1,993(\pm 0,422) + 0,005(\pm 0,002)\text{V}_x$ $-0,555(\pm 0,117)\log S + 0,072(\pm 0,625)\log D$ p (odsečka) = 0,000; p (V _x) = 0,012; p (logS) = 0,000; p (logD) = 0,264 $R^2_{\text{adj}} = 0,898$; $F = 59,766$; $p = 0,000$; $Q^2 = 0,926$	0,926	18
$R_{M^0}^{\text{1,4-dioksan}} = 1,442(\pm 0,101) + 0,241(\pm 0,020)\text{MLOGP2}$ p (odsečka) = 0,000; p (MLOGP2) = 0,000 $R^2_{\text{adj}} = 0,879$; $F = 146,809$; $p = 0,000$	0,885	19
$\log k_w = 0,397(\pm 0,051) + 0,164(\pm 0,010)\text{MLOGP2}$ p (odsečka) = 0,000; p (MLOGP2) = 0,000 $R^2_{\text{adj}} = 0,929$; $F = 263,923$; $p = 0,000$	0,933	20

Kod QSRR modela (3)-(11) koji su predstavljeni u **tabeli 15** za selekciju molekulskih deskriptora primenjena je *Forward stepwise* metoda.

QSRR model (3) za hromatografski sistem sa etanolom kao organskim rastvaračem. Visoke vrednosti parametara R^2_{adj} i F , kao i $p < 0,05$ ukazuju da je dobijeni monoparametarski model statistički značajan, dok visoka vrednost statističkog parametara $Q^2 = 0,929$ ocenjuje QSRR model (3) sa dobrom sposobnosti predviđanja.

QSRR model (4) za hromatografski sistem sa *n*-propanolom kao organskim rastvaračem sadrži molekulske deskriptore: ClogP (podeoni koeficijent) i IAC (ukupan indeks informacija o atomskom sastavu). Na osnovu brojnih vrednosti regresionih koeficijenta uočava se da je vrednost koeficijenta uz molekulski deskriptor IAC negativna i veoma mala. Negativna vrednost koeficijenta ispred molekulskog deskriptora IAC ukazuje da je regresija obrnuta, dok se na osnovu brojčanih vrednosti koeficijenta ispred IAC može zaključiti da je njegov doprinos lipofilnosti zanemarljiv. Vrednosti statističkih parametara (R^2_{adj} , F , $p < 0,05$ i Q^2) ukazuju da je dobijeni model pogodan za predviđanje hromatografske lipofilnosti, odnosno R_M^0 vrednosti.

QSRR model (5) za hromatografski sistem sa *i*-propanolom kao organskim rastvaračem definisan je jednim molekulskim deskriptorom (miLogP). Ukoliko se posmatra nivo značajnosti p za regresioni koeficijent koji opisuje odsečak prave može se uočiti da je $p > 0,05$, odnosno da dobijena vrednost nije statistički značajna. Međutim, na osnovu vrednosti statističkih parametara samog modela (R^2_{adj} , F i p) ocenjeno je da je model u celini statistički značajan i validan. Model (5) poseduje dobru moć predviđanja na šta ukazuje vrednost parametra Q^2 koja je veća od 0,7.

Za hromatografski sistem sa *t*-butanolom kao organskim rastvaračem dobijen je monoparametarski QSRR model. Dobijeni model je opisan sa podeonim koeficijentom, ALOGP. Vrednosti statističkih parametara R^2_{adj} , F , p i Q^2 potvrđuju dobre karakteristike QSRR modela (6).

Model za hromatografski sistem sa acetonitrilom kao organskim rastvaračem ima samo jednu nezavisno promenljivu. Predstavljeni QSRR model (7) je opisan sa vrednošću statističkog parametra $Q^2 = 0,834$, na osnovu koje se procenjuje da model ima dobre sposobnosti predviđanja.

QSRR model (8) za hromatografski sistem sa acetonom sadrži samo jedan molekularni deskriptor $\log P$, podeoni koeficijent. Iako regresioni koeficijent koji opisuje odsečak prave nije statistički značajan ($p > 0,05$). Visoke vrednosti parametara R^2_{adj} i Q^2 ukazuju da je QSRR model (8) adekvatan u predviđanju R_M^0 vrednosti.

Dobijeni QSRR model (9) za hromatografski sistem sa tetrahidrofuranom kao organskim rastvaračem je višeparametarski i opisan je sa tri molekularna deskriptora. Iz jednačine (**tabela 15**, QSRR model (9)) se vidi da regresioni koeficijenti za molekularni deskriptor Pol, koji ukazuje na polarnost molekula, ima negativne vrednosti. Negativna vrednost koeficijenta molekularnog deskriptora Pol ukazuje da je regresija obrnuta, odnosno da što je veća vrednost molekularnog deskriptora, hromatografski parametar lipofinosti R_M^0 će biti manji. Na osnovu vrednosti statističkih parametara R^2_{adj} i F , uočava se da je QSRR model (9) najbolje ocenjen od svih prikazanih modela (**tabela 15**), gde je kao zavisno promenljiva primenjena R_M^0 vrednost (QSRR model (3) – QSRR model (10) i QSRR model (12) – QSRR model (19)). Takođe, za ovaj model dobijene su najveće vrednosti za Q^2 , što ukazuje na najbolje prediktivne karakteristike modela.

QSRR model (10) za hromatografski sistem sa 1,4-dioksanom kao organskim rastvaračem opisan je sa dva molekularna deskriptora: $\log P$ (podeoni koeficijent) i U_c (broj nezasićenih veza). QSRR model (10) pokazuje dobru prediktivnu moć, na šta ukazuju brojčane vrednosti statističkih parametara (**tabela 15**).

QSRR model (11), u kojem je zavisno promenljiva $\log k_w$ vrednost, uključuje tri molekularna deskriptora. Iz regresione jednačine (**tabela 15**, model 11) se može uočiti da model opisuje podeoni koeficijent $mi\log P$, molekularni deskriptor $\log D$ koji predstavlja distribicioni koeficijent pri $pH=7,4$ i deskriptor RBF koji opisuje udeo veza oko kojih je moguća slobodna rotacija. Pozitivne vrednosti koeficijenta ukazuju da je regresija direktna, odnosno da što je veća vrednost koeficijenata molekularnih deskriptora, vrednost hromatografskog parametara lipofinosti $\log k_w$ će biti veća. Na osnovu brojčanih vrednosti statističkih parametara modela (R^2_{adj} , F i Q^2) uočava se da QSRR model (11) poseduje najbolje prediktivne karakteristike u odnosu na sve predstavljene modele dobijene primenom obe metode.

Kod QSRR modela (12)-(20) koji su predstavljeni u **tabeli 15** za selekciju molekulskih deskriptora primenjena je *Backward stepwise* metoda.

Na osnovu regresione jednačine može se uočiti da je model za hromatografski sistem sa etanolom kao organskim rastvaračem, QSRR model (12), monoparametarski model. U QSRR modelu (12) figuriše deskriptor lipofilnosti, (miLogP), pozitivna vrednost regresionog koeficijenta u jednačini predstavlja indicaciju za direktnu regresiju. Na osnovu koeficijenta determinacije (R^2_{adj}) i F -vrednosti može se zaključiti da model opisuje jaku zavisnost između varijabli, kao i da je predviđanje samog modela zadovoljavajuće ($Q^2=0,905$).

QSRR model (13) za hromatografski sistem sa *n*-propanolom, je dvoparametarski model koji je okarakterisan sa molekulskim deskriptorima Sv (zbir atomskih van der Vals-ovih zapremina atoma) i Sp (zbir atomske polarizabilnosti). Međutim, na osnovu dobijenih niskih statističkih parametara modela zaključuje se da QSRR model (13) nije pogodan za predviđanje ($Q^2<0,7$).

QSRR model (14) za hromatografski sistem sa *i*-propanolom sadrži jedan molekulski deskriptor, odnosno podeoni koeficijent ClogP. Na osnovu pozitivnog predznaka regresionog koeficijenta može se zaključiti da lipofinost pozitivno utiče na retenciono ponašanje ispitivanih jedinjenja, odnosno da je regresija direktna. Rezultati parametara dobijenog modela ukazuju da je QSRR model (14) statistički značajan i da se uspešno može koristiti za predviđanje R_M^0 vrednosti.

QSRR model (15) za hromatografski sistem sa *t*-butanolom kao organskim rastvaračem opisan je sa dva molekulska deskriptora. U QSRR modelu (15) figurišu molekulski deskriptori Sv, koji definiše zbir atomskih van der Vals-ovih zapremina, i Sp, koji opisuje zbir atomske polarizabilnosti. Negativna vrednost koeficijenta uz deskriptor Se ukazuje da je regresija obrnuta, odnosno da sa većom vrednošću deskriptora Se, vrednost hromatografskog parametara lipofinosti R_M^0 je manja. Na osnovu vrednosti parametra Q^2 ocenjuje se da model ima dobre prediktivne karakteristike, bez obzira što regresioni koeficijent koji opisuje odsečak nije statistički značajan ($p > 0,05$).

QSRR model (16) za hromatografski sistem sa acetonitrilom je dvoparametarski, definišu ga molekulski deskriptori Sp (zbir atomske polarizabilnosti) i nAT (broj atoma u molekulu). Iz jednačine se vidi da regresioni koeficijent uz molekulski deskriptor nAT

ima negativnu vrednosti. Negativna vrednosti koeficijenta ispred deskriptora nAT pokazuje da je regresija obrnuta. Ukoliko se posmatra nivo značajnosti p za regresioni koeficijent koji opisuje odsečak prave može se uočiti da je $p > 0,05$, odnosno da dobijena vrednost nije statistički značajna. Takođe, procenjuje se da dobijeni model nema dobre sposobnosti predviđanja na šta ukazuje vrednost parametara Q^2 .

QSRR model (17) za hromatografski sistem sa acetonom kao organskim rastvaračem, sadrži dva molekulska deskriptora, Sp koji definiše zbir atomske polarizabilnosti i nAT koji opisuje broj atoma u molekulu. U skladu sa dobijenim vrednostima parametara modela smatra se da QSRR model (17) nije pouzdan za predviđanje.

QSRR model (18) za hromatografski sistem sa tetrahidrofuranom je višeparametarski model. Odnosno, karakterišu ga tri molekulska deskriptora, V_x (zapremina), $\log S$ (logaritam rastvorljivosti u vodi) i $\log D$ (logaritam distribucionog koeficijenta pri $pH=7,4$). Negativna vrednost koeficijenta uz deskriptor $\log S$ ukazuje da je regresija obrnuta, odnosno da sa većom vrednošću deskriptora $\log S$ hromatografski parametar lipofinosti R_M^0 ima manju vrednost, odnosno retencija je manja. Takođe, uočava se mala vrednost koeficijenta uz molekulski deskriptor V_x . Posmatrajući nivo značajnosti p za regresioni koeficijent koji opisuje molekulski deskriptor $\log D$, može se uočiti da je $p > 0,05$, odnosno da dobijena vrednost nije statistički značajna. Međutim, vrednost statističkog parametar Q^2 pokazuje da je QSRR model (18) adekvatan i pogodan za predviđanje hromatografskog parametra lipofinosti R_M^0 .

QSRR model (19) za hromatografski sistem sa 1,4-dioksanom kao organskim rastvaračem u pokretnoj fazi opisan je samo sa deskriptorom lipofilnosti, MLOGP2. QSRR model (19) pokazuje dobru prediktivnu moć i pouzdan je za predviđanje, na šta ukazuje vrednost parametara Q^2 .

QSRR model (20), u kojem je zavisno promenljiva $\log k_w$ vrednost, a kao organski rastvarač u pokretnoj fazi primenjen je acetonitril, takođe sadrži samo deskriptor lipofilnosti, MLOG2. Pozitivan predznak regresionog koeficijenta, ukazuje da se sa povećanjem lipofilnosti povećava i R_M^0 vrednost ispitivanih jedinjenja. Visoke vrednosti statističkih parametara (R^2_{adj} , F i p) ukazuju da je model statistički značajan. Model poseduje dobre prediktivne karakteristike što potvrđuje visoka vrednost za statistički parametar Q^2 .

Na osnovu dobijenih QSRR modela (3)–(20) može se zaključiti da je logaritam podeonog koeficijenta, $\log P$ (ClogP, milLogP, ALOGP, MLOGP2, logP), dominantan faktor kod većine predstavljenih modela QSRR, što ukazuje na veliki uticaj lipofilnosti na retenciono ponašanje ispitivanih jedinjenja. 72% izračunatih modela sadrže podeoni koeficijent, $\log P$, kao molekulski deskriptor. U svim QSRR modelima sa jednom nezavisnom promenljivom, modeli (3), (5–8), (12), (14), (19) i (20), uočava se da se kvantitativni odnos između strukture i R_M^0 vrednosti može izraziti isključivo pomoću podeonog koeficijenta, $\log P$, kao molekuskog deskriptora. Vrednosti koeficijenta uz deskriptor $\log P$ u svim QSRR modelima sa jednom nezavisno promenljivom imaju pozitivan predznak, što ukazuje da je regresija direktna. Takođe, veći uticaj na lipofilnost pokazuje i molekulski deskriptor S_p (zbir atomske polarizabilnosti) koji je prisutan u 22% izračunatih modela. Molekulski deskriptor U_c (broj nezasićenih veza), $\log D$ (logaritam distribucionog koeficijenta pri pH=7,4) kao i nAT (broj atoma) javlja se u 11% modela. Takođe, može se primetiti da se ova tri molekulska deskriptora (U_c , $\log D$ i nAT) javljaju samo u QSRR modelima gde je lipofilnost određivana u aprotičnim organskim rastvaračima.

Na osnovu statističkih parametara uočava se da QSRR modeli, gde je za selekciju molekulskih deskriptora primenjena *Forward stepwise* metoda, pokazuju bolje prediktivne karakteristike. Odnosno, imaju veće vrednosti za statistički parametar Q^2 , u odnosu na modele kod kojih je za selekciju molekulskih deskriptora primenjena *Backward stepwise* metoda. Takođe, može se uočiti da primenom *Backward stepwise* metode, modeli (13), (16) i (17) se na osnovu statističkog parametara Q^2 ocenjuju kao modeli sa lošim prediktivnim karakteristikama i zbog toga će navedeni modeli biti izostavljeni iz daljeg razmatranja.

Na osnovu vrednosti prilagođenog koeficijenta determinacije koji se kreće od $R_{adj}^2 = 0,721$ (za *t*-butanol, *Backward stepwise* metoda) do $R_{adj}^2 = 0,993$ (za zavisno promenljivu $\log k_w$, *Forward stepwise* metoda) može se zaključiti da svi predstavljeni QSRR modeli ukazuju na veoma jaku zavisnost između promenljivih, kao i da se predviđanje hromatografskog parametra lipofilnosti postiže sa greškom predviđanja u prihvatljivim granicama. Visoke vrednosti F -parametra ukazuju na dobro slaganje podataka. Uvid u moć predviđanja QSRR modela daje validacioni koeficijent Q^2 . Vidi se da su vrednosti za validacioni koeficijent Q^2 za sve QSRR modele u rasponu od 0,749 do 0,994. Ovako visoke vrednosti statističkih parametara (R_{adj}^2 , F i p) ukazuju da su svi predloženi QSRR

modeli statistički značajni, dok visoke vrednosti validacionog koeficijenta Q^2 ukazuju da su modeli pouzdani i pogodni za predviđanje hromatografske lipofilnosti sličnih jedinjenja i njihovog hromatografskog ponašanja.

Zavisnost između eksperimentalno određenih i izračunatih R_M^0 , odnosno $\log k_w$ vrednosti za 21 ispitivano jedinjenje na osnovu QSRR modela prikazana je u **tabeli 16**.

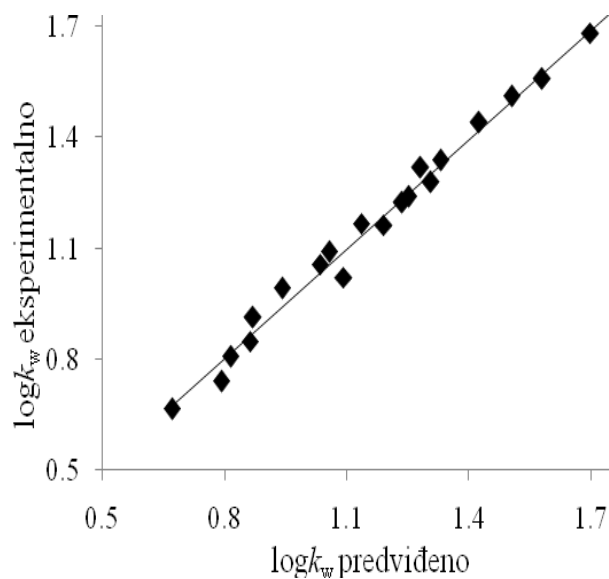
Tabela 16. Jednačine zavisnosti eksperimentalnih i izračunatih hromatografskih parametara lipofilnosti

Organski rastvarač	Jednačina	R^2	Broj QSRR modela
etanol	$y = 0,929x + 0,185$	0,929	3
n-propanol	$y = 0,784x + 0,283$	0,784	4
i-propanol	$y = 0,885x + 0,171$	0,885	5
t-butanol	$y = 0,767x + 0,360$	0,767	6
acetonitril	$y = 0,834x + 0,470$	0,834	7
acetone	$y = 0,928x + 0,194$	0,927	8
THF	$y = 0,982x + 0,033$	0,982	9
1,4-dioksan	$y = 0,956x + 0,112$	0,956	10
acetonitril	$y = 0,989x + 0,012$	0,989	11
etanol	$y = 0,905x + 0,247$	0,905	12
i-propanol	$y = 0,867x + 0,197$	0,867	14
t-butanol	$y = 0,749x + 0,389$	0,749	15
THF	$y = 0,913x + 0,169$	0,913	18
1,4-dioksan	$y = 0,885x + 0,297$	0,885	19
acetonitril*	$y = 0,932x + 0,079$	0,933	20

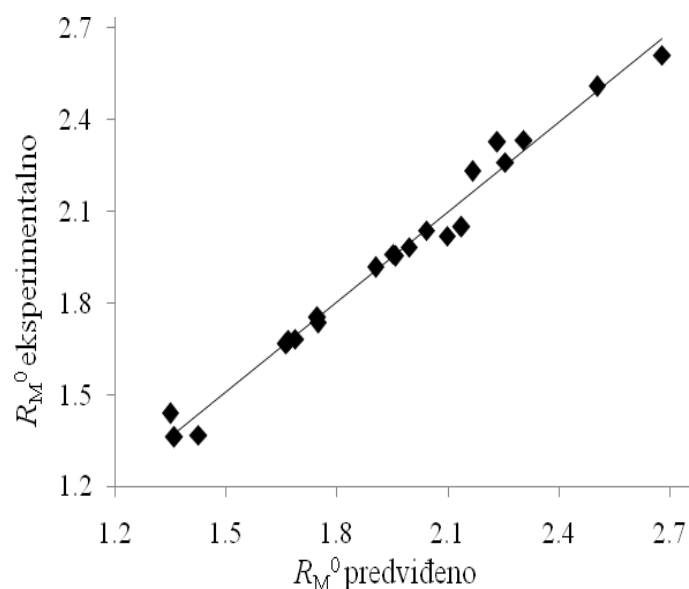
* HPLC

Od svih predstavljenih QSRR modela na osnovu prikazanih rezultata iz **tabele 15 i 16**, očigledno je da je najbolji QSRR model za predviđanje hromatografskog parametra lipofilnosti QSRR model (11), gde je zavisna promenljiva bila $\log k_w$ vrednost. Za predviđanje R_M^0 vrednosti kao najbolji model pokazao se QSRR model (9), gde je lipofilnost određivana u THF-u kao organskom rastvaraču.

Grafički prikaz zavisnosti između eksperimentalno određenih hromatografskih parametara lipofilnosti i izračunatih parametara lipofilnosti na osnovu QSRR modela predstavljen je na slikama 15 i 16.



Slika 15. Poređenje eksperimentalnih i predviđenih $\log k_w$ vrednosti na osnovu QSRR modela (11) za pokretnu fazu acetonitril-voda



Slika 16. Poređenje eksperimentalnih i predviđenih R_M^0 vrednosti na osnovu QSRR modela (9) za pokretnu fazu THF-voda

Na **slikama 15 i 16**, prikazane su zavisnosti između eksperimentalnih hromatografskih parametara lipofilnosti i izračunatih parametara lipofilnosti na osnovu QSRR modela koji su pokazali najbolje prediktivne karakteristike.

Za preostale QSRR modele slike dobijenih zavisnosti date su u Prilogu (**slike P24–P32**), na osnovu kojih se takođe uočava da su dobijeni modeli pogodni za procenu hromatografskog parametara lipofilnosti.

4.2.8. Analiza međumolekulskih interakcija primenom LSER pristupa

Imajući u vidu da su ispitivana jedinjenja spirohidantoina novosintetisana, razumevanje njihovih svojstava i interakcija koja su odgovorna za njihovu aktivnost je veoma značajno za njihov dalji razvoj kao biološki aktivnih jedinjenja.

Jedan od načina da se analiziraju interakcije je LSER pristup. U različitim hromatografskim sistemima LSER modelovanje je veoma korisno u utvrđivanju vrsta interakcija, kao i u određivanju jačine hemijskih interakcija¹⁸⁵. LSER modelovanje je primenjeno u cilju poređenja podeonih sistema, uključujući i hromatografske, kao i poređenje interakcija koje preovladavaju u njima.

Kako bi se ustanovilo koje interakcije dovode do raspodele u samim sistemima (raspodele između pokretne i nepokretne faze) LSER modelovanje je primenjeno na skup od 8 referentnih jedinjenja koja su bila korišćena i za indirektno određivanje lipofilnosti. Vrednosti Abrahamovih¹⁵⁶ solvatohromnih parametara za referentna jedinjenja predstavljene su u **tabeli 17**.

Tabela 17. Vrednosti Abrahamovih solvatohromnih parametara za referentna jedinjenja

Broj jedinjenja	Referentna jedinjenja	Abrahamovi solvatohromni parametri				
		<i>E</i>	<i>S</i>	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>V</i>
1	benzoeva kiselina	0,73	0,90	0,59	0,40	0,93
2	4-nitrofenol	1,07	1,72	0,82	0,26	0,95
3	Naftilamin	1,67	1,26	0,20	0,57	1,18
4	4-hlorfenol	0,92	1,08	0,67	0,20	0,90
5	4-hlorbenzoeva kiselina	0,84	1,02	0,63	0,27	1,05
6	2,4-dihlorfenol	0,96	0,82	0,54	0,17	1,02
7	benzofenon	1,45	1,50	0,00	0,50	1,48
8	difenilamin	1,47	1,32	0,30	0,28	1,42

Primenom Abrahamove jednačine (10) dobijeni su LSER modeli tako što je za svaki hromatografski sistem primenjena višestruka linearna regresija na datom skupu

referentnih jedinjenja (**tabela 17**). Kao zavisno promenljive korišćene su eksperimentalne $\log K_{ow}$, R_M^0 i $\log k_w$ vrednosti referentnih jedinjenja, a kao nezavisno promenljive Abrahamovi solvatohromni parametri (A , B , S , E i V). Primenom višestruke linearne regresije izračunati su koeficijenti LSER regresije I , a , b , s , e i v koji predstavljaju razliku pojedinačnih doprinosa interakcija od strane nepokretne i pokretne faze sa ispitivanim jedinjenjem. Dobijeni regresioni koeficijenti i statistički parametri modela prikazani su u **tabeli 18**.

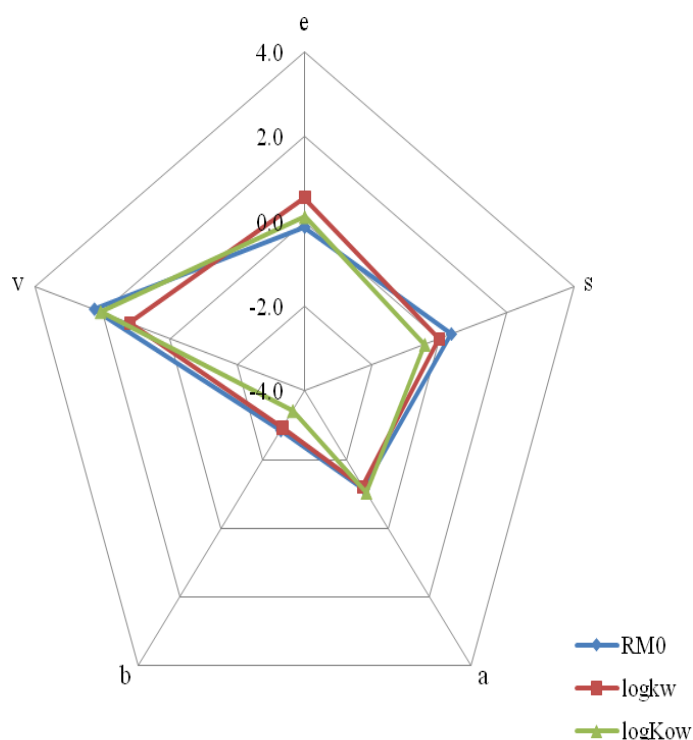
Tabela 18. Vrednosti koeficijenata linearnog odnosa energije solvatacije (LSER) za sisteme oktanol-voda (LSER model 21) i hromatografske sisteme PR-18 i acetonitril-voda (LSER model 22 (TLC) i LSER model 23 (HPLC))

Broj modela	LSER model 21 ($\log K_{ow}$)	LSER model 22 (R_M^0)	LSER model 23 ($\log k_w$)
I	2,328($\pm 1,019$)	0,690($\pm 2,048$)	0,572($\pm 0,574$)
a	-1,039($\pm 0,670$)	-1,144($\pm 1,346$)	-1,212($\pm 0,378$)
b	-3,427($\pm 0,572$)	-2,853($\pm 1,149$)	-2,930($\pm 0,322$)
s	-0,439($\pm 0,235$)	0,358($\pm 0,471$)	-0,015($\pm 0,132$)
e	0,112($\pm 0,247$)	-0,133($\pm 0,497$)	0,561($\pm 0,139$)
v	2,057($\pm 0,617$)	2,250($\pm 1,241$)	1,195($\pm 0,348$)
r	0,985($\pm 0,104$)	0,947($\pm 0,209$)	0,994($\pm 0,059$)
p	0,021	0,070	0,008
n	8	8	8

Statistički parametri modela koji su uzeti u obzir su sledeći: r - koeficijent korelacije, standardna devijacija (vrednosti prikazane u zagradi) i p - statistička značajnost. Vrednosti koeficijenta korelacije r za svaki prikazani LSER model ($r > 0,947$) ukazuju na visok stepen linearne zavisnosti između hromatografskih parametara lipofilnosti i solvatohromnih parametara. Vrednosti standardne devijacije ($\pm 0,104$; $\pm 0,209$; $\pm 0,059$) i dobijene vrednosti za statističku značajnost (p) su zadovoljavajuće i ukazuju i na odsustvo prećenjenosti modela.

U svakom LSER modelu su razmatrane brojčane vrednosti koeficijenata i predznak koeficijenata (a , b , s , e i v). Što je veća brojčana vrednost koeficijenta veći je značaj određene specifične interakcije na mehanizam zadržavanja i raspodele. Dok male vrednosti regresionih koeficijenata ukazuju da postoji mala ili da uopšte ne postoji razlika između interakcija sa fazama hromatografskog sistema, odnosno ukazuje na podjednaku zastupljenost datih interakcija u obe faze sistema. Pozitivan predznak koeficijenta ukazuje na značaj interakcija sa organskom/nepokretnom fazom (oktanol ili RP-18 nepokretna faza). Negativan predznak regresionih koeficijenata ukazuje na interakcije sa vodenom/pokretnom fazom. Stoga, poređenjem LSER koeficijenata moguće je poređenje međumolekulskih interakcija koje su presudne za retenciju u različitim hromatografskim sistemima, TLC i HPLC, kao i poređenje interakcija koje prevladavaju u hromatografskim sistemima i podeonom sistemu n -oktanol-voda.

Izračunati regresioni koeficijenti za tri LSER modela predstavljani su grafički pomoću zvezdastog dijagrama (slika 17)¹⁸⁶. U prikazanom zvezdastom dijagramu na svakoj osi predstavljen je jedan koeficijent, čime se omogućava njihovo vizuelno poređenje.



Slika 17. Grafički prikaz regresionih koeficijenata (a , b , s , e , v) za hromatografski sistem HPLC (RP-18 kolona), TLC (RP-18 nepokretna faza) i sistem n -oktanol-voda

Sa **slike 17** se uočava da postoji opšta sličnost u koeficijentima poređenih sistema, posebno za R_M^0 i $\log K_{ow}$. Takođe, sa **slike 17** i **tabele 18** može se zapaziti da su broјčane vrednosti odgovarajućih Abrahamovih koeficijenata u različitim sistemima veoma bliske i da imaju isti predznak (pozitivan/negativan). Izuzetak je regresioni koeficijent e koji se kreće od negativne ($-0,113$) u TLC hromatografskom sistemu do pozitivne vrednosti u HPLC sistemu ($0,561$). Na osnovu **slike 17** i **tabele 18** zapaža se da koeficijenti b i v imaju najveći uticaj na retenciju. Potom slede koeficijenti a , dok koeficijenti e i s imaju mali uticaj na raspodelu u sistemu.

Koeficijent b opisuje uspostavljanje vodonične veze na osnovu proton donorskih svojstava. Negativna vrednost koeficijenta b rezultat je značajnog uspostavljanja vodoničnih veza sa vodenom/pokretnom fazom, u poređenju sa organskom/nepokretnom fazom (n -oktanol ili RP-18).

Koeficijent v opisuje relativnu sposobnost formiranja šupljine u nepokretnoj i pokretnoj fazi. Odnosno, parametar v predstavlja uticaj zapremine samog molekula. Pozitivna vrednost koeficijenta v u sva tri LSER modela, ukazuje da se mnogo jače interakcije ostvaruju sa organskom/nepokretnom fazom. U uslovima hromatografije na obnutim fazama (nepokretna faza C-18 modifikovani silika-gel) mnogo lakše se narušava struktura ugljovodoničnih lanaca nepokretne faze kako bi se „ugostio“ molekul ispitivanog jedinjenja, nego struktura pokretne faze. Najjače interakcije se ostvaruju sa RP-TLC nepokretnom fazom, a najslabije sa RP-HPLC kolonom.

Negativna vrednost koeficijenta a , takođe ukazuje na uspostavljanje vodoničnih veza sa vodenom/pokretnom fazom, ali na osnovu proton akceptorskih svojstava.

Veća pozitivna vrednost koeficijenata e ilustruje da je HPLC kolona podložnija polarizabilnim interackijama u odnosu na fazu n -oktanol. Međutim, negativna vrednost koeficijenta e za TLC hromatografski sistem ukazuje da polarizabilnosti neznatno favorizuje raspodelu u pokretnoj fazi. Sa druge strane, negativna vrednost koeficijenta s ukazuje na značajne polarne interakcije koje se ostvaruju sa pokretnom/vodenom fazom za razliku od nepokretne faze/ n -oktanola. Pozitivna vrednost koeficijenta s dobijena za TLC hromatografski sistem pokazuje da je nepokretna faza C-18 više dipolarna u odnosu na n -oktanol fazu podeonog sistema, dok za HPLC hromatografski sistem uticaj koeficijenta s je zanemarljiv.

LSER analiza ukazuje na sličnost međumolekulskih interakcija koje dominiraju u procesima razdvajanja između pokretne i nepokretne faze u hromatografskim sistemima i *n*-oktanol-voda sistemu. Dva glavna faktora koja utiču na zadržavanje, odnosno retenciju su uspostavljanje vodonične veze (proton-donorske interakcije) i molekulska zapremina ispitivanih jedinjenja. Između koeficijenata poređenih sistema postoji opšta sličnost, posebno za R_M^0 i $\log K_{ow}$. Sve ovo predočava da nepokretna faza RP-18 dobro oponaša sistem *n*-oktanol-voda.

4.2.9. Primena pravila Lipinskog na ispitivane derivate spirohidantoina

Karakteristike molekula, kao što su permeabilnost kroz membranu i oralna biodostupnost biološki aktivnih molekula, obično su povezane sa nekoliko jednostavnih molekulskih deskriptora¹⁸⁷. Ti deskriptori su $\log P$, molekulska masa (MW) i sposobnost građenja vodonične veze što se izražava preko broja proton-donorskih grupa (nHDon) što odgovara broju –OH i –NH grupa i broja proton-akceptorskih atoma (nHAcc), što odgovara broju atoma kiseonika i azota u molekulu. Na ova četiri deskriptora ($\log P$, MW, nHDon i nHAcc) se zasniva „pravilo broja pet“ ili pravilo Lipinskog¹⁸⁸. Prema ovom pravilu, molekul će imati dobru oralnu biodostupnost i permeabilnost, ukoliko su brojčane vrednosti pomenuta četiri deskriptora u sledećim granicama:

1. Molekulska masa je ispod 500 g/mol,
2. Maksimalan broj atoma protona koji se mogu donirati u vodoničnoj vezi (–OH i –NH) je 5,
3. Maksimalan broj akceptorskih atoma vodonika je 10,
4. Izračunata vrednost logaritma podeonog koeficijenta manja je od 5.

Primena pravila Lipinskog ima za cilj da proveriti da li ispitivani spirohidantoini imaju dobru (teorijsku) oralnu biodostupnost i da li poseduju farmakokinetičku aktivnost. U **tabeli 19** prikazane su vrednosti tri molekulskih deskriptora koja su obuhvaćena pravilom Lipinskog (MW, nHDon i nHAcc), a vrednosti za deskriptor lipofilnosti $\log P$ prikazane se su **tabeli 12**. U **tabeli 19** je dato i koliko deskriptora odstupa od samog pravila, kao i dodatni parametri koji su povezani sa pravilom a ukazuju na sličnost ispitivanih spirohidantoina sa lekovima.

Tabela 19. Molekulski deskriptori ispitivanih spirohidantoina koji su ključni za pravilo Lipinskog

Broj jedinjenja	nHAcc	nHDon	MW	broj odstupanja	sličnost sa lekom	ocena leka
	1	2	3	4	5	6
I.1	4	1	244,32	0	3,09	0,89
I.2	4	1	258,35	0	1,76	0,82
I.3	5	1	274,35	0	3,48	0,89
I.4	4	1	278,76	0	4,12	0,84
I.5	4	1	323,21	0	1,25	0,73
I.6	5	1	269,33	0	-5,32	0,43
I.7	7	1	289,32	0	-7,04	0,44
II.1	4	1	258,35	0	1,24	0,47
II.2	4	1	272,38	0	-0,09	0,38
II.3	5	1	288,38	0	1,62	0,49
II.4	4	1	292,79	0	2,25	0,47
II.5	4	1	337,24	0	-0,59	0,32
II.6	5	1	283,36	0	-7,17	0,25
II.7	7	1	303,35	0	-8,89	0,26
III.1	4	1	272,38	0	0,74	0,72
III.2	4	1	286,41	0	-0,60	0,56
III.3	5	1	302,41	0	1,13	0,75
III.4	4	1	306,82	0	1,77	0,72
III.5	4	1	351,27	0	-1,10	0,46
III.6	5	1	297,39	0	-7,67	0,40
III.7	7	1	317,38	0	-9,40	0,41
granične vrednosti	≤10	≤5	≤500			

Na osnovu prikazanih rezultata u **tabeli 12** uočava se da su $\log P$ vrednosti svih ispitivanih derivata spirohidantoina manje od 5 (izuzev kvadratnih vrednosti podeonog koeficijenta $\log P$), što je u skladu sa ovim pravilom. Brojčane vrednosti preostala tri molekulska deskriptora MW, nHDon i nHAcc (**tabela 19**) za sve ispitivane spirohidantoina su takođe u granicama koje su u skladu sa pravilom Lipinskog (kolona 1, 2 i 3, **tabela 19**). S obzirom da ni jedan molekulska deskriptor ne odstupa od samog pravila (kolona 4, **tabela 19**), to znači da će svi ispitivani spirohidantoini biti biodostupni i pokazivati dobra absorpciona svojstva i dobru premeabilnost u organizmu.

Pri primeni pravila Lipinskog treba imati na umu da ono važi za potencijalne lekove koji se primenjuju oralno i absorbuju pasivno. Čak i ako zadovoljavaju sve uslove definisane pravilom Lipinskog ne znači da su istovremeno i dobri potencijalni lekovi. Postoje još dva deskriptora koji se u tom slučaju mogu razmotriti, a to je kolika je sličnost

posmatranog jedinjenja sa lekom i ocena leka. Ova dva deskriptora predstavljaju kombinovane fizičko-hemijske, farmakokinetičke i farmakodinamičke parametre jedinjenja, pa samim tim objedinjuju više ključnih faza u distribuciji aktivne supstance.

Pozitivna vrednost sličnosti sa lekom (kolona 5, **tabela 19**) je indikacija da kod određenog jedinjenja dominiraju strukturni fragmenti koji su prisutni kod većine lekova koji su trenutno u upotrebi. Ova vrednost je negativna kod spirohidantoina sa cijano (**I.6, II.6, III.6**), nitro (**I.7, II.7, III.7**) grupom, kao i kod jedinjenja gde je kao supstituent *R* prisutan atom broma (**II.5, III.5**) i metil grupa (**II.2, III.3**).

Ocena leka je data u koloni 6 u **tabeli 19**. Ocena leka predstavlja kombinaciju različitih deskriptora: sličnost sa lekom (kolona 5, **tabela 19**), lipofilnost (**tabele 5, 6 i 8**), rastvorljivost, molekulsku masu (kolona 3, **tabela 19**) i toksičnost. Može se koristiti kao opšti pokazatelj da li je neko jedinjenje potencijalni kandidat za nov lek ili nije. Brojčana vrednost ocene leka može biti u intervalu od 0 do 1, jedinica ukazuje da je jedinjenje dobar kandidat za lek, dok 0 znači da to jedinjenje neće biti dobar potencijalni lek za oralnu primenu.

Najnižu vrednost ocene leka ima jedinjenje **II.6** što znači da se za ovaj spirohidantoin ne očekuje da u oralnoj primeni bude biodostupan u zadovoljavajućoj meri i pored toga što njegovi deskriptori obuhvaćeni pravilom Lipinskog ne prelaze granične vrednosti. Najveću ocenu leka ima jedinjenje **I.1 i I.3** (3-(4-supstituisani benzil)ciklopentanspiro-5-hidantoini). Ocenu leka veću od 0,7 imaju spirohidantoini **I.2, I.4, I.5, III.1, III.3 i III.5**. Iako 3-(4-supstituisani benzil)cikloheksanspiro-5-hidantoini (**II.1-II.7**) imaju ocenu leka oko 0,4, ova jedinjenja predstavljaju potencijalne farmakološki aktivne supstance. Prema tome, za aktivnost spirohidantoina lipofilnost je najvažnija karakteristika, bez obzira što ključni parametri koji imaju uticaja na procese absorpcije, distribucije i izlučivanja nisu zadovoljavajući.

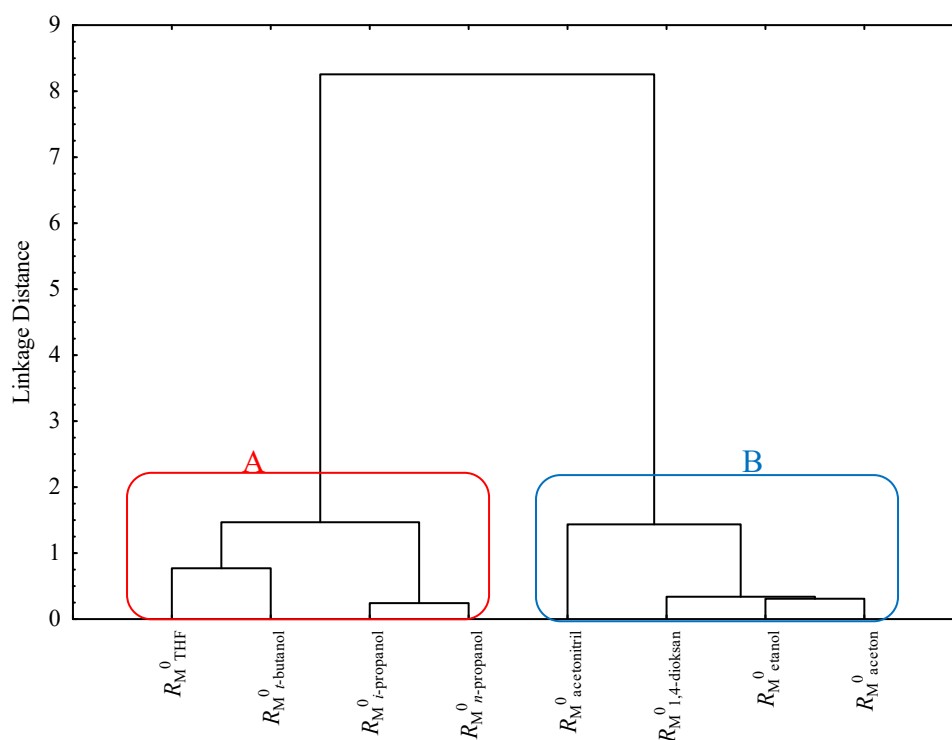
4.3. Hemometrijska analiza

Primenom hemometrijskih metoda, PCA i HCA, prvo su analizirane pojedine serije ispitivanih jedinjenja, a na kraju su uzete u razmatranje sve serije zajedno.

4.3.1. Hemometrijska analiza hromatografskih parametara lipofilnosti 3-(4-supstituisanih benzil)ciklopentan-5-hidantoina

HCA analiza

Dendrogram klasterovanja osam različitih hromatografskih sistema za seriju 3-(4-supstituisanih benzil)ciklopentan-5-hidantoina prikazan je na **slici 18**.

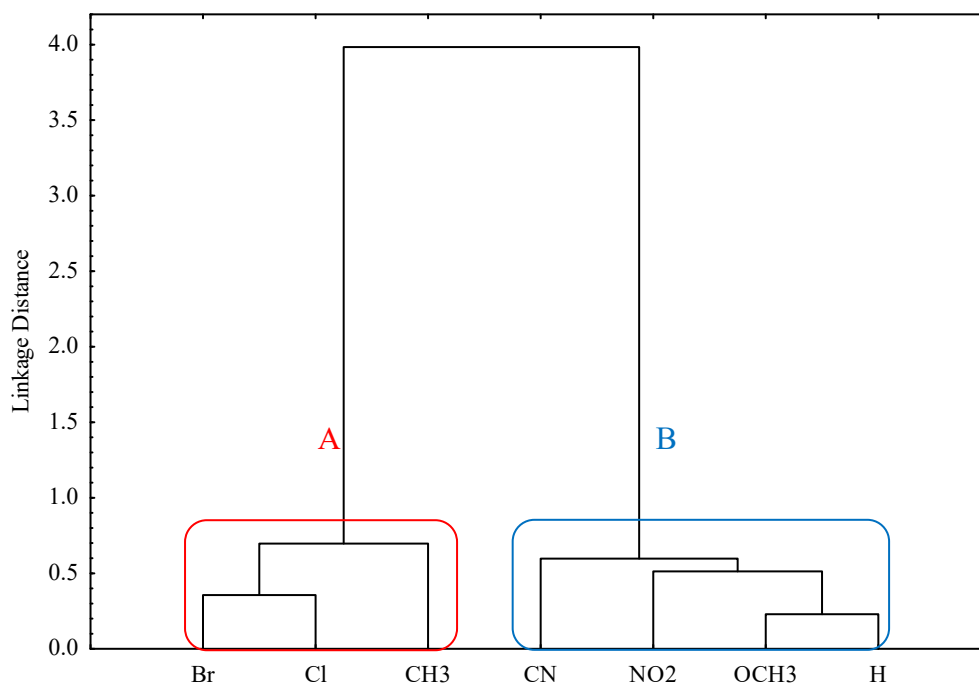


Slika 18. Dendrogram R_M^0 vrednosti različitih hromatografskih sistema za seriju jedinjenja 3-(4-supstituisanih benzil)ciklopentan-5-hidantoina

Sa dendrograma prikazanog na **slici 18** uočava se klasifikacija analiziranih podataka u dva klastera. Klaster A koji sadrži R_M^0 vrednosti određene u hromatografskim sistemima gde su kao organski rastvarači korišćeni THF, *t*-butanol, *i*-propanol i *n*-propanol i klaster B gde su kao organski rastvarači primenjeni acetonitril, 1,4-dioksan, etanol i acetone. Unutar klastera A postoje dva subklastera, gde jedan subkaster čine THF i *t*-butanol, dok

drugi subklaster sadrži *i*-propanol i *n*-propanol. Unutar klastera B može se zapaziti da su R_M^0 vrednosti za tri organska rastvarača 1,4-dioksan, etanol i aceton grupisane. Za vrednosti R_M^0 određene u acetonitrilu primećuje se veća vertikalna udaljenost, što ukazuje da ovaj hromatografski parametar nije blisko povezan sa ostalim članovima klastera i može se objasniti visokom vrednošću dielektrične konstante ovog organskog rastvarača.

Na **slici 19** prikazan je dendrogram dobijen za seriju jedinjenja 3-(4-supstituisanih benzil)ciklopentan-5-hidantoina primenom klaster analize.



Slika 19. Dendrogram za seriju jedinjenja 3-(4-supstituisanih benzil)ciklopentan-5-hidantoina na osnovu R_M^0 vrednosti određenih u 8 pokretnih faza sa 8 različitih organskih rastvarača

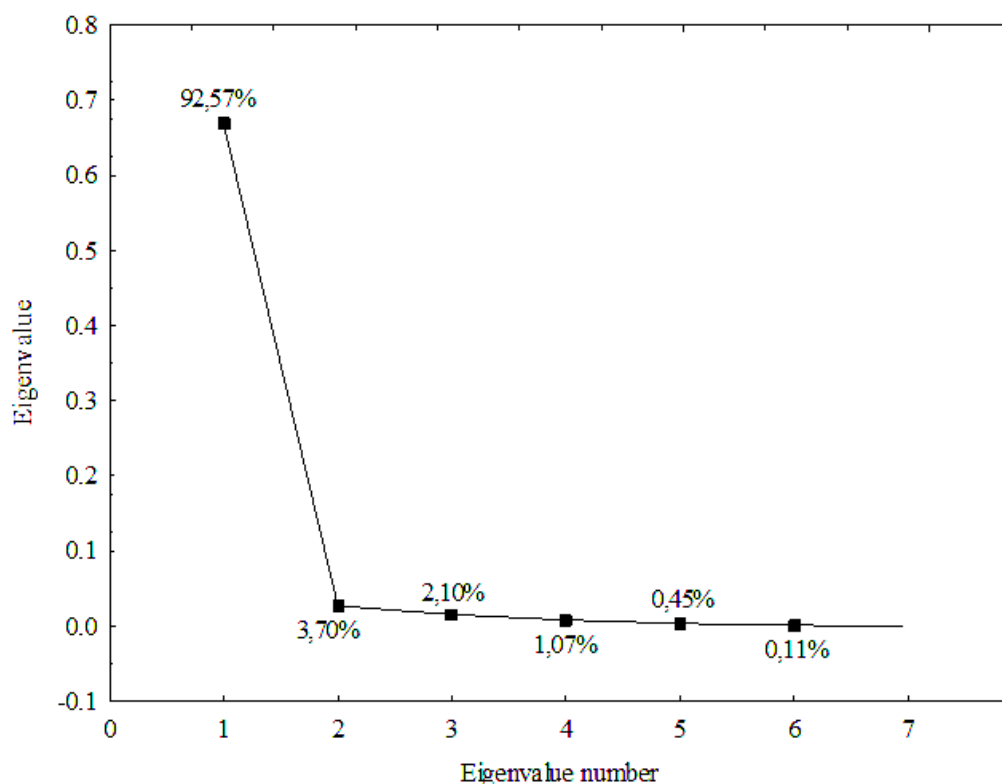
Sa **slike 19** se može zapaziti da se ispitivani ciklopentan-5-hidantoini grupišu u dva klastera, klaster A i klaster B. Klaster A sadrži ispitivana jedinjenja sa nepolarnim R supstituentima ($-\text{Br}$, $-\text{Cl}$, $-\text{CH}_3$). Unutar klastera A se može uočiti veća vertikalna udaljenost metil derivata u odnosu na derivate sa halogenim supstituentima ($-\text{Br}$ i $-\text{Cl}$). Ova vertikalna udaljenost može biti objašnjena činjenicom da metil grupa ima elektrondonorska svojstva u odnosu na halogenide koji ispoljavaju elektron-akceptorska svojstva.

Klaster B čine jedinjenja koja imaju polarne supstituente ($-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$ i $-\text{OCH}_3$), kao i nesupstituisano jedinjenje. Na osnovu prethodno rečenog vidi se da klaster analiza klasifikuje ispitivana jedinjenja na osnovu polarosti supstituenta R .

PCA analiza

U cilju detaljnije analize podataka urađena je analiza glavnih komponenti na istoj matrici kao i HCA analiza. Analiza glavnih komponenti originalnu matricu podataka rastavlja na tzv. “loading” (koji se odnosi na analizirane parametre lipofilnosti) i na “score” (koji se odnosi na ispitivana jedinjenja), pri čemu se dobijaju dve nove matrice čije promenljive predstavljaju tzv. glavne komponente (PC), koje su potpuno nezavisne.

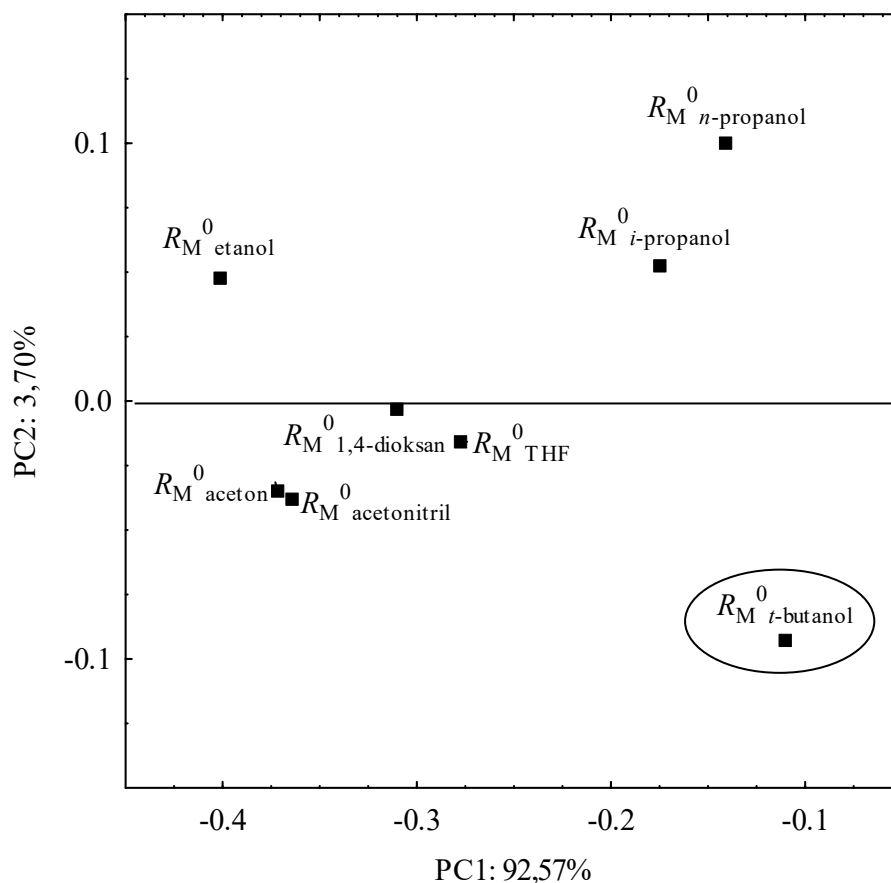
Analizom glavnih komponenti za R_M^0 vrednosti za seriju jedinjenja 3-(4-supstituisanih benzil)ciklopentan-5-hidantoina dobija se model sa šest glavnih komponenti. Procenat varijanse svake od dobijenih glavnih komponenti predstavljen je na **slici 20**.



Slika 20. Procenatne vrednosti glavnih komponenti ukupne varijanse podataka

Sa **slike 20** se uočava da prve dve glavne komponente opisuju 96,27% ukupne varijanse, zbog čega su prve dve glavne komponente uzete za dalju analizu. Prva glavna komponenta (PC1) opisuje 92,57% ukupnog varijabiliteta, a druga glavna komponenta (PC2) sa 3,70%.

Na **slici 21** prikazan je *loading plot* parametara lipofilnosti dobijen kao rezultat PCA opisan sa prve dve glavne komponente.

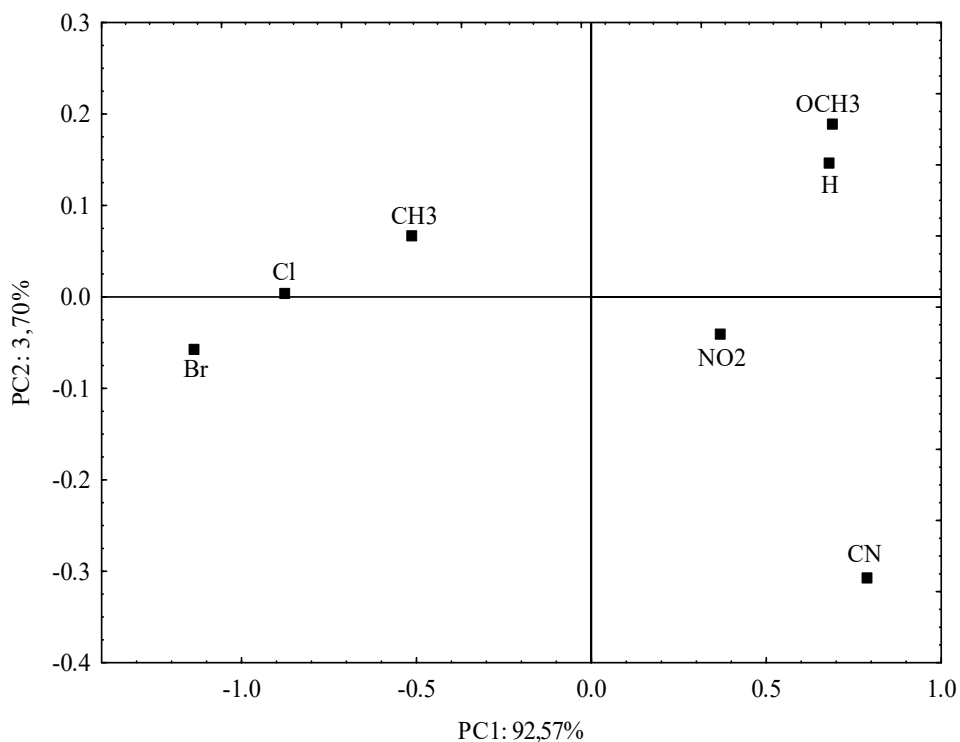


Slika 21. Zavisnost PC1 od PC2 za R_M^0 vrednosti za seriju jedinjenja 3-(4-supstituisanih benzil)ciklopentan-5-hidantoina

Sa **slike 21** uočava se da prema PC1 (koja opisuje 92,57% ukupne varijanse podataka) R_M^0 vrednosti za sve organske rastvarače imaju negativne vrednosti, dok su vrednosti PC2 (koja opisuje 3,70% ukupne varijanse podataka) za etanol, *n*-propanol i *i*-propanol pozitivne, a za acetonitril, aceton, THF, 1,4-dioksan i *t*-butanol negativne. Prema tome, moguće je R_M^0 vrednosti za različite organske rastvarače svrstati u dve grupe. Prvu grupu čine R_M^0 vrednosti gde su primenjeni protični organski rastvarači (etanol, *n*-propanol i *i*-propanol), a drugu grupu čine vrednosti hromatografskih parametara lipofilnosti gde su primenjeni aprotični organski rastvarači (acetonitril, aceton, THF i 1,4-dioksan). Dok se R_M^0 vrednost za *t*-butanol ne mogu svrstati ni u jednu od pomenute dve grupe. Ovaj rastvarač, iako pripada grupi protičnih, ima i najvoluminozniju nepolarnu grupu u

molekulu, usled čega ga najverovatnije PCA ne svrstava u grupu sa ostalim protičnim rastvaračima.

Analiza glavnih komponenti pruža i mogućnost grupisanja ispitivanih jedinjenja na osnovu efekta njihove hemijske prirode na ispitivano svojstvo (lipofilnost). Dobijena zavisnost između prve (PC1) i druge (PC2) glavne komponente za ispitivana jedinjenja (*score plot*) prikazana je na **slici 22**.



Slika 22. Zavisnost PC1 od PC2 za seriju jedinjenja 3-(4-supstituisanih benzil)ciklopentan-5-hidantoina na osnovu R_M^0 vrednosti

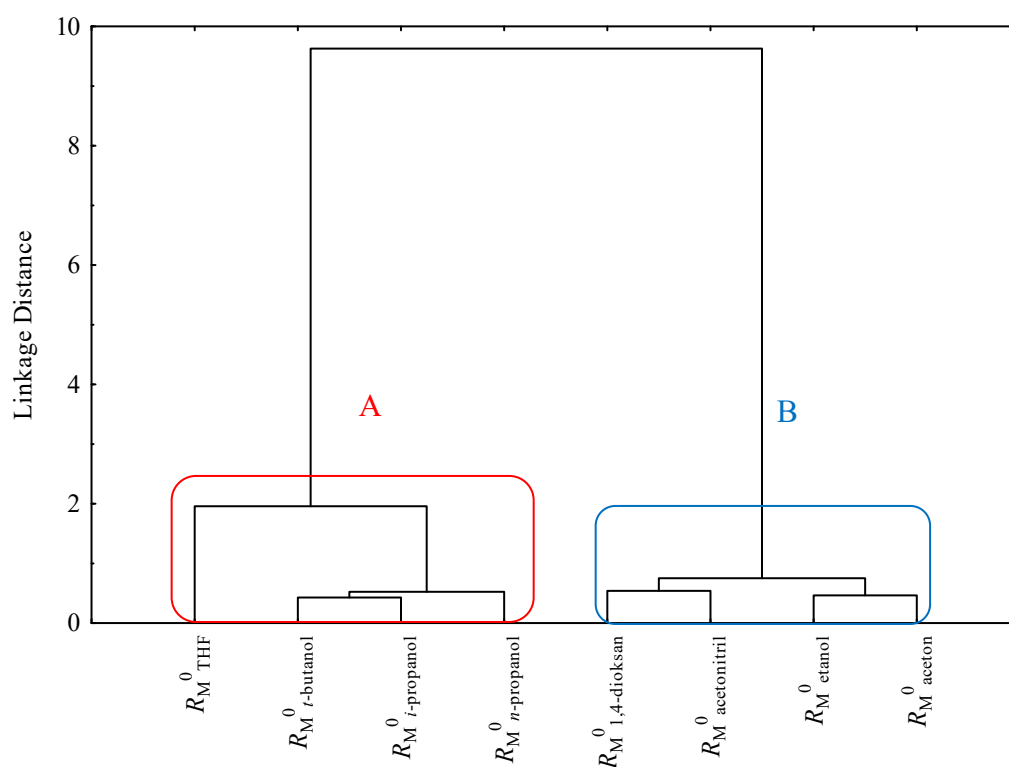
Sa **slike 22** se može jasno uočiti da se duž PC1 ose izdvajaju dve grupe jedinjenja, odnosno ispitivana jedinjenja su klasifikovana u odnosu na njihovu lipofilnost. Jednu grupu čine jedinjenja koja imaju pozitivnu PC1, a to su ispitivana jedinjenja sa polarnim supstituentima i nesupstituisani derivat spirohidantoina, dok drugu grupu čine jedinjenja sa negativnom PC1, odnosno ispitivana jedinjenja koja u svom sastavu imaju nepolarne supstituente. Najnegativniju brojčanu vrednost PC1 ima najlipofilnije jedinjenje i to je jedinjenje sa -Br kao supstituentom, a najpozitivnija brojna vrednost PC1 dobijena je za jedinjenje sa -CN kao supstituentom. Prema tome, između ova dva jedinjenja postoji najveća razlika u lipofilnosti.

Rezultati dobijeni primenom PCA su u skladu sa rezultatima koji su dobijeni primenom HCA.

4.3.2. Hemometrijska analiza hromatografskih parametara lipofilnosti 3-(4-supstituisanih benzil)cikloheksan-5-hidantoina

HCA analiza

Rezultat HCA analize ispitivanih derivata cikloheksan-5-hidantoina za R_M^0 vrednosti u osam hromatografskih sistema prikazan je na **slici 23**.

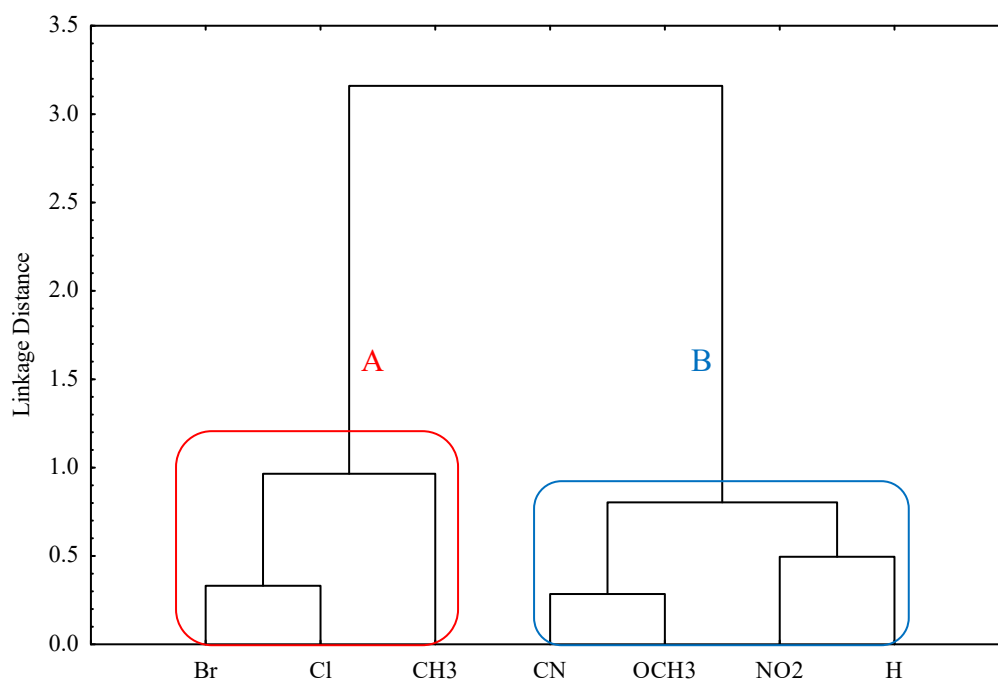


Slika 23. Dendrogram R_M^0 vrednosti različitih hromatografskih sistema za seriju jedinjenja 3-(4-supstituisanih benzil)cikloheksan-5-hidantoina

Dendrogram predstavljen na **slici 23** ukazuje na grupisanje hromatografskih parametara lipofilnosti u dva jasno definisana klastera (A i B). Klaster A grupiše R_M^0 vrednosti određene u protičnim rastvaračima, odnosno *t*-butanolu, *n*-propanolu i *i*-propanolu, dok se za vrednosti R_M^0 određene u THF-u primećuje veliko vertikalno rastojanje u odnosu na ostale članove klastera A. Klaster B sadrži R_M^0 vrednosti određene u acetonitrilu, 1,4-dioksanu, etanolu i acetonu. Unutar klastera B može se primetiti postojanje dva

subklastera, gde jedan subkaster čine acetonitril i 1,4-dioksan, a drugi subklaster sadrži etanol i aceton.

Dendrogram dobijen primenom HCA ispitivanih jedinjenja cikloheksan-5-hidantoina predstavljen je na **slici 24**.

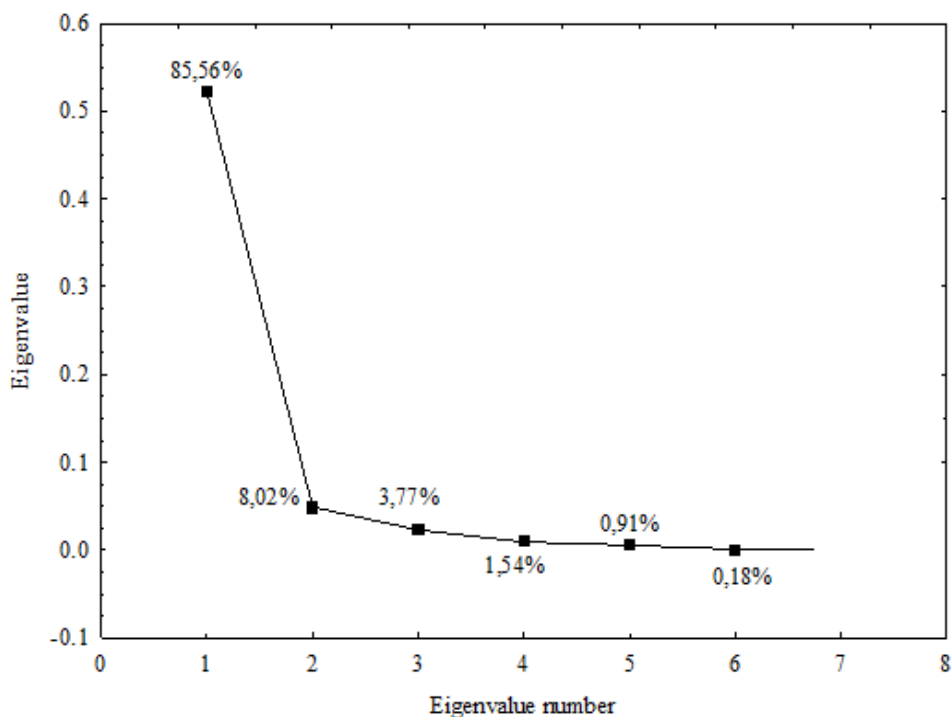


Slika 24. Dendrogram za seriju jedinjenja 3-(4-supstituisanih benzil)cikloheksan-5-hidantoina na osnovu R_M^0 vrednosti određenih u 8 pokretnih faza sa 8 različitih organskih rastvarača

Sa **slike 24** se vidi da se ispitivana jedinjenja cikloheksan-5-hidantoina grupišu u dva klastera (A i B) kao i ciklopentan-5-hidantoini. Klaster A obuhvata jedinjenja sa halogenim supstituentima ($-Br$ i $-Cl$) i metil grupom ($-CH_3$). Unutar klastera A može uočiti veliko vertikalno rastojanje za ispitivano jedinjenje sa metil grupom kao supstituentom, u odnosu na jedinjenja koja imaju halogene supstituente. Takođe, kao i u slučaju ciklopentan-5-hidantoina vertikalna udaljenost se može objasniti elektrondonorskim svojstvima metil grupe, za razliku od halogenida koji ispoljavaju elektronski akceptorska svojstva. Klaster B čine ispitivana jedinjenja koja imaju polarne supstituente ($-CN$, $-NO_2$ i $-OCH_3$), kao i nesupstituisano jedinjenje ($-H$).

PCA analiza

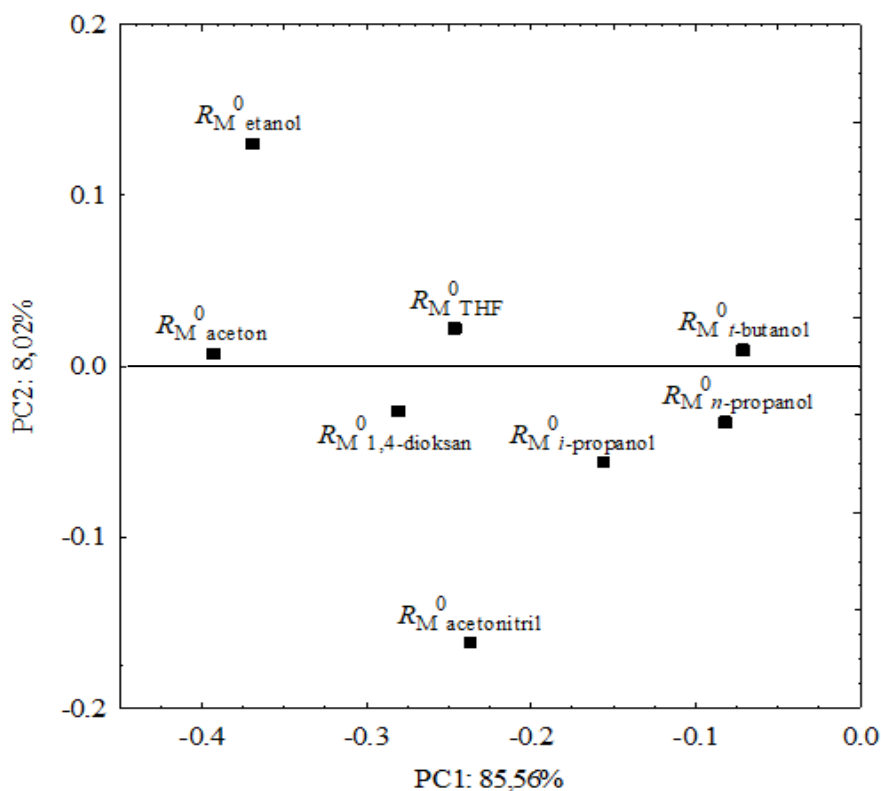
PCA analiza R_M^0 vrednosti za seriju jedinjenja 3-(4-supstituisanih benzil)cikloheksan-5-hidantoina ukazuje na šest glavnih komponenti (PC) čiji je procenat varijanse predstavljen na **slici 25**.



Slika 25. Procenat ukupne varijanse glavnih komponenti

Sa **slike 25** se može videti da prve dve glavne komponente opisuju 93,58% ukupne varijanse podataka. Prva glavna komponenta (PC1) koja opisuje 85,56% ukupnog varijabiliteta, druga glavna komponenta (PC2) sa 8,02%. Za dalju analizu korišćene su prve dve glavne komponente.

Na **slici 26** prikazan je *loading plot* prve dve glavne komponente.

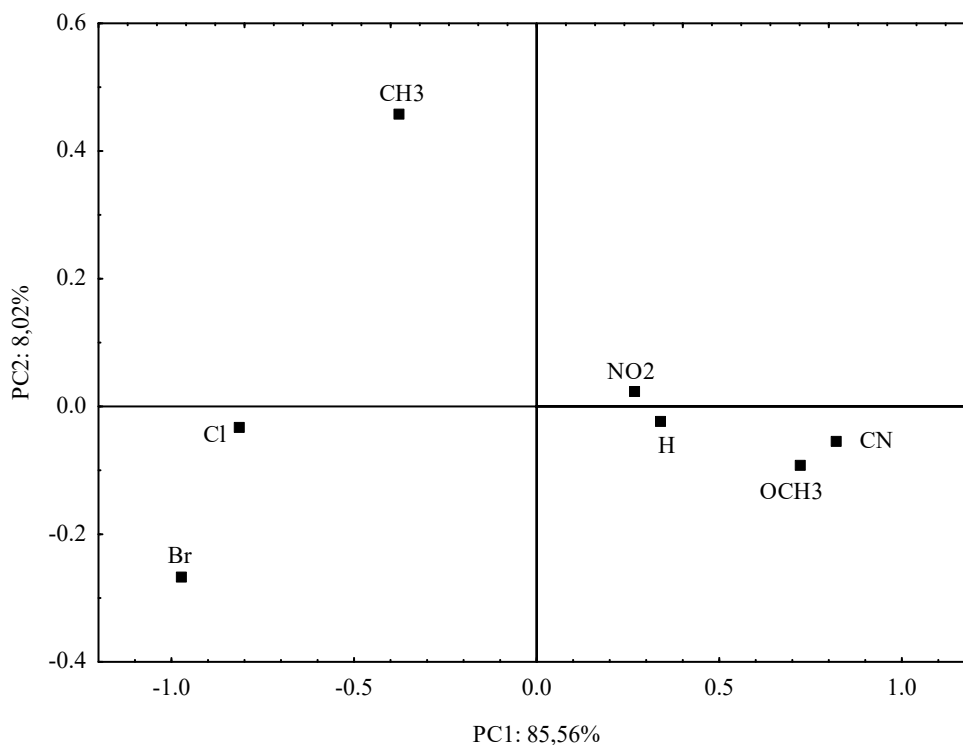


Slika 26. Zavisnost PC1 od PC2 za R_M^0 vrednosti za seriju jedinjenja 3-(4-supstituisanih benzil)cikloheksan-5-hidantoina

Sa **slike 26** se uočava da u odnosu na PC1 glavnu komponentu svih osam primenjenih pokretnih faza imaju negativne brojčane vrednosti. U odnosu na drugu glavnu komponentu (PC2) R_M^0 vrednosti za različite pokretne faze klasifikuju se u dve grupe. Odnosno, prva grupa sadrži R_M^0 vrednosti sa pozitivnom brojnomo vrednošću za PC2, gde su primenjeni acetone, THF, *t*-butanol i etanol kao organski rastvarači. Drugu grupu čine R_M^0 vrednosti sa negativnom brojčanom vrednošću PC2, kao organski rastvarači korišćeni su 1,4-dioksan, *i*-propanol, *n*-propanol i acetonitril.

Takođe, sa **slike 26** se uočava da se etanol i acetonitril najviše razlikuju po PC2. Oba rastvarača su polarna, ali su različitog tipa. Odnosno, najpozitivniju vrednost PC2 imaju R_M^0 vrednosti određene u etanolu koji je protični polarni rastvarač, dok najnegativniju brojčanu vrednost PC2 imaju R_M^0 vrednosti određene u acetonitrilu koji je aprotičan polaran rastvarač. R_M^0 vrednosti ostalih organskih rastvarača imaju PC2 blizu nuli.

PCA analiza grupiše ispitivane derivate cikloheksan-5-hidantoina prema polarnosti supstituenta R , kao što je prikazano na **slici 27**.



Slika 27. Zavisnost PC1 od PC2 za seriju jedinjenja 3-(4-supstituisanih-benzil)cikloheksan-5-hidantoina na osnovu R_M^0 vrednosti

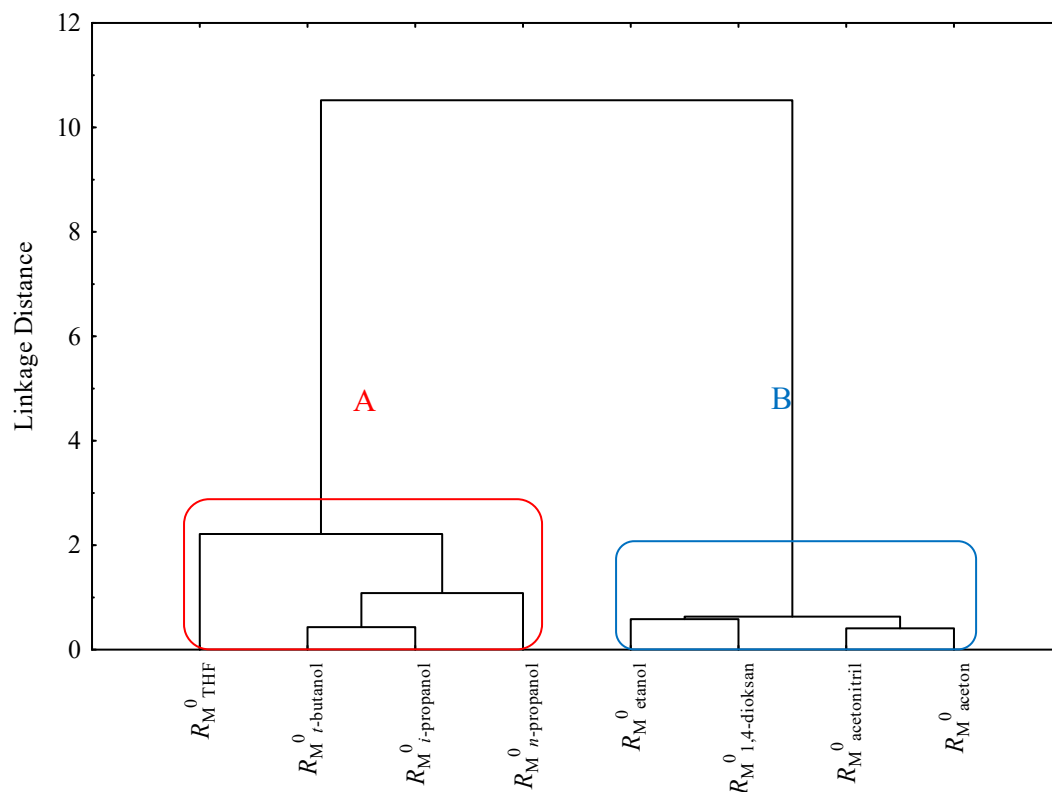
Sa **slike 27** se vidi da su cikloheksan-5-hidantoini klasifikovani slično kao i derivati ciklopentan-5-hidantoina, tj na osnovu polarnosti supstituenta R . Ispitivana jedinjenja sa nepolarnim supstituentima, odnosno sa halogenim supstituentima ($-\text{Br}$, $-\text{Cl}$) i metil grupom ($-\text{CH}_3$) opisani su sa negativnom vrednošću PC1, a jedinjenja sa polarnim supstituentima ($-\text{OCH}_3$, $-\text{NO}_2$ i $-\text{CN}$), kao i nesupstituisano jedinjenje karakteriše pozitivna vrednost PC1. Najlipofilnije jedinjenje, $R = \text{Br}$, ima najnegativnije vrednosti za obe glavne komponente, dok je najpolarnije jedinjenje, $R = \text{CN}$, okarakterisano sa najpozitivnijom vrednošću PC1.

Rezultati dobijeni primenom PCA analize su u skladu sa rezultatima HCA anlike.

4.3.3. Hemometrijska analiza hromatografskih parametara lipofilnosti 3-(4-supstituisanih benzil)cikloheptan-5-hidantoina

HCA analiza

Rezultat hijerarhijske klaster analize ispitivanih derivata cikloheptan-5-hidantoina za R_M^0 vrednosti u osam hromatografskih sistema prikazan je na **slici 28**.

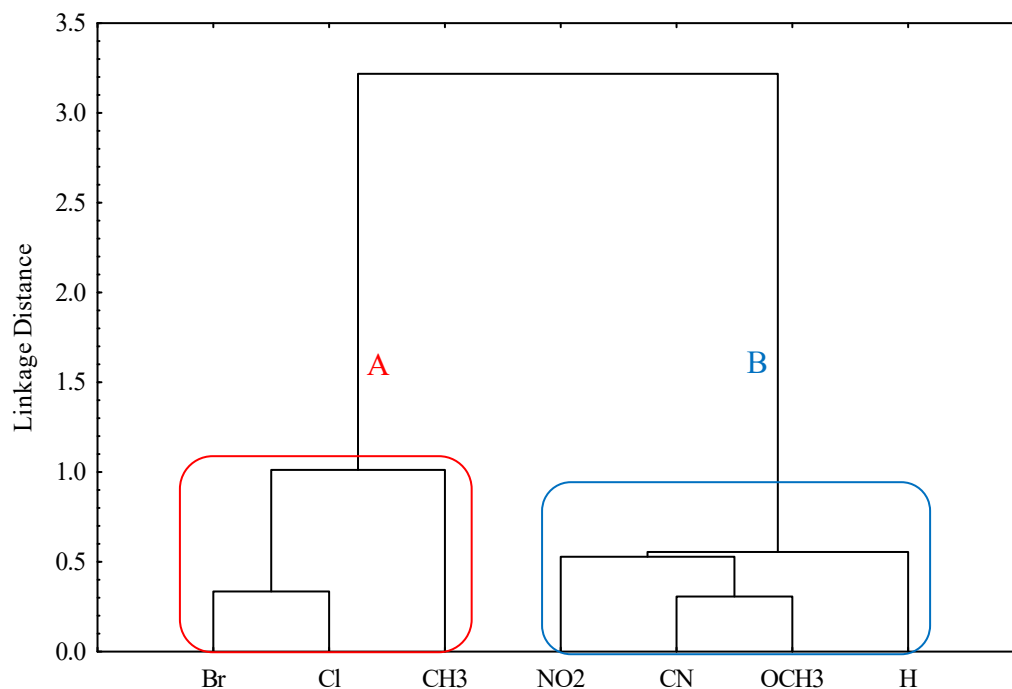


Slika 28. Dendrogram R_M^0 vrednosti različitih hromatografskih sistema za seriju jedinjenja 3-(4-supstituisanih benzil)cikloheptan-5-hidantoina

Sa dendrograma prikazanog na **slici 28** može se uočiti da se hromatografski parametri lipofilnosti (R_M^0) dobijeni u različitim pokretnim fazama grupišu u dva jasno definisana klastera (klaster A i B). Klaster A klasifikuje R_M^0 vrednosti dobijene u protičnim organskim rastvaračim (*n*-propanol, *i*-propanol i *t*-butanol) i THF-a, međutim primećuje se veća vertikalna udaljenost R_M^0 vrednosti određenih u THF-u u odnosu na ostale članove klastera, što ukazuje da THF nije blisko povezan sa ostalim rastvaračima. Dok klaster B obuhvata R_M^0 vrednosti dobijene u etanolu, 1,4-dioksanu, acetonitrilu i acetonu. Unutar klastera B uočava se postojanje dva subklastera. Jedan subkaster čine R_M^0

vrednosti određene u aprotičnim organskim rastvaračima (acetonitril i aceton), dok drugi subklaster sadrži etanol i 1,4-dioksan kao organske rastvarače pokretne faze. Slična klasifikacija je dobijena i u prethodne dve serije ispitivanih jedinjenja.

Dendrogram dobijen kao rezultat klasterovanja ispitivanih jedinjenja cikloheptan-5-hidantoina za vrednosti hromatografskog parametra lipofilnosti (R_M^0) prikazan je na **slici 29**.

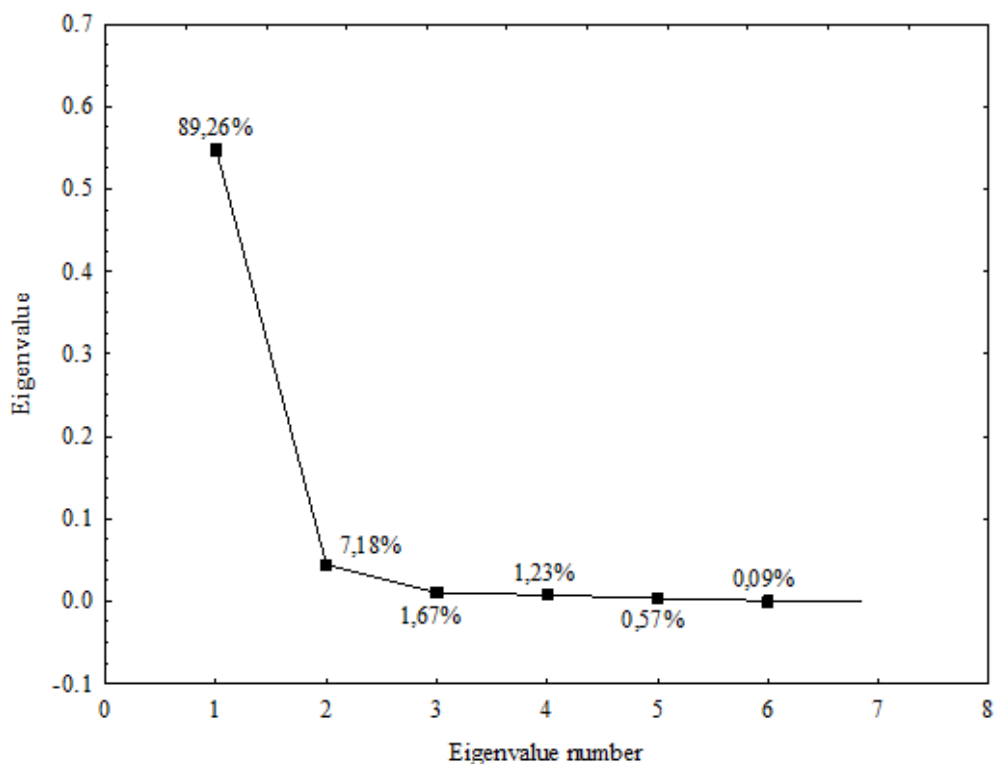


Slika 29. Dendrogram za seriju jedinjenja 3-(4-supstituisanih benzil)cikloheptan-5-hidantoina na osnovu R_M^0 vrednosti određenih u 8 pokretnih faza sa 8 različitih organskih rastvarača

Na prikazanom dendrogramu na **slici 29** takođe se uočavaju dva jasno definisana klastera (A i B) u kojima su supstituenti razvrstani prema polarosti. Slično grupisanje supstituenata je dobijeno i u prethodne dve serije. Klaster A obuhvata nepolarne supstituente (bromid, hlorid i metil grupu). Unutar klastera A može se uočiti veliko vertikalno rastojanje za metil grupu u odnosu na halogene supstituente. Ovo ukazuje na različit karakter metil grupe i halogenih supstituenata. Klaster B uključuje polarne supstituente, nitro, cijano i metoksi grupu. U kasteru B se još nalazi i nesupstituisano jedinjenje (-H).

PCA analiza

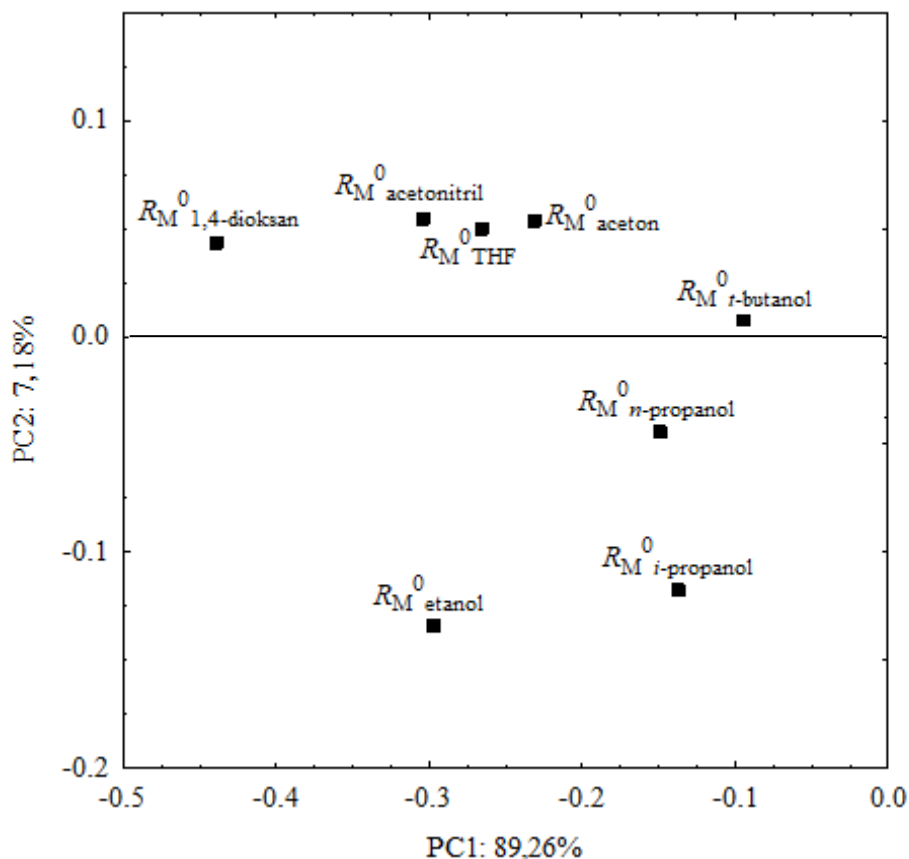
Analiza glavnih komponenti derivata cikloheptan-5-hidantoina rađena je na isti način kao i kod predhodne dve serije ispitivanih jedinjenja. Rezultati primenjene analize definisani su sa šest glavnih komponenti. Procenti ukupne varijanse podataka za dobijene glavne komponente prikazani su na **slici 30**.



Slika 30. Procentne vrednosti glavnih komponenti ukupne varijanse podataka

Sa **slike 30** se može zapaziti da je 96,44% ukupne varijanse opisano sa prve dve glavne komponente, odnosno prva glavna komponenta (PC1) opisuje 89,26%, a druga glavna komponenta (PC2) opisuje 7,18% ukupne varijanse podataka. U daljoj diskusiji analizirane su prve dva glavne komponente.

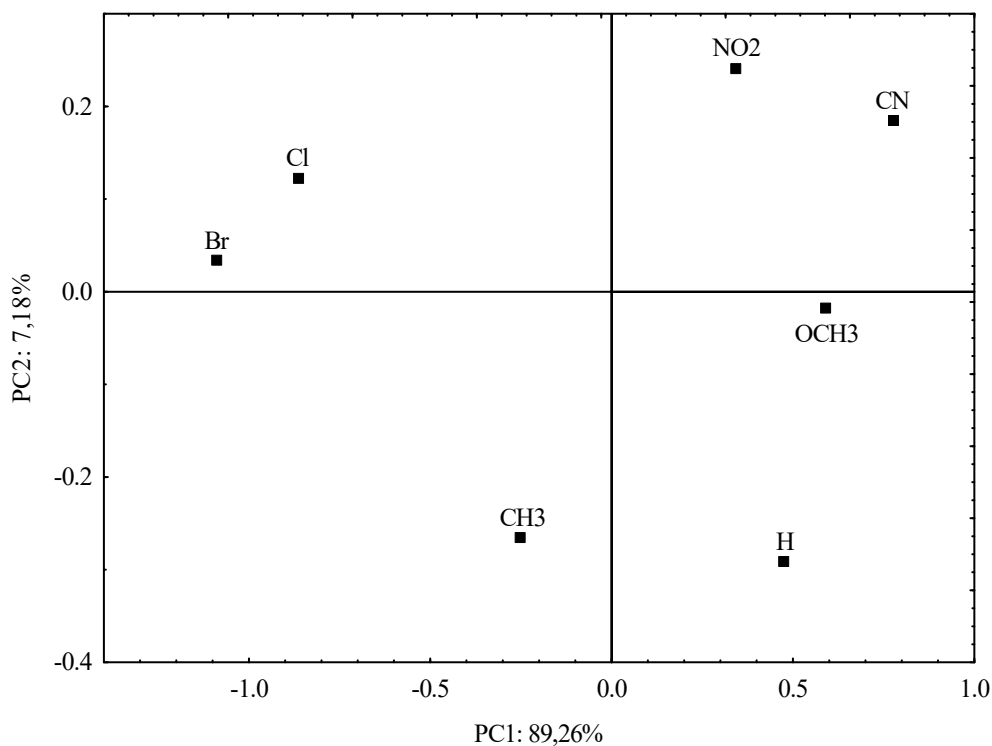
Na **slici 31** prikazana je *loading* zavisnost prve dve glavne komponente (*loading plots*).



Slika 31. Zavisnost PC1 od PC2 za R_M^0 vrednosti za seriju jedinjenja 3-(4-supstituisanih benzil)cikloheptan-5-hidantoina

Sa **slike 31** uočava se da R_M^0 vrednosti za sve organske rastvarače imaju negativne brožane vrednosti PC1. Dok na PC2 osu negativne brožane vrednosti imaju etanol, *n*-propanol i *i*-propanol. Pozitivne vrednosti duž PC2 ose imaju acetonitril, aceton, THF, 1,4-dioksan i *t*-butanol. Na osnovu druge glavne komponente (PC2) R_M^0 vrednosti za različite organske rastvarače klasifikuju se u dve grupe uz pojavu izuzetka, tj. R_M^0 vrednosti dobijene u *t*-butanolu. Prvu grupu čine R_M^0 vrednosti određene u pokretnim fazama sa protičnim organskim rastvaračima (etanol, *n*-propanol i *i*-propanol), a drugu grupu čine vrednosti hromatografskih parametara lipofilnosti gde su primenjeni aprotični organski rastvarači (acetonitril, aceton, THF i 1,4-dioksan).

Primenom analize glavnih komponenti na ispitivana jedinjenja postiže se njihova klasifikacija na osnovu polarnosti supstituenta R , identično kao i kod prethodne dve serije ispitivanih jedinjenja. Klasifikacija ispitivanih derivata cikloheptan-5-hidantoina primenom PCA prikazana je na **slici 32**.



Slika 32. Zavisnost PC1 od PC2 za seriju jedinjenja 3-(4-supstituisanih benzil)cikloheptan-5-hidantoina na osnovu R_M^0 vrednosti

Na **slici 32** se može videti da su jedinjenja sa nepolarnim R supstituentom definisana sa negativnom PC1, dok su jedinjenja sa polarnim R supstituentima definisana pozitivnom bročanom vrednošću PC1. Jedinjenje sa najlipofilnijim supstituentom $R = \text{Br}$ ima najnegativnije vrednosti PC1, i obrnuto jedinjenje sa najpolarnijim R supstituentom ima najpozitivnije vrednosti prve glavne komponente.

Na osnovu dobijenih rezultata analize može se zaključiti da je PCA analizom dobijeno grupisanje u skladu sa rezultatima dobijenim primenom HCA analize.

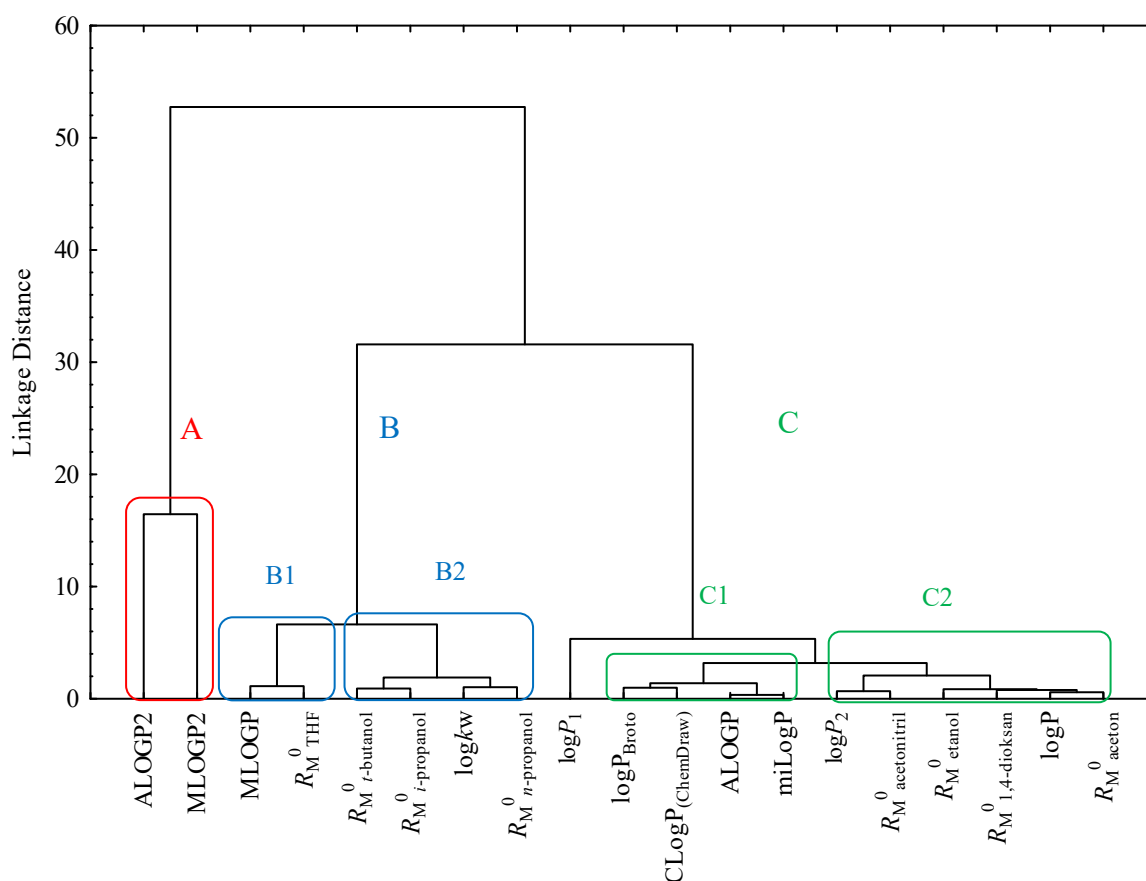
Procentualna zastupljenost prve dve glavne komponente u ukupnoj varijansi u sve tri serije ispitivanih spirohidantoina je veća od 93%.

4.3.4. Hemometrijska analiza parametara lipofilnosti sve tri serije 3-(4-supstituisanih benzil)cikloalkan-5-hidantoina

Kako bi utvrdili odnose između svih ispitivanih jedinjenja urađena je PCA i HCA analiza. Pored hromatografskih parametara lipofilnosti tri serije ispitivanih spirohidantoina u 8 različitih pokretnih faza, analizirani su i parametri lipofilnosti dobijeni računskim putem.

HCA analiza

Rezultat HCA svih parametara lipofilnosti 21 ispitivanog jedinjenja predstavljen je dendrogramom na **slici 33**.

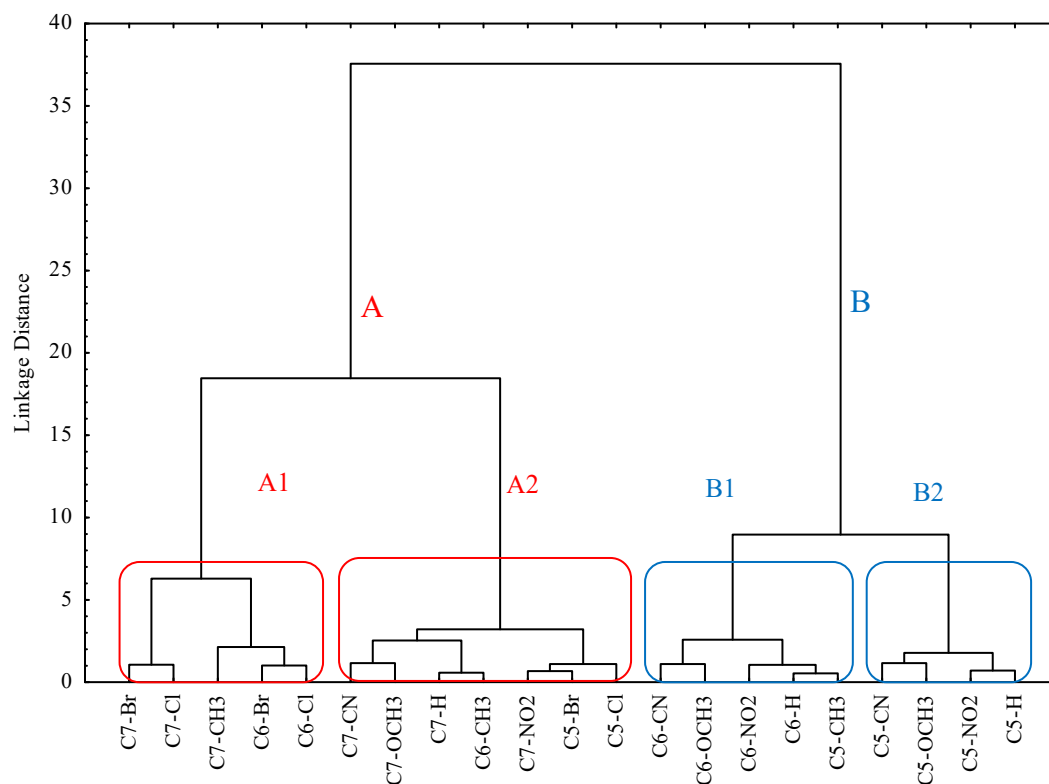


Slika 33. Dendrogram parametara lipofilnosti za sve tri serije cikloalkan-5-hidantoina

Slika 33 pokazuje da su izračunati i hromatografski parametri grupisani u tri klastera (A, B i C). Klaster A sadrži samo izračunate parametre lipofilnosti i to ALOGP2 i MLOGP2. Međutim, ukoliko se ova dva parametra lipofilnosti uporede sa druga dva klastera mogu se smatrati neklasifikovanim, odnosno outlier-ima. Što je i očekivano jer predstavljaju kvadratne vrednosti $\log P$.

Klasteri B i C uključuju i izračunate i hromatografske parametre lipofilnosti. Unutar klastera B članovi su grupisani u dva subklastera (B1 i B2). Subklaster B1 uključuje jedan izračunati i jedan hromatografski parametar lipofilnosti (MLOGP i R_M^0 vrednost određenu u THF-u), dok subklaster B2 uključuje samo hromatografske parametre lipofilnosti određene direktnom metodom (R_M^0 vrednost određenu u *n*-propanolu, *i*-propanolu i *t*-butanolu i $\log k_w$ vrednost). Takođe, i članovi C klastera su grupisani u dva subklastera (C1 i C2), međutim unutar klastera C primećuje se veća vertikalna udaljenost parametra lipofilnosti $\log P_1$ u odnosu na ostale članove klastera i može se smatrati outlier-om. Subklaster C1 uključuje samo izračunate parametre lipofilnosti ($\log P_{\text{BROTO}}$, ClogP, ALOGP i miLogP), a subklaster C2 sadrži R_M^0 vrednosti određene u acetonitrilu, acetonu, 1,4-dioksanu i etanolu, parametar lipofilnosti $\log P_2$, kao i izračunati parametar lipofilnosti $\log P$.

Rezultat HCA analize sve tri serije cikloalkan-5-hidantoina prikazan je na **slici 34**.



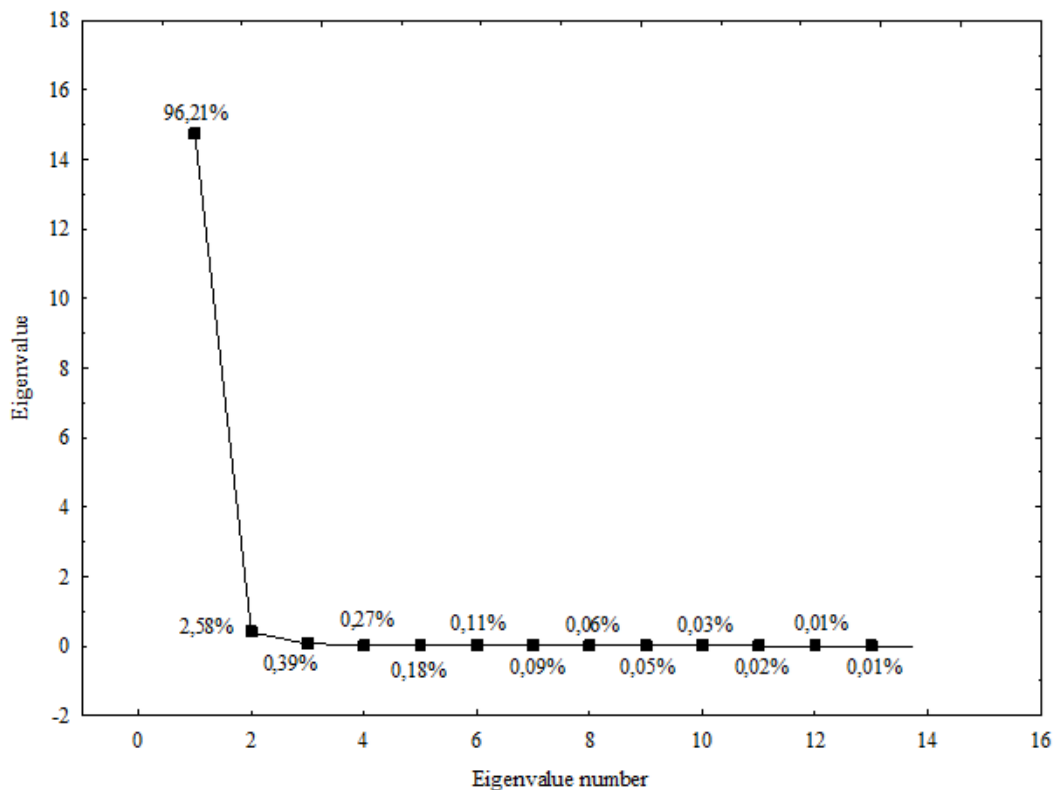
Slika 34. Dendrogram svih ispitivanih cikloalkan-5-hidantoina na osnovu parametara lipofilnosti

Sa dendrograma predstavljenog na **slici 34** mogu se zapaziti dva klastera (klaster A i B). Takođe, uočava se da klaster A uključuje jedinjenja veće lipofilnosti, dok klaster B čine ispitivana jedinjenja manje lipofilnosti. Unutar svakog klastera članovi se grupišu u dva

subkastera (A1 i A2, odnosno B1 i B2). Subklaster A1 sadrži sledeća ispitivana jedinjenja: **III.3** (C7-CH₃), **III.4** (C7-Cl), **III.5** (C7-Br), **II.4** (C6-Cl) i **II.5** (C6-Br), odnosno sadrži derivate cikloheptan-5-hidantoina i cikloheksan-5-hidantoina sa nepolarnim *R* supstituentima (-Br, -Cl i -CH₃). Generalno, subklaster A1 čine ispitivana jedinjenja veće lipofilnosti. Subklaster A2 uključuje derivate cikloheptan-5-hidantoina sa polarnim *R* supstituentima (-NO₂, -CN, -OCH₃ i -H), kao i derivate cikloheksan-5-hidantoina i ciklopentan-5-hidantoina sa nepolarnim *R* supstituentima (-Br, -Cl i -CH₃). Subklaster A2 sadrži ispitivana jedinjenja (**III.1** (C7-H), **III.3** (C7-OCH₃), **III.6** (C7-CN), **III.7** (C7-NO₂), **II.2** (C6-CH₃), **I.4** (C5-Cl) i **I.5** (C5-Br)) manje lipofilnosti u odnosu na članove subklastera A1. Subklaster B1 čine sledeća jedinjenja: **II.1** (C6-H), **II.3** (C6-OCH₃), **II.6** (C6-CN), **II.7** (C6-NO₂), odnosno derivate cikloheksan-5-hidantoina sa polarnim *R* supstituentima, kao i ispitivano jedinjenje **I.2** derivat ciklopentan-5-hidantoina sa nepolarnom metil grupom kao *R* supstituentom. Uopšteno gledano subklaster B1 čine ispitivana jedinjenja umerene lipofilnosti. Subklaster B2 obuhvata ispitivana jedinjenja **I.1** (C5-H), **I.3** (C5-OCH₃), **I.6** (C5-CN), **I.7** (C5-NO₂), odnosno derivate ciklopentan-5-hidantoina sa polarnim *R* supstituentima. Subklaster B2 karakterišu ispitivana jedinjenja najmanje lipofilnosti.

PCA analiza

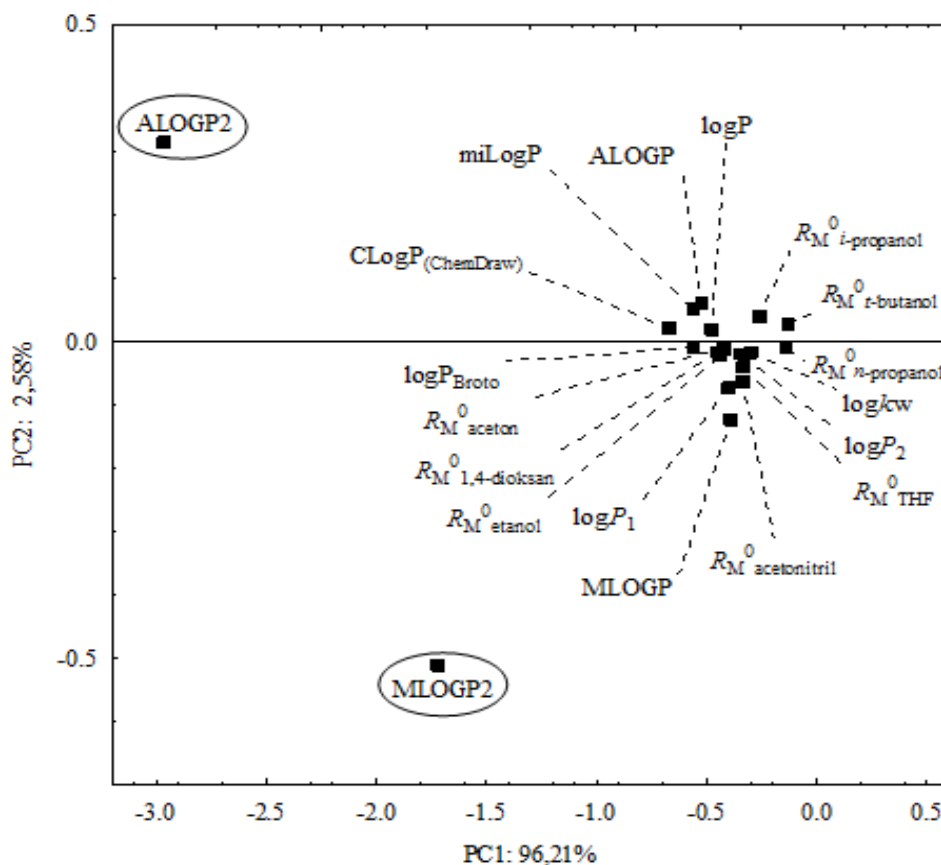
Rezultati dobijeni primenom PCA analize na sve parametre lipofilnosti opisani su sa trinaest glavnih komponenti. Procenti dobijenih glavnih komponenti ukupnog varijabiliteta podataka prikazani su na **slici 35**.



Slika 35. Procentne vrednosti glavnih komponenti ukupne varijanse podataka

Sa **slike 35** se može uočiti da je 98,79% ukupne varijanse opisano sa prve dve glavne komponente. Za dalju analizu zadržane su samo PC1 i PC2, pri čemu prva glavna komponenta opisuje 96,21%, dok druga opisuje 2,58% ukupne varijanse podataka.

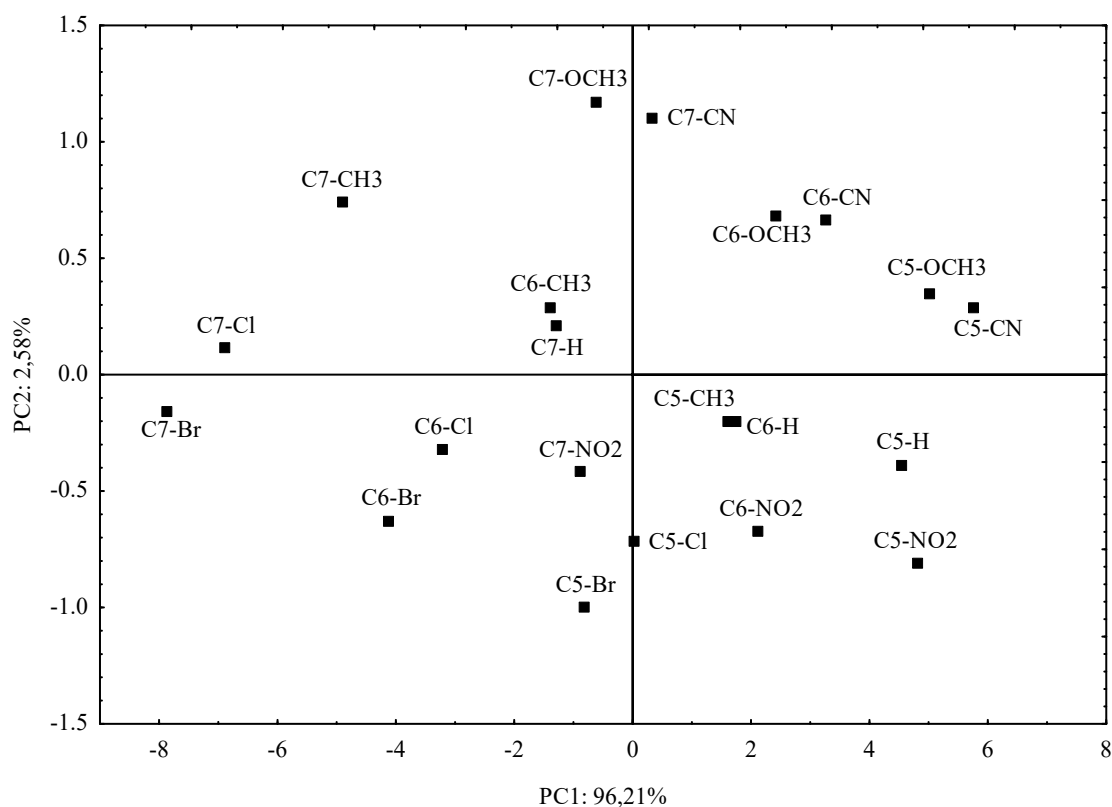
Na **slici 36** je prikazana *loading* zavisnost prve dve glavne komponente za sve parametre lipofilnosti.



Slika 36. Zavisnost PC1 od PC2 za parametre lipofilnosti 3-(4-supstituisanih benzil)cikloalkan-5-hidantoina

Slika 36 pokazuje da se parametri lipofilnosti razdvajaju u dve grupe. Prva grupa parametara lipofilnosti je okarakterisana negativnom brojčanom vrednošću za PC1 i pozitivnom za PC2. Prema PC2 prvu grupu pretežno čine parametri lipofilnosti određeni računskim putem i to ClogP, logP, milogP, ALOGP, od eksperimentalno određenih parametara lipofilnosti nalazi se R_M^0 vrednost u *t*-butanolu i *i*-propanolu. Drugu grupu čine parametri lipofilnosti čije su vrednosti obe glavne komponente negativne. Prema PC2 druga grupa uglavnom sadrži parametre lipofilnosti određene eksperimentalnim putem, odnosno R_M^0 vrednost određena u etanolu, *n*-propanolu, acetonitrilu, acetonu, THF-u i 1,4-dioksanu i log k_w vrednost, a kao računski određeni parametri lipofilnosti javljaju se MLOGP i logP_{Bromo}. Takođe, mogu se uočiti i dva izuzetka, ALOGP2 i MLOGP2, što se može objasniti činjenicom da oba parametra predstavljaju kvadratne vrednosti podeonog koeficijenta log P .

Rezultat analize glavnih komponenti na osnovu parametara lipofilnosti za sve tri serije ispitivanih derivata spirohidantoina prikazan je na **slici 37**.



Slika 37. Zavisnost PC1 od PC2 za sve tri serije 3-(4-supstituisanih benzil)cikloalkan-5-hidantoina na osnovu parametra lipofilnosti

Sa **slike 37** se vidi da prva glavna komponenta deli ispitivna jedinjenja prema lipofilnosti celog molekula, što uključuje polarnost cikloalkil grupe, kao i polarnost supstituenta *R* vezanog u *para* položaju za benzil grupu. Pozitivne vrednosti prve glavne komponente se pripisuju manje lipofilnim spirohidantoinima: **I.1** (C5-H), **I.2** (C5-CH₃), **I.3** (C5-OCH₃), **I.6** (C5-CN), **I.7** (C5-NO₂), **II.1** (C6-H), **II.3** (C6-OCH₃), **II.6** (C6-CN), **II.7** (C6-NO₂). Suprotno tome, spirohidantoini veće lipofilnosti imaju negativne vrednosti prve glavne komponente: **I.5** (C5-Br), **II.2** (C6-CH₃), **II.4** (C6-Cl), **II.5** (C6-Br), **III.1** (C7-H), **III.2** (C7-CH₃), **III.4** (C7-Cl), **III.5** (C7-Br), **III.7** (C7-NO₂). Između spomenutih ispitivanih jedinjenja nalaze se spirohidantoini umerene lipofilnosti sa vrednošću prve glavne komponente vrlo blizu nuli i to su sledeća ispitivana jedinjenja **I.4** (C5-Cl), **III.3** (C7-OCH₃) i **III.6** (C7-CN). Prema PC1 uočava se da je najveća razlika u lipofilnosti između ispitivanog jedinjenja **III.5**, cikloheptan-5-hidantoina sa -Br kao

supstituentom (najnegativnija brojna vrednost PC1) i jedinjenja **I.6**, ciklopentan-5-hidantoina sa $-\text{CN}$ kao supstituentom (najpozitivnija brojna vrednost PC1).

Druga glavna komponenta pravi najveću razliku u polarnosti između jedinjenja sa bromidnom grupom **I.5** (C5-Br), gde je vrednost $\text{PC2} \approx -1$, i jedinjenja **III.3** (C7-OCH_3) sa vrednošću za $\text{PC2} \approx 1$.

Primenom PCA i HCA analize prikazali smo kakvo je grupisanje ispitivanih spirohidantoina prema lipofilnosti, grupisanje eksperimentalno određenih parametara lipofilnosti, kao i parametara lipofilnosti određenih računskim putem:

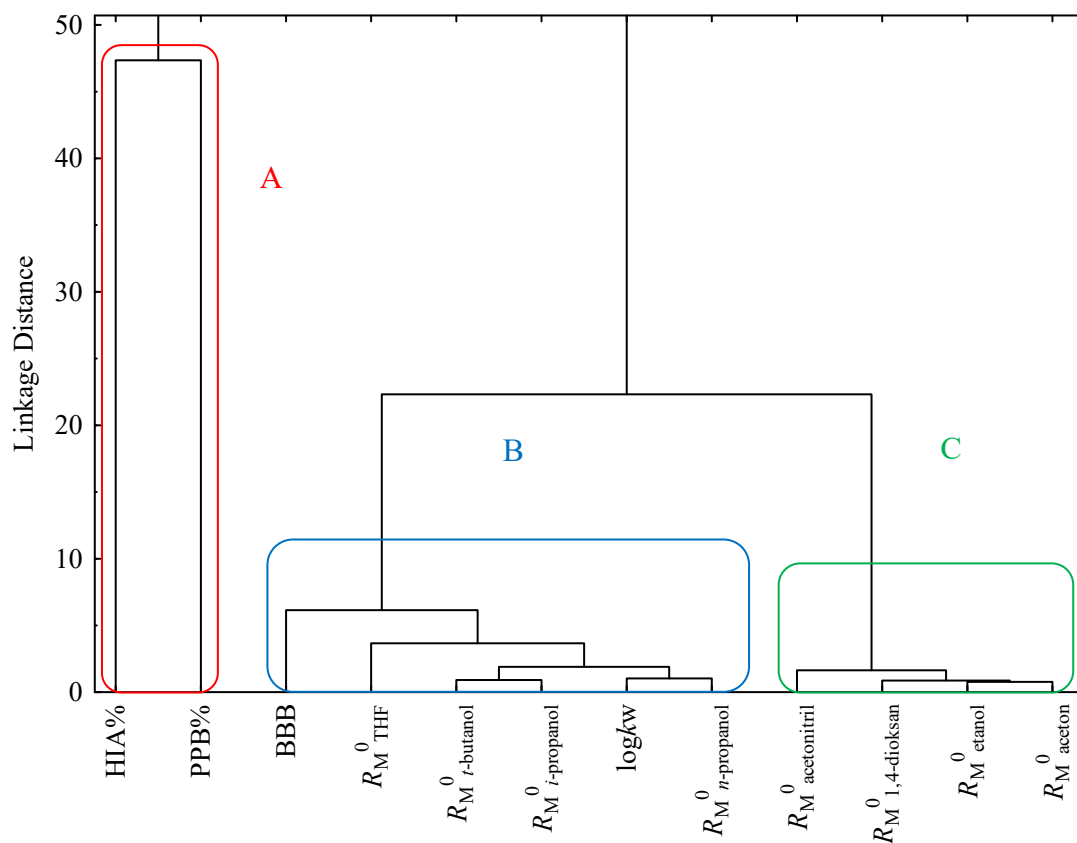
- Klasifikacija parametara lipofilnosti u klastere i subklastere ukazuje da se HCA metodom ne može uspostaviti jasna razlika između hromatografskih i izračunatih parametara lipofilnosti.
- Klasifikacija parametara lipofilnosti kako primenom PCA, tako i primenom HCA analize, ukazuje da hromatografski parametri lipofilnosti (R_M^0 i $\log k_w$) pokazuju veliku sličnost sa izračunatim parametrima lipofilnostima ($\log P$).
- Klasifikacija parametara lipofilnosti određenih direktnim hromatografskim metoda i indirektnim kalibracionim metodama ukazuje na veliku sličnost dobijenih rezultata primenom dve metode. Velika sličnosti u dobijenim rezultatima ukazuje na prednost primene direktnih hromatografskih metoda u odnosu na indirektno kalibracione metode koje iziskuju mnogo više vremena i eksperimentalnog rada.
- Primenom hemometrijskih metoda dobijena klasifikacija ispitivanih jedinjenja potvrđuje da najveću lipofilnost ima ispitivano jedinjenje **III.5** (C7-Br), dok jedinjenje **I.6** (C5-CN) pokazuje najmanju lipofilnost.

4.3.5. Hemometrijska analiza parametara lipofilnosti tri serije 3-(4-supstituissanih benzil)cikloalkan-5-hidantoina i prediktora biološke aktivnosti

U cilju bolje ilustracije povezanosti parametra lipofilnosti i potencijalne biološke aktivnosti spirohidantoina primenjena je PCA i HCA analiza. Klasifikacija je određena na osnovu vrednosti eksperimentalnih parametara lipofilnosti i prediktora biološke aktivnosti (afinitet vezivanja jedinjenja za proteine plazme, PBB%, raspodela kroz krvno-moždanu barijeru, BBB i humana intestinalna (crevna) absorpcija, HIA%) određenih računskim putem. Vrednosti prediktora biološke aktivnosti izračunate su online primenom programa PreADMET¹⁵⁵ i prikazane su u Prilogu (**tabela P11**). Hemometrijska analiza je primenjena na matrici podataka 21x14.

HCA analiza

Rezultati HCA analize su predstavljeni na dendrogramu na **slici 38**.

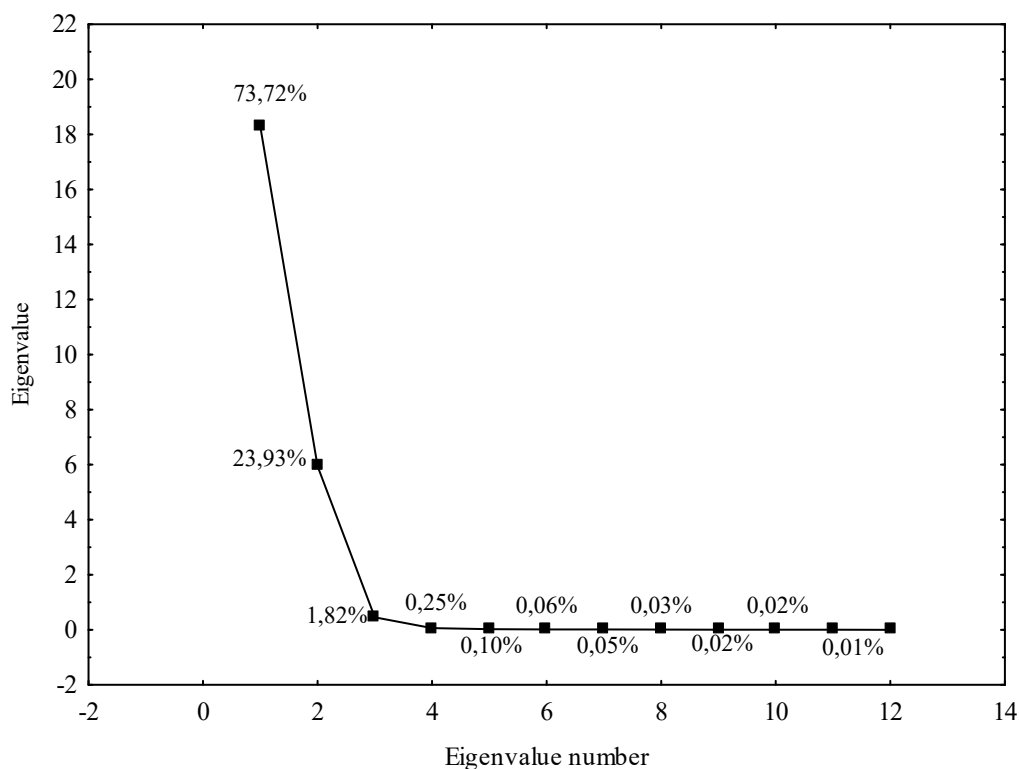


Slika 38. Dendrogram hromatografskih parametara lipofilnosti i prediktora biološke aktivnosti za sve tri serije cikloalkan-5-hidantoina

Sa dendrograma koji je predstavljen na **slici 38** uočava se da su hromatografski parametri lipofilnosti i prediktori biološke aktivnosti grupisani u tri klastera (klaster A, B i C). Klaster A sadrži samo prediktore biološke aktivnosti, PPB% i HIA%. Međutim, ukoliko se pomenuti prediktori uporede sa druga dva klastera, uočava se velika vertikalna udaljenost, te se ovi prediktori biološke aktivnosti mogu smatrati negrupisanim. Klaster B uključuje hromatografske parameter lipofilnosti i prediktor biološke aktivnosti BBB, dok klaster C čine samo hromatografski parametri lipofilnosti.

PCA analiza

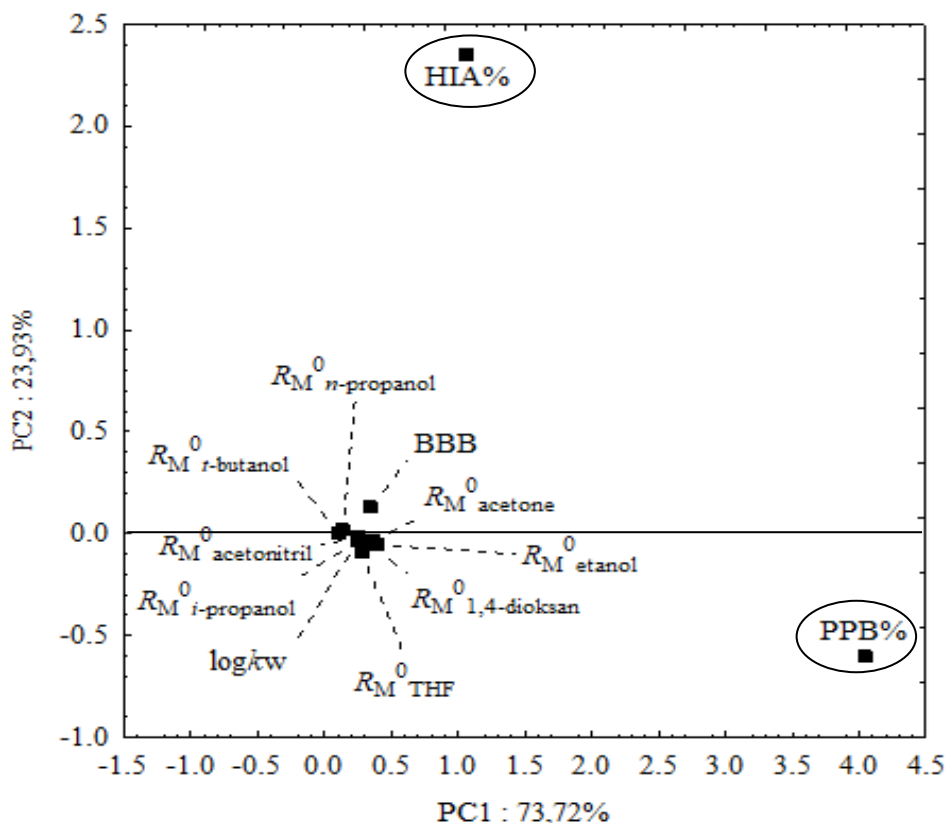
Rezultati dobijeni primenom PCA analize opisani su sa jedanaest glavnih komponenti. Procenti dobijenih glavnih komponenti ukupnog varijabiliteta podataka prikazani su na **slici 39**.



Slika 39. Procentne vrednosti glavnih komponenti ukupne varijanse podataka

Sa **slike 39** se može uočiti da je 97,65% ukupne varijanse opisano sa prve dve glavne komponente. Za dalju analizu zadržane su samo PC1 i PC2, pri čemu prva glavna komponenta opisuje 73,72%, dok druga opisuje 23,93% ukupne varijanse podataka.

Na **slici 40** je prikazana *loading* zavisnost prve dve glavne komponente.

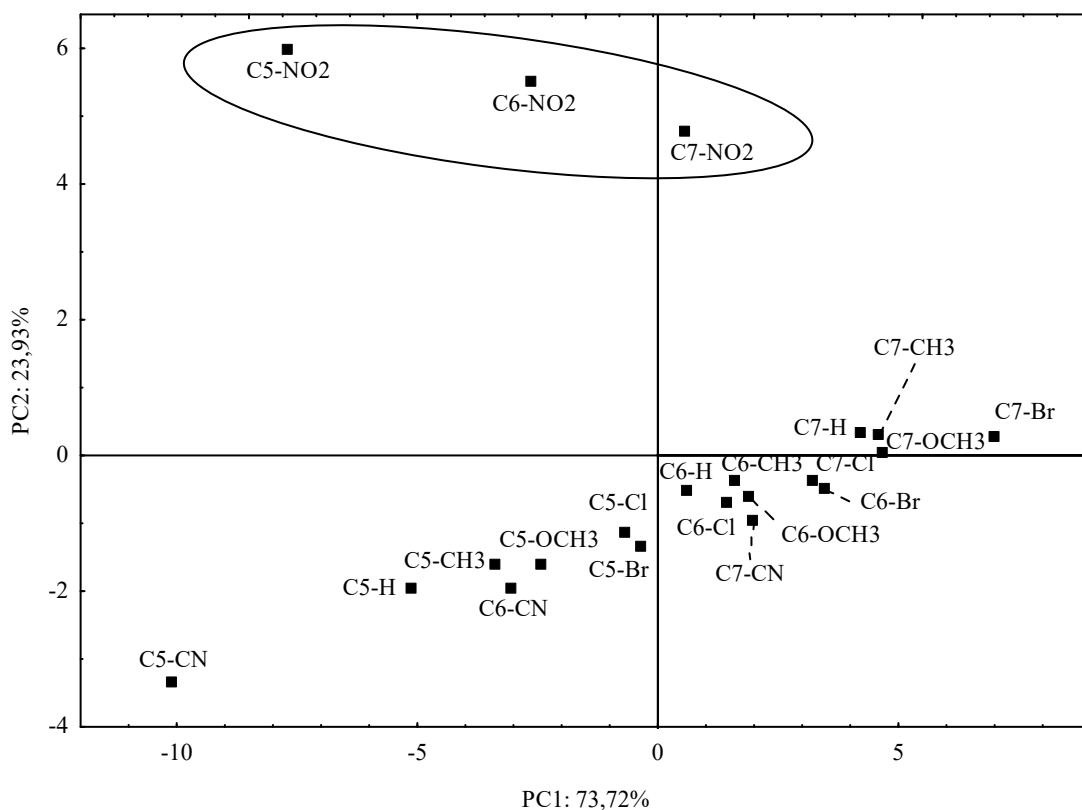


Slika 40. Zavisnost PC1 od PC2 za parametre lipofilnosti i prediktore biološke aktivnosti 3-(4-supstituisanih benzil)cikloalkan-5-hidantoina

Sa **slike 40** se uočava da se hromatografski parametri lipofilnosti i prediktori biološke aktivnosti razdvajaju u dve grupe uz pojavu dva izuzetka, HIA% i PPB%. Prva grupa je opisana negativnom brojčanom vrednošću za PC1 i pozitivnom za PC2. Prema PC2 prva grupa sadrži parametre lipofilnosti R_M^0 određene u etanolu, *n*-propanolu, *t*-butanolu, acetonu, kao i prediktor biološke aktivnosti BBB. Drugu grupu čine parametri lipofilnosti čije su vrednosti obe glavne komponente negativne. Prema PC2, drugu grupu čine parametri lipofilnosti R_M^0 određeni u etanolu, acetonitrilu, THF-u i 1,4-dioksanu, *i*-propanolu i $\log k_w$.

Dobijeni rezultati PCA analize su u skladu sa rezultatima dobijenim primenom HCA analize. Na osnovu ovakve podele uočava se da je prediktor biološke aktivnosti BBB veoma blisko povezan sa hromatografskim parametrima lipofilnosti.

Na **slici 41** je prikazani su rezultati analize glavnih komponenti za parametre lipofilnosti i prediktore biološke aktivnosti za sve ispitivane derivate spirohidantoina.



Slika 41. Zavisnost PC1 od PC2 za parametre lipofilnosti i prediktore biološke aktivnosti 3-(4-supstituissanih benzil)cikloalkan-5-hidantoina

Sa **slike 41** se zapaža da se primenom PCA postiže grupisanje ispitivanih jedinjenja u dve grupe. Prvu grupu čine ispitivani spirohidantoini koji imaju negativnu PC1 i ova grupa uključuje sve ciklopentan-5-hidantoina i dva cikloheksan-5-hidantoina koja kao *R* supstituent imaju polanu $-CN$, odnosno $-NO_2$ grupu. Drugu grupu čine ispitivana jedinjenja koja su opisana sa pozitivnom PC1. Ova grupa sadrži cikloheksan-5-hidantoina i sve cikloheptan-5-hidantoina. Generalno, očigledno je da sa porastom veličine cikloalkil grupe PC1 ima pozitivniju vrednost. Primećuje se da najnegativnija vrednost PC1 karakteriše ciklopentan-5-hidantoin sa $-CN$ grupom kao supstituentom (najpolarnije jedinjenje) a najpozitivnija PC1 vrednost opisuje cikloheptan-5-hidantoin sa $-Br$ kao supstituentom (najmanje polarno jedinjenje). Na osnovu vrednosti PC2, uočava se da PC2 odvaja ispitivana jedinjenja sa nitro grupom kao supstituentom ($-NO_2$) od ostalih ispitivanih jedinjenja.

5. ZAKLJUČAK

U okviru ove doktorske disertacije ispitivano je retenciono ponašanje novosintetisanih derivata spirohidantoina u različitim hromatografskim sistemima na obrnutim fazama. Dobijeni rezultati su analizirani primenom multivarijantnih statističkih metoda. Na osnovu matematičkih modela utvrđena je veza između strukture ispitivanih jedinjenja i hromatografskih parametara lipofilnosti.

Poređenjem dobijenih retencionih parametara primenom tačne hromatografije na obrnutim fazama utvrđeno je da retenciono ponašanje ispitivanih derivata spirohidantoina zavisi od prirode organskog rastvarača (polarnosti primenjenog rastvarača), sadržaja organskog rastvarača i hemijske strukture ispitivanih jedinjenja. Dobijeni retencioni podaci primenjeni su za određivanje hromatografskih parametara lipofilnosti, R_M^0 i $\log k_w$ vrednosti.

Postignuta dobra saglasnost između R_M^0 vrednosti dobijenih u različitim pokretnim fazama, ukazuje na kompatibilnost među organskim rastvaračima i na pružanje mogućnosti optimizacije radnih uslova. Zavisnost između hromatografskih parametara lipofilnosti dobijenih primenom dve hromatografske tehnike, TLC i HPLC, ukazuje da obe hromatografke tehnike mogu da se primene u proučavanju lipofilnosti ispitivanih derivata spirohidantoina.

Pored hromatografskih parametara lipofilnosti, lipofilnost ispitivanih spirohidantoina definisana je i izračunatim $\log P$ vrednostima. Linearne zavisnosti između R_M^0 , odnosno $\log k_w$ vrednosti i vrednosti računskih $\log P$ potvrđuju da je tačna hromatografija na obrnutim fazama pogodna za određivanje i proučavanje lipofilnosti novosintetisanih derivata spirohidantoina.

Da bi se opisala kvantitativna veza između strukture ispitivanih jedinjenja i retencije primenjena je višestruka linearna regresija (MLR). Primenom MLR analize određeni su molekularni deskriptori koji imaju najznačajniji uticaj na hromatografsko ponašanje ispitivanih derivata spirohidantoina. Kod većine dobijenih QSRR modela najznačajniji uticaj na hromatografsko ponašanje ispitivanih jedinjenja pokazuje podeoni koeficijent $\log P$. Internom validacijom dobijenih modela utvrđeno je da modeli (3)–(12), (14), (15) i (18)–(20) imaju dobre prediktivne sposobnosti za predviđanja hromatografskih parametara lipofilnosti, R_M^0 i $\log k_w$, ispitivanih jedinjenja. Na osnovu statističkih parametara modela i njegove prediktivne sposobnosti za predviđanje hromatografskog parametra lipofilnosti, kao najbolji QSRR model izdvaja se model gde je zavisno promenljiva $\log k_w$ vrednost.

Dok se za predviđanje R_M^0 vrednosti kao najbolji pokazao model gde je lipofilnost određivana u THF-u kao organskom rastvaraču. Na osnovu statističkih parametara koji opisuju prediktivna svojstva dobijenih modela potvrđena je mogućnost njihove primene za predviđanje lipofilnosti novih strukturno sličnih jedinjenja.

Primenom LSER metodologije uspešno su definisane prisutne interakcije u hromatografskim sistemima. Utvrđeno je da najznačajniji uticaj na retenciju, odnosno na raspodelu u sistemu ima uspostavljanje vodoničnih veza, tj proton-donorska i proton-akceptorska svojstva. Negativan predznak regresionih koeficijenata koji opisuju donorsko-akceptorska svojstva ukazuje na dominantne interakcije sa pokretnom/vodenom fazom. Pored donorsko-akceptorskih svojstava, utvrđeno je da značajan uticaj na raspodelu u hromatografskom sistemu na obrnutim fazama ima i faktor formiranja „šupljine“, odnosno molekulska zapremina ispitivanih jedinjenja. Pozitivna vrednost ovog faktora ukazuje na značajan uticaj hidrofobnih interakcija. Između brojčanih vrednosti regresionih koeficijenata poređenih sistema postoji opšta sličnost.

U skladu sa pravilima Lipinskog svi ispitivani derivati spirohidantoina su u granicama, odnosno molekulska masa ispitivanih jedinjenja je ispod 500 g/mol, broj proton donorskih atoma je manji 5, broj proton akceptorskih atoma je manji 10 i vrednost logaritma podeonog koeficijenta je kod svih ispitivanih jedinjenja manja od 5. Na osnovu toga može se zaključiti da ispitivani spirohidantoini imaju dobru (teorijsku) oralnu biodostupnost.

Primenom dve hemometrijske metode (PCA i HCA) ispitivana jedinjenja spirohidantoina se klasifikuju na osnovu njihove lipofilnosti. Odnosno, klasifikacija ispitivanih jedinjenja potvrđuje da lipofilnost ispitivanih derivata spirohidantoina zavisi od supstituenta R i od veličine cikloalkil grupe. Dobijeno grupisanje primenom PCA i HCA analize ukazuje da hromatografski parametri lipofilnosti (R_M^0 i $\log k_w$) pokazuju veliku sličnost sa izračunatim parametrima lipofilnostima ($\log P$) i da se ne može uspostaviti jasna razlika između njih. Takođe, primenom ove dve hemometrijske metode dobija se grupisanje gde se zapaža da je prediktor biološke aktivnosti BBB veoma blisko povezan sa hromatografskim parametrima lipofilnosti.

Biološka aktivnost nekog jedinjenja je uslovljena njegovom farmakokinetikom (put od mesta ulaska u organizam do mesta dejstva) i farmakodinamikom (interakcije sa specifičnim mestom dejstva). Ti procesi zavise od svojstva molekula da interaguje sa dve različite sredine: nevodenom (ćelijska membrana) i vodenom (unutrašnjost ćelije), odnosno da zavise od njegove lipofilnosti. Stoga, sve prethodno navedeno ukazuje da ispitivani derivati spirohidantoina imaju odgovarajuću lipofilnost koja je od izuzetnog značaja za njihovu biološku aktivnost i distribuciju kroz organizam. Odnosno, nakon neophodnih dodatnih bioloških ispitivanja, ispitivani derivati spirohidantoina bi se mogli primenjivati kao lekovi u terapiji epilepsije, maligniteta, infektivnih bolesti i drugih oboljena.

6. LITERATURA

- [1] Marcelli, T., Olimpieri, F., Volonterio, A., (2011). Domino synthesis of 1,3,5-trisubstituted hydantoins: a DFT study. *Org. Biomol. Chem.*, 9, 5156–5161.
<https://10.1039/c1ob05242j>
- [2] Meusel, M., Gutschow, M., (2004). Recent developments in hydantoin chemistry. A review. *Org. Prep. Proced. Int.*, 36, 391–443.
<http://dx.doi.org/10.1080/00304940409356627>
- [3] Ahmedova, A., Pavlović, G., Marinov, M., Stoyanov, N., Šišak, D., Mitewa, M., (2009). Two cycloalkanespiro-5-(2-thiohydantoins): Synthesis, spectral and structural characterization. *J. Mol. Struct.*, 938, 165–173.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2009.09.021>
- [4] Olimpieri, F., Bellucci, M.C., Marcelli, T., Volonterio, A., (2012). Regioselective multicomponent sequential synthesis of hydantoins. *Org. Biomol. Chem.*, 10, 9538–9555.
<https://doi.org/10.1039/C2OB26498F>
- [5] Stilz, H.U., Guba, W., Jablonka, B., Just, M., Klingler, O., König, W., Wehner, V., Zoller, G., (2001). Discovery of an orally active non-peptide fibrinogen receptor antagonist based on the hydantoin scaffold. *J. Med. Chem.*, 44, 1158–1176.
<https://doi.org/10.1021/jm001068s>
- [6] Schelkun, R.M., Yuen, P., Serpa, K., Meltzer, L.T., Wise, L.D., Whittemore, E.R., Woodward, R.M., (2000). Subtype-selective N-methyl-D-aspartate receptor antagonists: benzimidazole and hydantoin as phenol replacements. *J. Med. Chem.*, 43, 1892–1897.
<https://doi.org/10.1021/jm990537r>
- [7] Faghihi, K., Zamani, K., Mobinikhaledi, A., (2004). Facile synthesis of hydantoin derivatives under microwave irradiation. *Turk. J. Chem.*, 28, 345–350.
- [8] Naydenova, E., Pencheva, N., Popova, J., Stoyanov, N., Lazarova, M., Aleksiev, B., (2002). Aminoderivatives of cycloalkanespirohydantoins: synthesis and biological activity. *Il Farmaco*, 57, 189–194.
[https://doi.org/10.1016/s0014-827x\(01\)01198-3](https://doi.org/10.1016/s0014-827x(01)01198-3)
- [9] Byrtus, H., Pawlowski, M., Duszynska, B., Wesolowska, A., Chojnacka-Wojcik, E., Bojarski, A.J., (2001). Arylpiperazine derivatives of 3-propyl- β -tetralonohydantoin as new 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptor ligands. *Pol. J. Pharmacol.*, 53, 395–401.

[10] Faden, A.I., Knobloch, S.M., Cernak, I., Fan, L., Vink, R., Araldi, G.L., Fricke, S.T., Roth, B.L., Kozikowski, A.P., (2003). Novel diketopiperazine enhances motor and cognitive recovery after traumatic brain injury in rats and shows neuroprotection in vitro and in vivo. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 23, 342-354.

<https://doi.org/10.1097/01.WCB.0000046143.31247.FD>

[11] Thenmozhiyal, J.C., Wong, P.T., Chui, W.K., (2004). Anticonvulsant activity of phenylmethylenhydantoin: A structure–activity relationship study. *J. Med. Chem.*, 47, 1527–1535.

<https://doi.org/10.1021/jm030450c>

[12] Dylag, T., Zygmunt, M., Maciag, D., Handzlik, J., Bednarski, M., Filipek, B., Kieć-Kononowicz, K., (2004). Synthesis and evaluation of in vivo activity of diphenylhydantoin basic derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, 39, 1013–1027.

<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2004.05.008>

[13] Rajic, Z., Zorc, B., Raic-Malic, S., Ester, K., Kralj, M., Pavelic, K., Balzarini, J., De Clercq, E., Mintas, M., (2006). Hydantoin derivatives of L- and D-amino acids: synthesis and evaluation of their antiviral and antitumoral activity. *Molecules*, 11, 837–848.

<https://doi.org/10.3390/11110837>

[14] Oros, Gy, Cserhádi, T., (2010). Relationship between the calculated physicochemical parameters and reversed phase thin-layer chromatographic retention behavior of carboxamide fungicides and related compounds. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 33, 880–893.

<https://doi.org/10.1080/10826071003766252>

[15] Csermely, T., Kalász, H., Deák, K., Hasan, M.Y., Darvas, F., Petroianu, G., (2008). Lipophilicity Determination of Some ACE Inhibitors by TLC. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 31, 2019–2034.

<https://doi.org/10.1080/10826070802198410>

[16] Baeyer, A., (1861). Vorläufige Notiz über das Hydantoin. *Ann. Chem.*, 117, 178-180.

<https://doi.org/10.1002/jlac.18611170204>

[17] Ware, E. (1950). The chemistry of the hydantoins. *Chem. Rev.*, 46, 403-407.

<https://doi.org/10.1021/cr60145a001>

[18] Strecker, A., (1870). Ueber Uroxansäure und die chemische Constitution der Harnsäure. Ann., 155, 177-185.

<https://doi.org/10.1002/jlac.18701550206>

[19] Raczyńska, E.D, Kosińska, W., Ośmiałowski, B., Gawinecki, R., (2005). Tautomeric equilibria in relation to pi-electron delocalization. Chem. Rev., 105, 3561-3612.

<https://doi.org/10.1021/cr030087h>

[20] Kleinpeter, E., (1997). The structure of hydantoins in solution and in the solid state. Struct. Chem., 8, 161–173.

<https://doi.org/10.1007/BF02262852>

[21] Bausch, M.J., David, B., Dobrowolski, P., Prasad, V.J., (1990). Dimethyl sulfoxide phase N-H equilibrium acidities for urazole and substituted urazoles: for urazole and 1-substituted urazoles, which proton is more acidic? J. Org. Chem., 55, 5806-5808.

<https://doi.org/10.1021/jo00310a003>

[22] Rosenberg, L.S., Jackson, J.L., (1989). Application of a Second-Order Derivative Spectroscopic Technique: Determination of the Ionization Constants of Phenytoin and Phenobarbital. Drug Der. Ind. Pharm., 15, 373-386.

<https://doi.org/10.3109/03639048909040218>

[23] Meusel, M., Gütschow, M., (2004). Recent developments in hydantoin chemistry. A review. Org. Prep. Proced. Int., 36, 391-446.

<https://doi.org/10.1080/00304940409356627>

[24] López-Alvarado, P., Avendaño, C., Menéndez, J.C., (1992). Amide N-arylation with *p*-tolyllead triacetate. Tetrahedron Lett., 33, 6875-6878.

[https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)61799-9](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)61799-9)

[25] Edwards, J.T.; Lantos, I., (1967). Acylation products of 5,5-diphenylimidazolid-4-one. Can. J. Chem., 45, 1925-1934.

<https://doi.org/10.1139/v67-308>

[26] Bialer, M., (2012). Chemical Properties of Antiepileptic Drugs (AEDs). Adv. Drug Deliv. Rev., 64, 887–895.

<https://doi.org/10.1016/j.addr.2011.11.006>

[27] Kumkamthornkul, P., Udnaen, S., Tansit, T., Tuchinda, P., Srinoulprasert, Y., (2018). Evaluation of a lymphocyte transformation test and cytokine detection assay to identify phenytoin and carbamazepine provoked DRESS or SJS/TEN in epilepsy patients. *Int. Immunopharmacol.*, 18, 204–210.

<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.08.010>

[28] Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M., Moor, P. K. *Farmakologija*, Peto izdanje, Data status: Beograd, (2005).

[29] Abraham, D.J. *Burger's Medicinal Chemistry & Drug Discovery*, Sixth Edition, John Wiley & Sons: New York, USA (2003).

[30] Trišović, N., Ušćumlić, G., Petrović, S., (2009). Hidantoini: dobijanje, svojstva i antikonvulzivna aktivnost. *Hem. Ind.*, 63, 17–31.

<https://doi.org/10.2298/HEMIND0901017T>

[31] Trišović, N., Timić, T., Divljaković, J., Rogan, J., Poleti, D., Savić, M.M., Ušćumlić, G., (2012). Synthesis, structural and biological characterization of 5-phenylhydantoin derivatives as potential anticonvulsant agents. *Monatsh. Chem.*, 143, 1451–1457.

<https://doi.org/10.1007/s00706-012-0791-8>

[32] Đaković-Sekulić, T., Mandić, A., Trišović, N., Ušćumlić, G., (2012). Structure-retention relationship study of HPLC data of antiepileptic hydantoin analogues. *Curr. Comput. Aided Drug Des.*, 8, 3-9.

<https://doi.org/10.2174/157340912799218525>

[33] Patel, H.J., Sarra, J., Caruso, F., Rossi, M., Doshi, U., Stephani, R.A., Doshi, U., (2006). Synthesis and anticonvulsant activity of new N-10,N-30-disubstituted-20H,3H,50H-spiro-(2-benzofuran-1,40-imidazolidine)-20,3,50-triones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16, 4644–4647.

<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.05.102>

[34] Camerman, A., Camerman, N., (1970). Diphenylhydantoin and diazepam: Molecular structure similarities and steric basis of anticonvulsant activity. *Science*, 168, 1457–1458.

<https://doi.org/10.1126/science.168.3938.1457>

[35] Camerman, A., Camerman, N., (1971). The stereochemical basis of anticonvulsant drug action. I. The crystal and molecular structure of diphenylhydantoin, a noncentrosymmetric structure solved by centric symbolic addition. *Acta Cryst. B*, 27, 2205–2211.

<https://doi.org/10.1107/S0567740871005570>

[36] Camerman, A., Camerman, N., (1972). Stereochemical basis of anticonvulsant drug action. II. Molecular structure of diazepam. *J. Am. Chem. Soc.*, 94, 268–272.

<https://doi.org/10.1021/ja00756a047>

[37] Brouillette, W.J, Brown, G.B., DeLorey, T.M., Liang, G., (1990). Sodium channel binding and anticonvulsant activities of hydantoins containing conformationally constrained 5-phenyl substituents. *J. Pharm. Sci.*, 79, 871–874.

<https://doi.org/10.1002/jps.2600791005>

[38] Brouillette, W.J, Brown, G.B., DeLorey, T.M., Shirali, S.S., Grunewald, G.L., (1988). Anticonvulsant activities of phenyl-substituted bicyclic 2,4-oxazolidinediones and monocyclic models. Comparison with binding to the neuronal voltage-dependent sodium channel. *J. Med. Chem.*, 31, 2218–2221.

<https://doi.org/10.1021/jm00119a025>

[39] Brouillette, W.J., Jestkov, V.P., Brown, M.L., Akhar, M.S., DeLorey, T.M., Brown G.B., (1994). Bicyclic hydantoins with a bridgehead nitrogen. Comparison of anticonvulsant activities with binding to the neuronal voltage-dependent sodium channel *J. Med. Chem.*, 37, 3289–3293.

<https://doi.org/10.1021/jm00046a013>

[40] Wong, M.G., Defina, J.A., Andrews, P.R., (1986). Conformational analysis of clinically active anticonvulsant drugs. *J. Med. Chem.*, 29, 562–572.

<https://doi.org/10.1021/jm00154a022>

[41] Sternbach, L.H., Sancilio, F.D., Blount, J.F., (1974). Quinazolines and 1,4-benzodiazepines. 64. Comparison of the stereochemistry of diazepam with that of close analogs with marginal biological activity. *J. Med. Chem.*, 17, 374–377.

<https://doi.org/10.1021/jm00249a032>

[42] Unverferth, K., Engel, J., Hofgen, N., Rostock, A., Gunther, R., Lankau, H.J., Menzer, M., Rolfs, A., Liebscher, J., Miiller, B., Hofmann, H.J., (1998). Synthesis, anticonvulsant activity, and structure-activity relationships of sodium channel blocking 3-aminopyrroles. *J. Med. Chem.*, 41, 63–73.

<https://doi.org/10.1021/jm970327j>

[43] Pradhan, R., Patra, M., Behera, A.K., Mishra, B.K., Behera, R.K., (2006). A synthon approach to spiro compounds. *Tetrahedron*, 62, 779-828.

<https://doi.org/10.1016/j.tet.2005.09.039>

[44] SeoHyun, C., Seok-Ho, K., Dongyun, S., (2019). Recent applications of hydantoin and thiohydantoin in medicinal chemistry. *Eur. J. Med. Chem.*, 164, 517–545.

<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.12.066>

[45] Obniska, J., Byrtus, H., Kamiński, K., Pawłowski, M., Szczesio, M., Karolak-Wojciechowska, J., (2010). Design, synthesis, and anticonvulsant activity of new N-Mannich bases derived from spirosuccinimides and spirohydantoin. *Bioorg. Med. Chem.*, 18, 6134–6142.

<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.06.064>

[46] Zhu, Q., Pan, Y., Xu, Z., Li, R., Qiu, G., Xu, W., Ke, X., Wu, L., Hu, X., (2009). Synthesis and potential anticonvulsant activity of new N-3-substituted 5,5-cyclopropanespirohydantoin. *Eur. J. Med. Chem.*, 44, 296–302.

<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2008.02.024>

[47] Byrtus, H., Pawłowski, M., Duszyńska, B., Wesolowska, A., Chojnacka-Wójcik, E., Bojarski, A.J., (2001). Arylpiperazine derivatives of 3-propyl-beta-tetralonohydantoin as new 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptor ligands. *Pol. J. Pharmacol.*, 53, 395–401.

[48] Kossakowski, J., Zawadowski, T., Turbo, J., Kleps, J., (1998). Synthesis of N- (4-aryl- 1 -piperazinybutyl) -substituted 7,8-benzo-1,3-diazaspiro [4,5] decane-2,4-dione derivatives with potential anxiolytic activity. *Il Farmaco*, 53, 169–171.

[https://doi.org/10.1016/s0014-827x\(98\)00010-x](https://doi.org/10.1016/s0014-827x(98)00010-x)

[49] Da Settimo, F., Primofiore, G., La Motta, C., Salerno, S., Novellino, E., Greco, G., Lavecchia, A., Laneri, S., Boldrini, E., (2005). Spirohydantoin derivatives of thiopyrano[2,3-b]pyridin-4(4H)-one as potent in vitro and in vivo aldose reductase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.*, 13, 491–499.

<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2004.10.019>

[50] Sergent, D., Wang, Q., Sasaki, N.A., Ouazzani, J., (2008). Synthesis of hydantoin analogues of (2S,3R,4S)-4-hydroxyisoleucine with insulinotropic properties. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 18, 4332–4335.

<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.06.081>

[51] Somsák, L., Kovács, L., Tóth, M., Ósz, E., Szilágyi, L., Györgydeák, Z., Dinya, Z., Doca, T., Tóth, B., Gergely, P., (2001). Synthesis of and a comparative study on the inhibition of muscle and liver glycogen phosphorylases by epimeric pairs of D-gluco- and D-hylopyranosylidene-dipro-(thio)hydantoins and N-(D-glucopyranosyl) amides. *J. Med. Chem.*, 44, 2843–2848.

<https://doi.org/10.1021/jm010892t>

[52] Czopek, A., Kołaczkowski, M., Bucki, A., Byrtus, H., Pawłowski, M., Kazek, G., Bojarski, A.J., Piaskowska, A., Kalinowska-Tłuścik, J., Partyka, A., et al., (2015). Novel spirohydantoin derivative as a potent multireceptor-active antipsychotic and antidepressant agent. *Bioorg. Med. Chem.*, 23, 3436–3447.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2015.04.026>

[53] Marinova, P., Marinov, M., Kazakova, M., Feodorova, Y., Slavchev, A., Blazheva, D., Georgiev, D., Penchev, P., Sarafian, V., Stoyanov, N., (2016) Study on the synthesis, characterization and bioactivities of 3-methyl-9'-fluorenespiro-5-hydantoin. *Acta Chim. Slov.*, 63, 26–32.

<http://dx.doi.org/10.17344/acsi.2015.1591>

[54] Obradović, A., Matic, M., Ognjanović, B., Đurđević, P., Marinković, E., Ušćumlić, G., Božić, B.; Božić Nedeljković, B., (2020). Antiproliferative and antimigratory effects of 3-(4-substituted benzyl)-5-isopropyl-5-phenylhydantoin derivatives in human breast cancer cells. *Saudi Pharm. J.*, 28, 246–254.

<https://doi.org/10.1016/j.jsps.2020.01.003>

[55] Đaković Sekulić, T., Smoliński, A., Trišović, N., Ušćumlić, G., Božić, B., (2015). Chemometric study of the antiproliferative activity of some new hydantoin derivatives: assessment of activity and chromatographic lipophilicity data. *J. Braz. Chem. Soc.*, 26, 1379–1386.

<http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20150106>

[56] Trišović, N., Božić, B., Obradović, A., Stefanović, O., Marković, S., Čomić, L., Božić, B., Ušćumlić, G., (2011). Structure–activity relationships of 3-substituted-5,5-diphenylhydantoins as potential antiproliferative and antimicrobial agents. *J. Serb. Chem. Soc.*, 76, 1597–1606.

<https://doi.org/10.2298/JSC110314143T>

[57] Gomez-Monterrey, I., Santelli, G., Campiglia, P., Califano, D., Falasconi, F., Pisano, C., Vesce, L., Lama, T., Grieco, P., Novellino, E., (2005). Synthesis and cytotoxic evaluation of novel spirohydantoin derivatives of the dihydrothieno[2,3-b]naphtho-4,9-dione system. *J. Med. Chem.*, 48, 1152–1157.

<https://doi.org/10.1021/jm0408565>

[58] Ali, W., Spengler, G., Kincses, A., Nové, M., (2020). Discovery of phenylselenoether-hydantoin hybrids as ABCB1 efflux pump modulating agents with cytotoxic and antiproliferative actions in resistant T-lymphoma. *Eur. J. Med. Chem.*, 200, 1–17.

<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112435>

[59] Kong, L.C.C., Moinet, C., Vaillancourt, L., Bubenik, M., (2006). Spirohydantoin compounds and methods for the modulation of chemokine receptor activity, US 2006/0014769 A1

[60] Bell, I.M., Bednar, R.A., Fay, J.F., Gallicchio, S.N., Hochman, J.H., McMasters, D.R., Miller-Stein, C., Moore, E.L., Mosser, S.D., Pudvah, N.T., Quigley, A.G., Salvatore, C.A., Stump, C.A., Theberge, C.R., Wong, B.K., Zartman, C.B., Zhang, X.F., Kane, S.A., Graham, S.L., Vacca, J.P., Williams, T.M., (2006). Identification of novel, orally bioavailable spirohydantoin CGRP receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16, 6165–6169.

<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.09.045>

- [61] Marinova, P., Marinov, M., Feodorova, Y., Kazakova, M., Slavchev, A., Blazheva, D., Sarafian, V., Nikolova, I., Stoyanov, N., (2014). Synthesis, characterization, in vitro antiproliferative and antimicrobial study of 3-methyl-(9'-fluorene)-spiro-5-(2,4 dithiohydantoin). *Sci. Technol.*, 4, 112–117.
- [62] Pliška, V., Testa, B., van de Waterbeemd, H. .Lipophilicity in Drug Action and Toxicology. John Wiley & Sons, Weinheim, (2008).
- [63] van de Waterbeemd, H., Carter, R. E., Grassy, G. Kubinyi, H., Martin, Y. C., Tute, M. S., and Willett, P.,(1997). Glossary of terms used in computational drug design. *Pure and Appl. Chem.*, 69, 1137–1152.
<https://doi.org/10.1351/pac199769051137>
- [64] Hill, A.P., Young, R.J., (2010). Getting physical in drug discovery: a contemporary perspective on solubility and hydrophobicity. *Drug Discov. Today*, 15, 648–655.
<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2010.05.016>
- [65] Henchoz, Y., Bard, B., Guillarme, D., Carrupt, P.A., Veuthey, J.L., Martel, S., (2009). Analytical tools for the physicochemical profiling of drug candidates to predict absorption/distribution. *Anal. Bioanal. Chem.*, 394, 707–729.
<https://doi.org/10.1007/s00216-009-2634-y>
- [66] Waring, M.J., (2009). Defining optimum lipophilicity and molecular weight ranges for drug candidates-Molecular weight dependent lower log*D* limits based on permeability. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 19, 2844–2851.
<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.03.109>
- [67] Walter, H., Johansson, G., Brooks, D.E., (1991). Partitioning in aqueous two-phase systems: recent results. *Anal. Biochem.*, 197, 1-18.
[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(91\)90348-W](https://doi.org/10.1016/0003-2697(91)90348-W)
- [68] Hansch, C., & Fujita, T. (1964). p - σ - π Analysis. A method for the correlation of biological activity and chemical structure. *J. Am. Chem. Soc.*, 86, 1616–1626.
<https://doi.org/10.1021/ja01062a035>

[69] Leahy, D.E., Taylor, P.J., Wait, A.R., (1989). Model solvent system for QSAR Part I. Propylene glycol dipelargonate (PGDP). A new standard solvent for use in partition coefficient determination. *Quant. Struc-Act. Rel.*, 8, 17–31.

<https://doi.org/10.1002/qsar.19890080104>

[70] Kubinyi, H. (1979). Lipophilicity and drug activity. *Prog. Drug Res.*, Birkhauser Basel, 97-198.

https://doi.org/10.1007/978-3-0348-7105-1_5

[71] Debolt, S.E., Kollman, P.A., (1995). Investigation of structure, dynamics, and solvation in 1-octanol and its water-saturated solution: molecular dynamics and free-energy perturbation studies. *J. Am. Chem. Soc.*, 117, 5316–5340.

<https://doi.org/10.1021/ja00124a015>

[72] Lemke, T.L. *Review of Organic Functional Groups: Introduction to Medicinal Organic Chemistry*. Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, (2003).

[73] Dabrowska, M., Starek, M., Skuciński, J., (2011). Lipophilicity study of some non-steroidal antiinflammatory agents and cephalosporin antibiotics: A review. *Talanta*, 86, 35–51.

<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.09.017>

[74] Braumann, T., (1986). 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, 191–225.

[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)80213-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)80213-7)

[75] Danielsson, L.G., Zhang, Y.H., (1996). Methods for determining n-octanol-water partition constants. *TrAC Trends Analyt. Chem.*, 15, 188-196.

[https://doi.org/10.1016/0165-9936\(96\)00003-9](https://doi.org/10.1016/0165-9936(96)00003-9)

[76] Brändström, A., (1963). A rapid method for the determination of distribution coefficient of bases for biological purposes. *Acta. Chem. Scand.*, 17, 1218-1224.

<https://doi.org/10.3891/acta.chem.scand.17-1218>

[77] Brooke, D.N., Dobbs, A.J., Williams, N., (1986). Octanol:water partition coefficients (P): measurement, estimation, and interpretation, particularly for chemicals with $P > 10^5$. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 11, 251-60.

[https://doi.org/10.1016/0147-6513\(86\)90099-0](https://doi.org/10.1016/0147-6513(86)90099-0)

[78] Leo, A.J., (1993). Calculating $\log P_{\text{oct}}$ from structures. *Chem. Rev.*, 93, 1281–1306.

<https://doi.org/10.1021/cr00020a001>

[79] Mannhold, R. *Molecular drug properties: measurement and prediction*. Wiley-VCH, Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, (2008).

[80] Rekker, R.F., Mannhold, R., Bijloo, G., de Vries, G., Dross, K., (1998). The lipophilic behaviour of organic compounds: 2. The development of an aliphatic hydrocarbon/water fragmental system via interconnection with octanol-water partitioning data. *Mol. Inform.*, 17, 537–548.

[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3838\(199812\)17:06<537::AID-QSAR537>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3838(199812)17:06<537::AID-QSAR537>3.0.CO;2-D)

[81] Juranić, I.O., Drakulić, B.J., Petrović, S.D., Mijin, D.Ž., Stanković, M.V., (2006). A QSAR study of acute toxicity of N-substituted fluoroacetamides to rats. *Chemosphere*, 62, 641–649.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.05.005>

[82] Ghose, A.K., Crippen, G.M., (1987). Atomic physicochemical parameters for three-dimensional-structure-directed quantitative structure-activity relationships. 2. Modeling dispersive and hydrophobic interactions. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 27, 21–35.

<https://doi.org/10.1021/ci00053a005>

[83] Viswanadhan, V.N., Ghose, A.K., Revankar, G.R., Robins, R.K., (1989). Atomic physicochemical parameters for three dimensional structure directed quantitative structure-activity relationships. 4. Additional parameters for hydrophobic and dispersive interactions and their application for an automated superposition of certain naturally occurring nucleoside antibiotics. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 29, 163–172.

<https://doi.org/10.1021/ci00063a006>

[84] Wildman, S.A., Crippen, G.M., (1999). Prediction of Physicochemical Parameters by Atomic Contributions. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 39, 868–873.

<https://doi.org/10.1021/ci9903071>

[85] Héberger, K., (2007). Quantitative structure-(chromatographic) retention relationships. *J. Chromatogr. A*, 1158, 273–305.

<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.03.108>

[86] Kaliszan, R., (2007). QSRR: Quantitative structure-(chromatographic) retention relationships. *Chem. Rev.*, 107, 3212–3246.

<https://doi.org/10.1021/cr068412z>

[87] Fujita, T., Iwasa, J., Hansch, C., (1964). A new substituent constant, π , derived from partition coefficients. *J. Am. Chem. Soc.*, 86, 5175–5180.

<https://doi.org/10.1021/ja01077a028>

[88] Poole, S.K., Poole, C.F., (2003). Separation methods for estimating octanol–water partition coefficients. *J. Chromatogr. B*, 797, 3–19.

<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2003.08.032>

[89] Bate-Smith, E. C., Westall, R. G., (1950). Chromatographic behaviour and chemical structure. *Biochimica et Biophysica Acta*, 4, 427–440.

[https://doi.org/10.1016/0006-3002\(50\)90049-7](https://doi.org/10.1016/0006-3002(50)90049-7)

[90] Soczewinski, E., Matysik, G., (1968). Two types of R_M -composition relations in liquid partition chromatography. *J. Chromatogr. A*, 32, 458–471.

[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)80519-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)80519-7)

[91] Kuchař, M., Kraus, E., Jelínková, M., (1991). Influence of mobile phase composition on evaluation of lipophilicity by partition chromatography. *J. Chromatogr. A*, 557, 399–411.

[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)87148-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)87148-X)

[92] Liu, X., Tanaka, H., Yamauchi, A., Testa, B., Chuman, H., (2005). Determination of lipophilicity by reversed-phase high-performance liquid chromatography: Influence of 1-octanol in the mobile phase, *J. Chromatogr. A*, 1091, 51–59.

<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.07.029>

[93] Wold, S., (1995). Chemometrics; what do we mean with it, and what do we want from it? *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 30, 109–115.

[https://doi.org/10.1016/0169-7439\(95\)00042-9](https://doi.org/10.1016/0169-7439(95)00042-9)

[94] Brereton, R.G., *Applied Chemometrics for Scientists*. John Wiley & Sons Ltd, England, (2007).

[95] Miller, J.N., Miller, J.C. *Statistics and chemometrics for analytical chemistry*. Fifth edition. Pearson Education Limited, Harlow, England, 2005.

[96] Otto, M. *Chemometrics statistics and computer application in analytical chemistry*. Third Edition. Wiley–CH, Weinheim, Germany. (2017).

[97] Massart, D.L., Vandeginste, B.G.M., Buydens, L.M.C., de Jong, S., Lewi, P.J., Smeyers Verbeke, J. *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part A*, Elsevier, Amsterdam, (1997).

[98] Kovačić, Z.J. *Miltivarijaciona analiza*. Ekonomski fakultet, Beograd, (1994).

[99] Vandeginste, B., Massart, D., Buydens, L., Jong, S., Lewi, P., Smeyers–Verbeke, J. *Handbook of chemometrics and qualimetrics. Part B*. Elsevier, Amsterdam, Netherlands, (1998).

[100] Everitt, B.S., Landau, S., Leese, M., Stahl, D. *Cluster Analysis*. Fifth Edition. John Wiley & Sons, Ltd, London, UK, (2011).

[101] Yim, O., Ramdeen, K.T., (2015). Hierarchical Cluster Analysis: Comparison of Three Linkage Measures and Application to Psychological Data. *Quant. Meth. Psych.*, 11, 8–21.

<https://doi.org/10.20982/tqmp.11.1.p008>

[102] Ward, J.H., (1963). Hierarchical crouping to optimize an objective function. *J. Amer. Statist. Assoc.*, 58, 236–244.

<https://doi.org/10.1080/01621459.1963.10500845>

[103] Jolliffe, I.T. *Principal Component Analysis*. Second Edition. Springer, Aberdeen, UK, (2002).

- [104] Varmuza, K., Filzmoser, P. Introduction to multivariate statistical analysis in chemometrics. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida, USA, (2009).
- [105] Karelson, M., Lobanov, V.S., Katritzky, A.R., (1996). Quantum-chemical descriptors in QSAR/QSPR studies. *Chem. Rev.*, 96, 1027–1043.
<https://doi.org/10.1021/cr950202r>
- [106] Katritzky, A.R., Karelson, M., Lobanov, V.S., (1997). QSPR as a means of predicting and understanding chemical and physical properties in terms of structure. *Pure and Appl. Chem.*, 69, 245–248.
<https://doi.org/10.1021/cr950202r>
- [107] Kaliszan, R., Structure and retention in chromatography. A chemometric approach. Harwood academic publishers, Amsterdam, Netherlands (1997).
- [108] Rabtti, E.H., Natić, M., Milojković-Opsenica, D., Trifković, J., Vucković, I., Vajs, V., Tešić, Ž., (2012). RP TLC-based lipophilicity assessment of some natural and synthetic coumarins, *J. Braz. Chem. Soc.*, 23, 522–530.
<https://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532012000300020>
- [109] Atrrog, A., Natić, M., Tosti, T., Milojković-Opsenica, D., Đorđević, I., Tešević, V., Jadrnin, M., Milosavljević, S., Lazić, M., Radulović, S., Tešić, Z., (2009). Lipophilicity of some guaianolides isolated from two endemic subspecies of *Amphoricarpos neumayeri* (Asteraceae) from Montenegro. *Biomed. Chromatogr.*, 23, 250–256.
<https://doi.org/10.1002/bmc.1091>
- [110] Kaliszan, R., Foks, H., (1977). The relationship between the R_M values and the connectivity indices for pyrazine carbothioamide derivatives. *Chromatographia*, 10, 346–349.
<https://doi.org/10.1007/BF02274482>
- [111] Kaliszan, R., (1977). Correlation between the retention indices and the connectivity indices of alcohols and methyl esters with complex cyclic structure. *Chromatographia*, 10, 529–531.
<https://doi.org/10.1007/BF02262911>

[112] Kaliszan, R., (1999). Chromatography and capillary electrophoresis in modelling the basic processes of drug action. *Trends Anal. Chem.*, 18, 400–410.

[https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(99\)00120-X](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(99)00120-X)

[113] Polyakova, Y.L., Row, K.H., (2005). Quantitative structure-retention relationships applied to reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Med. Chem. Res.*, 14, 488–522.

<https://doi.org/10.1007/s00044-006-0152-4>

[114] Polyakova, Y.L., Jin, L.M., Row, K.H., (2006). QSPR models for chromatographic retention of some azoles with physicochemical properties. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 27, 211–218.

<https://doi.org/10.5012/bkcs.2006.27.2.211>

[115] Varmuza, K., Filzmoser, P., Introduction to multivariate statistical analysis in chemometrics. Taylor and Francis Group. Boca Raton, Florida, USA, (2009).

[116] Qin, L-T., Liu, S-S., Chen, F., Xiao, Q-F., Wu, Q-S., (2013). Chemometric model for predicting retention indices of constituents of essential oils. *Chemosphere*, 90, 300–305.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.07.010>

[117] Cserhati, T., (1994). Relationship between the physicochemical parameters of 3,5-dinitrobenzoic acid esters and their retention behaviour on β -cyclodextrin polymer support. *Anal. Chim. Acta*, 292, 17–22.

[https://doi.org/10.1016/0003-2670\(94\)00035-2](https://doi.org/10.1016/0003-2670(94)00035-2)

[118] Qasimullah, A.A., Muzaffar, S., Andrabi, A., Qureshi, P.M., (1996). Solvent polarity as a function of R_F in thin-layer chromatography of selected nitro functions. *J. Chromatogr. Sci.*, 34, 376–378.

<https://doi.org/10.1093/chromsci/34.8.376>

[119] Koba, M., Baczek, T., Marszałł, M.P., (2012). Importance of retention data from affinity and reverse-phase high-performance liquid chromatography on antitumor activity prediction of imidazoacridinones using QSAR strategy. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 64–65, 87–93.

<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.02.010>

[120] Livingstone, D.J., (2000). The characterization of chemical structures using molecular properties. A survey. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 40, 195.

<https://doi.org/10.1021/ci990162i>

[121] Todeschini, R., Consonni, V., Handbook of molecular descriptors. Methods and principles in medicinal chemistry. Wiley-VCH, Weinheim, Germany, (2000).

[122] Todeschini, R., Consonni, V., Molecular descriptors for chemoinformatics. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, Weinheim, Germany, (2009).

[123] Consonni, V., Todeschini, R., Molecular Descriptors. Recent Advances in QSAR Studies: Methods and Applications, Springer, Dodrecht, (2010), 29-102.

[124] Dudek, A., Arodz, T., Gálvez, J., (2006). Computational methods in developing quantitative structureactivity relationships (QSAR): A review. *Comb. Chem. High Throughput Screen.*, 9, 213–228.

<https://doi.org/10.2174/138620706776055539>

[125] Hopfinger, A.J., Wang, S., Tokarski, J.S., Jin, B., Albuquerque, M., Madhav, P.J., Duraiswami, C., (1997). Construction of 3D-QSAR models using the 4D-QSAR analysis formalism. *J. Am. Chem. Soc.*, 119, 10509–10524.

<https://doi.org/10.1021/ja9718937>

[126] Randić, M., (1991). Generalized molecular descriptors. *J. Math. Chem.*, 7, 155–168.

<https://doi.org/10.1007/BF01200821>

[127] Sangster, J., (1989). Octanol-water partition coefficient of simple organic compounds. *J. Phys. Chem. Ref. Data*, 18, 1111–1120.

<https://doi.org/10.1063/1.555833>

[128] Randić, M., (1975). On characterization of molecular branching. *J. Am. Chem. Soc.*, 97, 6609–6615.

<https://doi.org/10.1021/ja00856a001>

[129] Brugger, W.E., Stuper, A.J., Jurs, P.C., (1976). Generation of descriptors from molecular structures. *J. Chem. Inform. Comput. Sci.*, 16, 105–110.

<https://doi.org/10.1021/ci60006a015>

[130] Golender, V.E., Drboglav, V.V., Rosenblit, A.B., (1981). Graph potentials method and its application for chemical information processing. *J. Chem. Inform. Comput. Sci.*, 21, 196–204.

<https://doi.org/10.1021/ci00032a004>

[131] Balaban, A.T., (1985) Applications of graph theory in chemistry. *J. Chem. Inform. Comput. Sci.*, 25, 334–343.

<https://doi.org/10.1021/ci00047a033>

[132] Randić, M., Razinger, M., (1995). Molecular topographic indices. *J. Chem. Inform. Comput. Sci.*, 35, 140–147.

<https://doi.org/10.1021/ci00023a021>

[133] Wessel, M.D., Jurs, P.C., Tolan, J.W., Muskal, S.M., (1998). Prediction of human intestinal absorption of drug compounds from molecular structure. *J. Chem. Inf. Model.*, 38, 726–735.

<https://doi.org/10.1021/ci980029a>

[134] Liu, R., Sun, H., So, S-S., (2001). Development of quantitative structure-property relationship models for early ADME evaluation in drug discovery. 2. Blood-brain barrier penetration. *J. Chem. Inform. Comput. Sci.*, 41, 1623–1632.

<https://doi.org/10.1021/ci010290i>

[135] Hou, T.J., Xu, X.J., (2003). ADME evaluation in drug discovery. Modeling blood-brain barrier partitioning using simple molecular descriptors. *J. Chem. Inform. Comput. Sci.*, 43, 2137–2152.

<https://doi.org/10.1021/ci034134i>

[136] Cecchelli, R., Berezowski, S., Lundquist, S., Culot, M., Renftel, M., Dehouck, M.P., Fenart, I., (2007). Modeling of the blood-brain barrier in drug discovery and development. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 6, 650–661.

<https://doi.org/10.1038/nrd2368>

[137] Wang, J., Krudy, G., Xie, X-Q., Wu, C., Holland, G., (2006). Genetic algorithm-optimized QSPR models for bioavailability, protein binding, and urinary excretion. *J. Chem. Inf. Model.*, 46, 2674–2683.

<https://doi.org/10.1021/ci060087t>

[138] Raies, A.B., Bajic, V.B., (2016). *In silico* toxicology: computational methods for the prediction of chemical toxicity. *Adv. Rev.*, 6, 147–172.

<https://doi.org/10.1002/wcms.1240>

[139] Abraham, M.H. (1993). Application of solvation equations to chemical and biochemical processes. *Pure Appl. Chem.*, 65, 2503–2512.

<https://doi.org/10.1351/pac199365122503>

[140] Abraham, M.H., Ibrahim, A., Zissimos, A.M. (2004). Determination of sets of solute descriptors from chromatographic measurements. *J. Chromatogr. A*, 1037, 29–47.

<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.12.004>

[141] Zissimos, A.M., Abraham, M.H., Barker, M.C., Box, K.J., Tam, K.Y. (2002). Calculation of Abraham descriptors from solvent–water partition coefficients in four different systems; Evaluation of different methods of calculation. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, 2, 470–477.

[142] Abraham, M.H., McGowan, J.C., (1987). The use of characteristic volumes to measure cavity terms in reversed phase liquid chromatography. *Chromatographia*, 23, 243-246.

<https://doi.org/10.1007/BF02311772>

[143] Abraham, M.H., Grellier, P.L., Prior, D.V., Duce, P.P., Morris, J.J., Taylor, P.J., (1989). Hydrogen bonding. Part 7. A scale of solute hydrogen-bond acidity based on log *K* values for complexation in tetrachloromethane. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II*, 6, 699-711.

<https://doi.org/10.1039/P29890000699>

[144] Abraham, M.H., Grellier, P., Prior, D.V., Morris, J.J., Taylor, P.J., (1990). Hydrogen bonding. Part 7. A scale of solute hydrogen-bond acidity based on log *K* values for complexation in tetrachloromethane. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II*, 4, 521-529.

<https://doi.org/10.1039/P29890000699>

[145] Abraham, M.H., Whiting, G.C., Doherty, R.M., Shuley, W.J., (1990). Hydrogen bonding. Part 13. A new method for the characterisation of GLC stationary phases—the laffort data set. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II*, 8, 1451-1460.

<https://doi.org/10.1039/P29900001451>

[146] Nguyen, T.H., Goss, K., Ball, P.W., (2005). Polyparameter linear free energy relationships for estimating the equilibrium partition of organic compounds between water and the natural organic matter in soils and sediments. *Environ. Sci. Technol.*, 39, 913-924.

<https://doi.org/10.1021/es048839s>

[147] Abraham, M.H., Ibrahim, A., (2007). Blood or plasma to skin distribution of drugs: A linear free energy analysis. *Int. J. Pharm.*, 329, 129-134.

<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.08.032>

[148] Abraham, M.H., (2004). The factors that influence permeation across the blood–brain barrier. *Eur. J. Med. Chem.*, 39, 235-240.

<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2003.12.004>

[149] Lazić, A.M., Božić, B.Đ., Vitnik, V.D., Vitnik, Ž.J., Rogan, J.R., Radovanović, L.D., Valentić, N.V., Ušćumlić, G.S., (2017). Structure-property relationship of 3-(4-substituted benzyl)-1,3-diazaspiro[4.4]nonane-2,4-diones as new potential anticonvulsant agents. An experimental and theoretical study. *J. Mol. Struct.* 1127, 88-98.

<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.07.069>

[150] Suzuki, H., Kneller, M.B., Rock, D.A., Jones, J.P., Trager, W.F., Rettie, A.E., (2004). Active-site characteristics of CYP2C19 and CYP2C9 probed with hydantoin and barbiturate inhibitors. *Arch. Biochem. Biophys.* 429, 1-15.

<https://doi:10.1016/j.abb.2004.05.015>

[151] Chemdraw Ultra 7.0 and Chem3D Ultra, Cambridge Soft Corporation, Cambridge, USA, <http://cambridgesoft.com>

[152] DRAGON for windows (Software for molecular descriptor calculation), Version 5.5—Talete srl, <http://www.talete.mi.it> 2007

[153] <http://www.molinspiration.com> (poslednji pristup april 2019)

[154] Dong, J., Wang, N.N., Yao, Z.J., Zhang, L., Cheng, Y., Ouyang, D., ... Cao, D.S. (2018). ADMETlab: A platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. *J. Cheminform.* 10, 1-11.

<https://doi.org/10.1186/s13321-018-0283-x> (poslednji pristup maj 2020)

- [155] <https://preadmet.qsarhub.com/>(poslednji pristup maj 2020)
- [156] Ulrich, N., Endo, S., Brown, T.N., Watanabe, N., Bronner, G., Abraham, M.H., Goss, K.-U. (2017). UFZ-LSER database. Helmholtz Centre for Environmental Research-UFZ, v 3.2.1. Retrieved from <http://www.ufz.de/lserd>. (poslednji pristup jun 2019).
- [157] Organic Chemistry Portal. Available at <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo>
- [158] Huggins, M.L., (1971). 50 Years of Hydrogen Bond Theory *Angew. Inst. Ed. Engl.*, 10, 147-152.
<https://doi.org/10.1002/anie.197101471>
- [159] Hansen, C.M., (2007). Hansen solubility parameters (2^{ed} edition). Taylor & Francis Group, New York.
- [160] Đaković-Sekulić, T.L.J., Perišić-Janjić, N.U., Petrović, S.D. (2002) Normal- and reversed-phase chromatography of para-substituted propanoic acid amides. *J. Planar Chromatogr.-Mod. TLC* 15, 274-279.
<https://doi.org/10.1556/JPC.15.2002.4.6>
- [161] Biagi, G.L., Barbaro, A.M., Sapone, A., Recanatini, M. (1994). Determination of lipophilicity by means of reversed-phase thin-layer chromatography: I. Basic aspects and relationship between slope and intercept of TLC equation. *J. Chromatogr. A* 662, 341-361.
[https://doi.org/10.1016/0021-9673\(94\)80521-0](https://doi.org/10.1016/0021-9673(94)80521-0)
- [162] Tan, L.C., Carr, P.W. (1998). Study of retention in reversed-phase liquid-chromatography using linear solvation energy relationships: II. The mobile phase. *J. Chromatogr. A* 799, 1–19.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)01054-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)01054-6)
- [163] Perišić-Janjić, N.U., Djaković-Sekulić, T.Lj., Popov-Pergal, K. (2003). Effect of the stationary phase and the mobile-phase modifier on the retention of some thiazoles. Correlation with the lipophilicity of the compounds. *J. Planar Chromatogr. - Mod. TLC* 16, 363-368.
<https://doi.org/10.1556/JPC.16.2003.5.6>

[164] Kresta, J., Kastner, P., Klimeš, J., Klimešova, V. (2005). Reversed-phase thin-layer chromatographic determination of the lipophilicity of potential antituberculous compounds. *J. Planar Chromatogr. - Mod. TLC* 18, 450-454.

<https://doi.org/10.1556/jpc.18.2005.6.9>

[165] Bączek, T., Markuszewski, M., Kaliszan, R., van Straten, M.A., Claessens, H.A. (2000). Linear and quadratic relationships between retention and organic modifier content in eluent in reversed phase high-performance liquid chromatography: A systematic comparative statistical study. *J. High Resol. Chromatogr.* 23, 667–676.

[https://doi.org/10.1002/1521-4168\(20001201\)23:12<667::AID-JHRC667>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/1521-4168(20001201)23:12<667::AID-JHRC667>3.0.CO;2-P)

[166] Bevington, P.R., Robinson, D.K. Data reduction and error analysis for the physical system. Third Edition. McGraw-Hill, New York, USA, (2003).

[167] Djaković-Sekulić, T.Lj., Petrović, S.M., Perišić-Janjić, N.U. and Petrović, S.D., (2001). HPLC behavior and hydrophobic parameters of some anilides. *Chromatographia*. 54, 60-64.

<https://doi.org/10.1007/BF02491834>

[168] Sarbu, C., Onisor, C., Posa, M., Kevresan, S., Kuhajda, K. (2008). Modeling and prediction (correction) of partition coefficients of bile acids and their derivatives by multivariate regression methods. *Talanta*. 75, 651–657.

<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.11.061>

[169] Milošević, N.P., Dimova, V.B., Perišić-Janjić, N.U. (2013). RP TLC data in correlation studies with *in silico* pharmacokinetic properties of benzimidazole and benzotriazole derivatives. *Eur. J. Pharm. Sci.* 49, 10-17.

<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.01.018>

[170] Perišić-Janjić, N., Kaliszan, R., Milošević, N., Uscumlic, G., Banjac, N. (2013). Chromatographic retention parameters in correlation analysis with *in silico* biological descriptors of a novel series of N-phenyl-3-methyl succinimide derivatives. *J. Pharm. Biome. Anal.* 72, 65-73.

<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.09.006>

[171] OECD Guideline for the Testing of Chemicals. Test No. 107. 1995. Partition coefficient (n-octanol/water), Shake flask method. <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948169.pdf>. Accessed September 26, 2017.

[172] OECD Guideline for the Testing of Chemicals. Test No. 117. 1989 (updated 2004). Partition coefficient (n-octanol/water), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method. <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948177.pdf>. Accessed September 26, 2017.

[173] US EPA. (2012). Estimation Programs Interface Suite™ for Microsoft® Windows, v 4.11. United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA.

[174] Djaković-Sekulić, T., Smolinski, A., Perišić-Janjić, N., Janicka, M. (2008). Chemometric characterization of (chromatographic) lipophilicity parameters of newly synthesized s-triazine derivatives, *J. Chemometrics* 22, 195-202.
<https://doi.org/10.1002/cem.1111>

[175] Kaliszan, R., Structure and retention in chromatography. A chemometric approach. Harwood academic publishers, Amsterdam, Netherlands (1997).

[176] Dabić, D., Natić, M., Džambaski, Z., Stojanović, M., Marković, R., Milojković-Opsenica, D., Tešić, Ž. (2011). Estimation of lipophilicity of *N*-substituted 2-alkylidene-4-oxothiazolidines by means of reversed-phase thin-layer chromatography. *J. Liq. Chrom. Relat. Tech.* 34, 791-804.
<https://doi.org/10.1080/10826076.2011.571157>

[177] Veličković, J., Tešić, Ž., Milojković-Opsenica, D. (2005). Evaluation of the lipophilicity of some 1-arylpiperazines by planar chromatography. *J. Planar Chromatogr. - Mod. TLC* 18, 358-363.
<https://doi.org/10.1556/jpc.18.2005.5.4>

[178] Natić, M., Marković, R., Anđelković, K., Milojković-Opsenica, D., Tešić, Ž. (2004). Reversed-phase thin-layer chromatography of stereodefined 2-alkylidene-4-oxothiazolidines and 1,2-dithioles, *J. Planar Chromatogr. - Mod. TLC* 17, 323-327.
<https://doi.org/10.1556/jpc.17.2004.5.1>

[179] Cuardado, M.U., Ruiz, I.L., Gomez-Nieto, M.A. (2006). A steroids QSAR approach based on approximate similarity measurements. *J. Chem. Inf. Model*, 46, 1678-1686.

<https://doi.org/10.1021/ci0600511>

[180] Put, R., van der Heyden, Y. (2007). Review on modelling aspects in reversed-phase liquid chromatographic quantitative structure-retention relationships. *Anal. Chim. Acta* 602, 164-172.

<https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.09.014>

[181] Gowin, E., Komsta, L. (2012). Revisiting thin-layer chromatography as a lipophilicity determination tool. part III - A study on CN adsorbent layers. *J. Planar Chromatogr.- Mod. TLC* 25, 471-474.

<https://doi.org/10.1556/JPC.25.2012.5.15>

[182] Topliss, J.G., Edwards, R.P. (1979). Chance Factors in Studies of Quantitative Structure-Activity Relationships. *J. Med. Chem.* 22, 1238-1244.

<https://doi.org/10.1021/jm00196a017>

[183] Tsantili-Kakoulidou, A., Varvaresou, A., Siatra-Papastaikoudi, T., Raevsky, O.A. (1999). A comprehensive investigation of the partitioning and hydrogen bonding behavior of indole containing derivatives of 1,3,4-thiadiazole and 1,2,4-triazole by means of experimental and calculative approaches. *Quantitative Structure-Activity Relationships*, 18, 482-489.

[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3838\(199911\)18:5<482::AID-QSAR482>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3838(199911)18:5<482::AID-QSAR482>3.0.CO;2-R)

[184] Gramatica, P., Giani, E., Papa, E. (2007). Statistical external validation and consensus modeling: A QSPR case study for *K*_{oc} prediction. *J. Mol. Graph. Model.* 25, 755-766.

<https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2006.06.005>

[185] Vitha, M., & Carr, P.W. (2006). The chemical interpretation and practice of linear solvation energy relationships in chromatography. *J. Chromatogr. A*, 1126, 143-194.

<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.06.074>

[186] Kimata, K., Iwaguchi, K., Onishi, S., Jinno, K., Eksteen, R., Hosoya, K., Tanaka, N. (1989). Chromatographic characterization of silica C18 packing materials. Correlation between a preparation method and retention behavior of stationary phase. *J. Chromatogr. Sci.*, 27, 721–728.

<https://doi.org/10.1093/chromsci/27.12.721>

[187] Alanazi, A.M., El-Azab, A.S., Al-Swaidan, I.A., Maarouf, A.R., El-Bendary, E.R., Abu El-Enin, M.A., Abdel-Aziz, A.A.-M. (2013). Synthesis, single-crystal, in vitro antitumor evaluation and molecular docking of 3-substitued 5,5-diphenylimidazolidine-2,4-dione derivatives. *Med. Chem. Res.* 22, 6129-6142.

<https://doi.org/10.1007/s00044-013-0597-1>

[188] Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., Feeney, P.J. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 23, 3-25.

[https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(96\)00423-1](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(96)00423-1)

7. PRILOG

Rezultati hromatografskog merenja

Tabela P1. Retencioni parametri (R_M) ispitivanih 3-(4-supstituisani benzil)cikloalkanspiro-5-hidantoina u pokretnoj fazi etanol/voda

φ	R_M						
	etanol						
	I.1	I.2	I.3	I.4	I.5	I.6	I.7
0,50	0,271	0,560	0,243	0,653	0,761	0,040	0,295
0,52	0,200	0,463	0,150	0,551	0,650	-0,042	0,239
0,55	0,092	0,310	0,046	0,420	0,477	-0,138	0,142
0,60	-0,050	0,142	-0,071	0,220	0,266	-0,266	-0,023
0,65	-0,208	-0,050	-0,245	0,050	0,154	-0,456	-0,194
0,70	-0,410	-0,252	-0,500	-0,180	-0,100	-0,680	-0,400
φ	II.1	II.2	II.3	II.4	II.5	II.6	II.7
0,50	0,531	0,780	0,390	0,802	0,845	0,255	0,500
0,52	0,420	0,690	0,293	0,715	0,750	0,176	0,400
0,55	0,310	0,580	0,234	0,610	0,653	0,089	0,301
0,60	0,118	0,330	0,071	0,355	0,406	-0,115	0,089
0,65	-0,042	0,128	-0,137	0,167	0,245	-0,269	-0,087
0,70	-0,309	-0,135	-0,336	-0,100	0,000	-0,508	-0,326
φ	III.1	III.2	III.3	III.4	III.5	III.6	III.7
0,50	0,750	0,872	0,610	0,919	1,000	0,418	0,626
0,52	0,650	0,800	0,527	0,850	0,930	0,363	0,564
0,55	0,523	0,700	0,424	0,753	0,845	0,222	0,462
0,60	0,276	0,434	0,204	0,508	0,560	0,022	0,252
0,65	0,087	0,262	0,021	0,309	0,341	-0,137	0,073
0,70	-0,158	-0,045	-0,250	0,011	0,067	-0,410	-0,204

Tabela P2. Retencioni parametri (R_M) ispitivanih 3-(4-supstituisani benzil)cikloalkanspiro-5-hidantoina u pokretnoj fazi *n*-propanol/voda

φ	R_M						
	<i>n</i> -propanol						
	I.1	I.2	I.3	I.4	I.5	I.6	I.7
0,50	-0,210	-0,074	-0,246	-0,046	-0,030	-0,419	-0,290
0,60	-0,461	-0,368	-0,550	-0,330	-0,283	-0,684	-0,564
0,66	-0,650	-0,556	-0,700	-0,510	-0,480	-0,852	-0,728
0,70	-0,778	-0,692	-0,823	-0,600	-0,572	-0,925	-0,845
0,74	-0,861	-0,790	-0,916	-0,690	-0,671	-1,054	-0,950
φ	II.1	II.2	II.3	II.4	II.5	II.6	II.7
0,50	-0,087	-0,015	-0,183	0,029	0,087	-0,301	-0,214
0,60	-0,368	-0,303	-0,484	-0,255	-0,202	-0,564	-0,460
0,66	-0,559	-0,462	-0,632	-0,420	-0,371	-0,814	-0,635
0,70	-0,685	-0,580	-0,76	-0,544	-0,500	-0,956	-0,720
0,74	-0,800	-0,670	-0,859	-0,625	-0,602	-1,067	-0,843
φ	III.1	III.2	III.3	III.4	III.5	III.6	III.7
0,50	-0,043	0,043	-0,129	0,084	0,170	-0,249	-0,113
0,60	-0,310	-0,240	-0,368	-0,192	-0,140	-0,564	-0,398
0,66	-0,493	-0,423	-0,570	-0,365	-0,319	-0,749	-0,559
0,70	-0,574	-0,520	-0,645	-0,470	-0,420	-0,806	-0,647
0,74	-0,729	-0,640	-0,800	-0,610	-0,530	-0,961	-0,785

Tabela P3. Retencioni parametri (R_M) ispitivanih 3-(4-supstituisani benzil)cikloalkanspiro-5-hidantoina u pokretnoj fazi *i*-propanol/voda

φ	R_M						
	<i>i</i> -propanol						
	I.1	I.2	I.3	I.4	I.5	I.6	I.7
0,50	-0,090	0,056	-0,141	0,113	0,182	-0,251	-0,091
0,54	-0,182	-0,026	-0,215	0,000	0,053	-0,331	-0,215
0,60	-0,320	-0,176	-0,380	-0,151	-0,111	-0,494	-0,343
0,66	-0,470	-0,326	-0,544	-0,290	-0,239	-0,615	-0,486
0,70	-0,586	-0,452	-0,634	-0,398	-0,372	-0,729	-0,613
φ	II.1	II.2	II.3	II.4	II.5	II.6	II.7
0,50	0,054	0,125	-0,022	0,229	0,291	-0,137	0,027
0,54	-0,053	0,053	-0,133	0,129	0,138	-0,263	-0,077
0,60	-0,228	-0,120	-0,265	-0,024	0,005	-0,377	-0,228
0,66	-0,373	-0,259	-0,414	-0,198	-0,167	-0,594	-0,422
0,70	-0,494	-0,417	-0,553	-0,339	-0,312	-0,700	-0,510
φ	III.1	III.2	III.3	III.4	III.5	III.6	III.7
0,50	0,200	0,291	0,097	0,332	0,388	-0,027	0,109
0,54	0,099	0,204	-0,013	0,239	0,268	-0,160	0,013
0,60	-0,117	0,013	-0,200	0,088	0,125	-0,288	-0,161
0,66	-0,259	-0,144	-0,365	-0,137	-0,094	-0,520	-0,334
0,70	-0,430	-0,290	-0,530	-0,260	-0,220	-0,680	-0,450

Tabela P4. Retencioni parametri (R_M) ispitivanih 3-(4-supstituisani benzil)cikloalkanspiro-5-hidantoina u pokretnoj fazi *t*-butanol/voda

φ	R_M						
	<i>t</i> -butanol						
	I.1	I.2	I.3	I.4	I.5	I.6	I.7
0,50	-0,080	0,069	-0,106	0,050	0,109	-0,176	-0,079
0,54	-0,222	-0,099	-0,214	-0,071	-0,034	-0,308	-0,207
0,60	-0,385	-0,259	-0,398	-0,255	-0,227	-0,531	-0,377
0,66	-0,542	-0,462	-0,540	-0,410	-0,389	-0,685	-0,555
0,70	-0,622	-0,544	-0,635	-0,520	-0,510	-0,868	-0,673
φ	II.1	II.2	II.3	II.4	II.5	II.6	II.7
0,50	0,079	0,090	-0,003	0,110	0,170	-0,123	-0,039
0,54	-0,023	-0,023	-0,162	0,002	0,034	-0,228	-0,137
0,60	-0,228	-0,228	-0,351	-0,171	-0,146	-0,415	-0,332
0,66	-0,421	-0,421	-0,516	-0,360	-0,326	-0,612	-0,490
0,70	-0,505	-0,505	-0,617	-0,480	-0,423	-0,778	-0,610
φ	III.1	III.2	III.3	III.4	III.5	III.6	III.7
0,50	0,077	0,175	0,036	0,216	0,248	-0,034	0,053
0,54	-0,042	0,065	-0,068	0,067	0,112	-0,158	-0,087
0,60	-0,210	-0,149	-0,297	-0,135	-0,092	-0,370	-0,274
0,66	-0,375	-0,321	-0,477	-0,329	-0,284	-0,533	-0,462
0,70	-0,460	-0,410	-0,600	-0,418	-0,380	-0,685	-0,570

Tabela P5. Retencioni parametri (R_M) ispitivanih 3-(4-supstituisani benzil)cikloalkanspiro-5-hidantoina u pokretnoj fazi acetonitril/voda

φ	R_M						
	acetonitril						
	I.1	I.2	I.3	I.4	I.5	I.6	I.7
0,50	0,500	0,778	0,480	0,775	0,845	0,435	0,469
0,54	0,314	0,493	0,285	0,516	0,548	0,228	0,344
0,60	0,170	0,301	0,120	0,301	0,352	0,067	0,148
0,66	-0,095	0,000	-0,100	0,030	0,065	-0,199	-0,087
0,70	-0,260	-0,138	-0,266	-0,161	-0,136	-0,385	-0,301
φ	II.1	II.2	II.3	II.4	II.5	II.6	II.7
0,50	0,661	0,669	0,610	0,900	1,007	0,586	0,677
0,54	0,440	0,550	0,394	0,600	0,686	0,301	0,391
0,60	0,233	0,350	0,187	0,371	0,398	0,100	0,171
0,66	-0,022	0,087	-0,055	0,144	0,213	-0,122	-0,043
0,70	-0,171	-0,048	-0,212	-0,024	0,036	-0,212	-0,180
φ	III.1	III.2	III.3	III.4	III.5	III.6	III.7
0,50	0,763	0,950	0,730	1,041	1,075	0,664	0,799
0,54	0,569	0,760	0,521	0,851	0,882	0,484	0,576
0,60	0,291	0,417	0,260	0,540	0,565	0,171	0,253
0,66	0,092	0,186	0,012	0,225	0,259	-0,092	-0,011
0,70	-0,038	0,038	-0,100	0,100	0,136	-0,171	-0,097

Tabela P6. Retencioni parametri (R_M) ispitivanih 3-(4-supstituisani benzil)cikloalkanspiro-5-hidantoina u pokretnoj fazi aceton/voda

φ	R_M						
	aceton						
	I.1	I.2	I.3	I.4	I.5	I.6	I.7
0,50	0,533	0,772	0,508	0,923	0,981	0,493	0,660
0,66	0,000	0,181	0,022	0,293	0,379	-0,022	0,181
0,70	-0,122	0,059	-0,050	0,116	0,180	-0,160	0,020
0,74	-0,200	-0,047	-0,181	0,047	0,099	-0,206	-0,050
0,80	-0,366	-0,255	-0,317	-0,176	-0,120	-0,416	-0,263
φ	II.1	II.2	II.3	II.4	II.5	II.6	II.7
0,50	0,820	1,050	0,750	1,140	1,200	0,696	0,806
0,66	0,243	0,393	0,171	0,492	0,492	0,181	0,310
0,70	0,070	0,160	0,010	0,243	0,286	0,010	0,120
0,74	0,002	0,100	-0,073	0,196	0,216	-0,035	0,058
0,80	-0,219	-0,100	-0,255	-0,085	-0,041	-0,255	-0,167
φ	III.1	III.2	III.3	III.4	III.5	III.6	III.7
0,50	0,954	1,100	1,028	1,217	1,350	0,950	1,041
0,66	0,363	0,508	0,318	0,623	0,630	0,309	0,421
0,70	0,197	0,339	0,193	0,401	0,451	0,117	0,235
0,74	0,067	0,162	0,046	0,186	0,374	0,023	0,148
0,80	-0,112	0,000	-0,067	0,045	0,089	-0,181	-0,056

Tabela P7. Retencioni parametri (R_M) ispitivanih 3-(4-supstituisani benzil)cikloalkanspiro-5-hidantoina u pokretnoj fazi THF/voda

φ	R_M						
	THF						
	I.1	I.2	I.3	I.4	I.5	I.6	I.7
0,40	0,500	0,747	0,523	0,800	0,900	0,530	0,720
0,46	0,280	0,507	0,352	0,569	0,637	0,342	0,507
0,50	0,245	0,394	0,293	0,456	0,491	0,262	0,441
0,56	0,106	0,285	0,176	0,285	0,317	0,163	0,285
0,70	-0,194	-0,075	-0,176	-0,075	-0,064	-0,141	-0,032
φ	II.1	II.2	II.3	II.4	II.5	II.6	II.7
0,40	0,753	0,950	0,700	0,954	1,018	0,673	0,857
0,46	0,520	0,712	0,465	0,753	0,797	0,507	0,673
0,50	0,421	0,516	0,394	0,570	0,602	0,394	0,530
0,56	0,285	0,368	0,230	0,376	0,409	0,239	0,358
0,70	-0,054	0,000	-0,097	0,022	0,022	-0,087	-0,011
φ	III.1	III.2	III.3	III.4	III.5	III.6	III.7
0,40	0,865	1,000	0,833	1,130	1,200	0,820	0,994
0,46	0,632	0,765	0,639	0,872	0,919	0,632	0,806
0,50	0,491	0,615	0,463	0,656	0,750	0,540	0,660
0,56	0,380	0,470	0,368	0,494	0,531	0,398	0,480
0,70	-0,069	0,030	-0,045	0,045	0,045	-0,045	0,045

Tabela P8. Retencioni parametri (R_M) ispitivanih 3-(4-supstituisani benzil)cikloalkanspiro-5-hidantoina u pokretnoj fazi 1,4-dioksan/voda

φ	R_M						
	1,4-dioksan						
	I.1	I.2	I.3	I.4	I.5	I.6	I.7
0,50	0,222	0,421	0,293	0,562	0,602	0,176	0,326
0,60	-0,147	0,063	-0,100	0,095	0,114	-0,208	-0,063
0,66	-0,354	-0,160	-0,265	-0,110	-0,070	-0,400	-0,209
0,70	-0,492	-0,352	-0,434	-0,330	-0,269	-0,569	-0,394
0,74	-0,582	-0,470	-0,550	-0,450	-0,379	-0,667	-0,507
φ	II.1	II.2	II.3	II.4	II.5	II.6	II.7
0,50	0,462	0,680	0,447	0,750	0,800	0,374	0,540
0,60	0,047	0,202	0,050	0,283	0,310	-0,024	0,095
0,66	-0,160	0,029	-0,148	0,040	0,060	-0,217	-0,128
0,70	-0,325	-0,176	-0,317	-0,154	-0,131	-0,394	-0,301
0,74	-0,460	-0,300	-0,421	-0,290	-0,276	-0,609	-0,477
φ	III.1	III.2	III.3	III.4	III.5	III.6	III.7
0,50	0,602	0,770	0,606	0,970	0,992	0,548	0,668
0,60	0,150	0,346	0,166	0,374	0,431	0,047	0,146
0,66	-0,030	0,104	-0,041	0,120	0,146	-0,125	-0,021
0,70	-0,225	-0,125	-0,255	-0,116	-0,073	-0,301	-0,233
0,74	-0,391	-0,300	-0,350	-0,300	-0,239	-0,436	-0,348

Tabela P9. Retencioni parametri ($\log k$) ispitivanih 3-(4-supstituisani benzil)cikloalkanspiro-5-hidantoina u pokretnoj fazi acetonitril/voda

φ	$\log k$						
	acetonitril						
	I.1	I.2	I.3	I.4	I.5	I.6	I.7
0,60	0,049	0,151	0,030	0,197	0,247	-0,043	0,026
0,65	-0,020	0,057	-0,049	0,097	0,145	-0,112	-0,062
0,70	-0,087	-0,025	-0,118	0,012	0,055	-0,172	-0,131
0,75	-0,148	-0,098	-0,177	-0,071	-0,024	-0,227	-0,201
0,80	-0,207	-0,163	-0,226	-0,138	-0,096	-0,275	-0,257
0,85	-0,275	-0,256	-0,301	-0,231	-0,185	-0,352	-0,337
φ	II.1	II.2	II.3	II.4	II.5	II.6	II.7
0,60	0,150	0,272	0,124	0,317	0,355	0,039	0,146
0,65	0,062	0,166	0,055	0,206	0,238	-0,044	0,048
0,70	-0,019	0,072	-0,051	0,101	0,122	-0,136	-0,041
0,75	-0,089	-0,010	-0,102	0,015	0,039	-0,189	-0,110
0,80	-0,151	-0,082	-0,161	-0,065	-0,045	-0,247	-0,175
0,85	-0,229	-0,173	-0,218	-0,156	-0,138	-0,320	-0,247
φ	III.1	III.2	III.3	III.4	III.5	III.6	III.7
0,60	0,266	0,387	0,239	0,440	0,485	0,134	0,248
0,65	0,163	0,266	0,146	0,312	0,352	0,033	0,138
0,70	0,069	0,157	0,051	0,196	0,225	-0,054	0,038
0,75	-0,020	0,053	-0,042	0,080	0,122	-0,144	-0,055
0,80	-0,085	-0,027	-0,100	0,003	0,032	-0,207	-0,128
0,85	-0,167	-0,121	-0,182	-0,096	-0,067	-0,295	-0,213

Tabela P10. Izračunate log P vrednosti ispitivanih spirohidantoina primenom kalibracionih modela

Ispitivana jedinjenja	Izračunate log P vrednosti primenom kalibracionih modela	
	log P_1	log P_2
I.1	2,914	2,401
I.2	3,646	2,719
I.3	2,813	2,374
I.4	3,692	2,833
I.5	3,855	2,902
I.6	2,984	2,236
I.7	2,960	2,455
II.1	3,307	2,652
II.2	3,240	2,964
II.3	3,210	2,548
II.4	3,740	3,101
II.5	3,974	3,193
II.6	3,041	2,463
II.7	3,297	2,679
III.1	3,377	2,936
III.2	3,980	3,278
III.3	3,441	2,884
III.4	4,236	3,414
III.5	4,263	3,504
III.6	3,474	2,769
III.7	3,762	2,993

Tabela P11. Vrednosti izračunatih molekulskih deskriptora i farmakokinetičkih pediktora korišćenih u radu

Ispitivana jedinjenja	MW	Sv	Se	Sp	Si	nAT	nBT	RBN	nH
I.1	244,32	21,160	34,043	22,250	38,322	34	36	2	16
I.2	258,35	22,687	36,927	24,012	41,737	37	39	2	18
I.3	274,35	23,402	38,254	24,466	42,946	38	40	3	18
I.4	278,76	21,988	34,367	23,108	38,266	34	36	2	15
I.5	323,21	22,185	34,273	23,603	38,163	34	36	2	15
I.6	269,33	22,655	35,262	23,495	39,405	35	37	2	15
I.7	289,32	23,084	36,916	23,404	40,824	36	38	3	15
II.1	258,35	22,687	36,927	24,012	41,737	37	39	2	18
II.2	272,38	24,214	39,811	25,773	45,152	40	42	2	20
II.3	288,38	24,928	41,138	26,228	46,362	41	43	3	20
II.4	292,79	23,514	37,251	24,870	41,681	37	39	2	17
II.5	337,24	23,712	37,156	25,364	41,579	37	39	2	17
II.6	283,36	24,181	38,145	25,256	42,820	38	40	2	17
II.7	303,35	24,611	39,800	25,165	44,239	39	41	3	17
III.1	272,38	24,214	39,811	25,773	45,152	40	42	2	20
III.2	286,41	25,740	42,694	27,534	48,567	43	45	2	22
III.3	302,41	26,455	44,022	27,989	49,777	44	46	3	22
III.4	306,82	25,041	40,134	26,631	45,096	40	42	2	19
III.5	351,27	25,239	40,040	27,125	44,994	40	42	2	19
III.6	297,39	25,708	41,029	27,017	46,235	41	43	2	19
III.7	317,38	26,138	42,683	26,926	47,654	42	44	3	19

Tabela P11. Nastavak

Ispitivana jedinjenja	nC	nN	nO	nCl	nHet	nX	ARR	nHAcc	nHDon
I.1	14	2	2	0	4	0	0,300	4	1
I.2	15	2	2	0	4	0	0,286	4	1
I.3	15	2	3	0	5	0	0,273	5	1
I.4	14	2	2	1	5	1	0,286	4	1
I.5	14	2	2	0	5	1	0,286	4	1
I.6	15	3	2	0	5	0	0,273	5	1
I.7	14	3	4	0	7	0	0,261	6	1
II.1	15	2	2	0	4	0	0,286	4	1
II.2	16	2	2	0	4	0	0,273	4	1
II.3	16	2	3	0	5	0	0,261	5	1
II.4	15	2	2	1	5	1	0,273	4	1
II.5	15	2	2	0	5	1	0,273	4	1
II.6	16	3	2	0	5	0	0,261	5	1
II.7	15	3	4	0	7	0	0,250	6	1
III.1	16	2	2	0	4	0	0,273	4	1
III.2	17	2	2	0	4	0	0,261	4	1
III.3	17	2	3	0	5	0	0,250	5	1
III.4	16	2	2	1	5	1	0,261	4	1
III.5	16	2	2	0	5	1	0,261	4	1
III.6	17	3	2	0	5	0	0,250	5	1
III.7	16	3	4	0	7	0	0,240	6	1

Tabela P11. Nastavak

Ispitivana jedinjenja	Hy	AMR	TPSA(NO)	TPSA(Tot)	MLOGP	MLOGP2
I.1	-0,280	67,008	49,410	49,410	1,778	3,163
I.2	-0,301	72,049	49,410	49,410	2,035	4,14
I.3	-0,271	73,471	58,640	58,640	1,515	2,295
I.4	-0,249	71,812	49,410	49,410	2,303	5,302
I.5	-0,249	74,630	49,410	49,410	2,428	5,896
I.6	-0,271	72,745	73,200	73,200	1,432	2,052
I.7	-0,197	74,332	95,230	95,230	1,826	3,333
II.1	-0,301	71,609	49,410	49,410	2,035	4,14
II.2	-0,320	76,650	49,410	49,410	2,284	5,217
II.3	-0,291	78,072	58,640	58,640	1,764	3,113
II.4	-0,271	76,413	49,410	49,410	2,552	6,513
II.5	-0,271	79,231	49,410	49,410	2,674	7,152
II.6	-0,291	77,346	73,200	73,200	1,682	2,829
II.7	-0,220	78,933	95,230	95,230	2,082	4,334
III.1	-0,320	76,210	49,410	49,410	2,284	5,217
III.2	-0,338	81,251	49,410	49,410	2,527	6,387
III.3	-0,310	82,673	58,640	58,640	2,008	4,03
III.4	-0,291	81,014	49,410	49,410	2,795	7,813
III.5	-0,291	83,832	49,410	49,410	2,915	8,495
III.6	-0,310	81,947	73,200	73,200	1,925	3,706
III.7	-0,241	83,534	95,230	95,230	2,331	5,435

Tabela P11. Nastavak

Ispitivana jedinjenja	ALOGP	ALOGP2	Vx	ClogP	logP _{Crippen}	logP _{Viswand}	logP _{Broto}
I.1	2,101	4,414	308,538	2,135	1,800	1,800	2,350
I.2	2,587	6,693	331,944	2,634	2,280	2,310	2,760
I.3	2,085	4,345	341,694	2,054	1,670	1,590	2,480
I.4	2,765	7,647	328,87	2,848	2,360	2,360	2,970
I.5	2,849	8,119	337,608	2,998	2,630	2,640	3,240
I.6	1,980	3,92	334,236	1,568	1,830	1,880	1,850
I.7	1,995	3,981	337,475	1,878	-	-	2,310
II.1	2,557	6,539	331,944	2,694	2,220	2,240	2,800
II.2	3,043	9,262	355,349	3,193	2,700	2,710	3,220
II.3	2,541	6,455	365,100	2,613	2,090	1,990	2,930
II.4	3,222	10,378	352,276	3,407	2,770	2,760	3,420
II.5	3,306	10,926	361,013	3,557	3,040	3,030	3,690
II.6	2,436	5,934	357,641	2,127	2,250	2,280	2,310
II.7	2,452	6,01	360,88	2,437	-	-	2,760
III.1	3,013	9,08	355,349	3,253	2,630	2,640	3,260
III.2	3,500	12,247	378,754	3,752	3,120	3,110	3,670
III.3	2,997	8,981	388,505	3,172	2,510	2,390	3,390
III.4	3,678	13,525	375,681	3,966	3,190	3,160	3,880
III.5	3,762	14,15	384,419	4,116	3,460	3,430	4,150
III.6	2,892	8,365	381,047	2,686	2,670	2,680	2,770
III.7	2,908	8,455	384,286	2,996	-	-	3,220

Tabela P11. Nastavak

Ispitivana jedinjenja	miLogP	logP	logS	logD	VvdwMG	VvdwZaZ	PDI	RBF
I.1	2,040	2,051	-3,202	2,064	129,827	229,160	0,965	0,056
I.2	2,490	2,360	-3,380	2,178	139,419	246,460	0,96	0,051
I.3	2,100	2,060	-3,111	0,502	143,416	255,250	0,947	0,075
I.4	2,720	2,705	-3,807	2,261	138,16	244,370	0,964	0,056
I.5	2,850	2,814	-4,171	2,385	141,741	248,440	0,971	0,056
I.6	1,800	1,923	-3,428	1,928	140,359	252,180	0,957	0,054
I.7	2,000	1,959	-3,728	1,809	141,687	255,100	0,943	0,079
II.1	2,550	2,441	-3,373	2,238	139,419	246,460	0,96	0,051
II.2	3,000	2,750	-3,824	2,348	149,012	263,760	0,955	0,048
II.3	2,610	2,450	-3,279	0,686	153,008	272,550	0,943	0,07
II.4	3,230	3,095	-4,122	2,681	147,752	261,670	0,959	0,051
II.5	3,360	3,204	-4,396	2,750	151,333	265,740	0,966	0,051
II.6	2,310	2,313	-3,575	2,036	149,951	269,480	0,953	0,05
II.7	2,510	2,349	-3,874	1,948	151,279	272,400	0,94	0,073
III.1	3,060	2,831	-3,918	2,440	149,012	263,760	0,955	0,048
III.2	3,500	3,140	-4,055	2,798	158,604	281,060	0,952	0,044
III.3	3,110	2,840	-3,721	0,737	162,600	289,850	0,94	0,065
III.4	3,730	3,485	-4,400	2,752	157,345	278,970	0,955	0,048
III.5	3,860	3,594	-4,809	2,829	160,926	283,040	0,962	0,048
III.6	2,810	2,703	-3,793	2,211	159,544	286,780	0,949	0,047
III.7	3,010	2,740	-4,020	2,136	160,871	289,700	0,938	0,068

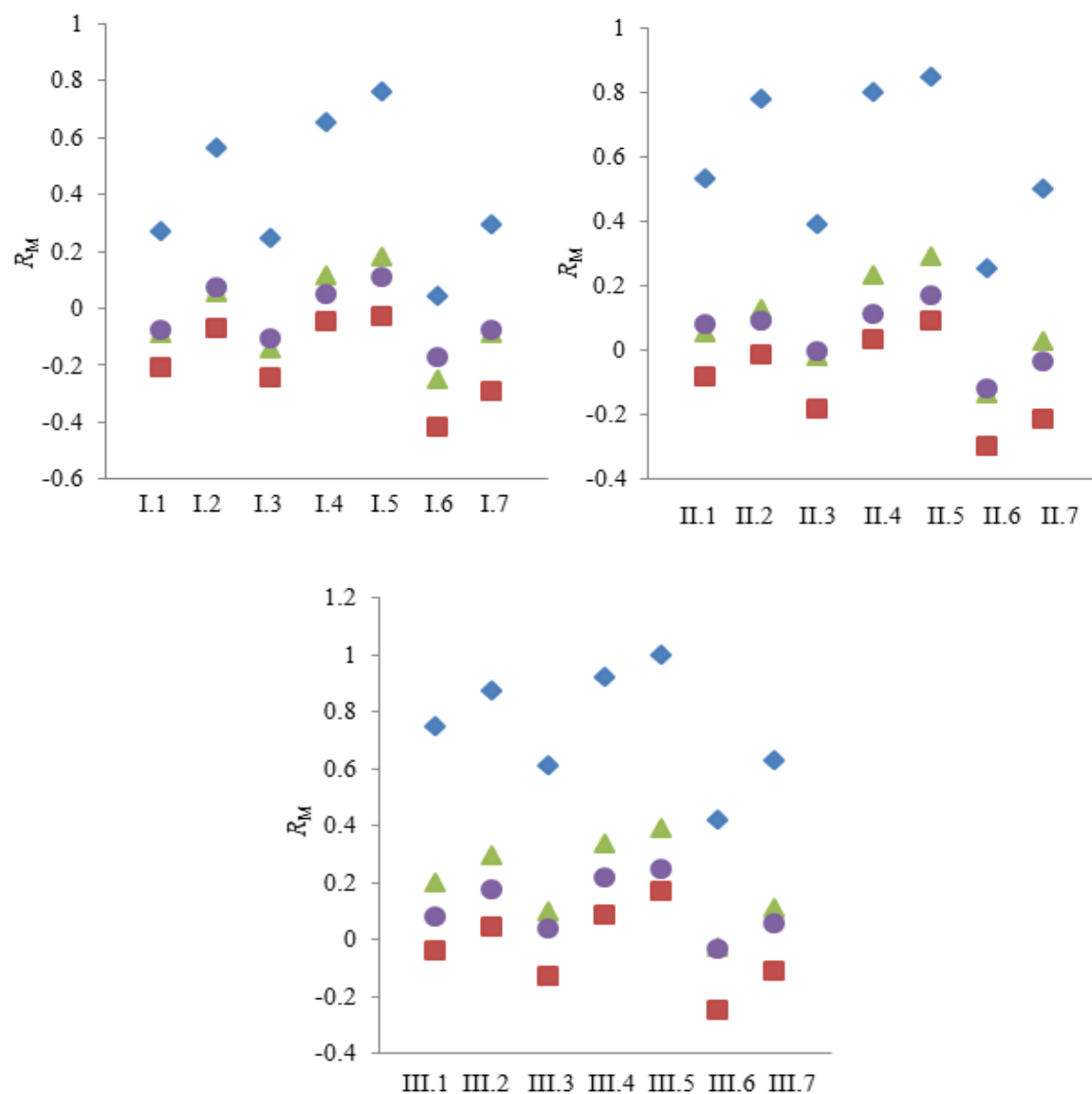
Tabela P11. Nastavak

Ispitivana jedinjenja	ECC	DBI	SA _{tot}	SA _{acc}	U _c	U _i	Pol
I.1	129	2,449	319,783	71,425	3,170	2,585	27
I.2	150	2,55	345,859	71,425	3,170	2,585	29
I.3	173	2,739	360,975	82,425	3,170	2,585	31
I.4	150	2,55	341,184	71,425	3,170	2,585	29
I.5	150	2,55	347,544	71,425	3,170	2,585	29
I.6	173	2,739	349,382	102,484	3,322	3,000	31
I.7	184	3,082	357,709	122,172	3,459	3,000	33
II.1	146	2,449	345,859	71,425	3,170	2,585	30
II.2	169	2,55	371,936	71,425	3,170	2,585	32
II.3	193	2,739	387,052	82,425	3,170	2,585	34
II.4	169	2,55	367,261	71,425	3,170	2,585	32
II.5	169	2,55	373,621	71,425	3,170	2,585	32
II.6	193	2,739	375,459	102,484	3,322	3,000	34
II.7	205	3,082	383,786	122,172	3,459	3,000	36
III.1	156	2,449	371,936	71,425	3,170	2,585	34
III.2	180	2,55	398,013	71,425	3,170	2,585	36
III.3	205	2,739	413,128	82,425	3,170	2,585	38
III.4	180	2,55	393,338	71,425	3,170	2,585	36
III.5	180	2,55	399,698	71,425	3,170	2,585	36
III.6	205	2,739	401,535	102,484	3,322	3,000	38
III.7	217	3,082	409,862	122,172	3,459	3,000	40

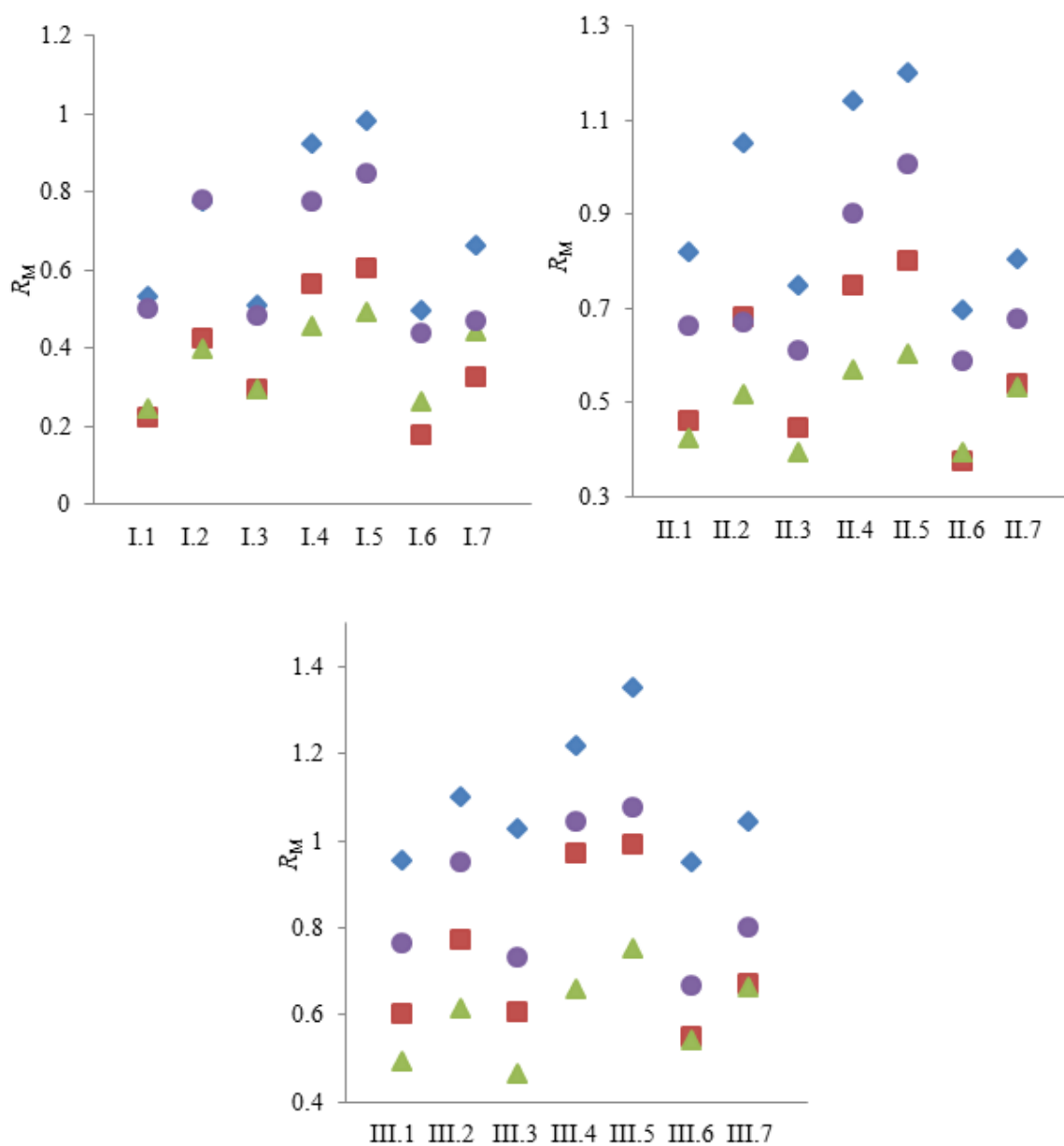
Tabela P11. Nastavak

Ispitivana jedinjenja	IAC	ISIZ	BBB	HIA%	PBB%	sličnosti sa lekom	ocena leka
I.1	51,671	172,974	0,651	95,002	79,641	3,09	0,89
I.2	55,088	192,750	0,722	95,081	81,204	1,76	0,82
I.3	59,004	199,421	0,191	95,38	82,434	3,48	0,89
I.4	57,067	172,974	0,65	95,338	83,934	4,12	0,84
I.5	57,067	172,974	0,728	95,615	84,131	1,25	0,73
I.6	55,563	179,525	0,035	95,139	74,421	-5,32	0,43
I.7	61,456	186,117	0,011	86,707	79,091	-7,04	0,44
II.1	55,088	192,750	0,364	95,081	85,492	1,24	0,47
II.2	58,439	212,877	0,936	95,148	86,289	-0,09	0,38
II.3	62,466	219,660	0,279	95,485	86,819	1,62	0,49
II.4	60,660	192,750	1,06	95,413	85,962	2,25	0,47
II.5	60,660	192,750	1,172	95,711	87,961	-0,59	0,32
II.6	59,179	199,421	0,054	95,558	81,613	-7,17	0,25
II.7	65,286	206,131	0,014	88,44	83,814	-8,89	0,26
III.1	58,439	212,877	0,637	95,148	89,089	0,74	0,72
III.2	61,735	233,329	1,396	95,212	89,251	-0,60	0,56
III.3	65,866	240,215	0,42	95,551	89,509	1,13	0,75
III.4	64,167	212,877	1,673	95,495	87,594	1,77	0,72
III.5	64,167	212,877	1,827	95,811	91,442	-1,10	0,46
III.6	62,707	219,660	0,083	95,877	86,683	-7,67	0,40
III.7	69,012	226,477	0,017	89,962	86,655	-9,40	0,41

Grafički prikaz zavisnosti R_M vrednosti od prirode primenjenih protičnih i aprotičnih organskih rastvarača (slike P1 i P2). Sastav pokretne faze je 50 % voda i 50 % organski rastvarač.

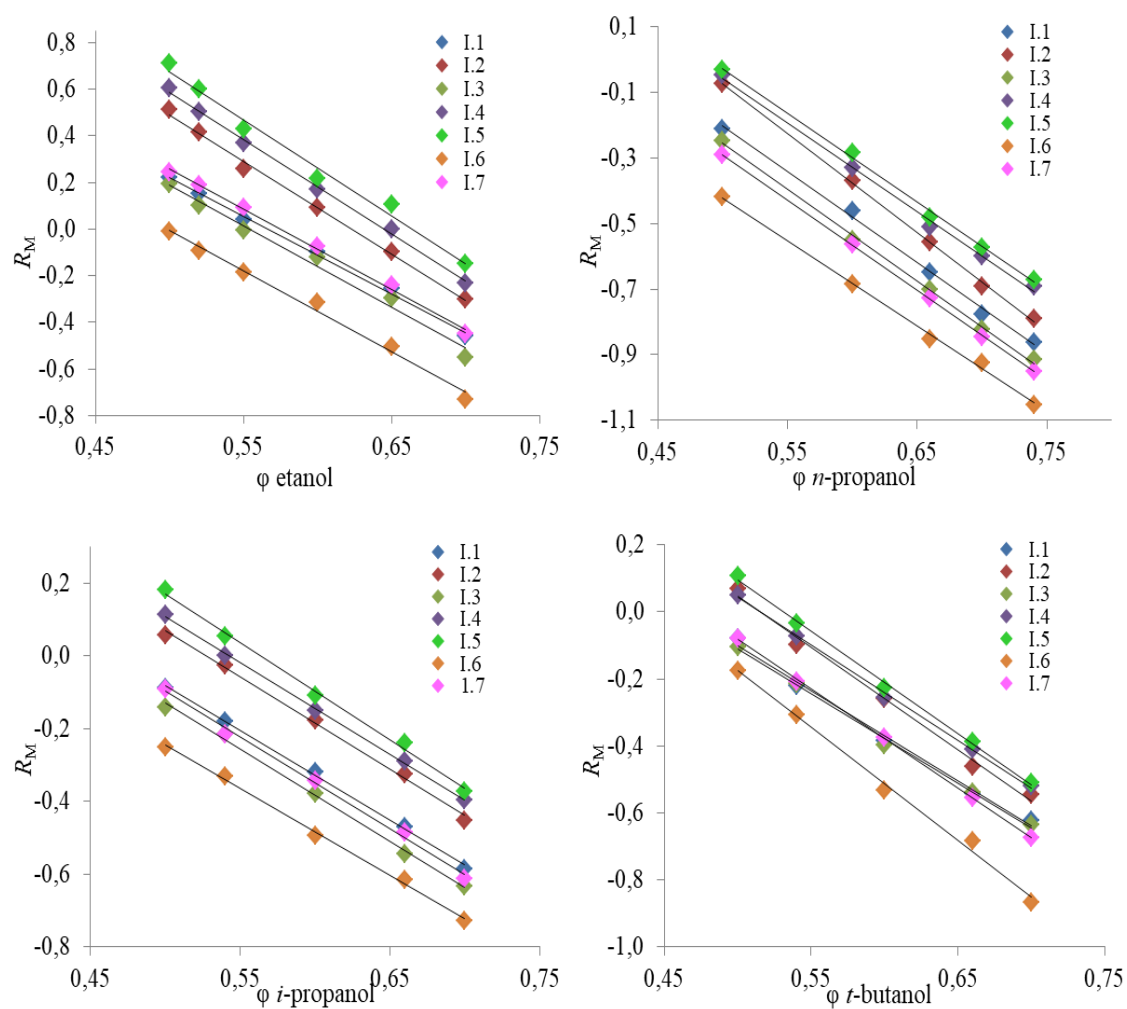


Slika P1. R_M vrednosti tri serije ispitivanih jedinjenja za različite protične organske rastvarače: etanol (♦), i-propanol (▲), t-butanol (●) i n-propanol (■)

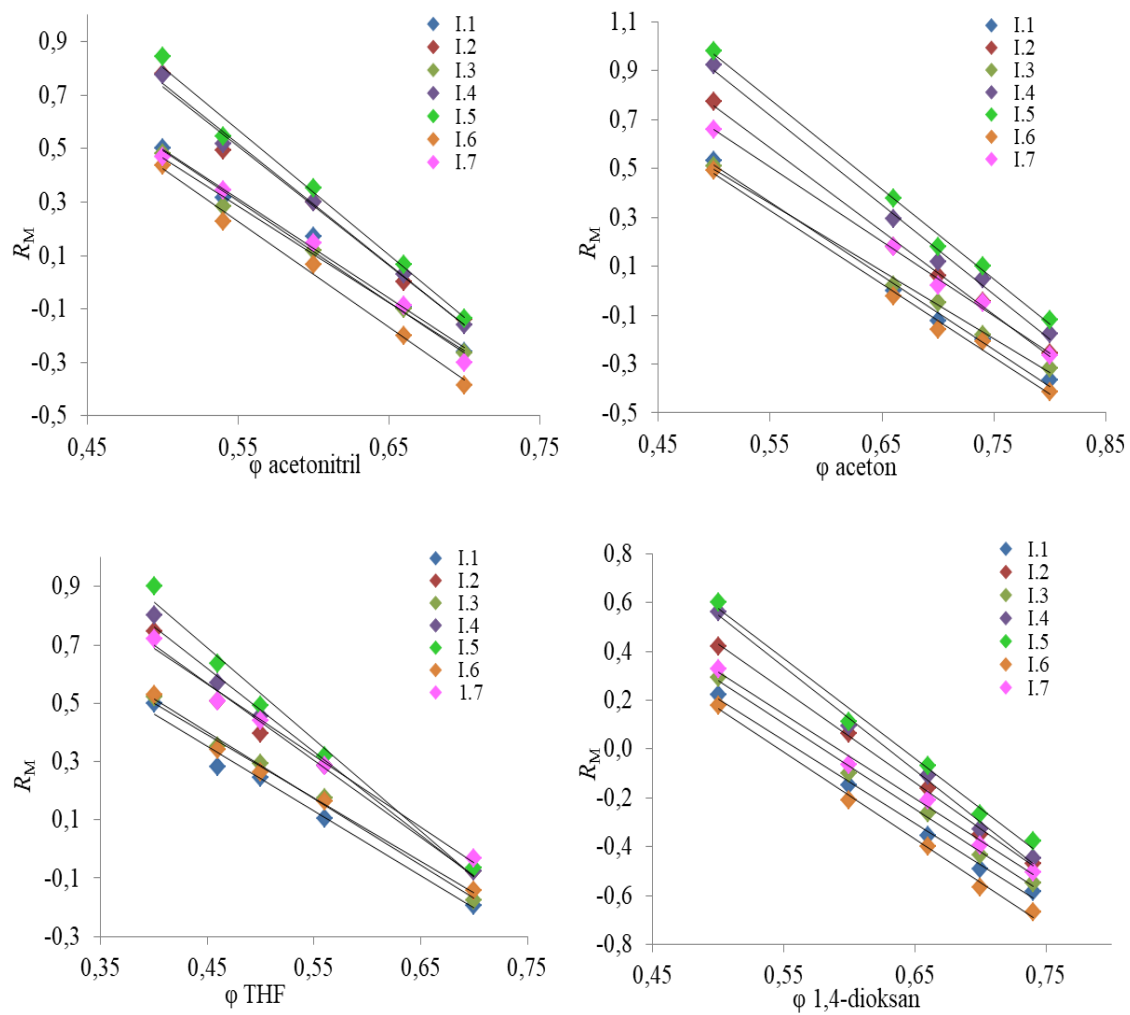


Slika P2. R_M vrednosti tri serije ispitivanih jedinjenja za različite aprotične organske rastvarače: acetone (♦), acetonitril (●), 1,4-dioksan (■) i THF (▲)

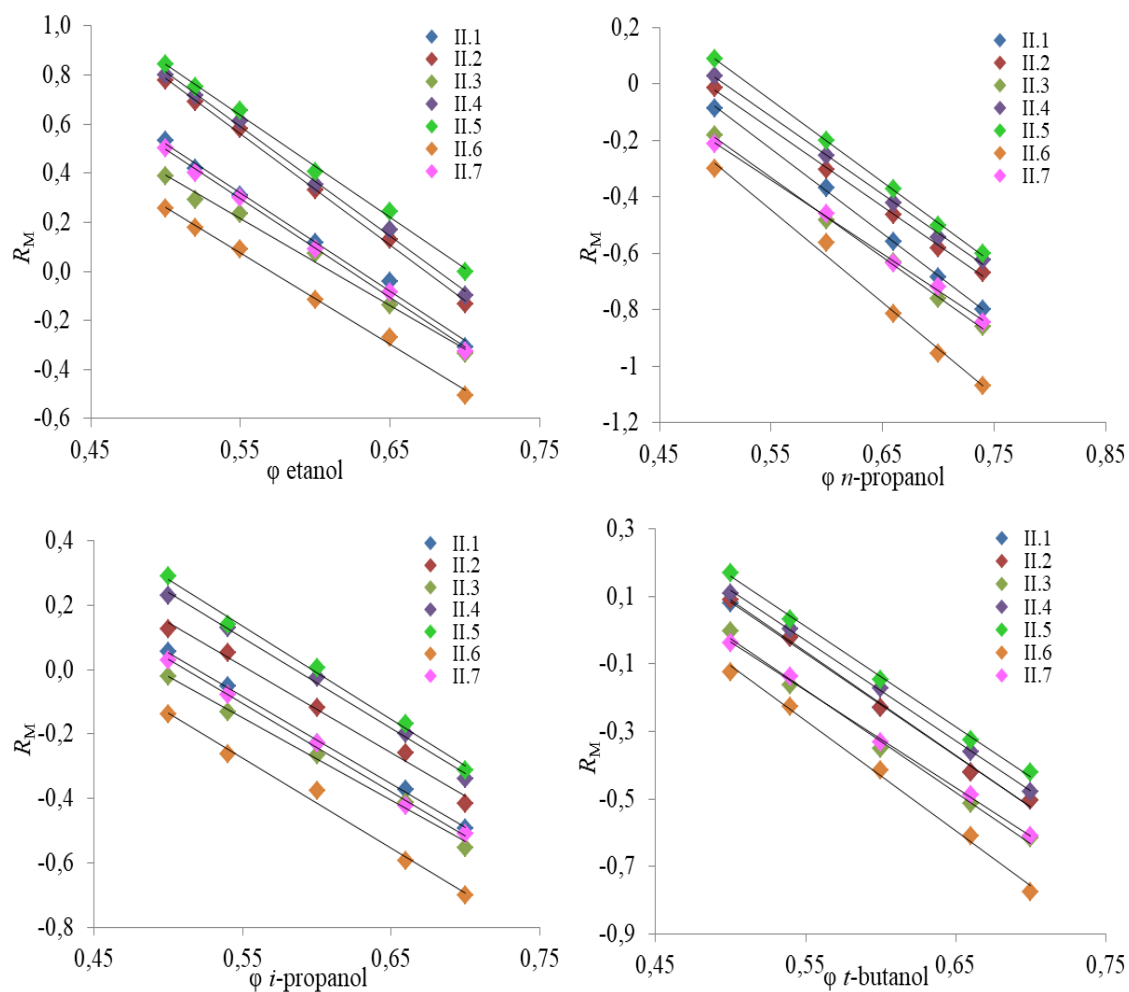
Grafički prikaz zavisnosti R_M vrednosti od zapreminskog udela primenjenih protičnih i aprotičnih organskih rastvarača (slike P3-P8).



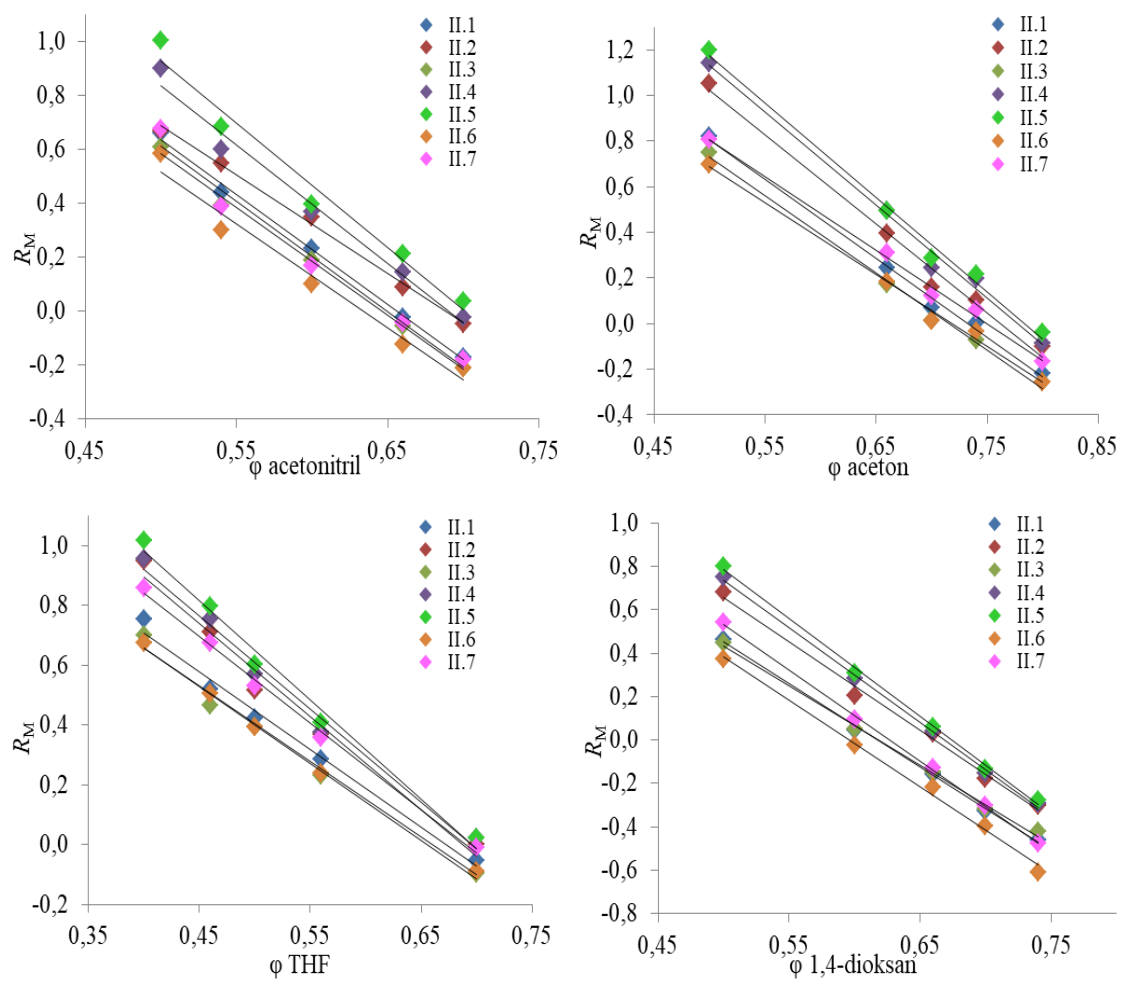
Slika P3. Zavisnost R_M vrednosti od zapreminskog udela protičnih organskih rastvarača za derivate spirohidantoina serije I



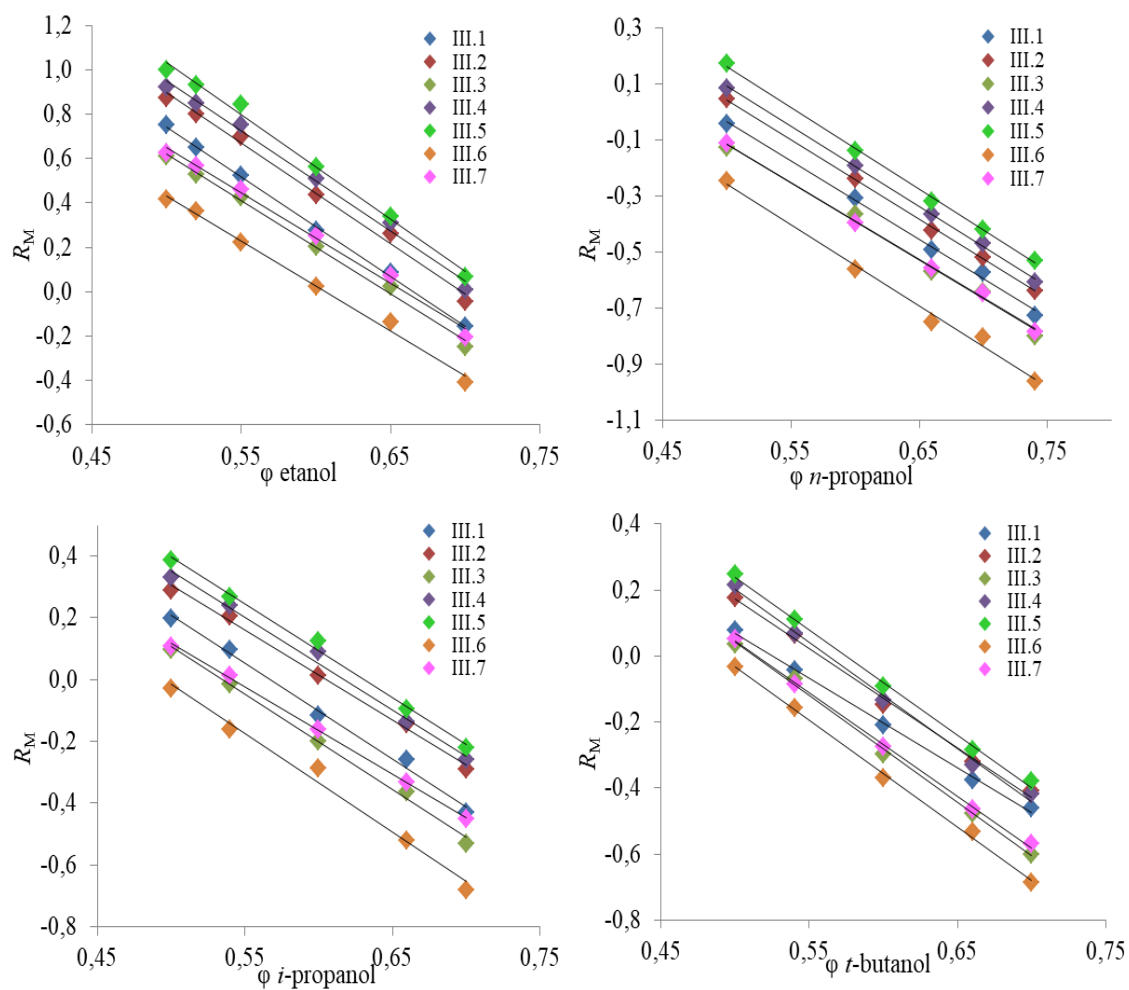
Slika P4. Zavisnost R_M vrednosti od zapreminskog udela aprotičnih organskih rastvarača za derivate spirohidantoina serije I



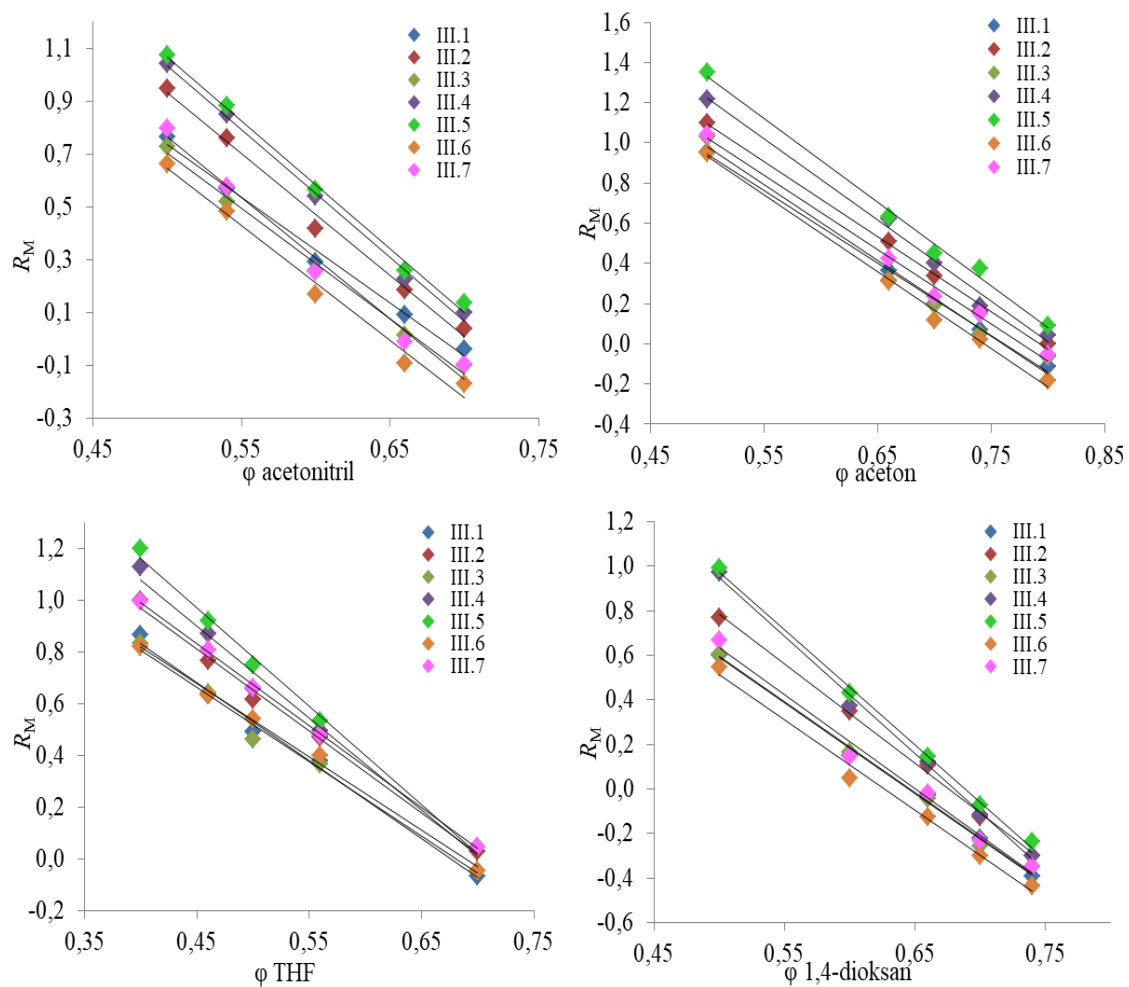
Slika P5. Zavisnost R_M vrednosti od zapreminskog udela protičnih organskih rastvarača za derivate spirohidantoina serije II



Slika P6. Zavisnost R_M vrednosti od zapreminskog udela aprotičnih organskih rastvarača za derivate spirohidantoina serije II

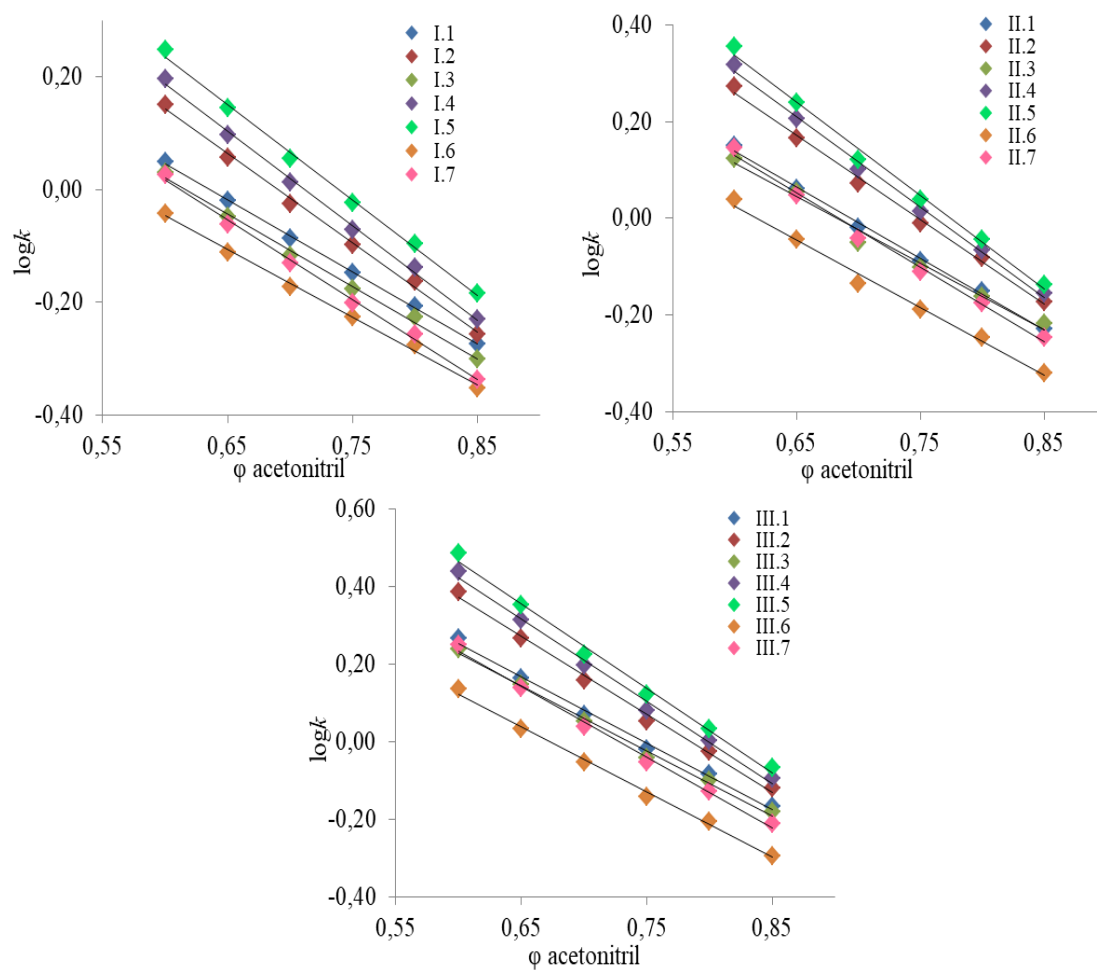


Slika P7. Zavisnost R_M vrednosti od zapreminskog udela protičnih organskih rastvarača za derivate spirohidantoina serije III



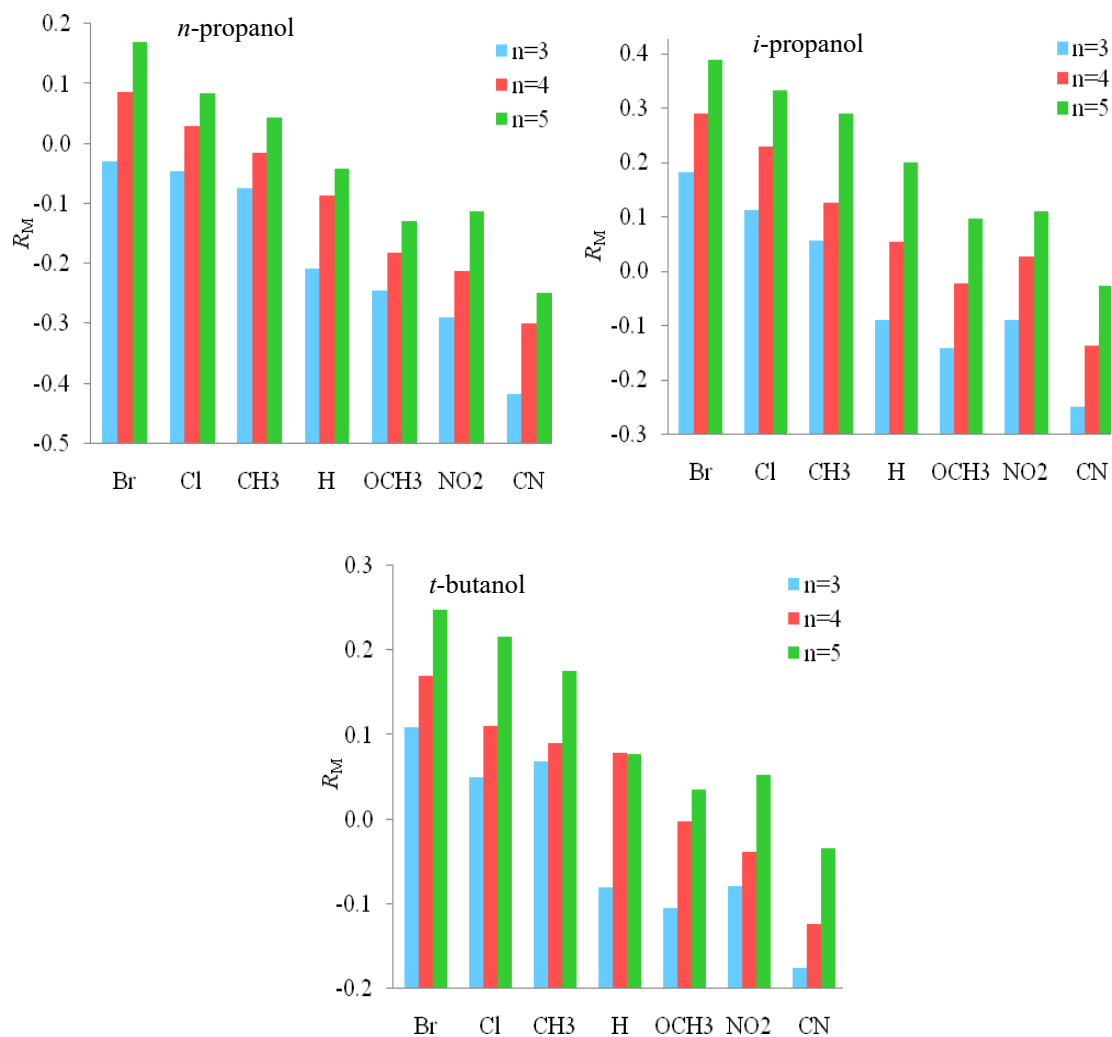
Slika P8. Zavisnost R_M vrednosti od zapreminskog udela aprotičnih organskih rastvarača za derivate spirohidantoina serije III

Grafički prikaz zavisnosti $\log k$ vrednosti od zapreminskog udela acetonitrila (slika P9).

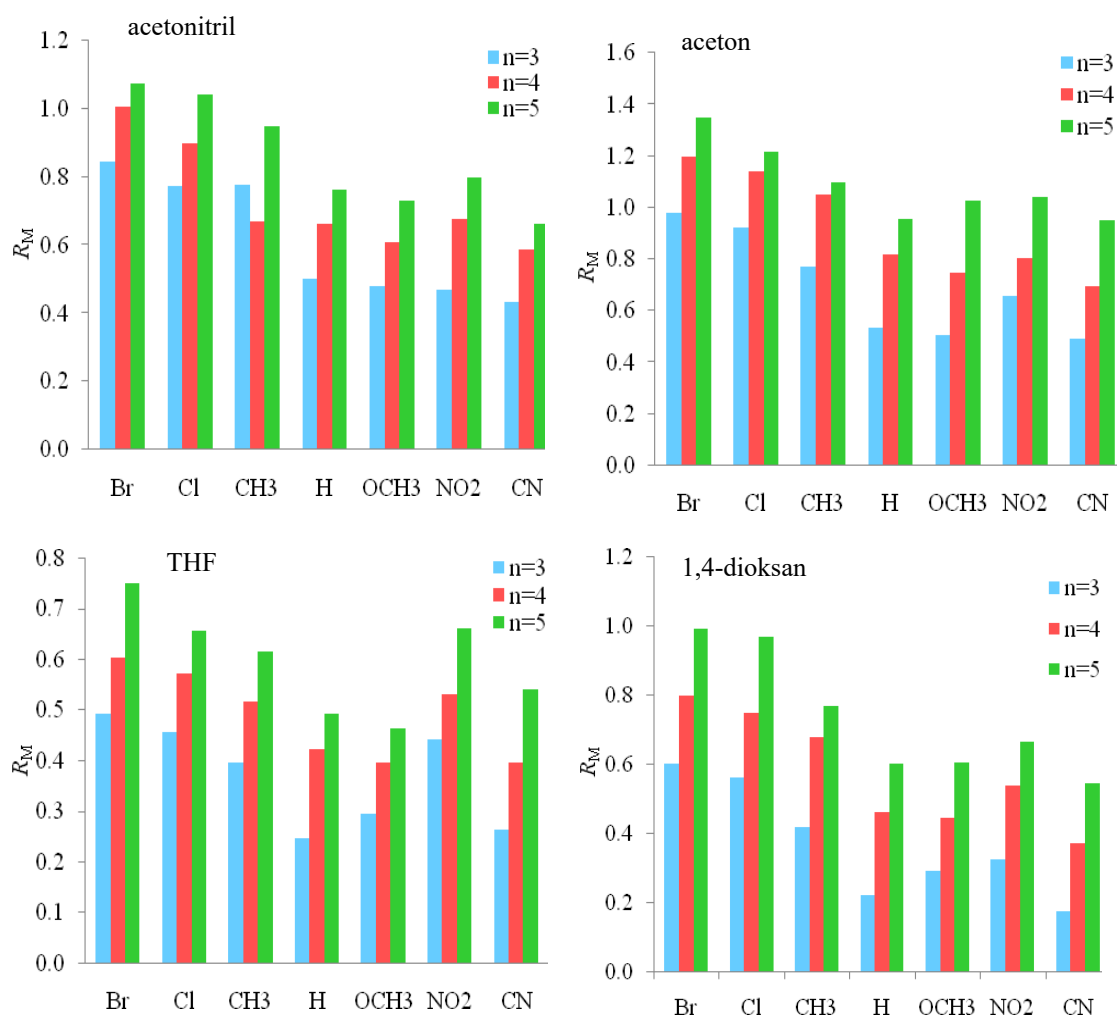


Slika P9. Zavisnost $\log k$ vrednosti od zapreminskog udela acetonitrila za derivate spirohidantoina

Grafički prikaz uticaja supstituenta R i veličine cikloalkil grupe (broja C-atoma) na retenciono ponašanje ispitivanih spirohidantoina (slika P10-P11).

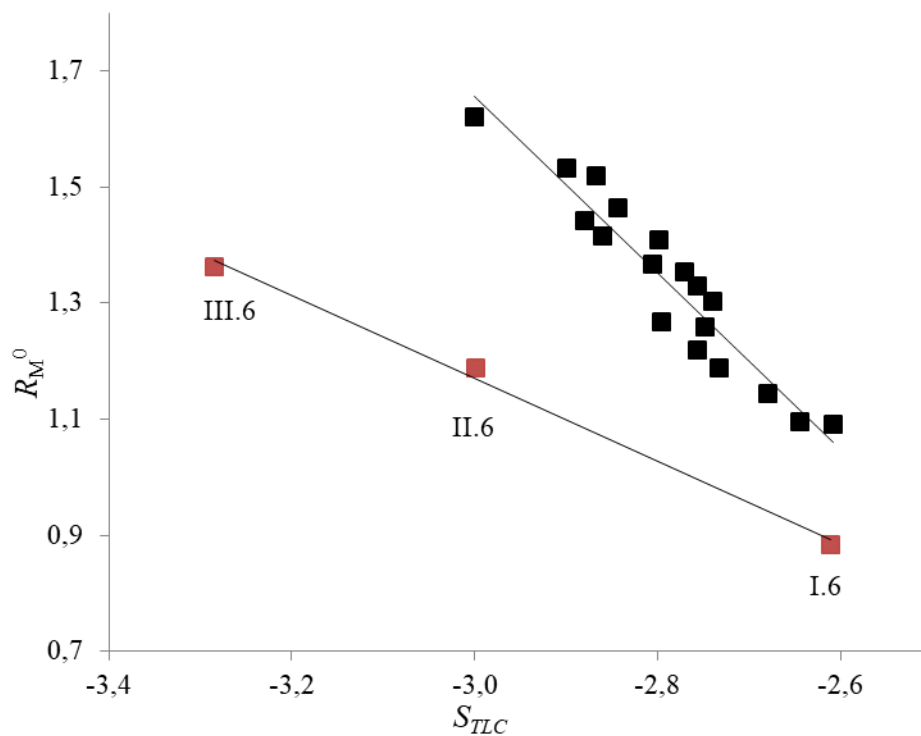


Slika P10. Promena R_M vrednosti u funkciji supstituenta R i broja ugljenikovih atoma prisutnih u cikloalkil grupi

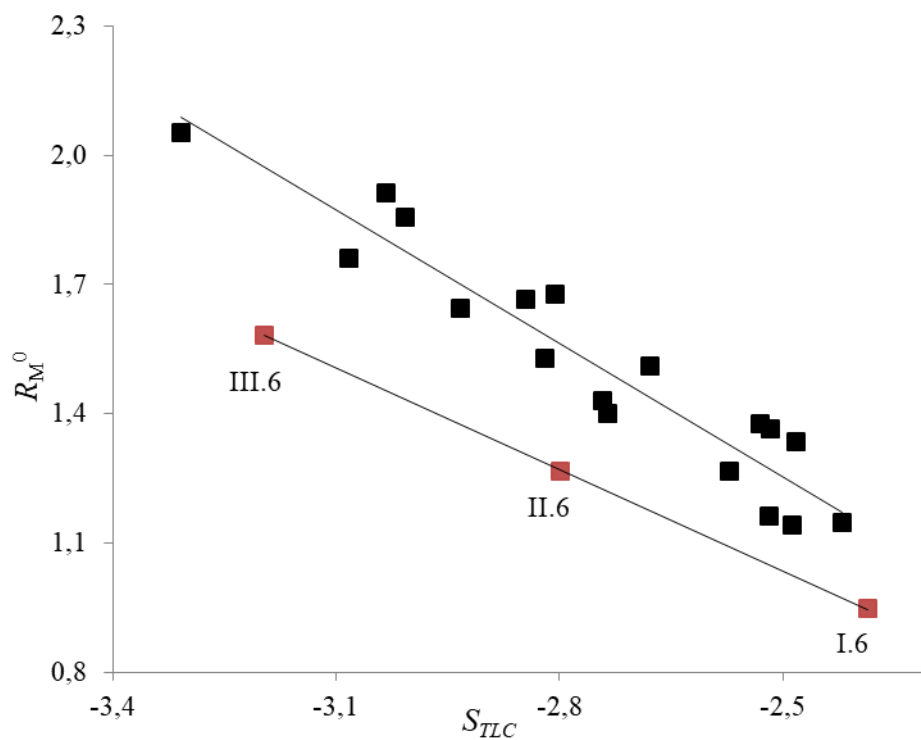


Slika P11. Promena R_M vrednosti u funkciji supstituenta R i broja ugljenikovih atoma prisutnih u cikloalkil grupi

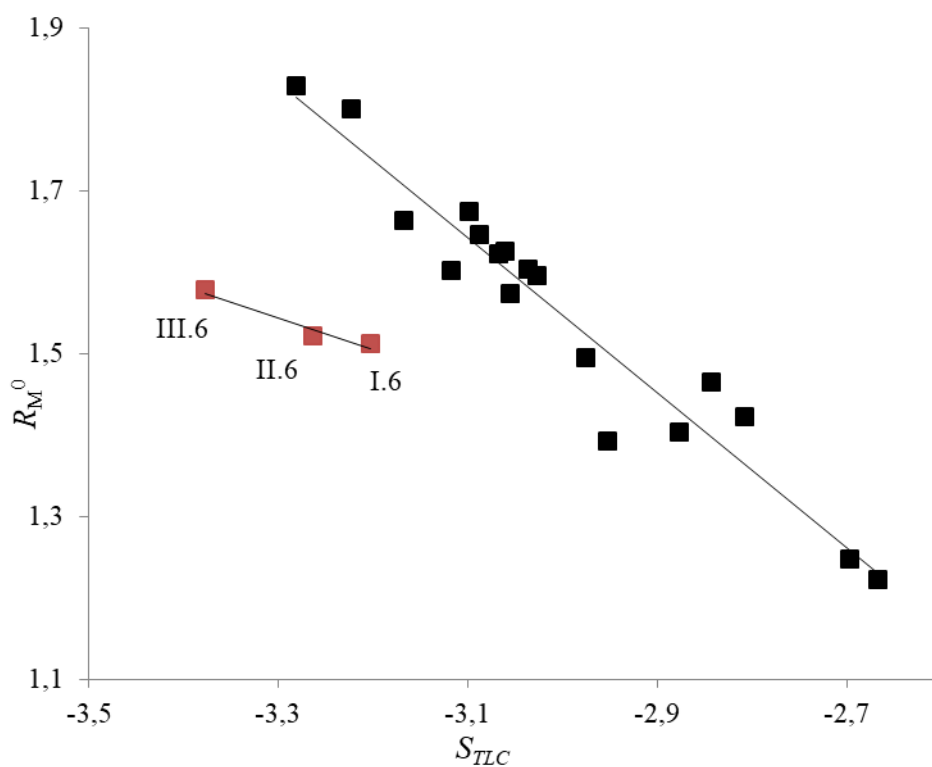
Zavisnosti R_M^0 vrednosti od S za sve primenjene organske rastvarače u pokretnoj fazi (slike 12-17).



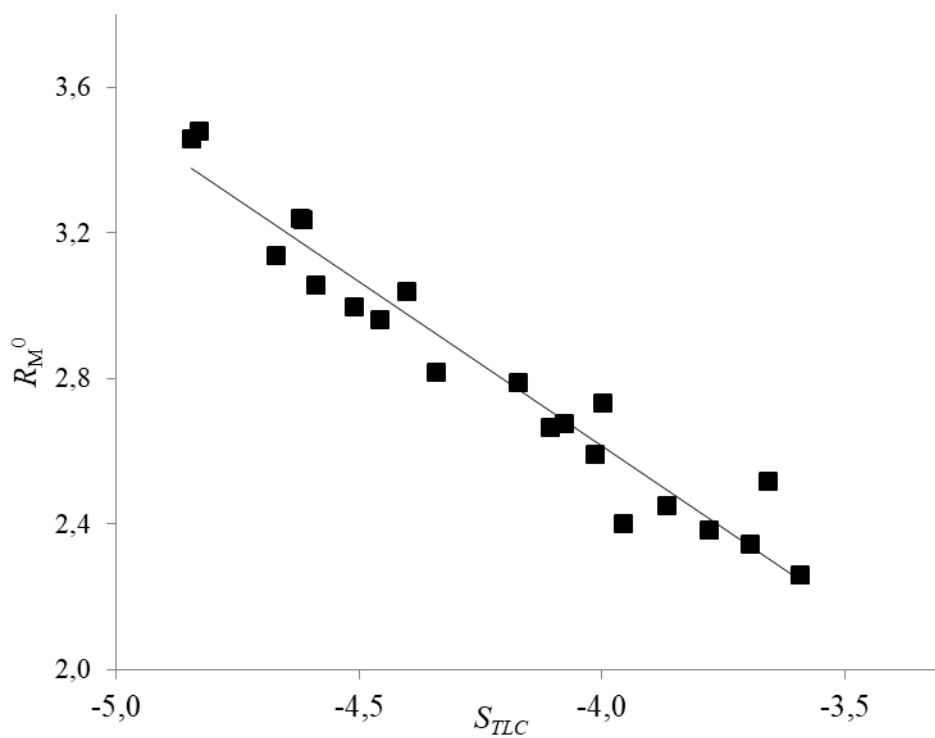
Slika P12. Zavisnost vrednosti R_M^0 od nagiba, S , u pokretnoj fazi n-propanol/voda



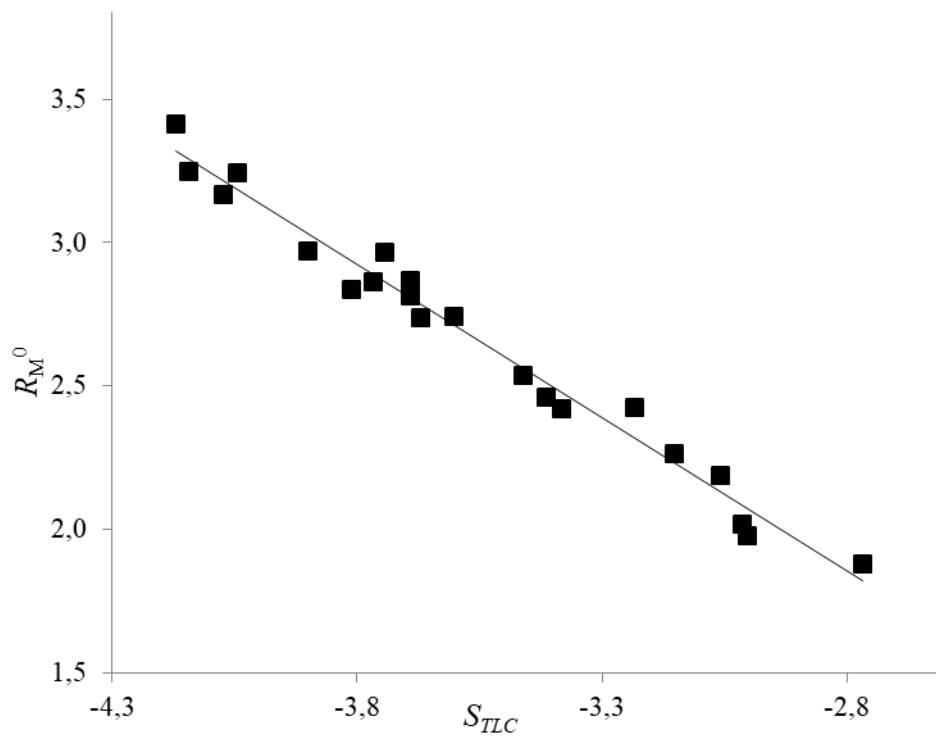
Slika P13. Zavisnost vrednosti R_M^0 od nagiba, S , u pokretnoj fazi i-propanol/voda



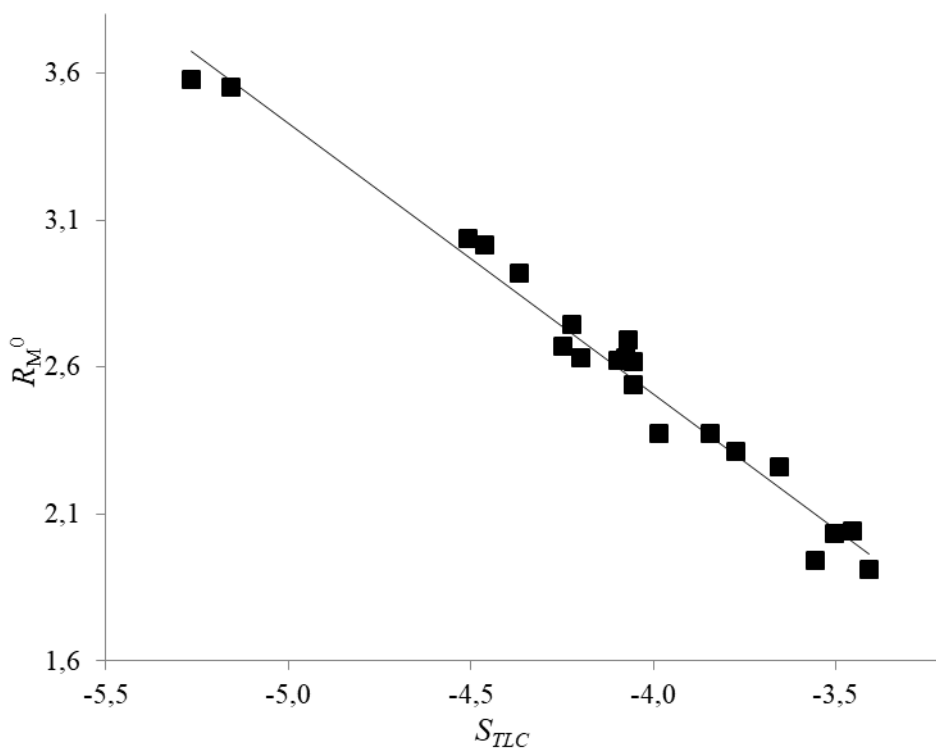
Slika P14. Zavisnost vrednosti R_M^0 od nagiba, S , u pokretnoj fazi *t*-butanol/voda



Slika P15. Zavisnost vrednosti R_M^0 od nagiba, S , u pokretnoj fazi acetonitril/voda

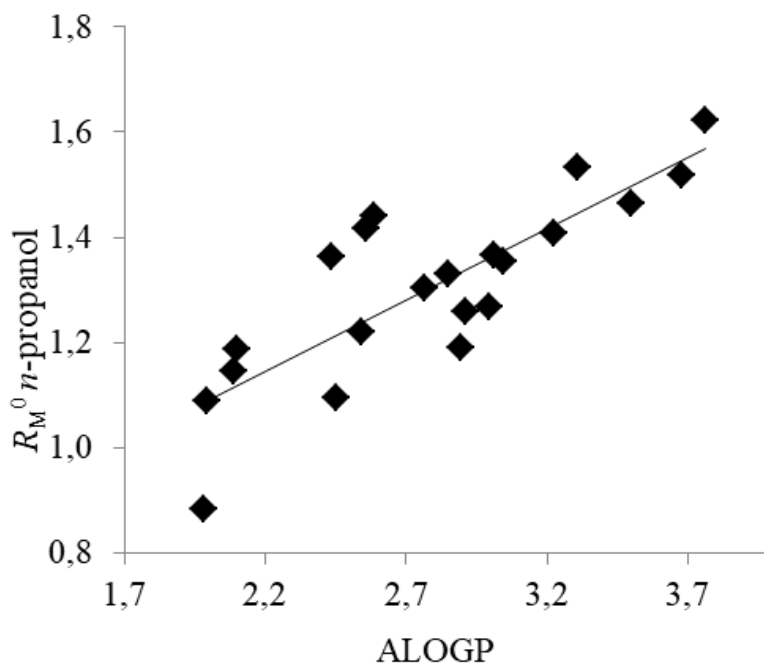


Slika P16. Zavisnost vrednosti R_M^0 od nagiba, S , u pokretnoj fazi aceton/voda

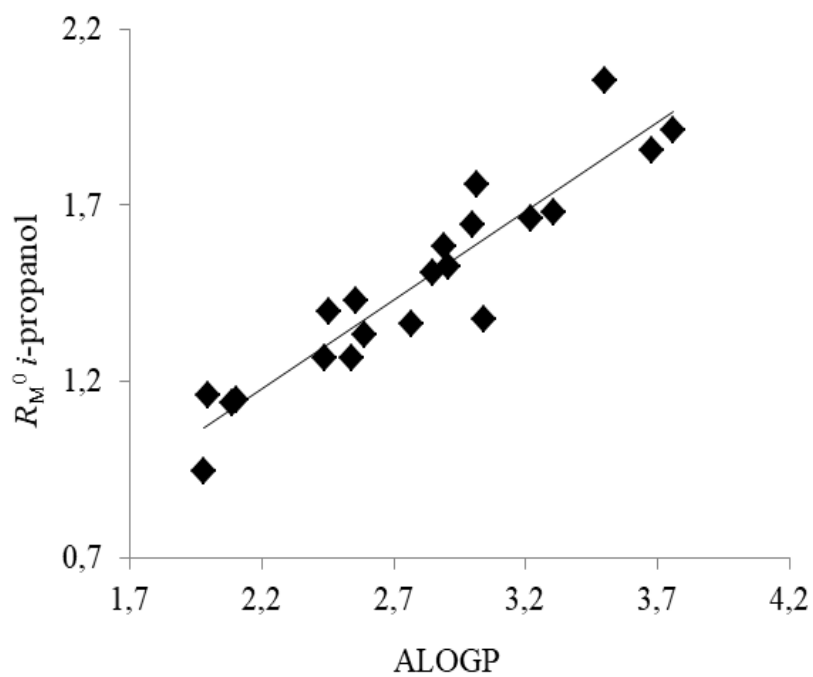


Slika P17. Zavisnost vrednosti R_M^0 od nagiba, S , u pokretnoj fazi 1,4-dioksan/voda

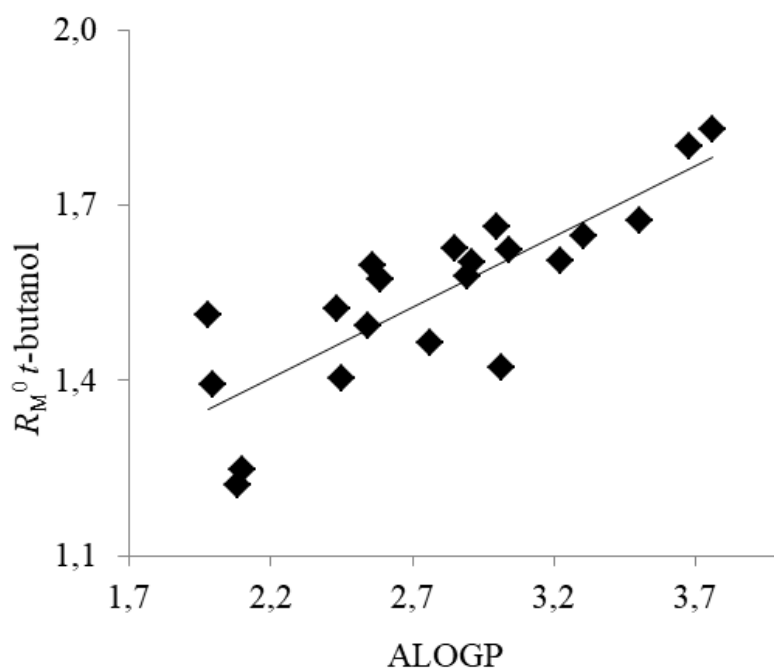
Zavisnosti R_M^0 vrednosti od ALOGP za sve primenjene organske rastvarače u pokretnoj fazi (slike 18-23).



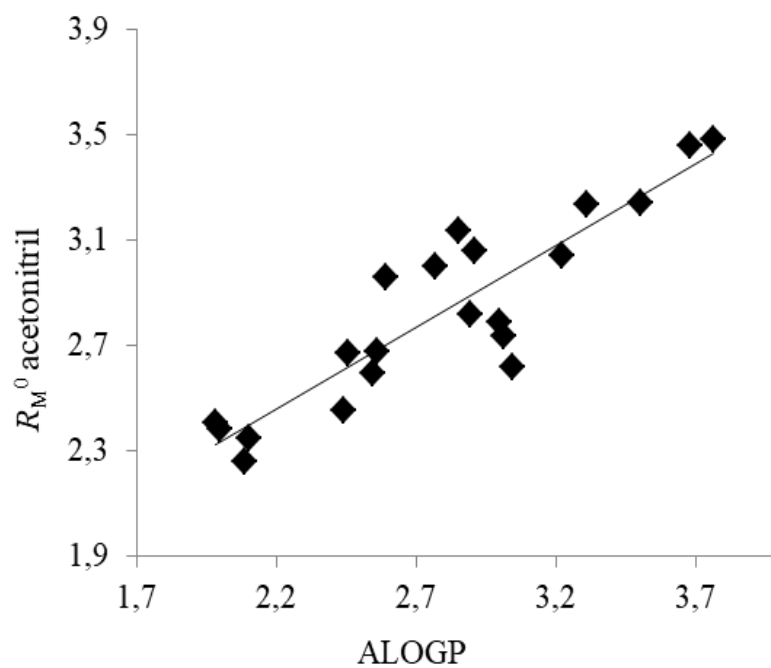
Slika P18. Zavisnost vrednosti R_M^0 od ALOGP u pokretnoj fazi n-propanol/voda



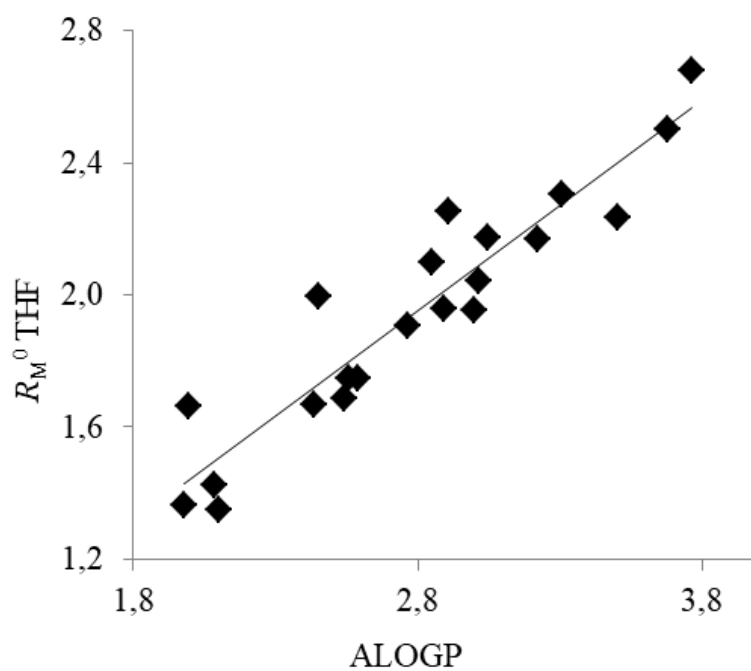
Slika P19. Zavisnost vrednosti R_M^0 od ALOGP u pokretnoj fazi i-propanol/voda



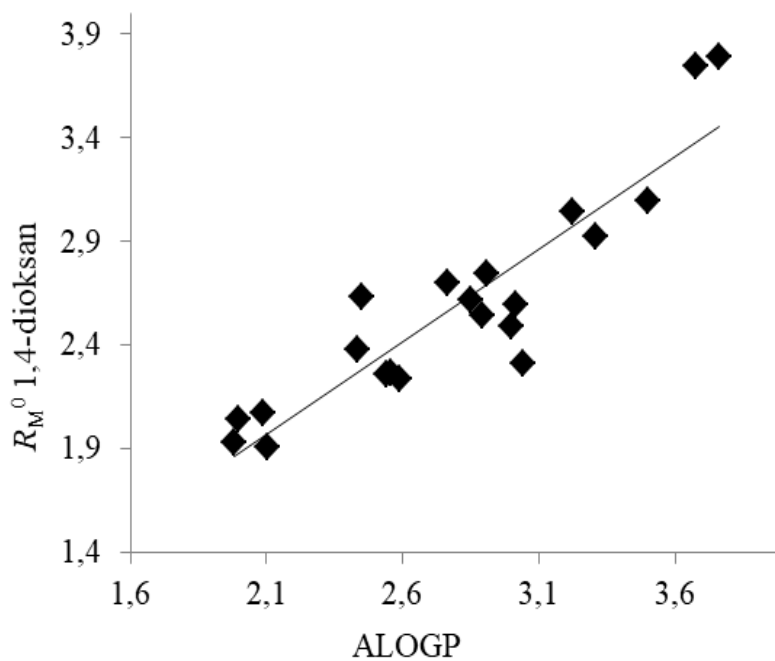
Slika P20. Zavisnost vrednosti R_M^0 od ALOGP u pokretnoj fazi t-butanol/voda



Slika P21. Zavisnost vrednosti R_M^0 od ALOGP u pokretnoj fazi acetonitril/voda

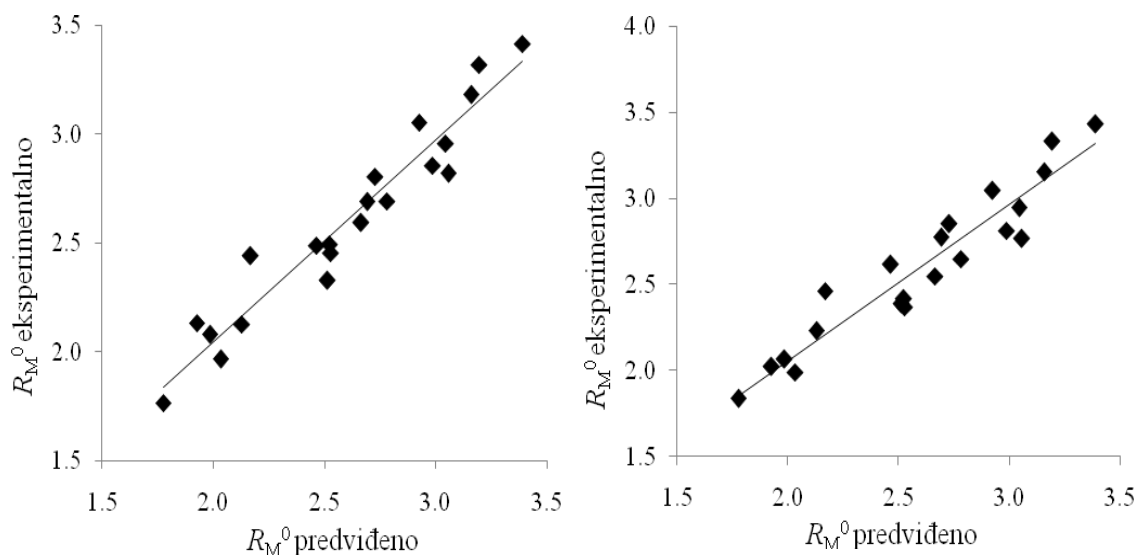


Slika P22. Zavisnost vrednosti R_M^0 od ALOGP u pokretnoj fazi THF/voda

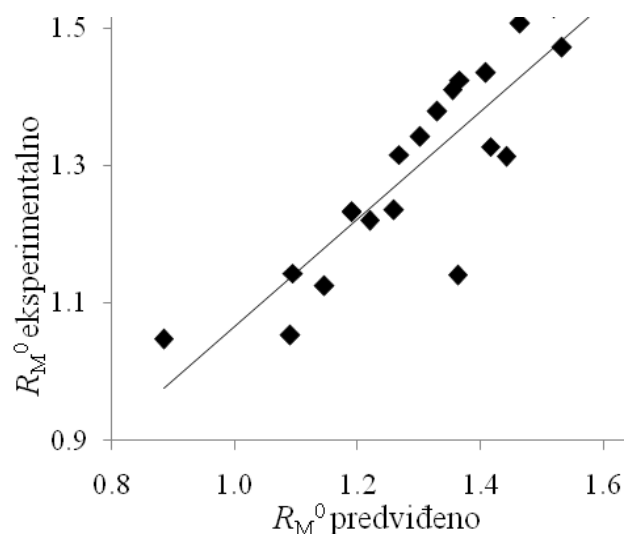


Slika P23. Zavisnost vrednosti R_M^0 od ALOGP u pokretnoj fazi 1,4-dioksan/voda

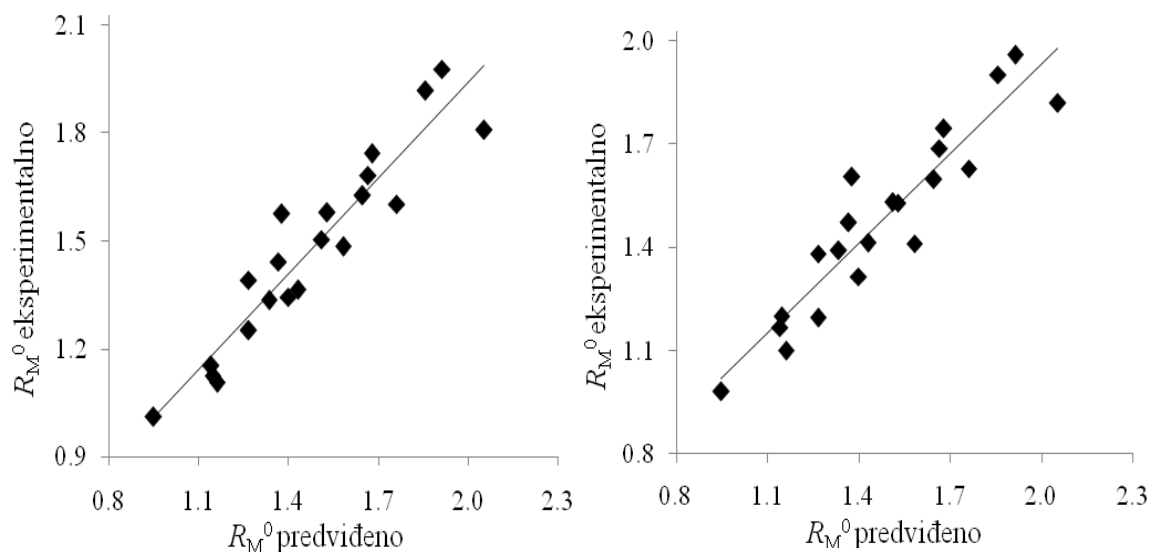
Zavisnost između eksperimentalno određenih hromatografskih parametara lipofilnosti i predviđenih parametara lipofilnosti na osnovu QSRR modela (slike P24–P32).



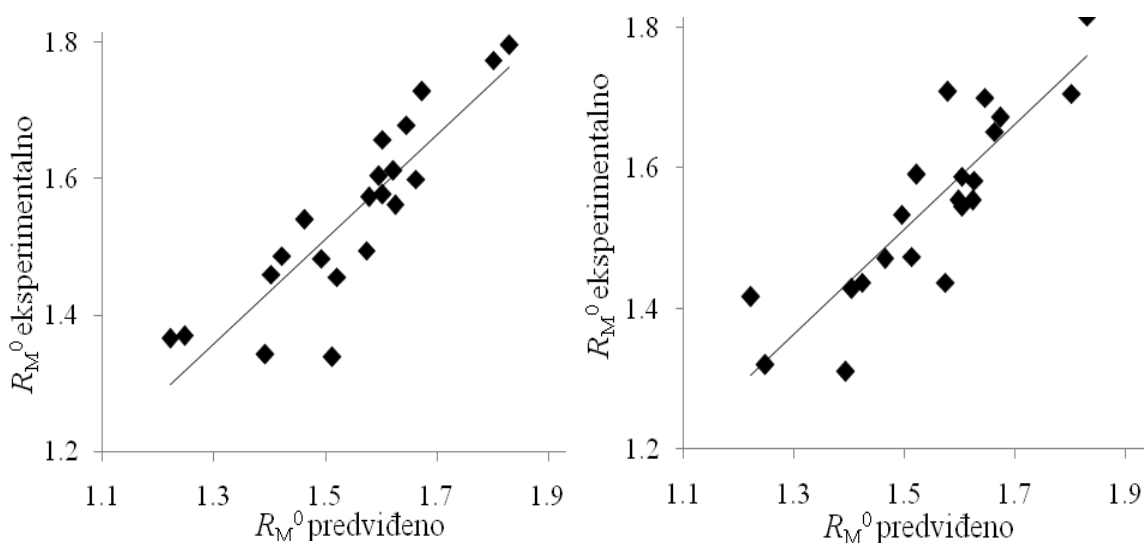
Slika P24. Poređenje eksperimentalnih i izračunatih R_M^0 vrednosti na osnovu QSRR modela (3) i (12) za pokretnu fazu etanol-voda



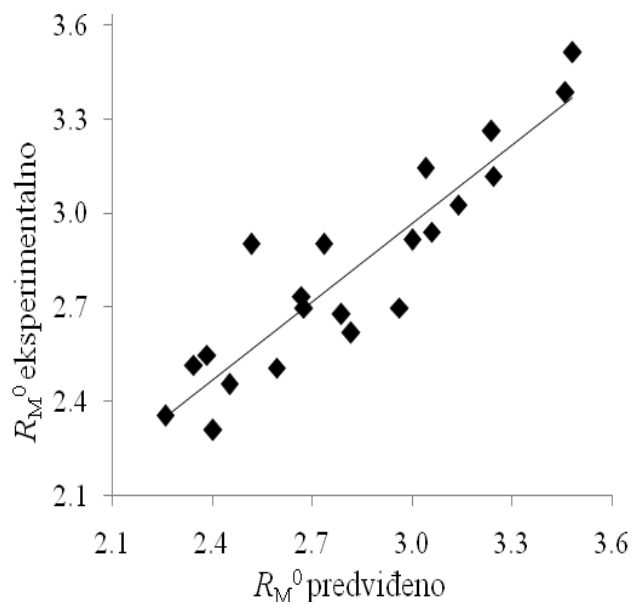
Slika P25. Poređenje eksperimentalnih i predviđenih R_M^0 vrednosti na osnovu QSRR modela (4) za pokretnu fazu n-propanol-voda



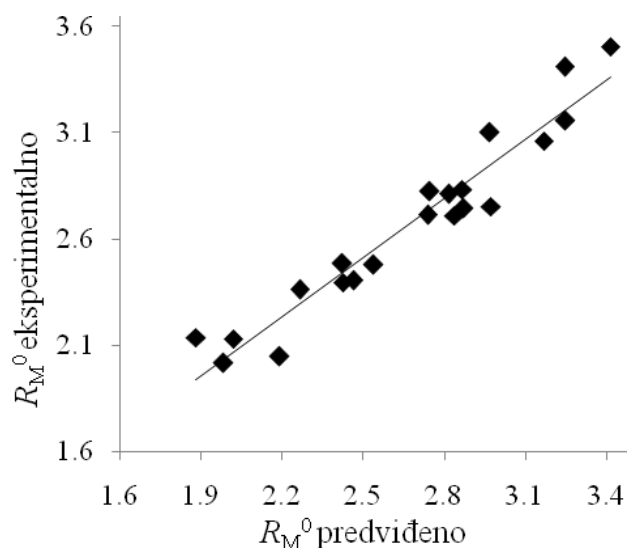
Slika P26. Poređenje eksperimentalnih i predviđenih R_M^0 vrednosti na osnovu QSRR modela (5) i (14) za pokretnu fazu i-propanol-voda



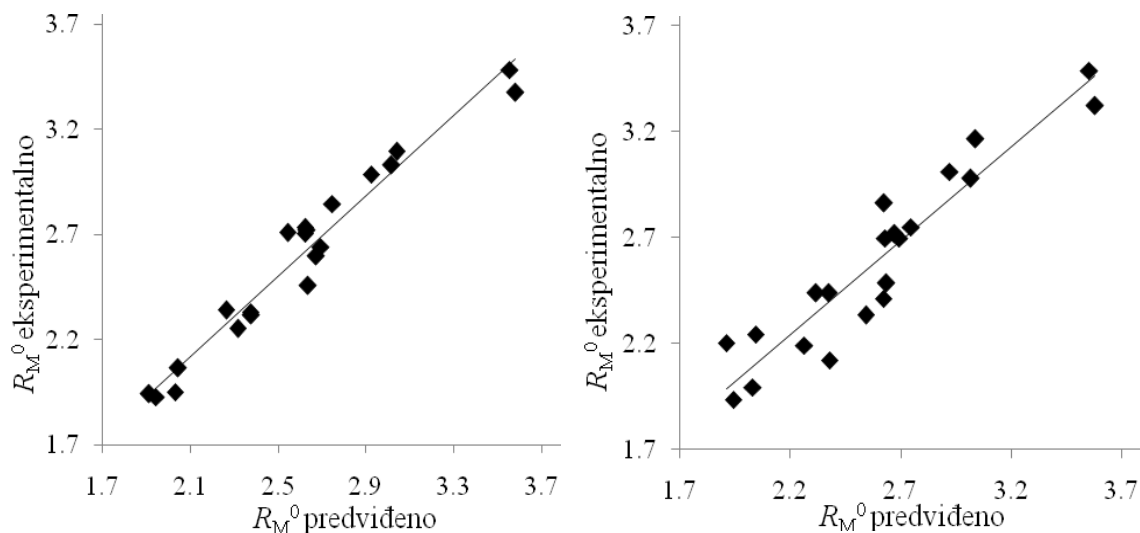
Slika P27. Poređenje eksperimentalnih i predviđenih R_M^0 vrednosti na osnovu QSRR modela (6) i (15) za pokretnu fazu t-butanol-voda



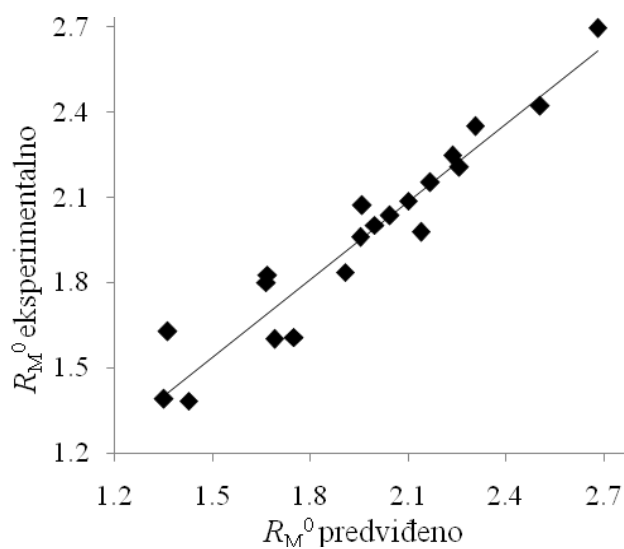
Slika P28. Poređenje eksperimentalnih i predviđenih R_M^0 vrednosti na osnovu QSRR modela (7) za pokretnu fazu acetonitril-voda



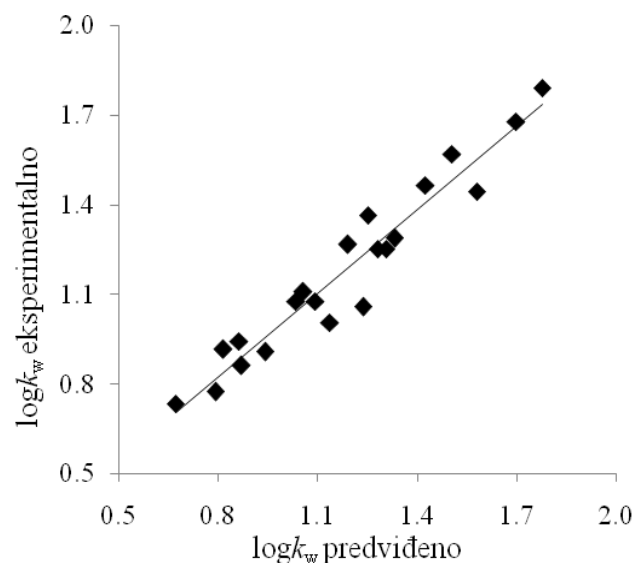
Slika P29. Poređenje eksperimentalnih i predviđenih R_M^0 vrednosti na osnovu QSRR modela (8) za pokretnu fazu aceton-voda



Slika P30. Poređenje eksperimentalnih i predviđenih R_M^0 vrednosti na osnovu QSRR modela (10) i (19) za pokretnu fazu 1,4-dioksan-voda



Slika P31. Poređenje eksperimentalnih i predviđenih R_M^0 vrednosti na osnovu QSRR modela (18) za pokretnu fazu THF-voda



Slika P32. Poređenje eksperimentalnih i predviđenih $\log k_w$ vrednosti na osnovu QSRR modela (20) za pokretnu fazu acetonitril-voda



BIOGRAFIJA

Kristina Tot je rođena 30.11.1990. u Senti. Osnovnu školu „Dr Tihomir Ostojić“ u Ostojićevu je završila sa odličnim uspehom pri čemu joj je dodeljena Vukova diploma. Nakon toga, 2005. godine upisala je Hemijsko-prehrambenu srednju školu u Čoki, smer hemijski laborant. Posle srednje škole, 2009. godine upisuje osnovne akademske studije na Prirodno-matematičkom fakultetu u Novom Sadu, smer hemija, gde je 25.09.2013. godine diplomirala sa prosečnom ocenom 9,71 i stekla zvanje diplomirani hemičar. Nakon završenih osnovnih akademskih studija, u oktobru 2013. godine upisuje master akademske studije, takođe na Prirodno-matematičkom fakultetu u Novom Sadu, gde je 29.09.2014. godine masterirala sa prosečnom ocenom 9,89 i stekla zvanje master hemičar. Na osnovnim i master akademskim studijama bila je deo marketing tima Departmana za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine. Školske 2013/14. godine, kao master student, držala je vežbe iz predmeta Analitička hemija I studentima hemije PMF-a. Tokom studija bila je stipendista Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja, a od 2012. godine je stipendista Fonda za mlade talente Republike Srbije. Na istom fakultetu 2014. godine upisuje prvu godinu doktorskih akademskih studija hemije. Od početka doktorskih studija angažovana je na Katedri za opštu i neorgansku hemiju na izvođenju nastave iz predmeta Opšta hemija, Hemija 1 i 2 (smer Zaštita životne sredine), Koloidna hemija i Bioneorganska hemija. Decembra 2014. godine, Srpsko hemijsko društvo joj dodeljuje specijalno priznanje za izuzetan uspeh u toku studija. U periodu od 2015. do 2018. godine je bila stipendista Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije. Na Prirodno-matematičkom fakultetu zaposlena je 2018. godine u zvanju istraživača pripravnika, a od 2019. godine u zvanju istraživača saradnika u okviru projekata koje finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije. U svom naučnom radu se bavi hromatografskim istraživanjem, fizičko-hemijskom karakterizacijom novosintetisanih potencijalno biološki aktivnih jedinjenja i hemometrijskom analizom.

Овај Образац чини саставни део докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта који се брани на Универзитету у Новом Саду. Попуњен Образац укоричити иза текста докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта.

План третмана података

Назив пројекта/истраживања
Карактеризација новосинтетисаних деривата циклоалканспиро-5-хидантоина применом течне хроматографије
Назив институције/институција у оквиру којих се спроводи истраживање
а) Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет б) Универзитет у Новом Саду, Научни институт за прехранбене технологије
Назив програма у оквиру ког се реализује истраживање
Докторске академске студије хемије на Природно-математичком факултету, Универзитета у Новом Саду. Истраживања обухваћена овом докторском дисертацијом, у периоду до 2020. године, део су пројекта под називом: „Проучавање синтезе, структуре и активности органских једињења природног и синтетског порекла“ (ОИ 172013) финансираног од стране Министарства науке, просвете и технолошког развоја Републике Србије. Од 2020. године истраживање је настављено у оквиру пројекта број 451-03-68/2020-14/200125 истог Министарства.
1. Опис података
<p>1.1 Врста студије</p> <p>Укратко описати тип студије у оквиру које се подаци прикупљају</p> <p><u>докторска дисертација</u></p> <p>1.2 Врсте података</p> <p><input checked="" type="radio"/> а) квантитативни</p> <p><input type="radio"/> б) квалитативни</p> <p>1.3. Начин прикупљања података</p> <p>а) анкете, упитници, тестови</p>

б) клиничке процене, медицински записи, електронски здравствени записи

в) генотипови: навести врсту _____

г) административни подаци: навести врсту _____

д) узорци ткива: навести врсту _____

ђ) снимци, фотографије: навести врсту _____

е) текст, навести врсту _____ преглед научне литературе _____

ж) мапа, навести врсту _____

з) остало: описати _____ лабораторијски експерименти и мерења _____

1.3 Формат података, употребљене скале, количина података

1.3.1 Употребљени софтвер и формат датотеке:

а) Excel фајл, датотека _____ .xlsx, .csv _____

б) SPSS фајл, датотека _____ .sta, .stw _____

в) PDF фајл, датотека _____ .pdf _____

д) Текстфајл, датотека _____

е) JPG фајл, датотека _____ .jpg _____

ф) Остало, датотека _____

1.3.2. Број записа (код квантитативних података)

а) број варијабли _____ 30 _____

б) број мерења (испитаника, процена, снимака и сл.) _____ велик број мерења _____

1.3.3. Поновљена мерења

а) да

б) не

Уколико је одговор да, одговорити на следећа питања:

а) временски размак између поновљених мера је _____ дефинисан примењеном методом _____

б) варијабле које се више пута мере односе се на _____ карактеристике испитиваних јединицења _____

в) нове верзије фајлова који садрже поновљена мерења су именоване као _____

Напомене: _____

Да ли формати и софтвер омогућавају дељење и дугорочну валидност података?

а) Да

б) Не

Ако је одговор не, образложити _____

2. Прикупљање података

2.1 Методологија за прикупљање/генерисање података

2.1.1. У оквиру ког истраживачког нацрта су подаци прикупљени?

а) експеримент, навести тип одређивање физичко-хемијских својстава испитиваних једињења применом течне хроматографије на обрнутим фазама

б) корелационо истраживање, навести тип проста линеарна регресија, вишеструка линеарна регресија, хијерархијска кластер анализа, анализа главних компоненти

ц) анализа текста, навести тип прикупљање литературних података

д) остало, навести шта _____

2.1.2 Навести врсте мерних инструмената или стандарде података специфичних за одређену научну дисциплину (ако постоје).

Течна хроматографија на танком слоју на обрнутим фазама (RP-TLC), течна хроматографија под високим притиском на обрнутим фазама (RP-HTLC).

2.2 Квалитет података и стандарди

2.2.1. Третман недостајућих података

а) Да ли матрица садржи недостајуће податке? Да Не

Ако је одговор да, одговорити на следећа питања:

а) Колики је број недостајућих података? _____

б) Да ли се кориснику матрице препоручује замена недостајућих података? Да Не

в) Ако је одговор да, навести сугестије за третман замене недостајућих података _____

2.2.2. На који начин је контролисан квалитет података? Описати

Квалитет података је контролисан на основу статистичке анализе и процене добијених резултата, одбацивањем екстремних резултата мерења и поређењем експериментално добијених резултата и теоријских података.

2.2.3. На који начин је извршена контрола уноса података у матрицу?

Контрола уноса података у матрицу је извршена статистичком контролом изведеног резултата.

3. Третман података и пратећа документација

3.1. Третман и чување података

3.1.1. Подаци ће бити депоновани у Репозиторијум докторских дисертација на Универзитету у Новом Саду

3.1.2. URL адреса <https://cris.uns.ac.rs/searchDissertations.jsf>

3.1.3. DOI _____

3.1.4. Да ли ће подаци бити у отвореном приступу?

- а) Да
- б) Да, али после ембарга који ће трајати до _____
- в) Не

Ако је одговор не, навести разлог _____

3.1.5. Подаци неће бити депоновани у репозиторијум, али ће бити чувани.

Образложење

3.2. Метаподаци и документација података

3.2.1. Који стандард за метаподатке ће бити примењен? _____

3.2.1. Навести метаподатке на основу којих су подаци депоновани у репозиторијум.

Ако је потребно, навести методе које се користе за преузимање података, аналитичке и процедуралне информације, њихово кодирање, детаљне описе варијабли, записа итд.

3.3 Стратегија и стандарди за чување података

3.3.1. До ког периода ће подаци бити чувани у репозиторијуму? _____

3.3.2. Да ли ће подаци бити депоновани под шифром? Да Не

3.3.3. Да ли ће шифра бити доступна одређеном кругу истраживача? Да Не

3.3.4. Да ли се подаци морају уклонити из отвореног приступа после извесног времена?

Да Не

Образложити

4. Безбедност података и заштита поверљивих информација

Овај одељак МОРА бити попуњен ако ваши подаци укључују личне податке који се односе на учеснике у истраживању. За друга истраживања треба такође размотрити заштиту и сигурност података.

4.1 Формални стандарди за сигурност информација/података

Истраживачи који спроводе испитивања с људима морају да се придржавају Закона о заштити података о личности (https://www.paragraf.rs/propisi/zakon_o_zastiti_podataka_o_licnosti.html) и одговарајућег институционалног кодекса о академском интегритету.

4.1.2. Да ли је истраживање одобрено од стране етичке комисије? Да Не

Ако је одговор Да, навести датум и назив етичке комисије која је одобрила истраживање

4.1.2. Да ли подаци укључују личне податке учесника у истраживању? Да Не

Ако је одговор да, наведите на који начин сте осигурали поверљивост и сигурност информација везаних за испитанике:

- a) Подаци нису у отвореном приступу
 - б) Подаци су анонимизирани
 - ц) Остало, навести шта
-
-

5. Доступност података

5.1. Подаци ће бити

- a) јавно доступни
- б) доступни само уском кругу истраживача у одређеној научној области
- ц) затворени

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести под којим условима могу да их користе:

Уз претходно писмено одобрење власника података

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести на који начин могу приступити подацима:

Добијањем шифре од власника података за приступ подацима који су похрањени на Репозиторијуму Универзитета у Новом Саду.

5.4. Навести лиценцу под којом ће прикупљени подаци бити архивирани.

Ауторство-некомерцијално

6. Улоге и одговорност

6.1. Навести име и презиме и мејл адресу власника (аутора) података

Кристина Тот, e-mail: kristina.tot@dh.uns.ac.rs

6.2. Навести име и презиме и мејл адресу особе која одржава матрицу с подацима

Кристина Тот, e-mail: kristina.tot@dh.uns.ac.rs

6.3. Навести име и презиме и мејл адресу особе која омогућује приступ подацима другим истраживачима

Кристина Тот, e-mail: kristina.tot@dh.uns.ac.rs