

Razvoj QSPR modela biorazgradivosti prioriternih onečišćivala

Tolić, Ana

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:907084>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-26**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Ana Tolić

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Ana Tolić

**RAZVOJ QSPR MODELA BIORAZGRADIVOSTI
PRIORITETNIH ONEČIŠĆIVALA**

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Tomislav Bolanča

Članovi ispitnog povjerenstva: prof. dr. sc. Tomislav Bolanča

izv. prof. dr. sc. Šime Ukić

izv. prof. dr. sc. Hrvoje Kušić

Zagreb, rujan 2018.

Prije svega voljela bih se zahvaliti svojem mentoru, prof. dr. sc. Tomislavu Bolanči na trudu, strpljenju i vremenu uloženom kako bih izradila ovaj završni rad.

Također, zahvaljujem se na pruženoj prilici za stjecanje radnog iskustva u fakultetskoj spin-off kompaniji "Comprehensive Water Technologies d.o.o.".

Posebna zahvala Matiji Cvetniću i v. pred. dr. sc. Lidiji Furač, na nesebičnom dijeljenju svojeg znanja i konstantnoj pomoći.

Zahvalila bih se mome Josipu što je uz mene u svim trenucima, što me usređuje, motivira i podržava u svakoj odluci. Činiš mi sve lakše.

Naposljetku, najveće hvala mojoj obitelji. Bez njihove nesebične pomoći i podrške ništa od ovoga ne bi bilo moguće. Hvala na omogućenom bezbrižnom školovanju te zajedničkom teretu koji ste primili od mene te mi ga pomogli nositi.

Ovaj rad je izrađen u sklopu projekta „Modeliranje okolišnih aspekata napredne obrade voda za razgradnju prioriternih onečišćivala“ Hrvatske zaklade za znanost na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.

SAŽETAK

Sve veća upotreba farmaceutika rezultira i rastućom koncentracijom njihovih metaboliziranih aktivnih supstanci koje na kraju završavaju u vodenom okolišu. Akumulacija takvih supstanci nosi cijeli niz negativnih posljedica za cijeli ekosustav koji nas okružuje. Cilj ovoga rada jest razvoj modela za predviđanje biorazgradivosti farmaceutika u vodi. U tu svrhu, istraženo je 18 farmaceutika te je za njih određena biorazgradivost definirana kao omjer BPK_5/KPK . Biorazgradivosti ispitivanih farmaceutika dovedena je u korelaciju sa njihovim svojstvima pomoću QSPR metodologije i alata. Dobiveni modeli potvrđeni su unutrašnjom i vanjskom validacijom. Kao najprimjereniji model uzet je tro-varijabilni model, prema čijim se statističkim parametrima činio najpredvidljiviji. Dobivene vrijednosti parametara modela za predviđanje biorazgradivosti su: $R^2=0,9320$, $Q^2=0,7989$ za set za treniranje te $R^2=0,6490$ u setu za validaciju. Europska direktiva REACH se zalaže za razvijanje QSAR/QSPR modela budući da ne zahtijevaju eksperimentalne analize omjera BPK_5/KPK čime se postižu dragocjene uštede vremena i novaca te se smanjuju i testiranja na životinjama.

Ključne riječi: prioritetna onečišćivala, farmaceutici, biorazgradivost, QSPR

SUMMARY

The increasing use of pharmaceuticals results in increased concentrations metabolized active substances that eventually end up in the aquatic environment. The accumulation of such substances is carrying a whole series of negative consequences for the entire ecosystem around us. The aim of this paper is to develop a model for predicting the biodegradability of pharmaceuticals in water. For this purpose, it had been used 18 different pharmaceuticals. Their biodegradability was determined as the ratio of BOD_5/COD . Biodegradability of the tested pharmaceutical is brought into correlation with their properties using QSPR methodology and tools. The resulting models were confirmed by the internal and external validation, as the most appropriate model is taken 3-variable model, by whose statistical parameters did most predictable. Thus, the values of the model for prediction of biodegradability are $R^2=0.9320$, $Q^2=0.7989$ for training set, and $R^2=0.6490$ for test set. The European directive REACH is committed to develop QSAR/QSPR models because there are not necessary experimental analysis the ratio of BOD_5/COD thereby providing valuable savings in time and money, but also to decrease animal testing.

Key words: priority pollutants, pharmaceuticals, biodegradability, QSPR

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1.PRIORITETNA ONEČIŠĆIVALA	3
2.1.1. Osvrt na zakonodavstvo (REACH i EU direktiva 2013/39/EU)	3
2.2. FARMACEUTICI	5
2.2.1. Farmaceutici u vodi	6
2.3. ISPITIVANI FARMACEUTICI	7
2.3.1. Desloratadin	7
2.3.2. Desvenlafaksin	7
2.3.3. Enroflaksacin.....	8
2.3.4. Etodolak	9
2.3.5. Febuksostat	9
2.3.6. Hidroklortiazid	10
2.3.7. Hidrokortizon	11
2.3.8. Karfilzomib	11
2.3.9. Levamizol.....	12
2.3.10. Lidokain	12
2.3.11. Omeprazol	13
2.3.12. Prokain	14
2.3.13. Sulfadiazin.....	14
2.3.14. Srebrov slufadiazin.....	15
2.3.15. Sulfaguanidin	16
2.3.16. Sulfametazin.....	16
2.3.17. Tetramizol	17

2.3.18. Tobramicin	17
2.4. QSPR MODELIRANJE	18
2.4.1. Molekularni deskriptori	19
2.4.2. Genetički algoritmi	20
2.4.3. Viševeličinska linearna regresija (MLR)	21
2.4.4. Unutarnja validacija QSPR modela	22
3. EKSPERIMENTALNI DIO	24
3.1. KEMIKALIJE I INSTRUMENTI	24
3.2. ANALITIČKE METODE	25
3.3. PROVEDBA EKSPERIMENTA	25
3.4.1. Priprema radnih otopina farmaceutika	25
3.4.2. Određivanje biorazgradivosti	25
3.5. MODELIRANJE	26
3.5.1. Skup podataka	26
3.5.2. Statistička korelacija	26
4. REZULTATI I RASPRAVA	28
4.1. QSPR PREDVIĐANJE BIORAZGRADIVOSTI	28
5. ZAKLJUČAK	35
6. LITERATURA	36
ŽIVOTOPIS	39

1. UVOD

“Voda nije komercijalni proizvod kao neki drugi, nego je naslijeđe koje treba čuvati, zaštititi i shodno tome postupati.” [1] Kako je voda nezaobilazni faktor za normalno funkcioniranje čovjeka, ali i životinja i okoliša, onečišćenje vode je vrlo opasno upravo zbog negativnih efekata koje uzrokuje. “Onečišćenje je izravno ili neizravno unošenje, izazvano ljudskom aktivnošću, tvari ili topline u zrak, vodu ili tlo, što može biti štetno za ljudsko zdravlje ili kvalitetu vodnih ekosustava ili kopnenih ekosustava izravno ovisnih o vodnim ekosustavima, koje dovodi do štete po materijalnu imovinu, šteti vrijednostima okoliša ili drugim legitimnim oblicima korištenja okoliša ili na njih utječe.” [2] Onečišćenje je posljedica širokog područja ljudske aktivnosti poput industrije (kemijska, petrokemijska i farmaceutska), poljoprivrede, ali negativne posljedice mogu doći iz kućanstva zbog sve veće upotrebe deterdženata, sapuna, farmaceutika i kozmetike što doprinosi povećanju koncentracije organskih spojeva koji su stabilni u vodi i na taj način mogu ugroziti količinu i kakvoću pitke vode. Učinci onečišćenja voda su dalekosežni i opasni zbog cijelog niza negativnih posljedica koje uzrokuje kao primjerice akutna i kronična toksičnost u vodenim organizmima, akumulacija onečišćujućih tvari u ekosustavima, gubitak staništa i bioraznolikosti te štetno djelovanje na vodene organizme i ljudsko zdravlje. [3] Unutar Europske Unije očuvanju vodnog okoliša posvećuje se velika briga te su na snazi veliki broj direktiva koje ograničavaju i smanjuju količinu potencijalno opasnih tvari po okoliš. Europska okvirna direktiva donosi popis od 33, a dopunom zakona iz 2013. godine, 45 prioriternih tvari za koje postoji sumnja da predstavljaju rizik za vode i okoliš. Globalna proizvodnja kemikalija povećala se za više od 300 milijuna tona od 1930. godine do danas. Oko 100 000 različitih kemikalija registrirano je na Europskom tržištu od kojih je 10 000 prodano u količinama većim od 10 tona, a daljnjih 20 000 se prodaje na 1-10 tona godišnje. [4]

Farmaceutici iako služe za sprječavanje i liječenje bolesti u ljudi i životinja, mogu imati vrlo štetan utjecaj na okoliš. Abiotičkim (fotoliza i hidroliza) i biotičkim (biološka razgradnja bakterijama i gljivicama) procesima razgradnje mogu nastati novi spojevi, metaboliti farmaceutika koji mogu biti stabilniji i toksičniji u odnosu na početnu molekulu farmaceutika. Farmaceutici kao takvi pripadaju skupini prioriternih onečišćivala iz razloga jer njihovi mogući negativni utjecaj još nije dovoljno istražen, a pritom njihova upotreba, time i koncentracija u okolišu raste. Prema posljednjem Izvješću o potrošnji lijekova u Republici

Hrvatskoj 2015. godine bilo je potrošeno milijun kuna na lijekove više nego 2014. godine što ukazuje na rastuću potrošnju lijekova. [5] Iz tog razloga, a i mnogih drugih je vrlo bitno razviti metodu praćenja njihove koncentracije u okolišu, ali i pogodnih metoda za njihovo uklanjanje iz okoliša.

Parametar od iznimne važnosti za kakvoću i kvalitetu vode jest biorazgradivost koja se definira kao omjer biokemijske razgradnje kisika i kemijske razgradnje kisika (BPK₅/KPK). Što je veći omjer takva tvar je lakše biorazgradiva. REACH inicijativa zahtjeva da su za sve kemikalije proizvedene ili uvezene više od jedne tone godišnje, potrebne informacije o njihovoj biorazgradivosti. REACH potiče uporabu metoda netestiranja kao što je QSAR/QSPR modeliranje (kvantitativni odnos struktura- aktivnost/svojstvo) kako bi se uštedio i novac i vrijeme te smanjio broj životinja u eksperimentalne svrhe. Neki QSAR modeli dostupni su za predviđanje biorazgradivosti.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. PRIORITETNA ONEČIŠĆIVALA

Farmaceutici i njihovi aktivni metaboliti pripadaju skupini novih onečišćivala. Njihovo moguće štetno djelovanje na okoliš, ali i njihova ekotoksikološka svojstva nisu dovoljno istražena te za njih još nije određena maksimalna dopuštena koncentracija u okolišu. [5] Europska Okvirna direktiva o vodama (eng. *Water Framework Directive*) stupila je na snagu u prosincu 2000., tri mjeseca nakon što je izglasana od strane Europskog vijeća te donosi strategiju o onečišćenju voda u europskim zemljama koja uključuje listu od 33 prioriteta onečišćivala (farmaceutika i pesticida) koji predstavljaju rizik za vodene ekosustave i ljudsko zdravlje. Pojedine tvari na listi označene su kao prioritarno opasne tvari zbog svojstva postojanosti, toksičnosti te bioakumulativnosti u okolišu. Cilj zakona je progresivna redukcija razine onečišćenja za 33 prioriteta onečišćivala što bi se postiglo smanjivanjem emisije prirodnih onečišćivala na prirodnu razinu te količine sintetskih onečišćivala blizu nule.

2.1.1. Osvrt na zakonodavstvo (REACH i EU direktiva 2013/39/EU)

Kemijsko onečišćenje površinskih voda predstavlja opasnost za cjelokupni vodni okoliš zbog cijelog niza negativnih posljedica. Zbog toga je potrebno utvrditi uzroke onečišćenja, a emisije onečišćujućih tvari trebaju se rješavati na izvoru, na način koji će biti ekonomičan i učinkovit za okoliš. Europska komisija je u kolovozu 2013. godine usvojila novu Direktivu 2013/39/EU o prioritarnim tvarima koja dopunjava i mijenja Okvirnu direktivu o vodama (ODV) 2000/60/EZ i Direktivu 2008/105/EZ. ODV propisuje reviziju liste prioriteta tvari svake četiri godine. Europska komisija stoga novom direktivom o prioritarnim tvarima propisuje da se revidirani SKVO (standarda kakvoće vodenog okoliša) te postojeće prioriteta tvari uzmu u obzir u planovima upravljanja vodnim područjima za razdoblje 2015. do 2021. Cilj je postići dobro kemijsko stanje površinskih voda do kraja 2021. [6]

Tablica 1. Popis prioritetnih tvari u području vodne politike Europske unije prema direktivi 2013/39/EU [3]

	CAS broj	EU broj	Naziv prioritetne tvari
1	15972-60-8	240-110-8	alaktor
2	120-12-7	204-371-1	antracen
3	1912-24-9	217-617-8	atrazin
4	71-43-2	200-753-7	benzen
5	ne primjenjuje se	ne primjenjuje se	bromirani difenil-eteri
6	7440-43-9	231-152-8	kadmij i njegovi spojevi
7	85535-84-8	287-476-5	kloroalkani, c10-c13
8	470-90-6	207-432-0	klorfenvinfos
9	2921-88-2	220-864-4	klorpirifos
10	107-06-2	203-458-1	1,2-dikloroetan
11	75-09-2	200-838-9	diklorometan
12	117-81-7	204-211-0	di(2-etilheksil)ftalat
13	330-54-1	206-354-4	diuron
14	115-29-7	204-079-4	endosulfan
15	206-44-0	205-912-4	fluoroanten
16	118-74-1	204-273-9	heksaklorobenzen
17	87-68-3	201-765-5	heksaklorobutadien
18	608-73-1	210-168-9	heksaklorocikloheksan
19	34123-59-6	251-835-4	izoproturon
20	7439-92-1	231-100-4	olovo i njegovi spojevi
21	7439-97-6	231-106-7	živa i njezini spojevi
22	91-20-3	202-049-5	naftalen
23	7440-02-0	231-111-4	nikal i njegovi spojevi
24	ne primjenjuje se	ne primjenjuje se	nonilfenoli
25	ne primjenjuje se	ne primjenjuje se	oktilfenoli
26	608-93-5	210-172-0	pentaklorobenzen
27	87-86-5	201-778-6	pentaklorofenol
28	ne primjenjuje se	ne primjenjuje se	poliaromatski ugljikovodici
29	122-34-9	204-535-2	simazin
30	ne primjenjuje se	ne primjenjuje se	tributilkositreni spojevi
31	12002-48-1	234-413-4	triklorobenzeni
32	67-66-3	200-663-8	triklorometan
33	1582-09-8	216-428-8	trifluralin
34	115-32-2	204-082-0	dikofol
35	1763-23-1	217-179-8	perfluorooktan sulfonička kiselina i njezini derivati
36	124495-18-7	ne primjenjuje se	kinoksifen
37	ne primjenjuje se	ne primjenjuje se	dioksini i spojevi poput dioksina
38	74070-46-5	277-704-1	aklonifen
39	42576-02-3	255-894-7	bifenoks
40	28159-98-0	248-872-3	cibutrin
41	52315-07-8	257-842-9	cipermetrin
42	62-73-7	200-547-7	diklorvos
43	ne primjenjuje se	ne primjenjuje se	heksabromociklododekan
44	76-44-8/1024-573	200-962-3/213-831-0	heptaklor i heptaklor epoksid
45	886-50-0	212-950-5	terbutrin

Preko 2000 spojeva je razmatrano zbog sumnje da predstavljaju određeni rizik za vodeni okoliš. Kako bi se utvrdio utjecaj spojeva na ljudsko zdravlje, promatranim spojevima su se uspoređivala fizikalno-kemijska, ekotoksikološka i toksična svojstva. Postupkom prioritizacije formiraju se popisi tvari prema njihovoj opasnosti za vodni okoliš te prema

njihovoj prisutnosti u vodama. Nakon toga posebnom se metodologijom određuju vrijednosti SKVO. Prilikom procesa odabira tvari čije je uvrštenje na listu prioriternih tvari predloženo, provedena je široka stručna i znanstvena rasprava, konzultirani su različiti sudionici, uzimajući u obzir nova znanstvena i tehnička dostignuća. Nova, dopunjena lista donosi 45 prioriternih tvari (tablica 1.) koje predstavljaju rizik za vodni okoliš. Na postojeću listu prioriternih onečišćivala, dodano je 12 novih tvari prema prijedlogu Europske komisije među kojima se nalaze i 3 farmaceutika: diklofenak, 17β -estradiol i 17α -etinilestradiol. [3] Dodatna mjera kojom se prati i utvrđuje prisutnost potencijalno opasnih tvari po okoliš je Europska uredba iz 2007. godine pod skraćenim imenom REACH. Izvorni naziv "*Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemical*" podrazumijeva postupke registracije, procjene, autorizacije (odobravanja) i ograničavanja uporabe tvari. Ova Uredba je dala zadatak proizvođačima, uvoznicima i daljnjim korisnicima da osiguraju tvari koje proizvode, stavljaju na tržište odnosno koriste ne budu štetne za zdravlje ljudi ili okoliš. Nadalje, cilj REACH-a je osiguranje visoke razine zaštite zdravlja ljudi i okoliša te promicanje alternativnih metoda za procjenu opasnosti tvari, kao i stavljanje u slobodan promet tvari na unutarnjem tržištu te istovremeno povećanje konkurentnosti i inovativnosti. [7]

2.2. FARMACEUTICI

Farmaceutici su prirodni ili sintetski organski spojevi koji se primjenjuju u svrhu liječenja, prevencija i tretiranja raznih vrsta bolesti kod ljudi i životinja. U farmaceutike se ubrajaju i spojevi koji se koriste za ubrzavanje rasta mišića kod životinja zbog čega se često koriste u veterini. [5] Veliki broj farmaceutika nakon primjene se ne adsorbira potpuno zbog čega se od 30 do 90% upotrijebljene količine nepromijenjeno izluči iz organizma. Otpadne vode iz kuća, zgrada, bolnica i drugih objekata su također jedan od izvora farmaceutika u okolišu. Izvori onečišćenja vodnog okoliša su i lijekovi kojima je istekao rok trajanja koji se nepropisno zbrinjavaju na odlagalištima otpada te u oborinskim vodama dolazi do njihovog procjeđivanja u podzemne vodotokove. Smatra se da je ovakav način najgori oblik onečišćenja. [8]

Suvremeni farmaceutici su mali organski spojevi vrlo male molekulske mase (do 500 Da) koje karakterizira liofilnost i umjerena topljivost u vodi. Te karakteristike im omogućuju bioraspoloživost i biološku aktivnost. Čak i u vrlo malim dozama postižu farmakološke i

fiziološke učinke, ali unatoč malim, mikrogramskim ili nanogramskim koncentracijama, njihova prisutnost može izazvati vrlo negativne posljedice zbog dugoročnog utjecaja na zdravlje ljudi te kopnene i vodene ekosustave.[9] Prema podacima Europske unije, za zdravstvenu zaštitu ljudi je odobreno oko 3 000 različitih farmaceutskih aktivnih spojeva u Europskoj uniji dok se u svijetu koristi ukupno oko 4 000 farmaceutskih aktivnih spojeva čija godišnja proizvodnja iznosi više od 100 000 tona. [10, 11] Razlozi sve veće potražnje lijekova su pojava novih, neistraženih bolesti, demografski razlozi, širenje tržišta itd. Široki raspon farmaceutika i proizvoda za osobnu njegu prijavljeni su kao prioritetna onečišćivala među kojima su antibiotici, antiseptici, analgetici, kontrastna sredstva za rendgenska zračenja i mnogi drugi.[12]

2.2.1. Farmaceutici u vodi

Nakon primjene lijeka, u ljudskom organizmu jedan dio prolazi kroz različite metaboličke procese, izlučuje se kroz bubrege i jetru pri čemu nastaju metaboliti koji su često polarniji od polaznog spoja. Zbog toga su topljivi u vodi, a time i često otrovniji od polazne supstance. [10, 11] Zbog fizikalno-kemijskih svojstava aktivne tvari farmaceutika i njene stabilnosti, farmaceutici lako prolaze kroz prirodne filtre i postrojenja za obradu otpadnih voda pa konvencionalne metode obrade otpadnih voda nisu potpune i teško uklanjaju farmaceutike. [13] Farmaceutici dospijevaju i u komunalne otpadne vode. Farmaceutski aktivne tvari mogu dospjeti u površinske i podzemne vode što će ovisiti o učinkovitosti njihove obrade i njihovom kemijskom sastavu. "Koncentracija nekog lijeka ili metabolita u pojedinom dijelu ekosustava ovisi o njegovoj biogeokemijskoj reaktivnosti, tj. o otpornosti na fotokemijsku i mikrobiološku razgradnju te afinitetu vezanja na krute čestice." [10] Jedan od bitnih načina ulaska farmaceutika u okoliš su bolnice odnosno nepropisna odlaganja neiskorištenih lijekova, te stočne farme na kojima se upotrebljavaju različiti lijekovi.

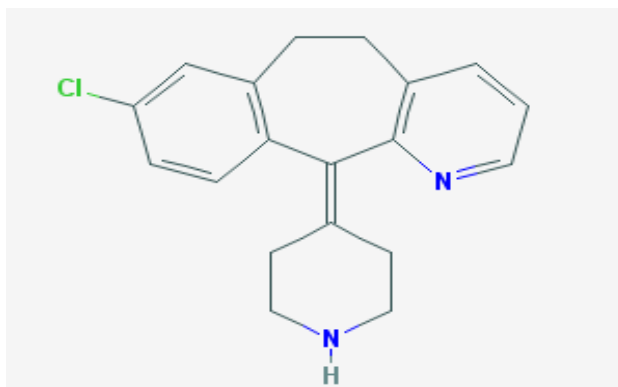
Upotrebom stajskog gnojiva antibiotici dospijevaju na poljoprivredno tlo, a ispiranjem i u podzemne vode. Gnojenjem poljoprivrednih zemljišta aktivnim muljem farmaceutici dospijevaju u tlo jer je takvo gnojivo produkt obrade otpadnih voda. Međutim, izuzetno onečišćujući izvor površinskih i podzemnih voda je farmaceutska industrija. Farmaceutici su nađeni u ispustima nakon obradbe otpadnih voda, u površinskim vodama, podzemnim vodama te u vodovodnoj pitkoj vodi. Koncentracije koje su pronađene su niske, ali raste

zabrinutost zbog moguće bioakumulacije i dugoročnog utjecaja na ljude i vodene organizme. Pronađene koncentracije su ispod toksične granice za ljude, ali ostavljaju velike utjecaje na ekosustave. Postupak zbrinjavanja takvih voda vrlo je specifičan i složen jer podrazumijeva kombinaciju različitih načina obrade kako bi se ove vode pročistile te zadovoljili propisani zakonski uvjeti za ispušt u okoliš. [10]

2.3. ISPITIVANI FARMACEUTICI

2.3.1. Desloratadin

Desloratadin ($M_r = 310,825$ g/mol) je piperidinski derivat molekulske formule $C_{19}H_{19}ClN_2$ sa selektivnim Histamin-1 H1 antihistaminergičnim svojstvima. Desloratadin smanjuje tipične histaminergične učinke na H1-receptore u glatkim mišićima bronha, kapilarama i glatkim mišićima gastrointestinalnog sustava, uključujući vazodilataciju, bronhokonstrukciju, povećanu vaskularnu propusnost, bol, svrbež i spazmatične kontrakcije glatkih mišića gastrointestinalnog sustava. Desloratadin pomaže u kontroli alergijske reakcije i njezinih simptoma. Topljiv je u vodi, a topljivost iznosi 21,6 mg/L. [14]

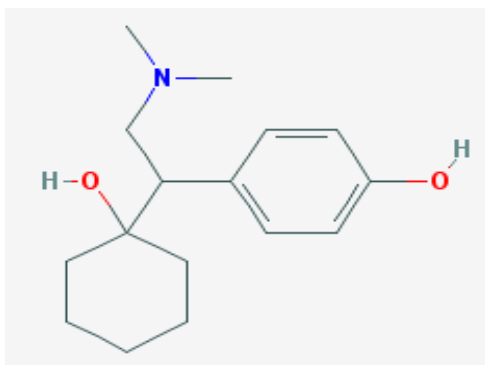


Slika 1. Molekulska struktura desloratadina[14]

2.3.2. Desvenlafaksin

Desvenlafaksin ($M_r = 263,381$ g/mol) je sintetski biciklilni derivat fenetilamina molekulske formule $C_{16}H_{25}NO_2$ s antidepresivnim djelovanjem. Desvenlafaksin je selektivni

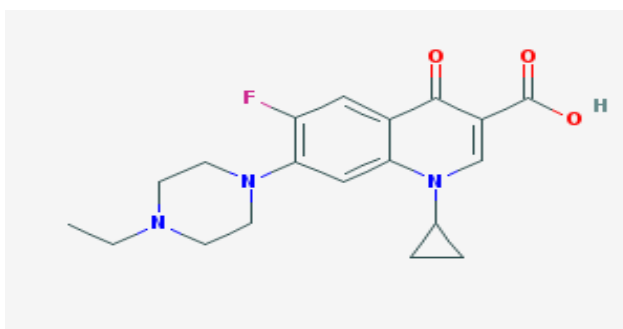
inhibitor ponovne pohrane serotonina i norepinefrina zbog visokog afiniteta vezanja na presinaptičke serotoninske i norepinefrinske transportere. Blokiranjem oba transportera, ovo sredstvo produljuje neurotransmitterske aktivnosti i serotonina i norepinefrina, čime se ublažava depresivno stanje. Spoj je topljiv je u vodi, a topljivost pri sobnoj temperaturi iznosi 3700 mg/L. [15]



Slika 2. Molekulska struktura desvenlafaksina [15]

2.3.3. Enroflaksacin

Enroflaksacin ($M_r = 359,401$ g/mol) je veterinarski antibakterijski agens molekulske formule $C_{19}H_{22}FN_3O_3$ odnosno sintetski derivat kinolona karboksilne kiseline, uvršten u skupinu fluorokinolona ili kinolona druge generacije. U osjetljivim mikroorganizmima koči aktivnost topoizomeraze II (sin. DNA-giraza) i topoizomeraze IV, od kojih DNA-giraza u bakterijskoj jezgri katalizira početak replikacije DNA.



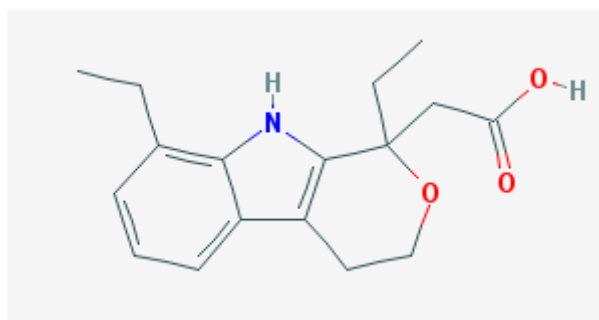
Slika 3. Molekulska struktura enroflaksacina [16]

Fluorokinoloni u vrlo malim koncentracijama djeluju baktericidno i mikoplazmacidno. Ima antibakterijsko djelovanje protiv širokog spektra Gram-negativnih i Gram-pozitivnih

bakterija. Baktericidna aktivnost enrofloksacina ovisi o koncentraciji, pri čemu se smrt stanica osjetljiva na bakterije događa unutar 20-30 minuta izlaganja. Topljivost u vodi je veća od 53,9 mg/L, ali je slabo topljiv u vodi pri pH=7. [16]

2.3.4. Etodolak

Etodolak ($M_r = 287,359$ g/mol) je nesteroidni protuupalni lijek s protuupalnim, analgetičkim i antipiretskim svojstvima.



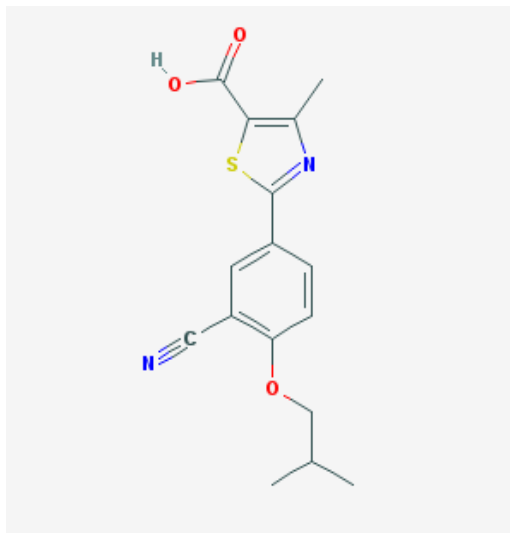
Slika 4. Molekulska struktura etodolaka [17]

Molekulska struktura spoja je $C_{17}H_{21}NO_3$. Ima sposobnost inhibiranja sinteze prostaglandina, ublažavanja znakova i simptoma reumatoidnog artritisa i osteoartritisa. Slično kao i drugi NSAID, protuupalni učinci etodolaka nastaju zbog inhibicije enzima ciklooksigenaze (COX). Na taj način se smanjuje sinteza perifernih prostaglandina uključenih u posredovanje upale. Etodolak se veže na gornji dio aktivnog mjesta COX enzima i sprečava njegov supstrat, arahidonsku kiselinu, da uđe u aktivno mjesto. Etodolak je, netopljiv u vodi, svega 16 mg/L, ali je topljiv u alkoholima, kloroformu, dimetil sulfoksidu i poletilen glikolu. [17]

2.3.5. Febuksostat

Febuksostat ($M_r = 316,375$ g/mol) je relativno novi lijek molekulske formule $C_{16}H_{16}N_2O_3S$ selektivan, nepurinski inhibitor ksantin oksidaze, enzima koji katalizira nastajanje mokraćne kiseline u organizmu. Nakon oralne primjene, febuksostat selektivno i nekompetitivno inhibira aktivnost ksantin oksidaze, enzima koji pretvara oksipurine,

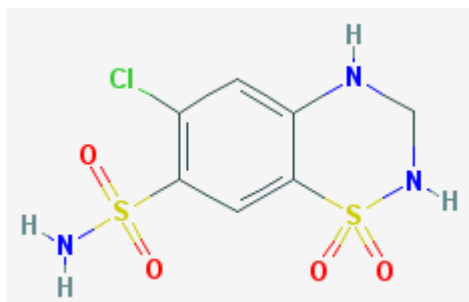
uključujući hipoksantin i ksantin, u mokraćnu kiselinu. Kroz inhibiciju ksantin oksidaze, proizvodnja mokraćne kiseline se smanjuje i smanjuju se razine mokraćne kiseline u serumu. Učinkovit je u prevenciji i smanjenju učestalosti akutnih napada gihta. Gotovo je netopljiv u vodi, slabo topljiv u metanolu i etanolu te slobodno topiv u N,N-dimetilformamidu. [18]



Slika 5. Molekulska struktura feboksostata [18]

2.3.6. Hidroklortiazid

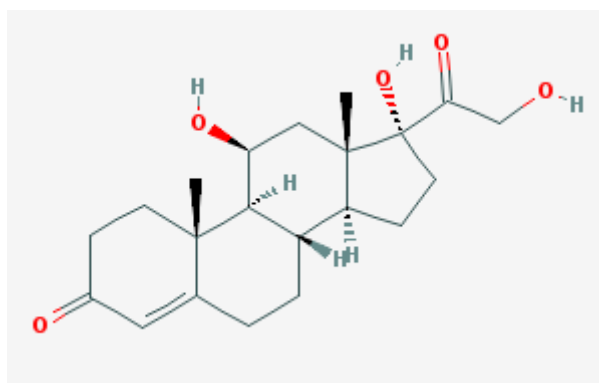
Hidroklortiazid ($M_r = 297,728$ g/mol) je biciklički sulfonamidni diuretik molekulske formule $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ koji se smatra prototipom tiazidskih diuretika. Smanjuje reapsorpciju elektrolita iz bubrežnih tubula. To rezultira povećanim izlučivanjem vode i elektrolita, uključujući natrij, kalij, klorid i magnezij. Koristi se za liječenje nekoliko poremećaja uključujući edem, hipertenziju, dijabetes insipidus i hipoparatiroidizam. Topljivost u vodi pri sobnoj temperaturi iznosi 722 mg/L. [19]



Slika 6. Molekulska struktura hidroklortiazida [19]

2.3.7. Hidrokortizon

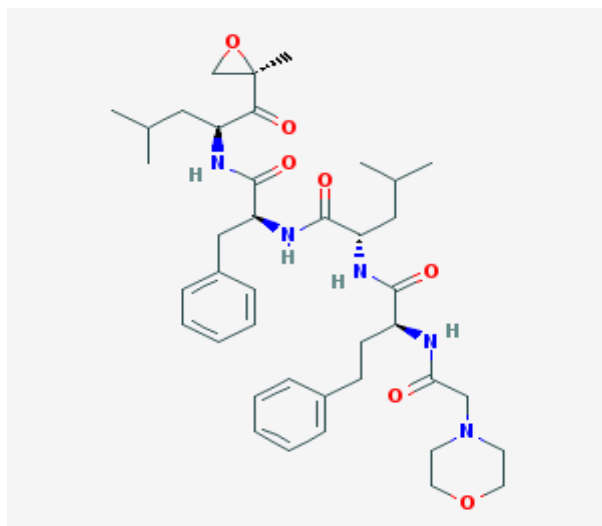
Hidrokortizon ($M_r = 362,466$ g/mol) je kortikosteroid koji je kao takav sintetički ili semisintetički analog prirodnog hidrokortiznog hormona kojeg proizvode nadbubrežne žlijezde primarnih glukokortikoida i manjih mineralokortikoidnih učinaka. Kao agonist glukokortikoidnog receptora, hidrokortizon promiče katabolizam proteina, glukoneogenezu, stabilnost kapilarne stijenke, izlučivanje kalcija iz bubrega i potiskuje imunološke i upalne reakcije. Može se koristiti kao injekcija ili topikalno te se koristi za liječenje upala, alergija, bolesti kolagena, astme, adrenokortikalnog nedostatka, šoka i nekih neoplastičnih stanja. Topljivost u vodi pri sobnoj temperaturi iznosi 0,320 mg/L.[20]



Slika 7. Molekulska struktura hidrokortizona [20]

2.3.8. Karfilzomib

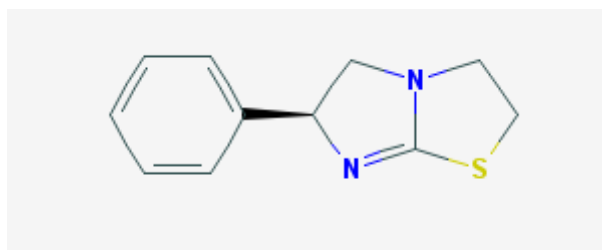
Karfilzomib ($M_r = 719,924$ g/mol) je derivat epoksomicina molekulske formule $C_{40}H_{57}N_5O_7$ koji se koristi za liječenje vatrene multiplice mijeloma. Karfilzomib se ireverzibilno veže i inhibira aktivnost kimotripsina 20S katalitičke podjedinice proteasoma, kompleksa proteaze koja je odgovorna za degradiranje velikog broja staničnih proteina. Inhibicija proteasoma posredovane proteolizom rezultira akumulacijom ubikvitiniranih proteina, što može dovesti do zaustavljanja staničnog ciklusa, izazvati indukciju apoptoze i inhibiciju rasta tumora. Spoj je netopljiv u vodi, ali je topljiv u metanolu, etanolu i DMSO. [21]



Slika 8. Molekulska struktura karfilzomiba [21]

2.3.9. Levamizol

Levamizol ($M_r = 204,291$ g/mol) je širokospektarni antihelmintik molekulske formule $C_{11}H_{12}N_2S$ koji istovremenom primjenom s fluorouracilom u liječenju raka debelog crijeva Dukosovog stadija vraća imunološku funkciju kroz stimulirajuće stvaranje protutijela, pojačava aktivnost T stanica i potiče funkciju makrofaga. Djeluje protiv najvažnijih želučano-crijevnih i plućnih nematoda, a u osjetljivim nematodima, levamizol blokira neuromuskularni prijenos podražaja. Topljivost u vodi iznosi 0,210 mg/L. [22]

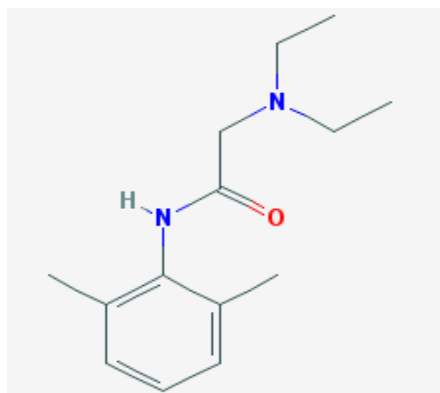


Slika 9. Molekulska struktura levamizola [22]

2.3.10. Lidokain

Lidokain ($M_r = 234,343$ g/mol) je sintetički aminoetilamid molekulske formule $C_{14}H_{22}N_2O$ koji može djelovati kao lokalni anestetik ili antiaritmik. Lidokain stabilizira neuronsku membranu vezivanjem i inhibiranjem natrijevih kanala čime čime se inhibiraju

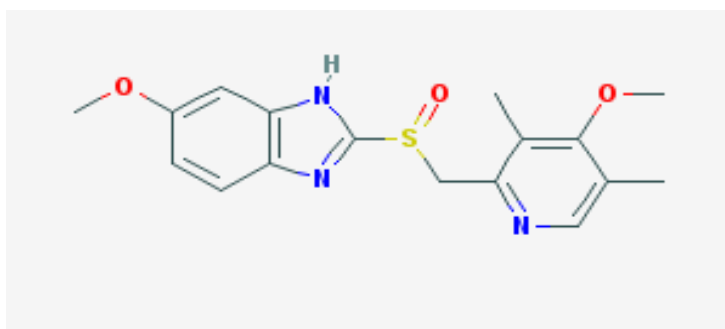
fluksevi iona potrebni za pokretanje i provođenje impulsa, ali i za ostvarivanje efekata lokalne anestezije. Topljivost u vodi iznosi 0,410 mg/L pri 30 °C. Jako je topljiv u alkoholu i kloroformu, a slabo topljiv u eteru i benzenu. [23]



Slika 10. Molekulska struktura lidokaina [23]

2.3.11. Omeprazol

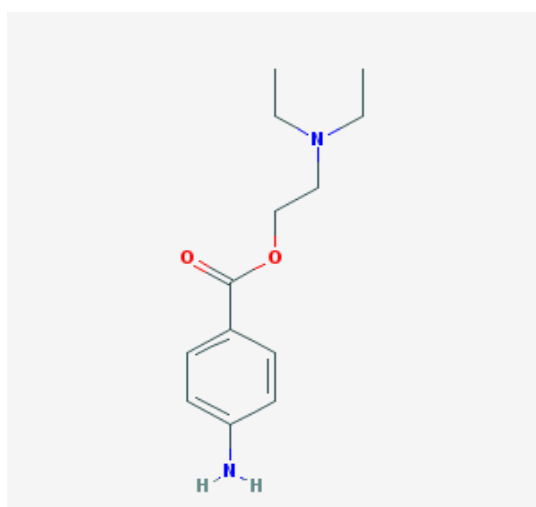
Omeprazol ($M_r = 345,417$ g/mol) je inhibitor protonske pumpe (PPIs) i snažan inhibitor želučane kiselosti. Zbog tih karakteristika, široko se koristi u terapiji gastroezofagealnog refluksa i peptičkih bolesti. Terapija omeprazola i esomeprazola (S-izomer omeprazola) povezana su s malim povećanjem prolaznih i asimptomatskih povećanja serumskih aminotransferaza i rijetka su oštećenja jetre. Molekulska formula spoja je $C_{17}H_{19}N_3O_3S$. Spoj je jako slabo topljiv u vodi, svega 53,4 mg/L, slobodno topljiv u etanolu i metanolu te slabo topljiv u acetonu i izopropanolu. [24]



Slika 11. Molekulska struktura omeprazola [24]

2.3.12. Prokain

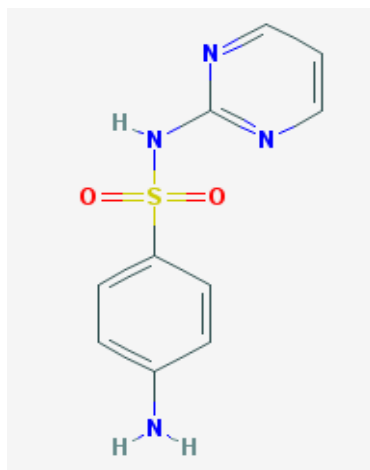
Prokain ($M_r = 236,315$ g/mol) je derivat benzojeve kiseline molekulske formule $C_{13}H_{20}N_2O_2$. Djeluje djeluje kao lokalni anestetik ili antiaritmik kratkog trajanja djelovanja. Prokain djeluje uglavnom sprječavanjem natrijevog protoka kroz naponske natrijeve kanale u neuronskoj staničnoj membrani perifernih živaca. Kada se dotok natrija prekine, ne može se pojaviti akcijski potencijal čime se inhibiraju ioni potrebni za provođenje i pokretanje impulsa. Topljivost u vodi pri $30\text{ }^\circ\text{C}$ iznosi 9450 mg/L. Topljiv je u etanolu, etil eteru i benzenu.[25]



Slika 12. Molekulska struktura prokaina [25]

2.3.13. Sulfadiazin

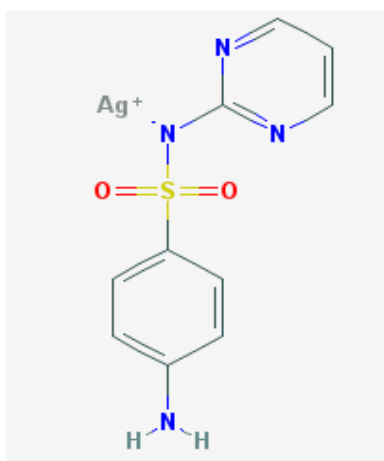
Sulfadiazin ($M_r = 250,276$ g/mol) je sintetski derivat pirimidinil sulfonamida molekulske formule $C_{10}H_{10}N_4O_2S$, kratkog bakterijskog djelovanja. U kombinaciji s pirimetaminom liječi toksoplazmozu bolesnika sa sindromom stečene imunodeficijencije i kod novorođenčadi s kongenitalnim infekcijama. Topljivost u vodi pri sobnoj temperaturi iznosi $0,077$ mg/L. [26]



Slika 13. Molekulska struktura sulfadiazina [26]

2.3.14. Srebrov sulfadiazin

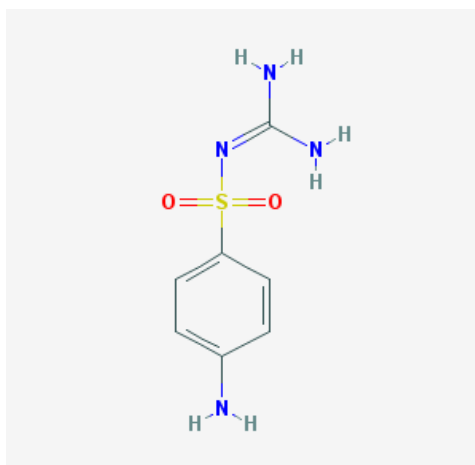
Srebro sulfadiazin ($M_r = 357,136$ g/mol) je sulfonamid molekulske formule $C_{10}H_9AgN_4O_2S$ s antibakterijskim i antifungalnim djelovanjem. Srebrni sulfadiazin može djelovati kroz kombinaciju aktivnosti srebra i sulfadiazina. Upotrebljava se za liječenje i prevenciju infekcije na dijelovima kože s opekotinama 2. i 3. stupnja. Maksimalna koncentracija topljivosti u vodi je 0,00787 mg/L. [27]



Slika 14. Molekulska struktura srebrovog sulfadiazina [27]

2.3.15. Sulfaguanidin

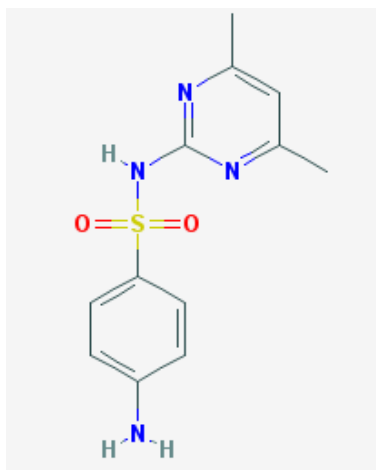
Sulfaguanidin ($M_r = 214,243$ g/mol) je derivat guanidin sulfanilamida molekulske formule $C_7H_{10}N_4O_2S$, a upotrebljava se u veterinarskoj medicini. Sulfaguanidin djeluje kao antimikrobno sredstvo za liječenje bacilarne dizenterije i enteričkih infekcija. Topljivost u vodi pri sobnoj temperaturi iznosi <1 mg/L. [28]



Slika 15. Molekulska struktura sulfaguanidina [28]

2.3.16. Sulfametazin

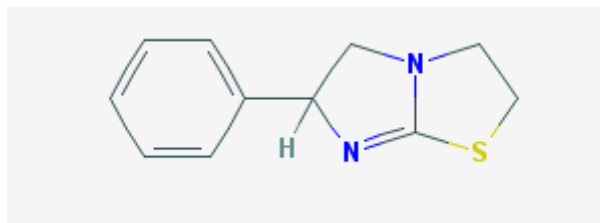
Sulfametazin ($M_r = 278,33$ g/mol) je sulfanilamidno antiinfektivno sredstvo sa širokim spektrom antimikrobnih djelovanja sličnim ostalim sulfonamidima. Molekulska formula spoja je $C_{12}H_{14}N_4O_2S$. Učinak se temelji na kompetitivnoj inhibiciji ugradnje p-aminobenzojeve kiseline u molekulu folne kiseline, koja u protoplastu osjetljivih uzročnika sudjeluje u metabolizmu DNA, RNA i bjelančevina. Antimikrobni spektar tog sintetskog kemoterapeutika obuhvaća Gram-pozitivne koke, hemolitičke streptokoke i pojedine stafilokoke, a djeluje i na bacile, Gram-negativne pasterele i salmonele, te na pojedine rikecije i kokcidije. Sulfadimidin je danas najčešće rabljeni sulfonamid u veterinarskoj praksi, neznatno je toksičan, životinje ga izvrsno podnose, a ni u kiseloj mokraći ne stvara kristale. Topljivost u vodi pri 29 °C iznosi $1,5$ mg/L. Topljiv je u acetonu, slabo topljiv u alkoholu te jako slabo u eteru. [29, 30]



Slika 16. Molekulska struktura sulfametazina [29]

2.3.17. Tetramizol

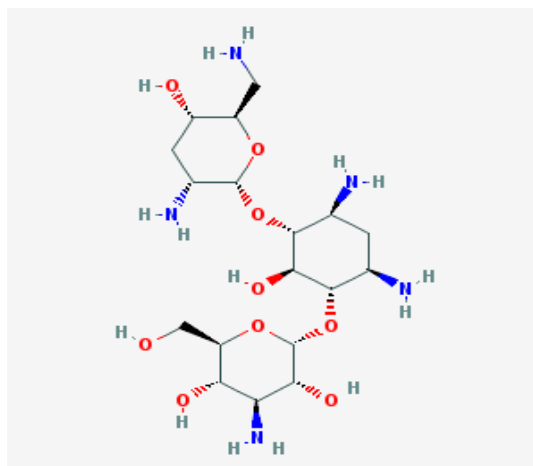
Tetramizol ($M_r = 204,291$ g/mol) je širokospektralni antihelmintik upotrebljavan u veterinarskoj medicini. Molekulska formula je $C_{11}H_{12}N_2S$. Koristi se za ubijanje okruglice u probavnom traktu i laganih domaćih životinja. Nakon ulaska u tijelo crva, djeluje na njegov središnji živčani sustav, što uzrokuje crv paralizu. Djeluje protiv najvažnijih želučano-crijevnih i plućnih nematoda. [31, 32]



Slika 17. Molekulska struktura tetramizola [31]

2.3.18. Tobramicin

Tobramicin ($M_r = 467,52$ g/mol) je aminoglikozidni antibiotik molekulske formule $C_{18}H_{37}N_5O_9$. Proizvodi se iz *Streptomyces tenebrarius*, a karakterizira ga bakteriostatska aktivnost te se koristi za liječenje umjerenih do teških bakterijskih infekcija uslijed osjetljivih organizama. Topljivost u vodi je mala te iznosi 1 mg/L. Također, slabo je topljiv u etanolu, a gotovo netopljiv u kloroformu. [33]



Slika 18. Molekulska struktura tobramicina [33]

2.4. QSPR MODELIRANJE

Danas vrlo veliku važnost u kemiji i biokemiji imaju metode koje dovode u kvantitativni odnos strukturu i biološku aktivnost QSAR (engl. *quantitative structure–activity relationship*) te strukturu i svojstvo molekule QSPR (engl. *quantitative structure-property relationship*). QSPR je metoda kojom se bilo koje fizikalno-kemijsko svojstvo dovodi u kvantitativnu vezu s nekim strukturnim parametrom (deskriptorom). QSPR modeliranjem moguće je dobiti strukture s željenim svojstvima. "Time je omogućen odabir najperspektivnijih spojeva za daljnju sintezu i istraživanje u svrhu dobivanja ljekovitih supstanci." [34] Međutim, moguća je i eliminacija molekula kojima nedostaju određena svojstva ili onih za koje se predviđa da će imati toksičan odgovor u daljnjem razvoju. Dakle, QSPR ubrzava proces razvoja novih molekula za upotrebu kao lijekova, materijala, aditiva ili u bilo koju drugu svrhu. U svrhu dobivanja odgovarajućih modela, mogu se koristiti teoretski, empirijski deskriptori ili deskriptori izvedeni iz lako dostupnih eksperimentalnih svojstava struktura. Mnogi su deskriptori jednostavna molekulska svojstva što omogućuje uvid u fizikalno-kemijsku prirodu svojstava koja se razmatra. [34, 35] Kvantitativni odnos strukture i svojstava (QSAR/QSPR) temelji se na pretpostavci da varijacija danog fizikalno- kemijskog svojstva u skupini kemikalija, Y, strogo ovisi o varijacijama u njihovoj molekularnoj strukturi, X. Na temelju eksperimentalno izmjerenih vrijednosti fizikalno- kemijskih svojstava Y za prikladan broj spojeva i strukturne deskriptore X za sve spojeve, moguće je izgraditi odgovarajući model u sljedećem formatu: $Y=f(X)$.

Klasični postupci razvijanja QSPR modela uključuju pet koraka:

- (i) prikupljanje eksperimentalnih podataka;
- (ii) izračunavanje molekularnih deskriptora;
- (iii) kalibriranje i interna validacija QSPR modela;
- (iv) vrednovanje izvana razvijenog modela; i
- (v) primjena modela (predviđanje podataka za netestirane spojeve).

Prvi korak podrazumijeva sastavljanje liste velikog broja spojeva, za koje je eksperimentalno određeno svojstvo poznato. Idući korak je utvrđivanje geometrije molekula prilikom čega su poželjni teoretski optimizirani geometrijski podatci kako bi se izbjegle sustavne pogreške pri izračunu. Nadalje, potrebno je odrediti molekulske deskriptore te izbor deskriptora. Kao deskriptori se mogu koristiti sve brojčane vrijednosti koje opisuju molekulu. Odabir deskriptora za korištenje obično se vrši računanjem korelacijskog koeficijenta. Korelacijski koeficijent je mjera linearne povezanosti deskriptora i svojstva te ako je vrijednost korelacijskog koeficijenta jednaka 1, on točno opisuje svojstvo, a ako je vrijednosti 0 deskriptor se ne upotrebljava za daljnji proračun. Deskriptori korišteni u stvaranju izraza za predviđanje svojstava imaju najveće vrijednosti koeficijenta korelacije.

Iako je QSPR široko primijenjen u farmaceutskoj industriji, za otkrivanje lijekova, postoji samo nekoliko doprinosa usmjerenih na predviđanje fizičke/kemijske osobine ključne za procjenu okoliša ponašanja ove klase onečišćujućih tvari. Primjena modeliranja u procjeni rizika za okoliš za novo dizajnirane lijekove omogućila bi predviđanje njihovih važnih fizikalno-kemijskih svojstava i njihove dugoročne sudbine u okolišu. [36]

2.4.1. Molekularni deskriptori

Molekularni deskriptori su „numeričke vrijednosti povezane s kemijskim sastavom za usporedbu kemijske strukture s različitim fizikalnim svojstvima, kemijskom reaktivnošću ili biološkom aktivnošću“. QSPR model matematički prikazuje odziv kemijskog spoja (svojstvo) kao funkciju deskriptora. Dijele se na eksperimentalne i teorijske. Eksperimentalni deskriptori su rezultat nekog standardiziranog pokusa kao primjerice molekulska masa, topljivost, koeficijent raspodjele, molarna refraktivnost, dipolni moment, polarizabilnost te općenito fizikalno-kemijska svojstva dok su teorijski molekularni deskriptori, deskriptori izvedeni iz simboličkog prikaza molekule. Osnovna razlika između dviju vrsta deskriptora je u tome što

teorijski deskriptori ne sadrže statističku pogrešku uzrokovanu pogreškama tijekom eksperimenta, ali sadrže inherentne pogreške unesene izračunima. Pogreška se za niz povezanih spojeva smatra približno konstantnom, a jedino za najjednostavnije teoretske deskriptore ne postoji nikakva vrsta pogreške jer se izvode iz egzaktnih matematičkih teorija. [37] Molekularni deskriptori se prema dimenzijama strukturne informacije dijele na:

- 0D- opisuju svojstva molekula, npr. broj atoma, broj veza
- 1D- daju informacije o broju i svojstvima supstituenata, fragmenata, funkcionalnih skupina
- 2D- strukturni parametri, daju informaciju o vezama između atoma u molekuli, topološki parametri (najveća skupina teorijskih deskriptora)
- 3D- opisuju konfiguraciju molekule; elektronski parametri, prostorni parametri

Odabir molekularnih deskriptora ovisi o njihovoj mogućnosti odnosno jednostavnosti interpretacije. Vrlo je bitno da među odabranim deskriptorima nema onih koji nose istu informaciju i koji su međusobni slabo korelirani. [38]

2.4.2. Genetički algoritmi

Genetički algoritam (GA) je primjena raznih metoda pretraživanja i optimizacije, temeljeno na pravilima darvinističke, prirodne evolucije. [39] U GA, potencijalna rješenja za proučavani problem su podskupovi molekularnih deskriptora. Oni su prikazani kao strukture podataka zvani kromosomi, koji su binarni nizovi duljine N (ukupan broj dostupnih značajki), s nulom ili jedinicom na poziciji koja ukazuje na odsutnost ili prisutnost značajke u setu. Procjenjuje se pogodnost svakog kromosoma. Genetički algoritam podrazumijeva proces u dva stupnja. Započinje sa početnom populacijom kromosoma koja se obično generira nasumično, a zatim GA radi u ciklusima. Izbor se primjenjuje na trenutnu populaciju kako bi se stvorila srednja populacija. Nova populacija je rezultat genetske manipulacije kromosoma u srednjoj populaciji rekombinacijom i /ili mutacijom. Križanje podrazumijeva izmjenu gena između kromosoma, a mutacija se sastoji od nasumične zamjene gena kromosoma s genima koji nisu prisutni u kromosomu pri čemu je njezina uloga vratiti izgubljeni genetički materijal. Kromosomi se procjenjuju nakon svakog ciklusa pomoću validacijskih funkcija. Izmjena

populacija se ponavlja do zadovoljavajućeg rješenja ili dok se ne postignu specifični kriteriji za prestanak. Glavna upotreba GA u QSAR/QSPR-u jest odabir varijabli i identifikacija najboljeg modela. Genetički algoritam obrađuje izbor, dok paradigma modela generira funkciju procjene. [39, 40]

2.4.3. Viševeličinska linearna regresija (MLR)

Viševeličinska linearna regresija je jedna od najranijih korištenih metoda, ali i najčešće korištena metoda pri razvoju QSPR modela zbog svoje jednostavnosti, reproducibilnosti i jednostavne interpretacije. "Ona pretpostavlja da postoji linearna veza između skupa nezavisnih varijabli (eng. *independent variables*) koje opisuju strukturu molekule i zavisnih varijabli (eng. *dependent variables*) koje opisuju njihovu aktivnost." [41] Opća MLR jednačina ima oblik:

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + \dots + a_nX_n \quad (1)$$

gdje je Y je zavisna varijabla, a X_1, X_2, \dots, X_n deskriptori (svojstva nezavisne varijable), prikazani s pripadajućim regresijskim koeficijentima a_1, a_2, \dots, a_n , dok a_0 predstavlja konstantu modela (odsječak).

Iako se koristi u velikoj mjeri, MLR je osjetljiv na deskriptore koji su međusobno povezani pa ne može odlučiti o tome koji su korelirani skupovi značajniji za model. Valjanost MLR modela može se odrediti dvjema statističkim veličinama: koeficijentom korelacije, R^2 , i prilagođenim koeficijentom korelacije (engl. *adjusted coefficient of determination*) R_a^2 .

$$R^2 = 1 - \frac{\sum(Y_{\text{obs}} - Y_{\text{calc}})^2}{\sum(Y_{\text{obs}} - \bar{Y}_{\text{obs}})^2} \quad (2)$$

$$R_a^2 = \frac{(N-1) \times R^2 - p}{N-1-p} \quad (3)$$

U jednačbi (2) Y_{obs} predstavlja opažene vrijednosti, a Y_{calc} su izračunate vrijednosti po modelu, a \bar{Y}_{obs} predstavlja prosjek opaženih vrijednosti. U jednačbi (3) p je broj prediktorskih varijabli u modelu. U idealnom slučaju vrijednost koeficijenta determinacije, R^2 je jednak 1. Smanjenjem vrijednosti R^2 valjanost modela se smanjuje. Povećanjem broja

deskriptora u modelu za jednaki broj opažanja, vrijednost koeficijenta determinacije će biti veća, ali se smanjuju stupnjevi slobode i statistička pouzdanost. To je razlog zašto visoki koeficijent determinacije nije nužno indikacija dobrog statističkog modela pa je potrebno računati korigirani koeficijent determinacije. [42]

Da bi se ocijenilo opće značenje regresijskih koeficijenata, omjer varijanci se definira kao:

$$F = \frac{\sum(Y_{\text{calc}} - \bar{Y})^2}{\frac{\sum(Y_{\text{obs}} - Y_{\text{calc}})^2}{N - p - 1}} \quad (4)$$

Kako bi model bio dobar, standardna pogreška s mora poprimati male vrijednosti, a prikazana je jednadžbom (5). Dakle, visoke vrijednosti F te niske s vrijednosti pokazuju da je model statistički značajan odnosno niža F vrijednost ukazuje da je mala srednja vrijednost zbroja kvadrata modela ili velika kod reziduala.

$$s = \sqrt{\frac{\sum(Y_{\text{obs}} - Y_{\text{calc}})^2}{N - p - 1}} \quad (5)$$

2.4.4. Unutarnja validacija QSPR modela

Validacija modela je vrlo važna kako bi se provjerila prediktivnost modela odnosno sposobnost modela za dobivanje pouzdanih predviđanja za slučajeve za koje odgovor još nije pronađen. Glavni cilj validacijskih tehnika je odabir najboljeg modela. [43] Najčešće upotrebljavana validacijska tehnika jest unakrsna validacija uz izostavljanje po jednog člana skupa (engl. *leave one out cross validation*). QSPR model je zatim obnovljen na temelju preostalih molekula u setu za treniranje upotrebom izvorno odabrane kombinacije deskriptora, a svojstvo izbačenog spoja se računa po novo dobivenoj QSPR jednadžbi. Ciklus se ponavlja dok sve molekule nisu izbačene iz seta za treniranje te se dobiveni podaci za sve spojeve seta za treniranje koriste za izračun različitih parametara unutarnje validacije. Prediktivnost modela se procjenjuje pomoću unakrsno validiranog R^2 (Q^2) za model prikazan jednadžbom (6). [44]

$$Q^2 = 1 - \frac{\sum (Y_{\text{obs}(\text{train})} - Y_{\text{pred}(\text{train})})^2}{\sum (Y_{\text{obs}(\text{train})} - \bar{Y}_{\text{pred}(\text{train})})^2} \quad (6)$$

$Y_{\text{obs}(\text{train})}$ te $Y_{\text{pred}(\text{train})}$ promatrane i LOO predviđene vrijednosti svojstava molekula u setu za treniranje.

Unutarnja validacija se izvodi i pomoću unakrsne validacije uz izostavljanje nekoliko članova, LMO (engl. *leave-many-out*) postupka. LMO model koristi manji skup podataka nego LOO postupak te se može ponavljati više puta pri čemu se dio molekula u setu za treniranje eliminira u svakom ciklusu. Za svaki novi ciklus, model je temeljen na preostalim molekulama uz izvorno odabrane deskriptore. Svojstva izbrisanih molekula se predviđa korištenjem razvijenog modela. Nakon završetka LMO validacije odnosno nakon posljednjeg ciklusa, predviđene vrijednosti se koriste za izračun Q^2_{LMO} . [44]

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. KEMIKALIJE I INSTRUMENTI

Farmaceutici analizirani u ovom radu navedeni su u tablici 2. Spektrofotometar korišten u u analizama bio je DR 2800 Spectrophotometer, Hach Lange. Tijekom eksperimentalnog rada korištena je ultra čista voda (18 M Ω) dobivena sustavom za filtriranje Milli-Q[®] Watersystem.

Tablica 2. Podaci o korištenim farmaceutima te eksperimentalno određena biorazgradivost kao omjer BPK₅/KPK te logaritmirana vrijednost BPK₅/KPK, log(BPK₅/KPK)

FARMACEUTIK	MOLEKULSKA FORMULA	CAS broj	M_r / g mol ⁻¹	$\frac{BPK_5}{KPK}$	$\log \frac{BPK_5}{KPK}$
DESLORATADIN	C ₁₉ H ₁₉ ClN ₂	100643-71-8	310,83	0,097	-1,013
DESVENLAFAKSIN	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	93413-62-8	263,38	0,074	-1,129
ENROFLAKSACIN	C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O ₃	93106-60-6	359,4	0,085	-1,067
ETODOLAK	C ₁₇ H ₂₁ NO ₃	41340-25-4	287,36	0,060	-1,222
FEBUKSOSTAT	C ₁₆ H ₁₆ N ₂ O ₃ S	144060-53-7	316,38	0,105	-0,978
HIDROKLORTIAZID	C ₇ H ₈ ClN ₃ O ₄ S ₂	58-93-5	297,74	0,128	-0,893
HIDROKORTIZON	C ₂₁ H ₃₀ O ₅	50-23-7	362,46	0,072	-1,144
KARFILZOMIB	C ₄₀ H ₅₇ N ₅ O ₇	868540-17-4	719,92	0,175	-0,757
LEVAMIZOL	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ S	14769-73-4	204,29	0,114	-0,942
LIDOKAIN	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O	137-58-6	234,34	0,081	-1,093
OMEPRAZOL	C ₁₇ H ₁₉ N ₃ O ₃ S	73590-58-6	345,42	0,056	-1,249
PROKAIN	C ₁₃ H ₂₀ N ₂ O ₂	59-46-1	236,31	0,439	-0,358
SREBRO SULFADIAZIN	C ₁₀ H ₉ AgN ₄ O ₂ S	22199-08-2	357,14	0,234	-0,630
SULFADIAZIN	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S	68-35-9	250,28	0,126	-0,898
SULFAGUANIDIN	C ₇ H ₁₀ N ₄ O ₂ S	57-67-0	214,24	0,250	-0,602
SULFAMETAZIN	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	57-68-1	278,33	0,176	-0,754
TETRAMIZOL	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ S	5036-02-2	204,29	0,023	-1,642
TOBRAMICIN	C ₁₈ H ₃₇ N ₅ O ₉	32986-56-4	467,52	0,015	-1,831

3.2. ANALITIČKE METODE

KPK (kemijska potrošnja kisika) je veličina koja označava količinu kisika potrebnu za potpunu oksidaciju organskih i anorganskih tvari u otpadnoj vodi, tj. masena koncentracija kisika potrebna da se oksidiraju tvari suspendirane u 1 L vode. KPK se određuje kolorimetrijski primjenom seta reagensa korištenjem spektrofotometra.

BPK₅ (biokemijska potrošnja kisika) je veličina koja označava količinu kisika potrebnu da se razgradi organska tvar u 1 L otpadne vode, pomoću aerobnih bakterija, pri temperaturi od 20 °C, tijekom 5 dana. U ovom radu se određivala kolorimetrijski spektrofotometrom

3.3. PROVEDBA EKSPERIMENTA

3.4.1. Priprema radnih otopina farmaceutika

Eksperiment započinje pripremom otopina farmaceutika koncentracije, $c = 0,1$ mmol/dm³. Otopine se pripravljaju u odmjernim tikvicama volumena $V = 1000$ mL otapanjem odgovarajuće mase farmaceutika u ultra čistoj vodi. Za potrebe preciznog vaganja upotrebljava se analitička vaga preciznosti $\pm 0,0001$ g.

3.4.2. Određivanje biorazgradivosti

Kao pokazatelj kvalitete otpadnih voda, biorazgradivost je malo istraživana. Cilj ovoga rada jest prema eksperimentalno određenoj biorazgradivosti određenih farmaceutika napraviti model prema kojem će se moći predvidjeti ponašanje farmaceutika u vodi. Biorazgradivost se može odrediti kao omjer biokemijske potrošnje kisika (BPK₅) i kemijske potrošnje kisika (KPK). Prema istraživanju vrijedi da kad je omjer $BPK_5/KPK \geq 0,4$, voda je lako biorazgradiva odnosno podložna biološkoj razgradnji. [45]

Biokemijska potrošnja kisika eksperimentalno se određuje koristeći setove reagensa LCK554 BOD, Hach Lange. Prema normi HRN EN 1899-1:2004 biokemijska potrošnja

kisika određena je nakon 5 dana. Kemijska potrošnja kisika određena je prema normi HRN ISO 15705:2003 uz pomoć setova reagensa LCK 414 COD, Hach Lange.

3.5. MODELIRANJE

3.5.1. Skup podataka

Vrlo je važno da QSAR model ima primjerenu robusnost, predvidljivost te odgovarajuće mjere. Kako bi se postigli ti zahtjevi, potreban je odgovarajući izbor seta za treniranje te seta za validaciju. [46]. Odabrana veličina seta za treniranje je proizvoljna jer ne postoji sustavno istraživanje o odnosu između veličine seta za treniranje i kvalitete modela u literaturi. [47] Set za treniranje se koristi za izgradnju modela i za određivanje mjera dok je set za validaciju potreban za procjenu predvidljivosti modela. Skup od 18 spojeva te njihove, eksperimentalno određene vrijednosti biorazgradivosti ulaze u set za treniranje te u set za validaciju. (Tablica 2.) Set za treniranje obuhvaća 15 spojeva tj. 80 % ulaznih spojeva, a set za validaciju preostalih 20 % odnosno 3 spoja. Molekulske strukture promatranih spojeva su izrađene programom Chem3D Pro software te optimizirane prema semiempirijskoj RM1 metodi. Semiempirijski kvantno-kemijski deskriptori izračunati navedenom metodom su: moment dipola (ukupni μ , kao i X, Y i Z Descarteske komponente), E_{HOMO} (energija najviše zaposjednute molekulske orbitale), E_{LUMO} (energija najniže nepopunjene molekulske orbitale), HLG (energetska razlika između E_{HOMO} i E_{LUMO}), entalpija stvaranja (ΔH_f^\ddagger), i ionizacijski potencijal. Molekularni deskriptori su izračunati pomoću Dragon 7.0 softvera (Milano Chemometrics & QSAR Research Group). Prva matrica izračunatih deskriptora sadržavala je iznimno veliku brojku od 6000 deskriptora.

3.5.2. Statistička korelacija

Kako bi se biorazgradivost, kao traženi odgovor doveo u odnos sa molekularnim deskriptorima, upotrebljava se varijabilni selekcijski genetički algoritam (engl. genetic algorithm, GA) i metoda viševeličinske linearne regresije, MLR. GA-MLR kombinacija tehnike upotrebljava se za odabir najboljih deskriptora i konstrukcije modela s 1-, 2-, 3-varijable. Kako bi se uklonili i izbrisali visoko korelirani deskriptori te konstantni deskriptori,

računaju se koeficijenti korelacije za sve parove deskriptora pa je matrica deskriptora s početnih 6000 smanjen na 2057 deskriptora uključenih u daljnji proračun. Potrebno je izbjeći deskriptore koji pokazuju visoku poprečnu korelaciju (takav model ne bi pokazivao linearnost) i modele u kojima je korelacija između deskriptora i odgovora premala.

Stupanj prilagodbe i robusnosti izvedenog modela su provjereni izračunatim statističkim parametrima i metodom interne validacije izvedenom na setu za treniranje [48]. Za ovo istraživanje, pouzdanost modela je procijenjena interno i eksterno. Metoda interne validacije provjerava valjanost QSPR modela na temelju molekula koje imaju doprinos u izgradnji modela (molekule u setu za treniranje) dok metoda vanjske validacije se bavi svim ispitanim molekulama za procjenu modela. Najbolji model je odabran prema vrijednostima dobivenih statističkih parametara modela: R^2 (koeficijentu korelacije), R_a^2 (prilagođenim koeficijentom determinacije), F (omjeru između varijanci dobivenih i izračunanih vrijednosti), p (vjerojatnoj vrijednosti za izračunati F), Q^2 (koeficijentu LOO validacije) te s (standardnoj pogrešci). Model je validiran *Leave Many Out* (LMO) i "*Y-scrambling*" testovima.

Postoji mogućnost da zbog pogrešnog modeliranja, postoje zapažanja koja ne odgovaraju regresijskoj liniji odnosno ne pripadaju modelu. Da bi se zaštitila dosljednost modela ili utvrdili nedostaci modela, potrebno je pronaći te točke s velikim ostacima koje se nazivaju odstupajuće vrijednosti (eng. *outliers*). Odstupajuće vrijednosti se ne smiju odbaciti iz skupa podataka bez utvrđivanja njihovog utjecaja.[46] Kako bi se provjerila pouzdanost, domena primjene modela za odabrane modele provjeravana je „pristupom utjecaja“. Da bi se vizualizirala domena primjene modela razvijenih QSAR modela korišten je Williamsov graf. Takav graf opisuje standardizirane unakrsno validacijske rezidualne vrijednosti (RES) u odnosu na vrijednosti utjecaja iz HAT matrice (HAT vrijednosti gdje se može prepoznati odgovarajuća odstupajuća vrijednost (*Y outlier*) i strukturalno utjecajna kemikalija (*X outlier*)).

4. REZULTATI I RASPRAVA

Opisanim postupkom određene su KPK i BPK_5 za vodene otopine 18 farmaceutika ($c=1 \text{ mmol/dm}^3$). Vrijednosti su popisane u tablici 2. Iz dobivenih rezultata je vidljivo da je samo Prokain lako biorazgradiv. Karfilzomib, srebrov sulfadiazin, sulfametazin i sulfaguanidin su farmaceutici čija je vrijednost BPK_5/KPK u intervalu 0,2-0,4 pa se smatraju biorazgradivim spojevima. Ostalih 13 farmaceutika ($BPK_5/KPK < 0,2$) nisu podložni biološkoj razgradnji.

Dobivena biorazgradivost je korelirana sa strukturnim značajkama ispitivanih farmaceutika odnosno dobiveni su deskriptori prema optimiziranoj molekulskoj strukturi. U set za treniranje ulazi 15 spojeva, dok u set za validaciju 3 nasumično odabrana spoja. QSPR model za svaku točku odnosno biorazgradivost sadrži 1 do n deskriptora u setu za treniranje s ciljem postizanja što veće točnosti uz zadržavanje linearnosti modela. U daljnjem modeliranju se kao nezavisna varijabla koristi logaritmirana vrijednost biorazgradivosti odnosno $\log Y = \log(BPK_5/KPK)$. Kao najprimjerenija metoda za optimiziranje složenog skupa molekulskih struktura se pokazala RM1 metoda. Dobiveni podatci se dalje koriste u izračunu i prilikom odabira najboljeg QSPR modela.

4.1. QSPR PREDVIĐANJE BIORAZGRADIVOSTI

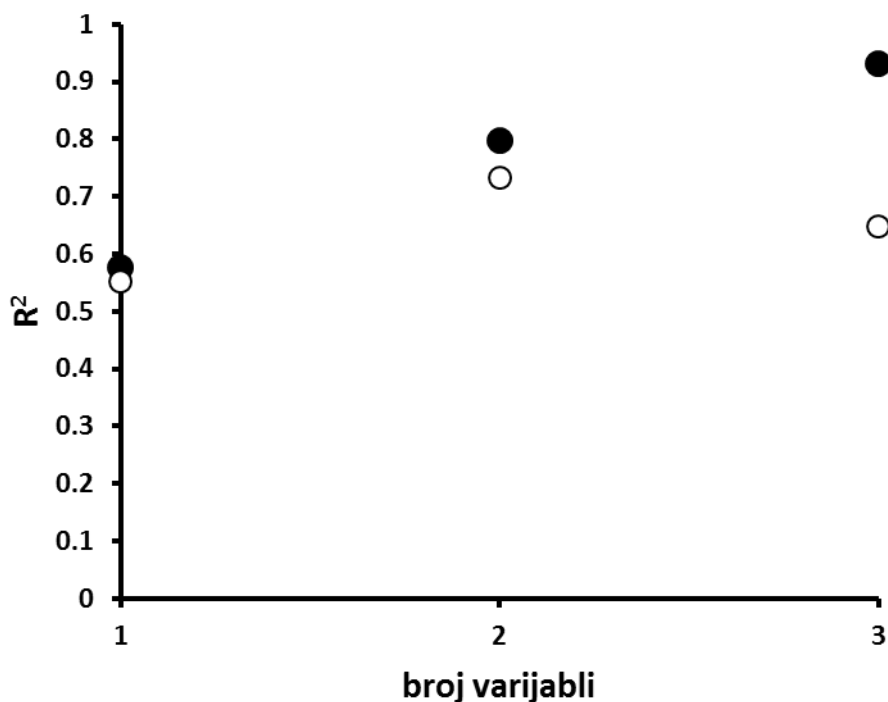
Prema eksperimentalno određenim biorazgradivostima, izrađeni su 1-, 2- 3-, modeli za set za treniranje i primijenjeni u setu za validaciju. Da bi se izgradio model, odabrani skupovi deskriptora u setu za treniranje podvrgnuti su GA-MLR metodi za varijabilni odabir i regresiju što je rezultiralo najboljim QSPR modelom. Prema dobivenim statističkim parametrima, kao najbolji model odabran je 3-varijabilni model. U nastavku je prikazana jednadžba za 3-varijabilni model, a deskriptori, njegovi koeficijenti i parametri modela prikazani su u tablici 4. Prema Golbraikh i Tropsha [49], QSPR model se može smatrati predvidljivim ukoliko su: $0,85 < k < 1,15$, $R^2 > 0,6$ te $Q^2 > 0,5$, $\frac{R^2 - R'^2}{R^2} < 0,1$

Kao što se vidi iz tablice 3, R^2 raste povećanjem broja deskriptora za određene modele. U setu za validaciju, povećanjem broja deskriptora, dolazi do rasta i pada R^2 odnosno koeficijent ne prati uzastopno ni rastući ni padajući trend. Grafički prikaz ovisnosti

koeficijenta kvadratnog odstupanja, R^2 o broju deskriptora dan je na slici 19. Budući da su modeli izgrađeni korak po korak pri čemu je povećanje dimenzionalnosti modela praćeno statističkom procjenom njegove prediktivne sposobnosti, izgradnja viših modela ne bi bila učinkovita. Tablica 5 prikazuje parametre koji pokazuju kvalitetu prilagodbe podataka modela i rezultate različitih unutarnjih i vanjskih provjera valjanosti. Iz vrijednosti svih parametara se može vidjeti da se nalaze u dopuštenom intervalu. To potvrđuje vanjsku validaciju modela i njegovu sposobnost predviđanja odgovora novih, neispitivanih spojeva. Koeficijent kvadratnog odstupanja pokazuje reprezentativnost modela prema pravilu što je bliži vrijednosti 1, model je reprezentativniji, odnosno regresijska linija se približava stvarnim podacima. U ovom slučaju, R^2 iznosi 0,932, odnosno izgrađeni model je valjan i vrlo precizan. Također, vrlo visoka vrijednost R_a^2 potvrđuje valjanost i pouzdanost modela. Svi pojmovi u modelu su značajni obzirom da $p < 0,05$ pa svi pridonose predviđanju krajnje točke. Robusnost modela je dokazana i metodama LOO i LMO, provedene u setu za treniranje. Koeficijenti validacije su popisane u tablici 4. Oba koeficijenta imaju vrijednosti veće od 0,7 što je dodatni dokaz podobnosti modela.

Tablica 3. Dobiveni 1-, 2-, 3- varijabilni modeli te njihovi statistički parametri

MODEL	STATISTIČKI PARAMETRI				
	R^2	R_a^2	Q^2	F	s
1-VARIJABILNI					
BIC4	0,5764	0,5438	0,4417	17,6865	0,2576
2-VARIJABILNI					
VR2_B(i), H-053	0,7985	0,7650	0,6722	23,7810	0,1849
3-VARIJABILNI					
nR05, VR2_B(i), H-053	0,9320	0,9135	0,7989	50,2874	0,1122



Slika 19. Usporedba koeficijenta determinacije dobivenih u setu za treniranje (●) i setu za validaciju (○) za 1-3- varijabilnih modela.

Tablica 4. Statistički parametri 3-varijabilnog QSPR modela

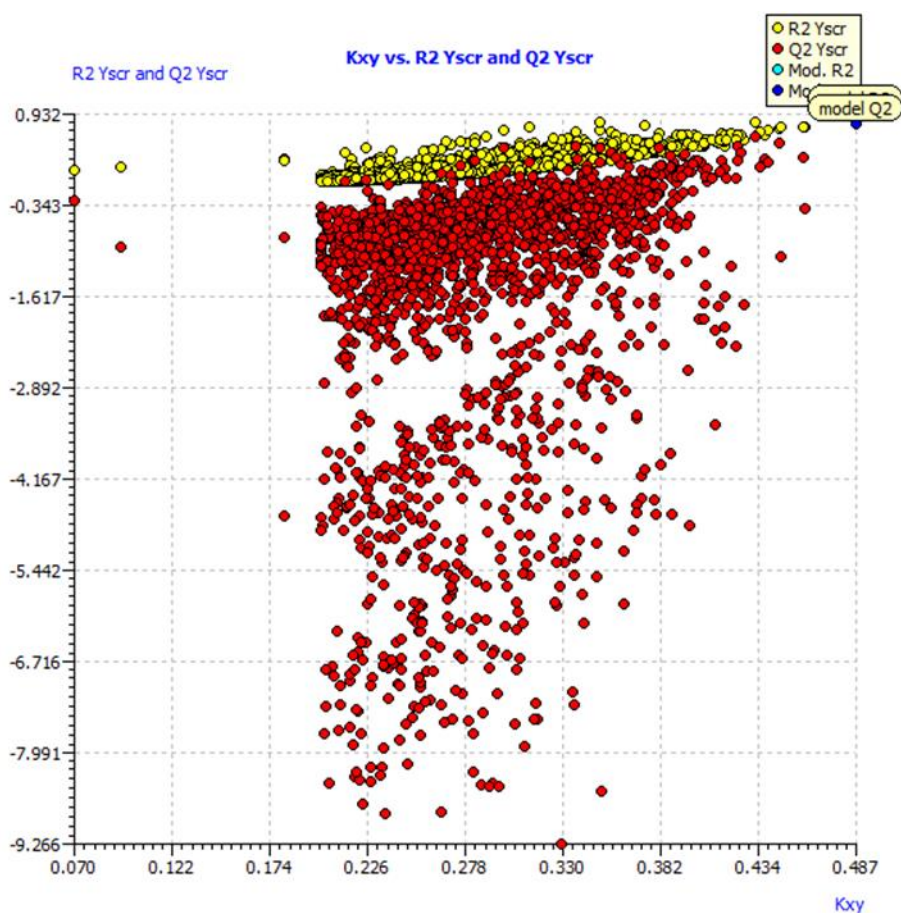
DESKRIPTOR	KOEFICIJENT	STANDARDNA POGREŠKA KOEFICIJENTA	<i>p</i> vrijednost
Intercept	3,1173	0,7843	0,0016
nR05	-0,2611	0,0562	0,0005
VR2_B(i)	-3,7752	0,7603	0,0003
H-053	-0,2858	0,0293	0

Tablica 5. Deskriptori i parametri dobivenog QSPR modela

SET ZA TRENIRANJE		UNUTARNJA VALIDACIJA		VANJSKA VALIDACIJA	
PARAMETAR	VRIJEDNOST	PARAMETAR	VRIJEDNOST	PARAMETAR	VRIJEDNOST
$RMSE_{tr}$	0,0961	Q^2_{LOO}	0,7989	R_{ext}^2	0,6490
F	50,2874	$RMSE_{cv}$	0,1653	$RMSE_{ext}$	0,2611
s	0,1122	Q^2_{LMO}	0,8307	k	0,9900

$$\log\left(\frac{BPK_5}{KPK}\right) = -0,2611 \cdot (\pm 0,0562) \cdot nR05 - 3,7752 \cdot (\pm 0,7603) \cdot VR2_B(i) - 0,2858 \cdot (\pm 0,0293) \cdot H - 053 + 3,1173 \cdot (\pm 0,7843) \quad (7)$$

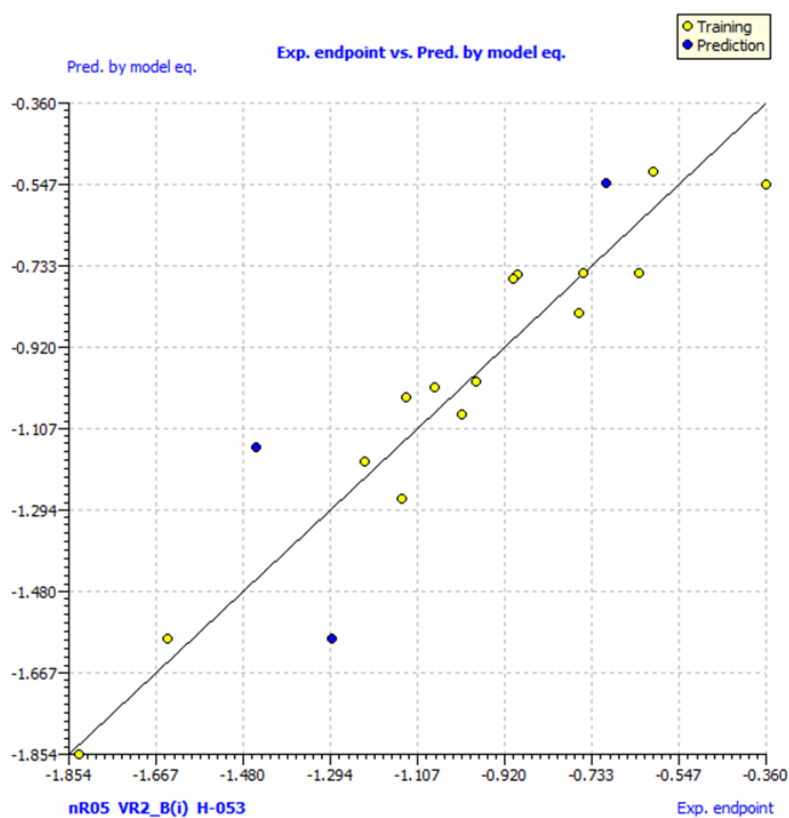
Kako bi se pokazalo da model nije rezultat slučajne korelacije, može se primijeniti Y-scrambling test. Grafički prikaz R^2_{Yscr} i Q^2_{Yscr} o eksperimentalnim podacima (K_{xy}) prikazan je na Slici 19. Vrijednosti parametara su $R^2_{Yscr}=0,2170$ te $Q^2_{Yscr}=-1,6515$. Kako se Y-scrambling testom razvijaju novi modeli sa slučajnim redoslijedom zavisne varijable Y te sa istim nezavisnim varijablama X , znatno su niže R^2 i Q^2 vrijednosti od predloženih jer je prekinut odnos između strukture i odgovora što je dokaz valjanosti predloženog modela jer isključuje sumnju da je izvorno predloženi model dobiven slučajnom korelacijom.



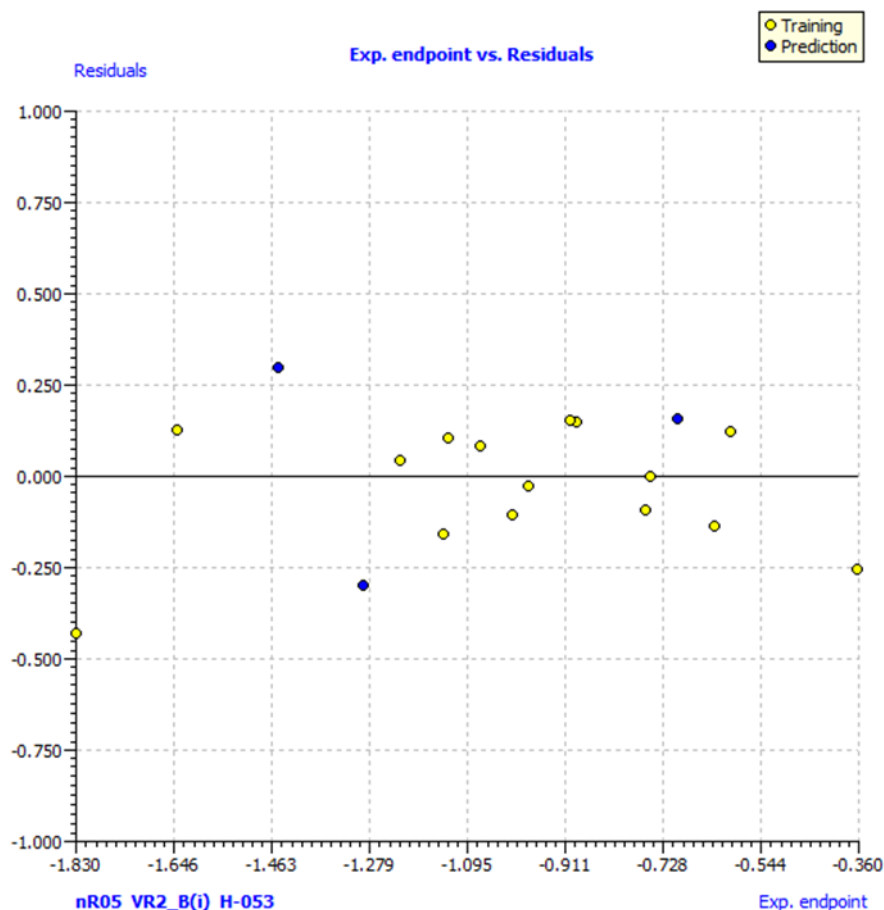
Slika 19. Grafički prikaz R^2_{Yscr} i Q^2_{Yscr} o eksperimentalnim podacima (K_{xy})

Posljednji korak u provjeri valjanosti svakog QSPR modela je analiza grafičkog prikaza predviđenih podataka u odnosu na eksperimentalne podatke (slika 20), što je temeljno za prihvaćanje modela kao prediktivnog.[50] Raspodjela točaka u blizini linije potvrđuje pouzdanost modela. Dodatno, koristeći Williamsov graf (slika 21), provjerena je domena primjene modela pristupom utjecaja. Na taj načinje moguće otkriti strukturno utjecajne

kemikalije i odgovarajući outlier. Općenito, komponente karakteristične po specifičnim značajkama koje su slabo zastupljene u setu za treniranje, smatraju se utjecajnim na strukturalnoj domeni modela. X ograničenje koje određuje strukturalno utjecajne kemikalije prema njihovim HAT vrijednostima, izračunato je pomoću izraza: $h_{ii} = 2(m+1)/n$ pri čemu je m broj varijabli u modelu i n broj komponenti u setu za treniranje. Svi spojevi unutar seta za treniranje, ali i unutar seta za validaciju su unutar kemijske domene $+3\sigma$, $h = 0,53$ što ukazuje na to da nijedan farmaceutik nije prepoznat kao strukturalno utjecajna molekula. Prema rezultatima Williamsovog grafa, može se zaključiti da je skup podataka korišten u ovoj studiji primjeren za provedenu istragu.



Slika 20. Eksperimentalne vrijednosti u odnosu na predviđene izračunate za model s 3 varijable



Slika 21. Određivanje domene primjene modela iz Williamsovog grafa

U tablici 6. prikazani su deskriptori uz njihov opis. Prvi deskriptor, *nR05* označava broj peteročlanih prstenova u spoju. Pripada skupini konstitucijskih deskriptora. Ta skupina deskriptora se temelji na jednostavnim strukturnim činjenicama potpuno neovisno o konformaciji molekule i povezanosti atoma.[51] U ovom slučaju, negativni indeks njegovog koeficijenta znači da će spojevi sa visokom vrijednosti *nR05* odnosno molekule sa većim brojem peteročlanih prstenova imati manju biorazgradivost tj. manje će biti podložni biološkoj razgradnji. Deskriptor *H-053* označava broj vodikovih atoma povezanih na sp^3 ugljikov atom, a na susjednom ugljikovom atomu su spojena dva hetero, elektronegativna atoma (npr. O, N, S, P, halogeni). Prema vrsti informacije koju nosi, *H-053* pripada skupini "atom-centered fragments" (ACF), skupini od 120 deskriptora. Takvi deskriptori su dobiveni raspadanjem molekule u strukturne dijelove, pri čemu svaki ne-vodikov atom molekule djeluje kao ACF centar. ACF varira s obzirom na duljinu veze određenog središnjeg atoma sa susjednim atomima (uključujući vodik) te su opisani prema elementima i okruženju veze. [52] Također, ovaj deskriptor je u negativnom odnosu sa biorazgradivosti pa će visoka vrijednost

H-053 doprinijeti manjoj biorazgradivosti spoja. Prema dimenziji informacije koju nosi pripada skupini 1D deskriptora koji daju informacije o broju i svojstvima supstituenata, fragmenata te funkcionalnih skupina. Posljednji deskriptor $VR2_B(i)$ pripada skupini 2D deskriptora, a definiran je kao Randićev indeks temeljen na svojstvenom vektoru iz Burden matrice određen ionizacijskim potencijalom. Ti deskriptori se izračunavaju na temelju elemenata tzv. graf-teorijskih matrica pomoću nekoliko algebarskih operacija. [53] Također, negativan predznak koeficijenta ovoga deskriptora označava manju biorazgradivost spoja. Prva dva deskriptora, $nR05$ te *H-053*, ukazuju na to da na biorazgradivost spoja utječe broj i vrsta supstituenata. Međutim, opisana biorazgradivost spoja prema ovome modelu, može biti jedino objašnjena sinergističkim djelovanjem deskriptora odnosno objašnjenje biorazgradivosti pojedinačno svakim deskriptorom nije potpuno i dovoljno precizno. Prema jednadžbi (7), uzimajući u obzir deskriptore i vrijednosti koeficijenata uz njih, lako je zaključiti da najveći doprinos ima deskriptor $VR2_B(i)$ sa vrijednosti koeficijenta skoro 14 puta većom od ostalih deskriptora. Kao što se može vidjeti, ionizacijski potencijal upućuje na veliku važnost afiniteta supstituentne skupine za doniranje ili otpuštanje elektrona i tako utječu na biorazgradivost spoja.

5. ZAKLJUČAK

Cilj ovog rada bio je prema eksperimentalno određenim biorazgradivostima izgraditi model prema kojem se mogu predvidjeti biorazgradivosti neispitivanih spojeva.

Biorazgradivost spoja je kvantificirana preko omjera biokemijske potrošnje kisika, BPK_5 i kemijske potrošnje kisika, KPK .

Iz skupine 18 farmaceutika:

- biorazgradiv: prokain,
- relativno biorazgradivi: karfilzomib, srebrov sulfadiazin, sulfametazin i sulfaguanidin
- nije podložno biološkoj razgradnji: desloratadin, desvenlafaksin, enroflaksacin, etodolak, febuksostat, hidrokloriazid, hidrokortizon, levamizol, lidokain, omeprazol, sulfadiazin, tetramizol, tobramicin

Model je izgrađen na temelju vrijednosti $\log(BPK_5/KPK)$ za 18 različitih spojeva pri čemu se kao najbolji model prema statističkim parametrima pokazao 3-varijabilni model. Model pokazuje da na biorazgradivost farmaceutika utječu:

- struktura,
- supstituenti
- energija ionizacije.

Najveći utjecaj na biorazgradivost ima ionizacijski potencijal, opisan $VR2_B(i)$ deskriptorom iz skupine 2D deskriptora. Antagonistički odnos tog deskriptora s $\log(BPK_5/KPK)$ znači da će biorazgradivost spoja biti veća ako je manji ionizacijski potencijal. Međutim, utjecaj na biorazgradivost se ne može opisati samo tim deskriptorom jer utjecaj imaju i struktura spoja kroz broj peteročlanih prstena, opisana deskriptorom $nR05$ te supstituenti opisani deskriptorom $H-053$. Ti deskriptori, također, imaju negativni predznak odnosno u negativnoj su korelaciji s biorazgradivosti pa će visoke vrijednosti deskriptora rezultirati nižom biorazgradivosti.

6. LITERATURA

1. [http://www.voda.hr/sites/default/files/04 - okvirna direktiva o vodama 2000 60 ec 2000.pdf](http://www.voda.hr/sites/default/files/04_-_okvirna_direktiva_o_vodama_2000_60_ec_2000.pdf) (pristup kolovoz 2018.)
2. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/hr/txt/html/?uri=celex:32013l0039&from=en> (pristup kolovoz 2018.)
3. Bujas, N., Antolić, J., Medić, Đ., Prijedlog Europskog zakonodavstva o dopuni liste prioritetnih i prioritetnih opasnih tvari, Hrvatske vode **86** (2013) 328–332
4. Kaselj I., Ekstrakcija farmaceutika iz sedimenta ultrazvukom, završni rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, 2012.
5. Periša M., Babić S., Farmaceutici u okolišu, Kemija u industriji, **65** (2016) 471–482.
6. <https://publications.europa.eu/hr/publication-detail/-/publication/296e91b8-4610-11e3-ae03-01aa75ed71a1/language-hr> (pristup kolovoz 2018.)
7. <https://echa.europa.eu/hr/regulations/reach/understanding-reach> (pristup kolovoz 2018.)
8. Lyons G., Pharmaceuticals in the environment: A growing threat to our tap water and wildlife. A CHEMTrust report, 2014.
9. Rimkus, G., Polycyclic musk fragrances in the aquatic environment, Toxicological Letters **111** (1999) 37–56.
10. Zrnčević S., Farmaceutici i metode obrade otpadne vode iz farmaceutske industrije, Hrvatske vode **24** (2016) 119–136
11. Kaštelan-Macan, M., Petrović, M., Analitika okoliša, HINUS & Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2013.
12. Snyder S.A., Westerhoff P., Yoon Y., Sedlak D. L., Pharmaceuticals, Personal Care Products, and Endocrine Disruptors in Water: Implications for the Water Industry, Environmental Engineering Science **20** (2003) 449–469
13. Cesaro, A., Naddeo, V., Belgiorno, V., Wastewater Treatment by Combination of Advanced Oxidation Processes and Conventional Biological Systems, Journal of Bioremediation and Biodegradation **4** (2013) 4–8
14. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Desloratadine> (pristup kolovoz 2018.)
15. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/125017> (pristup kolovoz 2018.)
16. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/71188> (pristup kolovoz 2018.)
17. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3308> (pristup kolovoz 2018.)
18. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/134018> (pristup kolovoz 2018.)

19. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3639> (pristup kolovoz 2018.)
20. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5754> (pristup kolovoz 2018.)
21. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/11556711> (pristup kolovoz 2018.)
22. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/26879> (pristup kolovoz 2018.)
23. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3676> (pristup kolovoz 2018.)
24. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4594> (pristup kolovoz 2018.)
25. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4914> (pristup kolovoz 2018.)
26. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5215> (pristup kolovoz 2018.)
27. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/441244> (pristup kolovoz 2018.)
28. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5324> (pristup kolovoz 2018.)
29. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5327> (pristup kolovoz 2018.)
30. www.genera.hr/pro/hr/1599 (pristup kolovoz 2018.)
31. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3913> (pristup kolovoz 2018.)
32. <https://madlofefarms.com/4265> (pristup kolovoz 2018.)
33. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/36294> (pristup kolovoz 2018.)
34. Karelson M., Lobanov Victor S., Quantum-Chemical Descriptors in QSAR/QSPR Studies, *Chem. Rev.* **96** (1996) 1027–1044
35. Katritzky A. R., Lobanov V. S., Karelson M., QSPR: the correlation and quantitative prediction of chemical and physical properties from structure, *Chemical Society Reviews* **4** (1995) 231-307
36. Jagiello K., Mostrag- Szlichtyng A., Gajewicz A., Kawai T., Imaizumi Y., Sakurai T., Yamamoto H., Tatarazako N., Mizukawa K., Aoki Y., Suzuki N., Watanabe H., Puzyu T., Towards modelling of the environmental fate of pharmaceuticals using the QSPR-MM scheme, *Environmental Modelling & Software* **72** (2015) 147–154
37. Nantasenamat C., Isarankura-Na-Ayudhya C., Naenn T., Prachayasittikul V., A practical overview of structure-activity relationship, *Excli Journal*, **8** (2009) 74–78
38. Danishuddin, A., Khan U., Descriptors and their selection methods in QSAR analysis: paradigm for drug design, *Drug Discovery Today* **21** (2016) 1291–1302
39. Niculescu S. P., Artificial neural networks and genetic algorithms in QSAR, *Journal of Molecular Structure (Theochem)* **622** (2003) 71–83
40. Beheshti A., Pourbasheer E., Nekoei M., Vahdani S., QSAR modeling of antimalarial activity of urea derivatives using genetic algorithm–multiple linear regressions, *Journal of Saudi Chemical Society* **20** (2012) 282–290

41. Sović I., Piškorec M., Čanadi I., Nova robusna metoda za QSAR analizu temeljena na multivarijantnoj regresiji i normi L1, Fakultet elektrotehnike i računarstva, Rektorova nagrada, Sveučilište u Zagrebu, 2010.
42. Roy K., Kar S., Narayan Das R., A primer on QSAR/QSPR modeling fundamental concepts, Springer, New York, Dordrecht, London, 2015.
43. Consonni, V., Tedeschini, R., Handbook of molecular descriptors, Wiley, Weinheim, 2000.
44. Roy K., Mitra I., On various metrics used for validation of predictive QSAR models with applications in virtual screening and focused library design. *Comb Chem High Throughput Screen* **14** (2011) 450–474
45. Farré M.J., Franch M.I., Ayllón J.A., Peral J., Domènech X., Biodegradability of treated aqueous solutions of biorecalcitrant pesticides by means of photocatalytic ozonation, *Desalination* **211** (2007) 22–33
46. OECD, Guidance document on the validation of (quantitative) structure-activity relationships [(Q) SAR] models, OECD Series on Testing and Assessment No. 69. ENV/JM/MONO **2** (2007), Paris
47. Roy P.P., Leonard J.T., Roy K., Exploring the impact of size of training sets for the development of predictive QSAR models, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* **90** (2008) 31–42
48. Chirico N., Gramatica P., Real external predictivity of QSAR models: how to evaluate it? Comparison of different validation criteria and proposal of using the concordance correlation coefficient, *Journal of chemical information and modeling*, **51** (2011) 2320–2335.
49. Golbraikh A., Tropsha A., Beware of q²!, *Journal of Molecular Graphics and Modelling* **20** (2002) 269–276.
50. Chirico N., Gramatica P., Real external predictivity of QSAR models. Part 2. New intercomparable thresholds for different validation criteria and the need for scatter plot inspection, *Journal of chemical information and modeling*, **52** (2012) 2044–2058
51. Choudhary M., Sharma B.K., QSAR rationales for the 5-HT₆ antagonistic activity of Epiminocyclohepta[b]indoles, *Der Pharma Chemica* **6** (2014) 321–330

ŽIVOTOPIS

Ana Tolić [REDACTED] S odličnim uspjehom je završila Osnovnu školu Antun Augustinčić u Zaprešiću te Gornjogradsku gimnaziju u Zagrebu. Maturirala je 2015. godine s vrlo dobrim uspjehom te iste godine upisuje Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije kao redovna studentica sveučilišnog preddiplomskog studija Primijenjena kemija. Stručnu praksu odradila je u fakultetskoj *spin-off* tvrtci "Comprehensive Water Technologies d.o.o." Tečno govori engleski jezik te posjeduje položeni B1./1 stupanj njemačkog jezika.