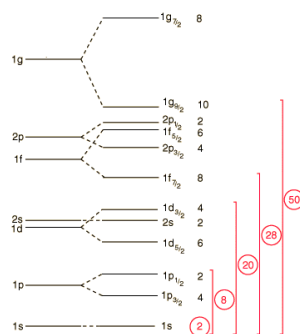


формирање слојева уједно осигуравајући да ти слојеви буду раздвојени у простору. У случају језгра, међутим, не постоји централна привлачна сила, пошто се зна из ранијих експерименталних података да је нуклеарна сила кратког домета. Стога се за потенцијал најчешће узима коначна потенцијална јама, а као корекцију можемо додати експоненцијални реп. У квантној механици се могу решавати системи са оваквим типом потенцијала, али ниједна варијација облика потенцијала не успева да репродукује магичне бројеве. Проблем су решили Марија Геперт-Мајер (Maria Goerpert-Mayer) и Ј. Ханс Д. Јенсен (J. Hans D. Jensen) када су предложили додавање спин-орбитне интеракције основном потенцијалу. То узрокује цепање нивоа (слично као код fine структуре електронских нивоа), што је толико изразито да се нивои прегрупишу, што и доводи до објашњења магичних бројева (слика 3).

Нуклеарни модел љусака добро описује параметре језгра као што су спин и енергетски нивои, објашњава особине магичних језгара и даје извесне екстраполације. Наиме, следећи магични број за неутроне је 184, а одговарајући број протона је 114, 120 или 126. 1998. године је елемент унунквадијум (ununquadium) са 114 протона успешно синтетизован, мада се, због начина производње, добијени изотоп не налази на очекиваном продукту линије стабилности, односно има мање неутрона од предвиђеног магичног броја 184.



Слика 3. Цепање енергетских нивоа под дејством спин-орбиталне интеракције и објашњење магичних бројева

Abstract

WHY ARE SOME ATOMS STABLE AND SOME ARE NOT?

Ivan Aničin, Faculty of Physics, Belgrade
Ištvan Bikit, Department of Physics, Novi Sad
Gergelj Šošuu, Department of Physics, Novi Sad

In this paper the stability of the atomic nucleus is explained. It is emphasized that both the single particle and collective aspects of the nuclear structure influence the stability of the nucleus. The liquid drop model giving us the masses of nucleons and the decay energy is presented. The shell model which explains the magic numbers is also mentioned.

Рада БАОШИЋ, Хемијски факултет, Београд

РЕВЕРСНО-ФАЗНА ХРОМАТОГРАФИЈА, ПРИНЦИПИ И ПРИМЕНА У „ПРЕДВИЂАЊУ” БИОЛОШКЕ АКТИВНОСТИ

Реверсно-фазна (RP) хроматографија представља технику одвајања код које је мобилна фаза значајно поларнија у односу на стационарну фазу. Сам назив "реверсно-фазна" има историјску позадину. Течна хроматографија је, седмдесетих година прошлог века, подразумевала примену немодификованог силика-гела или алуминијум-оксида, као стационарне фазе, са хидрофилним површинама и израженим афинитетом према поларним једињењима и мобилне фазе која је неполарна у односу на стационарну. Овакав хроматографски систем је сматран "нормалним" и познат је као нормално-фазна хроматографија. Ковалентно везивање алкил ланаца на површину сорбента довело је до обртања редоследа раздвајања - неполарне супстанце су показивале веће задржавање -,реверсно" у односу на нормално-фазну хроматографију, тако да је због тога дат назив „реверсно-фазна хроматографија“.

Реверсно-фазну хроматографију карактерише процес адсорпције, са широким спектром могућности које пружа експериментални дизајн, који захваљујући партиционом механизму доводи до ефекта одвајања.

Експериментални услови при реверсно-фазној хроматографији се подешавају тако да се фаворизује адсорпција молекула одвајане супстанце (која је растворена у мобилној фази) на стационарној фази. На Слици 1 је приказано везивање супстанце за стационарну фазу у случају адсорпције и партиције.

Састав мобилне фазе се модификује тако да фаворизује десорпцију молекула одвајане супстанце са стационарне фазе назад у мобилну фазу. Реверсно-фазном хроматографијом се могу одвајати супстанце широког опсега поларности и молекулских тежина.

Механизам одвајања се заснива на расподели молекула одвајане супстанце између мобилне и стационарне фазе све док се не успостави равнотежа и зависи од:

- природе стационарне фазе,
- хидрофобности саме одвајане супстанце и
- састава мобилне фазе.

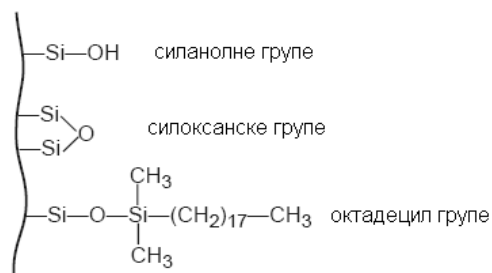
Стационарна фаза или "хемијски везана фаза" је хемијски модификована. Основа стационарне фазе, чија се модификација врши, треба да буде хемијски и



Слика 1. Приказ везивања супстанце за стационарну фазу при адсорпцији и партицији

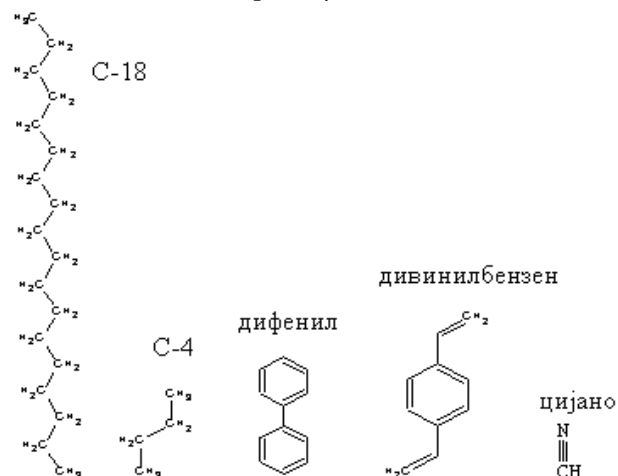
механички стабилна. Комерцијално доступне основе су углавном силика-гел или синтетички органски полимери (полистирен).

Силика-гел, као основа, са хемијски везаним фазама је најчешћи избор због своје високе ефикасности и постојаности. Најчешћа модификација силика-гела је везивање октадецил група (Слика 2).



Слика 2. Површина силика-гела може да садржи, поред модификованих група и заостале, слободне, силанолне групе, као и силоксанске групе.

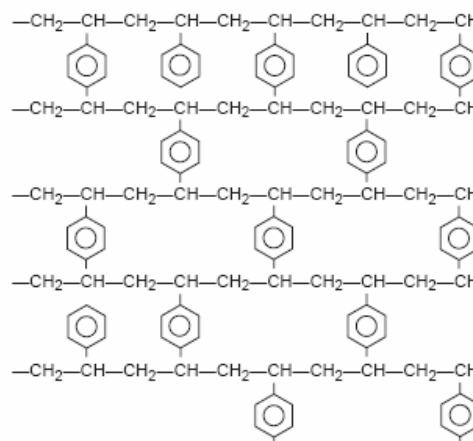
Силика-гел може бити модификован различитим групама што потпуно одређује поларност његове површине, а самим тим и примену (Слика 3).



Слика 3. Структурне формуле различитих група којима се може модификовати површина силика-гела

Полистирен је хемијски веома стабилан, посебно при екстремно киселим или базним условима (приме-

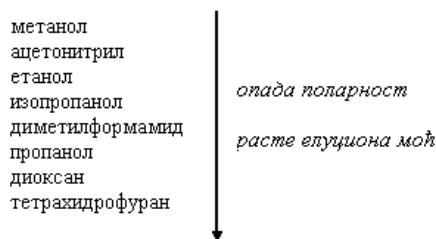
њује се у рН интервалу 1-12). У RP хроматографији полистирен може да се примени на рН вредностима изнад 7,5 при чему расте селективност, јер се лакше постиже контрола јонизације одвајане супстанце. Површина стационарне фазе која је заснована на полистирену је сама по себи веома хидрофобна и има умрежену структуру (Слика 4).



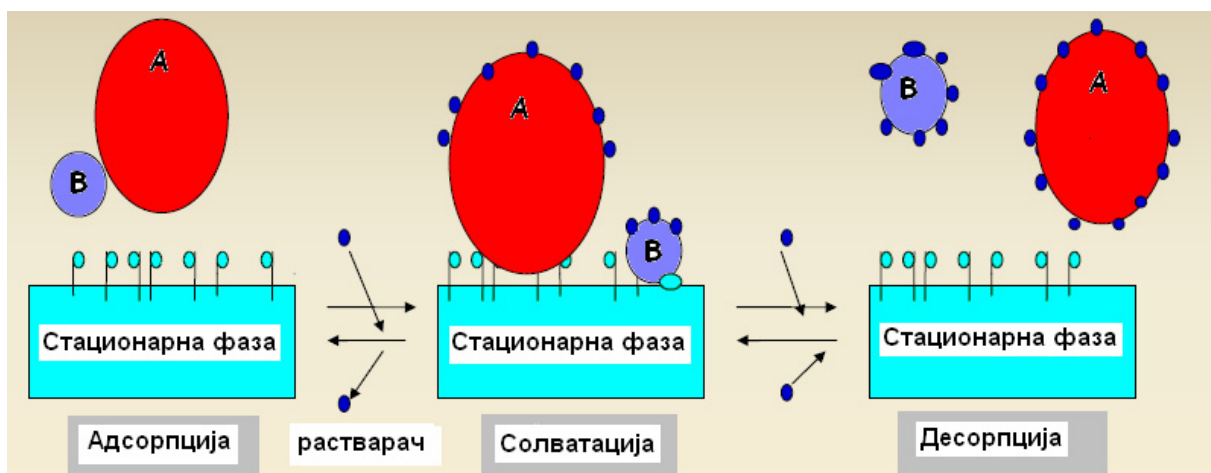
Слика 4. Површина стационарне фазе која је заснована на полистирену.

Интеракције између узорка и стационарне фазе су веома јаке у RP хроматографији. Због тога је вода, без додатка органског модификатора, слаб елуент.

Мобилна фаза је смеша воде и органског растварача који се меша са водом. Органски растварач (модификатор) се додаје да би се смањила поларност водене мобилне фазе, јер елуциона моћ мобилне фазе расте са смањењем њене поларности (Слика 5).



Слика 5. Зависност елуционе моћи неких растварача од поларности.



Слика б. Шематски приказ елуирања супстанци А и В у смеси.

У пракси се, код RP хроматографије, најчешће користе ацетонитрил, метанол, изопропанол, етанол, диоксан и тетрахидрофуран. Изопропанол (2-пропанол) се примењује због својих веома изражених елуционих особина. Међутим, његова примена је ограничена због велике вискозности, (има за последицу смањење ефикасности колоне). Изопропанол се, веома често, користи у комбинацији са ацетонитрилом за елуирање великих хидрофобних протеина. Ацетонитрил и метанол су, у поређењу са изопропанолом, мање вискозни. За примену у RP хроматографији је веома важно да примењени растварачи не апсорбују у UV области, јер се хроматографско одвајање праги, најчешће, UV детектором. Ацетонитрил се, најчешће, користи за елуирање пептида, јер већина пептида апсорбује на нижим таласним дужинама UV области (најчешће испод 225 nm) тако да ацетонитрил обезбеђује много ниже вредности позадинске апсорпције у поређењу са другим растварачима (на овим таласним дужинама).

Елуирање може да се изводи изократски, при чему је однос воде и органског растварача константан или применом градијента када се однос воде и органског растварача мења у току хроматографског одвајања. Веома је важно да концентрација органског модификатора буде увек ниска у почетној мобилној фази. Због тога се градијентно елуирање увек почиње мобилном фазом високе поларности (висок садржај воде, ниска концентрација модификатора), а завршава мобилном фазом ниске поларности (низак садржај воде, висока концентрација модификатора).

Одвајање у реверсно-фазној хроматографији зависи од реверзибилне адсорпције/десорпције молекула одвајаних супстанци са различитим степеном хидрофобности.

- Молекули супстанце се адсорбују на хидрофобној површини стационарне фазе и ту се задржавају све док концентрација органског модификатора не буде довољно велика да елуира молекуле (десорбује) са хидрофобне површине (Слика 6).

- Редослед елуирања тј. ретенциони параметри молекула зависе од хидрофобних карактеристика самих молекула.
- Молекули који су растворљивији у води (или су хидрофилнији) брже се елуирају тј. имају већу покретљивост.

У поступку разматрања потенцијалне биолошке активности веома је важно да се утврди липофилност посматраних једињења. Липофилност, односно хидрофобност, је важна физичко-хемијска карактеристика биоактивних једињења, јер је у директној вези са способношћу молекула да се транспортује кроз биолошке мембране. Интеракције између молекула у хроматографским и биолошким системима су веома сличне.

Параметри липофилности могу да се израчунају применом различитих програма, али и применом танкослојне, RP TLC, као и високо ефикасне течне хроматографије RP HPLC (Slawik и други, 2003; Kostecka и други, 2005).

Липофилност одређена применом реверсно-фазне хроматографије носи у себи вредније информације од израчунате вредности применом различитих програма, јер је последица стварног просторног распореда и међусобних интеракција различитих делова молекула као и интеракција са стационарном и мобилном фазом у примењеним експерименталним условима. Мобилна фаза представља смешу воде и органског растварача у одређеном опсегу концентрација. Реверсно-фазна танкослојна хроматографија има предност у односу на друге технике, јер захтева мале количине узорка, омогућава рад са недовољно пречишћеним узорцима, веома је брза метода, релативно једноставна, лака за примену, са ниским ценом, али такође са великим могућностима због широког избора стационарних и мобилних фаза.

У реверсно-фазном систему највећу ретенцију показују супстанце са највећом хидрофобношћу.

Након избора одговарајућег RP система врши се хроматографско одвајање испитиваних супстанци. Из експериментално добијених R_F^1 вредности израчунава се ретенциони параметар R_M :

¹ R_F ретенциони фактор, дефинише покретљивост супстанце као однос пређеног пута супстанце и пређеног пута употребљеног растварача

$$R_M = \log(1/R_F - 1)$$

који показује линеарну зависност у односу на концентрацију органског растварача у мобилној фази (φ):

$$R_M = R_M^0 + m\varphi$$

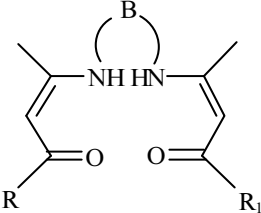
где је m нагиб и представља специфичну хидрофобну површину, док је R_M^0 параметар липофилности. Параметар липофилности, R_M^0 вредност, (Soczewinski и Wachtmeister, 1962) се добија из одговарајуће једначине праве и представља R_M вредност у чистој води што значи да директно зависи од липофилних особина испитиваних једињења. Већа вредност R_M^0 значи и већу липофилност посматраног једињења.

Из хроматографски добијених података може да се израчуна још један параметар липофилности

$$C^0 = -R_M^0 / m$$

кога дефинише однос хроматографски одређене липофилности и специфичне хидрофобне површине (m) испитиваног једињења.

Табела 1. Структура испитиваних Шифових база

	Једињења		R	R ₁	B
		(1)	H ₂ (<i>acac</i> ₂ en) ^a	CH ₃	CH ₃
	(2)	H ₂ (<i>acac phacac</i> en) ^b	CH ₃	C ₆ H ₅	CH ₂ CH ₂
	(3)	H ₂ (<i>phacac</i> ₂ en)	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	CH ₂ CH ₂
	(4)	H ₂ (<i>phacac tfacac</i> en) ^c	C ₆ H ₅	CF ₃	CH ₂ CH ₂
	(5)	H ₂ (<i>acac tfacac</i> en)	CH ₃	CF ₃	CH ₂ CH ₂
	(6)	H ₂ (<i>tfacac</i> ₂ en)	CF ₃	CF ₃	CH ₂ CH ₂
	(7)	H ₂ (<i>acac</i> ₂ pn) ^d	CH ₃	CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂
	(8)	H ₂ (<i>acac phacac</i> pn)	CH ₃	C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂
	(9)	H ₂ (<i>phacac</i> ₂ pn)	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂
	(10)	H ₂ (<i>phacac tfacac</i> pn)	C ₆ H ₅	CF ₃	CH(CH ₃)CH ₂
	(11)	H ₂ (<i>acac tfacac</i> pn)	CH ₃	CF ₃	CH(CH ₃)CH ₂
	(12)	H ₂ (<i>tfacac</i> ₂ pn)	CF ₃	CF ₃	CH(CH ₃)CH ₂

^a *acac* = пентан-2,4-дион ; *en* = етан-1,2-диамин
^b *phacac* = 1-фенилбутан-1,3-дион ;
^c *tfacac* = 1,1,1-трифлуоропентан-2,4-дион
^d *pn* = пропан-1,2-диамин

Из експериментално добијених ретенционих параметара израчунати су параметри липофилности (R_M^0 и C^0) који су за нека од једињења приказана у Табели 2, заједно са статистичким параметром (r), као и са параметром липофилности $ClogP$ који је израчунат помоћу програма.

Хроматографски и рачунски добијени параметри липофилности су корелисани међусобно (Слика 6), као и са експериментално одређеном минималном инхибиторном концентрацијом (MIC) која представља антимикробну активност испитиваних једињења на гљивице (*Sacharomyces cerevisiae*) и бактерије (*Escherichia coli*).

Добијене зависности, које су параболичне, потврђују могућност примене RP хроматографије при избору једињења која су подесна за испитивање антимикробне активности. Одсуство линеарности указује на

Познато је да је ретенционо понашање супстанце, као и биолошка активност супстанце у директној вези са њеном структуром. Када је липофилност, која је одређена применом RP хроматографије, у директном односу са биолошком активношћу и уколико се добијају задовољавајуће корелације, онда је то познато као QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationship*) анализа која користи липофилност, као описник који се повезује са активношћу (Brzezinska и други, 2006).

Пример примене реверсно-фазне танкослојне хроматографије у „предвиђању“ биолошке активности - *Одређивање липофилности неких Шифових база* (Vaošić и други, 2008).

Испитивано је хроматографско понашање неких Шифових база (Табела 1) на стационарној фази силикагел RP-18 (плоче 20x20 cm, Merck) хоризонталном танкослојном хроматографијом (када за хроматографију-Samag HPTLC) применом смеше диоксиана (органски модификатор) и воде као мобилне фазе. Концентрација органског модификатора у мобилној фази је 50 - 80% (v/v) (инкремент 5%).

то да и други фактори, поред липофилности, утичу на испољавање активности.

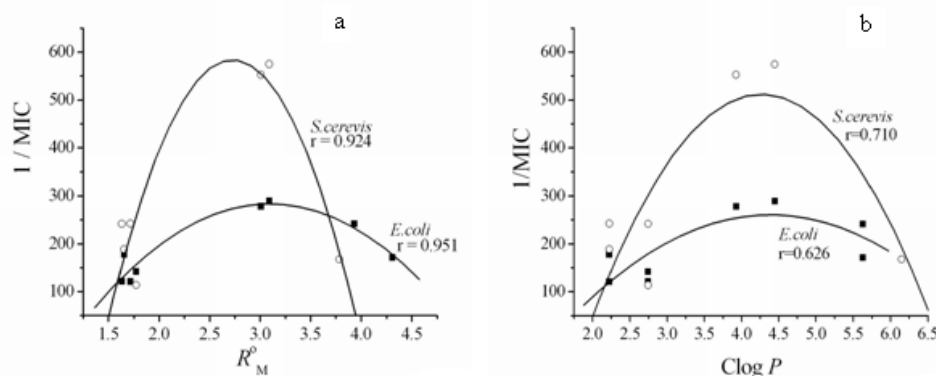
Хроматографски добијен параметар липофилности је у сагласности са израчунатим. Међутим, хроматографски одређени параметри липофилности су у много бољој корелацији са антимикробном активношћу у односу на израчунате параметре липофилности применом програма, јер последица стварног просторног распореда, међусобних интеракција различитих делова молекула као и интеракције са стационарном и мобилном фазом, док програм користи своју базу података за неопходно израчунавање. Ово је у складу са већ наведеним чињеницама да су интеракције између молекула у хроматографским и биолошким системима веома сличне и да реверсно-фазна хроматографија може успешно да се примени за „предвиђање“ биолошке

Табела 2. Израчунати параметри липофилности за испитивана једињења добијени линеарном регресионом анализом.

Једињење	R_M^0	m	r	C^0	Clog P
(1)	1,579 ($\pm 0,121$)	3,121 ($\pm 0,183$)	0,991	0,506	0,808
(2)	2,464 ($\pm 0,081$)	4,093 ($\pm 0,124$)	0,998	0,602	1,998
(3)	3,438 ($\pm 0,136$)	5,129 ($\pm 0,207$)	0,996	0,670	3,188
(4)	2,050 ($\pm 0,189$)	2,314 ($\pm 0,279$)	0,972	0,886	2,662
(5)	2,469 ($\pm 0,102$)	4,071 ($\pm 0,155$)	0,996	0,606	1,475
(6)	2,158 ($\pm 0,203$)	2,821 ($\pm 0,309$)	0,971	0,765	2,136
(7)	1,719 ($\pm 0,175$)	3,271 ($\pm 0,266$)	0,984	0,525	1,117
(8)	2,445 ($\pm 0,135$)	4,007 ($\pm 0,206$)	0,993	0,610	2,307
(9)	3,465 ($\pm 0,121$)	5,136 ($\pm 0,184$)	0,997	0,675	3,497
(10)	2,164 ($\pm 0,194$)	2,621 ($\pm 0,296$)	0,970	0,826	2,971
(11)	2,455 ($\pm 0,199$)	4,021 ($\pm 0,303$)	0,986	0,611	1,781
(12)	2,188 ($\pm 0,097$)	2,836 ($\pm 0,148$)	0,993	0,772	2,445

Значење параметара R_M^0 , m, C^0 и Clog P видети у тексту.

r – коефицијент корелације (што је већа вредност, корелација је боља).



Слика 6. Зависност антимикробне активности од R_M^0 (а) и од Clog P (б) вредности

активности молекула. Метод веома брзо и довољно поуздано може да пружи неопходну информацију о параметрима липофилности тј. о томе да ли посматрани молекул испуњава неопходни услов да би могао да покаже своју активност (уколико је поседује) – да се транспортује кроз биолошку мембрану.

За оне који желе да сазнају нешто више о овој теми препоручујем ревијалне радове Kaliszana и Hebergera објављене 2007. године.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Kostecka M., Niewiadomy A., Czczeko R. *Chromatographia* 2005; **62**:121-126.
2. Soczewinski E., Wachtmeister C.A. *Journal of Chromatography* 1962; **7**:311-320. Brzezinska E., Koska F. *Biomedical Chromatography* 2006; **20**:1004-1016.
3. Baosić R.M., Radojević A.D., Radulović M., Miletić S., Natić M.M. Tešić Z.Lj. *Biomedical Chromatography* 2008, **22**: 379-386.
4. Slawik T., Paw B. *Journal of Planar Chromatography-Modern TLC* 2003; **16**(6):442-446.
5. Kaliszana R. *Chemical Reviews* 2007; **107**: 3212-3246.
6. Heberger K. *Journal of Chromatography A* 2007; **1158**: 273-305.

Abstract

REVERSED-PHASE CHROMATOGRAPHY, PRINCIPLE AND APPLICATION FOR PREDICTION OF BIOLOGICAL ACTIVITY

Rada Baosić, Hemijski fakultet, Beograd

Reversed-phase chromatography is the term used to describe the chromatographic method in which the stationary phase is hydrophobic or non-polar (e.g. octadecyl group), while the starting mobile phase (e.g. water) must be more polar than the stationary phase. The distribution of the solute between the two phases depends on the binding properties of the stationary phase, the hydrophobicity of the solute and the composition of the mobile phase. Reversed phase chromatography is an adsorptive process, which relies on a partitioning mechanism to effect separation. Elution can be performed isocratic (the water-solvent composition does not change during the separation process) or by using a gradient (the water-solvent composition does changes during the separation process). Reversed phase chromatography has found both analytical and preparative applications in the area of biochemical separation and purification. Lipophilicity is an important physicochemical property of bioactive compounds, related to the ability of molecule to be transported through biological membranes. Reversed-phase thin layer chromatography is frequently

used to estimate the lipophilicity of organic compounds. It is considered that the very similar principal intermolecular interactions determine the behavior of chemical compounds in both biological and chromatographic environments. From the obtained retention parameters (R_F) the lipophilicity parameters (R_M^o and C^o) of the investigated compounds can be determined. The chromatographically obtained lipophilicity parameters describes intra- and intermolecular

interactions that actually exist under the experimental conditions, thus give more realistic description of examined system, than calculated values and can be used for further quantitative structure-activity relationship studies. As the example, the determination of the lipophilicity of some Schiff bases by RP TLC and their correlation with antibacterial activity was described.



Александар БОЈИЋ, Природно-математички факултет Универзитета у Нишу,
(e-mail: bojic@bankerinter.net)

СПЕЦИФИЧНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ВОДЕ И ЊИХОВ ЗНАЧАЈ

ПОЈАВЉИВАЊЕ ВОДЕ НА ЗЕМЉИ

Како се и када појавила хидросфера наше планете? То питање остаје скоро нерешиво. О појављивању воде на Земљи постоје многе хипотезе, али су следеће три наупечатљивије. Најраспрострањенија је хипотеза о космичком пореклу воде на Земљи. Наша галаксија је настала из космичке прашине, која је поред осталог садржала и воду, првенствено у облику леда. Присуство кисеоника и водоника, а такође садржај леда у смеси са метаном, амонијаком и минералним компонентама у језгру комета, представља основу теорије порекла воде на Земљи. Друга хипотеза говори о земаљском пореклу воде. Академик Виноградов је изнео претпоставку да је постепеним хлађењем масе Земље, у првом стадијуму њеног постанка, долазило до кондензовања испарљивијих материја, међу којима је била и вода. Трећа теорија претпоставља да су се испод Земљине коре формирали примарни флуиди у зонама високих притисака и температуре, који су се претежно састојали од водоника и угљоводоника. У горњим слојевима Земљине коре долази до интеракције ових флуида са оксидним минералима, што доводи до примарног образовања воде и угљен-диоксида.

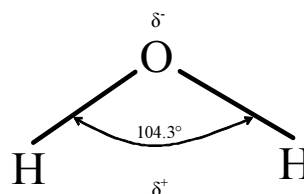
Вода представља најважније једињење за развој живог света на Земљи. У периоду настајања Земљине атмосфере, у њој није било кисеоника. Због тога су прва органска једињења настајала из метана, амонијака и воде као извора кисеоника. У том такозваном абиогеном периоду Земљине историје, долази до појаве првих супстанци које представљају основне састојке живих организама – аминокиселина и њихових полимера – пептида. Први живи организми на Земљи појавили су се, такође, у анаеробним условима. Они су добијали енергију из околне средине оксидацијом одређених органских молекула абиогеног порекла, уз помоћ воде и Сунчеве светлости.

ДА ЛИ ЈЕ ВОДА ЈЕДНОСТАВНА?

Према хемијској формули – H_2O , обзиром да се састоји само од водоника и кисеоника, рекло би се да је вода веома једноставно једињење. Међутим, водоник у

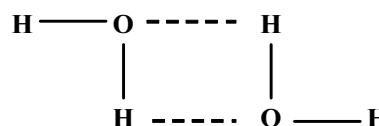
природним условима може постојати у виду три изотопа: протијума 1H , деутеријума 2H и трицијума 3H . Са друге стране, постоји још већи број изотопа кисеоника, са следећим атомским масама: ^{13}O , ^{14}O , ^{15}O , ^{16}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{19}O , ^{20}O . Имајући у виду све ове изотопе, вода представља једињење са 135 могућих изотопских облика, мада се природна вода састоји 99% од једињења $^1H_2^{16}O$.

Везе кисеоник – водоник у молекулу воде граде угао од $104,3^\circ$ (слика 1.). Последица овога је не-



Слика 1. Угао веза у молекулу воде

симетричност и изразита поларност молекула воде. Постојање дипола изазива међусобно привлачење молекула воде. Разлика у парцијалним наелектрисањима кисеоника и водоника чини међумолекулске силе толико јаким, да се јавља специфична међумолекулска веза, коју називамо водоничном везом. Због тога се у течном стању јављају асоцијати два, три и више молекула воде, мада је најчешће стање течне воде (H_2O)₂ (слика 2.).



Слика 2. Димер молекула воде

Код преласка воде у чврсто стање, односно код образовања леда, јавља се веома правилна кристална структура, у којој атом кисеоника гради две водоничне везе са водониковим атомима два молекула воде. Тако је сваки молекул воде окружен са четири суседна, градећи тераедар. Коначно, већи број молекула воде гради просторне кластере, који у својој унутрашњости могу