



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

ȘCOALA DOCTORALĂ

REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT

Studii QSAR pentru evaluarea enantioseparării unor beta-blocante pe faze staționare cu derivați de polizaharide

Doctorand: **Mona-Maria Talmaciu**

Conducător de doctorat: **Prof. Dr. Radu Oprean**

CUPRINS

INTRODUCERE	13
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
1. Aspecte generale asupra moleculelor chirale	17
1.1. Considerații istorice asupra chiralității moleculare	17
1.2. Evoluția reglementărilor referitoare la medicamentele chirale în Europa	19
1.3. Terminologie	20
1.4. Efectul terapeutic al beta-blocantelor din perspectiva chiralității	21
2. Studii de enantioseparare cromatografică	
2.1. Aspecte teoretice	25
2.1.1. Terminologia utilizată pentru caracterizarea separărilor cromatografice	25
2.1.2. Tipuri de faze staționare	26
2.2. Studii HPLC efectuate pe beta-blocante care utilizează faze staționare cu derivați de polizaharide	31
2.2.1. Studii de separare a enantiomerilor	31
2.2.2. Studii de stabilire a ordinii de eluție a enantiomerilor	33
3. Studii computaționale pentru stabilirea de corelații între structura moleculară și comportamentul cromatografic	35
3.1. Aspecte teoretice	35
3.1.1. Descriptori moleculari în studiul chiralității moleculare	35
3.1.2. Relații cantitative structură-activitate (proprietate)	37
3.2. Studii computaționale efectuate pe beta-blocante	39
CONTRIBUȚII PERSONALE	
1. Obiective	45
2. Metodologie generală	46
3. Studiul 1. Optimizarea structurilor enantiomerilor beta-blocantelor	
3.1. Introducere	49
3.2. Materiale și metode	50
3.2.1. Construirea moleculelor și generarea enantiomerilor	50
3.2.2. Optimizarea geometriilor structurilor 3D a enantiomerilor beta-blocantelor	53
3.3. Rezultate și discuții	55
3.4. Concluzii	57
4. Studiul 2. Hărți ale potențialului electrostatic pentru enantiomerii atenololului	
4.1. Introducere	59
4.2. Materiale și metode	60
4.3. Rezultate și discuții	61
4.3.1. Avogadro	61
4.3.2. Maestro	62
4.4. Concluzii	65
5. Studiul 3. Parametrii reactivității chimice globale pentru o serie de beta-blocante prin prisma teoriei orbitalilor de frontieră	
5.1. Introducere	67

5.2. Materiale și metode	69
5.2.1. Optimizarea geometriei	69
5.2.2. Descriptor calculation	69
5.3. Rezultate și discuții	70
5.3.1. Energiile HOMO și LUMO	70
5.3.2. Diferența de energie dintre HOMO și LUMO	74
5.3.3. Tăria chimică	75
5.3.4. Moliciunea globală	76
5.3.5. Electronegativitatea absolută	77
5.3.6. Potențialul chimic electronic	78
5.3.7. Indicele de electrofilicitate globală	79
5.4. Concluzii	80
6. Studiul 4. Predicția comportamentului cromatografic al unor beta-blocante pornind de la structura moleculară prin analiză QSPR	
6.1. Introducere	81
6.2. Materiale și metode	83
6.2.1. Baza teoretică	83
6.2.2. Analiza datelor	83
6.3. Rezultate și discuții	84
6.3.1. Analiza descriptorilor moleculari și parametrilor cromatografici prin PCA și OPLS/O2PLS	85
6.3.2. Influența aditivului asupra puterii de predicție a modelelor	93
6.3.3. Rafinarea modelului folosind validare externă	94
6.3.4. Rafinarea modelului folosind analiza cluster	98
6.3.5. Contribuțiile descriptorilor	103
6.5. Concluzii	110
7. Concluzii generale	113
8. Originalitate și contribuții inovative ale tezei	117
BIBLIOGRAFIE	119

Cuvinte cheie: beta-blocante, enantiomer, descriptori moleculari, studii QSPR, MOE

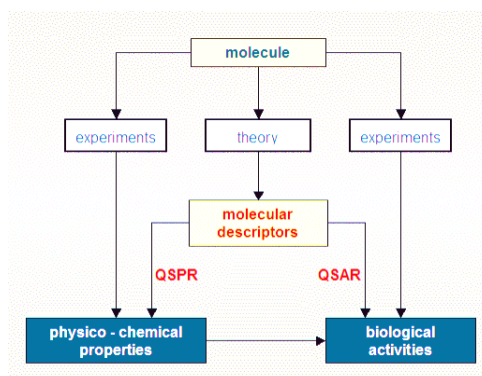
INTRODUCERE

Antagoniștii beta-adrenergici sunt o clasă importantă de medicamente utilizate pe scară largă în terapie pentru variate tulburări cardiovasculare, în episoade de anxietate, migrene, hipertiroidism și în glaucom cu unghi deschis. Reprezentanții acestei clase constituie prima linie de tratament în managementul medical al hipertensiunii arteriale.

Toate beta-blocante, având structura generală de ariloxiaminopropanol sunt chirale și prezintă stereoselectivitate ridicată în ceea ce privește proprietățile farmacodinamice și farmacocinetice; enantiomerul S este între 50 și 500 de ori mai activ biologic, comparativ cu enantiomerul R. Introducerea de noi metode de enantioseparare, reducerea costurilor și a timpului petrecut pentru optimizarea acestora, precum și investigarea mecanismului de enantiodiscriminare, au condus la cuplarea abordării clasice experimentale cu cea teoretică, prin studii de calcul computațional. Studiile de acest tip efectuate pe beta-blocante și raportate în literatură se referă la configurația lor absolută și ordinea de eluație a enantiomerilor, la predicția parametrilor separării lor chirale, la elucidarea mecanismului de discriminare.

Studiul teoretic de față se aplica pe un set de 14 beta-blocante chirale având structura generală de ariloxiaminopropanol. Datele experimentale au fost extrase dintr-un studiu de separare HPLC care a folosit 4 coloane cu pe bază de derivați de polizaharide imobilizați chimic pe silicagel și 3 aditivi bazici diferiți pentru faza mobilă. În literatura de specialitate au fost raportate studii în ceea ce privește mecanismul de separare atunci când se utilizează faze staționare cu derivați de polizaharide. Separarea poate proveni din interacțiunea dintre grupările polare carbat (carbonil și grupări NH) ale selectorului chiral și fragmentul enantiomeric, prin legături de hidrogen și prin interacțiuni de tip dipol-dipol. Grupările hidroxil și amină din beta-blocante pot acționa atât ca donori cât și acceptori de hidrogen, în timp ce perechea de electroni neparticipanți ai grupării aminice secundare oferă un situs nucleofil, ca potențial loc de interacțiune cu selectorul chiral prin formare de legături de hidrogen. Gruparea carbonilică poate acționa atât ca nucleofil (oxigenul cu electroni neparticipanți, legătură π C=O) și ca electrophil, din cauza separării sarcinilor între cei doi atomi. Grupările aromatice din structura beta-blocantelor pot contribui la stabilitatea complexului diastereomeric enantiomer-selector chiral, prin introducerea inelului aromatic în cavitatea chirala a acestuia.

Relațiile cantitative structură-activitate (proprietate) (QSAR/QSPR) pot aduce contribuții considerabil de importante în stabilirea de corelații între caracteristicile structurale și activitatea biologică sau comportamentul chimic al moleculelor. Etapele dintr-un studiu QSAR / QSPR sunt ilustrate în figura de mai jos:



Etapele unui studiu QSAR / QSPR

Un descriptor molecular este o valoare atribuită unei caracteristici specifice derivată dintr-o structură moleculară bine definită sau dintr-o procedură experimentală. Cu alte cuvinte, aceste cifre reprezintă mici informații de natură chimică, extrase dintr-o reprezentare a unei molecule. Descriptorii sunt clasificați în funcție de informația conținută: fizico-chimici, cuantici, topologici, constituționali, ai prezenței unor atomi, legături, grupări funcționale specifice, sau în funcție de dimensionalitate lor ca descriptori mono, bi sau tridimensional. Descriptorii 3D necesită pre-tratament înainte de calculul efectiv. Acest lucru se realizează prin optimizarea geometriei structurilor moleculare, care generează conformația stabilă care are cea mai mică energie.

Cu toate că analizele QSAR / QSPR sunt suficient de bine studiate, în cazul separării compușilor chirali și corelării descriptorilor moleculari și parametrilor experimentali, există încă multe provocări.

CONTRIBUȚII PERSONALE

Această teză a avut drept obiective majore construirea de modele de predicție a parametrilor cromatografici obținuți la separarea a 14 beta-blocante sub formă de racemic, având un singur centru chiral și de a obține o perspectivă mai clară asupra mecanismelor de recunoaștere care ar putea fi implicate în enantiosepararea lor, prin evidențierea celor mai importante informații chimice derivate din structura 3D. Principala provocare întâlnită a fost legată de structurile complexe ale celor patru faze staționare chirale folosite, care sunt derivați polimerici de amiloză și celuloză. În scopul evitării acestei probleme, acest studiu s-a bazat numai pe caracteristicile structurilor enantiomerilor beta-blocantelor.

Primul pas a fost optimizarea geometriilor structurilor 3D ale compușilor studiați. Structurile tuturor enantiomerilor au fost supuse mai multor etape de optimizare folosind algoritmi adecvați și softuri de modelare moleculară. Au fost generați numeroși conformeri pentru fiecare enantiomer. Conformerii stabili corespunzători enantiomerilor carvedilolului a înregistrat energii semnificativ mai mari decât oricare dintre celelalte beta-blocante studiate. De asemenea, o similaritate a valorilor de energie pentru cei mai stabili conformeri au grupat alprenololul, metoprololul, oxprenololul, pindololul și propranololul împreună, aceștia având valori cuprinse între 20 și 40 eV.

În al doilea studiu, hărțile potențialului electrostatic de suprafață au fost generate pentru enantiomerii atenololului; atenololul a fost ales deoarece este unul dintre beta-blocantele cele mai studiate și astfel rezultatele obținute pot fi confruntate cu datele din literatură. Prin studierea hărților potențialului electrostatic pot fi vizualizate distribuția sarcinilor în moleculă. Cele mai mici valori ale potențialului electrostatic în cazul ambilor enantiomeri ai atenololului sunt atribuite atomilor de oxigen din gruparea amidică și din gruparea hidroxil, în această ordine. Valori ridicate ale potențialului electrostatic sunt atribuite ambilor atomi de azot în moleculă.

Studiul următor se ocupă de calcularea parametrilor de reactivitate chimică globală (energiile HOMO și LUMO, diferența dintre energiile HOMO și LUMO, electronegativitatea, potențialul chimic, tăria chimică, moliciunea globală, indicele de electrofilicitate); au rezultat valori mari pentru energiile HOMO, subliniind prezența siturilor nucleofile în enantiomerii beta-blocantelor, ca posibilitate de interacțiune cu selectorii chirali, prin formare de legături de H.

Având în vedere că structura generală a beta-blocantelor studiate conține un grupare amină, bazică și structurile tuturor selectorii chirali conțin o grupă carbonilică, acida (în gruparea carbamat), cele două pot interacționa, dacă energia ridicată HOMO a grupării amino a enantiomerilor intră în legătură cu LUMO scăzut al grupării C=O a selectorului chiral, ambele grupări devenind mai puțin reactive, și, ca atare, mai stabile. În cazul în care valoarea mai mare a energiei HOMO a celor doi enantiomeri ar putea însemna, eventual, o conexiune mai stabilă la site-urile electrofile în selectorul chiral, rezultatele obținute ar sugera faptul că enantiomerii S ai acebutololului, propranololului și sotalololului sunt mai reținuți pe fazele staționare polizaharidice, rezultate care au putut fi confirmate în literatura de specialitate. Cum era

de așteptat, au fost obținute valori ridicate pentru diferența de energie HOMO-LUMO, aceasta sugerând o bună stabilitate a moleculelor enantiomerilor beta-blocantelor și o reactivitate chimică scăzută, reprezentată prin valori ridicate de tărie chimică și valori scăzute ale moliciunii globale.

Ultimul studiu realizat a fost un studiu QSPR, care a generat modele predictive rezultate din corelarea datelor experimentale și a tehnicilor computaționale și chemometrice. Analiza datelor a relevat două cluster distincte în setului testat de beta-blocante (primul conținând oxprenolol, metoprolol, alprenolol, propranolol, pindolol și al doilea conținând restul reprezentanților beta-blocantelor) și a evidențiat comportamentul particular al carvedilolului.

În urma rafinării ulterioare a modelelor predictive, puterea de predicție a atins un nivel satisfăcător. Rezultatele sunt sintetizate în tabelul de mai jos, care prezintă valorile erorilor de predicție. Cu cât valoarea este mai aproape de 0, cu atât modelul este mai robust.

Puterea de predicție a modelelor O2PLS generate după PLS-Tree® clustering

Coloană	Aditiv	Cluster	R ² Y	Q ² Y	RMSEcv			
					α	k'	t _R	R _S
IA	EA	1	0.976	0.909	0.0393	0.1715	0.4516	0.2625
		2	0.978	0.909	0.0550	0.8890	2.5060	0.7340
	EDA	1	0.936	0.782	0.0645	0.2320	0.6275	0.6430
		2	0.971	0.851	0.1076	1.0049	2.7971	0.8509
	DEA	1	0.971	0.824	0.0427	0.2732	0.7210	0.2318
		2	0.974	0.895	0.0343	1.0566	2.9638	0.2382
IB	EA	1	0.981	0.635	0.1889	0.4503	1.4128	0.7949
		2	0.987	0.925	0.0038	0.7284	2.2157	0.1312
	EDA	1	0.959	0.813	0.1254	0.5297	1.6675	1.2923
		2	0.993	0.956	0.0040	0.8859	2.4451	0.0607
	DEA	1	0.977	0.728	0.0798	0.4719	1.4489	0.6280
		2	0.997	0.949	0.0125	0.8207	1.5202	0.0667
IC	EA	1	0.993	0.864	0.0882	0.4951	1.5338	0.5643
		2	0.995	0.861	0.0141	0.5755	1.6425	0.3002
	EDA	1	0.991	0.836	0.0992	0.5103	1.6135	0.8263
		2	0.987	0.860	0.0145	0.5618	1.5287	0.3370
	DEA	1	0.992	0.853	0.0782	0.4654	1.4555	0.7354
		2	0.987	0.862	0.0136	0.5795	1.5872	0.3016
ID	EA	1	1.000	0.920	0.0313	0.2033	0.6602	0.1408
		2	0.914	0.817	0.1267	0.3663	3.8481	0.8744
	EDA	1	0.879	0.587	0.2273	0.5149	1.6255	1.1918

	2	0.896	0.822	0.1183	0.5221	3.6570	1.1782
DEA	1	0.881	0.611	0.1807	0.4746	1.4864	1.2546
	2	0.853	0.742	0.1225	0.5975	4.2574	1.1870

Puterea de predicție a modelelor am mai putea fi îmbunătățită suplimentar prin lărgirea setului de beta-blocante pentru care se calculează descriptorii moleculari, prin calcularea de descriptorii moleculari și pentru fazele staționare. Realizarea de studii docking care să simuleze interacțiunile dintre analit și fază staționară ar putea oferi informații adiționale privind mecanismul de enantiodiscriminare.

Cele mai importante contribuții rezultate din modele obținute în predicția valorilor parametrilor cromatografici au avut de departe clasa de descriptorii ai formei, mărimii și volumului moleculei și descriptorii ai sarcinilor parțiale. S-a observat și contribuția descriptorilor MOPAC, a căror creștere în valoare determină creșterea timpului de retenție, însă doar în cazul coloanelor cu derivați de celuloză. Alți descriptorii care s-au corelat pozitiv sau negativ au fost atomii donori sau acceptori de legături de hidrogen, energia potențială totală, căldura de formare, potențial de ionizare, suprafață și volum van der Waals, greutate moleculară, refractivitate, suprafața polară totală.



DOCTORAL SCHOOL

SUMMARY OF PHD THESIS

QSAR studies for the enantioseparation of several beta- blockers on stationary phases with polysaccharide derivatives

PhD student: **Mona-Maria Talmaciu**

PhD supervisor: **Prof. Dr. Radu Oprean**

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION	13
STATE OF THE ART	
1. General aspects of chiral molecules	17
1.1. Historical aspects of molecular chirality	17
1.2. Evolution of the regulatory guidance of chiral drugs in Europe	19
1.3. Terminology of molecular chirality	20
1.4. Beta-blocking effect from the chirality point of view	21
2. Chromatographic enantioseparation studies	
2.1. Theoretical aspects	25
2.1.1. Terminology used to characterize a chromatographic separation	25
2.1.2. Chiral stationary phases	26
2.2. HPLC studies using polysaccharide-based CSPs conducted on beta-blockers	31
2.2.1. Separation studies	31
2.2.2. Enantiomer order of elution studies	33
3. Computational studies correlating molecular structure to chromatographic behavior	35
3.1. Theoretical aspects	35
3.1.1. Molecular descriptors for chirality studies	35
3.1.2. Quantitative structure-activity (propriety) relationships	37
3.2. Computational studies conducted on beta-blockers	39
PERSONAL CONTRIBUTION	
1. Objectives	45
2. General methodology	46
3. Study 1. Structure optimization of beta-blocker enantiomers	
3.1. Introduction	49
3.2. Materials and methods	50
3.2.1. Building the molecules and generating their enantiomers	50
3.2.2. Optimizing the geometries of the 3D structures of the beta-blocker enantiomers	53
3.3. Results and discussions	55
3.4. Conclusions	57
4. Study 2. Electrostatic potential maps of atenolol enantiomers	
4.1. Introduction	59
4.2. Materials and methods	60
4.3. Results and discussions	61
4.3.1. Avogadro Version 1.2.0	61
4.3.2. Maestro Version 10.6	62
4.4. Conclusions	65

5. Study 3. Global chemical reactivity parameters for several chiral beta-blockers from Frontier Orbital Theory Viewpoint	
5.1. Introduction	67
5.2. Materials and methods	69
5.2.1. Geometry Optimization	69
5.2.2. Descriptor calculation	69
5.3. Results and discussions	70
5.3.1. HOMO and LUMO Energies	70
5.3.2. HOMO-LUMO gap	74
5.3.3. Hardness	75
5.3.4. Softness	76
5.3.5. Electronegativity	77
5.3.6. Chemical potential	78
5.3.7. Global electrophilicity	79
5.4. Conclusions	80
6. Study 4. Predicting Chromatographic Behavior of Several Chiral beta-Blockers from Molecular Structure by QSPR Analysis	
6.1. Introduction	81
6.2. Materials and methods	83
6.2.1. Theoretical Basis	83
6.2.2. Data analysis	83
6.3. Results and discussions	84
6.3.1. Data analysis of MD and chromatographic parameters by PCA and OPLS/O2PLS	85
6.3.2. Influence of additive on the predictive power of the model	93
6.3.3. Model improvement through external validation approach	94
6.3.4. Model improvement by cluster analysis	98
6.3.5. Descriptor contribution	103
6.5. Conclusions	110
7. General conclusions	113
8. Originality and inovative contributions of the thesis	117
REFERENCES	119

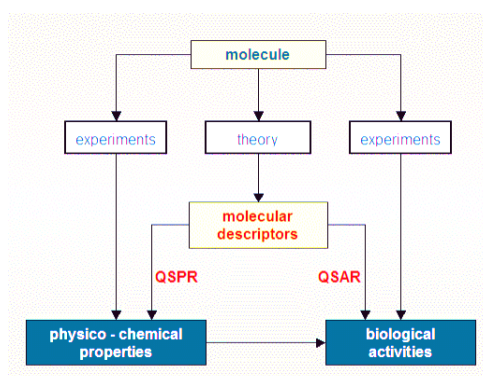
Keywords: beta-blockers, enantiomer, molecular descriptors, QSPR studies, MOE

INTRODUCTION

Beta-adrenergic antagonists are a very important group of drugs widely used in therapy for several cardiovascular disorders, in anxiety episodes, migraine, hyperthyroidism and in open angle glaucoma. The representatives of this class have been established as first line of treatment in the medical management of hypertension. All beta-blockers with aryloxyaminopropanol general structure are chiral and exhibit high stereoselectivity in their pharmacodynamic and pharmacokinetic properties for each enantiomer; the S-enantiomer is between 50 and 500 times more biologically active compared to the R-enantiomer. Improvement of enantioseparation methods, reduction of costs and time spent on method optimization, as well as investigation of the enantiodiscrimination mechanism, have led to coupling the experimental approach with a theoretical one, through computational studies. Computational studies that have been conducted on beta-blockers concern their absolute configuration and enantiomeric elution order, the prediction of parameters of their chiral separation, elucidation of the discrimination process.

The present theoretical research is carried out for 14 chiral beta-blockers, with an aryloxyaminopropanol general structure. The experimental data was extracted from a HPLC separation study that used 4 columns with polysaccharide-based CSPs chemically immobilized on silica gel and 3 different basic mobile phase additives. Several findings have been reported in the literature in terms of separation mechanism when polysaccharide-based CSPs with carbamate derivatives are employed. Separation could come from the interaction between the polar carbamate groups (carbonyl and NH groups) and the enantiomeric fragment, through hydrogen bonding and through dipole-dipole interaction. The hydroxyl and amine groups from the beta-blocker are able to act both as hydrogen donors or acceptors, whereas the lone electron pair of the secondary amine group provides a nucleophilic site as potential means of interactions with the CSP through hydrogen bonds. The carbonyl functional group acts both as a nucleophile (oxygen's lone pairs of electrons, C-O π bond) and as an electrophile, because of the charge separation between the two atoms. The aromatic groups in the analyte structure may contribute also to the stability of the enantiomer-CSP diastereomeric complex through insertion of the aromatic ring into the chiral cavity of the CSPs.

Quantitative structure-activity (propriety) relationships are considerably important for searches of correlation between structure features and biological activity or chemical behavior. The steps in a QSAR/QSPR study are illustrated in the figure below:



The general steps in a QSAR/QSPR study

A molecular descriptor is a value attributed to a specific characteristic derived from a well-defined molecular structure or experimental procedure. In other words, these numbers represent small pieces of chemical information extracted from a representation of a molecule. Descriptors are classified

according to their information content as physicochemical, quantum chemical, topological, constitutional descriptors, including specific atoms, bonds and functional groups, or according to their dimensionality as 1, 2, or 3D descriptors. 3D descriptors require pretreatment prior to the actual descriptor calculation. This is done through geometry optimization of the molecular structures, which generates the conformations that have the lowest stable energy.

Although there is a great deal of knowledge in the field of QSAR/QSPR approaches, in the case of chiral compounds separation and correlation between molecular descriptors and experimental parameters, there are still many challenges still to be tackled.

PERSONAL CONTRIBUTION

This thesis had as major objectives to build predictive models for the chromatographic parameters derived from the separation of 14 racemic beta-blockers with one chiral center and to gain better insight into the recognition mechanisms that may be involved in their enantioseparation, by establishing which could be the most significant pieces of chemical information derived from their 3D structure. However, the main challenge encountered has been related to the complex structures of the four chiral stationary phases employed, which are polymeric derivatives of amylose and cellulose phenylcarbamates. In order to steer clear of this problem, this study relied only on the characteristics of the structures of the beta-blocker enantiomers.

The first step was to optimize geometries for the 3D structures of the studied compounds. The structures of all enantiomers were subjected to several stages of optimization using appropriate algorithms and molecular modeling software. Numerous conformers were generated for each enantiomer. Some particular behaviors were observed. Carvedilol's stable conformers had significantly higher energies than any of the other beta-blockers exhibited. Also, a similarity in energy values for the most stable conformers grouped alprenolol, metoprolol, oxprenolol, pindolol and propranolol together, having values between 20 and 40 eV.

In the second study, electrostatic potential surface maps were generated for atenolol; atenolol was chosen because it is one of the most studied beta-blockers and the obtained results could be confronted with the literature, which showed that they were in accordance with what is known. By studying the electrostatic potential maps the charge distributions in molecules was visualized and distinctly charged areas were noticed. The lowest electrostatic potential values in both enantiomers of atenolol are attributed to the oxygen atom from the amide group and in the hydroxyl group, in that order. High values of electrostatic potential are assigned to both nitrogen atoms in the molecule.

The next study calculated the global chemical reactivity parameters (HOMO, LUMO, HLG, electronegativity, chemical potential, hardness and softness, electrophilicity); the results showed high HOMO energy values, representing proof of nucleophilic sites in the beta-blocker enantiomers, as potential means of interaction with the phenylcarbamate-polysaccharide chiral selectors, through hydrogen bonds. Considering the general structure of the studied beta-blockers contains a basic amine moiety and that of all chiral selectors contains an acidic carbonyl moiety (in the carbamate group), the two may interact, if the high HOMO energy of the amine group of the beta-blocker enantiomers mix with the low LUMO of the C=O group of the chiral selector, by making both amine and carbonyl groups less reactive, and as such more stable. If the higher value of HOMO energy of the two enantiomers could possibly mean a more stable connection to the electrophilic sites in the CSPs, the obtained results would suggest that the S enantiomers of acebutolol, propranolol and sotalol are more retained on polysaccharide CSPs, which could be confirmed in the found literature. The high values for HOMO-LUMO gap were expected, as this implies a good stability of the beta-blocker enantiomer molecules and indicates low chemical reactivity, represented through high hardness values and low softness values.

The last study conducted was a QSPR study that generated predictive models resulted from correlating experimental data and computational and chemometric techniques. Data analysis revealed two distinct clusters within the tested set of beta-blockers (1st containing oxprenolol, metoprolol,

alprenolol, propranolol, pindolol and the 2nd group containing the remainder of beta-blocker representatives) and highlighted the particular behavior of carvedilol, that were grouped together based on the modeling of calculated molecular descriptors.

Through subsequent refinement stages of the predictive models, the predictive power reached a satisfactory level. This is synthesized in the table below, which shows the values of the errors of prediction. The closer the value is to 0, the better is the model.

Predictive power of the generated O2PLS class models upon PLS-Tree® clustering

Column	Additive	Cluster	R ² Y	Q ² Y	α	RMSEcv		
						k'	t _R	R _S
IA	EA	1	0.976	0.909	0.0393	0.1715	0.4516	0.2625
		2	0.978	0.909	0.0550	0.8890	2.5060	0.7340
	EDA	1	0.936	0.782	0.0645	0.2320	0.6275	0.6430
		2	0.971	0.851	0.1076	1.0049	2.7971	0.8509
	DEA	1	0.971	0.824	0.0427	0.2732	0.7210	0.2318
		2	0.974	0.895	0.0343	1.0566	2.9638	0.2382
IB	EA	1	0.981	0.635	0.1889	0.4503	1.4128	0.7949
		2	0.987	0.925	0.0038	0.7284	2.2157	0.1312
	EDA	1	0.959	0.813	0.1254	0.5297	1.6675	1.2923
		2	0.993	0.956	0.0040	0.8859	2.4451	0.0607
	DEA	1	0.977	0.728	0.0798	0.4719	1.4489	0.6280
		2	0.997	0.949	0.0125	0.8207	1.5202	0.0667
IC	EA	1	0.993	0.864	0.0882	0.4951	1.5338	0.5643
		2	0.995	0.861	0.0141	0.5755	1.6425	0.3002
	EDA	1	0.991	0.836	0.0992	0.5103	1.6135	0.8263
		2	0.987	0.860	0.0145	0.5618	1.5287	0.3370
	DEA	1	0.992	0.853	0.0782	0.4654	1.4555	0.7354
		2	0.987	0.862	0.0136	0.5795	1.5872	0.3016
ID	EA	1	1.000	0.920	0.0313	0.2033	0.6602	0.1408
		2	0.914	0.817	0.1267	0.3663	3.8481	0.8744
	EDA	1	0.879	0.587	0.2273	0.5149	1.6255	1.1918
		2	0.896	0.822	0.1183	0.5221	3.6570	1.1782
	DEA	1	0.881	0.611	0.1807	0.4746	1.4864	1.2546
		2	0.853	0.742	0.1225	0.5975	4.2574	1.1870

The predictive power of the models could be further improved by expanding the number of observations on the entire range of existing beta-blockers as well as by feeding into the model molecular descriptors derived from the 3D representations of the CSPs. Modelling the diastereomeric complexes between the analyte and CSP through a docking study would result in more information regarding the discrimination mechanism.

By far the strongest contributions to the chemometric models were exhibited by two classes of descriptors: the class of 3D descriptors that depend on surface area, volume and shape and the class of 2D partial charge descriptors. A preferential contribution of descriptors is also observed in case of MOPAC molecular descriptors, which increase with the increase of t_R, in the case of columns with cellulose-based polymer backbone, while for amylose-based columns the correlation is insignificant. Other descriptors that exhibited significant contributions to the models, either correlating positively or negatively, were H-bond donor and acceptor atoms, total potential energy, heat of formation, ionization potential, van der Waals surface area and volume, molecular weight, molecular refractivity and polarizability and total polar surface area.

The contribution to the literature of this research project is novel and has the potential to become a meaningful source of information regarding the recognition mechanism that involves the discrimination between the enantiomers of beta-blockers with polysaccharide-based chiral selectors.