

Štúdium lokálnych anestetík

Časť 191: Využitie umelých neurónových sietí pri štúdiu korelácií medzi vypočítanými a nameranými hodnotami retenčných faktorov k v rôznych separačných systémoch v skupine bázičných esterov alkoxy substituovanej kyseliny fenyلكarbámovej*

ĎURČEKOVÁ T.¹, BORONOVÁ K.¹, LEHOTAY J.², MOCÁK J.¹, ČIŽMÁRIK J.³, DENDERZ N.²

¹Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave, Fakulta prírodných vied, Katedra chémie

²Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Ústav analytickej chémie

³Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmaceutickej chémie

Došlo 2. srpna 2010 / Prijato 10. září 2010

SÚHRN

Štúdium lokálnych anestetík

Časť 191: Využitie umelých neurónových sietí pri štúdiu korelácií medzi vypočítanými a nameranými hodnotami retenčných faktorov k v rôznych separačných systémoch v skupine bázičných esterov alkoxy substituovanej kyseliny fenyلكarbámovej

V skupine bázičných esterov alkoxy substituovanej kyseliny fenyلكarbámovej sa využili umelé neurónové siete (ANN – artificial neural network) na predikciu HPLC retenčného faktora k . Veľmi dobré výsledky predikcie sa získali pre tri vyšetované systémy: fenylová kolóna, mobilná fáza acetonitril/voda (retenčný faktor k_{PhAc}), fenylová kolóna, mobilná fáza metanol/voda (retenčný faktor k_{PhMe}) a C18 kolóna, mobilná fáza acetonitril/voda (retenčný faktor k_{C18Ac}), ktoré sú vyjadrené závislosťami predikovaného retenčného faktora voči experimentálne nameranému. Úseky, ako aj smernice týchto zistených závislostí sa blížila k 0, resp. k 1. Výsledky pre systém C18 kolóna, mobilná fáza metanol/voda (retenčný faktor k_{C18Me}) na predpoveď k neboli veľmi vhodné.

Kľúčové slová: lokálne anestetiká – predikcia HPLC retenčného faktora – umelé neurónové siete

Čes. slov. Farm., 2010; 59, 205–209

SUMMARY

Studies of local anaesthetics

Part 191 – Utilization of artificial neural networks in the study of correlations between the calculated and measured values of retention factors k in various separation systems in the group of basic esters of alkoxy-substituted phenylcarbamic acid

Artificial neural networks (ANN) were utilized to predict the HPLC retention factor k of a group of basic esters of alkoxyphenyl-substituted phenylcarbamic acid. Very good results were obtained in the prediction of three investigated systems: phenyl column, acetonitrile/water mobile phase (retention factor k_{PhAc}), phenyl column, methanol/water mobile phase (retention factor k_{PhMe}), and C18 column,

*Časť 190: Farm. Obzor 2009; 78, 129–133.

Adresa pre korešpondenciu:

prof. Ing. Ján Mocák, DrSc.

Katedra chémie, Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda

Nám. J. Herdu 2, 917 01 Trnava, Slovenská republika

e-mail: jan.mocak@ucm.sk

acetonitrile/water mobile phase (retention factor $kC18Ac$), which are expressed by the dependences of the retention factor predicted vs. the retention factor experimentally measured. The intercepts and the slopes of the obtained dependences were close to 0 and 1, respectively. The results for the system C18 column, methanol/water mobile phase were not sufficiently suitable for the k prediction.

Key words: local anaesthetics – prediction of HPLC retention factor – artificial neural networks

Čes. slov. Farm., 2010; 59, 205–209

Má

Úvod

Termín umelé neurónové siete (ANN – artificial neural network) je daný historickým vývojom, keď vznik prvých umelých neurónových sietí bol inšpirovaný biologickými systémami. Existujú viaceré definície neurónovej siete. Jedna z nich, najvhodnejšia, je, že neurónová sieť je výpočtový model, zostavený na základe abstrakcie vlastností biologických nervových systémov. Základnou vlastnosťou umelých neurónových sietí je schopnosť abstrakcie, z ktorej vyplýva, že pravidlá určujúce vzťahy medzi vstupnými a výstupnými hodnotami prezentované vo vhodnej forme sú všeobecne aplikovateľné pre ktorýkoľvek skúmaný problém s príslušnými vstupnými hodnotami. Preto sa ANN využívajú vo výskume i v regulačnej technike v priemyslových aplikáciách.

Hlavným znakom neurónovej siete je jej štruktúra, t.j. vrstvy neurónov prepojených spojmami, po ktorých sa šíria

signály. Jednou z najvýznamnejších vlastností neurónových sietí je, že dokážu univerzálne aproximovať funkcie ¹⁾, aj také, ktoré sú nelineárne a zložené.

Úlohou neurónových sietí je schopnosť spracovávať úlohy a adaptovať sa na zmenu vstupných hodnôt. Využitie ANN vychádza z ich základných vlastností: učia sa z predchádzajúcej skúsenosti metódou spätného šírenia chýb, sú schopné klasifikovať nelineárne separovateľné problémy a v spojitých oblastiach hodnôt premenných sú univerzálnymi aproximátormi funkcií. Táto ich schopnosť sa v chemickej praxi využíva napr. na dizajnovanie štruktúry zlúčenín, cielené na ich potenciálne použitie ako liečiv ²⁾. Detailnejší opis fungovania neurónovej siete s rovnakými základnými vlastnosťami je uvedený v teoretickej časti našej práce ³⁾.

V skupine bázičných esterov kyseliny fenylylkarbámovej metóda umelých neurónových sietí bola dosiaľ aplikovaná v prácach ⁴⁻⁷⁾, kde sa zistilo, že má potenciálne

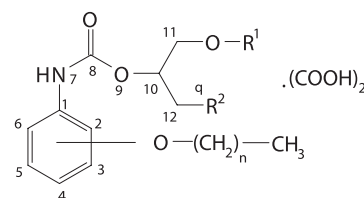
Tab. 1. Základné charakteristiky študovaných látok

Č. z.	R ¹	R ²	R	n	P	Č. z.	R ¹	R ²	R	n	P	Č. z.	R ¹	R ²	R	n	P
1	CH3	NC5H10	PP	2	o	21	C3H7	NC4H8	P	5	o	41	C2H5	NC4H8	P	4	m
2	CH3	NC4H8	P	2	o	22	C3H7	NC5H10	PP	5	o	42	C2H5	NC5H10	PP	4	m
3	CH3	NC5H10	PP	3	o	23	C3H7	NC6H12	A	5	o	43	C3H7	NC4H8	P	4	m
4	CH3	NC4H8	P	3	o	24	(CH2) 2OC2H5	NC5H10	PP	5	o	44	C3H7	NC5H10	PP	4	m
5	C2H5	NC5H10	PP	3	o	25	CH3	NC4H8	P	6	o	45	C3H7	NC6H12	A	4	m
6	C3H7	NC4H8	P	3	o	26	C2H5	NC4H8	P	6	o	46	CH3	NC4H8	P	5	m
7	C3H7	NC5H10	PP	3	o	27	C2H5	NC5H10	PP	6	o	47	CH3	NC5H10	PP	5	m
8	C3H7	NC6H12	A	3	o	28	C2H5	NC6H12	A	6	o	48	C2H5	NC4H8	P	5	m
9	(CH2) 2OC2H5	NC5H10	PP	3	o	29	C3H7	NC5H10	PP	6	o	49	C2H5	NC5H10	PP	5	m
10	CH3	NC5H10	PP	4	o	30	(CH2) 2OC2H5	NC5H10	PP	6	o	50	C3H7	NC4H8	P	5	m
11	CH3	NC4H8	P	4	o	31	CH3	NC5H10	PP	2	m	51	C3H7	NC5H10	PP	5	m
12	C2H5	NC4H8	P	4	o	32	CH3	NC5H10	PP	3	m	52	C3H7	NC6H12	A	5	m
13	C2H5	NC5H10	PP	4	o	33	C2H5	NC4H8	P	3	m	53	CH3	NC5H10	PP	6	m
14	C2H5	NC6H12	A	4	o	34	C2H5	NC5H10	PP	3	m	54	CH3	NC6H12	A	6	m
15	C3H7	NC4H8	P	4	o	35	C3H7	NC4H8	P	3	m	55	C2H5	NC4H8	P	6	m
16	C3H7	NC5H10	PP	4	o	36	C3H7	NC5H10	PP	3	m	56	C2H5	NC5H10	PP	6	m
17	CH3	NC5H10	PP	5	o	37	C3H7	NC6H12	A	3	m	57	C3H7	NC4H8	P	6	m
18	C2H5	NC4H8	P	5	o	38	(CH2) 2OC2H5	NC5H10	PP	3	m	58	C3H7	NC5H10	PP	6	m
19	C2H5	NC5H10	PP	5	o	39	CH3	NC5H10	PP	4	m	59	C3H7	NC6H12	A	6	m
20	C2H5	NC6H12	A	5	o	40	CH3	NC4H8	P	4	m						

P – poloha naviazaného alkoxyretazca: o – orto, m – meta; R – druh heterocyklického kruhu v polohe R²: PP – piperidín, P – pyrrolidín, A – azepán
Č. z. označuje číslo zlúčeniny.

veľký význam v predikcii povrchovej a infiltračnej lokálnej anestézie.

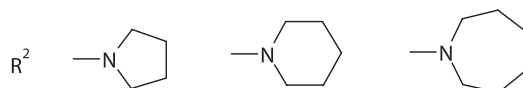
Cieľom tejto práce je overiť a aplikovať tieto doterajšie poznatky v skupine ďalších, inak substituovaných bázičných esterov kyseliny fenyľkarbámovej a predikovať im prislúchajúce hodnoty retenčných faktorov k , ktoré sú dôležitým ukazovateľom lipofility lokálnych anestetík.



POKUSNÁ ČASŤ

V práci sa študovala séria zlúčenín patriacich do skupiny bázičných esterov alkoxyfenyľkarbámovej kyseliny, ktoré boli pripravené podľa prác ^{8,9}. Chemická štruktúra skúmaných esterov alkoxyfenyľkarbámových kyselín je znázornená na obrázku 1.

Na meranie hodnoty retenčného faktora HPLC metódou sa použila kolóna Separon® SGX C18 a Separon® SGX Phenyl; v oboch prípadoch bola veľkosť častíc 5 μ m, dĺžka 15 cm, priemer 0,32 cm. Na meranie sa použili dve mobilné fázy, prvá obsahovala 50 % metanolu vo vode a druhá 60 % acetonitrilu vo vode, rýchlosť prietoku bola 1,0 ml/min, použitý diódový detektor meral v rozmedzí 210–290 nm. Návažok študovaných látok bol 1 mg/1 ml, dávkoval sa objem 20 μ l. Retenčné faktory k boli získané pomocou nameraného retenčného času t_r



Obr. 1. Štruktúra študovaných derivátov alkoxyfenyľkarbámových kyselín, $n = 2 - 6$ (dĺžka postranného reťazca)

a mŕtveho času t_0 podľa všeobecne používaného vzťahu $k = (t_r - t_0)/t_0$.

Na modelovanie najlepšej neurónovej siete sa použil softvér Statistica 7.0 ¹⁰. Ako vstupné premenné v neurónových sieťach sa použili tieto kontinuálne premenné: molová hmotnosť M , koeficienty lipofility $\log P$ v 9 rozličných formách (ALOGPs, ACLogP, miLogP, ALOGP, MLOGP, KOWWIN, XLOGP2, XLOGP3, AvlogP), koeficienty rozpustnosti $\log S$ v 3 rozličných formách (ALOGpS, ACLogS, AvlogS), na ktorých výpočet sa použil softvér ALOGPS, ver. 2.1 ¹¹. Ďalej sa použilo 10 che-

Tab. 2. Namerané a predikované hodnoty retenčných faktorov $kPhAc$, $kC18Ac$, $kPhMe$ pre zlúčeniny v testovacom súbore

$kPhAc$				$kC18Ac$				$kPhMe$			
Č. z.	namerané	predikované	relat. chyba, %	Č. z.	namerané	predikované	relat. chyba, %	Č. z.	namerané	predikované	relat. chyba, %
2	1.28	1.12	-12.31	3	1.50	1.60	6.67	2	1.76	1.63	-7.30
9	0.95	0.88	-7.21	9	1.69	1.55	-8.43	4	1.93	2.02	4.65
52	1.56	1.52	-2.60	15	2.92	3.29	12.58	10	2.13	2.05	-3.67
30	1.45	1.42	-1.71	17	2.77	2.95	6.72	11	2.27	2.29	1.10
33	1.32	1.29	-1.63	23	6.61	6.42	-2.87	13	2.22	2.22	0.11
48	1.66	1.64	-1.38	27	4.52	4.72	4.40	15	2.59	2.47	-4.77
26	1.98	1.96	-1.12	29	5.97	6.30	5.40	20	3.82	3.84	0.66
13	1.13	1.12	-0.24	35	1.70	1.63	-4.54	24	2.87	2.64	-7.98
16	1.18	1.20	1.73	40	1.69	1.60	-5.25	28	4.79	4.67	-2.53
50	1.52	1.55	2.04	47	2.07	2.04	-1.77	32	1.54	1.62	5.04
44	0.95	0.98	2.93	48	2.38	2.20	-7.79	38	1.81	1.75	-3.53
18	1.64	1.70	3.84	49	2.25	2.01	-10.72	41	2.28	2.32	1.46
35	1.15	1.21	4.48	50	2.83	2.91	2.80	48	2.75	2.81	2.07
32	0.87	0.91	5.18	58	3.68	3.59	-2.42	51	2.63	2.63	-0.09
medián relatívnej chyby			-0.68	medián relatívnej chyby			-2.09	medián relatívnej chyby			0.01
min. relatívna chyba			-12.31	min. relatívna chyba			-10.72	min. relatívna chyba			-7.98
max. relatívna chyba			5.18	max. relatívna chyba			12.58	max. relatívna chyba			5.04

Označenie retenčných faktorov $kPhAc$, $kC18Ac$ a $kPhMe$ vyjadruje podmienky chromatografickej separácie: $PhAc$ – fenylová kolóna, mobilná fáza acetonitril – voda, $kC18Ac$ – C18 kolóna, mobilná fáza acetonitril – voda, $PhMe$ – fenylová kolóna, mobilná fáza metanol – voda. Č. z. označuje číslo zlúčeniny, ktoré korešponduje s údajmi v tabuľke 1.

mických posunov v ^{13}C NMR (uhlíkov $C1$ až $C6$, $C8$, $C10$, $C12$ a ich priemer $Call$) a napokon 10 premenných ^1H NMR (vodíkov $H4$ až $H6$, kvartérny qH , $H10$, po dve dvojice $H11a$ a $H11b$, $H12a$ a $H12b$ a priemer všetkých $Hall$); všetky boli simulované softvérom ACDLabs, ver. 7.0 ¹²⁾. Z nich sa podľa korelačnej analýzy vybrali iba tie, ktoré významne korelovali s príslušným retenčným faktorom (keďže veľký počet premenných nepriaznivo ovplyvňuje výpočet neurónovej siete). Ako vstupné kategorické premenné sa použili: n (dĺžka postranného reťazca), R_{typen} (typ substituenta R^2 , 1 – A, 2 – P, 3 – PP, v tabuľke 1), P_{no} (poloha alkoxy-skupiny, 1-orto, 2-meta). Cieľovými premennými (na výstupe ANN) boli retenčné faktory k_{PhAc} , k_{PhMe} , k_{C18Ac} a k_{C18Me} .

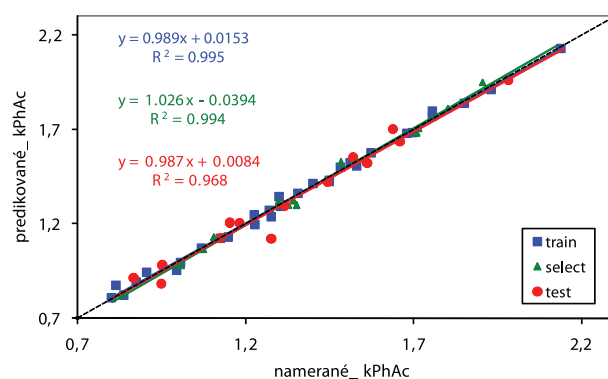
Pri optimalizácii architektúry neurónových sietí sa použil trojvrstvový perceptrón zložený z (a) 13 vstupných, 2 skrytých a 1 výstupného neurónu pri predikcii k_{PhAc} , (b) 16 vstupných, 3 skrytých a 1 výstupného neurónu pri predikcii k_{PhMe} , (c) 19 vstupných, 2 skrytých a 1 výstupného neurónu pri predikcii k_{C18Ac} . Predikcia retenčného faktora sa uskutočnila pre zlúčeniny náhodne rozdelené do tréningového (*train*), výberového (*selection*) a testovacieho (*test*) súboru. Rozdelenie zlúčenín do uvedených troch súborov bolo vykonané automaticky pomocou generátora náhodných čísel. Uskutočnilo sa bez vplyvu autorov v module softvéru Statistica, ktorý vykonáva výpočty umelých neurónových sietí. Najdôležitejšie výsledky neurónových sietí predstavujú predikcie retenčného faktora zlúčenín testovacieho súboru. Zlúčeniny zaradené do testovacieho súboru sú uvedené v tabuľke 2.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

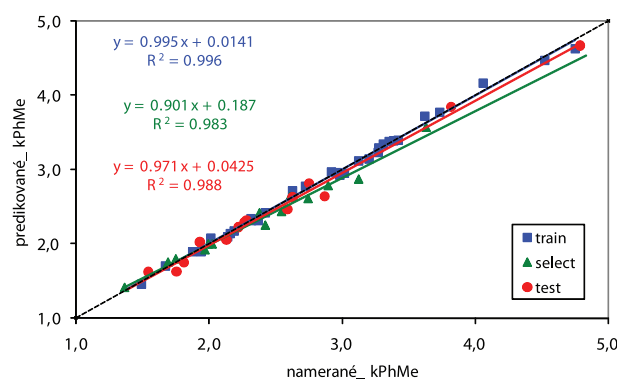
V doterajších prácach, ktoré boli venované vzťahom štruktúra – aktivita v skupine lokálne anestetických účinných bázičných karbamátov, boli zistené súvislosti medzi lipo/hydrofilnou vyváženosťou molekuly a účinnosťou, niektorými elektrónovými deskriptormi a anestetickou účinnosťou, ako aj inými fyzikálnochemickými vlastnosťami a anestetickou účinnosťou. Z týchto štúdií vyplynula nutnosť pripravovať látky s vysokou lipofilitou a s alkoxy-substituentom umiestneným na benzénovom jadre. Predpoklady vysokej lokálnej anestetickéj účinnosti uvedených látok sa potvrdili v práci ¹³⁾.

Pre štúdium derivátov kyseliny fenyلكarbámovej z hľadiska potenciálneho farmaceutického využitia má zásadný význam povrchová anestetická aktivita A i infiltračná anestetická aktivita B, čo bolo publikované v prácach ^{8,9)}. Základné parametre študovaných látok sa uvádzajú v tabuľke 1. Ako cieľové premenné sa použili retenčné faktory opísané vyššie.

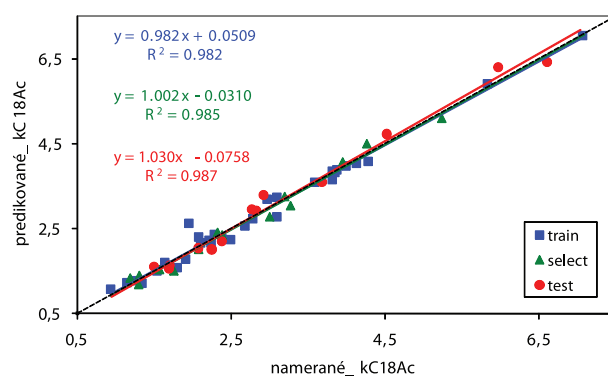
Metóda HPLC sa použila predovšetkým na modelovanie podmienok penetrácie uvedených látok k aktívnemu centru. Z tohto hľadiska sa využili dve stacionárne chemicky viazané fázy – C18 kolóna, kde sa predovšetkým uplatňujú nepolárne interakcie, a fenylová kolóna, kde prevažujú interakcie cez π - π komplexy. Mobilné fázy sa



Obr. 2. Priamka regresie pre k_{PhAc} . Softvér STATISTICA 7, počet vstupných premenných: 13, počet skrytých neurónov: 2, počet výstupných neurónov: 1



Obr. 3. Priamka regresie pre k_{PhMe} . Softvér STATISTICA 7, počet vstupných premenných: 16, počet skrytých neurónov: 3, počet výstupných neurónov: 1



Obr. 4. Priamka regresie pre k_{C18Ac} . Softvér STATISTICA 7, počet vstupných premenných: 19, počet skrytých neurónov: 2, počet výstupných neurónov: 1

zvolili tak, že v prípade metanolu ide o donor H^+ iónov a acetonitril je akceptorom H^+ . Takýmto modelovaním sa mohli preskúmať vplyvy, ktoré majú podstatný vplyv na penetráciu.

Výsledky sú znázornené formou grafu predikovaných hodnôt voči experimentálne zisteným hodnotám (obr. 2, 3 a 4). Úsek a smernica získaných regresných rovníc sa významne nelíšili od 0 a 1, čo sú očakávané ideálne

hodnoty. Vykonané *t*-testy, ktoré pre každú regresiu osobitne zisťovali významnosť hodnoty úseku aj smernice, príslušnú vypočítanú *t*-hodnotu porovnávali s kritickou hodnotou testu (pre 95 % pravdepodobnosť). Vo všetkých prípadoch bola potvrdená štatistická významnosť oboch regresných parametrov.

Z analýzy chýb (porovnania predikovaných a experimentálnych retenčných faktorov) vyplýva, že (a) pre systém fenylová kolóna, mobilná fáza acetonitril/voda bola priemerná absolútna chyba 3,46 %, minimálna chyba -12,3 % a maximálna chyba je +5,18 %, (b) pre systém fenylová kolóna, mobilná fáza metanol/voda bola priemerná absolútna chyba 3,21 %, minimálna chyba -7,98 % a maximálna chyba +5,04 % a (c) pre systém C18 kolóna, mobilná fáza acetonitril/voda bola priemerná absolútna chyba 5,88 %, minimálna chyba -10,7 % a maximálna chyba +12,6 %. Tieto údaje sa získali z tabuľky 2, ktorá demonštruje konkrétne namerané a predikované hodnoty retenčných faktorov pre tri rozličné kombinácie stacionárnej a mobilnej fázy v HPLC derivátov kyseliny fenylkarbámovej. Uvedené údaje svedčia o veľmi dobrej predikčnej schopnosti použitej metódy.

Podľa citlivostnej analýzy (*sensitivity analysis*), ktorá sa uskutočnila po výpočte neurónovej siete, sa zistilo poradie významnosti vstupných premenných (a) pre systém fenylová kolóna, mobilná fáza acetonitril/voda: *n*, *R*_{typen}, *AClogS*, *M*, *P*_{no}, *C*₄, *H*₅, *XLOGP*₂, *C*₃, *Call*, *H*_{11a}, *C*₆ a *C*₁₀, (b) pre systém fenylová kolóna, mobilná fáza metanol/voda: *n*, *R*_{typen}, *ALOG**P*_s, *ALOG**P*_s, *C*₁₂, *H*_{12a}, *P*_{no}, *H*₅, *C*₄, *C*₆, *M*, *C*_{13C}₃, *C*₅, *C*₁₁, *H*_{12b} a *C*₁₀, (c) pre systém C18 kolóna, mobilná fáza acetonitril/voda: *n*, *R*_{typen}, *H*_{12a}, *C*₁₂, *C*₈, *ALOG**P*_s, *C*₁₁, *M*, *C*₃, *C*₁₀, *ALOG**P*_s, *C*₂, *C*₆, *H*₅, *Call*, *P*_{no}, *H*_{12b}, *q**H* a *C*₄.

Na základe uvedených výsledkov možno konštatovať, že na predikciu hodnoty *k* uvedených látok je vhodné použiť umelé neurónové siete so vstupnými premennými, ktorých poradie dôležitosti je uvedené v predchádzajúcom odstavci. Aj keď poradie premenných pre rôzne podmienky separácie nie je rovnaké, v troch úspešne použitých HPLC systémoch sa vždy ako veľmi významné premenné prejavili *n*, *R*_{typen} a sčasti aj *P*_{no}, ktoré priamo charakterizujú štruktúru, ale aj vhodné formy log *P* a log *S* charakterizujúce lipofilitu a rozpustnosť a tiež molová hmotnosť *M*. Z NMR premenných systémy s fenylovou kolónou najlepšie charakterizuje *C*₄ (chemický posun na štvrtom uhlíku), zatiaľ čo *C*₁₂ a *C*₈ (chemické posuny na dvanástom resp. ôsmom uhlíku) sú charakteristické pre systémy s kolónou C18.

ZÁVERY

Predpoveď hodnôt retenčných faktorov, charakterizujúcich separáciu derivátov kyseliny fenylkarbámovej, ktoré vykazujú anestetickú aktivitu, bola veľmi uspokojivo vyriešená pre tri vyšetrované varianty chromatogra-

fických podmienok. Na predikciu sa využili optimalizované umelé neurónové siete, ktorých architektúra umožňuje spoľahlivé riešenie nelineárnych problémov, o aké išlo aj v tomto štúdiu. V tomto aspekte sa použitá metóda výpočtu diametrálne líši od mnohonásobnej lineárnej regresie, ktorá dokáže riešiť iba lineárne problémy ²⁾.

Autori ďakujú za podporu grantov VEGA (projekty 1/1005/09 a 1/1066/09), ako aj diplomantke S. Prachovej za pomoc pri výpočtoch.

LITERATÚRA

1. **Sinčák, P., Andrejková, G.:** Neurónové siete I. Košice: ELFA Press 1996.
2. **Zupan, J., Gasteiger, J.:** Neural networks in chemistry and drug design. 2nd ed. Weinheim: Wiley 1999.
3. **Nemeček, P., Ďurčeková, T., Mocák, J., Waisser, K.:** Chemometrical analysis of computed QSAR parameters and their use in biological activity prediction. Chem. Pap., 2009; 63, 84–91.
4. **Hatřík, Š., Lehotay, J., Čižmárik, J.:** Study of relationship between surface anaesthesia, and chromatographic properties of alkoxy esters of phenylcarbamic acids by neural network method. Part 1., Collect. Czech. Chem. Commun., 1995; 60, 960–965.
5. **Hatřík, Š., Lehotay, J., Čižmárik, J.:** Neural network method, the tool for studying biological activity of compounds. Relationship between infiltration anaesthesia, coded structural information and chromatographic properties applied in homologous series of alkoxy-substituted esters of phenylcarbamic acids. Chem. Pap., 1995; 49, 149–154.
6. **Hatřík, Š., Lehotay, J., Čižmárik, J.:** Possibility of anaesthetical activity prediction of N-(pyrrolidinyl) ethylesters of alkoxyphenylcarbamic acids. Collect. Czech. Chem. Commun., 1995; 60, 1410–1414.
7. **Hroboňová, K., Hatřík, Š., Lehotay, J., Čižmárik, J.:** Study of local anesthetics. Part 146. Correlation between local anaesthesia, coded structural information and chromatographic properties for homologous series of alkoxy-substituted esters of phenylcarbamic acid using neural network. Pharmazie, 1999; 54, 44–47.
8. **Búčiová, L., Borovanský A., Čižmárik, J., Csöllei J., Švec P., Kozlovský, J., Račanská, E., Beneš L.:** Štúdium vplyvu obmien v spojovacom reťazci na biologickú aktivitu v skupine bázičných fenylkarbamátov. Čes. a slov. Farm., 1987; 36, 339–344.
9. **Búčiová, L., Csöllei J., Borovanský A., Čižmárik, J., Račanská, E.:** Příprava a účinnost 1-etoxy-metyl-2-(1-pyrrolidinyl), 2-piperidino- a 2-(1-perhydroazepinyl)-etyl-esterov kyseliny o- a m-alkoxyfenylkarbámovej. Čes. a slov. Farm. 1991; 40, 102–105.
10. Data Mining, Statistical Analysis, Software and Services (cit. 2010-01-05), <http://www.statsoft.com/>.
11. Virtual Computational Chemistry Laboratory (cit. 2010-01-05) <http://www.vcclab.org/lab/alogps/>.
12. ACD/LABS: (cit. 2010-01-05) <http://www.acdlabs.com/home/>.
13. **Greksáková, O., Pešák, M., Čižmárik, J., Beneš, L., Borovanský, A.:** Fyzikálno-chemické vlastnosti niektorých bázičných esterov kyseliny 2-heptyloxyfenylkarbámovej. Čes. a slov. Farm., 1983; 32, 279–281.