

Određivanje konstanti disocijacije izabranih farmaceutika spektrofotometrijskom metodom

Ondrušek, Magdalena

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:149:407725>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-18**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Magdalena Ondrušek

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Magdalena Ondrušek

ODREĐIVANJE KONSTANTI DISOCIJACIJE IZABRANIH
FARMACEUTIKA SPEKTROFOTOMETRIJSKOM METODOM

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Sandra Babić

Članovi ispitnog povjerenstva:

prof. dr. sc. Sandra Babić

doc. dr. sc. Dragana Vuk

dr. sc. Martina Biošić

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za analitičku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu uz financijsku potporu Hrvatske zaklade za znanost projektom IP-2014-09-2353 „Sudbina farmaceutika u okolišu i tijekom naprednih postupaka obrade vode“.



Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Sandri Babić na predloženoj temi, podršci, pomoći i savjetima tijekom izrade završnog rada.

Zahvaljujem se asistentici dr. sc. Mirti Čizmić na strpljenju, podršci, uloženom trudu, volji i vremenu te na svim savjetima kojima me usmjeravala.

Zahvaljujem se svim djelatnicima Zavoda za analitičku kemiju na susretljivosti i pruženoj pomoći tijekom izrade eksperimentalnog dijela ovog rada.

Na kraju, želim se zahvaliti svojoj obitelji na nesebičnoj podršci tijekom školovanja te dečku koji me ohrabrivao i poticao na napredak.

SAŽETAK

U ovom radu određene su konstante disocijacije (K_K) šest farmaceutika (nitrofurantoin, sulfametazin, hidroksiklorokin, cefdinir, metoklopramid i trimetoprim) spektrofotometrijskom metodom. Korišteni su puferi ionske jakosti 0,1 mol/L s rasponom pH-vrijednosti od 3,45 – 10,11. Spektrofotometrijskom analizom dobivene su ovisnosti apsorbancije o pH-vrijednosti za svaki farmaceutik iz kojih je određena pK_K vrijednost pronalaženjem točke infleksije. Rezultati pokazuju da svi ispitivani farmaceutici imaju jednu konstantu disocijacije čije su pK_K -vrijednosti između 7 i 10. Dobivene vrijednosti konstanti uspoređene su s literaturnim podacima.

Određene konstante disocijacije farmaceutika omogućiti će bolje razumijevanje ponašanja farmaceutika u okolišu i brži razvoj metoda njihova određivanja.

Ključne riječi: *farmaceutici, konstanta disocijacije, spektrofotometrijska metoda*

SUMMARY

In this work the acid dissociation constants (K_a) of six pharmaceuticals (nitrofurantoin, sulfamethazine, hydroxychloroquine, cefdinir, metoclopramide and trimethoprim) were determined by spectrophotometric method. The pH of the buffers was in the range 3.45 – 10.11 pH units, with ionic strength of 0.1 mol/L. Based on the results of spectrophotometric measurement, correlation between absorbance and pH was determined for each pharmaceutical. The pK_a value was determined by finding inflection point.

Results indicate that the pK_a values for all pharmaceuticals are approximately between 7 and 10. In addition, the values obtained in this work are compared with the pK_a 's available in literature determined by various techniques. These results are expected to facilitate the understanding on occurrence, fate and effects of pharmaceuticals in the environment and analytical methods development.

Key words: *pharmaceuticals, acid dissociation constant, spectrophotometric method*

Sadržaj

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	2
2.1. Farmaceutici u okolišu	2
2.2. Metode određivanja konstanti disocijacije	2
2.2.1. Konstanta disocijacije	3
2.2.2. Sastav otopine u zavisnosti o vrijednosti pH	3
2.2.3. Potenciometrijsko određivanje konstanti disocijacije	4
2.2.4. Određivanje konstanti disocijacije tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti	5
2.2.5. Određivanje konstanti disocijacije kapilarnom elektroforezom	6
2.2.6. Određivanje konstanti disocijacije nuklearnom magnetskom rezonancijom	7
2.2.7. Određivanje konstanti disocijacije kalorimetrijom	7
2.2.8. Određivanje konstanti disocijacije konduktometrijom	8
2.2.9. Spektrofotometrijsko određivanje konstanti disocijacije	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO	13
3.1. Kemikalije	13
3.2. Farmaceutici	13
3.2.1. Nitrofurantoin	14
3.2.2. Sulfametazin	15
3.2.3. Hidroksiklorokin	16
3.2.4. Cefdinir	17
3.2.5. Metoklopramid	18
3.2.6. Trimetoprim	19
3.3. Instrumenti	20
3.3.1. Analitička vaga	20
3.3.2. pH metar	21
3.3.3. Spektrofotometar	22
3.4. Postupak rada	23
3.4.1. Priprema puferskih otopina	23
3.4.2. Priprema standardnih otopina farmaceutika	24
3.4.3. Snimanje spektra i mjerenje apsorbancije	24

3.4.4. Određivanje točke infleksije krivulja	24
4. REZULTATI I RASPRAVA	25
4.1. Spektrofotometrijsko određivanje apsorbancije pojedinih farmaceutika	25
4.1.1. Snimanje spektra i određivanje konstante disocijacije nitrofurantoina	25
4.1.2. Snimanje spektra i određivanje konstante disocijacije sulfametazina	27
4.1.3. Snimanje spektra i određivanje konstante disocijacije hidroksiklorokina	30
4.1.4. Snimanje spektra i određivanje konstante disocijacije cefdinira	32
4.1.5. Snimanje spektra i određivanje konstante disocijacije metoklopramida	34
4.1.6. Snimanje spektra i određivanje konstante disocijacije trimetoprima	37
5. ZAKLJUČAK	40
6. LITERATURA	41
ŽIVOTOPIS	43

1. UVOD

Farmaceutici su široka i raznolika grupa spojeva proizvedenih u svrhu liječenja, prevencije i ublažavanja simptoma bolesti, kako kod ljudi, tako i životinja. Uključuju preko tisuću jedinstvenih i raznolikih kemijskih spojeva koje posjeduju različita svojstva od bioaktivnosti, polarnosti do optičke aktivnosti.

Farmaceutici su u okolišu prisutni više desetljeća, dok su ispitivanja o njihovoj prisutnosti u okolišu počela tek godinama kasnije. Glavni izvor farmaceutika u okolišu smatraju se postrojenja za pročišćavanje otpadnih voda koja nisu prilagođena za uklanjanje takve vrste zagađivala. Farmaceutici se ubrajaju u tzv. nova zagađivala za koje još ne postoji zakonska regulativa o njihovom ispuštanju u okoliš. U okoliš dospijevaju ispuštanjem komunalnih i industrijskih otpadnih voda, nepropisnim odlaganjem neiskorištenih farmaceutika ili farmaceutika kojima je istekao rok trajanja. Navedenim putevima farmaceutici dospijevaju u tlo kao i u podzemne, površinske i pitke vode. Njihova koncentracija u okolišu ovisi o njihovoj potražnji, potrošnji i ponašanju u okolišu, kao i karakteristikama procesa tijekom procesa obrade otpadnih voda. U podzemnim vodama farmaceutici se nalaze u manjim koncentracijama (ng/L do µg/L), dok je njihova koncentracija znatno veća u izlaznim tokovima postrojenja za obradu otpadnih voda.

Većina farmaceutika posjeduje kisele i/ili bazne skupine te je njihova ionizacija određena pH-vrijednostima i konstantama disocijacije (K_K) farmaceutika. S obzirom da su za mnoge važne farmaceutike konstante disocijacije nedotupne ili određene na temelju struktura, postoji velika potreba za eksperimentalnim određivanjem K_K kako bi pomoću njih mogli saznati više o ponašanju pojedinih farmaceutika u okolišu.

Postoje razne metode određivanja K_K , a najčešće su potenciometrijska titracija, kapilarna elektroforeza i UV/VIS spektrometrija. U ovom radu K_K -vrijednosti određene su UV/VIS spektrofotometrijskom metodom.

2. OPĆI DIO

2.1. Farmaceutici u okolišu

Farmaceutici su kompleksne molekule različitih fizikalno-kemijskih i bioloških svojstava koji se koriste u dijagnozi, liječenju i prevenciji bolesti kako kod ljudi tako i kod životinja. Većina ih se koristi za kontrolu simptoma bolesti, dok manji broj za uklanjanje uzročnika bolesti, poput antibiotika [1]. Zbog sve veće primjene u svakodnevnom životu farmaceutici se kontinuirano unose u okoliš pa tako predstavljaju sve veću opasnost za prirodu i žive organizme u njoj.

Farmaceutici se unose u okoliš putem izlučevina, nepropisnim odlaganjem neupotrijebljenih farmaceutika ili farmaceutika kojima je istekao rok trajanja te upotrebom u akvakulturi kao dodatak prehrani, čime se izravno unose u vodu. Međutim, najvećim izvorom farmaceutika u okoliš smatraju se postrojenja za obradu otpadnih voda, pri čemu učinkovitost njihova uklanjanja ovisi o procesu obrade vode, kao i o uvjetima primijenjenim tijekom procesa. U nekim slučajevima izmjerena je veća koncentracija farmaceutika na izlaznom toku postrojenja za obradu otpadnih voda nego na ulaznom toku, što se može povezati s pretvorbom metabolita u početni spoj. Prema tome, neučinkovitim uklanjanjem u postrojenjima za obradu otpadnih voda farmaceutici dospijevaju u okoliš putem vodenih tokova kao i putem aktivnog mulja [2].

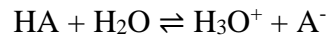
Ponašanje farmaceutika u okolišu vrlo je važno uzeti u obzir, jer se razlikuju od konvencionalnih zagađivala zbog složenosti molekula koje imaju različite molekulske mase, strukture i funkcionalnosti s jednom ili više ionizacijskih skupina.

2.2. Metode određivanja konstanti disocijacije

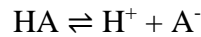
Postoje razne metode određivanja pK_K kao što su potenciometrijska titracija, UV/VIS spektrometrija, NMR spektroskopija, provodljivost, kalorimetrija, kapilarna elektroforeza i predviđanje vrijednosti računalnim programom [3].

2.2.1. Konstanta disocijacije

U vodenim otopinama kiselina postoji sljedeća ravnoteža ionizacije



odnosno



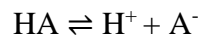
gdje H^+ označava oksonijev ion, a ne proton. Konstanta ravnoteže dana je odnosom:

$$\frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} = K_K. \quad (1)$$

Konstantu K_K nazivamo konstantom ionizacije ili disocijacije kiseline. Ona je mjerilo jakosti kiseline. Što je konstanta ionizacije (ili disocijacije) veća, to je kiselina jača, i obratno. Naime, što je konstanta ionizacije veća, to je veća koncentracija vodikovih iona u odnosu prema neioniziranim molekulama kiseline u otopini [4].

2.2.2. Sastav otopine u zavisnosti u pH

U otopini monoprotanske kiseline postoji ravnoteža:



Konstanta koja opisuje ravnotežu je:

$$K_K = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad (2)$$

Ovisno o vrijednosti pH otopina će sadržavati različite količine HA i A^- . Njihove molne udjele moguće je izraziti:

$$x_0 = \frac{[\text{HA}]}{[\text{HA}] + [\text{A}^-]} \quad (3)$$

$$x_1 = \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}] + [\text{A}^-]} \quad (4)$$

gdje je x_0 molni udio kiseline, a x_1 molni udio aniona A^- .

Uvođenjem izraza:

$$[HA] = \frac{[H^+][A^-]}{K_K}$$

koji se dobije iz konstante ionizacije, u jednadžbu (3) sređivanjem dobije se:

$$x_0 = \frac{[H^+]}{[H^+] + K_K} \quad (5)$$

Na isti način dobije se izraz za računanje x_1 :

$$x_1 = \frac{K_K}{[H^+] + K_K} \quad (6)$$

S pomoću ovih izraza moguće je za svaku vrijednost pH izračunati koliko otopina sadrži kiseline, HA, a koliko soli, A^- , izraženo u molnim udjelima. Zbroj molnih udjela jednak je jedinici:

$$x_0 + x_1 = x \quad (7)$$

Pomoću ovih izraza, poznavanjem K_K -vrijednosti, moguće je za svaku pH-vrijednost izračunati udio HA i A^- . Također, ovi izrazi mogu poslužiti prilikom pripreve puferskih otopina za računanje količine kiseline i količine njezine soli, da bi dobili otopinu točno određene vrijednosti pH.

2.2.3. Potencimetrijsko određivanje konstanti disocijacije

Jedna od direktnih primjena potencimetrije je potencimetrijska titracija. Jednostavnost i niska cijena potencimetrijske titracije učinila ju je jednom od najviše rabljenih metoda za određivanje pK_K -vrijednosti. Temelji se na postupnom dodavanju poznatog volumena reagensa otopini, a kao funkcija dodanog volumena reagensa, mjeri se potencijal između dvije elektrode, referentne i indikatorske elektrode. Stavljanjem u ovisnost potencijala i volumena dodanog reagensa dobiva se sigmoidalna krivulja čija točka infleksije daje ravnotežni potencijal.

Razvojem elektrokemijskih procesa, u uporabi se javlja staklena elektroda čija je primjena potpuno automatizirana, a zbog svoje osjetljivosti na vodikove ione djeluje kao pH-elektroda.

Staklena elektroda je u širokoj uporabi od sredine 20-tog stoljeća. Otkriveno je njeno odstupanja od teoretskog odziva pri višoj temperaturi i ekstremnijim pH-vrijednostima.

Temperatura, stoga, ne samo da utječe na mjerenja, nego i na vrijednost pK_K te je važno da se titracija provodi pri konstantnoj temperaturi [5].

Precizno određivanje pK_K iz titracijske krivulje potpomognuto je razvojem raznih kompjuterskih programa koji minimaliziraju većinu mogućih pogrešaka. Nedostatak potenciometrijske titracije je da zahtjeva veliku količinu uzorka za razliku od separacijskih metoda kao što su tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (eng. *high performance liquid chromatography*, HPLC) i kapilarna elektroforeza. Unatoč tome, zbog svoje jednostavnosti i relativno niskih troškova s obzirom na ostale metode, potenciometrijska titracija će i dalje biti jedna od osnovnih metoda određivanja pK_K za one analite kojih ima u dovoljnoj količini.

2.2.4. Određivanje konstanti disocijacije tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti

HPLC je vrsta kromatografije u stupcu koja se koristi za razdvajanje komponenti iz smjese na osnovi kemijskih interakcija tvari koja se analizira i nepokretne faze u stupcu. Postupak se temelji na unošenju malog volumena uzorka u tok pokretne faze i na temelju specifičnih kemijskih i fizikalnih interakcija, dolazi do različitog zadržavanja komponenata smjese.

Jedna od prvih zapažanja kod HPLC-a bila je da se na brzinu eluiranja može utjecati prilagođavanjem pH vrijednosti zbog promjene polarnosti tvari. Razvojem kromatografije obrnutih faza koja koristi nepolarnu nepokretnu fazu i polarnu pokretnu fazu u obzir se uzima faktor kapaciteta (zadržavanja) (k) te stupanj disocijacije (α) pri čemu vrijedi:

$$k = (1 - \alpha) \cdot k_0 + \alpha \cdot k_{-1} \quad (8)$$

gdje su k_0 i k_{-1} faktori zadržavanja neionizirane i ionizirane tvari, a u HPLC-u obrnutih fazavrijedi da je $k_0 \gg k_{-1}$. Stavljanjem u odnos faktora zadržavanja (k) i pH dobiva se sigmoidalna krivulja s točkom inflekcije u kojoj je $\alpha = 0,5$ pri $pH = pK$.

Budući da je HPLC separacijska metoda, uzorci ne moraju biti potpuno čisti. Neželjene komplikacije se stvaraju u slučaju da su vrijednosti ko neprihvatljivo velike. Dodatkom organskih modifikatora smanjuje se k_0 i k_{-1} vrijednost, no to uvelike otežava određivanje pK-vrijednosti [5].

2.2.5. Određivanje konstanti disocijacije kapilarnom elektroforezom

Elektroforeza se temelji na razdvajanju nabijenih vrsta pod utjecajem električnog polja te njihovoj brzini migracije koja je proporcionalna veličini čestica i njihovom naboju [5].

Određivanje pK_K-vrijednosti kapilarnom elektroforezom temelji se na određivanju efektivne pokretljivosti ioniziranog spoja iz niza otopina iste ionske jakosti, a drugačijeg pH. Kod kapilarne elektroforeze efektivna pokretljivost iona, μ_{eff} opisuje cjelokupnu elektroforetsku pokretljivost ionskih oblika nastalih iz bilo koje ravnoteže u sustavu, gdje je ravnoteža brza u usporedbi s vremenom separacije. Ne postoji ograničen broj ionizacijskih ravnoteža te općenito vrijedi:

$$\mu_{\text{eff}} = \sum_i x_i \mu_{\text{ep}, i} \quad (9)$$

x_i – molni udio vrste i

$\mu_{\text{ep}, i}$ – elektroforetska pokretljivost vrste i i H^+

Molni udio aniona može se prikazati jednadžbama:

$$x_{\text{HA}} = \frac{K_K}{[\text{H}^+] + K_K} \quad (10)$$

$$x_{\text{HA}} = \frac{1}{1 + 10^{(pK_K - pH)}} \quad (11)$$

Koristeći tu relaciju, dobiva se sljedeći izraz za elektroforetsku pokretljivost:

$$\mu_{\text{eff}} = \frac{\mu_{\text{ep}} * 10^{-pK_K}}{10^{-pK_K} + 10^{-pH}} \quad (12)$$

Pri niskim pH-vrijednostima efektivna pokretljivost kiseline je nula. Kako se pH povećava efektivna pokretljivost pokazuje karakteristični sigmoidalni oblik. Efektivna pokretljivost iona pri bilo kojem pH je proporcionalna ravnotežnom molnom udjelu kiseline u anionskom obliku. Pri dovoljno visokim pH-vrijednostima sva kiselina je disocirala i efektivna pokretljivost je jednaka elektroforetskoj pokretljivosti aniona. Drugim riječima analit ima najveću elektroforetsku pokretljivost kada je potpuno ioniziran, nema pokretljivost kad je neutralan te ima srednju pokretljivost u pH području oko vrijednosti pK_K [6].

2.2.6. Određivanje konstanti disocijacije nuklearnom magnetskom rezonancijom

Nuklearna magnetska rezonancija (NMR) je spektroskopska metoda primjenjiva za određivanje molekularnih struktura organskih i anorganskih spojeva. Temelji se na stvaranju magnetskog polja kao posljedice vrtnje električki nabijenih atomskih jezgara. Jezgra podvrgnuta djelovanju magnetskog polja i elektromagnetskog zračenja obrće svoj spin, a apsorbirana energija se detektira NMR spektrometrom. S obzirom na različite strukture molekula, protoni su u molekuli više ili manje zaklonjeni od utjecaja magnetskog polja zbog čega apsorbiraju zračenja različitih jakosti. Stoga, NMR spektrometar mora varirati jakost magnetskog polja i iscrtavati graf koji pokazuje ovisnost apsorpcije energije o jakosti magnetskog polja [5].

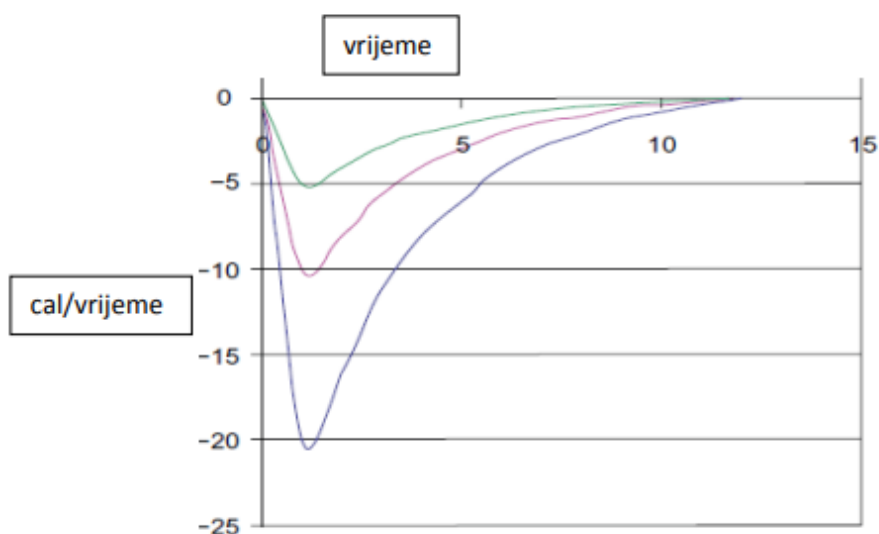
Kemijski pomak je definiran kao položaj u NMR spektru pri kojem nastupa rezonancija pojedine jezgre ovisno o njenoj okolini. Na temelju tih spoznaja, zaključeno je da ukoliko kiselo-bazna ravnoteža ovisi o pH, to znači da će i kemijski pomak ovisiti o pH. Vrijednost pK_K može se odrediti stavljanjem u ovisnost kemijskog pomaka komponente (δ) i pH. Dobiva se poznata sigmoidalna krivulja čija točka infleksije odgovara vrijednosti pK_K . Glavna prednost NMR metode je mogućnost rada sa smjesama. Kada se proučava kemijski pomak pojedine funkcionalne grupe nijedna druga funkcionalna grupa nije uključena što omogućuje odvojeno određivanje pK_K -vrijednosti jer se kemijski pomaci ne preklapaju.

2.2.7. Određivanje konstanti disocijacije kalorimetrijom

Sve kalorimetrijske metode temelje se na mjerenju količine topline oslobođene pri nekom fizikalnom ili kemijskom procesu. Za mjerenje pK_K -vrijednosti koristi se metoda izotermičke titracijske kalorimetrije ili skraćeno ITC (eng. *isothermal titration calorimetry*) kod koje se u

kalorimetru provodi kiselo-bazna titracija te se mjeri energija potrebna za održavanje konstantne temperature.

Razvijena je i srodna tehnika za direktno mjerenje pH-vrijednosti: izotermalna titracijska mikrokalorimetrija (ITM). Reagens se dodaje u ekvivalentnim količinama, a rezultirajuća toplina reakcije mjeri se u puferskim otopinama različitih pH-vrijednosti. Na slici 1. prikazane su krivulje mjerenja pK_K -vrijednosti kalorimetrijom za različite pH-vrijednosti. Amplitude minimuma pri različitim pH-vrijednostima proporcionalne su stupnju disocijacije [5].



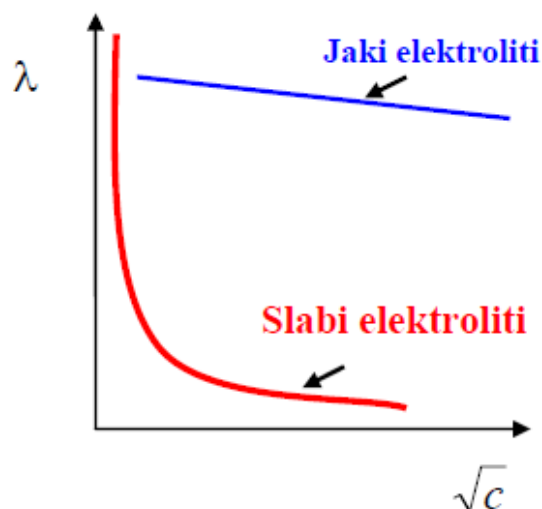
Slika 1. Određivanje pK_K -vrijednosti kalorimetrijom [5]

Minimumi dobivenih krivulja pri različitim pH proporcionalni su stupnju disocijacije.

2.2.8. Određivanje konstanti disocijacije konduktometrijom

Konduktometrija je volumetrijska analitička metoda u kojoj se završetak (ekvivalentna točka) određuje promjenom električne vodljivosti. Provodnost elektrolita posljedica je pokretljivosti iona i jednaka je zbroju doprinosa svih iona u otopini. Provodnost nekog elektrolita ovisi o prirodi elektrolita i količini iona koji prenose električnu struju stoga se mijenja s koncentracijom elektrolita.

Mjereći provodnosti različitih elektrolita, Friedrich Kohlrausch dolazi do zaključka da postoje dva tipa ponašanja vodljivih tvari koje on dijeli na jake i slabe elektrolite (slika 2).



Slika 2. Ovisnost množinske provodnosti o koncentraciji za slabi i jaki elektrolit

Soli, anorganske kiseline i baze ponašaju se kao jaki elektroliti, dok su otopine većeg dijela organskih kiselina i baza slabi elektroliti.

Iz prikaza ovisnosti množinske provodnosti o koncentraciji, vidljivo je da kod jakih elektrolita vrijedi linearan odnos. Iz toga proizlazi I. Kohlrauschov zakon:

$$\lambda = \lambda_0 - b\sqrt{c} \quad (13)$$

Za slabe elektrolite Kohlrausch nije dao zakon, molarna vodljivost slabih elektrolita dostiže svoju graničnu vrijednost pri znatno većim razrjeđenjima nego što je to slučaj za jake elektrolite i može se odrediti samo računanjem.

Kohlrausch je otkrio da razlike u vrijednostima granične provodnosti za elektrolite koji sadrže zajednički ion ne ovise o zajedničkom ionu već o prirodi onog drugog [7].

Dakle, pri beskonačnom razrjeđenju provodnost nekog elektrolita jednaka je zbroju provodnosti pri beskonačnom razrjeđenju iona koji čine taj elektrolit iz čega proizlazi II.Kohlrauschov zakon:

$$\lambda(0, KA) = \lambda(0, K^+) + \lambda(0, A^-) \quad (14)$$

Taj zakon vrijedi i za jake i za slabe elektrolite te omogućava određivanje granične provodnosti za slabe elektrolite što ekstrapolacijom nije bilo moguće.

Konstanta disocijacije može se izravno odrediti iz Ostwaldova zakona koji pokazuje da za njeno određivanje nije potrebna poznata pH-vrijednost što je pogodno za netekuće sustave u kojima je određivanje pH nepraktično [5].

$$K = \lambda^2 \cdot c / (\lambda^0 \cdot (\lambda^0 - \lambda)) \quad (15)$$

Konduktometrijska metoda pruža relativno brzu i pouzdanu metodu za određivanje pK_K te je odlikuje visok stupanj preciznosti. Negativna strana metode je u tome što su konduktometrijska mjerenja nespecifična.

2.2.9. Spektrofotometrijsko određivanje konstanti disocijacije

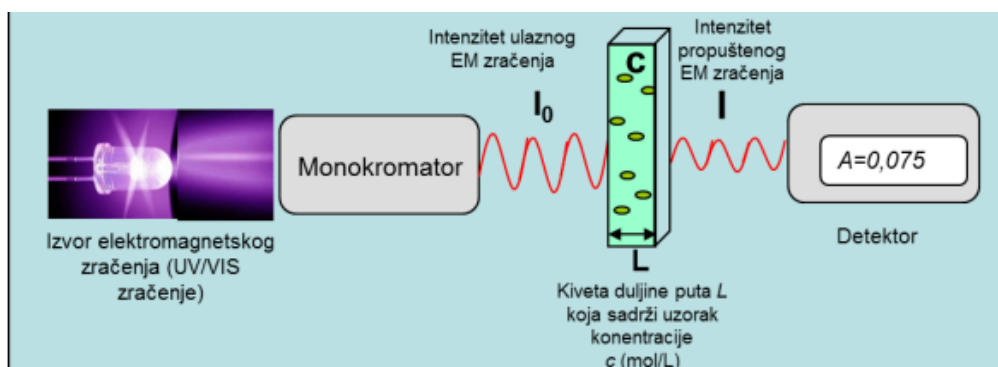
Ultraljubičasta (UV) i vidljiva apsorpcijska (VIS) spektrometrija primjenjuje se za kvantitativnu, ali i za kvalitativnu analizu. To je najčešće primjenjivana metoda u kemijskim i kliničkim laboratorijima svijeta od bilo kojeg drugog pojedinačnog postupka. Temelji se na ovisnosti energije zračenja i kemijskog sastava tvari. Za određivanje u UV, VIS i IR dijelu spektra upotrebljavaju se instrumenti – spektrofotometri. Spektrofotometar se sastoji od izvora svjetlosti, držača uzorka, monokromatora i detektora, a mjeri intenzitet svjetla koje je prošlo kroz uzorak smješten u kvarcnoj kiveti te ga uspoređuje s intenzitetom upadnog svjetla. Za UV/VIS spektrometriju najčešće se koriste kivete debljine 1 cm od sintetičkog ili prirodnog kvarca (slika 3). Zbog apsorpcije stakla pri 300 nm staklene kivete nisu pogodne za analizu organskih uzoraka. Kako ne bi došlo do ogrebotina kiveta i time do pogreški prilikom mjerenja, potrebno ih je koristiti uz oprez i skladištiti ih na odgovarajući način.



Slika 3. Kvarcne kivete namijenjene za snimanje UV/VIS spektara s ubrušenim i prozirnim stijenkama različitih debljina: (a) 1 mm, (b) 5mm, (c) 10 mm i (d) 40 mm

U spektrofotometriji za vidljivi dio spektra najčešće se upotrebljava lampa s volframovom niti, dok se za ultraljubičasti dio spektra upotrebljava deuterijeva lampa. Spektrofotometar je uređaj koji mjeri promjene u refleksiji, transmisiji ili zračenju, u intervalima, duž valnih duljina vidljivog dijela spektra. Kao rezultat mjerenja faktora refleksije ili transmisije u pojedinim valnim područjima (intervalima) dobiva se spektrofotometrijska krivulja.

Kod UV/VIS spektrometrije koristi se zračenje valnih duljina od 100 do 800 nm. Ovom metodom najčešće se analiziraju tekući uzorci iako se mogu analizirati i kruti i plinoviti uzorci. Uzorci apsorbiraju svjetlost u vidljivom i UV dijelu spektra. Intenzitet elektromagnetskog zračenja, I_0 , smanjuje se prolazom kroz otopinu koja može apsorbirati zračenje. Odnosno mjeri se intenzitet svjetla koje je prošlo kroz analizirani uzorak, I , te ga uspoređuje s intenzitetom upadnog svjetla, I_0 . Princip rada UV/VIS spektrofotometra prikazan je na slici 4.



Slika 4. Princip rada UV/VIS spektrofotometra [8]

Smanjenje intenziteta ovisi o koncentraciji tvari koja apsorbira zračenje, debljini sloja, svjetlosnom putu kroz uzorak, molarnom apsorpcijskom koeficijentu, specifičnom za svaku tvar. Odnos intenziteta prije i poslije prolaza kroz uzorak, odnosno koncentracija analizirane vrste određuje se preko Beer-Lambertovog zakona :

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot b \quad (16)$$

c = koncentracija tvari koja apsorbira zračenje, mol/L

b = svjetlosni put kroz uzorak, cm

ε = molarni apsorpcijski koeficijent, L/mol cm

Korištenjem apsorbancijskih odziva u nizu puferских otopina različitih pH-vrijednosti uz održavanje koncentracije ionizirajućih tvari konstantnima, moguće je odrediti vrijednost pK_K . Iz odnosa apsorbanije i pH-vrijednosti, dobiva se sigmoidalna krivulja. Iz točke infleksije te krivulje može se odrediti pK_K . Nedostatak ove metode je što i male promjene u koncentraciji mogu izazvati neželjene šumove u odzivima spektra [5].

Uzorci se najčešće analiziraju kao vodene otopine koje se stavljaju u kivete od kvarca koje propuštaju i vidljivo i blisko ultraljubičasto zračenje, no mogu se analizirati i kruti i plinoviti uzorci. Kao rezultat analize dobije se UV/VIS spektrogram koji ukazuje na područje fotoaktivnosti neke tvari/spoja. Svaki spoj, tj. svaka veza u spoju ima točno određenu energiju, odnosno valnu duljinu, koju će apsorbirati i na taj način moguće je karakterizirati tvari, ali i odrediti područje njihove aktivnosti. Uzorak će apsorbirati samo zračenje određene frekvencije koje odgovara energiji točno određene veze u spoju dok će ostalo zračenje proći nesmanjenog intenziteta.

Spektrofotometri mogu biti jednozračni ili dvozračni. Jednozračni ima samo jedan snop svjetlosti i može primiti samo jedan uzorak, a intenzitet se mjeri nakon što se uzorak izvadi iz držača. Dvozračni spektrofotometar ima upadni snop koji se prije prolaska kroz uzorak dijeli na referentni snop i snop koji prolazi kroz uzorak. Uzorci se najčešće analiziraju kao vodene otopine koje se stavljaju u kivete od kvarca koje propušta i vidljivo i blisko ultraljubičasto zračenje, no mogu se analizirati i kruti i plinoviti uzorci.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Kemikalije

Tijekom eksperimentalnog rada korištene su kemikalije prikazane u tablici 1.

Tablica 1. Popis korištenih kemikalija

Naziv	Empirijska formula	Čistoća	Proizvođač
mravlja kiselina	HCOOH	98 – 100% p.a.	T.T.T., Sveta Nedjelja, Hrvatska
octena kiselina	CH ₃ COOH	≥ 99,8% p.a.	Sigma–Aldrich, St. Louis, SAD
natrijev hidroksid	NaOH	min. 98,0% p.a.	Gram-mol, Zagreb, Hrvatska
kalij dihidrogen fosfat	KH ₂ PO ₄	min. 99,0% p.a.	Kemika, Zagreb, Hrvatska
dinatrijev hidrogen fosfat	Na ₂ HPO ₄	min. 99,0% p.a.	Kemika, Zagreb, Hrvatska
kloridna kiselina	HCl	≥ 37,0% p.a.	Honeywell, SAD
amonijev hidroksid	NH ₄ OH	25% p.a.	Lach-Ner, Neratovice, Češka
natrijev hidrogenkarbonat	NaHCO ₃	min. 99,5%	Kemika, Zagreb, Hrvatska

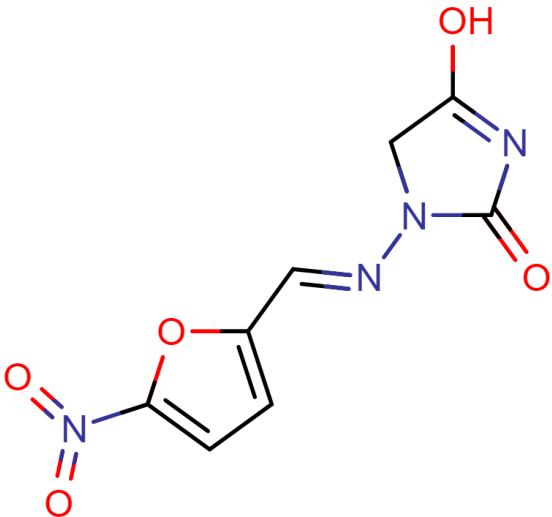
3.2. Farmaceutici

Farmaceutici čije su konstante disocijacije određivane u ovom radu prikazani su u sljedećim tablicama zajedno s njihovim svojstvima.

3.2.1. Nitrofurantoin

Nitrofurantoin je antibiotik koji se koristi od 1953. godine za liječenje infekcija mokraćnog mjehura. Ima jedinstveni mehanizam djelovanja, ometa rast bakterija na 3 različite lokacije. Resorpcija nitrofurantoina ovisi o pH-vrijednosti. Nitrofurantoin se prvenstveno izlučuje u donji mokraćni sustav, tj. mokraćni mjehur, što je korisno u liječenju [9].

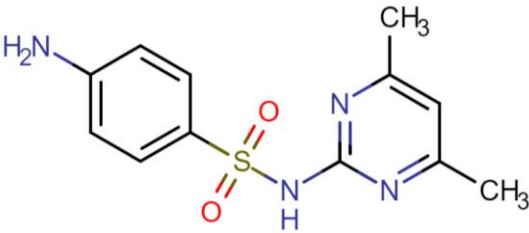
Tablica 2. Struktura nitrofurantoina

Generičko ime	Nitrofurantoin	Literatura
Grupa farmaceutika	Antibiotik	
Strukturna formula		[10]
Molekulska formula	$C_8H_6N_4O_5$	
CAS broj	67-20-9	
Molarna masa	238,159 g/mol	
Naziv po IUPAC - u	1-[(E)-(5-nitrofuran-2-il)metilidenamino]imidazolidin-2,4-dion	
pK_K	7,2	
	8,23	[11]

3.2.2. Sulfametazin

Sulfametazin je antibakterijski sulfoamidni lijek koji se koristi u humanoj medicini i veterini. Sulfonamidi djeluju bakteriostatski, a osnova je kompetitivna inhibicija ugradnje p-amino-benzojeve kiseline u molekulu folne kiseline [11].

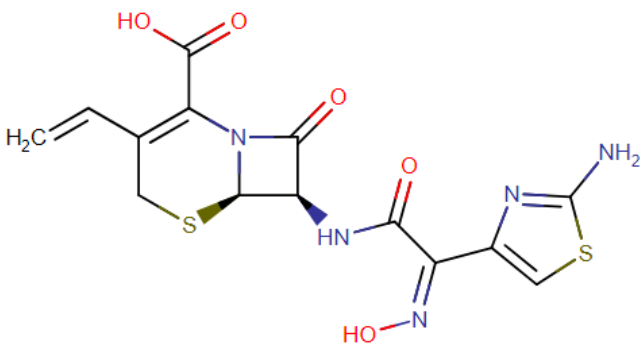
Tablica 3. Struktura sulfametazina

Generičko ime	Sulfametazin	Literatura
Grupa farmaceutika	Antibiotik	
Strukturna formula		[10]
Molekulska formula	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	
CAS broj	57-68-1	
Molarna masa	278,33 g/mol	
Naziv po IUPAC - u	4-amino-N-(4,6-dimetilpirimidin-2-il)benzensulfonamid	
pK _K	7,59	[11]
	2,00; 6,99	[12]

3.2.3. Hidroksiklorokin

Hidroksiklorokin se koristi od 1957. godine u kliničkoj praksi u liječenju i tretmanu reumatoidnog artritisa. Međutim, pojavljuju se dva nepovoljna faktora, a to su: sporo terapijsko djelovanje i značajna toksičnost, koji zasjenjuju kliničku nadmoć tog lijeka [13].

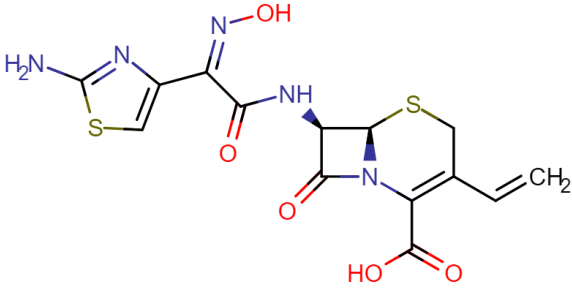
Tablica 4. Struktura hidroksiklorokina

Generičko ime	Hidroksiklorokin	Literatura
Grupa farmaceutika	Kemoterapeutik	
Strukturna formula		[10]
Molekulska formula	C ₁₈ H ₂₆ ClN ₃ O	
CAS broj	118-42-3	
Molarna masa	335,876 g/mol	
Naziv po IUPAC - u	2-[4-[(7-klorokinolin-4-il)amino]pentil- etilamino]etanol	
pK _K	7,28; 9,76	[12]
	<4,0; 8,3	[14]

3.2.4. Cefdinir

Cefdinir je sintetiziran 1988. godine [15]. Vrlo je učinkovit protiv mnogih gram pozitivnih i gram negativnih bakterija. Koristi se za liječenje upale srednjeg uha, infekcije mekih tkiva te infekcije dišnih puteva [16].

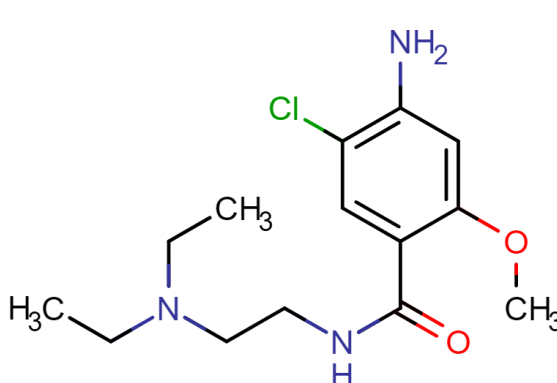
Tablica 5. Struktura cefdinira

Generičko ime	Cefdinir	Literatura
Grupa farmaceutika	Antibiotik	
Strukturna formula		[10]
Molekulska formula	C ₁₄ H ₁₃ N ₅ O ₅ S ₂	
CAS broj	91832-40-5	
Molarna masa	395,408 g/mol	
Naziv po IUPAC - u	(6R,7R)-7-[[[(2Z)-2-(2-amino-1,3-tiazol-4-il)-2-hidroksiiminoacetyl]amino]-3-etenil-8-okso-5-tia-1-azabiciklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilna kiselina	
pK _K	9,70	[17]
	2,73 ; 3,61 ; 7,94 ; 12,48	[12]

3.2.5. Metoklopramid

Metoklopramid se ubraja u prvu liniju antiemetika. Najviše se koristi u visokim dozama, prije kemoterapije i kod mučnine i povraćanja uzrokovanih različitim uzrocima. Ovaj lijek metabolizira u jetri i njegov poluživot je oko 4-5 h. Njegove najčešće nuspojave uključuju distoniju (<10%), umor i pospanost [18].

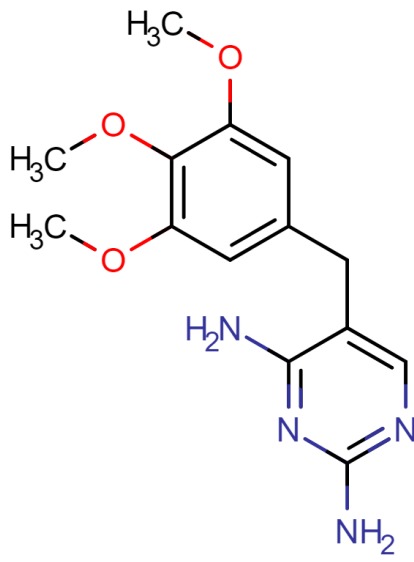
Tablica 6. Struktura metoklopramida

Generičko ime	Metoklopramid	Literatura
Grupa farmaceutika	Antiemetik	
Strukturna formula		[10]
Molekulska formula	C ₁₄ H ₂₂ ClN ₃ O ₂	
CAS broj	364-62-5	
Molarna masa	299,799 g/mol	
Naziv po IUPAC - u	4-amino-5-kloro-N-(2-(dietilamino)etil)-2-metoksibenzamid	
pK _K	1,64 : 9,04	[12]

3.2.6. Trimetoprim

Trimetoprim je jedan od najvažnijih sintetičkih antibiotika koji se koristi u humane i veterinarske svrhe. Djeluje kao inhibitor u kemoterapiji. Često se koristi u kombinaciji sa sulfametoksazolom [19].

Tablica 7. Struktura trimetoprime

Generičko ime	Trimetoprim	Literatura
Grupa farmaceutika	Antibiotik	
Strukturna formula		[10]
Molekulska formula	$C_{14}H_{18}N_4O_3$	
CAS broj	738-70-5	
Molarna masa	290,323 g/mol	
Naziv po IUPAC - u	5-[(3,4,5-trimetoksifenil)metil]pirimidin-2,4-diamin	
pK _K	7,16	[12]

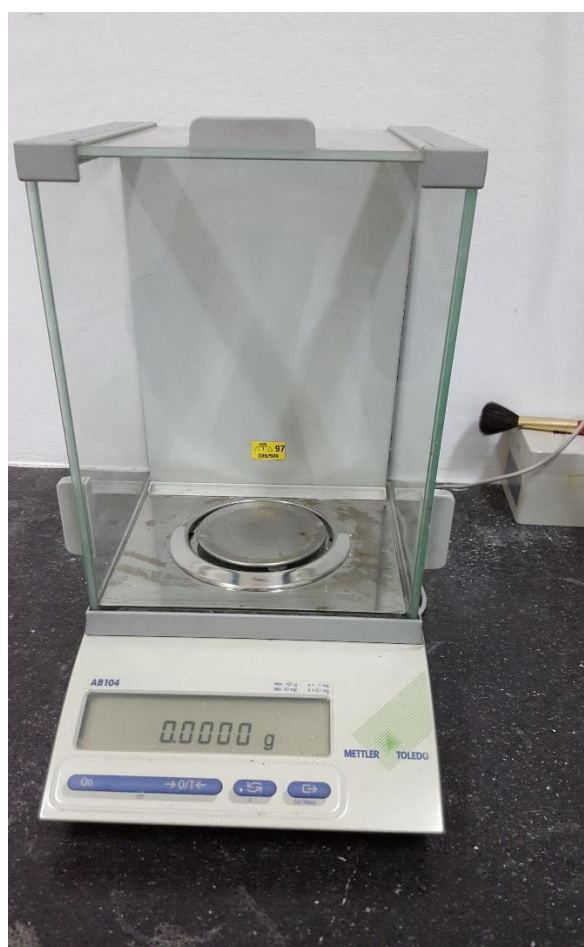
3.3. Instrumenti

3.3.1. Analitička vaga

Analitička vaga je instrument za precizno mjerenje mase tvari, a o njezinoj ispravnosti i preciznosti ovisi točnost rezultata analize. Vrlo je osjetljiv i skup instrument. Najrašireniji tip analitičke vage je vaga nosivosti 100 g i osjetljivosti 0,1 mg. Nije moguće napraviti nijednu kvantitativnu kemijsku analizu bez njezine upotrebe jer uvijek treba odvagati uzorak za analizu i potrebne količine reagensa za pripremu otopina, bez obzira na metodu koju koristimo [20]. Prilikom eksperimenta korištena je analitička vaga AB104 proizvođača Mettler Toledo, Švicarska (prikazana na slici 5).

Specifikacije vage:

- napon: 8-14 V
- masa: 0,1 mg -101 g
- frekvencija: 50 – 60 Hz



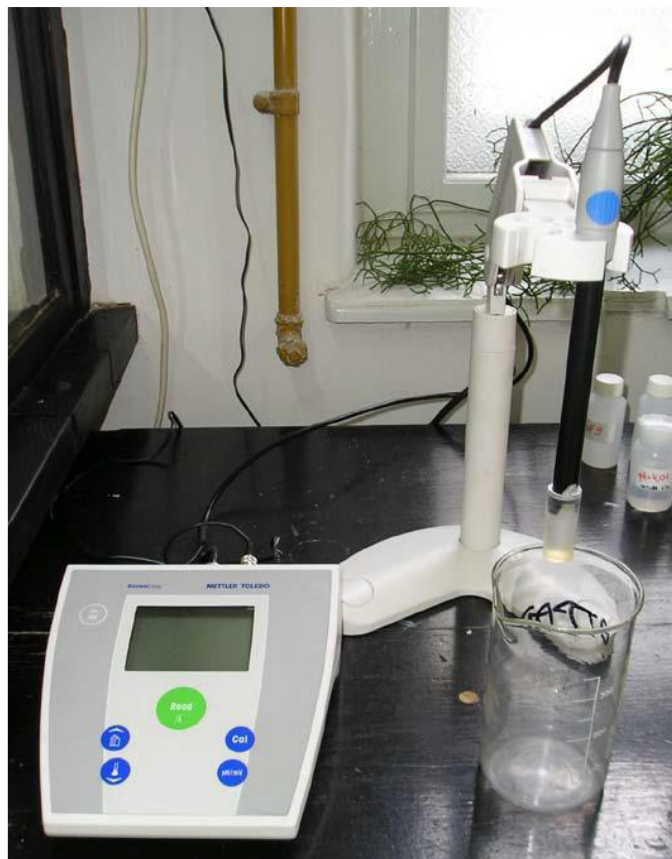
Slika 5. Analitička vaga AB 104 Mettler Toledo

3.3.2. pH metar

pH-metar je uređaj koji se koristi za potenciometrijsko određivanje pH-vrijednosti. Sastoji se od elektrode koja mjeri pH - vrijednost kao aktivitet vodikovih iona koji se nalaze u tekućem uzorku. Prije mjerenja pH - vrijednosti uređaj je potrebno umjeriti s puferima poznatih pH - vrijednosti. Izaberu se standardne puferne otopine s pH - vrijednosti približnoj vrijednosti pH uzorka vode, te se izmjeri temperatura pufera. Izvrši se korekcija temperature na pH-metru, te se pomoću pufera regulira pH - metar na pH pufera na toj temperaturi. Nakon umjeravanja, može se započeti sa mjerenjem pH - vrijednosti ispitivanih uzoraka. U ovom radu korišten je pH – metar S20 SevenEasy (Mettler Toledo, Greifensee, Švicarska) prikazan na slici 6.

Specifikacije pH - metra:

- raspon vrijednosti: 0 - 14
- rezolucija: 0,01 pH
- temperaturni raspon: 5 °C – 105 °C



Slika 6. pH metar S20 SevenEasy Mettler Toledo

3.3.3. Spektrofotometar

Mjerenja su izvedena na spektrofotometru Perkin Elmer Lambda 35 (slika 7) sljedećih karakteristika:

- raspon valnih duljina $\lambda = 190 - 1100 \text{ nm}$
- širina pojasa $0,5 - 4 \text{ nm}$
- raspon apsorbancije $3,2 \text{ A}$
- točnost valne duljine: $\pm 0.1 \text{ nm}$
- brzina mjerenja: 30 nm/min



Slika 7. Perkin Elmer Lambda 35 spektrofotometar

3.4. Postupak rada

3.4.1. Priprema puferских otopina

Pripremljeni su puferi pH - vrijednosti u rasponu od 3,45 do 10,11. Sastav pojedinih pufera prikazan je u tablici 8. pH - vrijednosti pripremljenih pufera provjerene su pH – metrom.

Tablica 8. Sastavi korištenih pufera

pH	Sastav pufera
3,45	2,16 mL 1 mol/L HCOOH + 1 mL 1 mol/L NaOH u 25 mL vode
3,89	1,46 mL 1 mol/L HCOOH + 1 mL 1 mol/L NaOH u 25 mL vode
4,13	1,29 mL 1 mol/L HCOOH + 1 mL 1 mol/L NaOH u 25 mL vode
4,36	1,18 mL 1 mol/L HCOOH + 1 mL 1 mol/L NaOH u 25 mL vode
4,55	1,11 mL 1 mol/L HCOOH + 1 mL 1 mol/L NaOH u 25 mL vode
5,02	1,46 mL 1 mol/L CH ₃ COOH + 1 mL 1 mol/L NaOH u 25 mL vode
5,14	1,29 mL 1 mol/L CH ₃ COOH + 1 mL 1 mol/L NaOH u 25 mL vode
5,29	1,18 mL 1 mol/L CH ₃ COOH + 1 mL 1 mol/L NaOH u 25 mL vode
5,49	1,12 mL 1 mol/L CH ₃ COOH + 1 mL 1 mol/L NaOH u 25 mL vode
6,08	1,42 mL 0,5 mol/L KH ₂ PO ₄ + 0,195 mL 0,5 mol/L Na ₂ HPO ₄ u 25 mL vode
6,64	0,756 mL 0,5 mol/L KH ₂ PO ₄ + 0,414 mL 0,5 mol/L Na ₂ HPO ₄ u 25 mL vode
7,05	0,390 mL 0,5 mol/L KH ₂ PO ₄ + 0,536 mL 0,5 mol/L Na ₂ HPO ₄ u 25 mL vode
7,12	0,264 mL 0,5 mol/L KH ₂ PO ₄ + 0,578 mL 0,5 mol/L Na ₂ HPO ₄ u 25 mL vode
7,34	0,176 mL 0,5 mol/L KH ₂ PO ₄ + 0,608 mL 0,5 mol/L Na ₂ HPO ₄ u 25 mL vode
7,57	0,115 mL 0,5 mol/L KH ₂ PO ₄ + 0,628 mL 0,5 mol/L Na ₂ HPO ₄ u 25 mL vode
8,37	1,00 mL 1 mol/L HCl + 1,104 mL 1 mol/L NH ₄ OH u 25 mL vode
8,58	1,00 mL 1 mol/L HCl + 1,164 mL 1 mol/L NH ₄ OH u 25 mL vode
8,84	1,00 mL 1 mol/L HCl + 1,260 mL 1 mol/L NH ₄ OH u 25 mL vode
8,96	0,768 mL 1 mol/L NaHCO ₃ + 0,0774 mL 1 mol/L NaOH u 25 mL vode
9,33	0,676 mL 1 mol/L NaHCO ₃ + 0,108 mL 1 mol/L NaOH u 25 mL vode
9,55	0,453 mL 1 mol/L NaHCO ₃ + 0,182 mL 1 mol/L NaOH u 25 mL vode
9,72	0,343 mL 1 mol/L NaHCO ₃ + 0,219 mL 1 mol/L NaOH u 25 mL vode
10,11	0,246 mL 1 mol/L NaHCO ₃ + 0,251 mL 1 mol/L NaOH u 25 mL vode

3.4.2. Priprema standardnih otopina farmaceutika

Temeljne standardne otopine korištenih farmaceutika, masene koncentracije 100 mg/L, pripremljene su vaganjem odgovarajućeg standarda na analitičkoj vagi (0,0025 g). Odvagani standard je potom kvantitativno prenesen u odmjernu tikvicu od 25 mL te otopljen u deioniziranoj vodi i nadopunjen do oznake. Temeljne standardne otopine su nakon pripremanja čuvane u mraku na temperaturi od 4 °C.

Radne standardne otopine korištenih farmaceutika pripremljene su uzimanjem alikvota od 1 mL temeljne standardne otopine koji je prenesen u tikvicu od 25 mL. Tikvica je nadopunjena do oznake puferima različitih pH-vrijednosti, navedenih u tablici 8.

3.4.3. Snimanje spektra i mjerenje apsorbancije

Spektrofotometar je potrebno uključiti 15 minuta prije početka mjerenja kako bi se elektronički sustav i žarulja stabilizirali. Prije početka svakog mjerenja potrebno je postaviti instrument na nulu mjerenjem slijepog uzorka. Nakon toga može započeti snimanje apsorpcijskog spektra u području valnih duljina od 200 do 500 nm. Snima se na način da se u jednu kivetu ulije otapalo (deionizirana voda), dok se u drugu kivetu stavi pripremljena radna standardna otopina. Kivete se smjeste u prostor za uzorke te pritiskom na „Start“ u programu instrumenta mjerenje počinje. Iz dobivenog apsorpcijskog spektra, za svaki farmaceutik očitaju se valne duljine (λ) pri kojima se nalaze maksimumi apsorbancije (A). Sva daljnja mjerenja provedena su pri očitanim vrijednostima valnih duljina. Eksperimentalno dobiveni parovi vrijednosti $A - \text{pH}$ prikazani su grafički.

3.4.4. Određivanje točke infleksije krivulja

Grafički prikaz ovisnosti apsorbancije o pH-vrijednosti daje sigmoidalnu krivulju, a $\text{p}K_{\text{K}}$ -vrijednost odredi se pronalaženjem točke infleksije. Točka infleksije općenito odgovara mjestu gdje je stupanj disocijacije jednak $\alpha = 0,5$, pri čemu je $\text{pH} = \text{p}K_{\text{K}}$. Točniji način određivanja točke infleksije je uz pomoć Matlab[®] računalnog programa gradient funkcijom. Očitane vrijednosti su se poklapale sa vrijednostima određenima iz grafičkog prikaza.

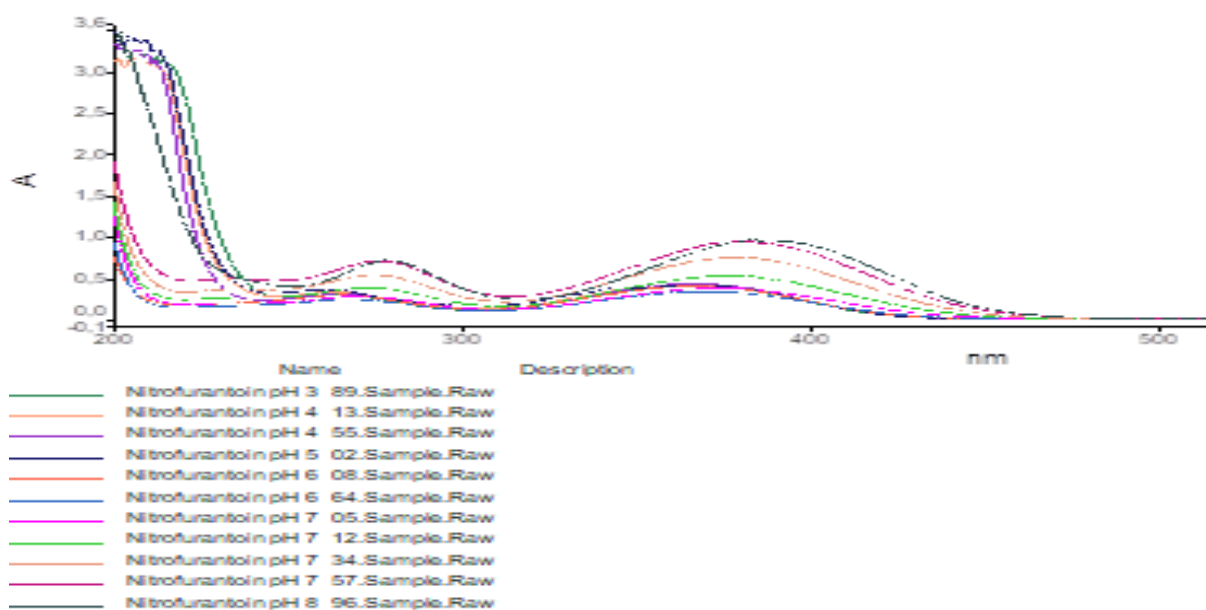
4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Spektrofotometrijsko određivanje apsorbancije pojedinih farmaceutika

Apsorpcijski spektar za pojedini farmaceutik snimljen je na spektrofotometru u rasponu valnih duljina 200 – 500 nm. Iz snimljenih apsorpcijskih spektara očitane su valne duljine pri kojima se nalaze maksimumi apsorpcije te se dalje, s obzirom na tu valnu duljinu, određuje vrijednost apsorbancije. Za svaki farmaceutik grafički je prikazana ovisnost apsorpcije o pH-vrijednosti otopine iz kojeg je, pomoću Matlab® računalnog programa, određena pH-vrijednost u točki infleksije. Određena pH-vrijednost jednaka je negativnom logaritmu konstante disocijacije ispitivanog farmaceutika. Na temelju određene K_K , izračunat je i grafički prikazan udio pojedinih ionskih vrsta

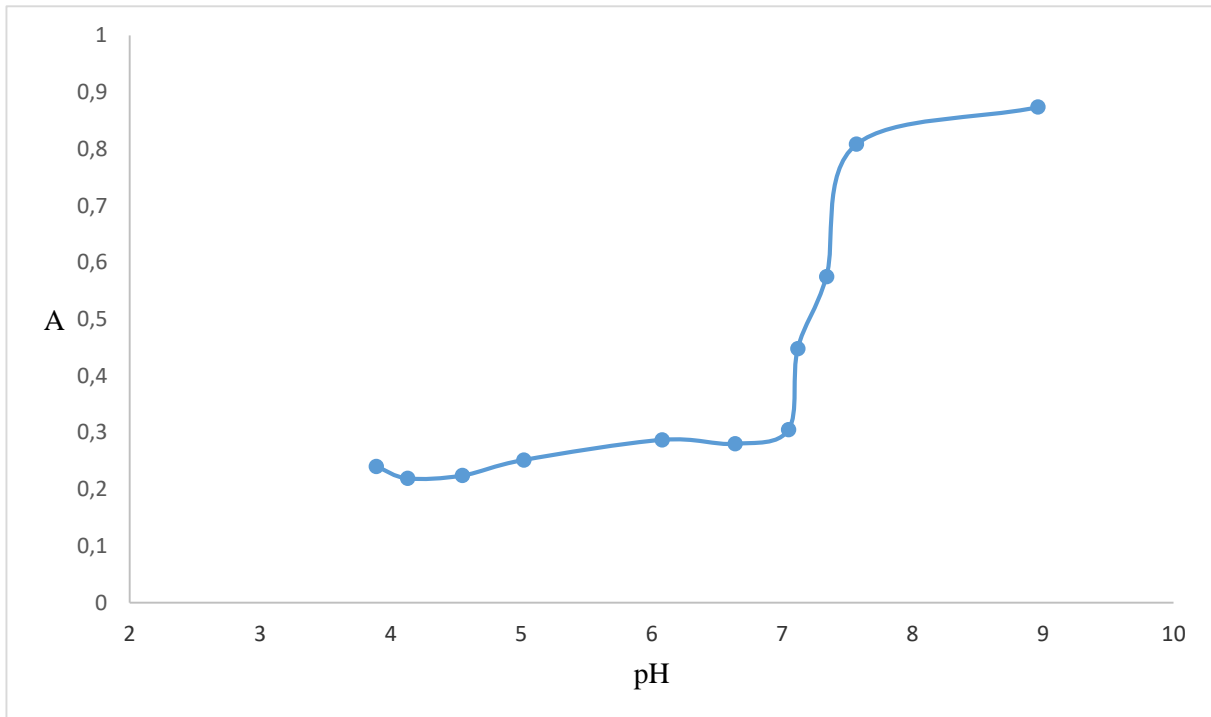
4.1.1 Snimanje spektra i određivanje konstante disocijacije nitrofurantoina

Kao što se može vidjeti iz apsorpcijskog spektra prikazanog na slici 8, nitrofurantoin postiže dva maksimuma apsorpcije, prvi pri valnoj duljini od 266 nm i drugi pri valnoj duljini od 400 nm. S obzirom da je drugi vrh apsorpcije viši i da ima širu raspodjelu apsorpcijskih krivulja, vrijednost apsorbancije se određivala pri valnoj duljini od 400 nm.



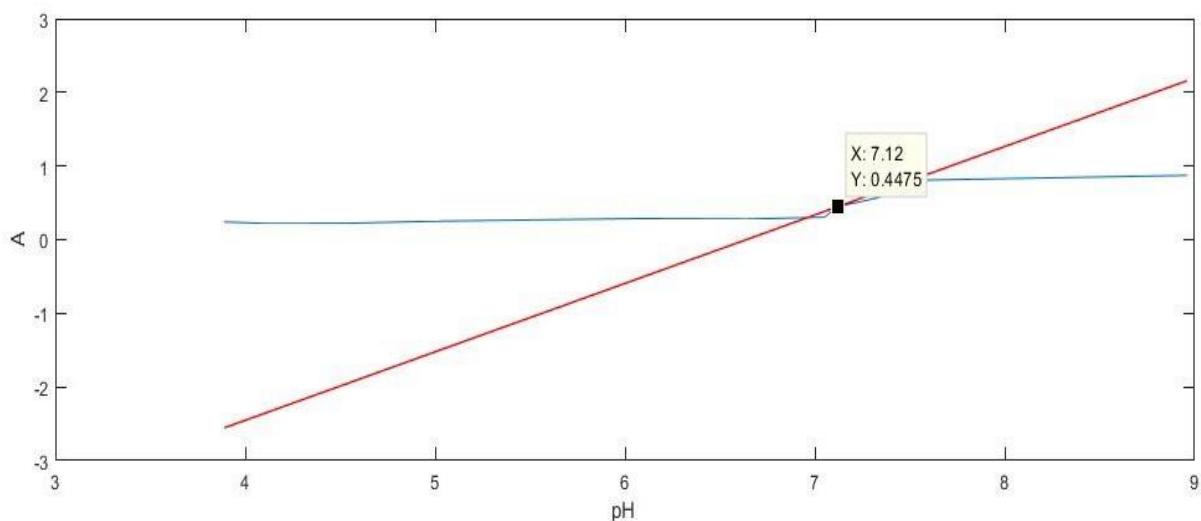
Slika 8. Apsorpcijski spektri nitrofurantoina pri različitim pH-vrijednostima

Grafički prikaz ovisnosti apsorbancije ($\lambda = 400 \text{ nm}$) o pH-vrijednosti otopine nitrofurantoina prikazan je na slici 9.



Slika 9. Promjena vrijednosti apsorbancije nitrofurantoina u ovisnosti o pH-vrijednosti

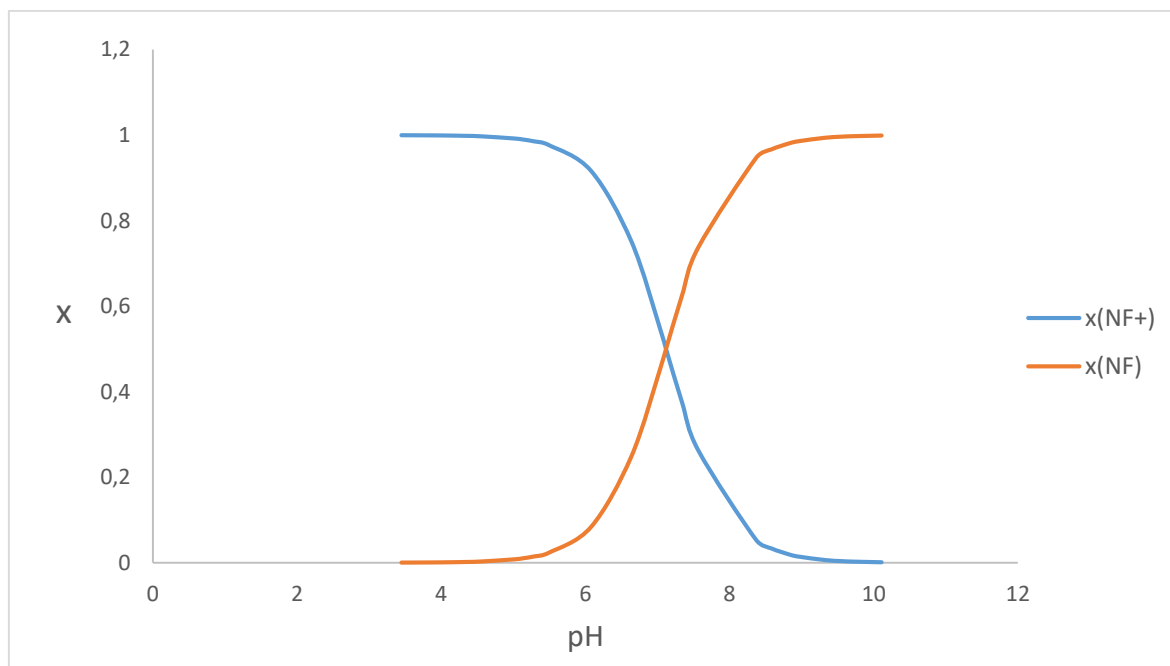
Konstanta disocijacije jednaka je pH-vrijednosti u točki infleksije apsorbancijske krivulje. Računalnim programom Matlab[®] pronađena je točka infleksije, čija dobivena vrijednost odgovara vrijednosti određenoj iz grafičkog prikaza na slici 9.



Slika 10. Točka infleksije nitrofurantoina određena Matlab[®] računalnim programom

Negativni logaritam konstante disocijacije nitrofurantoina određen u ovom radu iznosi 7,12. U literaturi se mogu pronaći pK_K -vrijednosti 7,2 [11] te 8,23 [12]. Dobivena pK_K -vrijednost slaže se s literaturnim podacima.

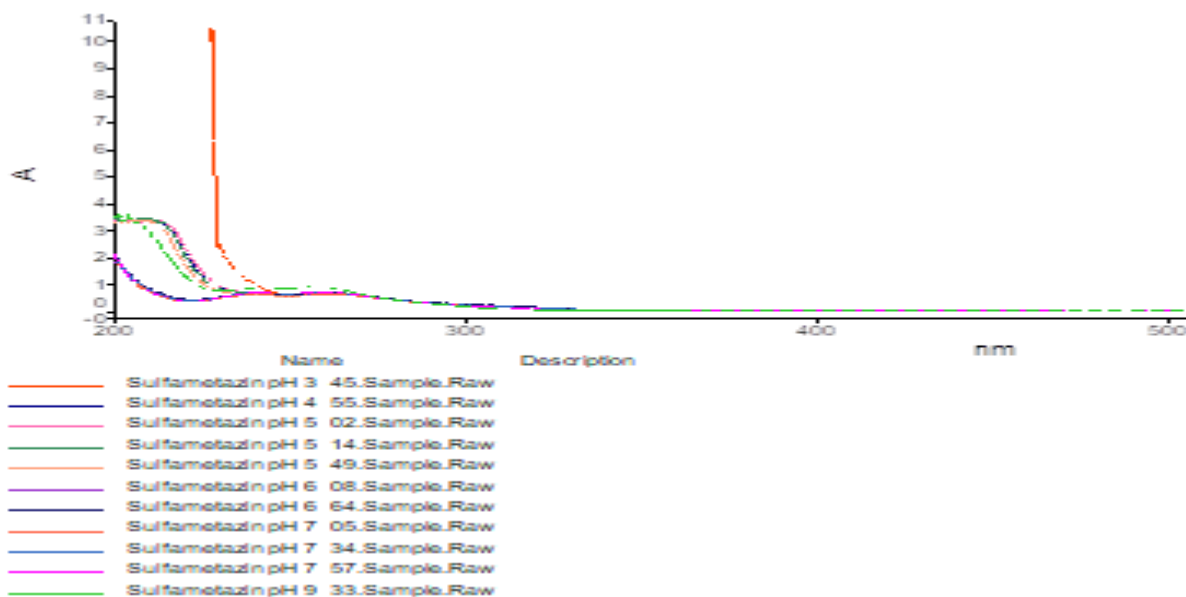
Slijedi grafički prikaz ovisnosti udjela ionske vrste o pH za nitrofurantoin (slika 11).



Slika 11. Ovisnost udjela ionskih vrsta o pH za nitrofurantoin

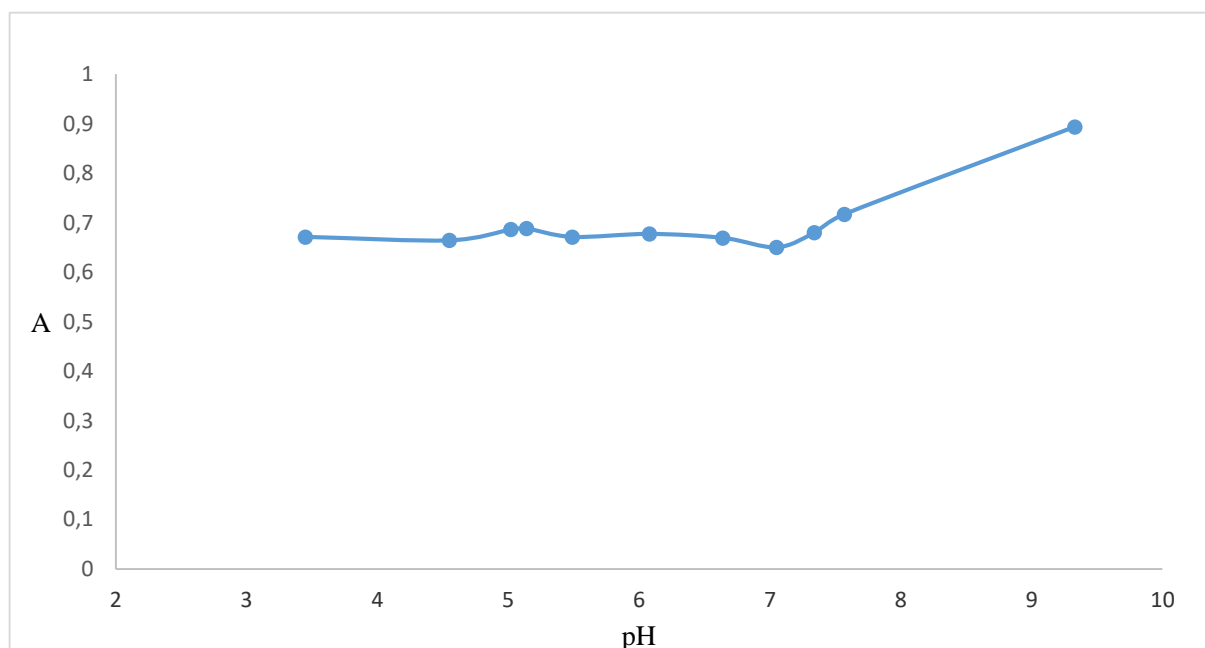
4.1.2. Snimanje spektra i određivanje konstante disocijacije sulfametazina

Apsorpcijski spektri sulfametazina pri različitim pH-vrijednostima prikazani su na slici 12. S obzirom da maksimum apsorpcije pri valnoj duljini od 240 nm radi odstupanja podataka nije bio pogodan za mjerenje vrijednosti apsorpcije, iz snimljenog apsorpcijskog spektra prikazanog na slici 12 odabrana valna duljina za određivanje apsorpcije je 260 nm.



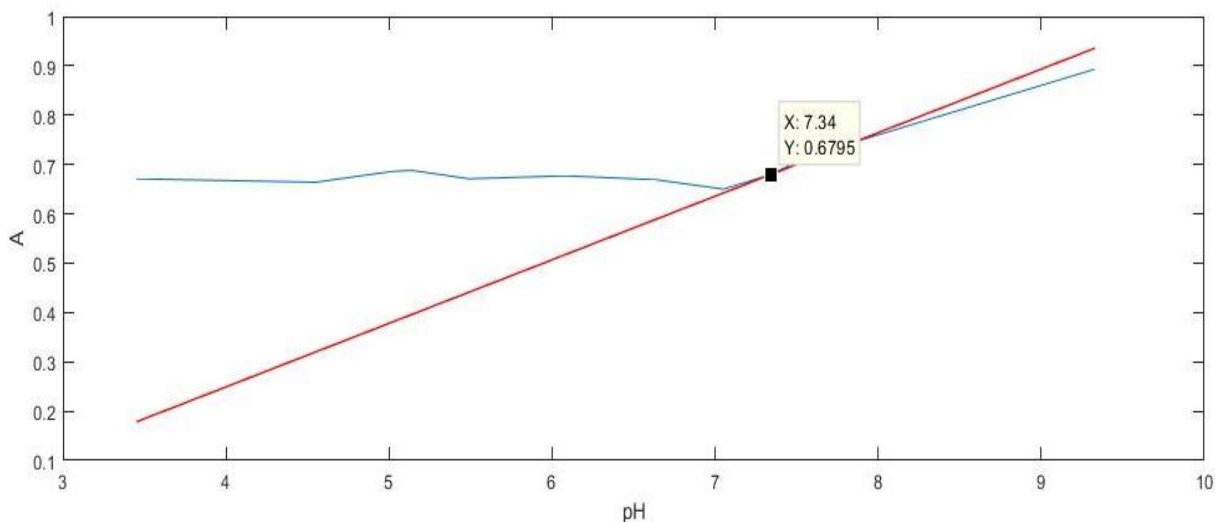
Slika 12. Apsorpcijski spektri sulfametazina pri različitim pH-vrijednostima

Krivulja koja pokazuje ovisnost apsorbancije o pH-vrijednosti pufera (slika 13) ima jednu točku infleksije koja odgovara negativnom logaritmu konstante disocijacije.



Slika 13. Promjena vrijednosti apsorbancije sulfametazina u ovisnosti o pH-vrijednosti

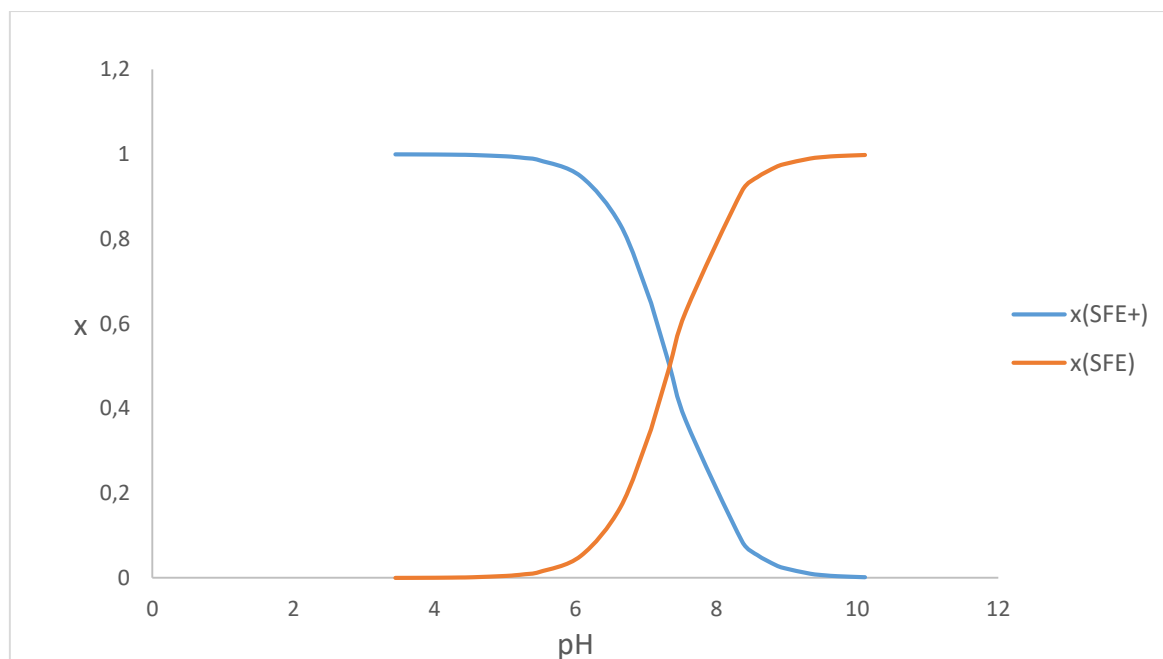
Točka infleksije pronađena Matlab[®] računalnim programom (slika 14) odgovara vrijednosti određenoj iz grafičkog prikaza na slici 13.



Slika 14. Točka infleksije sulfametazina određena Matlab[®] računalnim programom

Negativni logaritam konstante disocijacije sulfametazina određen u ovom radu iznosi 7,34. U literaturi se mogu pronaći pK_K -vrijednosti 2,00, 6,99 [13] te 7,59[12]. Eksperimentom je pronađena podudarnost sa samo jednom literaturnom vrijednosti, i to 7,59.

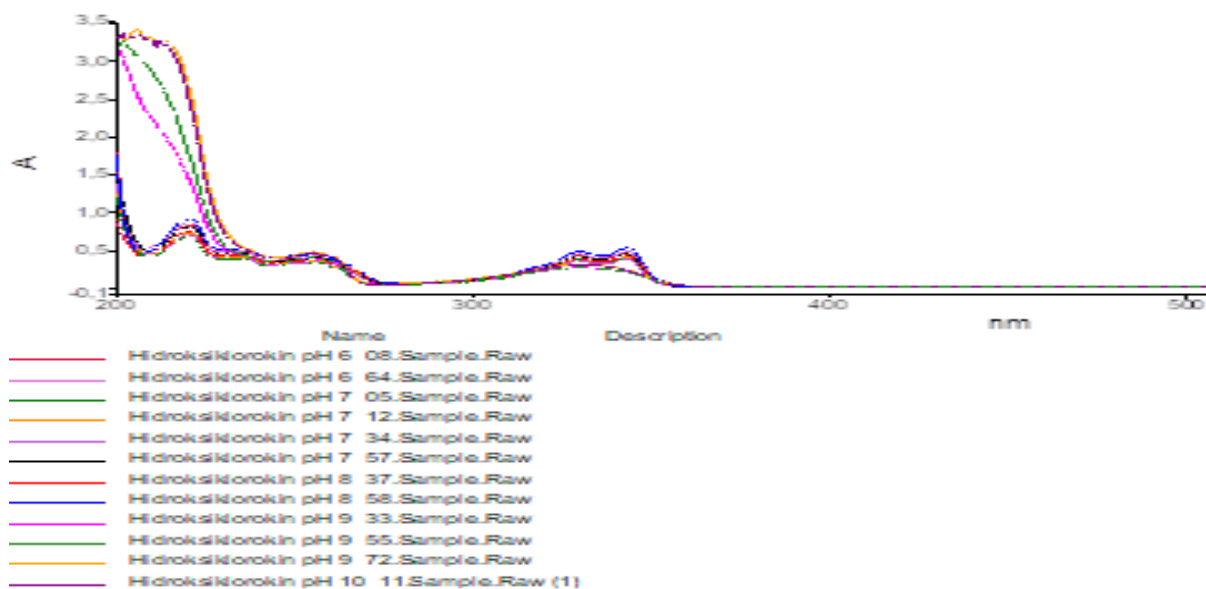
Ovisnosti udjela ionskih vrsta sulfametazina o pH-vrijednosti prikazan je na slici 15.



Slika 15. Ovisnost udjela ionskih vrsta o pH za sulfametazin

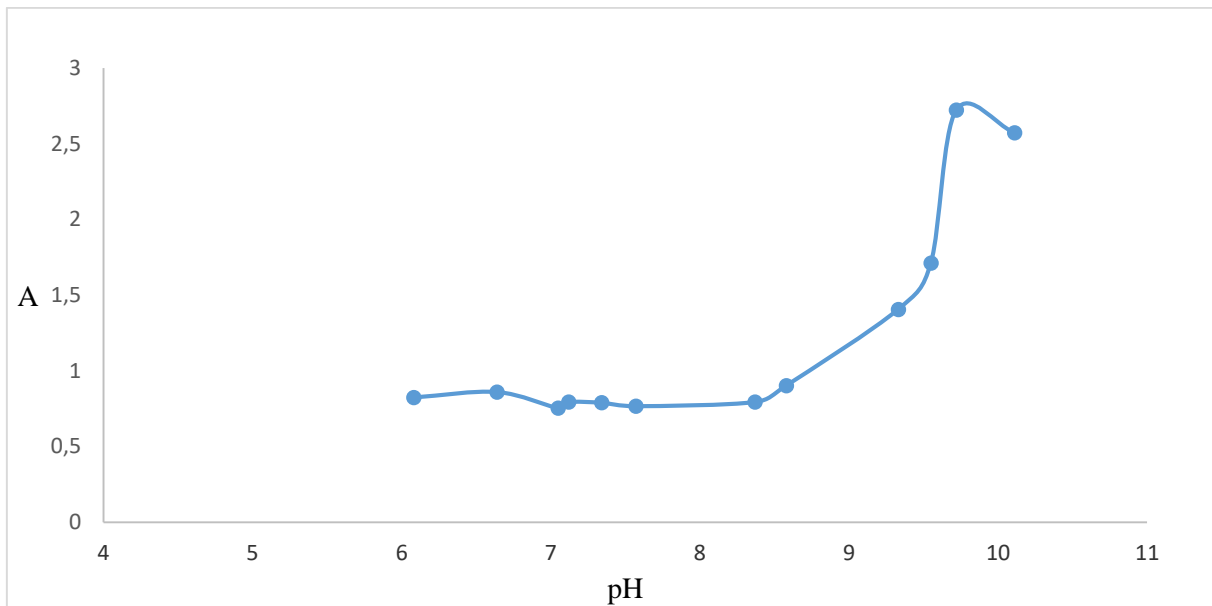
4.1.3. Snimanje spektra i određivanje konstante disocijacije hidroksiklorokina

Na slici 16. prikazan je apsorpcijski spektar hidroksiklorokina. Iz njega je vidljivo da se maksimum apsorpcije nalazi pri valnoj duljini od 220 nm. Stoga su sva mjerenja apsorbancije provedena pri toj valnoj duljini.

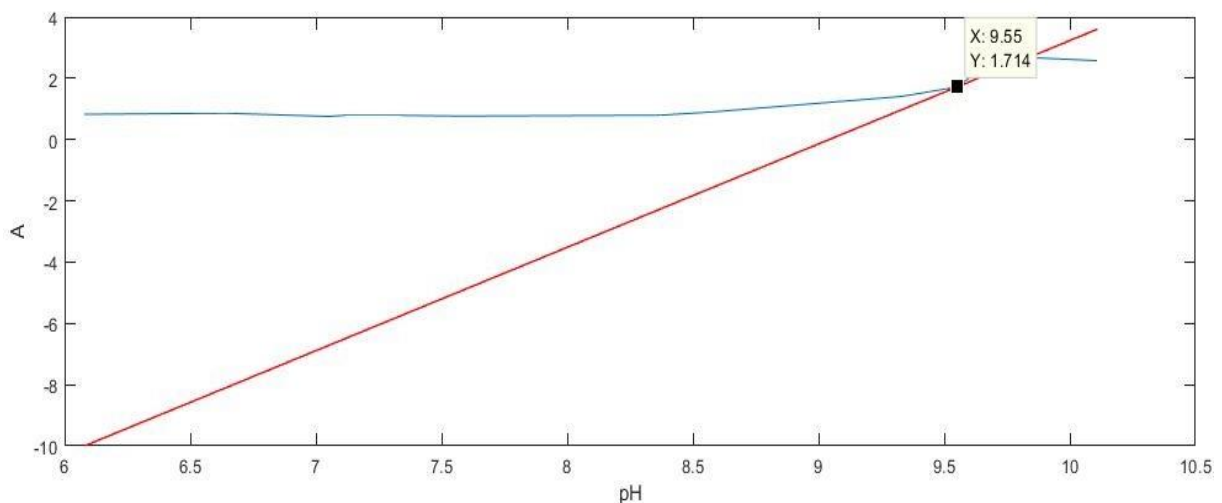


Slika 16. Apсорpcijski spektri hidroksiklorokina pri različitim pH-vrijednostima

Snimanjem apsorbancije pri valnoj duljini od 220 nm dobiven je grafički prikaz ovisnosti apsorbancije o pH-vrijednosti pufera (slika 17) iz kojeg se može odrediti točka infleksije koja odgovara vrijednosti određenoj pomoću Matlab[®] računalnog programa (slika 18).



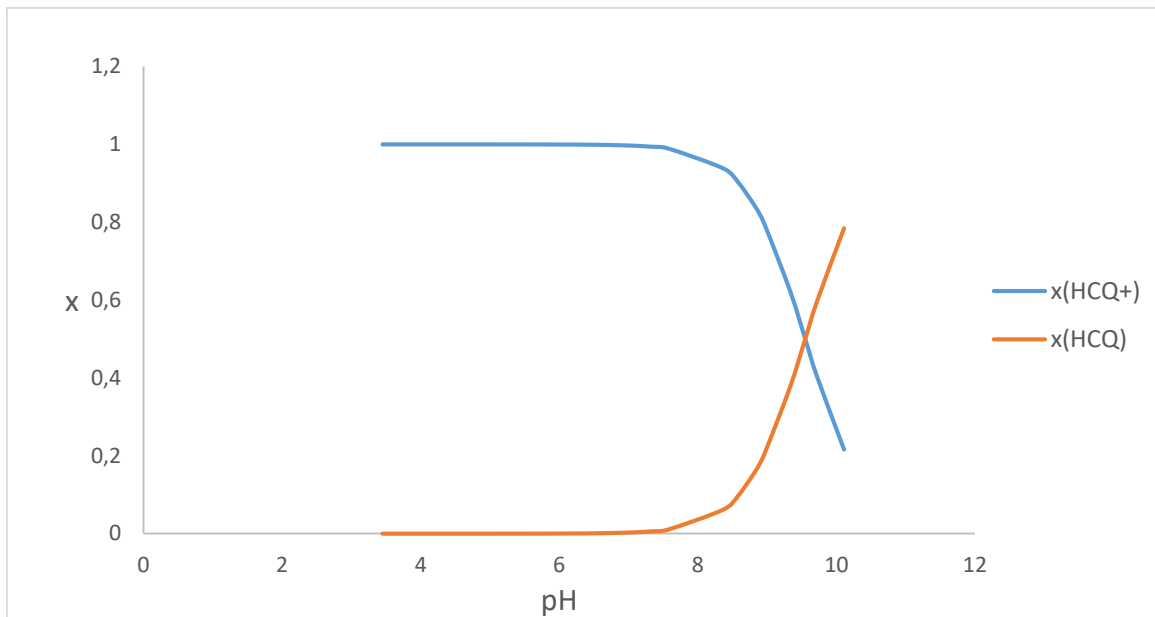
Slika 17. Promjena vrijednosti apsorbancije hidroksiklorokina u ovisnosti o pH-vrijednosti



Slika 18. Točka infleksije hidroksiklorokina određena Matlab[®] računalnim programom

Negativni logaritam konstante disocijacije hidroksiklorokina određena u ovom radu iznosi 9,55. Dobivena vrijednost pK_K dobro se slaže s vrijednosti objavljenoj u literaturi (9,76 [13]). U nekim literaturnim izvorima navodi se da hidroksiklorokin ima, uz konstantu $pK_K = 9,76$, još tri konstante, tj. pK_K -vrijednosti: 7,28 [13], 8,3 i $< 4,0$ [14] koje eksperimentom u ovom radu nije bilo moguće pronaći.

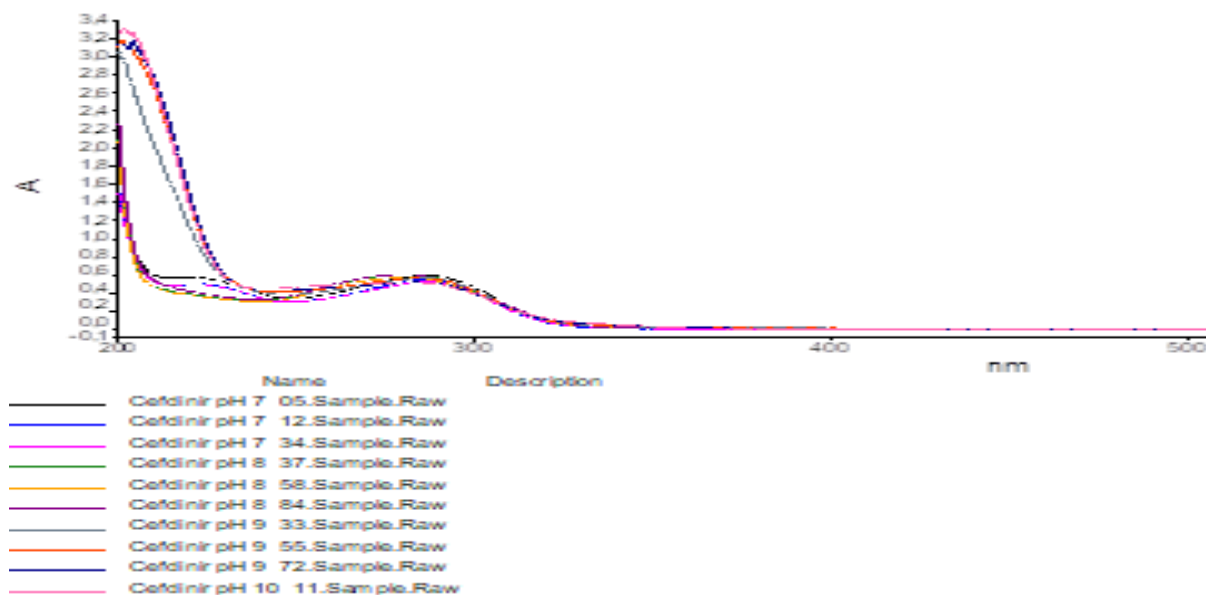
Ovisnost udjela ionskih vrsta o pH-vrijednosti za hidroksiklorokin prikazana je na slici 19.



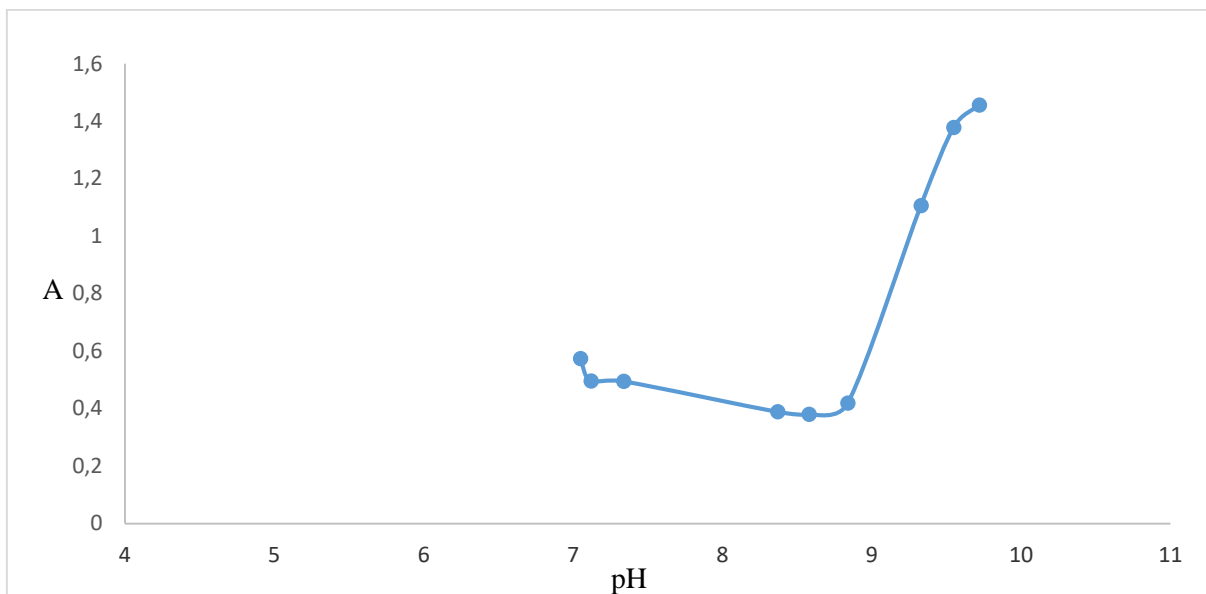
Slika 19. Ovisnost udjela ionskih vrsta o pH za hidroksiklorokin

4.1.4. Snimanje spektra i određivanje konstante disocijacije cefdinira

Iako je na prikazu apsorpcijskog spektra (slika 20) vidljivo kako cefdinir postiže maksimum apsorpcije pri valnoj duljini od 280 nm, rezultati dobiveni snimanjem vrijednosti apsorpcije pokazuju velika odstupanja. Stoga su mjerenja apsorpcije provedena pri valnoj duljini od 220 nm, pri kojoj su apsorpcijske krivulje bolje raspodijeljene i daju bolji prikaz ovisnosti apsorpcije o pH-vrijednosti pufera (slika 21).

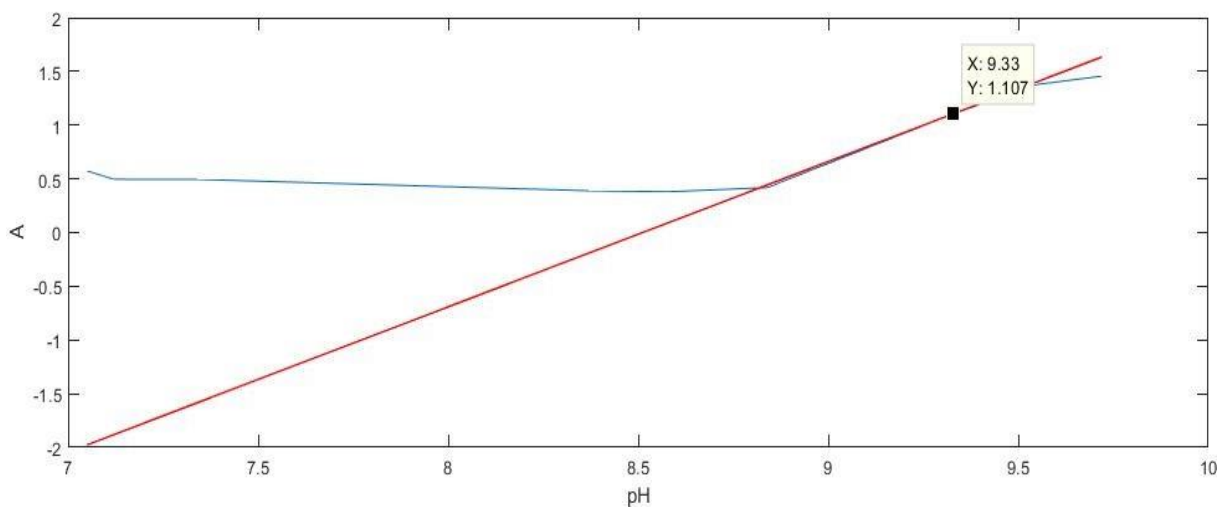


Slika 20. Apсорpcijski spektri cefdinira pri različitim pH-vrijednostima



Slika 21. Promjena vrijednosti apsorbancije cefdinira u ovisnosti o pH-vrijednosti

Mjerenjem apsorbancije otopina cefdinira pri različitim pH i valnoj duljini od 220 nm, dobiven je grafički prikaz ovisnosti apsorbancije o pH-vrijednosti, prikazan na slici 21.

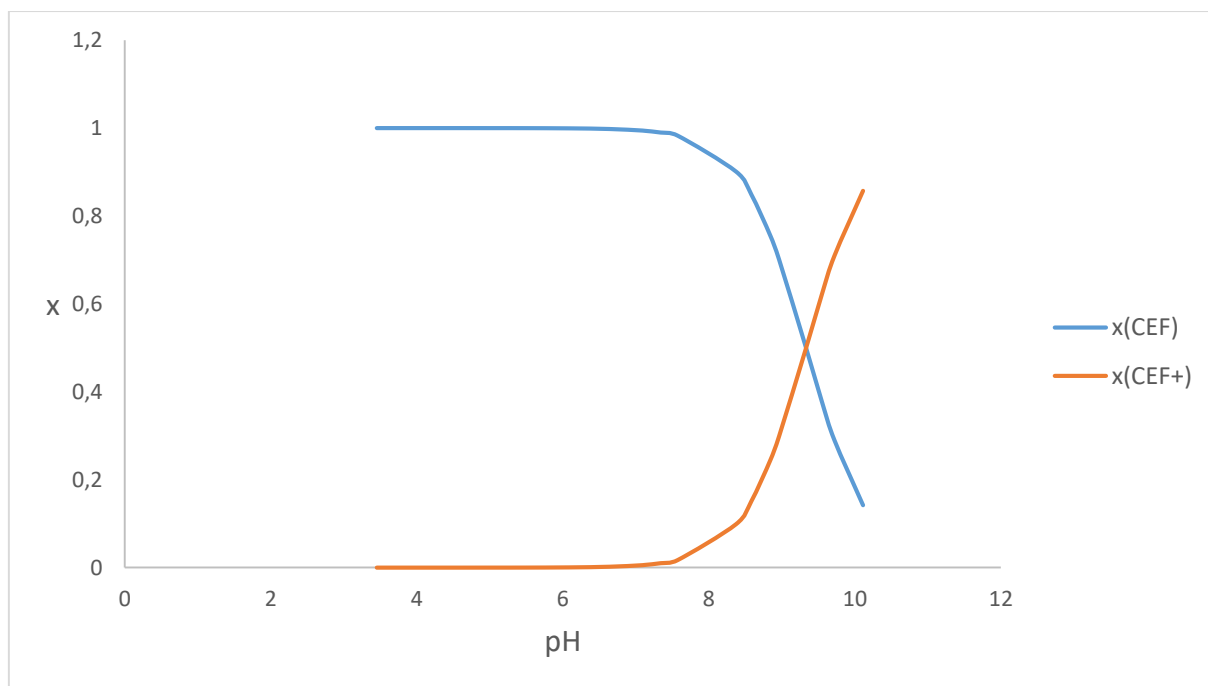


Slika 22. Točka infleksije cefdinira određena Matlab[®] računalnim programom

Točka infleksije, odnosno negativan logaritam konstante disocijacije određena Matlab[®] računalnim programom (slika 22) odgovara vrijednosti određenoj iz grafičkog prikaza na slici 21.

p-vrijednost konstante disocijacije cefdinira određena u ovom radu iznosi 9,33. Dobivena vrijednost slaže se s literaturnim podatkom (9,70 [19]). U nekim literaturnim izvorima navodi se da cefdinir ima, uz 9,70, još nekoliko pK_K -vrijednosti: $pK_1 = 2,73$, $pK_2 = 3,61$, $pK_3 = 7,94$ te $pK_4 = 12,48$ [13] koje eksperimentom u ovom radu nije bilo moguće pronaći.

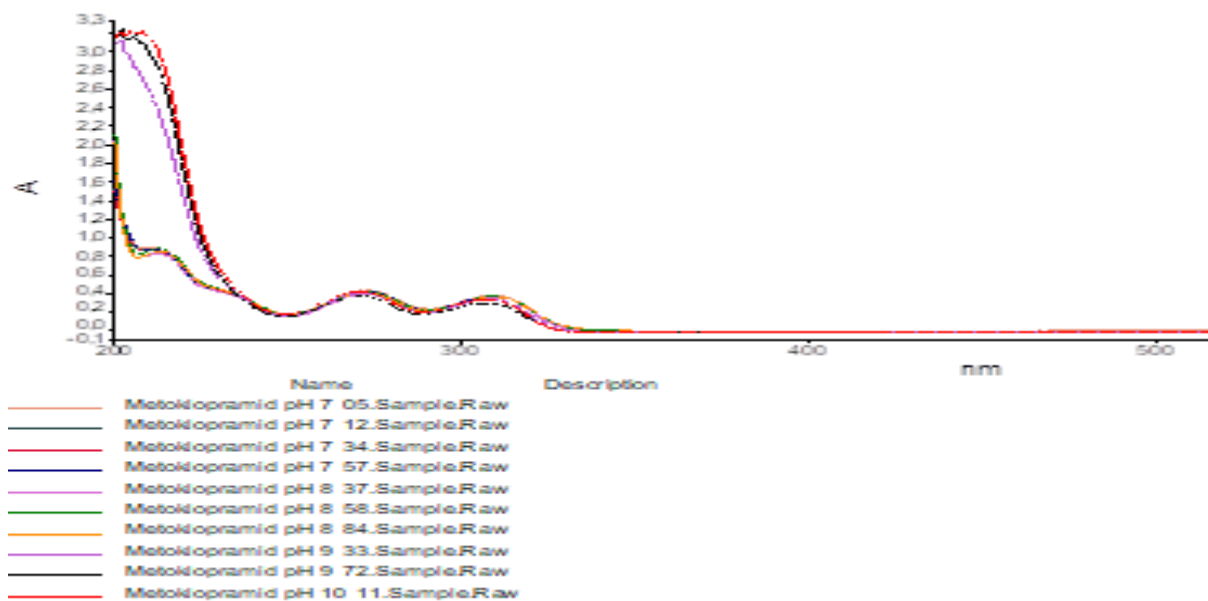
Ovisnost ionskih vrsta cefdinira o pH-vrijednosti, izračunat na temelju pK_K -vrijednosti određene u ovom radu prikazana je na slici 23.



Slika 23. Ovisnost udjela ionskih vrsta o pH za cefdinir

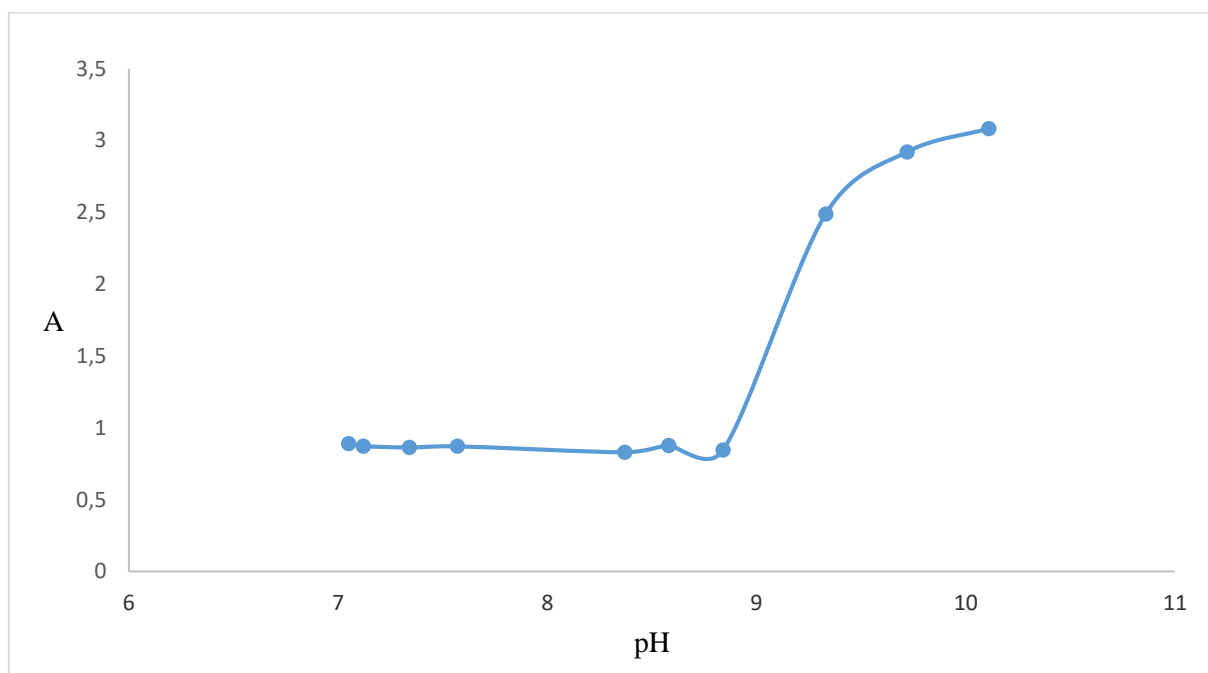
4.1.5. Snimanje spektra i određivanje konstante disocijacije metoklopramida

Apsorpcijski spektar metoklopramida (slika 24) ukazuje na postojanje tri maksimuma apsorpcije, prvi pri valnoj duljini od 211 nm, drugi pri valnoj duljini od 275 nm i treći pri valnoj duljini od 310 nm. S obzirom da je prvi vrh apsorpcije najviši od navedena tri i da ima širu raspodjelu apsorpcijskih krivulja, apsorbanca je mjerena pri valnoj duljini od 211 nm.



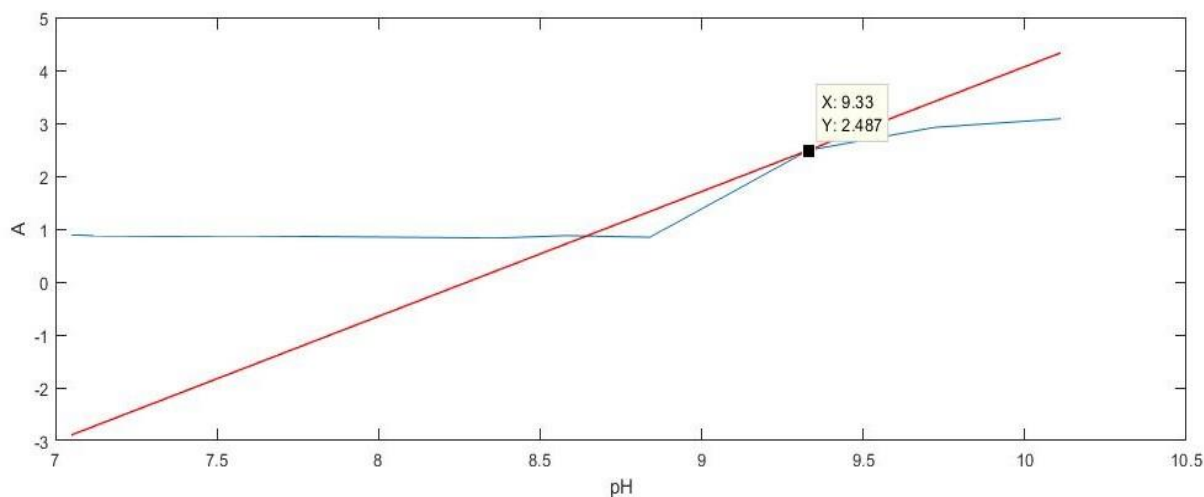
Slika 24. Apsorpcijski spektri metoklopramida pri različitim pH-vrijednostima

Izmjerene vrijednosti apsorbancije otopina metoklopramida pri različitim pH-vrijednostima i pri valnoj duljini od 211 nm grafički su prikazane u ovisnosti o pH-vrijednosti (slika 25).



Slika 25. Promjena vrijednosti apsorbancije metoklopramida u ovisnosti o pH-vrijednosti

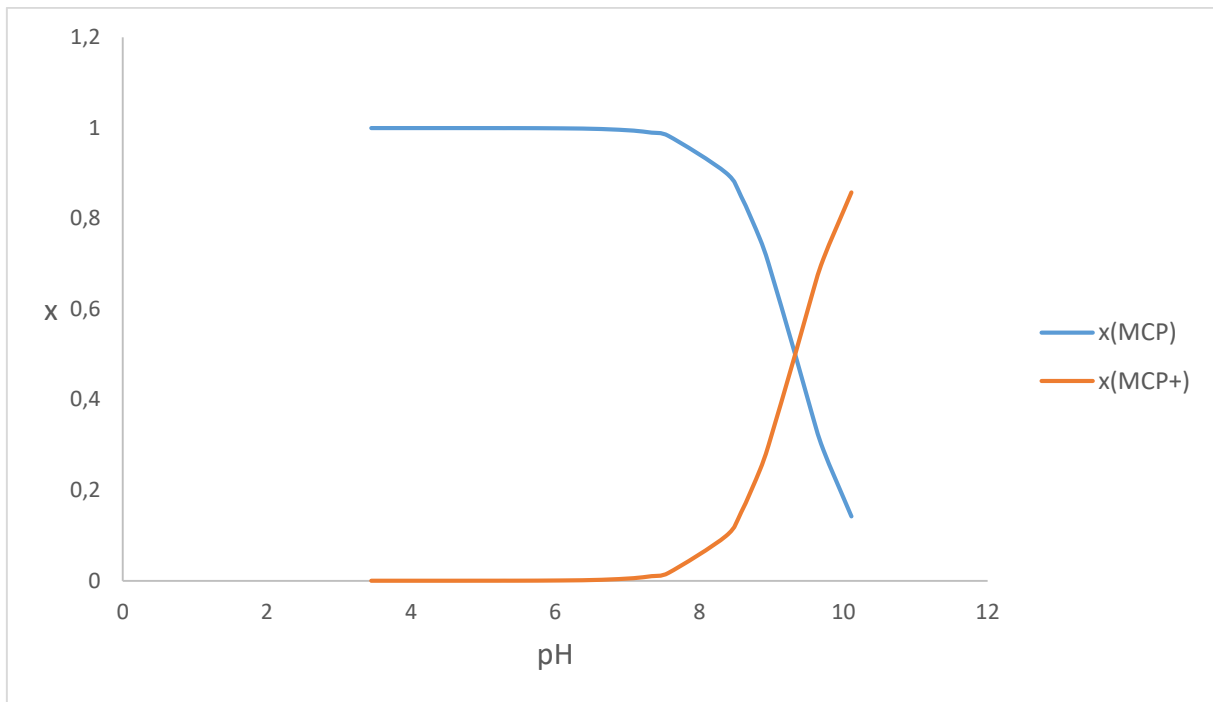
Matlab[®] računalnim programom pronađena je točka infleksije, čija dobivena vrijednost odgovara vrijednosti određenoj iz grafičkog prikaza na slici 25 i predstavlja negativni logaritam konstante disocijacije metoklopramida.



Slika 26. Točka infleksije metoklopramida određena Matlab[®] računalnim programom

p-vrijednost konstante disocijacije metoklopramida određena u ovom radu iznosi 9,33. U literaturi se mogu pronaći vrijednosti 1,64 te 9,04 [13]. Dobivena p-vrijednost konstante disocijacije slaže se s literaturnim podatkom ($pK_K = 9,04$).

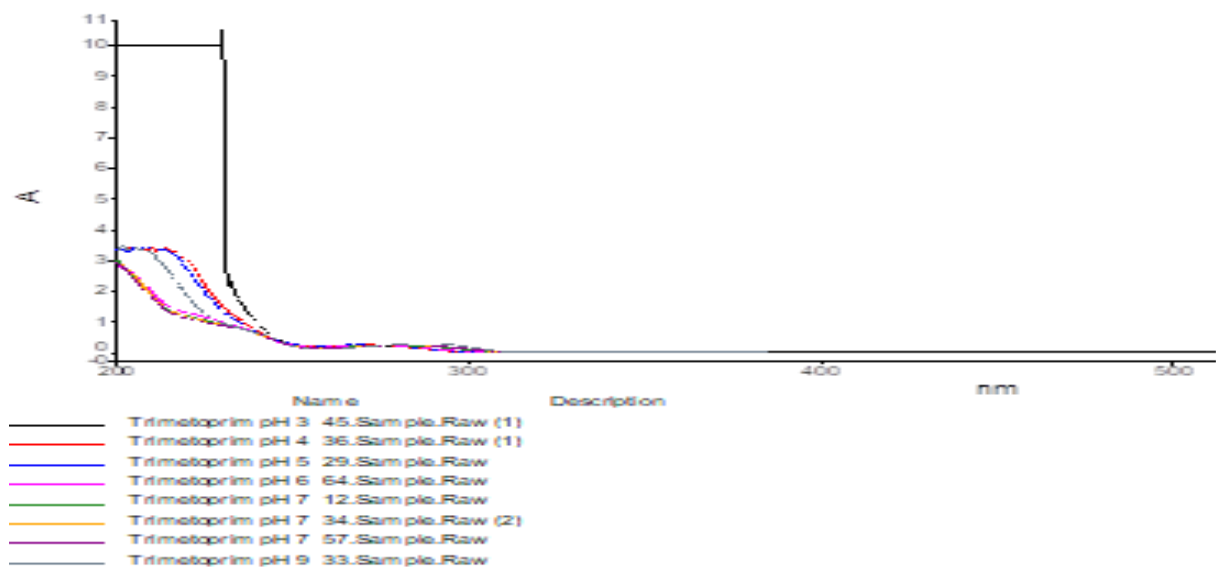
Na temelju dobivene K_K -vrijednosti grafički je prikazana ovisnost udjela ionskih vrsta metoklopramida o pH-vrijednosti (slika 27).



Slika 27. Ovisnost udjela ionskih vrsta o pH za metoklopramid

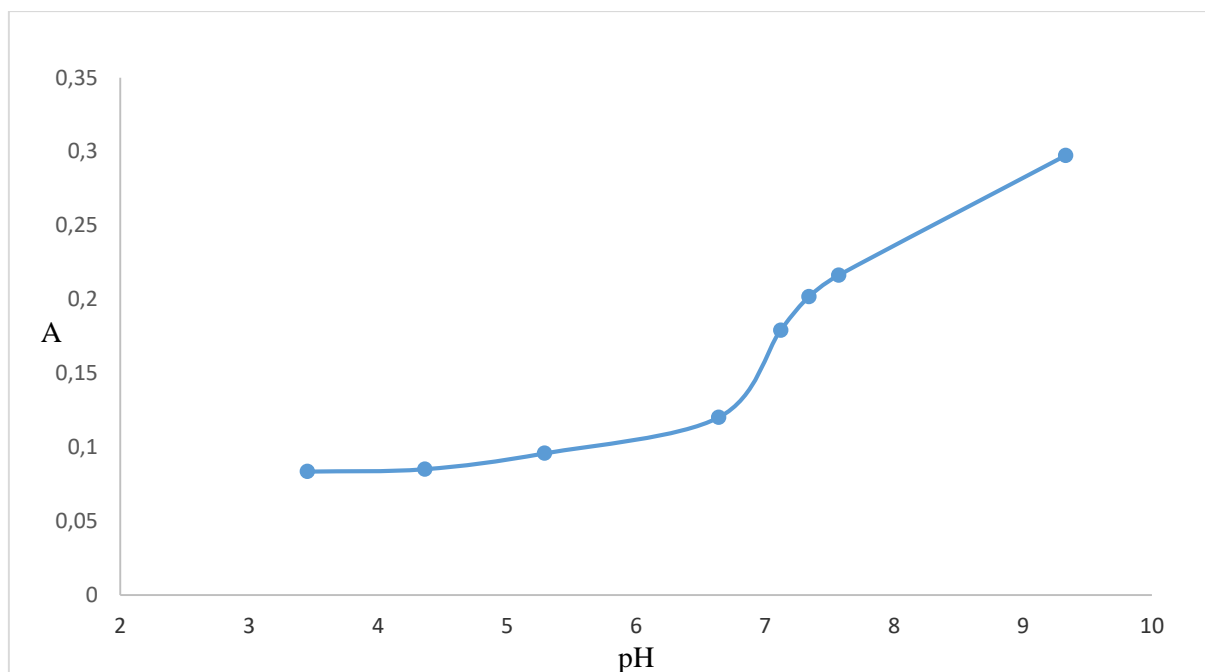
4.1.6. Snimanje spektra i određivanje konstante disocijacije trimetoprima

Kao što se može vidjeti iz apsorpcijskog spektra prikazanog na slici 28, trimetoprim postiže maksimum apsorpcije pri valnoj duljini od 220 nm. Određivanje vrijednosti apsorbanije pri toj valnoj duljini nije pokazivala ispravne rezultate, stoga je za određivanje vrijednosti apsorbanije uzeta valna duljina od 290 nm gdje je pik znatno niži.



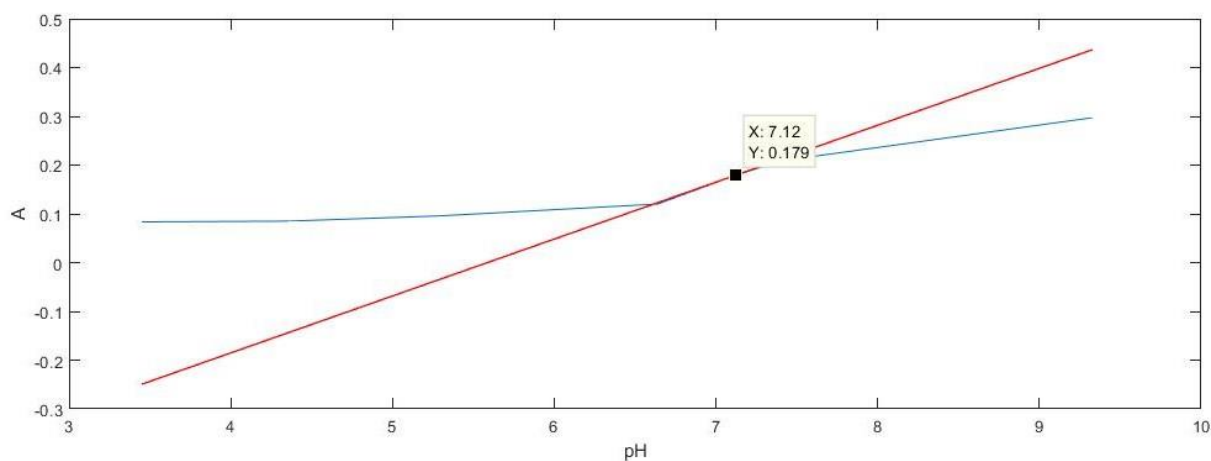
Slika 28. Apсорpcijski spektri trimetoprima pri različitim pH-vrijednostima

Grafički prikaz ovisnosti izmjerenih apsorbancija (pri valnoj duljini od 290 nm) o pH-vrijednosti otopina trimetoprima prikazan je na slici 29. Točka infleksije, koja predstavlja p-vrijednost konstante disocijacije, može se odrediti iz grafičkog prikaza.



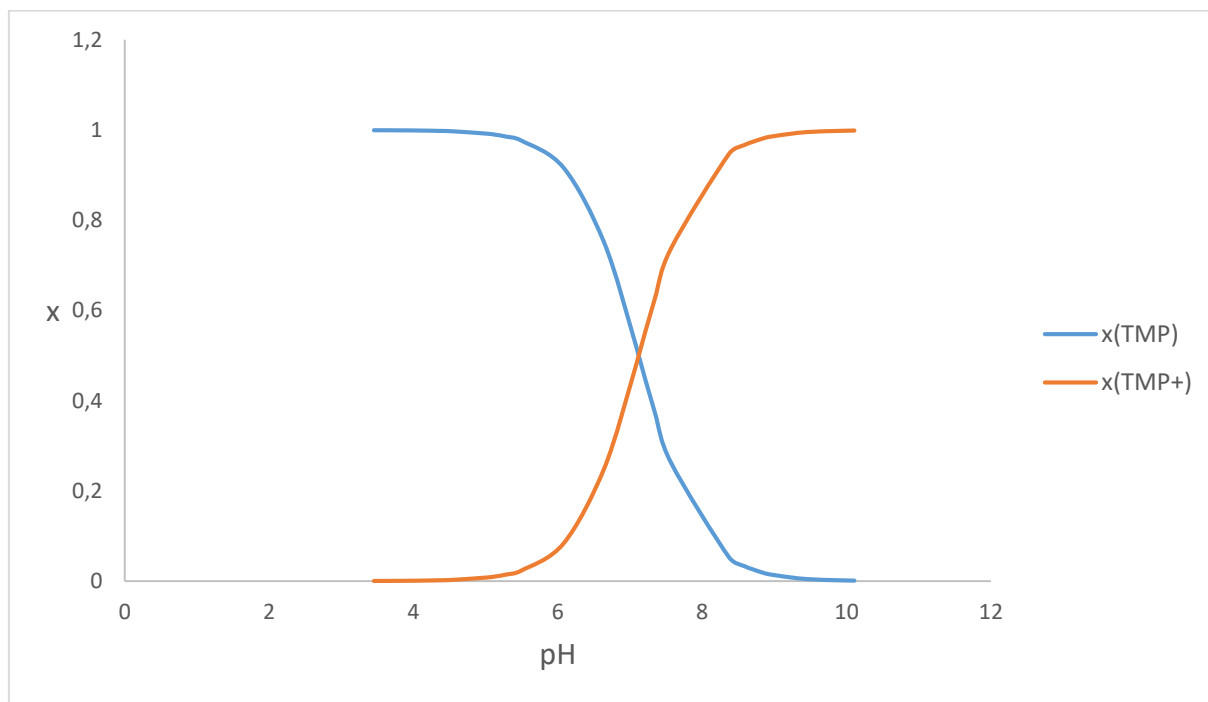
Slika 29. Promjena vrijednosti apsorbancije trimetoprima u ovisnosti o pH vrijednosti

Dobivena vrijednost točke infleksije odgovara vrijednosti određenoj pomoću Matlab[®] računalnog programa, prikazanoj na slici 30.



Slika 30. Točka infleksije trimetoprima određena Matlab[®] računalnim programom

p-vrijednost konstante disocijacije trimetoprima određena u ovom radu iznosi 7,12. U literaturi se može pronaći vrijednost 7,16 [13] što znači da je postignuto izvrsno slaganje. Ovisnost udjela ionskih vrsta o pH za trimetoprim prikazan je na slici 31.



Slika 31. Ovisnost udjela ionskih vrsta o pH za trimetoprim

5. ZAKLJUČAK

U ovom radu određivane su konstante disocijacije nitrofurantoina, sulfametazina, hidrosiklorokina, cefdinira, metoklopramida te trimetoprima spektrofotometrijskom analizom. Konstante disocijacije pojedinih farmaceutika određene su na temelju grafičkog prikaza ovisnosti A o pH-vrijednosti koji daje sigmoidalnu krivulju. Postignuta su dosta dobra slaganja s literaturnim podacima, ovisno o farmaceutiku.

Poznavanjem konstanti disocijacije bilo je moguće izračunati udjele ionskih vrsta u ovisnosti o pH. Na temelju poznavanja konstante disocijacije te udjela ionskih vrsta u ovisnosti o pH moguće je predvidjeti ponašanje farmaceutika u okolišu te na taj način kontrolirati njihovo pojavljivanje i štetna djelovanja u okolišu.

6. LITERATURA

1. V. Calisto, V. I. Esteves, Psychiatric pharmaceuticals in the environment, *Chemosphere* 77 (2009) 1257-1274.
2. M. Periša, S. Babić, Farmaceutici u okolišu, *Kem. Ind.* 65 (2016) 471–482.
3. Z. Qiang, C. Adams, Potentiometric determination of acid dissociation constants (pK_a) for human and veterinary antibiotics, *Water Res.* 38 (2004) 2874–2890.
4. I. Filipović, S. Lipanović, *Opća i anorganska kemija, I dio, V dopunjeno izdanje*, Školska knjiga, Zagreb, 1985, str. 496 – 497.
5. J. Reijenga, A. van Hoof, A. van Loon, B. Teunissen, Development of methods for the determination of pK_a values, *Anal. Chem. Insights* 8 (2013) 53–71.
6. J. Barbosa, D. Barrón, E. Jiménez-Lozano, Electrophoretic behaviour of quinolones in capillary electrophoresis, Effect of pH and evaluation of ionization constants, *J. Chromatogr. A* 839 (1999) 183 – 192.
7. Krešimir Košutić, *Fizikalna kemija 2, Interna skripta*, Zagreb, 2013
8. M. Perlog, *Sinteza i karakterizacija leteći pepeo/TiO₂ fotokatalitičkih nanokompozita*, FKIT, Zagreb, 2015.
9. Mayo Clinic Proceedings, Nitrofurantoin 86 (2011) 1243-1244.
10. PubChem, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
11. DrugBank, <http://www.drugbank.ca/>
12. ChemSpider, <http://www.chemspider.com/>
13. A. Kar, *Medicinal Chemistry*, New Age International (P) Ltd., Publishers, New Delhi, 2007, str. 538 – 539.
14. R. L. Schroeder, J. P. Gerber, Chloroquine and hydroxychloroquine binding to melanin: Some possible consequences for pathologies, *Toxicol. Rep.* 1 (2014) 963–968.
15. Z.Chen, J. Zhang, J. Yu, G. Cao, X. Wu, Y. Shi, Selective method for the determination of cefdinir in human plasma using liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography B*, 834 (2006) 163– 169
16. A. Khan, Z. Iqbal, M. I. Khan, K. Javed, A. Khan, L. Ahmad, Y. Shah, F. Nasir, Simultaneous determination of cefdinir and cefixime in human plasma by RPHPLC/UV detection method: Method development, optimization, validation, and its application to a pharmacokinetic study, *J. Chromatogr. B*, 879 (2011) 2423–2429.
17. Cefdinir, <http://www.drugfuture.com/chemdata/Cefdinir.html>

18. M. Zamani, B. Namdar, R. Azizkhani, O. Ahmadi, M. Esmailian, Comparing the antiemetic effects of ondansetron and metoclopramide in patients with minor head trauma, *Emerg (Tehran)*, 3 (2015) 137–140.
19. Z. Bekçi, Y. Seki, M. Kadir Yurdakoç, Equilibrium studies for trimethoprim adsorption on montmorillonite KSF, *J. Hazard. Mater.* 133 (2006) 233–242.
20. P. R. Race, A. L. Lovering, R. M. Green, A. Ossor, S. A. White, P. F. Searle, C. J. Wrighton, E. I. Hyde, Structural and mechanistic studies of *Escherichia coli* nitroreductase with the antibiotic nitrofurazone. Reversed binding orientations in different redox states, of the enzyme, *J. Biol. Chem.* 280 (2005) 13256-13264.

ŽIVOTOPIS

████████████████████ Osnovnoškolsko obrazovanje sam završila u Osnovnoj školi Ivana Kukuljevića Sisak, nakon koje upisujem Gimnaziju Sisak. Završetkom srednjoškolskog obrazovanja, 2014. godine upisujem Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu kao redovna studentica na sveučilišnom preddiplomskom studiju Kemija i inženjerstvo materijala. Stručnu praksu odradila sam u Zavodu za javno zdravstvo Sisačko – moslavačke županije u službi za zdravstvenu ekologiju.