

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I
TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Valentina Milašinović

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, srpanj 2014.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Valentina Milašinović

**ODREĐIVANJE KONSTANTE RAZDJELJENJA
OKTANOL/VODA ZA VETERINARSKE FARMACEUTIKE**

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: Izv. prof. dr. sc. Danijela Ašperger

Članovi ispitnog povjerenstva:

Izv. prof. dr. sc. Danijela Ašperger

Izv. prof. dr. sc. Dragana Mutavdžić Pavlović

Dr. sc. Davor Dolar, znan. suradnik

Zagreb, srpanj 2014.

*Ovaj rad je izrađen na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije,
Sveučilišta u Zagrebu,
Zavod za analitičku kemiju, akademske godine 2013./2014.*

*Zahvaljujem se svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Danijeli Ašperger
na strpljenju, pomoći i trudu tokom izrade ovog rada.*

*Zahvaljujem se roditeljima, sestrama i prijateljima koji su mi kroz
ove tri godine studija bili velika podrška.*

SAŽETAK

ODREĐIVANJE KONSTANTE RAZDJELJENJA OKTANOL/VODA ZA VETERINARSKE FARMACEUTIKE

Veterinarski farmaceutici podrazumijevaju vrlo široki spektar spojeva različitih fizikalno-kemijskih svojstava. Dolaze u okoliš različitim putevima i potrebno ih je odrediti u okolišu, a u tu svrhu se najčešće koriste kromatografske metode. Jedna od metoda je i tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti s detektorom s nizom dioda (HPLC-DAD) koja je korištena u ovom radu.

Cilj rada je eksperimentalnim putem odrediti konstante razdjeljenja oktanol/voda za 16 veterinarskih farmaceutika. Faktor kapaciteta, potreban za računanje $\log K_{ov}$, određen je RP-HPLC metodom s pokretnom fazom metanol-voda u tri različita omjera.

Dobiveni rezultati uspoređivani su s podacima iz programa EPI-Suite. EPI-Suite je program u kojemu se nalaze svi fizikalno-kemijski podaci farmaceutika izračunati obzirom na njihovu molekulsku strukturu (KOWWIN) te neki dostupni eksperimentalni podaci. Međutim, te su teorijske vrijednosti često u neslaganju s eksperimentalnim vrijednostima.

Eksperimentalno dobiveni podaci za većinu ispitivanih veterinarskih farmaceutika se slažu s podacima iz programa EPI-Suite. Rezultati za farmaceutik albendazol ($\log K_{ov}=3,11$) daju najbolje slaganje s podacima iz programa ($\log K_{ov}=3,07$).

Ključne riječi: *veterinarski farmaceutici, tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC), detektor s nizom dioda (DAD), konstanta razdjeljenja ($\log K_{ov}$), pokretna faza*

ABSTRACT

DETERMINATION OF PARTITION COEFFICIENT OCTANOL/WATER FOR VETERINARY PHARMACEUTICALS

Veterinary pharmaceuticals include a wide range of compounds of different physico-chemical properties. They come into the environment with different ways and need to be determined in the environment, and for this purpose are commonly used chromatographic methods. One of these methods is the high performance liquid chromatography with diode array detector (HPLC-DAD), used in this experimental work.

The aim of this work was to experimentally determine partition coefficients octanol/water for 16 veterinary pharmaceuticals. Capacity factor, needed to calculate $\log K_{ow}$, was determined by RP-HPLC method using methanol-water in three different ratios as mobile phase.

Obtained results were compared with data from the program EPI-Suite. EPI-Suite Welcome Screen is a program where the physico-chemical data of pharmaceuticals were calculated according to their molecular structure (KOWWIN) and some available experimental values. However, these theoretical values are often in disagreement with the experimental values.

Experimentally obtained results for the most of tested veterinary pharmaceuticals are in good agreement with the values from the program EPI-Suite. Results for the pharmaceutical albendazole ($\log K_{ow}=3.11$) give the best agreement with the value from the program ($\log K_{ow}=3.07$).

KeyWords: *veterinary pharmaceuticals, high performance liquid chromatography (HPLC), diode array detector (DAD), partition coefficient ($\log K_{ow}$), mobile phase*

SADRŽAJ

1.	Uvod	1
2.	Opći dio	2
2.1	Općenito o farmaceuticima	2
2.1.1	Antihelmintici	2
2.1.2	Antibiotici	7
2.1.3	Anestetici	14
2.1.4	Glukokortikoidi	15
2.2	Konstanta razdjeljenja oktanol/voda- K_{ov}	16
2.2.1	Metode određivanja	17
3.	EKSPERIMENTALNI DIO	22
3.1	MATERIJALI	22
3.1.1	Kemikalije	22
3.1.2	Farmaceutici	22
3.2	INSTRUMENTI I UREĐAJI	24
3.2.1	Analitička vaga	24
3.2.2	Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti (HPLC)	24
3.3	METODA RADA	25
3.3.1	Priprema standardnih otopina farmaceutika	25
3.3.2	Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti	25
4.	REZULTATI I RASPRAVA.....	27
5.	ZAKLJUČAK.....	45
6.	LITERATURA	46
7.	DODATAK	47
7.1	POPIS SLIKA	47
7.2	POPIS TABLICA	47
7.3	POPIS KRATICA.....	49
8.	ŽIVOTOPIS.....	50

1. Uvod

Farmaceutici, njihovi metaboliti i proizvodi transformacije sve se češće detektiraju u okolišu. Potrošnja farmaceutika za ljudsku i veterinarsku primjenu u uzlaznoj je putanji, kao i njihovo otpuštanje u okoliš. 2/3 farmaceutika koristi se u veterinarske svrhe i to u vidu promotora rasta, antibiotika i antiparazitika. U okolišu završavaju iz industrijskih postrojenja: zbog neadekvatne obradbe otpadnih voda i iz životinjskih farmi, te putem životinjskih izlučevina koje raspršivanjem gnojiva po poljoprivrednim površinama u konačnici završavaju u vodotocima.

Prisutnost farmaceutika u okolišu sve je češće predmet znanstvenog interesa i istraživanja, što rezultira većim brojem izvješća o detekciji farmaceutika u raznim uzorcima iz okoliša. Tome je u velikoj mjeri pridonio i razvoj naprednijih i osjetljivijih kemijskih metoda analize, kao što su tekućinska kromatografija i spektrometrija masa.

U zadnjih 25 godina, konstanta razdjeljenja oktanol/voda (lipofilnost) za organske tvari se koristi za predviđanje ponašanja tvari u okolišu. Lipofilnost je važno svojstvo molekule koje je u vezi sa bioaktivnošću molekule. Ovaj fizikalno-kemijski parametar se koristi u jednadžbama za predviđanje bioakumulacije u životinjama i biljkama i predviđanje toksičnih posljedica tvari. Ipak dostupnost pouzdanih K_{ov} vrijednosti je još uvijek problem za neke spojeve, te se vrijednosti K_{ov} iz literatura mogu razlikovati za više od jednog reda veličina za neke spojeve. [1] Iz toga razloga, važno je odrediti eksperimentalne vrijednosti konstante razdjeljenja oktanol/voda koje će omogućiti lakše predviđanje ponašanja farmaceutika u okolišu što je ujedno i cilj ovoga rada.

2. Opći dio

2.1 Općenito o farmaceuticima

Farmaceutici ili lijekovi se definiraju kao kemijske tvari namijenjene za uporabu u medicinskoj dijagnostici, liječenju ili sprječavanju bolesti.

Veterinarski farmaceutici su fiziološke visoko aktivne tvari koje se koriste za zaštitu životinja od parazita, sprječavanje bakterijskih infekcija i poboljšanje razvoja.

Farmaceutici se mogu podijeliti na različite načine kao što su kemijska svojstva, način ili put primjene, biološki sustav na koji utječe ili prema terapijskom učinku. U nastavku će biti dan pregled farmaceutika po grupama koji su ispitivani u ovome radu. [2]

2.1.1 Antihelmintici

Antihelmintici ili antiparazitici su skupina lijekova koja se koristi u borbi protiv postojećih i razvoja novih parazita, isključivo iz probavnog trakta, te nalaze veliku primjenu u humanoj i veterinarskoj medicini. Međutim, postoji nekoliko vrsta crva koji su u stanju prodrijeti i u druga tkiva. Postoje dvije vrste antihelmintika: vermicide, lijekovi koji isključivo ubijaju crve i vermifugidi, lijekovi koji izbacuju crve iz probavnog trakta. Najčešća podjela antihelmintika je prema kemijskoj strukturi: [3, 4]

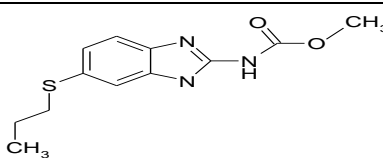
1. Derivati kinolina (prazikvantel),
2. Organofosforni spojevi (diklorvos, triklorfon),
3. Derivati benzimidazola (mebendazol, albendazol, flubendazol, febantel),
4. Derivati imidazotiazola (levamisol),
5. Tetrahidropirdini (pirantel-pamoat, oksantel-pamoat),
6. Derivati fenola uključujući salicilamide (niklozamid, klozantel),
7. Derivati piperazina,
8. Makrociklični laktoni (ivermektin).

Antihelmintici analizirani u ovom radu su: albendazol, febantel, levamisol, piperazin, pirantel-pamoat i prazikvantel.

2.1.1.1 Albendazol

Albendazol je antihelmintik širokoga spektra iz grupe benzimidazola koji su otkriveni 1960. godine. Ometa normalni metabolizam parazita i selektivno sprječava ugrađivanje glukoze u njegova sva tri razvojna stupnja. Posljedica toga je potrošnja endogenog glikogena u samim parazitima, smanjeno stvaranje ATP-a. Vrijeme poluraspada ($t_{1/2}$) lijeka iznosi 8,5 sati. Izlučuje se mokraćom. [4]

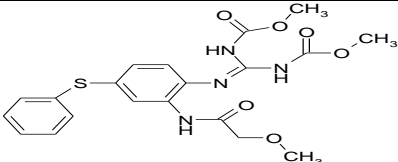
Tablica 1. Karakterizacija i svojstva albendazola

Generičko ime	Albendazol (ALBE)
CAS No	54965-21-8
Naziv po IUPAC-u	metil N-[6-(propilsulfanil)-1H-1,3-benzodiazol-2-il] karbamat
Empirijska formula	[C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₂ S]
Strukturna formula	
Molarna masa, g/mol	265,33
Konstante	LogK _{ov} =3,07 LogK _{oc} =2,939 K _{oc} =869,2 L/kg Točka tališta=209 °C S _v =4, 402 mg/L
Proizvođač	Veterina (99 %)

2.1.1.2 Febantel

Febantel (FEBA) je probenzimidazol što znači da postaje aktivan tek kada se prevede u svoje aktivne metabolite (benzimidazole). Benzimidazoli su velika skupina lijekova koja se koristi u prevenciji bolesti domaćih životinja. Nakon resorpcije iz crijeva, u jetri se febantel prevodi u djelatne metabolite - fenbendazol i oksfendazol. Koristi se isključivo u veterinarskoj medicini. [5]

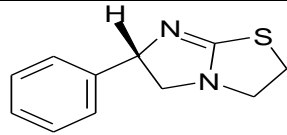
Tablica 2. Karakterizacija i svojstva febantela

Generičko ime	Febantel (FEBA)
CAS No	58360-30-2
Naziv po IUPAC-u	N-[2,3-bis-(methoxycarbonyl)-guanido]-5-(phenylthio)-phenyl]-2-methoxyacetamide; Dimethyl [2-[2-(2-methoxyacetamido)-4-(phenylthio)phenyl] imidocarbonyl] dicarbamate
Empirijska formula	[C ₂₀ H ₂₂ N ₄ O ₆ S]
Strukturna formula	
Molarna masa, g/mol	446,48
Konstante	LogK _{ov} =1,53 LogK _{oc} =1,4468 K _{oc} =27,98 L/kg Točka tališta=258,19 °C S _v =76,92 mg/L
Proizvođač	Veterina (99 %)

2.1.1.3 Levamisol

Levamisol je antihelmintik i imunomodulator koji pripada klasi sintetičkih imidazotiazolnih derivata. Djeluje protiv najvažnijih želučano-crijevnih i plućnih nametnika kod goveda, ovaca, svinja, peradi i golubova. Otkriven je na institutu Janssen Pharmaceutica u Belgiji u obliku racemata (tetramisol). Komercijalno je dostupan u obliku dviju soli kao fosfat i kao hidroklorid. Koristi se u ljudskoj i veterinarskoj medicini. [6]

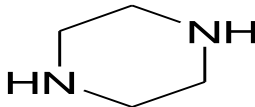
Tablica 3. Karakterizacija i svojstva levamisola

Generičko ime	Levamisol (LEVA)
CAS No	16595-80-5
Naziv po IUPAC-u	2,3,5,6-tetrahidro-6-fenilimidazo[2,1- <i>b</i>]tiazole hidroklorid
Empirijska formula	[C ₁₁ H ₁₂ N ₂ SxHCl]
Strukturna formula	
Molarna masa, g/mol	240,75
Konstante	LogK _{ov} =2,87 LogK _{oc} =1,8775 K _{oc} =75,42 L/kg Točka tališta=112,10 °C S _v =1116 mg/L
Proizvođač	Veterina (≥99 %)

2.1.1.4 Piperazin

Piperazin je pouzdano i djelotvorno sredstvo za liječenje i suzbijanje askaridoze svih vrsta životinja. Izrazitije djelovanje očituje se prema odraslim nego prema razvojnim oblicima parazita. Piperazin paralizira nametnike u želucu i crijevima potičući aktivnost inhibicijskog neurotransmitora. [7]

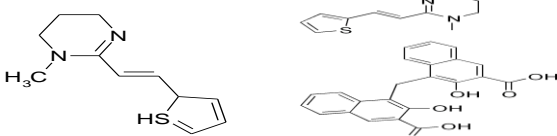
Tablica 4. Karakterizacija i svojstva piperazina

Generičko ime	Piperazin (PIP)
CAS No	110-85-0
Naziv po IUPAC-u	1,4-diethylenediamine
Empirijska formula	C ₄ H ₁₀ N ₂
Strukturna formula	
Molarna masa, g/mol	86,14
Konstante	LogK _{ov} =-1,50 LogK _{oc} =0,0083 K _{oc} =1,019 L/kg Točka tališta=7,3 °C S _v =1e+006 mg/L
Proizvođač	Veterina (≥99 %)

2.1.1.5 Pirantel–pamoat

Pirantel pamoat je učinkovit protiv velikog broja oblića u kojima koči neuromuskularni prijenos podražaja, uzrokujući spastičku paralizu njihova mišićja. Domaćin valjkaste crve iz crijeva izbacuje peristaltikom. [5]

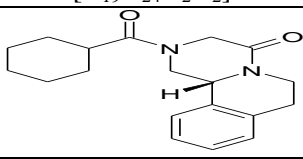
Tablica 5. Karakterizacija i svojstva pirantela

Generičko ime	Pirantel (PYR) Pirantel-pamoat (Pirantel embonat)
CAS No	15686-83-6 22204-24-6
Naziv po IUPAC-u	1,4,5,6-Tetrahydro-1-methyl-2-((E)-2-(2-thienyl)vinyl)pyrimidine 1,4,5,6-Tetrahydro-1-methyl-2-((E)-2-(2-thienyl)vinyl)pyrimidine 4,40-methylene bis(3-hydroxy-2-naphthoate)
Empirijska formula	[C ₁₁ H ₁₄ N ₂ S] [C ₁₁ H ₁₄ N ₂ S · C ₂₃ H ₁₆ O ₆]
Strukturna formula	
Molarna masa, g/mol	206,31 594,69
Konstante	LogK _{ov} =3,14 LogK _{oc} =2,5966 K _{oc} =395 L/kg Točka tališta=105,95 °C S _v =8,573 mg/L
Proizvođač	Veterina (≥99 %)

2.1.1.6 Prazikvantel

Prazikvantel je anthelmintik. Antiparazitni efekat zasniva mu se na povećanju permeabilnosti membrane parazita za kalcijem, posljedica toga su snažne kontrakcije, nakon čega dolazi do paralize muskulature i smrti parazita. [5]

Tablica 6. Karakterizacija i svojstva prazikvantela

Generičko ime	Prazikvantel (PZQ)
CAS No	55268-74-1
Naziv po IUPAC-u	(RS)-2-(Cyclohexylcarbonyl) - 1,2,3,6,7,11b hexahydro-4H-pyrazino (2,1-a)isoquinolin-4-one
Empirijska formula	[C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₂]
Strukturna formula	
Molarna masa, g/mol	312,41
Konstante	LogK _{ov} =2,42 LogK _{oc} =2,1689 K _{oc} =147,6 L/kg Točka tališta=202,39 °C S _v =72,21 mg/L
Proizvođač	Veterina (≥99 %)

2.1.2 Antibiotici

Antibiotici su kemijski spojevi koji mogu ubiti bakterije (baktericidno djelovanje) ili zaustaviti rast i razmnožavanje bakterija (bakteriostatično djelovanje). Premda danas postoji niz drugačijih naziva, poput antibakterijski i antimikrobni, sve su to antibiotici s ponešto drugačijim djelovanjima i strukturama. Antibiotici djeluju isključivo na bakterije na način da djeluju na njihovu strukturu i rast. Za učinkovitost u liječenju antibiotici moraju posjedovati selektivnu toksičnost, tj. sposobnost uništavanja bakterija s malo ili nimalo štetnog učinka na domaćina. Različiti antibiotici djeluju na pojedine dijelove same bakterije kao što su: sinteza staničnog zida, sinteza proteina i DNK sinteza ili replikacija. Uništavanjem ili usporavanjem razmnožavanja antibiotici potiču imunološki sustav organizma na obranu od infekcije. No, nažalost antibiotici ponekad nisu dovoljno snažni te se bakterije nastavljaju množiti, što može dovesti do opasnih posljedica. Alexander Fleming otkrio je penicilin, prvi prirodni antibiotik, 1928. godine.

Prema kemijskoj strukturi antibiotike svrstavamo u: sulfonamide, diaminopirimidine, β -laktame, fluorokinolone, tetracikline, makrolide, linkozamide, aminoglikozide, glikopeptide i ostale antibiotike. U veterini se koriste za liječenje primarnih i sekundarnih infekcija dišnog i probavnog sustava domaćih životinja. [8]

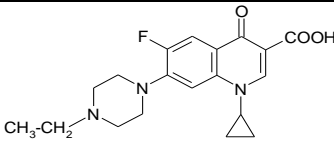
Makrolidni antibiotici imaju strukturu koja se sastoji od: makrocikličko laktanskog prstena (14-16 C) i pridružene 2 molekule šećera. Prvi otkriven je bio eritromicin. Oni su proizvodi vrste *Streptomyces*. Makrolidi selektivno djeluju na bakterijske ribosome vezanjem za podjedinicu 50S. U bakterijskom protoplastu ukoče sintezu bjelančevina time što se upliću u translokaciju peptidil tRNK na ribosomu (produženje peptida). Učinkoviti su na mikroorganizme u fazi dijeljenja. Makrolidi djeluju bakteriostatski i baktericidno (ovisno o koncentraciji). Biotransformiraju se uglavnom opsežno u jetri. Makrolidni antibiotici i njihovi metaboliti se većinom izlučuju putem žuči (više od 60 %) i često podliježu enterohepatičnom kruženju; mokraćom se izlučuje manje od 10 % . [9]

Antibiotici analizirani u ovom radu su: enrofloksacin, oksitetraciklin, sulfadiazin, sulfadimidin, sulfagvanidin, tiamulin, trimetoprim i tilozin.

2.1.2.1 Enrofloksacin

Enrofloksacin je antibiotik širokog spektra korišten u veterini. Antimikrobni lijek enrofloksacin sintetski je derivat kinolona karboksilne kiseline, uvršten u skupinu fluorokinolona ili kinolona druge generacije. U osjetljivim mikroorganizmima koži aktivnost topoizomeraze II (sin. DNA-giraza) i topoizomeraze IV, od kojih DNA-giraza u bakterijskoj jezgri katalizira početak replikacije DNA. Fluorokinoloni u vrlo malim koncentracijama djeluju baktericidno i mikoplazmacidno. [10]

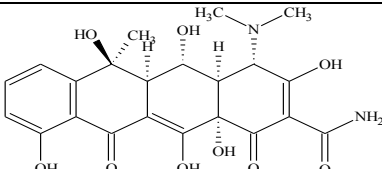
Tablica 7. Karakterizacija i svojstva enrofloksacina

Generičko ime	Enrofloksacin
CAS No	93106-60-6
Naziv po IUPAC-u	1-cyclopropyl-7-(4-ethylpiperazin-1-yl)-6-fluoro-4-oxo-quinoline-3-carboxylic acid
Empirijska formula	[C ₁₉ H ₂₂ N ₃ O ₃ F]
Strukturna formula	
Molarna masa, g/mol	359,4
Konstante	LogK _{ov} =0,70 LogK _{oc} =0,207 K _{oc} =1,611 L/kg Točka tališta=220° C S _v =3397 mg/L
Proizvođač	Veterina (≥98 %)

2.1.2.2 Oksitetraciklin

Oksitetraciklin (OTC) je bakteriostatski antibiotik široka antimikrobna spektra, koji u osjetljivim uzročnicima remeti sintezu bjelančevina. Djeluje protiv mnogih vrsta Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija. Može izliječiti zarazne bolesti uzrokovane različitim bakterijskim vrstama, kao što su bolesti koje se prenose hranom, pneumonija i krpeljne bolesti. Djeluje tako da blokira proizvodnju proteina koji bakterija treba kao materijal za replikaciju. [11]

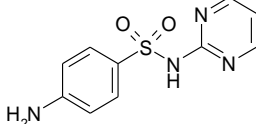
Tablica 8. Karakterizacija i svojstva oksitetraciklina

Generičko ime	Oksitetraciklin (OTC)
CAS No	79-57-2 2058-46-0
Naziv po IUPAC-u	2-(amino-hydroxy-methylidene) -4-dimethylamino -5,6,10,11,12a-pentahydroxy -6-methyl - 4,4a,5,5a,6,12a-hexahydrotetracene -1,3,12-trione
Empirijska formula	[C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₉ ·HCl]
Strukturna formula	
Molarna masa, g/mol	460,44 496,89
Konstante	LogK _{ov} =- 0,90 LogK _{oc} =0,0933 K _{oc} =1,24 L/kg Točka tališta=349,84 °C S _v =1399 mg/L
Proizvođač	Veterina (≥95 %)

2.1.2.3 Sulfadiazin

Sulfadiazin srebro je topikalni antimikrobik. Djeluje tako da uklanja bakterije koje uzrokuju infekcije zaustavljanjem proizvodnje folata unutar bakterijskih stanica. Obično se koristi za liječenje bolesti mokraćnog sustava. Svoj antibakterijski učinak ispoljava vezivanjem za membrane i zid bakterijske ćelije. Dodatno, ion srebra koji se oslobađa nanošenjem sulfadiazin srebra na kožu može stupiti u reakciju sa sulfhidrilnim grupama bakterijskih enzima i bakterijske DNK ostvarujući dodatni baktericidni učinak. Sulfodiazinska komponenta lijeka djeluje bakteriostatski. [12]

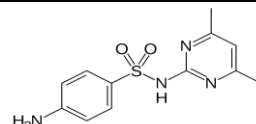
Tablica 9. Karakterizacija i svojstva sulfadiazina

Generičko ime	Sulfadiazin (SDZ)
CAS No	68-35-9
Naziv po IUPAC-u	4-amino-N-pyrimidin-2-yl-benzenesulfonamide
Empirijska formula	[C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S]
Strukturna formula	
Molarna masa, g/mol	250,278
Konstante	LogK _{ov} =- 0,09 LogK _{oc} =1,392 K _{oc} =24,66 L/kg Točka tališta=178,96 °C S _v =1868 mg/L
Proizvođač	Veterina (≥99 %)

2.1.2.4 Sulfadimidin (Sulfametazin)

Sulfadimidin je antibakterijski sulfa lijek korišten u humanoj medicini i veterini. Sulfonamidi djeluju bakteriostatski, a osnova je kompetitivna inhibicija ugradnje p-amino-benzojeve kiseline u molekulu folne kiseline. Posljedično, u osjetljivim mikroorganizmima se poremeti sinteza purinskih i pirimidinskih baza, metabolizam DNA i RNA te sinteza bjelančevina. Antimikrobni spektar sulfadimidina obuhvaća ponajprije Gram-pozitivne koke, hemolitičke streptokoke, pneumokoke i neke stafilokoke. [12]

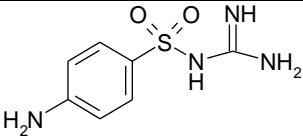
Tablica 10. Karakterizacija i svojstva sulfadimidina

Generičko ime	Sulfadimidin
CAS No	57-68-1
Naziv po IUPAC-u	4-amino-N-(4,6-dimethylpyrimidin-2-yl)benzenesulfonamide
Empirijska formula	[C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂ S]
Strukturna formula	
Molarna masa, g/mol	278,33
Konstante	LogK _{ov} =0,76; 0,19 LogK _{oc} =1,5469 K _{oc} =35,23 L/kg Točka tališta=200 °C S _v =1,127e+004 mg/L
Proizvođač	Veterina (≥99 %)

2.1.2.5 Sulfagvanidin

Sulfagvanidin je sulfonamid, koji se nakon peroralne primjene vrlo ograničeno resorbira. 50 %-tna biodostupnost terapijski je povoljna jer izvrstan antimikrobni učinak sulfagvanidin očituje u crijevnoj sluznici u kojoj je često velik broj patogenih bakterija. Sulfagvanidin je u lumenu crijeva učinkovit protiv većine Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija, a pogotovo protiv *Escherichia coli*. [12]

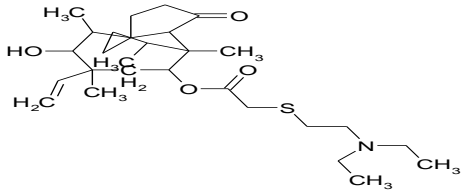
Tablica 11. Karakterizacija i svojstva sulfagvanidina

Generičko ime	Sulfagvanidin
CAS No	57-67-0
Naziv po IUPAC-u	4-amino-N-(diaminomethylene) benzenesulfon amide
Empirijska formula	[C ₇ H ₁₀ N ₄ O ₂ S]
Strukturna formula	
Molarna masa, g/mol	214,244
Konstante	LogK _{ov} =-1,22 Log K _{oc} =0,3465 K _{oc} =2,221 L/kg Točka tališta=170,65°C S _v =9,786e+004 mg/L
Proizvođač	Veterina (≥99 %)

2.1.2.6 Tiamulin hidrogen fumarat

Tiamulin je polusintetski diterpenski antibiotik širokog antimikrobnog spektra. U osjetljivim bakterijama koži sintezu bjelančevina. Snažno djeluje protiv mikoplazmi (*Mycoplasma hyopneumoniae*, *M. hyorhinitis*, *M. hyosynoviae*), a posebno je učinkovit protiv uzročnika krvavog proljeva svinja (*Brachyspira hyodysenteriae*). Tiamulin (S_v=0,6957 mg/L) je slabo topljiv, ali u obliku soli hidrogen fumarata povećava mu se topljivost. [12]

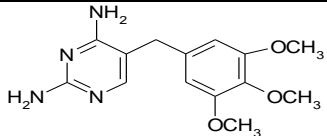
Tablica 12. Karakterizacija i svojstva tiamulina

Generičko ime	Tiamulin hydrogen fumarat
CAS No	55297-96-6
Naziv po IUPAC-u	[[2-(Diethylamino)ethyl]thio]-acetic acid 6-ethenyldecahydro-5-hydroxy-4,6,9,10-tetramethyl-1-oxo-3a,9-propano-3aH-cyclopentacycloocten-8-yl ester (E)-2-butenedioate
Empirijska formula	[C ₃₂ H ₅₁ NO ₈ S] [C ₂₈ H ₄₇ NO ₄ S·C ₄ H ₄ O ₄]
Strukturna formula	
Molarna masa, g/mol	609,82
Konstante	LogK _{ov} =4,75 LogK _{oc} =3,2057 K _{oc} =1606 L/kg S _v =0,6957 mg/L
Proizvođač	Veterina (≥99 %)

2.1.2.7 Trimetoprim

Trimetoprim je jedan od trimetoksi-benzilpirimidina koji inhibira dihidrofolat-reduktazu bakterija 50.000 puta efikasnije nego što djeluje na ovaj isti enzim u stanicama. [12]

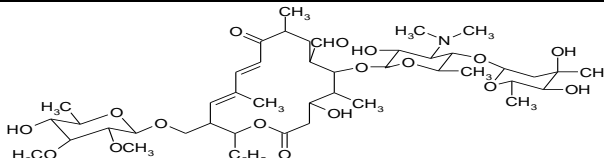
Tablica 13. Karakterizacija i svojstva trimetoprima

Generičko ime	Trimetoprim (TMP)
CAS No	738-70-5
Naziv po IUPAC-u	5-(3,4,5-trimethoxybenzyl)pyrimidine-2,4diamine
Empirijska formula	[C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃]
Strukturna formula	
Molarna masa, g/mol	290,32
Konstante	LogK _{ov} =0,91 LogK _{oc} =1,8955 K _{oc} =78,61 L/kg Točka tališta=188,88 °C S _v =588,7 mg/L
Proizvođač	Veterina (≥99 %)

2.1.2.8 Tilozin tartarat

Tilozin tartarat, djelatna je tvar pripravka Tylan® soluble, makrolidni je antibiotik i fermentacijski proizvod bakterije *Streptomyces fradiae*. U osjetljivim mikrobima koži sintezu bjelančevina. Učinkovit je u prvome redu protiv Gram-pozitivnih bakterija uključujući (*Clostridium perfringens*), nekih Gram-negativnih vrsta (*Pasteurella multocida*) te Gram-pozitivnih mikoplazmi. Ima širok spektar djelovanja na Gram-pozitivne organizme i ograničen spektar na Gram-negativne organizme. Tilozin se koristi u veterinarskoj medicini za liječenje bakterijskih infekcija u širokom spektru vrsta i ima visoku granicu sigurnosti. Primjenu nalazi u suzbijanju i liječenju kroničnih upala dišnih puteva (kompleks *CRD-aerosacculitis*) u tovnih pilića, purica te u suzbijanju i liječenju dizenterije svinja i drugih infekcija u svinja izazvanih mikroorganizmima osjetljivim na tilozin. [13]

Tablica 14. Karakterizacija i svojstva tilozina

Generičko ime	Tilozin tartarat
CAS No	1401-69-0 74610-55-2
Naziv po IUPAC-u	[(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>E</i> ,6 <i>E</i> ,9 <i>R</i> ,11 <i>R</i> ,12 <i>S</i> ,13 <i>S</i> ,14 <i>R</i>)-12-[3,6-dideoxy-4- <i>O</i> -(2,6-dideoxy-3- <i>C</i> -methyl- α - <i>L</i> -ribo-hexopyranosyl)-3-(dimethylamino)- β -D-glucopyranosyloxy]-2-ethyl-14-hydroxy-5,9,13-trimethyl-8,16-dioxo-11-(2-oxoethyl)oxacyclohexadeca-4,6-dien-3-yl]methyl 6-deoxy-2,3-di- <i>O</i> -methyl- β -D-allopyranoside
Empirijska formula	[C ₄₆ H ₇₇ N ₀ O ₁₇ x C ₄ H ₆ O ₆]
Strukturna formula	
Molarna masa, g/mol	915,92 1066,19
Konstante	Log <i>K</i> _{ov} =1,63 Log <i>K</i> _{oc} =0,2050 <i>K</i> _{oc} =1,603 L/kg Točka tališta=349,84 °C <i>S</i> _v =0,5065 mg/L
Proizvođač	Veterina (≥95 %)

2.1.3 Anestetici

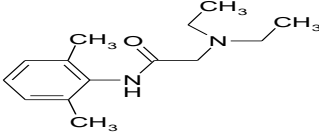
Anestetici su skupina lijekova koja uzrokuje gubitak svijesti. Koriste se u suvremenoj praksi anestezije. Anestetici se značajno razlikuju po svojim kemijskim, fizikalnim i farmakološkim svojstvima, te kemijskim aktivnim skupinama i kemijskim reakcijama kojima podliježu. Dijele se na opće anestetike, koji uzrokuju reverzibilan gubitak svijesti i lokalne, koji uzrokuju reverzibilan gubitak osjećaja u ograničenom dijelu tijela. Lokalni anestetici se razvrstavaju na estere (kokain, prokain, tetrakain, klorokokain) i amide (lidokain, mepivikain, prilokain, bupivakain). Međutim, ovi lijekovi imaju i djelovanje na kardiopulmonarni sustav, jetru i bubrege, odnosno mogu izazvati oštećenja ovih sustava pa je zato presudan odabir kombinacije, vrste i naravno doze anestetika za svakog pojedinog pacijenta. [14]

U ovom radu ispitivani anestetici je lidokain.

2.1.3.1 Lidokain

Lidokain je lokalni anestetik i antiaritmik. Anestetički učinak postiže sprečavanjem nastajanja i provođenja nervnog impulsa putem blokiranja membranskog permeabiliteta za natrijeve ione. Nakupljanje natrijevih iona uzrokuje povećanje električne ekscitabilnosti koje rezultira blokiranjem provodljivosti živčanog impulsa. U veterinarskoj medicini lidokain se koristi u liječenju kratkoročnih aritmija prisutnih kod životinja. [15]

Tablica 15. Karakterizacija i svojstva lidokaina

Generičko ime	Lidokain
CAS No	137-58-6
Naziv po IUPAC-u	2-(diethylamino)- <i>N</i> -(2,6-dimetilphenil)acetoamid
Empirijska formula	[C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O]
Strukturna formula	
Molarna masa, g/mol	234,34
Konstante	Log K_{ov} =1,66 Log K_{oc} =2,1840 K_{oc} =152,7 L/kg Točka tališta=144,18 °C S_v =237,7 mg/L
Proizvođač	Veterina (≥99 %)

2.1.4 Glukokortikoidi

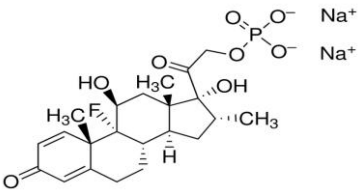
Glukokortikoidi su grupa hormona koji spadaju u adenokortikalne hormone. Adenokortikalni hormoni su hormoni koje luči kora nadbubrežne žlijezde. Njihova glavna uloga je djelovanje na metabolizam glukoze, proteina i masti, ali i dugoročno prilagođavanje organizma na stresne situacije. Glavno djelovanje leži u njihovom antiupalnom i imunosupresijskom učinku; uglavnom provjeravaju i sprječavaju otpuštanje litičkih enzima domaćina koji uzrokuju oštećenje tkiva tijekom svih upala i koji na kraju mogu dovesti do povećanja broja leukocita; smanjuju fagocitozu koja se odvija pomoću makrofaga; smanjuju stvaranje lipida eikozanoida i prostaglandina pomoću inhibicije proizvodnje citokina koji specifično pobuđuju ciklooksigenazu-II u upalnim stanicama; nakon što su dobili pristup preko prožimanja stanične membrane, ključno se kombiniraju s visoko specifičnim citosolnim glukokortikoidnim receptorom koji je neaktivan i koji je vezan za određene proteine koji ih sprječavaju da dođu do jezgre ili da se odmah vežu za DNK. [2, 16]

Glukokortikoid analiziran u radu je deksametazon.

2.1.4.1 Deksametazon

Deksametazon je potencijalni sintetički predstavnik glukokortikoidne klase steroidnih hormona. Koristi se u liječenju mnogih autoimunih bolesti, prilikom upalnih procesa, smanjuje djelovanje imunološkog sustava te sprječava alergijske reakcije. Također se koristi kao terapijsko sredstvo u veterinarskoj praksi za liječenje širokog spektra bolesti metabolizma, šoka, stresa i upalnih poremećaja u domaćih životinja. I premda je njegova upotreba prije svega terapijska, u nekim europskim zemljama glukokortikoidi se ilegalno koriste kao promotori rasta. [2, 17]

Tablica 16. Karakterizacija i svojstva deksametazona

Generičko ime	Deksametazon
CAS No	bez Na i P 50-02-2 sa Na i P 2392-39-4
Naziv po IUPAC-u	9-fluoro-11 β ,17,21-trihydroxy-16 α -methylpregna-1,4-diene-3,20-dione
Empirijska formula	[C ₂₂ H ₂₈ FN ₂ O ₈ P]
Strukturna formula	
Molarna masa, g/mol	bez Na i P 392,46 sa Na i P 514,40
Konstante	Log K_{ov} =1,94 Log K_{oc} =1,566 K_{oc} =36,85 L/kg Točka tališta=213,77 °C S_v =75,14 mg/L
Proizvođač	Veterina (\geq 98 %)

2.2 Konstanta razdjeljenja oktanol/voda- K_{ov}

Konstanta razdjeljenja oktanol/voda je mjera lipofilnosti, odnosno omjer koncentracije tvari u oktanolu prema koncentraciji u vodi, kada su te dvije faze u ravnoteži. Te se prikazuje jednadžbom :

$$K_{ov} = \frac{C_o}{C_v} \quad (1)$$

gdje je K_{ov} konstanta razdjeljenja oktanol/voda, C_o je koncentracija tvari u oktanolu i C_v je koncentracija tvari u vodi. S obzirom da vrijednosti konstante razdjeljenja imaju raspon do nekoliko reda veličina izražavaju se u logaritamskom obliku ($\log K_{ov}$). Za neke spojeve konstantu je teško odrediti zbog slabe topljivosti u jednoj od faza.

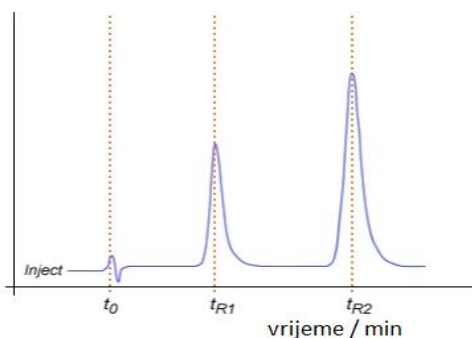
Konstanta razdjeljenja oktanol/voda daje nam informacije o hidrofobnosti/lipofilnosti koja opisuje sklonost raspodjele otopljene tvari iz vodene faze u organske dijelove okoliša, te čak u biološke membrane, gdje se oktanol koristi kao zamjena za prirodnu organsku fazu u okolišu i tlu. Iz toga razloga je postala jedan od najispitivanijih fizikalno-kemijskih svojstava

farmaceutika, pesticida i drugih kemikalija. Koristi se za predviđanje utjecaja kemikalija na okoliš, odnosno predviđanje njihove sudbine u okolišu i kretanja u tlu.

Brojne se metode, kasnije spomenute, koriste za računanje $\log K_{ov}$, a u ovome radu je korištena tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti obrnutih faza (RP-HPLC). Određivanje $\log K_{ov}$ s RP-HPLC ovisi o zadržavanju otopljene tvari a time i o faktoru zadržavanja (k). Faktor zadržavanja je omjer vremena koje sastojak provede u nepokretnoj fazi i vremena koje provede u pokretnoj fazi. On izražava koliko duže sastojak putuje kroz kolonu zbog zadržavanja u nepokretnoj fazi nego što bi putovao brzinom pokretne faze. Računa se prema formuli :

$$k = \frac{t_R - t_0}{t_0} \quad (2)$$

gdje je t_R vrijeme zadržavanja, a t_0 vrijeme nezadržanog spoja. [18] Vrijeme zadržavanja (t_R) je vrijeme od unošenja uzorka u kolonu do pojave sastojka u detektoru smještenome na izlazu iz kromatografske kolone. Vrijeme zadržavanja nezadržanog spoja (t_0) je vrijeme potrebno da pokretna faza prođe kroz kolonu (slika 1.).



Slika 1. Shematski prikaz objašnjenja vremena zadržavanja nezadržanog spoja (t_0) i vremena zadržavanja (t_R)

2.2.1 Metode određivanja

Brojne metode su dostupne za mjerenje i predviđanje konstante razdjeljenja kemikalija između oktanol i vodene faze. Sve metode imaju prednosti i nedostatke i mogu biti nepouzdanе za određene grupe spojeva. [1]

Tablica 17. Metode za određivanje ili procjenjivanje koeficijenta razdjeljenja između oktanola i vode

METODA	PREDNOSTI	NEDOSTATCI	Neprikladna ako
DIREKTNE			
Metoda potresanja u tikvici	pouzdana	vrijeme, količina korištenog produkta, stvaranje emulzija oktanola u vodi	$\log K_{ov} > 6$; ispitivane tvari disociraju
Metoda sporog miješanja	ne dolazi do stvaranja emulzija oktanola, pouzdana	vrijeme, količina korištenog produkta	ispitivane tvari disociraju
KROMATOGRAFSKE METODE			
Klasični HPLC pristup	brza i jeftina, ne zahtjeva određenu količinu kemikalija	različiti mehanizmi zadržavanja; siromašno obnavljanje; pH raspon ograničen na 2-7,5	jako niske K_{ov} vrijednosti
Micelarna i mikroemulzijska elektrokinetička kromatografija	brza i jeftina	zahtjeva uspostavljanje solvacijskog modela	ionske tvari
Metanol–voda gradijentna i kratka oktadecilpoli(vinil alkohol) kolona	dobro slaganje sa metodom potresanja u tikvici		ionske tvari
DRUGE			
Metoda filtarske probe	brza	zahtijeva skupu opremu, sporo postavljanje	$\log K_{ov} < 0,2$
RAČUNANJA			
Usporedba sa drugim svojstvima	brza i jeftina	rezultati ovise o bazi podataka	
Teoretska računanja (fragmentalni pristup)	širok spektar kemikalija; pouzdana za neutralne komponente; jedina pouzdana metoda za $K_{ov} > 5$	nije pouzdana za zwitterionske, tautomerne spojeve i spojeve s jakom vodikovom vezom	fragmenti nedostupni u programskoj bazi podataka

2.2.1.1 Direktne metode

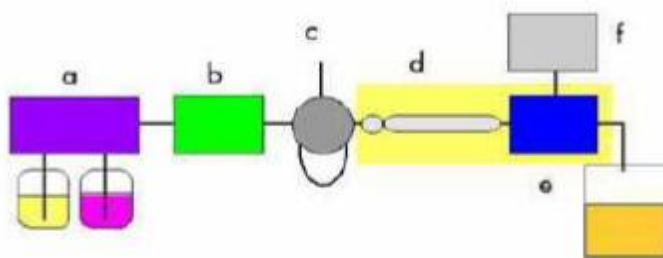
K_{ov} se tradicionalno mjeri metodom potresanja u tikvici, koja je uključena u standardne OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development-Organizacija za ekonomsku suradnju i razvoj) procedure. U ovoj metodi se ispitivana kemikalija miješa sa smjesom oktanola i vode i potresa do uravnoteženja. Nakon odvajanja faza odredi se

koncentracija kemikalije u obje faze. Ova metoda predstavlja nedostatke uključujući vrijeme, količinu produkta i nedostatak pouzdanosti za tvari s visokom lipofilnosti ($\log K_{ov} > 6$) zbog stvaranja emulzija oktanolu u vodi. Odstupanja se također pojavljuju ako je ispitivana molekula disocirana, tada konstanta razdjeljenja ovisi o koncentraciji. [19]

Metoda sporog miješanja prati iste principe kao i metoda potresanja u tikvici. Uvjeti sporog miješanja se koriste da bi se izbjeglo stvaranje emulzija oktanolu. Iako su skupe i dugotrajne, obje metode su relativno pouzdane za određivanje lipofilnosti neutralnih komponenti. Neprikladne su za određivanje K_{ov} ionskih vrsta. [1]

2.2.1.2 Indirektne metode

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti obrnutih faza (RP-HPLC) temelji se na razdvajanju tvari između nepolarne tekuće organske faze i polarne vodene faze u koloni. Jedna je od najviše primjenjivanih i najučinkovitijih metoda kojom se može odijeliti veliki broj farmaceutika. Uglavnom se koristi za neionske i teško hlapive spojeve, kao što su i navedeni ispitivani veterinarski farmaceutici. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti kombinirana s UV detektorom ili s detektorom s nizom dioda pokazala se kao važna analitička metoda u kvalitativnoj i kvantitativnoj analizi farmaceutika (slika 2.). Prednosti HPLC metode su višekratna upotreba kolona, automatsko unošenje uzorka i skraćeno trajanje analize. Zbog primjene visoko osjetljivih detektora dovoljne su nanogramske količine uzorka, a omogućeno je visoko razlučivanje sastojaka smjese. Ove prednosti omogućuju točnost i preciznost rezultata analize. Međutim, s obzirom da se procesi koji su odgovorni za zadržavanje na koloni razlikuju od onih koji se pojavljuju u direktnim metodama, moraju se primijeniti različite tehnike i molekularni opisi za kemikalije koje se razlikuju od referentnih tvari. Tehnika je nedjelotvorna za spojeve s jako niskim K_{ov} vrijednostima. Osim toga, obnovljivost je siromašna i operativni pH raspon za materijal kolone temeljen na silikagelu je ograničen (pH 2-7,5). [1]



Slika 2. Shematski prikaz osnovnog uređaja za tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti: a - kontrola udjela komponenti pokretne faze; b – pumpa; c - uređaj za unošenje uzorka; d – kolona, pretkolona; f - detektor (DAD, FLD, UV/VIS, MS)

Micelarna/mikroemuzijska elektrokinetička kromatografija je napredak kromatografskih metoda koje koriste različite površinski aktivne tvari. Ujedinjuje svojstva elektroforeze i kromatografije, a temelji se na raspodijeli analita prema konstanti razdjeljenja između pseudostacionarne faze koju tvore micle. Prikladna je za brzo određivanje K_{ov} vrijednosti za neutralne spojeve. Međutim, metoda je neprikladna za ionske spojeve.

Donovan i Pescatore opisali su alternativnu HPLC metodu koristeći metanol-voda gradijentnu i kratku oktadecil-poli(vinil alkohol) kolonu. Rezultati se dobro slažu s onima dobivenim tradicionalnom metodom potresanja u tikvici. [1]

Protustrujna kromatografija (CCC) je tehnika tekućinske kromatografije u kojoj je nepokretna faza također tekućina. Razdvajanje otopljene tvari se temelji na razdjeljenju između dvije nemješljive tekuće faze u tankoj cijevi pod utjecajem sila centrifugalnog polja. Centrifugalno polje je potrebno da drži tekuću nepokretnu fazu kada pokretna prolazi kroz nju.

E. Tomlinson razvio je metodu ispitivanja filtrom, u kojoj se vodena otopina uzorka stavlja u reakcijsku posudu kroz koju su puštene UV zrake. Apsorbancija vodene otopine se mjeri prije i nakon dodatka oktanola. Metoda je pouzdana i brza ali nije prikladna za $\log K_{ov} < 0,2$.

Nedavno, Chen i Weber su razvili visoko propusnu metodu za lipofilna mjerenja temeljena na razdjeljenju otapala između polimerne faze i vodene faze. [1]

2.2.1.3 Teorijska računanja

Postoji nekoliko pristupa za teoretsko računanje K_{ov} . Mnoga istraživanja iznose povezanost između K_{ov} i topljivosti u vodi. Međutim, rezultati se oslanjaju na izboru najprikladnije jednadžbe i kvaliteti podataka o topljivosti.

Postoji oko 20 softverskih paketa—od kojih su neki dostupni na internetu—koji određuju lipofilnost kemikalija teoretskim računanjem. [1]

Fragmentalni pristup predložio je Leo (1971.). Molekularna struktura je podijeljena u fragmente i vrijednosti za svaku grupu su sumirani za određivanje K_{ov} . Ova metoda je prikladna za širok spektar kemikalija i može biti poboljšana kada su poznate eksperimentalne vrijednosti K_{ov} sličnih molekula. Iako su rezultati u dobrom slaganju s direktnim mjerenjem za neutralne spojeve, metoda može biti netočna za spojeve s funkcionalnim grupama i kompleksnim molekulama s fragmentima koji nisu dostupni u softverskim baza podacima. [19]

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1 MATERIJALI

3.1.1 Kemikalije

U Tablici 18 navedene su kemikalije koje su korištene u eksperimentalnom dijelu rada.

Tablica 18. Kemikalije korištene tijekom eksperimenta

NAZIV	MOLEKULSKA FOMULA	ČISTOĆA	PROIZVOĐAČ
Metanol	CH ₃ OH	HPLC	Sigma-Aldrich
Acetonitril	CH ₃ CN	HPLC	Fisher Chemicals
1-Oktanol	C ₈ H ₁₈ O	≥99 % kromatografske čistoće	Merck

Za pripravu otopina korištena je MiliQ voda.

3.1.2 Farmaceutici

Fizikalno-kemijska svojstva farmaceutika korištenih u ovom radu su prikazana u tablici 19.

Tablica 19. Lista farmaceutika

Farmaceutik	CAS broj	Molekularna težina (g/mol)	Proizvođač
Albendazol [C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₂ S]	54965-21-8	265,33	Veterina 99 %
Deksametazon Deksametazon 21-dinatrij fosfat [C ₂₂ H ₂₈ FN ₂ O ₈ P]	bez Na i P 50-02-2 sa Na i P 2392-39-4	bez Na i P 392,46 sa Na i P 514,40	Veterina ≥98 %
Enrofloksacin [C ₁₉ H ₂₂ N ₃ O ₃ F]	114-07-8	733,93	Sigma ≥95 %
Febantel (mikronizirani) [C ₂₀ H ₂₂ N ₄ O ₆ S]	58306-30-2	446,48	Veterina ≥99 %
Levamisol x HCl [C ₁₁ H ₁₂ N ₂ SxHCl] Levamisol	16595-80-5 14769-73-4	240,75 204,29	Veterina ≥99 %
Lidokain x HCl [C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O] Lidokain	73-78-9 137-58-6	270,80 234,43	Veterina ≥98 %
Oksitetraciklin HCl [C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₉ xHCl] Oksitetraciklin	2058-46-0 79-57-2	496,89 460,43	Veterina ≥95 %
Piperazin tri-Piperazin dicitrat [(C ₄ H ₁₀ N ₂) ₃ x2C ₆ H ₈ O ₇]	110-85-0 144-29-6	86,14 321,33	Veterina ≥99 %
Prazikvantel [C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₂]	55268-74-1	312,41	Veterina ≥99 %
Pirantel pamoat [C ₁₁ H ₁₄ N ₂ Sx C ₂₃ H ₁₆ O ₆]	22204-24-6	594,68	Veterina ≥99 %
Sulfadiazin [C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S]	68-35-9	250,28	Veterina ≥99 %
Sulfagvanidin [C ₇ H ₁₀ N ₄ O ₂ S]	57-67-0	214,24	Veterina ≥99 %
Sulfametazin (sulfadimidin) [C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂ S]	57-68-1	278,33	Veterina ≥99 %
Tiamulin hidrogen fumarat [C ₃₂ H ₅₁ NO ₈ S] [C ₂₈ H ₄₇ NO ₄ S·C ₄ H ₄ O ₄]	55297-96-6	609,81	Veterina ≥99 %
Trimetoprim [C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃]	738-70-5	290,32	Veterina ≥99 %
Tilozin tartarat [C ₄₆ H ₇₇ NO ₁₇ x C ₄ H ₆ O ₆] Tilozin	74610-55-2 1401-69-0	1066 915,92	Veterina ≥95 %

3.2 INSTRUMENTI I UREĐAJI

3.2.1 Analitička vaga

Analitička vaga je instrument za precizno određivanje mase tvari. O njezinoj ispravnosti i preciznosti ovisi točnost rezultata analize. U radu je korištena analitička vaga Mettler Toledo, Švicarska, model AB104, prikazana na slici 3.



Slika 3. Analitička vaga korištena tijekom izvedbe eksperimenata

3.2.2 Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti (HPLC)

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti izvedena je na Varian ProStar 500 (Walnut Creek, California, USA) sustavu koji se sastoji od ProStar 410 uređaja za automatsko dodavanje uzorka, ProStar 230 tercijarne pumpe, ProStar 330 detektora s nizom dioda (DAD), i termostatisane komore za kromatografsku kolonu (slika 4.).



Slika 4. Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti, Varian ProStar 500, s detektorom s nizom dioda (HPLC-DAD)

Za obradu kromatograma koristio se je računalni program za modularni kromatograf Varian ProStar 360 Star Chromatography WorkStation verzija 5.5.

3.3 METODA RADA

3.3.1 Priprema standardnih otopina farmaceutika

Standardne otopine pojedinih farmaceutika pripremljene su otapanjem točno poznate mase svakog farmaceutika (0,4 mg) u metanolu HPLC čistoće u tikvicama od 10 mL, tako da su dobivene masene koncentracije od 40 ppm (40 mg/L). Pripremljene otopine se čuvaju u hladnjaku na temperaturi od 4 °C.

3.3.2 Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

Pripremljene otopine farmaceutika prebačene su u HPLC viala koje su stavljene na kromatografsku analizu (Varian ProStar 500). Kromatografom se upravlja preko računala. Volumen injektiranih standardnih otopina farmaceutika je 30 µL i zatim 50 µL. Svaki uzorak je injektiran tri puta, zatim se kolona pere 65 % acetonitrilom. Pokretna faza se sastojala od: A vode i B metanola uz gradijentno eluiranje. Gradijent pokretne faze prikazan je u Tablici 20. Brzina protoka pokretne faze je 0,5 mL/min.

Tablica 20. Gradijent pokretne faze korišten u analizi

Vrijeme/min	Volumen pokretne faze A/%	Volumen pokretne faze B/%
0	100	0
2,30	92	8
6,00	90	10
11,00	70	30
15,00	40	60
18,00	5	95
28,00	5	95
28,10	100	0
30,00	100	0

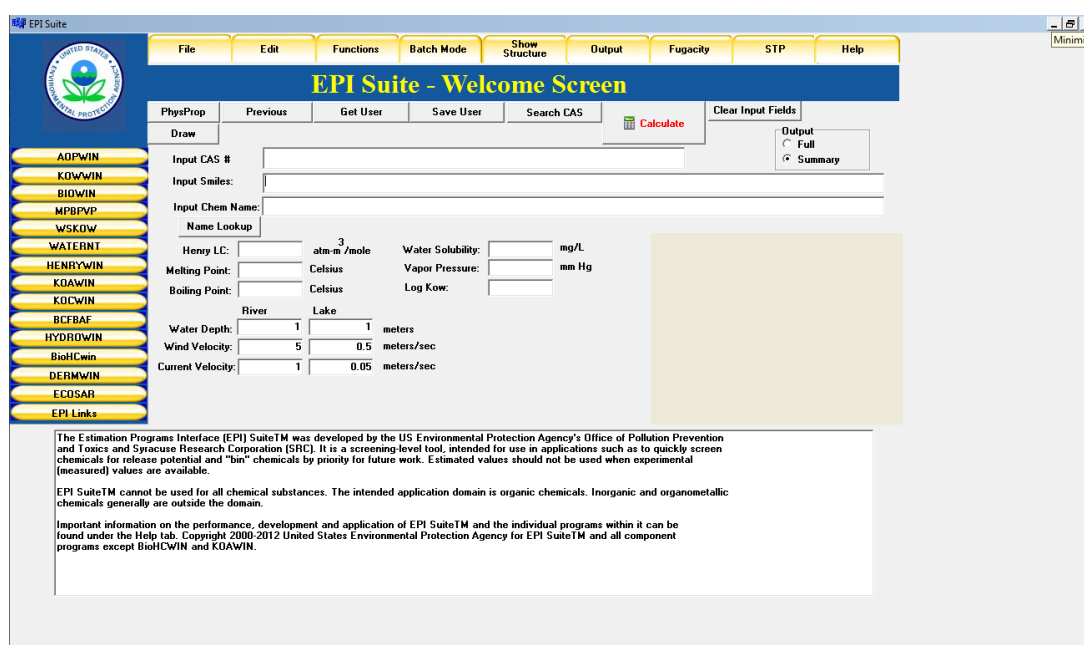
Kao nepokretna faza korištena je kolona InertSustainTM 250x4,6mm, 5µm, GL Sciences, Japan. Snimanje kromatograma provodi se pri valnim duljinama od 210 nm, 254 nm, 270 nm i 280 nm. Na temelju snimljenih kromatograma očitana su vremena nezadržanog spoja (t_0),

vremena zadržavanja pojedinog farmaceutika (t_R) te površine ispod kromatografskih krivulja (A). Kod detektora s nizom dioda površina ispod kromatografske krivulje definirana je kao miliapsorbancijska jedinica pomnožena s vremenom u sekundama (mAUs).

Nakon snimanja standardnih otopina, snimljeni su kromatogrami uzoraka farmaceutika u oktanolu. Volumen injektiranih otopina farmaceutika je 50 μL , a kao pokretna faza korišten je sustav metanol-voda u omjerima 70:30, 50:50 i 30:70, v/v kod izokratnih uvjeta. Brzina protoka pokretne faze je 1 mL/min. Nakon injektiranja uzorka kolona je isprana propuštanjem 65 %-tnog acetonitrila. Na isti način kao i za standardne otopine provedena je analiza kromatograma.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Danas postoje različiti programi koji omogućavaju pregled fizikalno-kemijskih svojstava farmaceutika kao što je na primjer EPI-Suite program, koji se uglavnom temelje na određivanju fizikalno-kemijskih svojstava na temelju molekulske strukture spoja. Međutim, problem takvih programa je u čestim odstupanjima od stvarnih vrijednosti, jer se izračuni provode uz niz pretpostavki i u idealnim uvjetima.



Slika 5. Naslovna stranica EPI- Suite programa

Za 16 veterinarskih farmaceutika ispitivanih u ovome radu program EPI-Suite (verzija 4.1) daje vrijednosti $\log K_{ov}$ izračunate na temelju teoretskih pretpostavki (KOWWIN), te za 10 farmaceutika daje eksperimentalno izračunate vrijednosti.

U ovome radu korištene su tri pokretne faze, sustavi metanol-voda u omjerima 70:30, 50:50 i 30:70, v/v , iz razloga da bi uspjeli odrediti vrijednosti $\log K_{ov}$ za sve ispitivane farmaceutike.

Prvo su snimljeni kromatogrami standardnih metanolnih otopina farmaceutika (pokretna faza se sastojala od metanola i vode uz gradijentno eluiranje, gradijent pokretne faze prikazan je u tablici 20) masene koncentracije 40 ppm, tako da bi lakše identificirali farmaceutike u uzorcima otopljenih u oktanolu. Prikazani su rezultati u tablici 21 za injektiranja od 50 μL i 30 μL standardnih otopina pri valnim duljinama: 210 nm, 254 nm, 270 nm i 280 nm. Vremena

zadržavanja standardne otopine lidokaina nisu se mogla odrediti za injektiranje od 30 μL , kao i za standardnu otopinu piperazina kod injektiranja od 50 μL .

Tablica 21. Očitane vrijednosti nezadržanog spoja, vremena zadržavanja i površine kromatografske krivulje za standardne otopine farmaceutika injektirane 50 μL i 30 μL , pokretna faza se sastojala od: metanola i vode uz gradijentno eluiranje, gradijent pokretne faze prikazan u tablici 20

	λ/nm	t_0/min		t_R/min		$A/\text{mAUxsec}$	
		STD, 40 ppm, 50 μL	STD, 40 ppm, 30 μL	STD, 40 ppm, 50 μL	STD, 40 ppm, 30 μL	STD, 40 ppm, 50 μL	STD, 40 ppm, 30 μL
Albendazol	210 nm	2,6510	2,2080	9,7467	9,7733	12546	7686
	254 nm	2,4933	2,4240	9,7467	9,7787	3832	2356
	270 nm	2,4933	2,6613	9,7467	9,7787	2501	1549
	280 nm	2,4933	2,6613	9,7467	9,7787	2575	1590
Deksametazon	210 nm	2,0933	2,0133	5,8267	5,8720	2236	1172
	254 nm	2,5200	2,2453	5,8080	5,8720	3593	2283
	270 nm	2,5200	2,2640	5,8267	5,8720	1731	1143
	280 nm	2,5413	2,2667	5,8080	5,8720	700	443
Enrofloksacin	210 nm	2,7173	2,7333	7,7467		3323	
	254 nm	2,6000	2,3307	7,7200	7,7733	2597	1515
	270 nm	2,5760	2,3280	7,7280	7,7733	8955	5152
	280 nm	2,5760	2,3253	7,7467	7,7733	11322	6790
Febantel	210 nm	2,0400	1,9867	14,5653	14,6853	9951	6184
	254 nm	2,1867	2,1413	14,5680	14,6853	4709	2902
	270 nm	2,1840	2,1307	14,5733	14,6800	536	2362
	280 nm	2,1813	2,6427	14,5680	14,6853	4024	2481
Levamisol	210 nm	2,4933	2,4000	4,7867	4,8400	3379	5952
	254 nm	2,4907	2,6533	4,8107	4,8667	500	351
	270 nm	2,6267	1,4533				
	280 nm	2,6267	2,6400				
Lidokain	210 nm	2,6827		5,1173		4086	
	254 nm	2,5947		5,1573		63,5	
	270 nm	2,5810					
	280 nm	2,5787					
OTC	210 nm	2,7147	2,3280	3,3627	3,3627	2001	1236
	254 nm		2,3733	3,3467	3,3653	1016	1265
	270 nm		2,3680	3,3467	3,3653	1437	1532
	280 nm		2,3650	3,3467	3,3653	1356	1419
Piperazin	210 nm		2,2667		2,7253		719
	254 nm		2,2320		2,7067		52,4
	270 nm		2,2240		2,6773		44,5
	280 nm		2,2347		2,6773		30,5

Tablica 21. Očitane vrijednosti nezadržanog spoja, vremena zadržavanja i površine kromatografske krivulje za standardne otopine farmaceutika injektirane 50 μ L i 30 μ L, pokretna faza se sastojala od: metanola i vode uz gradijentno eluiranje, gradijent pokretne faze prikazan u tablici 20 (nastavak)

	λ /nm	t_0 /min		t_R /min		A/mAUxsec	
		STD, 40 ppm, 50 μ L	STD, 40 ppm, 30 μ L	STD, 40 ppm, 50 μ L	STD, 40 ppm, 30 μ L	STD, 40 ppm, 50 μ L	STD, 40 ppm, 30 μ L
Pirantel	210 nm			2,1973	2,1067	5352	3302
	254 nm			2,1973	2,1067	6137	3683
	270 nm			2,2267	2,1200	1046	685
	280 nm			2,2267	2,1093	1277	831
Prazikvantel	210 nm	2,7147	2,7307	8,2507	8,3680	12969	7819
	254 nm	1,6693	1,6830	8,2533	8,3680	139	84,6
	270 nm	2,2107	2,2187	8,2533	8,3707	134	80
	280 nm	1,6400	2,2133				
Sulfadiazin	210 nm	1,9573		2,6933	2,7360	1163	6829
	254 nm	1,6880	1,6853	2,6960	2,7413	6444	3933
	270 nm	1,9413	1,9200	2,7067	2,7387	10176	6202
	280 nm	1,9387	1,9200	2,7067	2,7387	7937	4844
Sulfadimidin	210 nm			3,1333	3,1307	9007	5530
	254 nm	1,6773	1,6853	3,1333	3,1307	6384	3957
	270 nm			3,1333	3,1307	9347	5753
	280 nm			3,1333	3,1307	7015	4318
Sulfagvanidin	210 nm			2,6000	2,6747	17500	10771
	254 nm	1,8933	1,8827	2,6107	2,6747	12867	7827
	270 nm	1,8987	1,8827	2,6000	2,6747	11943	7255
	280 nm	1,9013	1,8827	2,6133	2,6747	5983	3619
Tiamulin	210 nm			2,2533	2,2267	4866	3084
	254 nm	0,9173	1,1733	2,2533	2,2267	544	355
	270 nm			2,5733	2,6533	331	235
	280 nm			2,5733	2,6267	203	134
TMP	210 nm	2,6987	2,7520	4,4400	4,5973	27795	16969
	254 nm	1,6800	1,6907	4,4533	4,6053	2623	1595
	270 nm	2,6347	1,6667	4,4453	4,6000	3098	1876
	280 nm	2,6347	2,6960	4,4347	4,5947	3511	2076
Tilozin	210 nm		2,7333		9,8800		41,8
	254 nm	1,7653	1,7733	10,0400	10,0720	779	300
	270 nm	2,6373	2,6693	10,0267	10,0720	1905	863
	280 nm	2,6400	2,6693	10,0400	10,0773	3222	1346

U tablici 22 nalaze se očitane vrijednosti nezadržanog spoja (t_0), vremena zadržavanja (t_R) i površine kromatografske krivulje (A) iz kromatograma dobivenih snimanjem otopina veterinarskih farmaceutika u oktanolu na HPLC-DAD sustavu. Kao pokretna faza korišten je sustav MeOH:H₂O u omjeru 70:30, v/v. Za farmaceutike piperazin i pirantel nije bilo moguće očitati parametre pri ovim uvjetima.

Tablica 22. Očitane vrijednosti nezadržanog spoja, vremena zadržavanja i površine kromatografske krivulje za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μ L, masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=70:30, v/v

	λ /nm	t_0 /min	t_R /min	A/mAUxsec
Albendazol	210 nm	2,6347	7,2667	6754
	254 nm	1,0587	7,2667	2244
	270 nm	0,3707	7,2667	1454
	280 nm	0,3920	7,2960	1348
Deksametazon	210 nm	1,6027	3,3093	108
	254 nm	1,6053	3,3067	1728
	270 nm	0,7150	3,3067	2083
	280 nm	1,6053	3,3067	1713
Enrofloksacin	210 nm	1,5440	6,6880	4734
	254 nm	1,5333	6,4133	3001
	270 nm	1,5333	6,4187	5589
	280 nm	1,5360	6,4133	7952
Febantel	210 nm	1,5253	6,6000	5612
	254 nm	1,5440	6,6000	3786
	270 nm	1,5600	6,6000	2736
	280 nm	1,5493	6,6000	2525
Levamisol	210 nm	1,7173	6,0320	2773
	254 nm	1,7093	6,0533	138
	270 nm	1,7200	6,0640	28
	280 nm	1,7093	6,0827	8,12
Lidokain	210 nm	1,4640	7,2933	1446
	254 nm	1,4560	7,3733	157
	270 nm	2,6453	7,3733	70,9
	280 nm	1,4560	7,3733	51,1
OTC	210 nm	1,7387	5,9333	2398
	254 nm	1,7333	5,8773	1424
	270 nm	1,7467	5,8800	1034
	280 nm	1,7360	5,8533	226
Piperazin	210 nm			
	254 nm			
	270 nm			
	280 nm			

Tablica 22. Očitane vrijednosti nezadržanog spoja, vremena zadržavanja i površine kromatografske krivulje za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μ L, masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=70:30, v/v (nastavak)

	λ /nm	t_0 /min	t_R /min	A/mAUxsec
Pirantel	210 nm			
	254 nm			
	270 nm			
	280 nm			
Prazikvantel	210 nm	2,7253	6,1867	6900
	254 nm	2,7600	6,2027	6530
	270 nm	2,7653	6,2027	1234
	280 nm	2,7680	6,2027	1476
Sulfadiazin	210 nm	1,4853	2,9200	7591
	254 nm	1,4853	2,9147	4085
	270 nm	1,4800	2,9147	5803
	280 nm	1,4853	2,9173	4586
Sulfadimidin	210 nm	2,3920	3,1493	7169
	254 nm	1,7467	3,1547	4819
	270 nm	2,3973	3,1547	6399
	280 nm	1,7360	3,1547	4849
Sulfagvanidin	210 nm	2,6880	6,0400	2994
	254 nm	1,8320	5,0533	245
	270 nm	2,3760	5,8613	1645
	280 nm	1,8027	5,8560	166
Tiamulin	210 nm	1,4907	6,1307	1314
	254 nm	1,4827	6,1307	29,5
	270 nm			
	280 nm			
TMP	210 nm	1,5493	5,9600	4900
	254 nm	1,5387	5,9307	1710
	270 nm	2,3280	5,9307	2112
	280 nm	1,5413	5,8933	210
Tilozin	210 nm	1,5493	7,3653	186
	254 nm	1,5600	7,3840	321
	270 nm	1,5333	7,3680	652
	280 nm	1,5573	7,3200	788

U tablici 23 nalaze se očitane vrijednosti nezadržanog spoja (t_0), vremena zadržavanja (t_R) i površine kromatografske krivulje (A) iz kromatograma dobivenih snimanjem otopina veterinarskih farmaceutika u oktanolu na HPLC-DAD sustavu. Kao pokretna faza korišten je sustav MeOH:H₂O u omjeru 50:50, v/v. Udio metanola od 50 % u pokretnoj fazi otežao je određivanje farmaceutika levamisola i lidokaina te očitavanje njihovih parametara iz kromatograma. Također, piperazin, prazikvantel i tiamulin se nisu mogli analizirati pri tim uvjetima.

Tablica 23. Očitane vrijednosti nezadržanog pika, vremena zadržavanja i površine kromatografske krivulje za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μ L, masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=50:50, v/v

	λ /nm	t_0 /min	t_R /min	A/mAUxsec
Albendazol	210 nm	2,1710	7,8507	9154
	254 nm	1,5790	7,8533	2010
	270 nm	1,5870	7,8507	2589
	280 nm	1,5787	7,8533	2095
Deksametazon	210 nm	2,6453	3,5760	609
	254 nm	1,6587	3,5547	1617
	270 nm	1,6133	3,5547	1812
	280 nm	2,7440	3,5547	1402
Enrofloksacin	210 nm	2,4533	10,7067	2496
	254 nm	1,6133	10,2000	2309
	270 nm	2,2880	10,7120	9741
	280 nm	2,2773	10,7147	10687
Febantel	210 nm	1,6587	12,0933	660
	254 nm	1,5920	12,0933	405
	270 nm	1,5067	12,0933	209
	280 nm	2,7680	12,0933	154
Levamisol	210 nm			
	254 nm			
	270 nm	0,4853	4,3707	5,26
	280 nm	2,7493	4,3680	5,48
Lidokain	210 nm		1,8000	113
	254 nm			
	270 nm		1,5600	0,297
	280 nm			
OTC	210 nm	1,2053	3,0773	1172
	254 nm	1,5253	3,0640	21,8
	270 nm	1,5067	3,0800	22,2
	280 nm	0,8347		

Tablica 23. Očitane vrijednosti nezadržanog pika, vremena zadržavanja i površine kromatografske krivulje za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μ L, masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=50:50, v/v (nastavak)

	λ /nm	t_0 /min	t_R /min	A/mAUxsec
Piperazin	210 nm			
	254 nm			
	270 nm			
	280 nm			
Pirantel	210 nm	2,6267		
	254 nm	1,5280	7,0533	4460
	270 nm	1,5067		
	280 nm	1,5307	7,0800	1354
Prazikvantel	210 nm			
	254 nm			
	270 nm			
	280 nm			
Sulfadiazin	210 nm	2,4560	3,2400	6683
	254 nm	1,5387	3,2427	3672
	270 nm	1,5333	3,2427	5509
	280 nm	1,5253	3,2427	4199
Sulfadimidin	210 nm	2,4693	3,8640	6904
	254 nm	0,9867	3,8640	4541
	270 nm	0,9520	3,8640	6464
	280 nm	0,9600	3,8640	4379
Sulfagvanidin	210 nm		4,6267	11,3
	254 nm	2,6480	4,8933	9,31
	270 nm	1,5067	4,8933	15,3
	280 nm	2,6373	4,8933	0,818
Tiamulin	210 nm	0,7333	8,9733	42,5
	254 nm	2,6453		
	270 nm	1,4533		
	280 nm	2,6400		
TMP	210 nm	2,2213	5,1067	12203
	254 nm	1,5333	5,1067	857
	270 nm	1,5600	5,1067	505
	280 nm	0,5040	5,1067	875
Tilozin	210 nm	1,5307	4,3120	282
	254 nm	1,5067	4,3253	8,15
	270 nm	1,5067	4,3307	5,74
	280 nm	1,5067	4,3307	5,1

U tablici 24 nalaze se očitane vrijednosti nezadržanog pika (t_0), vremena zadržavanja (t_R) i površine kromatografske krivulje (A) iz kromatograma dobivenih snimanjem otopina veterinarskih farmaceutika u oktanolu na HPLC-DAD sustavu. Kao pokretna faza korišten je sustav MeOH:H₂O u omjeru 30:70, v/v. Korištenjem pokretne faze sa najmanjim udjelom metanola (30 %) nije bilo moguće odrediti te očitati rezultate za farmaceutike: deksametazon, febantel, lidokain i piperazin, pri svim valnim duljinama.

Tablica 24. Očitane vrijednosti nezadržanog pika, vremena zadržavanja i površine kromatografske krivulje za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μ L, masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=30:70, v/v

	λ /nm	t_0 /min	t_R /min	A /mAUxsec
Albendazol	210 nm	1,4640	11,1307	170
	254 nm	1,4667	11,1280	12
	270 nm	1,4800	11,1227	10,9
	280 nm	1,4800	11,1333	13,8
Deksametazon	210 nm			
	254 nm			
	270 nm			
	280 nm			
Enrofloksacin	210 nm	1,5790	10,3870	142
	254 nm	2,4720	10,4667	13,6
	270 nm	1,5867	10,4827	467
	280 nm	1,5680	10,3947	106
Febantel	210 nm			
	254 nm			
	270 nm			
	280 nm			
Levamisol	210 nm	2,9707	7,3120	2095
	254 nm	2,3573	7,0267	40
	270 nm	1,5333	6,8907	16,1
	280 nm	2,6427		
Lidokain	210 nm			
	254 nm			
	270 nm			
	280 nm			
OTC	210 nm	1,9387	6,3330	1181
	254 nm	1,5733	6,3330	1944
	270 nm	1,9547	6,7333	3177
	280 nm	1,9573	6,4133	28,5

Tablica 24. Očitane vrijednosti nezadržanog pika, vremena zadržavanja i površine kromatografske krivulje za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μ L, masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=30:70, v/v (nastavak)

	λ /nm	t_0 /min	t_R /min	A/mAUxsec
Piperazin	210 nm			
	254 nm			
	270 nm			
	280 nm			
Pirantel	210 nm	2,2587	18,1467	77,9
	254 nm	1,5680	18,1067	7842
	270 nm	1,5067	18,0693	913
	280 nm	1,5280	18,0773	1737
Prazikvantel	210 nm	2,0880	9,2213	10340
	254 nm	1,5520	9,4853	2088
	270 nm	1,5333	9,4997	1560
	280 nm	1,5467		
Sulfadiazin	210 nm	2,2293	3,3680	6473
	254 nm	1,5387	3,3680	3687
	270 nm	1,5333	3,3680	5721
	280 nm	1,5333	3,3680	3815
Sulfadimidin	210 nm	0,3040	4,1387	6227
	254 nm	1,5440	4,1413	5119
	270 nm	1,5333	4,1413	7159
	280 nm	1,5493	4,1413	4199
Sulfagvanidin	210 nm	2,1947	5,4187	485
	254 nm	1,5280	5,4320	298
	270 nm	1,5333	5,4320	828
	280 nm	2,0480	5,5867	112
Tiamulin	210 nm	1,5467	7,7200	1645
	254 nm	1,5253	7,5600	1,41
	270 nm	1,5067		
	280 nm			
TMP	210 nm	2,2213	5,1067	12203
	254 nm	1,5333	5,1067	857
	270 nm	1,5413	5,1067	505
	280 nm	0,5040	5,1067	875
Tilozin	210 nm	1,5307	4,3120	282
	254 nm	1,5307	4,3120	39
	270 nm	1,5067	4,3093	55,6
	280 nm	1,5280	4,3067	25,9

Smanjivanjem udjela metanola u pokretnoj fazi povećava se broj farmaceutika koje nije moguće analizirati. Metanol je manje polaran od vode i time se farmaceutici lakše eluiraju s kolone u pokretnoj fazi s većim postotkom metanola.

Očitani parametri korišteni su za računanje vrijednosti $\log K_{ov}$, koje su izračunate prema jednadžbama (3) i (4). Rezultati su prikazani u tablicama 25-27.

Faktor zadržavanja (k) računa se iz jednadžbe (3), gdje t_0 predstavlja elucijsko vrijeme nezadržanog spoja, a t_R vremena zadržavanja očitana iz kromatograma za svaki farmaceutik:

$$\log k = \log(t_R - t_0)/t_0 \quad (3)$$

$\log K_{ov}$ je računat na temelju jednadžbe (4) preuzete iz literature [19]:

$$\log K_{ov} = 2,10 + 2,42 \log k \quad (4)$$

Tablica 25. Izračunate vrijednosti $\log k$, $\log K_{ov}$ i K_{ov} za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μ L, masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=70:30, v/v

	λ /nm	$\log k$	$\log K_{ov}$	K_{ov}
Albendazol	210 nm	0,2450	2,6930	493,1630
	254 nm	0,7682	3,9590	9098,9795
	270 nm	1,2696	5,1724	148720,4509
	280 nm	1,2458	5,1149	130278,1588
Deksametazon	210 nm	0,0273	2,1660	146,5603
	254 nm	0,0253	2,1611	144,9124
	270 nm	0,5593	3,4535	2840,8900
	280 nm	0,0253	2,1611	144,9124
Enrofloksacin	210 nm	0,5227	3,3648	2316,4443
	254 nm	0,5028	3,3168	2073,7591
	270 nm	0,5033	3,3179	2079,3167
	280 nm	0,5018	3,3143	2062,1848
Febantel	210 nm	0,5221	3,3634	2308,7311
	254 nm	0,5152	3,3467	2221,7063
	270 nm	0,5093	3,3325	2150,4055
	280 nm	0,5132	3,3420	2197,7731
Levamisol	210 nm	0,4001	3,0683	1170,1802
	254 nm	0,4051	3,0803	1203,0207
	270 nm	0,4024	3,0737	1184,9895
	280 nm	0,4080	3,0874	1222,8191
Lidokain	210 nm	0,6001	3,5522	3566,0079
	254 nm	0,6090	3,5737	3747,0420
	270 nm	0,2522	2,7103	513,2514
	280 nm	0,6090	3,5737	3747,0420
OTC	210 nm	0,3825	3,0256	1060,6387

Tablica 25. Izračunate vrijednosti $\log k$, $\log K_{ov}$ i K_{ov} za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μL , masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu $\text{MeOH:H}_2\text{O}=70:30$, v/v (nastavak)

	λ/nm	$\log k$	$\log K_{ov}$	K_{ov}
OTC	254 nm	0,3785	3,0161	1037,7228
	270 nm	0,3741	3,0053	1012,2091
	280 nm	0,3751	3,0077	1017,7754
Piperazin	210 nm			
	254 nm			
	270 nm			
	280 nm			
Pirantel	210 nm			
	254 nm			
	270 nm			
	280 nm			
Prazikvantel	210 nm	0,1038	2,3513	224,5364
	254 nm	0,0960	2,3323	214,9295
	270 nm	0,0945	2,3287	213,1378
	280 nm	0,0937	2,3268	212,2311
Sulfadiazin	210 nm	-0,0151	2,0636	115,7635
	254 nm	-0,0167	2,0597	114,7313
	270 nm	-0,0135	2,0673	116,7693
	280 nm	-0,0159	2,0616	115,2370
Sulfadimidin	210 nm	-0,4995	0,8912	7,7844
	254 nm	-0,0936	1,8735	74,7223
	270 nm	-0,5004	0,8890	7,7453
	280 nm	-0,0877	1,8879	77,2440
Sulfagvanidin	210 nm	0,0959	2,3320	214,7914
	254 nm	0,2451	2,6932	493,3508
	270 nm	0,1664	2,5027	318,1800
	280 nm	0,3519	2,9516	894,4630
Tiamulin	210 nm	0,4931	3,2934	1965,0296
	254 nm	0,4962	3,3008	1999,1025
	270 nm			
	280 nm			
TMP	210 nm	0,4544	3,1996	1583,3621
	254 nm	0,4555	3,2023	1593,4200
	270 nm	0,1896	2,5589	362,1940
	280 nm	0,4508	3,1909	1552,1730
Tilozin	210 nm	0,5745	3,4903	3092,1680
	254 nm	0,5721	3,4845	3051,2246
	270 nm	0,5804	3,5045	3195,5615
	280 nm	0,5683	3,4752	2986,5791

Tablica 26. Izračunate vrijednosti $\log k$, $\log K_{ov}$ i K_{ov} za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μL , masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=50:50, v/v

	λ/nm	$\log k$	$\log K_{ov}$	K_{ov}
Albendazol	210 nm	0,4177	3,1108	1290,478
	254 nm	0,5992	3,5500	3548,324
	270 nm	0,5963	3,5429	3490,879
	280 nm	0,5993	3,5503	3550,366
Deksametazon	210 nm	-0,4537	1,0021	10,04917
	254 nm	0,0581	2,2405	173,9925
	270 nm	0,0804	2,2946	197,0461
	280 nm	-0,5295	0,8186	6,584944
Enrofloksacin	210 nm	0,5269	3,3751	2371,674
	254 nm	0,7261	3,8572	7197,621
	270 nm	0,5661	3,4699	2950,332
	280 nm	0,5688	3,4765	2995,49
Febantel	210 nm	0,7987	4,0329	10786,32
	254 nm	0,8193	4,0827	12097,79
	270 nm	0,8467	4,1491	14095,68
	280 nm	0,5275	3,3765	2379,809
Levamisol	210 nm			
	254 nm			
	270 nm	0,9034	4,2863	19332,57
	280 nm	-0,2301	1,5433	34,93535
Lidokain	210 nm			
	254 nm			
	270 nm			
	280 nm			
OTC	210 nm	0,1912	2,5627	365,3675
	254 nm	0,0038	2,1092	128,5857
	270 nm	0,0188	2,1455	139,7845
	280 nm			
Piperazin	210 nm			
	254 nm			
	270 nm			
	280 nm			
Pirantel	210 nm			
	254 nm	0,5582	3,4509	2824,377
	270 nm			
	280 nm	0,5593	3,4536	2841,989
Prazikvantel	210 nm			
	254 nm			
	270 nm			
	280 nm			

Tablica 26. Izračunate vrijednosti $\log k$, $\log K_{ov}$ i K_{ov} za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μL , masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=50:50, v/v (nastavak)

	λ/nm	$\log k$	$\log K_{ov}$	K_{ov}
Sulfadiazin	210 nm	-0,4959	0,8999	7,941312
	254 nm	0,0443	2,2072	161,155
	270 nm	0,0472	2,2143	163,7812
	280 nm	0,0515	2,2247	167,7526
Sulfadimidin	210 nm	-0,2481	1,4996	31,59474
	254 nm	0,4648	3,2248	1678,093
	270 nm	0,4856	3,2750	1883,83
	280 nm	0,4807	3,2634	1833,815
Sulfagvanidin	210 nm			
	254 nm	-0,0716	1,9266	84,45444
	270 nm	0,3517	2,9512	893,7248
	280 nm	-0,0678	1,9359	86,27293
Tiamulin	210 nm	1,0506	4,6426	43909,87
	254 nm			
	270 nm			
	280 nm			
TMP	210 nm	0,1136	2,3749	237,0878
	254 nm	0,3675	2,9892	975,5283
	270 nm	0,3567	2,9632	918,7845
	280 nm	0,9606	4,4246	26583,29
Tilozin	210 nm	0,2594	2,7276	534,1285
	254 nm	0,2720	2,7583	573,1339
	270 nm	0,2728	2,7603	575,7948
	280 nm	0,2728	2,7603	575,7948

Tablica 27. Izračunate vrijednosti $\log k$, $\log K_{ov}$ i K_{ov} za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μL , masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=30:70, v/v

	λ/nm	$\log k$	$\log K_{ov}$	K_{ov}
Albendazol	210 nm	0,8197	4,0838	12127,29
	254 nm	0,8187	4,0812	12057,02
	270 nm	0,8139	4,0697	11741,6
	280 nm	0,8144	4,0709	11772,86
Deksametazon	210 nm			
	254 nm			
	270 nm			
	280 nm			
Enrofloksacin	210 nm	0,7465	3,9065	8063,402
	254 nm	0,5098	3,3336	2155,778
	270 nm	0,7487	3,9119	8163,077
	280 nm	0,7505	3,9161	8243,176
Febantel	210 nm			
	254 nm			
	270 nm			
	280 nm			
Levamisol	210 nm	0,1648	2,4987	315,2983
	254 nm	0,2968	2,8184	658,2151
	270 nm	0,5433	3,4149	2599,269
	280 nm			
Lidokain	210 nm			
	254 nm			
	270 nm			
	280 nm			
OTC	210 nm	0,3554	2,9600	912,0474
	254 nm	0,4808	3,2635	1834,251
	270 nm	0,3882	3,0395	1095,201
	280 nm	0,3573	2,9646	921,7994
Piperazin	210 nm			
	254 nm			
	270 nm			
	280 nm			
Pirantel	210 nm	0,8472	4,1502	14133,5
	254 nm	1,0232	4,5760	37673,49
	270 nm	1,0411	4,6195	41635,73
	280 nm	1,0347	4,6039	40166,89
Prazikvantel	210 nm	0,5336	3,3912	2461,587
	254 nm	0,7086	3,8147	6527,102
	270 nm	0,7156	3,8318	6789,482
	280 nm			

Tablica 27. Izračunate vrijednosti $\log k$, $\log K_{ov}$ i K_{ov} za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μL , masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=30:70, v/v (nastavak)

	λ/nm	$\log k$	$\log K_{ov}$	K_{ov}
Sulfadiazin	210 nm	-0,2918	1,3939	24,77095
	254 nm	0,0751	2,2818	191,3449
	270 nm	0,0779	2,2886	194,3613
	280 nm	0,0779	2,2886	194,3613
Sulfadimidin	210 nm	1,1009	4,7641	58086,59
	254 nm	0,2259	2,6466	443,2177
	270 nm	0,2307	2,6582	455,2466
	280 nm	0,2235	2,6409	437,3899
Sulfagvanidin	210 nm	0,1670	2,5042	319,292
	254 nm	0,4074	3,0859	1218,639
	270 nm	0,4053	3,0808	1204,504
	280 nm	0,2375	2,6748	472,9153
Tiamulin	210 nm	0,6011	3,5547	3586,653
	254 nm	0,5973	3,5455	3511,292
	270 nm			
	280 nm			
TMP	210 nm	0,1136	2,3749	237,0878
	254 nm	0,3675	2,9892	975,5283
	270 nm	0,3642	2,9814	958,1092
	280 nm	0,9606	4,4246	26583,29
Tilozin	210 nm	0,2594	2,7276	534,1285
	254 nm	0,2594	2,7276	534,1285
	270 nm	0,2695	2,7523	565,2923
	280 nm	0,2597	2,7285	535,2027

U priloženoj tablici 28 nalaze se rezultati za vrijednosti $\log K_{ov}$ dobivenih eksperimentalnim putem, te podatci iz programa EPI-Suite. Kao što se vidi u priloženom većina eksperimentalnih rezultata daje približno slaganje s podacima iz programa. Odstupanja ovise o valnoj duljini snimanja kromatograma i pokretnoj fazi pri kojoj su očitavani parametri kromatograma. Za farmaceutik piperazin nije bilo moguće odrediti $\log K_{ov}$.

Deksametazon, lidokain i prazikvantel pokazuju dobro slaganje eksperimentalno dobivenih rezultata sa podacima iz programa.

Eksperimentalni rezultati za farmaceutike enrofloksacin, febantel, sulfadiazin i trimetoprim pokazuju veliko odstupanje od podataka iz programa.

A najbolje slaganje s podacima iz programa ($\log K_{ov}=3,07$) daju rezultati za farmaceutik albendazol ($\log K_{ov}=3,11$)

Tablica 28. Usporedba eksperimentalno dobivenih podataka za $\log K_{ov}$ s podacima iz programa EPI-Suite

	λ/nm	$\log K_{ov}$			$\log K_{ov}$ (EPIWEB)	
		MeOH:H ₂ O =70:30	MeOH:H ₂ O =50:50	MeOH:H ₂ O =30:70	PROCIJENJENO NA TEMELJU MOLEKULSKE FORMULE (KOWWIN)	BAZA PODATAKA PROCIJENJENIH VRIJEDNOSTI
Albendazol	210 nm	2,6930	3,1108	4,0838	3.14	3.07
	254 nm	3,9590	3,5500	4,0812		
	270 nm	5,1724	3,5429	4,0697		
	280 nm	5,1149	3,5503	4,0709		
Deksametazon	210 nm	2,1660	1,0021		1.72	1.94
	254 nm	2,1611	2,2405			
	270 nm	3,4535	2,2946			
	280 nm	2,1611	0,8186			
Enrofloksacin	210 nm	3,3648	3,3751	3,9065	0.70	
	254 nm	3,3168	3,8572	3,3336		
	270 nm	3,3179	3,4699	3,9119		
	280 nm	3,3143	3,4765	3,9161		
Febantel	210 nm	3,3634	4,0329		1.53	
	254 nm	3,3467	4,0827			
	270 nm	3,3325	4,1491			
	280 nm	3,3420	3,3765			
Levamisol	210 nm	3,0683		2,4987	2.87	1.84
	254 nm	3,0803		2,8184		
	270 nm	3,0737	4,2863	3,4149		
	280 nm	3,0874	1,5433			
Lidokain	210 nm	3,5522			1.66	2.44
	254 nm	3,5737				
	270 nm	2,7103				
	280 nm	3,5737				
OTC	210 nm	3,0256	2,5627	2,9600	- 3.60	
	254 nm	3,0161	2,1092	3,2635		
	270 nm	3,0053	2,1455	3,0395		
	280 nm	3,0077		2,9646		
Piperazin	210 nm				- 0.80	- 1.50
	254 nm					
	270 nm					
	280 nm					

Tablica 28. Usporedba eksperimentalno dobivenih podataka za $\log K_{ov}$ s podacima iz programa EPI-Suite (nastavak)

	λ/nm	$\log K_{ov}$			$\log K_{ov}$ (EPIWEB)	
		MeOH:H ₂ O =70:30	MeOH:H ₂ O =50:50	MeOH:H ₂ O =30:70	PROCIJENJENO NA TEMELJU MOLEKULSKE FORMULE (KOWWIN)	BAZA PODATAKA PROCIJENJENIH VRIJEDNOSTI
Pirantel	210 nm			4,1502	3.14	
	254 nm		3,4509	4,5760		
	270 nm			4,6195		
	280 nm		3,4536	4,6039		
Prazikvantel	210 nm	2,3513		3,3912	2.42	
	254 nm	2,3323		3,8147		
	270 nm	2,3287		3,8318		
	280 nm	2,3268				
Sulfadiazin	210 nm	2,0636	0,8999	1,3939	- 0.34	- 0.09
	254 nm	2,0597	2,2072	2,2818		
	270 nm	2,0673	2,2143	2,2886		
	280 nm	2,0616	2,2247	2,2886		
Sulfadimidin	210 nm	0,8912	1,4996	4,7641	0.76	0.19
	254 nm	1,8735	3,2248	2,6466		
	270 nm	0,8890	3,2750	2,6582		
	280 nm	1,8879	3,2634	2,6409		
Sulfagvanidin	210 nm	2,3320		2,5042	- 1.07	-1.22
	254 nm	2,6932	1,9266	3,0859		
	270 nm	2,5027	2,9512	3,0808		
	280 nm	2,9516	1,9359	2,6748		
Tiamulin	210 nm	3,2934	4,6426	3,5547	4.75	
	254 nm	3,3008		3,5455		
	270 nm					
	280 nm					
TMP	210 nm	3,1996	2,3749	2,3749	0.73	0.91
	254 nm	3,2023	2,9892	2,9892		
	270 nm	2,5589	2,9632	2,9814		
	280 nm	3,1909	4,4246	4,4246		
Tilozin	210 nm	3,4903	2,7276	2,7276	1.05	1.63
	254 nm	3,4845	2,7583	2,7276		
	270 nm	3,5045	2,7603	2,7523		
	280 nm	3,4752	2,7603	2,7285		

U tablici 29 prikazana je usporedba eksperimentalnih rezultata za $\log K_{ov}$ koji se najbolje i najlošije slažu s podacima iz EPI-Suite-a, te postotci odstupanja. Za 10 od 16 ispitivanih farmaceutika eksperimentalni rezultati odstupaju do 100 % od podataka iz programa.

Tablica 29. Usporedba eksperimentalnih rezultata koji se najbolje slažu i koji najviše odstupaju od podataka iz EPI-Suite-a

	EPIWEB ($\log K_{ov}$)	Najbolje slaganje $\log K_{ov}$	Najlošije slaganje $\log K_{ov}$	Postotak odstupanja od najboljeg slaganja/%	Postotak odstupanja od najlošijeg slaganja/%
Albendazol	3,07	3,11	5,17	1,30	68,40
Deksametazon	1,83	2,16	3,45	18,03	88,52
Enrofloksacin	0,70	3,31	3,92	372,86	460,00
Febantel	1,53	3,33	4,15	117,65	171,24
Levamisol	1,84	1,54	4,29	16,30	133,15
Lidokain	2,44	2,71	3,57	11,07	46,31
OTC	1,50	2,11	3,26	40,67	117,33
Piperazin	-	-	-	-	-
Pirantel	3,14	3,45	4,62	9,87	47,13
Prazikvantel	2,42	2,35	3,39	2,89	40,08
Sulfadiazin	0,09	0,90	2,29	900,00	2444,44
Sulfadimidin	0,19	0,89	4,76	368,42	2405,26
Sulfagvanidin	1,22	1,93	3,09	58,20	153,28
Tiamulin	4,75	4,64	3,29	2,32	30,74
TMP	0,91	2,37	4,42	160,44	385,71
Tilozin	1,63	2,73	3,50	67,48	114,72

- Nije moguće odrediti K_{ov} ovom metodom.

5. ZAKLJUČAK

1. Od 16 ispitivanih farmaceutika, samo za piperazin nije bilo moguće odrediti K_{ov} kod ovih uvjeta. Eksperimenti su provedeni na koloni 250x4,6mm, 5 μ m, GL Sciences, Japan, s pokretnom fazom MeOH:H₂O kod izokratnih uvjeta u omjerima 70:30, 50:50, 30:70, v/v.
2. Parametri očitani sa kromatograma: t_0 , t_R i A , najbolje su se mogli očitati za pokretnu fazu MeOH:H₂O=70:30, v/v.
3. Većina eksperimentalno određenih K_{ov} vrijednosti u ovome radu, uglavnom su sličnih vrijednosti onima dobivenih računskim putem u programu EPI-Suite. Odstupanja ovise o valnoj duljini snimanja kromatograma i pokretnoj fazi pri kojoj su očitavani parametri kromatograma.
4. Najbolje slaganje sa podacima iz programa ($\log K_{ov}=3,07$) daju rezultati za farmaceutik albendazol ($\log K_{ov}=3,11$), a najveće odstupanje pokazuju rezultati za farmaceutike: enrofloksacin, febantel, sulfadiazin, i trimetoprim.
5. Obzirom da za 10 od 16 ispitivanih farmaceutika eksperimentalni rezultati daju odstupanje manje od 100 % s podacima iz programa, RP-HPLC metoda korištena u ovome radu je prikladna za određivanje $\log K_{ov}$. Većina eksperimentalno dobivenih rezultata su primjenjiva za daljnja istraživanja o veterinarskim farmaceuticima u okolišu.

6. LITERATURA

- [1] M.Kah, C.D.Brown, LogD: Lipophilicity for ionisable compounds, *Chemosphere*, 72 (2008), 1401-1408.
- [2] J.Tolls, Sorption of Veterinary Pharmaceuticals in Soils: A Review, *Environmental Science & Technology*, 17 (2001), str. 3397.
- [3] A. Kar, *Medicinal Chemistry*, New Age International (P) Ltd., Publishers, New Delhi, 2007., str. 651-661,
- [4] <http://www.stetoskop.info/antihelmintici-b13-bs227-p97-nc1-book.htm> (pristup 27.4.2014.)
- [5] <http://www.genera.hr/pro/hr/1620/#.U7L4mUDm7gE> (pristup 27.4.2014.)
- [6] <http://www.loaches.com/disease-treatment/levamisole-hydrochloride-1> (pristup 27.4.2014.)
- [7] <http://www.genera.hr/pro/hr/1619/#.U7KrvUDm7gF> (pristup 27.4.2014.)
- [8] <http://www.romanadekic.com/antibiotici.php> (pristup 27.4.2014.)
- [9] <http://www.ordinacija.hr/zdravlje/preventiva/sve-sto-trebate-znati-o-antibioticima/> (pristup 27.4.2014.)
- [10] <http://www.diamondbackdrugs.com/enrofloxacin-for-cats-and-dogs/> (pristup 27.4.2014.)
- [11] <http://www.wisegeek.com/what-is-oxytetracycline-hydrochloride.htm> (pristup 27.4.2014.)
- [12] <http://www.drugbank.ca/> (pristup 28.4.2014.)
- [13] G. Hamscher, S. Limsuwan, N. Tansakul, M. Kietzmann, Quantitative Analysis of Tylosin in Eggs by High Performance Liquid Chromatography with Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry: Residue Depletion Kinetics after Administration via Feed and Drinking Water in Laying Hens, *University of Veterinary Medicine Hannover*, 2006., str. 1
- [14] J. Schuttler, H. Schwilden, *Modern Anesthetics*, Springer, 2008., str. 4-8
- [15] J. E. Riviere, M. G. Papich, *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, WILEY-BLACKWELL, 2009., str. 586
- [16] <http://farmaceuti.com/tekstovi/farmakologija-2/sistemski-kortikosteroidi/> (pristup 28.4.2014.)
- [17] F. T. Cannizzo, P. Capra, S. Divari, V. Ciccotelli, B. Biolatti, M. Vincentic: Effects of low –dose dexamethasone and prednisolone long term administration in beef calf: Chemical and morphological investigation, *Analytica Chimica Acta* 700, 2010., str. 95
- [18] <http://www.admescope.com/learn-adme/physicochemical-properties/lipophilicity-logd-logp.html> (pristup 19.5.2014.)
- [19] A.Finizio, M.Vighi, D.Sandroni, Determination of n-octanol/water partition coefficient (Kow) of pesticide critical review and comparison of methods, *Chemosphere*, 34 (1997), 131-161.
- [20] D. Ašperger, Instrumentalna analitička kemija, predavanje 2013/2014, materijali preuzeti sa stranice Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije https://www.fkit.unizg.hr/_download/repository/10_-11_predavanje_IAK-PK-_2013-2014-Asperger_Danijela.pdf (pristup 26.5.2014.)

7. DODATAK

7.1 POPIS SLIKA

Slika 1. Shematski prikaz objašnjenja vremena zadržavanja nezadržanog spoja (t_0) i vremena zadržavanja (t_R)	17
Slika 2. Shematski prikaz osnovnog uređaja za tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti: a - kontrola udjela komponenti pokretne faze; b – pumpa; c - uređaj za unošenje uzorka; d – kolona, pretkolona; f - detektor (DAD, FLD, UV/VIS, MS)	20
Slika 3. Analitička vaga korištena	24
Slika 4. Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti, Varian ProStar 500, s detektorom s nizom dioda (HPLC-DAD)	24
Slika 5. Naslovna stranica EPI- Suite programa	27

7.2 POPIS TABLICA

Tablica 1. Karakterizacija i svojstva albendazola	3
Tablica 2. Karakterizacija i svojstva febantela	4
Tablica 3. Karakterizacija i svojstva levamisola	4
Tablica 4. Karakterizacija i svojstva piperazina	5
Tablica 5. Karakterizacija i svojstva pirantela	6
Tablica 6. Karakterizacija i svojstva prazikvantela	6
Tablica 7. Karakterizacija i svojstva enrofloksacina	8
Tablica 8. Karakterizacija i svojstva oksitetraciklina	9
Tablica 9. Karakterizacija i svojstva sulfadiazina	10
Tablica 10. Karakterizacija i svojstva sulfadimidina	10
Tablica 11. Karakterizacija i svojstva sulfagvanidina	11
Tablica 12. Karakterizacija i svojstva tiamulina	12
Tablica 13. Karakterizacija i svojstva trimetoprima	12
Tablica 14. Karakterizacija i svojstva tilozina	13
Tablica 15. Karakterizacija i svojstva lidokaina	14
Tablica 16. Karakterizacija i svojstva deksametazona	16
Tablica 17. Metode za određivanje ili procjenjivanje koeficijenta razdjeljenja između oktanola i vode	18
Tablica 18. Kemikalije korištene tijekom eksperimenta	22
Tablica 19. Lista farmaceutika	23
Tablica 20. Gradijent pokretne faze korišten u analizi	25
Tablica 21. Očitane vrijednosti nezadržanog spoja, vremena zadržavanja i površine kromatografske krivulje za standardne otopine farmaceutika injektirane 50 μ L i 30 μ L, pokretna faza se sastojala od: metanola i vode uz gradijentno eluiranje, gradijent pokretne faze prikazan u tablici 20	28

- Tablica 21.** Očitane vrijednosti nezadržanog spoja, vremena zadržavanja i površine kromatografske krivulje za standardne otopine farmaceutika injektirane 50 μ L i 30 μ L, pokretna faza se sastojala od: metanola i vode uz gradijentno eluiranje, gradijent pokretne faze prikazan u tablici 20 (nastavak) 29
- Tablica 22.** Očitane vrijednosti nezadržanog spoja, vremena zadržavanja i površine kromatografske krivulje za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μ L, masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=70:30, v/v 30
- Tablica 22.** Očitane vrijednosti nezadržanog spoja, vremena zadržavanja i površine kromatografske krivulje za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μ L, masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=70:30, v/v (nastavak) 31
- Tablica 23.** Očitane vrijednosti nezadržanog pika, vremena zadržavanja i površine kromatografske krivulje za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μ L, masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=50:50, v/v 32
- Tablica 23.** Očitane vrijednosti nezadržanog pika, vremena zadržavanja i površine kromatografske krivulje za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μ L, masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=50:50, v/v (nastavak) 33
- Tablica 24.** Očitane vrijednosti nezadržanog pika, vremena zadržavanja i površine kromatografske krivulje za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μ L, masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=30:70, v/v 34
- Tablica 24.** Očitane vrijednosti nezadržanog pika, vremena zadržavanja i površine kromatografske krivulje za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μ L, masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=30:70, v/v (nastavak) 35
- Tablica 25.** Izračunate vrijednosti $\log k$, $\log K_{ov}$ i K_{ov} za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μ L, masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=70:30, v/v 36
- Tablica 25.** Izračunate vrijednosti $\log k$, $\log K_{ov}$ i K_{ov} za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μ L, masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=70:30, v/v (nastavak) 37
- Tablica 26.** Izračunate vrijednosti $\log k$, $\log K_{ov}$ i K_{ov} za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μ L, masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=50:50, v/v 38
- Tablica 26.** Izračunate vrijednosti $\log k$, $\log K_{ov}$ i K_{ov} za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μ L, masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=50:50, v/v (nastavak) 39
- Tablica 27.** Izračunate vrijednosti $\log k$, $\log K_{ov}$ i K_{ov} za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μ L, masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=30:70, v/v 40
- Tablica 27.** Izračunate vrijednosti $\log k$, $\log K_{ov}$ i K_{ov} za otopine farmaceutika u oktanolu injektirane 50 μ L, masene koncentracije 40 ppm, uz pokretnu fazu MeOH:H₂O=30:70, v/v (nastavak) 41
- Tablica 28.** Usporedba eksperimentalno dobivenih podataka za $\log K_{ov}$ s podacima iz programa EPI-Suite 42
- Tablica 28.** Usporedba eksperimentalno dobivenih podataka za $\log K_{ov}$ s podacima iz programa EPI-Suite (nastavak) 43
- Tablica 29.** Usporedba eksperimentalnih rezultata koji se najbolje slažu i koji najviše odstupaju od podataka iz EPI-Suite-a 44

7.3 POPIS KRATICA

DAD – detektor s nizom dioda (engl. *Diode Array Detector*)

HPLC – tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

K_{ov} – koeficijent raspodjele *n*-oktanol/voda

S_v – topljivost u vodi (mg/L) kod 25 °C

K_{oc} – koeficijent adsorpcije

KOWWIN – vrijednosti K_{ov} računate na temelju teorijskih pretpostavki

8. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 26. ožujka 1992. godine u Zagrebu. Osnovnu školu sam završila u Jasenovcu, te srednješkolno obrazovanje sam stekla u Općoj gimnaziji u Novskoj. Maturirala sam 2011. i iste godine upisala Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu kao redovna studentica na sveučilišnom preddiplomskom studiju Primijenjena kemija. Stručnu praksu odradila sam u Petrokemiji u Kutini, na odjelu Troškovni centar Kontrola kvalitete. Od stranih jezika koristim engleski. Računalno sam pismena.