

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ФАКУЛТЕТ ЗА ФИЗИЧКУ ХЕМИЈУ

Слађана С. Марић

**ПРИМЕНА ВОДЕНИХ ДВОФАЗНИХ СИСТЕМА
СА ЈОНСКИМ ТЕЧНОСТИМА И ТРИБЛОК
КОПОЛИМЕРИМА ЗА ИЗДВАЈАЊЕ
СТАБИЛНИХ АКТИВНИХ СУПСТАНЦИ ИЗ
ОДАБРАНИХ АНАЛГЕТСКИХ ФОРМУЛАЦИЈА**

докторска дисертација

Београд, 2023

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF PHYSICAL CHEMISTRY

Sladana S. Marić

**APPLICATION OF AQUEOUS TWO-PHASE
SYSTEMS WITH IONIC LIQUIDS AND
TRIBLOCK COPOLYMERS FOR EXTRACTION
OF STABLE ACTIVE SUBSTANCES FROM
SELECTED ANALGETIC FORMULATIONS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2023

Ментори:

1. **др Љубиша Игњатовић, редовни професор**
Универзитет у Београду – Факултет за физичку хемију

2. **др Александра Димитријевић, научни сарадник**
Институт за нуклеарне науке “Винча” – Институт од националног значаја за Републику Србију-
Универзитет у Београду

Чланови комисије:

1. **др Биљана Шљукић Паунковић, редовни професор**
Универзитет у Београду – Факултет за физичку хемију

2. **др Маја Милојевић-Ракић, ванредни професор**
Универзитет у Београду – Факултет за физичку хемију

3. **др Јелена Милићевић, виши научни сарадник**
Институт за нуклеарне науке “Винча” - Институт од националног значаја за Републику Србију-
Универзитет у Београду

Датум одбране:

Ова докторска дисертација урађена је у Лабораторији за физичку хемију, Института за Нуклеарне науке „Винча“ под заједничким менторством **др Александре Димитријевић**, научног сарадника у ИИИ „Винча“ која је предложила тему и руководила њеном израдом и **проф. др Љубише Игњатовић**, редовног професора на Факултету за физичку хемију. Рад је урађен у оквиру теме бр.0502211 „Развој одрживих интегрисаних процеса за изолацију разноврсних једињења применом иновативних решења у складу са принципима зелене хемије“ који финансира Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

Захвалница

Највећу захвалност за успешан завршетак докторске дисертације и подршку током њене израде желим да упутим менторима **др Александри Димитријевић** и **проф. др Љубиши Игњатовић**. Захваљујем се и члановима комисије **др Биљани Шљукић Паунковић** и **др Маји Милојевић-Ракић** на корисним саветима који су допринели квалитету ове дисертације. **Др Јелени Милићевић** захваљујем на доприносу приликом концептуалног планирања тезе и помоћи при анализи и обради резултата. Захваљујем колегама из Лабораторије за физичку хемију на подршци током рада на докторату. Посебно бих захвалила колегиници **Ани Јоцић** на доприносу и великој помоћи током експерименталног рада, анализе резултата и изради тезе.

На крају, највећу захвалност дугујем мами **Добрили**, оцу **Славиши**, сестри **Драгани** и брату **Ненаду**.

Слађана

Примена водених двофазних система са јонским течностима и триблок кополимерима за издвајање стабилних активних супстанци из одабраних аналгетских формулација

Сажетак

Истраживања су показала да многе активне фармацеутске супстанце (АФС) остају у свом стабилном стању дуго након истека рока трајања лека. С обзиром на доступност и широку употребу аналгетских формулација, циљ ове докторске дисертације је да се испита, развије и оптимизује течно-течна сепарациона метода заснована на воденим двофазним системима (ВДС) са нетоксичним и бикомпатабилним конституентима – јонским течностима (ЈТ) и триблок кополимерима, за изолацију АФС из аналгетика.

За ВДС холинијумских соли са различитим анјонима и кополимером плуроником ПЕ6200 су одређени фазни дијаграми течно-течне равнотеже и показано да је ефекат исољавања доминантан код система холинијумских соли (које су у чврстом стању на температурама већи од 100 °C), док су у системима на бази холинијумски ЈТ (које су у течном стању на температурама мањим од 100 °C) специфичне интеракције између ЈТ и кополимера пресудне за одвајање фаза. У случају структурно различитих исољивача (натријум цитрата, холинијум дихидрогенфосфата и 1-бутил-3 метил имидазолијум хлорида) издвајање две фазе са ПЕ6200 зависе углавном од њихове способности да формирају комплексе јон-вода.

ВДС холинијумских соли и ПЕ6200 су испитани за екстракцију диклофенака, нимесулида и ацетилсалицилне киселине и систем са холинијум дихидрогенфосфатом је дао највеће вредности параметара екстракције. У наставку су испитани ВДС састављених од ПЕ6200 и холинијум дихидрогенфосфата или имидазолијум хлорида или натријум цитрата за екстракцију парацетамола, кофеина и теофилина. Резултати су показали да у системима ПЕ6200 и соли расподела АФС је у складу са њиховим хидрофобностима, док у случају ПЕ6200 и ЈТ специфичне интеракције условљавају расподелу молекула у фазама ВДС.

Након испитивања утицаја различитих оперативних параметара за систем ПЕ6200-натријум цитрат, одрађена је екстракција АФС из неискоришћених лекова. Добијена је ефикасност изолације преко 80% за све АФС. На основу целокупног истраживања је предложен принцип интегрисане сепарационе методе, за њихово издвајање из одабраног аналгетика.

Кључне речи: водени двофазни системи, јонске течности, триблок кополимери, активне фармацеутске супстанце, екстракција

Научна област: Физичка хемија

Ужа научна област: Контрола и заштита животне средине

УДК број:

Application of aqueous two-phase systems with ionic liquids and triblock copolymers for extraction of stable active substances from selected analgetic formulations

Abstract

Research has shown that many active pharmaceutical ingredients (APIs) remain in their stable state long after the expiration date of the drug. Considering the availability and wide use of analgesic formulations, the aim of this doctoral dissertation is to investigate, develop and optimize a liquid-liquid separation method based on aqueous two-phase systems (ATPS) with non-toxic and bicompatible constituents - ionic liquids (IL) and triblock copolymers, for the isolation of APIs from analgesics.

For the ATPS of cholinium salts with different anions and pluronic copolymer PE6200, the phase diagrams of the liquid-liquid equilibrium were determined and it was shown that the salting-out effect is dominant in the system of cholinium salts (which are in the solid state at temperatures higher than 100 °C), while in the systems based on cholinium IL (which are in a liquid state at temperatures below 100 °C) specific interactions between IL and copolymers are crucial for phase separation. In the case of structurally different salting-out agents (sodium citrate, choline dihydrogenphosphate and 1-butyl-3 methyl imidazolium chloride) the separation of the two phases with PE6200 depends mainly on their ability to form ion-water complexes.

The ATPS of cholinium salts and PE6200 were tested for the extraction of diclofenac, nimesulide and acetylsalicylic acid and the system with cholinium dihydrogenphosphate gave the highest values of extraction parameters. In the following, ATPS composed of PE6200 and choline dihydrogenphosphate or imidazolium chloride or sodium citrate were tested for the extraction of paracetamol, caffeine and theophylline. The results showed that in the PE6200 and salt systems the distribution of APIs is consistent with their hydrophobicity, while in the case of PE6200 and IL specific interactions condition the distribution of molecules in the ATPs phases.

After investigating the influence of different operating parameters for the PE6200-sodium citrate system, APIs extraction from unused drugs was performed. Recovery efficiency over 80% was obtained for all APIs. Based on the entire research, the principle of an integrated separation method was proposed for their separation from the selected analgesic.

Keywords: aqueous two-phase systems, ionic liquids, triblock copolymers, active pharmaceutical substances, extraction

Scientific Field: Physical chemistry

Scientific discipline: Environmental control and protection

UDK number:

Списак коришћених скраћеница

ВДС – водени двофазни системи

ЈТ – јонске течности

ПО – пропилен оксид

ЕО – етилен оксид

ПЕ6200 – плуроник ПЕ типа

АФС – активне фармацеутске супстанце

ПАР – парацетамол

НСАИЛ - нестероидни антиинфламаторни лекови

АСК – ацетилсалицилна киселина

ДИК – диклофенак

НИМ - нимесулид

КОФ – кофеин

ТЕОФ – теофилин

ТЕОБ – теобромин

НИК – никотин

Садржај

1.	УВОД.....	1
1.1.	Фармацеутски отпад.....	1
1.1.1.	Аналгетици и њихове активне супстанце.....	1
1.2.	Екстракција активних фармацеутских супстанци и параметри екстракције.....	4
1.3.	Водени двофазни системи.....	5
1.4.	Јонске течности.....	6
1.5.	Водени двофазни системи засновани на јонским течностима и њихова примена у сепарационим процесима за издвајање активних супстанци.....	8
1.6.	Триблок кополимери.....	10
1.7.	Водени двофазни системи са триблок кополимерима.....	11
1.8.	Фазни дијаграми.....	12
1.9.	Водени двофазни системи јонских течности и кополимера и њихова примена.....	14
1.10.	Циљ рада.....	16
2.	ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО.....	17
2.1.	Коришћене хемикалије и раствори.....	17
2.2.	Процедуре и апаратуре.....	18
2.2.1.	Синтеза и карактеризација синтетисаних јонских течности.....	18
2.3.	Одређивање фазних дијаграма, везних линија и састава водених двофазних система.....	19
2.3.1.	Одређивање фазних дијаграма водених двофазних система.....	19
2.3.2.	Одређивање везних линија и састава фаза водених двофазних система.....	20
2.4.	Екстракција.....	22
2.4.1.	Екстракција алкалоида.....	22
2.4.2.	Екстракција активних фармацеутских супстанци.....	23
2.5.	Оптимизација система за екстракцију активних фармацеутских супстанци из водених раствора.....	26
2.6.	Екстракција активних фармацеутских супстанци из реалних узорака.....	26
3.	РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА.....	28
3.1.	Одређивање течно-течне равнотеже водених двофазних система.....	29
3.1.1.	Одређивање течно-течне равнотеже водених двофазних система на бази кополимера ПЕ6200 и холинијумских соли.....	29
3.1.2.	Одређивање и поређење течно-течне равнотеже ВДС са кополимером ПЕ6200 и структурно различитим исољивачима.....	37
3.2.	Одређивање параметара екстракције водених двофазних система.....	40
3.2.1.	Одређивање параметара екстракције водених двофазних система на бази холинијумских соли за диклофенак, нимесулид и ацетилсалицилну киселину.....	40
3.2.2.	Одређивање параметара екстракције водених двофазних система ПЕ6200 и структурно различитих исољивача за парацетамол, кофеин и теофилин.....	42
3.3.	Оптимизација параметара екстракције активних фармацеутских супстанци.....	46

3.3.1. Утицај температуре на екстракцију парацетамола, кофеина и теофилина	46
3.3.2. Утицај рН водених двофазних система на екстракцију парацетамола, кофеина и теофилина	47
3.3.3. Утицај количине лека на екстракцију парацетамола, кофеина и теофилина	48
3.3.4. Утицај дужине везне линије на екстракцију парацетамола, кофеина и теофилина ...	51
3.3.5. Утицај састава фаза воденог двофазног система дуж исте везне линије на екстракцију парацетамола, кофеина и теофилина	52
3.4. Екстракција активних аналгетских супстанци из реалних формулација	55
4. ЗАКЉУЧАК.....	59
5. ЛИТЕРАТУРА.....	62
6. ПРИЛОЗИ.....	68
Прилог А – ФТИЦ идентификација синтетисаних јонских течности.....	68
Прилог Б – Експерименталне вредности масених удела за водене двофазне системе на бази кополимера и јонских течности или соли	69
Прилог В – Дијаграми расподеле киселинско-базних парова испитиваних алкалоида у зависности од рН.....	72
Прилог Г – Дијаграми расподеле киселинско-базних парова испитиваних активних фармацеутских супстанци у зависности од рН.....	74
Прилог Д – Валидација инструменталне методе	76
Прилог Ђ – Спецификација лекова	79
Биографија кандидата	81
Библиографија.....	82
Изјава о ауторству.....	84
Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада	85
Изјава о коришћењу	86

1. УВОД

1.1. Фармацеутски отпад

Све већа производња и потрошња лекова широм света, генерише и велике количине фармацеутског отпада. Фармацеутски отпад (фармацеутски производи, лекови, вакцине и серуми са истеклим роком трајања, неупотребљени или контаминирани) је веома хетероген по свом пореклу, саставу и концентрацији активних и помоћних супстанци. Фармацеутски отпада настао у домаћинствима заврши као комунални отпад чиме значајна количина активних супстанци дође у контакт са површинским и подземним водама, као и земљиштем. Велике количине отпада могу имати штетан утицај на животну средину и људско здравље уколико се не поступа у складу са важећим прописима који регулишу његово одлагање. У Србији је 2010. године донета регулатива за управљањем медицинским отпадом, према којој се неискоришћени и лекови са истеклим роком трајања прикупљају у апотекама. Апотеке су у обавези да их врате произвођачу или предају специјализованим фирмама које фармацеутски отпад депонују у складиштима, врше његово разврставање и транспорт у неку од земаља Европске Уније где се уништава процесом спаљивања [1]. Спаљивање фармацеутског отпада у иностранству је скупо, неприхватљиво на дужи временски период [2] и посматрано са аспекта циркуларне економије и одрживог развоја, представља значајан губитак корисних супстанци и супротно је настојањима да се напусти традиционални линеарни концепт коришћења ресурса. Имајући у виду да је преко 90% активних супстанци из фармацеутских производа стабилно веома дуго након препорученог датума за употребу лека (чак и више деценија према одређеним истраживањима) [3,4], све више пажње се посвећује проналажењу адекватних модела за управљање фармацеутским отпадом као и сепарационим метода за изолацију активних супстанци [5]. У Србији највећи проценат фармацеутског отпада чине лекови за кардиоваскуларне болести, антипсихотици, аналгетици и антибиотици [6]. Од активних супстанци које су у најширој употреби у аналгетским формулацијама су парацетамол [7], диклофенак, ацетилсалицилна киселина [8], нимесулид [9] и кофеин [10].

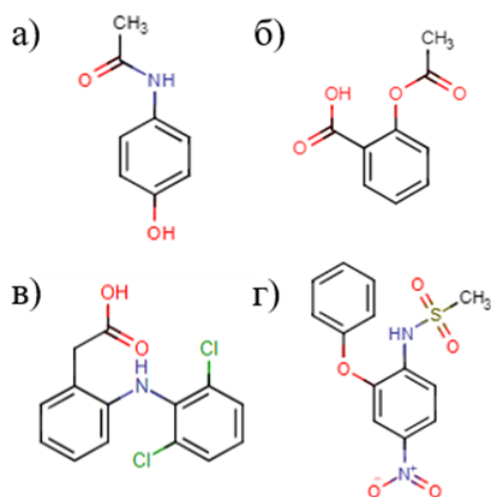
1.1.1. Аналгетици и њихове активне супстанце

Аналгетици су лекови који се првенствено користе против болова али и за снижавање телесне температуре (антипиретици) и у лечењу упалних процеса (антиинфламатори). Представљају најчешће конзумиране лекове и због тога што се већина њих може купити без рецепта [11]. Највредније компоненте у производу лека су активне фармацеутске супстанце (АФС) које веома често имају већи негативни утицај на животну средину од помоћних супстанци (ексципијенса) [12] и најчешће коришћена активна супстанца у аналгетским формулацијама је парацетамол.

Парацетамол (ПАР) или ацетаминофен је најчешће узимани аналгетик широм света који Светска здравствена организација (енг. World Health Organization – WHO) препоручује против болова у мишићима, главобоље, прехладе, болова у леђима и смањењу температуре [13]. Доступан је у различитим формулацијама (таблете, капсуле, грануле) и према Америчкој управи за храну и лекове (енг. U.S. Food and Drug Administration – FDA) тренутно има преко 200 одобрених лекова који се могу купити са или без рецепта. [14]. Парацетамол је бела кристална супстанца и слаба киселина (константа дисоцијације $pK_a = 9,51$), са хидроксилном и амидном групом (на позицијама 1 и 4), Слика 1а, које могу учествовати у водоничној вези са водом. Са

друге стране, ароматични прстен и метил група које улазе у састав молекула парацетамола утичу на структуру околних молекула воде и чине парацетамол слабо растворним у води. Парацетамол је добро растворан у етанолу, метанолу и ацетону [15]. Нема значајно антиинфламаторно дејство па се стога одваја од групе аналгетика са антипиретичким и антиинфламаторним особинама (нестероидни антиинфламаторни лекови) [14] са којима у комбинацији успешније отклања болове [16], док је за јаке болове применљива комбинација парацетамола и опиодних аналгетика (нпр. кодеин) [17]. Управо због огромне употребе парацетамола, и као главне АФС и у комбинацији са другим аналгетцима, долази и до континуалног пораста парацетамола у животној средини што може имати врло негативан утицај [18].

Нестероидни антиинфламаторни лекови (НСАИЛ) (енг. Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs – NSAID) представљају посебну групу аналгетика са антипиретичким и антиинфламаторним особинама. Годишње се произведе преко килотоне структурно различитих НСАИЛ са сличним терапеутским и нежељеним дејствима [19] и у Србији је у употреби преко 15 различитих представника ове групе [20]. Због њихове широко распрострањене примене у области здравства и ветерине, ова група лекова у великој количини доспева у животну средину што због њихове перзистентности може неповољно утицати на живи свет и околину [19]. На Слици 1, су приказани неки од НСАИЛ.

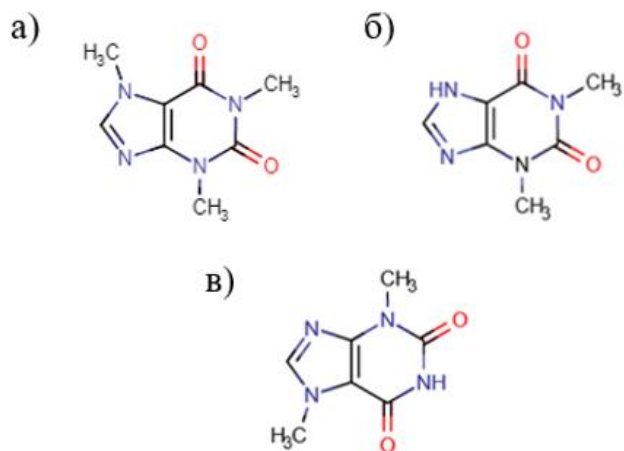


Слика 1. Структуре активних фармацеутских супстанци: а) парацетамол, б) ацетилсалицилна киселина, в) диклофенак и г) нимесулид.

Први представник НСАИЛ који је откривен средином 19-ог века **ацетилсалицилна киселина (АСК)** је и даље најчешће коришћен лек у примарној и секундарној превенцији кардиоваскуларних болести. Позната и под називом аспирин се користи као аналгетик, антипиретик и антиреуматик у облику таблета или капсула. За разлику од парацетамола има нежељена дејства ако се користи дуже време. То је бели кристални слабо кисели прах, делимично растворан у води и лако растворан у алкохолима [21], стабилан на сувом ваздуху док у присуству влаге брзо хидролизује на салицилну и ацетатну киселину [22]. С обзиром на обим употребе, АСК и ПАР доспевају на различите начине у околину и детектовани су у површинским, подземним и водама за пиће у 20 земаља света. Израженији пример је **диклофенак (ДИК)** који је детектован у дуплом већем броју земаља [23]. Диклофенак је слаба фенолсирћетна киселина (константа дисоцијације $pK_a = 4,51$), са фенолном и карбоксилном функционалном групом, Слика 1в. У

лековима се налази у облику натријумове или калијумове соли, при чему је калијум-диклофенак растворнији у води, док је сам диклофенак слабо растворан. Користи се у облику таблета или гела за смањење упала и ублажавања болова код артритиса. ДИК је једини лек из групе НСАИЛ који је ФДА одобрила за локалну примену код пацијената са остеоартритисом [24]. У широкој је употреби у ветеринарске сврхе и показало се да је јако токсичан за лешинаре [25]. Иако је у животној средини детектован у нижим концентрацијама, континуална употреба може изазвати акутне токсичне ефекте на живи свет кроз ланац исхране с обзиром да је диклофенак ендокрини дисруптор [26,27]. **Нимесулид (НИМ)** који се примењује орално или као гел наноси на кожу повећава ризик од хепатотоксичности у односу на друге НСАИЛ и не препоручује се његова употреба дуже од 2 недеље. Нимесулид такође спада у групу ендокриних дисруптора. НИМ је жута кристална чврста супстанца, Слика 1г, која је дериват металсулфонске киселине [28]. Растворан је у органским растварачима (метанолу, етанолу) док му је у води растворљивост зависи од рН [29]. Иако је почетком 2000-их година повучен из продаје у неким земљама ЕУ, због великог броја варијација хемијске структуре се показао као добар антиканцерогени лек [30].

Поред наведених активних супстанци веома често се у фармацеутским формулацијама као активне супстанце користе природни и синтетички алкалоиди. Алкалоиди представљају веома разноврсну групу и обично се дефинишу као базни азотни продукти биљака [31]. Још крајем 80-их година прошлог века је показано да се успешност лека може побољшати додатком **кофеина (КОФ)** [32]. Данас је кофеин највише коришћена супстанца у фармацеутским производима, прозводима за личну негу и као додатак храни и пићу [33]. Највећи природни извор кофеина поред зрна кафе и листова чаја је и биљка гуарана. Због присуства пиридинског и имидазоловог прстена у свом саставу кофеин се заједно са теофилином и теобромином сврстава у групу деривата пурина или ксантина [34]. У кафи и чају се налази **теофиллин (ТЕОФ)**, најчешће конзумирани лек за лечење астме [35], док је **теобромин (ТЕОБ)** састојак какаа, и нешто слабији стимуланс. ТЕОБ и ТЕОФ се називају и метилксантини због супституисаних метиленских функционалних група, Слика 2б и 2в [36].



Слика 2. Структура алкалоида: а) кофеин, б) теофиллин и в) теобромин.

1.2. Екстракција активних фармацеутских супстанци и параметри екстракције

С обзиром на веома различиту хемијску структуру и особине АФС, њихова анализа у реалним узорцима и издвајање из сложених матрикса, се изводе различитим традиционалним сепарационим техникама – течно-течном екстракцијом (енг. Liquid-Liquid Extractions – LLE) [7,37], екстракцијом на чврстој фази (енг. Solid Liquid Extractions – SLE) [7,38] као и адсорпцијом са активним угљем као адсорбенсом или његовим модификацијама [39,40].

Течно-течна екстракција спада међу најчешће коришћене сепарационе методе у којој се две немешљиве или делимично мешљиве течности доводе у контакт при чему се компоненте раздвајају на основу различитих растворљивости у фазама. С обзиром на циљ да се једна или више компонената издвоје од осталих из полазног раствора, успешност екстракције се може проценити на основу следећих параметара:

1. Коефицијент расподеле, K , је константа која представља однос концентрација анализата у две немешљиве фазе након успостављања равнотеже и дата је изразом:

$$K = \frac{C_1}{C_2} \quad (1)$$

где C_1 представља концентрацију поматране компоненте у фази 1, а C_2 концентрацију исте компоненте у фази 2 [41].

2. Сепарациони фактор, $\alpha_{i,j}$, се дефинише као однос коефицијената расподеле компоненти i и j из полазног раствора:

$$\alpha_{i,j} = \frac{K_i}{K_j} \quad (2)$$

где K_i представља коефицијент расподеле i -те компоненте, а K_j коефицијент расподеле j -те компоненте.

3. Селективност растварача, $S_{i,j}$, представља количник равнотежних концентрација компоненти i и j из полазног раствора:

$$S_{i,j} = \frac{C_i}{C_j} \quad (3)$$

где C_i означава равнотежну концентрацију i -те компоненте, а C_j концентрацију j -те компоненте при равнотжним условима.

4. Ефикасност екстракције, EE , представља ону количину компоненте екстраховане из полазног раствора у односу на количину у полазном раствору и дата је изразом:

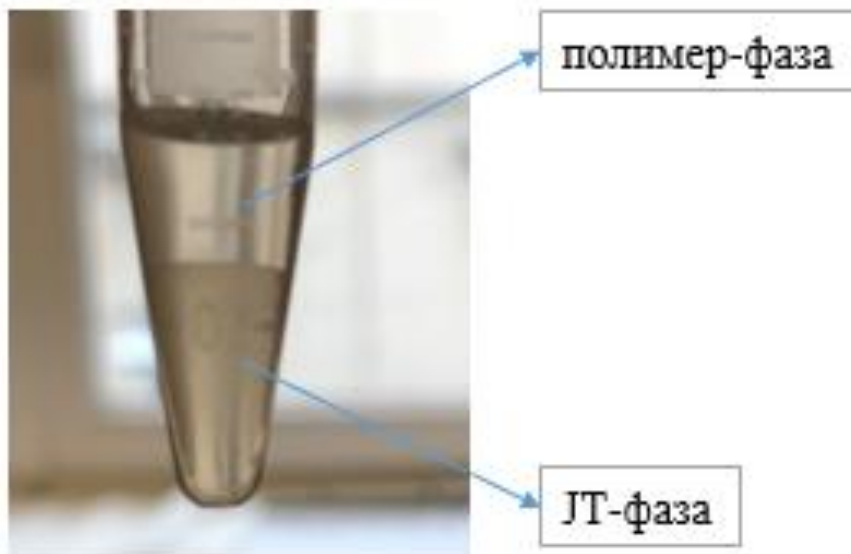
$$EE = \frac{K}{K+V} \quad (4)$$

где K означава коефицијент расподеле посматране компоненте, а V однос запремина фазе 2, V_2 , и фазе 1, V_1 .

Течно-течна екстракциона метода је теоријски и практично добро проучена и од посебног интереса у аналитици животне средине за издвајање пестицида и активних фармацеутских супстанци [42]. Недостатак класичних екстракционих метода се огледа у употреби знатних количина органских испарљивих и токсичних растварача, што није у складу са принципима зелене хемије. Главни циљ и изазов у области развоја и примена екстракционих метода је замена органских растварача тзв. зеленим растварачима [43]. Као алтернатива класичним методама екстракције и сепарације давно су се издвојили водени двофазни системи (ВДС) чији је огроман потенцијал и данас у фокусу научних истраживања [44].

1.3. Водени двофазни системи

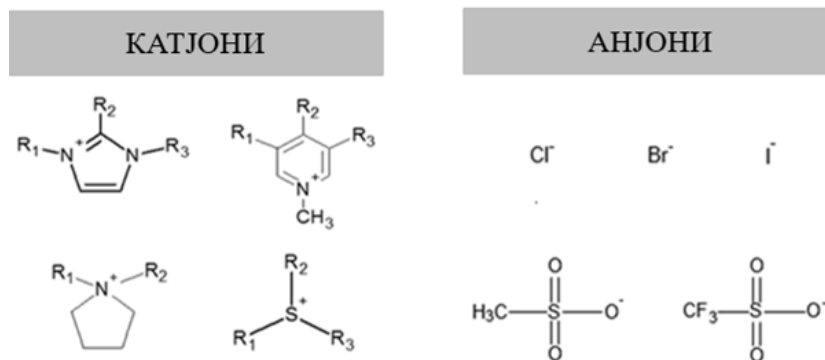
Појам водених двофазних система датира од краја 19. века али су прва истраживања везана за њих и њихову примену рађена педесетих година прошлог века када је принцип ВДС први пут предложен као алтернатива широко распрострањеној течно-течној екстракцији са органским испарљивим растварачима [45]. ВДС се може формирати комбинацијом водених раствора два полимера, две соли или полимера и соли при чему су оба конституента ВДС појединачно растворна у води. Мешањем њихових водених раствора, изнад одређене концентрације долази до раздвајања фаза при чему је једна фаза богата једном, а друга фаза другом компонентом [44]. Иако је фокус дуго био на полимер - полимер системима при екстракцији протеина и других биомолекула, њихова шира употреба је била ограничена с обзиром на узак распон поларности фаза који се могао постићи полимерима а самим тим и ограничене примене ВДС. Увођењем јонских течности (ЈТ) у концепт водених двофазних система, Слика 3, омогућен је даљи развој ове екстракционе методе који је подразумевао потпуно иновативни приступ традиционалним проблемима везаним за ВДС [46].



Слика 3. Пример воденог двофазног система полимер – јонска течност.

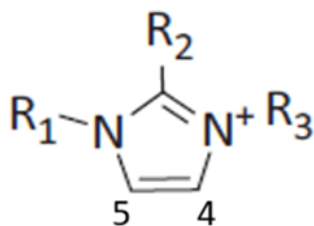
1.4. Јонске течности

Назив „јонске течности“ се први пут појављује 1914. године у раду руског научника Паула Валдена и управо из тог рада потиче дефиниција да су то органске соли чија је температура топљења испод 100 °C. Синтетисана ЈТ етиламонијум нитрат [47] иако у то време није нашла примену, данас се сматра почетком науке о јонским течностима. Тек 30 година касније долази до развоја прве генерације ЈТ које су због своје стабилности привукле пажњу научника из области електрохемије [48]. Токсичност и мања реактивност ЈТ прве генерације са хлороалуминантним анијоном је довела до развоја друге генерације почетком деведесетих година прошлог века. Јонске течности са алкилимидазолијум катјоном [49], због своје селективне растворљивости и ниске тачке топљења су највише испитиване. Њихова приметна токсичност је подстакла развој треће генерације са мање токсичним катјонима, као што су холинијум и квартерарни амонијум, и омогућила њихову потенцијалну примену у медицини и фармацији [7]. Јонске течности су углавном течне на собним температурама и састоје се од органског катјона и органског или неорганског анијона. Катјонски део јонских течности обично чине органски јони са позитивно наелектрисаним хетероатомом нпр. имидазолијум, пиридинијум, пиперидинијум, фосфонијум и холинијум катјони. Анијони који улазе у састав јонских течности могу бити неоргански и органски као што су халогениди, сулфати, сулфонати и др, Слика 4 [50]. Јонске течности се још називају дизајнерским растварачима јер се адекватним избором катјона и анијона (теоријски постоји $\sim 10^{18}$ комбинација ЈТ) њихове физикохемијске особине могу подесити [51]. Ниска температура топљења је последица њихових гломазних јона (органског катјона и органског или неорганског анијона) који не могу формирати правилну кристалну решетку. Називају се и зелени растварачи јер су неиспарљиве, незапаљиве, стабилне и поседују велику способност солватације за велики број растворка [52].



Слика 4. Хемијске структуре катјона и анијона најчешће коришћених јонских течности.

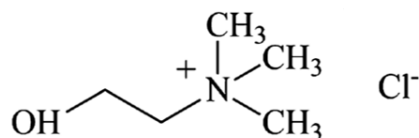
Од 90-их година прошлог века па све до данас, у литератури су највише испитане јонске течности које у својој структури имају 1,3-диалкил-имидазолијум катјон. Промена дужине алкилног низа на позицијама R_1 , R_2 и R_3 , Слика 5, у комбинацији са различитим анијонима омогућава синтезу ЈТ са одговарајућим карактеристикама.



Слика 5. 1,3-диалкил-имидазолијум катјон.

Карактеристика имидазолијумовог прстена је двострука веза између атома C_4 и C_5 и делокализовано наелектрисање између $N_1-C_2-N_3$. Успостављање водоничне везе је могуће преко водоника на положајима C_4 и C_5 као и преко метиленских и метил група на бочним ланцима. Ипак, главни односно најдоступнији донор водоничној вези јесте водоник на положају C_2 чије позитивно наелектрисање је последица дефицита електрона између $N_1-C_2-N_3$. Имидазолијумов прстен односно поларна глава у том смислу представља домен хидрофилних интеракција. Поред водоничних интеракција, Ван дер Валсове интеракције које се јављају између неполарни репови односно бочних алкил ланаца катјона и електростатичке интеракције између имидазолијумовог прстена и ањона су одговорне за структуру јонских течности [53]. Интеракције и симетрија ањона и катјона онемогућава густо паковање и формирање кристалне решетке што за последицу има ниску температуру топљења. Повећањем величине катјона односно дужине алкил ланца на катјону имидазолијума температура топљења се смањује. Такође је утврђено да повећањем дужине алкил ланца густина ЈТ опада, док вискозност расте [54].

Досадашња истраживања су показала да ЈТ на бази имидазолијума у комбинацији са халогенидима, сулфатима или сложенијим ањонима поседују одређен ниво токсичности, малу биоразградивост и високу цену што је утицало да се фокус усмери на синтезу нових ЈТ употребом биолошки компатибилних полазних компоненти. Посебно су се издвојиле ЈТ са холинијумским катјоном. Као полазне компоненте у синтези најчешће се користе холинијум хлорид, Слика 6, и холинијум хидроксид који су економски исплативији и чине синтезу јонских течности релативно једноставном [55].



Слика 6. Структура холинијум хлорида.

Холинијум је безбедан по животну средину и здравље људи и велики број ЈТ са холинијумским катјоном су се показале као бенигне и попутно нетоксичне [56–58]. Холинијум поред кватернерне амонијум групе садржи и хидроксилну групу која обично утиче на смањење токсичности. Свакако треба имати у виду да нису све ЈТ на бази холина нетоксичне и да повећање дужине ланца ањона и присуство вишеструких ковалентних веза значајно повећава токсичност [46,58].

Јединствене карактеристике јонских течности чине их идеалним кандидатима за примену у различитим областима као што су сепарациони процеси [44,59], електрохемији [60], фармацији [61], аналитичкој хемији, заштити животне средине, науке о материјалима, хемијске синтезе и катализа, итд [50].

1.5. Водени двофазни системи засновани на јонским течностима и њихова примена у сепарационим процесима за издвајање активних супстанци

Због наведених карактеристика ЈТ, значајни фокус у последњих 10 година је на развоју водених двофазних система са јонским течностима. Огромна предност ВДС са ЈТ са аспекта зелене хемије је што масени удео воде у обе фазе веома висок тако да се оне састоје претежно од воде затим од неиспарљивих и нетоксичних конституената. ВДС са ЈТ се могу формирати комбинацијом водених раствора ЈТ са воденим растворима бројних других једињења (неорганских и органских соли, аминокиселина, угљених хидрата и полимера) изнад одређене концентрације [44].

2003. године Роџерс и сарадници су први пут ЈТ увели у концепт ВДС мешањем 1-бутил-3-метил-имидазолијумум хлорида са калијум фосфатом. Показано је да додатком воденог раствора соли у водени раствор ЈТ долази до формирања две фазе. У великом распону концентрација компонената, горња фаза је богата јонском течношћу, док се у доњој фази налази со. Са повећањем концентрације соли, концентрација ЈТ у горњој фази се повећава а концентрација соли се смањује [62]. У воденом раствору ЈТ њени јони су окружени молекулима воде (процес познат као јонска хидратација). При додатку соли, почиње надметање јона за молекуле растварача односно молекуле воде. С обзиром да неоргански јони имају већи афинитет према води, формирају хидратациони комплекс и доводе до дехидратације ЈТ. Смањена растворљивост ЈТ доводи до формирања две фазе [63]. Повећање алкилног ланца на катјону повећава хидрофобност ЈТ а самим тим и мањи афинитет према молекулима воде и лакше изољавање од стране соли [64]. Такође и природа анијона ЈТ утиче на способност формирања ВДС и она расте како опада афинитет анијона према води односно да награди водоничну везу [65].

Ови системи се интензивно испитују за екстракцију многих биолошких једињења (протеина, ензима, природних продуката, итд) јер представљају знатно бенигнију средину у односу на класичне органске раствараче. Такође, ВДС са ЈТ представљају знатно погоднију алтернативу јер се адекватним избором ЈТ (односно одговарајућом комбинацијом анијона и катјона), друге компоненте ВДС и релативно једноставном манипулацијом састава система могу подесити карактеристике фаза ВДС тако да се постигне добра селективност и висока ефикасност при издвајању једињења од интереса [44].

Нижа цена и нетоксичност ЈТ које као катјон имају амонијум [66], са различитом дужином бочних ланаца и хлоридом и бромидом као анијоном у системима са неорганским солима су испитане за екстракцију парацетамола. За ВДС са тетрабутиламонијум бромидом и калијум цитратом постигнута је ефикасност екстракције парацетамола од око 80%. Због своје мале поларности, парацетамол увек тежи ка хидрофобнијој фази односно ЈТ-фази у овом случају [5]. Слично понашање је примећено и код ибупрофена, који је мало мање хидрофобан у односу на парацетамол. У ВДС тетрабутиламонијум хлорида и цитратног пуфера ибупрофен се екстрахује у хидрофобнију фазу, ЈТ-фазу, са ефикасношћу од 90%. ВДС састављен од ЈТ са простим анијоном и нетоксичним цитратним пуфером смањује оперативне трошкове, у складу је са принципима зелене хемије и може бити применљив за екстракцију ибупрофена из фармацеутског отпада [67].

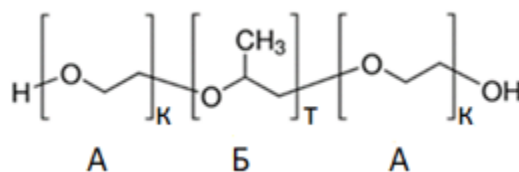
Фреире и сарадници су први испитали могућност формирања ВДС на бази холинијумских ЈТ и неорганских соли. Показано је да додатком соли велике густине наелектрисања као што је калијум-фосфат, неке холинијумске ЈТ бивају изољене, док неке не формирају ВДС. ЈТ са великим бројем ОН група лакше формирају хидратационе комплексе са водом и самим тим нису довољно хидрофобне да би биле изољене од стране неорганске соли. Са друге стране са повећањем дужине ланца расте хидрофобност јонских течности односно способност формирања ВДС [55]. За разлику од система са неорганским солима, холинијумске ЈТ у комбинацији са полимерима, полиетилен гликолом (ПЕГ) и полипропилен гликолом (ППГ) нижих молекулских

маса, се понашају као исољивачи. Резултати су показали да ефекат исољавања није ипак толико доминантан приликом формирања ВДС са холинијумским соли и полимерима, и да су могуће различите специфичне интеракције између постојећих врста (јон-јон, јон-вода, јон-полимер и вода-полимер) са акцентом на водоничне интеракције између анјона ЈТ и хидроксилних група полимера, одговорне за настајање ВДС. Ипак код холинијумских соли са вишим тачкама топљења солватација анјона има најзначајнију улогу приликом раздвајања фаза [68]. Након карактеризације водених двофазних система холинијумских соли и ПЕГ, Фреира и сарадници су испитали исте ВДС за екстракцију кофеина, теофилина и теобромина из водених раствора. Наведени алкалоиди су коришћени као модел молекули за карактеризацију релативне хидрофобности/хидрофилности фаза. Показано је да кофеин, молекул који је неутралан у широком опсегу рН вредности и који је благо хидрофилан, увек мигрира у фазу богату полимером. Може се закључити да расподела кофеина зависи од релативне хидрофобности фаза у равнотежи и да се он може користити као индикатор хидрофобности фаза [69]. Посебно дизајниране биокомпатибилне и нетоксичне ЈТ на бази холинијума у комбинацији са полимером полипропилен гликолом (моларне масе 400 g mol^{-1}) (ППГ400) су испитане за валоризацију корисних биоактивних једињења из енергетских пића. Применом ВДС на бази холинијум никотината екстрахована је смеша алкалоида са ефикасношћу већим од 82% док је помоћу ВДС на бази холинијум дихидрогенфосфата издвојен кофеин из смеше алкалоида у полимер фазу. На основу добијених резултата А. Димитријевић и сарадници су предложили интегрисани процес за издвајање једињења од интереса из испитиваног реалног узорка [70].

Водени двофазни системи састављени од јонских течности и соли или јонских течности и полимера су у великој мери испитани последњих година. Поред интеракција које су одговорне за формирање две фазе, ови системи су испитани и за екстракцију биоактивних молекула и фармацеутика [46]. Са друге стране, кополимери су од скора уведени у концепт истраживања и примене водених двофазних система са јонским течностима [71].

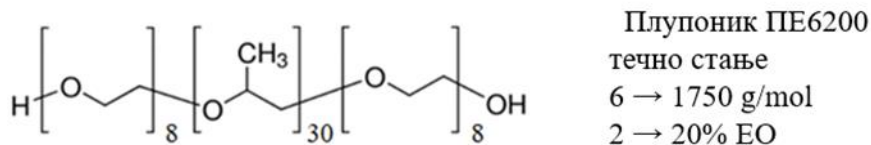
1.6. Триблок кополимери

Блок кополимери су полимери који поседују два или више блокова (сегмената) унутар главног ланца. Уколико садрже две мономерне јединице могу се према својој структури класификовати као АБ тип диблок, АБА или БАБ триблок, а додатком трећег сегмента могу бити АБЦ или БАЦ [72]. Међу блок кополимерима, линеарни амфифилни триблок кополимери типа АБА или БАБ, где А представља растворни а Б нерастворни блок полимер у избраном растварачу су од посебног значаја у фармацији [73]. Амфифилни блок кополимери типа АБА имају велику разлику у растворљивости хидрофилних (нпр. полиетилен гликол) и хидрофобних (нпр. полипропилен гликол) сегмената и у воденој средини се могу само-организовати у сферне полимерне структуре – мицеле [74]. Комерцијално доступни амфифилни кополимери под називом плуроник (немачког произвођача- BASF) или полуксамери (енглеског произвођача- ICI), настају ковалентним везивањем два хидрофилна етилен оксида (ЕО) и хидрофобног пропилен оксида (ПО) распоређених у триблок структуру, $(EO)_K-(PO)_T-(EO)_K$, где К и Т представљају број мономерних јединица одговарајућег сегмента, Слика 7 [75].



Слика 7. Структура триблок кополимера типа АБА.

Карактеристика плуроника је критична мицеларна концентрација (КМК) испод које се понашају као мономери док изнад КМК долази до формирања мицела. Грађење мицела зависи од интеракција ПО блокова, који заузимају централни део мицеле окружен ланцима ЕО. Формирање мицела је нарочито карактеристично за све блок кополимере који имају концентрацију ЕО преко 30% и који се налазе на собној температури [76]. Поред амфифилне природе, основни разлог интересовања за такве врсте блок полимера је њихов термосензитивни реверзибилни сол-гел прелаз [73,77]. Комерцијално су доступни кополимери са различитим молекулских масама као и различитим садржајем ЕО и ПО јединица. Номенклатура плуроника типа ПЕ се заснива на томе да је прва цифра ознака за моларну масу ПО на скали од 1-10, док је друга цифра проценат ПО у молекулу, подељен за 10. Пример тога је плуроник типа ПЕ6200, Слика 8 [78].



Слика 8. Плуроник ПЕ6200.

Плуроник ПЕ6200 (познат и као полуксамер 182), структурне формуле $(EO)_8-(PO)_{30}-(EO)_8$, и многи други плуроници су одобрени од стране светских агенција за храну и лекове, као што је FDA [79]. Генерално су нетоксични [80] и могу се примењивати као солубилизатори, стабилизатори, давати оралним и локалним путем [81]. Због све наведеног користе се у индустрији хране, у козметичким производима и у фармацији за дозирање лекова [82].

1.7. Водени двофазни системи са триблок кополимерима

Примена триблок кополимера у сепарационој хемији односно у ВДС за екстракцију разних биоактивних једињења, фармаколошких супстанци, природних једињења итд. је прилично обећавајућа. Нарочито су атрактивни јер се њихове физичкохемијске особине се могу релативно лако контролисати бројем мономерних јединица и њихове молекулске тежине приликом синтезе. Погодни су за обраду и могућност добијања различитих структура што додатно доприноси дизајнерској природи и подешавању карактеристика ВДС [83].

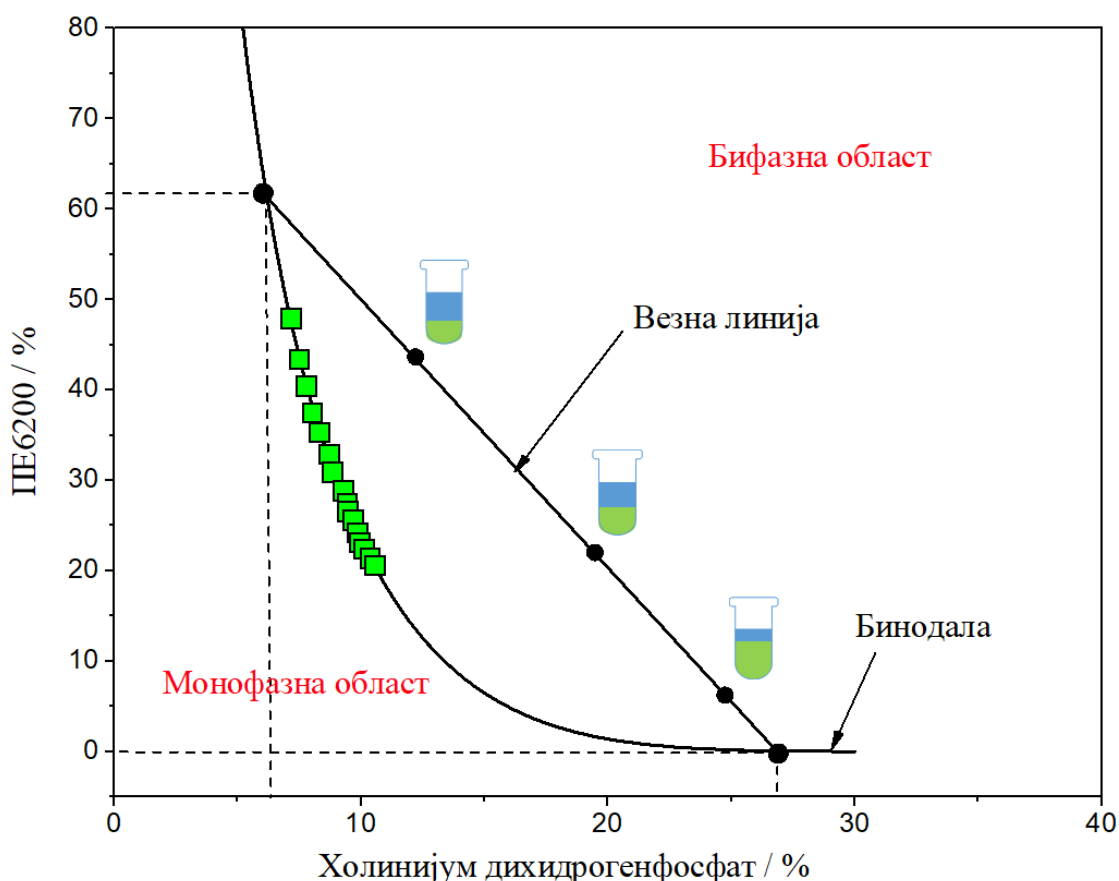
Водени двофазни системи сачињени од (ко)полимера као што су ПЕГ1500 ($M=1500 \text{ g mol}^{-1}$), Л64 ($M=2900 \text{ g mol}^{-1}$) или Л35 ($M=1900 \text{ g mol}^{-1}$) и различитих неорганских соли су испитани за одређивање парацетамола и ибупрофена у узорцима воде за пиће, површинске воде и филтриране воде из постројења за прераду отпадних вода [84]. Показано је да за ВДС Л35 + Na_2SO_4 парацетамол и ибупрофен и имају највећу вредност коефицијента расподеле. Након тога је испитан утицај соли и показано да највеће вредности коефицијента расподеле дају системи са магнезијум сулфатом, што је у складу са афинитетом сулфатног анјон ка молекулима воде односно јачини ефекта изољавања. Највећа вредност коефицијента расподеле ибупрофена је постигнута за систем Л35 + MgSO_4 + H_2O при $\text{pH}=6$ док је са парацетамол за исти систем постигнута при $\text{pH}=10$. Коефицијент расподеле ибупрофена расте повећањем температуре и највећу вредност постиже када је однос масе горње и доње фазе 3:1. Са друге стране код парацетамола коефицијент расподеле максималан када су масе горње и доње фазе једнаке и вредност опада са порастом температуре [84].

Комплексна структура и особина триблок кополимера да су термосензитивни, односно да њихово фазно понашање зависи од температуре (на нижим температурама су растворљиви у води, док грејањем долази до формирања две фазе) утичу на формирање ВДС како са солима [85], тако и са јонским течностима [86].

1.8. Фазни дијаграми

Неопходне количине компонената фаза за формирање ВДС се одређују из равнотежних података који су приказани на фазном дијаграму течно-течне равнотеже који је карактеристичан и јединствен за одређени ВДС при датим условима (температура, рН и концентрације соли). Фазни дијаграми се обично приказују у ортогоналној пројекцији изостављањем воде, ради лакшег приказа и поређења [44]. На слици 9, је приказан пример фазног дијаграма за ВДС на бази холинијум дихидрогенфосфата и плуроника ПЕ6200 на коме су приказане све битне компоненте које фазни дијаграм треба да садржи:

- **бинодала** односно граница између монофазне (област испод криве) и двофазне (област изнад криве) области
- **везна линија** која спаја две тачке на бинодали чије су координате процентуални састави компонената у горњој и доњој фази.



Слика 9. Фазни дијаграм за ВДС ПЕ6200 + холинијум дихидрогенфосфат + вода.

Са фазног дијаграма се могу очитати подаци о потребној концентрацији компонената за формирање две фазе, саставу горње и доње фазе као и однос запремина фаза. Дуж једне везне линије, састав фаза остаје непромењен али се укупни састав смеше ВДС разликује као и однос запремина фаза. Такође, на основу бинодалних крива односно фазних дијаграма за ВДС се може проценити способност соли или јонских течности да индукују појаву две фазе у воденим растворима кополимера. Што ЈТ или со има већи афинитет према молекулима воде то ће положај бинодале бити ближи координатним осама односно област у којој егзистирају две фазе биће већа.

Експериментално одређене тачке бинодале односно концентрације при којима долази до замућења раствора се фитују помоћу Мерчукове тропараметарске једначине :

$$Y=A \exp[(BX^{0.5}) - (CX^3)] \quad (5)$$

где Y представља масени удео кополимера, а X масени удео неорганске соли или ЈТ, а A, B и C су параметри једначине [46,87].

Везне линије се одређују решавањем система од четири једначине са четири непознате (једначине 6 - 9) чиме се добија процентни састав раствора горње и доње фазе:

$$Y_{\text{плуроник}} = A \exp[(BX_{\text{плуроник}}^{0.5}) - (CX_{\text{плуроник}}^3)] \quad (6)$$

$$Y_{\text{плуроник}} = A \exp[(BX_{\text{ЈТ}}^{0.5}) - (CX_{\text{ЈТ}}^3)] \quad (7)$$

$$Y_{\text{плуроник}} = \left(\frac{Y_M}{\alpha}\right) - \left(\frac{(1-\alpha)}{\alpha}\right) Y_{\text{ЈТ}} \quad (8)$$

$$X_{\text{плуроник}} = \left(\frac{X_M}{\alpha}\right) - \left(\frac{(1-\alpha)}{\alpha}\right) X_{\text{ЈТ}} \quad (9)$$

$$\alpha = \frac{m_{\text{плуроник}}}{m_M} \quad (10)$$

где је Y масени удео кополимера, а X масени удео јонске течности. A, B и C су параметри Мерчукове једначине, индекс плуроник се односи на фазу богату кополимером, ЈТ на фазу богату јонском течношћу, M на смешу и α однос маса горње фазе (плуроник фазе) и смеше [87]. Након што се израчунају састави горње и доње фазе, дужина везне линије (ДВЛ) која представља корисни параметар за увид у релативну расподелу компонената између две водене фазе у равнотежи се рачуна према једначини:

$$\text{ДВЛ} = \sqrt{(X_{\text{плуроник}} - X_{\text{ЈТ}})^2 + (Y_{\text{плуроник}} - Y_{\text{ЈТ}})^2} \quad (11)$$

[87,88].

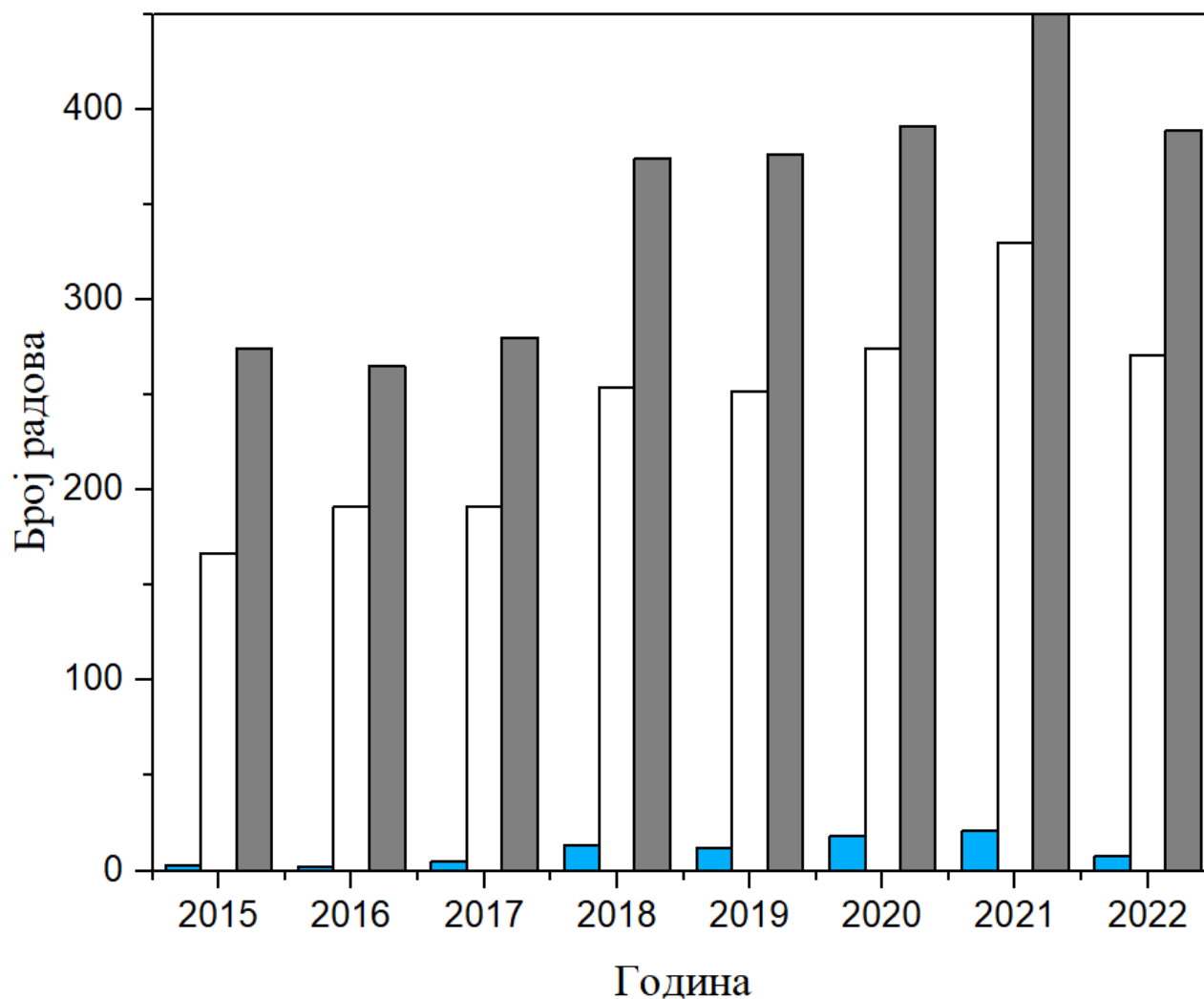
1.9. Водени двофазни системи јонских течности и кополимера и њихова примена

С обзиром на комплексну структуру, унутрашње интеракције датих сегмената и самоорганизацију, интеракција триблок кополимера са ЈТ односно механизам формирања кополимер + ЈТ ВДС је знатно сложенији у односу на со + ЈТ и полимер + ЈТ ВДС [86].

Силва и сарадници [89] су испитали ВДС са плуроником Л35 и ЈТ на бази холинијума са различитим ањонима и њихову примену за екстракцију наргина и рутина, два структурно слична флавоноида, из водених раствора. Након што су одређени параметри екстракције, концептуално је приказан процес за екстракцију и сепарацију ова два једињења. Раздвајање је постигнуто у два корака. У првом кораку се оба једињења екстрахују помоћу Л35/ натријум сулфат ВДС, затим се врши њихово раздвајање применом селективнијег Л35/ холинијум бикарбонат ВДС. У том систему при рН од 6,5 до 9, наргин је присутан у неутралном облику и прелази у фазу богату полимером, док је рутин у тој рН области наелектрисан и мигрира у фазу богату јонском течношћу. У случају када се користе холинијум дихидрогенфосфат и холинијум дихидрогенцитрат, рН ~ 5, оба једињења су у неутралном облику и теже ка плуроник-фази. Дакле, правиан избор структуре ЈТ односно комбинације ањона и катјона може бити одлучујући за екстракцију и сепарацију сличних једињења.

Различите холинијумске јонске течности и плуроник Ф68 ($M = 8400 \text{ g mol}^{-1}$), структурне формуле $(EO)_{76}(PO)_{29}(EO)_{76}$, су испитани за екстракцију куркумина, природног фенола који спада у групу куркуминоида. На примеру куркумина, који је растворан у води, је испитана екстракција хидрофобних биоактивних молекула. Показано је да је куркумин стабилан при рН=6 и температури од 30°C и да са повећањем ових параметара његова стабилност опада. Код наведених ВДС са повећањем удела јонске течности долази до промене интеракција у систему и потребна је нижа температура за раздвајање фаза (двофазна област се повећава) чиме се обезбеђују адекватнији оперативни услови и бољи приноси екстракције термално нестабилних молекула као што је куркумин. Испитиване ЈТ са дужим алкилним ланцем (холинијум хексаноат и холинијум бутаноат) најлакше формирају ВДС са плуроником Ф68. С обзиром да се повећањем дужине алкилног ланца повећава хидрофобност ЈТ тиме се снижава температура на којој долази до замућења односно долази до ефикаснијег формирања ВДС. Куркумин, као хидрофобан молекул, интерагује са хидрофобним сегментима плуроника и из тог разлога тежи ка плуроник-фази. Применом ВДС са холинијум хексаноатом и плуроником Ф68 постигнута је ефикасност екстракције куркумина из реалног узорка (биљке куркуме) од 92%. Куркумин се помоћу овог система издваја од хидрофилних компонената који прелазе у ЈТ-фазу. Показано је и да је овај систем ефикасан за одвајање куркуминоида сличних структура, нпр. одвајање куркумина од бисдеметоксикуркумина, који нема две метокси функционалне групе на ароматичним прстенима у односу на куркумин [90].

ВДС на бази триблок кополимера до сада су веома мало истражени у литератури у односу на ВДС на бази ЈТ. Веома мали број радова, и то углавном у последњих 5 година се бави системима јонских течности и кополимера плуроника, као што је приказано на Слици 10.



Слика 10. Број публикација за период од 2015-2022 године са наведеним кључним речима на енглеском језику: (*aqueous biphasic systems* или *aqueous two-phase systems*, и *ionic liquids*) - **сива**, (*aqueous biphasic systems* или *aqueous two-phase systems*, и *ionic liquids* и *polymer*) - **бела** (*aqueous biphasic systems* или *aqueous two-phase systems*, и *ionic liquids*, и *poloxamer* или *pluronic*) – **светло плава**. Подаци преузети са <https://www.scopus.com>

Литерални подаци говоре да формирање ВДС на бази ЈТ кополимера није само последица способности конституената да формирају хидратациони комплекс, већ велику улогу имају и специфичне интеракције (водоничних веза и ван дер Валсових интеракција) које највише зависе од њихове структуре. Стога је за примену ових система у сепарационим процесима, неопходно испитати механизме односно интеракције које су одговорне за формирање фаза и раздвајање једињења од интереса.

1.10. Циљ рада

Активне супстанце из многих фармацеутских формулација остају у стабилном стању веома дуго након истека рока трајања производа. С обзиром на доступност и широку употребу аналгетских формулација, развој одрживог интегрисаног процеса екстракције за њихову ефикасну изолацију може бити од великог интереса са аспекта циркуларне економије и зелене хемије.

Циљ докторске дисертације је да се испита, развије и оптимизује течно-течна сепарациона метода заснована на воденим двофазним системима са нетоксичним и бикомпатабилним конституентима односно зеленим растварачима – јонским течностима или солима и триблок кополимерима. Наведена метода је испитана за изолацију најчешће коришћених активних аналгетских једињења (парацетамола, кофеина, нимесулида, ацетилсалицилне киселине и диклофенака).

Први део рада је посвећен испитивању утицаја соли или јонских течности, са различитим катјонима (имидазолијум, холинијум) и ањонима (дихидрогенфосфат, лактат, пропаноат, бутаноат, ацетат, битартарат, дихидрогенцитрат и хлорид), и триблок кополимера (плуроник ПЕ6200). Најпре су одређени фазни дијаграми за појединачне системе (ПЕ6200 + ЈТ или со + H_2O) и испитан утицај структуре конституената на формирање ВДС. Одређивање параметара ВДС односно везних линија у саставу фазних дијаграма је од изузетне важности за каснију оптимизацију процеса екстракције са аспекта избора најадекватнијих оперативних параметара. Испитани су и дискутовани механизми формирања ВДС који су одговорни за раздвајање фаза код система са кополимером.

Затим је испитана способност ВДС да екстрахују активна једињења из водених раствора, одређивањем различитих екстракционих параметара (ефикасност екстракције, коефицијент екстракције и селективост). Одабране активне супстанце припадају различитим класама хемијских једињења и поседују различите физикохемијске особине и широк опсег хидрофилности/хидрофобности. Такође, одређена је и растворљивост испитиваних једињења у одабраним плуронцима, и смешама плуроник + вода. Након избора најефикаснијег екстракционог система, урађена је његова оптимизација односно одређени најоптималнији параметри за примену ВДС приликом екстракције једињења из реалних узорака што је следећи корак истраживања. Испитивање и оптимизација сваког појединачног корака је врло важна како би се на крају ефикасно изоловала супстанца од значаја, у одговарајућем облику и са задовољавајућом селективношћу. Као крајњи циљ биће предложена интегрисана метода заснована на ВДС на бази соли или ЈТ и плуроника, за изолацију одабраних аналгетика у складу са принципима зелене хемије и одрживог развоја што би значајно допринело концепту валоризације фармацеутског отпада.

2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

2.1. Коришћене хемикалије и раствори

Хемикалије коришћене током експерименталног рада наведене су у Табели 1. Обзиром на гарантовану чистоћу од стране произвођача, хемикалије су коришћене у свим експериментима без даљег пречишћавања. Водени раствори су припремани са ултрачистом дејонизованом водом.

Табела 1. Хемикалије коришћене у експерименталном раду.

Назив хемикалије	Произвођач	Чистоћа
<i>Синтеза јонских течности</i>		
Пропионска киселина	Sigma Aldrich (САД)	$\geq 0,98$
Бутаноинска киселина	Sigma Aldrich (САД)	$\geq 0,98$
Лактинска киселина	Riedel-de-Haën (Немачка)	$\geq 0,98$
Холинијум хидроксид	Sigma Aldrich (САД)	$\geq 0,98$
<i>Одређивање фазних дијаграма</i>		
Плуроник ПЕ6200	BASF (Немачка)	
Холинијум хлорид	Sigma Aldrich (САД)	$\geq 0,98$
Холинијум дихидрогенцитрат	Sigma Aldrich (САД)	$\geq 0,99$
Холинијум битартарат	Sigma Aldrich (САД)	$\geq 0,98$
Холинијум ацетат	Iolitec (Немачка)	$\geq 0,98$
Холинијум дихидрогенфосфат	Iolitec (Немачка)	$\geq 0,99$
1-бутил-3-метил имидазолијум хлорид	Sigma Aldrich (САД)	$\geq 0,99$
Натријум цитрат	Sigma Aldrich (САД)	$\geq 0,99$
<i>Екстракција</i>		
Кофеин	Sigma Aldrich (САД)	$\geq 0,99$
Теобромин	Sigma Aldrich (САД)	$\geq 0,99$
Теофилин	Sigma Aldrich (САД)	$\geq 0,99$
Никотин	Sigma Aldrich (САД)	$\geq 0,99$
Парацетамол	Sigma Aldrich (САД)	$\geq 0,99$
Нимесулид	Sigma Aldrich (САД)	$\geq 0,99$
Ацетилсалицилна киселина	Sigma Aldrich (САД)	$\geq 0,99$
Диклофенак	Sigma Aldrich (САД)	$\geq 0,98$
<i>Остале хемикалије</i>		
Метанол	Across Organic (САД)	$\geq 0,99$
Сирћетна киселина	Across Organic (САД)	$\geq 0,99$

Етанол	Acros Organic (САД)	$\geq 0,99$
Ацетонитрил	Honeywell (Немачка)	$\geq 0,99$
Ортофосфорна киселина	Fisher Chemical (САД)	$\geq 0,85$
Лимунска киселина	Across Organic (САД)	$\geq 0,99$

2.2. Процедуре и апаратуре

2.2.1. Синтеза и карактеризација синтетисаних јонских течности

Холинијумске јонске течности (холинијум пропионат, [Ch][Pro]; холинијум лактат, [Ch][Lac] и холинијум бутаноат, [Ch][But]) су синтетисане додавањем одговарајуће киселине (пропионске, лактинске и бутаноинске) у раствор холинијум хидроксида у еквимоларном односу уз константно мешање у присуству N_2 . Затим је смеша мешана уз рефлукс на $60\text{ }^\circ\text{C}$ током 12 сати у атмосфери N_2 . Структуре синтетисаних ЈТ су потврђене помоћу инфрацрвене спектроскопије са Фуријеовом трансформацијом (ФТИЦ) (енг. Fourier-Transform Infrared spectroscopy – FTIR). Том приликом је коришћен ATR FTIR NICOLET iS5 спектрометар, Слика 11, са DTGS детектором. Спектри су снимани у области од 4000 cm^{-1} до 500 cm^{-1} са интервалом од 1 cm^{-1} , резолуције 4 cm^{-1} . Идентификација пикова је извршена помоћу OMNIC програма.



Слика 11. ATR FTIR NICOLET iS5 спектрометар.

2.3. Одређивање фазних дијаграма, везних линија и састава водених двофазних система

2.3.1. Одређивање фазних дијаграма водених двофазних система

Фазни дијаграми течно-течне равнотеже за све испитиване системе (ПЕ6200 + ЈТ или со + H_2O) су одређени применом визуелне методе титрације до тачке замућења (енг. cloud-point titration method) на собној температури (25 ± 1 °C) и атмосферском притиску (0,1 МПа) [62][91][92]. Водени раствор јонске течности или соли (~ 60%) додаван је кап по кап у водени раствор плуроника ПЕ6200 (~ 50%) до појаве замућења. Након сваког додатка ЈТ или соли смеша је интензивно промешана на вортексу (Reax Top, Heidolph, Germany) при брзини од 2500 rpm и маса добијеног раствора измерена на аналитичкој ваги. Затим је у замућени раствор додавана кап по кап вода уз мућкање док се раствор није разбистрио (монофазна област) и поново измерена маса раствора. Понављањем поступка је добијено довољно тачака да се формира бинодална крива. На основу измерених маса прорачунати су масени удели након сваког корака за све компоненте смеше. Све смеше су прављене гравиметријски коришћењем аналитичке ваге са прецизношћу од $1 \cdot 10^{-4}$ g, Слика 12. Неодређеност масених удела је $u(100 \cdot y) = u(100 \cdot x) = 0,062$ (где су y и x масени удели ПЕ6200 и соли, редом), неодређеност температуре $u(T) = 1$ °C, док је релативна неодређеност притиска $u_r(p) = 1,5\%$.



Слика 12. Аналитичка вага KERN ADJ 210-4.

2.3.2. Одређивање везних линија и састава фаза водених двофазних система

Када су као друга компонента ВДС поред ПЕ6200 коришћене холинијумске соли, фитовање бинодала није урађено помоћу опште прихваћене Мерчукове једначине која у овом случају није дала задовољавајуће вредности регресионих параметара па су састави фаза односно везне линије одређени аналитички. Поступак се састојао у томе да су у епрувети направљене смеше познатог састава укупне масе 1 g чије координате леже у области изнад бинодале. Затим су смеше промешане на вортексу, остављене да се уравнотеже у периоду од 24 сата и након тога раздвојене и измерене су им масе. Након тога је узето по 50 mg од обе фазе и разблажено са дејонизованом водом. За већину холинијумских соли, садржај у горњој и доњој фази је одређен јонском хроматографијом. Коришћен је уређај 861 Advanced Compact IC (Metrohm, Switzerland), Слика 13, са саморегенеришућим супресором анјона, кондуктометријским детектором, запремине узорка 100 μL , са колоном Metrosep A supp 5 (100 mm \times 4 mm), састава поливинил алкохол са квартарним амонијумским групама и величине честица 5 μm . Мобилна фаза која је коришћена се састојала од 3,2 mmol dm⁻¹ раствора Na₂CO₃ и 1 mmol dm⁻³ раствор NaHCO₃ и протоком од 0,7 mL min⁻¹.



Слика 13. Уређај 861 Advanced Compact IC за јонску хроматографију.

[Ch][DHCit] је квантитативно су одређен УВ спектроскопијом коришћењем спектрофотометра са кварцном ћелијом, Слика 14. Укратко, 100 mg одговарајуће фазе је разблажено дејонизованом водом до 10 mL, а затим је тај раствор помешан у односу 1:1 са 0,25 mol dm⁻³ HCl да би се

апсорпциони максимум, који је широк и јавља се око 200 nm, померио ка већим таласним дужинама и био уочљивији. Додатак киселине помера дисоцијацију цитрата ка мање дисоцираним врстама. Садржај воде је одређен сушењем одговарајуће количине сваке фазе на 70 °C уз стално мешање док се маса није усталила. Количина кополимера је добијена на основу разлике укупне масе смеше и збира маса соли и воде.

Када су као компоненте ВДС коришћене соли или имидазолијумове ЈТ фитовање бинодала је урађено помоћу општеприхваћене Мерчукове једначине (једначина 5) и регресиони параметри одређени помоћу програма OriginPro 16. Везне линије су одређене решавањем система од четири једначине са четири непознате (једначине 6 – 9) помоћу програма MathCad 15.

pH вредности водених двофазних система су одређене помоћу Orion Star A111 pH Benchtop Meter на (25 ± 1) °C са прецизношћу од 0,01. Калибрација инструмента је извршена пре сваког мерења помоћу два стандардна раствора pH вредности 7,00 и 4,01.



Слика 14. Спектрофотометар LLG-uniSPEC 2.

2.4. Екстракција

2.4.1. Екстракција алкалоида

За екстракцију алкалоида прво је одређен састав трокомпонентне смеше у бифазној области фазног дијаграма и то: 30% ПЕ6200 + 25% холинијумских соли + 45% воденог раствора алкалоида. Смеше су припремљене у епруветама укупне масе 1 g одмеравањем одређене масе ПЕ6200 и ЈТ у коју је додат водени раствор алкалоида познате концентрације: $4,28 \text{ mmol dm}^{-3}$ за никотин, $2,67 \text{ mmol dm}^{-3}$ за кофеин, $2,80 \text{ mmol dm}^{-3}$ за теофилин и $1,64 \text{ mmol dm}^{-3}$ за теобромин. Смеше су измешане помоћу вортекса при брзини обртаја од 2500 rpm и остављене 12 сати на 25 °C да се фазе раздвоје. Након одвајања, фазе су измерене, разблажене и садржај је одређен аналитички коришћењем УВ спектрофотометра методом стандардне криве. За конструисање стандардне или калибрационе криве припремљени су стандардни раствори кофеина, никотина, теобромина и теофилина у концентрационом опсегу у којем је очекивана њихова концентрација у узорцима. Одређене количине стандардних раствора су пипетиране у нормалне судове од 10 mL и допуњене ултрачистом водом чиме су добијени стандардни раствори концентрација 1, 10, 25, 50 и 80 mg L⁻¹. Апсорбанца је читавана на одговарајућим таласним дужинама на којима је интезитет апсорпције алкалоида максималан, Табела 2, и конструисана калибрациона крива. Након тога су измерене апсорбанције алкалоида у горњој и доњој фази и методом интерполације са калибрационе криве очитане њихове концентрације.

Табела 2. Таласне дужине на којима алкалоиди максимално апсорбију зрачење.

Алкалоид	Таласна дужина / nm
Кофеин	272
Теофилин	270
Теобромин	272
Никотин	259

Коефицијент расподеле је рачунат према једначини:

$$K = \frac{[\text{Алкалоид}]_{\text{ПЕ6200-фаза}}}{[\text{Алкалоид}]_{\text{ЈТ-фаза}}} \quad (12)$$

где $[\text{Алкалоид}]_{\text{ПЕ6200-фаза}}$ и $[\text{Алкалоид}]_{\text{ЈТ-фаза}}$ представљају концентрације алкалоида у ПЕ6200 и ЈТ фази. На основу коефицијента расподеле израчуната је селективност помоћу једначине:

$$S_{\text{АЛК/НИК}} = \frac{K_{\text{АЛК}}}{K_{\text{НИК}}} \quad (13)$$

где $K_{\text{АЛК}}$ представља коефицијент расподеле кофеине или теофилина или теобромина, а $K_{\text{НИК}}$ представља коефицијент расподеле никотина.

2.4.2. Екстракција активних фармацеутских супстанци

За екстракцију НСАИЛ прво је одређен састав трокомпонентне смеше у бифазној области фазног дијаграма. Направљени су системи састава: 30% ПЕ6200 + 25% холинијумске соли + 45% H₂O укупне масе 0,5 g и спајковани са 0,06 mL раствора АФС са појединачним концентрацијама 0,30 mmol dm⁻³ за диклофенак, 0,29 mmol dm⁻³ за нимесулид и 0,50 mmol dm⁻³ за ацетилсалицилну киселину. Због мале растворљивости НСАИЛ почетне концентрације од 5000 mg L⁻¹ су прављене растварањем одређене масе стандарда у 80% EtOH (80: 20 = етанол: вода). Смеше су измешане помоћу вортекса и остављене 24 сата на 25 °C да се фазе раздвоје. После успостављања равнотеже системи су центрифугирани при брзини од 10000 rpm у трајању од 5 минута и одвојене фазе су измерене (маса и запремина). Запремине горње и доње фазе од 0,07 mL су разблажене 80% EtOH до 1 mL, филтриране кроз филтер пречника пора 0,45 μm, након чега је по 5 μL ињектовано у Acquity UPLC уређај са колоном Luna 3 μm C18(2) 100 Å (2,0 mm × 100 mm, 3 μm величина честица) са PDA детектором, Слика 15. За детекцију и квантификацију АФС примењен је изократски метод елуирања, односно у случају диклофенака и нимесулида мобилна фаза се састојала од 55% 0,1 % ортофосфорне киселине (мобилна фаза А) и 45% ацетонитрила (мобилна фаза Б) при протоку од 0,3 mL min⁻¹, док је за ацетилсалицилну киселину промењен однос мобилна фаза А: мобилна фаза Б = 70: 30. Површина пикова је очитавана на 254 nm и ефикасност екстракције је израчуната из односа површина горње и доње фазе помоћу једначине:

$$EE (\%) = \frac{[P_{\text{НСАИЛ}}]_{\text{ПЕ6200-фаза}} \cdot V_{\text{ПЕ6200-фаза}}}{[P_{\text{НСАИЛ}}]_{\text{ПЕ6200-фаза}} \cdot V_{\text{ПЕ6200-фаза}} + [P_{\text{НСАИЛ}}]_{\text{ЈТ-фаза}} \cdot V_{\text{ЈТ-фаза}}} \cdot 100 \quad (14)$$

где $[P_{\text{НСАИЛ}}]_{\text{плуроник-фаза}}$ и $[P_{\text{НСАИЛ}}]_{\text{со-фаза}}$ представљају површине хроматографских пикова НСАИЛ у горњој (ПЕ6200) и доњој (ЈТ) фази, а $V_{\text{ПЕ6200-фаза}}$ и $V_{\text{ЈТ-фаза}}$ запремине горње и доње фазе, док је коефицијент расподеле рачунат:

$$\log K = \log \frac{[P_{\text{НСАИЛ}}]_{\text{ПЕ6200-фаза}}}{[P_{\text{НСАИЛ}}]_{\text{ЈТ-фаза}}} \quad (15)$$

За екстракцију парацетамола, кофеина и теофилина смеше су припремљене у епруветама укупне масе 1 g одмеравањем одређене масе ПЕ6200 и структурно различите ЈТ или соли ([Ch][DHP], [C₄mim]Cl и C₆H₅Na₃O₇) у коју је додат водени раствор АФС са појединачним концентрацијама ~1000 mg L⁻¹. Смеше су измешане помоћу вортекса, остављене 24 сата на 25 °C да се фазе раздвоје, након чега су системи центрифугирани и одвојене фазе измерене (маса и запремина). По 0,1 mL горње и доње фазе су разблажени елуентом до 1 mL, филтрирани и ињектовани у HPLC уређај са колоном Zorbax XDB-C18 (4,6 mm × 250 mm, 3,5 μm величина честица) са DAD детектором. Мобилна фаза (елуент) за одређивање АФС била је 20% метанола, 75% воде и 5% сирћетне киселине, запремина ињектованог узорка 20 μL при брзини протока од 0,7 mL min⁻¹. Концентрације АФС су одређене аналитички методом екстерног стандарда.



Слика 15. Acquity UPLC уређај за течну хроматографију.

Површина пика је очитавана на одговарајућим таласним дужинама, 260 nm за парацетамол, и 273 nm за теофилин и кофеин. Прерачунате концентрације АФС у горњој и доњој фази су искоришћене за израчунавање ефикасности изолације и коефицијента расподеле. Ефикасност екстракције у односу на плуроник-фазу (ЕЕ, %) је рачната према једначини:

$$EE (\%) = \frac{[АФС]_{PE6200-фаза} \cdot V_{PE6200-фаза}}{[АФС]_{PE6200-фаза} \cdot V_{PE6200-фаза} + [АФС]_{со-фаза} \cdot V_{со-фаза}} \cdot 100 \quad (16)$$

а логаритам коефицијента расподеле:

$$\log K = \log \frac{[АФС]_{PE6200-фаза}}{[АФС]_{со-фаза}} \quad (17)$$

где $[АФС]_{PE6200-фаза}$ и $[АФС]_{со-фаза}$ представљају концентрације парацетамола, кофеина и теофилина у PE6200 и со фази, а $V_{PE6200-фаза}$ и $V_{со-фаза}$ запремине фаза.

Валидација хроматографске аналитичке методе извршена је одређивањем неколико параметара. Основни раствор парацетамола, кофеина и теофилина ($\sim 1000 \text{ mg L}^{-1}$) је припремљен у мобилној фази, док су радни раствори у опсегу концентрација од 0,1 до 300 mg L^{-1} добијени разблажењем основног раствора. Очитане површине пикова су искоришћене за конструисање калибрационе криве и израчуната вредност коефицијента корелације (R^2) је потврда линеарности методе. Тачност и прецизност методе су процењене мерењем најмање и највеће концентрације

стандардног раствора 6 пута у току једног дана и током 6 узастопних дана 3 пута у исто време под истим експерименталним условима. Тачност је одређена поређењем измерене вредности са реалним концентрацијама аналита, док је прецизност одговарала релативним стандардним девијацијама (РСД) за поновљена мерења. Граница детекције (ГД) и граница квантификације (ГК) су успостављене коришћењем односа сигнал/шум од 3 и 10, респективно. Аналитички опсег је одређен на основу линеарности и прецизности методе.

2.5. Оптимизација система за екстракцију активних фармацеутских супстанци из водених раствора

Утицај различитих оперативних параметара, као што су температура, рН, количина лека, дужина везне линије и различити састави смеше дуж исте везне линије су испитани за екстракцију парацетамола, кофеина и теофилина одмеравањем одговарајућих маса сваке компоненте ВДС и активних фармацеутских супстанци при различитим експерименталним условима.

Утицај температуре је испитан одмеравањем компонената ВДС да би се добио састав од 30% ПЕ6200 + 15% $C_6H_5Na_3O_7$ + 55% воденог раствора парацетамола, кофеина и теофилина концентрација 1000 mg L^{-1} у укупној маси система од 1 g и термостатирањем на 5, 25 и 50 °C.

Утицај рН је испитан одмеравањем компонената ВДС да би се добио састав од 30% ПЕ6200 + 15% натријум цитратне соли различите рН вредности + 55% воденог раствора парацетамола, кофеина и теофилина концентрације 1000 mg L^{-1} у укупној маси система од 1 g и термостатирањем на 25 °C. Коришћени тробазни натријум цитрат има рН ~ 7,50, док су цитратни пуфери рН ~ 3,50 и рН ~ 5,50 добијени додавањем лимунске киселине ($C_6H_8O_7$).

Утицај количине лека је испитан одмеравањем компонената ВДС да би се добио састав од 30% ПЕ6200 + 15% $C_6H_5Na_3O_7$ + 55% воденог раствора парацетамола, кофеина и теофилина различитих концентрација односно количине АФС у распону од 0,5 до 20 mg по граму ВДС.

Утицај дужине везне линије је испитан одмеравањем компонената ВДС да би се добио састав од 30% ПЕ6200 и различите количине соли.

Утицај почетног састава фаза на екстракцију АФС је испитан за различите укупне саставе смеше и различите односе запремина горње и доње фазе уз константну вредност дужине везне линије од око 75,8.

Приликом одређивања утицаја различитих параметара, квантификација парацетамола, кофеина и теофилина у горњој и доњој фази наком раздвајања фаза, разблажења и филтрације је одређена помоћу течне хроматографије методом описаном у делу 2.4.2.

2.6. Екстракција активних фармацеутских супстанци из реалних узорак

За испитивање примене ВДС на бази ПЕ6200 и ЈТ или соли за екстракцију АФС из реалних узорак изабрани су комерцијално доступне фармацеутске формулације у облику таблета (Панадол Екстра Адванце®, Дурофилин® Раптен-К®, Аспирин® и Нимулид®). Панадол као активне супстанце садржи парацетамол и кофеин, док је активна компонента Дурофилина теофилин, Раптена К диклофенак, Аспирина ацетилсалицилна киселина и Нимулида нимесулид. Лекови су прво спрашени да би се добила хомогени материјал. Затим је маса од 11,7 mg Панадола Екстра (концентрације ~65 mg кофеина и ~500 mg парацетамола по таблети) растворена у ~1,5 mL воденог раствора ПЕ6200 (~35%). Иста процедура је примењена за остале лекове односно ~1,5 mg Дурофилина, Раптен К, Аспирина и Нимулида (концентрације 125 mg, 50 mg, 100 mg и 100 mg за теофилин, диклофенак, нимесулид, ацетилсалицилну киселину редом по таблети) су растворени у раствор плуроника. Раствори су мешани 2 сата на температури од 25 °C. У раствору је додата одређена количина воденог раствора натријум-цитрата да би се постигао састав 30% ПЕ6200 и 15% $C_6H_5Na_3O_7$. Системи су промешани и остављени 2 сата. Након успостављања равнотеже, центрифугирања на 5000 rpm у трајању од 10 минута, фазе система су раздвојене. Све фазе система у којима је додат реални узорак су филтриране (величине пора 0,45 μm), разблажене и концентрације АФС су одређене помоћу течне хроматографије док су параметри екстракције израчунати према једначинама 16 и 17. Са друге стране, систем у који је додат Панадол се састојао од 32% ПЕ6200 и 45% $[C_4\text{mim}][\text{Cl}]$. Након успостављања равнотеже, центрифугирања, раздвајања

фаза и квантификације на HPLC, ефикасност изолације (ЕИ) у односу на ЈТ-фазу и коефицијент расподеле су израчунати помоћу једначина:

$$EI (\%) = \frac{[A\Phi C]_{JT-фаза} \cdot V_{JT-фаза}}{[A\Phi C]_{PE6200-фаза} \cdot V_{PE6200-фаза} + [A\Phi C]_{со-фаза} \cdot V_{со\ фаза}} \cdot 100 \quad (18)$$

а коефицијент расподеле:

$$\log K = \log \frac{[A\Phi C]_{PE6200-фаза}}{[A\Phi C]_{JT-фаза}} \quad (19)$$

где $[A\Phi C]_{PE6200-фаза}$, $[A\Phi C]_{со-фаза}$ и $[A\Phi C]_{JT-фаза}$ представљају концентрације испитиваних активних супстанци лекова у PE6200, со или ЈТ фази, а $V_{PE6200-фаза}$, $V_{со-фаза}$ и $V_{JT-фаза}$ су запремине фаза.

3. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

У оквиру ове докторске дисертације испитана је течно-течна сепарациона метода заснована на воденим двофазним системима на бази триблок кополимера и јонских течности или соли за издвајање активних фармацеутских супстанци из аналгетских формулација. Резултати су приказани у четири дела.

У првом делу приказани су резултати утицаја различитих јонских соли на формирање ВДС са кополимером. Утицај анјона на изградњу ВДС са кополимером плуроником ПЕ6200 испитан је и објашњен коришћењем јонских соли које као катјон имају холинијум а различите врсте анјона. За исте системе је испитана екстракција модел молекула (кофеина, теофилина, теобромина и никотина) и објашњени доминантни процеси при успостављању течно-течне равнотеже фаза водених двофазних система. Затим су приказани резултати утицаја јонске течности са имидазолијумовим катјоном и јаке соли, натријум цитрата, на формирање ВДС са ПЕ6200 и упоређени са системом са холинијумском соли.

У другом делу испитана је расподела АФС између фаза у различитим ВДС и добијени резултати ће указати на сам механизам екстракције. Одређивањем екстракционих параметара диклофенака, нимесулида, ацетилсалицилне киселине, кофеина, теофилина и парацетамола за одабране ВДС базиране на структурно различитим солима и кополимером ПЕ6200 је објашњен утицај структуре испитиваних АФС и компонената система односно њихова интеракција која директно утиче на расподелу.

Трећи део докторске дисертације је фокусиран на оптимизацију ВДС (ПЕ6200 + $C_6H_5Na_3O_7 + H_2O$), који се показао најефикаснијим како са аспекта екстракционе ефикасности тако и са економског аспекта, а нарочито са аспекта очувања животне средине услед мале количине нетоксичних и бикомпатабилних компонената потребних за формирање две фазе. Приказани су резултати утицаји температуре, рН, количине АФС, дужине везне линије и почетног састава ВДС дуж исте ВЛ на екстракцију парацетамола, кофеина и теофилина.

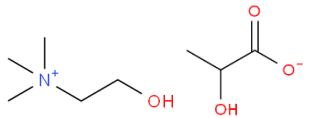
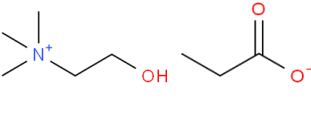
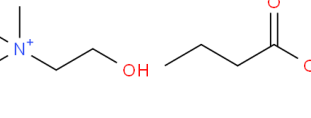
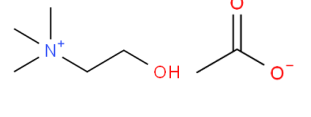
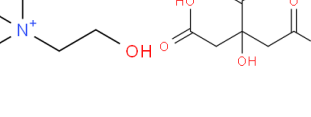
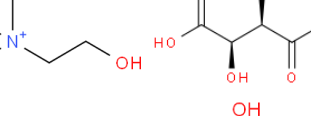
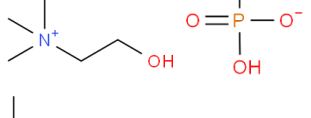

Оперативни услови дефинисани у прва три дела су примењени за издвајање АФС из различитих фармацеутских формулација и добијени резултати представљени у четвртом делу. На крају, на основу целокупног истраживања предложена је интегрисана сепарациона метода базирана на ВДС сачињеним од кополимера и ЈТ или соли за екстракцију активних фармацеутских супстанци.

3.1. Одређивање течно-течне равнотеже водених двофазних система

3.1.1. Одређивање течно-течне равнотеже водених двофазних система на бази кополимера ПЕ6200 и холинијумских соли

У циљу испитивања утицаја анјонског дела холинијумских соли на грађење ВДС са ПЕ6200 коришћене су: холинијум ацетат ([Ch][Ac]), холинијум дихидрогенцитрат ([Ch][DHCit]), холинијум битартарат ([Ch][Bit]), холинијум дихидрогенфосфат ([Ch][DHP]) и холинијум хлорид ([Ch]Cl), холинијум лактат ([Ch][Lac]), холинијум пропаноат ([Ch][Pro]), и холинијум бутаноат ([Ch][But]). Хемијске структуре синтетисаних ЈТ су потврђене ФТИЦ спектрометријом и одговарајући спектри приказани у Прилогу А.

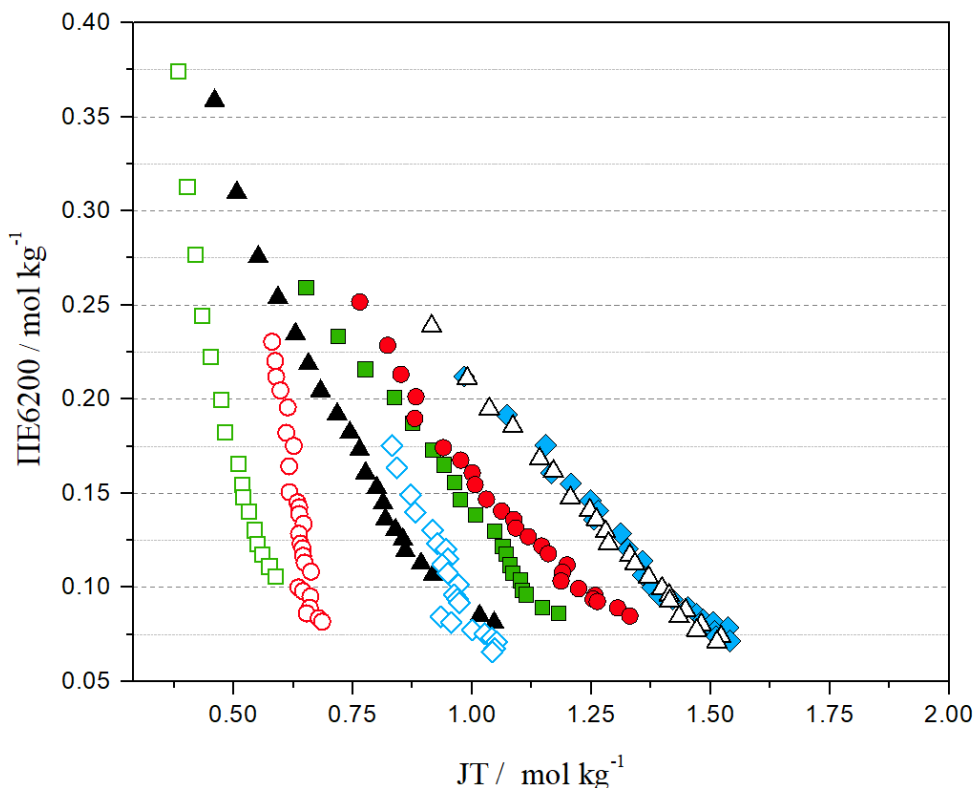
Табела 3. Називи, ознаке и хемијске структуре холинијумских соли, вредности поларних површина анјона соли и логаритамске вредности коефицијента расподеле анјона у системима октанол/вода.

Назив ЈТ и ознака	Хемијска структура	Поларна површина анјона, Å ²	logK _{ow}
Холинијум лактат, [Ch][Lac]		60,36	-3,13
Холинијум пропаноат, [Ch][Pro]		40,13	-1,27
Холинијум бутаноат, [Ch][But]		40,13	-0,68
Холинијум ацетат, [Ch][Ac]		40,13	-4,66
Холинијум дихидрогенцитрат, [Ch][DHCit]		137,79	-1,20
Холинијум битартарат, [Ch][Bit]		82,06	-1,43
Холинијум дихидрогенфосфат [Ch][DHP]		90,40	-3,70
Холинијум хлорид, [Ch]Cl		-	-3,70

Холинијумске соли које су коришћене за формирање ВДС, се могу поделити на основу тачке топљења на (а) соли које имају високу тачку топљења и које су у чврстом стању на температурама већим од 100 °С: [Ch][DHP], [Ch][Bit], [Ch][DHCit] и [Ch]Cl, и (б) соли које имају нижу тачку топљења и које су течне на температурама испод 100 °С: [Ch][Ac], [Ch][Lac], [Ch][Pro] и [Ch][But]. Имајући у виду општеприхваћену дефиницију јонских течности, другу групу наведених холинијумских соли можемо сматрати јонским течностима.

Применом методе титрације до тачке замућења на температури од 25 °С и атмосферском притиску од 0,1 МПа одређени су равнотежни дијаграми за течност-течне трокомпонентне системе (ПЕ6200 + ЈТ или со + H₂O). Коришћене су холинијумске соли чији су називи и структуре приказане у Табели 3, заједно са поларном површином анијона одговарајуће соли (дефинисане као сума површина свих поларних атома који су део анијона) и логаритамском вредношћу коефицијента расподеле у системима октанол/вода.

На основу фазних дијаграма добија се увид у област мешљивости/немешљивости фаза у зависности од масеног удела кополимера и јонске течности. Што је двофазна област шири односно бинодала ближа координатним осама то је мања количина ЈТ потребна да исоли одређену количину кополимера. Експериментално добијени масени удели компонената смеше, који представљају минималну концентрацију кополимера и ЈТ у воденом раствору потребни да би се наградио двофазни систем, дати су у Прилогу Б1 – Б2. Добијени фазни дијаграми, Слика 16, су приказани у јединицама молалитета (mol kg⁻¹) да би се избегла одступања услед различитих молекулских маса анијона.



Слика 16. Фазни дијаграми за ВДС (ПЕ6200 + ЈТ или со + H₂O) у којима је састав изражен у молалитетима. Легенда: □ [Ch][DHP], ○ [Ch][Bit], ▲ [Ch][Ac], ◇ [Ch][DHCit], ■ [Ch][Lac], ● [Ch][Pro], △ [Ch]Cl и ◆ [Ch][But].

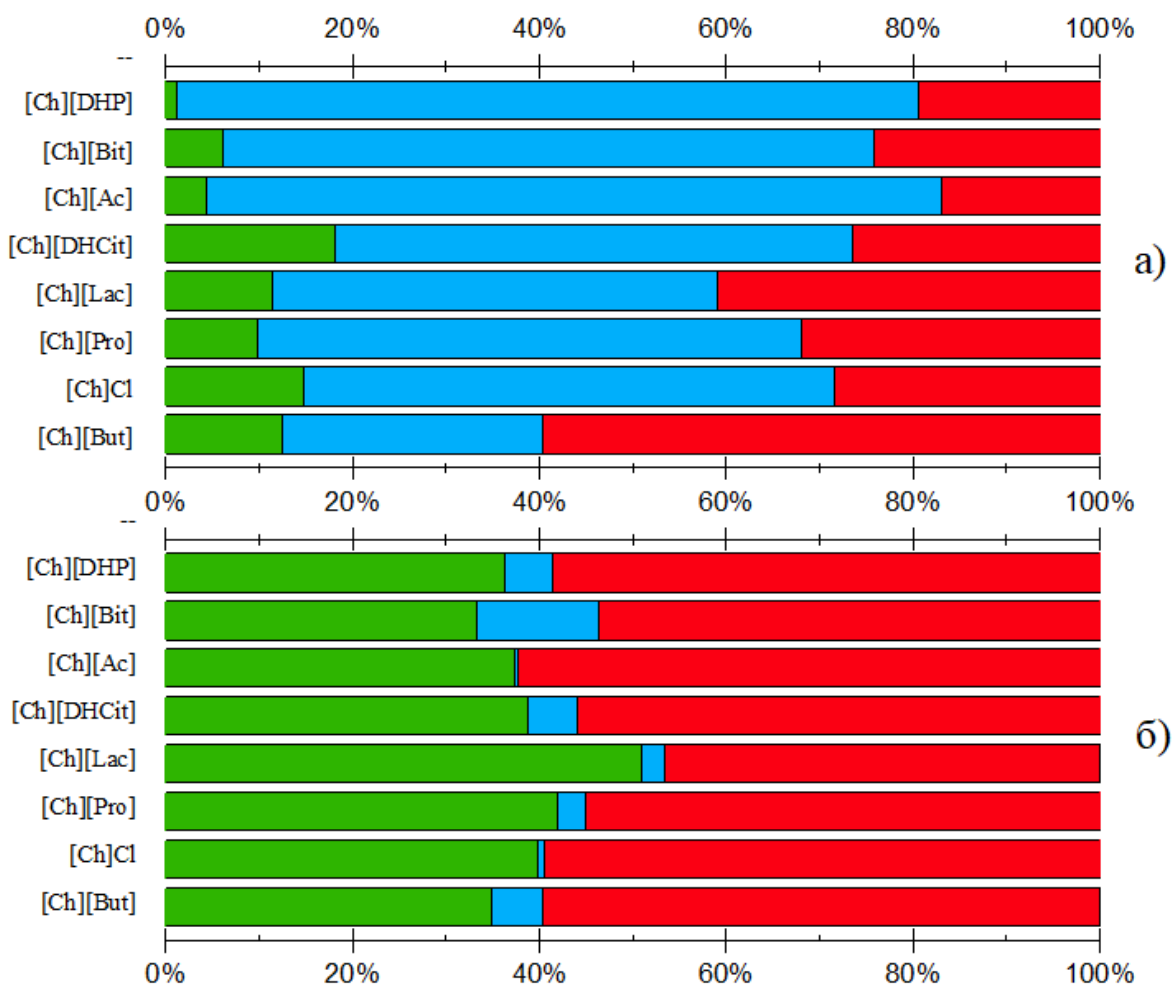
С обзиром да општеприхваћена Мерчукова једначина која се користи за фитовање добијених резултата растворљивости у овом случају није дала задовољавајуће вредности регресионих параметара, фитовање бинодала и параметри фазних дијаграма као што су састави фаза и везне линије нису одређени уобичајеном гравиметријском методом већ аналитички на основу процедуре описане у 2.3.2. поглављу. Одређени масени удели компонената у ЈТ-фази и ПЕ6200-фази, као и рН вредности испитиваних система су приказани у Табели 4.

У системима са [Ch][DHP], [Ch][Bit], [Ch][DHCit] и [Ch][Lac] доња фаза је фаза богата јонском течностју/соли док је горња фаза богата плуроником, док је обрнут случај за системе са [Ch]Cl, [Ch][Ac], [Ch][Pro] и [Ch][But], услед разлике у густинама фаза. Масени удели компонената у процентима у свакој фази, ПЕ6200-фази (слика 17а) и ЈТ-фази (слика 17б), су графички представљени за све испитиване системе.

Табела 4. Експерименталне вредности масених удела у ЈТ-фази и плуроник-фази за систем ПЕ6200 (Y) + ЈТ (X) + H₂O (Z) на температури 25 °C и атмосферском притиску 0,1 МПа и рН вредности испитиваних система.

ЈТ	ЈТ-фаза			Плуроник-фаза			рН
	100·X	100·Y	100·Z	100·X	100·Y	100·Z	
[Ch][DHP]	36,37	4,98	58,65	1,17	79,37	19,46	3,63
[Ch][Bit]	33,28	1,98	53,74	6,06	69,83	24,11	3,48
[Ch][Ac]	37,33	0,32	62,35	4,41	78,69	16,90	6,44
[Ch][DHCit]	38,69	5,33	55,99	18,12	55,43	26,45	3,73
[Ch][Lac]	51,01	2,38	46,60	11,33	47,66	41,01	5,44
[Ch][Pro]	42,12	3,06	55,23	9,82	58,21	31,98	7,32
[Ch]Cl	39,85	0,76	59,40	14,84	56,73	28,43	4,42
[Ch][But]	34,95	5,39	59,65	12,41	27,93	59,66	6,41

Поређењем испитиваних система који садрже исту концентрацију ПЕ6200 од 0,15 mol kg⁻¹, способност исољивача (ЈТ или соли) да награде двофазни систем расте у низу: [Ch]Cl ≈ [Ch][But] < [Ch][Pro] < [Ch][Lac] < [Ch][DHCit] < [Ch][Ac] < [Ch][Bit] < [Ch][DHP]. [Ch][DHP] има највећу способност да награди ВДС са ПЕ6200 односно потребна је најмања количина ове холинијумске соли да исоли кополимер у горњу фазу. Тенденција холинијумских соли са високом тачком топљења да награде две фазе опада у низу [Ch][DHP] > [Ch][Bit] > [Ch][DHCit] > [Ch][Cl], што је у сагласности са повећањем поларне површине анјона и мања вредност параметра хидрофобности, logK_{ow} (Табела 3) анјона, холинијумске соли имају израженију тенденцију да граде јаче хидратационе комплексе и узрокују дехидратацију кополимера. Нижа способност [Ch][DHCit] с обзиром на његову велику површину анјона се објашњава анјон-анјон интеракцијама услед самоагрегације.



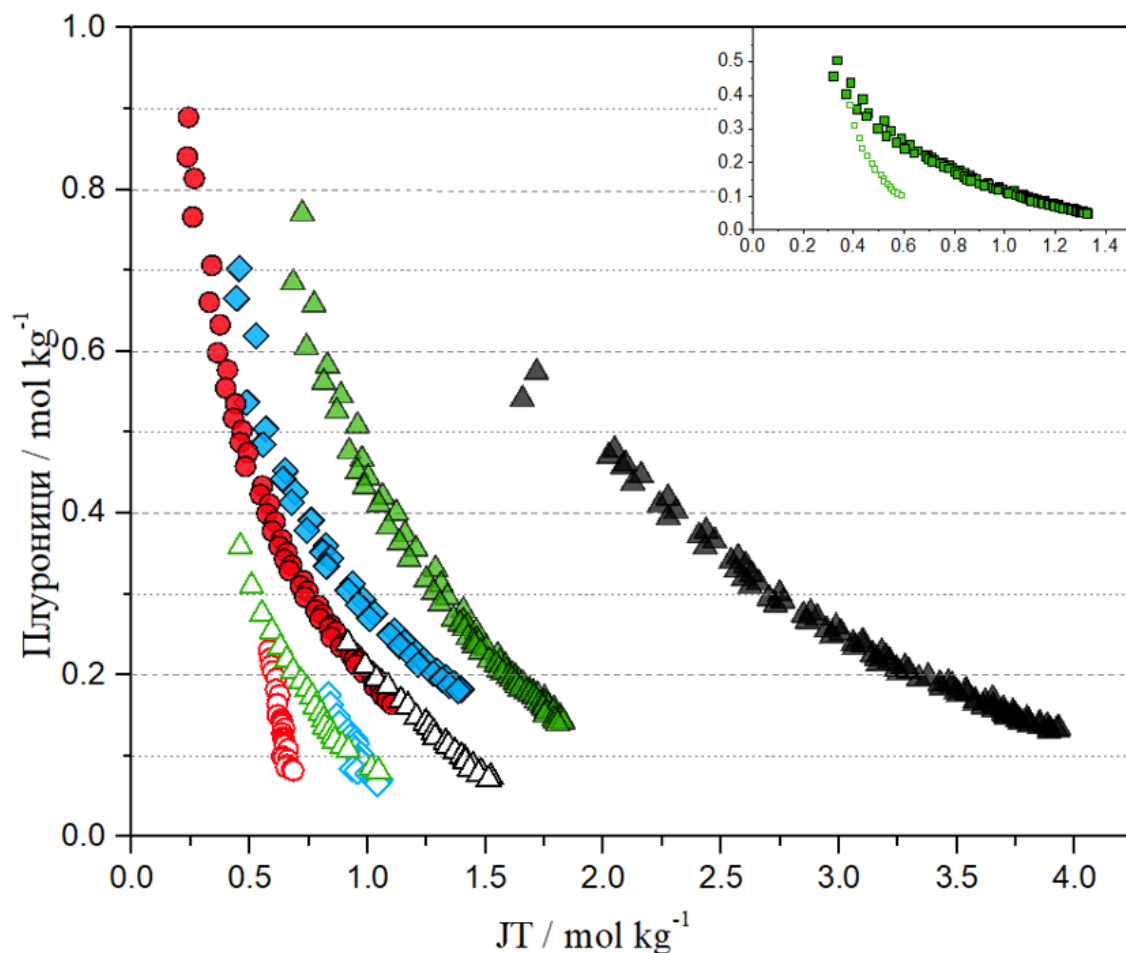
Слика 17. Масени удели ЈТ или соли (зелена), ПЕ6200 (плава) и воде (црвена) у ПЕ6200-фази (а) и ЈТ (или со)-фази (б) у испитиваним ВДС на 25 °С и атмосферском притиску.

Са друге стране, способност холинијумских ЈТ (холинијумске соли са температуром топљења испод 100 °С) да индукују одвајање фаза у присуству воденог раствора ПЕ6200 опада у низу $[Ch][Ac] > [Ch][Lac] > [Ch][Pro] > [Ch][But]$. Овај опадајући тренд је у потпуној сагласности са смањењем логаритамске вредности коефицијента расподеле (-4,66; -3,13; -1,27 и 0,68 за $[Ac]^-$, $[Lac]^-$, $[Pro]^-$ и $[But]^-$, редом) али не прати смањење вредности поларних површина анјона (40,13; 60,36; 40,13 и 40,13 за $[Ac]^-$, $[Lac]^-$, $[Pro]^-$ и $[But]^-$, редом). На основу ових параметара можемо закључити да је механизам фомирања ВДС у наведеном случају знатно комплекснији у односу на со-ЈТ или со-полимер ВДС. Дакле, хидратација јона није доминантна за одвајање фаза у овим системима, већ специфичне интеракције између ЈТ и кополимера, које зависе од хемијске структуре кополимера и јона јонске течности, имају значајну улогу [93].

У ранијим публикацијама је показано да $[Ch][Pro]$ и $[Ch][But]$ не могу наградити двофазни систем са хидрофилнијим полимерима као што су ПЕГ-ови различитих молекулских маса (ПЕГ400, ПЕГ600 и ПЕГ1000) док $[Ch][Lac]$ индукује две фазе само са полимерима високих молекулских маса [68]. Са друге стране, хидрофобнији полимери као што је ППГ, формирају ВДС са свим испитиваним ЈТ у овом раду [94]. Посматрајући структуру кополимера ПЕ6200 ($EO_8-PO_{30}-EO_8$), уочава се да је осам мономера етилен гликола у његовом саставу еквивалентно полиетиленгликолу молекулске масе 400 g mol^{-1} (ПЕГ400) док је тридесет мономера пропилен

гликола еквивалентно полипропиленгликолу, $M=2000 \text{ g mol}^{-1}$ (ППГ2000). Дакле, ПЕ6200 је хидрофобнији од ПЕГ и има нижу способност интеракције са водом. Са друге стране, иако постоји интеракција односно водонична веза између протон акцепторских места на анјону ЈТ и атома водоника са терминалних хидроксилних група етиленгликола, добијени резултати сугеришу да су ван дер Валсове интеракције између алифатичног дела анјона ЈТ и ПЕ6200 такође важне. Што је бочни алифатични ланас анјона ЈТ дужи ван дер Валсове интеракције су јаче што се огледа у бољој међусобној растворљивости ЈТ и кополимера а самим тим у мањој склоности да награди ВДС. Са графика на слици 16 се види да $[\text{Ch}][\text{Lac}]$ (са дужим ланцем) слабије индукује ВДС са кополимером у поређењу са $[\text{Ch}][\text{Ac}]$ (краћи алифатични део). Иако $[\text{Ch}][\text{Lac}]$ има додатну хидроксилну групу, дужи алифатични низ на анјону ипак доминантније утиче на његову бољу растворљивост у кополимеру. Ово тумачење је у складу са истраживањем у коме је помоћу ФТИЦ спектроскопије потврђено да се дехидратација етиленоксидног дела у структури кополимера дешава у веома малом проценту додатком ЈТ, чиме се додатно потврђује да исољавање нема доминантан утицај у случају холинијумских ЈТ [95].

У оквиру ове дискусије, направили смо занимљиво поређење кополимера ПЕ6200 са подацима из научне литературе за кополимер Л35 ($\text{EO}_8\text{-PO}_{21}\text{-EO}_8$) [89], у погледу њихове способности грађења ВДС са истим холинијумским солима.



Слика 18. Фазни дијаграми састављени од Л35 (пуни симболи) [89] и ПЕ6200 (празни симболи) у којима је састав изражен у молалитетима. Легенда: \square $[\text{Ch}][\text{DHP}]$, \circ $[\text{Ch}][\text{Bit}]$, \triangle $[\text{Ch}][\text{Ac}]$, \diamond $[\text{Ch}][\text{DHCit}]$ и \blacktriangle $[\text{Ch}]\text{Cl}$.

Са графика, Слика 18, се закључује да ПЕ6200 формира ВДС лакше у односу на Л35 са истим ЈТ што је последице његове веће хидрофобности односно већег броја пропиленгликолских јединица у структури. Међутим, интересантан ефекат се може приметити са аспекта релативне позиције кривих растворљивости за исту холинијумску со. Највећа разлика између позиција бинодала је за [Ch]Cl који има најслабији ефекат исољавања. Са повећањем хидрофилност соли у низу [Ch]Cl < [Ch][Ac] < [Ch][DHCit] < [Ch][Bit] < [Ch][DHP], опада релативна разлика у позицији бинодала између система заснованим на ПЕ6200 и Л35, и најмања је за [Ch][DHP] (Табела 5). Овај феномен се може повезати са утицајем соли или ЈТ на самоорганизацију кополимера у воденим растворима што се даље одражава на формирање ВДС. Показано је да холинијумске соли генерално утичу на стабилност мицела при чему што је више мицеларних структура присутно то се способност исољавања смањује. Утицај анјона доминантан при чему је установљено да [Ch]Cl утиче најслабије а [Ch][DHP] најјаче на грађење мицела [95].

Табела 5. Састави јонских течности или соли у ВДС са плуроником Л35 ($JT_{\text{Л35-ВДС}}$) и ПЕ6200 ($JT_{\text{ПЕ6200-ВДС}}$) изражени у молалитетима и њихова разлика ($\Delta JT = JT_{\text{Л35-ВДС}} - JT_{\text{ПЕ6200-ВДС}}$) при константној вредности кополимера од 0,17 mol kg⁻¹.

JT	$JT_{\text{Л35-ВДС}}$	$JT_{\text{ПЕ6200-ВДС}}$	ΔJT
[Ch][DHP]	0,84	0,52	0,32
[Ch][Bit]	1,07	0,63	0,44
[Ch][Ac]	1,74	0,76	0,98
[Ch][DHCit]	1,41	0,86	0,55
[Ch]Cl	3,61	1,15	2,46

Са циљем бољег разумевања доминантних процеса при успостављању течно-течне равнотеже испитана је расподела изабраних модел молекули (кофеин, теобромин, теофилин и никотин) између фаза водених двофазних система. Називи, ознаке, хемијске структуре и вредности логаритма коефицијента расподеле у систему октанол/вода за испитиване алкалоиде дати су у Табели 6. Дијаграми расподеле киселинско-базних парова испитиваних алкалоида у зависности од рН су приказани у Прилогу В1 – В4.

За одабране саставе тернарних система чије су координате у немешљивој области дијаграма (30% ПЕ6200 + 25% ЈТ или соли + 50% воденог раствора алкалоида) израчунати су коефицијенти расподеле за сва четири алкалоида, Табела 7, и графички приказани на Слици 19.

Коефицијенти расподеле за кофеин, теобромин и теофилин за све испитиване системе су већи од 1 док су код никотина мањи од 1 (сем у случају [Ch][Lac] и [Ch][But]). Коефицијенти расподеле преко 1 сугеришу да ова три алкалоида прелазе у ПЕ6200-фазу, док мањи од 1 указују да се молекул преваходно екстрахује у со-фазу. Уопштено посматрајући све системе, коефицијенти расподеле расту у низу ТЕОБ < КОФ < ТЕОФ што је у складу са порастом њихове хидрофобности односно вредностима $\log K_{ow}$ (-0,77; -0,55 и -0,02 за ТЕОБ < КОФ < ТЕОФ, редом, Табела 6).

Табела 6. Називи, ознаке, хемијске структуре и логаритам коефицијента расподеле у систему октанол/вода испитиваних алкалоида.

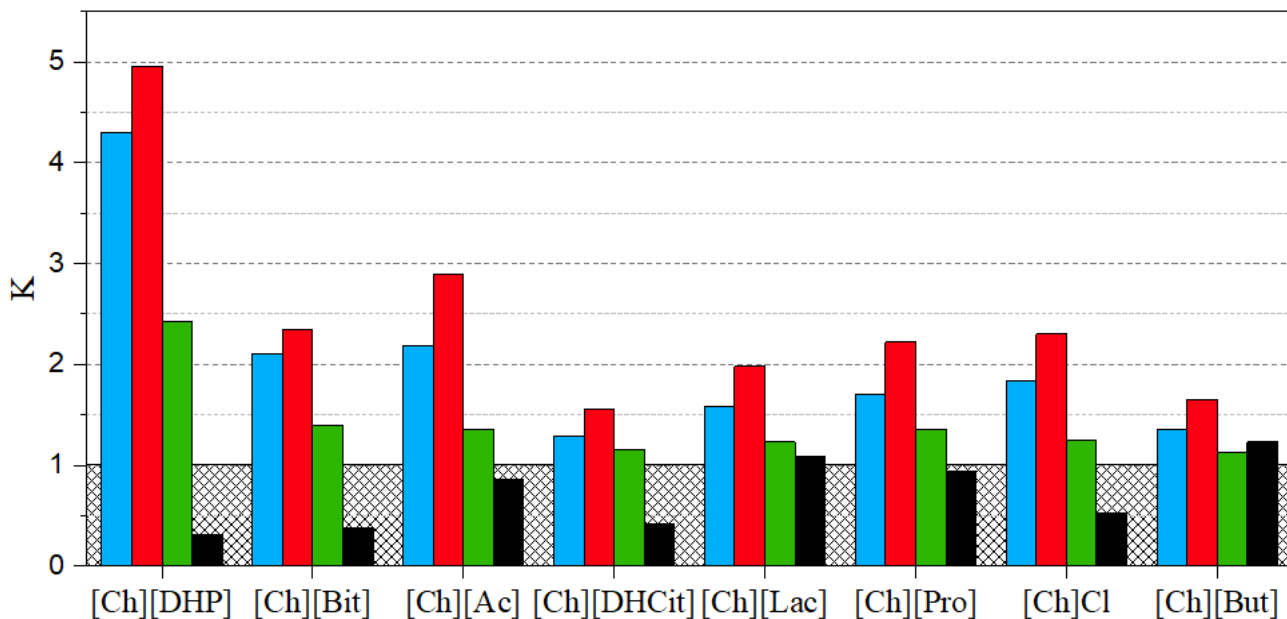
Називи алкалоида и ознака	Хемијска структура	$\log K_{ow}$
Кофеин, КОФ		-0,55
Теофилин, ТЕОФ		-0,02
Теобромин, ТЕОБ		-0,77
Никотин, НИК		1,16

У оквиру појединачних система, вредности K расту у низу $[Ch][DHCit] < [Ch][But] < [Ch][Lac] < [Ch][Pro] < [Ch]Cl < [Ch][Bit] < [Ch][Ac] < [Ch][DHP]$. Овај тренд пораста коефицијента расподеле је у складу са ниским уделом ЈТ и воде (испод 18%) у ПЕ6200-фази за све системе. Са друге стране, у со-фази је доминантна компонента вода (преко 62%). Дакле, што ПЕ6200-фаза има већи удео соли и воде, то ће коефицијенти расподеле кофеина, теофилина и теобромина бити нижи. Ово имплицира да је расподела ових молекула у складу са хидрофобношћу ПЕ6200-фази и да се наведени молекули могу користити као хидрофобне пробе као што је већ сугерисано у неколико радова за различите ВДС [69].

Табела 7. Коефицијенти расподеле алкалоида у системима 30% ПЕ6200 + 25% ЈТ или соли + 45% воденог раствора теобромина, кофеина, теофилина и никотина на 25 °С и атмосферском притиску.

ЈТ	К			
	Кофеин	Теофилин	Теобромин	Никотин
[Ch][DHP]	4,30	4,96	2,43	0,31
[Ch][Bit]	2,11	2,35	1,39	0,37
[Ch][Ac]	2,19	2,90	1,35	0,86
[Ch][DHCit]	1,29	1,55	1,16	0,42
[Ch][Lac]	1,58	1,98	1,23	1,09
[Ch][Pro]	1,70	2,22	1,36	0,94
[Ch]Cl	1,83	2,30	1,24	0,52
[Ch][But]	1,36	1,65	1,13	1,23

Ипак, постоји изузетак у случају система са [Ch][DHCit], у коме су постигнути најнижи коефицијенти расподеле упркос томе што садржај воде у горњој фази није значајно већи у односу на друге системе. Овај изузетак је последица специфичних интрамолекулских анјон-анјон интеракција.



Слика 19. Коефицијенти расподеле кофеина (плава), теофилина (црвена), теобромина (зелена) и никотина (црна) за системе 30% ПЕ6200 + 25% ЈТ или со + 45% H_2O на $25^\circ C$ и атмосферском притиску. Шрафирана површина означава вредности $K < 1$ када испитивани алкалоиди прелазе у со-фазу.

Са друге стране, никотин иако је најхидрофобнији од свих испитиваних молекула ($\log K_{ow} = 1,16$), у већини система мигрира у фазу ЈТ-фазу (осим у [Ch][Lac] и [Ch][But] системима). Узимајући у обзир рН вредност ВДС (Табела 4) и дијаграм специјације никотина (Прилог В4) види се да никотин има позитивно наелектрисање у датим рН областима у свим системима, за разлику од осталих модел молекула који су неутрални. Захваљујући томе, никотин првествено мигрира у хидрофилнију јонску со-фазу. Дакле, расподела никотина је последица специфичних интеракција са ЈТ или солима, при чему доминирају водоничне везе и електростатичке интеракције. Конкретније, коефицијент расподеле никотина расте у низу: [Ch][But] < [Ch][Lac] < [Ch][Pro] < [Ch][Ac] < [Ch]Cl < [Ch][DHCit] < [Ch][Bit] < [Ch][DHP]. Овај редослед није у складу са променом К код осталих испитиваних алкалоида што иде у прилог тврдњи да су специфичне интеракције између ЈТ и никотина у овом случају пресудне.

Највеће вредности коефицијената расподеле кофеина, теофилина и теобромина су постигнуте за ПЕ6200 + [Ch][DHP] ВДС, док је код никотина за исти систем најмања вредност К. Ова разлика коефицијената расподеле сугерише да се наведени систем може искористити за раздвајање кофеина, теофилина и теобромина од никотина, односно за раздвајање структурно сличних једињења. На основу вредности селективности које су приказане у Табели 8, најселективнији систем за раздвајање никотина од других алкалоида је ВДС на бази ПЕ6200 и [Ch][DHP] са вредностима $S_{КОФ/НИК} = 13,86$, $S_{ТЕОФ/НИК} = 15,97$ и $S_{ТЕОБ/НИК} = 7,81[93]$.

Табела 8. Селективност кофеина, теофилина и теобромида у односу на никотин за системе састављене од 30% ПЕ6200, 25% ЈТ или соли, и 50% воденог раствора.

ЈТ	S _{КОФ/НИК}	S _{ТЕОФ/НИК}	S _{ТЕОБ/НИК}
[Ch][DHP]	13,86	15,97	7,81
[Ch][Bit]	5,70	6,35	3,76
[Ch][Ac]	2,55	3,37	1,57
[Ch][DHCit]	3,07	3,69	2,76
[Ch][Lac]	1,45	1,82	1,13
[Ch][Pro]	1,81	2,36	1,45
[Ch]Cl	3,52	4,42	2,38
[Ch][But]	1,11	1,34	0,92

3.1.2. Одређивање и поређење течно-течне равнотеже ВДС са кополимером ПЕ6200 и структурно различитим исољивачима

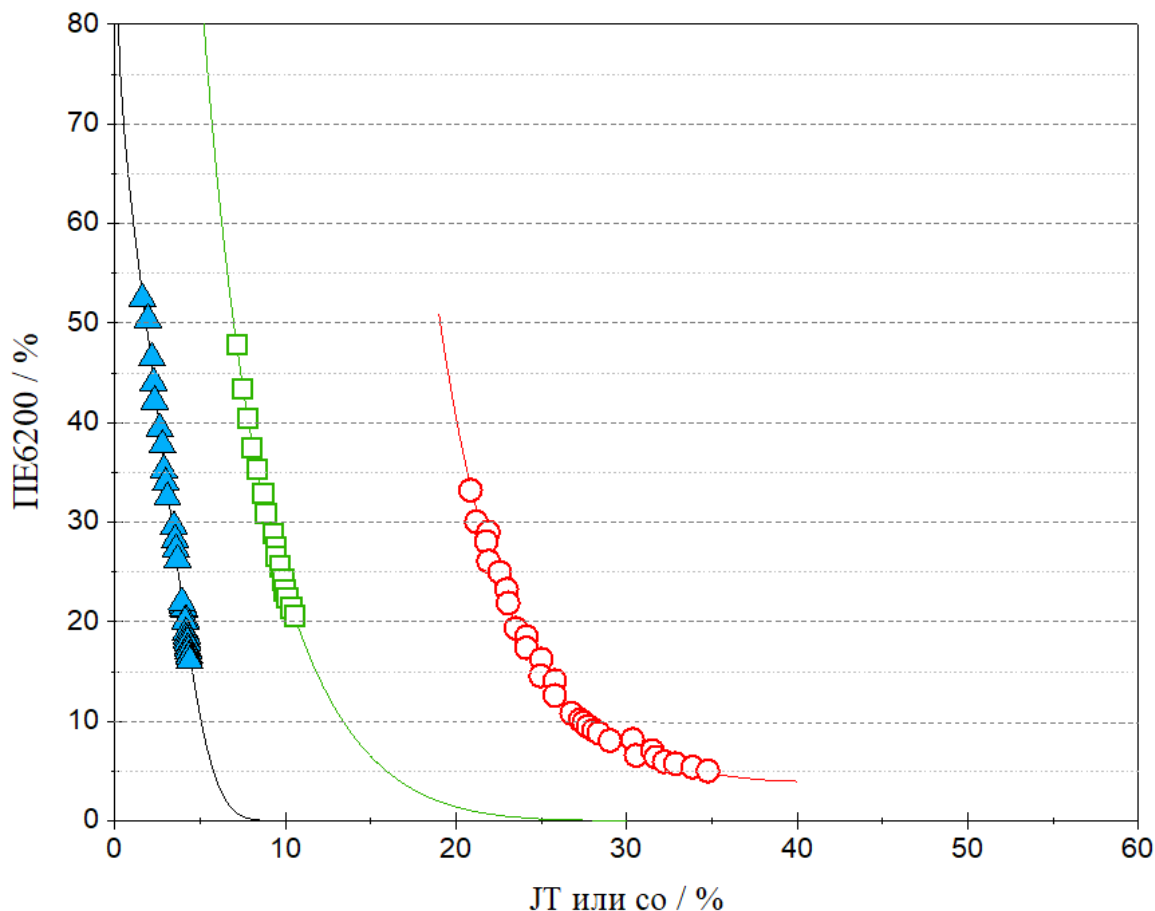
Утицаја структуре соли или ЈТ на грађење ВДС са ПЕ6200 је испитан коришћењем холинијум дихидрогенфосфат ([Ch][DHP]), 1-бутил-3-метилимидазолијум хлорида ([C₄mim]Cl) и натријум цитрата (C₆H₅Na₃O₇), чији су називи, структуре, поларне површине анјона и логаритамске вредности коефицијената расподеле у систему октанол/вода приказани у Табели 9. [Ch][DHP] је изабран као представник холинијумских соли који је у претходном делу показао највећу тенденцију за формирање ВДС са ПЕ6200. Са друге стране, као представник имидазолијумове соли одабрана је највише испитивана ЈТ [C₄mim]Cl, док је C₆H₅Na₃O₇ неорганска со која има јак исољвавајући ефекат и притом је биокомпатабилна. Све три структурно различите соли су бенигне односно имају мали утицај на животну средину.

Табела 9. Називи, структуре, поларна површина анјона и логаритамске вредности коефицијента расподеле у систему октанол/вода испитиваних соли или ЈТ.

Назив ЈТ или соли и ознака	Хемијска структура	Поларна површина анјона, Å ²	logK _{ow}
1-бутил-3-метилимидазолијум, хлорид, [C ₄ mim]Cl		-	-3,70
Натријум цитрат, C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇		141,90	-1,67

Равнотежни фазни дијаграми приказани у масеним уделима (%) за изабране соли су представљени графички на Слици 20. Експериментално добијени масени удели компонената смеше дати су у Прилогу Б1 и Б3. Помоћу Мерчукове једначине (једначина 5) експериментални

подаци за бинодалне криве су фитовани и регресионом анализом методом најмањих квадрата добијени параметри једначине А, В и С (Табела 10). Вредности коефицијената корелације и стандардних грешки, указују да су добијене бинодалне криве фитоване задовољавајуће применом Мерчукве једначине.



Слика 20. Фазни дијаграми ВДС (ПЕ6200 + ЈТ или со + Н₂О) у којима је састав изражен у масеним уделитема. Легенда: \blacktriangle C₆H₅Na₃O₇, \square [Ch][DHP] и \circ [C₄mim]Cl.

Везне линије и састави фаза су, за разлику од ВДС на бази холинијумских соли, одређене решавањем четири једначине са четири непознате (једначине 6 – 9) применом MathCad 15 софтвера, чија решења представљају саставе горње и доње фазе односно со-фазе и ПЕ6200-фазе.

Табела 10. Параметри Мерчукве једначине (А, В, С) са стандардним грешкама (σ) и коефицијенти корелације (R^2) за испитиване системе ПЕ6200 (Y) + ЈТ или со (X) + Н₂О на температури 25 °С и атмосферском притиску 0,1 МПа.

X	A ± σ	B ± σ	C ± σ	R ²
C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇	95,72 ± 8,48	-0,43 ± 0,06	(9,96 ± 0,64)·10 ⁻³	0,9951
[Ch][DHP]	(13,58 ± 5,76)·10 ²	-1,23 ± 0,17	(1,74 ± 1,30)·10 ⁻⁴	0,9966
[C ₄ mim]Cl	(13,23 ± 9,77)·10 ⁵	-2,39 ± 0,17	(-3,75 ± 0,92)·10 ⁻⁵	0,9915

На основу добијених резултата, Табела 11, евидентно је да је у испитиваним системима горња фаза богата плуронином, док је доња фаза богата јонском течносту односно соли. Такође, из добијених резултат види се да је дужина везне линије (ДВЛ) већа за соли које лакше формирају ВДС са кополимером при је чему проценат соли у ПЕ6200-фази има веома мали а са друге стране, и со-фаза има низак садржај плуроника, што је значајно са аспекта примене ВДС за екстракцију.

Табела 11. Експерименталне вредности масених удела у полазној смеси, ЈТ-фази и плуроник-фази за систем ПЕ6200 (Y) + ЈТ или со (X) + H₂O на температури 25 °C и атмосферском притиску 0,1 МРа, као и дужина везне линије (ДВЛ).

ЈТ или со	Укупан састав		Плуроник-фаза		ЈТ/со-фаза		ДВЛ
	100·X	100·Y	100·X	100·Y	100·X	100·Y	
C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇	15,51	29,89	0,44	71,85	24,54	0,05	75,6
[Ch][DHP]	14,75	31,45	0,32	67,45	22,25	0,07	70,8
[C ₄ mim]Cl	40,84	23,26	17,34	68,48	48,03	4,71	61,5

На основу добијених фазних дијаграма можемо испитати и поредити утицаје структуре различитих соли на способност формирања ВДС. За испитиване системе способност формирања ВДС са ПЕ6200 опада у низу C₆H₅Na₃O₇ > [Ch][DHP] > [C₄mim]Cl. На основу фазног дијаграма, Слика 20, види се да је мање од 5% натријум цитрата потребно за формирање ВДС у целокупном опсегу концентрација кополимера као последица великог афинитета цитрата ка молекулима воде с обзиром да је анјон цитрата вишеструко наелектрисан. Са друге стране, преко 25% имидазолијумове ЈТ, [C₄mim]Cl, је потребно да би се кополимер исолио у горњу фазу.

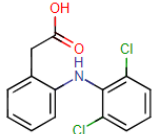
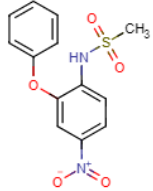
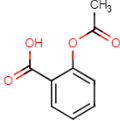
Као и код холинијумских соли које имају већу тачку топљења, и код испитиваних структурно различитих соли, формирање ВДС са ПЕ6200 је у складу са повећањем поларне површине анјона (141; 90 и 0 Å² за C₆H₅O₇⁻³, [DHP]⁻¹ и Cl⁻¹, редом) и хидрофилности анјона (-1,67 за [DHP]⁻¹ и -0,77 за C₆H₅O₇⁻³). Као и у претходном делу, може се закључити да способност соли да исоле ПЕ6200 и награде ВДС зависи углавном од њихове способности да формирају комплексе јон-вода. Грађење овог хидратационог комплекса је повезано са Гибсовом слободном енергијом и ентропијом хидратације одговарајућих јона. Слабост имидазолијумове ЈТ да награди ВДС се, поред слабе хидратационе способности хлоридног анјона, објашњава и појавом Ван дер Валсових интеракција између алифатичног дела ЈТ и ПЕ6200 које повећавају растворљивост између кополимера и ЈТ [96].

3.2. Одређивање параметара екстракције водених двофазних система

3.2.1. Одређивање параметара екстракције водених двофазних система на бази холинијумских соли за диклофенак, нимесулид и ацетилсалицилну киселину

Фармацеутски отпад представља глобални еколошки проблем са једног и губитак драгоцених хемикалија са другог аспекта. Као алтернатива уништавању активних супстанци из лекова, постоје бројни покушаји да се нађе адекватна сепарациона методу за њихову валоризацију. Класичне екстракционе методе попут течно-течне екстракције са органским растварачима нису погодне због великих количина органских растварача који су неопходни. Водени двофазни системи би представљали погоднију алтернативу јер се у великој мери састоје од воде и две слабо испарљиве компоненте. Употреба нетоксичних и биоразградивих конституената ВДС, као што су кополимери и соли или јонске течности, за њихово издвајање је јако битно и са економског и са сегмента очувања животне средине. У складу са постављеним циљем, потребно је разумети механизам екстракције АФС на основу њихове расподеле између фаза ВДС. Називи, ознаке, хемијске структуре и логаритмске вредности коефицијента расподеле у систему октанол/вода за испитиване НСАИЛ дати су у Табели 12. Дијаграми расподеле киселинско-базних парова испитиваних НСАИЛ у зависности од рН су приказани у Прилог Г1 – Г3.

Табела 12. Називи, ознаке, хемијске структуре и логаритам коефицијента расподеле у систему октанол/вода испитиваних НСАИЛ.

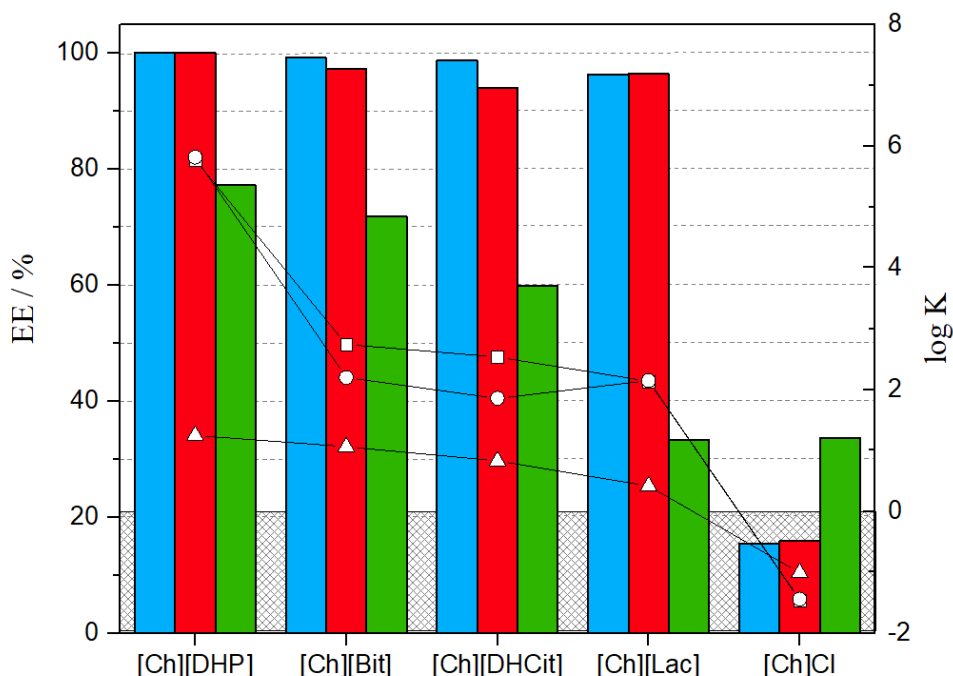
Називи НСАИЛ лекова и ознаке	Хемијска структура	$\log K_{ow}$
Диклофенак, ДИК		4,52
Нимесулид, НИМ		2,60
Ацетилсалицилна киселина, АСК		1,14

Најпре су урађени експерименти екстракције за изабране саставе тернарних система чије су координате у немешљивој области дијаграма (30% ПЕ6200 + 25% холинијумска со + 50% воденог раствора лекова концентрација $0,30 \text{ mmol dm}^{-3}$ за диклофенак, $0,29 \text{ mmol dm}^{-3}$ за нимесулид и $0,50 \text{ mmol dm}^{-3}$ за ацетилсалицилну киселину. Израчунати су параметри екстракције – коефицијенти расподеле и ефикасност екстракције, за сва три НСАИЛ. Резултати су табеларно приказани у Табели 13, и графички представљени на Слици 21.

Табела 13. Коэффициенти расподеле и ефикасност екстракције испитиваних НСАИЛ у системима 30% ПЕ6200 + 25% ЈТ или соли + 45% воденог раствора АФС 25 °С и атмосферском притиску.

ЈТ или со	K ± σ			ЕЕ ± σ, %		
	ДИК	НИМ	АСК	ДИК	НИМ	АСК
[Ch][DHP]	592046,23±4,20	653401±3,90	17,68 ±0,13	99,99 ± 3,74	99,99 ±2,45	77,20 ± 1,56
[Ch][Bit]	549,57 ± 2,53	157,43±2,05	11,49 ±0,72	99,19 ± 3,66	97,22 ±2,74	71,85 ± 2,83
[Ch][DHCit]	342,57 ± 2.22	71,54 ± 1,31	6,73 ± 0,52	98,70 ± 1,25	94,08 ±2,22	59,92 ± 1,98
[Ch][Lac]	136,53 ± 2.07	140,16±2,13	2,61 ± 0,07	96,32 ± 1,45	96,41 ±2,70	33,30 ± 1,22
[Ch]Cl	28,58 ± 0,90	27,64 ±1,01	10,27 ±0,65	15,45 ± 0,85	15,89 ±0,70	33,71 ± 0,82

Уочљиво је да су вредности $\log K$ за диклофенак, нимесулид и ацетилсалицилну киселину у свим ВДС системима изнад 0 што указује да се сва три НСАИЛ екстрахују у ПЕ6200-фазу. Тенденција испитиваних молекула ка ПЕ6200-фази је у складу са њиховом хидрофобношћу односно вредностима $\log K_{ow}$ (1,14; 2,60 и 4,52 за АСК < НИМ < ДИК, редом, Табела 12). У свим испитаним системима (осим за [Ch]Cl) оба параметра екстракције расту у низу АСК < НИМ < ДИК. АСК је најмање хидрофобни молекул од испитиваних због чега његови екстракциони параметри имају најнижу вредност. Додатно, на основу дијаграма специјације (Прилог Г3) се види да је АСК негативно наелектрисан у рН области система (Табела 4), због чега су одбојне електростатичке интеракције изражене у случају [Ch]Cl. Услед малог утицаја специфичних интеракција ефекат исољавања [Ch]Cl је доминантнији па је расподела АСК ка ПЕ6200-фази наглашенија а $\log K$ и ЕЕ имају већу вредност у односу на диклофенак и нимесулид.



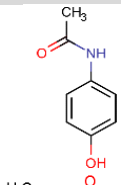

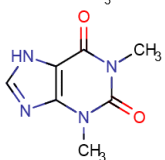
Слика 21. Ефикасност екстракције (ЕЕ, %) диклофенака (плава), нимесулида (црвена) и ацетилсалицилне киселине (зелена) и одговарајући коефицијенти расподеле (□ ДИК, ○ НИМ и △ АСК) за системе 30% ПЕ6200 + 25% ЈТ или со + 45% Н₂О на 25°С и атмосферском притиску. Шрафирана површина означава вредности $\log K < 0$ када испитивани НСАИЛ прелазе у со-фазу.

Вредности екстракционих параметара свих АФС, генерално прате пораст хидрофилности у низу $[\text{Ch}]\text{Cl} < [\text{Ch}][\text{Lac}] < [\text{Ch}][\text{DHCit}] < [\text{Ch}][\text{Bit}] < [\text{Ch}][\text{DHP}]$, и добро корелишу са способношћу ЈТ да награде ВДС са ПЕ6200. Једино незнатно одступање се јавља у случају НИМ за систем са $[\text{Ch}][\text{Lac}]$ чија је ефикасност екстракције већа од $[\text{Ch}][\text{DHCit}]$ (94,08% и 96,41% за $[\text{Ch}][\text{DHCit}]$ и $[\text{Ch}][\text{Lac}]$, редом). Највеће вредности ефикасности екстракције сва три НСАИЛ су добијене за систем ПЕ6200/ $[\text{Ch}][\text{DHP}]$ (99,99%; 99,99% и 77,19% за ДИК, НИМ и АСК, редом).

3.2.2. Одређивање параметара екстракције водених двофазних система ПЕ6200 и структурно различитих исољивача за парацетамол, кофеин и теофилин

У наставку истраживања испитан је утицај структуре соли или ЈТ на екстракцију активних фармацеутских супстанци употребом ВДС са ПЕ6200. Изабране соли које се структурно разликују и чија је токсичност занемарљива по животну средину. На основу резултата добијених у првом делу истраживања односно узимајући у обзир вредности ЕЕ, за наставак истраживања је изабран холинијум дихидрогенфосфат, $[\text{Ch}][\text{DHP}]$. Јонска течност, 1-бутил-3-метилимидазолијум хлорид $[\text{C}_4\text{mim}][\text{Cl}]$, је одабрана као највише испитивана у литератури док је натријум цитрат, $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$, као ВДС компонента селектована због јаког исољвајућег ефекта. Коришћене активне фармацеутске супстанце, њихови називи, ознаке, хемијске структуре и коефицијенти расподеле у систему октанол/вода су приказани у Табели 14.

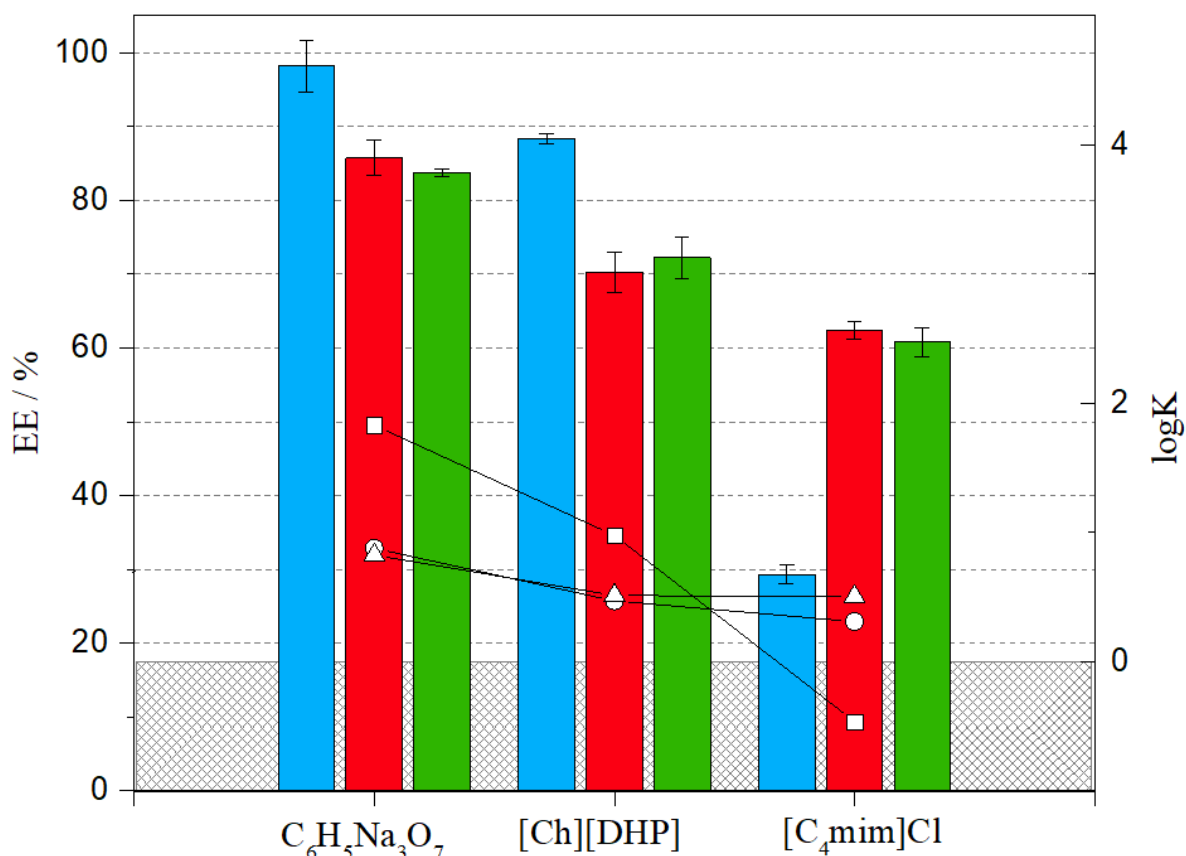
Табела 14. Називи, ознаке, хемијске структуре и логаритам коефицијента расподеле у систему октанол/вода, број донора и акцептора водоничних веза испитиваних активних фармацеутских супстанци.

Називи АФС и ознаке	Хемијска структура	$\log K_{ow}$	НВА	НВД
Парацетамол, ПАР		0,48	3	2
Кофеин, КОФ		-0,55	6	0
Теофилин, ТЕОФ		-0,02	6	1

Одабрани су састави тернарних система чије су координате у немешљивој области дијаграма, чији је однос запремина горње и доње фазе $\sim 0,8$ ради лакшег поређења и износе: 30% ПЕ6200 + 15% $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$ или $[\text{Ch}][\text{DHP}]$ + 55% воденог раствора АФС, и 23% ПЕ6200 + 41% $[\text{C}_4\text{mim}]\text{Cl}$ + 36% воденог раствора АФС су израчунати коефицијенти расподеле и ефикасност екстракције (ЕЕ, %) испитиваних АФС и приказани у Табели 15.

Табела 15. Коefицијенти расподеле, ефикасност екстракције испитиваних АФС и њихове стандардне девијације (σ) у системима 30% ПЕ6200 + 15% $C_6H_5Na_3O_7$ или [Ch][DHP] + 55% воденог раствора, и 23% ПЕ6200 + 41% $[C_4mim]Cl$ + 36% воденог раствора на 25 °C и атмосферском притиску.

ЈТ или со	K ± σ			ЕЕ ± σ , %		
	ПАР	КОФ	ТЕОФ	ПАР	КОФ	ТЕОФ
$C_6H_5Na_3O_7$	67,71 ± 1,19	7,52 ± 0,85	6,67 ± 0,13	98,19 ± 3,54	85,76 ± 2,45	83,74 ± 0,56
[Ch][DHP]	9,46 ± 0,85	2,94 ± 0,09	3,25 ± 0,72	88,34 ± 0,66	70,18 ± 2,74	72,21 ± 2,83
$[C_4mim]Cl$	0,34 ± 0,07	2,04 ± 0,13	3,19 ± 0,52	29,32 ± 1,25	62,42 ± 1,22	60,77 ± 1,98



Слика 22. Ефикасност екстракције (ЕЕ, %) парацетамола (плава), кофеина (црвена) и теофилина (зелена) и одговарајући коefицијенти расподеле (\square ПАР, \circ КОФ и \triangle ТЕОФ) за системе 30% ПЕ6200 + 15% $C_6H_5Na_3O_7$ или [Ch][DHP] + 55% воденог раствора АФС, и 23% ПЕ6200 + 41% $[C_4mim]Cl$ + 36% воденог раствора АФС на 25 °C и атмосферском притиску. Шрафирана површина означава вредности $\log K < 0$ када испитивани АФС прелазе у доњу фазу.

Логаритамске вредности коefицијента расподеле за све АФС у системима ПЕ6200 са $C_6H_5Na_3O_7$ ($\log K(\text{ПАР}) = 1,83$, $\log K(\text{КОФ}) = 0,88$ и $\log K(\text{ТЕОФ}) = 0,82$) или [Ch][DHP] ($\log K(\text{ПАР}) = 0,98$, $\log K(\text{КОФ}) = 0,47$ и $\log K(\text{ТЕОФ}) = 0,31$) су већи од 0 што имплицира да све испитиване активне супстанце у тим системима прелазе у ПЕ6200-фазу. У случају $[C_4mim]Cl$ долази до одступања код парацетамола чија вредност $\log K$ је мања од 0 ($\log K(\text{ПАР}) = -0,47$, $\log K(\text{КОФ}) = 0,31$ и $\log K(\text{ТЕОФ}) = 0,50$) јер он претежно мигрира у со-фазу. Највеће вредности ефикасности

екстракције за сва три молекула су добијени за систем ПЕ6200/C₆H₅Na₃O₇ и то ЕЕ(ПАР) = 98,19%, ЕЕ(КОФ) = 85,76% и ЕЕ(ТЕОФ) = 83,74%, Слика 22.

Највећу тенденцију ка ПЕ6200-фази има ПАР што је у складу са његовом вредношћу $\log K_{ow}$ која имплицира да је он најхидрофобнији молекул од испитиваних. Са друге стране кофеин иако мање хидрофобан од теофилина ($\log K_{ow}(\text{КОФ}) = -0,55$ и $\log K_{ow}(\text{ТЕОФ}) = -0,02$) има нешто већу вредност ЕЕ. На основу дијаграма расподеле киселинско-базних парова кофеина и теофилина у зависности од рН, Прилог В1 и В2, ТЕОФ на радној рН вредности система ПЕ6200/C₆H₅Na₃O₇ која износи 8, је негативно наелектрисан док је кофеин неутралан. Самим тим молекул теофилина који носи наелектрисање на датој рН има већу тенденцију ка ЈТ-фази од неутралног кофеина. Систем ПЕ6200/[Ch][DHP] има рН~5 на којој су све три АФС, Прилог В1-В2 и Г4, у неутралном облику. У овом случају, хидрофилност/хидрофобност је карактеристика која доминантно утиче на њихову расподелу између фаза. Ефикасност екстракције расте у низу: ЕЕ(КОФ) < ЕЕ(ТЕОФ) < ЕЕ(ПАР) у складу са вредностима $\log K_{ow}$. Када се погледају вредности К и ЕЕ, Слика 22, у систему ПЕ6200/[C₄mim]Cl може се закључити да специфичне интеракције између АФС и компонената система имају пресудну улогу у њиховој расподели између фаза. Ниже вредности ЕЕ теофилина и кофеина у односу на систем са цитратном и дихидрогенфосфатном соли се јављају услед π - π интеракција између катјона ЈТ (имидазолијумовог прстена) и ароматичних прстена испитиваних молекула. Такође, мања разлика у хидрофобности компонената система у односу на друга два система доприноси мањој расподели КОФ и ТЕОФ у фазама ВДС. Парацетамол, иако најхидрофобнији, за разлику од кофеина и теофилина у посматраном систему мигрира у фазу богату ЈТ. Овакво понашање се објашњава стварањем водоничне везе између амидне (N-H) или хидроксилне (O-H) групе парацетамола које могу бити донори и Cl⁻ анјона ЈТ који се понаша као акцептор водоничне везе. Поред тога амидна група садржи и C=O групу која може да интерагује са водоницима из ароматичног прстена ЈТ.

Пре саме оптимизације параметара екстракције и даљег наставка истраживања, потврђена је ваљаност инструменталне методе за квантификацију изабраних фармацеутских супстанци. Основни параметри валидације који се прате су линеарност, аналитички опсег, тачност, прецизност, лимит детекције и лимит квантификације. Израчунати параметри који потврђују валидност методе и експериментално услови су приказани у Табели 16 [96].

Табела 16. Параметри валидације инструменталне методе за квантификацију АФС.

	Парацетамол	Кофеин	Теофинин
Ретенционо време (min)	3,36	3,99	5,13
Број стандарда	7	7	7
Концентрациони опсег стандарда (mg L⁻¹)	0,1-300	0,1-300	0,1-300
R²	0,9995	0,9994	0,9987
Опсег линеарности (mg L⁻¹)	1-300	0.5-300	0.5-300
ГД (сигнал/шум > 3)	0,1	0,1	0,1
ГК (сигнал/шум > 10)	0,5	0,2	0,2
Тачност (%)	дневна	88,08-101,00	85,83-99,74
	међудневна	86,08-101,64	85,86-100,57
Прецизност (РСД, %)	дневна	0,33-2,24	0,37-1,02
	међудневна	0,23-2,79	0,49-1,22
			1,31-2,01

Линеарност односно могућност методе да унутар одређеног опсега концентрација даје резултате пропорционалне концентрацији АФС у узорку је одређена конструисањем стандардне калибрационе криве, Прилог Д1 – Д3. Израчунате вредности коефицијента корелације за парацетамол 0,9995, за кофеин 0,9994 и 0,9987 за теофилин задовољавају критеријум прихватљивости ($R^2 \geq 0,998$). Опсег линеарности за ПАР износи од 1 до 300, за КОФ од 0,5 до 300 и за ТЕОФ од 0,5 до 300 mg L^{-1} . Тачност, подударање између стварне и методом добијене вредности, након три инјектирања најниже и највише концентрације АФС је у опсегу прихватљиве вредности од 80 – 120%, Табела 16. Прецизност, односно слагање између низа мерења из истог хомогеног узорка, је добијена мерењем неколико пута унутар истог дана (дневна прецизност) и мерењем неколико дана узастопно (међудневна прецизност). Добијена релативна стандардна девијација (РСД) за све три АФС је у складу је са прихватљивом вредношћу од РСД $\leq 1\%$. Лимит детекције, најнижа концентрација АФС која може бити детектована али не и неопходно квантификована, и лимит квантификације, најнижа концентрација АФС која може бити мерена са прихватљивим нивоом тачности и прецизности, израчунате помоћу односа сигнал/шум $>$ од 3 или $>$ од 10 су приказане у табели 16. На основу израчунатих вредности параметара валидације се може закључити да је инструментална метода прихватљива за квантитативно одређивање концентрација АФС и као таква применљива у наставку истраживања. Ретенциона времена у минутима за испитиване АФС су: 3,36 за ПАР, 3,99 за КОФ и 5,13 за ТЕОФ.

3.3. Оптимизација параметара екстракције активних фармацеутских супстанци

Да би течно-течна сепарациона метода заснована на воденим двофазним системима са триблок кополимерима и јонским течностима или органским солима за изолацију активних супстанци из фармацеутског отпада била прихватљивија за употребу, неопходно је извршити оптимизацију параметара екстракције и наћи најповољније оперативне услове при којима се издваја супстанца од интереса. На основу претходних резултата, водени двофазни систем који се састоји од ПЕ6200 и натријум цитрата је изабран за наставак истраживања јер је показао највеће вредности ефикасности изолације и добру селективност за екстракцију АФС. Предност овог система је и његова биокомпатибилност и веома мале количине компонената ВДС и ниже цене у односу на друге испитиване соли. У наставку су приказани резултати утицаја температуре, рН, количине АФС, дужине везне линије и састава смеше дуж исте везне линије на екстракцију парацетамола, кофеина и теофилина. Приликом испитивања утицаја за одређен састав ВДС, након постизања термодинамичке равнотеже фазе су одвојене, а квантитативни састав АФС у свакој фази анализиран је помоћу течне хроматографије.

3.3.1. Утицај температуре на екстракцију парацетамола, кофеина и теофилина

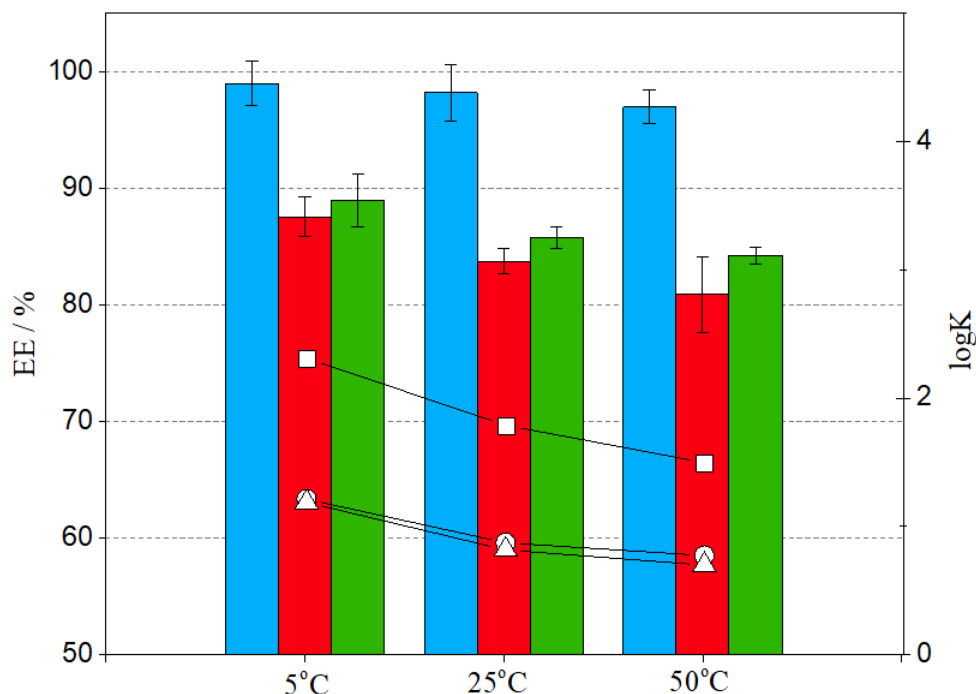
Утицај температуре на расподелу АФС између фаза ВДС, је испитан за тернарне системе термостатираних на 5 °C, 25 °C и 50 °C а чије су координате у немешљивој области дијаграма са саставом ВДС 30% ПЕ6200 + 15% C₆H₅Na₃O₇ + 55% воденог раствора АФС. Израчунати коефицијенти расподеле и ефикасност екстракције испитиваних АФС на различитим температурама ВДС су приказани у Табели 17.

Табела 17. Коефицијенти расподеле, ефикасност екстракције и одговарајуће стандардне девијације (σ) парацетамола, кофеина и теофилина на различитим температурама ВДС.

Т / °C	К ± σ			ЕЕ ± σ , %		
	ПАР	КОФ	ТЕОФ	ПАР	КОФ	ТЕОФ
5	204,72 ± 2,91	16,35 ± 1,20	15,42 ± 0,88	98,99 ± 1,87	88,94 ± 2,24	87,55 ± 1,66
25	61,41 ± 1,23	7,44 ± 0,73	6,57 ± 0,15	98,18 ± 2,44	85,76 ± 0,97	83,74 ± 1,08
50	31,40 ± 2,76	5,94 ± 0,86	15,42 ± 0,88	96,96 ± 1,45	84,24 ± 0,72	80,87 ± 3,22

Вредности ЕЕ за парацетамол, кофеин и теофинин опадају у опсегу од 2 до 7% са повећањем температуре од 5 до 50 °C. Негативан утицај повећања температуре на екстракцију изабраних молекула је још уочљивији када се пореде логаритамске вредности коефицијента расподеле, Слика 23. Вредности $\log K(\text{ПАР})$ опадају од 2,31 до 1,50, $\log K(\text{КОФ})$ од 1,21 до 0,77 и $\log K(\text{ТЕОФ})$ од 1,19 до 0,70. Смањење К са повећањем температуре се јавља због саме особине кополимера. За кополимере као што је ПЕ6200, кога чине ЕО-ПО-ЕО блокови, је карактеристично да су на нижим температурама растворљивији услед јаче хидратације ЕО блока [73] и са повећањем температуре расте и концентрација кополимера у плуроник-фази [97]. На температури од 5 °C преовађују мономерне јединице што значи да је интеракција између АФС и ЕО и ПО делова плуроника побољшана кроз водоничну везу и дипол-дипол интеракцију [98]. Повећањем температуре слабе ове интеракције што доводи до смањења К испитиваних молекула. Имајући у виду малу разлику

у ЕЕ на различитим температурама, собна температура се може узети као оптимална у циљу нижих оперативних трошкова процеса.



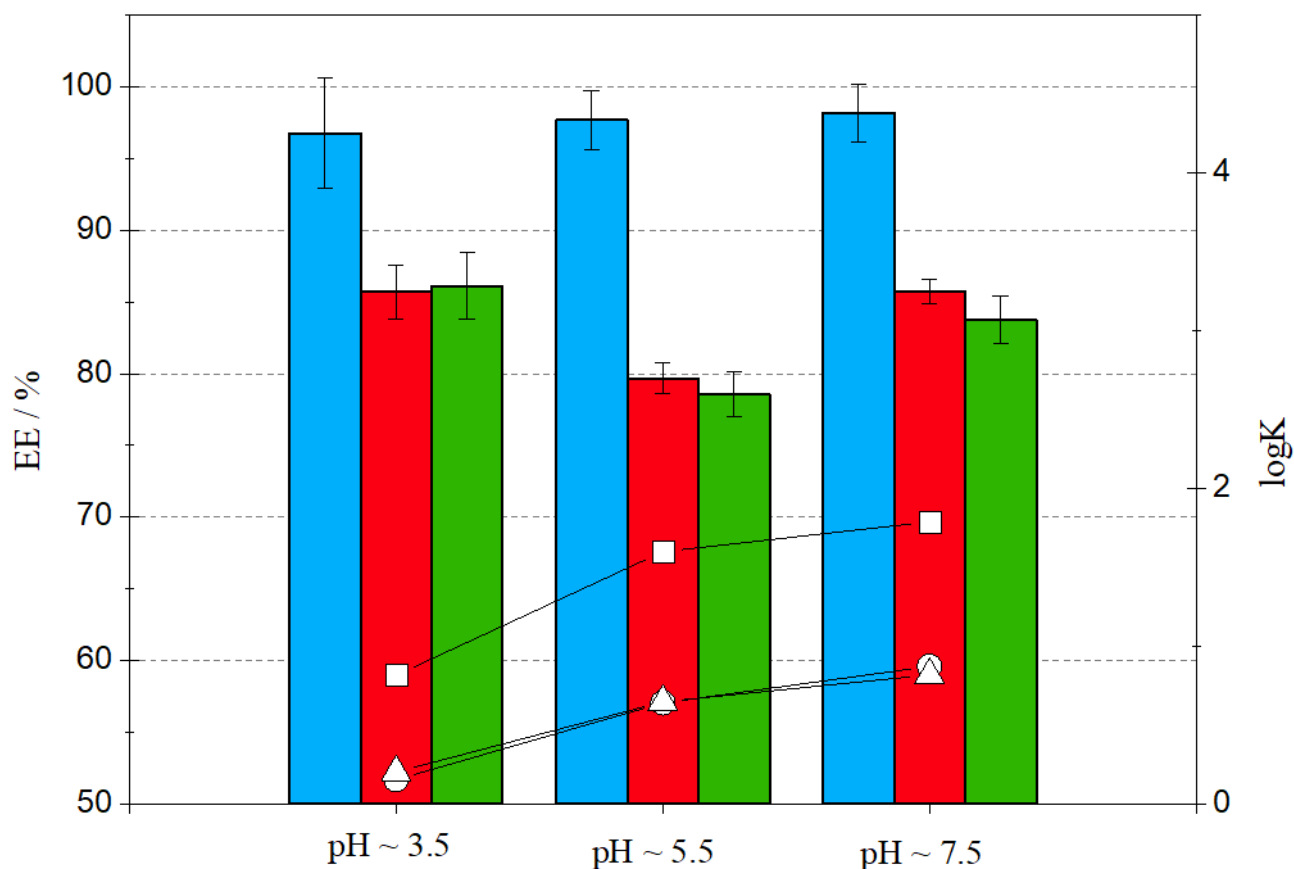
Слика 23. Ефикасност екстракције (ЕЕ, %) парацетамола (плава), кофеина (црвена) и теофилина (зелена) и одговарајући коефицијенти расподеле (□ ПАР, ○ КОФ и △ ТЕОФ) за системе 30% ПЕ6200 + 15% $C_6H_5Na_3O_7$ + 55% воденог раствора АФС на различитим температурама.

3.3.2. Утицај рН водених двофазних система на екстракцију парацетамола, кофеина и теофилина

За потребе испитивања утицаја рН на расподелу АФС између фаза ВДС, одабрани су састави тернарних система чије су координате у немешљивој области дијаграма и садрже 30% ПЕ6200 + 55% воденог раствора АФС + 15% $C_6H_5Na_3O_7$ при различитим рН вредности соли. Чист тробазни натријум цитрат има рН ~ 7,50, док су рН ~ 3,50 и рН ~ 5,50 добијени додавањем лимунске киселине ($C_6H_8O_7$). Прерачунати логаритми коефицијена расподеле и ефикасност екстракције испитиваних АФС за различите рН вредности ВДС су приказани у Табели 18.

Табела 18. Коефицијенти расподеле, ефикасност екстракције и одговарајуће стандардне девијације (σ) парацетамола, кофеина и теофилина на различитим рН вредности ВДС.

рН	K ± σ			ЕЕ ± σ, %		
	ПАР	КОФ	ТЕОФ	ПАР	КОФ	ТЕОФ
3,50	6,56 ± 0,19	1,43 ± 0,06	1,59 ± 0,28	96,76 ± 3,82	85,67 ± 1,88	86,09 ± 2,31
5,50	3,73 ± 1,35	4,37 ± 0,27	4,44 ± 0,53	97,68 ± 2,05	79,67 ± 1,09	78,53 ± 1,57
7,50	61,41 ± 1,84	7,44 ± 0,22	6,57 ± 0,72	98,18 ± 2,02	85,76 ± 0,85	83,74 ± 1,68



Слика 24. Ефикасност екстракције (ЕЕ, %) парацетамола (плава), кофеина (црвена) и теофилина (зелена) и одговарајући коефицијенти расподеле (□ ПАР, ○ КОФ и △ ТЕОФ) за системе 30% ПЕ6200 + 15% $C_6H_5Na_3O_7$ + 55% воденог раствора АФС за различитим рН вредности натријум цитрата.

На основу дијаграма расподеле киселинско-базних парова испитиваних АФС, Прилог В1-В2 и Г4, види се да су парацетамол и кофеин неутрални у радном рН. Са друге стране, теофилин је неутралан до рН ~ 7 и за рН > 7,6 удео наелектрисаних јона почиње да расте. Међутим, добијени резултати за ЕЕ показују је утицај рН веома мали. Утицај је видљивији ако се упореде логаритми К, Слика 24. Повећање logK испитиваних молекула се се јавља јер натријум цитрат боље исољава АФС у поређењу са цитратним пуферима.

3.3.3. Утицај количине лека на екстракцију парацетамола, кофеина и теофилина

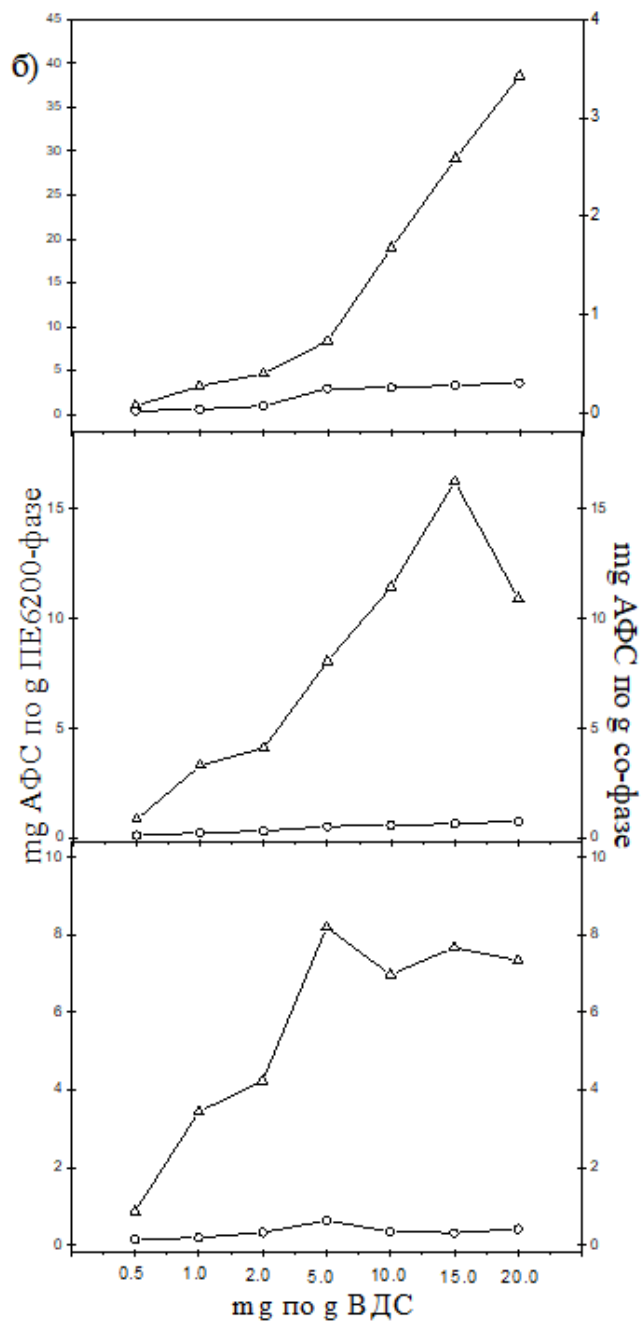
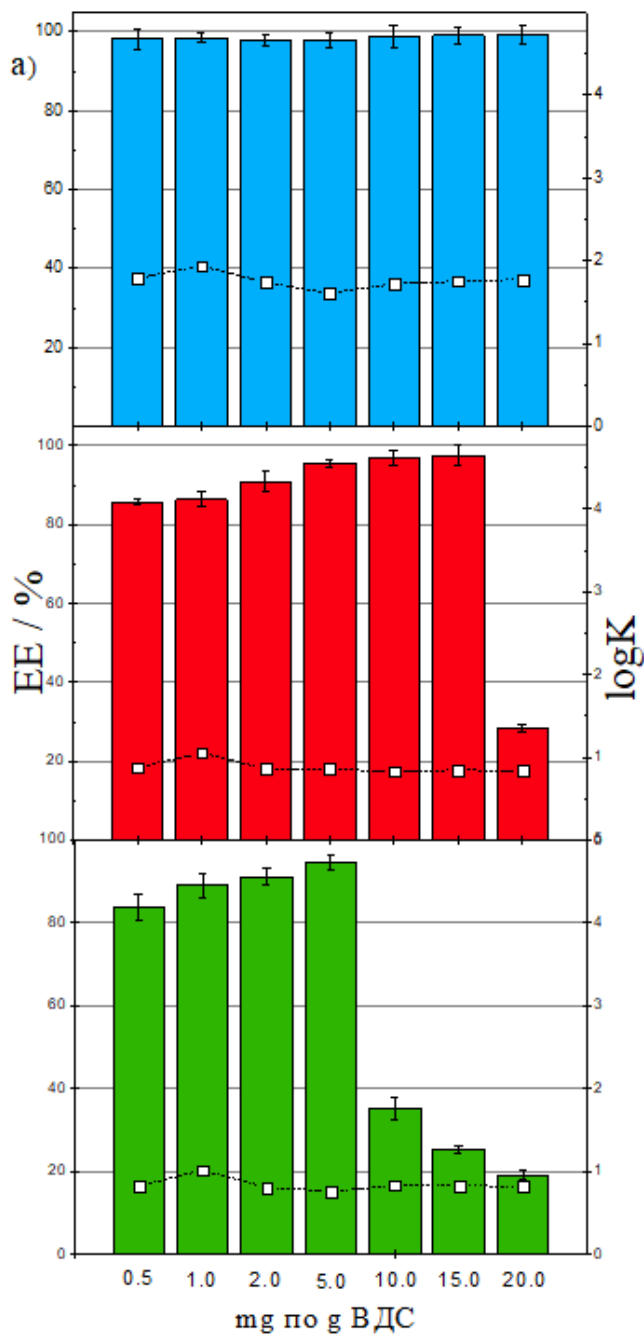
Системи састављени од око 30% ПЕ6200 + 15% $C_6H_5Na_3O_7$ + 55% воденог раствора АФС различитих концентрација (маса додатих АФС су 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 15,0 и 20,0 mg) чиме је испитан утицај количине сваке активне супстанце на њену екстракцију. Коефицијенти расподеле и ефикасност екстракције испитиваних супстанци за различите количине АФС су израчунати, Табела 19, и графички приказани на Слици 25. Даље, да би се проценили максимуми екстракције односно капацитет изабраног ВДС за екстракцију изабраних супстанци израчуната је растворљивост АФС за различите односе ПЕ6200 и H_2O јер се горња фаза посматраног система углавном састоји од плуроника и воде, Слика 26.

Табела 19. Коефицијенти расподеле, ефикасност екстракције и одговарајуће стандардне девијације (σ) парацетамола, кофеина и теофилина за различите масе АФС.

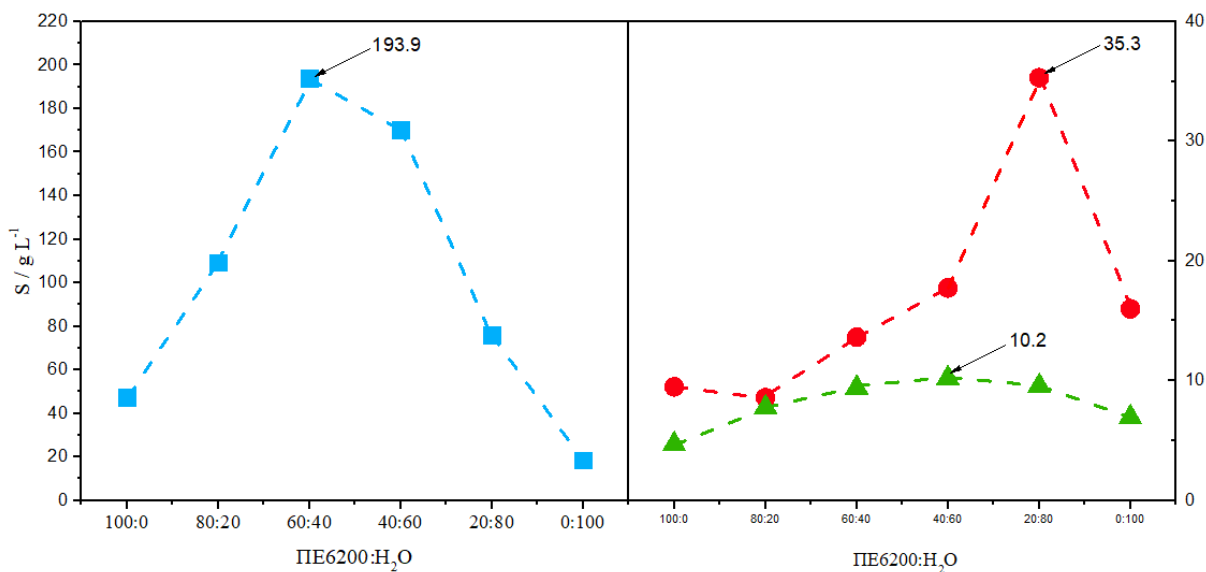
m / mg	K \pm σ			ЕЕ \pm σ , %		
	ПАР	КОФ	ТЕОФ	ПАР	КОФ	ТЕОФ
0,5	61,41 \pm 0,98	7,51 \pm 1,15	6,67 \pm 0,69	98,19 \pm 2,51	85,74 \pm 0,78	83,80 \pm 3,05
1,0	85,93 \pm 2,01	11,35 \pm 0,98	1,23 \pm 0,56	98,39 \pm 1,23	86,35 \pm 1,89	88,98 \pm 2,81
2,0	54,09 \pm 0,95	7,24 \pm 0,18	6,41 \pm 0,13	97,97 \pm 1,44	90,96 \pm 2,45	91,03 \pm 1,99
5,0	40,37 \pm 1,51	7,21 \pm 0,26	5,71 \pm 0,94	97,94 \pm 1,87	95,43 \pm 0,92	94,58 \pm 1,94
10,0	52,35 \pm 1,26	6,77 \pm 0,99	6,77 \pm 0,48	98,70 \pm 2,88	96,91 \pm 1,87	35,27 \pm 2,67
15,0	56,72 \pm 1,42	7,04 \pm 1,13	6,65 \pm 0,85	99,04 \pm 2,05	97,39 \pm 2,55	25,25 \pm 0,99
20,0	58,86 \pm 1,22	6,80 \pm 0,94	6,58 \pm 0,93	99,28 \pm 2,19	28,24 \pm 0,95	19,01 \pm 1,11

Са Сlike 24 види се да је ефикасност екстракције парацетамола висока и стабилна, са вредностима између 97,94 – 99,28%. За одабране количине парацетамола није постигнуто засићење ПЕ6200-фазе, Слика 24б, што је у складу са израчунатом максималном растворљивости од 193,9 g L⁻¹ за систем састављен од 40% воде и 60% ПЕ6200, Слика 25. Дакле, да би максимални капацитет ВДС био постигнут, за екстракцију парацетамола треба коришћењем везних линија подесити састав испитиваног ВДС тако да у плуроник-фази однос ПЕ6200: Н2О буде 60 %: 40 % и додати 190 mg парацетамола по граму плуроник-фазе.

Максимална ефикасност од 97,39% је постигнута додатком 15 mg кофеина што је у складу са његовом максималном растворљивошћу од 16,2 mg активне супстанце по граму плуроник-фазе. Слично је и у случају теофилина код кога је највећа ефикасност од 94,58 % постигнута додатком 5 mg што одговара граници засићења од 8,2 mg/g плуроник-фазе. Додавање АФС веће од наведених максималних количина односно повећање концентрације АФС у горњој фази ВДС доводи до наглог смањења ефикасности услед таложења лека. Формирања трећег слоја између фаза односно појава талог је индикација да је постигнут максимум ефикасности екстракције. Са друге стране, коефицијенти расподеле испитиваних АФС слабо зависе од количине испитиваних супстанци у системима, Слика 25а.



Слика 25. а) Ефикасност екстракције парацетамола (плава), кофеина (црвена) и теофилина (зелена) и одговарајући коефицијенти расподеле (\square) и б) количина АФС у ПЕ6200-фази (\triangle) и со-фази (\circ) за системе 30% ПЕ6200 + 15% $C_6H_5Na_3O_7$ + 55% воденог раствора АФС.



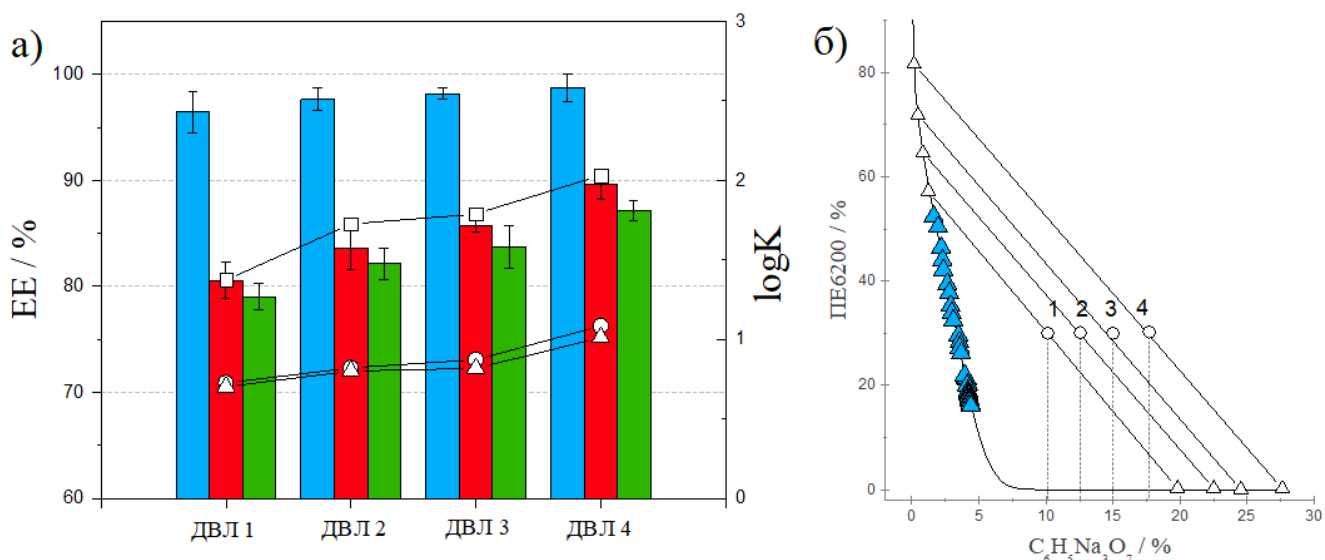
Слика 26. Растворљивост парацетамола (плава), кофеина (црвена) и теофилина (зелена) при различитим запреминским односима ПЕ6200 и H₂O. Стрелицама су означене израчунате растворљивости сваке АФС.

3.3.4. Утицај дужине везне линије на екстракцију парацетамола, кофеина и теофилина

У циљу постизања максималне ефикасности сепарационог процеса уз минималну употребу конституената ВДС испитан је утицај дужине везне линије на екстракцију изабраних АФС. Израчунати коефицијенти расподеле и ефикасност екстракције за различите количине соли при константном масеном уделу ПЕ6200 (~ 30%) су приказани у Табели 20.

Табела 20. Коефицијенти расподеле, ефикасност екстракције и стандардна девијација парацетамола, кофеина и теофилина за различите дужине везних линија и одговарајућих масених удела компонената ВДС.

	% ПЕ6200	% C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇	ДВЛ	K ± σ		
				ПАР	КОФ	ТЕОФ
1	30,0	10,1	68,27	23,63 ± 1,67	5,32 ± 0,34	23,63 ± 1,67
2	30,1	12,6	73,31	53,11 ± 2,22	6,61 ± 0,81	53,11 ± 2,22
3	31,0	14,8	75,78	61,41 ± 1,03	7,44 ± 1,12	61,41 ± 1,03
4	30,3	17,7	83,97	107,70 ± 2,85	5,32 ± 0,34	107,70 ± 2,85
				ЕЕ ± σ, %		
	% ПЕ6200	% C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇	ДВЛ	ПАР	КОФ	ТЕОФ
1	30,0	10,1	68,27	96,46 ± 1,96	80,56 ± 1,68	79,02 ± 1,24
2	30,1	12,6	73,31	97,65 ± 1,05	83,59 ± 1,98	82,12 ± 1,46
3	31,0	14,8	75,78	98,18 ± 0,54	85,76 ± 0,67	83,74 ± 2,01
4	30,3	17,7	83,97	98,77 ± 1,29	89,60 ± 1,33	87,14 ± 0,96



Слика 27. а) Ефикасност екстракције парацетамола (плава), кофеина (црвена) и теофилина (зелена) и одговарајући коефицијенти расподеле (\square ПАР, \circ КОФ и \triangle ТЕОФ) за системе ПЕ6200 + $C_6H_5Na_3O_7$ + водени раствор АФС на 25°C и б) фазни дијаграм са одабраним везним линијама. Легенда: \blacktriangle експериментално добијене растворљивости, \triangle састави горње и доње фазе и \circ изабрани састави фаза.

Повећање дужине везне линије повећава ефикасност екстракције свих испитиваних молекула и креће се у опсегу: $96,46\% < EE(\text{ПАР}) < 98,77\%$, $80,56\% < EE(\text{КОФ}) < 89,60\%$ и $79,02\% < EE(\text{ТЕОФ}) < 87,14\%$. Такође се и логаритамска вредност коефицијента расподеле повећава и то од 1,37 до 2,03 за парацетамол, од 0,73 до 1,08 за кофеин и од 0,70 до 1,01 за теофилин, Слика 27. Поред тога што се повећава коефицијент расподеле, дуже везне линије омогућавају чистије фазе односно да у плуроник-фази буде мали проценат соли и обрнуто.

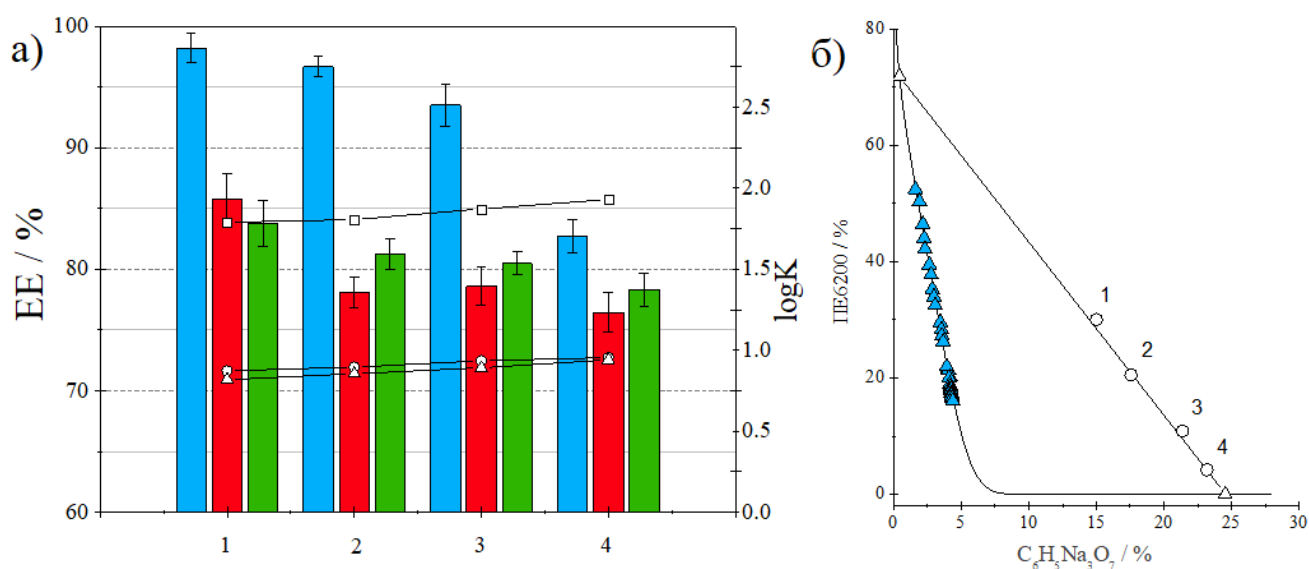
3.3.5. Утицај састава фаза воденог двофазног система дуж исте везне линије на екстракцију парацетамола, кофеина и теофилина

Различити почетни састави ВДС дуж изабране везне линије утичу на однос запремина горње и доње фазе система. С обзиром да ефикасности екстракције зависе од запремина фаза, испитана екстракција изабраних АФС при различитим запреминским односима фаза дуж вредности везне линије од $\sim 75,8$. Израчунати коефицијенти расподеле и ефикасности екстракције за изабране саставе полазних смеша су дати у Табели 21. На основу добијених резултата може се закључити да се ЕЕ смањује са смањењем односа запремина фаза и то од 98,18 % до 82,72% за парацетамол, од 85,76 % до 76,45 % за кофеин и од 83,74 % до 78,32 % за теофилин.

Табела 21. Коefицијенти расподеле, ефикасност екстракције и одговарајуће стандардне девијације парацетамола, кофеина и теофилина за различите почетне саставе ВДС при константној вредности дужине везне линије.

	% ПЕ6200	% C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇	ДВЛ	K ± σ		
				ПАР	КОФ	ТЕОФ
1	31,0	14,8	75,8	61.41 ± 0.87	7.44 ± 0.53	6.57 ± 0.84
2	20,5	17,6	75,8	64.03 ± 1.15	7.85 ± 0.68	7.14 ± 0.25
3	10,9	21,4	75,8	74.45 ± 2.52	8.57 ± 0.91	7.77 ± 0.69
4	4,2	23,2	75,8	84.99 ± 1.96	9.00 ± 0.59	8.70 ± 0.95

	% ПЕ6200	% C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇	ДВЛ	ЕЕ ± σ, %		
				ПАР	КОФ	ТЕОФ
1	31,0	14,8	75,8	98,18 ± 1,23	85,76 ± 2,05	83,75 ± 1,87
2	20,5	17,6	75,8	96,66 ± 0,84	78,06 ± 1,24	81,24 ± 1,31
3	10,9	21,4	75,8	93,49 ± 1,77	78,58 ± 1,56	80,45 ± 0,94
4	4,2	23,2	75,8	82,72 ± 1,39	76,45 ± 1,66	78,32 ± 1,35



Слика 28. а) Ефикасност екстракције парацетамола (плава), кофеина (црвена) и теофилина (зелена) и и одговарајући коefицијенти расподеле (□ ПАР, ○ КОФ и △ ТЕОФ) за системе ПЕ6200 + C₆H₅Na₃O₇ + водени раствор АФС на 25°C и б) фазни дијаграм и одабрана везна линија. Легенда: ▲ експериментално добијене растворљивости, △ састав горње и доње фазе и ○ изабрани састави фазе.

Смањење односа запремина фаза концентрације АФС у ПЕ6200-фази расту се одражава на логаритамске вредности логаритма коефицијента расподеле који су у благом порасту за ПАР од 1,80 до 1,85, за КОФ од 0,87 до 0,94 и за ТЕОФ од 0,82 до 0,91, Слика 28. Оптимизација односа запремина фаза у смислу смањења количине ПЕ6200-фазе, без нарушавања ефикасности екстракције, је од великог значаја. Приликом дизајнирања интегрисаног процеса екстракције АФС, треба узети у обзир концентрациони фактор (укупну количину ПЕ6200+H₂O почетне смеше подељену са количином ПЕ6200-фазе) као битан фактор имајући у виду подизање технолошке спремности сепарационе технологије на већи ниво односно „scale-up“ система. Постигнут је концентрациони фактор већи од 32 (систем са најмањом запремином ПЕ6200-фазе од испитиваних) са ефикасношћу екстракције преко 79%. Системи са мањом запремином горње фазе имају предност са оперативне и економске тачке гледишта због мање количине потребних конституената ВДС [96].

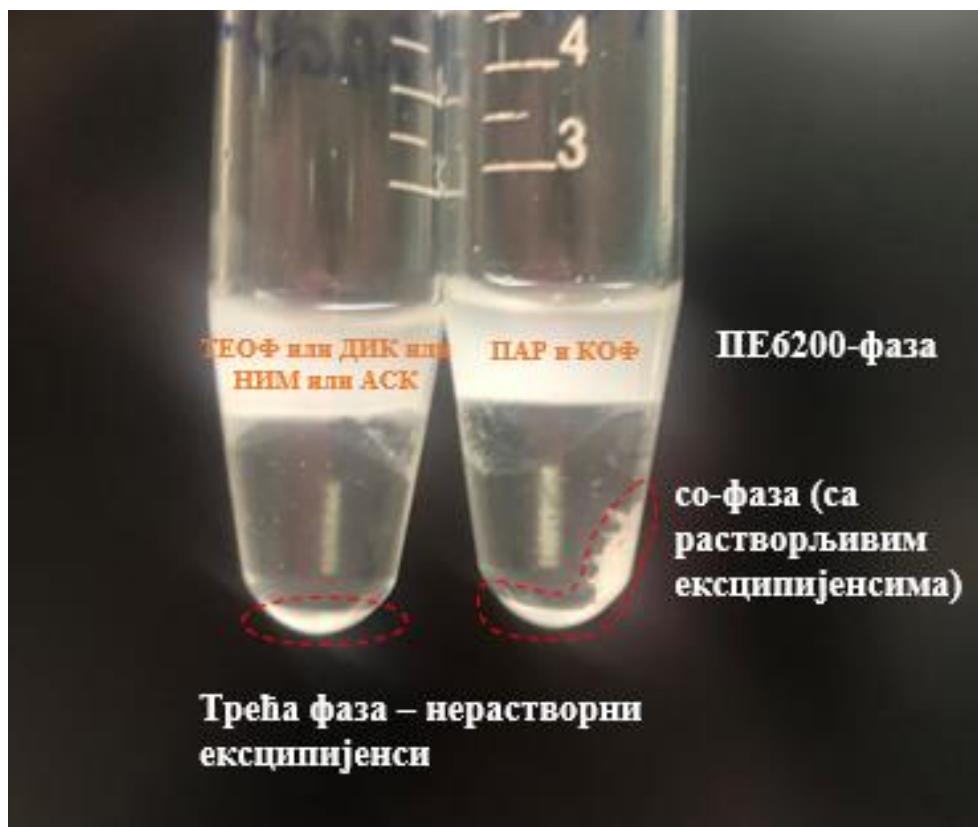
3.4. Екстракција активних аналгетских супстанци из реалних формулација

Након што је одређена расподела испитиваних АФС за сваки појединачни ВДС и урађена оптимизација параметара екстракције, ВДС на бази кополимера су испитани за издвајање активних супстанци из комерцијално доступних лекова чије су спецификације дате у Прилогу Ђ. Оперативни услови под којим је урађена екстракција реалних узорака су изабрани на основу претходно одрађених сепарационих експеримената. Као најефикаснији одабран је систем ПЕ6200/ $C_6H_5Na_3O_7$ на температури од 25 °С, са дужином везне линије ~76 и рН система ~8. Концентрације додатих АФС су наведене у експерименталном делу 2.6, док је однос запремина фаза ~0,8. Под наведеним условима постигнуто је издвајање теофилина, диклофенака, нимесулида и ацетилсалицилне киселине из одабраних лекова (Дурофилина, Раптена К, Нимулида и Аспирина) у два ступња. Са друге стране, додатни корак био неопходан за међусобно раздвајање парацетамола и кофеина који су садржани у комбинацији у Панадолу, што је постигнуто применом имидазолијумове јонске течности.

Први степен процеса подразумева течност-чврсту екстракцију АФС. Испитивани материјал се хомогенизује и одмерене масе (~11,7 mg Панадола Екстра, односно ~1,5 mg Дурофилина, Раптена К, Аспирина и Нимулида) су додате у 60% водене растворе ПЕ6200. Течно-чврста екстракција се изводила на собној температури уз константно мешање током одређеног периода. Након тога, други корак је подразумевао течност-течно екстракцију додатком раствора натријум цитрата у раствору лекова и плуроника. Састав система смо подесили тако да буде у двофазној области фазног дијаграма односно да постигнемо масене уделе од 30% ПЕ6200 и 15% $C_6H_5Na_3O_7$. Након анализе концентрација АФС, израчунате ЕИ су достигле следеће вредности: 99,00% за диклофенак, 98,00% за нимесулид, 83,40% за ацетилсалицилну киселину, 79,40% за теофилин, 97,90% за парацетамол и 87,40% за кофеин. Нерастворне помоћне супстанце издвојене у облику талога формирајући трећу фазу, као на Слици 29. Ефикасности изолације АФС из реалних узорака расту у низу ЕИ(ТЕОФ) < ЕИ(КОФ) < ЕИ(ПАР) пратећи расподелу и ефикасности екстракције које смо добили употребом стандардних једињења у делу 3.2.2. На основу добијених резултата може се закључити да су хидрофобности фаза ВДС, хидрофобности изабраних АФС и јак ефекат исољавања натријум цитрата превасходно одговорни за екстракцију активних супстанци из реалних матрикса. Међутим, иако су при издвајању АФС из реалних узорака примењени оптимизовани радни параметри, нису добијене значајно више ефикасности у односу на неоптимизоване екстракционе процесе у делу 3.2.2. Разлог томе треба тражити превасходно у утицају високо поларних помоћних супстанци на процес екстракције.

Када је реч о ексципијентима, у Прилогу Ђ су наведене све помоћне супстанце коришћених лекова заједно са вредностима коефицијената расподеле $\log P$ и назначеном растворљивостима. Ексципијенси који су нерастворни или слабо растворни у води, као што су калцијум карбонат, кросповидон, магнезијум стеарат, титанијум диоксид, талк, силицијум диоксид итд., су издвојени као трећа фаза након процеса течност-течне екстракције. Са друге стране, помоћне супстанце растворне у води, што су углавном високо поларна једињења као што су скроб, полисахариди (алгинска киселина и хипромелоза), поливинилпиролидон, шећерне сфере итд. (Прилог Ђ). Високе вредности негативних $\log P$ указују да је њихова расподела у ПЕ6200/ $C_6H_5Na_3O_7$ ВДС усмерена ка хидрофилнијој со-фази, као што је запажено у неким студија [99–101]. Наиме, поларни ексципијенси заостају у со-фази, и интеракцијом са цитратним јонима и молекулима воде смањују способност исољавања плуроника и АФС. С друге стране, са великом сигурношћу се може тврдити да полимери Магрогол 400 (синоним за ПЕГ400), Полисорбат 80 и Макрогол 6000 (синоним за ПЕГ6000), захваљујући својој хидрофобној природи и сличности са плуроником, мигрирају у ПЕ6200-фазу. Дакле, узимајући у обзир да ПЕГ400 и ПЕГ6000 имају

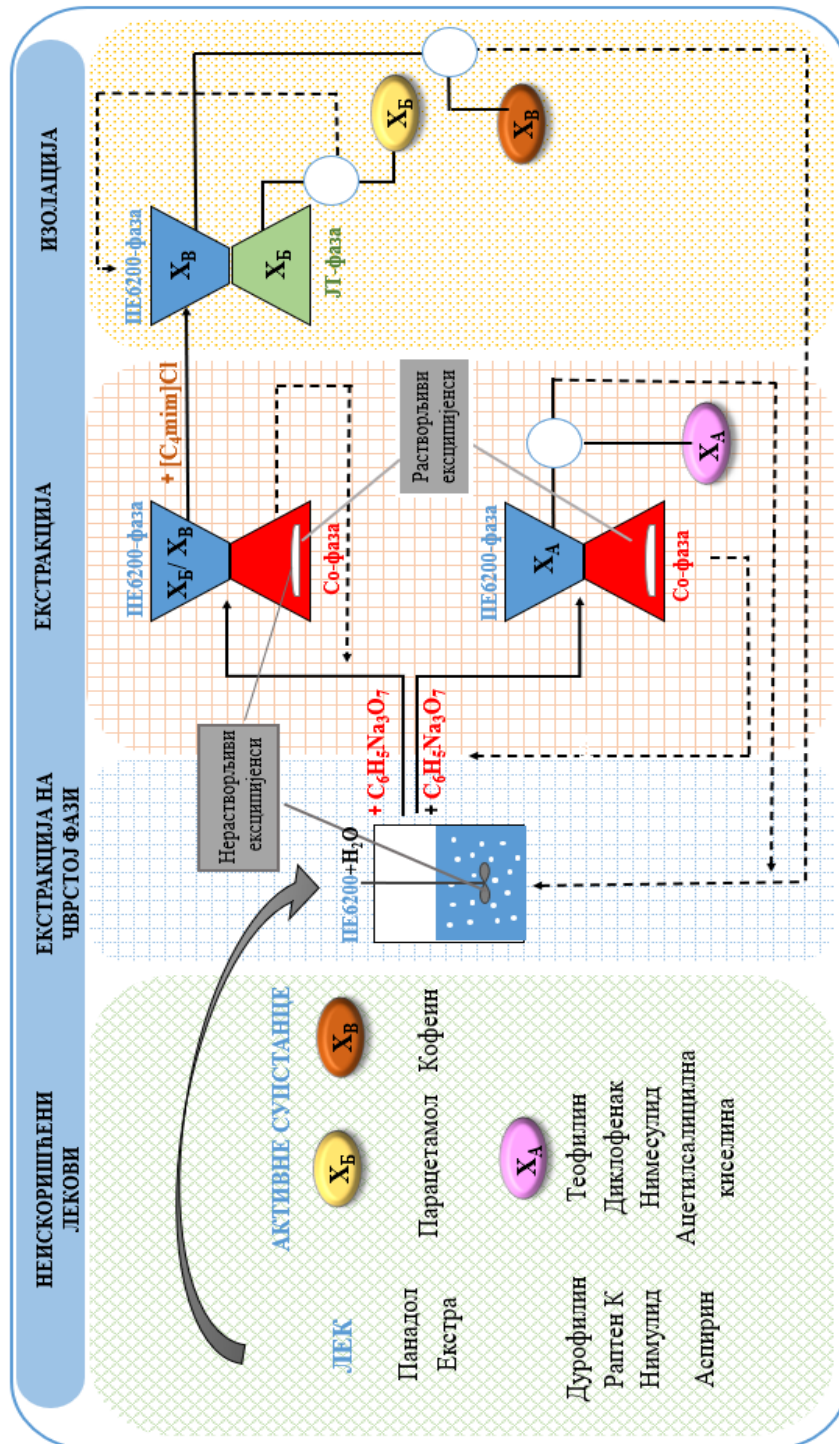
структурне сличности са полимерном компонентом ВДС разумно је закључити да ова једињења неће утицати на ефикасност и чистоћу екстрахованих АФС.



Слика 29. Система од 30% ПЕ6200 + 15% $C_6H_5Na_3O_7$ након додатка лекова са активним супстанцама парацетамолом, кофеином, теофилином, диклофенаком, нимесулидом и ацетилсалицилном киселином. Црвеном испрекиданом линијом су означене нерастворне помоћне супстанце.

Као што је напоменуто, с обзиром да се парацетамол и кофеин заједно екстрахују у ПЕ6200-фазу потребан је додатни ступањ за њихово раздвајање. У делу 3.2.2. је показано супротно понашање активних једињења из Панадола у погледу расподеле између фаза у испитиваном систему ПЕ6200/[C_4mim]Cl. Сходно томе, имидазолијумова ЈТ је изабрана за фракционисање парацетамола и кофеина у процесу течност-течне екстракције. Након екстракције парацетамола и кофеина у ПЕ6200-фазу, плуроник-фаза је пажљиво одвојена, и додата је ЈТ да би се добио ВДС са тачно одређеним саставом у двофазној области ВДС. Након анализе фаза, добијене су ефикасности изолације од 70,49% за ПАР (израчунато према ЈТ-фази, једначина 18) и 65,70% за КОФ (за ПЕ6200-фазу, једначина 16). Дакле, парацетамол мигрира у ЈТ-фазу услед водоничних веза које остварује са ЈТ као и због присутних хидрофобних и π - π интеракција. С друге стране, иако се кофеин екстрахује у ПЕ6200-фазу, нижа вредност ефикасности, у односу на системе са неорганским солима, имплицира да постоје и одређене интеракције између КОФ и ЈТ, пре свега хидрофобне и π - π интеракције. Ови резултати указују да у даљим истраживањима треба размотрити хидрофилније имидазолијум ЈТ са анјонима који имају израженију способност да

буду акцептори водоничних веза. На тај начин би се остварила јача интеракција са ПАР са једне стране и слабија интеракција са молекулом КОФ са друге, што би резултирало бољим раздвајањем.



Слика 30. Шема интегрисаног сепарационог процеса за издвајање активних једињења из одабраних фармацеутских формулација

Истраживање у оквиру ове докторске дисертације је показало да се испитани водени двофазни системи могу применити за веома ефикасно издвајање АФС, из неискоришћених или лекова са истеклим роком трајања. Предложени метод би знатно допринео зеленом концепту развијања сепарационих технологија. Све компоненте воденог двофазног система су бенигне са екотоксиколошког аспекта. Већина полуксамера, као што је ПЕ6200, су у широкој употреби услед своје изражене биокомпатибилности [80]. Такође, у радовима су потврђене еколошки прихватљиве особине и ниска токсичност имидазолијумове ЈТ, [C₄mim]Cl [102,103]. Дакле, предложени сепарациони концепт је заснован на добро истраженим и комерцијалним доступним компонентама, што је од великог значаја за његову изводљивост и економску одрживост. Концептуални дизајн развијене интегрисане сепарационе технологије за екстракцију и издвајање АФС из фармацеутских формулација је шематски представљен на Слици 30.

Иако изолација АФС није била део истраживања у оквиру ове докторске дисертације, дати су предлози издвајања АФС из матрикса ВДС како би компоненте ВДС биле поново искоришћене (испрекидане линије на слици 30). Тиме се додатно наглашава одрживи карактер процеса. Поновна употреба компонентата ВДС је веома важан корак за потенцијалну комерцијализацију предложене сепарационе платформе имајући у виду да су потребне високе концентрације компонентата за формирање фаза. Такође, рециклирање кополимера и соли би допринело економској и еколошкој одрживости процеса валоризације лекова. Плуроник ПЕ6200 је изразито термосензитивни кополимер ког карактерише доња критична температура раствора (енг. lower-critical solution temperature, LCST), изнад које долази до раскидања водоничних веза, полимер истискује везану воду и настају две фазе [104]. На тај начин би се испитиване АФС након екстракције у кополимер-фазу издвојиле у водени раствор што би довело до њихове изолације и рециклаже кополимера [85]. С друге стране, парацетамол се може издвојити из ЈТ-фазе таложењем односно додатком растварача у којем се компоненте не растварају (тзв. антирастварач) при чему долази до преципитације. Вебер и др. показали да је кристализација ПАР из различитих ЈТ могућа додавањем растварача који су изразити доноси водоничне везе при чему је постигнут принос кристализације већи од 88% на 25 °C [105].

4. ЗАКЉУЧАК

Валоризација активних фармацеутских супстанци има вишеструке предности. Пречишћавањем АФС из неискоришћених лекова, добијају се једињења која се могу поново употребити за нове формулације што је велика предност са економске стране јер су за синтезу АФС често потребне велике количине растварача а сами процеси су дуготрајни и компликовани. Са друге стране, огромна предност је и са аспекта заштите животне средине.

У овој докторској дисертацији су испитани водени двофазни системи са структурно различитим солима, које се уже могу дефинисати на основу тачке топљења као јонске течности (течне испод 100 °C) или класичне соли (чврсте изнад 100 °C), и триблок кополимером ПЕ6200 за сепарацију активних фармацеутских супстанци. На основу добијених резултата је закључено:

- Тенденција холинијумских соли са тачком топљења изнад 100 °C да награде две фазе са плуроником ПЕ6200 опада у низу [Ch][DHP] > [Ch][Bit] > [Ch][DHCit] > [Ch][Cl], што је у сагласности са повећањем укупне поларне површине анјона соли и смањењем анјона. Наведене холинијумске соли имају израженију тенденцију да граде јаче хидратационе комплексе и узрокују дехидратацију кополимера.
- Холинијумске соли са тачком топљења испод 100 °C које сматрамо јонским течностима, у присуству ПЕ6200 награђују ВДС са способношћу која опада у низу [Ch][Ac] > [Ch][Lac] > [Ch][Pro] > [Ch][But]. Овај низ је у сагласности са смањењем вредности $\log K_{ow}$ али не прати смањење вредности поларних површина анјона јонских течности. У случају ВДС на бази ЈТ и ПЕ6200, механизам фомирања две фазе је знатно комплекснији, хидратација јона не зависи само од електростатичких интеракција, већ на хидратацију јона знатно утичу и специфичне интеракције између (ЈТ и кополимера, ЈТ и воде, кополимера и воде) које зависе од хемијске структуре кополимера и јона јонске течности.
- [Ch][Lac], са дужим бочним ланцем, слабије индукује ВДС са ПЕ6200 у поређењу са [Ch][Ac] који поседује краћи алифатични део. Установљено је да што је бочни алифатични ланац анјона ЈТ дужи специфичне, ван дер Валсове, интеракције су јаче условљавајући бољу међусобну растворљивост ЈТ и кополимера а самим тим и њихову слабију склоност да награде ВДС.
- Испитујући расподелу модел молекула у одабраним ВДС, установљено је да кофеин, теофин и теобромин прелазе у ПЕ6200-фазу пратећи пораст K у низу ТЕОБ < КОФ < ТЕОФ што је у складу са порастом њихове хидрофобности односно вредностима $\log K_{ow}$. Такође, вредности K алкалоида расту у низу [Ch][DHCit] < [Ch][But] < [Ch][Lac] < [Ch][Pro] < [Ch]Cl < [Ch][Bit] < [Ch][Ac] < [Ch][DHP] што је у корелацији са уделом ЈТ и воде у ПЕ6200-фази. Ово имплицира да расподела модел молекула у ВДС прати хидрофобност ПЕ6200-фазе и да се наведени молекули могу користити као хидрофобне пробе. Са друге стране позитивно наелектрисање које носи молекул никотина у датим рН областима условљава његову миграцију у со-фазу. Тенденцију ка јонској фази условљавају пре свега електростатичке интеракције и водоничне везе.
- На основу израчунатих селективности, ПЕ6200/ [Ch][DHP] ВДС се може искористити за раздвајање структурно сличних алкалоида.
- Испитивањем афинитета структурно различитих једињења ка грађењу ВДС са ПЕ6200, утврђено је да способност изољивања опада у низу $C_6H_5Na_3O_7$ > [Ch][DHP] > [C₄mim]Cl. Наведени низ је у складу са повећањем поларне површине анјона и њихове хидрофилности.

У другом делу докторске дисертације су урађени екстракциони експерименти, односно одређени параметри екстракције ВДС за испитиване АФС аналгетских формулација при чему је показано да:

- У ВДС ПЕ6200 и холинијумских соли све три испитиване НСАИЛ прелазе у ПЕ6200-фазу што је у складу са њиховим хидрофобностима. Нешто више вредности параметара екстракције АСК у систему са [Ch]Cl су последица негативног наелектрисања које носи АСК на датој рН вредности и израженијих електостатичких интеракција него код диклофенака и нимесулида. Вредности ЕЕ и К сва три НСАИЛ расту у низу [Ch]Cl < [Ch][Lac] < [Ch][DHCit] < [Ch][Bit] < [Ch][DHP], и прате способност соли да награде ВДС са ПЕ6200 односно хидрофобност система.
- Највеће вредности ефикасности екстракције за парацетамол, кофеин и теофилин су добијени за систем ПЕ6200 + C₆H₅Na₃O₇ у односу на [Ch][DHP] и [C₄mim]Cl ЈТ. Најизраженију тенденцију ка ПЕ6200-фази има најхидрофобнији парацетамол. Ефикасност екстракције у систему са [Ch][DHP] је у складу са вредностима logK_{ow} испитиваних АФС. Ниже вредности ЕЕ теофилина и кофеина у систему са имидазолијумовом ЈТ су узроковане додатним π-π интеракцијама између катјона ЈТ (имидазолијумовог прстена) и ароматичних прстена испитиваних молекула. Миграција парацетамола у [C₄mim]Cl -фазу се објашњава стварањем водоничне везе између амидне или хидроксилне групе парацетамола и Cl⁻ ањона ЈТ који се понаша као акцептор водоничне везе.

Оптимизација најефикаснијег ВДС ПЕ6200/ C₆H₅Na₃O₇ у трећем делу докторске дисертације је дала следеће резултате:

- Температура не утиче знатно на вредности параметара екстракције односно на ефикасност екстракције, па је установљено да је собна температура најоптималнија за екстракцију имајући у виду енергетску ефикасност.
- Што се тиче утицаја рН вредности екстракционих система, који су подешавани употребом тробазног натријум цитрата и цитратних пуфера, установљено је да максимална ефикасност постигнута на рН ~ 7,5 услед најизраженије способности изољевања цитратне соли.
- Одређени су максимални капацитети ВДС за екстракцију АФС по граму плуроник-фазе, и то 190 mg за ПАР, 16,2 mg за КОФ и 8,2 mg за ТЕОФ по граму плуроник-фазе. Додавање АФС веће од наведених максималних количина односно повећање концентрације АФС у горњој фази ВДС доводи до наглог смањења ефикасности услед таложења лека.
- На саставима ВДС који припадају дужим везним линијама, ефикасност изолације АФС је већа и доприноси да састав самих фаза буде хомогенији у смислу смањења масеног удела компенете која је у мањку односно да у ПЕ6200-фази буде мањи проценат соли и обрнуто.
- Састави ВДС дуж исте везне линије се разликују у односу запремина фаза ВДС, и са његовим смањењем се смањује ефикасност екстракције АФ. Постигнут је концентрациони фактор већи од 32 са ефикасношћу екстракције преко 79% што је веома битно са оперативног и економског аспекта употребе конституената ВДС.
- Као најефикаснији ВДС одабран је систем ПЕ6200/ C₆H₅Na₃O₇ на температури од 25 °С, са дужином везне линије ~ 76 и рН система ~ 8, док је однос запремина фаза ~ 0,8.

У четвртом делу докторске дисертације урађено је издвајање АФС из различитих аналгетских формулација и установљено је следеће:

- Издвајање лекова који садрже једну активну компоненту (Раптен К, Нимулид, Аспирин и Дурофилин са активним супстанцама диклофенак, нимесулид, ацетилсалицилна киселина и теофилин, редом) је постигнуто у два корака односно применом чврсто-течне екстракције са воденим раствором ПЕ6200 која је праћена течно-течном екстракцијом применом ВДС ПЕ6200/ C₆H₅Na₃O₇. Све испитиване АФС су се екстраховале у ПЕ6200-фазу са појединачним ЕИ од 99,00%, 98,00%, 83,40% и 79,40% за диклофенак, нимесулид,

ацетилсалицилну киселину и теофилин из Раптена К, Нимулида, Аспирина и Дурофилиуна, редом.

- Код аналгетске формулације са две активне компоненте (Панадол Екстра), парацетамол и кофеин, обе компоненте мигрирају у ПЕ6200-фазу након течно-течне екстракције са ЕИ 97,90% и 87,40%. Додатно се ове две компоненте раздвајају додатком $[C_{4mim}]Cl$ на тај начин што парацетамол мигрира у ЈТ-фазу са ЕИ од 70,49% док кофеин мигрира у ПЕ6200-фазу са 65,70%.
- Нерастворни и слабо растворни ексципијенси се издвајају у облику талога након другог корака и уклањају филтрирањем. Са друге стране, установљено је да високо поларне помоћне супстанце могу утицати на ефикасност изолације АФС. Полимери који улазе у састав помоћних једињења не утичу на чистоћу издвојених АФС.

Истраживање у оквиру ове докторске дисертације је показало да се испитани водени двофазни системи могу применити за веома ефикасно издвајање АФС, из неискоришћених или лекова са истеклим роком трајања. Предложени метод би знатно допринео зеленом концепту развијања сепарационих технологија. Предложени сепарациони концепт је заснован на добро истраженим и комерцијалном доступним компонентама, што је од великог значаја за његову изводљивост и економску одрживост. На основу свих добијених резултат, на крају, је шематски предложен концептуални дизајн развијене интегрисане сепарационе технологије за екстракцију и издвајање АФС из фармацеутских формулација.

5. ЛИТЕРАТУРА

- [1] M. Paut Kusturica, S. Golocorbin-Kon, T. Ostojic, M. Kresoja, M. Milovic, O. Horvat, T. Dugandzija, N. Davidovac, A. Vasic, A. Tomas, Consumer willingness to pay for a pharmaceutical disposal program in Serbia: A double hurdle modeling approach, *Waste Manag.*, 104 (2020) 246.
- [2] R.M. Šerović, I. V. Jelić, D.L. Antonijević, M.R. Adžemović, Z.R. Vujović, V.S. Jovanović, B.I. Matić, Generisanje i upravljanje medicinskim otpadom u Srbiji – pregled, *Teh. IMS, Stand. i Metrol.*, 16 (3) (2016) 487.
- [3] WHO, Annex 10 Stability testing of active pharmaceutical ingredients and finished pharmaceutical products, 2018.
- [4] L. Cantrell, J.R. Suchard, A. Wu, R.R. Gerona, Stability of active ingredients in long-expired prescription medications, *Arch. Intern. Med.*, 172 (21) (2012) 1685.
- [5] F.A. E Silva, T. Sintra, S.P.M. Ventura, J.A.P. Coutinho, Recovery of paracetamol from pharmaceutical wastes, *Sep. Purif. Technol.*, 122 (2014) 315.
- [6] S. Goločorbin-Kon, M. Lalić-Popović, N. Pavlović, M. Đanić, J. Cvejić, V. Ilić, M. Mikov, The approach to the pharmaceutical waste management in the world and in Serbia, in: *Maced. Pharm. Bull. Vol. 62(Suppl)*, 2016: pp. 95–96.
- [7] S.P.M. Ventura, F.A. E Silva, M. V. Quental, D. Mondal, M.G. Freire, J.A.P. Coutinho, Ionic-Liquid-Mediated Extraction and Separation Processes for Bioactive Compounds: Past, Present, and Future Trends, *Chem. Rev.*, 117 (10) (2017) 6984.
- [8] M. Cleuvers, Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 59 (3) (2004) 309.
- [9] H.G. Kress, A. Baltov, A. Basiński, F. Berghea, J. Castellsague, C. Codreanu, E. Copaciu, M.A. Giamberardino, M. Hakl, L. Hrazdira, M. Kokavec, J. Lejčko, L. Nachtnebl, R. Stančík, A. Švec, T. Tóth, M. V. Vlaskovska, J. Woron, Acute pain: A multifaceted challenge - The role of nimesulide, *Curr. Med. Res. Opin.*, 32 (1) (2016) 23.
- [10] N. Ebrahimi, R. Sadeghi, Carbohydrate-based aqueous biphasic systems for biomolecules extraction, *Sep. Purif. Technol.*, 277 (2021) 119460.
- [11] T. Heberer, Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data, *Toxicol. Lett.*, 131 (2002) 5.
- [12] D.E. Pratama, W.C. Hsieh, A. Elmaamoun, H.L. Lee, T. Lee, Recovery of Active Pharmaceutical Ingredients from Unused Solid Dosage-Form Drugs, *ACS Omega*, 5 (45) (2020) 29147.
- [13] Z.N. Ennis, D. Dideriksen, H.B. Vægter, G. Handberg, A. Pottegård, Acetaminophen for Chronic Pain: A Systematic Review on Efficacy, *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, 118 (3) (2016) 184.
- [14] A. Javaherian, P. Latifpour, Acetaminophen : properties, clinical uses and adverse effects, Nova Science, 2012.
- [15] R.A. Granberg, Å.C. Rasmuson, Solubility of paracetamol in pure solvents, *J. Chem. Eng. Data*, 44 (6) (1999) 1391.
- [16] H.F. Miranda, M.M. Puig, J.C. Prieto, G. Pinaridi, Synergism between paracetamol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental acute pain, *Pain*, 121 (1–2) (2006) 22.
- [17] A. Moore, S. Collins, D. Carroll, H. McQuay, Paracetamol with and without codeine in acute pain: A quantitative systematic review, *Pain*, 70 (2–3) (1997) 193.
- [18] S. Wu, L. Zhang, J. Chen, Paracetamol in the environment and its degradation by microorganisms, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 96 (4) (2012) 875.
- [19] B. shu He, J. Wang, J. Liu, X. min Hu, Eco-pharmacovigilance of non-steroidal anti-inflammatory drugs: Necessity and opportunities, *Chemosphere*, 181 (2017) 178.

- [20] S. Vrcelj-Jovanović, V. Radonjić, D. Đurović, L. j Đukić, Nacionalni registar lekova 2018, 2018.
- [21] D. Mijin, M. Stankovic, S. Petrovic, M. Blagojevic, Acetylsalicylic acid: Incoming 150 years of the first synthesis, *Hem. Ind.*, 56 (10) (2002) 401.
- [22] M. Khamis, R. Karaman, F. Ayyash, A. Qtait, O. Deeb, A. Manssra, Efficiency of advanced membrane wastewater treatment plant towards removal of aspirin, salicylic acid, paracetamol and p-aminophenol, *J. Environ. Sci. Eng. (Libertyville, IL, United States)*, 5 (2) (2011) 121.
- [23] T. aus der Beek, F.A. Weber, A. Bergmann, S. Hickmann, I. Ebert, A. Hein, A. Küster, Pharmaceuticals in the environment-Global occurrences and perspectives, *Environ. Toxicol. Chem.*, 35 (4) (2016) 823.
- [24] R. Altman, B. Bosch, K. Brune, P. Patrignani, C. Young, Advances in NSAID development: Evolution of diclofenac products using pharmaceutical technology, *Drugs*, 75 (8) (2015) 859.
- [25] T.H. Galligan, M.A. Taggart, R.J. Cuthbert, D. Svobodova, J. Chipangura, D. Alderson, V.M. Prakash, V. Naidoo, Metabolism of aceclofenac in cattle to vulture-killing diclofenac, *Conserv. Biol.*, 30 (5) (2016) 1122.
- [26] L. Lonappan, S.K. Brar, R.K. Das, M. Verma, R.Y. Surampalli, Diclofenac and its transformation products: Environmental occurrence and toxicity - A review, *Environ. Int.*, 96 (2016) 127.
- [27] M.J. Benotti, R.A. Trenholm, B.J. Vanderford, J.C. Holady, B.D. Stanford, S.A. Snyder, Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in US drinking water, *Environ. Sci. Technol.*, 43 (3) (2009) 597.
- [28] L. Miranda, V.C. Pereira, C.S. Machado, Y.R. Torres, V.E. dos Anjos, S.P. Quináia, Direct Determination of Nimesulide in Natural Waters and Wastewater by Cathodic Stripping Voltammetry, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 73 (4) (2017) 631.
- [29] B. Tubić, B. Ivković, M. Zečević, S. Vladimirov, Simultaneous determination of nimesulide and its impurities in pharmaceutical formulations by reversed-phase high-performance liquid chromatography, *Acta Chim. Slov.*, 54 (3) (2007) 583.
- [30] M. Catarro, J.L. Serrano, S.S. Ramos, S. Silvestre, P. Almeida, Nimesulide analogues: From anti-inflammatory to antitumor agents, *Bioorg. Chem.*, 88 (March) (2019) 102966.
- [31] M. Nikolić, S. Đorđević, Alkaloids in the pharmaceutical industry: Structure, isolation and application, *Hem. Ind.*, 57 (10) (2003) 471.
- [32] E.M. Laska, A. Sunshine, F. Mueller, W.B. Elvers, C. Siegel, A. Rubin, Caffeine as an Analgesic Adjuvant, *J. Am. Med. Assoc.*, 251 (13) (1984) 1711.
- [33] G. Korekar, A. Kumar, C. Ugale, Occurrence, fate, persistence and remediation of caffeine: a review, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 27 (2020) 34583.
- [34] A.F.M. Cláudio, A.M. Ferreira, M.G. Freire, J.A.P. Coutinho, Enhanced extraction of caffeine from guaraná seeds using aqueous solutions of ionic liquids, *Green Chem.*, 15 (7) (2013) 2002.
- [35] M. Weinberger, L. Hendeles, Theophylline in asthma, *N. Engl. J. Med.*, 334 (21) (1996) 1380.
- [36] A. Pobudkowska, U. Domańska, J.A. Kryska, The physicochemical properties and solubility of pharmaceuticals - Methyl xanthines, *J. Chem. Thermodyn.*, 79 (2014) 41.
- [37] C.I.C. Silvestre, J.L.M. Santos, J.L.F.C. Lima, E.A.G. Zagatto, Liquid-liquid extraction in flow analysis: A critical review, *Anal. Chim. Acta*, 652 (1–2) (2009) 54.
- [38] B. Buszewski, M. Szultka, Past, Present, and Future of Solid Phase Extraction: A Review, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 42 (3) (2012) 198.
- [39] I. Cabrita, B. Ruiz, A.S. Mestre, I.M. Fonseca, A.P. Carvalho, C.O. Ania, Removal of an analgesic using activated carbons prepared from urban and industrial residues, *Chem. Eng. J.*, 163 (3) (2010) 249.
- [40] C. Sophia A., E.C. Lima, Removal of emerging contaminants from the environment by adsorption, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 150 (2018) 1.
- [41] F.F. Cantwell, M. Losier, Liquid-liquid extraction, *Compr. Anal. Chem.*, 37 (2002) 297.

- [42] L.M. Ignjatović, *Kontrola stanja životne sredine – Metode i tehnike pripreme uzoraka*, Beogradu, Univerzitet u Fakultet za fizičku hemiju, Beograd, 2019.
- [43] B. Schuur, T. Brouwer, D. Smink, L.M.J. Sprakel, Green solvents for sustainable separation processes, *Curr. Opin. Green Sustain. Chem.*, 18 (2019) 57.
- [44] M.G. Freire, A.F.M. Cláudio, J.M.M. Araújo, J.A.P. Coutinho, I.M. Marrucho, J.N. Canongia Lopes, L.P.N. Rebelo, Aqueous biphasic systems: A boost brought about by using ionic liquids, *Chem. Soc. Rev.*, 41 (14) (2012) 4966.
- [45] P. Albertsson, Partition of proteins in liquid polymer-polymer two-phase systems, *Nature*, 182 (4637) (1958) 709.
- [46] M.G. Freire, *Ionic-Liquid-Based Aqueous Biphasic Systems: Fundamentals and Applications*, Springer, Berlin, Heidelberg, 2016.
- [47] P. Walden, Molecular weights and electrical conductivity of several fused salts, *Bull. Acad. Imper.Sci. St. Petersburg.*, 8 (6) (1914) 405.
- [48] F.H. Hurley, J. Thomas P. Wier, Electrodeposition of Metals from Fused Quaternary Ammonium Salts, *J. Electrochem. Soc.*, 98 (203) (1951) 203.
- [49] J.S. Wilkes, M.J. Zaworotko, Air and Water Stable 1-Ethyl-3-methylimidazolium Based Ionic Liquid, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 04 (13) (1992) 965.
- [50] N. V. Plechkova, K.R. Seddon, Applications of ionic liquids in the chemical industry, *Chem. Soc. Rev.*, 37 (1) (2008) 123.
- [51] R.D. Rogers, K.R. Seddon, Ionic Liquids - Solvents of the Future?, *Science* (80-.), 302 (5646) (2003) 792.
- [52] K.N. Marsh, J.A. Boxall, R. Lichtenthaler, Room temperature ionic liquids and their mixtures - A review, *Fluid Phase Equilib.*, 219 (1) (2004) 93.
- [53] P.A. Hunt, B. Kirchner, T. Welton, Characterising the electronic structure of ionic liquids: An examination of the 1-butyl-3-methylimidazolium chloride ion pair, *Chem. - A Eur. J.*, 12 (26) (2006) 6762.
- [54] S. V Dzyuba, R.A. Bartsch, Influence of Structural Variations in 1-Alkyl(aralkyl)-3-Methylimidazolium Hexafluorophosphates and Bis(trifluoromethyl- sulfonyl)imides on Physical Properties of the Ionic Liquids, *ChemPhysChem*, 3 (2002) 161.
- [55] S. Shahriari, L.C. Tomé, J.M.M. Araújo, L.P.N. Rebelo, J.A.P. Coutinho, I.M. Marrucho, M.G. Freire, Aqueous biphasic systems: A benign route using cholinium-based ionic liquids, *RSC Adv.*, 3 (6) (2013) 1835.
- [56] K.D. Weaver, H.J. Kim, J. Sun, D.R. MacFarlane, G.D. Elliott, Cyto-toxicity and biocompatibility of a family of choline phosphate ionic liquids designed for pharmaceutical applications, *Green Chem.*, 12 (3) (2010) 507.
- [57] P. Nockemann, B. Thijs, K. Driesen, C.R. Janssen, K. Van Hecke, § Luc, V. Meervelt, S. Kossmann, B. Kirchner, K. Binnemans, Choline Saccharinate and Choline Acesulfamate: Ionic Liquids with Low Toxicities, (2007).
- [58] J.I. Santos, A.M.M. Gonçalves, J.L. Pereira, B.F.H.T. Figueiredo, F.A.E. Silva, J.A.P. Coutinho, S.P.M. Ventura, F. Gonçalves, Environmental safety of cholinium-based ionic liquids: assessing structure-ecotoxicity relationships, *Green Chem.*, 17 (9) (2015) 4657.
- [59] X. Han, D.W. Armstrong, Ionic liquids in separations, *Acc. Chem. Res.*, 40 (11) (2007) 1079.
- [60] J.K. Kim, A. Matic, J.H. Ahn, P. Jacobsson, An imidazolium based ionic liquid electrolyte for lithium batteries, *J. Power Sources*, 195 (22) (2010) 7639.
- [61] S.N. Pedro, C.S. R. Freire, A.J.D. Silvestre, M.G. Freire, The Role of Ionic Liquids in the Pharmaceutical Field: An Overview of Relevant Applications, *Int. J. Mol. Sci.*, 21 (21) (2020) 8298.
- [62] K.E. Gutowski, G.A. Broker, H.D. Willauer, J.G. Huddleston, R.P. Swatloski, J.D. Holbrey, R.D.

- Rogers, Controlling the aqueous miscibility of ionic liquids: Aqueous biphasic systems of water-miscible ionic liquids and water-structuring salts for recycle, metathesis, and separations, *J. Am. Chem. Soc.*, 125 (22) (2003) 6632.
- [63] J.R. Trindade, Z.P. Visak, M. Blesic, I.M. Marrucho, J.A.P. Coutinho, J.N. Canongia Lopes, L.P.N. Rebelo, Salting-out effects in aqueous ionic liquid solutions: Cloud-point temperature shifts, *J. Phys. Chem. B*, 111 (18) (2007) 4737.
- [64] C.M.S.S. Neves, S.P.M. Ventura, M.G. Freire, I.M. Marrucho, J.A.P. Coutinho, Evaluation of Cation Influence on the Formation and Extraction Capability of Ionic-Liquid-Based Aqueous Biphasic Systems Catarina, *J. Phys. Chem. B*, 113 (15) (2009) 5194.
- [65] S.P.M. Ventura, C.M.S.S. Neves, M.G. Freire, I.M. Marrucho, J. Oliveira, J.A.P. Coutinho, Evaluation of anion influence on the formation and extraction capacity of ionic-liquid-based aqueous biphasic systems, *J. Phys. Chem. B*, 113 (27) (2009) 9304.
- [66] S. Mallakpour, Z. Rafiee, Tetrabutylammonium bromide: An efficient, green and novel media for polycondensation of 4-(4-dimethylaminophenyl)-1,2,4-triazolidine-3,5-dione with diisocyanates, *Eur. Polym. J.*, 43 (4) (2007) 1510.
- [67] F.A. E Silva, M. Caban, P. Stepnowski, J.A.P. Coutinho, S.P.M. Ventura, Recovery of ibuprofen from pharmaceutical wastes using ionic liquids, *Green Chem.*, 18 (13) (2016) 3749.
- [68] J.F.B. Pereira, K.A. Kurnia, O.A. Cojocar, G. Gurau, L.P.N. Rebelo, R.D. Rogers, M.G. Freire, J.A.P. Coutinho, Molecular interactions in aqueous biphasic systems composed of polyethylene glycol and crystalline vs liquid cholinium-based salts, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 16 (12) (2014) 5723.
- [69] J.F.B. Pereira, A. Magri, M. V. Quental, M. Gonzalez-Miquel, M.G. Freire, J.A.P. Coutinho, Alkaloids as Alternative Probes to Characterize the Relative Hydrophobicity of Aqueous Biphasic Systems, *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 4 (3) (2016) 1512.
- [70] A. Dimitrijević, A.P.M. Tavares, M.R. Almeida, M. Vraneš, A.C.A. Sousa, A.C. Cristóvão, T. Trtić-Petrović, S. Gadžurić, M.G. Freire, Valorization of Expired Energy Drinks by Designed and Integrated Ionic Liquid-Based Aqueous Biphasic Systems, *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 8 (14) (2020) 5683.
- [71] A. Chakraborty, K. Sen, Ionic liquid vs tri-block copolymer in a new aqueous biphasic system for extraction of Zn-cholesterol complex, *J. Mol. Liq.*, 229 (2017) 278.
- [72] T.P. Lodge, Block copolymers: Past successes and future challenges, *Macromol. Chem. Phys.*, 204 (2) (2003) 265.
- [73] A.M. Bodratti, P. Alexandridis, Formulation of Poloxamers for Drug Delivery, *J. Funct. Biomater.*, 9 (11) (2018) 1.
- [74] M. Malmsten, B. Lindman, Self-Assembly in Aqueous Block Copolymer Solutions, *Macromolecules*, 25 (20) (1992) 5440.
- [75] A. Pitto-Barry, N.P.E. Barry, Pluronic® block-copolymers in medicine: from chemical and biological versatility to rationalisation and clinical advances, *Polym. Chem.*, 5 (10) (2014) 3291.
- [76] A. V. Kabanov, P. Lemieux, S. Vinogradov, V. Alakhov, Pluronic® block copolymers: Novel functional molecules for gene therapy, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 54 (2) (2002) 223.
- [77] M. Almeida, M. Magalhães, F. Veiga, A. Figueiras, Poloxamers, poloxamines and polymeric micelles: Definition, structure and therapeutic applications in cancer, *J. Polym. Res.*, 25 (1) (2018).
- [78] L. Coppola, I. Nicotera, C. Oliviero, G.A. Ranieri, Indirect detection of structural changes on the pluronic Pe 6200/H 2O system by rheological measurements, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, 245 (1–3) (2004) 183.
- [79] V.C. McLain, Safety assessment of poloxamers 101, 105, 108, 122, 123, 124, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 212, 215, 217, 231, 234, 235, 237, 238, 282, 284, 288, 331, 333, 334, 335, 338, 401, 402, 403, and 407, poloxamer 105 benzoate, and poloxamer 182 dibenzoate as use, *Int. J. Toxicol.*,

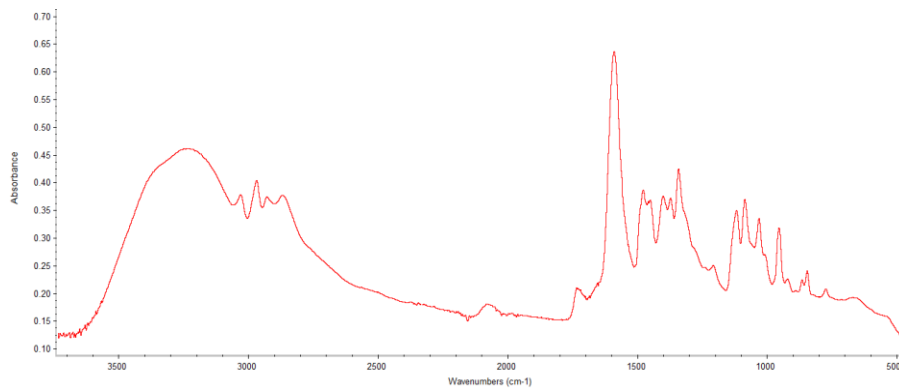
- 27 (SUPPL. 2) (2008) 93.
- [80] I. Hering, E. Eilebrecht, M.J. Parnham, N. Günday-Türeli, A.E. Türeli, M. Weiler, C. Schäfers, M. Fenske, M.G. Wacker, Evaluation of potential environmental toxicity of polymeric nanomaterials and surfactants, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 76 (2020) 103353.
- [81] G. Dumortier, J.L. Grossiord, F. Agnely, J.C. Chaumeil, Expert Review A Review of Poloxamer 407 Pharmaceutical and Pharmacological Characteristics, (n.d.).
- [82] F. Agnely, A. Djedour, A. Bochet, J.L. Grossiord, Properties of various thermoassociating polymers: Pharmaceutical and cosmetic applications, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, 16 (1) (2006) 3.
- [83] F.G. Ahsaie, G. Pazuki, T.E. Sintra, P. Carvalho, S.P.M. Ventura, Study of the partition of sodium diclofenac and norfloxacin in aqueous two-phase systems based on copolymers and dextran, *Fluid Phase Equilib.*, 530 (2021) 112868.
- [84] R.C. Assis, A.B. Mageste, L.R. de Lemos, R.M. Orlando, G.D. Rodrigues, Application of aqueous two-phase systems for the extraction of pharmaceutical compounds from water samples, *J. Mol. Liq.*, 301 (2020) 112411.
- [85] F.A. Hasmann, V.C. Santos, D.B. Gurpilhares, A. Pessoa-Junior, I.C. Roberto, Aqueous two-phase extraction using thermoseparating copolymer: a new system for phenolic compounds removal from hemicelulosic hydrolysate, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 83 (2) (2008) 167.
- [86] I.S. Kurnik, C.U. Mussagy, J.F.B. Pereira, A.M. Lopes, Amphiphilic copolymer aqueous solutions with cholinium ionic liquids as adjuvants: New insights into determination of binodal curves and phase-separation mechanisms, *J. Mol. Liq.*, 318 (2020) 114245.
- [87] J.C. Merchuk, B.A. Andrews, J.A. Asenjo, Aqueous two-phase systems for protein separation studies on phase inversion, *J. Chromatogr. B Biomed. Appl.*, 711 (1–2) (1998) 285.
- [88] A. Dimitrijević, J. Milićević, A. Jocić, S. Marić, T. Trtić-Petrović, S. Papović, A. Tot, S. Gadžurić, M. Vraneš, Further insight into the influence of functionalization and positional isomerism of pyridinium ionic liquids on the aqueous two-phase system equilibria, *Fluid Phase Equilib.*, 512 (2020) 112520.
- [89] F.A. e Silva, R.M.C. Carmo, A.P.M. Fernandes, M. Kholany, J.A.P. Coutinho, S.P.M. Ventura, Using Ionic Liquids To Tune the Performance of Aqueous Biphasic Systems Based on Pluronic L-35 for the Purification of Naringin and Rutin, *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 5 (8) (2017) 6409.
- [90] I.S. Kurnik, M.A. Noronha, M.C.C. Câmara, P.G. Mazzola, A.A. Vicente, J.F.B. Pereira, A.M. Lopes, Separation and purification of curcumin using novel aqueous two-phase micellar systems composed of amphiphilic copolymer and cholinium ionic liquids, *Sep. Purif. Technol.*, 250 (2020) 117262.
- [91] A. Dimitrijević, L. Ignjatović, A. Tot, M. Vraneš, N. Zec, S. Gadžurić, T. Trtić-Petrović, Simultaneous extraction of pesticides of different polarity applying aqueous biphasic systems based on ionic liquids, *J. Mol. Liq.*, 243 (2017) 646.
- [92] X. Liu, Z. Li, Y. Pei, H. Wang, J. Wang, (Liquid + liquid) equilibria for (cholinium-based ionic liquids + polymers) aqueous two-phase systems, *J. Chem. Thermodyn.*, 60 (2013) 1.
- [93] A. Dimitrijević, A.P.M. Tavares, A. Jocić, S. Marić, T. Trtić-Petrović, S. Gadžurić, M.G. Freire, Aqueous biphasic systems comprising copolymers and cholinium-based salts or ionic liquids: Insights on the mechanisms responsible for their creation, *Sep. Purif. Technol.*, 248 (2020) 117050.
- [94] M. V. Quental, M. Caban, M.M. Pereira, P. Stepnowski, J.A.P. Coutinho, M.G. Freire, Enhanced extraction of proteins using cholinium-based ionic liquids as phase-forming components of aqueous biphasic systems, *Biotechnol. J.*, 10 (9) (2015) 1457.
- [95] I. Khan, R. Umapathi, M.C. Neves, J.A.P. Coutinho, P. Venkatesu, Structural insights into the effect of cholinium-based ionic liquids on the critical micellization temperature of aqueous

- triblock copolymers, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 18 (12) (2016) 8342.
- [96] S. Marić, A. Jocić, A. Krstić, M. Momčilović, L. Ignjatović, A. Dimitrijević, Poloxamer-based aqueous biphasic systems in designing an integrated extraction platform for the valorization of pharmaceutical waste, *Sep. Purif. Technol.*, 275 (April) (2021).
- [97] L.R. De Lemos, I.J.B. Santos, G.D. Rodrigues, G.M.D. Ferreira, L.H.M. Da Silva, M.D.C.H. Da Silva, R.M.M. De Carvalho, Phase compositions of aqueous two-phase systems formed by L35 and salts at different temperatures, *J. Chem. Eng. Data*, 55 (3) (2010) 1193.
- [98] A. Yurquina, M.E. Manzur, P. Brito, R. Manzo, M.A.A. Molina, Physicochemical studies of acetaminophen in Water-Peg 400 systems, *J. Mol. Liq.*, 133 (1–3) (2007) 47.
- [99] Y. Wang, X. Hu, J. Han, L. Ni, X. Tang, Y. Hu, T. Chen, Integrated method of thermosensitive triblock copolymer-salt aqueous two phase extraction and dialysis membrane separation for purification of lycium barbarum polysaccharide, *Food Chem.*, 194 (2016) 257.
- [100] J.K. Yan, H. Le Ma, J.J. Pei, Z. Bin Wang, J.Y. Wu, Facile and effective separation of polysaccharides and proteins from *Cordyceps sinensis* mycelia by ionic liquid aqueous two-phase system, *Sep. Purif. Technol.*, 135 (2014) 278.
- [101] Z. jian Tan, F. fang Li, X. lei Xu, J. min Xing, Simultaneous extraction and purification of aloe polysaccharides and proteins using ionic liquid based aqueous two-phase system coupled with dialysis membrane, *Desalination*, 286 (2012) 389.
- [102] I.F. Mena, E. Diaz, J. Palomar, J.J. Rodriguez, A.F. Mohedano, Cation and anion effect on the biodegradability and toxicity of imidazolium- and choline-based ionic liquids, *Chemosphere*, 240 (2020) 124947.
- [103] C. Zhang, Y. Shao, L. Zhu, J. Wang, J. Wang, Y. Guo, Acute toxicity, biochemical toxicity and genotoxicity caused by 1-butyl-3-methylimidazolium chloride and 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate in zebrafish (*Danio rerio*) livers, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 51 (2017) 131.
- [104] L. Das, S.P. Paik, K. Sen, Thermoseparative Regeneration of Triblock Copolymer after Aqueous Biphasic Extraction of Molybdate Species, *J. Chem. Eng. Data*, 64 (1) (2019) 51.
- [105] C.C. Weber, A.J. Kunov-Kruse, R.D. Rogers, A.S. Myerson, Manipulation of ionic liquid anion-solute-antisolvent interactions for the purification of acetaminophen, *Chem. Commun.*, 51 (20) (2015) 4294.

6. ПРИЛОЗИ

Прилог А – ФТИЦ идентификација синтетисаних јонских течности

На слици А је представљен ИЦ спектар холинијум лактата уз адекватну асигнацију. Спектри су снимани у опсегу од 500 до 4000 cm^{-1} .



Слика А. ФТИЦ спектар холинијум лактата: 3246 (истезање OH); 2968 (симетрично истезање CH , $\text{N}(\text{CH}_3)_3$); 1589 (симетрично истезање COO^-); 1477 (љуљање CH_3); 1375 (њихање CH_2); 1087 (увртање CH_2); 954 (асиметрично истезање CCO).

Прилог Б – Експерименталне вредности масених удела за водене двофазне системе на бази кополимера и јонских течности или соли

Табела Б1. Експерименталне вредности масених удела за систем ПЕ6200 (Y) + ЈТ (X) + H₂O на температури 25 °C и притиску 0,1 МПа.

[Ch][DHP]		[Ch][Bit]		[Ch][Ac]		[Ch][DHCit]	
100·Y	100·X	100·Y	100·X	100·Y	100·X	100·Y	100·X
47,83	7,18	36,09	12,83	46,78	6,98	30,05	19,72
43,38	7,50	35,05	12,95	43,15	7,64	28,58	19,92
40,39	7,80	34,16	12,99	40,31	8,26	26,75	20,45
37,43	8,03	33,39	13,16	38,37	8,82	25,51	20,64
35,27	8,34	32,39	13,45	36,51	9,32	24,20	21,31
32,86	8,71	30,85	13,39	34,89	9,68	23,20	21,49
30,87	8,85	30,04	13,68	33,37	10,02	22,77	21,82
28,85	9,29	28,70	13,50	32,01	10,48	21,99	21,90
27,43	9,44	26,95	13,52	30,86	10,83	21,54	21,70
26,57	9,47	26,24	13,83	29,78	11,09	20,82	21,88
25,54	9,68	25,87	13,90	28,25	11,25	19,92	22,30
24,19	9,87	25,39	13,90	27,26	11,55	19,05	22,13
23,11	9,95	24,68	14,07	26,17	11,72	18,68	22,25
22,36	10,13	23,92	13,90	25,01	11,78	18,33	22,32
21,37	10,37	23,19	13,95	24,23	12,05	17,12	21,62
20,59	10,57	22,82	14,03	23,51	12,25	16,57	22,02
		22,24	14,06	22,60	12,31	15,91	22,81
		21,70	14,11	21,63	12,72	15,57	23,27
		20,96	14,36	20,73	13,03	15,14	23,51
		19,67	13,87	17,23	14,22	14,81	23,69
		19,34	14,05	16,58	14,58	14,18	23,62
		18,88	14,34			13,86	23,53
		17,92	14,32				
		17,42	14,20				
		17,00	14,66				
		16,68	14,80				

Табела Б2. Експерименталне вредности масених удела за систем ПЕ6200 (Y) + ЈТ (X) + H₂O на температури 25 °C и притиску 0,1 МПа.

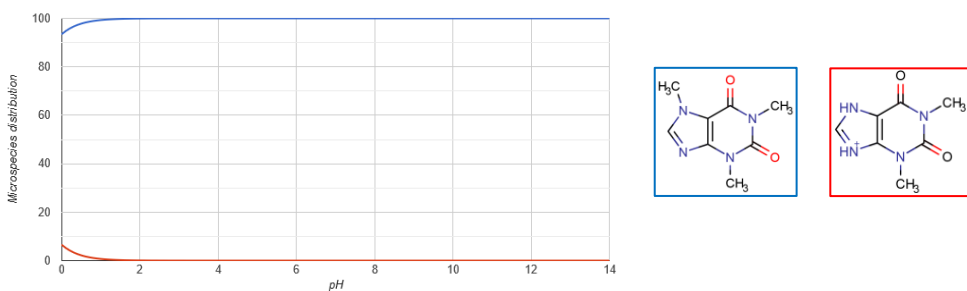
[Ch][Lac]		[Ch][Pro]		[Ch]Cl		[Ch][But]	
100·Y	100·X	100·Y	100·X	100·Y	100·X	100·Y	100·X
38,87	11,18	38,14	11,94	36,90	11,33	34,18	15,81
36,41	12,19	35,90	12,73	34,07	12,14	31,95	17,00
34,61	13,03	34,31	13,11	32,32	12,64	30,06	18,07
32,99	13,91	33,02	13,52	31,24	13,16	28,23	18,21
31,47	14,45	31,73	13,49	29,19	13,74	27,53	18,74
29,79	15,05	29,91	14,28	28,36	14,05	26,36	19,25
28,82	15,37	29,10	14,75	26,55	14,41	25,64	19,45
27,63	15,69	28,26	15,06	25,67	14,82	24,98	19,35
26,44	15,86	27,46	15,13	24,99	14,97	23,95	20,03
25,34	16,28	26,45	15,44	24,09	15,16	22,77	20,22
24,14	16,82	25,60	15,84	23,21	15,22	21,82	20,59
23,00	17,05	24,99	16,16	22,27	15,67	20,69	20,59
22,38	17,15	24,36	16,21	21,60	15,78	19,63	20,83
21,54	17,24	23,71	16,54	20,50	16,05	18,97	21,02
20,86	17,33	23,00	16,89	19,58	16,33	18,66	21,34
20,29	17,54	2240	17,05	18,99	16,48	17,95	21,71
19,45	17,59	21,50	17,53	18,50	16,49	17,36	21,94
19,10	17,69	20,90	17,41	17,69	16,81	16,87	22,09
17,96	18,14	20,19	17,37	17,11	16,68	16,62	22,33
17,46	18,58	19,56	17,82	16,43	17,13	16,13	22,69
		18,98	18,23	15,90	17,04	15,83	22,36
		18,66	18,18	15,30	17,53	15,32	22,41
		18,45	18,29	14,80	17,44	14,91	22,73
		17,89	18,79				
		17,19	19,08				

Табела Б3. Експерименталне вредности масених удела за систем ПЕ6200 (Y) + ЈТ или со (X) + H₂O на температури 25 °C и притиску 0,1 МПа.

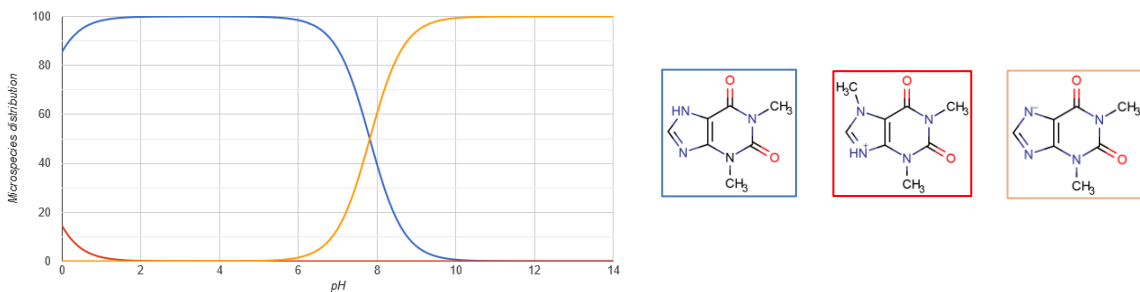
C₆H₅Na₃O₇		[C₄mim]Cl	
100·Y	100·X	100·Y	100·X
52,44	1,63	33,20	20,86
50,35	1,94	30,02	21,19
46,47	2,19	28,99	21,89
44,00	2,28	28,04	21,77
42,14	2,34	26,07	21,89
39,41	2,64	24,95	22,56
37,72	2,79	23,26	22,97
35,25	2,88	21,86	23,05
33,93	2,99	19,33	23,51
32,46	3,10	18,47	24,13
29,55	3,47	17,36	24,13
28,26	3,54	16,24	25,00
27,27	3,59	14,55	24,96
26,22	3,68	14,07	25,79
21,24	4,09	12,57	25,79
21,38	4,02	10,79	26,78
21,67	4,00	10,15	27,28
21,33	4,06	9,85	27,49
21,94	3,94	9,48	27,73
20,18	4,18	9,10	28,06
19,97	4,11	8,82	28,36
18,90	4,17	8,07	29,02
18,55	4,23	8,17	30,35
18,16	4,24	6,57	30,55
17,90	4,26	7,04	31,50
17,35	4,28	6,39	31,71
17,30	4,29	5,92	32,21
17,02	4,31	5,73	32,87
16,60	4,37	5,36	33,86
16,46	4,34	4,98	34,77
16,03	4,40		

Прилог В – Дијаграми расподеле киселинско-базних парова испитиваних алкалоида у зависности од рН

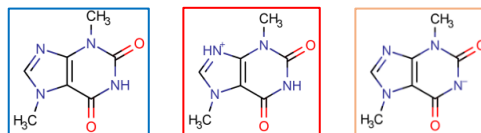
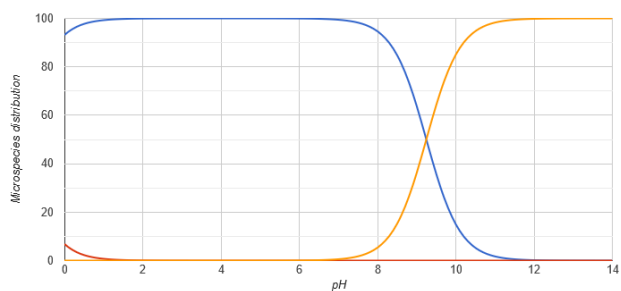
На сликама В1 до В4 су приказани дијаграми расподеле киселинско-базних парова испитиваних алкалоида: кофеина, теофилина, теобромида и никотина у зависности од рН. Плавом бојом је означено при којим се вредностима рН молекула налази у неутралном облику, црвеном када је позитивно наелектрисан и наранџастом негативно наелектрисан. Дијаграми су преузети са <https://chemaxon.com/products/chemicalize>.



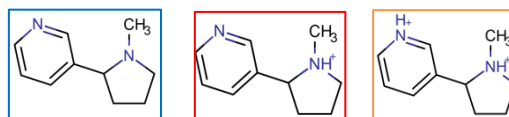
Слика В1. Дијаграми расподеле киселинско-базних парова кофеина у зависности од рН.



Слика В2. Дијаграми расподеле киселинско-базних парова теофилина у зависности од рН.



Слика В3. Дијаграми расподеле киселинско-базних парова теобромина у зависности од рН.



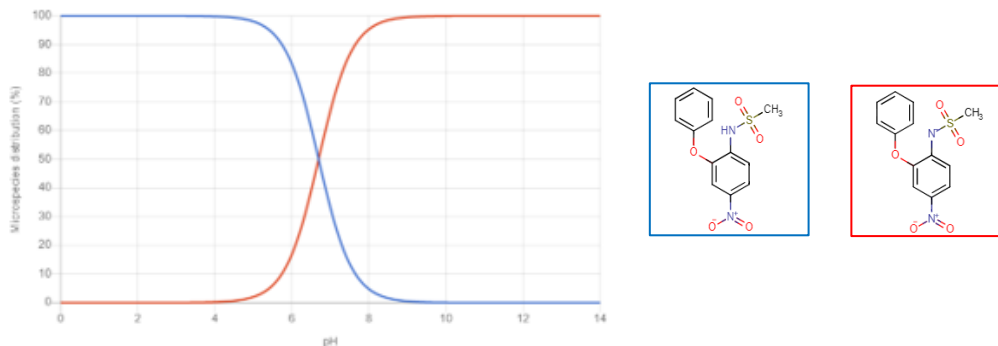
Слика В4. Дијаграми расподеле киселинско-базних парова никотина у зависности од рН.

Прилог Г – Дијаграми расподеле киселинско-базних парова испитиваних активних фармацеутских супстанци у зависности од рН

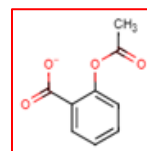
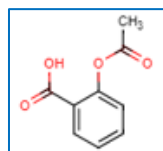
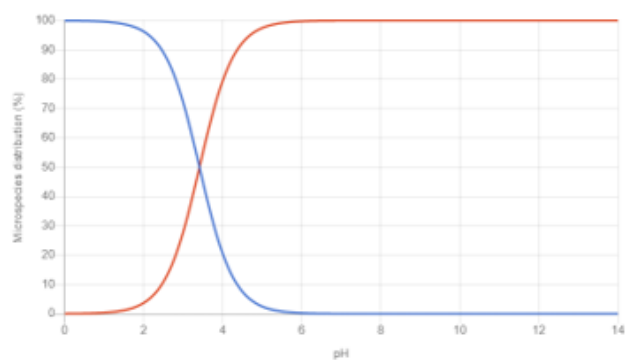
На сликама Г1 до Г4 су приказани дијаграми расподеле киселинско-базних парова испитиваних активних фармацеутских супстанци: диклофенака, нимесулида, ацетилсалицилне киселине и парацетамола у зависности од рН. Дијаграми су преузети са <https://chemaxon.com/products/chemicalize>.



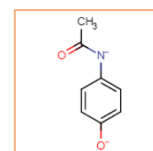
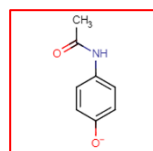
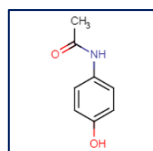
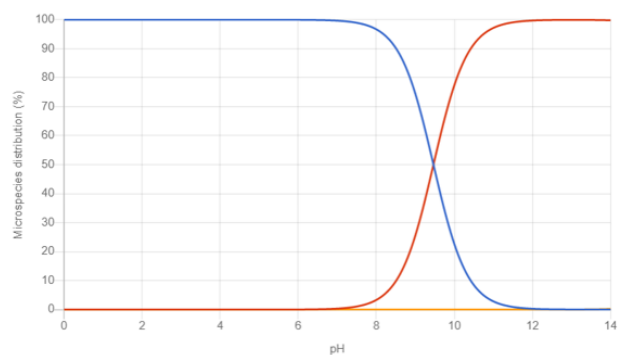
Слика Г1. Дијаграми расподеле киселинско-базних парова диклофенака у зависности од рН.



Слика Г2. Дијаграми расподеле киселинско-базних парова нимесулида у зависности од рН.



Слика Г3. Дијаграми расподеле киселинско-базних парова ацетилсалицилне киселине у зависности од рН.



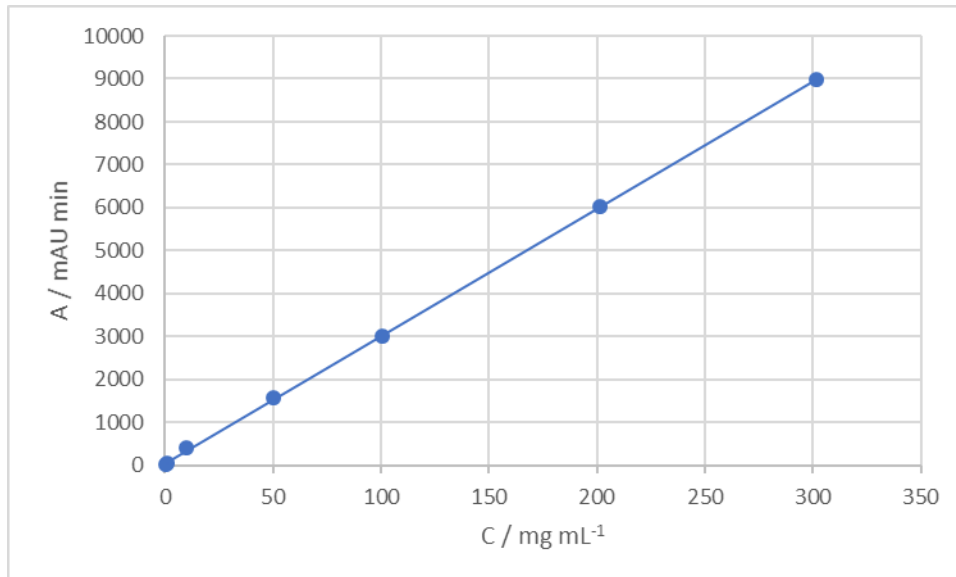
Слика Г4. Дијаграми расподеле киселинско-базних парова парацетамола у зависности од рН.

Прилог Д – Валидација инструменталне методе

Прилог Д1. Очитане површине хроматографских пикова за 7 различитих концентрација стандардних раствора и калибрациона крива за парацетамол.

Табела Д1. Површине и одговарајуће концентрације стандардних раствора парацетамола.

Бр. стандарда	C / mg mL ⁻¹	A / mAU min
1	0,10	8,98
2	1,01	34,49
3	10,06	393,13
4	50,28	1570,10
5	100,56	3018,90
6	201,12	6011,60
7	301,68	8981,50

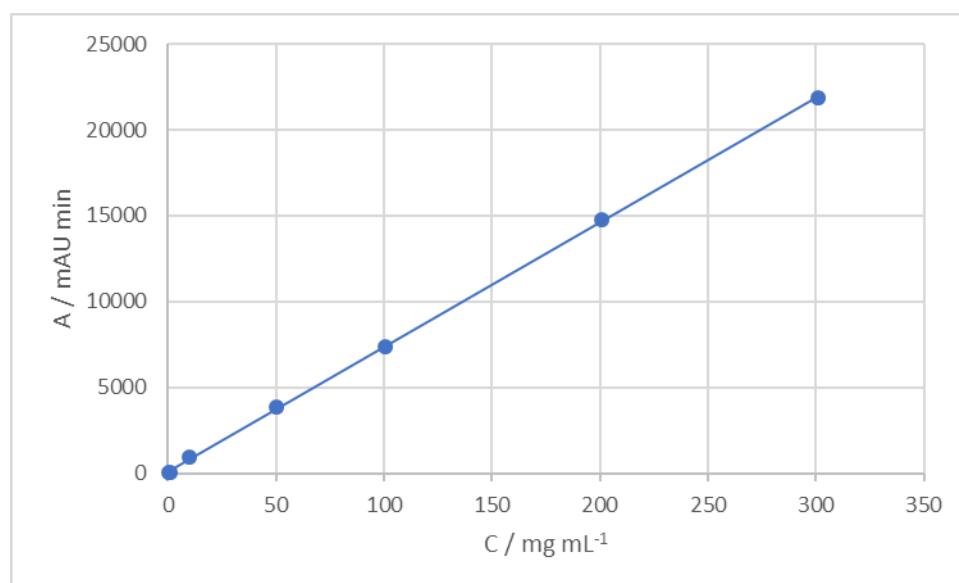


Слика Д1. Калибрациона крива.

Прилог Д2. Очитане површине хроматографских пикова за 7 различитих концентрација стандардних раствора и калибрациона крива за кофеин.

Табела Д2. Површине и одговарајуће концентрације стандардних раствора кофеина.

Бр. стандарда	C / mg mL ⁻¹	A / mAU min
1	0,10	13,42
2	1,00	77,10
3	10,03	944,28
4	50,16	3845,20
5	100,31	7404,60
6	200,62	14777,00
7	300,93	21836,00

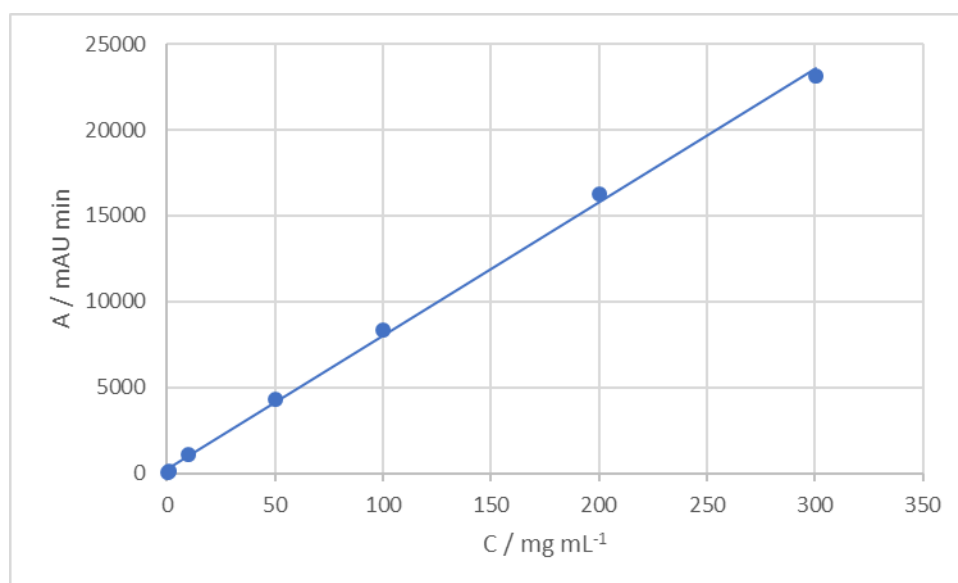


Слика Д2. Калибрациона крива.

Прилог ДЗ. Очитане површине хроматографских пикова за 7 различитих концентрација стандардних раствора и калибрациона крива за теофилин.

Табела ДЗ. Површине и одговарајуће концентрације стандардних раствора теофилин.

Бр. стандарда	C / mg mL ⁻¹	A / mAU min
1	0,10	16,69
2	1,00	91,16
3	10,00	1082,70
4	50,10	4340,00
5	100,19	8308,00
6	200,38	16271,00
7	300,57	23129,00



Слика ДЗ. Калибрациона крива.

Прилог Ђ – Спецификација лекова

У Табели Ђ су приказани састави коришћених лекова. Наведене су њихове активне и помоћне супстанце.

Табела Ђ. Спецификација лекова.

Лек	Активне супстанце	Помоћне супстанце
Panadol Extra Advance® Произвођач: GlaxoSmithKline Dungarvan Limited Knockbrack, Dungarvan, Co Waterford, United Kingdom	Парацетамол 500 mg Кофеин 65 mg	Прежелатизован скроб (растворљив у води, logP = - 6,2); Повидон (растворљив у води, logP = - 1,4); Калцијум-карбонат (нерастворљив у води); Кросповидон (растворљив у води, logP = -1,4); Алгинска киселина (растворљива у води, logP = - 4,1); Магнезијум-стеарат (нерастворљив у води); Натријум-метилпарахидроксибензоат (слабо растворан у води, logP = 1,67); Натријум-етилпарахидроксибензоат (слабо растворан у води, logP = 2,03); Натријум-пропилпарахидроксибензоат (слабо растворан у води, logP = 2,55); Титаниум-диоксид (нерастворљив у води); Хипромелоза (растворљива у води, logP = - 7,6); Макрогол 400 (растворљив у води); Полисорбат 80 (растворљив у води); Карнауба восак (нерастворљив у води).
Durofilin® Произвођач: ZDRAVLJE A.D., Leskovac, Србија	Теофилин 125 mg	Шећерна сфера (делимично растворна у води); Етил целулоза (нерастворљива у води); Повидон; Талк (нерастворан у води); Желатин; Патент плаво (растворљив у води, log P = - 0,89); Брилијантно црно (растворљив у води); Титаниум-диоксид (нерастворљив у води).
Rapten-K® Произвођач: НЕМОФАРМ АД ВРЏАС, Србија	Диклофенак-калијум 50 mg	Калцијухидрогенфосфат, безводни (делимично растворн у води, log P = -2,55); Скроб, кукурузни (нерастворан у води); Натрију-карбоксиметилскроб (растворљив у води); Повидин; Силицијум-диоксид (нерастворљив у води); Магнезијум-стеарат; Сахароза (растворљива у води, log P = -3,67) ; Талк; Акација (слабо растворљива); Макрогол 6000 (растворљив у води)

<p>Nimulid®</p> <p>Произвођач: Panacea Biotec LTD. Индија</p>	<p>Нимесулид, 100 mg</p>	<p>Лактоза, монохидрат (растворљива у води); Скроб, кукурузни; Кроскармелоза-натријум; Силицијум-диоксид; Повидон; Натријум-докусат (растворљива у води, log P = 1,99); Магнезијум-стеарат; Полисорбат 80;</p>
<p>Aspirin®</p> <p>Произвођач: Bayer d.o.o Немачка</p>	<p>Ацетилсалицилна киселина, 100 mg</p>	<p>Скроб, кукурузни; Целулоза (нерастворљива у води); Полисорбат 80; Натријум-лаурилсулфат (растворљива у води, log P = 1,60); Метакрилна киселина: етилакрилат кополимер (нерастворљив у води); Талк; Триетилцитрат растворљива у води, log P = 1,17).</p>

Биографија кандидата

Слађана Марић рођена 27.01.1985. године у Београду. Основну школу је завршила у Скели, док је гимназију завршила у Обреновцу. Академске 2003/2004. године уписала је основне студије на Факултету за физичку хемију, Универзитета у Београду. Дипломирала је 2016. године са просечном оценом 8,17, а мастер студије је завршила 2017. године са просеком 9,25. Докторске академске студије на Факултету за физичку хемију је уписала академске 2018/2019. године и положила све испите са просечном оценом 9,40.

Од фебруара 2019. године запослена је у Институту за нуклеарне науке „Винча“. У периоду од 2020-2021. године била је ангажована на пројекту програма Доказ концепта Фонда за иновациону делатност: „Испитивање одрживе платформе за валоризацију бакра из индустријских отпадних вода“ (PoC 5286), под руководством др Александре Димитријевић. Учесник је на пројекту у оквиру програма Трансфера технологија „Одржива платформа за валоризацију бакра из индустријских отпадних вода“ од 2022-2023. године. Током септембра 2019. године боравила је три недеље у Обједињеном институту за нуклеарна истраживања у Дубни као учесник међународне студентске праксе у оквиру летње школе „Прецизно истраживање модерних кристалних материјала методом неутронске дифракције“. Била је члан организационог одбора конференције под називом „1st European NECTAR Conference“ у оквиру акције SA18202, одржане у Београду у периоду од 5-6. марта 2020. године. Члан је Друштва физикохемичара од 2019. године.

Научно истраживање Слађане Марић усмерено је на област заштите животне средине. Бави се испитивањем и применом водених двофазних система на бази кополимера и јонских течности за екстракцију биоактивних једињења из природних матрица и фармацеутски активних једињења из синтетичких формулација. Коаутор је два рада у изузетном међународном часопису, три рада у врхунским међународним часописима, четири научна саопштења на међународним скуповима штампана у целини и пет саопштења на међународним скуповима штампаних у изводу.

Библиографија

Из тезе кандидаткиње проистекла су два рада: један у међународном часопису изузетних вредности (M21a) и један у врхунском међународном часопису (M21), као и једно саопштење са међународног скупа штампаног у целини (M33) и једно саопштење са међународног скупа штампаног у изводу (M34).

Рад у међународном часопису изузетних вредности (M21a)

1. **Sladana Marić**, Ana Jocić, Aleksandar Krstić, Miloš Momčilović, Ljubiša Ignjatović, Aleksandra Dimitrijević, *Poloxamer-based aqueous biphasic systems in designing an integrated extraction platform for the valorization of pharmaceutical waste*, Separation and Purification Technology, 2021, 275, 119101. IF(2021): 9,134
<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.119101>

Радови у врхунским међународним часописима (M21)

1. Aleksandra Dimitrijević, Ana Paula M. Tavares, Ana Jocić, **Sladana Marić**, Tatjana Trtić-Petrović, Slobodan Gadžurić, Mara G.Freire, *Aqueous biphasic systems comprising copolymers and cholinium-based salts or ionic liquids: Insights on the mechanisms responsible for their creation*, Separation and Purification Technology, 2020, 248, 117050. IF(2020): 7,312
<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.117050>

Саопштења са међународног скупа штампана у целини (M33)

1. **Sladana Marić**, Ana Jocić, Aleksandra Dimitrijević, *Isolation of acetaminophen from ionic liquid rich-phase of the aqueous biphasic system*, 15th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry “PHYSICAL CHEMISTRY 2021”, September 20-24, 2021, Virtual Meeting, Proceedings Volume II: 600-603

Саопштење са међународног скупа штампаног у изводу (M34)

1. **Marić S.**, Jocić A., Dimitrijević A., *Aqueous biphasic systems as pre-treatment procedure for determination of pharmaceutical compounds*, DISC2022 – 2nd DIFENEW International Student Conference, 6th December 2022, Novi Sad, Serbia, Online event, Book of Abstracts: 49. ISBN 978-86-6022-543-8

Поред тога, кандидаткиња је коаутор 1 рада у међународном часопису изузетних вредности (M21a), 2 у врхунском међународном часопису (M21), 3 саопштења са међународног скупа штампано у целини (M33) и 4 саопштења са међународног скупа штампаног у изводу (M34).

Рад у међународном часопису изузетних вредности (M21a)

1. Jadranka Milikić, **Sladana Marić**, Nikola Cvjetičanin, Zorana Dohčević-Mitrović, Biljana Šljukić, *Facile Preparation and High Activity of TiO₂ Nanotube Arrays toward Oxygen Reduction in Alkaline Media*, Journal of The Electrochemical Society, 2018, 165 (15), J3253. IF(2018): 3,405
<https://doi.org/10.1149/2.0331815jes>

Радови у врхунским међународним часописима (M21)

1. Aleksandra Dimitrijević, Jelena Milićević, Ana Jocić, **Slađana Marić**, Tatjana Trtić-Petrović, Snežana Papović, Aleksandar Tot, Slobodan Gadžurić, Milan Vraneš, *Further insight into the influence of functionalization and positional isomerism of pyridinium ionic liquids on the aqueous two-phase system equilibria*, Fluid Phase Equilibria, 2020, 512, 112520. IF(2019): 2.838 <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2020.112520>
2. Ana Jocić, **Slađana Marić**, Aleksandra Dimitrijević, Aleksandar Tot, Slobodan Gadžurić, Milan Vraneš, Tatjana Trtić-Petrović, *Protic ionic liquids as adjuvants to enhance extraction and separation performance of diverse polarity compounds in PEG-salt based aqueous biphasic system*, Journal of Molecular Liquids, 2020, 303, 112484. IF(2020): 6,165 <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.112484>

Саопштења са међународног скупа штампана у целини (M33)

1. A. Jocić, **S. Marić**, J. Milićević, A. Dimitrijević, *Partitioning of different polarity pesticides, deltamethrin and dicamba, in aqueous biphasic systems with ionic liquids*, 15th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry “PHYSICAL CHEMISTRY 2021”, September 20-24, 2021, Virtual Meeting, Proceedings Volume II: 592-595
2. Aleksandra Dimitrijević, Ana Jocić, **Slađana Marić**, Nikola Zdolšek, Tatjana Trtić-Petrović, Milan Vraneš, Slobodan Gadžurić, Jelena Arsenijević, Slavica Ražić, Ana Paula Tavares, Mara Freire, *Controlling of the parthenolide partition using micelle structures of block copolymer in ionic liquid based aqueous biphasic system*, Euroanalysis XX, 01-05. September 2019., Istanbul, Turkey, Proceedings: 212-214
3. Ana Jocić, Aleksandra Dimitrijević, **Slađana Marić**, Nikola Zdolšek, Tatjana Trtić-Petrović, Sanja Živković, Miloš Momčilović, *Selective separation of tungsten from vanadium and molibdenium using polymer based aqueous biphasic systems*, Euroanalysis XX 01-05. September 2019., Istanbul, Turkey, Proceedings: 398-400

Саопштење са међународног скупа штампаног у изводу (M34)

1. **Slađana Marić**, Ana Jocić, Tamara Lazarević-Pašti, Aleksandra Dimitrijević, *Efficient removal of organophosphorus pesticides from wastewater using ionic liquids based aqueous biphasic systems*, Biopartitioning & Purification Conference (BPP2022), 25-28 September 2022, Aveiro, Portugal, Book of Abstracts: 122.
2. **Marić S.**, Jocić A., Lazarević-Pašti T., Dimitrijević A., *Ionic liquids based aqueous biphasic system for removal of pesticides from wastewater*, DISC2022 – 2nd DIFENEW International Student Conference, 6th December 2022, Novi Sad, Serbia, Online event, Book of Abstracts: 51. ISBN 978-86-6022-543-8
3. Jocić A., **Marić S.**, Amaral J., Dimitrijević A., *Fractionation of selected (poly)phenols using cholinium ionic liquid-based extraction strategy*, DISC2022 – 2nd DIFENEW International Student Conference, 6th December 2022, Novi Sad, Serbia, Online event, Book of Abstracts: 42. ISBN 978-86-6022-543-8
4. Jocić A., **Marić S.**, Dimitrijević A., *Ionic liquids based extraction platform for removal of selected metals from wastewater*, DISC2022 – 2nd DIFENEW International Student Conference, 6th December 2022, Novi Sad, Serbia, Online event, Book of Abstracts: 43. ISBN 978-86-6022-543-8

Изјава о ауторству

Потписани-а Слађана Марић

број индекса 2018/0313

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

ПРИМЕНА ВОДЕНИХ ДВОФАЗНИХ СИСТЕМА СА ЈОНСКИМ ТЕЧНОСТИМА И ТРИБЛОК КОПОЛИМЕРИМА ЗА ИЗДВАЈАЊЕ СТАБИЛНИХ АКТИВНИХ СУПСТАНЦИ ИЗ ОДАБРАНИХ АНАЛГЕТСКИХ ФОРМУЛАЦИЈА

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, _____

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Слађана Марић
Број индекса 2018/0313
Студијски програм _____
Наслов рада ПРИМЕНА ВОДЕНИХ ДВОФАЗНИХ СИСТЕМА СА
ЈОНСКИМ ТЕЧНОСТИМА И ТРИБЛОК КОПОЛИМЕРИМА
ЗА ИЗДВАЈАЊЕ СТАБИЛНИХ АКТИВНИХ СУПСТАНЦИ
ИЗ ОДАБРАНИХ АНАЛГЕТСКИХ ФОРМУЛАЦИЈА
Ментор проф. др Љубиша Игњатовић, редовни професор
др Александра Димитријевић, научни сарадник
Потписани/а _____ Слађана Марић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, _____

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

ПРИМЕНА ВОДЕНИХ ДВОФАЗНИХ СИСТЕМА СА ЈОНСКИМ ТЕЧНОСТИМА И ТРИБЛОК КОПОЛИМЕРИМА ЗА ИЗДВАЈАЊЕ СТАБИЛНИХ АКТИВНИХ СУПСТАНЦИ ИЗ ОДАБРАНИХ АНАЛГЕТСКИХ ФОРМУЛАЦИЈА

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, _____

1. **Ауторство** - Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. **Ауторство – некомерцијално**. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. **Ауторство - некомерцијално – без прераде**. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. **Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима**. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. **Ауторство – без прераде**. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. **Ауторство - делити под истим условима**. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.

