



UNIVERZITET U NOVOM SADU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu
životne sredine



**UTICAJ ORGANIZACIJE MOLEKULA VODE
OKO ODABRANIH BIOLOŠKI AKTIVNIH
JEDINJENJA I JONSKIH TEČNOSTI NA
NJIHOVE FIZIČKO-HEMIJSKE OSOBINE I
METABOLIČKE PROCESSE**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor:

Vanr. prof. dr Milan Vraneš

Kandidat:

Jovana Panić

Novi Sad, 2022. godine

Zahvalnica

Ova doktorska disertacija urađena je na Katedri za analitičku hemiju, Departmana za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu i Fakultetu za hemiju i hemijsku tehnologiju Univerziteta u Ljubljani. Toksikološka ispitivanja su urađena na Institutu za onkologiju u Sremskoj Kamenici. Ova disertacija je finansijski podržana od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije kroz republički projekat ON172012 i COST akcije – CA15135 "Multi-target paradigm for innovative ligand identification in the drug discovery process (MuTaLig)".

Izradu ove doktorske disertacije omogućio je pre svih moj mentor, *prof. dr Milan Vraneš* koji me je istrajno vodio kroz proces stvaranja disertacije, pratio njegovu evoluciju, ali i moj profesionalni razvoj u celini. Zahvalna sam što mi je svojim primerom uvek ukazivao na važnost nauke, i što me je svojim savetima nastojao oblikovati u uspešnog naučnika i pravičnog asistenta. Hvala Vam profesore na prilici da budem deo Vašeg tima, na dostupnosti, večitoj inspiraciji, ali i podsticanju na rad.

Zahvaljujem se *prof. dr Slobodanu Gadžuriću*, stručnjaku velikog znanja i čoveku širokih shvatanja, koji me je uvek bezrezervno podržavao i savetovao u radu sa studentima, prenosio znanja kao profesor na osnovnim i master studijama i angažovao na projektu. Profesore, hvala Vam na svakoj ukazanoj prilici, razgovoru i otvaranju novih horizonata.

Boravak u Ljubljani će mi uvek ostati u lepom sećanju i zato hvala *prof. dr Mariji Bešter-Rogač* i njenim saradnicima što su mi s poverenjem otvorili vrata svojih laboratorija. Hvala Vam na saradnji, stručnosti, pomoći, savetima prilikom pisanja disertacije i lepim trenucima provedenim u Ljubljani.

Zahvalnost dugujem i *prof. dr Sergeju Ostojiću* na ukazanom poverenju i prilici da sarađujemo, pruženoj stručnoj pomoći, konstruktivnim predlozima i iskazanom interesovanju tokom izrade ove disertacije.

Veliko hvala *dr Nenadu Jankoviću* na nesebičnoj pomoći, savetima, razgovorima i svemu onome što je bilo potrebno da bi ova disertacija bila završena. Takođe, hvala za srdačnost i dobru energiju tokom druženja u Kragujevcu.

Hvala dragim kolegama *Aleksandru* i *Snežani* što su uvek bili spremni pomoći pri izradi eksperimentalnog dela disertacije, dati savet i uliti optimizma i onda kada ga je nedostajalo. Zahvaljujem se i *Sanji*, *Nebojši*, *Isidori*, *Nikolet* i *Teoni* na profesionalnosti iz dana u dan, na bezrezervnoj pomoći i entuzijazmu za nove ideje i prijatne razgovore u laboratoriji i van nje.

Želim da se zahvalim i svojim kolegama *prof. dr Đendi*, *Suzani*, *Borku*, *Gorani*, kao i laborantima *Jelici*, *Moniki* i *Milici* na ljubaznosti i pruženim iskustvima i razgovorima tokom rada sa studentima.

Zahvaljujem se i *prof. dr Mirjani Popsavin*, *dr Branku Kordiću* i *MSc Sanji Rackov* na izuzetnoj saradnji i stručnoj pomoći prilikom karakterizacije novosintetisanih jedinjenja.

Prof. dr Črtomiru Podlipniku se zahvaljujem na gostoprimstvu tokom boravka u Ljubljani u okviru COST akcije "MuTaLig".

Zahvaljujem se ostalim profesorima, kolegama, zaposlenim na PMF-u, kao i dragim studentima što su bili sastavni deo ovog putovanja i svakodnevno stvarali prijatnu radnu atmosferu.

Hvala mojoj porodici i prijateljima što su me gurali dalje i verovali u moj uspeh kada ni sama nisam, bodrili me, bili uz mene u lepim i teškim trenucima i razumeli moje izostanke sa zajedničkih druženja. Vi ste mi bili najveća podrška i snaga. Hvala vam na svemu, nije vam bilo lako.

Disertaciju posvećujem svojoj porodici, tati *Jovi*, mami *Miri*, *Bošku*, *Milici* i mojoj *Teodori*, jer bez njihove ljubavi, strpljenja i razumevanja ova disertacija nikada ne bi ugledala svetlo dana.

Jovana

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА¹

Врста рада:	Докторска дисертација
Име и презиме аутора:	Јована Панић
Ментор (титула, име, презиме, звање, институција)	др Милан Вранеш, ванредни професор, Природно-математички факултет
Наслов рада:	
Језик публикације (писмо):	Српски (латиница)
Физички опис рада:	Унети број: Страница 318 Поглавља 8 Референци 232 Табела 50 Слика 149 Графикона 0 Прилога 85
Научна област:	Хемија
Ужа научна област (научна дисциплина):	Аналитчка хемија, физичка хемија
Кључне речи / предметна одредница:	Хидратациона својства, биолошки активна једињења, синтеза, јонске течности
Резиме на језику рада:	Циљ ове докторске дисертације је разумевање и проучавање организације молекула воде и њиховог утицаја на физичко-хемијска својства одабраних биолошки активних једињења, као и добијање нових биолошки активних једињења у облику јонских течности са побољшаном растворољивошћу и биорасположивошћу. Из физичко-хемијских параметара водених раствора биолошки активних једињења, добијених употребом различитих експерименталних техника, рачунарских симулација, као и токсиколошких испитивања, успостављена је корелација њихове структуре са организацијом воде око њих, као и метаболичких процеса у којима учествују.
Датум прихватања теме од стране надлежног већа:	17.05.2019. (Сенат 30.05.2019.)
Датум одбране: (Попуњава одговарајућа служба)	

¹ Аутор докторске дисертације потписао је и приложио следеће Обрасце:

5б – Изјава о ауторству;

5в – Изјава о истоветности штампане и електронске верзије и о личним подацима;

5г – Изјава о коришћењу.

Ове Изјаве се чувају на факултету у штампаном и електронском облику и не кориче се са тезом.

Чланови комисије: (титула, име, презиме, звање, институција)	Председник: др Слободан Гаџурић, редовни професор УНС ПМФ у Новом Саду Члан (ментор): др Милан Вранеш, ванредни професор УНС ПМФ у Новом Саду Члан: др Марија Бештер-Рогач, редовни професор ФККТ у Љубљани Члан: др Сергеј Остојић, редовни професор УНС ФСФВ у Новом Саду Члан: др Ненад Јанковић, виши научни сарадник Универзитета у Крагујевцу, Институт за информационе технологије
Напомена:	

KEY WORD DOCUMENTATION²

Document type:	Doctoral dissertation
Author:	Jovana Panić
Supervisor (title, first name, last name, position, institution)	dr Milan Vraneš, Associate Professor, Faculty of Sciences
Thesis title:	Influence of water molecule organization around selected biologically active compounds and ionic liquids on their physicochemical properties and metabolic processes
Language of text (script):	Serbian language (latin script)
Physical description:	Number of: Pages 318 Chapters 8 References 232 Tables 50 Illustrations 149 Graphs 0 Appendices 85
Scientific field:	Chemistry
Scientific subfield (scientific discipline):	Analytical chemistry, Physcal chemistry
Subject, Key words:	hydration properties, biologically active compounds, synthesis, ionic liquids
Abstract in English language:	The aim of this doctoral dissertation is to understand and study the organization of water molecules and their impact on the physicochemical properties of selected biologically active compounds, as well as obtaining new biologically active compounds in the form of ionic liquids with improved solubility and bioavailability. From the physicochemical parameters of aqueous solutions of biologically active compounds, obtained by various experimental techniques, computer simulations, as well as toxicological tests, the correlation of their structure with the organization of water around them, as well as metabolic processes in which they participate.
Accepted on Scientific Board on:	17/05/2019. (Senat 30/05/2019.)
Defended: (Filled by the faculty service)	

² The author of doctoral dissertation has signed the following Statements:

56 – Statement on the authority,

5B – Statement that the printed and e-version of doctoral dissertation are identical and about personal data,

5r – Statement on copyright licenses.

The paper and e-versions of Statements are held at he faculty and are not included into the printed thesis.

Thesis Defend Board: (title, first name, last name, position, institution)	President: dr Slobodan Gadžurić, Full Professor, Faculty of Sciences, Novi Sad Member (Supervisor): dr Milan Vraneš, Associate Professor, Faculty of Sciences, Novi Sad Member: dr Marija Bešter-Rogač, Full Professor, Faculty for Chemistry and Chemical Technology, Ljubljana Member: dr Sergej Ostojić, Full Professor, Faculty of Sport and Physical Education, Novi Sad Member: dr Nenad Janković, Senior Research Associate, University of Kragujevac, The Institute for Information Technologies, Kragujevac
Note:	

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DEO.....	5
2.1. Svojstva vode	5
2.1.1. Polarnost molekula vode i vodonična veza.....	5
2.1.2. Struktura vode.....	9
2.2. Interakcije vode sa hidrofilnim, hidrofobnim i amfifilnim molekulima	12
2.2.1. Interakcije vode sa hidrofilnim molekulima.....	12
2.2.2. Interakcije vode sa hidrofobnim molekulima	17
2.2.3. Interakcije vode sa amfifilnim molekulima	19
2.3. Uloga vode u biološkim sistemima	21
2.4. Odabrana biološki aktivna jedinjenja.....	25
2.4.1. D-pantenol.....	25
2.4.2. Kofein	26
2.4.3. Kreatin i kreatinin	28
2.4.4. Karnozin.....	30
2.4.5. Sinefrin i oktopamin	31
2.5. Jonske tečnosti.....	32
2.5.1. Primena jonskih tečnosti.....	33
2.5.2. Jonske tečnosti kao farmaceutski proizvodi	36
2.5.3. Odabrane biološki i farmakološki aktivne supstance.....	39
2.5.3.1. Agmatin.....	39
2.5.3.2. Lokalni anestetici	40
2.5.3.3. Antiinflamatorna jedinjenja	44
3. EKSPERIMENTALNI DEO	49
3.1. Hemikalije	49
3.2. Aparatura i računarski programi	50
3.3. Merenje gustine	52
3.4. Merenje viskoznosti	56
3.5. Merenje provodljivosti	58
3.6. Merenje IC i NMR spektara.....	61
3.7. Termička analiza (TG/DSC)	62

3.8.	Određivanje rastvorljivosti.....	63
3.9.	<i>In vitro</i> test citotoksičnosti.....	65
3.10.	Matematički pristup izračunavanju termodinamičkih parametara	66
3.10.1.	Čiste komponente.....	66
3.10.2.	Vodeni rastvori jedinjenja.....	68
3.11.	Računarske simulacije	80
3.11.1.	Teorija funkcionala gustine.....	81
3.11.2.	Molekulska dinamika.....	83
3.11.3.	Računarska doking metoda.....	84
4.	REZULTATI I DISKUSIJA	87
4.1.	Hidratacija hidrofilnih bioloških jedinjenja	87
4.1.1.	Rezultati volumetrijskih merenja.....	87
4.1.2.	Rezultati viskozimetrijskih merenja	95
4.2.	Uticaj organizacije vode na samoagregaciju hidrofobnih biološki aktivnih jedinjenja	101
4.2.1.	Rezultati volumetrijskih merenja.....	101
4.2.2.	Rezultati viskozimetrijskih merenja	106
4.2.3.	Rezultati računarskih simulacija.....	109
4.3.	Uticaj hidratacionih osobina na spontanost konverzije kreatina u kreatinin.....	113
4.3.1.	Rezultati rastvorljivosti.....	113
4.3.2.	Rezultati volumetrijskih merenja.....	116
4.3.3.	Rezultati viskozimetrijskih merenja	120
4.3.4.	Rezultati računarskih simulacija.....	122
4.3.5.	Računanje hidratacionih brojeva.....	124
4.4.	Uticaj hidratacionih osobina aminokiselina na formiranje peptidne veze	127
4.4.1.	Rezultati rastvorljivosti.....	127
4.4.2.	Rezultati termičke analize.....	129
4.4.3.	Rezultati volumetrijskih merenja.....	131
4.4.4.	Računanje hidratacionih brojeva.....	134
4.4.5.	Rezultati viskozimetrijskih merenja	135
4.4.6.	Rezultati računarskih simulacija.....	138
4.5.	Uticaj hidratacionih osobina na ukus jonskih jedinjenja.....	144

4.5.1. Interakcije, volumetrijske i viskozimetrijske osobine vodenih rastvora sinefrin-hidrohlorida i oktopamin-hidrohlorida	144
4.5.2. Interakcije i volumetrijske osobine sinefrin-hidrohlorida i oktopamin-hidrohlorida u vodenim rastvorima D-fruktoze	152
4.5.3. Prividna specifična molarna zapremina, unutrašnja viskoznost, molekulski doking i ukus ispitivanih jedinjenja	156
4.6. Soli i jonske tečnosti na bazi agmatina	161
4.6.1. Eksperimentalno određivanje kiselinskih konstanti agmatina	161
4.6.2. Određivanje kiselinskih konstanti agmatina računarskim simulacijama	163
4.6.3. Sinteza jonskih tečnosti i soli na bazi agmatina.....	165
4.6.4. Rezultati termičke analize.....	167
4.6.5. Rezultati proučavanja novih jedinjenja u čistom stanju	170
4.6.6. Rezultati volumetrijskih i viskozimetrijskih merenja vodenih rastvora agmatinijum-sulfata i agmatinijum-hlorida.....	174
4.6.7. Rezultati računarskih simulacija interakcija agmatina sa vodom	178
4.6.8. Rezultati citotoksičnosti sintetisanih jedinjenja na bazi agmatina.....	182
4.7. Jonske tečnosti na bazi lokalnih anestetika	184
4.7.1. Sinteza i potvrda strukture	184
4.7.2. Termička analiza.....	186
4.7.3. Rezultati merenja gustine.....	187
4.7.4. Rezultati merenja viskoznosti.....	189
4.7.5. Rezultati merenja električne provodljivosti	191
4.7.6. Računarske simulacije interakcija u čistim jonskim tečnostima.....	194
4.7.7. Rastvorljivost u vodi	204
4.7.8. Interakcije u vodenim rastvorima [Lid][Sal] i [Pro][Sal]	205
4.7.9. Računarske simulacije hidratacionih osobina [Lid][Sal] i [Pro][Sal].....	213
5. IZVOD	221
6. SUMMARY	223
7. LITERATURA	225
8. PRILOG	247
BIOGRAFIJA	315
BIBLIOGRAFIJA NAUČNIH RADOVA	317

1. UVOD

Interesovanje o ponašanju i solvataciji supstanci u rastvaračima datira još od alhemijske ideje o univerzalnom rastvaraču – *alkahestu*. Ovaj rastvarač je zamišljen da ima sposobnost da rastvori bilo koju supstancu, da je razloži u svoje elementarne sastojke i na taj način omogući njenu transformaciju u bilo koju drugu. Takav rastvarač nikad nije otkriven, ali je od trenutka rađanja ideje o njegovom postojanju i delovanju postalo jasno da je za transformaciju nekog jedinjenja u drugo neophodno, pored svojstva same supstance, uzeti u obzir i uticaj rastvarača.

Osnovne postavke o uzajamnom odnosu rastvorene supstance i rastvarača uspostavili su fiziko-hemičari još u 19. veku. Pre ravno sto godina *Peter Debye* i *Erich Hückel* postavili su čvrste temelje razumevanju vodenih rastvora elektrolita matematičkom interpretacijom modela jonske atmosfere i uspostavljanjem korelacije između koncentracije i aktiviteta jona. Interesovanje nauke za solvataciju je bilo intezivirano u prvoj polovini 20. veka zahvaljujući naučnicima kao što su *Arrhenius*, *van't Hoff*, *Ostwald*, *Kohlrausch* i *Debye*. Kao rezultat njihovih istraživanja proistekle su neke od najvažnijih teorija i zakona u hemiji poput:

- *Arrhenius*-ove teorije elektrolitičke disocijacije,
- *van't Hoff*-ovog zakona koligativnih osobina rastvora,
- *Ostwald*-ovog zakona razblaženja,
- *Kohlrausch*-ovog zakona nezavisnog putovanja jona,
- *Debye-Hückel*-ove teorije o ponašanju jakih elektrolita u rastvoru i uticaju jonske jačine.

Zatim je došlo do zatišja, prvenstveno zbog preovlađujućeg stava da su svi glavni problemi u oblasti vodenih rastvora elektrolita rešeni. Bilo je to daleko od istine.

Sve navedene teorije, naučno delovanje i saznanja bila su ograničena na razblažene rastvore elektrolita, odnosno na oblasti koncentracija gde joni ne utiču jedan na drugi. Ponašanje najrasprostranjenijih vodenih rastvora elektrolita, poput morske vode, ali i ljudima najznačajnijih, poput krvi, nisu mogli uspešno da se opišu postojećim teorijama i jednačinama, jer ne predstavljaju razblažene rastvore. Štaviše, za rastvore elektrolita čija je koncentracija preko $5 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ni do dan danas nije uspostavljena nijedna teorija čija su predviđanja o strukturnoj uređenosti, solvataciji i termodinamičkim svojstvima u saglasnosti sa eksperimentalno dobijenim rezultatima.

Za rešavanje brojnih problema u hemiji, biohemiji i medicini, a koji zahtevaju poznavanje efekta interakcija između rastvorene supstance i rastvarača, odnosno solvatacije, još uvek nedostaje sveobuhvatan teorijski okvir. To je rezultat višedecenijske loše prakse u nauci, da se za interpretaciju bilo koje hemijske reakcije isključivo posmatra interakcija između reaktanata, pri tome zanemarujući uticaj rastvarača. Ovakvo razmišljanje i delovanje dovelo do toga da nauka u mnogim slučajevima sa sigurnošću može da potvrdi odigravanje nekog hemijskog ili biohemijskog procesa, ali ne i da objasni pokretačku silu koja do njega dovodi. Poslednjih nekoliko godina naučna javnost je postala svesna tog problema, pa su efekti poput haotropnog i kosmotropnog organizovanja vode, hidrofobne solvatacije, klasterne strukture vode i mnogi drugi postali ključni za objašnjavanje aktivnosti i reaktivnosti molekula rastvorenih u vodi.

Istraživanja o uticaju organizacije vode oko biomolekula na njihovu aktivnost, interakcije sa drugim molekulima i strukturnim elementima ćelije, izdvojila su se kao primarna za razumevanje njihovih metaboličkih puteva. Uloga vode u organizmu ogleda se prvenstveno u rastvaranju biološki aktivnog jedinjenja i distribuciji kao hidratizane supstance kroz sistem, molekulskom prepoznavanju i procesima vezivanja za ciljno mesto. Rastvorljivost supstance u organizmu i njena posledična biološka aktivnost uslovljena je udelom hidrofilnih i hidrofobnih delova molekula, prisustvom polarnih funkcionalnih grupa i mogućnošću njihove jonizacije i disocijacije pri fiziološkoj pH vrednosti. Jonska jedinjenja pri rastvaranju u vodi disosuju na slobodne hidratizane jone. Taj proces se naziva elektrolitička disocijacija. Za razliku od jonskih jedinjenja, koja u vodi disosuju na katjone i anjone, organski molekuli su pretežno kovalentnog karaktera i njihova rastvorljivost u vodi je moguća samo ako:

- imaju veliki procenat hidrofilnih površina ili funkcionalnih grupa (npr. OH grupa),
- imaju funkcionalne grupe koje pri fiziološkoj pH vrednosti mogu da se protonuju (NH_2 grupa) ili deprotonuju (COOH , SO_3H) i na taj način povećavaju jonski karakter molekula.

Poslednjih godina, aktuelni koncept povećanja rastvorljivosti biološki aktivnih jedinjenja podrazumeva njihovo prevođenje u jonske tečnosti (JT). Prevođenjem nenaelektrisanih kovalentnih jedinjenja u jonske tečnosti, u potpunosti se eliminiše problem njihove slabe rastvorljivosti u vodi, sprečava mogućnost građenja polimorfni oblika i omogućava se postizanje mnogo veće koncentracije aktivnih komponenti u odnosu na njihove neutralne forme.

Predmet istraživanja ove doktorske teze je ispitivanje solvatacije odabranih biološki aktivnih jedinjenja u vodenim rastvorima upotrebom volumetrijskih, viskozimetrijskih i kondukto-metrijskih tehnika, kao i računarskih simulacija. Istraživanje ima za cilj da se ispita uticaj strukturne organizacije vode na interakcije, termodinamičke parametre ravnotežnih stanja odabranih bioaktivnih jedinjenja i metaboličkih procesa u kojima učestvuju.

Prva faza ovog istraživanja obuhvatiće ispitivanje interakcija odabranih komercijalno dostupnih biološki aktivnih supstanci sa molekulima vode na osnovu volumetrijskih i viskozimetrijskih merenja serije vodenih rastvora različitih koncentracija i na različitim temperaturama. Jedinjenja su odabrana na osnovu naelektrisanja, odnosa hidrofилnog/hidrofobnog karaktera i tipu hemijske veze u jedinjenju (tabela 1.1).

Tabela 1.1. Odabrana komercijalno dostupna biološka aktivna jedinjenja.

Naziv biološki aktivnog jedinjenja	Naelektrisanje biološki aktivnog jedinjenja	Metabolički proces
D-pantenol	Neutralno	Hidratacija
Kofein	Neutralno	Samoagregacija
Kreatin	Cviter jon	Intramolekulska ciklizacija
Kreatinin	Neutralno	
Karnozin β -alanin i L-histidin	Cviter jon	Formiranje peptidne veze
Sinefrin-hidrohlorid Oktopamin-hidrohlorid	Jon	Interkacije sa receptorima za ukus

Na osnovu dobijenih rezultata biće izračunati odgovarajući parametri i termodinamičke konstante koje opisuju interakcije ispitivanih jedinjenja u vodenim rastvorima, sa posebnim akcentom na hidrataciju i strukturnu organizaciju molekula vode u njihovom okruženju. Na osnovu dobijenih rezultata, tumačiće se uticaj prisustva molekula vode na metaboličke procese u kojima ti molekuli učestvuju. U cilju dobijanja potpunije slike o interakcijama u vodenim rastvorima, eksperimentalno dobijeni rezultati će se potkrepiti računarskim simulacijama pri istim eksperimentalnim uslovima.

U drugoj fazi ispitaće se uticaj prevođenja organskih molekula u jonska jedinjenja na promene u interakcijama sa molekulima vode. U tom cilju sintetisaće se jonske tečnosti i soli na bazi biološki aktivnih molekula agmatina, lidokaina i prokaina sa odgovarajućim biološki aktivnim anjonima (vitaminima, komercijalnim lekovima):

- agmatinijum-askorbat,
- agmatinijum-glutamat,
- agmatinijum-*m*-hidroksibenzoat,
- agmatinijum-nitrat,
- agmatinijum-hlorid,
- agmatinijum-ibuprofenat,
- agmatinijum-salicilat,
- agmatinijum-nikotinat,
- lidokainijum-salicilat,
- lidokainijum-ibuprofenat,
- prokainijum-salicilat,
- prokainijum-ibuprofenat.

Njihova struktura će biti potvrđena snimanjem IC i NMR spektara. Ispitaće se i fizičko-hemijska svojstva sintetisanih jonskih tečnosti (gustina, viskoznost, električna provodljivost, termička stabilnost) kao i uticaj temperature na navedena svojstva. Zatim će se pristupiti teorijskom ispitivanju novosintetisanih jedinjenja, računarskim simulacijama upotrebom adekvatnih softverskih paketa. Korišćenjem kvantno-mehaničkih parametara u vidu DFT kalkulacija i molekulske dinamike (MD), ispitaće se interakcije i geometrija kako samih jedinjenja, tako i njihove interakcije sa vodom. Optimizovane strukture i izračunati parametri (lipofilnost, energija vezivanja, hidratacioni broj) biće korelirani sa fizičko-hemijskim i solvacionim svojstvima novosintetisanih jedinjenja dobijenih merenjem gustina i viskoznosti njihovih razblaženih vodenih rastvora.

Iz fizičko-hemijskih parametara vodenih rastvora biološki aktivnih jedinjenja i novosintetisanih jonskih tečnosti, dobijenih upotrebom različitih eksperimentalnih tehnika, računarskih simulacija, kao i toksikoloških ispitivanja, uspostaviće se korelacija između strukture odabranih i novosintetisanih biološki aktivnih jedinjenja i organizacije vode oko njih, sa metaboličkim procesima u kojima učestvuju.

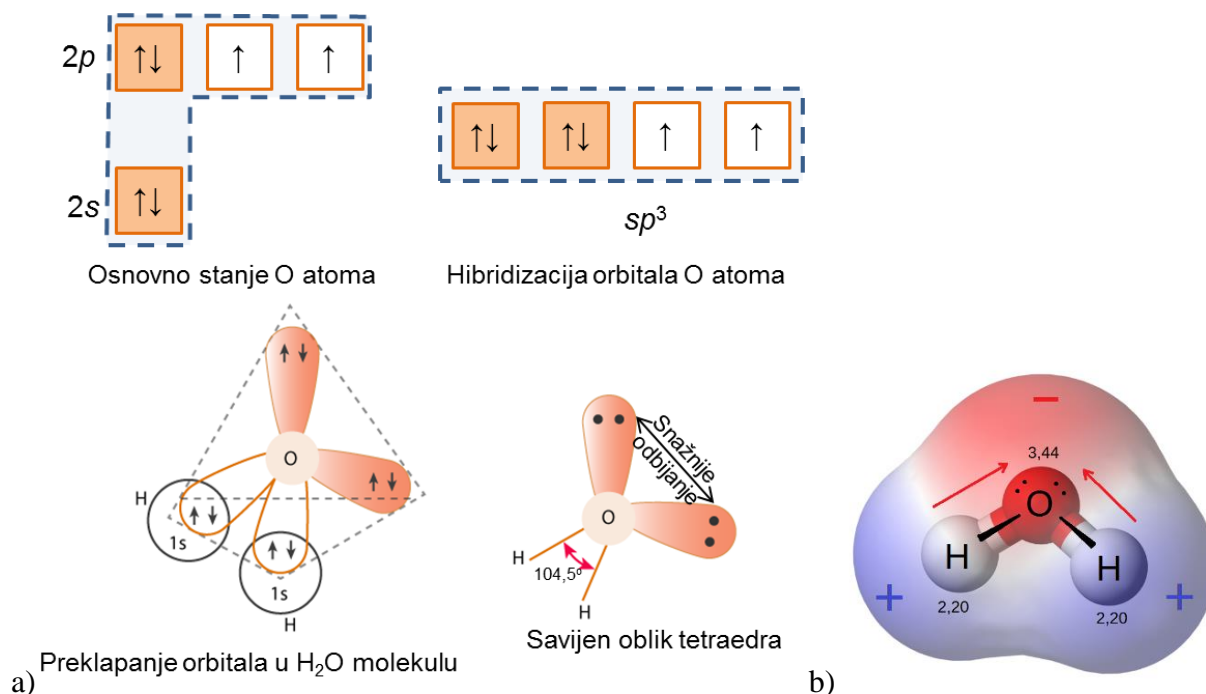
2. TEORIJSKI DEO

2.1. Svojstva vode

Na molekularskom nivou, život se odvija u vodi. Voda je neophodna za formiranje i funkcionisanje ćelije kao najmanje jedinice živog sveta, prvenstveno kao rastvarač ali i za povezivanje ćelija u složenije sisteme kao i za razmenu materije i komunikaciju između njih. *Ball* navodi da se iz iskustva života na Zemlji može zaključiti da je život kakav poznajemo neodrživ u bezvodnom okruženju [1]. Voda se proučava od postojanja nauke. Uprkos svim istraživanjima koja su rađena sa čistom vodom i vodenim rastvorima soli i bioloških molekula, primenom različitih pristupa i tehnika, o njenoj strukturi, dinamici i brojnim anomalijama zna se mnogo, ali razume se iznenađujuće malo [1-5]. Za njena jedinstvena svojstva odgovorna je polarnost samog molekula vode, kao i sposobnost da formira vodonične veze (H-veze) kako sa drugim molekulima vode, tako i sa složenim biomolekulima.

2.1.1. Polarnost molekula vode i vodonična veza

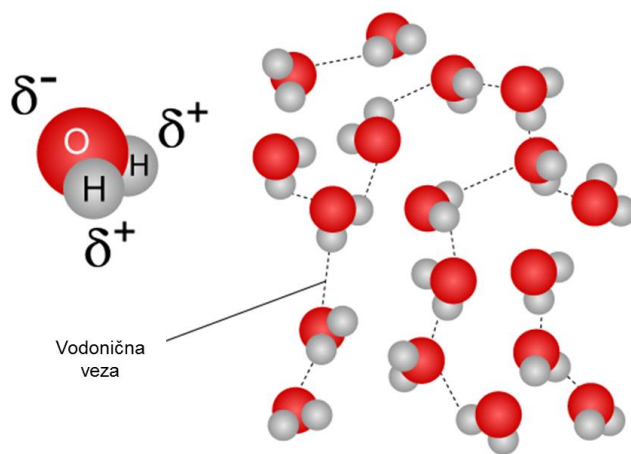
Ključ razumevanja fizičko-hemijskog ponašanja vode kao najrasprostranjenije tečnosti i rastvarača na Zemlji je njena strukturna jedinica – molekul H_2O . Molekul vode sastoji se od dva atoma vodonika između koji se nalazi kovalentno vezan atom kiseonika (slika 2.1). U molekulu vode, atom kiseonika je sp^3 hibridizovan. Prema tome u molekulu vode dve sp^3 hibridizovane orbitale su preklopljene sa 1s orbitalama dva atoma vodonika, a dve sp^3 hibridizovane orbitale sadrže dva slobodna elektronska para (slika 2.1a). Najstabilniji prostorni raspored atoma jeste onaj u kojem je odbijanje elektrona najmanje, formirajući tetraedar, sa O-H vezama koje čine dva od četiri kraka tetraedra. Slobodni elektronski parovi se odbijaju više od elektrona iz zajedničkog elektronskog para, tako da je ugao između O-H veza nešto manji od $109,5^\circ$ idealnog tetraedra, odnosno oko $104,5^\circ$ [6].



Slika 2.1. a) sp^3 hibridizacija orbitala u molekulu vode i b) dipolni karakter molekula vode.

(Izvori: a) <https://www.quora.com/How-is-the-hybridization-of-water-determined> b) https://en.wikipedia.org/wiki/File:Dipoli_acqua.png)

Zbog velike razlike u elektronegativnosti između atoma O i H kovalentna veza između njih je izrazito polarna, što omogućava formiranje vodničnih veza (H-veza) između molekula vode (slika 2.2).

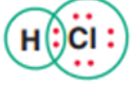
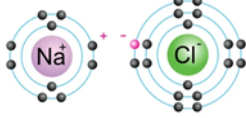
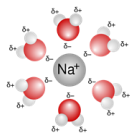
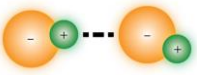

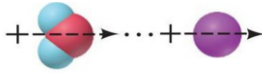
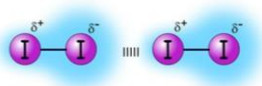
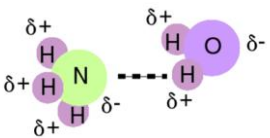


Slika 2.2. Prikaz obrazovanja vodničnih veza između molekula vode.

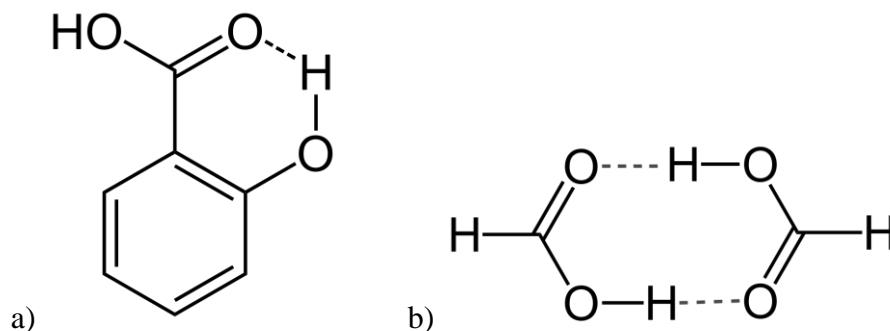
(Izvor: <http://www.personal.psu.edu/staff/m/b/mbt102/bisci4online/chemistry/chemistry3.htm>)

Polarnost veza u kombinaciji sa nelinearnom geometrijom čini ceo molekul vode izrazito polarnim (slika 2.1b). Njegov permanentni dipolni moment iznosi 1,85 D [7]. Velika polarnost molekula vode omogućava dipol-dipol interakcije između njih. Međutim, za tečno agregatno stanje vode na sobnoj temperaturi i njenu značajnu strukturnu uređenost odgovorne su prvenstveno H-veze, koje su dvadeset puta snažnije od dipol-dipol interakcija (tabela 2.1) [8].

Tabela 2.1. Tipovi hemijskih veza i međumolekulskih interakcija [8].

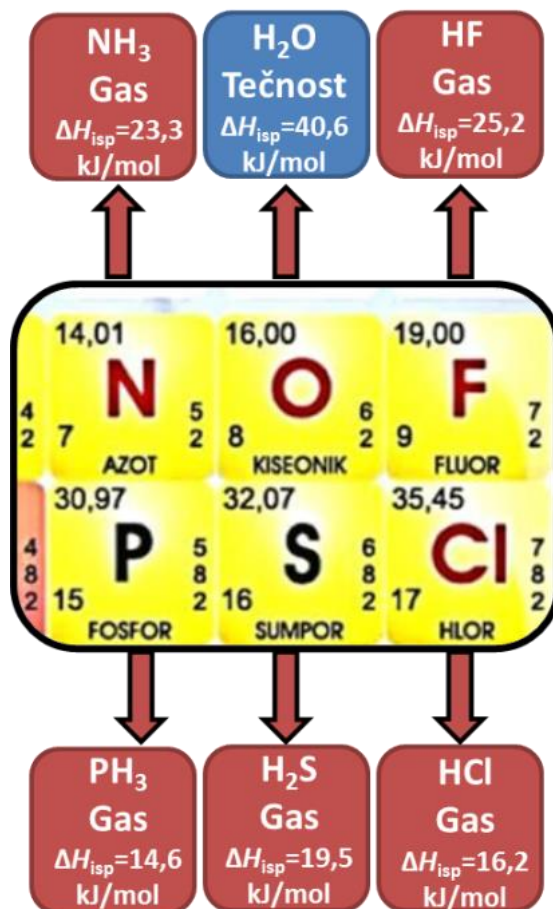
Tip veze/međumolekulske interakcije	Prikaz	Energija vezivanja / (kJ·mol ⁻¹)
Kovalentna veza		150-1100
Jonska veza		700-4000
Jon-dipol interakcije		20-60
Dipol-dipol interakcije		1-20
Jon-indukovani dipol interakcije		1-15
Dipol-indukovani dipol interakcije		1-10
Disperzione London-ove sile		0,05-40
Vodonična veza		20-40

Vodonična veza može da se obrazuje unutar jednog molekula i tada se naziva intramolekulska vodonična veza (slika 2.3). Ukoliko dolazi do formiranja vodonične veze između dva molekula tada se naziva intermolekulska vodonična veza.



Slika 2.3. Grafički prikaz a) intramolekulske vodonične veze u molekulu salicilne kiseline i b) intermolekulske vodonične veze između dva molekula mravlje kiseline.

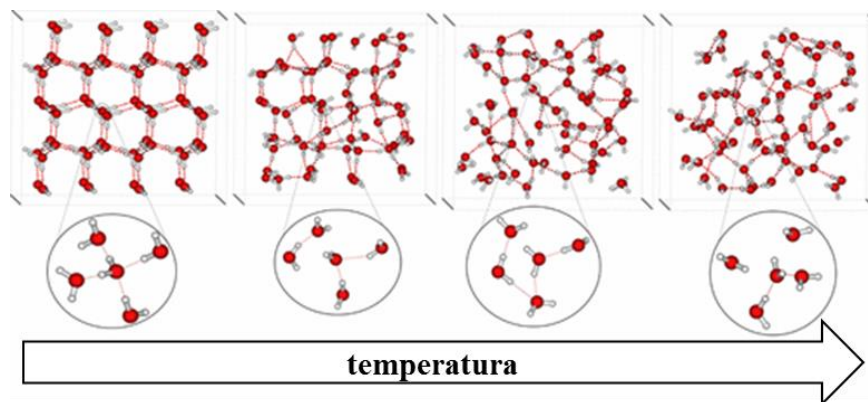
Formiranje i raskidanje vodoničnih veza između molekula vode se odvija približno svake 10^{-12} s. Kao rezultat, molekuli vode brzo menjaju položaje kroz dipol-dipol interakcije i vodonične veze. Ukoliko se uporede agregatna stanja hidrida elemenata koji se nalaze oko atoma kiseonika u Periodnom sistemu elemenata, uočava se da se svi nalaze u gasovitom agregatnom stanju na sobnoj temperaturi, osim molekula vode (slika 2.4). U poređenju sa ostalim hidridima, voda ima najveću toplotu isparavanja ($\Delta H_{isp} = 44 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) [9]. Visoka vrednost toplote isparavanja je posledica potrebe za većom količinom energije za raskidanje H-veza i dipol-dipol interakcija.



Slika 2.4. Prikaz kovalentnih hidrida oko atoma kiseonika, njihovo agregatno stanje i vrednost toplote isparavanja, ΔH_{isp} [9].

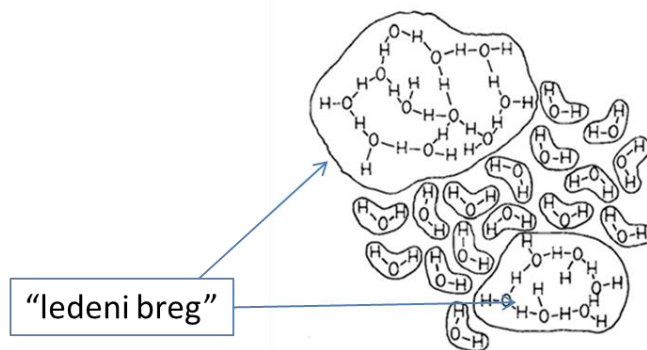
2.1.2. Struktura vode

Molekuli vode su međusobno povezani vodoničnim vezama, gradeći polimerne strukture sa malom entropijom. U ledu su molekuli vode međusobno povezani vodoničnim vezama sa četiri susedna molekula, gradeći pravilnu tetraedarsku strukturu. Na temperaturama iznad $T = 273,15$ K (tačka topljenja leda) dolazi do narušavanja kristalne strukture leda i slobodnog kretanja molekula vode, pri čemu se vodonične veze između njih neprekidno raskidaju i formiraju (slika 2.5).



Slika 2.5. Prikaz promene vodoničnog vezivanja molekula vode prilikom topljenja.

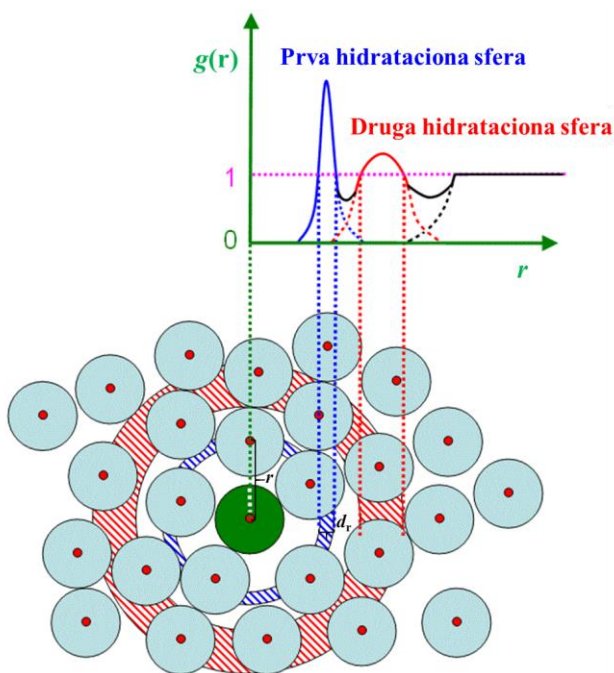
Računarske simulacije pokazuju da u tečnoj vodi na $T = 298,15$ K broj vodoničnih veza po molekulu vode iznosi oko 3,1 (u ledu je prosečno 4 – tetraedarsko okruženje) pri čemu se te veze dele na jake (prosečno ih ima 1,81) i slabe (prosečno 1,29). Spektroskopska merenja su pokazala da razlika u energiji veze između njih iznosi $6,3 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ [10]. Broj vodoničnih veza u tečnoj vodi, pri normalnim uslovima, je manji od broja vodoničnih veza u ledu, što ukazuje da u tečnoj fazi postoje molekuli vode sa tetraedarskim okruženjem, ali i oni koji imaju manji broj vodoničnih veza i koji ne moraju da budu u tetraedarskom rasporedu u odnosu na okolne molekule [3,10]. Ovi molekuli popunjavaju šupljine koje su nastale pravilnim tetraedarskim uređenjem i zbog toga tečna voda ima veću gustinu od leda. Spektroskopska merenja su pokazala da u tečnoj vodi postoji oko 20 % molekula vode sa tetraedarskim okruženjem koji su međusobno povezani (grupisani) u obliku prstena i lanaca. Ti agregati imaju molekule vode povezane na isti način kao u ledu pa samim tim i drugačiju gustinu od „ostatka“ vode. Zbog toga se često nazivaju „ledeni breg“ (eng. *ice-berg*), jer podsećaju na ledene sante koje plivaju po vodi (slika 2.6) [11].



Slika 2.6. Šematski prikaz strukture tečne vode prema teoriji Nemethy Scherag-a.

(Izvor: <https://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.1732472>)

Struktura tečnosti, gde se molekuli mogu predstaviti kao čestice koje interreaguju preko sferno-simetričnih potencijalnih funkcija, može se prikazati primenom funkcije radijalne raspodele (eng. *Radial distribution function*, RDF), $g(r)$, što je povezano sa gustinom tečnosti, $d(r)$, oko čestica na $r = 0$: $d(r) = d_b g(r)$, gde je d_b "bulk" gustina [1].

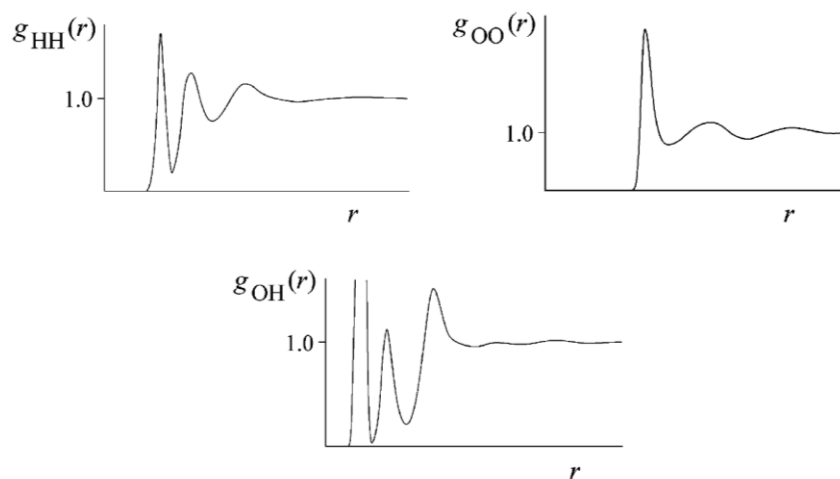


Slika 2.7. Šematski prikaz funkcije radijalne raspodele.

(Izvor: <https://www.globalsino.com/EM/page3097.html>)

RDF vode u tečnom stanju ima oscilatorni oblik (slika 2.7). U ovom slučaju jedna funkcija $g(r)$ nije dovoljna da se u potpunosti okarakteriše tečna struktura vode, jer postoje dve vrste atoma u molekulu: atom vodonika (H) i kiseonika (O). Naime, mora se definisati niz parcijalnih RDF

funkcija $g_{XY}(r)$, koji označavaju verovatnoću pronalazanja Y atoma i rastojanje r od centra X atoma. Na primer, $g_{OO}(r)$ označava verovatnoću nalaženja atoma kiseonika molekula vode oko odabranog molekula vode. Parcijalni RDF-ovi za vodu, određeni primenom metode rasejanja neutrona [12], prikazani su na slici 2.8.



Slika 2.8. Parcijalne funkcije radijalne raspodele za vodu na $T = 298,15$ K. Prvi (van skale) pik u $g_{OH}(r)$ je pik intramolekulske vodonične veze.

(Izvor: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cr068037a>)

Struktura vode je složenija od oscilatornog profila sa opadajućom amplitudom pronađenom za jednostavne tečnosti kao što je tvrda sfera ili *Lennard-Jones*-ov sistem za tečni argon; ali osnovne karakteristike izgledaju kvalitativno slično [1]. Ovo lokalno strukturno uređenje vode u tečnom stanju ima, međutim, sasvim drugačije poreklo. Dok odbijanje tvrdih sfera kontroliše uređenje kratkih dometa u jednostavnim tečnostima, struktura prikazana na slici 2.8 je prvenstveno posledica privlačnih interakcija između molekula vode, odnosno vodoničnih veza.

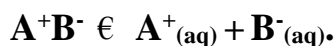
Pik u $g_{OO}(r)$ potiče od ostvarene vodonične veze na udaljenosti znatno većoj od srednje vrednosti prečnika molekula. Drugim rečima, molekuli vode se u proseku ne nalaze blizu jedni drugima, kao čestice jednostavne tečnosti. Oni su odvojeni vodoničnom vezom, koja nameće geometrijska ograničenja na pozicijama molekula: atom vodonika u $O \cdots H-O$ se prosečno nalazi otprilike duž ose između dva atoma kiseonika. Drugim rečima, vodonična veza je linearna. Ako je "savijena", orbitalno preklapanje je manje i veza je slabija. Vodonična veza drži molekule vodi na distanci, sprečavajući ih da se gusto spakuju kao što je slučaj u strukturi jednostavnih tečnosti. Vodonične veze su usmerene: oni vezuju molekule vode u određene prostorne orijentacije.

2.2. Interakcije vode sa hidrofiličnim, hidrofobnim i amfifiličnim molekulima

Uticaj prisustva rastvorene supstance na strukturu vode je dobro ispitano. Rastvorena supstanca utiče na njena fizička svojstva, električnu polarizaciju i orijentaciju. Sa druge strane, uticaj molekula vode na svojstva rastvorene supstance je mnogo teže proceniti jer je koncentracija molekula vode u rastvorima značajno veća od koncentracije rastvorene supstance.

2.2.1. Interakcije vode sa hidrofiličnim molekulima

Jonska jedinjenja, tipa A^+B^- , pri rastvaranju u vodi disosuju na slobodne jone. Taj proces se naziva elektrolitička disocijacija. U vodenim razblaženim rastvorima nastali joni su u potpunosti okružuju molekulima vode i taj proces naziva hidratacija. Elektrolitička disocijacija se može predstaviti sledećom jednačinom:

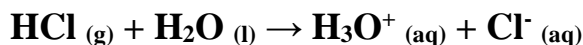


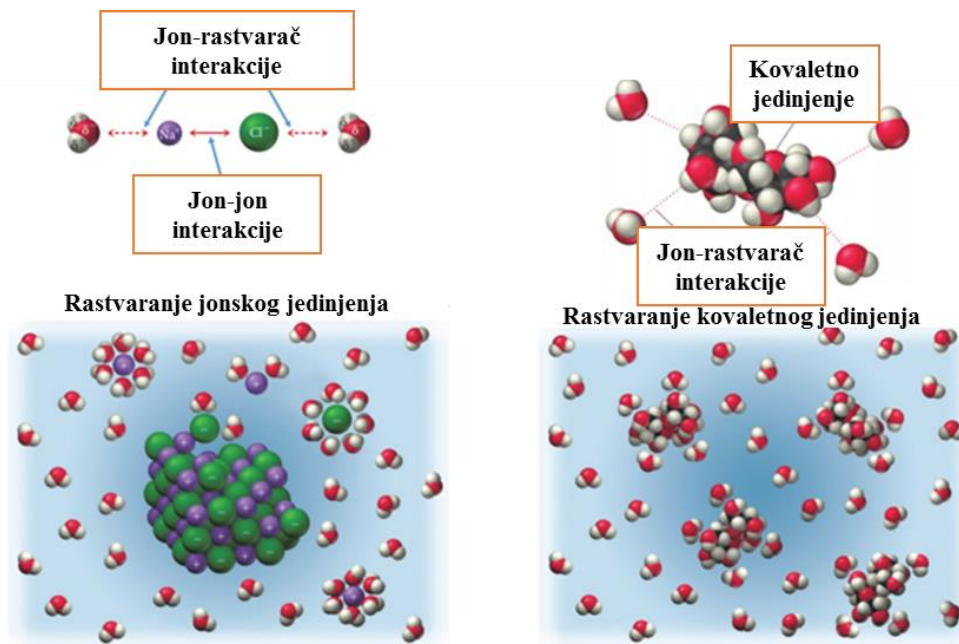
Ako se rastvorena supstanca u vodenom rastvoru nalazi isključivo u obliku hidratizanih jona, takve supstance se nazivaju elektrolitima. Većina neorganskih soli, kiselina i baza se odlično rastvaraju u vodi i u razblaženim rastvorima i potpuno su disosovane, pa predstavljaju jake elektrolite (slika 2.9).

Neka jako polarna kovalentna jedinjenja se dobro rastvaraju u vodi i pri tome se ponašaju kao jaki elektroliti. Npr. gas HCl pri rastvaranju reaguje sa vodom prema jednačini:



Pod uticajem dipola vode, kod ovakvih jedinjenja dolazi do heterolitičkog cepanja veze tj. do jonizacije polarnog kovalentnog molekula uz nastajanje jonskog para, električno neutralne čestice, u kome su nastali joni još uvek povezani elektrostatičkim silama (slika 2.9). Jonski par se usled daljeg delovanja dipolnih molekula vode, potpuno disosuje na hidratizane jone. U vodi, kao rastvaraču visoke dielektrične konstante, proces jonizacije i disocijacije odvija se istovremeno, jer su u takvoj sredini sile međusobnog privlačenja jona u jonskom paru nedovoljne da jonski par opstane kao takav. Zato jonski par $H_3O^+Cl^-$ praktično ne postoji, jer odmah disosuje na hidratizane jone H_3O^+ i Cl^- , pa se proces rastvaranja HCl može napisati:





Slika 2.9. Rastvaranje jonskog i kovalentnog jedinjenja.

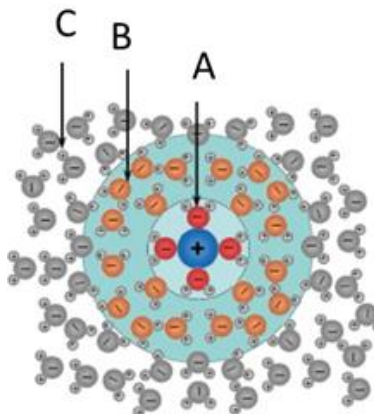
(Izvor: <https://slideplayer.com/slide/14483807/>)

Interakcije katjona i anjona sa molekulima vode posmatraju se kao jon-dipol interakcije. Tokom obrazovanja ovih interakcija dolazi do promena u načinu povezivanja molekula vode u okruženju jona, što se odražava na strukturu vode. Neorganski joni svojim elektrostatičkim poljem utiču na polarne molekule vode, koji ih okružuju stvarajući oko njih hidracioni omotač (hidracionu sferu) [3,10,11]. Joni manjeg radijusa i većeg naelektrisanja, tj. joni koji imaju veću gustinu naelektrisanja, jače vezuju molekule vode u njihovom hidracionom omotaču. To dovodi do promene u strukturi i načinu povezivanja molekula vode u blizini jona u odnosu na potpuno čistu vodu. Ova osobina se ne odnosi na jačinu vodoničnih veza i ne dolazi do dramatične promene u strukturi vode po dodatku jona. Tačnije molekuli vode ne prelaze velika rastojanja da bi ušli u hidracionu sferu već dolazi do blage distorzije vodonične mreže u okolini jona.

Radi boljeg razumevanja uticaja jona na strukturu vode, predložen je model solvatisanog neorganskog jona u vodenim rastvorima. Prema tom modelu, jon je okružen molekulima vode koji su grupisani u tri koncentrične sfere što je prikazano na slici 2.10.

Organizacija molekula vode oko svakog jona ili jonizovane grupe rastvorene supstance se može podeliti na tri regiona. Dva regiona različitog stepena uredenosti (A i B) predstavljaju hidratisanu

vodu odnosno molekuli vode koji ulaze u hidracionu sferu rastvorene supstance i „bulk“ vodu (region C), odnosno deo gde rastvorena supstanca nema uticaj na strukturnu uređenost vode (slika 2.10) [3].



Slika 2.10. Regioni hidratacione sfere oko rastvorene supstance.

(Izvor: https://www1.phys.vt.edu/~vinhnq/res_salts.html)

Neposredno oko jona (oblast A na slici 2.10) nalaze se imobilisani molekuli vode i čine njegovu *hidracionu sferu*. Ti molekuli vode su snažno imobilisani elektrostatičkim poljem jona, imaju mnogo uređeniju strukturu nego što je u čistoj vodi i nisu dostupni za rastvaranje i interakcije sa nekim novim jonima. Hidratacija je dinamički proces, konstantno dolazi do izmene molekula vode u hidracionoj sferi sa molekulim vode u okruženju, ali je njihov broj manje-više konstantan i poznat za većinu jona. U slučaju jona prelaznih metala, molekuli vode su povezani sa jonima koordinatno-kovalentnom vezom, dok se u slučaju jona alkalnih i zemnoalkalnih metala govori o elektrostatičkim interakcijama.

Na dovoljno velikoj udaljenosti od jona, njegovo elektrostatičko polje ne utiče na molekule vode i oni su uređeni na isti način kao i u čistoj vodi (tzv. „bulk“). Na slici 2.10 je to označeno kao oblast C.

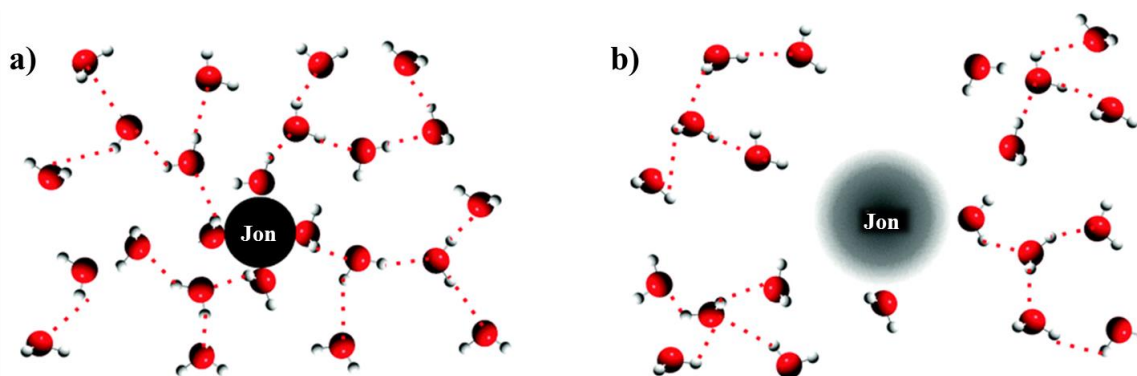
Region B predstavlja oblast u kojoj elektrostatičko polje nije dovoljno snažno da izvrši potpuno orijentaciju dipola vode (kao u sferi A) već samo delimično. Međutim, to delovanje je dovoljno da molekuli vode imaju orijentaciju koja je drugačija nego što je u čistoj vodi, odnosno da se poremeti

način povezivanja molekula vode preko H-veza u čistoj vodi. Zbog toga molekuli vode u toj sferi imaju više ili manje uređenu strukturu nego u čistoj vodi [13].

Structure making/breaking svojstva

Joni sa velikom gustinom naelektrisanja (odnosom naelektrisanja i radijusa) snažnije utiču na orijentaciju molekula vode, pri čemu oni postaju više uređeni i sa većim prosečnim brojem H-veza nego u čistoj vodi. Joni koji dovode do povećanja uređenosti između molekula vode u sferi B u odnosu na čistu vodu nazivaju se *structure makers* (u prevodu „kreator strukture“) ili kosmotropi (eng. *kosmotropes*) (slika 2.11a) [3].

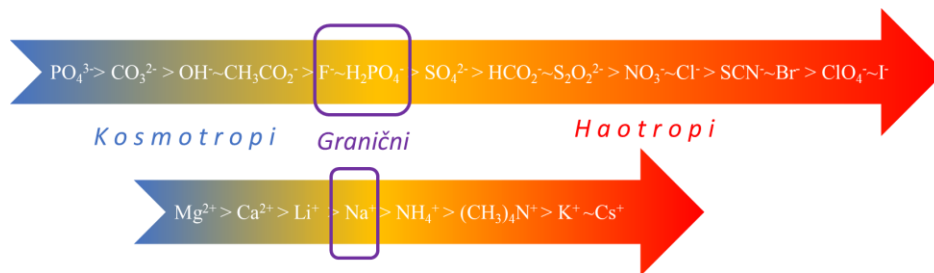
Nasuprot njima, joni sa malom gustinom naelektrisanja slabo utiču na orijentaciju molekula vode u sferi B, ali dovoljno da „pokvare“ uređenost koju su molekuli vode imali u čistoj vodi. Molekuli vode tada imaju manju uređenost nego što su imali u čistoj vodi i sa manjim prosečnim brojem H-veza. Joni koji smanjuju uređenost između molekula vode u sferi B u odnosu na čistu vodu nazivaju se *structure breakers* („razbijači strukture“) ili haotropi (eng. *chaotropes*) (slika 2.11b).



Slika 2.11. Struktura vode pod uticajem a) *structure maker* jona i b) *structure breaker* jona.

(Izvor: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlepdf/2018/cp/c8cp02512f>)

Joni sa manjim radijusom i većim naelektrisanjem imaju izraženija kosmotropna delovanja. Na slici 2.12 dat je redosled kosmotropnog delovanja za anjone i katjone. Efekat katjona i anjona u nekoj soli je aditivan. To znači da će CsI imati više izražena haotropna delovanja od $\text{Cs}(\text{NO}_3)_2$. Kod katjona, jon Na^+ je „granični“, odnosno ne pokazuje ni kosmotropni ni haotropni efekat. Kod anjona granični joni su F^- i H_2PO_4^- . Udaljavajući se levo od njih jača kosmotropni efekat, a desno haotropni.



Slika 2.12. Redosled kosmotropnog delovanja za anjone i katjone.

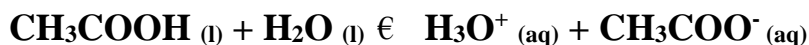
Kosmotropne supstance smanjuju entropiju sistema, jer povećavaju uređenost molekula vode u svojoj blizini. Oni snažnim električnim poljem deluju čak i izvan hidratacione sfere, smanjuju rotacione i vibracione stepene slobode molekula vode, dodatno ih „fiksiraju“ i omogućavaju da se H-veze između njih efikasnije formiraju. Zbog toga je uređenost molekula vode oko njih veća u odnosu na čistu vodu. Interakcije kosmotropa sa molekulima vode su jače nego što su između samih molekula vode. Zbog toga broj molekula vode u prisustvu kosmotropa koji su raspoloživi za hidrataciju drugih molekula opada u odnosu na čistu vodu. Kako su snažno hidratirani, njihovo vezivanje za naelektrisane delove drugih molekula je teže nego u slučaju haotropa. Oni odvlače molekule vode iz okoline naelektrisanih grupa biomolekula vezujući ih za sebe. Na taj način interakcije između naelektrisanih grupa u biomolekulu postaju još jače. Zbog toga kosmotropi stabilizuju proteine i druge biomolekule. Takođe, dehidratacijom biomolekula dovode do njihovog taloženja u vodi (eng. *salting out*). Dehidratacioni efekat kosmotropa takođe stabilizuje hidrofobne supstance u vodi i pospešuje njihovu samoagregaciju [14].

Haotropne supstance povećavaju entropiju sistema tako što povećavaju translacione i rotacione stepene slobode molekula vode u svojoj blizini. To dovodi do slabljenja i raskidanja vodoničnih veza između molekula vode. Interakcije između samih molekula vode su jače nego interakcije vode sa haotropima. Zbog toga su ti joni slabo hidratirani. Slaba vezanost molekula vode za haotrope ostavlja veći broj molekula vode raspoloživo za rastvaranje i solvataciju drugih jedinjenja. Njihova slaba hidratacija takođe ostavlja mogućnost da se lakše vezuju za naelektrisane delove drugih molekula, naročito biomolekula. Na taj način mogu da narušavaju njihovu nativnu konformaciju, remeteći intramolekulske elektrostatičke interakcije i H-veze u biomolekulu (protein, nukleinska kiselina, DNK, ćelijska membrana), koje su odgovorne za njegovu 3D strukturu. Kao posledica dolazi do denaturacije proteina i biomolekula i gubitka fiziološke funkcije. Pored toga, vezivanjem za naelektrisane centre omogućavaju bolji kontakt sa molekulima

vode i samim tim povećavaju rastvorljivost biomolekula u vodi. Ovaj efekat se naziva *usoljavanje* (eng. *salting in*). U prisustvu haotropa, molekuli vode su slobodniji za solvataciju nekog drugog jedinjenja nego u čistoj vodi. Zbog toga se u prisustvu haotropa destabilizuju hidrofobni molekuli, povećava njihova rastvorljivost i sprečava samoagregacija [14].

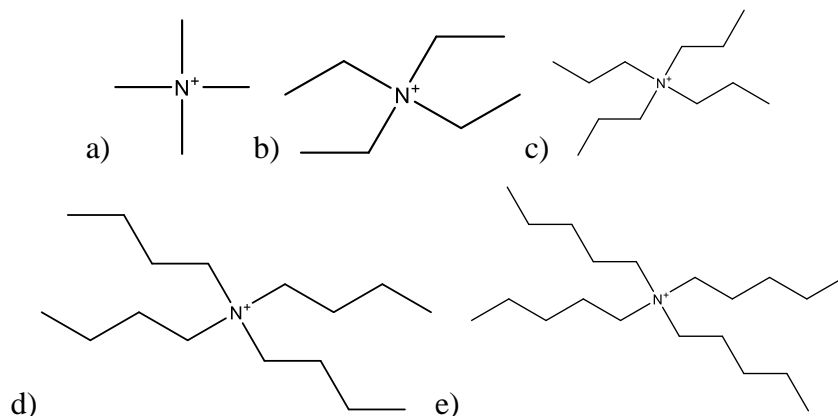
Iako je podela na kosmotropne i haotropne supstance definisana prvenstveno za neorganske jone, merenja su pokazala da i hidrofilni organski molekuli koji u vodi ne disosuju na jone pokazuju kosmotropna ili haotropna svojstva preko svojih jonizovanih grupa.

Hidrofilna, manje polarna kovalentna jedinjenja u kojima je kovalentni karakter izraženiji, dobro se rastvaraju u vodi kao hidratizani molekuli. Ova jedinjenja u vodi slabo disosuju, a njihova rastvorljivost je posledica vezivanja molekula vode za polarne funkcionalne grupe i hidrofilne delove molekula. Ova jedinjenja se zovu slabi elektroliti i u ovu grupu spadaju mnoge organske i neorganske kiseline, većina organskih baza, kao i neke soli [15]. Tako se sirćetna kiselina i amonijak dobro hidratišu i rastvaraju se u vodi, ali slabo disosuju:



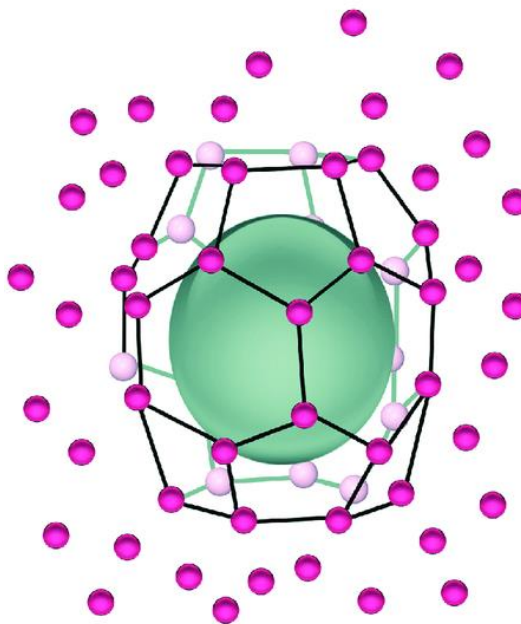
2.2.2. Interakcije vode sa hidrofobnim molekulima

Jedan od najjednostavnijih načina za predviđanje *structure making/breaking* osobina neorganskih jednovalentnih jona je prema njihovom jonskom radijusu. Ukoliko je jonski radijus jednovalentnog katjona manji od 0,106 nm odnosno anjona od 0,178 nm onda on spada u *structure makers* jone. Međutim, na osnovu merenja viskoznosti, konduktometrije i volumetrijskih osobina vodenih rastvora tetraalkilamonijum-jona zaključeno je da izuzetno voluminozan jednovalentni tetrametilamonijum-jon (Me_4N^+) ima *structure breaking* osobine, tetraetilamonijum-jon (Et_4N^+) se nalazi na granici, dok tetrapropilamonijum-jon (Pr_4N^+), tetrabutilamonijum-jon (Bu_4N^+) i tetrapentilamonijum-jon (Pe_4N^+) imaju *structure making* osobine [16]. Ovakvo ponašanje ovih tetraalkilamonijum-jona i njihov uticaj na strukturno uređenje vode objašnjeno je tzv. *hidrofobnom hidratacijom* (hidrofobni efekat).



Slika 2.14. Strukture a) tetrametilamonijum jona, b) tetraetilamonijum jona, c) tetrapropilamonijum jona, d) tetrabutilamonijum jona i e) tetrapentilamonijum jona.

Pored jon-dipol interakcija koje se uspostavljaju između organskih molekula i vode, na organizaciju vode utiču i hidrofobni (nepolarni) delovi organskih molekula. Naime kada se organski molekul koji sadrži hidrofobne delove doda u vodu, ti hidrofobni delovi „guraju“ od sebe molekule vode, tako da se oko njih stvara jedan prsten od molekula vode (klasterne strukture) koji ima veću gustinu od ostatka vode (slika 2.14). Takva organizacija vode naziva se hidrofobna hidratacija. Ovi procesi su praćeni negativnom promenom entalpije usled povećanog broja *van der Waals*-ovih interakcija (oslobađa se toplota) i negativnom promenom entropije usled povećanja uređenosti molekula vode u prstenu [17]. Obrazovanje klasterne strukture vode sa većom gustinom od prosečne potvrđeno je merenjem brzine prostiranja zvuka u vodenim rastvorima tetraalkilamonijum-jona. Sa porastom dužine alkil-lanca raste i efekat hidrofobne hidratacije, a samim tim i *structure-making* osobine ovih katjona.

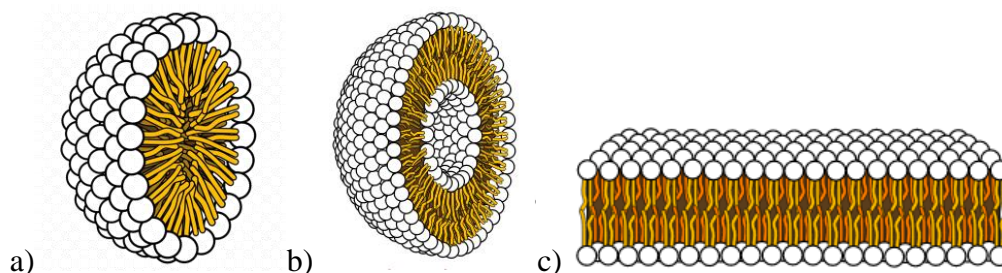


Slika 2.15. Hidrofobna hidratacija oko hidrofobnog molekula. (Izvor: <https://zenodo.org/record/827151#.YmfKiqixW3c>)

2.2.3. Interakcije vode sa amfilnim molekulima

Hidrofobni efekat je izražen kod amfilnih molekula. Amfilni molekuli ili amfilni predstavljaju veće organske molekule koji imaju dva dobro identifikovana i odvojena dela u svojoj strukturi, hidrofilnu glavu i dugačak hidrofobni rep. U vodenim rastvorima amfilni molekuli spontano obrazuju micide, liposome ili membrane (slika 2.16). Ukoliko imaju jedan nepolarni (hidrofobni) lanac obrazuju micide ili liposome (slika 2.16a i b), a ukoliko sadrže dva ili više, mogu da obrazuju membrane (slika 2.16c). Hidrofobna solvatacija je pokretačka sila za te procese agregacije [18].

Micela ima nižu slobodnu energiju od monomera amfila. Polarni deo amfila (hidrofilni deo) formira spoljnu površinu micide i izložen je vodi (slika 2.16a). Lipofilni deo molekula (koji je hidrofoban) je zaštićen od vode [18]. Disperzione *London*-ove sile stabilizuju ugljovodonične lance unutar micide. Za razbijanje micide potrebno je uložiti energiju.



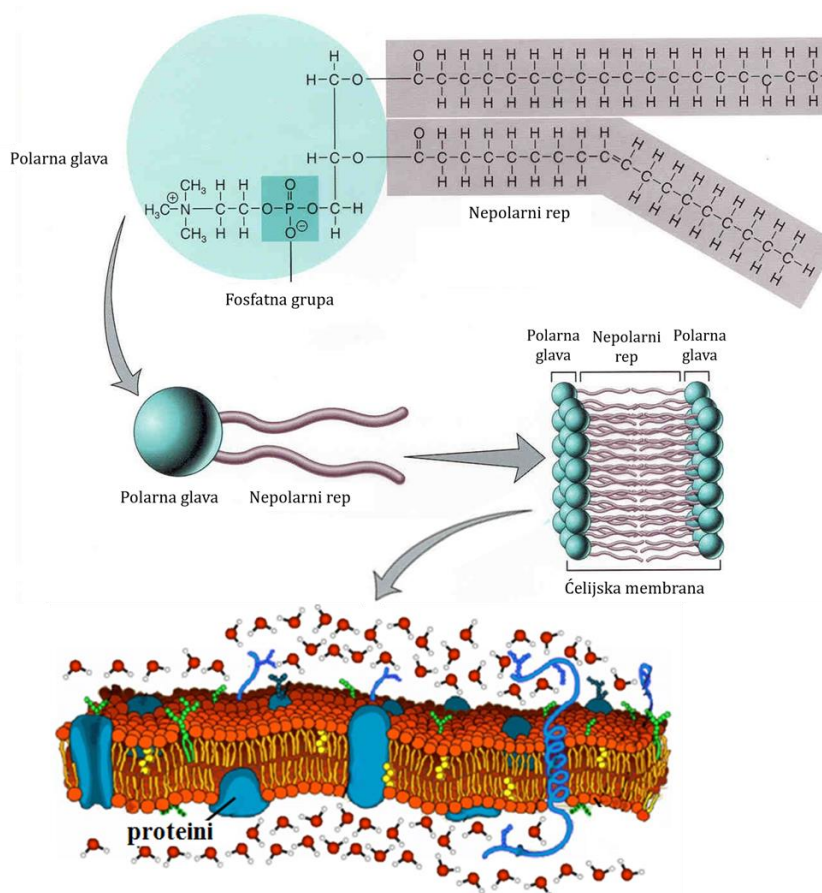
Slika 2.16. Prikaz strukture a) micide, b) lipozoma i c) membrane.

(Izvor: <https://en.wikipedia.org/wiki/Micelle>)

Amfilni takođe mogu formirati liposome (slika 2.16b). Lipozomi se sastoje od dvoslojnog amfilnog molekula gde su dva sloja molekula raspoređena u dva koncentrična kruga. Spoljni, polarni deo dvoslojne površine je okrenut ka vodi u vodenom rastvoru, a hidrofobni repovi su jedan naspram drugog. U ljudskom telu, lipozomi imaju ulogu transportera hranljivih sastojaka do ćelija organizma, a sve češće se za dostavu lekova koristi tehnologija liposomalne inkapsulacije.

Amfilni molekul fosfatidilholin je sastavni molekul „fosfolipidnih membrana“, koje formiraju omotače bioloških ćelija. U prisustvu vode, ovaj molekul formira dvostruki sloj napravljen od molekula fosfatidilholina koji sve svoje hidrofilne delove, sačinjene od fosfatnih i karboksilnih grupa, okreće prema vodi (slika 2.17). Voda u unutrašnjosti ćelije je tako izolovana od spoljašnje vode. U ovu strukturu ugrađeni su proteini, koji imaju dovoljno velike hidrofobne delove koji se

lako mogu ubaciti unutar hidrofobnog dela membrane. Ovi transmembranski proteini omogućavaju kontrolu razmene molekula H_2O , jona i malih organskih molekula između unutrašnjeg i spoljašnjeg medijuma ćelije. Ova posebna struktura dvosloja je stabilna u vodi na sobnoj temperaturi, odnosno u biološkim uslovima. U ekstremnim uslovima, kao što su visoke temperature, pri pH vrednosti značajno različite od fiziološke ili u prisustvu značajne koncentracije soli sa *structure breaking* osobinama, koje narušavaju mrežu H-veza vode oko membrane, ćelijske membrane više nisu stabilne i razlažu se.



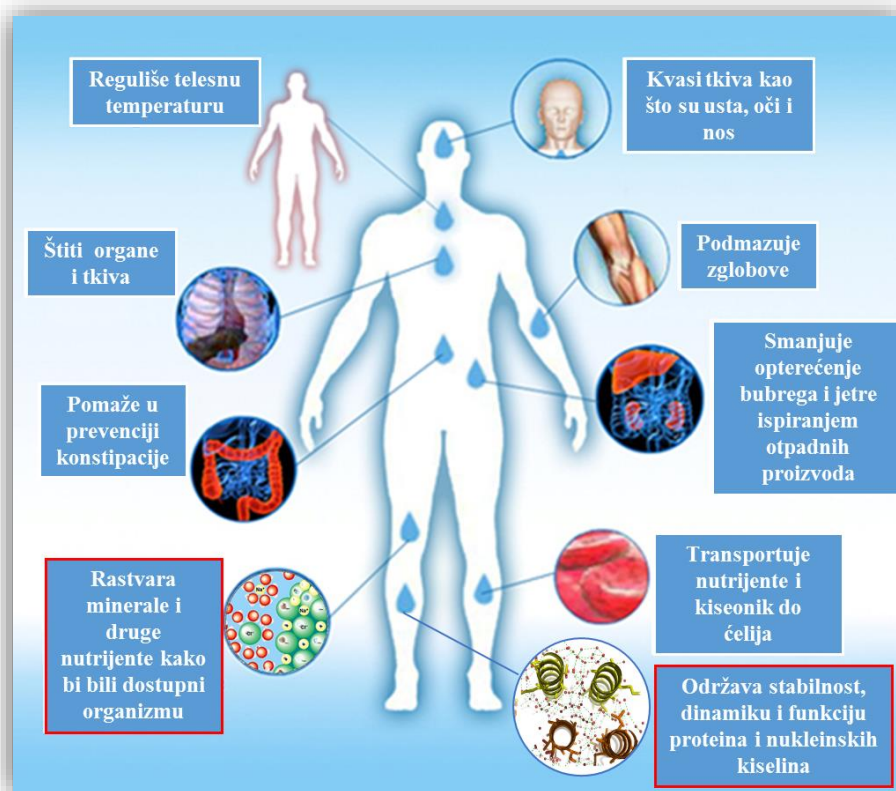
Slika 2.17. Prikaz strukture ćelijske membrane.

(Izvor: <https://ibiologia.com/phospholipid-bilayer/> i <https://biologydictionary.net/lipid-bilayer/>)

Hidrofobna solvatacija je odgovorna za formiranje ćelijskih membrana, doprinosi formiranju tercijarne strukture proteina i formiranju dvostrukog heliksa DNK molekula. Kako amfifilni molekuli obrazuju micelarne strukture samo kada se nađu u vodi, može se zaključiti da **bez prisustva vode ne bi došlo do formiranja živog sveta.**

2.3. Uloga vode u biološkim sistemima

Voda čini oko 60-70% ljudskog organizma, u zavisnosti od starosti i proporcije mišićnog prema masnom tkivu, i prema tome predstavlja glavnu komponentu ljudskog organizma. Igra izuzetno važnu ulogu u gotovo svim telesnim funkcijama kao što su: regulacija temperature, detoksikacija organizma, podmazivanje zglobova i varenje hrane. Voda je osnovni sastojak telesnih tečnosti, poput pljuvačke i suza, rastvara i prenosi hranljive materije i kiseonik, ćelijama obezbeđuje oblik i stabilnost i predstavlja neophodnu komponentu mnogih biohemijskih reakcija (slika 2.18) [19].

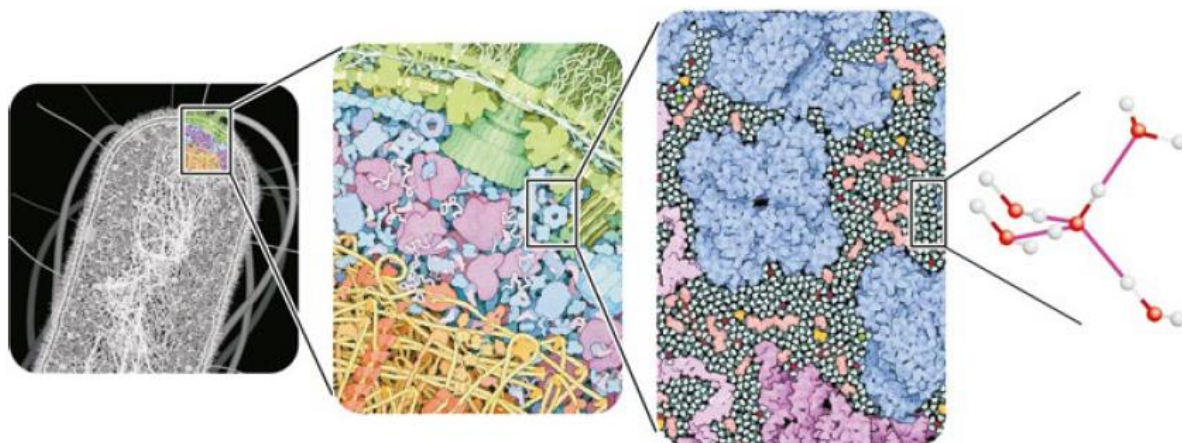


Slika 2.18. Najvažnije uloge vode u organizmu.

(Izvor: <https://thefactsaboutwater.org/home/water-health/>)

Voda je najzastupljeniji molekul u ćelijama, koji čini 70% ili više ukupne ćelijske mase. Prisustvo citoskeleta i makromolekulskih grupacija u prostoru koji je veoma ograničen zbog ćelijskih organela čini unutrašnjost ćelija čvrsto zbijenom (slika 2.19). Bez obzira na to, u ćeliji je visoko hidratizano okruženje, gde solvataciju vrše molekuli vode (slika 2.19), a praznine su popunjene vodom koja rastvara jone i male molekule. Dakle, praktično svi izloženi molekuli u ćeliji su pod

hemijskim i fizičkim uticajem vode. Unutrašnjost ćelije ne može da se opiše kao tipičan vodeni rastvor biomolekula, ali se hemijske reakcije u živim ćelijama odigravaju po mehanizmima i fundamentalnim hemijskim principima koji važe za vodene rastvore. Polarnost vode i sposobnost uspostavljanja vodoničnih veza su odlučujući za uticaj na hemijske reakcije u regionima gde voda služi kao glavni rastvarač, što znači skoro celu ćeliju (glavni izuzetak su lipidne membrane).

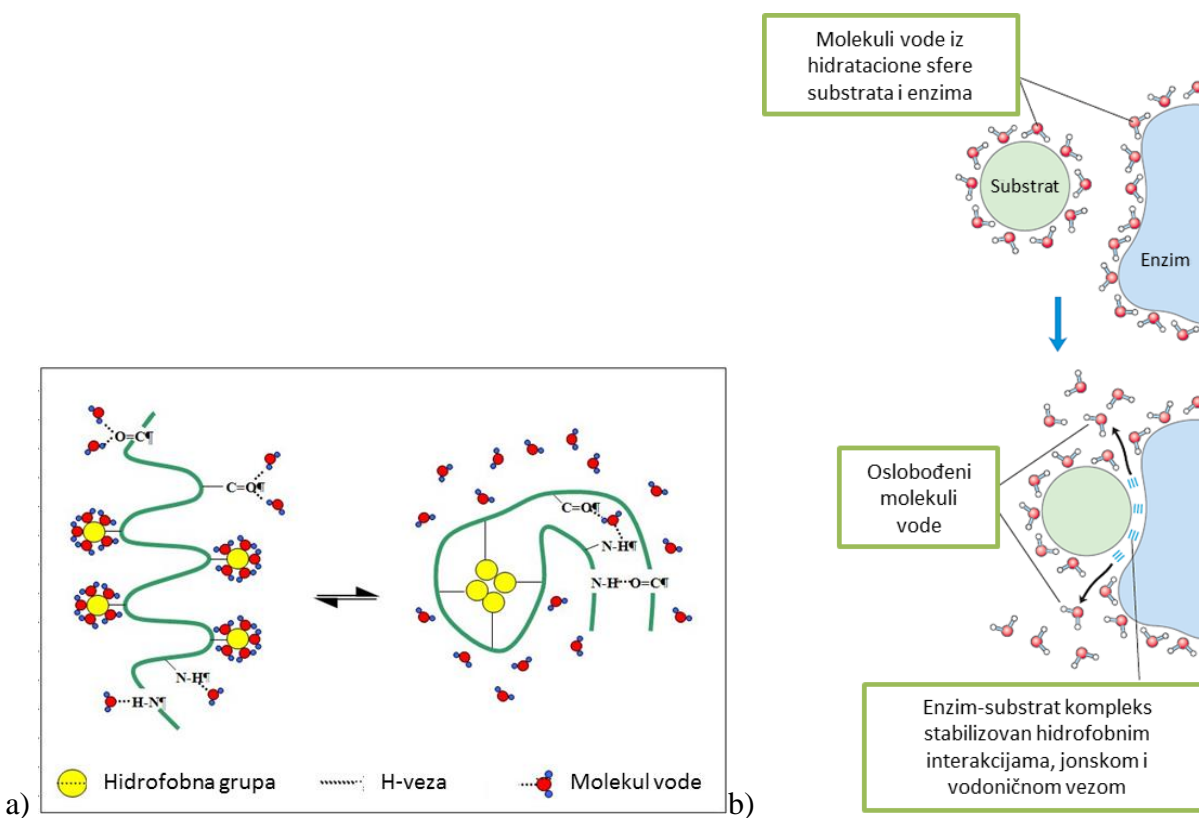


Slika 2.19. Prikaz molekulske gužve u ćeliji *E. coli*. Aminokiseline, ugljeni hidrati, ATP i mnogi drugi mali organski molekuli su prikazani ružičastom bojom. Joni metala su predstavljeni crvenom bojom, fosfatni joni su žuti i narandžasti, a hloridni joni su prikazani zelenom bojom. Molekuli vode su obojeni tirkizno. (Izvor: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-030-48740-9>)

Za ulogu vode kao rastvarača, posebno u ćeliji, jedno od ključnih pitanja je kako na njenu umreženu strukturu utiče prisustvo molekula neke rastvorene supstance i kontakt sa strukturnim elementima ćelijske membrane. U svakom slučaju, strukturni odgovor vode zavisi od toga da li je rastvorena supstanca pretežno hidrofobnog ili hidrofilnog karaktera [1]. Do sada je ovo pitanje bilo sporno, i još uvek ostalo nerešeno. Kada je supstanca rastvorena u vodi, međusobne interakcije između vode i rastvorene supstance definišu njena molekulska svojstva sa jedne strane, i strukturu i dinamiku molekula vode koji je okružuju sa druge strane. Naime, voda nije samo inertan medijum već aktivna komponenta rastvora, gde voda u hidratacionoj sferi supstance igra ključnu ulogu u određivanju strukture, stabilnosti, dinamike i funkcije rastvorene supstance.

Mnoga specifična svojstva materije, uključujući biosisteme, potiču iz strukture i dinamike vode, njene sposobnosti vodoničnog vezivanja i njenih interakcija sa rastvorenim supstancom koji imaju različite afinitete prema vodi. Odnos hidrofilnog i hidrofobnog dela molekula rastvorene supstance

uslovljavaju različite karakteristike u zavisnosti od oblika, dimenzija i hemijske prirode molekula [20]. Različiti afiniteti prema vodi su osnova nekoliko procesa, od mehanizma delovanja sapuna do razvoja mikroemulzionih metoda i proizvodnje novih materijala sa prilagođenim amfifilnim svojstvima, pa čak i formiranje, opstanak i evolucija života kakvog poznajemo [20,21]. Do sada je utvrđeno da struktura vode i njena mobilnost kontrolišu molekulsko prepoznavanje [21-24], i aktivno učestvuju u održavanju stabilnosti, dinamici i funkciji proteina i nukleinskih kiselina (slika 2.20). Uloga hidratacije u agregaciji proteina i zauzimanju konformacije različitoj od native je takođe važna za mnoge bolesti, kao što su prionske bolesti, dijabetes i rak [25]. Posmatrajući širu sliku, voda kontroliše funkciju, kvalitet i stabilnost složenijih matriksa, od ćelije preko hrane do farmaceutskih proizvoda [1,26].



Slika 2.20. Prikaz a) konformacije proteinskih lanaca i b) obrazovanja kompleksa enzim-substrat. (Izvor: a) <https://jackwestin.com/resources/mcat-content/complete-mcat-amino-acids-proteins-guide> b) <https://filadd.com/doc/resumen-primer-parcial-ibcm-pdf-introduccion-a-la>)

Molekuli koji su polarni (hidrofilni), uglavnom oni koji mogu uspostaviti vodoničnu vezu sa vodom ili veći broj jon-dipol interakcija, mogu se distribuirati u ljudskom telu prostom difuzijom,

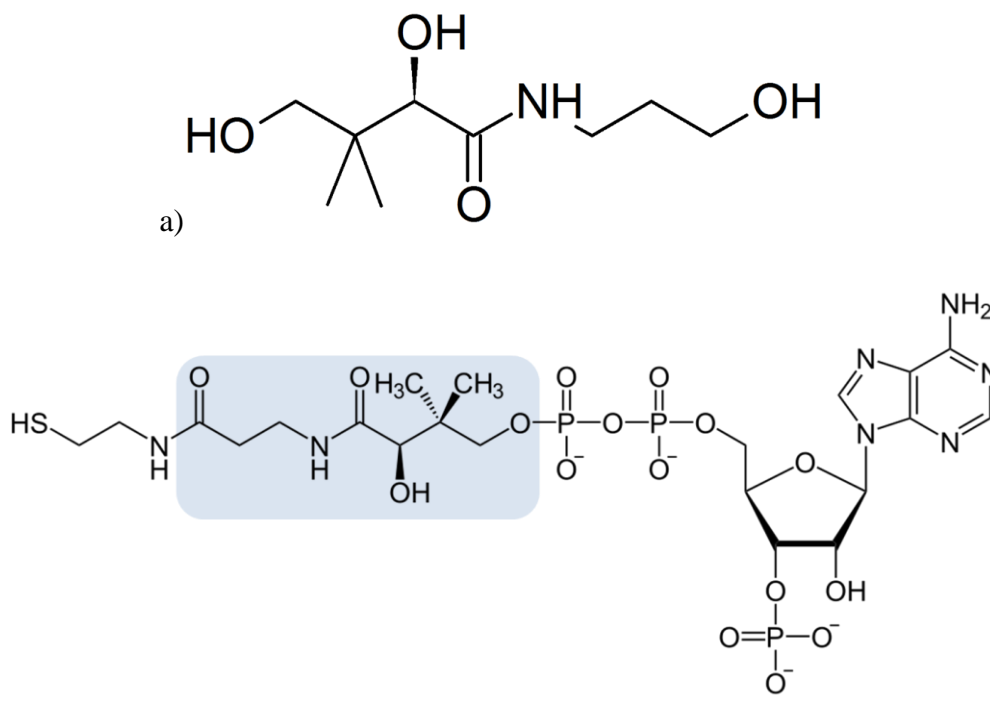
kao što je u krvi i/ili likvoru, dok nepolarni molekuli imaju nisku rastvorljivost i mogu se distribuirati samo posebnim nosačima kao što su lipoproteini. Glukoza, na primer, distribuira se u ljudskom telu bez nosača, jer njena koncentracija u krvi može dostići veoma visoke vrednosti jer je njena rastvorljivost u vodi velika. Molekul holesterola se ponaša suprotno jer je njegova rastvorljivost u vodenoj sredini veoma niska, tako da bi formirao kristale i taložio se, da se ne skladišti u nepolarnim sredinama kao što su ugljovodonična jezgra lipidnih membrana ili unutrašnjost lipoproteina [27]. Neka patološka stanja, kao što je kamen u žuči, odnose se na nisku rastvorljivost molekula povezanih sa holesterolom, što dovodi do stvaranja agregata (zbog tzv. entropijskog efekta) koji zauzvrat stvaraju male kristalne strukture koje prerastaju u „kamenje“ koje može dostići veličinu do nekoliko centimetara. Rastvorljivost je važna za farmakologiju kao i za fiziologiju. Lek koji se taloži i kristališe u krvi, ili čak u stomaku nakon konzumacije, slabe je efikasnosti jer se ne može apsorbirati i/ili distribuirati u telu. Nepolarni lekovi se obično mešaju sa drugim molekulima u formulacijama koje sprečavaju agregaciju leka u vodenoj sredini. Rastvorljivost je jedan od ključnih parametara koji se uzimaju u obzir pri osmišljavanju strategije razvoja lekova.

Polarnost datog molekula je takođe odlučujući faktor za njegovo izlučivanje. Polarni molekuli se lakše izlučuju zbog njihove rastvorljivosti u krvi i urinu. Glavna strategija ljudskog tela da eliminiše ksenobiotike (molekule koji nisu prirodni sastojci ljudskog tkiva) sastoji se u uvođenju hidroksilnih (OH) grupa ili konjugacijom, tako da oni postanu polarniji i, samim tim, rastvorljiviji u vodenim tečnostima. Ovo je efikasan metod koji se može primeniti na široki spektar molekula, jer tako pruža široku zaštitu ljudskog tela od višestrukih toksičnih molekula. Molekulski kompleks odgovoran za polihidroksilaciju različitih jedinjenja je citohrom P450, veliki proteinski kompleks koji sadrži gvožđe. Hidrofobnost je važna ne samo za apsorpciju, distribuciju i izlučivanje molekula, već i za držanje zajedno najprisutnije od svih supramolekularnih nekovalentnih struktura ćelije: lipidne dvoslojne membrane [27].

2.4. Odabrana biološki aktivna jedinjenja

2.4.1. D-pantenol

D-pantenol (provitamin B5) (slika 2.21a) je stabilan alkoholni analog pantotenske kiseline (vitamin B5). Prozirna je, bezbojna do blago žuta, viskozna tečnost na sobnoj temperaturi. Koristi se u farmaciji, kozmetici, hrani, hrani za životinje, itd. U tkivima, uključujući kožu nakon apsorpcije, D-pantenol se brzo i potpuno metaboliše u pantotensku kiselinu [28]. Pantotenska kiselina je nestabilna u formulacijama za transdermalnu isporuku aktivne supstance [28], pa se zato stabilni alkohol D-pantenol koristi u kremama i mastima. Upotreba D-pantenola dovodi do povećanja koncentracije pantotenske kiseline koja ima važne biohemijske uloge u svim organizmima, čineći jezgro strukture koenzima-A (slika 2.21b), koji ima centralnu ulogu u Krebsovom ciklusu i u metabolizmu lipida, kao i za sintezu mnogih sekundarnih metabolita. Pored toga, fosfopanteteinska grupa se dodaje kao prostetska grupa proteinima kao što je acil prenosni protein u sintezi masnih kiselina, poliketidne sintaze i u neribozomske peptidne sintetaze [29].

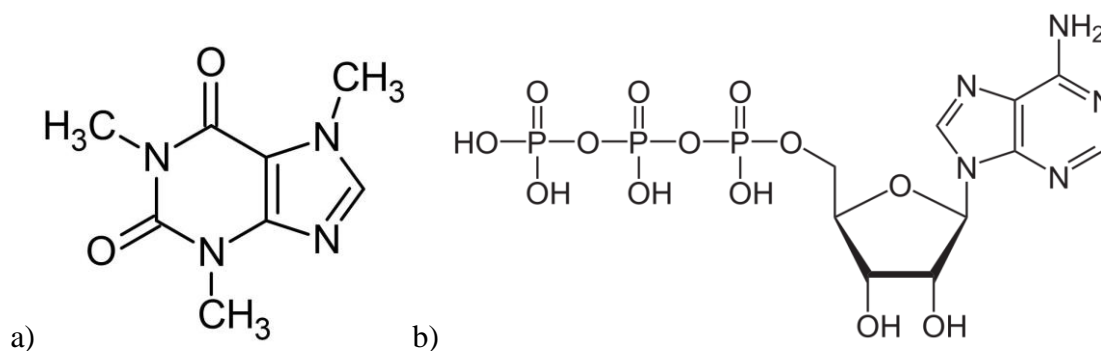


Slika 2.21. Strukture molekula a) D-pantenola i b) koenzima-A.

D-pantenol se lokalno koristi kao aktivna komponenta masti, emulzija ili rastvora. Kao dodatak u lečenju različitih lezija kože, sluzokože i zarastanja rana koristi se u procentnim koncentracijama od 2 do 5%, [28,30]. Lokalno, D-pantenol deluje kao hidratantna supstanca, održavajući mekoću i elastičnost kože. Klinička studija [30] pokazala je da formulacije na bazi pantenola deluju kao emolijensi (ovlaživači) tako što D-pantenol vezuje molekule vode i smanjuje transepidermalni gubitak vode. Međutim, njegov tačan mehanizam delovanja još uvek nije potpuno razjašnjen [30]. Da bi se razumeo njegov mehanizam delovanja, važno je ispitati interakcije između D-pantenola i vode.

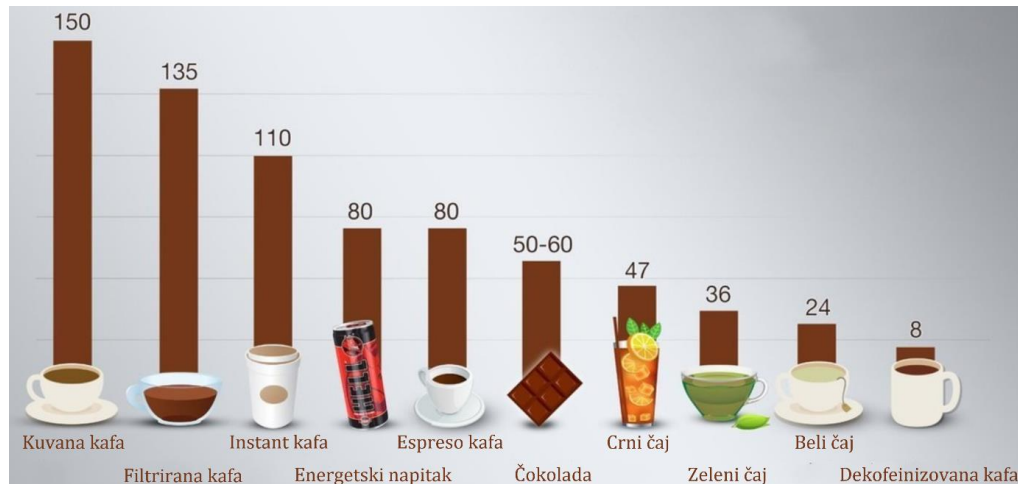
2.4.2. Kofein

Kofein (3,7-dihidro-1,3,7-trimetilpurin-2,6-dion, slika 2.22), predstavlja psihoaktivno jedinjenje koje konzumira 80% svetske populacije. Kofein spada u grupu ksantinskih alkaloida. Nalazi se kao bela čvrsta supstanca, umereno rastvorljiva u vodi ($R \approx 16 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-3}$ na sobnoj temperaturi) [31,32]. Kofein se nalazi u preko 60 biljnih vrsta, a široko je zastupljen kao aktivna supstanca brojnih prehrambenih proizvoda i dijetetskih suplemenata. Najčešći oblik unosa uključuje kafu, čaj, energetska piće, čokoladu, kao i mnoge dijetetske suplemente (slika 2.23) [33].



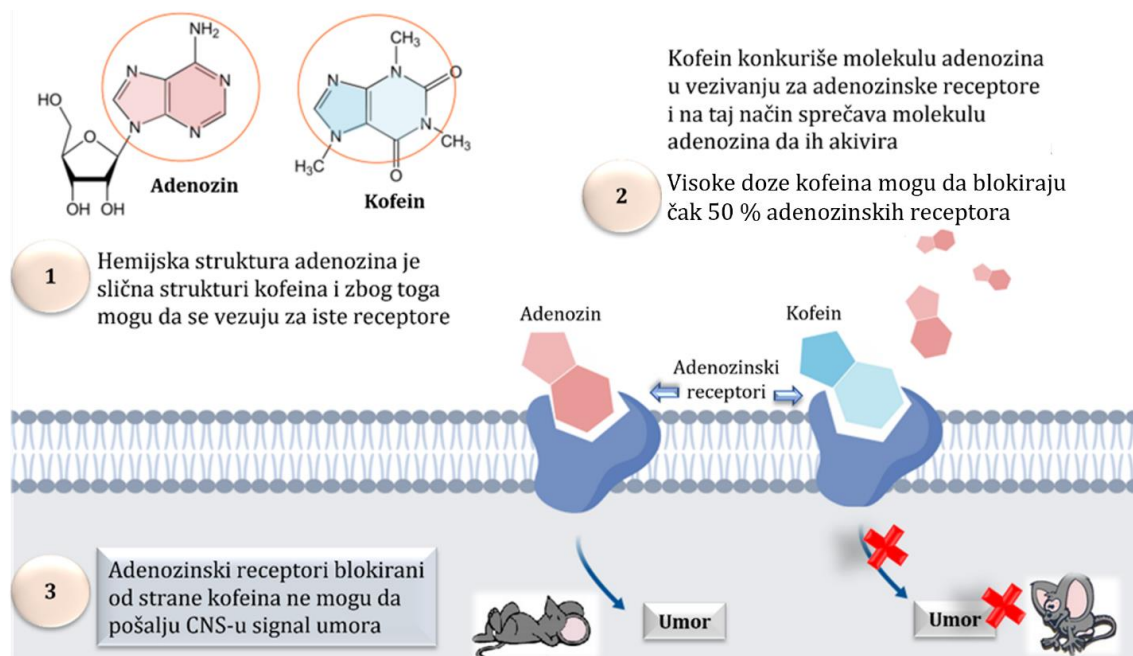
Slika 2.22. Struktura molekula a) kofeina i b) adozin-trifosfata.

Pored dnevnog unosa putem pića, kofein se koristi i u raznim medicinskim tretmanima zbog njegovog poznatog uticaja na gastrointestinalni, kardiovaskularni, respiratorni, bubrežni, kao i na centralni nervni sistem [31,33]. U mozgu kofein deluje kao antagonist receptora adozina, zbog molekulske strukture slične adozinu, što rezultira inhibitorskim efektima na centralni nervni sistem (slika 2.24) [34].



Slika 2.23. Sadržaj kofeina izražen u miligramima (mg) u najčešće korišćenim izvorima (po porciji). (Izvor: <https://www.home-barista.com/coffees/milligrams-caffeine-instant-coffee-vs-espresso-t60644.html>)

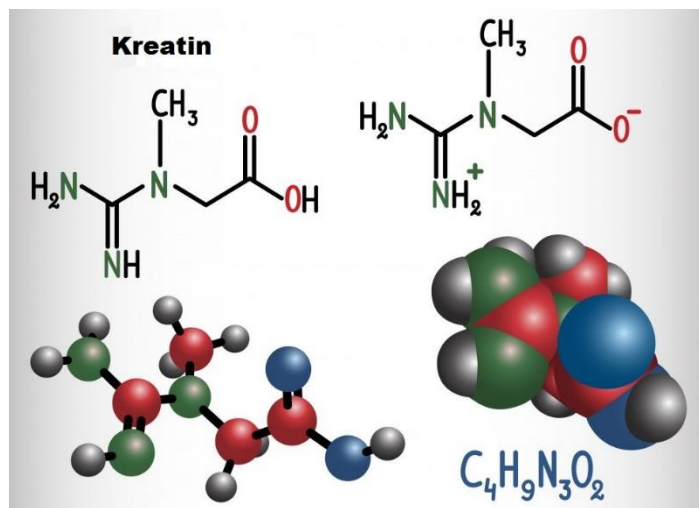
Kako kofein i adenozin-trifosfat (ATP) (slika 2.22) imaju ne samo strukturne sličnosti, već se i njihovi metabolički putevi ukrštaju, neophodno je razumeti njihove međusobne interakcije kao i odrediti ulogu vode. Smatra se da molekul kofeina nema izražena hidrataciona svojstva i da je njegova rastvorljivost u vodi ograničena njegovom samoagregacijom [35,36].



Slika 2.24. Mehanizam delovanja kofeina na adenzinske receptore. (Izvor: <https://integrativepharmacology.com/2019/10/30/flash-card-how-caffeine-keeps-you-awake/>)

2.4.3. Kreatin i kreatinin

Kreatin (slika 2.25) je supstanca koja se prirodno proizvodi u organizmu i koja igra vitalnu ulogu u skladištenju i transportu ćelijske energije [37]. Dnevne potrebe za kreatinom kod odraslog čoveka iznose 2 grama. Organizam svakodnevno sintetiše 1 g, dok se 1 g obezbeđuje adekvatnom ishranom. 95% kreatina se nalazi u skeletnim mišićima, dok se ostatak nalazi u srcu, mozgu i testisima. Kreatin se u mišićima nalazi u dva oblika: kao slobodni kreatin (Cr) i kao njegov fosforilovan oblik – fosfokreatin (PCr). U stanju mirovanja, sadržaj PCr iznosi oko 70% i služi kao rezerva energije za brzu resintezu adenzin-trifosfata iz adenzin-difosfata (ADP) pri intenzivnoj fizičkoj aktivnosti pri anaerobnim uslovima [38]. Kreatin je jedan od najpoznatijih i najviše proučavanih sportskih suplemenata koji se koristi za povećanje energetske resursa tela kod sportista. Pored sposobnosti poboljšanja sportskih performansi, ima značajan klinički potencijal kod pacijenata sa neurološkim i neuromuskularnim oboljenjima.

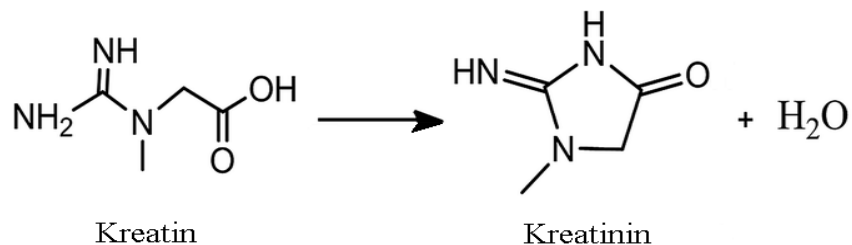


Slika 2.25. Hemijski i molekularni prikaz kreatina. (Izvor: <https://www.mz-store.com/blog/monohydrate-or-creatine-malate-which-one-to-choose/>)

Najčešći komercijalni oblik kreatina je kreatin-monohidrat [39]. Kreatin je bela kristalna supstanca sa dve kiseline konstante koje iznose $pK_1 = 2,79$ i $pK_2 = 12,10$. U širokom pH opsegu, kreatin se nalazi u cviter jonskom obliku, pri čemu je karboksilna grupa u deprotonovanom (anjonskom), dok se gvanidino grupa nalazi u protonovnom (katjonskom) obliku. Između ove dve grupe deluju elektrostatičke *Coulomb*-ove interakcije, ali dolazi i do formiranja vodoničnih veza. Jake

elektrostatičke sile između molekula kreatina su uzrok njegove slabe rastvorljivosti u polarnim rastvaračima kao što je voda [39].

Postoje ograničenja biorasploživosti kreatina zbog njegovih fizičko-hemijskih karakteristika, kao što je niska rastvorljivost u vodi, kao i zbog ograničenog kapaciteta specifičnih transportera koji su odgovorni za unos i distribuciju kreatina [39]. Takođe, kreatin je nestabilan u vodenim rastvorima zbog svoje tendencije da ciklizuje u biološki neaktivan, nenaelektrisan molekul kreatinina (slika 2.26). Ova neenzimska konverzija je od vitalnog biološkog značaja, jer se deo kreatina svakodnevno u jetri spontano, dehidratacijom, prevodi u kreatinin koji potom difunduje u krvotok, nakon čega ga bubrezi izlučuju iz organizma putem urina [40].

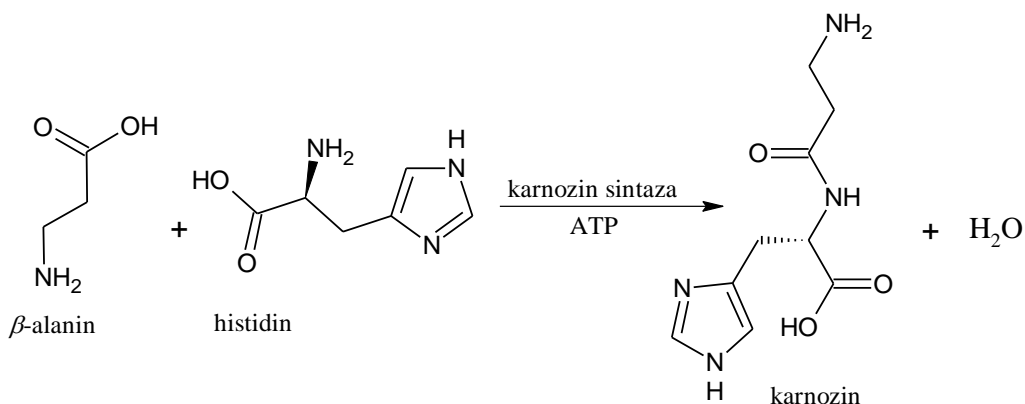


Slika 2.26. Ciklizacija kreatina u kreatinin.

Brzina kojom kreatin ciklizuje u kreatinin u vodenom rastvoru zavisi od temperature i pH [40-43]. Utvrđeno je da je prisustvo vode neophodno za ciklizaciju jer se ovaj proces ne odvija u čvrstom stanju [41]. Uticaj vode potvrdili su i *Uzzan* i saradnici [43], koji su zaključili da se smanjenjem sadržaja vode u smeši vode i glicerola smanjuje brzina ciklizacije. Takođe, pokazano je da sa povećanjem temperature se povećava i brzina ciklizacije, dok je ona najmanja u jako kiseljoj kao i jako baznoj sredini. Pri neutralnim vrednostima pH je takođe relativno stabilan, dok se u blago kiseljoj i blago baznoj sredini brzina degradacije kreatina značajno povećava. U fiziološkim uslovima, polu-život kreatina iznosi oko 40 dana [40,42,43]. Međutim, razlog zašto dolazi do ove spontane, neenzimske i intramolekulske ciklizacije je do sada nejasan, i energetske i mehaničke. Kako se biohemijske reakcije u organizmima odvijaju u vodi kao rastvaraču, neophodno je proučavanje uticaja vode na tok samih reakcija [44].

2.4.4. Karnozin

Odgovarajući kandidat za istraživanje formiranja peptidne veze je karnozin, prvi otkriveni biološki aktivan dipeptid [45]. Karnozin (β -alanil-L-histidin) predstavlja hidrofilni endogeni protein sintetisan iz 2 aminokiseline: β -alanina i L-histidina pomoću ATP-zavisnim enzimom karnozin sintetazom (slika 2.27) [46]. Sinteza se odvija u mišićima i glijalnim ćelijama, a meso i riba predstavljaju najveći izvor karnozina koji se unosi ishranom.



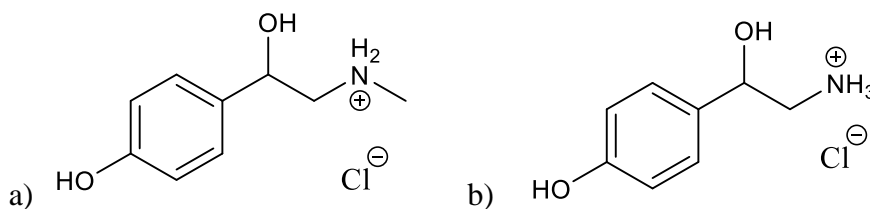
Slika 2.27. Sinteza karnozina iz β -alanina i L-histidina.

Zbog svoje zaštitne uloge u neurodegenerativnoj bolesti, karnozin je poznat i kao neuropeptid [47]. Nekoliko studija je pokazalo da karnozin predstavlja potencijalni lek sa antistresnim, antioksidativnim i puferskim svojstvima, sa sposobnošću da zaštiti od oštećenja izazvanim zračenjem, helatira prooksidantne metalne jone i utiče na reaktivne karbonilne vrste [45-47]. Glavni terapijski efekti karnozina uključuju antihipertenzivnu potenciju, zarastanje rana, antiinflamatorno i imunomodulatorno delovanje [45]. Njegov aminokiselinski ostatak, L-histidin, je polu-esencijalna aromatična aminokiselina koja se pretežno unosi ishranom. Sastoji se od bočnog lanca imidazola koji je uobičajeni koordinacioni ligand u metaloproteinima, a takođe ima ulogu i kao deo katalitičkih mesta u određenim enzimima, transportu kiseonika i održavanju pH krvi [48]. S druge strane, β -alanin je prirodno prisutna beta-aminokiselina u organizmu, za koju se pokazalo da je limitirajuća komponenta za brzinu sinteze karnozina [48]. Takođe, ima sposobnost da poboljša sportske performanse i kapacitet vežbanja, izgradnju čiste mišićne mase, fizičko funkcionisanje starijih osoba, kao i unutarćelijski kapacitet puferisanja mišića, čime se odlaže umor tokom vežbanja visokog intenziteta povećanjem sadržaja karnozina u mišićima [49].

2.4.5. Sinefrin i oktopamin

Citrus aurantium (gorka pomorandža, seviljska pomorandža) i ekstrakti njenog sušenog voća i kore već godinama se koriste u tradicionalnim biljnim lekovima [50]. Gorka pomorandža se široko koristi kao direktni dodatak aromama za hranu u hrani i pićima, jer je regulisana od strane Američke administracije za hranu i lekove (eng. *Food and Drug Administration*, FDA) i opšte je prepoznata kao bezbedna za ishranu (eng. *Generally Recognized as Safe*, GRAS). Najznačajniji alkaloidi gorke pomorandže su *p*-sinefrin i *p*-oktopamin [51-55]. Zbog svoje strukturne sličnosti sa molekulom adrenalina, predstavljaju agoniste α - i β -adrenergičkih receptora [51]. Strukturno su slični endogenim neurotransmiterima, i stekli su značajnu popularnost u lečenju gojaznosti [56]. Strukturna sličnost jedinjenjima kao što su adrenalin, noradrenalin, efedrin, amfetamin potiče od toga da svi imaju aromatični prsten sa etilamin supstituisanim bočnim nizom. Zbog simpatomimetičke aktivnosti sinefrina koja je povezana sa oksidacijom masti povećanjem termogeneze i stimulisanom lipolizom, verovatno pomoću β_3 -adrenergičkog receptora [56,57], proučavan je kao sredstvo za mršavljenje, dok se oktopamin koristi kao kardiotonična supstanca i u lečenju hipotenzije.

Sinefrin je najaktivnija supstanca u *Citrus aurantium*, glavni prirodni izvor dijetetskih suplemenata, čija je primena značajno porasla nakon što je upotreba efedrina ograničena. Kako se molekuli sinefrina i oktopamina slabo rastvaraju u vodi, oni se prevode najčešće u hidrohloridne soli (HCl), *p*-sinefrin-hidrohlorid i *p*-oktopamin-hidrohlorid, i kao takve upotrebljavaju (slika 2.28). Zbog prisustva NH_2 grupe pri fiziološkim pH vrednostima se nalaze u obliku katjona.



Slika 2.28. Struktura: a) *p*-sinefrin-hidrohlorida i b) *p*-oktopamin-hidrohlorida.

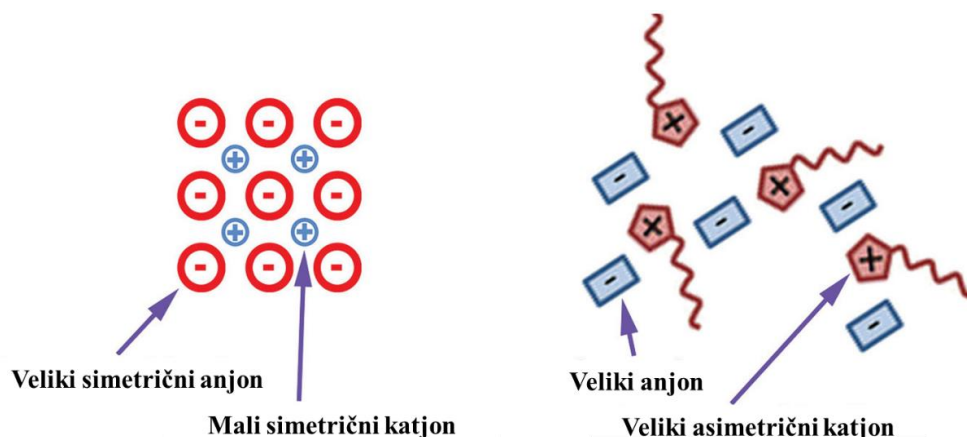
2.5. Jonske tečnosti

Opšta definicija jonskih tečnosti jeste da one predstavljaju grupu hemijskih jedinjenja koja su sastavljena od jona i imaju tačku topljenja ispod 100 °C (slika 2.29) [58]. Uglavnom se sastoje od velikog, asimetričnog organskog katjona i slabokoordiniranog organskog ili neorganskog anjona (slika 2.30). Slabe interakcije između ovih jona koje su uzrokovane geometrijom katjona i veličinom anjona, smanjuju tendenciju ka kristalizaciji čime se dobijaju jonske tečnosti koje su tečnog agregatnog stanja na sobnoj temperaturi, odnosno *Room Temperature Ionic Liquids*- RTILs [59].



Slika 2.29. Izgled jonskih tečnosti.

Mogućnost formiranja jonske tečnosti iz širokog spektra početnih jedinjenja ima veliki potencijal prilagođavanja za dizajniranje odgovarajućih rastvarača za različite primene u zelenoj hemiji [64,65]. Jonske tečnosti predstavljaju potencijalno najveću grupu jedinjenja sa 10^{18} mogućih kombinacija katjona i anjona. Velika mogućnost variranja bočnih nizova na organskim katjonima kao i mogućnost kombinovanja sa različitim anjonima omogućuje sinteze jonskih tečnosti unapred isplanirane strukture sa željenim fizičko-hemijskim svojstvima. Zbog toga se nazivaju i dizajniranim rastvaračima [66].



a)

b)

Slika 2.30. Razlika u dimenziji i obliku jona a) između jona kristalne rešetke i b) jona jonske tečnosti. (Izvor: <https://www.scielo.br/j/jbchs/a/3C8vCDzL7XyMsvtjhBNDxCr/?lang=en>)

U zavisnosti od komponenti koje čine jonsku tečnost, one se dele na protične i aprotične jonske tečnosti. Protične jonske tečnosti (eng. *Protic Ionic Liquids*, PILs) se dobijaju neutralizacijom *Brønsted*-ove baze i kiseline. Katjon je najčešće *Brønsted*-ova baza (može da primi proton), a anjon kiselina (daje proton). Procenat transfera protona sa kiseline na bazu zavisi od razlike u kiselobaznim svojstvima *Brønsted*-ove kiseline i baze i što su ona izraženija to je efikasniji transfer protona sa kiseline na bazu. Kvantitativno, ukoliko je razlika u pK (ΔpK) veća od 9, transfer protona će biti potpun. U slučaju $\Delta pK < 9$, joni koji čine jonsku tečnost će uvek biti u ravnoteži sa svojim neutralnim oblikom. Što je ΔpK manja, stepen jonizacije u protičnoj jonskoj tečnosti će biti manji. Nasuprot njima, drugi tip čine aprotične jonske tečnosti (eng. *Aprotic Ionic Liquids*, APILs). One se sastoje od aprotičnih katjona i anjona koji nemaju mogućnost razmene H^+ jona između sebe.

2.5.1. Primena jonskih tečnosti

Jonske tečnosti su jonska jedinjenja koja se sastoje od organskih kovalentnih molekula i kao takva imaju gotovo sve prednosti i jonskih i kovalentnih jedinjenja. Uopšteno, može se smatrati da jonske tečnosti imaju idealna svojstva, poput niskog do zanemarljivog napona pare na sobnoj temperaturi, visoke termičke stabilnosti, nezapaljivosti i mogućnosti modifikacije rastvorljivosti, polarnosti i drugih fizičkih karakteristika jednostavnim promenom katjona, anjona ili njihovog

supstituenta. Upravo sve prethodno navedene karakteristike su uslovile široku primenu jonskih tečnosti u najrazličitijim oblastima (slika 2.31) [58,71].

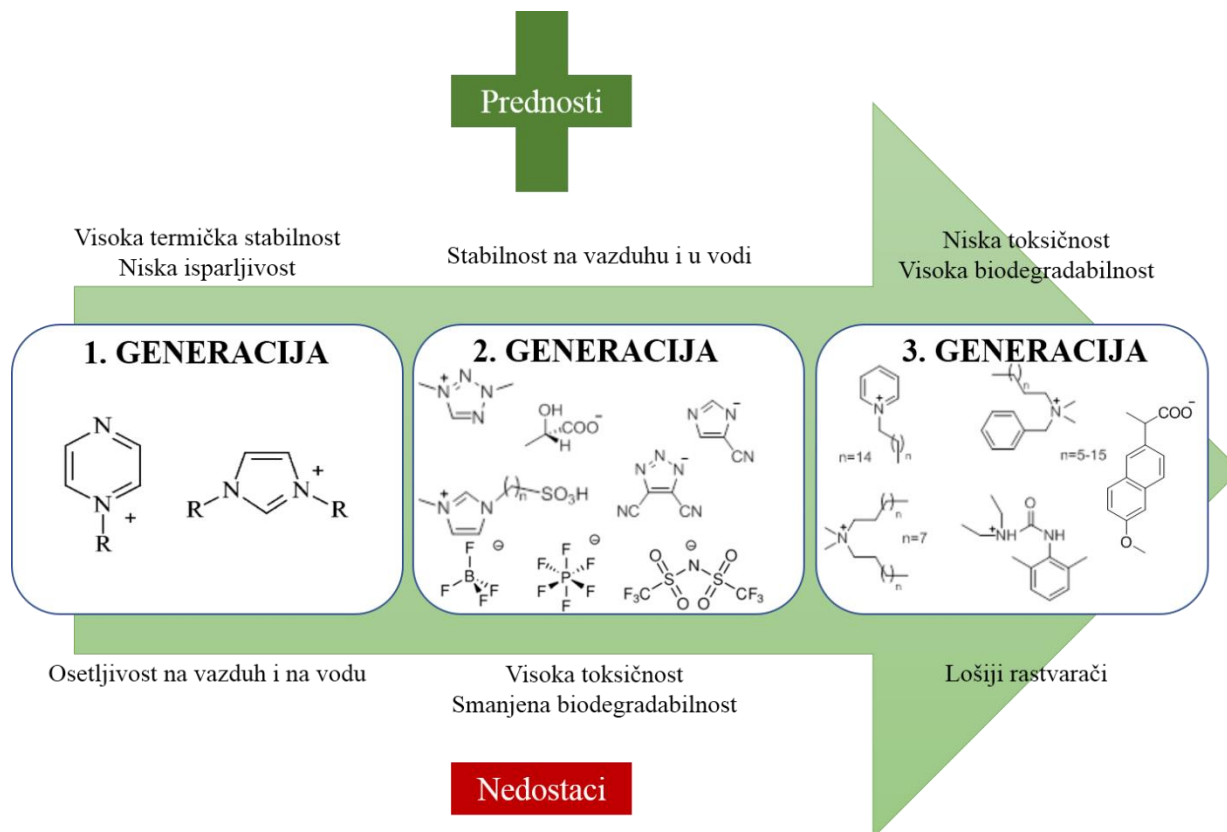


Slika 2.31. Primena jonskih tečnosti. (Izvor: <http://sites.utexas.edu/ils/research/>)

Prva jonska tečnost, etilamonijum-nitrat, opisana je još početkom 20. veka. Potraga za novim i različitim jonskim tečnostima dovela je do progresivnog razvoja i primene koji se mogu klasifikovati u tri generacije jonskih tečnosti (slika 2.32):

- 1) Fokus prve generacije bio je uglavnom na njihovim jedinstvenim unutrašnjim fizičkim i hemijskim svojstvima, kao što su gustina, viskoznost, provodljivost, rastvorljivost i visoka termička i hemijska stabilnost.
- 2) Druga generacija jonskih tečnosti nudi potencijal za podešavanje nekih od ovih fizičkih i hemijskih svojstava, omogućavajući stvaranje "jonskih tečnosti specifičnih za zadatak" i kao ekološki prihvatljivije (zelenije) reakcione rastvarače.

3) Treća i najnovija generacija jonskih tečnosti uključuje farmaceutski aktivne komponente (eng. *Active Pharmaceutical Ingredients*, API), koje se koriste za sintezu jonskih tečnosti sa biološkom aktivnošću [72,73].



Slika 2.32. Strukture jona koji ulaze u sastav jonskih tečnosti po generacijama.

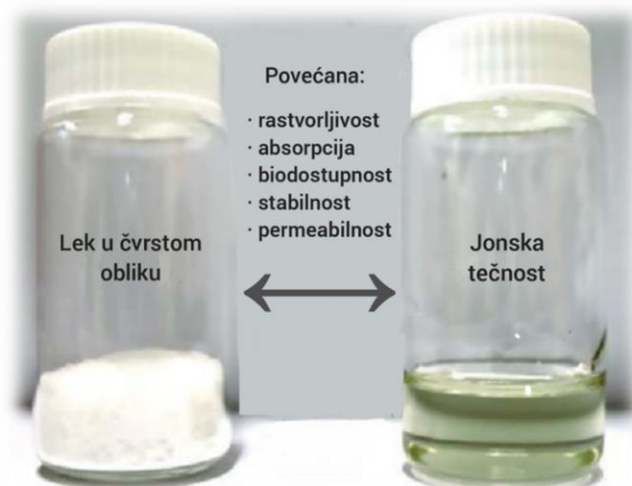
U početku istraživanja je najveća pažnja posvećena modifikovanju njihovih fizičkih karakteristika, kao što su tačka topljenja, gustina, viskoznost, termička stabilnost, električna provodljivost, hidrofobnost i indeks refrakcije. Na taj način sintetisane su tečnosti sa specifično dizajniranim osobinama koje odgovaraju određenim potrebama zbog čega su se pokazale kao pogodni rastvarači u različitim procesima i oblastima. Glavni cilj sinteze jonskih tečnosti prve generacije je bila potreba za novim rastvaračima za elektrodepoziciju aluminijuma, a kasnije i drugih metala i legura. Dalji razvoj prilagođavanja njihovih osobina usledio je u pravcu uticanja na hemijske osobine, čime su nastale jonske tečnosti druge generacije. Njihove modifikacije su obuhvatale promenu hemijske reaktivnosti, elektrohemijuskog prozora, zapaljivosti, koordinacije i solvatacije.

Treća generacija jonskih tečnosti obuhvata farmakološki aktivne supstance određenih fizičko-hemijskih karakteristika. Formulacije lekova u obliku soli je dobro poznata strategija koja omogućava prevazilaženje ograničenja sa kojima se farmaceutska industrija suočava, kao što su slaba rastvorljivost i biodostupnost. Međutim, zbog problema koji se javljaju prilikom primene soli u kristalnom obliku (polimorfizam), sve više pažnje se posvećuje ispitivanju sinteze farmakološki aktivnih komponenti u obliku jonskih tečnosti.

U današnje vreme sve je veće interesovanje za primenu jonskih tečnosti kao materijala za skladištenje energije, maziva, prevlaka i slično. Modularna strategija zasnovana na jonskim tečnostima omogućava dizajn na molekulskom nivou i širok spektar novih materijala sa podesivim biološkim, kao i dobro poznatim fizičkim i hemijskim svojstvima [74]. Dok je prvobitni fokus nauke bio na fizičko-hemijskim svojstvima JT prve i druge generacije, treća generacija JT u prvi plan stavlja njihova farmaceutska, biološka i toksikološka svojstva. Naime, velika pažnja je usmerena ka trećoj generaciji jonskih tečnosti pa se sve više biološki aktivni joni koriste za sinteze novih jonskih tečnosti. Ove jonske tečnosti sadrže biorazgradive jone, kao što su prirodne organske baze, aminokiseline i karboksilne kiseline, odnosno različite farmaceutski aktivne komponente [72,75].

2.5.2. Jonske tečnosti kao farmaceutski proizvodi

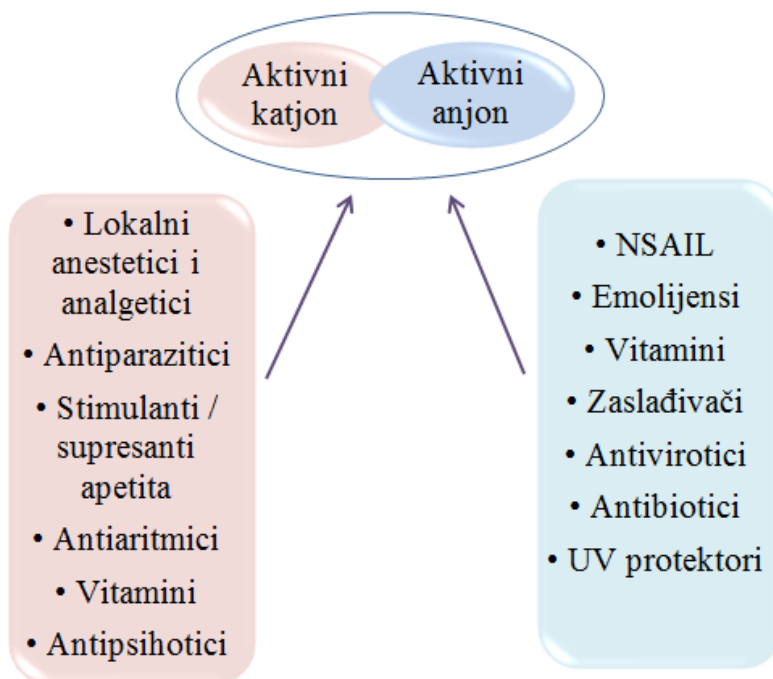
Najveći broj farmaceutskih proizvoda se nalazi u čvrstom, kristalnom stanju, prvenstveno zbog njihove velike čistoće, termičke stabilnosti i jednostavne upotrebe, dok je broj lekova u tečnoj formi neuporedivo manji. Međutim, uprkos njihovoj velikoj zastupljenosti, farmaceutska industrija se suočava sa nizom problema kada su u pitanju lekovi u čvrstoj formi, poput polimorfizma, male rastvorljivosti, male biodostupnosti i tendencije ka spontanoj kristalizaciji [66]. Razvojem lekova u obliku jonskih tečnosti, konverzijom neutralnih organskih molekula u jonska jedinjenja, prevaziđeni su navedeni nedostaci konvencionalnih lekova (slika 2.33). U slučaju kada aktivne komponente formiraju stabilan katjon ili anjon, moguć je veliki broj kombinacija dva ili više lekova ukoliko imaju odgovarajuće i suprotne jonske oblike. Novoformirani farmaceutski proizvod u obliku jonske tečnosti sastoji se iz aktivne komponente kao katjona ili anjona, i kontrajona koji mora biti netoksično i farmaceutski prihvatljivo jedinjenje [76].



Slika 2.33. Prednosti jonskih tečnosti u odnosu na konvencionalni lek. (Izvor: <https://www.semanticscholar.org/paper/Crystalline-vs.-Ionic-Liquid-Salt-Forms-of-Active-A-Stoimenovski-Macfarlane/e94cf6ef7b9b70365dd59fa4e46f99be5e62a754>)

Glavna prednost ovakvih proizvoda je to što se odabirom odgovarajućeg kontraiona može smanjiti ili povećati rastvorljivost aktivnih komponenata. Iako je u najvećem broju slučajeva poželjno povećanje rastvorljivosti, jonske tečnosti omogućavaju i formiranje hidrofobnih tečnih soli. Aktivni joni često imaju hidrofilni karakter i samim tim nedovoljnu sposobnost prodiranja kroz biološke membrane. Kombinovanjem takvog aktivnog jona sa kontraionom lipofilnog karaktera postiže se veća prodornost kroz membrane, što omogućava i primenu leka na različite načine. Takođe, upotrebom formulacija jonskih tečnosti postiže se veća koncentracija aktivnih komponenata, kao i efikasniji i lokalizovaniji transfer leka, čime se izbegava toksičnost leka i njegovih metabolita [76].

Joni mogu da se kombinuju na različite načine, što omogućava dobijanje velikog broja jonskih tečnosti sa različitim aktivnostima (slika 2.34). Naime, aktivni joni mogu da budu farmakološki nezavisni, odnosno da svaki pojedinačno ispoljava svoje dejstvo, ili da jedan jon uklanja neželjena dejstva drugog. S druge strane, ukoliko se kombinuju biološki aktivan katjon i biološki aktivan anjon, ispoljava se sinergističko dejstvo, tj. favorizuje se željeno dejstvo [77].



Slika 2.34. Farmakološki aktivne komponente koje se koriste za sintezu jonskih tečnosti.

Nedavno, studije o novim jonskim tečnostima sa potencijalnom farmaceutskom primenom su pokazale da transformacija u jonsku tečnost dovodi do poboljšane lipofilnosti / hidrofilitnosti biološki aktivnih katjona i aniona, a time i bolje propusnosti kroz ćelijsku membranu. Dalje, *in vitro* i *in vivo* studije su pokazale da jonske tečnosti na bazi ibuprofena prodiru kroz membranu mnogo brže od istinskih API-JT ili čvrstih soli lidokaina i ibuprofena. Rogers i saradnici primetili su da neke kombinacije API formiraju duboku eutektičku smešu u kojoj se proton nalazi između katjona i anjona, formirajući veoma čvrsto vezane vodonične komplekse, nazvane "tečni ko-kristali" [66]. Pokazano je da se lidokainijum-ibuprofenat, kombinacija lokalnog površinskog anestetičkog lidokainskog katjona, sa ibuprofenom kao anjonom (nesteroidni antiinflamatorni lek) nalazi u obliku tečnog ko-kristala. Sve u svemu, i eksperimentalne i teorijske studije o strukturi, fizičko-hemijskim svojstvima, kao i studije o kontaktima između jonskih tečnosti i lipidnih membrana ostaju prilično popularne.

U farmaceutskoj industriji, jonske tečnosti se sve više koriste kao rastvarači, ko-rastvarači i/ili kao materijali u oblastima isporuka lekova i u formulacijama aktivnih farmaceutskih komponenata

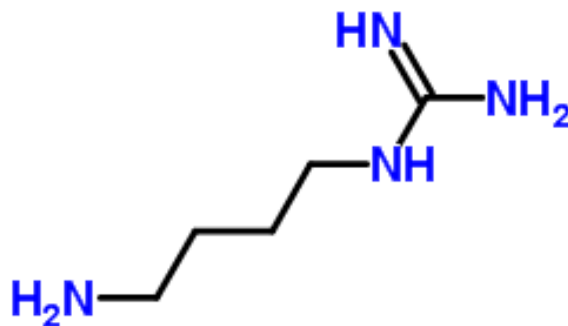
zbog svojih jedinstvenih, prilagodljivih fizičko-hemijskih i bioloških svojstava. Upotreba jonskih tečnosti može značajno poboljšati farmakokinetičke i farmakodinamičke osobine lekova.

2.5.3. Odabrane biološki i farmakološki aktivne supstance

Do sada je sintetisan veliki broj jonskih tečnosti sa različitim farmakološki i biološki aktivnim anjonima (aminokiseline, vitamini, molekuli Krebsovog ciklusa itd.), ali se do sada kao katjon za sinteze koristio uglavnom holin, široko rasprostranjen biološki nutrijent [78-81]. Zbog toga je u oblasti jonskih tečnosti, pored holina, počela potraga za novim, biološki aktivnim katjonom [82,83].

2.5.3.1. Agmatin

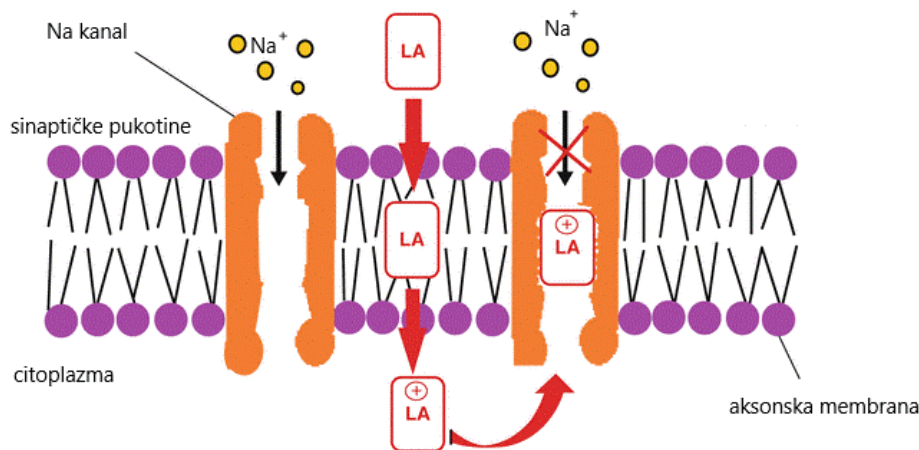
U poslednje vreme posebnu pažnju privlači agmatin (slika 2.35), prirodni biogeni polikatjonski amin koji nastaje enzimskom dekarboksilacijom uslovno esencijalne aminokiseline L-arginina. Iako agmatin deli mnoge od istih prednosti kao i L-arginin, on ima bolju oralnu bioraspodivnost i može se uzimati u mnogo manjim dozama. Agmatin se prirodno proizvodi u telu, skladišti u neuronima, a prisutan je i u mozgu i kičmenoj moždini [84,85]. Dosadašnja istraživanja su potvrdila da agmatin deluje kao neuromodulator, neurotransmiter kao i kompetativni inhibitor sinteze azot-monoksida, i time pozitivno utiče na niz fizioloških funkcija, uključujući memoriju i rasuđivanje, razvoj neurona, stabilnost ćelije, krvni pritisak, sekreciju insulina i smanjenje neuropatskog bola [85-89]. Agmatin se u obliku agmatinijum-sulfata već široko koristi, iako je još uvek u procesu kliničkih istraživanja [90].



Slika 2.35. Struktura molekula agmatina.

2.5.3.2. Lokalni anestetici

Lokalni anestetici (LA) su supstance, koje se u širokom spektru kliničkih situacija koriste za sprečavanje akutnog bola i zaustavljanje ili ublažavanje hroničnog bola, ali takođe i u dijagnostičke i prognostičke svrhe [91]. Svojim delovanjem izazivaju stanje lokalne anestezije, koja se može definisati kao gubitak osećaja u nekom delu tela, prouzrokovanog inhibicijom procesa prevođenja impulsa do perifernih nerava [92]. Upravo u prekidanju provodljivosti impulsa se ogleda njihovo glavno dejstvo, a do toga dolazi sprečavanjem prolaza Na^+ jona kroz kanale i jonofore neuronskih membrana (slika 2.36) [92]. Naime, nejonizovani lokalni anestetik može difundovati kroz ćelijsku membranu kao lipofilan, nakon čega gubi tu lipofilnost jonizacijom, usled snižavanja intracelularne pH vrednosti. Upravo taj jonizovani oblik anestetika blokira Na^+ kanal i sprečava provodljivost impulsa.

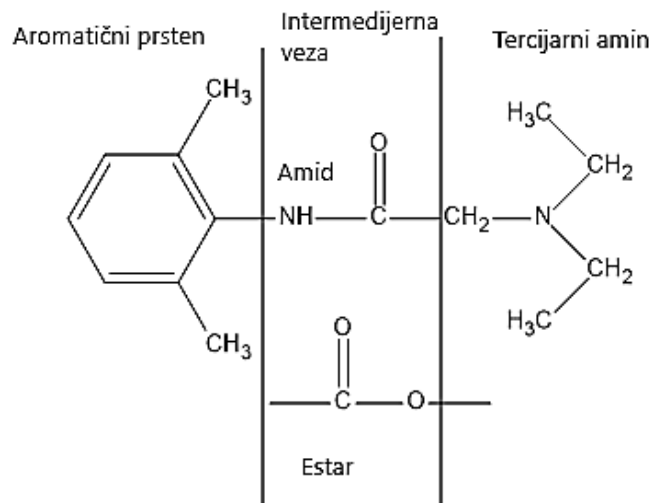


Slika 2.36. Mehanizam delovanja lokalnih anestetika.

(Izvor: <https://basicmedicalkey.com/anaesthetics/>)

U svojoj strukturi, svi lokalni anestetici, sadrže tri komponente (slika 2.37) [94]:

- 1) Lipofilni kraj, koga čini aromatični prsten
- 2) Hidrofilni kraj, koga čini tercijarni amin
- 3) Vezu između dva kraja, koja može biti amidna i estarska.



Slika 2.37. Šematski prikaz strukturnih komponenti lokalnih anestetika.

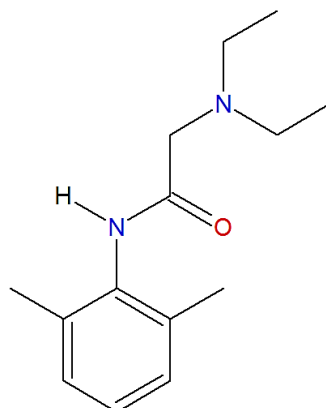
Upravo na osnovu strukture lokalnih anestetika, odnosno na osnovu veze koja se nalazi između lipofilnog i hidrofilnog kraja, lokalni anestetici se mogu podeliti u dve grupe [91]:

- 1) Amidni anestetici (-NH-C-), u koje ubrajamo artikain, lidokain, prilokain, mepivakain, bupivakain, ropivakain, levobupivakain, dibukain, etidokain i trimekain.
- 2) Estarski anestetici (-O-CO-), u koje ubrajamo kloprokain, prokain, benzokain, butamben, kokain i tetrakain.

Predstavnicima ovih grupa smatraju se lidokain, kao amidni anestetik, i prokain, kao estarski anestetik, koji se zbog prisustva tercijarnog amina u svojoj strukturi smatraju pogodnim katjonima za sintezu jonskih tečnosti.

Lidokain

Lidokain je bela kristalna supstanca molekulske mase 234,343 g/mol, molekulske formule C₁₄H₂₂N₂O i tačke topljenja 68,5 °C [95]. Zahvaljujući svojoj strukturi (slika 2.38) koja sadrži lipofilni aromatični prsten i amino grupu koja je hidrofilna, maloj molekulskoj masi i kiselinjskoj konstanti koja je bliska fiziološkoj pH ($pK_k = 7,86$), lidokain relativno lako prolazi kroz biološke membrane [96].



Slika 2.38. Struktura molekula lidokaina.

Lidokain je jedan od najčešće primenjivanih lokalnih anestetika. Deluje blokirajući natrijum-zavisne kanale, koji su esencijalni za regulaciju ekscitacije neurona i generaciju i propagaciju akcionih potencijala [97]. Lidokain može biti unet intravenozno, prilikom čega dolazi do privremenog smanjenja hroničnog neuropatskog bola koji može poticati iz perifernog ili centralnog nervnog sistema [98]. Međutim, na ovaj način unet lidokain može dovesti do neželjenih dejstava kao što su srčana aritmija, pospanost, nesvestica i blaga konfuzija, a povremeno se javljaju i poremećaji sluha. Povećana koncentracija može biti toksična, uzrokujući uznemirenost, podrhtavanje i konvulzije [99]. Kao lokalni anestetik, primenjuje se direktno na mesto na kom treba da ispolji svoje dejstvo, topikalno ili transdermalno. Lekovi koji se primenjuju transdermalno se proizvode u tečnim formulacijama, rastvaranjem u pogodnom rastvaraču ili formiranjem eutektičkih smeša. Pored toga što je broj rastvarača koji se mogu primenjivati u ove svrhe ograničen, drugi problem koji se javlja je prisustvo neaktivne komponente u velikim količinama, zbog čega se smanjuje udeo aktivne komponente a samim tim i efikasnost leka [100]. Apsorpcija farmakološki aktivnih komponenti kroz epitelne barijere zavisi od njihove koncentracije na membrani [101], tako da udeo odgovarajuće komponente od 50% u jonskim tečnostima povoljno utiče na brzinu apsorpcije. Osim toga, određeni joni formiraju jonske parove što im omogućava da olakšano prolaze kroz biološke membrane [102].

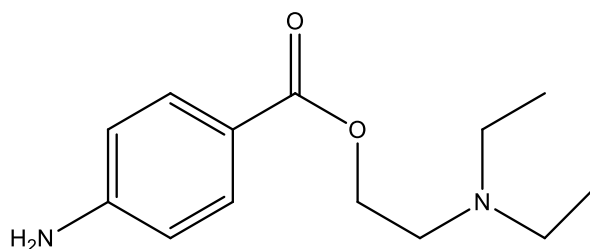
Ispitivanja su pokazala da lidokain u obliku jonske tečnosti ima određene prednosti u odnosu na čistu supstancu, kao i u odnosu na so u obliku hidrohlorida. Prva jonska tečnost na bazi farmakološki aktivnih komponenti, lidokainijum-dokuzat, ispoljava poboljšanje fizičke osobine, modifikovanu rastvorljivost i povećanu termičku stabilnost [103]. Postignut je i produžen i

povećan efekat u lokalnoj primeni anestetika u poređenju s lidokainijum-hidrohloridom [104]. Rezultati do kojih su došli *Hough* i saradnici ukazuju na bolje prodiranje lidokainijum-dokuzata kroz kožu i lakše stizanje do aferentnih nervnih završetaka odgovornih za antinociceptivni efekat. *Bramer* i saradnici [105] su pokazali da smeše lidokain-hidrohlorida i natrijum-dokuzata pri fiziološkim uslovima formiraju micelle ili vezikule koje u gelovima ispoljavaju kinetiku sporog oslobađanja, čime se produžava njihovo vreme zadržavanja na koži i samim tim poboljšava bioaktivnost nakon lokalne primene.

Park i *Prausnitz* su ispitali prednosti lidokaina u obliku jonske tečnosti sa ibuprofenom kao anjonom [106]. Mnogi pacijenti su intradermalno injektovanje lidokaina okarakterisali kao bolno i neprijatno, što je otežavalo samostalnu primenu. Alternativni načini u vidu eutektičkih smeša dovode do sporije apsorpcije čime se produžava vreme potrebno da počne dejstvo anestezije. *Park* i *Prausnitz* su dokazali da primena u vidu lidokainijum-ibuprofenata olakšava apsorpciju i penetraciju kroz kožu i na taj način dovodi do efikasnijeg anestetičkog dejstva [106].

Prokain

Prokain (2-(diethylamino)etil 4-aminobenzoat) je, kao što je već navedeno, lokalni anestetik koji spada u grupu anestetika estarskog tipa (slika 2.39). Prvi put je sintetisan 1905. godine pod poznatijim nazivom novokain od strane nemačkog hemičara *Alfreda Einhorna* [107]. Ima nisku toksičnost i izaziva manju iritaciju u odnosu na ostale anestetike. Rastvoran je u vodi, dovoljno stabilan da može ključati i da se može mešati sa adrenalinom, a sve to ga je dovelo do toga da postane najpoželjnije anestetsko sredstvo [108]. Prokain se javlja u obliku belog kristalnog pudera, koji je bez mirisa, molekulske mase 236,61 g/mol, molekulske formule $C_{13}H_{20}N_2O_2$, kiseline konstante $pK_k = 8,05$ i tačke topljenja $61\text{ }^{\circ}\text{C}$ [109]. Dobro je rastvoran u vodi, a manje je rastvoran u alkoholima, etrima, benzenu i hloroformu.



Slika 2.39. Struktura molekula prokaina.

Od samog pronalaska, prokain se koristi kao lokalni anestetik prilikom oralnih operacija. Koristi se i za epiduralnu anesteziju i anesteziju kičmene moždine, a takođe i za pojačavanje aktivnosti osnovnih anestetika prilikom opšte anestezije [110]. Ranije je imao veću primenu, međutim razvićem novih agenasa, njegova primena se svela na infiltraciju anestezije i povremeno za dijagnostifikovanje nervnih blokada. Razlozi slabijeg korišćenja su njegova slaba moć delovanja, sporo dejstvo i kratko trajanje anestezijskog procesa [111].

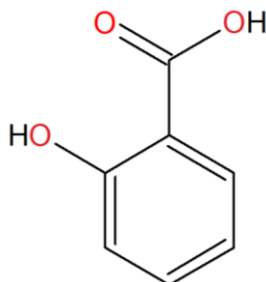
Poznate su i kombinacije prokaina sa drugim lekovima. Među poznatijim kombinacijama je prokain penicilin (penicilin G prokain), kombinacija injekcionog antibiotika i lokalnog anestetika. Koristan je za lečenje više bakterijskih infekcija, što uključuje lečenje svih stadijuma sifilisa, blage do umerene pneumokokne upale pluća i difterije, gde se koristi kao dodatak intramuskularnom antitoksinu [112].

2.5.3.3. Antiinflamatorna jedinjenja

U cilju dobijanja jonskih tečnosti sa dvostrukom funkcijom, lokalni anestetici su kombinovani sa antiinflamatornim jedinjenjima, salicilnom kiselinom i ibuprofenom. Potencijalna primena ovih jonskih tečnosti bila bi izrada transdermalnih flastera koji bi omogućili istovremenu dostavu antiinflamatornog leka i lokalnog anestetika nakon povrede sa unapređenom kinetikom otpuštanja aktivnih supstanci i prolaska kroz kožu.

Salicilna kiselina

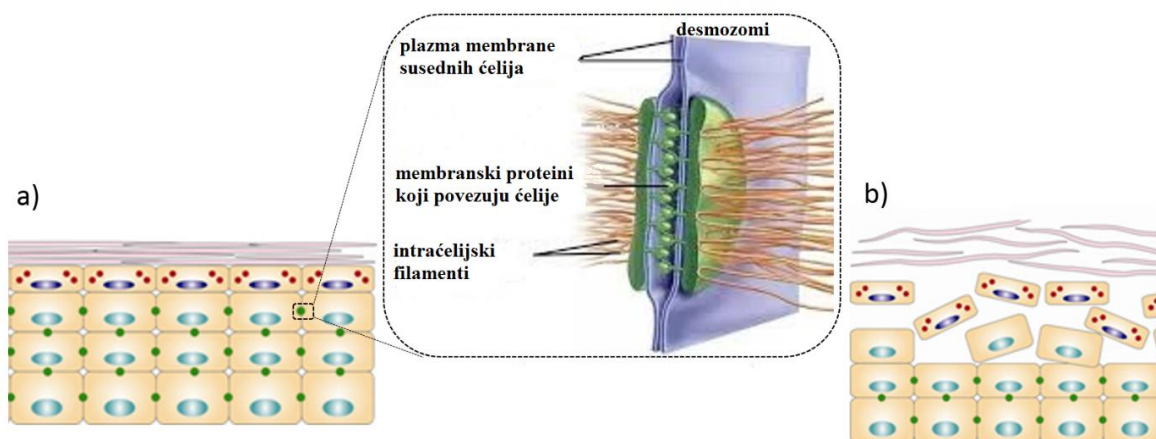
Salicilna kiselina je bela kristalna supstanca molekulske formule $C_7H_6O_3$ i strukture prikazane na slici 2.40. Spada u grupu β -hidroksi karboksilnih kiselina, a njena kiselinska konstanta iznosi $pK_k = 2,98$. Molekulska masa salicilne kiseline iznosi 138,122 g/mol, a tačka topljenja $158\text{ }^\circ\text{C}$ [113].



Slika 2.40. Struktura salicilne kiseline.

Salicilat kao anjon u formulaciji jonske tečnosti sa cetilpiridiniumom dovodi do povećane micelarizacije u odnosu na so cetilpiridinium-hlorid. Na taj način se pospešuje njegova aktivnost kao surfaktanta, omogućavajući mu bolje interakcije sa ćelijskom membranom i poboljšan efekat kao antiseptika [114].

Salicilna kiselina spada u grupu supstanci koje ispoljavaju keratolitički efekat, odnosno koje se primenjuju za lečenje poremećaja epidermisa koji obuhvataju povećanu proizvodnju ćelija kože. Predstavlja pogodno sredstvo za hemijski piling, koji se zasniva na kontrolisanom skidanju površinskih slojeva kože kako bi se uklonili oštećeni delovi i izazvalo njeno obnavljanje, uglaćavanje i poboljšanje teksture površine [115]. Salicilna kiselina dovodi do ljuštenja korneocita, ćelija poslednjeg sloja kože koje čine najveći deo *stratum corneum*-a, zaštitne barijere epidermisa, tako što smanjuje njihovu koheziju [116]. Zahvaljujući liposolubilnosti meša se lipidima epidermisa i lipidima lojnih žlezda folikula dlake [117]. Kako kohezija epitelnih ćelija kože zavisi od desmozoma, koji sadrže veliki broj proteina, salicilna kiselina reaguje sa proteinima i time dovodi do gubitka njihove povezanosti (slika 2.41) [118].

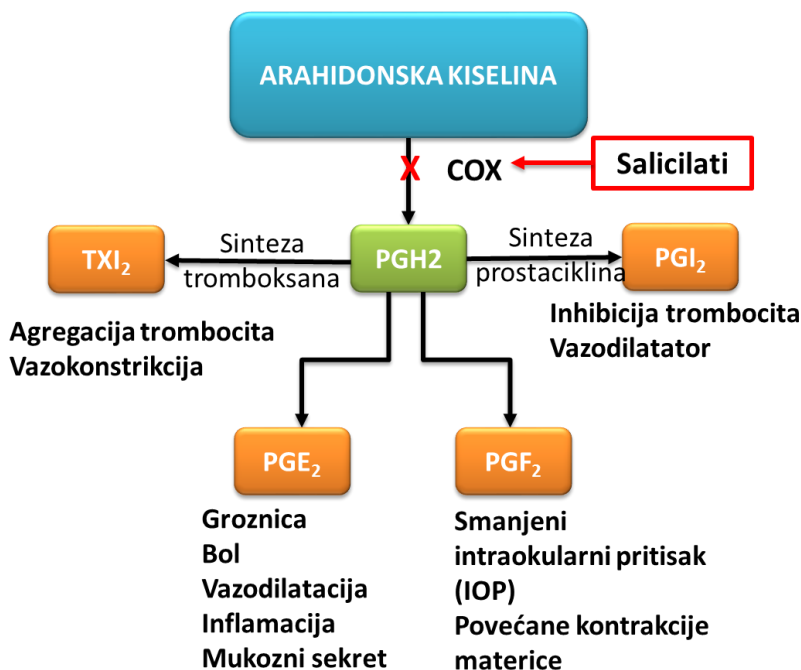


Slika 2.41. a) Struktura zaštitne barijere epidermisa- *stratum corneum*-a i b) njene strukture usled gubitka povezanosti korneocita. (Izvor: <https://www.chegg.com/flashcards/ch-3-cell-097a0564-f5cb-41d2-bac1-3148c976828d/deck>)

Pored toga, salicilna kiselina razlaže komedone i otvara začepljene pore, pa se koristi kao komedolitički preparat za tretman akni [119]. Ispoljava i antiinflamatorno dejstvo, koje je najviše izraženo u koncentracijama između 0,5 i 5% [120]. Salicilati i njihovi derivati se nalaze i u sastavu

preparata za zaštitu od sunca, zahvaljujući aromatičnom benzenovom prstenu koji konvertuje ultravioletno zračenje u zrake većih talasnih dužina.

Najviše istraživani i opisan efekat salicilne kiseline je inhibicija sinteze prostangladina (PG) (slika 2.42).



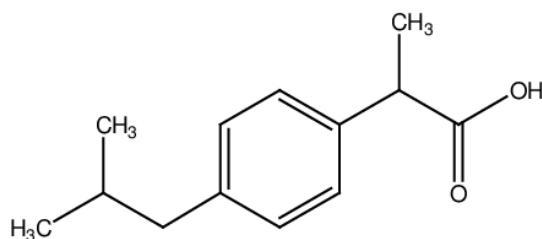
Slika 2.42. Šematski prikaz inhibicije prostanglandina salicilnom kiselinom.

Prostanglandini su članovi porodice lipida i proizvode se od polinezasićenih masnih kiselina pomoću enzima ciklooksigenaze (COX). Skoro sve ćelije u ljudskom telu mogu proizvesti prostanglandine iz arahidonske kiseline koja je prisutna u fosfolipidima ćelijske membrane. Nakon sinteze, prostanglandini deluju kao autokrini ili parakrini lipidni medijatori u održavanju lokalne homeostaze u organizmu. Prostanglandini imaju brojne fiziološke funkcije kao što su: zaštita gastrointestinalnog trakta, regulacija homeostaze bubrega, regulacija sna i buđenja i regulacija telesne temperature. Sinteza prostanglandina je uglavnom mala u tkivima u kojim nema upalnog procesa. S druge strane, tokom upalnog procesa dolazi do značajne promene u koncentraciji i tipu prostanglandina. Prvo, smatralo se da salicilna kiselina inhibira sintezu prostanglandina putem COX inhibicije. Međutim, 1999. godine predložen je novi put inhibicije prostanglandina za salicilnu kiselinu. Xu i saradnici dokazali su da salicilna kiselina deluje protivupalno, potiskujući

transkripciju gena za COX [121]. Takođe, opisano je da salicilna kiselina ima i druge COX–nezavisne mehanizme delovanja.

Ibuprofen

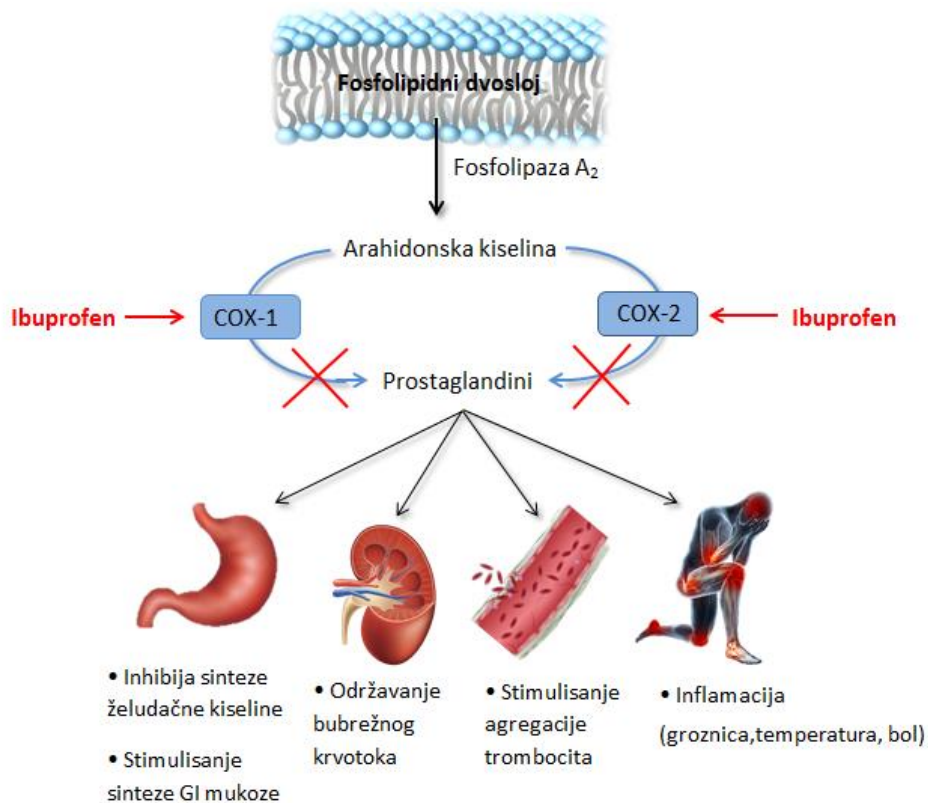
Ibuprofen je bezbojna kristalna supstanca, molekulske formule $C_{13}H_{18}O_2$ i molekulske mase 206,28 g/mol (slika 2.43). Pripada grupi monokarboksilnih kiselina, a njegova kiselinska konstanta iznosi $pK_k = 5,2$ a tačka topljenja je između 75 i 77 °C [122].



Slika 2.43. Struktura ibuprofena.

Ukoliko se ibuprofenat jon veže sa odgovarajućim kontrajonom, dobijaju se jonske tečnosti koje imaju poboljšana fizičko-hemijska svojstva u odnosu na originalni lek, sa značajno manjom toksičnošću i poboljšanom farmaceutskom aktivnošću. Takođe, na ovaj način se povećava stabilnost i rastvorljivost aktivne komponente, tj. ibuprofena, u fiziološkom medijumu, a menja se i njegova farmakokinetika i transport. Posebno je važno naglasiti da se primenom ovog leka u formi jonske tečnosti značajno smanjuje polimorfizam ili čak u potpunosti eliminiše, čime se prevazilazi najveći problemi kod primene ibuprofena, a to su rastvorljivost i doziranje [123].

Ibuprofen pripada grupi nestereoidnih antiinflamatornih lekova koji ispoljava analgetičko, antipiretičko i antiinflamatorno delovanje. Najčešće se primenjuje oralno, ali postoji mogućnost i intravenozne primene. Kao što je ranije navedeno, primenjuje se u obliku racemske smeše, s tim što je S-enantiomer odgovorniji za farmakološki efekat. Poput većine lekova iz iste grupe, ibuprofen deluje kao neselektivni inhibitor prostaglandin GH sintaza 1 i 2, odnosno ciklooksigenaza 1 i 2 (COX-1 i COX-2). COX enzimi katalizuju konverziju arahidonske kiseline u prostaglandine koji su odgovorni za izazivanje groznice, bola i inflamacije, ali i za održavanje normalne funkcije želuca, bubrega i krvotoka. Ibuprofen deluje kao antagonist COX enzima, odnosno vezuje se za aktivni centar i na taj način sprečava vezivanje arahidonske kiseline, što dovodi do smanjene sinteze prostaglandina (slika 2.44) [124].



Slika 2.44. Šematski prikaz mehanizma delovanja ibuprofena.

3. EKSPERIMENTALNI DEO

Ovo istraživanje fokusiraće se na vodu u hidratacionoj sferi rastvorene supstance, posebno na to kako različite vrste rastvorenih supstanci utiču na strukturnu organizaciju vode. Interakcije rastvorene supstance sa vodom će se tumačiti na osnovu hidratacionog broja (h_n), koji predstavlja broj veza kojima se molekul rastvorka veže za molekule rastvarača, po molu rastvorka. Za ispitivanje *structure making/breaking* osobina primenjuju se metode koje se zasnivaju na određivanju uticaja ovih supstanci na osobine vode koje se ispoljavaju na makroskopskom nivou, odnosno na različite fizičko-hemijske osobine rastvora. Najčešće se primenjuju viskozimetrijska, konduktometrijska i volumetrijska merenja, zatim izračunavanja raznih termodinamičkih parametara koji opisuju hidrataciju, kao i računarske simulacije, u kojim su postavljeni modeli sa malim koncentracijama supstanci u rastvoru [27].

3.1. Hemikalije

Spisak hemikalija koje su korišćene tokom izvođenja eksperimentalnog dela istraživanja dat je u tabeli 3.1. Svi vodeni rastvori pripremljeni su upotrebom ultračiste vode.

Tabela 3.1. Specifikacije korišćenih hemikalija.

NAZIV HEMIKALIJE	PROIZVOĐAČ	CAS BROJ	ČISTOĆA
D-PANTENOL	Sigma-Aldrich	81-13-0	$\omega \geq 0,98$
KOFEIN	Sigma-Aldrich	58-08-2	$\omega \geq 0,99$
ADENOZIN 5'-TRIFOSFAT DINATRIJUMOVA SO HIDRAT	Sigma-Aldrich	34369-07-8	$\omega \geq 0,99$
KREATIN-MONOHIDRAT	Merck	6020-87-7	$\omega \geq 0,99$
KREATININ, ANHIDROVAN	Sigma-Aldrich	60-27-5	$\omega \geq 0,98$
B-ALANIN	Tokyo Chemicals	107-95-9	$\omega \geq 0,99$
L-HISTIDIN	Tokyo Chemicals	71-00-1	$\omega \geq 0,99$
L-KARNOZIN	Sigma-Aldrich	305-84-0	$\omega \geq 0,99$
HLOOROVODONIČNA KISELINA, 37% RASTVOR	Sigma-Aldrich	7647-01-0	-
(±)-SINEFRIN	Sigma-Aldrich	94-07-5	$\omega \geq 0,98$
(±)-OKTOPAMIN-HIDROHLORID	Sigma-Aldrich	770-05-8	$\omega \geq 0,98$
D-(-)-FRUKTOZA	Tokyo Chemicals	57-48-7	$\omega \geq 0,99$

AGMATINIJUM-SULFAT	Sigma-Aldrich	2482-00-0	$\omega \geq 0,97$
BAZNI JONOIZMENJIVAČ AMBERLIT IRN78	Sigma-Aldrich	11128-95-3	-
AZOTNA KISELINA, 67% RASTVOR	Tokyo Chemicals	7697-37-2	-
IBUPROFEN	Tokyo Chemicals	15687-27-1	$\omega \geq 0,98$
SALICILNA KISELINA	Merck	69-72-7	$\omega \geq 0,99$
NIKOTINSKA KISELINA	Sigma Aldrich	59-67-6	$\omega \geq 0,98$
LIMUNSKA KISELINA	Sigma Aldrich	77-92-9	$\omega \geq 0,99$
L-ASKORBINSKA KISELINA	Sigma Aldrich	50-81-7	$\omega \geq 0,99$
L-GLUTAMINSKA KISELINA	Sigma-Aldrich	56-86-0	$\omega \geq 0,99$
LIDOKAIN	Tokyo Chemicals	137-58-6	$\omega \geq 0,99$
PROKAIN	Tokyo Chemicals	59-46-1	$\omega \geq 0,98$
FOSFORNA KISELINA, 85 % RASTVOR	Sigma Aldrich	7664-38-2	-
ACETONITRIL	Merck	75-05-8	$\omega \geq 0,999$
METANOL	Sigma-Aldrich	67-56-1	$\omega \geq 0,998$

3.2. Aparatura i računarski programi

Eksperimentalni deo rada izveden je upotrebom sledećih aparata pri atmosferskom pritisku ($p = 0,1$ MPa) i računarskih programa za obradu podataka:

- Automatski denzimetar *Anton Paar DMA 5000*
- Automatski denzimetar *Rudolph Research Analytical DDM 2911*
- *Brookfield Viscometer DV-II+Pro*
- Termostat *Lauda E 100*
- *Ubbelohde* viskozimetar (*SI Analytics GmbH, Mainz, Germany, type no. 536 10 capillary I*)
- *ViscoSystem*[®] *AVS 370* sistem za automatsko merenje vremena protoka tečnosti;
- Termostat *Lauda EcoSilver*
- Termostat *Lauda DLK-10*

- Stakleni set od devet ćelija za merenje provodljivosti razblaženih rastvora, ručne izrade
- Termostat *Lauda UB40*
- Hladnjak *Lauda WK1400*
- Konduktometar *Jenco 3107*, koji je povezan sa računarom *Pentium III*
- *Millipore Mili-Q* sistem za prečišćavanje vode
- Rotacioni vakuum uparivač *Buchi R-210*
- Vakuum pumpa *Vacuubrand CVC-2*
- Analitička vaga *Sartorius* sa nesigurnošću merenja od 0,00001 g
- *Metrohm 831 Karl-Fischer* kulonometar
- *Bruker Advance III 400 MHz* spektrometar
- *Thermo-Nicolet Nexus 670* spektrometar
- *TG/DSC* termogravimetrijski analizator *SDT Q600*
- *DSC Q20* diferencijalni termalni analizator
- *Multiscan MCC340* spektrometar
- Tečni hromatograf *Agilent 1290 Infinity* sa DAD detektorom
- Kolona: *Poroshell 120 EC-C18* (4,6 · 50 mm, 2,7 µm)
- Automatske pipete: *Eppendorf 100-5000 µL*
- Magnetna mešalica
- Vorteks uređaj *Unitexer1*
- Ultrazvučno kupatilo *Bandelin sonorex*

- Staklena ćelija za određivanje rastvorljivosti
- Računarski program *WinVisco 370*
- Računarski programi za prikupljanje i obradu podataka: *Infinity 1290 online* i *Infinity 1290 offline*
- Računarski program *Schrödinger Material Suite 2015_4*
- Računarski program *Yasara Structure*
- Računarski program *Omnice verzija 6.2*
- Računarski program *TA Universal Analysis*
- Računarski programi za obradu podataka *Microsoft Excel 2013* i *OriginPro 8.5.1*.

3.3. Merenje gustine

Eksperimentalna merenja gustine su izvršena upotrebom medicinskih špriceva zapremine 2 cm³ i sledećih automatskih denzimetara sa specifikacijama datim u tabeli 3.2 (slika 3.1):

- *Anton Paar DMA 5000*
- *Rudolph Research Analytical DDM 2911*

Zakon harmonijskog oscilovanja je osnova principa rada aparata. Određivanje gustine ispitivanog uzorka koji se nalazi u staklenoj U-cevi poznate zapremine se zasniva na merenju frekvencije i trajanja elektromagnetski indukovanih oscilacija.



a)



b)

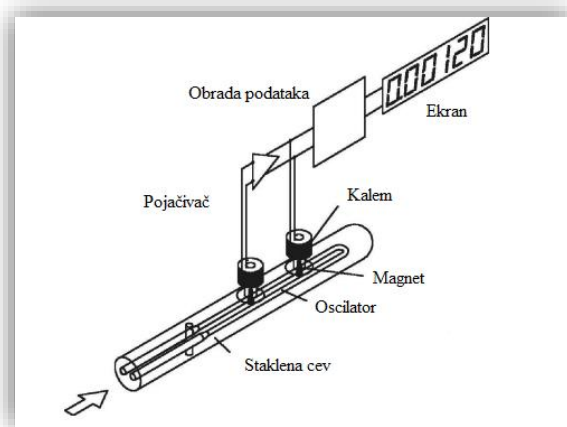
Slika 3.1. Automatski denzimetar a) *Anton Paar DMA 5000* i b) *Rudolph Research Analytical DDM 2911*.

Tabela 3.2. Fabričke specifikacije korišćenih automatskih denzimetrova.

Parametri	<i>Anton Paar DMA 5000</i>	<i>Rudolph Research Analytical DDM 2911</i>
Nesigurnost merenja	0,000005 g·cm ⁻³	0,00002 g·cm ⁻³
Ponovljivost merenja	0,000001 g·cm ⁻³	0,00001 g·cm ⁻³
Minimalna zapremina uzorka	1 cm ³	1 cm ³
Interval temperatura	273,15 – 363,15 K	273,15 – 373,15 K
Nesigurnost temperature merenja	0,01 K	0,1 K
Ponovljivost temperature merenja	0,001 K	0,01 K

U-cev koja je napravljena od borsilikatnog stakla zapremine oko 1 cm³ zauzima centralni deo merne ćelije aparata. Sastoji se od duplih zidova između kojih je prostor ispunjen gasom sa visokim koeficijentom toplotne provodljivosti. Platinski otpornički senzori temperature služe za praćenje temperature ispitivanog uzorka u toku samog merenja. Ostali delovi aparata čine sistem za indukciju oscilacija i električne komponente koje obrađuju i prenose signal do ekrana aparata (slika 3.2).

U-cev denzimetrova osciluje svojom osnovnom frekvencijom koja predstavlja funkciju mase sistema, a kako je zapremina uzorka unutar cevi konstantna, frekvencija oscilovanja predstavlja funkciju gustine uzorka.



Slika 3.2. Princip rada denzimetra sa označenim osnovnim delovima aparata.

Period oscilovanja U-cevi se računa preko izraza:

$$T = 2\pi \sqrt{\frac{dV_c + m_c}{K}}, \quad (3.1)$$

gde je: T - period oscilovanja, d - gustina uzorka u mernoj cevi, V_c - zapremina uzorka (kapacitet U-cevi), m_c - masa cevi, K - konstanta cevi.

Kada se jednačina (3.1) kvadrira i preuredi dobija se jednačina (3.2) koja opisuje promenu gustine ispitivanog fluida od perioda oscilovanja merne ceni, odnosno njene zapremine i mase:

$$d = \frac{K}{4\pi^2 V_c} T^2 - \frac{m_c}{V_c}. \quad (3.2)$$

Ukoliko je viskoznost uzorka veća, dolazi do smanjenja amplitude oscilacija u toku oscilovanja U-cevi ispunjene uzorkom. Ova pojava značajno utiče na period oscilovanja i prividno povećava zapreminu cevi. Ovaj efekat daje grešku merenja predstavljenu relacijom (3.3):

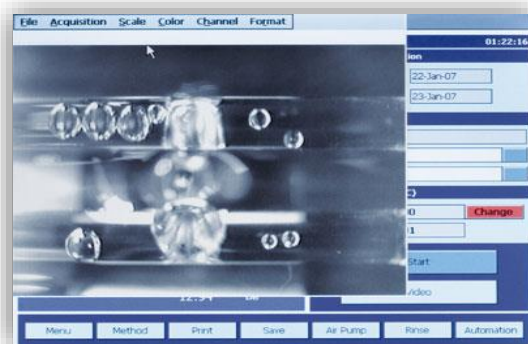
$$k \approx 0,05\sqrt{\eta}, \quad (3.3)$$

gde je k ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$) greška merenja, a η ($\text{Pa}\cdot\text{s}$) dinamička viskoznost uzorka.

Da bi se korigovale greške, omogućeno je prigušivanje oscilacija i zatim automatska korekcija oscilacijama U-cevi na nekoliko frekvencija i u dva moda. Na ovaj način gustina postaje funkcija

perioda oscilacije i prigušivanja, što omogućava značajno veću preciznost merenja u poređenju sa drugim tipovima denzimetra.

Kalibracija denzimeta pre eksperimentalnog rada izvršena je pomoću vazduha i bidestilovane vode na $T = 293,15$ K. Pre početka merenja i nakon svakog izmerenog uzorka proverena je kalibracija merenjem gustine vazduha (*Millipore Milli-Q* sistem za prečišćavanje vode) na 293,15 K. Uzorci se unose u denzimetar manuelno, injektovanjem uz pomoć medicinskog šprica zapremine 2 cm^3 . Pri tome je vođeno računa da u U-cevi ne dospeju mehurići vazduha (slika 3.3). Nakon završenog merenja vrši se temeljno ispiranje U-cevi etanolom, ako su mereni vodeni rastvori, odnosno acetonom ako su merene čiste jonske tečnosti. Sušenje U-cevi od pomenutih rastvarača obavljeno je prodivavanjem vazduha kroz cev pomoću vazdušnog kompresora koji aparat poseduje.



Slika 3.3. *VideoView* opcija nadgledanja U-cevi denzimeta.

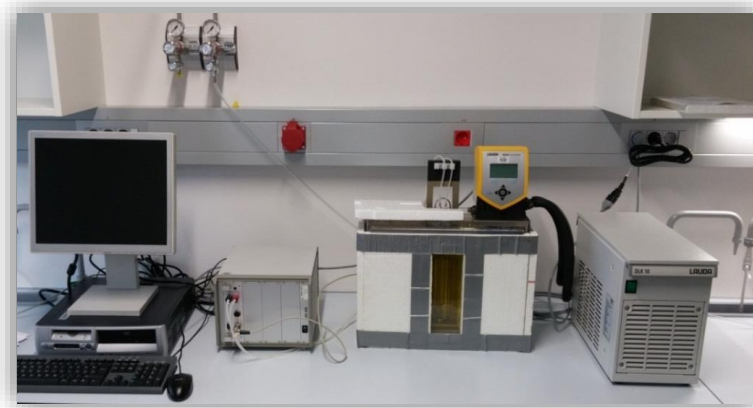
Kada se denzimetar pravilno napuni, podesi se temperatura na kojoj se želi izvršiti merenje i otpočine merenje. Temperatura se kontroliše automatski pomoću *Peltier*-ovog efekta sa preciznošću od $\pm 0,01$ K.

Svaka eksperimentalna vrednost gustina prikazana u ovom radu predstavlja srednju vrednost tri merenja na datoj temperaturi, pri čemu je reproduktivnost merenja iznosila 0,001%, a standardna nesigurnost određivanja gustina je manja od $2,0 \cdot 10^{-5} \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$. Rezultati merenja su obrađivani u programima *Microsoft Excel 2013* i *Origin 8.5.1*.

3.4. Merenje viskoznosti

Za eksperimentalno određivanje viskoznosti vodenih rastvora korišćeni su sledeći aparati i pribor (slika 3.4):

- mikro-*Ubbelohde* viskozimetar *SI Analytics GmbH, Mainz, Germany, type no. 536 10 capillary I* povezanim sa računarom i termostatom
- Automatski sistem za merenje vremena protoka tečnosti: *ViscoSystem® AVS 370*
- Računarski program *WinVisco 370*
- Termostat *Lauda EcoSilver 100*, sa spoljašnjim protokom i regulacijom temperature od $\pm 0,01$ K
- Hladnjak *Lauda DLK 10*



Slika 3.4. Aparatura za merenje viskoznosti vodenih rastvora.

Viskozimetri su uronjeni u stakleno kupatilo za termostatiranje ispunjeno monoetilen-glikolom i obloženo stiroporom radi bolje toplotne izolacije.

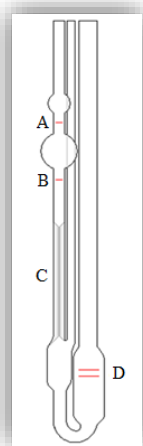
Ubbelohde tip viskozimetra prikazan je na slici 3.5. Princip određivanja viskoznosti rastvora zasniva se na merenju vremena protoka tečnosti od oznake (A) do oznake (B) kroz kapilare (C) određene dužine i poprečnog preseka. Rastvor čija se viskoznost meri uliva se do oznake (D). Prečnik kapilare viskozimetara korišćenih u ovom radu iznosi 0,4 mm, dok je zapremina ulivene

tečnosti 3-4 cm³. Na osnovu izmerenog vremena protoka tečnosti izračunata je kinematička viskoznost, ν (m²·s⁻¹), predstavljena izrazom (3.4):

$$\nu = Lt - \frac{E}{t^2}, \quad (3.4)$$

gde su L i E (m²·s⁻¹) konstante viskozimetra, dok je t (s) vreme protoka tečnosti. Vrednosti dinamičke viskoznosti, η (Pa·s), koja je predstavljena u ovom radu, dobijene su iz proizvoda kinematičke viskoznosti i gustine tečnosti:

$$\eta = \nu \cdot d. \quad (3.5)$$



Slika 3.5. Izgled *Ubbelohde* tipa viskozimetra.

Konstante viskozimetra određene su merenjem vremena protoka destilovane vode na dve temperature (293,15 K: $d = 0,998206 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$; $\eta = 1002 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ i 298,15 K $d = 0,997048 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$; $\eta = 890,3 \text{ Pa}\cdot\text{s}$). Na osnovu poznatih vrednosti gustine i dinamičke viskoznosti vode kombinacijom jednačina (3.4) i (3.5) izračunate su konstante viskozimetra. Vreme protoka mereno je automatskim sistemom *ViscoSystem*[®] *AVS 370* i računarskim programom *WinVisco 370*. Parametri u okviru softvera podešeni su tako da se merenje automatski ponavlja ukoliko je odstupanje pojedinačnih merenja veće od 1%. Svako merenje ponovljeno je najmanje četiri puta. Problem koji se javlja tokom merenja i dovodi do većih odstupanja su mehurići vazduha koji se mogu formirati u toku merenja i uzrokovati greške.

Kontrola rada termostata *Lauda EcoSilver* izvršena je platinskim otporničkim termometrom Pt 100 – *MPMI 1004/300 Merz* koji je kalibrisan od strane slovenačke Nacionalne laboratorije. Nesigurnost merenja viskoznosti, uzevši u obzir greške kalibracije i temperaturne kontrole iznosi manje od 0,2%.

U toku eksperimentalnog rada prilikom merenja viskoznosti čistih jonskih tečnosti korišćeni su sledeći aparati i pribor (slika 3.6):

- Termostat *Lauda E 100*, sa spoljašnjim protokom i regulacijom temperature od $\pm 0,1$ K
- Viskozimetar *Brookfield Viscometer DV-II+Pro* povezan sa PC računarom *Pentium III* i termostatom



Slika 3.6. Aparatura za merenje viskoznosti tečnosti visokih vrednosti viskoznosti.

Viskoznost je merena tako što je u ćeliju, koja je povezana sa termostatom, uliveno 8 cm^3 ispitivane jonske tečnosti. Zatim je uronjeno vreteno tipa (S18) ili (LV4) pogodno za merenje viskoznosti u odgovarajućem opsegu. Relativna merna nesigurnost merenja viskoznosti iznosila je manje od 1%. Dobijeni podaci za viskoznost na odgovarajućim temperaturama su beleženi automatski na računaru koji je povezan sa uređajem, a zatim dalje obrađeni u programu *Origin 8.5.1*.

3.5. Merenje provodljivosti

- Set od devet ćelija sa platinskim elektrodama (slika 3.7) u plastičnom držaču
- Kupatilo ispunjeno silikonskim uljem

- Kapilarne ćelije su povezane na LCR metar *Agilent 4284 A*
- Termostat *Lauda UB40*
- Hladnjak *Lauda WK1400*
- Otpornički termometar *Pt 100*

Električna provodljivost razblaženih rastvora merena je u setu od devet ćelija prikazanom na slici 3.7. Konstanta ćelija je određena i iznosi $B = 2,2130 \text{ cm}^{-1}$. Na početku merenja u ćeliju se ulije čist rastvarač i izmeri njegova električna provodljivost. Zatim se pripremi osnovni rastvor jonske tečnosti poznate koncentracije koji se uz mešanje sukcesivno dodaje u ćeliju sa rastvaračem. Masa osnovnog rastvora dodatog u ćeliju izračunata je tako da opseg koncentracija bude od $1 \cdot 10^{-4}$ do $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Nakon svakog dodavanja određene mase osnovnog rastvora jonske tečnosti izmerena je provodljivost u celom opsegu temperatura i frekvencija.



Slika 3.7. Set od devet ćelija za merenje provodljivosti razblaženih vodenih rastvora.

Pre postavljanja ćelije na merenje, kroz rastvor je 10 minuta prodivavan argon da bi se iz ćelije uklonili vlaga i kiseonik. Detaljan opis komponenata aparature i posebno napravljenog računarskog programa za prikupljanje i obradu eksperimentalnih podataka, dat je u publikaciji prof. dr *M. Bešter-Rogač* [125]. Uzevši u obzir moguće uzroke grešaka (priprema rastvora,

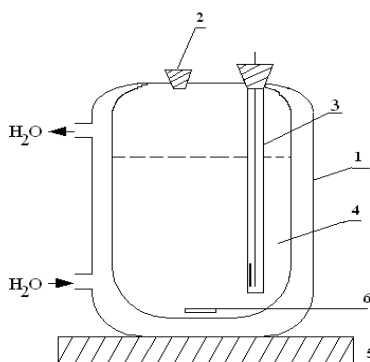
kalibracija, temperatura, nečistoće) nesigurnost merenja električne provodljivosti je manja od 0,1%.

Za eksperimentalno određivanje električne provodljivosti čistih jonskih tečnosti korišćeni su takođe i sledeći aparati i pribor:

- Termostat *Lauda E 100*, sa spoljašnjim protokom i regulacijom temperature od $\pm 0,1$ K
- Konduktometar *Jenco 3107*, koji meri električnu provodljivost sa tačnošću $\pm 0,5\%$ i temperaturnim inkrementom od 0,1 K povezan sa računarom *Pentium III*
- Konduktometrijska ćelija
- Magnetna mešalica i magnetno jezgro odgovarajuće veličine

Električna provodljivost uzoraka određena je u posudi za termostatiranje (1) (slika 3.8), napravljenoj od *Pyrex* stakla. Zapremina posude je 14 cm^3 i poseduje dva otvora na vrhu.

Kroz jedan otvor (2) se unosi uzorak, dok je kroz drugi otvor provučena elektroda (3) za merenje provodljivosti, koja se sastoji od dve dijametralno postavljene platinske pločice na rastojanju od 10 mm.



Slika 3.8. Šema aparature za konduktometrijsko merenje.

Posuda za konduktometrijska merenja u kojoj se nalazi ispitivana tečnost (4) postavljena je na automatsku mešalicu (5) sa magnetnim jezgrom odgovarajuće veličine (6), ubačenim u tečnost koja se tokom određivanja meša malom konstantnom brzinom. Elektroda je povezana preko konduktometra *Jenco 3107* sa računarom *Pentium III*.

Posuda za konduktometrijska merenja sa ispitivanom probom termostatirana je vodom iz navedenog termostata, čija je temperatura održavana sa tačnošću od $\pm 0,1$ K. Konstanta konduktometrijske ćelije ($K_{\text{cel}} = 1,0353 \text{ cm}^{-1}$) određena je na $T = 298,15$ K pomoću standardnog rastvora KCl koncentracije $0,1000 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, poznate električne provodljivosti. Sve izmerene vrednosti su korigovane množenjem sa konstantom ćelije.

3.6. Merenje IC i NMR spektara

U toku eksperimentalnog rada korišćen je IC spektrofotometar *Thermo-Nicolet Nexus 670* (slika 3.9) koji omogućava snimanje spektara u osnovnoj i dalekoj infracrvenoj oblasti od $400 - 40000 \text{ cm}^{-1}$.



Slika 3.9. Aparatura za snimanje spektara u IC oblasti (*Thermo-Nicolet Nexus 670*).

IC spektri jonskih tečnosti snimljeni su tehnikom oslabljene refleksije na kristalu ZnSe. Broj skenova iznosio je 64 a rezolucija 4 cm^{-1} . Za prikupljanje podataka i za spektralnu analizu korišćen je računarski program *Omnice* verzija 6.2 i *Origin 8.5.1*.

Za snimanje NMR spektara korišćen je spektrometar *Bruker Advance III 400 MHz* (slika 3.10). Sva merenja su rađena u D_2O na temperaturi od $298,15$ K, a strukture su potvrđene analizom ^1H , ^{13}C i COSY spektara.



Slika 3.10. Bruker Advance III 400 MHz spektrometar.

3.7. Termička analiza (TG/DSC)

Termogravimetrijska analiza (TG) je izvršena korišćenjem simultanog TG/DSC termalnog analizatora *SDT Q600* (slika 3.11a). Uzorak ($\approx 3,0$ mg) se postavlja u otvorenu platinastu posudu. Merenja se izvode u atmosferi argona (brzina protoka $50 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$) do $350 \text{ }^\circ\text{C}$ sa brzinom zagrevanja od $20 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$. Merenja diferencijalne skenirajuće kalorimetrije (eng. *Differential Scanning Calorimetric Measurements*, DSC) vršena su diferencijalnim termalnim analizatorom *DSC Q20* (slika 3.11b) sa brzinom zagrevanja od $20 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ u atmosferi azota. Uzorci su ohlađeni na $-100 \text{ }^\circ\text{C}$, držani su na toj temperaturi 20 minuta, a zatim zagrevani do $300 \text{ }^\circ\text{C}$.



a)

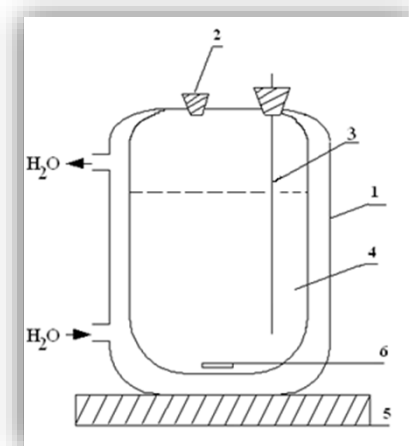


b)

Slika 3.11. a) TG/DSC termogravimetrijski analizator *SDT Q600*; b) *DSC Q20* diferencijalni termalni analizator.

3.8. Određivanje rastvorljivosti

Rastvorljivost je određivana termogravimetrijskom metodom u termostatiranoj staklenoj posudi sa dvostrukim zidom (slika 3.12) napravljenoj od *Pyrex* stakla, zapremine 60 cm^3 sa dva otvora na vrhu. Jedan otvor je korišćen za uzimanje rastvora, dok je kroz drugi provučena sonda digitalnog termometra, kojim je kontrolisana temperatura rastvora. Posuda je postavljena na automatsku mešalicu sa magnetnim jezgrom, rastvor je termostatiran na željenu temperaturu i sve vreme mešan konstantnom brzinom. U posudu je najpre dodato oko $0,1\text{ g}$ supstance i oko 25 cm^3 ultračiste vode. Sve vreme je kontrolisano da bude prisutna određena količina nerastvorene supstance u cilju dobijanja zasićenog rastvora. Nakon 24 sata isključeno je mešanje i sačekano da se talog koji potiče od nerastvorene supstance slegne. Zatim je pomoću staklene pipete, koja je najpre zagrejana u sušnici na višu temperaturu od temperature zasićenog rastvora, (da bi se izbegla kristalizacija supstance u njoj) pažljivo odvađeno oko 2 cm^3 rastvora. Na vrh pipete je zatim stavljen mikromembranski filter sa prečnikom pora od $0,22\text{ }\mu\text{m}$ u cilju zadržavanja prisutnih nerastvorenih kristala supstance ako su preostali u rastvoru. Rastvor je profiltriran u predhodno izmerene i staklene čašice od 10 cm^3 (m_0) i odmah nakon toga ponovo izmeren na analitičkoj vagi (m_1).



Slika 3.12. Posuda za određivanje rastvorljivosti: 1-spoljašnji zid od *Pyrex* stakla, 2-otvor za uzimanje uzoraka, 3-sonda digitalnog termometra, 4-rastvor, 5-magnetna mešalica, 6-magnetno jezgro.

Zatim su čašice sa rastvorima prenete u sušnicu i uparavane na $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ sve dok nije isparila sva prisutna voda. Posle pola sata, čašice sa talogom supstance su prenete u eksikator i nakon hlađenja

ponovo merene (m_2). Sušenje je nastavljeno do konstante mase i na svakoj temperaturi je rađeno po 5 proba. U cilju provere da li je otpipetirani rastvor zaista bio zasićen molekulima supstance čija se rastvorljivost određuje, proba je na istoj temperaturi mešana još 24h, pri čemu je celokupna procedura ponovljena. Kako se dobijeni rezultati merenja rastvorljivosti posle 24h i 48h nisu razlikovali u okviru eksperimentalne greške, merenja na ostalim temperaturama su rađena samo nakon 24 sata mešanja. Rastvorljivost supstance u vodi izračunata je po sledećoj formuli:

$$S(\text{g}_{\text{supstance}} / 1000\text{g}_{\text{H}_2\text{O}}) = \frac{m_2 - m_0}{m_2 - m_1} 1000. \quad (3.6)$$

Razlika u brojiocu predstavlja masu supstance nakon uparavanja vode, a razlika u imeniocu masu vode koja je bila prisutna.

Za određivanje rastvorljivosti jonskih tečnosti zasićen rastvor se analizirao HPLC metodom. Nakon što je iz prethodno opisanog postupka, rastvor ostavljen da izbistri u toku 24h, pipetom su uzete po tri probe tačno određene zapremine zasićenog rastvora supstance, prenesene u normalne sudove, rastvorene i razblažene u mobilnoj fazi za svaku temperaturu. Dobijeni rastvori su filtrirani, zatim preneseni u vijalu i spremni za analizu.

Za dalju analizu i detekciju korišćen je tečni hromatograf visoke efikasnosti *Agilent 1290 Infinity* sa DAD detektorom (slika 3.13). Razdvajanje ispitivanih analita je postignuto pomoću kolone *Poroshell 120 EC-C18* (4,6 · 50 mm, 2,7 μm) (Agilent, SAD), čija je temperatura bila 40 °C. Injektovano je 20 μL uzorka i analizirano na tečnom hromatografu uz primenu dve mobilne faze: mobilne faze A, odnosno ultra čiste vode koja sadrži 0,1 % fosforne kiseline, i mobilne faze B, odnosno acetonitrila. Eluiranje je vršeno izokratski pri protoku od 1,5 mL/min i sa odnosom mobilnih faza 80% A i 20% B, a vreme trajanja analize je bilo 3,5 minuta. Detekcija je vršena pomoću detektora sa nizom dioda (DAD) na talasnoj dužini 210 nm za lidokain i 225 nm za prokain.

Standardni rastvor lidokaina i prokaina koncentracije 200 $\mu\text{g/mL}$ je pripremljen odmeravanjem 0,02 g standarda na analitičkoj vagi i rastvaranjem u ultra čistoj vodi u odmernom sudu zapremine 100 mL.

Rastvori lidokaina i prokaina za konstruisanje kalibracione prave u opsegu koncentracija od 10 do 100 $\mu\text{g/mL}$ su pripremljeni pipetiranjem odgovarajuće količine standardnog rastvora lidokaina i prokaina u odmerni sud zapremine 100 mL i razblaživanjem ultra čistom vodom.



Slika 3.13. Izgled uređaja *Agilent 1290 Infinity* sa DAD detektorom.

3.9. *In vitro* test citotoksičnosti

Za testove citotoksičnosti korišćeni su sulforhodamin B (SRB), rastvor antibiotika/antimikotika (amfotericin B), fetalni goveđi serum (FBS), *Dulbecco*-ov modifikovani esencijalni medijum (DMEM), tripsin i EDTA. Sve supstance su razblažene u $\gamma = 9 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$ NaCl i sterilisane korišćenjem filtera za špric od 0,22 mm. Ispitivana jedinjenja i standardi askorbinske kiseline i nikotinske kiseline su ispitivana u opsegu koncentracija od $\gamma = (250 \text{ do } 4000) \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$. Čelijska aktivnost rasta je procenjena *in vitro* u humanoj ne-tumorskoj čelijskoj liniji – normalni fetalni fibroblasti pluća MRC-5 (ECACC 05090501) i humanog adenokarcinoma debelog creva HT-29 (ECACC 91072201). Čelije su uzgajane u *Dulbecco*-ovom modifikovanom esencijalnom medijumu sa dodatkom 10% toplotno inaktiviranog FBS-a, $100 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$ penicilina, $100 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$ streptomicina i $0,25 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$ amfotericina B. Čelijska linija je uzgajana u laboratorijskim bocama (*Costar*, 25 cm^3) na temperaturi od $37 \text{ }^\circ\text{C}$ u atmosferi visoke vlažnosti sa 5% CO_2 . Jedna suspenzija ćelija je dobijena korišćenjem 0,1% tripsina sa 0,04% EDTA. Čelijske linije su sakupljene i postavljene u mikrotitarske ploče sa 96 udubljenje pri gustini zasejavanja od 4×10^3 ćelija/udubljenje u zapremini od 180 cm^3 , i prethodno inkubirane u kompletnom medijumu sa dodatkom 5% FBS na $37 \text{ }^\circ\text{C}$ tokom 24 h. Dodata su serijska dvostruka razblaženja ispitivanih

supstanci da bi se postigle konačne koncentracije. Jednaka zapremina rastvarača je dodata u kontrolna mesta. Nakon razblaženja, mikroploče su inkubirane na 37 °C tokom 48 h. Rast ćelija je procenjen kolorimetrijskim SRB testom. Razvoj boje je meren korišćenjem *Multiscan MCC340* spektrometra na talasnim dužinama $\lambda = 540$ nm i 620 nm. Efekat na rast ćelija je izračunat kao $100 \times (AT/AC)(\%)$, gde je AT apsorbanca test uzorka i AC kontrole. Analiza podataka je urađena upotrebom softverskog paketa *Origin 8.5.1*. Dva nezavisna eksperimenta su izvedena u četiri ponavljanja za svaku koncentraciju testirane jonske tečnosti. Srednje vrednosti i standardne devijacije, (σ), su izračunate za svaku koncentraciju. Antiproliferativna aktivnost je izražena kao IC_{50} vrednost koja se definiše kao količina supstance koja umanjuje rast ćelija za 50%.

3.10. Matematički pristup izračunavanju termodinamičkih parametara

Iz vrednosti gustina, viskoznosti i električne provodljivosti čistih jedinjenja i vodenih rastvora dobijenim iz eksperimentalnih merenja, moguće je izračunati parametre na osnovu kojih se mogu diskutovati kako intramolekulske interakcije tako i interakcije koje se ostvaruju između molekula rastvorene supstance, molekula rastvarača u rastvoru kao i interakcije između rastvorene supstance i rastvarača.

3.10.1. Čiste komponente

Termički koeficijent širenja. Na osnovu eksperimentalnih gustina mogu se izračunati termički koeficijenti širenja, (α_p), čiste komponente:

$$\alpha_p = -\frac{1}{d} \left(\frac{\partial d}{\partial T} \right)_{p,m}, \quad (3.7)$$

gde je: α – termički koeficijent širenja, d – gustina i T – temperatura.

Energija aktivacije viskoznog toka. Ukoliko se temperaturna zavisnost viskoznosti čiste komponente interpretira logaritamskim oblikom *Arrenius*-ove jednačine (3.8) [126]:

$$\ln(\eta) = \ln C + E_a / RT. \quad (3.8)$$

Moguće je iz nagiba *Arrhenius*-ovog dijagrama izračunati energiju aktivacije viskoznog toka, (E_a). U jednačini (3.8) C je predeksponencijalni koeficijent i R je univerzalna gasna konstanta.

Ukoliko temperaturna zavisnost viskoznosti čiste komponente nije linearna, potrebno je vrednosti viskoznosti fitovati, u zavisnosti od temperature, upotrebom *Vogel-Fulher-Tammann*-ove (VFT) jednačine [127-129]:

$$\eta = A_{\eta} \exp\left(\frac{B_{\eta}}{T - T_g}\right), \quad (3.9)$$

gde su A_{η} i B_{η} promenljivi koeficijenti, a T_g je temperatura staklastog prelaza koja se dobija iz DSC merenja. Koristeći B_{η} vrednosti, moguće je izračunati pseudoaktivacionu energiju viskoznog toka, ($E_a'(\eta)$), upotrebom sledećeg izraza:

$$E_a'(\eta) = B_{\eta}R. \quad (3.10)$$

Pseudoaktivaciona energija provodljivosti. Zavisnost električne provodljivosti od temperature takođe može da se analizira pomoću VFT jednačine u obliku:

$$\kappa = A_{\kappa} \exp\left(\frac{-B_{\kappa}}{T - T_g}\right), \quad (3.11)$$

gde su A_{κ} i B_{κ} promenljivi koeficijenti. Pseudoaktivaciona energija provodljivosti, ($E_a'(\kappa)$), se računa iz sledećeg izraza:

$$E_a'(\kappa) = B_{\kappa}R. \quad (3.12)$$

Walden-ov dijagram. Eksperimentalne vrednosti viskoznosti i provodljivosti mogu da se upotrebe za dobijanje *Walden*-ovog dijagrama, kako bi se ispitala disocijacija jonskih jedinjenja [130]. Odnos između molarne provodljivosti i viskoznosti može se prikazati jednačinom:

$$\log \lambda_m = \log C + \alpha \log \eta^{-1}, \quad (3.13)$$

gde je η^{-1} –fluidnost, α –nagib linije u *Walden*-ovom dijagramu koji označava razdvajanje jona, C –„*Walden*-ov proizvod frakcijskog *Walden*-ovog pravila“, a λ_m –molarne provodljivost dobijena:

$$\lambda_m = \frac{\kappa M}{d}, \quad (3.14)$$

gde κ predstavlja vrednost izmerene električne provodljivosti.

Da bi se odredila klasifikacija ispitivanih jonskih jedinjenja, potrebno je izračunati vertikalno rastojanje mereno od idealne linije KCl do tačke jonskog jedinjenja koja se naziva ΔW (devijacija) i računa se iz sledećeg izraza:

$$\Delta W = \log \eta^{-1} - \log \lambda_m. \quad (3.15)$$

Na osnovu vrednosti ΔW dobijene za jonske tečnosti [131], prva grupa pokriva opseg od $0,1 < \Delta W < 0,5$, a sastoje se od skoro nezavisno mobilnih jona i mogu se klasifikovati kao dobre jonske tečnosti. Opseg druge grupe je $0,5 < \Delta W < 1,0$ i naziva se "slabe" jonske tečnosti (eng. „*poor*“ *ionic liquids*). U ovoj grupi, H-veze i druge specifične interakcije između jona u čistom stanju su izraženije, što dovodi do značajnog smanjenja pokretljivosti jona. Treća grupa predstavlja tečnosti koje su najmanji red veličine ispod idealne linije, takođe opisane kao parovi tečnih jona ili „subjonske tečnosti“ ili čak „tečni ko-kristali“ ($\Delta W > 1,0$). U ovim tečnostima, provodljivost jona je znatno manja nego što bi se očekivalo na osnovu njihove viskoznosti. Najjednostavniji primer je formiranje jonskog para, koji je neutralan i ne doprinosi izmerenoj provodljivosti.

Koristeći vrednosti ΔW može da se izračuna procenat jonizacije jonskog jedinjenja, *%Ionicity*, na osnovu jednačine:

$$\% \text{Ionicity} = 10^{-\Delta W} \cdot 100\% . \quad (3.16)$$

3.10.2. Vodeni rastvori jedinjenja

Dodatna molarna zapremina. Kada se mere eksperimentalne gustine smeša, (d), i čistih tečnih komponenti, (d_i), u celom opsegu molskog udela, dodatna molarna zapremina, (V^E), se može izračunati upotrebom sledeće jednačine:

$$V^E = x_1 M_1 \left(\frac{1}{d} - \frac{1}{d_1} \right) + x_2 M_2 \left(\frac{1}{d} - \frac{1}{d_2} \right), \quad (3.17)$$

gde x_1 , M_1 i d_1 odnose na komponentu rastvorka, dok se x_2 , M_2 i d_2 odnose na vodu. Vrednosti gustine čiste vode date su u tabeli P1. Dodatna molarna zapremina, (V^E), predstavlja razliku između realne zapremine, (V^{real}), i idealne zapremine, (V^{id}), na datom pritisku i temperaturi. Potom se vrši nelinearna regresiona analiza dobijenih vrednosti dodatnih molarnih zapremina korišćenjem *Redlich-Kister*-ove jednačine [132] gde su A_i promenljivi parametri:

$$V^E = x_1 x_2 \sum_{i=0}^n A_i (2x_1 - 1)^i. \quad (3.18)$$

Vrednosti A_i se dobijaju primenom metode najmanjih kvadrata.

Parcijalna molarna zapremina. Parcijalna molarna zapremina komponente x može se zamisliti kao promena zapremine smeše pri dodavanju veoma male količine komponente x smeši pri konstantnom pritisku, konstantom broju molova ostalih komponenti smeše i konstantnoj temperaturi. Parcijalna molarna zapremina komponente x može se takođe zamisliti i kao promena zapremine smeše pri dodavanju jednog mola komponente x beskrajno velikoj količini smeše. Ona nije obavezno jednaka zapremini jednog mola čiste komponente. Interakcije komponenta smeše mogu se razlikovati od interakcija u čistim komponentama. Zato što okruženje svakog molekula u smeši zavisi od sastava smeše, parcijalne molarne zapremine komponenta takođe zavise od sastava smeše. Termodinamičke osobine smeša menjaju se sa promenom sastava kao posledica promene međumolekulskih interakcija.

Parcijalne molarne zapremine tečne komponente, (\bar{V}_1), i vode, (\bar{V}_2), kao i smeša {tečna komponenta + voda} izračunate su pomoću jednačina (3.19) i (3.20):

$$\bar{V}_1 = V^E + V_{1,m} - x_1 \left(\frac{\partial V^E}{\partial x_1} \right)_{p,T}, \quad (3.19)$$

$$\bar{V}_2 = V^E + V_{2,m} - x_2 \left(\frac{\partial V^E}{\partial x_2} \right)_{p,T}, \quad (3.20)$$

gde je $V_{1,m}$ molarna zapremina tečne komponente, a $V_{2,m}$ molarna zapremina vode na datoj temperaturi. Parcijalne molarne zapremine odgovaraju povećanju zapremine sistema pri dodatku

jednog mola jedne komponente količini sistema dovoljno velikoj da se promene koncentracija ostalih komponenti mogu zanemariti. U realnim sistemima parcijalne molarne zapremine su funkcije koncentracije – svakom sastavu binarnog sistema odgovaraju određene vrednosti \bar{V}_1 i \bar{V}_2 .

Prividna molarna zapremina. Prividna molarna zapremina rastvorka, $(V_{1,\phi})$, u vodenim rastvorima može se izračunati pomoću jednačine (3.21):

$$V_{1,\phi} = \frac{(d_2 - d)}{m d d_2} + \frac{M_1}{d}, \quad (3.21)$$

gde je m ($\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$) molalitet rastvorka, d ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$) eksperimentalno određena gustina rastvora, dok se d_2 odnosi na vodu, a M_1 ($\text{kg} \cdot \text{mol}^{-1}$) je molarna masa rastvorka.

Prividna molarna zapremina komponente sistema povezana je sa njenom parcijalnom molarnom zapreminom. Na osnovu gore pomenutih činjenica, kod razblaženih rastvora parcijalne molarne zapremine rastvarača i rastvorene supstance mogu se različito izraziti. Za razblažene sisteme, za ukupnu zapreminu sistema, V , važi i jednačina:

$$V = (V_{1,\phi})n_1 + \bar{V}_2 n_2. \quad (3.22)$$

U ovoj jednačini n_1 je količina rastvorene supstance i n_2 je količina rastvarača. \bar{V}_2 je molarna zapremina čistog rastvarača, $V_{1,\phi}$ je prividna molarna zapremina komponente rastvorka. $V_{1,\phi}$ odgovara njenoj parcijalnoj molarnoj zapremini pri beskonačnom razblaženju. U beskonačno razblaženom rastvoru, čestice rastvorene supstance sa svojim hidratacionim sferama potpuno su okružene molekulima rastvarača. Kada se ovom sistemu doda nešto rastvarača, njegovi molekuli će samo povećavati masu rastvarača između agragacija koje čine molekuli rastvorene supstance sa svojim hidratacionim sferama. U koncentrovanijim rastvorima parcijalna molarna zapremina rastvarača više nije jednaka molarnoj zapremini čistog rastvarača.

Kako jednačina (3.22) pokazuje, prividna molarna zapremina nudi drugačiju perspektivu na zapreminu smeše. Kad se razmatraju prividne molarne zapremine, čista molarna zapremina rastvarača smatra se efektivnom zapreminom rastvarača. Sve promene zapremine sistema opisuju

se prividnom molarnom zapreminom rastvorka, pa se $V_{1,\phi}$ može zapisati i kao V_ϕ . Kad se razmatraju parcijalne molarne zapremine, promena zapremine sistema opisuje se zbirnom promenom zapremine rastvarača i rastvorka.

Linearna regresiona analiza vrednosti prividnih molarnih zapremina. Izračunate vrednosti prividnih molarnih zapremina jako razblaženih rastvora mogu da se interpretiraju *Masson*-ovom jednačinom [133], koja za elektrolite ima oblik:

$$V_\phi = V_\phi^\circ + S_v \sqrt{c} . \quad (3.23)$$

Za neelektrolite *Masson*-ova jednačina ima oblik [134]:

$$V_\phi = V_\phi^\circ + S_v m , \quad (3.24)$$

gde c ($\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) predstavlja molarnu koncentraciju rastvora, V_ϕ° - prividnu molarnu zapreminu pri beskonačnom razblaženju, a eksperimentalni nagib S_v - koeficijent koji opisuje interakcije između rastvorka i rastvarača.

U slučaju kada su merene gustine koncentrovanijih rastvora ($m > 0,1 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$), vrednosti prividnih molarnih zapremina se interpretiraju *Redlich-Rosenfield-Mayer*-ovom jednačinom koja ima oblik [135]:

$$V_\phi = V_\phi^\circ + S_v \sqrt{c} + b_v c . \quad (3.25)$$

V_ϕ° predstavlja takođe prividnu molarnu zapreminu pri beskonačnom razblaženju, a S_v koeficijent predstavlja teorijski izračunat faktor, odnosno *Debye-Hückel*-ov nagib [136]; dok b_v predstavlja koeficijent koji objašnjava odstupanje ispitivanog elektrolita od *Debye-Hückel*-ove teorije.

S_v koeficijent zavisi od valence rastvorene supstance, a ne od njene prirode i data je jednačinom:

$$S_v = k w^{3/2} , \quad (3.26)$$

gde je k granični nagib, a w predstavlja valencioni faktor. Valencioni faktor je definisan *Redlich* i *Meyer*-ovom [136] sledećom jednačinom:

$$w = 0,5 \sum v_i z_i^2 , \quad (3.27)$$

gde su v_i i z_i broj i naelektrisanje svakog jona koji čini elektrolit. *Redlich* i *Meyer* su razvili sledeću polinomnu jednačinu za računanje graničnog nagiba k na temperaturi t ($^\circ\text{C}$) između 0 i 70 $^\circ\text{C}$ [136]:

$$k = 1,4447 + 1,6799 \cdot 10^{-2} t - 8,4055 \cdot 10^{-6} t^2 + 5,5153 \cdot 10^{-7} t^3 . \quad (3.28)$$

Vrednosti V_{ϕ}° se dobijaju rekombinacijom jednačine (3.25):

$$V_{\phi} - S_{\nu}c^{1/2} = V_{\phi}^{\circ} + b_{\nu}c \quad (3.29)$$

Prividna molarna ekspanzibilnost pri beskonačnom razblaženju i Hepler-ov koeficijent.

Prividna molarna ekspanzibilnost pri beskonačnom razblaženju predstavlja parametar širenja rastvora u odnosu na čist rastvarač. Za izračunavanje prividne molarne ekspanzibilnosti pri beskonačnom razblaženju, (E_{ϕ}°), vrednosti prividnih molarnih zapremina pri beskonačnom razblaženju V_{ϕ}° fituju se u funkciji temperature polinomnom jednačinom drugog reda (3.30):

$$V_{\phi}^{\circ} = a_0 + a_1T + a_2T^2, \quad (3.30)$$

gde su a_0 , a_1 i a_2 koeficijenti fita. Iz dobijenih koeficijenata, prividna molarna ekspanzibilnost pri beskonačnom razblaženju može da se izračuna na osnovu jednačine (3.31):

$$E_{\phi}^{\circ} = \left(\frac{\partial V_{\phi}^{\circ}}{\partial T} \right)_p = a_1 + 2a_2T. \quad (3.31)$$

Korišćenjem Hepler-ove jednačine (3.32) [137]:

$$\left(\frac{\partial E_{\phi}^{\circ}}{\partial T} \right)_p = \left(\frac{\partial^2 V_{\phi}^{\circ}}{\partial T^2} \right)_p = 2a_2. \quad (3.32)$$

Može da se izračuna Hepler-ov koeficijent, koji se često primenjuje za određivanje *structure making/breaking* osobina supstanci.

Prividna specifična molarna zapremina. Kako bi se odredio ukus ispitivane supstance, vrednosti prividnih specifičnih molarnih zapremina pri beskonačnom razblaženju, (v_{ϕ}°), dobijene su na osnovu izraza (3.33) [138]:

$$v_{\phi}^{\circ} = V_{\phi}^{\circ} / M_1. \quad (3.33)$$

Prividne molarne i prividne specifične zapremine, koje se računaju iz gustine rastvora, daju direktnu meru narušavanja strukture vode od strane rastvorene supstance. Na osnovu vrednosti prividne specifične molarne zapremine supstance se klasifikuju na četiri različita ukusa, što je prikazano u tabeli 3.3 [139,140].

Tabela 3.3. Klasifikacija molekula na različite ukuse na osnovu vrednosti prividnih specifičnih molarnih zapremina pri beskonačnom razblaženju.

$v_{\phi}^{\circ} / (\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1})$	Ukus supstance
0,1-0,3	slano
0,3-0,5	kiselo
0,5-0,7	slatko
0,7-0,9	gorko

Linearna regresiona analiza vrednosti dinamičke viskoznosti. Rezultati dobijeni merenjem viskoznosti vodenih rastvora elektrolita mogu da se interpretiraju *Jones-Dole*-ovom jednačinom (3.34) [141]:

$$\frac{\eta}{\eta_0} = 1 + Ac^{1/2} + Bc, \quad (3.34)$$

gde je η viskoznost rastvora, η_0 viskoznost čiste vode (tabela P1) [142], A koeficijent koji opisuje elektrostatičke interakcije, i zavisi od interakcija dugog dometa *Coulomb*-ovog tipa između jona i dobijen je *Osanger*-ovom teorijom [143], a B koeficijent fitovanja, koji daje koriste informacije o interakcijama između rastvarača i rastvorka. η/η_0 se naziva još i relativna viskoznost, (η_r). Ukoliko je merena i električna provodljivost vodenih rastvora, vrednosti koeficijenta A mogu i da se izračunaju prema izrazu koji su predložili *Falkenhagen* i *Vernon* [144–146]:

$$A = \frac{0,2577\lambda^{\circ}}{\eta_0 (\varepsilon T)^{1/2} \lambda_+^{\circ} \lambda_-^{\circ}} \left[1 - 0,6863 \left(\frac{\lambda_+^{\circ} - \lambda_-^{\circ}}{\lambda^{\circ}} \right)^2 \right], \quad (3.35)$$

gde je ε relativna permitivnost vode preuzeta iz literature [147] (tabela P1); λ° je granična molarna provodljivost jedinjenja, λ_+° granična molarna provodljivost katjona, i λ_-° granična molarna provodljivost anjona. Tada *Jones-Dole*-ova jednačina se interpretira narednim izrazom:

$$\frac{\eta}{\eta_0} - 1 - Ac^{1/2} = Bc. \quad (3.36)$$

Kako u vodenim rastvorima neelektrolita koeficijent A iznosi $A=0$ (ne postoje elektrostatičke interakcije), *Jones-Dole*-ova jednačina dobija oblik:

$$\frac{\eta}{\eta_0} - 1 = Bc. \quad (3.37)$$

Unutrašnja viskoznost. Unutrašnja viskoznost može se izračunati postupkom trostruke ekstrapolacije [148] redukovane specifične viskoznosti $[\eta_{sp}/c = (\eta - \eta_0)/\eta_0 c]$, inherentne viskoznosti $[(\log \eta/\eta_0)/c]$ i redukovane diferencijalne viskoznosti $[(\eta - \eta_0)/\eta c]$, kada je $c=0$, a koncentracija je prikazana u $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$. Drugi parametar, *Hagins*-ova konstanta, k' , izvedena je iz *Hagins*-ove relacije (3.38) [149].

$$\eta_{sp}/c = [\eta] + k'[\eta]^2 c + \dots \quad (3.38)$$

Termodinamika viskoznog toka. Iz B koeficijenta mogu se izračunati vrednosti aktivacionih slobodnih energija rastvarača i rastvorene supstance korišćenjem sledećih jednačina, a predloženo od strane *Feakins* i saradnika [150]:

$$\Delta\mu_1^{0\neq} = \Delta\mu_2^{0\neq} + \frac{RT}{\bar{V}_2^0} (B + \bar{V}_1^0 - \bar{V}_2^0), \quad (3.39)$$

gde je $\Delta\mu_1^{0\neq}$ aktivaciona energija rastvorka pri beskonačnom razblaženju, \bar{V}_1^0 parcijalna molarna zapremina rastvorka pri beskonačnom razblaženju, i \bar{V}_2^0 parcijalna molarna zapremina vode pri beskonačnom razblaženju. $\Delta\mu_2^{0\neq}$ predstavlja slobodnu energiju aktivacije viskoznog toka po molu čistog rastvarača i data je jednačinom (3.40):

$$\Delta\mu_2^{0\neq} = RT \ln \left(\frac{\eta_0 \bar{V}_2^0}{hN_A} \right), \quad (3.40)$$

gde je N_A Avogadro-v broj, a h Planck-ova konstanta.

Iz promene aktivacionih slobodnih energija sa temperaturom izračunata je entropija aktivacije viskoznog toka rastvorka na osnovu izraza (3.41):

$$\Delta S_1^{0\neq} = - \frac{\partial(\Delta\mu_1^{0\neq})}{\partial T}. \quad (3.41)$$

Aktivaciona entalpija je dobijena primenom jednačine (3.42):

$$\Delta H_1^{0\neq} = \Delta\mu_1^{0\neq} + T\Delta S_1^{0\neq}. \quad (3.42)$$

Računanje hidratacionog broja. Hidratacioni broj, (h_n), predstavlja mol veza kojima se molekul rastvorka veže za molekule rastvarača, po molu rastvorka. Za jonska jedinjenja, hidratacioni broj se računa po formuli (3.43) [151]:

$$h_n = V_\phi^0(e) / (V_e^0 - V_{2,m}), \quad (3.43)$$

gde je $V_\phi^0(e)$ parcijalna molarna zapremina elektrostrikcije, V_e^0 molarna zapremina molekula vode deformisanih dejstvom električnog polja, a $V_{2,m}$ molarna zapremina čiste vode. Vrednosti $(V_e^0 - V_b^0)$ su uzete iz literature [152]. Vrednosti $V_\phi^0(e)$ se mogu izračunati iz eksperimentalno izmerenih V_ϕ^0 primenom jednačine (3.44):

$$V_\phi^0(e) = V_\phi^0 - V_\phi^0(\text{int}), \quad (3.44)$$

gde je $V_\phi^0(\text{int})$ unutrašnja parcijalna molarna zapremina vode, koja se računa po formuli (3.45):

$$V_\phi^0(\text{int}) = (0,7 / 0,634)V_\phi^0(\text{cryst}), \quad (3.45)$$

gde se $V_\phi^0(\text{cryst})$ dobija iz izraza (3.46):

$$V_{\phi}^{\circ}(\text{cryst}) = (M/d)(\text{cryst}). \quad (3.46)$$

Pri čemu je $d(\text{cryst})$ gustina kristala rastvorka.

Vrednosti hidratacionog boja neelektrolita mogu se izračunati na osnovu V_{ϕ}° i relativne viskoznosti po jednačini (3.47):

$$h_n = \frac{V_e^{\circ} - V_{\phi}^{\circ}}{V_{2,m}}, \quad (3.47)$$

gde je V_e° efektivna zapremina pri beskonačnom razblaženju dobijena linearnom ekstrapolacijom.

Efektivna zapremina (V_e) je izračunata primenom *Breslau-Miller*-ove jednačine (3.48) [153]:

$$V_e = \frac{\left\{ -2,5c^2 + \left[(2,5c)^2 - 4(10,05c^2)(1 - \eta/\eta_0) \right]^{1/2} \right\}}{2(10,05c^2)}. \quad (3.48)$$

Ova jednačina izvedena je iz *Thomas*-ove jednačine (3.49) [154]:

$$\frac{\eta}{\eta_0} = 1 + 2,5V_e c + 10,05V_e^2 c^2. \quad (3.49)$$

Takođe, hidracioni broj može da se izračuna iz vrednosti dobijenih za B koeficijent viskoznosti i parcijalne molarne zapremine rastvorkau vodi pri beskonačnom razblaženju, (\bar{V}_1°). B koeficijent viskoznosti se može podeliti na dva pojma [155]:

$$B = B_{\text{size}} + B_{\text{structure}}. \quad (3.50)$$

Prethodni izraz B_{size} odgovara efektu veličine rastvorene supstance na viskoznost kroz *Einstein*-ov efekat isključenja:

$$B_{\text{size}} = 2,5\bar{V}_1^{\circ}. \quad (3.51)$$

Izračunavanjem $B_{\text{structure}}$, hidracioni broj može da se izračuna na sledeći način [155]:

$$h_n = \frac{B_{\text{structure}}}{2,5V_{2,m}}. \quad (3.52)$$

Hidracioni broj može da se izračuna i teorijski, iz računarskih simulacija, primenom dobijenih RDF-ova, pomoću jednačine (3.53):

$$h_n = 4\pi\rho \int_0^{r_{\min}} r^2 g(r) dr, \quad (3.53)$$

gde $g(r)$ predstavlja RDF, ρ je gustina a r_{\min} je prvi minimum RDF-a.

Određivanje konstanti asocijacija slabih elektrolita. U cilju razumevanja jon-jon i jon-rastvarač interakcija u nekom binarnom sistemu, neophodno je odrediti parametre pri beskonačnom razblaženju. Pri beskonačnom razblaženju jon-jon interakcije su zanemarljive. Međutim, kako su ta merenja često veoma komplikovana i limitirana preciznošću same aparature najčešće se radi ekstrapolacija fizičko-hemijskih svojstava pri beskonačnom razblaženju. Veličine koje se dobijaju ekstrapolacijom na beskonačno razblaženje su karakteristične za određeni jon i rastvarač na određenoj temperaturi i imaju aditivna svojstva. Ekstrapolisane vrednosti na beskonačno razblaženje kao što je molarna provodljivost pri beskonačnom razblaženju, (λ°), omogućava izračunavanje konstanti asocijacije soli u nekom rastvaraču, što ukazuje prvenstveno na njene transportne osobine.

Jedan od najčešće primenjivanih modela za određivanje konstanti asocijacija slabih elektrolita jeste lcCM model (eng. *Low-concentration chemical model*) razvijen od strane *Barthel*-a i saradnika [156].

Prilikom izračunavanja ovog modela koristi se sistem jednačina:

$$\frac{\lambda}{\alpha} = \lambda^\circ - S\sqrt{\alpha c} + E\alpha c \ln(\alpha c) + J_1\alpha c - J_2(\alpha c)^{3/2}, \quad (3.54)$$

$$K_A = \frac{1-\alpha}{\alpha^2 c (y'_\pm)^2}, \quad (3.55)$$

$$y'_\pm = \exp\left(-\frac{\kappa_D q}{1+\kappa_D R}\right), \quad (3.56)$$

$$\kappa_D^2 = 16\pi N_A q \alpha c, \quad (3.57)$$

$$q = \frac{e^2}{8\pi\epsilon_0\epsilon k_B T}, \quad (3.58)$$

$$K_A = 4\pi N_A \int_a^R r^2 \exp\left[\frac{2q}{r} - \frac{W_{\pm}^*}{k_B T}\right] dr, \quad (3.59)$$

gde je λ° molarna provodljivost pri beskonačnom razblaženju, $(1-a)$ je udeo suprotno naelektrisanih jona koji čine jonski par i K_A je konstanta asocijacije (pri beskonačnom razblaženju). Koeficijenti aktiviteta slobodnih katjona, (y'_+) , i anjona, (y'_-) , su definisani kao, $(y'_{\pm})^2 = y'_+ y'_-$; $-\kappa_D$ je *Debye*-ov parametar, e je naelektrisanje protona, ϵ je relativna permitivnost rastvarača, ϵ_0 je permitivnost vakuuma, T je temperatura u Kelvinima, k_B i N_A su *Boltzmann*-ova i *Avogadro*-va konstanta. Iccm model računa za dva suprotno naelektrisana jona, (r) , koja se nalaze u opsegu $a \leq r \leq R$, gde je a minimalno rastojanje između katjona i anjona i R predstavlja njihovu udaljenost između koje se slobodno kreću u rastvoru. Koeficijenti S i E su definisani na osnovu podataka za gustinu, d_s , viskoznosti, η , i relativne permitivnosti, ϵ , čistog rastvarača. Koeficijenti J_1 i J_2 su funkcije parametra R .

Radijusi katjona i anjona uzeti su iz literature [157,158]. Na osnovu istraživanja rastvora elektrolita u različitim rastvaračima, proračun za dobijanje konstante asocijacije je zasnovan na relaciji:

$$R_{ij} = a_+ + a_- + n \cdot s, \quad (3.60)$$

gde je s dužina orijentisanog molekula vode (koji se nalazi između katjona i anjona) preuzeta iz literature i n je konstanta. Odabrana je konstantna vrednost za $n=1$ prilikom analiziranja podataka dobijenih ovim istraživanjem.

Termodinamika rastvaranja. Eksperimentalno dobijeni podaci rastvorljivosti mogu da se iskoriste radi određivanja parametara termodinamike rastvaranja upotrebom modifikovane *van't Hoff*-ove jednačine [159,160]. Iz proračuna dobijene su vrednosti za sledeće termodinamičke veličine:

- Standardna entalpija rastvaranja, $(\Delta_{sol}H^\circ)$;
- entropija, $(\Delta_{sol}S^\circ)$;

- promena *Gibbs*-ove energije, ($\Delta_{\text{sol}}G^\circ$).

Modifikovana *van't Hoff*-ova jednačina pokazuje odnos između temperature i rastvorljivosti, a $\Delta_{\text{sol}}H^\circ$ se može izračunati na osnovu sledeće jednačine:

$$\left(\frac{\partial \ln x_1}{\partial (1/T - 1/T_{\text{hm}})} \right)_p = -\frac{\Delta_{\text{sol}}H^\circ}{R}, \quad (3.61)$$

gde je: T - absolutna temperatura u Kelvinima, R - univerzalna gasna konstanta koja iznosi 8,314 J/K·mol; x_1 – molski udeo supstance. T_{hm} je srednja harmonijska temperatura koja se izračunava pomoću jednačine:

$$T_{\text{hm}} = n / \sum_{j=1}^n \frac{1}{T_j}, \quad (3.62)$$

gde n predstavlja broj temperaturnih tačaka, a T_j je eksperimentalno dobijena temperatura. $\Delta_{\text{sol}}H^\circ$ predstavlja promenu standardne molarne entalpije rastvaranja supstance koja se rastvara u vodi, i ona je dobijena iz vrednosti nagiba nakon linearnog fitovanja zavisnosti $\ln x_1$ od $(1/T - 1/T_{\text{hm}})$. $\Delta_{\text{sol}}G^\circ$ se može izračunati uz pomoć jednačine (3.63), dok se $\Delta_{\text{sol}}S^\circ$ može izračunati koristeći jednačinu (3.64):

$$\Delta_{\text{sol}}G^\circ = -RT_{\text{hm}} \text{ odsečak}, \quad (3.63)$$

$$\Delta_{\text{sol}}S^\circ = \frac{\Delta_{\text{sol}}H^\circ - \Delta_{\text{sol}}G^\circ}{T_{\text{hm}}}. \quad (3.64)$$

U jednačini (3.63) *intercept* predstavlja odsečak dobijen fitovanjem grafika $\ln x_1$ u zavisnosti od $(1/T - 1/T_{\text{hm}})$.

Da bi se odredio glavni uticaj i doprinos $\Delta_{\text{sol}}G^\circ$ u procesu rastvaranja, relativni doprinos entalpije, (ζ_H), i relativni doprinos entropije, (ζ_{TS}), su izračunati korišćenjem navedenih jednačina [159,160]:

$$\zeta_H = \frac{|\Delta_{\text{sol}}H^\circ|}{|\Delta_{\text{sol}}H^\circ| + |T_{\text{hm}} \Delta_{\text{sol}}S^\circ|}, \quad (3.65)$$

$$\zeta_{TS} = \frac{|T_{\text{hm}} \Delta_{\text{sol}} S^{\circ}|}{|\Delta_{\text{sol}} H^{\circ}| + |T_{\text{hm}} \Delta_{\text{sol}} S^{\circ}|}. \quad (3.66)$$

3.11. Računarske simulacije

Računarska hemija predstavlja naučnu disciplinu u kojoj se hemijski problemi rešavaju kompjuterskim metodama. Porast interesovanja za računarske simulacije ostvarena je zahvaljujući brzom napretku kompjuterskih performansi poslednje četiri dekade. Simulacijama se predviđa model kome se određuju merljiva i nemerljiva svojstva, a zatim se dobijeni podaci upoređuju sa eksperimentalnim rezultatima. Na osnovu ovog poređenja se potvrđuje ili poništava model koji je korišten. Model može da se koristi za proučavanje odnosa između parametara modela i pretpostavki ili da se predvidi nepoznata i nemerljiva količina. Pošto je u hemijskoj nauci od interesa određivanje svojstva supstanci ili molekularnih sistema, osnovni izazovi računarske hemije jesu da opiše ili predvidi:

- strukturu i stabilnost molekuskog sistema,
- slobodnu energiju različitih stanja molekuskih sistema,
- reakcione procese unutar molekuskog sistema u smislu interakcija na atomskom nivou.

Predviđanje osobina pomoću računarskih simulacija složenih molekularnih sistema svakako nije dovoljno precizno da bi se eksperimentalno merenje zanemarilo. Ako merenje nije previše teško uvek treba dati prednost izvođenju eksperimenta u odnosu na predviđanje osobina računarskom simulacijom. Korist računarskih simulacija ne leži u mogućnosti zamene eksperimentalnih merenja, već u svojoj sposobnosti da dopune eksperiment. Veličine koje su nepristupačne za izvođenje eksperimenta mogu da se prate računarskim simulacijama. Računarske simulacije su značajne iz više razloga:

- omogućavaju razumevanje odnosa između mikroskopskih osobina i makroskopskog ponašanja. U računarskim simulacijama mikroskopski molekulski model

i polje sila (eng. *force field*) mogu da se menjaju i procene posledice za makroskopsko ponašanje molekula.

- Tokom poslednjih nekoliko godina računarske simulacije su postale standardni alat u određivanju prostorne molekulske strukture na bazi X zraka ili 2D-NMR podataka.
- Pod povoljnim uslovima računarske simulacije mogu da se koriste za dobijanje kvantitativne procene jačine interakcija ili afiniteta između liganda i receptora. Ovo je veoma značajno kada je sinteza liganda ili merenje jačine interakcija veoma skupo ili vremenski dugotrajno.
- Mogućnost sprovođenja simulacija pod ekstremnim uslovima temperature i pritiska.
- Simulacije mogu da obezbede podatke koji se odnose na pojedinačno kretanje čestica u funkciji vremena.

3.11.1. Teorija funkcionala gustine

Teorija funkcionalne gustine (eng. *Density functional theory*, DFT) naglašava gustinu naelektrisanja kao bitnu fizičku karakteristiku sistema, na osnovu koje se dalje mogu izračunati različita fizičko-hemijska svojstva. Proračuni zasnovani na DFT kalkulacijama vrlo uspešno opisuju strukturne i elektronske osobine velikog broja materijala. Pošto su ovi proračuni relativno jednostavni i računarski lako obradivi DFT je postala nezamenljiva pri opisivanju i predviđanju molekularnih i kondenzovanih sistema.

Princip DFT proračuna se zasniva na funkciji gustine elektrona koja se, u principu, naziva gustinom elektrona i označava se sa $\rho(x,y,z)$. Osnovna prednost ovog pristupa ogleda se u tome što je fundament DFT pristupa, gustina elektrona, eksperimentalno merljiv (difrakcijom X-zraka ili difrakcijom elektrona). Sledeća povoljnost koncepta gustine elektrona reflektuje se u matematičkoj prilagodljivosti. Naime, gustina elektrona je funkcija samo pozicije, što efektivno znači da je funkcija samo tri promenljive, (x , y i z ose), tj. koordinate, za razliku od talasne funkcije molekula; kod koje atom sa n elektrona je funkcija $4n$ promenljivih. Tako se dolazi do situacije da je talasna funkcija molekula sa svega 10 elektrona funkcija čak 40 promenljivih, dok je u DFT pristupu gustina elektrona funkcija svega tri promenljive, bez obzira na dimenzije i broj elektrona u

molekulu. Dakle, DFT pristup ima značajnu prednost nad talasnom funkcijom po tri vrlo bitna parametra: merljiva je, nije apstraktna i matematički tretman je daleko jednostavniji i jasniji.

Prema *Born*-ovoj intepretaciji, kvadrat jednoelektronske talasne funkcije, ψ , u bilo kojoj tački prostora daje gustinu verovatnoće nalaženja elektrona, dok $|\psi|^2 dx dy dz$ daje verovatnoću (konačan broj) u bilo kom trenutku vremena za pronalazak elektrona u beskonačno maloj zapremini $dx dy dz$ oko posmatrane tačke. U slučaju višeelektronske talasne funkcije Ψ , veza između talasne funkcije i gustine elektrona je prilično komplikovana.

Trenutni pristup DFT metoda, tzv. *Kohn–Sham*-ov (KS) pristup, koji se koristi za DFT proračune u oblasti računarske hemije, se zasniva na dve teoreme koje su 1964. godine objavili *Hohenberg* i *Kohn*:

„Sva svojstva molekula u osnovnom elektronskom stanju su određena osnovnim stanjem funkcije elektronske gustine $\rho_0(x,y,z)$.

Bilo koja probna funkcija elektronske gustine će dati energiju sistema koja je viša ili jednaka energiji osnovnog sistema. „

Prva teorema kaže da, ukoliko se na neki način dođe do $\rho_0(x,y,z)$ onda se može odrediti bilo koje svojstvo molekula u osnovnom stanju. Tako se, na primer, može doći do ukupne energije molekula u osnovnom stanju, (E_0), što se matematički može predstaviti na sledeći način:

$$\rho_0(x, y, z) \rightarrow E_0. \quad (3.67)$$

Tako je, prema prvoj teoremi *Hohenberg*-a i *Kohn*-a, neko svojstvo molekula u osnovnom stanju funkcional funkcije gustine elektrona u osnovnom stanju, tj. konkretno za energiju važi:

$$E_0 = F(\rho_0) = E(\rho_0). \quad (3.68)$$

Ova teorema kaže da funkcional F postoji, ali ne kaže kako i da se dođe do njega što predstavlja glavni problem u DFT pristupu. Značaj ove teoreme se ogleda u činjenici da daje fundamentalan način za računanje svojstava molekula iz gustine elektrona.

Druga teorema *Hohenberg*-a i *Kohn*-a je DFT analog teoreme na koju se oslanja varijacioni račun kod talasne funkcije. Prema toj teoremi, bilo koja probna funkcija elektronske gustine će dati

energiju višu ili jednaku energiji osnovnog stanja. Obzirom da se u pojednostavljenoj slici posmatra kretanje elektrona unutar potencijala jezgara, označen sa $v(r)$, može se zapisati sledeće:

$$Ev = Ev(\rho_0), \quad (3.69)$$

što konkretno označava da je energija Ev funkcional elektronske gustine osnovnog stanja. Na osnovu ove teoreme se može od beskonačno velikog broja mogućih gustina, odabrati ona koja daje najnižu vrednost energije, pošto je ona upravo gustina naelektrisanja osnovnog stanja koja odgovara datom spoljašnjem potencijalu.

3.11.2. Molekulska dinamika

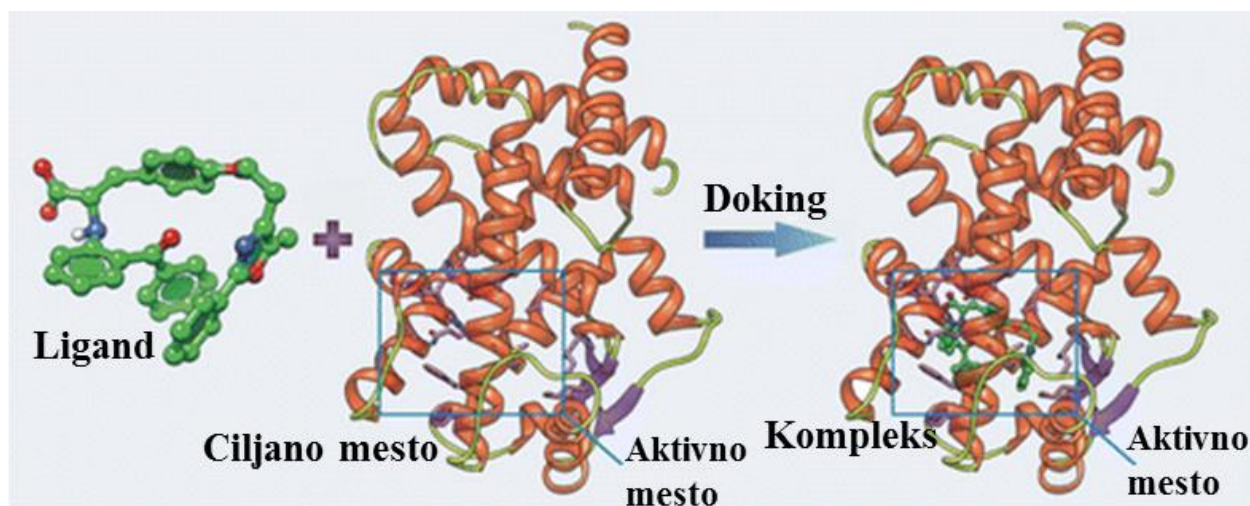
Molekulska dinamika (MD) predstavlja oblik računarskih simulacija gde atomi i molekuli međusobno intereaguju u određenom vremenskom intervalu, pokoravajući se zadatim fizičko-hemijskim parametrima. Molekulsko-mehanički sistem model atome posmatra kao sfere, a veze kao opruge. Matematičko-fizički model deformacije opruge se može upotrebiti da se opiše sposobnost veza da se izdužuju, menjaju i dovode do distorzije uglova. Nevezani atomi (udaljeni više od dve veze) interaguju *van der Waals*-ovim privlačenjem, sternim odbijanjem i elektrostatičkim privlačenjem/odbijanjem. Ove osobine je najlakše opisati kada se atomi posmatraju kao sfere karakterističnih poluprečnika. Svi ovi parametri su uključeni teorijsku funkciju koja se naziva polje sila. Polje sila se koristi kako bi se odredilo kako su delovi molekula međusobno povezani i kako interaguju, odnosno kako na svaki atom ili grupu atoma utiče okruženje i kako ove sile doprinose strukturi molekula.

Svi ovi parametri su računarski objedinjeni u tzv. ansamblima koji se razlikuju po fizičkim principima na osnovu kojih se posmatraju čestice i prostor. Najpopularniji su mikrokanonski (NVE), kanonski (NVT) i izotermsko-izobarski (NPT) ansambl. U mikrokanonskom ansamblu ne dolazi do promene broja čestica, zapremine ni energije sistema. On podrazumeva adijabatsku promenu, bez razmene toplote, pri čemu dinamička putanja molekula odgovara promeni potencijalne i kinetičke energije dok je ukupna energija sistema konstantna. U kanonskom ansamblu konstantne su količina supstance, zapremina i temperatura. Kod NVT energija endotermnog i egzotermnog procesa se razmenju termostatom i koristi se niz termostatičkih metoda (*Noose-Hover* termostat) kako bi se aproksimirali realniji rezultati. Ansambl koji najviše

odgovara laboratorijskim uslovima je NPT, pri kom se količina supstance, pritisak i temperatura drže konstantnim i kontrolišu različitim termostatičkim i barostatičkim metodama.

3.11.3. Računarska doking metoda

Molekulski doking, kao računarska metoda, zauzima posebno mestu u dizajnu i otkriću lekova kao i u studijama koje se bave mehanizmom delovanja farmakološki aktivnih molekula i ima za cilj da predvidi pogodnu geometriju i afinitet vezivanja ispitivanog molekula (liganda) za aktivno mesto ciljnog makromolekula (receptora) primenom „*scoring*” funkcija, kao i njihove međusobne interakcije koje dovode do najmanje slobodne energije ispitivanog sistema. Na slici 3.14 je šematski prikazan princip molekuskog dokinga.



Slika 3.14. Prikaz molekuskog dokinga.

(Izvor: <https://www.futuremedicine.com/doi/10.4155/ebo.13.181>)

Deskriptori koji se koriste za definsanje afiniteta vezivanja liganda za receptor su broj, jačina i dužina specifičnih interakcija (tu spadaju vodonične veze, hidrofobne, elektrostatičke i *van der Waals*-ove interakcije), građenje jonskih parova, raspoloživa kontaktna površina i fleksibilnost liganda. Fleksibilna struktura liganda podrazumeva da ispitivani molekuli imaju translatorne i rotacione stepene slobode koje se odnose na molekul u celini i unutrašnje stepene slobode koji se odnose na slobodnu rotaciju hemijskih veza.

Prva faza u molekuskom dokingu je definisanje strukture receptora koji se ispituje. Najčešće se struktura receptora određuje korišćenjem eksperimentalnih tehnika kao što su kristalografija

pomoću X-zraka ili NMR. Za enzime čija struktura nije dostupna koriste se tehnike za predviđanje njihovih struktura, kao što je na primer homologno modelovanje (eng. *homology modeling*).

Odgovarajući programi postavljaju računarski generisanu strukturu ispitivanog molekula unutar dela enzima koji je prethodno definisan (aktivno mesto enzima) u različite pozicije, konformacije ili orijentacije koje se nazivaju poze. Da bi se indentifikovala energetska najpovoljnija poza primenjuje se iterativni računarski proces, predviđanje poza gde se svaka poza procenjuje (*scored*) na osnovu njene komplementarnosti sa aktivnim mestom enzima na koju utiču geometrijski parametri liganda i receptora i njihove elektrostatičke interakcije. Poređenje dobijenih *score* vrednosti za ispitivane molekule služi da se utvrdi jačina veze kojom se ti molekuli vezuju za aktivno mesto enzima. Na ovaj način se u odgovarajućem setu molekula može odrediti molekul sa najvećim afinitetom vezivanja, odnosno najvećom inhibitornom aktivnošću.

Računarska pretraga odgovarajućeg načina vezivanja molekula se uobičajno vrši definisanim brojem ponavljanja i zadržavanjem onih poza koje imaju najbolje energetske karakteristike. Ovo uključuje pronalaženje pogodne orijentacije i konformacije ispitivanog molekula. Identifikacija i rangiranje pogodnih poza molekula se vrši na osnovu elektrostatičkih i *van der Waals*-ovih interakcija („*dock score*”) i na osnovu najmanje energije ligand-receptor veze („*affinity score*”) primenom odgovarajućih računarskih algoritama. Izračunavanje *affinity score* vrednosti se bazira na analizi fizičko-hemijskih parametara sistema čija se promena slobodne energije nastale usled vezivanja liganda za ciljno mesto može razložiti na sumu individualnih energetskih komponenti.

$$\Delta G_{\text{bind}} = \Delta G_{\text{int}} + \Delta G_{\text{solv}} + \Delta G_{\text{conf}} + \Delta G_{\text{motion}}, \quad (3.70)$$

gde je ΔG_{bind} ukupna promena slobodne energije sistema usled vezivanja liganda za receptor, ΔG_{int} promena slobodne energije usled specifične ligand-receptor interakcije, ΔG_{solv} promena slobodne energije usled interakcije liganda i receptora sa rastvaračem, ΔG_{conf} promena slobodne energije usled konformacionih promena liganda i receptora i ΔG_{motion} promena slobodne energije usled kretanja liganda i receptora. Jednačina (3.70) se može u potpunosti primeniti za sisteme gde su navedene energije međusobno nezavisne. Međutim, za veliki broj sistema energetske promene su međusobno zavisne i imaju međusobno pozitivne i negativne doprinose što ima uticaja na afinitet vezivanja. Takođe, u velikom broju biohemijskih procesa nema aditivnosti između energetskih doprinosa. I pored navedenih nedostataka, koji se mogu prevazići uvođenjem određenih

aproksimacija, od velikog značaja je činjenica da su *affinity score* vrednosti primenljive za procenu afiniteta vezivanja velikog broja liganda za receptor.

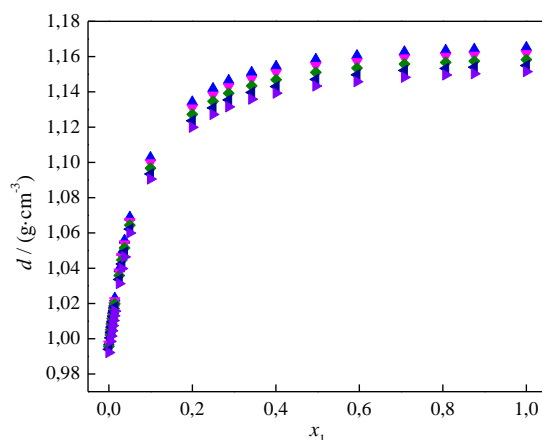
4. REZULTATI I DISKUSIJA

4.1. Hidratacija hidrofilnih bioloških jedinjenja

D-pantenol kao alkoholni derivat pantotenske kiseline sa tri hidroksilne grupe u svojoj strukturi predstavlja izrazito hidrofilno jedinjenje sa biološkom ulogom u povećanju proliferacije fibroblasta i ubrzanju reepitelizacije tokom zarastanja rana. Takođe, deluje kao lokalni protektor, hidratant i pokazuje antiinflamatorna svojstva. Poznato je da je uloga u organizmu povezana sa njegovom sposobnošću uvlačenja vode kroz ćelijsku membranu ali njegov tačan mehanizam delovanja još uvek nije potpuno razjašnjen [30]. Da bi se razumeo mehanizam delovanja, potrebno je ispitati interakcije između D-pantenola i vode, volumetrijskim i viskozimetrijskim merenjima, kao i računarskim simulacijama.

4.1.1. Rezultati volumetrijskih merenja

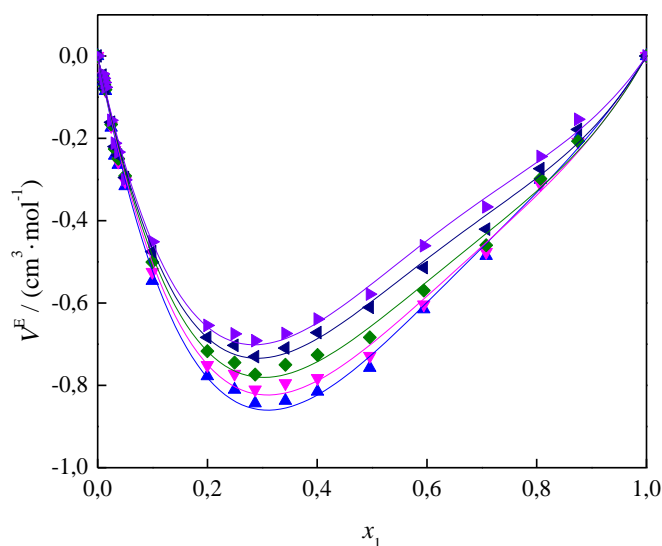
Gustine čistog D-pantenola i vode, kao i smeša {D-pantenol + H₂O} merene su u celom opsegu molskog udela na odabranim temperaturama od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$. Rezultati su predstavljeni u tabeli P2 u Prilogu, a promena gustine sa molskim udelom D-pantenola je grafički prikazana na slici 4.1.



Slika 4.1. Promena gustine smeša {D-pantenol + H₂O} sa molskim udelom D-pantenola, (x_1), na različitim temperaturama: $T = (\blacktriangle)$, 293,15; (\blacktriangledown), 298,15; (\blacklozenge), 303,15; (\blacktriangleleft), 308,15 i (\blacktriangleright) 313,15 K.

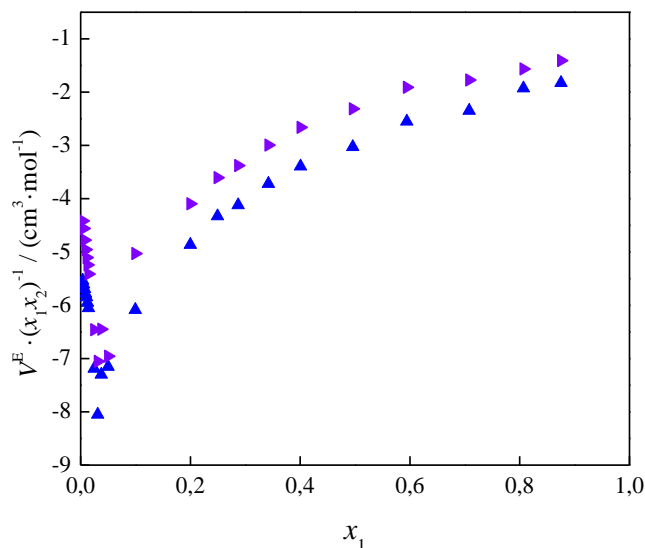
Sve dobijene gustine za ispitivane smeše opadaju sa porastom temperature. Sa slike 4.1, se uočava da vrednosti gustine smeša naglo rastu sve do molskog udela D-pantenola, $x_1=0,15$, a potom nakon $x_1=0,4$, gustina je skoro konstantna i slična vrednosti gustine za čist D-pantenol. Ovaj trend ukazuje na različitu strukturnu organizaciju molekula u binarnim smešama pri nižim i višim molskim udelima D-pantenola.

Potom su iz vrednosti eksperimentalnih gustina izračunate vrednosti dodatnih molarnih zapremina, (V^E), pomoću jednačine (3.17), date u tabeli P2, i grafički prikazane na slici 4.2. Sa slike 4.2 se vidi da su V^E vrednosti negativne i rastu sa temperaturom, u celom opsegu molskog udela D-pantenola. Dobijene vrednosti dodatnih molarnih zapremina se fitovane upotrebom *Redlich-Kister*-ove jednačine trećeg reda (3.18), a parametri fita su dati u tabeli P3. Prikazane krive su asimetrične i minimum se javlja pri $x_1=0,3$. Negativne vrednosti dodatnih molarnih zapremina ukazuju da su interakcije između molekula D-pantenola i vode jače nakon njihovog mešanja od interakcija unutar čistih komponenti, usled efekta boljeg pakovanja koji potiče iz razlika u veličini i obliku molekula D-pantenola i vode. Takođe, asimetrija krive je tipična za smeše mono- i polialkohola i vode [161-164].



Slika 4.2. Promena dodatnih molarnih zapremina smeša {D-pantenol + H₂O} sa molskim udelom D-pantenola, (x_1), na različitim temperaturama: $T = (\blacktriangle)$, 293,15; (\blacktriangledown), 298,15; (\blacklozenge), 303,15; (\blacktriangleleft), 308,15 i (\blacktriangleright), 313,15 K.

Da bi se uočile interakcije koje se javljaju pri niskim koncentracijama D-pantenola, izračunate su eksperimentalno redukovane vrednosti *Redlich-Kister*-ove dodatne molarne zapremine, ($V^E/(x_1x_2)$), [165] i grafički predstavljene na slici 4.3 u funkciji molskog udela D-pantenola. Eksperimentalno redukovane vrednosti *Redlich-Kister*-ove funkcije $Y^E/(x_1x_2)$, gde Y^E označava dodatne molarne osobine, daju mnogo bolje objašnjenje o poreklu neidealnosti.



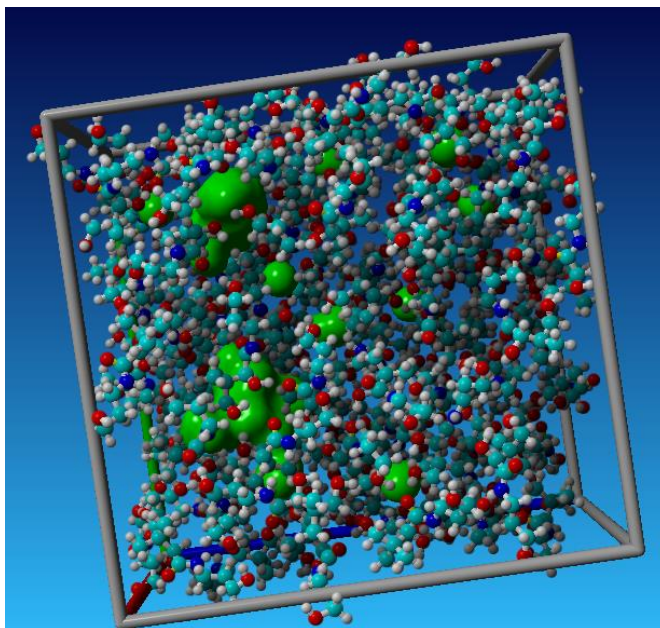
Slika 4.3. Redukovane dodatne molarne zapremine smeša {D-pantenol + H₂O} sa molskim udelom D-pantenola, (x_1), na temperaturama: $T = (\blacktriangle)$, 293,15 i (\blacktriangleright) , 313,15 K.

Kao što se može videti sa slike 4.3, krive su veoma asimetrične i minimum se javlja pri $x_1 = 0,025$. Pojava minimuma na nižim koncentracijama rastvorene supstance karakteristična je za smeše vode i alkohola, a posebno je izražena u smešama vode sa molekulima koji sadrže dve ili više hidroksilnih grupa, što odgovara strukturi D-pantenola (videti sliku 2.12) [161]. Pretpostavlja se da se minimum javlja na nižim koncentracijama usled formiranja H-veza između komponenti sistema, kao i postojanja šupljina između polihidroksilnih molekula u koje se molekuli vode mogu ugraditi nakon mešanja [161].

Imajući to u vidu, urađene su računarske simulacije čistog D-pantenola, da bi se bolje razumela strukturna organizacija čistog D-pantenola i smeša {D-pantenol + H₂O}. Prvo je 100 molekula D-pantenola stavljeno u kubnu kutiju sa periodičnim granicama i izvršena je simulacija molekulske dinamike. Na slici 4.4 prikazana je simulaciona kutija sa čistim D-pantenolom na kraju simulacije. Iz MD simulacija, gustina čistog pantenola iznosila je $d = 1,17481 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ na $T = 298,15 \text{ K}$, što je

u saglasnosti sa eksperimentalnim rezultatima $d = 1,16168 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ (relativna standardna greška 1,1 %). Sa slike 4.4 uočava se postojanje šupljina u strukturi D-pantenola, što bi moglo biti razlog za značajne promene prividnih i parcijalnih molarnih zapremina pri nižim molskim udelima D-pantenola u smeši sa vodom.

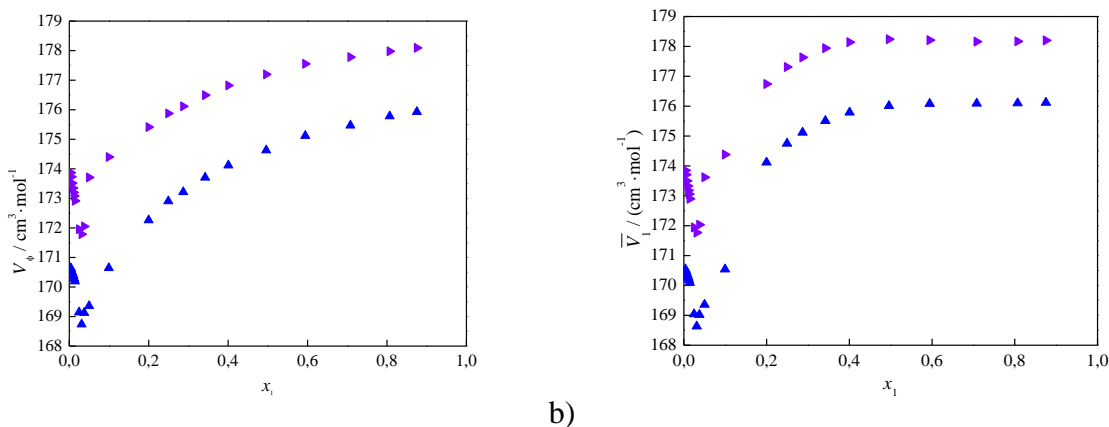
Zbog toga je izračunata *van der Waals*-ove slobodna zapremina u čistom D-pantenolu na osnovu rezultata MD simulacija [166] koja zauzima 2,5 % ukupne zapremine D-pantenola. Izračunata *van der Waals*-ova slobodna zapremina za D-pantenol iznosi $3,1738 \text{ cm}^3$ po 1 molu D-pantenola. Iz literaturne vrednosti *van der Waals*-ove zapremine za molekule vode, $2,126 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^3$ [167], dobijeno je da se u 1 mol D-pantenola teoretski može ugraditi 0,25 mola molekula vode. To ukazuje da je pojava značajne promene zapreminskih osobina smeša pri nižim molskim udelima D-pantenola posledica ugradnje molekula vode u *van der Waals*-ovu slobodnu zapreminu D-pantenola.



Slika 4.4. Prikaz simulacione kutije čistog D-pantenola sa šupljinama (zelena oblast) na kraju simulacije.

Dalje su izračunate prividne molarne zapremine D-pantenola, (V_ϕ), upotrebom jednačine (3.21), parcijalne molarne zapremine D-pantenola, (\bar{V}_1), (jednačina (3.19)) i parcijalne molarne zapremina vode, (\bar{V}_2), (jednačina 3.19) u celom opsegu molskih udela D-pantenola u smeši sa

vodom. Dobljene vrednosti date su u tabeli P2 u Prilogu, a vrednosti V_ϕ i \bar{V}_1 su grafički prikazane na slici 4.5.



a)

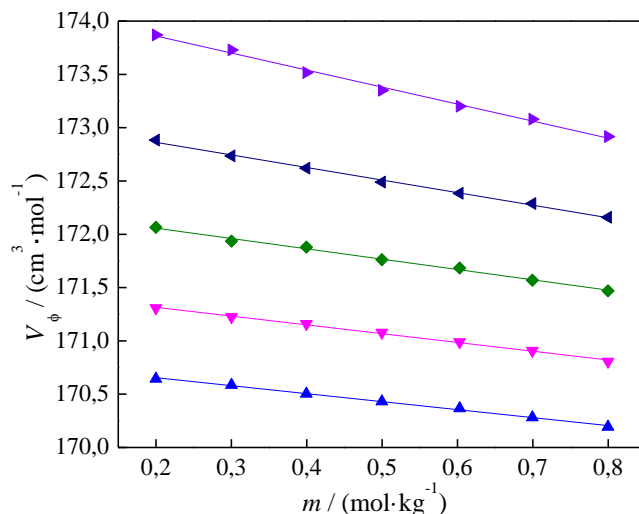
b)

Slika 4.5. Promena a) prividnih molarnih zapremina i b) parcijalnih molarnih zapremina D-pantenola u smešama {D-pantenol + H₂O} sa molskim udelom D-pantenola, (x_1), na temperaturama: $T = (\blacktriangle)$, 293,15 i (\blacktriangleright) 313,15 K.

Sa slike 4.5 se vidi da vrednosti i V_ϕ i \bar{V}_1 prvo opadaju sa povećanjem molskog udela D-pantenola, i da se minimum javlja pri $x_1=0,031$, što je karakteristično za alkohole [161]. Prema Frank-u i Evans-u [168], orijentacija molekula rastvorka polihidroksilne strukture oko vode formira takozvani „ledeni breg“ koji rezultira stabilizacijom strukture vode. Može se pretpostaviti da dodavanjem molekula D-pantenola u vodeni rastvor, molekuli D-pantenola uspostavljaju H-veze između svojih OH grupa i vode. Moguće formiranje intermolekulskih H-veza može doprineti pojavi minimalne vrednosti. Daljim dodavanjem molekula D-pantenola povećavaju se vrednosti V_ϕ i \bar{V}_1 , zbog nedostatka vode za hidrataciju molekula D-pantenola.

Da bi se eliminisao uticaj interakcija između molekula D-pantenola i da bi se dobio bolji uvid u interakcije između D-pantenola i vode prisutnih u rastvoru, posebna pažnja je posvećena smešama pri nižim molskim udelima D-pantenola. U smešama gde je molski udeo D-pantenola manji od $x_1=0,014$ ($m = 0,7996 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$), vrednosti prividnih molarnih zapremina linearno zavise od molalитета, kao što je prikazano na slici 4.6. V_ϕ vrednosti u zavisnosti od molalитета su fitovane prema Masson-ovoj jednačini modifikovanoj za neelektrolite (3.24), pri čemu su dobijene vrednosti prividnih molarnih zapremina D-pantenola pri beskonačnom razblaženju, (V_ϕ^0), i S_v

koeficijenti. V_{ϕ}^0 i S_v su tabelarno prikazani u tabeli 4.1 zajedno sa standradnom devijacijom fita, (σ), i faktorom korelacije, (R^2).



Slika 4.6. Promena prividnih molarnih zapremina D-pantenola u smešama {D-pantenol + H₂O} sa molalitetom D-pantenola, (x_1), na različitim temperaturama: $T = (\blacktriangle)$, 293,15; (\blacktriangledown), 298,15; (\blacklozenge), 303,15; (\blacktriangleleft), 308,15 i (\blacktriangleright), 313,15 K.

Tabela 4.1. Parametri fita dobijeni primenom jednačine (3.24) za smeše {D-pantenol + H₂O} u temperaturnom opsegu od $T = (293,15$ do $313,15)$ K sa devijacijom fita, (σ), i koeficijentom korelacije, (R^2).

$T / (\text{K})$	$V_{\phi}^0 / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$	$S_v / (\text{cm}^3 \cdot \text{kg} \cdot \text{mol}^{-2})$	σ	R^2
293,15	170,80	-0,7496	0,009	0,9984
298,15	171,48	-0,8244	0,010	0,9986
303,15	172,25	-0,9696	0,016	0,9977
308,15	173,10	-1,1800	0,015	0,9985
313,15	174,18	-1,5983	0,026	0,9977

Iz tabele se vidi da se V_{ϕ}^0 vrednosti povećavaju sa povećanjem temperature. Povećanje V_{ϕ}^0 sa temperaturom može biti jer:

- (I) na višim temperaturama dolazi do dehidracije pantenola koja dovodi do pozitivne promene zapremine;
- (II) povećanje temperature čini interakcije između samih molekula D-pantenola relativno slabijim što dovodi do male negativne promene zapremine i
- (III) interakcije između samih molekula vode se smanjuju sa povećanjem temperature što dovodi do male negativne promene zapremine.

Preovlađivanje pozitivnih doprinosa iz (I) može prevazići mali negativni doprinos iz (II) i (III) što zbirno dovodi do neto pozitivne promene zapremine. Kako bi se potvrdile dobijene eksperimentalne vrednosti prividnih molarnih zapremina pri beskonačnom razblaženju, te vrednosti su takođe izračunate prema metodi doprinosa grupa, sa korekcijom za interakcije između OH-OH, i OH-CONH grupa [169]. Dobijena je vrednost od $V_{\phi}^{\circ} = 169,93 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ na $T = 298,15 \text{ K}$, što je u dobroj korelaciji sa eksperimentalnom vrednošću od $V_{\phi}^{\circ} = 171,48 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$.

Negativne vrednosti S_v sugerišu na slabe interakcije između samih molekula D-pantenola, što ukazuje na dobru hidrataciju D-pantenola sa molekulima vode u istraživanom opsegu koncentracija. Takođe, ove interakcije postaju slabije na višim temperaturama.

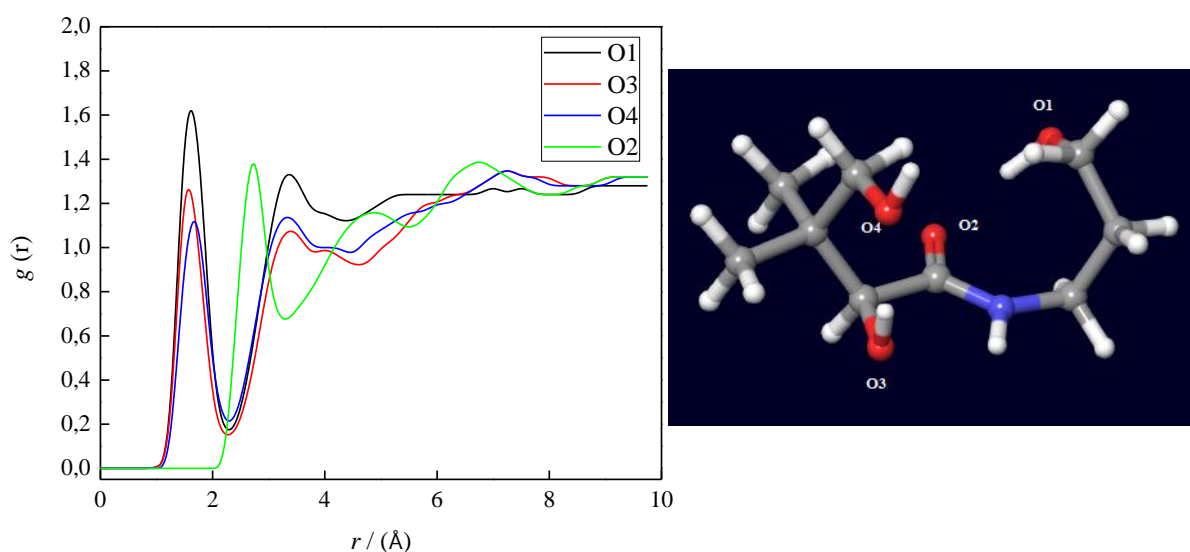
Vrednosti V_{ϕ}° su fitovane u funkciji temperature (slika P1) korišćenjem jednačine drugog reda (3.30). Vrednosti koeficijenata jednačine iznose $a_0 = 354,75 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$, $a_1 = 1,3715 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ i $a_2 = 0,0025 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2}$. Upotrebom dobijenih koeficijenata izračunata je prividna molarna ekspanzibilnost pri beskonačnom razblaženju, (E_{ϕ}°) (jednačina (3.31)). Vrednosti E_{ϕ}° su navedene u tabeli 4.2, odakle se vidi da su vrednosti pozitivne u celom temperaturnom opsegu, kao i da rastu sa temperaturom.

Tabela 4.2. Vrednosti prividnih molarnih ekspanzibilnosti pri beskonačnom razblaženju, (E_{ϕ}°), za smeše {D-pantenol + H₂O} u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$T / (\text{K})$	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15
$E_{\phi}^{\circ} / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1})$	0,1177	0,1431	0,1685	0,1939	0,2193

Korišćenjem *Hepler*-ove jednačine (3.32) izračunat je *Hepler*-ov koeficijent, koji se često primenjuje za određivanje *structure making/breaking* osobina jedinjenja. Dobijena je pozitivna vrednost koja iznosi $0,0051 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2}$ što ukazuje na *structure making* osobine D-pantenola.

Dalje, simulacije molekulske dinamike su urađene za smeše {D-pantenol + H₂O}, da bi se dobio dodatni uvid u prirodu interakcija između D-pantenola i vode. Broj molekula je podešen da odgovara eksperimentalnoj koncentraciji $0,2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Iz MD simulacija izračunata je radijalna funkcije raspodele (RDF) i rezultati za interakcije između odabranih atoma kiseonika iz D-pantenola i centra mase vode su prikazani na slici 4.7.



Slika 4.7. Funkcija radijalne raspodele centra mase vode oko odabranih atoma kiseonika iz D-pantenola sa numerisanim atomima u strukturi D-pantenola.

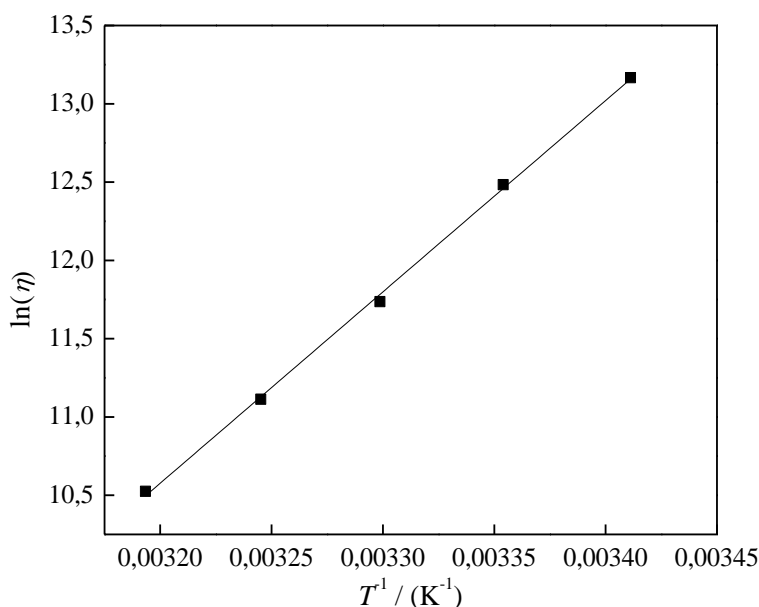
Kao što se može videti sa slike 4.7, voda je najbliža hidroksilnim grupama D-pantenola (udaljenost manja od $1,7 \text{ Å}$) što ukazuje da se ostvarila interakcija formiranjem vodonične veze. Ovi rezultati dokazuju da su –OH grupe najodgovornije za *structure making* osobine D-pantenola. Pri nižim koncentracijama D-pantenola, hidroksilne grupe su dostupne za interakciju sa vodom i formiraju hidratacionu sferu oko molekula D-pantenola. Sa druge strane, pri višim koncentracijama D-pantenola hidroksilne grupe međusobno reaguju i izazivaju formiranje šupljina, što rezultira manjim brojem dostupnih hidroksilnih grupa za interakciju sa vodom.

4.1.2. Rezultati viskozimetrijskih merenja

Viskoznosti čistog D-pantenola i smeša {D-pantenola + H₂O} merene su u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$ i u opsegu koncentracija od $m = (0,0100 \text{ do } 0,4997) \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$. Rezultati su predstavljeni u tabeli P4.

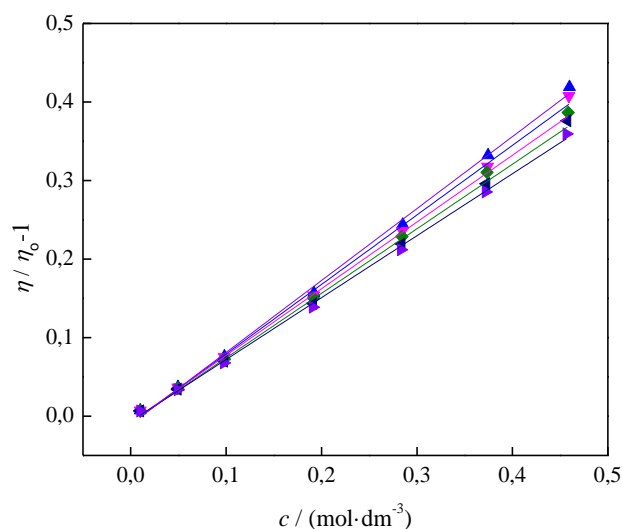
Variranjem brzine rotacije vretena izvršeno je ispitivanje da li se čist D-pantenol ponaša kao njutnovska ili nenjutnovska tečnost. Dobijena linearna zavisnost napona smicanja od brzine smicanja zajedno sa konstantnim vrednostima viskoznosti sa promenom vrednosti brzine smicanja (tabela P5 i slika P2) ukazuju da se D-pantenol ponaša kao njutnovska tečnost.

Energija aktivacije viskoznog toka za čist D-pantenol izračunata je iz nagiba *Arrhenius*-ove jednačine (3.8) prikazanoj na slici 4.8, i iznosi $E_a = 98,10 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.



Slika 4.8. *Arrhenius*-ov dijagram za D-pantenol.

Rezultati viskoznosti smeša {D-pantenol + H₂O} analizirani su primenom *Jones-Dole*-ove jednačine za neelektrolite (3.37). Na slici 4.9 je prikazana zavisnost relativne viskoznosti od koncentracije D-pantenola. Dobijene vrednosti za koeficijente B , koji predstavlja nagib prave, standardnu devijaciju, (σ), i regresioni koeficijent, (R^2), su dati u tabeli 4.3.



Slika 4.9. Zavisnost relativne viskoznosti $((\eta/\eta_0)-1)$ smeša {D-pantenol + H₂O} od koncentracije D-pantenola na različitim temperaturama: $T = (\blacktriangle)$, 293,15; (\blacktriangledown) , 298,15; (\blacklozenge) , 303,15; (\blacktriangleleft) , 308,15 i (\blacktriangleright) , 313,15 K.

Tabela 4.3. Parametri fita dobijeni primenom *Jones-Dole*-ove jednačine za viskoznost smeša {D-pantenol + H₂O} u temperaturnom opsegu od $T = (293,15$ do $313,15)$ K, sa devijacijom fita, (σ) , i koeficijentom korelacije, (R^2) .

$T / (\text{K})$	$B / (\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$	σ	R^2
293,15	0,916	0,0075	0,9990
298,15	0,885	0,0076	0,9989
303,15	0,849	0,0049	0,9995
308,15	0,822	0,0061	0,9992
313,15	0,789	0,0050	0,9994

Iz tabele 4.3 se vidi da B koeficijent ima pozitivne vrednosti, što ukazuje na *structure making* osobine D-pantenola. Dodatni kriterijum za opisivanje *structure making/breaking* osobina u sistemu je promena B koeficijenta sa temperaturom, odnosno dB/dT . Dobijena je negativna vrednost od $-6,36 \cdot 10^{-3} \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$, što ukazuje na *structure making* osobine D-pantenola [134] što je u skladu sa rezultatima dobijenim iz MD simulacija i volumetrijskih merenja.

Ekperimentalni podaci o viskoznosti su takođe analizirani na osnovu *Feakins*-ove teorije relativne viskoznosti u prelaznom stanju [150] na osnovu jednačina (3.39 i 3.40) u cilju dobijanja termodinamičkih parametara viskoznog toka (tabela 4.4).

Tabela 4.4. Vrednosti termodinamičkih parametara \bar{V}_1^0 , \bar{V}_2^0 , $\Delta\mu_1^{0\neq}$ i $\Delta\mu_2^{0\neq}$ smeša {D-pantenol + H₂O} u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

Parametri	$T / (\text{K})$				
	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15
$\bar{V}_1^0 / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$	171,12	171,83	172,67	173,61	174,87
$\bar{V}_2^0 / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$	18,05	18,07	18,09	18,13	18,16
$\Delta\mu_1^{0\neq} / (\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	153,65	151,7	148,88	147,06	144,37
$\Delta\mu_2^{0\neq} / (\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	9,29	9,16	9,04	8,93	8,83

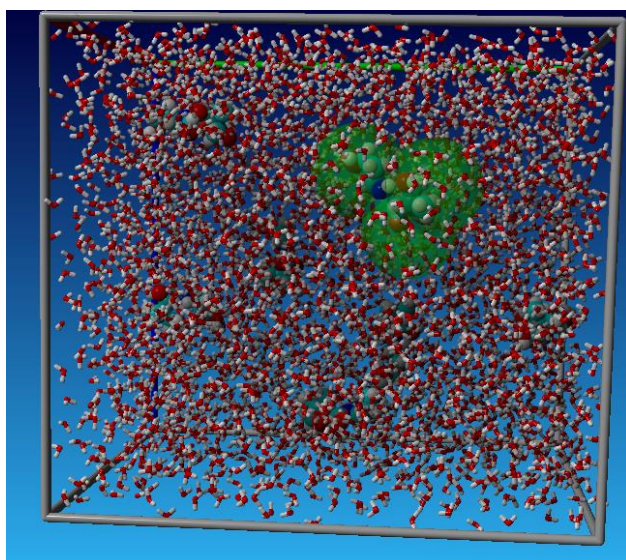
Iz tabele 4.4 se može videti da su vrednosti aktivacione energije D-pantenola pri beskonačnom razblaženju, ($\Delta\mu_1^{0\neq}$), pozitivne, i veće nego slobodne energije aktivacije viskoznog toka po molu čiste vode, ($\Delta\mu_2^{0\neq}$), što ukazuje na jače interakcije između molekula D-pantenola i vode. Naime, formiranje prelaznog stanja je manje pogodno u prisustvu D-pantenola i sugerise na slabljenje međumolekulskih sila u strukturi rastvarača (vode). Prema *Feakins*-u i saradnicima [150], što je veća vrednost $\Delta\mu_1^{0\neq}$, *structure making* osobine rastvorene supstance su izraženije. Kao što se vidi iz tabele 4.4, $\Delta\mu_1^{0\neq}$ vrednosti su veće i opadaju sa temperaturom što ukazuje da je D-pantenol *structure maker*. Izračunate su i vrednosti entropije aktivacije viskoznog toka, $\Delta S_1^{0\neq} = 0,5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ (jednačina (3.41)) i aktivacione entalpije $\Delta H_1^{0\neq} = 300,78 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ (jednačina (3.42)), gde pozitivna vrednost entropije aktivacije sugerise da je postizanje prelaznog stanja za viskozni tok praćeno kidanjem veze između komponenti sistema i smanjenjem uređenosti sistema.

Pošto se D-pantenol široko koristi u komercijalnim preparatima čija primena je povezana sa interakcijama između D-pantenola i vode, važno izračunati njegov hidratacioni broj, (h_n).

Hidratacioni broj D-pantenola izračunat je pomoću jednačina (3.50-3.52), kao i teorijskim proračunom (3.53) i dobijene vrednosti su predstavljene u tabeli 4.5. U jednačini (3.53), r_{\min} je prvi minimum RDF-a koji u slučaju D-pantenola i vode iznosi 5,6 Å od svakog atoma. Na slici 4.10 je predstavljena hidrataciona sfera D-pantenola u smeši {D-pantenol + H₂O}. Teorijskim proračunom dobijen je hidratacioni broj od $h'_n = 10,12$, što je u dobroj saglasnosti sa rezultatima dobijenim merenjem viskoznosti i gustine.

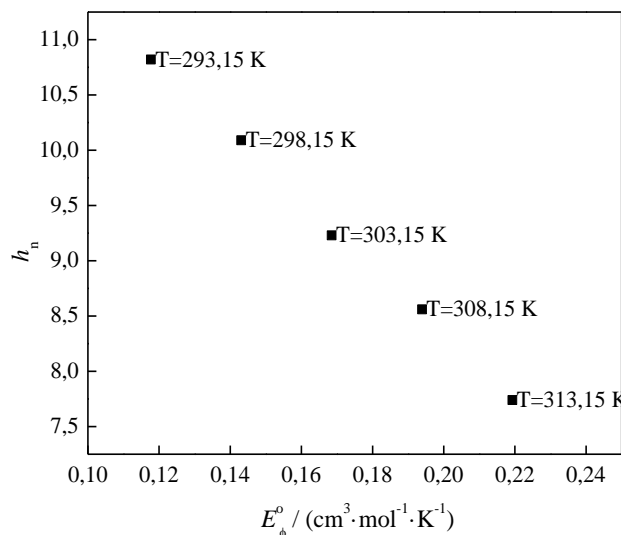
Tabela 4.5. Vrednosti hidratacionih brojeva D-pantenola izračunatih pomoću jedne (3.52) u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$ i hidratacionog broja izračunatog pomoću jednačine (3.53).

$T / (\text{K})$	$h_n^{(3.52)}$	$h'_n^{(3.53)}$
293,15	10,82	-
298,15	10,09	10,12
303,15	9,23	-
308,15	8,56	-
313,15	7,74	-



Slika 4.10. Prikaz hidratacione sfere (zelena oblast) D-pantenola u smeši {D-pantenol + H₂O}.

Iz tabele 4.5 može se videti da h_n vrednosti opadaju sa porastom temperature, što ukazuje da se molekuli vode uklanjaju iz hidratacione sfere D-pantenola, što je u skladu sa rezultatima dobijenim za molarne ekspanzibilnosti. Promena vrednosti hidratacionog broja sa prividne molarne ekspanzibilnosti pri beskonačnom razblaženju prikazana je na slici 4.11.



Slika 4.11. Promena vrednosti hidratacionog broja, (h_n), sa vrednostima prividne molarne ekspanzibilnosti pri beskonačnom razblaženju, (E_ϕ^0).

Sa slike 4.11 se uočava da h_n vrednosti linearno opadaju sa povećanjem E_ϕ^0 vrednosti, što ukazuje na širenje rastvora usled uklanjanja molekula vode iz hidratacione sfere D-pantenola. Dalje, razlika u vrednostima parcijalnih molarnih ekspanzibilnosti vode u hidratacionoj sferi, (E_h^0), i u čistoj vodi, (E_2^0), izračunata je iz h_n vrednosti pomoću jednačina (4.1) i (4.2) [170,171]:

$$E_\phi^0 = n_h(E_h^0 - E_2^0). \quad (4.1)$$

Zatim, E_2^0 može da se izračuna iz izraza:

$$E_2^0 = \frac{\partial \bar{V}_2^0}{\partial T}. \quad (4.2)$$

Vrednosti E_h^0 i E_2^0 prikazane su u tabeli 4.6, odakle se može videti da vrednosti parcijalnih molarnih ekspanzibilnosti vode u hidratacionoj sferi su značajno veće nego u čistoj vodi. Pored toga, iz MD simulacija je izračunato da prosečna energija interakcije između molekula D-pantenola i vode u hidratacionoj sferi iznosi $E_{\text{int}} = 11,348 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. Uzimajući u obzir literaturnu vrednost energije interakcije između vodenih dimera ($E_{\text{int}} = 18,995 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) [172], interakcije između D-pantenola i vode su slabije. Iz ovoga sledi da su molekuli vode u hidratacionoj sferi slabije vezani nego u čistoj vodi, što ukazuje da je pojava značajne promene volumetrijskih osobina smeša {D-pantenol + H₂O} isključivo rezultat pakovanja D-pantenola i vode.

Table 4.6. Vrednosti parcijalnih molarnih ekspanzibilnosti vode u hidratacionoj sferi, (E_h^0), i u čistoj vodi, (E_2^0), u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$T / (\text{K})$	$E_h^0 / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1})$	$E_2^0 / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1})$
293,15	0,0142	0,003316
298,15	0,0186	0,004459
303,15	0,0239	0,005602
308,15	0,0294	0,006744
313,15	0,0362	0,007887



Iz prikazanih rezultata može se zaključiti da D-pantenol ne ispoljava svoja emolijenska svojstva vezivanjem molekula vode vodoničnim vezama, nego ugrađivanjem molekula vode u strukturne šupljine molekula D-pantenola. Upravo je to razlog visoke efikasnosti D-pantenola kao emolijensa i posledične široke upotrebe u kozmetici.



4.2. Uticaj organizacije vode na samoagregaciju hidrofobnih biološki aktivnih jedinjenja

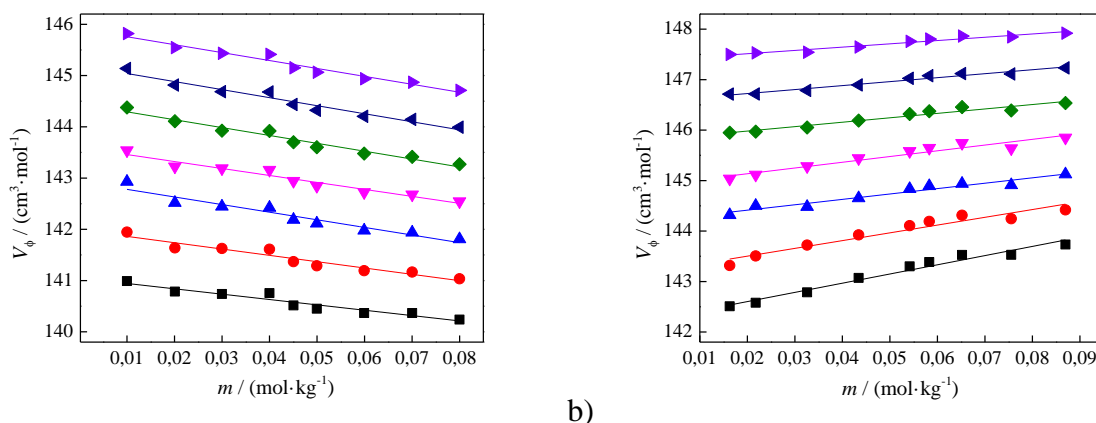
Kao model sistem za ispitivanje svojstava hidratacije i samoagregacije hidrofobnih biološki aktivnih jedinjenja u prisustvu jako hidrofилnog jedinjenja, odabrani su kofein i ATP. Odabrani kofein, kao hidrofobno biološko aktivno jedinjenje, i ATP kao hidrofилno jedinjenje, imaju ne samo strukturne sličnosti, već se i njihovi metabolički putevi ukrštaju.

Za određivanje interakcija koje se ostvaruju između izabranih komponenata i vode, napravljene su serije vodenih rastvora kofeina i natrijum-adenozin-5'-trifosfata (ATP-a). Prvo su merene gustine i viskoznosti vodenih rastvora kofeina, do molaliteta blizu njegove granice rastvorljivosti ($m = 0,0800 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$). Kako je ukupna koncentracija ATP-a u organizmu $c = 0,10 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ [173], pripremljen je vodeni rastvor ATP-a molaliteta $m = 0,1001 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ i čuvan na temperaturi $T = 273,15 \text{ K}$. Vodeni rastvor ATP-a je korišćen kao rastvarač za pripremu naredne serije rastvora kofeina za merenja gustine i viskoziteta do molaliteta kofeina $m = 0,0870 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$. Eksperimentalna merenja gustine i viskoznosti rastvora rađena su na sedam temperatura: $T = (283,15, 288,15, 293,15, 298,15, 303,15, 308,15, 313,25) \text{ K}$.

4.2.1. Rezultati volumetrijskih merenja

Eksperimentalno dobijene vrednosti gustina pripremljenih rastvora date su u tabeli P6 u Prilogu. Sve dobijene gustine opadaju sa porastom temperature pri svakom molalitetu kofeina, dok su u prisustvu ATP-a dobijene više vrednosti gustina rastvora.

Dobijene gustine rastvora su korišćene za izračunavanje prividnih molarnih zapremina kofeina, (V_ϕ), iz jednačine (3.21) i date su u tabeli P7. V_ϕ vrednosti su analizirane modifikovanom *Masson*-ovom jednačinom za neelektrolite (3.24), pri čemu su dobijene vrednosti prividnih molarnih zapremina kofeina pri beskonačnom razblaženju, (V_ϕ^0), i S_v koeficijenti. V_ϕ^0 i S_v su tabelarno prikazani u tabeli 4.7 zajedno sa standradnom devijacijom fita, (σ), i koeficijentom korelacije, (R^2). Na slici 4.12 prikazana je linearna zavisnost V_ϕ vrednosti sa molalitetom za oba ispitivana sistema.



a)

b)

Slika 4.12. Zavisnost prividnih molarnih zapremina, (V_{ϕ}), od molaliteta kofeina, (m), u a) vodenim rastvorima i b) ATP vodenim rastvorima, na različitim temperaturama: $T =$ (■), 283,15; (●), 288,15; (▲), 293,15; (▼), 298,15; (◆), 303,15; (◄), 308,15 i (►), 313,15 K.

Kao što se može videti sa slike 4.12, V_{ϕ} vrednosti vodenih rastvora kofeina opadaju sa porastom koncentracije kofeina na svim ispitivanim temperaturama. Shodno tome, vrednosti S_v su negativne, što ukazuje na slabe kofein-kofein interakcije. Isti zaključak je primećen u radu *Sanjeewa* i *Veerasinghe*-a [174], gde su MD simulacije pokazale da kofein ne pokazuje veću tendenciju ka drugom molekulu kofeina u vodenim rastvorima kada je koncentracija manja od granice rastvorljivosti kofeina. S druge strane, V_{ϕ} vrednosti kofeina u ATP vodenim rastvorima pokazuju suprotan trend sa povećanjem koncentracije kofeina, što ukazuje na jake kofein-kofein interakcije, odnosno prisustvo hidrofilnog jedinjenja ATP-a rezultuje jačanjem interakcija između molekula kofeina i njegove potencijalne samoagregacije.

Iz tabele 4.7 se vidi da su dobijene V_{ϕ}^0 vrednosti kofeina u ATP vodenim rastvorima veće nego u vodenim rastvorima kofeina. V_{ϕ}^0 vrednosti su pozitivne i rastu sa temperaturom i u čistoj vodi i u prisustvu ATP-a. Koristeći jednačinu drugog reda (3.30), V_{ϕ}^0 vrednosti su fitovane u funkciji temperature (slika P3). Vrednosti dobijenih koeficijenata jednačine date su u tabeli P8. Upotrebom dobijenih koeficijenata izračunata je prividna molarna ekspanzibilnost pri beskonačnom razblaženju, (E_{ϕ}^0) (jednačina (3.31)). Vrednosti E_{ϕ}^0 su navedene u tabeli 4.8, odakle se vidi da su dobijene pozitivne vrednosti u celom temperaturnom opsegu, koje opadaju sa porastom temperature u oba ispitivana rastvora.

Tabela 4.7. Parametri fita dobijeni primenom jednačine (3.24) za kofein u vodenim rastvorima i u ATP vodenim rastvorima u temperaturnom opsegu od $T = (283,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$ sa devijacijom fita, (σ), i koeficijentom korelacije, (R^2).

$T / (\text{K})$	$V_{\phi}^{\circ} / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$	$S_v / (\text{cm}^3 \cdot \text{kg} \cdot \text{mol}^{-2})$	σ	R^2
Vodeni rastvori kofeina				
283,15	141,05	-10,44	0,072	0,9266
288,15	141,99	-12,34	0,083	0,9304
293,15	142,93	-14,85	0,097	0,9341
298,15	143,59	-13,60	0,075	0,9512
303,15	144,45	-15,35	0,071	0,9658
308,15	145,20	-15,69	0,082	0,9569
313,15	145,91	-15,46	0,072	0,9648
Kofein u ATP vodenim rastvorima				
283,15	142,24	18,22	0,081	0,9707
288,15	143,20	15,39	0,104	0,9348
293,15	144,20	10,68	0,067	0,9442
298,15	144,91	11,36	0,078	0,9326
303,15	145,81	8,763	0,054	0,9449
308,15	146,57	7,870	0,039	0,9646
313,15	147,38	6,523	0,038	0,9502

Tabela 4.8. Vrednosti prividnih molarnih ekspanzibilnosti pri beskonačnom razblaženju, (E_{ϕ}°), i Hepler-ovih koeficijenata za kofein u vodenim rastvorima i u ATP vodenim rastvorima u temperaturnom opsegu od $T = (283,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$T / (\text{K})$	283,15	288,15	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15	$\left(\frac{\partial E_{\phi}^{\circ}}{\partial T} \right)_p / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2})$
$m (\text{ATP}) / (\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1})$	$E_{\phi}^{\circ} / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1})$							
0,0000	0,1852	0,1771	0,1690	0,1609	0,1528	0,1447	0,1366	-0,0016
0,1001	0,1922	0,1847	0,1773	0,1698	0,1623	0,1548	0,1474	-0,0015

Vrednosti su veće u prisustvu ATP-a zbog njegovog dehidratacionog dejstva na kofein. Takođe, jedan od široko korišćenih indikatora za *structure making/breaking* osobine jedinjenja, *Hepler-ov* koeficijent, izračunat je na osnovu jednačine (3.32). Dobijene negativne vrednosti, date u tabeli 4.8, sugerišu da kofein deluje kao *structure breaker* u oba ispitivana rastvora.

Iz razlike V_{ϕ}° vrednosti kofeina za oba ispitivana sistema, izračunata je prividna molarna zapremina transfera, $\Delta_{tr}V_{\phi}^{\circ}$, koristeći sledeću jednačinu (4.3), koja se fokusira na interakcije između kofeina, i vrednosti su date u tabeli 4.9:

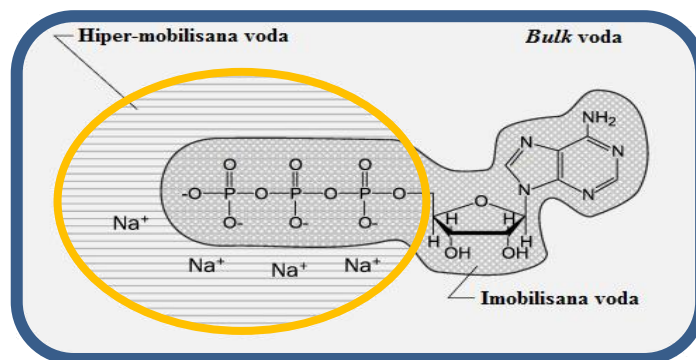
$$\Delta_{tr}V_{\phi}^{\circ} = V_{\phi}^{\circ}(\text{ATP vod.ras.}) - V_{\phi}^{\circ}(\text{vod.ras.}). \quad (4.3)$$

Kao što se može videti, $\Delta_{tr}V_{\phi}^{\circ}$ vrednosti kofeina su pozitivne i rastu sa porastom temperature. Uočene pozitivne vrednosti sugerišu da prisustvo ATP-a u vodenim rastvorima kofeina pojačava kofein-kofein interakcije, tako što organizuje molekule vode i privlači ih u svoju hidrofilnu hidratacionu sferu. U literaturi je pronađen isti značajni efekat dehidracije na molekule kofeina od strane visoko hidratiranih jona/molekula [35,175-177].

Tabela 4.9. Vrednosti prividnih molarnih zapremina transfera i hidratacionih brojeva kofeina u vodenim rastvorima i u ATP vodenim rastvorima u temperaturnom opsegu od $T = (283,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$T / (\text{K})$	$\Delta_{tr}V_{\phi}^{\circ} /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	h_n	
		Kofein vod.ras.	Kofein ATP vod.ras.
283,15	1,19	1,78	0,87
288,15	1,21	1,33	0,48
293,15	1,27	0,94	0,12
298,15	1,31	0,68	-0,10
303,15	1,36	0,38	-0,33
308,15	1,37	0,16	-0,50
313,15	1,47	-0,01	-0,61

ATP predstavlja visoko hidratirani molekul čija je hidrataciona sfera organizovana na način da adenoziński deo ima imobilisane molekule vode u hidratacionoj sferi. Sa druge strane, fosfatne grupe okružene ograničenim slojem imobilisane vode zajedno sa još tri do četiri sloja hiper-mobilisane vode (slika 4.13) [178].

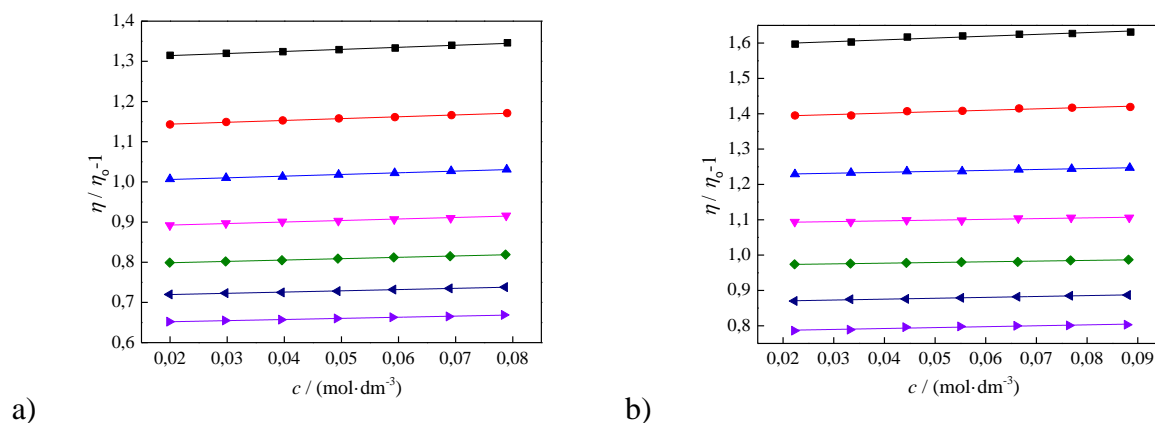


Slika 4.13. Prikaz hidratacione sfere ATP-a.

Smatra se da su oko molekula kofeina, iako je polaran, molekuli vode slabo vezani i lokalizovani [35,36]. Naime, pretežno hidrofobni domeni u strukturi kofeina uzrokuju hidrofobnu hidrataciju oko molekula kofeina. Na osnovu dobijenih parametara volumetrijskih merenja, izračunate su vrednosti hidratacionog broja kofeina jednačinama (3.43-3.46). Dobijeni hidratacioni brojevi su sumirani u tabeli 4.9, gde su male negativne vrednosti deklarirane kao odsustvo molekula vode oko kofeina. Iz tabele 4.9 može se potvrditi slaba hidratacija kofeina, koja opada sa porastom temperature, sve dok oko molekula kofeina ne ostane ni jedan molekul vode (na $T = 313,15$ K). U prisustvu ATP-a u rastvoru, hidratacija kofeina je redukovana, a isključenje molekula vode iz hidratacione sfere kofeina postiže se i na nižoj temperaturi ($T = 298,15$ K). Dodatno, rezultati naglašavaju da kofein u vodenim rastvorima nema tendenciju ka spontanoj samoagregaciji pri ispitivanim koncentracijama. Dakle, moglo bi se pretpostaviti da je pokretačka snaga za samoagregaciju kofeina obezbeđena dejstvom dehidracije ATP-a na molekule kofeina. Naime, ATP kao jako hidrofilno jedinjenje privlači molekule vode u svoju hidratacionu sferu i time ih uklanja iz hidratacione sfere kofeina, čime se indukuje lokalna prezasićenost kofeinom, što dovodi do formiranja klastera gde hidrofobni domeni (prstenovi) kofeina formiraju strukturu nalik “sendvič” kompleksu [36].

4.2.2. Rezultati viskozimetrijskih merenja

Kako je B koeficijent jedan od osnovnih načina za određivanje organizacije molekula vode oko rastvorka, vrednosti izmerenih viskoznosti rastvora (tabela P9) analizirani su primenom *Jones-Dole*-ove jednačine za neelektrolite (3.37). Na slici 4.14 je prikazana zavisnost relativne viskoznosti od koncentracije kofeina. Dobijene vrednosti za koeficijente B , koji predstavlja nagib prave, standardnu devijaciju, (σ), i regresioni koeficijent, (R^2), su dati u tabeli 4.10.



Slika 4.14. Zavisnost relativne viskoznosti, $((\eta/\eta_0)-1)$, od koncentracije kofeina, (c), u a) vodenim rastvorima i b) ATP vodenim rastvorima, na različitim temperaturama: $T =$ (■), 283,15; (●), 288,15; (▲), 293,15; (▼), 298,15; (◆), 303,15; (◄), 308,15 i (►) 313,15 K.

Tabela 4.10. Parametri fita dobijeni primenom *Jones-Dole*-ove jednačine za viskoznost kofeina u vodenim rastvorima i u ATP vodenim rastvorima u temperaturnom opsegu od $T =$ (283,15 do 313,15) K, sa devijacijom fita, (σ), i koeficijentom korelacije, (R^2).

$T / (K)$	Vodeni rastvori kofeina			Kofein u 0,1 M rastvoru ATP-a		
	$B / (dm^3 \cdot mol^{-1})$	σ	R^2	$B / (dm^3 \cdot mol^{-1})$	σ	R^2
283,15	0,398	0,0007	0,9968	0,327	0,0026	0,9590
288,15	0,402	0,0005	0,9985	0,292	0,0023	0,9631
293,15	0,414	0,0007	0,9973	0,212	0,0012	0,9784
298,15	0,421	0,0009	0,9954	0,205	0,0029	0,9237
303,15	0,429	0,0005	0,999	0,206	0,0007	0,9909
308,15	0,432	0,0007	0,9974	0,289	0,0007	0,9955
313,15	0,435	0,0008	0,9972	0,334	0,0024	0,9633

Može se videti da B koeficijent za kofein u vodenim rastvorima ima pozitivne vrednosti koje se povećavaju sa porastom temperature, što sugerise da je kofein atipičan *structure maker*. Promena B koeficijenta sa temperaturom biće diskutovana do temperature $T = 298,15$ K, jer je iz prethodno izračunatih hidratacionih brojeva zaključeno da u prisustvu ATP-a, molekul kofeina na $T = 298,15$ K više nije okružen nijednim molekulom vode. Niže vrednosti B koeficijenta vrednosti kofeina u prisustvu ATP-a u vodenim rastvorima, koje opadaju sa porastom temperature, klasifikuju kofein kao *structure making* molekul. Negativni volumetrijski *Hepler*-ovi koeficijenti su implicirali da je kofein *structure breaker* u oba slučaja. Ova kontradiktornost dobijenih rezultata objašnjena je u radu *Marcus*-a [3], gde je sugerisano da *Hepler*-ov koeficijent nije najpouzdaniji način za određivanje *structure making/breaking* osobina jedinjenja. Naime, *Hepler*-ov koeficijent opisuje *structure making/breaking* osobine na osnovu indirektnog parametra, dobijenog iz fitovanja prividne molarne zapremine sa temperaturom. Štaviše, osnove *Hepler*-ove teorije potiču od malih soli i strukturno jednostavnih katjona i anjona, i ne postoji skala da se brojčano uporedi *structure making/breaking* osobine jona prema vrednostima *Hepler*-ovog koeficijenta. Sa druge strane, definisanje *structure making/breaking* osobina na osnovu B koeficijenata dobijaju se direktno, iz izmerenih vrednosti viskoznosti, što ga čini pouzdanijim parametrom.

Ekperimentalni podaci o viskoznosti su takođe analizirani na osnovu *Feakins*-ove teorije relativne viskoznosti u prelaznom stanju [150] na osnovu jednačina (3.39 i 3.40) u cilju dobijanja termodinamičkih parametara viskoznog toka (tabela 4.11).

Iz tabele 4.11 se vidi da su vrednosti aktivacione energije kofeina pri beskonačnom razblaženju, ($\Delta\mu_1^{0\neq}$), pozitivne i veće nego slobodne energije aktivacije viskoznog toka po molu čiste vode, ($\Delta\mu_2^{0\neq}$), u oba ispitivana slučaja. Ovi rezultati ukazuju na jače interakcije između rastvorene supstance i rastvarača u osnovnom stanju u odnosu na prelazno stanje. Drugim rečima, formiranje prelaznog stanja je praćeno raskidanjem međumolekulskih interakcija u strukturi rastvarača [179-181]. Vrednosti $\Delta\mu_1^{0\neq}$ su manje u prisustvu ATP-a, što sugerise da je potrebno manje energije za prelazak iz osnovnog stanja rastvarača u prelaznom stanju [180]. Izračunate su i vrednosti entropije aktivacije viskoznog toka $\Delta S_1^{0\neq} = -407,7 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}$ (jednačina (3.41)) i aktivacione entalpije $\Delta H_1^{0\neq} = 37,67 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (jednačina (3.42)) kofeina u vodenim rastvorima, i $\Delta S_1^{0\neq} = -197,4 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}$ i $\Delta H_1^{0\neq} = -6,48 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ za kofein u ATP vodenim rastvorima. Negativne vrednosti entropije aktivacije

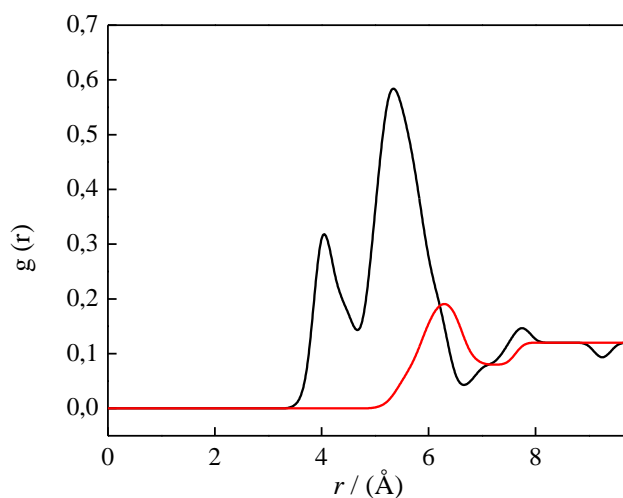
viskozno g toka, zajedno sa pozitivnim $\Delta\mu_1^{0\neq}$ vrednostima ukazuju još jednom na *structure making* osobine kofeina [179-181].

Tabela 4.11. Vrednosti termodinamičkih parametara \bar{V}_1^0 , \bar{V}_2^0 , $\Delta\mu_1^{0\neq}$ i $\Delta\mu_2^{0\neq}$ kofeina u vodenim rastvorima i u ATP vodenim rastvorima u temperaturnom opsegu od $T = (283,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

Parametri	$T / (\text{K})$						
	283,15	288,15	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15
Vodeni rastvori kofeina							
$\bar{V}_1^0 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	141,05	141,99	142,93	143,59	144,45	145,20	145,91
$\bar{V}_2^0 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	18,02	18,03	18,05	18,07	18,09	18,12	18,16
$\Delta\mu_1^{0\neq} /$ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	77,7	79,3	82,1	84,2	86,4	88,0	89,5
$\Delta\mu_2^{0\neq} /$ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	9,60	9,44	9,29	9,16	9,04	8,93	8,83
Kofein u ATP vodenim rastvorima							
$\bar{V}_1^0 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	142,24	143,20	144,20	144,91	145,81	146,57	147,38
$\bar{V}_2^0 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	17,45	17,47	17,49	17,51	17,54	17,57	17,60
$\Delta\mu_1^{0\neq} /$ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	71,0	67,1	56,9	56,6	57,5	70,3	77,9
$\Delta\mu_2^{0\neq} /$ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	9,99	9,83	9,69	9,56	9,44	9,33	9,22

4.2.3. Rezultati računarskih simulacija

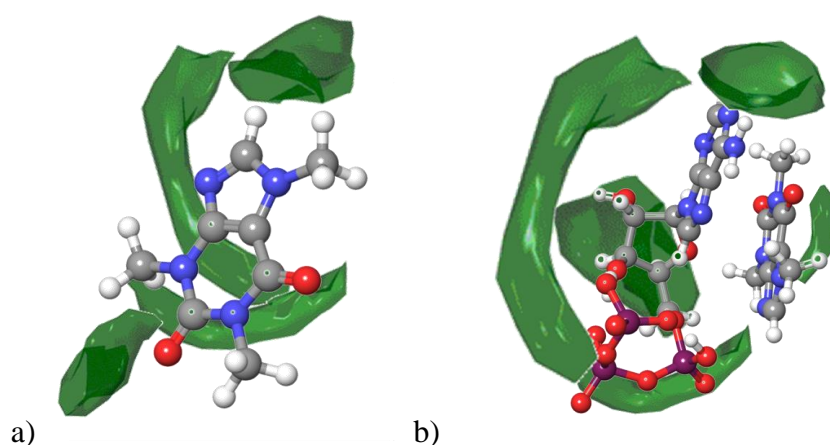
Prva faza teorijskog istraživanja hidratacije kofeina u prisustvu i odsustvu ATP-a bila je proračun radijalne funkcije raspodele (RDF). MD simulacije su izvedene u skladu eksperimentalne koncentracije kofeina i ATP-a. Sa slike 4.15, gde su prikazani RDF-ovi od centra mase kofeina i vode, može se uočiti značajna promena u hidrataciji kofeina u vodenom rastvoru i ATP vodenom rastvoru. Naime, u vodenom rastvoru kofeina uočavaju se dve hidratacione sfere kofeina, jedna na približno 4,0 Å i druga na oko 5,6 Å. Poreklo ovih hidratacionih sfera biće detaljnije istraženo korišćenjem prostorne (spacijalne) funkcije raspodele (eng. *spatial distribution functions*, SDF). S druge strane, u prisustvu ATP-a, pik koji potiče od kofeina i centra mase vode pomeren je na veću udaljenost, a njegova $g(r)$ vrednost značajno opada, što ukazuje na smanjenje hidratacije kofeina.



Slika 4.15. Funkcija radijalne raspodele vode oko centra mase kofeina (— vodenom rastvor, — ATP vodenom rastvor).

Da bi se jasnije predstavila organizacija vode oko molekula kofeina u prisustvu i odsustvu ATP-a, SDF-ovi su predstavljeni na slici 4.16. Kao što se može videti na slici 4.16a, atomi vode nisu ravnomerno raspoređeni oko molekula kofeina. Prethodne studije simulacija [36], kao i ova, pokazale su da je molekul kofeina relativno hidrofoban zbog svoje slabo hidratirane strukture, i da molekuli vode nisu jako lokalizovani oko njega. Ipak, mogu se primetiti poželjne pozicije za molekule vode oko kofeina. Izolovani oblaci koji predstavljaju gustinu raspodele molekula vode

nalaze se u blizini atoma kiseonika, što odgovara prvoj hidratacionoj sferi dobijenoj iz RDF-a (slika 4.15). Većina vode se nalazi oko atoma azota iz imidazolskog i pirimidinskog prstena, što odgovara formiranju druge hidratacione sfere. Na slici 4.16b prikazane su značajne promene u organizaciji vode oko kofeina u prisustvu ATP-a. Ovi rezultati sugerišu da dodatak visoko hidrofилnog ATP-a izaziva reorganizaciju vode. Kao posledica toga, slabo hidratisanu vodu oko molekula kofeina privukle su polarne fosfatne grupe i riboza iz strukture ATP-a, kao što se može videti na slici 4.16b. Ovo dovodi do izolovanja molekula kofeina sa znatnom manjom hidratacijom, sa oblakom gustine vode samo blizu prstena kofeina.

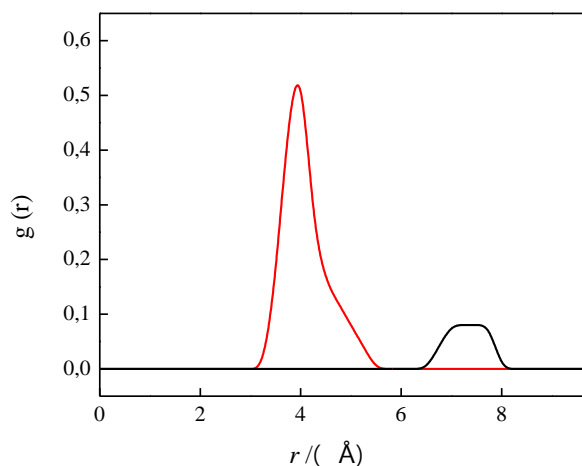


Slika 4.16. Prikaz spacijalne funkcije distribucije molekula vode (zelena boja) oko (a) kofeina i (b) kofein + ATP molekula. Zelena površina pokazuje verovatnoću pronalaženja molekula vode oko kofeina i ATP dobijenom iz MD simulacija.

Primenom jednačine (3.53) izračunat je hidratacioni broj kofeina na temperaturi $T = 298,15$ K, koji u vodenom rastvoru iznosi $h'_n = 0,82$, a $h'_n = 0,13$ u ATP vodenom rastvoru što je u dobroj korelaciji sa eksperimentalnim rezultatima.

Kao što je ranije navedeno, dodavanje ATP-a smanjuje hidrataciona svojstva kofeina, ostavljajući molekul kofeina bez vode, odnosno slobodnim za dalje interakcije. Dostupnost molekula kofeina za dodatnu interakciju može dovesti do mogućeg stvaranja samoagregata. Da bi se dobio bolji uvid u kofein-kofein interakcije, izvršena je analiza RDF-a. Sa slike 4.17, gde su prikazani dobijeni rezultati, evidentna je potencijalna samoagregacija molekula kofeina u prisustvu ATP-a. Nasuprot tome, može se videti da molekuli kofeina u vodenim rastvorima bez ATP-a nisu skloni formiranju

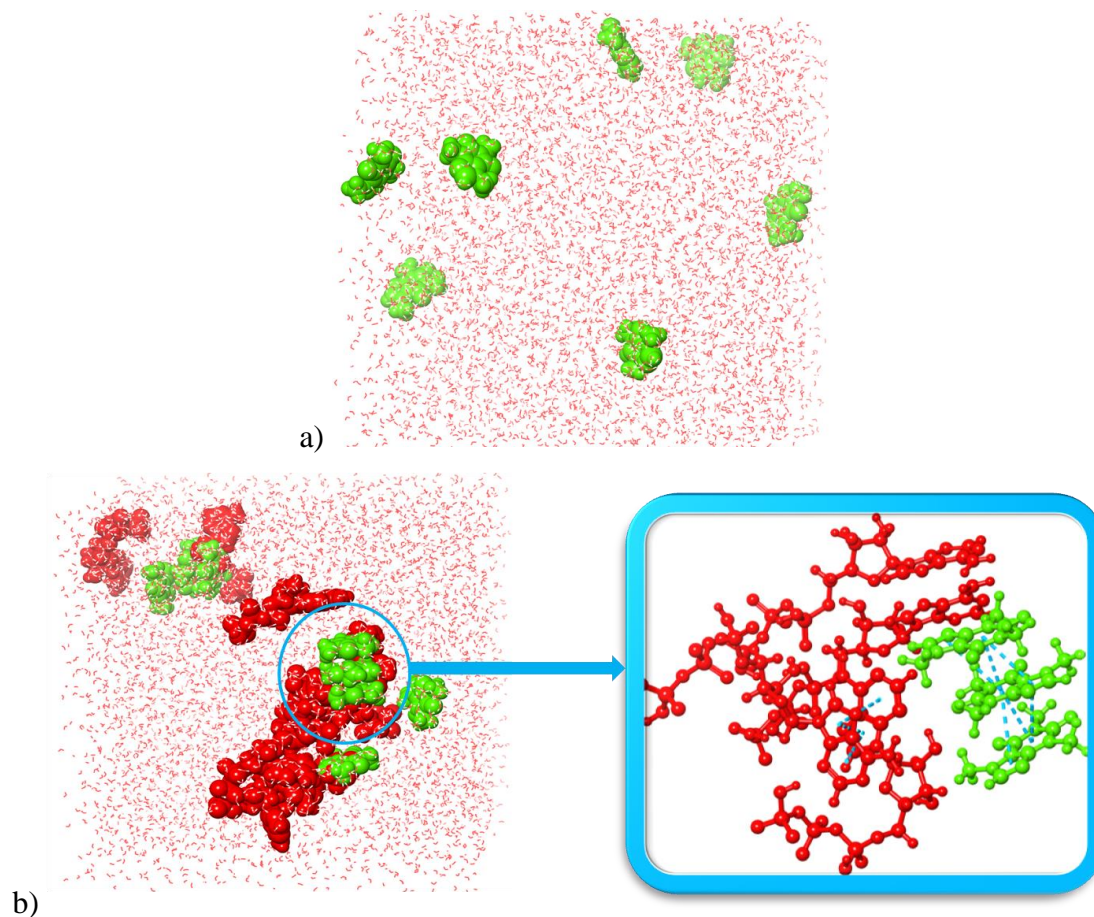
agregata u ispitivanom opsegu koncentracije rastvora. Dodavanje visoko polarnog molekula, poput ATP-a, pomeralo je formiranje samoagregata kofeina na niže koncentracije, zbog efekta dehidracije ATP-a na kofein.



Slika 4.17. Funkcija radijalne raspodele kofein-koferin centra mase (— vodeni rastvor, — ATP vodeni rastvor).

Svi ovi proračuni i zapažanja su potvrđeni MD simulacijama, nakon 30 ns (Slika 4.18). Kao što se može videti na slici 4.18a, molekuli kofeina su nasumično raspoređeni u vodi bez tendencije da međusobno reaguju.

S druge strane, dodavanje ATP-a dovodi do drugačije reorganizacije molekula kofeina. Može se primetiti da molekuli ATP-a okružuju molekule kofeina, zbog čega izvlače molekule vode iz njihove blizine (slika 4.18b). Zbog toga, dehidrirani molekuli kofeina mogu da stupaju u interakcije jedni sa drugima putem π - π interakcija, formirajući pretežno trimerne strukture. U formiranju samoagregata, prstenovi kofeina postaju nedostupni za interakciju sa molekulima vode, što dovodi do značajnog opadanja hidratacionog broja, kao što je već ranije uočeno.



Slika 4.18. Vizuelni prikaz organizacije kofeina u vodenom rastvoru (a) i ATP vodenom rastvoru (b) Zelena boja – kofein, crvena boja – ATP, plave isprekidane linije predstavljaju π - π interakcije. Za bolju vizuelizaciju π - π interakcija, deo organizacije kofeina u ATP vodenom rastvoru prikazan je plavim kvadratom.



Iz dobijenih rezultata može se zaključiti da prisustvo polarnih molekula u blizini molekula kofeina može da dovede do njegove samoagregacije i posledične niže biološke aktivnosti usled efekta dehidratacije. Isto tako, moguće je i da prisustvo drugih polarnih molekula u prehrambenim proizvodima (napićima) u većoj koncentraciji takođe može da umanja resorpciju kofeina i njegov efekat, usled pojave samoagregacije.



4.3. Uticaj hidratacionih osobina na spontanost konverzije kreatina u kreatinin

Kreatin kao endogeno, cviter jonsko jedinjenje predstavlja jedan od izvora energije za mišiće. Međutim, deo kreatina se svakodnevno u jetri spontano, neenzimatski, prevodi u nenaelektrisan, biološki neaktivan molekul kreatinina. Kreatinin potom difunduje u krvotok, nakon čega ga bubrezi izlučuju iz organizma putem urina. Kako reakcija ciklizacije jeste ustvari reakcija dehidratacije (slika 2.26) važno je ispitati uticaj molekula vode na ciklizaciju kreatina do kreatinina. Strukturna organizacija molekula vode oko molekula kreatina i kreatinina ispitana je volumetrijskim i viskozimetrijskim merenjima, uz simulaciju molekulske dinamike.

4.3.1. Rezultati rastvorljivosti

Do sada nije urađena nijedna sistematska studija o uticaju temperature na rastvorljivost kreatina i kreatinina. Stoga je u ovoj disertaciji pre svega određena rastvorljivost, (R), kreatina i kreatinina u vodi na temperaturama od $T = (293,15; 298,15; 303,15; 308,15 \text{ i } 313,15) \text{ K}$ termogravimetrijskim postupkom, a rezultati su tabelarno predstavljeni u tabeli 4.12.

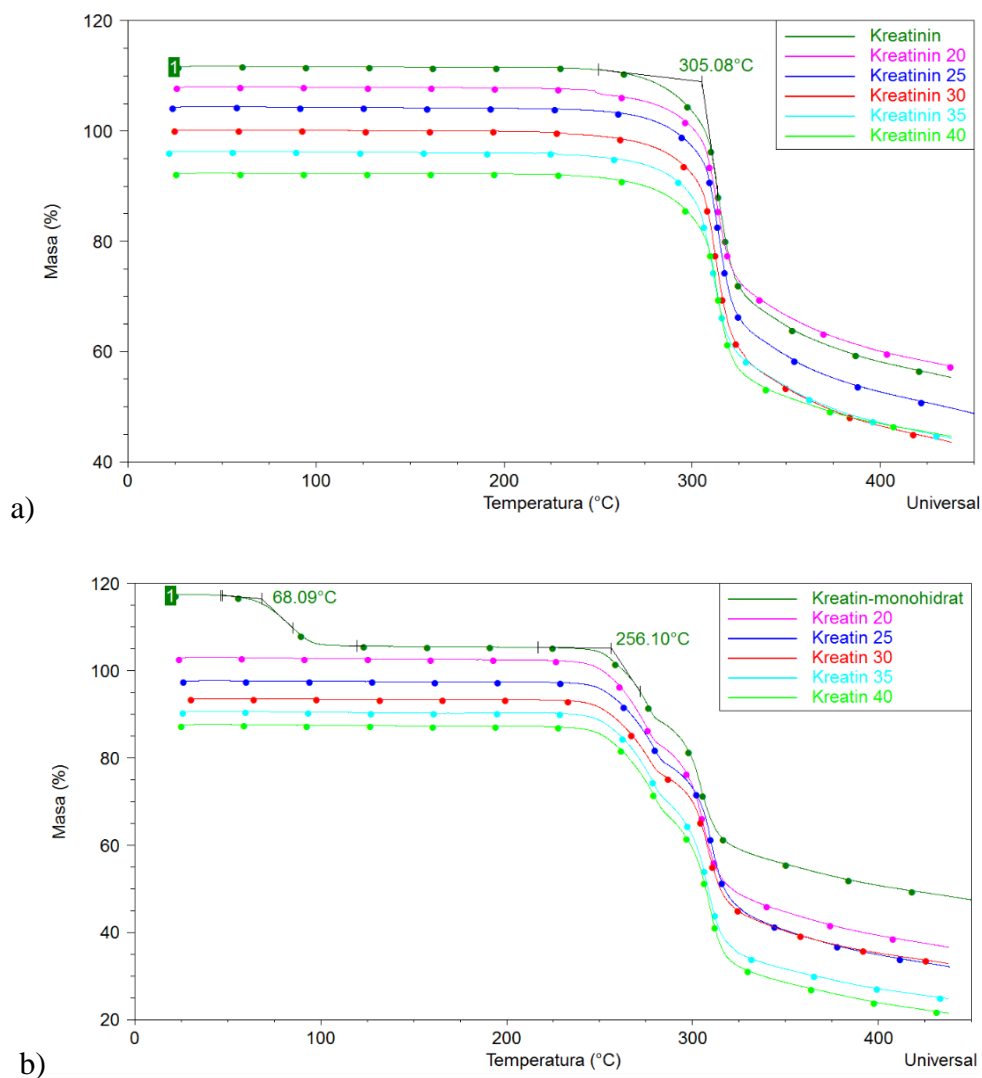
Tabela 4.12. Rezultati rastvorljivosti, (R), kreatina i kreatinina u vodi u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$T / (\text{K})$	$R / (\text{g}/100\text{g vode})$	
	Kreatin	Kreatinin
293,15	1,3172	9,5831
298,15	1,6288	10,419
303,15	1,8787	11,931
308,15	2,2727	13,325
313,5	2,6358	14,712

Na osnovu eksperimentalno dobijenih vrednosti uočava se da rastvorljivost i kreatina i kreatinina linearno raste sa porastom temperature, kao i da je rastvorljivost kreatinina oko šest puta veća nego rastvorljivost kreatina u vodi.

Gravimetrijski postupak podrazumeva sušenje uzorka do konstante mase. Kreatin iz vodenih rastvora kristališe kao monohidrat, koji zagrevanjem gubi kristalnu vodu. Na višim temperaturama

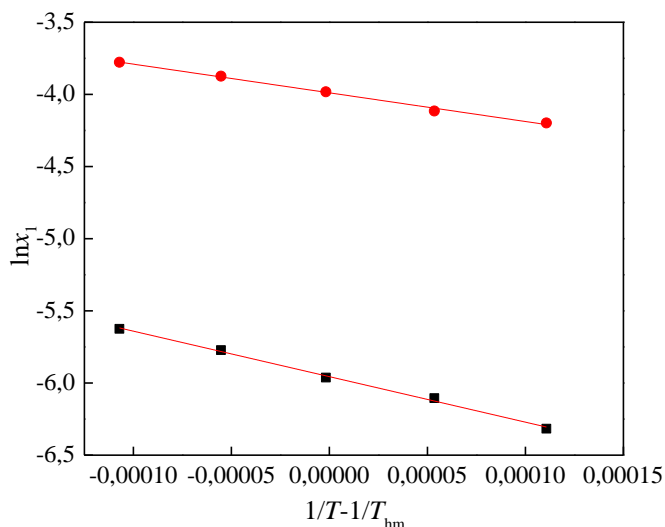
dolazi do njegove ciklizacije u kreatinin uz izdvajanje molekula vode. Daljim zagrevanjem dolazi do termičke dekompozicije (slika 4.19b). Zbog toga je bilo potrebno termogravimetrijskom analizom odrediti opseg temperatura u kojem se dobija jedinjenje stehiometrijskog sastava. Dobijeni rezultati prikazani su na slici 4.19.



Slika 4.19. Termogravimetrijske krive a) kreatinina i b) kreatina.

Temperature početka razgradnje, (T_{onset}), su prikazane na termogravimetrijskim krivama. Na osnovu eksperimentalno dobijenih rezultata se uočava da početak razgradnje kreatinina počinje na $T_{\text{onset}} = 305,08 \text{ } ^\circ\text{C}$, što je primećeno i za svaki uzorak nakon sušenja (slika 4.19a). Sa slike 4.19b se može uočiti da se za kreatin-monohidrat javljaju dve faze razgradnje. Prva vrednost $T_{\text{onset}} = 68,09 \text{ } ^\circ\text{C}$ predstavlja temperaturu na kojoj se kreatin-monohidrat dehidratirao, a na drugoj

temperaturi $T_{\text{onset}} = 256,10$ °C počinje njegova termička razgradnja. Kao što se može uočiti sa slike 4.19b, sušenjem proba na 110 °C u sušnici tokom određivanja rastvorljivosti, kreatin je kristalisao u formi kreatina, jer termogravimetrijske krive proba nakon sušenja ne poseduju prvu fazu razgradnje u kojoj odlazi kristalno vezana voda iz kreatin-monohidrata.



Slika 4.20. Zavisnost prirodnog logaritma molskog udela, ($\ln x_1$), od ($1/T - 1/T_{\text{hm}}$) za: (■), kreatin i (●), kreatinin u zasićenom vodenom rastvoru.

Vrednosti rastvorljivosti kreatina i kreatinina su korišćene radi određivanja parametara termodinamike rastvaranja, standardne entalpije rastvaranja, ($\Delta_{\text{sol}}H^\circ$), entropije, ($\Delta_{\text{sol}}S^\circ$), promene Gibbs-ove energije, ($\Delta_{\text{sol}}G^\circ$), upotrebom modifikovane *van't Hoff*-ove jednačine (3.54-3.57) (slika 4.20). Takođe, da bi se odredio glavni uticaj i doprinos $\Delta_{\text{sol}}G^\circ$ u procesu rastvaranja, relativni doprinos entalpije, (ζ_H), i relativni doprinos entropije, (ζ_{TS}), su izračunati korišćenjem jednačina (3.57-3.58). Dobijene vrednosti termodinamičkih parametara $\Delta_{\text{sol}}G^\circ$, $\Delta_{\text{sol}}H^\circ$ i $\Delta_{\text{sol}}S^\circ$, kao i ζ_H , ζ_{TS} za vodene rastvore kreatina i kreatinina date su u tabeli 4.13.

Iz vrednosti predstavljenih u tabeli 4.13 se uočava da je vrednost $\Delta_{\text{sol}}G^\circ$ za vodeni rastvor kreatina, veća nego za vodeni rastvor kreatinina. Pozitivne vrednosti $\Delta_{\text{sol}}G^\circ$ i $\Delta_{\text{sol}}H^\circ$ pokazuju da je proces rastvaranja u oba slučaja endoterman, što ukazuje na to da su interakcije između rastvorene supstance i molekula vode jače nego interakcije između samih molekula vode. Viša vrednost $\Delta_{\text{sol}}H^\circ$ za kreatin može biti jer je više energije potrebno uložiti za raskidanje elektrostatičkih interakcija između molekula kreatina koji se nalazi u cviter jonskom obliku nego za rastvaranje

nenaelektrisanog molekula kreatinina. Pozitivne vrednosti $\Delta_{\text{sol}}S^\circ$ za vodeni rastvor i kreatina i kreatinina pokazuju da prilikom rastvaranja dolazi do povećanja neuređenosti sistema. Takođe, viša vrednost $\Delta_{\text{sol}}S^\circ$ se dobija za vodeni rastvor kreatina, što može poticati od toga što više molekula vode menja svoju osnovnu orijentaciju, odnosno više molekula vode se uključuje u njegovu hidrataciju nego kod kreatinina. Na osnovu izračunatih vrednosti relativnog doprinosa entalpije i entropije, može se zaključiti da prilikom rastvaranja, entalpija najviše utiče na $\Delta_{\text{sol}}G^\circ$.

Tabela 4.13. Dobijene vrednosti termodinamičkih parametara $\Delta_{\text{sol}}G^\circ$, $\Delta_{\text{sol}}H^\circ$ i $\Delta_{\text{sol}}S^\circ$, kao i ζ_H , ζ_{TS} za vodene rastvore kreatina i kreatinina.

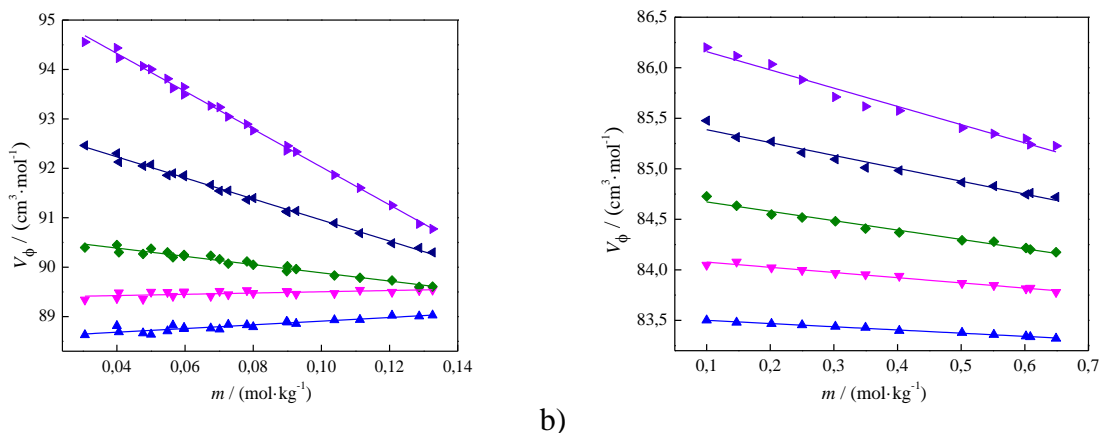
Termodinamički parametri	Kreatin	Kreatinin
$\Delta_{\text{sol}}G^\circ / (\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$	26,21	16,52
$\Delta_{\text{sol}}H^\circ / (\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$	15,00	10,05
$\Delta_{\text{sol}}S^\circ / (\text{J}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1})$	0,04	0,02
ζ_H	0,70	0,72
ζ_{TS}	0,30	0,28

4.3.2. Rezultati volumetrijskih merenja

Gustine vodenih rastvora kreatina i kreatinina su merene u temperaturnom opsegu od $T = (293,15$ do $313,15)$ K u opsegu molalитета od $m = (0,0306$ do $0,1326)$ $\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ za kreatin i od $m = (0,1001$ do $0,6491)$ $\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ za kreatinin. Dobijeni rezultati su dati u tabelama P9 i P10. Sve vrednosti gustina binarnih smeša kreatin/kreatinin i voda rastu sa porastom molalитета rastvora na svakoj ispitivanoj temperaturi. Takođe, na svakom ispitivanom molalitetu gustine opadaju s porastom temperature.

Iz eksperimentalnih vrednosti gustina izračunate su prividne molarne zapremine, (V_ϕ), na datim temperaturama upotrebom jednačine (3.21). Dobijene vrednosti su date u tabelama P10 za kreatin i P11 za kreatinin i grafički prikazane na slici 4.21. Dobijene vrednosti prividnih molarnih zapremina fitovane su u zavisnosti od molalитета modifikovanom *Masson*-ovom jednačinom za neelektrolite (3.24), pri čemu su dobijene vrednosti prividnih molarnih zapremina

kreatina/kreatinina pri beskonačnom razblaženju, (V_{ϕ}^0), i S_v koeficijenti. V_{ϕ}^0 i S_v su tabelarno prikazani u tabeli 4.14 zajedno sa standradnom devijacijom fita, (σ), i koeficijentom korelacije, (R^2).



a)

b)

Slika 4.21. Zavisnost prividnih molarnih zapremina, (V_{ϕ}), od molaliteta, (m), a) kreatina i b) kreatinina u vodenim rastvorima, na različitim temperaturama: $T = (\blacktriangle)$, 293,15; (\blacktriangledown), 298,15; (\blacklozenge), 303,15; (\blacktriangleleft), 308,15 i (\blacktriangleright), 313,15 K.

Iz vrednosti prikazanih u tabeli 4.14 uočava se da su prividne molarne zapremine pri beskonačnom razblaženju vodenih rastvora kreatina i kreatinina pozitivne i da rastu sa porastom temperature. Primenom *Lepori*-jevog modela [182] doprinosa grupa izračunate su V_{ϕ}^0 na $T = 298,15$ K i dobijene su vrednosti $V_{\phi}^0 = 89,46 \pm 1,5 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ za kreatin i $V_{\phi}^0 = 86,44 \pm 2,7 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ za kreatinin. Izračunate vrednosti su u skladu sa eksperimentalno dobijenim koje iznose $V_{\phi}^0 = 89,37 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ za kreatin i $V_{\phi}^0 = 84,13 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ za kreatinin. Veće odstupanje za molekul kreatinina potiče od nedostatka pouzdanog parametra korekcije za polifunkcionalne ciklične molekule. Na osnovu dobijenih vrednosti za S_v može se zaključiti da se interakcije između molekula kreatina u većoj meri smanjuju sa porastom temperature u odnosu na interakcije između molekula kreatinina. Takođe, dobijene S_v vrednosti kreatina, koji je po strukturi endogena aminokiselina, u skladu su sa S_v vrednostima dobijenim za neke druge aminokiseline [183].

Tabela 4.14. Parametri fita dobijeni primenom jednačine (3.24) za kreatin i kreatinin u vodenim rastvorima u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$ sa devijacijom fita, (σ), i koeficijentom korelacije, (R^2).

$T / (\text{K})$	$V_{\phi}^{\circ} / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$	$S_v / (\text{cm}^3 \cdot \text{kg} \cdot \text{mol}^{-2})$	σ	R^2
Kreatin				
293,15	88,53	3,74	0,047	0,8468
298,15	89,37	1,28	0,046	0,3818
303,15	90,72	-8,34	0,048	0,9630
308,15	93,08	-21,29	0,045	0,9948
313,15	95,86	-38,30	0,062	0,9970
Kreatinin				
293,15	83,53	-0,32	0,005	0,9940
298,15	84,13	-0,51	0,015	0,9782
303,15	84,76	-0,93	0,026	0,9797
308,15	85,51	-1,27	0,041	0,9732
313,15	86,34	-1,81	0,055	0,9753

Za izračunavanje prividne molarne ekspanzibilnosti pri beskonačnom razblaženju, (E_{ϕ}°), V_{ϕ}° vrednosti fitovane su u funkciji temperature polinomnom jednačinom drugog reda (3.30) (slika P4), a dobijeni koeficijenti fita a_0 , a_1 i a_2 dati su tabeli P12. Iz dobijenih koeficijenata, prividna molarna ekspanzibilnost pri beskonačnom razblaženju, (E_{ϕ}°), izračunata je na osnovu jednačine (3.31), a vrednosti za ispitivane smeše na različitim temperaturama su date u tabeli 4.15. Korišćenjem *Hepler*-ove jednačine (3.32), izračunat je *Hepler*-ov koeficijent (tabela 4.15). Dobijene su pozitivne vrednosti i za kreatin i za kreatinin, što ukazuje na njihove *structure making* osobine. Veća vrednost *Hepler*-ovog koeficijenta za kreatin ukazuje na bolju organizaciju molekula vode oko kreatina nego oko kreatinina.

Tabela 4.15. Vrednosti prividnih molarnih ekspanzibilnosti pri beskonačnom razblaženju, (E_{ϕ}^0), i Hepler-ovih koeficijenata za kreatin i kreatinin u vodenim rastvorima u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$T / (\text{K})$	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15	$\left(\frac{\partial E_{\phi}^0}{\partial T}\right)_p / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2})$
Jedinjenje	$E_{\phi}^0 / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1})$					
Kreatin	0,0596	0,1986	0,3376	0,4766	0,6156	0,0280
Kreatinin	-0,5653	-0,5638	-0,5631	-0,5601	-0,5581	0,0032

Iz vrednosti prividnih molarnih zapremina izračunate su parcijalne molarne zapremine za kreatin/ kreatinin, (\bar{V}_1), i vodu, (\bar{V}_2), uz pomoć jednačina (4.4) i (4.5):

$$\bar{V}_1 = \frac{\sqrt{m}}{2} \left(\frac{\partial V_{\phi}}{\partial \sqrt{m}} \right)_{T,p,n_2} + V_{\phi}, \quad (4.4)$$

$$\bar{V}_2 = \frac{M_2}{d_2} - \frac{M_2 m^{3/2}}{2000} \left(\frac{\partial V_{\phi}}{\partial \sqrt{m}} \right)_{T,p,n_1}. \quad (4.5)$$

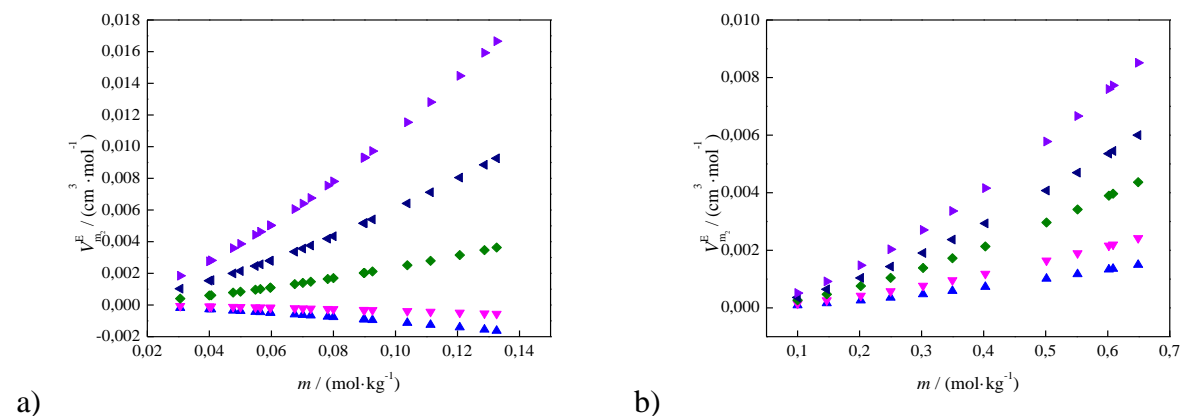
Dobijene vrednosti su prikazane u tabelama P10 i P11. a njihova promena sa molalitetom u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$ data je na slici P5.

Iz vrednosti \bar{V}_2 izračunate su dodatne parcijalne molarne zapremine vode, ($V_{m_2}^E$), na osnovu jednačine (4.6):

$$V_{m_2}^E = \bar{V}_2 - V_{m_2}, \quad (4.6)$$

gde je V_{m_2} molarna zapremina vode. Dobijene vrednosti su predstavljene u funkciji molaliteta kreatina/ kreatinina na slici 4.22.

Sa slike 4.22 se uočava da su na $T = 293,15$ K vrednosti $V_{m_2}^E$ u vodenim rastvorima kreatina negativne i da opadaju sa porastom molalитета. Prema tome, pri nižim temperaturama interakcije molekula vode sa molekulima kreatina su izraženije što dovodi do stabilizacije cviter jonske structure [184,185].



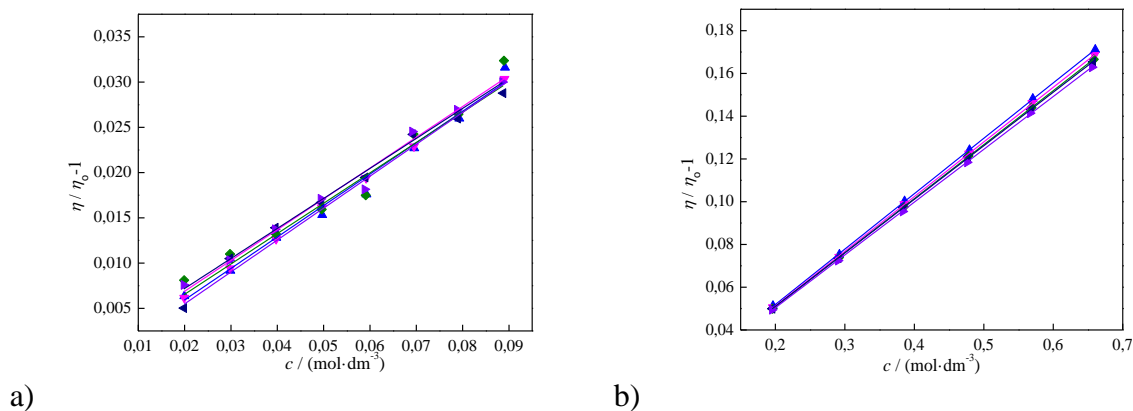
Slika 4.22. Zavisnost dodatne parcijalne molarne zapremine vode, ($V_{m_2}^E$), od molalитета, (m), a) kreatina i b) kreatinina na različitim temperaturama: $T = (\blacktriangle)$, 293,15; (\blacktriangledown), 298,15; (\blacklozenge), 303,15; (\blacktriangleleft), 308,15 i (\blacktriangleright), 313,15 K.

Dalje, od $T = (303,15 \text{ do } 313,15)$ K, $V_{m_2}^E$ vrednosti su pozitivne i rastu sa molalitetom kreatina, što ukazuje na slabije interakcije između molekula vode i kreatina na višim temperaturama a samim tim i na slabije izražen efekat stabilizacije. Nedavna istraživanja sugerišu da se ciklizacija kreatina u kreatinin odvija kroz neutralni oblik kreatina [40]. Shodno tome, može se pretpostaviti da manja količina molekula vode oko kreatina na višoj temperaturi dovodi do povoljnijeg formiranja neutralnog oblika kreatina i do izraženijeg procesa ciklizacije kreatina u kreatinin. Ovi rezultati su u saglasnosti sa poznatom činjenicom o bržoj ciklizaciji kreatina u kreatinin na višim temperaturama [40,42,43].

4.3.3. Rezultati viskozimetrijskih merenja

Viskoznosti vodenih rastvora kreatina i kreatinina merene su u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15)$ K i u opsegu molalитета od $m = (0,0200 \text{ do } 0,0900)$ mol·kg⁻¹ za kreatin i od m

= (0,2001 do 0,7000) mol·kg⁻¹ za kreatinin. Rezultati su predstavljani u tabeli P13. i grafički na slici 4.23.



Slika 4.23. Zavisnost relativne viskoznosti, $((\eta/\eta_0)-1)$, od koncentracije, (c) , a) kreatina b) kreatinina u vodenim rastvorima, na različitim temperaturama: $T = (\blacktriangle)$, 293,15; (\blacktriangledown) , 298,15; (\blacklozenge) , 303,15; (\blacktriangleleft) , 308,15 i (\blacktriangleright) , 313,15 K.

Sa slike 4.23 se zapaža da se sa povećanjem molaliteta kreatina/kreatinina viskoznost povećava, dok sa porastom temperature opada. Rezultati dobijeni merenjem viskoznosti su fitovani primenom *Jones–Dole*-ove jednačine (3.37), pri čemu je dobijena linearna zavisnost (slika 4.23). Dobijene vrednosti za B koeficijent, standardnu devijaciju, (σ) , i regresioni koeficijent, (R^2) , su dati u tabeli 4.16.

Tabela 4.16. Parametri fita dobijeni primenom *Jones–Dole*-ove jednačine za viskoznost kreatina i kreatinina u vodenim rastvorima u temperaturnom opsegu od $T = (293,15$ do $313,15)$ K, sa devijacijom fita, (σ) , i koeficijentom korelacije, (R^2) .

$T / (\text{K})$	$B / (\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$	σ	R^2
Kreatin			
293,15	0,353	0,001	0,9926
298,15	0,348	0,001	0,9996
303,15	0,340	0,002	0,9842
308,15	0,336	0,001	0,9941
313,15	0,332	0,001	0,9943

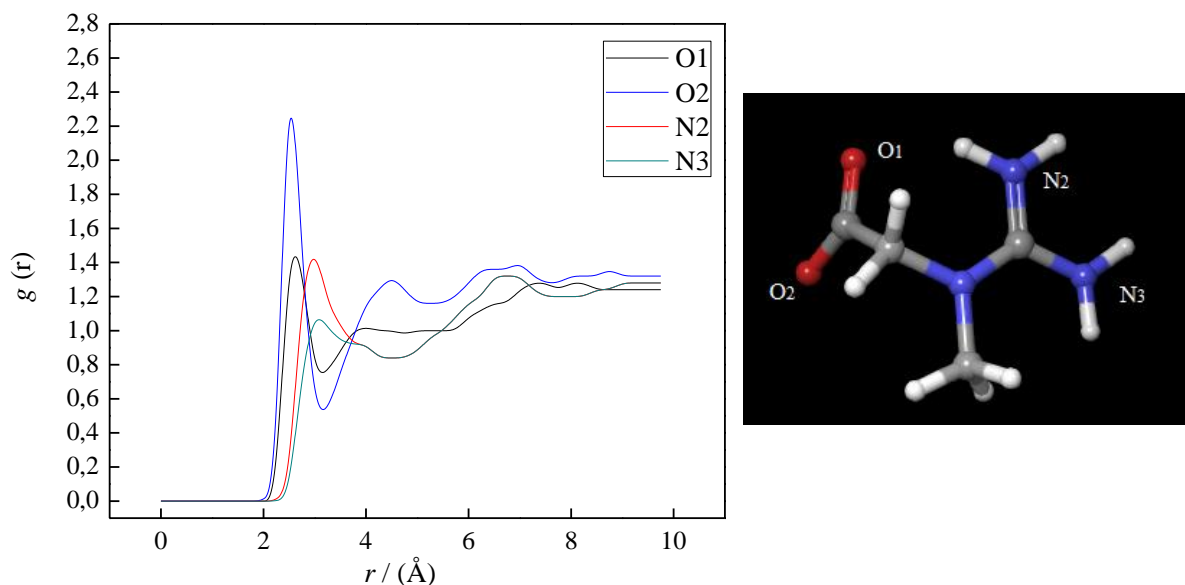
Kreatinin			
293,15	0,259	0,001	0,9999
298,15	0,256	0,001	0,9996
303,15	0,253	0,001	0,9991
308,15	0,250	0,001	0,9990
313,15	0,247	0,001	0,9996

Iz tabele 4.16 se uočava da su vrednosti B koeficijenta pozitivne i za kreatin i za kreatinin, što ukazuje na njihove *structure making* osobine. Bolji kriterijum za određivanje *structure making* ili *structure breaking* osobina je promena B koeficijenta sa temperaturom, odnosno dB/dT . Dobijene negativne vrednosti od $-1,08 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2}$ za kreatin i $-5,87 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2}$ za kreatinin potvrđuju njihove *structure making* osobine [186]. Veća vrednost B koeficijenta kao i negativnija promena dB/dT za kreatin ukazuju na bolju organizaciju molekula vode oko kreatina nego oko molekula kreatinina.

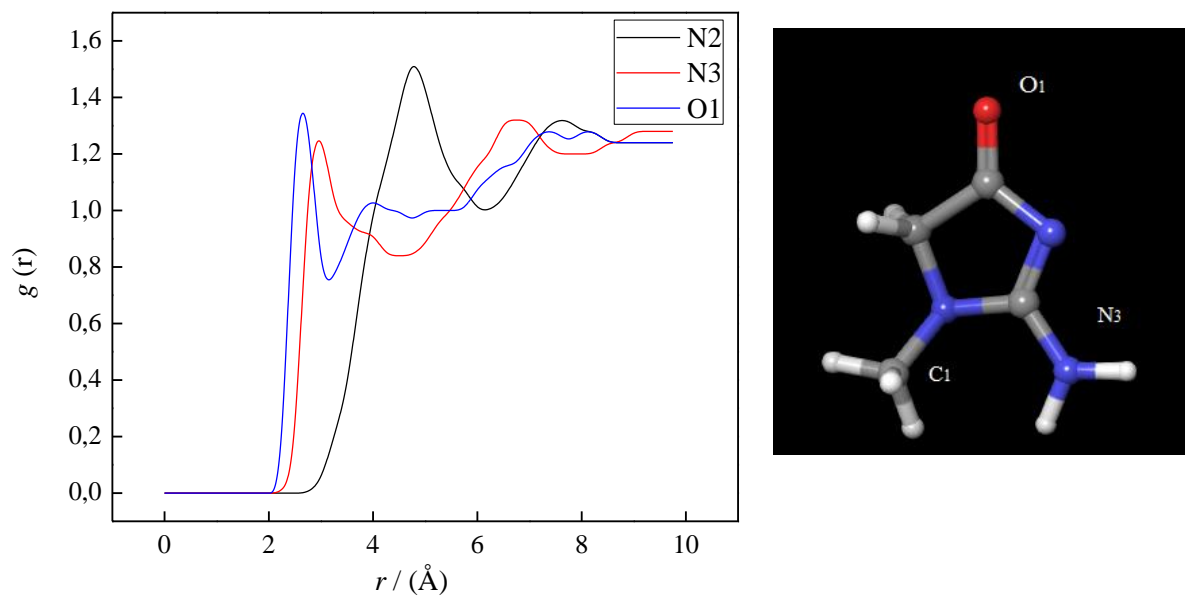
4.3.4. Rezultati računarskih simulacija

Radi boljeg razumevanja interakcija koje se odvijaju u ispitivanim sistemima, urađene su računarske simulacije. Izračunate su radijalne funkcije raspodele (RDF) molekula vode oko molekula kreatina i kreatinina, da bi se dobila jasnija slika o hidratacionoj sferi ovih molekula. Dobijeni RDF-ovi za kreatin su prikazani na slici 4.24, a za kreatinin na slici 4.25.

Poređenjem slika 4.24 i 4.25 se uočava da su pikovi dobijeni za kreatin oštiri, izraženiji i da se javljaju na manjim rastojanjima, na osnovu čega se može zaključiti da kreatin uspostavlja jače interakcije s molekulima vode u odnosu na kreatinin. Sa slike 4.24 se zapaža da najjače interakcije sa vodom uspostavljaju karboksilna i gvanidino grupa kreatina. Sa druge strane, molekuli vode su najbliže kiseoniku iz keto grupe i amino grupi kreatinina. Ono što se takođe može zaključiti na osnovu slike 4.25 jeste da ugljenikov atom iz metil grupe ima uticaj na organizaciju molekula vode, ali činjenica da je odgovarajući pik širok i da nije oštar, ukazuje na nedostatak intenzivnih interakcija. Postojanje ovog pika se može objasniti hidrofobnom hidratacijom metil grupe.

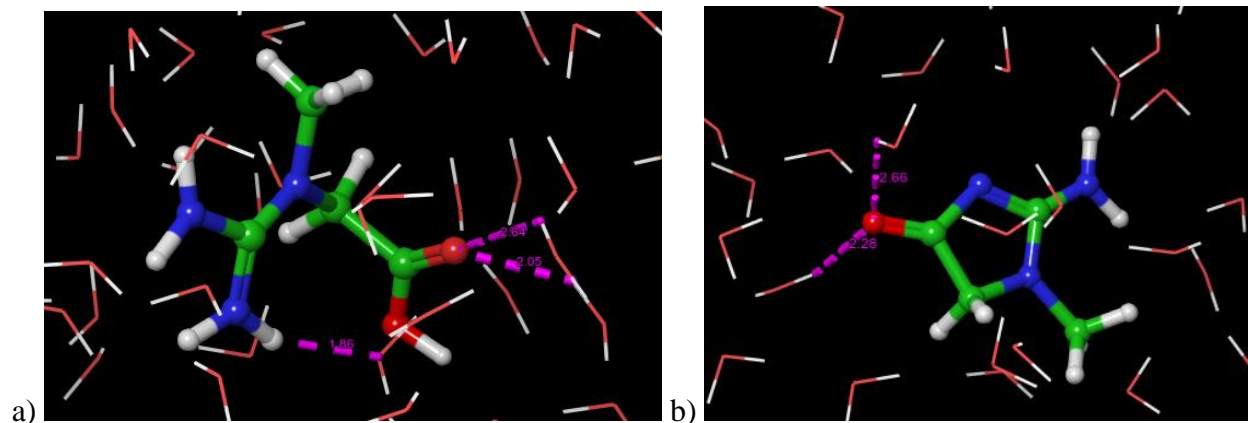


Slika 4.24. Funkcija radijalne raspodele vode oko odabranih atoma kreatina.



Slika 4.25. Funkcija radijalne raspodele vode oko odabranih atoma kreatinina.

Kako bi se bolje predstavile interakcije između vode i kreatina/kreatinina, na slici 4.26 je dat vizuelni prikaz organizacije molekula vode oko jednog molekula kreatina i kreatinina.



Slika 4.26. Vizuelni prikaz interakcija a) jednog molekula kreatina i b) jednog molekula kreatinina sa molekulima vode uz istaknute vodonične veze.

Sa slike 4.26 se vidi da kreatin formira tri vodonične veze sa molekulima vode, dok kreatinin formira dve. Odsustvo vodonične veze kao i bilo kakve druge značajne interakcije između molekula vode i metil grupe kreatinina ukazuje na prisustvo hidrofobne hidratacije ovog dela molekula.

4.3.5. Računanje hidratacionih brojeva

Kako je kreatin u rastvoru prisutan u vidu cviter jona, njegov hidratacioni broj se računa upotrebom jednačina (3.43-3.46). Gustina kristala kreatina, koja iznosi $d = 1,337 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ uzeta je iz literature [187]. Vrednosti hidratacionog broja kreatinina su izračunate na osnovu V_{ϕ}° i relativne viskoznosti pomoću jednačina (3.47-3.49). Takođe, hidratacioni brojevi kreatina i kreatinina izračunati su i primenom dobijenih RDF-ova, pomoću jednačine (3.53). Za prvi minimum je uzeto rastojanje na kom je $g(r)$ blizu nule (za kreatin ono iznosi $5,6 \text{ \AA}$ a za kreatinin $6,2 \text{ \AA}$). Na ovom rastojanju molekuli vode se slabo kreću kroz taj region i promene temperature i pritiska su zanemarene, tako da se on može smatrati prvom hidratacionom sferom. Dobijene vrednosti hidratacionih brojeva su prikazane u tabeli 4.17.

Dobijene vrednosti h_n za kreatin opadaju sa porastom temperature, ukazujući na udaljavanje molekula vode iz hidratacione sfere rastvorka, što je u saglasnosti sa dobijenim porastom E_{ϕ}° vrednosti. Dobijene vrednosti h_n za kreatinin se ne menjaju značajno sa temperaturom, kao ni

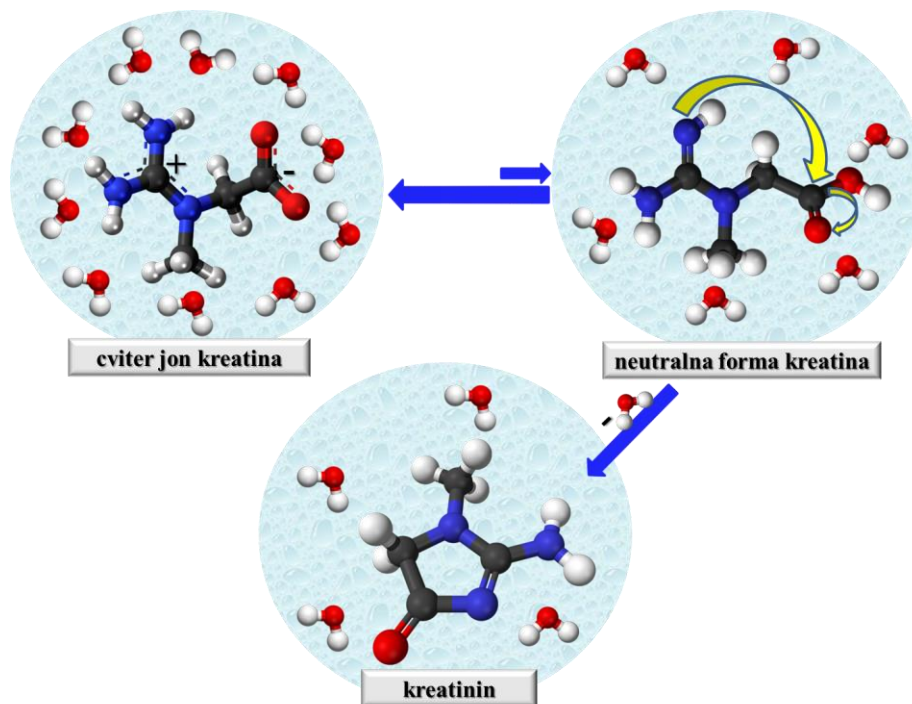
dobijene vrednosti za E_{ϕ}^0 , što znači da se molekuli vode sporije udaljavaju iz hidratacione sfere kreatinina nego u čistoj vodi.

Tabela 4.17. Vrednosti hidratacionih brojeva izračunatih pomoću jednačine (3.43) za kreatin i jednačine (3.47) za kreatinin u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$, i hidratacionog broja izračunatog pomoću jednačine (3.53) na $T = 298,15 \text{ K}$.

$T / (\text{K})$	$h_n^{(3.43)}$	$h_n^{(3.53)}$	$h_n^{(3.47)}$	$h_n^{(3.53)}$
	Kreatin		Kreatinin	
293,15	6,42	–	1,15	–
298,15	5,73	6,84	1,03	2,31
303,15	4,83	–	0,93	–
308,15	3,80	–	0,91	–
313,15	2,83	–	0,90	–

Veći hidratacioni broj kreatina je posledica njegove bolje sposobnosti da formira vodonične veze u odnosu na kreatinin. Manji hidratacioni broj kreatinina ukazuje na to da se u toku konverzije broj slobodnih molekula vode povećava. Pored toga, od jednog molekula kreatina nastaju dva molekula: kreatinin i voda (slika 4.27). Povećanje broja molekula dovodi do povećanja entropije sistema i može biti jedan od razloga spontanosti ovog procesa.

Odstupanje u vrednostima hidratacionih brojeva dobijenih eksperimentalnim putem i računarskim simulacijama može se objasniti kao posledica primene metoda potencijalnih interakcija prilikom računarskih simulacija. Ova metoda opisuje interakcije između rastvorka i rastvarača na osnovu aditivnih funkcija za interakcije, kvantno-mehaničkim proračunima. S obzirom na to da je polarizacija neaditivna veličina, njen uticaj je zanemaren, dobijene vrednosti za energiju veze su prividno veće, što za posledicu ima i prividno veće vrednosti hidratacionih brojeva [188].



Slika 4.27. Šema ciklizacije kreatina u kreatinin.



Novija istraživanja ukazuju na činjenicu da se ciklizacija kreatina u kreatinin odvija preko neutralnog oblika [189]. U vodenim rastvorima kreatin je prisutan kao cviter jon dok je neutralna forma prisutna u veoma maloj količini (slika 4.27). Dominantno prisutna cviter jonske struktura je posledica njene stabilizacije kroz interakcije sa molekulima vode, koji kao dipoli favorizuju prisustvo jonskog oblika. Na višim temperaturama dolazi do slabljenja interakcija između vode i molekula kreatina na šta ukazuju i smanjene vrednosti hidracionih brojeva kreatina kao i povećane vrednosti prividnih molarnih ekspanzibilnosti pri beskonačnom razblaženju. Usled desolvatacije cviter jonske strukture kreatina povećava se zastupljenost neutralne forme čime je olakšan proces ciklizacije. Na osnovu podataka dobijenih u ovoj disertaciji može se zaključiti da na proces konverzije utiču temperatura i hidratacija molekula, što je u saglasnosti sa rezultatima dobijenim u ranijim istraživanjima [42,43,189].



4.4. Uticaj hidratacionih osobina aminokiselina na formiranje peptidne veze

Voda igra važnu ulogu u održavanju stabilnosti, dinamici i funkciji proteina [190]. Međutim, njena uloga u stvaranju same peptidne veze nije još uvek istražena sa stanovišta promene hidratacionih osobina aminokiselina. U ovoj disertaciji detaljno su proučene hidratacione osobine aminokiselina β -alanina i L-histidina, kao i dipeptida koji one formiraju-molekula karnozina. Rezultati su dobijeni volumetrijskim i viskozimetrijskim merenjem njihovih vodenih rastvora kao i primenom MD simulacija. Gustine i viskoznosti vodenih rastvora ispitvanih jedinjenja merena su do molalитета $m = 0,0999 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ za β -alanin, $m = 0,1099 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ za L-histidin, i $m = 0,1200 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ za L-karnozin, i na sedam temperatura: $T = (283,15, 288,15, 293,15, 298,15, 303,15, 308,15, 313,15) \text{ K}$.

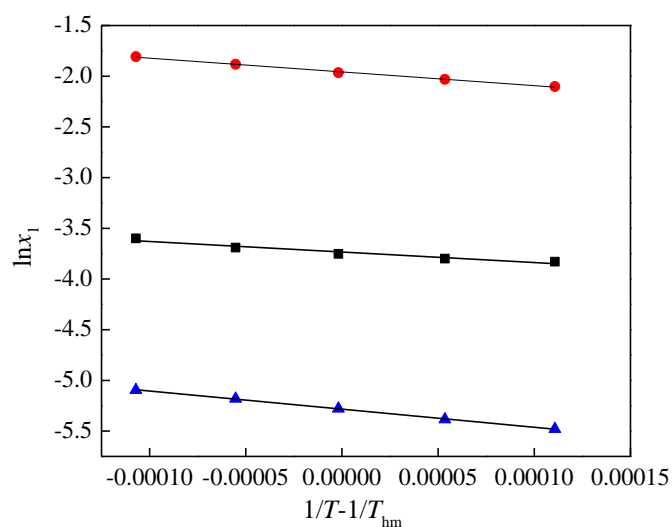
4.4.1. Rezultati rastvorljivosti

Zbog nedostatka podataka o rastvorljivosti L-karnozina, ona je određena na pet temperatura $T = (293,15, 298,15, 303,15, 308,15, 313,15) \text{ K}$. Dobijeni eksperimentalni podaci o rastvorljivosti L-karnozina prikazani su u tabeli 4.18, odakle se vidi da rastvorljivost L-karnozina raste sa temperaturom. Literaturne vrednosti rastvorljivosti polaznih aminokiselina [191,192] su takođe navedene u tabeli 4.18, iz koje se vidi da ispitivani dipeptid ima veću rastvorljivost u vodi od L-histidina ali manju od β -alanina.

Tabela 4.18. Vrednosti eksperimentalno određene rastvorljivosti L-karnozina i literaturne vrednosti rastvorljivosti β -alanina i L-histidina u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$T / (\text{K})$	$R / (\text{g}\cdot(100\text{g}_{\text{vode}})^{-1})$		
	L-karnozin	β -alanin [191]	L-histidin [192]
293,15	27,90	69,47	3,61
298,15	28,76	75,36	3,97
303,15	30,20	81,31	4,41
308,15	32,15	89,66	4,87
313,15	35,30	97,97	5,31

Vrednosti rastvorljivosti L-karnozina, β -alanina i L-histidina su korišćeni radi određivanja parametara termodinamike rastvaranja, standardne entalpije rastvaranja, ($\Delta_{\text{sol}}H^\circ$), entropije, ($\Delta_{\text{sol}}S^\circ$), promene *Gibbs*-ove energije, ($\Delta_{\text{sol}}G^\circ$), upotrebom modifikovane *van't Hoff*-ove jednačine (3.54-3.57) (slika 4.28). Takođe, da bi se odredio glavni uticaj i doprinos $\Delta_{\text{sol}}G^\circ$ u procesu rastvaranja, relativni doprinos entalpije, (ζ_H), i relativni doprinos entropije, (ζ_{TS}), su izračunati korišćenjem jednačina (3.57-3.58). Dobijene vrednosti termodinamičkih parametara $\Delta_{\text{sol}}G^\circ$, $\Delta_{\text{sol}}H^\circ$ i $\Delta_{\text{sol}}S^\circ$, kao i ζ_H , ζ_{TS} za vodene rastvore L-karnozina, β -alanina i L-histidina date su u tabeli 4.19.



Slika 4.28. Zavisnost prirodnog logaritma molskog udela, ($\ln x_1$), od ($1/T - 1/T_{hm}$) za: (■), L-karnozin, (●), β -alanin, i (▲), L-histidin u zasićenom vodenom rastvoru.

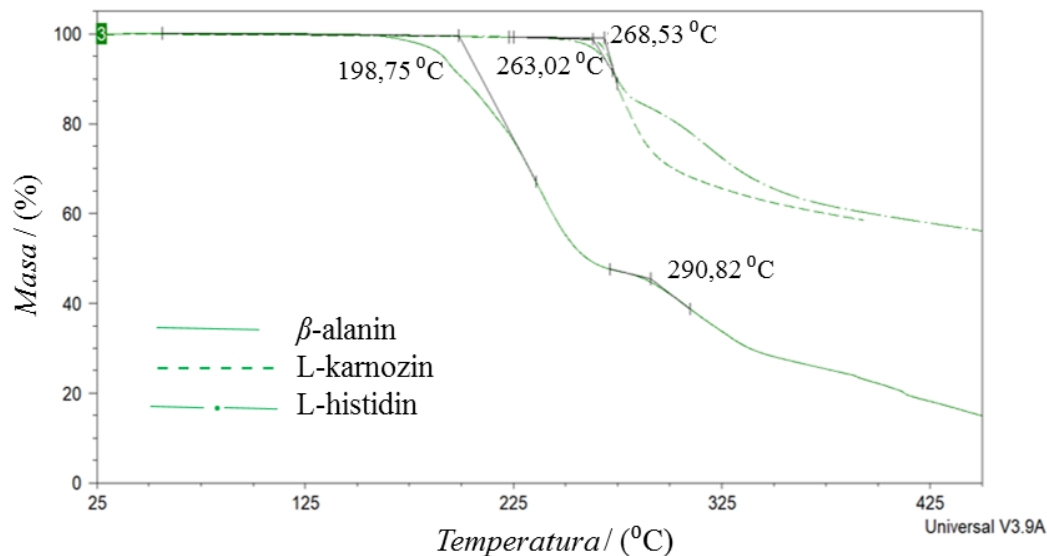
Tabela 4.19. Dobijene vrednosti termodinamičkih parametara $\Delta_{\text{sol}}G^\circ$, $\Delta_{\text{sol}}H^\circ$, i $\Delta_{\text{sol}}S^\circ$, ζ_H , ζ_{TS} za vodene rastvore L-karnozina, β -alanina i L-histidina.

Termodinamički parametri	L-karnozin	β -alanin	L-histidin
$\Delta_{\text{sol}}G^\circ / (\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	9,41	4,93	13,3
$\Delta_{\text{sol}}H^\circ / (\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	8,63	11,3	14,9
$\Delta_{\text{sol}}S^\circ / (\text{J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1})$	-2,55	20,9	5,11
ζ_H	0,92	0,64	0,91
ζ_{TS}	0,08	0,36	0,09

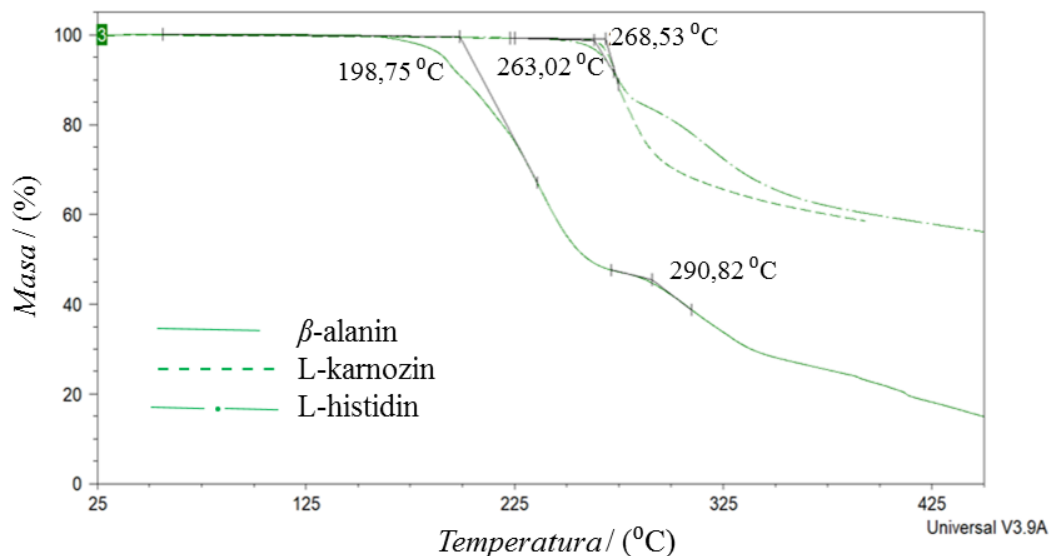
Iz tabele 4.19 uočava se da su vrednosti $\Delta_{\text{sol}}G^\circ$ za vodene rastvore ispitivanih jedinjenja poređane obrnutim redosledom od rastvorljivosti, odnosno najveća $\Delta_{\text{sol}}G^\circ$ vrednost dobijena je za L-histidin, a zatim za L-karnozin i β -alanin. Pozitivne vrednosti $\Delta_{\text{sol}}G^\circ$ i $\Delta_{\text{sol}}H^\circ$ pokazuju da je rastvaranje sve tri ispitivana jedinjenja endoterman proces, što ukazuje da su interakcije između rastvorenih jedinjenja i molekula vode jače od interakcija između samih molekula vode. Negativna $\Delta_{\text{sol}}S^\circ$ vrednost za L-karnozin označava da se njegovo rastvaranje u vodi odvija sa povećanjem uređenosti sistema, dok rastvaranje β -alanina i L-histidina dovodi do manje uređenosti sistema ($\Delta_{\text{sol}}S^\circ > 0$). Takođe, najveća vrednost $\Delta_{\text{sol}}S^\circ$ dobijena je za β -alanin jer je najrastvorljiviji u vodi u poređenju sa druga dva ispitivana jedinjenja. Izračunate vrednosti relativnog doprinosa entalpije i entropije ukazuju da je glavni doprinos $\Delta_{\text{sol}}G^\circ$, u rastvaranju L-karnozina, β -alanina i L-histidina u vodenim rastvorima, entalpija. Štaviše, endotermna entalpija rastvaranja je u skladu sa dobijenim povećanjem rastvorljivosti sa porastom temperature.

4.4.2. Rezultati termičke analize

Kako bi se istražio efekat formiranja peptidne veze na termičku stabilnost L-karnozina, urađena je termogravimetrijska analiza (TG) (Slika 4.26a) i simultana diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (DSC) (Slika 4.26b) za β -alanin, L-histidin i L-karnozin. Sa slike 4.29a se može videti da je sa početnom temperaturom razlaganja od $T_{\text{onset}} = 198,75$ °C, β -alanin termički najnestabilniji, dok L-histidin ($T_{\text{onset}} = 263,02$ °C) i L-karnozin ($T_{\text{onset}} = 268,53$ °C) imaju sličnu termičku stabilnost. Dobijeni rezultati ukazuju da formiranje peptidne veze u molekulu L-karnozina ne utiče značajno na promenu termičkih svojstava L-histidina. Sousa i drugi [193,194] su pokazali da je β -alanin manje termički stabilan od odgovarajućih α -aminokiselina. Termogravimetrijska analiza pokazuje razlaganje kristala, praćeno gubitkom mase i povezano je sa endotermnim pikom na DSC krivama (Slika 4.29b), koji karakteriše tipičan proces raspadanja [194,195]. U tabeli 4.20 su dati glavni parametri koji karakterišu termička svojstva ispitivanih jedinjenja, početne temperature razlaganja, (T_{onset}), i temperature topljenja, (T_i). L-karnozin i L-histidin pokazuju jedan oštar vrh oko $T = 276$ °C, dok β -alanin nakon termičkog razlaganja u inertoj atmosferi sa linearnim zagrevanjem, pokazuje tri koraka gubitka mase.



a)



b)

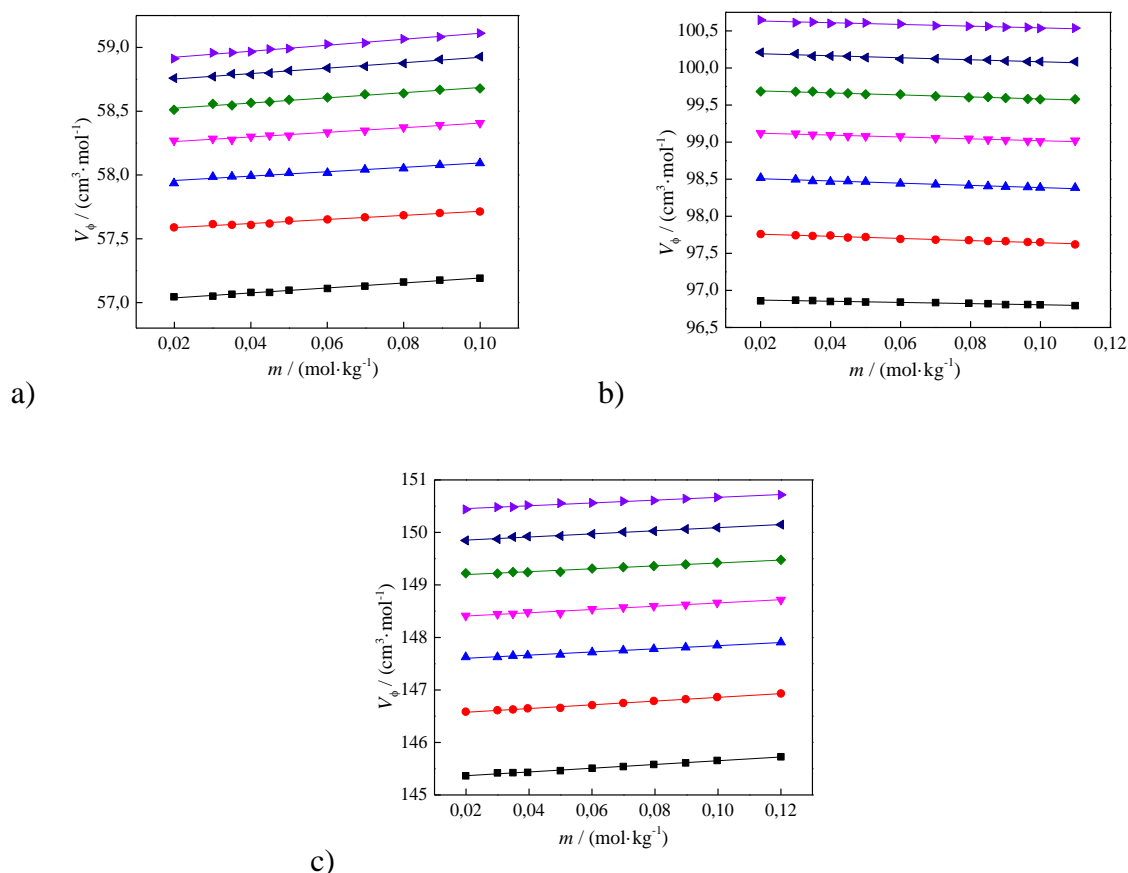
Slika 4.29. a) Termogravimetrijske i b) DSC krive β -alanina, L-karnozina i L-histidina.

Table 4.20. Termički parametri β -alanina, L-karnozina i L-histidina.

Jedinjenje	$T_{\text{onset}} / (^\circ\text{C})$	$T_t / (^\circ\text{C})$
β -alanin	198,75	213,23
L-karnozin	268,53	276,49
L-histidin	263,02	275,62

4.4.3. Rezultati volumetrijskih merenja

Volumetrijske osobine vodenih rastvora L-karnozina, β -alanina i L-histidina su određena na osnovu vrednosti izmerenih gustina rastvora data u tabeli P14. U svakom od tri ispitivana sistema, sve dobijene gustine opadaju sa porastom temperature pri svakom molalitetu rastvorene supstance. Dobijene gustine rastvora su korišćene za izračunavanje prividnih molarnih zapremina, (V_ϕ), ispitivanih rastvora, pomoću jednačine (3.21) i date su u tabeli P15. V_ϕ vrednosti su analizirane modifikovanom *Masson*-ovom jednačinom za neelektrolite (3.24), gde je dobijena linearna zavisnost V_ϕ vrednosti sa molalitetom za sva tri ispitivana sistema (slika 4.30). Dobijene vrednosti prividnih molarnih zapremina pri beskonačnom razblaženju, (V_ϕ^0), i S_V koeficijenti su dati u tabeli 4.21 zajedno sa standradnom devijacijom fita, (σ), i koeficijentom korelacije, (R^2).



Slika 4.30. Zavisnost prividnih molarnih zapremina (V_ϕ) od molaliteta (m) a) β -alanina, b) L-histidina, and c) L-karnozina u vodenim rastvorima, na različitim temperaturama: $T =$ (■), 283,15; (●), 288,15; (▲), 293,15; (▼), 298,15; (◆), 303,15; (◄), 308,15 i (►), 313,15 K.

Tabela 4.19. Parametri fita dobijeni primenom jednačine (3.24) za β -alanin, L-histidin i L-karnozin u vodenim rastvorima u temperaturnom opsegu od $T = (283,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$ sa devijacijom fita, (σ), i koeficijentom korelacije, (R^2).

$T / (\text{K})$	$V_{\phi}^0 / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$	$S_v / (\text{cm}^3 \cdot \text{kg} \cdot \text{mol}^{-2})$	σ	R^2
β -alanin				
283,15	57,00	1,95	0,0003	0,989
288,15	57,56	1,59	0,0004	0,977
293,15	57,92	1,72	0,0009	0,955
298,15	58,23	1,81	0,0003	0,984
303,15	58,48	2,03	0,0006	0,978
308,15	58,71	2,13	0,0003	0,989
313,15	58,88	2,35	0,0004	0,990
L-histidin				
283,15	96,89	-0,79	0,0003	0,959
288,15	97,79	-1,43	0,0005	0,978
293,15	98,54	-1,49	0,0006	0,975
298,15	99,15	-1,26	0,0005	0,971
303,15	99,72	-1,35	0,0005	0,975
308,15	100,22	-1,35	0,0012	0,941
313,15	100,66	-1,16	0,0007	0,953
L-karnozin				
283,15	145,30	3,56	0,0006	0,995
288,15	146,50	3,55	0,0008	0,994
293,15	147,54	3,00	0,0011	0,989
298,15	148,35	3,11	0,0019	0,981
303,15	149,14	2,76	0,0019	0,976
308,15	149,79	2,97	0,0006	0,993
313,15	150,40	2,68	0,0011	0,986

Na slici 4.30 se vidi da vrednosti vodenih rastvora β -alanina i L-karnozina rastu sa porastom koncentracije rastvorene supstance na svim ispitivanim temperaturama, dok je za L-histidin

zabeležen suprotan trend. Pozitivne vrednosti S_v koeficijenta su tipične za rastvore sa jakim interakcijama između rastvorenih supstanci, dok na slabe interakcije između rastvorenih supstanci ukazuju negativne S_v vrednosti. Shodno tome, posmatrajući vrednosti iz tabele 4.21, čini se da se jačina interakcija između rastvorenih supstanci smanjuje u pravcu L-karnozin > β -alanin > L-histidin. Ovi rezultati pokazuju da se u vodenim rastvorima uspostavljaju jače interakcije između molekula L-karnozina nego između rastvorenih aminokiselina koje ga formiraju. Pored toga, u literaturi je za aminokiseline utvrđena negativna vrednost za L-histidin i pozitivna S_v vrednost za β -alanin što je u skladu sa dobijenim rezultatima u ovoj disertaciji [183]. *Mishra* i *Ahluwalia* [196], su predložili da se V_ϕ^0 vrednosti dipeptida na $T = 298,15$ K mogu izračunati korišćenjem sledećeg izraza: V_ϕ^0 (dipeptid) = V_ϕ^0 (prva aminokiselina) + V_ϕ^0 (druga aminokiselina) + 10,5 (za smanjenje elektrostrikcije usled gubitka naelektrisanja koje potiče iz CO_2^- i NH_3^+ grupa) - 18 (za uklanjanje 1 mol H_2O) - 3,4 (za povećanje elektrostrikcije usled razdvajanja naelektrisanih centara). Izračunata V_ϕ^0 vrednost L-karnozina od $V_\phi^0 = 146,47 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ dobijena korišćenjem ovog izraza se dobro slaže sa vrednostima dobijenom vrednosti od $V_\phi^0 = 148,35 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ iz *Masson*-ove jednačine.

Takođe, V_ϕ^0 vrednosti koje rastu sa promenom temperature (slika P6), su fitovane polinomnom jednačinom drugog reda (3.30), a dobijeni a_0 , a_1 i a_2 koeficijenti su dati u tabeli P16. Dobijeni koeficijenti su iskorišćeni za izračunavanje prividne molarne ekspanzibilnosti pri beskonačnom razblaženju, (E_ϕ^0), na osnovu jednačine (3.31), a vrednosti za ispitivane sisteme na različitim temperaturama su date u tabeli 4.22.

Za sve ispitivane sisteme, E_ϕ^0 vrednosti su pozitivne u celom temperaturnom opsegu i opadaju sa porastom temperature. Takođe, E_ϕ^0 vrednosti opadaju u nizu: L-karnozin > L-histidin > β -alanin. Korišćenjem *Hepler*-ove jednačine (3.32), izračunat je *Hepler*-ov koeficijent (tabela 4.22). Za sve ispitivane sisteme dobijene su negativne vrednosti koje sugerišu na njihove *structure breaking* osobine. Dobijene E_ϕ^0 vrednosti i *Hepler*-ovi koeficijenti ukazuju da je u ispitivanim sistemima najistaknutiji *structure breaker* L-karnozin, dok su kod β -alanina *structure breaking* osobine najmanje izražene.

Tabela 4.22. Vrednosti prividnih molarnih ekspanzibilnosti pri beskonačnom razblaženju, (E_{ϕ}^0), i *Hepler*-ovih koeficijenata za β -alanin, L-histidin i L-karnozin u vodenim rastvorima u temperaturnom opsegu od $T = (283,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$T / (\text{K})$	283,15	288,15	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15	$\left(\frac{\partial E_{\phi}^0}{\partial T}\right)_p$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2}$)
Jedinjenje	$E_{\phi}^0 / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1})$							
β -alanin	0,1000	0,0869	0,0738	0,0607	0,0476	0,0345	0,0214	-0,0026
L-histidin	0,1580	0,1586	0,1413	0,1240	0,1067	0,0894	0,0721	-0,0035
L-karnozin	0,2386	0,2150	0,1914	0,1678	0,1442	0,1206	0,0970	-0,0047

4.4.4. Računanje hidratacionih brojeva

Volumetrijski parametri su upotrebljeni za izračunavanje hidratacionih brojeva, (h_n), ispitivanih aminokiselina i dipeptida na osnovu jednačina (3.43-3.46) i dati u tabeli 4.23.

Može se primetiti da u svim sistemima, h_n opada sa porastom temperature, dok su najveći hidratacioni brojevi dobijeni za L-karnozin. Posmatrajući tabelu 4.23, može se videti da je zbir hidratacionih brojeva aminokiselina veći od dobijenog hidratacionog broja dipeptida na svakoj temperaturi. Ovo ukazuje da formiranje peptidne veze smanjuje broj molekula vode u hidratacionoj sferi L-karnozina u poređenju sa brojem molekula vode u hidratacionim sferama koje čine aminokiseline.

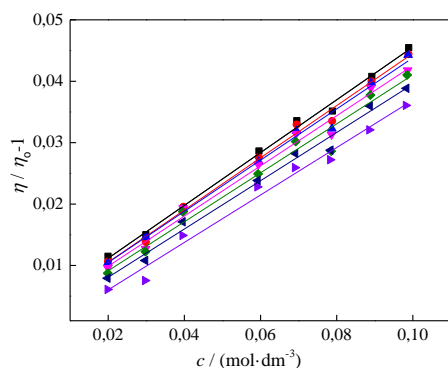
Prema *Megi* [197] formiranje peptidne veze je praćeno povećanjem entropije, što je verovatno posledica oslobađanja orijentisanih molekula vode koje se nalaze oko naelektrisane karboksilne i amino grupe aminokiselina. Orijetisani molekuli vode se oslobađaju nestankom naelektrisanih delova iz strukture aminokiselina uspostavljanjem peptidne veze, što dovodi do odgovarajućeg povećanja entropije.

Tabela 4.23. Vrednosti hidratacionih brojeva izračunatih pomoću jednačine (3.43) za L-karnozin, β -alanin i L-histidin u vodenim rastvorima u temperaturnom opsegu od $T = (283,15$ do $313,15)$ K.

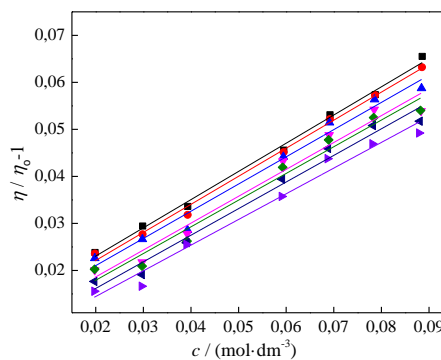
$T / (\text{K})$	h_n		
	β -alanin	L-histidin	L-karnozin
283,15	4,49	9,05	11,8
288,15	3,99	8,12	10,6
293,15	3,61	7,35	9,56
298,15	3,30	6,72	8,74
303,15	2,88	5,84	7,58
308,15	2,60	5,28	6,85
313,15	2,23	4,49	5,82

4.4.5. Rezultati viskozimetrijskih merenja

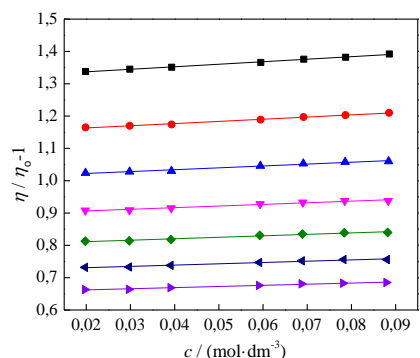
Vrednosti izmerenih viskoznosti rastvora (tabela P17) analizirani su primenom *Jones-Dole*-ove jednačine za neelektrolite (3.37). Na slici 4.31 je prikazana zavisnost relativne viskoznosti od koncentracije L-karnozina, β -alanina i L-histidina. Dobijene vrednosti za B koeficijente, koji predstavlja nagib prave, standardnu devijaciju, (σ), i regresioni koeficijent, (R^2), su dati u tabeli 4.24.



a)



b)



c)

Slika 4.31. Zavisnost relativne viskoznosti, $((\eta/\eta_0)-1)$, od koncentracije, (c), a) β -alanina b) L-histidina i c) L-karnozina u vodenim rastvorima, na različitim temperaturama: $T =$ (■), 283,15; (●), 288,15; (▲), 293,15; (▼), 298,15; (◆), 303,15; (◄), 308,15 and (►), 313,15 K.

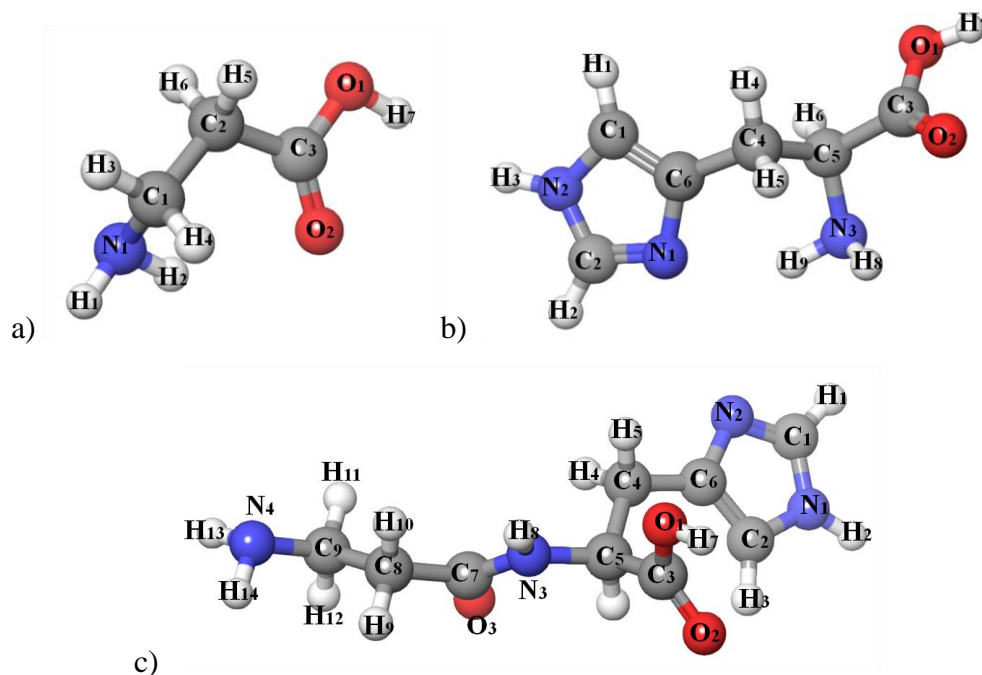
Pozitivne vrednosti koeficijenta B , koje se smanjuju sa porastom temperature, ukazuju na *structure making* osobine sve tri rastvorene supstance. Najizraženiji *structure maker* je L-karnozin, dok β -alanin ima najslabiji uticaj na organizaciju vode oko sebe. Evidentna kontradiktornost dobijenih *Hepler*-ovih koeficijenata koji ukazuju na *structure breaking* osobine objašnjena je ranije, u radu *Marcus*-a [3], sugerišući da *Hepler*-ov koeficijent ne može da bude najpouzdaniji način za određivanje tendencije ka *structure making/breaking* osobinama. Naime, *Hepler*-ov koeficijent se izračunava kao indirektni parametar iz koeficijenata fita prividne molarne zapremine sa temperaturom. Pouzdaniji parametar predstavlja znak promene koeficijenta B sa temperaturom, odnosno dB/dT . Dobijene su negativne vrednosti za β -alanin ($-5,92 \cdot 10^{-4} \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$), L-histidin ($-1,53 \cdot 10^{-3} \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$) i L-karnozin ($-1,67 \cdot 10^{-3} \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$), koje potvrđuju *structure making* osobine sva tri jedinjenja. Pored toga, najveću tendenciju ka organizovanju molekula vode oko sebe pokazuje L-karnozin. Najslabiju sposobnost organizacije molekula vode ima β -alanin, što je u skladu sa dobijenim koeficijentom B , i hidratacionim brojevima. Kako koeficijent B direktno zavisi od veličine, oblika i naelektrisanja molekula rastvorene supstance, predznak i vrednost B koeficijenta zavise od stabilizacije vode nepolarnim (CH_2) grupama i remećenja strukture vode usled prisustva (NH_3^+ , COO^-) grupe. Negativne dB/dT vrednosti sugerišu da je na strukturnu organizaciju vode dominantan efekat nepolarnog dela ovih aminokiselina nad efektom terminalnih naelektrisanih grupa aminokiselinama [198]. S obzirom da su dobijeni B koeficijenti pozitivni, uz blagi pad sa temperaturom, zaključuje se da su *structure making* osobine uglavnom uslovljene dužinom nepolarnog lanca aminokiselina i dipeptida.

Tabela 4.24. Parametri fita dobijeni primenom *Jones-Dole*-ove jednačine za viskoznost β -alanina, L-histidina i L-karnozina u vodenim rastvorima u temperaturnom opsegu od $T = (283,15$ do $313,15)$ K, sa devijacijom fita, (σ), i koeficijentom korelacije, (R^2).

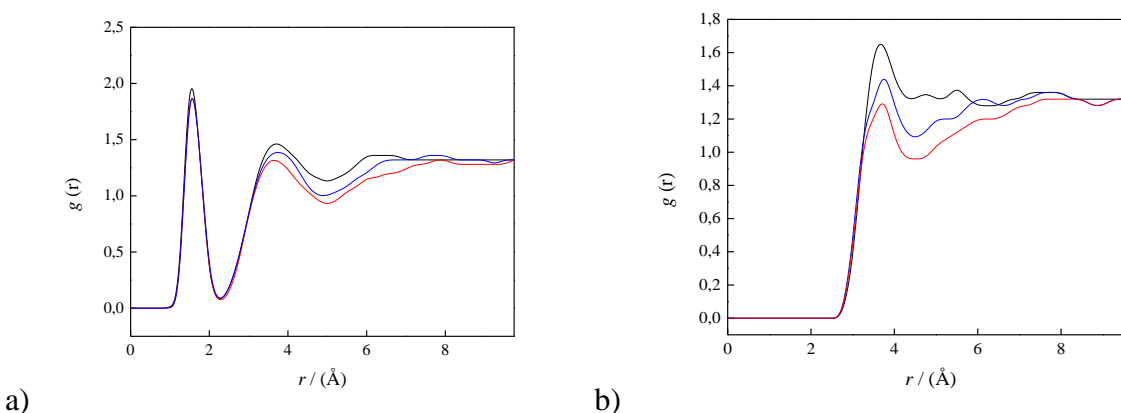
$T / (\text{K})$	$B / (\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$	σ	R^2
β -alanin			
283,15	0,222	0,000	0,9970
288,15	0,212	0,000	0,9977
293,15	0,209	0,001	0,9950
298,15	0,207	0,001	0,9933
303,15	0,206	0,001	0,9918
308,15	0,203	0,001	0,9897
313,15	0,202	0,001	0,9857
L-histidin			
283,15	0,430	0,001	0,9982
288,15	0,425	0,001	0,9960
293,15	0,417	0,001	0,9953
298,15	0,408	0,001	0,9933
303,15	0,399	0,002	0,9878
308,15	0,393	0,001	0,9945
313,15	0,386	0,001	0,9928
L-karnozin			
283,15	0,600	0,001	0,9979
288,15	0,597	0,001	0,9977
293,15	0,579	0,002	0,9906
298,15	0,572	0,003	0,9851
303,15	0,568	0,003	0,9866
308,15	0,566	0,002	0,9894
313,15	0,546	0,002	0,9897

4.4.6. Rezultati računarskih simulacija

Za detaljnije istraživanje hidratacionih osobina, primenjene se računarske simulacije. RDF-ovi koji odgovaraju svakom atomu istraživanih jedinjenja (numeracija predstavljena na slici 4.32) i vodi su dati u Prilogu (slike P7-P9), a razmatrani su oni sa najistaknutijim pikovima. Najizraženiji RDF-ovi su dobijeni za $-\text{COOH}$ grupu, pa su upoređene vrednosti za ugljenik i atom vodonika iz odgovarajuće grupe β -alanina, L-histidina i L-karnozina prikazane na slici 4.33.



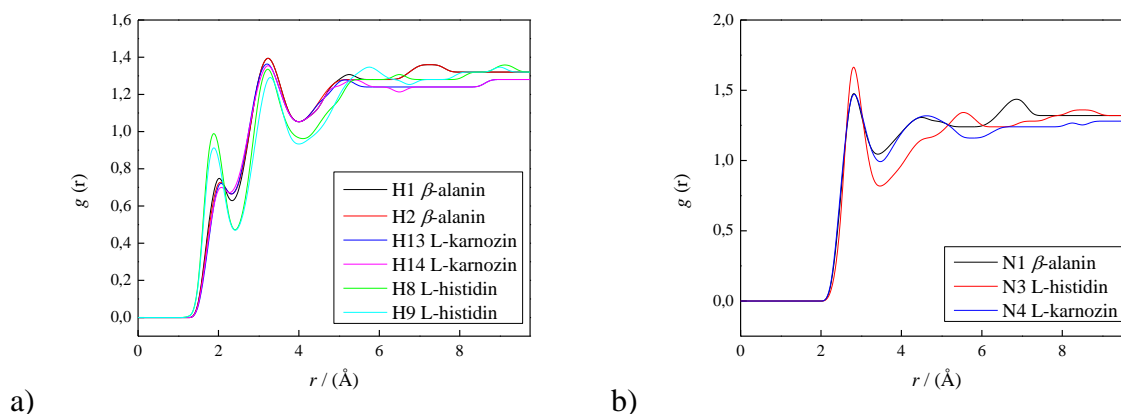
Slika 4.32. Numeracija atoma za a) β -alanin, b) L-histidin i c) L-karnozin.



Slika 4.33. Funkcija radijalne raspodele centra mase vode oko atoma (a) H7 i (b) C3 β -alanina (crna linija), L-histidina (plava linija), L-karnozina (crvena linija).

Kao što je prikazano na slici 4.33a, prvi pik za rastojanje između vode i vodonika H7 je isti (1,5 Å) za svako ispitivano jedinjenje, što ukazuje na visoku tendenciju formiranja H-veza sa vodom. Dalje, intenzitet drugog vrha značajno varira, dok su rastojanja slična. Poreklo ove varijacije može biti detaljnije posmatrano na udaljenosti između vode i atoma ugljenika (C3) iz karboksilne grupe. Slika 4.33b pokazuje da je najveća verovatnoća pronalaženja vode oko ugljenika iz –COOH grupe u slučaju β -alanina, dok je najmanja verovatnoća za L-karnozin. Zaklanjanje karboksilne i amino grupe u L-histidinu ili imidazola u L-karnozinu čini C3 atom manje dostupnim vodi nego u slučaju β -alanina, što dovodi do izraženije hidratacije –COOH grupe β -alanina.

Štaviše, različita organizacija vode može se uočiti za amino grupu (slika 4.34). Kao što se može videti sa slike 4.34, RDF-ovi za vodu oko vodonika i azota iz amino grupe su skoro identični za β -alanin i L-karnozin. Istovremeno, L-histidin ima izraženiji prvi pik na nižoj udaljenosti od ostalih ispitivanih jedinjenja. Oštriji i intenzivniji prvi pik za amino grupu L-histidina potiče od obližnje karboksilne grupe, izazivajući veću privlačnost vode. Prema tome, organizacija vode oko β -alanina prvenstveno potiče od –COOH i –NH₂ grupa, dok L-histidin i L-karnozin imaju dodatni imidazolov prsten koji promovise hidratacione osobine.



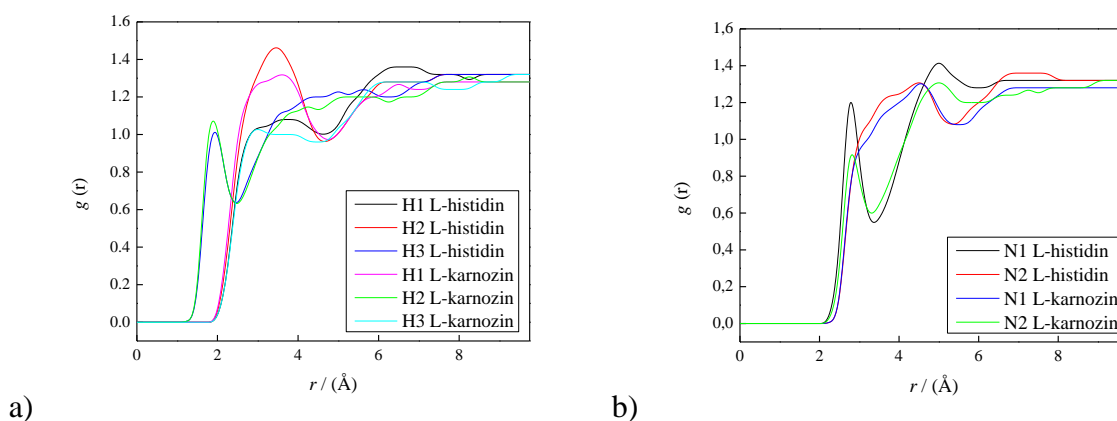
Slika 4.34. Funkcija radijalne raspodele centra mase vode oko a) atoma vodonika amino grupe i b) atoma azota amino grupe β -alanina, L-histidina i L-karnozina.

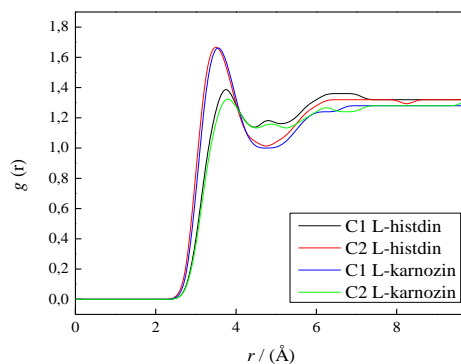
Da bi se u potpunosti razumela razlika u hidratacionim osobinama L-histidina i L-karnozina, neophodno je istražiti RDF-ove između atoma imidazolovog prstena i vode (slika 4.35). Kao što se može videti sa slike 4.35, pikovi za atome L-histidina su intenzivniji i izraženiji nego kod L-karnozina, što ukazuje na bolju hidrataciju L-histidina. Udaljeniji položaj visoko hidrofilnih grupa

($-\text{COOH}$ i $-\text{NH}_2$), u slučaju L-histidina, rezultira boljom dostupnošću imidazolovog prstena za pristup vodi i samim tim višim nivoom hidratacije.

Iz dobijenih rezultata može se primetiti da je karboksilna grupa β -alanina bolje hidratirana od karboksilne grupe dipeptida L-karnozina. S druge strane, amino grupa i imidazolov prsten L-histidina takođe imaju veću tendenciju da privlače vodu u poređenju sa L-karnozinom. Značajno manja tendencija hidratacije najhidrofilnije grupe L-karnozina može se kompenzovati prisustvom peptidne veze. Stoga su RDF-ovi za odgovarajuće atome peptidne veze predstavljeni na slici 4.36. Slika 4.36 sugerše da peptidna veza privlači molekule vode, ali da bi se kvantifikovao doprinos peptidne veze ukupnoj hidrataciji L-karnozina, potrebno je izračunavanje hidratacionih brojeva.

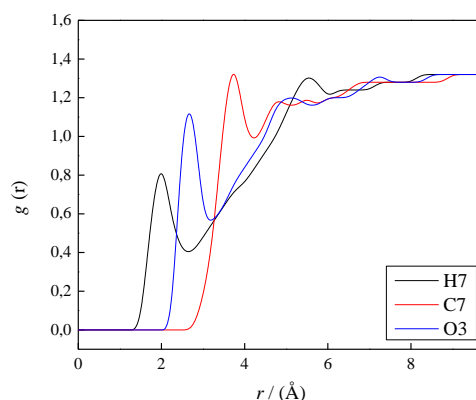
Upotrebom jednačine (3.53) izračunati su hidratacioni brojevi β -alanina, L-histidina i L-karnozina. Za precizno izračunavanje hidratacionog broja uzimaju se u obzir RDF-ovi centra mase vode i svakog atoma β -alanina, L-histidina i L-karnozina. Dobijene vrednosti za hidratacione brojeve su $h_n = 4,1$ za β -alanin, $h_n = 7,5$ za L-histidin i $h_n = 10,2$ za L-karnozin. Dobijene vrednosti su slične eksperimentalno dobijenim hidratacionim brojevima i takođe sugeršu da je hidratacioni broj L-karnozina manji od zbira hidratacionih brojeva L-histidina i β -alanina. Jedan od razloga za manji hidratacioni broj L-karnozina može biti nedovoljna hidratacija peptidne veze.





c)

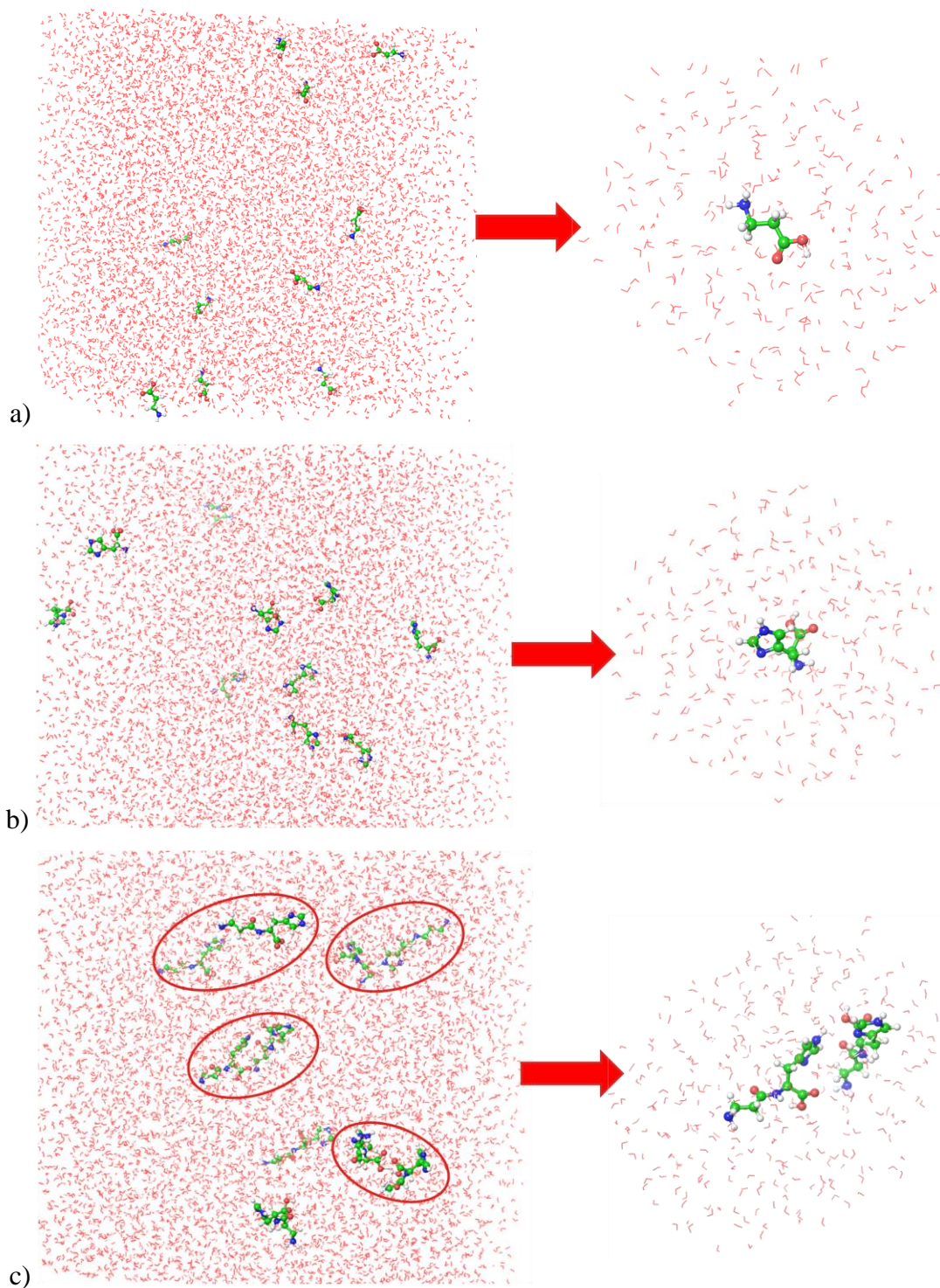
Slika 4.35. Funkcija radijalne raspodele centra mase vode oko atoma imidazolovog prstena: a) vodonika b) azota i c) ugljenika L-histidina i L-karnozina.



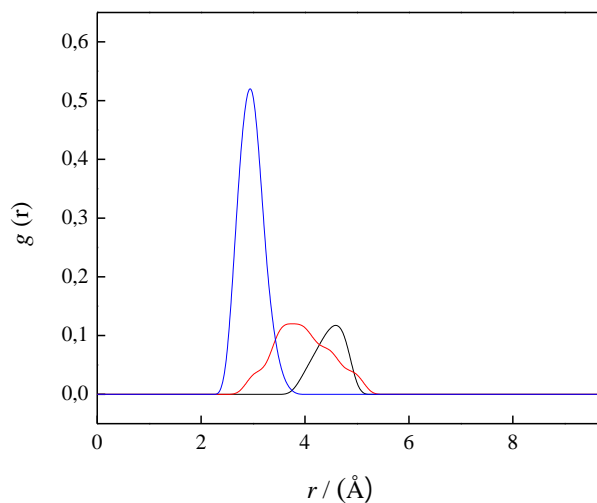
Slika 4.36. Funkcija radijalne raspodele centra mase vode oko atoma L-karnozina.

Bolji uvid u organizaciju vode oko odabranih molekula može se dobiti korišćenjem vizuelne analize ispitivanjem snimaka vodenih rastvora L-karnozina, β -alanina i L-histidina u ravnoteži. Reprezentativni snimci su predstavljeni na slici 4.37. Kao što je prikazano na slici 4.37, L-histidin i β -alanin su bolje hidratizirani od L-karnozina, gde se može primetiti bliska udaljenost između molekula rastvorene supstance, što ukazuje na potencijalnu interakciju između molekula L-karnozina. Sprovedena je analiza RDF-ova da bi se dobio bolji uvid u interakcije između samih molekula L-karnozina, L-histidina i β -alanina. Dobijeni rezultati za rastojanje centra mase za svaki molekul prikazani su na slici 4.38. Kao što je prikazano na slici 4.38, pik koji odgovara interakciji L-karnozin–L-karnozin je značajno intenzivniji i pojavljuje se na nižoj udaljenosti od L-histidin–L-histidin i β -alanin– β -alanin interakcija. Ovi rezultati dokazuju težnju L-karnozina da interaguje

sam sa sobom u vodenom rastvoru, što dovodi do nižeg hidratacionog broja L-karnozina od zbira hidratacionih brojeva aminokiselina koje ga čine.



Slika 4.37. Vizuelni prikaz organizacije vode oko molekula: a) β -alanina, b) L-histidina, c) L-karnozina.



Slika 4.38. Funkcija radijalne raspodele centara masa β -alanina (crna linija), L-histidina (crvena linija), L-karnozina (plava linija).



Hidratacioni broj karnozina manji od zbira hidratacionih brojeva aminokiselina koji ga čine – β -alanina i L-histidina. Ovi rezultati ukazuju da se prilikom formiranja peptidne veze entropija sistema povećava zbog izdvajanje molekula iz hidratacionih sfera slobodnih aminokiselina, što može da bude pokretačka sila za njihovo povezivanje u dipeptid.



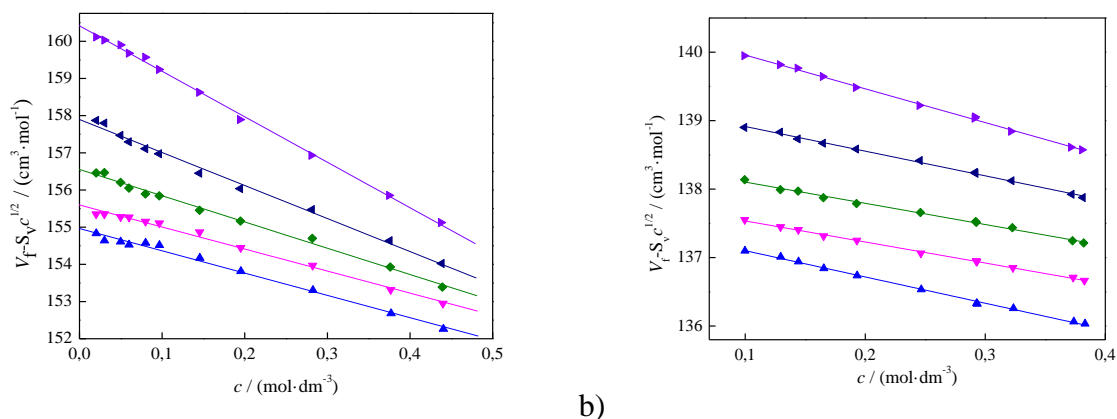
4.5. Uticaj hidratacionih osobina na ukus jonskih jedinjenja

Soli biološki aktivnih jedinjenja odabrane za proučavanje hidratacije jonskih jedinjenja jesu sinefrin-hidrohlorid (sinefrin-HCl) i oktopamin-hidrohlorid (oktopamin-HCl). S obzirom da su ova dva alkaloida gorkog ukusa poreklom iz grupe citrusnog voća i široko se koriste kao komponente različitih sportskih dodataka ili u proizvodnji nekih tradicionalnih slatkih proizvoda (kao što je marmelada od pomorandže), bitno je ispitati njihove hidratacione osobine u vodenim rastvorima ali i kako dodavanje šećera utiče na ukus ovih rastvora. U procesu hemorepcije, voda se može posmatrati kao medijum u kom se molekuli stimulusa prevode u receptorsko okruženje i usmeravaju se ka njemu [199]. Pokazano je i da su hidratacione osobine šećera (kao što je D-fruktoza) i njihova molarna zapremina esencijalni u mehanizmu hemorepcije ukusa [138] i za kvalitet ukusa multisapofornih molekula [140]. Takođe, zbog razlike u strukturi sinefrin-hidrohlorida i oktopamin-hidrohlorida za jednu $-\text{CH}_3$ grupu, moguće je ispitati njen efekat na hidratacione osobine i na ukus jedinjenja i uporediti sa ukusom strukturno sličnih fenilalkilamin-hidrohlorida.

4.5.1. Interakcije, volumetrijske i viskozimetrijske osobine vodenih rastvora sinefrin-hidrohlorida i oktopamin-hidrohlorida

Gustine vodenih rastvora sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a su merene u opsegu molalитета od $m = (0,0203 \text{ do } 0,4732) \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ za sinefrin-HCl i od $m = (0,1013 \text{ do } 0,4051) \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ za oktopamin-HCl na pet temperatura: $T = (293,15, 298,15, 303,15, 308,15, 313,15) \text{ K}$. Dobijeni rezultati su dati u tabeli P18. Sve eksperimentalne gustine se povećavaju sa povećanjem molalитета rastvorene supstance na svakoj temperaturi. Takođe, sve dobijene gustine opadaju sa porastom temperature pri svakom molalitetu sinefrin-HCl/oktopamin-HCl.

Vrednosti prividne molarne zapremine, (V_ϕ), su izračunate pomoću jednačine (3.21) i predstavljene u tabeli P19. Ove vrednosti su fitovane primenom *Redlich-Meier*-ove preuređene jednačine (3.29) i dobijene linearne zavisnosti V_ϕ od c su predstavljene na slici 4.39. Dobijene vrednosti prividnih molarnih zapremina pri beskonačnom razblaženju, (V_ϕ^0), i S_v i b koeficijenata su tabelarno prikazani u tabeli 4.25 zajedno sa standradnom devijacijom fita, (σ), i koeficijentom korelacije, (R^2).



a)

b)

Slika 4.39. Promena $V_{\phi} - S_v c^{1/2}$ sa koncentracijom, (c), a) sinefrin-HCl-a i b) oktopamin-HCl-a na različitim temperaturama: $T = (\blacktriangle)$, 293,15; (\blacktriangledown), 298,15; (\blacklozenge), 303,15; (\blacktriangleleft), 308,15 i (\blacktriangleright), 313,15 K.

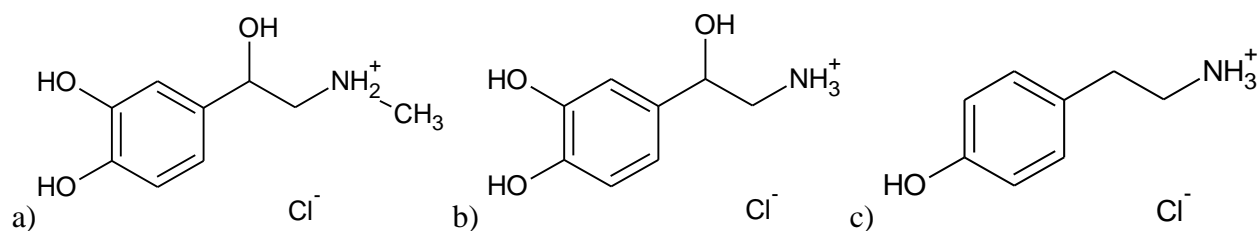
Prividna molarna zapremina pri beskonačnom razblaženju je aditivna vrednost koja uključuje parcijalne doprinose katjona i anjona sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a. Pošto je literaturna vrednost za Cl^- $V_{\phi}^{\circ} = 23,3 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ na $T = 298,15 \text{ K}$ [200], vrednost prividne molarne zapremine pri beskonačnom razblaženju za jon sinefrina iznosi $V_{\phi}^{\circ} = 132,30 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$, dok za oktopamin iznosi $V_{\phi}^{\circ} = 114,54 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$.

Vrednosti V_{ϕ}° sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a u vodenim rastvorima su pozitivne i rastu sa porastom temperature. Dobijene b vrednosti su negativne za oba sistema i opadaju sa porastom temperature, što ukazuje na jake interakcije jon-jon ili rastvorak-rastvorak [201]. Negativne b vrednosti mogu biti posledica činjenice da su sinefrin-HCl i oktopamin-HCl u obliku soli i so ostaje potpuno jonizovana u vodi kao rastvaraču sa visokom relativnom permitivnošću. Negativnije vrednosti za sinefrin-HCl sa dodatnom metil grupom mogu biti posledica hidrofobne solvatacije i bolje strukturne organizacije molekula vode oko metil grupe [201].

Pored toga, iz razlike u vrednostima V_{ϕ}° između sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a, može se izračunati uticaj dodatne metil grupe na atom azota u promenu zapremine na $T = 298,15 \text{ K}$ i uporediti sa dobijenim vrednostima za strukturno slične molekule fenilalkilamin-hidrohlorida (slika 4.40).

Tabela 4.25. Parametri fita dobijeni primenom jednačine (3.29) za sinefrin-HCl i oktopamin-HCl u vodenim rastvorima u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$ sa devijacijom fita, (σ), i koeficijentom korelacije, (R^2).

$T / (\text{K})$	$V_{\phi}^o / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$	$S_v / (\text{cm}^{3/2} \cdot \text{mol}^{-1/2})^2$	$b / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})^2$	σ	R^2
Sinefrin-HCl + voda					
293,15	154,96	1,78	-5,99	0,087	0,9956
298,15	155,60	1,87	-5,92	0,077	0,9964
303,15	156,55	1,96	-7,06	0,084	0,9970
308,15	157,90	2,05	-8,88	0,116	0,9964
313,15	159,06	2,14	-8,15	0,079	0,9979
Oktopamin-HCl + voda					
293,15	137,48	1,78	-3,84	0,020	0,9988
298,15	137,84	1,87	-3,07	0,013	0,9992
303,15	138,41	1,96	-3,10	0,022	0,9977
308,15	139,28	2,05	-3,60	0,019	0,9987
313,15	140,45	2,14	-4,93	0,021	0,9991



Slika 4.40. Strukture a) epinefrin-HCl-a b) norepinefrin-HCl-a i c) tiramin-HCl-a.

Dobijena razlika V_{ϕ}^o vrednosti sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a od $V_{\phi}^o = 17,75 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ dobro se slaže sa vrednošću $V_{\phi}^o = 18,1 \pm 0,3 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ dobijenom za razliku epinefrin-HCl-a i norepinefrin-HCl-a, koji se takođe razlikuju za jednu metil grupu (videti sliku 4.40) [202]. Slično, efekat $-\text{OH}$ grupe, koji iznosi $V_{\phi}^o = 2,27 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$, izračunat je iz razlike u V_{ϕ}^o vrednostima između oktopamin-HCl i literaturne vrednosti tiramin-HCl-a [202], takođe pronađene u ekstraktu

gorke pomorandže. [52]. Dobijena razlika se dobro slaže sa razlikom V_{ϕ}° vrednosti za druge fenilalkilamin-hidrochloride koji sadrže hidroksilnu grupu $V_{\phi}^{\circ} = 1,9 \pm 0,5 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ i $V_{\phi}^{\circ} = 2,1 \pm 0,4 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ za hidroksilovane aminokiseline [202]. Uticaj $-\text{OH}$ grupe je manji od uticaja $-\text{CH}_3$ grupe uprkos njenoj većoj molarnoj masi, što može biti posledica formiranja vodoničnih veza [203].

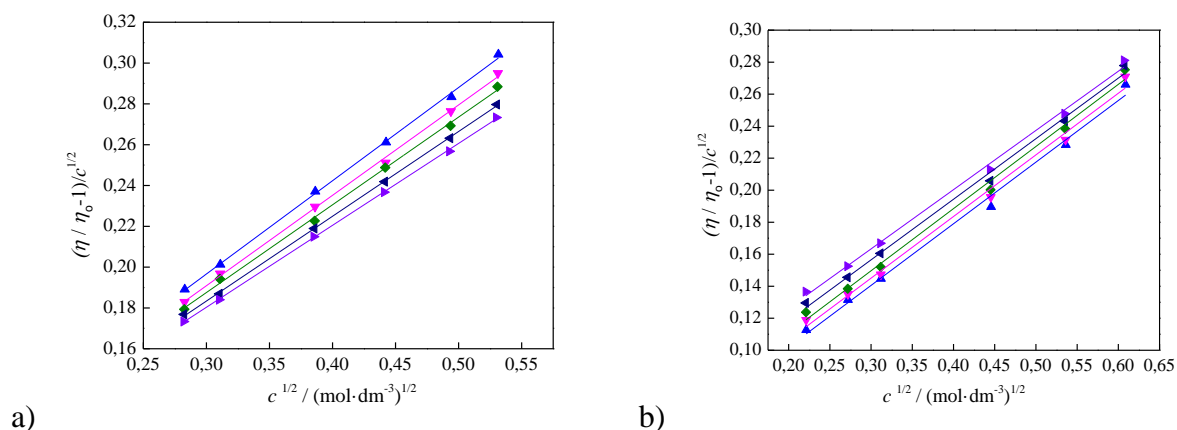
Vrednosti prividnih molarnih zapremina pri beskonačnom razblaženju su fitovane u funkciji temperature (slika P10) korišćenjem jednačine drugog reda (3.30), i dobijene vrednosti koeficijenata a_0 , a_1 i a_2 su date u tabeli P20. Dobijeni koeficijenti su iskorišćeni za izračunavanje prividne molarne ekspanzibilnosti pri beskonačnom razblaženju, (E_{ϕ}°), na osnovu jednačine (3.31), a vrednosti za ispitivane sisteme na različitim temperaturama su date u tabeli 4.26.

Tabela 4.26. Vrednosti prividnih molarnih ekspanzibilnosti pri beskonačnom razblaženju, (E_{ϕ}°), i *Hepler*-ovih koeficijenata za vodene rastvore sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a sa različitim molalitetima D-fruktoze u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$T / (\text{K})$	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15	$\left(\frac{\partial E_{\phi}^{\circ}}{\partial T}\right)_p / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2})$
$m / (\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1})$	$E_{\phi}^{\circ} / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1})$ of sinefrin-HCl					
0	0,1238	0,1648	0,2058	0,2468	0,2878	0,0082
0,1	0,0503	0,0793	0,1083	0,1373	0,1663	0,0058
0,3	0,0742	0,1133	0,1524	0,1915	0,2306	0,0078
0,5	0,0642	0,0743	0,0843	0,0943	0,1043	0,0020
1	0,1003	0,0797	0,0591	0,0385	0,0179	-0,0041
$m / (\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1})$	$E_{\phi}^{\circ} / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1})$ of oktopamin-HCl					$\left(\frac{\partial E_{\phi}^{\circ}}{\partial T}\right)_p / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2})$
0	0,0404	0,0953	0,1502	0,2051	0,2600	0,0110
0,1	0,0362	0,0891	0,1420	0,1949	0,2478	0,0106
0,3	0,0178	0,0778	0,1378	0,1978	0,2578	0,0120
0,5	0,0903	0,1193	0,1483	0,1773	0,2063	0,0058
1	0,0330	0,0600	0,0870	0,1140	0,1410	0,0054

Vrednosti E_{ϕ}^0 za sinefrin-HCl i oktopamin-HCl su pozitivne u celom temperaturnom opsegu, i rastu sa porastom temperature. Kao što se može videti iz tabele 4.26, E_{ϕ}^0 vrednosti sinefrin-HCl-a su veće od odgovarajućih vrednosti oktopamin-HCl-a. Ovo može biti posledica dodatne metil grupe na atomu azota sinefrin-HCl-a, pošto je prisutno više molekula vode usled hidrofobne solvatacije oko metil grupe [204]. Međutim, kako se ova hidrofobna sfera lako poremeti na višim temperaturama [205] molekuli vode se lakše uklanjaju iz hidratacione sfere sinefrin-HCl-a, pa je stoga i ekspanzibilnost veća (tabela 4.26).

Hepler-ov koeficijent izračunat je upotrebom jednačine (3.32), a vrednosti su date takođe u tabeli 4.26. Dobijene su pozitivne vrednosti za sinefrin-HCl i oktopamin-HCl, što ukazuje na njihove *structure making* osobine. Prema *Marcus*-u [3], *Hepler*-ov koeficijent nije pouzdan način da se ukaže koji molekul je bolji za *structure maker* i stoga su primenjena viskozimetrijska merenja i računarske simulacije.



Slika 4.41. Zavisnost relativne viskoznosti, $((\eta/\eta_0)-1)/c^{1/2}$, od korena iz koncentracije, $(c^{1/2})$, a) sinefrin-HCl-a i b) oktopamin-HCl-a u vodenim rastvorima, na različitim temperaturama: $T = (\blacktriangle)$, 293,15; (\blacktriangledown) , 298,15; (\blacklozenge) , 303,15; (\blacktriangleleft) , 308,15 and (\blacktriangleright) , 313,15 K.

Viskoznosti vodenih rastvora sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a su merene u opsegu molalитета od $m = (0,0811 \text{ to } 0,3001) \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ za sinefrin-HCl i od $m = (0,0494 \text{ to } 0,3911) \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ za oktopamin-HCl na pet temperatura: $T = (293,15, 298,15, 303,15, 308,15, 313,15) \text{ K}$. Dobijeni rezultati su dati u tabeli P21. Na slici 4.41 je prikazana zavisnost relativne viskoznosti od sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a. Rezultati viskoznosti su analizirani korišćenjem *Jones-Dole*-ove jednačine (3.34), a dobijeni koeficijenti su navedeni u tabeli 4.27. Može se videti da koeficijent B

ima pozitivne vrednosti za sinefrin-HCl i oktopamin-HCl, što sugeriše na *structure making* osobine sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a.

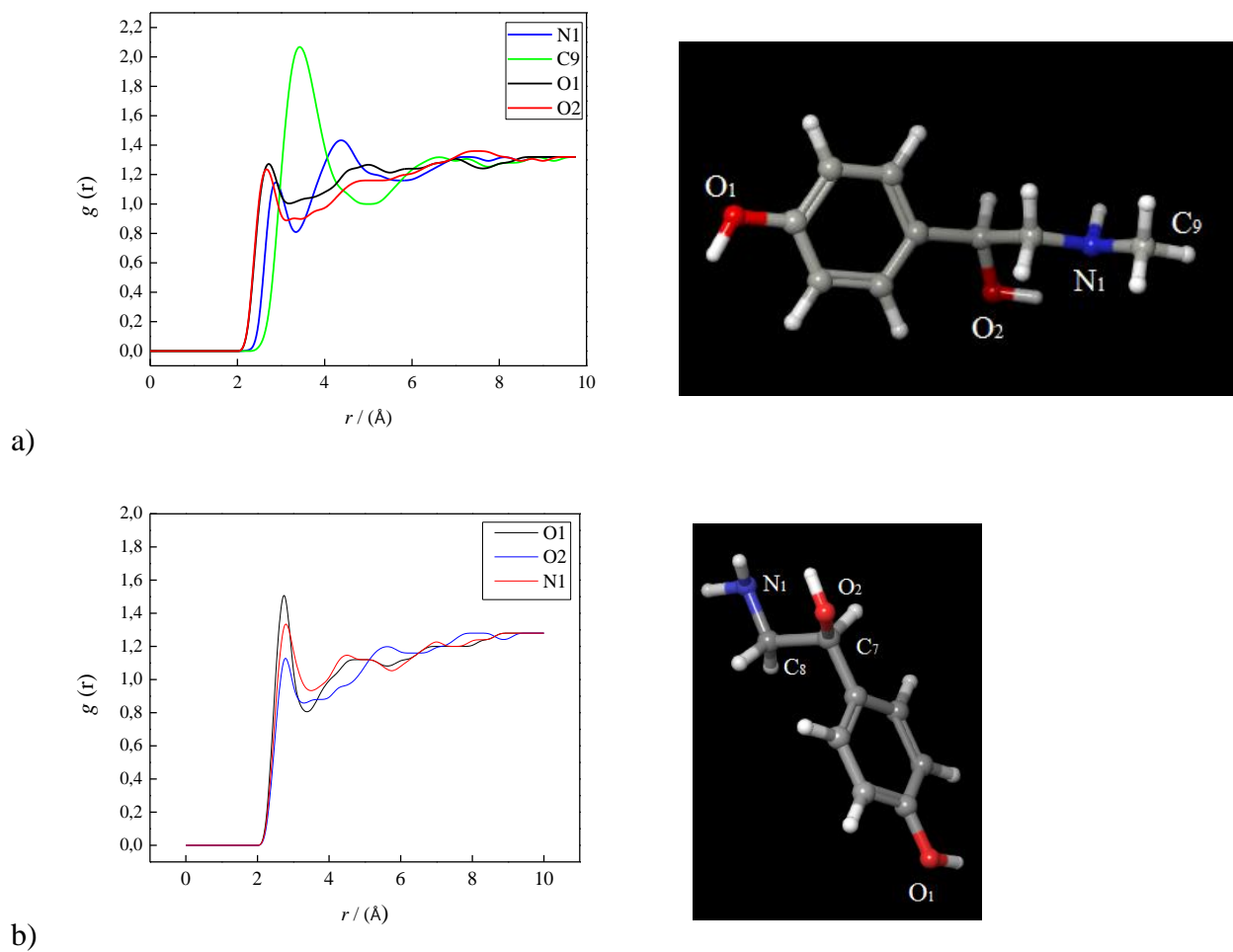
Tabela 4.27. Parametri fita dobijeni primenom *Jones-Dole*-ove jednačine za viskoznost sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a u vodenim rastvorima u temperaturnom opsegu od $T = (293,15$ do $313,15)$ K, sa devijacijom fita, (σ), i koeficijentom korelacije, (R^2).

$T / (\text{K})$	$A / (\text{dm}^{3/2} \cdot \text{mol}^{-1/2})$	$B / (\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$	σ	R^2
Sinefrin-HCl				
293,15	0,060	0,457	0,001	0,9996
298,15	0,058	0,443	0,002	0,9994
303,15	0,059	0,430	0,002	0,9993
308,15	0,059	0,416	0,001	0,9999
313,15	0,060	0,401	0,001	0,9999
Oktopamin-HCl				
293,15	0,025	0,385	0,005	0,9969
298,15	0,030	0,385	0,006	0,9966
303,15	0,033	0,388	0,005	0,9971
308,15	0,043	0,379	0,004	0,9980
313,15	0,052	0,370	0,003	0,9986

Dodatni kriterijum za opisivanje tendencije ka *structure making/breaking* osobinama u sistemu je varijacija koeficijenta B sa temperaturom, odnosno dB/dT . Dobijene su negativne vrednosti $-2,77 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2}$ za sinefrin-HCl i $-7,31 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2}$ za oktopamin-HCl, što ukazuje na njihove *structure making* osobine [134]. Veće vrednosti koeficijenta B i negativnija dB/dT vrednost sinefrin-HCl-a ukazuju na bolju strukturnu organizaciju molekula vode oko sinefrin-HCl-a.

Za dodatne informacije o strukturnoj organizaciji vode oko sinefrin-HCl i oktopamin-HCl, urađene su simulacije molekulske dinamike. Određeni broj molekula je postavljen da odgovara eksperimentalnoj koncentraciji od $0,2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Iz MD simulacija izračunate su funkcije radijalne

raspodele, a rezultati za interakcije između odabranih atoma iz istraživanih soli i centra mase vode prikazani su na slici 4.42.



b)

Slika 4.42. Funkcija radijalne raspodele centra mase vode oko a) odabranih atoma sinefrin-HCl-a i b) odabranih atoma oktopamin-HCl-a.

Kao što se može videti sa slike 4.42, molekuli vode su najbliži hidroksilnim grupama sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a što ukazuje da ostvaruju interakcije putem vodonične veze. Ovi rezultati sugerišu da su –OH grupe odgovorne za *structure making* osobine obe ispitivane soli. Daljom analizom dobijenih rezultata za hidroksilne grupe, primećeno je formiranje druge hidratacione sfere na udaljenosti od oko 5 Å. Takođe, utvrđene su značajne interakcije između –NH₂ grupe analiziranih soli i molekula vode. Dodatna metil grupa u molekulu sinefrin-HCl-a izaziva pomeranje RDF molekula vode oko N-atoma na veće rastojanje. Uvođenje metil grupe i veća sterna zaklonjenost atoma azota u sinefrin-HCl-u čini ga manje dostupnim za formiranje vodoničnih veza sa vodom. Sa druge strane, na slici 4.42a, najveća vrednost $g(r)$ je primećena za

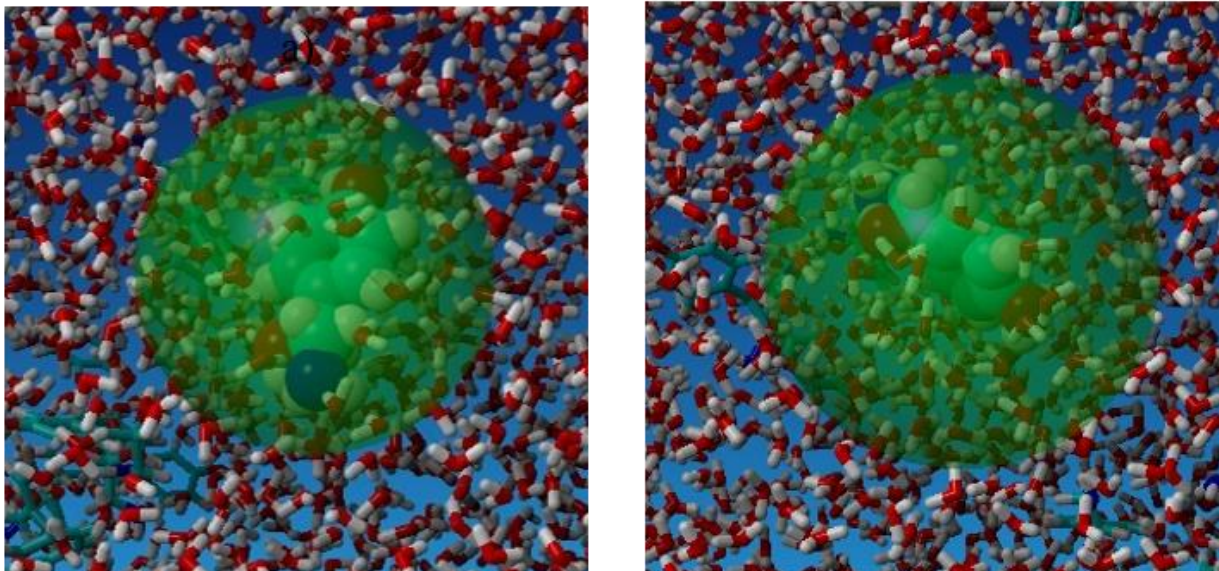
atom ugljenika koji potiče iz metil grupe, što ukazuje na visok nivo organizacije vode oko metil grupe. Postojanje hidrofobne hidratacije oko metil grupe sinefrina izaziva bolju hidrataciju ovog molekula u poređenju sa nemetilovanim oktopaminom. Ovo je glavni razlog zašto sinefrin-HCl ima izraženije *structure making* osobine, što je u skladu sa prethodno razmatranim rezultatima viskoznosti.

Pošto se sinefrin-HCl i oktopamin-HCl široko koriste u komercijalnim suplementima ishrani koji su povezani sa njihovom interakcijom sa vodom, stoga je važno izračunati njihov hidratacioni broj. Svojstva hidratacije su važna za razumevanje mehanizma hemorepcije ukusa. Vrednosti hidratacionih brojeva, izračunate pomoću jednačine (3.47), date su u tabeli 4.28, a hidrataciona sfera je vizuelno predstavljena na slici 4.43.

Dobijene vrednosti h_n opadaju sa porastom temperature, što ukazuje da se molekuli vode uklanjaju iz hidratacione sfere rastvorenih supstanci. Hidratacioni broj izračunat je i iz dobijenih RDF-ova (jednačina (3.53)) na $T = 298,15$ K i dobijena je vrednost od $h_n = 10,12$ za sinefrin-HCl i $h_n = 6,60$ za oktopamin-HCl, što se dobro slaže sa rezultatima dobijenim merenjima gustine i viskoznosti od $h_n = 11,99$ za sinefrin-HCl i $h_n = 7,08$ za oktopamin-HCl na istoj temperaturi.

Tabela 4.28. Vrednosti hidratacionih brojeva izračunatih pomoću jednačine (3.47) za sinefrin-HCl i oktopamin-HCl u vodenim rastvorima u temperaturnom opsegu od $T = (283,15$ do $313,15)$ K, i hidratacionog broja izračunatog pomoću jednačine (3.53) na $T = 298,15$ K.

$T / (K)$	$h_n^{(3.47)}$	$h_n^{(3.53)}$
Sinefrin-HCl		
293,15	12,26	-
298,15	11,99	10,12
303,15	11,66	-
308,15	11,14	-
313,15	10,57	-
Oktopamin-HCl		
293,15	7,91	-
298,15	7,08	6,60
303,15	6,54	-
308,15	5,83	-
313,15	4,93	-



a)

b)

Slika 4.43. Vizuelni prikaz solvatacionih sfera a) sinefrin-HCl-a and b) oktopamin-HCl-a.

4.5.2. Interakcije i volumetrijske osobine sinefrin-hidrohlorida i oktopamin-hidrohlorida u vodenim rastvorima D-fruktoze

Eksperimentalni molaliteti, gustine i prividne molarne zapremine, (V_ϕ), sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a u vodenim rastvorima D-fruktoze koji sadrže različite molalitete $m = (0,1, 0,3, 0,5 \text{ i } 1,0) \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ D-fruktoze na odabranim temperaturama prikazani su u tabelama P18 i P19. Sve dobijene gustine rastu sa povećanjem molaliteta sinefrin-HCl/oktopamin-HCl-a na svakoj temperaturi. Takođe, može se primetiti da se eksperimentalne gustine povećavaju sa povećanjem molaliteta D-fruktoze u celom opsegu temperature i sastava sinefrin-HCl/oktopamin-HCl.

V_ϕ vrednosti su fitovane primenom *Redlich-Meier*-ove preuređene jednačine (3.29), a dobijene vrednosti V_ϕ^0 , S_v i b prikazane su u tabeli 4.29. Kao što se može videti, vrednosti sinefrin-HCl i oktopamin-HCl su pozitivne i rastu sa porastom temperature i molaliteta D-fruktoze. Na svakoj temperaturi, V_ϕ^0 vrednosti za sinefrin-HCl su veće od V_ϕ^0 vrednosti za oktopamin-HCl pri istom molalitetu D-fruktoze, što može biti posledica bolje hidrofobne solvatacije dodatne metil grupe u sinefrin-HCl-u [206,207].

Tabela 4.29. Parametri fita dobijeni primenom jednačine (3.29) za sinefrin-HCl i oktopamin-HCl u vodenim rastvorima sa različitim molalitetom D-fruktoze u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$ sa devijacijom fita, (σ), i koeficijentom korelacije, (R^2).

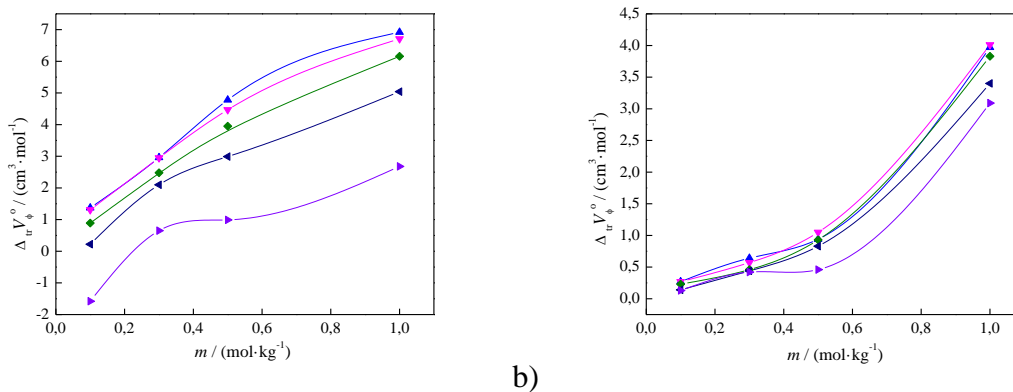
$T / (\text{K})$	$V_{\phi}^o / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$	$S_V / (\text{cm}^{3/2} \cdot \text{mol}^{-1/2})^2$	$b / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})^2$	σ	R^2
Sinefrin-HCl + voda + 0,1 mol·kg ⁻¹ D-fruktoze					
293,15	156,33	1,78	-1,44	0,026	0,9961
298,15	156,90	1,87	-1,16	0,016	0,9977
303,15	157,44	1,96	-1,00	0,008	0,9991
308,15	158,11	2,05	-1,29	0,012	0,9990
313,15	159,13	2,14	-2,49	0,027	0,9999
Sinefrin-HCl + voda + 0,3 mol·kg ⁻¹ D-fruktoze					
293,15	157,92	1,78	-1,27	0,034	0,9912
298,15	158,55	1,87	-1,39	0,024	0,9962
303,15	159,03	1,96	-1,38	0,032	0,9934
308,15	160,00	2,05	-2,14	0,058	0,9908
313,15	161,07	2,14	-3,15	0,116	0,9834
Sinefrin-HCl + voda + 0,5 mol·kg ⁻¹ D-fruktoze					
293,15	159,74	1,78	-2,44	0,073	0,9887
298,15	160,07	1,87	-2,04	0,050	0,9925
303,15	160,50	1,96	-1,93	0,047	0,9925
308,15	160,88	2,05	-1,81	0,051	0,9899
313,15	161,41	2,14	-1,87	0,057	0,9880
Sinefrin-HCl + voda + 1,0 mol·kg ⁻¹ D-fruktoze					
293,15	161,88	1,78	-1,45	0,013	0,9988
298,15	162,31	1,87	-1,92	0,023	0,9980
303,15	162,71	1,96	-2,13	0,034	0,9963
308,15	162,93	2,05	-1,75	0,025	0,9969
313,15	163,09	2,14	-1,30	0,024	0,9953
Oktopamin-HCl + voda + 0,1 mol·kg ⁻¹ D-fruktoze					
293,15	137,75	1,78	3,99	0,004	0,9976

298,15	138,11	1,87	3,82	0,005	0,9989
303,15	138,64	1,96	2,97	0,006	0,9987
308,15	139,42	2,05	2,74	0,007	0,9990
313,15	140,58	2,14	2,99	0,007	0,9992
Oktopamin-HCl + voda + 0,3 mol·kg ⁻¹ D-fruktoze					
293,15	138,12	1,78	2,77	0,017	0,9993
298,15	138,41	1,87	2,44	0,016	0,9991
303,15	138,88	1,96	2,38	0,010	0,9996
308,15	139,71	2,05	1,61	0,018	0,9976
313,15	140,87	2,14	1,01	0,012	0,9970
Oktopamin-HCl + voda + 0,5 mol·kg ⁻¹ D-fruktoze					
293,15	138,43	1,78	13,03	0,045	0,9997
298,15	138,89	1,87	13,94	0,134	0,9981
303,15	139,34	1,96	13,60	0,162	0,9971
308,15	140,11	2,05	13,70	0,090	0,9991
313,15	140,91	2,14	12,27	0,081	0,9991
Oktopamin-HCl + voda + 1,0 mol·kg ⁻¹ D-fruktoze					
293,15	141,45	1,78	10,58	0,058	0,9992
298,15	141,86	1,87	10,46	0,116	0,9965
303,15	142,25	1,96	11,33	0,091	0,9982
308,15	142,67	2,05	11,00	0,042	0,9996
313,15	143,54	2,14	10,43	0,071	0,9985

Pri beskonačnom razblaženju interakcije između pojedinačnih molekula rastvorene supstance su zanemarljive. Iz tog razloga, prividna molarna zapremina transfera, ($\Delta_{tr}V_{\phi}^o$), pruža vredne informacije o interakcijama rastvorene supstance i dodate D-fruktoze i može da se izračuna koristeći sledeći izraz:

$$\Delta_{tr}V_{\phi}^o = V_{\phi}^o(\text{vodeni rastvor D - fruktoze}) - V_{\phi}^o(\text{vodeni rastvor}) \quad (4.7)$$

Dobijene $\Delta_{tr}V_{\phi}^0$ vrednosti prikazane su na slici 4.44 kao funkcija molalитета D-fruktoze u vodenim rastvorima.



Slika 4.44. Prividne molarne zapremine transfera, $\Delta_{tr}V_{\phi}^0$, a) sinefrin-HCl-a i b) oktopamin-HCl-a na različitim temperaturama: $T = (\blacktriangle)$, 293,15; (\blacktriangledown), 298,15; (\blacklozenge), 303,15; (\blacktriangleleft), 308,15 i (\blacktriangleright), 313,15 K.

Kao što se može videti, $\Delta_{tr}V_{\phi}^0$ vrednosti sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a su pozitivne (samo u rastvoru sinefrin-HCl-a gde $m = 0,1 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ na $T = 313,15 \text{ K}$ ima negativnu vrednost) i opadaju sa porastom temperature u svim vodenim rastvorima D-fruktoze. To može biti posledica bržeg molekulskog kretanja rastvorenih supstanci sa povećanjem temperature, što uzrokuje manju razliku u strukturi vode između hidratacione sfere i bulk vode. Uočene pozitivne vrednosti ukazuju na hidrofilne interakcije između hidrofilne grupe D-fruktoze i sinefrin-HCl/oktopamin-HCl-a u vodenim rastvorima [208]. Takođe, $\Delta_{tr}V_{\phi}^0$ vrednosti sinefrin-HCl i oktopamin-HCl rastu sa povećanjem molalитета D-fruktoze, što ukazuje na veći efekat dehidracije na sinefrin-HCl/oktopamin-HCl. Naime, dodavanjem D-fruktoze u vodeni rastvor više molekula vode se uklanja iz hidratacione sfere sinefrin-HCl/oktopamin-HCl-a kako bi se uspostavila interakcija između D-fruktoze i ovih molekula.

Pored toga, doprinos $-\text{CH}_3$ grupe sinefrin-HCl-a $\Delta_{tr}V_{\phi}^0$ vrednosti je izračunat, $\Delta_{tr}V_{\phi}^0(\text{CH}_3)$, i predstavljen u tabeli P22. Iz dobijenih pozitivnih vrednosti može se zaključiti da D-fruktoza ima veći efekat dehidracije na molekule sa više metil grupa gde dolazi do hidrofobne solvatacije [204],

pa se stoga posle dodavanja D-fruktoze molekuli vode lakše uklanjaju iz hidratacione sfere rastvorene supstance.

Vrednosti prividnih molarnih zapremina pri beskonačnom razblaženju, (V_{ϕ}^0), su fitovane u funkciji temperature korišćenjem jednačine drugog reda (3.30), a dobijeni a_0 , a_1 i a_2 koeficijenti su dati u tabeli P20.

Dobijeni koeficijenti su iskorišćeni za izračunavanje prividne molarne ekspanzibilnosti pri beskonačnom razblaženju, (E_{ϕ}^0), na osnovu jednačine (3.31), a vrednosti za ispitivane sisteme na različitim temperaturama su date u tabeli 4.26. Pozitivne E_{ϕ}^0 vrednosti sinefrin-HCl-a rastu sa temperaturom do molaliteta od $0,5 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ D-fruktoze, dok se kod $1,0 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ D-fruktoze smanjuju sa temperaturom. Dalje, pozitivne E_{ϕ}^0 vrednosti oktopamin-HCl-a rastu sa povećanjem temperature u celom opsegu molaliteta D-fruktoze. Takođe, na svakoj temperaturi, vrednosti sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a ne pokazuju značajan trend sa povećanjem molaliteta D-fruktoze.

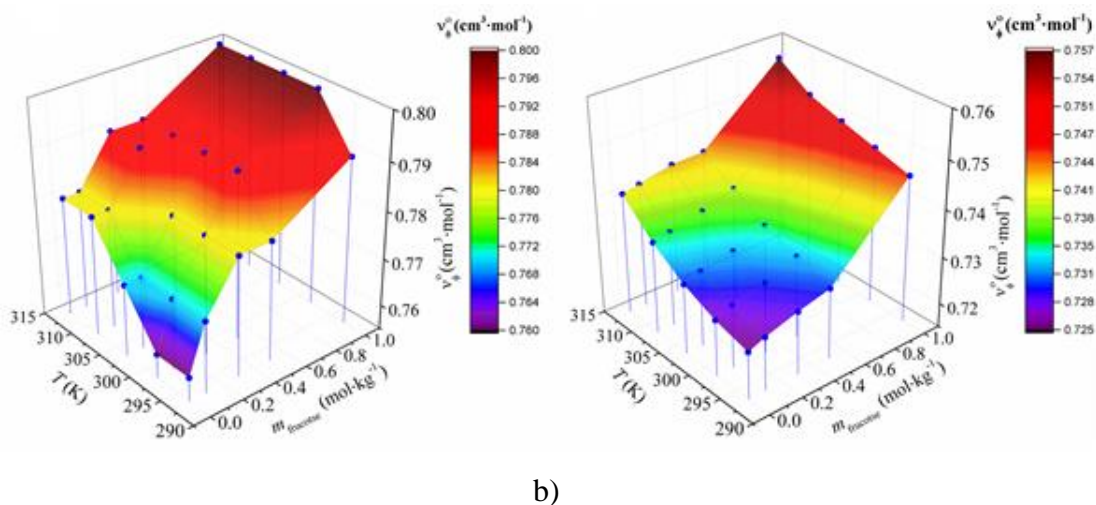
Dobijene su pozitivne vrednosti *Hepler*-ovog koeficijenta (jednačina 3.32) prikazane u tabeli 4.26, što ukazuje na *structure making* osobine ispitivanih soli u prisustvu D-fruktoze u vodenim rastvorima. *Hepler*-ov koeficijent sinefrin-HCl-a približava se negativnoj vrednosti pri molalitetu D-fruktoze od $1,0 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$, što je posledica postojanja hidrofobne hidratacije oko metil grupe, koja se lako uklanja usled dehidratacionog efekta D-fruktoze [209].

4.5.3. Prividna specifična molarna zapremina, unutrašnja viskoznost, molekulski doking i ukus ispitivanih jedinjenja

Čulni mehanizam ukusa podrazumeva približavanje molekula hemoreceptoru kroz oralnu tečnost, odgovarajuću orijentaciju molekula ka receptoru, prenos ukusa nervnim impulsom-transdukcijom i konačno prepoznavanje ukusa po njegovom kvalitetu i intenzitetu. Voda ima glavnu ulogu u svim procesima hemorepcije ukusa jer se nijedan molekul ne može okusiti osim ako nije rastvorljiv i prenosiv do receptora putem oralne tečnosti. Nakon rastvaranja, rastvorene supstance postaju manje ili više hidratizane, a priroda hidratacije određuje veličinu i oblik rastvorene supstance [138]. Dakle, organizacija molekula vode oko rastvorene supstance reguliše transport u epitelu

ukusa, vezujući se za receptor i konačno indukuje odgovor ukusa. Da bi stupio u interakciju sa receptorom i izazvao ukus, molekul mora da poseduje odgovarajuću strukturnu „sapoforu“. Generalno, koje sapofore na molekulu će upravljati njegovim ukusnim svojstvima uglavnom zavisi od hidrofilno-hidrofobne ravnoteže molekula; hidrofobna strana slatkog molekula odbija molekule vode, hidrofilna ih privlači [210].

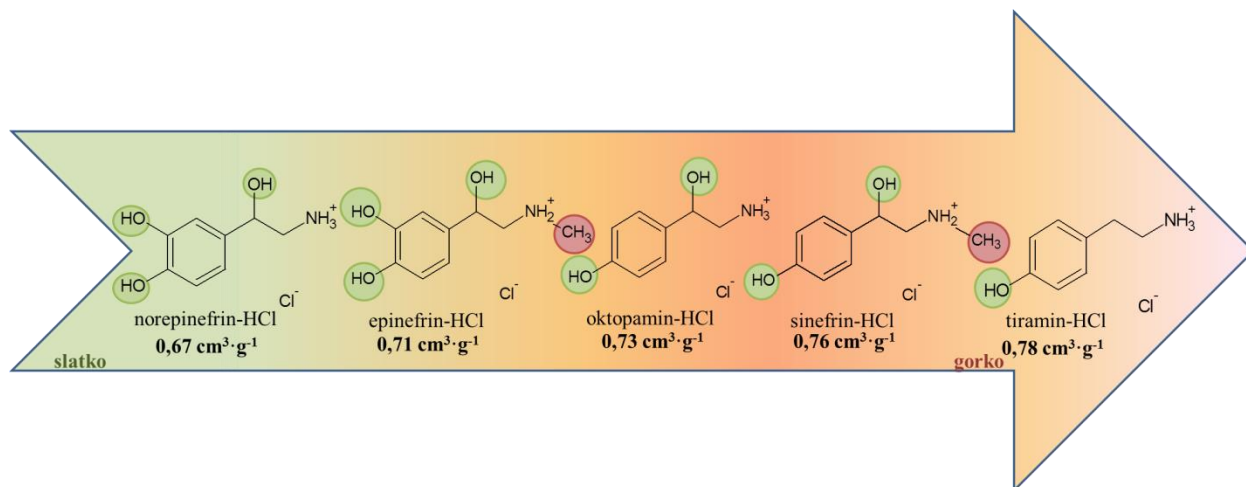
Prividna specifična zapremina pri beskonačnom razblaženju, (v_{ϕ}°), je izračunata pomoću jednačine (3.33) da bi se definisao kvalitet ukusa ispitivanih soli. Poznato je da je prividna specifična zapremina pri beskonačnom razblaženju parametar kvaliteta ukusa i verovatno je čitav opseg percepcije ukusa kod ljudi manje-više ograničen na prividne specifične zapremine pri beskonačnom razblaženju između 0,1-0,9 $\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ (tabela 3.3) [138]. Najverovatnije tumačenje je da one molekule koji najjače stupaju u interakciju sa vodom (tj. dobro hidrostatičko pakovanje i niske prividne specifične zapremine pri beskonačnom razblaženju) voda prenosi do najdubljih slojeva lingvalnog epitela. Drugim rečima, receptori ili jonski kanali za slane i kisele stimuluse su najdublji u epitelu, dok su receptori slatkog i gorkog na plićim lokacijama [138]. Vrednosti dobijene pomoću jednačine (3.33), za proučavane sisteme (tabela P23 i slika 4.45) i za strukturno slične fenilalkilamin-hidrochloride (izračunate korišćenjem literaturnih V_{ϕ}° vrednosti [202]) na $T = 298,15 \text{ K}$ prikazane su na slici 4.46.



Slika 4.45. Prividna specifična zapremina pri beskonačnom razblaženju, v_{ϕ}° , za a) sinefrin-HCl i b) oktopamin-HCl sa različitim molalitetima D-fruktoze, i u temperaturnom opsegu $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

U čistoj vodi, vrednosti za sinefrin-HCl i oktopamin-HCl se nalaze u opsegu gorkog ukusa od $(0,71-0,93) \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$, pri čemu je oktopamin-HCl manje gorak. Zbog dodatne metil grupe, koja vrednostima doprinosi $17,75 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$, a molarnoj masi $14,03 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$, $v_{\phi}^{\circ} = V_{\phi}^{\circ} / M_1$ odnos, koji je kriterijum kvaliteta ukusa, se povećava i dovodi do gorčine molekula. S druge strane, dodavanje hidroksilne grupe bi dovelo do povećanja slatkoće molekula, jer $-\text{OH}$ grupa doprinosi vrednostima $2,27 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$, a molarnoj masi $16,00 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$, pa se $v_{\phi}^{\circ} = V_{\phi}^{\circ} / M_1$ odnos, smanjuje. Prema broju $-\text{OH}$ i $-\text{CH}_3$ grupa može se predvideti ukus strukturno sličnih molekula, kao što je prikazano na slici 4.46.

Dalje, u vodenim rastvorima D-fruktoze, vrednosti sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a blago rastu sa porastom temperature i molalitetu D-fruktoze, pa stoga dodavanje šećera blago povećava gorčinu ispitivanih rastvora (tabela P23 i slika 4.45). Ovo je u saglasnosti sa dobijenim vrednostima za aminokiseline kod kojih gorčina takođe raste sa dodatkom šećera u vodene rastvore [211].

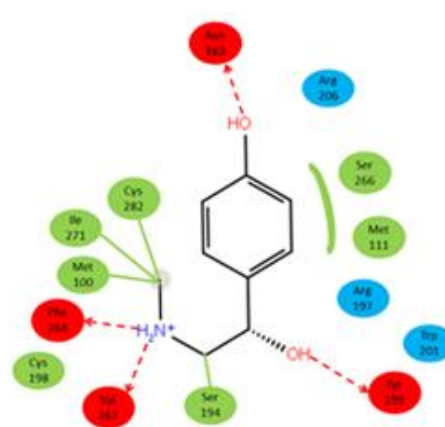
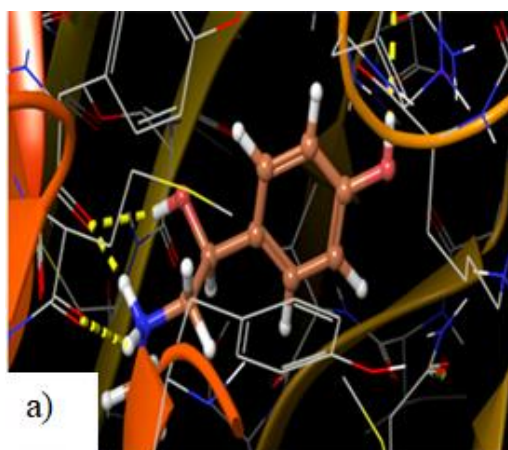


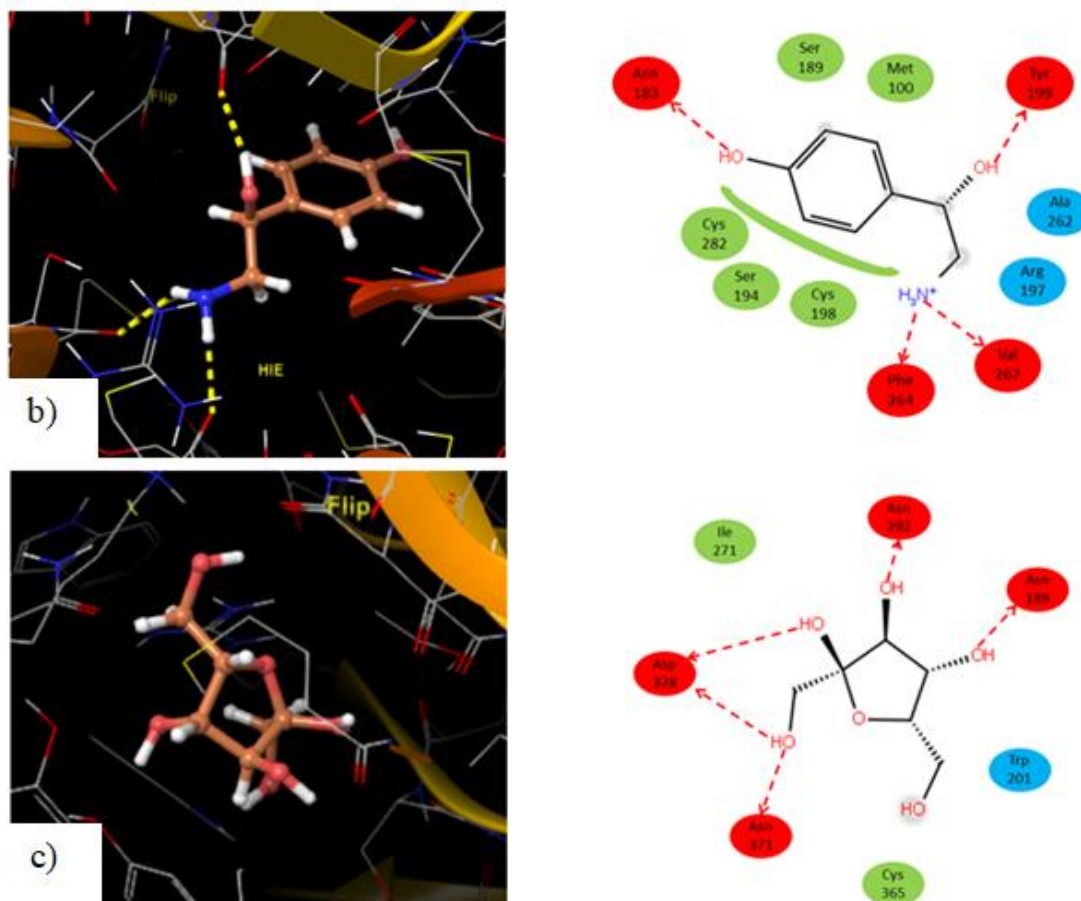
Slika 4.46. Strukture i v_{ϕ}° vrednosti strukturno sličnih fenilalkilamin-hidrohlorida na $T = 298,15$ K.

Kao dodatna mera efektivne veličine molekula u rastvorima i njihovog uticaja na ukus, određen je unutrašnja viskoznost, (η_{sp}) . Unutrašnja viskoznost se generalno smatra faktorom oblika koji uzima u obzir hidrodinamički radijus rastvorenog molekula. Parametar k' je faktor interakcije odgovoran za reaktivnost rastvorene supstance sa rastvaračem, odnosno lakoću raskidanja i uspostavljanja međumolekulskih vodoničnih veza između rastvorene supstance i vode.

Viskozometrijske konstante različitih molekula su reprezentativne za ponašanje u vodi. Hidratacija i pokretljivost vode oko molekula su od suštinskog značaja za razumevanje razlika u njihovim ukusima. Unutrašnja viskoznost je izračunata korišćenjem metode trostruke ekstrapolacije, prikazane na slici P11. Dobijeni rezultati za unutrašnju viskoznost sinefrin-HCl-a ($\eta_{sp} = 3,256 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$) i oktopamin-HCl-a ($\eta_{sp} = 2,835 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$) su značajno veće od dobijenih vrednosti za šećere u rasponu od $\eta_{sp} = (1,90 \text{ do } 2,25) \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ [140,149], što se može objasniti manje hidrofилnom prirodom ispitivanih molekula. Uočene razlike između sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a, posledica su izraženije hidrofobne hidratacije molekula sinefrin-HCl-a usled prisustva metil grupe [140]. Međutim, neki autori [212-215] sugerišu da unutrašnja viskoznost nije tako dobar prediktor osnovnog ukusa koliko je prividna specifična zapremina.

Dalje, izvršen je i molekularni doking na receptor gorkog ukusa TAS2R38 da bi se detaljnije ispitalo poreklo gorkog ukusa ispitivanih rastvora. Optimalni položaj sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a prema receptorima u vodenim rastvorima fruktoze prikazane su na slici 4.47, a izračunati rezultati za energiju vezivanja i interakcije sa receptorom su sumirani u tabelama P24 i P25. Doking analiza pokazuje da se i sinefrin-HCl i oktopamin-HCl vezuju za TAS2R38 za isti aktivni centar. Komplementarni rezultati su dobijeni za strukturno slična jedinjenja [216,217]. Kao što se može videti iz šematskog prikaza interakcije (slika 4.47), katjoni sinefrinijuma i oktopaminijuma formiraju H-veze sa istim aminokiselinama (Phe 264, Val 267, Asn 183 i Tir 199). S druge strane, sinefrinijum katjon ima izraženije hidrofobne interakcije sa receptorom u poređenju sa oktopaminijumom. Takođe, niže vrednosti slobodne energije vezivanja za sinefrinijum ukazuju na jače vezivanje za receptor. Sva ova zapažanja navode na zaključak da sinefrin-HCl ima jači gorak ukus u odnosu na oktopamin-HCl, što je u skladu sa eksperimentalnim rezultatima.





Slika 4.47. Vizuelni prikaz dokinga sa šematskim prikazom interakcija a) sinefrin-HCl-a, b) oktopamin-HCl-a, c) fruktoze (crvena – vodonične veze, zelena – hidrofobne interakcije, plava – *van der Waals*-ove interakcije).

Dalje, dobijeni rezultati doking analize za molekule fruktoze imaju drugačije mesto vezivanja za receptor i najnižu energiju vezivanja, u poređenju sa oktopamin-HCl-om i sinefrin-HCl-om. Na osnovu ovih rezultata može se zaključiti da dodatak fruktoze ima zanemarljiv uticaj na promenu ukusa.



Sumiranjem rezultata može se zaključiti da je gorak ukus posledica preovlađivanja hidrofobnih delova u strukturi jedinjenja usled čega se jače vezuje za receptore za gorak ukus. Dodatak hidrofилnih molekula (šećera), ne suzbija gorak ukus već ga dodatno pojačava zbog efekta dehidratacije hidrofилnih molekula.

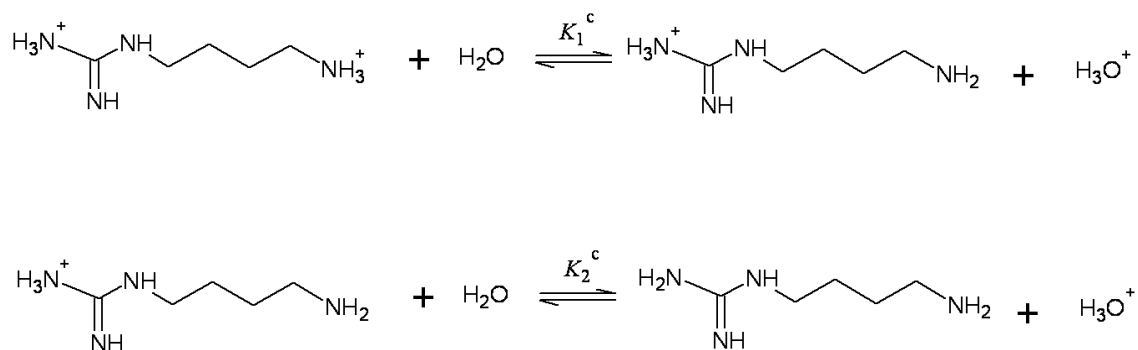


4.6. Soli i jonske tečnosti na bazi agmatina

Agmatin se smatra derivatom gvanidina koji pored gvandino grupe u svojoj strukturi sadrži i amino grupu. Pri fiziološkoj pH vrednosti obe grupe su protonovane, pa agmatin predstavlja biološki aktivni dikatjon. Budući da agmatin može proći kroz krvno-moždanu barijeru i igra važnu ulogu u metabolizmu sisara, u ovoj disertaciji su sintetisane jonske tečnosti i soli na bazi agmatina kao dikatjona, i poznatih farmakološki aktivnih anjona, koji bi imali primenu kao potencijalni lekovi sa sinergističkim efektom na centralni nervni sistem. Kako se agmatin komercijalno koristi u formi agmatinijum-sulfata, za anjone su izabrani hlorid i nitrat, kao neorganski anjoni neophodniji za organizam od sulfata. Takođe, izabrani su i vitamini- nikotinat i askorbat, glutamat kao predstavnik aminokiselina, citrat kao komponenta Krebsovog ciklusa, kao farmakološke aktivne supstance- salicilat, *m*-benzoat, kao i ibuprofen.

4.6.1. Eksperimentalno određivanje kiselinskih konstanti agmatina

Da bi se sintetisale jonske tečnosti i soli na bazi agmatina, po prvi put su određene kiselinske konstante agmatina, (K), potencijometrijskom tehnikom. Ravnoteža disocijacije agmatina u vodenom rastvoru je prikazana na slici 4.48.



Slika 4.48. Ravnotežna reakcija disocijacije agmatina u vodenom rastvoru.

Konstante ravnoteže koje opisuju ovaj proces (stehimetrijska konstanta disocijacije), K_1^c i K_2^c mogu se izračunati primenom *Rossotti-Rossotti* metode [218]. Ova metoda se zasniva na grafičkoj interpretaciji linearne funkcije za proces protonacije konjugovane baze. Da bi se izračunala kiselinska konstanta, izmerene pH vrednosti za proračun su uzete u opsegu protonacionog broja, $\bar{n}_H = 1,8-1,3$ i $0,8-0,5$. Protonacioni broj računa se koristeći sledeći izraz:

$$\bar{n}_H = \frac{2 \cdot c(\text{H}_2\text{A}_{gm}) - c(\text{NaOH}) - [\text{H}_3\text{O}^+] + [\text{OH}^-]}{c(\text{H}_2\text{A}_{gm})}, \quad (4.8)$$

gde $[\text{H}_3\text{O}^+]$ je koncentracija slobodnih hidronijum jona – izmerenih pH-metrom, a $c(\text{H}_2\text{A}_{gm})$ je ukupna koncentracija agmatina.

Podaci potrebni za proračun protonacionog broja dobijeni su potenciometrijskom titracijom agmatinijum-hlorida sa natrijum-hidroksidom. Izračunata količina agmatinijum-hlorida je rastvorena u vodi, a jonska jačina je podešena na $I = 1,00$ dodavanjem odgovarajuće količine KCl. Dobijeni rastvor je titrovao automatskom mikrobiretom, u termostatiranim uslovima ($T = 298,15 \pm 0,01$ K), sporim dodavanjem vodenog rastvora NaOH (koncentracija, $c = 10,1535$ mol·dm⁻³), praćenjem promene pH vrednosti. Na osnovu dobijenih podataka izračunate su vrednosti protonacionog broja. Rezultati titracije su predstavljeni u tabeli P26.

Po metodi *Rossotti-Rossotti*, zavisnost protonacionog broja sa koncentracijom hidronijum jona može se predstaviti kao:

$$\frac{\bar{n}_H}{(1 - \bar{n}_H)[\text{H}_3\text{O}^+]} = K_1^c + \frac{2 - \bar{n}_H}{1 - \bar{n}_H} K_1^c K_2^c [\text{H}_3\text{O}^+] \quad (4.9)$$

Da bi jednačina bila jednostavnija, izvršene su zamene:

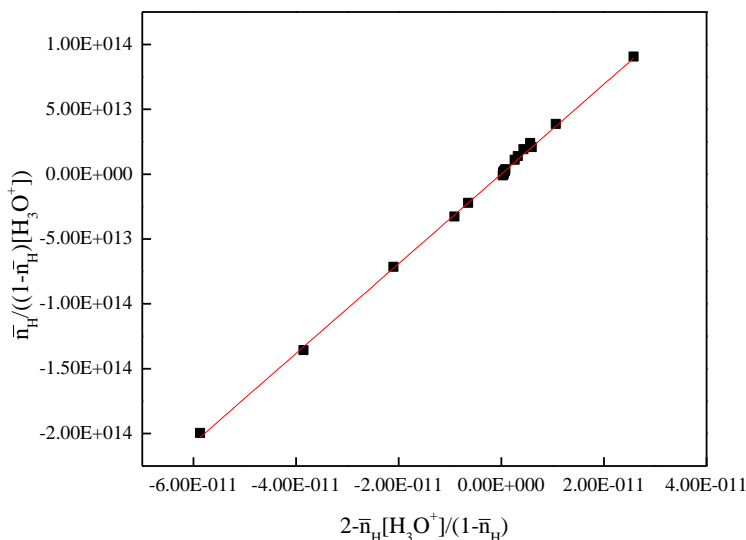
$$Y = \frac{\bar{n}_H}{(1 - \bar{n}_H)[\text{H}_3\text{O}^+]}, \quad (4.10)$$

$$X = \frac{2 - \bar{n}_H}{1 - \bar{n}_H} [\text{H}_3\text{O}^+] \quad (4.11)$$

Dobijene vrednosti su prikazane grafički na slici 4.49. i fitovane korišćenjem linearne jednačine:

$$Y = K_1^c + K_1^c K_2^c \cdot X \quad (4.12)$$

Iz dobijenog odsečka, određena je prva kiselinska konstanta. Druga kiselinska konstanta dobijena je iz odnosa nagiba i odsečka. Primenom *Rossotti-Rossotti* metode izračunata je vrednost negativnog logaritma prve kiselinske konstante (disocijacije amino grupe) od $pK_1 = 11,28$, kao i vrednost vrednost negativnog logaritma druge kiselinske konstante od $pK_2 = 13,25$ (disocijacija gvanidino grupe).



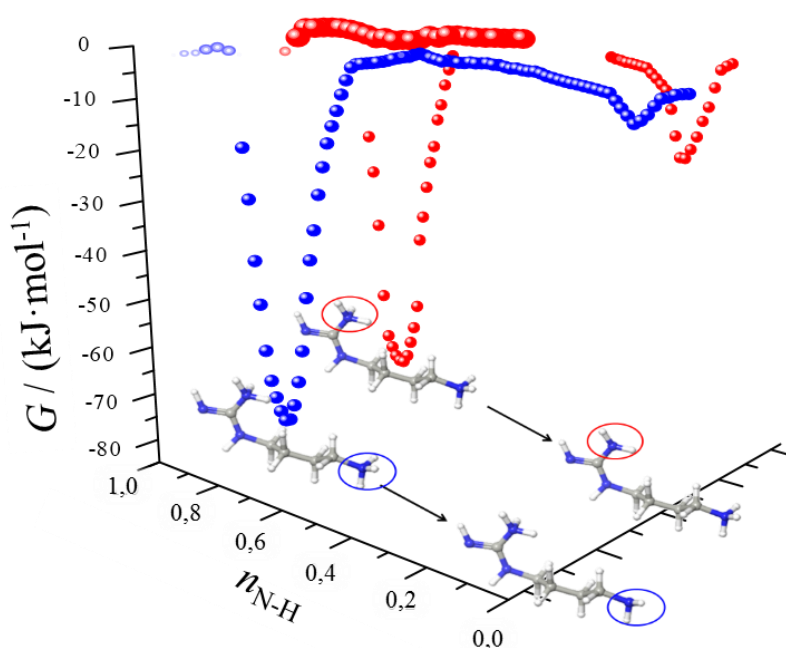
Slika 4.45. Izračunavanje kiselinskih konstanti agmatina po metodi *Rossotti-Rossotti*.

4.6.2. Određivanje kiselinskih konstanti agmatina računarskim simulacijama

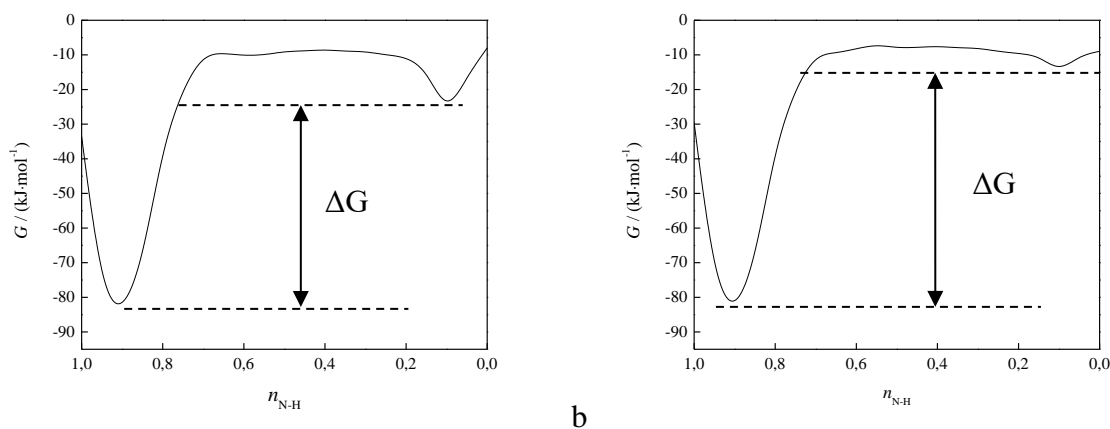
Program *Yasara structure* je korišćen za sprovođenje simulacija *ab initio* molekulske dinamike. Pojedinačni jon agmatina solvatisan molekulima vode stavljen je u kubičnu kutiju sa periodičnim granicama. Veličina kutije je podešena tako da odgovara eksperimentalnim gustinama vode kako bi se dobile tačne pK_K vrednosti. Broj molekula vode kojima je solvatisan jon agmatina izabran je tako da obuhvata najmanje tri hidratacione sfere. Simulacije su izvedene korišćenjem modifikovanog AMBER polja sile. Elektroni jezgra su tretirani korišćenjem *Troullier-Martins*-ovih atomskih pseudopotencijala koji čuvaju normu. Vremenski korak primenjen tokom simulacija je postavljen na 0,15 fs. Sve simulacije su izvedene na temperaturi $T = 298,15$ K kontrolisanomj *Nose-Hoover* termostatom. Početni deo simulacija uzet je kao vreme ravnoteže (5 ns) i nije uzet u obzir prilikom analize podataka. Za predviđanje kiselinskih konstanti primenjen je metadinamički formalizam. U ovoj metodi, profil slobodne energije procesa disocijacije je definisan kolektivnom promenljivom n_{N-H} , koja predstavlja broj vodonika koji zavisi od udaljenosti od N-H koji koordinira amino i gvanidino grupa agmatina. Vrednost n_{N-H} u nedisosovanom stanju je blizu jedinice, a u deprotonovanom stanju je nula. Promena slobodne energije tokom simulacija uzrokovana je praćenjem promene potencijala duž putanje dinamičke

vremenske evolucije. Visina i širina promene potencijala bile su 0,0005 sa vremenskim korakom taloženja od 0,4 ps.

Tokom simulacije metadinamike uočena je disocijacija amino i gvanidino grupe. Simulacije su izvedene za svaki vodonik svih ispitivanih grupa. Zavisnost slobodne energije kolektivne varijable n_{N-H} za vodonike povezane sa atomima azota iz gvanidino grupe bila je skoro slična, pa je analizirana prosečna vrednost. Na slikama 4.50 i 4.51 prikazane su dobijene zavisnosti za amino i gvanidino grupu. Kao što se može videti sa slike 4.40, u obe situacije su dobijena dva minimuma. Najviši minimum odgovara nedisociranom agmatin katjonu, drugi minimum je iz amino grupe povezane sa alkil lancem ili iz gvanidino grupe. Na osnovu dobijenih rezultata moguće je proceniti vrednosti pK_k iz profila slobodne energije kao razliku u slobodnoj energiji disociranih i nedisociranih vrsta, $pK_k = \Delta G/(2,303RT)$. Dobijene vrednosti za $pK_{k1} = 10,11$, a za $pK_{k2} = 12,98$.



Slika 4.50. Uporedni prikaz profila slobodne energije za kiselinske konstante agmatina.



Slika 4.51. Profil slobodne energije kao funkcija, n_{N-H} , za koordinacioni broj protona koji je zavisi od udaljenosti, vezanih za a) gvanidino grupu i b) amino grupu prilikom disocijacije agmatina.

Tabela 4.30. Dobijene eksperimentalne stehiometrijske (pK^c (eksp.)) i izračunate termodinamičke and (pK_k (kal.)) konstante disocijacije agmatine.

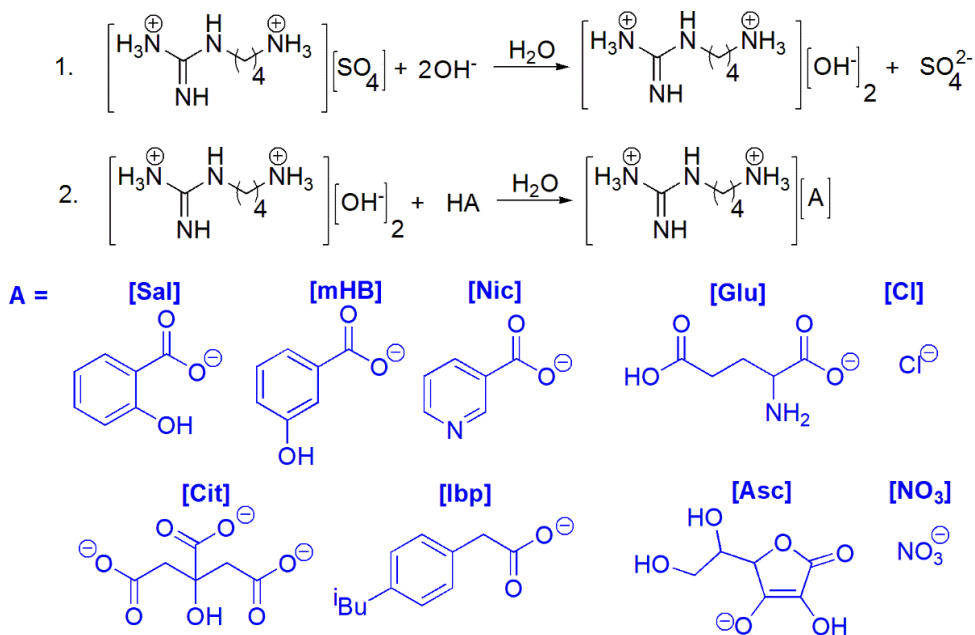
Konstante disocijacije agmatina	eksp.	kal.
	pK_{k1}	11,28
pK_{k2}	13,25	12,98

Dobijena odstupanja između kiselinskih konstanti izračunate iz eksperimentalnog rada i molekularskih simulacija potiču od jonske jačine rastvora (tabela 4.30). Naime, tokom eksperimentalnog određivanja K , jonska jačina je postavljena na 1,00, pa je izračunata stehiometrijska konstanta disocijacije kiseline (K^c). Iz računarskih simulacija dobijene su termodinamičke kiselinske konstante disocijacije, koje imaju nešto drugačiju vrednost u odnosu na K^c [219].

4.6.3. Sinteza jonskih tečnosti i soli na bazi agmatina

Sve jonske tečnosti i soli na bazi agmatina (Slika 4.52) su sintetisane potencijometrijskom kiselinsko-baznom titracijom, prateći promenu pH vrednosti. Da bi se dobio agmatinijum-hidroksid, komercijalni agmatinijum-sulfat je pomešan sa odgovarajućom količinom jako bazne

jonoizmenjivačke smole i vode, mešan određeno vreme i postupak ponavljan do negativne reakcije na sulfate (sa zasićenim rastvorom barijum-hlorida).



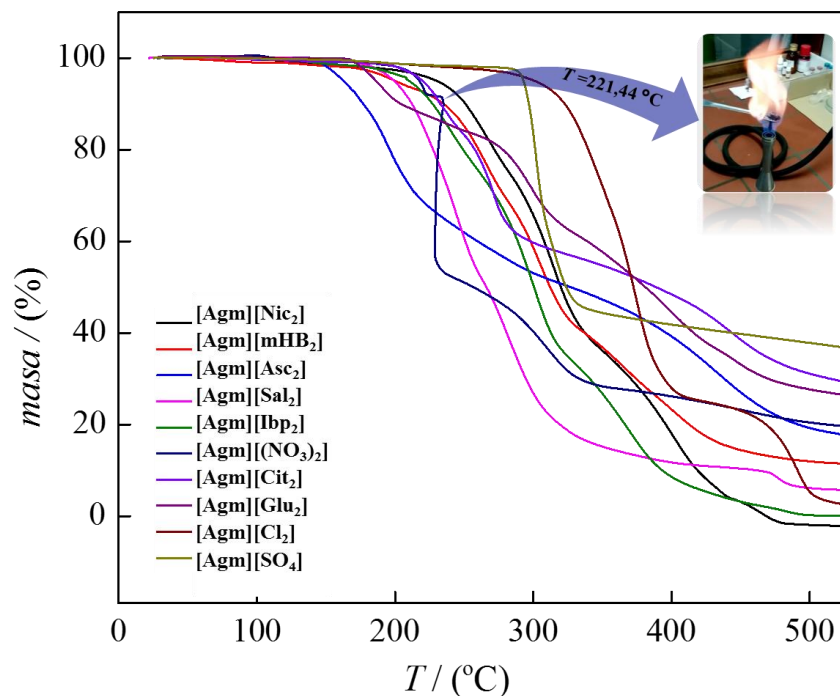
Slika 4.52. Sintetski put jonskih tečnosti na bazi agmatina ($[\text{Agm}]_x[\text{A}]_y$, $x = 1$ ili 2 , $y = 2$ ili 3) i strukture korišćenih biološki važnih anjona ($[\text{A}]$): salicilat [Sal], *m*-hidroksibenzoat [mHB], nikotinat [Nic], glutamat [Glu], hlorid [Cl], citrat [Cit], ibuprofenat [Ibp], askorbat [Asc] i nitrat [NO₃].

Vodeni rastvor agmatinijum-hidroksida se koristio kao titraciono sredstvo i prilikom sinteze polako je dodavan odgovarajućim vodenim rastvorima kiselina uz mešanje, sve dok se nije dobila prevojna tačka (pH vrednosti za agmatinijum-ibuprofenat $[\text{Agm}][\text{Ibp}_2]=8,10$; agmatinijum-salicilat $[\text{Agm}][\text{Sal}_2]=6,76$; agmatinijum-nikotinat $[\text{Agm}][\text{Nic}_2]=7,95$; agmatinijum-citrat $[\text{Agm}_3][\text{Cit}_2]=8,20$; agmatinijum-askorbat $[\text{Agm}][\text{Asc}_2]=8,00$; agmatinijum-hlorid $[\text{Agm}][\text{Cl}_2]=4,75$; agmatinijum-nitrat $[\text{Agm}][(\text{NO}_3)_2]=3,98$; agmatinijum-glutamat $[\text{Agm}][\text{Glu}_2]=7,63$; agmatinijum-*m*-hidroksibenzoat $[\text{Agm}][\text{mHB}_2]=7,78$). Iz vodenih rastvora $[\text{Agm}][\text{Ibp}_2]$, $[\text{Agm}][\text{Sal}_2]$, $[\text{Agm}_3][\text{Cit}_2]$, $[\text{Agm}][\text{Nic}_2]$, $[\text{Agm}][\text{Cl}_2]$, $[\text{Agm}][(\text{NO}_3)_2]$, $[\text{Agm}][\text{Glu}_2]$ i $[\text{Agm}][\text{mHB}_2]$ voda je uklonjena na temperaturi 343,15 K korišćenjem rotacionog vakuuma uparivača. Zatim su dobijene jonske tečnosti i soli sušene u eksikatorima do konstantne mase i uskladištene pod P₂O₅. Pošto je askorbat nestabilan na višim temperaturama [220], voda je

uklonjena na sobnoj temperaturi pomoću rotacionog vakuum uparivača i dobijeni [Agm][Asc₂] je takođe čuvan u eksikatoru pod P₂O₅. Nakon sušenja, [Agm][Ibp₂], [Agm][Nic₂] i [Agm][Sal₂] su dobijeni kao jonske tečnosti, a [Agm₃][Cit₂], [Agm][Asc₂], [Agm][Cl₂], [Agm][(NO₃)₂], [Agm][Glu₂] i [Agm][mHB₂] kao soli. [Agm₃][Cit₂], [Agm][Cl₂], [Agm][(NO₃)₂], [Agm][Glu₂] i [Agm][mHB₂] dobijeni su u obliku belog, a [Agm][Asc₂] ružičastog praha, dok su preostale tri jonske tečnosti dobijene u obliku tri žuta visoko viskozna jedinjenja tečna na sobnoj temperaturi bez tendencije kristalizacije tokom rada ([Agm][Ibp₂]; [Agm][Nic₂]; [Agm][Sal₂]). Sadržaj vode u jonskim tečnostima i soli određen je *Karl-Fischer*-ovom kulometrijskom titracijom. Utvrđeno je da je sadržaj vode <200 ppm u svim pripremljenim jedinjenjima. Za potvrde čistoće i strukture sintetisanih jonskih tečnosti i soli, snimljeni su IC i NMR spektri (slike P12-P29 u Prilogu). Čistoća dobijena analizom NMR spektara za sva nosintetisana jedinjenja iznosi 96,0 %.

4.6.4. Rezultati termičke analize

Termička stabilnost i vrednosti faznog prelaza ispitivanih jedinjenja određene su termogravimetrijskim i DSC merenjima. Dobijene TG krive su prikazane na slici 4.53, a očitane temperature termičkog razlaganja (T_{onset}) za sva jedinjenja su date u tabeli 4.31.



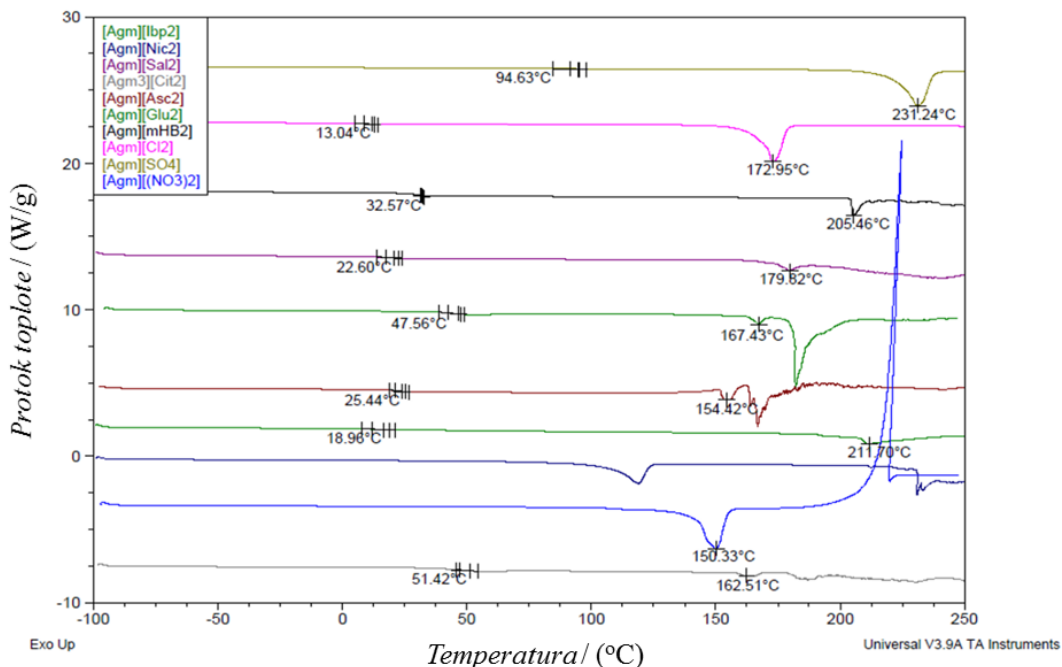
Slika 4.53. Termogravimetrijske krive sintetisanih jedinjenja na bazi agmatina.

Iz termogravimetrijskih krivi sa slike 4.53 i iz tabele 4.31 može se videti da termička razgradnja (T_{onset}) agmatinijum-askorbata počinje na najnižoj temperaturi, $T = 166,34$ °C (439,49 K), a termička razgradnja agmatinijum-hlorida počinje poslednja, na $T = 319,13$ °C (592,28 K), što ukazuje na najveću termičku stabilnost hloridne soli agmatina. Na termogravimetrijskoj krivi [Agm][(NO₃)₂] zabeležen je pik na $T = 221,44$ °C (494,59 K), koji potiče od njegove eksplozivnosti (demonstrirano u desnom uglu na slici 4.53).

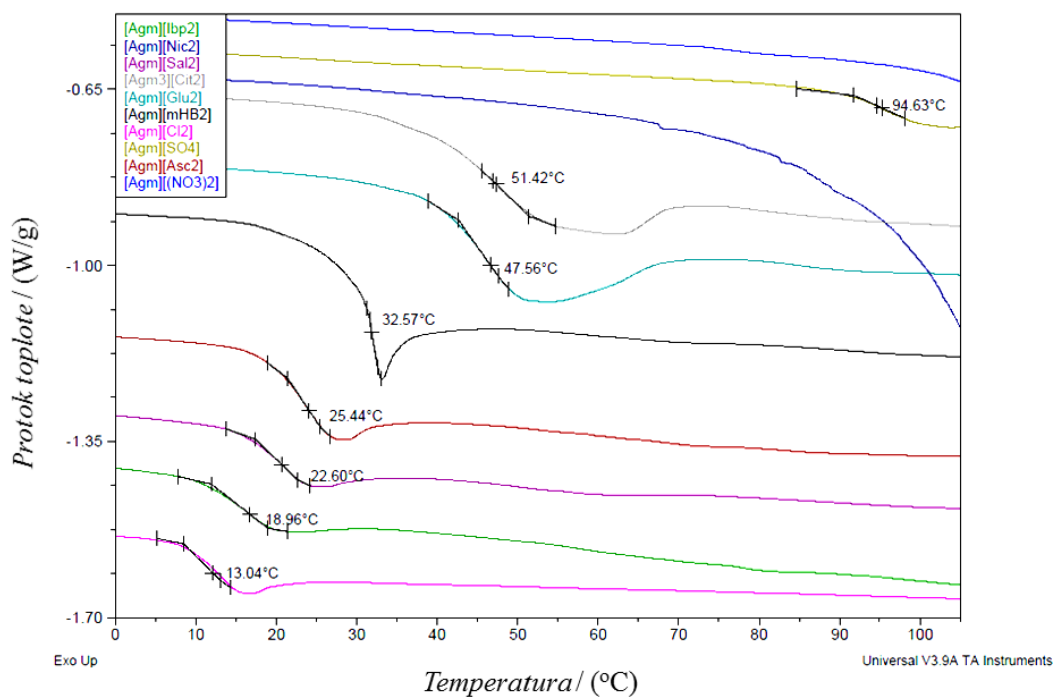
Tabela 4.31. Temperature termičke razgradnje, (T_{onset}), eksperimentalne vrednosti temperature topljenja, ($T_{\text{t/eksp}}$), i eksperimentalne, ($T_{\text{g/eksp}}$), i izračunate temperature staklastog prelaza, ($T_{\text{g/kal}}$).

Jedinjenja	T_{onset} / (°C)	$T_{\text{t/eksp}}$ / (°C)	$T_{\text{g/eksp}}$ / (°C)	$T_{\text{g/kal}}$ / (°C)
[Agm][Cl ₂]	319,13	172,95	13,04	11,96
[Agm][SO ₄]	294,17	231,24	94,63	94,98
[Agm][(NO ₃) ₂]	214,01	150,33	/	/
[Agm][Ibp ₂]	213,72	211,70	18,96	19,53
[Agm][Sal ₂]	210,22	179,82	22,60	24,18
[Agm][Nic ₂]	241,18	119,00	/	/
[Agm][mHB ₂]	237,22	205,46	32,57	47,57
[Agm ₃][Cit ₂]	217,08	162,51	51,42	56,40
[Agm][Glu ₂]	171,40	167,43	47,56	73,47
[Agm][Asc ₂]	166,34	154,42	25,44	81,63

Fazni prelazi za ispitivana jedinjenja su određeni iz DSC krivi (slika 4.54), a uočene temperature topljenja i temperature staklastog prelaza su date u tabeli 4.31. Nakon sinteze, vizuelnim zapažanjem je uočeno da su [Agm][Ibp₂], [Agm][Sal₂] i [Agm][Nic₂] viskozne jonske tečnosti, dok su preostala jedinjenja soli na sobnoj temperaturi. Međutim, posmatrajući dobijene DSC krive i temperature topljenja, primećeno je da je za jonske tečnosti, [Agm][Sal₂] i [Agm][Nic₂], tačka topljenja iznad 100 °C, dok za [Agm][Ibp₂] fazni prelaz u stvari predstavlja temperaturu termičke razgradnje. Temperature topljenja iznad 100 °C za jonske tečnosti se mogu objasniti sporom difuzijom jona i nedovoljnom nukleacijom kristala tokom hlađenja sistema i na kraju dovodeći do staklastog stanja jedinjenja. Prema Zürner i saradnicima [221] ova vrsta jedinjenja se može smatrati metastabilnom tečnom fazom na sobnoj temperaturi.



a)



b)

Slika 4.54. a) DSC krive sintetisanih jedinjenja na bazi agmatina b) pojedinačni delovi DSC krive sa temperaturama staklastog prelaza.

Dobijeni eksperimentalni rezultati za T_g upoređeni su sa vrednostima dobijenim iz DFT proračuna, izrazom razvijenim u radnoj grupi *Zhao* [222] i predstavljenom jednačinom:

$$T_g = \frac{155,934}{d_{JT}} + \frac{57,677}{d_{JT}^2} + 585,026 \ln d_{JT} + \frac{87,658}{r_k} - \frac{261,237}{r_k^2} + 0,895r_k^3 - 316,832 \ln r_k + \frac{411,772}{r_a} - 0,768r_a^3 - 161,86D + \frac{86,43}{D^2} + 3,449D^3 + 166,488 \ln D - 681,782 \quad (4.13)$$

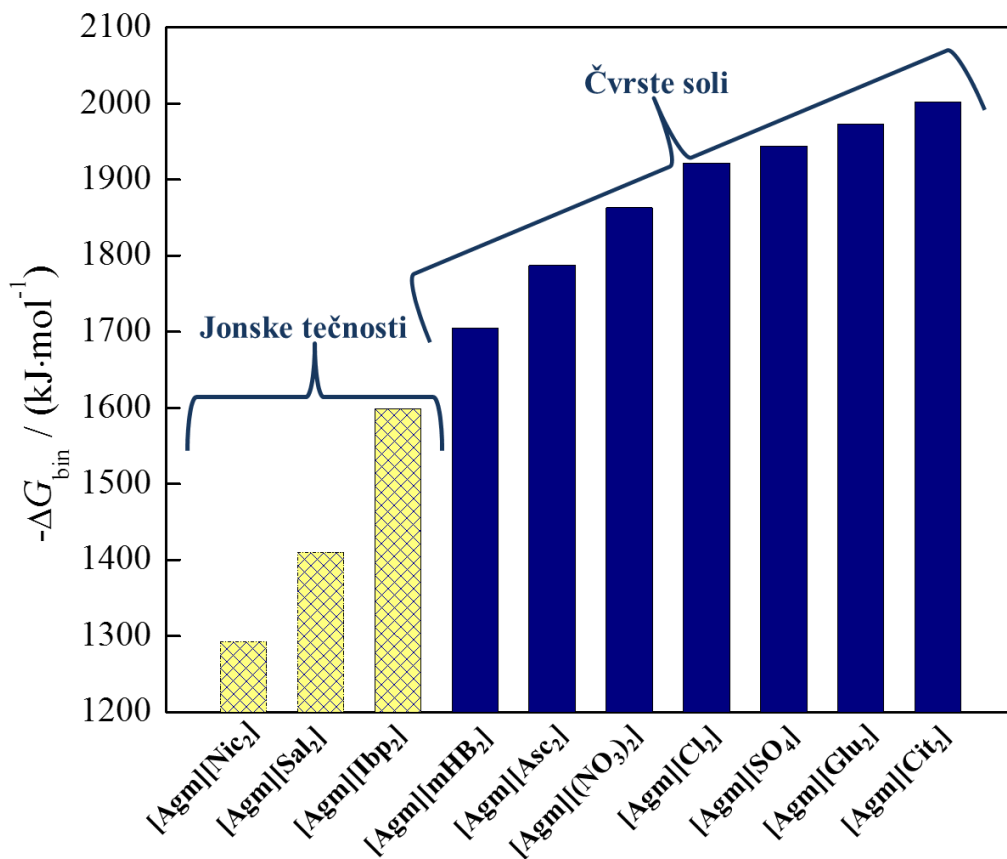
U ovom modelu, zapremina jonskih tečnosti i soli, zajedno sa odgovarajućim radijusom katjona i anjona, izračunata je primenom „zapreminske“ metode zasnovane na *Onsager*-ovom modelu. Rastojanje između katjona i anjona izračunato je jednačinom:

$$D = d' - r_k - r_a, \quad (4.14)$$

gde je D prečnik jonske tečnosti ili soli, r_k je poluprečnik katjona, r_a je poluprečnik anjona i d' predstavlja rastojanje između katjona i anjona (tabela P27). Dobijeni rezultati su prikazani i upoređeni sa eksperimentalnim vrednostima (tabela 4.32). Model koji su predložili *Zhao* i saradnici se pokazao kao dobar za predviđanje temperature staklastog prelaza za jonske tečnosti, kao što se može videti iz tabele 4.32. Uočena je dobra korelacija između eksperimentalnih i teorijskih rezultata, što sugerise da je korišćena funkcija odgovarajuća, kao i za soli agmatina na bazi neorganskih anjona. Međutim, predloženi model je pokazao odstupanja za soli agmatina na bazi organskih anjona. Naime, metoda *Zhao* i saradnika za predviđanje vrednosti T_g koristi multilinearu regresiju sa parametrima izvedenim iz jonskih tečnosti sa neorganskim ili malim organskim anjonima. Za precizno određivanje T_g za jedinjenja sa složenijim organskim anjonima potrebno je imati veći skup podataka za dobijanje pouzdanih parametara.

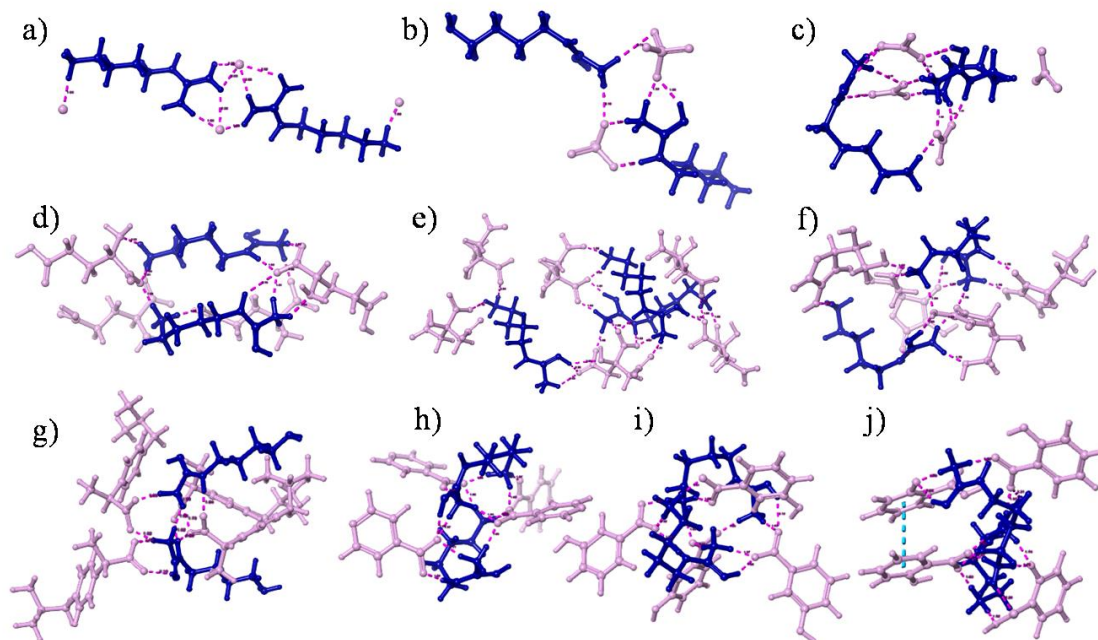
4.6.5. Rezultati proučavanja novih jedinjenja u čistom stanju

Da bi se dobio bolji uvid u geometrijsku organizaciju i jačinu interakcija između katjona i anjona, primenjen je DFT pristup. Dobijeni rezultati geometrijske optimizacije dodatno su potvrđeni proračunima energije vezivanja između katjona i anjona, (ΔG_{bin}). Rezultati su predstavljeni na slici 4.55.



Slika 4.55. Energije vezivanja sintetisanih jedinjenja na bazi agmatina.

Kao što se može videti sa slike 4.55, povećanje vrednosti ΔG_{bin} prati redosled: [Agm₃][Cit₂] < [Agm][Glu₂] < [Agm][SO₄] < [Agm][Cl₂] < [Agm][(NO₃)₂] < [Agm][Asc₂] < [Agm][mHB₂] < [Agm][Ibp₂] < [Agm][Sal₂] < [Agm][Nic₂]. Manje negativne vrednosti ΔG_{bin} su dobijene za anjone sa aromatičnim prstenovima u poređenju sa alifatičnim ili neorganskim anjonima, što ukazuje na manje privlačne sile između agmatina i aromatičnih anjona. Da bi se opravdala prethodna tvrdnja, na slici 4.56 su prikazani dimeri novih jedinjenja agmatina. Dobijene strukture ispitivanih dimera su predstavljene zajedno sa nekovalentnim interakcijama (NKI). Sa slike 4.56 se može videti da je najmanja količina NKI između neorganskih anjona (SO₄²⁻, NO₃⁻ i Cl⁻) i agmatina. Mala veličina ovih anjona omogućava bliži pristup agmatinu i lakše formiranje kubične rešetke. Pored toga, dužina veze, uzeta iz MD simulacija i RDF analize, znatno je manja u poređenju sa drugim anjonima (tabela 4.32).



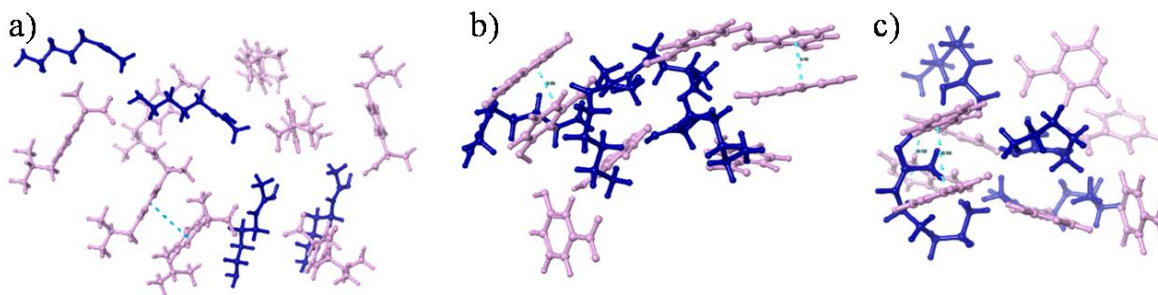
Slika 4.56. Optimizovane dimerne structure sa prikazanim π - π (cijano) i nekovalentnim interakcijama (ljubičasta): a) [Agm][Cl₂], b) [Agm][SO₄], c) [Agm][(NO₃)₂], d) [Agm][Glu₂], e) [Agm₃][Cit₂], f) [Agm][Asc₂], g) [Agm][Ibp₂], h) [Agm][Nic₂], i) [Agm][mHB₂] i j) [Agm][Sal₂]. Katjoni su prikazani plavom, a anjoni roze bojom.

Tabela 4.32. Prosečan broj ne-kovalentnih interakcija (NKI) po jednom molekulu agmatina i rastojanje između katjona i anjona (r_{K-A}).

Jedinjenje	Number of NCI	R_{K-A} / (Å)
[Agm][Cl ₂]	4	1,89
[Agm][SO ₄]	4	1,94
[Agm][(NO ₃) ₂]	6	1,93
[Agm][Ibp ₂]	5	2,23*
[Agm][Sal ₂]	6	2,31*
[Agm][Nic ₂]	6	2,19*
[Agm][mHB ₂]	6	2,20*
[Agm ₃][Cyt ₂]	6	2,13*
[Agm][Glu ₂]	6	2,09*
[Agm][Asc ₂]	7	2,05*

* Prikazana udaljenost je između atoma vodonika iz gvanidino grupe agmatina i kiseonika iz karboksilne grupe anjona.

Za aromatične i alifatične anjone, interakcije sa agmatinom kao katjonom su uglavnom uspostavljene kroz H-veze između gvanidina i $-\text{NH}^{3+}$ grupe agmatina i COO^- anjona, pa je ovo rastojanje predstavljeno u tabeli 4.32. Upoređujući rezultate za aromatične i alifatične anjone može se primetiti da je ukupan broj interakcija bio sličan, ali je karboksilna grupa bila bliža katjonu u slučaju alifatičnih anjona, što je u korelaciji sa manjom energijom vezivanja i stabilnijom strukturom za $[\text{Agm}][\text{Glu}_2]$ i $[\text{Agm}_3][\text{Cit}_2]$. Iz dalje analize modela dimera može se primetiti formiranje „sendvič kompleksa“ kroz π - π interakcije između aromatičnih prstenova u slučaju salicilata, što značajno smanjuje mogućnost interakcije između katjona i anjona. Takođe, poređenjem dimernih struktura $[\text{Agm}][\text{mHB}_2]$, $[\text{Agm}][\text{Nic}_2]$ i $[\text{Agm}][\text{Ibp}_2]$ uočena je simetrična organizacija, gde se interakcija anjona sa agmatinom odvija samo preko COO^- grupe, ostavljajući aromatične prstenove na raspolaganju za π - π interakcije, koje su najodgovornije za tečno i gelasto stanje. Da bi se dokazala ova hipoteza, prikaz većeg broja jona $[\text{Agm}][\text{mHB}_2]$, $[\text{Agm}][\text{Nic}_2]$ i $[\text{Agm}][\text{Ibp}_2]$, preuzeta iz MD simulacija, predstavljen je na slici 4.57.



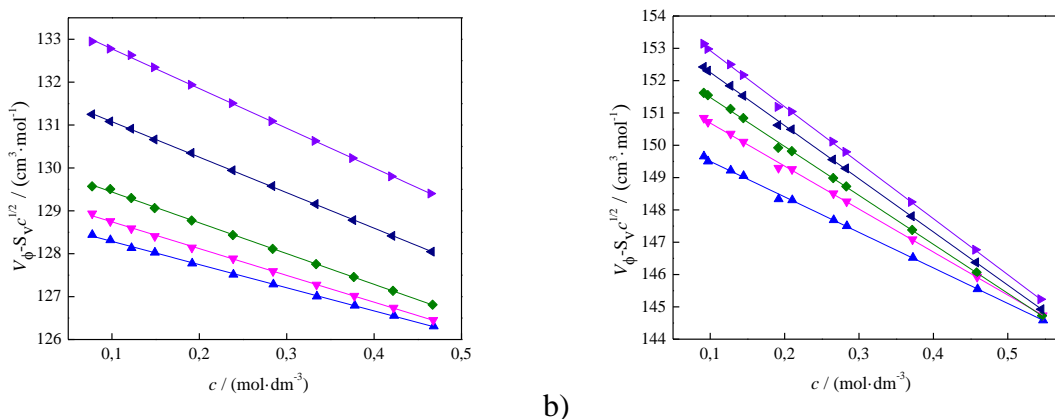
Slika 4.57. Prikaz većeg broja katjona i anjona sa vizualizovanim π - π interakcijama za: a) $[\text{Agm}][\text{Ibp}_2]$ b) $[\text{Agm}][\text{mHB}_2]$, c) $[\text{Agm}][\text{Nic}_2]$.

Iz detaljne analize može se primetiti značajno prisustvo π - π interakcija između aromatičnih prstenova anjona koje smanjuju mogućnost interakcije između katjona i anjona. Postojanje π - π interakcija dovodi do formiranja slojeva koji omogućavaju fluidno stanje, što se manifestuje manje negativnim vrednostima ΔG_{bin} . Dakle, ovi rezultati ukazuju da je u definisanim jonskim tečnostima vezivanje između katjona i anjona slabije, što može izazvati lakšu i bolju disocijaciju, a samim tim i veću bioraspoloživost oba jona u organizmu.

4.6.6. Rezultati volumetrijskih i viskozimetrijskih merenja vodenih rastvora agmatinijum-sulfata i agmatinijum-hlorida

Gustine vodenih rastvora agmatinijum-sulfata i agmatinijum-hlorida merene su u opsegu molalитета od $m = (0,0784 \text{ do } 0,5011) \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ za agmatinijum-sulfat i $m = (0,0930 \text{ do } 0,5981) \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ za agmatinijum-hlorid na pet temperatura: $T = (293,15, 298,15, 303,15, 308,15, 313,15) \text{ K}$. Izmerene gustine vodenih rastvora su korišćene za izračunavanje značajnih parametara koji daju uvid u strukturu vode oko ispitivanih soli. Rezultati gustine i prividne molarne zapremine, (V_ϕ), izračunate pomoću jednačine (3.21) rastvorenih supstanci dati su u tabelama P28 i P29.

Dobijene V_ϕ vrednosti su fitovane sa *Redlich-Rosenfeld-Meyer*-ovom preuređenom jednačinom (3.29), i prikazane su na slici 4.58, a parametri fita su dati u tabeli 4.33 za oba ispitivana sistema zajedno sa standradnom devijacijom fita, (σ), i koeficijentom korelacije, (R^2).



a)

b)

Slika 4.58. Promena $V_\phi - S_v c^{1/2}$ sa koncentracijom, (c), a) agmatinijum-sulfata i b) agmatinijum-hlorida a na različitim temperaturama: $T = (\blacktriangle)$, 293,15; (\blacktriangledown), 298,15; (\blacklozenge), 303,15; (\blacktriangleleft), 308,15 i (\blacktriangleright), 313,15 K.

Dobijene vrednosti odsečka predstavljaju prividne molarne zapremine pri beskonačnom razblaženju, (V_ϕ^0), aditivnu vrednost koja uključuje pojedinačne doprinose katjona (agmatin) i anjona (sulfat ili hlorid).

Tabela 4.33. Parametri fita dobijeni primenom jednačine (3.29) za vodene rastvora agmatinijum-sulfata i agmatinijum-hlorida u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$ sa devijacijom fita, (σ), i koeficijentom korelacije, (R^2).

$T / (\text{K})$	$V_{\phi}^{\circ} / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$	$S_v / (\text{cm}^{3/2} \cdot \text{mol}^{-1/2})^2$	$b / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})^2$	σ	R^2
Agmatinijum-sulfat					
293,15	127,83	14,25	-6,49	0,021	0,9992
298,15	128,23	14,94	-7,44	0,002	0,9992
303,15	128,84	15,64	-8,52	0,001	0,9994
308,15	130,40	16,36	-9,72	0,001	0,9998
313,15	131,99	17,10	-10,77	0,002	0,9996
Agmatinijum-hlorid					
293,15	150,77	9,24	-11,72	0,060	0,9988
298,15	152,19	9,69	-14,06	0,062	0,9992
303,15	153,18	10,15	-15,95	0,063	0,9994
308,15	154,09	10,62	-17,29	0,049	0,9996
313,15	154,86	11,10	-18,19	0,062	0,9996

Pošto je literaturna V_{ϕ}° vrednost za SO_4^{2-} $V_{\phi}^{\circ} = 25,0 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$, a za Cl^- $V_{\phi}^{\circ} = 23,3 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$, na $T = 298,15 \text{ K}$ [200], vrednost prividne molarne zapremine pri beskonačnom razblaženju za jon agmatina je izračunata i dobijene su vrednosti od $V_{\phi}^{\circ} = 104,35 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ iz agmatinijum-sulfata i $V_{\phi}^{\circ} = 103,90 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ iz agmatinijum-hlorida. Takođe, prema Lepori-jevom modelu doprinosa grupa [182], dobijena vrednost za prividnu molaru zapreminu pri beskonačnom razblaženju iznosi $V_{\phi}^{\circ} = 104,73 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ za katjon agmatina što se dobro slaže sa rezultatima dobijenim u ovoj disertaciji ($V_{\phi}^{\circ} = 104,35 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ i $V_{\phi}^{\circ} = 103,90 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$) na temperaturi $T = 298,15 \text{ K}$.

Za izračunavanje prividne molarne ekspanzibilnosti pri beskonačnom razblaženju, (E_{ϕ}°), V_{ϕ}° vrednosti fitovane su u funkciji temperature polinomnom jednačinom drugog reda (3.30) (slika P30), a dobijeni koeficijenti fita a_0 , a_1 i a_2 dati su tabeli P30. Iz dobijenih koeficijenata, granična

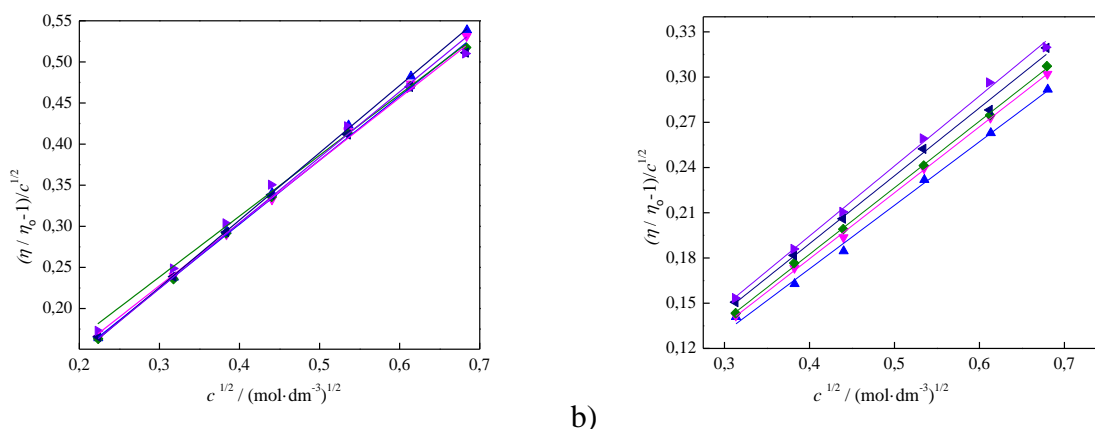
prividna molarna ekspanzibilnost izračunata je na osnovu jednačine (3.31), a vrednosti za ispitivane sisteme na različitim temperaturama su date u tabeli 4.34.

Tabela 4.34. Vrednosti prividnih molarnih ekspanzibilnosti pri beskonačnom razblaženju, (E_{ϕ}^0), za agmatinijum-sulfat i agmatinijum-hlorid u vodenim rastvorima i u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$T / (\text{K})$	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15
Jedinjenje:	$E_{\phi}^0 / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1})$				
Agmatinijum-sulfat	0,0550	0,1526	0,2501	0,3476	0,4451
Agmatinijum-hlorid	0,2792	0,2396	0,1999	0,1603	0,1207

Dobijene su pozitivne vrednosti u celom temperaturnom opsegu za obe soli. Sa porastom temperature povećavaju se E_{ϕ}^0 vrednosti agmatinijum-sulfata, dok je za agmatinijum-hlorid zabeležen suprotan trend. *Hepler*-ov koeficijent izračunat je na osnovu jednačine (3.32) i dobijene su vrednosti od $0,01950 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2}$ za agmatinijum-sulfat i $-0,007928 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2}$ za agmatinijum-hlorid. Izračunate vrednosti *Hepler*-ovih koeficijenata su blizu nule, pa se stoga ne može sa sigurnošću utvrditi tendencija ka *structure making* ili *breaking* osobinama. Prema *Marcus*-u [3], *Hepler*-ov koeficijent nije najpouzdaniji način da se ukaže da li je molekul bolji *structure maker* ili *breaker*, te stoga treba sprovesti dodatna merenja (merjenja viskoznosti i računarske simulacije).

Viskoznosti vodenih rastvora agmatinijum-sulfata i agmatinijum-hlorida merene su u opsegu koncentracija od $m = (0,0501 \text{ do } 0,3772) \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ za agmatinijum-sulfat i $m = (0,0499 \text{ do } 0,4988) \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ za agmatinijum-hlorid na pet temperatura: $T = (293,15, 298,15, 303,15, 308,15, 313,15) \text{ K}$. Rezultati su predstavljeni u tabeli P31. Rezultati izmerenih viskoznosti su analizirani korišćenjem proširene *Jones–Dole*-ove jednačine ($\eta/\eta_0 = 1 + Ac^{1/2} + Bc + Dc^2$) (slika 4.59), a izračunati koeficijenti su navedeni u tabeli 4.35. Vidi se da koeficijent B ima pozitivne vrednosti za oba ispitivana sistema, što ukazuje na *structure making* osobine agmatinijum-sulfata i agmatinijum-hlorida.



a)

b)

Slika 4.59. Zavisnost relativne viskoznosti, $((\eta/\eta_0)-1)/c^{1/2}$, od korena iz koncentracije, $(c^{1/2})$, a) agmatinijum-sulfata i b) agmatinijum-hlorida u vodenim rastvorima, na različitim temperaturama: $T = (\blacktriangle)$, 293,15; (\blacktriangledown), 298,15; (\blacklozenge), 303,15; (\blacktriangleleft), 308,15 i (\blacktriangleright), 313,15 K.

Tabela 4.35. Parametri fita dobijeni primenom proširene *Jones-Dole*-ove jednačine za viskoznost vodenih rastvora agmatinijum-sulfata i agmatinijum-hlorida u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$, sa devijacijom fita, (σ) , i koeficijentom korelacije, (R^2) .

$T / (\text{K})$	$A / (\text{dm}^{3/2} \cdot \text{mol}^{-1/2})$	$B / (\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$	$D / (\text{dm}^6 \cdot \text{mol}^{-2})$	σ	R^2
Agmatinijum-sulfat					
293,15	-0,012	0,690	0,002	0,0022	0,9991
298,15	-0,010	0,673	-0,002	0,0024	0,9992
303,15	-0,008	0,665	-0,006	0,0039	0,9992
308,15	-0,005	0,639	0,012	0,0052	0,9996
313,15	-0,002	0,620	0,026	0,0088	0,9994
Agmatinijum-hlorid					
293,15	-0,013	0,476	-0,042	0,004	0,9983
298,15	-0,001	0,459	-0,020	0,002	0,9996
303,15	0,005	0,443	-0,001	0,002	0,9997
308,15	0,017	0,413	0,040	0,008	0,9982
313,15	0,028	0,387	0,073	0,003	0,9990

Pouzdaniji kriterijum za predviđanje *structure making/breaking* osobina u sistemu je promena koeficijenta B sa temperaturom, odnosno dB/dT . Dobijene su negativne vrednosti $-3,48 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2}$ za agmatinijum-sulfat i $-4,48 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2}$ za agmatinijum-hlorid, čime se potvrđuju *structure making* osobine oba jedinjenja.

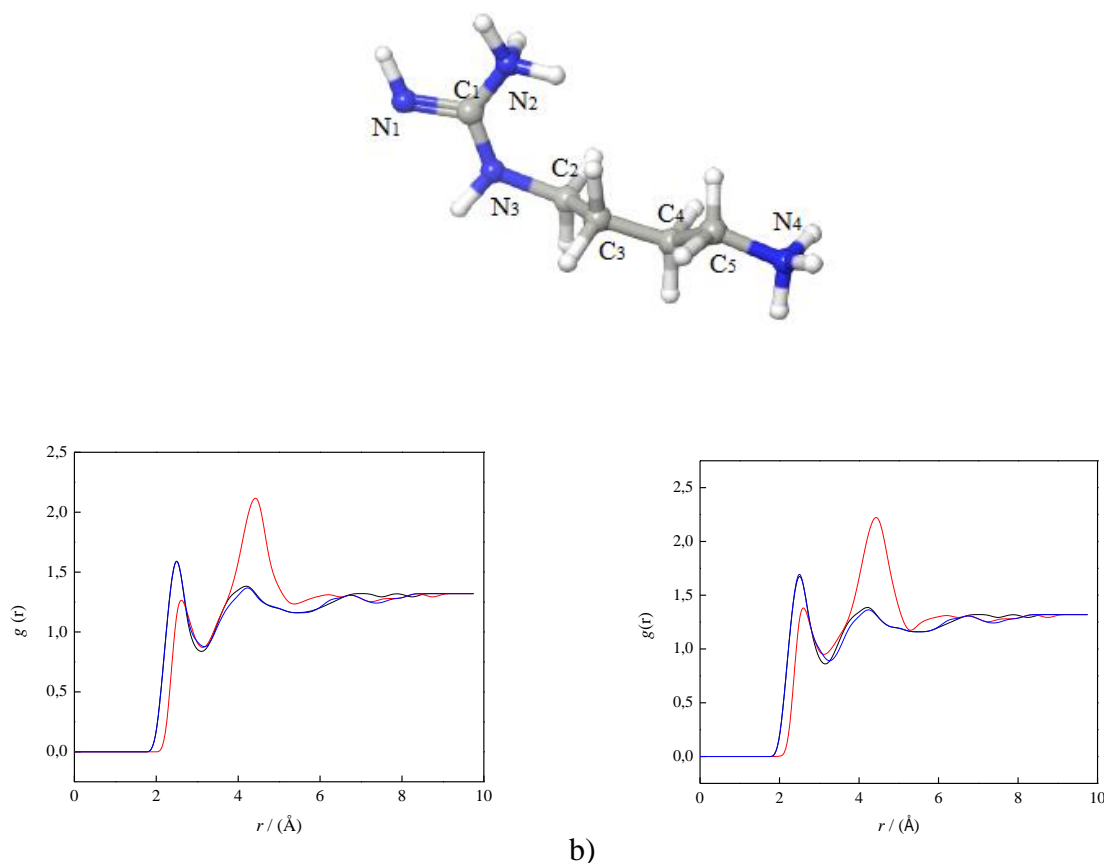
Iz izračunatih vrednosti koeficijenta B za agmatinijum-sulfat u ovom radu i literaturnih vrednosti za sulfat i hlorid na ispitivanim temperaturama [223], izračunat je doprinos jona agmatina i prikazan u tabeli 4.36. Dobijene vrednosti za B koeficijente agmatin jona se dobro slažu na svim ispitivanim temperaturama.

Table 4.36. Doprinos katjona agmatina vrednostima koeficijenta B , izračunat iz agmatinijum-sulfata i agmatinijum-hlorida i literaturnih vrednosti B koeficijenta za SO_4^{2-} i Cl^- [223], u temperaturnom opsegu $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$T / (\text{K})$	$B (\text{Agm}^{2+})_{\text{SO}_4^{2-}} / (\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$	$B (\text{Agm}^{2+})_{\text{Cl}^-} / (\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$
293,15	0,494	0,490
298,15	0,467	0,464
303,15	0,449	0,444
308,15	0,412	0,409
313,15	0,381	0,378

4.6.7. Rezultati računarskih simulacija interakcija agmatina sa vodom

Dodatne informacije o strukturnoj organizaciji vode oko agmatinijum-hlorida i agmatinijum-sulfata dobijene su simulacijama molekulske dinamike. Broj molekula je podešen da odgovara eksperimentalnoj koncentraciji od $0,2 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$. Iz simuliranih trajektorija izračunate su funkcije radijalne raspodele (RDF), a rezultati za interakcije između odabranih atoma ispitivanih soli i centra mase vode prikazani su na slici 4.60.

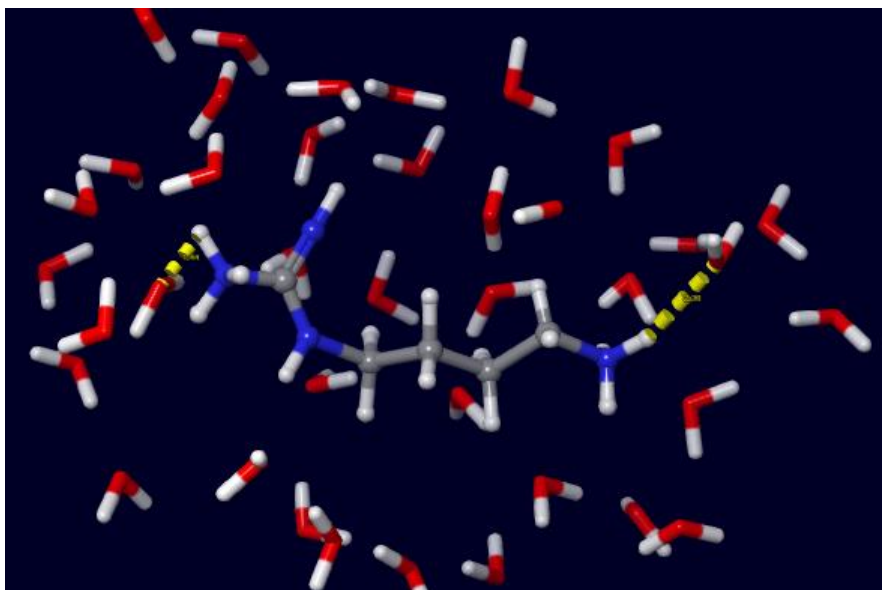


Slika 4.60. Funkcija radijalne raspodele centra mase vode oko atoma (— N1, — N2, — N4) za a) agmatinijum-sulfat i b) agmatinijum-hlorid.

Kao što se može videti sa slike 4.60, RDF-ovi odabranih atoma iz agmatin jona su bili veoma slični za agmatinijum-sulfat i agmatinijum-hlorid, što ukazuje da su obe soli potpuno disosovane u vodi pri ispitivanoj koncentraciji. Najznačajnije interakcije sa molekulima vode dobijene su za atome azota N1, N2 i N4 koje su detaljnije analizirane. Za sva tri atoma, to je očigledno formiranje dve hidratacione sfere. Identične RDF krive za N1 i N2 ukazuju na delokalizaciju dvostruke veze u gvanidino grupi. Voda ima najbliži pristup atomima azota iz gvanidino grupe sa rastojanjem manjim od 2,5 Å.

Štaviše, prvi pik je oštiji od drugog, što implicira lokalizovaniji tip interakcije između rastvorene supstance i vode, verovatno zbog formiranja vodoničnih veza. S druge strane, drugi vrh, koji se nalazi na oko 4,5 Å je širi, što ukazuje na manje specifične interakcije sa vodom. Takođe, drugi pik je izraženiji u slučaju N4, što ukazuje na bolju dostupnost amino⁺ grupe na terminalnom alkil lancu i postojanje hidrofobne hidratacije oko alkil lanca.

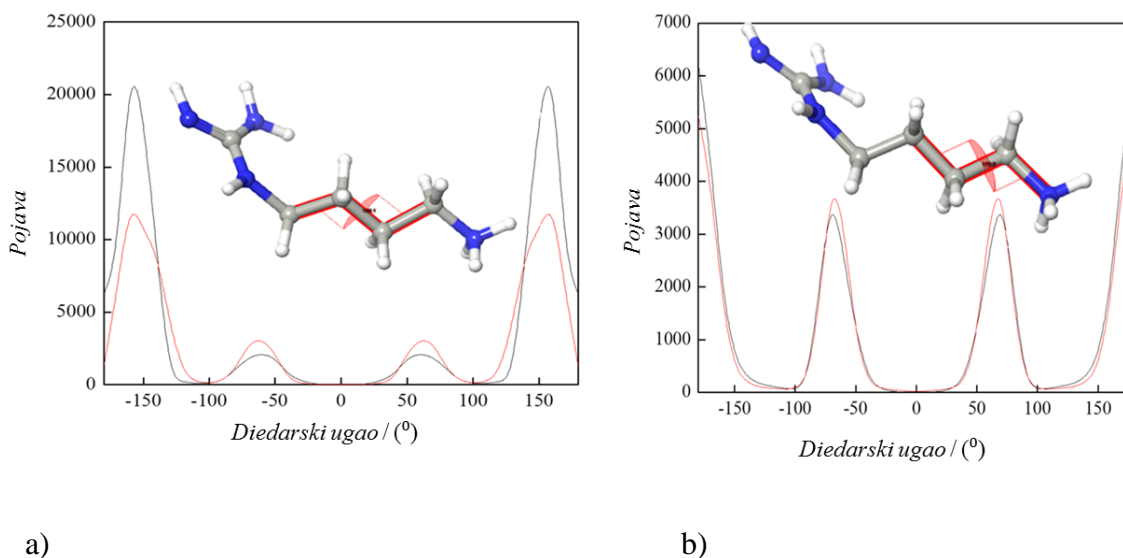
Hidracioni broj, (h_n), izračunat iz dobijenih RDF-ova i na $T = 298,15$ K iznosi $h_n = 8,82$ za agmatinijum-hlorid i $h_n = 8,62$ za agmatinijum-sulfat. Za bolju vizuelizaciju strukture vode oko jona agmatina, snimci jednog molekula sa okolnom vodom na udaljenosti od prve hidratacione sfere prikazani su na slici 4.61.



Slika 4.61. Vizuelni prikaz organizacije vode oko katjona agmatina sa obeleženim vodoničnim vezama.

Iz ovih slika se može primetiti da agmatin jon formira dve H-veze (predstavljene žutom bojom) boja) između katjona i vode, jedan sa gvanidino grupom i jedan sa amino grupom iz alkil lanca. Međutim, zbog mogućnosti da svi atomi H vezani za N1, N2, N3 i N4 formiraju vodoničnu vezu, izračunat je prosečan broj vodoničnih veza po jonu agmatina. Dobijeni rezultati su pokazali nešto veći broj H-veza (2,2 po jednom jonu agmatina), što ukazuje da su svi azoti u agmatinu potencijalna ciljna mesta za stvaranje H-veze.

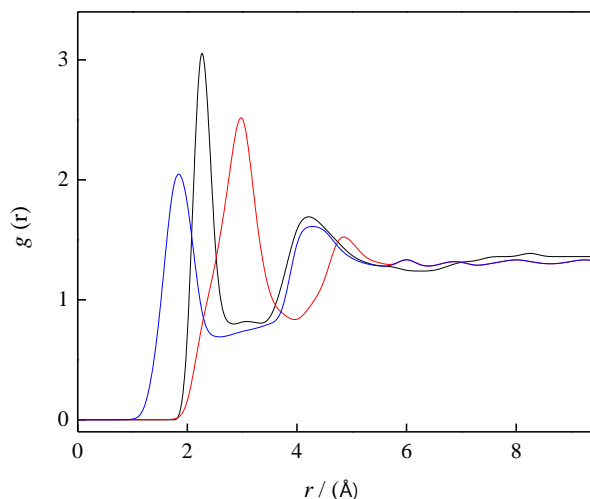
Da bi se razlikovale razlike u izračunatim volumetrijskim parametrima, kao što su različiti trendovi ekspanzibilnosti i *Hepler*-ov koeficijent, izračunati su diedralni uglovi između atoma N4–C5–C4–C3 i C5–C4–C3–C2. Hipoteza je bila da monovalentni i divalentni anjon (Cl^- i SO_4^{2-}) različito utiču na konformaciju jona agmatina čak i u razblaženom rastvoru. Male promene u diedralnom uglu mogu prouzrokovati različit položaj alkilnog lanca što ga čini manje ili više dostupnim za interakciju sa vodom, izazivajući različite *structure making* ili *breaking* osobine. Dobijeni rezultati za diedarske uglove predstavljeni su na slici 4.62.



Slika 4.62. Diedarski ugao između atoma a) C5–C4–C3–C2 i b) N4–C5–C4–C3 za — agmatinijum-sulfat i — agmatinijum-hlorid.

Kao što se može videti sa slike 4.62, najčešći diedarski ugao između atoma C5–C4–C3–C2 je oko 160° i za agmatinijum-hlorid i za agmatinijum-sulfat. Takođe, može se primetiti da je diedarski ugao od 160° izraženiji u slučaju agmatinijum-sulfata. Drugi najverovatniji diedarski ugao je oko 70° i skloniji je agmatinijum-hloridu. Za diedarski ugao između N4–C5–C4–C3, primećeno je slično ponašanje za obe soli. Ovi rezultati ukazuju da je uticaj različitih anjona na konfiguraciju katjona agmatina zanemarljiv u ispitivanom opsegu koncentracija. U oba slučaja, najverovatnija je linearna konformacija alkil lanca koja omogućava sličan potencijal za hidrofobnu hidrataciju.

Pošto RDF-ovi i analiza konformacije katjona agmatin nisu mogli da naprave razliku u organizaciji vode, RDF-ovi za hloridni i sulfatni anjon sa molekulima vode su izračunati i predstavljeni na slici 4.63. Kiseonici iz sulfatnog anjona bili su bliži molekulima vode nego hloridnim anjonima, izazivajući izraženiji uticaj na strukturiranje vode u slučaju agmatin sulfata. Ovo se može smatrati najvažnijim kriterijumom za nedvosmislenu tendenciju stvaranja strukture agmatinijum-sulfata u poređenju sa agmatinijum-hloridom.

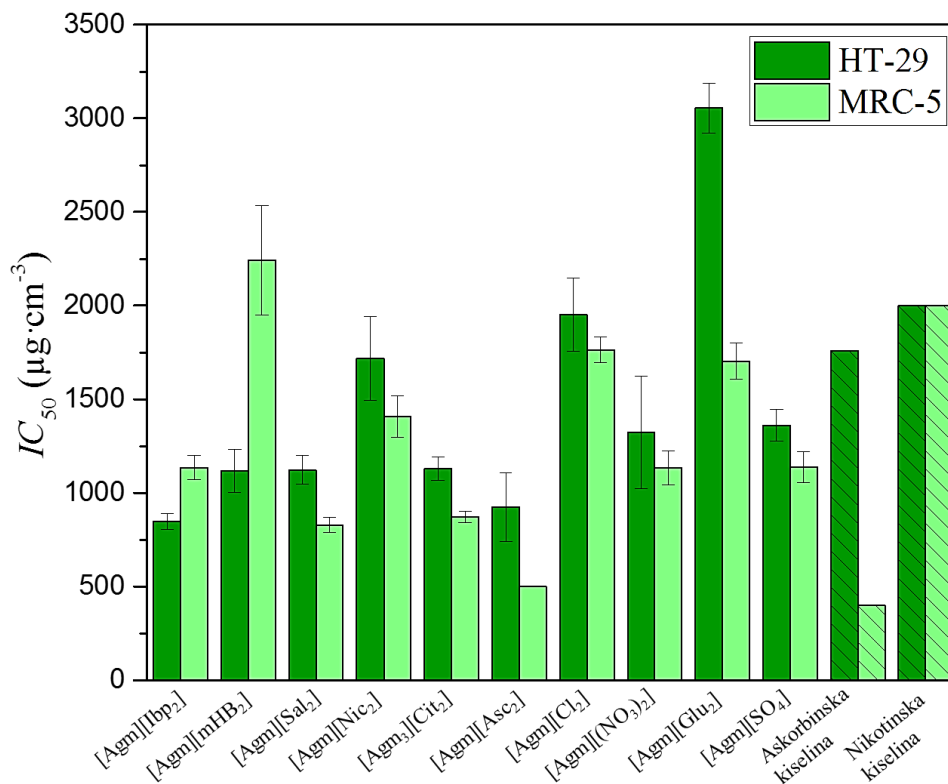


Slika 4.63. Funkcija radijalne raspodele centra mase vode oko — hloridnog i sulfatnog anjona (— kiseonik, — sumpor).

4.6.8. Rezultati citotoksičnosti sintetisanih jedinjenja na bazi agmatina

Da bi se razmotrila potencijalna citotoksičnost jedinjenja na bazi agmatina, [Agm][Ibp₂], [Agm][Sal₂], [Agm][Nic₂], [Agm₂][Cit₃], [Agm][Asc₂], [Agm][Cl₂], [Agm][(NO₃)₂], [Agm][Glu₂] i [Agm][mHB₂], njihova aktivnost rasta ćelija je procenjena u humanoj ne-tumorskoj ćelijskoj liniji (normalni fetalni fibroblasti pluća MRC-5) i HT-29 (ćelijska linija humanog adenokarcinoma debelog creva). Dobijeni rezultati zajedno sa uticajem komercijalnih supstanci (askorbinska kiselina i nikotinska kiselina) na rast ćelija prikazani su na slici 4.64 i tabeli P32. Antiproliferativna aktivnost je izražena kao IC_{50} vrednost. Najveću ukupnu inhibiciju rasta ćelija MRC-5 pokazala je askorbinska kiselina sa vrednostima IC_{50} dobijenim pri $400 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$. Inhibicija rasta ćelija i dobijene vrednosti IC_{50} pri ovim koncentracijama smatraju se blagim [224]. Dalje, [Agm][Ibp₂] je pokazao najveću ukupnu inhibiciju rasta ćelija HT-29, dok je najniža pokazala [Agm][Glu₂]. Jonska tečnost [Agm][Nic₂] ima nešto veću citotoksičnost prema obe ćelijske linije u poređenju sa nikotinskom kiselinom. Askorbinska kiselina je pokazala mnogo veću citotoksičnost prema MRC-5 ćelijama u poređenju sa novom soli [Agm][Asc₂], dok je suprotan trend uočen za HT-29 ćelijske linije. Najbolji rezultati su postignuti na ćelijskim linijama MRC-5, gde su sve sintetisane JT i soli na bazi agmatina pokazali nižu citotoksičnost u poređenju sa

askorbinskom kiselinom. Na osnovu uočenih rezultata navedena jedinjenja se mogu proglasiti netoksičnim sa mogućom primenom u farmaciji za isporuku aktivnih supstanci.



Slika 4.64. Aktivnost rasta ćelija JT i soli na bazi agmatina i standardi u ćelijskim linijama MRC-5 i HT-29 posle 48 h.



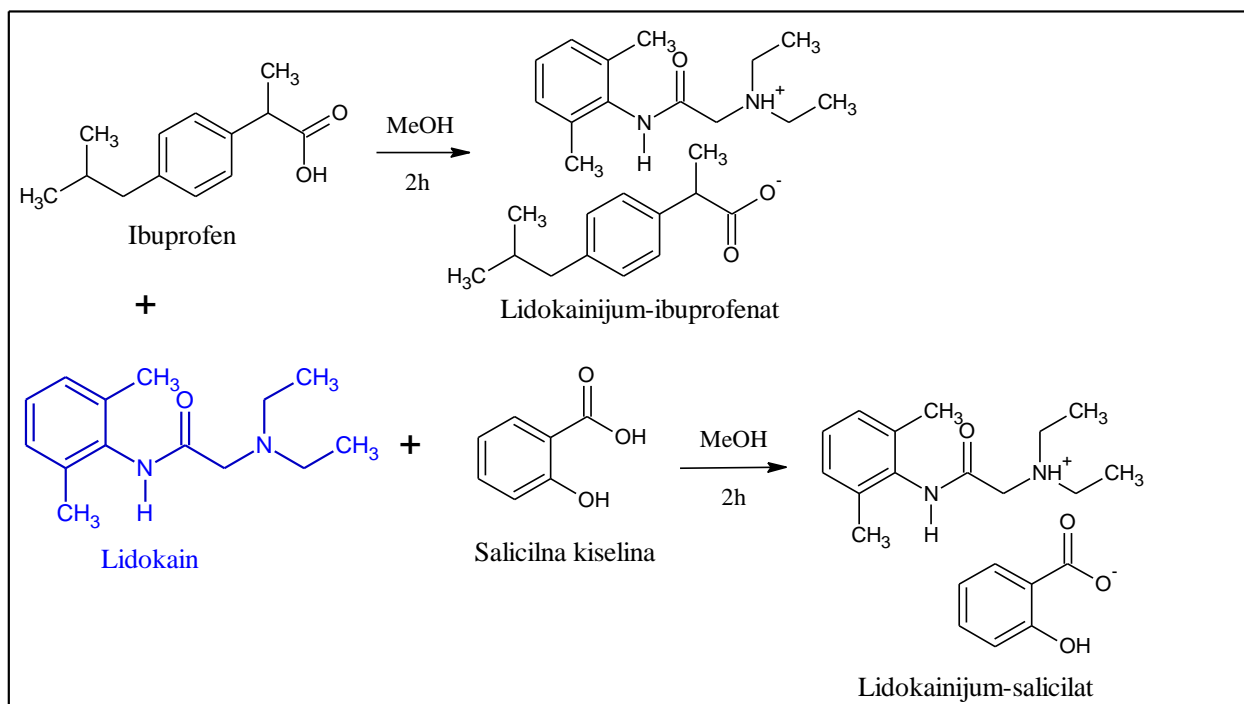
Uspešna ugradnja agmatina u strukturu jonskih tečnosti i soli zajedno sa biorelevantnim anjonima pruža novo polje proučavanja u pripremi biološki prihvatljivih jedinjenja sa dvostrukim dejstvom, koja bi mogla imati široku primenu u poljoprivredi i farmaciji. Takođe, pronađena je i korelacija između energije vezivanja i agregatnog stanja jedinjenja, što može da se iskoristi za preliminarnu analizu prilikom sinteze jonskih tečnosti kao prediktor da li će se iskristalisati ili nagraditi jonsku tečnost.

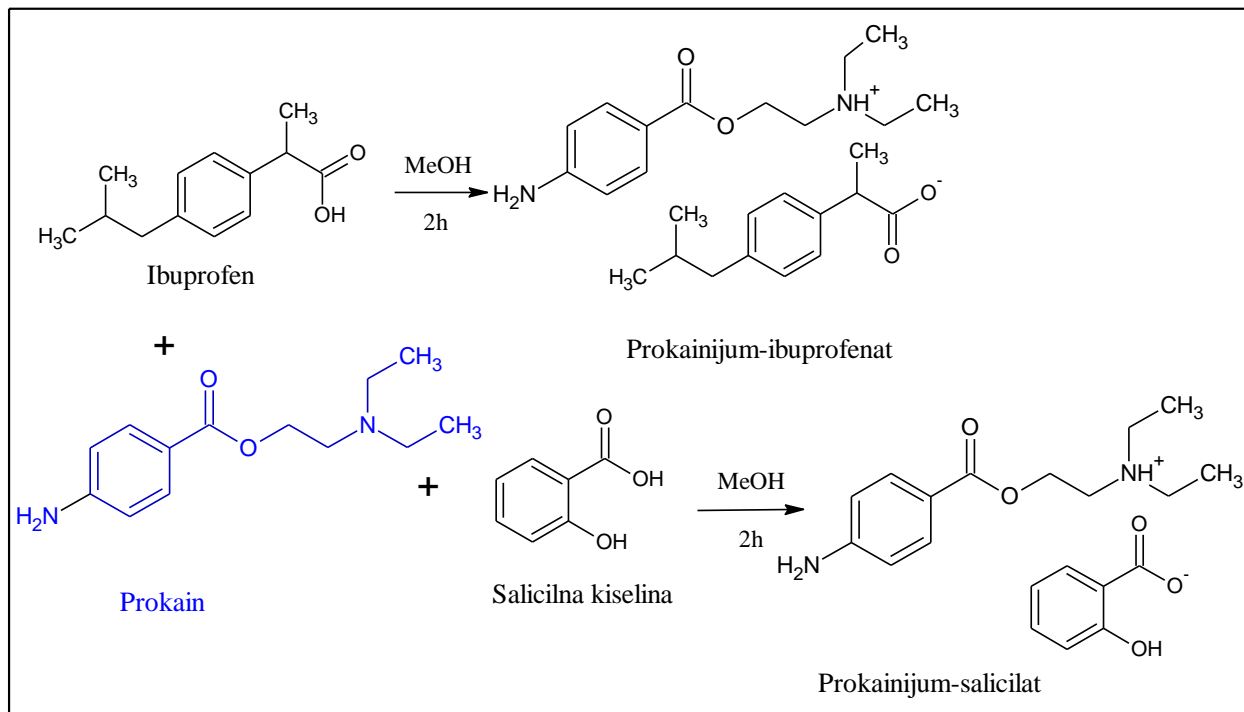


4.7. Jonske tečnosti na bazi lokalnih anestetika

4.7.1. Sinteza i potvrda strukture

U okviru ove doktorske disertacije sintetisane su četiri jonske tečnosti na bazi lokalnih anestetika. Sintetisane su dve na bazi lokalnog anestetika amidnog tipa, lidokaina, kao i dve na bazi lokalnog anestetika estarskog tipa, prokaina. Za anjone su izabrana dva antiinflamatorna leka, ibuprofen i salicilna kiselina. Lidokainijum-ibuprofenat [Lid][Ibp], lidokainijum-salicilat [Lid][Sal], prokainijum-ibuprofenat [Pro][Ibp] i prokainijum-salicilat [Pro][Sal] su pripremljeni mešanjem odgovarajuće količine lidokaina/prokaina sa odgovarajućom ekvimolarnom količinom (1:1) ibuprofena/salicilne kiseline, rastvorene u metanolu i mešane dva sata na sobnoj temperaturi (slika 4.65). Metanol se koristi kao rastvarač zato što se lidokain, prokain, ibuprofen i salicilna kiselina ne rastvaraju u vodi. Rastvarač je uklonjen korišćenjem rotacionog vakuum uparivača na temperaturi od $T = 353,15$ K.



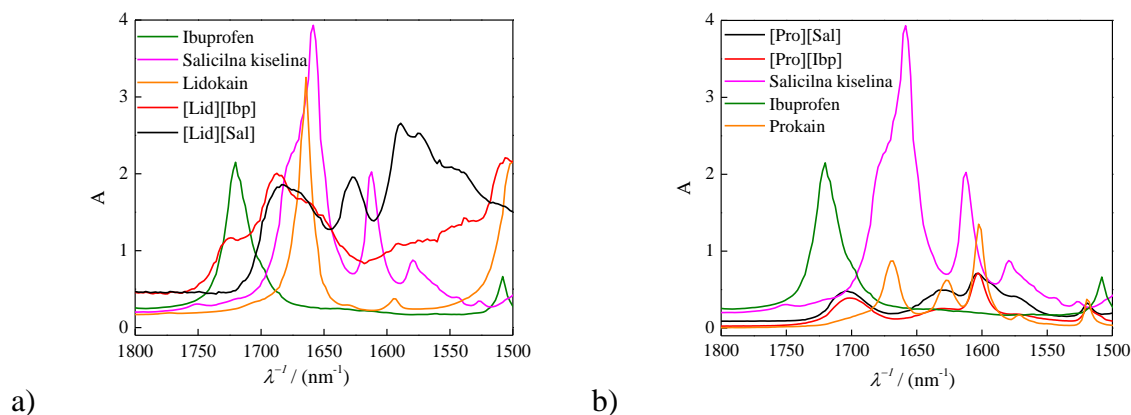


Slika 4.65. Šema sinteze lidokainijum-ibuprofenata, lidokainijum-salicilata, prokainijum-ibuprofenata i prokainijum-salicilata.

Dobijeni su svetložuti [Lid][Ibp], [Pro][Ibp] i [Pro][Sal] i bezbojni viskozni [Lid][Sal], tečni na sobnoj temperaturi bez tendencije za kristalizacijom tokom rada. Za potvrdu strukture i čistoće sintetisanih jonskih tečnosti snimljeni su IC i NMR spektri i utvrđene su strukture ovih jedinjenja. Čistoća dobijena analizom NMR spektra za sve jonske tečnosti iznosi preko 92,0% i dobijeni spektri dati su u Prilogu (slike P31-P38).

Za određivanje stepena konverzije u jonsku tečnost korišćeni su podaci IC spektra sintetisanih jonskih tečnosti, kao i spektri lidokaina, prokaina, salicilne kiseline i ibuprofena. Ovaj pristup je uspešno primenjen u određivanju konverzije polaznih jedinjenja u jonsku tečnost etodolak-lidokain [225]. Upoređeni su talasni brojevi (cm^{-1}) karbonilnih grupa u karboksilnoj grupi salicilne kiseline i ibuprofena, karbonilnih grupa amida u lidokainu i estera u prokainu, karbonilnih grupa karboksilatnih anjona i amida u [Lid][Sal] i [Lid][Ibp], i estera u [Pro][Sal] i [Pro][Ibp]. Dobijeni spektri su predstavljeni na slici 4.66 u regionu gde se nalaze karakteristične trake. Kao što se može videti sa slike 4.66, u [Lid][Sal] i [Pro][Sal], apsorpcione trake karakteristične za C=O istežanje karboksilne grupe salicilne kiseline (1658 cm^{-1}) su smanjene i pojavila se nova traka na oko 1589

cm^{-1} . Ovo ukazuje da je salicilna kiselina potpuno deprotonovana u novositnetisanim jonskim tečnostima, odnosno da je došlo do formiranja anjona salicilata. S druge strane, C=O istežanje u [Lid][Ibp] se nalazi na oko 1688 cm^{-1} i na 1701 cm^{-1} u [Pro][Ibp] i predstavlja kombinaciju tri pika. Ovi pikovi se nalaze na 1664 cm^{-1} (C=O deo amidne grupe lidokaina i estarske grupe prokaina), 1720 cm^{-1} (C=O ibuprofena) i novi široki pik na 1690 cm^{-1} što ukazuje na dinamičku ravnotežu između ibuprofena i lidokaina/prokaina i vodonično vezanog [Lid][Ibp]/[Pro][Ibp] [157]. Ova zapažanja sugerišu da ibuprofen nije potpuno u deprotoniranom stanju, što ukazuje da konverzija [Lid][Ibp] i [Pro][Ibp] u obliku jonske tečnosti nije potpuna. Na osnovu ovih rezultata može se smatrati da [Lid][Sal] i [Pro][Sal] predstavljaju prave farmakološki aktivne jonske tečnosti, dok su [Lid][Ibp] i [Pro][Ibp] najverovatnije „tečni ko-kristali“.



Slika 4.66. Infracrveni spektri u regionu od $1800\text{--}1500 \text{ cm}^{-1}$ za a) [Lid][Ibp] i [Lid][Sal] i b) [Pro][Ibp] i [Pro][Sal], kao i njihovih polaznih neutralnih komponenti.

4.7.2. Termička analiza

Termička stabilnost i temperature faznih prelaza ispitivanih jonskih tečnosti određene su termogravimetrijski i DSC merenjima i upoređene su sa temperaturama prijavljenim u ranijim radovima [77,106,157,226]. Dobijene termogravimetrijske i DSC krive date su u Prilogu na slici P39 odakle su očitane početne temperature razgradnje, (T_{onset}), temperature razgradnje 5 % mase, ($T_{5\% \text{ onset}}$), temperature staklastog prelaza, (T_g), i temperature topljenja, (T_i), i date u tabeli 4.37. Iz tabele 4.37 se uočava da su dobijene vrednosti temperature raspadanja 5 % mase i temperature staklastog prelaza [Lid][Ibp], [Lid][Sal] i [Pro][Ibp] u saglasnosti sa temperaturama datim u

literaturi [77,106,157,226]. Mala odstupanja od literaturnih vrednosti javljaju se zbog različitih primenjenih brzina grejanja u postupku termičke analize. Posmatrajući dobijene DSC termograme, tačka topljenja za [Lid][Sal] je iznad $T = 100$ °C. *Züner* i saradnici [221], objašnjava ovu metastabilnu tečnu fazu na sobnoj temperaturi kao staklasto stanje jonskih tečnosti indukovano sporom difuzijom jona i nedovoljnom kristalizacijom kristala tokom hlađenja sistema. Takođe, u ranijim radovima tačka topljenja [Lid][Sal] nije uočena jer je tokom merenja DSC uzorak zagrevan samo do $T = 110$ °C.

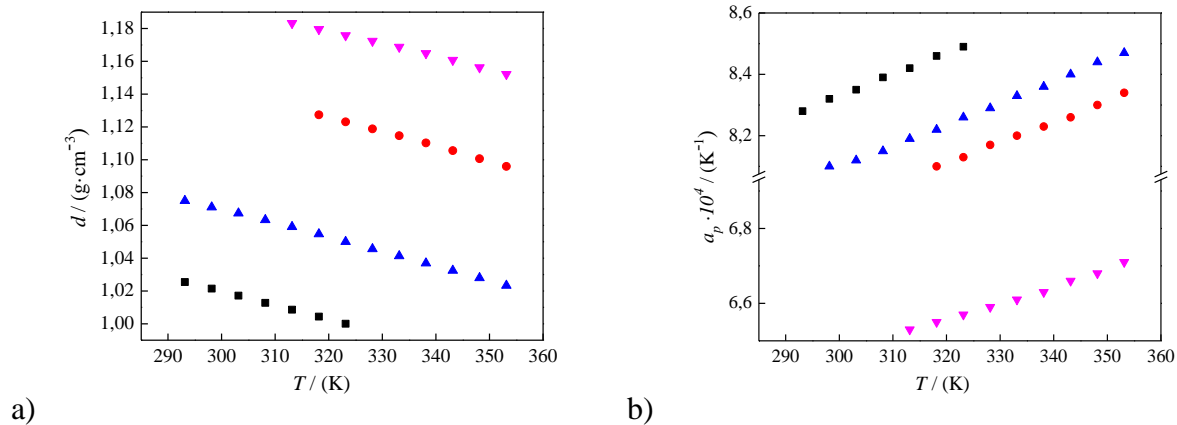
Tabela 4.37. Temperature termičke razgradnje, (T_{onset}), temperature termičke razgradnje 5% mase, ($T_{5\% \text{onset}}$), temperature staklastog prelaza, (T_g), i temperature topljenja, (T_t) za [Lid][Ibp], [Lid][Sal], [Pro][Ibp] i [Pro][Sal].

JT	$T_{\text{onset}} / (^{\circ}\text{C})$	$T_{5\% \text{onset}} / (^{\circ}\text{C})$	$T_g / (^{\circ}\text{C})$	$T_t / (^{\circ}\text{C})$	
[Lid][Ibp]	215,48	171,32	-30,30	/	
			-27,37		
			165,19 [157]	[157]	
			174,00 [226]	-27,00	/
[Lid][Sal]	208,56	151,20	-13,10	189,99	
			158,47 [77]	-19,78 [77]	/
			181,00 [106]	[226]	
[Pro][Ibp]	210,30	178,94	-13,92	/	
			176,65 [157]	-12,69 [157]	
[Pro][Sal]	216,41	195,11	-22,75	/	

4.7.3. Rezultati merenja gustine

Gustine, (d), čistih jonskih tečnosti merene su u temperaturnom opsegu od $T = (293,15$ do $323,15)$ K za [Lid][Ibp], $T = (318,15$ do $353,15)$ K za [Lid][Sal], $T = (293,15$ do $353,15)$ K za [Pro][Ibp] i $T = (313,15$ do $353,15)$ K za [Pro][Sal]. Gustine za [Lid][Sal] i [Pro][Sal] se nisu mogle izmeriti na nižim temperaturama primenjenom aparaturom zbog visoke viskoznosti čistih jonskih tečnosti. Na osnovu eksperimentalnih gustina mogu se izračunati termički koeficijenti širenja čiste jonske

tečnosti, (α_p), upotrebom jednačine (3.7). Koeficijent termičkog širenja je određen u istom temperaturnom opsegu kao i merene gustine. Dobijeni rezultati su prikazani u tabeli P33 i grafički na slici 4.67.



Slika 4.67. Promena a) gustine, (d), i b) termičkog koeficijenta širenja jonskih tečnosti, (α_p), sa temperaturom: ■ [Lid][Ibp], ● [Lid][Sal], ▲ [Pro][Ibp] i ▼ [Pro][Sal].

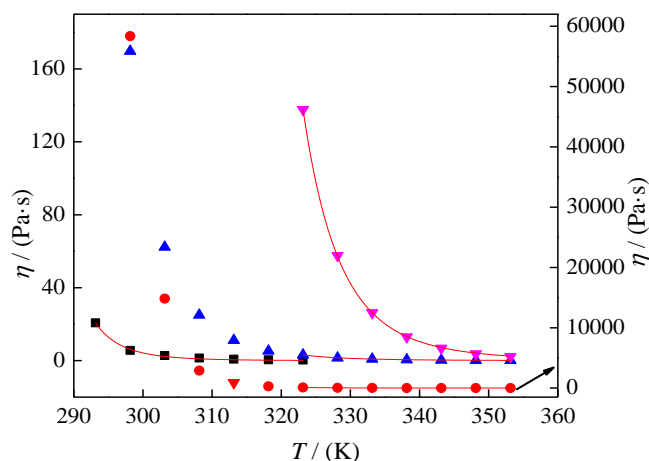
Uopšteno govoreći, gustine jonskih tečnosti prvenstveno zavise od veličine i oblika jona i mogućnosti njihovog pakovanja, ali takođe zavise i od uspostavljenih jon-jon interakcija. Iz dobijenih rezultata može se videti da se gustine povećavaju po sledećem redosledu: [Lid][Ibp] < [Pro][Ibp] < [Lid][Sal] < [Pro][Sal]. Čini se da salicilat, kao anjon sa manjom zapreminom jona i jednostavnijom strukturom, omogućava bliži pristup i time bolje geometrijsko uklapanje sa lidokainom i prokainom, što dovodi do njihovih većih vrednosti gustina nego kod jonskih tečnosti sa ibuprofenom kao anjonom. Pored toga, termički koeficijenti širenja, koji predstavljaju brzinu udaljavanja katjona od anjona sa porastom temperature, opadaju po sledećem redosledu: [Lid][Ibp] > [Pro][Ibp] > [Lid][Sal] > [Pro][Sal], što takođe ukazuje da je bolje pakovanje postignuto u jonskim tečnostima na bazi salicilata.

Ako se uporede vrednosti gustina na $T = 323,15$ K za [Lid][Sal] od $d = 1,12311$ $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$, a za [Lid][Ibp] od $d = 1,0000$ $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ sa vrednostima gustina od $d = 1,17583$ $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ za [Pro][Sal] i $d = 1,05003$ $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ za [Pro][Ibp] na istoj temperaturi, uočava se da je gustina obe jonske tečnosti na bazi prokaina, lokalnog anestetika sa estarskim tipom funkcionalne grupe, viša nego u slučaju jonskih tečnosti na bazi lidokaina. Ovo pokazuje da katjon prokaina zauzima povoljniju strukturnu konformaciju kojoj salicilat ili ibuprofenat lakše prilaze nego u slučaju lidokaina. Razlog tome

može biti zbog lakše rotacije estarske veze prokaina nego oko amidne veze lidokaina, pa se tako benzenovi prstenovi približavaju i bolje se pakuju. Pored amidne veze, bočne metil grupe na benzenovom prstenu lidokaina čine prsten sterno zaklonjenim i na taj način sprečavaju približavanje drugih jona. Pored toga, razlika u gustini između [Lid][Sal] i [Pro][Sal] od 4,7 % i između [Lid][Ibp] i [Pro][Ibp] od 5,0 % je skoro identična, što može ukazivati na to da razlika u gustini dolazi isključivo od organizacije katjona.

4.7.4. Rezultati merenja viskoznosti

Da bi se dalje okarakterisale čiste [Lid][Ibp], [Lid][Sal], [Pro][Ibp] i [Pro][Sal] i stekao uvid u interakcije između jona u strukturama jonskih tečnosti, izmerene su dinamičke viskoznosti, (η), u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 353,15) \text{ K}$ za [Lid][Ibp], $T = (298,15 \text{ do } 353,15) \text{ K}$ za [Lid][Sal] i [Pro][Ibp], $T = (323,15 \text{ do } 353,15) \text{ K}$ za [Pro][Sal]. Merenje viskoznosti [Pro][Sal] na temperaturama ispod $T = 323,15 \text{ K}$ kao i za [Lid][Sal] i [Pro][Ibp] ispod $T = 298,15 \text{ K}$ bilo je nemoguće zbog njihove visoke viskoznosti koja se ne može detektovati korišćenim vretenom i viskozimetrom. Dobijeni rezultati su prikazani u tabeli P34 i grafički na slici 4.68.

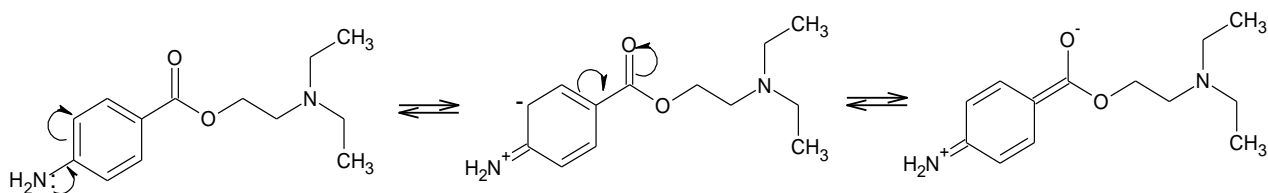


Slika 4.68. Zavisnost viskoznosti, (η), od temperature fitovana VFT jednačinom za: ■ [Lid][Ibp], ● [Lid][Sal], ▲ [Pro][Ibp] i ▼ [Pro][Sal].

Prvo je za [Lid][Ibp], [Pro][Ibp] i [Pro][Sal] ispitano je da li se ponašaju kao Njutnovske ili nenjutnovske tečnosti, dok je za [Lid][Sal] to bilo nemoguće. Naime, za određivanje Njutnovskog ponašanja jonskih tečnosti potrebna su merenja sa širokim opsegom RPM. Zbog visoke

viskoznosti [Lid][Sal] i ograničenja opreme pri višim RPM merenjima sa LV-4 vretenom ta merenja nisu bila moguća. Viskoznost tečnosti sa Njutnovim ponašanjem na datoj temperaturi ostaje konstantna bez obzira na to koji se model viskozimetra, vretena ili brzina koristi za merenja. Linearne zavisnosti napona smicanja (eng. *Shear Stress*) od brzine smicanja (eng. *Shear Rate*) predstavljene su grafički na slikama P40-P42. Sa slika se uočava konstantna viskoznost sa vrednostima brzine smicanja, što ukazuje da se sve proučavane jonske tečnosti ponašaju kao Njutnovske tečnosti.

Na osnovu rezultata viskoznosti koji su grafički prikazani na slici 4.68 može se videti da sa povećanjem temperature vrednosti viskoznosti eksponencijalno opadaju za svaku jonsku tečnost. Zatim, Ako se uporede vrednosti viskoznosti na $T = 323,15$ K za [Lid][Ibp] od $\eta = 0,298$ Pa·s, za [Lid][Sal] od $\eta = 102,26$ Pa·s, sa vrednostima viskoznosti $\eta = 137,67$ Pa·s za [Pro][Sal], i $\eta = 3,153$ Pa·s za [Pro][Ibp], uočava se da su viskoznosti za obe jonske tečnosti na bazi prokaina veće od viskoznosti jonskih tečnosti na bazi lidokaina na istoj temperaturi. Ovi rezultati ukazuju na jače interakcije između jona u jonskim tečnostima sa prokainom kao katjonom. Glavni faktor koji doprinosi većim viskoznostima istraživanih jonskih tečnosti u poređenju sa jonskim tečnostima na bazi lidokaina može se pripisati boljim geometrijskim uklapanjem i bližim prilaskom jona što posledično promovira jače elektrostatičke privlačnosti između njih. Štaviše, dodatni doprinos većoj viskoznosti može da potiče od jačih interakcija između prokaina i odabranih anjona koje mogu biti rezultat prisustva $-NH_2$ grupe vezane za benzenov prsten prokaina. Naime, *p*-amino benzoatna grupa u strukturi prokaina postoji u hinonoidnoj rezonantnoj strukturi (slika 4.69). Poreklo hinonoidnog oblika proizilazi iz doniranja elektrona iz elektronskog para koji se nalazi na azotu primarnog amina, izazivajući prenos elektrona kroz prsten. Ovaj prenos naelektrisanja dovodi do viška pozitivnog naelektrisanja na *p*-amino benzoatnoj grupi sa izraženom tendencijom stvaranja vodoničnih veza sa karboksilnom grupom zbog sposobnosti donora vodonika [227].



Slika 4.69. Najvažnije rezonantne strukture prokaina.

Vogel-Fulcher-Tammann-ova (VFT) jednačina (3.9) je korišćena da se opiše odnos između viskoznosti i temperature u cilju dobijanja pseudoaktivacionih energija viskoznog toka ispitivanih jonskih tečnosti. Koristeći dobijeni B_η koeficijent, pseudoaktivaciona energija viskoznog toka, ($E_a'(\eta)$), može se izračunati upotrebom jednačine (3.10). [Lid][Sal], [Pro][Ibp] i [Pro][Sal] su fitovani u temperaturnom opsegu od $T = (323,15 \text{ do } 353,15)$ K kako bi rezultati mogli da se uporede. U tabeli 4.38 prikazani su parametri dobijeni primenom VFT jednačine kao i izračunate pseudoaktivacione energije viskoznog toka za sve ispitivane jonske tečnosti. Prvo, iz dobijenih eksperimentalnih rezultata viskoznosti, može se primetiti da je najveća vrednost primećena za [Pro][Sal], dok [Lid][Ibp] ima najmanju vrednost viskoznosti. Dalje, kako su [Lid][Sal], [Pro][Ibp] i [Pro][Sal] fitovani u istom temperaturnom opsegu, njihove $E_a'(\eta)$ se mogu uporediti. Tako je najveća vrednost $E_a'(\eta)$ takođe zabeležena za [Pro][Sal], što znači da je [Pro][Sal] potrebno najviše energije da bi se savladala intermolekulska sila kako bi se jonska tečnost pokrenula. I ovi rezultati opet ukazuju na to da se najjače interakcije između jona javljaju u [Pro][Sal], verovatno zato što je salicilat najmanje veličine i može se približiti katjonu da bi stupio u interakciju. S druge strane, ibuprofenat poseduje alifatične bočne lance koji otežavaju jonima da se približe jedni drugima i da interaguju, smanjujući time i viskoznost kao rezultat.

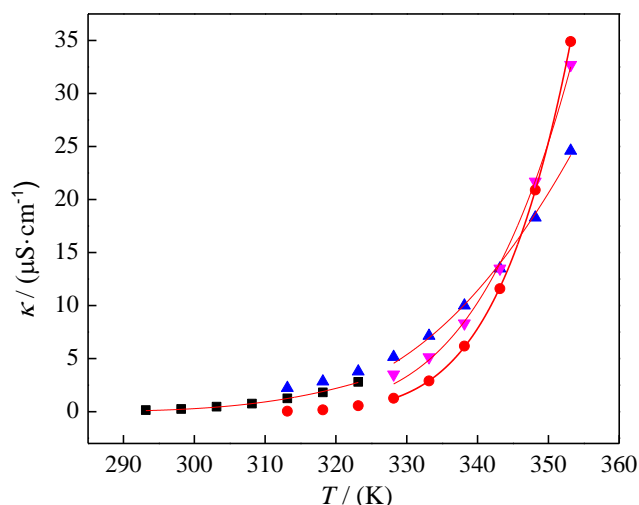
Tabela 4.38. Parametri viskoznosti i električne provodljivosti dobijeni primenom VFT jednačine za [Lid][Ibp], [Lid][Sal], [Pro][Ibp], i [Pro][Sal].

JT	Viskoznost				Električna provodljivost			
	$A_\eta /$ (Pa·s)	$B_\eta /$ (K)	$E_a'(\eta) /$ (kJ·mol ⁻¹)	R^2	$A_\kappa /$ ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	$B_\kappa /$ (K)	$E_a'(\kappa) /$ (kJ·mol ⁻¹)	R^2
[Lid][Ibp]	$3,89 \cdot 10^{-5}$	662,90	5,51	0,9960	757,55	450,89	3,75	0,9967
[Lid][Sal]	$1,55 \cdot 10^{-3}$	700,99	5,83	0,9927	$3,06 \cdot 10^5$	845,37	7,03	0,9999
[Pro][Ibp]	$2,57 \cdot 10^{-4}$	601,57	5,00	0,9992	$2,40 \cdot 10^3$	431,87	3,36	0,9956
[Pro][Sal]	$1,54 \cdot 10^{-4}$	997,15	8,29	0,9999	$8,28 \cdot 10^4$	805,77	6,67	0,9977

4.7.5. Rezultati merenja električne provodljivosti

Vrednosti električne provodljivosti, (κ), čistih jonskih tečnosti merene su u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 323,15)$ K za [Lid][Ibp], $T = (313,15 \text{ do } 353,15)$ K za [Lid][Sal] i [Pro][Ibp] i od $T = (328,15 \text{ do } 353,15)$ K za [Pro][Sal]. Merenja na temperaturama ispod $T = 313,15$ K za

[Lid][Sal] i [Pro][Ibp] i ispod $T = 328,15$ K za [Pro][Sal] su bila nemoguća jer je mešanje bilo onemogućeno zbog visoke viskoznosti jonskih tečnosti. Izmerene vrednosti električne provodljivosti prikazane su na slici 4.70 i navedene u tabeli P35.



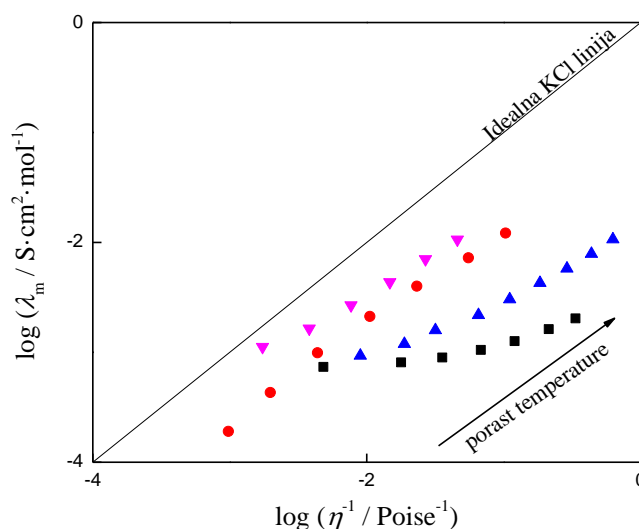
Slika 4.70. Zavisnost električne provodljivosti, (κ), od temperature fitovana VFT jednačinom za: ■ [Lid][Ibp], ● [Lid][Sal], ▲ [Pro][Ibp] i ▼ [Pro][Sal].

Sa slike 4.70 se može videti da je pri nižim temperaturama najveća električna provodljivost primećena za [Pro][Ibp], a zatim za [Pro][Sal] i [Lid][Sal]. Trend provodljivosti je suprotan od dobijenog trenda za vrednosti gustine i viskoznosti koji je posledica niže pokretljivosti jona u sistemima gde su interakcije između jona jače. Veće vrednosti provodljivosti ukazuju na to da se postiže bolje razdvajanje jona usled slabijih interakcija u strukturi jonske tečnosti. S druge strane, na višim temperaturama $T = 353,15$ K, vrednosti provodljivosti opadaju po redosledu: [Pro][Sal] > [Lid][Sal] > [Pro][Ibp]. Ovo se može pripisati različitim veličinama anjona pošto su, na višim temperaturama, interakcije katjona i anjona oslabljene u sve tri jonske tečnosti, usled čega manji anjon, kao što je salicilat, se kreće slobodnije i brže od ibuprofenata i dovodi do većih vrednosti električne provodljivosti.

Vogel-Fulcher-Tammann-ova (VFT) jednačina (3.11) je korišćena da se opiše odnos između električne provodljivosti i temperature u cilju dobijanja pseudoaktivacionih energija provodljivosti ispitivanih jonskih tečnosti. Koristeći dobijeni B_{κ} koeficijent, pseudoaktivaciona energija provodljivosti, ($E_a'(\kappa)$), može se izračunati upotrebom jednačine (3.12). [Lid][Sal], [Pro][Ibp] i

[Pro][Sal] su fitovani u temperaturnom opsegu od $T = (328,15 \text{ do } 353,15) \text{ K}$ kako bi rezultati mogli da se uporede. U tabeli 4.36 prikazani su parametri dobijeni primenom VFT jednačine kao i izračunate pseudoaktivacione energije provodljivosti za sve ispitivane jonske tečnosti. Najniža $E_a'(\kappa)$ dobijena je za [Pro][Ibp] što ukazuje na najslabije interakcije između jona u jonskoj tečnosti, dok su za [Lid][Sal] i [Pro][Sal] dobijene više, i približno jednake vrednosti $E_a'(\kappa)$.

Na osnovu eksperimentalnih vrednosti viskoznosti i provodljivosti primenjen je *Walden-ov* dijagram (jednačina (3.13)), da bi se ispitala jonizacija sintetisanih jonskih tečnosti. *Walden-ov* dijagram je prikazan na slici 4.71 i pokazuje da su sve jonske tečnosti ispod idealne KCl linije kao i da jonizacija JT opada u nizu: [Pro][Sal] > [Lid][Sal] > [Pro][Ibp] > [Lid][Ibp]. Iako rezultati gustine i viskoznosti ukazuju na slabije interakcije između katjona i ibuprofenata kao anjona, njegova veličina onemogućava veći stepen jonizacije, usled čega salicilat koji predstavlja mnogo manji anjon omogućava bolju jonizaciju jonskih tečnosti na bazi salicilata.



Slika 4.71. *Walden-ov* plot za: ■ [Lid][Ibp], ● [Lid][Sal] i ▲ [Pro][Ibp], ▼ [Pro][Sal].

Da bi se odredila klasifikacija ispitivanih jonskih tečnosti, određeno je vertikalno rastojanje pomoću jednačine (3.15) mereno od idealne linije KCl do tačke jonske tečnosti koja se naziva ΔW (devijacija). Dalje su iz ΔW izračunate vrednosti *%Ionicity* prema jednačini (3.16) i zajedno sa ΔW navedeni u tabeli 4.39. Obično su jonske tečnosti koje su blizu referentne KCl linije nazivaju „dobrim” jonskim tečnostima ($0,1 < \Delta W < 0,5$), dok su one udaljenije od dijagonale nazivaju

„slabim” jonskim tečnostima ($0,5 < \Delta W < 1,0$) [131]. Tečni jonski parovi, ko-kristali ili „subjonske“ tečnosti ($\Delta W > 1,0$) se nalaze u donjem delu dijagrama, veoma udaljeni od dijagonale.

Posmatrajući vrednosti ΔW , može se zaključiti da [Lid][Sal] i [Pro][Sal] spadaju u grupu “slabih” jonskih tečnosti. Istovremeno, [Lid][Ibp] i [Pro][Ibp] sa $\Delta W > 1,0$ i $\%Ionicity$ nižom od 10% spadaju u grupu "subjonskih" tečnosti ili jonskih parova, što dokazuje prevlast nedisosovanih jona u njenoj strukturi, što se slaže sa zaključcima. iz FTIR spektara.

Tabela 4.39. Izračunate devijacije, (ΔW), i $\%Ionicity$ jonskih tečnosti [Lid][Ibp], [Lid][Sal], [Pro][Ibp], i [Pro][Sal] na različitim temperaturama.

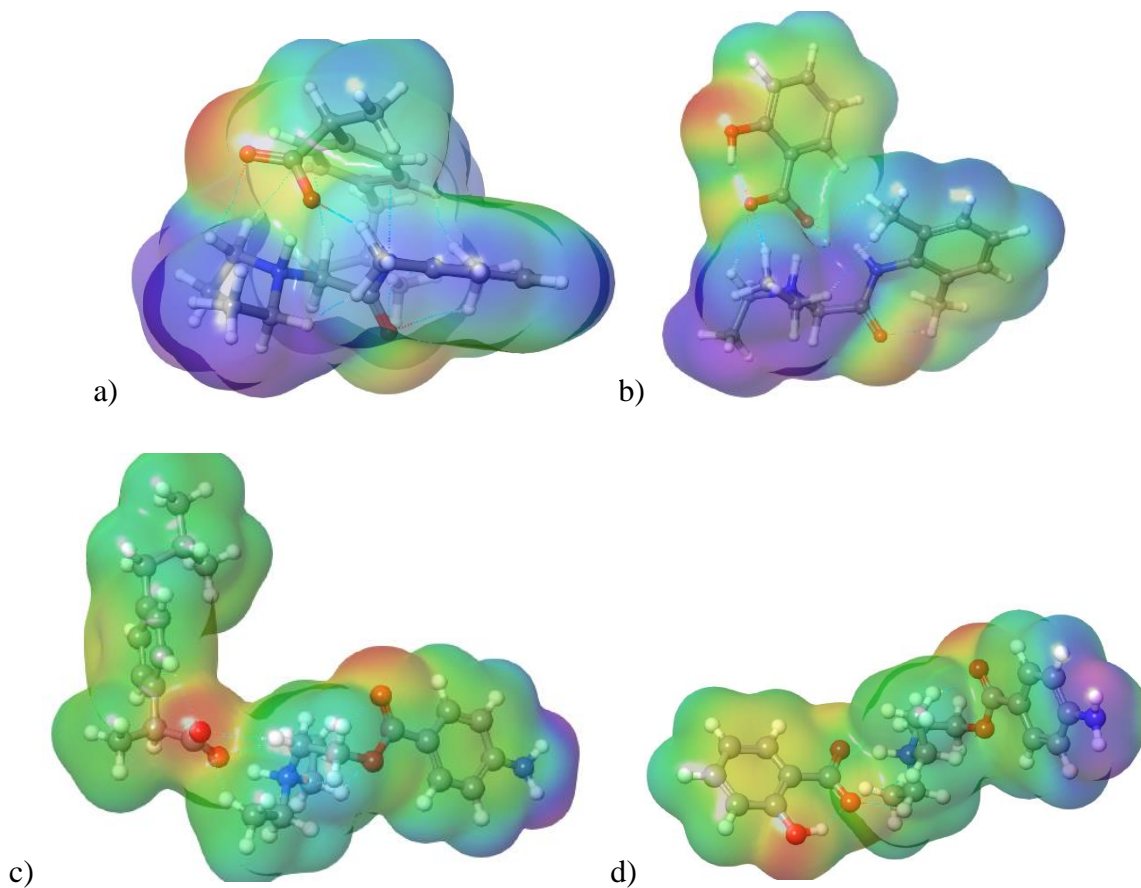
$T / (K)$	ΔW				$\% Ionicity$			
	[Lid][Ibp]	[Lid][Sal]	[Pro][Ibp]	[Pro][Sal]	[Lid][Ibp]	[Lid][Sal]	[Pro][Ibp]	[Pro][Sal]
293,15	0,82	/	/	/	15,25	/	/	/
298,15	1,34	/	/	/	4,54	/	/	/
303,15	1,60	/	/	/	2,51	/	/	/
308,15	1,81	/	/	/	1,54	/	/	/
313,15	1,98	/	0,98	/	1,05	/	10,4	/
318,15	2,12	0,77	1,20	/	0,76	17,17	6,33	/
323,15	2,22	0,71	1,30	/	0,61	19,52	5,02	/
328,15	/	0,66	1,48	0,19	/	21,80	3,34	64,5
333,15	/	0,64	1,56	0,36	/	22,68	2,74	43,2
338,15	/	0,70	1,63	0,46	/	20,16	2,32	34,8
343,15	/	0,76	1,70	0,53	/	17,20	2,00	29,4
348,15	/	0,88	1,74	0,58	/	13,10	1,80	26,2
353,15	/	0,93	1,77	0,64	/	11,79	1,70	23,1

4.7.6. Računarske simulacije interakcija u čistim jonskim tečnostima

Radi boljeg razumevanja interakcija koje se odvijaju u ispitivanim sistemima, urađene su računarske simulacije, koje su obuhvatale proračune na osnovu teorije funkcionala gustine i molekulske dinamike.

Organizacija jona i njihove interakcije u sistemima jonskih tečnosti određuju se elektrostatičkim svojstvima jona, njihovim geometrijskim uklapanjem i potencijalom za formiranje specifičnih

interakcija, kao što su *van der Waals*-ove interakcije, H-veze, itd. Jedan od uobičajenih, a pouzdanih deskriptora za predviđanje potencijalnih mesta elektrostatičke interakcije je molekulski elektrostatički potencijal (MEP). MEP površine za [Lid][Ibp], [Lid][Sal], [Pro][Ibp] i [Pro][Sal] su prikazane na slici 4.72. Negativni regioni MEP-a su predstavljeni crvenom bojom i odnose se na region molekula sa najizraženijom elektrofilnom reaktivnošću. Plavi regioni su deo molekula sa pozitivnim elektrostatičkim potencijalom i nukleofilnom reaktivnošću.

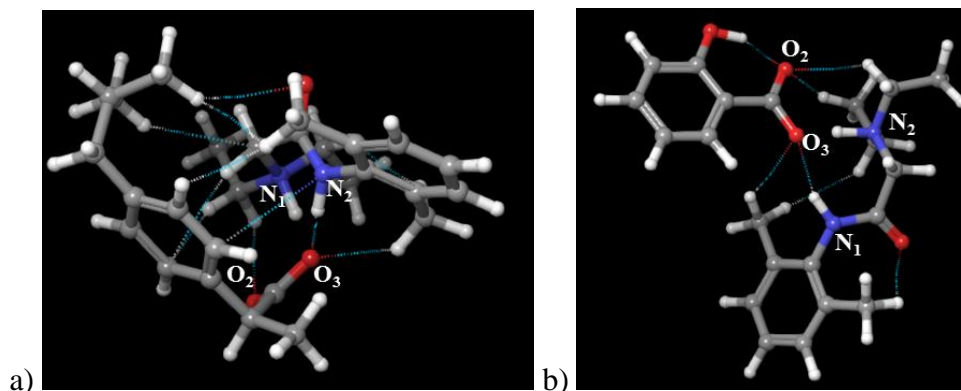


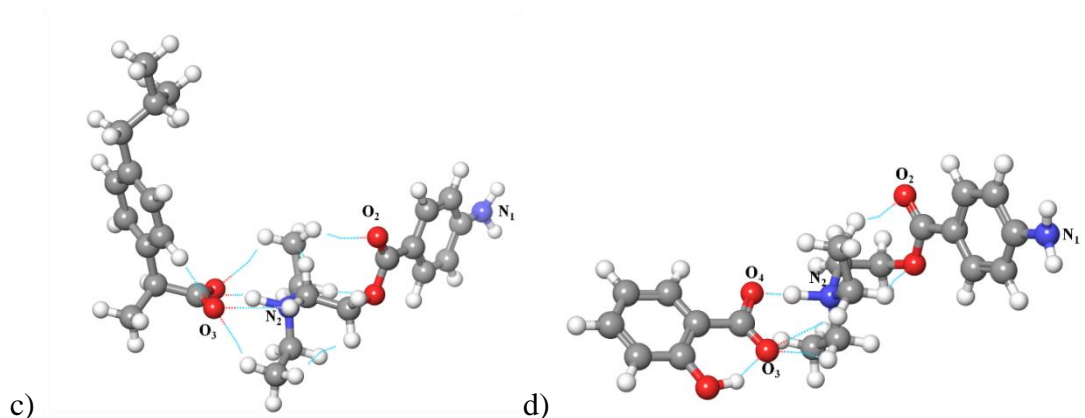
Slika 4.72. MEP površine za a) [Lid][Ibp], b) [Lid][Sal], c) [Pro][Ibp] i d) [Pro][Sal].

Negativni elektrostatički potencijal se nalazi oko atoma kiseonika iz oba katjona i oba anjona, pretežno oko karboksilne grupe. S druge strane, pozitivni elektrostatički potencijal je jasno pozicioniran oko metil i $-\text{NH}^+$ grupa lidokainijum katjona, kao i amidnog azota katjona. Negativan elektrostatički potencijal na $\text{C}=\text{O}$ i pozitivan na NH grupi katjona ukazuje na značajan udeo rezonantne forme peptidne veze u kojoj je azot pozitivno a kiseonik negativno naelektrisan, što sprečava slobodnu rotaciju oko $\text{C}-\text{N}$ veze povećavajući strukturnu rigidnost molekula lidokaina. Takođe, plavi regioni za [Pro][Sal] i [Pro][Ibp] pozicionirani su samo oko $-\text{NH}_2$ grupe prokaina na

p-nitrobenzenovom prstenu. Pored toga, u slučaju [Lid][Ibp] može se primetiti postojanje pozitivnog potencijala oko alkil lanca ibuprofenata, koji je odsutan za salicilat. Postojanje jasno izdvojenih pozitivnih i negativnih potencijalnih domena u strukturi lidokaina i prokaina, kao i u slučaju ibuprofenata u [Lid][Ibp], sugeriše mogućnost katjon-katjon interakcija u ovim jonskim tečnostima, kao i ibuprofenat-ibuprofenat u [Lid][Ibp].

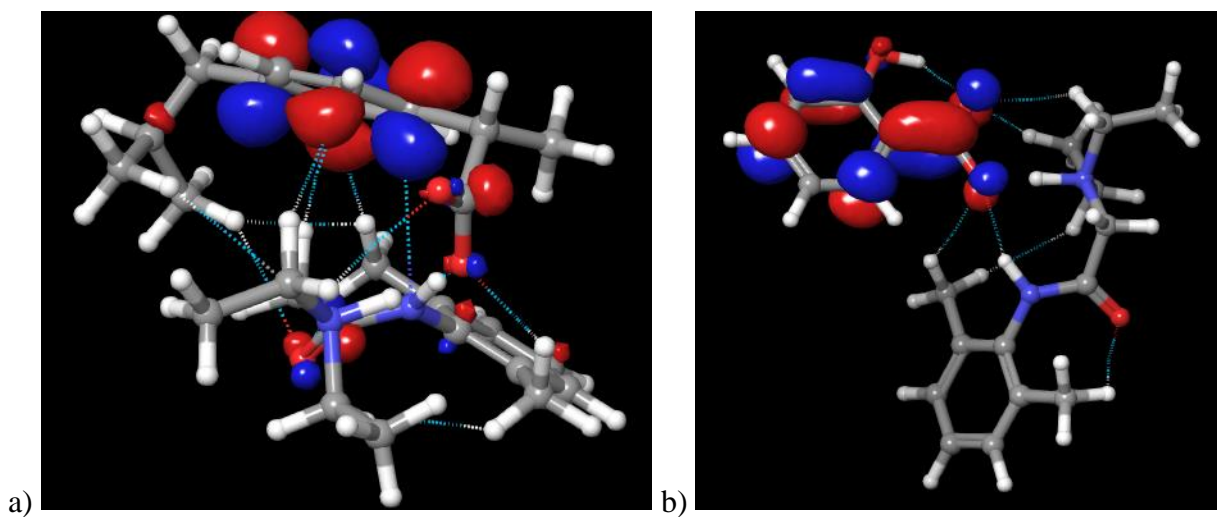
U tu svrhu, nekovalentne interakcije (NKI) iz optimizovanih monomernih struktura su predstavljene na slici 4.73. Kao što se može videti sa slike 4.73, jonske tečnosti sa ibuprofenatom imaju značajno više NKI, što sugeriše jače interakcije između katjona i anjona, kao što je dokazano iz *Walden*-ovog dijagrama i FTIR merenja. Pored toga, javlja se i poznata intramolekulska vodonična veza između -COO^- i OH grupe u salicilatnom anjonu. Takođe, uočava se i potencijalna intramolekulska interakcija između keto grupe lidokaina i metil grupe iz orto položaja, koja se javlja kao posledica povećanja kiselosti vodonikovih atoma iz metil grupe usled izraženog pozitivnog induktivnog i hiperkonjugacionog efekta, ukazujući još jednom na potencijalnu mogućnost katjon-katjon interakcija. Takođe, mogućnost formiranja interakcija prokain-prokain najveća je u [Pro][Ibp], dobijajući isti broj interakcija kao za prokain i ibuprofenat. Proračuni MEP površina i NKI sugerišu da su u monomernim strukturama jonskih tečnosti najznačajnije katjon-anjon i katjon-katjon interakcije.

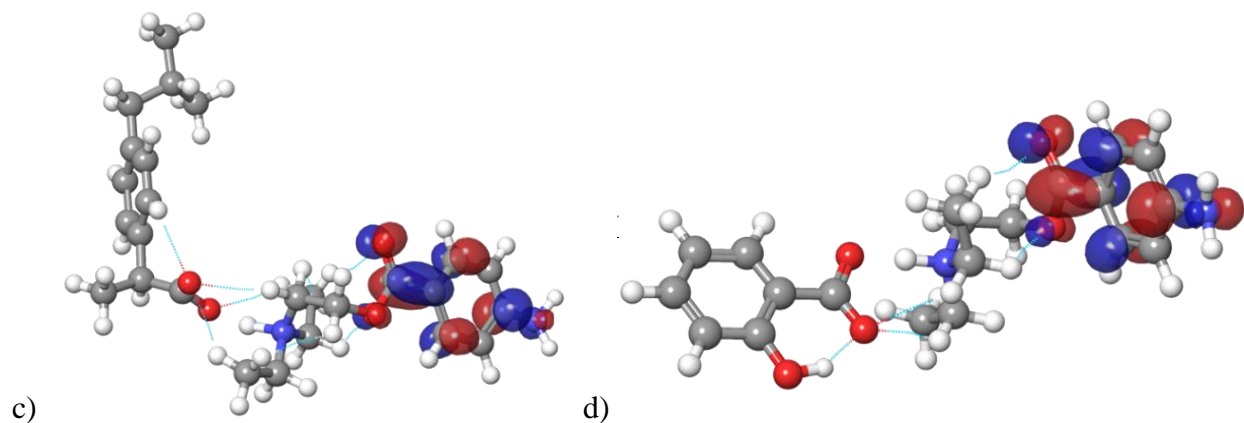




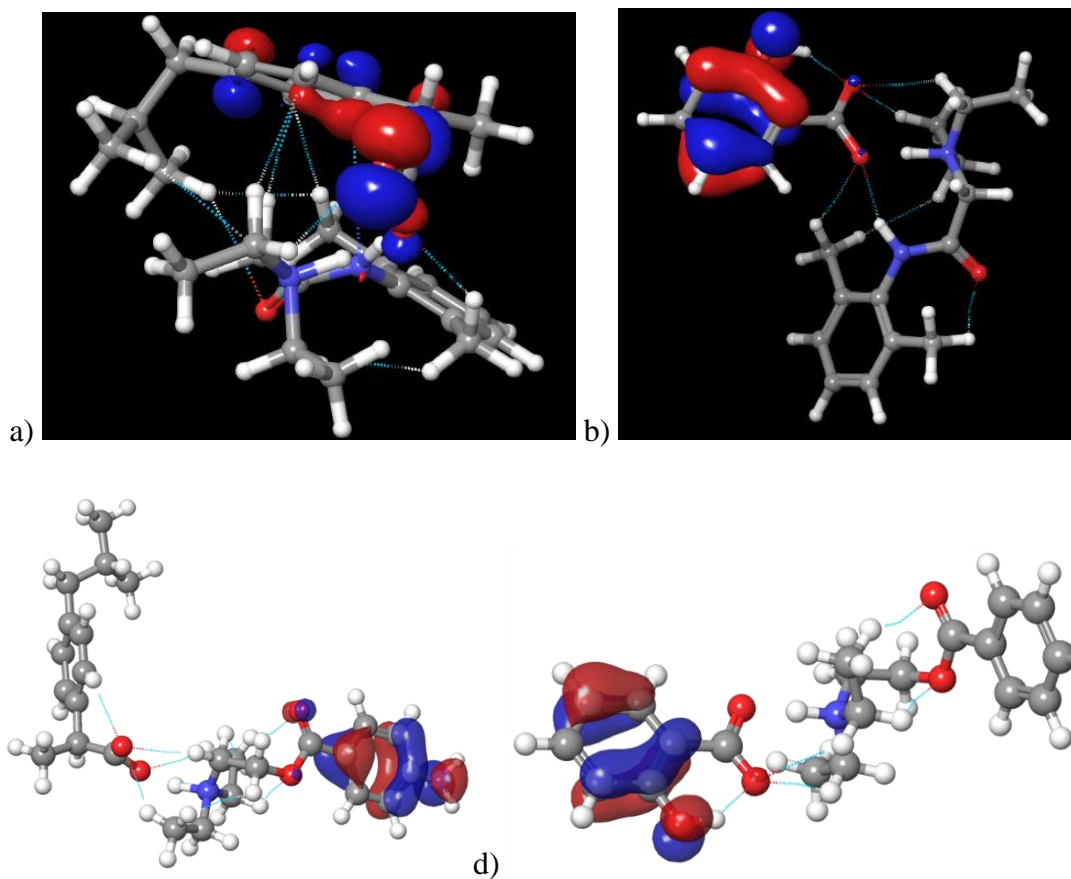
Slika 4.73. Prikaz optimizovanih struktura jonskih tečnosti zajedno sa nekovalentim interakcijama: a) [Lid][Ibp], b) [Lid][Sal], c) [Pro][Ibp] i d) [Pro][Sal].

Sledeći korak je bila analiza graničnih molekularskih orbitala (HOMO i LUMO) za vizuelizaciju globalne stabilnosti i reaktivnosti ispitivanih jedinjenja. Generisane HOMO-LUMO orbitale su predstavljene kao površine na slikama 4.74 i 4.75 (pozitivna elektronska gustina predstavljena je crvenom, a negativna plavom bojom). Iz navedenih slika, kod jonskih tečnosti na bazi lidokaina, HOMO i LUMO orbitale se uglavnom nalaze iznad anjona. Kod jonskih tečnosti na bazi prokaina, HOMO i LUMO orbitale imaju drugačiji položaj u [Pro][Sal] u poređenju sa [Pro][Ibp]. Naime, u [Pro][Ibp] obe granične molekulske orbitale se nalaze oko prokaina, dok u [Pro][Sal], LUMO orbitale leže oko katjona, dok su HOMO orbitale oko salicilata.





Slika 4.74. Prikaz LUMO orbitala za: a) [Lid][Ibp], b) [Lid][Sal], c) [Pro][Ibp] i d) [Pro][Sal].



Slika 4.75. Prikaz HOMO orbitala za: a) [Lid][Ibp], b) [Lid][Sal], c) [Pro][Ibp] i d) [Pro][Sal].

Deskriptor koji se može koristiti za predstavljanje molekulske stabilnosti je HOMO i LUMO energetske barijere, (ΔE_{gap}), koji predstavljaju razliku između energije HOMO i LUMO orbitala

za kvantifikaciju mogućih interakcija prenosa naelektrisanja unutar molekula. Dobijeni rezultati su predstavljeni u tabeli 4.40. Kao što se može videti, vrednosti ΔE_{gap} prate trend: [Lid][Ibp] > [Lid][Sal] > [Pro][Ibp] > [Pro][Sal]. Najveća vrednost ΔE_{gap} za [Lid][Ibp] sugeriše da je to najstabilnija jonska tečnost jer sprečava prenos elektrona sa visoko ležeće LUMO orbitale na nisko ležeću HOMO orbitalu, smanjujući mogućnost formiranja aktivacionog kompleksa za dalju reakciju. Najmanja HOMO-LUMO energetska barijera se dobija za [Pro][Sal], što ukazuje da su elektroni u ovoj jonskoj tečnosti skloniji formiranju kompleksa naelektrisanja elektrona i stoga podstiču reaktivnost jonske tečnosti.

Tabela 4.40. Izračunate vrednosti HOMO-LUMO energetske barijere, (ΔE_{gap}), parametar lipofilnosti, ($A_{\text{log}P}$), i energija vezivanja jonskog para, (E_{bin}).

JT	$\Delta E_{\text{gap}} / (\text{eV})$	$A_{\text{log}P}$	$E_{\text{bin}} / (\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$
[Lid][Ibp]	5,761	3,97	-71,44
[Lid][Sal]	4,950	1,55	-116,2
[Pro][Ibp]	0,183	3,12	-72,23
[Pro][Sal]	0,172	1,86	-105,3

Poslednji korak zasnovan na DFT simulacijama bio je proračun energije vezivanja jonskog para, (E_{bin}). U literaturi [228-300] je pronađeno da se E_{bin} vrednosti mogu uspešno povezati sa fizičko-hemijskim svojstvima jonskih tečnosti kao što su tačka topljenja, termička stabilnost i transportna svojstva. U radu *Bernard*-a i saradnika [228], sugerisano je da niže E_{bin} vrednosti ukazuju na veće vrednosti viskoznosti i gustine odnosno na jače interakcije katjona i anjona, što dodatno dokazuju različiti autori [229-300]. Ovo ukazuje da je energija vezivanja jonskog para pouzdan deskriptor jačine intermolekulskih interakcija između jona. Izračunate E_{bin} vrednosti za ispitivane jonske tečnosti su predstavljene u tabeli 4.40. Prikazani rezultati sugerišu da [Lid][Ibp] i [Pro][Ibp] imaju niže negativne energije vezivanja jonskog para od jonskih tečnosti na bazi salicilata, što ukazuje na slabiju sposobnost pakovanja ibuprofenata sa katjonima, na šta ukazuju i niže vrednosti eksperimentalno izmerenih viskoznosti i gustina.

Da bi se predvideo potencijal za transdermalnu dostavu sintetisanih jonskih tečnosti, neophodno je odrediti parametar lipofilnosti. Efikasan transdermalni lek treba da ima optimalnu lipofilnost da prođe kroz kožu i obezbedi željeni terapijski efekat. Stoga je iz rezultata DFT simulacija

izračunat parametar lipofilnosti, ($A\log P$), iz dobijenih slobodnih energija jonskih tečnosti u vodi i oktanolu pomoću izraza:

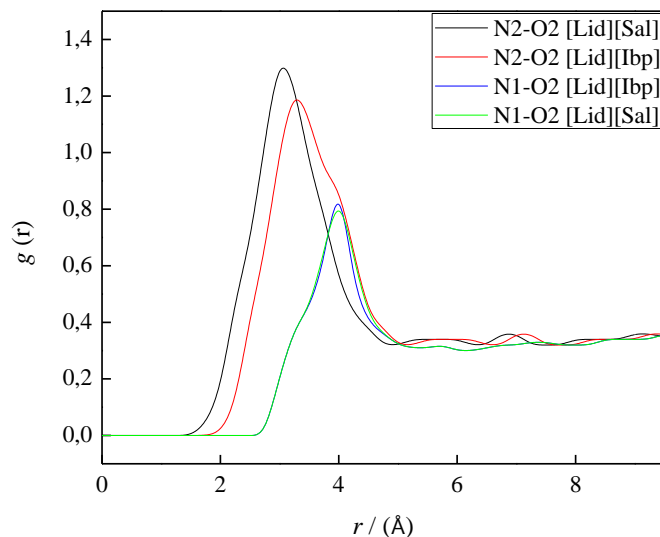
$$A\log P = \frac{\Delta G_{sol(voda)} - \Delta G_{sol(oktanol)}}{2,303RT} \quad (4.15)$$

$\Delta G_{sol(voda/oktanol)}$ je promena slobodne energije solvatacije u standardnom stanju date jonske tečnosti u oktanolu ili vodi na $T = 323,15$ K, dok je R Boltzmann-ova konstanta. Izračunate vrednosti $A\log P$ su date u tabeli 4.40. Kao što se može videti, jonske tečnosti sa ibuprofenatom su lipofilnije od jonskih tečnosti sa salicilatom.

U cilju boljeg uvida u strukturnu organizaciju ove jonske tečnosti, urađena je molekulska dinamika ovih sistema. Na osnovu dobijenih trajektorija izračunate su funkcije radijalne raspodele (RDF). U ovom slučaju proučavane su interakcije između katjona i anjona, pri čemu su predstavljeni rezultati za atome koji imaju najizraženije interakcije.

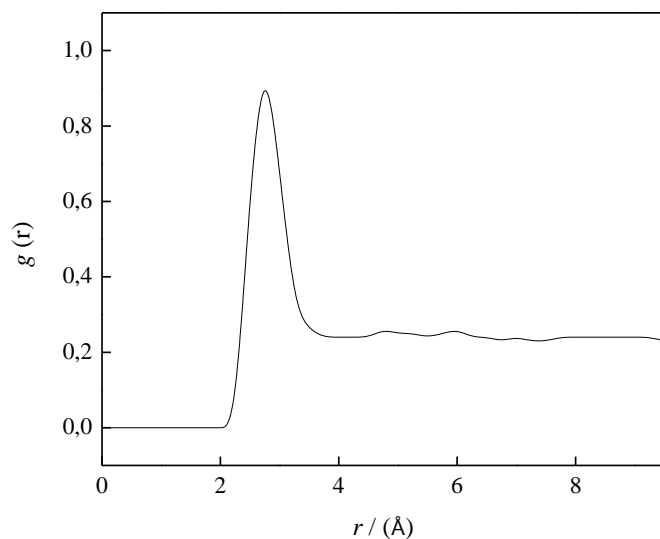
RDF-ovi za anjone (kiseonike iz COO^-) i atome N1 i N2 u jonskim tečnostima na bazi lidokaina prikazani su na slici 4.76. Sa slike se mogu videti veće $g(r)$ vrednosti na manjem rastojanju za [Lid][Sal]. Ovakvo ponašanje ukazuje da salicilat, zbog manje veličine, može da se približi više lidokainijum katjonu, nego veći ibuprofenat. Ovi rezultati ukazuju na bolje, gušće pakovanje manjeg salicilata između lidokainijum katjona, što uzrokuje veće vrednosti gustine i viskoznosti [Lid][Sal] u poređenju sa [Lid][Ibp]. [Lid][Ibp] sa razgranatim, više hidrofobnim repom sprečava pakovanje jona i smanjuje efikasnost π - π interakcija više od salicilata. Ovi rezultati su u skladu sa nižim vrednostima T_g i većom provodljivošću [Lid][Ibp].

Dalje, sa slike 4.76 uočava se očekivano smanjenje rastojanja između O3 i N2 u odnosu na O3 N1, ukazujući na blago favorizovanje interakcija između oba anjona i N2 atoma lidokaina. S druge strane, ovo čini atom N1 lidokaina dostupnijim za dodatnu interakciju sa kiseonikom iz keto grupe lidokaina.

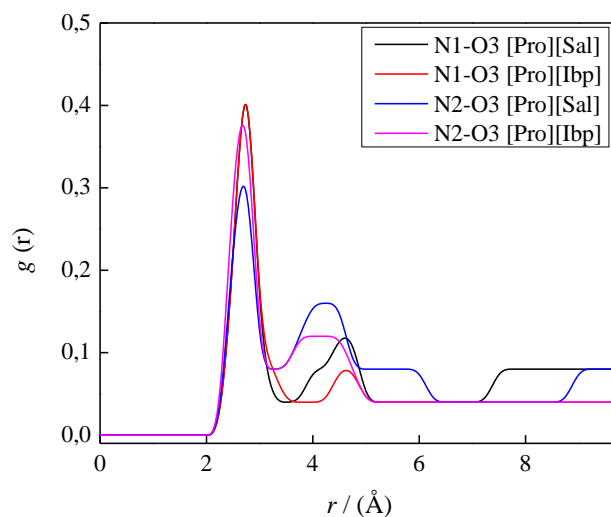


Slika 4.76. Funkcija radijalne raspodele izabranih atoma lidokaina i anjona.

U tu svrhu izračunati su RDF između atoma N1 i O1 iz katjona lidokaina i prikazani na slici 4.77, kako bi se uočila mogućnost samoagregacije katjona lidokaina. Na slici 4.77 može se primetiti značajan pik na 2,8 Å, što ukazuje na tendenciju samoagregacije lidokaina zbog mogućeg stvaranja H-veze između N1 i O1 atoma lidokaina.

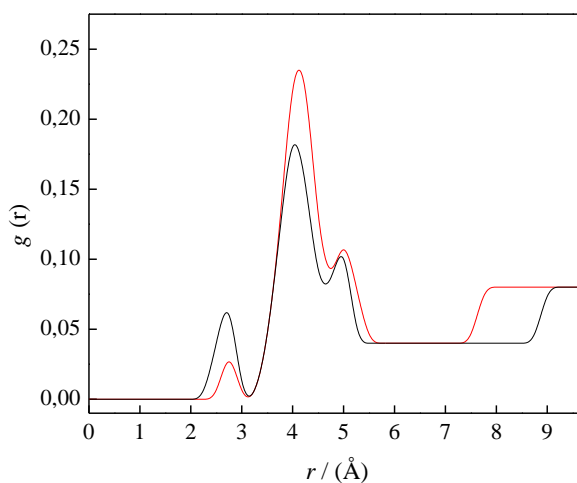


Slika 4.77. Funkcija radijalne raspodele između atoma N1 i O1 lidokainijum katjona u [Lid][Ibp].



Slika 4.78. Funkcija radijalne raspodele izabranih atoma prokaina i anjona.

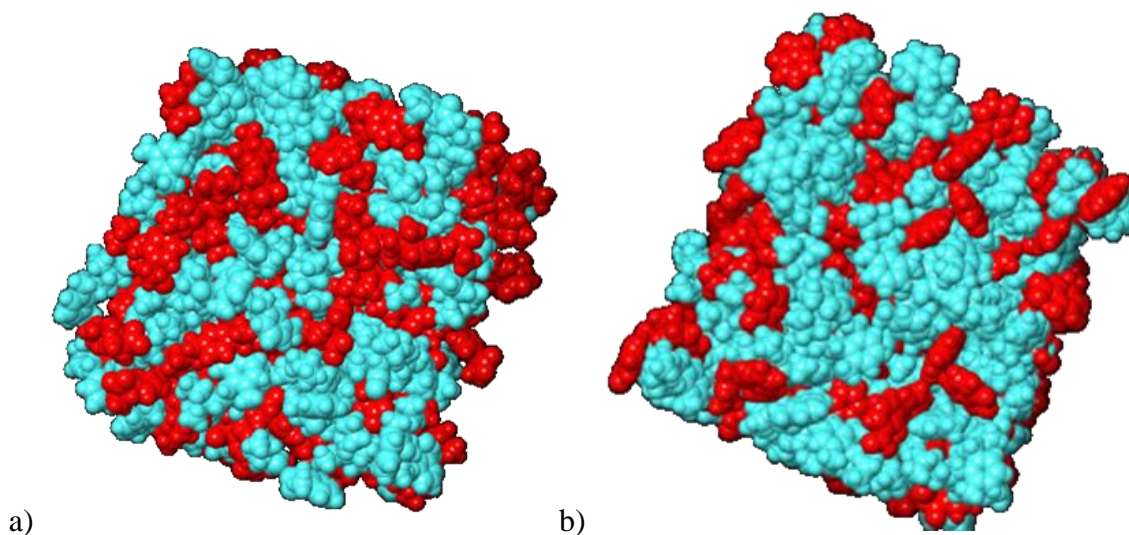
Na slici 4.78 su prikazane najistaknutije interakcije između odabranih atoma azota katjona i atoma kiseonika anjona. Upoređujući rezultate između kiseonika iz karboksilne grupe anjona i azota iz *p*-nitrobenzenskog prstena prokaina, $-\text{NH}_2$ grupa je bliža karboksilnim grupama salicilata ili ibuprofenata nego drugi azot (N2). Rastojanje između N2 i kiseonika iz karboksilne grupe je istaknutije u slučaju [Pro][Ibp]. Dalji korak u razumevanju organizacije jonskih tečnosti bilo je određivanje interakcija katjona i katjona kroz rastojanje između N2 i C=O grupe prokaina. Dobijeni rezultati su predstavljeni na slici 4.79.

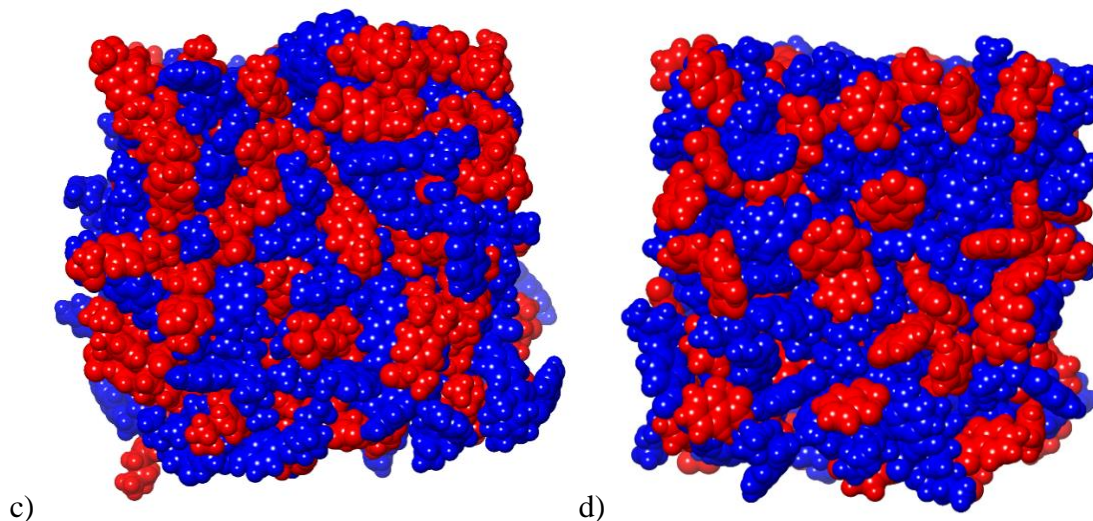


Slika 4.79. Funkcija radijalne raspodele između atoma N2 i O1 prokainijum katjona u [Lid][Ibp] (crvena linija) i [Pro][Sal] (crna linija).

Kao što se može videti sa slike 4.79, rastojanje između N2 i kiseonika iz estarske grupe ima sličan oblik za [Pro][Sal] i [Pro][Ibp] sa višim $g(r)$ vrednosti za [Pro][Ibp]. Iz rezultata RDF analize može se primetiti značajan nivo samoagregacije prokaina u [Pro][Sal] i [Pro][Ibp], sa izraženijim katjon-anjon interakcijama u slučaju [Pro][Sal]. Ovo ponašanje ukazuje na to da salicilat, zbog boljeg geometrijskog uklapanja, može više da se približi katjonu prokaina nego ibuprofenat. Ovo je posledica kompaktnijeg pakovanja salicilata između katjona prokaina, što dovodi do većih vrednosti gustine i viskoziteta nego u [Pro][Ibp]. Ibuprofenat sa razgranatim, više hidrofobnim repom kao i slučaju jonskih tečnosti na bazi lidokaina, sprečava pakovanje jona i smanjuje efikasnost π - π interakcija između katjona i anjona više nego salicilat i rezultira većom provodljivošću i nižom viskoznosti [Pro][Ibp].

Ovi rezultati se mogu vizuelno analizirati i razlikovati upoređivanjem snimaka iz MD simulacija (slika 4.80) metodom koju su predložili *Canongia Lopes* i *Pádua* [231]. Plavi regioni predstavljaju katjone, dok su crveni regioni anjoni svake jonske tečnosti. Kao što se može videti sa slike 4.40, u [Lid][Sal] [Pro][Sal] se primećuju kontinuirani domeni sa prevlašću katjona, sa umetnutim molekulima salicilata što potvrđuje katjon-katjon interakcije. Ova strukturna organizacija je poremećena ubacivanjem malog jona salicilata, što rezultira većim vredostima gustine i viskoznosti. S druge strane, u slučaju [Lid][Ibp] i [Pro][Ibp], mogu se primetiti regioni sa preovlađujućim prisustvom katjon-katjon i anjon-anjon domenima, što rezultira formiranjem mikrostrukture u ovim jonskim tečnostima.





Slika 4.80. Vizuelni prikaz organizacije strukture jonskih tečnosti a) [Lid][Ibp], b) [Lid][Sal], c) [Pro][Ibp] i d) [Pro][Sal], pri čemu je katjon obeležen crvenom, dok je katjon plavom bojom.

4.7.7. Rastvorljivost u vodi

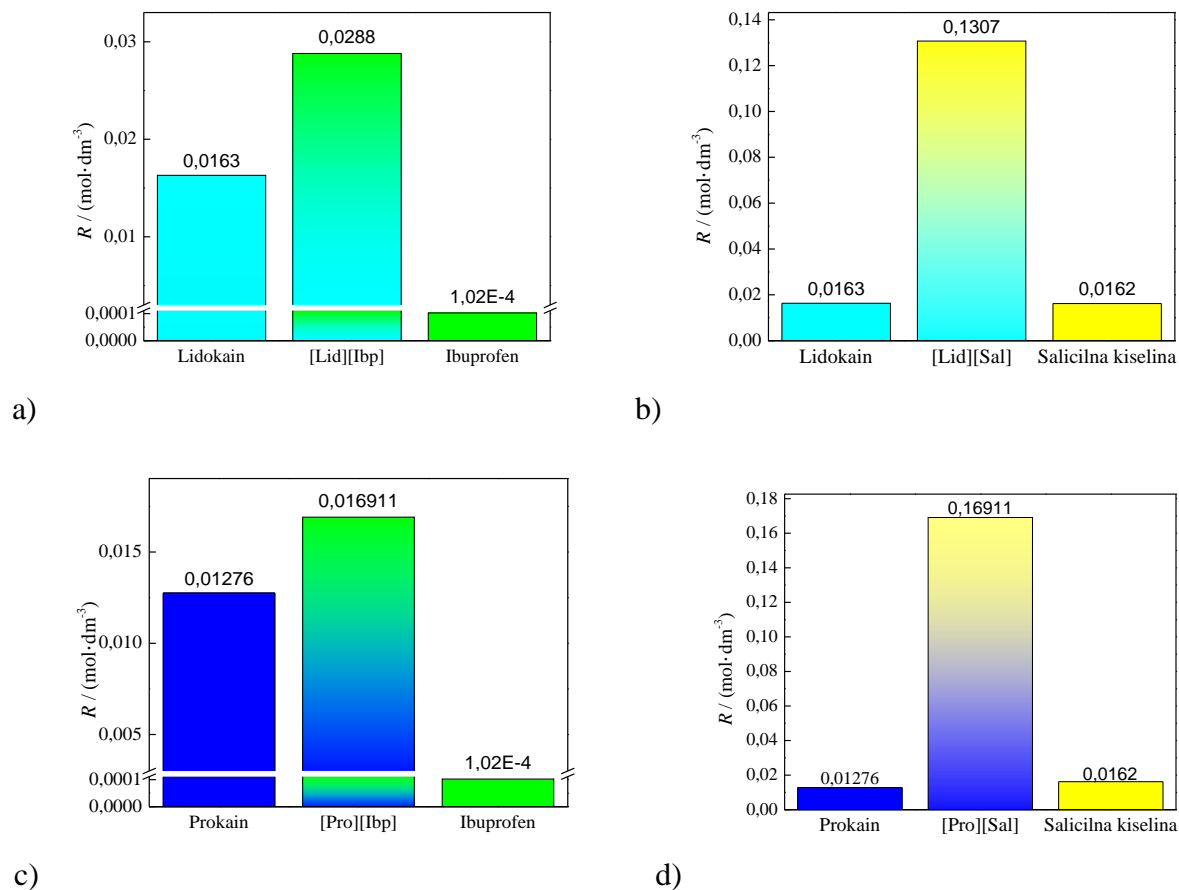
Sledeći korak karakterizacije jonskih tečnosti jeste određivanje rastvorljivosti, (R), [Lid][Ibp], [Lid][Sal], [Pro][Ibp] i [Pro][Sal], kao i prokaina u čistoj vodi na temperaturi $T = 298,15$ K. Dobijeni rezultati za jonske tečnosti predstavljeni su u tabeli 4.41, dok je za prokain dobijena vrednost od $R = 0,01276 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Tabela 4.41. Vrednosti rastvorljivosti, (R), za [Lid][Ibp], [Lid][Sal], [Pro][Ibp] i [Pro][Sal] u čistoj vodi na temperaturi $T = 298,15$ K.

JT	$R / (\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3})$
[Lid][Ibp]	0,0288
[Lid][Sal]	0,1307
[Pro][Ibp]	0,0580
[Pro][Sal]	0,1693

Poređenje dobijenih R vrednosti na temperaturi $T = 298,15$ K, sa R vrednostima iz literature za lidokain, ibuprofen i salicilnu kiselinu prikazano je na slici 4.81. Kao što se može videti na slici 4.81, formiranje jonskih tečnosti je značajno uticalo na rastvorljivost početnih komponentata

jonskih tečnosti. Naime, pripremljene jonske tečnosti imaju poboljšanu rastvorljivost u odnosu na neutralne oblike svojih polaznih komponenti u vodi od 4 do 10 puta.



Slika 4.81. Poređenje rastvorljivosti, R ; za a) [Lid][Ibp], b) [Lid][Sal], c) [Pro][Ibp] i d) [Pro][Sal] sa neutralnim oblicima svojih polaznih komponenti.

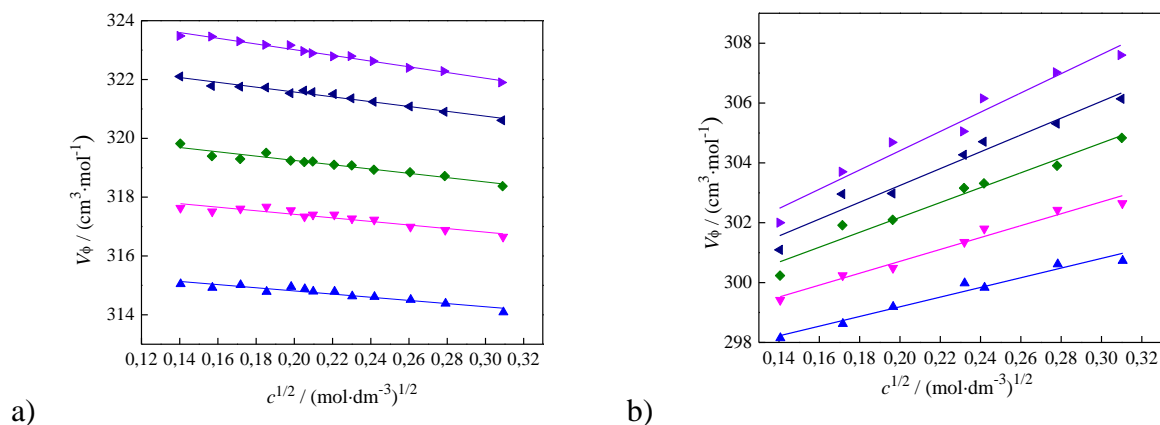
4.7.8. Interakcije u vodenim rastvorima [Lid][Sal] i [Pro][Sal]

U vodenim rastvorima dve jonske tečnosti na bazi lekova, [Lid][Sal] i [Pro][Sal] proučavane su jon-jon i jon-rastvarač interakcije iz rezultata dobijenih merenjem gustina, viskoznosti, molarne provodljivosti i računarskih simulacija. Interakcije su proučavane samo u vodenim rastvorima [Lid][Sal] i [Pro][Sal] jer je njihova rastvorljivost u vodi viša od minimalne potrebne rastvorljivosti od $c = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Gustine i viskoznosti vodenih rastvora [Lid][Sal] i [Pro][Sal] merene su do molalитета $m = 0,0992 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ za [Lid][Sal], odnosno $m = 0,0998 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ za [Pro][Sal] na pet temperatura: $T = (293,15, 298,15, 303,15, 308,15, 313,15) \text{ K}$.

Dobijeni rezultati izmerenih gustina dati su u tabelama P36 i P37. Sve eksperimentalne gustine se povećavaju sa povećanjem molalитета rastvorene supstance na svakoj temperaturi. Takođe, sve dobijene gustine opadaju sa porastom temperature pri svakom molalitetu jonskih tečnosti.

Vrednosti prividne molarne zapremine (V_ϕ) su izračunate pomoću jednačine (3.21) i predstavljene u tabelama P36 i P37. Ove vrednosti su fitovane primenom *Masson*-ove jednačine za elektrolite (3.23) i dobijene linearne zavisnosti V_ϕ sa $c^{1/2}$ su predstavljene na slici 4.82. Dobijene vrednosti prividnih molarnih zapremina pri beskonačnom razblaženju (V_ϕ^0) i S_v koeficijenta su tabelarno prikazani u tabeli 4.42 zajedno sa standardnom devijacijom fita, (σ), i koeficijentom korelacije, (R^2).



Slika 4.82. Promena prividne molarne zapremine, (V_ϕ), sa korenom iz koncentracije, ($c^{1/2}$), a) [Lid][Sal] i b) [Pro][Sal] na različitim temperaturama: $T = (\blacktriangle)$, 293,15; (\blacktriangledown), 298,15; (\blacklozenge), 303,15; (\blacktriangleleft), 308,15 i (\blacktriangleright), 313,15 K.

Sa slike 4.82 se vidi da vrednosti opadaju sa dodavanjem [Lid][Sal] na svim ispitivanim temperaturama, dok se za [Pro][Sal] javlja obrnuti trend. Pored toga, negativne vrednosti S_v koeficijenta dobijene za [Lid][Sal] ukazuju na slabe jon-jon interakcije. U slučaju jonske tečnosti sa prokainom kao katjonom, koji je lokalni anestetik sa estarskom funkcionalnom grupom, pozitivne S_v vrednosti ukazuju na uspostavljanje jačih interakcija između jona: katjon-anjon,

katjon-katjon, i/ili anjon-anjon, nego u slučaju anestetika sa amidnom funkcionalnom grupom, lidokaina. Pored razlike u funkcionalnoj grupi, ove varijacije u jačini jon-jon interakcija mogu biti posledica vrste bočnih grupa vezanih za benzenov prsten katjona. Naime, prokain ima hidrofилnu amino grupu, dok benzenov prsten lidokaina sadrži dve hidrofobne metil grupe. Ove razlike, zajedno sa različitom funkcionalnom grupom, estrskom ili amidnom, verovatno dovode do različitih krutosti i sternih prepreka u strukturi katjona. Zbog toga će se detaljnije istraživanje jon-jon interakcija u vodenim rastvorima [Pro][Sal] i [Lid][Sal] sprovesti korišćenjem MD simulacija. Pored toga, u literaturi [232] nađene su negativne S_V vrednosti soli lidokain- i prokain-hidrohlorida u vodenim rastvorima, pri čemu je za lidokain-hidrohlorid zabeležena negativnija vrednost.

Tabela 4.42. Parametri fita dobijeni primenom jednačine (3.23) za vodene rastvore [Lid][Sal] i [Pro][Sal] u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$ sa devijacijom fita, (σ), i koeficijentom korelacije, (R^2).

$T /$ (K)	$V_{\phi}^{\circ} /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	$S_V /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{dm}^{3/2} \cdot \text{mol}^{-3/2}$)	$\sigma /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	R^2
[Lid][Sal]				
293,15	315,89	-5,38	0,09	0,8984
298,15	318,63	-6,06	0,11	0,8854
303,15	320,71	-7,32	0,10	0,9327
308,15	323,22	-8,21	0,07	0,9692
313,15	324,85	-9,71	0,06	0,9840
[Pro][Sal]				
293,15	295,96	16,18	0,19	0,9618
298,15	296,73	19,89	0,20	0,9715
303,15	297,20	24,87	0,32	0,9547
308,15	297,62	28,11	0,37	0,9531
313,15	297,97	32,18	0,42	0,9533

Jednačina drugog reda (3.30) je korišćena za pronalaženje temperaturne zavisnosti prividne molarne zapremine pri beskonačnim razblaženjima (slika P43) i dobijanje vrednosti koeficijenata uklapanja a_0 , a_1 , a_2 (tabela P38). Iz dobijenih koeficijenata izračunate su vrednosti prividne

molarne ekspanzibilnosti pri beskonačnom razblaženju, (E_{ϕ}^0), (jednačina (3.31)), a rezultati su prikazani u tabeli 4.43.

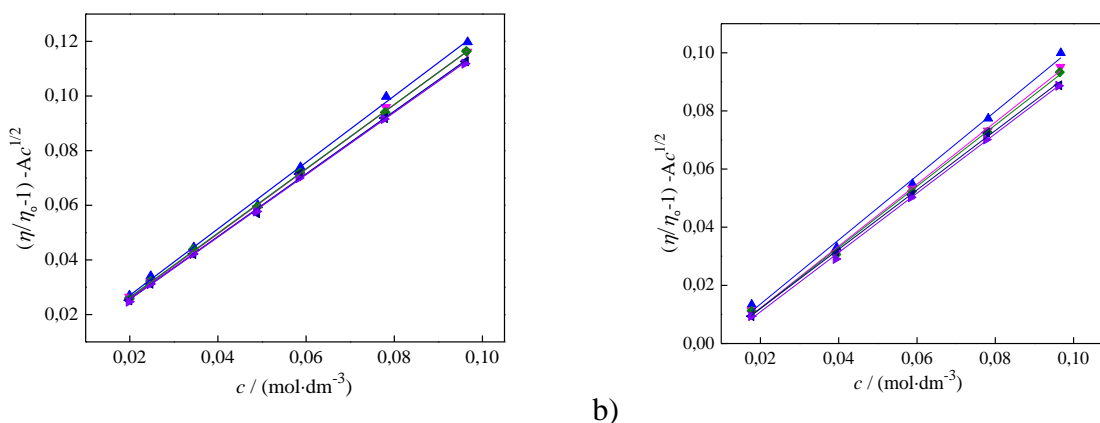
E_{ϕ}^0 vrednosti za [Lid][Sal] i [Pro][Sal] su pozitivne u celom temperaturnom opsegu i opadaju sa porastom temperature. Više E_{ϕ}^0 vrednosti dobijene za [Lid][Sal] ukazuju na to da više vode napušta njegovu hidratacionu sferu. Naime, hidrofobna hidrataciona sfera se može javiti oko dve metil grupe na benzenovom prstenu lidokaina odakle molekuli vode lakše odlaze.

Tabela 4.43. Vrednosti prividnih molarnih ekspanzibilnosti pri beskonačnom razblaženju, (E_{ϕ}^0), za [Lid][Sal] i [Pro][Sal] u vodenim rastvorima i u temperaturnom opsegu od $T = (293,15$ do $313,15)$ K.

$T / (K)$	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15
JT	$E_{\phi}^0 / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1})$				
[Lid][Sal]	0,536	0,491	0,446	0,401	0,356
[Pro][Sal]	0,174	0,149	0,124	0,099	0,074

Pored toga, dobijeni a_2 koeficijent je korišćen za izračunavanje *Hepler*-ovog koeficijenta upotrebom jednačine (3.32). Dobijene negativne vrednosti od $-0,0090 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2}$ za [Lid][Sal] i $-0,0050 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2}$ za [Pro][Sal] ukazuju na *structure breaking* osobine ispitivanih jonskih tečnosti u vodenim rastvorima.

Nasuprot tome, analizom rezultata viskoznosti (tabela P39) su implicirane *structure making* osobine [Lid][Sal] i [Pro][Sal] u vodenim rastvorima. Naime, rezultati viskoznosti su fitovani korišćenjem preuređene *Jones-Dole*-ove jednačine (3.36) (slika 4.83), a izračunati koeficijenti su dati u tabeli 4.44. koeficijent A je izračunat upotrebom jednačine (3.35) iz vrednosti λ° , λ_{+}° , i λ_{-}° molarne provodljivosti pri beskonačnom razblaženju jonskih tečnosti, katjona ([Lid]⁺ ili Pro)⁺, preuzetih iz kasnijeg proračuna u ovom poglavlju, i vrednosti salicilatnog anjona ([Sal]⁻), preuzete iz literature [158]. Dodatno, vrednosti koeficijenta B su dobijene iz nagiba jednačine (3.36). dB/dT je izračunat jer znak promene koeficijenta B sa temperaturom daje pouzdanije informacije o *structure making/breaking* osobinama nego *Hepler*-ov koeficijent koji se dobija indirektno iz koeficijenata fita prividne molarne zapremine pri beskonačnim razblaženju sa temperaturom.



Slika 4.83. Zavisnost relativne viskoznosti, $(\eta/\eta_0 - 1) - Ac^{1/2}$, od koncentracije, (c), a) [Lid][Sal] i b) [Pro][Sal] u vodenim rastvorima, na različitim temperaturama: $T = (\blacktriangle)$, 293,15; (\blacktriangledown), 298,15; (\blacklozenge), 303,15; (\blacktriangleleft), 308,15 i (\blacktriangleright), 313,15 K.

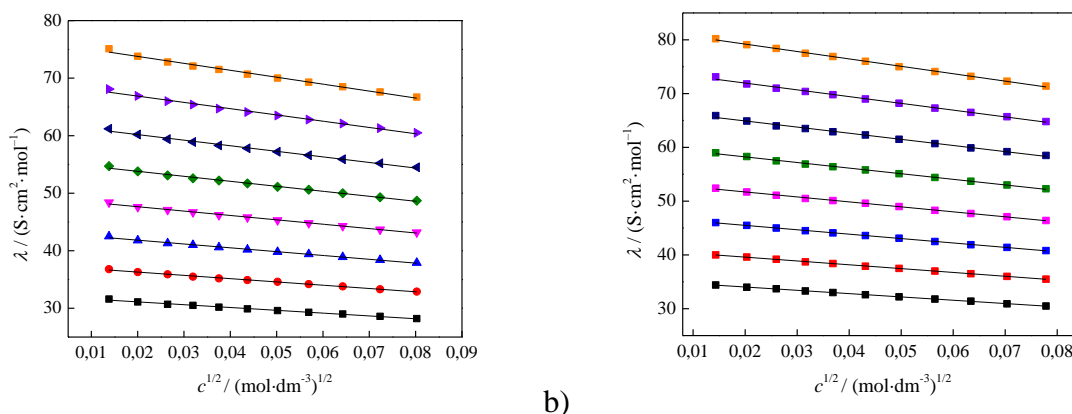
Dobijene pozitivne vrednosti koeficijenta B , koje opadaju sa porastom temperature, ukazuju na *structure making* osobine obe jonske tečnosti. Zabeležene su negativne vrednosti dB/dT od $-0,0037 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ za [Lid][Sal] i $-0,0042 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ za [Pro][Sal], što dodatno potvrđuje *structure making* osobine obe jonske tečnosti. Nešto veća *structure making* sposobnost [Pro][Sal] može biti rezultat razlika u strukturi katjona, specifično u strukturi aromatičnog prstena i funkcionalnoj grupi.

Tabela 4.44. Parametri fita dobijeni primenom preuređene *Jones-Dole*-ove jednačine za viskoznost vodenih rastvora [Lid][Sal] i [Pro][Sal] u temperaturnom opsegu od $T = (293,15$ do $313,15) \text{ K}$, sa devijacijom fita, (σ), i koeficijentom korelacije, (R^2).

$T /$ (K)	$A \cdot 10^4 /$ ($\text{dm}^{3/2} \cdot \text{mol}^{-1/2}$)	$B /$ ($\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	σ	R^2
[Lid][Sal]				
293,15	1,399	1,217	0,0015	0,9981
298,15	1,399	1,181	0,0009	0,9992
303,15	1,399	1,176	0,0006	0,9996
308,15	1,247	1,147	0,0011	0,9989
313,15	1,264	1,141	0,0006	0,9997

[Pro][Sal]				
293,15	1,273	1,104	0,0022	0,9959
298,15	1,276	1,065	0,0017	0,9974
303,15	1,282	1,051	0,0015	0,9979
308,15	1,287	1,020	0,0011	0,9988
313,15	1,294	1,021	0,0010	0,9989

Na osnovu rezultata merenja molarne provodljivosti (tabela P40), i primenom lcCM modela (eng. *Low-concentration chemical model*) (slika 4.84), po prvi put su izračunate molarne provodljivosti pri beskonačnom razblaženju, (λ°), i konstante asocijacije, (K_A), za [Lid][Sal] i [Pro][Sal]. Merenje provodljivosti vodenih rastvora [Lid][Sal] i [Pro][Sal] rađeno je do molalитета $m = 0,006530 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ za [Lid][Sal] i $m = 0,006080 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ za [Pro][Sal] na osam temperatura $T = (278,15 \text{ K}, 283,15, 288,15, 293,15, 298,15, 303,15, 308,15, 313,15) \text{ K}$. Pored toga, molarne provodljivosti pri beskonačnom razblaženju za katjone, (λ_+°), mogu se izračunati iz odgovarajuće literature molarne provodljivosti pri beskonačnom razblaženju za salicilat anjon, (λ_-°) (tabela P1 [158] i dobijenih vrednosti molarne provodljivosti pri beskonačnom razblaženju, jer je utvrđeno da je λ° aditivna veličina: $\lambda^{\circ} = \lambda_+^{\circ} + \lambda_-^{\circ}$. Vrednosti λ° , λ_+° i K_A dobijene za [Lid][Sal] i [Pro][Sal] na različitim temperaturama su sumirane u tabeli 4.45.



a)

b)

Slika 4.84. Ekperimentalne molarne provodljivosti, λ , a) [Lid][Sal] i b) [Pro][Sal] u vodenim rastvorima, na različitim temperaturama: $T = (\blacksquare)$, 278,15; (\bullet) , 283,15; (\blacktriangle) , 288,15; (\blacktriangledown) , 293,15; (\blacklozenge) , 298,15; (\blacktriangleleft) , 303,15; (\blacktriangleright) , 308,15, i (\blacksquare) , 313,15 K. Crne linije predstavljaju rezultate dobijene primenom lcCM modela.

Iz tabele 4.45, evidentno je da su K_A vrednosti [Pro][Sal] veće od [Lid][Sal], što ukazuje na jače interakcije katjona i anjona u jonskoj tečnosti sa prokainom kao katjonom. Ovi rezultati su u saglasnosti sa dobijenim S_v vrednostima iz volumetrijskih merenja, na osnovu kojih su predložene jače interakcije između [Pro]⁺ i [Sal]⁺ jona u vodenim rastvorima.

Tabela 4.45. Vrednosti molarne provodljivosti pri beskonačnom razblaženju jonskih tečnosti, (λ°), molarne provodljivosti pri beskonačnom razblaženju za katjone, (λ_+°), za [Lid]⁺ i [Pro]⁺, i konstante asocijacije, (K_A), u temperaturnom opsegu od $T = (278,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$T / (\text{K})$	$\lambda^\circ / (\text{S} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1})$	$\lambda_+^\circ / (\text{S} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1})$	$K_A / (\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$
[Lid][Sal]			
278,15	31,97	11,83	8,17
283,15	37,31	13,89	8,34
288,15	42,97	16,06	8,56
293,15	48,98	18,37	8,68
298,15	55,28	20,82	8,83
303,15	61,88	23,38	9,03
308,15	68,76	26,10	9,39
313,15	75,71	28,94	9,81
[Pro][Sal]			
278,15	34,96	14,82	13,22
283,15	40,68	17,26	13,23
288,15	46,74	19,83	13,03
293,15	53,12	22,51	12,88
298,15	59,81	25,35	12,83
303,15	66,72	28,22	12,48
308,15	73,89	31,23	12,17
313,15	81,22	34,45	12,12

Razvijanje jonskih tečnosti sa sposobnošću za jake međujonske interakcije može biti obećavajući pristup dizajniranju farmaceutski aktivnih jonskih tečnosti uz održavanje leka u njegovom jonizovanom obliku. Naime, efikasnim transdermalnim lekovima je potreban balans između željene rastvorljivosti i optimalne permeabilnosti, što podrazumeva pažljivo rukovanje

lipofilnošću kako bi se optimizovala biološka dostupnost jedinjenja. Stoga, jonske tečnosti koje su rastvorljive u vodi, ali takođe imaju značajne konstante jonske asocijacije, mogu biti obećavajuća strategija. *Wu i saradnici* [157] su uočili korelaciju između izmerenih konstanti asocijacije i vrednosti lipofilnosti, ($\log P$), zaključujući da viši nivo asocijacije rezultira višim nivoom lipofilnosti. Štaviše, dokazali su da vrednosti K_A imaju dobru korelaciju sa koeficijentom permeabilnosti, što sugerise da niska disocijacija jonskih tečnosti na bazi leka može poboljšati njihovu propustljivost kroz kožu. Izračunavanje konstante asocijacije jonskih tečnosti može se koristiti kao dobar prediktor lipofilnosti, kao i indikator permeabilnosti i lokalne transdermalne primene. Naime, formiranje jonskih parova omogućilo bi njihovu transdermalnu primenu jer povećava lipofilnost lekova dovoljno da prođu kroz kožu i ispolje svoje farmakološko dejstvo, ali smanjuje njihovu sposobnost dalje apsorpcije u krvotok. *Wu i saradnici* odredili su konstante asocijacije jonskih tečnosti sa ibuprofenom kao anjonom, koji je lipofilniji od salicilatnog anjona. Dobijene konstante asocijacije [Lid][Sal] i [Pro][Sal] su niže od vrednosti K_A za analoge ibuprofenata iz istraživanja *Wu i saradnika*, što sugerise da salicilat kao anjon smanjuje lipofilnost jonskih tečnosti na bazi lokalnih anestetika.

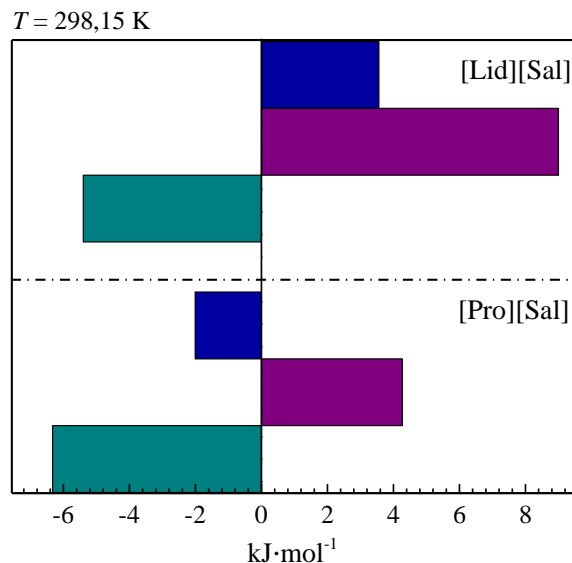
Iz temperaturne zavisnosti K_A , *Gibss*-ova slobodna energija formiranja jonskog para, (ΔG_A°), je izračunata korišćenjem sledeće jednačine:

$$\Delta G_A^\circ(T) = \Delta H_A^\circ - T\Delta S_A^\circ = -RT \ln K_A(T) \quad (4.16)$$

Odgovarajuća entropija asocijacije jona pri atmosferskom pritisku, ($\Delta S_A^\circ = (\partial \Delta G_A^\circ / \partial T)_p$), može se izvesti iz nagiba i entalpije, ($\Delta H_A^\circ(T) = \Delta G_A^\circ + T\Delta S_A^\circ$), koristeći odsečak dobijen iz promene slobodne *Gibss*-ove energije sa temperaturom (slika P44). Na slici 4.85 i tabeli P41, date su vrednosti *Gibss*-ove slobodne energije, (ΔG_A°), doprinosa entropije, ($T\Delta S_A^\circ$) i standardne entalpije, (ΔH_A°) za [Lid][Sal] i [Pro][Sal] u vodi na temperaturi $T = 298,15$ K.

ΔG_A° vrednosti, prikazane na slici 4.85 su negativne za obe jonske tečnosti što ukazuje da je formiranje jonskih parova spontan proces. Pored toga, pozitivne $T\Delta S_A^\circ$ vrednosti za [Lid][Sal] i [Pro][Sal] sugerišu da prelazak iz slobodnih solvativiranih jona u jonski par uzrokuje da sistem postaje manje uređen. Pozitivna ΔH_A° vrednost za [Lid][Sal] ukazuje da je proces formiranja

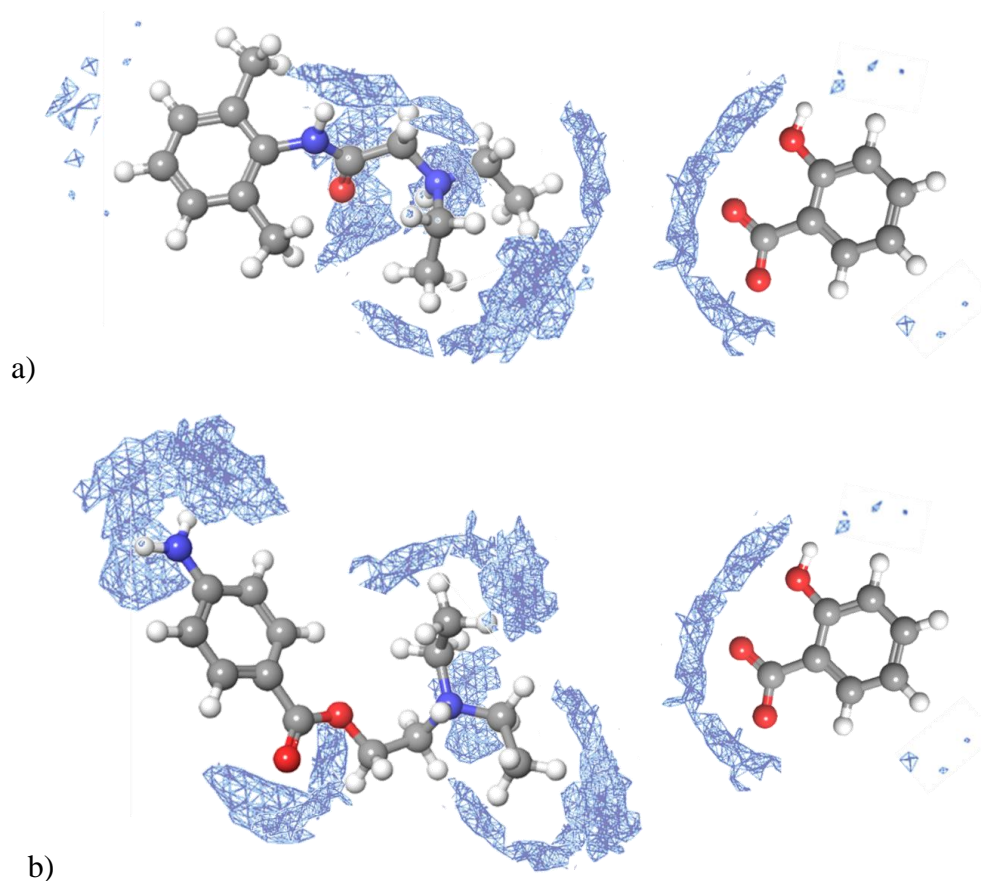
jonskog para endoterman. Nasuprot tome, jonska tečnost sa prokainom kao katjonom ima negativnu ΔH_A° vrednost što ukazuje na egzoterman proces formiranja jonskog para.



Slika 4.85. Termodinamički parametri za [Lid][Sal] i [Pro][Sal] u vodi na $T = 298,15 \text{ K}$: (zelena) Gibbs-ova slobodna energija, (ΔG_A°), (ljubičasta) entropijski doprinos, ($T\Delta S_A^{\circ}$), i (plava) standardna entalpija, (ΔH_A°).

4.7.9. Računarske simulacije hidratacionih osobina [Lid][Sal] i [Pro][Sal]

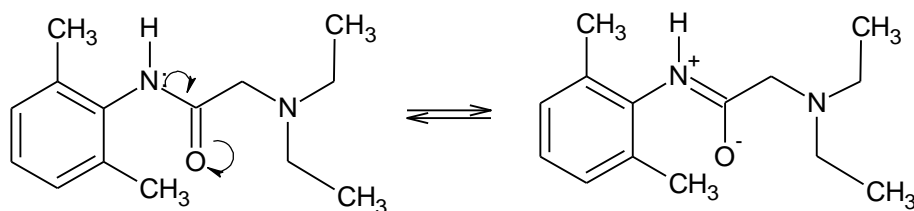
Hidratacione osobine [Lid][Sal] i [Pro][Sal] dodatno su ispitane primenom MD simulacija. Kutija za simulaciju je napunjena sa osam molekula jonske tečnosti i 5800 molekula vode da bi odgovarao molalitetu od $m = 0,08 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$. Prva faza u analizi organizacije vode oko odabranih jonskih tečnosti bila je izračunavanje funkcija prostorne raspodele (eng. *spatial distribution functions*, sdf). Iz ovih rezultata, raspodela vode oko [Pro][Sal] i [Lid][Sal] je vizuelizovana i predstavljena na slici 4.86.



Slika 4.86. Funkcije prostorne raspodele za (a) [Lid][Sal] i (b) [Pro][Sal].

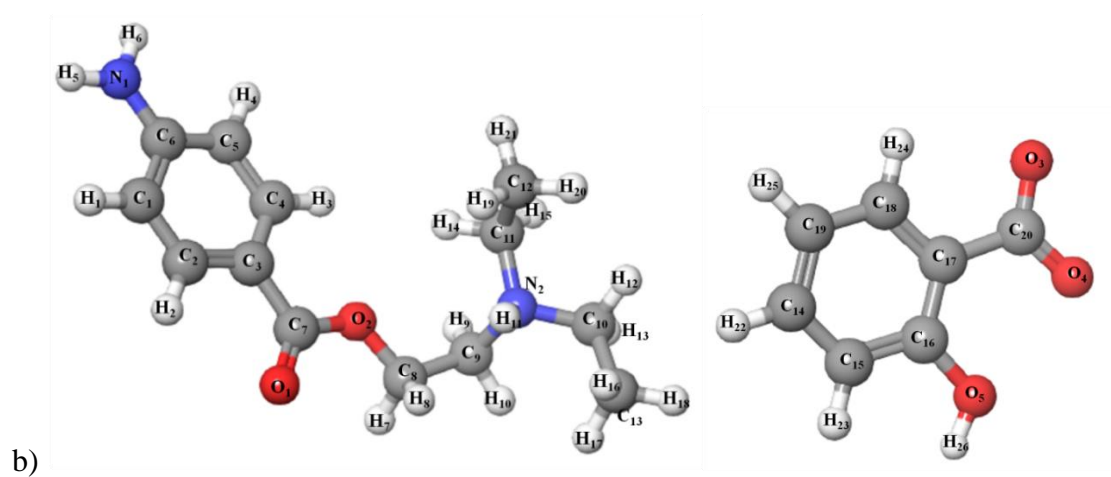
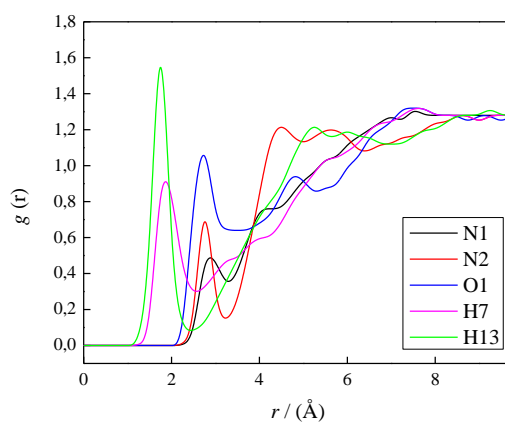
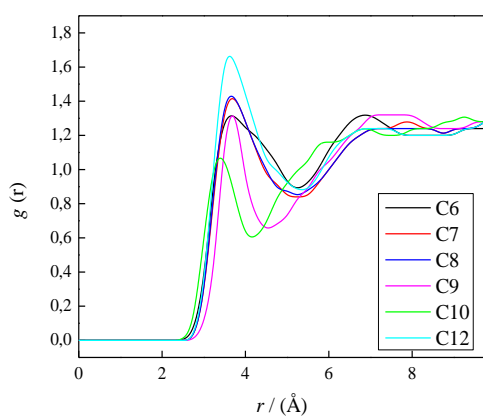
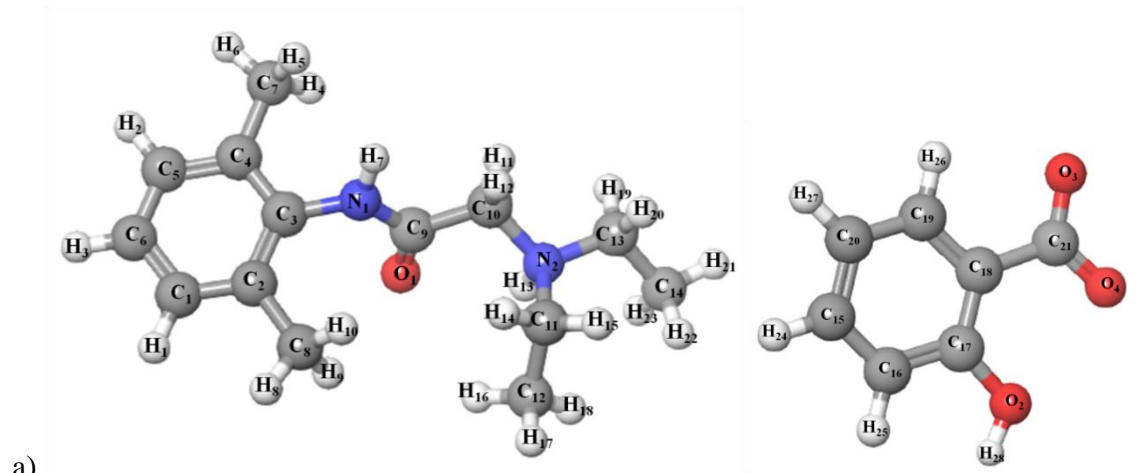
Slika 4.86 sugerira istu verovatnoću raspodele vode oko anjona obe jonske tečnosti, stoga će se dalje prodiskutovati samo razlika u hidratacionim osobinama $[\text{Pro}]^+$ i $[\text{Lid}]^+$. Naime, i kod prokaina i kod lidokaina može se uočiti nekoliko hidrofilnih mesta dispergovanih među hidrofobnim domenima. Pozitivno naelektrisanje na centru azota je zaštićeno etil grupama, što dovodi do manjeg privlačenja vode i smanjenja efekta elektrostrikcije pozitivno naelektrisanog azota, kao što je predloženo u radu *Torres-a i saradnika* [232]. Pored toga, etil grupa ima pozitivan induktivni efekat i smanjuje pozitivno naelektrisanje na atomu azota, što dovodi do manjeg privlačenja vode. Ova zapažanja se mogu videti na slici 4.86 pošto su oblaci koji predstavljaju gustinu raspodele molekula vode pozicionirani uglavnom oko etil grupa prokaina i lidokaina, što sugerira prevagu hidrofobne hidratacije alkil grupa nad elektrostatičkim privlačenjem pozitivnog naelektrisanja na obližnjem azotu. Pored toga, najočiglednija razlika u raspodeli vode oko prokaina i lidokaina može se primetiti oko aromatičnih prstenova i amidnih i estarskih funkcionalnih grupa. Prisustvo $-\text{NH}_2$ grupe vezane za benzenov prsten prokaina značajno indukuje hidrofilna svojstva aromatičnog dela

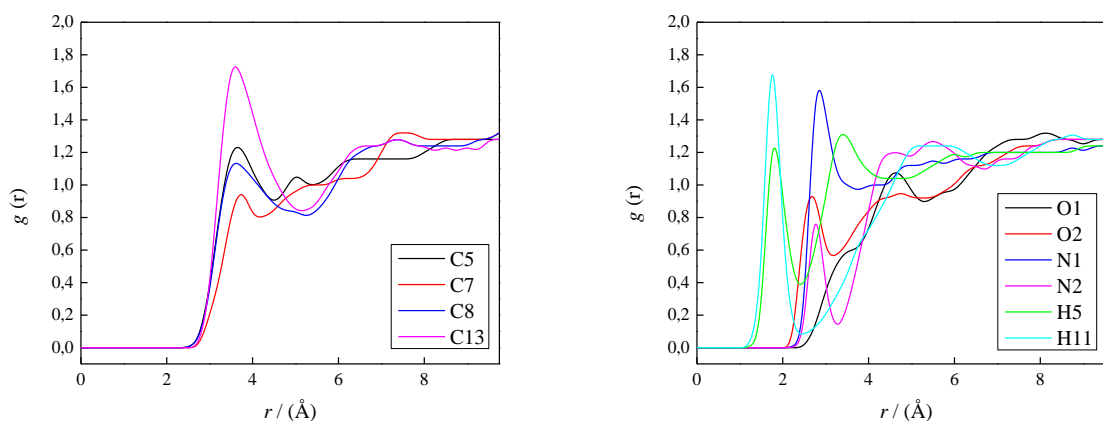
prokaina u poređenju sa lidokainom. Glavni razlog za izražene hidratacione osobine nalazi se u rezonantnoj strukturi prokaina (slika 4.69.). Naime, u prokainu *p*-amino benzoatna grupa postoji u hinonoidnoj rezonantnoj strukturi. Poreklo hinonoidnog oblika proizilazi iz doniranja elektrona iz elektronskog para koji se nalazi na azotu primarnog amina, izazivajući prenos elektrona kroz prsten. Ovaj prenos naelektrisanja dovodi do viška pozitivnog naelektrisanja na *p*-amino benzoatnoj grupi sa izraženom tendencijom stvaranja vodoničnih veza sa karboksilnom grupom zbog sposobnosti donora vodonika [227]. Ovo se jasno može videti sa slike 4.86, gde je većina vode stacionirana u blizini benzenovog prstena prokaina, prvenstveno blizu $-NH_2$ grupe, dok je pojava vode u blizini benzenovog prstena lidokaina jedva primetna. Konačna razlika u hidratacionim osobinama lidokaina i prokaina potiče od organizacije vode oko amidne i estarske grupe, gde je amidna grupa bolje hidratirana od estarske grupe. Amidna grupa lidokaina postoji delimično u cviter jonskom obliku (4.87), ostavljajući delimično naelektrisana pozitivna i negativna mesta koja privlače vodu. S druge strane, ovaj fenomen se ne javlja kod estarske grupe prokaina, što dovodi do manje izraženih hidratacionih svojstava. Ovo se može videti iz oblasti oblaka sdf-ova, koja je znatno veća oko amidne grupe lidokaina nego oko estarske grupe prokaina.



Slika 4.87. Neutralna i cviter jonska struktura lidokaina.

Da bi se detaljnije kvantifikovala razlika u hidratacionim osobinama prokaina i lidokaina, izračunate su funkcije radijalne raspodele (RDF). Izračunati su RDF-ovi između centra mase vode i svakog atoma [Pro][Sal] i [Lid][Sal], a atomi sa najistaknutijim interakcijama su predstavljeni na slici 4.88.





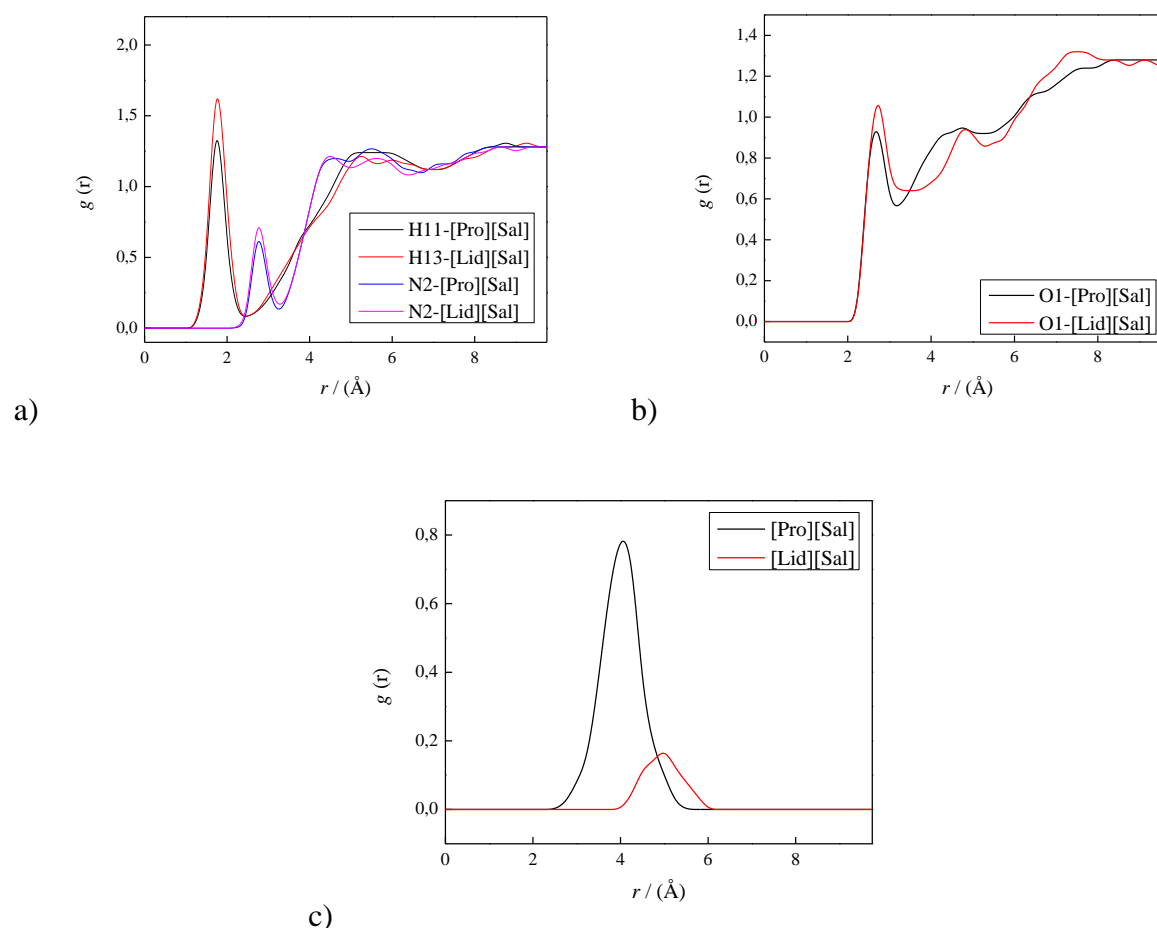
Slika 4.88. Funkcija radijalne raspodele vode oko odabranih atoma za (a) [Lid][Sal] i (b) [Pro][Sal].

Kao što je prikazano na slici 4.88a, voda je najbliža kiseoniku O1 iz keto grupe i vodoncima H7 i H13 vezanim za azot lidokaina. Vrednost $g(r)$ je nešto viša i na manjoj udaljenosti za H13 u poređenju sa H7, što sugerise da je H13 najskloniji interakciji sa molekulima vode. Pored toga, pik koji odgovara rastojanju između vode i O1 je znatno širi, u poređenju sa H7 koji imaju oštiji pik. Ova zapažanja sugerisu da je voda više lokalizovana u blizini atoma H7, što ukazuje na specifične interakcije, kao što su H-veze. Širi pik u blizini O1 implicira da je više molekula vode blizu C=O grupe, ali da ne dolazi do specifičnih interakcija. Dalje, upoređujući RDF-ove atoma ugljenika, evidentno je da su molekuli vode najbliži atomima ugljenika iz terminalnih etil grupa (C12 i C14), što potvrđuje tvrdnju o postojanju hidrofobne hidratacije.

Na slici 4.88b, prokain pokazuje sličan trend kao lidokain, prvenstveno jer su atomi vodonika (H5 i H11) vezani za azot najbliži vodi. U slučaju prokaina, $g(r)$ vrednosti vodonika su na sličnoj udaljenosti, sa nešto višim vrednostima za H11 od H5. Pored toga, analiza udaljenosti između atoma ugljenika i centra mase vode sugerise da samo terminalni atomi ugljenika prokain etil grupe pokazuju značajne pikove u RDF-ima, što ukazuje da je hidrofobna hidratacija izražena samo u ovom regionu.

Da bi se uporedile razlike između prokaina i lidokaina, RDF-ovi za specifične atome su predstavljeni na slici 4.89. Sa slike 4.88a se može videti da su vrednosti $g(r)$ na u slučaju obe jonske tečnosti sličnoj udaljenosti za pozitivno naelektrisani atom N2 i vodonik vezan za njega.

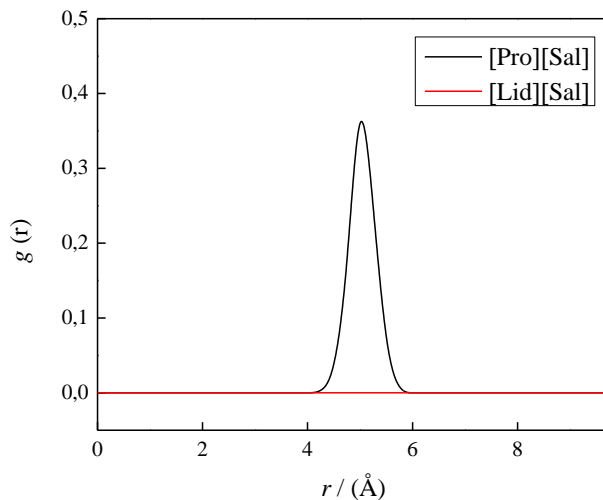
Međutim, $g(r)$ vrednosti za navedene atome su veće za lidokain nego za prokain, što ukazuje na veću hidrataciju odabranih atoma. Značajna razlika se dobija za rastojanje između vode i atoma kiseonika iz C=O grupe (slika 4.89b). Sa slike 4.89b se može videti da je pik koji odgovara udaljenosti H₂O-O1 intenzivniji za lidokain nego za prokain. Štaviše, najistaknutija razlika u hidratacionim osobinama lidokaina i prokaina može se primetiti u organizaciji vode oko benzenovih prstenova, kao što je prikazano na slici 4.89c, gde je prikazana udaljenost između centra mase vode i centra mase benzenovog prstena. Očigledno, zbog -NH₂ grupe vezane za benzenov prsten, prokain ima znatno veće hidratacione osobine od lidokaina. Dakle, kod prokaina postiže se bolja hidratacija aromatičnog dela, dok lidokain ima bolju hidrataciju alifatičnog dela molekula, što je u skladu sa izraženijim *structure making* osobinama [Pro][Sal].



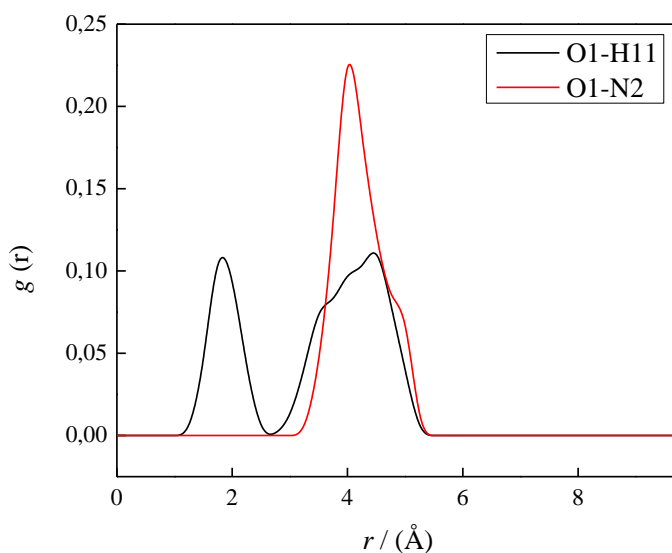
Slika 4.89. Upoređene funkcije radijalne raspodele centra mase vode oko odabranih atoma (a i b) za [Lid][Sal] i [Pro][Sal], i c) centra mase vode oko centra mase benzenovog prstena jonskih tečnosti.

Hidracioni broj, (h'_n), za obe jonske tečnosti je izračunat upotrebom jednačine (3.53). Dobile vrednosti su $h'_n=12,45$ za [Lid][Sal] i $h'_n=13,05$ za [Pro][Sal] što sugerise nešto bolje hidracione osobine [Pro][Sal]. Ovo je posledica bolje hidratacije aromatičnog dela prokaina, ali je razlika značajno nadoknađena izraženijom hidratacijom alifatičnog dela lidokaina. Pored toga, ovi rezultati su u sagasnosti sa vrednostima prividne molarne ekspanzibilnosti pri beskonačnom razblaženju. Naime, veće vrednosti se dobijaju za [Lid][Sal], jer molekuli vode lakše napuštaju hidrofobni deo hidracione sfere. Osnovna hipoteza je bila uspostavljanje jačih jon-jon interakcija, pretežno u alifatičnom delu prokaina, što smanjuje dostupnost prokaina molekulima vode.

Da bi se utvrdilo da li postoji tendencija ka katjon-anjon, katjon-katjon i anjon-anjon interakcijama u vodenim rastvorima [Pro][Sal] i [Lid][Sal], izračunati se RDF-ovi između centra mase odgovarajućih jona, i samo u slučaju katjon-katjon interakcija dobija se primetno rastojanje (slika 4.90). Kao što se može videti sa slike 4.90, pik postoji za katjon-katjon distancu za [Pro][Sal], dok za [Lid][Sal] ovaj pik izostaje, što je u skladu sa volumetrijskim rezultatima, koji su ukazivali na postojanje jon-jon interakcija u [Pro][Sal] (pozitivan S_V koeficijent). Ovaj pik potiče od interakciji između C=O grupe prokaina i $-NH^+$ grupe, što je izazvalo deformaciju bočnog lanca (slika 4.91). Štaviše, ova interakcija smanjuje dostupnost pozitivnog azota (N_2) vodi i time smanjuje hidracione osobine prokaina.



Slika 4.90. Upoređene funkcije radijalne raspodele katjon-katjon centra masa.



Slika 4.91. Funkcija radijalne raspodele odabranih atoma katjona prokaina u [Pro][Sal].



Sintetisane jonske tečnosti na bazi lokalnih anestetika i antiinflamatornih jedinjenja imaju tendenciju ka spontanoj asocijaciji u vodenim rastvorima. Ovo svojstvo jonskih tečnosti na bazi leka može poboljšati njihovu propustljivost kroz kožu. Formiranje jonskih parova omogućava njihovu transdermalnu primenu jer povećava lipofilnost lekova dovoljno da prođu kroz kožu i ispolje svoje farmakološko dejstvo, ali smanjuje njihovu sposobnost dalje apsorpcije u krvotok.



5. IZVOD

U cilju ispitivanja organizacije vode oko biološki aktivnih jedinjenja različitog odnosa hidrofilnog/hidrofobnog karaktera i tipa hemijske veze u jedinjenju, iz rezultata dobijenih merenjem gustine i viskoznosti razblaženih vodenih rastvora kao i primenom računarskih simulacija određene su hidratacione osobine D-pantenola, kofeina, kreatina, kreatinina, L-karnozina, β -alanina, L-histidina, kao i sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a.

Iz prikazanih rezultata može se zaključiti da D-pantenol ne ispoljava svoja emolijensna svojstva vezivanjem molekula vode vodoničnim vezama, nego ugrađivanjem molekula vode u strukturne šupljine molekula D-pantenola. Upravo je to razlog visoke efikasnosti D-pantenola kao emolijensa i posledične široke upotrebe u kozmetici.

Rezultati dobijeni iz analiziranih eksperimentalnih gustina i viskoznosti kofeina u vodenim rastvorima i ATP vodenim rastvorima, kao i iz računarskih simulacija, ukazuju da prisustvo polarnih molekula u blizini molekula kofeina može da dovede do njegove samoagregacije i posledične niže biološke aktivnosti usled efekta dehidratacije. Isto tako, moguće je i da prisustvo drugih polarnih molekula u prehrambenim proizvodima (napicima) u većoj koncentraciji takođe može da umanjuje resorpciju kofeina i njegov efekat, usled pojave samoagregacije.

Na osnovu rezultata za kreatin i kreatinin može se zaključiti da je brža konverzacija kreatina u kreatinin na povišenim temperaturama posledica smanjenja broja molekula vode u hidratacionoj sferi kreatina, što može da dovede do olakšanog formiranja neutralne forme kreatina i zatim do njegove ciklizacije. Pored toga, od jednog molekula kreatina nastaju dva molekula: kreatinin i voda. Povećanje broja molekula dovodi do povećanja entropije sistema i što može biti jedan od razloga spontanosti ovog procesa.

Rezultati uticaja vode na formiranje peptidne veze pokazuju da je hidratacioni broj karnozina manji od zbira hidratacionih brojeva aminokiselina koji ga čine – β -alanina i L-histidina. Ovi rezultati ukazuju da se prilikom formiranja peptidne veze entropija sistema povećava zbog izdvajanje molekula iz hidratacionih sfera slobodnih aminokiselina, što može da bude pokretačka sila za njihovo povezivanje u dipeptid.

Sumiranjem rezultata za sinefrin-hidrochlorid i oktopamin-hidrochlorid može se zaključiti da je gorak ukus posledica preovlađivanja hidrofobnih delova u strukturi jedinjenja usled čega se jače vezuje za receptore za gorak ukus. Dodatak hidrofilnih molekula (šećera), ne suzbija gorak ukus već ga dodatno pojačava zbog efekta dehidratacije hidrofilnih molekula.

U okviru ove disertacije sintetisano je i okarakterisano šest novih bioinspirisanih soli agmatina, agmatinijum-citrat, agmatinijum-askorbat, agmatinijum-glutamat, agmatinijum-*m*-hidroksi-benzoat, agmatinijum-nitrat i agmatinijum-hlorid, i tri jonske tečnosti, agmatinijum-ibuprofenat, agmatinijum-salicilat i agmatinijum-nikotinat. Uspešna ugradnja agmatina u strukturu jonskih tečnosti i soli zajedno sa biorelevantnim anjonima pruža novo polje proučavanja u pripremi biološki prihvatljivih jedinjenja sa dvostrukim dejstvom, koja bi mogla imati široku primenu u poljoprivredi i farmaciji. Takođe, iz izračunatih energija vezivanja između katjona i anjona za sva jedinjenja, uočene su manje negativne vrednosti za jonske tečnosti nego za sintetisane soli. Pronađena korelacija između energije vezivanja i agregatnog stanja jedinjenja, može da se iskoristi za preliminarnu analizu prilikom sinteze jonskih tečnosti kao prediktor da li će so iskristalisati ili nagraditi jonsku tečnost.

U ovoj doktorskoj disertaciji uspešno su sintetisane i četiri jonske tečnosti na bazi lokalnih anestetika, lidokainijum-ibuprofenat, lidokainijum-salicilat, prokainijum-ibuprofenat i prokainijum-salicilat. Sintetisane jonske tečnosti na bazi lokalnih anestetika i antiinflamatornih jedinjenja imaju tendenciju ka spontanoj asocijaciji u vodenim rastvorima. Ovo svojstvo jonskih tečnosti na bazi leka može poboljšati njihovu propustljivost kroz kožu. Formiranje jonskih parova omogućava njihovu transdermalnu primenu jer povećava lipofilnost lekova dovoljno da prođu kroz kožu i ispolje svoje farmakološko dejstvo, ali smanjuje njihovu sposobnost dalje apsorpcije u krvotok.

6. SUMMARY

In order to examine the organization of water around biologically active compounds of different hydrophilic/hydrophobic ratio and type of chemical bond in the compound, the hydration properties of D-panthenol, caffeine, creatine, creatinine, L-carnosine, β -alanine, L-histidine, as well as synephrine-HCl and octopamine-HCl were determined from the results obtained by measuring the density and viscosity of dilute aqueous solutions and computational simulations.

From the presented results, it can be concluded that D-panthenol does not exhibit its emollient properties by binding water molecules to hydrogen bonds, but by incorporating water molecules into the structural cavities of D-panthenol molecules. This is the reason for the D-panthenol high efficiency as an emollient and the consequent wide use in cosmetics.

The results obtained from the analyzed experimental densities and viscosities of caffeine in aqueous solutions and ATP aqueous solutions, as well as from computer simulations, indicate that the presence of polar molecules near caffeine molecules can lead to its self-aggregation and consequent lower biological activity due to dehydration effect. It is also possible that the presence of other polar molecules in food products (beverages) in the higher concentrations may also reduce the resorption of caffeine and its effect, due to the occurrence of self-aggregation.

Based on the results for creatine and creatinine, it can be concluded that faster conversion of creatine to creatinine at elevated temperatures is due to a decrease in the number of water molecules in the hydration sphere of creatine, which can lead to easier formation of neutral form of creatine and its cyclization. In addition, one molecule of creatine produces two molecules: creatinine and water. An increase in the number of molecules leads to an increase in the entropy of the system and which may be one of the reasons for the spontaneity of this process.

The results of the influence of water on the peptide bond formation show that the hydration number of L-carnosine is less than the sum of the hydration numbers of the amino acids that make it up - β -alanine and L-histidine. These results indicate that during the formation of the peptide bond, the entropy of the system increases due to the separation of molecules from the hydration spheres of free amino acids, which can be the driving force for dipeptide formation.

Summarizing the results for synephrine hydrochloride and octopamine hydrochloride, it can be concluded that bitter taste is a consequence of the predominance of hydrophobic parts in the

structure of the compound, as a result of which it binds more strongly to the bitter taste receptors. The addition of hydrophilic molecules (sugar) does not suppress the bitter taste, but additionally enhances it due to the dehydration effect of hydrophilic molecules.

In the framework of this dissertation, six new bioinspired salts of agmatine, agmatine citrate, agmatine ascorbate, agmatine glutamate, agmatine m-hydroxybenzoate, agmatine nitrate and agmatine chloride, and three ionic liquids, agmatinium ibuprofenate, agmatinium salicylate and agmatinium-nicotinate were synthesized and characterized. The successful incorporation of agmatine into the structure of ionic liquids and salts together with biorelevant anions provides a new field of study in the preparation of biologically acceptable double-acting compounds, which could have wide application in agriculture and pharmacy. Also, from the calculated binding energies between cations and anions for all compounds, less negative values were observed for ionic liquids than for reported salts. The correlation found between the binding energy and the aggregate state of the compound can be used for preliminary analysis in the synthesis of ionic liquids as a predictor of whether the salt will crystallize or reward the ionic liquid.

In this doctoral dissertation, four ionic liquids based on local anesthetics, lidocaine-ibuprofenate, lidocainium salicylate, procainium ibuprofenate and procainium salicylate, were successfully synthesized. Synthesized ionic liquids based on local anesthetics and anti-inflammatory compounds tend to spontaneously associate in aqueous solutions. This property of drug-based ionic liquids can improve their permeability through the skin. The formation of ion pairs enables their transdermal application because it increases the lipophilicity of the drug enough to pass through the skin and exert its pharmacological effect, but reduces their ability to be further absorbed into the bloodstream.

7. LITERATURA

- [1] Ball, P. Water as an Active Constituent in Cell Biology. *Chem. Rev.* **2008**, *108* (1), 74–108.
- [2] Bakker, H. J. Structural Dynamics of Aqueous Salt Solutions. *Chem. Rev.* **2008**, *108* (4), 1456–1473.
- [3] Marcus, Y. Effect of Ions on the Structure of Water: Structure Making and Breaking. *Chem. Rev.* **2009**, *109* (3), 1346–1370.
- [4] Bakker, H. J.; Skinner, J. L. Vibrational Spectroscopy as a Probe of Structure and Dynamics in Liquid Water. *Chem. Rev.* **2010**, *110* (3), 1498–1517.
- [5] Ludwig, R.; Paschek, D. Wasser: Anomalien und Rätsel. *Chemie in unserer Zeit* **2005**, *39* (3), 164–175.
- [6] McKee, T.; McKee, J. R. *Biochemistry: The Molecular Basis of Life*; McGraw-Hill: Boston, 2003.
- [7] Silvestrelli, P. L.; Parrinello, M. Water Molecule Dipole in the Gas and in the Liquid Phase. *Phys. Rev. Lett.* **1999**, *82*, 3308–3311.
- [8] Israelachvili, J. *Intermolecular and Surface Forces*, 3rd Edition, Elsevier, 2011.
- [9] Chickos, J.; Acree, W. Enthalpies of Vaporization of Organic and Organometallic Compounds, 1880–2002. *J. Phys. Chem. Ref. Data* **2003**, *32*, 519–878.
- [10] Donald, H.; Jenkins, B.; Marcus, Y. Viscosity B-Coefficients of Ions in Solution. *Chem. Rev.* **1995**, *95* (8), 2695–2724.
- [11] Kumar, R.; Schmidt, J. R.; Skinner, J. L. Hydrogen bonding definitions and dynamics ionic liquid water. *J. Chem. Phys.* **2007**, *126*, 204–107.
- [12] Enderby, J. E.; Neilson, G. W. *In Water: A Comprehensive Treatise*; Franks, F., Ed.; Plenum: New York, 1979.
- [13] Frank, H. S.; Wen, W-Y. Ion–solvent interaction. Structural aspects of ion–solvent interaction in aqueous solutions: a suggested picture of water structure. *Discuss Faraday Soc.* **1957**, *24*, 133–140.

- [14] Zhao, H. Are ionic liquids kosmotropic or chaotropic? An evaluation of available thermodynamic parameters for quantifying the ion kosmotropicity of ionic liquids. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2006**, *81*, 877–891.
- [15] Šuranji, T.; Žigrai, I. *Osnovi kvantitativne hemijske analize*; Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, 1997.
- [16] Marcus, Y. The hydration entropies of ions and their effects on the structure of water. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1986**, *82*, 233–242.
- [17] Krestov, G. A. The Thermodynamic Characteristics of Structural Changes in Water Connected with the Hydration of Polyatomic and Complex Ions. *J. Struct. Chem.* **1962**, *3* (4), 391–398. 1.
- [18] Maibaum, L.; Dinner, A. R.; Chandler, D. Micelle Formation and the Hydrophobic Effect. *J Phys Chem B.* **2004**, *108*(21), 6778–6781.
- [19] Popkin, B. M.; D’Anci, K. E.; Rosenberg, I. H. Water, Hydration and Health. *Nutr. Rev.* **2010**, *68* (8), 439–458.
- [20] Chandler, D. Interfaces and the Driving Force of Hydrophobic Assembly. *Nature* **2005**, *437* (7059), 640–647.
- [21] Chaplin, M. Do We Underestimate the Importance of Water in Cell Biology? *Nat Rev Mol Cell Biol* **2006**, *7* (11), 861–866.
- [22] Pal, S. K.; Zewail, A. H. Dynamics of Water in Biological Recognition. *Chem. Rev.* **2004**, *104* (4), 2099–2124.
- [23] Ariga, K.; Nakanishi, T.; Hill, J. P. A Paradigm Shift in the Field of Molecular Recognition at the Air–Water Interface: From Static to Dynamic. *Soft Matter* **2006**, *2* (6), 465–477.
- [24] Levy, Y.; Onuchic, J. N. Water Mediation in Protein Folding and Molecular Recognition. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **2006**, *35*, 389–415.

- [25] Xu, X.; Wang, X.; Xiao, Z.; Li, Y.; Wang, Y. Probing the Structural and Functional Link between Mutation- and PH-Dependent Hydration Dynamics and Amyloidosis of Transthyretin. *Soft Matter* **2011**, *8* (2), 324–336.
- [26] Cesàro, A.; Brady, J., *Frontiers in Water Biophysics: Water Interaction with Biomolecules. Food Biophys.* **2013**, *8* (3), 151–152.
- [27] Ball P. Water is an active matrix of life for cell and molecular biology. *PNAS* **2017**, *114* (51), 13327–13335.
- [28] Kelly, G. S. Pantothenic Acid. Monograph. *Altern. Med. Rev.* **2011**, *16* (3), 263–274.
- [29] Webb, M. E.; Smith, A. G.; Abell, C. Biosynthesis of Pantothenate. *Nat. Prod. Rep.* **2004**, *21* (6), 695–721.
- [30] Ebner, F.; Heller, A.; Rippke, F.; Tausch, I. Topical Use of Dexpanthenol in Skin Disorders. *Am. J. Clin. Dermatol.* **2002**, *3* (6), 427–433.
- [31] Temple, J. L.; Bernard, C.; Lipshultz, S. E.; Czachor, J. D.; Westphal, J. A.; Mestre, M. A. The Safety of Ingested Caffeine: A Comprehensive Review. *Frontiers in Psychiatry* **2017**, *8*.
- [32] Zobot, G. L. Decaffeination Using Supercritical Carbon Dioxide. In *Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science*; Elsevier, 2020; 255–278.
- [33] Heckman, M. A.; Weil, J.; Gonzalez de Mejia, E. Caffeine (1, 3, 7-Trimethylxanthine) in Foods: A Comprehensive Review on Consumption, Functionality, Safety, and Regulatory Matters. *J. Food Sci.* **2010**, *75* (3), R77-87.
- [34] Fredholm, B. B. Adenosine, Adenosine Receptors and the Actions of Caffeine. *Pharmacology & Toxicology* **1995**, *76* (2), 93–101.
- [35] Mejri, M.; Abdelfattah, B.; Aroulmoji, V.; Barbara, R. Hydration and Self-Association of Caffeine Molecules in Aqueous Solution: Comparative Effects of Sucrose and β -Cyclodextrin. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2009**, *73*, 6–10.

- [36] Tavagnacco, L.; Schnupf, U.; Mason, P. E.; Saboungi, M.-L.; Cesàro, A.; Brady, J. W. Molecular Dynamics Simulation Studies of Caffeine Aggregation in Aqueous Solution. *J. Phys. Chem. B* **2011**, *115* (37), 10957–10966.
- [37] Turner, C. E.; Gant, N. The Biochemistry of Creatine. In *Magnetic Resonance Spectroscopy*, 2014, 91–103.
- [38] Ostojić, S. M. Creatine Supplementation in Young Soccer Players. *Int. J. Sport. Nutr. Exerc. Metab.* **2004**, *14* (1), 95–103.
- [39] Vraneš, M. Papović, S.: New forms of creatine in human nutrition. In *S.M. Ostojić (Ed.), Human Health and Nutrition; New Research*, Nova Science Publishers, Inc., 2015, 105–143.
- [40] Diamond, B. J. Temperature and Ph Dependence of the Cyclization of Creatine: A Study Via Mass Spectrometry, Theses, Dissertations and Capstones. (2005) Paper 564.
- [41] Dash, A. K.; Mo, Y.; Pyne, A. Solid-State Properties of Creatine Monohydrate. *J. Pharm. Sci.* **2002**, *91* (3), 708–718.
- [42] Edgar, G.; Shiver, H. E. The Equilibrium Between Creatine and Creatinine, in Aqueous Solution. The Effect of Hydrogen Ion. *J. Am. Chem. Soc.* **1925**, *47* (4), 1179–1188.
- [43] Uzzan, M.; Nechrebeki, J.; Zhou, P.; Labuza, T. P. Effect of Water Activity and Temperature on the Stability of Creatine during Storage. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* **2009**, *35* (8), 1003–1008.
- [44] Koolman, J.; Roehm K-H. Color Atlas of Biochemistry, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2005.
- [45] Iuliano, F.; Csaderova, L.; Labudova, M.; Zatovicova, M.; Barathova, M.; Pastorek, J. Perspective role of carnosine in tumor-related phenomena. In *D. Wells (Ed.), Carnosine: Physiological Effects and Research Insights*, Nova Science Pub Inc, New York, 2016, 41–82.
- [46] Baye, E.; Ukropcova, B.; Ukropec, J.; Hipkiss, A.; Aldini, G.; de Courten, B. Physiological and Therapeutic Effects of Carnosine on Cardiometabolic Risk and Disease. *Amino Acids* **2016**, *48* (5), 1131–1149.

- [47] Kawahara, M.; Tanaka, K.; Kato-Negishi, M. Zinc, Carnosine, and Neurodegenerative Diseases. *Nutrients* **2018**, *10* (2), 147.
- [48] Stefaniu, A.; Iulian, O. Investigations of the Properties of L-Histidine in Aqueous NaCl Solutions at Different Temperatures. *J. Solution Chem.* **2013**, *12* (42), 2384–2398.
- [49] Culbertson, J. Y.; Kreider, R. B.; Greenwood, M.; Cooke, M. Effects of Beta-Alanine on Muscle Carnosine and Exercise Performance: A Review of the Current Literature. *Nutrients* **2010**, *2* (1), 75–98.
- [50] Arias, B. A.; Ramón-Laca, L. Pharmacological Properties of Citrus and Their Ancient and Medieval Uses in the Mediterranean Region. *J. Ethnopharmacol.* **2005**, *97* (1), 89–95.
- [51] Arbo, M. D.; Larentis, E. R.; Linck, V. M.; Aboy, A. L.; Pimentel, A. L.; Henriques, A. T.; Dallegrave, E.; Garcia, S. C.; Leal, M. B.; Limberger, R. P. Concentrations of P-Synephrine in Fruits and Leaves of Citrus Species (Rutaceae) and the Acute Toxicity Testing of Citrus Aurantium Extract and p-Synephrine. *Food. Chem. Toxicol.* **2008**, *46* (8), 2770–2775.
- [52] Nelson, B. C.; Putzbach, K.; Sharpless, K. E.; Sander, L. C. Mass spectrometric determination of the predominant adrenergic proto-alkaloids in bitter orange (*Citrus aurantium*). *J. Agric. Food Chem.* **2007** *55*, 9769–9775.
- [53] Vieira, S. M.; Theodoro, K. H.; Gloria, M. B. A. Profile and Levels of Bioactive Amines in Orange Juice and Orange Soft Drink. *Food Chem.* **2007**, *100*, 895–903.
- [54] Uckoo, R. M.; Jayaprakasha, G. K.; Nelson, S. D.; Patil, B. S. Rapid Simultaneous Determination of Amines and Organic Acids in Citrus Using High-Performance Liquid Chromatography. *Talanta* **2011**, *83* (3), 948–954.
- [55] Tette, P. A. S.; Guidi, L. R.; Bastos, E. M. A. F.; Fernandes, C.; Gloria, M. B. A. Synephrine - A Potential Biomarker for Orange Honey Authenticity. *Food Chem.* **2017**, *229*, 527–533.
- [56] Fugh-Berman, A.; Myers, A. Citrus Aurantium, an Ingredient of Dietary Supplements Marketed for Weight Loss: Current Status of Clinical and Basic Research. *Exp. Biol. Med. (Maywood)* **2004**, *229* (8), 698–704.

- [57] Haaz, S.; Fontaine, K. R.; Cutter, G.; Limdi, N.; Perumean-Chaney, S.; Allison, D. B. Citrus Aurantium and Synephrine Alkaloids in the Treatment of Overweight and Obesity: An Update. *Obes. Rev.* **2006**, *7* (1), 79–88.
- [58] Adawiyah, N.; Moniruzzaman, M.; Hawatulaila, S.; Goto, M. Ionic Liquids as a Potential Tool for Drug Delivery Systems. *Med. Chem. Commun.* **2016**, *7* (10), 1881–1897.
- [59] Sánchez-Sánchez, C. M. Electrocatalytic Reduction of CO₂ in Imidazolium-Based Ionic Liquids. In *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. Encyclopedia of Interfacial Chemistry: Surface Science and Electrochemistry*; Wandelt, K., Ed.; Elsevier, 2018; 539–551.
- [60] Balk, A.; Holzgrabe, U.; Meinel, L. “Pro et Contra” Ionic Liquid Drugs - Challenges and Opportunities for Pharmaceutical Translation. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2015**, *94*, 291–304.
- [61] Kelley, S. P.; Narita, A.; Holbrey, J. D.; Green, K. D.; Reichert, W. M.; Rogers, R. D. Understanding the Effects of Ionicity in Salts, Solvates, Co-Crystals, Ionic Co-Crystals, and Ionic Liquids, Rather than Nomenclature, Is Critical to Understanding Their Behavior. *Crystal Growth & Design* **2013**, *13* (3), 965–975.
- [62] Zhang, Q.; Vigier, K. D. O.; Royer, S.; Jérôme, F. Deep Eutectic Solvents: Syntheses, Properties and Applications. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41* (21), 7108–7146.
- [63] Sinko, P. J.; Martin, A. N. *Martin’s Physical Pharmacy and Pharmaceutical Sciences: Physical Chemical and Biopharmaceutical Principles in the Pharmaceutical Sciences*; Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, 2006.
- [64] Egorova, K. S.; Gordeev, E. G.; Ananikov, V. P. Biological Activity of Ionic Liquids and Their Application in Pharmaceutics and Medicine. *Chem. Rev.* **2017**, *117* (10), 7132–7189.
- [65] Freemantle, M.; Designer Solvents: Ionic Liquids May Boost Clean Technology Development. *Chem. Eng. News* **1998**, *76* (13), 32–37.

- [66] Stoimenovski, J.; MacFarlane, D. R.; Bica, K.; Rogers, R. D. Crystalline vs. Ionic Liquid Salt Forms of Active Pharmaceutical Ingredients: A Position Paper. *Pharm. Res.* **2010**, *27* (4), 521–526.
- [67] Hunt, P. A.; Ashworth, C. R.; Matthews, R. P. Hydrogen Bonding in Ionic Liquids. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44* (5), 1257–1288.
- [68] Stoimenovski, J.; Dean, P. M.; Izgorodina, E. I.; MacFarlane, D. R. Protic Pharmaceutical Ionic Liquids and Solids: Aspects of Protonics. *Faraday Discuss.* **2011**, *154* (0), 335–352.
- [69] Greaves, T. L.; Drummond, C. J. Protic Ionic Liquids: Properties and Applications. *Chem. Rev.* **2008**, *108* (1), 206–237.
- [70] M. S. S. Esperança, J.; Canongia Lopes, J. N.; Tariq, M.; Santos, L. M. N. B. F.; Magee, J. W.; Rebelo, L. P. N. Volatility of Aprotic Ionic Liquids — A Review. *J. Chem. Eng. Data* **2010**, *55* (1), 3–12.
- [71] Holbrey, J. D.; Seddon, K. R. Ionic Liquids. *Clean Products and Processes* **1999**, *1* (4), 223–236.
- [72] Ferraz, R.; Branco, L. C.; Prudencio, C.; Noronha, J. P.; Petrovski, Ž. Ionic Liquids as Active Pharmaceutical Ingredients. *ChemMedChem.* **2011**, *6* (6), 975–985.
- [73] Zandu, S. K.; Chopra, H.; Singh, I. Ionic Liquids for Therapeutic and Drug Delivery Applications. *Curr. Drug. Res. Rev.* **2020**, *12* (1), 26–41.
- [74] Deetlefs, M.; Seddon, K. R.; Shara, M. Predicting Physical Properties of Ionic Liquids. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2006**, *8* (5), 642–649.
- [75] Domínguez de María, P.; Maugeri, Z. Ionic Liquids in Biotransformations: From Proof-of-Concept to Emerging Deep-Eutectic-Solvents. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2011**, *15* (2), 220–225.
- [76] Sekhon, B.S. Ionic liquids: Pharmaceutical and Biotechnological Applications. *Asian J. Pharm. Biol. Res.* **2011**, *1* (3): 395–397

- [77] Bica, K.; Rijksen, C.; Nieuwenhuyzen, M.; Rogers, R. D. In Search of Pure Liquid Salt Forms of Aspirin: Ionic Liquid Approaches with Acetylsalicylic Acid and Salicylic Acid. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12* (8), 2011–2017.
- [78] Nockemann, P.; Thijs, B.; Driesen, K.; Janssen, C. R.; Van Hecke, K.; Van Meervelt, L.; Kossmann, S.; Kirchner, B.; Binnemans, K. Choline Saccharinate and Choline Acesulfamate: Ionic Liquids with Low Toxicities. *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111* (19), 5254–5263.
- [79] Weaver, K. D.; Kim, H. J.; Sun, J.; MacFarlane, D. R.; Elliott, G. D. Cyto-Toxicity and Biocompatibility of a Family of Choline Phosphate Ionic Liquids Designed for Pharmaceutical Applications. *Green Chem.* **2010**, *12* (3), 507–513.
- [80] Hou, X.-D.; Liu, Q.-P.; Smith, T. J.; Li, N.; Zong, M.-H. Evaluation of Toxicity and Biodegradability of Cholinium Amino Acids Ionic Liquids. *PLOS ONE* **2013**, *8* (3), e59145.
- [81] Guncheva, M.; Paunova, K.; Ossowicz, P.; Rozwadowski, Z.; Janus, E.; Idakieva, K.; Todinova, S.; Raynova, Y.; Uzunova, V.; Apostolova, S.; Tzoneva, R.; Yancheva, D. Modification of Rapana Thomasiana Hemocyanin with Choline Amino Acid Salts Significantly Enhances Its Antiproliferative Activity against MCF-7 Human Breast Cancer Cells. *RSC Adv.* **2015**, *5* (78), 63345–63354.
- [82] Yang, B.; Zhang, Q.; Fei, Y.; Zhou, F.; Wang, P.; Deng, Y. Biodegradable Betaine-Based Aprotic Task-Specific Ionic Liquids and Their Application in Efficient SO₂ Absorption. *Green Chem.* **2015**, *17* (7), 3798–3805.
- [83] Fundamensky, V. S.; Kochina, T. A.; Kondratenko, Y. A.; Zolotarev, A. A.; Vlasov, Y. G.; Ignatyev, I. S. Ionic Liquids Based on Triethanolammonium Salts of Dicarboxylic Acids (Oxalic, Malonic, Succinic). Crystal Structure and Cation-Anion Interaction. *J. Mol. Liq.* **2017**, *230*, 113–120.
- [84] Raasch, W.; Regunathan, S.; Li, G.; Reis, D. J. Agmatine, the Bacterial Amine, Is Widely Distributed in Mammalian Tissues. *Life Sci.* **1995**, *56* (26), 2319–2330.
- [85] Li, G.; Regunathan, S.; Barrow, C. J.; Eshraghi, J.; Cooper, R.; Reis, D. J. Agmatine: An Endogenous Clonidine-Displacing Substance in the Brain. *Science* **1994**, *263* (5149), 966–969.

- [86] Reis, D. J.; Regunathan, S. Is Agmatine a Novel Neurotransmitter in Brain? *Trends Pharmacol. Sci.* **2000**, *21* (5), 187–193.
- [87] Regunathan, S.; Reis, D. J. Imidazoline receptors and their endogenous ligands. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1996**, *36*, 511–544.
- [88] Yang, X. C.; Reis, D. J. Agmatine Selectively Blocks the N-Methyl-D-Aspartate Subclass of Glutamate Receptor Channels in Rat Hippocampal Neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1999**, *288* (2), 544–549.
- [89] Uzbay, T. I. The Pharmacological Importance of Agmatine in the Brain. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **2012**, *36* (1), 502–519.
- [90] Piletz, J. E.; Aricioglu, F.; Cheng, J. T.; Fairbanks, C. A.; Gilad, V. H.; Haenisch, B.; Halaris, A.; Hong, S.; Lee, J. E.; Li, J.; Liu, P.; Molderings, G. J.; Rodrigues, A. L. S.; Satriano, J.; Seong, G. J.; Wilcox, G.; Wu, N.; Gilad, G. M. Agmatine: Clinical Applications after 100 Years in Translation. *Drug Discovery Today* **2013**, *18* (17–18), 880–893.
- [91] Heavner, J. E. Local Anesthetics. *Curr Opin Anaesthesiol* **2007**, *20* (4), 336–342.
- [92] Covino, B. G.; Vassallo, H. G.. *Local Anesthetics: Mechanisms of Action and Clinical Use*. New York: Grune & Stratton, 1976.
- [93] Becker, D. E.; Reed, K. L. Local Anesthetics: Review of Pharmacological Considerations. *Anesth. Prog.* **2012**, *59* (2), 90–101; 102–103.
- [94] Liu, H.; Dilger, J. P.; Lin, J. Effects of Local Anesthetics on Cancer Cells. *Pharmacol. Ther.* **2020**, *212*, 107558.
- [95] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Lidocaine>
- [96] Laurikainen, E.; Nuttall, A. L.; Miller, J. M.; Quirk, W. S.; Virolainen, E. Experimental Basis for Lidocaine Therapy in Cochlear Disorders. *Acta Oto-Laryngologica* **1992**, *112* (5), 800–809.
- [97] Fozzard, H. A.; Lee, P. J.; Lipkind, G. M. Mechanism of Local Anesthetic Drug Action on Voltage-Gated Sodium Channels. *Curr. Pharm. Des.* **2005**, *11* (21), 2671–2686.

- [98] Ferrante, F. M.; Paggioli, J.; Cherukuri, S.; Arthur, G. R. The Analgesic Response to Intravenous Lidocaine in the Treatment of Neuropathic Pain. *Anesth. Analg.* **1996**, *82* (1), 91–97.
- [99] Steen, P. A.; Michenfelder, J. D. Neurotoxicity of Anesthetics. *Anesthesiology* **1979**, *50* (5), 437–453.
- [100] Florence, A. T.; Attwood, D. *Physicochemical Principles of Pharmacy*; Pharmaceutical Press: London and Chicago, 2011.
- [101] Prausnitz, M. R.; Langer, R. Transdermal Drug Delivery. *Nat. Biotechnol.* **2008**, *26* (11), 1261–1268.
- [102] Stahl, P. H. *Handbook of Pharmaceutical Salts Properties, Selection, and Use*; John Wiley & Sons, 2008.
- [103] *Ionic Liquids IIIB: Transformations and Processes*; Rogers, R. D., Seddon, K. R., Eds.; ACS Symposium Series; Oxford University Press: Oxford, New York, 2005.
- [104] Hough, W. L.; Smiglak, M.; Rodríguez, H.; Swatloski, R. P.; Spear, S. K.; Daly, D. T.; Pernak, J.; Grisel, J. E.; Carliss, R. D.; Soutullo, M. D.; James H. Davis, J.; Rogers, R. D. The Third Evolution of Ionic Liquids: Active Pharmaceutical Ingredients. *New J. Chem.* **2007**, *31* (8), 1429–1436.
- [105] Bramer, T.; Dew, N.; Edsman, K. Catanionic Mixtures Involving a Drug: A Rather General Concept That Can Be Utilized for Prolonged Drug Release from Gels. *J. Pharm. Sci.* **2006**, *95* (4), 769–780.
- [106] Park, H. J.; Prausnitz, M. Lidocaine-ibuprofen Ionic Liquid for Dermal Anesthesia. *AIChE J.* **2015**, *61*, 2732–2738.
- [107] Ruetsch, Y. A.; Böni, T.; Borgeat, A. From Cocaine to Ropivacaine: The History of Local Anesthetic Drugs. *Curr. Top. Med. Chem.* **2001**, *1* (3), 175–182.
- [108] Ball, C.; Westhorpe, R. Local Anaesthetics--Procaine (Novocaine, Ethocaine). *Anaesth Intensive Care* **2004**, *32* (3), 303.

- [109] [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Procaine#section= Experimental-Properties](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Procaine#section=Experimental-Properties)
- [110] Vardanyan, R. S.; Hruby, V. J. *Synthesis of Essential Drugs*; 2006.
- [111] Catterall, W. A.; Mackie, K. Local Anesthetics. In *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics*; Brunton, L. L., Chabner, B. A., Knollmann, B. C., Eds.; McGraw-Hill Education: New York, NY, 2015.
- [112] Bazakis, A. M.; Akhondi, H.; Weir, A. J. Procaine Penicillin. In *StatPearls*; StatPearls Publishing: Treasure Island (FL), 2022.
- [113] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Salicylic-acid>
- [114] Pinto, P. C. A. G.; Ribeiro, D. M. G. P.; Azevedo, A. M. O.; Justina, V. D.; Cunha, E.; Bica, K.; Vasiloiu, M.; Reis, S.; Saraiva, M. L. M. F. S. Active Pharmaceutical Ingredients Based on Salicylate Ionic Liquids: Insights into the Evaluation of Pharmaceutical Profiles. *New J. Chem.* **2013**, *37* (12), 4095–4102.
- [115] Rendon, M. I.; Berson, D. S.; Cohen, J. L.; Roberts, W. E.; Starker, I.; Wang, B. Evidence and Considerations in the Application of Chemical Peels in Skin Disorders and Aesthetic Resurfacing. *J. Clin. Aesthet. Dermatol.* **2010**, *3* (7), 32–43.
- [116] Huber, C.; Christophers, E. “Keratolytic” Effect of Salicylic Acid. *Archives of Dermatological Research* **2004**, *257*, 293–297
- [117] Brackett, W. The Chemistry of Salicylic Acid. *Cosmet. Derm.* **1997**, *4*, 5–6.
- [118] Imayama, S.; Ueda, S.; Isoda, M. Histologic Changes in the Skin of Hairless Mice Following Peeling with Salicylic Acid. *Arch. Dermatol.* **2000**, *136* (11), 1390–1395.
- [119] Arif, T. Salicylic Acid as a Peeling Agent: A Comprehensive Review. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* **2015**, *8*, 455–461.
- [120] Burke, A.; Smyth E, Fitzgerald Garret, A. Analgesic antipyretic and anti-inflammatory agents. In *Brunton LL, Lazo JS, Parker K, editors. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*; 11th ed. New York, NY, USA: McGraw-Hill, 2013.

[121] Xu, X. M.; Sansores-Garcia, L.; Chen, X. M.; Matijević-Aleksić, N.; Du, M.; Wu, K. K. Suppression of inducible cyclooxygenase 2 gene transcription by aspirin and sodium salicylate. *PNAS USA* **1999**, *96* (9), 5292–5297.

[122] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ibuprofen#section=Melting-Point>

[123] Santos, M. M.; Raposo, L. R.; Carrera, G. V. S. M.; Costa, A.; Dionísio, M.; Baptista, P. V.; Fernandes, A. R.; Branco, L. C. Ionic Liquids and Salts from Ibuprofen as Promising Innovative Formulations of an Old Drug. *ChemMedChem*. **2019**, *14* (9), 907–911.

[124] Mazaleuskaya, L. L.; Theken, K. N.; Gong, L.; Thorn, C. F.; FitzGerald, G. A.; Altman, R. B.; Klein, T. E. PharmGKB Summary: Ibuprofen Pathways. *Pharmacogenet. Genomics* **2015**, *25* (2), 96–106.

[125] Bešter-Rogač, M.; Stoppa, A.; Hunger, J.; Hefter, G.; Buchner, R. Association of Ionic Liquids in Solution: A Combined Dielectric and Conductivity Study of [Bmim][Cl] in Water and in Acetonitrile. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13* (39), 17588–17598.

[126] Arrhenius, S. Über Die Dissociationswärme Und Den Einfluss Der Temperatur Auf Den Dissociationsgrad Der Elektrolyte. *Z. Phys. Chem.* **1889**, *4*, 96–116.

[127] Vogel, H. The Law of the Relationship Between Viscosity of Liquids and the Temperature. *Phys. Z.* **1921**, *22*, 645–646.

[128] Fulcher, G. S. Analysis of Recent Data of the Viscosity of Glasses. *J. Am. Ceram. Soc.* **1925**, *8*, 339–355.

[129] Tammann, G., Hesse, W., 1926. Die Abhängigkeit der Viscosität von der Temperatur bei Unterkühlten Flüssigkeiten. *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1926**, *156*, 245–25715.

[130] Wang, Y.; Chen, W.; Zhao, Q.; Jin, G.; Xue, Z.; Wang, Y.; Mu, T. Ionicity of Deep Eutectic Solvents by Walden Plot and Pulsed Field Gradient Nuclear Magnetic Resonance (PFG-NMR). *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2020**, *22* (44), 25760–25768.

[131] MacFarlane, D. R.; Forsyth, M.; Izgorodina, E. I.; Abbott, A. P.; Annat, G.; Fraser, K. On the Concept of Ionicity in Ionic Liquids. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, *11* (25), 4962–4967.

- [132] Redlich, O.; Kister, A. T. Algebraic Representation of Thermodynamic Properties and the Classification of Solutions. *Ind. Eng. Chem.* **1948**, *40* (2), 345–348.
- [133] Masson, D. O. XXVIII. Solute Molecular Volumes in Relation to Solvation and Ionization. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science* **1929**, *8* (49), 218–235.
- [134] Dhondge, S. S.; Pandhurnekar, C. P.; Parwate, D. V. Density, Speed of Sound, and Refractive Index of Aqueous Binary Mixtures of Some Glycol Ethers at T = 298.15 K. *J. Chem. Eng. Data* **2010**, *55* (9), 3962–3968.
- [135] Redlich, O.; Rosenfeld, P. Theory of the Molal Volumes of a Dissolved Electrolyte. *Z. Elektrochem.* **1931**, *3*, 705–711.
- [136] Redlich, O.; Meyer, D. M. The Molal Volumes of Electrolytes. *Chem. Rev.* **1964**, *64*, 221–227.
- [137] Hepler, L. G. Thermal Expansion and Structure in Water and Aqueous Solutions. *Can. J. Chem.* **1969**, *47* (24), 4613–4617.
- [138] Birch, G. G.; Parke, S.; Siertsema, R.; Westwell, J. M. Importance of Molar Volumes and Related Parameters in Sweet Taste Chemoreception. *Pure and App. Chem.* **1997**, *69* (4), 685–692.
- [139] Galema, S. A.; Hoeiland, H. Stereochemical Aspects of Hydration of Carbohydrates in Aqueous Solutions. 3. Density and Ultrasound Measurements. *J. Phys. Chem.* **1991**, *95* (13), 5321–5326.
- [140] Shamil, S.; Birch, G. G.; Mathlouthi, M.; Clifford, M. N. Apparent Molar Volumes and Tastes of Molecules with More than One Sapophore. *Chemical Senses* **1987**, *12* (2), 397–409.
- [141] Jones, G.; Dole, M. The Viscosity of Aqueous Solutions of Strong Electrolytes with Special Reference to Barium Chloride. *J. Am. Chem. Soc.* **1929**, *51* (10), 2950–2964.
- [142] Kestin, J.; Sokolov, M.; Wakeham, W. A. Viscosity of Liquid Water in the Range $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ to $150\text{ }^{\circ}\text{C}$. *J. Phys. Chem. Ref. Data* **1978**, *7* (3), 941–948.

- [143] Onsager, L.; Fuoss, R. M. Irreversible Processes in Electrolytes. Diffusion, Conductance and Viscous Flow in Arbitrary Mixtures of Strong Electrolytes. *J. Phys. Chem.* **1932**, *36* (11), 2689–2778.
- [144] Jenkins, H. D. B.; Marcus, Y. Viscosity B-Coefficients of Ions in Solution. *Chem. Rev.* **1995**, *95* (8), 2695–2724.
- [145] Tomaš, R.; Jovanović, T.; Bešter-Rogač, M. Viscosity B-Coefficient for Sodium Chloride in Aqueous Mixtures of 1,4-Dioxane at Different Temperatures. *Acta Chim. Slov.* **2015**, *62* (3), 531–537.
- [146] Harned, H. S.; Owen, B. B. *The Physical Chemistry of Electrolytic Solutions*, 3rd edition.; Reinhold, NYC, 1963.
- [147] Owen, B. B.; Miller, R. C.; Milner, C. E.; Cogan, H. L. The Dielectric Constant of Water as a Function of Temperature and Pressure. *J. Phys. Chem.* **1961**, *65* (11), 2065–2070.
- [148] Birch, G. G.; Shamil, S. Structure, Sweetness and Solution Properties of Small Carbohydrate Molecules. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1* **1988**, *84* (8), 2635–2640.
- [149] Huggins, M. L. The Viscosity of Dilute Solutions of Long-Chain Molecules. IV. Dependence on Concentration. *J. Am. Chem. Soc.* **1942**, *64* (11), 2716–2718.
- [150] Feakins, D.; Freemantle, D. J.; Lawrence, K. G. Transition State Treatment of the Relative Viscosity of Electrolytic Solutions. Applications to Aqueous, Non-Aqueous and Methanol + Water Systems. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1* **1974**, *70* (0), 795–806.
- [151] Millero, F. J.; Surdo, A. L.; Shin, C. The Apparent Molal Volumes and Adiabatic Compressibilities of Aqueous Amino Acids at 25°C. *J. Phys. Chem.* **1978**, *82* (7), 784–792.
- [152] Lin, G.; Lin, R.; Ma, L. The Limiting Partial Molar Volume and Apparent Molar Volume of Glycylglycine in Aqueous KCl Solution at 298.15 and 308.15K. *Thermochim. Acta* **2005**, *430* (1), 31–34.
- [153] Bougard, J.; Jadot, R. Solvation in Aqueous N,N-Dimethylformamide. *J. Chem. Thermodyn.* **1975**, *7* (12), 1185–1188.

- [154] Thomas, D. G. Transport Characteristics of Suspension: VIII. A Note on the Viscosity of Newtonian Suspensions of Uniform Spherical Particles. *J. Colloid Sci.* **1965**, *20* (3), 267–277.
- [155] Herskovits, T. T.; Kelly, T. M. Viscosity Studies of Aqueous Solutions of Alcohols, Ureas, and Amides. *J. Phys. Chem.* **1973**, *77* (3), 381–388.
- [156] Barthel, J.; Feuerlein, F.; Neueder, R.; Wachter, R. Calibration of Conductance Cells at Various Temperatures. *J. Solution Chem.* **1980**, *9* (3), 209–219.
- [157] Wu, H.; Deng, Z.; Zhou, B.; Qi, M.; Hong, M.; Ren, G. Improved Transdermal Permeability of Ibuprofen by Ionic Liquid Technology: Correlation between Counterion Structure and the Physicochemical and Biological Properties. *J. Mol. Liq.* **2019**, *283*, 399–409.
- [158] Bešter-Rogač, M. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs Ion Mobility: A Conductometric Study of Salicylate, Naproxen, Diclofenac and Ibuprofen Dilute Aqueous Solutions. *Acta Chim. Slov.* **2009**, *56*, 70–77.
- [159] Sha, J.; Ma, T.; Zhao, R.; Zhang, P.; Sun, R.; Jiang, G.; Wan, Y.; He, H.; Yao, X.; Li, Y.; Li, T.; Ren, B. The Dissolution Behaviour and Apparent Thermodynamic Analysis of Doxifluridine in Twelve Pure Solvents at Various Temperatures. *J. Chem. Thermodyn.* **2020**, 144106073.
- [160] Shakeel, F.; Imran, M.; Haq, N.; Alshehri, S.; Anwer, Md. K. Synthesis, Characterization and Solubility Determination of 6-Phenyl-Pyridazin-3(2H)-One in Different Pharmaceutical Solvents. *Molecules* **2019**, *24* (18), 3404.
- [161] Nakanishi, K.; Kato, N.; Maruyama, M. Excess and Partial Volumes of Some Alcohol-Water and Glycol-Water Solutions. *J. Phys. Chem.* **1967**, *71* (4), 814–818.
- [162] Jiménez, J.; Martínez, F. Volumetric Properties of 1,2-Propanediol + Ethanol Mixtures at Different Temperatures. *Phys. Chem. Liq.* **2006**, *44* (5), 521–530.
- [163] Saleh, M. A.; Akhtar, S.; Nessa, M.; Uddin, M. S.; Bhuiyan, M. M. H. Excess Molar Volumes of Aqueous Solutions of 1-Propanol, 2-Propanol, Allyl Alcohol and Propargyl Alcohol. *Phys. Chem. Liq.* **1998**, *36* (1), 53–65.

- [164] Herráez, J. V.; Belda, R. Refractive Indices, Densities and Excess Molar Volumes of Monoalcohols + Water. *J. Solution Chem.* **2006**, *35* (9), 1315–1328.
- [165] Desnoyers, J.; Perron, G. Treatment of Excess Thermodynamic Quantities for Liquid Mixtures. *J. Solution Chem.* **1997**, *26*, 749–755.
- [166] Chakravarty, S.; Bhinge, A.; Varadarajan, R. A Procedure for Detection and Quantitation of Cavity Volumes Proteins. Application to Measure the Strength of the Hydrophobic Driving Force in Protein Folding. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277* (35), 31345–31353.
- [167] Bondi, A. Van Der Waals Volumes and Radii. *J. Phys. Chem.* **1964**, *68* (3), 441–451.
- [168] Frank, H. S.; Evans, M. W. Free Volume and Entropy in Condensed Systems III. Entropy in Binary Liquid Mixtures; Partial Molal Entropy in Dilute Solutions; Structure and Thermodynamics in Aqueous Electrolytes. *J. Chem. Phys.* **1945**, *13* (11), 507–532.
- [169] Cabani, S.; Gianni, P.; Mollica, V.; Lepori, L. Group Contributions to the Thermodynamic Properties of Non-Ionic Organic Solutes in Dilute Aqueous Solution. *J. Solution Chem.* **1981**, *10* (8), 563–595.
- [170] Chalikian, T. V.; Sarvazyan, A. P.; Funck, T.; Breslauer, K. J. Partial Molar Volumes, Expansibilities, and Compressibilities of Oligoglycines in Aqueous Solutions at 18–55°C. *Biopolymers* **1994**, *34* (4), 541–553.
- [171] Klofutar, C.; Horvat, J.; Rudan-Tasič, D. Apparent Molar Volume and Apparent Molar Expansibility of Sodium Saccharin, Potassium Acesulfame and Aspartame. *Acta Chim. Slov.* **2006**, *53*, 274–283.
- [172] Rocher-Casterline, B. E.; Ch'ng, L. C.; Mollner, A. K.; Reisler, H. Communication: Determination of the Bond Dissociation Energy (D_0) of the Water Dimer, $(\text{H}_2\text{O})_2$, by Velocity Map Imaging. *J. Chem. Phys.* **2011**, *134* (21), 211101.
- [173] Zimmerman, J. J.; von Saint André-von Arnim, A.; McLaughlin, J. Chapter 74 - Cellular respiration, In *Pediatric critical care*, 4th ed, Mosby, Saint Louis, 2011, 1058–1072.
- [174] Sanjeeva, R.; Weerasinghe, S. Study of Aggregate Formation of Caffeine in Water by Molecular Dynamics Simulation. *Comput. Theor. Chem.* **2011**, *1–3* (966), 140–148.

- [175] Banipal, T. S.; Beri, A.; Kaur, N.; Banipal, P. K. Volumetric, Viscometric and Spectroscopic Approach to Study the Solvation Behavior of Xanthine Drugs in Aqueous Solutions of NaCl at $T = 288.15\text{--}318.15\text{ K}$ and at $p = 101.325\text{ KPa}$. *J. Chem. Eng. Data* **2017**, *62* (1), 20–34.
- [176] Banipal, T. S.; Beri, A.; Banipal, P. K. Volumetric, Viscometric, and ^1H NMR Studies on Caffeine, Theophylline, and Theobromine in Aqueous Solutions of MgCl_2 at Temperatures $T = (288.15\text{ to }318.15)\text{ K}$ and at Pressure $p = 101.3\text{ KPa}$. *J. Chem. Eng. Data* **2017**, *62* (11), 3833–3847.
- [177] Al-Maaieh, A.; Flanagan, D. R. Salt Effects on Caffeine Solubility, Distribution, and Self-Association. *J. Pharm. Sci.* **2002**, *91* (4), 1000–1008.
- [178] Mogami, G.; Wazawa, T.; Morimoto, N.; Kodama, T.; Suzuki, M. Hydration Properties of Adenosine Phosphate Series as Studied by Microwave Dielectric Spectroscopy. *Biophys. Chem.* **2011**, *154* (1), 1–7.
- [179] Shekaari, H.; Zafarani-Moattar, M. T.; Mirheydari, S. N. Thermodynamic Study of Aspirin in the Presence of Ionic Liquid, 1-Hexyl-3-Methylimidazolium Bromide in Acetonitrile at $T=(288.15\text{ to }318.15)\text{ K}$. *J. Mol. Liq.* **2015**, *209*, 138–148.
- [180] Shekaari, H.; Zafarani-Moattar, M. T.; Mirheydari, S. N. Thermodynamic Properties of 1-Butyl-3-Methylimidazolium Salicylate as an Active Pharmaceutical Ingredient Ionic Liquid (API-IL) in Aqueous Solutions of Glycine and L-Alanine at $T=(288.15\text{--}318.15)\text{ K}$. *Thermochim. Acta* **2016**, *637*, 51–68.
- [181] Gupta, J.; Nain, A. K. Molecular Interactions of Gentamicin Sulphate in Aqueous-l-Asparagine/l-Glutamine Solutions at Different Temperatures: Volumetric, Acoustic and Viscometric Properties. *J. Mol. Liq.* **2019**, *293*, 111547.
- [182] Lepori, L.; Gianni, P. Partial Molar Volumes of Ionic and Nonionic Organic Solutes in Water: A Simple Additivity Scheme Based on the Intrinsic Volume Approach. *J. Solut. Chem.* **2000**, *29* (5), 405–447.
- [183] Kikuchi, M.; Sakurai, M.; Nitta, K. Partial Molar Volumes and Isentropic Compressibilities of N-Acetyl Amino Acid Amides in Dilute Aqueous Solutions at (5, 15, 25, 35, and 45) °C. *J. Chem. Eng. Data* **1996**, *41* (6), 1439–1445.

- [184] Jensen, J. H.; Gordon, M. S. On the Number of Water Molecules Necessary To Stabilize the Glycine Zwitterion. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117* (31), 8159–8170.
- [185] Degtyarenko, I. M.; Jalkanen, K. J.; Gurtovenko, A. A.; Nieminen, R. M. L-Alanine in a Droplet of Water: A Density-Functional Molecular Dynamics Study. *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111* (16), 4227–4234.
- [186] Zhao, H. Viscosity B-Coefficients and Standard Partial Molar Volumes of Amino Acids, and Their Roles in Interpreting the Protein (Enzyme) Stabilization. *Biophys. Chem.* **2006**, *122* (3), 157–183.
- [187] King, M. D.; Blanton, T. N.; Misture, S. T.; Korter, T. M. Prediction of the Unknown Crystal Structure of Creatine Using Fully Quantum Mechanical Methods. *Cryst. Growth Des.* **2011**, *11* (12), 5733–5740.
- [188] Remsungnen, T.; Rode, B. M. Molecular dynamics simulation of the hydration of transition metal ions: the role of non-additive effects in the hydration shells of Fe^{2+} and Fe^{3+} ions. *Chem. Phys. Lett.* **2004**, *385*, 491–497.
- [189] Howard, A. N.; Harris, R. C. Compositions Containing Creatine. US5968544A, October 19, 1999.
- [190] Thirumalai, D.; Reddy, G.; Straub, J. E. Role of Water in Protein Aggregation and Amyloid Polymorphism. *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45* (1), 83–92.
- [191] Sun, P.; Liu, Y.; Du, S.; Yu, B.; Wang, Y.; Sun, M.; Shi, P.; Liu, Y.; Gong, J. Temperature Dependent Solubility of β -alanine in Different Binary Solvents from 288.15 K to 323.15 K: Measurement and Thermodynamic Modeling. *J. Mol. Liq.* **2017**, *232*, 522–531.
- [192] Liu, Y.; Wang, Y.; Liu, Y.; Xu, S.; Chen, M.; Du, S.; Gong, J. Solubility of L-Histidine in Different Aqueous Binary Solvent Mixtures from 283.15 K to 318.15 K with Experimental Measurement and Thermodynamic Modelling. *J. Chem. Thermodyn.* **2017**, *105*, 1–14.
- [193] Sousa, J. C. F.; Lima, R. J. C.; Filho, P. F. F.; Santos, A. O. D.; Freire, P. T. C. High-Temperature Study of Beta-Alanine Crystals. *Vib. Spectrosc.* **2017**, *C* (89), 69–74.

- [194] Weiss, I. M.; Muth, C.; Drumm, R.; Kirchner, H. O. K. Thermal Decomposition of the Amino Acids Glycine, Cysteine, Aspartic Acid, Asparagine, Glutamic Acid, Glutamine, Arginine and Histidine. *BMC Biophysics* **2018**, *11* (1), 2.
- [195] Éhen, Zs.; Novák, Cs.; Sztatisz, J.; Bene, O. Thermal Characterization of Hair Using TG-MS Combined Thermoanalytical Technique. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2004**, *78* (2), 427–440.
- [196] Mishra, A. K.; Ahluwalia, J. C. Apparent Molal Volumes of Amino Acids, N-Acetylamino Acids, and Peptides in Aqueous Solutions. *J. Phys. Chem.* **1984**, *88* (1), 86–92.
- [197] Meggy, A. B. The Free Energy of Formation of the Amide Bond in Polyamides. *J. Appl. Chem.* **1954**, *4* (4), 154–159.
- [198] Yan, Z.; Wang, J.; Liu, W.; Lu, J. Apparent Molar Volumes and Viscosity B-Coefficients of Some α -Amino Acids in Aqueous Solutions from 278.15 to 308.15K. *Thermochim. Acta* **1999**, *334* (1), 17–27.
- [199] Birch, G. G.; Parke, S.; Siertsema, R.; Westwell, J. M. Specific Volumes and Sweet Taste. *Food Chem.* **1996**, *56* (3), 223–230.
- [200] Marcus, Y. Thermodynamics of Solvation of Ions at 298,15 K. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1993**, *89*, 713–718.
- [201] Millero, F. J. The Molal Volumes of Electrolytes. *Chem. Rev.* **1971**, *147* (2), 147–176.
- [202] Shahidi, F. Partial Molar Volumes of Phenalkylamines and Their Physiologically Active Derivatives in Water. *Can. J. Chem.* **1987**, *65* (8), 1924–1926.
- [203] Birch, G.; Parke, S.; Siertsema, R.; Westwell, J. Importance of Molar Volumes and Related Parameters in Sweet Taste Chemoreception. *Pure & Appl. Chem.* **1997**, *69*, 685–692.
- [204] Desnoyers, J. E.; Arel, M. Apparent Molal Volumes of N-Alkylamine Hydrobromides in Water at 25°C: Hydrophobic Hydration and Volume Changes. *Can. J. Chem.* **1967**, *45* (4), 359–366.
- [205] Nemeth, G. Hydrophobic Interactions. *Angew. Chem.* **1967**, *6*, 195–280.

- [206] Kumar, H.; Behal, I. Thermodynamics of (Solute+solute) and (Solute+solvent) Interactions of Homologous Series of Amino Acids with Thiamine Hydrochloride in Aqueous Medium at T=(305.15, 310.15, 315.15) K: A Volumetric and Acoustic Approach. *J. Chem. Thermodyn.* **2016**, *C* (102), 48–62.
- [207] Banipal, P. K.; Sharma, M.; Banipal, T. S. Solvation Behavior and Sweetness Response of Carbohydrates, Their Derivatives and Sugar Alcohols in Thiamine HCl (Vitamin B1) and Pyridoxine HCl (Vitamin B6) at Different Temperatures. *Food Chem.* **2017**, *237*, 181–190.
- [208] Banipal, P. K.; Aggarwal, N.; Banipal, T. S. Effects of Phosphate-Based Monobasic and Tribasic Inorganic Salts on Hydration Characteristics of Saccharides and Their Derivatives. *J. Mol. Liq.* **2015**, *211*, 78–89.
- [209] Gharsallaoui, A.; Rogé, B.; Genotelle, J.; Mathlouthi, M. Relationships between Hydration Number, Water Activity and Density of Aqueous Sugar Solutions. *Food Chem.* **2008**, *106*, 1443–1453.
- [210] Rudan-Tasic, D.; Klofutar, C. Volumetric Properties of Aqueous Solutions of Some Cyclohexylsulfamates at 25.0 °C. *Food Chem.* **2004**, *3* (84), 351–357.
- [211] Kumar, A.; Rani, R.; Saini, B.; Bamezai, R. K. Thermophysical Properties and Taste Behavior of L-Serine/l-Valine in Aqueous Glucose, Sucrose and Lactose Solutions at Different Temperatures. *J. Mol. Liq.* **2017**, *241*, 237–245.
- [212] Mathlouthi, M.; Seuvre, A.-M. Solution Properties and the Sweet Taste of Small Carbohydrates. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1* **1988**, *84* (8), 2641–2650.
- [213] Portmann, M. O.; Birch, G. Sweet Taste and Solution Properties of Alpha,Alpha-Trehalose. *J. Sci. Food Agric.* **1995**, *69* (3), 275–281.
- [214] Kemp, S. E.; Birch, G. G.; Portmann, M. O.; Mathlouthi, M. Intrinsic Viscosities and Apparent Specific Volumes of Amino Acids and Sugars. “Effective Size” and Taste of Sapid Molecules. *J. Sci. Food Agric.* **1990**, *51*, 97–107.

- [215] Aroulmoji, V.; Hutteau, F.; Mathlouthi, M.; Rutledge, D. N. Hydration Properties and the Role of Water in Taste Modalities of Sucrose, Caffeine, and Sucrose-Caffeine Mixtures. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49* (8), 4039–4045.
- [216] Mathur, M. Insilico Studies on Taste Receptor Gene (Tas2r38) and Tas2r38 Protein Interaction with Ligands PTC and PROP Using Docking Approach. *IJARIT*. **2017**, *3*, 205–209.
- [217] Tan, J.; Abrol, R.; Trzaskowski, B.; Goddard, W. A. 3D Structure Prediction of TAS2R38 Bitter Receptors Bound to Agonists Phenylthiocarbamide (PTC) and 6-n-Propylthiouracil (PROP). *J. Chem. Inf. Model.* **2012**, *52* (7), 1875–1885.
- [218] Rossotti, F. J. C.; Rossotti, H. The determination of Stability Constants and Other Equilibrium Constants in Solution. McGraw-Hill Book Co., Inc., New York, 1961.
- [219] Zilbergleyt, B. Discrete Thermodynamics of Chemical Equilibria and Classical Limit in Thermodynamic Simulation. *Isr. J. Chem.* **2007**, *47*, 265–272.
- [220] Yillar, D.O.; Akcasu, A.; Akkan, G.; Küçkhüseyin, C. The Stability of Choline Ascorbate. *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* **2008**, *19*, 177–183.
- [221] Zürner, P.; Schmidt, H.; Bette, S.; Wagler, J.; Frisch, G. Ionic Liquid, Glass or Crystalline Solid? Structures and Thermal Behaviour of (C4mim)2CuCl3. *Dalton Trans.* **2016**, *45* (8), 3327–3333.
- [222] Zhao, L.; He, Z. J.; Tang, X. The Research on Glass Transition Temperature of Ionic Liquids Using DFT Method. *Adv. Mat. Res.* **2013**, *791–793*, 419–422.
- [223] Conway, B. E.; Verrall, R. E.; Desnoyers, J. E. Partial Molal Volumes of Tetraalkylammonium Halides and Assignment of Individual Ionic Contributions. *Trans. Faraday Soc.* **1966**, *62* (0), 2738–2749.
- [224] Četojević-Simin, D. D.; Armaković, S. J.; Šojić, D. V.; Abramović, B. F. Toxicity Assessment of Metoprolol and Its Photodegradation Mixtures Obtained by Using Different Type of TiO2 Catalysts in the Mammalian Cell Lines. *Sci. Total. Environ.* **2013**, *463–464*, 968–974.

- [225] Miwa, Y.; Hamamoto, H.; Ishida, T. Lidocaine Self-Sacrificially Improves the Skin Permeation of the Acidic and Poorly Water-Soluble Drug Etodolac via Its Transformation into an Ionic Liquid. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2016**, *102*, 92–100.
- [226] Bica, K.; Rodríguez, H.; Gurau, G.; Andreea Cojocaru, O.; Riisager, A.; Fehrmann, R.; Rogers, R. D. Pharmaceutically Active Ionic Liquids with Solids Handling, Enhanced Thermal Stability, and Fast Release. *Chem. Commun.* **2012**, *48* (44), 5422.
- [227] Sheeba Sherlin, Y.; Vijayakumar, T.; Binoy, J.; Roy, S. D. D.; Jayakumar, V. S. Büchi's Model Based Analysis of Local Anesthetic Action in Procaine Hydrochloride: Vibrational Spectroscopic Approach. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2018**, *205*, 55–65.
- [228] Bernard, U. L.; Izgorodina, E. I.; MacFarlane, D. R. New Insights into the Relationship between Ion-Pair Binding Energy and Thermodynamic and Transport Properties of Ionic Liquids. *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114* (48), 20472–20478.
- [229] Borodin, O. Relation between Heat of Vaporization, Ion Transport, Molar Volume, and Cation–Anion Binding Energy for Ionic Liquids. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113* (36), 12353–12357.
- [230] Izgorodina, E. I.; Golze, D.; Maganti, R.; Armel, V.; Taige, M.; Schubert, T. J. S.; MacFarlane, D. R. Importance of Dispersion Forces for Prediction of Thermodynamic and Transport Properties of Some Common Ionic Liquids. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16* (16), 7209–7221.
- [231] Canongia Lopes, J. N. A.; Pádua, A. A. H. Nanostructural Organization in Ionic Liquids. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110* (7), 3330–3335.
- [232] Torres, D. R.; Blanco, L. H.; Martínez, F.; Vargas, E. F. Apparent Molal Volumes of Lidocaine–HCl and Procaine–HCl in Aqueous Solution as a Function of Temperature. *J. Chem. Eng. Data* **2007**, *52* (5), 1700–1703.

8. PRILOG

Tabela P1. Gustine, (d), viskoznosti, (η), relativne permitivnosti, (ε), čiste vode kao i molarne provodljivosti pri beskonačnom razblaženju jona salicilata, (λ_{∞}°), u vodi u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$T / (\text{K})$	$d [158] / (\text{g} \cdot \text{cm}^{-3})$	$10^3 \cdot \eta [158] / (\text{Pa} \cdot \text{s})$	$\varepsilon [147]$	$\lambda_{\infty}^{\circ} [158] / (\text{S} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1})$
278,15	0,999967	1,5192	85,897	20,14
283,15	0,999702	1,3069	83,945	23,42
288,15	0,999102	1,1382	82,039	26,91
293,15	0,998206	1,0020	80,176	30,61
298,15	0,997048	0,8903	78,358	34,46
303,15	0,995651	0,7975	76,581	38,50
308,15	0,994036	0,7195	74,846	42,66
313,15	0,992219	0,6531	73,151	46,77

Tabela P2. Gustine, (d), dodatne molarne zapremine, (V^E), prividne molarne zapremine, (V_{ϕ}), parcijalne molarne zapremine, (\bar{V}_i), molalitet, (m) i molski udeo (x_1), smeša {D-pantenol(1) + H₂O(2)} u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

x_1	$m / (\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1})$	$d / (\text{g} \cdot \text{cm}^{-3})$	$V^E / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$	$\bar{V}_2 / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$	$\bar{V}_1 / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$	$V_{\phi} / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$
$T = 293,15 \text{ K}$						
0,0000	0,0000	0,99821	0,0000	/	/	/
0,0036	0,1999	1,00495	-0,0198	18,05	170,54	170,65
0,0054	0,3002	1,00818	-0,0300	18,05	170,48	170,59
0,0071	0,3995	1,01130	-0,0404	18,05	170,40	170,50
0,0089	0,4997	1,01436	-0,0511	18,05	170,33	170,43
0,0107	0,6029	1,01742	-0,0622	18,05	170,26	170,37
0,0124	0,6994	1,02022	-0,0731	18,05	170,18	170,28
0,0142	0,7996	1,02306	-0,0847	18,05	170,09	170,19
0,0248	1,4103	1,03961	-0,1737	18,05	169,04	169,15
0,0310	1,8024	1,04902	-0,2420	18,06	168,63	168,74
0,0376	2,1681	1,05592	-0,2641	18,06	169,02	169,13
0,0501	2,9286	1,06898	-0,3405	18,01	169,36	169,36
0,0996	/	1,10282	-0,5459	17,86	170,54	170,65
0,1997	/	1,13436	-0,7775	17,58	174,12	172,26
0,2495	/	1,14194	-0,8104	17,39	174,75	172,91
0,2871	/	1,14656	-0,8434	17,26	175,12	173,22
0,3420	/	1,15105	-0,8371	17,08	175,51	173,71
0,4007	/	1,15455	-0,8149	16,92	175,79	174,12
0,4958	/	1,15852	-0,7573	16,74	176,01	174,63
0,5944	/	1,16064	-0,6149	16,67	176,08	175,12
0,7080	/	1,16275	-0,4853	16,66	176,09	175,47

0,8067	/	1,16358	-0,3004	16,62	176,10	175,78
0,8753	/	1,16426	-0,1991	16,50	176,12	175,93
1,0000	/	1,16518	0,0000	/	/	/

$T = 298,15 \text{ K}$

0,0000	0,0000	0,99705	0,0000	/	/	/
0,0036	0,1999	1,00369	-0,0194	18,07	171,29	171,31
0,0054	0,3002	1,00688	-0,0294	18,07	171,21	171,22
0,0071	0,3995	1,00995	-0,0395	18,07	171,14	171,16
0,0089	0,4997	1,01297	-0,0501	18,07	171,06	171,08
0,0107	0,6029	1,01600	-0,0613	18,07	170,97	170,99
0,0124	0,6994	1,01876	-0,0719	18,07	170,89	170,91
0,0142	0,7996	1,02157	-0,0835	18,07	170,79	170,81
0,0248	1,4103	1,03784	-0,1703	18,07	169,80	169,82
0,0310	1,8024	1,04669	-0,2283	18,07	169,69	169,71
0,0376	2,1681	1,05381	-0,2569	18,07	169,84	169,85
0,0501	2,9286	1,06660	-0,3299	18,03	171,61	170,50
0,0996	/	1,09984	-0,5246	17,91	171,53	171,55
0,1997	/	1,13090	-0,7508	17,61	174,76	173,01
0,2495	/	1,13820	-0,7723	17,43	175,36	173,65
0,2871	/	1,14290	-0,8103	17,31	175,71	173,91
0,3420	/	1,14723	-0,7951	17,14	176,08	174,40
0,4007	/	1,15087	-0,7825	16,99	176,33	174,76
0,4958	/	1,15487	-0,7286	16,84	176,52	175,24
0,5944	/	1,15716	-0,6039	16,78	176,58	175,68
0,7080	/	1,15925	-0,4762	16,77	176,58	176,02
0,8067	/	1,16022	-0,3118	16,69	176,61	176,30
0,8753	/	1,16086	-0,2086	16,51	176,64	176,45
1,0000	/	1,16168	0,0000	/	/	/

$T = 303,15 \text{ K}$

0,0000	0,0000	0,99565	0,0000	/	/	/
0,0036	0,1999	1,00218	-0,0185	18,09	172,05	172,07
0,0054	0,3002	1,00533	-0,0284	18,09	171,92	171,94
0,0071	0,3995	1,00835	-0,0381	18,09	171,86	171,88
0,0089	0,4997	1,01134	-0,0486	18,09	171,75	171,76
0,0107	0,6029	1,01432	-0,0594	18,09	171,67	171,68
0,0124	0,6994	1,01707	-0,0702	18,09	171,55	171,57
0,0142	0,7996	1,01984	-0,0815	18,09	171,45	171,47
0,0248	1,4103	1,03587	-0,1663	18,10	170,48	170,49
0,0310	1,8024	1,04471	-0,2259	18,10	170,28	170,30
0,0376	2,1681	1,05155	-0,2498	18,10	170,55	170,56
0,0501	2,9286	1,06445	-0,3282	18,054	172,28	171,54
0,0996	/	1,09670	-0,5007	17,96	172,49	172,51
0,1997	/	1,12726	-0,7169	17,63	175,42	173,80
0,2495	/	1,13468	-0,7447	17,47	176,01	174,36
0,2871	/	1,13920	-0,7738	17,35	176,34	174,63
0,3420	/	1,14340	-0,7501	17,19	176,68	175,10
0,4007	/	1,14690	-0,7263	17,06	176,91	175,46

0,4958	/	1,15108	-0,6833	16,93	177,06	175,87
0,5944	/	1,15351	-0,5698	16,91	177,09	176,28
0,7080	/	1,15576	-0,4597	16,92	177,08	176,57
0,8067	/	1,15674	-0,2980	16,83	177,11	176,85
0,8753	/	1,15746	-0,2068	16,61	177,15	176,98
1,0000	/	1,15827	0,0000	/	/	/
$T = 308,15 \text{ K}$						
0,0000	0,0000	0,99404	0,0000	/	/	/
0,0036	0,1999	1,00046	-0,0174	18,12	172,87	172,88
0,0054	0,3002	1,00356	-0,0268	18,12	172,72	172,74
0,0071	0,3995	1,00655	-0,0364	18,12	172,60	172,62
0,0089	0,4997	1,00950	-0,0467	18,12	172,47	172,49
0,0107	0,6029	1,01245	-0,0573	18,12	172,37	172,38
0,0124	0,6994	1,01514	-0,0676	18,12	172,27	172,29
0,0142	0,7996	1,01789	-0,0789	18,12	172,14	172,16
0,0248	1,4103	1,03367	-0,1609	18,12	171,20	171,22
0,0310	1,8024	1,04243	-0,2201	18,12	170,97	170,99
0,0376	2,1681	1,04907	-0,2408	18,12	171,29	171,31
0,0501	2,9286	1,06219	-0,3267	18,08	172,96	172,63
0,0996	/	1,09345	-0,4752	18,01	173,49	173,51
0,1997	/	1,12364	-0,6834	17,50	176,09	174,59
0,2495	/	1,13090	-0,7028	17,38	176,67	175,12
0,2871	/	1,13541	-0,7302	17,23	176,99	175,36
0,3420	/	1,13969	-0,7095	17,11	177,31	175,78
0,4007	/	1,14302	-0,6720	17,02	177,51	176,15
0,4958	/	1,14704	-0,6107	17,03	177,63	176,56
0,5944	/	1,14972	-0,5140	17,09	177,63	176,90
0,7080	/	1,15216	-0,4207	17,02	177,60	177,15
0,8067	/	1,15327	-0,2736	16,81	177,62	177,39
0,8753	/	1,15396	-0,1783	17,50	177,65	177,52
1,0000	/	1,15496	0,0000	/	/	/
$T = 313,15 \text{ K}$						
0,0000	0,0000	0,99222	0,0000	/	/	/
0,0036	0,1999	0,99850	-0,0158	18,16	173,85	173,87
0,0054	0,3002	1,00153	-0,0244	18,16	173,71	173,73
0,0071	0,3995	1,00449	-0,0339	18,16	173,50	173,52
0,0089	0,4997	1,00740	-0,0438	18,16	173,33	173,35
0,0107	0,6029	1,01032	-0,0543	18,16	173,18	173,20
0,0124	0,6994	1,01299	-0,0644	18,16	173,06	173,08
0,0142	0,7996	1,01572	-0,0758	18,16	172,90	172,92
0,0248	1,4103	1,03128	-0,1561	18,16	171,94	171,96
0,0310	1,8024	1,03983	-0,2120	18,16	171,77	171,79
0,0376	2,1681	1,04645	-0,2333	18,16	172,03	172,05
0,0501	2,9286	1,05996	-0,3311	18,11	173,62	173,71
0,0996	/	1,09055	-0,4512	18,06	174,38	174,40
0,1997	/	1,11993	-0,6545	17,69	176,74	175,41
0,2495	/	1,12721	-0,6751	17,53	177,31	175,88

0,2871	/	1,13152	-0,6917	17,41	177,63	176,12
0,3420	/	1,13587	-0,6740	17,27	177,94	176,49
0,4007	/	1,13925	-0,6390	17,16	178,14	176,82
0,4958	/	1,14329	-0,5783	17,08	178,24	177,20
0,5944	/	1,14577	-0,4608	17,11	178,21	177,55
0,7080	/	1,14824	-0,3667	17,21	178,16	177,78
0,8067	/	1,14957	-0,2440	17,18	178,17	177,98
0,8753	/	1,15030	-0,1537	17,01	178,20	178,09
1,0000	/	1,15146	0,0000	/	/	/

Standardne nesigurnosti: $u(d) = 7,610^{-4} \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$, $u(m) = 1,0\cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$, $u(x) = 0,002$ $u(T) = 0,015 \text{ K}$, $u(V_\phi) = 9,8 \text{ cm}^3\cdot\text{mol}^{-1}$, $u(V_1) = 8,5 \text{ cm}^3\cdot\text{mol}^{-1}$; $u(V_2) = 4,5 \text{ cm}^3\cdot\text{mol}^{-1}$

Tabela P3. Redlich-Kister-ovi koeficijenti fita (jednačina (3.18)), A_i za V^E vrednosti smeša {D-pantenol + H₂O} u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$ sa devijacijom fita, (σ), i koeficijentom korelacije, (R^2).

$T /$ (K)	$A_0 /$ ($\text{cm}^3\cdot\text{mol}^{-1}$)	$A_1 /$ ($\text{cm}^3\cdot\text{mol}^{-1}$)	$A_2 /$ ($\text{cm}^3\cdot\text{mol}^{-1}$)	$\sigma /$ ($\text{cm}^3\cdot\text{mol}^{-1}$)	R^2
293,15	-2,8985	2,3441	-1,6096	0,02050	0,9951
298,15	-2,7912	2,1430	-1,6910	0,01879	0,9953
303,15	-2,6172	2,0278	-1,8062	0,01770	0,9948
308,15	-2,3822	2,0225	-1,8966	0,01770	0,9943
313,15	-2,2119	2,0816	-1,8133	0,01829	0,9940

Tabela P4. Viskoznosti čistog D-pantenola, (η_p), i viskoznost smeša {D-pantenol + H₂O}, (η), na različitim molalitetima D-pantenola, (m), u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$m /$ ($\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$)	$T /$ (K)				
	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15
	$\eta \cdot 10^3 /$ (Pa·s)				
0,0100	1,009	0,896	0,803	0,724	0,657
0,0500	1,039	0,923	0,826	0,744	0,675
0,1001	1,078	0,957	0,855	0,769	0,697
0,1989	1,159	1,027	0,917	0,822	0,743
0,3002	1,246	1,100	0,980	0,877	0,791
0,4006	1,334	1,173	1,045	0,932	0,839
0,4997	1,421	1,253	1,105	0,990	0,887
$\eta_p \cdot 10^3 /$ (Pa·s)	522482	263943	125073	67035	37252

Relativna standardna nesigurnost: $u_r(\eta) = 0,01$;

Standardne nesigurnosti: $u(T) = 0,015 \text{ K}$, $u(m) = 1,0\cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$

Tabela P5. Vrednosti viskoznosti čistog D-pantenola, (η_p), napona smicanja, brzine smicanja i brzina obrtaja po minuti, (ν), vretena na $T = 308,15$ K.

$\nu /$ (RPM)	$\eta_p \cdot 10^3 /$ (Pa·s)	Napon smicanja / (N·m ⁻²)	Brzina smicanja / (s ⁻¹)
2,0	68187	28,28	0,41
3,0	68387	42,57	0,62
4,0	68487	56,86	0,83
5,0	68187	70,71	1,04
6,0	67887	84,41	1,24
7,5	67907	105,5	1,55
8,0	67887	112,5	1,66

Relativna standardna nesigurnost: $u_r(\eta) = 0,01$;

Standardna nesigurnost: $u(T) = 0,015$ K

Tabela P6. Gustine, (d), za vodene rastvore kofeina i ATP vodene rastvore kofeina na različitim molalitetima, (m), i u temperaturnom opsegu od $T = (283,15$ do $313,15)$ K.

$m /$ (mol·kg ⁻¹)	$d / (\text{g} \cdot \text{cm}^{-3})$						
$T / (\text{K})$	283,15	288,15	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15
Vodeni rastvori kofeina							
0,0100	1,000259	0,999651	0,998747	0,997583	0,996179	0,994558	0,992737
0,0201	1,000798	1,000183	0,999272	0,998101	0,996689	0,995063	0,993236
0,0300	1,001325	1,000701	0,999784	0,998606	0,997191	0,995558	0,993725
0,0400	1,001854	1,001223	1,000299	0,999115	0,997693	0,996054	0,994216
0,0451	1,002132	1,001497	1,000569	0,999381	0,997956	0,996315	0,994475
0,0500	1,002395	1,001757	1,000825	0,999635	0,998207	0,996564	0,994720
0,0599	1,002928	1,002283	1,001346	1,000149	0,998715	0,997066	0,995217
0,0700	1,003462	1,002811	1,001868	1,000665	0,999226	0,997571	0,995717
0,0800	1,003997	1,003339	1,002389	1,001180	0,999736	0,998076	0,996217
0,1 ATP vodeni rastvori kofeina							
0,0000	1,032109	1,031265	1,030156	1,028812	1,027253	1,025496	1,023554
0,0163	1,032899	1,032042	1,030918	1,029564	1,027992	1,026225	1,024273
0,0218	1,033162	1,032298	1,031169	1,029814	1,028239	1,026469	1,024513
0,0326	1,033676	1,032802	1,031671	1,030304	1,028724	1,026948	1,024987
0,0434	1,034181	1,033301	1,032164	1,030790	1,029204	1,027423	1,025456
0,0542	1,034676	1,033790	1,032646	1,031267	1,029675	1,027888	1,025916
0,0583	1,034865	1,033976	1,032831	1,031449	1,029855	1,028066	1,026092
0,0652	1,035178	1,034285	1,033141	1,031751	1,030154	1,028364	1,026385
0,0755	1,035660	1,034765	1,033612	1,032221	1,030615	1,028815	1,026831
0,0870	1,036171	1,035271	1,034108	1,03271	1,031103	1,029299	1,027313

Standardne nesigurnosti: $u(d) = 3,04 \cdot 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, $u(m) = 3,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, $u(T) = 0,015$ K

Tabela P7. Prividne molarne zapremine, (V_{ϕ}), za vodene rastvore kofeina i ATP vodene rastvore kofeina na različitim molalitetima, (m), i u temperaturnom opsegu od $T = (283,15$ do $313,15)$ K.

$m /$ ($\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$V_{\phi} / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$						
$T / (\text{K})$	283,15	288,15	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15
Vodeni rastvori kofeina							
0,0100	140,99	141,95	142,93	143,54	144,38	145,14	145,82
0,0201	140,79	141,64	142,52	143,22	144,11	144,81	145,54
0,0300	140,74	141,63	142,45	143,19	143,92	144,68	145,43
0,0400	140,76	141,61	142,42	143,16	143,92	144,68	145,41
0,0451	140,51	141,37	142,19	142,94	143,70	144,44	145,15
0,0500	140,45	141,29	142,11	142,85	143,60	144,32	145,06
0,0599	140,37	141,19	141,98	142,72	143,48	144,20	144,94
0,0700	140,37	141,17	141,94	142,68	143,41	144,14	144,87
0,0800	140,24	141,03	141,81	142,54	143,27	143,99	144,71
0,1 ATP vodeni rastvori kofeina							
0,0000	238,87	241,12	243,08	244,75	246,21	247,46	248,57
0,0163	142,51	143,32	144,32	145,04	145,95	146,71	147,50
0,0218	142,58	143,51	144,50	145,12	145,97	146,72	147,53
0,0326	142,79	143,72	144,48	145,28	146,05	146,79	147,54
0,0434	143,07	143,93	144,65	145,44	146,19	146,90	147,65
0,0542	143,30	144,11	144,83	145,58	146,32	147,03	147,76
0,0583	143,39	144,19	144,89	145,65	146,37	147,08	147,80
0,0652	143,53	144,31	144,94	145,74	146,46	147,12	147,86
0,0755	143,53	144,25	144,91	145,64	146,39	147,11	147,85
0,0870	143,73	144,42	145,12	145,85	146,54	147,23	147,92

Standardne nesigurnosti: $u(m) = 3,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, $u(T) = 0,015 \text{ K}$, $u(V_{\phi}) = 8,2 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$

Tabela P8. Koeficijenti fita iz jednačine (3.30) a_0 , a_1 i a_2 za vodene rastvore kofeina i ATP vodene rastvore kofeina sa koeficijentom korelacije, (R^2).

m (ATP) / ($\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$a_0 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	$a_1 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)	$a_2 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2}$)	R^2
0,0000	23,75	0,6436	-0,0008095	0,9988
0,1001	27,90	0,6156	-0,0007460	0,9989

Tabela P9. Vrednosti viskoznosti, (η), za vodene rastvore kofeina i ATP vodene rastvore na različitim molalitetima, (m), i u temperaturnom opsegu od $T = (283,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$m /$ ($\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$\eta / (\text{mPa} \cdot \text{s})$						
$T / (\text{K})$	283,15	288,15	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15
Vodeni rastvori kofeina							
0,0201	1,315	1,143	1,007	0,892	0,799	0,720	0,652
0,0300	1,320	1,149	1,010	0,897	0,802	0,723	0,655
0,0400	1,324	1,153	1,013	0,901	0,805	0,725	0,657
0,0500	1,329	1,158	1,018	0,903	0,809	0,728	0,660
0,0599	1,333	1,161	1,022	0,907	0,812	0,732	0,663
0,0700	1,340	1,166	1,027	0,910	0,815	0,735	0,665
0,0800	1,346	1,171	1,031	0,916	0,819	0,738	0,669
0,1 ATP vodeni rastvori kofeina							
0,0218	1,597	1,395	1,229	1,094	0,974	0,870	0,786
0,0326	1,603	1,395	1,233	1,094	0,976	0,875	0,789
0,0434	1,617	1,407	1,237	1,099	0,978	0,876	0,796
0,0542	1,620	1,408	1,237	1,098	0,980	0,879	0,798
0,0652	1,625	1,415	1,242	1,104	0,981	0,882	0,800
0,0755	1,627	1,417	1,244	1,106	0,985	0,885	0,801
0,0870	1,631	1,419	1,247	1,106	0,987	0,887	0,803

Relativna standardna nesigurnost: $u_r(\eta) = 0,005$;

Standardne nesigurnosti: $u(T) = 0,015 \text{ K}$, $u(m) = 3,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$

Tabela P10. Gustine, (d), parcijalne molarne zapremine kreatina, (\bar{V}_1) i vode, (\bar{V}_2), i prividne molarne zapremine, (V_ϕ), za vodene rastvore kreatina na različitim molalitetima, (m), i u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$m /$ ($\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$d /$ ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$)	$\bar{V}_1 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	$\bar{V}_2 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	$V_\phi /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)
$T = 293,15 \text{ K}$				
0,0306	0,99951	88,96	18,05	88,63
0,0400	0,99990	89,19	18,05	88,81
0,0406	0,99993	89,06	18,05	88,69
0,0477	1,00023	89,07	18,05	88,67
0,0500	1,00033	89,06	18,05	88,64
0,0548	1,00053	89,14	18,05	88,71
0,0564	1,00059	89,27	18,05	88,83
0,0597	1,00073	89,21	18,05	88,75
0,0597	1,00073	89,23	18,05	88,78
0,0675	1,00106	89,25	18,05	88,76
0,0701	1,00117	89,24	18,05	88,74
0,0727	1,00127	89,34	18,05	88,84
0,0782	1,00150	89,35	18,05	88,83

0,0800	1,00158	89,32	18,05	88,79
0,0898	1,00198	89,46	18,05	88,90
0,0900	1,00199	89,45	18,05	88,89
0,0926	1,00210	89,43	18,05	88,86
0,1038	1,00256	89,53	18,05	88,93
0,1113	1,00287	89,56	18,05	88,94
0,1207	1,00325	89,67	18,05	89,02
0,1287	1,00358	89,68	18,05	89,01
0,1326	1,00374	89,71	18,05	89,03
<i>T</i> = 298,15 K				
0,0306	0,99833	89,45	18,07	89,34
0,0400	0,99872	89,50	18,07	89,37
0,0406	0,99874	89,62	18,07	89,49
0,0477	0,99904	89,49	18,07	89,35
0,0500	0,99913	89,64	18,07	89,50
0,0548	0,99933	89,65	18,07	89,50
0,0564	0,99940	89,57	18,07	89,42
0,0597	0,99953	89,64	18,07	89,48
0,0597	0,99953	89,66	18,07	89,51
0,0675	0,99986	89,58	18,07	89,42
0,0701	0,99996	89,69	18,07	89,52
0,0727	1,00007	89,62	18,07	89,45
0,0782	1,00029	89,71	18,07	89,53
0,0800	1,00037	89,66	18,07	89,48
0,0898	1,00077	89,71	18,07	89,51
0,0900	1,00078	89,69	18,07	89,50
0,0926	1,00089	89,65	18,07	89,46
0,1038	1,00135	89,68	18,07	89,47
0,1113	1,00165	89,75	18,07	89,54
0,1207	1,00204	89,72	18,07	89,50
0,1287	1,00236	89,76	18,07	89,53
0,1326	1,00252	89,77	18,07	89,54
<i>T</i> = 303,15 K				
0,0306	0,99690	89,67	18,09	90,40
0,0400	0,99728	89,61	18,09	90,45
0,0406	0,99731	89,46	18,09	90,30
0,0477	0,99760	89,36	18,09	90,27
0,0500	0,99769	89,44	18,09	90,37
0,0548	0,99789	89,32	18,10	90,30
0,0564	0,99796	89,21	18,10	90,20
0,0597	0,99809	89,21	18,10	90,23
0,0597	0,99809	89,23	18,10	90,25
0,0675	0,99841	89,15	18,10	90,23
0,0701	0,99852	89,06	18,10	90,16
0,0727	0,99863	88,95	18,10	90,07
0,0782	0,99885	88,95	18,10	90,12
0,0800	0,99893	88,87	18,10	90,05

0,0898	0,99934	88,67	18,10	89,92
0,0900	0,99934	88,77	18,10	90,02
0,0926	0,99945	88,69	18,10	89,96
0,1038	0,99992	88,49	18,10	89,83
0,1113	1,00023	88,40	18,10	89,79
0,1207	1,00062	88,28	18,10	89,73
0,1287	1,00096	88,11	18,10	89,60
0,1326	1,00112	88,09	18,10	89,61
$T = 308,15 \text{ K}$				
0,0306	0,99523	90,60	18,12	92,46
0,0400	0,99560	90,17	18,12	92,30
0,0406	0,99563	89,98	18,12	92,13
0,0477	0,99591	89,73	18,13	92,05
0,0500	0,99600	89,70	18,13	92,08
0,0548	0,99620	89,37	18,13	91,86
0,0564	0,99626	89,37	18,13	91,90
0,0597	0,99639	89,24	18,13	91,84
0,0597	0,99639	89,26	18,13	91,86
0,0675	0,99671	88,90	18,13	91,66
0,0701	0,99682	88,72	18,13	91,54
0,0727	0,99692	88,68	18,13	91,55
0,0782	0,99715	88,39	18,13	91,37
0,0800	0,99722	88,39	18,13	91,40
0,0898	0,99763	87,94	18,13	91,13
0,0900	0,99764	87,92	18,13	91,11
0,0926	0,99774	87,90	18,13	91,14
0,1038	0,99821	87,46	18,13	90,89
0,1113	0,99853	87,14	18,13	90,69
0,1207	0,99893	86,79	18,13	90,48
0,1287	0,99926	86,57	18,13	90,39
0,1326	0,99943	86,42	18,13	90,30
$T = 313,15 \text{ K}$				
0,0306	0,99335	91,20	18,16	94,55
0,0400	0,99370	90,61	18,16	94,44
0,0406	0,99373	90,37	18,16	94,23
0,0477	0,99400	89,89	18,16	94,07
0,0500	0,99409	89,72	18,16	94,01
0,0548	0,99428	89,33	18,16	93,81
0,0564	0,99435	89,07	18,16	93,62
0,0597	0,99447	88,96	18,16	93,64
0,0597	0,99448	88,81	18,16	93,49
0,0675	0,99479	88,29	18,16	93,27
0,0701	0,99489	88,17	18,16	93,24
0,0727	0,99500	87,88	18,16	93,05
0,0782	0,99522	87,54	18,16	92,89
0,0800	0,99530	87,35	18,16	92,77
0,0898	0,99571	86,62	18,17	92,36

0,0900	0,99571	86,71	18,17	92,45
0,0926	0,99582	86,51	18,17	92,33
0,1038	0,99630	85,70	18,17	91,87
0,1113	0,99662	85,22	18,17	91,60
0,1207	0,99703	84,60	18,17	91,25
0,1287	0,99739	84,01	18,17	90,88
0,1326	0,99756	83,80	18,17	90,77

Proširene ($k=2$) nesigurnosti: $U(d) = 1,4 \cdot 10^3 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, $U(m) = 6,9 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, $U(T) = 0,030 \text{ K}$, $U(V_1) = 1,6 \cdot 10^{-2} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$; $U(V_2) = 9,6 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$, $U(V_\phi) = 1,7 \cdot 10^{-2} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$

Tabela P11. Gustine, (d), parcijalne molarne zapremine kreatinina, (\bar{V}_1), i vode, (\bar{V}_2), i prividne molarne zapremine, (V_ϕ), za vodene rastvore kreatinina na različitim molalitetima, (m), i u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$m /$ ($\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$d /$ ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$)	$\bar{V}_1 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	$\bar{V}_2 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	$V_\phi /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)
$T = 293,15 \text{ K}$				
0,1001	1,00116	83,45	18,05	83,50
0,1470	1,00253	83,42	18,05	83,48
0,2020	1,00412	83,40	18,05	83,47
0,2500	1,00550	83,37	18,05	83,45
0,3023	1,00699	83,35	18,05	83,44
0,3496	1,00833	83,34	18,05	83,43
0,4028	1,00983	83,30	18,05	83,40
0,5014	1,01257	83,27	18,05	83,38
0,5514	1,01395	83,24	18,05	83,36
0,6018	1,01533	83,22	18,05	83,34
0,6087	1,01552	83,21	18,05	83,34
0,6491	1,01662	83,19	18,05	83,32
$T = 298,15 \text{ K}$				
0,1001	0,99995	83,97	18,07	84,05
0,1470	1,00129	83,98	18,07	84,08
0,2020	1,00286	83,91	18,07	84,02
0,2500	1,00422	83,87	18,07	84,00
0,3023	1,00569	83,83	18,07	83,97
0,3496	1,00701	83,80	18,07	83,95
0,4028	1,00848	83,78	18,07	83,94
0,5014	1,01120	83,69	18,07	83,87
0,5514	1,01256	83,66	18,07	83,85
0,6018	1,01393	83,62	18,07	83,81
0,6087	1,01411	83,62	18,07	83,82
0,6491	1,01521	83,57	18,07	83,78
$T = 303,15 \text{ K}$				
0,1001	0,99849	84,58	18,09	84,73
0,1470	0,99982	84,46	18,09	84,63

0,2020	1,00137	84,34	18,09	84,55
0,2500	1,00271	84,29	18,10	84,52
0,3023	1,00416	84,23	18,10	84,48
0,3496	1,00548	84,13	18,10	84,41
0,4028	1,00694	84,08	18,10	84,37
0,5014	1,00963	83,96	18,10	84,29
0,5514	1,01097	83,93	18,10	84,28
0,6018	1,01234	83,86	18,10	84,22
0,6087	1,01253	83,84	18,10	84,20
0,6491	1,01361	83,80	18,10	84,17
<i>T</i> = 308,15 K				
0,1001	0,99682	85,28	18,12	85,48
0,1470	0,99813	85,07	18,12	85,31
0,2020	0,99964	84,98	18,12	85,27
0,2500	1,00097	84,84	18,12	85,16
0,3023	1,00240	84,74	18,13	85,09
0,3496	1,00370	84,63	18,13	85,01
0,4028	1,00513	84,58	18,13	84,98
0,5014	1,00779	84,42	18,13	84,87
0,5514	1,00912	84,36	18,13	84,83
0,6018	1,01048	84,25	18,13	84,75
0,6087	1,01065	84,26	18,13	84,76
0,6491	1,01172	84,21	18,13	84,72
<i>T</i> = 313,15 K				
0,1001	0,99494	85,92	18,16	86,20
0,1470	0,99621	85,77	18,16	86,12
0,2020	0,99769	85,63	18,16	86,04
0,2500	0,99900	85,43	18,16	85,88
0,3023	1,00043	85,21	18,16	85,71
0,3496	1,00171	85,08	18,16	85,62
0,4028	1,00312	85,00	18,16	85,57
0,5014	1,00576	84,76	18,16	85,40
0,5514	1,00708	84,68	18,16	85,35
0,6018	1,00840	84,60	18,16	85,30
0,6087	1,00861	84,53	18,16	85,24
0,6491	1,00965	84,50	18,17	85,23

Proširene ($k=2$) nesigurnosti: $U(d) = 1,4 \cdot 10^3 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, $U(m) = 6,9 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, $U(T) = 0,030 \text{ K}$, $U(V_1) = 1,6 \cdot 10^{-2} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$; $U(V_2) = 9,6 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$, $U(V_\phi) = 1,7 \cdot 10^{-2} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$

Tabela P12. Koeficijenti fita iz jednačine (3.30) a_0 , a_1 i a_2 za vodene rastvore kreatina i kreatinina sa koeficijentom korelacije, (R^2).

Jedinjenje	$a_0/$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	$a_1/$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)	$a_2/$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2}$)	R^2
Kreatin	1261,53	-8,09	0,0139	0,9990
Kreatinin	192,76	-0,85	0,0016	0,9998

Tabela P13. Vrednosti viskoznosti, (η), za vodene rastvore kreatina i kreatinina na različitim molalitetima, (m), i u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$m /$ (mol·kg ⁻¹)	$T / (\text{K})$				
	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15
$\eta / (\text{mPa}\cdot\text{s})$ za kreatin					
0,0200	1,008	0,895	0,804	0,723	0,658
0,0300	1,011	0,898	0,806	0,727	0,659
0,0400	1,014	0,901	0,808	0,729	0,662
0,0500	1,017	0,904	0,810	0,731	0,664
0,0597	1,019	0,907	0,811	0,733	0,665
0,0701	1,024	0,910	0,817	0,737	0,669
0,0800	1,028	0,913	0,818	0,738	0,670
0,0900	1,033	0,917	0,823	0,740	0,672
$\eta / (\text{mPa}\cdot\text{s})$ za kreatinin					
0,2001	1,053	0,935	0,837	0,755	0,685
0,2999	1,077	0,956	0,856	0,772	0,700
0,3996	1,102	0,978	0,875	0,789	0,715
0,5002	1,126	0,999	0,894	0,806	0,730
0,6000	1,150	1,020	0,912	0,822	0,745
0,7000	1,173	1,040	0,930	0,838	0,759

Proširena relativna ($k=2$) nesigurnost: $U_r(\eta) = 0,019$

Proširene ($k=2$) nesigurnosti: $U(m) = 6,9 \cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$, $U(T) = 0,030 \text{ K}$

Tabela P14. Gustine, (d), za vodene rastvore β -alanina, L-histidina i L-karnozina na različitim molalitetima, (m), i u temperaturnom opsegu od $T = (283,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$m /$ (mol·kg ⁻¹)	$d / (\text{g}\cdot\text{cm}^{-3})$						
	$T / (\text{K})$	283,15	288,15	293,15	298,15	303,15	308,15
β -alanin							
0,0199	1,000365	0,999755	0,998854	0,997689	0,996288	0,994669	0,992851
0,0301	1,000690	1,000074	0,999169	0,998002	0,996598	0,994978	0,993158
0,0351	1,000849	1,000231	0,999324	0,998156	0,996751	0,995129	0,993309
0,0400	1,001007	1,000387	0,999478	0,998308	0,996902	0,995280	0,993459
0,0449	1,001162	1,000539	0,999628	0,998457	0,997050	0,995427	0,993605
0,0500	1,001324	1,000698	0,999786	0,998614	0,997205	0,995581	0,993759
0,0600	1,001642	1,001011	1,000096	0,998920	0,997509	0,995883	0,994059
0,0698	1,001952	1,001316	1,000397	0,999219	0,997805	0,996178	0,994353
0,0800	1,002270	1,001630	1,000708	0,999526	0,998111	0,996481	0,994654
0,0895	1,002569	1,001924	1,000998	0,999814	0,998396	0,996764	0,994937

0,0999	1,002899	1,002249	1,001319	1,000132	0,998712	0,997077	0,995248
L-histidin							
0,0200	1,000893	1,000276	0,999367	0,998197	0,996790	0,995166	0,993343
0,0300	1,001472	1,000847	0,999931	0,998755	0,997343	0,995715	0,993889
0,0349	1,001754	1,001125	1,000206	0,999027	0,997612	0,995983	0,994154
0,0400	1,002049	1,001415	1,000493	0,999311	0,997894	0,996262	0,994432
0,0449	1,002338	1,001701	1,000774	0,999590	0,998170	0,996536	0,994704
0,0500	1,002632	1,001990	1,001060	0,999873	0,998451	0,996815	0,994980
0,0600	1,003205	1,002556	1,001619	1,000425	0,998998	0,997359	0,995520
0,0700	1,003786	1,003129	1,002185	1,000986	0,999554	0,997909	0,996068
0,0795	1,004331	1,003666	1,002716	1,001511	1,000075	0,998426	0,996581
0,0850	1,004648	1,003979	1,003025	1,001817	1,000377	0,998726	0,996879
0,0900	1,004937	1,004263	1,003306	1,002095	1,000653	0,999000	0,997151
0,0963	1,005299	1,004621	1,003659	1,002445	1,001000	0,999344	0,997492
0,0999	1,005503	1,004822	1,003858	1,002642	1,001195	0,999537	0,997685
0,1099	1,006076	1,005389	1,004415	1,003192	1,001741	1,000079	0,998223
L-karnozin							
0,0199	1,001334	1,000711	0,999797	0,998624	0,997213	0,995588	0,993763
0,0300	1,002142	1,001508	1,000585	0,999404	0,997987	0,996356	0,994526
0,0349	1,002536	1,001896	1,000968	0,999784	0,998363	0,996729	0,994898
0,0396	1,002908	1,002262	1,001330	1,000142	0,998719	0,997082	0,995248
0,0500	1,003735	1,003078	1,002136	1,000942	0,999511	0,997868	0,996028
0,0600	1,004534	1,003865	1,002914	1,001711	1,000274	0,998627	0,996784
0,0699	1,005316	1,004635	1,003675	1,002465	1,001022	0,999369	0,997522
0,0796	1,006079	1,005387	1,004419	1,003202	1,001753	1,000095	0,998244
0,0898	1,006873	1,006169	1,005192	1,003968	1,002512	1,000848	0,998993
0,0997	1,007652	1,006937	1,005951	1,004720	1,003258	1,001589	0,999730
0,1200	1,009224	1,008486	1,007483	1,006238	1,004763	1,003083	1,001216

Standardne nesigurnosti: $u(d) = 2,63 \cdot 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, $u(m) = 3,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, $u(T) = 0,015 \text{ K}$

Tabela P15. Prividne molarne zapremine, (V_ϕ), za vodene rastvore β -alanina, L-histidina i L-karnozina na različitim molalitetima, (m), i u temperaturnom opsegu od $T = (283,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$m /$ ($\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$V_\phi / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$						
	$T / (\text{K})$	283,15	288,15	293,15	298,15	303,15	308,15
β -alanin							
0,0199	57,05	57,59	57,94	58,27	58,51	58,76	58,91
0,0301	57,05	57,62	57,99	58,28	58,56	58,77	58,96
0,0351	57,07	57,61	57,99	58,28	58,55	58,79	58,96
0,0400	57,08	57,61	57,99	58,30	58,57	58,79	58,97

0,0449	57,08	57,62	58,01	58,31	58,57	58,80	58,99
0,0500	57,10	57,64	58,02	58,31	58,59	58,82	58,99
0,0600	57,11	57,65	58,02	58,33	58,61	58,84	59,02
0,0698	57,13	57,67	58,04	58,35	58,63	58,85	59,03
0,0800	57,16	57,68	58,05	58,37	58,64	58,88	59,07
0,0895	57,18	57,70	58,08	58,39	58,67	58,91	59,08
0,0999	57,19	57,71	58,09	58,41	58,68	58,93	59,11
L-histidin							
0,0200	96,86	97,76	98,52	99,12	99,68	100,21	100,65
0,0300	96,87	97,74	98,50	99,12	99,68	100,19	100,61
0,0349	96,86	97,73	98,47	99,10	99,68	100,16	100,62
0,0400	96,85	97,74	98,47	99,09	99,66	100,16	100,60
0,0449	96,85	97,71	98,47	99,08	99,66	100,16	100,60
0,0500	96,84	97,72	98,47	99,08	99,64	100,14	100,61
0,0600	96,84	97,69	98,44	99,08	99,64	100,12	100,59
0,0700	96,84	97,68	98,43	99,05	99,62	100,12	100,57
0,0795	96,83	97,68	98,41	99,05	99,60	100,11	100,56
0,0850	96,82	97,67	98,41	99,04	99,61	100,11	100,56
0,0900	96,81	97,66	98,40	99,03	99,59	100,09	100,55
0,0963	96,81	97,65	98,39	99,02	99,58	100,09	100,55
0,0999	96,81	97,65	98,39	99,01	99,58	100,09	100,53
0,1099	96,79	97,62	98,38	99,02	99,58	100,08	100,54
L-karnozin							
0,0199	145,36	146,59	147,63	148,41	149,22	149,85	150,44
0,0300	145,42	146,61	147,63	148,44	149,22	149,87	150,48
0,0349	145,42	146,63	147,65	148,45	149,25	149,91	150,48
0,0396	145,43	146,65	147,66	148,48	149,24	149,92	150,52
0,0500	145,46	146,66	147,67	148,46	149,25	149,93	150,56
0,0600	145,51	146,71	147,72	148,54	149,31	149,97	150,56
0,0699	145,54	146,75	147,75	148,57	149,34	150,01	150,59
0,0796	145,58	146,79	147,78	148,60	149,36	150,03	150,61
0,0898	145,61	146,82	147,81	148,62	149,39	150,06	150,64
0,0997	145,66	146,86	147,85	148,66	149,42	150,09	150,67
0,1200	145,73	146,93	147,91	148,72	149,48	150,15	150,72

Standardne nesigurnosti: $u(m) = 3,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, $u(T) = 0,015 \text{ K}$, $u(V_\phi) = 7,8 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$

Tabela P16. Koeficijenti fita iz jednačine (3.30) a_0 , a_1 i a_2 za vodene rastvore β -alanina, L-histidina i L-karnozina sa koeficijentom korelacije, (R^2).

Jedinjenje	$a_0 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	$a_1 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)	$a_2 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2}$)	R^2
β -alanin	-76,36	0,842	-0,001310	0,9977
L-histidin	-91,94	1,155	-0,001728	0,9996
L-karnozin	-111,5	1,576	-0,002361	0,9995

Tabela P17. Vrednosti viskoznosti, (η), za vodene rastvore β -alanina, L-histidina i L-karnozina na različitim molalitetima, (m), i u temperaturnom opsegu od $T = (283,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$m /$ ($\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$\eta /$ (mPa·s)						
$T /$ (K)	283,15	288,15	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15
β -alanin							
0,0199	1,314	1,143	1,006	0,894	0,800	0,721	0,653
0,0301	1,316	1,145	1,008	0,894	0,800	0,721	0,653
0,0400	1,318	1,147	1,009	0,896	0,802	0,723	0,655
0,0449	1,320	1,149	1,011	0,898	0,804	0,725	0,657
0,0600	1,325	1,153	1,014	0,901	0,805	0,725	0,657
0,0698	1,328	1,155	1,016	0,902	0,807	0,728	0,659
0,0800	1,331	1,158	1,018	0,905	0,809	0,729	0,660
0,0999	1,336	1,162	1,022	0,908	0,812	0,732	0,663
L-histidin							
0,0200	1,322	1,150	1,012	0,899	0,804	0,725	0,657
0,0300	1,326	1,154	1,016	0,901	0,807	0,727	0,658
0,0400	1,332	1,160	1,021	0,907	0,812	0,731	0,662
0,0600	1,344	1,169	1,029	0,914	0,817	0,736	0,668
0,0700	1,351	1,176	1,034	0,918	0,821	0,739	0,670
0,0795	1,353	1,176	1,034	0,918	0,820	0,740	0,670
0,0900	1,360	1,183	1,041	0,925	0,827	0,745	0,674
0,0999	1,366	1,189	1,046	0,927	0,830	0,747	0,676
L-karnozin							
0,0199	1,338	1,165	1,024	0,908	0,813	0,732	0,663
0,0300	1,345	1,170	1,028	0,909	0,814	0,733	0,664
0,0396	1,351	1,174	1,030	0,915	0,818	0,738	0,669
0,0600	1,366	1,189	1,046	0,928	0,831	0,747	0,676
0,0699	1,376	1,197	1,053	0,933	0,835	0,752	0,681
0,0796	1,382	1,203	1,058	0,938	0,839	0,756	0,683
0,0898	1,392	1,210	1,060	0,938	0,840	0,756	0,685

Relativna standardna nesigurnost: $u_r(\eta) = 0,005$;

Standardne nesigurnosti: $u(T) = 0,015 \text{ K}$, $u(m) = 3,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$

Tabela P18. Molaliteti, (m), i gustine, (d), za vodene rastvore sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a na molalitetima D-fruktoze i u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$m /$ ($\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$) ¹⁾	$d / (\text{g} \cdot \text{cm}^{-3})$				
$T / (\text{K})$	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15
Sinefrin-HCl + voda					
0,0203	0,99920	0,99803	0,99661	0,99498	0,99314
0,0304	0,99969	0,99851	0,99708	0,99544	0,99360
0,0503	1,00065	0,99946	0,99802	0,99636	0,99449
0,0607	1,00115	0,99995	0,99851	0,99684	0,99496
0,0812	1,00212	1,00092	0,99947	0,99778	0,99587
0,0984	1,00294	1,00173	1,00027	0,99857	0,99664
0,1493	1,00536	1,00411	1,00264	1,00091	0,99889
0,2018	1,00785	1,00658	1,00506	1,00331	1,00122
0,2959	1,01225	1,01092	1,00934	1,00755	1,00540
0,4011	1,01713	1,01575	1,01415	1,01232	1,01004
0,4732	1,02045	1,01901	1,01746	1,01561	1,01324
Sinefrin-HCl + voda + 0,1 $\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ D-fruktoza					
0,1002	1,00971	1,00845	1,00696	1,00520	1,00319
0,2015	1,01418	1,01286	1,01132	1,00952	1,00746
0,2975	1,01828	1,01691	1,01532	1,01348	1,01139
0,4308	1,02377	1,02233	1,02068	1,01879	1,01670
0,6024	1,03059	1,02899	1,02726	1,02532	1,02326
Sinefrin-HCl + voda + 0,3 $\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ D-fruktoza					
0,0989	1,02298	1,02159	1,01997	1,01807	1,01594
0,2081	1,02744	1,02600	1,02433	1,02240	1,02022
0,3073	1,03136	1,02987	1,02817	1,02620	1,02399
0,4522	1,03690	1,03534	1,03359	1,03152	1,02925
0,6056	1,04245	1,04084	1,03904	1,03699	1,03473
Sinefrin-HCl + voda + 0,5 $\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ D-fruktoza					
0,1028	1,03566	1,03419	1,03248	1,03053	1,02836
0,1958	1,03920	1,03769	1,03596	1,03398	1,03178
0,3025	1,04315	1,04160	1,03981	1,03782	1,03559
0,4491	1,04834	1,04673	1,04489	1,04284	1,04056
0,6054	1,05370	1,05200	1,05012	1,04802	1,04573
Sinefrin-HCl + voda + 1,0 $\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ D-fruktoza					
0,0998	1,06488	1,06292	1,06097	1,05882	1,05651
0,2035	1,06814	1,06617	1,06421	1,06205	1,05972
0,3007	1,07110	1,06913	1,06714	1,06496	1,06262
0,4472	1,07537	1,07340	1,07144	1,06919	1,06684
0,6037	1,07975	1,07780	1,07579	1,07352	1,07110
Oktopamin-HCl + voda					
0,1013	1,00342	1,00222	1,00077	0,99910	0,99719
0,1322	1,00498	1,00377	1,00231	1,00061	0,99868
0,1476	1,00576	1,00454	1,00307	1,00137	0,99942

0,1697	1,00687	1,00564	1,00416	1,00244	1,00048
0,1989	1,00833	1,00708	1,00559	1,00385	1,00188
0,2557	1,01115	1,00987	1,00834	1,00657	1,00458
0,3056	1,01361	1,01228	1,01073	1,00894	1,00692
0,3062	1,01364	1,01231	1,01076	1,00897	1,00694
0,3391	1,01523	1,01389	1,01232	1,01052	1,00850
0,3947	1,01792	1,01653	1,01495	1,01312	1,01108
0,4051	1,01842	1,01703	1,01544	1,01361	1,01156
Oktopamin-HCl + voda + 0,1 mol·kg ⁻¹ D-fruktoza					
0,0487	1,00827	1,00705	1,00557	1,00382	1,00179
0,0969	1,01066	1,00943	1,00792	1,00614	1,00406
0,2066	1,01594	1,01467	1,01311	1,01126	1,00906
0,3085	1,02068	1,01936	1,01776	1,01582	1,01353
0,4098	1,02523	1,02386	1,02221	1,02019	1,01779
Oktopamin-HCl + voda + 0,3 mol·kg ⁻¹ D-fruktoza					
0,0573	1,02118	1,01984	1,01826	1,01638	1,01431
0,1148	1,02391	1,02256	1,02096	1,01905	1,01693
0,2171	1,02859	1,02723	1,02559	1,02364	1,02142
0,3208	1,03312	1,03174	1,03007	1,02809	1,02580
0,4350	1,03786	1,03650	1,03479	1,03277	1,03042
Oktopamin-HCl + voda + 0,5 mol·kg ⁻¹ D-fruktoza					
0,0549	1,03424	1,03277	1,03110	1,02914	1,02699
0,1107	1,03671	1,03523	1,03355	1,03154	1,02936
0,2120	1,04089	1,03934	1,03765	1,03557	1,03338
0,3286	1,04849	1,04671	1,04499	1,04280	1,04064
0,4278	1,04521	1,04358	1,04182	1,03967	1,03751
Oktopamin-HCl + voda + 1,0 mol·kg ⁻¹ D-fruktoza					
0,0596	1,06341	1,06173	1,05981	1,05766	1,05530
0,1204	1,06577	1,06406	1,06213	1,05998	1,05759
0,2404	1,07009	1,06836	1,06636	1,06423	1,06177
0,3575	1,07392	1,07217	1,07010	1,06795	1,06543
0,4782	1,07755	1,07581	1,07365	1,07143	1,06895

Standardne nesigurnosti: $u(d) = 8,2 \cdot 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, $u(m) = 3,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, $u(T) = 0,015 \text{ K}$, $u(V_{\phi}) = 9,1 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$

Tabela P19. Molaliteti, (m), i prividne molarne zapremine, (V_{ϕ}), za vodene rastvore sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a na molalitetima D-fruktoze i u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$m /$ (mol·kg ⁻¹)	$V_{\phi} / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$				
	$T / (\text{K})$	293,15	298,15	303,15	308,15
Sinefrin-HCl + voda					
0,0203	155,09	155,62	156,74	158,16	159,17
0,0304	154,95	155,67	156,81	158,15	159,06

0,0503	155,01	155,69	156,64	157,92	159,16
0,0607	154,96	155,72	156,53	157,80	159,02
0,0812	155,08	155,68	156,45	157,69	159,03
0,0984	155,07	155,69	156,45	157,61	158,96
0,1493	154,85	155,58	156,20	157,23	158,82
0,2018	154,60	155,27	156,03	156,94	158,53
0,2959	154,25	154,96	155,74	156,56	157,92
0,4011	153,77	154,46	155,13	155,89	157,30
0,4732	153,45	154,18	154,68	155,38	156,83
Sinefrin-HCl + voda + 0,1 mol·kg ⁻¹ D-fruktoza					
0,1002	156,75	157,38	157,94	158,63	159,55
0,2015	156,82	157,50	158,11	158,76	159,58
0,2975	156,87	157,55	158,19	158,83	159,57
0,4308	156,92	157,60	158,27	158,87	159,48
0,6024	156,84	157,66	158,33	158,93	159,36
Sinefrin-HCl + voda + 0,3 mol·kg ⁻¹ D-fruktoza					
0,0989	158,36	159,00	159,48	160,48	161,54
0,2081	158,47	159,09	159,66	160,44	161,31
0,3073	158,52	159,16	159,70	160,43	161,19
0,4522	158,49	159,14	159,68	160,48	161,22
0,6056	158,58	159,19	159,73	160,36	160,97
Sinefrin-HCl + voda + 0,5 mol·kg ⁻¹ D-fruktoza					
0,1028	160,14	160,49	160,97	161,39	161,92
0,1958	160,02	160,49	160,93	161,41	161,96
0,3025	159,92	160,42	160,97	161,39	161,96
0,4491	159,92	160,44	161,00	161,49	162,09
0,6054	159,78	160,37	160,91	161,42	161,96
Sinefrin-HCl + voda + 1,0 mol·kg ⁻¹ D-fruktoza					
0,0998	162,29	162,71	163,13	163,41	163,60
0,2035	162,38	162,75	163,13	163,45	163,77
0,3007	162,40	162,73	163,16	163,52	163,87
0,4472	162,44	162,75	163,07	163,54	163,89
0,6037	162,42	162,67	163,06	163,51	163,96
Oktopamin-HCl + voda					
0,1013	137,66	138,14	138,75	139,55	140,62
0,1322	137,65	138,12	138,70	139,57	140,59
0,1476	137,62	138,12	138,71	139,51	140,58
0,1697	137,57	138,07	138,67	139,50	140,51
0,1989	137,52	138,07	138,65	139,48	140,42
0,2557	137,42	137,99	138,63	139,43	140,28
0,3056	137,30	137,96	138,58	139,35	140,19
0,3062	137,29	137,95	138,57	139,34	140,21
0,3391	137,27	137,91	138,55	139,28	140,06
0,3947	137,15	137,85	138,44	139,17	139,91
0,4051	137,14	137,82	138,42	139,14	139,89
Oktopamin-HCl + voda + 0,1 mol·kg ⁻¹ D-fruktoza					

0,0487	138,16	138,56	139,11	139,91	141,09
0,0969	138,32	138,74	139,31	140,12	141,34
0,2066	138,60	139,07	139,67	140,51	141,74
0,3085	138,81	139,31	139,92	140,79	142,03
0,4098	138,98	139,52	140,14	141,04	142,31
Oktopamin-HCl + voda + 0,3 mol·kg ⁻¹ D-fruktoza					
0,0573	138,69	138,98	139,45	140,30	141,42
0,1148	139,02	139,31	139,79	140,55	141,68
0,2171	139,48	139,74	140,24	140,95	142,05
0,3208	139,89	140,17	140,65	141,29	142,32
0,4350	140,36	140,55	141,04	141,65	142,61
Oktopamin-HCl + voda + 0,5 mol·kg ⁻¹ D-fruktoza					
0,0549	139,52	140,16	140,66	141,36	142,07
0,1107	140,36	140,84	141,25	142,12	142,84
0,2120	141,68	142,32	142,66	143,53	144,10
0,3286	144,52	145,45	145,78	146,58	146,91
0,4278	143,23	143,93	144,43	145,28	145,64
Oktopamin-HCl + voda + 1,0 mol·kg ⁻¹ D-fruktoza					
0,0596	141,92	142,24	142,72	143,24	144,08
0,1204	142,61	143,07	143,49	143,85	144,61
0,2404	143,76	144,16	144,74	144,96	145,73
0,3575	144,77	145,15	145,82	146,06	146,83
0,4782	145,65	145,96	146,70	147,08	147,65

Standardne nesigurnosti: $u(m) = 3,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, $u(T) = 0,015 \text{ K}$, $u(V_{\Phi}) = 9,1 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$

Tabela P20. Koeficijenti fita iz jednačine (3.30) a_0 , a_1 i a_2 za vodene rastvore sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a sa različitim molalitetima D-fruktoze i sa koeficijentom korelacije, (R^2).

$m /$ (mol·kg ⁻¹)	$a_0 /$ (cm ³ ·mol ⁻¹)	$a_1 /$ (cm ³ ·mol ⁻¹ ·K ⁻¹)	$a_2 /$ (cm ³ ·mol ⁻¹ ·K ⁻²)	R^2
Sinefrin-HCl				
0	471,049	-2,28	0,0041	0,9914
0,1	386,59	-1,65	0,0029	0,9992
0,3	471,85	-2,22	0,0039	0,9930
0,5	227,21	-0,52	0,0010	0,9977
1	-44,796	1,31	-0,0021	0,9976
Oktopamin-HCl				
0	597,81	-3,18	0,0055	0,9997
0,1	582,13	-3,06	0,0053	0,9983
0,3	649,07	-3,50	0,0060	0,9988
0,5	364,49	-1,61	0,0029	0,9971
1	361,41	-1,55	0,0027	0,9813

Tabela P21. Vrednosti viskoznosti, (η), za vodene rastvore sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a na različitim molalitetima sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a, (m), i u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$m /$ (mol·kg ⁻¹)	$T /$ (K)				
	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15
	$\eta /$ (mPa·s) za sinefrin-HCl				
0,0811	1,055	0,936	0,838	0,755	0,685
0,0984	1,064	0,944	0,845	0,761	0,690
0,1502	1,093	0,969	0,866	0,780	0,707
0,2022	1,117	0,989	0,885	0,796	0,721
0,2544	1,142	1,011	0,903	0,812	0,735
0,3001	1,164	1,029	0,919	0,826	0,747
	$\eta /$ (mPa·s) za oktopamin-HCl				
0,0494	1,027	0,913	0,819	0,740	0,672
0,0749	1,037	0,923	0,827	0,748	0,680
0,0989	1,047	0,931	0,835	0,755	0,687
0,2045	1,086	0,968	0,868	0,785	0,714
0,3000	1,124	1,000	0,899	0,813	0,739
0,3911	1,164	1,037	0,931	0,840	0,764

Relativna standardna nesigurnost: $u_r(\eta) = 0,01$;

Standardne nesigurnosti: $u(T) = 0,015 \text{ K}$, $u(m) = 3,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$

Tabela P22. Dopinos metil grupe vrednostima transfer zapreminama, $\Delta_{\text{tr}}V_{\phi}^{\circ}(\text{CH}_3)$, na različitim molalitetima D-fruktoze i u temperaturnom opsegu $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$T /$ (K)	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15
$m /$ (mol·kg ⁻¹)	$\Delta_{\text{tr}}V_{\phi}^{\circ}(\text{CH}_3) /$ (cm ³ ·mol ⁻¹)				
0	/	/	/	/	/
0,1	1,10	1,04	0,66	0,07	-0,06
0,3	2,32	2,38	2,02	1,67	1,59
0,5	3,83	3,42	3,02	2,16	1,90
1	2,95	2,70	2,32	1,64	0,94

Tabela P23. Vrednosti specifične zapremine pri beskonačnom razblaženju, (v_{ϕ}^0), za vodene rastvore sinefrin-HCl-a i oktopamin-HCl-a na različitim molalitetima D-fruktoze i u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$m /$ ($\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$T / (\text{K})$				
	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15
	$v_{\phi}^0 / (\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1})$				
Sinefrin-HCl					
0,0	0,76	0,76	0,77	0,78	0,78
0,1	0,77	0,77	0,77	0,78	0,78
0,3	0,78	0,78	0,78	0,79	0,79
0,5	0,78	0,79	0,79	0,79	0,79
1,0	0,79	0,80	0,80	0,80	0,80
Oktopamin-HCl					
0,0	0,72	0,73	0,73	0,73	0,74
0,1	0,73	0,73	0,73	0,74	0,74
0,3	0,73	0,73	0,73	0,74	0,74
0,5	0,73	0,73	0,73	0,74	0,74
1,0	0,75	0,75	0,75	0,75	0,76

Tabela P24. Parametri dokinga za ispitivane ligie.

Ligi	Slobodna energija vezivanja / ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	Rezultat dokinga
Sinefrin-HCl	-24,98	-7,332
Oktopamin-HCl	-22,36	-6,928
Fruktoza	-18,64	-5,023

Tabela P25. Lista i tipovi interakcija koje su dobijene simulacijama molekuskog dokinga.

Interakcija	Tip interakcije
Sinefrin-HCl	
Met 100	Hidrofobna
Met 111	Hidrofobna
Asn 183	Vodonična veza
Ser 194	Hidrofobna
Arg 197	<i>Van der Waals</i>
Cys 198	Hidrofobna
Tyr 199	Vodonična veza
Trp 201	<i>Van der Waals</i>
Arg 206	<i>Van der Waals</i>
Phe 264	Vodonična veza
Ser 266	Hidrofobna
Val 267	Vodonična veza

Ile 271	Hidrofobna
Cys 282	Hidrofobna
Oktopamin-HCl	
Met 100	Hidrofobna
Asn 183	Vodonična veza
Ser 189	Hidrofobna
Ser 194	Hidrofobna
Arg 197	<i>Van der Waals</i>
Cys 198	Hidrofobna
Tyr 199	Vodonična veza
Ala 262	<i>Van der Waals</i>
Phe 264	Vodonična veza
Val 267	Vodonična veza
Cys 282	Hidrofobna
Fruktoza	
Asn 189	Vodonična veza
Trp 201	<i>Van der Waals</i>
Ile 271	Hidrofobna
Asn 292	Vodonična veza
Asp 328	Vodonična veza
Cys 365	Hidrofobna
Asn 371	Vodonična veza

Tabela P26. Rezultati kiselinško-bazne titracije agmatina.

$V(\text{NaOH})$ / (cm^3)	$c(\text{AGM})$ / $(\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3})$	$c(\text{NaOH})$ / $(\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3})$	pH	$[\text{H}_3\text{O}^+]$ / $(\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3})$	$[\text{OH}^-]$ / $(\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3})$	\bar{n}_H
0,00	$1,98 \cdot 10^{-2}$	0,00	5,24	$5,08 \cdot 10^{-6}$	$1,35 \cdot 10^{-9}$	1,9997
$1,19 \cdot 10^{-3}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$1,51 \cdot 10^{-3}$	9,01	$8,63 \cdot 10^{-10}$	$7,97 \cdot 10^{-6}$	1,9244
$1,78 \cdot 10^{-3}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$2,26 \cdot 10^{-3}$	9,28	$4,64 \cdot 10^{-10}$	$1,48 \cdot 10^{-5}$	1,8864
$2,25 \cdot 10^{-3}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$2,85 \cdot 10^{-3}$	9,5	$2,79 \cdot 10^{-10}$	$2,46 \cdot 10^{-5}$	1,8571
$2,79 \cdot 10^{-3}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$3,54 \cdot 10^{-3}$	9,66	$1,93 \cdot 10^{-10}$	$3,56 \cdot 10^{-5}$	1,8229
$3,39 \cdot 10^{-3}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$4,31 \cdot 10^{-3}$	9,84	$1,28 \cdot 10^{-10}$	$5,40 \cdot 10^{-5}$	1,7852
$3,90 \cdot 10^{-3}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$4,94 \cdot 10^{-3}$	9,92	$1,06 \cdot 10^{-10}$	$6,49 \cdot 10^{-5}$	1,7537
$4,36 \cdot 10^{-3}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$5,53 \cdot 10^{-3}$	10,04	$8,08 \cdot 10^{-11}$	$8,57 \cdot 10^{-5}$	1,7252
$4,82 \cdot 10^{-3}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$6,11 \cdot 10^{-3}$	10,07	$7,54 \cdot 10^{-11}$	$9,18 \cdot 10^{-5}$	1,6961
$5,26 \cdot 10^{-3}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$6,67 \cdot 10^{-3}$	10,1	$7,04 \cdot 10^{-11}$	$9,84 \cdot 10^{-5}$	1,6678
$5,78 \cdot 10^{-3}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$7,33 \cdot 10^{-3}$	10,12	$6,72 \cdot 10^{-11}$	$1,03 \cdot 10^{-4}$	1,6348
$6,21 \cdot 10^{-3}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$7,87 \cdot 10^{-3}$	10,17	$5,99 \cdot 10^{-11}$	$1,16 \cdot 10^{-4}$	1,6083
$6,67 \cdot 10^{-3}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$8,46 \cdot 10^{-3}$	10,19	$5,72 \cdot 10^{-11}$	$1,21 \cdot 10^{-4}$	1,5788
$7,19 \cdot 10^{-3}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$9,12 \cdot 10^{-3}$	10,2	$5,59 \cdot 10^{-11}$	$1,24 \cdot 10^{-4}$	1,5456
$7,67 \cdot 10^{-3}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$9,72 \cdot 10^{-3}$	10,26	$4,87 \cdot 10^{-11}$	$1,42 \cdot 10^{-4}$	1,5159
$8,05 \cdot 10^{-3}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$1,02 \cdot 10^{-2}$	10,35	$3,96 \cdot 10^{-11}$	$1,75 \cdot 10^{-4}$	1,4931
$8,50 \cdot 10^{-3}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$1,08 \cdot 10^{-2}$	10,41	$3,45 \cdot 10^{-11}$	$2,01 \cdot 10^{-4}$	1,4658

$8,96 \cdot 10^{-3}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$1,14 \cdot 10^{-2}$	10,72	$1,70 \cdot 10^{-11}$	$4,12 \cdot 10^{-4}$	1,4467
$9,42 \cdot 10^{-3}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$1,19 \cdot 10^{-2}$	10,82	$1,35 \cdot 10^{-11}$	$5,19 \cdot 10^{-4}$	1,4226
$9,95 \cdot 10^{-3}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$1,26 \cdot 10^{-2}$	10,86	$1,23 \cdot 10^{-11}$	$5,69 \cdot 10^{-4}$	1,3916
$1,04 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$1,32 \cdot 10^{-2}$	10,93	$1,05 \cdot 10^{-11}$	$6,68 \cdot 10^{-4}$	1,3683
$1,08 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$1,37 \cdot 10^{-2}$	11,08	$7,41 \cdot 10^{-12}$	$9,44 \cdot 10^{-4}$	1,3540
$1,13 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$1,44 \cdot 10^{-2}$	11,13	$6,60 \cdot 10^{-12}$	$1,06 \cdot 10^{-3}$	1,3277
$1,17 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$1,48 \cdot 10^{-2}$	11,17	$6,02 \cdot 10^{-12}$	$1,16 \cdot 10^{-3}$	1,3081
$1,22 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$1,54 \cdot 10^{-2}$	11,2	$5,62 \cdot 10^{-12}$	$1,25 \cdot 10^{-3}$	1,2828
$1,26 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$1,60 \cdot 10^{-2}$	11,21	$5,49 \cdot 10^{-12}$	$1,27 \cdot 10^{-3}$	1,2557
$1,32 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$1,67 \cdot 10^{-2}$	11,31	$4,36 \cdot 10^{-12}$	$1,60 \cdot 10^{-3}$	1,2376
$1,36 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$1,73 \cdot 10^{-2}$	11,42	$3,39 \cdot 10^{-12}$	$2,07 \cdot 10^{-3}$	1,2313
$1,41 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$1,79 \cdot 10^{-2}$	11,46	$3,09 \cdot 10^{-12}$	$2,27 \cdot 10^{-3}$	1,2104
$1,46 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$1,84 \cdot 10^{-2}$	11,47	$3,02 \cdot 10^{-12}$	$2,32 \cdot 10^{-3}$	1,1848
$1,60 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$2,03 \cdot 10^{-2}$	11,65	$1,99 \cdot 10^{-12}$	$3,51 \cdot 10^{-3}$	1,1524
$1,64 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$2,07 \cdot 10^{-2}$	11,68	$1,86 \cdot 10^{-12}$	$3,76 \cdot 10^{-3}$	1,1407
$1,68 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$2,13 \cdot 10^{-2}$	11,73	$1,66 \cdot 10^{-12}$	$4,22 \cdot 10^{-3}$	1,1382
$1,72 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$2,18 \cdot 10^{-2}$	11,78	$1,48 \cdot 10^{-12}$	$4,73 \cdot 10^{-3}$	1,1357
$1,82 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$2,30 \cdot 10^{-2}$	11,85	$1,26 \cdot 10^{-12}$	$5,56 \cdot 10^{-3}$	1,1171
$1,91 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$2,41 \cdot 10^{-2}$	11,87	$1,20 \cdot 10^{-12}$	$5,82 \cdot 10^{-3}$	1,0725
$2,00 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$2,53 \cdot 10^{-2}$	11,89	$1,15 \cdot 10^{-12}$	$6,09 \cdot 10^{-3}$	1,0289
$2,09 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$2,65 \cdot 10^{-2}$	11,98	$9,32 \cdot 10^{-13}$	$7,49 \cdot 10^{-3}$	1,0394
$2,18 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$2,76 \cdot 10^{-2}$	12,03	$8,30 \cdot 10^{-13}$	$8,40 \cdot 10^{-3}$	1,0266
$2,27 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$2,87 \cdot 10^{-2}$	12,09	$7,23 \cdot 10^{-13}$	$9,64 \cdot 10^{-3}$	1,0332
$2,37 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$3,00 \cdot 10^{-2}$	12,18	$5,87 \cdot 10^{-13}$	$1,19 \cdot 10^{-2}$	1,0835
$2,45 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$3,10 \cdot 10^{-2}$	12,2	$5,60 \cdot 10^{-13}$	$1,24 \cdot 10^{-2}$	1,0578
$2,55 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$3,23 \cdot 10^{-2}$	12,21	$5,48 \cdot 10^{-13}$	$1,27 \cdot 10^{-2}$	1,0092
$2,64 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$3,34 \cdot 10^{-2}$	12,23	$5,23 \cdot 10^{-13}$	$1,33 \cdot 10^{-2}$	0,9793
$2,74 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$3,46 \cdot 10^{-2}$	12,25	$4,99 \cdot 10^{-13}$	$1,39 \cdot 10^{-2}$	0,9508
$2,83 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$3,57 \cdot 10^{-2}$	12,26	$4,88 \cdot 10^{-13}$	$1,42 \cdot 10^{-2}$	0,9105
$2,93 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$3,70 \cdot 10^{-2}$	12,3	$4,44 \cdot 10^{-13}$	$1,56 \cdot 10^{-2}$	0,9141
$3,02 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$3,82 \cdot 10^{-2}$	12,32	$4,24 \cdot 10^{-13}$	$1,63 \cdot 10^{-2}$	0,8908
$3,12 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$3,94 \cdot 10^{-2}$	12,33	$4,15 \cdot 10^{-13}$	$1,67 \cdot 10^{-2}$	0,8510
$3,20 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$4,04 \cdot 10^{-2}$	12,34	$4,05 \cdot 10^{-13}$	$1,71 \cdot 10^{-2}$	0,8164
$3,29 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$4,16 \cdot 10^{-2}$	12,35	$3,96 \cdot 10^{-13}$	$1,75 \cdot 10^{-2}$	0,7798
$3,38 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$4,27 \cdot 10^{-2}$	12,42	$3,37 \cdot 10^{-13}$	$2,05 \cdot 10^{-2}$	0,8779
$3,47 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$4,38 \cdot 10^{-2}$	12,43	$3,29 \cdot 10^{-13}$	$2,10 \cdot 10^{-2}$	0,8442
$3,56 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$4,50 \cdot 10^{-2}$	12,43	$3,29 \cdot 10^{-13}$	$2,10 \cdot 10^{-2}$	0,7825
$3,65 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$4,62 \cdot 10^{-2}$	12,44	$3,21 \cdot 10^{-13}$	$2,15 \cdot 10^{-2}$	0,7482
$3,75 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$4,73 \cdot 10^{-2}$	12,46	$3,07 \cdot 10^{-13}$	$2,25 \cdot 10^{-2}$	0,7403
$3,84 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$4,85 \cdot 10^{-2}$	12,46	$3,06 \cdot 10^{-13}$	$2,25 \cdot 10^{-2}$	0,6809
$3,93 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$4,96 \cdot 10^{-2}$	12,47	$2,99 \cdot 10^{-13}$	$2,30 \cdot 10^{-2}$	0,6495
$4,02 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$5,08 \cdot 10^{-2}$	12,48	$2,93 \cdot 10^{-13}$	$2,35 \cdot 10^{-2}$	0,6163
$4,11 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$5,19 \cdot 10^{-2}$	12,49	$2,86 \cdot 10^{-13}$	$2,41 \cdot 10^{-2}$	0,5862
$4,21 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$5,31 \cdot 10^{-2}$	12,5	$2,79 \cdot 10^{-13}$	$2,46 \cdot 10^{-2}$	0,5551
$4,30 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$5,43 \cdot 10^{-2}$	12,51	$2,73 \cdot 10^{-13}$	$2,52 \cdot 10^{-2}$	0,5247

$4,39 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$5,54 \cdot 10^{-2}$	12,52	$2,66 \cdot 10^{-13}$	$2,58 \cdot 10^{-2}$	0,4953
$4,48 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$5,65 \cdot 10^{-2}$	12,53	$2,60 \cdot 10^{-13}$	$2,64 \cdot 10^{-2}$	0,4689
$4,58 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$5,78 \cdot 10^{-2}$	12,53	$2,60 \cdot 10^{-13}$	$2,64 \cdot 10^{-2}$	0,4033
$4,67 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$5,89 \cdot 10^{-2}$	12,54	$2,54 \cdot 10^{-13}$	$2,70 \cdot 10^{-2}$	0,3791
$4,76 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$6,00 \cdot 10^{-2}$	12,55	$2,48 \cdot 10^{-13}$	$2,76 \cdot 10^{-2}$	0,3529
$4,84 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$6,11 \cdot 10^{-2}$	12,57	$2,37 \cdot 10^{-13}$	$2,89 \cdot 10^{-2}$	0,3645
$4,89 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$6,17 \cdot 10^{-2}$	12,58	$2,32 \cdot 10^{-13}$	$2,95 \cdot 10^{-2}$	0,3636
$4,94 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$6,24 \cdot 10^{-2}$	12,58	$2,32 \cdot 10^{-13}$	$2,95 \cdot 10^{-2}$	0,3317
$5,00 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$6,31 \cdot 10^{-2}$	12,59	$2,26 \cdot 10^{-13}$	$3,02 \cdot 10^{-2}$	0,3316
$5,04 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$6,36 \cdot 10^{-2}$	12,60	$2,21 \cdot 10^{-13}$	$3,09 \cdot 10^{-2}$	0,3385
$5,09 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$6,42 \cdot 10^{-2}$	12,60	$2,21 \cdot 10^{-13}$	$3,09 \cdot 10^{-2}$	0,3086
$5,17 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$6,52 \cdot 10^{-2}$	12,62	$2,11 \cdot 10^{-13}$	$3,23 \cdot 10^{-2}$	0,3307
$5,26 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$6,64 \cdot 10^{-2}$	12,63	$2,06 \cdot 10^{-13}$	$3,31 \cdot 10^{-2}$	0,3094
$5,35 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$6,74 \cdot 10^{-2}$	12,64	$2,01 \cdot 10^{-13}$	$3,38 \cdot 10^{-2}$	0,2942
$5,45 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$6,87 \cdot 10^{-2}$	12,64	$2,01 \cdot 10^{-13}$	$3,38 \cdot 10^{-2}$	0,2286
$5,54 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$6,98 \cdot 10^{-2}$	12,65	$1,97 \cdot 10^{-13}$	$3,46 \cdot 10^{-2}$	0,2089
$5,64 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$7,10 \cdot 10^{-2}$	12,66	$1,92 \cdot 10^{-13}$	$3,54 \cdot 10^{-2}$	0,1893
$5,73 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-2}$	$7,21 \cdot 10^{-2}$	12,66	$1,92 \cdot 10^{-13}$	$3,54 \cdot 10^{-2}$	0,1314

Tabela P27. Vrednosti radijusa jedinjenja za katjon i anjone, (r_k i r_a), dijometri, (D), i rastojanje između katjona i anjona, (d').

Jedinjenje	$r_a / (\text{Å})$	$d' / (\text{Å})$	$D / (\text{Å})$
[Agm][Ibp ₂]	6,24	12,46	1,14
[Agm][mHB ₂]	5,01	11,20	1,21
[Agm][Sal ₂]	4,96	11,11	1,08
[Agm ₃][Cit ₂]	5,11	11,32	1,13
[Agm][Asc ₂]	5,23	11,47	1,17
[Agm][Cl ₂]	1,87	7,85	0,91
[Agm][Glu ₂]	5,03	11,25	1,16
[Agm][SO ₄]	2,45	8,67	1,15

$$r_k = 5,069 \text{ Å}$$

Tabela P28. Gustine, (d), parcijalne molarne zapremine agmatinijum-sulfata, (\bar{V}_1) i vode, (\bar{V}_2), i prividne molarne zapremine, (V_ϕ), za vodene rastvore agmatinijum-sulfata na različitim molalitetima, (m), i u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$m /$ ($\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$d /$ ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$)	$\bar{V}_1 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	$\bar{V}_2 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	$V_\phi /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)
$T = 293,15 \text{ K}$				
0,0784	1,00574	132,58	18,05	131,38
0,0997	1,00773	133,03	18,05	131,67
0,1246	1,01004	133,42	18,04	131,91

0,1525	1,01259	133,88	18,04	132,21
0,1972	1,01660	134,58	18,04	132,68
0,2474	1,02103	135,26	18,04	133,13
0,2966	1,02528	135,86	18,04	133,52
0,3511	1,02987	136,51	18,03	133,97
0,3990	1,03384	137,03	18,03	134,32
0,4495	1,03793	137,56	18,02	134,68
0,5011	1,04202	138,09	18,02	135,05
<i>T</i> = 298,15 K				
0,0784	1,00454	133,11	18,07	131,94
0,0997	1,00653	133,45	18,07	132,12
0,1246	1,00882	133,92	18,07	132,43
0,1525	1,01136	134,36	18,06	132,72
0,1972	1,01535	135,05	18,06	133,19
0,2474	1,01976	135,72	18,06	133,63
0,2966	1,02399	136,30	18,06	134,01
0,3511	1,02857	136,92	18,05	134,43
0,3990	1,03252	137,44	18,05	134,78
0,4495	1,03659	137,97	18,05	135,15
0,5011	1,04067	138,48	18,04	135,50
<i>T</i> = 303,15 K				
0,0784	1,00309	133,77	18,09	132,63
0,0997	1,00506	134,17	18,09	132,88
0,1246	1,00734	134,57	18,09	133,14
0,1525	1,00986	135,03	18,09	133,43
0,1972	1,01383	135,67	18,09	133,86
0,2474	1,01821	136,33	18,08	134,30
0,2966	1,02241	136,91	18,08	134,69
0,3511	1,02696	137,51	18,08	135,10
0,3990	1,03089	138,01	18,08	135,44
0,4495	1,03495	138,49	18,07	135,76
0,5011	1,03901	138,98	18,07	136,10
<i>T</i> = 308,15 K				
0,0784	1,00136	135,33	18,12	134,24
0,0997	1,00329	135,80	18,12	134,57
0,1246	1,00553	136,21	18,12	134,83
0,1525	1,00801	136,62	18,12	135,10
0,1972	1,01192	137,21	18,12	135,48
0,2474	1,01623	137,84	18,11	135,90
0,2966	1,02036	138,40	18,11	136,28
0,3511	1,02484	138,97	18,11	136,66
0,3990	1,02871	139,44	18,11	136,98
0,4495	1,03270	139,92	18,10	137,30
0,5011	1,03670	140,38	18,10	137,62
<i>T</i> = 313,15 K				
0,0784	0,99941	137,07	18,16	136,00
0,0997	1,00131	137,48	18,15	136,28

0,1246	1,00351	137,88	18,15	136,54
0,1525	1,00595	138,27	18,15	136,78
0,1972	1,00979	138,85	18,15	137,17
0,2474	1,01402	139,48	18,15	137,60
0,2966	1,01808	140,03	18,15	137,96
0,3511	1,02248	140,58	18,14	138,34
0,3990	1,02628	141,05	18,14	138,65
0,4495	1,03020	141,51	18,14	138,96
0,5011	1,03414	141,93	18,13	139,25

Standardne nesigurnosti: $u(d) = 7,7 \cdot 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, $u(m) = 3,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, $u(T) = 0,015 \text{ K}$, $u(V_1) = 8,1 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$; $u(V_2) = 5,2 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$, $u(V_\phi) = 8,8 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$

Tabela P29. Gustine, (d), parcijalne molarne zapremine agmatinijum-hlorida, (\bar{V}_1) i vode, (\bar{V}_2), i prividne molarne zapremine, (V_ϕ), za vodene rastvore agmatinijum-hlorida na različitim molalitetima, (m), i u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$m /$ ($\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$d /$ ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$)	$\bar{V}_1 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	$\bar{V}_2 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	$V_\phi /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)
$T = 293,15 \text{ K}$				
0,0930	1,00287	150,78	18,05	152,45
0,0987	1,00316	150,66	18,05	152,38
0,1304	1,00470	150,54	18,05	152,52
0,1484	1,00557	150,45	18,05	152,57
0,1981	1,00800	149,94	18,06	152,39
0,2176	1,00890	149,98	18,06	152,54
0,2778	1,01176	149,56	18,06	152,46
0,2971	1,01267	149,43	18,06	152,43
0,3956	1,01729	148,71	18,07	152,16
0,4947	1,02190	147,95	18,08	151,82
0,5981	1,02666	147,18	18,09	151,43
$T = 298,15 \text{ K}$				
0,0930	1,00160	151,75	18,07	153,77
0,0987	1,00188	151,65	18,07	153,74
0,1304	1,00339	151,42	18,07	153,81
0,1484	1,00425	151,23	18,08	153,79
0,1981	1,00664	150,58	18,08	153,54
0,2176	1,00752	150,60	18,08	153,70
0,2778	1,01035	150,00	18,09	153,51
0,2971	1,01126	149,80	18,09	153,42
0,3956	1,01586	148,82	18,10	153,00
0,4947	1,02048	147,82	18,11	152,49
0,5981	1,02530	146,76	18,12	151,90
$T = 303,15 \text{ K}$				
0,0930	1,00013	152,38	18,10	154,69
0,0987	1,00040	152,34	18,10	154,71

0,1304	1,00189	152,02	18,10	154,74
0,1484	1,00274	151,79	18,10	154,70
0,1981	1,00511	151,00	18,11	154,36
0,2176	1,00599	150,94	18,11	154,46
0,2778	1,00880	150,23	18,11	154,21
0,2971	1,00970	150,01	18,12	154,12
0,3956	1,01430	148,81	18,13	153,57
0,4947	1,01894	147,62	18,14	152,93
0,5981	1,02380	146,38	18,16	152,22
<i>T</i> = 308,15 K				
0,0930	0,99845	153,13	18,13	155,63
0,0987	0,99872	153,03	18,13	155,61
0,1304	1,00019	152,67	18,13	155,62
0,1484	1,00103	152,41	18,13	155,56
0,1981	1,00336	151,62	18,14	155,26
0,2176	1,00423	151,53	18,14	155,35
0,2778	1,00702	150,70	18,14	155,02
0,2971	1,00791	150,46	18,15	154,93
0,3956	1,01249	149,12	18,16	154,27
0,4947	1,01712	147,79	18,17	153,55
0,5981	1,02198	146,43	18,19	152,76
<i>T</i> = 313,15 K				
0,0930	0,99657	153,86	18,16	156,49
0,0987	0,99684	153,72	18,16	156,43
0,1304	0,99829	153,35	18,16	156,45
0,1484	0,99912	153,07	18,17	156,38
0,1981	1,00143	152,20	18,17	156,03
0,2176	1,00229	152,10	18,17	156,12
0,2778	1,00504	151,28	18,18	155,82
0,2971	1,00593	150,99	18,18	155,69
0,3956	1,01047	149,58	18,20	155,00
0,4947	1,01506	148,21	18,21	154,26
0,5981	1,01990	146,77	18,23	153,42

Standardne nesigurnosti: $u(d) = 7,7 \cdot 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, $u(m) = 3,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, $u(T) = 0,015 \text{ K}$, $u(V_1) = 8,1 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$; $u(V_2) = 5,2 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$, $u(V_\phi) = 8,8 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$

Tabela P30. Koeficijenti fita iz jednačine (3.30) a_0 , a_1 i a_2 za vodene rastvore agmatinijum-sulfata i agmatinijum-hlorida sa koeficijentom korelacije, (R^2).

Jedinjenje	$a_0 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	$a_1 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)	$a_2 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2}$)	R^2
Agmatinijum-sulfat	950	-5,66	0,0097	0,9944
Agmatinijum-hlorid	-272	2,60	-0,0040	0,9978

Tabela P31. Vrednosti viskoznosti, (η), za vodene rastvore agmatinijum-sulfata i agmatinijum-hlorida na različitim molalitetima agmatinijum-sulfata/agmatinijum-hlorida, (m), i u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$m /$ (mol·kg ⁻¹)	$T / (\text{K})$				
	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15
$\eta / (\text{mPa}\cdot\text{s})$ agmatinijum-sulfat					
0,0501	1,033	0,918	0,822	0,741	0,673
0,1011	1,068	0,948	0,849	0,765	0,694
0,1474	1,098	0,974	0,872	0,785	0,712
0,1943	1,131	1,003	0,897	0,807	0,731
0,2876	1,194	1,057	0,945	0,851	0,771
0,3772	1,255	1,110	0,992	0,891	0,807
$\eta / (\text{mPa}\cdot\text{s})$ agmatinijum-hlorid					
0,0499	1,022	0,910	0,815	0,737	0,670
0,1000	1,044	0,929	0,833	0,753	0,684
0,1499	1,064	0,949	0,851	0,769	0,699
0,1998	1,083	0,966	0,867	0,785	0,713
0,2999	1,126	1,004	0,900	0,816	0,743
0,3997	1,163	1,039	0,931	0,842	0,771
0,4988	1,200	1,073	0,964	0,875	0,794

Relativna standardna nesigurnost: $u_r(\eta) = 0,01$

Standardne nesigurnosti: $u(T) = 0,015 \text{ K}$, $u(m) = 3,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$

Tabela P32. Citotoksična aktivnost jedinjenja na bazi agmatina kao i stiarda na ćelijske linije HT-29 i MRC-5 posle 48 h.

Jedinjenje	$IC_{50} / (\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3})$	
	HT-29	MRC-5
[Agm][Ibp ₂]	849,12±42,69	1135,72±63,97
[Agm][Sal ₂]	1122,67±76,02	828,89±40,89
[Agm][Nic ₂]	1716,28±223,73	1407,86±110,77
[Agm ₃][Cit ₂]	1128,95±61,82	872,38±31,24
[Agm][Asc ₂]	924,65±185,30	>500
[Agm][Cl ₂]	1951,17±195,15	1764,35±70,06
[Agm][(NO ₃) ₂]	1322,75±299,80	1133,16±90,88
[Agm][Glu ₂]	3055,14±134,50	1702,70±96,40
[Agm][mHB ₂]	1118,72±114,31	2243,74±292,44

[Agm][SO ₄]	1361,32±84,49	1139,73±83,08
Askorbinska kiselina	> 1760	398,60 ± 24,96
Nikotinska kiselina	> 2000	> 2000

Tabela P33. Gustine, (d), i termički koficijenti širenja, (α_p), za jonske tečnosti [Lid][Ibp], [Lid][Sal], [Pro][Ibp], i [Pro][Sal] na različitim temperaturama.

$T / (K)$	$d / (g \cdot cm^{-3})$				$\alpha_p \cdot 10^4 / (K^{-1})$			
	[Lid][Ibp]	[Lid][Sal]	[Pro][Ibp]	[Pro][Sal]	[Lid][Ibp]	[Lid][Sal]	[Pro][Ibp]	[Pro][Sal]
293,15	1,02546	/	1,07502	/	8,28	/	8,07	/
298,15	1,02145	/	1,07106	/	8,32	/	8,10	/
303,15	1,01715	/	1,06740	/	8,35	/	8,12	/
308,15	1,01278	/	1,06334	/	8,39	/	8,15	/
313,15	1,00860	/	1,05909	1,18324	8,42	/	8,19	6,53
318,15	1,00436	1,12741	1,05471	1,17958	8,46	8,10	8,22	6,55
323,15	1,00006	1,12311	1,05003	1,17583	8,49	8,13	8,26	6,57
328,15	/	1,11885	1,04563	1,17241	/	8,17	8,29	6,59
333,15	/	1,11468	1,04131	1,16875	/	8,20	8,33	6,61
338,15	/	1,11025	1,03695	1,16488	/	8,23	8,36	6,63
343,15	/	1,10558	1,03250	1,16076	/	8,26	8,40	6,66
348,15	/	1,10065	1,02794	1,15629	/	8,30	8,44	6,68
353,15	/	1,09597	1,02334	1,15217	/	8,34	8,47	6,71

Tabela P34. Viskoznosti, (η), za jonske tečnosti [Lid][Ibp], [Lid][Sal], [Pro][Ibp], i [Pro][Sal] na različitim temperaturama.

$T / (K)$	$\eta / (Pa \cdot s)$			
	[Lid][Ibp]	[Lid][Sal]	[Pro][Ibp]	[Pro][Sal]
293,15	20,712	/	/	/
298,15	5,6069	58369	169,76	/
303,15	2,8060	14831	62,287	/
308,15	1,4676	2905,2	25,045	/
313,15	0,8321	891,49	11,144	/
318,15	0,4685	290,04	5,3089	/
323,15	0,2987	102,26	3,1530	137,67

328,15	/	50,573	1,5297	57,588
333,15	/	22,890	0,9028	26,274
338,15	/	9,4960	0,5435	13,017
343,15	/	4,3080	0,3449	6,7791
348,15	/	1,8090	0,2285	3,7250
353,15	/	0,9700	0,1596	2,1803

Tabela P35. Električne provodljivosti, (κ), i molarne provodljivosti, (λ_m), za jonske tečnosti [Lid][Ibp], [Lid][Sal], [Pro][Ibp], i [Pro][Sal] na različitim temperaturama.

$T / (\text{K})$	$\kappa / (\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1})$				$\lambda_m \cdot 10^4 / (\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1})$			
	[Lid][Ibp]	[Lid][Sal]	[Pro][Ibp]	[Pro][Sal]	[Lid][Ibp]	[Lid][Sal]	[Pro][Ibp]	[Pro][Sal]
293,15	0,14	/	/	/	0,62	/	/	/
298,15	0,25	/	/	/	1,08	/	/	/
303,15	0,47	/	/	/	2,06	/	/	/
308,15	0,75	/	/	/	3,26	/	/	/
313,15	1,25	0,04	2,23	/	5,47	/	9,33	/
318,15	1,81	0,17	2,84	/	7,95	0,57	11,9	/
323,15	2,81	0,56	3,78	/	12,37	1,84	15,9	/
328,15	/	1,26	5,16	3,51	/	4,16	21,8	11,2
333,15	/	2,90	7,15	5,13	/	9,57	30,4	16,4
338,15	/	6,18	10,0	8,32	/	20,5	42,8	26,8
343,15	/	11,6	13,5	13,5	/	38,6	57,8	43,4
348,15	/	20,9	18,3	21,7	/	69,9	78,8	70,3
353,15	/	34,9	24,6	32,7	/	117	106	106

Tabela P36. Gustine, (d), parcijalne molarne zapremine rastvora [Lid][Sal], (\bar{V}_1), i vode, (\bar{V}_2), i prividne molarne zapremine, (V_ϕ), za vodene rastvora [Lid][Sal] na različitim molalitetima, (m), i u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$m /$ ($\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$)	$d /$ ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$)	$\bar{V}_1 /$ ($\text{cm}^3\cdot\text{mol}^{-1}$)	$\bar{V}_2 /$ ($\text{cm}^3\cdot\text{mol}^{-1}$)	$V_\phi /$ ($\text{cm}^3\cdot\text{mol}^{-1}$)	$p /$ (hPa)
$T = 293,15 \text{ K}$					
0,0199	0,99937	314,68	18,05	315,05	1021
0,0249	0,99965	314,53	18,05	314,92	1021
0,0299	0,99993	314,58	18,05	315,02	1021
0,0348	1,00022	314,32	18,05	314,79	1021
0,0399	1,00050	314,45	18,05	314,95	1030

0,0429	1,00067	314,36	18,05	314,88	1030
0,0448	1,00078	314,26	18,05	314,80	1030
0,0497	1,00106	314,23	18,05	314,79	1026
0,0540	1,00131	314,05	18,05	314,63	1026
0,0597	1,00163	314,00	18,05	314,61	1026
0,0697	1,00219	313,85	18,05	314,51	1028
0,0800	1,00277	313,67	18,05	314,39	1028
0,0989	1,00383	313,30	18,05	314,09	1028
<i>T = 298,15 K</i>					
0,0199	0,99817	317,22	18,07	317,63	1021
0,0249	0,99844	317,06	18,07	317,51	1021
0,0299	0,99871	317,12	18,07	317,61	1021
0,0348	0,99898	317,14	18,07	317,67	1021
0,0399	0,99926	316,99	18,07	317,55	1030
0,0429	0,99943	316,75	18,07	317,34	1030
0,0448	0,99953	316,81	18,07	317,40	1030
0,0497	0,99980	316,77	18,07	317,40	1026
0,0540	1,00004	316,62	18,07	317,27	1026
0,0597	1,00035	316,54	18,07	317,23	1026
0,0697	1,00090	316,25	18,07	316,99	1028
0,0800	1,00146	316,08	18,07	316,88	1028
0,0989	1,00248	315,76	18,07	316,65	1028
<i>T = 303,15 K</i>					
0,0199	0,99674	319,32	18,09	319,82	1021
0,0249	0,99701	318,86	18,09	319,40	1021
0,0299	0,99728	318,71	18,09	319,30	1021
0,0348	0,99754	318,87	18,09	319,51	1021
0,0399	0,99782	318,56	18,09	319,24	1030
0,0429	0,99798	318,49	18,09	319,20	1030
0,0448	0,99808	318,49	18,09	319,21	1030
0,0497	0,99835	318,34	18,09	319,10	1026
0,0540	0,99858	318,29	18,09	319,08	1026
0,0597	0,99889	318,10	18,09	318,93	1026
0,0697	0,99942	317,94	18,10	318,84	1028
0,0800	0,99997	317,75	18,10	318,72	1028
0,0989	1,00098	317,30	18,10	318,37	1028
<i>T = 308,15 K</i>					
0,0199	0,99510	321,54	18,12	322,10	1021
0,0249	0,99536	321,18	18,12	321,78	1021
0,0299	0,99562	321,09	18,12	321,75	1021

0,0348	0,99588	321,01	18,12	321,73	1021
0,0399	0,99615	320,77	18,12	321,53	1030
0,0429	0,99630	320,83	18,12	321,62	1030
0,0448	0,99640	320,76	18,12	321,57	1030
0,0497	0,99666	320,65	18,12	321,51	1026
0,0540	0,99689	320,47	18,12	321,36	1026
0,0597	0,99719	320,30	18,12	321,24	1026
0,0697	0,99771	320,07	18,12	321,08	1028
0,0800	0,99825	319,82	18,12	320,90	1028
0,0989	0,99923	319,41	18,13	320,61	1028
$T = 313,15 \text{ K}$					
0,0199	0,99327	322,81	18,16	323,48	1021
0,0249	0,99352	321,18	18,16	323,46	1021
0,0299	0,99378	321,09	18,16	323,30	1021
0,0348	0,99404	321,01	18,16	323,18	1021
0,0399	0,99430	320,77	18,16	323,16	1030
0,0429	0,99446	320,83	18,16	322,96	1030
0,0448	0,99456	320,76	18,16	322,89	1030
0,0497	0,99482	320,65	18,16	322,79	1026
0,0540	0,99504	320,47	18,16	322,79	1026
0,0597	0,99534	320,30	18,16	322,62	1026
0,0697	0,99586	320,07	18,16	322,40	1028
0,0800	0,99639	319,82	18,16	322,29	1028
0,0989	0,99737	319,41	18,16	321,90	1028

Standardne nesigurnosti: $u(d) = 4,31 \cdot 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, $u(m) = 3,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, $u(T) = 0,015 \text{ K}$, $u(V_\phi) = 9,6 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$, $u(\bar{V}_1) = 7,1 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$, $u(\bar{V}_2) = 9,8 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$

Tabela P37. Gustine, (d), parcijalne molarne zapremine [Pro][Sal], (\bar{V}_1), i vode, (\bar{V}_2), i prividne molarne zapremine, (V_ϕ), za vodene rastvore [Pro][Sal] na različitim molalitetima, (m), i u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$m /$ ($\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$d /$ ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$)	$\bar{V}_1 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	$\bar{V}_2 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	$V_\phi /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)
$T = 293,15 \text{ K}$				
0,0199	0,99973	299,29	18,02	298,15
0,0298	1,00046	300,02	18,01	298,62
0,0392	1,00114	300,79	17,99	299,19
0,0549	1,00225	301,88	17,97	299,98
0,0597	1,00261	301,81	17,97	299,83
0,0795	1,00397	302,90	17,94	300,62

0,0995	1,00537	303,28	17,92	300,73
<i>T</i> = 298,15 K				
0,0199	0,99855	300,82	18,04	299,42
0,0298	0,99926	301,96	18,03	300,24
0,0392	0,99994	302,45	18,02	300,49
0,0549	1,00103	303,68	18,00	301,36
0,0597	1,00135	304,23	17,99	301,80
0,0795	1,00269	305,23	17,97	302,43
0,0995	1,00405	305,79	17,94	302,65
<i>T</i> = 303,15 K				
0,0199	0,99714	301,99	18,07	300,23
0,0298	0,99782	304,06	18,05	301,92
0,0392	0,99849	304,56	18,04	302,10
0,0549	0,99955	306,07	18,02	303,16
0,0597	0,99988	306,35	18,02	303,32
0,0795	1,00120	307,41	17,99	303,91
0,0995	1,00247	308,76	17,97	304,84
<i>T</i> = 308,15 K				
0,0199	0,99552	303,08	18,10	301,10
0,0298	0,99619	305,38	18,08	302,96
0,0392	0,99686	305,76	18,07	302,98
0,0549	0,99790	307,56	18,05	304,27
0,0597	0,99821	308,14	18,05	304,71
0,0795	0,99951	309,27	18,02	305,31
0,0995	1,00077	310,57	18,00	306,14
<i>T</i> = 313,15 K				
0,0199	0,99369	304,27	18,13	302,00
0,0298	0,99436	306,48	18,12	303,70
0,0392	0,99499	307,87	18,11	304,69
0,0549	0,99606	308,82	18,09	305,05
0,0597	0,99633	310,09	18,08	306,15
0,0795	0,99759	311,56	18,06	307,03
0,0995	0,99885	312,68	18,04	307,60

Standardne nesigurnosti: $u(d) = 4,31 \cdot 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, $u(m) = 3,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, $u(T) = 0,015 \text{ K}$, $u(V_\phi) = 9,6 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$, $u(\bar{v}_1) = 7,1 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$, $u(\bar{v}_2) = 9,8 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$

Tabela P38. Koeficijenti fita iz jednačine (3.30) a_0 , a_1 i a_2 za vodene rastvore [Lid][Sal] i [Pro][Sal] sa koeficijentom korelacije, (R^2).

JT	$a_0 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	$a_1 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)	$a_2 /$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-2}$)	R^2
[Lid][Sal]	-229,14	3,174	-0,0045	0,9971
[Pro][Sal]	33,762	1,640	-0,0025	0,9949

Tabela P39. Viskznosti, (η), za vodene rastvore [Lid][Sal] i [Pro][Sal] na različitim molalitetima, (m), i u temperaturnom opsegu od $T = (293,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$m /$ ($\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$T / (\text{K})$				
	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15
$\eta / (\text{mPa} \cdot \text{s})$					
[Lid][Sal]					
0,0199	1,029	0,914	0,818	0,737	0,669
0,0249	1,036	0,918	0,823	0,742	0,673
0,0348	1,046	0,928	0,832	0,749	0,680
0,0497	1,062	0,943	0,845	0,760	0,690
0,0597	1,076	0,953	0,855	0,771	0,698
0,0800	1,102	0,975	0,872	0,785	0,712
0,0989	1,122	0,993	0,890	0,800	0,726
$\eta / (\text{mPa} \cdot \text{s})$					
[Pro][Sal]					
0,0179	1,015	0,900	0,806	0,726	0,659
0,0399	1,035	0,918	0,822	0,741	0,672
0,0598	1,057	0,937	0,839	0,756	0,686
0,0800	1,079	0,955	0,855	0,771	0,698
0,0995	1,102	0,975	0,872	0,783	0,711

Standardne nesigurnosti: $u(m) = 3,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, $u(T) = 0,015 \text{ K}$ Kombinovana relativna nesigurnost: $u_c(\eta) = 0,006$ **Tabela P40.** Molarne provodljivosti, (λ), za vodene rastvore [Lid][Sal] i [Pro][Sal] na različitim molalitetima, (m), i u temperaturnom opsegu od $T = (278,15 \text{ do } 313,15) \text{ K}$.

$m /$ ($\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$T / (\text{K})$							
	278,15	283,15	288,15	293,15	298,15	303,15	308,15	313,15
$\lambda / (\text{S} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1})$								
[Lid][Sal]								
0,000191	31,60	36,80	42,50	48,40	54,70	61,20	68,10	75,10
0,000401	31,10	36,30	41,80	47,60	53,80	60,20	66,90	73,80
0,000701	30,70	35,90	41,30	47,10	53,10	59,40	66,00	72,80

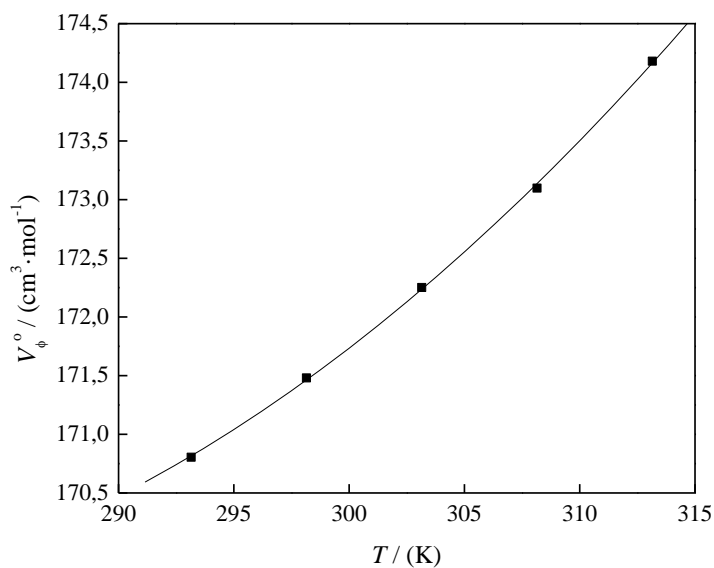
0,001020	30,50	35,50	41,00	46,70	52,60	58,90	65,40	72,10
0,001410	30,20	35,20	40,60	46,20	52,20	58,30	64,70	71,50
0,001910	29,90	34,90	40,20	45,80	51,70	57,80	64,10	70,70
0,002520	29,60	34,60	39,80	45,30	51,10	57,20	63,50	70,00
0,003240	29,30	34,20	39,40	44,80	50,60	56,60	62,80	69,30
0,004130	29,00	33,80	38,90	44,30	50,00	55,90	62,10	68,50
0,005230	28,60	33,30	38,40	43,70	49,30	55,20	61,30	67,60
0,006440	28,20	32,90	37,90	43,20	48,70	54,50	60,50	66,70
[Pro][Sal]								
0,000206	34,40	40,00	46,00	52,40	59,00	65,90	73,10	80,20
0,000413	34,00	39,60	45,50	51,70	58,30	64,90	71,80	79,10
0,000675	33,70	39,20	45,00	51,10	57,50	64,00	71,00	78,40
0,000997	33,30	38,70	44,50	50,50	56,90	63,50	70,40	77,50
0,001360	33,00	38,40	44,10	50,10	56,40	62,90	69,80	76,90
0,001860	32,60	37,90	43,60	49,60	55,80	62,30	69,00	76,00
0,002460	32,20	37,50	43,10	49,00	55,10	61,50	68,20	75,00
0,003190	31,80	37,00	42,50	48,30	54,40	60,70	67,30	74,10
0,004020	31,40	36,50	41,90	47,70	53,70	59,90	66,50	73,20
0,004950	30,90	36,00	41,40	47,10	53,00	59,20	65,70	72,30
0,006060	30,50	35,50	40,80	46,40	52,30	58,50	64,80	71,40

Relativna standardna nesigurnost: $u_r(\lambda) = 0,05$;

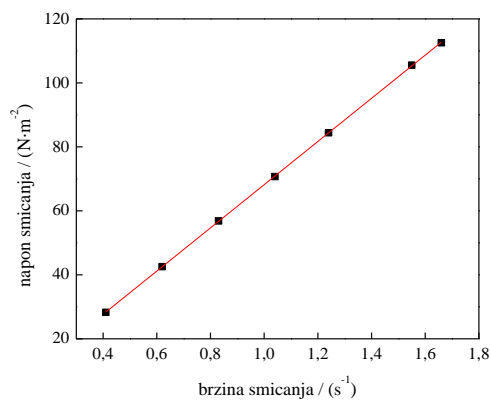
Standardna nesigurnost: $u(m) = 3,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$

Tabela P41. Termodinamički parametri za vodene rastvore [Lid][Sal] i [Pro][Sal] na temperaturi $T = 298,15 \text{ K}$: *Gibbs*-ova slobodna energija, (ΔG_A°), entropijski doprinos, ($T\Delta S_A^\circ$), i Standardna entalpija, (ΔH_A°).

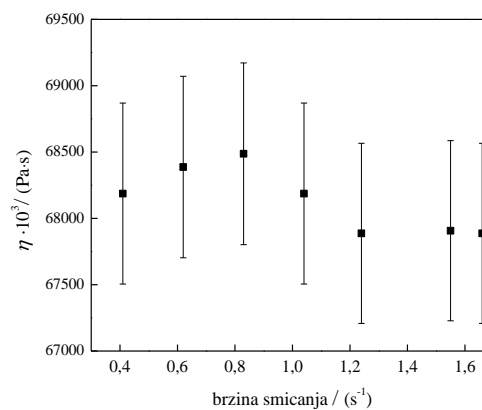
Parametri / ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	[Lid][Sal]	[Pro][Sal]
ΔG_A°	-5,40	-6,33
$T\Delta S_A^\circ$	9,00	4,27
ΔH_A°	3,56	-2,01



Slika P1. Promena prividne molarne zapremina pri beskonačnom razblaženju D-pantenola, (V_{ϕ}^0), sa temperaturom.

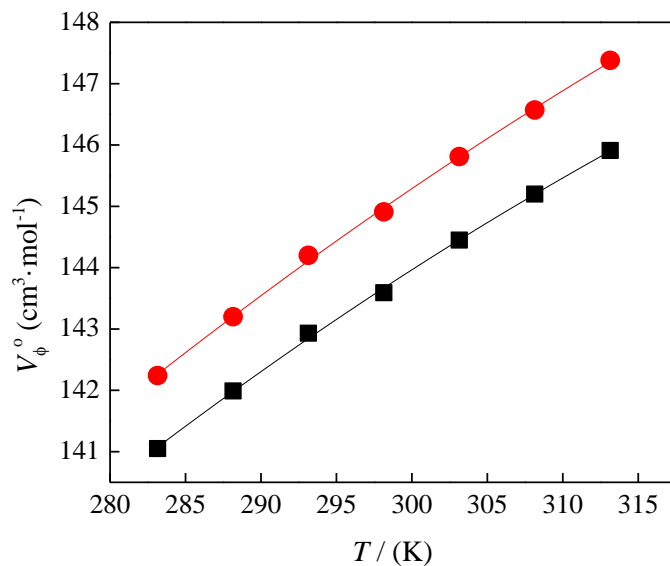


a)

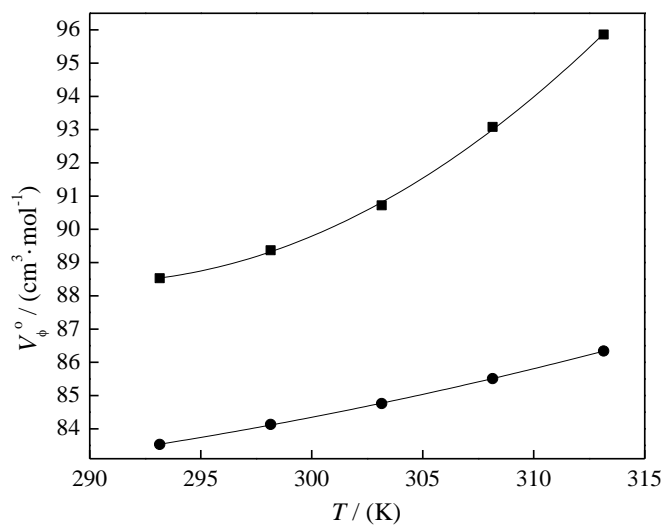


b)

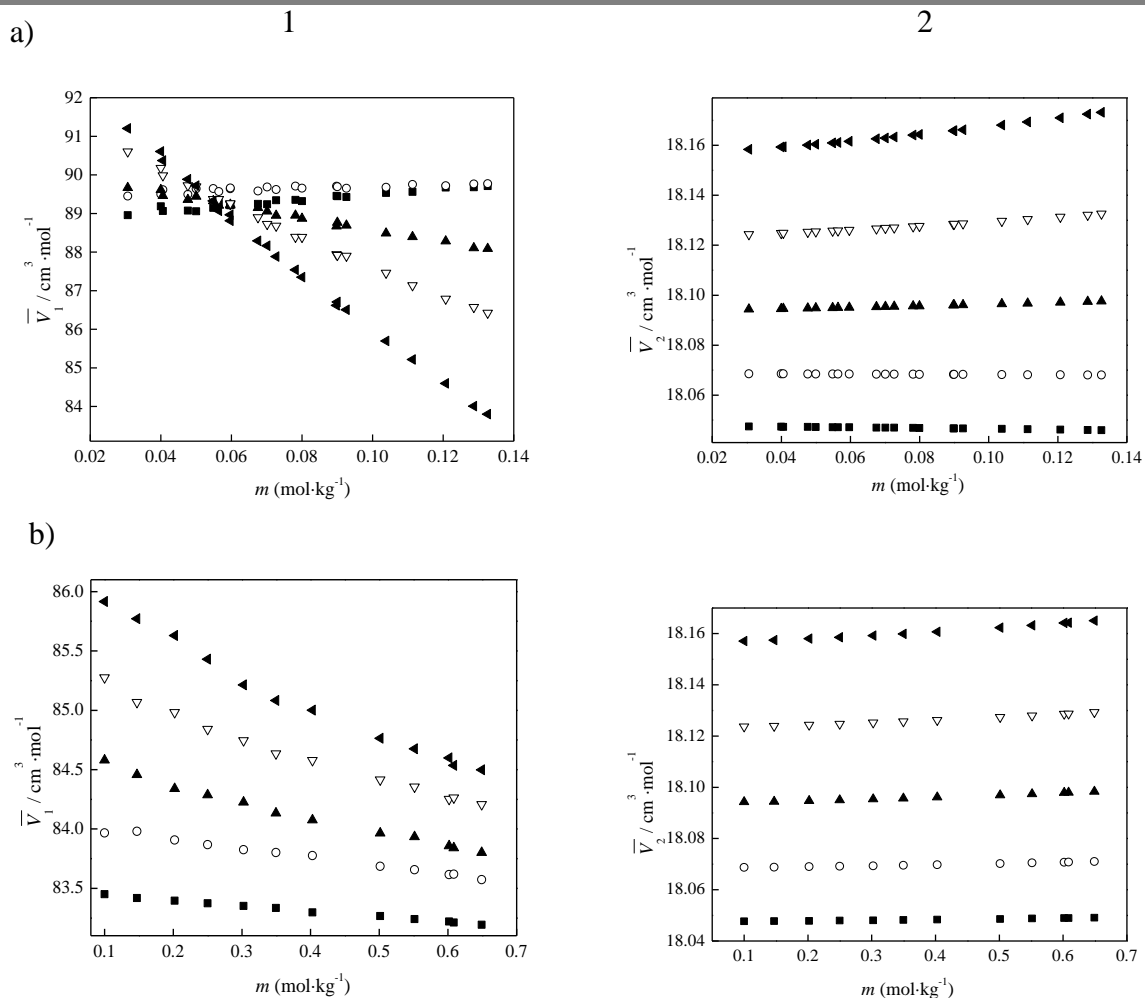
Slika P2. Prikaz a) promene napona smicanja sa brzinom smicanja i b) promene viskoznosti sa brzinom smicanja na $T = 308,15 \text{ K}$.



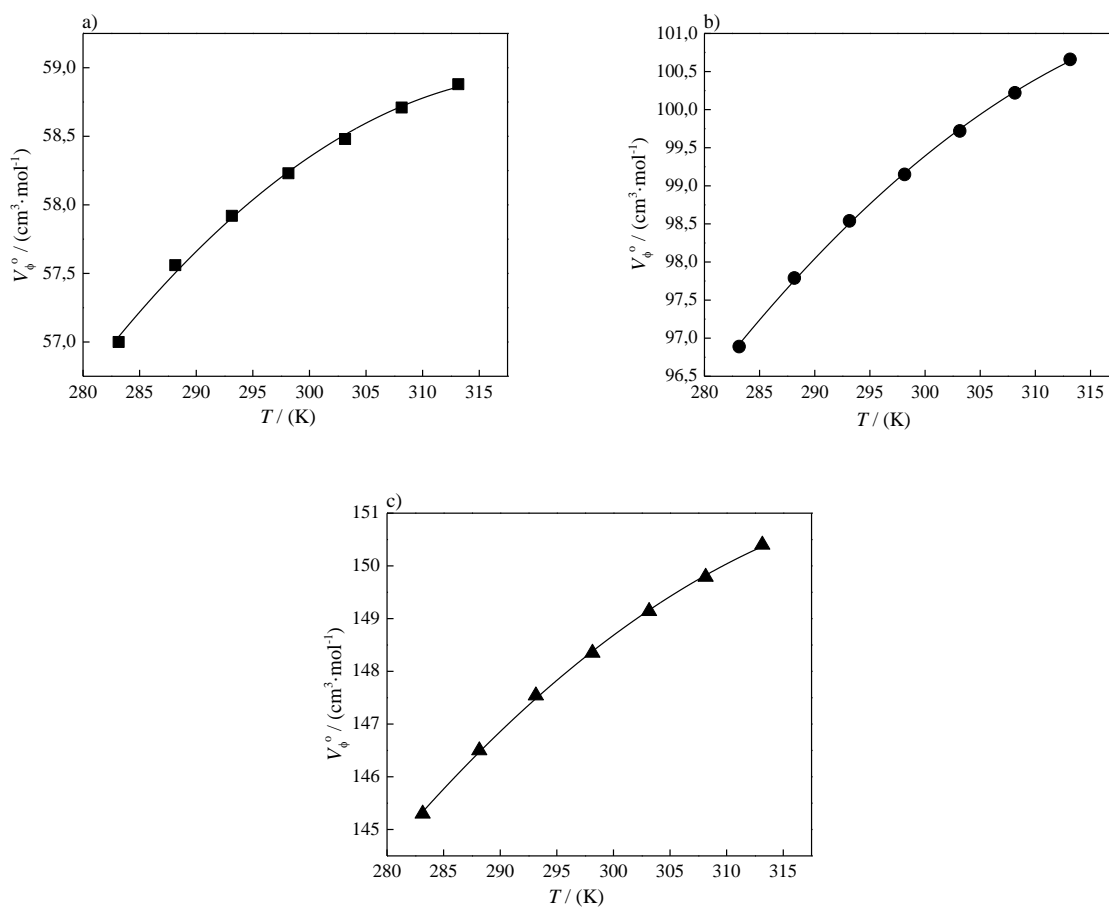
Slika P3. Promena prividne molarne zapremina pri beskonačnom razblaženju kofeina, (V_{ϕ}^o), sa temperaturom u (■) vodenim i (●) ATP vodenim rastvorima.



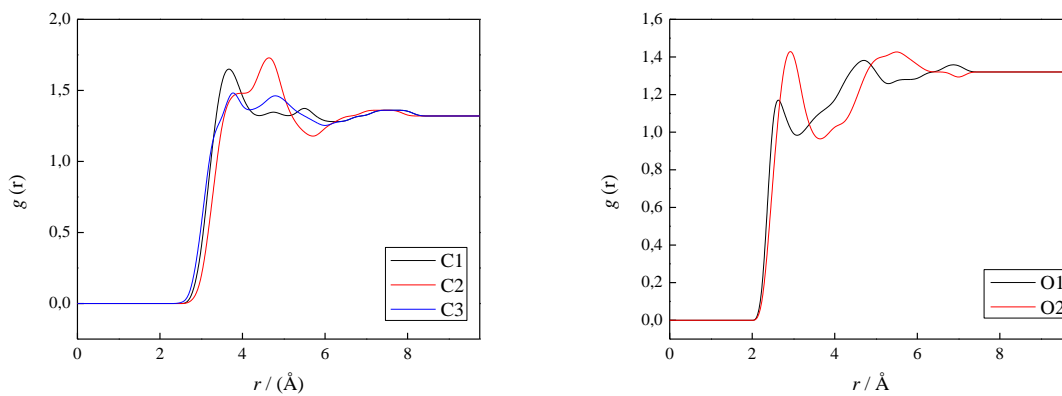
Slika P4. Promena prividne molarne zapremina pri beskonačnom razblaženju, (V_{ϕ}^o), sa temperaturom za (■) kreatin i (●) kreatinin.

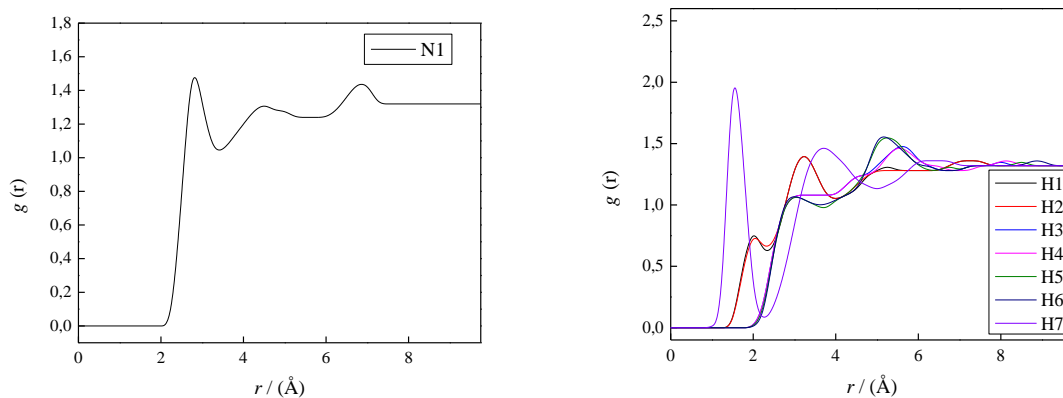


Slika P5. Promena parcijalnih molarnih zapremina kreatina/kreatinina (\bar{V}_1) (1) i vodu (\bar{V}_2) (2) sa molalitetom, (m), a) kreatina i b) kreatinina na različitim temperaturama: (■), 293,15; (○), 298,15; (▲), 303,15; (▽), 308,15 i (◄), 313,15 K.

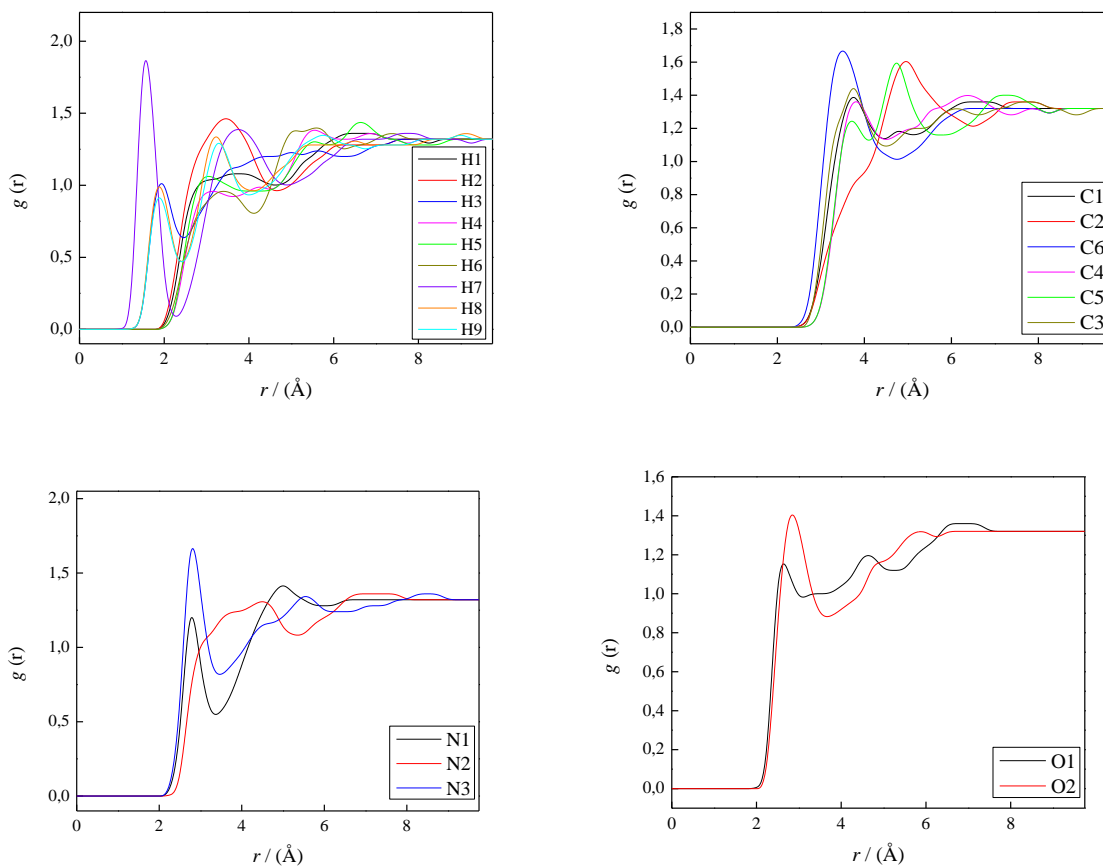


Slika P6. Promena prividne molarne zapremine pri beskonačnom razblaženju, (V_{ϕ}^o), a) β -alanina, b) L-histidina, i c) L-karnozina sa temperaturom.

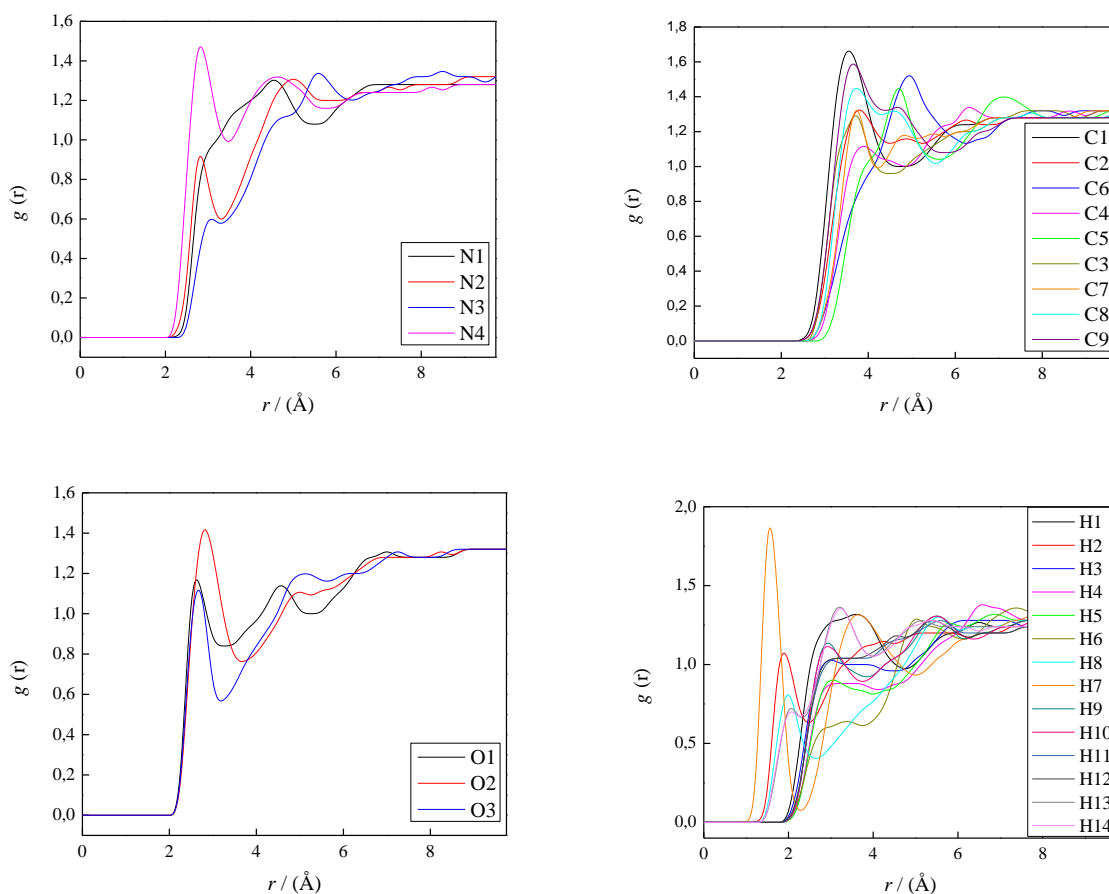




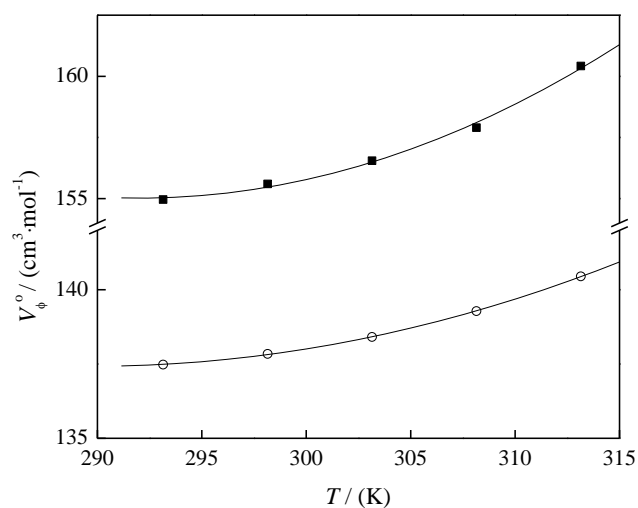
Slika P7. Funkcija radijalne raspodele centra mase vode oko odabranih atoma β -alanina.



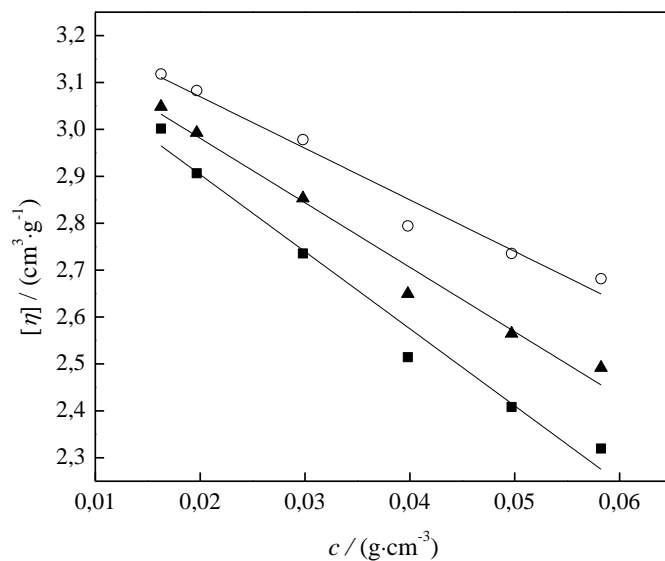
Slika P8. Funkcija radijalne raspodele centra mase vode oko odabranih atoma L-histidina.



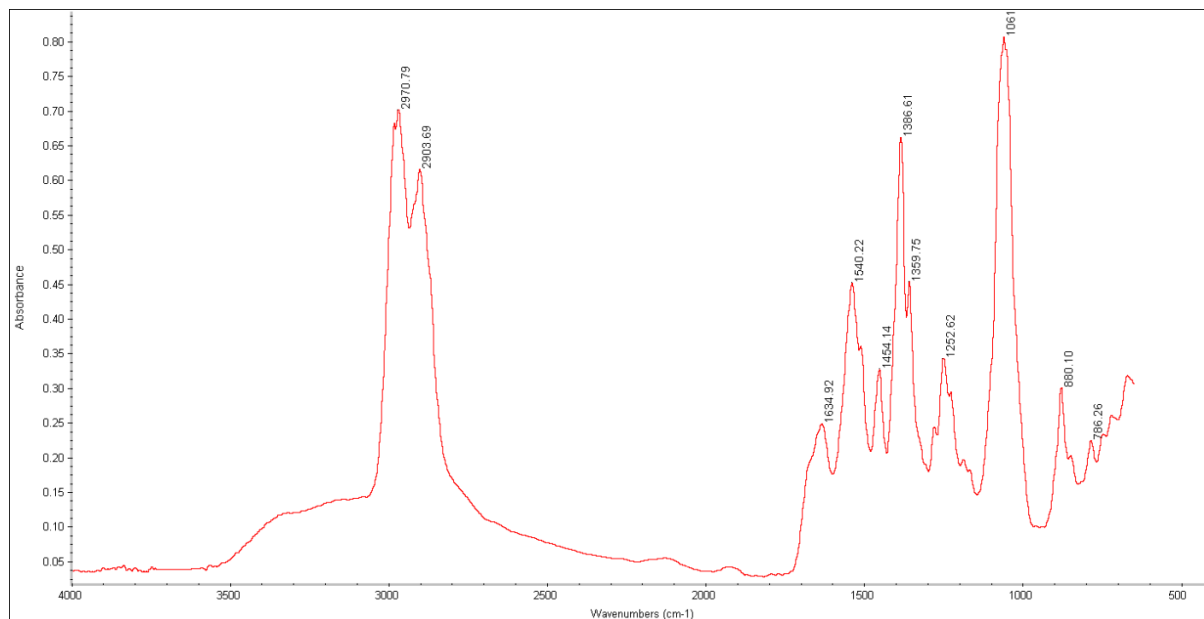
Slika P9. Funkcija radijalne raspodele centra mase vode oko odabranih atoma L-karnozina.



Slika P10. Promena privdne molarne zapremine pri beskonačnom razblaženju, (V_{ϕ}°), a) sinefrin-HCl-a (■) i (○) oktopamin-HCl-a sa temperaturom.

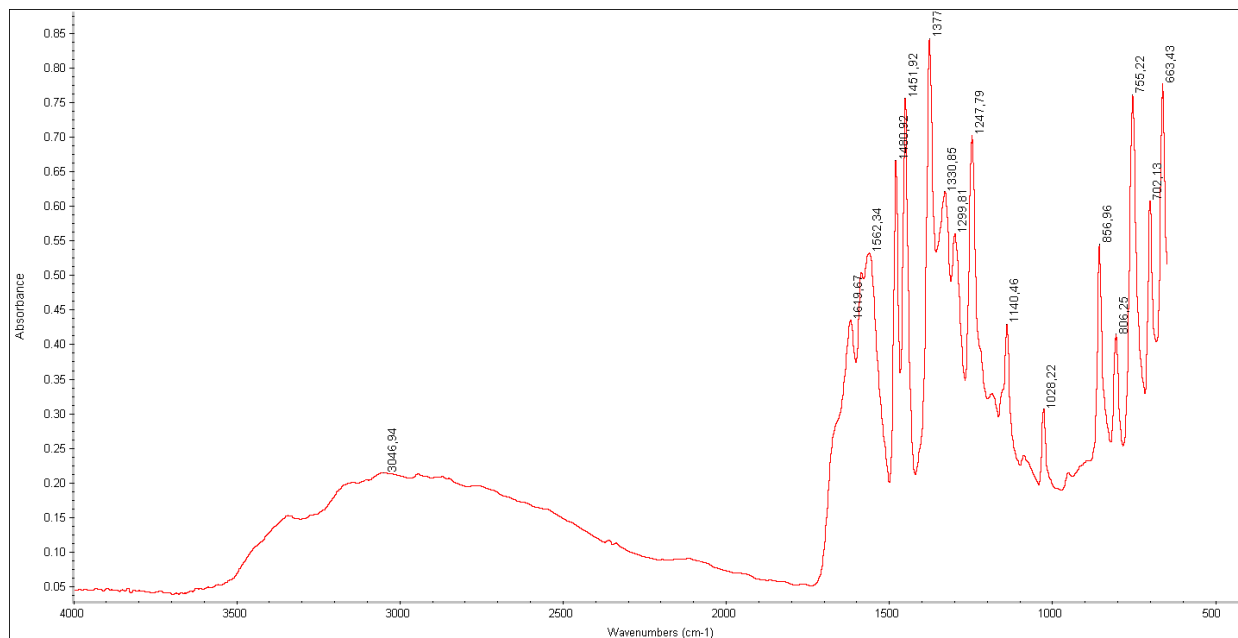


Slika P11. Određivanje unutrašnje viskoznosti, $[\eta]$, sinefrin-HCl-a ekstrapolacijom: (■) η_{sp}/c ; (○) $(\ln \eta/\eta_0)/c$ i (▲) η_{diff}/c .



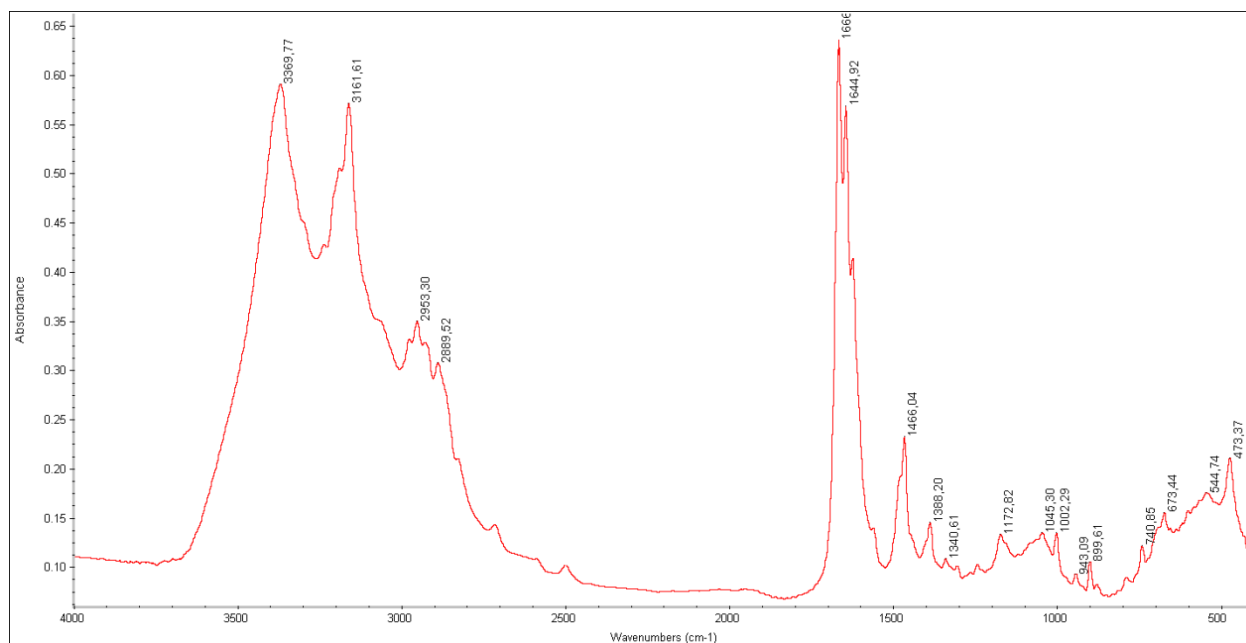
Slika P12. Infracrveni spektar agmatinijum-ibuprofenata.

IC asignacija: 2971 i 2904 (asimetrično istezanje CH₃); 1635 (savijanje NH₂); 1540 (asimetrično istezanje OCO); 1454 (asimetrično istezanje CH₃); 1387 (simetrična deformacija CH₃); 1360 (simetrično savijanje CH₃); 1253 (istezanje C=O); 1061 (uvijanje CH₂); 880 (savijanje NH₂); 786 (istezanje CNH).



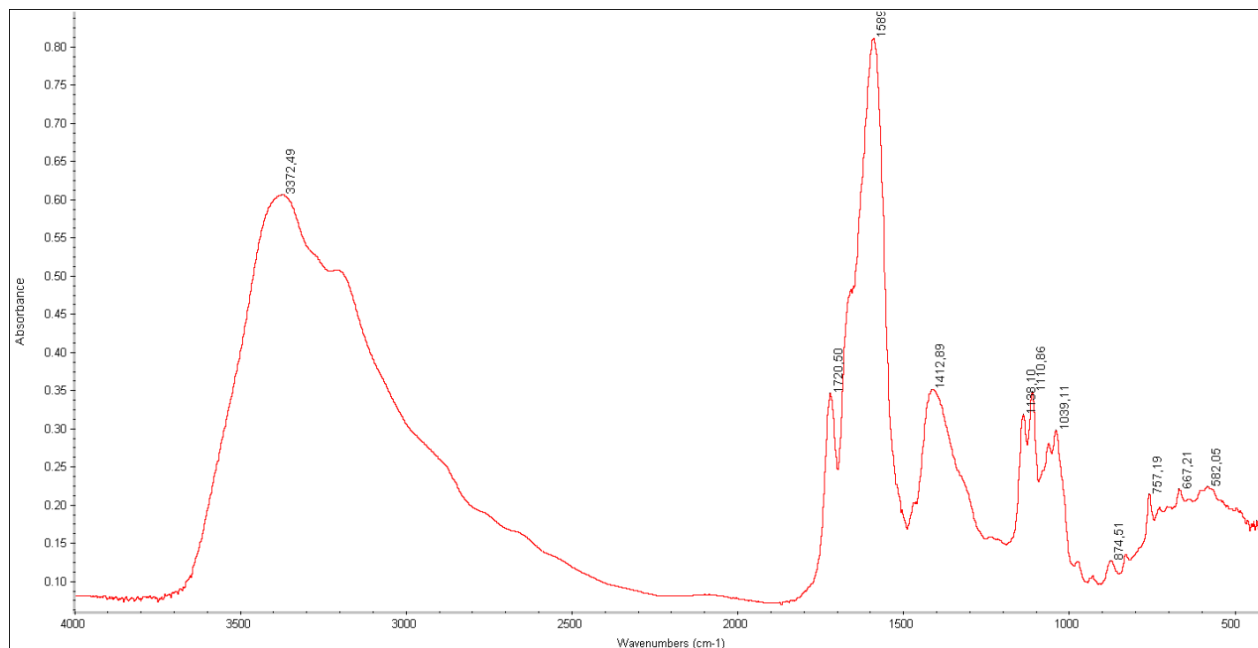
Slika P13. Infracrveni spektar agmatinijum-salicilata.

IC asignacija: 3047 (istezanje OH); 1562 (istezanje CC); 1452 (asimetrično istezanje CH₃); 1377 (istezanje C=O); 1248 (istezanje C=O); 1140 (savijanje CC); 1028 (savijanje CH); 857 (savijanje NH₂); 755 (istezanje CNH); 663 (deformacija van ravni CCC).



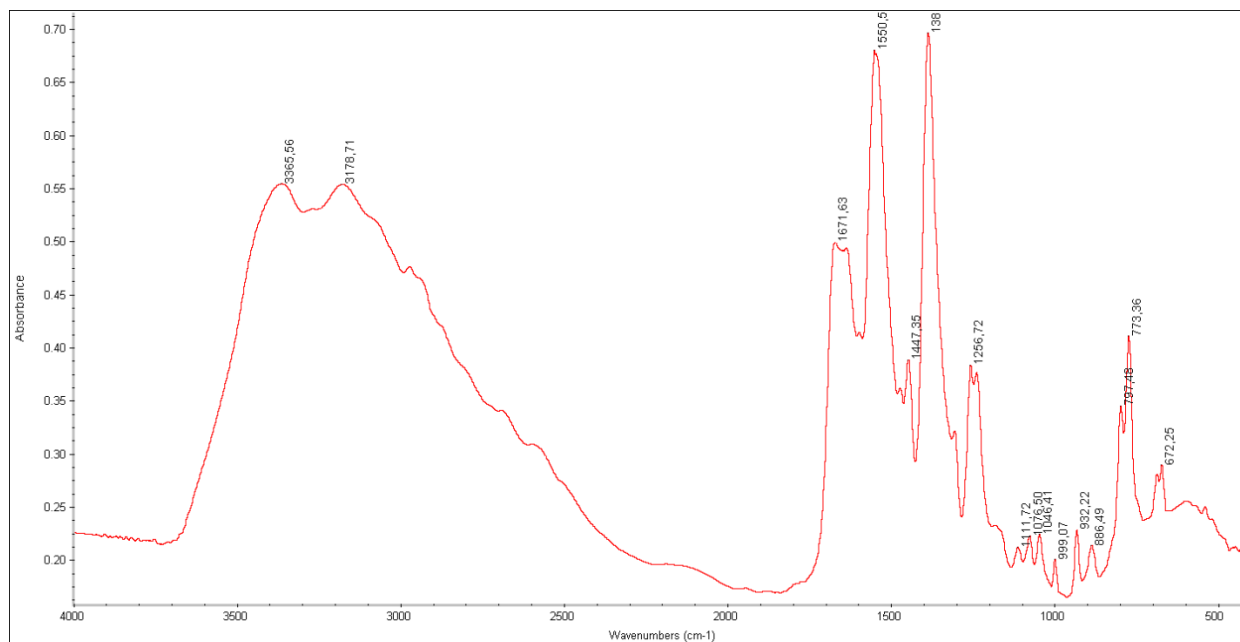
Slika P14. Infracrveni spektar agmatinijum-hlorida.

IC asignacija: 3350 (istezanje NH); 3162 (istezanje NH); 2953 (asimetrično istezanje CH₂); 1666 (savijanje NH₂); 1645 (istezanje C-N); 1466 (asimetrično istezanje CH₃); 899 (savijanje NH₂); 741 (istezanje CNH); 479 (ljudanje NH₂).



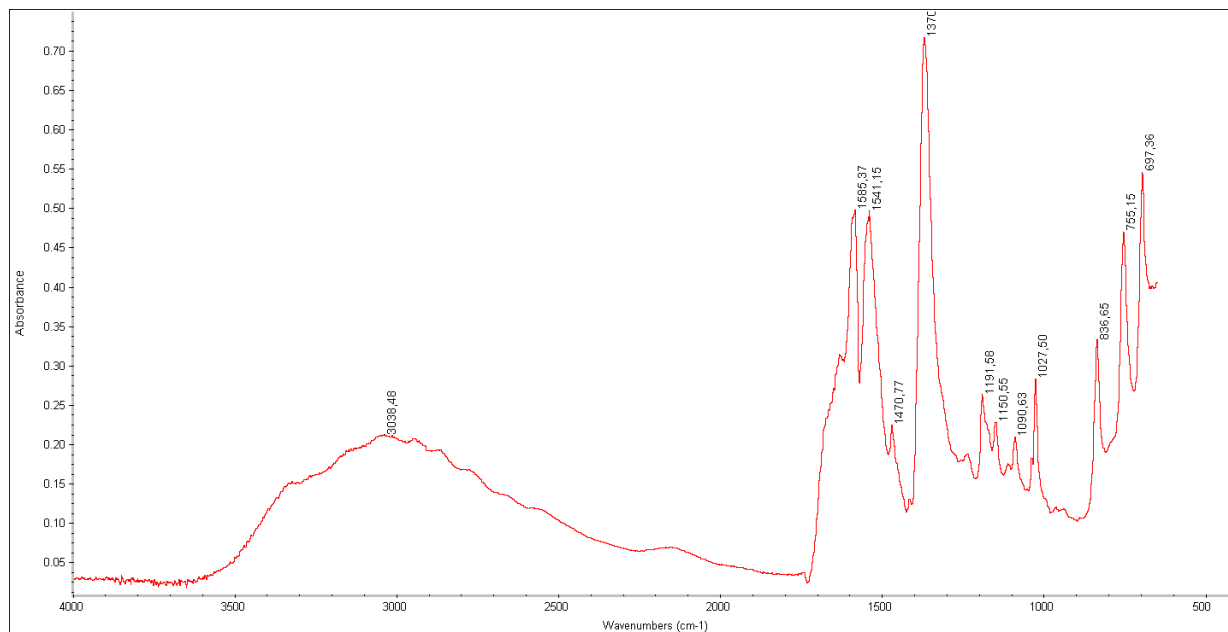
Slika P15. Infracrveni spektar agmatinijum-askorbata.

IC asignacija: 3372 (istezanje OH); 1720 (istezanje C=O); 1589 (asimetrično istezanje NH); 1413 (CH₂ previjanje); 1134 (istezanje C-O); 1110 (istezanje C-O-C); 1039 (twisted CH₂); 757 (istezanje CNH); 667 (savijanje izvan ravni O-H); 582 (savijanje u ravni C=O).



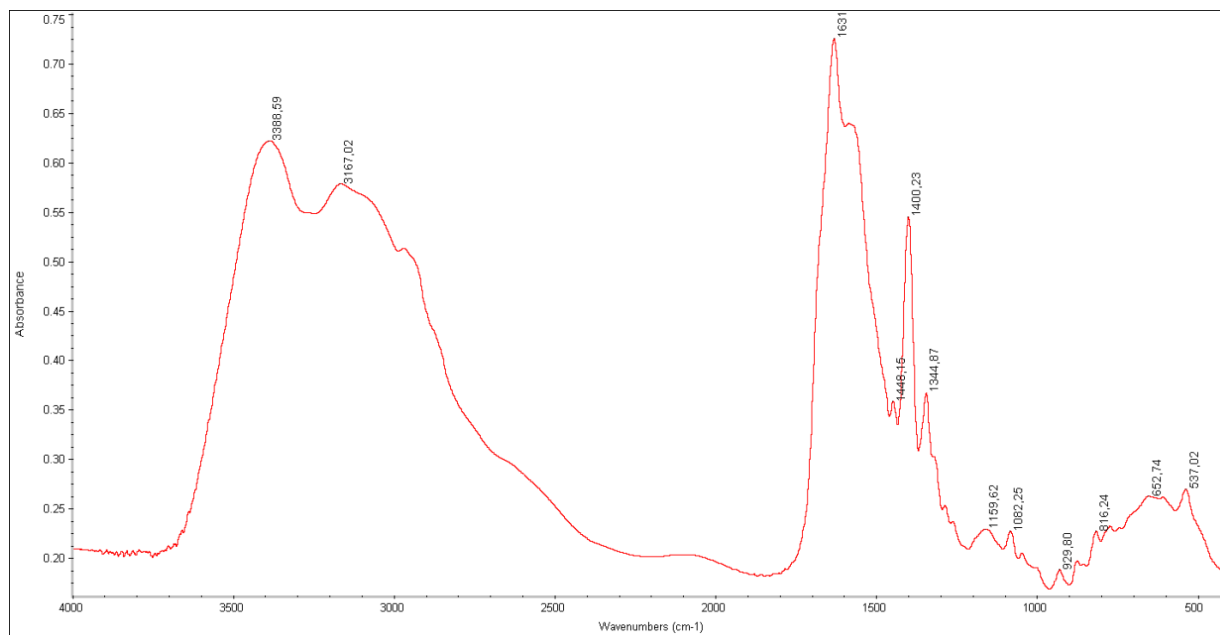
Slika P16. Infracrveni spektar agmatinijum-*m*-hidroksibenzoata.

IC asignacija: 3366 (istezanje NH); 3179 (istezanje OH); 1672 (savijanje NH₂); 1551 (istezanje CC); 1452 (asimetrično istezanje CH₃); 1387 (istezanje C=O); 1257 (istezanje C=O); 1046 (uvijanje CH₂); 886 (savijanje NH₂); 773 (istezanje CNH); 672 (deformacija izvan ravni CCC).



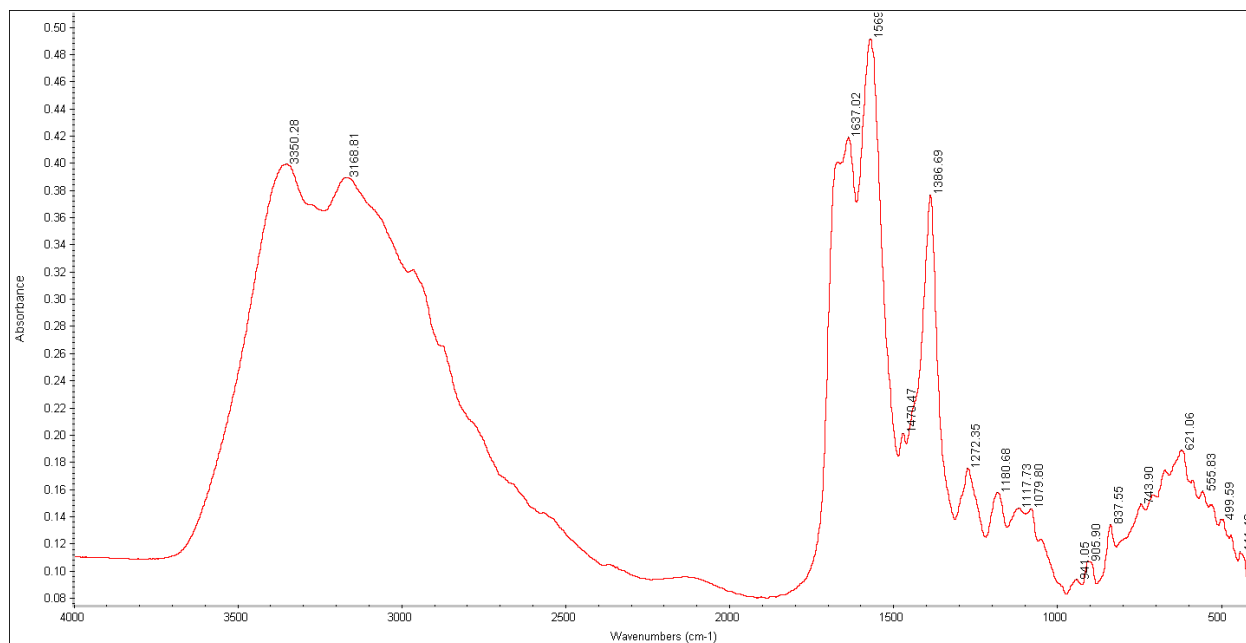
Slika P17. Infracrveni spektar 6-aminoheksanoinske kiseline.

IC asignacija: 3038 (istezanje OH); 1585 (istezanje C=C); 1541 (asimetrično istezanje NH); 1471 (CH₃ makaze); 1371 (simetrično istezanje C=O iz COO⁻); 1192 (istezanje C-OH, iz F-OH); 1091 (istezanje C-C-N); 1027 (asimetrično istezanje C-C-O); 837 (savijanje NH₂); 755 i 697 (C-H savijanje izvan ravni).



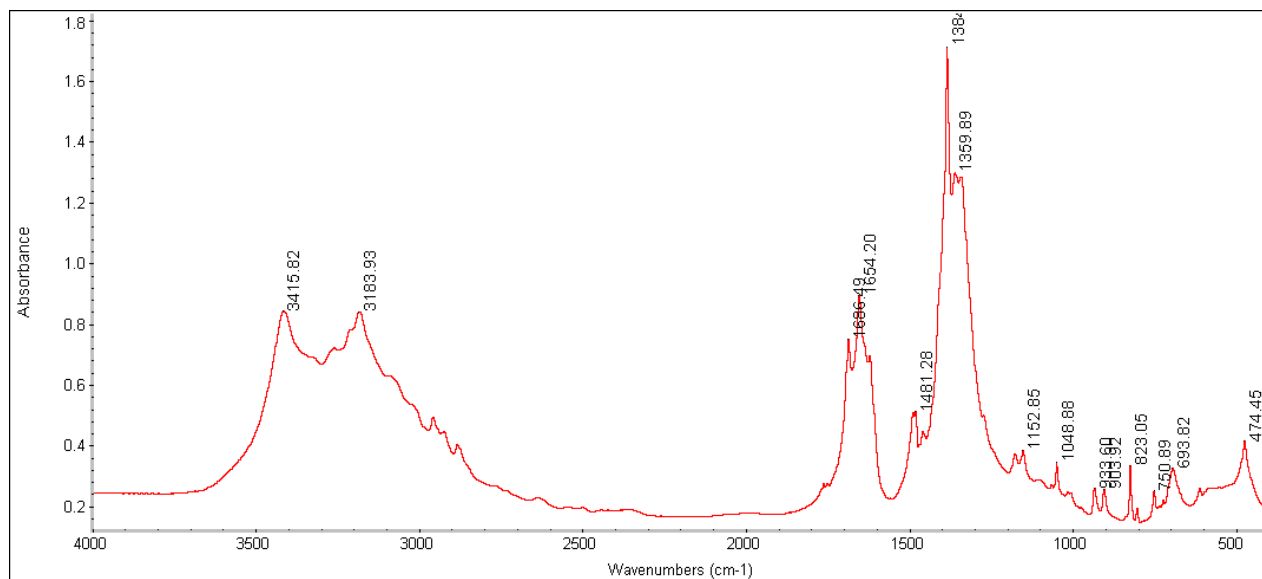
Slika P18. Infracrveni spektar 6-aminoheksanoinske kiseline.

IC asignacija: 3389 (istezanje NH); 3167 (istezanje OH); 1631 (istezanje C-N); 1400 (simetrično savijanje CH₃); 1345 (simetrično istezanje C=O); 1160 (savijanje CC); 1082 (istezanje C-C-N); 537 (savijanje NCN).



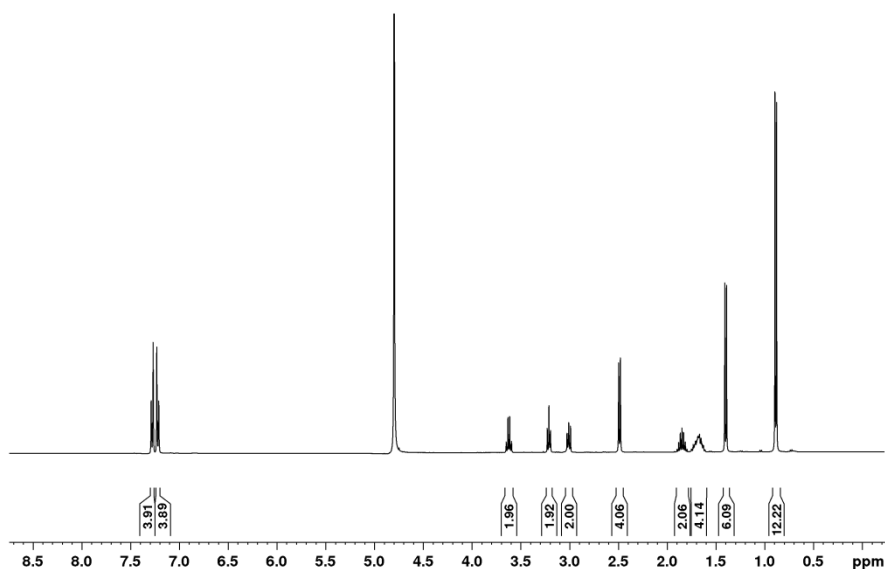
Slika P19. Infracrveni spektar agmatinijum-citrata.

IC asignacija: 3350 (istezanje NH); 3169 (istezanje OH); 1637 (istezanje C-N); 1569 (istezanje C-N); 1387 (simetrično istezanje C=O); 1272 (istezanje C=O); 1181 (simetrično istezanje CCC); 621 (deformacija izvan ravni CCC).

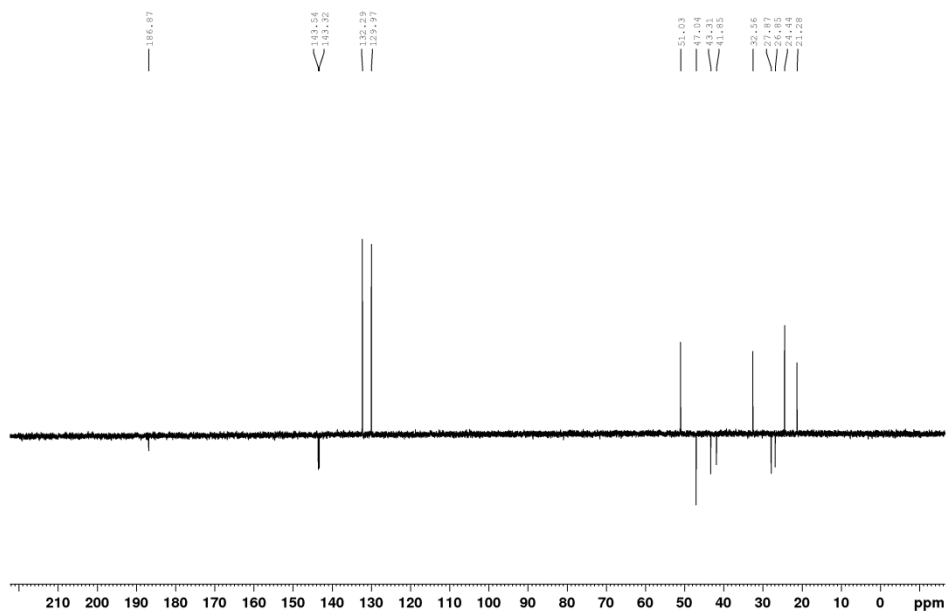


Slika P20. Infracrveni spektar agmatinijum-nitrata.

IC asignacija: 3416 (istezanje NH); 3184 (istezanje NH); 1686 (savijanje NH₂); 1654 (istezanje C-N); 1481 (asimetrično savijanje CH₃); 1384 (asimetrično savijanje CH₃); 1360 (asimetrično savijanje CH₃); 904 (savijanje NH₂); 751 (istezanje CNH); 474 (ljuljanje NH₂).



a)

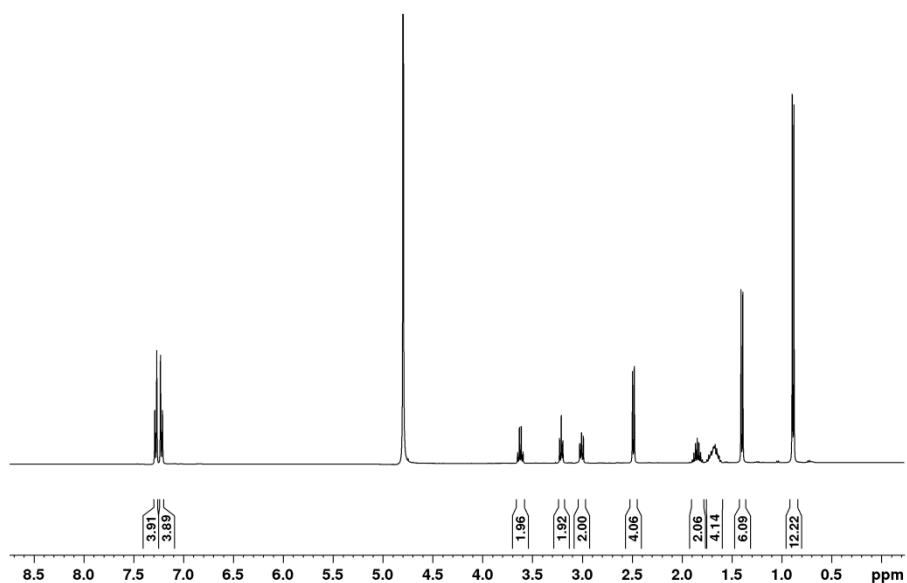


b)

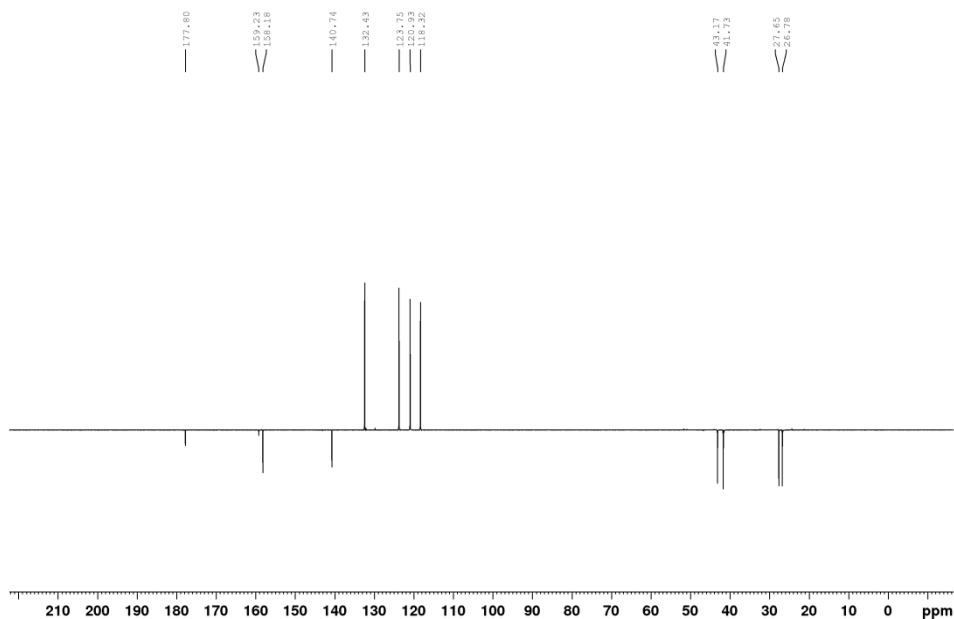
Slika P21. a) ^1H i b) ^{13}C NMR spektar agmatinijum-ibuprofenata.

^1H NMR: 0,88, d, 12 H, $J = 6,7$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, 1,40, d, 6 H, $J = 7,2$ Hz, $\text{CH}_3\text{CHCO}_2^-$, 1,62, m, 4 H, CH_2-2' i CH_2-3' , 1,84, m, 2 H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, 2,49, d, 4 H, $J = 7,1$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, 3,01, t, 2 H, $J_{3',4'} = 7,2$ Hz, CH_2-4' , 3,21, t, 2 H, $J_{1',2'} = 6,8$ Hz, CH_2-1' , 3,62, q, 2 H, $J = 7,1$ Hz, $\text{CH}_3\text{CHCO}_2^-$, 7,22, d, 4 H, $J = 8,1$ Hz, H-2 i H-6, 7,30, d, 4 H, $J = 8,1$ Hz, H-3 i H-5.

^{13}C NMR: 21,28 ($\text{CH}_3\text{CHCO}_2^-$), 24,44 ($\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 26,85 (CH_2-3'), 27,87 (CH_2-2'), 32,56 ($\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 41,85 (CH_2-4'), 43,31 (CH_2-1'), 47,04 ($\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 51,03 ($\text{CH}_3\text{CHCO}_2^-$), 129,97 (C-3 i C-5), 132,29 (C-2 i C-6), 143,32 (C-4), 143,54 (C-1), 136,80 (C-6), 159,34 [$\text{NH}_3\text{C}(\text{NH})_2$], 186,87 (C=O).



a)

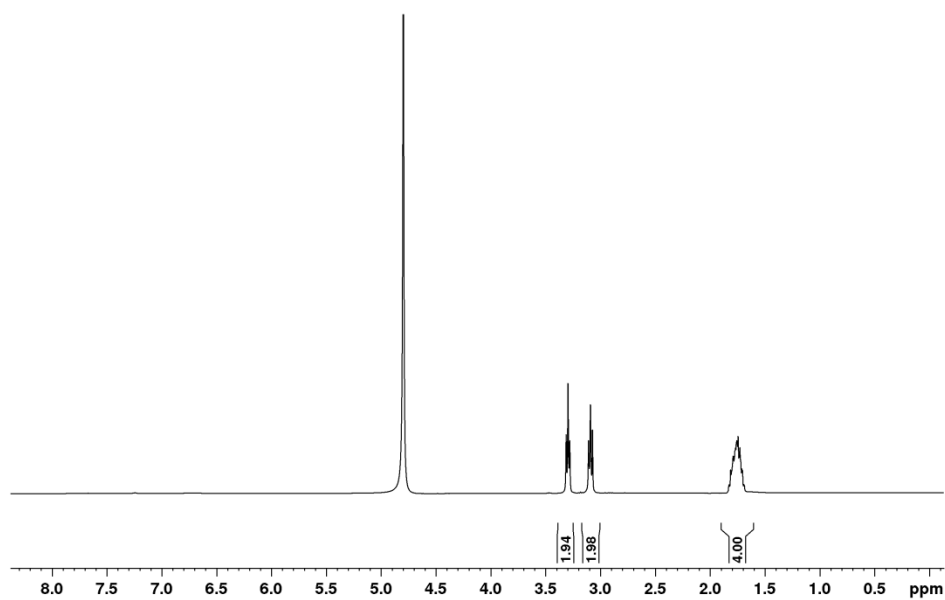


b)

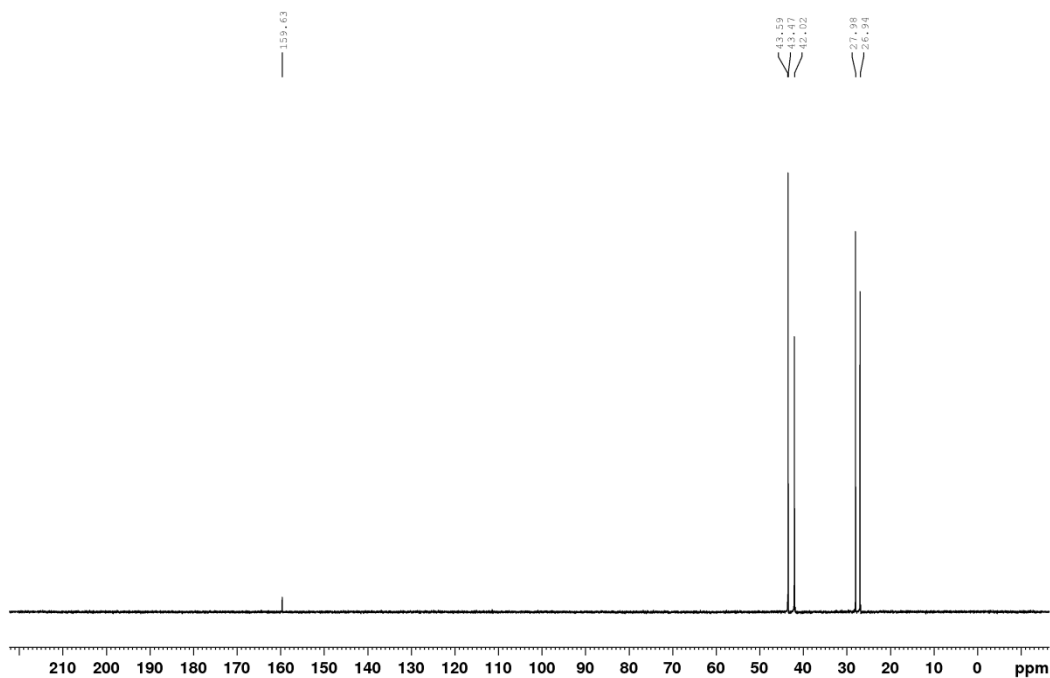
Slika P22. a) ^1H i b) ^{13}C NMR spektar agmatinijum-salicilata.

^1H NMR: 1,33, m, 2 H, $\text{CH}_2\text{-2}'$, 1,45, m, 2 H, $\text{CH}_2\text{-3}'$, 2,77, t, 2 H, $J_{3',4'} = 7,8$ Hz, $\text{CH}_2\text{-4}'$, 2,84, t, 2 H, $J_{1',2'} = 7,0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-1}'$, 6,88, ddd, 2 H, $J_{2,4} = 2,6$ Hz, $J_{4,6} = 1$ Hz, $J_{4,5} = 8,0$ Hz, H-4, 7,19, t, 2 H, $J = 7,9$ Hz, H-5, 7,25, dd, 2 H, $J_{2,4} = 2,6$ Hz, $J_{2,6} = 1,3$ Hz, H-2, 7,32, dt, $J_{5,6} = 7,7$ Hz, $J_{2,6} = 1,3$ Hz, $J_{4,6} = 1$ Hz, H-6.

^{13}C NMR: 26,78 ($\text{CH}_2\text{-3}'$), 27,65 ($\text{CH}_2\text{-2}'$), 41,73 ($\text{CH}_2\text{-4}'$), 43,17 ($\text{CH}_2\text{-1}'$), 118,32 (C-2), 120,93 (C-4), 123,75 (C-6), 132,43 (C-5), 140,74 (C-1), 158,18 (C-3), 159,23 [$\text{NH}_3\text{C}(\text{NH})_2$], 177,80 (C=O).



a)

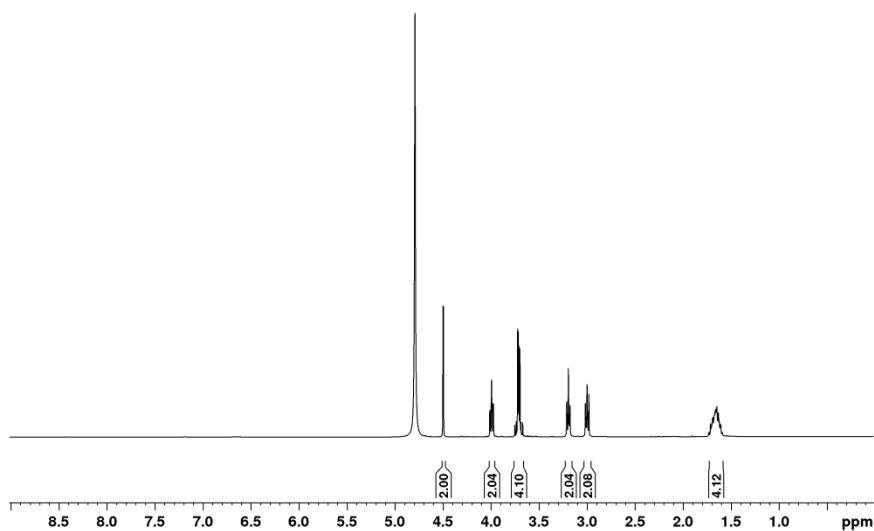


b)

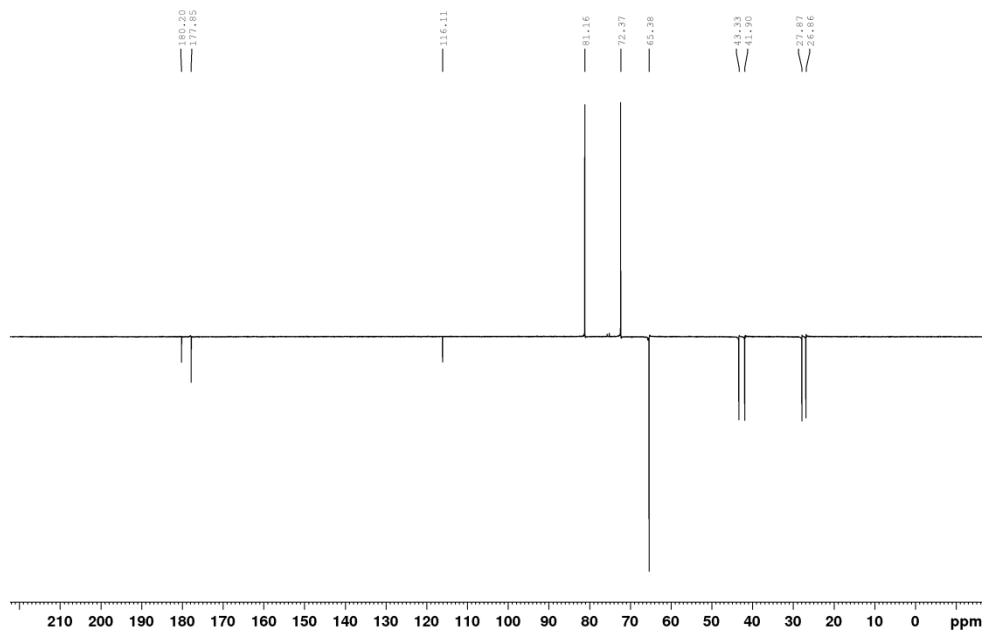
Slika P23. a) ^1H i b) ^{13}C NMR spektar agmatinijum-hlorida.

^1H NMR: 1,76, m, 4 H, CH_2 -2 i CH_2 -3, 3,09, t, 2 H, $J_{3,4} = 6,8$ Hz, CH_2 -4, 3,30, t, 2 H, $J_{1,2} = 7,0$ Hz, CH_2 -1.

^{13}C NMR: 26,94 (CH_2 -3), 27,98 (CH_2 -2), 42,02 (CH_2 -4), 43,47 (CH_2 -1), 159,63 [$\text{NH}_3\text{C}(\text{NH})_2$].



a)

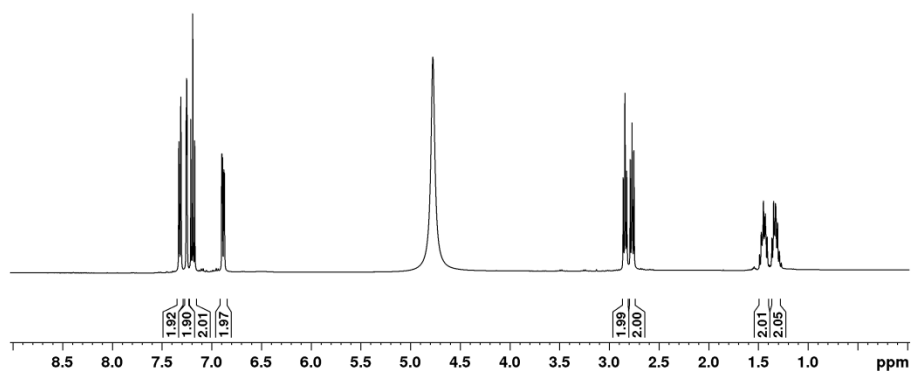


b)

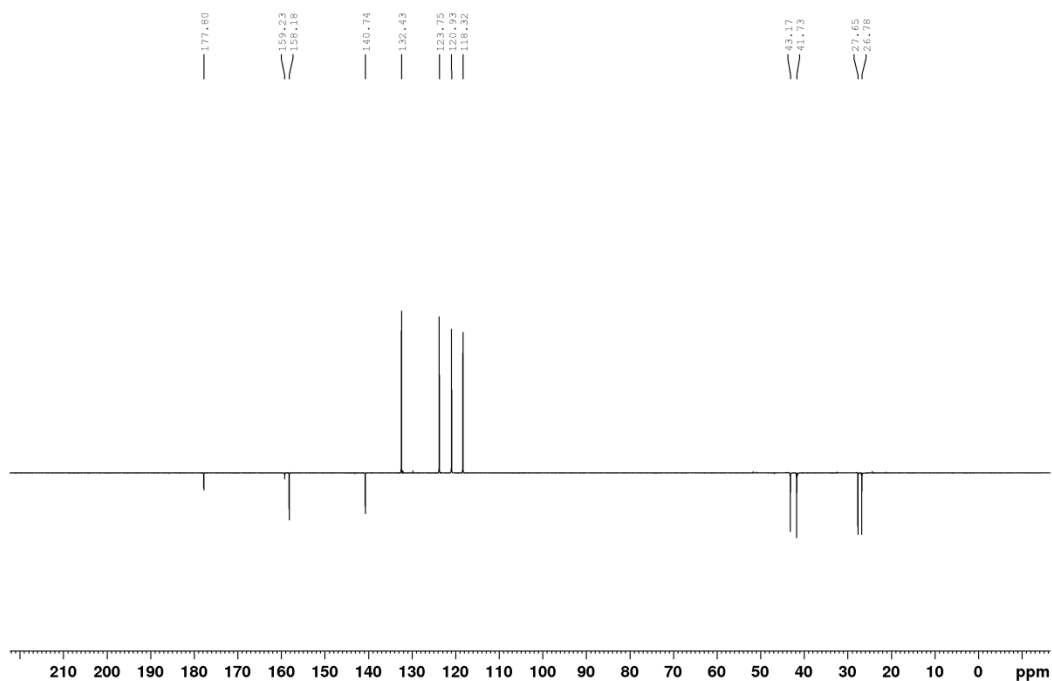
Slika P24. a) ^1H i b) ^{13}C NMR spektar agmatinijum-askorbata.

^1H NMR: 1,65, m, 4 H, $\text{CH}_2\text{-}2'$ i $\text{CH}_2\text{-}3'$, 3,00, t, 2H, $J_{3',4'} = 7,5$ Hz, $\text{CH}_2\text{-}4'$, 3,19, t, 2H, $J_{1',2'} = 6,5$ Hz, $\text{CH}_2\text{-}1'$, 3,69, dd, 2 H, $J_{5,6a} = 7,4$ Hz, $J_{6a,6b} = 11,5$ Hz, H-6a, 3,73, dd, 2 H, $J_{5,6b} = 6,0$ Hz, $J_{6a,6b} = 11,5$ Hz, H-6b, 3,99, ddd, 2 H, $J_{4,5} = 1,9$ Hz, $J_{5,6b} = 6,0$ Hz, $J_{5,6a} = 7,4$ Hz, H-5, 4,50, d, 2 H, $J_{4,5} = 1,9$ Hz, H-4.

^{13}C NMR: 26,86, 27,87 ($\text{CH}_2\text{-}2'$ i $\text{CH}_2\text{-}3'$), 41,90 ($\text{CH}_2\text{-}4'$), 43,33 ($\text{CH}_2\text{-}1'$), 65,38 (C-6), 72,37 (C-5), 81,16 (C-4), 116,11 (C-2), 159,70 [$\text{NH}_3\text{C}(\text{NH})_2$], 177,85 (C-3), 180,20 (C-1).



a)

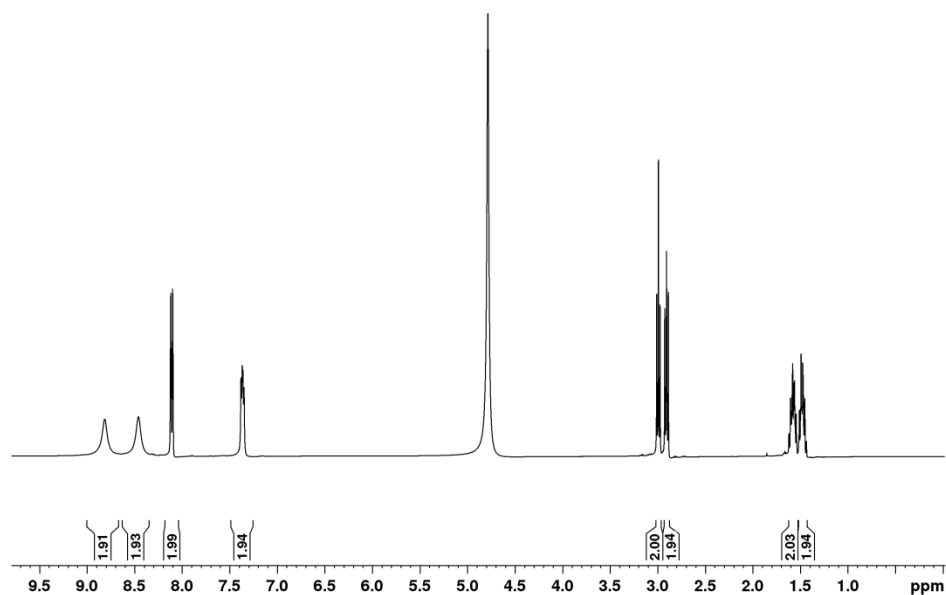


b)

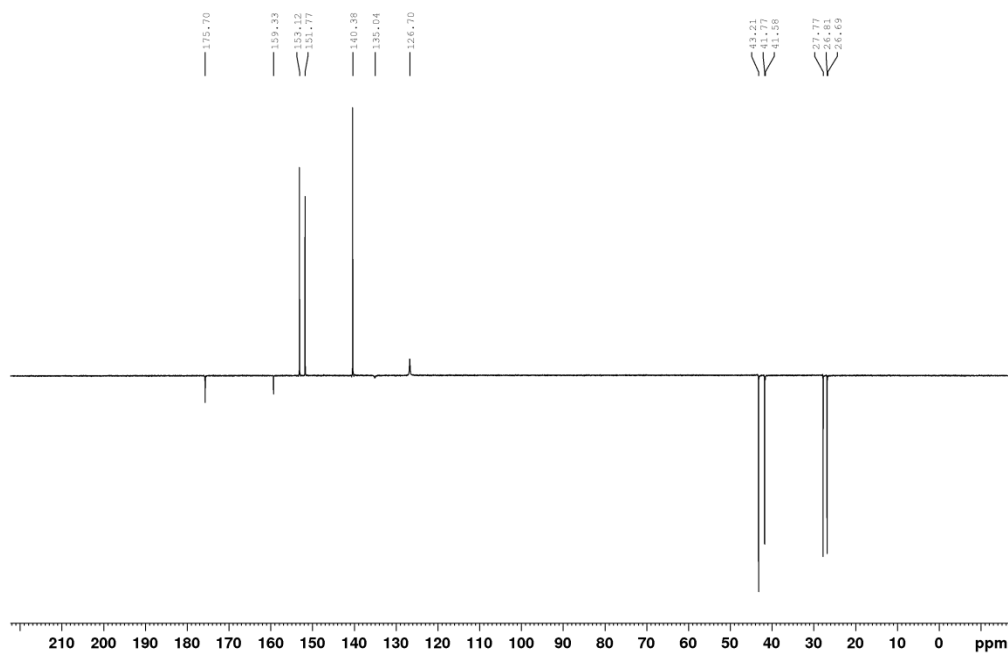
Slika P25. a) ^1H i b) ^{13}C NMR spektar agmatinijum-*m*-hidroksibenzoata.

^1H NMR: 1,33, m, 2 H, $\text{CH}_2\text{-2}'$, 1,45, m, 2 H, $\text{CH}_2\text{-3}'$, 2,77, t, 2 H, $J_{3',4'} = 7,8$ Hz, $\text{CH}_2\text{-4}'$, 2,84, t, 2 H, $J_{1',2'} = 7,0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-1}'$, 6,88, ddd, 2 H, $J_{2,4} = 2,6$ Hz, $J_{4,6} = 1$ Hz, $J_{4,5} = 8,0$ Hz, H-4, 7,19, t, 2 H, $J = 7,9$ Hz, H-5, 7,25, dd, 2 H, $J_{2,4} = 2,6$ Hz, $J_{2,6} = 1,3$ Hz, H-2, 7,32, dt, $J_{5,6} = 7,7$ Hz, $J_{2,6} = 1,3$ Hz, $J_{4,6} = 1$ Hz, H-6.

^{13}C NMR: 26,78 ($\text{CH}_2\text{-3}'$), 27,65 ($\text{CH}_2\text{-2}'$), 41,73 ($\text{CH}_2\text{-4}'$), 43,17 ($\text{CH}_2\text{-1}'$), 118,32 (C-2), 120,93 (C-4), 123,75 (C-6), 132,43 (C-5), 140,74 (C-1), 158,18 (C-3), 159,23 [$\text{NH}_3\text{C}(\text{NH})_2$], 177,80 (C=O).



a)

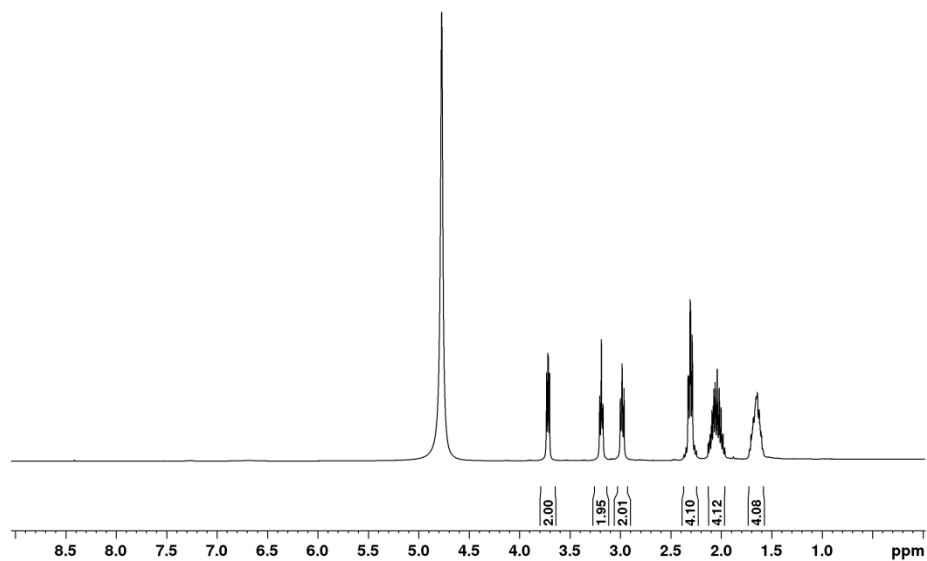


b)

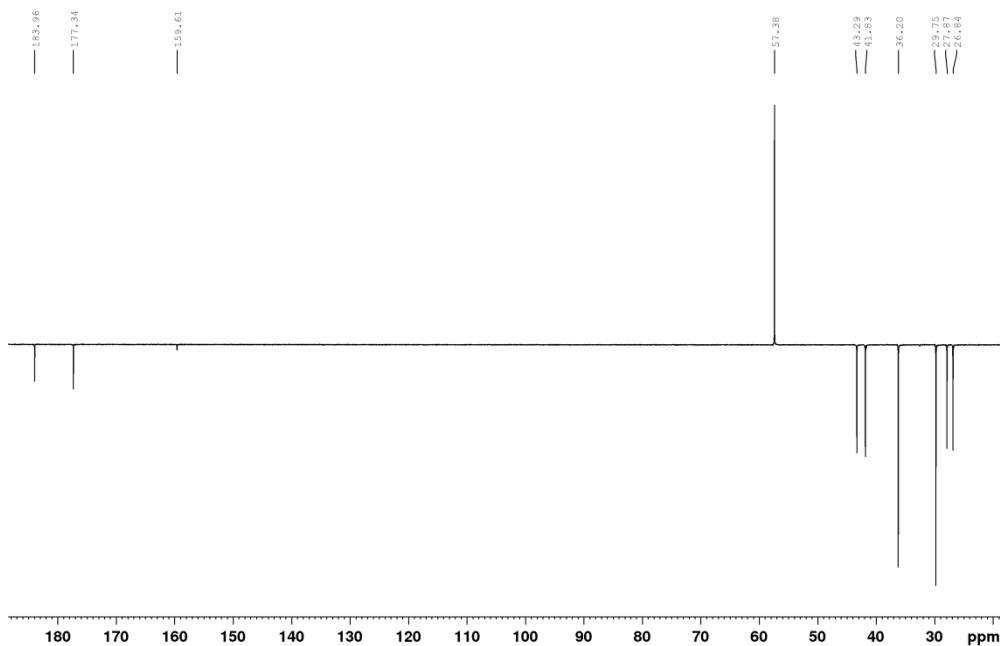
Slika P26. a) ^1H i b) ^{13}C NMR spektar agmatinijum-nikotinata.

^1H NMR: 1,48, m, 2 H, $\text{CH}_2\text{-}2'$, 1,57, m, 2 H, $\text{CH}_2\text{-}3'$, 2,87, t, 2 H, $J_{3',4'} = 7,3$ Hz, $\text{CH}_2\text{-}4'$, 2,99, t, 2 H, $J_{1',2'} = 7,0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-}1'$, 7,36, dd, 1H, $J_{4,5} = 7,7$ Hz, $J_{5,6} = 5,1$ Hz, H-5, 8,11, bd, 1H, $J_{4,5} = 8,0$ Hz, H-4, 8,46, bs, 1H, H-6, 8,81, bs, 1H, H-2.

^{13}C NMR: 26,81 ($\text{CH}_2\text{-}3'$), 27,77 ($\text{CH}_2\text{-}2'$), 41,77 ($\text{CH}_2\text{-}4'$), 43,21 ($\text{CH}_2\text{-}1'$), 126,70 (C-5), 135,04 (C-3), 140,38 (C-4), 151,77 (C-2), 153,12 (C-6), 159,33 [$\text{NH}_3\text{C}(\text{NH}_2)_2$], 175,70 (C=O).



a)

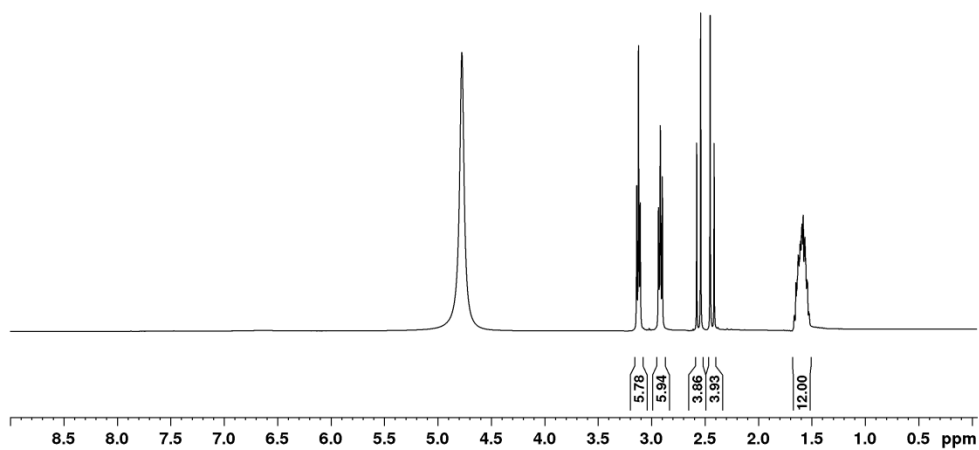


b)

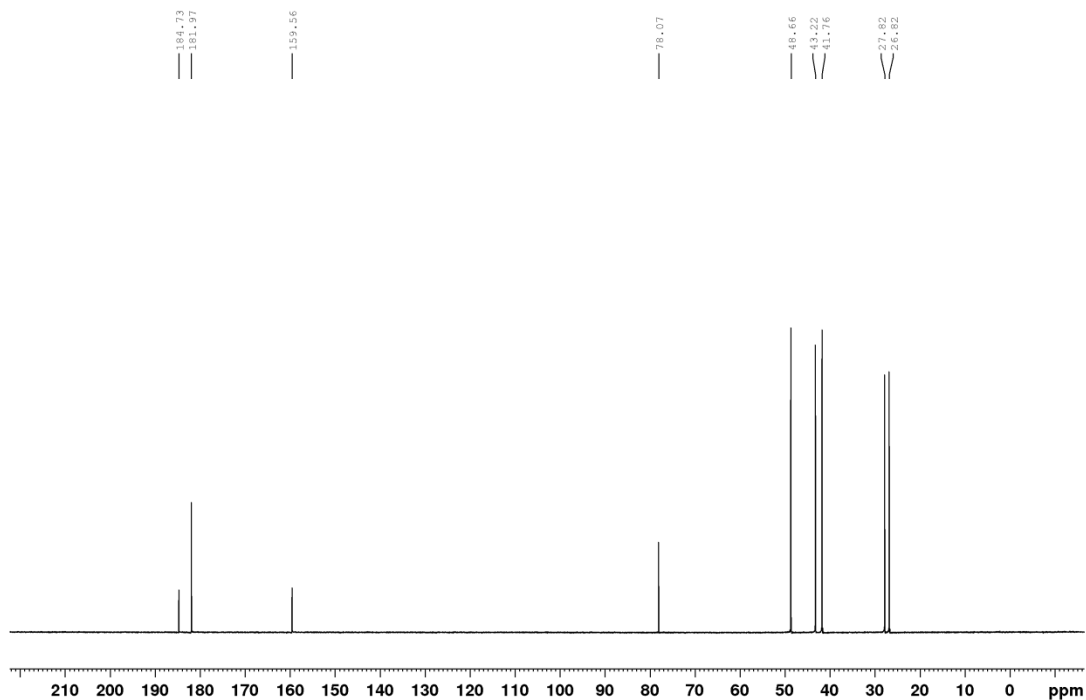
Slika P27. a) ^1H i b) ^{13}C NMR spektar agmatinijum-glutamata.

^1H NMR: 1,64, m, 4 H, $\text{CH}_2\text{-2}'$ i $\text{CH}_2\text{-3}'$, 2,04, m, 4 H, $\text{CH}_2\text{-3}$, 2,31, m, 4 H, $\text{CH}_2\text{-4}$, 2,98, t, 2 H, $J_{3',4'} = 7,5$ Hz, $\text{CH}_2\text{-4}'$, 3,19, t, 2 H, $J_{1',2'} = 6,5$ Hz, $\text{CH}_2\text{-1}'$, 3,72, dd, 2 H, $J_{2,3} = 5$ Hz i 7,0 Hz, H-2.

^{13}C NMR: 26,84, 27,87 ($\text{CH}_2\text{-2}'$ i $\text{CH}_2\text{-3}'$), 29,75 ($\text{CH}_2\text{-3}$), 36,20 ($\text{CH}_2\text{-4}$), 41,83 ($\text{CH}_2\text{-4}'$), 43,29 ($\text{CH}_2\text{-1}'$), 57,38 (C-2), 159,61 [$\text{NH}_3\text{C}(\text{NH})_2$], 171,34 (C-5), 183,96 (C-1).



a)

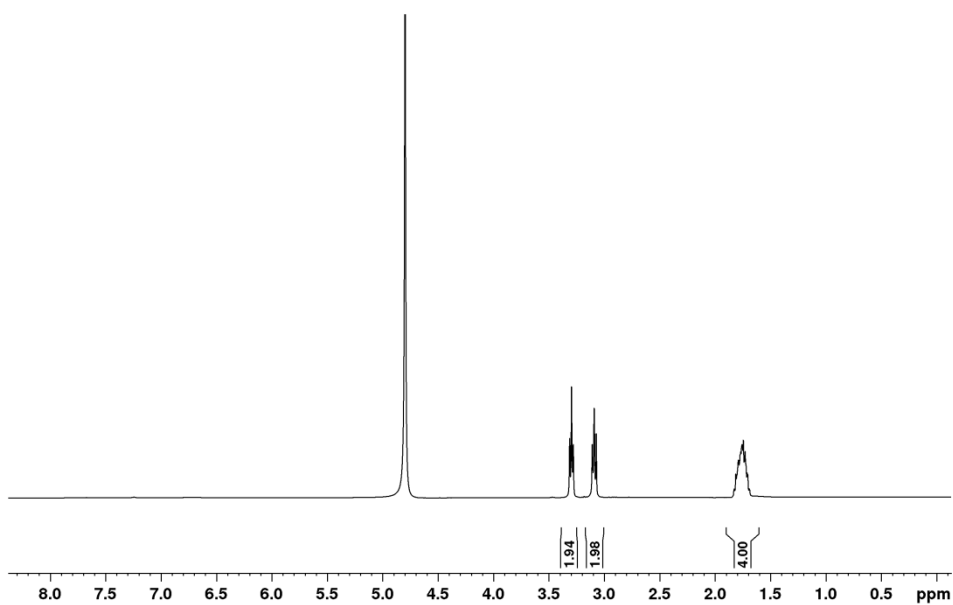


b)

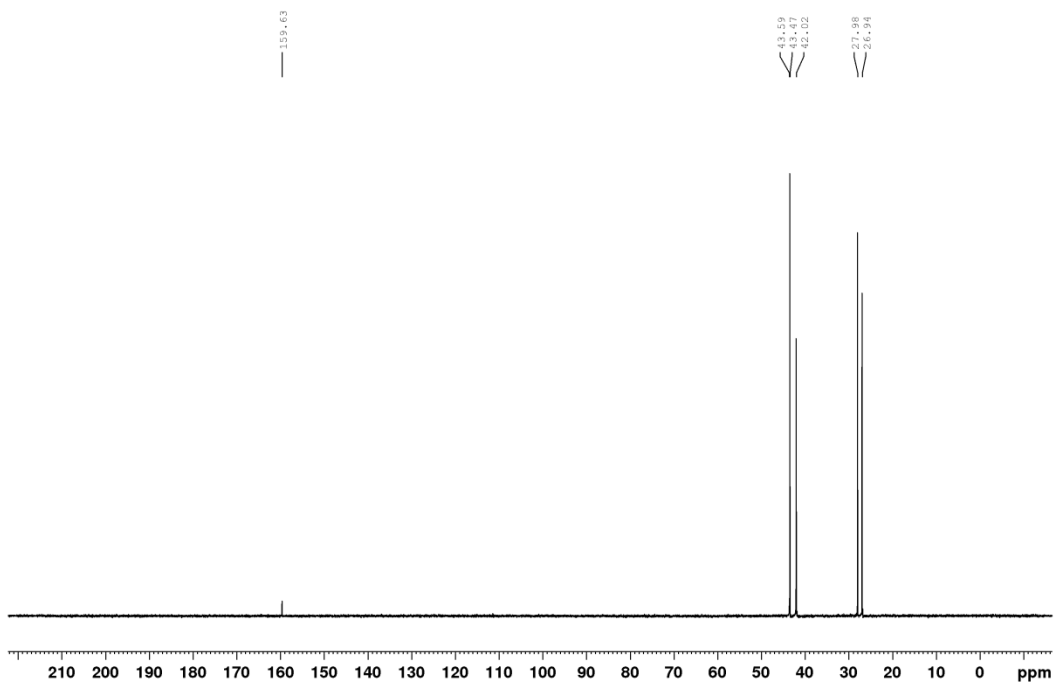
Slika P28. a) ^1H i b) ^{13}C NMR spektar agmatinijum-citrata.

^1H NMR: 1,59, m, 12 H, $\text{CH}_2\text{-2}'$ i $\text{CH}_2\text{-3}'$, 2,43 i 2,56, 2 x d, 2 x 4 H, $J_{\text{gem}} = 15,1$ Hz, $\text{CH}_2\text{-1}$ i $\text{CH}_2\text{-3}$, 2,91, t, 6 H, $J_{3',4'} = 7,5$ Hz, $\text{CH}_2\text{-4}'$, 3,12, t, 6 H, $J_{1',2'} = 6,5$ Hz, $\text{CH}_2\text{-1}'$.

^{13}C NMR: 26,82, 27,82 ($\text{CH}_2\text{-2}'$ i $\text{CH}_2\text{-3}'$), 41,76 ($\text{CH}_2\text{-4}'$), 43,22 ($\text{CH}_2\text{-1}'$), 48,66 ($\text{CH}_2\text{-1}$ i $\text{CH}_2\text{-3}$), 78,07 (C-2), 159,56 [$\text{NH}_3\text{C}(\text{NH}_2)_2$], 181,97 (CH_2COO^-), 184,73 (C_2COO^-).



a)

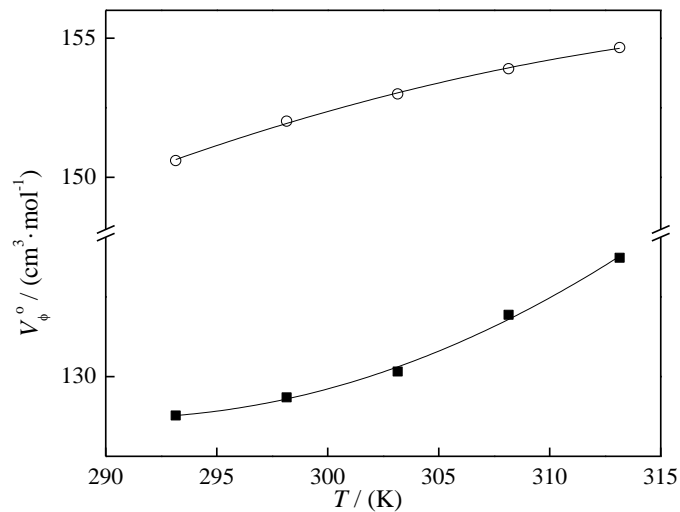


b)

Slika P29. a) ^1H i b) ^{13}C NMR spektar agmatinijum-nitrata.

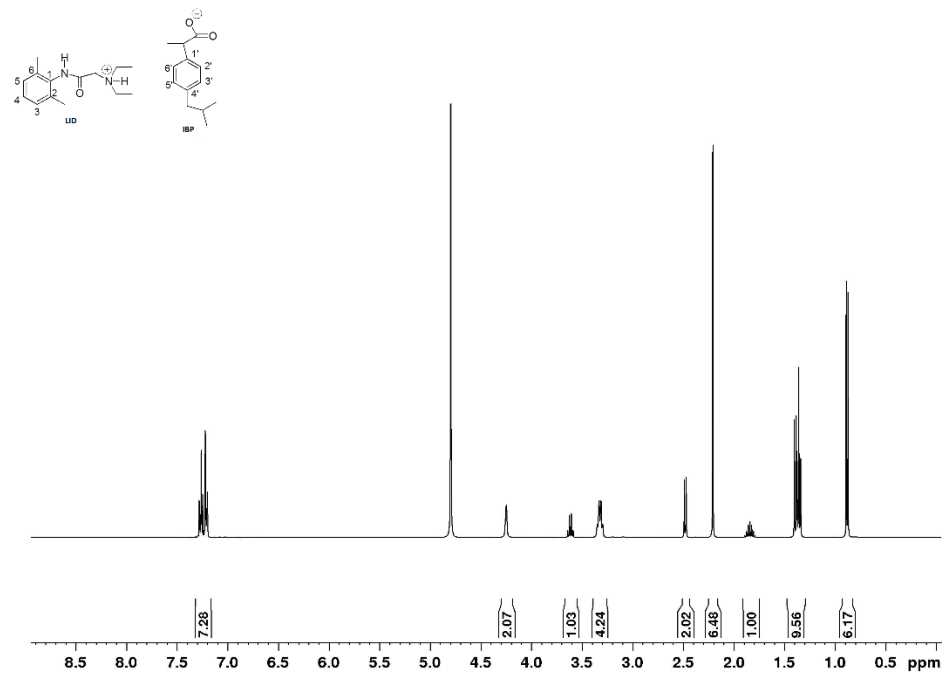
^1H NMR: 1,73, m, 4 H, CH_2 -2 i CH_2 -3, 3,01, t, 2 H, $J_{3,4} = 7,3$ Hz, CH_2 -4, 3,28, t, 2 H, $J_{1,2} = 6,7$ Hz, CH_2 -1.

^{13}C NMR: 26,91 (CH_2 -3), 27,93 (CH_2 -2), 41,99 (CH_2 -4), 43,41 (CH_2 -1), 159,67 [$\text{NH}_3\text{C}(\text{NH})_2$].

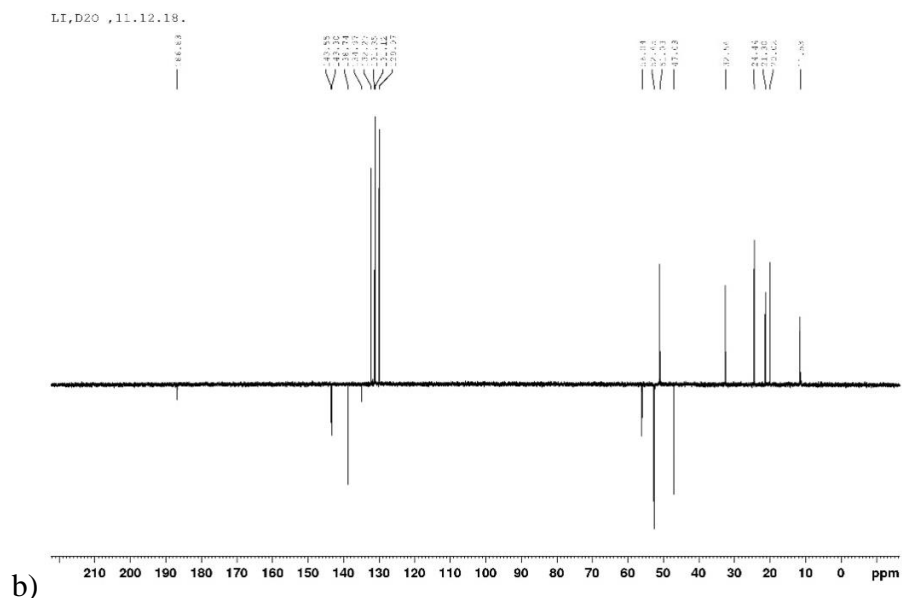


Slika P30. Promena prividne molarne zapremine pri beskonačnom razblaženju, (V_{ϕ}°), agmatinijum-sulfata (■) i agmatinijum-hlorida (○) sa temperaturom.

LI, D2O, 11.12.18.



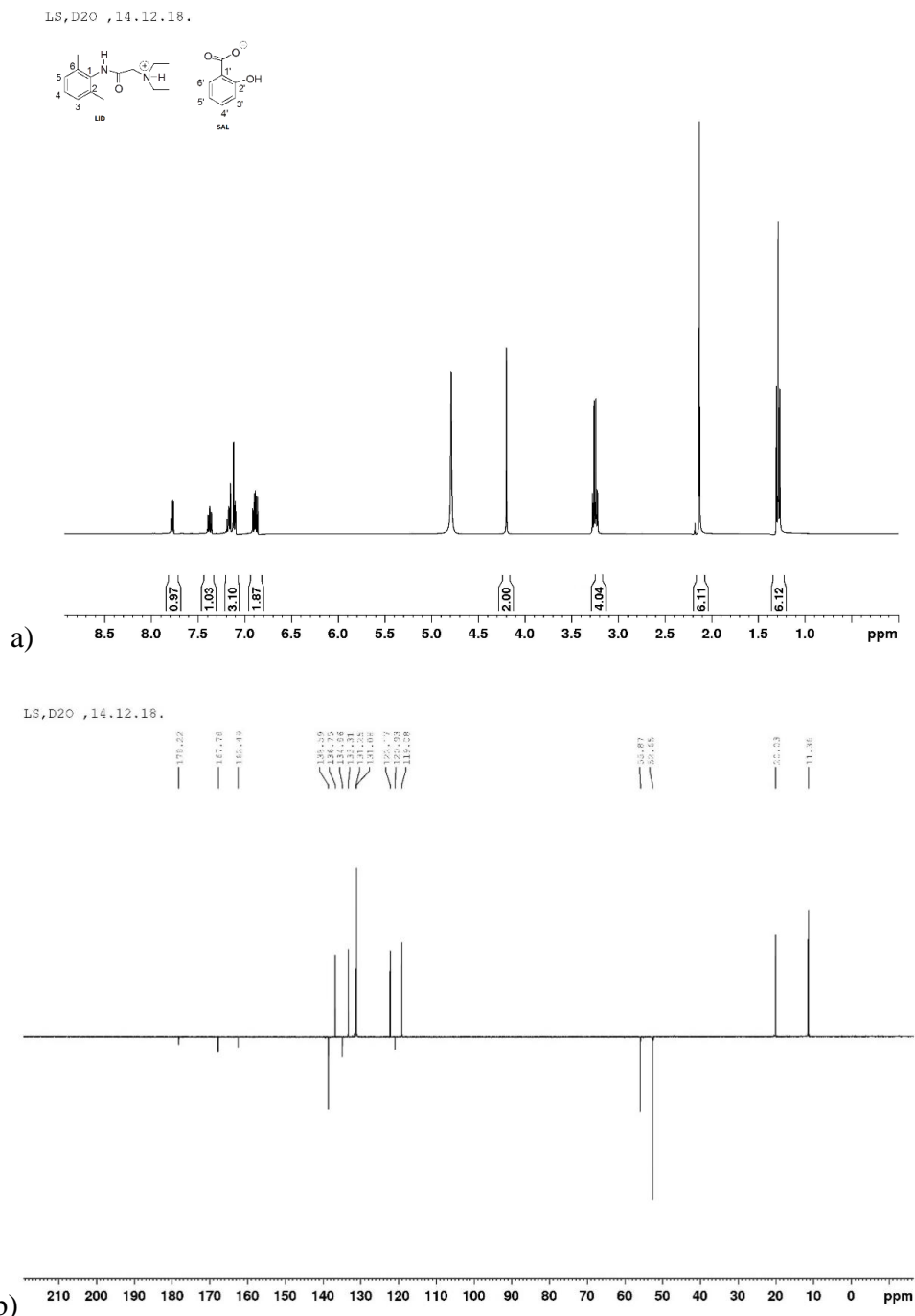
a)



Slika P31. a) ^1H , b) ^{13}C NMR spektar lidokainijum-ibuprofenata.

^1H NMR (D_2O): 0,88 (d, 6 H, $J_{(\text{CH}_3)_2\text{CH}} = 6,7$ Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$, IBP); 1,36 (t, 6 H, $J_{\text{CH}_3\text{CH}_2} = 7,3$ Hz, $2\text{CH}_2\text{CH}_3$, LID); 1,72 (d, 3 H, $J_{\text{CHCH}_3} = 7,2$ Hz, CHCH_3 , IBP); 1,84 (m, 1 H, CHCH_3 , IBP); 2,21 (s, 6 H, 2CH_3 , LID); 2,48 (d, 2 H, $J_{\text{CH}_2\text{CH}} = 7,2$ Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2$, IBP); 3,32 (q, 4 H, $J_{\text{CH}_3\text{CH}_2} = 7,3$ Hz, $2\text{CH}_2\text{CH}_3$, LID); 3,61 (q, 1 H, $J_{\text{CHCH}_3} = 7,2$ Hz, CHCH_3 , IBP); 4,24 (s, 2 H, CH_2CO , LID); 7,19-7,29 (m, 7 H, Ar-H, LID, IBP).

^{13}C NMR (D_2O): 11,53 (CH_2CH_3 , LID); 20,02 (CH_3 , LID); 21,30 (CHCH_3 , IBP); 24,44($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$, IBP); 32,56 ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$, IBP); 47,03($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2$, IBP); 51,03(CHCH_3 , IBP); 52,65(CH_2CH_3 , LID); 56,04(CH_2CO , LID); 129,97 (C-2',C-6', IBP); 131,12(C-3,C-5, LID); 131,35 (C-4, LID); 132,27(C-3',C-5', IBP); 134,97(C-1, LID); 138,74(C-2, C-6, LID); 143,30(C-4', IBP); 143,55(C-1', IBP); 168,85(CH_2CO , LID); 186,83 (C=O, IBP).

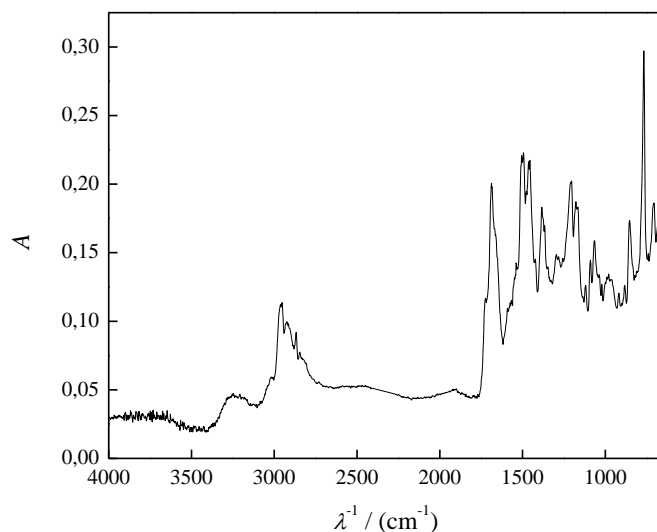


Slika P32. a) ¹H, b) ¹³C NMR spektar lidokainijum-salicilata.

¹H NMR (D₂O): 1,29 (t, 6 H, $J_{\text{CH}_3\text{CH}_2} = 7,3$ Hz, 2CH₂CH₃, LID); 2,13 (s, 6 H, 2CH₃, LID); 3,24 (q, 4 H, $J_{\text{CH}_3\text{CH}_2} = 7,3$ Hz, 2CH₂CH₃, LID); 4,20 (s, 2 H, CH₂CO, LID); 6,88 (dd, 1 H, $J_{3',4'} = 8,1$ Hz, $J_{3',5'} = 1$ Hz, H-3', SAL); 6,91 (td, 1 H, $J_{3',5'} = 1,2$ Hz, $J_{4',5'} = 7,5$ Hz, $J_{5',6'} = 7,8$ Hz, H-5', SAL); 7,09-7,19 (m, 3 H, Ar-H, LID); 7,37 (ddd, 1 H, $J_{4',5'} = 7,2$ Hz, $J_{3',4'} = 8,1$ Hz, $J_{4',6'} = 1,7$ Hz, H-4', SAL); 7,78 (dd, 1 H, $J_{4',6'} = 1,7$ Hz, $J_{5',6'} = 7,8$ Hz, H-6', SAL).

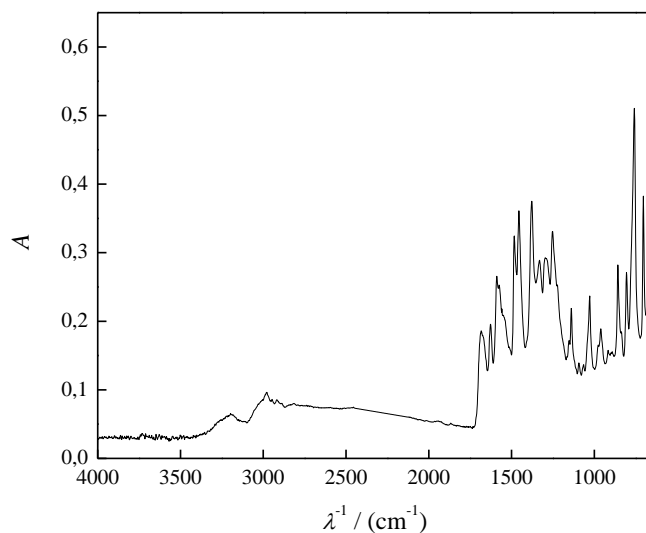
¹³C NMR (D₂O): 11,36 (CH₂CH₃, LID); 20,03 (CH₃, LID); 52,65 (CH₂CH₃, LID); 55,87 (CH₂CO, LID); 119,08 (C-3', SAL); 120,93 (C-1', SAL); 122,17 (C-5', SAL); 131,08 (C-3, C-5, LID);

131,25(C-4, LID); 133,31(C-6', SAL); 134,86(C-1, LID); 136,75(C-4', SAL); 138,74(C-2, C-6, LID); 162,49 (C-2', SAL); 167,78 (CH₂CO, LID); 178,22 (C=O, SAL).



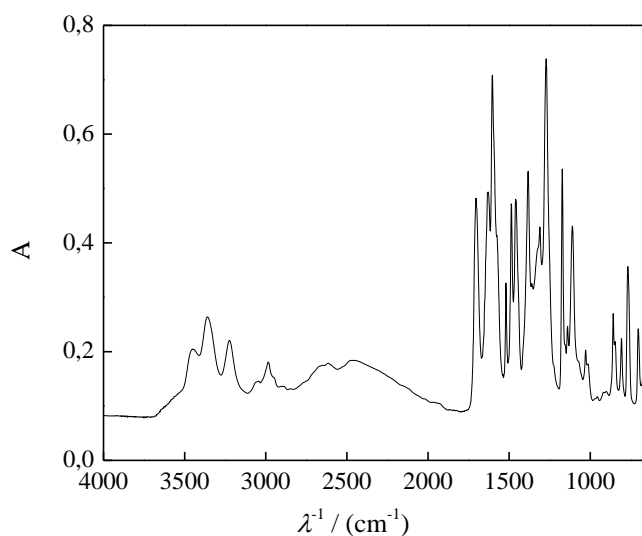
Slika P33. Infracrveni spektar lidokainijum-ibuprofenata.

IC asignacija: 3245 (istezanje NH); 2953 i 2868 (istezanje C-H); 2355 (istezanje NH); 1688 (simetrična deformacija C=O); 1495 (simetrična deformacija C-N); 1456 (asimetrična deformacija C-H); 1384 (simetrična deformacija CH); 1204 (uvijanje CH₂); 1119 (istezanje C-O); 1065 (uvijanje CH₂); 767 (aromatična C-H).



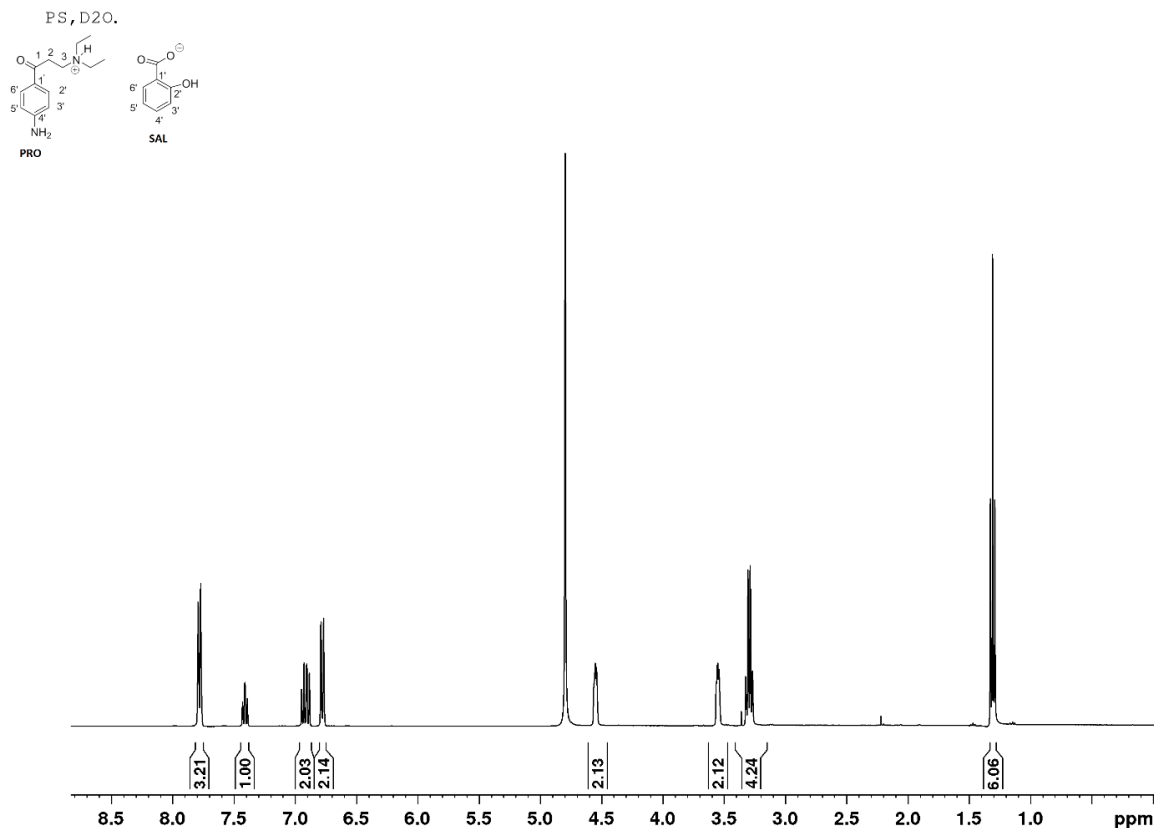
Slika P34. Infracrveni spektar lidokainijum-salicilat.

IC asignacija: 2978 (istezanje C-H); 2355 (istezanje NH); 1683 i 1623 (simetrična deformacija C=O); 1589 (aromatično istezanje C=C); 1581 (istezanje C=O); 1494 (simetrična deformacija C-N); 1484 i 1456 (istezanje CC); 1378 (istezanje C-O); 1296 (istezanje CC); 1252 (istezanje C-O); 1139 i 1028 (savijanje u ravni CH); 858 (deformacija izvan ravni CH), 758 (istezanje u ravni aromatičnog prstena C-H).

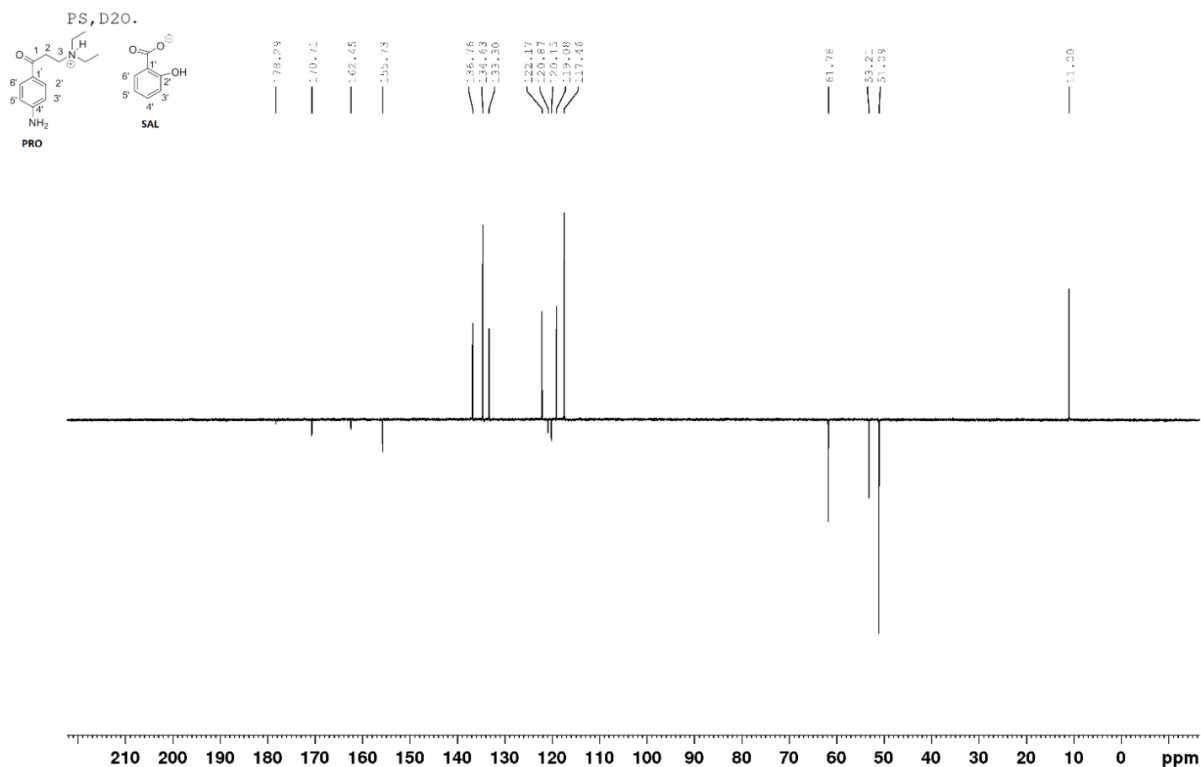


Slika P35. IC spektar prokainijum-salicilata.

IC asignacija: 3500-2700 (istezanje N-H); 3458 (istezanje O-H); 2950 (istezanje C-H); 1703 (istezanje C=O); 1683 i 1611 (konjugovano istezanje C=O i uvijanje N-H); 1494 (simetrična deformacija C-N); 1456 (asimetrična deformacija C-H); 1384 (uvijanje u ravni OH); 1269 (istezanje C-O); 767 (istezanje u ravni aromatičnog prstena C-H).



a)

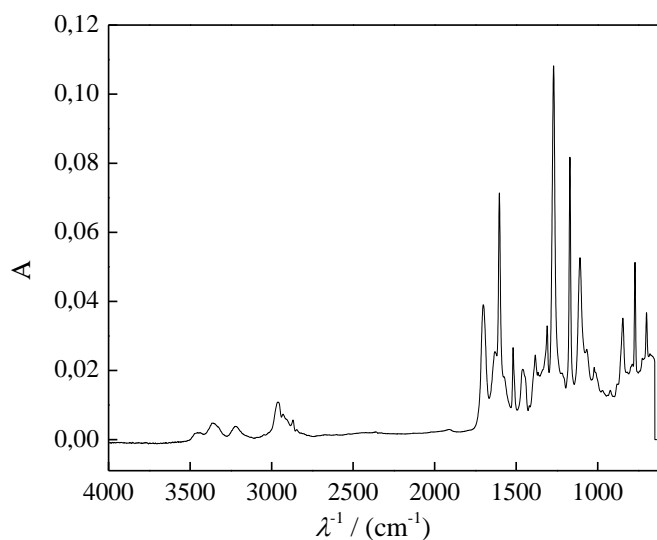


b)

Slika P36. a) ^1H , i b) ^{13}C NMR spektar prokainijum-salicilata.

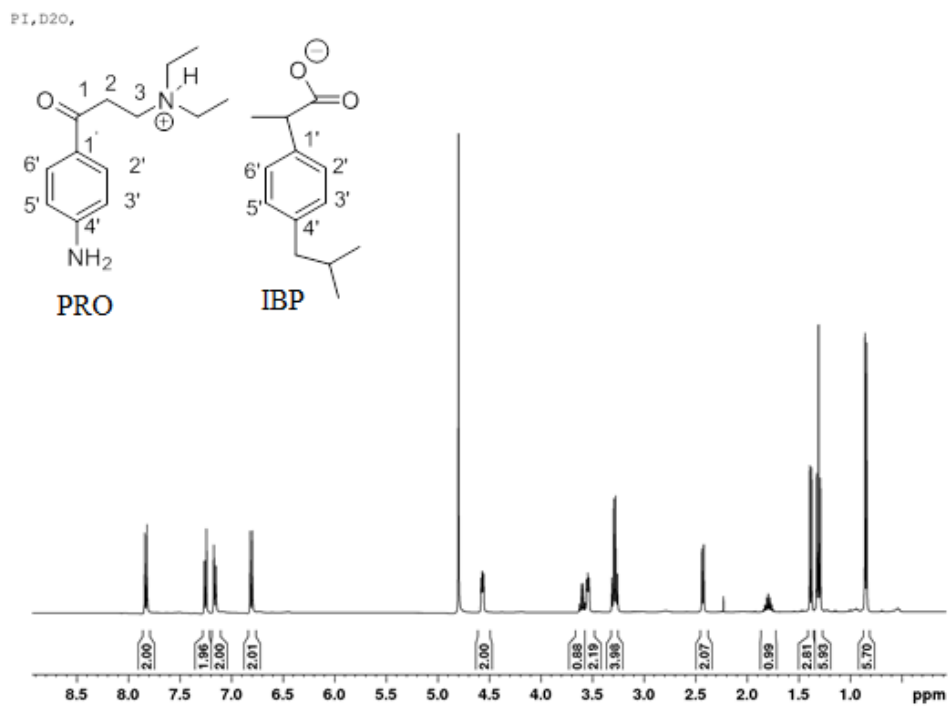
^1H NMR (D₂O): 1,30 (t, 6 H, $J_{\text{CH}_3, \text{CH}_2} = 7,3$ Hz, CH₂CH₃, PRO); 3,29 (q, 4 H, CH₂CH₃, PRO); 3,55 (bs, 2 H, CH₂₋₃ PRO); 4,55 (dd, 2 H, $J_{2,3} = 5,1$ Hz, CH₂₋₂ PRO); 6,78 (d, 2H, $J_{2',3'} = 8,7$ Hz, H-2' i H-6' PRO); 6,87-6,95 (m, 2 H, H-3' i H-5', SAL); 7,41 (ddd, 1 H, $J_{4',5'} = 7,2$ Hz, $J_{3',4'} = 8,1$ Hz, $J_{4',6'} = 1,7$ Hz, H-4', SAL); 7,78-7,80 (m, 3 H, H-6' SAL, H-3' i H-5', PRO).

^{13}C NMR (D₂O): 11,00 (CH₃, PRO), 51,09 (CH₂CH₃, PRO), 53,21 (CH₂₋₃, PRO), 61,78 (CH₂₋₂, PRO), 117,46 (CH-2' i CH-6', PRO), 119,08 (C-3', SAL), 120,15 (C-1', PRO), 120,87 (C-1', SAL), 122,1 (C-5', SAL), 133,30 (C-6', SAL), 134,63 (CH-3' i CH-5', PRO), 136,76 (C-4', SAL), 155,73 (C-4', PRO), 162,45 (2', SAL), 170,71 (C=O, PRO), 178,29 (C=O, SAL).

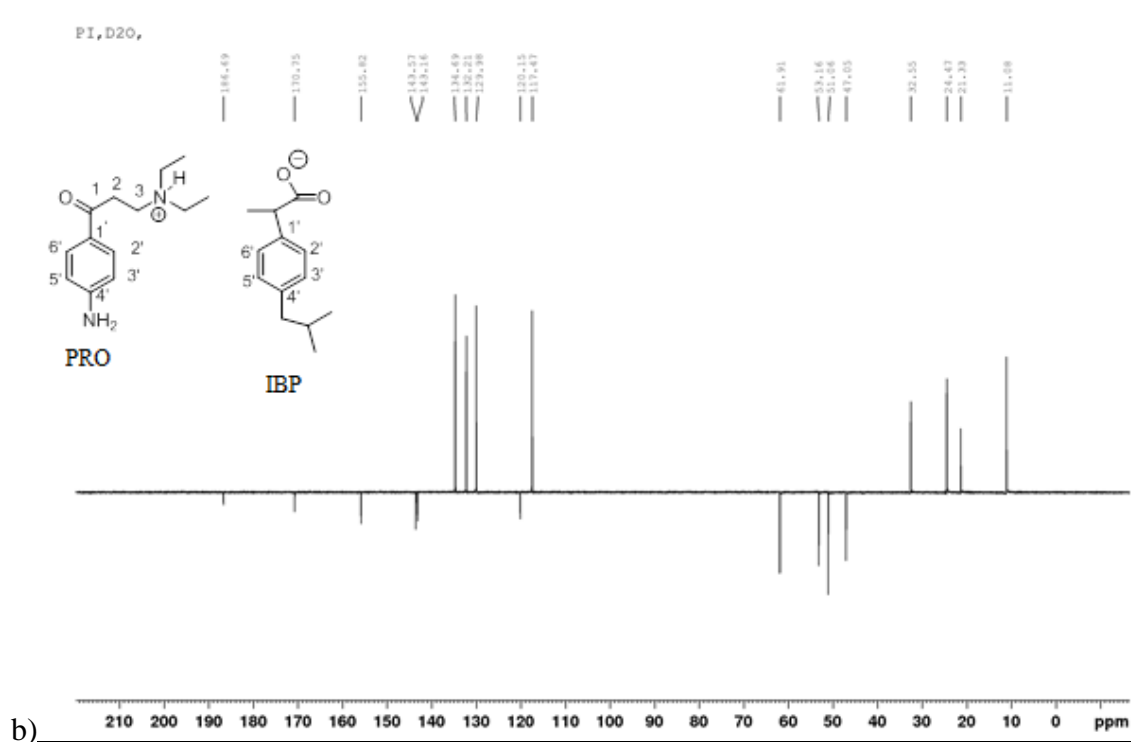


Slika P37. IC spektar prokainijum-ibuprofenata .

IC asignacija: 3500- 2700 (istezanje N-H); 2950 (istezanje C-H); 1702 (istezanje C=O); 1603 (aromatično istezanje C=C); 1272 (istezanje C-O i C-N); 1170 (istezanje C=O); 771 (istezanje u ravni aromatičnog prstena C-H).



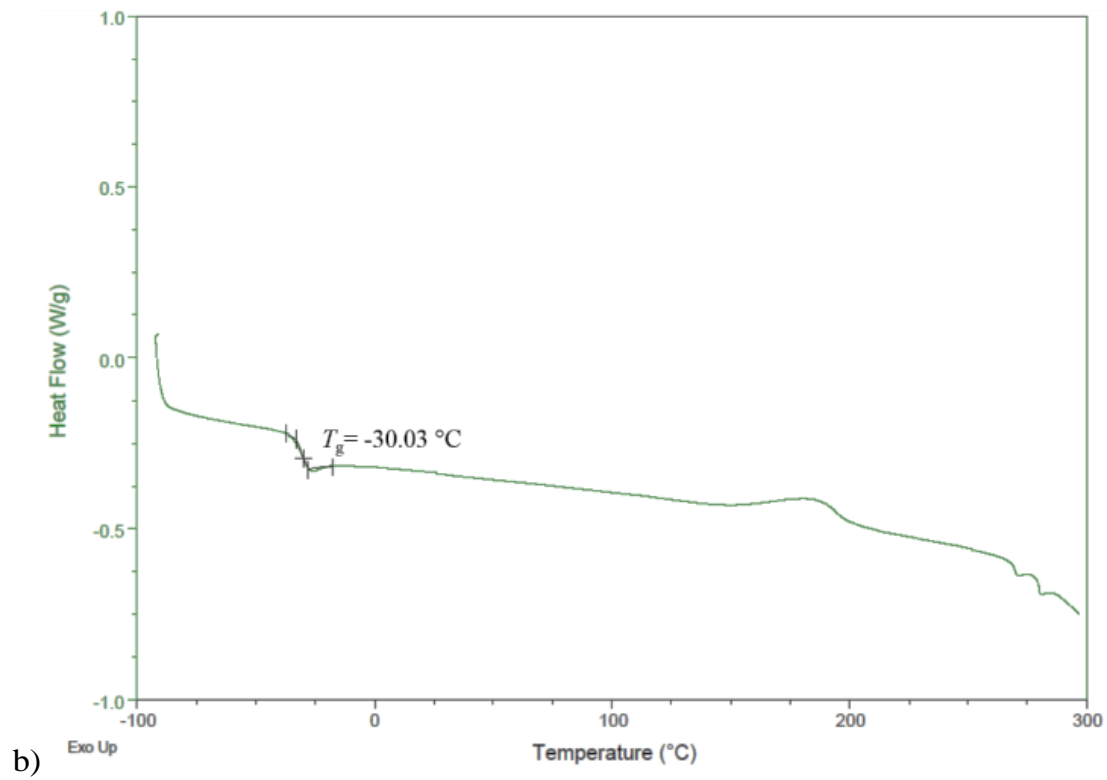
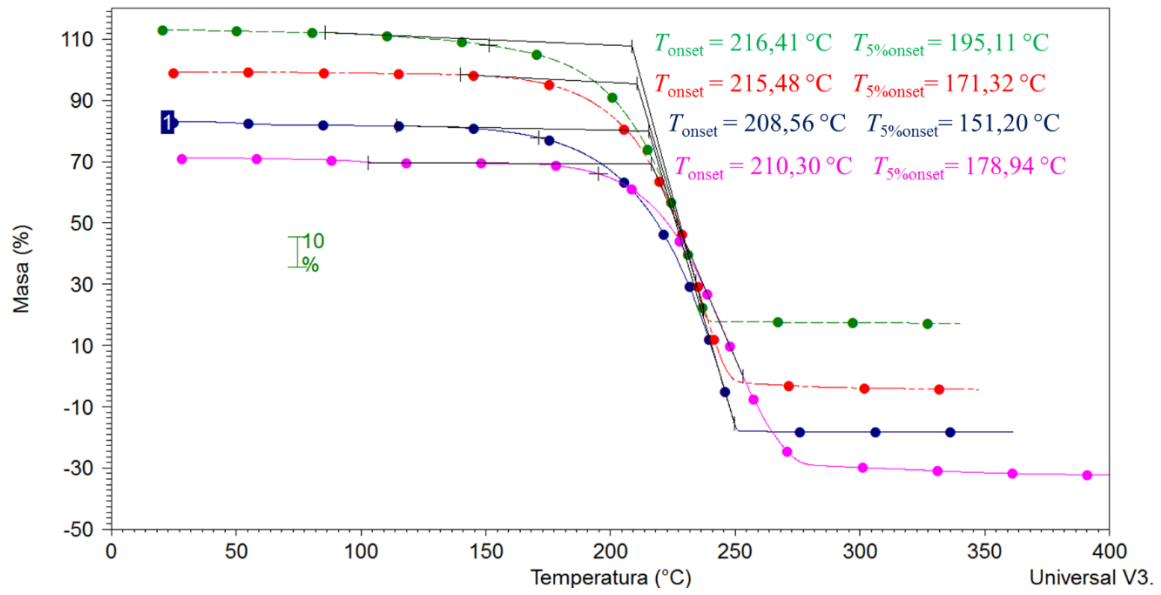
a)

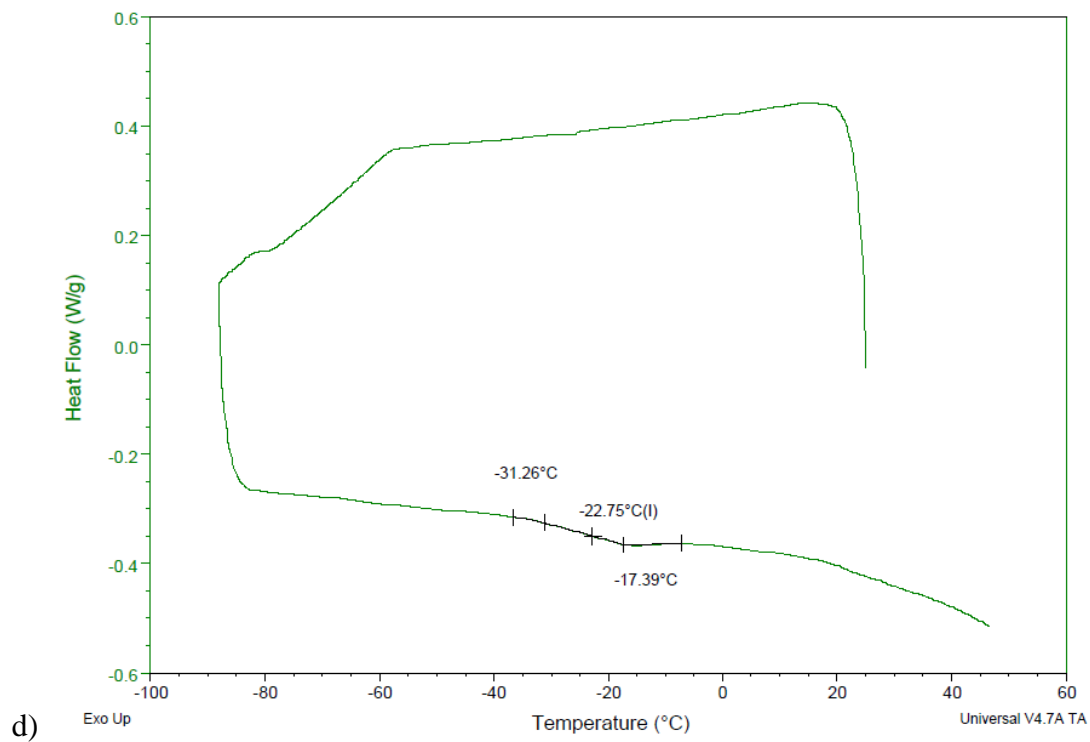
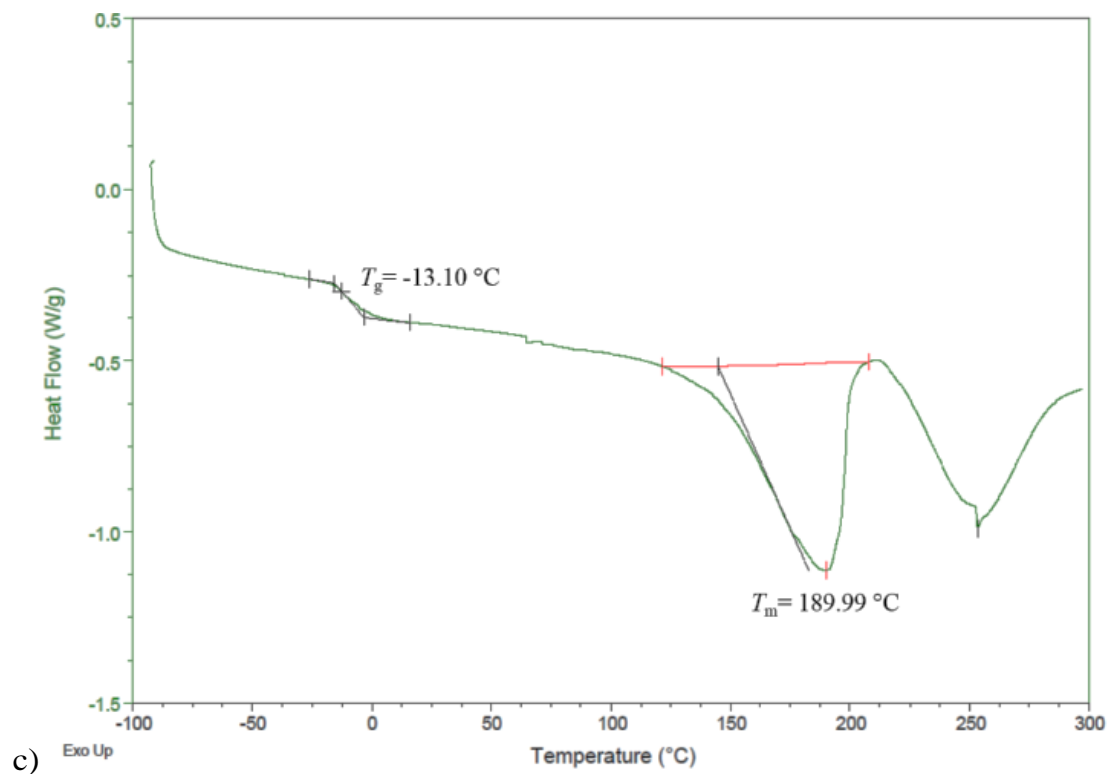


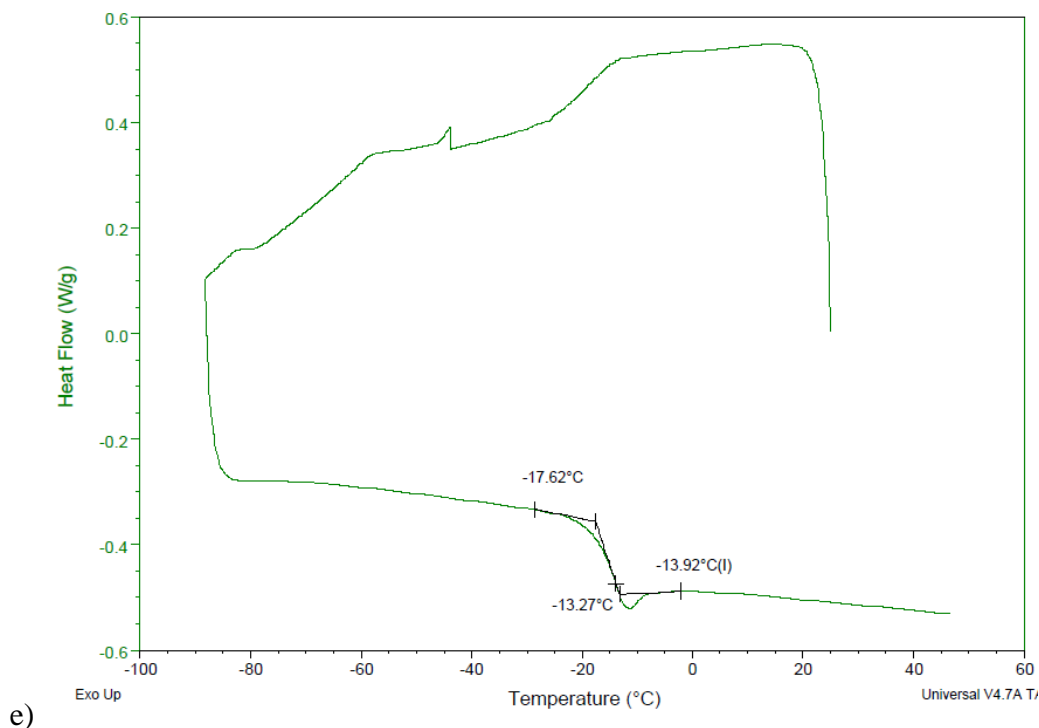
Slika P38. a) ^1H , i b) ^{13}C NMR spektar prokainijum-ibuprofenata.

^1H NMR (D_2O): 0,85 (d, 6 H, $J_{\text{CH}_3,\text{CH}} = 6,7$ Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$, IBP); 1,30 (t, 6 H, $J_{\text{CH}_3,\text{CH}_2} = 7,3$ Hz, CH_2CH_3 , PRO); 1,38 (d, 3 H, $J_{\text{CH},\text{CH}_3} = 7,2$ Hz, CHCH_3 , IBP); 1,79 (m, 1 H, CHCH_3 , IBP); 2,43 (d, 2 H, $J_{\text{CH}_2,\text{CH}} = 7,1$ Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2$, IBP); 3,28 (q, 4 H, CH_2CH_3 , PRO); 3,54 (bs, 2 H, CH_2 -3, PRO); 3,60 (q, 1 H, $J_{\text{CH},\text{CH}_3} = 7,2$ Hz, CHCH_3 , IBP); 4,57 (dd, 2 H, $J_{2,3} = 5,1$ Hz, CH_2 -2, PRO); 6,80 (d, 2H, $J_{2',3'} = 8,7$ Hz, H-2' i H-6', PRO); 7,16 (d, 2 H, $J_{2',3'} = 8,1$ Hz, H-2' i H-6', IBP); 7,83 (d, 2 H, H-3' i H-5', PRO).

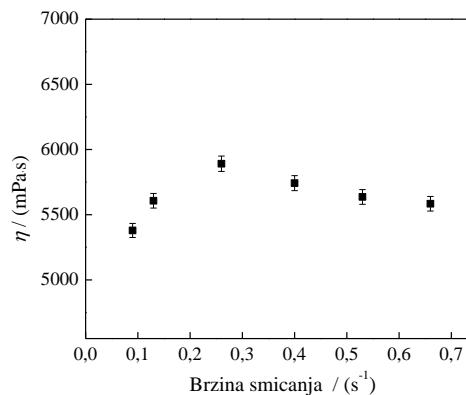
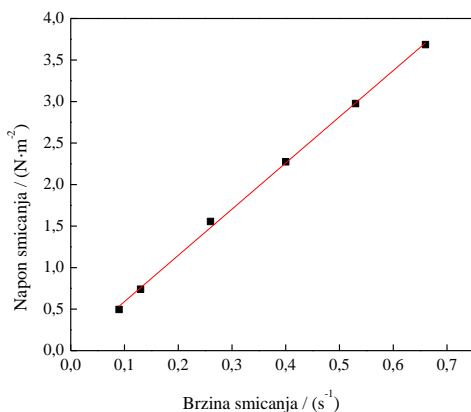
^{13}C NMR (D_2O): 11,08 (CH_3 , PRO), 21,33 (CHCH_3 , IBP), 24,47 ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$, IBP), 32,55 ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$, IBP), 47,05 ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2$, IBP), 51,06 (CH_2CH_3 , PRO), 53,16 (CH_2 -3, PRO), 61,91 (CH_2 -2, PRO), 117,47 (CH -2' i CH -6', PRO), 120,15 (C -1', PRO), 129,98 (C -2', C -6', IBP), 132,21 (C -3', C -5', IBP), 134,69 (CH -3' i CH -5', PRO), 143,16 (C -4', IBP), 143,57 (C -1', IBP), 155,82 (C -4', PRO), 170,75 ($\text{C}=\text{O}$, PRO), 186,69 ($\text{C}=\text{O}$, IBP).



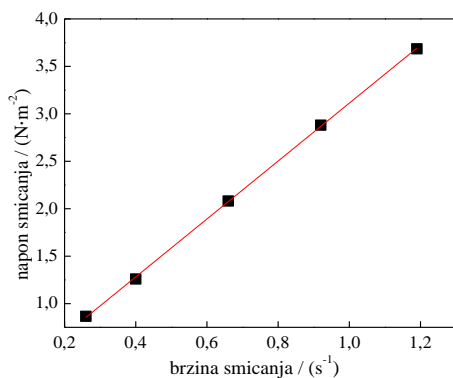




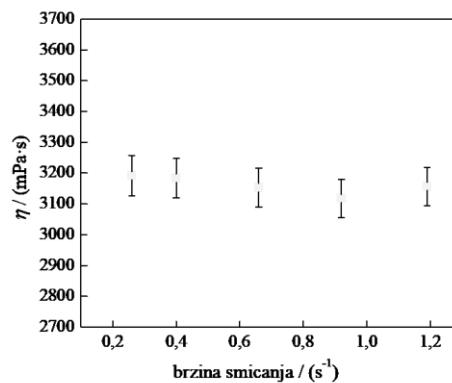
Slika P39. a) Termogravimetrijske krive —● lidokainijum-ibuprofenat, —● lidokainijum-salicilata, —● prokainijum-ibuprofenata i —● prokainijum-salicilata; b) DSC kriva lidokainijum-ibuprofenata, c) DSC kriva lidokainijum-salicilata, d) DSC kriva prokainijum-salicilata i e) prokainijum-ibuprofenata.



Slika P40. a) Prikaz odnosa napona smicanja i brzine smicanja, i b) odnosa viskoznosti i brzine smicanja lidokainijum-ibuprofenata na $T = 298,15$ K.

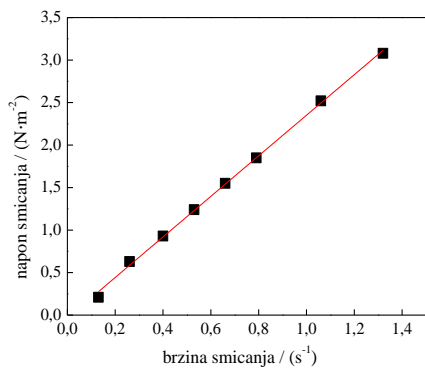


a)

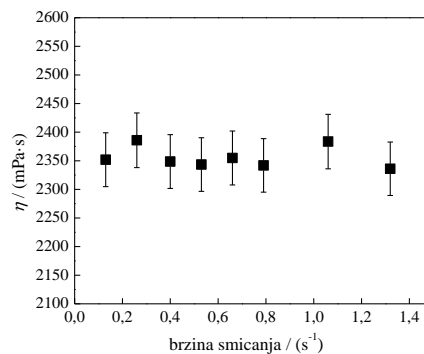


b)

Slika P41. a) Prikaz odnosa napona smicanja i brzine smicanja, i b) odnosa viskoznosti i brzine smicanja prokainijum-ibuprofenata na $T = 323,15$ K.

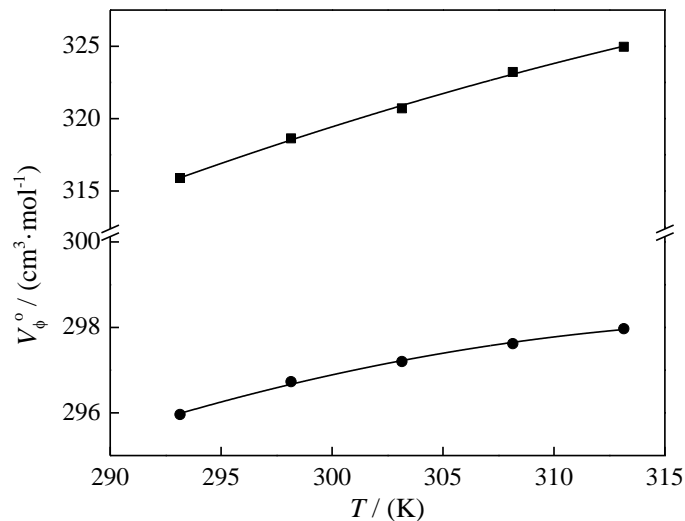


a)

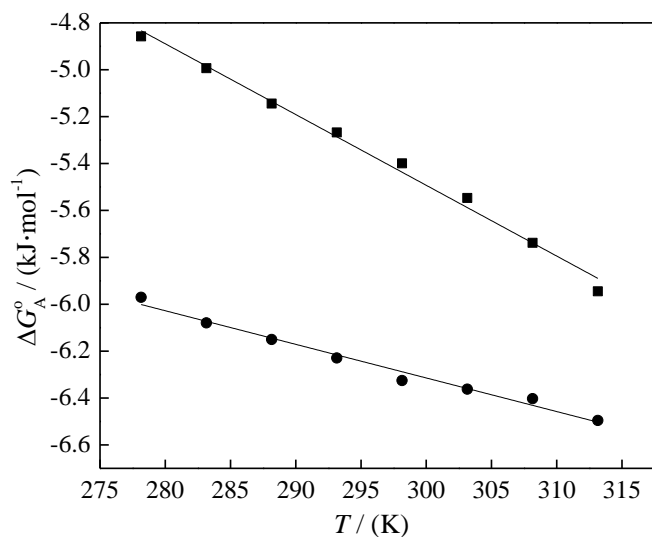


b)

Slika P42. a) Prikaz odnosa napona smicanja i brzine smicanja, i b) odnosa viskoznosti i brzine smicanja prokainijum-salicilata na $T = 353,15$ K.



Slika P43. Promena prividne molarne zapremina pri beskonačnom razblaženju, (V_{ϕ}^0), sa temperaturom za: (■) [Lid][Sal] i (●) [Pro][Sal] u vodenim rastvorima.



Slika P44. Promena *Gibbs*-ove slobodne energije formiranja jonskog para, (ΔG_A^0), sa temperaturom za: (■) [Lid][Sal], i (●) [Pro][Sal] u vodenim rastvorima.

BIOGRAFIJA



Jovana Panić rođena je 18.02.1992. u Vukovaru. Osnovnu školu “Mihajlo Pupin” u Veterniku završila je sa odličnim uspehom, a potom i prirodno-matematički smer u gimnaziji “Isidora Sekulić” u Novom Sadu. Osnovne studije biohemije završila je 2015. godine sa prosečnom ocenom 9,16, a zatim 2016., sa prosečnom ocenom 10,0, stekla zvanje Master hemije na Prirodno-matematičkom fakultetu, Univerziteta u Novom Sadu.

U toku osnovnih studija bila je stipendista Ministarstva Prosvete (2011–2016). Dobitnik je 2 nagrade za postignut izuzetan uspeh tokom osnovnih akademskih studija koju dodeljuje Univerzitet u Novom Sadu (2011-2013). Kao student osnovnih studija osvojila je I mesto na Primatijadi u Bugarskoj 2014. godine sa radom iz oblasti Hemije. Završila je Letnju studentsku praksu NIS Gazprom نفت-a 2016. godine.

Na doktorskim studijama, godine bila je stipendista Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije u periodu od 2017–2018. U zvanje istraživača-pripravnika za užu naučnu oblast Analitička hemija izabrana je 2017. godine. U zvanje istraživača-saradnika izabrana je 2020. godine, na istom fakultetu. Angažovana je na jednom republičkom projektu u preiodu od 2017-2019. godine (današnji *Program*) pod rukovodstvom prof. dr Slobodana Gadžurića, tri kratkoročna APV projekta (2019., 2020., 2021. godine), kao i na bilateralnom projektu sa Republikom Hrvatskom u periodu od 2019-2022. godine i dugoročnom APV projektu u periodu od 2022-2026 pod rukovodstvom prof. dr Milana Vraneša.

U okviru COST stipendije, 2019. godine boravila je dva meseca na Fakultetu za kemiju in kemijsko tehnologiju Univerziteta u Ljubljani pod mentorstvom prof. dr Marije Bešter-Rogač. Autor je i koautor 17 naučna rada objavljena u istaknutim međunarodnim časopisima sa SCI liste (2 x M21a; 12 x M21; 2 x M22; 1 x M23), od kojih je 1 rad kategorije M21a, 7 radova kategorije M21 i 1 rad kategorije M22 proizašli iz istraživanja vezanog za temu doktorske disertacije. Koautor je i 23 naučnih saopštenja od kojih su 11 referisana na međunarodnim naučnim skupovima M33

(1) i M34 (10), a 12 na nacionalnim naučnim skupovima M62 (1) i M64 (11). Njen indeks kompetencije iznosi 137,2, dok je broj heterocitata 78 (h-indeks 6).

Od 2016. godine je uključena u nastavu na Departmanu za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine Prirodno-matematičkog fakulteta i to na vežbama iz predmeta Analitička hemija I, Analitička hemija II, Primena računara u hemiji, Viši kurs analitičke hemije, i Analitički aspekti zelene hemije.

Učestvovala je u promociji PMF kako na osnovnim, tako i na doktorskim studijama u okviru Festivala nauke, Noći istraživača, Hemijskim vikendima Departmana za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine. Član je Srpskog hemijskog društva – Hemijskog društva Vojvodine i udruženja naučnica Srbije “SRNA”.

BIBLIOGRAFIJA NAUČNIH RADOVA

1. Radovi objavljeni u međunarodnom časopisu izuzetnih vrednosti M21a:

- 1.1. Jovanov, P., Vraneš, M., Sakač, M., Gadžurić, S., **Panić, J.**, Marić, A., Ostojić, S. (2018): Hydrophilic interaction chromatography coupled to tandem mass spectrometry as a method for simultaneous determination of guanidinoacetate and creatine. *Analytica Chimica Acta*. 1028: 96-103. IF=5,256
- 1.2. Vraneš, M., **Panić, J.**, Tot, A., Ostojić, S., Četojević-Simin, D., Janković, N., Gadžurić, S. (2019): Synthesis and thermophysical characterization of new biologically friendly agmatine-based ionic liquids and salts by experimental and computational approach, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 7, 12: 10773–10783. IF=6,970

2. Radovi objavljeni u vrhunskom međunarodnom časopisu M21:

- 2.1. Gadžurić, S., Tot, A., Armaković, S., Armaković, S., Jović, B., Vranes, M., **Panić, J.** (2017): Uncommon structure making/breaking behaviour of cholinium taurate in water. *Journal of Chemical Thermodynamics*. 107: 58–64. IF=2,726
- 2.2. Vraneš, M., **Panić, J.**, Tot, A., Papović, S., Ostojić, S., Gadžurić S. (2018): The solvation properties and effect of D-fructose on the taste behavior of Citrus aurantium active components in aqueous solutions. *Food & Function*. 9: 5569–5579. IF = 3,289
- 2.3. Vraneš, M., **Panić, J.**, Tot, A., Papović, S., Rapačić, M., Gadžurić, S. (2018): Interaction of D-panthenol with water molecules – Experimental and computational study. *The Journal of Chemical Thermodynamics*. 118: 34–42. IF=2,726
- 2.4. Vraneš, M., Tot, A., Papović, S., **Panić, J.**, Gadžurić S. (2018): Is choline kosmotrope or chaotrope? *The Journal of Chemical Thermodynamics*. 124: 65–73. IF=2,726
- 2.5. **Panić, J.**, Vraneš, M., Tot, A., Ostojić, S., Gadžurić S. (2019): The organisation of water around creatine and creatinine molecules. *The Journal of Chemical Thermodynamics*. 128: 103–109. IF=2,726
- 2.6. Vraneš, M., **Panić, J.**, Popsavin, M., Jocić, A., Gadžurić, S. (2019): Physicochemical characterization of choline based ionic liquids with chelating anions. *Journal of Chemical Thermodynamics*. 131: 80–87. IF=2,726
- 2.7. Vraneš, M., Petrović, L., Gadžurić, S., Četojević-Simin, D., Ranitović, A., Cvetković, D., Papović, S., Tot, A., **Panić, J.**, Milinković, J. (2019): Aggregation properties and toxicity of newly synthesized thiazolium based surfactants – Thermodynamic and computational study. *Journal of Chemical Thermodynamics*. 131: 599–612. IF=2,726

- 2.8. Vraneš, M., **Panić, J.**, Tot, A., Gadžurić, S., Podlipnik, Č., Bešter-Rogač, M. (2020): How the presence of ATP affect caffeine hydration and self-aggregation? *Journal of Molecular Liquids*. 318: 113885. IF=6,165
- 2.9. Vraneš, M., **Panić, J.**, Tot, A., Papović, S., Gadžurić, S., Podlipnik, Č., Bešter-Rogač, M. (2021): From amino acids to dipeptide: The changes in thermal stability and hydration properties of β -alanine, L-histidine and L-carnosine, *Journal of Molecular Liquids*. 328:115250. IF=6,165
- 2.10. Vraneš, M., **Panić, J.**, Gadžurić, S., Bešter-Rogač, M., Tot, A. (2021): The nature of ions organisation in aqueous solutions of ionic liquids based on local anaesthetic drugs and salicylic acid, *Journal of Molecular Liquids*. 338: 116673. IF=6,165
- 2.11. **Panić J.**, Tot, A., Drid, P., Gadžurić, S., Vraneš, M. (2021): Design and analysis of interactions in ionic liquids based on procaine and pharmaceutically active anions, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 166:105966. IF=4,384
- 2.12. **Panić, J.**, Vraneš, M., Mirtič, J., Cerc Korošec, R., Zupančič, Š., Gadžurić, S., Kristl, J., Bešter-Rogač, M. (2022): Preparation and characterization of innovative electrospun nanofibers loaded with pharmaceutically applicable ionic liquid, *International Journal of Pharmaceutics*. 615: 121510. IF=8,875

3. Radovi objavljeni u istaknutom međunarodnom časopisu M22:

- 3.1. Vraneš, M., Tot, A., Ćosić, J., Papović, S., **Panić, J.**, Gadžurić, S., Janković, N., Vrandečić, K. (2019): Correlation between lipophilicity of newly synthesized ionic liquids and selected: *Fusarium* genus growth rate. *RCS Advances*. 9, 33: 19189-19196. IF=3,049
- 3.2. **Panić J.**, Tot, A., Janković, N., Drid, P., Gadžurić, S., Vraneš, M. (2020): Physicochemical and structural properties of lidocaine-based ionic liquids with anti-inflammatory anions, *RSC Advances*. 10(24):14089–14098. IF=3,049

4. Radovi objavljeni u međunarodnom časopisu M23:

- 4.1. Vraneš, M., Tot, A., **Panić, J.**, Papović, S., Gadžurić, S., Četojević-Simin, D. (2019): Towards edible ionic liquids – cholinium taurate, *Journal of the Serbian Chemical Society*. 84, 9: 991-1004. IF=0,828

Овај Образац чини саставни део докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта који се брани на Универзитету у Новом Саду. Попуњен Образац укорицити иза текста докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта.

План третмана података

Назив пројекта/истраживања
Докторска дисертација: Утицај организације молекула воде око одабраних биолошки активних једињења и јонских течности на њихове физичко-хемијске особине и метаболичке процесе
Назив институције/институција у оквиру којих се спроводи истраживање
а) Природно-математички факултет Универзитета у Новом Саду б) Факултет за хемију и хемијску технологију Универзитета у Љубљани в) Институт за онкологију у Сремској Каменици
Назив програма у оквиру ког се реализује истраживање
Приступ одрживости и зелене хемије у развоју аналитичких метода и складиштењу енергије, Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије ОН172012 COST акција – CA15135 "Multi-target paradigm for innovative lig and identification in the drug discovery process (MuTaLig)".
1. Опис података
<p>1.1 Врста студије</p> <p>Укратко описати тип студије у оквиру које се подаци прикупљају</p> <p><u>Докторска дисертација; експериментална студија</u></p> <p>1.2 Врсте података</p> <p>а) квантитативни</p> <p>б) квалитативни</p> <p>1.3. Начин прикупљања података</p> <p>а) анкете, упитници, тестови</p> <p>б) клиничке процене, медицински записи, електронски здравствени записи</p> <p>в) генотипови: навести врсту _____</p> <p>г) административни подаци: навести врсту _____</p>

д) узорци ткива: навести врсту: хумана не-туморска целијска линија (нормални фетални фибробласти плућа МРЦ-5) и ХТ-29 (целијска линија хуманог аденокарцинома дебелог црева)

ђ) снимци, фотографије: навести врсту _____

е) текст, навести врсту _____

ж) мапа, навести врсту _____

з) остало: описати: лабораторијски експерименти

1.3 Формат података, употребљене скале, количина података

1.3.1 Употребљени софтвер и формат датотеке:

а) Ехсел фајл, датотека .xlsx

б) SPSS фајл, датотека _____

с) PDF фајл, датотека .pdf

д) Текст фајл, датотека .docx

е) JPG фајл, датотека .jpeg .tiff

ф) Остало, датотека .orj .csv

1.3.2. Број записа (код квантитативних података)

а) број варијабли: за 8 биоактивних једињења 10, за 8 новосинтетисаних једињења бар 4, а за 4 новосинтетисане јонске течности бар 7.

б) број мерења (испитаника, процена, снимака и сл.) најмање три мерења за једну варијаблу

1.3.3. Поновљена мерења

а) да

б) не

Уколико је одговор да, одговорити на следећа питања:

а) временски размак измедју поновљених мера је: у зависности од експеримента неколико минута или дана

б) варијабле које се више пута мере односе се на: анализу термо-физичких својстава биоактивних једињења

в) нове верзије фајлова који садрже поновљена мерења су именоване као: број експеримента или нису именовани као нови фајлови, јер је су на основу понављања израчунате средње вредности које су коришћене у анализама

Напомене: _____

Да ли формати и софтвер омогућавају дељење и дугорочну валидност података?

а) Да

б) Не

Ако је одговор не, образложити _____

2. Прикупљање података

2.1 Методологија за прикупљање/генерисање података

2.1.1. У оквиру ког истраживачког нацрта су подаци прикупљени?

а) експеримент, навести тип : лабораторијски експерименти

б) корелационо истраживање, навести тип _____

ц) анализа текста, навести тип: преглед доступне научне литературе

д) остало, навести шта _____

2.1.2 Навести врсте мерних инструмената или стандарде података специфичних за одређену научну дисциплину (ако постоје).

Аутоматски дензиметар Anton Paar DMA 5000 и Rudolph Research Analytical DDM 2911, вискозиметар Brookfield Viscometer DV-II+Pro, термостат Lauda E 100, Ubbelohde вискозиметар (SI Analytics GmbH, Mainz, Germany, type no. 536 10 capillary I), ViscoSystem® AVS 370 систем за аутоматско мерење времена протока течности, термостат Lauda EcoSilver, хладњак Lauda DLK-10, Троелектродна стаклена ћелија за мерење проводљивости разблажених раствора, ручне израде, термостат Lauda UB40, хладњак Lauda WK1400, кондуктометар Jenco 3107, који је повезан са рачунаром Pentium III, Millipore Mili-Q систем за пречишћавање воде, ротавапор Buchi R-210, вакуум пумпа Vacuubrand CVC-2, аналитичка вага Sartorius са несигурношћу мерења од 0,00001 g, Metrohm 831 Karl-Fischer кулонометар, течни хроматограф Agilent 1290 Infinity са DAD детектором, колона: Poroshell 120 EC-C18 (4,6 · 50 mm, 2,7 µm), аутоматске пипете: Eppendorf 100-5000 µL, и друга лабораторијска опрема.

2.2 Квалитет података и стандарди

2.2.1. Третман недостајућих података

а) Да ли матрица садржи недостајуће податке? Да Не

Ако је одговор да, одговорити на следећа питања:

- а) Колики је број недостајућих података? _____
- б) Да ли се кориснику матрице препоручује замена недостајућих података? Да Не
- в) Ако је одговор да, навести сугестије за третман замене недостајућих података

2.2.2. На који начин је контролисан квалитет података? Описати

Квалитет података је контролисан статистичким обрадом добијених резултата

2.2.3. На који начин је извршена контрола уноса података у матрицу?

Контрола уноса податка у матрицу изведена је прегледом протокола експерименталног рада и филтрирањем података у Excel фајовима, као и поређењем са подацима из научне литературе.

3. Третман података и пратећа документација

3.1. Третман и чување података

3.1.1. Подаци ће бити депоновани: Заједнички портал свих докторских дисертација и извештаја о њиховој оцени на Универзитетима у Србији (NaRDUS) и у репозиторијум докторских дисертација у Универзитета Новом Саду (CRIS).

3.1.2. URL адреса _____

3.1.3. DOI _____

3.1.4. Да ли ће подаци бити у отвореном приступу?

- а) Да
- б) Да, али после ембарга који ће трајати до _____
- в) Не

Ако је одговор не, навести разлог _____

3.1.5. Подаци неће бити депоновани у репозиторијум, али ће бити чувани.

Образложење

3.2 Метаподаци и документација података

3.2.1. Који стандард за метаподатке ће бити примењен? _____

3.2.1. Навести метаподатке на основу којих су подаци депоновани у репозиторијум.

Ако је потребно, навести методе које се користе за преузимање података, аналитичке и процедуралне информације, њихово кодирање, детаљне описе варијабли, записа итд.

3.3 Стратегија и стандарди за чување података

3.3.1. До ког периода ће подаци бити чувани у репозиторијуму? Неограничено

3.3.2. Да ли ће подаци бити депоновани под шифром? Да Не

3.3.3. Да ли ће шифра бити доступна одређеном кругу истраживача? Да Не

3.3.4. Да ли се подаци морају уклонити из отвореног приступа после извесног времена?

Да Не

Образложити

4. Безбедност података и заштита поверљивих информација

Овај одељак МОРА бити попуњен ако ваши подаци укључују личне податке који се односе на учеснике у истраживању. За друга истраживања треба такође размотрити заштиту и сигурност података.

4.1 Формални стандарди за сигурност информација/података

Истраживачи који спроводе испитивања с људима морају да се придржавају Закона о заштити података о личности (https://www.paragraf.rs/propisi/zakon_o_zastiti_podataka_o_licnosti.html) и одговарајућег институционалног кодекса о академском интегритету.

4.1.2. Да ли је истраживање одобрено од стране етичке комисије? Да Не

Ако је одговор Да, навести датум и назив етичке комисије која је одобрила истраживање

4.1.2. Да ли подаци укључују личне податке учесника у истраживању? Да Не

Ако је одговор да, наведите на који начин сте осигурали поверљивост и сигурност информација везаних за испитанике:

- а) Подаци нису у отвореном приступу
- б) Подаци су анонимизирани
- ц) Остало, навести шта

5. Доступност података

5.1. Подаци ће бити

а) јавно доступни

б) доступни само уском кругу истраживача у одређеној научној области

ц) затворени

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести под којим условима могу да их користе:

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести на који начин могу приступити подацима:

5.4. Навести лиценцу под којом ће прикупљени подаци бити архивирани.

Ауторство – некомерцијално – без прераде.

6. Улоге и одговорност

6.1. Навести име и презиме и мејл адресу власника (аутора) података

Јована Панић (jovanap@dh.uns.ac.rs)

6.2. Навести име и презиме и мејл адресу особе која одржава матрицу с подацима

Јована Панић (jovanap@dh.uns.ac.rs)

6.3. Навести име и презиме и мејл адресу особе која омогућује приступ подацима другим истраживачима

Јована Панић (jovanap@dh.uns.ac.rs)