

ROK FRLAN
ALEŠ OBREZA

**NOMENKLATURA IN UVOD V ANALIZO ZDRAVILNIH UČINKOVIN
IN POMOŽNIH SNOVI**

SPLETNI UČBENIK ZA ŠTUDENTE FARMACIJE

Ljubljana, 2019

- Avtorji: Rok Frlan, Aleš Obreza
- Naslov: Nomenklatura in uvod v analizo zdravilnih učinkovin in pomožnih snovi.
Spletni učbenik za študente farmacije
- Recenzija: izr. prof. dr. Janez Mravljak in izr. prof. dr. Janez Ilaš
- Založila: Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana, Slovenija
- Tisk: samo elektronska verzija
- Naklada: samo elektronska verzija
- Učbenik bo v formatu PDF prosto dostopen:
Spletno mesto: <http://www.ffa.uni-lj.si/knjiznica/e-knjige/>

Predgovor

Univerzitetni učbenik za seminarje in laboratorijske vaje pri predmetu Farmacevtska kemija II olajša razumevanje farmacevtskih strokovnih besedil, zlasti iz Evropske farmakopeje in slovenskega dodatka Formulariuma Slovenicuma. Kot delo je terminološko usklajen z obema publikacijama in Farmacevtskim terminološkim slovarjem, ki bo v drugi izdaji izšel v začetku leta 2019.

Učbenik omogoča razlikovanje med mednarodnimi nezaščitenimi imeni zdravilnih učinkovin, pomožnih snovi in reagentov, ki so temelj poimenovanja na področju farmacije, z vidika načrtovanja in sinteze novih molekul pa je za študente nujno tudi ustrezno razumevanje organske kemije, kjer učbenik nadgrajuje vsebino predmeta Organska kemija s primeri IUPAC poimenovanja specifičnih molekul, značilnih za področje farmacije.

V okviru predavanj, seminarjev in vaj pri predmetu Farmacevtska kemija II nas zanima istovetnost zdravilnih učinkovin z ugotavljanjem racionalnih kemijskih imen učinkovin, pomožnih snovi, nečistot in reagentov. Farmakopejska ter INN imena preko številke CAS povežemo z racionalnimi kemijskimi imeni ter strukturo spojin. Uporabljamo sistem IUPAC in CAS (ki uporablja inverzni način poimenovanja).

Laboratorijsko analizo preskušanje istovetnosti zdravilnih učinkovin in pomožnih snovi je bilo v drugi letnik v okviru predmeta Farmacevtska kemija uvedeno z izpopolnjevanjem študijskega programa v študijskem letu 1996/97. Takoj ko je bilo dokončano nadomestno južno krilo FFA in je bil za predmet farmacevtska kemija II določen laboratorijski prostor, smo začeli s problemsko zastavljenimi vajami; vsak študent dobi na delovnem mestu eksperimentalno nalogo in navodila za rešitev. Eksperimentalno pridobljene podatke nato s pomočjo literature ovrednoti. Pri teh vajah gre za istovetenje farmacevtskih snovi na osnovi nomenklature, strukture, fizičnih in kemijskih lastnosti v skladu z zahtevami Evropske farmakopeje. Pričujoč učbenik študenta vodi in mu razlaga enostavne metode laboratorijskega istovetenja zdravilnih učinkovin in pomožnih snovi po Evropski farmakopeji.

Ljubljana, januar 2019

*doc. dr. Rok Frlan
prof. dr. Aleš Obreza*

Vsebina

1.	UVOD V LABORATORIJSKE VAJE	1
1.1	SPLOŠNA NAVODILA ZA DELO	2
	Delo s plinskimi gorilniki (segrevanje).....	2
	Delo z reagenti	3
	Tankoplastna kromatografija (Ph. Eur.)	3
	Zgradba kromatografske plošče.....	3
	Nanos vzorca	6
	Mobilna faza.....	7
	Mehanizem kromatografske ločbe	8
	Vizualizacija	11
	Priprava kromatografske posode.....	15
	Razvijanje kromatograma, detekcija lis in dokumentiranje	15
	Retencijski faktor.....	15
	Postopek razvijanja kromatograma	18
	Reakcije istovetenja	20
	Osnove UV-VIS spektroskopije	23
1.2	LABORATORIJSKE VAJE	26
	Identifikacijske reakcije pomožnih snovi in zdravilnih učinkovin (alifatske karboksilne kisline in njihove soli).....	26
	Tankoplastna kromatografija alifatskih alkoholov	30
	Tankoplastna kromatografija alifatskih kislin in dokazovanje fluoresceina	31
	Ksantini in tropanski alkaloidi	34
	Fenotiazini.....	38
	Istovetenje v Ph. Eur. oficinalnih mono in disaharidov ter njihove redukativne lastnosti.....	42
	Istovetenje vodotopnih vitaminov	47
	Barbiturati in benzodiazepini	51
	Aminokisline	56
2	NOMENKLATURA ZDRAVILNIH UČINKOVIN IN POMOŽNIH SNOVI	59
2.1	SEZNAM KEMIJSKIH SKUPIN	60
2.2	SEZNAM PROTEINOGENIH AMINOKISLIN.....	62
2.3	BENZEN IN KONDENZIRANI AROMATI.....	62
2.4	MONOCIKLIČNI HETEROCIKLI.....	63
2.5	KONDENZIRANI HETEROCIKLI	63
2.6	RISANJE KEMIJSKIH STRUKTUR.....	64

2.6.1	Analgetiki.....	64
2.6.2	Nevroleptiki, antidepresivi in anksiolitiki	66
2.6.3	Uspavala	69
2.6.4	Lokalni anestetiki.....	70
2.6.5	Antiepileptiki	71
2.6.6	Simpatomimetiki in simpatolitiki	72
2.6.7	Parasimpatomimetiki in parasimpatolitiki	77
2.6.8	Antagonisti kalcijevih kanalov	79
2.6.9	Zaviralci angiotenzin-konvertaze.....	80
2.6.10	Diuretiki	81
2.6.11	β -Laktamski antibiotiki	82
2.6.12	Sintezni kemoterapevtiki.....	85
3.	KEMIZEM METABOLIČNIH REAKCIJ	87
3.1	METABOLIČNE REAKCIJE I. FAZE	87
3.1.1	Oksidacije	87
3.1.2.	Redukcije	89
3.1.2	Hidrolize	89
3.2	METABOLIČNE REAKCIJE II. FAZE.....	90
3.1.1	Konjugati z glukuronsko kislino	90
3.2.2	Konjugati z aktiviranim sulfatom.....	91
3.2.3	Konjugati z aminokislinami.....	91
3.2.4	Acetiliranje	92
3.2.5	Metiliranje	92
3.3	METABOLISM OF CHLORAMPHENICOL.....	93
4	REŠITVE.....	94
4.1	ANALGETIKI	94
4.2	NEVROLEPTIKI, ANTIDEPRESIVI IN ANKSIOLITIKI	96
4.3	USPAVALA	99
4.4	LOKALNI ANESTETIKI.....	100
4.5	ANTIEPILEPTIKI	101
4.6	SIMPATOMIMETIKI IN SIMPATOLITIKI	102
4.7	PARASIMPATOMIMETIKI IN PARASIMPATOLITIKI.....	105
4.8	ANTAGONISTI KALCIJEVIH KANALOV	107
4.9	ZAVIRALCI ANGIOTENZIN-KONVERTAZE.....	108

4.10	DIURETIKI.....	109
4.11	β -LAKTAMSKI ANTIBIOTIKI	110
4.12	SINTEZNI KEMOTERAPEVTIKI	112
5	LITERATURA.....	114

1. UVOD V LABORATORIJSKE VAJE

Namen laboratorijskih eksperimentalnih vaj pri predmetu Farmaceutska kemija II je s problemskim pristopom zagotoviti razumevanje fizikalnih in kemijskih lastnosti, istovetnosti in kakovosti zdravil na osnovi predpisov in monografij Evropske farmakopeje.

Navodila za vaje so prilagojene tesno odmerjenemu času za izvedbo, zato so farmakopejski predpisi poenostavljeni, dodane so vaje za izpopolnjevanje laboratorijske tehnike.

V Sloveniji se od 1. januarja 1993 uradno uporablja Evropska farmakopeja (European Pharmacopoeia, Pharmacopoeia Europea; uradna okrajšava je Ph. Eur.), prej pa je bila v uporabi Jugoslovanska farmakopeja. Evropska farmakopeja je publikacija, ki jo določa Konvencija Sveta Evrope iz leta 1964 in izdaja Evropski direktorat za kakovost zdravil (European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare - EDQM). Obvezna je v vseh v državah, podpisnicah Konvencije.

Evropska farmakopeja vsebuje zakonsko obvezujoče predpise za izdelavo zdravil, potrjevanje istovetnosti, ugotavljanje čistote in preskušanje drugih parametrov kakovosti zdravil, njihovih sestavin ter druge podatke o zdravilih in njihovi uporabi. Ph. Eur. je edina publikacija v Evropi, ki je pristojna za kakovost zdravil. Predpisana je kot obvezna s sklicevanjem na ustrezne Direktive Sveta Evropske skupnosti in zagotavlja enako kakovost zdravil za vse državljane Evropske Unije. Območje veljavnosti Evropske farmakopeje je širše od meja Evropske Unije. Članstvo vsaki državi omogoča sodelovanje pri sprejemanju vseh predpisov in standardov, ki urejajo kakovost in varnost zdravil na območju držav, podpisnic Konvencije o izdelavi Ph. Eur.

Na osnovi Ph. Eur. je omogočen prost pretok zdravil v EU in je zagotovilo kakovosti zdravil v izvozu iz EU. Evropska farmakopejska komisija je administrativen organ in s svojim laboratorijem del Evropskega direktorata za kakovost zdravil (EDQM). Raziskovalno dejavnost in predvidene spremembe v naslednjih izdajah Ph. Eur. objavljajo v reviji Pharmaeuropa. Farmakopejska administracija je dosegljiva na spletnem naslovu <http://www.pheur.org>.

Doslej je izšla že v devetih izdajah. Leta 1993, ko je Slovenija pristopila h Konvenciji o izdelavi Evropske farmakopeje, je v Sloveniji začela veljati tedaj aktualna 3. izdaja.

Ph. Eur. ni prevedena v slovenščino, imamo pa svoj nacionalni dodatek, ki se imenuje Formularim Slovenicum (FS) in ga pripravlja Komisija za Evropsko farmakopejo in Formularium Slovenicum. Prva izdaja FS je izšla leta 1998. Formularium Slovenicum uveljavlja enotno slovensko farmacevtsko izrazoslovje, ki je obvezno za farmacevte in zdravnike. Vsa zdravila, ki so v prometu v Sloveniji, morajo biti v skladu s predpisi Evropske farmakopeje in Formulariuma Slovenicuma. Pri vajah uporabljamo v nekaterih primerih tudi postopke Farmakopeje Združenih držav Amerike /United States Pharmacopoeia/.

Analizne metode farmakopeje obsegajo vse najpomembnejše tehnike istovetenja in ugotavljanja kakovosti ter vsebnosti učinkovin različnega izvora. Zaradi obsežnega gradiva je razumljivo, da je študij Ph. Eur. proces, ki poteka s stopnjevano zahtevnostjo v vseh letnikih študija farmacije, v drugem letniku zlasti pri Farmaceutski kemiji in pri Farmaceutski tehnologiji.

1.1 SPLOŠNA NAVODILA ZA DELO

Delo s plinskimi gorilniki (segrevanje)

Glavni ventil plina za laboratorij Farmaceutvska kemija II v tretjem nadstropju je pred vrati laboratorija na steni desno. Za odpiranje in zapiranje ventila je pooblaščen laboratorijsko osebje. V primeru požara je treba plinski ventil čim prej zapreti.

V laboratoriju uporabljamo plinske gorilnike po Bunsenu (Robert Bunsen 1811 do 1889 je bil profesor kemije na Univerzi v Heidelbergu). Gorilnik uporabimo takole: najprej preverimo priključek (gumijasto cev), pritek plina uravnamo na srednjo količino, zapremo odprtini za vstop zraka, nato odpremo rumeni plinski ventil na delovni mizi, ustju gorilnika približamo vžigalnik ter prižgemo. Ker je plinu primešanega le malo kisika, vsebuje plamen zaradi nepopolnega zgorevanja rumeno žareče delce ogljika. Previdno odpiramo odprtine za vstop zraka, tako da se plamen neha rumeno svetlikati. V notranjosti nesvetlečega plamena vidimo temnejši stožec, obdan s svetlejšim, manj vidnim, zunanjim modrikastim stožcem. Temnejši stožec je najtoplejši del plamena, ki običajno doseže temperaturo do 1500 °C. Pretok plina reguliramo z ventilom na gorilniku (in ne z rumenim namiznim ventilom). Pilotni plamen ob robu glavnega plamena pri minimalnem dotoku plina omogoča takojšnji ponovni zagon gorilnika, včasih zadostuje za segrevanje manjših epruvet.

Pri zelo naglem odpiranju odprtini za zrak oziroma pri majhnem pretoku plina se zgodi, da plamen preskoči v notranjost gorilnika neposredno na izstopišče plina. Tedaj takoj zapremo rumeni plinski ventil na laboratorijski mizi, počakamo, da se morebiti pregreti gorilnik ohladi in pravilno ponovimo postopek.

Steklene posode segrevamo vedno nad ustrezno podlago (kovinske mrežice s steklenimi vlakni, steklokeramične plošče). Epruvete pridržujemo v plamenu z leseno ščipalko, segrevamo s čim manjšim plamenom nad tekočino ali trdno snovjo in postopoma prenašamo segrevanje proti dnu epruvete. Ustje epruvete mora biti obrnjeno proč od oseb v bližini. Pri neposrednem segrevanju pazimo, da se vsebina ne pregreje, tako da epruveto rahlo stresamo.

V segreto posodo, čašo, bučko ali epruveto nikdar ne pogledamo v osi odprtine. Osebe z dolgimi lasmi morajo lase primerno zavarovati pred plamenom, nad plamen se ne nagibamo in pazimo, da se morebiti široki rokavi delovne halje ne vnamejo. Upoštevamo, da je oksidacijski plamen skoraj brezbarven.

Po končanem delu zapremo rumeni ventil za plin na delovni mizi in zapremo odprtini za dotok zraka na gorilniku.

Delo z reagenti

Pri vajah uporabljamo predvsem reagente, ki so opisani v Ph. Eur. (pogl. 4). Abecedni seznam reagentov obsega reagente (4.1.1.), standardne raztopine za limitne preskuse stopnje čistote (4.1.2.), pufrne raztopine (4.1.3.) in reagente za volumetrično kvantitativno analizo (4.2.); v tem sklopu so primarni standardi za volumetrične raztopine in volumetrične raztopine (4.2.2.). Farmakopejski reagenti so označeni z veliko črko R za imenom reagenta.

Pri delu z reagenti upoštevamo splošna navodila za delo z reagenti in učinkovinami. Ravnamo se po navodilih v stavkih R in stavkih S v splošnih navodilih za uporabo kemikalij (priloga: opozorila, simboli). Slovenska imena reagentov so v FS.

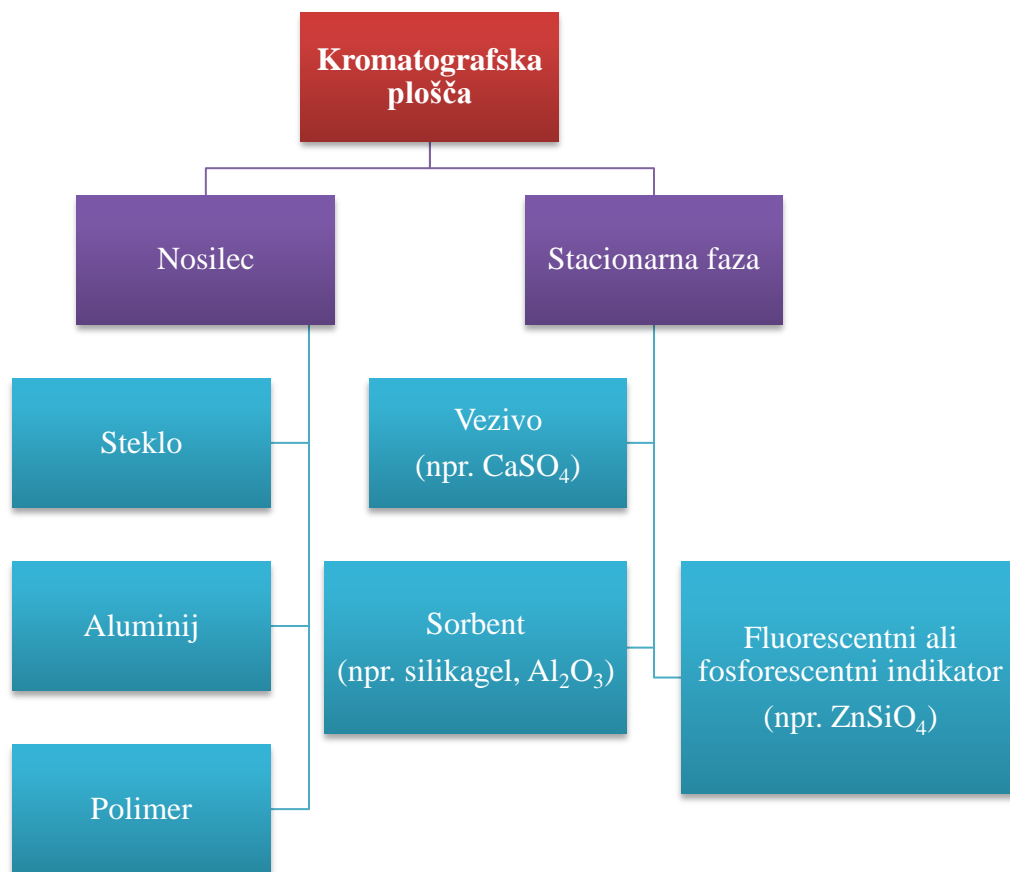
Učinkovine, ki so opisane v monografijah Evropske farmakopeje, in reagenti so potencialno nevarni, če z njimi ne ravnamo po navodilih. V nekaterih monografijah so opozorila navedena; odsotnost navodil ne pomeni, da snov ni škodljiva. V teh primerih ravnamo po navodilih za dobro laboratorijsko delo.

Tankoplastna kromatografija (Ph. Eur.) (Thin Layer Chromatography - TLC)

Kromatografija je proces potovanja ene ali več spojin s pomočjo porazdeljevanja in translokacije spojin v sistemu stacionarna faza / mobilna faza. Tankoplastna kromatografija je ena od kromatografskih tehnik, pri kateri uporabljamo tekočo mobilno fazo in trdno stacionarno fazo na kromatografskih ploščah. Spada med najbolj pogosto uporabljene in raznovrstne kromatografske metode pri analizi reakcijskih zmesi, istovetnosti spojin in čistosti spojin. Sam proces ločbe lahko razdelimo v tri faze: nanos vzorca, razvijanje kromatograma in vizualizacija. Osnove današnje kromatografije sta utemeljila Runge (nemški lekarnar in kemik Friedlieb Ferdinand Runge 1795 – 1867) s kromatografijo tinktur na papirnem pivniku ter Cvet (Mikhail Tswett, ruski botanik, 1872 – 1919) s kromatografijo listnega zelenila v stekleni cevi na stolpcu kalcijevega karbonata.

Zgradba kromatografske plošče

Kromatografska plošča je sestavljena iz stacionarne faze (zmes sorbenta, fluorescentnega ali fosforescentnega indikatorja in veziva), nanesene na primerno podlago (nosilec) iz stekla, aluminijskega ali polimerov (Slika 1).



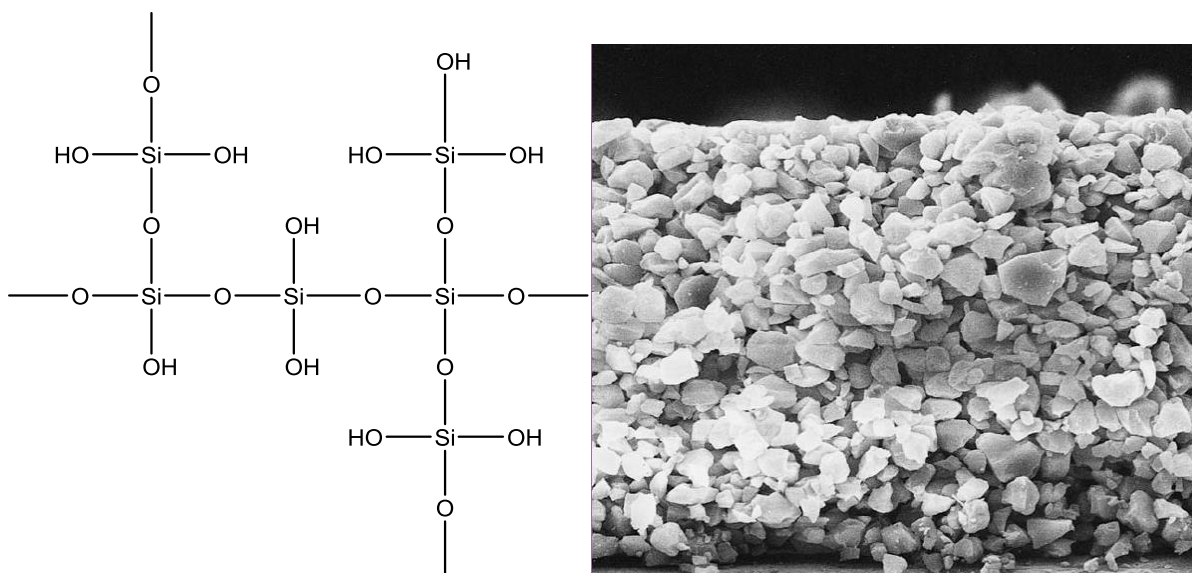
Slika 1. Sestava kromatografske plošče

Sorbent

Sorbent je stacionarna faza sistema, v katerem z mobilno fazo (s transportnim topilom) dosežemo razdvojitvev (ločbo) in razporeditev spojin, ki smo jih nanegli na kromatografsko ploščo. Primerni sorbenti so:

- Al_2O_3 ,
- silikagel (silicijev dioksid)
- diatomejska prst (Kieselgel)
- mikrokristalna celuloza (Avicel)
- poliamid
- reverznofazni silikagel - delno substituiran z alkilnimi verigami, tako da postane lipofilne narave.

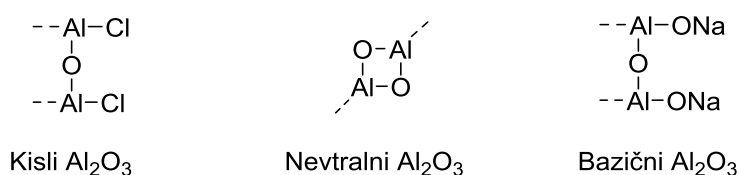
Na vajah iz Farmacevtske kemije II bomo uporabljali kromatografske plošče (dimenzije $5 \times 7,5$ cm) s silikagelom, ki je tudi najpogosteje uporabljeni sorbent tankoplastne kromatografije. Je bel amorfen porozen material, ki nastane s pomočjo kondenzacije in obarjanja silicijeve kisline. V posušenem silikagelu, ki se imenuje tudi kserogel, so silicijevi atomi med sabo povezani s siloksanskimi vezmi. Kljub temu da strukturo silikagela največkrat podajamo s kemijsko formulo SiO_2 , je del -OH skupin na njegovi površini nesubstituiranih in zato prispevajo večji delež k adsorptivnim in separacijskim lastnostim silikagela (Slika 2).



Slika 2. Kemijska zgradba silikagela (levo); podrobnejši prerez stacionarne faze v merilu 1:500 (desno)

Delci sorbenta so praviloma obdani z vodnimi molekulami (izjema so hidrofobni sorbenti). Na kromatografski plošči z običajno 0,25 mm debelo plastjo hidrofilnih sorbentov se že v nekaj minutah vzpostavi ravnotežje z zračno vlago. Silikagel je stabilen v pH območju med 2 in 7,5, zato moramo biti previdni pri izbiri mobilne faze s kislimi ali bazičnimi lastnostmi, saj lahko v nasprotnem primeru pride do hidrolize siloksanske vezi in raztapljanja silikagela.

Struktura površine Al_2O_3 je bolj zapletena kot pri silikagelu in se lahko spreminja ob sušenju. Ker hidratacija in kislost površine značilno vplivajo na ločbo, je Al_2O_3 na voljo v treh oblikah z različnimi pH vrednostmi površine: bazični (pH = 9-10), nevtralni (pH = 7-8) in kisli (pH = 4-4,5). Tako fizikalne kot kemijske lastnosti se lahko razlikujejo od proizvajalca do proizvajalca. Ker tvori Al_2O_3 na splošno močnejše interakcije z aromatskimi sistemi, je zato le-ta primernejši za analizo spojin z aromatskimi strukturami (Slika 3).



Slika 3. Kemijska zgradba Al_2O_3

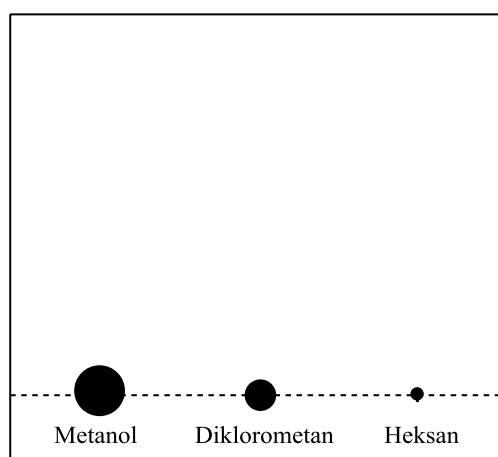
Fosforescentni/fluorescentni indikatorji

V sorbent so običajno vgrajene fosforescentne in/ali fluorescentne snovi, ki olajšajo opazovanje lis razvitega kromatograma. Fosforescentni indikatorji, ki jih označujemo kot F_{254} ali UV_{254} , absorbirajo svetlobo valovne dolžine 254 nm in oddajajo fosforescenco, ki jo opazimo kot vidno svetlobo. Večina omenjenih indikatorjev oddaja svetlobo zelene, rumene ali modre fosforescence. Najpogosteje uporabljeni fosforescentni indikatorji so uraniljev acetat, manganov cinkov silikat, cinkov kadmijev sulfid, cinkov silikat in kositrov stroncijev fosfat. Kadar opazovana spojina na TLC plošči absorbira UV svetlobo pri 254 nm, pride do gašenja fosforescence indikatorja, kar opazimo kot spremembo barve na mestu spojine. Nekatere TLC plošče imajo k sorbentu dodan fluorescentni indikator, ki ima oznako F_{366} ali UV_{366} in fluorescira pri svetlobi valovne dolžine 366 nm. Snovi, ki so največkrat uporabljene, so hidroksipiren sulfonat, fluorescein in različni rodamini. Kadar spojina na TLC plošči

absorbira UV svetlobo pri 366 nm, pride do gašenja fluorescence indikatorja, kar prav tako opazimo kot spremembo barve na mestu spojine. Nekatere TLC plošče imajo prisotni obe vrsti indikatorjev, kar nam omogoča opazovanje spojin tako pri 254 kot pri 366 nm.

Nanos vzorca

Raztopljene vzorce spojin nanašamo na kromatografsko ploščo s steklenimi kapilarami z označenim volumnom 1 ali 2 mikrolitra ali z mikropipetami. Pri delu v mikromerilu nanašamo spojine v obliki 0,1 do 0,5-odstotnih raztopin. Ob tem pazimo, da je premer lise na startni (začetni) črti manjši, saj je ločljivost odvisna od začetnega premera lise. Pri izbiri topila za raztapljanje vzorca velja priporočilo, da izberemo čim bolj lipofilno topilo, v katerem je vzorec še topen, saj je v tem primeru difuzija spojine v okolico nanosa manjša kot pri uporabi bolj polarnih topil (Slika 4).



Slika 4. Debelina nanosa vzorca v odvisnosti od izbranega topila

Pri izbiri topila za raztapljanje vzorca se moramo izogibati preveč polarnim topilom, kot so voda ali dioli, saj ti silikagela ne omočijo popolnoma in povzročajo nastanek nesimetričnih lis na mestu nanosa. Ker je topilo običajno drugačne sestave kot mobilna faza, lahko le-to vpliva na potovanje spojin po kromatogramu, zato **po nanosu vzorca mesto nanosa vedno posušimo**. Težko hlapna topila, kot so butan-1-ol, toluen in dimetilformamid, težje odstranimo z mesta nanosa in zato niso prva izbira pri raztapljanju vzorcev.

Spojine lahko na TLC nanašamo v obliki kroga ali v obliki ravne črte. Ker je nanos v obliki črte običajno ožji v primerjavi z nanosom v obliki kroga, je ločljivost ločbe v tem primeru večja. Priporočena količina nanesene spojine se med obema načinoma razlikuje – pri nanosu v obliki kroga naj bi bila ta 0,1-2 mikrograma, pri nanosu v črto pa 2-10 mikrograma na 1 cm nanosa. V primeru prevelike količine nanesene snovi je lahko kapaciteta adsorpcije za določeno snov presežena, zato je normalno vzpostavljanje ravnotežja med adsorbirano in desorbirano obliko spojine tekom potovanja po kromatogramu moteno. Posledično se spojina med kromatografiranjem ne pomika v obliki krožca, zato imajo lise na kromatogramu značilne »repe«. Tudi retencijski faktor (glej naslednje poglavje) je v tem primeru zaradi slabše ločbe rahlo zvišan.

Mobilna faza

Mobilna faza je topilo ali zmes topil, ki potujejo po kromatografski plošči s pomočjo kapilarnih sil. Hitrost potovanja mobilne faze po kromatografski plošči ni konstantna tekom celotne ločbe, temveč se spreminja skladno z naslednjo enačbo:

$$(Z_f)^2 = kt$$

Z_f	pot mobilne faze na kromatogramu (cm)
k	hitrostni koeficient (cm^2s^{-1})
t	čas ločbe (s)

Če iz zgornje enačbe izrazimo hitrost, dobimo naslednjo enačbo, ki opisuje odvisnost hitrosti potovanja mobilne faze (V_f) od dolžine poti (Z_f):

$$V_f = \frac{k}{2Z_f}$$

Kot vidimo iz zgornjih dveh enačb, je hitrost potovanja mobilne faze odvisna od dolžine njene poti – višje, kot pripotuje mobilna faza, počasneje se ta premika.

Hitrost potovanja je odvisna tudi od fizikalnih lastnosti sorbenta in topil v mobilni fazi. Velikost delcev sorbenta, viskoznost topila in površinska napetost vplivajo na hitrostni koeficient, ki ga opišemo z naslednjo enačbo:

$$k = 2 \frac{\gamma}{\eta} K_0 d_p \cos \theta$$

K_0	konstanta permeabilnosti, ki je odvisna od poroznosti sorbenta, vpliva na poroznost na permeabilnost sorbenta in od razmerja med hitrostjo potovanja fronte topila in preostalega dela mobilne faze na kromatogramu (ti. bulk liquid). Na splošno velja - večji kot so delci silikagela, večji je K_0 .
d_p	velikost delcev sorbenta (cm)
θ	stični kot med sorbentom in mobilno fazo. Pri večini organskih topil in ob uporabi silikagela kot sorbenta je $\cos \theta$ enak 1
γ	površinska napetost topila
η	viskoznost topila

Mobilno fazo praviloma izberemo glede na fizikalno-kemijske lastnosti vzorca in sorbenta. Pri tem je treba upoštevati, da se različna topila gibljejo po kromatografski plošči z različno hitrostjo (Preglednica 1). Zaželena so tista topila, pri katerih je razmerje med površinsko napetostjo in njihovo viskoznostjo čim večje, saj le-ta potujejo hitreje po kromatogramu. Pri izbiri primernega topila za ločbo velja priporočilo, da izberemo čim bolj enostavno topilo. Prav tako se moramo izogibati topilom, ki so toksična, eksplozivna ali korozivna. Mobilna faza mora ustrezati trem glavnim zahtevam:

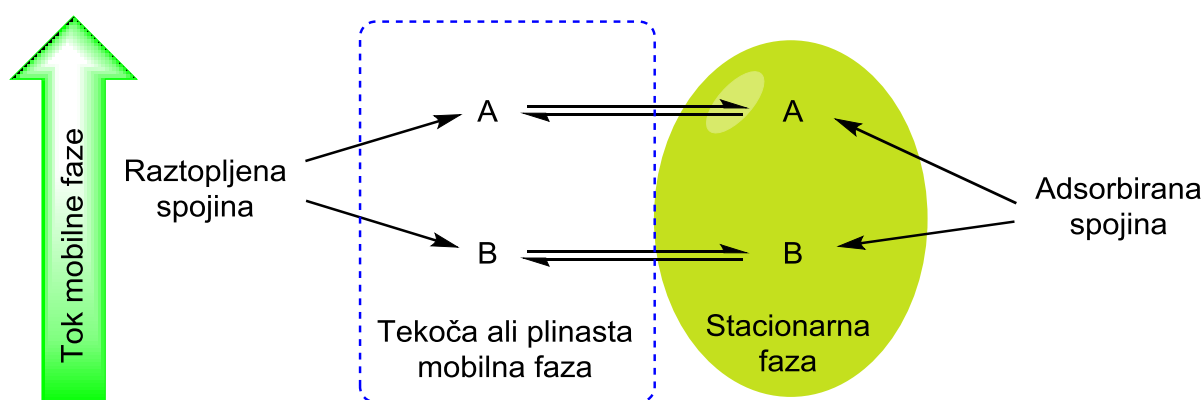
- Vzorec mora biti vsaj deloma topen v mobilni fazi, če želimo, da le-ta potuje po TLC ploščici
- Imeti mora primerno elucijsko moč, da se doseže ustrezen retencijski faktor med 0,2 in 0,8 (idealno med 0,2 in 0,5, kjer je največja ločljivost).
- Izkazati mora primerno selektivnost do posameznih komponent vzorca
- Imeti mora nizko viskoznost

Mobilno fazo pripravimo s pipetiranjem topil v suho epruveto ali v graduiran merilni valj primerne velikosti glede na volumen mobilne faze.

Mehanizem kromatografske ločbe

Največkrat je ločba rezultat več vrst interakcij, ki nastanejo med analiziranimi spojinami, sorbentom in mobilno fazo. Takoj, ko mobilna faza omoči mesto nanosa vzorca, se vzpostavi ravnotežje med raztopljenim in adsorbiranim delom spojine. Spojina potuje po kromatogramu samo v raztopljeni obliki. Na samo separacijo lahko zato gledamo kot na kontinuiran proces adsorpcije in desorpcije spojine s hkratno translokacijo zaradi premikanja mobilne faze (Slika 5). Kako visoko bo spojina pripotovala po kromatogramu, je odvisno od časa, ki ga ta prebije adsorbirana na sorbent relativno glede na čas, ki ga prebije raztopljena v mobilni fazi. Več časa, ki ga spojina tekom ločbe prebije raztopljena v mobilni fazi, višje pripotuje. Na samo ravnotežje med adsorbirano in raztopljeno obliko tako vplivajo naslednji dejavniki:

- Polarnost in velikost analiziranih molekul
- Polarnost stacionarne faze
- Polarnost mobilne faze



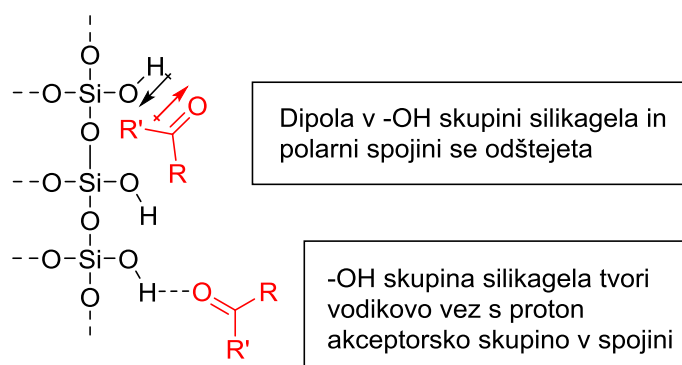
Slika 5. Proces kromatografske ločbe

Interakcija spojin s silikagelom

Ker je zaradi prostih -OH skupin površina silikagela zelo polarna, tvorijo *polarne spojine močnejše interakcije s površino kot nepolarne spojine* (Slika 6). Zaradi tega je položaj lis po končanem razvijanju kromatograma odvisen predvsem od polarnosti spojine. **Nepolarne spojine v enaki mobilni fazi pripotujejo višje po kromatogramu (višji R_f) kot polarne spojine in obratno.** Skupna jakost interakcij je večinoma vsota prispevkov vodikovih vezi in dipol-dipol interakcij.

V seriji strukturnih analogov jakost interakcij s silikagelom običajno narašča v naslednjem zaporedju:

Alkani < alkeni < aromatski ogljikovodiki ≈ kloroalkani < sulfidi < etri < ketoni ≈ aldehidi ≈ estri < alkoholi < amidi << fenoli ≈ amini ≈ karboksilne kisline. V seriji analogov z različno dolžino verige ogljikovodikov so interakcije odvisne tudi od dolžine verige – daljša, ko je veriga, manjše so interakcije s silikagelom. Ob tem je pomembna tudi konformacija spojin. Spojine, ki imajo polarne skupine usmerjene proti površini silikagela, tvorijo močnejše interakcije kot spojine, ki imajo večino funkcionalnih skupin usmerjenih stran od površine silikagela. Zaradi tega je kromatografija na silikagelu primerna za analizo pozicijskih aromatskih in geometrijskih izomerov, diastereoizomerov ter drugih spojin z enako polarnostjo ter različno prostorsko usmeritvijo funkcionalnih skupin.



Slika 6. Interakcije med silikagelom in analiti

Interakcija topila s spojinami in silikagelom

Na sam proces ločbe vplivata predvsem dve vrsti ravnotežnih interakcij – interakcija topila s silikagelom in s spojino. Tako spojina kot topilo tekmujeta za vezavna mesta na polarnem silikagelu. Sposobnost izpodrivanja spojine z vezavnih mest na silikagelu je zato odvisno predvsem od polarnosti mobilne faze. *Bolj polarno topilo* tvori več interakcij s silikagelom kot nepolarno topilo in zato *lažje izpodriva spojino s silikagela, ta zato pripotuje višje* (višji Rf). Poleg tega polarne skupine v mobilni fazi tvorijo interakcije tudi s polarnimi skupinami spojine in ji tako preprečujejo vezavo na silikagel.

Topila lahko razvrstimo glede na njihovo elucijsko moč v ti. elutropno vrsto, ki upošteva interakcije, ki jih topilo tvori s sorbentom. Topila so razvrščena glede na adsorpcijsko energijo, ki se sprosti ob interakciji z enoto sorbenta, kar označimo kot ϵ^0 . Omenjeni empirični model ne definira le elucijske moči posameznega topila, temveč tudi odvisnost le-te od različnih sorbentov. Povezavo med elucijsko močjo izbranega topila na silikagelu in nevtralnem aluminijevem oksidu tako definira naslednja enačba:

$$\epsilon_{\text{silikagel}}^0 = 0,77 \times \epsilon_{\text{Al}_2\text{O}_3}^0$$

Kot vidimo v Preglednica 1, **elucijska moč topila narašča z naraščajočo polarnostjo od heksana proti vodi.**

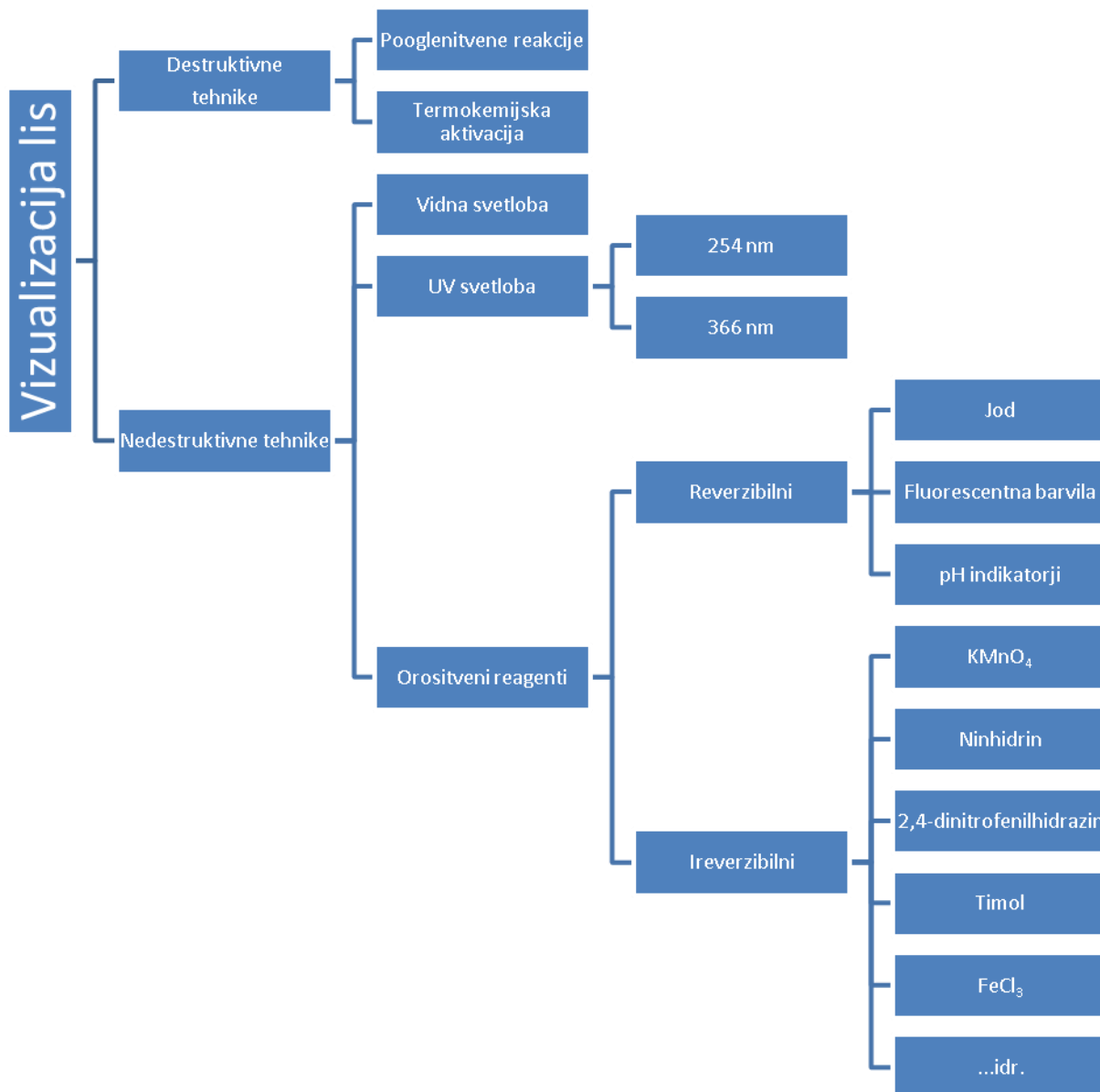
Kljub veliki uporabni vrednosti prikazane tabele pa se moramo zavedati, da mnogokrat ni jasne linearne povezave med fizikalno-kemijskimi lastnostmi topila in njihovo elucijsko močjo, saj je le-ta odvisna tudi od lastnosti samega vzorca in njegovih specifičnih interakcij s silikagelom.

Preglednica 1. Elutropna vrsta topil, njihove hitrostne konstante in elucijske moči.

Topilo		Hitrostna konstanta (k) cm^2s^{-1}	Elucijska moč (kJ/g)	
			$\epsilon_{\text{Al}_2\text{O}_3}^0$	$\epsilon_{\text{silikagel}}^0$
<i>Nepolarna topila</i>	<i>n</i> -Heksan	0,118	0,01	0,01
	Cikloheksan	0,047	0,04	0,03
	Toluen	0,071	0,29	0,22
	Kloroform	0,079	0,40	0,26
	THF	0,103	0,45	0,35
	Aceton	0,112	0,56	0,47
	1,4-Dioksan	0,050	0,56	0,49
	Etil acetat	0,080	0,58	0,38
	Acetonitril	0,114	0,65	0,50
<i>Polarna topila</i>	Propan-2-ol	0,019	0,82	0,63
	Etanol	0,031	0,88	0,68
	Metanol	0,050	0,95	0,73
	Voda	0,082	>>1	>>1

Vizualizacija

Po končanem razvijanju kromatograma lahko spojine opazujemo na naslednje načine:



Slika 7. Načini vizualizacije spojin

Pooglenitvene reakcije

Z uporabo 10-20% raztopin močnih kislin v etanolu ali vodi lahko pri rahlo povišani temperaturi dosežemo nespecifično pooglenitev organskih spojin, kar vidimo kot sivo do črno barvo na belem ozadju. V ta namen se uporabljajo predvsem žveplova(VI) kislina, ortofosforna kislina in kromžveplova(VI) kislina. Temperatura in čas, ki sta potrebna za pozitivno reakcijo, sta odvisna od vrste spojin, največkrat pa je treba kromatogram segreti 5-20 min pri 100-180 °C.

Termokemijska aktivacija

Včasih pride pri segrevanju spojin bogatih s π -elektroni do kemijske reakcije, pri kateri nastane spojina s sposobnostjo fluorescenc. Ob tem deluje silikagel zaradi svoje velike specifične površine kot katalizator. Spojine, ki imajo poleg π -elektronov v svoji strukturi tudi

heteroatome, kot so N, O, S in P, so bolj dovzetne za termokemijsko aktivacijo kot aromatski ogljikovodiki.

Vidna svetloba

Nekatera naravna, umetna barvila in nekateri nitrofenoli absorbirajo vidni del elektromagnetnega spektra in jih zato vidimo že s prostim očesom. Večina spojin ni obarvanih in jih moramo zato vizualizirati s preostalimi metodami.

UV svetloba

Kot smo omenili v prejšnjem poglavju, ima večina kromatografskih plošč v plast sorbenta vgrajen indikator, ki omogoča opazovanje lis pri 254 ali 366 nm. TLC plošče, ki jih uporabljamo pri vajah iz farmacevtske kemije II, imajo oznako UV₂₅₄, saj imajo vgrajen fosforescentni indikator ZnSiO₄, ki absorbira UV svetlobo valovne dolžine 254 nm in oddaja svetlobo rumeno-zelene barve. **Spojine s konjugiranimi dvojnimi vezmi** večinoma (z redkimi izjemami) **absorbirajo svetlobo pri tej valovni dolžini in gasijo fosforescenco**, kar opazimo kot vijolične lise na rumeno-zeleni podlagi. Kromatografska plošča nima dodanega fluorescentnega indikatorja, ki bi omogočal opazovanje lis pri 366 nm. Zato lahko pri tej valovni dolžini opazujemo le spojine, ki fluorescirajo same po sebi.

Orositveni reagenti

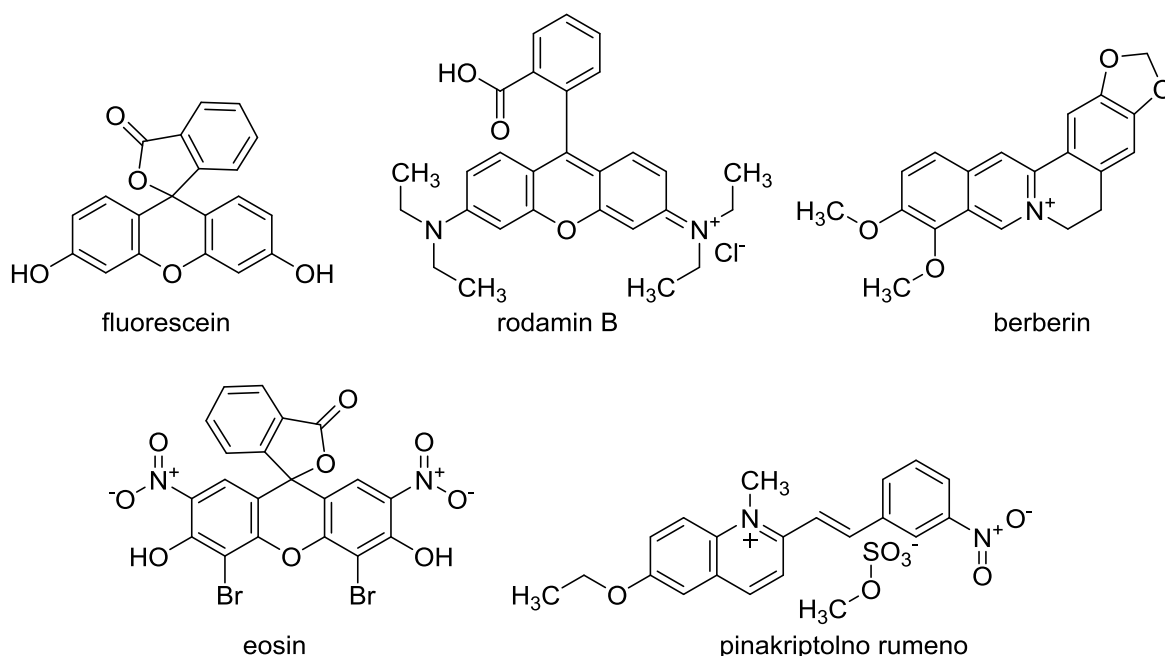
Orositveni reagenti omogočajo opazovanje lis v vidni ali, redkeje, v UV svetlobi. Glede na to, ali ti reagenti omogočajo ponovno uporabo kromatograma za ostale načine detekcije, lahko orositvene reagente razdelimo na reverzibilne in ireverzibilne.

Reverzibilni orositveni reagenti

Reverzibilni reagenti reagirajo s spojinami tako, da ne spremenijo njihove kemijske strukture. Kromatogram lahko zato po oroševanju uporabimo tudi za nadaljnje analize. Primer reverzibilnega reagenta je jod. Hlapi joda se koncentrirajo v lipofilnih molekulah in dajejo rumeno rjavo obarvanje na svetlorumenem ozadju, ki sčasoma izgine, saj jod sublimira s površine plošče. Ob tem ne pride do kemijske reakcije, ki bi spremenila analizirano spojino ali kakorkoli motila ostale analize.

Fluorescentna barvila

Kar nekaj fluorescentnih indikatorjev se uporablja za nedestruktivno opazovanje različnih lipofilnih spojin. Tipični predstavniki so prikazani na Slika 8. Spojine, ki absorbirajo UV svetlobo pri valovni dolžini 254 ali 366 nm, gasijo fluorescenco reagenta pri eni ali obeh valovnih dolžinah in jih zato vidimo kot temnejše lise na fluorescentnem ozadju.

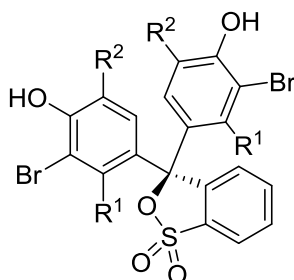


Slika 8. Fluorescentna barvila

pH indikatorji

pH indikatorje uporabljamo za detekcijo kislih in bazičnih spojin. Največkrat uporabljamo barvila trifenilmetanske skupine, kot so bromkrezolno zeleno, bromtimolno modro, bromfenolno modro in bromkrezolno vijolično. Uporabljajo se 0,01-0,1% etanolno-vodne raztopine kislinsko-bazičnih indikatorjev, ki jim uravnamo pH z bazo ali pufrom.

Bromkrezolno zeleno (Slika 9), ki ga bomo uporabili na vajah, obarva **kislina rumeno** in **baze modro**, nadaljnja izpostavitve hlapom amonijaka pa poveča kontrast med barvo kisline/baze in ozadjem.



Bromkrezolno zeleno ($R^1 = \text{CH}_3$, $R^2 = \text{Br}$)

Bromtimolno modro ($R^1 = \text{CH}_3$, $R^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$)

Bromfenolno modro ($R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{Br}$)

Bromkrezolno vijolično ($R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}_3$)

Slika 9. pH indikatorji trifenilmetanske skupine.

Ireverzibilni orositveni reagenti

Ireverzibilni orositveni reagenti pretvorijo spojino v obarvan produkt s pomočjo kemijske reakcije. V nekaterih primerih reakcija poteče takoj, v večini primerov pa je potrebno segrevanje orošenega kromatograma. Orositvene reagente, ki jih ob tem uporabimo, lahko na TLC ploščo nanesemo s pomočjo razprševanja reagenta po površini plošče ali s pomočjo pomakanja kromatograma v raztopino reagenta. Prednost nanašanja reagentov s pomočjo razprševanja je predvsem v manjši porabi topila, zato je ta tehnika bolj priljubljena. Slabost te

tehnike je predvsem v nastanku drobnih kapljic, ki jih lahko uporabnik tudi vdihne, zato ob uporabi tehnike z razprševanjem vedno uporabimo za to prirejeno orositveno komoro in **zaščitna očala!** Prednost tehnike z namakanjem je zato predvsem v večji varnosti uporabnika ob uporabi toksičnih reagentov in enakomernejšo porazdelitev reagenta na plošči. V obeh primerih kemijske reakcije vedno izvajamo v digestoriju.

V uporabi je mnogo orositvenih reagentov, ki se uporabljajo za določevanje posameznih strukturnih razredov spojin. Nekateri od njih so predstavljeni v Preglednica 2

Preglednica 2. Orositveni reagenti

Reagent	Vrsta reakcije/produkt	Strukturni razred spojin	Barva
Jod	Največkrat oksidacija, včasih elektrofilna substitucija, adicija	Policiklični aromatski ogljikovodiki, alkaloidi, barbiturati, nenasičeni lipidi, opiat, tioli	Rumeno obarvanje na svetlo rumenem ozadju
HNO₃	Elektrofilna aromatska substitucija	Aromatske spojine	Rumena ali rjava
2,4-Dinitrofenilhidrazin	Tvorba hidrazonov ali osazonov	Aldehidi in ketoni, ogljikovi hidrati	Oranžno-rumeno
CuSO₄·5H₂O	Tvorba kompleksov	Tioglikolna kislina, proteini (biuretska reakcija), etanolamini	Rdeče-vijolična
FeCl₃	Tvorba kompleksov	Fenoli, barbiturati	Rdeče-vijolična
CoBr₂	Tvorba kompleksov	Fenoli, barbiturati	Rdeče-vijolična
Ninhidrin		Aminokislina, peptidi, amini, aminosladkorji	Rumeno-rdeče-rjava
KMnO₄	Oksidacija	Alkoholi, amini, alkeni	Rjava lisa na vijolični podlagi
Fosfomolibdenska kislina	Oksidacija	Alkoholi, kisline, amini	Temno zelena lisa na svetlo zeleni podlagi
p-Anisidin	Tvorba imina	Sladkorji	Aldoheksoze-zeleno-rjave Ketoheksoze-rumene barve Aldopentoze-zelene barve
Timol/žveplova kislina	Tvorba trifenilmetanske skupine barvil	Sladkorji	Vijolične lise
4-Aminohipurna kislina/ftalna kislina	Tvorba Schiffovih baz	Aldehidi, ketoni	Fluorescenca pri 366 nm

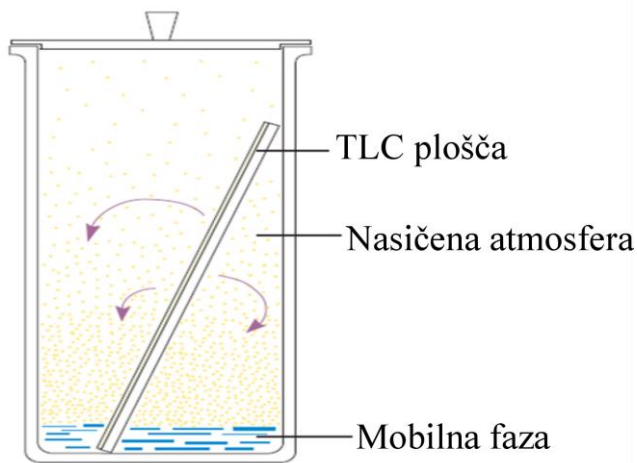
Predkromatografske reakcije

V redkih primerih lahko spojine s pomočjo kemijske reakcije pretvorimo v drug produkt še pred kromatografsko ločbo. Kemijske reakcije, ki se pri tem uporabljajo, so zelo različne in vključujejo oksidacije, redukcije, kloriranje, bromiranje, nitriranje, aciliranje ipd. Reakcijo lahko izvedemo pred nanašanjem vzorca, ali pa reagent naneseemo na mesto nanosa vzorca, kjer nato poteče reakcija. Omenjene reakcije uporabljamo, kadar:

- želimo povečati stabilnost vzorca (npr. pred oksidacijo),
- je spojina preveč reaktivna in bi reagirala s silikagelom
- želimo povečati ločljivost ločbe
- je vzorec hlapen
- želimo znižati mejo detekcije lis

Priprava kromatografske posode

Primerna je steklena posoda z ravnim dnom in z robom, ki omogoča tesno zaprtje s steklenim ali kovinskim pokrovom (Slika 10). Posodo znotraj obložimo s filtrirnim papirjem, ki omogoči hitrejše nasičenje kadičke s hlapi mobilne faze. Mobilno fazo (2-3 mm visoko) vlijemo v posodo, tako da bo papir namočen in da bo globina mobilne faze pod robom startne črte kromatograma. Posodo takoj pokrijemo in jo pustimo na mestu, kjer ni prepaha in kjer je konstantna temperatura (optimalno med 20 in 25 stopinjami). Nasičenje posode s hlapi mobilne faze je običajno doseženo med 15 do 30 minutami, ob tem pa je za enakomerno razvijanje kromatograma pomembna stalna temperatura in nasičenost atmosfere v kromatografski posodi.



Slika 10. Kromatografska komora

Razvijanje kromatograma, detekcija lis in dokumentiranje

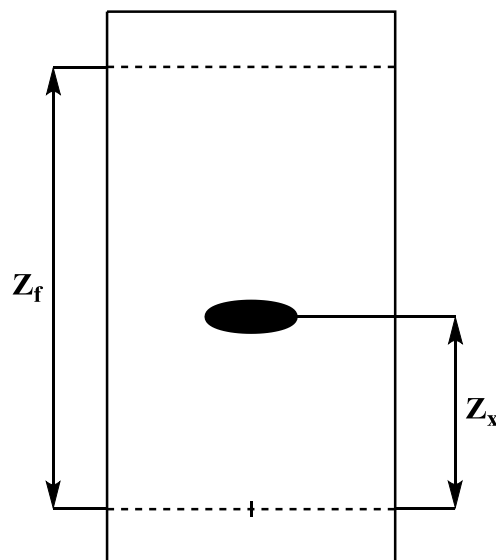
Ko doseže mobilna faza predvideno zgornjo črto (fronto), kromatogram s pinceto previdno dvignemo iz kromatografske posode in ga sušimo v odzračevanem prostoru. Topila z višjim vreliščem sušimo na ogreti kovinski ali keramični plošči ali s puhalom vročega zraka. Ravnamo pazljivo, tako da ne vdihavamo hlapov mobilne faze in pazimo, da se ti ne vnamejo.

Retencijski faktor

Lise, ki imajo lastno barvo, najprej označimo z mehkejšim grafitnim svinčnikom (HB). Kromatogram nato opazujemo v ultravijolični svetlobi z valovno dolžino 254 nm in 365 nm.

Zabeležimo položaj in barvo lis. Položaj lis podamo kot kvocient poti središča lise (Z_x) proti zgornji doseženi črti mobilne faze (Z_f) in ga imenujemo retencijski faktor (Rf) (Slika 11).

$$Rf = \frac{Z_x}{Z_f}$$



Slika 11. Izračun retencijskega faktorja iz položaja lis na kromatogramu.

Podajamo ga na dve decimalki natančno; v nekaterih primerih podajajo rezultat kot Rf, pomnožen s sto, kar označimo kot hRf.

$$hRf = Rf \cdot 100$$

Na retencijski faktor vplivajo sorbent, mobilna faza in parni tlak mobilne faze v kadički, ki morajo biti v ravnotežju. Če ta pogoj ni dosežen, mobilna faza med potovanjem izhlapeva iz kromatograma, zato je izmerjeni Rf višji. Nasičenost kadičke lahko vpliva tudi na vrstni red spojin na kromatogramu, zato običajno pustimo mobilno fazo stati v kadički 15 do 30 minut, da dosežemo nasičenje posode s hlapi mobilne faze. Zato, da pospešimo nasičenje kadičke s hlapi mobilne faze, običajno v kadičko dodamo tudi filtrirni papir, s katerega mobilna faza izhlapeva v notranjost kadičke. Ker je zelo težko doseči ponovljivost retencijskih faktorjev, poleg vzorca na drugo mesto nanesemo še standard.

Razviti kromatogram nalepite v poročilo in izračunajte Rf vseh lis.

Razvijanje z vmesnim sušenjem

Zaradi difuzije se lisa spojine med razvijanjem kromatograma širi, to pa zmanjša ostrino roba lise in zveča njeno velikost. Podaljševanje dolžine fronte zato ni vedno smiselno, saj lahko dobimo pri predolgi poti mobilne faze lise, ki so preširoke in prenizke ločljivosti. Ph. Eur. tako predpisuje pot mobilne faze 6 cm, kar je optimalna dolžina za večino kromatografskih plošč s silikagelom kot sorbentom. Kadar imajo lise spojine prenizke Rf ali slabo ločljivost, je zato bolj smiselno razvijati kromatogram z vmesnim sušenjem kot podaljšati dolžino kromatograma. V tem primeru kromatogram po končanem prvem razvijanju previdno posušimo in (brez ponovnega nanašanja vzorca) razvijemo še enkrat. Mobilna faza ob tem začne ponovno potovati po kromatogramu in doseže spodnji del lise. Zaradi tega spojine v

tem delu lise začnejo potovati po kromatogramu navzgor. V zelo ozkem časovnem intervalu imamo tako na kromatogramu stanje, kjer se premika samo spodnji del lise, zgornji del, ki še ni omočen z mobilno fazo, pa miruje, kar povzroči, da se lisa vertikalno zoži in posledično poveča ločljivost. Retencijski faktor, ki ga odčitamo, imenujemo navidezni retencijski faktor.

Težave pri tankoplastni kromatografiji

Prevelike lise

Velikost začetnega nanosa pomembno vpliva na končno ločljivost ločbe. Ker se lisa spojine tekom potovanja po kromatografski plošči širi, je končna velikost lise večja od začetnega nanosa. Predvsem pri spojinah z manjšimi R_f vrednostmi lahko to povzroči prekrivanje in zlitje lis v eno samo veliko liso. Velikost začetnega nanosa naj bi bila zato velika 1-2 mm.

Robni efekt

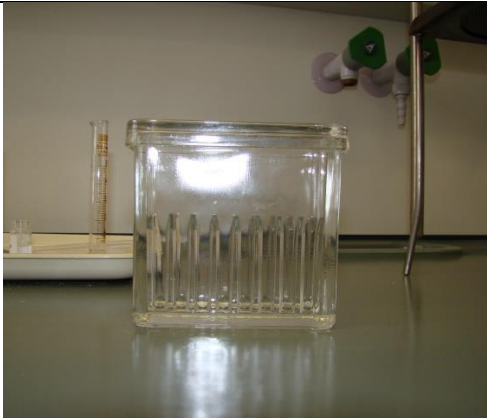
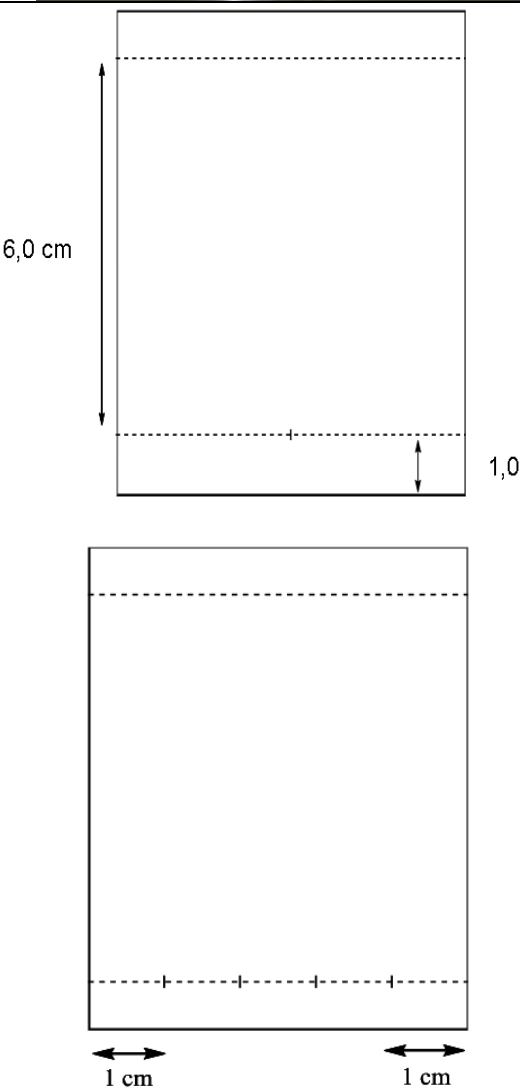
To je ena od bolj pogostih težav pri razvijanju kromatograma. Nastane takrat, ko mobilna faza v osrednjem delu kromatograma potuje hitreje ali počasneje od mobilne faze na robovih kromatografske plošče. Ker lise spojin potujejo skupaj z mobilno fazo, so R_f vrednosti v tem primeru odvisne tudi od mesta nanosa vzorca - na robovih kromatograma ima vzorec drugačen R_f kot na sredini kromatografske plošče. Robni efekt je lahko posledica:

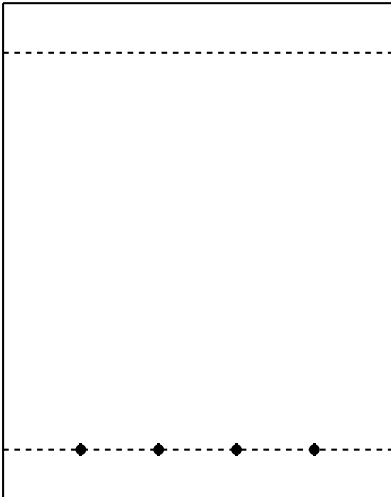

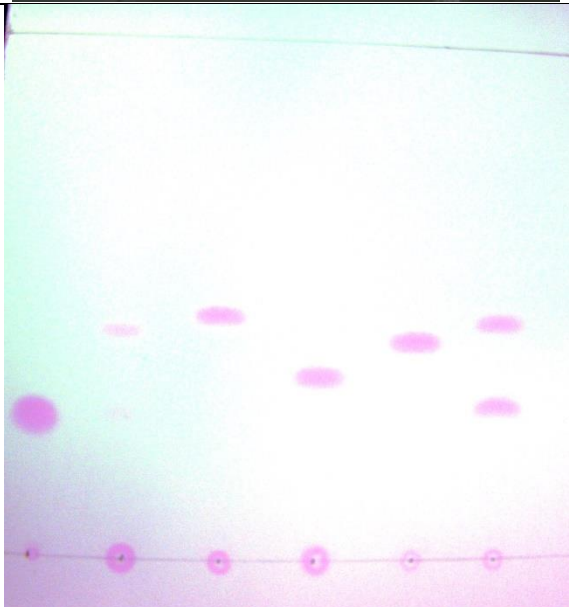
- premajhne količine mobilne faze v kadički
- ukrivljenega dna kadičke
- nagnjenosti kromatograma v levo ali desno smer glede na vertikalno lego.
- nesimetrično narezanih kromatografskih plošč. Kadar vertikalni stranici nista vzporedni ena z drugo, mobilna faza ne potuje enakomerno po kromatogramu
- uporabe topil z veliko površinsko napetostjo, npr. vode

Pojav repov

Kadar na kromatogramu ne dobimo lis v obliki pravilnega kroga, temveč imajo le-te obliko "kometa", je to lahko posledica prevelike količine nanosa ali kislinsko-bazičnih lastnosti vzorca. V primeru prevelike količine nanosa je presežena vezavna kapaciteta na silikagelu, ki ne omogoča običajnega ravnotežnega procesa porazdeljevanja spojine med mobilno fazo in silikagelom. Del molekul zato začne med potovanjem po kromatogramu zaostajati za glavnim delom, kar vidimo kot rep. Kromatogram moramo zato razviti še enkrat z nižjo koncentracijo vzorca. V primeru kislinsko-bazičnih lastnosti vzorca k mobilni fazi dodamo kislinsko-bazični modifikator.

Postopek razvijanja kromatograma

	<p>1. korak: Priprava kadičke</p> <p>Kadička je steklen kvader, v katerem poteka ločba. Ob začetku nalijte vanj mobilno fazo in kadičko pokrijte, da se atmosfera v kadički nasiti s hlapi mobilne faze (5-15 min). Gladina tekočine naj bo visoka približno 0,2-0,5 mm in se ne sme dotikati nanosa vzorca.</p>
	<p>2. korak: Priprava kromatografske plošče</p> <p>Za kasnejšo dokumentacijo in istovetenje označimo startno črto in oštevilčimo startna mesta z grafitnim svinčnikom.</p> <p>Odmik od vertikalnih robov plošče je najmanj 0,5 cm, odmik začetne črte od spodnjega roba je 0,8-1,0 cm. Pot mobilne faze je 6 cm. Pri označevanju pazimo, da ne poškodujemo plasti sorbenta.</p> <p>Na TLC ploščico narahlo z grafitnim svinčnikom narišemo štartno črto 1,0 cm od spodnjega roba in v oddaljenosti 6,0 cm od nje še črto, do katere bo potem potovalo topilo. Na ploščo ne smemo risati nobenih navpičnih črt, prav tako v primeru napake ne smemo uporabiti radirke. Za risanje lahko uporabimo le mehke grafitne svinčnike, sicer se lahko kromatografirajo tudi sestavine črnila.</p> <p>Na štartni črti označimo mesta za nanos vzorcev. Prvi in zadnji vzorec nanesejo vsaj 0,5 cm od roba plošče, po možnosti naj bo razdalja 1,0 cm.</p>

	<p>3. korak: Nanašanje vzorcev</p> <p>Na označena mesta s pomočjo mikrokapilare nanesemo vzorce. Posebej je treba paziti, da izpraznimo celotno vsebino mikrokapilare, ki jo med nanašanjem posameznih vzorcev natančno speremo (vsaj trikrat). <i>Po končanem nanosu ploščico pregledamo pod UV svetilko</i>, po potrebi vzorec nanesemo ponovno.</p>
	<p>4. korak: Razvijanje kromatograma</p> <p>Ploščico položimo s spodnjo stranjo v predhodno pripravljeno kadičko in počakamo, da mobilna faza pripotuje do zgornje črte. Ploščico posušimo s fenom. Kadar razvijamo kromatogram z vmesnim sušenjem, posušeno ploščo še enkrat položimo v kadičko in ponovimo celoten postopek razvijanja in sušenja.</p>
	<p>5. korak: Opazovanje rezultatov</p> <p>Ploščo najprej pogledamo pod UV svetilko pri 254 nm in/ali 366 nm, označimo vidne lise in jo šele nato po potrebi orosimo z izbranim orositvenim reagentom.</p>



Reakcije istovetenja

Zavedanje potencialne nevarnosti, da bi bolnim ljudem dali napačno zdravilo ali zdravilo s škodljivimi farmakološkimi učinki, je že zelo zgodaj vodilo v zahteve po nadzoru nad kakovostjo farmacevtskih izdelkov in njihovih sestavin. Prve metode preverjanja istovetnosti in čistote so temeljile predvsem na preverjanju videza, okusa, vonja in pregleda pod mikroskopom, medtem ko novejšje metode uporabljajo predvsem drago opremo visoke tehnologije, kot so kapilarna elektroforeza, rentgenska spektroskopija in tekočinska kromatografija visoke ločljivosti. Kljub boljšim novejšim tehnikam ostajajo kolorimetrične in obarjalne reakcije pomembne farmakopejske metode preverjanja istovetnosti in čistote. Razlogi za to so večplastni in presejajo namen teh vaj. Kljub vsemu lahko omenimo, da sta dva od razlogov nizka cena in preverjenost njihovega delovanja.

Obarjalne reakcije

Reakcije, pri katerih je končni rezultat oborina, sodijo med najstarejše metode istovetenja, ki so se razvile zaradi potreb rudarske industrije sredi 19. stoletja. V večini primerov gre pri teh reakcijah za dokazovanje anorganskih ionov, ki jih selektivno oborimo pod specifičnimi pogoji. Obarjanje je kompleksen proces, ki obsega nukleacijo in rast kristalov. Ker je končni rezultat odvisen od topnosti snovi v izbranem topilu in kinetike obarjanja, je v mnogih primerih za nastalo oborino predpisan tudi videz. Ta je odvisen predvsem od afinitete do topila, v katerem poteka obarjanje, in ionov v bližini površine delcev ter velikostne porazdelitve delcev.

Sol se obori iz prenasičene raztopine, če je presežena njena topnost, ki jo definira topnostni produkt K_{sp} . Ta pogoj je dosežen takrat, kadar je zmnožek molarne koncentracije ionov (Q) soli večji od topnostnega produkta ($Q > K_{sp}$). Za sol z bruto formulo A_aB_b je tako topnostni produkt naslednji:

$$K_{sp} = [A^{Z+} \cdot \gamma_A]^a \cdot [B^{Z-} \cdot \gamma_B]^b$$

K_{sp}	topnostni produkt v nasičeni raztopini
$Z+$	valenca kationa
$Z-$	valenca aniona
γ	koeficient aktivnosti (od 0 do 1)

Vrednost koeficienta aktivnosti je odvisna od ionske moči raztopine in valence ionov, zato je pri večji ionski moči topnost soli večja, kar je pomembno za izvajanje obarjalnih testov.

Dodatne snovi ionskega izvora, ki so v testu prisotne kot posledica kontaminacije vzorca ali priprave vzorca, lahko namreč preprečijo obarjanje analita.

Ob tem je pomembna tudi kinetika obarjanja, ki je odvisna od vrste soli in stopnje prenasíčenja. Tudi če topnostni produkt zaradi povečane ionske moči ne zvišamo do te mere, da bi preprečili obarjanje, lahko s spreminjanjem ionske moči vplivamo na sam začetek obarjanja in končni videz oborine.

Kolorimetrične reakcije

Razvoj barvnih reakcij sega na začetek 20. stoletja, ko so odkrili, da se nekateri alkaloidi obarvajo pri reakcijah z določenimi anorganskimi reagenti. Velik uspeh in razširjenost so dosegli v sredini prejšnjega stoletja z razvojem fotometrov, nato pa je njihova uporaba zaradi razvoja kromatografskih tehnik upadla. Kljub vsemu približno polovica reakcij istovetenja v Eur.Ph. temelji na selektivni kemijski reakciji, ki vodi v nastanek obarvanega produkta. Razlog za njihovo široko uporabo leži v njihovi poceni in enostavni izvedbi. Običajno jih uporabljamo v kombinaciji z dvema ali več ostalimi reakcijami istovetenja, ki skupaj z veliko verjetnostjo napovejo pravo istovetnost vzorca.

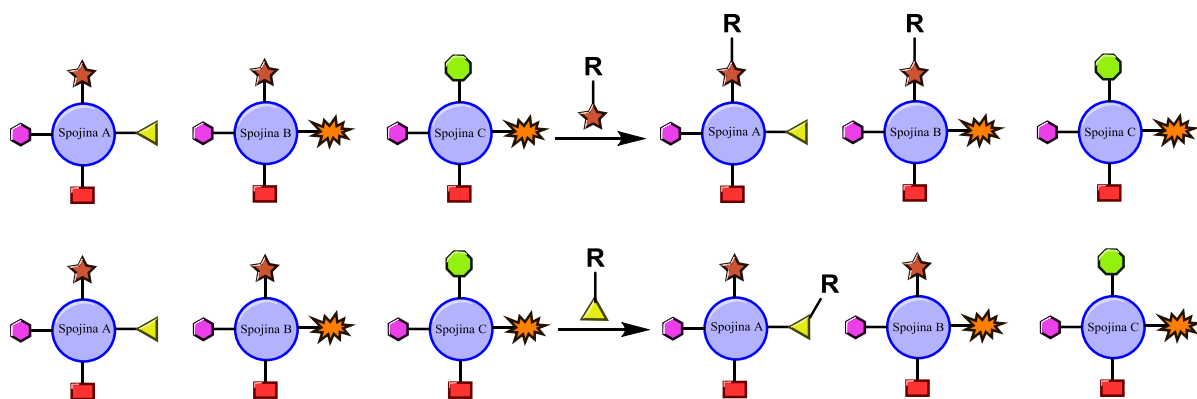
Omenjene reakcije imenujemo kolorimetrične reakcije. Ker so običajno zelo selektivne in ponovljive, jih lahko izvajamo brez uporabe standarda. V splošnem poznamo tri vrste kolorimetričnih reakcij:

1. Analizirana spojina se pretvori v obarvan produkt s pomočjo reagenta, ki ne postane del končnega produkta kemijske reakcije
2. Analizirana spojina reagira z reagentom, ki se obarva, vendar spojina ni del obarvanega produkta
3. Analizirana spojina reagira z reagentom kovalentno ali tvori kelat oziroma sol

Idealna kolorimetrična reakcija mora imeti naslednje lastnosti:

- ireverzibilnost
- visoko selektivnost
- visoko občutljivost
- robustnost
- reakcijski produkt mora biti stabilen in že po videzu drugačen od analizirane spojine in reagenta

Kolorimetrične reakcije so običajno selektivne, niso pa specifične. Izraz specifičen opisuje metodo, ki daje odziv samo za en analit, selektiven pa metodo, ki daje odziv samo za nekatere vrste analitov. V primeru, ko pride pri kolorimetrični reakciji do kemijske spremembe analizirane spojine, ta običajno reagira s pomočjo reagenta preko določene funkcionalne skupine, ki je prisotna v več različnih spojinah. Reagent bo zato reagiral z vsemi spojinami s to funkcionalno skupino in ne bo specifičen (Slika 12). Kljub vsemu lahko pri nekaterih reakcijah dosežemo določen nivo selektivnosti, saj se reaktivnost funkcionalnih skupin običajno razlikuje med posameznimi spojinami, npr. zaradi steričnih ovir. Tak primer je Legalova reakcija (1. vaja), ki jo uporabljamo za dokazovanje ketonov ali aldehydov, ki imajo nenasičen α -ogljik. Ker je uspešnost reakcije odvisna od steričnih ovir in od tega, če se spojina lahko pretvori v enolno resonančno obliko, omenjeno reakcijo uporabljamo za selektivno dokazovanje laktatov in citratov.

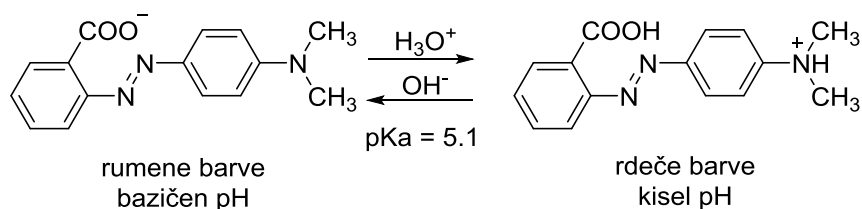


Slika 12. Specifičnost (reagent reagira samo z eno vrsto spojin)

Odvisnost barve od pH

Kadar nastanejo pri kolorimetrični reakciji produkti s kislimi in/ali bazičnimi funkcionalnimi skupinami, sta tako intenziteta kot tudi vrsta barve odvisni od ionske moči in pH (Slika 13). Pri primerjavi standardne in vzorčne raztopine je zato potrebna previdnost, saj lahko majhne spremembe v kislosti medija ali ionski moči povzročijo velike razlike v barvi ali njeni intenziteti tudi pri primerljivih koncentracijah standarda in vzorca.

Tipičen primer skupine spojin, kjer je barva odvisna od pH, so kislinsko-bazični indikatorji. Na spodnji sliki je prikazan primer metilno rdečega, ki je v bazičnem rumene barve, v kislem pa rdeče barve.

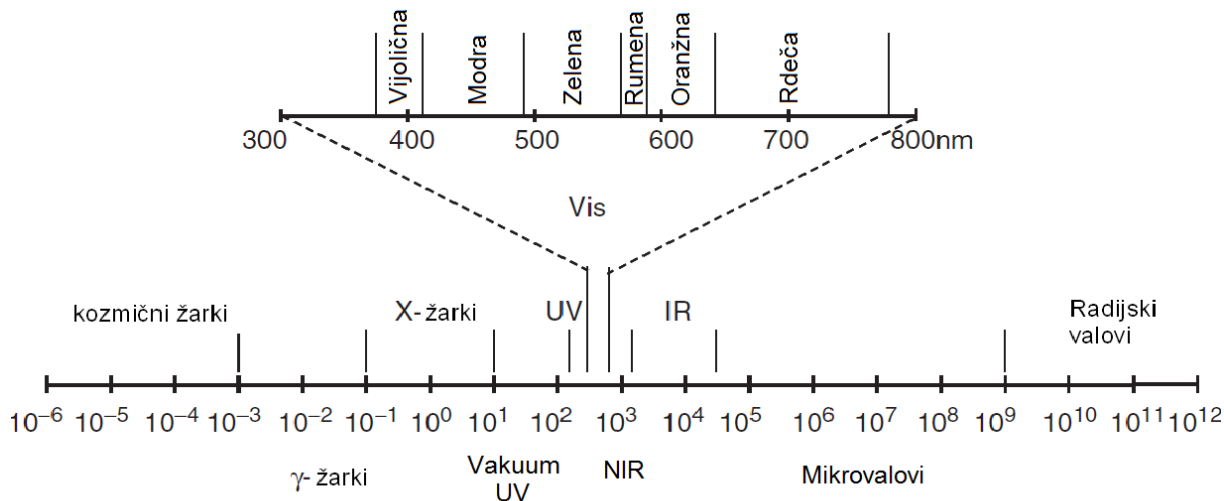


Slika 13. Odvisnost barve od pH pri metilno rdečem

Podobne zakonitosti veljajo tudi v primerih, ko kislila ali bazična funkcionalna skupina sodeluje pri tvorbi kompleksa s kovino, kar izkoriščamo pri istovetenju kovin z obarvanimi reagenti. Komplekse tvorijo predvsem kovine d bloka (redkeje f bloka) periodnega sistema, ki delujejo kot Lewisove baze. V kislinskih raztopinah, kjer je pH značilno nižji od pK_a liganda, taki kompleksi niso pretirano stabilni, saj H⁺ ioni tekmujejo s kovino za prost nevtralen elektronski par na ligandu. Po drugi strani pa v nevtralnih ali bazičnih raztopinah kovine d bloka periodnega sistema tvorijo netopne hidrokside ali okside, zato so kompleksi stabilni samo znotraj ozkega pH intervala. Običajno se pH, pri katerem opazimo največjo intenziteto barve, razlikuje od pH vrednosti, potrebne za reakcijo. V tem primeru je zaželeno, da se po izvedbi dokazne reakcije pH raztopine prilagodi pH vrednosti, pri kateri je intenziteta barve največja. Poleg pH je pri kolorimetričnih reakcijah pomembna tudi izbira topila. Absorpcijski spekter obarvanih spojin se namreč običajno spreminja v odvisnosti od koncentracije in od vrste topila. Polarna topila običajno tvorijo šibke interakcije s konjugiranimi elektroni, medtem ko nepolarna topila ne tvorijo nobenih interakcij z elektroni, kar vpliva na barvo spojine.

Osnove UV-VIS spektroskopije

Območje UV-VIS elektromagnetnega valovanja je po dogovoru razdeljeno na daljne UV-območje (<190 nm), UV območje (185-380 nm) in vidno območje (380-700 nm) (Slika 10). Energija v UV-VIS območju elektromagnetnega spektra je dovolj velika, da povzroči energijske prehode elektronov v zunanjih orbitalah (Slika 14).

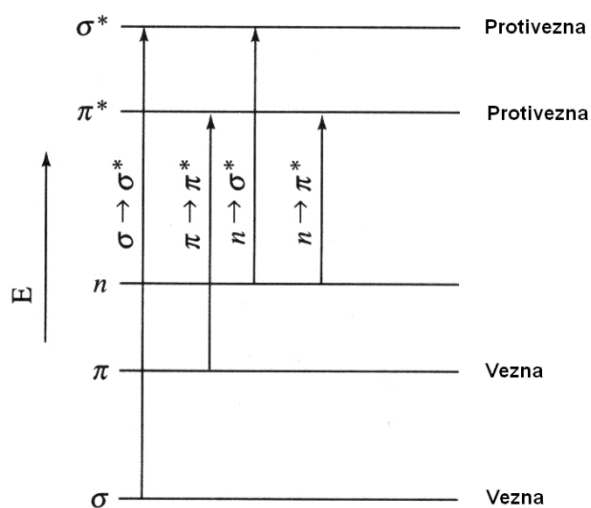


Slika 14. Elektromagnetni spekter

Organske molekule imajo tri vrste zunanjih elektronov:

- σ -elektrone enojnih vezi
- π -elektrone dvojnih in trojnih vezi
- nevezne elektronske pare (n) na kisiku, žveplu in dušiku

Ti elektroni lahko absorbirajo energijo svetlobe UV-VIS območja in se premaknejo v orbitalo z višjo energijo (elektron vzbudimo na višji energijski nivo). Pri sobni temperaturi je večina molekul v osnovnem energijskem stanju (E_0). Kadar pride do absorpcije energije, se elektron premakne iz vezne v protivezno orbitalo oziroma iz osnovnega energijskega stanja E_0 na višji energijski nivo E_1 . Pri večini molekul najlažje pride do absorpcije π in n elektronov, ki se premaknejo v π^* protivezno orbitalo (Slika 15).

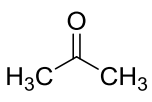
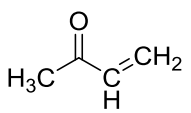


Slika 15. Energijski prehodi elektronov

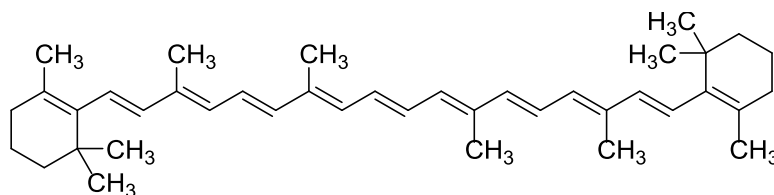
Kromofor je del molekule, ki je odgovoren za absorpcijo vidne ali UV svetlobe. Večina preprostih nekonjugiranih funkcionalnih skupin absorbira svetlobo valovnih dolžin pod 200 nm (višja energija). Zaradi šibke intenzitete absorpcije ti energijski prehodi za naše delo ne bodo uporabni. Bolj uporabni so konjugirani π sistemi, ki absorbirajo UV svetlobo pri višjih valovnih dolžinah (nižja energija) in imajo bolj intenzivne absorpcijske maksimume v primerjavi z nekonjugiranimi funkcionalnimi skupinami.

Z naraščajočo konjugacijo naraščata tako valovna dolžina absorpcijskega maksimuma kot tudi njegova intenziteta. Z vsako dodatno dvojno vezjo se absorpcijski maksimum premakne k višjim valovnim dolžinam za približno 30 nm. Intenzivna absorpcija nad 210 nm tako nakazuje, da imamo v molekuli konjugiran sistem (Preglednica 3).

Preglednica 3. Vpliv konjugacije na absorpcijo kromofora

<p><i>Aceton</i></p> 	<p><i>Metilvinil keton</i></p> 
$\lambda_{\max} (\epsilon) = 187 \text{ nm} (900)$	$\lambda_{\max} (\epsilon) = 219 (3600)$

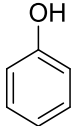
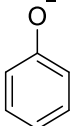
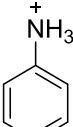
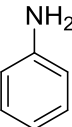
Absorpcijo svetlobe nad 380 nm lahko že opazimo, saj se pri tej valovni dolžini začne vidno območje. V tem območju absorbirajo kromofori z večjim konjugiranim sistemom. Tak primer je β -karoten, barvilo naravnega izvora, ki daje značilno oranžno bravo korenju in flamingom. β -karoten ima obsežen konjugiran sistem 11 dvojnih vezi, ki absorbirajo modro in zeleno svetlobo v območju med 400 in 500 nm (Slika 16).



Slika 16. β -karoten

Kadar imamo na konjugiran π sistem vezano funkcionalno skupino s kislimi ali bazičnimi lastnostmi, ki sodeluje v konjugaciji, je absorpcija svetlobe odvisna od pH raztopine. Pri derivatih fenola odcep protona iz -OH skupine poveča konjugacijo v kromofornem sistemu, pri derivatih anilina pa se zaradi protoniranja dušika le-ta zmanjša (preglednica 4).

Preglednica 4. Vpliv pH vodne raztopine fenola in anilina na absorpcijski maksimum

	Kisli ali nevtralni pogoji	Bazični pogoji
Fenol		
λ_{\max} (ϵ)	210 (6000)	235 (9400)
Anilin		
λ_{\max} (ϵ)	203 (7500)	235 (14800)

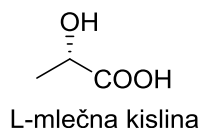
Mnogi kislinsko-bazični indikatorji absorbirajo svetlobo v vidnem delu UV-VIS spektra. Ob spremembi pH medija se konjugacija kromofornega sistema spremeni, kar povzroči spremembo barve indikatorja. Tak primer je bromkrezolno zeleno (vaja Fenotiazini).

1.2 LABORATORIJSKE VAJE

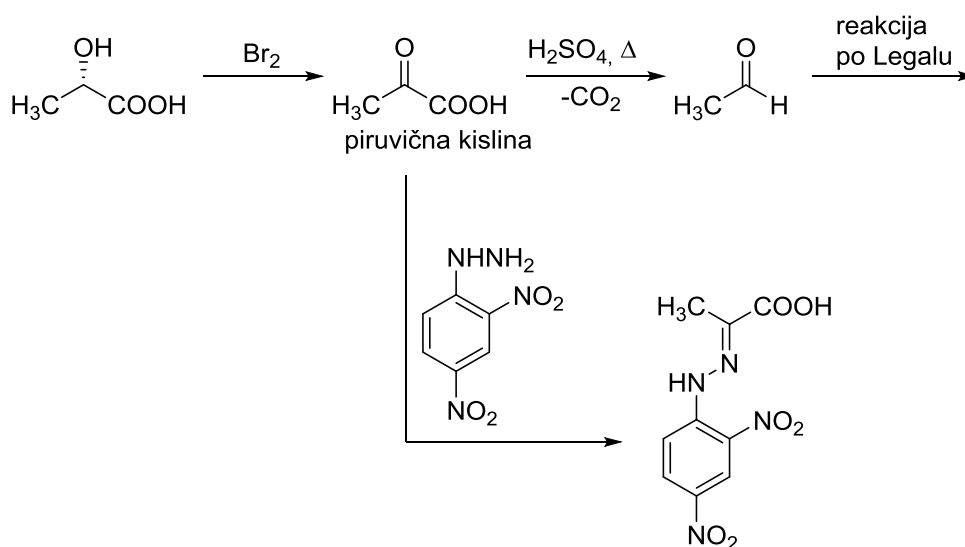
Identifikacijske reakcije pomožnih snovi in zdravilnih učinkovin (alifatske karboksilne kisline in njihove soli)

Mlečna kislina in laktati (acidum lacticum, lactata; lactic acid, lactates)

L-mlečna kislina je α -hidroksi karboksilna kislina z naslednjo strukturo:

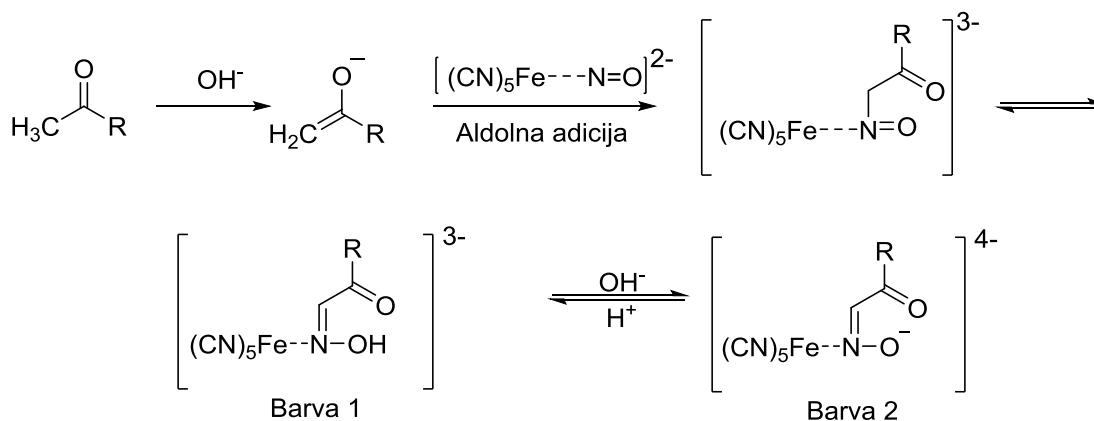


Mlečno kislino in njene soli istovetimo na osnovi oksidacije 2-hidroksiopropanojske kisline do ketopropionske kisline (pirogrozdne oz. piruvične kisline) in njene dekarboksilacije do etanala (acetaldehida), katerega istovetnost ugotovimo z reakcijo po Legalu. Istovetnost piruvične kisline bi lahko dokazali tudi z 2,4-dinitrofenilhidrazinom, ki je pogosto uporabljen reagent za dokazovanje aldehydov in ketonov.

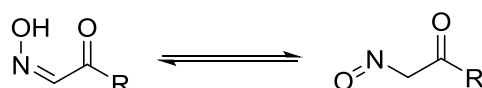


Reakcija po Legalu

Pozitivni rezultat dajejo vse spojine z aktivirano metilno skupino, npr. metilketoni, metilketokislina in acetaldehid, ki tvorijo v bazičnem mediju resonančno stabiliziran karboanion. Ta napade nitrozo skupino v natrijevem nitroprusidu (natrijev pentacianonitrozilferat) in nastane kompleks, katerega barva je odvisna od pH.

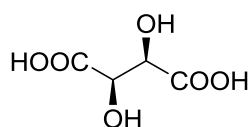


Pri temperaturah nad 40 °C iz omenjenega kompleksa nastanejo izonitrozo in nitrozo derivati, ki praviloma niso obarvani.

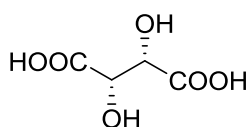


Vinska kislina in tartrati (acidum tartaricum, tartrata; tartaric acid, tartrates)

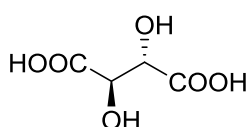
Obstajajo trije stereoizomeri 2,3-dihidroksibutandiojske kisline: enantiomerni (*R,R*) in (*S,S*)-vinska kislina in optično neaktivna (*R,S*)-vinska kislina. V Ph. Eur. je opisana (*R,R*)-vinska kislina in njene soli. Z vodikovim peroksidom je mogoče v prisotnosti železovih(II) ionov (*R,R*)-vinsko kislino oksidirati do *E*-dihidroksifumarne kisline. Pri reakciji nastanejo tudi železovi(III) ioni, hidroksilni radikali in hidroksidni ioni (Fentonova reakcija). Železovi(III) ioni dajejo z *E*-dihidroksifumarno kislino v bazičnem mediju modro obarvano koordinacijsko spojino.



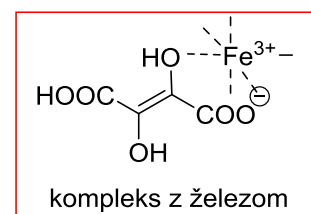
(*R,R*)-vinska kislina
L-vinska kislina



(*S,S*)-vinska kislina
D-vinska kislina



(*R,S*)-vinska kislina
mezovinska kislina



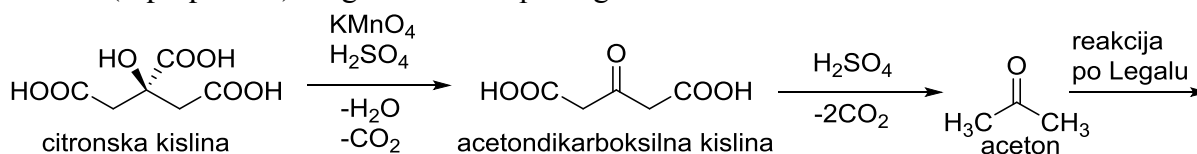
Fentonova reakcija

Fentonov reagent je raztopina vodikovega peroksida in Fe^{2+} soli. Pri reakciji ima Fe^{2+} vlogo reducenta, ki v prvi stopnji reducira vodikov peroksid do hidroksidnega iona in hidroksilnega radikala. Sledijo redoks reakcije med nastalimi produkti in začetnimi reaktanti. Pri reakciji nastanejo visoko reaktivni kisikovi radikali, ki delujejo kot močni oksidanti.



Citronska kislina in citrati (acidum citricum, citrata; citric acid, citrates)

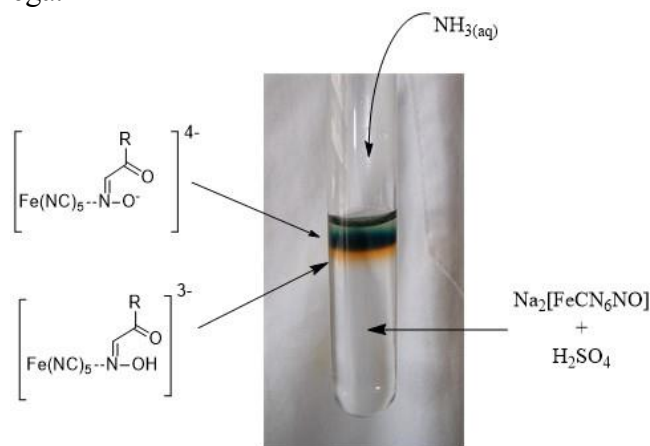
Citronsko kislino oziroma citratne ione je mogoče s kalijevim manganatom(VII) oksidirati do acetondikarboksilne kisline (3-ketopentandiojske kisline), ki se nato dekarboksilira do acetona (2-propanona). Tega dokažemo po Legalu.



Eksperimentalni del

Mlečna kislina

S stekleno palčko kanemo v epruveto dve kaplji koncentrirane mlečne kisline, razredčimo s 5 mL vode, dodamo 1 mL bromovice R in 0,5 mL razredčene žveplove kisline (10%) R ter segrevamo na vodni kopeli (v digestoriju!!), dokler se raztopina ne razbarva. Dodamo 2 g amonijevega sulfata R, premešamo, da se raztopi, odstavimo v epruvetno stojalo in počakamo, da se epruveta ohladi pod 40 °C (vmes se lahko posvetite enemu od preostalih delov vaje). Ne da bi mešali dokapamo 4 kaplje 10-% raztopine natrijevega pentacianonitrozilferata(II) R v razredčeni žveplovi(VI) kislini in 1 mL koncentrirane vodne raztopine amonijaka. Na stičišču slojev se polagoma pojavi modrozelen obroč, ki počasi preide v svetlo oranžnega.



Vinska kislina

Na analizni tehtnici natehtamo 50 mg vinske kisline in jo raztopimo v 5 mL vode. Dokapamo 1 kapljo 1-% vodne raztopine železovega(II) sulfata R in 1 kapljo vodikovega peroksida R (3%). Počakamo, da se rumena raztopina najprej razbarva (vsaj 5 minut), nato ob stresanju po kapljicah počasi dokapavamo vodno raztopino natrijevega hidroksida (8,5%) R. Raztopina se obarva modro.

Opozorilo: Barva nastalega kompleksa je odvisna od količine dodanega NaOH. Pri večji količini se raztopina razbarva.

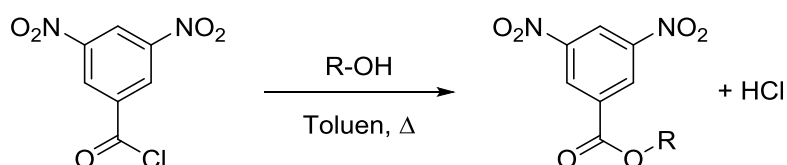
Citronska kislina

50 mg citronske kisline raztopimo v 3 mL vode, dodamo 0,5 mL žveplove(VI) kisline R (96%) in 1 mL 3-% raztopine kalijevega manganata(VII) R. Raztopino previdno segrevamo nad majhnim plamenom, tako da se razbarva. Včasih se raztopina razbarva že brez segrevanja!! Epruveto ohladimo in dodamo 0,5 mL 10-% raztopine natrijevega pentacianonitrozilferata(II) R v razredčeni žveplove(VI) kislini ter 0,4 g sulfaminske kisline. Nato ob stresanju počasi dokapavamo raztopino amonijevega hidroksida (26%) R, dokler se raztopina ne obarva vijolično.

Tankoplastna kromatografija alifatskih alkoholov

Osnove za razumevanje kromatografije so predstavljene v poglavju tankoplastna kromatografija.

Izvedli boste mikrotankoplastno kromatografijo alifatskih alkoholov (metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol in *n*-butanol). Ker so alkoholi zelo hlapni, pred razvijanjem kromatograma izvedemo esterifikacijo z dinitrobenzojsko kislino.



Dobljeni dinitrobenzoati se razlikujejo po tališčih in po topljivosti v mobilni fazi. V relativno nepolarni (lipofilni) mobilni fazi potujejo na primernem sorbentu različno hitro. Hitrost potovanja posameznega estra se sorazmerno večja z naraščajočo dolžino alifatske verige alkohola.

Eksperimentalni del

Vzorci pripravimo z esterifikacijo izbranih alkoholov, tako da v 2,5 mL vsakega alkohola in že pripravljene zmesi alkoholov v epruveti dodamo 2,5 mg 3,5-dinitrobenzoilklorida. Reagent dodamo kot raztopino 350 mg 3,5-dinitrobenzoilklorida v 100 mL brezvodnega toluena; v vsako epruveto odmerimo po 0,5 mL že pripravljene raztopine.

Vodno kopel segrejemo s plinskim gorilnikom v 250 mL čaši na trinožnem stojalu. Ko voda zavre, ugasnemo gorilnik in šele takrat v kopel za 10 minut postavimo epruvete. *Organska topila so lahko hlapna in vnetljiva, zato bi bilo segrevanje nad odprtim ognjem nevarno.* Vmes označimo kromatografsko ploščico in nanašamo vzorce dinitrobenzoatov z mikrokapilaro. Pot mobilne faze označimo 6 cm od starta. Mobilno fazo sestavlja: 8,0 mL cikloheksana, 1,0 mL toluena, 1,0 mL etilacetata. Razvijamo približno 10 min.

Dokazovanje izvedemo v UV svetlobi pri 254 nm (opazimo gašenje fluorescence ozadja) in po oroševanju z etanolno raztopino rodamina B opazujemo modrovijolične lise dinitrobenzoatov na rdečevijoličnem ozadju. Kontrast je vidnejši pri 365 nm.

Oroševanje izvedemo v digestoriju, pred tem si roke zaščitimo s polietilenskimi rokavicami za enkratno uporabo.

Tankoplastna kromatografija alifatskih kislin in dokazovanje fluoresceina

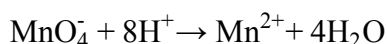
Kromatografija organskih kislin

Citronska, jabolčna, vinska, maleinska in fumarna kislina potujejo različno hitro v kapilarno dvigajoči se mobilni fazi na silikagelnem sorbentu zaradi razlik v polarnosti. Po delni oksidaciji lis z raztopino kalijevega manganata(VII) je mogoče na osnovi različnih pozicij ugotoviti pripadnost posameznih kislin.

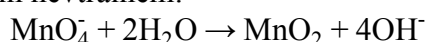
Latinsko ime	<i>Acidum tartaricum</i>	<i>Acidum citricum</i>	<i>Acidum fumaricum</i>
Kislina	L-vinska kislina	Citronska kislina	Fumarna kislina
Sol	tartrat	citrat	fumarat
Latinsko ime	<i>Acidum maleicum</i>	<i>Acidum malicum</i>	<i>Acidum malonicum</i>
Kislina	Maleinska kislina	Jabolčna kislina	Malonska kislina
Sol	maleat	malat	malonat

Kalijev manganat(VII) se uporablja za detekcijo alkenov, aminov, alkoholov, fenolov ipd. Potek redoks reakcije je odvisen od pH raztopine orositvenega reagenta. V kislem se manganat(VII) reducira do Mn^{2+} , medtem ko v nevtralnem ali bazičnem reakcija poteče do zelenega Mn^{6+} in nato do rjavega Mn^{4+} oksida.

Reakcija $KMnO_4$ v kislem:



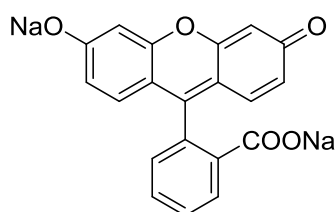
Reakcija $KMnO_4$ v bazičnem in nevtralnem:



V splošni uporabi sta predvsem kislja 1-% raztopina kalijevega manganata(VII) v 10-% žveplovehi kislini kot tudi bazična raztopina 1-% kalijevega manganata(VII) in 5-% Na_2CO_3 v 0,1-% natrijevem hidroksidu.

Fluoresceinum natrium, Fluorescein sodium, dinatrijev fluoresceinat

V Ph. Eur. opisana zdravilna učinkovina je diagnostično sredstvo, ki se uporablja predvsem v okulistici v obliki kapljic za oči. Reakcije istovetenja tega znanega fluorescentnega barvila so predvsem fluorescenca v odvisnosti od pH vodne raztopine ter reakcija istovetenja za natrij.

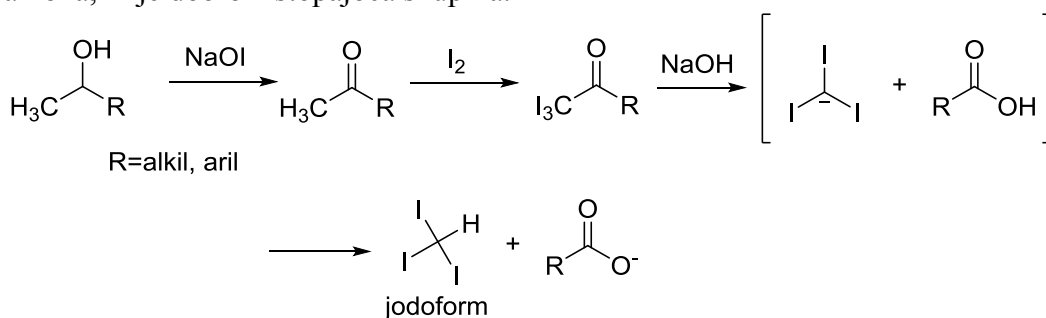


Dinatrijev fluoresceinat

Jodoformska reakcija

V Evropski farmakopeji je za istovetenje brezvodnega etanola (ethanolum anhydricum) predpisano: A/ ugotavljanje relativne gostote, B/ infrardeča spektrometrija primerjalno z referenčnim spektrom, C/ reakcija z natrijevim nitroprusidom R in piperazinom R in D/ reakcija z jodom v alkalnem okolju (jodoformska reakcija).

Jodoformska reakcija se uporablja za dokazovanje metilketonov (RCOCH_3), acetaldehida in derivatov etanola ($\text{RCH}(\text{CH}_3)\text{OH}$). V alkalni raztopini nastane iz joda najprej hipojodit, ki oksidira alkohol do metil ketona. Po jodiranju metilne skupine nastane trijodometilketonski derivat, ki zaradi prisotnosti natrijevega hidroksida hidrolizira do jodoforma in ustrezne karboksilne kisline. Mehanizem zadnje stopnje reakcije je primerljiv s hidrolizo estra, saj reakcija poteče preko nastanka tetraedričnega prehodnega stanja in odcepa trijodometilnega aniona, ki je dobro izstopajoča skupina.



Eksperimentalni del

Kromatografija organskih kislin

Vzorčne raztopine vinske, fumarne, maleinske, citronske in jabolčne kisline pripravimo z raztapljanjem 50 mg vzorca v 5 mL metanola. Mobilna faza je v povsem suhi epruveti pripravljena zmes 4,0 mL etilacetata, 4,0 mL metanola, 2,0 mL 25-% raztopine amonijaka v vodi in 2 mL vode.

Na stacionarno fazo nanesemo po 2 mikrolitra vzorčne raztopine in neznane zmesi kislin. Pot mobilne faze je 6 cm (označimo jo pred nanašanjem vzorcev). Razvijanje kromatograma traja približno 20 min. Posušeni kromatogram orosimo z 1-% raztopino kalijevega manganata(VII) v 10-% žveplovi kislini in ga nato previdno segrevamo nad toplo kovinsko ploščo (50 °C). Rumene lise na vijoličnem ozadju označimo s svinčnikom.

Fluoresceinum natricum, Fluorescein sodium, natrijev fluoresceinat

Na filtrirni papir naneseemo na dve označeni mesti po eno kapljo vnaprej pripravljene raztopine natrijevega fluoresceinata in ju posušimo. Na eno izmed osušenih lis nato kanemo 1 kapljo razredčene klorovodikove kisline R in papir zopet posušimo ter ga opazujemo pri UV svetlobi valovne dolžine 366 nm. Nato na nakisano liso kanemo 1 kapljo razredčene raztopine natrijevega hidroksida R, papir ponovno posušimo in ga preverimo v UV svetlobi.

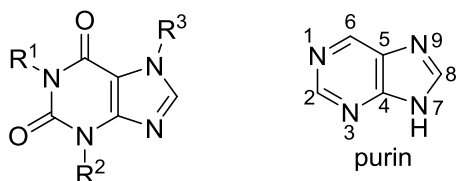
Jodoformska reakcija

V epruveto odmerimo 2 mL 8,5-% natrijevega hidroksida R in dve kaplji acetona. Nato po kapljah dodajamo že pripravljeno raztopino joda (4 g kalijevega jodida raztopimo v 10 mL vode, dodamo 2 g joda in dopolnimo z vodo do 100 mL). Opazujemo rumeno obarvanje raztopine in po določenem času izpadanje rumene oborine. Zaznamo značilen vonj po jodoformu.

Ksantini in tropanski alkaloidi

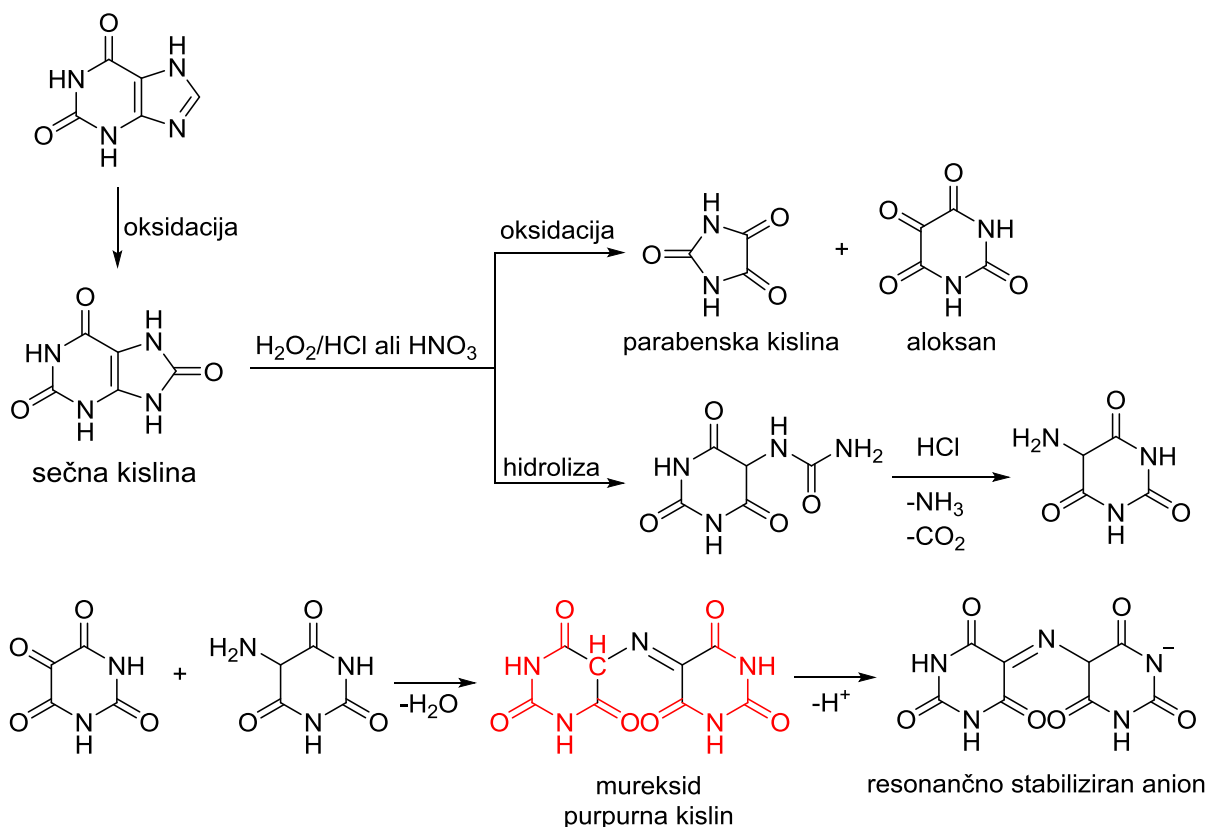
Dokazovanje ksantinov z mureksidno reakcijo

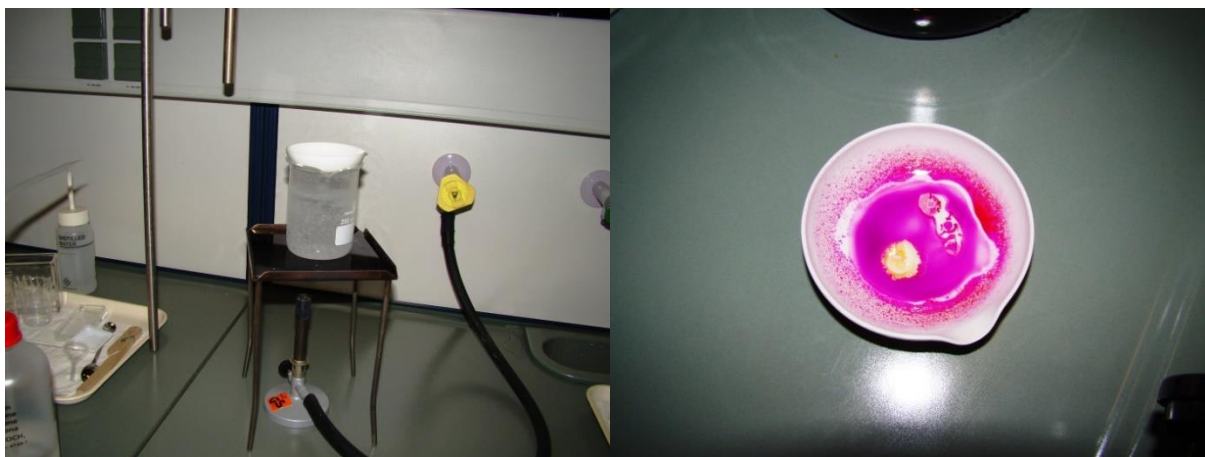
Ksantini (kofein, teofilin, teobromin) so alkaloidi, ki so oksidacijski produkti purina.



Kofein	$R^1 = R^2 = R^3 = \text{CH}_3$
Teofilin	$R^1 = R^2 = \text{CH}_3, R^3 = \text{H}$
Teobromin	$R^1 = \text{H}, R^2 = R^3 = \text{CH}_3$

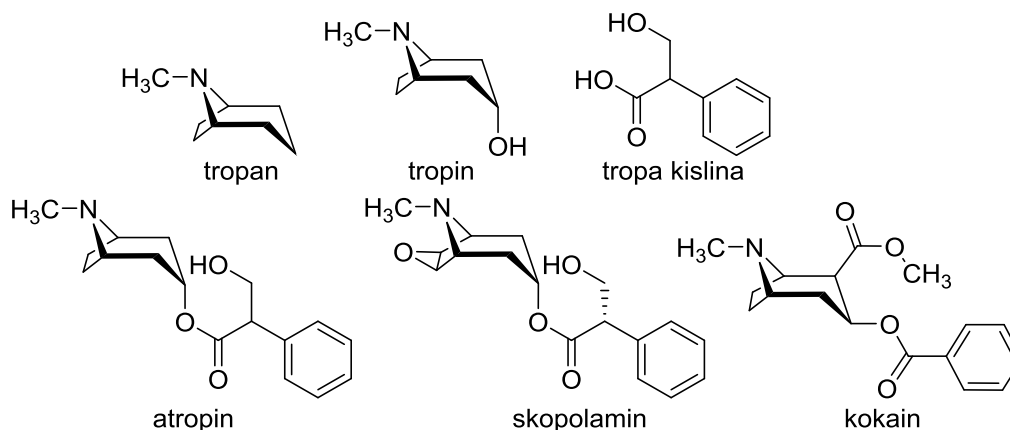
Reakcija istovetenja za ksantine po Ph. Eur. 9, je navedena v poglavju Identification. Mureksidna reakcija je najpogosteje navedena reakcija istovetenja za ksantine, pri kateri dobimo kot produkt obarvan imin, imenovan *mureksid* oziroma *purpurna kislina*. Le-ta tvori po dodatku metanolne raztopine amonijaka intenzivno rdeče obarvan resonančno stabiliziran produkt. Odcep protona (-ov) z mureksida v bazičnem omogočajo kisle imidne skupine (-CO-NH-CO-) in kislina metantrilna skupina (>CH-), ki so na spodnji sliki označene z rdečo barvo. Sama reakcija je večstopenjska in vključuje oksidacijo ksantina do derivata sečne kisline, ki se nato oksidira ali hidrolizira. Kot produkt oksidacije nastaneta aloksan in parabenska kislina, kot produkt hidrolize pa 5-aminopirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-trion. Nastali keton in amin reagirata v kislem do mureksida. Značilnost mureksidne reakcije je nizka specifičnost, saj po omenjenem mehanizmu reagirajo tudi drugi purinski derivati in barbiturati.



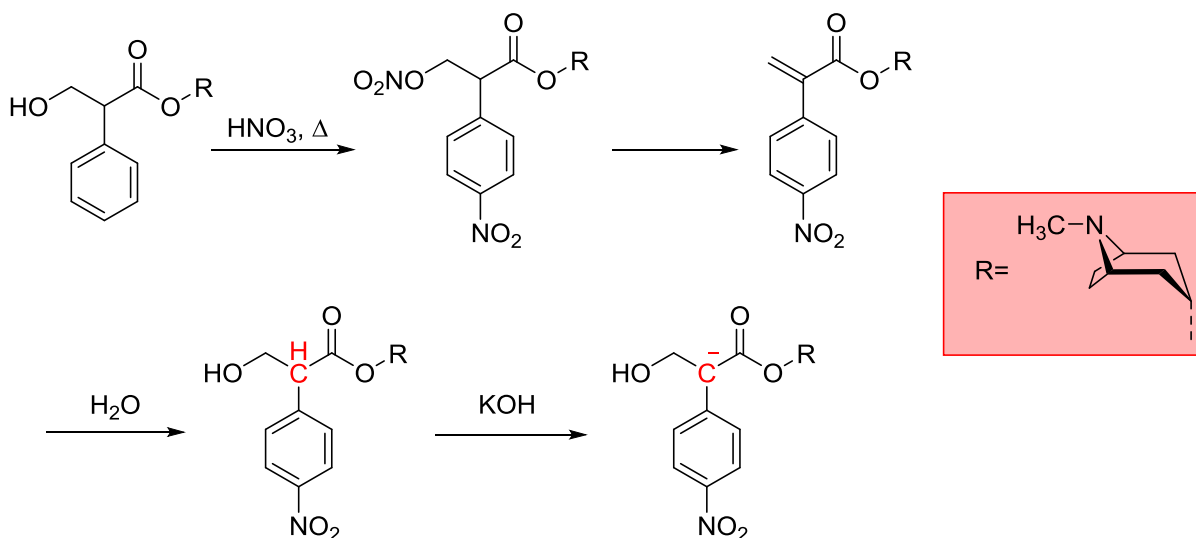


Vitali – Morinova reakcija tropanskih alkaloidov po Evropski farmakopeji

Tropanski alkaloidi so skupina bicikličnih [3.2.1]-premostenih alkaloidov s tropanskim obročnim sistemom. Večina predstavnikov omenjene skupine spojin je metilirana na dušiku in imajo hidroksilno skupino na mestu 3 (tropin), ki je nadalje zaestrena z benzojsko ali tropa kislino. Te spojine so značilne za nekatere rastline iz družine razhudnikovk (*Solanaceae*), med katere spadajo volčja češnja (*Atropa belladona*), mandragora (*Mandragora officinarum*), črni zobnik (*Hyoscyamus niger*) in navadni kristavec (*Datura stramonium*) ter za družino kokovk (*Erythroxylaceae*). Najbolj znani predstavniki tropanskih alkaloidov so atropin ((±)-hiosciamin), skopolamin (hioscin) in kokain. Za prva dva je značilen antiholinergičen (parasimpatolitičen) učinek, za kokain pa lokalno anestetičen učinek.

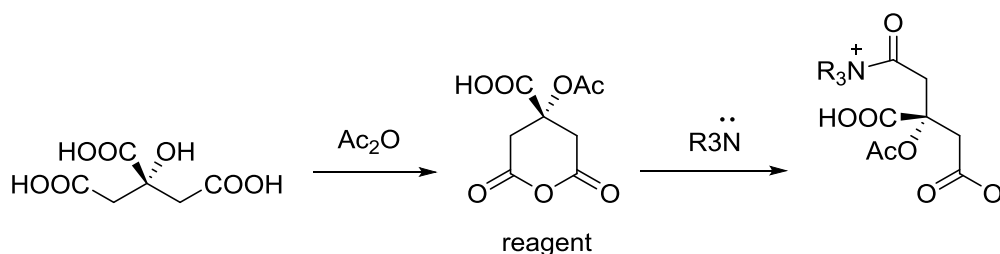


Atropin in skopolamin lahko istovetimo s pomočjo segrevanja v prisotnosti dušikove(V) kisline. Ob tem pride do nitiranja aromatskega obroča in do posledičnega povečanja kislosti protona na α mestu (na sliki obarvan rdeče) zaradi negativnega induktivnega ter resonančnega učinka nitro skupine. Ob dodatku KOH pride zato do odcepa kislega protona in resonančne stabilizacije negativnega naboja preko karboksilne in nitro skupine ter aromatskega obroča.



Dokazna reakcija za terciarne amine

Kot tipični terciarni amini reagirajo tropanski alkaloidi s citronsko kislino v acetanhidridu. Tekom priprave reagenta nastane ciklični anhidrid acetilcitronske kisline, ki tvori z amini spojine rdeče barve. Reakcijo je mogoče uporabiti tudi za dokazovanje citronske kisline.



Eksperimentalni del

Dokazovanje ksantinov z mureksidno reakcijo

Tropanskemu alkaloidu (približno 1 mg oziroma vsebino ene ampule) dodamo v izparilnici 5 kapelj koncentrirane dušikove(V) kisline in na vreli vodni kopeli izparimo do suhega. Ohlajeno sušino raztopimo v 2 mL acetona in v raztopino kanemo nekaj kapelj metanolne raztopine kalijevega hidroksida. Ob tem preide bledorumena barva raztopine nitroaromata v vijolično. Reakcijo izvedete z ampuliranima injekcijskima raztopinama atropina ali skopolamina.

Vitali – Morinova reakcija tropanskih alkaloidov po Evropski farmakopeji

Približno 25 mg ksantina (na zaobljeni konici spatule) odmerimo na dno porcelanske izparilnice, dodamo 1 mL koncentriranega vodikovega peroksida, 2 mL razredčene klorovodikove kisline in uparimo na vodni kopeli do suhega. Sušina je rumenorjave barve.

Če na ohlajeno sušino kanemo eno kapljo koncentrirane vodne raztopine amonijaka, se ta obarva rdeče vijolično.

Dokazna reakcija za terciarne amine

Majhno količino (nekaj miligramov) terciarnega amina (ali raztopine v etanolu) in eno kapljo reagenta (2 g citronske kisline v 100 mL acetanhidrida) segrevamo v vreli vodni kopeli. Rdeča do vijolična barva je znak prisotnosti amina.

Fenotiazini

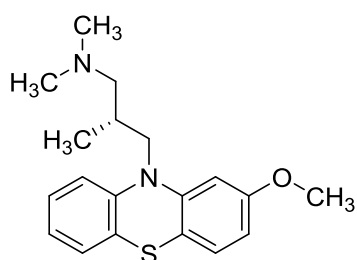
Levomepromazine maleate

Levomepromazini maleas

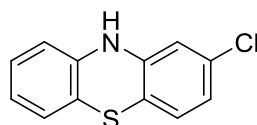
Levomepromazinijev maleat

Levomepromazinijev maleat je nevroleptik z analgetičnim, hipnotičnim in antiemetičnim učinkom.

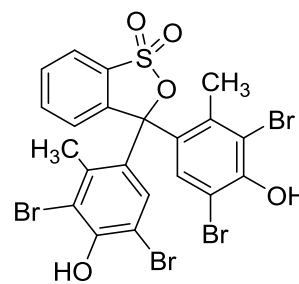
Po monografiji uporabimo za ugotavljanje ustreznosti učinkovine oziroma zdravila v Evropski farmakopeji naslednje odstavke: a) definicijo, b) značilnosti ter c) istovetenje. V okviru vaje boste izvedli istovetenje C in D levomepromazina po modificiranem predpisu v zdravilu Nozinan.



levomepromazin



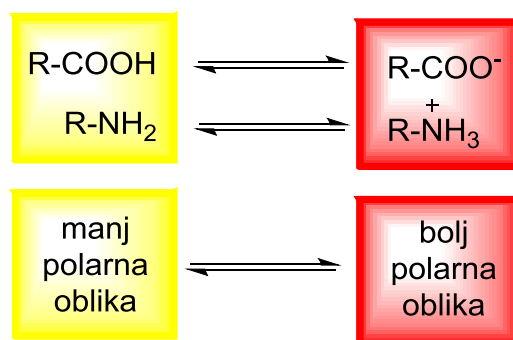
2-klorofenotiazin



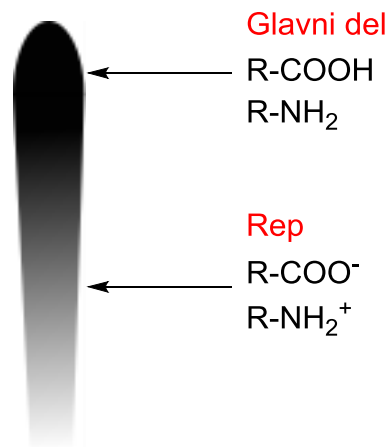
bromkrezolno zeleno (trden)

Kromatografija kislin in baz

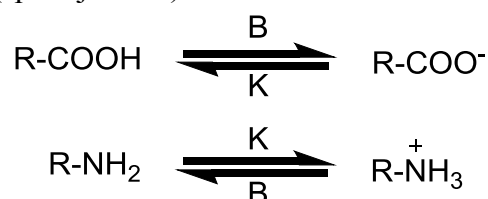
Pri raztapljanju spojin s kislimi ali bazičnimi lastnostmi se v mobilni fazi vzpostavi ravnotežje med nedisocirano/neprotonirano obliko kisline/baze in disocirano/protonirano obliko kisline/baze, kot je prikazano na spodnji sliki.



Ker je ravnotežje dinamično, molekule med samim potovanjem po kromatogramu stalno prehajajo iz ene oblike v drugo in nazaj. Nenabita oblika kisline/baze (leva stran ravnotežja) je manj polarna od nabite oblike kisline/baze (desna stran ravnotežja) in zato potuje hitreje po kromatogramu, medtem ko nabita oblika molekul začne zaostajati za glavnim (nenabitim) delom, kar vidimo kot rep.



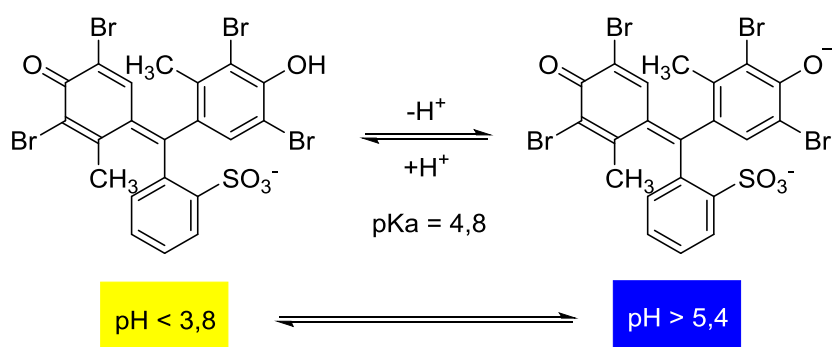
Nastanek repov zmanjša ločljivost in mejo detekcije. Zato v primeru tovrstnih težav zaradi repov, ki nastanejo kot posledica kislinsko-bazičnih lastnosti vzorca, k mobilni fazi dodamo kislinsko-bazični modifikator (lahko hlapne organske kisline, baze). Ta nato premakne ravnotežje v levo ali desno (spodnja slika).

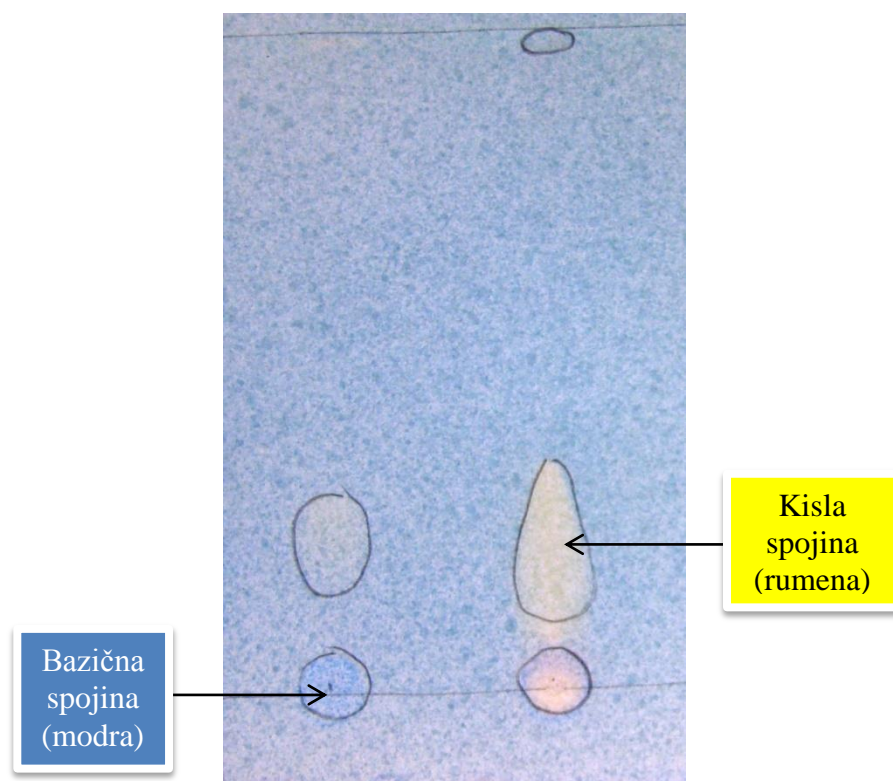


Ker se spojina v kisli ali bazični mobilni fazi nahaja pretežno v eni obliki, repa ni več in spojina potuje po kromatogramu v obliki kroga. Pri izbiri kislinsko-bazičnega modifikatorja moramo biti pozorni na pKa, saj mora biti ta dovolj kisel oz. bazičen, da premakne ravnotežje pretežno proti eni ali drugi obliki spojine.

Bromkrezolno zeleno

Bromkrezolno zeleno je kislinsko-bazični indikator trifenilmetanske skupine barvil, ki se uporablja pri titracijah in tankoplastni kromatografiji. Pri raztapljanju bromkrezolno zelenega pride do hidrolize ciklične oblike sulfonata, ob tem nastane oblika, ki je prikazana na spodnji sliki. Fenolna -OH skupina v indikatorju je šibko kislila s konstanto disociacije pKa = 4,8. V kisljih raztopinah (pH < 3,8) se tako nahaja v obliki rumene nedisocirane oblike, v bazičnih raztopinah (pH > 5,4) pa v obliki disocirane modre oblike. Bromkrezolno zeleno se pri tankoplastni kromatografiji uporablja predvsem za detekcijo močnih in šibko kisljih kislin s pKa < 3,8 (karboksilne kisline, sulfonske kisline) in baz s pKa > 5,4 (alkilamini, amidini, gvanidini, nekateri aromatski amini).





Eksperimentalni del

Bazična mobilna faza

Eno tableto Nozinana, ki vsebuje 100 mg levomepromazinijevega maleata, razpolovite po zarezi, raztrite jo v porcelanski terilnici s pestilom in prašek kvantitativno prenesite v epruveto. Odmerite 5 mL vnaprej pripravljene zmesi diklorometana in metanola v razmerju 1:1 in jo v obrokah porabite za prenos sledov tablete iz terilnice v epruveto. Počakajte 5 minut, da se suspenzija rahlo posede in prenesite 1 do 2 kaplji bistrega supernatanta s kapalko v vdolbino na keramični plošči ter nanesite vzorec s pomočjo kapilare na kromatogram. Vzoredno nanesite 2 mikrolitra že pripravljene raztopine 2-klorofenotiazina (raztopina vsebuje 25 mg 2-klorofenotiazina v 20 mL zmesi metilenklorida in metanola v razmerju 1:1), ki služi za primerjavo. V kromatografsko posodo z mobilno fazo sestave 5,0 mL metilenklorida, 5,0 mL acetona in 0,1 mL 25-% vodne raztopine amonijaka namestite kromatografsko ploščico in razvijte do fronte 6 cm.

Detekcija: vsi derivati fenotiazina gasijo fosforescenco ozadja pri 254 nm. Pred oroševanjem moramo ploščico nekaj minut segrevati pri 120 °C, da odstranimo bazično komponento mobilne faze. Nato ploščico orosimo z raztopino bromkrezolno zelenega, da se lise značilno obarvajo.

Kisla mobilna faza

V drugem primeru predpisuje farmakopeja v monografiji Levomepromazini maleas kromatografsko istovetenje maleinatnega iona (točka D). V poglavju Tests (Preskusi) predpisuje, da mora biti pH vodne raztopine v območju med 3,5 in 5,5. V seznamu reagentov Ph. Eur. je naveden indikator bromkrezolno zeleno, ki ga uporabimo za detekcijo komponent zdravilne učinkovine na kromatografski ploščici. Pred oroševanjem moramo ploščico nekaj minut segrevati pri 120 °C, da odstranimo kislo komponento mobilne faze.

Primerjalna raztopina: 50 mg maleinske kisline p.a. raztopimo v 10 mL zmesi vode in acetona v razmerju volumnov 10:90. Pripravljeno raztopino nanesite s pomočjo kapilare na predpisano kromatografsko ploščico.

Vzorčna raztopina: 0,25 g levomepromazinijevega maleata oziroma ustrezno količino razdrobljenih tablet Nozinana raztopimo ali suspendiramo v potrebni količini prej navedene zmesi topil in dopolnimo do 5 mL. S pomočjo kapilare nanesite bistro raztopino na že pripravljeno ploščico.

Kromatografirajte z mobilno fazo, sestavljeno iz 3 volumenskih delov vode, 7 volumenskih delov brezvodne mravljinčne kisline in 90 volumenskih delov diizopropil etra. Razvijte do poti 6 cm, posušite in ponovno razvijte v isti mobilni fazi.

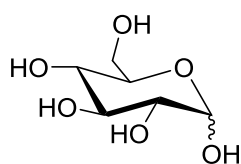
Opazujte in opišite detekcijo lis, razložite barvo in pozicijo lis v obeh primerih.

Detekcija: maleinska kislina in levomepromazin gasita fosforescenco ozadja pri 254 nm. Pred oroševanjem moramo ploščico nekaj minut segrevati pri 120 °C, da odstranimo kislo komponento mobilne faze. Nato ploščico orosimo z raztopino bromkrezolno zelenega, da se lise značilno obarvajo.

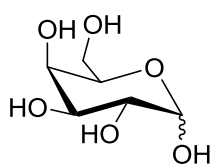
Istovetenje v Ph. Eur. oficialnih mono in disaharidov ter njihove reduktivne lastnosti

Saharidi (sladkorji) so skupina hidroksiliranih aldehydov in ketonov, ki nastanejo kot produkti fotosinteze. Glede na kemijske lastnosti lahko ogljikove hidrate razdelimo po kompleksnosti, velikosti, vrsti karbonylna skupine in reaktivnosti.

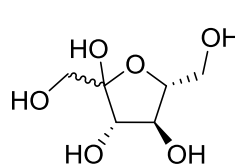
Kompleksnost	Enostavni sladkorji: monosaharidi	Kompleksni saharidi: disaharidi, oligosaharidi, polisaharidi
Velikost	Tetroze (C ₄), pentoze (C ₅), heksoze (C ₆), heptoze (C ₇) itd.	
Vrsta funkcionalnih skupin	Aldoze –aldehydi in njihovi acetalni ekvivalenti	Ketoze- ketoni in njihovi acetalni ekvivalenti
Reaktivnost	Reducirajoči Reagirajo s Tollensovim in Benedictovim reagentom	Nereducirajoči Ne reagirajo z Benedictovim reagentom Reagirajo s Tollensovim reagentom



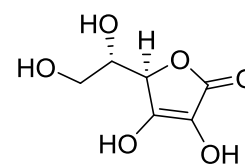
Glukoza



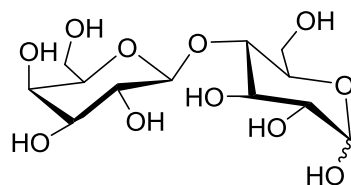
Galaktoza



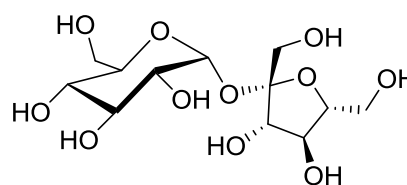
Fruktoza



Askorbinska kislina



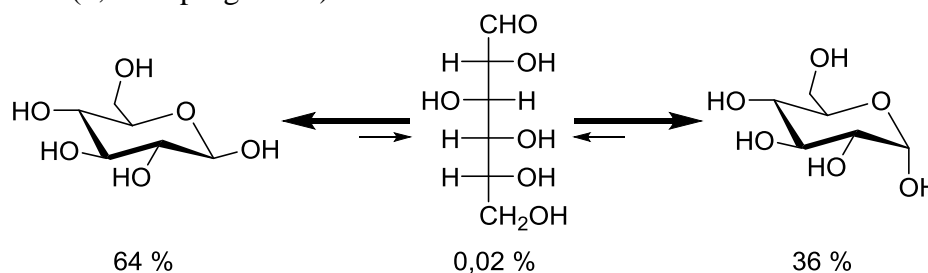
Laktoza



Saharoza

Reduktivne lastnosti sladkorjev

Termodinamsko najbolj stabilna oblika sladkorjev je ciklična oblika. V raztopini se tako največji delež sladkorja nahaja v ciklični obliki (100 % pri glukozi), le manjši del je v aciklični obliki (0,02 % pri glukozi).



Zaradi prisotnosti proste aldehydne skupine je prav aciklična oblika tista, ki daje sladkorjem reduktivne lastnosti. Reduktivne sladkorje lahko v šibko alkalnih vodnih raztopinah oksidiramo s šibkimi oksidanti (npr. Cu²⁺ soli). Reduktivne lastnosti imajo tako vsi

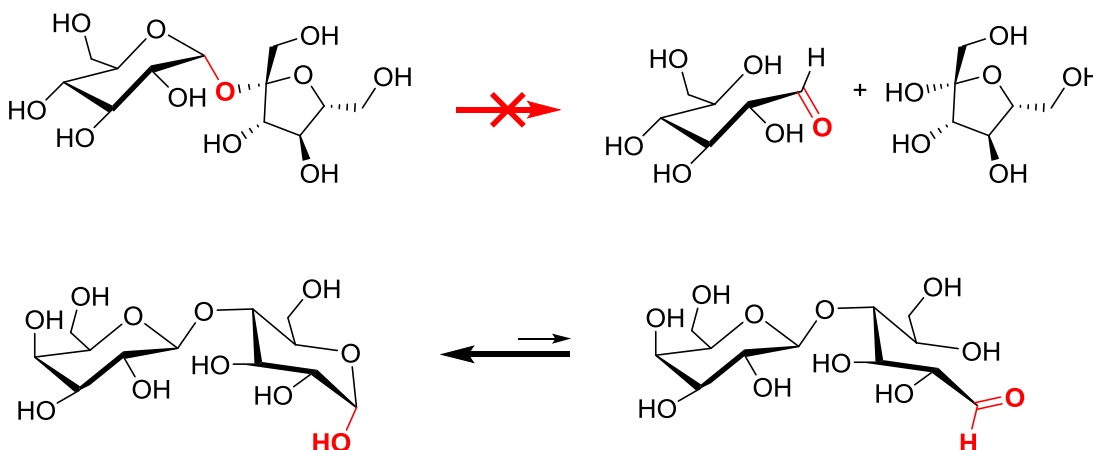
monosaharadi in samo nekateri disaharidi. Pri slednjih so lahko monosaharidne enote povezane med sabo na dva načina:

- preko dveh anomernih OH skupin (npr. saharoza).

V tem primeru odpiranje obroča v šibko alkalnem mediju ni možno, zato je tak sladkor *nereducirajoč*;

- preko anomerne skupine prvega sladkorja in ene od neanomernih -OH skupin drugega sladkorja (npr. laktoza, maltoza).

V tem primeru ima drugi sladkor prosto anomerno -OH skupino, zato se obročni sistem lahko odpre in pretvori do aciklične oblike. Tak sladkor je *reducirajoč*.

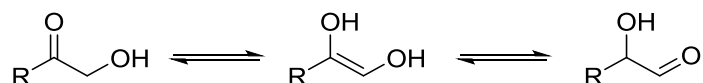


Za dokazovanje reduktivnih lastnosti sladkorjev uporabljamo naslednje reagente:

- Tollensov reagent (Ag^+ , NH_3)
- Fehlingov reagent (Cu^{2+} , Na-tartrat)
- Benedictov reagent (Cu^{2+} , Na-citrat)

Pri vseh treh reagentih so šibki oksidanti soli prehodnih kovin (Ag^+ , Cu^{2+}), ki oksidirajo samo spojine z aldehydno skupino, medtem ko -OH in ketonske skupine ne reagirajo, kar omogoča njihovo visoko selektivnost. Omenjene reagente lahko uporabljamo za ločevanje med aldehydi in ketoni, ko npr. z 2,4-dinitrofenilhidrazinom že ugotovimo prisotnost aldehydne ali ketonske funkcionalne skupine v molekuli.

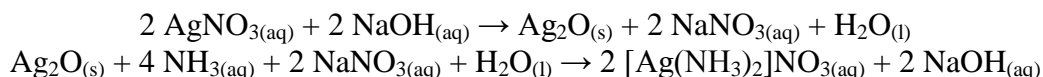
Kljub temu da večina ketonov ne reagira, pa ketoze in drugi alfa hidroksi ketoni dajejo pozitiven rezultat zaradi naslednje reakcije:



Zaradi bazično katalizirane tautomerije se alfa hidroksi keton pretvori do alfa hidroksi aldehida, ki nato reagira z vsemi tremi reagenti. Z vsemi tremi reagenti reagirajo tudi drugi šibki reducenti, npr. HCOOH ipd.

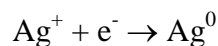
Tollensov reagent

Tollensov reagent uporabljamo za ugotavljanje prisotnosti tako reducirajočih kot nereducirajočih sladkorjev in alifatskih ter aromatskih aldehydov. Zaradi kratke življenjske dobe reagent ni komercialno dostopen, ampak ga je treba pripraviti sproti, saj sčasoma v zmesi nastaja eksplozivni Ag_3N . Reakcija poteka v dveh korakih:

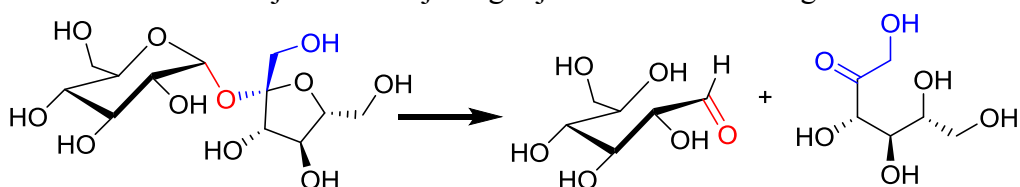


V prvi reakciji AgNO_3 reagira z NaOH , ob tem nastane suspenzija Ag_2O , ki jo nato raztopimo z dodatkom vodne raztopine NH_3 v naslednji reakciji. Pri tem nastane kompleks $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$, ki nato deluje kot oksidant v reakciji s sladkorjem.

Pri reakciji s sladkorjem se kompleksirani Ag^+ reducira in pretvori do elementarnega srebra Ag^0 , ki se odloži na steno epruvete.

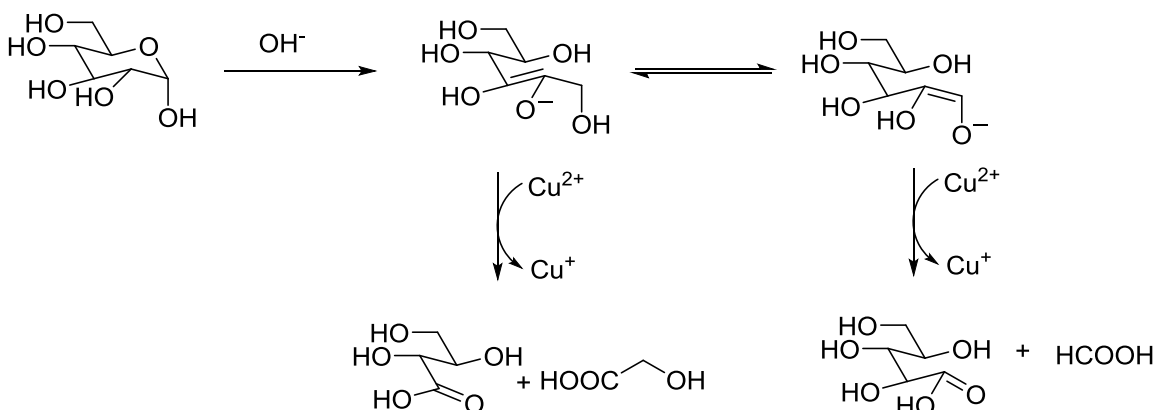


Zaradi segrevanja in močno bazičnih pogojev pride pri disaharidih do cepitve acetalne vezi in tvorbe dveh reducirajočih monosaharidnih enot, ki imata reduktivne lastnosti. Zaradi te reakcije tako tudi nereducirajoči sladkorji reagirajo s Tollensovim reagentom.

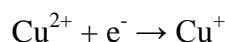


Benedictov in Fehlingov reagent

Uporabljamo ju za dokazovanje reducirajočih sladkorjev, alfa-hidroksi aldehydov, alfa-hidroksi ketonov in alfa-keto aldehydov. Reakcija poteče po naslednjem mehanizmu:



Pri obeh reagentih je oksidant Cu^{2+} , ki se pri reakciji pretvori do Cu^+ , ta pa izpade iz raztopine kot netopni opečnato rjavi Cu_2O .



Do spremembe barve v rdečo ali temno rjavo pride tudi pri drugih alifatskih aldehydih, npr. acetaldehidu ipd., vendar nastali produkt ni Cu_2O . Oba reagentata sta bolj selektivna od Tollensovega reagenta, saj je Cu^{2+} šibkejši oksidant od Ag^+ . Negativen rezultat zato dajejo nereducirajoči sladkorji, ketoni in aromatski aldehydi. V primeru nereducirajočih sladkorjev lahko raztopino kasneje nakisamo, da pride do hidrolize acetalne vezi (glej hidrolizo pri Tollensovem reagentu) in posledično pozitivne reakcije.

Razlika med obema reagentoma je predvsem v ligandu, ki tvori kompleks z bakrom in njuni posledični stabilnosti. Ker je pri Benedictovem reagentu ligand citronska kislina, ki tvori

stabilnejše komplekse, je ta obstojen bistveno dalj časa v primerjavi s Fehlingovim reagentom, kjer je ligand vinska kislina in ga pripravljamo sproti.

Oba reagenta lahko uporabljamo za semikvantitativno določevanje koncentracije sladkorjev v vzorcu. Končna barva je namreč odvisna tudi od koncentracije analiziranega sladkorja. Koncentracijska odvisnost barve je naslednja:

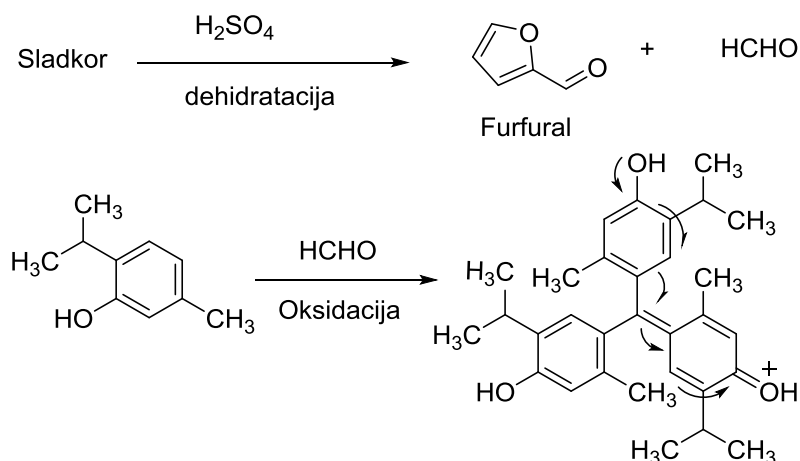
- Modra barva – negativen rezultat
- Zelena barva – 0,5-1-% koncentracija sladkorja
- Rumena barva – 1-1,5-% koncentracija sladkorja
- Oranžna barva – 1,5-2-% koncentracija sladkorja
- Rdeča barva – 2-% ali večja koncentracija sladkorja

Rahlo modificiran Benedictov reagent se uporablja za kvantitativno dokazovanje prisotnosti glukoze v urinu. V tem primeru je k reagentu dodan kalijev tiocianat, ki prepreči tvorbo Cu_2O , saj nastane Cu_2SCN , ki je bele barve. Spremembo barve nato določimo kolorimetrično. Kar nekaj prehranskih dodatkov in zdravilnih učinkovin z reducirajočimi lastnostmi lahko daje lažno pozitivno reakcijo, npr. askorbinska kislina, levodopa, salicilati, penicilini, streptomycin in izoniazid. Lažno pozitivno reakcijo dobimo tudi v primeru nekaterih bolezenskih stanj, pri katerih se koncentracija nekaterih metabolitov v urinu poveča, take spojine so npr. kreatinin, sečna kislina ipd.

Tankoplastna kromatografija

Istovetenje izbranih ogljikovih hidratov izvedete s tankoplastno kromatografijo po modificiranem postopku, ki je opisan v monografiji za učinkovino Lactosum monohydricum Ph. Eur. 9. Ogljikovi hidrati po Ph. Eur. (saharosum, glucosum, fructosum, galactosum, lactosum) so pripravljani v koncentracijah po 5 mg na 10 mL zmesi vode in metanola (2,5:7). Osnova za ločevanje sladkorjev po kromatogramu ni samo lipofilnost, saj so razlike med uporabljenimi sladkorji zelo majhne, temveč so pomembne predvsem specifične interakcije med -OH skupinami sladkorjev, silikagelom in mobilno fazo. Ker so vodikove vezi, ki nastanejo med -OH skupinami sladkorjev in silikagelom usmerjene, na retencijski faktor tako vplivajo predvsem število in usmerjenost -OH skupin.

Na koncu ploščico orosimo z raztopino timola v etanolni raztopini žveplove kisline. Reakcija temelji na dehidraciji sladkorja in tvorbi formaldehida, ki nato reagira s timolom do obarvanega produkta s trifenilmetansko strukturo. Kromatogram lahko orosimo tudi z 20-% raztopino H_2SO_4 v etanolu.



Eksperimentalni del

Tankoplastna kromatografija

Na tanko plast silikagela (DC-Alufolie Kieselgel 60 F254 Merck) naneste s kapilarno posamezni vzorec in razvijete kromatogram v nasičeni komori dvakrat z vmesnim sušenjem. Mobilna faza je sestavljena iz vode, metanola, brezvodne očetne kisline, in diklorometana v razmerju 1,0:1,5:2,5:5,0. Osušeni kromatogram ovrednotite pri 254 nm, ga orosite z raztopino timola v etanolni raztopini žveplove kisline ter ga približno 5 min segrevate pri 130 °C.

Reduktivnost ogljikohidratov

Med razvijanjem kromatograma se prepričajte o reduktivnosti vzorcev. Na razpolago imate reagent po Benediktu (sestava 0,865 g bakrovega sulfata pentahidrata, 5,0 g brezvodnega natrijevega karbonata, 8,65 g trinatrijevega citrata dihidrata, 50 mL prečiščene vode). Reagent je stabilen tudi več let. V Ph. Eur. je naveden tudi Fehlingov reagent (preglejte sestavo in stabilnost!)

Drugi reagent je Tollensov reagent, ki ga pripravite iz naslednjih raztopin:

1 mL srebrovega nitrata (10-% vodna raztopina)

1 mL natrijevega hidroksida; 8,7-% vodna raztopina

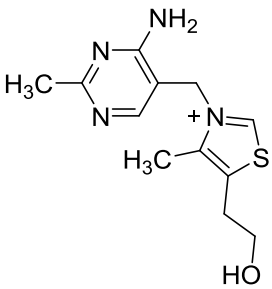
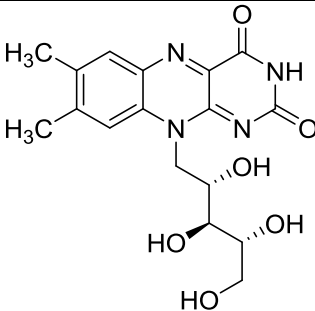
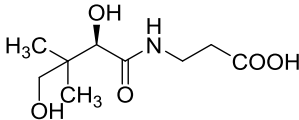
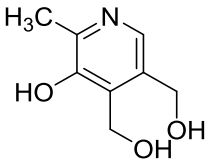
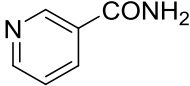
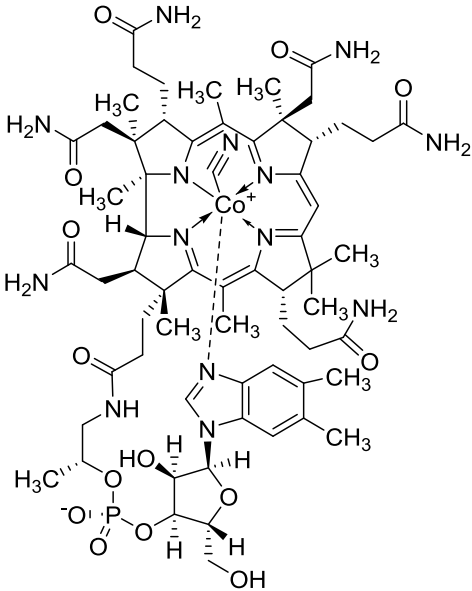
Pomešate v merilnem valju in dokapavate 10-% vodno raztopino amonijaka, kolikor je potrebno, da med večkratnim stresanjem nastane bistra raztopina reagenta. Pripravite ga sproti, ostanke takoj pomijte!

Oba reagenta uporabite v čisti epruveti (zadostuje 2 mL). Dodajte majhno količino reducenta (izbranega ogljikovega hidrata), rahlo segrejte (pod vrelišče) ali pustite stati pri sobni temperaturi. Če pri uporabi Benedictovega reagenta tudi po segrevanju ni pričakovane reakcije, ponovno raztopite enak reducent v 1 mL vode in dodate 10 kapljic 0,1 M HCl ter rahlo segrevate 2 minuti. Nato raztopino nevtralizirate z 10 kapljicami 0,1 M NaOH in dodate Benedictov reagent (zadostuje 2 mL) ter ponovno segrejte.

Istovetenje vodotopnih vitaminov

Tankoplastna kromatografija

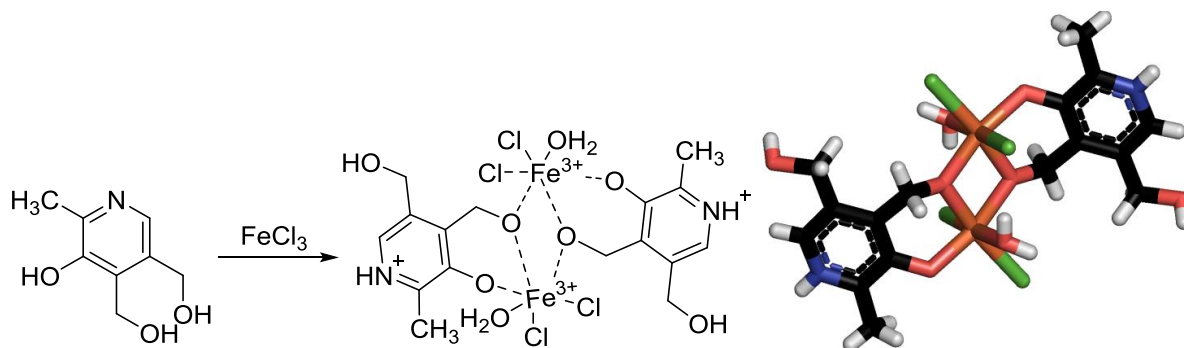
Vitamini so kemijsko neenotna skupina za življenje nujno potrebnih snovi. V farmacevtskih oblikah so vitamini kot monokomponentna ali večkomponentna zdravila. Njihovo skupno značilnost, tj. topljivost v vodi in večinoma tudi v metanolu, bomo izkoristili za pripravo vzorcev za istovetenje.

Vitamin	Tiamin	Riboflavin	Pantotenska kislina
Oznaka	Vitamin B ₁	Vitamin B ₂	Vitamin B ₅
Struktura			
Vizualizacija	UV ₂₅₄ , UV ₃₆₆ (modra fluorescenca)	UV ₃₆₆ (rumena fluorescenca)	Ninhidrin
Vitamin	Piridoksin	Nikotinamid	Cianokobalamin
Oznaka	Vitamin B ₆		Vitamin B ₁₂
Struktura			
Vizualizacija	UV ₂₅₄ , UV ₃₆₆ (modra fluorescenca)	UV ₂₅₄ , po oroševanju z ninhidrinom se ne obarva	UV ₂₅₄ , VIS

Reakcije istovetenja posameznih vitaminov

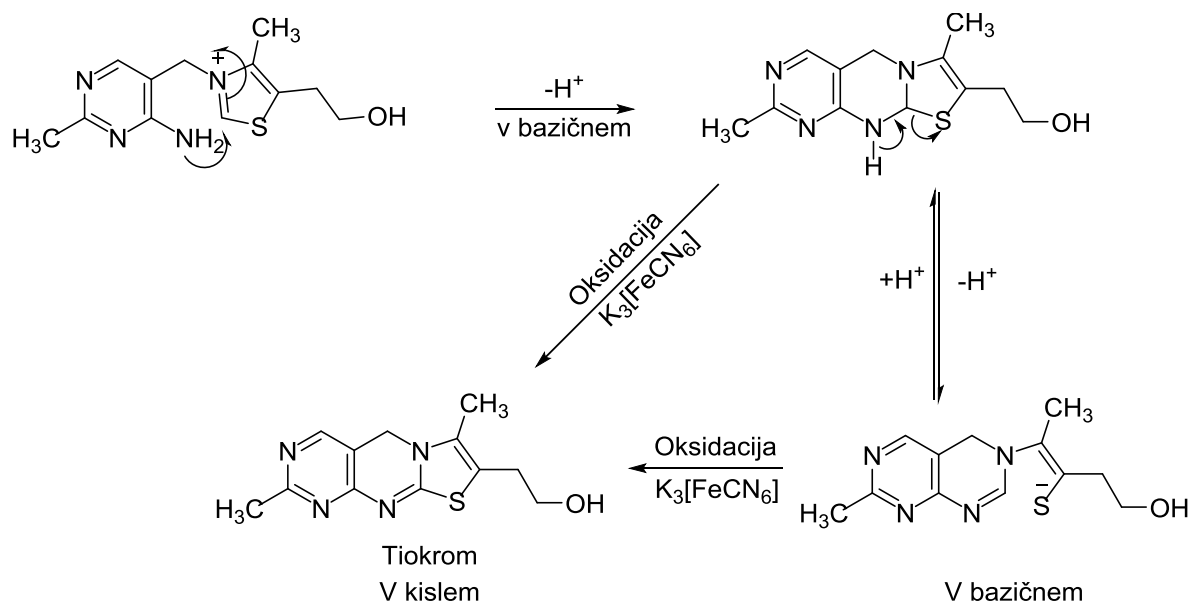
Piridoksin (običajno piridoksinijev klorid)

FeCl_3 je dokazni reagent, s katerim lahko dokažemo prisotnost fenolne $-\text{OH}$ skupine. Pri reakciji nastane kompleks med Fe^{3+} in fenolom v razmerju 1:3 ali 1:6 (odvisno od koncentracije fenola). Vodna raztopina FeCl_3 se uporablja tudi kot orositveni reagent za detekcijo fenolov na kromatografski plošči.



Tiamin (običajno tiaminijev klorid); nastanek kompleksa pri reakciji z FeCl_3 (levo); kristalna struktura nastalega kompleksa (desno).

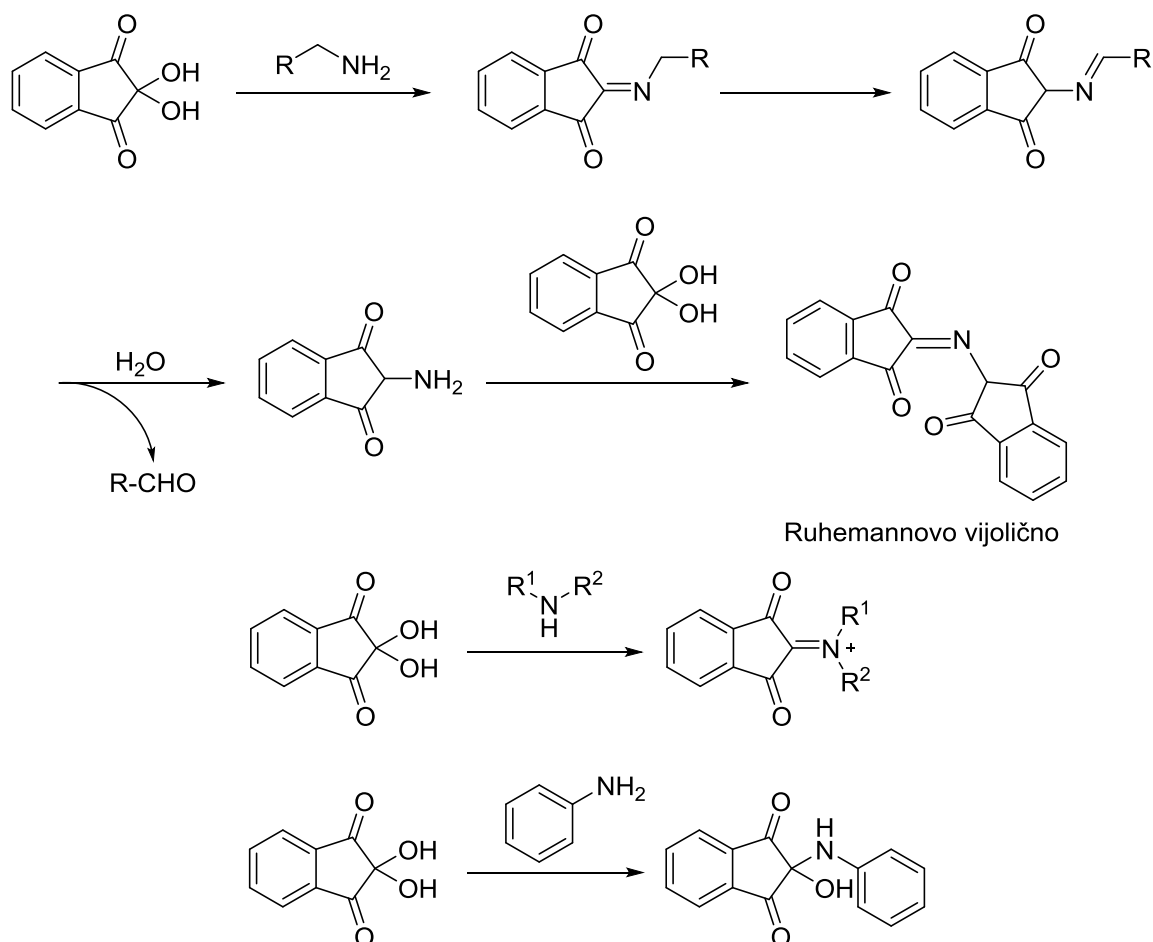
Tiamin dokažemo s pomočjo oksidacije vodotopne oblike spojine do lipofilnega tiokroma v dvofaznem sistemu voda-izobutanol. Ker nastali lipofilni tiokrom fluorescira pri 366 nm, lahko opazujemo modro fluorescenco organske faze. Vodotopni tiamin ne fluorescira, zato v vodni fazi ne opazimo fluorescence.



Ninhidrin

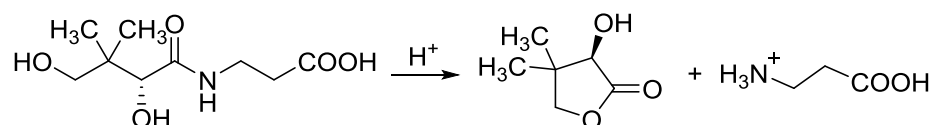
Ninhidrin (2,2-dihidroksiindan-1,3-dion) je reagent za kvalitativno in kvantitativno analizo aminokislin in ostalih spojin s prosto primarno ali sekundarno amino skupino. Z ninhidrinom dajejo obarvane produkte tudi spojine, ki se po segrevanju pretvorijo v amine. Pri sobni temperaturi tako reagirajo vse aminokisliline in amini, po močnem segrevanju pa tudi karbamati, amidi in nekateri heterocikli. Kot rezultat dobimo vijolično obarvani produkt Ruhemannovo vijolično.

Zaradi sosednjih elektronprivlačnih karbonilnih skupin je ogljik na mestu 2 indan-1,2-dionskega obročnega sistema zelo reaktiven in reagira tako z amini kot z vodo. Najbolj stabilna oblika ninhidrina je tako hidrat, ki ga tudi uporabimo kot izhodni reagent pri reakciji. Reakcija z alkilamini je večstopenjska in je prikazana na spodnji shemi. Reagirajo samo amini (večina aminokislin), ki imajo proton na alfa ogljikovem atomu. Pri reakciji s sekundarnimi amini in aromatskimi amini dobimo produkte prve reakcijske stopnje kondenzacije med aminom in ninhidrinom, ki so lahko zelo različno obarvani. Barva pri reakciji z ninhidrinom je tako odvisna od strukture spojin in reakcijskih pogojev. V večini primerov dobimo kot pozitiven rezultat vijolično, modro ali rumeno obarvan produkt. Terciarni amini ne dajejo pozitivne reakcije.



Pantotenska kislina

Pantotenska kislina je vitamin (B₅), ki je pomemben za sintezo koencima A. Je rumena tekočina, ki je stabilna v pH območju med 5 in 7. V kislem tako hidrolizira do pantolaktona in β-alanina.



Ker je natrijeva sol pantotenske kisline zelo higroskopna, se največkrat uporablja nehigroskopna kalcijeva sol, ki jo bomo analizirali na vajah.

Eksperimentalni del

Tankoplastna kromatografija

Obloženo tableto zdrobimo v terilnici s pestilom in z 10 mL metanola v obrokih prefiltriramo skozi filtrirni papir v epruveto. Na tanko plast silikagela nanese po 2 mikrolitra vzorčne raztopine in pripravljene standardne raztopin vitaminov (po 20 mg/mL)

Z mobilno fazo metanol:toluen:piridin:brezvodna očetna kislina v volumenskem razmerju 4:4:1:1 razvijemo kromatogram do poti 6 cm (približno 12 minut). Po razvijanju kromatografsko folijo sušimo v digestoriju pod dobrim vlekem na kovinski plošči pri 120 °C, tako da povsem odstranimo piridin.

Dobljeni kromatogram opazujemo pri vidni in UV svetlobi pri 254 in 366 nm, označimo si lise ter zapišemo njihovo barvo. Po oroševanju z ninhidrinskim reagentom in po segrevanju je videti vijolično liso pantotenske kisline. Tiamin je rahlo rumenkast.

Piridoksin

K 1 mL vodne raztopine piridoksina (20 mg/mL) dodajte 2 do 3 kaplje železovega(III) klorida R in opazujte oranžno do rdeče rjavo raztopino.

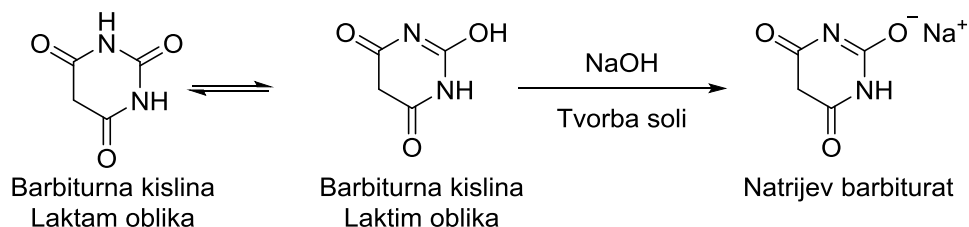
Tiamin

0,5 mL vodne raztopine tiaminijevega klorida naalkalimo s 5 mL raztopine natrijevega hidroksida (0,5 M), dodamo 0,5 mL kalijevega fericianida in 5 mL izobutanola. Stresamo 2 min in ločena sloja opazujemo v epruveti pravokotno na vertikalno vpadno UV svetlobo pri 366 nm. Intenzivno modro fluorescenca meniskusa tekočine je odvisna od pH. (modifikacija po USP)

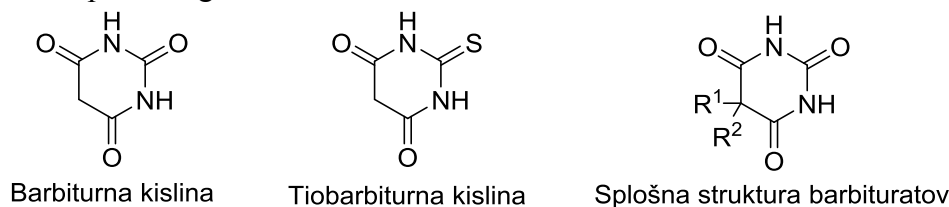
Barbiturati in benzodiazepini

Barbiturati

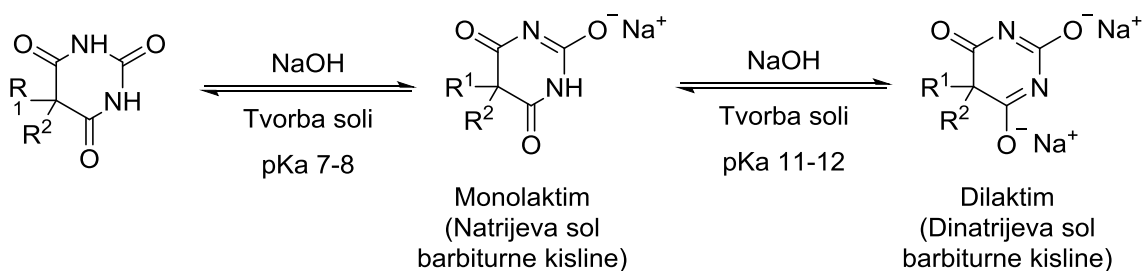
Barbiturati so derivati barbiturne kisline z anksiolitičnim in hipnotičnim učinkom. Po svoji kemijski zgradbi so barbiturati ciklične sečnine, ki so zaradi laktam-laktimske tautomerije šibko kisle in lahko tvorijo soli na -OH skupini enolne tautomerne oblike.



Kadar je kisik v sečninskem delu barbiturne kisline nadomeščen z žveplom, govorimo o tiobarbiturni kislini. Hipnotično delovanje imajo ustrezno 5,5-disubstituirani (z alkilnim ali arilnim substituentom) barbiturati in tiobarbiturati, medtem ko barbiturna ali tiobarbiturna kislina nimata hipnotičnega učinka.



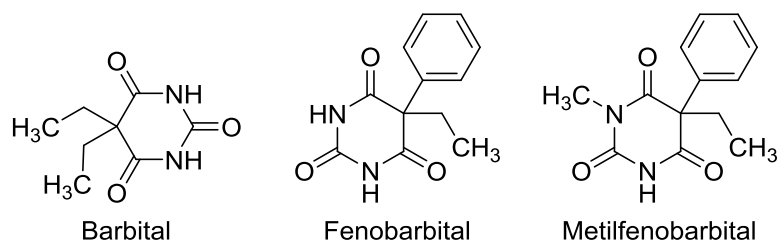
Zaradi dveh kislih -NH- skupin imajo 5,5-disubstituirani barbiturati dve kislinsko-ionizacijski konstanti. Njihova kislost in polarnost sta odvisni predvsem od števila in vrste substituentov na mestu C-5.



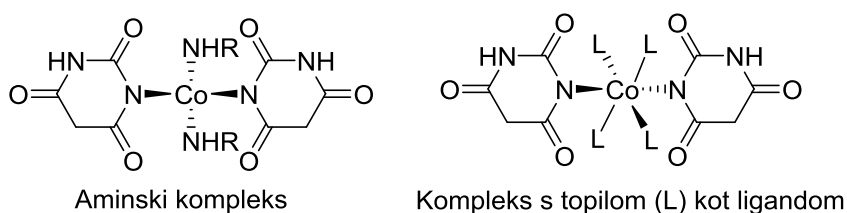
Reakcije istovetenja

Dokazna reakcija za barbiturate

Istovetenje barbituratov je večstopenjsko. Za vajo uporabimo tankoplastno kromatografijo in splošni preskus istovetnosti za na dušiku nesubstituirane barbiturate. V Ph. Eur. 9 je opisanih več derivatov barbiturne kisline, od katerih bomo na vajah uporabljali naslednje:

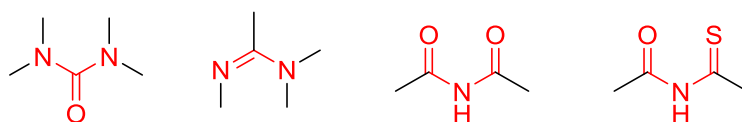


Na položaju 5,5-disubstituirani barbiturati tvorijo obarvane komplekse z mnogimi dvovalentnimi prehodnimi kovinami. V literaturi največkrat najdemo opisane reakcije z bakrom(II) ali kobaltom(II) v bazičnem mediju, kateremu so dodani različni amini, kot so amonijak, piperazin, piperidin, cikloheksilamin in nizkoverižni amini, s katerimi vplivamo na stabilnost nastalih kompleksov ter posledično na selektivnost in občutljivost reakcije. Pri reakciji dobimo tetrahedralni kompleks z naslednjo strukturo:



V odsotnosti dodanega amina nastane oktahedralni kompleks, v katerem kot ligand sodeluje tudi topilo, ki je največkrat metanol in etanol. Ker je intenziteta barve kompleksa z amini bistveno višja kot v primeru tvorbe kompleksa s topilom, je slednji pogosteje naveden v farmakopejskih predpisih. Reakcija poteka v brezvodnem mediju, saj lahko vsebnost vode v koncentraciji večji kot 0,1 % izpodrine druge ligande, kar povzroči lažno negativni rezultat reakcije.

V Ph. Eur. 9 sta opisani učinkovini Phenobarbitalum in Phenobarbitalum natricum. Različica farmakopejske reakcije istovetenja uporablja kalcij namesto amina, vendar je struktura nastalega kompleksa zaenkrat še nepotrjena. Intenziteta vijolično-modrega kompleksa je odvisna od substituenta na mestu 5. Za uspešnost reakcije je predpogoj prosta -NH- skupina, zato barbiturati, ki so substituirani na obeh dušikih, ne dajejo pozitivne reakcije. Barbiturati z monosubstituiranim dušikom sicer dajejo pozitivno reakcijo, vendar nastali kompleksi niso zelo stabilni. Lažno pozitivno reakcijo v bazičnem dajejo spojine z naslednjimi funkcionalnimi skupinami:



Prav tako reagirajo tudi fenoli, 1,2-difenoli, polihidroksi derivati, dipeptidi in nekateri heterociklični sistemi z dušikom.

Eksperimentalno delo

Tankoplastna kromatografija barbituratov

V kromatografsko posodo nalijemo potrebno količino mobilne faze in pustimo zaprto po predpisu, tako da dobimo nasičeno atmosfero. Na kromatografsko ploščico nanese po 2 mikrolitra vnaprej pripravljenih raztopin vzorcev barbituratov (metilfenobarbital, fenobarbital in barbital), osušimo in razvijamo dvakrat po šest minut z vmesnim sušenjem. Mobilna faza: diklorometan R in aceton R v razmerju 9:1

Detekcija

Po sušenju opazujemo kromatogram pod UV svetlobo pri 254 nm. Vsi barbiturati gasijo fluorescenco ozadja na kromatografski ploščici in jih vidimo kot rožnate lise na svetlem ozadju.

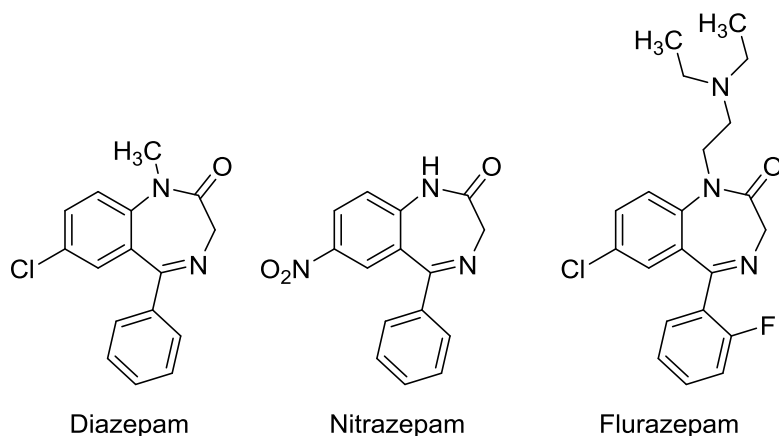
Nastanek kompleksov s kobaltom

Približno 5 mg spojine raztopimo v 3 mL metanola, dodamo 0,1 mL zmesi enakih delov 10% kobaltovega(II) nitrata in kalcijevega klorida. Med stresanjem epruvete dodamo 0,1 mL 8,5 % vodne raztopine natrijevega hidroksida. (Phenobarbitalum, Istovetenje D).

Benzodiazepini

Benzodiazepini spadajo med najpogosteje uporabljana zdravila. Kot anksiolitiki, sedativi, hipnotiki, mišični relaksanti in antikonvulzivi so zaradi boljše učinkovitosti in varnosti že kmalu po odkritju leta 1960 (klordiazepoksid) začeli nadomeščati barbiturate. Od vseh benzodiazepinov so svoje mesto v farmakoterapiji našli le 1,4-benzodiazepini. Delujejo kot agonisti na GABA_A receptorjih, kjer povečajo delovanje živčnega prenašalca gama-aminobutirne kisline.

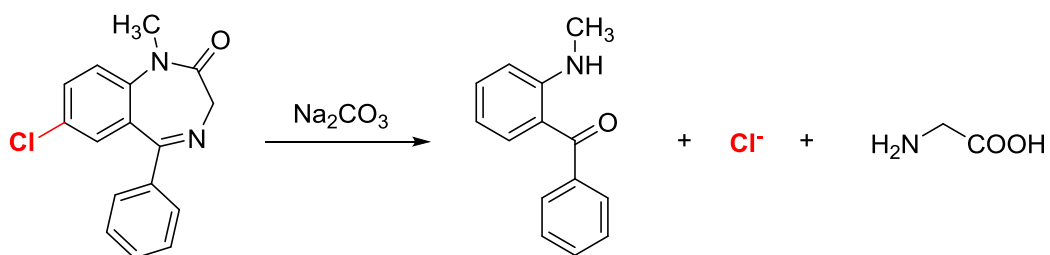
Za benzodiazepine je značilen sedemciklični diazepinski sistem, prikondenziran na aromatski ali heteroaromatski obroč. Kot substituent je na mestu 5 vedno aromatski obročni sistem, ki je lahko substituiran na mestu 2 ali 4. Ph. Eur. navaja več benzodiazepinov, med katerimi bomo za istovetenje uporabili naslednje monografije oziroma učinkovine: Diazepamum, Nitrazepamum, Flurazepamum.



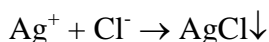
Istovetenje diazepama po Ph. Eur. 5: Diazepam, Diazepamum

Diazepam je mogoče istovetiti na osnovi tališča (Identification A), absorpcijskih vrhov v ultravijolični svetlobi (Identification B) in na osnovi reakcije istovetenja kloridnih ionov, ki jo boste izvajali v parih.

Ker so soli aminov s HCl zelo pogoste med zdravilnimi učinkovinami, je omenjena reakcija istovetenja zelo pogosta v Eur. Ph. Farmakopejski test opisuje istovetenje tako soli s HCl kot tudi spojin s kovalentno vezanim klorom. Večinoma tvorijo kloridni ioni vodotopne soli z večino anorganskih kationov, razen z anorganskimi kloridi svinca, talija, srebra, živega srebra in bakra. Pri istovetenju soli farmakopeja predpisuje raztapljanje spojine v vodi in tvorbo soli s srebrom, medtem ko je pri kovalentno vezanem kloru treba spojino segreti z brezvodnim natrijevim karbonatom, da pride do cepitve vezi C-Cl.

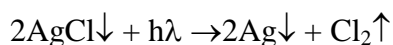


Kloridni ioni nato reagirajo s srebrovimi ioni (AgNO₃), pri čemer nastane bela oborina.

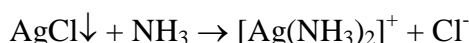


Tudi nekateri drugi ioni in spojine (npr. šibke kisline) lahko dajejo netopne srebrove soli, kar preprečimo z uporabo dušikove(V) kisline. Kljub temu lahko nekatere spojine (npr. cianidi in mnogi alkaloidi) pri uporabljenih pogojih še vedno dajejo lažno pozitivno reakcijo. Oborino tvorijo tudi soli s Cl⁻, Br⁻, in I⁻, vendar je sol s Cl⁻ ioni edina belo obarvana, medtem ko so bromidi in iodidi rumene barve.

Za dodatno potrditev prisotnosti AgCl po navadi izvedemo še nadaljnji test s koncentriranim amoniakom. AgCl filtriramo in speremo z vodo, saj bi lahko prisotni kationi motili reakcijo z amonijakom. Ta korak moramo izvesti čim hitreje, saj AgCl ni stabilen na svetlobi in tvori elementarno srebro po naslednji reakciji:



AgCl nato raztopimo v 2 mL vode in 1,5 mL koncentriranega amonijaka, ob tem nastane diaminoargenatni kompleks:



Omenjena reakcija se uporablja tudi za istovetenje bromidov in iodidov, kar je prikazano v spodnji preglednici.

Prisotni ioni	Po dodatku AgNO₃	Dodatek koncentriranega NH₃
F ⁻	Ni oborine	
Cl ⁻	Bela oborina	Oborina se raztopi in daje brezbarvno raztopino
Br ⁻	Bledo rumena oborina	Oborina je netopna v razredčeni raztopini amonijaka, raztopi se v koncentriranem NH ₃
I ⁻	Bledo rumena oborina	Oborina je povsem netopna

Eksperimentalni del

Tankoplastna kromatografija benzodiazepinov

Na kromatografsko ploščico nanese 2 mikrolitra vnaprej pripravljenih raztopin vzorcev (diazepam, flurazepam, nitrazepam) in razvijemo kromatogram v mobilni fazi sestavljeni iz diklorometana, acetona in 25-% vodne raztopine amonijaka v razmerju 70:30:1.

Detekcija: vsi benzodiazepini gasijo fluorescenco ozadja ploščice.

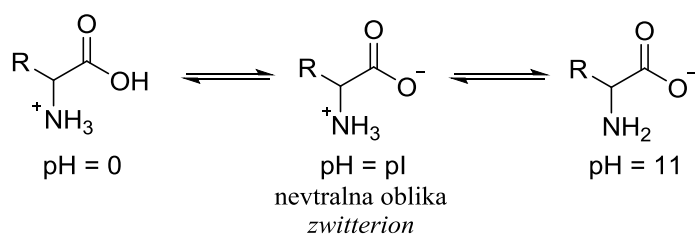
Istovetenje diazepamoma po Ph. Eur. 9: Diazepam, Diazepamum

C/ Približno 10 mg spojine raztopimo v 3 mL žveplove(VI) kisline R. Raztopina fluorescira zelenkasto rumeno, če jo osvetlimo z UV svetlobo pri 366 nm.

D/ V porcelansko izparilnico natehtamo 80 mg spojine in dodamo 0,3 g brezvodnega natrijevega karbonata R ter segrevamo nad odprtim plamenom 10 minut. Počakamo, da se terilnica ohladi in zmes previdno raztopimo v 5 mL razredčene dušikove(V) kisline R. Suspenzijo filtriramo in v 1 mL filtrata dodamo 5 mL vode. Raztopina daje reakcijo za kloridne ione, ki jo izvedemo tako, da damo v raztopino nekaj (1-3) kapljic raztopine AgNO₃, da izpade bela oborina.

Aminokislina

Aminokislina so organske spojine s karboksilno (-COOH) in amino (-NH₂) skupino, zaradi katerih se obnašajo amfoterno - kot kisline in kot baze. V kisljih medijih je tako amino skupina protonirana in karboksilna skupina v nedisocirani obliki, medtem ko je v bazičnem mediju ravno obratno. pH vrednost, pri kateri sta obe funkcionalni skupini v nabiti obliki, se imenuje izoelektrična točka, oblika aminokislina s tako strukturo pa ion dvojček oziroma "zwitterion". Zaradi zwitterionske strukture se aminokislina obnašajo kot soli, imajo velike dipolne momente in visoke temperature tališč ter so netopne v aprotičnih organskih topilih (npr. dietil eter). Najbolje se aminokislina topijo v vodi, vendar topnost pada z naraščajočo lipofilnostjo substituenta R. V pH območju pod ali nad pI se topnost aminokislina poveča in je največja pri pH vrednostih, kjer sta samo aminska ali samo karboksilna skupina aminokislina v ionizirani obliki.

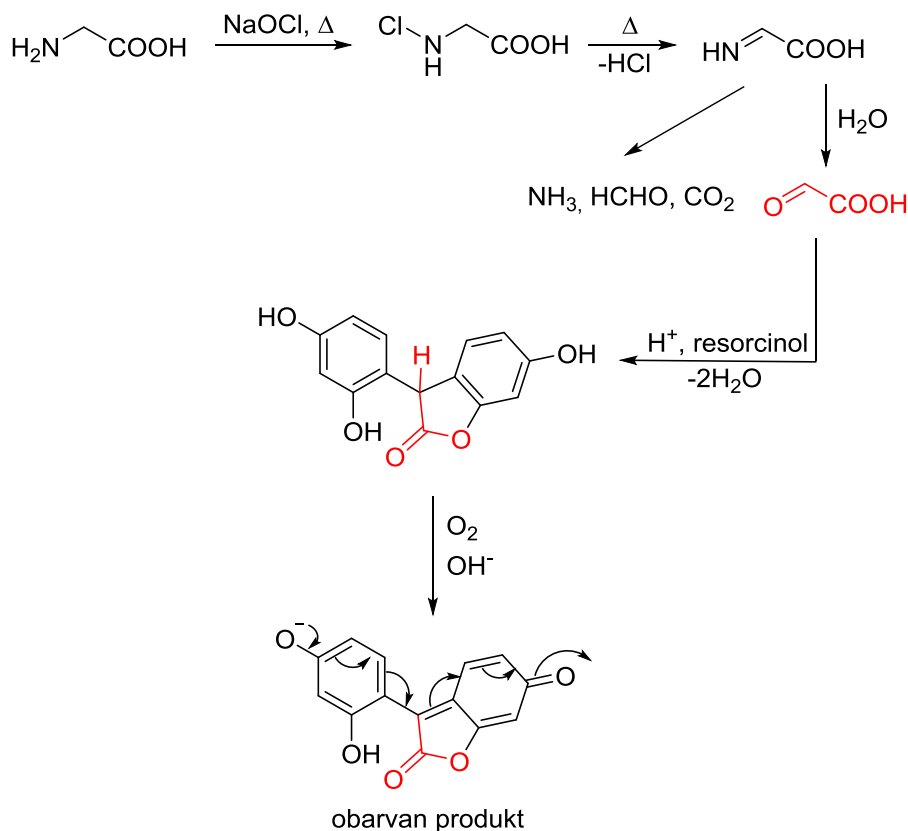


Istovetenje Gly po Ph. Eur. 9

Ph. Eur. 9 predpisuje za preverjanje istovetnosti glicina kot metodo prvega istovetenja (A) infrardečo spektroskopijo, kot metodi drugega istovetenja (B in C) pa tenkoplastno kromatografijo in kolorimetrično reakcijo z natrijevim hipokloritom.

Na vajah boste izvajali tenkoplastno kromatografijo vzorcev različnih aminokislina v dveh mobilnih fazah, s čimer boste preverjali vpliv polarnosti mobilne faze na hitrost potovanja vzorcev po kromatografski plošči.

Kolorimetrična reakcija temelji na oksidaciji amino skupine glicina in tvorbi glioksalne kisline. Po dodatku resorcinola in elektrofilni aromatski substituciji pride do tvorbe neobarvanega intermediata, ki se po dodatku baze oksidira do vijolično obarvanega produkta.



Eksperimentalni del

Tankoplastna kromatografija

Tankoplastno kromatografijo boste izvajali na dveh kromatografskih ploščah po naslednjem postopku: Na tanko plast silikagela (DC-Alufolie Kieselgel 60 F254 Merck) naneste po dva 2 mikrolitra posameznega vzorca aminokislin (Gly, L-Ala, D-Ala, L-Leu, L-Val, L-Phe, L-Lys). Mobilni fazi sta sestavljeni iz:

- a) *n*-butanola (8 delov), vode (1,4 dela) in brezvodne očetne kisline (1 del)
- b) *n*-propanola (8 delov), vode (1,4 dela) in brezvodne očetne kisline (1 del).

Razvijanje izvedete v nasičeni komori. Pot mobilne faze je 6 cm, razvijanje traja približno 20 min. Osušeni kromatogram ovrednotite pri 254 nm in ga orosite z ninhidrinom ter približno 1 min segrevate pri 130 °C.

Vzorec aminokislin je 0,02M raztopina posamezne aminokislina v vodi. V primeru nezadostne topnosti nekaterih aminokislin pri navedeni koncentraciji je vzorcu dodan še en ekvivalent Na₂CO₃.

Topnost aminokislin v vodi pri različnih pH

V treh epruветah (a, b in c) ločeno suspendiramo/raztopimo po 50 mg L-Leu (ali L-Phe) v a) 3 mL vode, b) 3 mL 0,1M vodne raztopine klorovodikove kisline in c) 3 mL 0,1M vodne raztopine natrijevega hidroksida. Zapišite si opažanja in ugotovitve!

Topnost aminokislin v vodi in organskih topilih

50 mg Gly raztopimo v 1 mL vode, h kateri postopoma dodajamo po 1 mL etanola (največ 5-krat). Zapišite si opažanja in ugotovitve!

Istovetenje Gly po Ph. Eur. 9.0

25 mg glicina raztopimo v 2,5 mL vode R in dodamo 0,5 mL koncentrirane raztopine natrijevega hipoklorita R (25-30 g/L aktivnega klora) ter segrevamo v vreli vodni kopeli. Po 4 minutah dodamo 0,5 mL koncentrirane vodne raztopine klorovodikove kisline R in nadaljujemo s segrevanjem 5 minut. Nato zopet dodamo 1 mL koncentrirane klorovodikove kisline R in 0,5 mL raztopine resorcinola R (20 mg/mL), segrevamo 2 minuti in ohladimo. Dodamo 5 mL vode in dobro premešamo. K 1 mL ohlajene raztopine dodamo po kapljicah (počasi!) 2M raztopino natrijevega hidroksida R do pojava vijoličnega obarvanja, ki se lahko čez nekaj časa spremeni v oranžno-rumeno.

2 NOMENKLATURA ZDRAVILNIH UČINKOVIN IN POMOŽNIH SNOVI

Opis posameznih snovi v farmaciji se začne z mednarodnim nelastniškim imenom (INN), ki je pri anorganskih snoveh najpogosteje identično racionalnemu kemijskemu poimenovanju v skladu z IUPAC. Pri organskih spojinah se navadno uporabljajo trivialna kemijska imena ali pa izpeljanke iz IUPAC-imena (v primeru zdravilnih učinkovin so to mednarodna nelastniška imena (INN)). Racionalno kemijsko ime se v takšnih primerih prav tako pojavlja v dokumentaciji zdravilnih učinkovin, pomožnih snovi in reagentov, saj določa istovetnost snovi.

Pri tem je nujno poudariti, da pri monografijah posameznih zdravilnih učinkovin v Evropski farmakopeji izpeljano kemijsko ime pogosto ni v skladu z dejansko strukturo zdravilne učinkovine. Največja odstopanja so pri soleh, ki jih Evropska farmakopeja poimenuje in tudi strukturno predstavlja nedosledno (ne v obliki soli, pač pa zmesi ali aduktov). Spodaj je predstavljen nazoren primer adrenalonijevega klorida, kjer je v farmakopeji navedeno kemijsko ime:

1-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-(methylamino)-1-ethanone hydrochloride,
namesto kemijsko pravilnega:

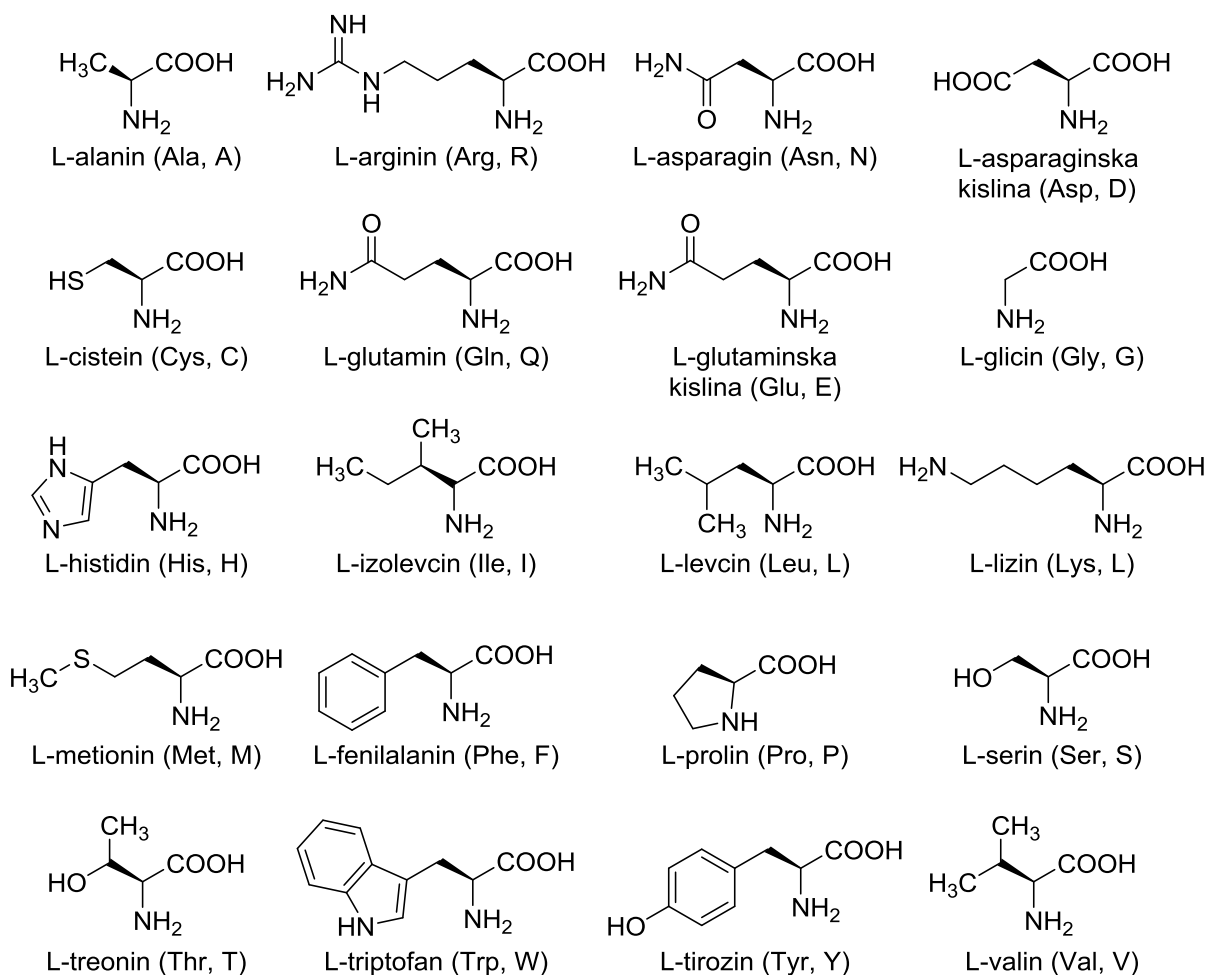
2-(3,4-dihydroxyphenyl)-*N*-methyl-2-oxo-1-ethanaminium chloride, iz katerega je razvidno, da gre za sol, ki se tvori na bazičnem dušikovem atomu.

2.1 SEZNAM KEMIJSKIH SKUPIN

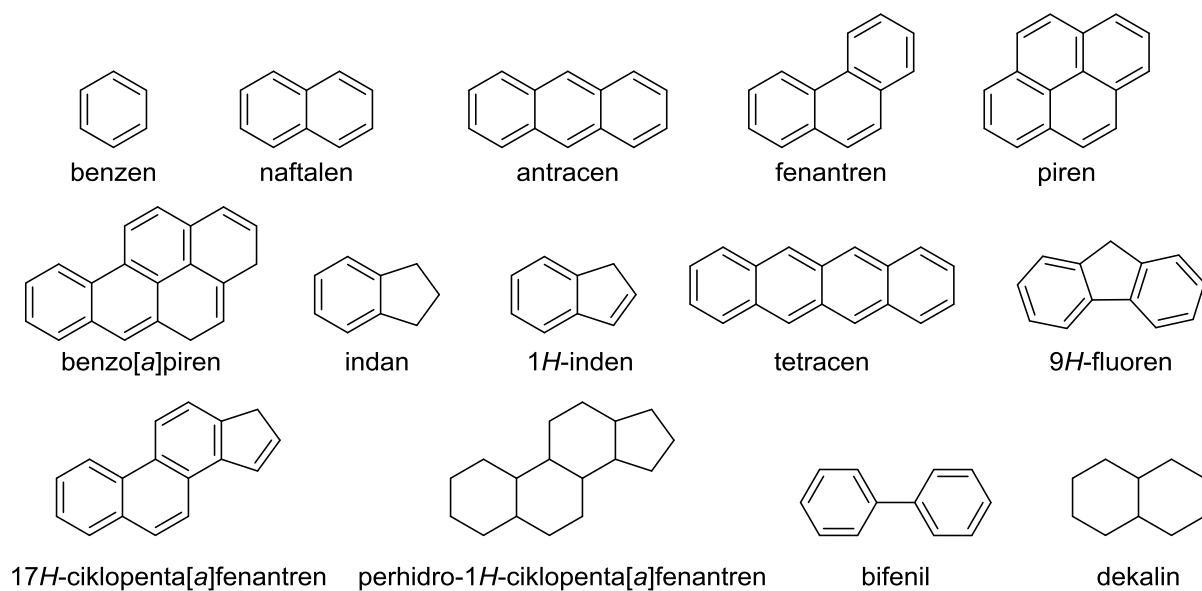
Predpona:	Struktura:	Končnica (če obstaja)
acetamido- (acetilamino-)	CH ₃ -CONH-	-acetamid
acetil-	CH ₃ -CO-	
acetoksi-	CH ₃ -COO-	
alil-	CH ₂ =CH-CH ₂ -	
alkanoiloksi-	R-COO-	-at, -oat
amidino-	H ₂ N-C(=NH)-	-imidamid
amido-	R-CONH-	-amid
amino-	NH ₂ -	-amin
anilido-	C ₆ H ₅ -NHCO-	-anilid
anilino-	C ₆ H ₅ -NH-	-anilin
azido-	N ₃ -	-azid
azo-	-N=N-	-diazen
benzamido-	C ₆ H ₅ -CONH-	-benzamid
benzensulfinil-	C ₆ H ₅ -SO-	
benzensulfonamido- (fenilsulfonilamino-)	C ₆ H ₅ -SO ₂ NH-	-benzensulfonamid
benzensulfinil-	C ₆ H ₅ -SO ₂ -	
benzil-	C ₆ H ₅ -CH ₂ -	
benziliden-	C ₆ H ₅ -CH=	
benziloksi-	C ₆ H ₅ -CH ₂ O-	
benziloksikarbonil-	C ₆ H ₅ -CH ₂ -OCO-	
benzoil-	C ₆ H ₅ -CO-	
bromo-	Br-	-bromid
butiril- (butanoil-)	CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CO-	
cianato-	N≡C-O-	-cianat
ciano-	N≡C-	-cianid, -nitril
etilen-	-CH ₂ -CH ₂ -	
etiliden-	CH ₃ -CH=	
etnil-	HC=C-	
etoksi-	C ₂ H ₅ -O-	
fenetil-	C ₆ H ₅ -CH ₂ -CH ₂ -	
fenil-	C ₆ H ₅ -	-benzen
fenilacetil-	C ₆ H ₅ -CH ₂ -CO-	
fenilkarbamoil-	C ₆ H ₅ -NHCO-	
fenilsulfamoil- (fenilaminosulfinil-)	C ₆ H ₅ -NHCO-	
fenilsulfinil- (feniltio-)	C ₆ H ₅ -S-	
fenilsulfinil-	C ₆ H ₅ -SO-	
fenilsulfinil-	C ₆ H ₅ -SO ₂ -	
fenoksi-	C ₆ H ₅ -O-	
fluoro-	F-	-fluorid
formamido-	O=CH-NH-	-formamid
formil-	OHC-	-al, -karboksaldehid
gvanidino-	NH ₂ -C(=NH)-NH-	-gvanidin
haloformil-	XOC-	-oil halid
hidrazino-	NH ₂ NH-	-hidrazin
hidroksi-	HO-	-ol
hidroperoksi-	HOO-	-hidroperoksid
imido-	R-CONHCO-	-imid
imino-	R-N=	-imin
izocianato-	O=C=N-	-izocianat
izociano-	⁻ C≡N ⁺ -	-izocianid, -izonitril

izopropil-	$(\text{CH}_3)_2\text{CH}-$	
izotiocianato-	$\text{S}=\text{C}=\text{N}-$	-izotiocianat, -rodanid
jodo-	I-	-jodid
karbamoil- (aminokarbonil-)	$\text{NH}_2\text{CO}-$	-amid
karbamoiloksi-	$\text{NH}_2\text{COO}-$	-karbamat
karboksi-	$\text{HOOC}-$	-karboksilna kislina
karbonil-	$\text{R}-\text{CO}-$	-on
kloro-	Cl-	-klorid
merkpto-	HS-	-tiol, -merkaptan
metansulfonamido-	$\text{CH}_3-\text{SO}_2\text{NH}-$	
metiliden-	$\text{CH}_2=$	
metilsulfinil-	$\text{CH}_3-\text{SO}-$	
metiltio-	$\text{CH}_3-\text{S}-$	
metoksi-	$\text{CH}_3-\text{O}-$	
nitro-	$\text{O}_2\text{N}-$	
nitroksi-	$\text{O}_2\text{NO}-$	-nitrat
nitrozo-	$\text{O}=\text{N}-$	
nitrozooksi-	$\text{O}=\text{NO}-$	-nitrit
oksi-	R-O-	-eter
oksikarbonil-	$\text{R}-\text{OOC}-$	-at, -oat
oksisulfinil-	$\text{R}-\text{O}_3\text{S}-$	-sulfonat
okso-	O=	-oksid
peroksi-	$\text{R}-\text{OO}-$	-peroksid
propionil- (propanoil-)	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CO}-$	
semikarbazido-	$\text{H}_2\text{NCONHNH}-$	-semikarbazid
semikarbazono-	$\text{H}_2\text{NCONHN}=\text{}$	
sulfamoil- (aminosulfinil-)	NH_2SO_2-	-sulfonamid
sulfanil- (sulfido-, tio-, sulfenil)	R-S-	-sulfid, -sulfen, -sulfan
sulfanilamido-	$p-\text{NH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_2\text{NH}-$	-sulfanilamid
sulfinil-	$\text{R}-\text{SO}-$	-sulfoksid, -sulfin
sulfino-	$\text{HO}_2\text{S}-$	-sulfinska kislina
sulfo-	$\text{HO}_3\text{S}-$	-sulfonska kislina
sulfonamido-	$\text{R}-\text{SO}_2\text{NH}-$	
sulfinil-	$\text{R}-\text{SO}_2-$	-sulfon
sulfiniloksi-	$\text{R}-\text{SO}_2\text{O}-$	-sulfonat
terc butil-	$(\text{CH}_3)_3\text{C}-$	
tioacetil-	$\text{CH}_3-\text{CS}-$	
tiobenzoil-	$\text{C}_6\text{H}_5-\text{CS}-$	
tiocianato-	$\text{N}\equiv\text{C}-\text{S}-$	-tiocianat
tiokarbamoil-	$\text{H}_2\text{NCS}-$	-tioamid
tiokarbonil-	$\text{R}-\text{CS}-$	-tion
tioureido-	$\text{H}_2\text{NCSNH}-$	
ureido-	$\text{H}_2\text{NCONH}-$	-sečnina, -urea
vinil-	$\text{CH}_2=\text{CH}-$	

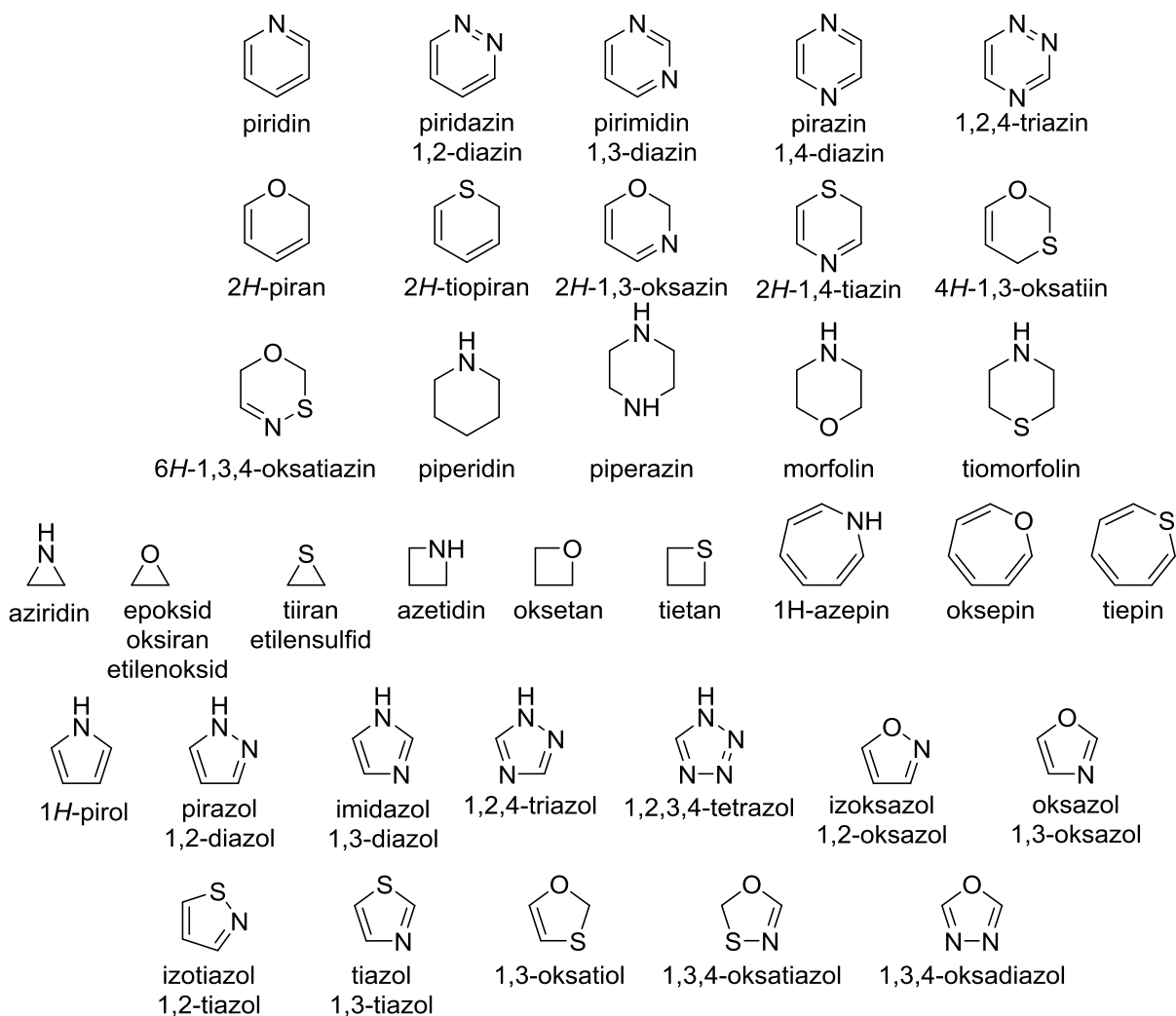
2.2 SEZNAM PROTEINOGENIH AMINOKISLIN



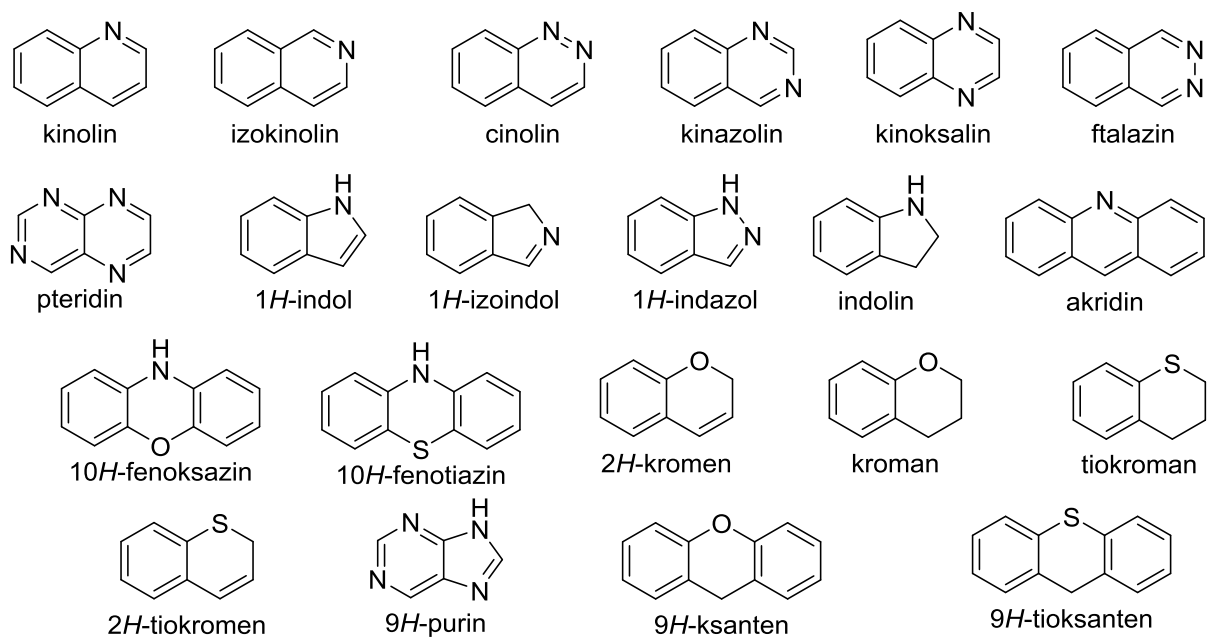
2.3 BENZEN IN KONDENZIRANI AROMATI



2.4 MONOCIKLIČNI HETEROCIKLI



2.5 KONDENZIRANI HETEROCIKLI



2.6 RISANJE KEMIJSKIH STRUKTUR

2.6.1 Analgetiki

salicilna kislina

2-hidroksibenzojska kislina

acetilsalicilna kislina

2-acetoksibenzojska kislina

diflunisal

2',4'-difluoro-4-hidroksi-[1,1'-bifenil]-3-karboksilna kislina

benorilat

4-(acetilamino)fenil 2-(acetiloksi)benzoat

2-(4-acetilaminofeniloksikarbonil)fenil acetat

paracetamol

N-(4-hidroksifenil)acetamid

N-acetil-4-aminofenol

4-hidroxiacetanilid

fenacetin

N-(4-etoksifenil)acetamid

4-etoksiacetanilid

mefenaminska kislina

2-[(2,3-dimetilfenil)amino]benzojska kislina

flufenaminska kislina

2-[[3-(trifluorometil)fenil]amino]benzojska kislina

diklofenak

2-(2-[(2,6-diklorofenil)amino]fenil)ocetna kislina

indometacin

2-(1-(4-klorobenzoil)-5-metoksi-2-metil-1*H*-indol-3-il)ocetna kislina

sulindak

2-(5-fluoro-2-metil-1-[[4-(metilsulfinil)fenil]metilen]-1*H*-inden-3-il)ocetna kislina

2-(5-fluoro-2-metil-1-[4-(metilsulfinil)benziliden]1*H*-inden-3-il)ocetna kislina

etodolak

2-(1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-*b*]indol-1-il)ocetna kislina

ibuprofen

α -[4-(2-metilpropil)fenil]propanojska kislina

ketoprofen

α -(3-benzoilfenil)propanojska kislina

naproksen

α -(6-metoksinaftalen-2-il)propanojska kislina

meloksikam

4-hidroksi-2-metil-*N*-(5-metiltiazol-2-il)-2*H*-benzo[*e*][1,2]tiazin-3-karboksamid 1,1-dioksid

piroksikam

4-hidroksi-2-metil-*N*-(piridin-2-il)-2*H*-benzo[*e*][1,2]tiazin-3-karboksamid 1,1-dioksid

tenoksikam

4-hidroksi-2-metil- *N*-(piridin-2-il)-2*H*-tieno[2,3-*e*][1,2]tiazin-3-karboksamid 1,1-dioksid

lornoksikam

6-kloro-4-hidroksi-2-metil-*N*-(piridin-2-il)-2*H*-tieno[2,3-*e*][1,2]tiazin-3-karboksamid 1,1-dioksid

fenazon

1,5-dimetil-2-fenil-1,2-dihidro-3*H*-pirazol-3-on

aminofenazon

1,5-dimetil-4-dimetilamino-2-fenil-1,2-dihidro-3*H*-pirazol-3-on

propifenazon

1,2-dihidro-1,5-dimetil-4-(1-metiletil)-2-fenil-3*H*-pirazol-3-on

natrijev metamizolat

natrijev [(1,2-dihidro-1,5-dimetil-3-okso-2-fenil-1*H*-pirazol-4-il)(metil) amino]metansulfonat

fenilbutazon

4-butyl-1,2-difenilpirazolidin-3,5-dion

sulfinpirazon

1,2-difenil-4-[2-(fenilsulfinil)etilpirazolidin]-3,5-dion

celekoksib

4-[5-(4-metilfenil)-3-(trifluorometil)-1*H*-pirazol-1-il]benzensulfonamide

etorikoksib

5-kloro-6-metil-3-[4-(metilsulfonyl)fenil]2,3'-bipiridin

nimesulid

N-(4-nitro-2-fenoksifenil)metanesulfonamid

sumatriptan

1-(3-(2-(dimetilamino)etil)-1*H*-indol-5-il)-*N*-metilmetansulfonamid

nabumeton

4-(6-metoksi-2-naftil)butan-2-on

petidinijev klorid

4-(etoksikarbonil)-1-metil-4-fenilpiperidin-1-ijev klorid

piritramid

1-(3-ciano-3,3-difenilpropil)-4-(1-piperidino)-4-piperidinkarboksamid

metadon

6-dimetilamino-4,4-difenil-6-metil-3-heptanon

tramadol

2-[(dimetilamino)metil]-1-(3-metoksifenil)cikloheksanol

2.6.2 Nevroleptiki, antidepressivi in anksiolitiki

klorpromazin

2-kloro-10-(3-dimetilaminopropil)fenotiazin

levomepromazin

10-[3-(dimetilamino)-2-metilpropil]-2-metoksifenotiazin

flufenazin

2-(4-(3-(2-(trifluorometil)-10*H*-fenotiazin-10-il)propil)piperazin-1-il)etan-1-ol

promazin

N,N-dimetil-3-(10*H*-fenotiazin-10-il)propan-1-amin

klorprotiksen

3-(2-kloro-9*H*-tioksanten-9-iliden)-*N,N*-dimetilpropan-1-amin

triflupentiksol

2-(4-(3-(2-(trifluorometil)-9*H*-tioksanten-9-iliden)propil)piperazin-1-il)etan-1-ol

loksapin

2-kloro-11-(4-metil-1-piperazinil)dibenzo[*b,f*][1,4]oksazepin

kvetiapin

2-(2-(4-(dibenzo[*b,f*][1,4]tiazepin-11-il)piperazin-1-il)etoksi)etan-1-ol

haloperidol

4-[4-(4-klorofenil)-4-hidroksipiperidin-1-il]-1-(4-fluorofenil)-1-butanon

trifluperidol

1-(4-fluorofenil)-4-[4-hidroksi-4-[3-(trifluorometil)fenil]-1-piperidinil]-1-butanon

benperidol

1-{1-[4-(4-fluorofenil)-4-oksobutil]piperidin-4-il}-1,3-dihidro-2*H*-benzo[*d*]imidazol-2-on

droperidol

1-(1-(4-(4-fluorofenil)-4-oksobutil)-1,2,3,6-tetrahidropiridin-4-il)-1,3-dihidro-2*H*-benzo[*d*]imidazol-2-on

pimozid

1-[1-[4,4-bis-(*p*-fluorofenil)butil]piperidin-4-il]-1,3-dihidro-2*H*-benzo[*d*]imidazol-2-on

sulpirid

N-((1-etilpirolidin-2-il)metil)-2-metoksi-5-sulfamoilbenzamid

sultoprid

N-[(1-etilpirolidin-2-il)metil]-5-etilsulfonil-2-metoksibenzamid

aripiprazol

7-(4-(4-(2,3-diklorofenil)piperazin-1-il)butoksi)-3,4-dihidrokinolin-2(1*H*)-on

amisulprid

4-amino-*N*-((1-etilpirolidin-2-il)metil)-5-(etilsulfonil)-2-metoksibenzamid

olanzapin

2-metil-4-(4-metilpiperazin-1-il)-10*H*-benzo[*b*]tieno[2,3-*e*][1,4]diazepin

risperidon

3-(2-(4-(6-fluorobenzo[*d*]izoksazol-3-il)piperidin-1-il)etil)-2-metil-6,7,8,9-tetrahidro-4*H*-piridino[1,2-*a*]pirimidin-4-on

paliperidon

3-(2-(4-(6-fluorobenzo[*d*]izoksazol-3-il)piperidin-1-il)etil)-9-hidroksi-2-metil-6,7,8,9-tetrahidro-4*H*-piridino[1,2-*a*]pirimidin-4-on

ziprazidon

5-(2-(4-(benzo[*d*]izotiazol-3-il)piperazin-1-il)etil)-6-kloroindolin-2-on

fluoksetin

N-metil-3-(4-trifluorometilfenoksi)-3-fenilpropilamin

fluvoksamin

5-metoksi-1-[4-(trifluorometil)fenil]pentan-1-on *O*-(2-aminoetil)oksim

trazodon

2-[3-[4-(3-(klorofenil)piperazin-1-il)propil]-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]piridin-3(2*H*)-on

sertralin

4-(3,4-diklorofenil)-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-amin

citalopram

1-[3-(dimetilamino)propil]-1-(4-fluorofenil)-1,3-dihidroizobenzofuran-5-karbonitril

viloksazin

2-[(2-etoksifenoksi)metil]morfolin

paroksetin

3-(1,3-benzodioksol-5-ilmetoksi)-4-(4-fluorofenil)piperidin

tranilcipromin

trans-2-fenilciklopropilamin

moklobemid

4-kloro-*N*-[2-(morfolino)etil]benzamid

meprobamat

2,2-di(karbamoiloksimetil)pentan

hidroksizin

2-(2-{4-[(4-klorofenil)(fenil)metil]piperazin-1-il}etoksi)etan-1-ol

diazepam

7-kloro -1-metil-5-fenil-1,3-dihidro-2*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-2-on

bromazepam

7-bromo-5-(piridin-2-il)-1,3-dihidro-2*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-2-on

oksazepam

7-kloro-3-hidroksi-5-fenil-1,3-dihidro-2*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-2-on

cinolazepam

1-(2-cianoetil)-7-kloro-5-(*o*-fluorofenil)-3-hidroksi-1,3-dihidro-2*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-2-on

lorazepam

7-kloro-5-(*o*-klorofenil)-3-hidroksi-1,3-dihidro-2*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-2-on

medazepam

7-kloro-1-metil-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-1,4-benzo[*e*][1,4]diazepin

midazolam

8-kloro-6-(2-fluorofenil)-1-metil-4*H*-imidazo[1,5-*a*][1,4]benzodiazepin

prazepam

7-kloro-1-(ciklopropilmetil)-5-fenil-1,3-dihidro-2*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-2-on

alprazolam

8-kloro-1-metil-6-fenil-4*H*-[1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]benzodiazepin

kalijev klorazepat

kalijev 7-kloro-2,2-dihidroksi-5-fenil-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-3-karboksilat

flumazenil

etil 8-fluoro-5-metil-6-okso-5,6-dihidro-4*H*-benzo[*f*]imidazo[1,5-*a*][1,4]diazepin-3-karboksilat

klobazam

7-kloro-1-metil-5-fenil-1,5-dihidro-2*H*-benzo[*b*][1,4]diazepin-2,4(3*H*)-dion

2.6.3 Uspavala

metilpentinol

3-metil-1-pentin-3-ol

kloralhidrat

2,2,2-trikloro-1,1-etandiol

etinamat

1-etinilcikloheksil karbamat

klometiazol

5-(2-kloroetil)-4-metiltiazol

fenobarbital

5-etil-5-fenilpirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-trion

metiprilon

3,3-dietil-5-metilpiperidin-2,4-dion

glutetimid

3-etil-3-fenilpiperidin-2,6-dion

talidomid

2-(2,6-dioksopiperidin-3-il)izoindolin-1,3-dion

nitrazepam

7-nitro-5-fenil-1,3-dihidro-2*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin 2-on

flurazepam

7-kloro-1-(2-(diethylamino)etil)-5-(2-fluorofenil)-1,3-dihidro-2*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-2-on

zolpidem

N,N-dimetil-2-[6-metil-2-(4-metilfenil)imidazo[1,2-*a*]piridin-3-il]acetamid

zopiklon

6-(5-kloropiridin-2-il)-7-okso-6,7-dihidro-5*H*-pirolo[3,4-*b*]pirazin-5-il 4-metilpiperazin-1-karboksilat

2.6.4 Lokalni anestetiki

kokain

metil 4-(benzoiloksi)-1-metilpiperidin-3-karboksilat

benzokain

etil 4-aminobenzoat

prokain

2-(dietilamino)etil 4-aminobenzoat

tetrakain

2-(dimetilamino)etil 4-(butilamino)benzoat

metabutetamin

2-(2-metilpropilamino)etil 3-aminobenzoat

klorprokain

2-(dietilamino)etil 4-amino-2-klorobenzoat

prokainamid

4-amino-*N*-[2-(dietilamino)etil]benzamid

lidokain

2-(dietilamino)-*N*-(2,6-dimetilfenil)acetamid
2-dietilamino-2',6'-dimetilacetanilid

bupivakain

1-butyl-*N*-(2,6-dimetilfenil)piperidin-2-karboksamid

etidokain

N-(2,6-dimetilfenil)-2-(etil(propil)amino)butanamid

mepivakain

N-(2,6-dimetilfenil)-1-metilpiperidin-2-karboksamid

artikain

metil 4-metil-3-[2-(propilamino)propanamido]tiofen-2-karboksilat

prilokain

2-(propilamino)-*N*-(2-metilfenil)propanamid

butanilikain

butil 4-aminobenzoat

kinkokain

2-butoksi-*N*-[2-(diethylamino)etil]kinolin-4-karboksamid

ropivakain

N-(2,6-dimetilfenil)-1-propilpiperidin-2-karboksamid

propipokain

3-(piperidin-1-il)-1-(4-propoksifenil)propan-1-on

pramokain

4-[3-(4-butoksifenoksi)propil]morfolin

fomokain

4-[3-[4-(fenoksimetil)fenil]propil]morfolin

2.6.5 Antiepileptiki

fenitoin

5,5-difenilimidazolidin-2,4-dion

etotoin

3-etil-5-fenilimidazolidin-2,4-dion

mefenitoin

5-etil-3-metil-5-fenilimidazolidin-2,4-dion

fosfenitoin

(2,5-diokso-4,4-difenilimidazolidin-1-il)metil dihidrogenfosfat

etosuksimid

3-etil-3-metil-2,5-pirolidindion

fensuksimid

1-metil-3-fenilpirolidin-2,5-dion

mesuksimid

1,3-dimetil-3-fenilpirolidin-2,5-dion

trimetadion

3,5,5-trimetiloksazolidin-2,4-dion

parametadion

3,5-dimetil-5-etiloksazolidin-2,4-dion

etadion

3-etil-5,5-dimetiloksazolidin-2,4-dion

natrijev valproat

natrijev 2-propilpentanoat

vigabatrin

4-amino-5-heksenojska kislina

baklofen

4-amino-3-(4-klorofenil)butanojska kislina

valpromid

2-propilpentanamid

progabid

4-(((4-klorofenil)(5-fluoro-2-hidroksifenil)metilen)amino)butanamid

tiagabin

1-(4,4-bis(3-metiltiofen-2-il)but-3-en-1-il)piperidin-3-karboksilna kislina

karbamazepin

5*H*-dibenzp[*b,f*]azepin-5-karboksamid

okskarbazepin

10-okso-10,11-dihidro-5*H*-dibenzo[*b,f*]azepin-5-karboksamid

rufinamid

1-(2,6-difluorobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karboksamid

lamotrigin

6-(2,3-diklorofenil)-1,2,4-triazin-3,5-diamin

sultiam

2-(*p*-aminosulfonilfenil)perhidro-1,2-tiazin-*S,S*-dioksid

2.6.6 Simpatomimetiki in simpatolitiki

Nekatere zdravilne učinkovine v tem in naslednjih poglavjih imajo v svoji strukturi enega ali več kiralnih centrov. Kljub temu, da je poimenovanje stereogenih centrov s Cahn–Ingold–Prelogovimi prioritetskimi pravili (*R* ali *S*) pri zdravilnih učinkovinah izjemnega pomena, so zaradi poenostavitve vse spojine poimenovane kot racemati.

adrenalin

α -(3,4-dihidroksifenil)- β -metilaminoetanol
4-[1-hidroksi-2-(metilamino)etil]benzen-1,2-diol

noradrenalin

α -(3,4-dihidroksifenil)- β -aminoetanol
4-(2-amino-1-hidroksietil)benzen-1,2-diol

oksedrin

4-hidroksi- α -[(metilamino)metil]benzilni alkohol

norfenefrin

α -(aminometil)-*m*-hidroksibenzilni alkohol

dipivefrin

4-(1-hidroksi-2-(metilamino)etil)-1,2-fenilen bis(2,2-dimetilpropanoat)

nafazolin

4,5-dihidro-2-(1-naftilmetil)-1*H*-imidazol

tetrizolin

4,5-dihidro-2-(1,2,3,4-tetrahidro-1-naftil)-1*H*-imidazol

ksilometazolin

4,5-dihidro-2-(4-*terc*-butil-2,6-dimetilbenzil)-1*H*-imidazol

oksimetazolin

3-[(4,5-dihidro-1*H*-imidazol-2-il)metil]-6-(1,1-dimetiletil)-2,4-dimetilfenol

klonidin

N-(2,6-diklorofenil)imidazolidin-2-imin

tizanidin

5-kloro-*N*-(4,5-dihidro-1*H*-imidazol-2-il)benzo[*c*][1,2,5]tiadiazol-4-amin

apraklonidin

3,5-dikloro-4-(imidazolidin-2-ilidenamino)anilin

brimonidin

5-bromo-*N*-(4,5-dihidro-1*H*-imidazol-2-il)kinoksalin-6-amin

moksonidin

4-chloro-*N*-(4,5-dihidro-1*H*-imidazol-2-il)-6-metoksi-2-metilpirimidin-5-amin

tolonidin

N-(2-kloro-4-metilfenil)-4,5-dihidro-1*H*-imidazol-2-amin

gvanabenz

2-(2,6-diklorobenziliden)hidrazin-1-karboksimidamid

gvanfacin

N-karbamimidoil-2-(2,6-diklorofenil)acetamid

izoprenalin

4-[1-hidroksi-2-[(1-metiletil)amino]etil]benzen-1,2-diol

orciprenalin

3,5-dihidroksi- α -[(izopropilamino)metil]benzilni alkohol

fenoterol

5-(1-hidroksi-2-((1-(4-hidroksifenil)propan-2-il)amino)etil)benzen-1,3-diol

salmeterol

5-(1-hidroksi-2-((6-(4-fenilbutoksi)heksil)amino)etil)-2-(hidroksimetil)fenol

prokaterol

8-hidroksi-5-[1-hidroksi-2-[(1-metiletil)amino]butil]kinolin-2-(1*H*)-on

salbutamol

2-(1,1-dimetiletil)amino-1-[4-hidroksi-3-(hidroksimetil)fenil]etanol

albuterol

4-(2-(*terc*-butilamino)-1-hidroksietil)-2-(hidroksimetil)fenol

bitolterol

4-(2-(*terc*-butilamino)-1-hidroksietil)-1,2-fenilen bis(4-metilbenzoat)

kolterol

4-(2-(*terc*-butilamino)-1-hidroksietil)benzen-1,2-diol

formoterol

N-(2-hidroksi-5-(1-hidroksi-2-((1-(4-metoksifenil)propan-2-il)amino)etil)fenil)formamid

etilefrin

α -[(etilamino)metil]-*m*-hidroksibenzilni alkohol

amfetamin

1-fenilpropan-2-amin

mefentermin

N,2-dimetil-1-fenilpropan-2-amin

tolazolin

2-benzil-4,5-dihidro-1*H*-imidazol

fenolamin

3-[[[4,5-dihidro-1*H*-imidazol-2-il)metil](4-metilfenil)amino]fenol

fenoksibenzamin

N-(2-kloroetil)-*N*-(1-metil-2-fenoksietil)benzilamin

prazosin

1-(4-amino-6,7-dimetoksi-2-kinazolinil)-4-(2-furanoil)piperazin

doksazosin

1-(4-amino-6,7-dimetoksi-2-kinazolinil)-4-[(2,3-dihidro-1,4-benzodioksin-2-il)karbonil]piperazin

terazosin

1-(4-amino-6,7-dimetoksi-2-kinazolinil)-4-[(tetrahidro-2-furanyl)karbonil]piperazin

alfuzosin

N-[3-[(4-amino-6,7-dimetoksikinazolin-2-il)(metil)amino]propil]tetrahidrofuran-2-karboksamid

urapidil

6-({3-[4-(2-metoksifenil)piperazin-1-il]propil} amino)-1,3-dimetilpirimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion

trazodon

2-(3-(4-(3-klorofenil)piperazin-1-il)propil)[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]piridin-3(2*H*)-on

tamsulozin

5-[2-[[2-(2-etoksifenoksi)etil]amino]propil]-2-metoksibenzenesulfonamid

silodozin

1-(3-hidroksipropil)-5-(2-((2-(2,2,2-trifluoroetoksi)fenoksi)etil)amino)propil)indolin-7-karboksamid

atipamezol

4-(2-etil-2,3-dihidro-1*H*-inden-2-il)-1*H*-imidazol

oksprenolol

1-[(1-metiletil)amino]-3-[2-(2-propeniloksi)fenoksi]propan-2-ol

atenolol

2-[4-(2-hidroksi-3-(izopropilamino)propoksi)fenil]acetamid

metoprolol

1-(izopropilamino)-3-[4-(2-metoksietil)fenoksi]propan-2-ol

betaksolol

1-[4-[2-(ciklopropilmetoksi)etil]fenoksi]-3-[(1-metiletil)amino]propan-2-ol

sotalol

N-[4-[1-hidroksi-2-[(1-metiletil)amino]etil]fenil]metansulfonamid

metipranolol

4-(2-hidroksi-3-(izopropilamino)propoksi)-2,3,6-trimetilfenil acetat

propranolol

1-(izopropilamino)-3-(1-naftiloksi)propan-2-ol

pindolol

1-[(1*H*-indol-4-il)oksi]-3-(izopropilamino)propan-2-ol

acebutolol

N-[3-acetil-4-[2-hidroksi-3-[(1-metiletil)amino]propoksi]fenil]butanamid

bisoprolol

1-(4-((2-izopropoksietoksi)metil)fenoksi)-3-(izopropilamino)propan-2-ol

esmolol

metil 3-(4-(2-hidroksi-3-(izopropilamino)propoksi)fenil)propanoat

penbutolol

1-(*terc*-butilamino)-3-(2-ciklopentilfenoksi)propan-2-ol

celiprolol

N'-[3-acetil-4-[3-[(1,1-dimetiletil)amino]-2-hidroksipropoksi]fenil]-*N,N*-dietilsečnina

bupranolol

1-(2-kloro-5-metilfenoksi)-3-(*terc*-butilamino)propan-2-ol

timolol

1-(*terc*-butilamino)-3-[(4-morfolin-4-il-1,2,5-tiadiazol-3-il)oksi]-2-propanol

karteolol

5-(3-(*terc*-butilamino)-2-hidroksipropoksi)-3,4-dihidrokinolin-2(1*H*)-on

nadolol

5-(3-(*terc*-butilamino)-2-hidroksipropoksi)-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-2,3-diol

butoksamin

2-(*terc*-butilamino)-1-(2,5-dimetoksifenil)propan-1-ol

levobunolol

5-[3-(*terc*-butilamino)-2-hidroksipropoksi]-3,4-dihidronaftalen-1(2*H*)-on

bucindolol

2-(3-((1-(1*H*-indol-3-il)-2-metilpropan-2-il)amino)-2-hidroksipropoksi)benzoni-tril

labetalol

2-hidroksi-5-(1-hidroksi-2-((4-fenilbutan-2-il)amino)etil)benzamid

2.6.7 Parasimpatomimetiki in parasimpatolitiki

karbahol

2-[(aminokarbonil)oksi]-*N,N,N*-trimetiletilamonijev klorid

betanehol

2-[(aminokarbonil)oksi]-*N,N,N*-trimetil-1-propilamonijev klorid

pilokarpin

3-etil-4-[(1-metil-1*H*-imidazol-5-il)metil]-4,5-dihidrofuran-2(3*H*)-on

dipivefrin

4-(1-hidroksi-2-(metilamino)etil)-1,2-fenilen bis(2,2-dimetilpropanoat)

nikotin

3-(1-metilpirolidin-2-il)piridin

neostigminijev bromid

3-[[dimetilamino]karbonil]oksi]-*N,N,N*-trimetilbenzenamonijev bromid

piridostigminijev bromid

3-((dimetilkarbamoil)oksi)-1-metilpiridin-1-ijev bromid

rivastigmin

3-[1-(dimetilamino)etil]fenil etil(metil)karbamat

takrin

1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-amin

donepezil

5,6-dimetoksi-2-[(1-benzilpiperidin-4-il)metil]-2,3-dihidro-1*H*-inden-1-on

cisaprid

4-amino-5-kloro-*N*-(1-(3-(4-fluorofenoksi)propil)-3-metoksipiperidin-4-il)-2-metoksibenzamid

domperidon

5-kloro-1-(1-(3-(2-okso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)propil)piperidin-4-il)-1,3-dihidro-2*H*-benzo[*d*]imidazol-2-on

metoklopramid

4-amino-5-kloro-*N*-(2-(diethylamino)etil)-2-metoksibenzamid

atropin

8-metil-8-azabicyklo[3.2.1]okt-3-il 2-hidroksimetil-2-fenilacetat

benzatropin

3-(difenilmetiloksi)-8-metil-8-azabicyklo[3.2.1]oktan

ipratropijev bromid

3-((3-hidroksi-2-fenilpropanoil)oksi)-8-izopropil-8-metil-8-azabicyklo[3.2.1]oktan-8-ijev bromid

papaverin

1-[(3,4-dimetoksifenil)metil]-6,7-dimetoksiizokinolin

moksaverin

1-benzil-3-etil-6,7-dimetoksiizokinolin

mebeverin

4-(etil(1-(4-metoksifenil)propan-2-il)amino)butil 3,4-dimetoksibenzoat

piperidolat

1-etilpiperidin-3-il 2,2-difenilacetat

difemerin

1-(dimetilamino)-2-metilpropan-2-il 2-hidroksi-2,2-difenilacetat

diheksiverin

2-(piperidin-1-il)etil [1,1'-bi(cikloheksan)]-1-karboksilat

dicikloverin

2-(dietilamino)etil [1,1'-bi(cikloheksan)]-1-karboksilat

rociverin

1-(dietilamino)propan-2-il 1-hidroksi-[1,1'-bi(cikloheksan)]-2-karboksilat

trimebutin

2-(dimetilamino)-2-fenilbutil 3,4,5-trimetoksibenzoat

kamilofin

3-metilbutil 2-((2-(dietilamino)etil)amino)-2-fenilacetat

oksifenciklimin

(1-metil-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)metil 1-hidroksi-[1,1'-bi(cikloheksan)]-2-karboksilat

drofenin

2-(dietilamino)etil 2-cikloheksil-2-fenilacetat

oksibutinin

4-(dietilamino) but-2-in-1-il α -cikloheksil- α -hidroksifenilacetat

2.6.8 Antagonisti kalcijevih kanalov

nifedipin

dimetil 2,6-dimetil-4-(*o*-nitrofenil)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat

nikardipin

3-metil 5-[2-[metil(benzil)amino]etil] 2,6-dimetil-4-(3-nitrofenil)-1,4-dihidro-piridin-3,5-dikarboksilat

nimodipin

3-izopropil 5-(2-metoksietil) 2,6-dimetil-4-(3-nitrofenil)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat

nitrendipin

3-etil 5-metil 2,6-dimetil-4-(3-nitrofenil)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat

amlodipin

3-etil 5-metil 2-((2-aminoetoksi)metil)-4-(2-klorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat

isradipin

3-izopropil 5-metil 4-(benzo[*c*][1,2,5]oksadiazol-4-il)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat

aranidipin

3-metil 5-(2-oksopropil) 2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat

azelnidipin

3-(1-difenilaminoazetid-3-il) 5-izopropil 2-amino-6-metil-4-(3-nitrofenil)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat

barnidipin

3-(1-benzilpirolidin-3-il) 5-metil 2,6-dimetil-4-(3-nitrofenil)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat

verapamil

α -[3-[*N*-[2-(3,4-dimetoksifenil)etil] metilamino]propil]-3,4-dimetoksi- α -(1-metiletil)benzenacetoni-tril

galopamil

α -[3-[*N*-[2-(3,4-dimetoksifenil)etil]metilamino]propil]-3,4,5-trimetoksi- α -(1-metiletil)benzenacetoni-tril

diltiazem

5-(2-(dimetilamino)etil)-2-(4-metoksifenil)-4-okso-2,3,4,5-tetrahidrobenzo[*b*][1,4]tiazepin-3-il acetat

2.6.9 Zaviralci angiotenzin-konvertaze

kaptopril

1-(3-merkaptio-2-metilpropanoil)pirolidin-2-karboksilna kislina

enalapril

1-[*N*-[1-(etoksikarbonil)-3-fenilpropil]alanil]prolin

lizinopril

1-(6-amino-2-{[1-karboksi-3-fenilpropil]amino}heksanoil)-2-pirolidinkarboksilna kislina

trandolapril

1-(2-{[1-(etoksikarbonil)-3-fenilpropil]amino}propanoil)oktahidro-1*H*-indol-2-karboksilna kislina

cilazapril

9-[[1-(etoksikarbonil)-3-fenilpropil]amino]-10-oksooktahidro-6*H*-piridazino[1,2-*a*][1,2]diazepin-1-karboksilna kislina

ramipril

1-(2-{[-1-(etoksikarbonil)-3-fenilpropil]amino}propanoil)oktahidrociklopenta[*b*]pirol-2-karboksilna kislina

fosinopril

4-cikloheksil-1-{2-[[2-metil-1-(propioniloksi)propoksi](4-fenilbutil)fosforil]acetil}pirolidin-2-karboksilna kislina

perindopril

1-(2-{[1-(etoksikarbonil)butil]amino}propanoil)oktahidro-1*H*-indol-2-karboksilna kislina

zofenopril

1-(3-(benzoiltio)-2-metilpropanoil)-4-(feniltio)pirolidin-2-karboksilna kislina

kinapril

2-((1-etoksi-1-okso-4-fenilbutan-2-il)-*L*-alanil)-1,2,3,4-tetrahidroisokinolin-3-karboksilna kislina

benazepril

2-(3-((1-etoksi-1-okso-4-fenilbutan-2-il)amino)-2-okso-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*b*]azepin-1-il)ocetna kislina

imidapril

3-((1-etoksi-1-okso-4-fenilbutan-2-il)-*L*-alanil)-1-metil-2-oksoimidazolidine-4-karboksilna kislina

2.6.10 Diuretiki

acetazolamid

5-acetamido-1,3,4-tiadiazol-2-sulfonamid

diklofenamid

4,5-diklorobenzen-1,3-disulfonamid

brinzolamid

4-(etilamino)-2-(3-metoksipropil)-3,4-dihidro-2*H*-tieno[3,2-*e*][1,2]tiazin-6-sulfonamid 1,1-dioksid

dorzolamid

4-(etilamino)-6-metil-5,6-dihidro-4*H*-tieno[2,3-*b*]tiopiran-2-sulfonamid 7,7-dioksid

metazolamid

N-(3-metil-5-sulfamoil-1,3,4-tiadiazol-2(3*H*)-iliden)acetamid

hidroklorotiazid

6-kloro-3,4-dihidro-2*H*-benzo[*e*][1,2,4]tiadiazin-7-sulfonamid 1,1-dioksid

politiazid

6-kloro-2-metil-3-(((2,2,2-trifluoroetil)tio)metil)-3,4-dihidro-2*H*-benzo[*e*][1,2,4]tiadiazin-7-sulfonamid 1,1-dioksid

bendroflumetiazid

3-benzil-6-(trifluorometil)-3,4-dihidro-2*H*-benzo[*e*][1,2,4]tiadiazin-7-sulfonamid 1,1-dioksid

hidroflumetiazid

6-(trifluorometil)-3,4-dihidro-2*H*-benzo[*e*][1,2,4]tiadiazin-7-sulfonamid 1,1-dioksid

klorotiazid

6-kloro-2*H*-benzo[*e*][1,2,4]tiadiazin-7-sulfonamid 1,1-dioksid

triklormetiazid

6-kloro-3-(diklorometil)-3,4-dihidro-2*H*-benzo[*e*][1,2,4]tiadiazin-7-sulfonamid 1,1-dioksid

ciklopentiazid

6-kloro-3-(ciklopentilmetil)-3,4-dihidro-2*H*-benzo[*e*][1,2,4]tiadiazin-7-sulfonamid 1,1-dioksid

metiklotiazid

6-kloro-3-(klorometil)-2-metil-3,4-dihidro-2*H*-benzo[*e*][1,2,4]tiadiazin-7-sulfonamid 1,1-dioksid

ciklotiazid

3-(biciklo[2.2.1]hept-5-en-2-il)-6-kloro-3,4-dihidro-2*H*-benzo[*e*][1,2,4]tiadiazin-7-sulfonamid 1,1-dioksid

mebutizid

6-kloro-3-(3-metilpentan-2-il)-3,4-dihidro-2*H*-benzo[*e*][1,2,4]tiadiazin-7-sulfonamid 1,1-dioksid

klopamid

4-kloro-*N*-(2,6-dimetilpiperidin-1-il)-3-sulfamoilbenzamid

klortalidon

2-kloro-5-(1-hidroksi-2,3-dihidro-3-oksoizoindol-1-il)benzensulfonamid

indapamid

3-(aminosulfonil)-4-kloro-*N*-(2,3-dihidro-2-metil-(1*H*)-indol-1-il)benzamid

ksipamid

5-(aminosulfonil)-4-kloro-*N*-(2,6-dimetilfenil)-2-hidroksibenzamid

furosemid

5-(aminosulfonil)-4-kloro-2-((furan-2-ilmetil)amino)benzojska kislina

bumetanid

3-(aminosulfonil)-5-(butilamino)-4-fenoksibenzojska kislina

etozolin

etil 2-[3-metil-4-okso-5-(piperidin-1-il) tiazolidin-2-iliden]acetat

etakrinska kislina

2-[2,3-dikloro-4-(2-metilenbutanoil)fenoksi]ocetna kislina

torasemid

N-(izopropilkarbamoil)-4-(*m*-tolilamino)piridin-3-sulfonamid

amilorid

N-amidino-3,5-diamino-6-kloropirazin-2-karboksamid

triamteren

6-fenilpteridin-2,4,7-triamin

2.6.11 β -Laktamski antibiotiki

ampicilin

6-(2-amino-2-fenilacetamido)-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabiciklo[3.2.0]heptan-2-karboksilna kislina

amoksicilin

6-[2-amino-2-(*p*-hidroksifenil)acetamido]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabiciklo[3.2.0]heptan-2-karboksilna kislina

piperacilin

6-(2-(4-etil-2,3-dioksopiperazin-1-karboksamido)-2-fenilacetamido)-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboksilna kislina

karbenicilin

6-[2-karboksi-2-fenilacetamido]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboksilna kislina

kloksacilin

6-([3-(2-klorofenil)-5-metilizoksazolil]karbonil)amino)-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboksilna kislina

temocilin

6-{[2-karboksi-2-(tiofen-3-il)acetil]amino}-6-metoksi-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboksilna kislina

pivampicilin

(pivaloiloksi)metil 6-(2-amino-2-fenilacetamido)-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboksilat

bakampicilin

1-((etoksikarbonil)oksi)etil 6-(2-amino-2-fenilacetamido)-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboksilat

azlocilin

3,3-dimetil-7-okso-6-(2-(2-oksoimidazolidin-1-karboksamido)-2-fenilacetamido)-4-tia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboksilna kislina

hetacilin

6-[2,2-dimetil-5-okso-4-fenilimidazolidin-1-il]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboksilna kislina

benzilpenicilin

3,3-dimetil-7-okso-6-(2-fenilacetamido)-4-tia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboksilna kislina

fenoksimetilpenicilin

3,3-dimetil-7-okso-6-[(fenoksiacetil)amino]-4-tia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboksilna kislina

propicilin

3,3-dimetil-7-okso-6-(2-fenoksibutanamido)-4-tia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboksilna kislina

azidocilin

6-(2-azido-2-fenilacetamido)-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboksilna kislina

feneticilin

3,3-dimetil-7-okso-6-(2-fenoksipropanamido)-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-karboksilna kislina

dikloksacilin

6-(3-(2,6-diklorofenil)-5-metilizoksazol-4-karboksamido)-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-karboksilna kislina

meticilin

6-(2,6-dimetoksibenzamido)-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-karboksilna kislina

flukloksacilin

6-(3-(2-kloro-6-fluorofenil)-5-metilizoksazol-4-karboksamido)-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-karboksilna kislina

sulbaktam

3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-karboksilna kislina 4,4-dioksid

tazobaktam

3-((1*H*-1,2,3-triazol-1-il)metil)-3-metil-7-okso-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-karboksilna kislina 4,4-dioksid

klavulanska kislina

3-(2-hidroksietiliden)-7-okso-4-oksa-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-karboksilna kislina

cefazolin

7-(2-(1*H*-tetrazol-1-il)acetamido)-3-(((5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il)tio)metil)-8-okso-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilna kislina

cefaleksin

7-[(2-amino-2-fenilacetil)amino]-3-metil-8-okso-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]okt-2-en-karboksilna kislina

cefuroksim

3-((karbamoiloksi)metil)-7-(2-(furan-2-il)-2-(metoksimino)acetamido)-8-okso-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilna kislina

cefaklor

7-(2-amino-2-fenilacetamido)-3-kloro-8-okso-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilna kislina

cefprozil

7-(2-amino-2-(4-hidroksifenil)acetamido)-8-okso-3-(prop-1-en-1-il)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilat

ceftazidim

7-(2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(((2-karboksipropan-2-il)oksi)imino)acetamido)-8-okso-3-(piridin-1-ijev-1-ilmetil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilat

cefotaksim

3-[(acetiloksi)metil]-7-[2-(2-amino-1,3-tiazol-4-il)-2-(metoksiimino)acetil]amino}-8-okso-5-tia-1-azabicyklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilna kislina

ceftriakson

7-(2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(metoksimino)acetamido)-3-(((2-metil-5,6-dioksa-1,2,5,6-tetrahidro-1,2,4-triazin-3-il)tio)metil)-8-okso-5-tia-1-azabicyklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilna kislina

cefiksim

7-(2-(2-aminotiazol-4-il)-2-((karboksimetoksi)imino)acetamido)-8-okso-3-vinil-5-tia-1-azabicyklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilna kislina

cefepim

7-(2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(metoksimino)acetamido)-3-((1-metilpirolidin-1-ijev-1-il)metil)-8-okso-5-tia-1-azabicyklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilat

cefprozopran

7-(2-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-(metoksimino)acetamido)-3-(imidazo[1,2-*b*]piridazin-1-ijev-1-ilmetil)-8-okso-5-tia-1-azabicyklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilat

2.6.12 Sintezni kemoterapevtiki

klopramfenikol

2,2-dikloro-*N*-(1,3-dihidroksi-1-(4-nitrofenil)propan-2-il)acetamid

sulfacetamid

N-[(4-aminofenil)sulfonyl]acetamid

sulfagvanidin

4-amino-*N*-(aminoiminometil)benzensulfonamid

sulfametoksazol

4-amino-*N*-(5-metilizoksazol-3-il)benzensulfonamid

sulfasalazin

2-hidroksi-5-(2-{4-[(2-piridinilamino)sulfonyl]fenil} diazenil)benzojska kislina

sulfafurazol

4-amino-*N*-(3,4-dimetilizoksazol-5-il)benzensulfonamid

sulfatiazol

4-amino-*N*-(2-tiazolil)benzensulfonamid

sulfametrol

4-amino-*N*-(4-metoksi-1,2,5-tiadiazol-3-il)benzensulfonamid

sulfametoksipiridazin

4-amino-*N*-(6-metoksipiridazin-3-il) benzensulfonamid

trimetoprim

5-(3,4,5-trimetoksibenzil)pirimidin-2,4-diamin

brodimoprim

5-(4-bromo-3,5-dimetoksibenzil)pirimidin-2,4-diamin

ciprofloksacin

1-ciklopropil-6-fluoro-4-okso-7-(piperazin-1-il)-1,4-dihidrokinolin-3-karboksilna kislina

norfloksacin

1-etil-6-fluoro-4-okso-7-(piperazin-1-il)-1,4-dihidrokinolin-3-karboksilna kislina

pefloksacin

1-etil-6-fluoro-7-(4-metilpiperazin-1-il)-4-okso-1,4-dihidrokinolin-3-karboksilna kislina

nalidiksna kislina

1-etil-1,4-dihidro-7-metil-4-okso-1,8-naftiridin-3-karboksilna kislina

pipemidna kislina

8-etil-5,8-dihidro-5-okso-2-(1-piperazinil)pirido[2,3- δ]pirimidin-6-karboksilna kislina

cinoksacin

1-etil-6,7-metilendioksi-4(1*H*)-oksocinolin-3-karboksilna kislina

levofloksacin

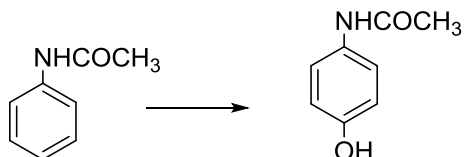
9-fluoro-3-metil-10-(4-metilpiperazin-1-il)-7-okso-2,3-dihidro-7*H*-[1,4]oksazino[2,3,4-*ij*]kinolin-6-karboksilna kislina

3. KEMIZEM METABOLIČNIH REAKCIJ

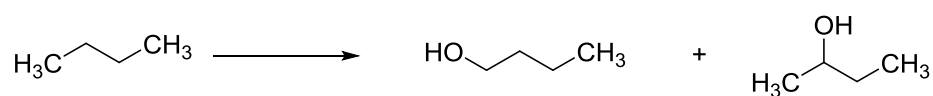
3.1 METABOLIČNE REAKCIJE I. FAZE

3.1.1 Oksidacije

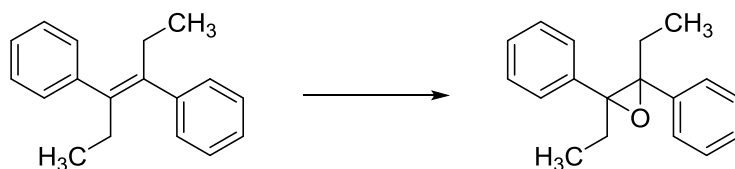
3.1.1.1 Hidroksiliranje aromatskega obroča



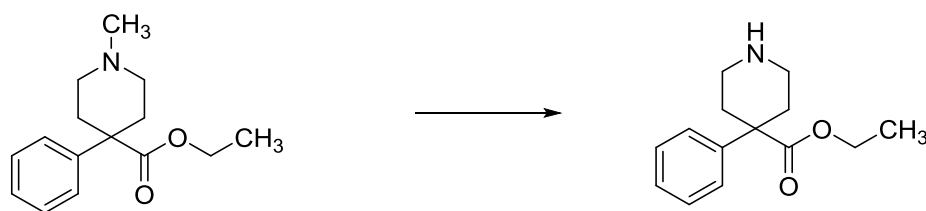
3.1.1.2 Oksidacija stranske verige



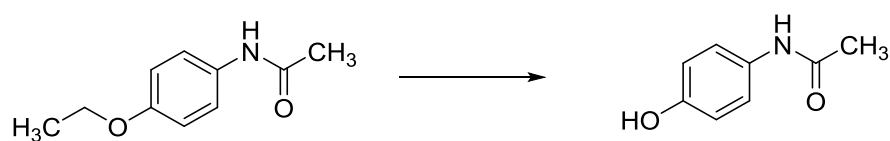
3.1.1.3 Oksidacija dvojne vezi



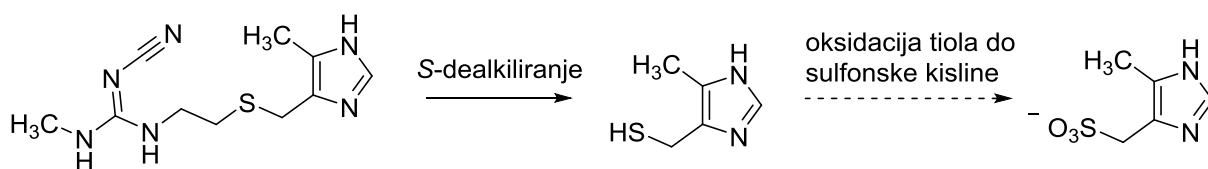
3.1.1.4 N-dealkiliranje



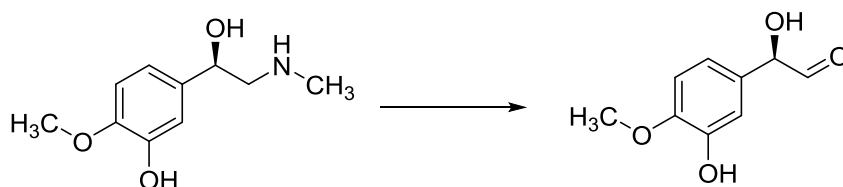
3.1.1.5 O-dealkiliranje



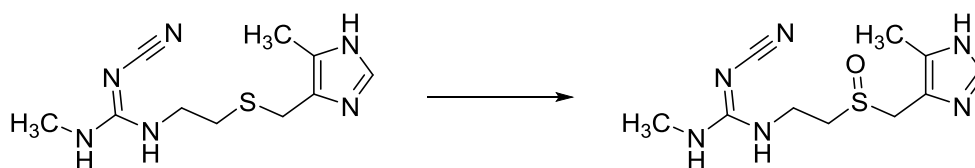
3.1.1.6 S-dealkiliranje



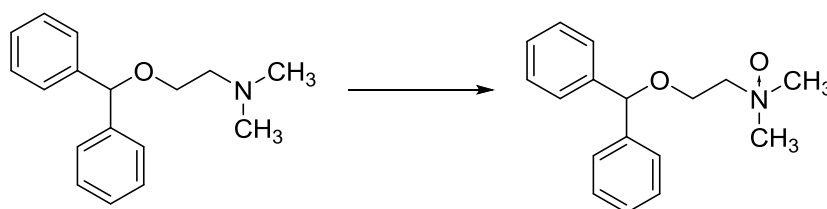
3.1.1.7 Oksidativno deaminiranje



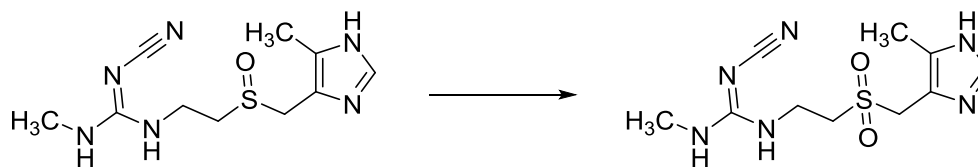
3.1.1.8 Sulfoksidiranje



3.1.1.9 N-oksidacija



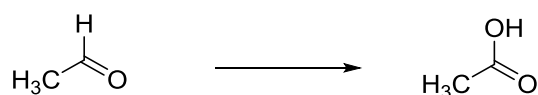
3.1.1.10 Oksidacija sulfinov do sulfonov



3.1.1.11 Oksidacija alkoholov

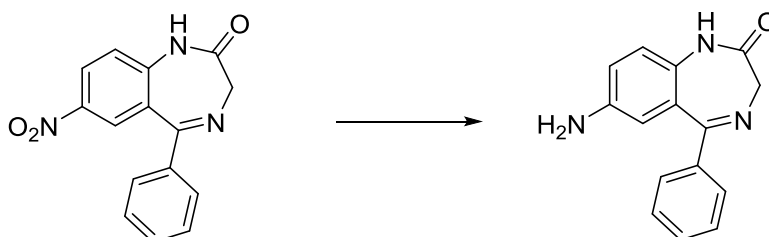


3.1.1.12 Oksidacija aldehydov

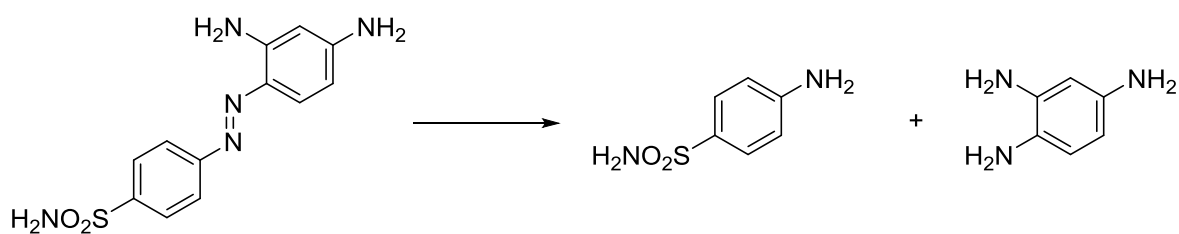


3.1.2. Redukcije

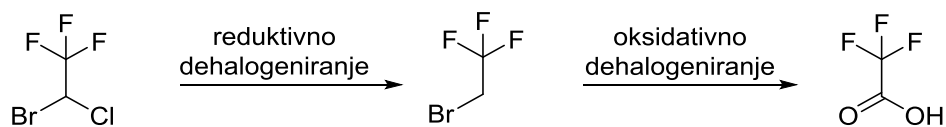
3.1.1.13 Redukcija nitro skupine



3.1.1.14 Redukcija azo skupine

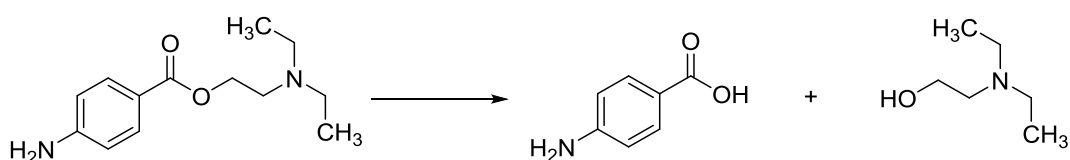


3.1.1.15 Dehalogeniranje

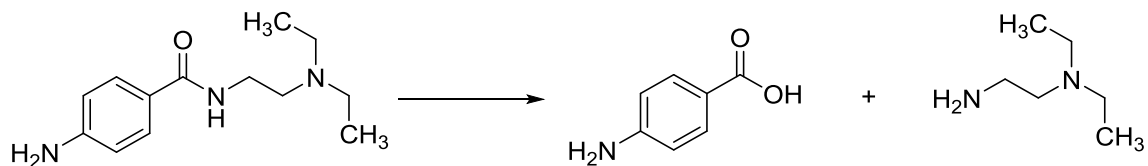


3.1.2 Hidrolize

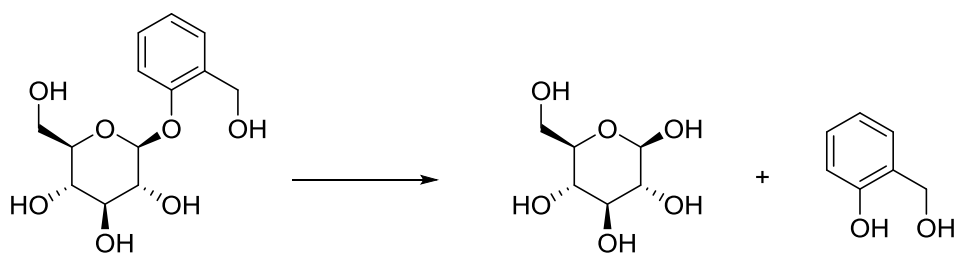
3.1.1.16 Hidroliza estrov



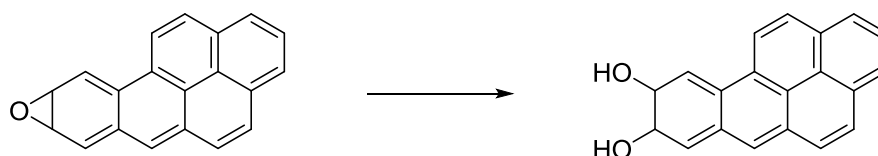
3.1.1.17 Hidroliza amidov



3.1.1.18 Hidroliza glikozidov

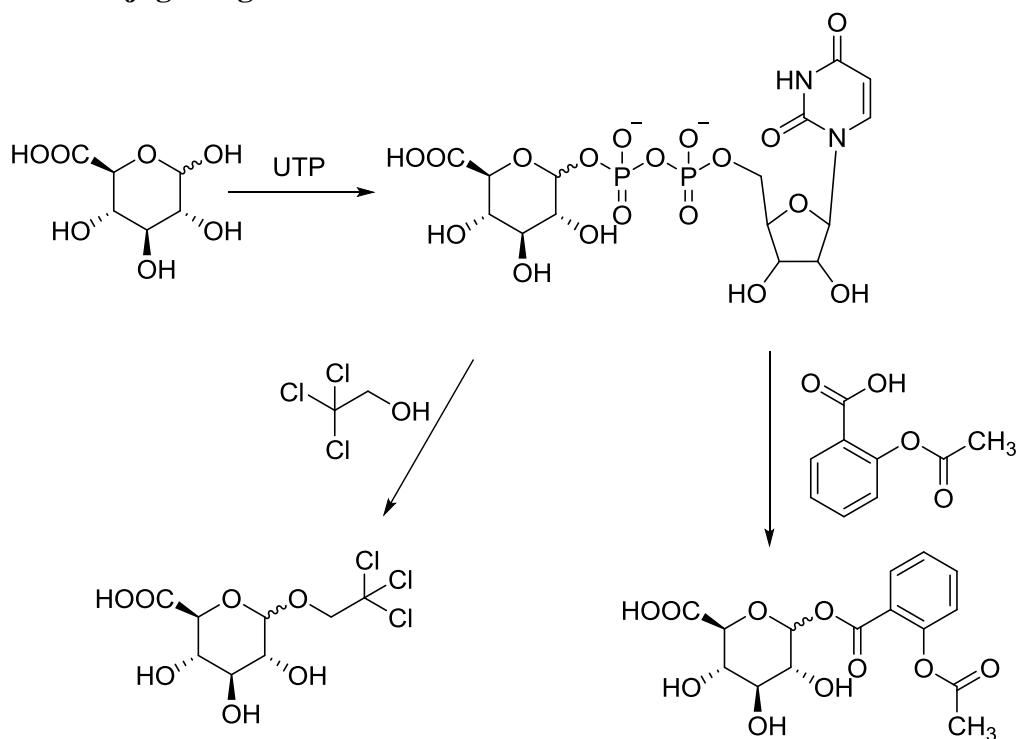


3.1.1.19 Hidroliza oksiranov

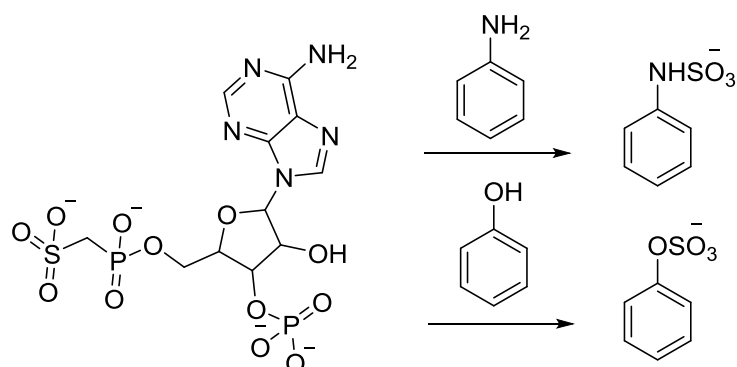


3.2 METABOLIČNE REAKCIJE II. FAZE

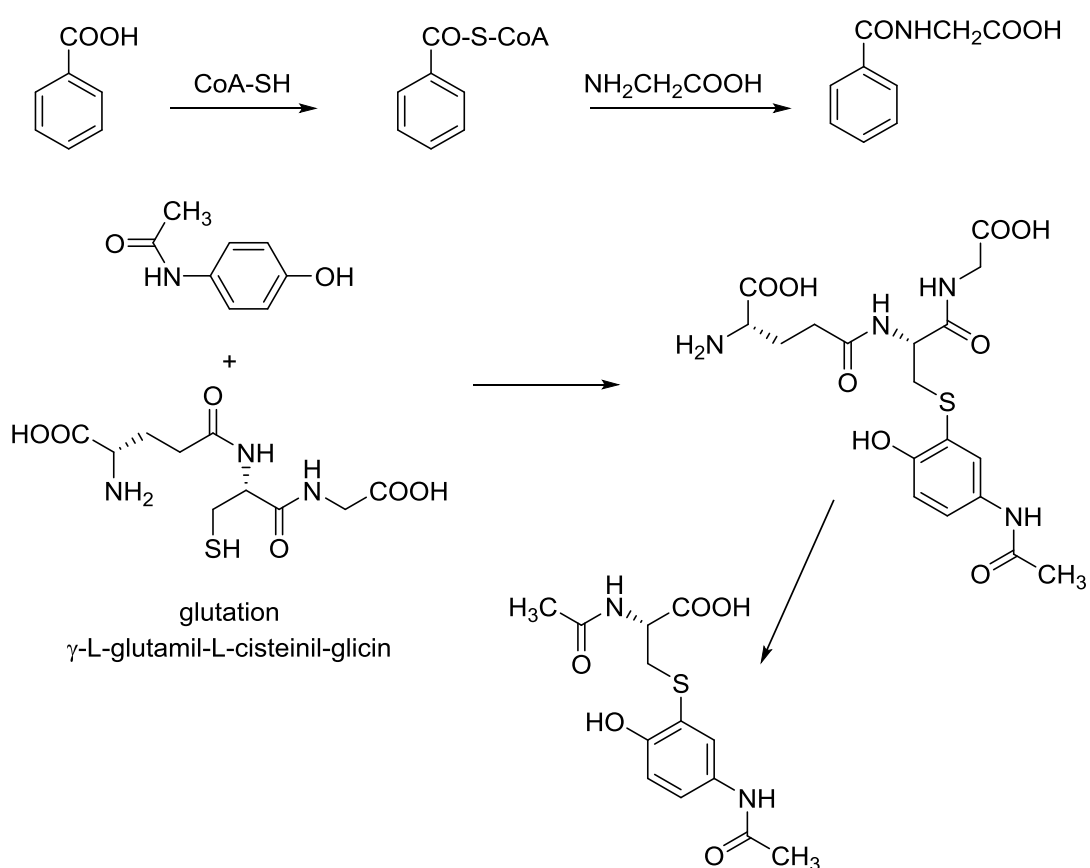
3.1.1 Konjugati z glukuronsko kislino



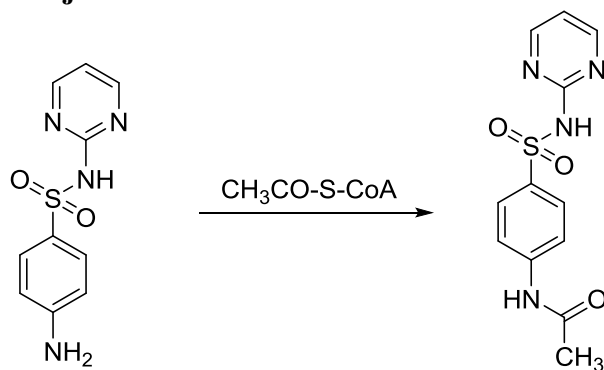
3.2.2 Konjugati z aktiviranim sulfatom



3.2.3 Konjugati z aminokislinami

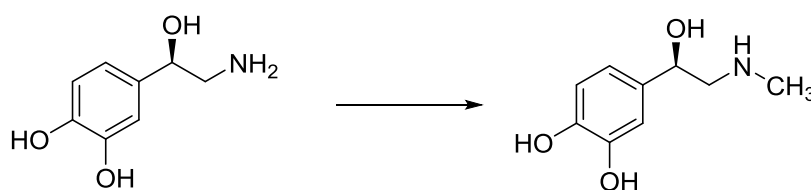


3.2.4 Acetiliranje

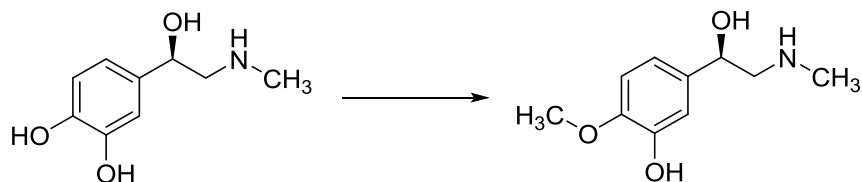


3.2.5 Metiliranje

3.1.1.20 N-metiliranje



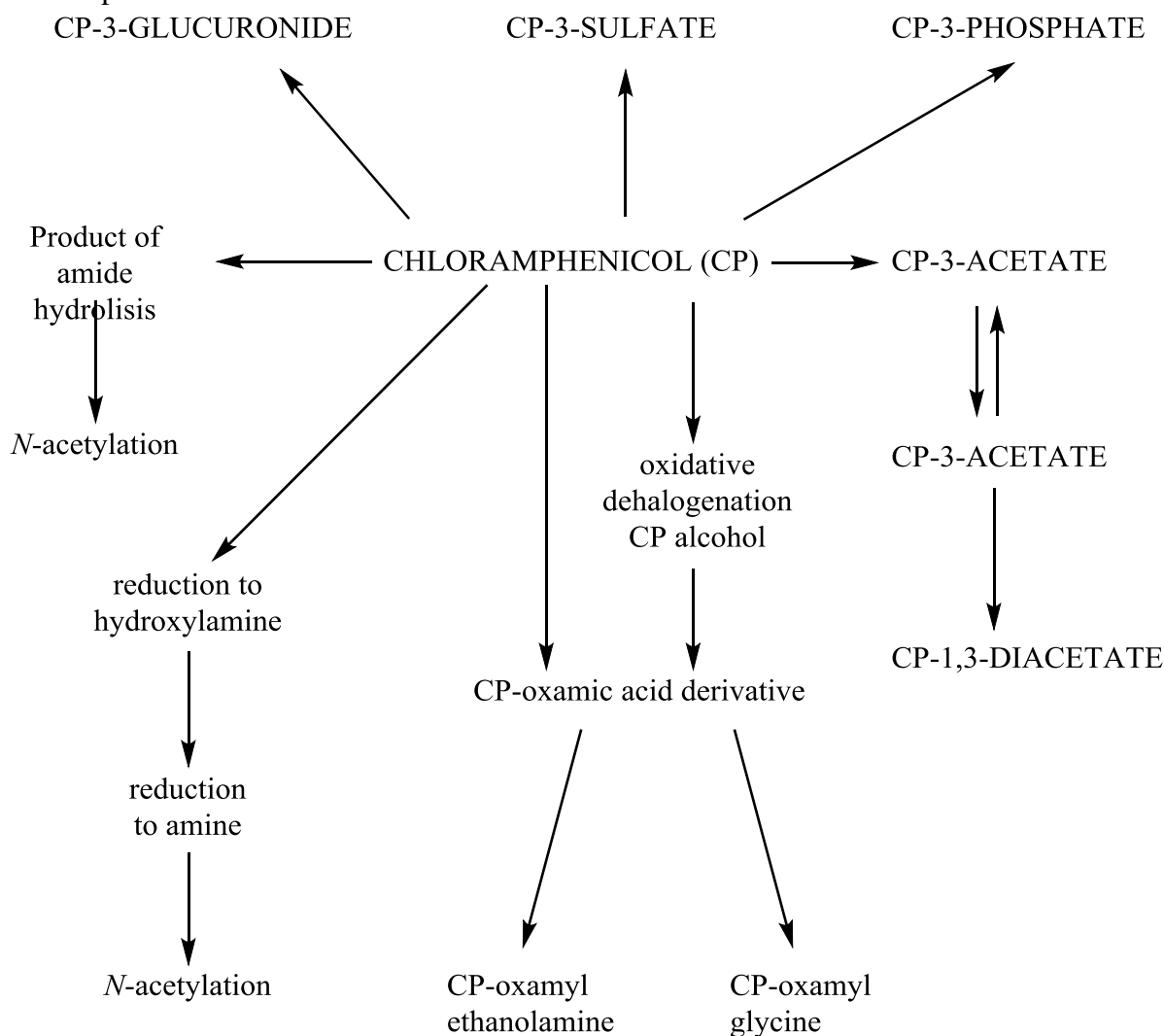
3.1.1.21 O-metiliranje



3.3 METABOLISM OF CHLORAMPHENICOL

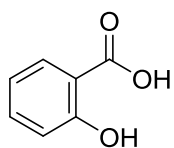
Chloramphenicol is an antibiotic with a relatively simple structure. Therefore it is obtained synthetically rather than by fermentation. Due to high toxicity its use is restricted to microorganisms that cannot be well controlled by other antibiotics. It binds to the 50 S subunit of bacterial ribosome and inhibits the peptide-bond formation in the process of translation.

1. Draw the structure of chloramphenicol (**2,2-dichloro-N-[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)-2-(4-nitrophenyl)ethyl]acetamide**)
2. Which functional groups in chloramphenicol are rather unusual in drugs?
3. Below is presented the list of all metabolites found in human plasma and urine after the intravenous application of chloramphenicol. Draw their structures! CP stands for chloramphenicol.

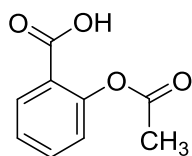


4 REŠITVE

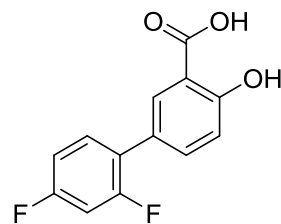
4.1 ANALGETIKI



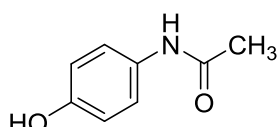
salicilna kislina



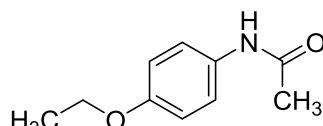
acetilsalicilna kislina



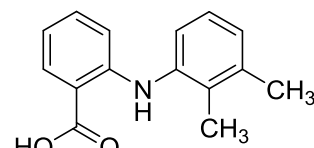
diflunisal



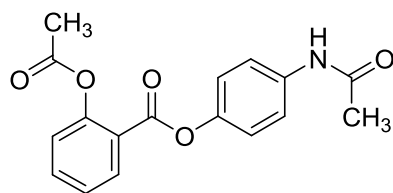
paracetamol



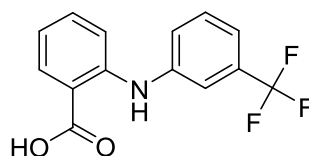
fenacetin



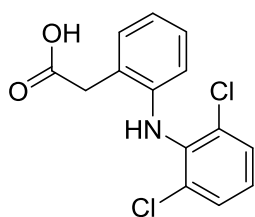
mefenaminska kislina



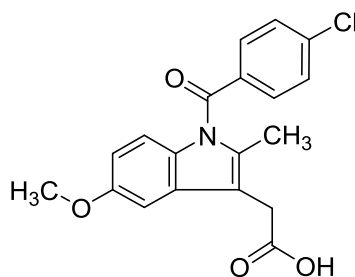
benorilat



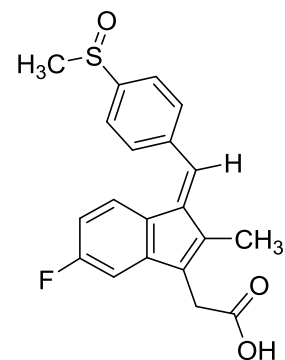
flufenaminska kislina



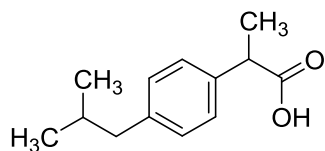
diklofenak



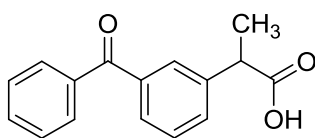
indometacin



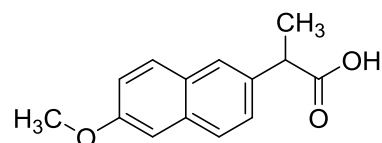
sulindak



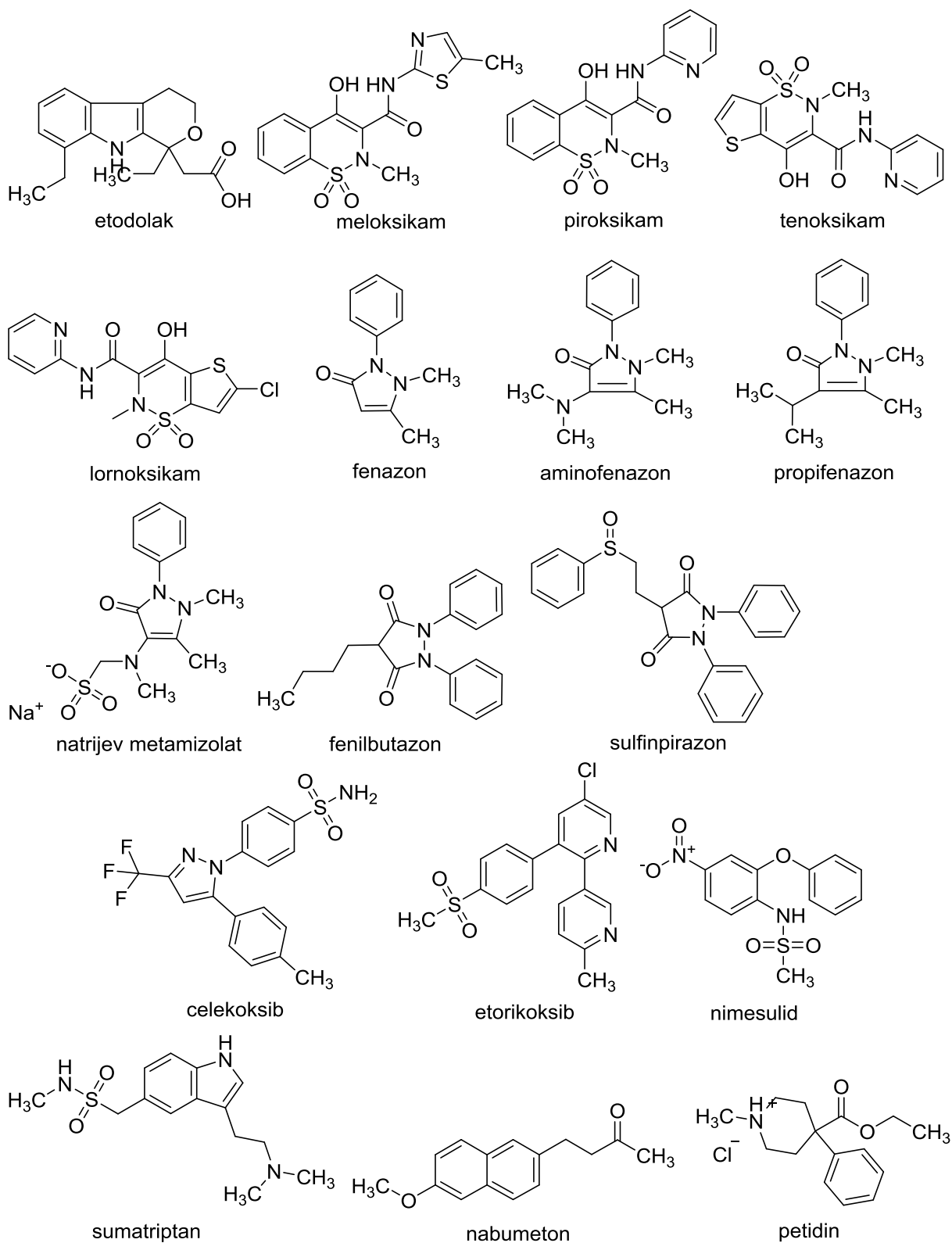
ibuprofen

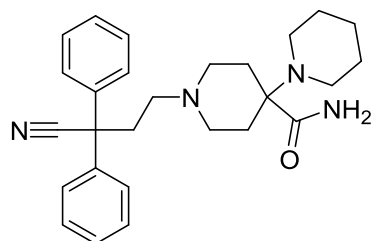


ketoprofen

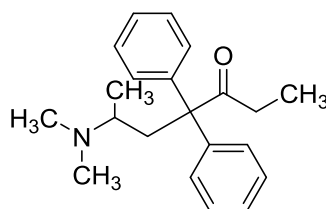


naproksen

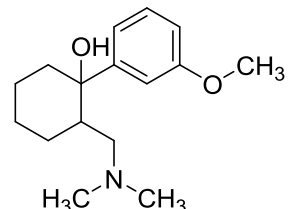




piritramid

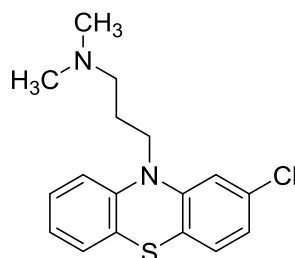


metadon

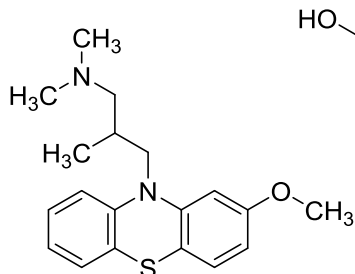


tramadol

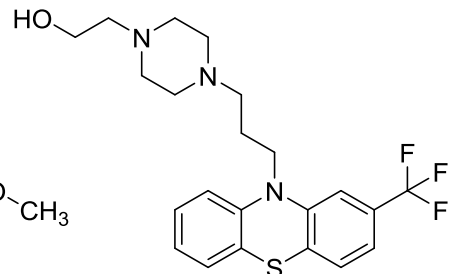
4.2 NEVROLEPTIKI, ANTIDEPRESIVI IN ANKSIOLITIKI



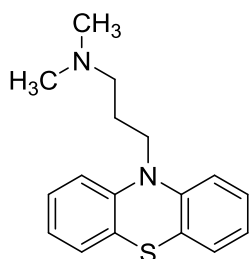
klorpromazin



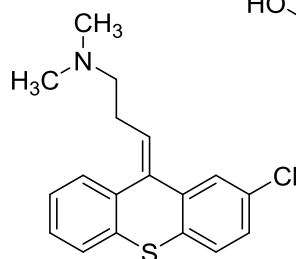
levomepromazin



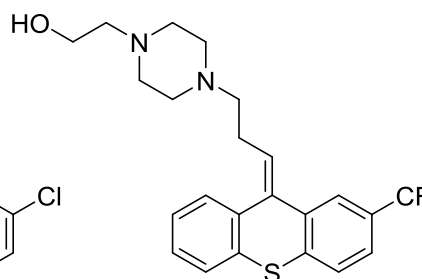
flufenazin



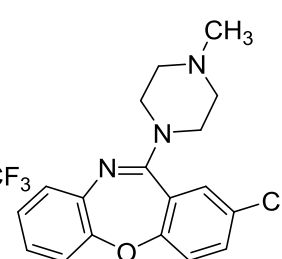
promazin



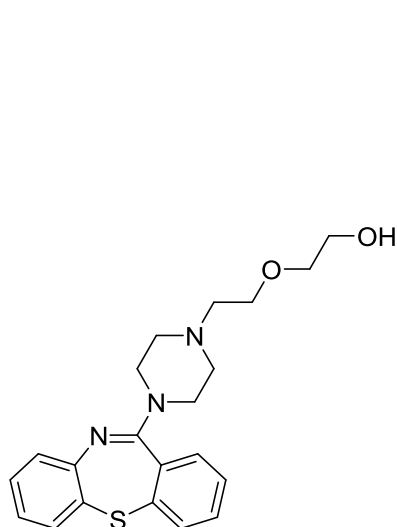
klorprotiksen



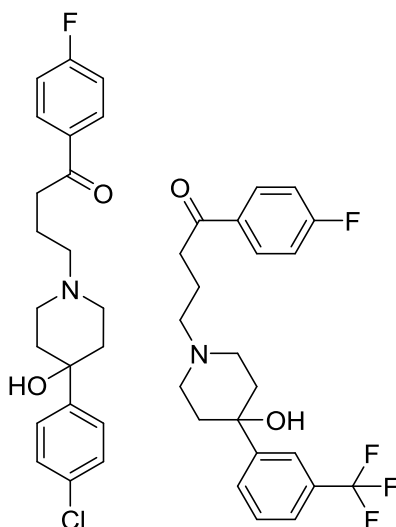
triflupentiksol



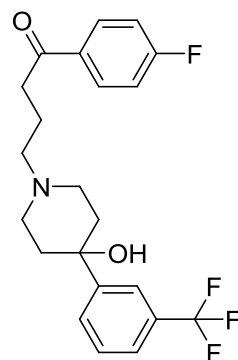
loksapin



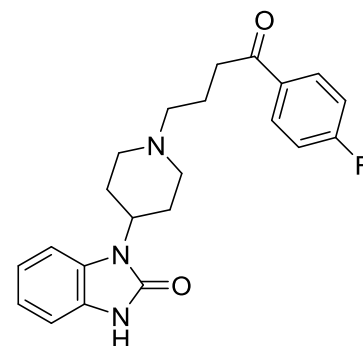
kvetiapin



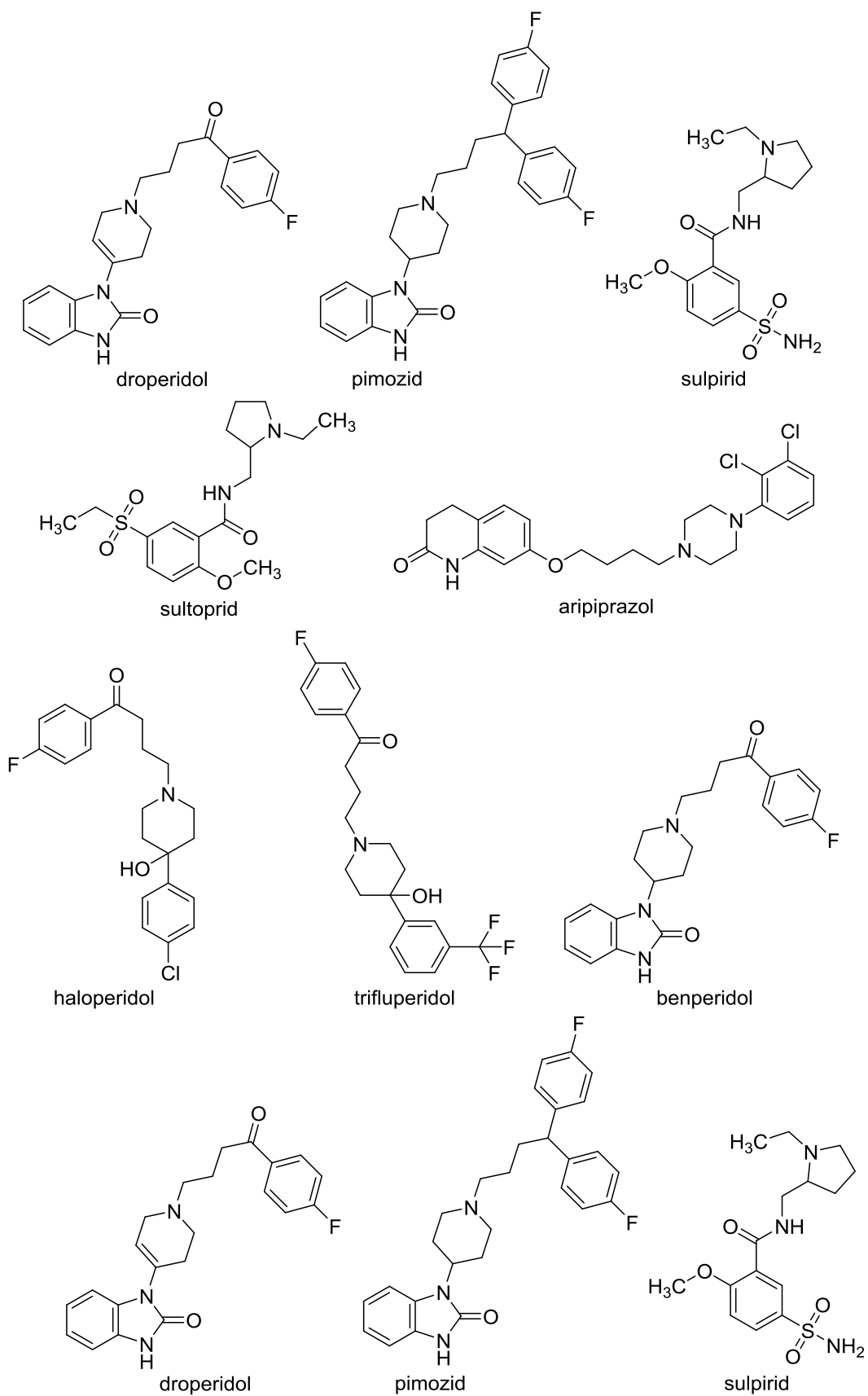
haloperidol

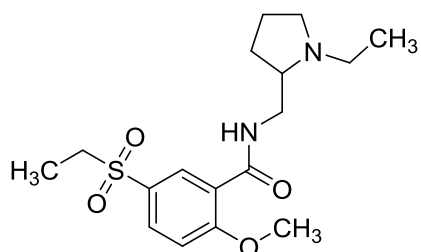


trifluperidol

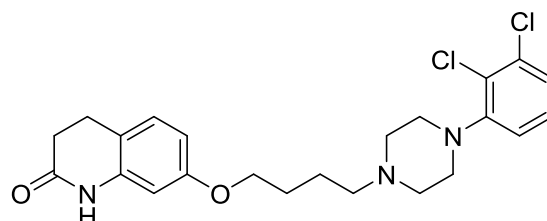


benperidol

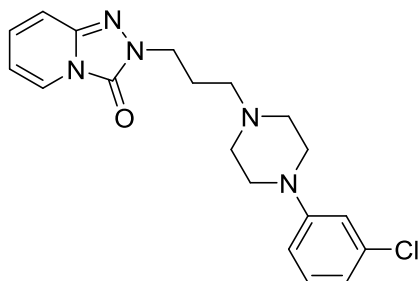




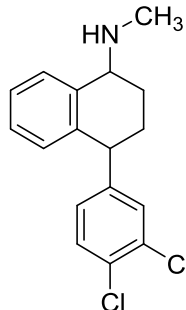
sultoprid



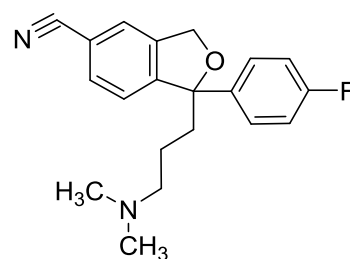
aripiprazol



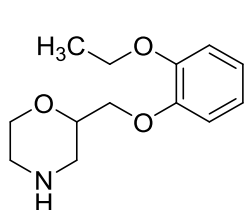
trazodon



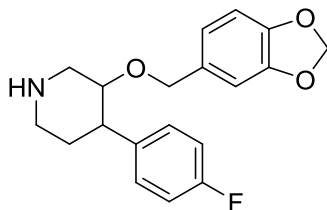
sertralini



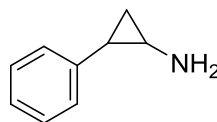
citalopram



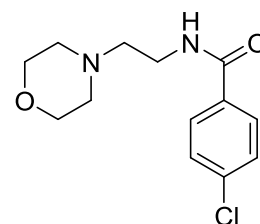
viloksazin



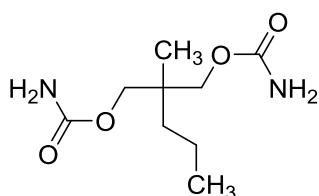
paroksetin



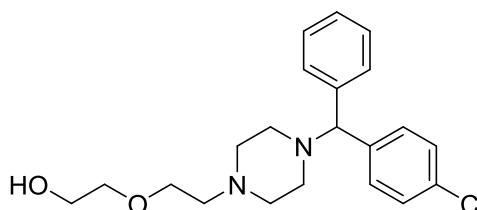
tranilcipromin



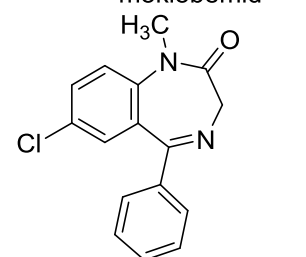
moklobemid



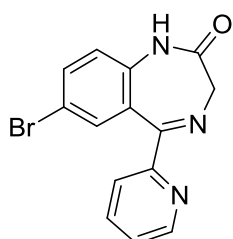
meprobamat



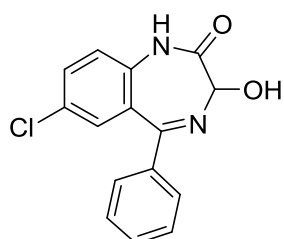
hidroksizin



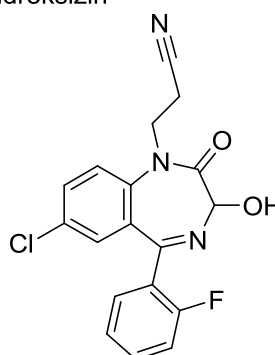
diazepam



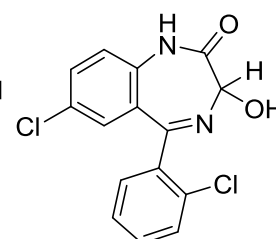
bromazepam



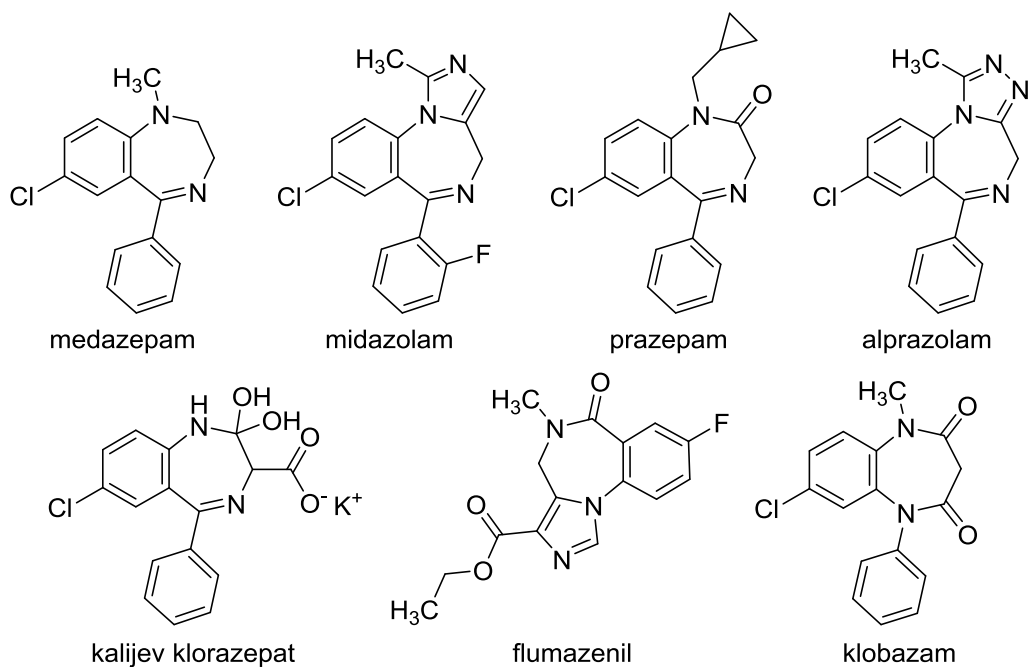
oksazepam



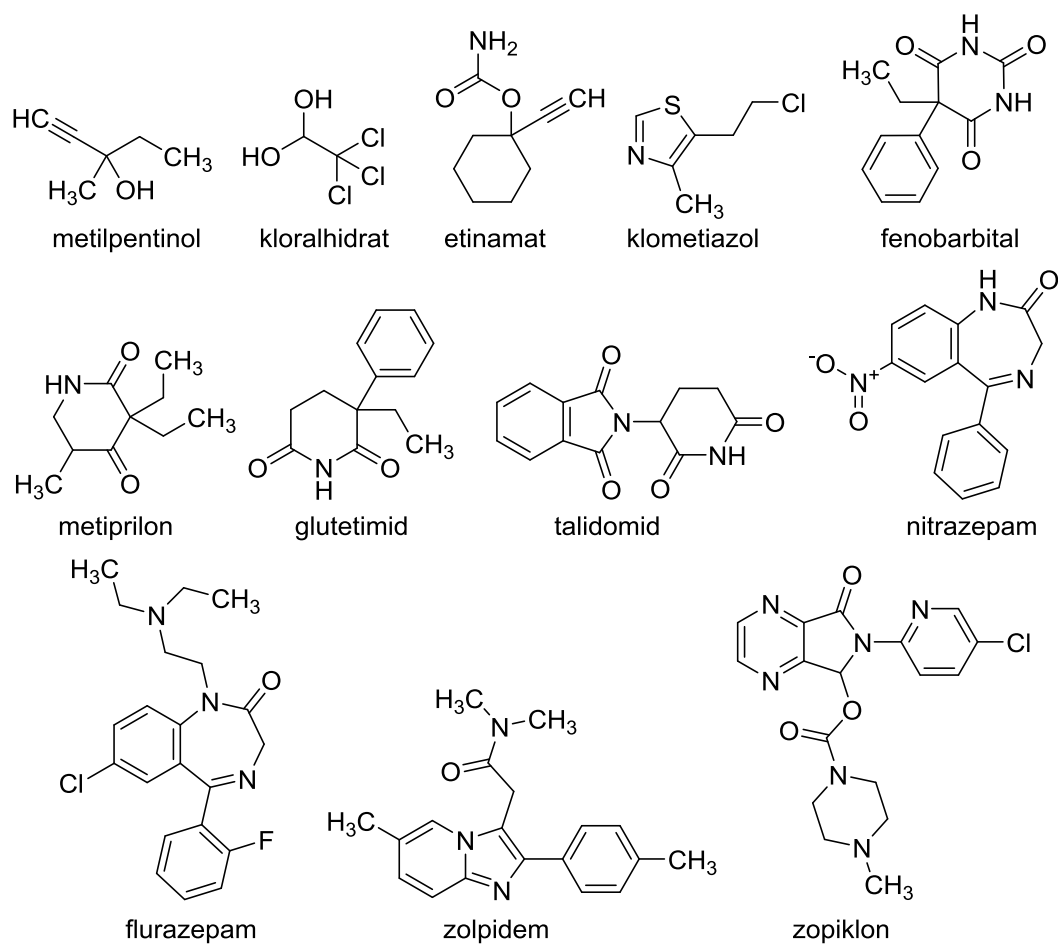
cinolazepam



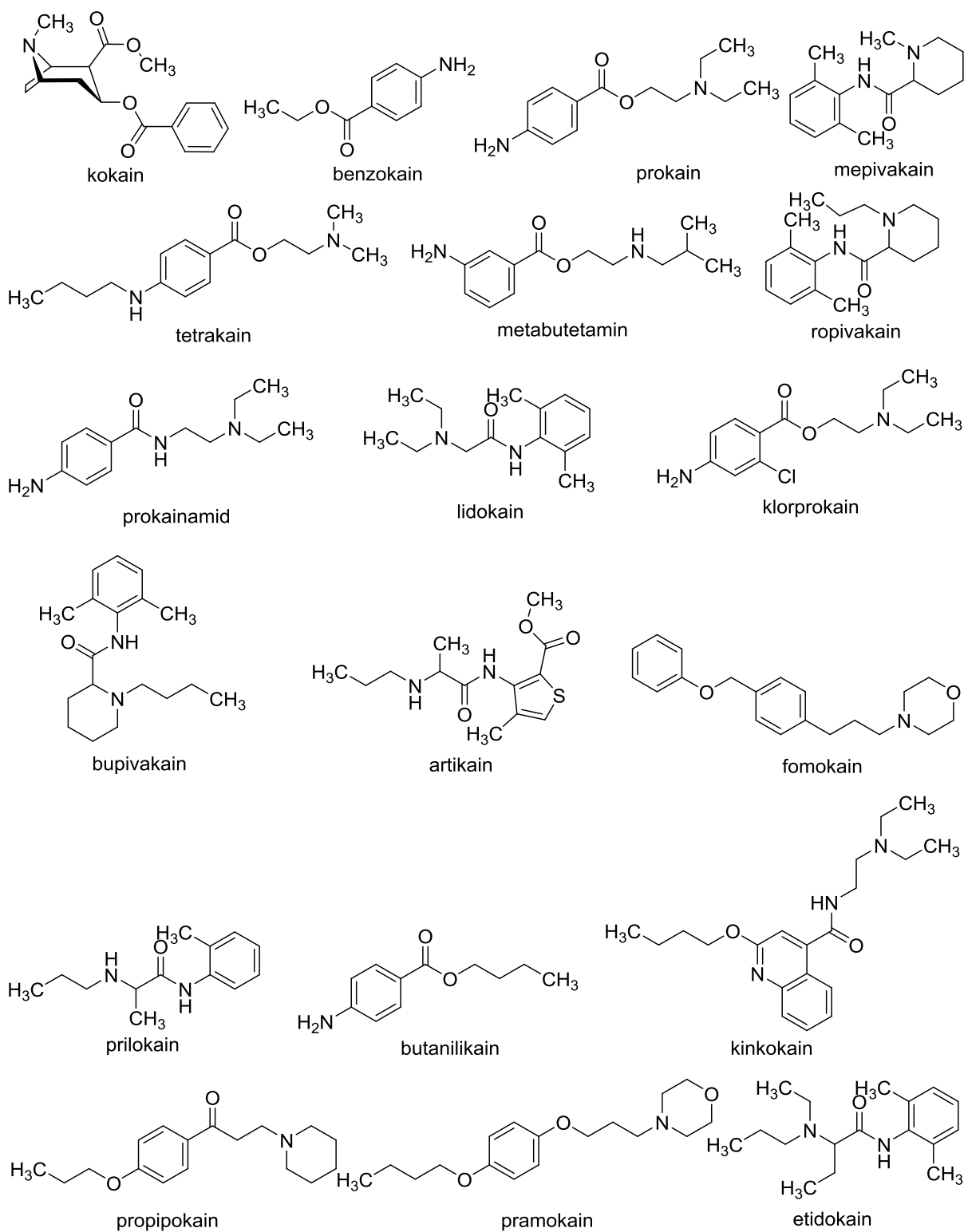
lorazepam



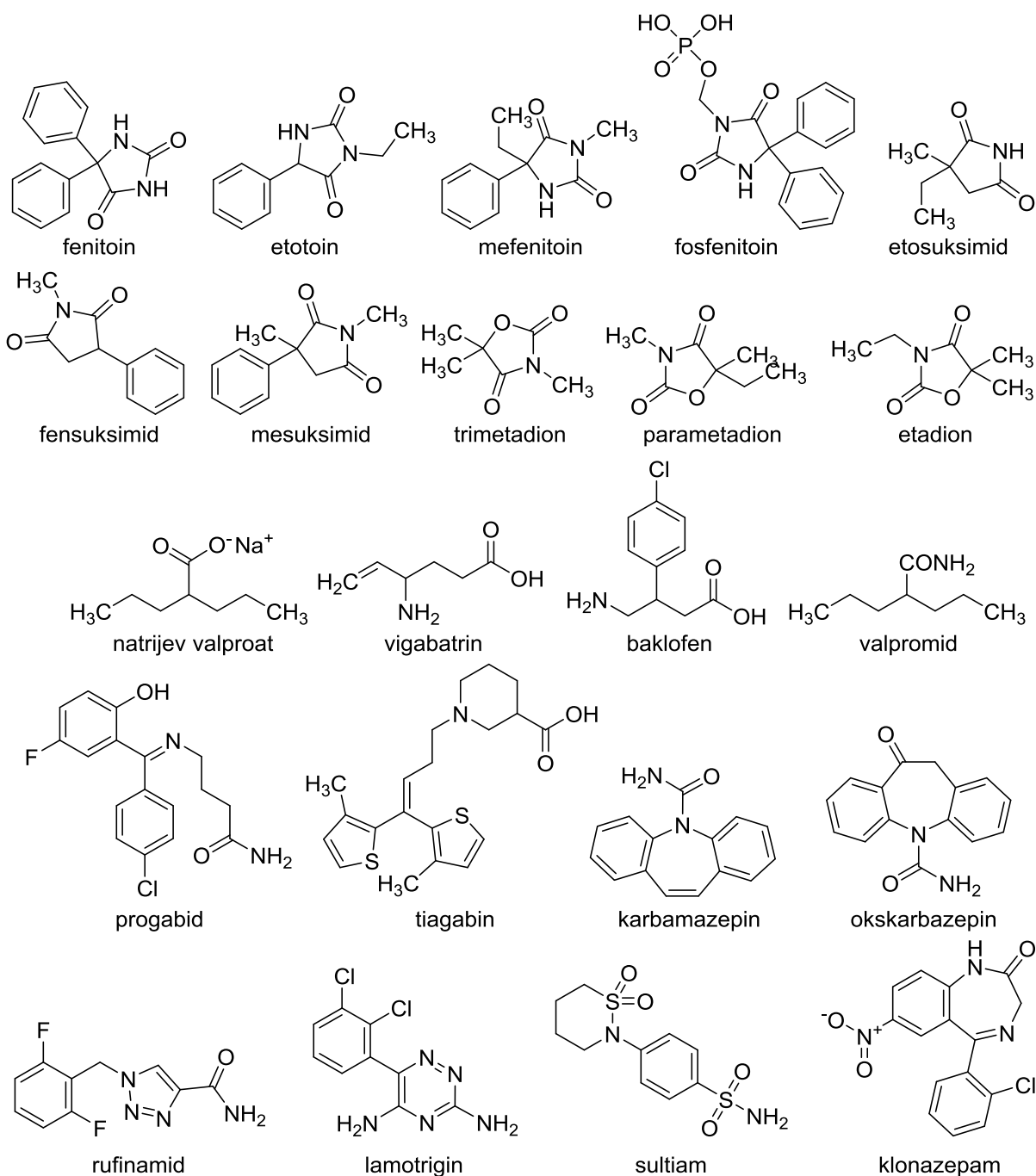
4.3 USPAVALA



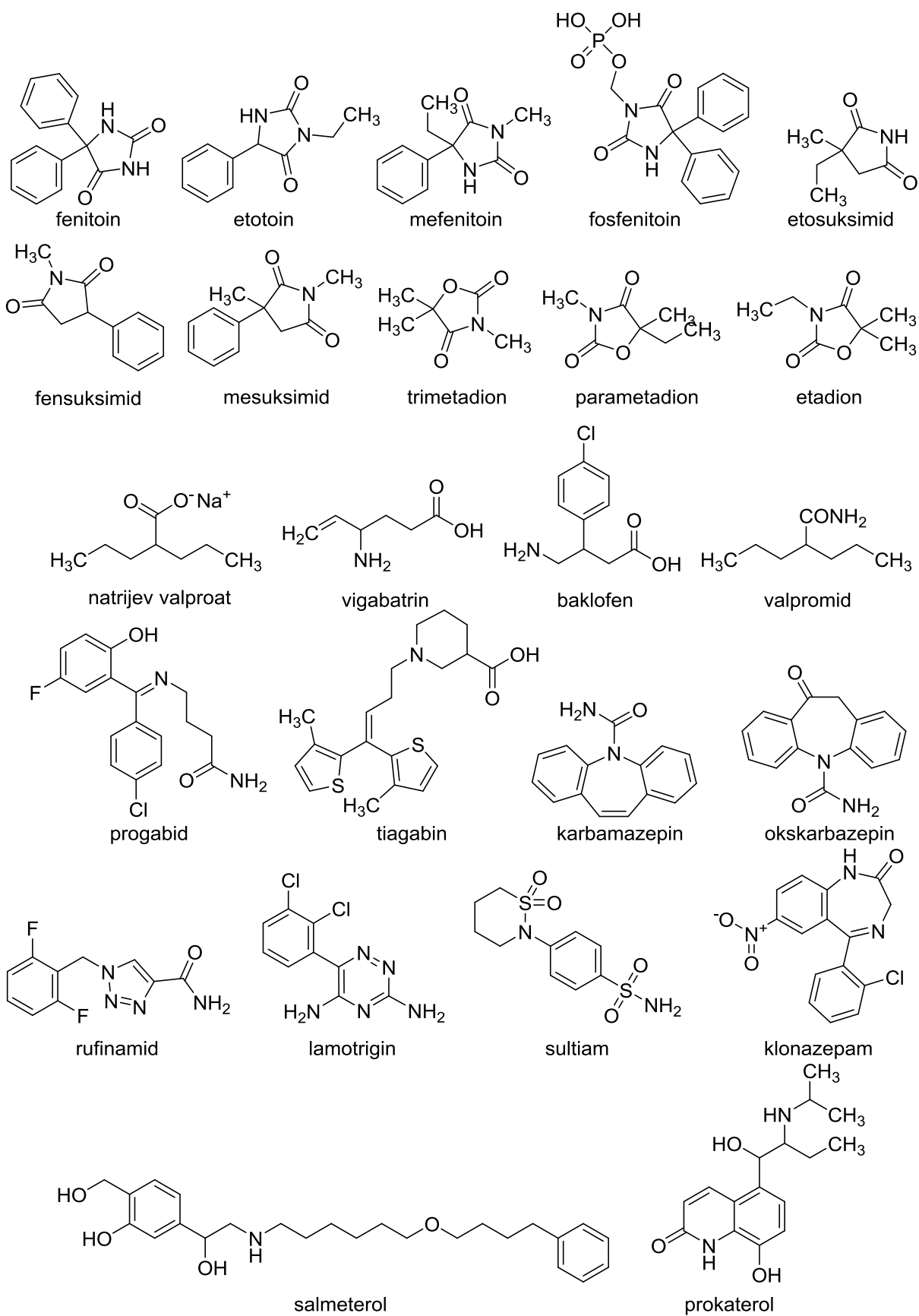
4.4 LOKALNI ANESTETIKI

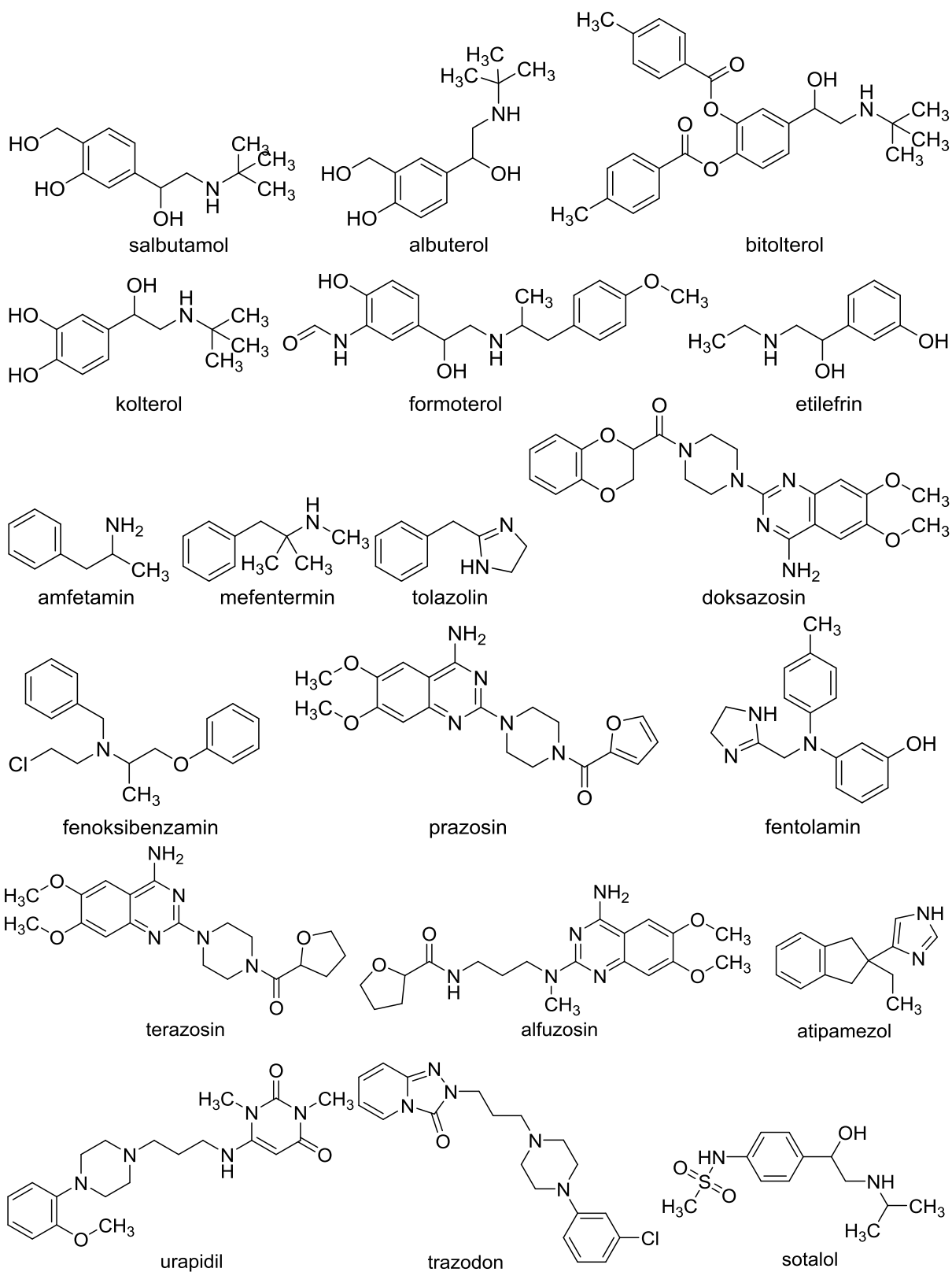


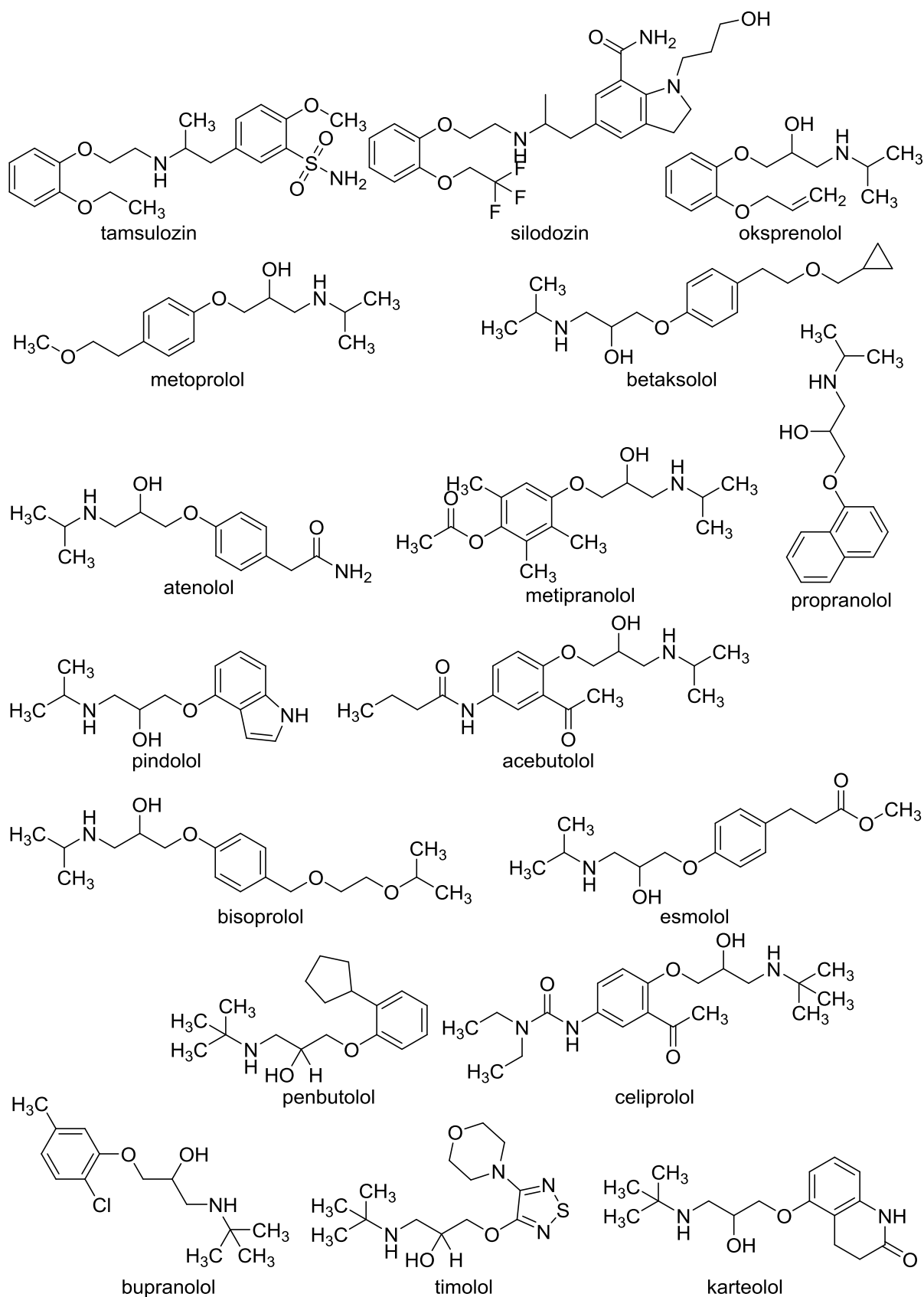
4.5 ANTIPILEPTIKI

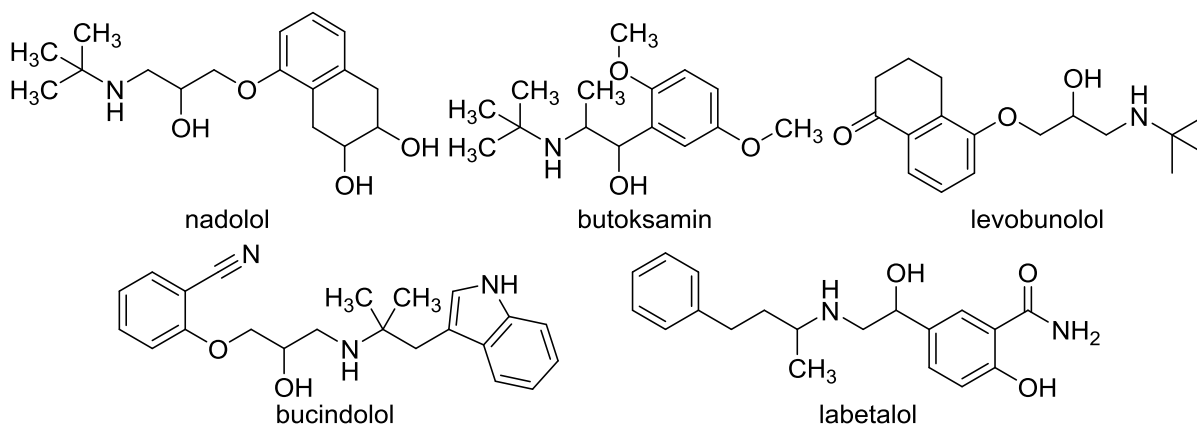


4.6 SIMPATOMIMETIKI IN SIMPATOLITIKI

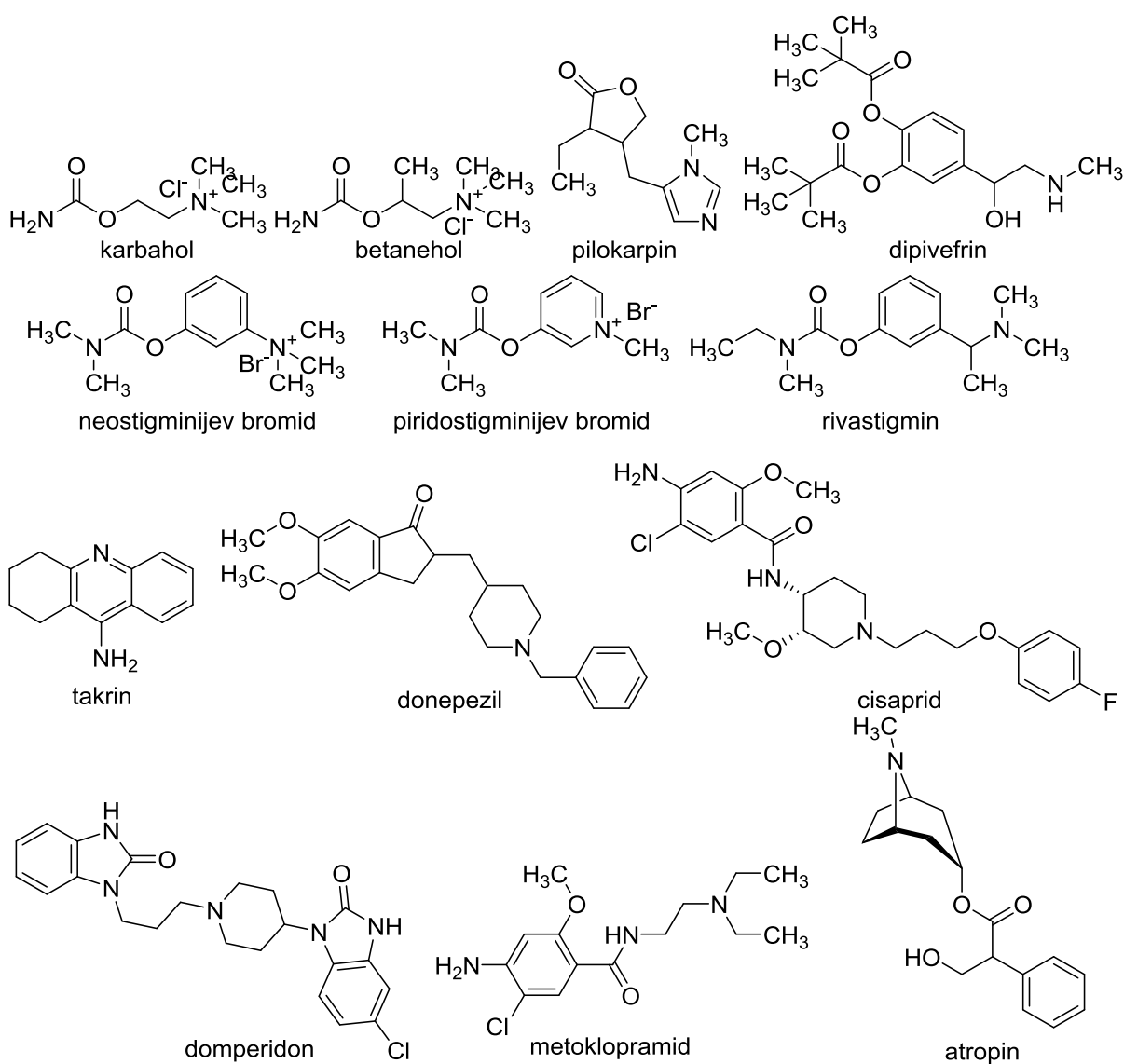


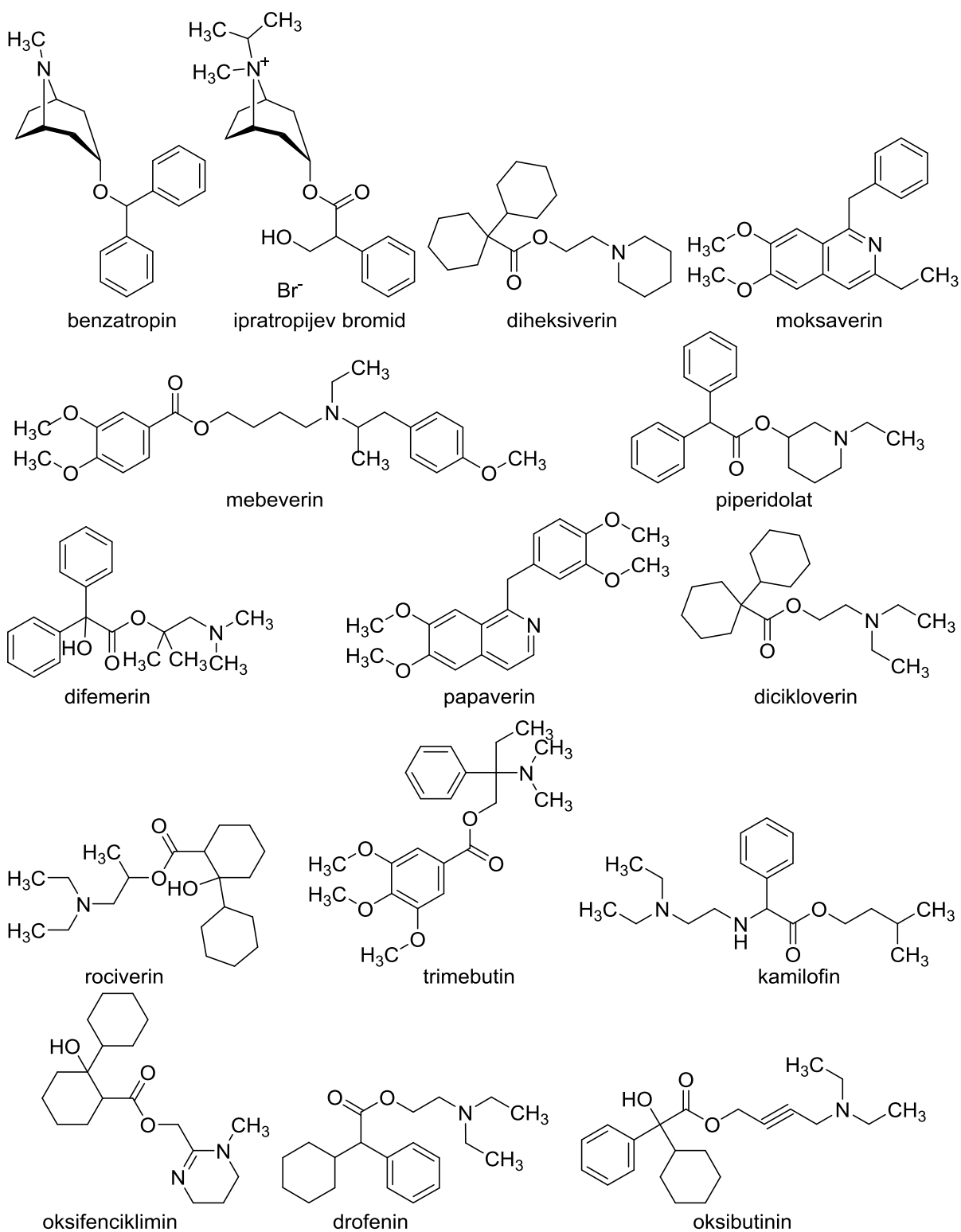




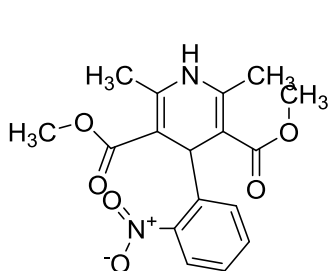


4.7 PARASIMPATOMETIKI IN PARASIMPATOLITIKI

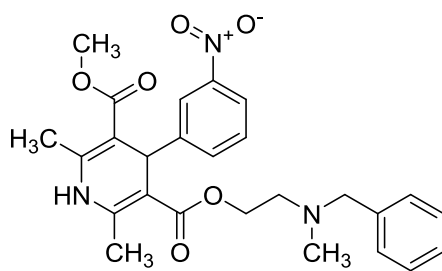




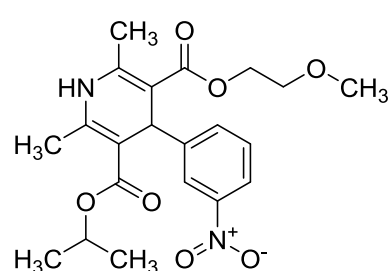
4.8 ANTAGONISTI KALCIJEVIH KANALOV



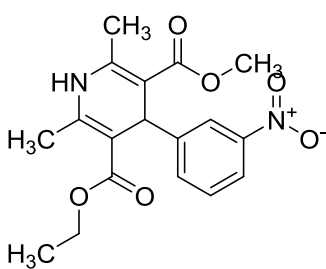
nifedipin



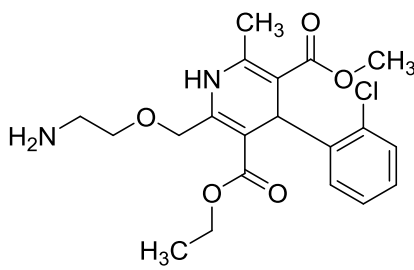
nikardipin



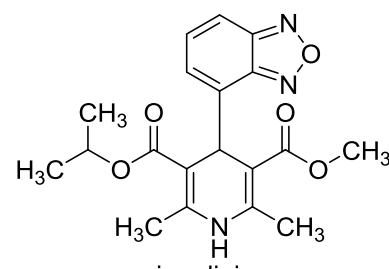
nimodipin



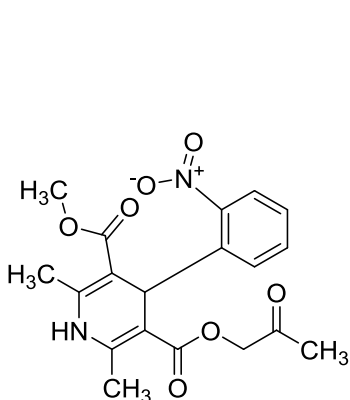
nitrendipin



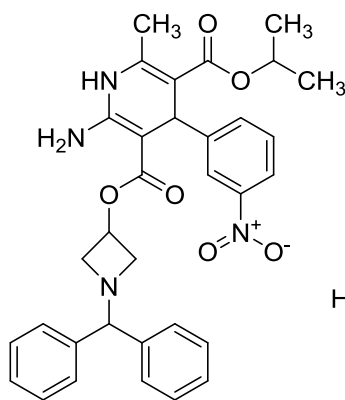
amlodipin



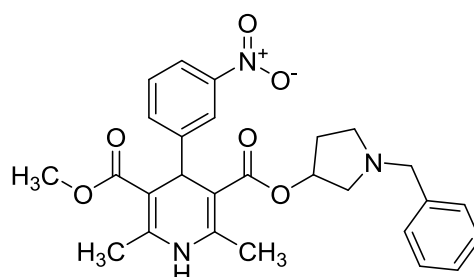
isradipin



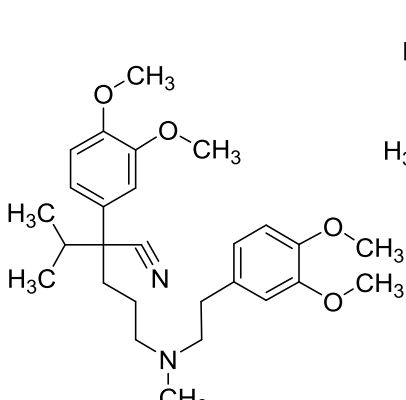
aranidipin



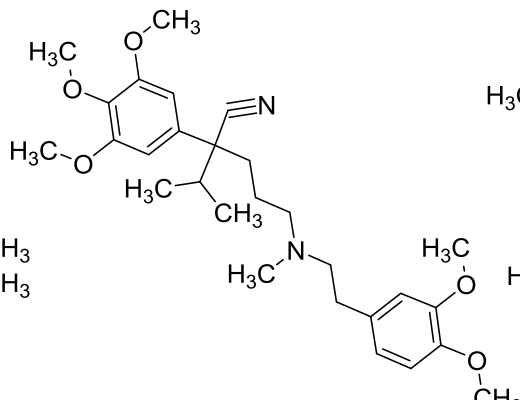
azelnidipin



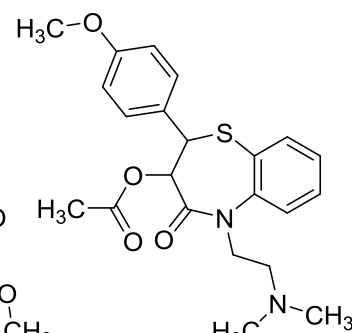
barnidipin



verapamil

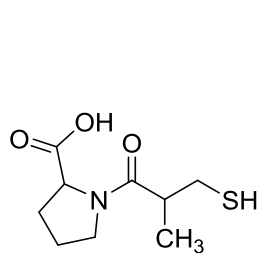


galopamil

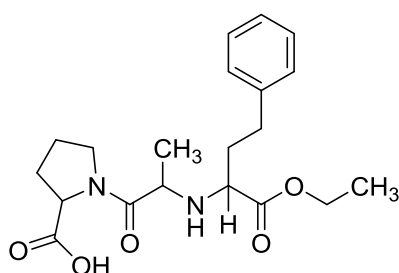


diltiazem

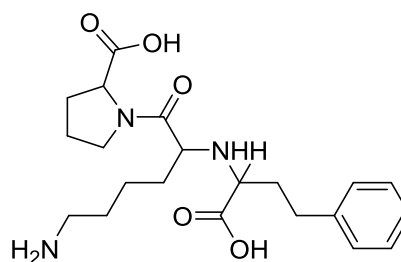
4.9 ZAVIRALCI ANGIOTENZIN-KONVERTAZE



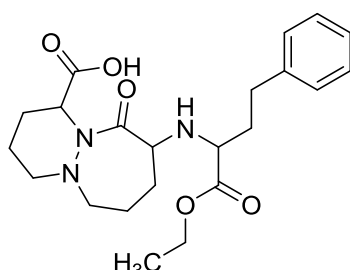
kaptopril



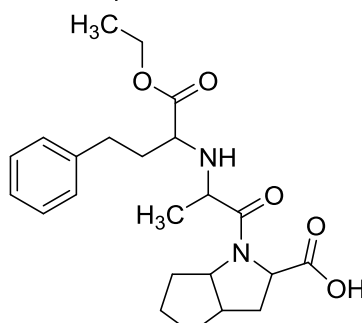
enalapril



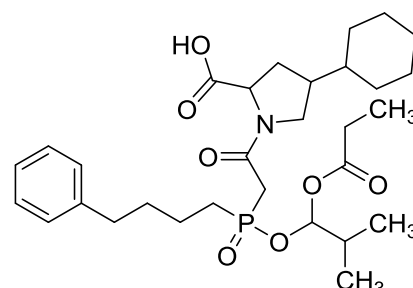
lizinopril



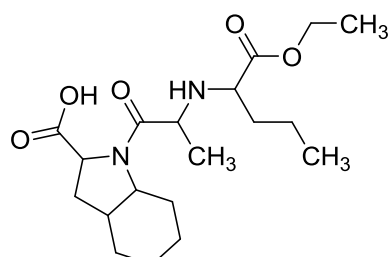
cilazapril



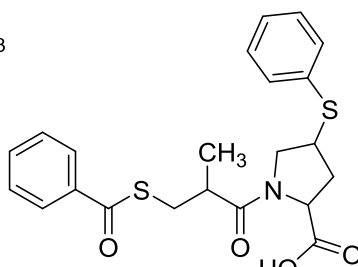
ramipril



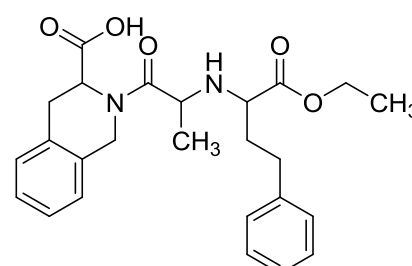
fosinopril



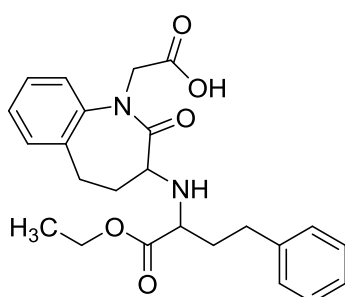
perindopril



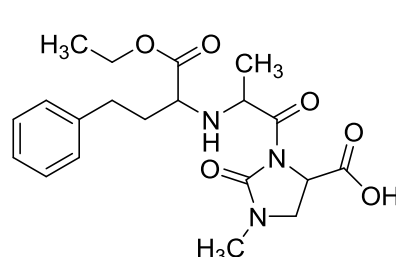
zofenopril



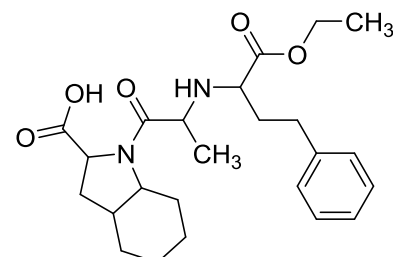
kinapril



benazepril

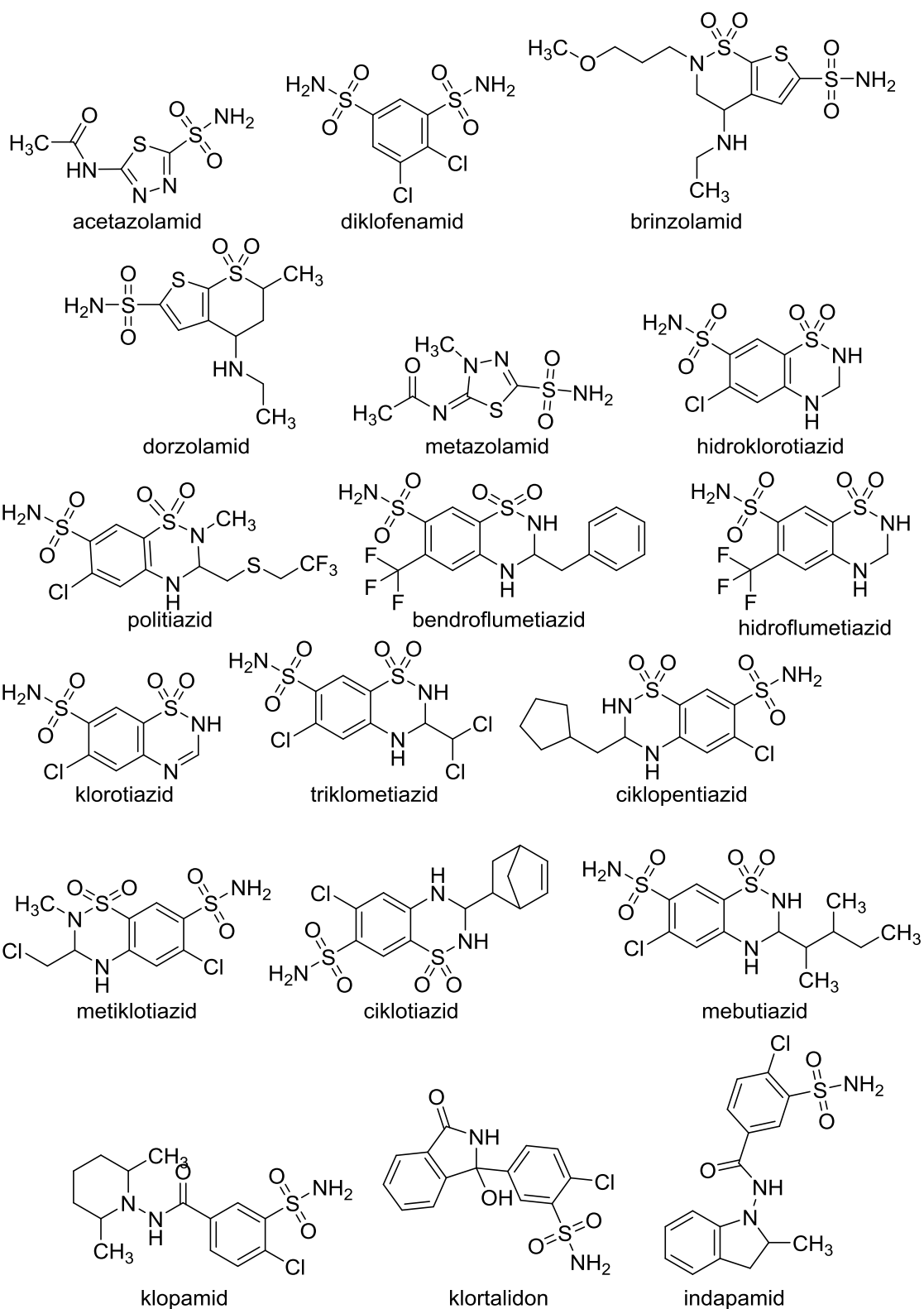


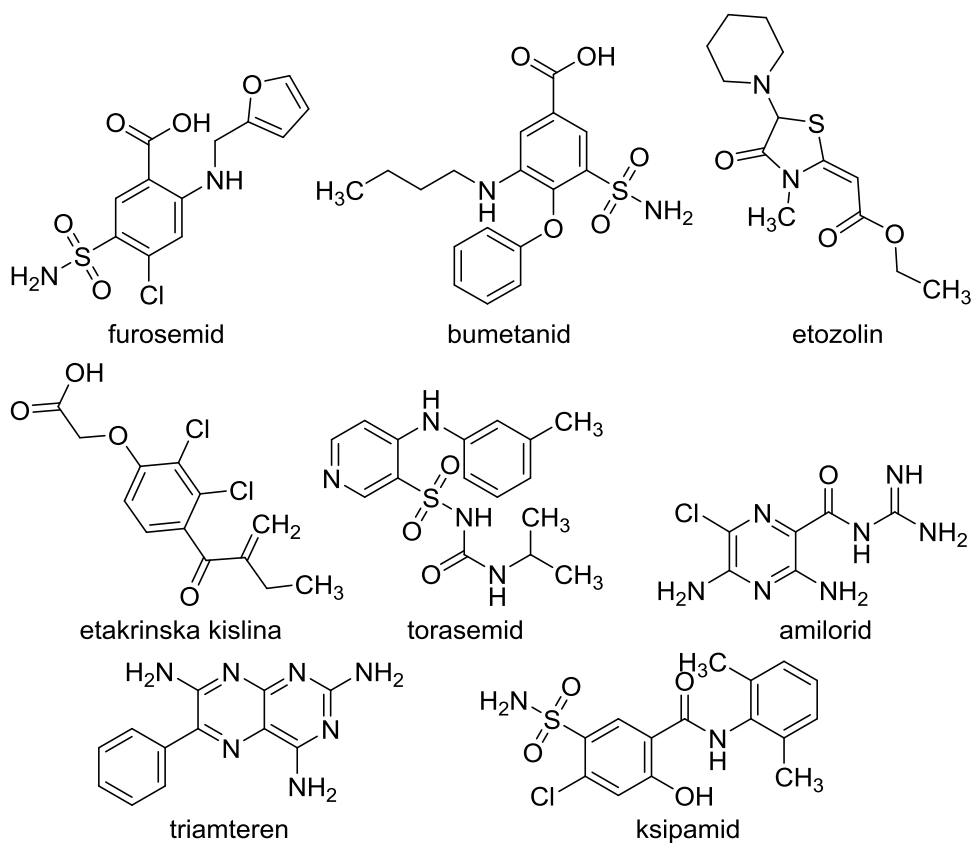
imidapril



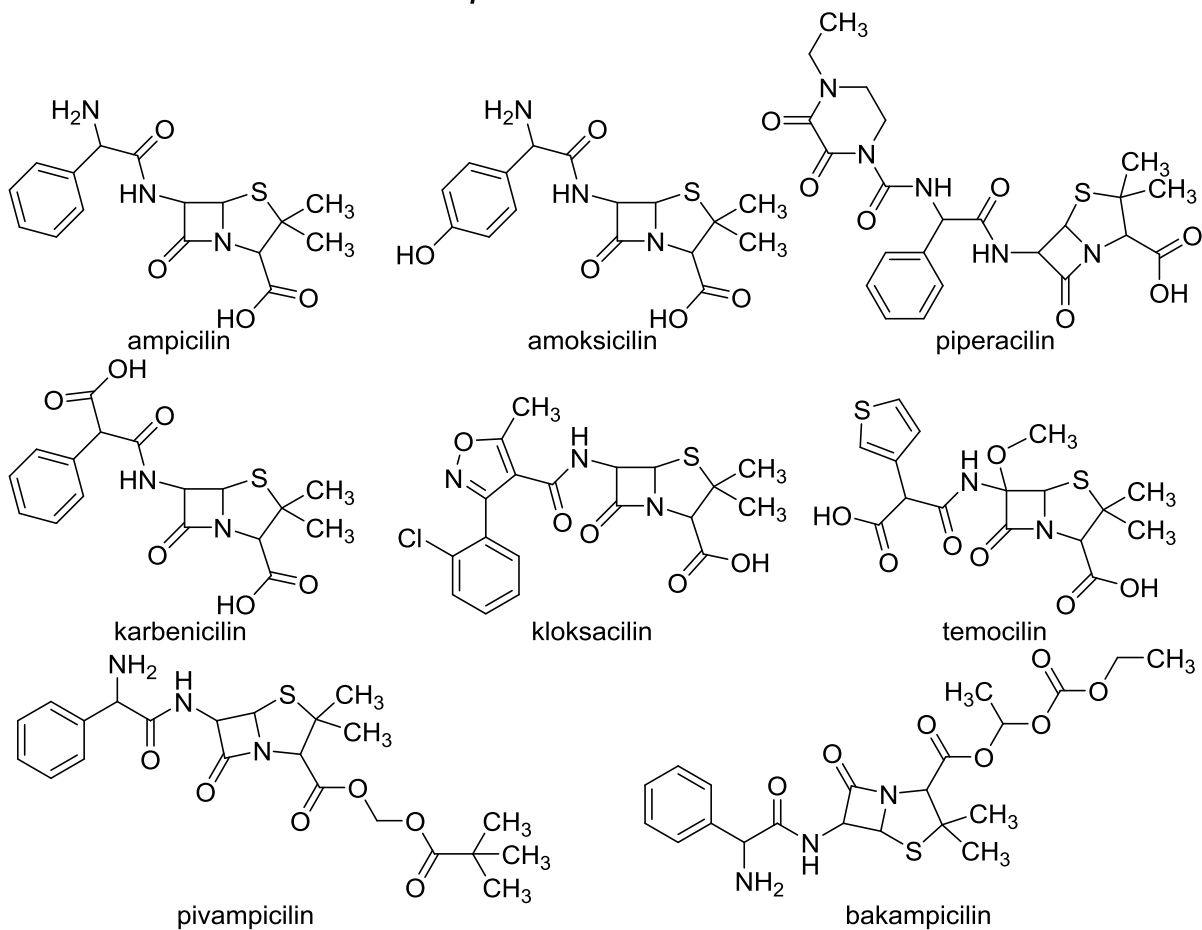
trandolapril

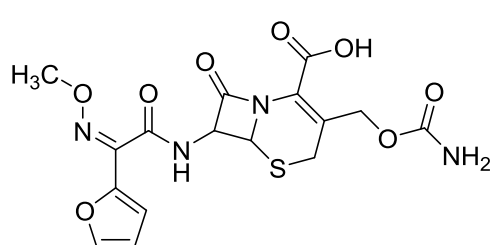
4.10 DIURETIKI



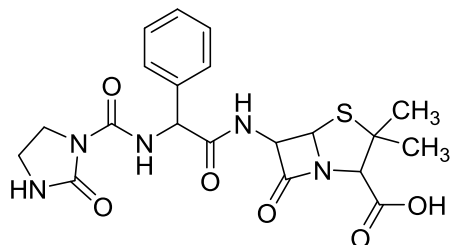


4.11 β -LAKTAMSKI ANTIBIOTIKI

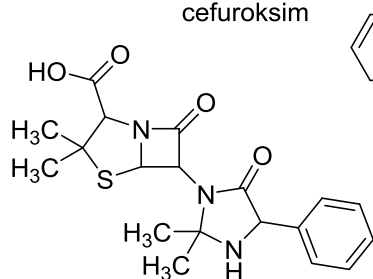




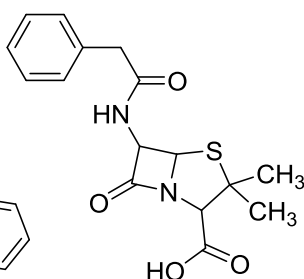
cefuroksim



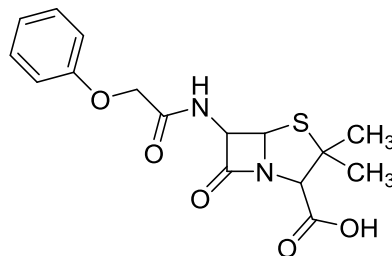
azlocilin



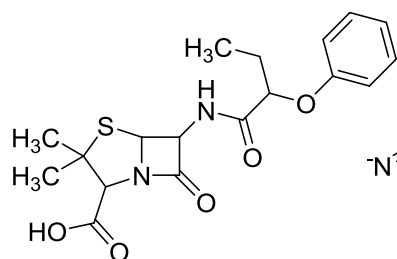
hetacilin



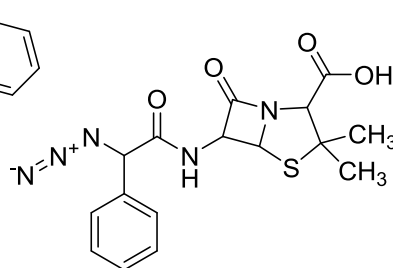
benzilpenicilin



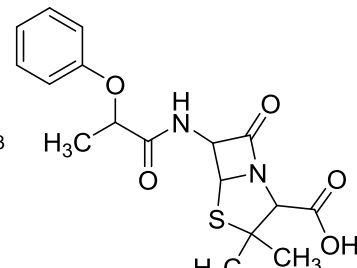
fenoksimetilpenicilin



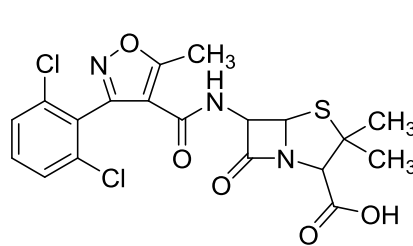
propicilin



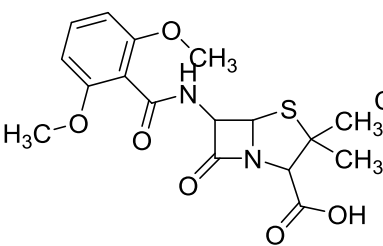
azidocilin



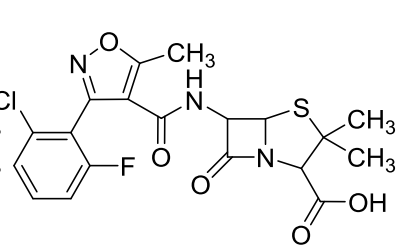
feneticilin



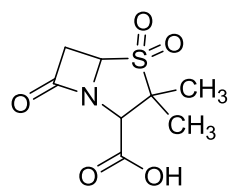
dikloksacilin



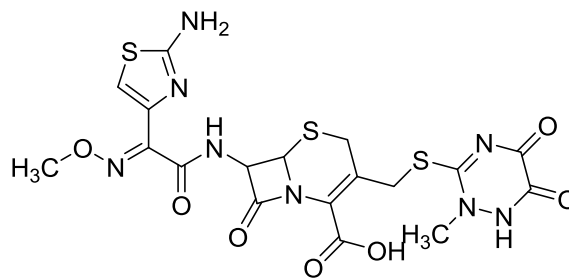
meticilin



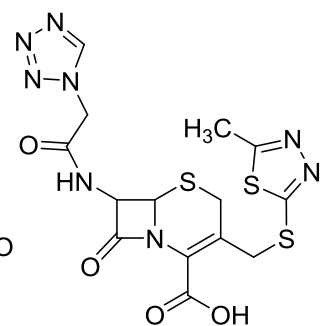
flukloksacilin



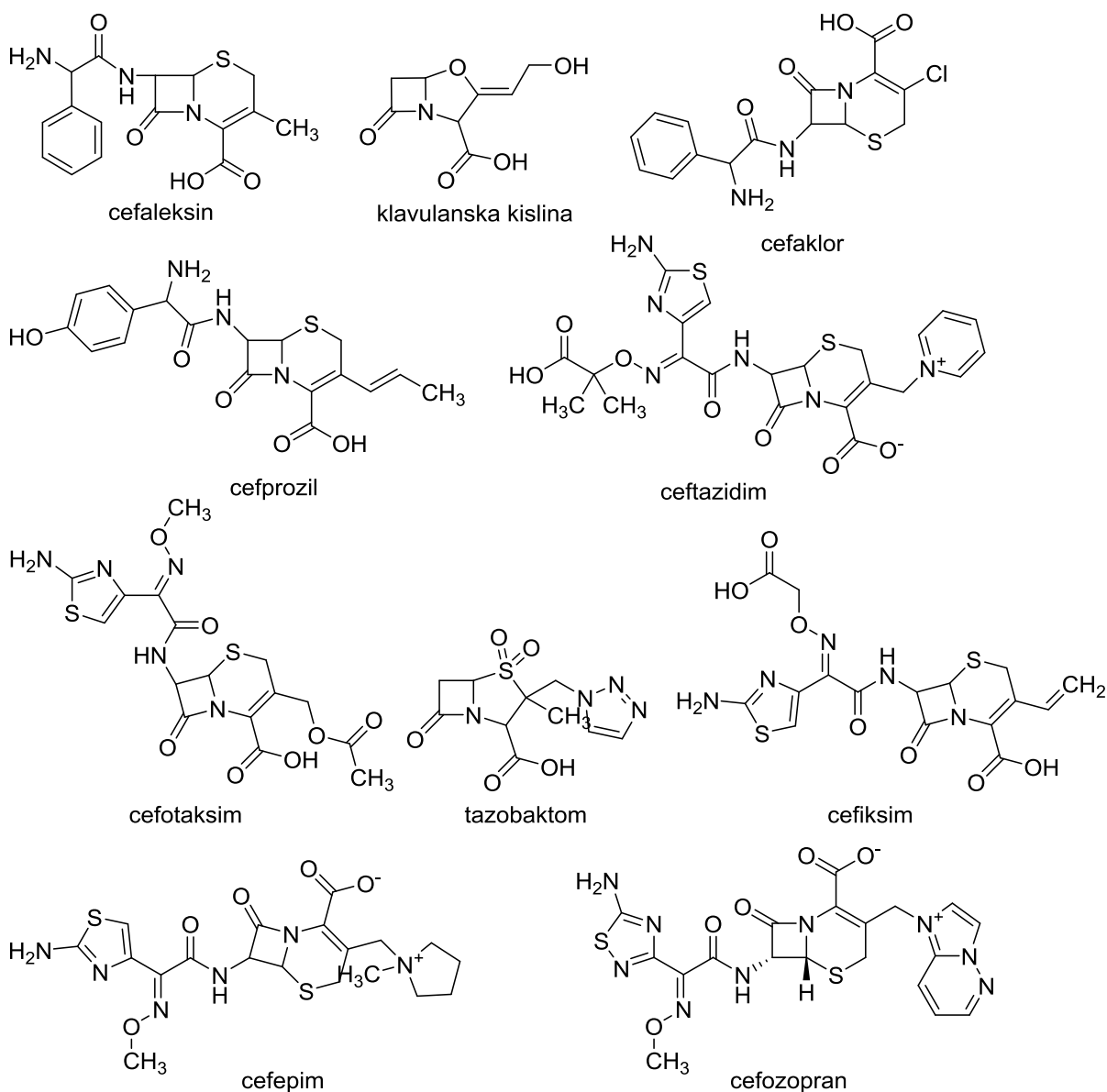
sulbaktam



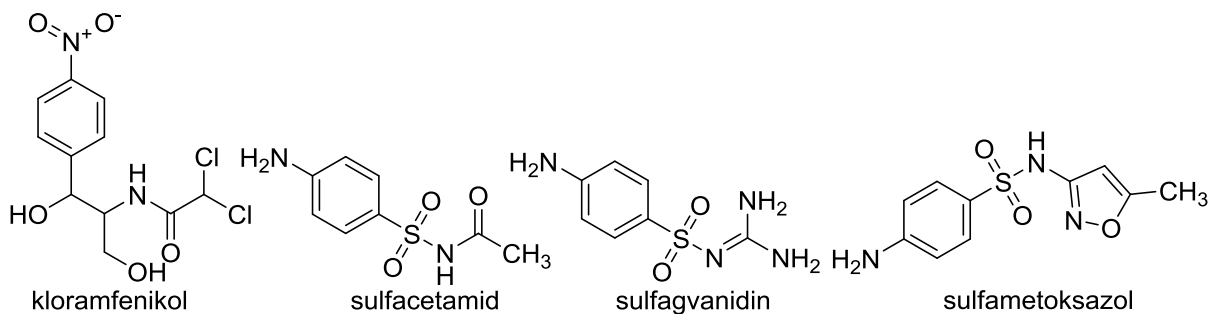
ceftriakson

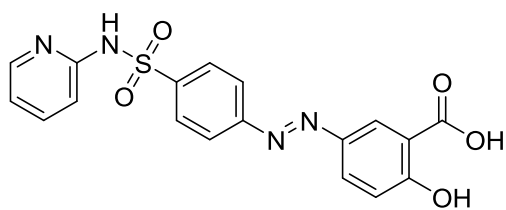


cefazolin

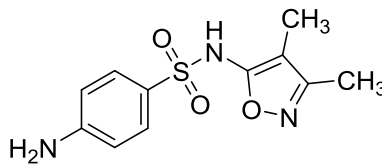


4.12 SINTEZNI KEMOTERAPEVTIKI

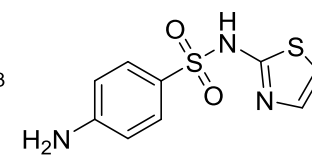




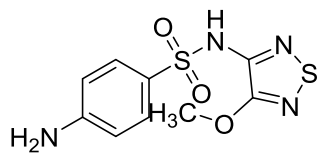
sulfasalazin



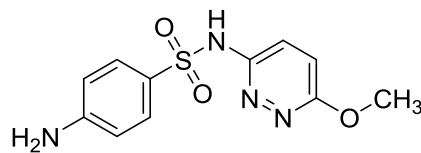
sulfafurazol



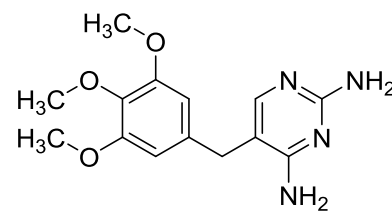
sulfatiazol



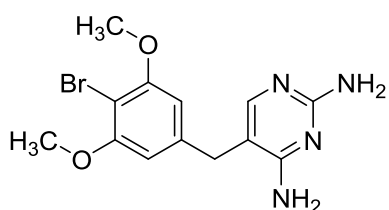
sulfametrol



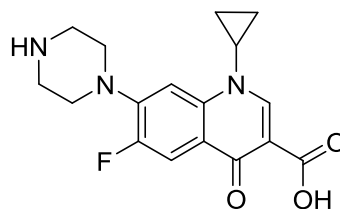
sulfametoksipiridazin



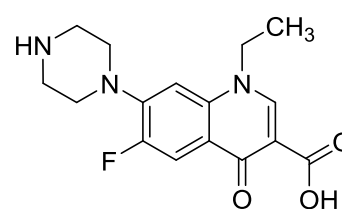
trimetoprim



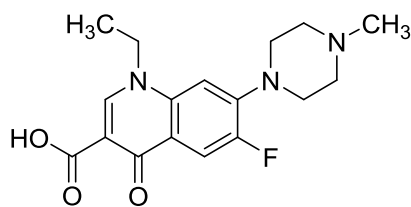
brodimoprin



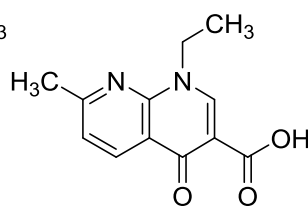
ciprofloksacin



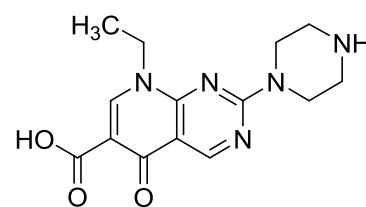
norfloksacin



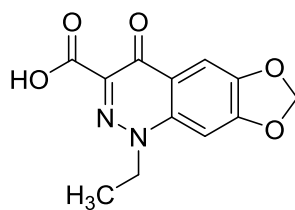
pefloksacin



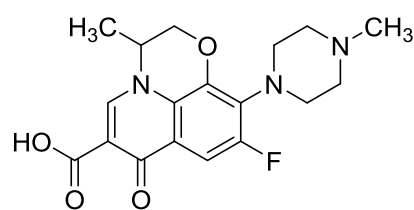
nalidiksna kislina



pipemidna kislina



cinoksacin



levofloksacin

5 LITERATURA

1. European Pharmacopoeia, 9th Edition, 2016.
2. <https://www.jazmp.si/farmakopeja/evropska-farmakopeja/>
3. Stanovnik B., Tišler M. Nomenklatura organskih spojin. Ljubljana: Državna založba Slovenije, 1984.
4. Formularium Slovenicum 4.0, Slovensko dopnilo k Evropski farmakopeji, Ministrstvo za zdravstvo, JAZMP in vsakoletna dopnila.
6. ATC klasifikacija, Zavod za farmacijo in za preskušanje zdravil, Ljubljana 2015.
7. Drug Information AHFS. American Hospital Formulary Service. American Society of Hospital Pharmacists, 2015.
8. Slovenski medicinski slovar. Medicinska fakulteta UL, Inštitut za slovenski jezik Frana Ramovša pri SAZU in Zdravniška zbornica Slovenije, 2012.
9. Beale, JM, Block, JH Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry, Lippincott Williams & Wilkins, 2011.
10. Patrick, GL. An Introduction to Medicinal Chemistry, fourth edition, Oxford University Press, New York, 2009.
11. Martindale, The Extra Pharmacopoeia. London: The Pharmaceutical Press, 39st Edition, 2017.
12. Roth HJ, Eger K, Troschütz R. Arzneistoffanalyse. Thieme Verlag, Stuttgart, 2006.
13. Pedersen O. Pharmaceutical Chemical Analysis: Methods for Identification and Limit Tests, Taylor & Francis Group, New York, 2006.
14. Humar M, Šmid-Korbar J, Obreza A. Farmaceutski Terminološki Slovar, ZRC SAZU, Ljubljana, 2013.