



Univerzitet u Novom Sadu  
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu  
životne sredine



Mr Ksenija J. Pavlović

**MIKROTALASNO STIMULISANE TRANSFORMACIJE  
PRIRODNIH I SINTETIČKIH KARBOKSILNIH KISELINA I  
NJIHOVIH DERIVATA**

doktorska disertacija

Novi Sad, 2014.

## Predgovor

Ova doktorska disertacija je urađena na Departmanu za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu, pod mentorstvom prof. dr Vere Ćirin-Novta, redovnog profesora PMF-a u Novom Sadu, a u okviru projekta "Sinteza biološki aktivnih molekula i analoga od potencijalnog interesa za biomedicinu i agronomiju", finansiranog od strane Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije. Rezultat je mog naučno-istraživačkog rada u okviru grupe koja se bavi Hemijom nafte ali i naučnog iskustva, saveta i moralne podrške ljudi kojima ovom prilikom želim da se zahvalim.

Pre svega, od srca želim da se zahvalim svojoj mentorki, **prof. dr Veri Ćirin-Novta**, čija su pomoć, znanje, neposredna i stalna podrška, saveti i razumevanje vodili ovaj rad od koncepta do kraja. Veliko hvala na poverenju, strpljivim, stručnim i prijateljskim razgovorima, primedbama i pomoći tokom izrade i pisanja ove disertacije.

**Prof. dr Mariji Sakač** najtoplije zahvaljujem na podršci i nesebičnoj pomoći, stručnim primedbama i korisnim savetima koje mi je upućivala sve vreme naše saradnje. Posebno hvala na znanju koje mi je prenela ali i na pruženoj mogućnosti i časti da na kratko budem deo njenog tima. Najiskrenije hvala.

Veliku zahvalnost od srca upućujem i **prof. dr Mirjani Popsavin** na snimanju i dragocenoj pomoći u tumačenju NMR spektara ali i na spremnosti i želji da u svakom trenutku pomogne i pruži odgovor na sva pitanja.

**Prof. dr Slavku Kevrešanu** bih najiskrenije želela da se zahvalim na stalnom entuzijazmu, ukazanom interesovanju za ovaj rad, kao i prijatnoj saradnji i svakoj pomoći.

Od srca želim da se zahvalim i **doc. dr Ljubici Grbović** na podržavanju svih mojih ideja i volji da se odrekne svog vremena, pomogne i podeli svoje znanje. Hvala na prijateljstvu, brizi i razumevanju kojima me je obasipala.

Veliko hvala **prof. dr Velimiru Popsavinu**, rukovodiocu projekta u sklopu kojeg je ova disertacija urađena. Hvala na podsticaju i izlaženju u susret svim našim naučno-istraživačkim potrebama ali i na uzoru koji nam predstavlja.

Mojim dragim profesorima, **prof. dr Katarini Penov Gaši**, **prof. dr Evgeniji Đurendić** i **prof. dr Janošu Čanadiju**, sa Katedre za organsku hemiju, najtoplije zahvaljujem na svemu što su me naučili ali i na prijateljskom stavu koji se ne zaboravlja.

**Prof. dr Kseniji Kuhajdi** hvala na poklonjenim knjigama i ljubaznosti koju ću uvek pamtit.

Ovom prilikom najlepše se zahvaljujem **doc. dr Branislavu Joviću** i **ms Branku Kordiću** na pomoći u snimanju IR spektara i uvek dobroj volji i raspoloženju za rad. Takođe, zahvalnost dugujem **doc. dr Dejanu Orčiću** i **ms Kristini Bekvalac** na svesrdnoj pomoći i ustupljenim apartima za snimanje HPLC spektara. **Mr Đuri Vujić** iskreno zahvaljujem što mi je proširio vidike upoznavajući me i vodeći kroz čari gasno masene hromatografije.

Veliku zahvalnost dugujem **dr Simonidi Đurić, dr Timei Hajnal-Jafari i dr Dragani Stamenov** sa Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu na urađenim mikrobiološkim testovima, kao i **dr Gordani Bogdanović i dr Vesni Kojić** sa Instituta za onkologiju, Sremeska Kamenica, na određivanju antiproliferativne aktivnosti sintetisanih jedinjenja.

Posebno hvala **dr Andrei Nikolić-Bubici**, što je delila sva moja raspoloženja i što mi je pozajmljivala svoje savete i znanje kad god su mi zatrebali. Veliko hvala za ohrabrenje, podršku i pozitivan duh naročito u poslednjoj fazi izrade i pisanja ove teze.

**Ms Bojani Vasiljević** hvala što je sa mnom delila sva laboratorijska iskušenja na putu izrade ove teze.

Kolegama i drugarima **dr Jovani Ajduković, dr Marini Savić, dr Srećo-Zelenović Bojani, Emiliji i mr Milošu Svirčev, mr Vesni Despotović** želim da se zahvalim za toplu prijateljsku podršku, prelepo druženje i naklonost. Činite da moj boravak na poslu uvek bude prijatan i lep.

Zahvalnost za pomoć i podršku u izradi doktorske disertacije dugujem i dragim kolegama: **doc. dr Suzani Jovanović Šanta, Aleksandru Oklješi, ms Jeleni Marković, Srđanu Bjedovu, ms Dušanu Škoriću, ms Ivani Kuzminac, Otu Arčonu, Ester Foro, Nikolić Nemanji, Silviji Kantardžić,** kao i **dr Goranu Benedekoviću, ms Jovani Francuz, ms Ivani Kovačević** sa kojim sam provodila interesantne i vesele trenutke u laboratorijama.

Mojoj **Aleksandri Velićanski, Senki Cicvari, Mariji Pavlović i Aleksandri Tasković** veliko hvala na radosti, smehu, razumevanju, iskrenosti, veri i podršci svih ovih godina divnog, pravog prijateljstva.

Na kraju, najviše zahvalnosti dugujem i osećam prema **svojoj porodici**. Najvažnijim ljudima u mom životu, mom **tati Josipu i mami Mariji, sekici Maji i mojim dijamntima Davidu i Danilu**, od sveg srca hvala što je moj život lep, radostan i bogat.

Ksenija Pavlović

# Sadržaj

<b>1. UVOD</b>	<b>1</b>
<b>2. OPŠTI DEO</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Mikrotalasno – stimulisana organska sinteza</b>	<b>3</b>
2.1.1. Princip mehanizma mikrotalasnog zagrevanja	4
2.1.1.1. Ubrzavanje hemijskih reakcija mikrotalasnim ozračivanjem	6
2.1.2. Mikrotalasne sinteze u prisustvu rastvarača (reakcije uz refluks i reakcije pod pritiskom)	11
2.1.2.1. Uticaj rastvarača na zagrevanje reakcione smeše u mikrotalasnoj organskoj sintezi	13
2.1.3. Mikrotalasne sinteze bez prisustva rastvarača („Solvent-free“ sinteze)	16
2.1.3.1. Mikrotalasi i zelena hemija	18
<b>2.2. Sinteza amida i njihova biološka aktivnost</b>	<b>19</b>
<b>2.3. Redukcija karboksilnih kiselina</b>	<b>24</b>
<b>2.4. Sinteza hidroksamskih kiselina i njihova biološka aktivnost</b>	<b>32</b>
<b>2.5. Fiziološki aktivne materije – fitohormoni</b>	<b>35</b>
<b>2.6. Fitohormonska aktivnost naftnih kiselina</b>	<b>39</b>
<b>3. NAŠI RADOVI</b>	<b>42</b>
<b>3.1. Karakterizacija naftenskih kiselina vojvođanske nafte „Velebit“</b>	<b>42</b>
<b>3.2. Mikrotalasno-stimulisane amidacije individualnih i prirodnih naftnih kiselina “Velebit” sa primarnim i sekundarnim aminima</b>	<b>55</b>
3.2.1. Mikrotalasno-stimulisane sinteze <i>N</i> -( <i>n</i> -heptil)amida individualnih naftnih kiselina	55
3.2.2. Mikrotalasno-stimulisane sinteze <i>N,N</i> -dietilamida individualnih naftnih kiselina	60
3.2.3. Sinteza <i>N</i> -( <i>n</i> -heptil)amida prirodnih naftnih kiselina „Velebit“	63
3.2.4. Sinteza <i>N,N</i> -dietilamida prirodnih naftnih kiselina „Velebit“	64
<b>3.3. “Solvent-free“ sinteze amida iz karboksilnih kiselina i uree u prisustvu i odsustvu katalizatora</b>	<b>65</b>
3.3.1. Mikrotalasno katalizovane amidacije individualnih i prirodnih naftnih kiselina “Velebit” sa ureom u odsustvu katalizatora	66
3.3.2. Mikrotalasno katalizovane amidacije individualnih i prirodnih naftnih kiselina „Velebit” sa ureom u prisustvu imidazola kao katalizatora	66
3.3.3. Mikrotalasno katalizovane amidacije individualnih i prirodnih naftnih kiselina „Velebit” sa ureom u prisustvu cirkonil-hlorida kao katalizatora	67
<b>3.4. Redukcije individualnih i prirodnih naftnih kiselina “Velebit” do primarnih alkohola</b>	<b>70</b>
3.4.1. Mikrotalasno-stimulisane redukcije individualnih naftnih kiselina upotrebom $\text{KBH}_4\text{-MgCl}_2$	70
3.4.2. Mikrotalasno-stimulisana redukcija prirodnih naftnih kiselina „Velebit” upotrebom $\text{KBH}_4\text{-MgCl}_2$	72
<b>3.5. Sinteze hidroksamskih derivata naftnih kiselina</b>	<b>75</b>
<b>3.6. Biološka aktivnost individualnih i prirodnih naftnih kiselina i njihovih derivata</b>	<b>79</b>
3.6.1. Uticaj naftnih kiselina „Velebit” i njihovih uži frakcija na propustljivost ćelijskih membrana	79
3.6.2. Ožiljavanje reznica suncokreta	83
3.6.3. Auksinska hormonska aktivnost prirodnih naftnih kiselina „Velebit” i njihovih derivata	86
3.6.4. Ispitivanje efekta naftnih kiselina i njihovih derivata na rast pet sojeva <i>Pseudomonas</i> sp.	90
3.6.5. Ispitivanje antiproliferativne aktivnosti	94

<b>4. EKSPERIMENTALNI DEO</b>	<b>96</b>
<b>4.1. Izolovanje naftnih kiselina iz atmosferskog gasnog ulja vojvođanske nafte "Velebit",     Tk 185-330 °C</b>	<b>98</b>
<b>4.2. Prečišćavanje sirovih naftnih kiselina "Velebit" alkalnom ekstrakcijom sa kalijum-hidroksidom</b>	<b>98</b>
<b>4.3. Razdvajanje naftnih kiselina "Velebit" na osnovu različite kiselosti</b>	<b>99</b>
<b>4.4. Mikrotalasno-stimulisane amidacije individualnih naftnih kiselina u odsustvu rastvarača,     primenom OTVORENOG sistema mikrotalasnog reaktora</b>	<b>100</b>
4.4.1. Mikrotalasno-stimulisana amidacija 4-cikloheksilbutanske kiseline (5)	100
4.4.1.1. Mikrotalasna sinteza <i>N</i> -( <i>n</i> -heptil)amida 4-cikloheksilbutanske kiseline (12)	100
4.4.1.2. Mikrotalasna sinteza <i>N,N</i> -dietilamida 4-cikloheksilbutanske kiseline (17)	100
4.4.2. Mikrotalasno-stimulisana amidacija dekanske kiseline (7)	101
4.4.2.1. Mikrotalasna sinteza <i>N</i> -( <i>n</i> -heptil)amida dekanske kiseline (13)	101
4.4.2.2. Mikrotalasna sinteza <i>N,N</i> -dietilamida dekanske kiseline (18)	101
<b>4.5. Mikrotalasno-stimulisane amidacije individualnih naftnih kiselina u odsustvu rastvarača,     primenom ZATVORENOG sistema mikrotalasnog reaktora</b>	<b>102</b>
4.5.1. Mikrotalasno katalizovane sinteze <i>N</i> -( <i>n</i> -heptil)amida individualnih naftnih kiselina	102
4.5.2. Mikrotalasno katalizovane sinteze <i>N,N</i> -dietilamida individualnih naftnih kiselina	103
<b>4.6. Mikrotalasno-stimulisane amidacije prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ sa primarnim,     odnosno sekundarnim aminom</b>	<b>105</b>
4.6.1. Mikrotalasna sinteza <i>N</i> -( <i>n</i> -heptil)amida prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ (19)	105
4.6.2. Mikrotalasna sinteza <i>N,N</i> -dietilamida prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ (20)	105
<b>4.7. Mikrotalasno-stimulisane sinteze primarnih amida iz slobodnih karboksilnih kiselina i uree</b>	<b>106</b>
4.7.1. Mikrotalasno katalizovane sinteze amida iz karboksilnih kiselina i uree bez upotrebe katalizatora	106
4.7.2. Mikrotalasno katalizovane sinteze amida iz karboksilnih kiselina i uree korišćenjem imidazola kao katalizatora	106
4.7.3. Mikrotalasno katalizovane sinteze amida iz karboksilnih kiselina i uree korišćenjem cirkonil-hlorida kao katalizatora	106
<b>4.8. Dobijanje alkohola individualnih i prirodnih naftenskih kiselina mikrotalasno-stimulisanim     redukcijom pomoću <math>\text{KBH}_4\text{-MgCl}_2</math></b>	<b>108</b>
<b>4.9. Sinteze hidroksamskih derivata individualnih i prirodnih naftnih kiselina</b>	<b>111</b>
<b>4.10. Određivanje uticaja naftnih kiselina na propustljivost ćelijskih membrana cvekle</b>	<b>113</b>
<b>4.11. Test ožiljavanja biljaka</b>	<b>114</b>
<b>4.12. „Test inhibicije klijanja“</b>	<b>114</b>
<b>5. ZAKLJUČAK</b>	<b>116</b>
<b>6. LITERATURA</b>	<b>123</b>
<b>7. PRILOG</b>	<b>131</b>
7.1. Prilog uz poglavlja "Naši radovi" i "Eksperimentalni deo"	132
7.2. IR, $^1\text{H}$ i $^{13}\text{C}$ NMR spektri sintetisanih jedinjenja	146
7.3. Skraćenice	179
<b>8. BIOGRAFIJA</b>	<b>180</b>

## 1. UVOD

U današnje vreme, jedan od osnovnih ciljeva organskih sintetičara je istraživanje efikasnijih i bezbednijih sintetičkih protokola koji će biti u skladu sa strogim propisima i odredbama zaštite životne sredine kao i principima *Zelene hemije*.<sup>1-4</sup> U tom smislu, mikrotalasna organska sinteza postaje sve zastupljenija kako u laboratorijskim uslovima tako i u industriji. Takođe, u skladu sa tim imperativ vremena u kojem živimo diktira veći sklad sa prirodom, a to u vreme visokih tehnologija podrazumeva efikasno iznalaženje i korišćenje prirodnih resursa. U ovom radu istraživanja su usmerena na naftenske kiseline koje se izoluju iz nafte i neke njihove sintetske derivate i ispitivanje njihove biološke aktivnosti.

Zahvaljujući brojnim prednostima mikrotalasnih sinteza, kao što su znatno skraćanje vremena trajanja sinteze, povećanje prinosa čistog proizvoda i smanjenje nusproizvoda, mikrotalasno-stimulisana organska sinteza revolucionarni je doprinos organskoj sintezi uopšte. Ova relativno nova metoda, omogućila je da se do sada ograničen broj reakcija koje se izvode bez rastvarača drastično poveća. Tehnika mikrotalasnih „solvent free“ sinteza omogućava odvijanje reakcija samo u masi reaktanata, što pored veoma važnog ekonomskog aspekta izvođenja sinteze ima prednosti i u smislu smanjenja broja reakcionih faza i skraćanja postupaka prečišćavanja. Minimalna upotreba rastvarača koji su najčešće i štetni za okolinu, pojednostavljuvanjem prečišćavanja i ušteda energije, čine „*Solvent free*“ reakcije izuzetno značajnim sa ekološkog aspekta, odnosno sa stanovišta „Zelene hemije“.<sup>5,6</sup>

Velike mogućnosti primene mikrotalasne tehnike u organskoj sintezi bile su podsticaj da se u ovom radu primeni na derivatizaciju kompleksnih smeša prirodnih naftnih karboksilnih kiselina. U prirodi naftne kiseline se javljaju u svim tipovima sirove nafte i u bitumenu naftnih škriljaca sa masenim udelom od 0.5-2.5 %. Njihov sastav i struktura predstavljaju karakteristiku svake nafte<sup>7</sup> te svedoče o njenoj genezi i prirodi. Budući da je nafta u velikoj količini zastupljena u prirodi, a da su naftne kiseline često deo otpadnih voda u blizini naftnih bušotina i postrojenja za proizvodnju i preradu nafte, ispitivanje i derivatizacija naftenskih kiselina je interesantna ne samo iz ugla petrohemijske industrije, nego je predmet brojnih ekoloških naučnih studija koje se bave rešavanjem problema njihove toksičnosti sa jedne i proučavanjem njihove fiziološke aktivnosti sa druge strane. Iz literaturnih podataka<sup>8-10</sup> i naših istraživanja čiji su rezultati sumirani u ranijim radovima<sup>11,12</sup> poznato je da naftne kiseline ispoljavaju biološku aktivnost analognu biljnim hormonima auksinskog i giberelinskog tipa.

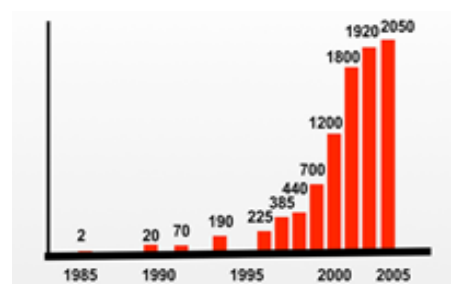
Na osnovu prethodno izloženog, postavljeni su i ciljevi istraživanja u okviru ovog doktorskog rada. Cilj ovog rada bila je sinteza prirodnih biološki aktivnih amidnih, hidroksamskih i alkoholnih derivata naftenskih kiselina dizajniranjem sinteza u uslovima prilagođenim za rad u mikrotalasnom reaktoru. Derivatizacije naftnih kiselina imaju za osnovni cilj pronalaženje derivata sa većim stepenom biološke aktivnosti u odnosu na slobodne prirodne naftne kiseline. Pored grupno strukturne analize prirodnih naftnih kiselina „Velebit“, redukcije i sinteze novih azotnih derivata individualnih i prirodnih naftnih kiselina, dodatni zadatak ovog rada predstavljaju biološka ispitivanja novosintetizovanih jedinjenja.

U „Opštem delu“ ovog rada dat je kratak prikaz principa mikrotalasno-stimuliranih organskih sinteza kao i literaturni pregled sinteza amida, alkohola i hidroksamskih derivata karboksilnih kiselina. U poglavlju „Naši radovi“ detaljno su prikazani i diskutovani rezultati koji se odnose na strukturnu analizu naftnih kiselina „Velebit“, mikrotalasno stimulirane sinteze odabranih derivata i ispitivanje njihove biološke aktivnosti. U „Eksperimentalnom delu“ dati su detaljni postupci dobijanja svih sintetizovanih jedinjenja kao i postupci bioloških testova. „Zaključak“ obuhvata osnovne rezultate rada, dok su slike GC-MS, IR i NMR spektara sintetizovanih derivata date u „Prilogu“ rada.

## 2. OPŠTI DEO

### 2.1. Mikrotalasno – stimulisana organska sinteza

Nekoliko proteklih decenija organsku sintezu karakteriše primena novih praktičnih strategija i metoda koje su usmerene ka ekološki prihvatljivijim i čistijim procedurama. Usled povećanja kompleksnosti problema i zahteva ali sa druge strane dostupnošću novijih metoda i tehnika rada, današnji organohemičari se za izvođenje reakcija ne ograničavaju samo na korišćenje toplotne energije. Organske reakcije i procesi se danas odvijaju primenom alternativnih izvora energije kao što su fotohemija, sonohemija, mehaničko-hemijsko mešanje i mikrotalasno ozračivanje.<sup>13,14</sup> Prvi radovi o primeni mikrotalasnog zračenja u organskoj sintezi objavljeni su od strane Gedye-a i Giguere/Majetich-a 1986. godine.<sup>15,16</sup> Od tada zanimanje za oblast koja je danas poznata kao mikrotalasno-stimulisana organska sinteza (Microwave-assisted organic synthesis, MAOS) je u neprekidnom usponu (Slika 2.1.). To najbolje ilustruje veliki broj publikacija iz ove oblasti prikazan u više knjiga<sup>17-22</sup>, specijalnih izdanja časopisa<sup>23-26</sup>, velikom broju naučnih radova, online bazama podataka<sup>27-29</sup>, informacijama na svetskim internet stranicama<sup>30,31</sup> i edukacionim publikacijama<sup>32-35</sup>.



Slika 2.1. Broj radova u kojima je primenjeno mikrotalasno zračenje

U današnje vreme, upotreba mikrotalasa je sve popularniji način zagrevanja, a to je zbog niza važnih prednosti u odnosu na klasično zagrevanje:<sup>36</sup>

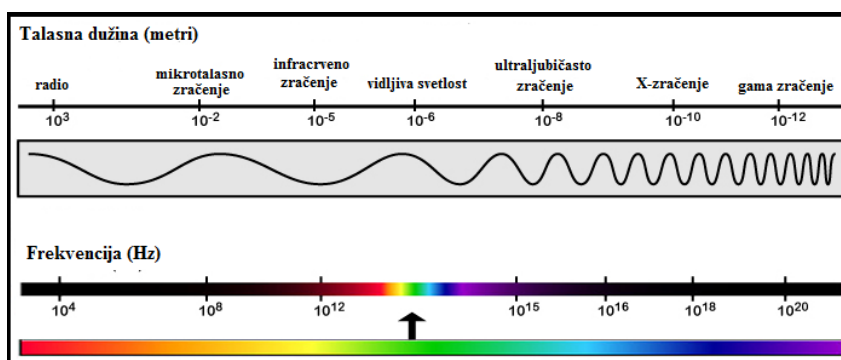
- ✓ Homogeno zagrevanje reakcione smeše
- ✓ Efikasno zagrevanje (izuzetno velika energije prenesena u jedinici vremena)
- ✓ Izbegavanje zagrevanja reakcionog suda
- ✓ Pобољшanje reakcionog prinosa
- ✓ Mogućnost velikog ubrzanja procesa
- ✓ Sinteza bez korišćenja velikih količina rastvarača
- ✓ Smanjenje neželjenih reakcija
- ✓ Pобољšana reproduktivnost
- ✓ Niski operativni troškovi

Zahvaljujući prednostima ove nove tehnologije, mikrotalasi i njihova primena su postali veoma zanimljivi u različitim oblastima: višestepenoj totalnoj sintezi, medicinskoj hemiji, sintezi polimera, nanotehnologiji i biohemjskim procesima. Iako velik broj publikacija, još od 1990. godine ističe važnost i prednost mikrotalasnog zagrevanja u organskim sintezama, prvi korak ka uvođenju MAOS u industrijske laboratorije farmaceutska industrija je započela tek oko 2000. godine.<sup>37</sup>



### 2.1.1. Princip mehanizma mikrotalasnog zagrevanja

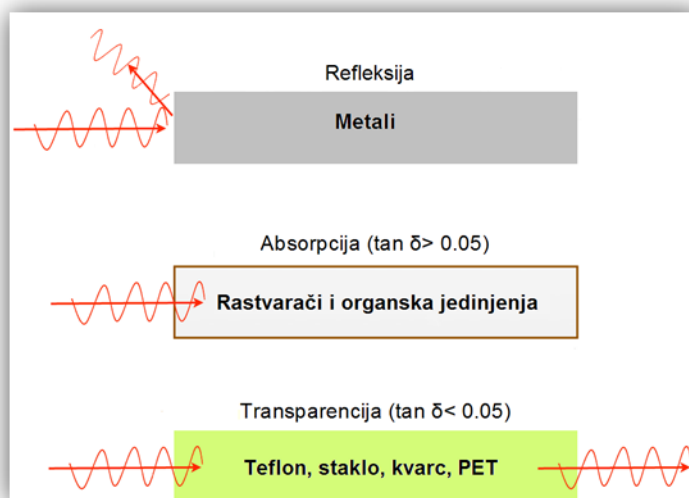
U elektromagnetnom spektru oblast mikrotalasnog zračenja se nalazi između infracrvenog i radiotalasnog područja, što odgovara talasnim dužinama od 1 mm do 1 m, odnosno frekvencijama između 300 MHz i 30 GHz (*Slika 2.2.*).<sup>38</sup> Telekomunikacioni i radarski uređaji pokrivaju veći deo frekvencija mikrotalasnog područja, te mikrotalasne peći za domaćinstvo i mikrotalasni uređaji namenjeni za rad u laboratorijama rade na frekvenciji od 2.45 GHz (12.25 cm). Izračunavanjem pomoću Plankove jednačine ( $E=hu$ ) proizilazi da kvant energije mikrotalasnog zračenja ima vrednost 0.3 cal/mol (0.0016 eV) na osnovu čega se mikrotalasi svrstavaju u nejonizujuće zračenje (za razliku od X i  $\gamma$ -zraka) i ne mogu izazvati raskidanje i promenu strukture molekula već samo njegovu rotaciju.



Slika 2.2. Elektromagnetni spektar zračenja

Mikrotalasno ozračivanje ubrzava hemijske reakcije uglavnom usled dielektričnog zagrevanja materijala. Da bi došlo do zagrevanja, odnosno interakcije materijala sa mikrotalasima, potrebno je da supstance poseduju dipolni momenat ili naelektrisanje<sup>39,40</sup>, dok su nepolarni molekuli inertni prema mikrotalasima<sup>41</sup>. U zavisnosti od te interakcije, uočena su tri različita ponašanja materijala i izvršena je podela na:

- materijale koji reflektuju mikrotalase (metali, grafit...)
- materijale koji su transparentni za mikrotalase (kvarcno staklo, keramika, sumpor, porcelan, teflon...)
- materijale koji apsorbuju energiju elektromagnetnog zračenja (proizvode toplotu na račun oscilujućeg elektromagnetnog polja, npr.: voda, rastvarači...) (*Slika 2.3.*).<sup>42</sup>

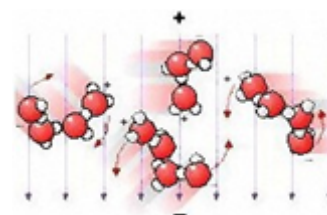


Slika 2.3. Interakcije materijala sa mikrotalasima

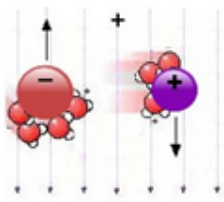
Sposobnost materijala da konvertuje elektromagnetnu u toplotnu energiju zavisi od njegovih dielektričnih svojstava (dielektrična svojstva rastvarača zavise od temperature rastvarača, frekvencije primenjenog polja i viskoznosti rastvarača) i izražava se *tangensom (uglom) gubitka* ( $\tan \delta$ ). Tangens gubitka ( $\tan \delta = \epsilon'' / \epsilon'$ ) predstavlja odnos između *dielektričnog gubitka*,  $\epsilon''$  (kvantifikuje efikasnost sa kojom se apsorbovana energija prevodi u toplotnu) i *dielektrične konstante*,  $\epsilon'$  (opisuje stepen polarizovanosti molekula u električnom polju, odnosno sposobnost rastvarača da apsorbuje mikrotalasnu energiju).

Samo zagrevanje reakcione smeše mikrotalasnim ozračivanjem može se objasniti:

- ❏ dipolarnim mehanizmom – kretanje dipola u električnom polju (Slika 2.4.): Dipol je osetljiv na spoljašnje električno polje, visoke frekvencije (2450 MHz) te će nastojati da se orijentiše u pravcu polja rotacijom. Međutim, kretanje odnosno rotacija dipola nije uvek dovoljno brza tako da oni ne mogu slediti brze izmene smera polja. Kašnjenje molekula za promenjivim električnim poljem dovodi do prevođenja elektromagnetne u toplotnu energiju.<sup>40</sup>



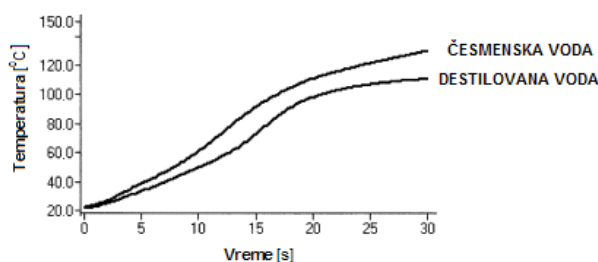
Slika 2.4. Dipolarni molekuli koji nastoje da se orijentišu u pravcu oscilujućeg električnog polja



Slika 2.5. Naelektrisane čestice u rastvoru će pratiti primenjeno polje

- ❏ kondukcijom mehanizmom – kretanje jona u električnom polju (Slika 2.5.): Do zagrevanja u mikrotalasnom polju će doći usled translatornog kretanja jona u pravcu električnog polja, odnosno usled konvertovanja kinetičke u toplotnu energiju.<sup>40</sup> Npr., ako se u mikrotalasnoj aparaturi, za isto vreme i pri istoj snazi radijacije, zagreju destilovana i česemska voda, konačna temperatura će biti veća u uzorku česemske vode (Slika 2.6.). Toplota dobijena

kondukcionim mehanizmom povećava ukupnu toplotu uzorka adiranjem na toplotu dobijenu preko dipolarnog mehanizma, što dovodi do povećanog zagrevanja česmenske vode.



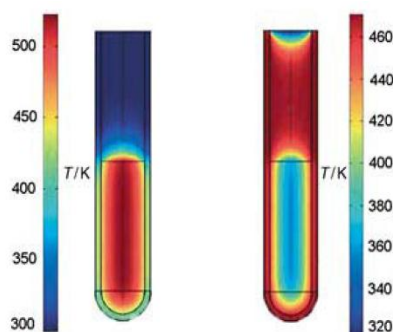
Slika 2.6. Povećanje temperature destilovane i česmenske vode ozračivanjem sa mikrotalasima snage 150 W

- ❏ mehanizam međufazne polarizacije – javlja se kod smeša supstanci koje ne apsorbuju mikrotalase. To je slučaj kod kombinacije sitnih metalnih čestica (koje reflektuju zračenje) i sumpora (koji ne apsorbuje zračenje) koji mogu usled mikrotalasa kreirati smešu koja se za vrlo kratko vreme usija i koja jako apsorbuje zračenje. Naime, u velikim komadima metala otpor za kretanje elektrona, izazvan električnim poljem, jako je mali tako da elektroni mogu pratiti promene električnog polja mikrotalasa a da pri tom nema nikakvog otpora, sudaranja i pretvaranja energije mikrotalasnog zračenja u toplotu. Drugim rečima, prodiranje mikrotalasa u metale je izuzetno malo tako da se polarizacija materijala dešava samo u veoma tankom površinskom sloju. Izuzetak čine jako tanki i sitni metalni komadi, kod kojih je odnos površine i zapremine znatan (npr. smeša gvozdениh opiljaka i sumpora u prahu). Gvožđe kao metal reflektuje mikrotalase, a sumpor ih potpuno propušta. Međutim, ova smeša se izuzetno efikasno greje mikrotalasima, jer u opiljcima gvožđa dolazi do površinske polarizacije velikog broja sitnih čestica, a sumpor na dodiru faza usporava promenu polarizacije u odnosu na spoljašnje polje, što je dovoljan uslov za efikasno pretvaranje energije mikrotalasa u toplotu.<sup>43</sup>

### 2.1.1.1. Ubrzavanje hemijskih reakcija mikrotalasnim ozračivanjem

Većina hemijskih reakcija zahteva dovođenje toplotne energije, konvencionalnim zagrevanjem ili mikrotalasnim zračenjem. Tradicionalni načini zagrevanja uz upotrebu uljanih ili peščanih kupatila i grejnih obloga su najčešće spori i dovode do lokalnog pregrevanja što može usloviti razgradnju supstrata, reagensa ili proizvoda. Nasuprot tome, mikrotalasnno zračenje prolazi kroz zidove suda (koji je transparentan za mikrotalase, napravljen od borsilikatnog stakla, kvarca ili teflona) i vrši zagrevanje samo reaktanata i rastvarača, a ne i samog suda. Temperatura uniformno raste u celoj zapremini uzorka (Slika 2.7.), (Tabela 2.1.).

Različiti temperaturni profili ova dva vida zagrevanja mogu dovesti do različitih reakcionih proizvoda. U većini slučajeva, kod kinetički kontrolisanih reakcija, mikrotalasnno posredovane sinteze su čistije i sa manje nuzproizvoda. Međutim, usled visokih temperatura, mikrotalasnno zagrevanje ponekad ne favorizuje željeni reakcioni put te dolazi do formiranja neželjenih proizvoda (izomera).



Slika 2.7. Temperaturne razlike za reakcione sisteme izložene mikrotalasnom zračenju (MW) i konvencionalnom zagrevanju ( $\Delta$ )

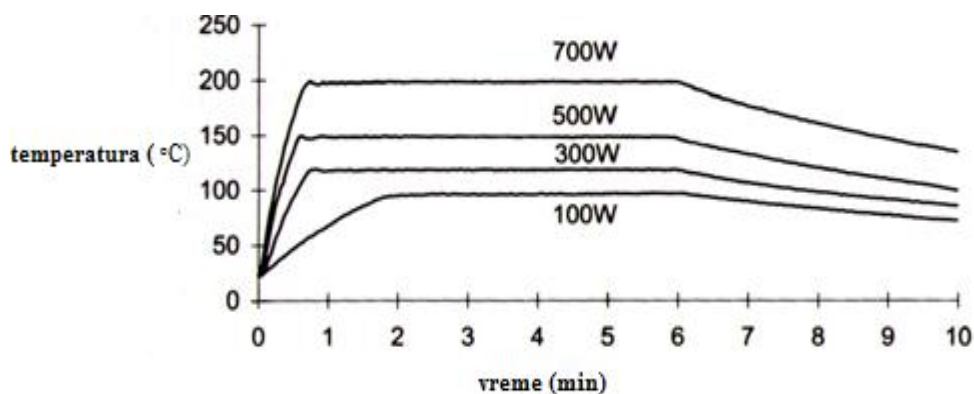
Tabela 2.1. Karakteristike konvencionalnog i mikrotalasnog zagrevanja

KONVENCIONALNO ZAGREVANJE	MIKROTALASNO ZAGREVANJE
Reakciona smeša se zagreva od površine ka unutrašnjosti reakcionog suda	Zagrevanje reakcione smeše se odvija direktno u smeši
Temperatura suda je viša od one u reakcionoj smeši, jer on mora da bude u fizičkom kontaktu sa spoljašnjim izvorom toplote (uljano kupatilo, vodeno kupatilo...)	Reakcioni sud se nalazi u mikrotalasnoj šupljini i nema potrebe za fizičkim kontaktom sa toplotnim izvorom
Plamenici ili električni izvor grejanja	Izvor grejanja su elektromagnetni talasi
Mehanizam grejanja kao posledica kondukcije	Mehanizam grejanja usled dipolarne polarizacije i kondukcije
Prenos energije sa površine suda do rastvarača i reaktanata	Reakciona smeša se zagreva direktno
Temperatura rada je ograničena temperaturom ključanja reakcione smeše	Temperatura smeše se može povećati dosta više od njene temperature ključanja, tzv. "super zagrevanje"
Sve komponente smeše se zagrevaju podjednako	Određene komponente mogu biti posebno grejane
Prinos reakcije je niži, uz dosta nusproizvoda	Povećava prinos reakcije i čistoću dobijenog proizvoda
Potrebno je dosta vremena za dostizanje željene temperature reakcione smeše	Željena temperatura se postiže za svega nekoliko sekundi

Ubrzavanje hemijskih reakcija koje se postiže mikrotalasnom sintezom (u odnosu na konvencionalnu sintezu) još uvek nije u potpunosti jasno ali se generalno smatra da postoje tri vrste mikrotalasnih efekata<sup>41,44</sup>

- termički (kinetički)
- specifični
- netermalni<sup>44</sup>

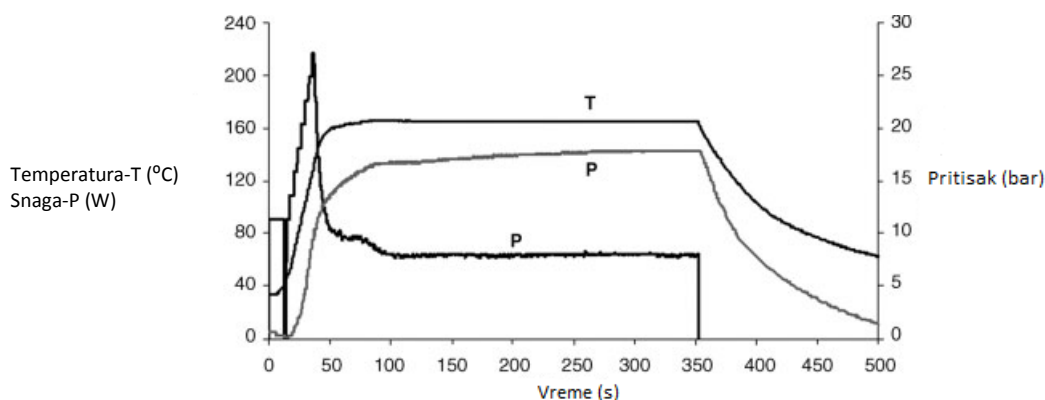
**Termički efekti** - svode se na dostizanje visokih temperatura u vrlo kratkom vremenu uz enormno ubrzanje hemijskih procesa. Na *Slici 2.8.* prikazan je profil zagrevanja srednje apsorbujućeg rastvarača, 1-metil-2-pirolidona ( $T_k$  202-204 °C,  $\tan \delta = 0.275$ ) u mikrotalasnom reaktoru. U zavisnosti od primenjene snage magnetrona, moguće je za veoma kratko vreme postići temperaturu ključanja rastvarača. Tako, pri snazi od 700W, za 40 sekundi 1-metil-2-pirolidon dostiže temperaturu od 200 °C.



Slika 2.8. Temperaturni profili zagrevanja 1-metil-2-pirolidona u otvorenom sistemu

Ubrzanje reakcije u mikrotalasnim uslovima moguće je i izvođenjem procesa u zatvorenim sudovima gde se zbog porasta pritiska omogućava dostizanje mnogo viših temperatura od temperature ključanja korišćenog rastvarača. Tako se npr. metanol koji ima nisku tačku ključanja ( $T_k$  65 °C,  $\tan \delta = 0.659$ ) može zagrejati do temperature više za 100 °C od njegove temperature ključanja. Taj efekat je naročito izražen upotrebom jonskih tečnosti, gde se beleže porasti temperature i od 200 °C za svega nekoliko sekundi. Pomenute efekte je nemoguće postići pri konvencionalnom zagrevanju te je i poređenje mikrotalasnog i klasičnog zagrevanja nemoguće.<sup>37</sup>

Na Slici 2.9. je prikazan princip zagrevanja u modernim mikrotalasnim reaktorima. Naime, dat je profil temperature, snage i pritiska pri zagrevanju metanola na 165 °C. U zavisnosti od inicijalne snage mikrotalasa, željena temperatura se dostiže u najkraćem vremenskom roku nakon čega magnetron reguliše sam sebe i drži vrednost (70W) koja je potrebna da bi se održala temperatura pregrejanog metanola. Po isteku reakcionog vremena, reakciona smeša se hladi komprimovanim vazduhom na temperaturu od 40-50 °C.



Slika 2.9. Profil temperature, snage i pritiska pri zagrevanju metanola na 165 °C u mikrotalasnom reaktoru

Na osnovu Arenijusovog izraza za konstantu brzine reakcije (Jednačina (1)):

$$k = A \exp(-E_a/RT) \quad (1)$$

može se predvideti brzina procesa na raznim temperaturama. Za uobičajene parametre hemijske reakcije prvog reda po komponenti B (konstanta brzina reakcije  $k[B]$ );  $A = 4 \times 10^{10} \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  i  $E_a = 100 \text{ kJ mol}^{-1}$

<sup>1</sup>, može se odrediti potrebno vreme za određeni stepen konverzije reaktanta B (Tabela 2.2.). Tako bi hemijske transformacije koje zahtevaju 68 dana na temperaturi od 27 °C mogle da se odigraju za samo 1.61 sekund pri temperaturi od 227 °C.<sup>37</sup>

Tabela 2.2. Teoretski predračun vremena potrebnog za 90%-nu konverziju reaktanta B na različitim temperaturama za reakciju prvog reda

T (°C)	K (s <sup>-1</sup> )	Vreme (90% konverzija)
27	1.55 x 10 <sup>-7</sup>	68 d
77	4.76 x 10 <sup>-5</sup>	13.4 h
127	3.49 x 10 <sup>-3</sup>	11.4 min
227	1.43	1.61 s

Dakle, za termalni efekat odgovorna je samo promena temperature, a ne i promena predeksponencijalnog faktora A i energija aktivacije u Arenijusovoj jednačini (1).

### Specifični mikrotalasni efekti

Efekti koji se ne mogu reprodukovati konvencionalnim zagrevanjem ali su termalne prirode nazivaju se specifični mikrotalasni efekti. Uzroci za nastajanje ovih efekata su:

#### Pregrevanje rastvarača

Ako se pretpostavi da je temperatura u reakcionoj smeši određena temperaturom ključanja rastvarača moglo bi se zaključiti da će brzina hemijskih reakcija biti ista u svim otvorenim sistemima bez obzira na izvor toplote. Međutim, u određenim slučajevima pri zagrevanju uz refluks, moguće je da se javi velika razlika između temperature reakcione smeše i tačke ključanja rastvarača. Ovaj efekat moguće je objasniti preko pojave pregrevanja rastvarača ukoliko se greju mikrotalasima. Neki rastvarači mogu da pokažu i do 38 °C višu tačku ključanja u mikrotalasno grejanim otvorenim sudovima, što predstavlja znatan termalni efekat koji nije moguće reprodukovati klasičnim zagrevanjem. Razlog ovakvog pregrevanja leži u otežanoj nukleaciji mehurova gasa u mikrotalasno grejanim rastvorima (Tabela 2.3). Naime, pri klasičnom zagrevanju lako se formiraju centri nukleacije zbog nepravilnosti materijala ili ogrebotina posude preko koje se prenosi toplota. Kod mikrotalasnog zagrevanja, toplota se predaje direktno masi rastvarača, a zidovi suda ostaju hladni zbog čega dolazi do težeg stvaranja nukleusa bez kojih dolazi do pregrevanja rastvarača iznad uobičajene tačke ključanja.

Tabela 2.3. "Efekti pregrevanja" za neke od rastvarača

Rastvarač	Normalni uslovi / °C	Mikrotalasno izlaganje / °C	Razlika / °C
Voda	100	105	5
1-butanol	117	138	21
Metanol	65	84	19
Acetonitril	82	120	38

#### Efekti vezani za različit transfer toplote

Toplota se pri konvencionalnom zagrevanju prenosi sa zida posude na reakcionu smešu zbog čega može doći do razgradnje komponenata u blizini zida posude. Kod mikrotalasnog zagrevanja zidovi suda su transparentni za mikrotalase pa se dovedena energija oslobađa tek u kontaktu sa organskim molekulima reakcionog rastvora.

#### Efekti vezani za različito zagrevanje u heterogenim hemijskim sistemima

Ovi efekti mogu biti značajni u reakcijama čvrsto-tečno ili čvrsto-gas ukoliko jedna faza jako apsorbuje mikrotalase, a nalazi se na višoj temperaturi u odnosu na neapsorbujuću fazu. Sa jedne strane prinos procesa je povećan zbog veće brzine reakcije na površini katalizatora a sa druge formirani produkti se desorbuju u rastvarač koji je na nižoj temperaturi pa se sprečava i njegova degradacija. U sistemima tečno-tečno mogu se kombinovati nemešljivi rastvarači sa različitom apsorpcijom mikrotalasa. U sistemu voda-hloroform, postižu se temperature vodene faze i do 110 °C dok je hloroform na 55 °C. Hloroform može da ekstrahuje osetljivi reakcioni produktat i spreči njegovo razlaganje.

#### **Netermički efekti**

Efekti koji se ne mogu objasniti sa prethodna dva opisana efekta. Ove efekte je najteže racionalizovati i još uvek nije u potpunosti razjašnjen (i prihvaćen) mehanizam njihovog delovanja. Uključivanje ovih efekata u reakcioni mehanizam podrazumeva promenu Arenijusovih parametara:

a) predeksponencijalnog faktora A – rotacijom dipola može se znatno povećati verovatnoća za povoljnu orijentaciju dipola pri reaktivnim sudarima, čime se smanjuje entropija aktiviranja tj. predeksponencijalni faktor A.<sup>45</sup> Dalje, mikrotalasni efekti se mogu manifestovati preko povećane mobilnosti molekula u mikrotalasnom polju takođe menjajući predeksponencijalni faktor u Arenijusovom izrazu za konstantu brzine reakcije.<sup>46</sup>

b) energiju aktivacije procesa,  $E_a$  - u slučaju stvaranja polarnog aktiviranog kompleksa, različita solvatacija može menjati i energiju aktivacije procesa. Polarno prelazno stanje u hemijskim reakcijama usled poravnjanja sa poljem, može biti stabilizovano u mikrotalasnom polju što dovodi do smanjenja slobodne energije aktiviranja i omogućava bržu reakciju.<sup>41</sup>

### 2.1.2. Mikrotalasne sinteze u prisustvu rastvarača (reakcije uz refluks i reakcije pod pritiskom)

Organske reakcije se najčešće izvode u tečnom medijumu, jer tada reaktanti efektivno imaju najbolji mogući kontakt u homogenom rastvoru, ili na granici faza ako se tečnosti ne mešaju. U tečnoj fazi uz učešće rastvarača olakšava se i podstiče kretanje molekula pri čemu se molekuli reaktanata brže i kontinualnije dovode u kontakt. Pored toga, mnogo je lakše izvesti ujednačeno zagrevanje ili hlađenje rastvora, po potrebi. Međutim, uloga rastvarača u organskim reakcijama je mnogo kompleksnija od obezbeđivanja homogenosti radi povećanog broja produktivnih sudara.

Rastvarač ima moć da uveliko poveća ili smanji brzinu reakcije. Promena rastvarača može uticati na stepen konverzije, a uticaj rastvarača može biti i toliko jak da odredi sam tok reakcije, pa i da izmeni prinos produkata. Stoga rastvarač može biti jako i neodvojivo vezan za proces organske reakcije preko rastvaranja reaktanata, produkata, prelaznih stanja ili nekom drugom ulogom. Tako jaka povezanost rastvarača sa reaktantima se objašnjava mnogim faktorima među koje spadaju i elektrostatički, sterni i konformacioni efekti. Iako su reaktanti u stalnom kontaktu sa rastvaračem, on obično ne postaje deo proizvoda, izuzev u reakcijama solvolize gde se nakon završetka reakcije obnavlja i izlazi nepromenjen.<sup>47</sup>

U principu svaka tečnost se može ponašati kao rastvarač. Međutim, broj tečnih supstanci koje se koriste kao rastvarači je ograničen i uključuje nekoliko ugljovodonika, hlorovanih ugljovodonika, nekoliko etara, estara, alkohola, derivata amida, sulfoksida itd. Tečni azot, ugljen disulfid i voda se takođe često koriste kao rastvarači prilikom sinteza.

Pogodnost rastvarača za neku reakciju zavisi od više faktora i određuje se na osnovu njegovih fizičkih i hemijskih karakteristika. Ponekad sam tečni reaktant može poslužiti kao rastvarač za datu reakciju. U svakom slučaju, smatra se da je rastvarač neizostavna komponenta svake reakcije.<sup>37</sup>

Reakcije se izvode u organskim rastvaračima primenom otvorenih (reakcije uz refluks) ili zatvorenih (reakcije pod pritiskom) posuda (*Tabela 2.4.*). Reaktanti su najčešće rastvoreni u organskom rastvaraču koji je dobar apsorber MT-zračenja, pa samim tim deluje kao medijum za transfer energije. Za rad u otvorenim reakcionim sistemima najčešće se primenjuju mikrotalasno-apsorbujući rastvarači sa visokom tačkom ključanja, međutim njihova primena znatno otežava postupak izolovanja proizvoda. Na povišenim temperaturama voda se ponaša kao "pseudo-organski" rastvarač, pa se može koristiti kao zamena za ekološki štetne rastvarače.<sup>43</sup>

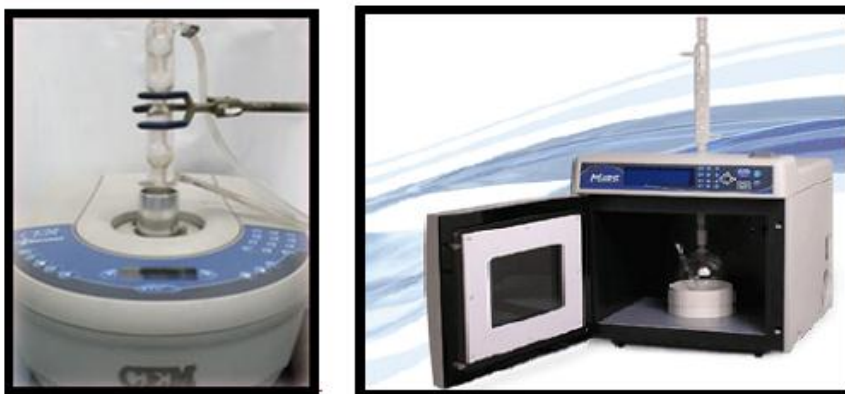


Tabela 2.4. Karakteristike reakcija izvođenih uz refluks i pod pritiskom

Refluksni sistem (otvoreni sistem)	Sistem pod pritiskom (zatvoreni sistem)
Mogućnost korišćenja istih eksperimentalnih uslova koji se koriste pri tradicionalnim organskim sintezama	Izvođenje reakcija pri visokom pritisku (i do 20 bar)
Temperatura je ograničena tačkom ključanja rastvarača	"Superzagrevanje" reakcione smeše
Nema opasnosti od eksplozije za vreme procesa, ako se biraju nisko MT-apsorbujući rastvarači	Omogućeno dobro planiranje i programiranje procesa i eksperimenta zahvaljujući mogućnosti praćenja pritiska i temperature.

### Sinteze uz refluks

U cilju korišćenja rastvarača u mikrotalasnim aparaturama, a bez opasnosti od eksplozija razvijen je veći broj refluksnih sistema (Slika 2.10.).



Slika 2.10. Mikrotalasni reaktori za izvođenje reakcija uz refluks

Neki sistemi predstavljaju modifikovane mikrotalasne peći za domaćinstvo, dok su drugi mikrotalasni reaktori posebno projektovani. Kod ovih sistema rizik od eksplozija je mali sve doklegod zapaljive pare ne dospeju u unutrašnjost mikrotalasnog reaktora i sve dok je sistem na atmosferskom pritisku. Temperatura u odnosu na normalnu tačku ključanja rastvarača ne može biti povećana za više od 13 – 26 °C, i to samo za ograničeno vreme. Ovaj takozvani "efekat pregrevanja" će do određenog stepena ubrzati reakciju, ali to neće rezultovati istim efektima koje bi mogli očekivati na mnogo višim temperaturama.<sup>40</sup>

### Sinteze pod pritiskom

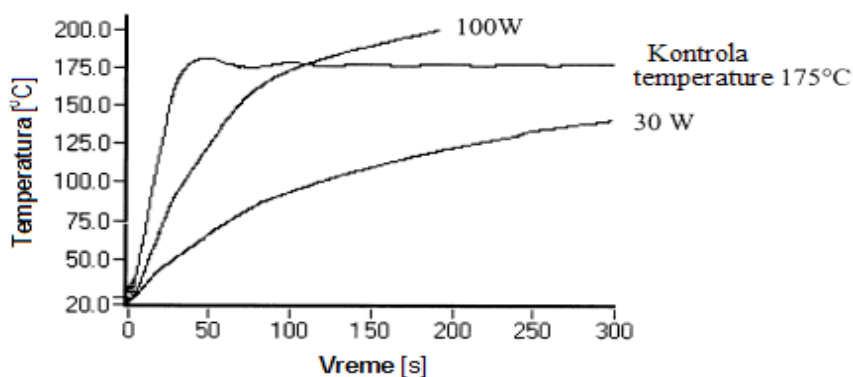
Karakteristika reakcija koje se odvijaju u sistemima pod pritiskom (Slika 2.11.) jeste izuzetno brzo zagrevanje.



Slika 2.11. Mikrotalasni reaktor sa dodatnom opremom za izvođenje reakcija pod povišenim pritiskom

Ova tehnika je korisna i za postizanje ravnomernog i brzog dielektričnog zagrevanja. Veoma je korisna zbog lakog izvođenja brzih hemijskih sinteza.

Savremeni mikrotalasni uređaji, u kojima se izvode reakcije pod pritiskom, opremljeni su sistemom za kontrolu temperature i pritiska što eksperimentatoru omogućava rad ili pri konstantnoj snazi mikrotalasnog zračenja ili pri konstantnoj temperaturi (Slika 2.12.). Danas, ova tehnika doživljava svoju ekspanziju.



Slika 2.12. Različiti temperaturni profili DMF-a zagrevanog uz temperaturnu kontrolu i kontrolu primenjene mikrotalasne snage<sup>40</sup>

### 2.1.2.1. Uticaj rastvarača na zagrevanje reakcione smeše u mikrotalasnoj organskoj sintezi

Uspešnost i uniformnost zagrevanja pomoću mikrotalasa zavisi od fizičkih osobina reakcione smeše, njene zapremine, zapremine same reakcione posude, fizičkih osobina i geometrije molekula reaktanata ali i prirode rastvarača.

S obzirom da se veliki broj hemijskih reakcija u mikrotalasnim organskim sintezama odvija u rastvorima od velikog je značaja sposobnost molekula rastvarača da apsorbuju mikrotalasnu energiju. Tačka

ključanja rastvarača više nije ograničavajući faktor zahvaljujući činjenici da se veoma visoke temperature postižu za svega nekoliko sekundi.

Da bi mogli porediti sposobnosti različitih rastvarača da generišu toplotu od mikrotalasnog zračenja moramo uzeti u razmatranje njihove kapacitete apsorpcije mikrotalasne energije i prevođenja apsorbovane energije u toplotu. Ove faktore možemo posmatrati korišćenjem ugla gubitka,  $\delta$ , koji je obično izražen u obliku njegovog tangensa (predstavljeno u poglavlju 2.1.1.). Što je rastvarač polarniji imaće veći tangens gubitka, veću moć apsorpcije mikrotalasa, a to će prouzrokovati brže zagrevanje. Napolarni rastvarači, ili supstance, slabo apsorbuju energiju jer nisu zahvaćeni promenama u mikrotalasnom polju, pa napolarni rastvarači generalno ne zagrevaju toliko dobro kao polarni.

Neki materijali (kao što je voda) imaju visoke dielektrične konstante ( $\epsilon' = 80.4$ ,  $25\text{ }^\circ\text{C}$ ) ali ne moraju da imaju i visok  $\tan \delta$ . Tako npr., etanol ima znatno nižu vrednost dielektrične konstante ( $\epsilon' = 24.3$ ,  $25\text{ }^\circ\text{C}$ ) ali se dejstvom mikrotalasa zagreva daleko brže u odnosu na vodu usled većeg  $\tan \delta$  ( $\tan \delta$  za etanol je 0.941 a za vodu 0.123).

Organski rastvarači se mogu podeliti u tri kategorije: nisko, srednje i visoko apsorbujući rastvarači (Tabela 2.5.).<sup>18,39</sup> Niski apsorberi uglavnom su ugljovodonici, a visoki polarnija jedinjenja (većina alkohola).<sup>48</sup>

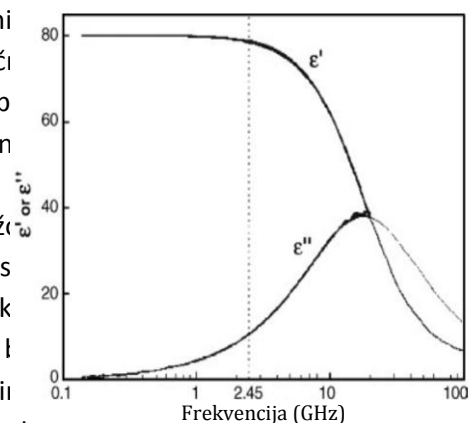
Tabela 2.5. Tangensi ugla gubitka ( $\tan \delta$ ) nekih uobičajenih nisko, srednje i visoko MT-apsorbujućih rastvarača, izmeren pri sobnoj temperaturi i 2.45 GHz

Visoko apsorbujući rastvarači ( $\tan \delta > 0.5$ )		Srednje apsorbujući rastvarači ( $\tan \delta 0.1 - 0.5$ )		Nisko apsorbujući rastvarači ( $\tan \delta < 0.1$ )	
rastvarač	$\tan \delta$	Rastvarač	$\tan \delta$	rastvarač	$\tan \delta$
etilen-glikol	1.350	butan-2-ol	0.447	hloroform	0.091
EtOH	0.941	Dihlorbenzen	0.280	MeCN	0.062
DMSO	0.825	NMP	0.275	EtOAc	0.059
propan-2-ol	0.799	etanska kiselina	0.174	acetone	0.054
metanska kiselina	0.722	DMF	0.161	THF	0.047
MeOH	0.659	dihloretan	0.127	DCB	0.042
nitrobenzen	0.589	voda	0.123	toluen	0.040
butan-1-ol	0.571	hlorbenzen	0.101	heksan	0.020

Mikrotalasno transparentni rastvarači su  $\text{CCl}_4$ , benzen, dioksan. Međutim, važno je istaći da niske vrednosti tangensa gubitka odgovarajućih rastvarača ne isključuje njihovu upotrebu u mikrotalasnoj sintezi obzirom da supstrati, reagensi, katalizatori, polarni aditivi (alkoholi) ili jonkse tečnosti mogu biti polarne supstance, odnosno elementi zagrevanja te će doći do apsorpcije mikrotalasa od strane reakcione smeše.

Vrednosti dielektričnih konstanti jedinjenja zavisi od fizičkih karakteristika. Na primer, dielektrična svojsva leda ( $\epsilon'' 0.0029$ ,  $\epsilon' 3.2$ ,  $\tan \delta 0.0009$ ) se značajno razlikuju od vode na  $25\text{ }^\circ\text{C}$  ( $\epsilon'' 12.48$ ,  $\epsilon' 78$ ,  $\tan \delta 0.123$ ).

Vrednost tangensa gubitka ( $\tan \delta$ ) zavisi i od temperature i frekvencije. Na *Slici 2.13.* prikazana je zavisnost dielektričnih osobina destilovane vode i frekvencije na 25 °C. Dielektrični gubitak,  $\epsilon''$  destilovane vode dostiže svoj maksimum p frekvenciji od oko 18 GHz, pri padu vrednosti dielektričn konstante  $\epsilon'$ . Mikrotalasne pećnice u domaćinstvu, kao mikrotalasni reaktori u laboratorijama rade pri znatno niž frekvenciji od 2.4 GHz. Razlog tome je što bi pri višoj vrednos frekvencije, mikrotalasno zračenje bilo izuzetno jak apsorbovano već u površinskim slojevima materijala i ne l prodiralo u dublje slojeve (npr. hrana bi se ugljenisala na površii dok bi unutrašnjost ostala nekuvana). Zbog toga, frekvencija od 2.4 GHz omogućava veću prodornost mikrotalasa i ravnomernije zagrevanje uzorka unutar cele zapremine.<sup>49</sup>



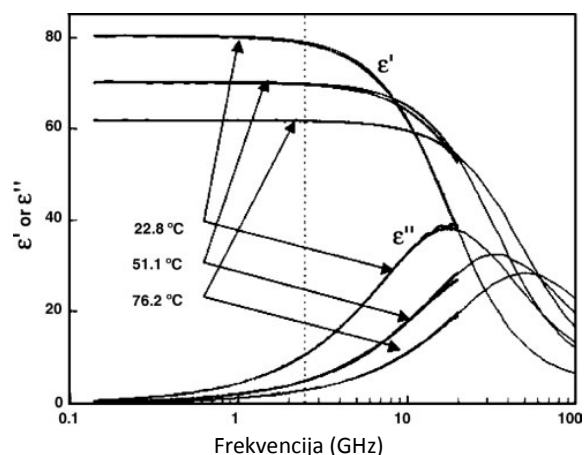
Slika 2.13. Zavisnost dielektričnih osobina destilovane vode i frekvencije na 25 °C

Dubina penetracije, odnosno prodornosti mikrotalasa prema definiciji predstavlja tačku u kojoj je prisutno 37% početne mikrotalasne snage.<sup>50</sup> Ona je obrnuto proporcionalna  $\tan \delta$  i zavisi od frekvencije zračenja i temperature. Materijali sa višim vrednostima  $\tan \delta$  imaju manju sposobnost penetracije te mikrotalasno zračenje apsorbuje samo u površinskim slojevima. U slučaju vode kao rastvarača ( $\tan \delta = 0.123$  na 25 °C i 2.45 GHz) na sobnoj temperaturi dubina prodiranja je svega nekoliko centimetara (*Tabela 2.6.*) zbog čega neće doći do zagrevanja njene celokupne zapremine. Iz ovoga sledi da se izvođenjem eksperimenata na visokoj skali, samo spoljašnji slojevi reakcione smeše direktno zagrevaju od strane mikrotalasnog zračenja mehanizmom dielektričnog zagrevanja dok će unutrašnji slojevi biti zagrejani konvencionalnim prenosom toplote i/ili kondukcijom mehanizmom.

Tabela 2.6. Dubina prodiranja nekih materijala

Materijal	Temperatura (°C)	Dubina penetracije (cm)
voda	25	1.4
voda	95	5.7
led	-12	1100
polivinilhlorid	20	210
staklo	25	35
teflon	25	9200
kvarcno staklo	25	16000

Pošto je frekvencija većine mikrotalasnih pećnica i reaktora podešena na 2.45 GHz, dielektrične osobine rastvarača se mogu menjati samo sa promenom temperature. Tako, dielektrični gubitak i tangens gubitka čiste vode, kao i većine organskih rastvarača, opada sa povećanjem temperature (*Slika 2.14.*). Na osnovu toga, veoma je lako zagrejati vodu do 100 °C na 2.45 GHz ali je veoma teško postići temperature od 200 °C i iznad 200 °C u zatvorenom sistemu mikrotalasnog reaktora. Na osnovu prethodnog, superkritična voda ( $T > 374$  °C) je transparentna prema mikrotalasnom zračenju. Slično vodi, dielektrični gubitak većeg broja organskih rastvarača ponaša se identično pri visokim vrednostima temperature.<sup>37</sup>



Slika 2.14. Dielektrične osobine vode u zavisnosti od temperature i frekvencije

### 2.1.3. Mikrotalasne sinteze bez prisustva rastvarača („Solvent-free“ sinteze)

Ovakvi procesi se mogu izvoditi na tri načina:

- reakcije koriste samo pogodne čiste reaktante
- reakcije u prisustvu katalizatora za fazni transfer
- reakcije koje se izvode adsorpcijom reaktanata na čvrstoj podlozi

#### „Solvent free“ sinteze

Idealan medijum za oslobađanje i vezivanje toplote u endo- i egzotermnim hemijskim transformacijama je tečna faza. Zbog toga se hemijske reakcije uglavnom izvode u tečnoj fazi, u rastvoru, ali nije isključeno ni njihovo odigravanje u gasovitom ili čvrstom stanju. Povećanja ili smanjenja brzine reakcije su često veoma uslovljena izborom rastvarača koji neretko vrši uticaj kako na stepen konverzije ili položaj hemijske ravnoteže, tako i na promene toka reakcije, što dovodi do drugačijeg prinosa i odnosa produkata.

Rastvarač je intenzivno i neodvojivo povezan sa procesom rastvaranja reaktanata, produkata, prelaznih stanja ili intermedijernih vrsta. Bliske interakcije između rastvarača i reaktanata uzrokuju mnogi faktori koji uključuju uglavnom elektrostatičke, sterne i konformacione efekte. Međutim, uprkos tako jakim uticajima rastvarač ne postaje deo produkta. Dalje, reaktanti reaguju uspešnije ako su u homogenom rastvoru, koji olakšava mešanje, mućkanje, zagrevanje i hlađenje, pri čemu se reaktivni molekuli brže, ujednačeni i produktivnije sudaraju, odnosno reaguju.

Ranije je upotreba rastvarača u reakcijama organskih sinteza bila označena kao nezamenjiva, međutim, danas je poznato da reakcije mogu da se odigravaju u čvrstoj fazi, prilikom čega, u većini slučajeva postaju selektivnije (zahvaljujući uređenosti kristalne rešetke) i efikasnije nego u reakcijama tečne faze.<sup>51-53</sup>

Postoje razlike između:

- reakcija u čvrstoj fazi, reakcija molekula fluida sa čvrstim supstratom

- reakcija bez rastvarača, bilo koji sistem čistih reagenasa koji reaguju međusobno u odsustvu rastvarača
- reakcija u čvrstom stanju ili reakcije čvrsto-čvrsto, u kojima dve makroskopske čvrste čestice reaguju direktno i prelaze u treći, čvrsti produkt, bez prelaska u tečnosti ili pare

**Reakcije čvrsto-čvrsto** su iste kao i reakcije bez rastvarača. Organske reakcije koje se odigravaju u čvrstoj fazi mogu uključivati i tečnu fazu. Topljenje obuhvata postojanje eutektične smeše sa temperaturom topljenja iznad tačke topljenja reaktanata. U nekim slučajevima gde je zagrevanje potrebno jasno je da se dešava promena faze (iz čvrstog u tečno). Reakcijama bez rastvarača su podložne sve vrste reakcija bile one jednostavne ili složene i sve klase jedinjenja.

Najzastupljenije i najvažnije reakcije su kondenzacije karbonilnih jedinjenja, ciklizacije, alkilovanja, aromatične supstitucije, adicije amina, vode i alkohola, cikloadicije, eliminacije, reakcije supstitucije, C-C kuplovanja i katalizovane reakcije.<sup>54-68</sup>

**Reakcije u uslovima bez rastvarača** su se pokazale kao odlične u smanjenju gubitaka reagenasa, rastvarača i proizvoda. Upotreba ove tehnike izvođenja reakcija ima nekoliko prednosti u odnosu na klasične uslove:

- smanjen rizik, svojstven velikim količinama lako isparljivih organskih rastvarača
- nije neophodno dodavati i prečišćavati rastvarač čime se smanjuje zagađenje
- lako obnavljanje nosača u slučajevima kada se koriste neorganski nosači
- pojednostavljenje sintetičkih koraka postizanjem dovoljne čistoće željenog produkta čime se izbegavaju prekrizalizacija i hromatografija kao metode za prečišćavanje produkta
- u većini slučajeva višestruko ubrzanje reakcije
- mogućnost izvođenja uzastopnih reakcija sa visokim prinosima
- nije neophodno koristiti specijalizovane aparature
- izbegavanje zaštite i skidanje zaštite reaktivnih funkcionalnih grupa
- ekonomski atraktivnije procedure za industrijsku upotrebu usled nepostojanja potrebe za korišćenjem rastvarača i manje aparature.

Metodologija mikrotalasnog zračenja u organskim sintezama imala je ogroman uticaj na reakcije bez rastvarača. Lakše posmatranje označenih mikrotalasnih efekata usled eliminisanja uticaja dielektrične konstante rastvarača, profitabilnije korišćenje silika gela i gline (usled njihove velike apsorpcije mikrotalasnog zračenja u odnosu na rastvarač), minimum rizika od eksplozije lako isparljivih organskih rastvarača i mogućnost upotrebe katalizatora za fazni transfer su neke od prednosti izvođenja hemijskih transformacija pod dejstvom mikrotalasnog zračenja, a bez upotrebe rastvarača.

Postoje i određene negativne strane reakcija bez rastvarača, ali se one mogu otkloniti razvojem i tehničkim poboljšanjem reaktora. Negativne strane uključuju stvaranje tačaka pregrevanja (tzv. „Hot-spots“) i mogućnost sporednih reakcija.

### 2.1.3.1. Mikrotalasi i zelena hemija

Danas se organska sinteza sve više usmerava prema razvoju ekološki prihvatljivih procesa koji čine temelje "Zelene hemije". „Zelena hemija” se zasniva na 12 principa kojima je obuhvaćena i mikrotalasná sinteza:<sup>1-3</sup>

- ❑ Bolje je sprečiti nastajanje otpada nego ga kasnije uklanjati
- ❑ Sintetske metode se moraju osmisliti tako da maksimiziraju iskorišćavanje svih supstanci koje učestvuju u procesu i da se sve te supstance ugrade u finalni produkt
- ❑ Sintetske metode moraju biti osmišljene tako da ne sadrže toksične supstance štetne po ljude ili da ih sadrže u minimalnim količinama kad god je moguće
- ❑ Hemijski produkti se trebaju dizajnirati tako da ispoljavaju svoja dejstva sa minimalnim toksičnim efektima
- ❑ Izbegavati upotrebu pomoćnih supstanci (rastvarača, separacionih agenasa itd.)
- ❑ Izbegavati potrošnju energije i težiti tome da se reakcije odvijaju u sobnim uslovima
- ❑ Sirovine i sirov materijal koji se upotrebljava treba da budu obnovljivi
- ❑ Izbegavati nepotrebnu derivatizaciju (blokiranje grupa, protekcija/deprotekcija i privremena modifikacija fizičko/hemijskih procesa)
- ❑ Katalitički reagensi su superiorniji od stehiometrijskih
- ❑ Hemijske produkte dizajnirati tako da se na kraju njihove upotrebe ne zadržavaju u životnoj sredini i da njihovi degradacioni proizvodi budu neškodljivi
- ❑ Analitičke metode se moraju usavršiti da bi se mogao posmatrati i pratiti sam tok reakcije u realnom vremenu i kontrolisati nastajanje štetnih supstanci
- ❑ Birati hemikalije koje u što manjoj meri mogu izazvati hemijske nesreće (eksplozije, oslobađanje gasova, požare itd.).

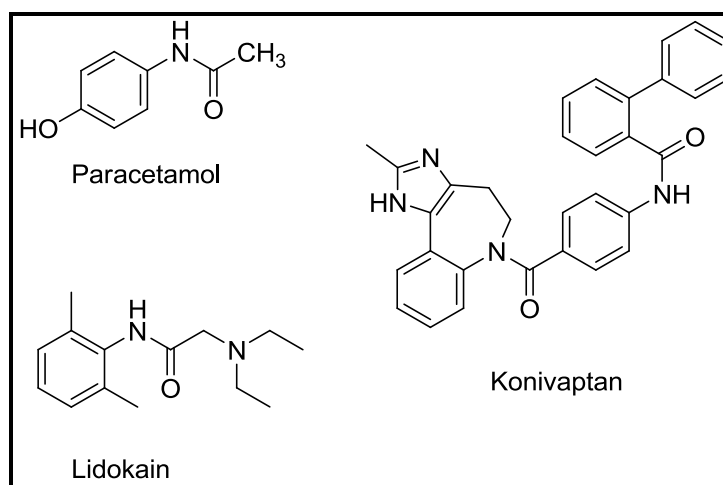
Dakle, povećana je potražnja za primenom efikasnih sintetičkih reakcija bez primene rastvarača. U tom kontekstu, mikrotalasi su postali važan izvor energije u mnogim laboratorijskim postupcima, a naročito u izvođenju reakcija bez prisustva rastvarača. Ove reakcije se izvode neposrednim mešanjem reaktanata i reagensa (*engl.* "Solvent free" ili "Dry-media").

## 2.2. Sinteza amida i njihova biološka aktivnost

Amidi, bilo prirodni ili sintetički, spadaju među najvažnija jedinjenja u organskoj hemiji. Utvrđeno je da je amidna funkcionalna grupa odgovorna kako za antioksidativnu, tako i za antibakterijsku i antiviralnu aktivnost većine od 17 ispitivanih cinamoil-, feruloil- i sinapoil- amida amino kiselina.<sup>69</sup>

Amidna veza igra glavnu ulogu u sastavu bioloških sistema. Međutim ona nije limitirana samo na biološke sisteme već je prisutna i u velikom broju molekula, uključujući i lekove.<sup>70</sup> Statistički gledano, četvrtina svih sintetisanih farmaceutskih proizvoda sadrže amidnu funkciju.<sup>71</sup> Amidni derivati se koriste kao antiinflamatorni lekovi, a pokazuju i antituberkulozna<sup>72</sup>, antikonvulzivna<sup>73</sup>, antifugalna<sup>74</sup> i antitumorska svojstva<sup>75</sup>. Amidi imaju širok spektar antibakterijske aktivnosti i pokazuju sedativnu, baktericidnu i insekticidnu aktivnost.<sup>76</sup> Amidni derivati pokazuju i antiagregacionu aktivnost u lečenju akutnog koronarnog sindroma<sup>77</sup>, a važni su i kao međuproizvodi u sintezi terapijskih agenasa.

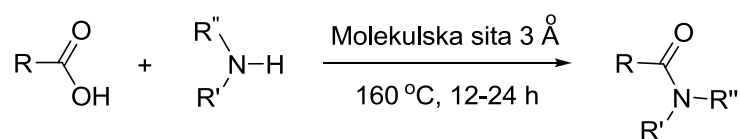
Amidna funkcionalna grupa nalazi se i u mnogim sintetičkim jedinjenjima koji su aktivni farmaceutski sastojci, prekursori lekova ili sami lekovi. Na primer, Atorvastatin (najprodavaniji lek u svetu od 2003., inhibira stvaranje holesterola), Lisinopril (inhibitor angiotenzin konvertujućeg enzima), Valsartan (blokator angiotenzin-II receptora), Diltiazem (za lečenje angine i hipertenzije)<sup>70</sup>, Lidokain (lokalni anestetik i antiaritmik)<sup>78</sup>, Konivaptan (nepeptidni inhibitor antidiuretskog hormona)<sup>79</sup>, kao i Paracetamol (analgetik i antipiretik) (Slika 2.15.), su samo neki od primera lekova koji sadrže amidnu funkciju.



Slika 2.15. Primeri lekova koji sadrže amidnu vezu

Do formiranja amidne veze dolazi reakcijom karboksilnih kiselina i amonijaka ili amina. Međutim, nakon građenja odgovarajućih amonijum-soli karboksilnih kiselina eliminacija vode ide samo na visokim temperaturama (iznad 200 °C).<sup>80,81</sup> Gooßen i saradnici<sup>82</sup> su izveli direktnu kondenzaciju karboksilnih kiselina i amina na 160 °C u odsustvu rastvarača, sa molekulskim sitima od 3 Å (Shema 2.1.). Ovim postupkom su dobijeni visoki prinosi amida (73-96%) odgovarajućih alifatičnih, aromatičnih i heteroaromatičnih karboksilnih kiselina.



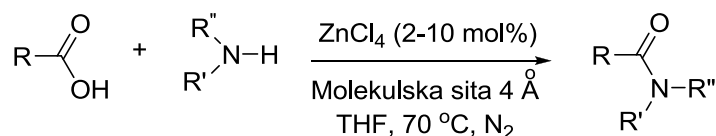


R = alkil, aril; R' i R'' - H i/ili alifatična, aromatična grupa

Shema 2.1. Dobijanje 1<sup>o</sup> i 2<sup>o</sup> amida direktnom kondenzacijom karboksilnih kiselina i amina

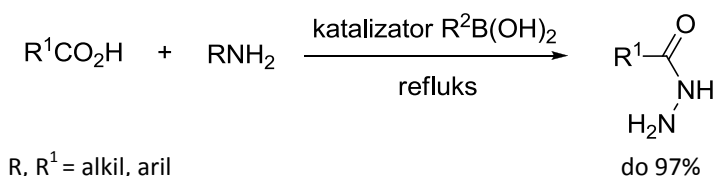
Sinteza amida direktnom kondenzacijom karboksilnih kiselina i amina urađena je i u prisustvu toluena kao rastvarača.<sup>83</sup> Houlding i saradnici<sup>84</sup> su takođe izvršili direktnu amidaciju upotrebom radiotalasa kao alternativnog načina zagrevanja.

Svi navedeni postupci su praktični ali je obim karboksilnih kiselina na kojima se mogu izvršiti navedene transformacije ograničen. Kao alternativne metode, uvedene su amidacije katalizovane prelaznim metalima kao što su ZrCl<sub>4</sub><sup>83,85</sup> (Shema 2.2.), Ti(OiPr)<sub>4</sub><sup>86</sup> i Cp<sub>2</sub>ZrCl<sub>2</sub><sup>83</sup> u strogo anhidrovanim uslovima.



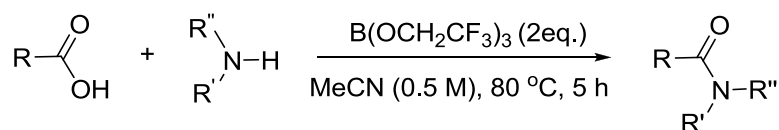
Shema 2.2. ZrCl<sub>4</sub> katalizovana amidacija karboksilnih kiselina

Takođe, rađena je i direktna amidacija karboksilnih kiselina katalizovana bornom kiselinom (Shema 2.3.) u sintezi aktivnih farmaceutskih supstanci.<sup>87</sup> Reakcije su rađene i sa BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub>,<sup>88</sup> BH<sub>3</sub>,<sup>89</sup> katehol-BH<sub>3</sub><sup>90</sup> i tris-(dialkilamino)boranom<sup>91</sup>. Međutim, sve ove reakcije zahtevaju anhidrovane uslove i uklanjanje vode upotrebom molekulske sita ili azeotropnim refluksom.



Shema 2.3. Reakcija amidacije katalizovana bornom kiselinom

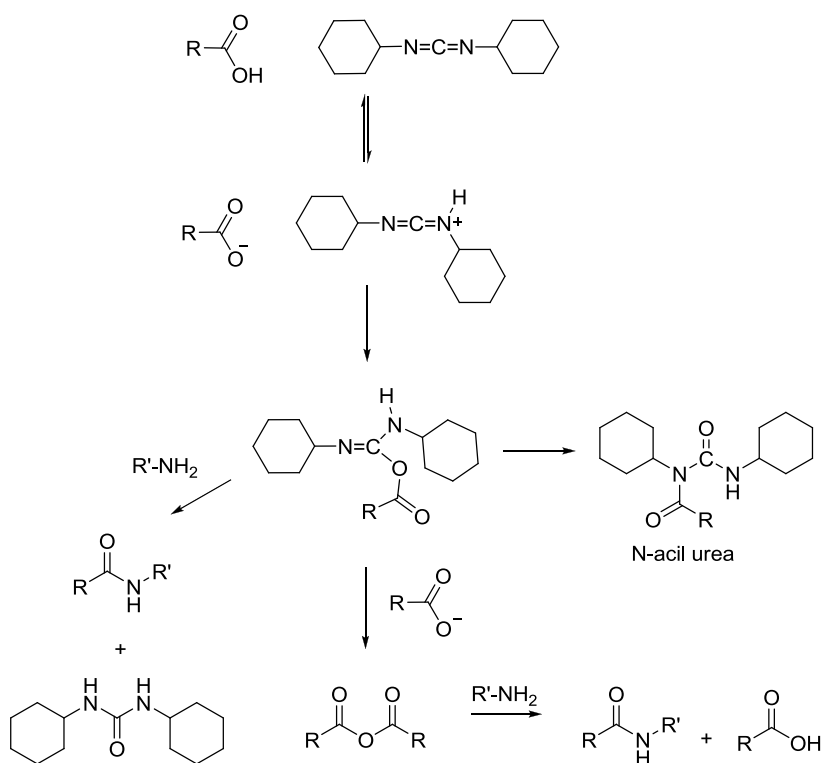
U novije vreme,<sup>92</sup> estri borne kiseline u direktnoj amidaciji karboksilnih kiselina dobijaju na značaju zahvaljujući činjenici da se lako dobijaju i da nisu toliko osetljivi na vlagu. Lanigan i saradnici<sup>92</sup> nedavno su otkrili da je B(OCH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>)<sub>3</sub> veoma efikasan reagens za direktnu sintezu amida iz karboksilnih kiselina i amina (Shema 2.4.). Još 1970. kao reagens u reakciji amidacije korišten je B(OMe)<sub>3</sub> u prisustvu sumporne kiseline.<sup>93</sup>



Shema 2.4. Sinteza amida katalizovana B(OCH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>)<sub>3</sub>

Kako sinteza amida direktnom kondenzacijom karboksilnih kiselina i amina nije uvek jednostavna, odnosno formiranje amonijum karboksilata zavisi od reaktivnosti i kiselosti karboksilne kiseline te zahteva rigorozne temperaturne uslove, većina sintetskih metoda za dobijanje amida podrazumeva upotrebu derivata karboksilnih kiselina i amonijaka, odnosno 1<sup>o</sup> i 2<sup>o</sup> amina. Aktiviranje karboksilne grupe kiseline uključuje ili njeno prevođenje u acil-hloride, anhidride, aktivne estre i druge reaktivne derivate karboksilne kiseline ili *in situ* aktivaciju uz upotrebu kuplujućih agenasa<sup>94</sup>. Oba pristupa uglavnom daju zadovoljavajuće rezultate, ali često zahtevaju skupe kuplujuće reagense ili dovode do formiranja nusproizvoda koji zahtevaju dodatna razdvajanja.<sup>95</sup>

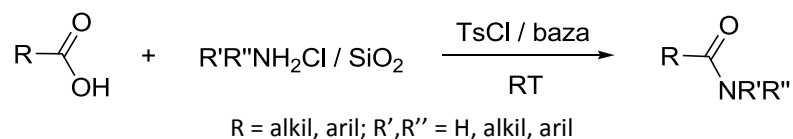
Najčešći kuplujući reagensi na bazi karbodiimida su *N,N'*-dickloheksilkarbodiimid (DCC)<sup>96</sup> (Shema 2.5.), 1-hidroksi-1*H*-benzotriazol (HOBt)<sup>97</sup> i diizopropilkarbodiimid (DIC). Posebna pažnja posvećena je naročito karbodiimidima rastvorljivim u vodi, jer se urea formirana prilikom upotrebe DCC ili DIC veoma teško odstranjuje.<sup>98</sup>



Shema 2.5. Kuplovanje uz upotrebu DCC

Za aktivaciju karboksilnih kiselina u reakcijama amidacije koriste se i titanijum-tetrahlorid (TiCl<sub>4</sub>)<sup>99</sup> ili dvovalentni reagensi kalaja, tipa Sn[N(TMS)<sub>2</sub>]<sub>2</sub><sup>100</sup> tretirani sa ekvivalentnim količinama trifenilfosfina i *N*-halosukcinimida (NBS, *N*-bromosukcinimid)<sup>101</sup> ili trihloracetonitrilom<sup>102</sup>.

Khalafi-Nezhad i saradnici<sup>103</sup> su za amidaciju karboksilnih kiselina koristili amonijumove soli i tozil-hlorid (TsCl) kao kuplujući agens u "solvent free" uslovima (Shema 2.6.).



Shema 2.6. Direktna sinteza svih tipova amida (primarnih, sekundarnih, tercijarnih i aromatičnih) iz amonijumovih soli i karboksilnih kiselina u prisustvu tozil-hlorida

Pomenuti autori<sup>103</sup> su zapazili da upotrebom  $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{SiO}_2$  reakcija protiče brzo na sobnoj temperaturi. Pored toga, amini su jaki nukleofili i mogli bi da reaguju sa TsCl te bi njihova direktna upotreba vodila stvaranju nusproizvoda. U Tabeli 2.7. se mogu videti prinosi odabranih primera dobijenih jedinjenja.<sup>103</sup>

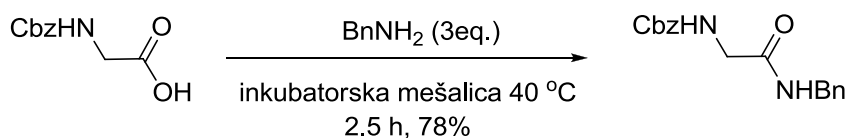
Tabela 2.7. Odabrani primeri direktne sinteze amida u "solvent free" uslovima i dobijeni prinosi

Kiselina	$\text{R}_2\text{NH}_2\text{Cl}/\text{SiO}_2$	Proizvod	Prinos (%)
$\text{PhCH}_2\text{CO}_2\text{H}$	$\text{NH}_4\text{Cl}$	$\text{PhCH}_2\text{CONH}_2$	90
$m\text{-O}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{CO}_2\text{H}$	$\text{NH}_4\text{Cl}$	$m\text{-O}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{CONH}_2$	80
Nikotinska kiselina	$\text{NH}_4\text{Cl}$	Nikotinamid	75
$\text{PhCO}_2\text{H}$	$\text{MeNH}_3\text{Cl}$	$\text{PhCONHMe}$	82
$\text{PhCO}_2\text{H}$	$\text{Me}_2\text{NH}_2\text{Cl}$	$\text{PhCONMe}_2$	77
$\text{PhCO}_2\text{H}$	$\text{PhNH}_3\text{Cl}$	$\text{PhCONHPh}$	85
$\text{PhCO}_2\text{H}$	$\text{Me}_3\text{CNH}_3\text{Cl}$	$\text{PhCONHMe}_3$	75

U reakcijama amidacije, važna sintetička procedura je transformacija estara karboksilnih kiselina u amide. Ona se obično odvija pri energičnijim reakcionim uslovima (pri visokim temperaturama i produženom reakcionom vremenu).

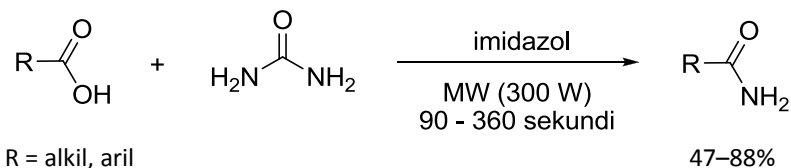
Uslovi za amonolizu estara su ranije podrazumevali upotrebu jako baznih katalizatora (alkoksidi, hidridi, amidi, alkilolitijum), metalne katalizatore (Grignard-ov reagens, kompleksi aluminijuma ili kalaja) pa čak i visok pritisak.

Nadimpally i saradnici<sup>104</sup> su opisali metodu dobijanja amida iz estara *N*-zaštićenih aminokiselina (Boc: *tert*-butiloksikarbonilnom grupom i Cbz: *N*-benziloksi karbonilnom grupom zaštićene neutralne aminokiseline kao što su alanin, leucin, valin, fenilalanin) i različitih amina (*N*-butilamin, benzilamin, cikloheksilamin, 2-pikolilamin, piperidin i drugi) bez upotrebe katalizatora i pri blagim reakcionim uslovima (Shema 2.7.), izbegavajući veliki višak amina, što se uklapa u principe "zelene hemije".



Shema 2.7. Sinteza benzilamida iz benzil-estra Cbz-glicina

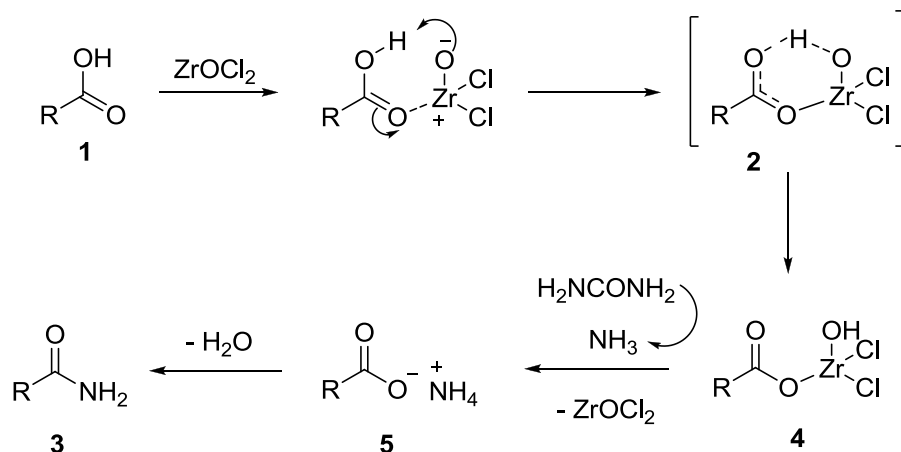
Pored navedenih postupaka veoma uspešno se koristi i mikrotalasna aktivacija.<sup>105</sup> Kao jedna od najinteresantnijih metoda, kojom se može pojednostaviti procedura sinteze amida i skratiti vreme trajanja reakcije kao i troškovi koje ta sinteza podrazumeva, pokazala se piroliza amonijumovih soli karboksilnih kiselina pod dejstvom mikrotalasnog zračenja u odsustvu katalizatora i rastvarača.<sup>106</sup> Međutim, mikrotalasna sinteza amida vrši se i direktnim ozračivanjem smeše amina i karboksilnih kiselina pri čemu se mogu koristiti različiti tipovi katalizatora. Katalizatori koji se mogu koristiti su na primer: K-10 montmorilonit<sup>107</sup>, imidazol<sup>108</sup> (*Shema 2.8.*), zeolit-HY<sup>109</sup>, polifosforna kiselina<sup>110</sup>, *p*-toluensulfonska kiselina<sup>111</sup>, TaCl<sub>5</sub>-silikagel<sup>112</sup>, KF-alumina i silikagel<sup>113</sup>.



*Shema 2.8.* Reakcija karboksilne kiseline i uree u prisustvu imidazola kao katalizatora

Vršene su i visoko efikasne sinteze derivata amida u odsustvu rastvarača, reakcijom karboksilnih kiselina i uree u prisustvu cirkonil-hlorida kao katalizatora pod mikrotalasnim zračenjem.<sup>114</sup> Naime, istraživana je mogućnost primene soli prelaznih metala, kao što je ZrOCl<sub>2</sub> x 8H<sub>2</sub>O, kao katalizatora u sintezi amidnih derivata, u čvrstoj fazi. Odlike ovog katalizatora su, između ostalog, visoka reaktivnost, ne tako visoka cena, netoksičnost i neškodljivost po životnu sredinu, jednostavna upotreba i mogućnost reciklovanja.

Pretpostavlja se da je formiranje soli cirkonijum-karboksilata **4** (*Shema 2.9.*) prvi korak u mehanizmu nastajanja proizvoda. Ova so može povećati apsorpciju mikrotalasne energije i to povećanje energije može izazvati pirolizu uree i oslobađanje amonijaka. U sledećoj fazi cirkonijum se supstituiše amonijakom gradeći amonijum-karboksilat **5**, iz kojeg eliminacijom vode nastaje odgovarajući amid **3**.



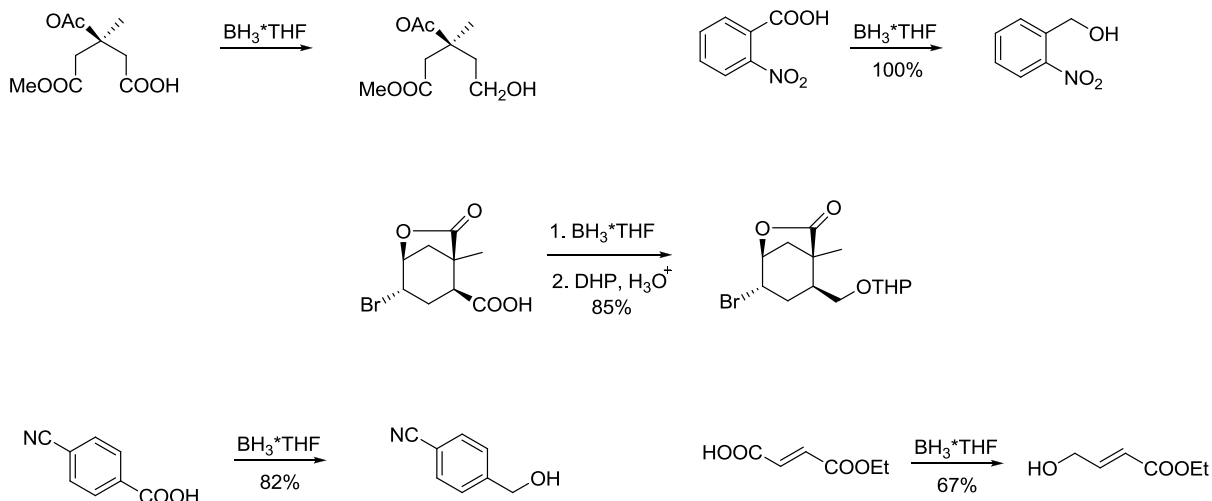
*Shema 2.9.* Pretpostavljeni mehanizam nastajanja amida katalizovan cirkonijum solima i mikrotalasima

## 2.3. Redukcija karboksilnih kiselina

Redukcija karboksilnih kiselina do alkohola je jedna od ključnih sintetičkih transformacija u organskoj hemiji. Za dobijanje primarnih alkohola iz karboksilnih kiselina koriste se brojne metode od kojih će u nastavku biti opisane najznačajnije i najnovije.

Karboksilne kiseline mogu biti redukovane do primarnih alkohola procesom katalitičke hidrogenacije, pri visokim temperaturama i visokom pritisku. Raney Nikl, rutenijum dioksid, rutenijum oksid su najčešće korišćeni katalizatori. Danas se za reakciju hidrogenacije koriste katalizatori novog doba. Werkmeister i saradnici<sup>115</sup> su opisali redukciju karboksilnih kiselina i estara pomoću rutenijum i osmijum kompleksa. Hidrogenacija oksalne kiseline izvršena je rutenijum dioksidom, na 145-150 °C i pod pritiskom od 700-750 atm pri čemu je dobijen 1,2-etandiol u prinosu od 83%.<sup>116</sup> Ova i slične reakcije se izvode u prisustvu vode, da bi se sprečio nastanak estara. Mnogi alkoholi su dobijeni na sličan način, npr. 1-dekanol (100%,  $\text{Re}_2\text{O}_7$ ,  $\text{H}_2$ , 137 °C, 173 atm,  $\text{H}_2\text{O}$ , dioksan), 2-metil-1-propanol (90%,  $\text{ReO}_3$ ,  $\text{H}_2$ , 144 °C, 205 atm, cikloheksan), 1-heksanol (93%, Cu-Ba-hromit,  $\text{H}_2$ , 200 °C, 18 atm,  $\text{H}_2\text{O}$ ), 1,4-butandiol (59%,  $\text{RuO}_2$ ,  $\text{H}_2$ , 150-190°C, 720-950 atm), redukcijom odgovarajućih karboksilnih kiselina.<sup>116</sup> Elektrohemijska redukcija aromatičnih karboksilnih kiselina koristi se za dobijanje aldehida, primarnih alkohola, metilarena i dihidroksiarena.<sup>116</sup> Ove, kao i reakcije hidrogenacije karboksilnih kiselina zahtevaju posebne uslove rada, pa se smatra da redukcija karboksilnih kiselina ovim metodama nije dobar način za direktno dobijanje alkohola.<sup>116</sup>

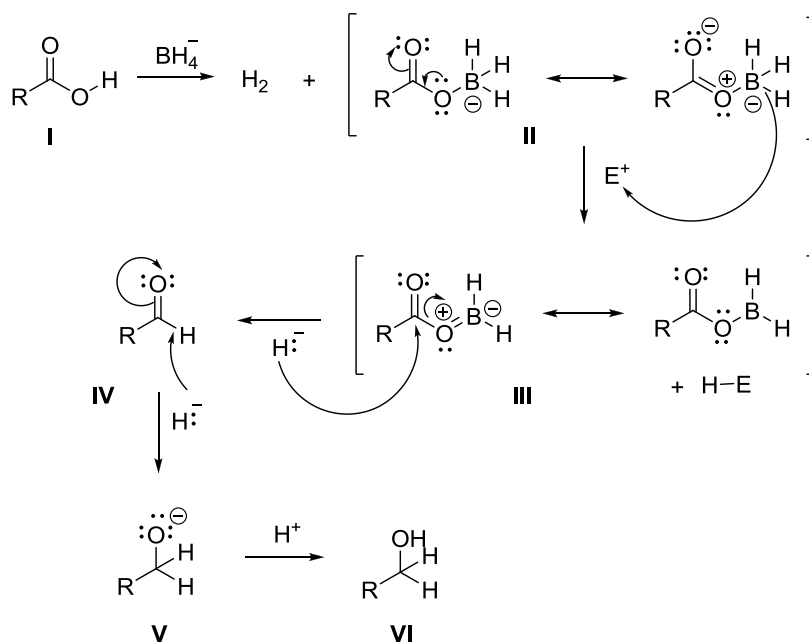
Metalni hidridi su se pokazali kao veoma dobri reagensi za redukciju karboksilnih kiselina do primarnih alkohola. Diboran ( $\text{B}_2\text{H}_6$ ) je odličan reagens za brzu i efikasnu redukciju alifatičnih i aromatičnih karboksilnih kiselina.<sup>116</sup> Uglavnom se koristi u rastvoru tetrahidrofurana (THF), u kome postoji u obliku  $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$ .  $\text{BH}_3\cdot\text{SMe}_2$  u THF je alternativni, ali mnogo stabilniji reagens.<sup>117</sup> Za oba reagensa važi da veoma brzo redukuju aldehide, ketone, laktone, karboksilne kiseline, dok na hloride kiselina, soli karboksilnih kiselina, estre i epokside slabo deluju. Dakle, ovi reagensi su pogodni za selektivnu redukciju karboksilnih kiselina u prisustvu estara. Na *Shemi 2.10.* dati su primeri ovakvih redukcija.<sup>116</sup>



Shema 2.10. Redukcije karboksilnih kiselina sa  $\text{BH}_3$  u THF

Litijum-aluminijumhidrid ( $\text{LiAlH}_4$  ili LAH) je veoma jako redukciono sredstvo i najčešće korišćeni kompleksni metalni hidrid u redukciji karboksilnih kiselina. Radi se o izuzetno aktivnom reagensu koji izrazito bruno reaguje sa vodom, kao i sa svim jedinjenjima koja poseduju aktivan vodonikov atom (alkoholi, fenoli, amini) zbog čega njegove reakcije moraju da se izvode u anhidrovanim uslovima. Ova osobina ga čini neprimenljivim u protičnim rastvaračima. Pomoću njega može da se redukuje veliki broj funkcionalnih grupa, kao na primer karbonilna jedinjenja, karboksilne kiseline, anhidridi karboksilnih kiselina, estri, laktoni, hloridi kiselina, amidi, imidi, nitrili do amina, epoksidi do alkohola i alkil halogenidi do ugljovodonika.<sup>117</sup>

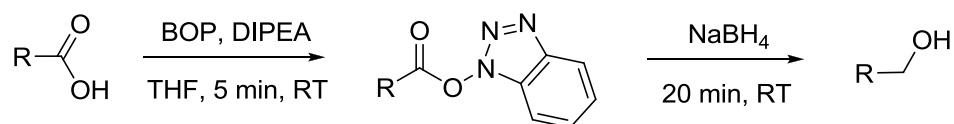
Soli borhidrida u kombinaciji sa jakim Lewis-ovim kiselinama, predstavljaju jako redukciono sredstvo. Predlog mehanizma reakcije redukcije karboksilnih kiselina pomoću borhidrida katalizovane Lewis-ovom kiselinom dat je od strane Simeka i saradnika (Shema 2.11.).<sup>118</sup> Po njima karboksilna kiselina **I** reaguje sa borhidridom uz izdvajanje molekulskog vodonika i nastajanje intermedijera **II**, koji reaguje sa Lewis-ovom kiselinom dajući intermedijer **III**. Trovalentni bor u intermedijeru **III** povećava elektrofilnost karbonilnog ugljenika čineći ga povoljnim za napad hidridnog jona. Dobijeni aldehid **IV** reaguje sa još jednim hidridnim jonom gradeći alkoksid **V**, koji protonovanjem daje alkohol **VI**.



Shema 2.11. Mehanizam redukcije karboksilnih kiselina pomoću borhidrida

Natrijum-borhidrid u prisustvu Lewis-ove kiseline je dobro redukciono sredstvo, koje se sve češće koristi u redukciji alifatičnih i aromatičnih karboksilnih kiselina. Na ovaj način je redukovana propanska kiselina do propanola sa prinosom od 89%, a benzoeva kiselina do benzilalkohola, sa prinosom od 53%.<sup>116</sup>

Redukciona moć  $\text{NaBH}_4$  se i dalje ispituje, kao i kombinacije ovog reagensa u različitim reakcionim uslovima, sa različitim reagensima i nosačima. U nastavku su prikazane neke od zanimljivih i najnovijih reakcija redukcija koje su objavljene u literaturi. Alternativni pristup redukciji je transformacija karboksilne kiseline do nekog aktivnog derivata, a zatim njegova redukcija uz pomoć blagog redukcionog sredstva (natrijum-borhidrida). Primenjujući ovaj način, McGear<sup>119</sup> je izvršio redukciju karboksilnih kiselina BOP reagensom (benzotriazol-1-il-oksi-tris-(dimetilamino)fosfonijum-heksafluorofosfat) i natrijum-borhidridom. Hidroksibenzotriazolil-estar karboksilne kiseline formira se *in situ* iz BOP reagensa i *N,N*-diizopropiletilamina (DIPEA) u tetrahidrofuranu (THF), a zatim reaguje brzo sa  $\text{NaBH}_4$ , pri čemu se dobijaju alkoholi u visokom prinosu (Shema 2.12.).

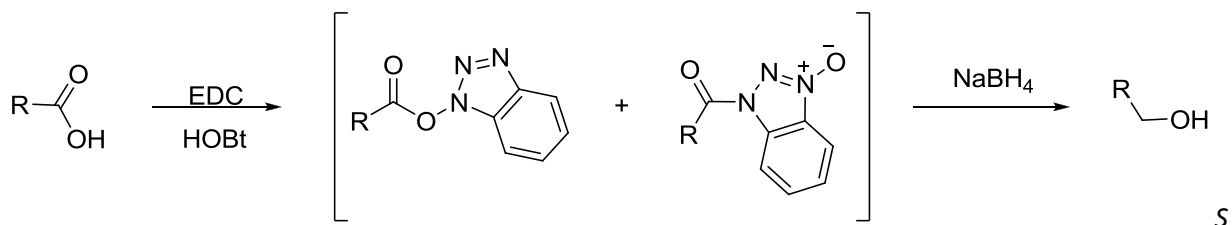


Shema 2.12. Redukcija karboksilnih kiselina sa  $\text{NaBH}_4$ , uz prethodnu aktivaciju BOP reagensom

Pomenuti estri su relativno stabilni prema hidrolizi, tako da im nisu preko potrebni anhidrovani rastvarači. U eksperimentima gde je THF korišćen kao rastvarač, formiranje HOBt estara primenom BOP reagensa odvijalo se veoma brzo, u svega nekoliko minuta, što ukazuje na brzo rastvaranje

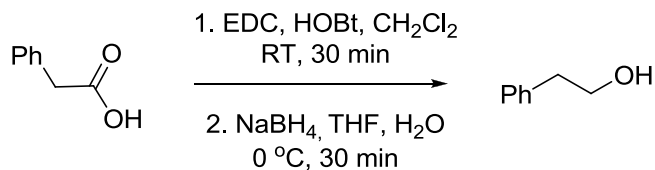
reagensa nakon dodatka baze. Naknadno dodavanje  $\text{BH}_4^-$  rezultovalo je konverzijom pomenutog estra do odgovarajućeg alkohola. Reakcija je brza, jednostavna i ne zahteva upotrebu anhidrovanih rastvarača. Dobijaju se alkoholi u visokom prinosu, koji uglavnom ne zahtevaju dodatno prečišćavanje. Još jedna povoljnost ovog postupka redukcije je i ta da je opseg kiselina koje se na ovaj način mogu redukovati veliki, zbog stabilnosti ostalih funkcionalnih grupa u ovakvim uslovima.<sup>119</sup>

Bernal i saradnici<sup>120</sup> su na sličan način radili redukcije *in situ* formirajući hidroksi-benzotriazol estar, koji se lako redukuje uz pomoć  $\text{NaBH}_4$ . Za dobijanje visokoreaktivnog benzotriazol estra koristili su 1-hidroksibenzotriazol (HOBt) i 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-karbodiimid (EDC) (*Shema 2.13.*). Međutim, sistem HOBt/EDC nije dao odgovarajuće rezultate sve dok nije upotrebljen anhidrovani THF, tj. aprotični rastvarač.



*hema 2.13.* Redukcija karboksilnih kiselina sa  $\text{NaBH}_4$ , uz prethodnu aktivaciju HOBt/EDC sistemom

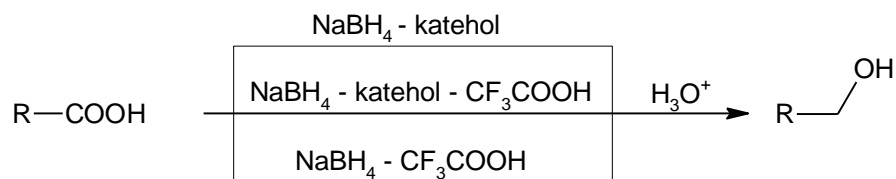
Da je upotreba sistema HOBt/EDC u redukovanju karboksilnih kiselina uspešna, dokazano je redukcijom fenilsirćetne kiseline do odgovarajućeg alkohola (*Shema 2.14.*)<sup>120</sup>



*Shema 2.14.* Redukcija fenilsirćetne kiseline sa  $\text{NaBH}_4$ , uz prethodnu aktivaciju HOBt/EDC sistemom

Suseela i Periasamy<sup>121</sup> radili su redukcije karboksilnih kiselina primenom natrijum-borhidrida u prisustvu katehola i/ili trifluorsirćetne kiseline. Redukcijom alifatičnih karboksilnih kiselina natrijum-borhidridom i kateholom u THF dobijaju se željeni alkoholi u prinosu od 47-49%. Redukcijom istih karboksilnih kiselina, ali koristeći  $\text{NaBH}_4$  i katehol u  $\text{CF}_3\text{COOH}$ , dobijaju se alkoholi u mnogo većem prinosu, 87-94% (*Shema 2.15.*). U ovim uslovima aromatične karboksilne kiseline se slabo redukuju. Primer uspešno redukovane karboksilne kiseline je dekanska kiselina, koja je u prisustvu benzoeve kiseline selektivno redukovana do 1-dekanola u prinosu od 72%.

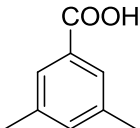
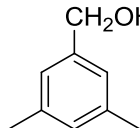
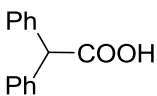
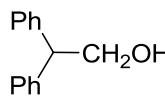
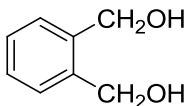
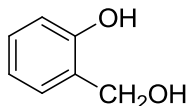
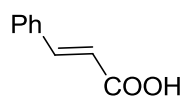
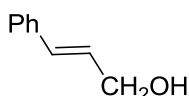
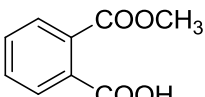
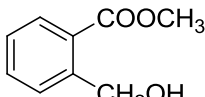


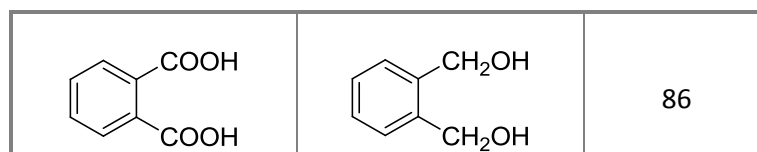


Shema 2.15. Redukcija karboksilnih kiselina primenom natrijum-borhidrida u prisustvu katehola i/ili trifluorsirćetne kiseline

Karboksilne kiseline se mogu redukovati do alkohola sukcesivnim dodavanjem  $\text{NaBH}_4$  i  $\text{I}_2$  karboksilnoj kiselini ili dodavanjem karboksilne kiseline  $\text{NaBH}_4$  u THF, koje prati dodavanje joda u THF. Kanth i Periasamy<sup>122</sup> su 1991. godine objavili postupak takve redukcije, kao i dobijene rezultate. U Tabeli 2.8. prikazane su različite karboksilne kiseline redukovane ovom metodom do odgovarajućih alkohola.<sup>122</sup>

Tabela 2.8. Redukcija različitih karboksilnih kiselina sa  $\text{NaBH}_4$  i  $\text{I}_2$

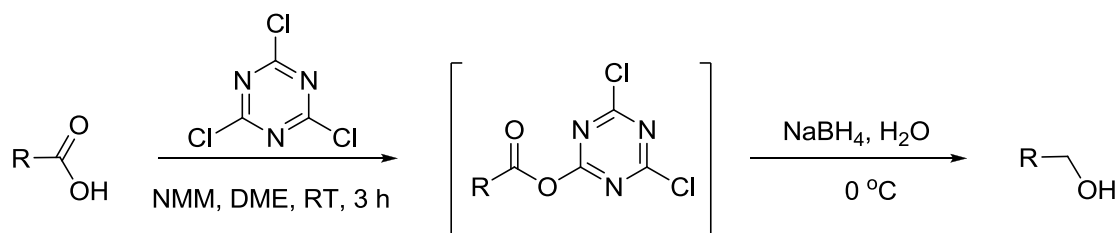
Supstrat	Proizvod	Prinos (%)
$\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OH}$	93
$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{COOH}$	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	98
<i>p</i> - $\text{ClC}_6\text{H}_4\text{COOH}$	<i>p</i> - $\text{ClC}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{OH}$	98
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CH}_2\text{OH}$	96
		92
		96
		92
		97
		82



U tipičnoj proceduri karboksilna kiselina rastvorena u THF dodavana je polako suspenziji  $\text{NaBH}_4$  u THF i smeša mešana dok ne prestane izdvajanje gasa (vodonika). Zatim se na određenoj temperaturi polako dodaje jod u THF, smeša se meša uz zagrevanje pri čemu se dobija odgovarajući alkohol u visokom prinosu. Redukcija cimetne kiseline daje odgovarajući nezasićeni alkohol dok se redukcijom ove kiseline sa  $\text{LiAlH}_4$  dobija fenilpropanol. Štaviše, primećeno je da olefinska grupa nije redukovana ni kada se nalazi daleko od karboksilne grupe, npr. 10-undekenska kiselina redukovana sa  $\text{NaBH}_4$  i  $\text{I}_2$  daje 10-undekenol. Ovaj postupak je dobar za redukovanje acil-jedinjenja, dok na estarsku grupu ne deluje.

Klasični reagensi koji se koriste za redukciju (litijum-aluminijumhidrid, boran ili modifikovani natrijum-borhidrid...) imaju ograničenja u primeni, kao što su neophodnost upotrebe anhidrovanih rastvarača, opasnost pri rukovanju redukcionim agensima, nekompatibilnost sa drugim funkcionalnim ili zaštitnim grupama prisutnim u molekulu. Poslednja stavka se naročito odnosi na redukciju zaštićenih aminokiselina. Tako je Boc (terc-butiloksikarbonil grupa), zaštitna grupa aminokiselina, labilna u prisustvu natrijum-borhidrida, Cbz (benziloksikarbonil-) ili Fmoc (9-fluorenilmetoksikarbonil-) mogu biti hidrolizovane u reakciji sa  $\text{BH}_3$ . Moguće rešenje ovog problema je da se nezaštićene aminokiseline prevedu u aminoalkohole, čime bi se zaštitila amino-grupa. Kada ovo nije moguće primenjuje se postupak aktivacije karboksilne kiseline cijanuril-hloridom (1,3,5-trihloro-2,4,6-triazin, TCT)<sup>123-125</sup>, a potom redukcija sa  $\text{NaBH}_4$  u vodi<sup>126</sup> ili sa kvaternernim amonijum borhidridom<sup>127-129</sup> u metanolu.

Falorni i saradnici<sup>126</sup> redukovali su *N*-Cbz-prolin cinauril-hloridom i  $\text{NaBH}_4$  u DME i *N*-metilmorfolinu (NMM), pri čemu je dobijen čist Cbz-Prolinol u prinosu od 89% (Shema 2.16.).



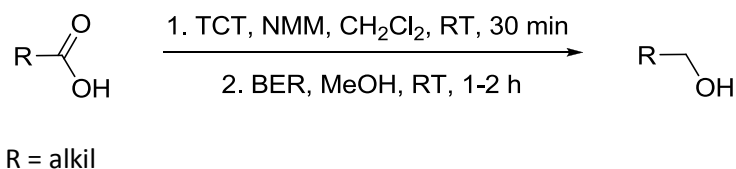
Shema 2.16. Redukcija karboksilnih kiselina sa  $\text{NaBH}_4$  uz prethodnu aktivaciju sa cijanuril-hloridom

Tabela 2.9. Primeri redukcije karboksilnih kiselina pomoću  $\text{NaBH}_4$ /TCT

Karboksilna kiselina	prinos (%)	Karboksilna kiselina	prinos (%)
R = $\text{PhCH}_2\text{CH}_2-$	92	Cbz-Pro-OH	89
R = $\text{Ph}_2\text{CH}-$	88	Boc-Ala-OH	90
R = $o\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4-$	97	Boc-Asp(OBn)-OH	73
R = $3,4,5\text{-(MeO)}_3\text{C}_6\text{H}_2-$	77	Boc-Glu-OBn	98
R = $\text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$	78	Fmoc-Phe-OH	75
R = $\text{PhCH}=\text{CH}-$	93	Fmoc-Val-OH	85

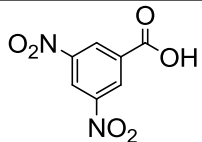
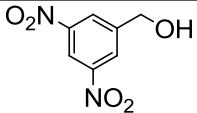
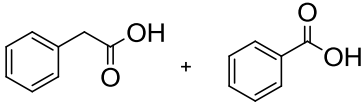
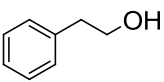
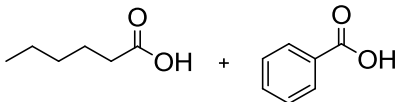
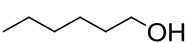
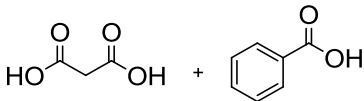
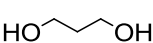
Kao što se vidi iz *Tabele 2.9.*, *Shema 2.16.*, postupak redukcije pomoću cinauril-hlorida u DME i *N*-metilmorfolinu sa  $\text{NaBH}_4$  je naročito pogodan za reakcije redukcije aminokiselina jer su Boc, Cbz i Fmoc zaštitne grupe stabilne pri ovim uslovima.

Sagar i saradnici<sup>130</sup> su za redukciju karboksilnih kiselina do alkohola upotreбили TCT i kvaternerni amonijum borhidrid (BER) u blagim uslovima (*Shema 2.17.*). Iz *Tabele 2.10.* se vidi da je ovom metodom moguće selektivno redukovati alifatične karboksilne kiseline u prisustvu aromatičnih.

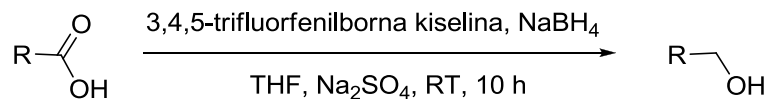


*Shema 2.17.* Redukcija karboksilnih kiselina sa BER uz prethodnu aktivaciju cijanuril-hloridom

*Tabela 2.10.* Redukcija karboksilnih kiselina upotrebom TCT/BER

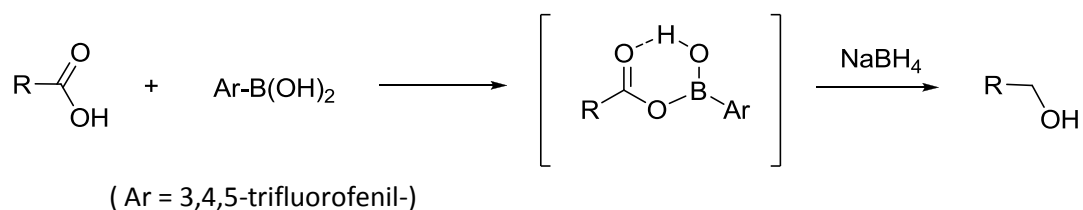
Karboksilne kiseline	Alkoholi	Prinos (%)
		---
		91
		94
		91

Tale i Patil<sup>131</sup> su prilikom izvođenja redukcija karboksilnih kiselina do alkohola sa  $\text{NaBH}_4$  otkrili izuzetnu katalitičku aktivnost 3,4,5-trifluorfenilborne kiseline (*Shema 2.18.*).



*Shema 2.18.* Redukcija karboksilnih kiselina sa  $\text{NaBH}_4$  uz prethodnu aktivaciju sa 3,4,5-trifluorfenilbornom kiselinom

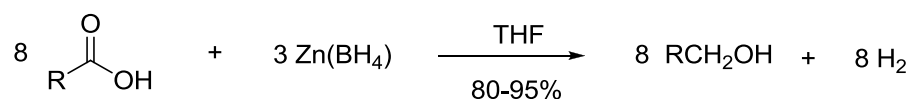
Reakcija se odigrava preko šestočlanog, cikličnog aciloksiboranovog intermedijera (*Shema 2.19.*).



Shema 2.19. Redukcija karboksilnih kiselina sa  $\text{NaBH}_4$  uz prethodnu aktivaciju 3,4,5-trifluorfenilbornom kiselinom

Borne kiseline su kristalne, čvrste supstance, postojane na vazduhu i relativno niske toksičnosti. Redukcije u prisustvu malih količina ovog efikasnog katalizatora čine ovaj metod bezbednim i jeftinim, za razliku od drugih (BOP reagens je skup, a cijanuril-hlorid toksičan).<sup>131</sup>

Narasimhan i saradnici<sup>132</sup> su na vrlo jednostavan način redukovali karboksilne kiseline upotrebom cink-borhidrida. Cink-borhidrid se pokazao kao blag reagens, koji lako redukuje alifatične i aromatične karboksilne kiseline do odgovarajućih alkohola. Za ovu konverziju neophodna je samo stehiometrijska količina hidrida (Shema 2.20.).



Shema 2.20. Redukcija karboksilnih kiselina sa  $\text{Zn}(\text{BH}_4)_2$

Qiu i saradnici<sup>133</sup> su ispitivali redukciona svojstva kalijum-borhidrida u prisustvu magnezijum-hlorida. Korišćenje ovog sistema za redukciju još uvek nije dovoljno istraženo. Da bi se pronašao odgovarajući metod kojim bi se mogle izvršiti redukcije karboksilnih kiselina do alkohola, oni su izvršili seriju eksperimenata u kojima je kombinovan  $\text{KBH}_4$  sa nekoliko Lewisovih kiselina i kao najpogodniji se pokazao sistem  $\text{KBH}_4/\text{MgCl}_2$  u THF. Međutim, na ovaj način su uspeli da redukuju karboksilne kiseline jedino nakon prethodno izvršene esterifikacije. Redukcijom estara karboksilnih kiselina sa  $\text{KBH}_4$  i  $\text{MgCl}_2$  u THF dobijeni su alkoholi, ali u manjem prinosu, nego u slučaju redukcije sa  $\text{LiAlH}_4$  ili  $\text{NaBH}_4$ .

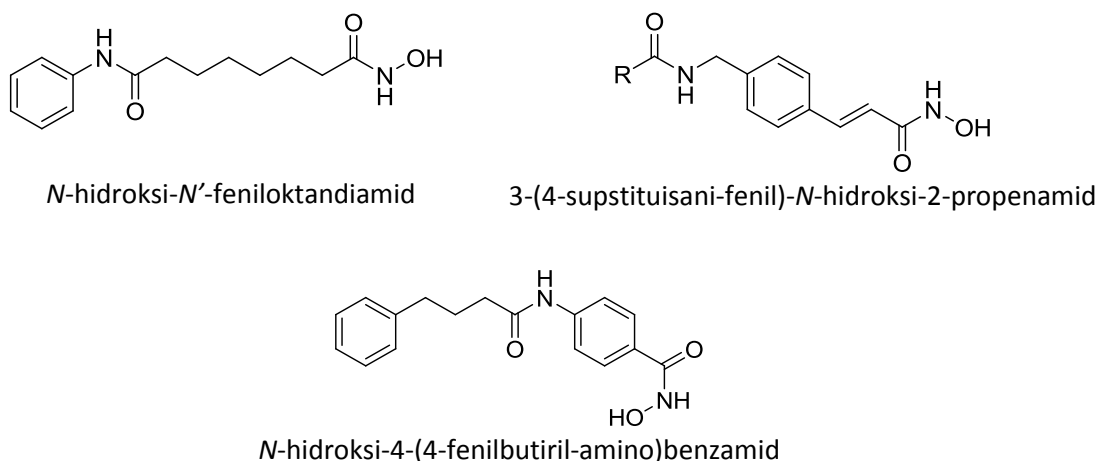
## 2.4. Sinteza hidroksamskih kiselina i njihova biološka aktivnost

Hidroksamske kiseline pokazuju veoma širok spektar biološke aktivnosti.<sup>134-139</sup>

Hidroksamske kiseline su poznate po svom visokom afinitetu prema jonima metala. Kao takve, koriste se da obezbede mesto vezivanja inhibitorima metaloproteaza, kao što su termolizin, matriks metaloproteaza, endotelin-konvertujući enzim, angiotenzin-pretvarajući enzim i enkefalinaza.<sup>135</sup>

Kao bidentatni helirajući agensi, koji reaguju sa nekoliko proteina koji sadrže  $Zn^{2+}$ , hidroksamske kiseline se ponašaju ne samo kao moćni inhibitori metaloproteaza nego i kao inhibitori histon deacetilaze koja je veoma važan enzim u tretmanu lečenja raka. Hidroksamske kiseline se javljaju i u drugim biomolekulima, poput siderofora, u vidu pseudobaktina, derefoksamina, ferihroma, antibiotika fosfidomicina i njegovih analoga, za koje se smatra da su moćni agensi u lečenju malarije.<sup>136</sup>

Neke od hidroksamskih kiselina koje se koriste u lečenju raka su prikazane na *Slici 2.16*.



*Slika 2.16.* Hidroksamske kiseline koje se koriste u anticancer terapiji

Mnogi derivati hidroksamskih kiselina, poput piridil hidroksamskih kiselina, difenil hidroksamskih kiselina, i mnogih drugih u kojima je heterociklični prsten povezan sa hidroksamskom kiselinom, pokazali su se ne samo kao snažni inhibitori histon deacetilaze, već je otkrivena i njihova uloga u lečenju raka jajnika, pluća i dojke.<sup>137</sup>

Biološka aktivnost derivata hidroksamskih kiselina se ogleda u njihovom antiinflamatornom, antiastmatičnom, antibiotskom, psihotropnom, insekticidnom i dejstvu na grinje i valjkaste crve.<sup>138</sup> Antibakterijsko, antimikotičko, antitumorno i antiinflamatorno delovanje hidroksamskih kiselina je povezano sa njihovom sposobnošću da inhibiraju razne enzime, među kojima su, osim pomenute metaloproteaze, i 5-lipooksigenaza, ureaza i ribonukleotid reduktaza. Veliki broj hidroksamskih kiselina su priznati terapijski agensi, poput deferioksamina B, hidroksikarbamida, ibuproksama, oksametacina, adrafinila.<sup>139</sup>

Sinteza hidroksamskih kiselina obično podrazumeva aktivaciju karboksilne kiseline i reakciju sa hidroksilaminom.<sup>135</sup>

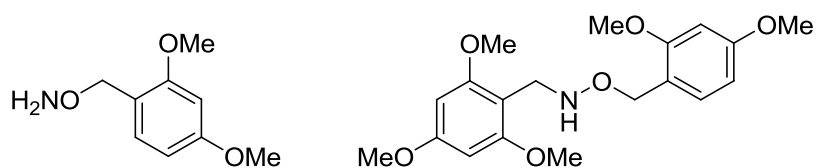
Tako su Vasantha i saradnici<sup>140</sup> za kuplovanje karboksilnih kiselina sa hidroksilaminom kao aktivirajući reagens koristili ciklični anhidrid 1-propanfosfite kiseline (T3P), pri čemu su reakciju stimulisali ultrazvukom. White i saradnici<sup>141</sup> su za aktivaciju karboksilne kiseline u reakciji dobijanja hidroksamskih kiselina upotrebili deokso-fluor, reagens blagog dejstva i široke primene.

Dobijanje hidroksamskih derivata iz estara obično se postiže dodavanjem kalijumove soli hidroksilamina u alkoholni rastvor estera. Ho i saradnici<sup>142</sup> su dodatkom male količine čvrstog KCN u THF/MeOH/50% vodeni rastvor NH<sub>2</sub>OH značajno povećali prinose željenih proizvoda.

Tretiranjem O-benzilhidroksilamina hidrohlorida sa trimetilaluminijumom u toluenu, dobijen je reagens koji je sa različitim estrima u benzenu *in situ* davao hidroksamate.<sup>135</sup>

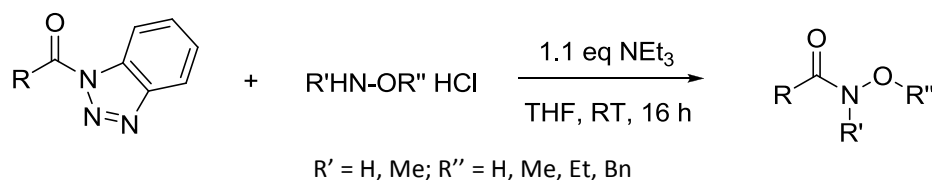
Za reakciju hidroksilamina sa estrima ili hloridima kiselina neophodna je bazna sredina (pH>10). Ovaj metod međutim nije pogodan kada su u molekulu prisutne grupe osetljive na ove uslove. Reddy i saradnici<sup>138</sup> su pri blagim uslovima, u neutralnoj sredini (pH=7), uspeli da dobiju hidroksamske kiseline iz estara u prisustvu N-metilmorfolina ili trietilamina.

Reakcijom O/N-zaštićenog hidroksilamina sa aktiviranim karboksilnim kiselinama takođe su dobijeni hidroksam derivati kiselina. Direktno acilovanje hidroksilamina ili O-benzil, O-silil i O-*t*-butil hidroksilamina sa hloridima kiselina ili aktiviranim estrima nije pogodno za višestepene sinteze. Stoga su Barlaam i saradnici<sup>143</sup> sintetisali dva nova hidroksilamina (Slika 2.17.) koja su upotrebili za sintezu O-zaštićenih ili N,O-dvostruko zaštićenih hidroksamskih kiselina sa kojih se može skinuti zaštita u blago kiselim uslovima.



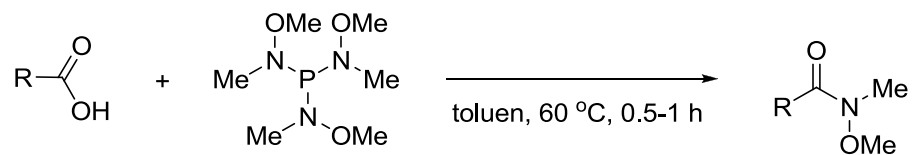
Slika 2.17. O-zaštićeni i N,O-zaštićeni hidroksilamini

Katritzky i saradnici<sup>144</sup> su se bavili prevođenjem karboksilnih kiselina u nesupstituisane N-alkil, O-alkil i O,N-dialkilhidroksamske kiseline, preko acilbenzotriazol intermedijera (Shema 2.21.). Prednosti ove metode su dostupnost reagenasa, blagi reakcioni uslovi i reaktivni intermedijeri.



Shema 2.21. Dobijanje hidroksam kiselina preko acilbenzotriazola

Niu i saradnici<sup>145</sup> su koristili  $P[NCH_3(OCH_3)]_3$ , kao moćan reagens za prevođenje aromatičnih i alifatičnih karboksilnih kiselina u hidroksamate sa odličnim prinosima (*Shema 2.22.*).



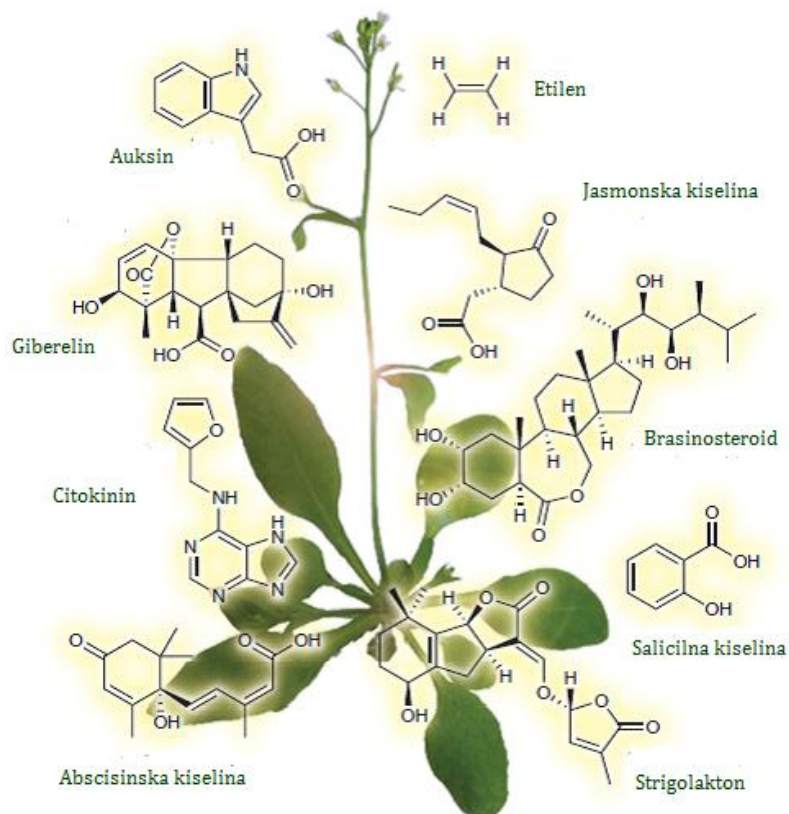
R = Ar, alkil, vinil. Bn

*Shema 2.22.* Sinteza hidroksamata korišćenjem  $P[NCH_3(OCH_3)]_3$  kao katalizatora

## 2.5. Fiziološki aktivne materije – fitohormoni

Fiziološki aktivnim materijama se smatraju jedinjenja koja u određenim uslovima stimulatивно ili inhibitorno deluju na fiziološko-biohemijske procese u biljci što rezultuje prvo metaboličkim promenama, a zatim i morfološkim.<sup>147</sup>

Fitohormoni su organske supstance koje se sintetizuju u jednom delu biljke, a translociraju u drugi deo gde, u veoma niskim koncentracijama, podstiču fiziološke reakcije.<sup>148</sup> Spektar delovanja biljnih hormona je veoma širok. Oni stimulišu određene funkcije u ćeliji, aktiviraju oksido-redukzione procese u njoj i izazivaju promene morfoloških osobina i utiču na sintezu organskih materija kao i na rast i sazrevanje biljke. U zavisnosti od vrste hormona, njegove koncentracije i dela biljke na koji deluje, fitohormoni mogu ispoljiti odgovarajuće stimulatивно ili inhibitorno dejstvo na odgovarajuće biohemijske procese. Kao biljni regulatori rasta mogu uticati na kontrolu cvetanja, proređivanje plodova, regulisanje rasta i prilagođavanje vremena berbe plodova u voćnjaku. Podeljeni su prema hemijskoj strukturi i specifičnim funkcijama u pet osnovnih grupa: auksine, gibereline, citokinine, abscisinsku kiselinu (ABA) i etilen, a mogu im se pridružiti i jasmionati (JA), brasinosteroidi (BA) i salicilati (SA) (Slika 2.18.).

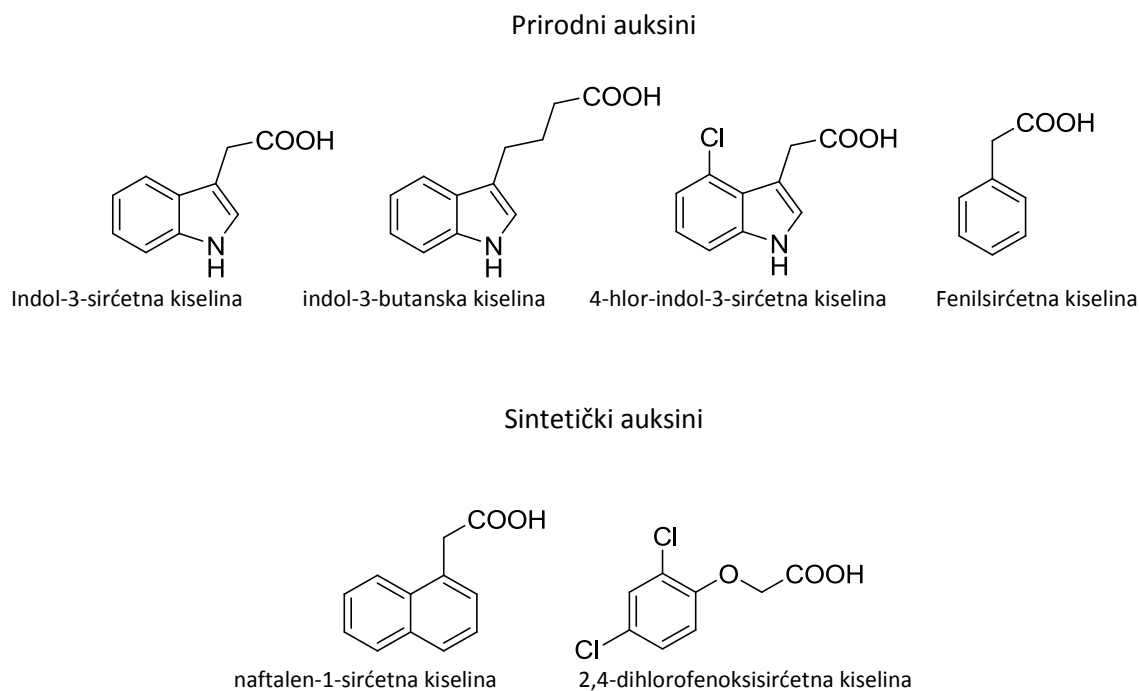


Slika 2.18. Osnovni tipovi fitohormona koji utiču na rast i razvoj biljke



## Auksini

Auksini (grč. auxein – rasti) su otkriveni još 1880 pionirskim radovima Darvina i Bejerinka ali je uloga otkrića ovih hormona pripala holandskom naučniku Ventu 1928. godine. Auksini predstavljaju grupu hormona koji se sintetišu i u biljnim i u životinjskim tkivima. U prirodne auksine se ubraja indol-3-sirćetna kiselina (IAA), indol-pirogroždana kiselina, indol-3-butanska kiselina, indol-propanska kiselina i fenil-sirćetna kiselina a sintetički auksini su naftalen-1-sirćetna kiselina, fenil-butanska kiselina i 2,4-dihlorfenoksisirćetna kiselina (2,4 D) (Slika 2.19.).



Slika 2.19. Prirodni i sintetički auksini

Najzapaženiji prirodni hormon je indol-3-sirćetna kiselina (IAA,  $\beta$ -indolsirćetna kiselina). Indol-sirćetna kiselina igra glavnu ulogu u stimulanju rasta biljaka, odnosno izduživanju ćelija i organa, deobi kambijalnih ćelija (sekundarni rast u debljinu) i apikalnoj dominaciji.<sup>149</sup> Poseban značaj indol-3-sirćetne kiseline je u stimulaciji obrazovanja adventivnih korena, partenokarpiji (zametanje ploda u odsustvu polena) i sinhronizaciji sazrevanja i opadanja plodova.<sup>150</sup> Ovu raznolikost funkcija prati složena biohemijska sinteza, transport i signalizacioni putevi auksina.

Biosinteza auksina otpočinje aromatičnim aminokiselinama. U sintezi indol-3-sirćetne kiseline prekursor je triptofan. Od njega se dalje preko pirogroždane kiseline i triptamina dobija IAA.<sup>150,151</sup>

Nakon što se sintetiše, auksin se transportuje kroz biljku specijalnim ćelija-ćelija mehanizmom<sup>152</sup> a delovanje ispoljavaju tako što stimulišu aktivnost enzima (neke inhibiraju) ili stimulišu sintezu nukleinskih kiselina i proteina, menjajući aktivnost gena.<sup>153-155</sup> Nakon što dođu do mesta delovanja, auksini se vežu na određen proteinski receptor<sup>156</sup> smešten na površini ćelije čime dolazi do aktivacije hormona koji indukuju specifične odgovore ćelije. Polarni transport auksina odgovoran je za izduživanje ćelija, odnosno organa.<sup>157</sup> Naime, auksini su odgovorni za izlučivanje protona u ćelijski zid čime se povećava aktivnost protonske pumpe. Ovim dolazi do opadanja pH vrednosti ćelijskog zida sa pH7 na pH5. Aktiviraju se enzimi koji raskidaju vodonične veze između mikrofibrila i polisaharida zbog čega ćelijski zid slabi. Turgorov pritisak postaje veći nego pritisak ćelijskog zida što dovodi do primanja vode i izduživanja ćelije (Slika 2.20).<sup>158</sup>

Na osnovu svoje fiziološke uloge u izduživanju, apikalnoj dominaciji, diferencijaciji pupoljaka, partenokarpiji, sprečavanju opadanja listova i plodova, podsticanju deobe ćelija (kambijuma), obrazovanju adventivnih korenova, aktiviranju enzima i sinteze nukleinskih kiselina i proteina, auksini se primenjuju za podsticanje vegetativnog razmnožavanja, (u procesu inicijacije i formiranja adventivnih korena), za proređivanje plodova, u cilju produžavanja mirovanja vegetativnih organa (posebno krtole krompira).

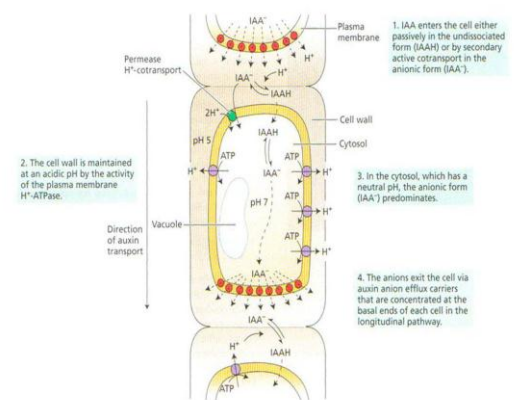
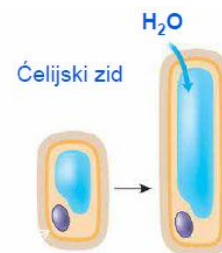


FIGURE 19.12 A simplified chemiosmotic model of polar auxin transport. Shows here is one elongated cell in a column of auxin-transporting cells. In smaller cells near the meris-

tems, because of their high surface to volume ratio, back diffusion of IAA into cells is thought to require an additional energy-dependent efflux mechanism.



Slika 2.20. Izduživanje ćelije odnosno organa polarnim transportom auksina

## Giberelini

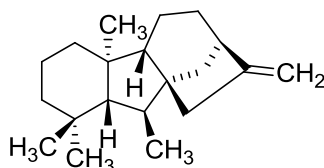
Giberelini su velika grupa tetracikličnih diterpenoidnih struktura. Prvobitno su izolovani 1938. godine kao metabolit patogene pirinčane gljivice *Gibberella fujikuroi*.<sup>159</sup> Naime, primećeno je da biljke zaražene ovom gljivicom izrazito izdužuju stabljike i listove, te zbog snažnog rasta u visinu na kraju poležu na tlo. Iste godine, utvrđeno je da su zdrave biljke tretirane ekstraktom Gibberelle pokazivale iste simptome te je grupa jedinjenja odgovornih za rast nazvana giberelinima. 1956. godine utvrđeno je da su giberelini sastavni deo viših biljaka i ako nisu zaražene *Gibberella* gljivom. Giberelini su prisutni i u bakterijama, gljivama, smeđim i zelenim algama, papratima, golo- i skrivenosemicama i do danas ih je otkriveno preko 60 (nisu svi fiziološki aktivni).

Dele se u dve grupe:

- Giberelini koji sadrže 19 C atoma
- Giberelini koji sadrže 20 C atoma,

a pojedinačno se obeležavaju sa GA<sub>1</sub>, GA<sub>2</sub>, GA<sub>3</sub>, GA<sub>4</sub> itd.

Obe grupe giberelina po hemijskom sastavu predstavljaju derivate izoprena ( $C_5H_8$ ), odnosno ciklične diterpene izgrađene od četiri izoprenske jedinice tj. prstena (A, B, C, D). Imaju zajedničku *ent*-giberelinsku osnovu (Slika 2.21.).



Slika 2.21. *Ent*-giberelinska osnova

Giberelini sa 19 C atoma u A prstenu sadrže jedan laktonski prsten a oni sa 20 C atoma u svojoj strukturi umesto laktonskog prstena najčešće imaju na jednom od C atoma A prstena vezanu karboksilnu grupu.

Fiziološki su aktivniji giberelini koji u A-prstenu imaju unutrašnji laktonski prsten.

Prekursor u biosintezi giberelina je acetyl-CoA. Dva molekula AcetylCoA daju acetoacetyl CoA koji kondenzacijom sa još jednim molekulom acetyl CoA daje hidroksimetilglutarat CoA od kojeg se redukcijom dobija mevalonat. On se fosforiluje i dekarboksiluje pri čemu nastaje izopren, izopentenil-pirofosfat (IPP) a potom i farnezil-pirofosfat.<sup>160,161</sup>

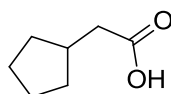
U biljnom svetu giberelini su uglavnom u obliku glikozida ili estara, a ne u vidu slobodnih kiselina. Kao i drugi biljni hormoni, imaju raznoliku fiziološku ulogu.<sup>162</sup> Tako utiču na elongaciju svih delova biljke (naročito kod patuljastih mutanata – „Hipokotil test“), na obrazovanje cvetova, apikalnu dominaciju, izazivaju partenokarpiju, aktiviraju neke gene i stimulišu klijanje semena.

Zahvaljujući gore navedenom, giberelini se, iako manje od auksina, primenjuju u agrokulturi za indukovanje cvetanja u prvoj godini kod dvogodišnjih biljaka (mrkva, kupus, šećerna repa) i kod nekih ukrasnih biljaka, za povećanje dužine grozdova kod grožđa i izduživanje bobica. Kod ječma se postiže ujednačenije klijanje zrna tretiranjem sa giberelinskom kiselinom.

## 2.6. Fitohormonska aktivnost naftnih kiselina

Još 1883. godine, naziv naftne kiseline predložen je od strane Markovikoff-a i Ogloblin-a za nepoznate strukture karboksilnih kiselina koje su Hell i Medinger otkrili u Rumunskoj nafti. Identifikovano je da naftu u najvećem procentu čine ugljovodonici, zatim heterociklična jedinjenja, aldehidi i ketoni, kao i slobodne karboksilne kiseline.<sup>163</sup>

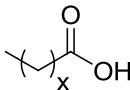
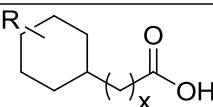
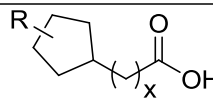
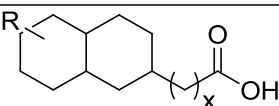
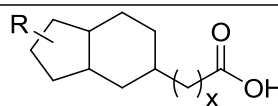
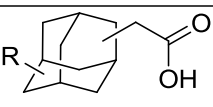
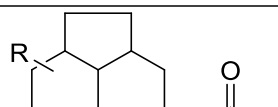
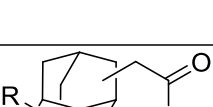
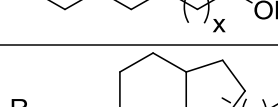
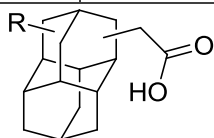
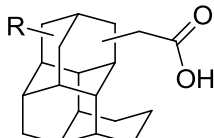
Karboksilne kiseline koje su prisutne u nafti su pretežno alkanske i cikloalkanske strukture, opšte formule  $C_nH_{2n-2}O_2$  (gde je n broj ugljenika a z manjak vodonika u skladu sa brojem prstenova). Sve vrste nafti sadrže i naftne kiseline u malom procentu i to od minimalnih tragova istih pa čak i do 3%. Hemijski one su u proseku sličnih struktura kao i ugljovodonici iste nafte, tako da naftenske nafte (predmet ispitivanja ove teze) sadrže veliki broj strukturno različitih karboksilnih kiselina koje imaju alkansku ili cikloalkansku strukturu ugljovodoničnog dela. Kiseline mogu imati jedan i više prstenova, pa tako mogu biti: monociklične (šestočlani i petočlani prstenovi), biciklične, triciklične, tetraciklične, pentaciklične ili heksaciklične, što zavisi od prirode i starosti nafte. Karboksilna grupa najčešće nije direktno vezana za prsten već je vezana preko metilenskih grupa. Naftne kiseline su prirodni konstituenti nafte, što znači da su nastale u procesu geneze nafte. Najjednostavnija naftna kiselina je ciklopentilsirćetna kiselina (Slika 2.22.).<sup>164</sup>



Slika 2.22. Struktura ciklopentilsirćetne kiseline

Na osnovu broja prstenova i strukture, naftne kiseline se mogu grupisati u sedam klasa (Z-serija) kiselina. Tipovi kiselina prisutnih u nafti predstavljeni su u Tabeli 2.11.<sup>165,166</sup>

Tabela 2.11. Opšti primeri struktura svih sedam identifikovanih Z-serija naftnih kiselina

Aciklične kiseline, Z=0, $C_nH_{2n}O_2$		
Monociklične kiseline, Z=2, $C_nH_{2n-2}O_2$		
Biciklične kiseline, Z=4, $C_nH_{2n-4}O_2$		
Triciklične kiseline, Z=6, $C_nH_{2n-6}O_2$		
Tetraciklične kiseline, Z=8, $C_nH_{2n-8}O_2$		
Pentaciklične kiseline, Z=10, $C_nH_{2n-10}O_2$		
Heksaciklične kiseline, Z=12, $C_nH_{2n-12}O_2$		

Najznačajnija istraživanja vezana za naftne kiseline su u oblasti poljoprivrede, gde su se preparati na bazi naftnih kiselina eksperimentalno koristili kao stimulatori rasta određenih biljnih vrsta, kao pesticidi i akaricidi. Naime, utvrđeno je da naftne kiseline sadrže fiziološki aktivne materije koje kod biljaka ispoljavaju dejstvo slično onom koje ispoljavaju fitohormoni ili endogeni regulatori rasta.

Kada se govori o biološkoj aktivnosti naftnih kiselina, obično se misli na njihove natrijumove i kalijumove soli. One imaju širok spektar mogućnosti uticaja na brojne metaboličke procese kod biljaka: na sintezu proteina, metabolizam azota, fotosintezu i disanje, usvajanje i distribuciju fosfora, usvajanje i metabolizam  $^{14}C$ -glukoze, kao i uopšte na rast, razvoj, hemijski sastav i prinos biljaka.<sup>164</sup> Fiziološke aktivnosti alkalnih soli naftnih kiselina uočene su još 1921. godine od strane Neuberg-a i Sandberg-a.<sup>167</sup> Kasnije su rađena ispitivanja morfogenetskih promena kod biljaka, primenom soli naftnih kiselina na različite poljoprivredne kulture apliciranjem u širokom opsegu koncentracija.

Uopšteno, došlo se do zaključka da u nižim koncentracijama ( $10^{-5}$  do  $10^{-8}$  mol/L) Na-soli naftnih kiselina imaju stimulatívno, a u višim koncentracijama inhibitívno dejstvo na ukorenjivanje i ožiljavanje biljnih vrsta.<sup>168-170</sup> Ovaj efekat, pored koncentracije, zavisi i od varijeteta, vrste reznica, ali i od načina aplikacije.<sup>169</sup> I naša ranija istraživanja pokazala su da primena rastvora soli naftnih kiselina na reznice zeljasti<sup>168</sup> i drvenastih<sup>169</sup> biljaka dovodi do pospešivanja njihovog ožiljavanja kao i do razvoja korena kod bočnih grana.<sup>168</sup>

Aplikacijom niskih koncentracija natrijum-naftenata ( $20 \mu\text{mol/L}$ ) na veliki broj biljnih vrsta (pasulj, kukuruz, prolećna pšenica, šećerna repa) dobijeni su rezultati koji potvrđuju njihov pozitivan uticaj na vegetativne i reproduktivne procese.<sup>171</sup> Ovi eksperimenti dali su dodatne informacije u vezi uticaja naftenskih kiselina na fotosintezu praćenjem povećanja vrednosti za  $\text{CO}_2$ -fiksirajuće enzime kao što su fosfoenolpiruvat karboksilaza i ribuloza-1,5-difosfat karboksilaza.

Smeše naftenskih kiselina, kao i neke pojedinačne karboksilne kiseline cikloalkil karboksilnog tipa pokazuju stimulaciju rasta vegetativnog dela biljke (lišće, stabljika, koren) ali i reproduktivnog dela kao što su plod i seme kod velikog broja biljaka. Stimulacija rasta pasulja posledica je povećanog stepena fotosinteze i respiracije kao i veće aktivnosti fosforilaze, fosfoglicerat kinaze, nitrat reduktaze i glutamin-piruvat transaminaze.<sup>9</sup>

Istraživanja su ukazala na to da natrijum-naftenati, u niskim koncentracijama, deluju na nivou membrane korena, izazivajući suptilne modifikacije membrane i promene njene propustljivosti za jone kadmijuma.<sup>172,173</sup> Tretman biljaka niskim koncentracijama ( $10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ) natrijum-naftenata utiče i na akumulaciju nekih esencijalnih elemenata (Mn, Fe, Zn, Ni, K i Na) kod mladih biljaka soje, kako u korenima tako i u listovima.<sup>174</sup> Postoje podaci o uticaju naftnih kiselina na usvajanje glukoze<sup>8</sup> i jona fosfata<sup>175</sup> kod biljaka pasulja.

Pored gore navedenog, naftne kiseline se mogu koristiti i kao lubrikanti, sušila i katalizatori, emulgatori, antikorozivi i fungicidi. Komercijalne naftne kiseline i njihove soli kalijuma, natrijuma, nikla i bakra imaju ulogu faktora rasta.<sup>163</sup>

Mnoge druge studije sa naftnim kiselinama pokazale su da imaju inhibitorne ili toksične efekte na niz biljnih i animalnih vrsta. U svakom slučaju ključ ekvilibrijuma između ova dva ekstremna zaključka je koncentracija kiselina.

### 3. NAŠI RADOVI

#### 3.1. Karakterizacija naftenskih kiselina vojvođanske nafte „Velebit“

Naftne kiseline iz naftenskih nafti Panonskog basena su već decenijama predmet istraživanja iako se one još uvek ne izoluju komercijalno tokom industrijske prerade nafte u rafineriji u Novom Sadu.<sup>11,176,177</sup> Prisustvo karboksilnih kiselina u naftnim frakcijama negativno utiče na kvalitet komercijalnih frakcija, međutim vrlo je važno naglasiti da je više grupa istraživača ustanovilo fiziološke osobine naftnih kiselina što je istraživanja usmerilo na ispitivanje njihovog uticaja na rast biljaka.<sup>163,167-171</sup>

“Naftne kiseline” je široko prihvaćen termin za smešu prirodnih karboksilnih kiselina izolovanih iz nafte. Poznato je da različiti tipovi nafti imaju strukturno veoma različit sastav ugljovodonika, a da postoji strukturna analogija između struktura ugljovodonika i pratećih karboksilnih kiselina u istoj nafti. U ovom radu su ispitivane naftne kiseline iz vojvođanske naftenske nafte “Velebit”, pa su tako i strukture ugljovodonika i pratećih karboksilnih kiselina naftenskog tipa, zbog čega se ove prirodne karboksilne kiseline vrlo često zovu “naftenske kiseline”.

U cilju što boljeg razumevanja njihovog delovanja, pojavila se potreba za karakterizacijom naftnih kiselina u smislu određivanja grupnih struktura, odnosno klasa prisutnih kiselina u izolovanim prirodnim smešama, a takođe uporedo je rađeno i na određivanju pojedinačnih struktura kiselina iako je identifikacija kiselina izuzetno kompleksan posao na kojem se i dalje radi. Takva istraživanja započeta su još polovinom prošlog veka, a tek sada zahvaljujući boljim tehničkim mogućnostima, strukturna analiza daje preciznije podatke o sastavu. Utvrđeno je da geohemijski odnosi, korozivnost, toksičnost i biološka aktivnost zavise od veličine i strukture molekula karboksilnih kiselina koji čine naftne kiseline.<sup>178,179</sup>

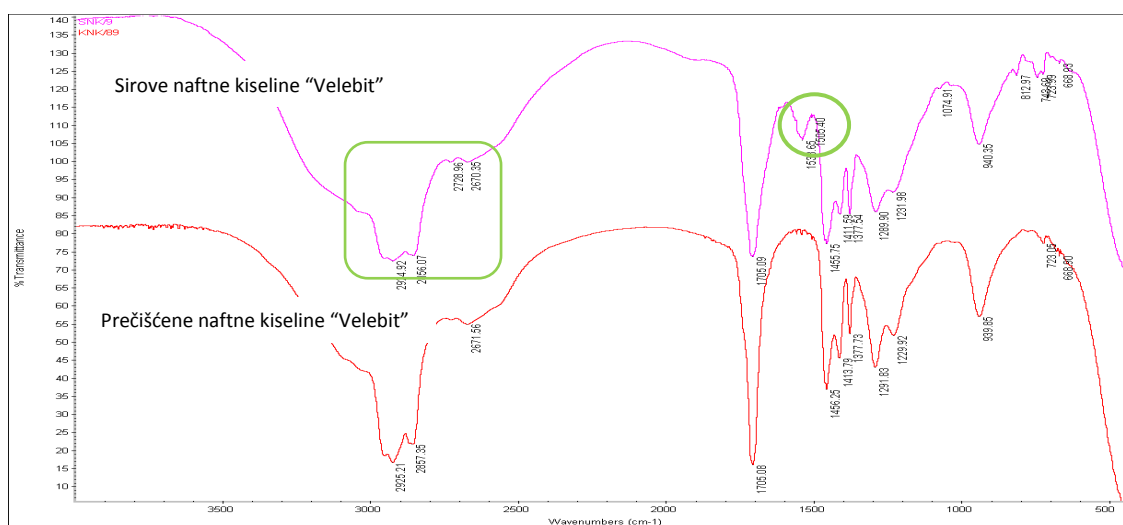
Njihova struktura i sastav do sada su ispitivani brojnim metodama i analitičkim tehnikama.<sup>165,166,180,181</sup> Sve korišćene analitičke metode za određivanje grupnih struktura tretiraju date kiseline kao grupu ili podgrupu zasnovanu na broju C-atoma (što daje uvid u veličinu prosečnog molekula), i Z-broju koji daje uvid u to koje klase kiselina su prisutne u smeši. Do sada je utvrđeno da su naftne kiseline iz različitih naftenskih nafti jedinjenja sa prosečnim brojem C atoma od C<sub>10</sub>-C<sub>50</sub>, da spadaju u zasićene karboksilne kiseline i da imaju od 0-6 kondenzovanih petočlanih ili šestočlanih prstenova u ugljovodoničnom delu molekula. Znači smešu kiselina u različitom odnosu mogu da čine: aciklične zasićene kiseline, zatim mono-, bi-, tri-, tetra-, penta- i heksaciklične karboksilne kiseline. Karboksilna grupa mahom je vezana preko kratkog ugljovodoničnog lanca.<sup>182</sup> Raspored ugljenikovih atoma i prstena varira od izvora nafte i frakcije destilata, te naftne kiseline sa sličnim kiselinskim brojem i prosečnom molekulskom masom mogu imati značajno različite strukturne profile.

Na osnovu broja prstenova naftne kiseline se mogu grupisati u sedam klasa (Z-serija) kiselina uključujući i strukture alkanskih kiselina otvorenog niza. Iz literature se može videti da naftenske nafte iz Kanade<sup>183</sup>, Kalifornije<sup>184</sup>, Venecuele<sup>185</sup>, Rumunije i Vojvodine<sup>11,176,177</sup> imaju u svojim smešama pratećih karboksilnih kiselina aciklične i ciklične strukture ugljovodoničnog dela. Ipak, strukturno ove nafte se veoma razlikuju jer je za svaku od njih svojstven odnos klasa i strukturni sastav (Tabela 2.11.). Analitički je potvrđeno da u smeši tih sedam utvrđenih klasa može biti prisutno nekoliko hiljada pojedinačnih struktura kiselina.

Iz tih razloga jedan od prvih ciljeva ovog rada je određivanje detaljnog grupno-strukturnog sastava karboksilnih kiselina savremenom GC-MS-EI metodom. Mogućnosti ove instrumentalne metode masene spektrometrije po prvi put će dati uvid u ceo opseg molekulskih masa kiselina što je do sada najkompletnija strukturna analiza naftnih kiselina vojvođanske nafte "Velebit".

Izolovanje naftnih kiselina rađeno je iz atmosferskog gasnog ulja, komercijalne frakcije vojvođanske nafte "Velebit", raspona destilacije 185-330 °C. Za izolovanje kiselih komponenti iz nafte, korišćena je metoda alkalne ekstrakcije sa amonijakom. Prečišćavanje sirovih naftnih kiselina "Velebit" rađeno je metodom ponovljene alkalne ekstrakcije pomoću alkoholnog rastvora KOH, nakon čega je utvrđena vrednost za kiselinski broj ( $K_b$ ) od 199.78 mg KOH/g. Vrednost kiselinskog broja je obrnuto proporcionalna srednjoj molekulskoj masi. Prosečna molekulska masa prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ izračunata je pomoću formule:  $M_r = 56.1 \times 1000 / K_b$  i iznosi 280.8 g/mol.

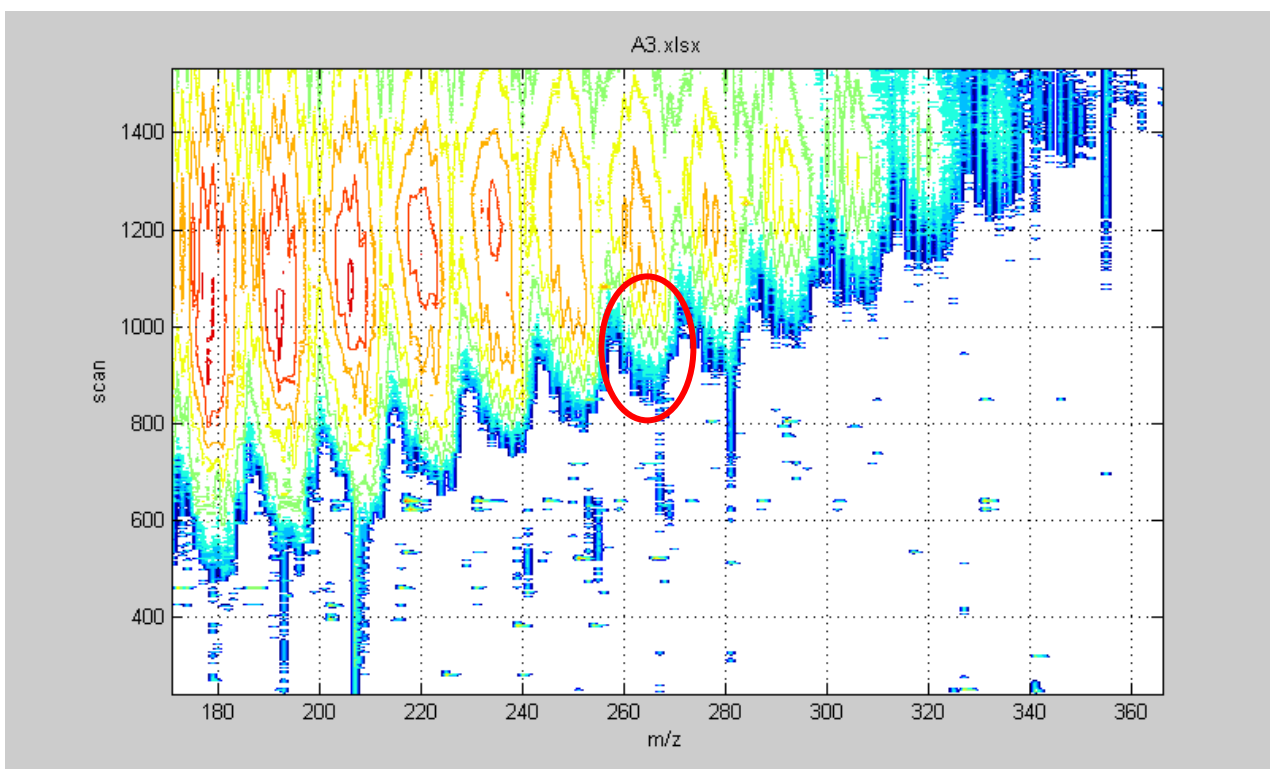
Prečišćavanje sirovih naftnih kiselina je praćeno FT-IR spektrofotometrijski (Slika 3.1.). Povećanje intenziteta trake na  $1705 \text{ cm}^{-1}$ , smanjenje intenziteta trake na  $2728 \text{ cm}^{-1}$ , kao i nestanak trake na  $1538 \text{ cm}^{-1}$  pokazuje da je prečišćavanjem smanjen udeo ugljovodonika u smeši karboksilnih kiselina. Trake u oblasti  $2930\text{-}2850 \text{ cm}^{-1}$  potiču od asimetričnih i simetričnih valencionih vibracija ( $\nu_{as}$  i  $\nu_s$ )  $\text{CH}_2$  i  $\text{CH}_3$ . Na  $1456 \text{ cm}^{-1}$  ( $\delta_{as} \text{CH}_2$ ) i  $939 \text{ cm}^{-1}$  se nalaze trake od skeletnih oscilacija CH cikličnih struktura. Karakteristična traka na  $1705 \text{ cm}^{-1}$  potiče od valencionih vibracija dimerizovane karbonilne grupe ( $\nu \text{C=O}$ ) karboksilne kiseline. Široka traka u oblasti  $3500\text{-}3000 \text{ cm}^{-1}$  i  $2800\text{-}2500 \text{ cm}^{-1}$  potiče od valencionih vibracija OH grupe ( $\nu \text{O-H}$ ), dok traka na  $939 \text{ cm}^{-1}$  potiče od deformacionih vibracija  $\delta \text{O-H}$ .



Slika 3.1. Preklapljeni IR spektri sirovih i prečišćenih naftnih kiselina „Velebit“



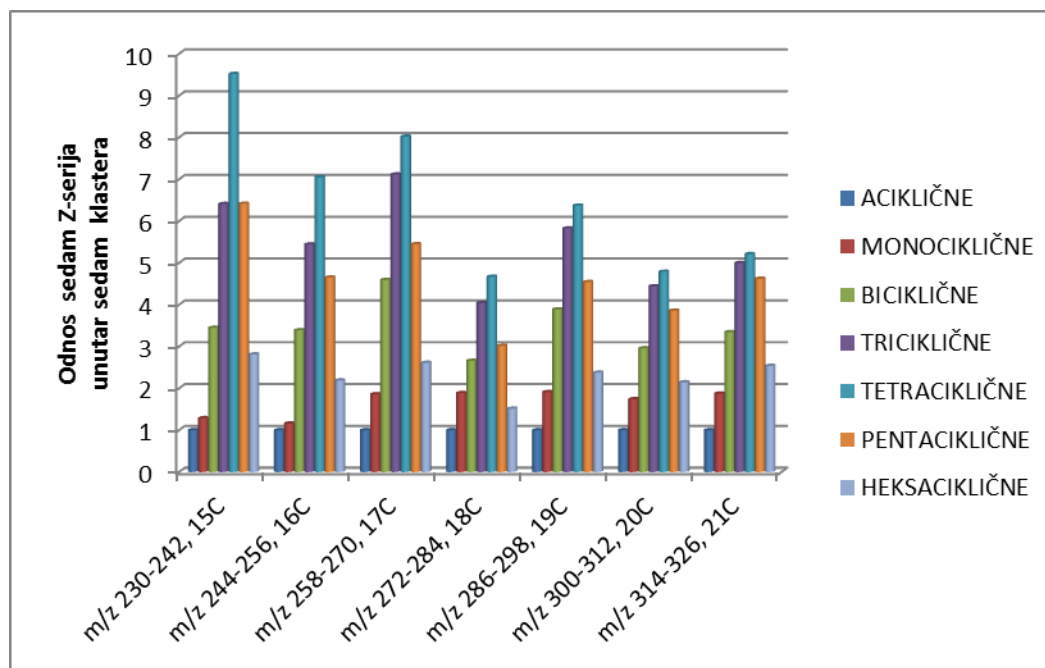
Analizom masenih spektara rađenih GC-MS-EI metodom određena je relativna distribucija karboksilnih kiselina u ukupnoj smeši, odnosno molekulska kompozicija naftnih kiselina. Na *Slici 3.2.* vidi se da su kiseline grupisane u klasterne. U svakom klasteru su obuhvaćene i okarakterisane kiseline sa istim brojem C atoma. Unutar svakog klastera zapaža se prisustvo sedam klasa kiselina opšte formule  $C_nH_{2n-z}O_2$ .



*Slika 3.2.* 2D GC-MS spektar ukupnih prirodnih naftnih kiselina "Velebit" u rasponu relativnih molekularskih masa od 180-360. Crvenom bojom je zaokružen klaster sa 17 C-atoma, raspona molekulske mase 258-270

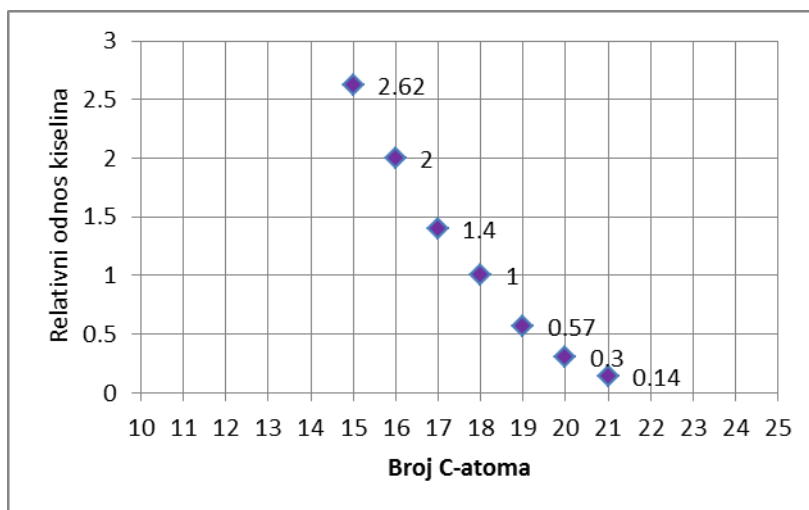
Na osnovu gore izloženog izvedeni su sledeći zaključci:

- Detaljnom analizom pojedinačnih klastera (*Tabela 4.1.*) u rasponu masa od 230-242, 244-256, 258-270, 272-284, 286-298, 300-312 i 314-326, koji odgovaraju broju od 15, 16, 17, 18, 19, 20 i 21 C atoma respektivno, utvrđena je raspodela za sedam Z-serija ( $Z = 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12$ ) kiselina. Učešće Z-serija u pojedinim klasterima je prikazano na *Slici 3.3.* U intervalu od 15-21 C-atoma, najdominantnije su tetra i triciklične strukture kiselina.



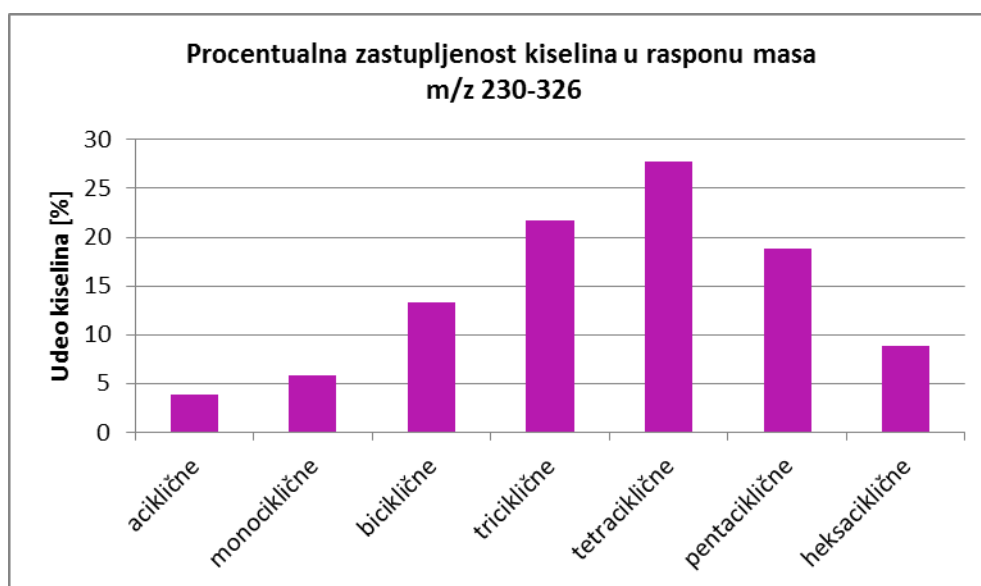
Slika 3.3. Relativni odnos acikličnih ( $z=0$ ), monocikličnih ( $z=2$ ), bicikličnih ( $z=4$ ), tricikličnih ( $z=6$ ), tetracikličnih ( $z=8$ ), pentacikličnih ( $z=10$ ) i heksacikličnih ( $z=12$ ) kiselina unutar klastera određenog raspona relativne molekulske mase

- Takođe, utvrđeno je da sa porastom broja C atoma, opada ukupna masa kiselina po klasterima. Tako je u rasponu relativne molekulske mase od 230-326, odnosno od klastera C-15 do C-21, naftnih kiselina "Veletit", ustanovljeno da su procentualno najmanje zastupljene kiseline sa 21 a najviše kiseline sa 15 C atoma (Slika 3.4.). Naime, C-21 kiselina ima oko 19 puta manje od C-15 kiselina.



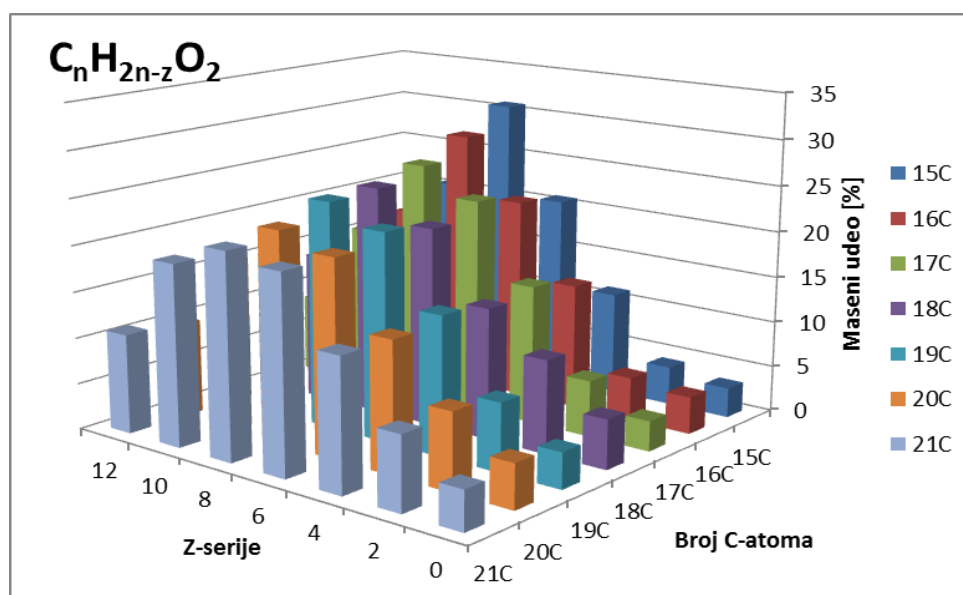
Slika 3.4. Odnos zastupljenosti karboksilnih kiselina iz prirodne nafte "Veletit" u zavisnosti od broja C-atoma

- U rasponu relativnih molekulske masa kiselina od 230-326 (15-21 C atoma) (Tabela 4.1.), ukupna zastupljenost alkilkarboksilnih kiselina (masne kiseline), opšte formule  $C_nH_{2n}O_2$  ( $z=0$ ) je 3.82%, monocikličnih kiselina opšte formule  $C_nH_{2n-2}O_2$  ( $z=2$ ) je 5.81%, bicikličnih kiselina opšte formule  $C_nH_{2n-4}O_2$  ( $z=4$ ) je 13.25%, triciklične kiseline opšte formule  $C_nH_{2n-6}O_2$  ( $z=6$ ) 21.7%, tetracikličnih naftenskih kiselina opšte formule  $C_nH_{2n-8}O_2$  ( $Z=8$ ) je 27.74%, pentacikličnih karboksilnih kiselina opšte formule  $C_nH_{2n-10}O_2$  ( $z=10$ ) je 18.8% i heksacikličnih struktura opšte formule  $C_nH_{2n-12}O_2$  ( $z=12$ ) 8.88% (Slika 3.5.).



Slika 3.5. Procentualni udeo šest Z-serija kiselina u smeši ukupnih prirodnih naftnih kiselina "Veletit"

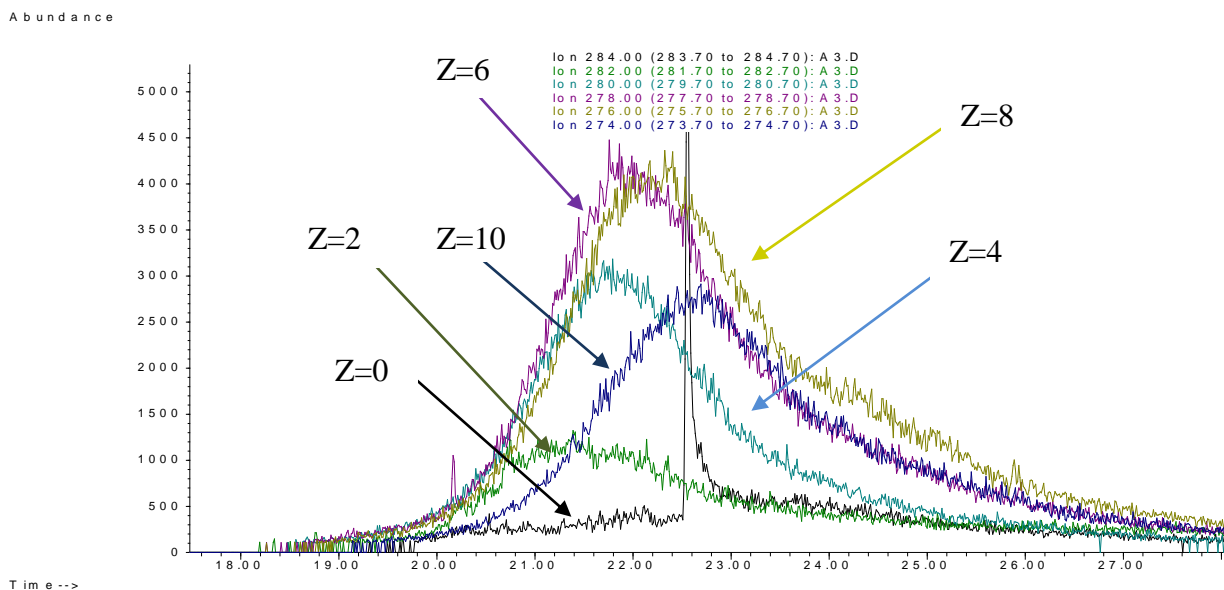
Kompletna distribucija svih prisutnih klasa kiselina data je na Slici 3.6.



Slika 3.6. Trodimenzionalni dijagram GC-MS-EI analize za ukupnu smešu naftnih kiselina

- Naftne kiseline “Velebit” nakon višestrukog prečišćavanja imaju prosečnu molekulska masu od 280.8 g/mol. Na osnovu izloženog sledi da u ukupnoj smeši kiselina ima najviše onih sa 18 C-atoma. Raspodela Z-serija kiselina u smislu njihove zastupljenosti unutar klastera mase 272-284 prikazana je na hromatogramu (Slika 3.7.). Iz hromatograma se vidi da su najzastupljenije triciklične i tetraciklične strukture kiselina, a da najmanji udeo u ukupnoj smeši pripada monocikličnim kiselinama.

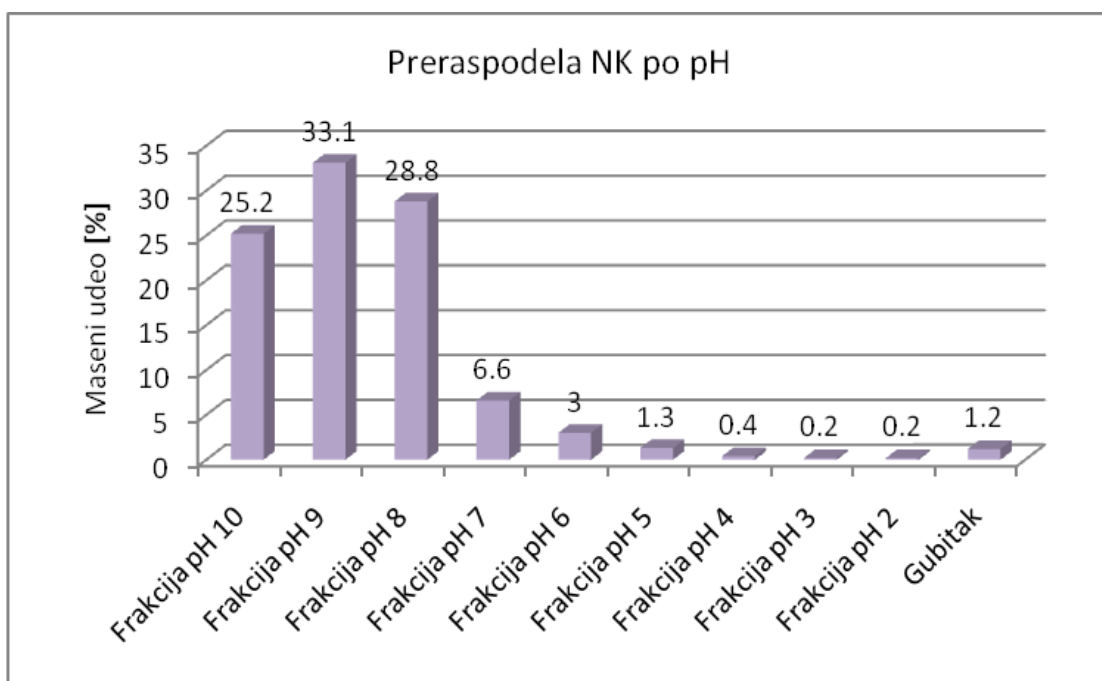
- Hromatogram za Z=12 (m/z=272) nije prikazan na zbirnoj Slici 3.7. zbog nemogućnosti programa da istovremeno prikaže više od šest masa



Slika 3.7. Hromatogram Z-serija kiselina u opsegu masa od 272-284

Iz gore izloženog, može se zaključiti da naftne kiseline “Velebit” čini veliki broj strukturno različitih karboksilnih kiselina, ali se analizom masenih spektara rađenih GC-MS–EI metodom sasvim pouzdano može utvrditi opseg molekulskih masa kiselina i broj i odnos prisutnih klasa u smeši. Kiselost i rastvorljivost u vodi pojedinih struktura zavisi od strukture alkilnog dela kiseline odnosno, od odnosa površine molekula i njegovog naelektrisanja. Vođeni tom činjenicom, izvršeno je frakcionisanje ukupne smeše naftnih kiselina “Velebit” na uže frakcije distribuisane prema kiselosti.

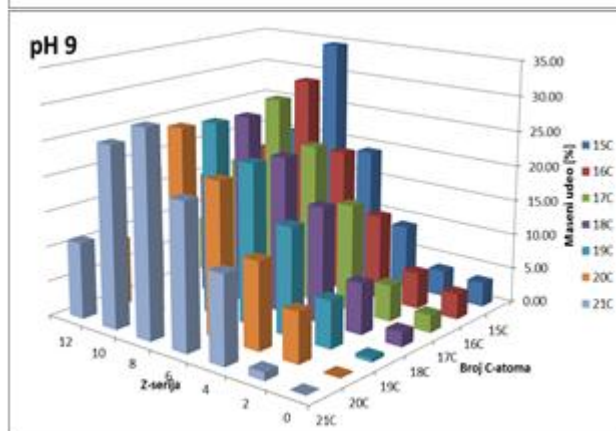
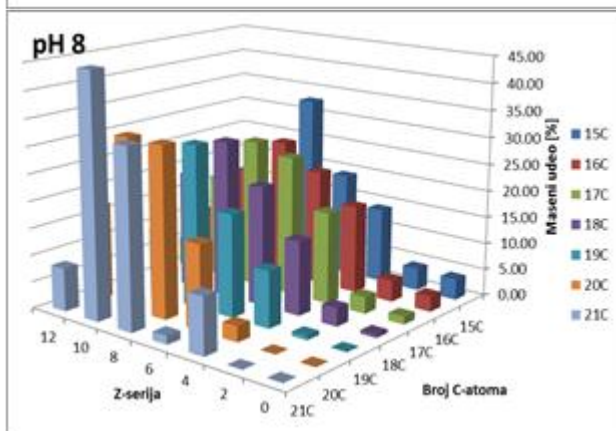
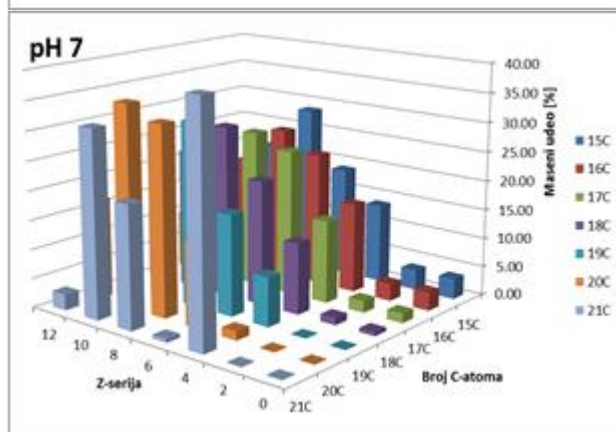
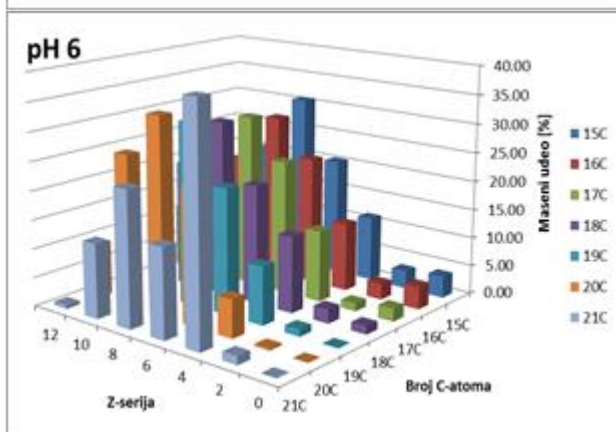
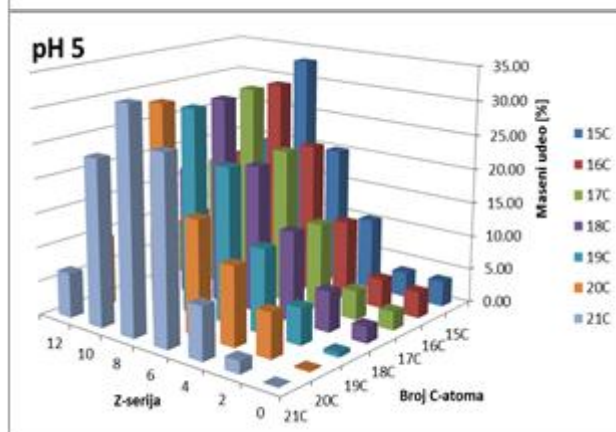
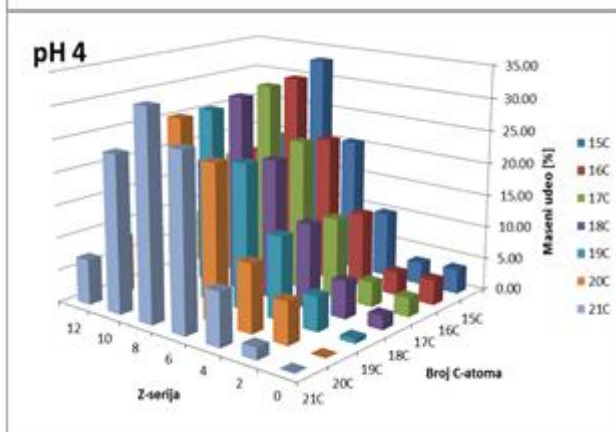
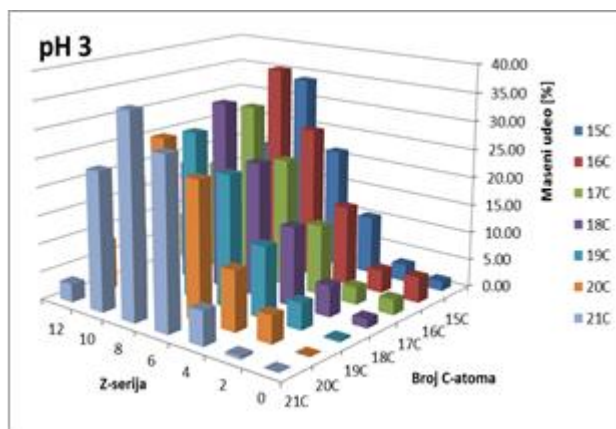
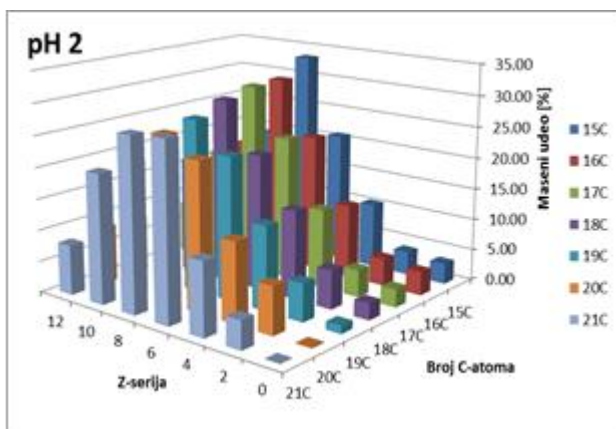
Ekstrakcijom kiselina na određenoj pH vrednosti izvršeno je grupisanje kiselina sličnih struktura, konfiguracije i konformacije, pa samim tim očekuje se da budu i slične biološke aktivnosti. Naime, razdvajanje je rađeno na osnovu razlika u rastvorljivosti pojedinih struktura karboksilnih kiselina u vodi sa promenom pH sredine. Razdvajanje je rađeno u rasponu od pH 10 do pH 2 povećavanjem kiselosti za po jednu pH jedinicu. Preraspodela mase naftenskih kiselina po pH vrednostima nakon razdvajanja kiselina ekstrakcijom na bazi rastvorljivosti u vodi pri različitim pH vrednostima data je na Slici 3.8.

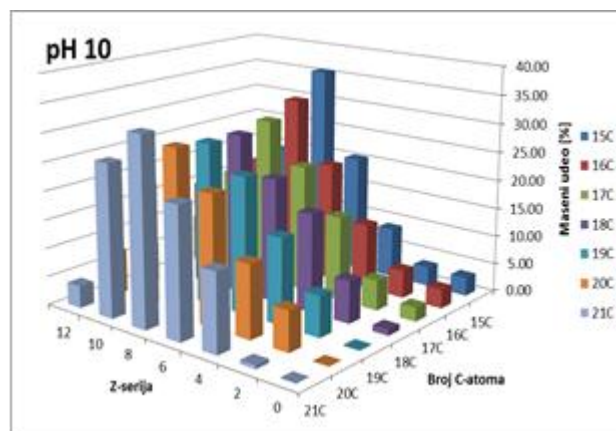


Slika 3.8. Maseni udeo naftnih kiselina "Velebit" pri različitim pH vrednostima

Sa Slike 3.8. se vidi da je frakcionisanjem ukupne smeše naftnih kiselina "Velebit" na bazi različite kiselosti i rastvorljivosti u vodi u rasponu od pH 10 do pH 2 dobijeno devet frakcija kiselina sa sledećom zastupljenošću: 25.2% (pH 10), 33.1% (pH 9), 33.1% (pH 8), 33.1% (pH 7), 33.1% (pH 6), 33.1% (pH 5), 33.1% (pH 4), 33.1% (pH 3), 33.1% (pH 2). Razdvajanjem na osnovu razlika u rastvorljivosti pojedinih struktura karboksilnih kiselina u vodi sa promenom pH sredine više od oko 80% mase kiselina izolovano je od pH 8-10, odnosno u gurpi slabijih kiselina.

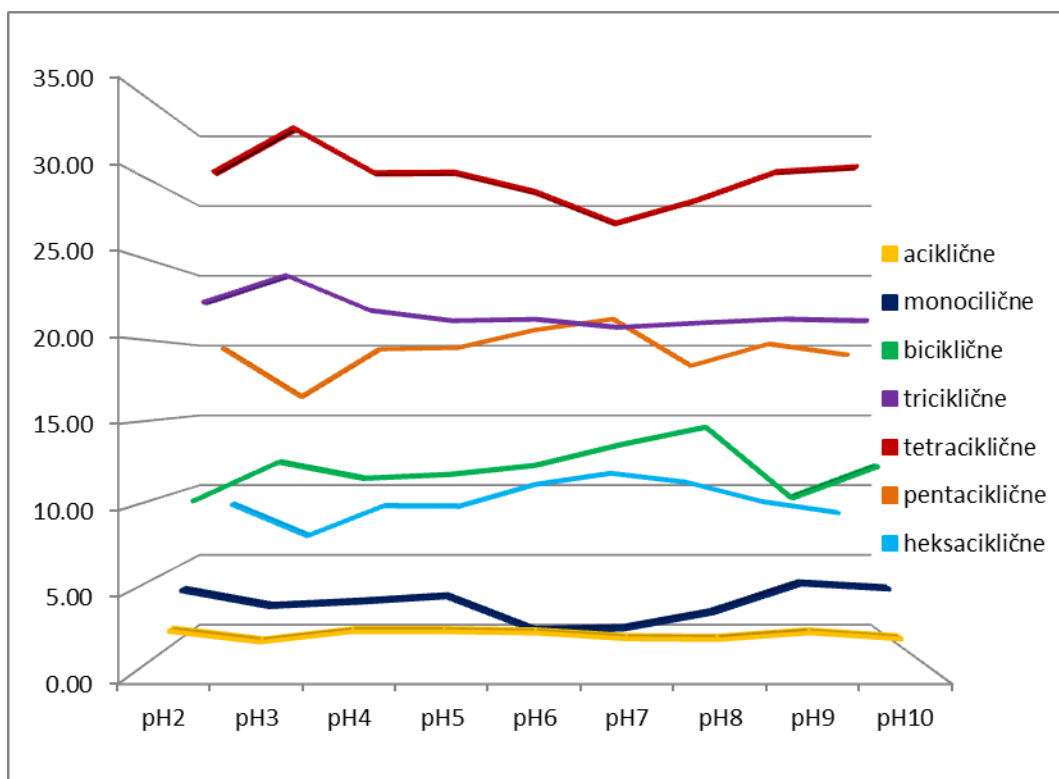
Na osnovu rezultata GC-MS-EI analize potvrđena je pretpostavka o različitom grupisanju strukturno različitih karboksilnih kiselina nafte "Velebit" unutar svake pH jedinice. Preraspodela determinisanih naftnih kiselina i udeo homologih Z-serija u smeši kiselina ekstrahovanih iz vodenog rastvora ukupnih kiselina u intervalu pH 10 do pH 2 data je na Slici 3.9. (Prilog 7.1.1. i Tabele 7.1.–7.9.).





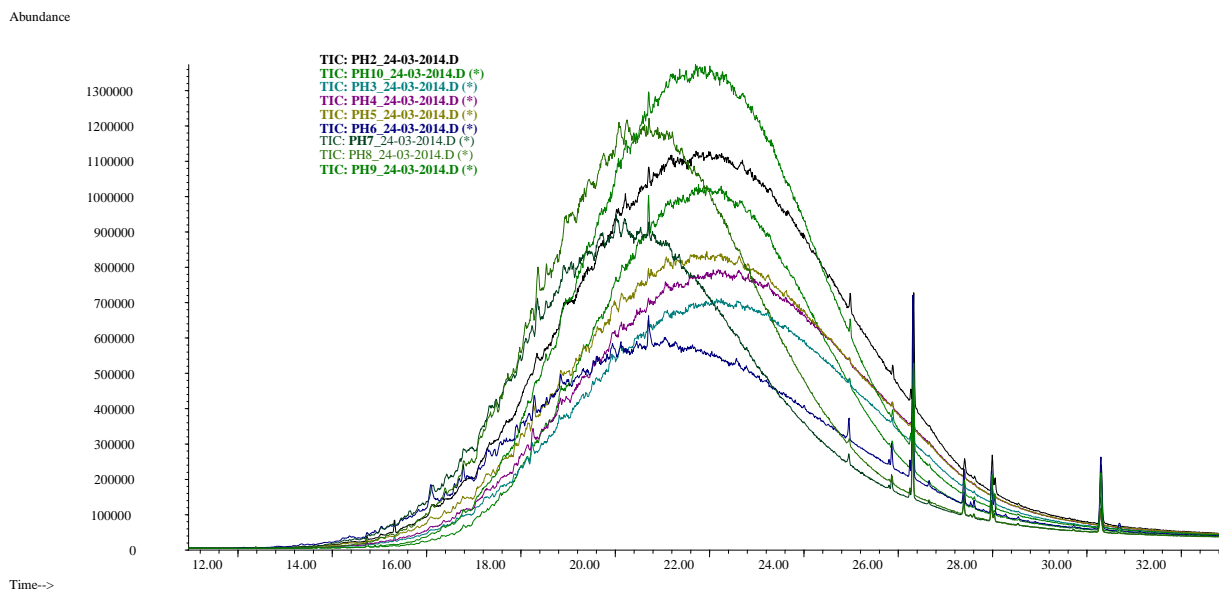
Slika 3.9. Maseni udeo determinisanih naftnih kiselina i udeo homologih Z-serija u smeši kiselina ekstrahovanih iz vodenog rastvora ukupnih kiselina u rasponu pH 10 do pH 2

Najuočljivija razdvajanja naftnih kiselina odigrala su se na pH 3, pH 7 i pH 8. Naime, na pH 3 i pH 4 grupisale su se triciklične i tetraciklične kiseline, na pH 7 penta- i heksaciklične kiseline, a na pH 8 biciklične strukture. Monociklične i aciklične naftne kiseline izdvojile su se na pH 9 i pH 10 (Slika 3.10., Tabela 7.10.). Da je došlo do razdvajanja naftnih kiselina po kiselosti, uočljivo je i na hromatogramu (Slika 3.11.) kao i na 2D GC-MS spektrima frakcija naftnih kiselina (Prilog 7.1.1.).



Slika 3.10. Razdvajanje naftnih kiselina po pH

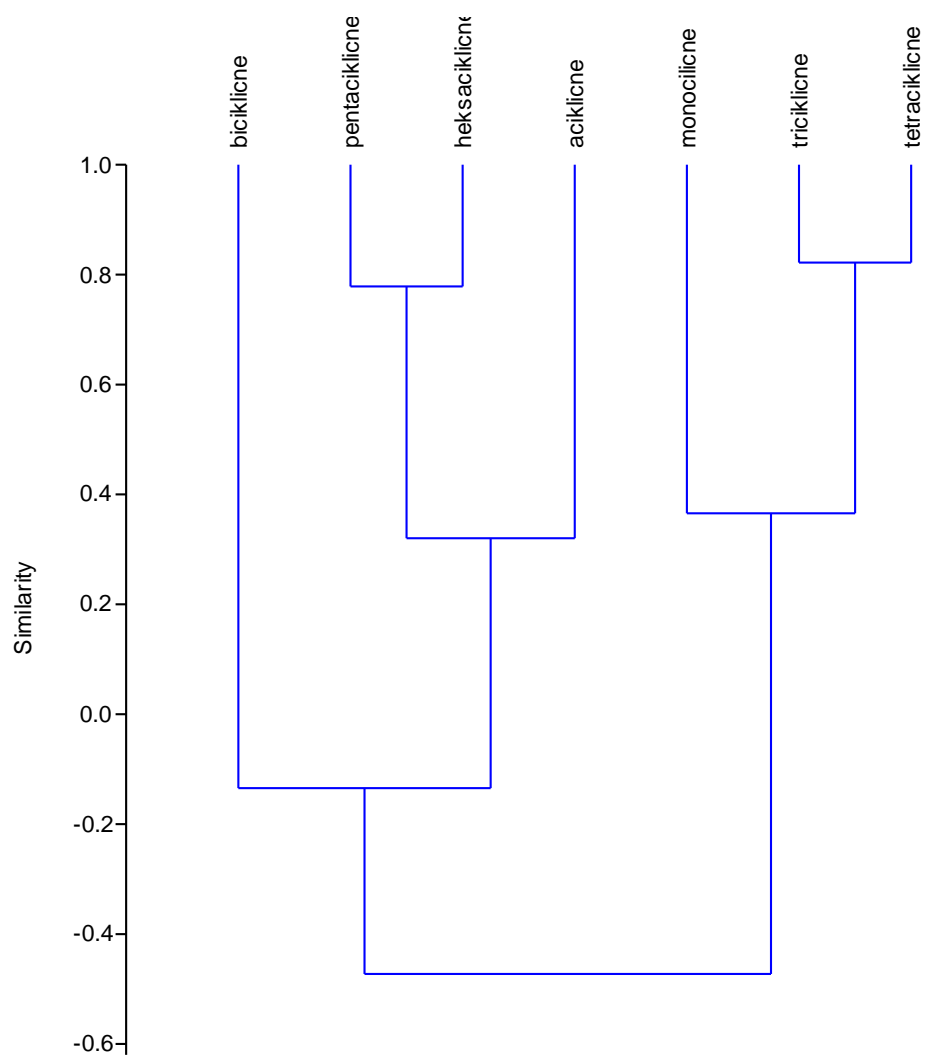
Najveće razlike među užim frakcija naftnih kiselina uočavaju se u oblasti viših molekularnih masa,  $m/z$  300 – 350 (Prilog 7.1.1.).



Slika 3.11. Zbirni hromatogram frakcija naftnih kiselina vojvođanske nafte "Velebit" u interval od pH 10 do pH2

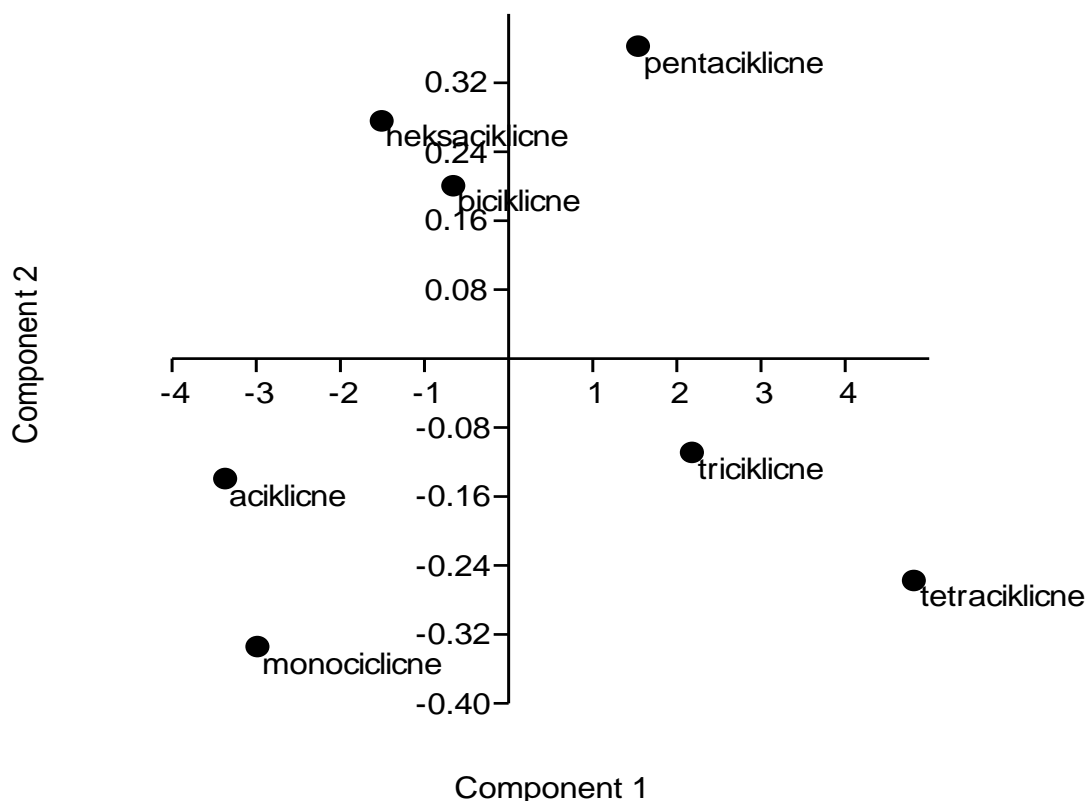
Na osnovu rezultata klaster analize, dendrograma (Pirsonove korelacije) (Slika 3.12.), može se zaključiti da je ideja razdvajanja kompleksnih smeša naftnih kiselina na bazi različite rastvorljivosti kiselina pri različitim pH vrednostima apsolutno imala smisla pošto su se karboksilne kiseline grupisale prema kiselosti i strukturi, a samim tim i prema biološkim svojstvima što je i bio krajnji cilj. Na pH 11 sve naftne kiseline su rastvorene u vodi u obliku Na-naftenata. Smanjivanjem vrednosti pH od 10 do pH 2, za po jednu pH jedinicu, postignuto je da se kiseline grupišu prema kiselosti i rastvorljivosti u vodi. Naime, najslabije kiseline su se izdvajale kao nerastvorne pri pH 10, a zatim smanjivanjem pH rastvora polako su se izdvajale jače kiseline. Na osnovu masenih spektara se vidi kakvo je razdvajanje po klasama kiselina i takođe u odnosu na broj C atoma u molekulu. Naime, prilikom klaster analize, formirana je matrica sa parametrima u kojoj su kolone predstavljale pH vrednost (od 2 do 10), a redovi procentualni udeo Z-serija u ukupnoj smeši prirodnih naftnih kiselina "Velebit" (Tabela 7.10.). Kao što se vidi sa Slike 3.12. došlo je do grupisanja naftnih kiselina u dva klastera. Prvi sadrži aciklične, biciklične, pentaciklične i heksaciklične strukture naftnih kiselina a drugi, mnogociklične, tri- i tetraciklične strukture. Unutar prvog klastera, opaža se pojava dva subklastera od kojih jedan obuhvata biciklične strukture čije se osobine izraženo razlikuju od svih ostalih struktura naftnih kiselina. Podaci dobijeni na osnovu dendrograma dobro se poklapaju sa podacima grupisanja naftnih kiselina pri određenim pH jedinicama. Tako, sličnost u vodenim rastvorima pokazuju tri- i tetraciklične kiseline koje su se grupisale na pH 3 i pH 4, zatim penta- i heksaciklične naftenske kiseline grupisane na pH 7, kao i mono i aciklične strukture kiselina izdvojene na pH 9 i 10. Biciklične karboksilne kiseline su najvećim delom izdvojene na pH 8 i pokazuju najmanje sličnosti sa svim ostalim strukturama kiselina.





Slika 3.12. Dendrogram Pirsonove korelacije pri različitim pH vrednostima

Na osnovu rezultata korelacionog PCA (scatter dijagrama) (Slika 3.13.) može se uočiti raspodela strukturno različitih naftnih kiselina (Z-serija) na osnovu njihove sličnosti.



Slika 3.13. Korelacioni PCA scatter dijagram homologih Z-serija

Tako se aciklične i monociklične strukture naftnih kiselina u vodenom rastvoru ponašaju slično. Njihova rastvorljivost a analogno i kiselost uglavnom zavisi od dužine i razgranatosti bočnog niza pa je i očekivano grupisanje u korelacionom dijagramu (Slika 3.13.). Sa druge strane, sličnost pokazuju pentaciklične i heksaciklične strukture, kao i triciklične i tetraciklične forme. Biciklične strukture naftnih kiselina ispoljavaju sličnost sa penta- i heksacikličnim strukturama po jednoj komponenti a po drugoj sa acikličnim i monocikličnim kiselinama.

Kako su naftne kiseline amfifilni molekuli za očekivati je da pokazuju izvesnu površinsku aktivnost. Poznavanje površinske aktivnosti naftnih kiselina je od značaja za ispitivanje njihove potencijalne biološke aktivnosti.

U tu svrhu, određena je kritična micelarna koncentracija (*cmc*) natrijumovih soli ukupne smeše prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ kao i njenih užih frakcija pH 4, pH 8 i pH 10.<sup>186</sup> Micelarne osobine ovih natrijum-naftenata su ispitane fluorescentom metodom, koristeći piren kao fluorescentnu probu. Kritična micelarna koncentracija je određena spektrofluometrijskim merenjima (Agilent Cary Eclipse Fluorescence spectrophotometer) na sedam različitih temperatura. Imajući u vidu potencijalnu primenu naftnih kiselina u biološkim sistemima izabran je opseg temperatura od 10 °C do 40 °C koji

pokriva uobičajene fiziološke temperature. U *Tabeli 3.1.* sumirani su eksperimentalno dobijene vrednosti za kritičnu micelarnu koncentraciju.

*Tabela 3.1.* Vrednosti *cmc* ispitivanih natrijum-naftenata ukupnih naftnih kiselina i njenih užih frakcija na različitim temperaturama

T (°C)	Na-naftenati pH 4	Na-naftenati pH 8	Na-naftenati pH 10	Na-naftenati ukupnih naftnih kiselina "Velebit"
	<i>cmc</i> (mmol/L)			
10	0.038	0.027	0.026	0.020
15	0.041	0.031	0.029	0.022
20	0.045	0.036	0.030	0.024
25	0.048	0.042	0.034	0.031
30	0.062	0.051	0.038	0.048
35	0.073	0.060	0.044	0.056
40	0.094	0.093	0.059	0.073

Na osnovu utvrđenih *cmc* vrednosti na 25 °C može se zaključiti da natrijum-naftenati frakcije pH 10 imaju nižu vrednost kritične micelarne koncentracije u odnosu na druge dve frakcije. Opšte je poznato da sistemi sa nižom vrednošću *cmc* grade termodinamički stabilnije micelle što znači da će naftne kiseline izolovane na pH 10 imati najveću tendenciju da ih grade. Dalje, iz *Tabele 3.1.* se vidi da je najveći rast *cmc* vrednosti sa porastom temperature zabeležen za frakciju pH 4 iz čega sledi da su toj pH vrednosti grupisane strukture manje povoljne za građenje micela.

Na osnovu prethodno iznetog, podataka iz *Tabele 3.1.* i *Tabele 7.10.* može se zaključiti da frakcije naftnih kiselina sa nižim sadržajem alifatičnih struktura (pH 4 i pH 8) imaju veće vrednosti kritičnih micelarnih koncentracija. Ova pojava se može objasniti većom krutošću hidrofobnih prstenova koji otežavaju pakovanje molekula u micelle. Tako natrijum-naftenati na pH 4 imaju najveću *cmc* vrednost najverovatnije zbog rigidnosti tri- i tetracikličnih prstenova koji su u najvećem procentu zastupljeni u ovoj frakciji. Na pH 8 uglavnom su zastupljene biciklične strukture naftnih kiselina koje su pogodnije za pakovanje i građenje micela te su i *cmc* vrednosti nešto niže u odnosu na vrednosti natrijum-naftenata na pH 4.

Kritična micelarna koncentracija Na-naftenata ukupne smeše naftnih kiselina „Velebit“ na 25 °C je niža od vrednosti sve tri ispitivane frakcije što se može objasniti najverovatnije formiranjem mešovitih micela između alifatičnih i cikličnih struktura koje čine smešu naftnih kiselina.

Različite vrednosti za kritičnu micelarnu koncentraciju ispitivanih frakcija, samo su još jedan dokaz da je razdvajanje naftnih kiselina na osnovu strukturne različitosti uspešno postignuto što daje mogućnost uspostavljanja korelacije između struktura i biološke aktivnosti u daljim istraživanjima.

## 3.2. Mikrotalasno-stimulisane amidacije individualnih i prirodnih naftnih kiselina "Velebit" sa primarnim i sekundarnim aminima

Predmet istraživanja u ovoj disertaciji su naftenske kiseline, a cilj ovog dela disertacije je sinteza amida prirodnih smeša naftenskih i individualnih naftenskih kiselina u mikrotalasnim uslovima, bez prisustva katalizatora i bez upotrebe rastvarača, sa ciljem da se vreme trajanja reakcije meri sekundama ili minutima, a ne satima ili danima što je uobičajeno za ove sinteze u konvencionalnim uslovima. Sinteze amida su veoma česte u istraživačkim laboratorijama i farmaceutskoj praksi. Pregled literature otkriva koliko je duga istorija proučavanja klasične reakcije amidacije<sup>80-104</sup>, a takođe i koliko se malo zna o svim faktorima koji utiču na mehanizam formiranja amida. Razlog velikog interesovanja za reakciju sinteze amida je u tome što oni generalno spadaju u klasu aktivnih komponenti, a do sada su uglavnom svi postupci, i laboratorijski i industrijski, podrazumevali aktivaciju karboksilne funkcije upotrebom katalizatora koji su toksične supstance (npr. anhidridi kiselina, acil-hloridi, metalne soli ...) pa je i sa ekološkog ali i ekonomskog aspekta aktuelno iznalaženje metode u kojoj ne bi bilo otrovnih i agresivnih katalizatora, pa samim tim ni skupih prečišćavanja.

Kako je amidna funkcija, sa druge strane, integrisana u mnoge biološki aktivne strukture, razmišljanja su usmerena i ka dobijanju fiziološki aktivnih jedinjenja koja će biti rastvorljivija a samim tim i pogodnija za usvajanje od strane biljaka u odnosu na čiste naftenske kiseline.

Dobijanje amida je rađeno sa sledećim kiselinama: benzoevom (1), cikloheksilkarboksilnom (2), 3-cikloheksilpropanskom (4), 4-cikloheksilbutanskom (5) i dekanskom kiselinom (7). Kao primarni amin korišćen je n-heptilamin, a kao sekundarni *N,N*-dietilamin.

### 3.2.1. Mikrotalasno-stimulisane sinteze *N*-(n-heptil)amida individualnih naftnih kiselina

#### A) Sinteza u otvorenom sistemu mikrotalasnog reaktora

Kao polazne kiseline u sintezi *N*-heptilamida poslužile su 4-cikloheksilbutanska (5) i dekanska kiselina (7). Optimizacija amidacije je rađena sa n-heptilaminom u uslovima mikrotalasno-stimulisane sinteze pri atmosferskom pritisku, na temperaturi od 160 °C i u rasponu snage mikrotalasa od 25-160W, u „solvent free“ uslovima i bez upotrebe katalizatora odnosno, direktno iz slobodnih karboksilnih kiselina (Shema 3.1.).

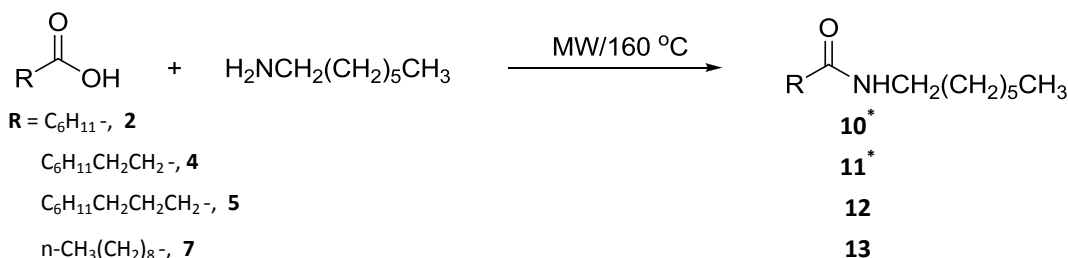
Optimizacija uslova reakcije je rađena u tri molska odnosa kiseline i n-heptilamina (Tabela 3.2.) u ukupnom trajanju od 50 minuta. Najbolji rezultati za sintezu 4-cikloheksil-*N*-heptilbutanamida (12) i *N*-heptildekanamida (13) postignuti su za molski odnos kiselina/amin= 1/1.5. Međutim, kako su se prinosi za sintezu jedinjenja 13 pri odnosu kiselina/amin = 1/1 i 1/1.5 neznatno razlikovali, u daljoj sintezi ovog jedinjenja korišćen je ekonomski opravdaniji odnos.

Tabela 3.2. Reakcija karboksilnih kiselina sa n-heptilaminom na temperaturi od 160 °C u vremenu od 50 minuta

Kiselina	Amid	Odnos kiselina/amin	Prinos [%]
4-cikloheksilbutanska kiselina ( <b>5</b> )	4-cikloheksil- <i>N</i> -heptilbutanamid ( <b>12</b> )	1/1	90
		1/1.5	96
		1.5/1	81
n-dekanska kiselina ( <b>7</b> )	<i>N</i> -heptildekanamida ( <b>13</b> )	1/1	88
		1/1.5	89
		1.5/1	73

Nakon utvrđivanja optimalnog odnosa reaktanata, urađena je optimizacija reakcionog vremena. Reakcija je rađena u mikrotalasnom reaktoru, u otvorenom sistemu, na 160 °C uz kontrolu nakon 5, 10, 15, 20, 30, 40 i 50 minuta, a tok reakcije je praćen pomoću tankoslojne hromatografije (toluen:etilacetat = 9:0.5).

Konačni reakcioni uslovi i prinosi reakcija su prikazani u Tabeli 3.3. u kojoj su, radi poređenja, dati i podaci iz našeg ranijeg rada za sintezu *N*-heptilcikloheksankarboksamida (**10**)<sup>\*</sup> i 3-cikloheksil-*N*-heptilpropanamida (**11**)<sup>\*</sup>.<sup>187</sup>



Shema 3.1. Mikrotalasno-stimulisana amidacija individualnih naftnih kiselina sa n-heptilaminom u otvorenom sistemu mikrotalasnog reaktora

Tabela 3.3. Mikrotalasno-stimulisana sinteza *N*-(n-heptil)amida individualnih naftnih kiselina pri atmosferskom pritisku

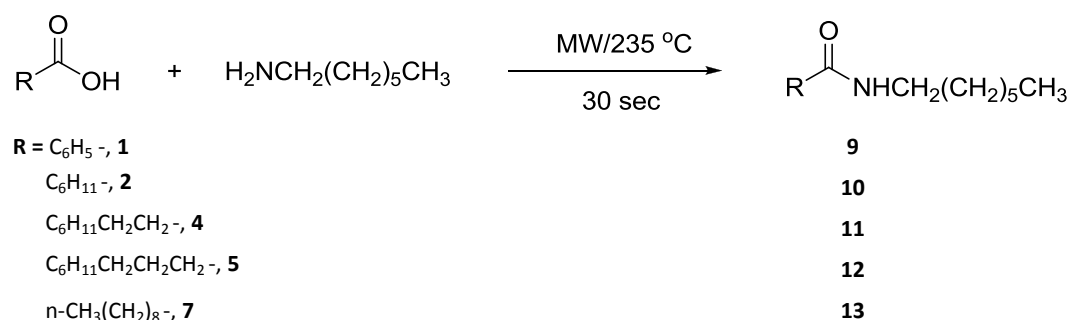
Kiselina	Proizvod	Odnos kiselina/amin	Reakciono vreme [min]	Snaga mikrotalasa [W]	Prinos [%]
<b>2</b>	<i>N</i> -heptilcikloheksankarboksamid, <b>10</b>	1/1	15	180	99
<b>4</b>	3-cikloheksil- <i>N</i> -heptilpropanamid, <b>11</b>	1/1	25	160	83
<b>5</b>	4-cikloheksil- <i>N</i> -heptilbutanamid, <b>12</b>	1/1.5	10	25	94
<b>7</b>	<i>N</i> -heptildekanamid, <b>13</b>	1/1	20	110	82

Mikrotalasnim ozračivanjem čistih reaktanata, primenjujući otvoren sistem i temperaturno-kontrolni mod rada mikrotalasnog reaktora, drastično je skraćeno reakciono vreme u odnosu na slične sinteze poznate u literaturi gde je rađena direktna kondenzacija karboksilnih kiselina i amina konvencionalnim zagrevanjem na 160 °C u odsustvu rastvarača<sup>82</sup>. Sa druge strane, odsustvom i katalizatora i organskih

rastvarača, postignuta je mogućnost jednostavne obrade reakcione smeše kao i eliminisanje toksičnih nusproizvoda.

### B) Sinteza u zatvorenom sistemu mikrotalasnog reaktora

U cilju optimizacije dobijanja N-heptilamida individualnih naftnih kiselina, razrađena je još jedna metoda. Naime, reakcija amidacije individualnih naftnih kiselina (benzoeve (**1**), cikloheksilkarboksilne (**2**), 3-cikloheksilpropanske (**4**), 4-cikloheksilbutanske (**5**) i dekanske kiselina (**7**)) izvedena je sa n-heptilaminom u **zatvorenom sistemu** mikrotalasnog reaktora, na konstantnoj temperaturi od 235 °C i u odsustvu rastvarača pri neprekidnom mešanju u trajanju od 30 sekundi (*Shema 3.2.*). Primenjen je odnos kiselina:amin 1:1.



*Shema 3.2.* Mikrotalasno-stimulisana amidacija individualnih naftnih kiselina sa n-heptilaminom u zatvorenom sistemu, pod pritiskom

U fazi optimizacije dobijanja amida **9-13** primenom zatvorenog sistema mikrotalasnog reaktora u temperaturno-kontrolnom modu, reakcija je rađena sa najmanje reaktivnom individualnom naftnom kiselinom **1**, pri čemu je tok reakcije praćen 30 minuta. Mikrotalasno ozračivanje je prekidano nakon 30 sec, 1, 3, 5, 10, 15, 20 i 30 minuta što je ujedno bila i dinamika spotovanja TLC pločica. Kako nakon 30 sekundi, daljim ozračivanjem mikrotalasima, nije došlo do promena u reakcionom sistemu, to vreme je uzeto kao optimalno vreme trajanja reakcije. Rezultati ovih transformacija su predstavljeni tabelarno (*Tabela 3.4.*).

*Tabela 3.4.* Mikrotalasno-stimulisana sinteza N-(n-heptil)amida individualnih naftnih kiselina u zatvorenom sistemu na temperaturi od 235 °C, odnos kiselina-amin 1:1, reakciono vreme 30 sec.

Kiselina	Proizvod	Prinos [%]
<b>1</b>	N-heptilbenzamid, <b>9</b>	83
<b>2</b>	N-heptilcikloheksankarboksamid, <b>10</b>	86
<b>4</b>	3-cikloheksil-N-heptilpropanamid, <b>11</b>	94
<b>5</b>	4-cikloheksil-N-heptilbutanamid, <b>12</b>	92
<b>7</b>	N-heptildekanamid, <b>13</b>	97

Na osnovu prikazanih rezultata može se zaključiti da se kao povoljniji postupak dobijanja amida n-heptilamina pokazao postupak **B**, u kojem je amidacija rađena u zatvorenom sistemu pod pritiskom. Prinosi obe metode su u opsegu 82-99% izolovanog proizvoda, ali je reakciono vreme reakcije amidacije značajno kraće u postupku **B**. Upoređujući dobijene rezultate postupka **A** i **B** sa rezultatima iz literature, gde su sinteze amida u odsustvu rastvarača i hemijskih katalizatora, tekle od 2-24 h na 160 °C pri konvencionalnom zagrevanju<sup>82</sup>, odnosno od 30-120 min na 150 °C pri mikrotalasnom zagrevanju u otvorenom sistemu<sup>106</sup>, može se zaključiti da je reakcija amidacije izvedena u *CEM Discover (BenchMate)* monomodnom mikrotalasnom reaktoru, primenjujući temperaturno-kontrolni mod rada, modifikovana na dva načina:

- ✓ **Postupak A:** MW (25-180W); 160 °C, otvoren sistem, 10-15 min; prinos 94-99%
- ✓ **Postupak B:** MW; 235 °C, zatvoren sistem; 30 sec; prinos 94-97%

Strukture sintetizovanih jedinjenja **9-13** potvrđene su na osnovu analize spektroskopskih podataka: IR, <sup>1</sup>H NMR i <sup>13</sup>C NMR.

U IR spektru jedinjenja **9** zapaža se intenzivna traka na 1637 cm<sup>-1</sup> koja potiče od valencione C=O vibracije amidne funkcionalne grupe (ν C=O), a trake na 3316 cm<sup>-1</sup> i 3065 cm<sup>-1</sup> potiču od asimetrične (ν<sub>as</sub> NH) i simetrične (ν<sub>s</sub> NH) N-H valencione vibracije. U <sup>1</sup>H NMR spektru grupa signala na 7.24-7.80 ppm potiče od H atoma vezanog za azot u amidnoj grupi i vodonikovih atoma iz aromatičnog jezgra. U <sup>13</sup>C NMR spektru signal na 167.50 ppm potvrđuje prisustvo karbonilne grupe amidne funkcije (C=O), a signal na 39.90 potiče od C atoma metilenske grupe vezane za azot (NHCH<sub>2</sub>).

U IR spektru jedinjenja **10** apsorpcione trake na 3293 cm<sup>-1</sup> i 3082 cm<sup>-1</sup> su rezultat asimetrične i simetrične valencione vibracije N-H a traka na 1643 cm<sup>-1</sup> potiče od valencione vibracije karbonilne grupe amida (ν C=O). Traka na 1548 cm<sup>-1</sup> je rezultat deformacione vibracije N-H dok je apsorpciona traka na 1450 cm<sup>-1</sup> rezultat valencionih C-N vibracija. Odsustvo traka na 3700-3000 cm<sup>-1</sup> i 3500-2500 cm<sup>-1</sup> (ν O-H) ukazuju na odsustvo -OH grupe karboksilne funkcije. U <sup>1</sup>H NMR spektru uočava se mali, prošireni signal na 5.84 ppm koji potiče od vodonika vezanog za azot amida kao i izdvojen signal na 3.09 ppm odgovara metilenskim vodonocima vezanim za amidnu funkciju. U <sup>13</sup>C NMR spektru se uočava signal na 176.03 ppm koji potiče od karbonilnog ugljenika amidne funkcije jedinjenja **10**.

U IR spektra jedinjenja **11** javljaju se apsorpcione trake na 3289 cm<sup>-1</sup> i 3083 cm<sup>-1</sup> koje su rezultat asimetrične (ν<sub>as</sub> NH) i simetrične (ν<sub>s</sub> NH) N-H valencione vibracije. Intenzivna traka na 1644 cm<sup>-1</sup> potiče od valencionih vibracija karbonilne grupe amida (ν C=O) **11**. U <sup>1</sup>H NMR spektru signal na 5.89 ppm potiče od vodonikovog atoma vezanog za azot amidne funkcije. Signal na 2.15 ppm potiče od metilenske grupe vezane za karbonilnu grupu (CH<sub>2</sub>CO) a signal na 3.21 ppm potiče od vodonikovih atoma metilenske grupe vezane za azot amidne grupe (CH<sub>2</sub>NH). Iz <sup>13</sup>C NMR spektra se uočava signal na 173.59 ppm koji potiče od ugljenikovog atoma amida **11**.

U IR spektru jedinjenja **12** apsorpcione trake na 3289 i 3030 cm<sup>-1</sup> potiču od asimetrične i simetrične valencione vibracije N-H, a apsorpciona traka na 1644 cm<sup>-1</sup> je rezultat valencione vibracije karbonilne grupe amida. Traka na 1556 cm<sup>-1</sup> potiče od deformacione vibracije N-H, traka na 1448 cm<sup>-1</sup> potiče od valencionih C-N vibracija, a traka na 890 cm<sup>-1</sup> je rezultat vibracija savijanja N-H van ravni. <sup>1</sup>H NMR

spektar potvrđuje nastajanje amida **12** signalima na 2.05 ppm koji potiče od vodonika metilenske grupe vezane za karbonilni ugljenikov atom, zatim signalom na 3.09 ppm koji odgovara metilenskim vodoncima vezanim za azot amidne funkcije i malim, proširenim signalom na 6.75 ppm koji potiče od vodonika vezanog direktno za azotov atom amida. Iz  $^{13}\text{C}$  NMR spektra na hemijskom pomeranju od 173.22 ppm uočava se signal koji potiče od karbonilnog ugljenika iz amida **12**.

U IR spektru jedinjenja **13** javljaju se dve karakteristične apsorpcione trake na 3296 i 3088  $\text{cm}^{-1}$  koje su rezultat asimetričnih i simetričnih valencionih vibracija N-H, zatim apsorpciona traka na 1638  $\text{cm}^{-1}$  koja potiče od karbonilne grupe amida i traka na 1557  $\text{cm}^{-1}$  koja je rezultat deformacione vibracije N-H. Apsorpciona traka na 1466  $\text{cm}^{-1}$  je rezultat valencionih C-N vibracija a traka na 722  $\text{cm}^{-1}$  je posledica vibracija savijanja N-H, van ravni.  $^1\text{H}$  NMR spektar potvrđuje nastajanje amida **13** signalima na 2.05 ppm i 3.05 ppm koji potiču od metilenskih grupa vezanih za karbonilnu grupu i azot amidne funkcije respektivno. Signal koji potiče od vodonikovog atoma vezanog direktno za azot se nalazi na 7.00 ppm. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru jedinjenja **13** uočava se signal na 173.33 ppm koji potiče od karbonilnog ugljenika amidne funkcije.



### 3.2.2. Mikrotalasno-stimulisane sinteze *N,N*-dietilamida individualnih naftnih kiselina

Iz literature je poznato da primenom konvencionalnih postupaka dobijanja amida iz sekundarnih amina reakcije teku mnogo duže i sa uglavnom manjim prinosima od reakcija sa primarnim aminima.<sup>82</sup> Stoga smo u našem radu želeli da ispitamo da li je isti slučaj i pri mikrotalasno-stimulisanim reakcijama amidacija.

U cilju pronalaženja što boljih reakcionih uslova i dobijanja što većeg prinosa, reakcija dobijanja *N,N*-dietilamida (jedinjenje **14**, **15**, **16**, **17** i **18**) je urađena na dva načina. U postupku **C**, amidacija je rađena u otvorenom sistemu mikrotalasnog reaktora, pri atmosferskom pritisku (*Shema 3.3.*) a u postupku **D**, u zatvorenom sistemu pod pritiskom (*Shema 3.4.*). U oba slučaja, sinteza je izvedena direktno iz slobodnih individualnih naftnih kiselina i *N,N*-dietilamina, u odsustvu i katalizatora i rastvarača, što je od posebnog značaja sa aspekta „zelene hemije“.

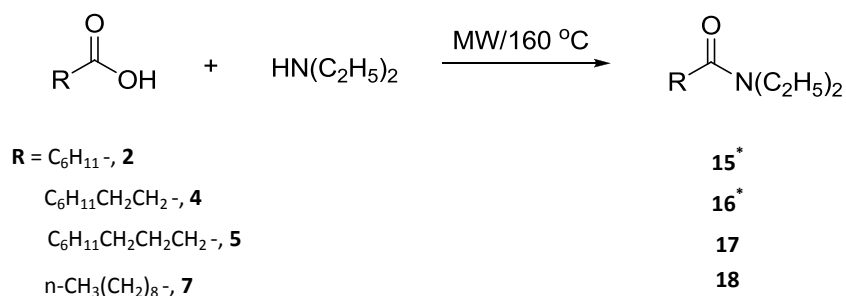
#### Postupak C

Reakcije amidacije pri atmosferskom pritisku su rađene sa 4-cikloheksilbutanskom (**5**) i n-dekanskom (**7**) kiselinom u tri molska odnosa kiselina:amin (1:1, 1.5:1, 1:1.5) u toku 50 minuta (*Tabela 3.5.*). Primenjena je temperatura od 160 °C pri čemu je snaga mikrotalasa varirala od 160-180W.

*Tabela 3.5.* Reakcija karboksilnih kiselina sa *N,N*-dietilaminom na temperaturi od 160 °C, 50 minuta

Kiselina	Odnos kiselina/amin	Prinos [%]
4-cikloheksilbutanska kiselina ( <b>5</b> )	1/1	46
	1/1.5	53
	1.5/1	35
n-dekanska kiselina ( <b>7</b> )	1/1	11
	1/1.5	6
	1.5/1	24

Nakon utvrđivanja optimalnog odnosa reaktanata, optimizovano je vreme trajanja reakcije. Tok reakcije je praćen tankoslojnom hromatografijom nakon 5, 10, 15, 20, 30, 40 i 50 minuta. Reakcioni uslovi i najbolji rezultati sinteze pri atmosferskom pritisku su prikazani u *Tabeli 3.6.* Radi poređenja rezultata na *Shemi 3.3.* i u *Tabeli 3.6.* su dati i podaci iz našeg ranijeg rada za sintezu *N,N*-dietilcikloheksankarboksamida (**15**) i 3-cikloheksil-*N,N*-dietilpropanamida (**16**).<sup>187</sup>



*Shema 3.3.* Mikrotalasno-stimulisana amidacija individualnih naftnih kiselina sa *N,N*-dietilaminom u otvorenom sistemu mikrotalasnog reaktora

*Tabela 3.6.* Mikrotalasno-stimulisana sinteza *N,N*-dietilamida individualnih naftnih kiselina pri atmosferskom pritisku

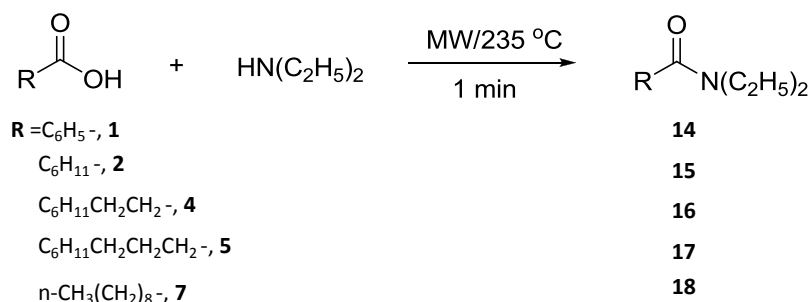
Kiselina	Proizvod	Odnos kiselina/amin	Reakciono vreme [min]	Snaga mikrotalasa [W]	Prinos [%]
<b>2</b>	<i>N,N</i> -dietilcikloheksankarboksamid, <b>15</b>	1/1	50	160	-
<b>4</b>	3-cikloheksil- <i>N,N</i> -dietilpropanamid, <b>16</b>	1/1	30	160	56
<b>5</b>	4-cikloheksil- <i>N,N</i> -dietilbutanamid, <b>17</b>	1/1.5	15	170	47
<b>7</b>	<i>N,N</i> -dietildekanamid, <b>18</b>	1.5/1	10	180	10

Iz *Tabele 3.6.* se uočava da su u ovom radu najbolji sintetski rezultati ostvareni u sintezi 4-cikloheksil-*N,N*-dietilbutanamida (**17**) pri reakcionim uslovima: odnos slobodne kiseline i *N,N*-dietilamina je 1:1.5, snaga mikrotalasa 170W i vreme reakcije 15 minuta pri čemu je ostvaren prinos 47%.

#### Postupak D:

Prevođenje kiselina **1**, **2**, **4**, **5** i **7** u odgovarajuće amide **14**, **15**, **16**, **17** i **18** respektivno, u uslovima mikrotalasno-stimulisane amidacije u zatvorenom sistemu mikrotalasnog reaktora, izvedeno je na konstantnoj temperaturi od 235 °C i pri molskom odnosu 1:1 kiseline i *N,N*-dietilamina (*Shema 3.4.*).

Optimizacija reakcije amidacije u smislu skraćanja reakcionog vremena rađena je sa benzoevom kiselinom (**1**), limitirajući vreme na 30 minuta. Reakcija je praćena tankoslojnom hromatografijom nakon 30 sec, 1, 3, 5, 10, 15, 20 i 30 minuta. Dobijeni rezultati su izloženi u *Tabeli 3.7.* Iz tabele se može videti da su prinosi amida nešto niži, što se tumači i sternim efektima sekundarnih amina. Međutim, prosečno vreme od jedan minut je izuzetno dobar rezultat u poređenju sa vremenom u reakciji amidacije pri konvencionalnim uslovima<sup>82</sup>.



Shema 3.4. Mikrotalasno-stimulisana amidacija individualnih naftnih kiselina sa *N,N*-dietilaminom u zatvorenom sistemu mikrotalasnog reaktora

Tabela 3.7. Mikrotalasno-stimulisana sinteza *N,N*-dietilamida individualnih naftnih kiselina u zatvorenom sistemu, odnos kiselina-amin 1:1, reakciono vreme 1 min.

Kiselina	Proizvod	Prinos [%]
<b>1</b>	<i>N,N</i> -dietilbenzamid, <b>14</b>	45
<b>2</b>	<i>N,N</i> -dietilcikloheksankarboksamid, <b>15</b>	54
<b>4</b>	3-cikloheksil- <i>N,N</i> -dietilpropanamid, <b>16</b>	60
<b>5</b>	4-cikloheksil- <i>N,N</i> -dietilbutanamid, <b>17</b>	63
<b>7</b>	<i>N,N</i> -dietildekanamid, <b>18</b>	59

Na osnovu prikazanih rezultata za sintezu tercijarnih amida **14-18**, može se zaključiti da povećanje temperature i rad u zatvorenom sistemu mikrotalasnog reaktora dovode do povećanja prinosa u kraćem reakcionom vremenu. Sa druge strane, iskorišćenje supstanci koje učestvuju u reakciji je maksimalno što je bitan aspekt „zelene hemije“.

Strukture sintetizovanih amida **14-18** potvrđene su na osnovu IR,  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  NMR analize.

IR spektar jedinjenja **14** sadrži apsorpcionu traku na  $3345 \text{ cm}^{-1}$  koja potiče od asimetričnih valencioničkih C-N vibracija ( $\nu_{\text{as}} \text{CN}$ ) kao i apsorpcionu traku na  $1633 \text{ cm}^{-1}$  koja ukazuje na prisustvo karbonilne grupe amidne funkcije ( $\nu \text{C=O}$ ). U  $^1\text{H}$  NMR spektru uočavaju se signali na hemijskom pomeranju 1.07 ppm koji odgovara  $\text{CH}_3$  protonima etil grupa, kao i signal na 3.21 ppm koji potiče od vodonikovih atoma metilenske grupe vezanih za azot amida. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru se uočava signal na 170.67 ppm koji potiče od karbonilnog ugljenika amidne funkcije jedinjenja **14**.

U IR spektru jedinjenja **15** zapaža se intenzivna traka na  $1634 \text{ cm}^{-1}$  koja potiče od valencioničkih vibracija karbonilne grupe amida ( $\nu \text{C=O}$ ) kao i traka na  $3485 \text{ cm}^{-1}$  koja potiče od asimetričnih valencioničkih C-N vibracija ( $\nu_{\text{as}} \text{CN}$ ). U  $^1\text{H}$  NMR spektru na hemijskom pomeranju od 0.96 i 1.06 ppm nalaze se signali vodonikovih atoma metil grupe etil ostatka ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ) a na 3.21 ppm signal koji potiče od metilenskih vodonikovih atoma vezanih za azot amida ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ). U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru se uočava signal na 175.19 ppm koji potiče od karbonilnog ugljenika amidne funkcije jedinjenja **15**.

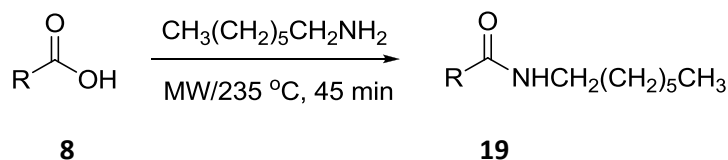
U IR spektru jedinjenja **16** traka u položaju  $1644\text{ cm}^{-1}$  potiče od valencione C=O vibracije ( $\nu$  C=O) a valencione vibracije koje potiču od N-H ( $\nu$  NH) daju apsorpcionu traku na  $3471\text{ cm}^{-1}$ . U  $^1\text{H}$  NMR spektru jedinjenja **16** odsustvo signala na oko 12 ppm ukazuje da je vodonikov atom iz –OH karboksilne grupe supstituisan. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru jedinjenja **16** signal na hemijskom pomeranju od 172.46 ppm potiče od karbonilnog ugljenika iz amidne funkcije nastalog amida.

U IR spektru jedinjenja **17** uočava se traka na  $1644\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od valencionih vibracija karbonilne grupe amida, kao i traka na  $1448\text{ cm}^{-1}$  koja je rezultat valencionih vibracija C-N. U  $^1\text{H}$  NMR spektru jedinjenja **17** odsustvo signala na oko 12 ppm ukazuje da je vodonikov atom iz hidrosilne grupe kiseline **5** supstituisan. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru su uočava signal na 171.91 ppm koji potiče od karbonilnog ugljenika amidne funkcije, kao i signali na 12.67 i 13.97 ppm koji potiču od ugljenikovih atoma iz metil-, odnosno signali na 39.62 i 41.58 ppm koji potiču od metilenskih ugljenika iz etil-grupa vezanih za azot amida **17**.

U IR spektru jedinjenja **18** uočava se traka na  $1644\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od karbonilne grupe amida, kao i traka na  $1462\text{ cm}^{-1}$  koja je rezultat valencionih vibracija C-N. U  $^1\text{H}$  NMR spektru mogu se uočiti karakteristični signali dobijenog amida na hemijskom pomeranju od 2.18 ppm koji odgovaraju protonima metilenske grupe vezane za karbonilni ugljenik i na 3.28 ppm koji potiče od protona  $\text{CH}_2$  iz etil-grupa vezanih za azot amidne funkcionalne grupe. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru signal na 172.14 ppm dokaz je da je došlo do formiranja amida **18**.

### 3.2.3. Sinteza *N*-(*n*-heptil)amida prirodnih naftnih kiselina „Velebit“

U našem ranijem radu sinteza amida naftnih kiselina u otvorenom sistemu mikrotalasnog reaktora je zahtevala aktivaciju karboksilne grupe.<sup>186</sup> U ovom radu mi smo primenili zatvoreni sistem mikrotalasnog reaktora, bez prisustva rastvarača, uz konstantno mešanje na temperaturi od  $235^\circ\text{C}$ . Pri ovim reakcionim uslovima prirodne naftne kiseline izolovane iz vojvođanske nafte „Velebit“ (**8**) su reagovale sa *n*-heptilaminom. Reakcija je trajala 45 minuta (*Shema 3.5.*). U cilju optimizacije reakcionih uslova, odnosno trajanja sinteze, reakcija je praćena nakon 30 sekundi, 1, 5, 10, 15, 30, 45 i 60 minuta. Nakon 45 minuta, proverom na TLC pločicama je utvrđeno da daljim ozračivanjem nije došlo do promene u reakcionom sistemu pa je to vreme uzeto kao optimalno.



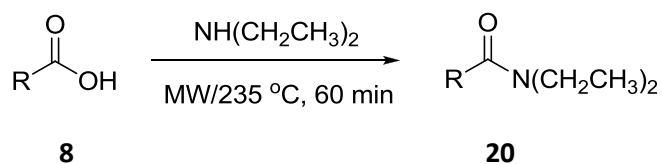
*Shema 3.5.* Amidacija prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ sa *n*-heptilaminom

Nakon obrade reakcione smeše, dobijeni su *N*-(*n*-heptil)amidi prirodnih naftnih kiselina u prinosu od 94.1%. Prisustvo amidne grupe u kompleksnoj smeši amida **19** dokazano je na osnovu IR, <sup>1</sup>H NMR i <sup>13</sup>C NMR analize.

U IR spektru smeše amida **19**, prisutne su apsorpcione trake na 3290 cm<sup>-1</sup> (ν<sub>as</sub> N-H) i 3083 cm<sup>-1</sup> (ν<sub>s</sub> N-H), kao i trake na 1644 cm<sup>-1</sup> (ν C=O amida), 1557 cm<sup>-1</sup> (δ N-H) i 723 cm<sup>-1</sup> (ω N-H). U <sup>1</sup>H NMR spektru uočava se karakterističan prošireni signali na hemijskom pomeranju od 5.80 ppm koji odgovara vodoniku vezanom za azot amida **19**. U <sup>13</sup>C NMR spektru signali u intervalu 172.56-173.08 ppm potiču od amidnih karbonilnih grupa iz kompleksne smeše amida prirodnih naftnih kiselina.

### 3.2.4. Sinteza *N,N*-dietilamida prirodnih naftnih kiselina „Velebit“

Amidacija prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ (**8**) rađena je i sa *N,N*-dietilaminom u odsustvu rastvarača i hemijskih katalizatora. Reakcija je rađena u mikrotalasnom reaktoru primenjujući zatvoren sistem pod pritiskom i reakcionu temperaturu od 235°C u trajanju od 60 minuta (*Shema 3.6.*). U fazi optimizacije, reakcija je rađena 90 minuta pri čemu je prekidana nakon 30 sekundi, 1, 5, 10, 15, 30, 45, 60 i 90 minuta što je ujedno bila i dinamika spotovanja TLC pločica. Nakon 60 minuta dobijeni su najbolji rezultati, pa je to reakciono vreme uzeto za optimalno.



*Shema 3.6.* Amidacija prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ sa *N,N*-dietilaminom

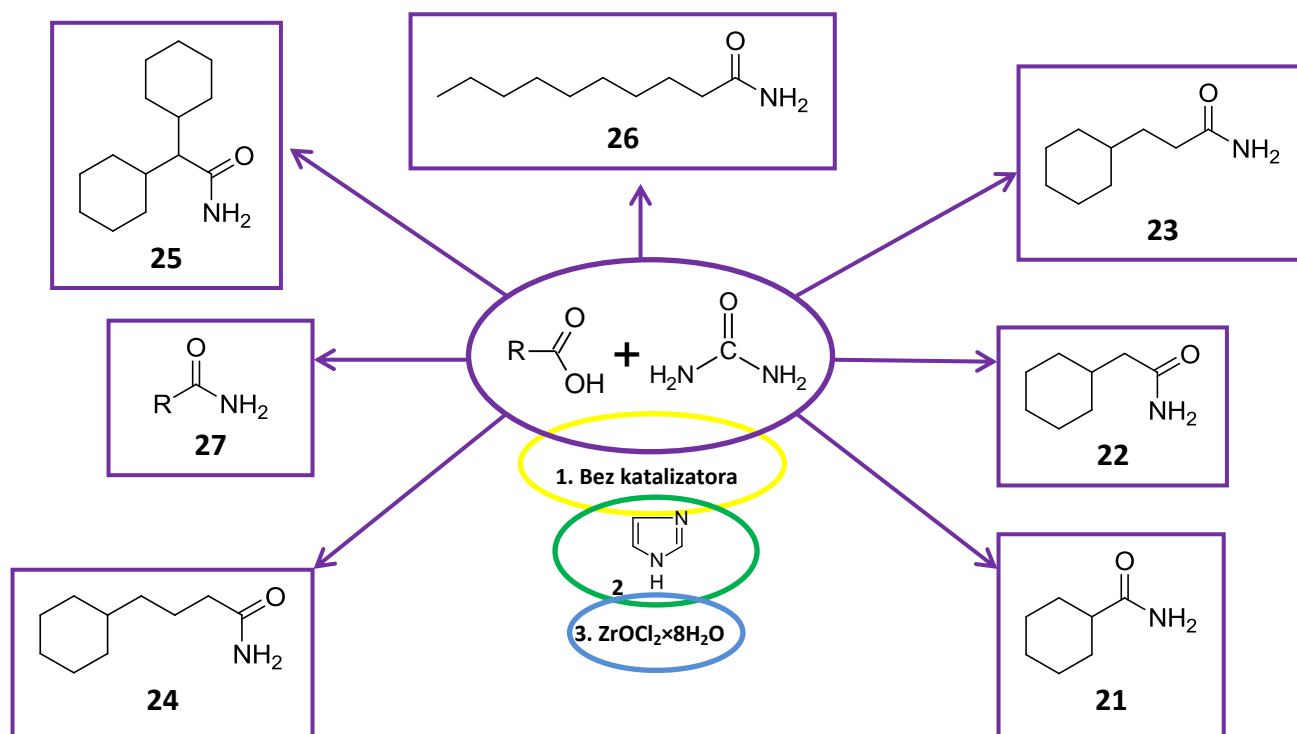
Nakon prečišćavanja sirovog proizvoda flash hromatografijom (petroletar:etar=5:3), dobijeni su čisti amidi **20** u prinosu od 47,42%. Prisustvo amidne funkcije kod sintetizovanih amida **20** dokazano je na osnovu IR, <sup>1</sup>H NMR i <sup>13</sup>C NMR analize.

U IR spektru uočava se traka na 1645 cm<sup>-1</sup> koja potiče od karbonilne grupe amida, kao i traka na 1459 cm<sup>-1</sup> koja je rezultat valencionih vibracija C-N. Takođe se može uočiti da nisu prisutne trake na 3500-2500 cm<sup>-1</sup> i 1706 cm<sup>-1</sup> koje potiču od karboksilne funkcionalne grupe. Iz <sup>13</sup>C NMR spektra se takođe vidi da je došlo da formiranja amida sa *N,N*-dietilaminom pošto se karbonilni ugljenikovi atomi iz amida **20** javljaju u intervalu od 171.81-172.09 ppm što je pomerenom ka nižim vrednostima hemijskog pomeranja u odnosu na hemijsko pomeranje karboksilnog ugljenika jedinjenja **8** (176-180 ppm). <sup>1</sup>H NMR spektar takođe potvrđuje nastajanje amida nestankom signala na 11-12 ppm koji odgovara vodoniku iz karboksilne grupe kiseline.

### 3.3. "Solvent-free" sinteze amida iz karboksilnih kiselina i uree u prisustvu i odsustvu katalizatora

Kao što je u *Opštem delu* ovog rada opisano, amidi su jedinjenja od posebnog interesa u naučnim istraživanjima s' obzirom na njihov značaj u farmaciji, kozmetici, humanoj i stočnoj ishrani i poljoprivredi. Iz tog razloga, u ovom delu rada, cilj je bio sinteza primarnih amida individualnih naftnih kiselina kao i amida prirodnih naftnih kiselina "Velebit" a potom ispitivanje njihove biološke aktivnosti u smislu stimulacije rasta biljaka i ožiljavanja. U tu svrhu, primenjena su tri postupka sinteze amida (*Shema 3.7.*) sa ciljem dobijanja što boljih prinosa. Sve reakcije amidacije su rađene potpuno u skladu sa principima "zelene hemije", što znači bez upotrebe organskih rastvarača i štetnih materija.

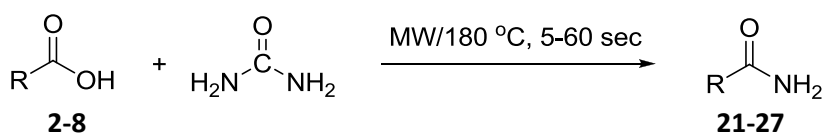
Kao polazne kiseline u sintezi amida u sva tri postupka, poslužile su cikloheksilkarboksilna kiselina (**2**), cikloheksiletanska- (**3**), 3-cikloheksilpropanska- (**4**), 4-cikloheksilbutanska- (**5**), dicikloheksiletanska- (**6**) i dekanska kiselina (**7**), kao i prirodne naftne kiseline „Velebit“ (**8**). Amidacije su rađene sa ureom uz ko-katalitičko učešće mikrotalasa. Sinteze su izvedene u mikrotalasnom reaktoru, primenom zatvorenog sistema pod pritiskom, pri molskom odnosu kiselina:urea (1:2). Reakcione smeše su izložene temperaturi od 180 °C. U cilju optimizacije reakcionih uslova, odnosno trajanja sinteze, reakcije su rađene 60 sekundi pri čemu su prekidane nakon 5, 15, 30 i 60 sekundi, što je ujedno bila dinamika spotovanja TLC pločica.



Shema 3.7. Sintezu amida iz karboksilnih kiselina **2-8** i uree, bez i sa prisustvom katalizatora

### 3.3.1. Mikrotalasno katalizovane amidacije individualnih i prirodnih naftnih kiselina "Velebit" sa ureom u odsustvu katalizatora

Amidacija individualnih i prirodnih naftnih kiselina sa ureom izvedena je pri molskom odnosu 1:2, na temperaturi od 180 °C u zatvorenom sistemu mikrotalasnog reaktora (*Shema 3.8.*). Sinteza je rađena u odsustvu i rastarača i katalizatora. Rezultati dobijanja primarnih amida sumirani su u *Tabeli 3.8.*



*Shema 3.8.* Mikrotalasno stimulisana amidacija bez prisustva hemijskog katalizatora

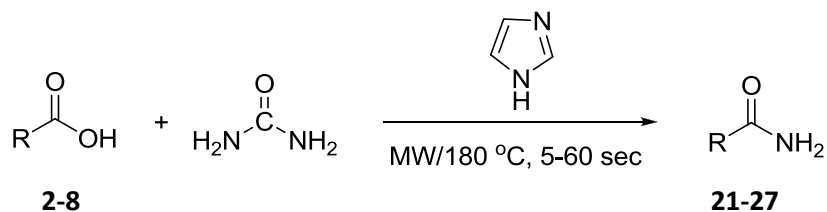
*Tabela 3.8.* Mikrotalasno katalizovano dobijanje primarnih amida iz individualnih i prirodnih naftnih kiselina bez prisustva katalizatora

Kiselina	Proizvod	Reakciono vreme [sec]	Prinos [%]
<b>2</b>	Cikloheksilkarboksamid ( <b>21</b> )	30	37.0
<b>3</b>	Cikloheksiletanamid ( <b>22</b> )	15	42.61
<b>4</b>	3-cikloheksilpropanamid ( <b>23</b> )	15	40.26
<b>5</b>	4-cikloheksilbutanamid ( <b>24</b> )	5	67.47
<b>6</b>	2,2-dicikloheksiletanamid ( <b>25</b> )	15	17.06
<b>7</b>	Dekanamid ( <b>26</b> )	60	63.7
<b>8</b>	Amidi prirodnih naftnih kiselina ( <b>27</b> )	60	/

Iz tabele se vidi da reakcijom smeše prirodnih naftnih kiselina sa karbamidom, u odsustvu i katalizatora i rastvarača, nisu dobijeni očekivani amidi (**27**). Najbolji prinos (67.47%) sinteze amida individualnih naftnih kiselina postignut je pri sintezi 4-cikloheksilbutanamida (**24**) za reakciono vreme od svega 5 sec. Upotreba amida **21-26** dobijenih ovom metodom mogla bi da se realizuje u poljoprivredi bez izdvajanja uree pošto je ona sastavni deo veštačkog đubriva.

### 3.3.2. Mikrotalasno katalizovane amidacije individualnih i prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ sa ureom u prisustvu imidazola kao katalizatora

Mikrotalasno-stimulisana amidacija individualnih i prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ izvedena je sa ureom u prisustvu imidazola kao hemijskog katalizatora. Primenjen je molski odnos kiselina:urea:imidazol 1:2:1 i temperatura od 180 °C (*Shema 3.9.*). Reakcija je rađena u zatvorenom sistemu mikrotalasnog reaktora pod pritiskom. Prinosi i reakciono vreme su predstavljeni tabelarno (*Tabela 3.9.*).



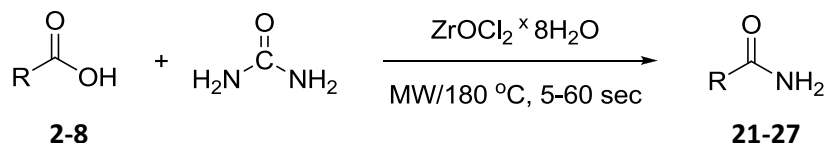
Shema 3.9. Mikrotalasno stimulirana amidacija u prisustvu imidazola kao katalizatora

Tabela 3.9. Mikrotalasno katalizovano dobijanje primarnih amida iz individualnih i prirodnih naftnih kiselina u prisustvu imidazola kao hemijskog katalizatora

Kiselina	Proizvod	Reakciono vreme [sec]	Prinos [%]
<b>2</b>	Cikloheksilkarboksamid ( <b>21</b> )	30	60.59
<b>3</b>	Cikloheksiletanamid ( <b>22</b> )	5	41.10
<b>4</b>	3-cikloheksilpropanamid ( <b>23</b> )	5	25.34
<b>5</b>	4-cikloheksilbutanamid ( <b>24</b> )	5	41.45
<b>6</b>	2,2-dicikloheksiletanamid ( <b>25</b> )	30	29.08
<b>7</b>	Dekanamid ( <b>26</b> )	5	58.76
<b>8</b>	Amidi prirodnih naftnih kiselina ( <b>27</b> )	60	50.15

### 3.3.3. Mikrotalasno katalizovane amidacije individualnih i prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ sa ureom u prisustvu cirkonil-hlorida kao katalizatora

Mikrotalasno-stimulirana amidacija individualnih i prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ izvedena je sa ureom u prisustvu cirkonil-hlorida kao hemijskog katalizatora. Reakcije su rađene uz konstantno mešanje na temperaturi od 180 °C u zatvorenom reakcionom sistemu sa odnosom kiselina:urea:cirkonil-hlorid=1:2:0.1 (Shema 3.10.). Prinosi i reakciono vreme su predstavljeni tabelarno (Tabela 3.10.).



Shema 3.10. Mikrotalasno stimulirana amidacija u prisustvu cirkonil-hlorida kao katalizatora



Tabela 3.10. Mikrotalasno katalizovano dobijanje primarnih amida iz individualnih i prirodnih naftnih kiselina u prisustvu cirkonil-hlorida kao hemijskog katalizatora

Kiselina	Proizvod	Reakciono vreme [sec]	Prinos [%]
<b>2</b>	Cikloheksilkarboksamid ( <b>21</b> )	30	47.91
<b>3</b>	Cikloheksiletanamid ( <b>22</b> )	15	53.11
<b>4</b>	3-cikloheksilpropanamid ( <b>23</b> )	5	51.70
<b>5</b>	4-cikloheksilbutanamid ( <b>24</b> )	5	64.64
<b>6</b>	2,2-dicikloheksiletanamid ( <b>25</b> )	30	20.48
<b>7</b>	Dekanamid ( <b>26</b> )	15	63.60
<b>8</b>	Amidi prirodnih naftnih kiselina ( <b>27</b> )	60	35.83

Upoređivanjem rezultata sintetskih postupaka 3.3.1., 3.3.2. i 3.3.3., može se zaključiti da se za sintezu smeše primarnih amida prirodnih naftnih kiselina **27**, kao najbolji pokazao postupak u kojem je korišćen imidazol kao katalizatora (50.15%). Za reakciono vreme od 60 sec, bez upotrebe katalizatora nisu dobijeni očekivani amidi **27**, dok je za isto reakciono vreme u prisustvu cirkonil-hlorida kao katalizatora postignut niži prinos (35.83%) u odnosu na reakciju katalizovanu imidazolom.

Prečišćavanjem sirovih proizvoda dobijenih postupcima 3.3.1., 3.3.2. i 3.3.3. na koloni silika gela (EtOAc:petrol-etar=7:3) dobijeni su čisti amidi **21**, **22**, **23**, **24**, **25**, **26** i **27** čije su strukture dokazane na osnovu IR,  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  NMR analize.

IR spektar jedinjenja **21** potvrđuje nastanak amida cikloheksilkarboksilne kiseline apsorpcionim trakama na  $3345\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{as}}$  N-H) i  $3170\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{s}}$  N-H), kao i vibracijama na  $1632\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu$  C=O amida),  $1429\text{ cm}^{-1}$  i  $1445\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu$  C-N) i  $838\text{ cm}^{-1}$  ( $\omega$  N-H). U  $^1\text{H}$  NMR spektru jedinjenja **21** uočavaju se karakteristični signali na hemijskom pomeranju od 5.58-6.42 ppm koji odgovaraju vodonikovim atomima vezanim za azot amida ( $\text{H}_2\text{NC}=\text{O}$ ). U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru signal na 179.49 ppm potiče od ugljenika karbonilne grupe amida ( $\text{H}_2\text{NC}=\text{O}$ ) što takođe potvrđuje strukturu **21**.

IR spektar jedinjenja **22** potvrđuje nastanak amida cikloheksiletanske kiseline apsorpcionim trakama na  $3357\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{as}}$  N-H) i  $3176\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{s}}$  N-H), kao i trakama na  $1664\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu$  C=O amida),  $1448\text{ cm}^{-1}$  i  $1414\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu$  C-N) i  $722\text{ cm}^{-1}$  ( $\omega$  N-H). U  $^1\text{H}$  NMR spektru uočavaju se karakteristični signali na hemijskom pomeranju 5.56 i 5.97 ppm koji odgovaraju vodonikovim atomima vezanim za azot amida ( $\text{H}_2\text{NC}=\text{O}$ ). U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru signal na 175.18 ppm potiče od ugljenika karbonilne grupe amida ( $\text{H}_2\text{NC}=\text{O}$ ) što takođe potvrđuje strukturu **22**.

IR spektar jedinjenja **23** potvrđuje nastanak amida 3-cikloheksilpropanske kiseline apsorpcionim trakama na  $3398\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{as}}$  N-H) i  $3193\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{s}}$  N-H), kao i trakama na  $1649\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu$  C=O amida),  $1451\text{ cm}^{-1}$  i  $1415\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu$  C-N) i  $771\text{ cm}^{-1}$  ( $\omega$  N-H). U  $^1\text{H}$  NMR spektru uočavaju se karakteristični prošireni signali na hemijskom pomeranju 5.58-6.28 ppm koji odgovaraju vodonikovim atomima vezanim za azot amida ( $\text{H}_2\text{NC}=\text{O}$ ). U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru signal na 176.54 ppm potiče od karbonilne grupe amida ( $\text{H}_2\text{NC}=\text{O}$ ).

IR spektar jedinjenja **24** potvrđuje nastanak amida 4-cikloheksilbutanske kiseline apsorpcionim trakama na  $3355\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{as}}$  N-H) i  $3186\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{s}}$  N-H), kao i vibracijama na  $1632\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu$  C=O amida),  $1417\text{ cm}^{-1}$  i  $1447\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu$  C-N) i  $757\text{ cm}^{-1}$  ( $\omega$  N-H). U  $^1\text{H}$  NMR spektru uočavaju se karakteristični signali na

hemijskom pomeranju od 5.76 - 6.4 ppm koji odgovaraju vodonikovim atomima vezanim za azot amida ( $\text{H}_2\text{NC}=\text{O}$ ). U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru signal na 176.43 ppm potiče od ugljenika karbonilne grupe amida ( $\text{H}_2\text{NC}=\text{O}$ ) što takođe potvrđuje strukturu **24**.

IR spektar jedinjenja **25** potvrđuje nastanak amida dicikloheksiletanske kiseline apsorpcionim trakama na  $3427\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{as}}\text{ N-H}$ ) i  $3208\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{s}}\text{ N-H}$ ), kao i vibracijama na  $1652\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu\text{ C}=\text{O}$  amida),  $1446\text{ cm}^{-1}$  i  $1421\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu\text{ C-N}$ ). U  $^1\text{H}$  NMR spektru uočavaju se karakteristični signali na hemijskom pomeranju od 5.35 ppm i 5.52 ppm koji odgovaraju vodonikovim atomima vezanim za azot amida ( $\text{H}_2\text{NC}=\text{O}$ ). U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru signal na 176.65 ppm potiče od karbonilne grupe amida ( $\text{H}_2\text{NC}=\text{O}$ ).

IR spektar jedinjenja **26** potvrđuje nastanak amida dekanske kiseline apsorpcionim trakama na  $3353\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{as}}\text{ N-H}$ ) i  $3193\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{s}}\text{ N-H}$ ), kao i vibracijama na  $1631\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu\text{ C}=\text{O}$  amida),  $1414\text{ cm}^{-1}$  i  $1470\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu\text{ C-N}$ ) i  $720\text{ cm}^{-1}$  ( $\omega\text{ N-H}$ ). U  $^1\text{H}$  NMR spektru uočavaju se karakteristični signali na hemijskom pomeranju od 6.01 ppm koji odgovaraju vodonikovim atomima vezanim za azot amida ( $\text{H}_2\text{NC}=\text{O}$ ). U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru signal na 176.36 ppm potiče od ugljenikovog atoma karbonilne grupe amida ( $\text{H}_2\text{NC}=\text{O}$ ) što takođe potvrđuje strukturu **26**.

IR spektar smeše amida **27** potvrđuje nastanak amida prirodnih naftnih kiselina apsorpcionim trakama na  $3346\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{as}}\text{ N-H}$ ) i  $3195\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{s}}\text{ N-H}$ ), kao i vibracijama na  $1658\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu\text{ C}=\text{O}$  amida),  $1456\text{ cm}^{-1}$  i  $1402\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu\text{ C-N}$ ). U  $^1\text{H}$ NMR spektru uočavaju se karakteristični signali na hemijskom pomeranju 5.85 i 6.33 ppm koji odgovaraju vodonikovim atomima vezanim za azot ( $\text{H}_2\text{NC}=\text{O}$ ). U  $^{13}\text{C}$ NMR spektru signal na 175.94-176.13 ppm potiče od ugljenika karbonilnih grupa amida ( $\text{H}_2\text{NC}=\text{O}$ ) što takođe potvrđuje strukturu **27**.

### 3.4. Redukcije individualnih i prirodnih naftnih kiselina “Velebit” do primarnih alkohola

Hidroksilne grupe alkohola utiču da organski molekuli sa izraženim hidrofobnim ugljovodoničnim strukturama postaju rastvorljiviji u vodi. Naftne kiseline kao jedinjenja sa izraženim ugljovodoničnim nizom nisu rastvorne u vodi. Sa aspekta biološke aktivnosti naftnih kiselina mogućnost bolje rastvrljivosti je jako bitan podatak jer bi tada njihov transport kroz polupropustljivu ćelijsku membramu postao moguć što je osnovni uslov da bi jedna supstanca izrazila svoju fiziološku aktivnost u kontaktu sa biljkom. Kako bi se ispitao i upoređio uticaj hidroksilne grupe alkohola u odnosu na hidroksilnu grupu karboksilnih kiselina, urađena je redukcija individualnih i prirodnih naftnih kiselina (**2, 3, 4, 5, 7 i 8**) kao i odabranih žučnih kiselina.

#### 3.4.1. Mikrotalasno-stimulisane redukcije individualnih naftnih kiselina upotrebom $\text{KBH}_4\text{-MgCl}_2$

Za redukciju pojedinačnih struktura naftenskih kiselina odabrane su alkil- i cikloalkilkarboksilne kiseline (jedinjenje **2, 3, 4, 5 i 7**) koje su komercijalno dostupne i koje su tipični predstavnici prirodnih naftnih kiselina. Iako su redukovane pojedinačno, one predstavljaju osnovu za dalja ispitivanja, jer je krajnji cilj ovog dela rada dobijanje alkohola naftnih kiselina od kojih će se praviti model smeša za koju se očekuje da će imati bolju fiziološku aktivnost od alkohola prirodnih naftnih kiselina kao i samih kiselina.

Redukcija individualnih naftnih kiselina (**2, 3, 4, 5 i 7**) vršena je pomoću aktivirane smeše  $\text{KBH}_4$  i  $\text{MgCl}_2$  u suvom tetrahidrofuranu kao rastvaraču. Primenjen je odnos 1:1:1 kiseline,  $\text{KBH}_4$  i  $\text{MgCl}_2$  što odgovara maksimalnom atomskom iskorištenju. Reakcije su se odvijale u mikrotalasnom reaktoru uz konstantno mešanje i reflux u trajanju od 5 do 15 minuta. U fazi optimizacije, reakcija je rađena ukupno 30 minuta pri čemu je mikrotalasno ozračivanje sukcesivno prekidano nakon 5, 10, 15 i 30 minuta što je ujedno bila i dinamika praćenja toka reakcije tankoslojnom hromatografijom na silikagelu (petrol:etar = 4:1). Rezultati redukcije individualnih naftnih kiselina dati su u *Tabeli 3.11*.

*Tabela 3.11.* Mikrotalasno katalizovana redukcija individualnih naftnih kiselina pomoću  $\text{KBH}_4\text{-MgCl}_2$

Kiselina	Proizvod	Reakciono vreme [min]	Prinos [%]
Jedinjenje <b>2</b>	Cikloheksilmetanol ( <b>28</b> )	10	42
Jedinjenje <b>3</b>	2-cikloheksil-1-etanol ( <b>29</b> )	5	61
Jedinjenje <b>4</b>	3-cikloheksil-1-propanol ( <b>30</b> )	15	92
Jedinjenje <b>5</b>	4-cikloheksil-1-butanol ( <b>31</b> )	15	56
Jedinjenje <b>7</b>	1-dekanol ( <b>32</b> )	10	65

Rezultati redukcije individualnih naftnih kiselina mikrotalasnim ozračivanjem pokazuju da je u velikoj meri poboljšana konvencionalna metoda redukcije karboksilnih kiselina sa  $\text{KBH}_4$  i  $\text{MgCl}_2$  prevashodno u smislu značajnog skraćanja reakcionog vremena ali i u smislu poboljšanja prinosa. U odnosu na rezultate dobijene od strane Qiu-a i saradnika<sup>133</sup> (sinteza rađena konvencionalnim zagrevanjem, molski odnos kiselina :  $\text{KBH}_4$  :  $\text{MgCl}_2$  = 1.5 : 1 : 1, 66 °C, 10h, 52.6 %) dobijeno je skraćanje reakcionog vremena od 60 puta.

Struktura sintetizovanih alkohola identifikovana je na osnovu IR,  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  NMR spektara.

U IR spektru jedinjenja **28** uočava se široka apsorpciona traka na  $3340\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od valencionih vibracija O-H grupe. Valencionna vibracija C-O veze kod primarnog alkohola odgovara apsorpcionoj traci na  $1034\text{ cm}^{-1}$ . Trake na  $1449\text{ cm}^{-1}$  i  $1378\text{ cm}^{-1}$  potiču od deformacionih vibracija O-H u ravni koja se spreže sa vibracijama savijanja C-H. U  $^1\text{H}$  NMR spektru sintetizovanog alkohola **28** široki signal na 2.80 ppm potiče od protona sa hidroksilne grupe, dok jasan dublet na 3.35 ppm pripada vodonocima metilenske grupe za koju je vezana OH grupa. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru se jasno uočava signal na 68.35 ppm koji potiče od  $\text{CH}_2$  grupe za koju je vezana hidroksilna grupa. Takođe i odsustvo signala karboksilnog ugljenika jasna je indikacija da je dobijen čist alkohol **28**.

U IR spektru jedinjenja **29** uočava se apsorpciona traka na  $3335\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od valencionih vibracija O-H grupe. Traka na  $1448\text{ cm}^{-1}$  potiče od deformacionih vibracija O-H u ravni koja se spreže sa vibracijama savijanja C-H. Takođe, traka koja potiče od valencionih vibracija karbonilne grupe kiseline na oko  $1760\text{ cm}^{-1}$  nije uočljiva što je dokaz da je izvršena redukcija. U  $^1\text{H}$  NMR spektru sintetizovanog alkohola **29** širok signal na 3.42 ppm potiče od protona iz hidroksilne grupe, dok triplet na 3.59 ppm pripada vodonocima metilenske grupe za koju je vezana OH grupa. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru se uočava signal na 60.32 ppm koji potiče od  $\text{CH}_2$  grupe za koju je vezana hidroksilna grupa. Takođe, odsustvo signala na oko 180 ppm koji potiče od karboksilnog ugljenika jasna je indikacija da je dobijen čist alkohol **29**.

U IR spektru jedinjenja **30** uočava se karakteristična široka traka na  $3333\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od valencionih vibracija O-H veze u alkoholu, koja je vezana međumolekulskim vodoničnim vezama. Apsorpciona traka na  $1056\text{ cm}^{-1}$  je posledica valencionih vibracija C-O veze primarnog alkohola. Deformacione vibracije O-H grupe u ravni koja se spreže sa vibracijama savijanja C-H daju apsorpcione trake na  $1448\text{ cm}^{-1}$  i  $1375\text{ cm}^{-1}$ . U  $^1\text{H}$  NMR spektru dobijenog 3-cikloheksil-1-propanola se uočava triplet na 3.51 ppm koji odgovara vodonocima metilenske grupe u neposrednoj blizini hidroksilne grupe. Uočljiv signal na 3.42 ppm pripada vodoniku OH grupe, što je jasan dokaz da je postignuta redukcija. Signal na 62.73 ppm sa  $^{13}\text{C}$  NMR spektra potiče od  $\text{CH}_2$  grupe za koju je vezana hidroksilna grupa. Takođe i odsustvo signala karbonilnog C-atoma iz karboksilne grupe jasna je indikacija da je dobijen čist alkohol **30**.

U IR spektru jedinjenja **31** uočava se karakteristična široka traka na  $3335\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od valencionih vibracija O-H veze u alkoholu, koja je vezana međumolekulskim vodoničnim vezama. Apsorpciona traka na  $1059\text{ cm}^{-1}$  je posledica valencionih vibracija C-O veze primarnog alkohola. Deformacione vibracije O-H grupe u ravni koja se spreže sa vibracijama savijanja C-H daju apsorpcione trake na  $1448\text{ cm}^{-1}$  i  $1347\text{ cm}^{-1}$ . U  $^1\text{H}$  NMR spektru dobijenog 4-cikloheksil-1-butanola se uočava triplet na 3.59 ppm koji odgovara vodonocima metilenske grupe u neposrednoj blizini hidroksilne grupe. Proširen signal na 3.50 ppm pripada vodoniku OH grupe, što je jasan dokaz da je postignuta redukcija.

Signal na 62.76 ppm u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru potiče od  $\text{CH}_2$  grupe za koju je vezana hidroksilna grupa. Takođe i odsustvo signala karbonilnog C-atoma iz karboksilne grupe jasna je indikacija da je dobijen čist alkohol **31**.

U IR spektru jedinjenje **32** javlja se karakteristična široka apsorpciona traka hidroksilne grupe na  $3333\text{ cm}^{-1}$  kao posledica valencione vibracije O-H grupe, koja je vezana međumolekulskom vodoničnom vezom. Apsorpciona traka na  $1057\text{ cm}^{-1}$  je rezultat valencionih vibracija C-O primarnog alkohola, a apsorpcione trake na  $1466\text{ cm}^{-1}$  i  $1378\text{ cm}^{-1}$  potiču od deformacione vibracije O-H u ravni koja se spreže sa vibracijama savijanja C-H.  $^1\text{H}$  NMR spektar takođe potvrđuje nastajanje alkohola proširenim signalom na 4.05 ppm koji potiče od H-atoma hidroksilne grupe. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru se takođe vidi da je došlo do redukcije *n*-dekanske kiseline jer pik koji potiče od karbonilnog ugljenika karboksilne kiseline nestaje a na hemijskom pomeranju od 62.38 ppm se javlja signal C-atoma vezanog za OH grupu.

### Pokušaj redukcije žučnih kiselina i njihovih metil-estara

U Tabeli 3.12. predstavljeni su reakcioni uslovi pokušaja redukcije žučnih kiselina i njihovih metil-estara. Međutim, pri ovim reakcionim uslovima polazna jedinjenja nisu izreagovala.

Tabela 3.12. Reakcioni uslovi pokušaja redukcije žučnih kiselina i metil estara žučnih kiselina

Žučna kiselina	Reakcioni uslovi
3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -trihidroksi-5 $\beta$ -holanska kiselina	Kiselina/ $\text{NaBH}_4$ =1:3, EtOH, ST, 4 h Kiselina/ $\text{NaBH}_4$ =1:3, EtOH, refluks, 1 h Kiselina/ $\text{NaBH}_4$ / $\text{LiCl}$ =1:2:2, „solvent free“, MW, 60 min
3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -dihidroksi-5 $\beta$ -holanska kiselina	Kiselina/ $\text{KBH}_4$ / $\text{MgCl}_2$ =1:1:1, THF, refluks, MW, 60 min Kiselina/ $\text{KBH}_4$ / $\text{MgCl}_2$ =1:2:2, THF, refluks, MW, 60 min Kiselina/ $\text{NaBH}_4$ / $\text{I}_2$ =2:2:1, THF, ST, 60 min
Metil 3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -trihidroksi-5 $\beta$ -holanat	Kiselina/ $\text{NaBH}_4$ / $\text{LiCl}$ =1:2:2, „solvent free“, MW, 60 min
Metil 3 $\alpha$ , 6 $\alpha$ -dihidroksi-5 $\beta$ -holanat	Kiselina/ $\text{KBH}_4$ / $\text{LiCl}$ =1:2:2, „solvent free“, MW, 30 min Kiselina/ $\text{NaBH}_4$ / $\text{LiCl}$ =1:2:2, THF, refluks, MW, 45 min

### 3.4.2. Mikrotalasno-stimulisana redukcija prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ upotrebom $\text{KBH}_4$ - $\text{MgCl}_2$

Redukcija prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ izvedena je pomoću predhodno aktiviranog  $\text{KBH}_4$ . Aktivacija  $\text{KBH}_4$  je izvršena pomoću  $\text{MgCl}_2$ , zagrevanjem u suvom tetrahidrofuranu. U aktivirani  $\text{KBH}_4$  dodate su prirodne naftne kiseline **8** nakon čega je reakciona smeša izlagana mikrotalasnom zračenju uz refluks 15 min. Prilikom optimizacije postupka reakciona smeša je izlagana zračenju 30 min uz sukcesivno prekidanje mikrotalasnog tretmana nakon 5, 10, 15 i 30 min. Praćenje toka reakcije u pomenutim intervalima je vršeno tankoslojnom hromatografijom na silikagelu. Nakon obrade reakcione smeše dobijena je smeša čistih alkohola prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ (**33**), u obliku žućkaste tečnosti, u prinosu od 88.79%.

U IR spektru smeše alkohola **33** zapaža se karakteristična široka traka na  $3311\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od valencione vibracije O-H veze alkohola. U  $^1\text{H}$  NMR spektru dobijenih alkohola **33** uočava se signal u vidu proširenog singleta na 3.65 ppm koji pripada vodoniku OH grupe, što je jasan dokaz da je željena hemijska transformacija redukcije karboksilne grupe postignuta. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru se takođe vidi da je došlo do redukcije prirodnih naftnih kiselina jer se signal koji potiče od karbonilnog ugljenika karboksilne kiseline na oko 180 ppm u spektru jedinjenja **33** gubi.

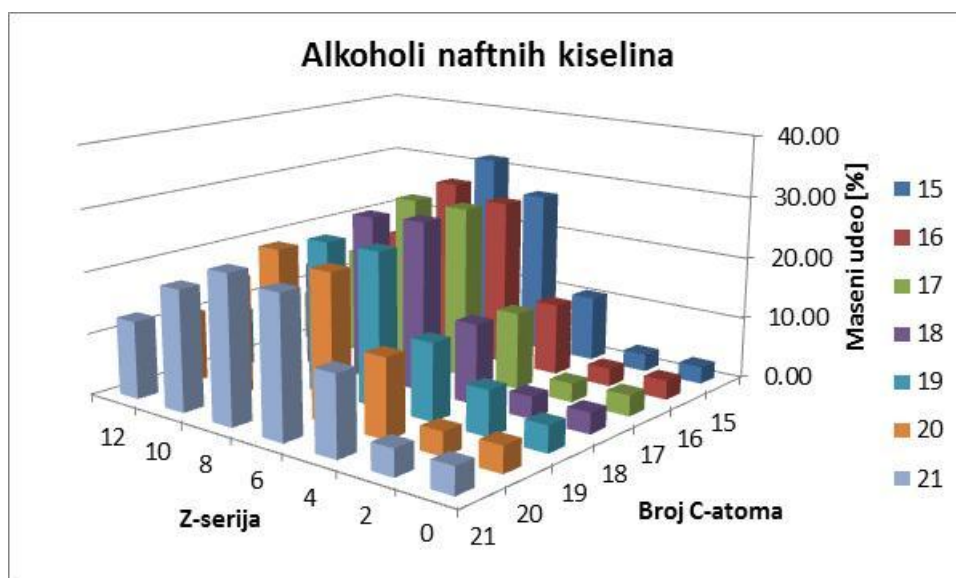
Kako je prinos alkohola ukupne smeše naftnih kiselina relativno visok (88.79%) pretpostavka je da je reakcija izvršena efikasno odnosno, da su sve prisutne klase kiselina ravnomerno redukovane i prevedene u alkohole.

Analizom GC-MS-EI spektara (Tabela 3.13., Slika 3.14., Tabela 4.3.) određeno je prisustvo alkohola naftnih kiselina po Z-serijama u rasponu od C-15 do C-21 atoma.

Tabela 3.13. GC-MS-EI spektralni podaci za alkohole naftnih kiselina dobijenih redukcijom pomoću  $\text{KBH}_4\text{-MgCl}_2$

**GC-MS-EI: zastupljenost pojedinih Z-serija za alkohole naftnih kiselina „Veletit“**

- Alkanska serija (Z=0): 3.33%; 15-21C; m/z=228; 242; 256; 270; 284; 298; 312
- Monociklična serija (Z=2): 3.56%; 15-21C; m/z=226; 240; 254; 268; 282; 296; 310
- Biciklična serija (Z=4): 11.88%; 15-21C; m/z=224; 238; 252; 266; 280; 294; 308
- Triciklična serija (Z=6): 26.50%; 15-21C; m/z=222; 236; 250; 264; 278; 292; 306
- Tetraciklična serija (Z=8): 28.35%; 15-21C; m/z=220; 234; 248; 262; 276; 290; 304
- Pentaciklična serija (Z=10): 18.22%; 15-21C; m/z=218; 232; 246; 260; 274; 288; 302
- Heksaciklična serija (Z=12): 8.16%; 15-21C; m/z=216; 230; 244; 258; 272; 286; 300



Slika 3.14. Trodimenzionalni dijagram GC-MS-EI analize alkohola naftnih kiselina

Iz trodimenzionalnog dijagrama masa (Slika 3.6. i Slika 3.14.) prvo se zapaža da su u sintetizovanim alkoholima, kao i u polaznoj smeši kiselina, zastupljene svih šest klasa kiselina, odnosno da se opseg

kiselina reaktanata i proizvoda alkohola poklapa. Međutim, uporednom analizom dijagrama dobijenih iz masenog spektra ukupne smeše prirodnih naftnih kiselina (*Slika 3.6., Tabela 4.1.*) i masenog spektra smeše alkohola naftnih kiselina (*Slika 3.14., Tabela 4.13.*) vidi se da su maseni udeli dobijenih alkohola nešto drugačiji u odnosu na masene udele tih klasa kiselina u ukupnoj smeši naftnih kiselina. U oba slučaja, dominantne su triciklične ( $Z=6$ ) i tetraciklične ( $Z=8$ ) strukture jedinjenja ali razlike se ipak uočavaju. Naime, kao najmanje reaktivne u reakciji redukcije, pokazale su se monociklične karboksilne kiseline ( $Z=2$ ) jer ih u smeši reaktanata ima 5.81% a nakon redukcije zastupljene su sa 3.56%. Slično su se ponašale i biciklične karboksilne kiseline ( $Z=4$ ) kojih u polaznoj smeši ima 13.25% a u alkohol je konvertovano 11.88%. Smanjen udeo alkohola  $Z=2$  serije u ukupnoj smeši alkohola prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ potpuno je u saglasnosti sa relativno niskim prinosima dobijenim redukcijom individualnih monocikličnih karboksilnih kiselina (*Tabela 3.10.*).

Najviši stepen konverzije kiselina u alkohole pokazale su triciklične strukture kiselina ( $Z=6$ ) jer se njihov maseni udeo povećao u odnosu na udeo u ukupnim kiselinama pre redukcije (sa 21.70% na 26.50%).

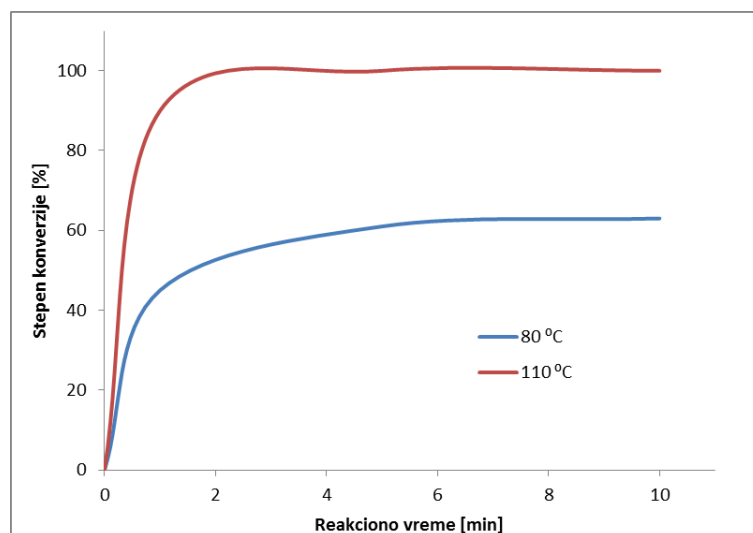
Naposletku, analizom GC-MS-EI spektara prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ i njihovih alkohola dobijen je kvalitativan i kvantitativan uvid u sve prisutne klase kiselina pre i posle redukcije do alkohola. Ustanovljeno je da se ovom transformacijom u izvesnoj meri menja sastav dobijenih alkohola u odnosu na kiseline što je sa aspekta daljih planova ispitivanja biološke aktivnosti od ključnog značaja.

### 3.5. Sinteze hidroksamskih derivata naftnih kiselina

Hidroksamska funkcionalna grupa ulazi u sastav mnogih biološki aktivnih jedinjenja koja ispoljavaju širok spektar aktivnosti kao što su antiinflamatorna, antiasmatička, antimetastatička, antibiotička, psihotropna i insekticidna aktivnost.<sup>138</sup> Hidroksam derivati kiselina takođe imaju važnu ulogu u inhibiranju metaloenzima koji su meta proučavanja u antikancer terapiji.<sup>188</sup> Zbog svoje velike biološke važnosti, hidroksamske kiseline su predmet sinteze i istraživanja i ovog rada.

U literaturi je dostupan veliki broj sintetičkih puteva za dobijanje hidroksamskih kiselina međutim, mnogi od njih su dugotrajni i skupi. Sinteza hidroksamskih kiselina u ovom radu, rađena je modifikovanjem konvencionalnog postupka sinteze iz estara i hidroksilamina. Naime, upotrebom mikrotalasa, izvedena je sinteza hidroksam derivata individualnih i prirodnih naftnih kiselina iz njihovih metil-estara i hidroksilamina u prisustvu kalijum-hidroksida kao baze.

U prvoj fazi sinteze, ispitani su i određeni optimalni reakcioni uslovi, odnosno temperatura i vreme trajanja sinteze. Optimizacija reakcionih uslova izvedena je praćenjem stepena konverzije metilbenzoata u željeni proizvod [%], tečnom hromatografijom visoke rezolucije (HPLC) (Slika 3.15., Prilog 7.2.).



Slika 3.15. Dijagram zavisnosti stepena konverzije metilbenzoata od reakcione temperature i vremena prilikom sinteze N-hidroksibenzamida

Na osnovu rezultata prikazanih na dijagramu (Slika 3.15., Prilog 7.2.), vidi se da je najveći, gotovo kvantitativan prinos, N-hidroksibenzamida postignut već nakon jednog minuta zagrevanja reakcione smeše u zatvorenom sistemu mikrotalasnog reaktora, na temperaturi od 110 °C.

Na temperaturi od 80 °C, najviši stepen konverzije polaznog jedinjenja u proizvod je 63% a dobijen je nakon 10 minuta izlaganja mikrotalasnim zračenju.

U poređenju sa konvencionalnom sintezom N-hidroksibenzamida (**41**) na sobnoj temperaturi postignuta je značajna redukcija reakcionog vremena (Tabela 3.14., Prilog 7.2.).



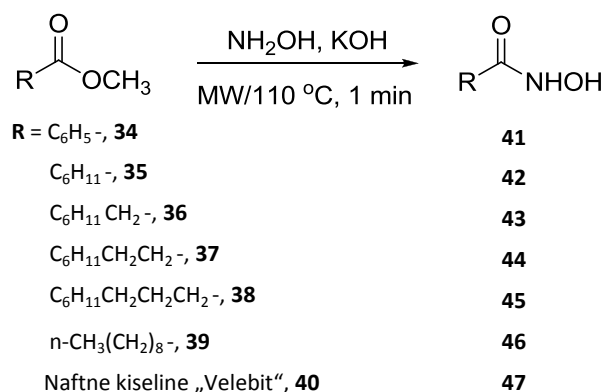
Tabela 3.14. Poređenjem rezultata konvencionalne i mikrotalasne sinteze jedinjenja **41**

Jedinjenje <b>41</b>	Bez učešća mikrotalasa			Sa učešćem mikrotalasa, zatvoren sistem (pod pritiskom)		
<b>Reakcioni uslovi</b>	25 °C, 10 min	25 °C, 1 h	25 °C, 4 h	110 °C, 1 min	110 °C, 5 min	110 °C, 10 min
<b>HPLC prinos [%]</b>	16.9	76.4	86.2	99.1	99.6	100

Iz Tabele 3.14. primećuje se da se za reakciono vreme od 10 minuta, konvencionalnom metodom na 25 °C dobija HPLC prinos od 16.9%. Za isto vreme mikrotalasnom sintezom na 110 °C postiže se kvantitativna konverzija polaznog jedinjenja u željeni proizvod.

Temperaturnim monitoringom sinteze *N*-hidroksibenzamida zaključuje se da stepen konverzije metilbenzoata u hidroksam derivat prvenstveno zavisi od temperature zagrevanja reakcione smeše iz čega sledi da su termalni mikrotalasni efekti odgovorni kako za ubrzanje hemijske reakcije, tako i za veći stepen konverzije metilbenzoata u *N*-hidroksibenzamid.

U drugoj fazi sinteze, optimizovani reakcioni uslovi su primenjeni na sintezu hidroksamskih derivata individualnih i prirodnih naftnih kiselina „Velebit“. Kao polazna jedinjenja poslužile su individualne naftne kiseline **1, 2, 3, 4, 5, 7** i prirodne naftne kiseline (**8**) koje su najpre prevedene u odgovarajuće metil-estre **34-40** reakcijom sa diazometanom. Metil-estri naftnih kiselina reagovali su sa hidroksilaminom hidrohloridom i kalijum-hidroksidom u molskom odnosu 1:3:6 (Shema 3.11.). Sinteze su rađene u metanolnom rastvoru na temperaturi od 110 °C i trajanju od jedne minute. Primenjen je zatvoren sistem mikrotalasnog reaktora i temperaturno-kontrolni mod rada. Dobijeni rezultati sinteze su prikazani u Tabeli 3.15.



Shema 3.11. Mikrotalasno katalizovana sinteza hidroksam kiselina

Tabela 3.15. Mikrotalasno stimulirana sinteza hidroksam derivata prirodnih i individualnih naftnih kiselina

Metil-estar	Proizvod	Tt [°C]	Prinos [%]
Metil-benzoat, <b>34</b>	<i>N</i> -hidroksibenzamid, <b>41</b>	125-126	86
Metil-cikloheksankarboksilat, <b>35</b>	<i>N</i> -hidroksicikloheksankarboksamid, <b>42</b>	113	59
Metil-2-cikloheksiletanoat, <b>36</b>	2-cikloheksil- <i>N</i> -hidroksiacetamid, <b>43</b>	137-138	67
Metil-3-cikloheksilpropanoat, <b>37</b>	3-cikloheksil- <i>N</i> -hidroksiopropanamid, <b>44</b>	-	78
Metil-4-cikloheksilbutanoat, <b>38</b>	4-cikloheksil- <i>N</i> -hidroksibutanamid, <b>45</b>	80	72
Metil-dekanoat, <b>39</b>	<i>N</i> -hidroksidekanamid, <b>46</b>	88	93
Metil-naftenati, <b>40</b>	Hidroksam prirodnih naftnih kiselina, <b>47</b>	-	61

Zahvaljujući radu u temperaturno-kontrolnom modu zatvorenog sistema mikrotalasnog reaktora i mogućnosti zagrevanja reakcione smeše do temperature (110 °C) koja je znatno viša od temperature ključanja metanola pri atmosferskom pritisku, dobijeni su proizvodi **41-47** u prinosu od 61-93% za reakciono vreme od jedne minute. Poređenjem dobijenih rezultata za sintezu hidroksam kiselina pod povišenim pritiskom sa literaturnim podacima sinteze uz konvencionalno zagrevanje<sup>138</sup>, u pogledu prinosa su dobijeni slični rezultati ali je reakciono vreme skraćeno do 30 puta. Visok stepen ubrzanja ove hemijske transformacije objašnjava se prisustvom termičkih mikrotalasnih efekata (Poglavlje 2.1.1.1.).

Strukture sintetizovanih hidroksam derivata dokazane su na osnovu IR, <sup>1</sup>H NMR i <sup>13</sup>C NMR spektroskopije.

U IR spektru jedinjenja **41** apsorpcione trake na 3298 cm<sup>-1</sup> i 3060 cm<sup>-1</sup> odgovaraju valencionim vibracijama  $\nu$ (N-H) i  $\nu$ (O-H), a traka na 1646 cm<sup>-1</sup> potvrđuje valencione vibracije karbonilne grupe  $\nu$ (C=O) hidroksam derivata. <sup>13</sup>C NMR spektar potvrđuje nastanak *N*-hidroksibenzamida signalom na hemijskom pomeranju od 165.48 ppm koji potiče od karbonilnog ugljenikovog atoma iz CONHOH grupe.

Jedinjenje **42** u IR spektru daje apsorpcione trake valencionih vibracije  $\nu$ (N-H) i  $\nu$ (O-H) na 3199 cm<sup>-1</sup> i 3036 cm<sup>-1</sup> a na 1629 cm<sup>-1</sup> prvu amidnu traku koja je rezultat valencionih vibracija  $\nu$ (C=O). U <sup>13</sup>C NMR spektru na hemijskom pomeranju od 173.87 ppm nalazi se pik koji potiče od ugljenikovog atoma iz CONHOH grupe dok širok signal u oblasti 5.75-6.80 ppm u <sup>1</sup>H NMR spektru potvrđuje prisustvo dva vodonikova atoma vezana za azot (NH) i kiseonik (NOH) iz *N*-hidroksicikloheksankarboksamida.

U IR spektru jedinjenja **43** apsorpcione trake na 3298 cm<sup>-1</sup> i 3060 cm<sup>-1</sup> potiču od valencionih vibracija  $\nu$ (N-H) i  $\nu$ (O-H), a valencione vibracije karbonilne grupe  $\nu$ (C=O) hidroksamskog derivata daju apsorpcionu traku na 1629 cm<sup>-1</sup>. U <sup>13</sup>C NMR spektru signal na 169.65 ppm odgovara ugljenikovom atomu iz CONHOH grupe a široki signali u oblasti 8.55-9.4 ppm i 10.4-10.7 ppm u <sup>1</sup>H NMR spektru potiču od vodonikovih atoma direktno vezanih za kiseonikov odnosno azotov atom 2-cikloheksil-*N*-hidroksiacetamida.

Apsorpcione trake na  $3203\text{ cm}^{-1}$  i  $3028\text{ cm}^{-1}$  u IR spektru jedinjenja **44** potiču od valencionih vibracija  $\nu(\text{N-H})$  i  $\nu(\text{O-H})$ , a traka na  $1630\text{ cm}^{-1}$  od valencione vibracije karbonilne grupe  $\nu(\text{C=O})$  hidroksamskog derivata **44**. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru se uočava signal na hemijskom pomeranju od  $172.48\text{ ppm}$  koji potiče od karbonilnog ugljenikovog atoma 3-cikloheksil-*N*-hidroksipropanamida. U  $^1\text{H}$  NMR spektru dobijenog jedinjenja **44** uočava se mali proširen signal u oblasti  $8.0\text{--}9.6\text{ ppm}$  koja pripada vodonikovim atomima CONHOH grupe.

U IR spektru jedinjenja **45** apsorpcione trake na  $3250\text{ cm}^{-1}$  i  $3059\text{ cm}^{-1}$  odgovaraju valencionim vibracijama  $\nu(\text{N-H})$  i  $\nu(\text{O-H})$ , a traka na  $1619\text{ cm}^{-1}$  potvrđuje valencione vibracije karbonilne grupe  $\nu(\text{C=O})$  hidroksamskog derivata.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar potvrđuje nastanak 4-cikloheksil-*N*-hidroksibutanamida signalom na  $170.51\text{ ppm}$  koji potiče od karbonilnog ugljenikovog atoma sintetisanog jedinjenja. Prošireni signali na  $8.87\text{ ppm}$  i  $10.49\text{ ppm}$  odgovaraju vodonikovim atomima direktno vezanim za kiseonikov odnosno azotov atom CONHOH grupe.

Jedinjenje **46** u IR spektru daje trake valencionih vibracija  $\nu(\text{N-H})$  i  $\nu(\text{O-H})$  na  $3257\text{ cm}^{-1}$  i  $3059\text{ cm}^{-1}$  a na  $1663\text{ cm}^{-1}$  traku koja je rezultat valencionih vibracija  $\nu(\text{C=O})$ . U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru na hemijskom pomeranju od  $170.51\text{ ppm}$  nalazi se signal koji potiče od ugljenikovog atoma iz CONHOH grupe, dok mali prošireni signali na  $8.86\text{ ppm}$  i  $10.52\text{ ppm}$  u  $^1\text{H}$  NMR spektru potvrđuju prisustvo vodonikovih atoma direktno vezanih za kiseonikov i azotov atom *N*-hidroksidekanamida **46**.

U IR spektru jedinjenja **47** zapaža se široka traka na  $3212\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od valencionih vibracija  $\nu(\text{N-H})$  i  $\nu(\text{O-H})$  koje se međusobno prikrivaju. Valencione vibracije karbonilne grupe  $\nu(\text{C=O})$ , odnosno prva amidna traka, nalazi se na  $1634\text{ cm}^{-1}$  a na  $1531\text{ cm}^{-1}$  se nalazi apsorpciona traka koja potiče od deformacionih vibracija N-H. Apsorpciona traka koja odgovara valencionim vibracijama  $\nu(\text{C-N})$  se uočavaju na  $1455\text{ cm}^{-1}$ . U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru jedinjenja **47** se takođe vidi da je došlo građenja hidroksamskih derivata na osnovu signala na hemijskom pomeranju od  $171.43\text{--}171.89\text{ ppm}$  koji potiču od karbonilnih ugljenikovih atoma CONHOH grupa. U  $^1\text{H}$  NMR spektru dobijenih hidroksamskih derivata prirodnih naftnih kiselina, uočava se mali proširen signal na  $7.9\text{--}10.0\text{ ppm}$  koji pripada vodonikovim atomima OH i NH iz CONHOH grupe, što je jasan dokaz da je željena hemijska transformacija postignuta.

### 3.6. Biološka aktivnost individualnih i prirodnih naftnih kiselina i njihovih derivata

#### 3.6.1. Uticaj naftnih kiselina „Velebit“ i njihovih užih frakcija na propustljivost ćelijskih membrana

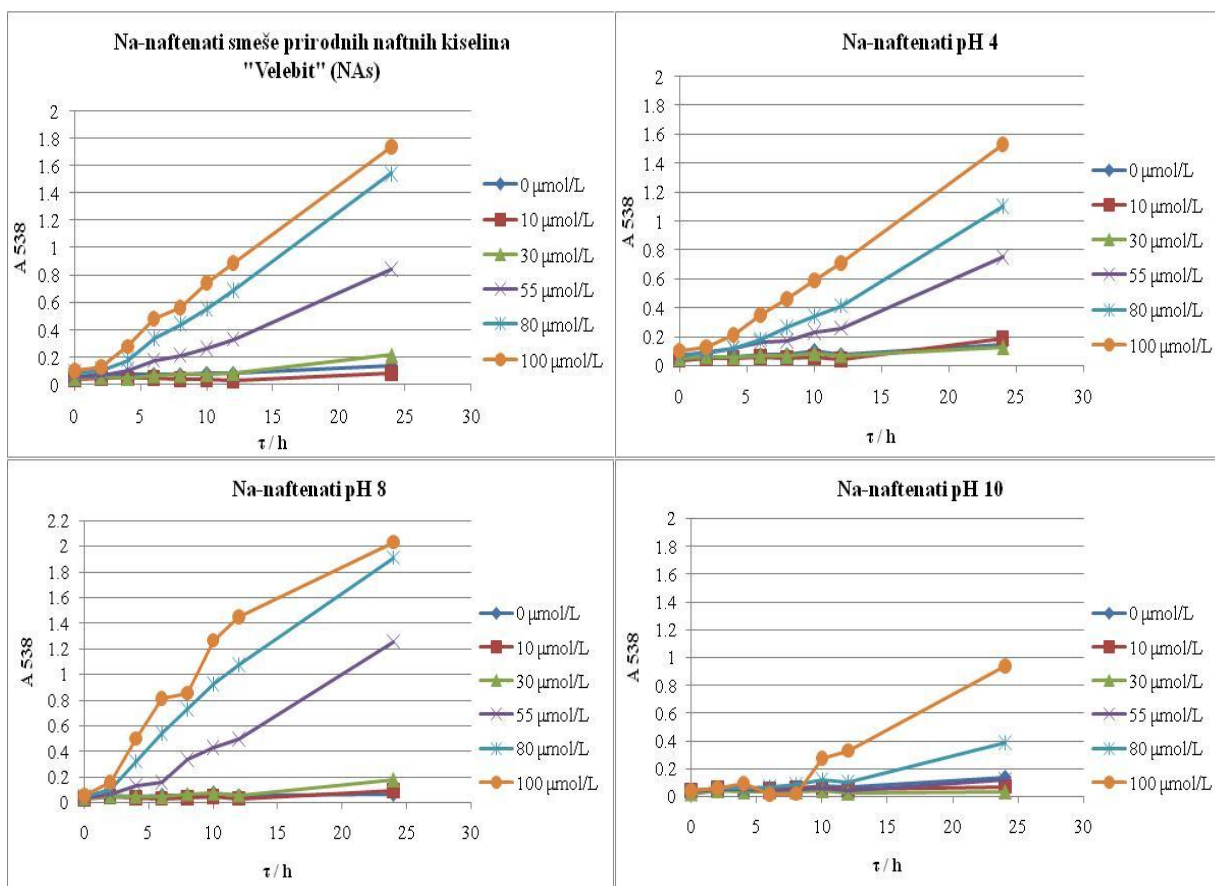
O delovanju naftnih kiselina na nivou membrana, u literaturi postoje veoma oskudni podaci.<sup>173,174</sup>

S obzirom da naftne kiseline u molekulu sadrže cikloalkilnu strukturu koja je nepolarna i polarnu karboksilnu grupu, kao amfifilni molekuli slični detergentima, one deluju kao površinski aktivne supstance. Za detergente je poznato da utiču na stabilnost membrana biljnih ćelija i da su odgovorne za transport jona kroz ćeliju.<sup>170</sup> Zahvaljujući sličnosti strukture naftnih kiselina i detergenata, može se pretpostaviti da naftne kiseline, kao i surfaktanti, deluju na membrane ćelija korena putem specifične modifikacije transportera ili jonskih kanala i time menjaju njenu propustljivost za jone.<sup>172</sup>

Pretpostavlja se da naftne kiseline deluju slično žučnim kiselinama koje pri višim koncentracijama oštećuju membrane ćelijskog zida dok pri nižim koncentracijama izazivaju suptilne modifikacije membrane i promene njene propustljivosti.<sup>172</sup>

U ovom delu rada, ispitan je uticaj naftnih kiselina i njenih užih frakcija (pH 4, pH 8 i pH 10) na propustljivost ćelijskih membrana kao i mogućnost dovođenja u korelaciju strukture dominantnih karboksilnih kiselina na ove efekte.

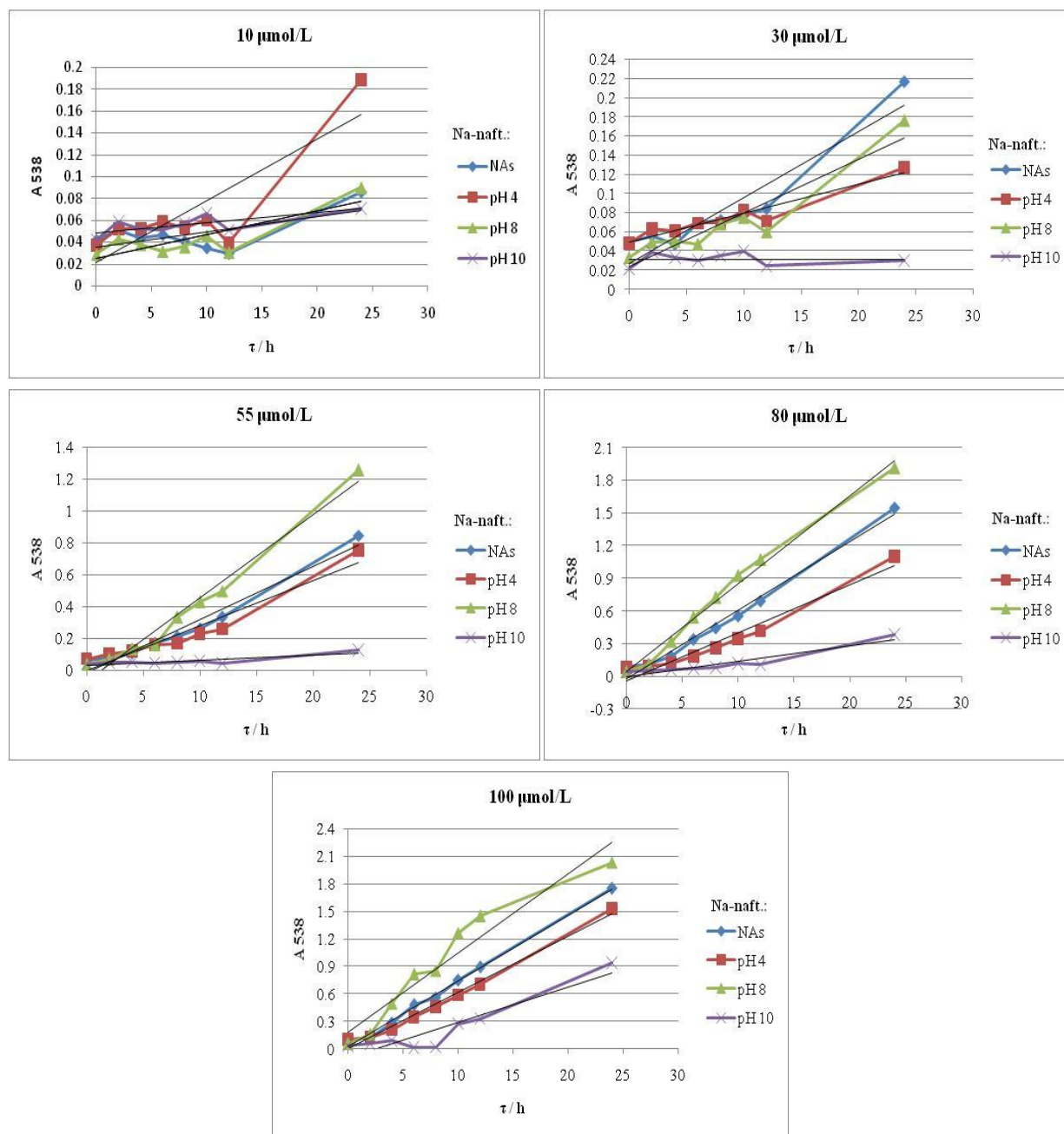
Propustljivost ćelijske membrana ispitivana je na cvekli (*Beta vulgaris*) tretiranoj rastvorima različitih koncentracija natrijumovih soli ukupnih naftnih kiselina (Nas) i frakcijama naftnih kiselina izdvojenim na pH 4, pH 8 i pH 10. Sutton i Foy su opisali prilično jednostavnu i pouzdanu metodu za praćenje promena propustljivosti biljnih membrana, merenjem apsorbancije uzoraka koji sadrže betanin oslobođen nakon odgovarajućih tretmana segmenata cvekle.<sup>189</sup> Ista metoda je primenjena u ovom ispitivanju. Naime, koncentracija oslobođenog betanina praćena je merenjem apsorbancije odmah, nakon 2h, 4h, 6h, 8h, 10h, 12h i 24h a zatim je grafički prikazana zavisnost apsorbancije i koncentracije primenjenog rastvora u funkciji vremena (Slika 3.16., Tabela 7.11.-7.14.).



Slika 3.16. Zavisnost apsorbancije i koncentracije natrijum-naftenata prirodnih naftnih kiselina "Velebit" (NAs) i njenih užih frakcija u funkciji vremena

Na osnovu dobijenih rezultata za rastvore Na-soli ukupnih naftnih kiselina (NAs) može se videti da se vrednosti apsorbancija, za sve ispitivane koncentracije rastvora, sa produžavanjem tretmana povećavaju. Tako, delovanjem natrijum-naftenata  $C=100 \mu\text{mol/L}$  u trajanju od 4 sata, propustljivost membrana poraste 3 puta, dok za 24 h gotovo 18 puta. Takođe, evidentno je i da najveći uticaj na propustljivost ćelijskih membrana cvekle ima rastvor koncentracije  $C=100 \mu\text{mol/L}$ , što je ujedno i najveća ispitivana koncentracija (Slika 3.16., Tabela 7.11.). U odnosu na  $C=10 \mu\text{mol/L}$  ovo je oko 20 puta veći uticaj na membrane ćelija, za dejstvo od 24 h. Sličnu tendenciju povećanja propustljivosti membrana u funkciji vremena i koncentracije pokazali su i uzorci u eksperimentima sa vodenim rastvorima natrijumovih soli užih frakcija naftnih kiselina, pH 4, pH 8 i pH 10 (Tabela 7.12., Tabela 7.13., Tabela 7.14., Slika 3.16.).

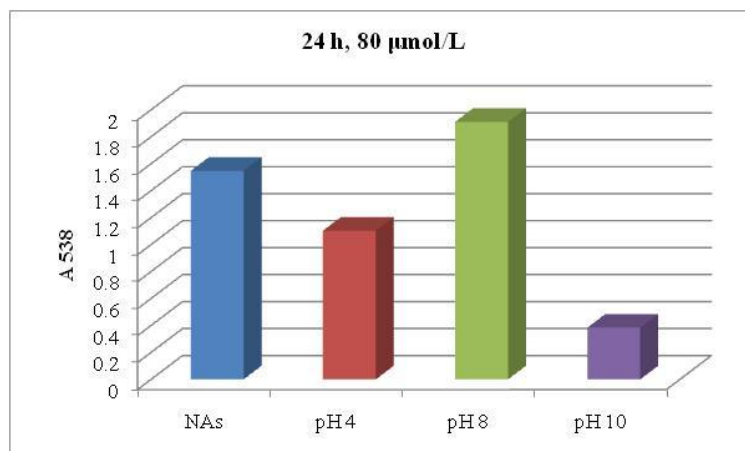
Poređenjem podataka dobijenih nakon dvadesetčetiričasovnog tretmana Na-naftenata prirodnih naftnih kiselina i njenih užih frakcija (Tabela 7.15., Slika 3.17.) može se videti da razlike u izmerenim apsorbancijama postoje.



Slika 3.17. Zavisnost absorbancije natrijum-naftenata prirodnih naftnih kiselina "Velebit" i njenih užih frakcija u funkciji vremena

Najveći uticaj na propustljivost membrana ispoljila je frakcija izolovana iz ukupne smeše naftnih kiselina "Velebit" na pH 8 i taj uticaj je čak i nešto izraženiji u odnosu na uticaj ukupnih naftnih kiselina. Zahvaljujući ovim rezultatima efekti na membrane mogu se dovesti u korelaciju sa hemijskim sastavom ispitivanih naftnih kiselina (opisan u *Poglavlju 3.1.*). Naime, u frakciji označenoj na *Slici 3.17.* kao pH 8 procentualno su najzastupljenije biciklične karboksilne kiseline. Frakcija izdvojena na pH 4 je pokazala nešto slabiji uticaj na ćelijske membrane a nju najvećim delom čine triciklične i tetraciklične naftne kiseline. Konačno, najslabiji efekat na membrane ispoljile su naftne kiseline iz frakcije izolovane na pH 10 u kojoj su skoncentrisane aciklične i monociklične strukture karboksilnih kiselina.

Najveće razlike u propustljivosti membrana nakon 24 h ispoljile su se u eksperimentima sa rastvorima Na-naftenata koncentracije  $C=80 \mu\text{mol/L}$  (Slika 3.18.).



Slika 3.18. Razlike u propustljivosti membrane nakon 24 h u eksperimentima sa rastvorima Na-naftenata koncentracije  $C=80 \mu\text{mol/L}$

Za sve ispitivane rastvore pojedinih koncentracija izvedene su jednačine zavisnosti absorbancija od vremena i utvrđeno je da su najbolju linearnost pokazali rastvori Na-naftenata koncentracije  $C=80 \mu\text{mol/L}$  (Tabela 3.16.). Izračunavanjem nagiba prave (Tabela 3.16.) dobijen je kvantitativan izraz fiziološke aktivnosti ispitivanih rastvora.

Tabela 3.16. Jednačine zavisnosti absorbancije od vremena za ispitivane rastvore Na-naftenata ukupne smeše naftnih kiselina (NAs) i njenih užih frakcija

$C_{\text{Na-naph}} / \mu\text{mol/L}$	Na-naftenati	pH 4	pH 8	pH 10
10	$y = 0.001x + 0.035$ $R^2 = 0.388$	$y = 0.005x + 0.021$ $R^2 = 0.726$	$y = 0.002x + 0.025$ $R^2 = 0.685$	$y = 0.000x + 0.048$ $R^2 = 0.548$
30	$y = 0.006x + 0.026$ $R^2 = 0.884$	$y = 0.003x + 0.049$ $R^2 = 0.916$	$y = 0.005x + 0.023$ $R^2 = 0.879$	$y = -3E-06x + 0.031$ $R^2 = 8E-06$
55	$y = 0.033x - 0.016$ $R^2 = 0.962$	$y = 0.028x - 0.000$ $R^2 = 0.924$	$y = 0.052x - 0.066$ $R^2 = 0.973$	$y = 0.003x + 0.030$ $R^2 = 0.757$
80	$y = 0.062x - 0.026$ $R^2 = 0.984$	$y = 0.043x - 0.039$ $R^2 = 0.954$	$y = 0.080x + 0.039$ $R^2 = 0.989$	$y = 0.014x - 0.000$ $R^2 = 0.881$
100	$y = 0.071x + 0.029$ $R^2 = 0.994$	$y = 0.061x + 0.002$ $R^2 = 0.988$	$y = 0.086x + 0.180$ $R^2 = 0.93$	$y = 0.038x - 0.099$ $R^2 = 0.866$

Generalno, može se zaključiti da uticaj na propustljivost membrana ćelija raste kako sa porastom koncentracije tako i sa produžavanjem trajanja tretmana. Pokazalo se da postoje razlike u efektima na propustljivost membrana ćelija koji su povezani sa strukturama karboksilnih kiselina koje su dominantno prisutne u ispitivanim ukupnim NAs i njihovim frakcijama. Naime, frakcija naftnih kiselina izolovana pri pH 8 po hemijskom sastavu u najvećoj meri sadrži biciklične strukture naftnih kiselina te bi se moglo zaključiti da su one te koje su u najvećoj meri zaslužne za ovaj uticaj. Efekat koji izaziva frakcija pH 8 je nešto izraženiji u odnosu na efekat ukupnih NAs gde su najzastupljenije tetra- i pentaciklične strukture što odgovara i nešto manjem uticaju natrijum-naftenata na pH 4 gde su najzastupljenije tri- i tetraciklične strukture. Konačno, frakcija koja je najmanje uticala na posmatranu

promenu je frakcija pH 10 koju u najvećem procentu čine aciklične i monociklične strukture karboksilnih kiselina kojih u ukupnoj smeši prirodnih naftnih kiselina ima najmanje.

### 3.6.2. Ožiljavanje reznica suncokreta

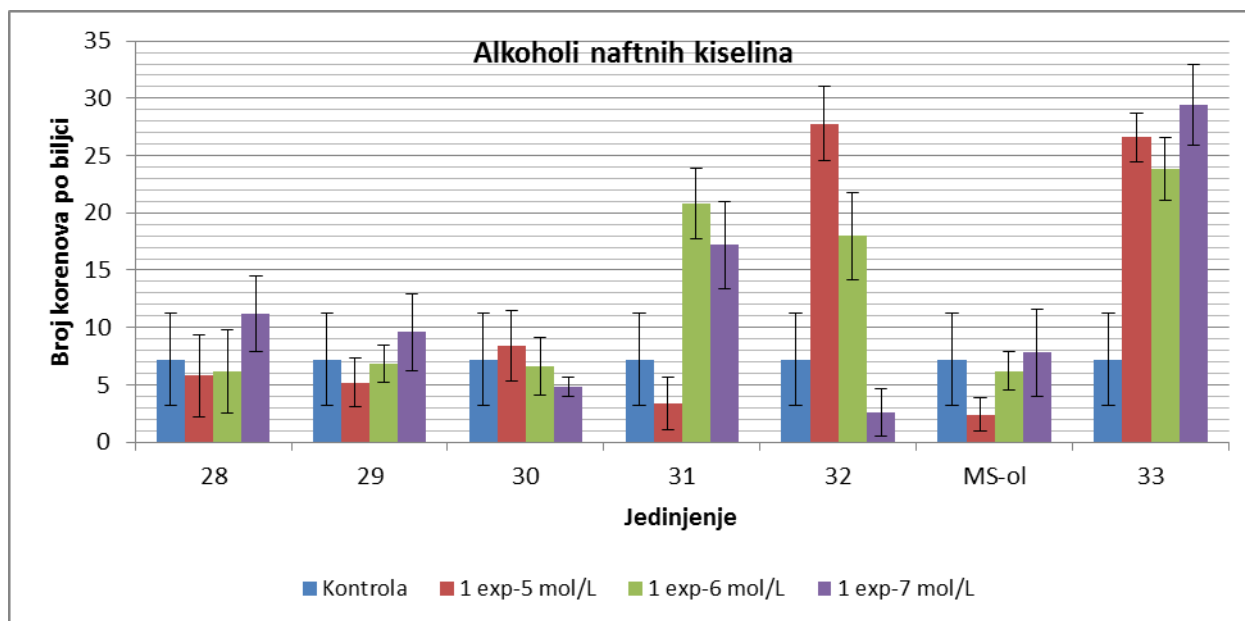
Neke biljne vrste se ožiljavaju veoma teško te je neophodna primena različitih tretmana kako bi se ono poboljšalo. Naša pretpostavka je da alkoholi i amidi naftnih kiselina kao i same naftne kiseline pospešuju formiranje adventivnih korenova kod reznica zeljastih i drvenastih biljaka. U cilju ispitivanja ove pretpostavke ispitali smo delovanje alkohola individualnih naftnih kiselina (**28-32**), njihove model smeše (**MS-ol**), alkohola (**33**) i amida (**19, 20 i 27**) prirodnih naftnih kiselina, kao i same smeše naftnih kiselina "Velebit" (**8**) na ožiljavanje mladih biljaka suncokreta.

Ispitivanja su rađena na poncima mladih biljaka suncokreta kod kojih su formirani klicini listići-kotiledoni kao i prvi par pravih listova. Nakon deset dana tretmana ispitivanim rastvorom naftnih kiselina ili njen derivata (*Slika 3.19.*), prebrojani su adventivni korenovi (veći od 2mm) a rezultati su izraženi kao prosečni broj adventivnih korenova po biljci. Dobijeni rezultati su prikazani na *Slici 3.20.*, *Slici 3.21.* i *Slici 3.22.*



*Slika 3.19.* Efekti tretiranja mladih biljaka suncokreta alkoholima prirodnih naftnih kiselina (**33**)





Slika 3.20. Efikasnost ožiljavanja reznica suncokreta u zavisnosti od koncentracije alkohola individualnih i prirodnih naftnih kiselina "Velebit"

Sa Slike 3.20. (Tabela 7.16.) može se uočiti da alkoholi individualnih naftnih kiselina (jedinjenja **28**, **29**, **31**) u koncentraciji od  $10^{-5}$  mol/L blago inhibiraju ožiljavanje reznica suncokreta. Smanjenjem koncentracije preparata sintetisanih alkohola kod tretiranih biljaka dolazi do stimulisanja ožiljavanja u odnosu na kontrolu (u kojoj se nalazila samo destilovana voda). Izuzetak su uzorci tretirani 3-cikloheksil-1-propanolom (jedinjenje **30**) i 1-dekanolom (jedinjenje **32**) kod kojih se pri najvećoj koncentraciji ( $10^{-5}$  mol/L) ispoljava najbolji efekat na ožiljavanje. Naime, uzorak tretiran 1-dekanolom (jedinjenje **32**) pokazuje skoro četiri puta bolje ožiljavanje u odnosu na kontrolu pri koncentraciji od  $10^{-5}$  mol/L. Smanjenjem koncentracije na  $10^{-6}$  i  $10^{-7}$  mol/L ovog preparata, smanjuje se i stimulativni efekat na ožiljavanje. Model smeša alkohola (napravljena od ekvimolarne količine alkohola individualnih naftnih kiselina **28**, **29**, **30**, **31** i **32**) pri sve tri aplicirane koncentracije preparata ( $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  i  $10^{-7}$  mol/L) ima inhibitorni efekat u odnosu na kontrolu.

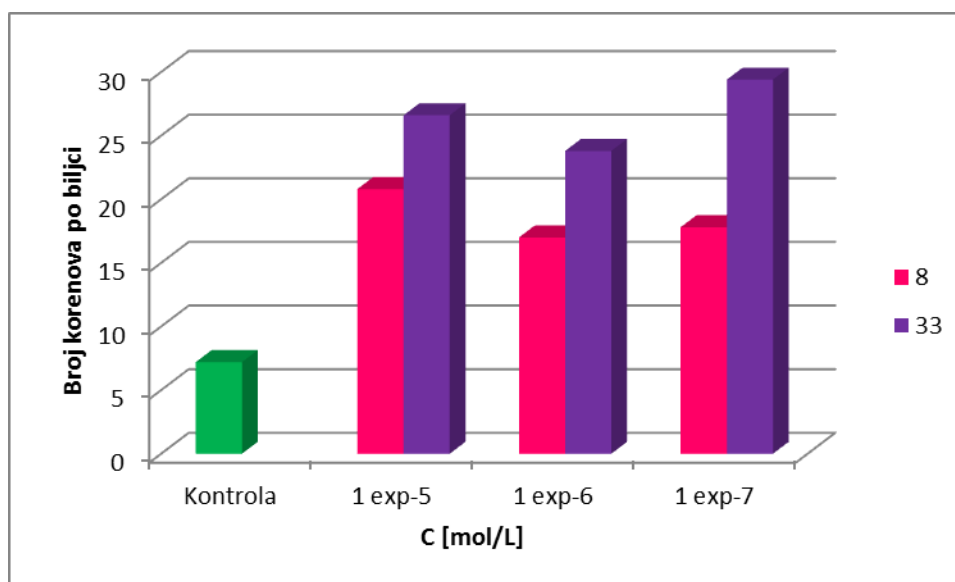
Iz prethodno iznetog, uočava se da najveći uticaj na stimulaciju ožiljavanja kod mladih biljaka suncokreta, od alkohola individualnih naftnih kiselina, ima alkohol aciklične individualne naftne kiseline, 1-dekanol (**32**) i to pri koncentracijama  $10^{-5}$  mol/L i  $10^{-6}$  mol/L. Jedinjenje **31** (4-cikloheksil-1-butanol) ispoljava trostruko bolju stimulaciju ožiljavanja u odnosu na kontrolu pri koncentraciji  $10^{-6}$  mol/L.

Alkoholi prirodnih naftnih kiselina "Velebit" (jedinjenje **33**) pokazuju snažno stimulativno dejstvo na pojavu adventivnih korenova kod svih primenjenih koncentracija preparata ( $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  mol/L). Pri koncentraciji od  $10^{-7}$  mol/L alkoholi prirodnih naftnih kiselina "Velebit" pokazuju čak četiri puta bolji efekat na ožiljavanje u odnosu na kontrolu. Sličano dejstvo ispoljavaju i pri koncentraciji  $10^{-5}$  mol/L, dok pri koncentraciji od  $10^{-6}$  mol/L ožiljavaju mlade biljke suncokreta tri puta bolje od same kontrole.

Na osnovu dobijenih rezultata, može se zaključiti da alkoholi prirodnih naftnih kiselina imaju značajan uticaj na stimulaciju ožiljavanja kod mladih biljaka suncokreta. Kako ovaj efekat nije izražen kod

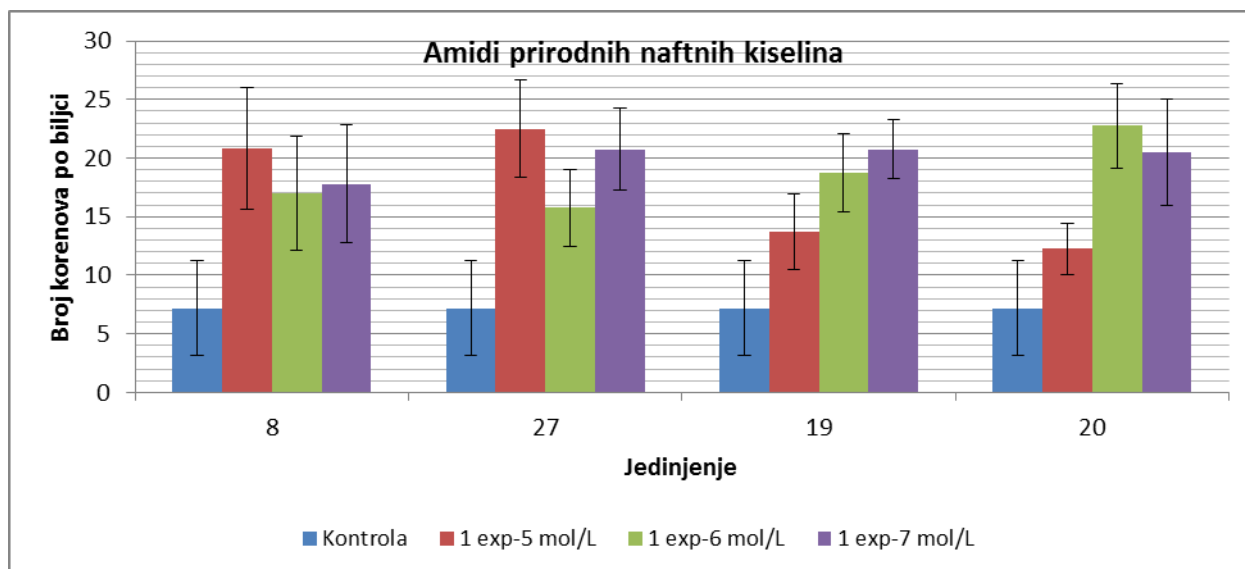
alkohola individualnih monocikličnih naftnih kiselina koje su u prirodnoj smeši zastupljene sa svega 3.56% (poglavlje 3.4.2., *Tabela 3.11.*) može se izvesti zaključak da su alkoholi acikličnih naftnih kiselina (zastupljeni sa 3.33%) kao i tri- i tetracikličnih naftnih kiselina (poglavlje 3.4.2., *Tabela 3.11.*) strukture koje su odgovorne za stimulaciju ispitivanog efekta.

Poređenjem uticaja smeše prirodnih naftnih kiselina "Velebit" (**8**) i njihovih alkohola (**33**) na formiranje adventivnih korenova (*Slika 3.21.*, *Tabela 7.17.*), lako je zapaziti da oba preparata stimulatивно deluju na ispitivani proces. Međutim, prema unapred postavljenom očekivanju, alkoholi prirodnih naftnih kiselina dobijeni u radu, znatno više stimulišu razvoj adventivnih korenova od samih naftnih kiselina. Taj uticaj je signifikantan pri svim apliciranim koncentracijama preparata ( $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  i  $10^{-7}$  mol/L).



*Slika 3.21.* Poređenje efikasnosti ožiljavanja reznica suncokreta u zavisnosti od koncentracije naftnih kiselina "Velebit" i njihovih alkohola

Efikasnost ožiljavanja reznica suncokreta u zavisnosti od koncentracije preparata amida naftnih kiselina data je na *Slici 3.22.* (*Tabela 7.18.*). Amidi naftnih kiselina (**19**, **20** i **27**) dobijeni u ovom radu, takođe znatno stimulišu razvoj adventivnih korenova u odnosu na kontrolu u kojoj se nalazi čista voda. Poređenjem sa smešom prirodnih naftnih kiselina, amidni derivati ispoljavaju procentualno sličan efekat. Naime, primarni amidi **27** i same naftne kiseline "Velebit" **8** ispoljavaju najizraženiji uticaj na ožiljavanje pri najvećoj primenjenoj koncentraciji ( $10^{-5}$  mol/L). Za razliku od njih, n-heptilamid (**19**) i *N,N*-dietilamid naftnih kiselina "Velebit" (**20**) pri koncentraciji od  $10^{-5}$  mol/L najmanje stimulišu razvoj adventivnih korenova dok je pri nižim koncentracijama ( $10^{-6}$  i  $10^{-7}$  mol/L) njihov uticaj izraženiji (od 2.6 do 3.2 puta bolji u odnosu na kontrolu).



Slika 3.22. Efikasnost ožiljavanja reznica suncokreta u zavisnosti od koncentracije amida (19, 20, 27) prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ (8)

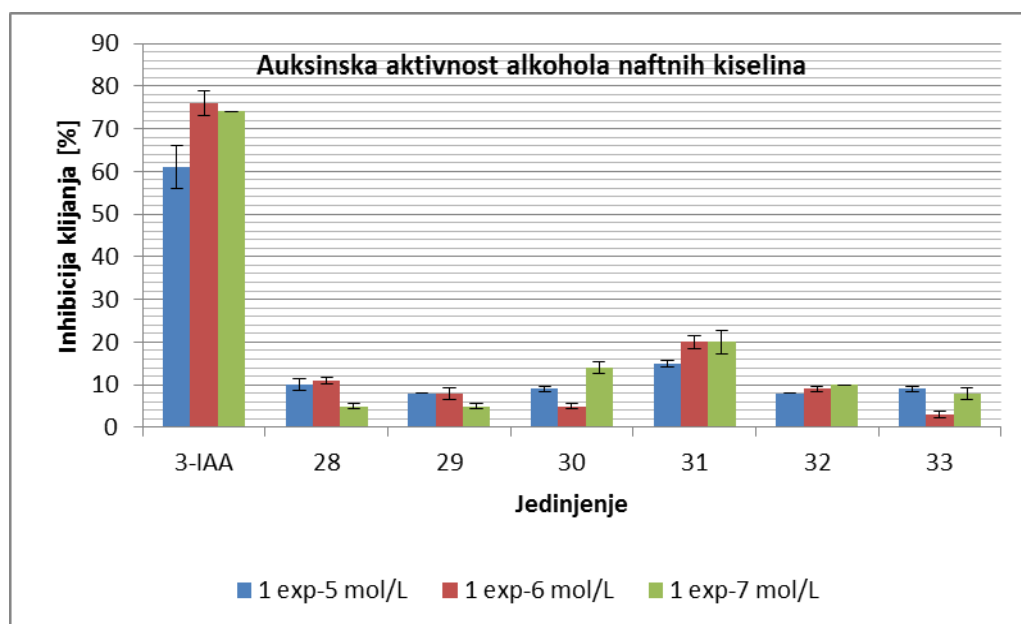
### 3.6.3. Auksinska hormonska aktivnost prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ i njihovih derivata

Auksinska aktivnost kalijum-naftenata vojvođanske naftne „Velebit“ ispitana je u našim ranijim radovima.<sup>11</sup> S obzirom da su soli prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ ispoljile fiziološku aktivnost sličnu biljnim hormonim, u ovom radu je ispitana hormonska auksinska aktivnost primarnih alkohola (28-33) i amida (19, 20, 27) individualnih i prirodnih naftnih kiselina, kao i model smeše alkohola (MS-ol) i slobodnih kiselina (MS, 8).

U tu svrhu je rađen *in vitro* „Test inhibicije klijanja“. Ovaj biološki test je rađen na semenu bele slačice (*Sinapis alba*) a dobijene vrednosti inhibicije su upoređivane sa vrednostima inhibicije koje su postignute dejstvom prirodnog biljnog hormona, 3-indolsirćetnom kiselinom.

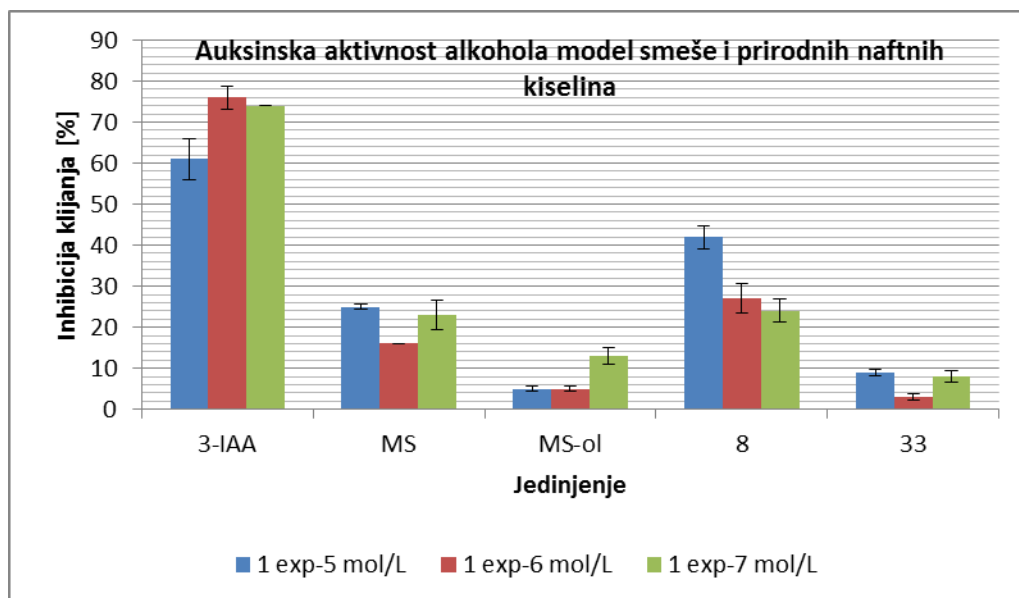
Na Slici 3.23. (Tabela 7.19.) predstavljeni su rezultati „Testa inhibicije klijanja“ semena slačice za alkohole individualnih i prirodnih naftnih kiselina. Sva ispitivana jedinjenja (cikloheksilmetanol (28), 2-cikloheksil-1-etanol (29), 3-cikloheksil-1-propanol (30), 4-cikloheksil-1-butanol (31), 1-dekanol (32), alkoholi prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ (33)) su u odnosu na prirodni biljni hormon, 3-indolsirćetnu kiselinu, pokazala manju auksinsku aktivnost pri svim apliciranim koncentracijama. Naime, procenat inhibicije klijanja alkohola prirodnih naftnih kiselina (33) je skoro sedam puta manji od procenta inhibicije prirodnog biljnog hormona (3-IAA) pri koncentraciji preparata  $10^{-5}$  mol/L. Pri koncentraciji od  $10^{-6}$  mol/L rastvori alkohola naftnih kiselina pokazuju auksinsku aktivnost koja je i do 25 puta manja od aktivnosti 3-indolsirćetne kiseline iste koncentracije, dok je pri koncentraciji od  $10^{-7}$  mol/L vrednost inhibicije klijanja preparata alkohola oko devet puta manja od vrednosti dobijene za prirodni biljni hormon, korišćen kao standard. Sa Slike 3.23. se takođe vidi da je hormonska auksinska aktivnost alkohola individualnih naftnih kiselina (28-32) približno iste vrednosti kao aktivnost alkohola prirodnih

naftnih kiselina „Velebit“ na osnovu čega se zaključuje da alkoholi monocikličnih i acikličnih karboksilnih kiselina, u ukupnoj smeši prirodnih naftnih kiselina, u velikoj meri utiču na ispitivanu auksinsku aktivnost.



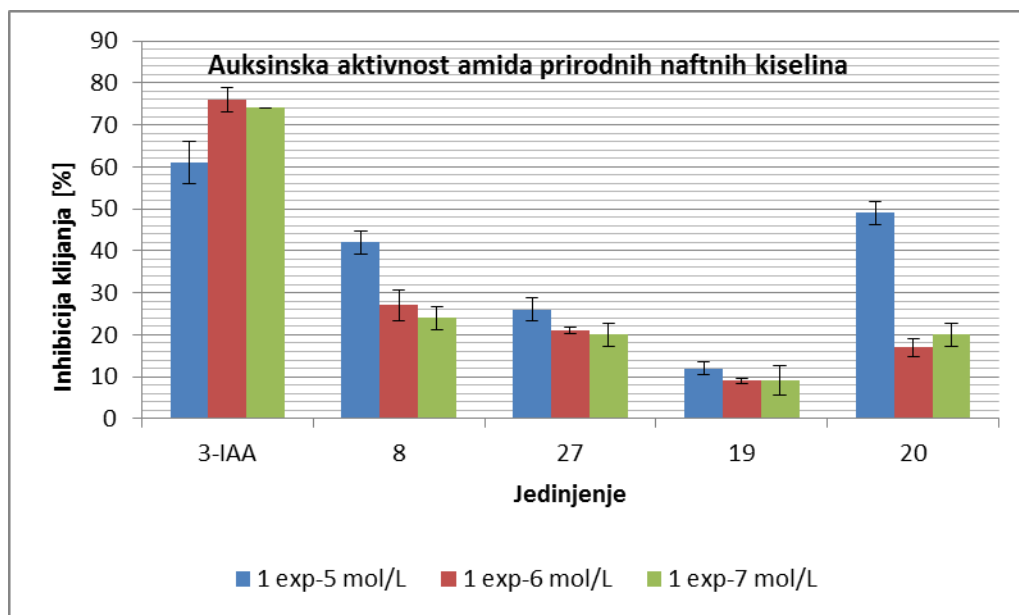
Slika 3.23. Auksinska aktivnost alkohola individualnih i prirodnih naftnih kiselina u zavisnosti od primenjene koncentracije rastvora

Poređenjem rezultata aktivnosti model smeše naftnih kiselina (**MS**) (napravljene od ekvimolarne količine pet kiselina: cikloheksilkarboksilne, cikloheksiletanske, 3-cikloheksilpropanske, 4-cikloheksilbutanske i dekanske kiseline) sa smešom prirodnih naftnih kiselina **8** (Slika 3.24., Tabela 7.20.) utvrđeno je da model smeša karboksilnih kiselina (**MS**) ima oko dva puta niži auksinski efekat od prirodnih naftnih kiselina pri koncentracijama  $10^{-5}$  i  $10^{-6}$  mol/L. Na osnovu ovoga, može se izvesti zaključak da pored alifatičnih i monocikličnih naftnih kiselina, auksinsku hormonsku aktivnost ispoljavaju i ostali konstituenti smeše prirodnih naftnih kiselina „Velebit“, odnosno bi-, tri-, tetra-, penta- i heksaciklične karboksilne kiseline. Vrednosti inhibicije klijanja model smeše alkohola individualnih naftnih kiselina (**MS-ol**) (napravljene od ekvimolarne količine jedinjenja **28**, **29**, **30**, **31** i **32**) i alkohola prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ (**33**) (Slika 3.24., Tabela 7.20.) je znatno niža od vrednosti inhibicije klijanja dobijene za model smešu kiselina (**MS**) i smešu prirodnih naftnih kiselina (**8**). Takođe, ta vrednost je daleko niža i od vrednosti dobijene za 3-indolsirćetnu kiselinu. Tako, alkoholi prirodnih naftnih kiselina (**33**) pri koncentraciji od  $10^{-6}$  mol/L pokazuju i do 25 puta manju vrednost inhibicije klijanja u odnosu na prirodni biljni hormon.



Slika 3.24. Auksinska aktivnost alkohola model smeše naftnih kiselina (**MS-ol**) i alkohola prirodnih naftnih kiselina (**33**) u zavisnosti od primenjene koncentracije rastvora

Kada su u pitanju amidi naftnih kiselina (Slika 3.25., Tabela 7.21.) uočava se da najmanju auksinsku aktivnost ispoljavaju *n*-heptilamidi naftnih kiselina (**19**) i to pri svim apliciranim koncentracijama. Takođe, može se primetiti da je procenat inhibicije klijanja sve tri koncentracije rastvora ovog amida (**19**) približno isti odnosno, do osam puta niži u odnosu na IAA. Zapaža se da naftne kiseline (**8**), amidi naftnih kiselina (**27**) i *N,N*-dietilamidi naftnih kiselina (**20**) pri koncentraciji od  $10^{-6}$  i  $10^{-7}$  mol/L ispoljavaju gotovo isti potencijal auksinske aktivnosti koji je oko tri puta niži od aktivnosti 3-indolsirćetne kiseline. Naposletku, pri koncentraciji od  $10^{-5}$  mol/L primećuju se razlike u hormonskoj aktivnosti svih amidnih derivata naftnih kiselina, pri čemu su najveći stepen inhibicije klijanja, odnosno najveću auksinsku aktivnost, ispoljili *N,N*-dietilamidi naftnih kiselina (**20**). Pri ovoj koncentraciji, auksinska aktivnost amida **20** je bolja i od auksinske aktivnosti smeše prirodnih karboksilnih kiselina "Velebit" (**8**).



Slika 3.25. Auksinska aktivnost amida (**27**), n-heptilamida (**19**) i *N,N*-dietilamida (**20**) prirodnih naftnih kiselina u zavisnosti od primenjene koncentracije rastvora

Na osnovu svih dobijenih rezultata u ovom eksperimentu, može se zaključiti da su alkoholi individualnih (**28**, **29**, **30**, **31** i **32**) i prirodnih naftnih kiselina (**33**), kao i model smeša alkohola naftnih kiselina (**MS-ol**) pokazali mali procenat inhibicije klijanja, odnosno auksinsku aktivnost manju od prirodnog biljnog hormona 3-indolsirćetne. Najveći auksinski efekat od amida naftnih kiselina ispoljila je smeša *N,N*-dietilamidi naftnih kiselina (**20**) pri najvećoj apliciranoj koncentraciji ( $10^{-5}$  mol/L), pri čemu je vrednost inhibicije klijanja bila slična vrednosti za IAA.

### 3.6.4. Ispitivanje efekta naftnih kiselina i njihovih derivata na rast pet sojeva *Pseudomonas* sp.

Poznato je da su zagađivači prirodne sredine supstance koje se emituju u ekosistem u dovoljnim koncentracijama da dovedu do zagađenja zemljišta, vode, biljaka, životinja, mikroorganizama i ljudi.<sup>190</sup> Iz tog razloga je značajno ispitati potencijal mikroorganizama u svrhu biodegradacije, tj. iskorišćenja pojedinih zagađivača prirodne sredine kao izvora ugljenikovih atoma i energije, što rezultuje u povećanju biomase, tj. porastu broja mikroorganizama. U tom smislu, razmnožavanje mikroorganizama zavisi od hemijskog sastava zagađivača, vlage, temperature, dostupnosti nutrijenata, aeracije i drugih faktora, ali i od samog soja. Aktivnost mikroorganizama zasniva se na sposobnosti sintetisanja enzima koji katalizuju metaboličke reakcije.<sup>190,191</sup>

Zagađeno zemljište sadrži veliki broj različitih vrsta mikroorganizama koji su sposobni da iskoriste zagađivače kao izvore ugljenika i energije, za stimulaciju metabolizma i deobu ćelija. To znači da će ispuštanje zagađivača u ekosistem dovesti do selektivnog povećanja ili smanjenja mikrobne populacije. Najčešće bakterije koje usvajaju izvore ugljenika iz zagađivača su Gram-negativne bakterije (vrste rodova *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Rhodococcus*, *Citrobacter* itd.), a od Gram- pozitivnih tu spadaju vrste rodova *Bacillus*. Takođe, pojedine plesni (*Aspergillus* i *Penicillium* vrste) i kvasci (*Candida albicans*) imaju biodegradabilni potencijal.<sup>190,191</sup>

U ovom radu je ispitan uticaj naftnih kiselina i njihovih derivata na rast sojeva *Pseudomonas* sp. praćenjem rasta ovih sojeva u tečnoj kulturi. Ispitivanje je obuhvatilo:

1. umnožavanje bakterijskih sojeva,
2. dodavanje ispitivanih naftnih kiselina i njihovih derivata u tečnu podlogu,
3. očitavanje optičke gustine u tečnoj podlozi.

Sojevi *Pseudomonas* sp. deponuju se u kolekciji kultura Odeljenja za mikrobiologiju Poljoprivrednog fakulteta iz Novog Sada (sojevi su deponovani sa oznakama: PS4, P Violeta, Q16, PS2 i PS Dragana, a u daljem tekstu će redom biti označeni kao: P1, P2, P3, P4, P5). Sojevi su umnožavani u tečnoj King B podlozi (tripton: 10 g; pepton: 10 g; MgSO<sub>4</sub>: 1,5 g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 1,5 g; glicerol: 10 mL; dest.voda: 1000 mL; pH 7). Inkubacija bakterijskih sojeva je izvršena na rotacionom šejkeru (BIOSAN Incubator ES-20/60), RPM 120, na 28°C. Nakon 24 h dobijene su starter kulture, brojnosti 10<sup>8</sup> CFU/mL.

Za određivanje uticaja prirodnih naftnih kiselina i njihovih derivata, korišćena je 24-časovna kultura ispitivanih sojeva. Dodavano je 450 µL naftnih kiselina i njihovih derivata za svaki bakterijski soj. Kontrola je bila čista bakterijska kultura bez dodataka. Nakon dodatka naftnih kiselina i njihovih derivata nastavljena je inkubacija sojeva. Rast bakterijskih sojeva je praćen očitavanjem optičke gustine na spektrofotometru (UNICAM sp600) na 600 nm, nakon 24 h odnosno 48 h.

Primenjene koncentracije prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ (**8**), i njenih derivata: alkohola (jedinjenje **33**), metil-estara (jedinjenje **40**) i amida (jedinjenje **27**) bile su 10<sup>-5</sup> mol/L i 10<sup>-6</sup> mol/L, a njihov uticaj na

rast pet sojeva *Pseudomonas* sp. prikazan je u *Tabeli 3.17*. Primjenjene koncentracije hidroksamskih derivata naftnih kiselina „Velebit“ (**47**) i hidroksamskih derivata individualnih naftnih kiselina **43** i **46** bile su:  $10^{-3}$  mol/L,  $10^{-5}$  mol/L i  $10^{-7}$  mol/L, a njihov uticaj na četiri soja *Pseudomonas* sp. prikazan je u *Tabeli 3.18*.

*Tabela 3.17.* Uticaj naftnih kiselina i njihovih derivata na brojnost ispitivanih sojeva *Pseudomonas* sp. (rezultati izraženi kao CFU/mL  $\times 10^8$ )

Sojevi	P1		P2		P3		P4		P5	
Tretmani	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
Kontrola	1.80	2.24	2.58	1.86	2.48	3.04	2.53	2.56	2.22	2.58
Jedinjenje 8 $10^{-5}$ mol/L	1.504	1.38	2.05	2.96	1.50	2.96	1.81	3.04	1.98	2.40
Jedinjenje 8 $10^{-6}$ mol/L	0.28	1.47	2.16	2.72	1.60	2.88	1.87	2.80	1.86	2.96
Jedinjenje 33 $10^{-5}$ mol/L	0.80	1.30	2.32	2.64	1.56	2.16	1.41	2.72	2.32	3.04
Jedinjenje 33 $10^{-6}$ mol/L	0.73	1.25	2.56	2.96	1.66	2.42	1.52	3.20	2.16	2.64
Jedinjenje 40 $10^{-5}$ mol/L	1.312	2.64	2.72	3.20	1.71	2.08	1.71	2.86	2.08	2.42
Jedinjenje 40 $10^{-6}$ mol/L	0.76	2.08	2.58	2.88	1.88	2.64	1.5	3.20	1.68	3.20
Jedinjenje 27 $10^{-5}$ mol/L	2.02	2.80	2.69	3.20	1.80	3.06	1.55	2.72	1.89	2.24
Jedinjenje 27 $10^{-6}$ mol/L	0.69	2.42	2.26	3.12	1.26	2.88	1.50	2.86	2.00	2.90

\* crvenim brojevima su naznačene vrednosti veće u odnosu na odgovarajuću kontrolu

Iz *Tabele 3.17.* se zapaža da sa produžetkom trajanja inkubacije dolazi do povećanja broja ćelija svih ispitanih sojeva. Bakterijski sojevi P2 i P4 su nakon 48 h imali bolji rast u odnosu na kontrolu, što upućuje na pretpostavku da ovi sojevi koriste prirodne naftne kiseline i sve njene derivate u obe ispitane koncentracije za stimulaciju metabolizma, deobu ćelija ili kao izvor ugljenikovih atoma. Soj P5 se takođe pokazao kao soj koji koristi sve ispitane uzorke u nižoj primenjenoj koncentraciji ( $10^{-6}$  mol/L). Soj P1 koristi samo metil-estre i amide naftnih kiselina, dok je soj P3 najmanje efikasan.

Bolja iskorišćenost naftnih kiselina i većine derivata nakon 48 h može se povezati sa činjenicom da je ćelijama potrebna postepena adaptacija na nove uslove sredine kao i vreme za aktiviranje mehanizama koji omogućuju preživljavanje i rast u novoj sredini.<sup>191</sup>

Brojnost ćelija nekih sojeva *Pseudomonas* sp. bila je veća u prisustvu ispitivanih jedinjenja pri nižim koncentracijama, npr. soj P4 u prisustvu svih derivata, a soj P5 u prisustvu metil-estrara (**40**) i amida naftnih kiselina (**27**), soj P2 u prisustvu alkohola naftnih kiselina (**33**), dok je brojnost ostalih sojeva bila veća u prisustvu većih koncentracija naftnih kiselina i derivata.



U odnosu na prirodne naftne kiseline "Velebit" (8), broj ćelija soja P2 je veći u prisustvu metil-estara (40) i amida (27), dok je broj ćelija soja P4 veća u prisustvu alkohola i metil-estara naftnih kiselina. S obzirom da je i soj P3 dostigao najveću brojnost u prisustvu amida 27 može se pretpostaviti da ispitani sojevi *Pseudomonas* sp. za stimulaciju metabolizma i deobu ćelija više koriste derivate naftnih kiselina u odnosu na prirodne naftne kiseline "Velebit".

Slična ispitivanja praćenjem promene brojnosti mikroorganizama izolovanih iz zemljišta u prisustvu komercijalno dostupnih naftnih kiselina sprovedli su Biryukova i sar.<sup>192</sup> (2007). Broj mikroorganizama u tečnoj kulturi nakon dodatka naftnih kiselina iznosio je  $2 \times 10^4$  cfu/mL, a već nakon dva dana broj se povećao 100 puta i dostigao  $2 \times 10^6$  cfu/mL, koliki je i ostao do kraja perioda inkubacije (10-15 dana). Biodegradaciju naftnih kiselina ispitivali su Ebrahimi i sar.<sup>191</sup> tako što su tečnu podlogu koja sadrži 2% naftnih kiselina inokulisali bakterijskim sojevima (broj bakterija u inokulumu bio je  $10^8$  cfu/mL). Nakon inokulacije, posle 3, 6 i 9 dana određen je broj ćelija. Najveći stepen biodegradacije pokazali su sojevi *Pseudomonas aeruginosa* i *Serratia odorifera*. Nakon 3 dana inkubacije broj ćelija se povećao na  $9.7 \times 10^8$  cfu/mL i zadržao na približnom do kraja inkubacije. Ova istraživanja ukazuju da su glavni faktori od kojih zavisi stepen biodegradacije: struktura jedinjenja, bakterijski soj i trajanje inkubacije.

Tabela 3.18. Uticaj hidroksam derivata naftnih kiselina na brojnost ispitivanih sojeva *Pseudomonas* (rezultati izraženi kao CFU/mLx10<sup>8</sup>)

Sojevi	P1		P2		P4		P5	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
Kontrola	1.44	1.54	1.28	2.08	0.79	3.2	1.79	1.82
Jedinjenje 47 10 <sup>-3</sup> mol/L	0.31	0.73	1.02	1.76	0.78	2.48	0.98	1.63
Jedinjenje 47 10 <sup>-5</sup> mol/L	0.13	0.88	0.96	1.76	0.39	3.2	0.72	1.12
Jedinjenje 47 10 <sup>-7</sup> mol/L	0.47	1.76	0.73	1.46	0.56	3.04	0.73	1.39
Jedinjenje 46 10 <sup>-3</sup> mol/L	0.41	0.80	1.02	1.34	0.38	2.05	0.78	1.23
Jedinjenje 46 10 <sup>-5</sup> mol/L	0.10	0.85	1.06	1.32	0.78	3.2	1.14	1.76
Jedinjenje 46 10 <sup>-7</sup> mol/L	0.15	0.69	0.86	1.76	0.47	2.88	1.01	1.47
Jedinjenje 43 10 <sup>-3</sup> mol/L	0.08	1.02	0.64	1.57	0.49	2.88	1.09	1.74
Jedinjenje 43 10 <sup>-5</sup> mol/L	0.56	0.76	0.59	1.76	0.64	2.05	1.13	1.04
Jedinjenje 43 10 <sup>-7</sup> mol/L	0.36	0.96	0.61	1.31	0.45	1.89	1.01	1.2

\*crvenim brojevima su naznačene vrednosti veće u odnosu na odgovarajuću kontrolu

Pri ispitivanju efikasnosti hidroksamskih derivata naftnih kiselina na rast četiri soja *Pseudomonas* sp., iz *Tabele 3.18.* uočava se da jedino soj P1 imao bolji rast u odnosu na kontrolu u prisustvu hidroksamskih derivata prirodnih naftnih kiselina "Velebit" (**47**) u najnižoj ispitanoj koncentraciji.

Iz *Tabele 3.18.* uočava se da u prisustvu hidroksamskih derivata prirodnih naftnih kiselina dolazi do redukcije broja ćelija *Pseudomonas* sp. Smanjenje bakterijske populacije (što je slučaj i sa sojevima P1 i P3 u *Tabeli 3.17.*, kao i svim sojevima u *Tabeli 3.18.*) može se objasniti strukturom ugljovodonika i njihovom koncentracijom. Naime, visoke koncentracije i toksičnost pojedinih jedinjenja dovode do smanjenja dostupnosti kiseonika i hranljivih sastojaka za mikroorganizme, što može da rezultuje smanjenjem broja mikroorganizama i inhibiranjem biodegradacije.<sup>191</sup> Smanjenje broja ćelija u prisustvu naftnih kiselina uočili su i Johnson i sar.<sup>193</sup> ispitivanjem biodegradacije naftne kiseline (40-n-butilfenil)-4-butanske kiseline) pomoću soja *Pseudomonas putida*. Utvrđeno je da sa povećanjem koncentracije naftne kiseline dolazi do smanjenja broja ćelija sa  $7.67 \times 10^6$  na  $1.27 \times 10^6$  cfu/mL usled povećane toksičnosti naftne kiseline.

Poredeći rezultate prikazane u *Tabelama 3.17.* i *3.18.* zapaža se da su prirodne naftne kiseline "Velebit", kao i njeni alkoholi, metil-estri i amidi bolje iskorišćeni od strane test mikroorganizama za razmnožavanje u odnosu na njene hidroksamske derivate i hidroksamske derivate individualnih naftnih kiselina.

Iako su istraživanja pokazala da najveći stepen biodegradacije imaju naftne kiseline sa manjim brojem C-atoma i Z brojem tj. da su aciklične naftne kiseline dostupnije za biodegradaciju od cikličnih, kao i da naftne kiseline sa nižom molekulskom masom i manjim brojem prstenova u strukturi imaju veći stepen biodegradacije,<sup>194</sup> u našem radu je potvrđeno da naftne kiseline i njeni ispitivani derivati deluju stimulatивно na povećanje brojnosti ćelija *Pseudomonas* sp.. U tom smislu, metil-estri (**40**) i primarni amidi (**27**) prirodnih naftnih kiselina "Velebit" pokazuju veći stimulativan efekat u odnosu na alkohole (**33**) i hidroksam derivate (**47**) ali i u odnosu na same karboksilne kiseline "Velebit" (**8**). Ipak za utvrđivanje stepena biodegradacije, bilo bi potrebno pored ispitivanja promene brojnosti test mikroorganizama utvrditi i koncentraciju derivate naftnih kiselina nakon perioda inkubacije.

### 3.6.5. Ispitivanje antiproliferativne aktivnosti

Razvoj novih, efikasnijih antitumorskih agenasa podrazumeva pronalaženje molekula koji u niskim koncentracijama izazivaju visok stepen inhibicije rasta neoplastičnih ćelija. Antiproliferativna aktivnost kvantitativno se izražava kao  $IC_{50}$  vrednost, odnosno kao koncentracija ispitivane supstance pri kojoj se broj tretiranih ćelija smanjuje za 50% u odnosu na netretiranu kontrolu. Prema opšte prihvaćenim kriterijumima, jedinjenje pokazuje zadovoljavajuću antiproliferativnu aktivnost ukoliko je njegova  $IC_{50}$  vrednost niža od 20  $\mu\text{mol/L}$ , a ukoliko je  $IC_{50}$  vrednost niža od 10  $\mu\text{mol/L}$ , jedinjenje pokazuje jaku antiproliferativnu aktivnost. Ako je  $IC_{50}$  u intervalu 20–100  $\mu\text{mol/L}$  supstanca pokazuje umerenu, odnosno slabu aktivnost, dok se jedinjenja čija vrednost  $IC_{50}$  prelazi 100  $\mu\text{mol/L}$  smatraju neaktivnim.

U ovom radu proučavan je uticaj odabranih novosintetizovanih jedinjenja na proliferaciju četiri ćelijske linije humanih tumora, dok je kao kontrola služila jedna zdrava humana ćelijska linija:

**MCF-7** – adenokarcinom dojke, estrogen receptor pozitivan (ER+),

**MDA-MB-231** – adenokarcinom dojke, estrogen receptor negativan (ER-),

**HT-29** – karcinom debelog creva,

**A549** – karcinom pluća,

**MRC-5** – zdrava ćelijska linija fibroblasta pluća.

Antiproliferativna aktivnost je određena *in vitro* nakon 48 časova tretiranja ćelija, kolorimetrijskim MTT testom<sup>195</sup>. Princip ove metode se zasniva na redukciji tetrazolijumove soli [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijum bromid, (MTT)] u plavo obojeni proizvod (formazan), u prisustvu mitohondrijalnog enzima sukcinat-dehidrogenaze. Količina nagradjenog formazana direktno je proporcionalna broju živih (vijabilnih) ćelija, a apsorbancija je određena na mikročitaču, na dve talasne dužine: test talasnoj dužini od 540 nm i referentnoj talasnoj dužini od 690 nm. Eksperimenti su izvedeni tako što su kulture ćelija izlagane dejstvu rastućih koncentracija (0.01, 0.1, 1, 10 i 100  $\mu\text{mol/L}$ ) ispitivanih jedinjenja tokom 48 h. Koncentracije pri kojima se postiže 50% inhibicije rasta, odnosno citotoksičnosti ( $IC_{50}$ ), određene su "Median effect" analizom pomoću programa *CalcuSyn* i prikazane su u *Tabeli 3.19*.

Tabela 3.19. *In vitro* antiproliferativna aktivnost odabranih sintetizovanih jedinjenja i prirodnih naftnih kiselina

Ispitivano jedinjenje	IC <sub>50</sub> (μmol/L), 48 h				
	MCF-7	MDA-MB-231	HT-29	A549	MRC-5
Jedinjenje 8	>100	>100	<b>11.77</b>	>100	>100
Jedinjenje 4	>100	<b>4.69</b>	>100	<b>53.12</b>	>100
Jedinjenje 40	>100	>100	<b>15.97</b>	>100	>100
Jedinjenje 37	>100	>100	>100	>100	>100
Jedinjenje 23	>100	>100	>100	<b>54.31</b>	>100
Jedinjenje 30	>100	>100	>100	>100	>100
Jedinjenje 33	>100	>100	>100	<b>61.89</b>	>100

Analizom rezultata antiproliferativne aktivnosti prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ (**8**) prikazanim u Tabeli 3.19., uočena je značajna inhibicija rasta ćelijske linije HT-29 (IC<sub>50</sub> 11.77 μmol/L) dok prema ostalim testiranim tumorskim ćelijama ovo jedinjenje nije pokazalo citotoksičnu aktivnost.

Iz Tabele 3.19. se vidi da jedinjenje **4** pokazala jaku antiproliferativnu aktivnost prema ćelijskoj liniji MDA-MB-231 (IC<sub>50</sub> 4.69 μmol/L). Slabu citotoksičnost ovo jedinjenje je ispoljilo prema A549 ćelijskoj liniji (IC<sub>50</sub> 53.12 μmol/L), dok je prema dve maligne ćelijske linije (MCF-7 i HT-29) bilo neaktivno.

Smeša hidroksamskih derivata prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ (**47**) je pokazala značajnu citotoksičnost prema ćelijskoj liniji HT-29 (IC<sub>50</sub> 15.97 μmol/L), dok prema ostalim malignim ćelijskim linijama (MCF-7, A549 i MDA-MB-231) uopšte nije detektovana antiproliferativna aktivnost. Poređenjem antiproliferativne aktivnosti prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ (**8**) sa citotoksičnošću smeše hidroksamskih derivata prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ (**47**), utvrđena je nešto manja aktivnost hidroksamskih derivata prema istoj ćelijskoj liniji HT-29.

Slabu citotoksičnu aktivnost prema A549 ćelijskoj liniji pokazali su 3-cikloheksilpropanamid (**23**) (IC<sub>50</sub> 54.31 μmol/L) i alkoholi prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ (**33**) (IC<sub>50</sub> 61.89 μmol/L), dok ova jedinjenja prema ostalim ispitivanim malignim ćelijskim linijama nisu pokazala aktivnost.

Jedinjenje **30** i jedinjenje **37** nisu pokazali antiproliferativnu aktivnost prema testiranim tumorskim ćelijskim linijama.

Na kraju, važno je istaći da ni jedno od testiranih jedinjenja nije inhibiralo proliferaciju populacije zdravih ćelija (MRC-5).

## 4. EKSPERIMENTALNI DEO

### OPŠTE METODE:

Za izvođenje reakcija uz mikrotalasnu aktivaciju korišćen je aparat *Microwave Synthesis Sistem-CEM Discover pBenchMate*, sa magnetnim mešanjem, opcijom standardnog hlađenja i infracrvenim sistemom za kontrolu i detekciju reakcione temperature. Sinteze su rađene na maloj skali ( $V_{\max} = 5.00$  mL), pod pritiskom i pri otvorenom sistemu, odnosno atmosferskom pritisku (sa reakcionim posudama od  $10 \text{ cm}^3$  do  $100 \text{ cm}^3$ ).



IR Spektri su snimljeni na FT spektrofotometru *Nexus 670* (*ThermoNicolet*, detektor DTGS), a položaj traka je dat u  $\text{cm}^{-1}$ . Svi  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektri su snimljeni na aparatu Bruker AC 250 E, uz upotrebu standardnog Bruker-ovog softvera, a uz tetrametilsilan (TMS,  $\delta$  0.00), kao interni standard na frekvenciji od 250 MHz za  $^1\text{H}$  NMR spektre, odnosno na 62.9 MHz za  $^{13}\text{C}$  NMR spektre, kod kojih se centralna linija ugljenika iz hloroforma-d nalazi na 77 ppm. Vrednosti hemijskih pomeranja ( $\delta$ -skala) su izražene u ppm vrednostima, a oznake s, d, t, q i m označavaju singlet, dublet, triplet, kvartet i multiplet.

GC-MS analiza je rađena na Agilent Technologies 7890 gasnom hromatogramu sa MSD 5975 masenim detektorom (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) u EI režimu na 70 eV. Korišćena je kolona DB5-MS (30 m  $\times$  250  $\mu\text{m}$  unutrašnjeg prečnika i 0.25  $\mu\text{m}$  debljine filma siloksana). Temperaturni program gasnog hromatografa: start na 50  $^{\circ}\text{C}$ , zadržava se 5 minuta; grejanje brzinom od 20  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  do 130  $^{\circ}\text{C}$ , zadržava se 1 minut; grejanje brzinom od 9  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  do 280  $^{\circ}\text{C}$  i zadržava se 15 minuta. Ukupno vreme trajanja temperaturnog programa je 41.67 minuta. Temperatura injektora je 250  $^{\circ}\text{C}$ . Protok nosećeg

gasa (helijum) je 1.0 ml/min u startu akvizicije. Korišćen je split način injektovanja za ubrizgavanje 1 µL rastvora analita. Detektovane su mase u rasponu od 30-550 Da.

Tok reakcija je praćen tankoslojnom hromatografijom (TLC) na aluminijumskim folijama *Silica gel 60 F<sub>254</sub>* (Merck). Hromatogrami su izazivani sa 50%-nom sumpornom kiselinom uz naknadno zagrevanje na 120°C. Optimizacija reakcionih uslova praćena je tehnikom tečne hromatografije visoke rezolucije. Korišćen je HPLC Agilent Technologies serije 1100 sa DAD detektorom. Razdvajanje komponenti postignuto je na Eclipse XDB-C18 koloni (Agilent Technologies) dimenzija 150 mm × 4,6 mm × 5 µm, na temperaturi od 25°C, uz eluiranje u izokratskom modu, uz protok od 1 cm<sup>3</sup>/min, pri čemu je mobilna faza A – H<sub>2</sub>O a faza B – ACN. Za „fleš” hromatografiju na koloni korišćen je *Silica gel 60* (0.040-0.063 mm, 230-400 mesh ASTM; Merck).

Merenja absorbancije su rađena na aparatu UV/VIS spektrofotometar, 6105 Jenway, UK.

Tačke topljenja su određene na aparatu Boetius (VEB Kombinat Nagema), metodom po Kofler-u i nisu korigovane.

U sintezi su korišćene komercijalno dostupne hemikalije kvaliteta p.a., proizvođača Fluka i Aldrich. Ekstrakti su sušeni sa anhidrovanim natrijum-sulfatom. Organski rastvarači su uparavani na rotacionom vakuum uparivaču Buchi, pri temperaturama vodenog kupatila do 60 °C.

Za obradu pojedinih rezultata korišćen je program Past: <http://folk.uio.no/ohammer/past/>

## 4.1. Izolovanje naftnih kiselina iz atmosferskog gasnog ulja vojvođanske nafte "Velebit", Tk 185-330 °C

### Opšta procedura:

Atmosfersko gasno ulje raspona destilacije 185-330 °C (200 g) ekstrahuje se sa 10 mL smeše metanol:voda:koncentrovani amonijak (2:1.5:1). Nastala emulzija se ostavi 24 h da se razdvoje slojevi nakon čega se donji vodeni sloj odvoji i upari pri čemu u balonu zaostaju sirove naftne kiseline "Velebit" (0.44 g, 0.22%).

IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):  $\nu_{\max}$  2924, 2856, 2728, 2670, 1705, 1538, 1455, 1411, 1377, 1289, 940, 812, 743, 723.

## 4.2. Prečišćavanje sirovih naftnih kiselina "Velebit" alkalnom ekstrakcijom sa kalijum-hidroksidom

Sirove naftne kiseline "Velebit" (100 g) se rastvore u petroletru (600 mL) nakon čega se uz konstantno mešanje dodaje 5M etanolni rastvor kalijum-hidroksida do pH 11. Smeša se razblaži vodom (500 mL) a potom slojevi razdvoje u levku za razdvajanje. Vodeni sloj se tretira još tri puta petroletrom (3 × 50 mL) a zatim zakiseli sumpornom kiselinom (1 : 1) do pH 3. Izdvojene naftne kiseline se ekstrahuju dietil-etrom (70, 50 i 30 mL). Etarski ekstrakt se ispira vodom (3 × 100 mL), suši anhidrovanih natrijum-sulfatom i uparava. Postupak se ponavlja četiri puta nakon čega su dobijene naftne kiseline "Velebit" zadovoljavajuće čistoće (58.2 g; 56 %; Kb 199.78 [mg KOH/g]).

IR: 2925, 2857, 2671, 1705, 1456, 1413, 1377, 1291, 1229, 939, 723.

GC-MS-EI analiza: Tabela 4.1.

Tabela 4.1. Maseni udeo determinisanih naftnih kiselina i homologih Z-serija u smeši ukupnih naftnih kiselina "Velebit"

Broj C-atoma u kiselini	Maseni udeo pojedinih klasa karboksilnih kiselina [%]							Maseni udeo kiselina sa istim brojem C-atoma [%]
	<b>Ukupne naftne kiseline "Velebit", C<sub>n</sub>H<sub>2n-2</sub>O<sub>2</sub></b>							
	Alkanske Z=0	Monociklične Z=2	Biciklične Z=4	Triciklične Z=6	Tetraciklične Z=8	Pentaciklične Z=10	Heksaciklične Z=12	
<b>15</b>	3.24	4.17	11.16	20.75	30.81	20.77	9.11	32.56
<b>16</b>	4.02	4.67	13.62	21.87	28.33	18.69	8.80	24.88
<b>17</b>	3.26	6.07	14.99	23.22	26.17	17.78	8.52	17.44
<b>18</b>	5.32	10.06	14.16	21.50	24.84	16.05	8.07	12.45
<b>19</b>	3.86	7.37	15.01	22.48	24.58	17.53	9.17	7.13
<b>20</b>	4.78	8.32	14.13	21.22	22.87	18.43	10.25	3.78
<b>21</b>	4.24	7.95	14.18	21.19	22.09	19.60	10.75	1.77
	3.82	5.81	13.25	21.70	27.74	18.80	8.88	

### 4.3. Razdvajanje naftnih kiselina “Velebit” na osnovu različite kiselosti

Naftne kiseline (2 g, 7 mmol) se rastvore u destilovanoj vodi (600 mL) dodavanjem 5% rastvora natrijum-hidroksida do pH 11 (20 mL). Nakon potpunog rastvaranja naftnih kiselina, u malim porcijama dodaje se 5% vodeni rastvor sumporne kiseline do pH 10 posle čega se etrom vrši ekstrakcija izdvojenih kiselina (60, 60, 40 mL). Dodatkom nove količine sumporne kiseline, pH se snižava za po jednu pH jedinicu, a postupak ekstrakcije ponavlja. Ekstrakcije su rađene u opsegu pH 10 do pH 2. Ekstrakti se suše anhidrovanim  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  a ekstrakciono sredstvo se ukloni uparavanjem na rotavaporu.

Tabela 4.2. Preraspodela mase ukupne smeše naftnih kiselina “Velebit” po pH vrednostima

pH vodenog rastvora	pH 10	pH 9	pH 8	pH 7	pH 6	pH 5	pH 4	pH 3	pH 2
Masa NK, [g]	2.52	3.31	2.88	0.66	0.3	0.13	0.04	0.02	0.02
Maseni udeo, [%]	25.2	33.1	28.8	6.6	3.0	1.3	0.4	0.2	0.2



## 4.4. Mikrotalasno-stimulisane amidacije individualnih naftnih kiselina u odsustvu rastvarača, primenom OTVORENOG sistema mikrotalasnog reaktora

### 4.4.1. Mikrotalasno-stimulisana amidacija 4-cikloheksilbutanske kiseline (5)

#### 4.4.1.1. Mikrotalasna sinteza *N*-(*n*-heptil)amida 4-cikloheksilbutanske kiseline (12)

4-Cikloheksilbutanska kiselina (1 g, 6 mmol) se pomeša sa *n*-heptilaminom (1.32 mL, 9 mmol). Reakciona smeša se izloži mikrotalasnom zračenju na temperaturi od 160 °C uz konstantno mešanje u toku 10 minuta. Nakon isteka reakcionog vremena, smeša se hladi na sobnu temperaturu i ekstrahuje hloroformom. Ekstrakti se prvo ispiraju 2M HCl, a zatim pomoću 5% rastvora NaHCO<sub>3</sub> (do pH 6-7). Organski sloj se odvoji, suši anhidrovanim Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i uparava na rotavaporu. Sirovi proizvod se prečisti flash hromatografijom (petroletar:etar = 5:3) nakon čega se dobija čist proizvod u prinosu od 94%.

IR (KBr, cm<sup>-1</sup>):  $\nu_{\max}$  3288, 3083, 2923, 2852, 1644, 1556, 1448, 1376, 1269, 890.

<sup>1</sup>H NMR spektar (CDCl<sub>3</sub>, ppm): 0.76 (t, 3H, CH<sub>3</sub>), 0.96-1.64 (grupa signala, 26H, 13CH<sub>2</sub>), 2.05 (t, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 3.09 (m, 2H, CH<sub>2</sub>NH), 6.75 (bs, 1H, NH).

<sup>13</sup>C NMR spektar (CDCl<sub>3</sub>, ppm): 13.72 (CH<sub>3</sub>), 22.30 (CH<sub>2</sub>), 23.08 (CH<sub>2</sub>), 26.04 (CH<sub>2</sub>), 26.34 (CH<sub>2</sub>), 26.71 (CH<sub>2</sub>), 28.77 (CH<sub>2</sub>), 29.37 (CH<sub>2</sub>), 31.50 (CH<sub>2</sub>), 33.00 (CH<sub>2</sub>), 36.64 (CH<sub>2</sub>), 36.86 (CH<sub>2</sub>), 37.23 (CH), 39.21 (NHCH<sub>2</sub>), 173.22 (C=O).

#### 4.4.1.2. Mikrotalasna sinteza *N,N*-dietilamida 4-cikloheksilbutanske kiseline (17)

4-Cikloheksilbutanska kiselina (0.5 g, 3 mmol) pomeša se sa *N,N*-dietilaminom (0.45 mL, 4.5 mmol). Reakciona smeša se izloži mikrotalasnom zračenju na temperaturi od 160 °C uz konstantno mešanje u toku 15 minuta. Po isteku reakcionog vremena, smeša se ohladi na sobnu temperaturu i ekstrahuje hloroformom. Ekstrakti se prvo ispiraju 2M HCl, a zatim pomoću 5% rastvora NaHCO<sub>3</sub> (do pH 6-7). Organski sloj se odvoji, suši anhidrovanim Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i uparava na rotavaporu. Sirovi proizvod se prečisti flash hromatografijom (petroletar:etar = 5:3) nakon čega je prinos čistog 4-cikloheksil-*N,N*-dietilbutanamida 47%.

IR (KBr, cm<sup>-1</sup>):  $\nu_{\max}$  2970, 2923, 2850, 2668, 1729, 1644, 1448, 1428, 1379, 1310, 1269, 1222, 1096, 1033, 944, 890, 796.

<sup>1</sup>H NMR spektar (CDCl<sub>3</sub>, ppm): 0.60-1.64 (grupa signala, 21H, 7CH<sub>2</sub>, 2CH<sub>3</sub>, CH), 2.11 (t, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 3.17 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 12.67 i 13.97 ( $2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 22.04 ( $\text{CH}_2$ ), 22.45 ( $\text{CH}_2$ ), 25.78 ( $\text{CH}_2$ ), 25.96 ( $\text{CH}_2$ ), 26.28 ( $\text{CH}_2$ ), 32.75 ( $\text{CH}_2$ ), 32.90 ( $\text{CH}_2$ ), 36.88 ( $\text{CH}_2$ ), 37.19 ( $\text{CH}$  iz prstena), 39.62 i 41.58 ( $2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 171.91 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

#### 4.4.2. Mikrotalasno-stimulisana amidacija dekanske kiseline (7)

##### 4.4.2.1. Mikrotalasna sinteza *N*-(*n*-heptil)amida dekanske kiseline (13)

*n*-Dekanska kiselina (1 g, 6 mmol) pomeša se sa *n*-heptilaminom (0.88 mL, 6 mmol). Reakciona smeša se izloži mikrotalasnom zračenju na temperaturi od 160 °C uz konstantno mešanje u toku 20 minuta. Po isteku reakcionog vremena, smeša se ohladi na sobnu temperaturu i ekstrahuju hloroformom. Ekstrakti se prvo ispiraju sa 2M HCl, a zatim pomoću 5% rastvora  $\text{NaHCO}_3$  (do pH 6-7). Organski sloj se odvoji, suši anhidrovanim  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  i uparava na rotavaporu. Sirovi proizvod se prečisti flash hromatografijom (petroletar:etar = 5:3) nakon čega je 82% prinos čistog jedinjenja.

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3296, 3088, 2955, 2852, 1638, 1557, 1466, 1377, 1249, 1116, 945, 756.

$^1\text{H}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0.73 (m, 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 1.00-1.56 (grupa signala, 24H,  $12\text{CH}_2$ ), 2.05 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.05 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ), 7.00 (bs, 1H,  $\text{NH}$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 13.64 ( $\text{CH}_3$ ), 13.67 ( $\text{CH}_3$ ), 22.26 ( $\text{CH}_2$ ), 25.71 ( $\text{CH}_2$ ), 26.69 ( $\text{CH}_2$ ), 28.75 ( $\text{CH}_2$ ), 28.92 ( $\text{CH}_2$ ), 28.98 ( $\text{CH}_2$ ), 29.04 ( $\text{CH}_2$ ), 29.09 ( $\text{CH}_2$ ), 29.17 ( $\text{CH}_2$ ), 29.22 ( $\text{CH}_2$ ), 29.31 ( $\text{CH}_2$ ), 31.55 ( $\text{CH}_2$ ), 36.25 (CH), 39.19 ( $\text{NHCH}_2$ ), 173.34 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

##### 4.4.2.2. Mikrotalasna sinteza *N,N*-dietilamida dekanske kiseline (18)

*n*-Dekanska kiselina (1 g, 6 mmol) pomeša se sa *N,N*-dietilaminom (0.41 mL, 4 mmol). Reakciona smeša se izloži mikrotalasnom zračenju na temperaturi od 160 °C uz konstantno mešanje u toku 10 minuta. Po isteku reakcionog vremena, smeša se ohladi na sobnu temperaturu i ekstrahuju hloroformom. Ekstrakti se prvo ispiraju sa 2M HCl, a zatim pomoću 5% rastvora  $\text{NaHCO}_3$  (do pH 6-7). Organski sloj se odvoji, suši anhidrovanim  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  i uparava na rotavaporu. Sirovi proizvod se prečisti flash hromatografijom (petroletar:etar = 5:3) nakon čega je prinos 10%.

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  2926, 2854, 2668, 1730, 1644, 1462, 1428, 1379, 1363, 1309, 1261, 1223, 1144, 1097, 946, 946.

$^1\text{H}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0.65-1.63 (grupa signala, 23H,  $7\text{CH}_2$ ,  $3\text{CH}_3$ ), 2.18 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.28 (m, 4H,  $2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 12.86 ( $\text{CH}_3$ ), 13.84 i 14.16 ( $2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 22.43 ( $\text{CH}_2$ ), 24.83 ( $\text{CH}_2$ ), 25.29 ( $\text{CH}_2$ ), 29.06 ( $\text{CH}_2$ ), 29.26 ( $\text{CH}_2$ ), 31.65 ( $\text{CH}_2$ ), 32.93 ( $\text{CH}_2$ ), 39.81 i 41.76 ( $2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 172.14 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

## 4.5. Mikrotalasno-stimulisane amidacije individualnih naftnih kiselina u odsustvu rastvarača, primenom ZATVORENOG sistema mikrotalasnog reaktora

### 4.5.1. Mikrotalasno katalizovane sinteze *N*-(*n*-heptil)amida individualnih naftnih kiselina

Amidacija individualnih naftnih kiselina izvedena je sa *n*-heptilaminom bez rastvarača u mikrotalasnom reaktoru pod pritiskom. Rađeno je sa pet različitih sintetskih individualnih kiselina. Individualna naftna kiselina (10 mmol) se pomeša sa *n*-heptilaminom (10 mmol) nakon čega se reakciona smeša, uz konstantno mešanje, izloži mikrotalasnom zračenju na temperaturi od 235°C. Reakcija se ozračuje ukupno 30 sekundi nakon čega se reakciona smeša ohladi na sobnu temperaturu i ekstrahuje hloroformom. Ekstrakti se prvo ispiraju 2M HCl, a zatim pomoću 5% rastvora NaHCO<sub>3</sub> (do pH 6-7). Organski sloj se odvoji, suši anhidrovanim Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i uparava na rotavaporu. Sirovi proizvod se po potrebi prečisti flash hromatografijom (petroletar:etar = 5: 3) pri čemu se dobijaju čisti proizvodi u opsegu prinosa od 83-97%.

#### *N*-heptilbenzamid (9)

Prinos: 83.32%

**IR** (KBr, cm<sup>-1</sup>):  $\nu_{\max}$  3316, 3065, 3030, 2956, 2928, 2856, 1957, 1637, 1603, 1578, 1490, 1466, 1310, 1185, 1156, 1075, 1027, 927, 802, 695.

**<sup>1</sup>H NMR** spektar (CDCl<sub>3</sub>, ppm): 0.81 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, *J*=5.18 Hz), 1.21-1.52 (grupa signala, 10H, 5CH<sub>2</sub>), 3.32 (m, 2H, CH<sub>2</sub>NH), 7.24-7.80 (grupa signala, 6H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> i NH).

**<sup>13</sup>C NMR** spektar (CDCl<sub>3</sub>, ppm): 13.76 (CH<sub>3</sub>), 22.28 (CH<sub>2</sub>), 26.72 (CH<sub>2</sub>), 28.74 (CH<sub>2</sub>), 29.33 (CH<sub>2</sub>), 31.46 (CH<sub>2</sub>), 39.90 (NHCH<sub>2</sub>), 126.80 (CH-Ar), 127.96 (CH-Ar), 130.76 (CH-Ar), 134.49 (Cq-Ar), 167.50 (C=O).

#### *N*-heptilcikloheksankarboksamid (10)

Prinos: 86.02%

**IR** (KBr, cm<sup>-1</sup>):  $\nu_{\max}$  3293, 3082, 2928, 2855, 1643, 1548, 1450, 1377, 1258, 1217, 1143, 948, 894.

**<sup>1</sup>H NMR** spektar (CDCl<sub>3</sub>, ppm): 0.83 (m, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.21-2.14 (grupa signala, 21H, 10CH<sub>2</sub> i CH iz prstena), 3.09 (m, 2H, CH<sub>2</sub>NH), 5.84 (bs, 1H, NH).

**<sup>13</sup>C NMR** spektar (CDCl<sub>3</sub>, ppm): 13.72 (CH<sub>3</sub>), 22.29 (CH<sub>2</sub>), 25.51 (CH<sub>2</sub>), 26.66 (CH<sub>2</sub>), 28.74 (CH<sub>2</sub>), 29.47 (CH<sub>2</sub>), 31.49 (CH<sub>2</sub>), 39.07 (NHCH<sub>2</sub>), 45.16 (CH), 176.03 (C=O).

#### 3-cikloheksil-*N*-heptilpropanamid (11)

Prinos: 93.67%

**IR** (KBr, cm<sup>-1</sup>):  $\nu_{\max}$  3290, 3084, 2924, 2853, 1644, 1553, 1449, 1377, 1279, 964, 887.

**<sup>1</sup>H NMR** spektar (CDCl<sub>3</sub>, ppm): 0.84 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, *J*=6.33 Hz), 1.24-1.64 (grupa signala, 23H, 11CH<sub>2</sub> i CH), 2.15 (t, 2H, CH<sub>2</sub>CO), 3.21 (m, 2H, CH<sub>2</sub>NH), 5.89 (bs, 1H, NH).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 13.89 ( $\text{CH}_3$ ), 22.44 ( $\text{CH}_2$ ), 26.11 ( $\text{CH}_2$ ), 26.79 ( $\text{CH}_2$ ), 28.86 ( $\text{CH}_2$ ), 29.54 ( $\text{CH}_2$ ), 31.63 ( $\text{CH}_2$ ), 32.97 ( $\text{CH}_2$ ), 34.15 ( $\text{CH}_2$ ), 37.27 ( $\text{CH}$ ), 39.40 ( $\text{NHCH}_2$ ), 173.43 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

#### 4-cikloheksil-*N*-heptilbutanamid (12)

Prinos: 92.15%

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3288, 3083, 2923, 2852, 1644, 1556, 1448, 1376, 1269, 890.

$^1\text{H}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0.76 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 0.96-1.64 (grupa signala, 26H,  $13\text{CH}_2$ ), 2.05 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.09 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ), 6.75 (bs, 1H,  $\text{NH}$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 13.72 ( $\text{CH}_3$ ), 22.30 ( $\text{CH}_2$ ), 23.08 ( $\text{CH}_2$ ), 26.04 ( $\text{CH}_2$ ), 26.34 ( $\text{CH}_2$ ), 26.71 ( $\text{CH}_2$ ), 28.77 ( $\text{CH}_2$ ), 29.37 ( $\text{CH}_2$ ), 31.50 ( $\text{CH}_2$ ), 33.00 ( $\text{CH}_2$ ), 36.64 ( $\text{CH}_2$ ), 36.86 ( $\text{CH}_2$ ), 37.23 ( $\text{CH}$ ), 39.21 ( $\text{NHCH}_2$ ), 173.22 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

#### *N*-heptildekanamid (13)

Prinos: 97.15%

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3296, 3088, 2955, 2852, 1638, 1557, 1466, 1377, 1249, 1116, 945, 756.

$^1\text{H}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0.73 (m, 6H,  $2\text{CH}_3$ ), 1.00-1.56 (grupa signala, 24H,  $12\text{CH}_2$ ), 2.05 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.05 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ), 7.00 (bs, 1H,  $\text{NH}$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 13.64 ( $\text{CH}_3$ ), 13.67 ( $\text{CH}_3$ ), 22.26 ( $\text{CH}_2$ ), 25.71 ( $\text{CH}_2$ ), 26.69 ( $\text{CH}_2$ ), 28.75 ( $\text{CH}_2$ ), 28.92 ( $\text{CH}_2$ ), 28.98 ( $\text{CH}_2$ ), 29.04 ( $\text{CH}_2$ ), 29.09 ( $\text{CH}_2$ ), 29.17 ( $\text{CH}_2$ ), 29.22 ( $\text{CH}_2$ ), 29.31 ( $\text{CH}_2$ ), 31.55 ( $\text{CH}_2$ ), 36.25 ( $\text{CH}$ ), 39.19 ( $\text{NHCH}_2$ ), 173.34 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

## 4.5.2. Mikrotalasno katalizovane sinteze *N,N*-dietilamida individualnih naftnih kiselina

Individualna naftna kiselina (10 mmol) i *N,N*-dietilamin (10 mmol) se pomešaju nakon čega se reakcioni balon ozrači mikrotalasima u zatvorenom sistemu mikrotalasnog reaktora na temperaturi od 235°C. Reakciona smeša se ozračuje uz konstatno mešanje u trajanju od jednog minuta. Po isteku reakcionog vremena, smeša se ohladi na sobnu temperaturu i ekstrahuje hloroformom. Ekstrakti se prvo ispiraju sa 2M HCl, a zatim pomoću 5% rastvora  $\text{NaHCO}_3$  (do pH 6-7). Organski sloj se odvoji, suši anhidrovanim  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  i uparava na rotavaporu. Sirovi proizvod se po potrebi prečisti na flash koloni hromatografijom (petroletar:etar = 5:3) pri čemu su dobijeni čisti proizvodi u rasponu prinosa od 45-63%.

#### *N,N*-dietilbenzamid (14)

Prinos: 44.69%

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3345, 3060, 2973, 2934, 2874, 1633, 1578, 1538, 1494, 1428, 1381, 1364, 1287, 1220, 1097, 1072, 1027, 942, 871, 786, 705, 628.

$^1\text{H}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 1.07 (6H,  $2\text{CH}_3$ ), 3.21 (4H,  $2\text{CH}_2\text{N}$ ), 7.21 (5H, Ar).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 12.37 i 13.69 ( $2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 38.72 i 42.77 ( $2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 125.70, 127.44, 128.54 ( $\text{CH-Ar}$ ), 136.77 ( $\text{Cq-Ar}$ ), 170.67 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

***N,N*-dietilcikloheksankarboksamid (15)**

Prinos: 53.75 %

**IR** (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3485, 2930, 2855, 1634, 1480, 1450, 1429, 1379, 1361, 1317, 1263, 1220, 1152, 1096, 944, 810, 729. **$^1\text{H}$  NMR** spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0.96 i 1.06 (2t, 6H,  $J_{\text{CH}_2\text{CH}_3}=7.0$  Hz, 2  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1.72-1.78 (m, 10H, 5  $\text{CH}_2$ ), 2.29 (tt, 1H,  $J_{\text{CH}_2\text{CH}} = 11.3$  Hz i 4.0 Hz, CH) 3.21 (m, 4H, 2  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ). **$^{13}\text{C}$  NMR** spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 12.78 i 14.68 ( $\text{CH}_3$ , 2 $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 25.58 i 29.33 (5 $\text{CH}_2$ ), 39.75 i 41.41 (2  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 40.48 (CH iz prstena), 175.19 (C=O).***N,N*-dietilpropanamid (16)**

Prinos: 59.84 %

**IR** (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3471, 2971, 2923, 2851, 1644, 1448, 1427, 1379, 1382, 1313, 1277, 1259, 1223, 1142, 1096, 964, 908, 789. **$^1\text{H}$  NMR** spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0.75-1.73 (grupa signala, 19H, CH, 6 $\text{CH}_2$ , 2 $\text{CH}_3$ ), 2.21 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.34 (m, 4H, 2 $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ). **$^{13}\text{C}$  NMR** spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 12.93 i 14.25 ( $\text{CH}_3$ , 2 $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 26.13 ( $\text{CH}_2$ ), 26.44 ( $\text{CH}_2$ ), 30.51 ( $\text{CH}_2$ ), 32.80 ( $\text{CH}_2$ ), 33.04 ( $\text{CH}_2$ ), 37.39 (CH), 39.86 i 41.83 (2  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 172.46 (C=O).***N,N*-dietilbutanamid (17)**

Prinos: 63.23%

**IR** (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  2970, 2923, 2850, 2668, 1729, 1644, 1448, 1428, 1379, 1310, 1269, 1222, 1096, 1033, 944, 890, 796. **$^1\text{H}$  NMR** spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0.60-1.64 (grupa signala, 21H, 7 $\text{CH}_2$ , 2 $\text{CH}_3$ , CH), 2.11 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.17 (m, 4H, 2 $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ). **$^{13}\text{C}$  NMR** spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 12.67 i 13.97 (2 $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 22.04 ( $\text{CH}_2$ ), 22.45 ( $\text{CH}_2$ ), 25.78 ( $\text{CH}_2$ ), 25.96 ( $\text{CH}_2$ ), 26.28 ( $\text{CH}_2$ ), 32.75 ( $\text{CH}_2$ ), 32.90 ( $\text{CH}_2$ ), 36.88 ( $\text{CH}_2$ ), 37.19 (CH iz prstena), 39.62 i 41.58 (2 $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 171.91 (C=O).***N,N*-dietildekanamid (18)**

Prinos: 59.07%

**IR** (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  2926, 2854, 2668, 1730, 1644, 1462, 1428, 1379, 1363, 1309, 1261, 1223, 1144, 1097, 946, 946. **$^1\text{H}$  NMR** spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0.65-1.63 (grupa signala, 23H, 7 $\text{CH}_2$ , 3 $\text{CH}_3$ ), 2.18 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.28 (m, 4H, 2  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ). **$^{13}\text{C}$  NMR** spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 12.86 ( $\text{CH}_3$ ), 13.84 i 14.16 (2 $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 22.43 ( $\text{CH}_2$ ), 24.83 ( $\text{CH}_2$ ), 25.29 ( $\text{CH}_2$ ), 29.06 ( $\text{CH}_2$ ), 29.26 ( $\text{CH}_2$ ), 31.65 ( $\text{CH}_2$ ), 32.93 ( $\text{CH}_2$ ), 39.81 i 41.76 (2 $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 172.14 (C=O).

## 4.6. Mikrotalasno-stimulisane amidacije prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ sa primarnim, odnosno sekundarnim aminom

### 4.6.1. Mikrotalasna sinteza *N*-(*n*-heptil)amida prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ (19)

Prirodne naftne kiseline (5 mmol) se pomešaju sa *n*-heptilaminom (7,5 mmol). Reakciona smeša se izloži mikrotalasnom zračenju uz konstantno mešanje na temperaturi od 235°C i trajanju od 60 minuta. Tok reakcije je praćen tankoslojnom hromatografijom na silikagelu (petroletar:etar = 5: 3) prekidanjem mikrotalasnog ozračivanja nakon 30 sekundi, 1, 5, 10, 15, 30, 45 i 60 minuta. Nakon isteka reakcionog vremena, smeša se hladi na sobnu temperaturu i ekstrahuje hloroformom. Ekstrakti se prvo ispiraju 2M HCl, a zatim pomoću 5% rastvora NaHCO<sub>3</sub> (do pH 6-7). Organski sloj se odvoji, suši anhidrovanim Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a rastvarač upari. Nakon obrade reakcione smeše dobijen je smeđi, uljasti *N*-(*n*-heptil)amid prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ (19) u prinosu od 94.1%.

IR (KBr, cm<sup>-1</sup>):  $\nu_{\max}$  3290, 3083, 2926, 2856, 1644, 1557, 1455, 1377, 1249, 957.

<sup>1</sup>H NMR spektar (CDCl<sub>3</sub>, ppm): 0.45-2.42 (grupa signala, CH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>), 3.18 i 3.20 (NHCH<sub>2</sub>), 5.80 (CONH).

<sup>13</sup>C NMR spektar (CDCl<sub>3</sub>, ppm): 172.56-173.08 (C=O).

### 4.6.2. Mikrotalasna sinteza *N,N*-dietilamida prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ (20)

Prirodne naftne kiseline „Velebit“ (5 mmol) pomešaju se sa *N,N*-dietilaminom (7.5 mmol). Reakciona smeša se izloži mikrotalasnom zračenju i temperaturi od 235 °C uz konstantno mešanje u toku 60 minuta. Tok reakcije je praćen tankoslojnom hromatografijom na silikagelu (petroletar:etar = 5:3). Po isteku reakcionog vremena, smeša se ohladi na sobnu temperaturu i ekstrahuje hloroformom. Ekstrakti se prvo ispiraju sa 2M HCl, a onda pomoću 5% rastvora NaHCO<sub>3</sub> (do pH 6-7). Organski sloj se odvoji, suši anhidrovanim Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i upari. Sirovi proizvod se prečisti flash hromatografijom (petroletar:etar = 5: 3) nakon čega se dobija čist proizvod (20) u prinosu od 47.42%.

IR (KBr, cm<sup>-1</sup>):  $\nu_{\max}$  2926, 2869, 1645, 1459, 1427, 1378, 1261, 1222, 1134, 1096.

<sup>1</sup>H NMR spektar (CDCl<sub>3</sub>, ppm): 0.55-2.40 (grupa signala, CH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>), 3.22-3.28 (NHCH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C NMR spektar (CDCl<sub>3</sub>, ppm): 171.81-172.09 (C=O).

## 4.7. Mikrotalasno-stimulisane sinteze primarnih amida iz slobodnih karboksilnih kiselina i uree

### 4.7.1. Mikrotalasno katalizovane sinteze amida iz karboksilnih kiselina i uree bez upotrebe katalizatora

Individualne (**2-7**) i prirodne (**8**) naftne kiseline (1 mmol) pomešaju se sa ureom (2 mmol). Reakciona smeša se izloži mikrotalasnom zračenju uz konstantno mešanje u ukupnom trajanju od 60 sekundi na temperaturi od 180 °C. Sinteza je rađena u zatvorenom sistemu mikrotalasnog reaktora pod pritiskom u temperaturno-kontrolnom modu. Tok reakcije je praćen tankoslojnom hromatografijom na silikagelu (EtOAc:petroletar=4:1). Nakon isteka reakcionog vremena, smeša se hladi na sobnu temperaturu a sirov proizvod prečisti flash hromatografijom (EtOAc:petroletar=4:1). Nakon prečišćavanja dobijeni su sledeći amidi: cikloheksilkarboksamid (**21**, 37.0%), cikloheksiletanamid (**22**, 42.61%), 3-cikloheksilpropanamid (**23**, 40.26%), 4-cikloheksilbutanamid (**24**, 67.47%), dicikloheksiletanamid (**25**, 17.06%), dekanamid (**26**, 63.7%), dok amidi prirodnih naftnih kiselina nisu dobijeni.

### 4.7.2. Mikrotalasno katalizovane sinteze amida iz karboksilnih kiselina i uree korišćenjem imidazola kao katalizatora

Individualne (**2-7**) i prirodne (**8**) naftne kiseline (1 mmol) i urea (2 mmol) pomešaju se sa imidazolom (1 mmol). Reakciona smeša se postavi u mikrotalasni reaktor i izloži mikrotalasnom zračenju uz konstantno mešanje na temperaturi od 180 °C i trajanju od 60 sekundi. Po isteku reakcionog vremena, smeša se hladi na sobnu temperaturu nakon čega se sirovi proizvod prečisti na flash koloni (EtOAc:petroletar=4:1). Nakon prečišćavanja dobijeni su sledeći amidi: cikloheksilkarboksamid (**21**, 60.56%), cikloheksiletanamid (**22**, 41.10%), 3-cikloheksilpropanamid (**23**, 25.34%), 4-cikloheksilbutanamid (**24**, 41.45%), dicikloheksiletanamid (**25**, 29.08%), dekanamid (**26**, 58.76%) i smeša amida prirodnih naftnih kiselina (**27**, 50.15%).

### 4.7.3. Mikrotalasno katalizovane sinteze amida iz karboksilnih kiselina i uree korišćenjem cirkonil-hlorida kao katalizatora

Individualne (**2-7**) i prirodne (**8**) naftne kiseline (1 mmol) i urea (2 mmol) pomešaju se sa cirkonil-hloridom (10 mol %). Reakciona smeša se postavi u mikrotalasni reaktor i izloži mikrotalasnom zračenju uz konstantno mešanje na temperaturi od 180 °C i u trajanju od 60 sekundi. Tok reakcije je praćen tankoslojnom hromatografijom na silikagelu (EtOAc:petroletar=4:1) isključivanjem mikrotalasnog tretmana sukcesivno nakon 5, 15, 30 i 60 sekundi. Smeša se hladi na sobnu temperaturu i ekstrahuje etilacetatom. Ekstrakti se ispiraju sa 2M HCl, 5% NaHCO<sub>3</sub> a zatim vodom (do pH 6-7).

Organski sloj se odvoji, suši anhidrovanim  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  i upari na rotavaporu. Sirovi proizvod se prečisti na flash koloni (EtOAc:petroleter=4:1) nakon čega su dobijeni sledeći amidi: cikloheksilkarboksamid (**21**, 47.91%), cikloheksiletanamid (**22**, 53.11%), 3-cikloheksilpropanamid (**23**, 51.70%), 4-cikloheksilbutanamid (**24**, 64.64%), dicikloheksiletanamid (**25**, 20.48%), dekanamid (**26**, 63.60%) i smeša amida prirodnih naftnih kiselina (**27**, 35.83%).

#### Spektroskopski podaci sintetisanih amida:

##### Cikloheksilkarboksamid (21)

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3345, 3170, 2928, 2851, 1632, 1445, 1400, 1286, 1230, 1154, 921, 790.

$^1\text{H}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 1.05-2.20 (grupa signala, 11H,  $5\text{CH}_2$ , CH), 5.58-6.42 (bs,  $\text{CONH}_2$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 25.76 ( $\text{CH}_2$ ), 29.57 ( $\text{CH}_2$ ), 44.65 (CH), 179.49 (C=O iz amida).

##### Cikloheksiletanamid (22)

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3357, 3176, 2921, 2850, 1664, 1630, 1448, 1414, 1322, 1271, 1201, 1148, 942, 722.

$^1\text{H}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0.85-1.84 (grupa signala, 11H,  $5\text{CH}_2$  i CH), 2.08 (d, 2H,  $\text{CH}_2$ ,  $J=6.7$  Hz), 5.56 i 5.97 (bs, 2H,  $\text{CONH}_2$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 26.01 ( $\text{CH}_2$ ), 33.07 ( $\text{CH}_2$ ), 35.18 (CH), 43.99 ( $\text{CH}_2\text{CONH}_2$ ), 175.18 (C=O).

##### 3-cikloheksilpropanamid (23)

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3398, 3193, 2925, 2852, 1649, 1451, 1415, 1299, 1255, 1186, 1132, 964, 771.

$^1\text{H}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0.78-1.82 (grupa signala, 13H,  $6\text{CH}_2$  i CH), 2.23 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{CONH}_2$ ), 5.58-6.28 (bs, 2H,  $\text{CONH}_2$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 26.14 ( $\text{CH}_2$ ), 26.44 ( $\text{CH}_2$ ), 32.88 ( $\text{CH}_2$ ), 32.97 ( $\text{CH}_2$ ), 33.38 ( $\text{CH}_2\text{CONH}_2$ ), 37.21 (CH), 176.54 (C=O).

##### 4-cikloheksilbutanamid (24)

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3355, 3186, 2922, 2851, 1664, 1632, 1447, 1417, 1317, 1215, 1167, 1144, 967, 756.

$^1\text{H}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0.70-1.78 (grupa signala, 15H,  $7\text{CH}_2$  i CH), 2.21 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CONH}_2$ ), 5.76-6.4 ( $\text{CONH}_2$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 22.83 ( $\text{CH}_2$ ), 26.19 ( $\text{CH}_2$ ), 26.50 ( $\text{CH}_2$ ), 33.12 ( $\text{CH}_2$ ), 36.14 ( $\text{CH}_2$ ), 36.85 ( $\text{CH}_2$ ), 37.30 (CH), 176.45 (C=O).

##### 2,2-dicikloheksiletanamid (25)

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3427, 3362, 2930, 2916, 1652, 1446, 1421, 1294, 1267, 1215, 1173, 893, 613

$^1\text{H}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 1.02-1.89 (grupa signala, 23H,  $10\text{CH}_2$ , 3CH), 5.35 i 5.52 (bs, 2H,  $\text{CONH}_2$ )



$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 26.51, 26.73, 29.63, 31.60 ( $\text{CH}_2$ ), 36.33 ( $\text{CH}$ ), 58.73 ( $\text{CH}$ ), 176.65 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

#### Dekanamid (26)

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3353, 3193, 2954, 2920, 2851, 1661, 1631, 1470, 1421, 1410, 877, 720.

$^1\text{H}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0.88 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J=6.49$ ), 1.26-1.66 (grupa signala, 14H,  $7\text{CH}_2$ ), 2.27 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CONH}_2$ ), 6.01 (bs, 2H,  $\text{CONH}_2$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 14.07 ( $\text{CH}_3$ ), 22.63 ( $\text{CH}_2$ ), 25.52 ( $\text{CH}_2$ ), 29.18 ( $\text{CH}_2$ ), 29.23 ( $\text{CH}_2$ ), 29.29 ( $\text{CH}_2$ ), 29.40 ( $\text{CH}_2$ ), 31.83 ( $\text{CH}_2$ ), 35.77 ( $\text{CH}_2$ ), 176.37 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

#### Amidi prirodnih naftnih kiselina (27)

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3346, 3195, 2924, 2855, 1658, 1456, 1402.

$^1\text{H}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0.40-2.56 (grupa signala,  $\text{CH}$ ,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_3$ ), 5.85 i 6.33 (bs, 2H,  $\text{CONH}_2$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 14.02 i 14.31 ( $\text{CH}_3$ ), 19.05-50.27 (grupa signala,  $\text{CH}$  i  $\text{CH}_2$ ), 175.94-176.13 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

## **4.8. Dobijanje alkohola individualnih i prirodnih naftenskih kiselina mikrotalasno-stimulisanom redukcijom pomoću $\text{KBH}_4\text{-MgCl}_2$**

$\text{MgCl}_2$  (0.5713 g; 6 mmol) i  $\text{KBH}_4$  (0.3236 g; 6 mmol) dodaju se u suv tetrahidrofuran (10 mL). Pri anhidrovanim uslovima, reakciona smeša se intenzivno meša na tački ključanja 2h a zatim se pažljivo, u porcijama dodaje individualna, odnosno prirodna naftna kiselina (6 mmol). Reakcioni balon se izloži dejstvu mikrotalasa, pri otvorenom sistemu mikrotalasnog reaktora, u trajanju od 5-15 min pri čemu se tok reakcije prati tankoslojnom hromatografijom na silikagelu svakih 5 minuta (petroletar:etar = 4:1). Po završetku reakcije, reakciona smeša se hladi na temperaturu od 5-10 °C i prekida pažljivim dodavanjem metanola (1.5 mL). Rastvor se profiltrira a čvrsti ostatak ispere sa THF/MeOH (v/v =10:1; 15 mL). Filtrat se upari do suva a zatim suvom ostatku doda čist metanol (10 mL) koji se ponovo ukloni uparavanjem. Suv ostatak se rastvori u etil-acetatu i ispere zasićenim vodenim rastvorom natrijum-hlorida. Nakon sušenja i uklanjanja rastvarača, dobija se proizvod koji se po potrebi prečisti flash hromatografijom (petroletar:etar=5:1). Dobijena su čista jedinjenja u opsegu prinosa od 42-92%.

Tabela 4.3. Maseni udeo determinisanih alkohola naftnih kiselina i njihovih homologih Z-serija u smeši alkohola ukupnih naftnih kiselina "Velebit"

Broj C-atoma u kiselini	Maseni udeo pojedinih klasa alkohola naftnih kiselina [%]							Maseni udeo alkohola sa istim brojem C-atoma [%]
	Alkanske Z=0	Monociklične Z=2	Biciklične Z=4	Triciklične Z=6	Tetraciklične Z=8	Pentaciklične Z=10	Heksaciklične Z=12	
15	2.74	2.82	10.65	26.62	31.74	19.06	6.38	26.39
16	3.07	2.89	11.60	27.11	29.06	18.72	7.55	21.59
17	3.36	3.03	12.41	27.87	27.91	17.28	8.14	17.44
18	3.39	3.60	12.95	27.52	26.86	16.97	8.71	13.27
19	4.25	7.32	12.44	24.78	24.65	17.16	9.39	10.27
20	4.21	3.82	12.69	23.62	25.38	18.97	11.32	6.77
21	4.30	4.27	12.83	22.67	23.81	19.54	12.58	4.27
	3.33	3.56	11.88	26.50	28.35	18.22	8.16	

Spektroskopski podaci dobijenih alkohola:

#### Cikloheksilmetanola (28)

Prinos: 42%

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3340, 2922, 2852, 1449, 1378, 1090, 1034.

$^1\text{H}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0.79-1.72 (grupa signala, 11H, 5 $\text{CH}_2$  i CH), 2.80 (bs, 1H, OH), 3.35 (d, 2H,  $\text{CH}_2$ ,  $J=6.38$  Hz).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 25.73 ( $\text{CH}_2$ ), 26.49 ( $\text{CH}_2$ ), 29.49 ( $\text{CH}_2$ ), 40.30 (CH), 68.35 ( $\text{CH}_2$ ).

#### 2-cikloheksil-1-etanol (29)

Prinos: 60.81%

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3335, 2922, 2851, 1710, 1448, 1347, 1260, 1059.

$^1\text{H}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0.76-1.90 (grupa signala, 13H, 6 $\text{CH}_2$  i CH), 3.42 (bs, 1H, OH), 3.59 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 26.14 ( $\text{CH}_2$ ), 26.44 ( $\text{CH}_2$ ), 33.24 ( $\text{CH}_2$ ), 34.09 (CH), 40.06 ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 60.32 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ).

#### 3-cikloheksil-1-propanol (30)

Prinos: 91.54%

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3333, 2922, 2850, 1448, 1375, 1347, 1261, 1056.

$^1\text{H}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0.69-1.78 (grupa signala, 15H, 7 $\text{CH}_2$  i CH), 3.42 (s, 1H, OH), 3.51 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 26.20 ( $\text{CH}_2$ ), 26.50 ( $\text{CH}_2$ ), 29.84 ( $\text{CH}_2$ ), 33.21 ( $\text{CH}_2$ ), 33.30 ( $\text{CH}_2$ ), 37.36 (CH), 62.73 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ).

4-cikloheksil-1-butanol (31)

Prinos: 56%

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3335, 2922, 2851, 1710, 1448, 1347, 1260, 1059.

$^1\text{H}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0.85-1.69 (grupa signala, 17H,  $8\text{CH}_2$  i CH), 3.50 (bs, 1H, OH), 3.59 (t, 2H,  $\text{CH}_2$ ,  $J=6.57$  Hz).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 26.27 ( $\text{CH}_2$ ), 26.58 ( $\text{CH}_2$ ), 26.64 ( $\text{CH}_2$ ), 32.89 ( $\text{CH}_2$ ), 33.30 ( $\text{CH}_2$ ), 37.20 ( $\text{CH}_2$ ), 37.56 (CH), 62.76 ( $\text{CH}_2$ ).

1-dekanol (32)

Prinos: 65%

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3333, 2924, 2854, 1712, 1466, 1378, 1057.

$^1\text{H}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0.82 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.00-1.59 (grupa signala, 16H,  $8\text{CH}_2$ ), 3.52 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 4.05 (bs, 1H, OH).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 13.88 ( $\text{CH}_3$ ), 22.53 ( $\text{CH}_2$ ), 25.69 ( $\text{CH}_2$ ), 29.23 ( $\text{CH}_2$ ), 29.39 ( $\text{CH}_2$ ), 29.50 ( $\text{CH}_2$ ), 29.55 ( $\text{CH}_2$ ), 31.80 ( $\text{CH}_2$ ), 32.48 ( $\text{CH}_2$ ), 62.38 ( $\text{CH}_2$ ).

Alkoholi dobijeni redukcijom prirodnih naftnih kiselina "Velebit" (33)

Prinos: 88.79%

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3311, 2924, 2856, 1697, 1615, 1456, 1377, 1055, 722.

$^1\text{H}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0.42-2.40 (grupa signala, CH,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_3$ ), 3.65 (s, 1H, OH).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): uočava se odsustvo karbonilnog ugljenika koji je prisutan u spektru naftnih kiselina.

## 4.9. Sinteze hidroksamskih derivata individualnih i prirodnih naftnih kiselina

### Dobijanje diazometana

U balon od 250 mL doda se etanol (96%, 25 mL) i vodeni rastvor kalijum-hidroksida (5.0 g kalijum-hidroksida u 9 mL vode). Balon se poveže sa levkom za dokapavanje i kondenzatorom koji se preko lule i plastičnog creva spoji sa ispiralicom a ona sa još jednom. Obe ispiralice se hlade ledom. Prva ispiralica je prazna a u drugoj se nalazi dietil-etar za hvatanje viška diazometana. Reakcioni sud se preko uljanog kupatila zagreva na 65°C pri čemu mu se iz levka za dokapavanje pažljivo dodaje rastvor *N*-nitrozo-*N*-metil-*p*-toluensulfonamida (21.5 g; 0.1 mol) u suvom dietil-etru (200 mL). Brzina dokapavanja se usklađuje sa brzinom destilacije etarskog rastvora diazometana. Destilacija se prekida kada destilat izgubi žutu boju.

### Metilovanje karboksilnih kiselina diazometanom

Karboksilne kiseline (5 mmol) rastvore se u minimalnoj količini metanola a potom im se na sobnoj temperaturi, kapalicom dodaje svež etarski rastvor diazometana. Prestanak izdvajanja mehurića azota nakon ponovnog dodavanja etarskog rastvora diazometana ili stabilna žućkasta boja viška diazometana znak su da je metilovanje završeno. Po završetku esterifikacije, etar se ukloni na rotavaporu a ostatak ponovo rastvori u etru (20 mL) i tretira 1M vodenim rastvorom natrijum-hidroksida (3 x 5 mL). Etarski ekstrakt se ispere vodom i suši anhidrovanim natrijum-sulfatom. Po potrebi, sirovi metil-estri individualnih i prirodnih naftnih kiselina se prečiste flash hromatografijom (petroletar:etar, 4:1) nakon čega se dobijaju čisti metil-estri naftenskih kiselina.

#### Metil-benzoat (**34**)

IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):  $\nu_{\max}$  3429, 3064, 2999, 2952, 2844, 1927, 1724, 1601, 1582, 1492, 1452, 1315, 1278, 1192, 1176, 1111, 1071, 1027, 966, 937, 822.

#### Metil-cikloheksankarboksilat (**35**)

IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):  $\nu_{\max}$  2929, 2851, 1732, 1380, 1355, 1281, 1232, 1188, 1156, 1126, 1097, 1072, 998, 892, 8805, 704.

#### Metil-2-cikloheksiletanoat (**36**)

IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):  $\nu_{\max}$  2925, 2852, 1741, 1448, 1436, 1356, 1288, 1261, 1237, 1190, 1165, 1118, 1073, 1007, 939, 867, 713.

#### Metil-3-cikloheksilpropanoat (**37**)

IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):  $\nu_{\max}$  2924, 2852, 1742, 1449, 1436, 1366, 1275, 1195, 1166, 1126, 1019, 990, 884, 844, 823.

#### Metil-4-cikloheksilbutanoat (**38**)

IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):  $\nu_{\max}$  2923, 2851, 1742, 1448, 1359, 1253, 1199, 1165, 883.

**Metil-dekanoat (39)**

IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):  $\nu_{\max}$  2953, 2926, 2855, 1743, 1464, 1436, 1362, 1247, 1198, 1169, 1111, 1063, 1009, 881, 722.

**Metil-naftenati (40)**

IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):  $\nu_{\max}$  2952, 2925, 2857, 1740, 1456, 1435, 1376, 1194, 1166, 1019.

**Dobijanje hidroksilamina**

Hidroksilamin hidroklorid (6 mmol) se rastvori u metanolu (3 mL) i doda metanolnom rastvoru kalijum-hidroksida (12 mmol). Reakciona smeša se meša 15 minuta na 0 °C a zatim procedi od nastalog belog taloga i odmah koristi.

**Sinteze hidroksamskih derivata individualnih i prirodnih naftnih kiselina**

Metil-estar individualnih i prirodnih naftnih kiselina (2 mmol) se rastvori u 1 mL apsolutnog metanola. Rastvoru se doda hidroksilamin pripremljen mešanjem hidroksilamin-hidroklorida (6 mmol) i kalijum-hidroksida (12 mmol) u metanolu a potom reakciona smeša izloži dejstvu mikrotalasa na 110 °C u trajanju od jednog minuta. Po isteku reakcionog vremena, reakciona smeša se zakiseli 2M HCl do pH 4, koncentruje na rotavaporu a zatim joj se doda malo vode nakon čega se ekstrahuje etil-acetatom (3x15 mL). Organski sloj se suši bezvodnim Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i upari na rotacionom vakuum uparivaču nakon čega zaostaje sirovi proizvod koji se prečisti flash horomatografijom (hloroform:etil-acetat, 1:1 ili toluen:etil-acetat, 1:1). Dobijeni su hidroksamski derivati u rasponu prinosa od 59-93%.

**N-hidroksibenzamid (41)**

Prinos: 86%

IR (KBr, cm<sup>-1</sup>):  $\nu_{\max}$  3298, 3060, 2756, 1646, 1613, 1562, 1490, 1328, 1163, 1023, 899, 798, 705.

<sup>1</sup>H NMR spektar (DMSO, ppm): 7.41-7.77 (grupa signala, 5H, CH-Ar).

<sup>13</sup>C NMR spektar (DMSO, ppm): 127.45 (CH, Ar), 129.16 (CH, Ar), 132.07 (CH, Ar), 132.93 (Cq, Ar), 165.48 (CONHOH).

**N-hidroksicikloheksankarboksamid (42)**

Prinos: 59%

IR (KBr, cm<sup>-1</sup>):  $\nu_{\max}$  3199, 3036, 2920, 2852, 1629, 1542, 1446, 1394, 1340, 1272, 1141, 1059, 1018, 963, 808, 752.

<sup>1</sup>H NMR spektar (DMSO, ppm): 1.05-2.06 (grupa signala, 11H, CH<sub>2</sub> i CH), 5.75-6.8 (bs, 2H, CONHOH).

<sup>13</sup>C NMR spektar (DMSO, ppm): 25.39 (CH<sub>2</sub>), 29.02 (CH<sub>2</sub>), 41.92 (CH), 173.87 (CONHOH).

**2-cikloheksil-N-hidroxiacetamid (43)**

Prinos: 67%

IR (KBr, cm<sup>-1</sup>):  $\nu_{\max}$  3186, 3004, 2923, 2851, 1629, 1541, 1448, 1376, 1312, 1276, 1054, 980, 734, 633.

<sup>1</sup>H NMR spektar (DMSO, ppm): 0.74-1.95 (grupa signala, 13H, CH<sub>2</sub> i CH), 8.55-9.4 (bs, 1H, CONHOH), 10.4-10.7 (bs, 1H, CONHOH).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar (DMSO, ppm): 26.13 ( $\text{CH}_2$ ), 26.37 ( $\text{CH}_2$ ), 32.96 ( $\text{CH}_2$ ), 33.32 ( $\text{CH}_2$ ), 35.07 (CH), 169.65 ( $\text{CONHOH}$ ).

#### 3-cikloheksil-*N*-hidroksipropanamid (44)

Prinos: 78%

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3203, 3028, 2923, 2850, 1630, 1536, 1449, 1371, 1286, 1094, 983, 919, 885, 842, 734.

$^1\text{H}$  NMR spektar (DMSO, ppm): 0.70-2.20 (grupa signala, 15H,  $\text{CH}_2$  i CH), 8.0-9.6 (bs, 2H,  $\text{CONHOH}$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar (DMSO, ppm): 26.13 ( $\text{CH}_2$ ), 26.43 ( $\text{CH}_2$ ), 30.52 ( $\text{CH}_2$ ), 32.83 ( $\text{CH}_2$ ), 32.90 ( $\text{CH}_2$ ), 37.20 (CH), 172.48 ( $\text{CONHOH}$ ).

#### 4-cikloheksil-*N*-hidroksibutanamid (45)

Prinos: 72%

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3250, 3059, 2923, 2850, 1619, 1543, 1461, 1382, 1126, 1054, 987, 959, 888, 742, 606.

$^1\text{H}$  NMR spektar (DMSO, ppm): 0.52-1.97 (grupa signala, 17H,  $\text{CH}_2$  i CH), 8.87 (bs, 1H,  $\text{CONHOH}$ ), 10.49 (bs, 1H,  $\text{CONHOH}$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar (DMSO, ppm): 23.04 ( $\text{CH}_2$ ), 26.38 ( $\text{CH}_2$ ), 26.76 ( $\text{CH}_2$ ), 33.07 ( $\text{CH}_2$ ), 33.35 ( $\text{CH}_2$ ), 36.82 ( $\text{CH}_2$ ), 37.33 (CH), 170.51 ( $\text{CONHOH}$ ).

#### *N*-hidroksidekanamid (46)

Prinos: 93%

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3257, 3059, 2955, 2915, 2871, 2846, 2760, 1663, 1622, 1566, 1468, 1423, 1330, 1306, 1271, 1116, 1083, 969, 721.

$^1\text{H}$  NMR spektar (DMSO, ppm): 0.80 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 0.97-1.95 (grupa signala, 16H,  $8\text{CH}_2$ ), 8.86 (bs, 1H,  $\text{CONHOH}$ ), 10.52 (bs, 1H,  $\text{CONHOH}$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar (DMSO, ppm): 14.51 ( $\text{CH}_3$ ), 22.65 ( $\text{CH}_2$ ), 25.67 ( $\text{CH}_2$ ), 29.05 ( $\text{CH}_2$ ), 29.19 ( $\text{CH}_2$ ), 29.25 ( $\text{CH}_2$ ), 29.42 ( $\text{CH}_2$ ), 31.82 ( $\text{CH}_2$ ), 32.82 ( $\text{CH}_2$ ), 170.51 ( $\text{CONHOH}$ ).

#### Hidroksam prirodnih naftnih kiselina (47)

Prinos: 61%

IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu_{\text{max}}$  3212, 2923, 2855, 1634, 1531, 1455, 1377, 1215, 1049, 980, 759

$^1\text{H}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0.56-2.60 (grupa signala, CH,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_3$ ), 7.9-10.0 (bs, 2H,  $\text{CONHOH}$ )

$^{13}\text{C}$  NMR spektar ( $\text{CDCl}_3$ , ppm): 171.43-171.89 ( $\text{CONHOH}$ ).

## **4.10. Određivanje uticaja naftnih kiselina na propustljivost ćelijskih membrana cvekle**

Rastvor natrijum-naftenata, koncentracije 1 mmol/L, pripremljen je rastvaranjem potrebne količine naftnih kiselina u rastvoru koji sadrži ekvimolarnu količinu natrijum-hidroksida. Na isti način su pripremljeni i rastvori natrijumovih soli užih frakcija naftnih kiselina izdvojenih na pH 4, pH 8 i pH 10.

Za izračunavanja, pri pripremi rastvora Na-soli naftnih kiselina i odgovarajućih frakcija, korišćena je prosečna molekulska masa ukupnih naftnih kiselina ( $M_r(NK)=280.8$  g/mol), kao i molske mase pojedinih frakcija ( $M_r(NK-pH\ 4)=328$  g/mol,  $M_r(NK-pH\ 8)=425$  g/mol i  $M_r(NK-pH\ 10)=285$  g/mol).

Razblaživanjem ovih osnovnih rastvora pripremljeni su rastvori soli naftnih kiselina koncentracija 10, 30, 55, 80 i 100  $\mu\text{mol/L}$ . Kontrolni rastvor sadrži samo destilovanu vodu i fosfatni pufer (pH 6.7). Rastvori su pripremljeni po šemi prikazanoj u *Tabeli 4.4*.

*Tabela 4.4.* Sastav rastvora kontrole i različitih koncentracija natrijumovih soli naftnih kiselina ( $C_{Na-naftenata}$ )

$C_{Na-naft.} / \mu\text{mol/L}$	0	10	30	55	80	100
H <sub>2</sub> O / mL	16	15.8	15.4	14.9	14.4	14
Pufer pH 6.7 / mL	4	4	4	4	4	4
1 mmol/L Na-naftenata / mL	0	0.2	0.6	1.1	1.6	2

Iz ploda cvekle, bušačem prečnika 0.6 cm izvade se cilindri koji se potom seku na diskove debljine 2 mm. Dobijeni uniformni segmenti se peru tekućom vodom 6 h a zatim, potopljeni u hladnu vodu, odlažu u frižider preko noći.

Po dvadeset segmenata cvekle se prenese u čaše i tretira rastvorima različitih koncentracija natrijumovih soli kako ukupnih, tako i frakcija naftnih kiselina izdvojenih na pH 4, pH 8 i pH 10 (20 mL). Apsorbancija rastvora u odnosu na kontrolu očitavana je na spektrofotometru UV/VIS 6105 Jenway, UK, na  $\lambda=538$  nm. Absorbancija oslobođenog betanina u uzorku merena je odmah po dodavanju rastvora, nakon 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12 h i 24 h (Prilog 7.1.3., *Tabela 7.11.*, *7.12.*, *7.13.*, *7.14.*).

#### 4.11. Test ožiljavanja biljaka

Za test je korišćeno seme suncokreta. Klijanje se izvodi u mraku, na vlažnoj peščanoj podlozi, termostatoranoj na 25 °C. Semena se raspoređuju na međusobnom rastojanju od 1 cm. Kada izdanci dostignu dužinu od 10 do 13 cm, seku su odmah iznad korena, odnosno površine peska. Odrezani ponici suncokreta (po 5 komada) se stavljaju u erlenmajere sa rastvorima određenih koncentracija ( $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  i  $10^{-7}$  mol/L) individualnih i prirodnih naftnih kiselina „Velebit“, i njihovim alkoholima i amidima. Erlenmajeri sa rastvorima i biljkama stoje 10 dana na temperaturi od 20 °C nakon čega se broje adventivni korenčići čija je dužina preko 2 mm. Dobijeni rezultati su prikazani u *Tabeli 7.16.*, *Tabeli 7.17.* i *Tabeli 7.18.*

\*Za ožiljavanje reznica, naftne kiseline i njihovi alkoholi i amidi su zbog smanjene rastvorljivosti u vodi, prvo rastvoreni u minimalnoj količini metanola, a potom su pravljena razblaženja sa prokuvanom destilovanom vodom do  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  i  $10^{-7}$  mol/L.

#### 4.12. „Test inhibicije klijanja“

U Petri posude ( $\varnothing$  9 cm) postavi se filter-hartija u podlozi a na nju 50 semenki bele slačice *Sinapis alba*. U posude se potom dodaje 3.5 mL rastvora alkohola i amida individualnih i prirodnih naftnih kiselina,

kao i samih prirodnih naftnih kiselina, koncentracije  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  mol/L. Za poređenje se koristi 3-indolsirćetna kiselina u istim koncentracijama. Kao kontrola se koristi sveže prokuvana destilovana voda. Svi ogleđi se rade paralelno sa po dve probe i pri termostatiranim uslovima na 25 °C. Nakon 24 h prebrojavaju se iskljajala semena sa izdankom čija je dužina veća od polovine dužine semena (*Tabela 7.19., Tabela 7.20, Tabela 7.21.*).

Priprema rastvora 3-indolsirćetne kiseline u vodi:

3-indolsirćetna kiselina (0.0125 g) se rastvara u sveže prokuvanoj destilovanoj vodi (25 mL) dokapavanjem rastvora kalijum-hidroksida (5 mmol/L). Pripremljeni rastvor koncentracije 500 mg/L se čuva na -18 °C. Razblaživanjem ovog rastvora 3-indolsirćetne kiseline sa sveže prokuvanom destilovanom vodom, pripremljeni su rastvori koncentracija  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  mol/L.



## 5. ZAKLJUČAK

U **prvom delu** ovog rada data je detaljna grupno-strukturna analiza naftnih kiselina izolovanih iz atmosferskog gasnog ulja, komercijalne frakcije vojvođanske nafte „Velebit“. U izolovanoj i prečišćenoj smeši prirodnih naftnih kiselina analizom masenih spektara rađenih GC-MS-EI metodom, dobijen je uvid u ceo opseg molekulskih masa kiselina što je do sada najkompletnija strukturna analiza naftnih kiselina vojvođanske nafte „Velebit“. Detaljnom analizom pojedinačnih klastera u rasponu masa od 230-326, koji odgovaraju broju C atoma karboksilnih kiselina od 15 do 21 C, određena je raspodela za sedam Z-serija (Z= 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12) kiselina. U datom opsegu masa, odnosno broja C-atoma, kao najdominantnije utvrđene su triciklične i tetraciklične strukture kiselina. Takođe, utvrđeno je da sa porastom broja C atoma, opada ukupna masa kiselina po klasterima. Tako je ustanovljeno da su procentualno najmanje zastupljene kiseline sa 21 a najviše kiseline sa 15 C atoma kojih ima oko 19 puta više u odnosu na C-21 kiseline. Dalje, utvrđeno je da je u rasponu relativnih molekulskih masa kiselina od 230-326 ukupna zastupljenost alkilkarboksilnih kiselina (masne kiseline), opšte formule  $C_nH_{2n}O_2$  (z=0) 3.82%, monocikličnih kiselina opšte formule  $C_nH_{2n-2}O_2$  (z=2) 5.81%, bicikličnih kiselina opšte formule  $C_nH_{2n-4}O_2$  (z=4) 13.25%, triciklične kiseline opšte formule  $C_nH_{2n-6}O_2$  (z=6) 21.7%, tetracikličnih naftenskih kiselina opšte formule  $C_nH_{2n-8}O_2$  (Z=8) 27.74%, pentacikličnih karboksilnih kiselina opšte formule  $C_nH_{2n-10}O_2$  (z=10) 18.8% i heksacikličnih struktura opšte formule  $C_nH_{2n-12}O_2$  (z=12) 8.88%. U ukupnoj smeši kiselina ima najviše onih sa 18 C-atoma, a ispitivane naftenske kiseline iz atmosferskog ulja nafte „Velebit“ imaju prosečnu molekulsku masu od 280.8 g/mol.

Razdvajanjem ukupne smeše naftnih kiselina „Velebit“ na uže frakcije distribuisane prema kiselosti u rasponu od pH 10 do pH 2 dobijeno je devet frakcija kiselina sa sledećom zastupljenošću: 25.2% (pH 10), 33.1% (pH 9), 28.8% (pH 8), 6.6% (pH 7), 3.0% (pH 6), 1.3% (pH 5), 0.4% (pH 4), 0.2% (pH 3), 0.2% (pH 2). Razdvajanjem kiselina na osnovu razlika u rastvorljivosti pojedinih struktura karboksilnih kiselina u vodi sa promenom pH sredine više od oko 80% mase kiselina izolovano je od pH 8-10, odnosno u grupi slabijih kiselina.

Na osnovu rezultata GC-MS-EI analize potvrđena je pretpostavka o grupisanju hemijski sličnih karboksilnih kiselina nafte „Velebit“ unutar svake pH jedinice. Najuočljivija preraspodela determinisanih naftnih kiselina odigrala se na pH 3 i pH 4 gde su se dominantno grupisale triciklične i tetraciklične kiseline, na pH 7 penta- i heksaciklične kiseline, a na pH 8 biciklične strukture. Monociklične i aciklične naftne kiseline izdvojile su se na pH 9 i pH 10.

Klaster analizom užih frakcija naftnih kiselina utvrđena su asocijanja kiselina na bazi kiselosti u dva klastera. Prvi sadrži aciklične, biciklične, pentaciklične i heksaciklične strukture naftnih kiselina a drugi, mnogociklične, tri- i tetraciklične strukture. Unutar prvog klastera, izdvojila su se dva subklastera od kojih jedan obuhvata biciklične strukture čije se osobine izraženo razlikuju od svih ostalih struktura naftnih kiselina. Podaci dobijeni na osnovu dendrograma dobro se poklapaju sa podacima grupisanja naftnih kiselina pri određenim pH jedinicama. Tako, sličnost u vodenim rastvorima pokazuju tri- i tetraciklične

kiseline koje su se grupisale na pH 3 i pH 4, zatim penta- i heksaciklične naftenske kiseline grupisane na pH 7, kao i mono i aciklične strukture kiselina izdvojene na pH 9 i 10. Biciklične karboksilne kiseline su najvećim delom izdvojene na pH 8 i pokazuju najmanje sličnosti sa svim ostalim strukturama kiselina.

Na osnovu utvrđenih vrednosti za kritičnu micelarnu koncentraciju (*cmc*) ukupne smeše naftnih kiselina „Velebit“ i njenih užih frakcija na pH 4, pH 8 i pH 10, u opsegu temperatura od 10 °C do 40 °C, može se zaključiti da frakcije naftnih kiselina sa nižim sadržajem alifatičnih struktura (pH 4 i pH 8) imaju veće *cmc* vrednosti. Ova pojava se može objasniti većom krutošću hidrofobnih prstenova koji otežavaju pakovanje molekula u micelle. Natrijum-naftenati na pH 4 imaju najveću *cmc* vrednost najverovatnije zbog rigidnosti tri- i tetracikličnih prstenova koji su u najvećem procentu zastupljeni u ovoj frakciji. Na pH 8 uglavnom su zastupljene biciklične strukture naftnih kiselina koje su pogodnije za pakovanje i građenje micela te su i *cmc* vrednosti nešto niže u odnosu na vrednosti natrijum-naftenata na pH 4. Kritična micelarna koncentracija Na-naftenata ukupne smeše naftnih kiselina „Velebit“ na 25 °C je niža od *cmc* vrednosti sve tri ispitivane frakcije što se može objasniti najverovatnije formiranjem mešovitih micela između alifatičnih i cikličnih struktura koje čine smešu naftnih kiselina.

U **drugom delu** rada urađena je derivatizacija individualnih sintetskih i smeše prirodnih naftenskih kiselina iz atmosferskog gasnog ulja vojvođanske nafte „Velebit“. Sintetizovani su amidni, hidroksamski i alkoholni derivati naftenskih kiselina. Sve sinteze su dizajnirane u uslovima prilagođenim za rad u mikrotalasnom reaktoru sa ciljem skraćivanja reakcionog vremena a u većini slučajeva i usklađivanja sa principima „Zelene hemije“.

- ❖ Mikrotalasno-stimulisane reakcije amidacije sa primarnim (n-heptilaminom) i sekundarnim (N,N-dietilaminom) aminom rađene su primenom temperaturno-kontrolnog moda rada u *otvorenom* i *zatvorenom* sistemu mikrotalasnog reaktora. Sve sinteze su izvedene sa slobodnim karboksilnim kiselinama u „solvent free“ uslovima i bez upotrebe katalizatora čime je postignuta mogućnost jednostavne obrade reakcione smeše kao i eliminisanje toksičnih nusproizvoda:
  - ✓ Sinteze N-(n-heptil)amida **12** i **13** individualnih naftnih kiselina **5** i **7** pri *atmosferskom pritisku* (postupak **A**) rađene su na temperaturi od 160 °C i u rasponu snage mikrotalasa od 25-160W. Najbolji sintetski rezultati ostvareni su u sintezi 4-cikloheksil-N-heptilbutanamida (**12**) pri sledećim uslovima: odnos slobodne kiseline i n-heptilamina 1:1.5, snaga mikrotalasa 25W i vreme reakcije 10 minuta pri čemu je ostvaren prinos 94%.
  - ✓ Sinteze N-(n-heptil)amida **10-13** individualnih naftnih kiselina **1, 2, 4, 5** i **7** u *zatvorenom sistemu mikrotalasnog reaktora* (postupak **B**) rađene su na konstantnoj temperaturi od 235 °C u trajanju od 30 sekundi i pri odnosu kiselina-amin 1:1. Najbolji sintetski rezultat ostvaren je u sintezi N-heptildekanamida (**13**) (prinos 97%).

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da se kao uspešniji postupak dobijanja amida n-heptilamina pokazao postupak **B**, u kojem je amidacija rađena u zatvorenom sistemu pod pritiskom. Prinosi obe metode su u opsegu 82-99% izolovanog proizvoda, ali je reakciono

vreme reakcije amidacije značajno kraće u postupku **B**. Upoređujući dobijene rezultate postupka **A** i **B** sa rezultatima iz literature, gde su sinteze amida u odsustvu rastvarača i hemijskih katalizatora, tekle od 2-24 h na 160 °C pri konvencionalnom zagrevanju, odnosno od 30-120 min na 150 °C pri mikrotalasnom zagrevanju u otvorenom sistemu, može se zaključiti da je reakcija amidacije izvedena u *CEM Discover (BenchMate)* monomodnom mikrotalasnom reaktoru, primenjujući temperaturno-kontrolni mod rada, modifikovana na dva načina:

- ✓ Postupak **A**: MW (25-180W); 160 °C, otvoren sistem, 10-15 min; prinos 94-99% (12-140 puta brže nego konvencionalnim zagrevanjem)
  - ✓ Postupak **B**: MW; 235 °C, zatvoren sistem; 30 sec; prinos 94-97% (3-12 puta brže nego MW sinteza u otvorenom sistemu).
- ❖ Amidacije individualnih naftnih kiselina **5** i **7** sa *N,N*-dietilaminom *pri atmosferskom pritisku* (postupak **C**) rađene su na temperaturi od 160 °C i snazi mikrotalasa od 160-180W. Najbolji sintetski rezultati ostvareni su u sintezi 4-cikloheksil-*N,N*-dietilbutanamida (**17**) pri reakcionim uslovima: odnos slobodne kiseline i *N,N*-dietilamina je 1:1.5, snaga mikrotalasa 170W i vreme reakcije 15 minuta, pri čemu je ostvaren prinos 47%.

Prevođenje kiselina **1**, **2**, **4**, **5** i **7** u odgovarajuće *N,N*-dietilamide **14-18** u uslovima mikrotalaso-stimulisane amidacije u *zatvorenom sistemu* mikrotalasnog reaktora (postupak **D**), izvedeno je na konstantnoj temperaturi od 235 °C u trajanju od jedne minute i pri molskom odnosu kiseline i *N,N*-dietilamina 1:1. Najbolji sintetski rezultat ostvaren je u sintezi 4-cikloheksil-*N,N*-dietilbutanamida (**17**) (prinos 63%).

Na osnovu svih dobijenih rezultata za sintezu tercijarnih amida **14-18**, može se zaključiti da povećanje temperature i rad u zatvorenom sistemu mikrotalasnog reaktora dovode do povećanja prinosa u kraćem reakcionom vremenu. Sa druge strane, iskorišćenje supstanci koje učestvuju u reakciji u postupku **D** je maksimalno što je bitan aspekt „zelene hemije“.

Amidi naftnih kiselina „Velebit“ **19** i **20** sintetizovani su primenom zatvorenog sistema mikrotalasnog reaktora, bez prisustva rastvarača, na temperaturi od 235°C. Pri ovim reakcionim uslovima prirodne naftne kiseline izolovane iz vojvođanske nafte „Velebit“ (**8**) su reagovala sa *n*-heptilaminom i *N,N*-dietilaminom, pri čemu je za reakciono vreme od 45 minuta dobijena smeša *n*-heptilamida **19** (94%) a za reakciono vreme od 60 minuta smeša *N,N*-dietilamida **20** (47%).

- ❖ „Solvent-free“ sinteze primarnih amida **21-27** iz individualnih **2-7** i smeše prirodnih **8** naftnih kiselina i uree izvedene su u mikrotalasnom reaktoru, primenom zatvorenog sistema pod pritiskom, pri molskom odnosu kiselina-urea 1:2. Reakcione smeše su izložene temperaturi od 180 °C a primenjena su tri postupka sinteze: sinteza bez prisustva katalizatora, sinteza uz imidazol i sinteza uz cirkonil-hlorid kao katalizator. Sve reakcije amidacije su rađene potpuno u skladu sa principima „zelene hemije“ pri čemu je najbolji sintetski rezultat ostvaren u sintezi 4-cikloheksilbutanamid (**24**) (68%) za reakciono vreme od 5 sekundi i to bez prisustva hemijskog katalizatora.

- Na osnovu dobijenih rezultata za sintezu smeše amida prirodnih naftnih kiselina **27**, može se zaključiti da se kao najbolji pokazao postupak u kojem je korišćen imidazol kao katalizator (50%). Manje uspešna sinteza amida **27** ostvarena je u prisustvu cirkonil-hlorida kao katalizatora kada je za reakciono vreme od 60 sekundi postignut prinos 36%.
- ❖ Za redukciju pojedinačnih struktura naftenskih kiselina odabrane su alkil- i cikloalkilkarboksilne kiseline (**2**, **3**, **4**, **5** i **7**). Redukcija ovih karboksilnih kiselina izvedena je pomoću aktivirane smeše  $\text{KBH}_4$  i  $\text{MgCl}_2$  u suvom tetrahidrofuranu kao rastvaraču. Reakcije su se odvijale u mikrotalasnom reaktoru pri odnosu kiselina: $\text{KBH}_4$ : $\text{MgCl}_2$  1:1:1 i refluks u trajanju od 5 do 15 minuta. Ovom modifikovanom metodom klasične reakcije redukcije sa  $\text{KBH}_4$  i  $\text{MgCl}_2$  postignuto je u velikoj meri poboljšanje reakcionih uslova prevashodno u smislu značajnog skraćanja vremena trajanja sinteze. Prinosi dobijenih alkohola **28-33** nisu bitno promenjeni u odnosu na konvencionalnu redukciju istim reagensima ali je reakciono vreme skraćeno 60 puta. Najbolji rezultati redukcije individualnih naftnih kiselina u ovom radu, postignuti su za 3-cikloheksil-1-propanol (**30**) pri čemu je za reakciono vreme od 15 minuta ostvaren prinos od 92%. Prinos smeše alkohola naftnih kiselina (**33**) je relativno visok (88.79%). U poređnom analizom podataka dobijenih GC-MS-EI analizom ukupne smeše prirodnih naftnih kiselina i smeše alkohola naftnih kiselina vidi se da su maseni udeli dobijenih alkohola nešto drugačiji u odnosu na masene udele tih klasa kiselina u ukupnoj smeši naftnih kiselina. Naime, kao najmanje reaktivne u reakciji redukcije, pokazale su se monociklične karboksilne kiseline (Z=2) kojih u smeši reaktanata ima 5.81% a nakon redukcije zastupljene su sa 3.56%. Slično su se ponašale i biciklične karboksilne kiseline (Z=4) kojih u polaznoj smeši ima 13.25% a u alkohol je konvertovano 11.88%. Najviši stepen konverzije kiselina u alkohole pokazale su triciklične strukture kiselina (Z=6) jer se njihov maseni udeo povećao u odnosu na udeo u ukupnim kiselinama pre redukcije (sa 21.70% na 26.50%).
- ❖ Sintaza hidroksamskih kiselina u ovom radu, rađena je modifikovanjem konvencionalnog postupka sinteze iz estara i hidroksilamina. Upotrebom mikrotalasa, temperaturno-kontrolnog moda rada i zatvorenog sistema mikrotalasnog reaktora, izvedena je sinteza hidroksamskih derivata individualnih **1-5**, **7** i prirodnih naftnih kiselina **8** iz njihovih metil-estara. Metil-estri naftnih kiselina **34-40** reagovali su sa hidroksilaminom hidrohloridom i kalijum-hidroksidom u molskom odnosu 1:3:6. Sinteze su rađene u metanolnom rastvoru na temperaturi od 110 °C i trajanju od jedne minute. Zahvaljujući mogućnosti zagrevanja reakcione smeše do temperature (110 °C) koja je znatno viša od temperature ključanja metanola pri atmosferskom pritisku, dobijeni su hidroksamski derivati **41-47** u prinosu od 61-93%. Poređenjem dobijenih rezultata sa literaturnim podacima za sintezu hidroksamskih kiselina uz konvencionalno zagrevanje, u pogledu prinosa su dobijeni slični rezultati ali je reakciono vreme skraćeno do 30 puta. Visok stepen ubrzanja ove hemijske transformacije objašnjava se prisustvom termičkih mikrotalasnih efekata.

U **trećem delu** ovog rada ispitivana je biološka aktivnost naftnih kiselina i njihovih derivata. Ispitan je njihov uticaj na propustljivost ćelijske membrane cvekle, zatim uticaj na ožiljavanje reznica mladih

biljaka suncokreta, auksinska aktivnost, uticaj na rast pet sojeva *Pseudomonas* sp, kao i antiproliferativna aktivnost.

- ❖ Ispitivanjem uticaja naftnih kiselina i njenih užih frakcija (pH 4, pH 8 i pH 10) na propustljivost ćelijskih membrana cvekle, kao i dovođenjem u korelaciju strukture dominantnih karboksilnih kiselina na ove efekte, došlo se do zaključka da porastom koncentracije od 10-100  $\mu\text{mol/L}$  ali i produžavanjem trajanja tretmana do 24 h raste raste uticaj na propustljivost ćelijske membrane cvekle. Dalje, pokazalo se da postoje razlike u efektima na propustljivost membrana ćelija koji su povezani sa strukturama karboksilnih kiselina koje su dominantno zastupljene u ispitivanoj ukupnoj smeši ispitivanih naftnih kiselina i njenim užim frakcijama. Frakcija naftnih kiselina koja ispoljava najveći uticaj na ovaj efekat, izolovana je pri pH 8 i po hemijsko-strukturnom sastavu dominantno sadrži biciklične strukture naftnih kiselina koje su u najvećoj meri zaslužne za ispitivani uticaj. Efekat koji izaziva frakcija pH 8 je nešto izraženiji u odnosu na efekat Na-naftenata ukupnih naftnih kiselina gde su najzastupljenije tetra- i pentaciklične strukture što odgovara i nešto manjem uticaju natrijum-naftenata na pH 4 gde su najzastupljenije tri- i tetraciklične strukture. Konačno, frakcija koja je najmanje uticala na posmatranu promenu propustljivosti membrane ćelija cvekle je frakcija pH 10 koju u najvećem procentu čine aciklične i monociklične strukture karboksilnih kiselina kojih u ukupnoj smeši prirodnih naftnih kiselina ima najmanje.
- ❖ Ožiljavanje mladih biljaka suncokreta rađeno je sa alkoholima individualnih naftnih kiselina (**28-32**), njihovom model smešom (**MS-ol**), alkoholima (**33**) i amidima (**19, 20 i 27**) prirodnih naftnih kiselina, kao i samom smešom prirodnih naftnih kiselina "Velebit" (**8**).
  - ✓ Na osnovu dobijenih rezultata, zaključeno je da najveći uticaj na stimulaciju ožiljavanja kod mladih biljaka suncokreta, od alkohola individualnih naftnih kiselina, ima alkohol aciklične individualne naftne kiseline, 1-dekanol (**32**) i to pri koncentracijama  $10^{-5}$  mol/L i  $10^{-6}$  mol/L. 4-Cikloheksil-1-butanol (**31**) ispoljava trostruko bolju stimulaciju ožiljavanja u odnosu na kontrolu pri koncentraciji  $10^{-6}$  mol/L.
  - ✓ Alkoholi prirodnih naftnih kiselina "Velebit" (**33**) pokazuju snažno stimulatívno dejstvo na pojavu adventivnih korenova kod svih primenjenih koncentracija preparata ( $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  mol/L). Pri koncentraciji od  $10^{-7}$  mol/L alkoholi prirodnih naftnih kiselina "Velebit" pokazuju čak četiri puta bolji efekat na ožiljavanje u odnosu na kontrolu. Sličano dejstvo ispoljavaju i pri koncentraciji  $10^{-5}$  mol/L, dok pri koncentraciji od  $10^{-6}$  mol/L ožiljavaju mlade biljke suncokreta tri puta bolje od same kontrole. Izrazito velika aktivnost naftnih alkohola se može pripisati povećanoj hidrofилnosti molekula prisustvom OH grupe.
  - ✓ Model smeša alkohola (napravljena od ekvimolarne količine alkohola individualnih naftnih kiselina **28-32**) pri sve tri aplicirane koncentracije preparata ( $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  i  $10^{-7}$  mol/L) ima inhibitorni efekat u odnosu na kontrolu.

- ✓ Poređenjem uticaja smeše prirodnih naftnih kiselina "Vebebit" (**8**) i njihovih alkohola (**33**) na formiranje adventivnih korenova, zapaženo je da oba preparata stimulatивно deluju na ispitivani proces. Međutim, prema unapred postavljenom očekivanju, alkoholi prirodnih naftnih kiselina dobijeni u radu, znatno više stimulišu razvoj adventivnih korenova od samih naftnih kiselina. Taj uticaj je signifikantan pri svim apliciranim koncentracijama preparata ( $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  i  $10^{-7}$  mol/L).
- ✓ Amidi naftnih kiselina (**19**, **20** i **27**) dobijeni u ovom radu, takođe znatno stimulišu razvoj adventivnih korenova u odnosu na kontrolu u kojoj se nalazi čista voda. Poređenjem sa smešom prirodnih naftnih kiselina, amidni derivati ispoljavaju procentualno sličan efekat. Naime, primarni amidi **27** i same naftne kiseline "Vebebit" **8** ispoljavaju najizraženiji uticaj na ožiljavanje pri najvećoj primenjenoj koncentraciji  $10^{-5}$  mol/L (tri puta bolji u odnosu na kontrolu). n-Heptilamidi (**19**) i N,N-dietilamidi naftnih kiselina "Vebebit" (**20**) pri koncentraciji od  $10^{-5}$  mol/L najmanje stimulišu razvoj adventivnih korenova dok je pri nižim koncentracijama ( $10^{-6}$  i  $10^{-7}$  mol/L) njihov uticaj izraženiji (od 2.6 do 3.2 puta bolji u odnosu na kontrolu).
- ❖ Ispitivanje *hormonske auksinske aktivnosti* primarnih alkohola (**28-33**) i amida (**19**, **20**, **27**) individualnih i prirodnih naftnih kiselina, kao i model smeše alkohola (**MS-ol**) i slobodnih kiselina (**MS**, **8**) rađeno je *in vitro* „Testom inhibicije klijanja“. Ovaj biološki test je izveden na semenu bele slačice (*Sinapis alba*) a dobijene vrednosti inhibicije su upoređivane sa vrednostima inhibicije koje su postignute dejstvom 3-indolsirćetne kiseline (IAA) koja je prirodni biljni hormon. Alkoholi individualnih **28-32** i smeše prirodnih naftnih kiselina **33** u odnosu na IAA pokazuju manju auksinsku aktivnost pri svim apliciranim koncentracijama:
  - ✓ Hormonska auksinska aktivnost alkohola individualnih naftnih kiselina (**28-32**) je približno iste vrednosti kao aktivnost alkohola prirodnih naftnih kiselina „Vebebit“.
  - ✓ Poređenjem rezultata aktivnosti model smeše naftnih kiselina (**MS**) sa smešom prirodnih naftnih kiselina **8** utvrđeno je da model smeša karboksilnih kiselina ima oko dva puta niži auksinski efekat od prirodnih naftnih kiselina pri koncentracijama  $10^{-5}$  i  $10^{-6}$  mol/L. Vrednosti inhibicije klijanja model smeše alkohola individualnih naftnih kiselina (**MS-ol**) je znatno niža od vrednosti inhibicije klijanja dobijene za model smešu kiselina (**MS**) i smešu prirodnih naftnih kiselina (**8**).
  - ✓ Od amida naftnih kiselina najmanju auksinsku aktivnost ispoljavaju n-heptilamidi naftnih kiselina (**19**) i to pri svim apliciranim koncentracijama. Zapaža se da naftne kiseline (**8**), amidi naftnih kiselina (**27**) i N,N-dietilamidi naftnih kiselina (**20**) pri koncentraciji od  $10^{-6}$  i  $10^{-7}$  mol/L ispoljavaju gotovo isti potencijal auksinske aktivnosti koji je oko tri puta niži od aktivnosti 3-indolsirćetne kiseline. Pri koncentraciji od  $10^{-5}$  mol/L određen je neočekivano visok stepen hormonske aktivnosti svih amidnih derivata naftnih kiselina, pri čemu su najveći stepen inhibicije klijanja, odnosno najveću auksinsku aktivnost, ispoljili N,N-dietilamidi naftnih kiselina (**20**). Pri ovoj

koncentraciji, auksinska aktivnost amida **20** je bolja i od auksinske aktivnosti smeše prirodnih karboksilnih kiselina "Vebebit" (**8**).

- ❖ Naftne kiseline naftenskog tipa su poznati zagađivači eko sistema ukoliko se kao otpadni materijal emituju u prirodu. Zato su značajna ispitivanja efekta naftenskih kiselina i njihovih derivata na rast pet sojeva *Pseudomonas* sp. koji transformacijom struktura naftenskih kiselina vrše njihovu biodegradaciju. Test pokazuje da su prirodne naftne kiseline "Vebebit" (**8**), kao i njeni alkoholi **33**, metil-estri **40** i primarni amidi **27** aktivni za sojeve *Pseudomonas* sp. U tom smislu, metil-estri (**40**) i primarni amidi (**27**) prirodnih naftnih kiselina "Vebebit" pokazuju veći stimulativan efekat na povećanje brojnosti ćelija *Pseudomonas* sp. u odnosu na alkohole (**33**) i hidroksam derivate (**47**) ali i u odnosu na same karboksilne kiseline "Vebebit" (**8**).
- ❖ U radu je takođe proučavan uticaj odabranih sintetizovanih jedinjenja na proliferaciju četiri ćelijske linije humanih tumora (MCF-7, MDA-MB-231, HT-29, A549), dok je kao kontrola služila jedna zdrava humana ćelijska linija (MCR-5).

Na osnovu dobijenih rezultata se može zaključiti da su samo neka sintetizovana jedinjenja ispoljila antiproliferativnu aktivnost prema određenim ispitivanim malignim ćelijskim linijama. 3-Cikloheksilpropanska kiselina (**4**) je ispoljila jaku citotoksičnu aktivnost prema malignoj ćelijij MDA-MB-231. Smeša hidroksamskih derivata prirodnih naftnih kiselina „Vebebit“ (**40**) i prirodne naftne kiseline „Vebebit“ (**8**) su pokazale značajnu inhibicija rasta ćelijske linije HT-29. Prema A549 ćelijskoj liniji slabu citotoksičnost su pokazala jedinjenja **4**, **23** i **33**. Važno je istaći da ni jedno od testiranih jedinjenja nije inhibiralo proliferaciju populacije zdravih ćelija (MCR-5).

## 6. LITERATURA

1. S. Manmohan, S. Arjun, S. P. Khan, S. Eram, N. K. Sachan, *International Research Journal of Pharmacy* **3** (4) (2012) 31
2. B. Rani, R. Maheshwari, A. K. Chauhan, U. Singh, *International Journal of Pharmaceutical and chemical sciences* **1** (1) (2012) 97
3. C-J. Li, B. M. Trost, *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*, **105** (36) (2008), 13197
4. A. Valavanidis, T. Vlachogianni, *Green Chemistry and Green Engineering: From Theory to Practice for the Protection of the Environment and Sustainable Development*, SynchronaThemata Publisher, Athens, 2012
5. R. S. Varma, *Pure and Applied Chemistry* **73** (1) (2001) 193
6. R. S. Varma. *Green Chemistry* **1** (1999) 43
7. T. P. Fan, *Energy Fuels* **5** (3) (1991) 371
8. J. G. Severson, *Phytochemistry* **11** (1972) 71
9. Q. A. Fattah, D. J. Wort, *Canadian Journal of Botany* **48** (1970) 189
10. F. W. Went, K. V. Thimann, *Phytohormones*, Mac Millan Co., New York, 1937, 294
11. Lj. Grbović, *Doktorska disertacija*, PMF, Novi Sad, 2009
12. Lj. Grbović, K. Pavlović, B. Prekodravac, K. Kuhajda, S. Kevrešan, M. Popsavin, J. Milić, V. Ćirin-Novta, *Journal of Serbian Chemical Society* **77** (2012) 147
13. M.A. Surat, S. Jauhari, K.R. Desai, (Scholars Research Library) *Archives of Applied Science Research* **4** (1) (2012) 645
14. K. R. Desai, *Green Chemistry Microwave Synthesis*, First Edition, Himalaya Publication House, India, 2005, 1
15. R. Gedye, K. Smith, H. Westaway, L.A. Baldisera, L. Laverge, J. Rousel, *Tetrahedron Letters* **27** (1986) 279
16. J. R. Giguere, L. T. Bray, M. S. Duncan, G. Majetich, *Tetrahedron Letters* **27** (1986) 4945.
17. A. Loupy, *Microwaves in Organic Synthesis*, Wiley-VCH, Weinheim, 2002
18. B. L. Hayes, *Microwave Synthesis: Chemistry at the Speed of Light*, CEM Publishing, Matthews, NC, 2002



19. P. Lidström, J. P. Tierney, *Microwave-Assisted Organic Synthesis*, Blackwell Publishing, Oxford, 2005
20. C. O. Kappe, A. Stadler, *Microwaves in Organic and Medicinal Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, 2005
21. A. Loupy (ed.), *Microwaves in Organic Synthesis*, 2nd edn, Wiley-VCH, Weinheim, 2006
22. M. Larhed, K. Olofsson, *Microwave Methods in Organic Synthesis*, Springer, Berlin, 2006
23. C.O. Kappe (ed.) *Molecular Diversity* **7** (2003) 95
24. E. Van der Eycken, J. Van der Eycken (eds), *The QSAR Combinatorial Science* **23** (10) (2004) 823
25. N.E. Leadbeater (ed.) *Tetrahedron* **62** (19) (2006) 4623
26. A. de la Hoz, A. Diaz-Ortiz (eds) *The Use of Microwaves in High Throughput Synthesis (a special issue). Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening* **10** (9/10) (2007) 773
27. <http://www.biotagepathfinder.com>;
28. <http://www.mwchemdb.com>;
29. <http://www.organicchemistry.org/Highlights/microwave.shtm>
30. <http://www.maos.net>;
31. <http://microwavesynthesis.net>
32. A. R. Katritzky, C. Cai, M. D. Collins, E. F. V. Scriven, S. K. Singh, E. K. Barnhardt, *Journal of Chemical Education* **83** (2006) 634
33. C. O. Kappe, S. S. Murphree, *Journal of Chemical Education* **86** (2009) 227
34. C. McGowan, N.E. Leadbeater, *Clean, Fast Organic Chemistry: Microwave-Assisted Laboratory Experiments*, CEM Publishing, Matthews, NC; 2006
35. D. Bogdal, *Microwave-assisted Organic Synthesis One Hundred Reaction Procedures*, Elsevier, Oxford, 2005
36. S. Ravichandran, E. Karthikeyan, *International Journal of ChemTech Research*, **3** (1) (2011) 466
37. C. O. Kappe, D. Dallinger, S. S. Murphree, *Practical Microwave Synthesis for Organic Chemists*, Wiley-VCH, Weinheim, 2009
38. S. A. Galema, B. S. J. Halstead, D. M. P. Mingos, *Chemical Society Reviews* **2** (1998) 213
39. D. Ž., Mijin, S. D. Petrović, *Hemijska Industrija* **59** (2005) 224
40. P. Lidström, J. Tierney, B. Wathey, J. Westman, *Tetrahedron* **57** (2001) 9225
41. L. Perreux, A. Loupy, *Tetrahedron* **57** (2001) 9199
42. K. R. Desai, S. Jauhari, M. A. Surati, *Archives of Applied Science Research* **4** (2012) 645
43. D. R. Stanisavljev, *Hemijska Industrija* **63** (2009) 489
44. C. O. Kappe, *Angewandte Chemie-International Edition* **43** (2004) 6250
45. C. Shibata, T. Kashima, K. Ohuchi, *Japanese Journal of Applied Physics* **35** (1996) 316

46. J. P. G. Binner, A. N. Hassine, E. T. Cross, *Journal of Materials Science* **30** (1995) 5389
47. H. M. Marvaniya, K. N. Modi, D. J. Sen, *International Journal of Drug Development & Research* **3** (2) (2011) 34
48. <http://www.unc.edu/depts/mtcgroup/litmeetings/microwaves.pdf>
49. D. R. Baghurst, D. M. P. Mingos, *Chemical Society Reviews* **20** (1991) 1
50. M. Nüchter, B. Ondruschka, W. Bonrath, A. Gum, *Green Chemistry* **6** (2004) 128
51. T. Patonay, R. S. Varma, A. Vass, A. Levai, J. Dudas, *Tetrahedron Letters* **42** (2001) 1403
52. R. S. Varma, *In Green Chemistry: Challenging Perspectives*, P. Tundo and P. T. Anastas (Eds.), Oxford University Press, Oxford, 2000, 221
53. R. S. Varma, *Clean Products and Processes* **1** (1999) 132
54. S. Caddick, *Tetrahedron* **51** (1995) 10403
55. S. A. Galema, *Chemical Society Reviews* **26** (1997) 233
56. R. S. Varma, *Journal of Heterocyclic Chemistry* **35** (1999) 1565
57. R. S. Varma, D. Kumar, *Organic Letters* **1** (1999) 697
58. R. S. Varma, R. Dahiya, R. K. Saini, *Tetrahedron Letters* **38** (1997) 7823
59. R. S. Varma, R. Dahiya, *Tetrahedron Letters* **39** (1998) 1307
60. R. S. Varma, R. K. Saini, *Tetrahedron Letters* **38** (1997) 4337
61. R. S. Varma, R. Dahiya, *Tetrahedron* **54** (1998) 6293
62. R. S. Varma, R. K. Saini, *Synlett* (1997) 857
63. R. S. Varma, D. Kumar, *Tetrahedron Letters* **40** (1999) 7665
64. C. O. Kappe, D. Kumar, R. S. Varma, *Synthesis* (1999) 1799
65. I. A. Cottrill, A. Y. Usyatinsky, J. M. Arnold, D. S. Clark, J. S. Dordick, P. C. Michels, Y. L. Khmel'nitsky, *Tetrahedron Letters* **39** (1998) 1117
66. R. S. Varma, K. P. Naicker, D. Kumar, R. Dahiya, P. J. Liesen, *The Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy* **34** (1999) 113
67. R. S. Varma, D. Kumar, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions* **1** (1999) 1755
68. R. S. Varma, K. P. Naicker, *Tetrahedron Letters* **39** (1998) 8437
69. [http://www.fmns.swu.bg/Vol\\_2.pdf](http://www.fmns.swu.bg/Vol_2.pdf) (22.09.2013.)
70. E. Valeur, M. Bradley, *Chemical Society Reviews* **38** (2009) 606
71. M. Ghosh, J. L. Conroy, C. T. Seto, *Angewandte Chemie International Edition* **38** (1999) 514
72. M. I. Hegab, A. M. Abdel-Fattah, N. M. Yousef, H. F. Nour, A. M. Mostafa, M. Ellithey, *Synthesis* **340** (2007) 396
73. N. Siddiqui, M. S. Alam, W. Ahsan, *Synthesis* **58** (2008) 445

74. N. Kushwaha, R. K. Saini, S. K. S. Kushwaha, *International Journal of ChemTech Research* **3** (2011) 203
75. A. Warnecke, I. Fichtner, G. Sab, *Archiv der Pharmazie* **340** (2007) 389
76. T. A. Naik, K. H. Chikhaliya, *E-Journal of Chemistry* **4** (2007) 60
77. K. Rehse, J. Kotthaus, L. Khadembashi, *Archiv der Pharmazie* **342** (2009) 27
78. T. L. Lemke, D. A. Williams, (Ed.) *Foye's Principles of Medicinal Chemistry*. 5 ed. Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins, 2002, 510
79. J. E. Udelson, W. B. Smith, G. H. Hendrix, C. A. Painchaud, M. Ghazzi, I. Thomasž, J. K. Ghali, P. Selaru, F. Chanoine, M. L. Presslerž, M. A. Konstam, *Circulation* **104** (2001) 2417
80. B. S. Jursic, Z. Zdrakovski, *Synthetic Communications* **23** (1993) 2761
81. J. Cossy, C. Pale-Grosdemange, *Tetrahedron Letters* **30** (1989) 2771
82. L. J. Gooßen, D. M. Ohlmann, P. P. Lange, *Synthesis* (2009) 160
83. C. L. Allen, A. R. Chhatwal, J. M. J. Williams, *Chemical Communications* **48** (2012) 666
84. T. K. Houlding, K. Tchabanenko, M. T. Rahman, E. V. Rebrov, *Organic and Biomolecular Chemistry* **11** (2013) 4171
85. H. Lundberg, F. Tinnis, H. Adolfsson, *Chemistry a European Journal* **18** (2012) 3822
86. H. Lundberg, F. Tinnis, H. Adolfsson, *Synlett* **23** (2012) 2201
87. R. K. Mylavarapu, G. C. M. Kondaiah, N. Kolla, R. Veeramalla, P. Koilkonda, A. Bhattacharya, R. Bandichhor, *Organic Process Research & Development* **11** (2007) 1065
88. J. Tani, T. Oine, I. Inoue, *Synthesis* (1975) 714
89. Z. Huang, J. E. Reilly, R. N. Buckle, *Synlett* (2007) 1026
90. D. B. Collum, S. C. Chen, B. Ganem, *Journal of Organic Chemistry* **43** (1978) 4393
91. P. Nelson, A. Pelter, *Journal of the Chemical Society* (1965) 5142
92. R. M. Lanigan, P. Starkov, T. D. Sheppard, *Journal of Organic Chemistry* **78** (2013) 4512
93. A. Pelter, T. E. Levitt, P. Nelson, *Tetrahedron* **26** (1970) 1539
94. R. H. Lawrence, S. A. Biller, O. M. Fryszman, M. A. Poss, *Synthesis* **5** (1997) 553
95. P. Bobal, J. Suján, J. Otevrel, A. Imramovsky, Z. Padelkova, J. Jampilek, *Molecules* **17** (2012) 1292
96. J. C. Sheehan, G. P. J. Hess, *Journal of the American Chemical Society* **77** (1955) 1067
97. W. Koenig, R. Geiger, *Chemische Berichte* **103** (1970) 788
98. E. Valeur, M. Bradley, *Chemical Society Reviews* **38** (2009) 606
99. J. D. Wilson, C. F. Hobbs, H. Wengaten, *The Journal of Organic Chemistry* **35** (1970) 1542
100. C. Burnell-Curty, E. J. Roskamp, *Tetrahedron Letters* **34** (1993) 5193
101. P. Froyen, *Synthetic Communications* **25** (1995) 959

102. D. O. Jang, D. J. Park, J. Kim, *Tetrahedron Letters* **40** (1999) 5323
103. A. Khalafi-Nezhad, A. Parhami, M. N. Soltani Rad, A. Zarea, *Tetrahedron Letters* **46** (2005) 6879
104. K. C. Nadimpally, K. Thalluri, N. B. Palakurthy, A. Saha, B. Mandal, *Tetrahedron Letters* **52** (2011) 2579
105. C. Ferroud, M. Godart, S. Ung, H. Borderies, A. Guy, *Tetrahedron Letters* **49** (2008) 3004
106. L. Perreux, A. Loupy, F. Volatron, *Tetrahedron* **58** (2002) 2155
107. P. Ruault, J. F. Pilard, B. Touaux, F. Texier-Boullet, J. Hamelin, *Synlett* **11** (1994) 935
108. B. W. Baldwin, T. Hirose, Z. H. J. Wang, *Chemical Communications* **23** (1996) 2669
109. S. Gadhwal, M. P. Dutta, A. Boruah, D. Prajapati, J. S. Sandhu, *Indian Journal of Chemistry* **37** (1998) 725
110. A. V. El'Tsov, V. P. Martynova, Sokolova, N. M. Dmitrieva, A. S. Brykov, *Zhurnal Organicheskoi Khimii* **65** (1995) 511
111. A. R. Hajipour, M. Ghasemi, *Indian Journal of Chemistry* **40** (2001) 504
112. S. Chandrasekhar, M. Takhi, G. Uma, *Tetrahedron Letters* **38** (1997) 8089
113. H. Marquez, A. Plutin, Y. Rodriguez, E. Perez, A. Loupy, *Synthetic Communications* **30** (2000) 1067
114. Ch.S. Reddy, A. Nagaraj, P. Jalapathi, *Chinese Chemical Letters* **18** (2007) 1213
115. S. Werkmeister, K. Junge, M. Beller, *Organic Process Research and Development* **18** (2014) 289
116. I. Fleming, B.M. Trost, *Comprehensive Organic Synthesis*, Pergamon press, Oxford, **8** (1991) 236
117. C. F. Lane, H. L. Myatt, J. Daniels, H. B. Hopps, *Journal of Organic Chemistry* **39** (20) (1974) 3052
118. K. C. Bush, J. W. Simek, T. Tuck, *Journal of Chemical Education* **74** (1997) 107
119. R. P. McGeary, *Tetrahedron Letters* **39** (1998) 3319
120. J. Bernal, E. García-Ríos, J. A. Morales-Serna, *Synthesis* **9** (2011) 1375
121. M. Periasamy, S. Yantrapragada, *Tetrahedron* **48** (1992) 371
122. B. J. V. Kanth, M. Periasamy, *The Journal of Organic Chemistry* **56** (1991) 5964
123. B. P. Bandgar, S. S. Pandit, *Tetrahedron Letters* **43** (2002) 3413
124. G. Giacomelli, A. Porcheddu, M. Salaris, *Organic Letters* **5** (2003) 2715
125. G. Blotny, *Tetrahedron* **62** (2006) 9507
126. M. Falorni, A. Porcheddu, M. Taddei, *Tetrahedron Letters* **40** (1999) 4395
127. N. M. Yoon, E. G. Kim, H. S. Son, J. Choi, *Synthetic Communications* **23** (1993) 1595
128. D. D. Joshi, A. D. Sagar, N. P. Hilage, M. M. Solunkhe, *Indian Journal of Chemistry* **32** (1993) 1201
129. E. G. Kim, H. S. Son, J. Choi, *Synthetic Communications* **23** (1993) 1595

130. A. D. Sagar, J. S. Pulle, S. M. Reddy, M. V. Yadav, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* **3** (2011) 1103
131. S. E. Dapurkar, K. M. Patil, R. H. Tale, *Tetrahedron Letters* **44** (2003) 3427
132. P. Ganeshwar, S. Madhavan, S. Narasimhan, *The Journal of Organic Chemistry* **60** (1995) 5314
133. Y. Qiu, F. Zhang, C. Zhang, *Tetrahedron Letters* **48** (2007) 7595
134. K. Naqeebullah, Y. Farina, L. K. Mun, N. F. Rajab, N. Awang, *Journal of Chemical Crystallography* **43** (2013) 622
135. M. C. Pirrung, J. H-L. Chau, *The Journal of Organic Chemistry* **60** (1995) 8084
136. A. Massaro, A. Mordini, G. Reginato, F. Russo, M. Taddei, *Synthesis* **20** (2007) 3201
137. D. Pal, S. Saha, *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research* **3** (2012) 92
138. A. S. Reddy, M. S. Kumar, G. R. Reddy, *Tetrahedron Letters* **41** (2000) 6285
139. S. Pepeljnjak, B. Zorc, I. Bitula, *Acta Pharmaceutica* **55** (2005) 401
140. B. Vasantha, H. P. Hemantha, V. V. Sureshbabu, *Synthesis* (2010) 2990
141. J. M. White, A. R. Tunoori, B. J. Turunen, G. I. Georg, *The Journal of Organic Chemistry* **69** (2004) 2573
142. C. Y. Ho, E. Strpbel, J. Ralbovsky, R. A. Galemno, *The Journal of Organic Chemistry* **70** (2005) 4873
143. B. Barlaam, A. Hamon, M. Maudet, *Tetrahedron Letters* **39** (1998) 7865
144. A. R. Katritzky, N. Kirichenko, B. V. Rogovoy, *Synthesis* (2003) 2777
145. T. Niu, W. Zhang, D. Huang, C. Xu, H. Wang, Y. Hu, *Organic Letters* **11** (2009) 4474
146. A. Massaro, A. Mordini, G. Reginato, F. Russo, M. Taddei, *Synthesis* **20** (2007) 3201
147. A. Santner, L. I. Calderon-Villalobos, M. Estelle, *Nature Chemical Biology* **5** (2009) 301
148. M. G. Javid, A. Sorooshzadeh, F. Moradi, S. A. M. Sanavy, I. Allahdadi, *Australian Journal of Crop Science* **5** (6) (2011) 726
149. Y. Wang, S. Mopper, K. H. Hasentein, *Journal of Chemical Ecology* **27** (2001) 327
150. A. W. Woodward, B. Bartel, *Annals of Botany* **95** (5) (2005) 707
151. L. C. Strader, B. Bartel, *Nature Chemical Biology* **4** (2008) 337
152. A. Vieten, M. Sauer, P. B. Brewer, J. Friml, *Trends in Plant Science* **12** (2007) 160
153. G.O. Badescu, R.M. *Trends in Plant Science* **11** (2006) 217
154. T. J. Guilfoyle, G. Hagen, *Current Opinion in Plant Biology* **10** (2007) 453
155. H. Szemenyei, M. Hannon, J. A. Long, *Science* **319** (2008) 1384
156. K. Mockaitis, M. Estelle, *Annual Review of Cell and Developmental Biology* **24** (2008) 55
157. <http://5e.plantphys.net/>

158. S. Yamaguchi, *Annual Review of Plant Biology* **59** (2008) 225
159. V. M. Sponsel, *The biosynthesis and metabolism of gibberellins in higher plants. In Plant Hormones: Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology*, P. J. Davies, ed., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands 1995, 66
160. H. Peter, G. T. Stephen *Biochemical Journal* **444** (1) (2012) 11
161. C. M. Fleet, T. P. A. Sun, *Current Opinion Plant Biology* **8** (2005) 77
162. [www.usmb.be](http://www.usmb.be)
163. [https://circle.ubc.ca/bitstream/handle/2429/35209/UBC\\_1969\\_A6\\_7%20C38.pdf?sequence=1](https://circle.ubc.ca/bitstream/handle/2429/35209/UBC_1969_A6_7%20C38.pdf?sequence=1) (24.9.2013.)
164. R. Kastori, N. Petrović, T. Savkov, D. Miljković, *Actabiologiae et medicinae experimentalis* **13** (1988) 83
165. C. E. West, A. G. Scarlett, J. Pureveen, E. W. Tegelaar, S. J. Rowland, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **27** (2013) 357
166. S. J. Rowland, C. E. West, A. G. Scarlett, D. Jones, R. A. Frank, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **25** (2011) 1198
167. C. Neuberg, M. Sandberg, *Biochemische Zeitschrift* **126** (1921) 153
168. S. Kevrešan, V. Ćirin-Novta, D. Vasić, K. Kuhajda, J. Kandrač, N. Petrović, Lj. Radić, *Helia* **26** (2003) 75
169. S. Kevrešan, V. Ćirin-Novta, B. Kovačević, K. Kuhajda, J. Kandrač, N. Petrović, Lj. Radić, *Topola* **171/172** (2003) 63
170. A. Halmagyi, S. Kevrešan, B. Kovačević, V. Ćirin-Novta, K. Pavlović, Lj. Grbović, K. Kuhajda, *Propagation of Ornamental Plants* **8** (2008) 148
171. D. J. Wort, *Plant Physiology* **58** (1976) 82
172. S. Kevrešan, V. Ćirin-Novta, K. Kuhajda, J. Kandrač, N. Petrović, Lj. Grbović, Ž. Kevrešan, *Biologia Plantarum* **48** (2004) 453
173. G. G. Slivinskii, A. F. Artamonov, M. I. Goryaev, *Tsitologiya* **17** (1975) 1283
174. S. Kevrešan, V. Ćirin-Novta, K. Kuhajda, J. Kandrač, N. Petrović, Lj. Grbović, Ž. Kevrešan, *Belgian Journal of Botany* **138** (2005) 11
175. D. J. Wort, J. G. Severson, D. R. Peirson, *Plant Physiology* **52** (1973) 162
176. V. S. Ćirin-Novta, *Doktorska disertacija*, PMF, Novi Sad, 1991
177. S. Repić, *Doktorska disertacija*, PMF, Novi Sad, 1988
178. Ch. S. Hsu, G. J. Dechert, W. K. Robbins, E. K. Fukuda, *Energy & Fuels* **14** (2000) 217
179. J. V. Headley, K. M. Peru, M. P. Barrow, *Mass Spectrometry Reviews* **28** (2009) 121

180. W. K. Seifert, R. M. Teeter, W. G. Howells, M. J. R. Cantow, *Analytical Chemistry* **41** (1969) 1638
181. S. J. Rowland, A. G. Scarlett, D. Jones, Charles E. West, R. A. Frank, *Environmental Science & Technology* **45** (2011) 3154
182. W. Loh, R. S. Mohamed, A. C. S. Ramos, *Petroleum Science and Technology* **17** (1999) 147
183. V. V. Rogers, K. Liber, M. D. MacKinnon, *Chemosphere* **48** (2002) 519
184. N. A. Tomczyk, R. E. Winans, J. H. Shinn, R. C. Robinson, *Energy & Fuels* **15** (2001) 1498
185. F. H. Behar, P. Albrecht, *Organic Geochemistry* **6** (1984) 597
186. D. Ćirin, M. Poša, Lj. Grbović, K. Pavlović, B. Vasiljević, *Journal of Surfactants and Detergents*  
DOI: 10.1007/s11743-014-1596-z
187. K. Pavlović, *Magistarski rad*, PMF, Novi Sad, 2009
188. M. C. Pirrung, J. Cao, J. Chen, *The Journal of Organic Chemistry* **60** (1995) 5790
189. D. L. Sutton, C. L. Foy, *Botanical Gazette* **132** (1971) 299
190. V. C. Eze, B. N. Eze, *International Journal of Current Research* **8** (2010) 91
191. M. Ebrahimi, M. R. Sarikhani, R. Fallah, *International Research Journal of Applied and Basic Sciences* **3** (2012) 138
192. O. V. Biryukova, P. M. Fedorak, S. A. Quideau, *Chemosphere* **67** (2007) 2058
193. R. J. Johnson, B. E. Smith, S. J. Rowland, C. Whitby, *International Biodeterioration & Biodegradation* **81** (2013) 3
194. J. S. Clemente, P. M. Fedorak, *Chemosphere* **60** (2005) 585
195. D. A. Scudiero, R. H. Shoemaker, K. D. Paull, A. Monks, S. Tierney, T. H. Nofziger, M. J. Currens, D. Seniff, M. R. Boyd, *Cancer Research* **48** (1988) 4827.

## **7. PRILOG**

**Mr Ksenija Pavlović**

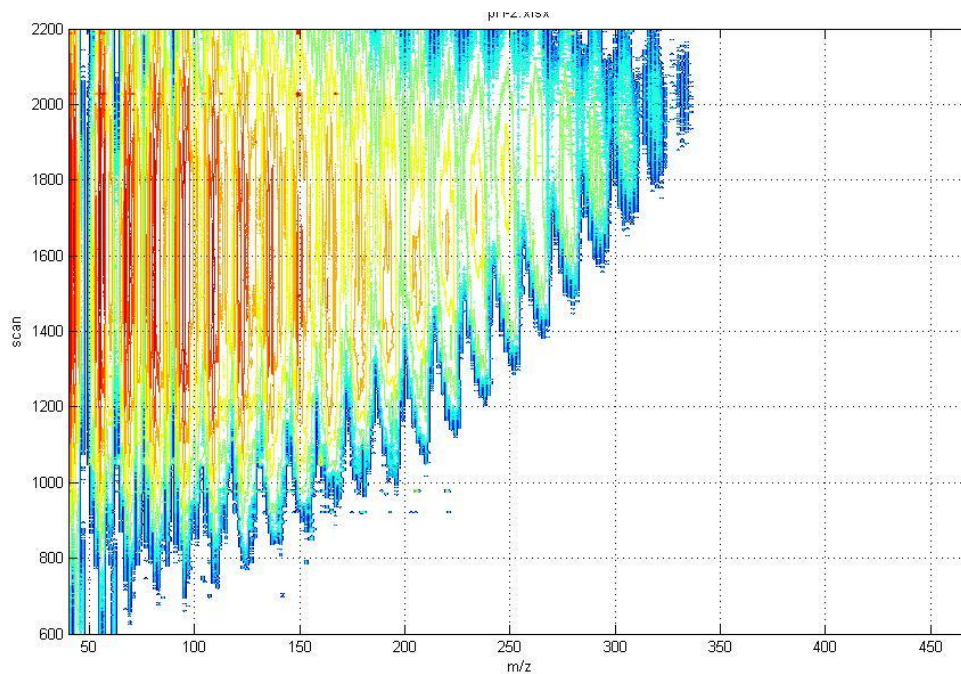
**MIKROTALASNO STIMULISANE TRANSFORMACIJE  
PRIRODNIH I SINTETIČKIH KARBOKSILNIH KISELINA I  
NJIHOVIH DERIVATA**

*Doktorska disertacija*

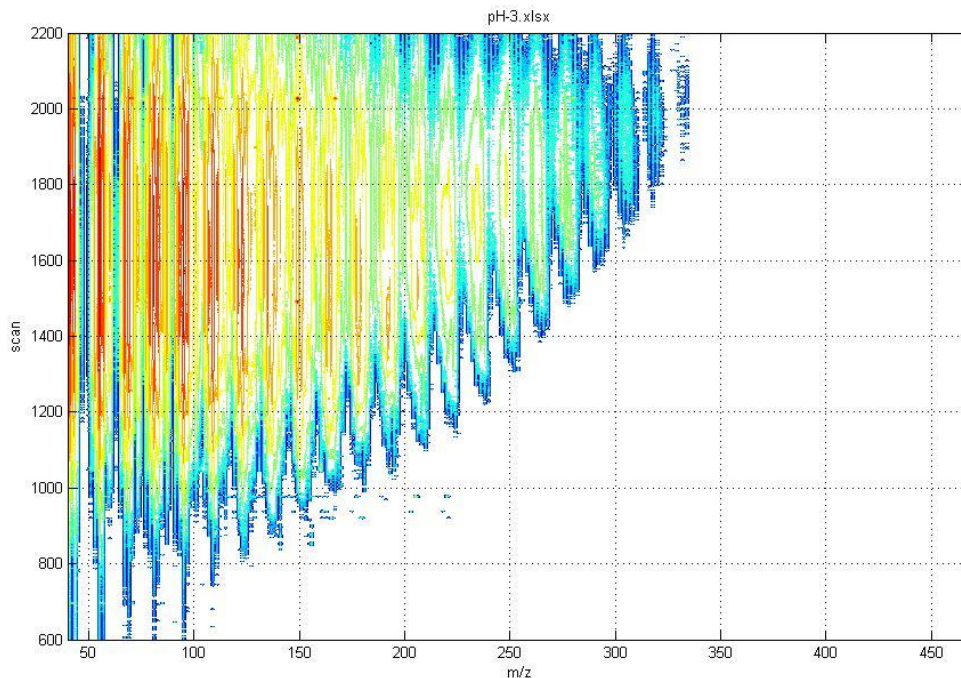


## **7.1. Prilog uz poglavlja “Naši radovi” i “Eksperimentalni deo”**

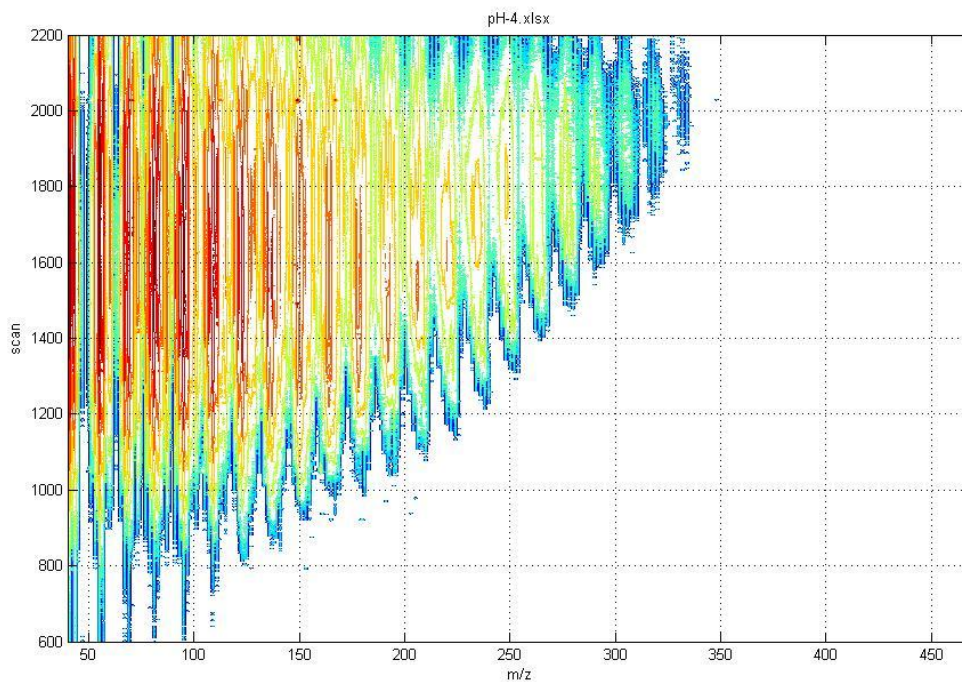
### 7.1.1. 2D GC-MS SPEKTRI FRAKCIJA NAFTNIH KISELINA IZOLOVANIH NA RAZLIČITIM pH VREDNOSTIMA



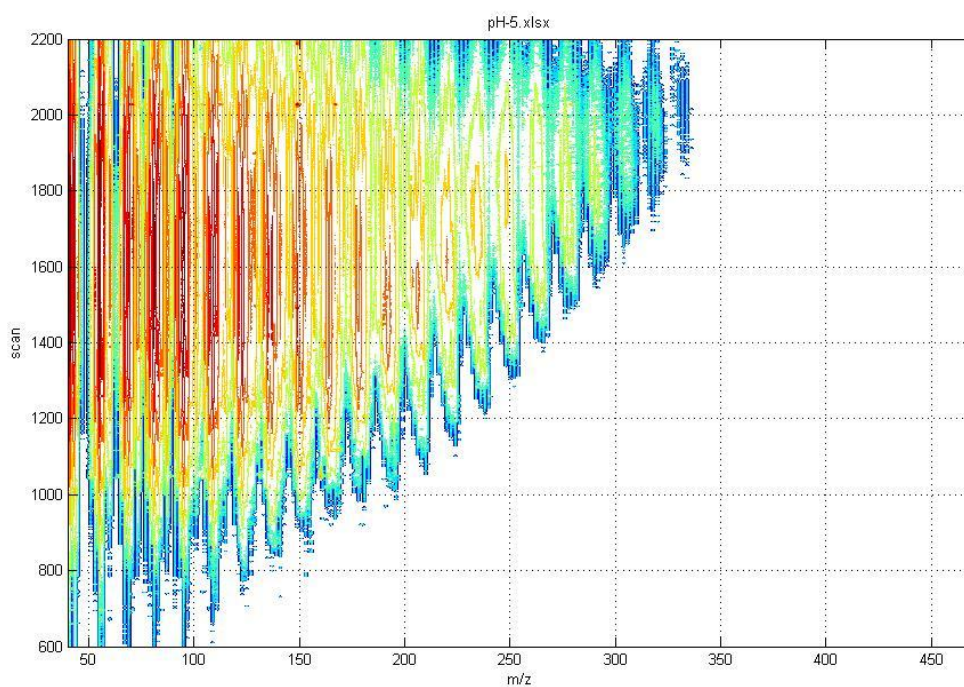
2D GC-MS spektar naftnih kiselina izolovanih iz ukupne smeše prirodnih naftnih kiselina na pH 2 (u rasponu relativnih molikulskih masa od 50-350)



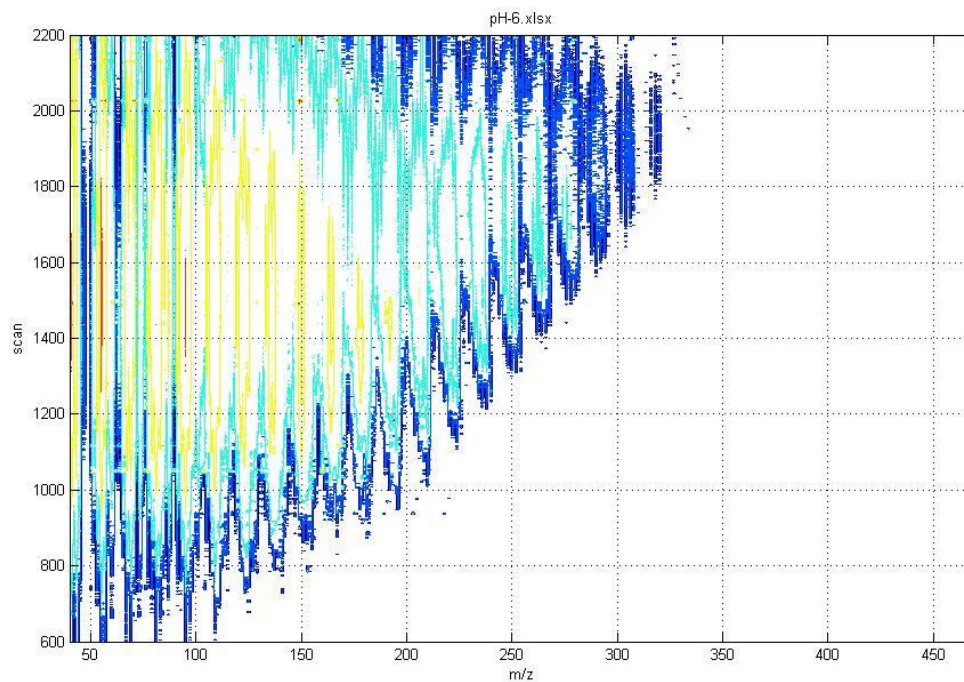
2D GC-MS spektar naftnih kiselina izolovanih iz ukupne smeše prirodnih naftnih kiselina na pH 3 (u rasponu relativnih molikulskih masa od 50-350)



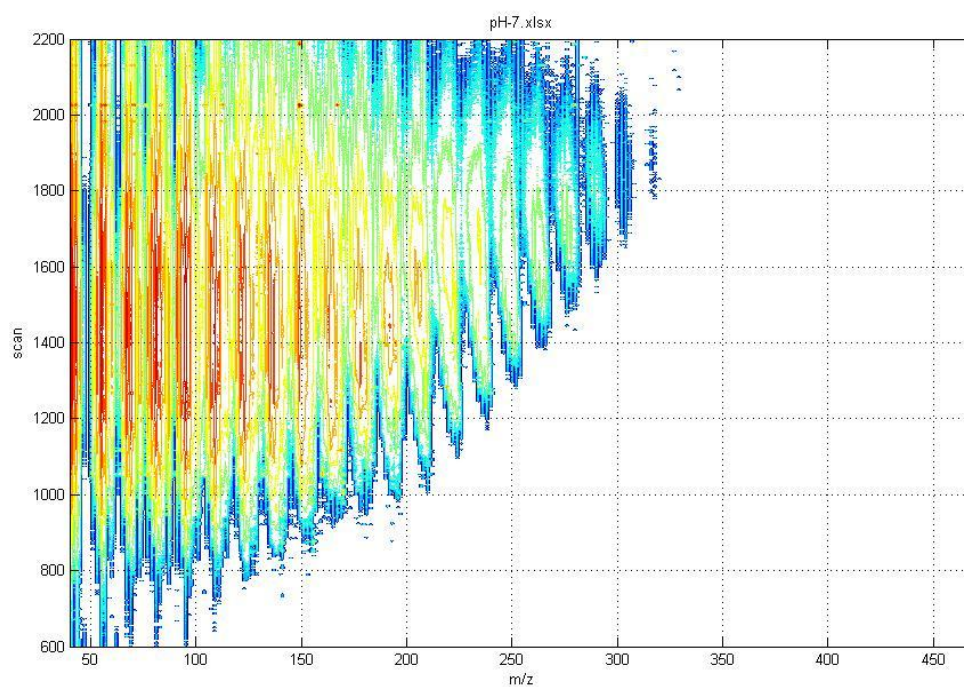
2D GC-MS spektar naftnih kiselina izolovanih iz ukupne smeše prirodnih naftnih kiselina na pH 4 (u rasponu relativnih molikulskih masa od 50-350)



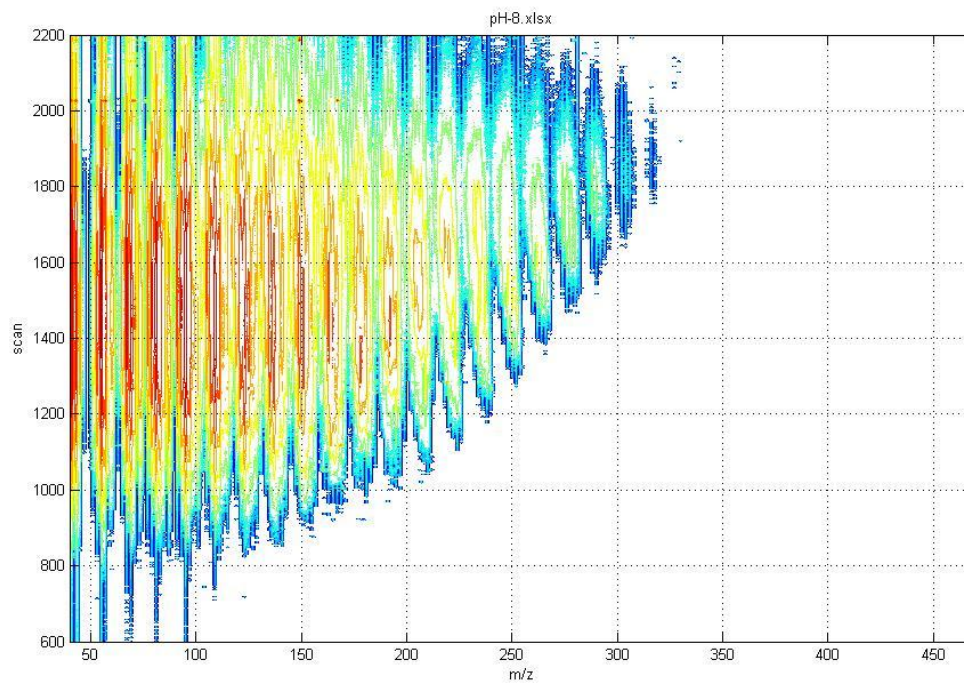
2D GC-MS spektar naftnih kiselina izolovanih iz ukupne smeše prirodnih naftnih kiselina na pH 5 (u rasponu relativnih molikulskih masa od 50-350)



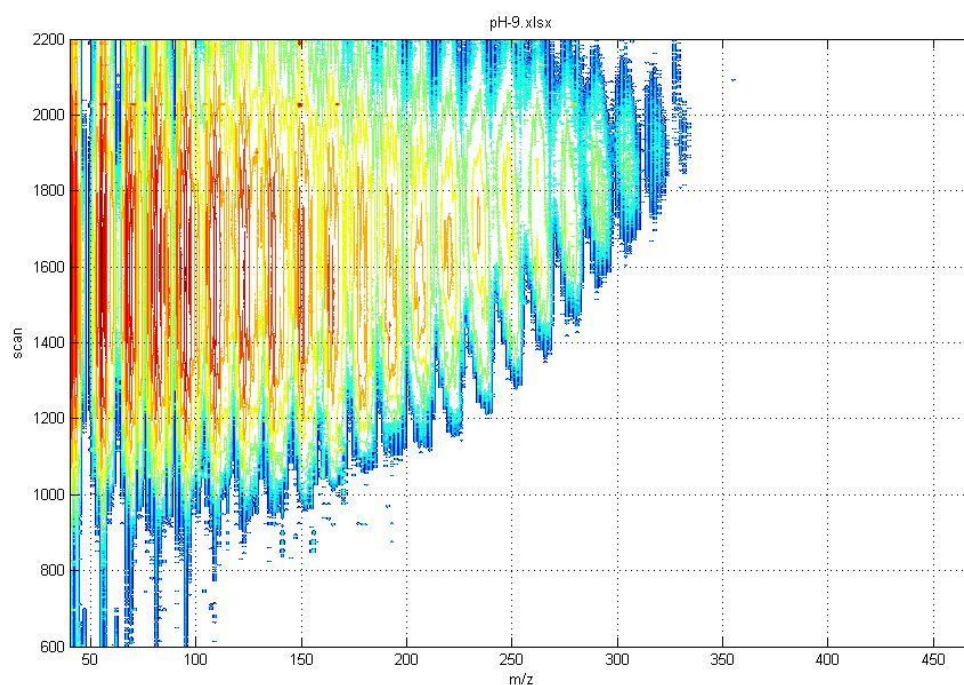
2D GC-MS spektar naftnih kiselina izolovanih iz ukupne smeše prirodnih naftnih kiselina na pH 6 (u rasponu relativnih molikulskih masa od 50-350)



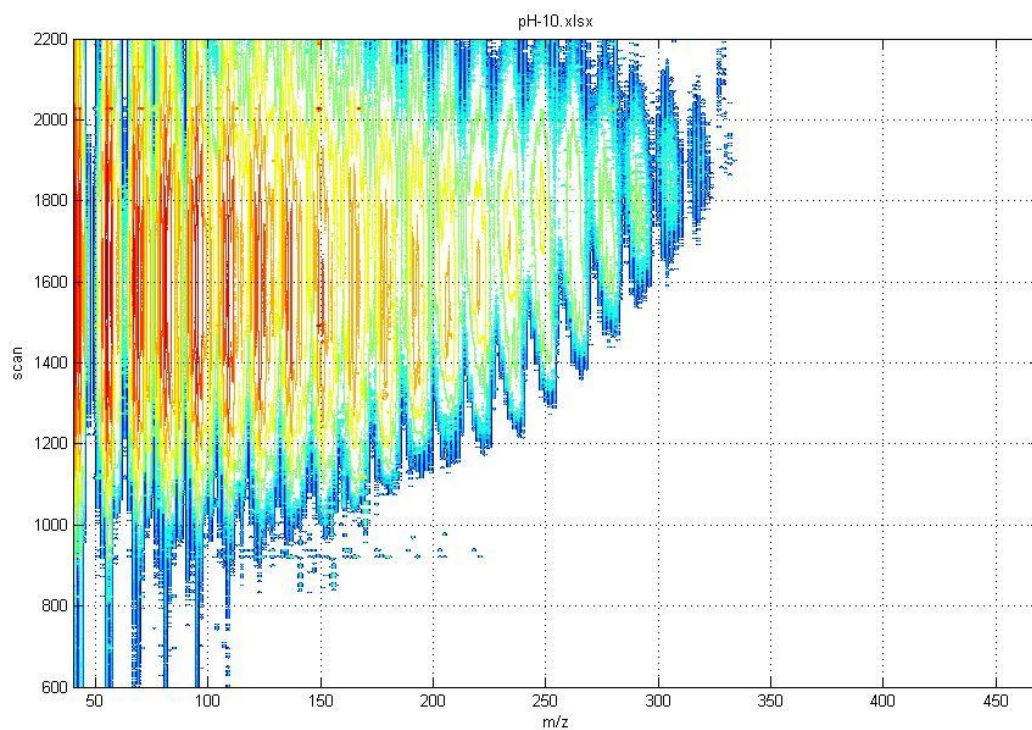
2D GC-MS spektar naftnih kiselina izolovanih iz ukupne smeše prirodnih naftnih kiselina na pH 7 (u rasponu relativnih molikulskih masa od 50-350)



2D GC-MS spektar naftnih kiselina izolovanih iz ukupne smeše prirodnih naftnih kiselina na pH 8 (u rasponu relativnih molikulskih masa od 50-350)



2D GC-MS spektar naftnih kiselina izolovanih iz ukupne smeše prirodnih naftnih kiselina na pH 9 (u rasponu relativnih molikulskih masa od 50-350)



2D GC-MS spektar naftnih kiselina izolovanih iz ukupne smeše prirodnih naftnih kiselina na pH 10 (u rasponu relativnih molikulskih masa od 50-350)

### 7.1.2. Prilog uz poglavlje 3.1. i 4.3.

#### ❖ Kiseline nerastvorne u vodi na pH 10

Tabela 7.1. Maseni udeo determinisanih naftnih kiselina i udeo homologih Z-serija u smeši kiselina ekstrahovanih iz vodenog rastvora ukupnih kiselina na pH 10

Broj C-atoma u kiselini	Maseni udeo pojedinih klasa karboksilnih kiselina [%]							Maseni udeo kiselina sa istim brojem C-atoma [%]
	<b>pH 10, C<sub>n</sub>H<sub>2n-2</sub>O<sub>2</sub></b>							
	Alkanske <b>Z=0</b>	Monociklične <b>Z=2</b>	Biciklične <b>Z=4</b>	Triciklične <b>Z=6</b>	Tetraciklične <b>Z=8</b>	Pentaciklične <b>Z=10</b>	Heksaciklične <b>Z=12</b>	
<b>15</b>	3.25	3.36	8.77	20.45	35.64	19.90	8.63	32.98
<b>16</b>	3.32	4.84	11.44	20.85	31.52	19.16	8.88	24.61
<b>17</b>	2.41	5.24	14.68	22.14	29.13	18.28	8.13	17.01
<b>18</b>	1.04	7.38	17.16	21.65	28.04	17.73	7.00	11.69
<b>19</b>	0.15	7.15	15.02	23.74	28.12	18.83	7.00	7.66
<b>20</b>	0.05	6.99	12.70	22.63	28.86	21.09	7.68	4.47
<b>21</b>	0.00	0.66	13.64	22.68	32.62	26.55	3.85	1.58
	2.43	4.92	12.14	21.36	31.70	19.26	8.17	

#### ❖ Kiseline nerastvorne u vodi na pH 9

Tabela 7.2. Maseni udeo determinisanih naftnih kiselina i udeo homologih Z-serija u smeši kiselina ekstrahovanih iz vodenog rastvora ukupnih kiselina na pH 9

Broj C-atoma u kiselini	Maseni udeo pojedinih klasa karboksilnih kiselina [%]							Maseni udeo kiselina sa istim brojem C-atoma [%]
	<b>pH 9, C<sub>n</sub>H<sub>2n-2</sub>O<sub>2</sub></b>							
	Alkanske <b>Z=0</b>	Monociklične <b>Z=2</b>	Biciklične <b>Z=4</b>	Triciklične <b>Z=6</b>	Tetraciklične <b>Z=8</b>	Pentaciklične <b>Z=10</b>	Heksaciklične <b>Z=12</b>	
<b>15</b>	3.45	3.76	9.08	19.27	34.62	20.58	9.24	32.63
<b>16</b>	3.63	5.17	12.18	20.51	30.10	19.26	9.17	24.11
<b>17</b>	2.50	5.14	15.24	22.59	28.42	18.09	8.03	16.84
<b>18</b>	2.09	7.27	16.51	22.34	27.04	17.48	7.27	12.00
<b>19</b>	0.57	6.71	15.33	22.82	27.36	19.42	7.79	7.96
<b>20</b>	0.14	7.11	12.37	21.82	27.82	21.12	9.62	4.62
<b>21</b>	0.00	1.15	12.41	20.58	29.11	25.80	10.95	1.84
	2.80	5.23	10.16	21.47	31.39	20.01	8.95	

❖ *Kiseline nerastvorne u vodi na pH 8*

Tabela 7.3. Maseni udeo determinisanih naftnih kiselina i udeo homologih Z-serija u smeši kiselina ekstrahovanih iz vodenog rastvora ukupnih kiselina na pH 8

Broj C-atoma u kiselini	Maseni udeo pojedinih klasa karboksilnih kiselina [%]							Maseni udeo kiselina sa istim brojem C-atoma [%]
	<b>pH 8, C<sub>n</sub>H<sub>2n-z</sub>O<sub>2</sub></b>							
	Alkanske <b>Z=0</b>	Monociklične <b>Z=2</b>	Biciklične <b>Z=4</b>	Triciklične <b>Z=6</b>	Tetraciklične <b>Z=8</b>	Pentaciklične <b>Z=10</b>	Heksaciklične <b>Z=12</b>	
<b>15</b>	3.90	4.17	13.98	19.24	32.81	13.11	12.79	33.73
<b>16</b>	2.91	4.03	16.46	21.62	26.04	19.20	9.75	25.82
<b>17</b>	1.45	3.13	17.11	25.96	27.68	19.26	5.41	17.76
<b>18</b>	0.64	3.40	13.81	22.18	29.17	21.60	9.20	12.30
<b>19</b>	0.06	0.79	10.53	19.05	30.18	27.51	11.88	7.12
<b>20</b>	0.00	0.00	2.95	15.66	31.74	31.86	17.80	2.89
<b>21</b>	0.00	0.00	10.53	1.58	33.11	46.72	8.06	0.38
	2.41	3.48	14.58	21.22	29.48	18.51	10.31	

❖ *Kiseline nerastvorne u vodi na pH 7*

Tabela 7.4. Maseni udeo determinisanih naftnih kiselina i udeo homologih Z-serija u smeši kiselina ekstrahovanih iz vodenog rastvora ukupnih kiselina na pH 7

Broj C-atoma u kiselini	Maseni udeo pojedinih klasa karboksilnih kiselina [%]							Maseni udeo kiselina sa istim brojem C-atoma [%]
	<b>pH 7, C<sub>n</sub>H<sub>2n-z</sub>O<sub>2</sub></b>							
	Alkanske <b>Z=0</b>	Monociklične <b>Z=2</b>	Biciklične <b>Z=4</b>	Triciklične <b>Z=6</b>	Tetraciklične <b>Z=8</b>	Pentaciklične <b>Z=10</b>	Heksaciklične <b>Z=12</b>	
<b>15</b>	3.54	3.45	13.61	18.76	28.53	21.02	11.09	35.85
<b>16</b>	3.15	2.95	15.43	22.84	26.09	19.71	9.83	25.65
<b>17</b>	1.64	2.03	14.19	24.87	27.00	20.46	9.81	17.79
<b>18</b>	0.67	1.26	12.13	21.24	29.28	23.72	11.69	11.77
<b>19</b>	0.03	0.03	8.41	17.24	31.37	28.40	14.51	6.33
<b>20</b>	0.00	0.00	1.53	14.23	32.38	34.68	17.19	2.34
<b>21</b>	0.00	0.00	43.86	0.65	20.86	31.88	2.76	0.28
	2.45	2.51	13.48	20.93	27.97	21.72	10.95	

❖ *Kiseline nerastvorne u vodi na pH 6*

Tabela 7.5. Maseni udeo determinisanih naftnih kiselina i udeo homologih Z-serija u smeši kiselina ekstrahovanih iz vodenog rastvora ukupnih kiselina na pH 6

Broj C-atoma u kiselini	Maseni udeo pojedinih klasa karboksilnih kiselina [%]							Maseni udeo kiselina sa istim brojem C-atoma [%]
	<b>pH 6, C<sub>n</sub>H<sub>2n-z</sub>O<sub>2</sub></b>							
	Alkanske <b>Z=0</b>	Monociklične <b>Z=2</b>	Biciklične <b>Z=4</b>	Triciklične <b>Z=6</b>	Tetraciklične <b>Z=8</b>	Pentaciklične <b>Z=10</b>	Heksaciklične <b>Z=12</b>	
<b>15</b>	3.78	3.12	11.25	20.38	30.67	20.78	10.02	33.07
<b>16</b>	3.90	2.77	11.91	22.24	28.61	20.25	10.33	24.62
<b>17</b>	2.25	1.40	12.38	23.14	29.96	20.19	10.69	17.62
<b>18</b>	1.44	2.48	13.23	20.53	30.32	21.79	10.21	12.10
<b>19</b>	0.10	1.28	10.06	21.66	31.50	23.98	11.42	7.27
<b>20</b>	0.00	0.37	6.59	23.30	33.96	26.35	9.43	3.64
<b>21</b>	0.00	1.46	46.10	15.48	23.40	12.92	0.65	1.69
	2.79	2.39	12.18	21.46	30.05	20.97	10.16	



❖ *Kiseline nerastvorne u vodi na pH 5*

Tabela 7.6. Maseni udeo determinisanih naftnih kiselina i udeo homologih Z-serija u smeši kiselina ekstrahovanih iz vodenog rastvora ukupnih kiselina na pH 5

Broj C-atoma u kiselini	Maseni udeo pojedinih klasa karboksilnih kiselina [%]							Maseni udeo kiselina sa istim brojem C-atoma [%]
	<b>pH 5, C<sub>n</sub>H<sub>2n-z</sub>O<sub>2</sub></b>							
	Alkanske <b>Z=0</b>	Monociklične <b>Z=2</b>	Biciklične <b>Z=4</b>	Triciklične <b>Z=6</b>	Tetraciklične <b>Z=8</b>	Pentaciklične <b>Z=10</b>	Heksaciklične <b>Z=12</b>	
<b>15</b>	3.72	3.66	10.46	20.18	33.17	19.92	8.89	29.96
<b>16</b>	3.81	4.30	11.62	22.03	30.48	19.08	8.68	23.68
<b>17</b>	2.71	4.26	12.74	22.42	30.71	18.91	8.25	17.48
<b>18</b>	2.39	5.89	13.14	21.41	30.18	18.83	8.16	12.9
<b>19</b>	0.64	5.38	12.23	22.55	29.88	20.57	8.74	8.63
<b>20</b>	0.17	6.54	11.48	16.59	31.59	23.48	10.14	4.92
<b>21</b>	0.05	1.88	7.70	27.03	32.56	24.22	6.56	2.44
	2.86	4.45	11.62	21.36	31.34	19.74	8.63	

❖ *Kiseline nerastvorne u vodi na pH 4*

Tabela 7.7. Maseni udeo determinisanih naftnih kiselina i udeo homologih Z-serija u smeši kiselina ekstrahovanih iz vodenog rastvora ukupnih kiselina na pH 4

Broj C-atoma u kiselini	Maseni udeo pojedinih klasa karboksilnih kiselina [%]							Maseni udeo kiselina sa istim brojem C-atoma [%]
	<b>pH 4, C<sub>n</sub>H<sub>2n-z</sub>O<sub>2</sub></b>							
	Alkanske <b>Z=0</b>	Monociklične <b>Z=2</b>	Biciklične <b>Z=4</b>	Triciklične <b>Z=6</b>	Tetraciklične <b>Z=8</b>	Pentaciklične <b>Z=10</b>	Heksaciklične <b>Z=12</b>	
<b>15</b>	3.78	3.43	10.07	20.66	33.18	19.91	8.97	29.53
<b>16</b>	3.89	3.58	11.54	22.25	31.12	18.72	8.90	23.12
<b>17</b>	2.90	3.80	12.25	23.09	30.86	18.92	8.17	17.64
<b>18</b>	2.13	5.72	12.97	21.51	30.18	19.20	8.29	13.01
<b>19</b>	0.70	5.31	12.72	22.29	29.26	20.90	8.83	8.76
<b>20</b>	0.02	6.43	10.41	23.73	29.14	21.43	8.84	5.42
<b>21</b>	0.00	1.87	8.15	26.87	31.97	24.17	6.97	2.52
	2.87	4.12	11.38	22.04	31.31	19.64	8.65	

❖ *Kiseline nerastvorne u vodi na pH 3*

Tabela 7.8. Maseni udeo determinisanih naftnih kiselina i udeo homologih Z-serija u smeši kiselina ekstrahovanih iz vodenog rastvora ukupnih kiselina na pH 3

Broj C-atoma u kiselini	Maseni udeo pojedinih klasa karboksilnih kiselina [%]							Maseni udeo kiselina sa istim brojem C-atoma [%]
	<b>pH 3, C<sub>n</sub>H<sub>2n-z</sub>O<sub>2</sub></b>							
	Alkanske <b>Z=0</b>	Monociklične <b>Z=2</b>	Biciklične <b>Z=4</b>	Triciklične <b>Z=6</b>	Tetraciklične <b>Z=8</b>	Pentaciklične <b>Z=10</b>	Heksaciklične <b>Z=12</b>	
<b>15</b>	1.70	3.04	10.34	21.45	33.95	20.50	9.02	31.43
<b>16</b>	4.51	4.03	14.01	26.81	36.94	11.13	2.58	20.72
<b>17</b>	2.71	3.07	12.45	22.74	31.25	19.54	8.24	18.54
<b>18</b>	1.54	5.50	14.00	23.79	33.11	21.20	0.86	12.66
<b>19</b>	0.35	4.68	12.60	23.44	29.35	20.57	9.02	8.95
<b>20</b>	0.00	4.88	10.55	24.19	29.80	21.63	8.95	5.46
<b>21</b>	0.00	0.53	5.99	29.88	35.80	24.52	3.28	2.25
	2.26	3.86	12.40	24.26	34.28	16.38	6.55	

❖ *Kiseline nerastvorne u vodi na pH 2*

Tabela 7.9. Maseni udeo determinisanih naftnih kiselina i udeo homologih Z-serija u smeši kiselina ekstrahovanih iz vodenog rastvora ukupnih kiselina na pH 2

Broj C-atoma u kiselini	Maseni udeo pojedinih klasa karboksilnih kiselina [%]							Maseni udeo kiselina sa istim brojem C-atoma [%]
	<i>pH 2, C<sub>n</sub>H<sub>2n-2</sub>O<sub>2</sub></i>							
	Alkanske Z=0	Monociklične Z=2	Biciklične Z=4	Triciklične Z=6	Tetraciklične Z=8	Pentaciklične Z=10	Heksaciklične Z=12	
<b>15</b>	3.27	3.77	10.38	20.86	33.32	19.63	8.76	30.19
<b>16</b>	3.74	4.40	11.75	21.90	30.54	18.96	8.71	23.63
<b>17</b>	2.87	4.36	12.61	22.93	30.40	18.51	8.32	17.51
<b>18</b>	2.62	6.16	14.07	21.59	29.27	18.46	7.83	12.71
<b>19</b>	1.28	6.02	13.35	22.74	27.37	20.15	9.10	8.42
<b>20</b>	0.20	7.54	12.65	23.49	26.28	20.67	9.16	5.13
<b>21</b>	0.00	4.52	11.52	27.95	27.46	20.57	7.99	2.42
	2.89	4.83	9.97	22.52	31.32	19.68	8.78	

Tabela 7.10. Matrica pH vrednost – Z-serija smeše prirodnih naftnih kiselina “Vebebit”

	<b>pH2</b>	<b>pH3</b>	<b>pH4</b>	<b>pH5</b>	<b>pH6</b>	<b>pH7</b>	<b>pH8</b>	<b>pH9</b>	<b>pH10</b>
aciklične	2.89	2.26	2.87	2.86	2.79	2.45	2.41	2.80	2.43
monocilične	4.83	3.86	4.12	4.45	2.39	2.51	3.48	5.23	4.92
biciklične	9.97	12.40	11.38	11.62	12.18	13.48	14.58	10.16	12.14
triciklične	22.52	24.26	22.04	21.36	21.46	20.93	21.22	21.47	21.36
tetraciklične	31.32	34.28	31.31	31.34	30.05	27.97	29.48	31.39	31.70
pentaciklične	19.68	16.38	19.64	19.74	20.97	21.72	18.51	20.01	19.26
heksaciklične	8.78	6.55	8.65	8.63	10.16	10.95	10.31	8.95	8.17

### 7.1.3. Prilog uz poglavlje 3.6.1. i 4.10.

Tabela 7.11. Srednje vrednosti apsorbancije rastvora ( $A_{538}$ ) različitih koncentracija soli ukupnih naftnih kiselina (Na-naftenata) u zavisnosti od vremena

vreme / h	0	2	4	6	8	10	12	24
$C_{\text{Na-naft.}} / \mu\text{mol/L}$	$A_{538}$							
0	0.053	0.068	0.069	0.07	0.069	0.078	0.077	0.136
10	0.042	0.051	0.044	0.047	0.041	0.035	0.03	0.086
30	0.049	0.056	0.047	0.069	0.072	0.077	0.084	0.216
55	0.06	0.072	0.105	0.174	0.213	0.264	0.331	0.844
80	0.087	0.107	0.181	0.337	0.442	0.552	0.69	1.547
100	0.099	0.126	0.278	0.484	0.563	0.746	0.891	1.746

Tabela 7.12. Srednje vrednosti absorbancije rastvora ( $A_{538}$ ) različitih koncentracija natrijumovih soli naftnih kiselina izolovanih na pH 4 u zavisnosti od vremena

vreme / h	0	2	4	6	8	10	12	24
$C_{\text{Na-naft. pH 4}} / \mu\text{mol/L}$	$A_{538}$							
0	0.044	0.056	0.063	0.08	0.081	0.1	0.081	0.141
10	0.037	0.052	0.052	0.059	0.053	0.06	0.039	0.189
30	0.048	0.063	0.061	0.069	0.069	0.082	0.071	0.127
55	0.071	0.098	0.118	0.159	0.167	0.227	0.258	0.751
80	0.077	0.087	0.119	0.181	0.261	0.342	0.414	1.103
100	0.103	0.128	0.21	0.351	0.461	0.588	0.707	1.529

Tabela 7.13. Srednje vrednosti absorbancije rastvora ( $A_{538}$ ) različitih koncentracija natrijumovih soli naftnih kiselina izolovanih na pH 8 u zavisnosti od vremena

vreme / h	0	2	4	6	8	10	12	24
$C_{\text{Na-naft. pH 8}} / \mu\text{mol/L}$	$A_{538}$							
0	0.033	0.053	0.051	0.054	0.056	0.071	0.058	0.061
10	0.029	0.043	0.038	0.032	0.036	0.046	0.031	0.09
30	0.033	0.049	0.05	0.047	0.068	0.075	0.06	0.176
55	0.037	0.068	0.134	0.158	0.333	0.429	0.496	1.255
80	0.044	0.106	0.322	0.543	0.726	0.926	1.071	1.911
100	0.057	0.156	0.497	0.814	0.854	1.266	1.448	2.031

Tabela 7.14. Srednje vrednosti absorbancije rastvora ( $A_{538}$ ) različitih koncentracija natrijumovih soli naftnih kiselina izolovanih na pH 10 u zavisnosti od vremena

vreme / h	0	2	4	6	8	10	12	24
$C_{\text{Na-naft, pH 10}} / \mu\text{mol/L}$	$A_{538}$							
0	0.028	0.05	0.054	0.055	0.062	0.077	0.068	0.134
10	0.042	0.059	0.052	0.051	0.057	0.066	0.051	0.071
30	0.021	0.039	0.033	0.03	0.035	0.04	0.024	0.03
55	0.038	0.048	0.052	0.044	0.049	0.058	0.043	0.124
80	0.042	0.056	0.059	0.069	0.082	0.119	0.105	0.384
100	0.04	0.059	0.095	0.0127	0.0187	0.275	0.33	0.937

Tabela 7.15. Absorbancije rastvora natrijum-naftenata za ukupne naftne kiseline "Velebit" (NAs) i njene uže frakcije dobijene merenjem nakon 24 h

$C_{\text{Na-naft.}} / \mu\text{mol/L}$	Na-naftenati	pH 4	pH 8	pH 10
	$A_{538}$ nakon 24h			
0	0.136	0.141	0.061	0.134
10	0.086	0.189	0.09	0.071
30	0.216	0.127	0.176	0.03
55	0.844	0.751	1.255	0.124
80	1.547	1.103	1.911	0.384
100	1.746	1.529	2.031	0.937

### 7.1.4. Prilog uz poglavlje 3.6.2. i 4.11.

Tabela 7.16. Efikasnost ožiljavanja reznica suncokreta u zavisnosti od koncentracije alkohola naftnih kiselina

	Jedinjenje 28	Jedinjenje 29	Jedinjenje 30	Jedinjenje 31	Jedinjenje 32	MS-ol	Jedinjenje 33
<b>Kontrola</b>	7.2±4.02	7.2±4.02	7.2±4.02	7.2±4.02	7.2±4.02	7.2±4.02	7.2±4.02
<b>1 exp-5</b>	5.8±3.56	5.2±2.17	8.4±3.05	3.4±2.30	27.8±3.21	5.56±1.41	26.6±2.12
<b>1 exp-6</b>	6.2±3.63	6.8±1.64	6.6±2.51	20.8±3.11	18±3.81	3.6±1.64	23.8±2.75
<b>1 exp-7</b>	11.2±3.27	9.6±3.36	4.8±0.84	17.2±3.79	2.6±2.07	7.8±3.83	29.4±3.54

Tabela 7.17. Efikasnost ožiljavanja reznica suncokreta u zavisnosti od koncentracije alkohola naftnih kiselina „Velebit“ i smeše prirodnih naftnih kiselina „Velebit“

	Jedinjenje 8	Jedinjenje 33
<b>Kontrola</b>	7.2	7.2
<b>1 exp-5</b>	20.8	26.6
<b>1 exp-6</b>	17	23.8
<b>1 exp-7</b>	17.8	29.4

Tabela 7.18. Efikasnost ožiljavanja reznica suncokreta u zavisnosti od koncentracije amida naftnih kiselina „Velebit“

	Jedinjenje 8	Jedinjenje 27	Jedinjenje 19	Jedinjenje 20
<b>Kontrola</b>	7.2±4.02	7.2±4.02	7.2±4.02	7.2±4.02
<b>1 exp-5</b>	20.8±5.17	22.5±4.16	13.75±3.21	12.25±2.22
<b>1 exp-6</b>	17±4.90	15.75±3.30	18.75±3.30	22.75±3.59
<b>1 exp-7</b>	17.8±5.07	20.75±2.50	20.75±2.50	20.5±4.58

### 7.1.5. Prilog uz poglavlje 3.6.3. i 4.12.

*Tabela 7.19.* Inhibicija klijanja semena slačice sorte *Sinapis alba* u zavisnosti od koncentracije rastvora **alkohola** individualnih i prirodnih naftnih kiselina kao i samih kiselina u poređenju sa rastvorima 3-indolsirćetne kiseline (IAA)

	3-IAA	Jedinjenje 28	Jedinjenje 29	Jedinjenje 30	Jedinjenje 31	Jedinjenje 32	Jedinjenje 33
<b>1 exp-5</b>	61±4.95	10±1.41	8±0.00	9±0.71	15±0.71	8±0.00	9±0.71
<b>1 exp-6</b>	76±2.83	11±0.71	8±1.41	5±0.71	20±1.41	9±0.71	3±0.71
<b>1 exp-7</b>	74±0.00	5±0.71	5±0.71	14±1.41	20±2.83	10±0.00	8±1.41

*Tabela 7.20.* Poređenje inhibicije klijanja semena slačice između alkohola i slobodnih kiselina, model smeše i prirodnih naftnih kiselina „Velebit“

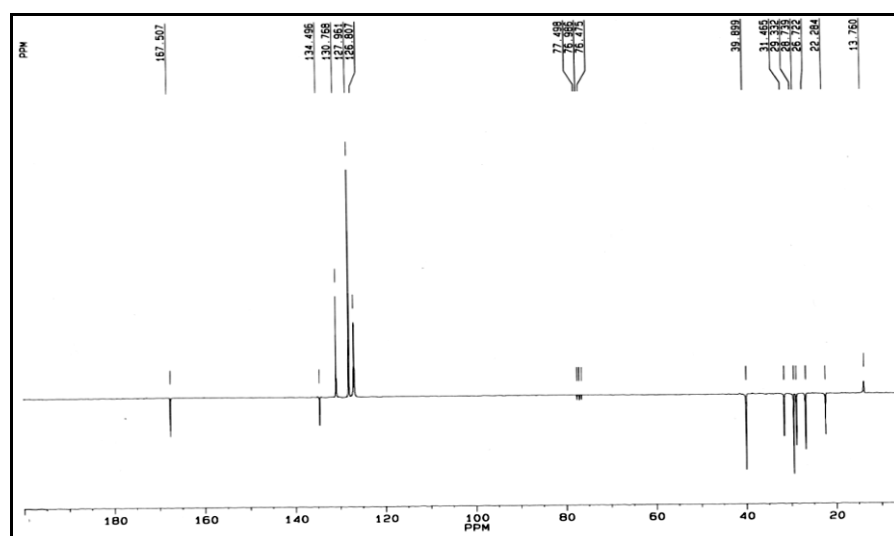
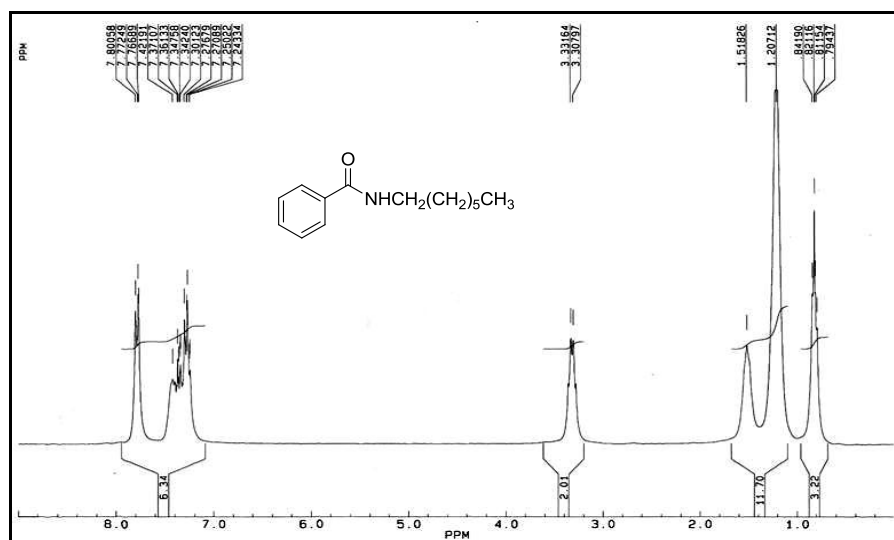
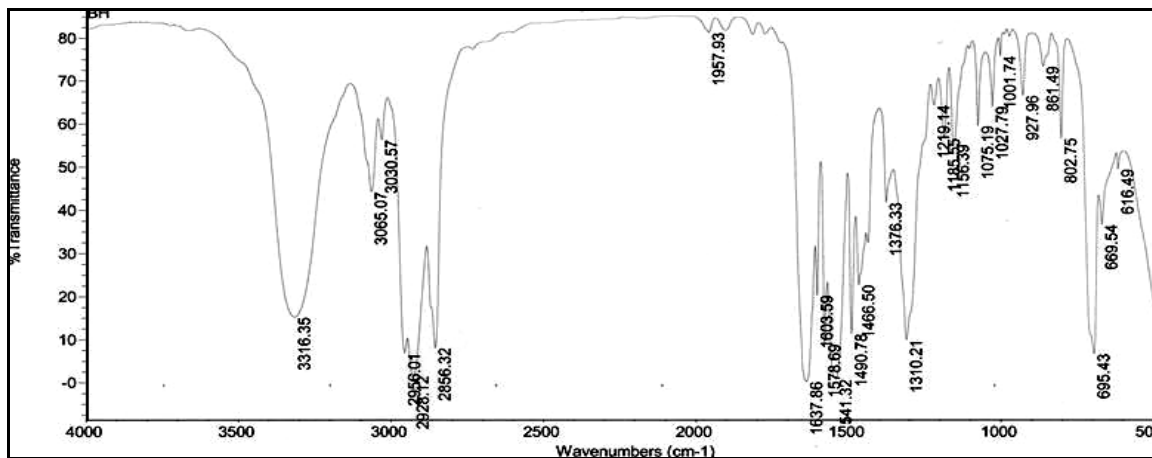
	3-IAA	MS	MS-ol	Jedinjenje 8	Jedinjenje 33
<b>1 exp-5</b>	61±4.95	25±0.71	5±0.71	42±2.83	9±0.71
<b>1 exp-6</b>	76±2.83	16±0.00	5±0.71	27±3.54	3±0.71
<b>1 exp-7</b>	74±0.00	23±3.54	13±2.12	24±2.83	8±1.41

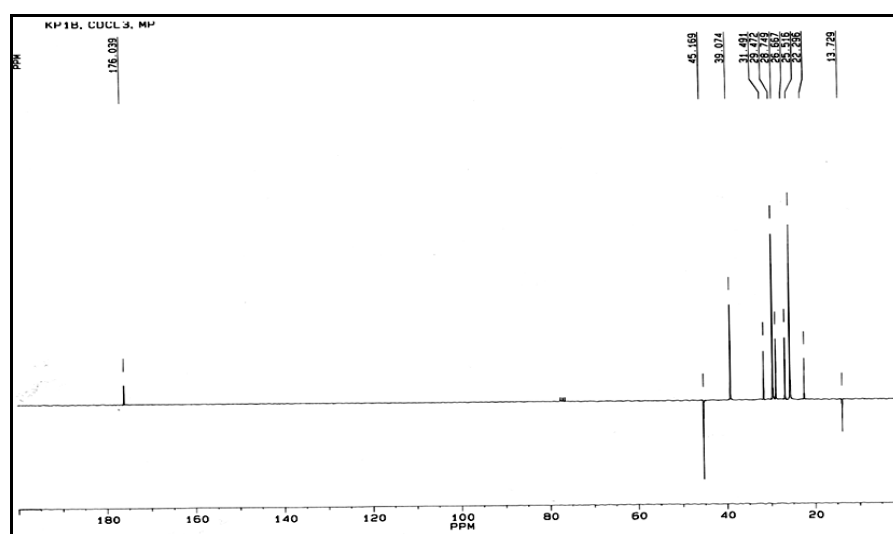
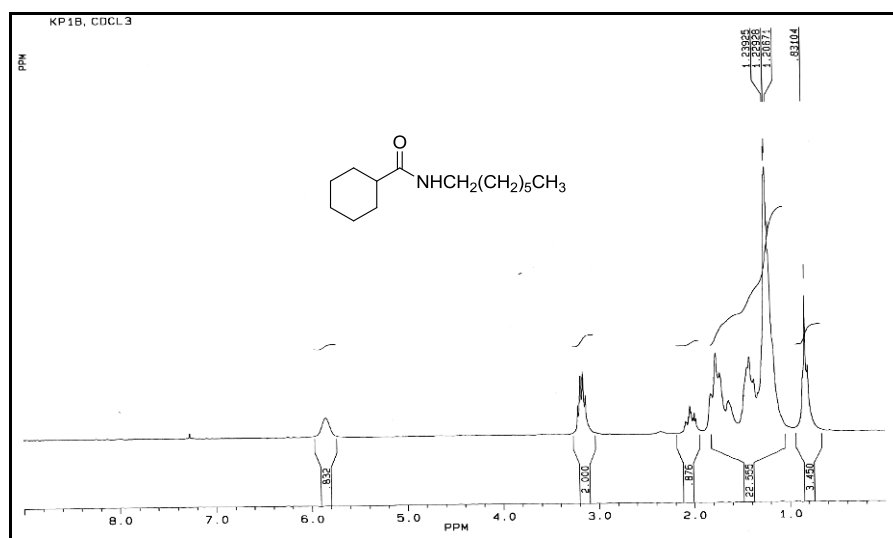
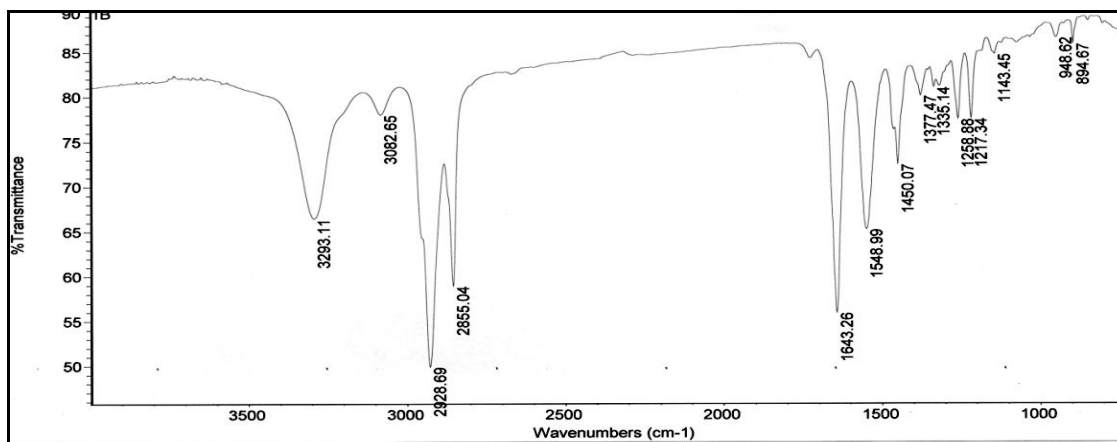
*Tabela 7.21.* Inhibicija klijanja semena slačice sorte *Sinapis alba* u zavisnosti od koncentracije rastvora **amida** prirodnih naftnih kiselina kao i samih kiselina u poređenju sa rastvorima 3-indolsirćetne kiseline (IAA)

	3-IAA	Jedinjenje 8	Jedinjenje 27	Jedinjenje 19	Jedinjenje 20
<b>1 exp-5</b>	61±4.95	42±2.83	26±2.83	12±1.41	49±2.83
<b>1 exp-6</b>	76±2.83	27±3.54	21±0.71	9±0.71	17±2.12
<b>1 exp-7</b>	74±0.00	24±2.83	20±2.83	9±3.54	20±2.83

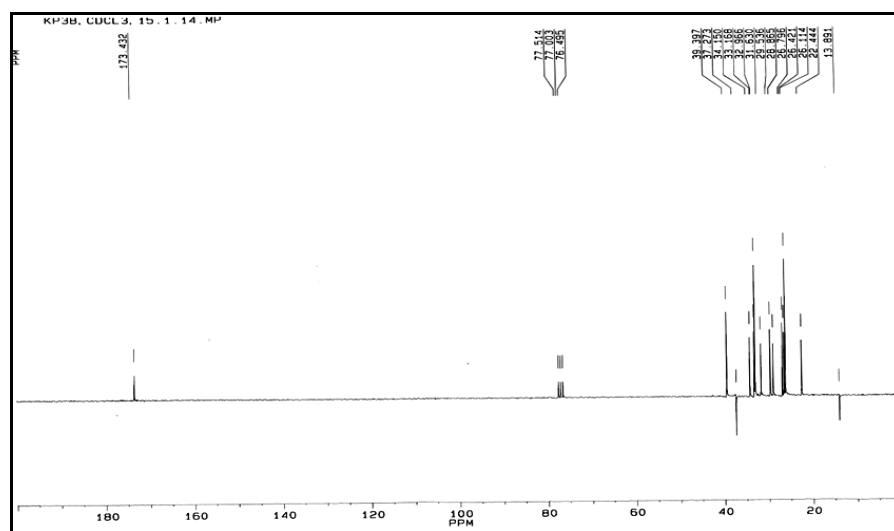
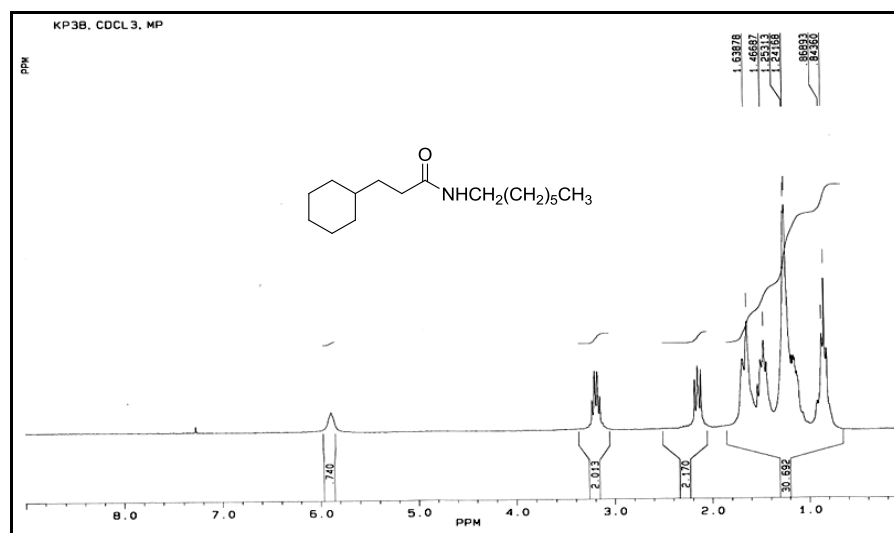
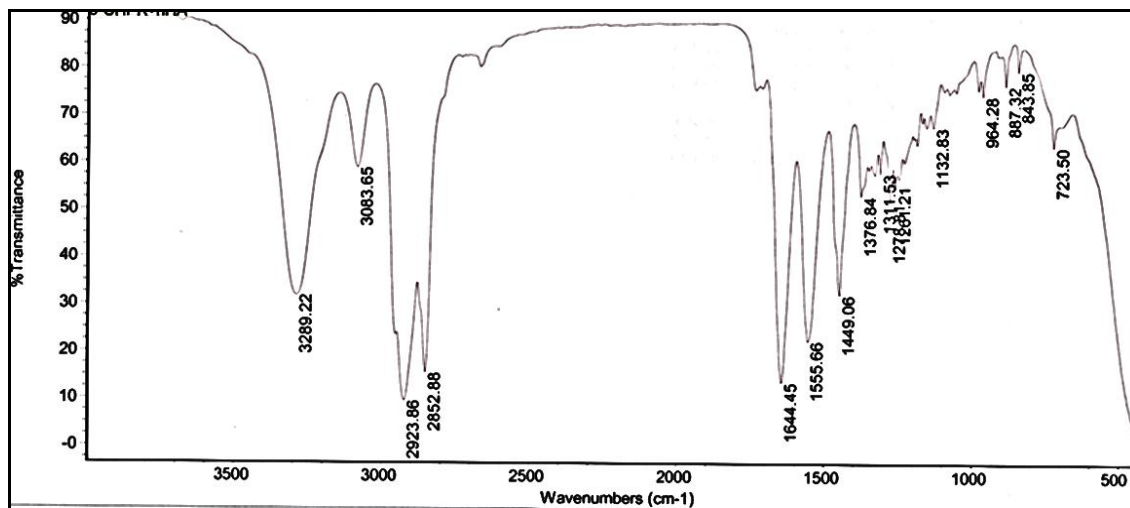
## 7.2. IR, $^1\text{H}$ i $^{13}\text{C}$ NMR spektri sintetisanih jedinjenja

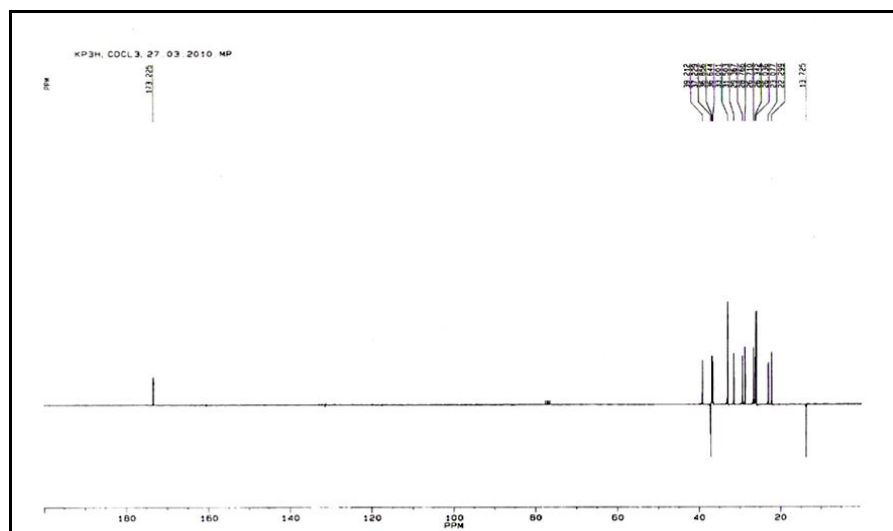
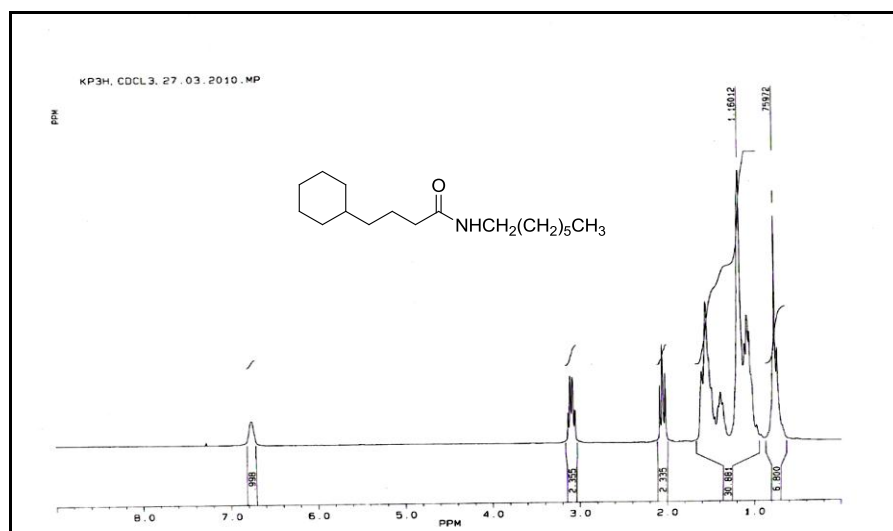
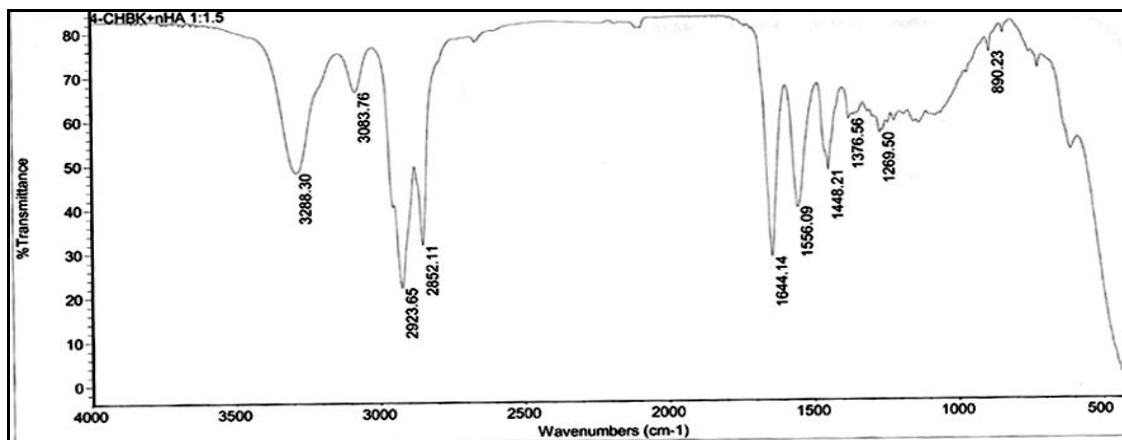
### IR, $^1\text{H}$ i $^{13}\text{C}$ NMR SPEKTRI JEDINJENJA 9

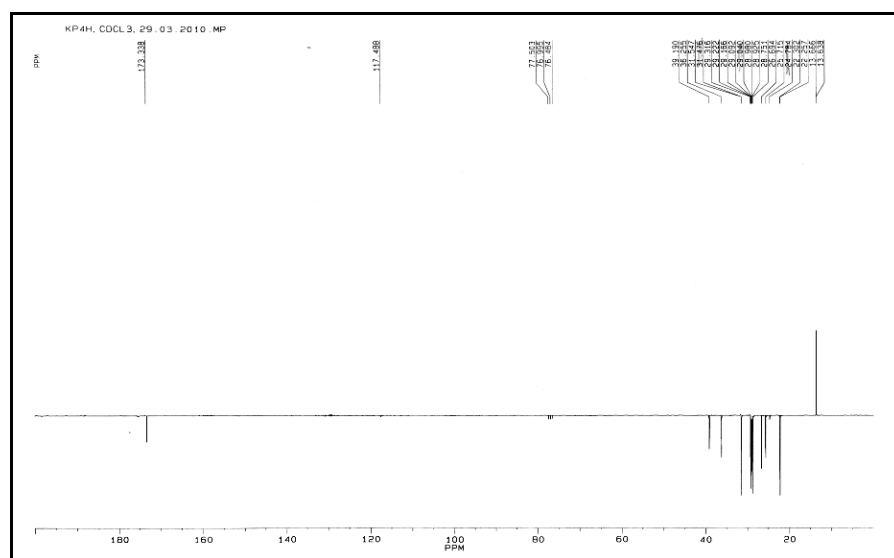
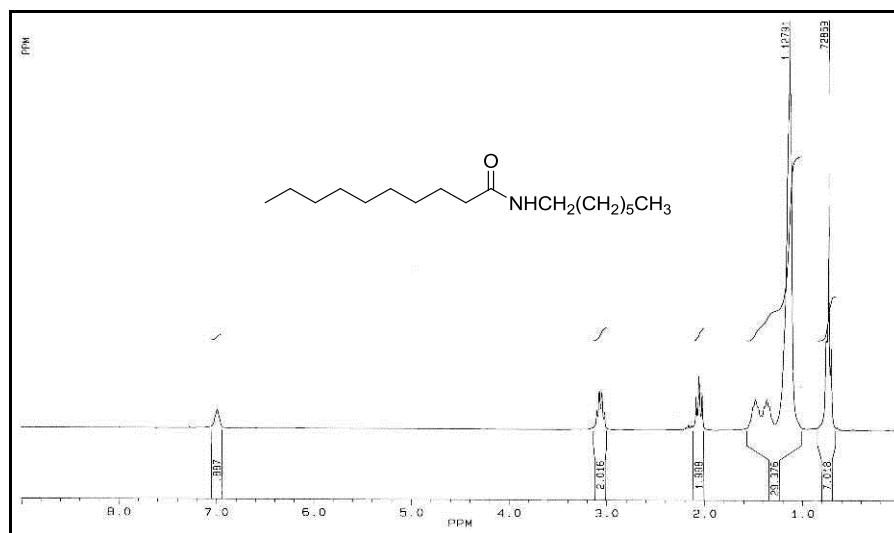
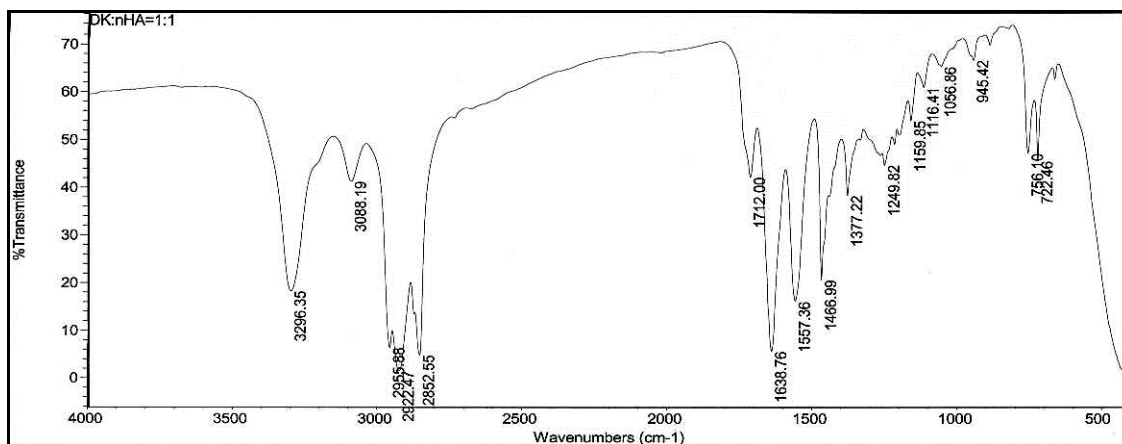


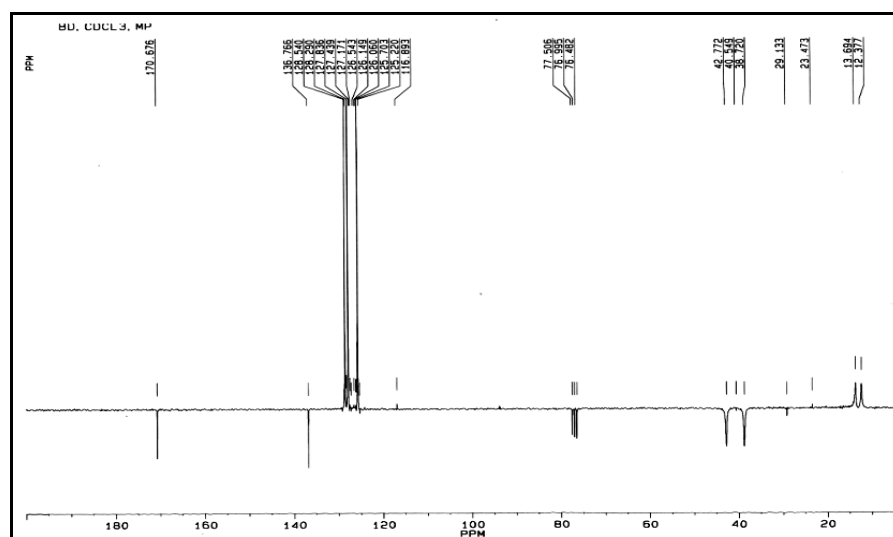
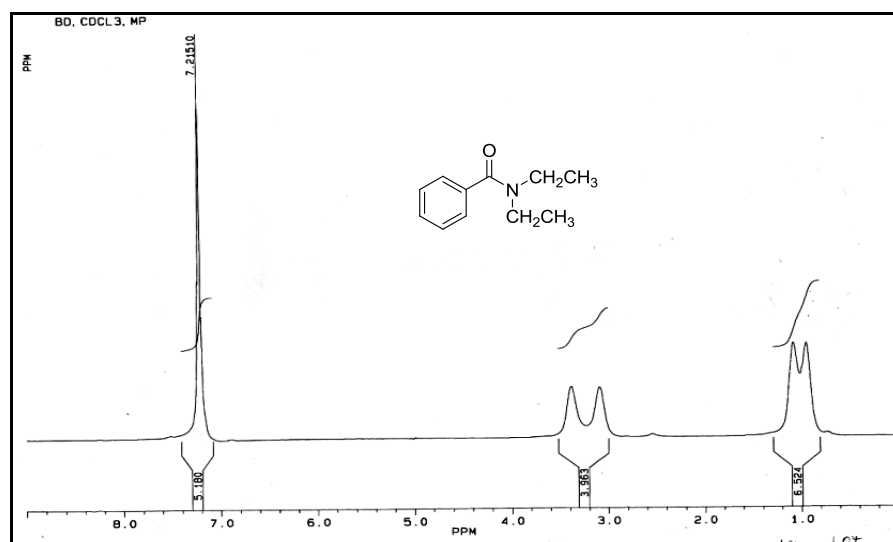
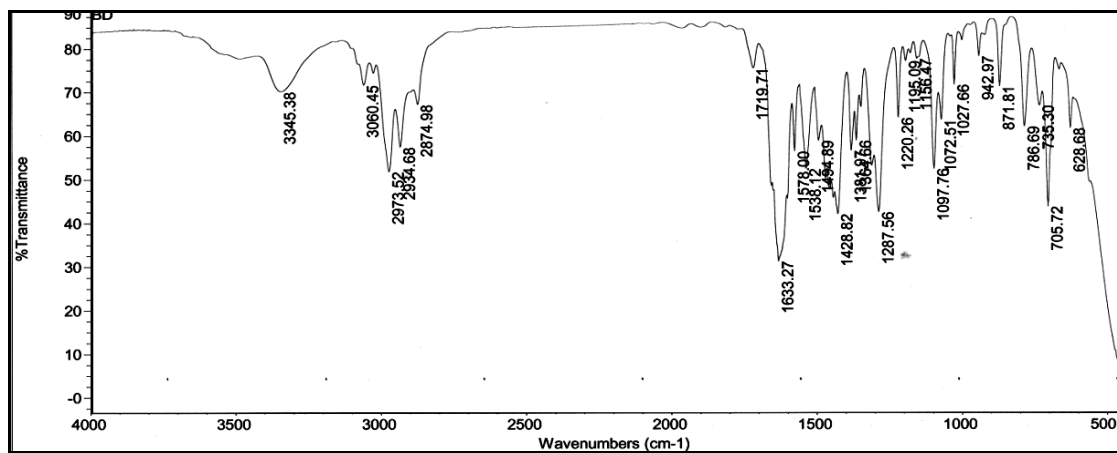
IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 10

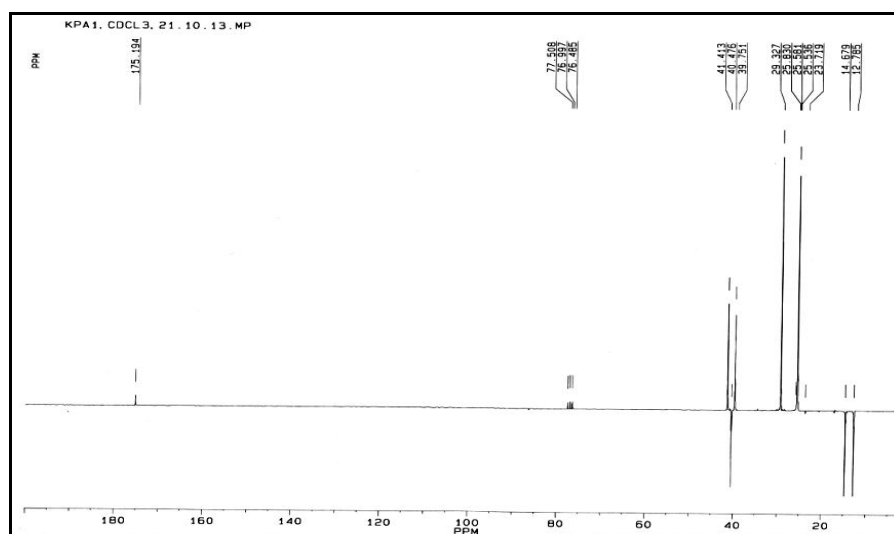
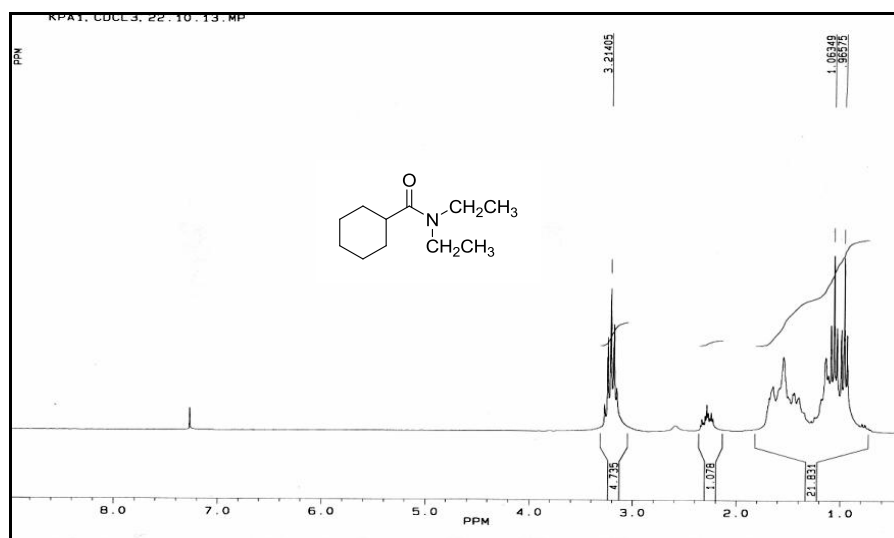
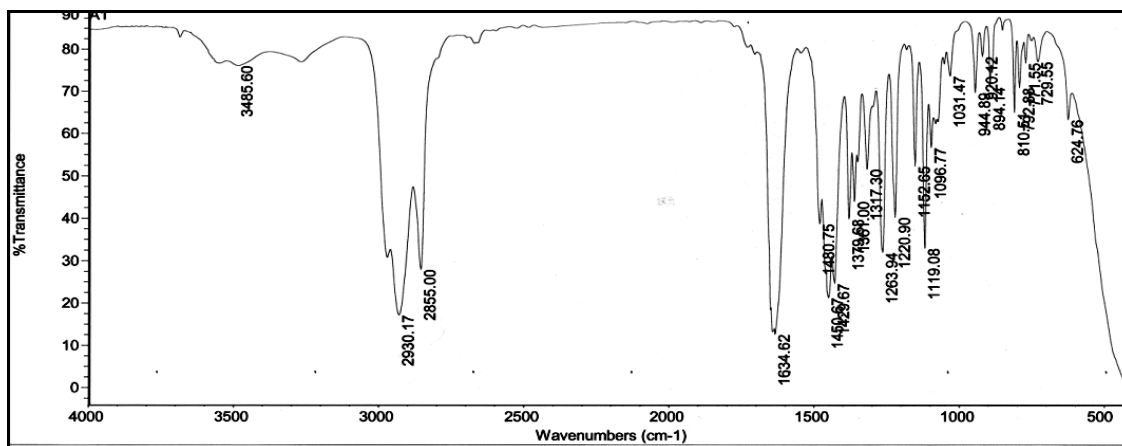


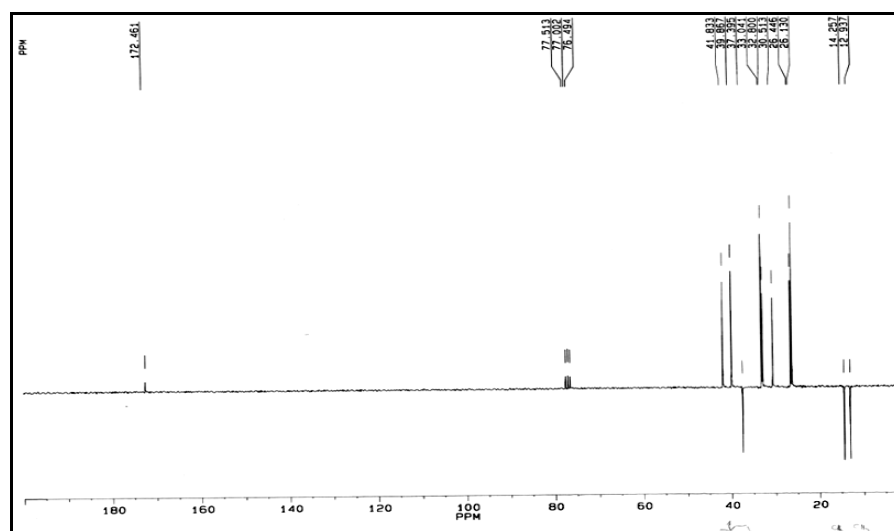
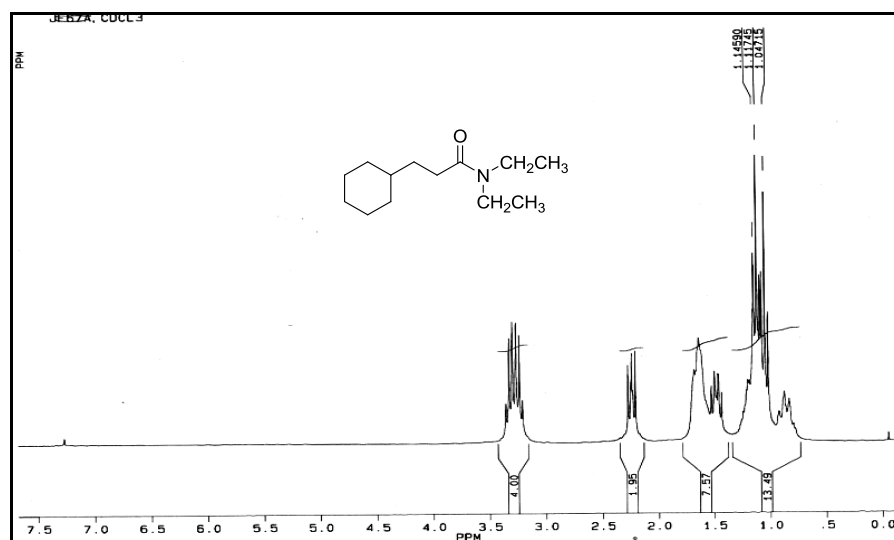
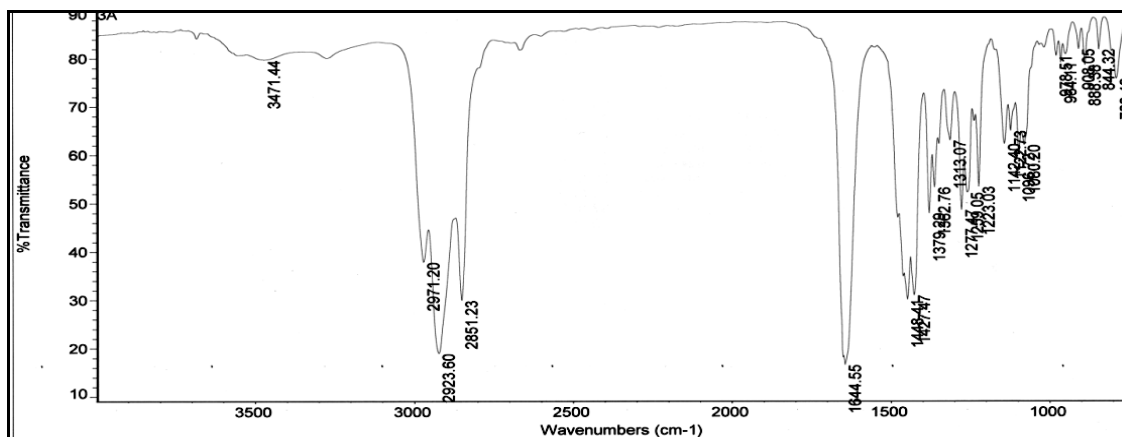
IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 11

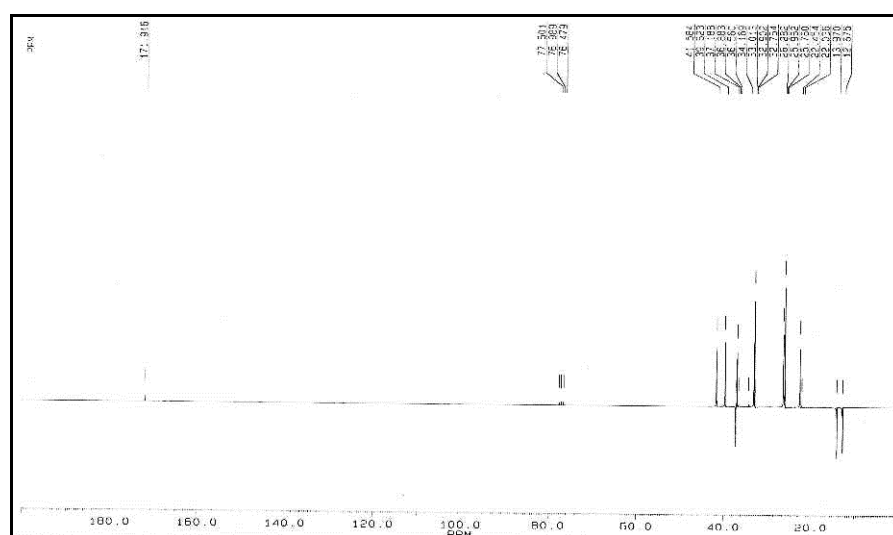
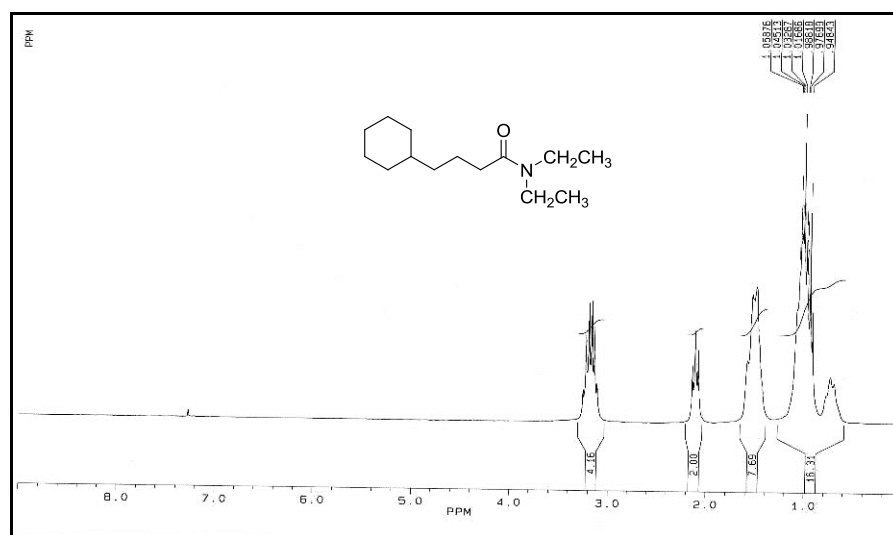
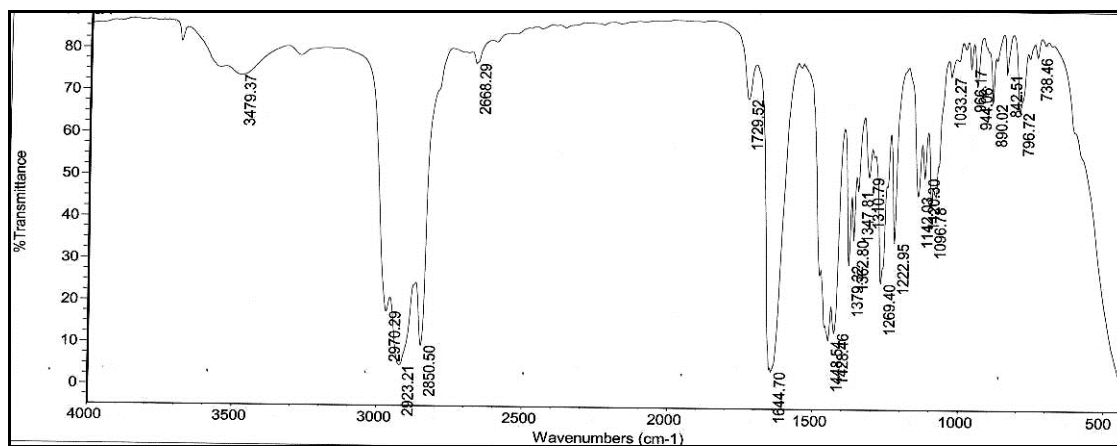
IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 12

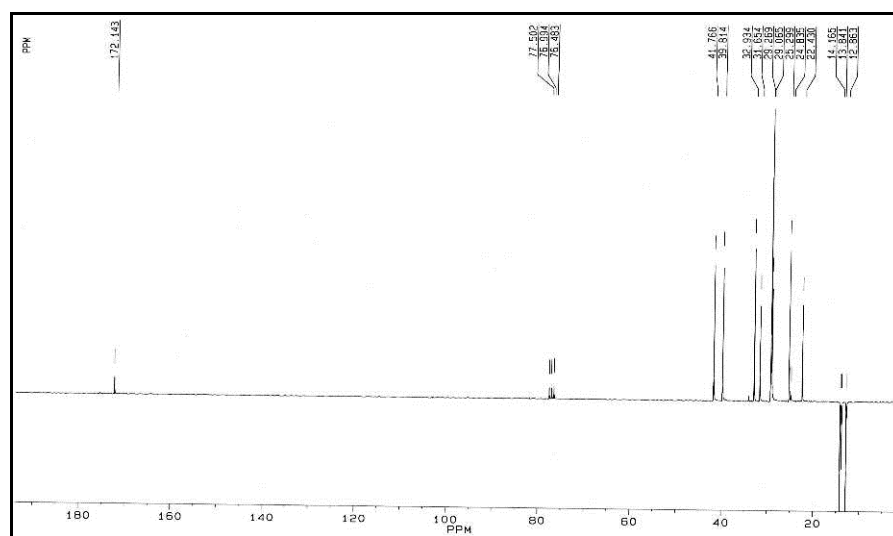
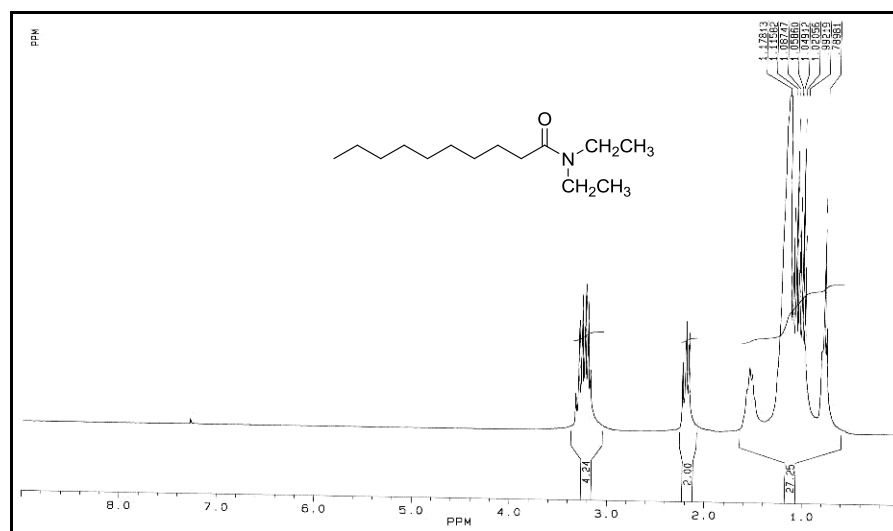
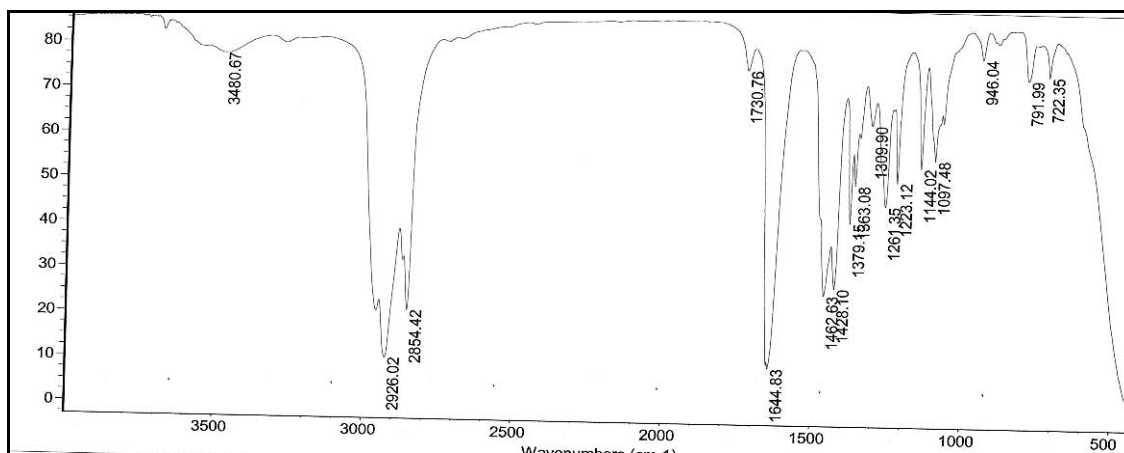
IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 13

IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 14

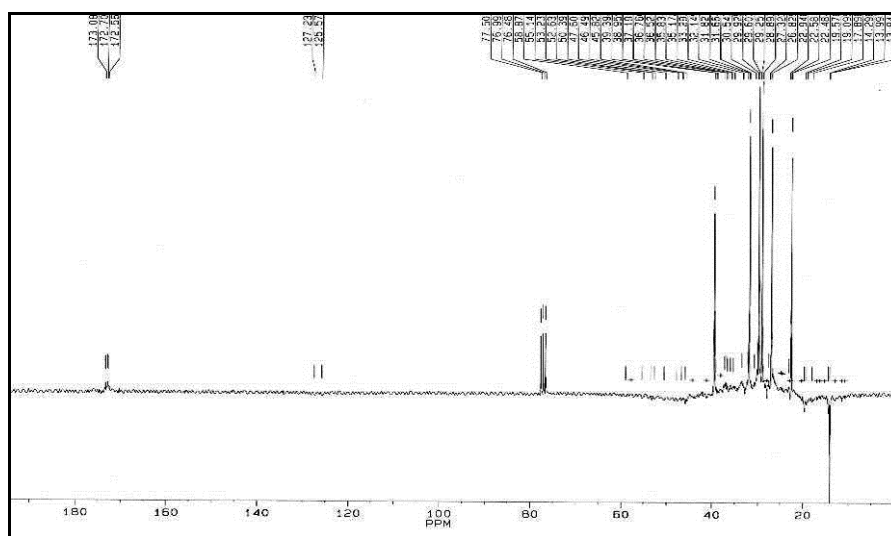
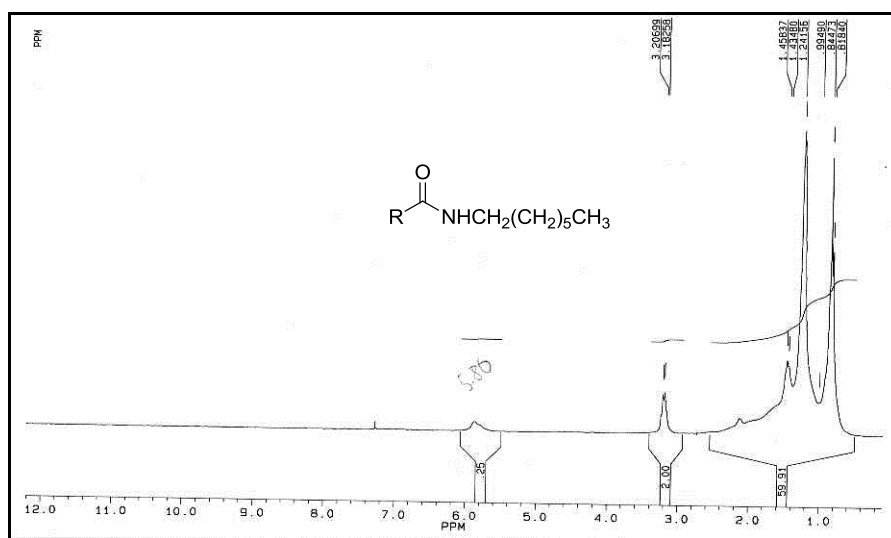
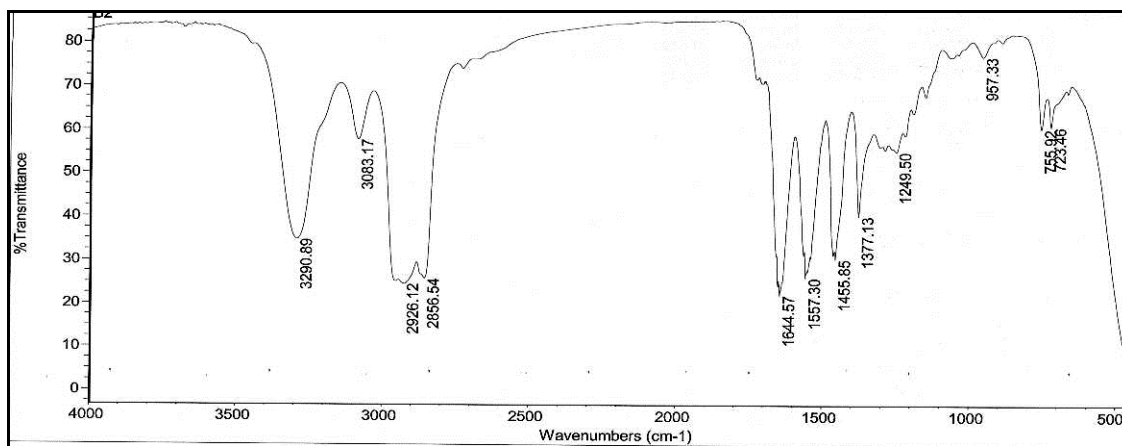
IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 15

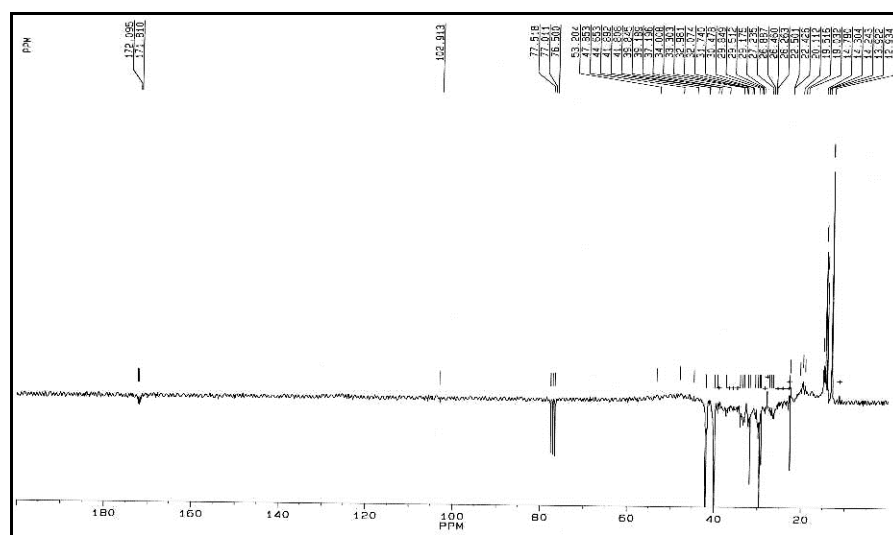
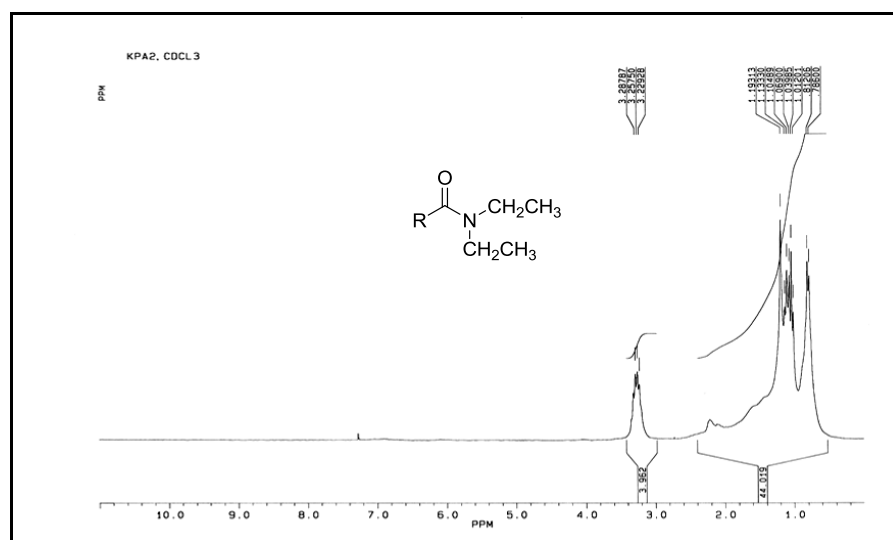
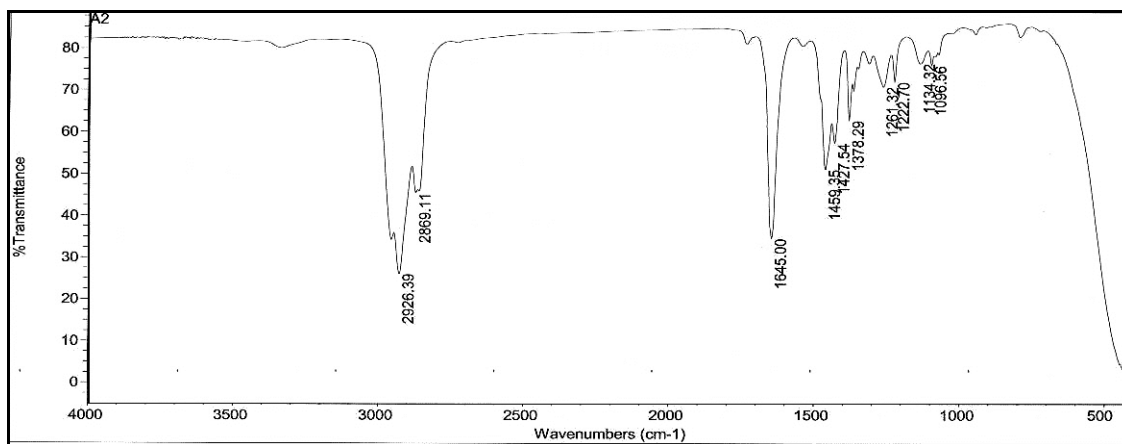
IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 16

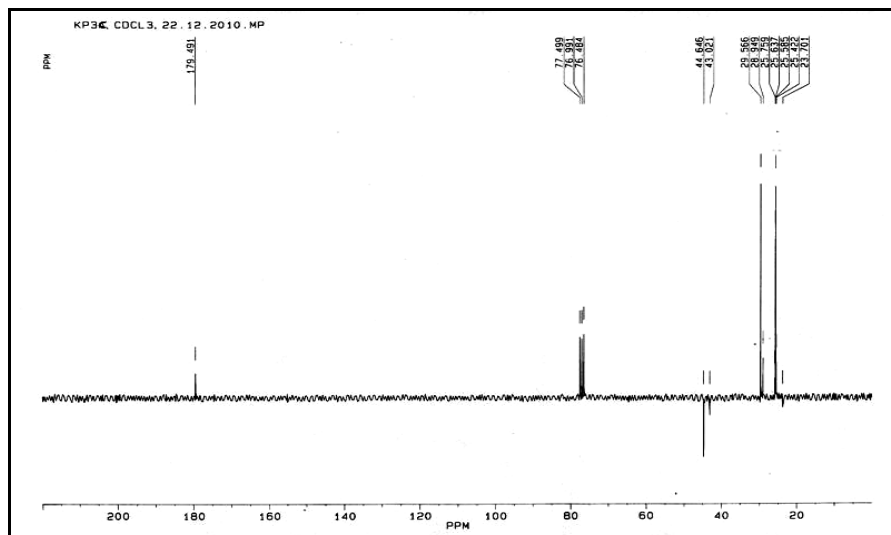
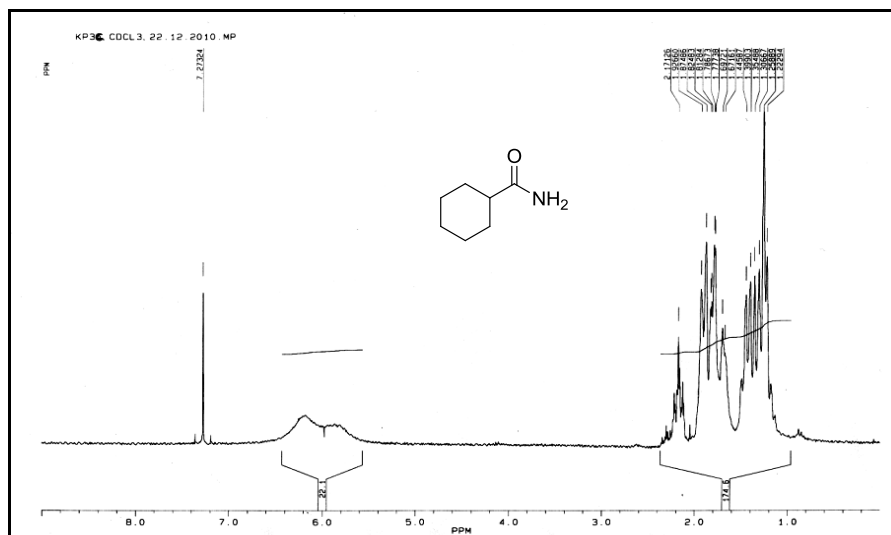
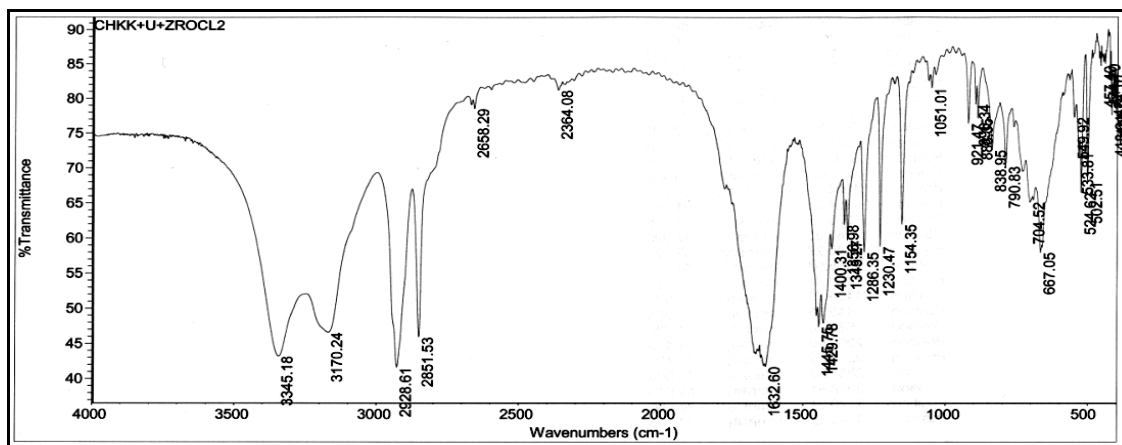
IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 17

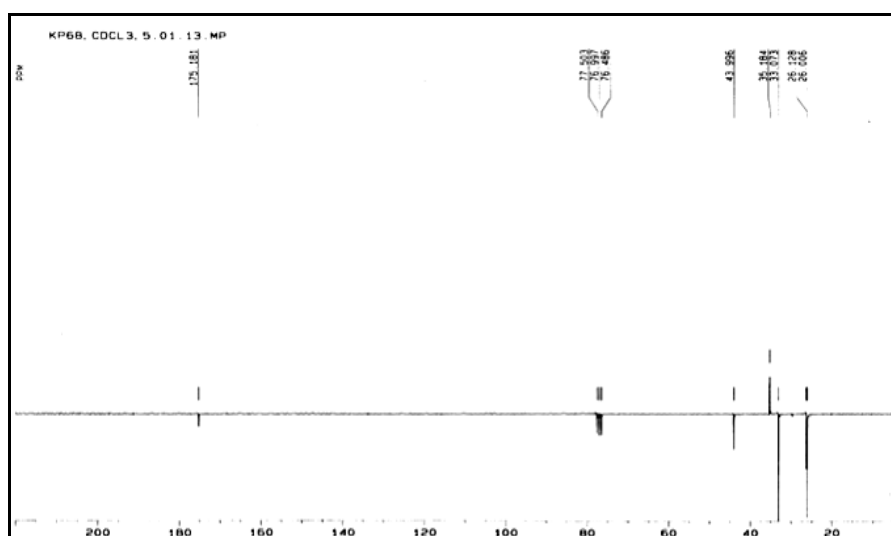
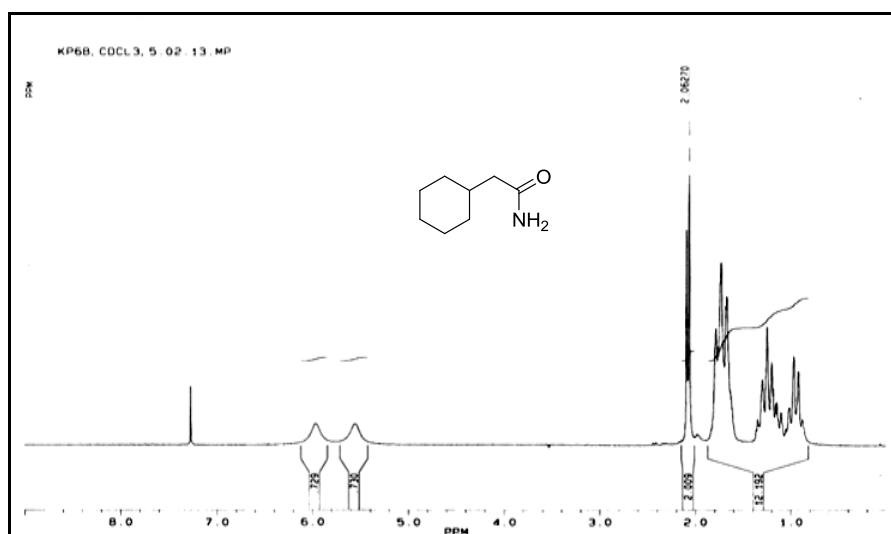
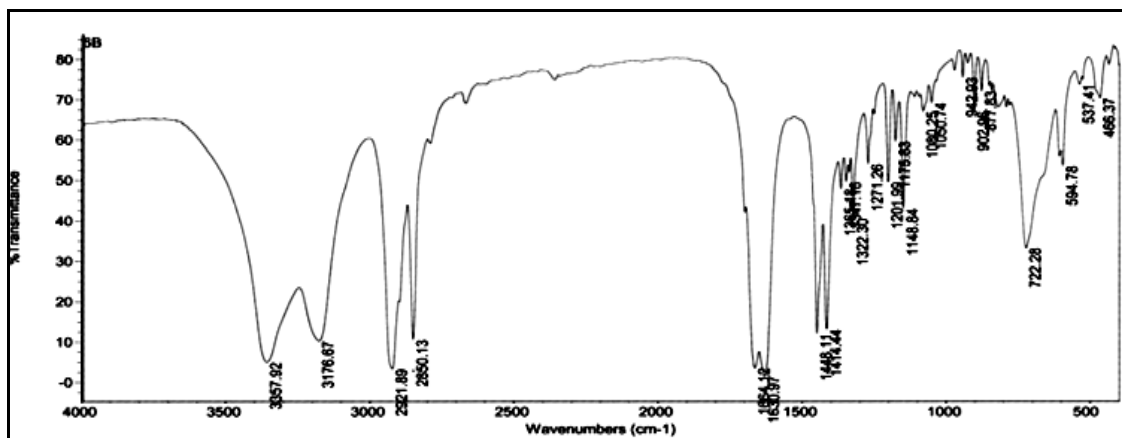
IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 18



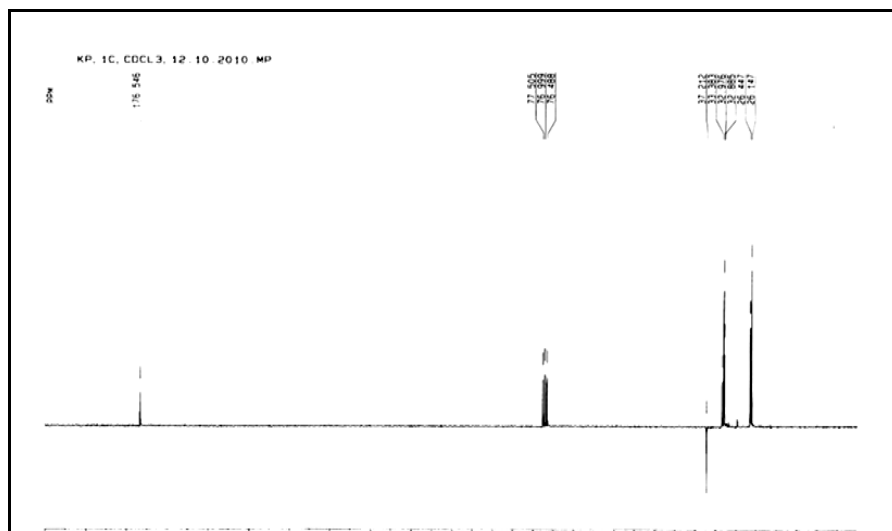
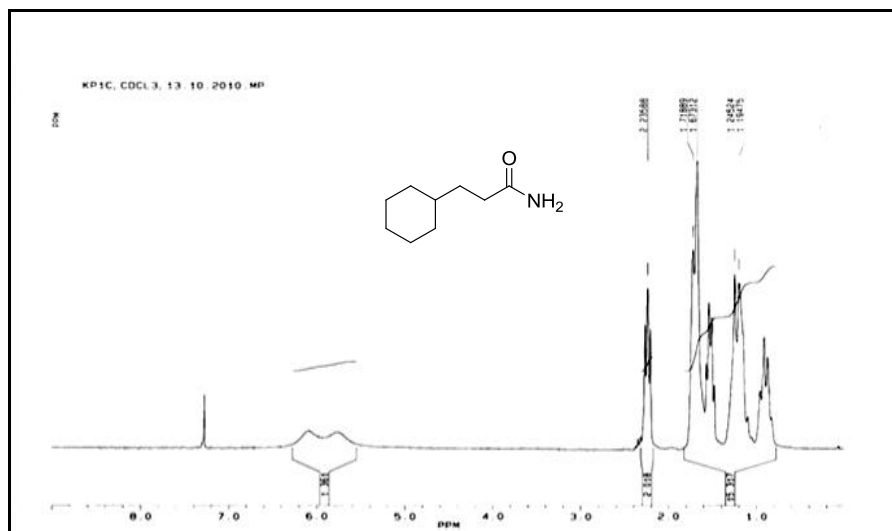
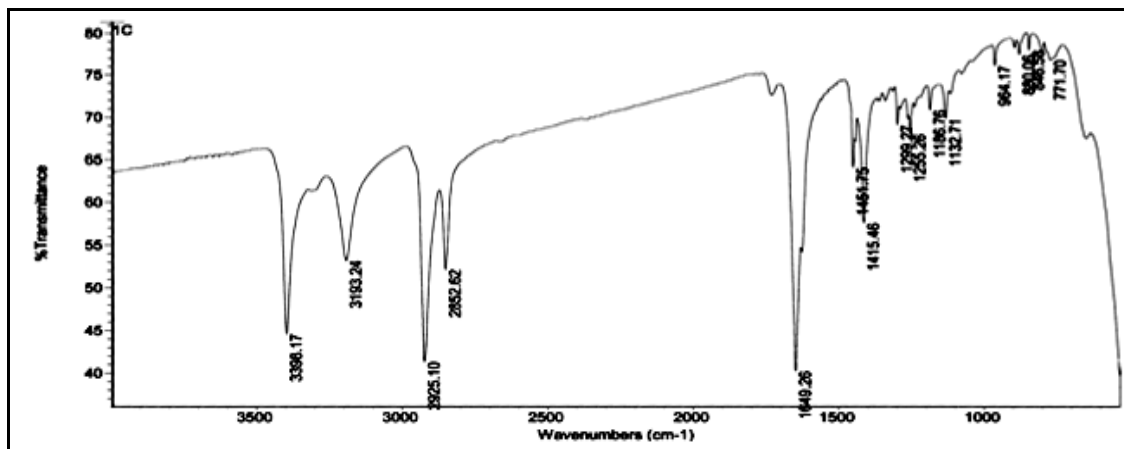
IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 19

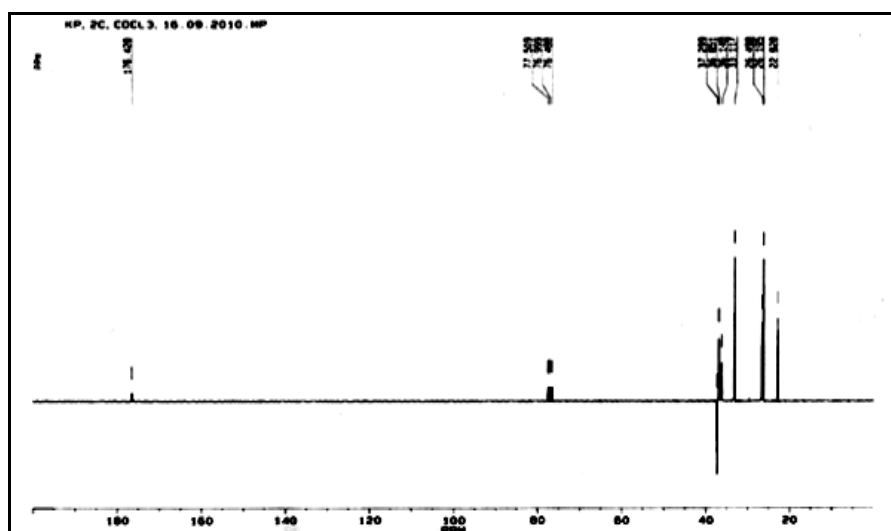
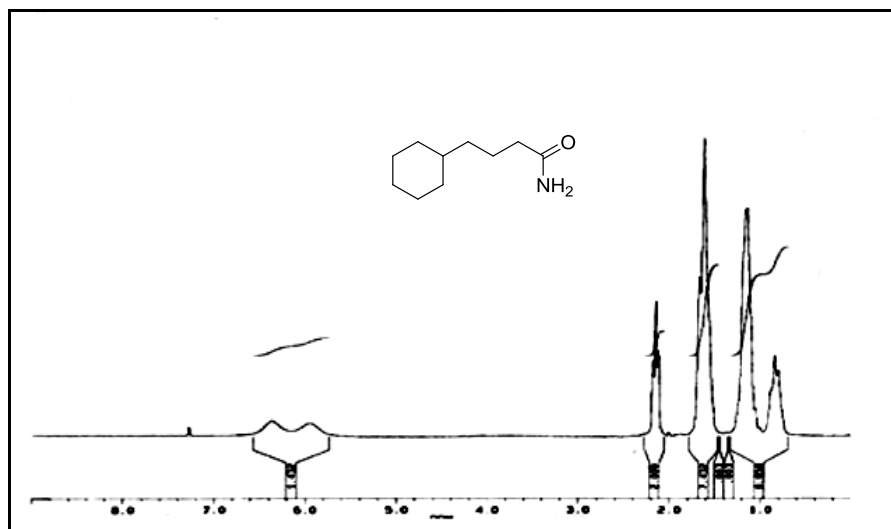
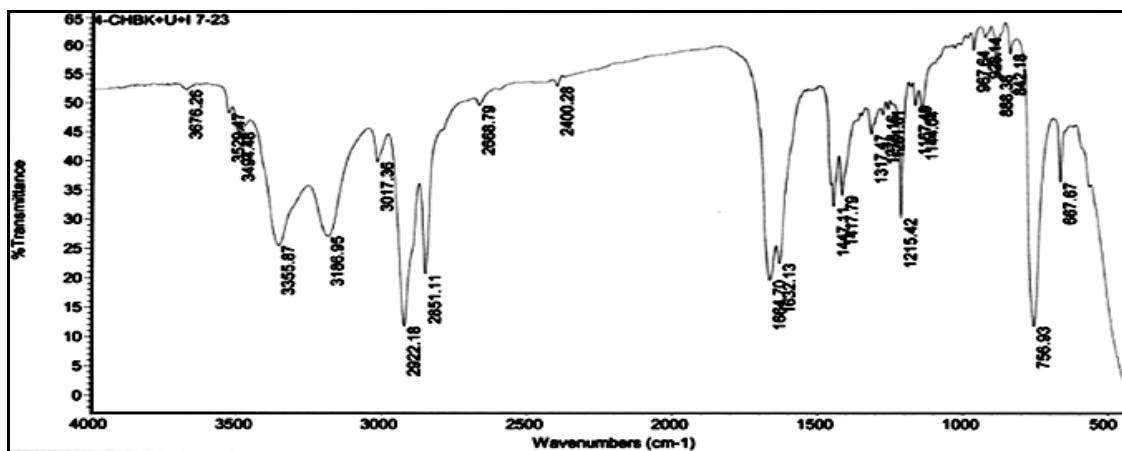
IR,  $^{13}\text{C}$  i  $^1\text{H}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 20

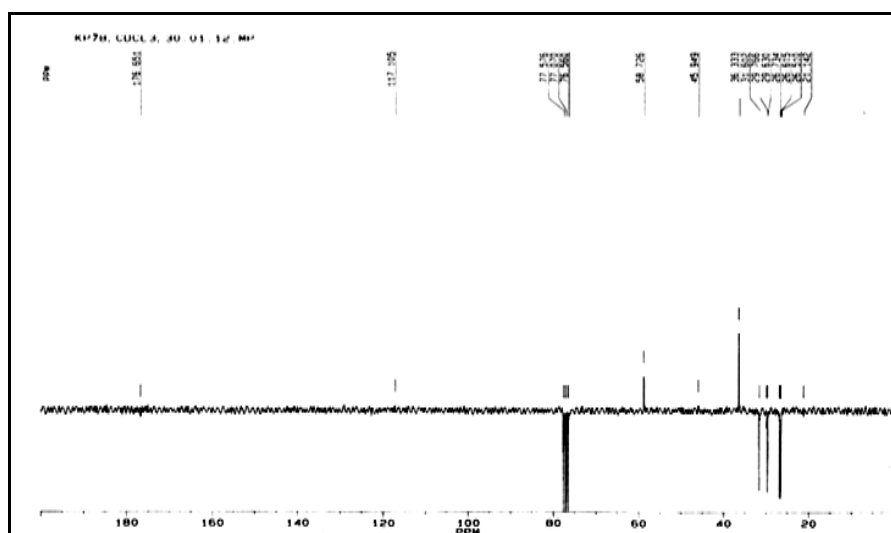
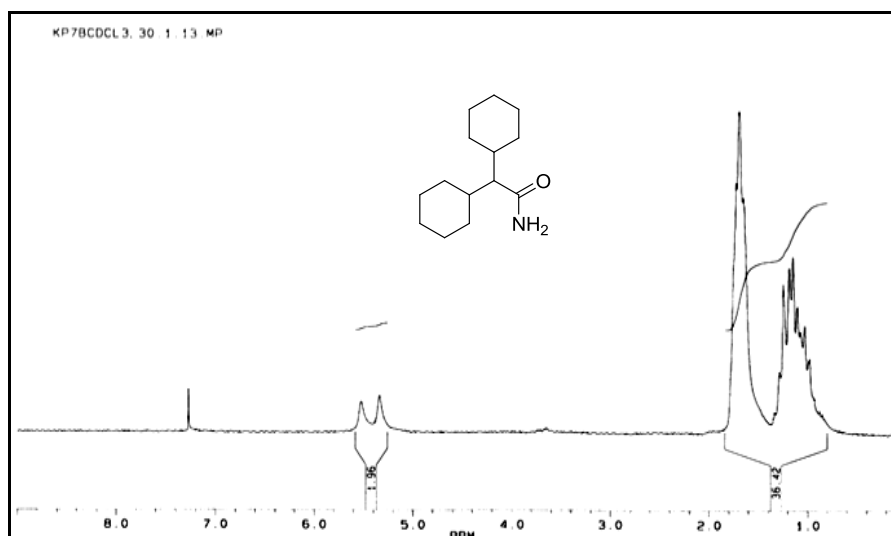
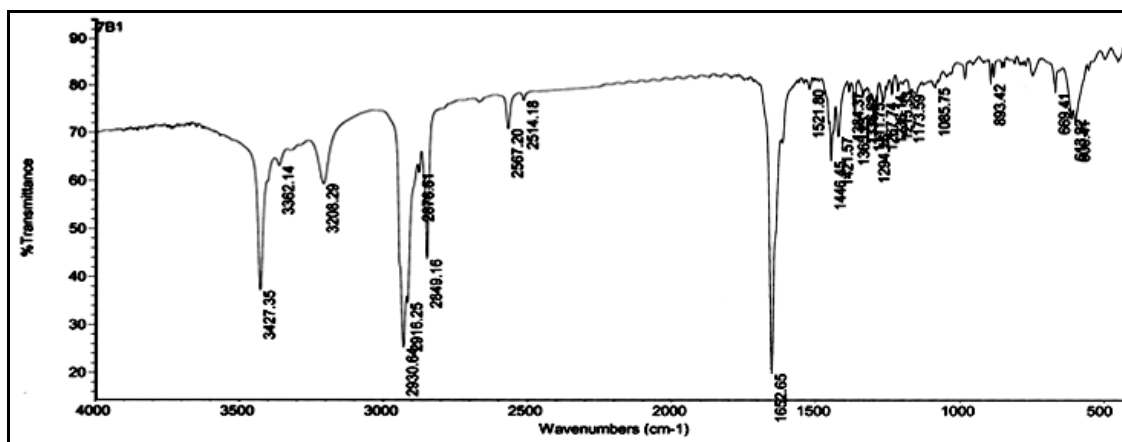
IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 21

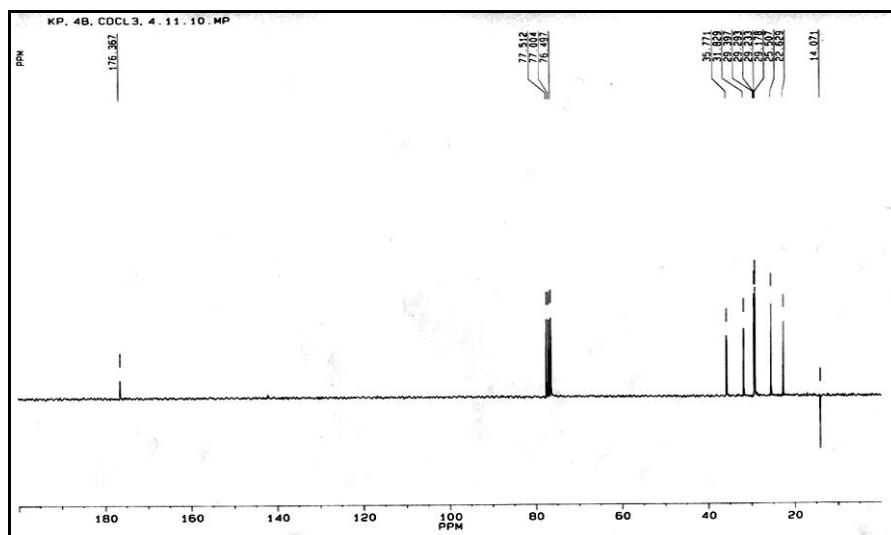
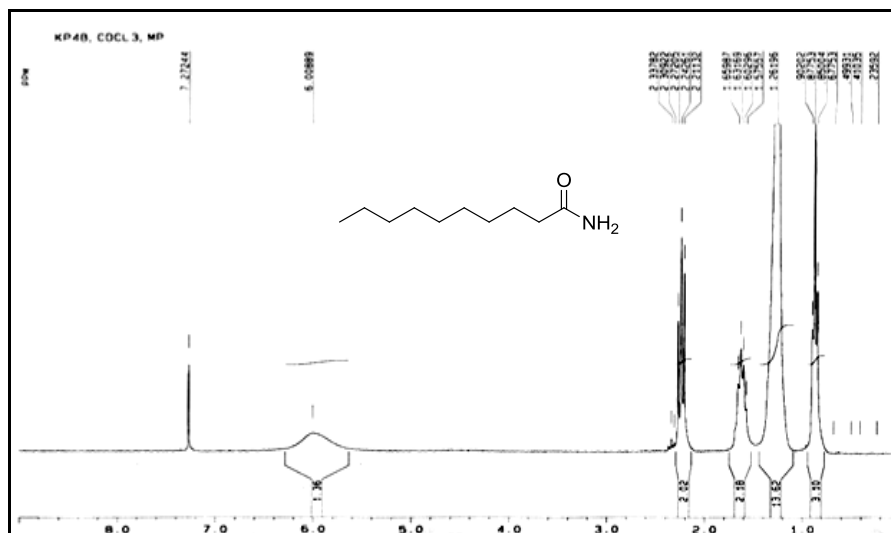
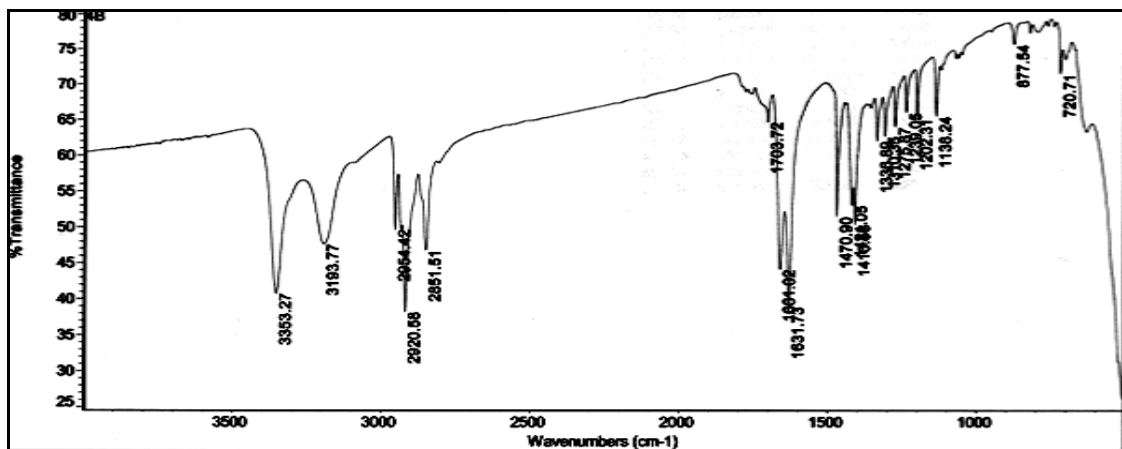
IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 22

IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 23

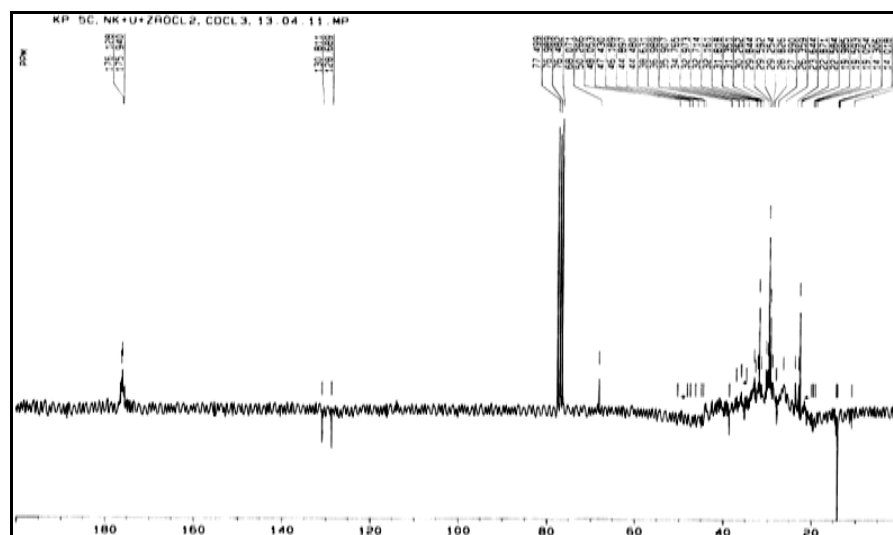
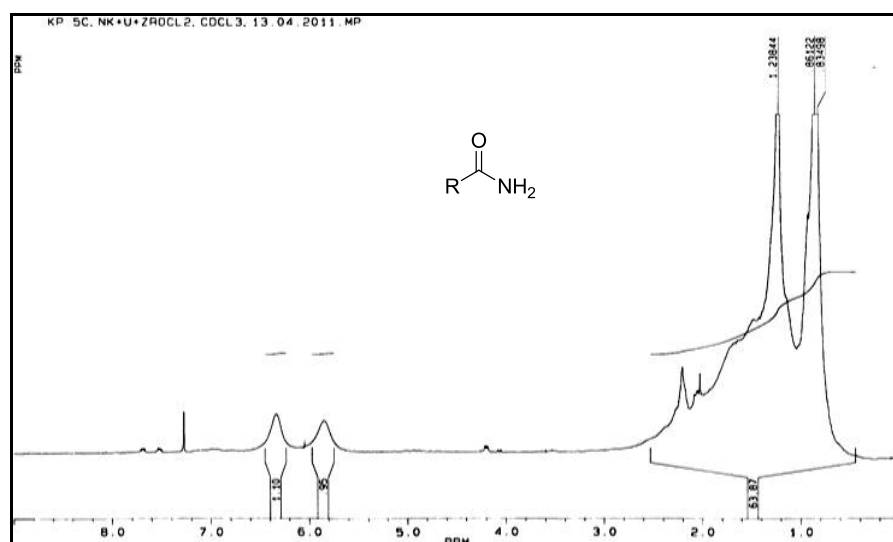
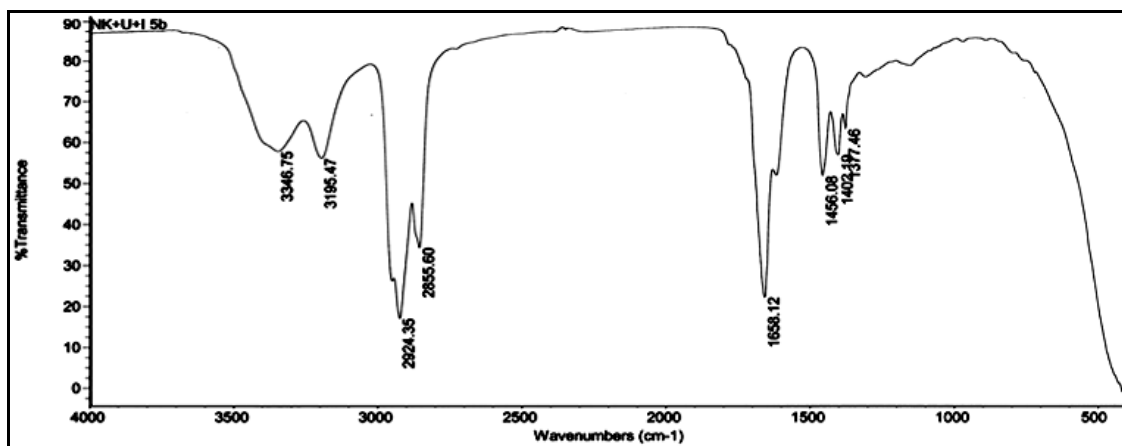


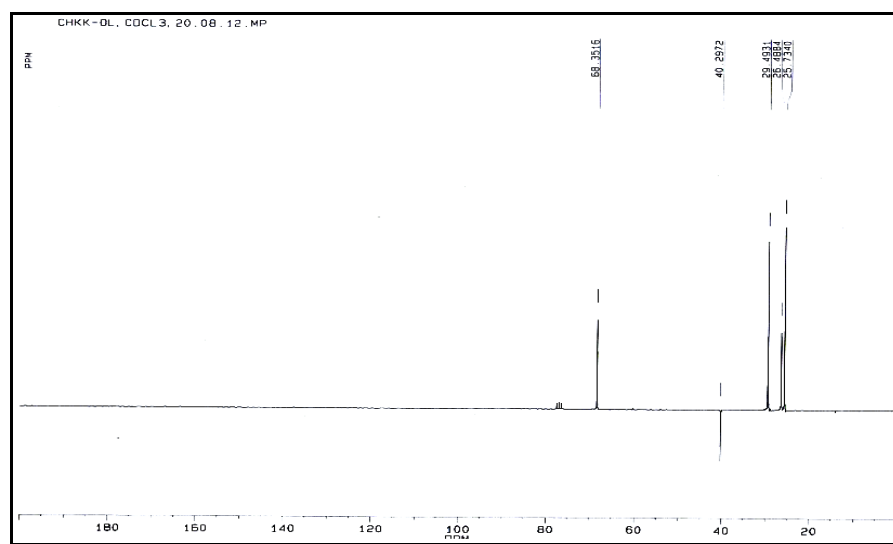
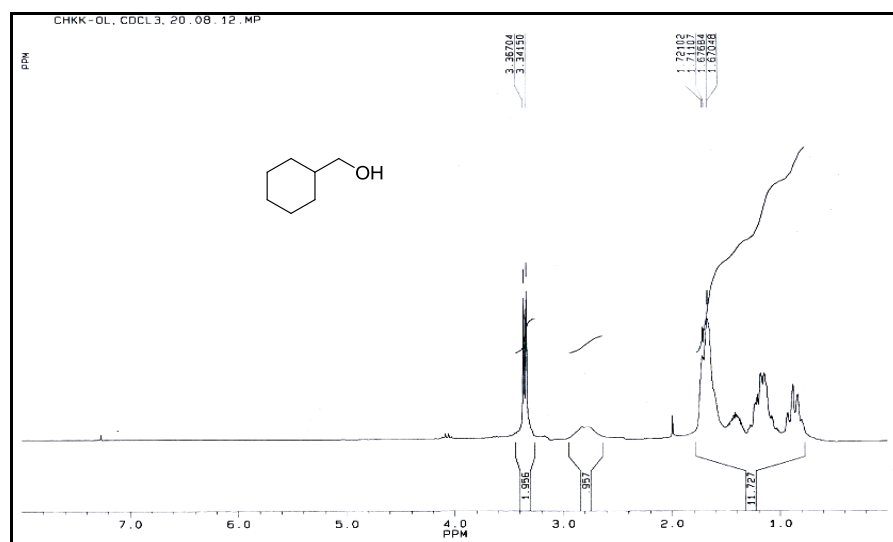
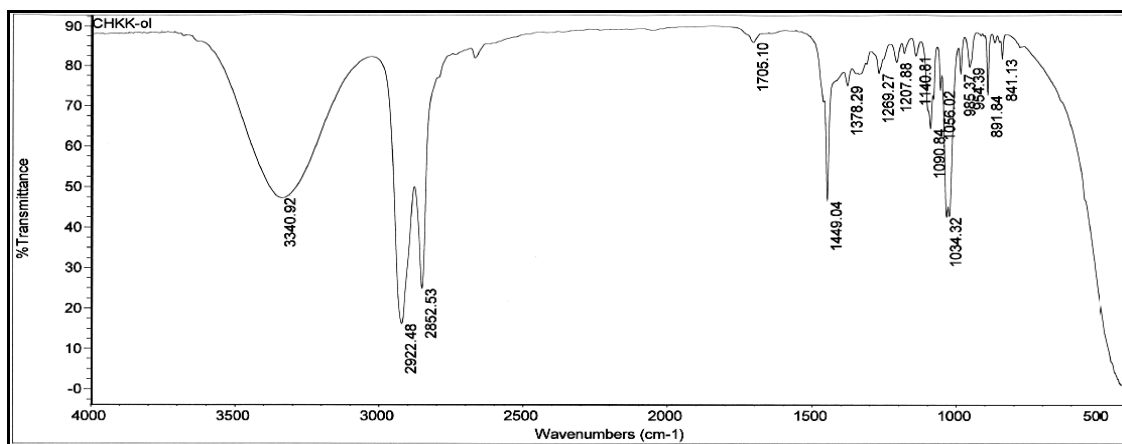
IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 24

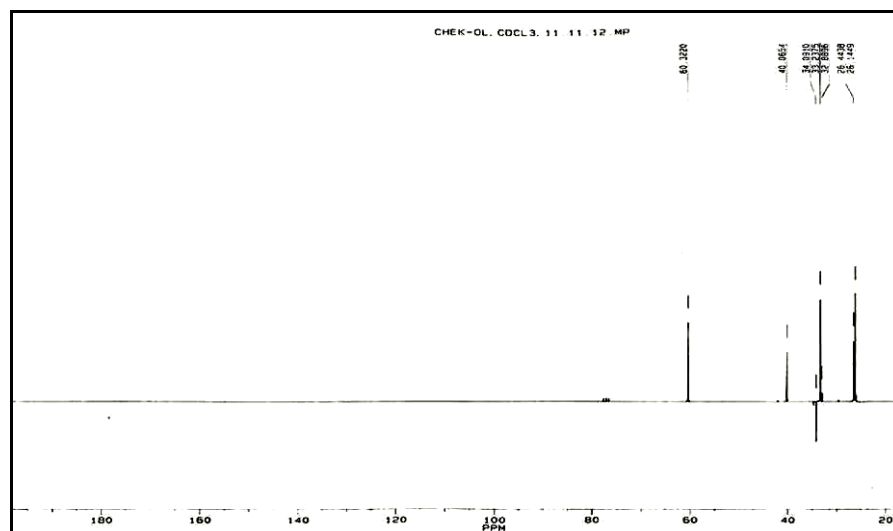
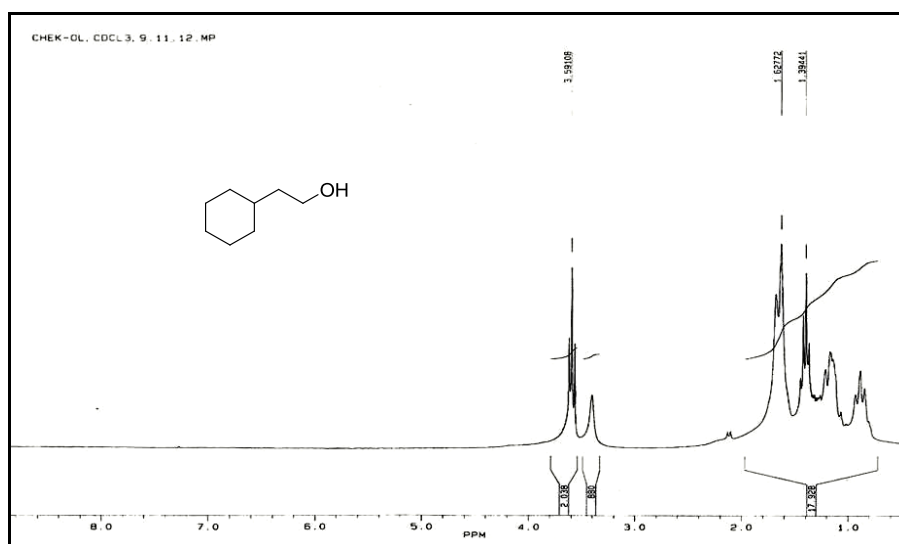
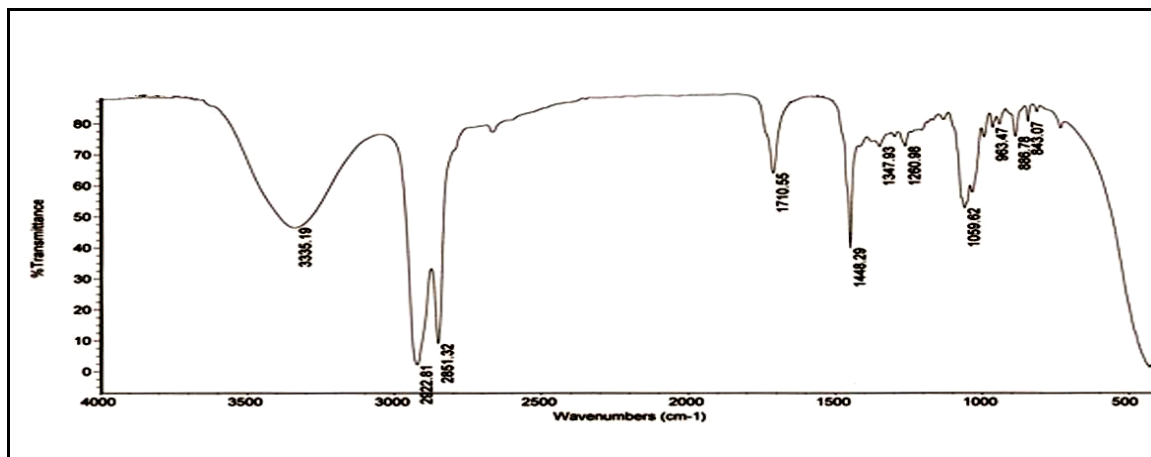
IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 25

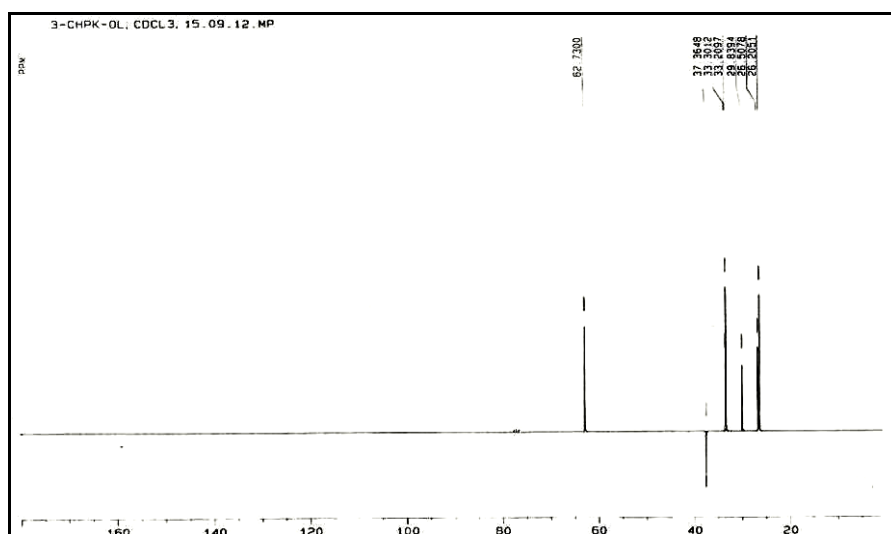
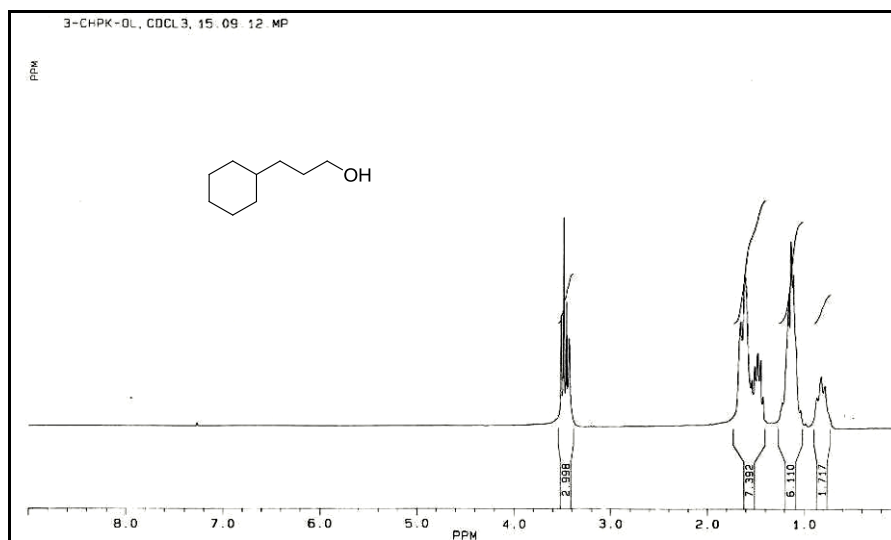
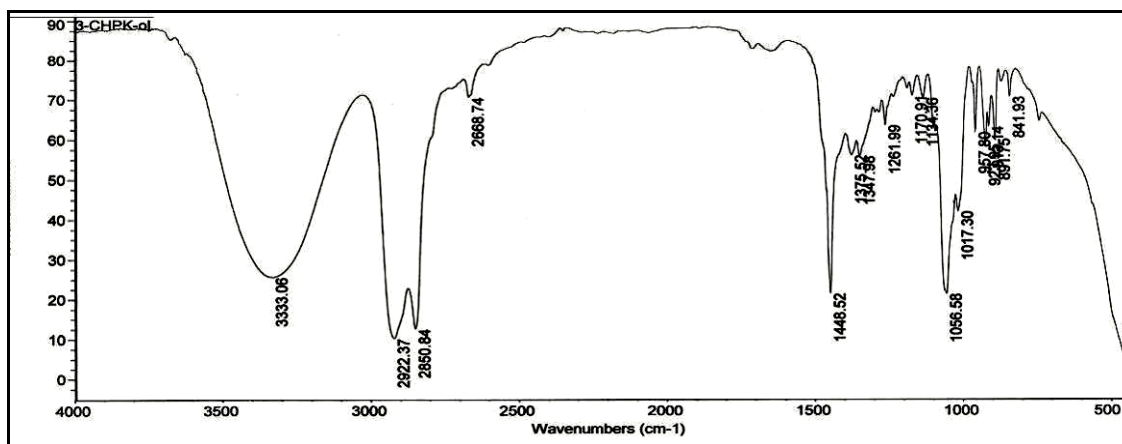
IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 26

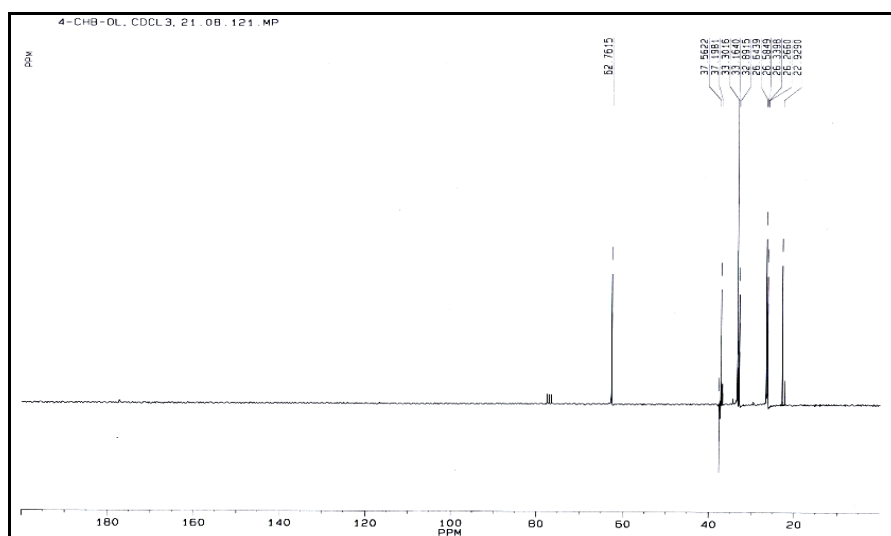
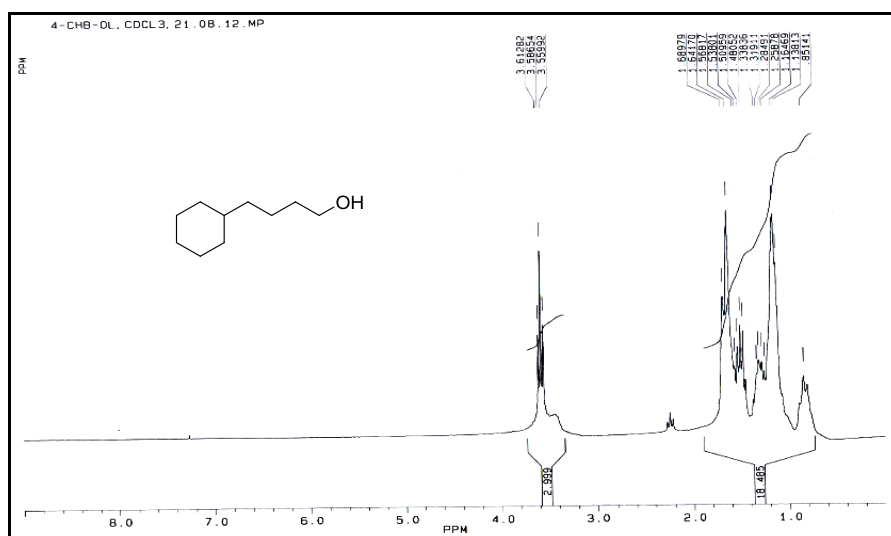
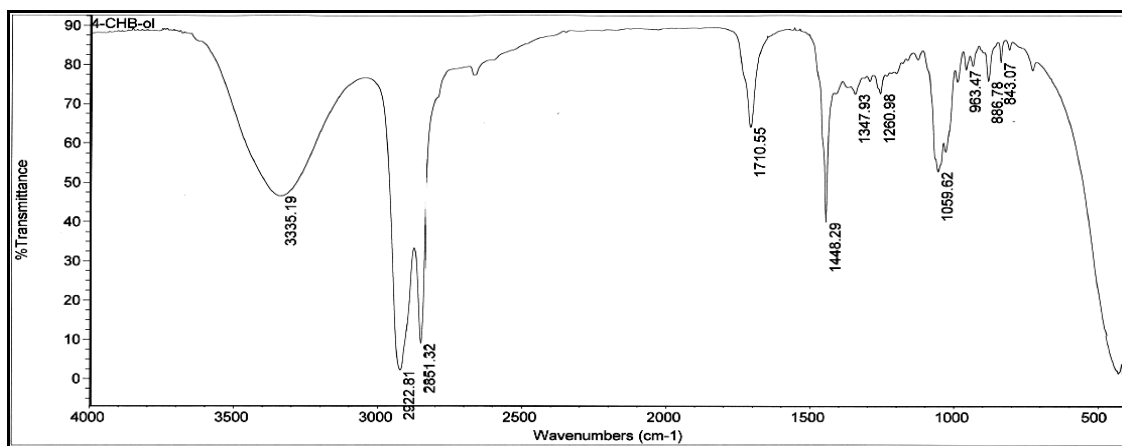


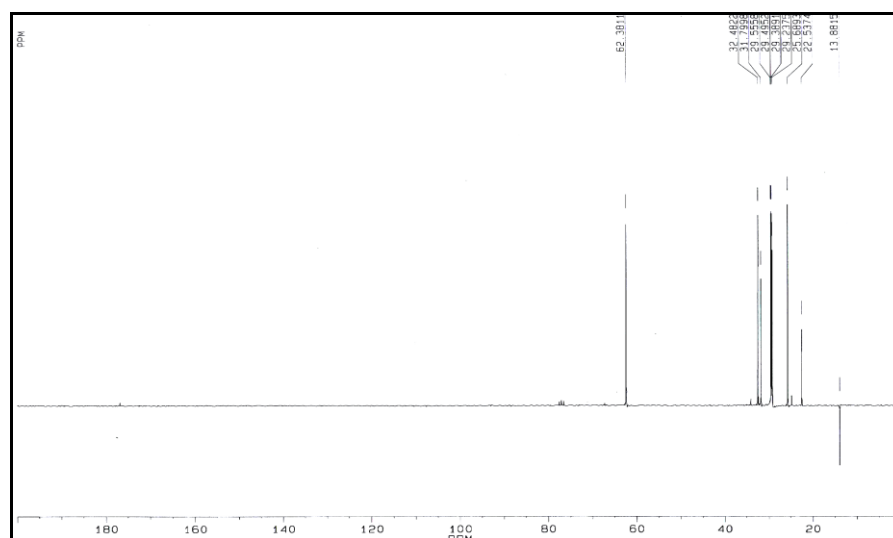
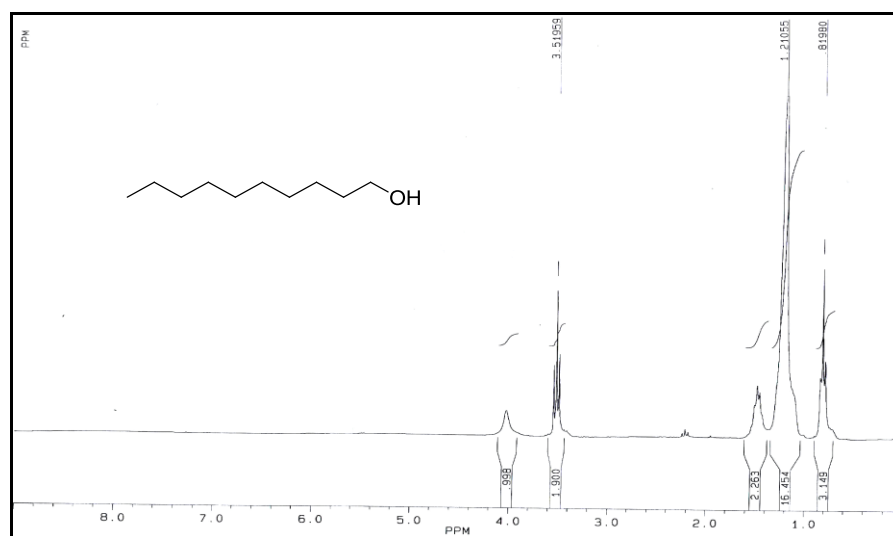
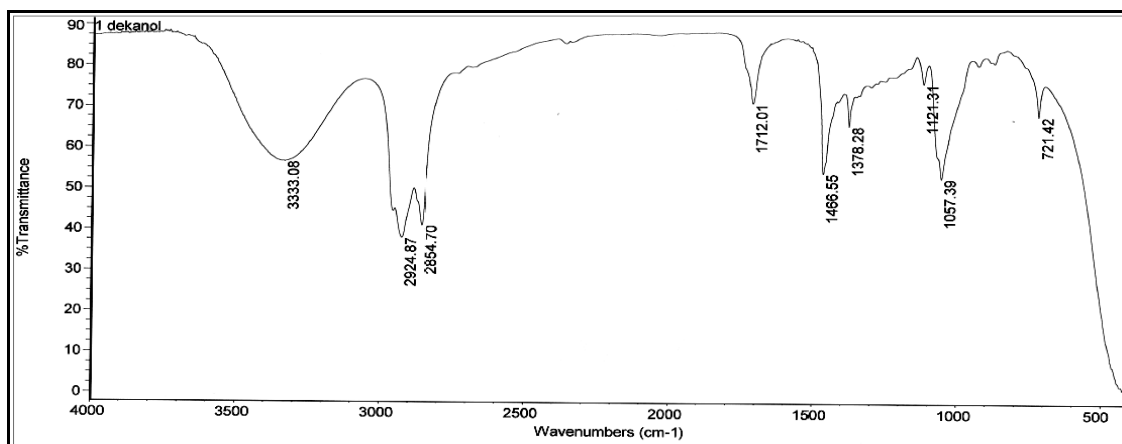
IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 27

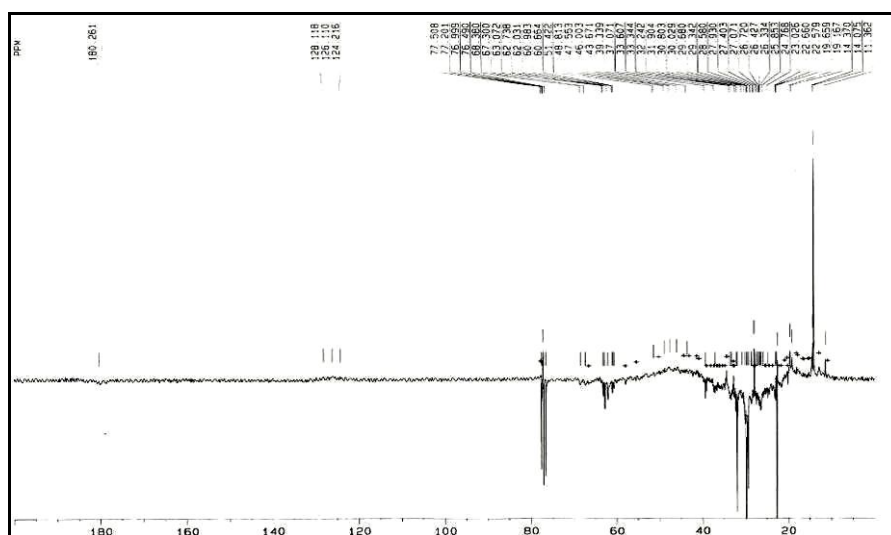
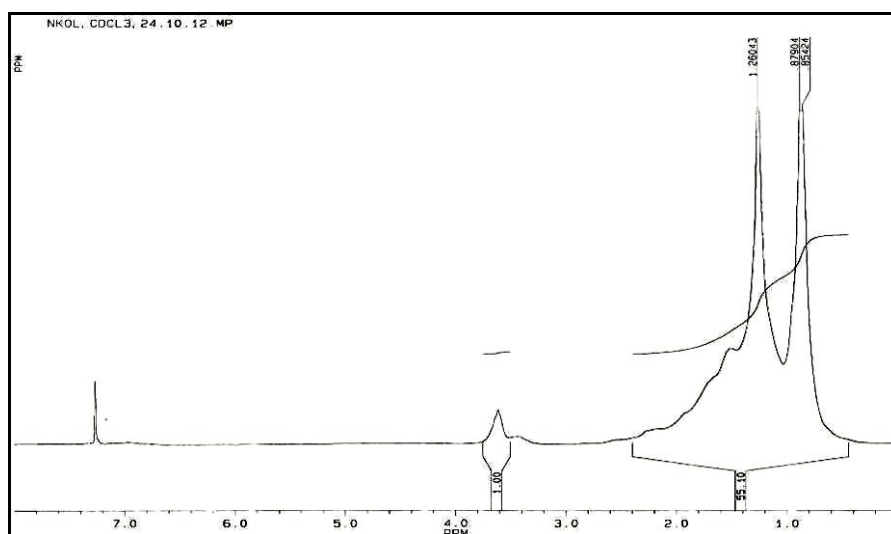
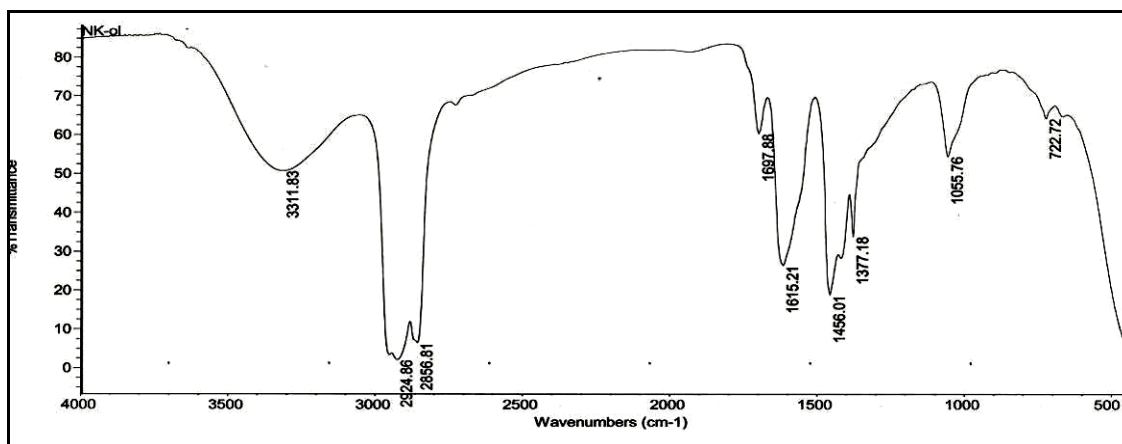
IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 28

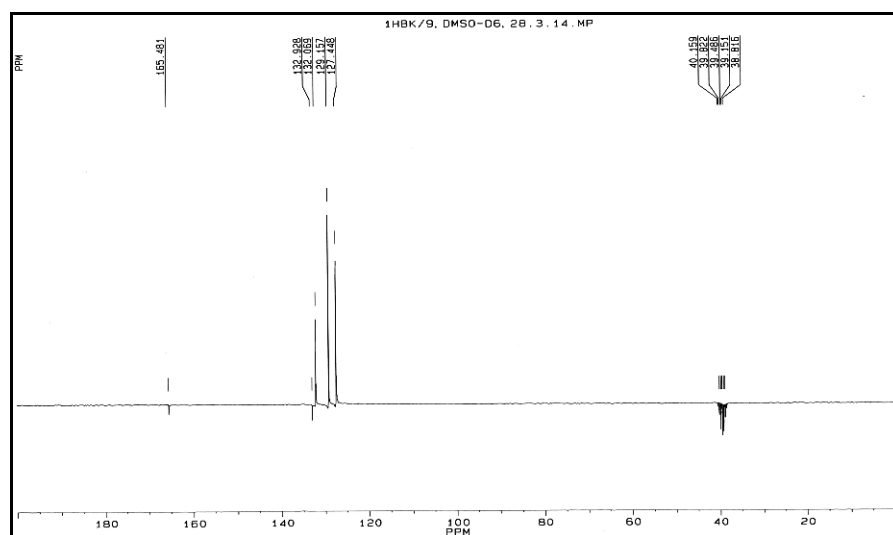
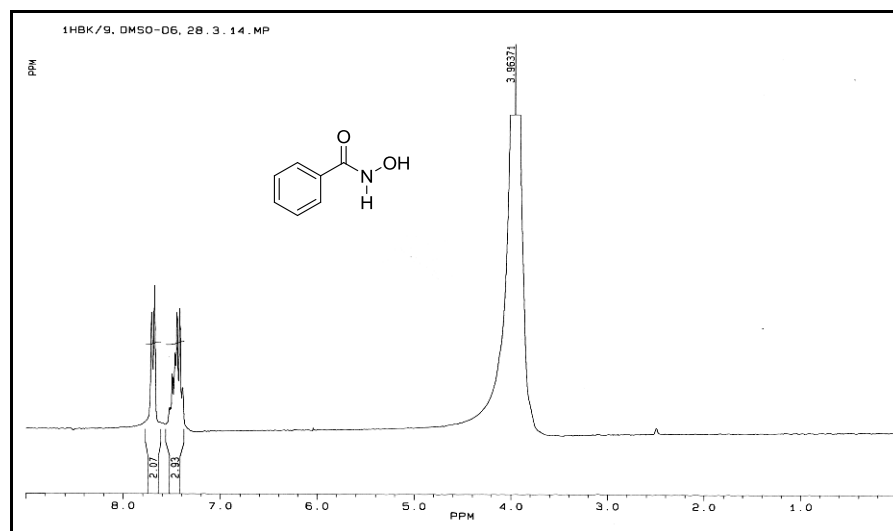
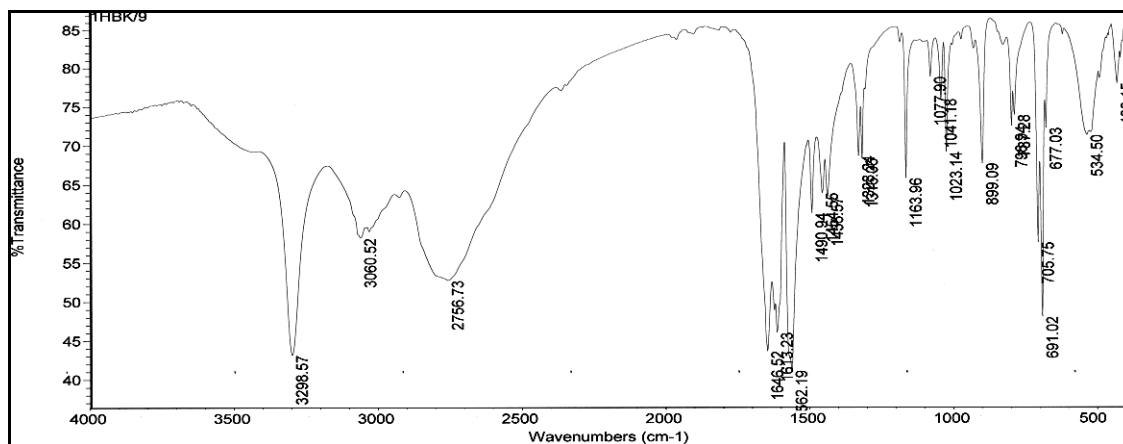
IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 29

IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 30

IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 31

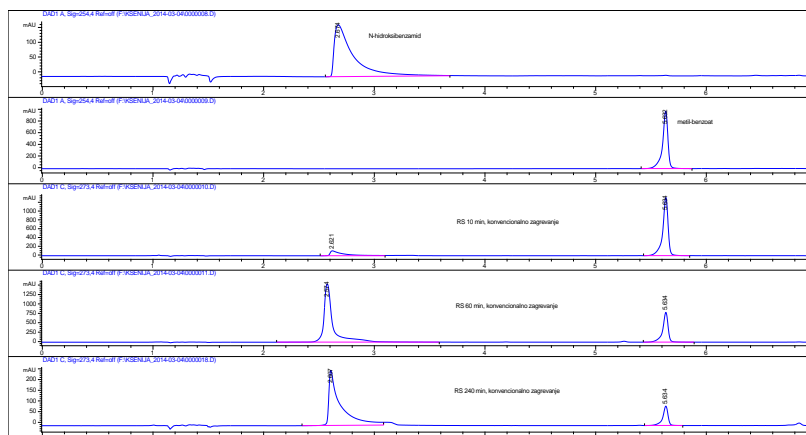
IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 32

IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 33

IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 41



## HPLC hromatogram jedinjenja 41



Signal 1: DAD1 C, Sig=273,4 Ref=off

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	2.621	1	BB	925.51837	111.46603	16.9271
2	5.634	1	VV	4542.16016	1324.19543	83.0729

Totals : 5467.67853 1435.66147  
10 min konvencionalnog zagrevanja

Signal 1: DAD1 C, Sig=273,4 Ref=off

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	2.607	1	BB	1907.59192	257.61826	86.2222
2	5.634	1	VB	304.82184	90.73559	13.7778

Totals : 2212.41376 348.35384  
240 min konvencionalnog zagrevanja

Signal 1: DAD1 A, Sig=226,4 Ref=off

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %
1	2.602	VV	0.1124	1.81808e4	60.9137
2	5.631	MM	0.0798	1.16660e4	39.0863

Totals : 2.98468e4  
5 min, 80 °C

Signal 1: DAD1 A, Sig=226,4 Ref=off

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %
1	2.651	VV	0.1504	8479.41406	99.1490
2	5.634	MM	0.0652	72.77568	0.8510

Totals : 8552.18974  
1 min, 110 °C

Signal 1: DAD1 A, Sig=226,4 Ref=off

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %
1	2.644	BV	0.1626	1.04757e4	99.9275
2	5.632	MM	0.0279	7.60349	0.0725

Totals : 1.04833e4  
10 min, 110 °C

Signal 1: DAD1 C, Sig=273,4 Ref=off

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	2.574	1	BB	8711.83789	1546.49133	76.4126
2	5.634	1	BB	2689.20605	790.43152	23.5874

Totals : 1.14010e4 2336.92285  
60 min konvencionalnog zagrevanja

Signal 1: DAD1 A, Sig=226,4 Ref=off

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %
1	2.634	MM	0.1904	1.03891e4	44.6856
2	5.622	BB	0.0911	1.28602e4	55.3144

Totals : 2.32493e4  
1 min, 80 °C

Signal 1: DAD1 A, Sig=226,4 Ref=off

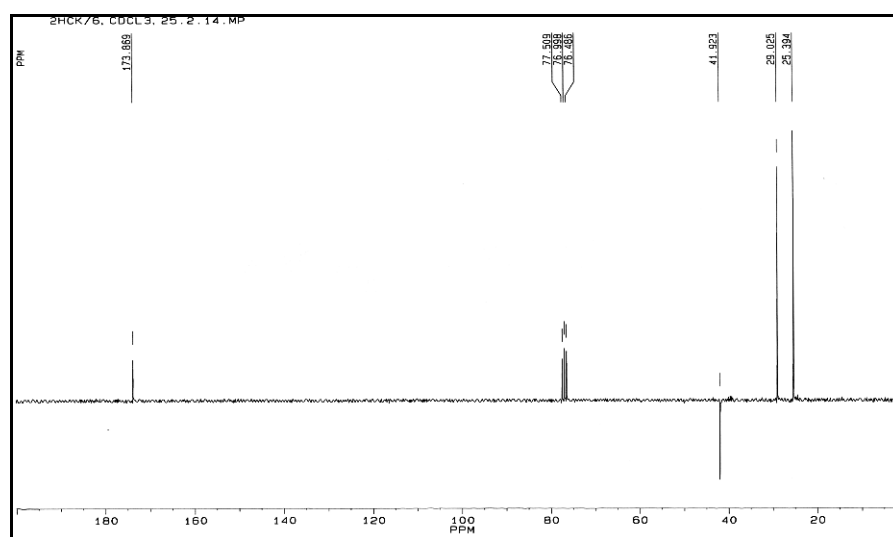
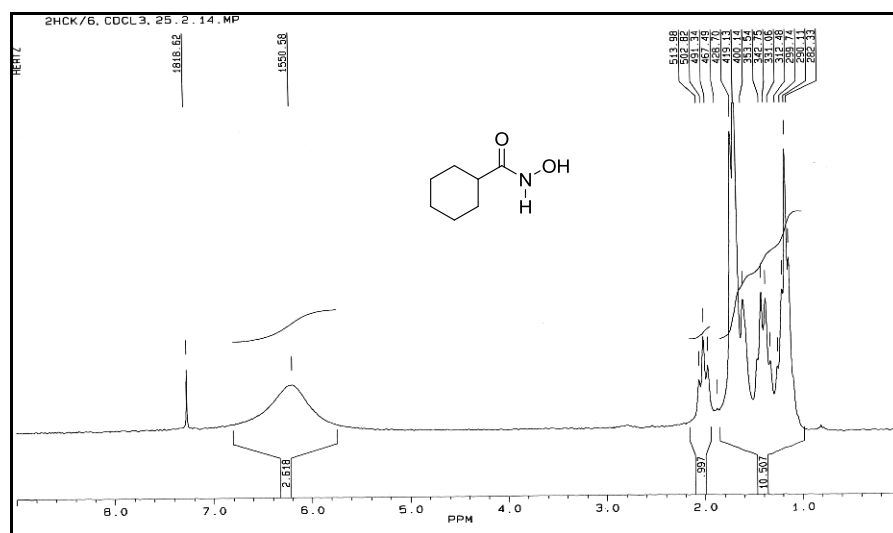
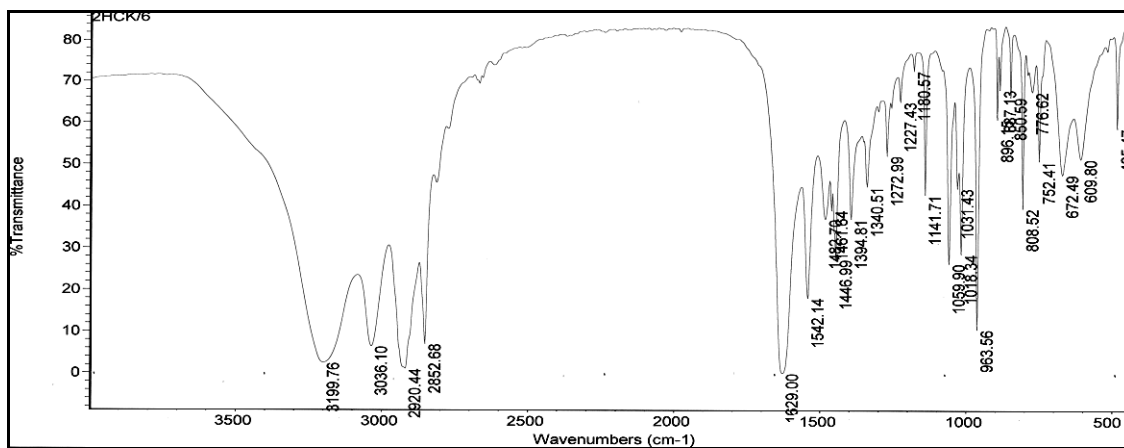
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %
1	2.597	VB	0.1177	2.09471e4	63.6601
2	5.632	MM	0.0812	1.19575e4	36.3399

Totals : 3.29046e4  
10 min, 80 °C

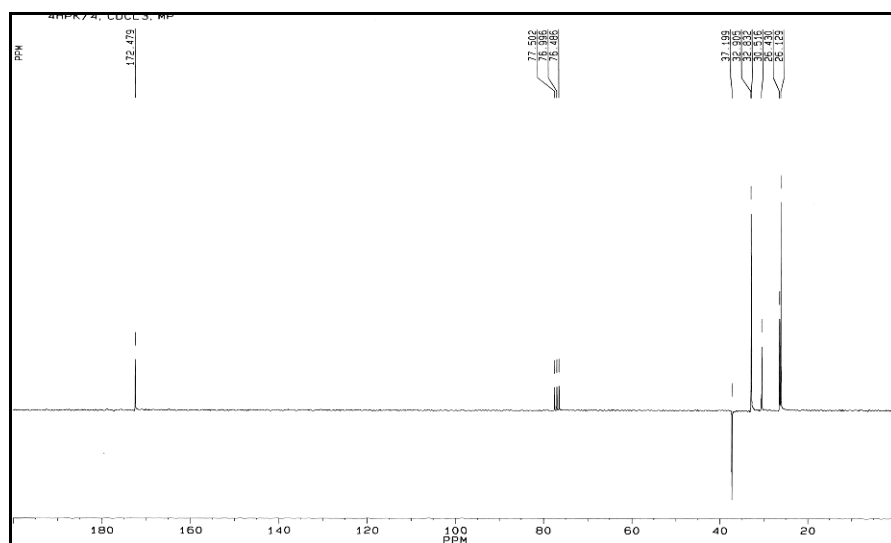
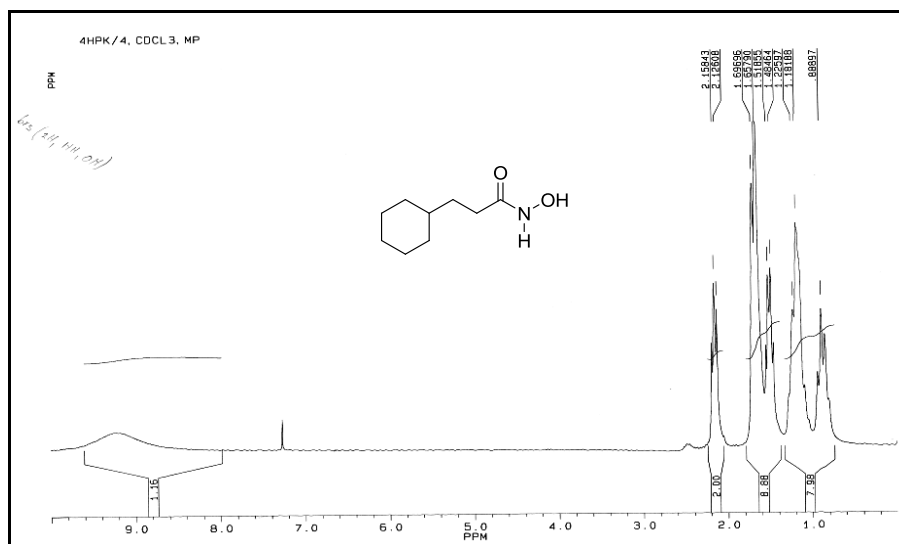
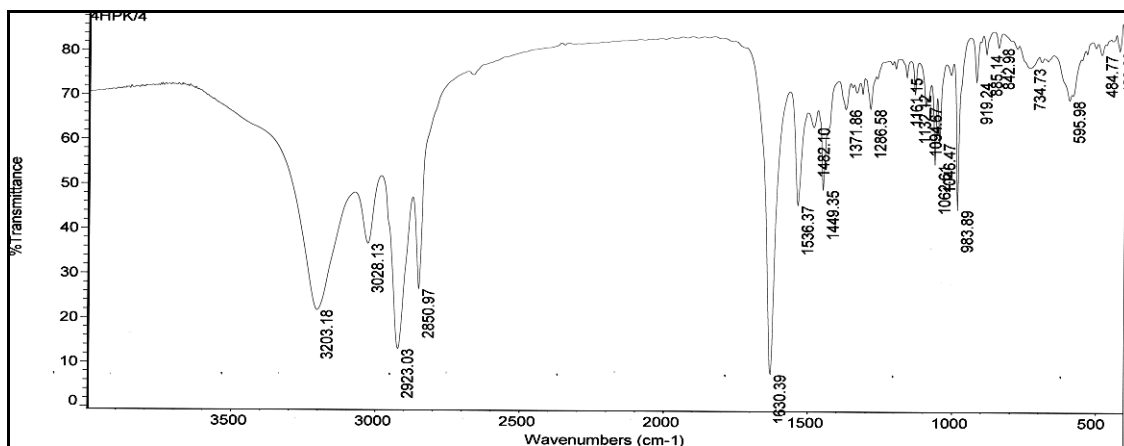
Signal 1: DAD1 A, Sig=226,4 Ref=off

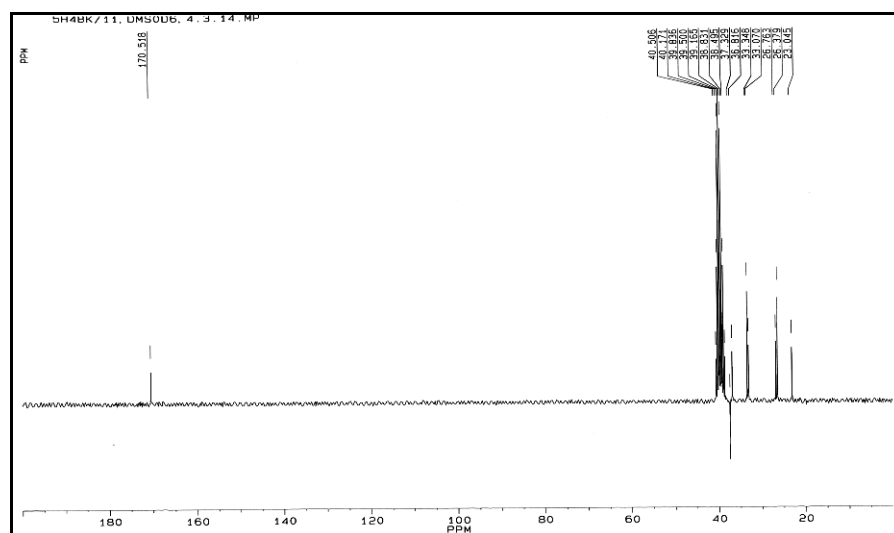
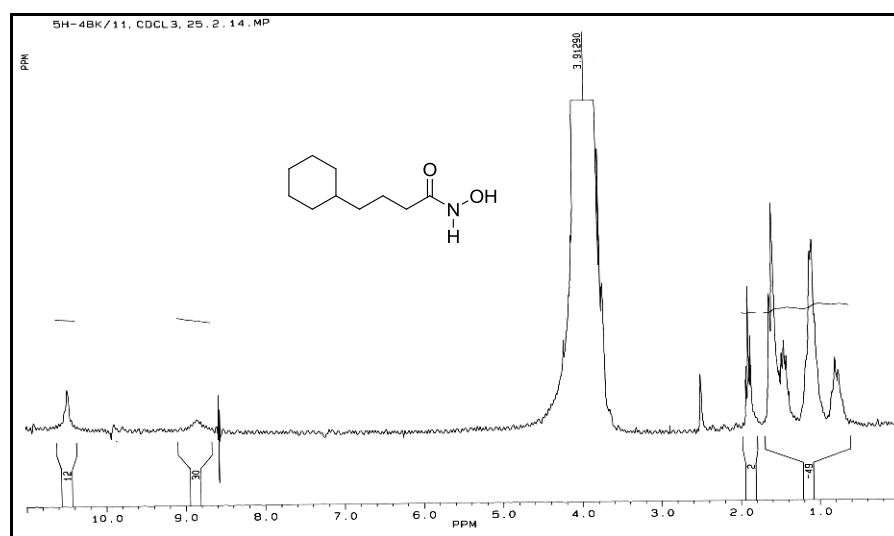
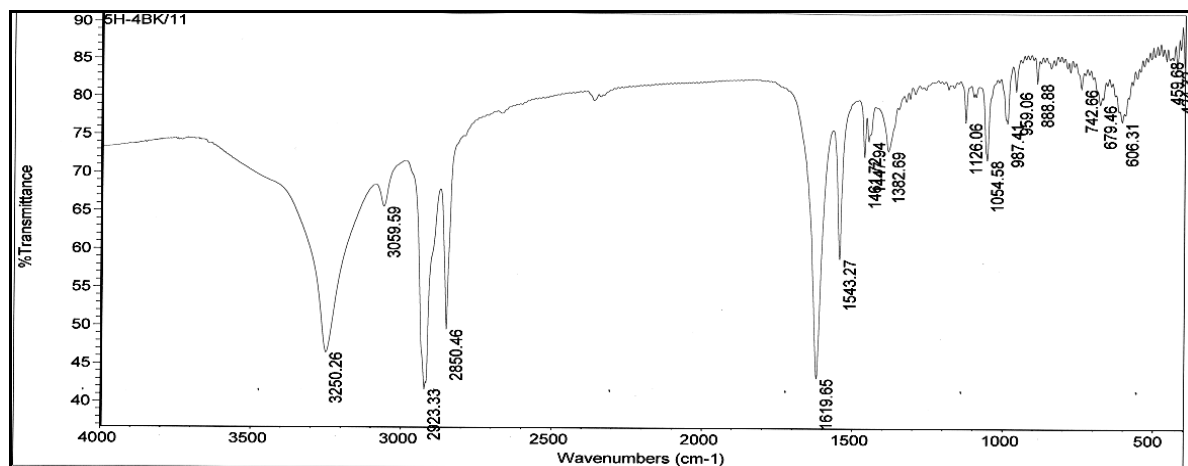
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Area %
1	2.644	BV	0.1626	1.04757e4	99.8322
2	5.632	BB	0.0435	1.7.60858	0.1678

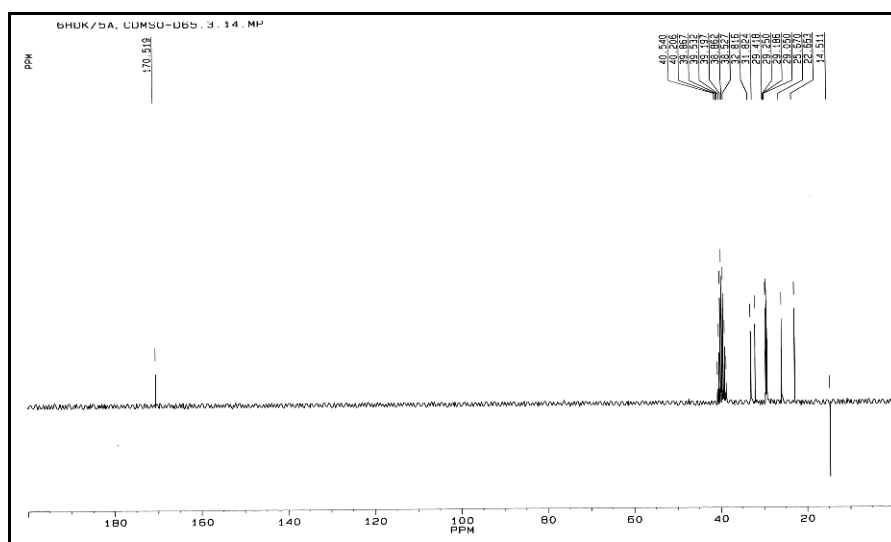
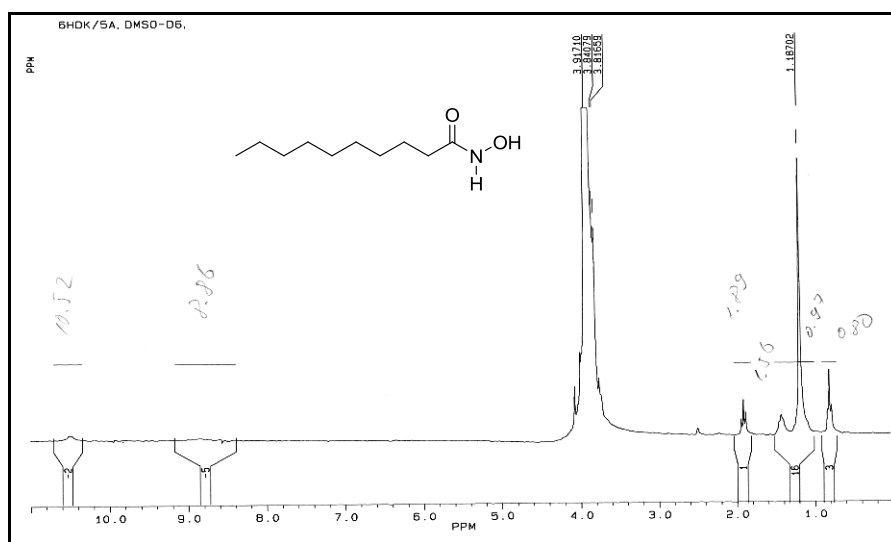
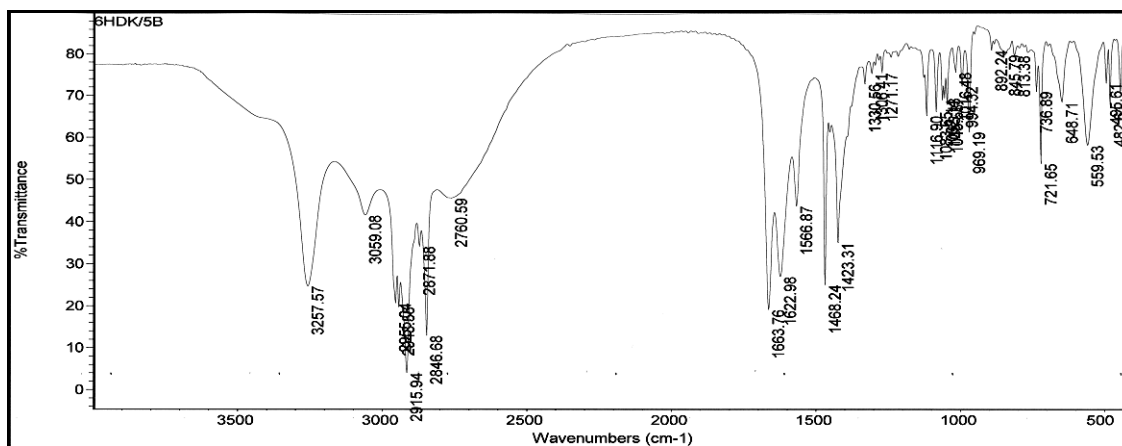
Totals : 1.04933e4  
5 min, 110 °C

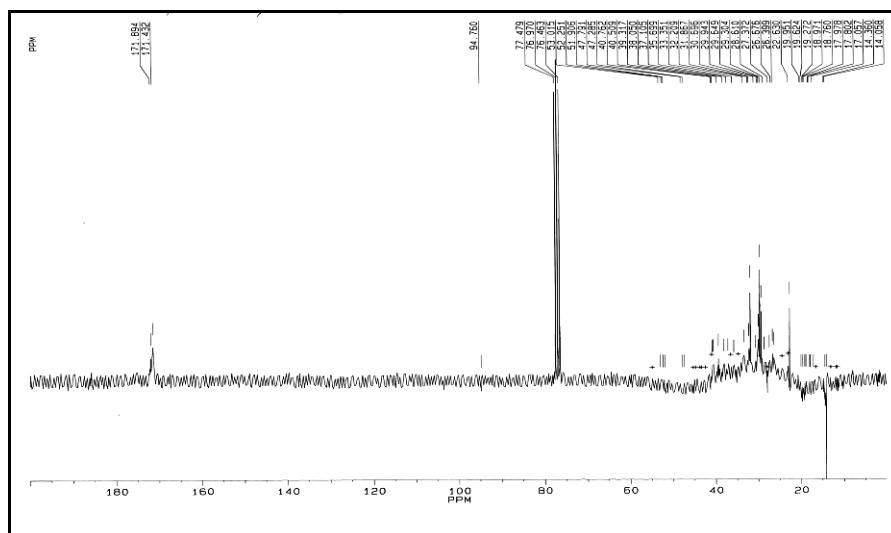
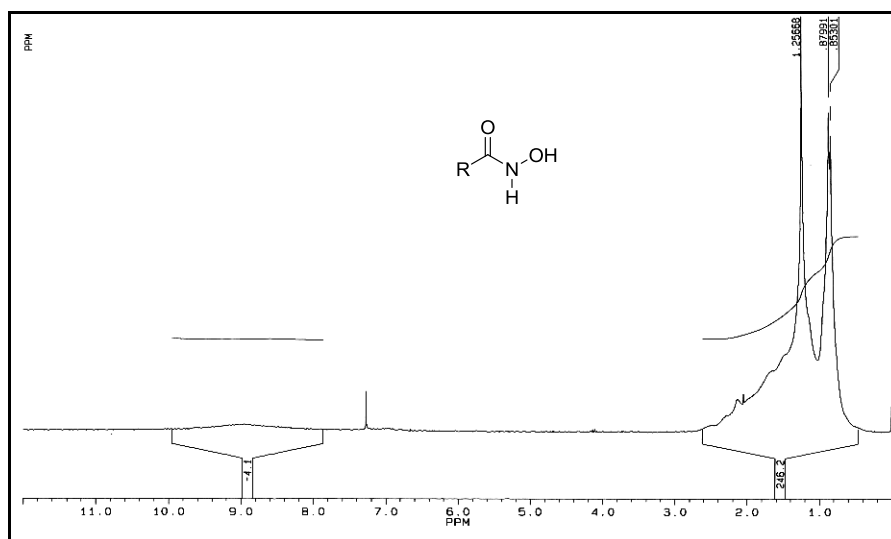
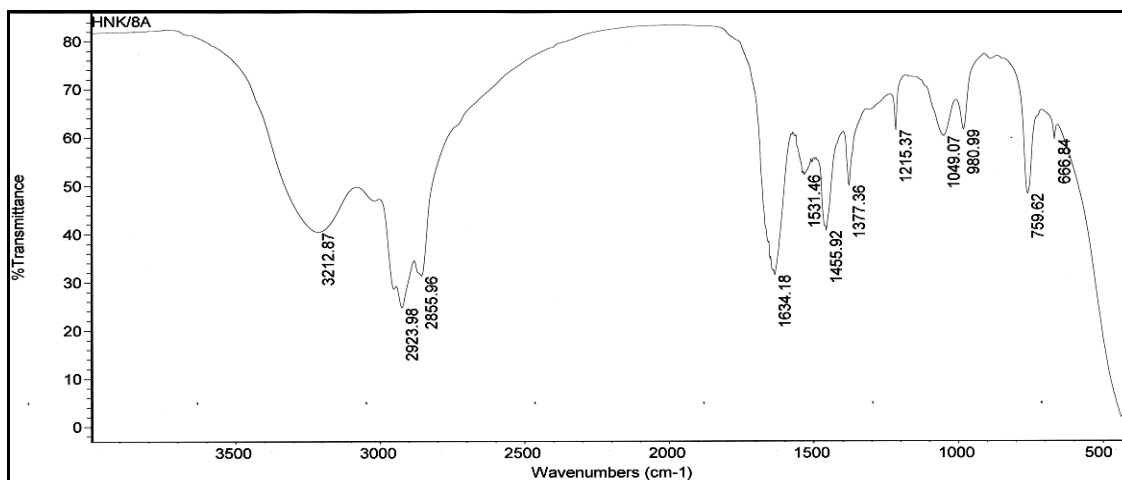
IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 42



IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 44

IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 45

IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 46

IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRI JEDINJENJA 47

### 7.3. Skraćenice

<b>ACN</b> - Acetonitril	<b>MW</b> - Mikrotalasi
<b>C</b> - koncentracija	<b>Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b> – Natrijum-sulfat
<b>CHCl<sub>3</sub></b> - Hloroform	<b>NaCl</b> – Natrijum-hlorid
<b>DAD</b> - Detektor na bazi dioda	<b>NaHCO<sub>3</sub></b> – Natrijum-hidrogenkarbonat
<b>DMSO</b> - Dimetil-sulfoksid	<b>Na-naft.</b> – Natrijum-naftenati
<b>EI</b> – Jonizacija elektronima	<b>NH<sub>2</sub>OH</b> - Hidroksilamin
<b>EtOH</b> – Etanol	<b>NK</b> – Naftne kiseline “Velebit”
<b>Et<sub>2</sub>O</b> – Dietil-etar	<b>NMR</b> – Nuklearna magnetna rezonanca
<b>EtOAc</b> – Etil-acetat	<b>PE</b> – Petrol-etar
<b>FT-IR</b> – Infracrvena spektrometrija sa Fourierovom transformacijom	<b>R</b> – Alkil, cikloalkil
<b>GC-MS</b> Gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom	<b>THF</b> - Tetrahidrofuran
<b>HCl</b> – Hlorovodonična kiselina	<b>TLC</b> – Tankoslojna hromatografija
<b>HPLC</b> – Tečna hromatografija visoke rezolucije	
<b>IAA</b> – 3-Indolsirćetna kiselina	
<b>K<sub>b</sub></b> – kiselinski broj	
<b>KBH<sub>4</sub></b> – Kalijum-borhidrid	
<b>KOH</b> – Kalijum-hidroksid	
<b>m/z</b> – odnos mase i naelektrisanja	
<b>MAOS</b> – Mikrotalaska organska sinteza	
<b>Me</b> - metil	
<b>MgCl<sub>2</sub></b> – Magnezijum-hlorid	
<b>MgSO<sub>4</sub></b> – Magnezijum-sulfat	
<b>Mr</b> – Relativna molekulska masa	
<b>MS</b> – Model smeša individualnih naftnih kiselina	



## 8. BIOGRAFIJA



Ksenija Pavlović je rođena 02.09.1979. godine u Somboru, od oca Josipa i majke Marije. Osnovnu školu, kao i gimnaziju "Veljko Petrović", prirodni smer, je završila u Somboru. Prirodno-matematički fakultet u Novom Sadu, Departman za hemiju (smer Diplomirani hemičar) je upisala 1998. godine.

Diplomski rad pod nazivom "Antioksidantne aktivnosti derivata estrogenih hormona" odbranila je februara 2005. godine. Iste godine je upisala magistarske studije na Prirodno-matematičkom fakultetu, smer hemija, uža naučna oblast organska hemija. Magistarsku tezu pod nazivom „Mikrotalasna sinteza derivata naftenskih kiselina i njihova biološka aktivnost“ odbranila je 2009. godine.

U zvanje istraživača-pripravnika u naučnoj oblasti Hemija imenovana je 2005. godine, nakon čega se i zaposlila kao saradnik na projektu Republičkog ministarstva za nauku i tehnološki razvoj. U zvanje istraživača-saradnika izabrana je 2009. godine. Od 17. decembra 2013. godine imenovana je u zvanje asistenta za užu naučnu oblast Organska hemija na Departmanu za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine.

Bavi se naučno-istraživačkim radom iz oblasti sinteze potencijalno biološki aktivnih derivata naftenskih kiselina. Učestvovala je na projektu „Sinteza odabranih biološki aktivnih molekula i analoga od potencijalnog interesa za biomedicinu i agronomiju“ (2006-2010 god.) koji je finansiralo Ministarstvo nauke Republike Srbije kao i na međunarodnom IPA projektu „Research Cooperation of the University of Szegedin and the University of Novi Sad in Development of Anticancer Drug Compounds“ (2012-2014 god.). Trenuto učestvuje na projektu Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije pod nazivom „Sinteza i biološka ispitivanja novih mimetika ili derivata odabranih citotoksičnih laktona, antitumorskog agensa tiazofurina i prirodnih naftnih kiselina“ (2011-2015 god.).

Osim u naučno-istraživačkom radu, angažovana je i u izvođenju nastave na Katedri za organsku hemiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu.

Koautor je pet naučnih radova publikovanih u međunarodnim časopisima, jedanaest saopštenja na skupovima međunarodnog i dvanaest saopštenja na skupovima nacionalnog značaja.

Dobitnik je nagrade Fakulteta i Univerziteta za postignut uspeh u školskoj 1998/1999 godini.

Član je Srpskog hemijskog društva.

**UNIVERZITET U NOVOM SADU  
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

<b>Redni broj:</b> RBR	
<b>Identifikacioni broj:</b> IBR	
<b>Tip dokumentacije:</b> TD	Monografska dokumentacija
<b>Tip zapisa:</b> TZ	Tekstualni štampani materijal
<b>Vrsta rada:</b> VR	Doktorska disertacija
<b>Autor:</b> AU	Ksenija J. Pavlović
<b>Mentor:</b> MN	Dr Vera Ćirin-Novta, redovni profesor PMF-a u Novom Sadu
<b>Naslov rada:</b> NR	Mikrotalasno stimulisanе transformacije prirodnih i sintetičkih karboksilnih kiselina i njihovih derivata
<b>Jezik publikacije:</b> JP	Srpski (latinica)
<b>Jezik izvoda:</b> JI	Srpski
<b>Zemlja publikovanja:</b> ZP	Srbija
<b>Uže geog. područje:</b> UGP	Vojvodina
<b>Godina:</b> GO	2014.
<b>Izdavač:</b> IZ	Autorski reprint
<b>Mesto i adresa:</b> MA	Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3
<b>Fizički opis rada:</b> FO	Broj poglavlja: 8 / Strana: 184 (48 strana poglavlja Prilog) / Lit. citata: 195 / Tabela: 55 (21 tabela u poglavlju Prilog) / Shema: 33 / Slika: 152 (96 slika NMR spektara i 9 2D GC-MS slika u poglavlju Prilog).
<b>Naučna oblast:</b> NO	Hemija
<b>Naučna disciplina:</b> ND	Organska hemija
<b>Predmetna odrednica/Ključne reči:</b> PO	Naftne kiseline, derivati naftnih kiselina, mikrotalasno-stimulisanа sinteza, amidi, alkoholi, hidroksamske kiseline, strukturna analiza, biološka aktivnost, mikrobiološka ispitivanja, antiproliferativna aktivnost
<b>Čuva se:</b> UDK ČU	Biblioteka Departmana za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, PMF, Trg D. Obradovića 3, Novi Sad
<b>Važna napomena:</b> VN	—

<b>Izvod:</b> IZ	Predviđena istraživanja u ovoj doktorskoj disertaciji su usmerena u pravcu modifikacije klasičnih metoda i postupaka za transformaciju karboksilne grupe prirodnih i sintetičkih karboksilnih kiselina. Modifikacije su rađene novim, savremenim, ekonomski i ekološki opravdanim metodama rada u mikrotalasnom reaktoru. Modifikovanim sintetskim postupcima u mikrotalasnom reaktoru urađena je sinteza amida, hidroksamskih derivata, kao i redukcija individualnih naftnih kiselina i smeše prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ do alkohola. Prirodne naftne kiseline korišćene u ovom radu su prvo izolovane iz gasne frakcije (interval destilacije 168-290 °C) vojvođanske nafte „Velebit“ a potom prečišćene i razdvojene na uže frakcije na osnovu različite kiselosti. Nakon toga, izvršena je njihova karakterizacija GC-MS-EI analizom (čime je potvrđeno da dolazi do strukturne diferencijacije kiselina). U radu je takođe ispitana biološka aktivnost sintetizovanih derivata. Proučavan je uticaj prirodnih naftnih kiselina „Velebit“ i njenih derivata na rast pet sojeva <i>Pseudomonas sp.</i> , kao i uticaj odabranih sintetisanih jedinjenja na proliferaciju četiri ćelijske linije humanih tumora pri čemu je kao kontrola služila jedna zdrava humana ćelijska linija.
<b>Datum prihvatanja teme od strane NN veća:</b> DP	21.09.2012.
<b>Datum odbrane:</b> DO	2014. godine
<b>Članovi komisije:</b> <b>(Naučni stepen/ime/prezime/zvanje/fakultet)</b> KO Predsednik: Mentor: Član: Član: Član:	Dr Marija Sakač, redovni profesor PMF-a u Novom Sadu Dr Vera Ćirin-Novta, redovni profesor PMF-a u Novom Sadu u penziji Dr Mirjana Popsavin, redovni profesor PMF-a u Novom Sadu Dr Ljubica Grbović, docent PMF-a u Novom Sadu Dr Slavko Kevrešan, redovni profesor Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu u penziji

**UNIVERSITY OF NOVI SAD  
FACULTY OF SCIENCES  
KEY WORDS DOCUMENTATION**

<b>Accession number:</b> ANO	
<b>Identification number:</b> INO	
<b>Document type:</b> DT	Monography document
<b>Type of record:</b> TR	Printed text
<b>Contents code:</b> CC	PhD Thesis
<b>Author:</b> AU	Ksenija J. Pavlović
<b>Menthor:</b> MN	Professor Vera Ćirin-Novta, PhD, Faculty of Sciences, University of Novi Sad
<b>Title:</b> TI	Microwave-assisted transformation of natural and synthetic carboxylic acids and their derivatives
<b>Language of text:</b> LT	Serbian (Latin)
<b>Language of abstract:</b> LA	
<b>Country of publication:</b> CP	Serbia
<b>Locality of publication:</b> LP	Vojvodina
<b>Publication year:</b> PY	2014.
<b>Publisher:</b> PU	Author's reprint
<b>Publishing place:</b> PP	Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3
<b>Physical description:</b> PD	Chapters: 8 / Pages: 184 (48 pages in the chapter Appendix) / References: 195 / Tables: 55 (21 tables in the chapter Appendix) / Schemes: 33 / Figures: 152 (96 figures of NMR spectra and 9 2D GC-MS figures in the chapter Appendix).
<b>Scientific field:</b> SF	Chemistry
<b>Scientific discipline:</b> SD	Organic Chemistry
<b>Subject/Key words:</b> UC	Naphthenic acids, naphthenic acids derivatives, microwave-assisted synthesis, amides, alcohols, hydroxamic acids, structural analysis, biological activity, microbiological, antiproliferative activity
<b>Holding data:</b> HD	Library of the Department of Chemistry, Biochemistry and Environmental protection, Faculty of Sciences, Trg Dositeja Obradovića 3, Novi Sad
<b>Note:</b> N	—
<b>Abstract:</b>	The investigation of this doctoral dissertation is directed toward the

AB	modification of the transformation of the carboxylic group of natural and synthetic carboxylic acids. The dissertation takes into consideration the classical methods and procedures of the reaction and modifies them using microwave reactor. The synthesis of amides, hydroxamic derivatives, as well as the reduction of individual petroleum acids and acid mixtures of natural oil "Veľebit" to alcohol were achieved by the modifications made to the synthetic methods in the microwave reactor. The natural oil acids used within this study were first isolated from the gas fraction (distillation interval 168-290 °C) of the Vojvodina's crude oil "Veľebit", and then purified and separated by the narrow fractions under the different acidity. After that, their characterisation was made by the GC-MS-EI analysis which confirmed that the structural differentiation of acids had been achieved. Also, the biological activity of the synthesized derivatives were analysed. The impact of natural petroleum acids "Veľebit" and its derivatives on the growth of five strains of <i>Pseudomonas</i> sp. was studied, as well as the impact of selected synthesized compounds on the proliferation of four human tumor cell lines wherein one healthy human cell lines used as the control.
<b>Accepted by the scientific board:</b> ASB	21.09.2012.
<b>Defended:</b> DE	2014.
<b>Thesis defend board:</b> <b>(Degree/name/surname/title/faculty)</b> DB Chairperson: Mentor: Member: Member: Member:	Professor Marija Sakač, PhD, Faculty of Sciences, Univesity of Novi Sad Professor Vera Ćirin-Novta, PhD, Faculty of Sciences, Univesity of Novi Sad, retired Professor Mirjana Popsavin, PhD, Faculty of Sciences, Univesity of Novi Sad Assistant professor Ljubica Grbović, PhD, Faculty of Sciences, Univesity of Novi Sad Professor Slavko Kevrešan, PhD, Faculty of Agriculture, Univesity of Novi Sad, retired