



UNIVERZITET U NIŠU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Departman za hemiju



Marko Z. Mladenović

Kombinatorne biblioteke odabranih prirodnih i sintetskih biološki aktivnih estara

DOKTORSKA DISERTACIJA

Niš, 2017.



UNIVERSITY OF NIŠ
FACULTY OF SCIENCE AND MATHEMATICS
Department of Chemistry



Marko Z. Mladenović

Combinatorial libraries of selected natural and synthetic biologically active esters

DOCTORAL DISSERTATION

Niš, 2017.

MENTOR:

dr Niko S. Radulović,

redovni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta, Departman za hemiju,
Univerzitet u Nišu

ČLANOVI KOMISIJE:

1. dr Polina Blagojević,

vanredni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta, Departman za hemiju,
Univerzitet u Nišu, predsednik

2. dr Irena Novaković,

naučni saradnik, Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Univerzitet u
Beogradu

3. dr Tamara Todorović,

docent Hemijskog fakulteta, Univerzitet u Beogradu

4. dr Zorica Stojanović-Radić,

docent Prirodno-matematičkog fakulteta, Departman za biologiju i
ekologiju, Univerzitet u Nišu



ПРИРОДНО - МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ НИШ

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА

Редни број, РБР:	
Идентификациони број, ИБР:	
Тип документације, ТД:	монографска
Тип записа, ТЗ:	текстуални / графички
Врста рада, ВР:	докторска дисертација
Аутор, АУ:	Марко З. Младеновић
Ментор, МН:	Нико С. Радуловић
Наслов рада, НР:	Комбинаторне библиотеке одабраних природних и синтетских биолошки активних естара
Језик публикације, ЈП:	српски
Језик извода, ЈИ:	српски/енглески
Земља публикација, ЗП:	Србија
Уже географско подручје, УГП:	Србија
Година, ГО:	2017.
Издавач, ИЗ:	ауторски репринт
Место и адреса, МА:	Ниш, Вишеградска 33.
Физички опис рада, ФО:	11 поглавља; 574 стране; 269 цитата; 20 табела; 103 слике; 506 прилога
Научна област, НО:	хемија
Научна дисциплина, НД:	органска хемија и биохемија
Предметна одредница/Кључне речи, ПО:	Органска синтеза, комбинаторне библиотеке естара, етарска уља, (1R*,3S*,5R*)-сабинол, дуголанчани алкохоли, региоизомерни алилметоксифеноли, метил-2-(фероценилметил)ацетоацетати, метил-2-бензилацетоацетати, биолошка/фармаколошка активност, QSPR
УДК	543.632.514.3 + 547.1-3
Чува се, ЧУ:	библиотека
Важна напомена, ВН:	Део истраживања на пројекту ев. бр. 172061 надлежног Министарства. Експериментални део је рађен у Лабораторији за органску анализу и синтезу, Департаман за хемију, Природно-математички факултет, Универзитет у Нишу
Извод, ИЗ:	У овој докторској дисертацији је применом комбинаторног приступа (креиране су три библиотеке са укупно 171 једињењем, од којих је 121 ново једињење) приказана успешна идентификација и добивање (мили)грамских количина одабраних природних естара. Као резултат тога, идентификовани су нови секундарни метаболити из етарских уља биљних врста: <i>Achillea falcata</i> L. ((1R*,3S*,5R*)-сабинил-формијат и тиглат), <i>Achillea ageratifolia</i> (Sm.) Boiss. subsp. <i>serbica</i> (Nyman) Heimerl ((1R*,3S*,5R*)-сабинил-формијат, тиглат, нонаноат и деконоат), <i>Scandix balansae</i> Reut. ex Boiss. (октадецил-валерат), <i>Scandix pecten-veneris</i> L. (естри изобутанске киселине и <i>n</i>-C₁₅, C₁₇, C₂₁ и C₂₃ алкохола, као и естара изовалеријанске киселине и <i>n</i>-C₁₃, C₁₅ и C₁₇ алкохола) и <i>Anthemis segetalis</i> Ten. (еугенил-ангелат, 2-метилбутаноат и 3-метилбутаноат). Такође, комбинаторни приступ је успешно искоришћен за упоређење хемијских/биолошких особина естара који садрже фероценско језгро и њихових фенил аналога (библиотека 18 (13 нових) метил-ацетоацетата (ди)супституисаног у положају 2). Синтетисани естри су спектрално окарактерисани коришћењем MS, NMR (1D- и 2D-NMR, као и NMR експеримената са додатком лантанидног реагенса хемијског померања), FTIR и UV-Vis анализа, а у случају естара који садрже фероценско језгро и електрохемијском (циклична волтаметрија) и ренгенском структурном анализом. За неколико естара је показано да поседују акутну токсичност према <i>A. salina</i>, цитотоксичност на две ћелијске линије, инхибиторну активност на AChE, антиноцицептивну и антимикуробну активност. (1R*,3S*,5R*)-Сабинол је показао два пута већу активност у односу на морфин, а антифунгална активност 2-ацетил-2-(фероценилметил)-4-метил-4-пентеноата је била упоредива са активношћу нистатина према <i>Candida albicans</i>.
Датум прихватања теме, ДП:	27.12.2013.
Датум одбране, ДО:	
Чланови комисије, КО:	Председник: Полина Благојевић Члан: Ирена Новаковић Члан: Тамара Тодоровић Члан: Зорица Стојановић-Радић Члан, ментор: Нико Радуловић



ПРИРОДНО - МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ НИШ

KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number, ANO :	
Identification number, INO :	
Document type, DT :	monograph
Type of record, TR :	textual / graphic
Contents code, CC :	doctoral dissertation
Author, AU :	Marko Z. Mladenović
Mentor, MN :	Niko S. Radulović
Title, TI :	Combinatorial libraries of selected natural and synthetic biologically active esters
Language of text, LT :	Serbian
Language of abstract, LA :	Serbian/English
Country of publication, CP :	Serbia
Locality of publication, LP :	Serbia
Publication year, PY :	2017
Publisher, PB :	author's reprint
Publication place, PP :	Niš, Višegradska 33.
Physical description, PD :	11 chapters/ 574 pages/ 269 ref./ 20 tables/ 103 figures/ 506 appendices
Scientific field, SF :	Chemistry
Scientific discipline, SD :	Organic chemistry and biochemistry
Subject/Key words, S/KW :	Organic synthesis, combinatorial libraries of esters, (1R*,3S*,5R*)-sabinol, long-chain alkanols, regioisomeric allylmethoxyphenols, methyl-2-benzylacetoacetates, methyl-2-(ferrocenylmethyl)acetoacetates, essential oils, biological/pharmacological activity, QSPR
UC	543.632.514.3 + 547.1-3
Holding data, HD :	library
Note, N :	This work is a part of the research performed within the Project No. 172061. Synthesis of compounds and their spectral analyses were performed in the Laboratory of organic analysis and synthesis, Department of chemistry, Faculty of Science and Mathematics, University of Niš
Abstract, AB :	Herein, a successful identification and a means of arriving at (milli)gram quantities of the selected natural esters was achieved through the application of a synthetic combinatorial approach (three libraries with 171 constituents in total, among them 121 new compounds). As a result, new secondary metabolites from <i>Achillea falcata</i> L. ((1R*,3S*,5R*)-sabinyl formate and tiglate), <i>Achillea ageratifolia</i> (Sm.) Boiss. subsp. <i>serbica</i> (Nyman) Heimerl ((1R*,3S*,5R*)-sabinyl formate, tiglate, nonanoate and decanoate), <i>Scandix balansae</i> Reut. ex Boiss. (octadecyl valerate), <i>Scandix pecten-veneris</i> L. (esters of isobutanoic acid and <i>n</i>-C₁₅, C₁₇, C₂₁ and C₂₃ alkanols, as well as esters of isovaleric acid and <i>n</i>-C₁₃, C₁₅ and C₁₇ alkanols) and <i>Anthemis segetalis</i> Ten. (eugenyl angelate, 2-methylbutanoate and 3-methylbutanoate) essential-oil samples were identified. Also, the combinatorial approach was successful used for a systematical comparison of chemical/biological properties of ferrocene-containing esters and their corresponding phenyl analogs (a library of eighteen (13 new) 2-substituted methyl acetoacetates). The structures of the synthesized esters were spectrally characterized by MS, NMR (1D- and 2D-NMR, as well as, an NMR methodology that employ lanthanide-induced shifts), FTIR and UV-Vis analyses, and in the case of ferrocene-containing compounds by electrochemical (cyclic voltammetry) and X-ray analyse(s). Several esters were shown to be toxic to <i>A. salina</i>, possessed cytotoxic (to two cell lines), AChE inhibitory, antinociceptive and antimicrobial activities. Antinociceptive activity of (1R*,3S*,5R*)-sabinol was two times higher than that of morphine, and the antifungal activity of 2-acetyl-2-(ferrocenylmethyl)-4-methyl-4-pentenoate was comparable to that of nystatin against <i>Candida albicans</i>.
Accepted by the Scientific Board on, ASB : 27.12.2013.	
Defended on, DE :	
Defended Board, DB :	President: Polina Blagojević Member: Irena Novaković Member: Tamara Todorović Member: Zorica Stojanović-Radić Member, Mentor: Niko Radulović

Kombinatorne biblioteke odabranih prirodnih i sintetskih biološki aktivnih estara

Подаци о докторској дисертацији

Ментор:	др Нико С. Радуловић, редовни професор Природно-математичког факултета, Департман за хемију, Универзитет у Нишу
Наслов:	Комбинаторне библиотеке одабраних природних и синтетских биолошки активних естара
Резиме:	У овој докторској дисертацији је применом комбинаторног приступа (креиране су три библиотеке са укупно 171 једињењем, од којих је 121 ново једињење) приказана успешна идентификација и добивање (мили)грамских количина одабраних природних естара. Као резултат тога, идентификовани су нови секундарни метаболити из етарских уља биљних врста: <i>Achillea falcata</i> L. ((1R*,3S*,5R*)-сабинил-формијат и тиглат), <i>Achillea ageratifolia</i> (Sm.) Boiss. subsp. <i>serbica</i> (Nyman) Heimerl ((1R*,3S*,5R*)-сабинил-формијат, тиглат, нонаноат и деканоат), <i>Scandix balansae</i> Reut. ex Boiss. (октадецил-валерат), <i>Scandix pecten-veneris</i> L. (естри изобутанске киселине и <i>n</i>-C15, C17, C21 и C23 алкохола, као и естара изовалеријанске киселине и <i>n</i>-C13, C15 и C17 алкохола) и <i>Anthemis segetalis</i> Ten. (еугенил-ангелат, 2-метилбутаноат и 3-метилбутаноат). Такође, комбинаторни приступ је успешно искоришћен за упоређење хемијских/биолошких особина естара који садрже фироценско језгро и њихових фенил аналога (библиотека 18 (13 нових) метил-ацетоацетата (ди)супституисаног у положају 2). Синтетисани естри су спектрално окарактерисани коришћењем MS, NMR (1D- и 2D-NMR, као и NMR експеримената са додатком лантанидног реагенса хемијског померања), FTIR и UV-Vis анализа, а у случају естара који садрже фироценско језгро и електрохемијском (циклична волтаметрија) и ренгенском структурном анализом. За неколико естара је показано да поседују акутну токсичност према <i>A. salina</i>, цитотоксичност на две ћелијске линије, инхибиторну активност на AChE, антиноцицептивну и антимикробну активност. (1R*,3S*,5R*)-Сабинол је показао два пута већу активност у односу на морфин, а антифунгална активност 2-ацетил-2-(фироценилметил)-4-метил-4-пентеноата је била упоредива са активношћу нистатина према <i>Candida albicans</i>.
Научна област:	хемија
Научна дисциплина:	органска хемија и биохемија
Кључне речи:	Органска синтеза, комбинаторне библиотеке естара, етарска уља, метил-2-(фироценилметил)ацетоацетати, метил-2-бензилацетоацетати, региоизомерни алилметоксифеноли, (1R*,3S*,5R*)-сабинол, дуголанчани алкохоли, биолошка/фармаколошка активност, QSPR
УДК:	543.632.514.3 + 547.1-3
CERIF класификација:	P 390, Органска хемија; P 395, Хемија органометалних једињења; P 004, Биохемија, метаболизам
Тип лиценце Креативне заједнице:	CC BY-NC-ND

Data on Doctoral Dissertation

Doctoral Supervisor:	Academic title, First and Last Name, Title of the University and Faculty
Title:	Title of Doctoral Dissertation
Abstract:	Herein, a successful identification and a means of arriving at (milli)gram quantities of the selected natural esters was achieved through the application of a synthetic combinatorial approach (three libraries with 171 constituents in total, among them 121 new compounds). As a result, new secondary metabolites from <i>Achillea falcata</i> L. ((1<i>R</i>*,3<i>S</i>*,5<i>R</i>*)-sabinyl formate and tiglate), <i>Achillea ageratifolia</i> (Sm.) Boiss. subsp. <i>serbica</i> (Nyman) Heimerl ((1<i>R</i>*,3<i>S</i>*,5<i>R</i>*)-sabinyl formate, tiglate, nonanoate and decanoate), <i>Scandix balansae</i> Reut. ex Boiss. (octadecyl valerate), <i>Scandix pecten-veneris</i> L. (esters of isobutanoic acid and <i>n</i>-C₁₅, C₁₇, C₂₁ and C₂₃ alkanols, as well as esters of isovaleric acid and <i>n</i>-C₁₃, C₁₅ and C₁₇ alkanols) and <i>Anthemis segetalis</i> Ten. (eugenyl angelate, 2-methylbutanoate and 3-methylbutanoate) essential-oil samples were identified. Also, the combinatorial approach was successful used for a systematical comparison of chemical/biological properties of ferrocene-containing esters and their corresponding phenyl analogs (a library of eighteen (13 new) 2-substituted methyl acetoacetates). The structures of the synthesized esters were spectrally characterized by MS, NMR (1D- and 2D-NMR, as well as, an NMR methodology that employ lanthanide-induced shifts), FTIR and UV-Vis analyses, and in the case of ferrocene-containing compounds by electrochemical (cyclic voltammetry) and X-ray analyse(s). Several esters were shown to be toxic to <i>A. salina</i>, possessed cytotoxic (to two cell lines), AChE inhibitory, antinociceptive and antimicrobial activities. Antinociceptive activity of (1<i>R</i>*,3<i>S</i>*,5<i>R</i>*)-sabinol was two times higher than that of morphine, and the antifungal activity of 2-acetyl-2-(ferrocenylmethyl)-4-methyl-4-pentenoate was comparable to that of nystatin against <i>Candida albicans</i>.
Scientific Field:	Chemistry
Scientific Discipline:	Organic chemistry and biochemistry
Key Words:	Organic synthesis, combinatorial libraries of esters, (1 <i>R</i> *,3 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *)-sabinol, long-chain alkanols, regioisomeric allylmethoxyphenols, methyl-2-benzylacetoacetates, methyl-2-(ferrocenylmethyl)acetoacetates, essential oils, biological/pharmacological activity, QSPR
UDC:	543.632.514.3 + 547.1-3
CERIF Classification:	P 390, Organic chemistry; P 395, Organometallic chemistry; P 004, Biochemistry, Metabolism
Creative Commons License Type:	CC BY-NC-ND



Eksperimentalni deo ove doktorske disertacije rađen je u Laboratoriji za organsku analizu i sintezu, Departmana za Hemiju, Prirodno-matematičkog fakulteta, Univerziteta u Nišu, u okviru istraživanja na projektu ON 172061 „Kombinatorne biblioteke heterogenih katalizatora, prirodnih proizvoda, modifikovanih prirodnih proizvoda i njihovih analoga: put ka novim biološkim agensima” Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Ovom prilikom najiskrenije se zahvaljujem svom mentoru profesoru Niku Raduloviću na ukazanom poverenju, vremenu, strpljenju, podršci i nesebičnoj pomoći tokom izrade ove disertacije, kao i na prijateljskom odnosu tokom ovih godina.

Najsrdanije se zahvaljujem i članovima komisije, prof. dr Polini Blagojević, dr Ireni Novaković, doc. dr Tamari Todorović i doc. dr Zorici Stojanović-Radić, na korisnim sugestijama i savetima koji su značajno doprineli kvalitetu disertacije. Veliku zahvalnost dugujem i doc. dr Zorici Stojanović-Radić, doc. dr Pavlu Randeloviću i Nikoli Stojanović na pomoći pri ispitivanju antimikrobne aktivnosti i farmakoloških aktivnosti, prof. dr Polini Blagojević na pomoći pri izvođenju in silico eksperimenata i dr Tatjani Ilić-Tomić, dr Lidiji Senerović i dr Jasmini Nikodinović-Runić na pomoći pri ispitivanju citotoksične aktivnosti. Zahvalnost dugujem i kolegama iz grupe, koji su mi mnogo puta nesebično pomagali a najviše jer su doprineli da rad u laboratoriji protekne u dobroj atmosferi.

Naposletku, zahvaljujem se i svojoj porodici na bezgraničnoj podršci i razumevanju.

Oznake i skraćenice

-Nomenklatura-

n - normalni niz

p - para

E - Entgegen (stereodeskriptor)

Z - Zusammen (stereodeskriptor)

-Reagensi i rastvarači-

CDCl₃ - deuterohloroform

C₆D₆ - deuterobenzen

DCC - *N,N'*-dicikloheksilkarbodiimid

DMAP - 4-(dimetilamino)piridin

DMF - dimetilformamid

DMSO - dimetilsulfoksid

Et₂O - dietil-etar

EtOH - etanol

Eu(fod)₃ - *tris*(6,6,7,7,8,8,8-heptafluor-2,2-dimetil-3,5-oktandionat)europijum(III)

MeOH - metanol

PrOH - propanol

t-BuOH - *terc*-butanol

TMS - tetrametilsilan

TTC - 2,3,5-trifeniltetrazolijum-hlorid

-Hromatografija i masena spektrometrija-

AMDIS - automatizovani sistem za identifikaciju i dekonvoluciju masenih spektara

EI - elektronska jonizacija

FID - plameno-jonizacioni detektor (**F**lame **I**onization **D**etector)

GC - gasna hromatografija

GC-MS - gasna hromatografija-masena spektrometrija

HP - **H**ewlett-**P**ackard

[M]⁺ - molekularni jon

m/z - odnos mase i naelektrisanja

MPLC - tečna hromatografija pri srednjim pritiscima (**Medium Pressure Liquid Chromatography**)

PIC - parcijalna jonska struja (**partial ion current**)

rel. int. - relativni intenzitet

RI - retencioni indeks u odnosu na *n*-alkane (Den Dool i Kratz, 1963)

Rt - retenciono vreme (**Retention Time**)

TLC - tankoslojna hromatografija (**Thin-Layer Chromatography**)

TIC - ukupni jonski hromatogram (**Total Ion Chromatogram**)

-Infracrvena spektroskopija i ultraljubičasta i vidljiva spektroskopija-

ATR - **A**ttenuated **T**otal **R**eflectance

FT - *Fourier*-ova transformacija

FTIR - Furije-transformisana infracrvena spektroskopija (**F**ourier **T**ransformed **I**nfrared **S**pectroscopy)

IR - infracrvena (**I**nfra**R**ed)

UV - ultraljubičasta (**U**ltra**V**iolet)

UV-Vis - spektroskopija u UV i Vis oblasti (**U**ltra**V**iolet–**V**isible spectroscopy)

-Nuklearna-magnetna rezonantna spektroskopija-

1D jednodimenzionalni

2D dvodimenzionalni

¹³C NMR – nuklearno-magnetna rezonantna spektroskopija ugljenika-13 (**C**arbon-**13** **N**uclear **M**agnetic **R**esonance spectroscopy)

d - dublet

dd - dublet dubleta

ddd - dublet dubleta dubleta

dddd - dublet dubleta dubleta dubleta

ddq - dublet dubleta kvarteta

dt - dublet tripleta,

DEPT - **D**istortionless **E**nhancement by **P**olarization **T**ransfer

¹H - ¹H COSY - **¹H - ¹H C**orrelation **S**pectroscopy

¹H NMR - protonska nuklearno-magnetna rezonantna spektroskopija (**H**ydrogen-**1** **N**uclear **M**agnetic **R**esonance)

HMBC - **H**eteronuclear **M**ultiple **B**ond **C**orrelation

HSQC - **H**eteronuclear **S**ingle **Q**uantum **C**oherence

J - konstanta kuplovanja

m - multiplet

NMR - nuklearno-magnetna rezonantna spektroskopija (**N**uclear **M**agnetic **R**esonance)

NOESY - **N**uclear **O**verhauser **E**ffect **S**pectroscopy

ppm - parts per million

s - singlet

sept - septuplet

sext - sekstuplet (**sextuplet**)

t - triplet

tst - triplet septupleta

tquint - triplet kvinteta

q - kvartet (quartet)

quint - kvintet (quintet)

qquint - kvartet kvinteta

δ - hemijsko pomeranje u NMR spektru

δH - hemijsko pomeranje u ¹H NMR spektru

δC - hemijsko pomeranje u ¹³C NMR spektru

Δδ - razlika u hemijskim pomeranjima

ΔEu - gradijent pomeranja

Δcal - izračunate vrednosti hemijskih pomeranja indukovanih lantanidom na osnovu Mekonel-Robertsonove (*McConnell-Robertson*) jednačine

-Biološka aktivnost-

AChE - acetilholinesteraza

ACTI - acetiltioholin-jodid

ATCC - **A**merican **T**ype **C**ulture **C**ollection

BSA - albumin iz goveđeg seruma (**B**ovine **S**erum **A**lbumin)

CFU - **C**olony-**F**orming **U**nit

DTNB - 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoeva kiselina)

MBC - minimalna baktericidna koncentracija (**M**inimum **B**actericidal **C**oncentration)

MFC - minimalna fungicidna koncentracija (**M**inimum **F**ungicidal **C**oncentration)

MHA - **M**ueller **H**inton **A**gar

MIC - minimalna inhibitorna koncentracija (**M**inimum **I**nhibitory **C**oncentration)

MTT - 3-(4,5-dimetiltijazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijum-bromid

NCCLS - američki nacionalni komitet za kliničke laboratorijske standarde (**N**ational **C**ommittee for **C**linical **L**aboratory **S**tandards)

DA - Saburo dekstrozni agar (**S**abouraud **D**extrose **A**gar)

-Statistička analiza-

MVA - multivarijantna analiza

AHC - aglomerativna hijerarhijska klaster analiza (**A**gglomerative **H**ierarchical **C**lustering)

PCA - analiza glavne komponente (**P**rincipal **C**omponent **A**nalysis)

-Merne jedinice-

Å - angstrom

°C - Celzijusov stepen

cm - centimetar

eV - electron Volt

g - gram

h - sat

Hz - herc (Hertz)

kg - kilogram

l - litar

m - metar

MHz - megaherc

mg - miligram

min - minut

ml - mililitar

mm - milimetar

mmol - milimol

ng - nanogram

nm - nanometar

s - sekunda

μl - mikrolitar

μm - mikrometar

-Ostalo-

BAMT - benzoeva kiselina-metiltransferaza (**B**enzylic **A**cid **M**ethyl **T**ransferase)

BI - *Balaban*-ov indeks

BL - baseline (vrednost osnovne linije)

DFT - density functional theory

et al. - i drugi/ostali (**Et alia**)

HCMV - **H**uman **C**ytomegalovirus

HIV - **H**uman **I**mmunodeficiency **V**irus

HSV - **H**erpes **S**implex **V**irus

MMFF94 - Merck molecular force field 94

MTI - molekulski topološki indeks

npr. - na primer

p.n.e. - pre nove ere

rel. int. - relativni intenzitet

SAR - veza strukture i aktivnosti molekula (**S**tructure **A**ctivity **R**elationships)

SAMT - salicilna kiselina-metiltransferaza (**S**alicylic acid **m**ethyl **t**ransferase)

SD - standardna devijacija

sl. - slično

syn. - sinonim

i td. - i tako dalje

tj. - to jest

tr - trag

WI - *Wiener*-ov indeks

1. UVOD I CILJEVI	1
2. OPŠTI DEO	7
2.1. Estri	8
2.1.1. Sinteza estara	8
2.1.1.1. Štegljehova (<i>Steglich</i>) esterifikacija	8
2.1.2. Biosinteza estara u biljkama	10
2.1.3. Biološke/farmakološke aktivnosti estara	12
2.2. Etarska ulja	14
2.2.1. Etarska ulja – dobivanje, analiza, značaj	14
2.2.2. Biološki/farmakološki značaj etarskih ulja i njihovih sastojaka	16
2.2.3. Etarska ulja kao izvor estara	19
2.3. Feroceni	22
2.3.1. Struktura, osobine i sinteza derivata ferocena	22
2.3.2. Biološka aktivnost jedinjenja sa ferocenil grupom	22
2.4. Kombinatorne biblioteke	24
2.4.1. Kombinatorne biblioteke – princip kreiranja, podela i primena	24
2.4.2. Biološki i farmakološki značaj kombinatornih biblioteka	30
2.4.3. Primena u identifikaciji prirodnih proizvoda	38
3. EKSPERIMENTALNI DEO	41
3.1. Hemikalije i rastvarači	42
3.2. Biljni materijal i priprema uzoraka za analizu	43
3.2.1. Biljni materijal	43
3.2.2. Izolovanje etarskih ulja	44
3.3. Metode razdvajanja i analize	44
3.3.1. Gasna hromatografija – masena spektrometrija (GC-MS) i gasna hromatografija (GC)	44
3.3.1.1. Gasna hromatografija-masena spektrometrija (GC-MS)	44
3.3.1.2. Gasna hromatografija sa plameno-jonizacionim detektorom (GC-FID)	45
3.3.1.3. Identifikacija sastojaka	45

3.3.1.4. Kvantifikacija odabranih sastojaka	45
3.3.2. Hromatografija na tankom sloju (TLC)	46
3.3.3. Tečna hromatografija pri srednjim pritiscima (MPLC)	46
3.3.4. „Dry flash” hromatografija	46
3.3.5. Infracrvena spektroskopija (IR)	46
3.3.6. Nuklearno-magnetna rezonantna (NMR) spektroskopija	47
3.3.7. Rendgenska strukturna analiza	47
3.3.8. Ciklična voltametrij	47
3.3.9. Ultraljubičasta (UV) spektroskopija	48
3.3.10. Elementalna mikroanaliza	48
3.4. Izolovanje i sinteza jedinjenja	48
3.4.1. Sintaza biblioteke estara <i>trans</i> -sabinola	48
3.4.1.1. Izolovanje (1 <i>R</i> *,3 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *)-sabinil-acetata	48
3.4.1.2. Hidroliza (1 <i>R</i> *,3 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *)-sabinil-acetata	48
3.4.1.3. Sintaza estara <i>trans</i> -sabinola	48
3.4.2. Sintaza biblioteke izobutanoata, 2-metilbutanoata i (izo)valerata dugolančanih alkohola	54
3.4.3. Sintaza biblioteke estara alilmetoksifenola	62
3.4.3.1. Sintaza regioizomernih alilmetoksifenola	62
3.4.3.1.1. Opšte uputstvo za <i>O</i> -metilovanje fenola	62
3.4.3.1.2. Opšte uputstvo za <i>O</i> -alilovanje fenola	62
3.4.3.1.3. Dobivanje <i>o</i> -alilfenola (Klajzenovo (<i>Claisen</i>) premeštanje)	63
3.4.3.2. Sintaza alilmetoksifenil estara	63
3.4.4. Sintaza biblioteke metil-(ferocenilmetil)acetoacetata	85
3.4.5. Sintaza biblioteke metil-benzilacetoacetata	89
3.4.6. Sintaza 2,2-dipropil- i 2,2-dialil-supstituisanih metil-acetoacetata	93
3.5. Testiranje biološke aktivnosti estara	94
3.5.1. Testiranje <i>in vitro</i> aktivnosti	94
3.5.1.1. Korišćeni mikroorganizmi	94

3.5.1.2. Antimikrobna aktivnost	95
3.5.1.3. Inhibicija acetilholinesteraze	96
3.5.1.4. Određivanje citotoksičnosti na fibroblaste pluća (MRC5) i ćelije melanoma (A375)	97
3.5.2. Testiranje <i>in vivo</i> aktivnosti	98
3.5.2.1. Eksperimentalne životinje	98
3.5.2.2. Test abdominalnih grčeva izazvanih acetilholinom (<i>writhing test</i>)	98
3.5.2.3. Osetljivost na termalni nadražaj - metode vruće ploče (<i>hot-plate test</i>) i imerzije repa (<i>tail immersion test</i>)	99
3.5.2.4. Određivanje akutne toksičnosti	99
3.6. Statistička obrada podataka	100
3.7. <i>In silico</i> eksperimenti	100
3.7.1. Optimizacija geometrije molekula i izračunavanje NMR hemijskih pomeranja i konstanti spin–spin kuplovanja	100
3.7.2. Eksperimenti molekulskog dokovanja (ukotljavanja)	100
4. REZULTATI I DISKUSIJA	102
4.1. Kombinatorna biblioteka sabinil estara	103
4.1.1. Kreiranje kombinatorne biblioteke, sinteza i spektralna karakterizacija estara <i>trans</i> -sabinola	103
4.1.1.1. Kreiranje biblioteke i sinteza estara	103
4.1.1.2. Nomenklturni problemi koji se tiču stereohemije derivata sabinola	103
4.1.1.3. NMR spektralna karakterizacija odabranih jedinjenja biblioteke	105
4.1.2. Hemijski sastav etarskih ulja biljnih vrsta <i>Achillea falcata</i> i <i>A. ageratifolia</i> ssp. <i>serbica</i>	124
4.1.2.1. <i>Achillea falcata</i> L.	124
4.1.2.2. <i>Achillea ageratifolia</i> (Sm.) Boiss. subsp. <i>serbica</i> (Nyman) Heimerl	128
4.1.3. Biološka aktivnost odabranih sintetisanih sabinil estara	132
4.1.3.1. Određivanje akutne toksičnosti	132

4.1.3.2. Inhibicija acetilholinesteraze (AChE)	133
4.1.3.3. Antinociceptivna aktivnost	138
4.2. Kombinatorna biblioteka izobutanoata, 2-metilbutanoata i (izo)pentanoata dugolančanih alkohola	144
4.2.1. Određivanje sastava etarskih ulja biljnih vrsta <i>Scandix balansae</i> i <i>S. pecten-veneris</i>	144
4.2.1.1. <i>Scandix balansae</i> Reut. ex Boiss.	144
4.2.1.2. <i>Scandix pecten-veneris</i> L.	148
4.2.2. Kreiranje kombinatorne biblioteke, sinteza estara dugolančanih alkohola i njihova spektralna karakterizacija	151
4.2.3. Veza strukture molekula i njihovih gasno-hromatografskih osobina (retencionih indeksa)	154
4.2.4. Prirodna rasprostranjenost estara dugolančanih alkohola iz kombinatorne biblioteke	158
4.2.5. Kvantifikacija identifikovanih estara dugolančanih alkohola u biljnom materijalu	160
4.2.6. Hemotaksonomski značaj identifikovanih estara dugolančanih alkohola	161
4.2.7. Mikrobiološka aktivnost odabranih jedinjenja iz kombinatorne biblioteke	167
4.3. Kombinatorna biblioteka alilmetoksifenil estara	170
4.3.1. Identifikacija nepoznatih sastojaka etarskog ulja biljne vrste <i>Anthemis segetalis</i>	170
4.3.2. Dizajn i kreiranje biblioteke alilmetoksifenil estara	172
4.3.3. Spektralna karakterizacija	176
4.3.4. Veza strukture molekula i njihovih gasno-hromatografskih osobina (retencionih indeksa)	181
4.3.5. Biološka/farmakološka aktivnost odabranih derivata iz biblioteke alilmetoksifenil estara	185
4.3.5.1. Određivanje akutne toksičnosti	186
4.3.5.2. <i>In vitro</i> citotoksičnost (antiproliferativna aktivnost)	187
4.3.5.3. Inhibitorna aktivnost na acetilholinesterazu (AChE)	189

4.3.5.4. Antibakterijska aktivnost	189
4.3.6. Veza strukture odabranih jedinjenja biblioteke i njihovih bioloških osobina (SAR)	190
4.4. Kombinatorna biblioteka metil-(ferocenilmetil)acetoacetata i odgovarajućih benzil analoga	194
4.4.1. Dizajn i kreiranje biblioteke	194
4.4.2. Spektralna karakterizacija derivata metil-2-oksobutanoata	196
4.4.3. Rendgenska strukturna analiza metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metil-4-heksenoata [12f]	207
4.4.4. Elektrohemijsko ispitivanje odabranih metil-acetoacetata koji sadrže ferocensko jezgro	213
4.4.5. Antimikrobna aktivnost sintetisanih jedinjenja iz biblioteke metil-acetoacetata	215
5. ZAKLJUČAK	221
6.1. IZVOD	224
6.2. SUMMARY	228
7. LITERATURA	232
8. PRILOZI	245
9. BIOGRAFIJA AUTORA	543
10. BIBLIOGRAFIJA	545
11. IZJAVE AUTORA	550

1. UVOD I CILJEVI

Kombinatorna biblioteka predstavlja skup jedinjenja sintetisanih korišćenjem istih hemijskih reakcija na međusobno različitim, ali funkcionalno srodnim supstratima. Pojava kombinatorne hemije je značajno promenila proces otkrivanja novih, aktivnih molekula u farmaceutskoj industriji, omogućavajući sintezu i testiranje velikog broja homologih serija jedinjenja (Beavers i Chen, 2002). Kombinatorne biblioteke se generalno mogu smatrati jedno- ili višedimenzionalnim (u zavisnosti da li se u reakciji varira identitet jednog ili više učesnika). Dodatnim dimenzijama biblioteke se mogu smatrati sve pridodate osobine tih jedinjenja, poput biološke aktivnosti i spektralnih podataka. Biblioteke mogu sadržati sintetisane smeše jedinjenja, čista jedinjenja, ili mogu predstavljati hemijske strukture generisane u kompjuterskom programu.

Postoje dva osnovna pristupa u kreiranju kombinatornih biblioteka. Prvi predstavlja kreiranje „skrining” biblioteka kod kojih se sintezom nasumičnih homologih serija traga za novim, biološki aktivnim jedinjenjima. Mnogo efikasniji pristup je kreiranje biblioteka koje sadrže jedinjenja nastala modifikacijom biološki aktivnih jedinjenja u cilju povećanja njihove aktivnosti i/ili smanjenja toksičnosti (Nilakantan et al., 2002). Ovo se najčešće postiže formiranjem kombinatornih biblioteka kod kojih se polazi od biološki aktivnih prirodnih proizvoda (prirodna jedinjenja predstavljaju osnovu za analoge koji su dizajnirani na „neprirodan” način), njihovih derivata (hemijski transformisan prirodni proizvod) i analoga (*de novo* sintetisano jedinjenje sa odabranim strukturnim sličnostima sa prirodnim proizvodom). Kombinatorne biblioteke prirodnih proizvoda, koje kao reagense koriste smešu jedinjenja ili konkretno jedinjenje iz biljnog materijala, pružaju ekonomski isplativ pristup paleti teško dostupnih hiralnih substrata sa već „ugrađenom” farmakoforom.

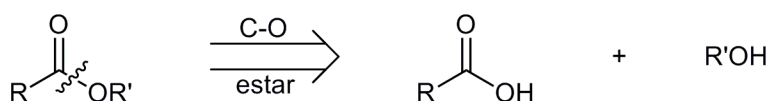
Jedinjenja koja sadrže estarsku funkciju, bilo prirodni proizvodi ili sintetska jedinjenja, zauzimaju značajno mesto u farmakologiji i medicinskoj hemiji. Estri su veoma privlačni u kombinatornom smislu usled konceptualno lako ostvarivog dobijanja velikog broja različitih članova sintetskih biblioteka koje uključuju variranje dva strukturna fragmenta (alkoholnog i kiselinskog dela molekula). Takođe, strukturna varijacija u okviru nekog estra se može ostvariti i uvođenjem novih grupa na već postojeće, pogodno funkcionalizovane, estre. Kako su estri česti prirodni proizvodi, i veoma često nosioci neke biološke aktivnosti, u ovoj disertaciji se (detalji se nalaze niže obrazloženi) razmatraju dve nove primene kombinatornih biblioteka u:

1. Identifikaciji potencijalno biološki aktivnih sekundarnih metabolita biljnih vrsta koje sadrže estarsku funkciju.

2. Utvrđivanju strukturnih/farmakofornih zahteva za postojanje biološke aktivnosti estara sa ferocenil ili fenil grupama tj. promene u biološkoj aktivnosti estara kao posledice uvođenja ferocenil grupe ili formalne zamene aromatičnog jezgra ferocenom kod estara sa već dokazanom biološkom aktivnošću.

Prvi cilj: Iako su našle značajnu primenu u farmakologiji i hemiji materijala, kombinatorne biblioteke do sada nisu korišćene za identifikaciju sekundarnih metabolita. S obzirom da je veliki broj jedinjenja koja se koriste u medicinske svrhe biljnog porekla (Newman i Cragg, 2007) jedna od osnovnih metoda za pronalaženje novih, biološki aktivnih jedinjenja je analiza hemijskog sastava nedovoljno istraženih biljnih vrsta. Iz tog razloga, primena kombinatornih biblioteka za identifikaciju sekundarnih metabolita može, logično, dovesti do pronalaženja velikog broja novih, potencijalno biološki aktivnih biljnih sastojaka.

Estri, kao veoma rasprostranjeni sekundarni metaboliti, na osnovu novijih istraživanja (Radulović et al., 2013a), pokazuju značajnu biološku/farmakološku aktivnost, i predstavljaju odlične kandidate za čiju se identifikaciju može primeniti pristup kombinatorne hemije. Pre svega zbog velikog broja kombinacija različitih prirodnih alkohola i kiselina, kao i zbog jednostavne sinteze (npr. *Steglich*-ovom metodom esterifikacije). Pored toga, lako dostupna etarska ulja, kao složene smeše isparljivih sekundarnih metabolita biljaka, mogu biti izvor novih estara velike strukturne raznolikosti.



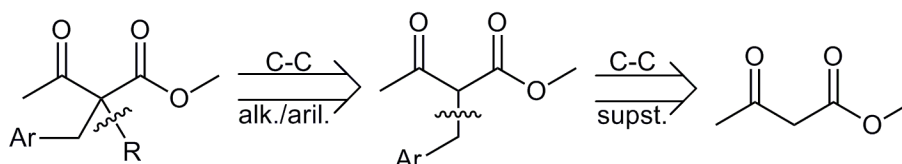
Slika 1.1. Retrosintetska shema sinteze estara

Kao izvor prirodnih biološki aktivnih estara mogu poslužiti etarska ulja nedovoljno ispitanih biljnih vrsta iz „aromatičnih” familija Apiaceae i Asteraceae (familija koje su poznate po biljnim vrstama bogatim etarskim uljima sa velikim brojem sastojaka (među kojima su i estri)). Kao izvor mogu poslužiti i etarska ulja dobro proučenih biljnih vrsta jer se pokazalo da su prilikom njihove ponovne analize, mnogi prirodni proizvodi među kojima i estri sa potencijalnom biološkom aktivnošću, zanemareni od strane autora zbog činjenice da u literaturi ne postoje njihovi maseni spektri i odgovarajući retencioni indeksi, kao i zbog nemogućnosti njihovog izolovanja (npr. zbog male zastupljenosti metabolita u biljci). Ukoliko je pomoću dostupnih

podataka iz masenih spektara moguće naslutiti samo fragment strukture estara, ili ukoliko je moguć veliki broj izomera sa istom masenom fragmentacijom i molekulskom masom (npr. ukoliko nam je poznat kiselinski deo, a ne možemo samo na osnovu masenog spektra da odredimo da li je alkohol nerazgranat ili račvast) najlogičniji i jedini sveobuhvatni pristup je sinteza kombinatornih biblioteka svih izomernih estara, slika 1.1. Poznavanje biosintetskog puta, za koji se veruje da je po njemu nastalo ciljno jedinjenje, u mnogome olakšava kreiranje biblioteke i smanjuje broj jedinjenja koja je potrebno sintetisati. Iako je ovaj pristup vremenski zahtevniji, jer kombinatorne biblioteke ne sadrže samo ciljna jedinjenja iz etarskog ulja, njegova velika prednost je to što je sintezom biljnih sastojaka i njihovih homologa moguća njihova spektralna karakterizacija i dobijanje jedinjenja sa potencijalno većom biološkom/farmakološkom aktivnošću u odnosu na prirodni metabolit. Analizom rezultata dobivenih za sve članove kombinatorne biblioteke moguće je utvrditi vezu između strukture molekula i njegove aktivnosti (identifikaciju njihove farmakofore) što olakšava potragu za novim biološki aktivnim prirodnim proizvodima biljnog porekla i njihovu dalju derivatizaciju tj. kreiranje novih kombinatornih biblioteka.

Drugi cilj: Derivati ferocena su, još od otkrivanja njegove strukture 1951. godine, u žiži interesovanja velikog broja hemičara (Damljanović et al., 2009a), bilo da se oni bave organskom sintezom, koordinacionom hemijom, hemijom materijala ili medicinskom hemijom i farmakologijom (Damljanović et al., 2011). Razlog tome je nekoliko jedinstvenih karakteristika ovih jedinjenja, kao što su: lakoća derivatizacije i izuzetna stabilnost u vodenom i u nevodenom medijumu (Damljanović et al., 2011). Intenzivirana su istraživanja bioloških aktivnosti derivata ferocena u poslednjih nekoliko godina, posebno posle otkrića ferocenil derivata hidroksitamoksifena koji poseduje značajnu citostatičku aktivnost (Ratković et al., 2010). Osnovni pristup u kreiranju potencijalno biološki aktivnih derivata ferocena je zasnovan na činjenici da je poznato da dolazi do potenciranja već poznatih ili pojave novih bioloških osobina kada se aromatično jezgro formalno zameni jezgrom ferocena. Iako postoji veliki broj istraživanja u kojima je uvođenje jezgra ferocena ili supstitucija aromatičnog jezgra ferocenom rezultirala značajnim povećanjem biološke aktivnosti nikada nije izvršena uporedna analiza analognih homologih serija jedinjenja sa aromatičnim i ferocenil jezgrom. Najlogičniji pristup za uporednu analizu je kreiranje kombinatorne biblioteke homologih serija ferocenil derivata i njihovih benzil analoga, slika 1.2. Kombinatorna biblioteka koja sadrži homologe serije organometalnih jedinjenja sa ferocenil jezgrom i njihove aromatične analoge bi omogućila da se utvrdi da li je

ferocenil jezgro deo farmakofore tj. uticaj ferocenil grupe na biološku aktivnost sintetisanih jedinjenja. Jedinjenja koja mogu da posluže kao osnova za kreiranje kombinatorne biblioteke derivata ferocena i njihovih aromatičnih analoga su derivati 3-oksobutanske kiseline, slika 1.2. Razlog za to je njihova poznata biološka aktivnost (Torosyan et al., 1987) i mogućnost kreiranja velike homologe serije 2-mono- ili 2,2-disupstituisanih derivata.



Slika 1.2. Retrosintetska shema sinteze homologih serija ferocenil derivata i njihovih benzil analoga

Imajući sve prethodno u vidu, za ciljeve ove doktorske disertacije je postavljeno kreiranje kombinatornih biblioteka u cilju identifikacije i određivanja biološke aktivnosti odabranih estara iz etarskih ulja biljnih vrsta porodica Apiaceae (*Scandix balansae* Reut. ex Boiss. i *Scandix pecten-veneris* L.) i Asteraceae (*Anthemis segetalis* Ten., *Achillea ageratifolia* (Sm.) Boiss. subsp. *serbica* (Nyman) Heimerl i *Achillea falcata* L.). Takođe, za jedan od ciljeva je postavljeno i kreiranje kombinatorne biblioteke alkil supstituisanih metil-2-(ferocenilmetil)acetoacetata i njihovih benzil supstituisanih analoga u cilju utvrđivanja uticaja supstitucije aromatičnog jezgra ferocenom na biološku aktivnost estara. Istraživanja vezana za izradu ove doktorske disertacije obuhvatila su sledeće:

1. Izolovanje i detaljnu analizu hemijskog sastava etarskih ulja biljnih vrsta *Scandix balansae*, *Scandix pecten-veneris*, *Anthemis segetalis*, *Achillea ageratifolia* subsp. *serbica* i *Achillea falcata*;
2. Identifikaciju (kreiranjem kombinatorne biblioteke) nepoznatih estara iz etarskog ulja plodova biljne vrste *Scandix balansae*;
3. Identifikaciju (kreiranjem kombinatorne biblioteke) nepoznatih estara iz etarskog ulja korena, nadzemnog dela i plodova biljne vrste *Scandix pecten-veneris*;
4. Identifikaciju (kreiranjem kombinatorne biblioteke) nepoznatih estara iz etarskog ulja nadzemnog dela biljne vrste *Anthemis segetalis*;

5. Identifikaciju (kreiranjem kombinatorne biblioteke) nepoznatih estara iz etarskog ulja nadzemnog dela i korena biljne vrste *Achillea falcata*;
6. Identifikaciju (kreiranjem kombinatorne biblioteke) nepoznatih estara iz etarskog ulja nadzemnog dela i korena biljne vrste *Achillea ageratifolia* subsp. *serbica*;
7. Kreiranje kombinatorne biblioteke 2-alkil supstituisanih metil-2-(ferocenilmetil)acetoacetata i njihovih benzil analoga;
8. Spektroskopsku i strukturnu karakterizaciju sintetisanih jedinjenja;
9. Ispitivanje mikrobiološke i farmakološke aktivnosti kombinatornih biblioteka estara.

Predviđena ispitivanja bila su sprovedena korišćenjem sledećih metoda:

1. *Dobijanje etarskih ulja* – hidrodestilacija po *Clevenger-u*;
2. *Analiza* – gasna hromatografija (GC), gasna hromatografija sa masenom detekcijom (GC-MS) i nuklearna magnetna rezonantna spektroskopija ugljenika (^{13}C NMR);
3. *Izolovanje, razdvajanje i prečišćavanje* – kolonska hromatografija, „dry-flash“ hromatografija i tečna hromatografija pod srednjim pritiscima (MPLC);
4. *Spektroskopska i strukturna karakterizacija* – nuklearna magnetna rezonantna spektroskopija ugljenika i vodonika (^1H i ^{13}C NMR, jedno- i dvodimenzionalna), infracrvena spektroskopija (IR), ultraljubičasta-vidljiva spektroskopija (UV-Vis), masena spektrometrija (MS) i rendgenska strukturna analiza (X-ray kristalografija);
5. Mikrobiološka aktivnost – mikrodiluciona metoda po preporukama CLSI-a;
6. Određivanje citotoksičnosti na fibroblaste pluća (MRC5) i ćelije melanoma (A375);
7. Određivanje acetilholinesteraza inhibitorne aktivnosti;
8. Određivanje akutne toksičnosti na račiće (*Artemia salina*);
9. Određivanje *in vivo* antinociceptivne aktivnosti (test abdominalnih grčeva izazvanih acetilholinom (*writhing test*) i test osetljivosti na termalni nadražaj - metode vruće ploče (*hot-plate test*) i imerzije repa (*tail immersion test*));
10. Optimizacija geometrije molekula i izračunavanje NMR hemijskih pomeranja i konstanti spin–spin kuplovanja;
11. Molekulsko dokovanje (ukotljavanje).

2. OPŠTI DEO

2.1. Estri

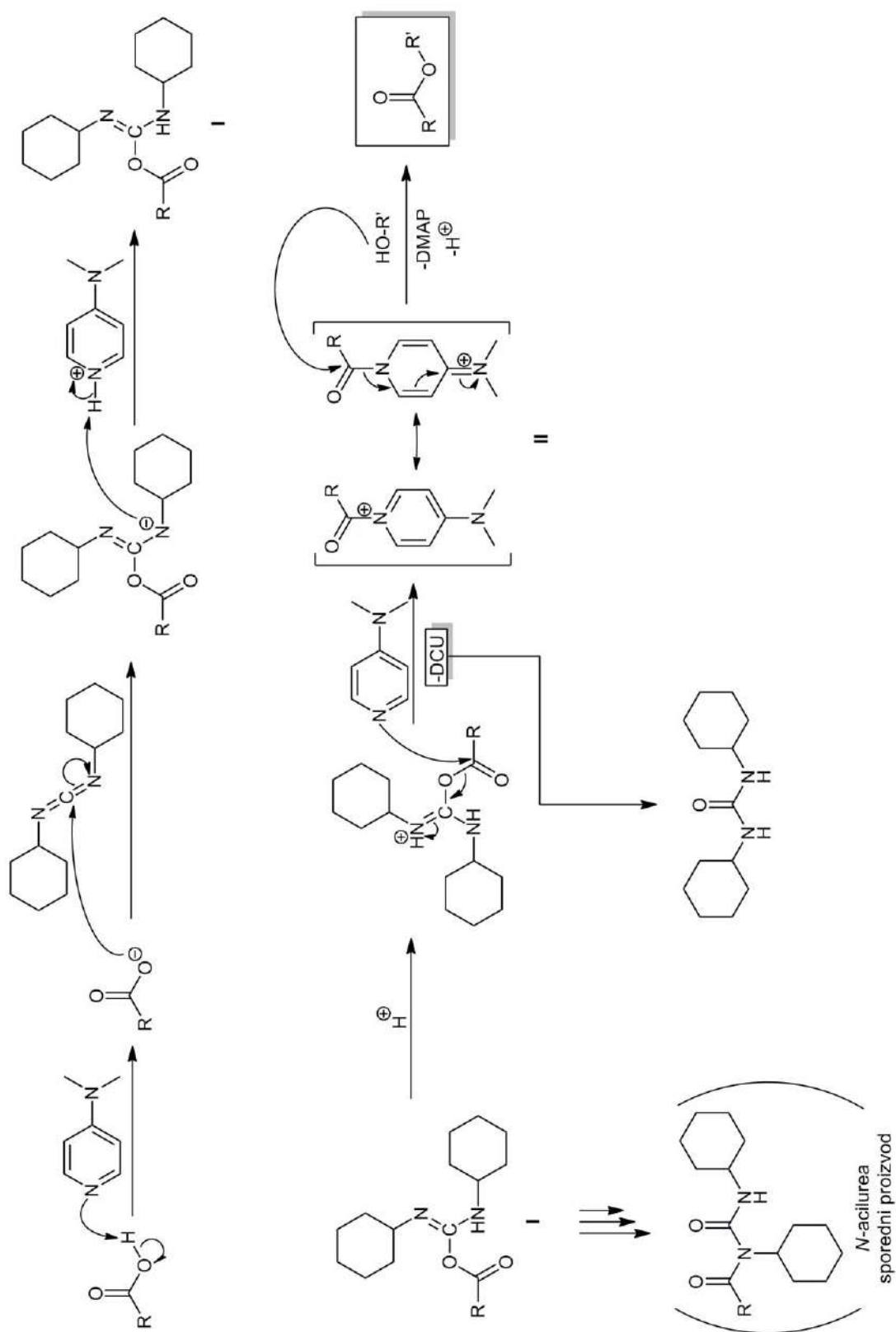
2.1.1. Sinteza estara

Većina hemičara se slaže sa činjenicom da estri predstavljaju najrasprostranjeniju i najznačajniju klasu organskih jedinjenja (Otera, 2003). Razlog tome su: njihove hemijske osobine (pa su često korišćeni u sintezi složenih molekula kao zaštitne grupe karboksilne i/ili hidroksilne funkcije, npr. u sintezi makrolida, šećera i peptida), velika strukturna raznolikost (širok dijapazon kombinacija različitih prirodnih i sintetskih alkohola i kiselina koji mogu nagraditi estre), jednostavnost sinteze i prečišćavanja (postoji veliki broj ustaljenih sintetskih metoda), kao i zbog njihove svevažnosti u industriji, pre svega u proizvodnji hrane i lekova (Otera, 2003). Takođe, njihovom značaju je doprinela i široka rasprostranjenost u prirodi (do sada je identifikovan veliki broj prirodnih estara kao sekundarnih metabolita viših biljaka i životinja). Estri predstavljaju najveću grupu mirisnih jedinjenja (Baser i Demirci, 2007) od kojih veoma često zavisi karakterističan miris i ukus plodova različitog voća i povrća (npr. fenetil-acetat (ruže, med), etil-heksanoat (jabuke, banane), etil-oktanoat (ananas, kruške), γ -dekalakton i γ -dodekalakton (breskve)). Pored toga, njihova količina i međusobni količinski odnos su od velikog značaja za ukus alkoholnih pića (npr. etil-2-metilbutanoat, etil-heksanoat, etil-oktanoat, izoamil-acetat, izobutil-acetat, heksil-acetat i fenetil-acetat (Baser i Demirci, 2007)).

Do sada je usavršeno više različitih metoda za sintezu estara, pre svega u katalizovanim reakcijama kiselina i odgovarajućih alkohola kao i reakcijama transesterifikacije jednog estra u drugi (Otera, 2003). Najveći nedostatak reakcija (trans)esterifikacije potiče od uspostavljanja (nepovoljne) ravnoteže između reaktanata i proizvoda reakcije (Otera, 2003). Iz tog razloga se za pomeranje ravnoteže na stranu građenja proizvoda (estra) koristi višak jednog od reaktanata uz konstantno odvođenje proizvoda (estra i/ili vode/alkohola) iz reakcione smeše. U nekim slučajevima se ovaj problem rešava korišćenjem anhidrida, alkoksida ili slično (Otera, 2003).

2.1.1.1. Šteglihova (*Steglich*) esterifikacija

Šteglihova metoda podrazumeva esterifikaciju karboksilnih kiselina alkoholima ili tiolima pod „blagim” eksperimentalnim uslovima korišćenjem *N,N'*-dicikloheksilkarbodiimida (DCC) i katalitičkih količina 4-aminopiridina (najčešće 4-(dimetilamino)piridina, DMAP) (Neises i Steglich, 1978; Steglich i Höfle, 1969) i predstavlja jednu od najkorišćenijih metoda za esterifikaciju (Otera, 2003).



Slika 2.1.1. Mehanizam Šteglihove (Steglich) esterifikacije i nastajanja sporednih proizvoda

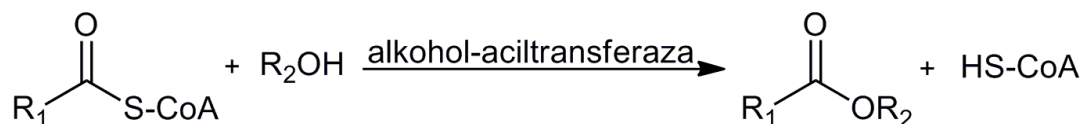
Ova metoda esterifikacije je po prvi put primenjena sedamdesetih godina prošlog veka (Buzas et al., 1962) i u početku je korišćen samo DCC. Nažalost, primena samo diimida je imala nekoliko ozbiljnih nedostataka, pre svega u nekim slučajevima prinos reakcije nije bio zadovoljavajući, reakcija je bila spora i često je nastajala i *N*-acilurea kao glavni proizvod. Ovi nedostaci su eliminisani upotrebom DMAP-a (Steglich i Höfle, 1969). Nedostatak koji potiče od nastajanja *N,N'*-dicikloheksil uree (DCU) se može prevazići uklanjanjem diimida koji je vezan za čvrstu podlogu. U prvom koraku reakcije (slika 2.1.1) kiselina sa DCC-om daje elektrofilni intermedijer (**I**) koji dalje reaguje sa DMAP-om pri čemu nastaje novi još elektrofilniji intermedijer (**II**).

Nukleofilnom karbonilnom supstitucijom intermedijera (**II**) u reakciji sa alkoholom dolazi do građenja estra i regeneracije DMAP-a (Otera, 2003). Reakcija se odvija na sobnoj temperaturi što omogućava korišćenje supstrata sa osetljivim funkcionalnim grupama. Ovo pre svega omogućava laku i brzu sintezu (prirodnih) proizvoda sa estarskom grupom i upravo iz tog razloga Šteglicova esterifikacija se može primeniti na širok spektar kiselina i alkohola, uključujući poliole (Steglich i Höfle, 1969), α -hidroksikiseline (Gilon et al., 1979) i veoma nestabilne alkohole kao što je vitamin A (Neises i Steglich, 1990). Ove reakcija takođe omogućava sintezu estara sa tercijarnim alkoholima jer reakcija nije jako osetljiva na sternu zaklonjenost alkoholne ili karboksilne grupe (Otera, 2003). Iako sa povećanjem sternih smetnji očekivano dolazi do smanjenja prinosa reakcije i do nastajanja *N*-aciluree u većem prinosu, prinos esterifikacije je i dalje zadovoljavajući. Kao dobar primer može se uzeti esterifikacija 2,5-cikloheksadienkarboksilne kiseline sa različitim alkoholima (Neises i Steglich, 1990): MeOH (95%), EtOH (84%), *i*-PrOH (75%), *t*-BuOH (65%).

2.1.2. Biosinteza estara u biljkama

Biosintetski put kojim nastaju terpeni predstavlja osnovni put sinteze ugljovodoničnih skeleta čijom kasnijom modifikacijom nastaje većina isparljivih sekundarnih metabolita biljaka (Dudareva et al., 2004). Modifikacija najčešće obuhvata redukciju, dekarboksilaciju, uvođenje hidroksilne grupe i nastajanje estara i etara (Dudareva et al., 2004). Dve najčešće grupe isparljivih estara (onih koji ulaze u sastav etarskih ulja) su metil estri (nastali metilovanjem prirodnih kiselina) i acetil estri (nastali acetilovanjem sekundarnih metabolita sa slobodnom alkoholnom i/ili fenolnom grupom). Biosinteza isparljivih estara je prikazana na slici 2.1.2.

Biosinteza estara se zasniva na enzimski katalizovanoj reakciji transfera acil grupe iz acetilkoenzima A na alkohol.



Slika 2.1.2. Shema biosinteze estara

Neki od prirodnih metil estara su veoma rasprostranjeni u biljnom svetu. Na primer, metil-salicilat je identifikovan kao sekundarni metabolit u brojnim biljnim vrstama (Knudsen i Tollsten, 1993), i potvrđeno je da se koncentracija ovog estra u biljnom tkivu značajno povećava, verovatno kao deo odbrambenog mehanizma, pri napadu insekata ili parazita (Van Poecke et al., 2001; Chen et al., 2003). Sinteza metil-salicilata se odvija pod dejstvom enzima salicilna kiselina-metiltransferaze (SAMT) koji je po prvi put proučavan iz cveta biljne vrste *Clarkia breweri* (Ros et al., 1999). Zanimljivo je da se SAMT enzim pokazao dovoljno aktivnim da izvrši i metilovanje benzojeve kiseline dovodeći do građenja još jednog često identifikovanog, isparljivog estra – metil-benzoata (Pott et al., 2004), dok enzim benzojeva kiselina-metiltransferaza (BAMT) ne može da izvrši metilovanje salicilne kiseline (Dudareva et al., 2000). Nakon toga je identifikovana serija od 24 enzima koji metiluju prirodne kiseline (Chen et al., 2003).

Veoma su česti proizvodi acilovanja isparljivih alkohola sirćetnom, (izo)pentanskom, benzojevom kiselinom itd. U svim do sada poznatim slučajevima, takvi biljni isparljivi estri su biosintetisani pomoću, nedavno otkrivene, grupe aciltransferaza označene kao BAHD (zajednička skraćenica je nastala od prvih slova imena četiri enzima koji su prvi identifikovani (St-Pierre et al., 1998)). Mnogi BAHD enzimi su uključeni u sintezu neisparljivih biljnih sastojaka (npr. acetilovani alkaloidi ili derivati taksola (St-Pierre et al., 1998; Walker i Croteau, 2000)) ili su uključeni u početne korake sinteze sastojaka etarskih ulja (npr. eugenola (Gang et al., 2002)). Do sada je u nekoliko slučajeva potvrđeno da neki od BAHD enzima nisu selektivni i mogu katalizovati esterifikaciju nekoliko različitih alkohola i/ili kiselina (npr. BAHD enzim iz zrelih plodova različitih vrsta jagoda (*Fragaria* spp.) katalizuje acilovanje heptanola, oktanola i geraniola sirćetnom, butanskom i heksanskom kiselinom (Aharoni et al., 2000; Beekwilder et al.,

2004) ili BADH enzim iz cveta ruže istovremeno može da aciluje geraniol i citronelol (Shalit et al., 2003)).

2.1.3. Biološke/farmakološke aktivnosti estara

Prema SCIfinder Scholar pretrazi CAS baze podataka, u trenutku pisanja ove disertacije, objavljeno je više od 860.000 radova koji sadrže pojam estar. Veliki deo ovih radova ima kao cilj istraživanja identifikaciju, sintezu, spektralnu karakterizaciju i primenu prirodnih ili sintetskih estara. Pretraga koja pored pojma estar ima i sintagmu biološka aktivnost je rezultovala u pronalaženju oko 22.000 publikacija. One se odnose na biološku aktivnost čistih estara ili smeša jedinjenja među kojima su i estri (najčešće je to bilo ispitivanje biološke aktivnosti etarskih ulja i biljnih ekstrakata). Pošto je nemoguće obuhvatiti sve rezultate bioloških testiranja estara, u ovom delu će biti reči o odabranim estrima i odabranim aspektima njihove biološke aktivnosti.

Najpoznatiji estar koji se koristi u medicinske svrhe je acetilsalicilna kiselina poznatija kao aspirin. Aspirin je jedan od najčešće korišćenih lekova u svetu, sa procenjenom godišnjom proizvodnjom 40.000 tona (Warner et al., 2002) i spada u grupu osnovnih lekova medicinskih ustanova po regulativama Svetske zdravstvene organizacije. Postoje podaci da je još u 5. veku pre nove ere Hipokrat lečio ljude korom bele vrbe (*Salix alba* L.). To je bio i povod da se u 18. veku izvrši izolovanje sastojaka iz kore čime se došlo do otkrića salicilne kiseline (Edmund, 1763). Iako je salicilna kiselina imala pozitivne biološke/farmakološke karakteristike njena primena je imala i ozbiljnih nedostataka, pre svega je uzrokovala digestivne probleme poput dijareje, a čak su poznati i smrtni slučajevi kao posledica primene ove kiseline u velikim dozama. Krajem 19. veka istraživači nemačke farmaceutske kompanije Bajer (*Bayer*) su izvršili derivatizaciju salicilne kiseline esterifikacijom slobodne fenolne grupe sirćetnom kiselinom, a što je u velikoj meri smanjilo negativne efekte (Sneader, 2000). Pored toga, važno je napomenuti da reakcija esterifikacije salicilne kiseline predstavlja jednu od prvih derivatizacija prirodnih proizvoda što je izazvalo ekspanziju farmaceutske industrije.

U lečenju malignih oboljenja, koja predstavljaju najveću zdravstvenu pretnju današnjice, estri takođe imaju važnu ulogu. Pre svega treba pomenuti *Paclitaxel* (taksol), prirodni proizvod izolovan iz kore pacifičke tise (*Taxus brevifolia* Nutt.), koji predstavlja najprodavaniji antikancer lek današnjice (Radulović, 2012). Iako taksol predstavlja sekundarni metabolit veoma složene strukture sa nekoliko različitih funkcionalnih grupa, neosporno je da su prisutne estarske grupe

deo farmakofore. Takođe, nedavno objavljeni rezultati o selektivnoj aktivnosti estara progesterona prema tumorskim ćelijskim linijama (Chavez-Riveros et al, 2014) još jednom su potvrdili antikancer potencijal estara. Pored toga, mnogi estri su pokazali i dejstvo protiv virusa (Gorin et al., 1997; José et al., 2014): HIV (Human Immunodeficiency Virus), HSV (Herpes Simplex Virus) i HCMV (Human Cytomegalovirus).

Pored estarskih grupa koje su deo složenih molekula i estri „jednostavne” strukture, koji se u prirodi najčešće nalaze u etarskim uljima aromatičnih biljaka, takođe pokazuju značajnu biološku aktivnost. Mnogi estri izolovani iz etarski ulja pokazuju sedativno, analgetsko i antiinflamatorno dejstvo. Kao važan primer biološki aktivnih estara iz etarskih ulja mogu se navesti estri izovalerijanske (3-metilbutanske) kiseline (Suerbaev et al., 2013). Neki izovalerati predstavljaju značajne intermedijere u sintezi lekova, dok se neki već dugo primenjuju u medicini kao aktivni sastojci lekova (Validolum, Corvalolum). Najpoznatiji biološki aktivni izovalerati su: mentil-izovalerat (Validolum; kao glavni aktivni sastojak ovog sedativa koji se koristi za lečenje neuroza, histerije, stenokardije), etil ester α -bromoizovalerijanske kiseline (sedativ i spazmolitik), cikloheksil-izovalerat (antimikrobna aktivnost protiv bakterija *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa* i kvasca *Candida albicans*) i benzil-izovalerat sa antimikrobnom aktivnošću protiv bakterija *E. coli* i *S. aureus* (Suerbaev et al., 2013). Takođe i estri jednostavnih aromatičnih kiselina su pokazali izuzetne biološke karakteristike. Zanimljiv primer su estri antranilne kiseline koji su u nedavnim istraživanjima pokazali širok dijapazon korisnih farmakoloških karakteristika. Metil- i izopropil-*N*-metilantranilati, izolovani iz etarskog ulja meksičke narandže (*Choisya ternata* Kunth), u brojnim biološkim testiranjima su se pokazali kao dobri analgetici, anksiolitici i antidepresivi (Pinheiro et al., 2014). Prethodna ispitivanja biološke aktivnosti metil-*N*-metilantranilata (Heindel et al., 1968) su pokazala i njihovu antibakterijsku i antifungalnu aktivnost. Pored toga, dokazana je i značajna biološka aktivnost estara fenilpropanoida, kao i terpenskih alkohola i kiselina, npr. analgetska aktivnost bornil-4-metoksibenzoata (Radulović et al., 2013a) i td.

U najvećem broju slučajeva, ukoliko je prisutna, estarska funkcionalna grupa čini osnovu farmakofore i nosilac je biološke aktivnosti, međutim, postoje i primeri jedinjenja u kojima je estarska grupa druga, pomoćna farmakofora. Kod takvih jedinjenja promene u strukturi etarskog delu uslovljavaju promene fizičkih i hemijskih osobina celog molekula, npr. omogućavajući brži

prolaz kroz ćelijsku membranu, bržu interakciju sa enzimima (Kim et al., 2010), i na taj način omogućavaju dejstvo glavne farmakofore.

2.2. Etarska ulja

2.2.1. Etarska ulja – dobivanje, analiza, značaj

Najpoznatiji i do sada najproučavaniji sekundarni metaboliti aromatičnih biljaka su oni metaboliti koji ulaze u sastav etarskih ulja. Razlog tome je, najčešće, njihovo lako dobivanje iz biljnog materijala kao i njihove organoleptičke i biološke karakteristike. Po definiciji, etarska ulja predstavljaju tečne ili polutečne kompleksne smeše isparljivih sekundarnih metabolita biljaka dobivenih procesom destilacije vodenom parom ili mehaničkim ceđenjem (Kovačević, 2004). Iako većina biljnih vrsta u većoj ili manjoj meri biosintetiše sastojke etarskih ulja, najpoznatije „aromatične” biljne vrste pripadaju familijama Apiaceae, Asteraceae, Cupressaceae, Hypericaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Pinaceae, Piperaceae, Rutaceae, Santalaceae, Zingiberaceae i Zygophyllaceae (Baser i Demirci, 2007). Najveća količina etarskih ulja je smeštena, u zavisnosti od biljne vrste/roda/familije, u konkretnom delu biljke (Kovačević, 2004), pa su neke biljne vrste karakteristične po velikom sadržaju ulja u cvetovima (*Matricaria chamomilla* (nemačka kamilica), *Syzygium aromaticum* (karanfilić)), listu (*Mentha spicata* (nana), *Melissa officinalis* (matičnjak), *Petroselinum crispum* (persun)), kori (*Cinnamomum verum* (cimet), *Santalum album* (sandalovina)), korenu/rizomu (*Zingiber officinale* (đumbir), *Iris* spp. (perunika)), plodu/semenu (*Pimpinella anisum* (anis), *Foeniculum vulgare* (morač), *Myristica fragans* (morski orašćić)). U većini slučajeva etarsko ulje iz različitih organa iste biljne jedinke je veoma slično po hemijskom sastavu (Kovačević, 2004), međutim, dešava se da se ova ulja značajno kvalitativno/kvantitativno razlikuju (npr. postoje značajne razlike u sastavu etarskog ulje plodova, listova i korena peršuna).

Nekada se smatralo da sastojci etarskih ulja nemaju značajnu fiziološku ulogu i da predstavljaju sporedne proizvode biljnog metabolizma, ali je u današnje vreme potvrđen značaj i uloga etarskih ulja. Neke od poznatih bioloških uloga sekundarnih metabolita iz ulja su: privlačno/odbojno deluju na insekte, zaštita od biljojeda, stvaranje povoljne mikroklimе itd. (Kovačević, 2004). Iako prvi zapisi o korišćenju i dobivanju etarskih ulja, pre svega iz biljnih vrsta roda *Cedrus* i biljnih vrsta *Cupressus sempervirens* i *Glycyrrhiza glabra* datiraju još oko 2600. godine pre nove ere (Gurib-Fakim, 2006), prva sistematska istraživanja sastojaka etarskih

ulja biljnih vrsta mogu se pripisati francuskim hemičarima Dimi (Dumas) i Bertoleu (Berthollet) (Başer i Buchbauer, 2009). Duma je izvršio prvu analizu ugljovodonika, oksigenovanih ugljovodonika i prirodnih proizvoda koji sadrže azot i/ili sumpor, dok je Bertole izmerio ugao optičke rotacije nekoliko prirodnih proizvoda i njihovih derivata (Başer i Buchbauer, 2009). Najvažnija istraživanja na kraju 19. i početku 20. veka, a koja se mogu smatrati istorijskom prekretnicom u analizi i identifikaciji prirodnih proizvoda, sproveo je Valah (Wallach). On je vršio izolovanje pojedinačnih sastojaka ulja i proučavao njihove osnovne fizičke i hemijske osobine (Başer i Buchbauer, 2009). Pored toga, utvrdio je da neki terpeni koji su do tada nosili različita imena, najčešće prema nazivu biljne vrste iz koje su izolovani, predstavljaju isto hemijsko jedinjenje. U to vreme ugljovodonici sa molekulskom formulom $C_{10}H_{16}$ su bili poznati pod imenom terpeni zbog njihovog prisustva u terpentinovom ulju, dok su svi do tada identifikovani metaboliti sa molekulskom formulom $C_{10}H_{16}O$ i $C_{10}H_{18}O$ bili poznati kao kamfori (Başer i Buchbauer, 2009). Valahova istraživanja su bila povod da se do 1891. godine izoluje i okarakterise veliki broj terpena – pineni, kamfen, limonen, felandreni, terpinolen itd. Nekoliko godina kasnije Valah je napisao prvu sveobuhvatnu knjigu o terpenima kao sekundarnim metabolitima biljaka i predložio njihovu biosintezu iz izoprenskih jedinica zbog čega je i dobio Nobelovu nagradu u znak priznanja za izvanredan uspeh u analizi prirodnih proizvoda (Başer i Buchbauer, 2009). Hipoteza o biosintezi terpena je detaljno razrešena i potvrđena tek 1953. godine od strane hemičara Ružičke (Lavoslav Ružička). Međutim, tek je razvoj novih analitičkih metoda za izolovanje i identifikaciju sekundarnih metabolita, kao i novih instrumenata, izazvalo ekspanziju u pronalaženju novih, potencijalno biološki aktivnih, sekundarnih metabolita (Başer i Buchbauer, 2009). Prvo je na osnovu prikupljenih empirijskih podataka, Vudvard (Woodward) predložio niz pravila koja se mogu primeniti za identifikaciju novih prirodnih proizvoda na osnovu korelacije između λ_{max} položaja u UV spektrima i strukture molekula (Woodward, 1941). Uvođenje hromatografskih metoda razdvajanja, gasne hromatografije sa masenom detekcijom (GC-MS) i nuklearno-magnetno-rezonantne (NMR) spektroskopije je omogućilo je identifikaciju najvećeg broja prirodnih proizvoda, uključujući i sastojke etarskih ulja (Radulović, 2012). Skoro eksponencijalni rast u identifikaciji sastojaka etarskih ulja i drugih sekundarnih metabolita je u suštini posledica značajnog napretka ovih analitičkih metoda od 1950-tih. Naročito u poslednjih nekoliko decenija, za popularizaciju i ekspanziju izolovanja i analize etarskih ulja bilo je od

važnosti i potvrđivanje značajnih bioloških/farmakološki primenljivih osobina sekundarnih metabolita koji ulaze u sastva ulja (Radulović, 2012).

Ustanovljeno je da su etarska ulja složene smeše od nekoliko desetina do nekoliko stotina alifatičnih i aromatičnih jedinjenja (Baser i Demirci, 2007). Etarska ulja najčešće sadrže monoterpenске i seskviterpenске ugljovodonike, oksigenovane mono- i seskviterpene (alkohole, aldehide, ketone, kiseline, estre), kao i fenilpropanoide (Baser i Demirci, 2007). U najvećem broju slučajeva etarska ulja sadrže i druge klase jedinjenja, koja su često nosioci organoleptičkih i bioloških osobina celog etarskog ulja, npr: lako isparljive zasićene i nezasićene ugljovodonike, alkohole, tiole, aldehide, ketone, masne kiseline i estre (Saad et al., 2013). Do sada su identifikovana i detaljno proučena četiri biosintetska puta nastajanja najčešćih sastojaka etarskih ulja biljaka (Başer i Buchbauer, 2009): mevalonatni i deoksiksiluloza-5-fosfatni put (sinteza terpenoida), biosintetski put aromatičnih jedinjenja preko šikiminske kiseline (fenilpropanski put) i acetatni biosintetski put (sinteza masnih kiselina i poliketida).

O značaju i popularnosti etarskih ulja kao izvoru jedinjenja širokog spektra ugljovodoničnih skeleta sa izuzetnim biološkim/farmakološkim potencijalom govori i broj dostupnih publikacija u literaturi. Naime, u vreme pisanja ove disertacije, na osnovu SCI Finder Scholar pretrage CAS baze podataka, pojam etarsko ulje je sadržavalo 114.571 publikacija u kojima su predstavljeni rezultati analize sastava etarskih ulja, sinteze (novih) sastojaka, ispitivanja njihove biosinteze, bioloških osobina, etnofarmakološke primene, kao i primene etarskih ulja ili njegovih određenih sastojaka u hemotaksonomske svrhe.

2.2.2. Biološki/farmakološki značaj etarskih ulja i njihovih sastojaka

Opšte je poznato da biljni sekundarni metaboliti poseduju veliku hemijsku raznovrsnost i biohemijsku specifičnost koja ih jasno razlikuje od sintetskih jedinjenja i čini da biljke predstavljaju i dalje najveći izvor biološki i farmakološki aktivnih jedinjenja (Radulović, 2012). Biološka aktivnost prirodnih proizvoda (antimikrobna, citotoksična, analgetska i dr.) je najčešće posledica njihove značajne uloge u zaštiti biljnih vrsta od napada mikroorganizama, herbivora, kao i interakcije (kompeticije) sa drugim biljnim vrstama, omogućavajući njihov opstanak u teškim prirodnim uslovima (Radulović, 2012). Činjenica da je između 1990. i 2000. godine stavljeno u promet preko 40 lekova koji predstavljaju izolovane prirodne proizvode ili hemijski transformisane prirodne proizvode (npr. azitromicin, orlistat, paklitaksel, sirolimus (rapamicin),

sinercid, takrolimus i topotekan) govori u prilog velike farmakološke važnosti prirodnih proizvoda (Radulović, 2012). Hemijske osobine koje uslovljavaju veću biološku aktivnost prirodnih proizvoda u odnosu na sintetske proizvode kombinatornih biblioteka je njihova hiralnost i veća (prostorna) složenost, broj vodoničnih veza, veća rigidnost skeleta molekula prirodnih proizvoda, kao i raznovrsnost policikličnih sistema (Newman et al., 2003; Radulović, 2012).

Kroz vekove, ljudi su koristili veliki broj biljnih vrsta kao izvor hrane, za proizvodnju odeće, skloništa, prevoznih sredstava, začina, i pre svega kao preparate za lečenje mnogih bolesti. Biljni metaboliti čine osnovu tradicionalne medicine koja egzistira hiljadama godina i koja i danas pruža čovečanstvu veliki spektar lekovitih proizvoda. Sa pojavom savremenih analitičkih metoda za identifikaciju i izolovanje sastojaka etarskih ulja, ovi biljni sekundarni metaboliti su postali stalna meta istraživača sa ciljem pronalaženja i razvoja novih biološki i farmakološki aktivnih jedinjenja. Iskorišćavanje farmakološkog potencijala etarskih ulja ili njegovih sastojaka zahteva pre svega potpunu identifikaciju svih sastojaka ulja kao i dobijanje dovoljnih količina, izolovanjem ili sintezom, za testiranje njihove biološke aktivnosti. Samo u našoj laboratoriji, u poslednjih desetak godina, izvršena je potpuna analiza sastava etarskih ulja preko sto biljnih vrsta, identifikovano je preko hiljadu sastojaka i izvršeno je biološko testiranje velikog broja etarskih ulja i čistih, izolovanih ili sintetisanih, sastojaka ulja (Radulović, 2012). Do sada su najveći biološki/farmakološki potencijal pokazale biljne vrste iz familija Apiaceae, Asteraceae, Lamiaceae, Rutaceae, i Brassicaceae.

Iako velika kompleksnost sastava etarskih ulja povećava mogućnost pozitivnih bioloških osobina usled sinergizma sastojaka, većina istraživača favorizuje izolovanje i testiranje biološke aktivnosti pojedinačnih sastojaka ulja (Saad et al., 2013). Glavni sastojci etarskih ulja su u većini slučajeva nosioci biološke aktivnosti ulja, međutim, postoje studije gde etarska ulja imaju veću biološku aktivnost nego kombinacija glavnih izolovanih sastojaka, što ukazuje da su sastojci prisutni u malom procentu kritični za aktivnost ulja, a ponekad i glavni nosioci aktivnosti (Baser i Demirci, 2007). Kao primer sinergizma i uticaja sastojaka prisutnih u malom procentu u uljima može se navesti poređenje antifungalne aktivnosti etarskih ulja i njihovih glavnih sastojaka. Potvrđeno je da je u većini slučajeva antifungalna aktivnost etarskog ulja značajno veća u odnosu na aktivnost pojedinačnih glavnih sastojaka (Saad et al., 2013).

Najverovatnije zbog povećanja rezistentnosti na postojeće antibiotike, kao i zbog jednostavnosti metoda za ispitivanje, najviše je izučavana antibakterijska aktivnost etarskih ulja (Baser i Demirci, 2007; Dorman i Deans, 2000; Hammer et al., 1999). Značajnu, i farmakološki primenljivu, antibakterijsku aktivnost su pokazala etarska ulja sa visokim sadržajem eugenola, timola, karvakrola i/ili drugih fenolnih jedinjenja (Baser i Demirci, 2007; Dorman i Deans, 2000). Potvrđeno je, upoređivanjem aktivnosti karvakrola i njegovog metil etra, kao i upoređivanjem aktivnosti timola i *p*-cimen, da osnovu farmakofore čini slobodna fenolna grupa, (Saad et al., 2013). Takođe, upoređivanjem aktivnosti timola i karvakrola, pokazano je da relativni položaj fenolne grupe, u odnosu na druge supstituente na benzenovom jezgru utiče na promenu sposobnosti inhibiranja rasta različitih Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija (Saad et al., 2013).

Značajnu antimikrobnu aktivnost, protiv većine poznatih sojeva bakterija, pokazali su i estri iz etarskih ulja (Baser i Demirci, 2007; Dorman i Deans, 2000). Prisustvo estarske grupe u geranil- i bornil-acetatu uslovljava veću aktivnost ovih jedinjenja u poređenju sa odgovarajućim alkoholima (Saad et al., 2013). Pored estarske i fenolne grupe kao farmakofora, prisustvo karbonilne grupe u hemijskoj strukturi (kod terpenskih aldehida i ketona), dvogube veze (na primeru različite (veće) aktivnosti limonena u odnosu na *p*-cimen) i razgranatost alkil niza u sastojcima etarskih ulja, pozitivno utiču na antibakterijsku aktivnost ovih sastojaka (Saad et al., 2013).

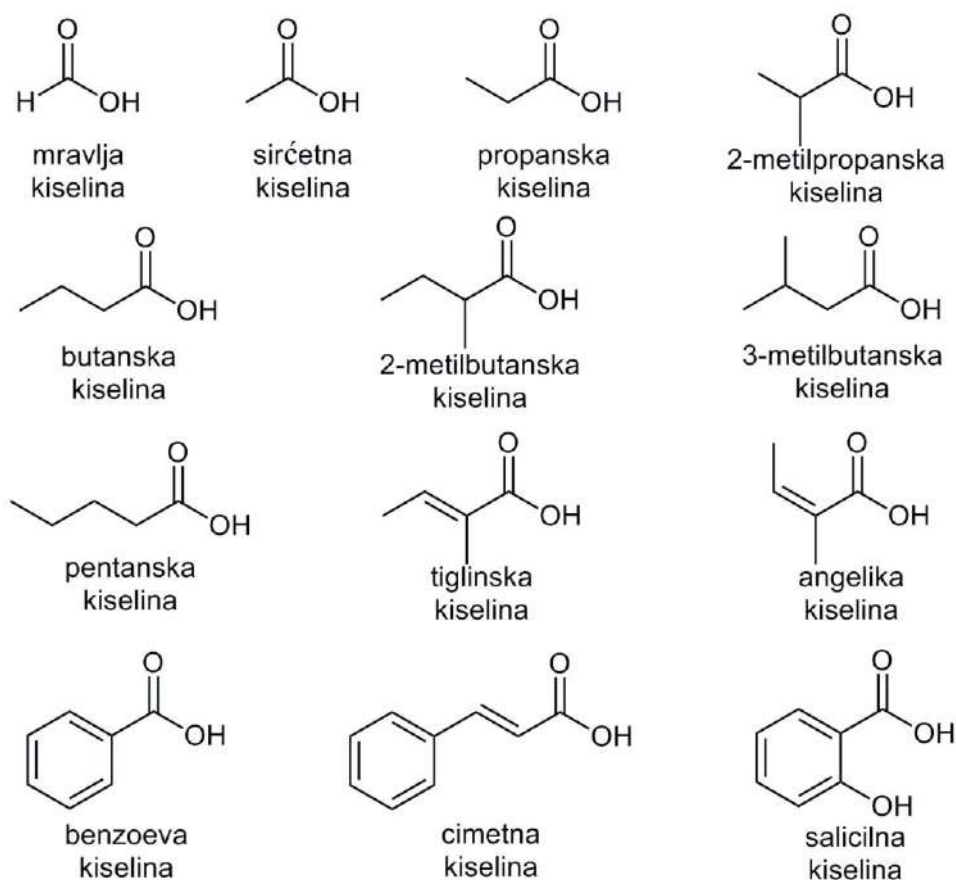
Kao i u slučaju antibakterijske, najveću antifungalnu aktivnost su pokazali fenilpropanoidi (eugenol, čavikol, 4-alil-2,6-dimetoksifenol), praćeni kiselinama, alkoholima, aldehydima, ketonima, estrima iz etarskih ulja (Baser i Demirci, 2007; Kalemba i Kunicka, 2003). Zanimljivo je da u slučaju fenilpropanoida postojanje voluminoznih supstituenata u blizini fenolne grupe (povećanje sterne zaklonjenosti –OH ili –OCH₃), kao i povećanje broja alkil supstituenata na benzenovom jezgru, povećava antifungalnu aktivnost datih derivata (Saad et al., 2013).

Pored antimikrobne (antibakterijske i antifungalne) aktivnosti, etarska ulja kao i pojedini izolovani/sintetisani sastojci ulja su do sada pokazali širok spektar bioloških aktivnosti (Baser i Demirci, 2007; Saad et al., 2013): najčešće analgetsku, antiinflamatornu, antitumorsku, antialergijsku aktivnost, itd. Takođe, postoje slučajevi gde etarska ulja, iako sama po sebi ne pokazuju nikakvu aktivnost, se koriste za sprečavanje neželjenih efekata upotrebe farmaceutskih

preparata ili za jačanje imunog sistema, a što značajno doprinosi boljem i bržem izlječenju (Carrasco et al., 2009; Ramage et al., 2012).

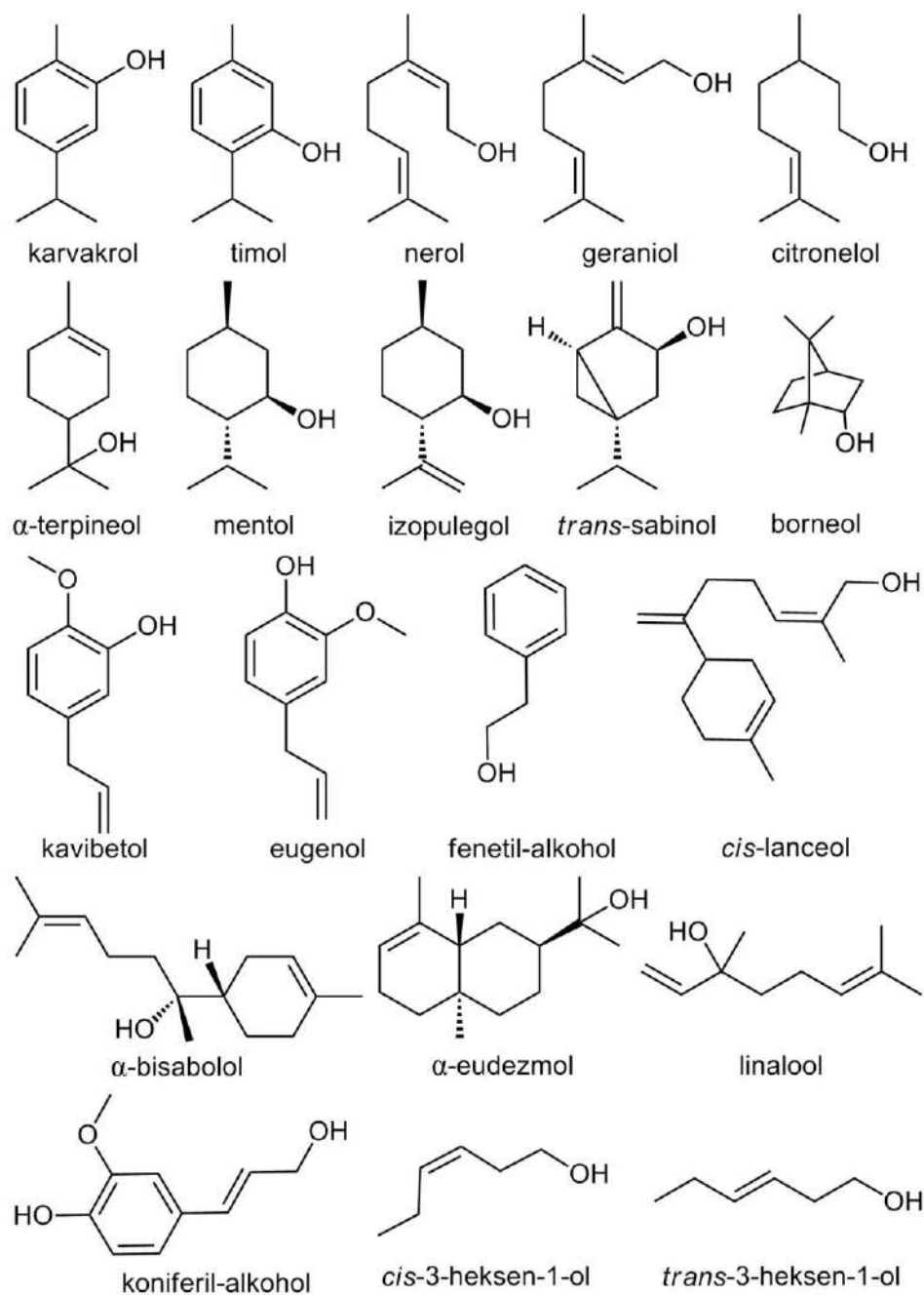
2.2.3. Etarska ulja kao izvor estara

Najveći broj do sada analiziranih etarskih ulja sadrži estre. Najčešće su to estri mravlje, sirćetne, propanske, 2-metilpropanske (izobutanske), butanske, 2-metilbutanske, 3-metilbutanske (izovalerijanske), pentanske (valerijanske), cimetne, benzoeve, salicilne, (*E*)-2-metil-2-butenske (tiglinske), (*Z*)-2-metil-2-butenske (angelika) kiseline, slika 2.2.1. Često su prisutni i estri viših masnih kiselina (C_n , $n > 10$). U sastav estara su pre svega terpeniski (monoterpeniski (karvakrol, timol, geraniol, nerol, citronelol, linalol, α -terpineol, mentol, izopulegol, *trans*-sabinol, borneol, mirtenol) i seskviterpeniski (α - i β -bisabolol, *cis*-lanceol, α -, β - i γ -eudezmol)), fenilpropanoidni (eugenol, kavibetol, koniferil-alkohol, fenetil-alkohol), „green leaf” (*cis*-3-heksen-1-ol, *trans*-3-heksen-1-ol), kao i dugolančani (C_n , $n > 10$) alkoholi i fenoli (slika 2.2.2).



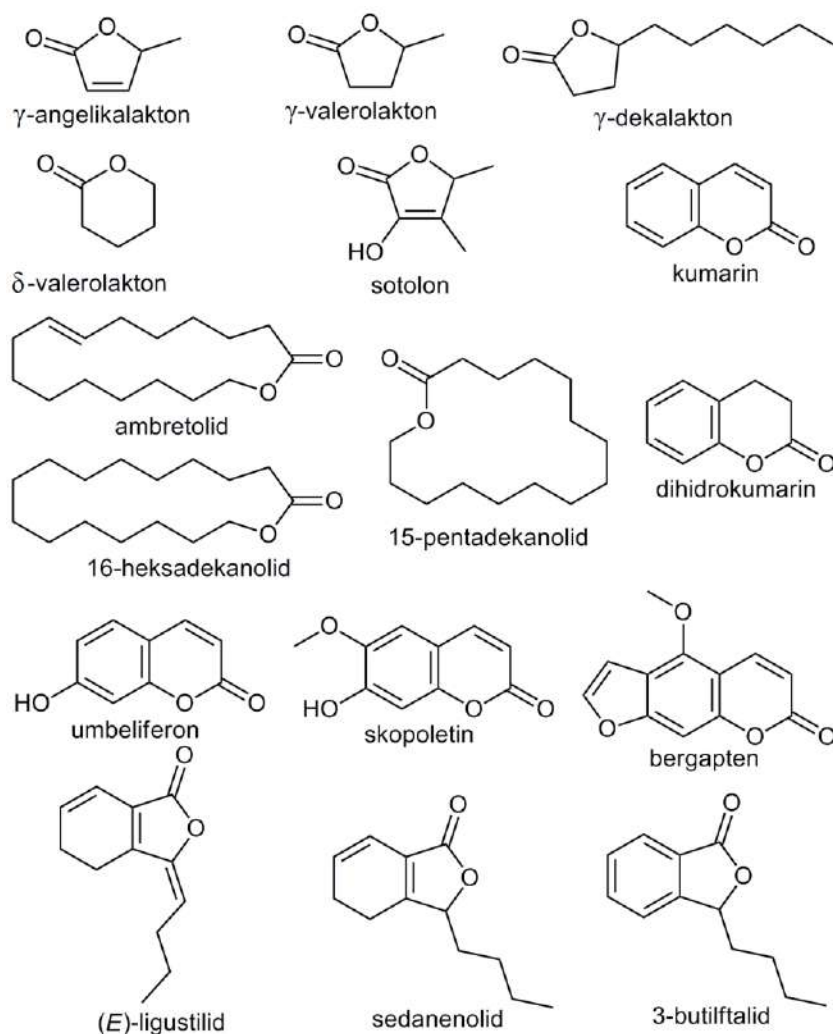
Slika 2.2.1. Kiseline koje najčešće ulaze u sastav estara iz etarskih ulja

Neretko su estri glavni sastojci ulja ili predstavljaju glavne nosioce biološke aktivnosti etarskog ulja (Blagojević et al., 2006; Simić et al., 2000). Kao primer estara koji su glavni sastojci etarskih ulja mogu se navesti izomeri sabinil-acetata (*Achillea serbica* (Simić et al., 2000)), fragranil-acetat (*Achillea umbelata* (Radulović et al., 2012a)), linalil-acetat (*Lavandula angustifolia* (Koto et al., 2006)), metil-salicilat (*Gaultheria* spp. (Baser i Demirci, 2007)) itd.



Slika 2.2.2. Alkoholi koji najčešće ulaze u sastav estara iz etarskih ulja

Laktoni (npr. ftalidi), cilični estri hidroksi-kiselina, su česti sastojci etarskih ulja mnogih biljnih vrsta (Baser i Demirci, 2007). Laktoni sadrže heterociklični kiseonik u susedstvu karbonila najčešće u petočlanom (γ -laktoni: npr. γ -angelikalakton, γ -valerolakton, γ -dekalakton, sotolon) ili šestočlanom (δ -laktoni: npr. δ -valerolakton) (ne)zasićenom prstenu (Baser i Demirci, 2007), slika 2.2.3. Kao sastojci etarskih ulja, npr. ulja korena biljnih vrsta *Abelmoschus moschatus* i *Angelica archangelica*, identifikovani su i makrociklični laktoni ambretolid, 15-pentadekanolid i 16-heksadekanolid (Baser i Demirci, 2007). Kumin i njegovi derivati (dihidroksumin, umbeliferon, skopoletin, bergapten) takođe predstavljaju prirodne laktone koji su često identifikovani kao sastojci etarskih ulja biljnih vrsta iz familija Rutaceae, Apiaceae, Lamiaceae i Asteraceae (Baser i Demirci, 2007).



Slika 2.2.3. Alifatični laktoni, kumarini i ftalidi identifikovani kao sastojci etarskih ulja

Ftalidi (sadrže supstituisano izobenzofuransko jezgro) predstavljaju 3-alkil/aril supstituisane laktone 2-(hidroksimetil)benzojeve kiseline (Baser i Demirci, 2007). Ftalidi (3-butilftalid, sedanenolid i (*E*)-ligustilid) su karakteristični za vrste porodice Apiaceae (Baser i Demirci, 2007) i zaslužni su za aromu i miris lišća, korena i semena celera (*Apium graveolens*) i angelike (*Angelica archangelica*).

2.3. Feroceni

2.3.1. Struktura, osobine i sinteza derivata ferocena

Dva tima istraživača su 1951. godine, u dva potpuno različita eksperimenta (Kealy i Pauson, 1951; Miller et al., 1952), sasvim slučajno dobili neočekivani proizvod – ferocen (narandžasti prah). Identifikacija i potvrda strukture ferocena (Wilkinson et al., 1952) je usloвила ekspanziju analize njegovih fizičkih i hemijskih osobina kao i njegovu derivatizaciju što je imalo ključnu ulogu u razvoju moderne organometalne hemije. Ono što ferocen čini jedinstvenim jeste neočekivano velika stabilnost za jedno organometalno jedinjenje što omogućava dobivanje velikog broja derivata ferocena, a da je pri tome očuvano osnovno jezgro metalocena. Postoje dva osnovna načina sinteze derivata ferocena. Prvi čine reakcije kojima se različiti supstituenti prvo uvode u ciklopentadien, a zatim uspostavlja jezgro ferocena polazeći od dobivenog supstituisanog ciklopentadiena i drugi, danas mnogo češći, direktna supstitucija lako dostupnog ferocena ili njegovih derivata. Lakoća derivatizacije i velika stabilnost je usloвила da derivati ferocena dobiju industrijski značaj, pre svega do jedinjenja koja se koriste kao netoksični antidetonatori (Emelyanov et al., 2001) i za sintezu nanocevi (Conroy et al., 2010).

2.3.2. Biološka aktivnost jedinjenja sa ferocenil grupom

Još od otkrića strukture, ferocen i njegovi derivati su privlačili veliku pažnju medicinskih hemičara. Skoro eksponencijalni godišnji rast broja sintetisanih serija ferocenil analoga prirodnih ili sintetskih biološki aktivnih jedinjenja je posledica pre svega njegovih hemijskih osobina koje mogu usloviti veću biološku aktivnost ferocenil derivata u odnosu na analogna jedinjenja sa fenil grupom. Ono što čini ferocen atraktivnim strukturnim fragmentom je: 1) ferocen je lipofilniji od benzena što mu olakšava prolaz kroz ćelijsku membranu i na taj način se može povećati biološka aktivnost u odnosu na fenil analoge, 2) derivati ferocena su veoma stabilni (u vodenim i u

nevodenim sredinama) i 3) najčešće nisu toksični (nesupstituisani ferocen je bio netoksičan za pse čak i u dozi od 1 g po kilogramu telesne mase (Yeary, 1969)). Sinteza potencijalno biološki aktivnih derivata ferocena se najčešće bazira na činjenici da supstitucija aromatičnog jezgra ili alifatičnog niza u molekulu, koji već poseduje biološku/farmakološku aktivnost, ferocenom može povećati aktivnost farmakofore i celog molekula uopšte. Međutim, nemoguće je sa sigurnošću predvideti uticaj ugrađivanja ferocenskog jezgra u molekul na njegovu biološku aktivnost. Ponekad supstitucija fenil jezgra ili alifatičnog dela molekula ferocenom može značajno smanjiti biološku aktivnost tih molekula. Na primer, u jednom od prvih pokušaja ispitivanja farmakološke aktivnosti derivata ferocena od strane Loeva i Floresa (Loev i Flores, 1961) nije se došlo do željenih rezultata (testirani ferocetil analozi amfetamina i fenitoina nisu pokazali biološku aktivnost). Na sreću, nije se odustalo od ove ideje što je rezultiralo istraživanjima u kojima je potvrđena *in vitro* i *in vivo* biološka aktivnost derivata ferocena uključujući i dejstvo protiv različitih sojeva gljivica, bakterija (Damljanović et al., 2009a), parazita izazivača malarije (Fouda, 2007), HIV-a (human immunodeficiency virus (Kondapi, 2006)), ćelijskih linija kancera (Staveren, 2004), itd.

Prva testiranja citotoksičnog potencijala derivata ferocena na transformisane ćelije, sedamdesetih godina prošlog veka (Fiorina, 1978), nisu pokazala značajnu aktivnost, međutim, uočena aktivnost je bila dovoljna da se demonstrira značaj uvođenja ferocetil grupe u molekul jer je povećana aktivnost u odnosu na jedinjenja koja ne sadrže ferocen. U poslednjih nekoliko decenija, mnoga sintetisana organometalna jedinjenja su pokazala aktivnost kao antikancer agensi, od kojih su neki već ušli u fazu kliničkih ispitivanja (Top, 2001). Najznačajniji primer je ferocenski analog poznatog citotoksičnog agensa (4-hidroksitamoksifen u kome je izvršena zamena fenil grupe ferocetil grupom) koji je u testiranju pokazao značajno veću aktivnost na ćelije tumora dojke u odnosu na 4-hidroksitamoksifen. Pored toga, do značajnih rezultata se došlo i testiranjem kombinatornih biblioteka derivata ferocena kreiranih modifikacijom poznatog antimalarika hlorohina (chloroquine). Ferrohin (ferroquine) je pokazao 35 puta veću aktivnost od primarnog hlorohina (Pradines, 2001) protiv rezistentne vrste parazita *Plasmodium falciparum* i nalazi se u drugoj fazi kliničkog ispitivanja (Henry, 2008). U nedavnim studijama je potvrđeno da je upravo ferocen kao deo farmakofore uslovio povećanje biološke aktivnosti u odnosu na hlorohin (Dubar et al., 2012; Dubar et al., 2013).

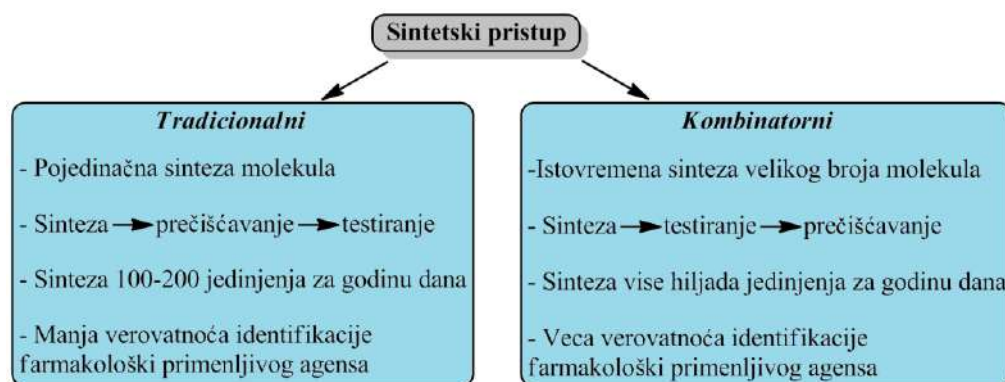
Takođe, sve je veći broj istraživanja, uslovljenih sve učestalijom pojavom rezistentnosti patogenih mikroorganizama na postojeće lekove, zasnovanih na sintezi ferocenskih analoga prirodnih proizvoda ili sintetskih derivata sa antimikrobnom aktivnošću u cilju pronalaženja novih, efikasnijih antimikrobnih agenasa (Ilić et al., 2010). Iako je veliki broj sintetisanih derivata ferocena pokazao značajnu antimikrobnu aktivnost, do sada nijedan od derivata nije prošao u neku od faza kliničkog ispitivanja. Međutim, uočena aktivnost, koja je često u rangu već primenjivanih antibiotika, pokazuje da je samo pitanje vremena kada će neki od derivata ferocena dobiti širi značaj u borbi protiv patogenih bakterija i gljiva.

2.4. Kombinatorne biblioteke

2.4.1. Kombinatorne biblioteke – princip kreiranja, podela i primena

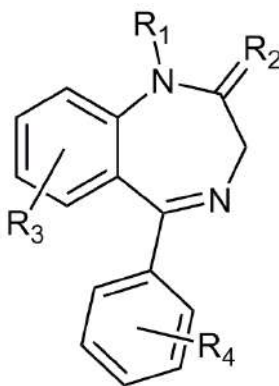
Još od prve sintetske transformacije prirodnog, biološki aktivnog jedinjenja (derivatizacija salicilne kiseline esterifikacijom slobodne hidroksilne grupe sirćetnom kiselinom (Sneader, 2000)) medicinski hemičari su uvideli značaj modifikacije delova strukture (kreiranja serija) i/ili sinteze analoga biološki aktivnih prirodnih proizvoda sa ciljem povećanja njihove biološke aktivnosti i/ili smanjenja toksičnosti. Ovakav hemijski pristup, kao i pojava novih i efikasnijih analitičkih metoda i instrumenata, uslovlili su, sredinom 80-tih godina prošlog veka, pojavu potpuno nove grane hemije – kombinatornu hemiju (Jung, 2008). Osnovna ideja kombinatorne hemije predstavlja brzu i ekonomičnu sintezu (slika 2.4.1) velikog broja različitih jedinjenja – kombinatornih biblioteka sa ciljem proučavanja njihovih fizičkih, hemijskih, bioloških i farmakoloških osobina. Treba pomenuti da su metode kombinatorne hemije našle primenu i u pronalaženju novih poluprovodnika, superprovodnika, katalizatora i polimera ali je njihova osnovna praktična primena, od njihovog nastajanja, pa do danas, u medicinskoj hemiji za pronalaženje novih farmaceutski primenljivih, biološki aktivnih jedinjenja (Jung, 2008). Iako se za prvu primenu kombinatorne hemije može smatrati Merifildova (Bruce Merrifield) sinteza peptida na čvrstoj fazi (Merrifield, 1963), značajan napredak u ovoj oblasti se uočava tek sredinom 80-tih i početkom 90-tih godina, pre svega sa pojavom kombinatornih metoda sinteze peptida na površini smola (Geysen et al., 1984), „tea bags” (Houghten, 1985) i „pool and split” metode (Furka et al., 1991). Sve do 1992. godine, fokus kombinatorne hemije je bio na sintezi

peptida i oligonukleotida (Thompson i Ellman, 1996), nažalost, bez značajnijih bioloških/farmakoloških rezultata.



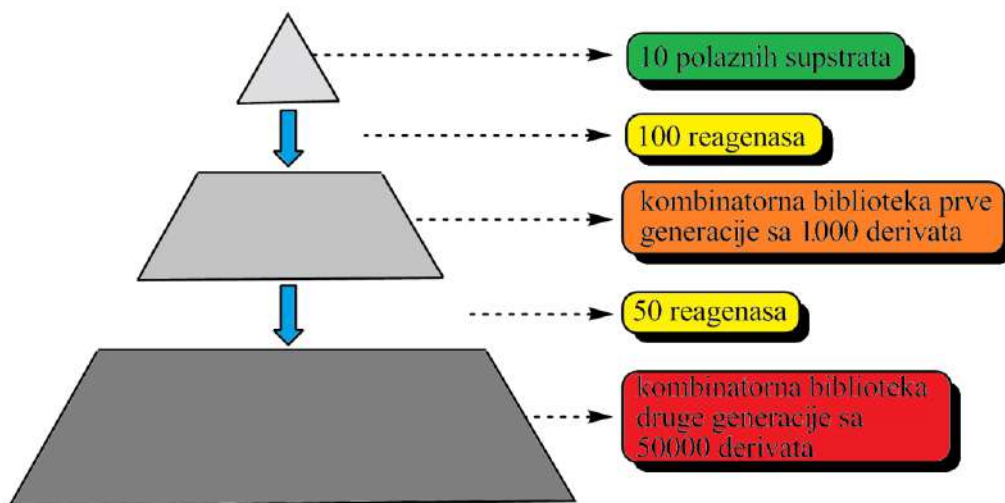
Slika 2.4.1. Uporedni prikaz tradicionalnog i kombinatornog sintetskog pristupa

Dobiveni rezultati su demonstrirali sve pozitivne karakteristike kombinatornog pristupa, u smislu što brže i ekonomičnije sinteze velikog broja derivata, međutim, sintetisana jedinjenja nisu pokazivala značajnu biološku aktivnost (Thompson i Ellman, 1996). Iz tog razloga pažnja je preusmerena na sintezu kombinatornih biblioteka drugih klasa jedinjenja. Prvi takav primer (Bunin i Ellman, 1992) je sinteza kombinatorne biblioteke derivata benzodiazepina (slika 2.4.2). Zbog zapaženih dobrih farmakokinetičkih osobina mnogih malih organskih molekula (molekulska masa < 600-700), kreiranje, sinteza i testiranje biološke aktivnosti biblioteka takvih jedinjenja je brzo postala glavna preokupacija medicinskih hemičara (Thompson i Ellman, 1996).



Slika 2.4.2. Skelet kombinatorne biblioteke benzodiazepina (R₁, R₂, R₃ i R₄ odabrana grupa supstituenata)

Osnovni „proizvodi” kombinatorne hemije predstavljaju kombinatorne biblioteke. Kombinatornu biblioteku čini skup jedinjenja sintetisanih korišćenjem istih hemijskih reakcija na međusobno različitim, ali funkcionalno srodnim supstratima. Broj jedinjenja u kombinatornim bibliotekama (najčešće od 10 do 10^5 jedinjenja) zavisi od raznolikosti raspoloživih supstrata, broja sintetskih koraka, kao i cilja njenog kreiranja. Na primer, kreiranjem biblioteke polazeći od 10 supstrata (takozvanih skeleta biblioteka) i njihovom reakcijom sa 100 različitih reagenasa dobija se biblioteka prve generacije sa 1.000 novih jedinjenja. Ukoliko se izvrši dalja transformacija proizvoda iz biblioteke prve generacije sa dodatnom zbirkom reagenasa (npr. 50) rezultat je biblioteka druge generacije sa 50.000 proizvoda (slika 2.4.3). Biblioteke bilo koje generacije najčešće sadrže serije čistih jedinjenja, međutim, mogu sadržati i smeše sintetskih, izolovanih prirodnih proizvoda ili kompjuterski generisane serije hemijskih jedinjenja.



Slika 2.4.3. Piramidalni prikaz kreiranja kombinatornih biblioteka

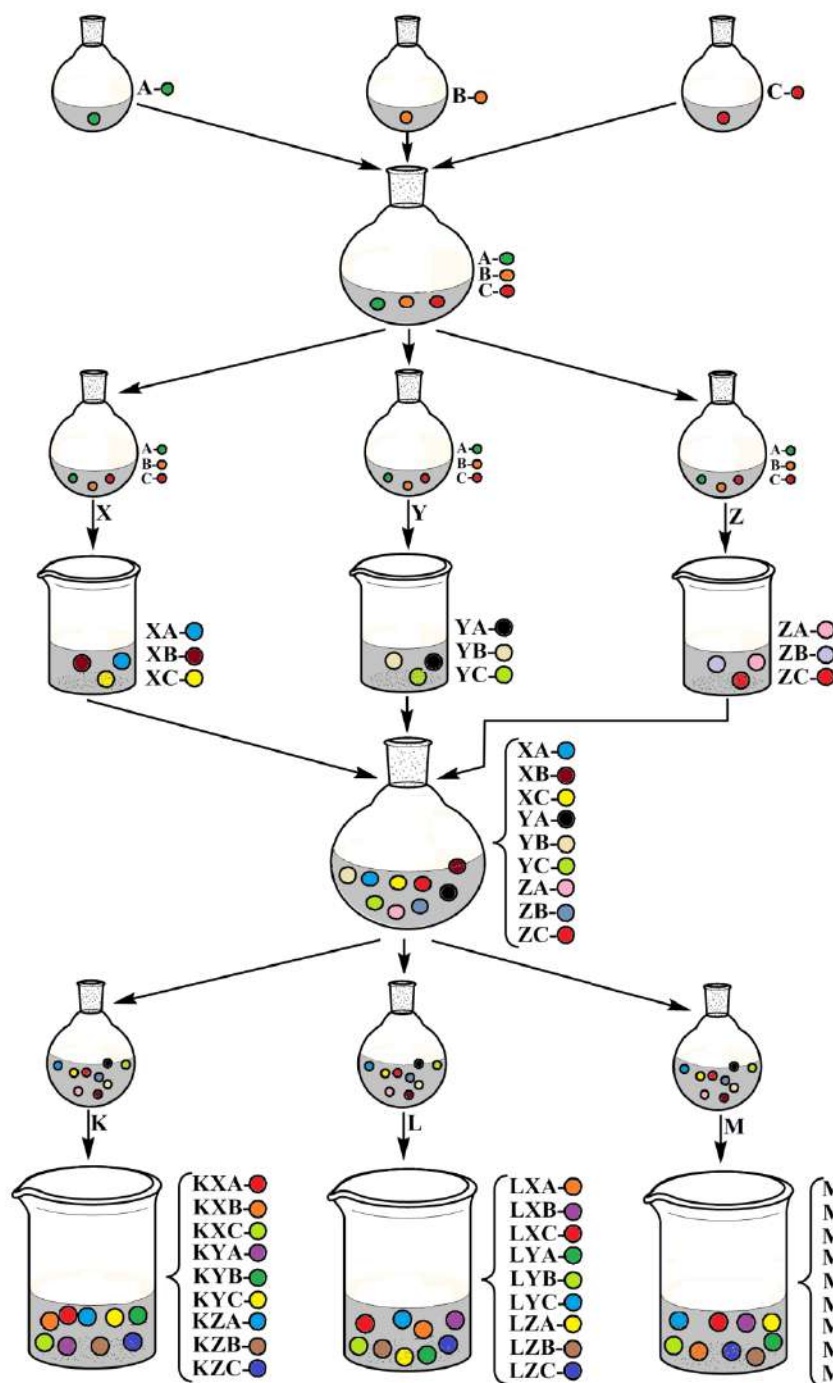
Kombinatorna hemija je relativno nova oblast, pa zbog toga istraživači nastavljaju da eksperimentišu sa različitim pristupima dizajniranja biblioteka. Dva osnovna tipa biblioteka su, na osnovu principa kreiranja, nasumične „screening” i ciljane „focus” biblioteke. Kod skrining biblioteka se sintezom nasumičnih serija traga za novim, biološki aktivnim jedinjenjima, provodnicima, polimerima, katalizatorima, itd. Najčešće se za kreiranje skrining biblioteke biraju jedinjenja sa novim skeletom (novel skeleton) ili ona koja nisu dovoljno hemijski i biološki ispitana. Drugi tip predstavljaju fokus biblioteke koje sadrže jedinjenja nastala modifikacijom strukture već poznatih katalizatora, provodnika ili biološki aktivnih jedinjenja kreiranih sa ciljem

poboljšanja fizičkih/hemijskih ili bioloških karakteristika polaznih molekula (Nilakantan et al., 2002).

Do sada je najveći broj biblioteka kreiran korišćenjem neke od metoda sinteze na čvrstoj fazi (Thompson i Ellman, 1996), pre svega „pool and split” i metode „paralelne sinteze”. Ovaj tip sinteze započinje vezivanjem polaznog jedinjenja za čvrstu fazu (najčešća čvrsta faza je neka nerastvorna smola). Osnovna prednost ove metode je jednostavnost i brzo prečišćavanje i izolovanje jedinjenja filtriranjem i ispiranjem viška reagensa, a zatim odvajanje (raskidanjem veze) proizvoda od čvrste faze. Takođe, moguće je dodavati veliki višak reagensa što često omogućava visoki prinos reakcija (Thompson i Ellman, 1996). Proces kreiranja biblioteka je još više ubrzan nedavnim otkrićem načina identifikacije proizvoda bez predhodnog razdvajanja od čvrste faze (Thompson i Ellman, 1996).

Na primer, ukoliko je cilj kreiranje kombinatorne biblioteka koja se sastoji od jedinjenja X-Y1, X-Y2, X-Y3, X-Y4, X-Y5, to se može izvesti dodavanjem reagenasa Y1-Y5 u rastvor koji sadrži čvrstu fazu za koju je predhodno vezan supstrat X, sa očekivanjem da će nastati svih pet proizvoda. Međutim, čest problem je to što kinetika reakcija između supstrata X i reaktanata Y1-Y5 nije ista, pa rezultujuće smeše nisu ekvimolarne već sadrže neke dominantne proizvode što onemogućava nastavak kreiranja biblioteka. Istraživači su ovaj problem rešili „pool and split” metodom (slika 2.4.4). Nakon vezivanja različitih polaznih supstrata za čvrstu fazu, dobivene heterogene smeše supstrata vezanih za čvrstu fazu se dele npr. na 50 grupa (najčešće u bunarićima reakcionih ploča ili u vijalama) i dodaje se niz reagenasa (Aneesh et al., 2010). Nakon završetka reakcije, dobivena smeša se ponovo deli na 50 novih grupa. Ukoliko je dobijena potpuno homogena smeša, onda svaka nova grupa sadrži podjednak broj perlica čvrste smole koji sadrže proizvode prve generacije (Aneesh et al., 2010). Nakon toga, dodaje se novi niz reagenasa i postupak se ponavlja sve dok se ne dobije željeni broj derivata (slika 2.4.4), a zatim se vrši ciljno biološko testiranje aktivnosti pojedinačnih bunarića. Ukoliko se pokaže da je određena grupa jedinjenja biološki aktivna vrši se takozvana dekonvolucija smeše gde je osnovni zadatak sinteza pojedinačnih derivata biološki aktivne smeše u cilju otkrivanja jedinjenja koje je nosilac te aktivnosti (Thompson i Ellman, 1996). Nedostatak ovog pristupa se zasniva na činjenici da zbog velikog broja sastojaka smeše (bunarići mogu da sadrže i desetine hiljada derivata) često dolazi do maskiranja biološki aktivnih proizvoda od strane neaktivnih sastojaka. Sa druge strane, može da se desi da smeša pokazuje značajnu aktivnost koja je posledica

sinergizma ili zbira aktivnosti molekula koji pojedinačno ne pokazuju dovoljnu biološku aktivnost da bi bili razmatrani kao potencijalni farmakološki agensi. Iz tog razloga je najefikasniji i najpouzdaniji način kreiranja manjih biblioteka (smanjuje se verovatnoća za lažne pozitivne ili negativne rezultate) od nekoliko desetina do nekoliko stotina jedinjenja.



Slika 2.4.4. „Pool and split” metoda kreiranja kombinatornih biblioteka

Druga najčešća metoda na čvrstoj fazi je metoda „paralelne sinteze” (Thompson i Ellman, 1996). Kod ove metode sva jedinjenja iz kombinatorne biblioteke se sintetišu pojedinačno u odvojenim posudama i, za razliku od „pool and split” metode, kao konačni proizvodi nastaju pojedinačni čisti supstrati. Ova metoda nije pogodna za stvaranje velikih biblioteka (zbog vremenske i finansijske neefikasnosti), ali je veoma korisna za kreiranje manjih i specijalizovanijih biblioteka pre svega za optimizaciju biološke aktivnosti potencijalnih farmakoloških agenasa (Thompson i Ellman, 1996). Proces paralelne sinteze je u poslednje vreme u potpunosti automatizovan korišćenjem aparata sintezatora (synthesizer; slika 2.4.5) koji omogućavaju potpuno automatizovano odvijanje reakcije i razdvajanje proizvoda.



Slika 2.4.5. Sintezatori za paralelnu sintezu biblioteka (preuzeto sa: (a)

<http://en.wikipedia.org/wiki/User:Chem4067sp13/sandbox>; b)

<http://hili.uga.edu/equipment.html>)

Sinteza na čvrstoj fazi je tradicionalno popularnija metoda kreiranja kombinatornih biblioteka, ali mnogi istraživači često koriste i pristup sinteze u tečnoj fazi (Thompson i Ellman, 1996). Osnovna prednost metode sinteze u tečnoj fazi je to što nije potrebno vezivanje početnog supstrata za čvrstu fazu kao i raskidanje veze sa čvrstom fazom nakon završetka reakcije, što značajno ubrzava proces sinteze (Thompson i Ellman, 1996). Stoga su „kratke” reakcione sekvence od jednog ili nekoliko koraka sa visokim prinosom i stehiometrijskim odnosom supstrata i reaktanata pogodne za metodologiju u tečnoj fazi, pošto nije potrebno prečišćavanje (Thompson i Ellman, 1996). Lako je uočljivo, na osnovu pomenutih kriterijuma, da je glavni nedostatak ove metode izolovanje proizvoda, koje često traje veoma dugo, kao i nemogućnost

automatizacije procesa izolovanja (Thompson i Ellman, 1996). Međutim, u poslednje vreme evidentan je značajan napredak u automatizaciji i razvijanju novih metoda tečno-tečne ekstrakcije što je omogućilo sve češće kreiranje velikih biblioteka metodom paralelne sinteze u tečnoj fazi. Važno je naglasiti da ova metoda ima najveći značaj u istraživačkim laboratorijama, gde predstavlja osnovni pristup sinteze malih kombinatornih biblioteka organskih molekula.

Na kraju, potrebno je reći da, iako obe metode imaju i svojih prednosti i nedostataka (slika 2.4.6), oba pristupa i dalje predstavljaju osnovu kombinatorne hemije, i medicinske hemije generalno, sa ciljem pronalaženja novih katalizatora, provodnika, polimera i pre svega za identifikaciju novih farmakoloških agenasa.



Slika 2.4.6. Upoređivanje metodologija metode na čvrstoj i tečnoj fazi

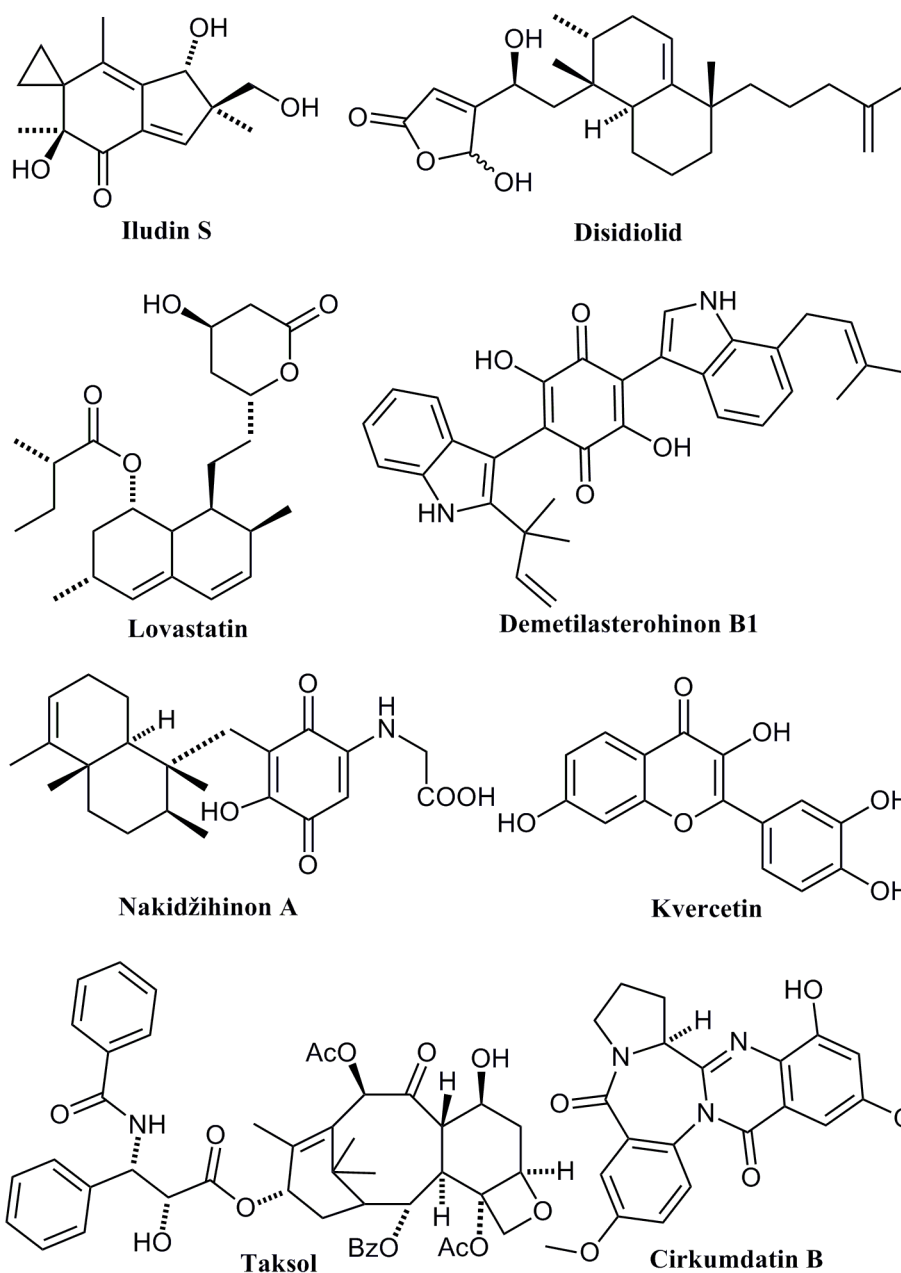
2.4.2. Biološki i farmakološki značaj kombinatornih biblioteka

Svakodnevno povećanje rezistentnosti mikroorganizama na postojeće lekove kao i sve učestalija pojava bolesti savremenog čoveka su uslovile da je osnovni cilj medicinskih hemičara i farmaceutskih kompanija što brža identifikacija i stavljanje u promet novih biološki aktivnih jedinjenja. Jedan od početnih koraka u razvoju terapijskih agenasa je identifikacija jedinjenja ili (dela) skeleta strukture jedinjenja koje može da interaguje sa „metom” (receptorom, enzimom, itd.). Nakon toga se vrši sinteza derivata/analoga tog početnog jedinjenja sa ciljem maksimalnog povećanja farmakološke aktivnosti i/ili smanjenja neželjene toksičnosti. Otkriće polaznog

potencijalno biološki aktivnog jedinjenja i optimizacija njegove aktivnosti zahteva sintezu velikog broja njegovih derivata/analoga. Zbog toga, tradicionalni sintetski pristup (sinteza i dobijanje u čistom stanju pojedinačnih derivata, što je veoma često vremenski zahtevno i ekonomski neisplativo) se ne može primeniti u farmaceutskoj industriji. Kombinatorna hemija je uvela revoluciju u proizvodnju i pronalaženje novih lekova omogućavajući brzu sintezu i testiranje velikog broja serija jedinjenja (Beavers i Chen, 2002). Takođe, kombinatorna hemija je promenila paradigme otkrivanja lekova, jer se automatizacijom i „minijaturnim” sintezama veoma brzo dolazilo do velikih biblioteka derivata/analoga/stereoizomera koji su veoma često pokazivali različite biološke/farmakološke karakteristike povećavajući verovatnoću pronalaženja novog farmaceutski primeljivog derivata. Danas većina farmaceutskih kompanija koristi metode kombinatorne hemije za kreiranje biblioteka kod kojih se najčešće polazi od biološki aktivnih prirodnih proizvoda, njihovih derivata i analoga sa nadom da će izvršene izmene delova strukture uticati da sintetisani derivati pokazuju veću biološku aktivnost u odnosu na polazna jedinjenja.

Do sada je najzastupljenija vrsta biblioteka bila ona koja sadrži serije izolovanih prirodnih proizvoda (peptida, šećera, steroida, derivata masnih kiselina, poliketida, terpena, flavonoida, alkaloida i ostalih primarnih i sekundarnih metabolita) ili ona kod koje se polazi od (biološki aktivnih) prirodnih proizvoda i vrši se kreiranje biblioteke njihovih derivata i/ili sintetskih analoga. Razlog tome je ekonomski isplativ pristup paleti teško dostupnih hiralnih supstrata sa već „ugrađenom” farmakoforom, kao i veliki broj rezultata koji svedoče o pozitivnoj biološkoj aktivnosti i farmakološkoj primenljivosti prirodnih proizvoda. Istorijski gledano, prirodni proizvodi i njihovi derivati predstavljaju najveći broj farmaceutskih preparata (npr. 60% citostatika, kao i 75% lekova za lečenje raznih infekcija čine prirodni proizvodi ili sintetski derivati prirodnih proizvoda (Newman et al., 2003)). Uporedo sa razvojem kombinatorne hemije, analiza prirodnih proizvoda je početkom 90-tih godina prošlog veka doživela renesansu (Rouhi, 2003a) uslovljavajući ekspanziju u kreiranju kombinatornih biblioteka derivata prirodnih proizvoda (Ganesan, 2001; Gordon et al., 1997; Ortholand i Ganesan, 2004; Rouhi, 2003b; Watson, 1999). Iako su izolovani prirodni proizvodi značajno doprineli razvoju farmaceutske industrije, kasnije je potvrđeno da veći farmakološki značaj imaju sintetski derivati dobiveni modifikacijom prirodnih proizvoda, jer je uočeno da pored korisnih bioloških karakteristika izolovani prirodni proizvodi često ispoljavaju i negativne farmakološke osobine. U takvim slučajevima se teži da se modifikacijom strukture smanji toksičnost prirodnog proizvoda i/ili

poveća pozitivna biološka aktivnost. Glavne strukturne izmene, koje uslovljavaju i različitu biološku aktivnost, između prirodnih proizvoda i modifikovanih prirodnih proizvoda najčešće potiču od supstitucije/adicije dela strukture što često podrazumeva povećanje broja hiralnih centara, promenu stepena zasićenosti molekula (uvođenje dvogubih veza ili prstenova), uvođenje heteroatoma ili heterociklusa, aromatičnih jezgara, itd.



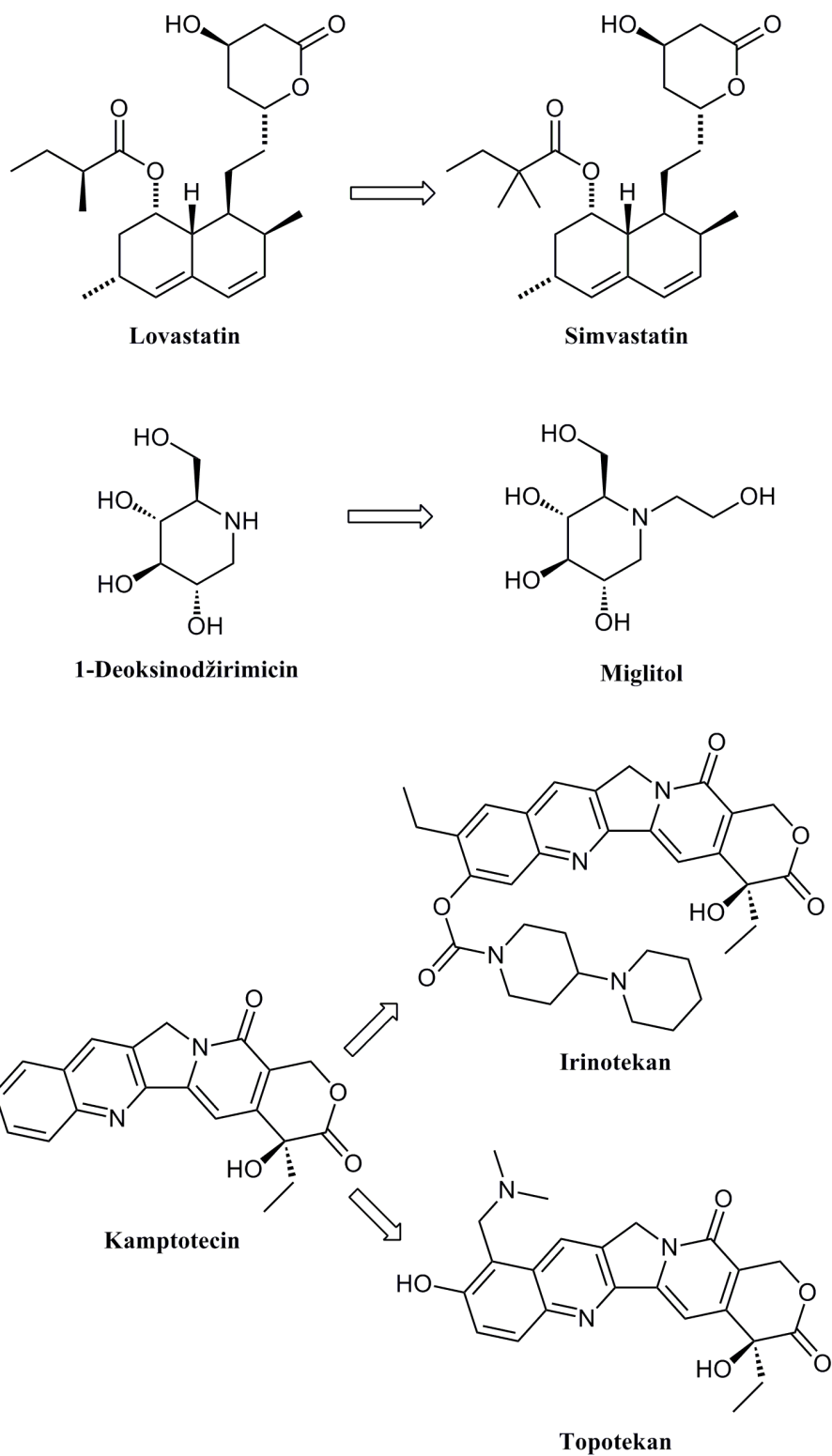
Slika 2.4.7. Prirodni proizvodi koji su poslužili kao osnovne strukture kombinatornih biblioteka
(Bz = benzil, Ac = acetil)

Najkorišćeniji i najlogičniji pristup za ovakve transformacije je kreiranje kombinatornih biblioteka derivata/analoga prirodnih proizvoda. Nekoliko grupa istraživača (Feher i Schmidt, 2003; Henkel et al., 1999; Lee i Schneider, 2001) je potvrdilo benefite ovakvog pristupa. Oni su izvršili detaljnu analizu razlika između prirodnih proizvoda, članova kombinatornih biblioteka i jedinjenja koja već imaju farmaceutsku primenu i uočili da najveći biološki potencijal imaju biblioteke sintetskih jedinjenja koji u osnovi skeleta imaju integrisane prirodne proizvode. Jedan od prvih kreatora biblioteka gde je prirodni proizvod u osnovi biblioteke je profesor Nikolau i njegov tim istraživača (Nicolaou i Pfefferkorn, 2001) koji su uspeli da izvrše „elegantnu” sintezu biblioteka polazeći od taksola (Xiao et al., 1997), sarkodiktina (sarcodictyins) (Nicolaou et al., 1999), epotiolona (epothiolones) (Nicolaou et al., 1997), vankomicina (vancomycin) (Nicolaou et al., 2001a), muskona (muscone) (Nicolaou et al., 1998) i psamaplina A (psammaphin A) (Nicolaou et al., 2001b). Rezultati do kojih su došli u poslednjih dvadesetak godina su motivisali istraživače i doprineli kreiranju velikog broja biblioteka polazeći od prirodnih proizvoda takozvanih semisintetskih derivata koji su dobili medicinsku primenu, pre svega u onkologiji i u borbi protiv mikroorganizama (slika 2.4.7).

Treba pomenuti nedavno odobrene farmaceutske proizvode (slika 2.4.8) nastale kao rezultat ovakvog kombinatornog pristupa: simvastatin, topotekan, irinotekan i miglitol. U skorije vreme je razvijeno još nekoliko značajnih pristupa kreiranja kombinatornih biblioteka transformisanih prirodnih proizvoda među kojima se izdvaja pristup kreiranja hibrida prirodnih proizvoda (Tietze et al., 2003) sa idejom kombinovanja dva ili više različitih prirodnih proizvoda. Nedavni primer Čena i saradnika (Chen et al., 2005) ilustruje primenu kombinovanja tri serije prirodnih proizvoda i njihovih derivata (slika 2.4.9) u kreiranju dve velike biblioteke hibrida (reakcijom 20 jedinjenja sa osnovnom strukturom A, 24 jedinjenja strukture B i 16 jedinjenja strukture C, dobijaju se dve serije hibrida sa ukupno 864 derivata). Abel i saradnici su objavili DYMONS (*diversity modified natural scaffolds*) metod kreiranja biblioteka gde se različiti supstituenti uvode u strukturu prirodnog proizvoda poznate biološke aktivnosti (Abel et al., 2002). Bajorah je uveo novu kombinatornu metodu kreiranja prirodnih/sintetskih hibridnih biblioteka poznatih kao „MetaFocus” (Metabolite Focused) biblioteke, kod kojih se vrši sinteza i analiza bioloških karakteristika članova biblioteka koji imaju sličnu strukturu kao i identifikovani prirodni proizvodi sa potvrđenom biološkom aktivnošću (Bajorath, 2002).

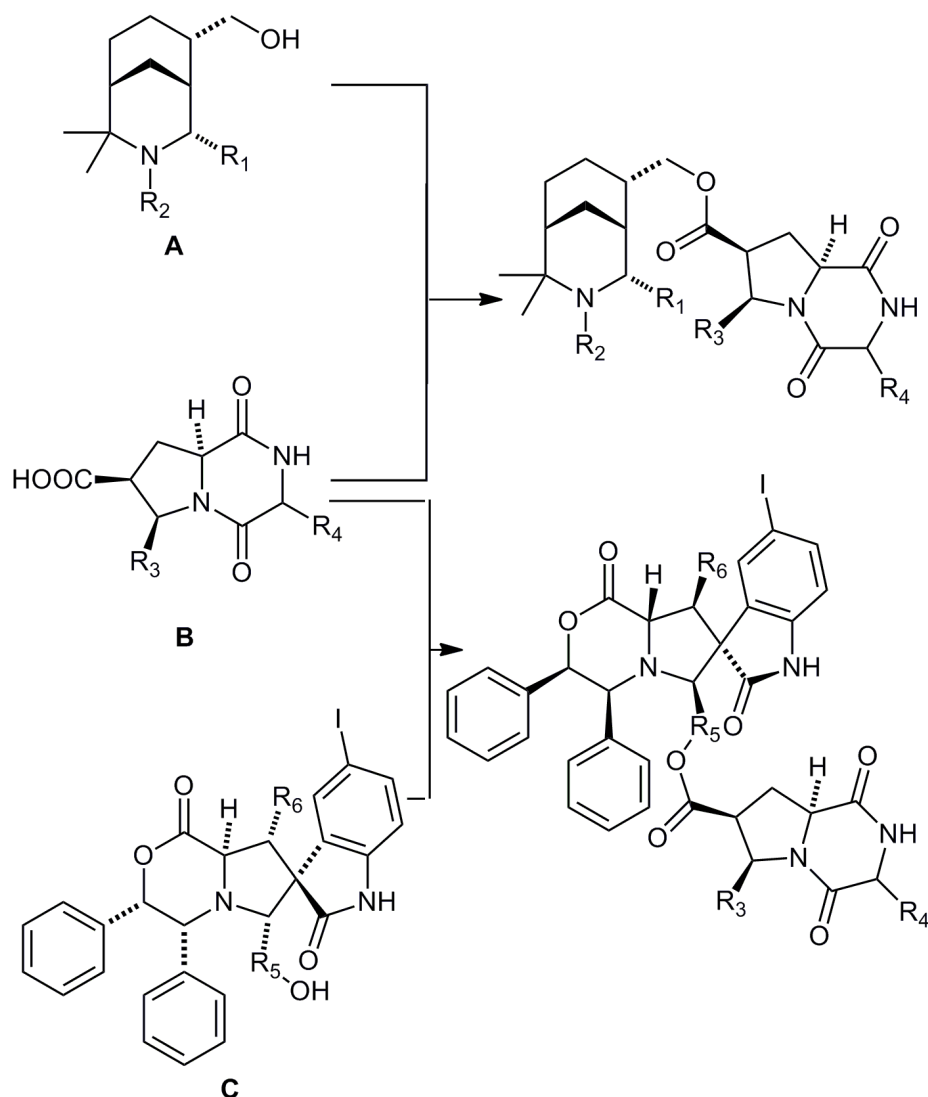
Prirodni proizvodi

Lekovi



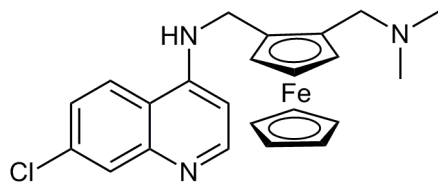
Slika 2.4.8. Lekovi dobiveni modifikacijom prirodnih proizvoda

Osim njihove korisnosti u otkriću lekova, biblioteke derivata na bazi prirodnih proizvoda služe i u hemogenomici za otkrivanje ekspresije gena kao i bolje razumevanje interakcije malih molekula i proteina koje regulišu ćelijske procese (Piggott i Karuso, 2004). Biblioteke malih prirodnih ili sintetskih molekula kao i malih molekula koji vrše modulaciju funkcije proteina su od krucijalnog značaja za razumevanje SAR-a (veze između strukture i biološke aktivnosti molekula „Structure Activity Relationships”) i pronalaženja novih lekova (Schreiber, 2005). Sve ovo ukazuje da uvođenje prirodnih proizvoda kao osnove za kreiranje kombinatornih biblioteka otvara veliki broj novih i uzbudljivih mogućnosti za buduća farmaceutska istraživanja sa obećavajućim rezultatima.



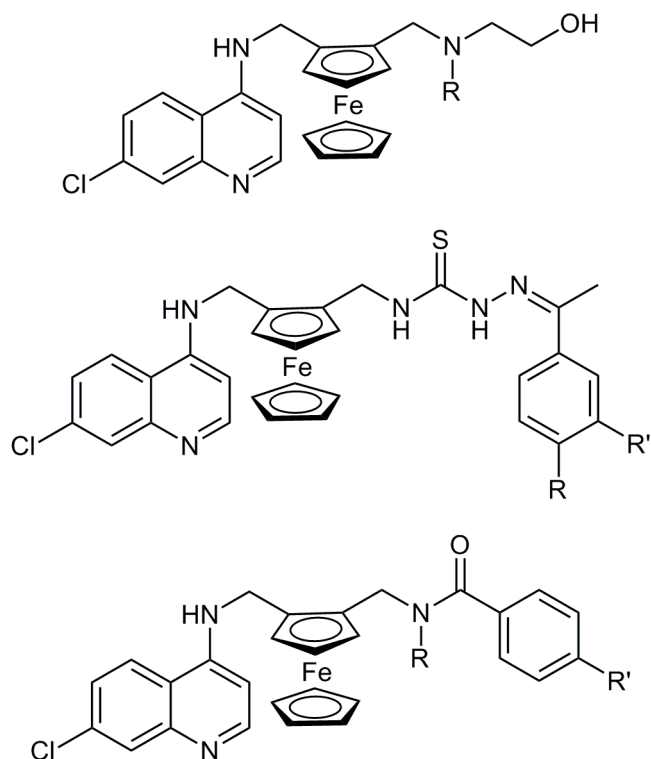
Slika 2.4.9. Šrajberova metoda kreiranja biblioteka hibrida prirodnih proizvoda

Pretraživanjem literature je uočeno da, za pronalaženje novih farmakoloških agenasa, veliki značaj imaju i tzv. *de novo* biblioteke konstruisane zamenom aromatičnog jezgra prirodnog ili sintetskog biološki aktivnog derivata ferocenskom grupom. Veliki broj istraživanja (Pejović et al., 2014 i reference citirane u ovom radu) je pokazao da uvođenje ferocenske grupe ili zamena aromatičnog jezgra ferocenskim može značajno poboljšati (poželjna) bioaktivna svojstva molekula. Najznačajniji primer (Gielen i Tiekink, 2005; Pradines et al., 2001) je sinteza kombinatornih biblioteka ferocenskih analoga hlorohina što je rezultovalo pomenutim otkrićem ferohina, najnaprednijeg organometalnog kandidata za farmaceutsku primenu u lečenju malarije (trenutno je pri kraju faze II kliničkog ispitivanja; slika 2.4.10). Ferohin je poslužio i kao polazni molekul za sintezu kombinatornih biblioteka ferocenil derivata drugog reda (Pradines et al., 2001) koji su takođe pokazali značajnu biološku aktivnost (slika 2.4.11).



Slika 2.4.10. Struktura ferohina (ferroquine)

Međutim, iako su metode kombinatorne hemije, skraćivanjem vremena i smanjivanjem troškova potrebnih za sintezu i biološka testiranja velikog broja jedinjenja, opravdale njen značaj u farmaciji, ova oblast hemije je i dalje na velikom udaru kritičara koji smatraju da ona predstavlja nedovoljno efikasno oruđe za otkrivanje novih lekova (Borman, 2004). Razlog tome je nepovoljan odnos broja sintetisanih jedinjenja i broja biološki aktivnih članova biblioteka koji dobiju farmakološki značaj. Naime, iako se skrining biblioteka sastoji od velikog broja (novih/„novel”) jedinjenja često se dešava da nijedan član biblioteka ne pokaže željene hemijske/biološke karakteristike. Takođe, i kod kreiranja fokus biblioteka, dolazilo se do negativnih rezultata, jer je promena delova strukture biološki aktivnog jedinjenja uticala na gubljenje farmakofore ili onemogućavanje interakcije farmakofore sa ciljnim molekulom. Veliki deo krivice za ovakav negativni stav prema ovoj grani medicinske hemije pripada i istraživačima koji se bave kreiranjem biblioteka i proučavanjem metoda kombinatorne hemije, jer su glavni fokus stavili na usavršavanje tehnika i metoda za brzu sintezu velikih kombinatornih biblioteka ne vodeći računa o njihovom kvalitetu i biološkom potencijalu članova biblioteka (Boldi, 2006).



Slika 2.4.11. Osnovne strukturne jedinice kombinatornih biblioteka drugog reda koje sadrže ferohinsko jezgro

Takođe, zbog vremenskog ograničenja odustajalo se od komplikovanijih sinteza biblioteka (sinteze iz većeg broja sintetskih koraka). Iz ovih razloga, većina farmaceutskih kompanija ima arhivu neiskorišćenih, nasumično kreiranih, a pritom skupocenih, velikih kombinatornih biblioteka bez ikakvog biološkog potencijala. U skorije vreme, ovi nedostaci “prve generacije” biblioteka su otklonjeni, pa je kombinatorni pristup i dalje najvažnije oruđe farmaceutskih kompanija koje godišnje ulažu velike količine novca za razvoj ove grane hemije (Boldi, 2006). Kombinacija kombinatorne hemije i kompjuterskog predviđanja osobina je značajno olakšala identifikaciju promena u strukturi farmakofora biološki aktivnih jedinjenja koje uslovljavaju bolju interakciju molekula sa ciljnim molekulom tj. povećanje njegove aktivnosti. Na ovaj način je povećana verovatnoća dobijanja pozitivnih rezultata i znatno je smanjen broj članova koje je potrebno sintetisati. Ovo se takođe postiže i korišćenjem algoritma za optimizaciju fizičkih/hemijskih/bioloških osobina članova biblioteke (Brown i Martin, 1997). Na kraju treba istaći u praksi ustaljeno tvrđenje Golebiowskog i njegovih saradnika (Golebiowski et al., 2001) koji smatraju da kombinatorna biblioteka u potpunosti opravdava svoje postojanje

ukoliko sadrži makar jedno jedinjenje sa dovoljnim potencijalom (izražena preko selektivnosti, farmakokinetike, fizičko-hemijskih osobina i odsustva toksičnosti) za napredak u programu razvoja lekova.

Poslednjih deset godina došlo je do ekspanzije u istraživanju i usvajanju kombinatornih tehnika (Aneesh et al., 2010). Svakodnevni porast potrebe za farmaceutskim preparatima kao i sve veća ograničenja troškova za istraživanja su usloveli porast interesovanja za metode koje nude veću produktivnost sa nižim troškovima (Aneesh et al., 2010). Verovanje da će kombinatorna hemija proizvesti efikasnu i ekonomičnu generaciju lekova izazvalo je ogromno ulaganje farmaceutskih kompanija u ovu oblast. Međutim, ostaje još mnogo da se radi u ovoj oblasti, pre svega na smanjenju odnosa broja sintetisanih jedinjenja i krajnjih derivata koji dobiju praktičnu primenu što je danas i u budućnosti osnovni zadatak istraživača kombinatorne hemije.

2.4.3. Primena u identifikaciji prirodnih proizvoda

Nažalost, u velikom broju radova o GC i GC-MS analizi sekundarnih metabolita dolazilo je do zanemarivanja mnogih detektovanih sastojaka, naročito onih prisutnih u tragovima, zbog činjenice da nisu postojali maseni spektri u literaturi koji odgovaraju masenom spektru identifikovanog sastojka. Ovi sastojci mogu biti glavni nosioci organoleptičkih osobina i/ili biološke/farmakološke aktivnosti analiziranog uzorka etarskog ulja, ekstrakta, itd. Analiza fragmentacija uočenih u masenim spektrima može dati ideju o identitetu detektovanog sastojka. Takođe, predviđanje vrednosti njihovih retencionih indeksa može dati dodatnu potvrdu o pretpostavljenoj strukturi. Ako je nemoguće na osnovu MS/RI podataka izvršiti identifikaciju, vrši se hromatografsko izolovanje pomenutih sastojaka ili, u slučaju složenih smeša i kada su ciljni sastojci prisutni samo u tragovima, neophodan je sintetski pristup sa ciljem dobijanja uzorka čistog jedinjenja sa pretpostavljenom strukturom. Sintetski pristup, iako je vremenski zahtevniji, ima nekoliko prednosti u odnosu na češće korišćeni izolaciono-identifikacioni pristup, jer se dobija željeno jedinjenje u količinama koje omogućavaju potpunu spektralnu karakterizaciju i analizu biološke/farmakološke aktivnosti u brojnim testovima (Vermeulen i Collin 2003; Vermeulen et al., 2003).

Ukoliko za pretpostavljenu strukturu nepoznatog sastojka postoji veći broj mogućih izomera, najlogičniji i najsveobuhvatniji pristup identifikaciji je kreiranje male biblioteke takvih jedinjenja (izomera). Prilikom dizajniranja biblioteke uzima se u obzir i biosintetski put za koji

se veruje da vodi nastanku cilnog sastojka i na taj način se značajno smanjuje broj jedinjenja koja treba sintetisati. Takve biblioteke ne sadrže samo ciljne molekule već i njihove izomere/derivate/analoge što daje mogućnost proučavanja fizičkih/hemijskih osobina u okviru grupe srodnih jedinjenja uključujući i odnos strukture i njihovih bioloških/farmakoloških karakteristika. Čak i u slučaju da se utvrdi da jedinjenja iz biblioteke nisu sastojci analizirane biljne vrste (organizma), čini se da će ona ubrzo biti identifikovana u nekom drugom organizmu, s obzirom na to da je posledica kreiranja biblioteke postojanje literaturno dostupnih podataka (biblioteke masenih spektara, retencionih indeksa itd.) koji će omogućiti njihovu jednostavnu identifikaciju bez ponovne sinteze/izolovanja (dereplikaciju).

U literaturi postoji veliki broj revijalnih radova (Chaiken i Janda, 1996; Gordon i Kerwin, 1998; Obrecht i Villalgorido, 1998; Terrett et al., 1995; Wilson i Czarnik, 1997) u kojima je sumirano kreiranje funkcionalno različitih kombinatornih biblioteka, sintetskih metoda, i tehnika korišćenih za ispitivanje biološke aktivnosti derivata iz biblioteka (Khan et al., 1999), što jasno pokazuje da je kombinatorna hemija veoma snažno oruđe za pronalaženje novih lekova i biomolekula sa specifičnom funkcijom. Međutim, pretragom literature je utvrđeno da je kombinatorni pristup samo u nekoliko slučajeva do sada iskorišćen za identifikaciju sekundarnih metabolita. Prvi takvi primeri su tek iz 1999. godine kada su Kan i Berger sa saradnicima (Berger et al., 1999; Khan et al., 1999) izvršili kreiranje kombinatorne biblioteke S-metil tioestara sa ciljem identifikacije nosioca organoleptičkih osobina (karakteristične arome) sireva. Pored identifikacije metabolita nastalih u procesu sazrevanja sireva, glavni cilj kreiranja biblioteke S-metil tioestara je bio da se razvije metodologija i da se proceni mogućnost primene kombinatornog pristupa u identifikaciji sekundarnih metabolita (Khan et al., 1999). Pozitivni rezultati ovih istraživanja, pre svega malo zastupljenih sastojaka, su bili povod da se nastavi korišćenje ove metode za identifikaciju i drugih prirodnih proizvoda. Nekoliko godina kasnije, Vermeulen i saradnici (Vermeulen et al., 2001) su još jednom pokazali da je kombinatorna hemija obećavajući pristup za karakterizaciju i identifikaciju novih polifunkcionalnih tiola. Zahvaljujući kreiranju biblioteka merkaptoketona i merkaptalkohola, uspeali su da identifikuju nosioce organoleptičkih osobina mnogih prehrambenih proizvoda koje, zbog njihovog prisustva u malim koncentracijama (ng/kg), nije bilo moguće sa sigurnošću identifikovati drugim metodama (Vermeulen et al., 2001). Narednih godina su Vermeulen i saradnici (Vermeulen et al., 2003; Vermeulen i Collin, 2002; Vermeulen i Collin, 2003) kreirali biblioteke

merkaptoaldehida, alkohola i estara na osnovu kojih su identifikovali isparljiva jedinjenja iz vina, marakuje, itd. Sintezom male kombinatorne biblioteke prirodnih proizvoda Radulović i saradnici (Radulović et al., 2013b) su nedavno izvršili identifikaciju novih dugolančanih 3-metil-2-alkanona iz etarskog ulja korena biljne vrste *Inula helenium* L. (Asteraceae) i još jednom potvrdili sve benefite korišćenja kombinatnog pristupa u identifikaciji sekundarnih metabolita (pored identifikacije novih prirodnih proizvoda, kreirana biblioteka je pružila i mogućnost ispitivanja odnosa strukture i biološke/farmakološke aktivnosti sintetisanih homologa).

3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1. Hemikalije i rastvarači

Neposredno pre korišćenja svi rastvarači (dietil-etar, dihlormetan, *n*-heksan, *n*-pentan, dimetil-sulfoksid, aceton, *N,N*-dimetilformamid, acetonitril) su predestilovani, dok su ostale hemikalije upotrebljene bez prethodnog prečišćavanja. Kiseline koje su korišćene za sintezu estara su bile: metanska (mravlja), etanska (sirćetna), propanska, izobutanska, butanska, 2-metilbutanska, 3-metilbutanska (izovalerijanska), pentanska (valerijanska), 3-metil-2-butenska (senecio), (*E*)-2-metil-2-butenska (tiglinska), (*Z*)-2-metil-2-butenska (angelika), heksanska, heptanska, oktanska, nonanska, dekanska, dodekanska (laurinska), tetradekanska (miristinska), heksadekanska (palmitinska), (*Z*)-9-oktadecenska (oleinska), oktadekanska (stearinska), benzoeva i 2-hidroksibenzoeva (salicilna) kiselina. Alkoholi/fenoli koji su korišćeni za sintezu estara su bili: 2-metoksi-4-alilfenol (eugenol), 2-hidroksifenol (katehol), 3-hidroksifenol (rezorcinol), 4-hidroksifenol (hidrohinon), 2-metoksifenol (gvajakol), *n*-alkoholi (tridekanol, tetradekanol, pentadekanol, heksadekanol, heptadekanol, oktadekanol, heneikozanol, trikozanol). Za sintezu derivata ferocena i regioizomera eugenola korišćeni su: kalijum-karbonat, metil-jodid, etil-jodid, alil-bromid, metalil-hlorid, prenil-bromid, heksil-bromid, benzil-hlorid, ferocen, fosforna kiselina, natrijum-hidroksid, metil-acetoacetat, *N,N*-dimetilaminometan, anhidrovani magnezijum-sulfat. Za Šteglihovu (*Steglich*) reakciju su pored pobrojanih kiselina i alkohola/fenola korišćeni i: *N,N'*-dicikloheksilkarbodiimid, 4-(dimetilamino)piridin. Za određivanje retencionih indeksa i koeficijenata osetljivosti (*response factor*) korišćeni su: smeše alkana od heptana do eikozana i od heneikozana do tetrakontana, sabinen, β -felandren, (*Z*)-3-heksen-1-ol, nonanon, kariofilen-oksid, dekanal i metil-heksadekanoat. Za biološka testiranja korišćeni su: tvín 80 (Tween 80), tetraciklin, nistatin, streptomycin, hloramfenikol, 2,3,5-trifeniltetrazolijum-hlorid, natrijum-dodecilsulfat (SDS), acetiltioholin-jodid (ATCI), 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoeva kiselina) (DTNB), acetilholin esteraza iz električne jegulje (AChE), bovin serum albumin iz seruma govečeta (BSA), 2-amino-2-hidroksimetilpropan-1,3-diol-hidrohlorid, fizostigmin, morfin, acetilholin-jodid, RPMI-1640 medijum. Navedeni materijal je bio komercijalan, a proizvode ga: Alfa Aesar (Haverhill, Masačusec, SAD), Acros Organics (Geel, Belgija), Carl Roth (Karlsruhe, Nemačka), Centrohem (Stara Pazova, Srbija), Fluka (St. Gallen, Švajcarska), Galenika (Beograd, Srbija), Hoffmann La Roche (Bazel, Švajcarska), J. T. Baker (Deventer, Holandija), Merck (Darmštat, Nemačka), Sigma–Aldrich (Sentluis, SAD),

Supelco (Bellefonte, SAD), Zdravlje (Leskovac, Srbija), Zorka (Šabac, Srbija). Kavibetol (5-alil-2-metoksifenol) je izolovan iz etarskog ulja biljne vrste *Piper betle* L. koje je dobijeno kao poklon od profesora dr Karl-Heinz Kubezke (Hamburg, Nemačka).

3.2. Biljni materijal i priprema uzoraka za analizu

3.2.1. Biljni materijal

Biljni materijal korišćen za analizu je sakupljen na teritoriji Srbije, Crne Gore i Sirije sa prirodnih staništa kao i iz botaničke bašte u Drezdenu (Nemačka). Botanička identifikacija je izvršena prema dihotomnim ključevima odgovarajućih flora. Herbarski primeri deponovani su u herbarijumu Prirodno-matematičkog fakulteta u Nišu, Laboratorija za organsku analizu i sintezu i herbarijumu biološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. U tabeli 3.2.1 su navedeni datumi i lokaliteti sa kojih je sakupljan biljni materijal, delovi biljaka koji su korišćeni za analizu i prinos etarskog ulja dobivenog hidrodestilacijom.

Tabela 3.2.1. Podaci o uzorcima ispitivanih biljnih vrsta

Takson	Lokalitet		Vreme sakupljanja	Biljni delovi	Prinos (w/w, %)
<i>Anthemis segetalis</i> Ten.	Bioče	Crna Gora	jun, 2008.	nadzemni delovi	0,13
<i>Scandix balansae</i> Reut. Ex Boiss.	Botanička bašta Drezden	Nemačka	jul, 2012.	plodovi	0,18
<i>Scandix pecten-veneris</i> L.	Gabrovačka reka	Srbija	maj, 2010.	nadzemni delovi	0,12
				koren	0,18
				plodovi	0,15
	Knez selo			nadzemni delovi	0,11
	koren			0,18	
	Palilula, Niš			nadzemni delovi	0,08
				koren	0,16
<i>Achillea falcata</i> L.	Ma'loula	Sirija	jul, 2010.	nadzemni delovi	0,05
			koren	0,004	
<i>Achillea ageratifolia</i> (Sm.)	Jelašnička	Srbija	jun, 2013.	nadzemni delovi	0,30
Boiss. subsp. <i>serbica</i>	klisura		jun, 2014.		0,30
(Nyman) Heimerl	Suva planina		jun, 2013.		0,31
			jun, 2014.		0,31

3.2.2. Izolovanje etarskih ulja

Etarska ulja su izolovana hidrodestilacijom u aparatu po Klevendžeru (*Clevenger*). Nakon usitnjavanja i odmeravanja, biljni materijal je hidrodestilovan tokom 2,5 h. Dobivena etarska ulja su ekstrahovana dietil-etrom, a zatim su ekstrakti sušeni preko anhidrovanog magnezijum-sulfata. Prinos ulja je određen odmah nakon odvajanja sredstva za sušenje filtriranjem, odnosno uparavanja dietil-etra na rotacionom vakuum uparivaču. Dobivena etarska ulja su, odmah nakon obrade, analizirana korišćenjem metoda GC i GC-MS.

3.3. Metode razdvajanja i analize

3.3.1. Gasna hromatografija – masena spektrometrija (GC-MS) i gasna hromatografija (GC)

3.3.1.1. Gasna hromatografija-masena spektrometrija (GC-MS)

Gasno-hromatografska analiza (GC-MS) etarskih ulja i sintetisanih jedinjenja je izvršena na gasnom hromatografu tipa HP 6890N, sa DB-5MS kapilarnom kolonom (5% fenilmetilsiloksan, dimenzije 30 m × 0,25 mm, debljina filma 0,25 µm, Agilent Technologies, SAD). Gasni hromatograf je bio direktno povezan sa masenim detektorom MSD 5975B iste kompanije. Uslovi analize: radna temperatura injektora 250 °C, odnosno detektora 320 °C; linearni temperaturni program zagrevanja kolone u opsegu od 70 ° do 315 °C, odnosno u opsegu od 150 ° do 315 °C u slučaju estara derivata ferocena **[12a – 12h]** sa brzinom povećanja temperature od 5 °C/min, nakon čega je postojao izotermalni period na 315 °C u trajanju od 10 minuta. Injektiran je rastvor uzorka u etru (1 µl rastvora koncentracije 1 mg u 1 ml dietil-etra), u pulsnom „split” modu (40:1), pri protoku od 1,5 ml/min helijuma za prvih 30 sekundi, a zatim je protok održavan na 1,0 ml/min do kraja analize. Jonizacija je vršena elektronima energije 70 eV, sa akvizicijom *m/z* vrednosti opsegu od 35 do 650 i brzinom skeniranja na 0,32 s po skenu. Procentualni sastav pojedinih sastojaka je određen na osnovu odnosa površina pikova, bez korišćenja korekcionih faktora. Obrada ukupnih jonskih hromatograma (TIC) je vršena u programu MestrelNova (ver.6.0.2-5475, Mestrelab Research, Španija).

3.3.1.2. Gasna hromatografija sa plameno-jonizacionim detektorom (GC-FID)

Gasno-hromatografska analiza sa plameno-jonizacionim detektorom (GC-FID) je izvršena korišćenjem Agilent 7890A GC sistema sa HP-5MS kapilarnom kolonom (5% fenilmetilsiloksan, dimenzije 30 m × 0,32 mm, debljina filma 0,25 µm, Agilent Technologies, SAD). Linearni temperaturni program zagrevanja kolone je bio u opsegu 150 ° – 300 °C, sa brzinom promene temperature od 5 °C/min, posle čega je temperatura održavana na 300 °C u trajanju od 5 min. Radna temperatura injektora je održavana na 250 °C. Uzorci, 1 µl rastvora, su injektirani u „splitless” modu. Parametri FID detektora: temperatura grejača 300 °C; H₂ protok, 30 ml/min; protok vazduha, 400 ml/min; frekvencija beleženja signala, 20Hz.

3.3.1.3. Identifikacija sastojaka

Obrada rezultata je vršena pomoću MSD ChemStation softvera (ver. D.03.00.611, Agilent Technologies, SAD) u kombinaciji sa AMDIS (ver. 2.68) i NIST MS Search programskim paketima (ver. 2.0d, Nacionalni institut za standarde i tehnologiju (NIST), SAD). AMDIS je korišćen za dekonvoluciju masenog skena, tj. ekstrakciju masenih spektara iz skenova preklapljenih pikova, dok je NIST MS Search obezbedio algoritam za pretragu biblioteka masenih spektara. Linearni retencioni indeksi svih sastojaka analiziranih uzoraka su određeni koinjekcijom uzorka sa homologom serijom *n*-alkana od C₇-C₃₈ (Den Dool i Kratz, 1963). Hemijski sastav uzoraka etarskih ulja je određen upoređivanjem linearnih retencioni indeksa sastojaka sa literaturnim vrednostima (Adams, 2007), kao i na osnovu poređenja masenih spektara jedinjenja sa spektrima jedinjenja iz biblioteka Wiley Registry of Mass Spectral Data 11th Edition, NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library 07, MassFinder 2.3, Adams (Adams, 2007) i biblioteke masenih spektara laboratorije za organsku analizu i sintezu, PMF-a u Nišu. Gde god je bilo moguće, vršena je i analiza uzorka sa koinjektiranim odgovarajućim standardom. Rezultati GC i GC-MS analiza etarskih ulja sumirani su u prilogima 8.1.1 i 8.2.1.

3.3.1.4. Kvantifikacija

GC-FID kvantifikacija sintetisanih estara, koji su sastavni deo etarskog ulja biljnih vrsta *Scandix pecten-veneris*, *S. balansae*, *Anthemis segetalis*, *Achillea ageratifolia* subsp. *serbica* i *Achillea falcata*, je izvršena kreiranjem kalibracionih krivih, odnos koncentracije estara i

površine pikova ($C = f(A)$), nekoliko različitih rastvora (3,2, 1,6, 0,8, 0,4, 0,2, 0,1, 0,05, 0,025, 0,0125, 0,00625 mg/ml) estara u hloroformu ili etil-acetatu.

3.3.2. Hromatografija na tankom sloju (TLC)

Analitička TLC je vršena na aluminijumskim pločama sa slojem silika-gela 60 F₂₅₄ (Merck, Nemačka). Kao eluent korišćene su različite smeše heksana i dietil-etra. Vizualizacija mrlja je vršena pomoću UV svetlosti (254 nm), odnosno 30%-tnim (v/v) rastvorom sumporne kiseline ili 10%-tnim etanolnim (w/w) rastvorom fosfomolibdenske kiseline, a zatim zagrevanjem.

3.3.3. Tečna hromatografija pri srednjim pritiscima (MPLC)

Preparativno razdvajanje pomoću MPLC-a (Medium Pressure Liquid Chromatography) je ostvareno pomoću Büchi instrumenta (tip C 610, Büchi Labortechnik, Švajcarska) sa radnom pumpom istog proizvođača (Module C-601, pump controler C-610) pri protoku od 2,5 ml/min na prethodno napakovanoj koloni silika-gela 60 (>230 mesh-a, proizvođač Büchi, Flawil, Švajcarska) pod gradijentnim uslovima smešom heksana i dietil-etra.

3.3.4. „Dry flash” hromatografija

Aparatura za „dry flash” hromatografiju, koja je bila korišćena za preparativno razdvajanje sastojaka etarskog ulja *A. ageratifolia* subsp. *serbica* kao i za prečišćavanje sintetisanih jedinjenja, sastojala se od kolone silika gela 60 (>230 mesh-a, proizvođač Merck, Darmštat, Nemačka), napakovane na sinterovanom staklenom levku srednje poroznosti i veličine, i standardne boce za vakuum filtraciju. Kao eluent je korišćena smeša heksana i dietil-etra pod gradijentnim ili izokratskim uslovima.

3.3.5. Infracrvena spektroskopija (IR)

FTIR spektri (FT = *Fourier*-ova transformacija, ATR-*attenuated total reflectance*) sintetisanih jedinjenja snimani su na spektrofotometrima Thermo Nicolet, model 6700 (Waltham, SAD) i Perkin-Elmer FTIR 31725-X.

3.3.6. Nuklearno-magnetna rezonantna (NMR) spektroskopija

Jednodimenzionalni i dvodimenzionalni NMR spektri su snimani na tri instrumenata: Varian Unity 200 NMR (200 MHz za ^1H , a 50 MHz za ^{13}C), Bruker Avance III 400 MHz (^1H na 400 MHz, ^{13}C na 101 MHz) i Bruker Avance II+ 600 (^1H na 600 MHz, ^{13}C na 150 MHz) NMR spektrometrima na 25 °C u deuterisanom hloforormu (CDCl_3) ili benzenu (C_6D_6) kao rastvaračima. Vrednosti hemijskih pomeranja su date u δ (ppm) jedinicama, a konstante sprežanja u Hz. Unutrašnji standard za ^1H NMR je bio tetrametilsilan (TMS) (δ 0,00) a za ^{13}C NMR deuterohloroform CDCl_3 (δ 77,16). 2D NMR spektri (^1H – ^1H COSY, NOESY, HSQC i HMBC) kao i višepulsni spektri (DEPT90 i DEPT135) su snimani uz primenu uobičajenih pulsnih sekvenci. Spektri su obrađivani u programu MestreNova (ver.6.0.2-5475, Mestrelab Research, Španija).

3.3.7. Rendgenska strukturna analiza

Rendgenska strukturna analiza je izvedena na Oxford Diffraction Xcalibur Sapphire3 Gemini difraktometru koristeći Cu K α zračenje ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) na sobnoj temperaturi. Podaci su obrađeni u CrysAlis softveru korišćenjem SCALE3 ABSPACK (Oxford Diffraction, 2008). Analiza kristalne strukture je izvršena korišćenjem programa SHELXS i SHELXL (Sheldrick, 2008). Svi H atomi su postavljeni na geometrijski definisane položaje sa konstantnim C-H rastojanjima od 0,93 Å kada je H atom vezan za sp^2 hibridizovan ugljenik, 0,96 Å kada je vezan za sp^3 hibridizovan ugljenik i 0,97 Å kada je H atom vezan za sp^3 hibridizovan ugljenik koji je vezan za sp^2 hibridizovan ugljenik. CIF-datoteka je deponovana u bazi kristalografskih podataka u Kembridžu (*Cambridge Crystallographic Data Centre*) pod rednim brojem CCDC No. 909288 i besplatno je dostupna na sajtu www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif.

3.3.8. Ciklična voltametrija

Eksperimenti ciklične voltametrije su izvedeni na sobnoj temperaturi u standardnoj ćeliji sa tri elektrode Autolab potencijostata (PGSTAT302 N). Radna elektroda je disk platine prečnika 2 mm (Metrohm). Pomoćna elektroda je bila žica od platine, dok je Ag/AgCl elektroda korišćena kao referentna elektroda. Pre svakog eksperimenta, radna elektroda je polirana korišćenjem Metrohm 6.2802.000 (aluminijum-oksidi na tkanini), a zatim ispirana destilovanom vodom.

3.3.9. Ultraljubičasta (UV) spektroskopija

Ultraljubičasti spektri su snimani na aparatu UV-1650 PC Shimadzu koristeći acetonitril kao rastvarač.

3.3.10. Elementalna mikroanaliza

Elementalna mikroanaliza je izvršena na Carlo Erba 1106 mikroanalizatoru i dobivene vrednosti za analizirane estre su se dobro slagale sa izračunatim vrednostima.

3.4. Izolovanje i sinteza jedinjenja

3.4.1. Sinteza biblioteke estara *trans*-sabinola

3.4.1.1. Izolovanje (1*R,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata**

Etarsko ulje biljne vrste *A. ageratifolia* subsp. *serbica* je hromatografisano smešom *n*-heksana i dietil-etera pod srednjim pritiscima. Dobiveno je 5 frakcija od kojih je treća frakcija (*n*-heksan/dietil-etar, 97:3 (v/v)) sadržala, na osnovu GC-MS analize, čist (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetat (1,02 g; prinos 34%).

3.4.1.2. Hidroliza (1*R,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata**

Rastvor natrijum-metoksida je pripremljen rastvaranjem 140 mg natrijuma (6,09 mmol) u anhidrovanom metanolu (10 ml), a zatim je dodato 1,02 g (5,26 mmol) (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata. Reakciona smeša je dovedena do refluksa, pa je dodat višak smeše leda i vode, nakon čega je smeša zakišeljena hlorovodoničnom kiselinom (HCl:H₂O, 1:1, v/v). Nakon toga reakciona smeša je ekstrahovana dietil-etrom (3 × 50 ml), a organski slojevi su spojeni, osušeni preko anhidrovanog magnezijum-sulfata, a rastvarač uparen na rotacionom vakuum-uparivaču. Dobiveno je 792 mg (5,21 mmol) *trans*-sabinola. Prinos reakcije je bio 99,1%.

3.4.1.3. Sinteza estara *trans*-sabinola

Estri *trans*-sabinola sa mravljom, propanskom, izobutanskom, butanskom, 2-metilbutanskom, 3-metilbutanskom, nonanskom, dekanskom, tiglinskom, senecio, angelika i benzoevom kiselinom su pripremljeni na osnovu opšte procedure Štegljihove sinteze estara korišćenjem *N,N'*-dicikloheksilkarbodiimida (DCC) i 4-(dimetilamino)piridina (DMAP). Rastvor

trans-sabinola (60 mg, 0,39 mmol), odgovarajuće pomenute kiseline (0,42 mmol), DMAP-a (15 mg, 0,12 mmol) i DCC-a (90 mg, 0,45 mmol) u 30 ml suvog dihlormetana je mešan preko noći na sobnoj temperaturi uz zaštitu od vlage iz atmosfere korišćenjem kalcijum-hloridne cevčice. Nakon toga, istaložena *N,N'*-dicikloheksilurea je profiltrirana, a filtrat je ukoncentrovan na rotacionom vakuum uparivaču. Dodatna količina uree je izdvojena na isti način nakon dodavanja *n*-pentana i hlađenja na 0 °C. Dobiveni pentanski ekstrakt, nakon uparavanja rastvarača, je prečišćen hromatografijom pri srednjem pritisku na silika gelu koristeći *n*-heksan/dietil-etar kao eluent (*n*-heksan/dietil-etar, 97:3 (v/v)). Čistoća estarskih frakcija je proveravana pomoću TLC i GC-MS analiza. Pored *trans*-sabinola **[1]**, i sintetisani estri ((1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijat **[1a]**, (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetat **[1b]**, (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglat **[1h]**, (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioat **[1i]**, (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-nonanoat **[1k]**, (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-dekanoat **[1l]**, (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-benzoat **[1m]**) su potpuno spektralno okarakterisani (GC-MS, IR, UV-Vis, 1D- i 2D-NMR) dok su preostali estri okarakterisani samo GC-MS analizom (maseni spektri i retencioni indeksi).

Spektralni podaci i prinosi *trans*-sabinola i sabinil estara:

(1*R,3*S**,5*R**)-4-Metilen-1-(1-metiletil)biciklo[3.1.0]heksan-3-ol** (*trans*-sabinol) **[1]**: bezbojna tečnost; RI 1142, DB-5MS; FTIR (ATR) cm⁻¹: 3361, 2956, 2929, 2871, 1656, 1464, 1364, 1313, 1200, 1090, 1068, 1049, 1013, 958, 881, 832, 785; EIMS *m/z*(rel. int.): 152(0,2) [M⁺], 134(19), 120(3), 119(23), 117(5), 110(4), 109(24), 108(3), 107(6), 105(10), 95(21), 93(14), 92(100), 91(99), 83(12), 82(5), 81(52), 80(5), 79(38), 78(5), 77(19), 70(11), 69(9), 67(13), 66(4), 65(11), 63(4), 55(20), 53(16), 51(7), 43(13), 41(23), 39(17); izračunato za C₁₀H₁₆O: C 78,90, H 10,59, O 10,51%; nađeno C 78,85, H 10,62, O 10,53%; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5,01 (singlet, 1H, CH_a-10), 4,95 (singlet, 1H, H_b-10), 4,45 (široki dublet, *J* = 7,4 Hz, 1H, CH-3), 2,07 (dublet dubleta dubleta, *J* = 13,9, 7,4, 2,1 Hz, 1H, CH_a-2), 1,73 (dublet, *J* = 13,9 Hz, 1H, CH_b-2), 1,66 (dublet dubleta, *J* = 8,7, 3,4 Hz, 1H, CH-5), 1,63 (široki singlet, 1H, OH), 1,45 (septuplet, *J* = 6,8 Hz, 1H, CH-7), 1,06 (dublet dubleta, *J* = 4,3, 3,4, 1H, CH_b-6), 0,93 (dublet, *J* = 6,8 Hz, 3H, CH-9), 0,88 (dublet, *J* = 6,8 Hz, 3H, CH-8), 0,82 (dublet dubleta dubleta, *J* = 8,7, 4,3, 2,1 Hz, 1H, H_a-6); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 157,3 (C-4), 105,8 (C-10), 75,2 (C-3), 37,7 (C-1), 37,3 (C-2), 32,6 (C-7), 29,0 (C-5), 20,1 (C-6), 19,8 (C-9), 19,6 (C-8).

((1*R,3*S**,5*R**)-4-Metilen-1-(1-metiletil)biciklo[3.1.0]heksan-3-il-formijat** ((1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijat) **[1a]**: bezbojna tečnost; prinos: 78%; RI 1227, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2912, 2852, 1743, 1652, 1601, 1523, 1460, 1376, 1236, 1159, 1118, 1054, 1019, 950, 893, 830, 721; EIMS m/z (rel. int.): 134(3), 119(8), 117(2), 108(5), 105(4), 93(6), 92(48), 91(100), 79(8), 78(3), 77(7), 69(5), 65(4), 53(4), 43(7), 41(9), 39(5); izračunato za $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_2$: C 73,30, H 8,95, O 17,75%; nađeno C 73,35, H 8,94, O 17,71%; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,00 (dublet, $J = 0,8$ Hz, 1H, CH-11), 5,59 (dublet dubleta, $J = 7,8, 0,8$ Hz, 1H, CH-3), 5,14 (singlet, 1H, CH_a -10), 5,09 (singlet, 1H, CH_b -10), 2,22 (dublet dubleta dubleta, $J = 14,6, 7,8, 2,0$ Hz, 1H, CH_a -2), 1,80 (dublet, $J = 14,6$ Hz, 1H, CH_b -2), 1,71 (dublet dubleta, $J = 8,7, 3,4$ Hz, 1H, CH-5), 1,48 (septuplet, $J = 6,8$ Hz, 1H, CH-7), 0,95 (dublet dubleta, $J = 4,7, 3,4$ Hz, 1H, CH_b -6), 0,94 (dublet, $J = 6,8$ Hz, 3H, CH-9), 0,88 (dublet, $J = 6,8$ Hz, 3H, CH-8), 0,82 (dublet dubleta dubleta, $J = 8,7, 4,7, 2,0$ Hz, 1H, CH_a -6); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 160,5 (C-11), 151,8 (C-4), 110,4 (C-10), 75,9 (C-3), 37,2 (C-1), 35,8 (C-2), 32,3 (C-7), 29,3 (C-5), 19,7 (C-9), 19,6 (C-8), 18,6 (C-6).

((1*R,3*S**,5*R**)-4-Metilen-1-(1-metiletil)biciklo[3.1.0]heksan-3-il-acetat** ((1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetat) **[1b]**: bezbojna tečnost; RI 1291, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2958, 2873, 1735, 1653, 1605, 1523, 1450, 1368, 1233, 1188, 1115, 1054, 1018, 966, 889, 826, 746; EIMS m/z (rel. int.): 134(5), 119(11), 117(3), 109(3), 108(10), 105(5), 93(6), 92(46), 91(100), 82(5), 79(7), 78(3), 77(8), 65(5), 53(4), 43(23), 41(7), 39(5); izračunato za $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_2$: C 74,19, H 9,34, O 16,47%; nađeno C 74,15, H 9,36, O 16,49%; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5,45 (široki dublet, $J = 7,7$ Hz, 1H, CH-3), 5,10 (singlet, 1H, CH_a -10), 5,06 (singlet, 1H, CH_b -10), 2,18 (dublet dubleta dubleta, $J = 14,5, 7,7, 2,2$ Hz, 1H, CH_a -2), 2,01 (singlet, 3H, CH-12), 1,76 (dublet, $J = 14,5$ Hz, 1H, CH_b -2), 1,69 (dublet dubleta, $J = 8,6, 3,4$ Hz, 1H, CH-5), 1,47 (septuplet, $J = 6,8$ Hz, 1H, CH-7), 0,94 (dublet, $J = 6,8$ Hz, 3H, CH-9), 0,92 (dublet dubleta, $J = 4,5, 3,4$ Hz, 1H, CH_b -6), 0,87 (dublet, $J = 6,8$ Hz, 3H, CH-8), 0,80 (dublet dubleta dubleta, $J = 8,6, 4,5, 2,2$ Hz, 1H, CH_a -6); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 170,4 (C-11), 152,3 (C-4), 109,7 (C-10), 76,2 (C-3), 37,1 (C-1), 35,8 (C-2), 32,4 (C-7), 29,4 (C-5), 21,5 (C-12), 19,7 (C-9), 19,6 (C-8), 18,7 (C-6).

((1*R,3*S**,5*R**)-4-Metilen-1-(1-metiletil)biciklo[3.1.0]heksan-3-il-propanoat** ((1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-propanoat) **[1c]**: bezbojna tečnost; prinos: 75%; RI 1379, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.):

134(6), 119(12), 117(6), 109(4), 108(11), 105(3), 93(6), 92(50), 91(100), 82(4), 79(3), 78(5), 77(6), 65(4), 57(3), 53(5), 43(12), 41(6), 39(3).

((1*R,3*S**,5*R**)-4-Metilen-1-(1-metiletil)biciklo[3.1.0]heksan-3-il-izobutanoat**

((1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-izobutanoat) **[1d]**: bezbojna tečnost; prinos: 72%; RI 1414, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 134(4), 119(9), 117(4), 109(3), 108(9), 105(4), 93(7), 92(49), 91(100), 82(7), 79(5), 78(3), 77(7), 65(5), 53(4), 43(18), 41(5), 39(4).

((1*R,3*S**,5*R**)-4-Metilen-1-(1-metiletil)biciklo[3.1.0]heksan-3-il-butanoat**

((1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-butanoat) **[1e]**: bezbojna tečnost; prinos: 70%; RI 1465, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 134(6), 119(11), 117(2), 109(2), 108(8), 105(4), 93(6), 92(48), 91(100), 82(5), 79(4), 78(2), 77(5), 65(3), 53(3), 43(16), 41(8), 39(3).

((1*R,3*S**,5*R**)-4-Metilen-1-(1-metiletil)biciklo[3.1.0]heksan-3-il-2-metilbutanoat**

((1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-2-metilbutanoat) **[1f]**: bezbojna tečnost; prinos: 63%; RI 1500, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 134(8), 119(12), 117(2), 109(2), 108(3), 105(3), 93(6), 92(50), 91(100), 85(6), 79(4), 78(2), 77(5), 65(2), 57(18), 53(3), 43(5), 41(8), 39(3).

((1*R,3*S**,5*R**)-4-Metilen-1-(1-metiletil)biciklo[3.1.0]heksan-3-il-3-metilbutanoat**

((1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-izovalerat) **[1g]**: bezbojna tečnost; prinos: 65%; RI 1513, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 134(7), 119(12), 117(2), 109(3), 108(7), 107(2), 105(3), 93(6), 92(51), 91(100), 85(10), 79(4), 78(2), 77(5), 65(2), 57(11), 53(2), 43(6), 41(8), 39(4).

((1*R,3*S**,5*R**)-4-Metilen-1-(1-metiletil)biciklo[3.1.0]heksan-3-il-(*E*)-2-metilbut-2-enoat**

((1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglat) **[1h]**: bezbojna tečnost; prinos: 59%; RI 1610, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2957, 2872, 1705, 1652, 1612, 1435, 1383, 1345, 1255, 1189, 1132, 1065, 1006, 957, 890, 836, 787, 733; EIMS m/z (rel. int.): 134(11), 119(19), 117(3), 108(10), 105(4), 101(5), 93(6), 92(49), 91(100), 83(26), 79(5), 77(6), 65(4), 55(20), 53(5), 43(5), 41(6), 39(5); izračunato za $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_2$: C 76,88, H 9,46, O 13,66%; nađeno C 76,91, H 9,41, O 13,68%; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6,79 (kvartet kvarteta, $J = 7,0, 1,2$ Hz, 1H, CH-13), 5,52 (široki dublet, $J = 7,7$ Hz, 1H, CH-3), 5,09 (singlet, 1H, CH_a -10), 5,07 (singlet, 1H, CH_b -10), 2,21 (dublet dubleta dubleta, $J = 14,5, 7,7, 2,2$ Hz, 1H, CH_a -2), 1,81 (pseudo kvintet, $J = 1,2$ Hz, 3H, CH_3 -15), 1,81 (dublet, $J = 14,5$ Hz, 1H, CH_b -2), 1,78 (dublet kvarteta, $J = 7,0, 1,2$ Hz, 3H, CH_3 -14), 1,70 (dublet dubleta, $J = 8,5, 3,4$ Hz, 1H, CH-5), 1,48 (septuplet, $J = 6,8$ Hz, 1H, CH-7), 0,98 (dublet

dubleta, $J = 4,4, 3,4$ Hz, 1H, CH_b-6), 0,94 (dublet, $J = 6,8$ Hz, 3H, CH₃-9), 0,88 (dublet, $J = 6,8$ Hz, 3H, CH₃-8), 0,81 (dublet dubleta dubleta, $J = 8,5, 4,4, 2,2$ Hz, 1H, CH_a-6); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 167,5 (C-11), 152,4 (C-4), 137,0 (C-13), 128,9 (C-12), 109,6 (C-10), 76,0 (C-3), 37,1 (C-1), 35,9 (C-2), 32,4 (C-7), 29,4 (C-5), 19,8 (C-9), 19,6 (C-8), 18,7 (C-6), 14,3 (C-14), 12,1 (C-15).

((1R*,3S*,5R*)-4-Metilen-1-(1-metiletil)biciklo[3.1.0]heksan-3-il-3-metilbut-2-enoat

((1R*,3S*,5R*)-sabinil-senecioat) **[1i]**: bezbojna tečnost; prinos: 63%; RI 1612, DB-5MS; FTIR (ATR) cm⁻¹: 2957, 2870, 1705, 1651, 1610, 1521, 1440, 1380, 1230, 1184, 1130, 1008, 960, 891, 830, 781, 732; EIMS m/z (rel. int.): 134(10), 119(19), 117(4), 108(10), 105(4), 101(7), 93(5), 92(47), 91(100), 83(56), 79(5), 77(7), 65(5), 55(17), 53(7), 43(8), 41(9), 39(8); izračunato za C₁₅H₂₂O₂: C 76,88, H 9,46, O 13,66%; nađeno C 76,86, H 9,48, O 13,66%; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5,62 (pseudo septuplet, $J = 1,2$ Hz, 1H, CH-12), 5,48 (široki dublet, $J = 7,8$ Hz, 1H, CH-3), 5,09 (singlet, 1H, CH_a-10), 5,06 (singlet, 1H, CH_b-10), 2,20 (dublet dubleta dubleta, $J = 14,4, 7,8, 2,2$ Hz, 1H, CH_a-2), 2,15 (dublet, $J = 1,2$ Hz, 3H, CH₃-15), 1,87 (dublet, $J = 1,2$ Hz, 3H, CH₃-14), 1,77 (dublet, $J = 14,4$ Hz, 1H, CH_b-2), 1,69 (dublet dubleta, $J = 8,6, 3,4$ Hz, 1H, CH-5), 1,47 (septuplet, $J = 6,9$ Hz, 1H, CH-7), 0,96 (dublet dubleta, $J = 4,5, 3,4$ Hz, 1H, CH_b-6), 0,94 (dublet, $J = 6,9$ Hz, 3H, CH₃-9), 0,89 (dublet, $J = 6,9$ Hz, 3H, CH₃-8), 0,79 (dublet dubleta dubleta, $J = 8,6, 4,5, 2,2$ Hz, 1H, CH_a-6); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 166,1 (C-11), 156,5 (C-13), 152,7 (C-4), 116,4 (C-12), 109,4 (C-10), 75,2 (C-3), 37,1 (C-1), 36,0 (C-2), 32,4 (C-7), 29,4 (C-5), 27,4 (C-14), 20,2 (C-15), 19,8 (C-9), 19,6 (C-8), 18,7 (C-6).

((1R*,3S*,5R*)-4-Metilen-1-(1-metiletil)biciklo[3.1.0]heksan-3-il-(Z)-2-metilbut-2-enoat

((1R*,3S*,5R*)-sabinil-angelat) **[1j]**: bezbojna tečnost; prinos: 49%; RI 1557, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 134(9), 119(14), 105(3), 101(3), 93(6), 92(50), 91(100), 83(22), 79(4), 77(5), 65(3), 55(19), 53(4), 43(5), 41(5), 39(4).

((1R*,3S*,5R*)-4-Metilen-1-(1-metiletil)biciklo[3.1.0]heksan-3-il-nonanoat

((1R*,3S*,5R*)-sabinil-nonanoat) **[1k]**: bezbojna tečnost; prinos: 61%; RI 1940, DB-5MS; FTIR (ATR) cm⁻¹: 2956, 2926, 2855, 1732, 1653, 1609, 1558, 1506, 1457, 1434, 1365, 1330, 1242, 1163, 1107, 1064, 1053, 1009, 967, 889, 834, 795, 744, 722, 669, 622; EIMS m/z (rel. int.): 159(1), 141(3), 135(3), 134(11), 119(15), 105(4), 93(8), 92(62), 91(100), 79(4), 77(4), 71(4), 57(6), 55(5), 53(3),

43(10), 41(8), 39(2); izračunato za $C_{19}H_{32}O_2$: C 78,03, H 11,03, O 10,94%; nađeno C 77,99, H 11,08, O 10,93%; NMR podaci su prikazani u tabeli 4.1.1.

((1*R,3*S**,5*R**)-4-Metilen-1-(1-metiletil)biciklo[3.1.0]heksan-3-il-dekanoat** ((1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-dekanoat) **[11]**: bezbojna tečnost; prinos: 56%; RI 2046, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2956, 2925, 2854, 1732, 1652, 1609, 1558, 1505, 1434, 1365, 1327, 1242, 1163, 1108, 1064, 1053, 1008, 967, 894, 834, 795, 743, 721, 676, 622; EIMS m/z (rel. int.): 173(2), 155(4), 135(6), 134(20), 120(3), 119(25), 108(8), 107(3), 105(5), 93(13), 92(90), 91(100), 85(3), 79(6), 77(6), 71(5), 69(4), 57(6), 55(8), 53(3), 43(15), 41(11), 39(2); izračunato za $C_{20}H_{34}O_2$: C 78,38, H 11,18, O 10,44%; nađeno C 78,41, H 11,16, O 10,43%; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 5,46 (široki dublet, $J = 7,7$ Hz, CH-3), 5,09 (singlet, CH_a -10), 5,05 (singlet, CH_b -10), 2,24 (triplet, $J = 7,5$ Hz, CH_2 -12), 2,18 (dublet dubleta dubleta, $J = 14,5, 7,7, 2,1$ Hz, CH_a -2), 1,74 (dublet, $J = 14,5$ Hz, CH_b -2), 1,68 (dublet dubleta, $J = 8,6, 3,4$ Hz, CH-5), 1,59 (kvintet, $J = 7,5$ Hz, CH_2 -13), 1,47 (septuplet, $J = 6,8$ Hz, 1H, CH-7), 1,32-1,23 (preklopljeni signali, CH_2 -14–19), 0,94 (dublet, $J = 6,8$ Hz, CH_3 -9), 0,92 (dublet dubleta, $J = 4,5, 3,4$ Hz, 1H, CH_b -6), 0,89 (triplet, $J = 6,7$ Hz, 3H, CH_3 -20), 0,88 (dublet, $J = 6,8$ Hz, 3H, CH_3 -8), 0,79 (dublet dubleta dubleta, $J = 8,6, 4,5, 2,1$ Hz, 1H, CH_a -6); ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$): 173,2 (C-11), 152,4 (C-4), 109,7 (C-10), 75,9 (C-3), 37,1 (C-1), 35,9 (C-2), 34,8 (C-12), 32,4 (C-7), 29,4 (C-5), 31,8, 29,4, 29,2, 29,1 (C-14–C-18), 25,0 (C-13), 22,7 (C-19), 19,8 (C-9), 19,6 (C-8), 18,6 (C-6), 14,1 (C-20); 1H NMR (400 MHz, C_6D_6): 5,72 (široki dublet, $J = 7,7$ Hz, 1H, CH-3), 5,31 (singlet, 1H, CH_a -10), 5,12 (singlet, 1H, CH_b -10), 2,08 (triplet, $J = 7,5$ Hz, 2H, CH_2 -12), 2,00 (dublet dubleta dubleta, $J = 14,4, 7,7, 2,1$ Hz, 1H, CH_a -2), 1,76 (dublet, $J = 14,4$ Hz, 1H, CH_b -2), 1,54 (kvintet, $J = 7,5$ Hz, 2H, CH_2 -13), 1,52 (dublet dubleta, $J = 8,6, 3,5$ Hz, 1H, CH-5), 1,27 (sekstet, $J = 7,0$ Hz, 2H, CH_2 -19), 1,24-1,13 (preklopljeni signali, 12H, CH_b -6, CH-7, CH_2 -14–18), 0,91 (triplet, $J = 7,0$ Hz, 3H, CH_3 -20), 0,80 (dublet, $J = 6,8$ Hz, 3H, CH_3 -9), 0,75 (dublet, $J = 6,8$ Hz, 3H, CH_3 -8), 0,68 (dublet dubleta dubleta, $J = 8,6, 4,3, 2,1$ Hz, 1H, CH_a -6); ^{13}C NMR (101 MHz, C_6D_6): 172,4 (C-11), 152,8 (C-4), 110,0 (C-10), 75,8 (C-3), 37,2 (C-1), 36,0 (C-2), 34,8 (C-12), 32,6 (C-7), 32,2 (C-18), 29,9 (C-5), 29,8, 29,7, 29,6, 29,4, (C-14–C-17), 25,3 (C-13), 23,1 (C-19), 19,8 (C-9), 19,7 (C-8), 18,9 (C-6), 14,4 (C-20).

((1*R,3*S**,5*R**)-4-Metilen-1-(1-metiletil)biciklo[3.1.0]heksan-3-il-benzoat** ((1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-benzoat) **[1m]**: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 52%; RI 1890, DB-5MS; EIMS m/z (rel.

int.): 194(2), 135(2), 134(13), 123(4), 119(19), 117(3), 106(5), 105(56), 93(4), 92(52), 91(100), 79(6), 78(4), 77(34), 65(5), 53(3), 51(7), 43(4), 41(5); izračunato za $C_{17}H_{20}O_2$: C 79,66, H 7,86, O 12,48%; nađeno C 79,69, H 7,82, O 12,49%; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 8,00 (dublet dubleta, $J = 7,8, 1,3$ Hz, CH-13, CH-17)), 7,54 (triplet tripleta, $J = 7,8, 1,3$ Hz, CH-15), 7,42 (triplet, $J = 7,8$ Hz, CH-14, CH-16)), 5,71 (široki dublet, $J = 7,7$ Hz, CH-3), 5,16 (singlet, CH_a -10), 5,15 (singlet, CH_b -10), 2,29 (dublet dubleta dubleta, $J = 14,6, 7,7, 2,2$ Hz, CH_a -2), 1,91 (dublet, $J = 14,6$ Hz, CH_b -2), 1,75 (dublet dubleta, $J = 8,6, 3,4$ Hz, CH-5), 1,51 (septuplet, $J = 6,8$ Hz, 1H, CH-7), 0,97 (preklopljeni signali, 4H, CH_b -6, CH_3 -9), 0,90 (dublet, $J = 6,8$ Hz, 3H, CH_3 -8), 0,87 (dublet dubleta dubleta, $J = 8,6, 4,5, 2,2$ Hz, 1H, CH_a -6); ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$): 165,9 (C-11), 152,1 (C-4), 132,8 (C-15), 130,6 (C-12), 129,6 (C-13, C17), 128,3 (C-14, C16), 110,1 (C-10), 76,8 (C-3), 37,1 (C-1), 36,0 (C-2), 32,4 (C-7), 29,4 (C-5), 19,8 (C-9), 19,6 (C-8), 18,9 (C-6).

3.4.2. Sinteza biblioteke izobutanoata, 2-metilbutanoata i (izo)valerata dugolančanih alkohola

Rastvor izobutanske, butanske, 2-metilbutanske, 3-metilbutanske ili pentanske kiseline (1 mmol) i odgovarajućeg dugolančanog alkohola (C_{13} - C_{18} , C_{21} i C_{23}), DMAP-a (0,3 mmol) i DCC-a (1,1 mmol) u 50 ml suvog dihlormetana je mešan preko noći na sobnoj temperaturi uz zaštitu od vlage iz atmosfere korišćenjem kalcijum-hloridne cevčice. Istaložena urea je odvojena filtriranjem (dodatna količina uree je istaložena dodavanjem *n*-pentana i stajanjem preko noći u frižideru), a filtrat je uparen na rotacionom vakuum uparivaču. Dobiveni ostatak je prečišćen gradijentnom hromatografijom (MPLC) na silika gelu pomoću smeše heksan/dietil-etar kao eluenta. Estri su isprani sa kolone smešom heksan/dietil-etar, 4:1 (v/v), a njihova čistoća je proveravana TLC i GC-MS analizama.

Spektralni podaci estara dugolančanih alkohola:

Tridecil-izobutanoat [2a]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 74%; RI 1827, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2922, 2852, 1735 (C=O), 1467, 1386, 1343, 1257, 1190 (C-O), 1154 (C-O), 1076; EIMS m/z (rel. int.): 270(1) [M^+], 227(3), 199(2), 183(1), 182(4), 157(1), 155(1), 129(3), 127(2), 115(3), 113(5), 101(0.9), 99(6), 89(67) [$C_3H_7COOH_2^+$], 88(9), 85(8), 71(59), 57(30), 43(100); izračunato za $C_{17}H_{34}O_2$: C 75,50, H 12,67, O 11,83%; nađeno C 75,55, H 12,64, O 11,81%; 1H

NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 4,06 (triplet, J = 6,6 Hz, 2H, CH₂-1'), 2,54 (septuplet, J = 7,0 Hz, 1H, CH-2), 1,62 (kvintet, J = 6,6 Hz, 2H, CH₂-2'), 1,43-1,20 (preklopljeni signali, 20H, -(CH₂)₁₀-), 1,16 (dublet, J = 7,0 Hz, 6H, CH₃-3, CH₃-4), 0,88 (pseudo triplet, J = 6,3 Hz, 3H, CH₃-13'); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 177,2 (C-1, C=O), 64,4 (C-1'), 34,0 (C-2), 31,9 (C-11'), 29,6, 29,5, 29,3, 29,2, (C-4'-C-10'), 28,6 (C-2'), 25,9 (C-3'), 22,7 (C-12'), 19,0 (C-3, C-4), 14,1 (C-13').

Tridecil-2-metilbutanoat [2b]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 78%; RI 1915, DB-5MS; FTIR (ATR) cm⁻¹: 2921, 2852, 1734 (C=O), 1462, 1380, 1355, 1262, 1239, 1181 (C-O), 1151 (C-O), 1083, 1012; EIMS m/z (rel. int.): 284(1) [M⁺], 255(5), 227(1), 183(2), 169(1), 155(3), 143(1), 129(2), 115(3), 103(100) [C₄H₉COOH₂⁺], 102(11), 101(3), 99(4), 85(29), 71(10), 57(85), 43(45); izračunato za C₁₈H₃₆O₂: C 76,00, H 12,75, O 11,25%; nađeno C 76,01, H 12,73, O 11,26%; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 4,06 (triplet, J = 6,6 Hz, 2H, CH₂-1'), 2,36 (sektet, J = 7,0 Hz, 1H, CH-2), 1,79-1,36 (preklopljeni signali, 4H, CH₂-3, CH₂-2'), 1,36-1,26 (preklopljeni signali, 20H, -(CH₂)₁₀-), 1,14 (dublet, J = 7,0 Hz, 3H, CH₃-5), 0,91 (triplet, J = 6,0 Hz, 3H, CH₃-4), 0,88 (pseudo triplet, J = 6,8 Hz, 3H, CH₃-13'); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 176,8 (C-1, C=O), 64,3 (C-1'), 41,1 (C-2), 31,9 (C-11'), 29,6, 29,5, 29,3, 29,2 (C-4'-C-10'), 28,7 (C-2'), 26,8 (C-3), 25,9 (C-3'), 22,7 (C-12'), 16,6 (C-5), 14,1 (C-13'), 11,6 (C-4).

Tridecil-3-metilbutanoat [2c]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 70%; RI 1917, DB-5MS; FTIR (ATR) cm⁻¹: 2921, 2853, 1735 (C=O), 1466, 1386, 1294, 1252, 1185 (C-O), 1168 (C-O), 1120, 1096, 1003; EIMS m/z (rel. int.): 284(2) [M⁺], 269(3), 227(5), 199(2), 183(2), 182(11), 157(1), 155(3), 143(2), 141(1), 127(2), 115(4), 113(4), 103(100) [C₄H₉COOH₂⁺], 102(9), 101(1), 99(2), 85(58), 71(15), 57(70), 43(56); izračunato za C₁₈H₃₆O₂: C 76,00, H 12,75, O 11,25%; nađeno C 76,02, H 12,73, O 11,25%; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 4,06 (triplet, J = 6,7 Hz, 2H, CH₂-2'), 2,19 (dublet, J = 6,4 Hz, 2H, CH₂-2), 2,13 (triplet septupleta, J = 6,4, 6,4 Hz, 1H, CH-3), 1,62 (kvintet, J = 6,7 Hz, 2H, CH₂-3'), 1,38-1,22 (preklopljeni signali, 20H, -(CH₂)₁₀-), 0,96 (dublet, J = 6,4 Hz, 6H, CH₃-4, CH₃-5), 0,88 (pseudo triplet, J = 6,0 Hz, 3H, CH₃-13'); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 173,3 (C-1, C=O), 64,3 (C-1'), 43,5 (C-2), 31,9 (C-11'), 29,6, 29,5, 29,3, 29,2 (C-4'-C-10'), 28,6 (C-2'), 25,9, 25,7 (C-3, C-3'), 22,7 (C-12'), 22,4 (C-4, C-5), 14,1 (C-13').

Tetradecil-izobutanoat [2d]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 78%; RI 1927, DB-5MS; FTIR (ATR) cm⁻¹: 2923, 2853, 1736 (C=O), 1467, 1389, 1343, 1257, 1190 (C-O), 1154 (C-O), 1075;

EIMS m/z (rel. int.): 284(2) [M^+], 241(2), 213(1), 197(1), 169(2), 141(1), 129(2), 127(4), 115(2), 113(2), 101(1), 99(5), 89(78) [$C_3H_7COOH_2^+$], 88(13), 85(9), 71(63), 57(34), 43(100); izračunato za $C_{18}H_{36}O_2$: C 76,00, H 12,75, O 11,25%; nađeno C 76,02, H 12,73, O 11,25%; 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 4,06 (triplet, $J = 6,6$ Hz, 2H, CH_2-1'), 2,54 (septuplet, $J = 7,0$ Hz, 1H, CH-2), 1,62 (kvintet, $J = 6,6$ Hz, 2H, CH_2-2'), 1,40-1,20 (preklopljeni signali, 22H, $-(CH_2)_{11}-$), 1,17 (dublet, $J = 7,0$ Hz, 6H, CH_3-3 , CH_3-4), 0,88 (pseudo triplet, $J = 6,3$ Hz, 3H, CH_3-14'); ^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 177,2 (C-1, C=O), 64,4 (C-1'), 34,0 (C-2), 31,9 (C-12'), 29,6, 29,5, 29,3, 29,2 (C-4'-C-11'), 28,6 (C-2'), 25,9 (C-3'), 22,7 (C-13'), 19,0 (C-3, C-4), 14,1 (C-14').

Tetradecil-3-metilbutanoat [2e]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 80%; RI 2021, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2921, 2853, 1736 (C=O), 1466, 1391, 1373, 1251, 1185 (C-O), 1168 (C-O), 1120, 1096, 1003; EIMS m/z (rel. int.): 298(0,5) [M^+], 241(4), 197(3), 196(10), 169(2), 113(2), 103(100) [$C_4H_9COOH_2^+$], 102(10), 85(44), 71(12), 57(58), 43(42); izračunato za $C_{19}H_{38}O_2$: C 76,45, H 12,83, O 10,72%; nađeno C 76,40, H 12,87, O 10,73%; 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 4,06 (triplet, $J = 6,7$ Hz, 2H, CH_2-2'), 2,18 (dublet, $J = 6,5$ Hz, 2H, CH_2-2), 2,13 (nonuplet, $J = 6,5$ Hz, 1H, CH-3), 1,62 (kvintet, $J = 6,7$ Hz, 2H, CH_2-3'), 1,40-1,20 (preklopljeni signali, 22H, $-(CH_2)_{11}-$), 0,96 (dublet, $J = 6,5$ Hz, 6H, CH_3-4 , CH_3-5), 0,88 (pseudo triplet, $J = 6,0$ Hz, 3H, CH_3-14'); ^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 173,3 (C-1, C=O), 64,3 (C-1'), 43,5 (C-2), 31,9 (C-12'), 29,6, 29,5 (C-5'-C-10'), 29,3, 29,2 (C-4', C-11'), 28,6 (C-2'), 25,9, 25,7 (C-3, C-3'), 22,7 (C-13'), 22,4 (C-4, C-5), 14,1 (C-14').

Pentadecil-izobutanoat [2f]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 75%; RI 2031, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2921, 2853, 1736 (C=O), 1468, 1391, 1346, 1260, 1190 (C-O), 1155 (C-O), 1068; EIMS m/z (rel. int.): 298(3) [M^+], 255(4), 227(1), 211(2), 210(6), 183(1), 155(1), 129(1), 127(2), 113(1), 101(1), 99(3), 89(68) [$C_3H_7COOH_2^+$], 88(17), 85(11), 71(49), 57(31), 43(100); izračunato za $C_{19}H_{38}O_2$: C 76,45, H 12,83, O 10,72%; nađeno C 76,44, H 12,84, O 10,72%; 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 4,06 (triplet, $J = 6,6$ Hz, 2H, CH_2-1'), 2,54 (septuplet, $J = 7,0$ Hz, 1H, CH-2), 1,62 (kvintet, $J = 6,6$ Hz, 2H, CH_2-2'), 1,40-1,20 (preklopljeni signali, 24H, $-(CH_2)_{12}-$), 1,16 (dublet, $J = 7,0$ Hz, 6H, CH_3-3 , CH_3-4), 0,88 (pseudo triplet, $J = 6,4$ Hz, 3H, CH_3-15'); ^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 177,2 (C-1, C=O), 64,4 (C-1'), 34,0 (C-2), 31,9 (C-13'), 29,6, 29,5, 29,3, 29,2 (C-4'-C-12'), 28,6 (C-2'), 25,9 (C-3'), 22,7 (C-14'), 19,0 (C-3, C-4), 14,1 (C-15').

Pentadecil-2-metilbutanoat [2g]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 78%; RI 2131, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2921, 2852, 1734 (C=O), 1462, 1379, 1355, 1262, 1239, 1181 (C-O), 1150 (C-O), 1083, 1013; EIMS m/z (rel. int.): 312(1) [M^+], 255(3), 227(1), 211(2), 210(5), 183(1), 143(1), 127(1), 113(2), 103(100) [$\text{C}_4\text{H}_9\text{COOH}_2^+$], 102(13), 101(1), 99(2), 85(36), 71(15), 57(82), 43(39); izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}_2$: C 76,86, H 12,90, O 10,24%; nađeno C 76,81, H 12,96, O 10,23%; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4,06 (triplet, $J = 6,7$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-1}'$), 2,36 (sextet, $J = 7,0$ Hz, 1H, CH-2), 1,79-1,37 (preklopljeni signali, 4H, $\text{CH}_2\text{-3}$, $\text{CH}_2\text{-2}'$), 1,34-1,20 (preklopljeni signali, 24H, $-(\text{CH}_2)_{12-}$), 1,14 (dublet, $J = 7,0$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-5}$), 0,91 (triplet, $J = 6,1$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-4}$), 0,88 (pseudo triplet, $J = 6,8$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-15}'$); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 176,8 (C-1, C=O), 64,3 (C-1'), 41,1 (C-2), 31,9 (C-13'), 29,6, 29,5, 29,3, 29,2 (C-4'-C-12'), 28,7 (C-2'), 26,8 (C-3), 25,9 (C-3'), 22,7 (C-14'), 16,6 (C-5), 14,1 (C-15'), 11,6 (C-4).

Pentadecil-3-metilbutanoat [2h]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 72%; RI 2134, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2921, 2852, 1736 (C=O), 1466, 1368, 1293, 1253, 1185 (C-O), 1168 (C-O), 1120, 1096; EIMS m/z (rel. int.): 312(1) [M^+], 255(3), 227(1), 211(2), 210(7), 183(1), 169(1), 155(1), 143(2), 141(2), 115(2), 113(2), 103(100) [$\text{C}_4\text{H}_9\text{COOH}_2^+$], 102(8), 101(2), 99(2), 85(51), 71(15), 57(64), 43(48); izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}_2$: C 76,86, H 12,90, O 10,24%; nađeno C 76,83, H 12,93, O 10,24%; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4,06 (triplet, $J = 6,7$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-2}'$), 2,19 (dublet, $J = 6,5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-2}$), 2,13 (triplet septupleta, $J = 6,5$, 6,5 Hz, 1H, CH-3), 1,62 (kvintet, $J = 6,7$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-3}'$), 1,40-1,18 (preklopljeni signali, 24H, $-(\text{CH}_2)_{12-}$), 0,96 (dublet, $J = 6,5$ Hz, 6H, $\text{CH}_3\text{-4}$, $\text{CH}_3\text{-5}$), 0,88 (pseudo triplet, $J = 6,0$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-15}'$); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 173,3 (C-1, C=O), 64,3 (C-1'), 43,5 (C-2), 31,9 (C-13'), 29,6, 29,5, 29,3, 29,2 (C-4'-C-12'), 28,6 (C-2'), 25,9, 25,7 (C-3, C-3'), 22,7 (C-14'), 22,4 (C-4, C-5), 14,1 (C-15').

Heksadecil-izobutanoat [2i]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 81%; RI 2143, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2921, 2853, 1736 (C=O), 1467, 1391, 1343, 1256, 1190 (C-O), 1155 (C-O), 1076; EIMS m/z (rel. int.): 312(2) [M^+], 269(7), 241(2), 227(1), 225(4), 197(1), 127(1), 99(2), 89(56) [$\text{C}_3\text{H}_7\text{COOH}_2^+$], 85(28), 71(81), 57(24), 43(100); izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}_2$: C 76,86, H 12,90, O 10,24%; nađeno C 76,87, H 12,91, O 10,22%; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4,06 (triplet, $J = 6,6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-1}'$), 2,54 (septuplet, $J = 7,0$ Hz, 1H, CH-2), 1,62 (kvintet, $J = 6,6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-2}'$), 1,38-1,22 (preklopljeni signali, 26H, $-(\text{CH}_2)_{13-}$), 1,16 (dublet, $J = 7,0$ Hz, 6H, $\text{CH}_3\text{-3}$, $\text{CH}_3\text{-4}$), 0,88 (pseudo triplet, $J = 6,5$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-16}'$); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 177,2 (C-1,

C=O), 64,4 (C-1'), 34,0 (C-2), 31,9 (C-14'), 29,6, 29,5, 29,3, 29,2 (C-4'–C-13'), 28,6 (C-2'), 25,9 (C-3'), 22,7 (C-15'), 19,0 (C-3, C-4), 14,1 (C-16').

Heksadecil-3-metilbutanoat [2j]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 83%; RI 2235, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2920, 2853, 1736 (C=O), 1466, 1369, 1294, 1250, 1185 (C-O), 1168 (C-O), 1120, 1097, 1002; EIMS m/z (rel. int.): 326(1) [M^+], 311(1), 269(7), 197(2), 183(1), 169(1), 155(2), 143(2), 141(2), 129(1), 127(2), 115(2), 113(3), 103(100) [$\text{C}_4\text{H}_9\text{COOH}_2^+$], 102(21), 101(3), 99(4), 85(69), 71(15), 57(88), 43(67); izračunato za $\text{C}_{21}\text{H}_{42}\text{O}_2$: C 77,24, H 12,96, O 9,80%; nađeno C 77,20, H 12,98, O 9,82%; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4,06 (triplet, $J = 6,7$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-2}'$), 2,19 (dublet, $J = 6,5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-2}$), 2,13 (triplet septupleta, $J = 6,5$, 6,5 Hz, 1H, CH-3), 1,62 (kvintet, $J = 6,7$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-3}'$), 1,45-1,15 (preklopljeni signali, 26H, - $(\text{CH}_2)_{13}\text{-}$), 0,96 (dublet, $J = 6,5$ Hz, 6H, $\text{CH}_3\text{-4}$, $\text{CH}_3\text{-5}$), 0,88 (pseudo triplet, $J = 6,0$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-16}'$); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 173,2 (C-1, C=O), 64,3 (C-1'), 43,5 (C-2), 31,9 (C-14'), 29,6, 29,5, 29,3, 29,2 (C-4'–C-13'), 28,6 (C-2'), 25,9, 25,7 (C-3, C-3'), 22,7 (C-15'), 22,4 (C-4, C-5), 14,1 (C-16').

Heptadecil-izobutanoat [2k]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 74%; RI 2243, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2921, 2852, 1736 (C=O), 1467, 1386, 1344, 1257, 1190 (C-O), 1155 (C-O), 1121, 1076; EIMS m/z (rel. int.): 326(2) [M^+], 283(4), 255(1), 239(1), 238(4), 211(1), 141(1), 129(1), 127(2), 115(1), 113(2), 101(1), 99(3), 89(79) [$\text{C}_3\text{H}_7\text{COOH}_2^+$], 88(30), 85(11), 71(59), 57(38), 43(100); izračunato za $\text{C}_{21}\text{H}_{42}\text{O}_2$: C 77,24, H 12,96, O 9,80%; nađeno C 77,24, H 12,95, O 9,81%; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4,06 (triplet, $J = 6,6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-1}'$), 2,54 (septuplet, $J = 7,0$ Hz, 1H, CH-2), 1,62 (kvintet, $J = 6,6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-2}'$), 1,38-1,20 (preklopljeni signali, 28H, - $(\text{CH}_2)_{14}\text{-}$), 1,16 (dublet, $J = 7,0$ Hz, 6H, $\text{CH}_3\text{-3}$, $\text{CH}_3\text{-4}$), 0,88 (pseudo triplet, $J = 6,3$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-17}'$); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 177,2 (C-1, C=O), 64,4 (C-1'), 34,0 (C-2), 31,9 (C-15'), 29,6, 29,5, 29,3, 29,2 (C-4'–C-14'), 28,6 (C-2'), 25,9 (C-3'), 22,7 (C-16'), 19,0 (C-3, C-4), 14,1 (C-17').

Heptadecil-2-metilbutanoat [2l]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 72%; RI 2330, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2923, 2853, 1735 (C=O), 1463, 1379, 1349, 1300, 1258, 1238, 1182 (C-O), 1151 (C-O), 1122, 1080, 1031, 1013; EIMS m/z (rel. int.): 340(9) [M^+], 283(13), 255(1), 239(4), 238(13), 227(1), 211(2), 155(1), 143(1), 141(1), 113(3), 103(100) [$\text{C}_4\text{H}_9\text{COOH}_2^+$], 102(12), 101(1), 99(4), 85(60), 71(31), 57(43), 43(64); izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{44}\text{O}_2$: C 77,58, H 13,02, O

9,40%; nađeno C 77,61, H 13,00, O 9,39%; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4,06 (triplet, $J = 6,6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-1}'$), 2,36 (seksitet, $J = 7,0$ Hz, 1H, CH-2), 1,79-1,37 (preklopljeni signali, 4H, $\text{CH}_2\text{-3}$, $\text{CH}_2\text{-2}'$), 1,33-1,20 (preklopljeni signali, 28H, $-(\text{CH}_2)_{14}-$), 1,14 (dublet, $J = 7,0$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-5}$), 0,91 (triplet, $J = 6,1$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-4}$), 0,88 (pseudo triplet, $J = 6,8$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-17}'$); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 176,8 (C-1, C=O), 64,3 (C-1'), 41,1 (C-2), 31,9 (C-15'), 29,6, 29,5, 29,3, 29,2 (C-4'-C-14'), 28,7 (C-2'), 26,8 (C-3), 25,9 (C-3'), 22,7 (C-16'), 16,6 (C-5), 14,1 (C-17'), 11,6 (C-4).

Heptadecil-3-metilbutanoat [2m]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 77%; RI 2336, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2921, 2852, 1736 (C=O), 1466, 1369, 1294, 1253, 1185 (C-O), 1167 (C-O), 1120, 1097, 1001; EIMS m/z (rel. int.): 340(2) [M^+], 325(1), 283(10), 269(1), 255(2), 239(2), 238(6), 211(2), 155(2), 141(1), 113(3), 103(100) [$\text{C}_4\text{H}_9\text{COOH}_2^+$], 102(32), 101(2), 99(2), 85(56), 71(21), 57(92), 43(48); izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{44}\text{O}_2$: C 77,58, H 13,02, O 9,40%; nađeno C 77,57, H 13,01, O 9,42%; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4,06 (triplet, $J = 6,7$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-2}'$), 2,19 (dublet, $J = 6,5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-2}$), 2,13 (triplet septupleta, $J = 6,5$, 6,5 Hz, 1H, CH-3), 1,62 (kvintet, $J = 6,7$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-3}'$), 1,40-1,18 (preklopljeni signali, 28H, $-(\text{CH}_2)_{14}-$), 0,96 (dublet, $J = 6,5$ Hz, 6H, $\text{CH}_3\text{-4}$, $\text{CH}_3\text{-5}$), 0,88 (pseudo triplet, $J = 6,4$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-17}'$); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 173,3 (C-1, C=O), 64,3 (C-1'), 43,5 (C-2), 31,9 (C-15'), 29,6, 29,5, 29,3, 29,2 (C-4'-C-14'), 28,6 (C-2'), 25,9, 25,7 (C-3, C-3'), 22,7 (C-16'), 22,4 (C-4, C-5), 14,1 (C-17').

Oktadecil-izobutanoat [2n]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 87%; RI 2340, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2921, 2852, 1736 (C=O), 1467, 1391, 1341, 1255, 1190 (C-O), 1155 (C-O), 1077; EIMS m/z (rel. int.): 340(3) [M^+], 252(4), 169(1), 129(1), 115(1), 101(2), 99(6), 89(85) [$\text{C}_3\text{H}_7\text{COOH}_2^+$], 88(59), 85(19), 71(71), 57(59), 43(100); izračunato za $\text{C}_{22}\text{H}_{44}\text{O}_2$: C 77,58, H 13,02, O 9,40%; nađeno C 77,58, H 12,99, O 9,43%; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4,06 (triplet, $J = 6,8$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-1}'$), 2,54 (septuplet, $J = 7,0$ Hz, 1H, CH-2), 1,62 (kvintet, $J = 6,8$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-2}'$), 1,40-1,20 (preklopljeni signali, 30H, $-(\text{CH}_2)_{15}-$), 1,17 (dublet, $J = 7,0$ Hz, 6H, $\text{CH}_3\text{-3}$, $\text{CH}_3\text{-4}$), 0,88 (pseudo triplet, $J = 6,8$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-18}'$); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 177,2 (C-1, C=O), 64,4 (C-1'), 34,0 (C-2), 31,9 (C-16'), 29,6, 29,5 (C-5'-C-14'), 29,3, 29,2 (C-4', C-15'), 28,6 (C-2'), 25,9 (C-3'), 22,7 (C-17'), 19,0 (C-3, C-4), 14,1 (C-18').

Oktadecil-butanoat [2o]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 72%; RI 2371, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2921, 2851, 1736 (C=O), 1467, 1391, 1341, 1255, 1190 (C-O), 1155 (C-O), 1077;

EIMS m/z (rel. int.): 340(2) [M^+], 129(1), 115(1), 101(1), 99(5), 89(80) [$C_3H_7COOH_2^+$], 88(57), 85(18), 71(60), 57(56), 43(100); izračunato za $C_{22}H_{44}O_2$: C 77,58, H 13,02, O 9,40%; nađeno C 77,62, H 13,00, O 9,38%; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,06 (triplet, $J = 6,8$ Hz, 2H, CH_2-1'), 2,30 (triplet, $J = 7,0$ Hz, 2H, CH_2-2), 1,72-1,54 (preklopljeni signali, 4H, CH_2-3 , CH_2-2'), 1,38-1,22 (preklopljeni signali, 30H, $-(CH_2)_{15-}$), 0,96 (triplet, $J = 7,0$ Hz, 3H, CH_3-4), 0,88 (pseudo triplet, $J = 6,8$ Hz, 3H, CH_3-18'); ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 173,8 (C-1, C=O), 64,4 (C-1'), 36,3 (C-2), 31,9 (C-16'), 29,6, 29,5 (C-5'-C-14'), 29,4, 29,3 (C-4', C-15'), 28,7 (C-2'), 25,7 (C-3'), 22,7 (C-17'), 18,5 (C-3), 14,1 (C-18'), 13,7 (C-4).

Oktadecil-2-metilbutanoat [2p]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 72%; RI 2430, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2923, 2853, 1735 (C=O), 1463, 1379, 1349, 1299, 1258, 1238, 1182 (C-O), 1151 (C-O), 1122, 1080, 1031, 1013; EIMS m/z (rel. int.): 354(0,4) [M^+], 339(1), 297(5), 269(1), 253(1), 252(6), 169(1), 127(2), 115(3), 113(2), 103(100) [$C_4H_9COOH_2^+$], 102(12), 101(2), 99(2), 85(23), 71(9), 57(29), 43(20); izračunato za $C_{23}H_{46}O_2$: C 77,90, H 13,07, O 9,03%; nađeno C 77,86, H 13,10, O 9,04%; 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 4,06 (triplet, $J = 6,6$ Hz, 2H, CH_2-1'), 2,36 (sektet, $J = 7,0$ Hz, 1H, CH-2), 1,79-1,37 (preklopljeni signali, 4H, CH_2-3 , CH_2-2'), 1,33-1,20 (preklopljeni signali, 30H, $-(CH_2)_{15-}$), 1,14 (dublet, $J = 7,0$ Hz, 3H, CH_3-5), 0,91 (triplet, $J = 6,1$ Hz, 3H, CH_3-4), 0,88 (pseudo triplet, $J = 6,8$ Hz, 3H, CH_3-18'); ^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 176,8 (C-1, C=O), 64,3 (C-1'), 41,1 (C-2), 31,9 (C-16'), 29,6, 29,5 (C-5'-C-14'), 29,3, 29,2 (C-4', C-15'), 28,7 (C-2'), 26,8 (C-3), 25,9 (C-3'), 22,7 (C-17'), 16,6 (C-5), 14,1 (C-18'), 11,6 (C-4).

Oktadecil-3-metilbutanoat [2q]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 85%; RI 2436, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2920, 2852, 1736 (C=O), 1466, 1369, 1294, 1253, 1185 (C-O), 1168 (C-O), 1120, 1097, 1003; EIMS m/z (rel. int.): 354(1) [M^+], 339(1), 297(4), 253(2), 252(7), 225(1), 143(1), 129(1), 127(2), 115(1), 113(2), 103(100) [$C_4H_9COOH_2^+$], 102(10), 101(2), 99(2), 85(28), 71(9), 57(33), 43(22); izračunato za $C_{23}H_{46}O_2$: C 77,90, H 13,07, O 9,03%; nađeno C 77,91, H 13,08, O 9,01%; 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 4,06 (triplet, $J = 6,7$ Hz, 2H, CH_2-2'), 2,19 (dublet, $J = 6,5$ Hz, 2H, CH_2-2), 2,13 (nonuplet, $J = 6,5$ Hz, 1H, CH-3), 1,62 (kvintet, $J = 6,7$ Hz, 2H, CH_2-3'), 1,40-1,18 (preklopljeni signali, 30H, $-(CH_2)_{15-}$), 0,96 (dublet, $J = 6,5$ Hz, 6H, CH_3-4 , CH_3-5), 0,88 (pseudo triplet, $J = 6,3$ Hz, 3H, CH_3-18'); ^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 173,2

(C-1, C=O), 64,3 (C-1'), 43,5 (C-2), 31,9 (C-16'), 29,6, 29,5 (C-5'-C-14'), 29,3, 29,2 (C-4', C-15'), 28,6 (C-2'), 25,9, 25,7 (C-3, C-3'), 22,7 (C-17'), 22,4 (C-4, C-5), 14,1 (C-18').

Oktadecil-pentanoat [2r]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 74%; RI 2484, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2921, 2852, 1736 (C=O), 1466, 1368, 1293, 1252, 1185 (C-O), 1168 (C-O), 1120, 1096, 1003; EIMS m/z (rel. int.): 354(1) [M^+], 297(2), 269(2), 253(2), 239(1), 155(1), 127(2), 115(2), 113(2), 103(100) [$\text{C}_4\text{H}_9\text{COOH}_2^+$], 102(9), 101(3), 99(1), 85(38), 71(19), 57(22), 43(22); izračunato za $\text{C}_{23}\text{H}_{46}\text{O}_2$: C 77,90, H 13,07, O 9,03%; nađeno C 77,93, H 13,10, O 8,97%; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4,06 (triplet, $J = 6,8$ Hz, 2H, CH_2 -2'), 2,32 (triplet, $J = 6,8$ Hz, 2H, CH_2 -2), 1,67-1,54 (preklopljeni signali, 4H, CH_2 -3, CH_2 -2'), 1,40-1,22 (preklopljeni signali, 32H, $-(\text{CH}_2)_{16}-$), 0,94 (triplet, $J = 7,0$ Hz, 3H, CH_3 -5), 0,88 (pseudo triplet, $J = 6,8$ Hz, 3H, CH_3 -18'); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 174,0 (C-1, C=O), 64,4 (C-1'), 34,1 (C-2), 31,9 (C-16'), 29,6, 29,5 (C-5'-C-14'), 29,4, 29,3 (C-4', C-15'), 28,7 (C-2'), 27,1 (C-3), 25,9 (C-3'), 22,7 (C-17'), 22,3 (C-4), 14,1 (C-18'), 13,7 (C-5).

Heneikozil-izobutanoat [2s]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 70%; RI 2746, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2920, 2852, 1736 (C=O), 1467, 1390, 1342, 1255, 1189 (C-O), 1154,7 (C-O), 1076; EIMS m/z (rel. int.): 294(1), 211(7), 169(1), 129(5), 115(10), 113(6), 101(5), 99(8), 89(87) [$\text{C}_3\text{H}_7\text{COOH}_2^+$], 88(47), 85(23), 71(45), 57(31), 43(100); izračunato za $\text{C}_{25}\text{H}_{50}\text{O}_2$: C 78,47, H 13,17, O 8,36%; nađeno C 78,50, H 13,14, O 8,36%; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4,06 (triplet, $J = 6,6$ Hz, 2H, CH_2 -1'), 2,54 (septuplet, $J = 7,0$ Hz, 1H, CH-2), 1,62 (kvintet, $J = 6,6$ Hz, 2H, CH_2 -2'), 1,40-1,20 (preklopljeni signali, 36H, $-(\text{CH}_2)_{18}-$), 1,17 (dublet, $J = 7,0$ Hz, 6H, CH_3 -3, CH_3 -4), 0,88 (pseudo triplet, $J = 6,4$ Hz, 3H, CH_3 -21'); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 177,2 (C-1, C=O), 64,4 (C-1'), 34,0 (C-2), 31,9 (C-19'), 29,6, 29,5, 29,3, 29,2 (C-4'-C-18'), 28,6 (C-2'), 25,9 (C-3'), 22,7 (C-20'), 19,0 (C-3, C-4), 14,1 (C-21').

Trikozil-izobutanoat [2t]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 76%; RI 2947, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2920, 2852, 1735 (C=O), 1467, 1390, 1342, 1255, 1189 (C-O), 1154 (C-O), 1076; EIMS m/z (rel. int.): 323(1), 295(1), 211(2), 183(1), 129(3), 115(16), 113(2), 101(23), 99(26), 89(92) [$\text{C}_3\text{H}_7\text{COOH}_2^+$], 88(42), 85(13), 71(64), 57(67), 43(100); izračunato za $\text{C}_{27}\text{H}_{54}\text{O}_2$: C 78,96, H 13,25, O 7,79%; nađeno C 78,95, H 13,26, O 7,79%; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4,06 (triplet, $J = 6,6$ Hz, 2H, CH_2 -1'), 2,54 (septuplet, $J = 7,0$ Hz, 1H, CH-2), 1,62 (kvintet, $J = 6,6$ Hz, 2H, CH_2 -2'), 1,40-1,20 (preklopljeni signali, 40H, $-(\text{CH}_2)_{20}-$), 1,17 (dublet, $J = 7,0$ Hz,

6H, CH₃-3, CH₃-4), 0,88 (pseudo triplet, $J = 6,4$ Hz, 3H, CH₃-23'); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 177,2 (C-1, C=O), 64,4 (C-1'), 34,0 (C-2), 31,9 (C-21'), 29,6, 29,5, 29,3, 29,2 (C-4'-C-20'), 28,6 (C-2'), 25,9 (C-3'), 22,7 (C-22'), 19,0 (C-3, C-4), 14,1 (C-23').

3.4.3. Sinteza biblioteke estara alilmetoksifenola

3.4.3.1. Sinteza regioizomernih alilmetoksifenola

3.4.3.1.1. Opšte uputstvo za *O*-metilovanje fenola

Odgovarajući fenol, metil-jodid (1,1 molskih ekvivalenata) i anhidrovani kalijum-karbonat (1,5 molskih ekvivalenata) su rastvoreni/suspendovani u 50 ml suvog acetona. Dobivena suspenzija je refluktovana 4 h, a zatim mešana na sobnoj temperaturi preko noći. Nakon toga, aceton je uparen na rotacionom vakuum uparivaču, dodato je 50 ml destilovane vode i vodeni sloj je ekstrahovan dietil-etrom (3 × 50 ml). Organski slojevi su spojeni, osušeni preko anhidrovanog magnezijum-sulfata, a rastvarač je uparen na rotacionom vakuum-uparivaču. Kada su kao početni materijal korišćeni benzendioli (rezorcinol, katehol i hidrohinon) dobivena sirova smeša mono- i di-*orto* metilovanih fenola je razdvojena kiselo-baznom ekstrakcijom. U drugim slučajevima, sirovi proizvodi su prečišćeni hromatografijom (MPLC; heksana/dietil-etar, 6:1, v/v). Prinos ove reakcije je od 58% do 75%.

3.4.3.1.2. Opšte uputstvo za *O*-alilovanje fenola

Odgovarajući metoksi- ili hidroksifenol, alil-bromid (1 molski ekvivalent) i anhidrovani kalijum-karbonat (1,1 molskih ekvivalenata) su rastvoreni/suspendovani u 50 ml *N,N*-dimetilformamida (DMF). Suspenzija je mešana preko noći na sobnoj temperaturi. Kada su kao početni materijal korišćeni benzendioli (rezorcinol, katehol i hidrohinon), u dobivenu sirovu smešu mono- i di-*orto* alilovanih fenola, dodato je 50 ml destilovane vode, a smeša proizvoda je razdvojena kiselo-baznom ekstrakcijom. Ukoliko su kao početni reagensi korišćeni metoksifenoli, sirovi proizvodi su prečišćeni hromatografijom (MPLC) na silika gelu korišćenjem smeše heksana i dietil-etra (6:1, v/v) kao eluenta. Prinos ove reakcije je od 71% do 82%.

3.4.3.1.3. Dobivanje *o*-alilfenola (Klajzenovo (*Claisen*) premeštanje)

Alilfenil-etri su zagrevani na 220 °C, u toku 4 h u atmosferi azota. Dobiveni proizvod je prečišćen hromatografijom (MLPC) korišćenjem smeše heksana i dietil-etra u odnosu 6:1 (v/v). Prinos ove reakcije je od 68% do 86%.

3.4.3.2. Sinteza alilmetoksifenil estara

Smeša odgovarajućeg fenola i kiseline, u molском odnosu 1:1, DCC-a (1,1 molski ekvivalent) i DMAP-a (0,3 molskih ekvivalenata) u dihlormetanu mešana je preko noći, na sobnoj temperaturi. Istaložena urea je uklonjena filtriranjem (dodatna količina uree je istaložena dodavanjem *n*-pentana i stajanjem preko noći u frižideru). Nakon uparavanja rastvarača ostatak je prečišćen gradijentnom hromatografijom (MPLC) korišćenjem smeše heksan/dietil-etar. Čistoća dobivenih estara nakon hromatografije je proveravana TLC i GC-MS analizama. Sintetisani estri (eugenil-2-metilbutanoat [3f], eugenil-3-metilbutanoat [3g], eugenil-angelat [3i], eugenil-senecioat [3j], eugenil-tiglat [3k], eugenil-oktanoat [3n], eugenil-benzoat [3v], 2-alil-3-metoksifenil-pentanoat [5h], 2-alil-3-metoksifenil-tiglat [5k], 2-alil-5-metoksifenil-pentanoat [6h], 2-alil-5-metoksifenil-tiglat [6k]) su potpuno spektralno okarakterisani (GC-MS, IR, UV-Vis, 1D i 2D-NMR) dok su preostali estri okarakterisani samo GC-MS analizom (maseni spektri i retencioni indeksi).

Spektralni podaci i prinosi sintetisanih estara:

4-Alil-2-metoksifenil-formijat (eugenil-formijat) [3a]: bezbojna tečnost; prinos: 84%; RI 1457, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 193(2), 192(16) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 150(6), 149(58), 147(8), 137(23), 133(31), 132(17), 131(44), 122(12), 121(27), 115(8), 107(6), 104(36), 103(57), 102(6), 94(12), 93(10), 91(63), 89(7), 79(17), 78(19), 77(61), 66(12), 63(17), 55(30), 53(12), 52(11), 51(32), 50(12), 41(13), 39(32).

4-Alil-2-metoksifenil-acetat (eugenil-acetat) [3b]: bezbojna tečnost; prinos: 80%; RI 1519, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 206(6) [M^+], 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(23), 137(9), 133(13), 132(11), 131(20), 121(21), 115(6), 107(5), 104(13), 103(19), 91(23), 89(5), 79(6), 77(12), 66(4), 65(10), 55(12), 53(8), 52(6), 51(11), 43(38), 41(8), 39(13).

4-Alil-2-metoksifenil-propanoat (eugenil-propanoat) **[3c]**: bezbojna tečnost; prinos: 75%; RI 1613, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 220(4) [M^+], 165(12), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(25), 133(10), 132(8), 131(20), 105(7), 104(11), 103(14), 91(21), 77(12), 66(6), 65(6), 57(23), 55(10), 51(8), 39(10).

4-Alil-2-metoksifenil-izobutanoat (eugenil-izobutanoat) **[3d]**: bezbojna tečnost; prinos: 65%; RI 1761, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 234(4) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 133(10), 132(5), 121(5), 104(9), 103(14), 71(11), 55(6), 43(35), 41(9).

4-Alil-2-metoksifenil-butanoat (eugenil-butanoat) **[3e]**: bezbojna tečnost; prinos: 68%; RI 1705, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 234(2) [M^+], 165(12), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(19), 133(10), 132(7), 131(12), 121(5), 104(10), 103(11), 91(16), 79(5), 77(11), 71(10), 65(7), 55(6), 43(28), 41(16), 39(9).

4-Alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoat (eugenil-2-metilbutanoat) **[3f]**: bezbojna tečnost; prinos: 64%; RI 1761, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2929, 2854, 1757, 1639, 1601, 1509, 1450, 1266, 1201, 1122, 1036, 996, 892, 747; UV (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 199 (2,67), 217 (0,73), 258 (0,23), 273 (0,20); EIMS m/z (rel. int.): 248(2) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(13), 133(7), 132(5), 131(8), 104(6), 103(8), 91(11), 77(8), 57(43), 55(5), 41(13), 39(5); izračunato za $C_{15}H_{20}O_3$: C 72,55, H 8,12, O 19,33%; nađeno C 72,50, H 8,15, O 19,35%; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$), δ 6,94 (dublet, $J = 7,9$ Hz, 1H, CH-6), 6,80 (dublet, $J = 1,8$ Hz, 1H, CH-3), 6,77 (dublet dubleta, $J = 7,9, 1,8$ Hz, 1H, CH-5), 5,98 (dublet dubleta tripleta, $J = 17,0, 10,1, 6,7$ Hz, 1H, CH-9), 5,12 (pseudo dublet kvarteta, $J = 17,0, 1,7$ Hz, 1H, CH-10_{trans}), 5,10 (pseudo dublet kvarteta, $J = 10,1, 1,7$ Hz, 1H, CH-10_{cis}), 3,81 (singlet, 3H, CH₃-7), 3,39 (široki dublet, $J = 6,7$ Hz, 2H, CH₂-8), 2,67 (seksitet, $J = 7,1$ Hz, 1H, CH-12), 1,85 (kvintet, $J = 7,1$ Hz, 2H, CH₂-13), 1,32 (dublet, $J = 7,1$ Hz, 3H, CH₃-15), 1,06 (triplet, $J = 7,1$ Hz, 3H, CH₃-14); ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$), δ 174,7 (C=O), 151,0 (C-2), 138,7 (C-4), 138,3 (C-1), 137,1 (C-9), 122,5 (C-6), 120,7 (C-5), 116,0 (C-10), 112,9 (C-3), 55,8 (C-7), 41,0 (C-12), 40,0 (C-8), 25,4 (C-13), 16,7 (C-15), 11,4 (C-14).

4-Alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoat (eugenil-3-metilbutanoat) **[3g]**: bezbojna tečnost; prinos: 55%; RI 1769, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2960, 2873, 1758, 1638, 1603, 1506, 1464, 1418, 1266, 1183, 1146, 1120, 1033, 994, 912, 816, 747, 674; UV (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ):

200 (3,44), 216 (1,31), 274 (0,37), 280 (0,35); EIMS m/z (rel. int.): 248(2) [M^+], 165(11), 164(30) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(16), 133(9), 132(6), 131(9), 103(9), 91(15), 85(7), 77(9), 65(6), 57(23), 55(6), 43(7), 41(20), 39(9); izračunato za $C_{15}H_{20}O_3$: C 72,55, H 8,12, O 19,33%; nađeno C 72,52, H 8,13, O 19,35%; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$), δ 6,95 (dublet, $J = 8,0$ Hz, 1H, CH-6), 6,81 (dublet, $J = 1,8$ Hz, 1H, CH-3), 6,79 (dublet dubleta, $J = 8,0, 1,8$ Hz, 1H, CH-5), 6,00 (dublet dubleta tripleta, $J = 17,0, 10,1, 6,7$ Hz, 1H, CH-9), 5,13 (pseudo dublet kvarteta, $J = 17,0, 1,7$ Hz, 1H, CH-10_{trans}), 5,11 (pseudo dublet kvarteta, $J = 10,1, 1,7$ Hz, 1H, CH-10_{cis}), 3,83 (singlet, 3H, CH₃-7), 3,40 (široki dublet, $J = 6,7$ Hz, 2H, CH₂-8), 2,47 (dublet, $J = 7,1$ Hz, 2H, CH₂-12), 2,29 (nonuplet, $J = 7,1$ Hz, 1H, CH-13), 1,10 (dublet, $J = 7,1$ Hz, 6H, CH₃-14 and CH₃-15); ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$), δ 171,1 (C=O), 151,0 (C-2), 138,8 (C-4), 138,2 (C-1), 137,1 (C-9), 122,6 (C-6), 120,7 (C-5), 116,0 (C-10), 112,9 (C-3), 55,8 (C-7), 43,1 (C-12), 40,1 (C-8), 25,9 (C-13), 22,3 (C-14, C-15).

4-Alil-2-metoksifenil-pentanoat (eugenil-pentanoat) [**3h**]: bezbojna tečnost; prinos: 52%; RI 1816, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(2) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(17), 133(9), 132(6), 131(10), 104(7), 103(8), 91(10), 77(7), 57(13), 55(6), 41(10).

4-Alil-2-metoksifenil-angelat (eugenil-angelat) [**3i**]: bezbojna tečnost; prinos: 59%; RI 1800, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2929, 1730, 1647, 1602, 1507, 1455, 1419, 1265, 1223, 1200, 1119, 1033, 913, 847, 797, 747; UV (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 200 (3,44), 217 (2,22), 274 (0,33); EIMS m/z (rel. int.): 246(5) [M^+], 164(28) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 103(5), 91(10), 84(5), 83(100), 77(6), 55(72), 53(5), 39(8); izračunato za $C_{15}H_{18}O_3$: C 73,14, H 7,37, O 19,49%; nađeno C 73,19, H 7,35, O 19,46%; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$), δ 6,97 (dublet, $J = 7,9$ Hz, 1H, CH-6), 6,80 (dublet, $J = 1,8$ Hz, 1H, CH-3), 6,77 (dublet dubleta, $J = 7,9, 1,8$ Hz, 1H, CH-5), 6,19 (kvartet kvarteta, $J = 6,0, 1,6$ Hz, 1H, CH-13), 5,96 (dublet dubleta tripleta, $J = 17,0, 10,1, 6,7$ Hz, 1H, CH-9), 5,10 (pseudo dublet kvarteta, $J = 17,0, 1,7$ Hz, 1H, CH-10_{trans}), 5,08 (pseudo dublet kvarteta, $J = 10,1, 1,7$ Hz, 1H, CH-10_{cis}), 3,80 (singlet, 3H, CH₃-7), 3,37 (široki dublet, $J = 6,7$ Hz, 2H, CH₂-8), 2,08–2,03 (preklopljeni signali, 6H, CH₃-14 and CH₃-15); ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$), δ 166,1 (C=O), 151,1 (C-2), 139,2 (C-13), 138,7 (C-4), 138,2 (C-1), 137,2 (C-9), 127,5 (C-12), 122,7 (C-6), 120,7 (C-5), 116,0 (C-10), 112,9 (C-3), 55,9 (C-7), 40,1 (C-8), 20,1 (C-14), 15,8 (C-15).

4-Alil-2-metoksifenil-senecioat (eugenil-senecioat) [3j]: bezbojna tečnost; prinos: 60%; RI 1857, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2937, 2837, 1731, 1649, 1602, 1507, 1464, 1420, 1264, 1201, 1119, 1061, 1036, 952, 847, 817, 751; UV (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 203 (3,61), 216 (3,18), 275 (0,44); EIMS m/z (rel. int.): 246(3) [M^+], 165(5), 164(40) [$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2^+$], 103(5), 91(8), 84(5), 83(100), 77(5), 55(21), 39(7); izračunato za $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3$: C 73,14, H 7,37, O 19,49%; nađeno C 73,15, H 7,36, O 19,49%; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ 6,98 (dublet, $J = 8,0$ Hz, 1H, CH-6), 6,82 (dublet, $J = 1,8$ Hz, 1H, CH-3), 6,79 (dublet dubleta, $J = 8,0, 1,8$ Hz, 1H, CH-5), 6,05-5,94 (preklopljeni signali, 2H, CH-9 i CH-12), 5,13 (pseudo dublet kvarteta, $J = 17,0, 1,7$ Hz, 1H, CH-10_{trans}), 5,11 (pseudo dublet kvarteta, $J = 10,1, 1,7$ Hz, 1H, CH-10_{cis}), 3,84 (singlet, 3H, CH₃-7), 3,41 (široki dublet, $J = 6,7$ Hz, 2H, CH₂-8), 2,25 (dublet, $J = 1,3$ Hz, 3H, CH₃-15), 2,00 (dublet, $J = 1,3$ Hz, 3H, CH₃-14); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3), δ 164,5 (C=O), 159,2 (C-13), 151,2 (C-2), 138,6 (C-4), 138,0 (C-1), 137,2 (C-9), 122,9 (C-6), 120,7 (C-5), 116,0 (C-10), 115,2 (C-12), 112,9 (C-3), 55,9 (C-7), 40,1 (C-8), 27,5 (C-14), 20,4 (C-15).

4-Alil-2-metoksifenil-tiglat (eugenil-tiglat) [3k]: bezbojna tečnost; prinos: 63%; RI 1861, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2973, 2937, 2916, 2833, 1718, 1651, 1601, 1509, 1467, 1440, 1421, 1286, 1203, 1189, 1152, 1112, 1081, 1034, 1001, 911, 855, 795, 756, 717, 674; UV (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 199 (2,87), 216 (1,65), 274 (0,21); EIMS m/z (rel. int.): 246(6) [M^+], 164(100) [$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2^+$], 103(5), 91(9), 84(5), 83(100), 77(6), 55(61), 53(5), 39(8); izračunato za $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3$: C 73,14, H 7,37, O 19,49%; nađeno C 73,18, H 7,34, O 19,48%; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ 7,13 (kvartet kvarteta, $J = 7,0, 1,3$ Hz, 1H, CH-13), 6,98 (dublet, $J = 7,9$ Hz, 1H, CH-6), 6,82 (dublet, $J = 1,8$ Hz, 1H, CH-3), 6,79 (dublet dubleta, $J = 7,9, 1,8$ Hz, 1H, CH-5), 6,00 (dublet dubleta tripleta, $J = 17,0, 10,1, 6,7$ Hz, 1H, CH-9), 5,13 (pseudo dublet kvarteta, $J = 17,0, 1,7$ Hz, 1H, CH-10_{trans}), 5,11 (pseudo dublet kvarteta, $J = 10,1, 1,7$ Hz, 1H, CH-10_{cis}), 3,83 (singlet, 3H, CH₃-7), 3,41 (široki dublet, $J = 6,7$ Hz, 2H, CH₂-8), 1,98 (pseudo kvintet, $J = 1,3$ Hz, 3H, CH₃-15), 1,90 (dublet kvarteta, $J = 7,0, 1,3$ Hz, 3H, CH₃-14); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3), δ 166,2 (C=O), 151,2 (C-2), 138,9 (C-13), 138,6 (C-4), 138,5 (C-1), 137,2 (C-9), 128,1 (C-12), 122,7 (C-6), 120,7 (C-5), 116,0 (C-10), 112,9 (C-3), 55,9 (C-7), 40,1 (C-8), 14,5 (C-14), 12,2 (C-15).

4-Alil-2-metoksifenil-heksanoat (eugenil-heksanoat) **[3l]**: bezbojna tečnost; prinos: 60%; RI 1910, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 262(2) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(14), 133(7), 132(5), 131(8), 104(6), 103(7), 91(11), 77(7), 65(4), 55(7), 43(18), 41(10).

4-Alil-2-metoksifenil-heptanoat (eugenil-heptanoat) **[3m]**: bezbojna tečnost; prinos: 63%; RI 2011, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 276(1) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(12), 133(6), 132(5), 131(7), 104(5), 103(7), 91(10), 77(6), 55(8), 43(18), 41(12).

4-Alil-2-metoksifenil-oktanoat (eugenil-oktanoat) **[3n]**: bezbojna tečnost; prinos: 65%; RI 2113, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2961, 2872, 1756, 1638, 1604, 1464, 1420, 1267, 1182, 1148, 1120, 1031, 990, 911, 818, 747; UV (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 200 (3,22), 215 (1,82), 273 (0,57); EIMS m/z (rel. int.): 290(0,8) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(10), 133(5), 131(6), 104(5), 103(6), 91(8), 77(5), 57(11), 55(9), 43(8), 41(12); izračunato za $C_{18}H_{26}O_3$: C 74,45, H 9,02, O 16,53%; nađeno C 74,44, H 9,03, O 16,53%; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$), δ 6,93 (dublet, $J = 7,9$ Hz, 1H, CH-6), 6,78 (dublet, $J = 1,7$ Hz, 1H, CH-3), 6,76 (dublet dubleta, $J = 7,9, 1,7$ Hz, 1H, CH-5), 5,95 (dublet dubleta tripleta, $J = 17,0, 10,1, 6,7$ Hz, 1H, CH-9), 5,09 (pseudo dublet kvarteta, $J = 17,0, 1,7$ Hz, 1H, CH-10_{trans}), 5,07 (pseudo dublet kvarteta, $J = 10,1, 1,7$ Hz, 1H, CH-10_{cis}), 3,80 (singlet, 3H, CH₃-7), 3,37 (široki dublet, $J = 6,7$ Hz, 2H, CH₂-8), 2,56 (triplet, $J = 7,5$ Hz, 2H, CH₂-12), 1,73 (kvintet, $J = 7,5$ Hz, 2H, CH₂-13), 1,48-1,42 (multiplet, 2H, CH₂-14), 1,39-1,25 (preklopljeni signali, 6H, CH₂-17, CH₂-16, CH₂-15), 0,90 (triplet, $J = 6,8$ Hz, 3H, CH₃-18); ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$), δ 172,1 (C-11), 150,9 (C-2), 138,8 (C-4), 138,1 (C-1), 137,1 (C-9), 122,5 (C-6), 120,7 (C-5), 116,1 (C-10), 112,7 (C-3), 55,8 (C-7), 40,1 (C-8), 34,1 (C-12), 31,7 (C-16), 29,0 (C-14, C-15), 25,1 (C-13), 22,6 (C-17), 14,1 (C-18).

4-Alil-2-metoksifenil-nonanoat (eugenil-nonanoat) **[3o]**: bezbojna tečnost; prinos: 62%; RI 2215, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 304(0,5) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(9), 133(5), 131(5), 104(5), 103(5), 91(7), 77(4), 57(7), 55(10), 43(11), 41(13).

4-Alil-2-metoksifenil-dekanoat (eugenil-dekanoat) **[3p]**: bezbojna tečnost; prinos: 59%; RI 2317, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 318(0,6) [M^+], 165(9), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(11), 133(3), 131(4), 104(8), 103(6), 91(7), 77(5), 57(5), 55(9), 43(12), 41(15).

4-Alil-2-metoksifenil-dodekanoat (eugenil-dodekanoat) [**3q**]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 57%; RI 2518, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 346(0,4) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(7), 133(4), 131(4), 104(3), 103(3), 91(4), 77(3), 57(5), 55(9), 43(9), 41(9).

4-Alil-2-metoksifenil-tetradekanoat (eugenil-tetradekanoat) [**3r**]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 61%; RI 2721, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 374(0,3) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(6), 133(3), 131(3), 104(3), 103(3), 91(3), 77(2), 69(3), 57(5), 55(8), 43(9), 41(8).

4-Alil-2-metoksifenil-heksadekanoat (eugenil-heksadekanoat) [**3s**]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 59%; RI 2923, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 402(0,1) [M^+], 165(5), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 133(3), 132(3), 131(4), 104(3), 103(2), 91(4), 77(2), 69(3), 57(5), 55(9), 43(14), 41(11).

4-Alil-2-metoksifenil-oktadekanoat (eugenil-oktadekanoat) [**3t**]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 63%; RI 3121, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 430(0,2) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(5), 133(3), 132(2), 131(3), 104(2), 103(2), 91(3), 77(2), 69(4), 57(6), 55(9), 43(10), 41(7).

4-Alil-2-metoksifenil-(Z)-9-oktadecenoat (eugenil-(Z)-9-oktadecenoat) [**3u**]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 61%; RI 3099, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 428(0,2) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(5), 133(3), 132(2), 131(3), 104(3), 103(2), 91(3), 77(2), 69(4), 67(4), 57(3), 55(10), 43(5), 41(7).

4-Alil-2-metoksifenil-benzoat (eugenil-benzoat) [**3v**]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 65%; RI 2124, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2963, 2911, 1735, 1639, 1603, 1509, 1450, 1419, 1260, 1201, 1174, 1060, 1037, 999, 908, 802, 703; UV (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 199 (3,14), 220 (0,86), 274 (0,14), 280 (0,22); EIMS m/z (rel. int.): 269(3), 268(18) [M^+], 106(8), 105(100) [$C_7H_5O^+$], 91(6), 78(3), 77(29), 65(2), 51(5); izračunato za $C_{17}H_{16}O_3$: C 76,10, H 6,01, O 17,89%; nađeno C 76,14, H 6,02, O 17,84%; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$), δ 8,27-8,23 (multiplet, 2H, CH-17, CH-13), 7,65 (triplet tripleta, $J = 7,9, 1,6$ Hz, 1H, CH-15), 7,53 (široki triplet, $J = 7,9$ Hz, 2H, CH-14, CH-16), 7,10 (dublet, $J = 7,9$ Hz, 1H, CH-6), 6,87 (dublet, $J = 1,7$ Hz, 1H, CH-3), 6,85 (dublet dubleta, $J = 7,9, 1,7$ Hz, 1H, CH-5), 6,02 (dublet dubleta tripleta, $J = 17,0, 10,1, 6,7$ Hz, 1H, CH-9), 5,16 (pseudo dublet kvarteta, $J = 17,0, 1,7$ Hz, 1H, CH-10_{trans}),

5,14 (pseudo dublet kvarteta, $J = 10,1, 1,7$ Hz, 1H, CH-10_{cis}), 3,83 (singlet, 3H, CH₃-7), 3,44 (široki dublet, $J = 6,7$ Hz, 2H, CH₂-8); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃), δ 164,9 (C-11), 151,0 (C-2), 139,1 (C-4), 138,2 (C-1), 137,1 (C-9), 133,4 (C-15), 130,3 (C-17, C-13), 129,6 (C-12), 128,5 (C-16, C-14), 122,7 (C-6), 120,8 (C-5), 116,2 (C-10), 112,9 (C-3), 55,9 (C-7), 40,1 (C-8).

4-Alil-2-metoksifenil-salicilat (eugenil-salicilat) [3w]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 70%; RI 2203, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 285(3), 284(14) [M^+], 165(7), 164(77), 149(11), 137(3), 133(5), 132(5), 131(9), 122(10), 121(100) [$C_7H_5O_2^+$], 115(3), 105(3), 104(6), 103(10), 93(15), 92(8), 91(15), 79(4), 77(10), 65(32), 64(5), 63(7), 55(4), 53(4), 51(6), 39(14).

2-Alil-4-metoksifenil-formijat [4a]: bezbojna tečnost; prinos: 79%; RI 1454, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 193(2), 192(9) [M^+], 165(10), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 150(5), 149(39), 148(4), 147(11), 137(7), 135(6), 134(7), 133(16), 132(21), 131(45), 122(7), 121(39), 119(4), 115(8), 107(5), 106(4), 105(15), 104(24), 103(57), 102(7), 94(7), 93(11), 92(7), 91(58), 90(4), 89(7), 79(12), 78(17), 77(54), 76(4), 66(9), 65(28), 64(7), 63(17), 62(7), 55(12), 53(10), 52(8), 51(24), 50(11), 43(4), 41(6), 39(25), 38(5).

2-Alil-4-metoksifenil-acetat [4b]: bezbojna tečnost; prinos: 75%; RI 1517, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 206(5) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(22), 147(5), 133(8), 132(11), 131(21), 121(17), 105(7), 104(11), 103(19), 91(24), 89(3), 79(5), 78(5), 77(15), 65(11), 55(4), 51(8), 43(28), 39(9).

2-Alil-4-metoksifenil-propanoat [4c]: bezbojna tečnost; prinos: 72%; RI 1610, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 220(4) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(18), 147(4), 133(7), 132(10), 131(15), 105(5), 104(8), 103(14), 91(19), 79(4), 77(11), 65(9), 57(23), 55(4), 51(4), 39(7).

2-Alil-4-metoksifenil-izobutanoat [4d]: bezbojna tečnost; prinos: 72%; 61%; RI 1652, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 234(3) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(14), 133(5), 132(8), 131(12), 121(8), 105(5), 104(6), 103(13), 91(17), 77(10), 71(13), 65(8), 55(3), 51(4), 43(33), 41(13), 39(9).

2-Alil-4-metoksifenil-butanoat [4e]: bezbojna tečnost; prinos: 56%; RI 1703, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 234(3) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(16), 137(5), 133(11), 132(7), 131(13), 121(6), 105(5), 104(8), 91(19), 79(6), 78(4), 77(10), 65(9), 55(4), 43(31), 41(21), 39(8).

2-Alil-4-metoksifenil-2-metilbutanoat [4f]: bezbojna tečnost; prinos: 54%; RI 1760, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(3) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(26), 103(6), 91(9), 77(7), 65(5), 57(40), 41(10), 39(5).

2-Alil-4-metoksifenil-3-metilbutanoat [4g]: bezbojna tečnost; prinos: 55%; RI 1766, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(2) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(11), 147(5), 133(5), 132(6), 131(10), 121(5), 104(6), 103(11), 91(16), 85(9), 77(9), 65(7), 57(33), 55(5), 43(7), 41(18), 39(10).

2-Alil-4-metoksifenil-pentanoat [4h]: bezbojna tečnost; prinos: 65%; RI 1815, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(3) [M^+], 165(5), 164(42) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(9), 91(6), 84(6), 83(100), 55(21), 53(5), 39(7).

2-Alil-4-metoksifenil-angelat [4i]: bezbojna tečnost; prinos: 68%; RI 1796, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(6) [M^+], 164(30) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(6), 103(5), 91(8), 84(6), 83(100), 77(6), 65(5), 55(74), 53(6), 39(8).

2-Alil-4-metoksifenil-senecioat [4j]: bezbojna tečnost; prinos: 69%; RI 1851, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(3) [M^+], 165(5), 164(42) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(9), 91(6), 84(6), 83(100), 77(5), 55(21), 53(5), 39(7).

2-Alil-4-metoksifenil-tiglat [4k]: bezbojna tečnost; prinos: 70%; RI 1853, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(7) [M^+], 165(5), 164(29) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(5), 103(5), 91(7), 84(5), 83(100), 77(5), 65(5), 55(63), 53(5), 39(8).

2-Alil-4-metoksifenil-heksanoat [4l]: bezbojna tečnost; prinos: 60%; RI 1908, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 262(2) [M^+], 165(13), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(14), 133(7), 132(5), 131(8), 121(4), 104(7), 103(8), 99(4), 91(11), 77(7), 71(5), 65(4), 55(8), 43(20), 41(11), 39(7).

2-Alil-4-metoksifenil-heptanoat [4m]: bezbojna tečnost; prinos: 62%; RI 2010, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 276(0,8) [M^+], 165(12), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(12), 133(6), 132(5), 131(7), 121(3), 104(5), 103(7), 91(10), 77(6), 65(4), 57(3), 55(9), 43(19), 41(13), 39(5).

2-Alil-4-metoksifenil-oktanoat [4n]: bezbojna tečnost; prinos: 55%; RI 2112, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 290(0,6) [M^+], 165(10), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(10), 133(5), 132(4), 131(6), 104(5), 103(6), 91(8), 77(5), 65(3), 57(12), 55(10), 43(9), 41(15).

2-Alil-4-metoksifenil-nonanoat [4o]: bezbojna tečnost; prinos: 53%; RI 2213, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 304(0,6) [M^+], 165(12), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(10), 133(6), 131(5), 104(4), 103(5), 91(8), 77(6), 55(10), 43(12), 41(9).

2-Alil-4-metoksifenil-dekanoat [4p]: bezbojna tečnost; prinos: 58%; RI 2316, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 318(0,5) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(8), 133(5), 131(3), 104(9), 103(5), 91(8), 77(3), 57(8), 55(6), 43(11), 41(9).

2-Alil-4-metoksifenil-dodekanoat [4q]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 62%; RI 2517, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 346(0,4) [M^+], 165(10), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(7), 133(4), 132(3), 131(4), 104(3), 103(4), 91(5), 77(3), 57(6), 55(11), 43(12), 41(11).

2-Alil-4-metoksifenil-tetradekanoat [4r]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 56%; RI 2719, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 374(0,3) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(6), 133(3), 131(4), 104(3), 103(3), 91(4), 77(3), 69(3), 68(3), 57(5), 55(10), 43(11), 41(10).

2-Alil-4-metoksifenil-heksadekanoat [4s]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 54%; RI 2921, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 402(0,2) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(5), 133(3), 104(3), 103(3), 91(3), 77(2), 69(4), 57(6), 55(10), 43(12), 41(9).

2-Alil-4-metoksifenil-oktadekanoat [4t]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 57%; RI 3118, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 430(0,2) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(4), 132(2), 131(3), 103(3), 91(3), 77(2), 71(3), 69(4), 57(8), 55(9), 43(12), 41(7).

2-Alil-4-metoksifenil-(Z)-9-oktadecenoat [4u]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 53%; RI 3098, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 428(0,2) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(4), 132(3), 131(3), 103(3), 91(3), 77(3), 69(5), 67(5), 57(3), 55(12), 43(5), 41(8).

2-Alil-4-metoksifenil-benzoat [4v]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 61%; RI 2120, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 269(2), 268(7) [M^+], 148(4), 106(8), 105(100) [$C_7H_5O^+$], 103(4), 91(8), 78(4), 77(38), 65(4), 51(11), 50(3), 39(3).

2-Alil-4-metoksifenil-salicilat [4w]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 65%; RI 2199, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 285(3), 284(12) [M^+], 165(3), 164(29), 149(4), 133(2), 132(3), 131(4), 122(7), 121(100) [$C_7H_5O_2^+$], 115(2), 105(2), 104(3), 103(7), 93(12), 92(5), 91(10), 79(2), 77(6), 66(3), 65(25), 64(4), 63(5), 55(3), 53(3), 51(4), 39(11).

2-Alil-3-metoksifenil-formijat [5a]: bezbojna tečnost; prinos: 74%; RI 1432, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 193(3), 192(12) [M^+], 165(12), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(8), 150(3), 149(41), 148(6), 147(11), 137(8), 135(6), 134(7), 133(15), 132(15), 131(49), 122(5), 121(52), 115(5), 107(6), 106(8), 105(16), 104(28), 103(52), 102(3), 94(5), 93(15), 92(8), 91(65), 89(5), 79(13), 78(18), 77(56), 66(11), 65(29), 64(7), 63(15), 55(11), 53(9), 52(8), 51(25), 50(5), 43(6), 41(4), 39(31), 38(8).

2-Alil-3-metoksifenil-acetat [5b]: bezbojna tečnost; prinos: 77%; RI 1489, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 207(2), 206(12) [M^+], 205(3), 192(7), 165(10), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(38), 162(4), 161(5), 150(4), 149(28), 148(8), 147(18), 138(4), 137(36), 135(26), 134(4), 133(19), 132(4), 131(10), 122(19), 121(40), 120(6), 119(4), 107(21), 106(4), 105(5), 104(6), 103(30), 102(8), 94(9), 93(10), 92(5), 91(30), 90(4), 89(7), 81(6), 79(16), 78(14), 77(38), 76(5), 74(6), 69(13), 67(6), 66(9), 65(21), 63(13), 56(11), 55(13), 54(6), 53(14), 43(33), 42(8), 39(26).

2-Alil-3-metoksifenil-propanoat [5c]: bezbojna tečnost; prinos: 76%; RI 1581, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 220(14) [M^+], 166(6), 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(43), 161(7), 149(14), 147(15), 141(5), 137(18), 133(13), 131(5), 122(19), 121(33), 119(4), 105(11), 103(14), 100(5), 97(8), 94(8), 91(21), 83(11), 82(12), 80(6), 79(11), 78(9), 77(25), 74(11), 70(6), 69(13), 67(13), 66(10), 65(11), 63(9), 60(6), 57(39), 56(40), 55(16), 53(7), 51(20), 44(14), 43(16), 42(13), 41(22), 39(21).

2-Alil-3-metoksifenil-izobutanoat [5d]: bezbojna tečnost; prinos: 68%; RI 1625, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 235(4), 234(22) [M^+], 165(94), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(13), 149(19), 148(12), 147(12), 135(23), 133(10), 131(7), 121(10), 105(9), 104(3), 103(14), 91(19), 79(7), 78(8), 77(18), 71(31), 65(11), 63(5), 55(4), 53(5), 51(9), 43(98), 41(24), 39(16).

2-Alil-3-metoksifenil-butanoat [5e]: bezbojna tečnost; prinos: 61%; RI 1670, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 235(3), 234(17) [M^+], 165(12), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(7), 149(21), 148(8),

147(10), 137(5), 135(29), 133(11), 131(7), 121(10), 105(7), 103(11), 91(15), 79(6), 78(6), 77(15), 71(21), 65(9), 55(5), 51(7), 43(50), 41(18), 39(12).

2-Alil-3-metoksifenil-2-metilbutanoat [5f]: bezbojna tečnost; prinos: 64%; RI 1726, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(9) [M^+], 165(7), 164(86) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(6), 133(7), 131(6), 115(2), 107(10), 105(7), 79(6), 77(13), 65(6), 57(100), 55(8), 41(9).

2-Alil-3-metoksifenil-3-metilbutanoat [5g]: bezbojna tečnost; prinos: 68%; RI 1730, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(10) [M^+], 177(8), 165(14), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(27), 151(5), 149(19), 148(5), 147(8), 137(5), 135(20), 133(8), 131(5), 125(11), 124(13), 123(5), 121(6), 107(9), 105(5), 103(8), 96(7), 95(7), 91(13), 85(13), 83(35), 82(17), 81(29), 79(9), 78(5), 77(14), 69(6), 68(6), 67(13), 65(8), 57(44), 56(7), 55(71), 54(10), 53(13), 51(7), 43(34), 42(8), 41(67), 39(27).

2-Alil-3-metoksifenil-pentanoat [5h]: bezbojna tečnost; prinos: 61%; RI 1779, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2958, 2933, 2873, 1756, 1638, 1605, 1588, 1468, 1439, 1267, 1231, 1208, 1139, 1111, 1065, 993, 906, 851, 783, 736; UV (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 199 (2,78), 216 (2,44), 272 (0,20); EIMS m/z (rel. int.): 248(14) [M^+], 165(12), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(7), 149(19), 147(8), 137(5), 135(23), 133(9), 131(5), 121(7), 107(10), 105(5), 103(9), 91(14), 85(13), 79(5), 78(5), 77(13), 57(37), 55(8), 51(6), 41(22); izračunato za $C_{15}H_{20}O_3$: C 72,55, H 8,12, O 19,33%; nađeno C 72,52, H 8,15, O 19,33%; 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$), δ 7,19 (triplet, $J = 8,2$ Hz, 1H, CH-5), 6,75 (dublet, $J = 8,2$ Hz, 1H, CH-6), 6,67 (dublet, $J = 8,2$ Hz, 1H, CH-4), 5,86 (dublet dubleta tripleta, $J = 16,4, 10,2, 6,2$ Hz, 1H, CH-9), 4,97 (pseudo dublet kvarteta, $J = 16,4, 1,5$ Hz, 1H, CH-10_{trans}), 4,95 (pseudo dublet kvarteta, $J = 10,2, 1,5$ Hz, 1H, CH-10_{cis}), 3,82 (singlet, 3H, CH₃-7), 3,32 (široki dublet, $J = 6,2$ Hz, 2H, CH₂-8), 2,56 (triplet, $J = 7,6$ Hz, 2H, CH₂-12), 1,74 (kvintet, $J = 7,6$ Hz, 2H, CH₂-13), 1,44 (sekstet, $J = 7,6$ Hz, 2H, CH₂-14), 0,97 (triplet, $J = 7,6$ Hz, 3H, CH₃-15); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$), δ 172,2 (C=O), 158,4 (C-3), 149,9 (C-1), 135,7 (C-9), 127,2 (C-5), 120,8 (C-2), 114,9 (C-4), 114,8 (C-10), 108,1 (C-6), 56,0 (C-7), 34,1 (C-12), 28,2 (C-8), 27,0 (C-13), 22,3 (C-14), 13,7 (C-15).

2-Alil-3-metoksifenil-angelat [5i]: bezbojna tečnost; prinos: 59%; RI 1765, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(10) [M^+], 148(5), 103(5), 91(6), 84(7), 83(100) [$C_5H_7O^+$], 77(5), 65(6), 56(5), 55(78), 53(8), 51(7), 39(8).

2-Alil-3-metoksifenil-senecioat [5j]: bezbojna tečnost; prinos: 62%; RI 1812, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(3) [M^+], 164(20), 163(5), 149(6), 91(6), 84(5), 83(100) [$C_5H_7O^+$], 77(5), 55(19), 53(5), 39(6).

2-Alil-3-metoksifenil-tiglat [5k]: bezbojna tečnost; prinos: 59%; RI 1815, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2933, 2837, 1723, 1650, 1637, 1604, 1589, 1468, 1439, 1264, 1234, 1208, 1111, 1065, 1012, 993, 909, 868, 843, 770, 741, 723; UV (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 200 (3,44), 217 (2,66), 270 (0,22); EIMS m/z (rel. int.): 246(11) [M^+], 164(5), 163(8), 91(6), 84(6), 83(100) [$C_5H_7O^+$], 77(6), 55(55), 39(7); izračunato za $C_{15}H_{18}O_3$: C 73,15, H 7,36, O 19,49%; nađeno C 73,15, H 7,38, O 19,47%; 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$), δ 7,19 (triplet, $J = 8,2$ Hz, 1H, CH-5), 7,11 (kvartet kvarteta, $J = 7,0, 1,3$ Hz, 1H, CH-13), 6,75 (dublet, $J = 8,2$ Hz, 1H, CH-6), 6,70 (dublet, $J = 8,2$ Hz, 1H, CH-4), 5,86 (dublet dubleta tripleta, $J = 16,5, 10,2, 6,2$ Hz, 1H, CH-9), 4,94 (pseudo dublet kvarteta, $J = 16,5, 1,6$ Hz, 1H, CH-10_{trans}), 4,93 (pseudo dublet kvarteta, $J = 10,2, 1,6$ Hz, 1H, H-10_{cis}), 3,82 (singlet, 3H, CH₃-7), 3,31 (široki dublet, $J = 6,2$ Hz, 2H, CH₂-8), 1,95 (široki signal, 3H, CH₃-15), 1,88 (dublet kvarteta, $J = 7,0, 1,3$ Hz, 3H, CH₃-14); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$), δ 166,4 (C=O), 158,4 (C-3), 150,1 (C-1), 139,2 (C-13), 135,8 (C-9), 128,2 (C-12), 127,1 (C-5), 120,9 (C-2), 115,0 (C-4), 114,8 (C-10), 107,9 (C-6), 55,8 (C-7), 28,2 (C-8), 14,6 (C-14), 12,2 (C-15).

2-Alil-3-metoksifenil-heksanoat [5l]: bezbojna tečnost; prinos: 63%; RI 1869, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 263(2), 262(11) [M^+], 165(12), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(17), 148(6), 147(8), 135(20), 133(7), 131(5), 121(6), 107(8), 105(5), 103(8), 99(9), 91(12), 78(4), 77(11), 71(13), 65(6), 55(9), 51(4), 43(40), 42(5), 41(15), 39(9).

2-Alil-3-metoksifenil-heptanoat [5m]: bezbojna tečnost; prinos: 58%; RI 1971, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 277(2), 276(11) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(14), 148(5), 147(5), 135(17), 133(6), 131(4), 121(5), 113(6), 107(6), 105(4), 103(6), 91(9), 85(5), 77(8), 65(5), 57(5), 55(9), 43(33), 41(15), 39(6).

2-Alil-3-metoksifenil-oktanoat [5n]: bezbojna tečnost; prinos: 60%; RI 2073, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 291(2), 290(9) [M^+], 165(12), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(11), 148(5), 147(5), 135(15), 133(5), 131(3), 115(3), 103(6), 91(8), 77(7), 65(4), 57(29), 55(9), 43(14), 41(16), 39(5).

2-Alil-3-metoksifenil-nonanoat [5o]: bezbojna tečnost; prinos: 58%; RI 2175, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 305(2), 304(8) [M^+], 165(14), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(11), 148(5), 147(5), 137(5), 135(14), 133(5), 131(3), 103(5), 91(7), 77(6), 71(9), 65(3), 57(13), 55(11), 43(18), 41(17), 39(5).

2-Alil-3-metoksifenil-dekanoat [5p]: bezbojna tečnost; prinos: 55%; RI 2279, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 319(1), 318(5) [M^+], 165(12), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(7), 148(3), 147(4), 137(3), 135(9), 133(5), 131(4), 103(9), 91(7), 77(7), 71(8), 57(6), 55(11), 43(13), 41(15).

2-Alil-3-metoksifenil-dodekanoat [5q]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 58%; RI 2480, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 347(2), 346(6) [M^+], 165(14), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(8), 148(4), 147(3), 137(4), 135(10), 133(3), 131(2), 107(4), 103(4), 91(4), 77(4), 71(4), 57(11), 55(11), 43(17), 41(14), 39(3).

2-Alil-3-metoksifenil-tetradekanoat [5r]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 60%; RI 2685, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 375(1), 374(5) [M^+], 165(15), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(7), 148(4), 137(5), 135(9), 133(3), 131(4), 103(3), 91(4), 77(3), 69(4), 57(10), 55(11), 43(17), 41(12), 39(2).

2-Alil-3-metoksifenil-heksadekanoat [5s]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 56%; RI 2891, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 402(0.1) [M^+], 166(3), 165(10), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(7), 135(7), 131(3), 107(5), 81(6), 69(11), 57(4), 55(28), 54(4).

2-Alil-3-metoksifenil-oktadekanoat [5t]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 59%; RI 3092, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 430(1) [M^+], 165(13), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(11), 131(5), 103(4), 91(3), 77(5), 71(4), 57(11), 55(5), 43(13), 41(7).

2-Alil-3-metoksifenil-(Z)-9-oktadecenoat [5u]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 58%; RI 3070, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 428(2) [M^+], 165(16), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(7), 148(4), 135(8), 133(3), 107(4), 103(3), 95(3), 91(4), 81(4), 77(3), 69(8), 67(6), 57(5), 55(16), 43(9), 41(11).

2-Alil-3-metoksifenil-benzoat [5v]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 55%; RI 2089, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 269(3), 268(12) [M^+], 148(5), 106(12), 105(100) [$C_7H_5O^+$], 103(5), 91(9), 78(4), 77(39), 65(3), 51(9), 50(3).

2-Alil-3-metoksifenil-salicilat [5w]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 60%; RI 2166, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 285(2), 284(9) [M^+], 165(5), 164(25), 149(9), 133(4), 131(3), 122(8), 121(100) [$C_7H_5O_2^+$], 115(3), 104(5), 103(8), 93(12), 92(3), 91(11), 77(5), 65(18), 64(3), 63(6), 55(3), 39(10).

2-Alil-5-metoksifenil-formijat [6a]: bezbojna tečnost; prinos: 72%; RI 1451, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 193(4), 192(24) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(3), 150(5), 149(35), 148(5), 147(9), 137(5), 135(5), 134(11), 133(18), 132(16), 131(55), 122(6), 121(45), 115(6), 107(8), 106(9), 105(16), 104(26), 103(50), 102(4), 94(4), 93(8), 92(7), 91(57), 89(8), 79(11), 78(6), 77(62), 66(5), 65(19), 64(8), 63(12), 55(10), 53(5), 51(28), 43(11), 41(8), 39(30).

2-Alil-5-metoksifenil-acetat [6b]: bezbojna tečnost; prinos: 70%; RI 1514, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 206(20) [M^+], 192(4), 166(3), 165(14), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(55), 147(18), 138(5), 137(29), 133(19), 103(18), 102(4), 91(17), 89(5), 78(11), 77(26), 65(11), 62(4), 51(14), 43(47), 39(14).

2-Alil-5-metoksifenil-propanoat [6c]: bezbojna tečnost; prinos: 68%; RI 1606, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 221(1), 220(10) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(28), 149(10), 147(10), 137(11), 133(7), 131(3), 121(5), 103(12), 91(21), 78(3), 77(10), 71(10), 69(3), 55(3), 53(4), 51(6), 44(3), 43(65), 41(18), 39(10).

2-Alil-5-metoksifenil-izobutanoat [6d]: bezbojna tečnost; prinos: 62%; RI 1647, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 235(2), 234(11) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(30), 149(8), 148(3), 147(10), 137(11), 135(3), 133(9), 131(4), 121(5), 105(5), 104(3), 103(12), 91(12), 79(5), 78(6), 77(12), 71(13), 65(6), 63(3), 55(3), 53(3), 51(6), 43(65), 41(18), 39(10).

2-Alil-5-metoksifenil-butanoat [6e]: bezbojna tečnost; prinos: 65%; RI 1692, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 235(2), 234(10) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(32), 149(10), 148(3), 147(10), 137(11), 135(4), 133(10), 131(3), 121(5), 105(4), 103(11), 91(11), 79(5), 78(5), 77(12), 71(12), 65(6), 55(3), 51(6), 43(36), 41(14), 39(9).

2-Alil-5-metoksifenil-2-metilbutanoat [6f]: bezbojna tečnost; prinos: 65%; RI 1746, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(9) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(23), 149(6), 147(8),

137(8), 133(7), 105(5), 103(10), 91(11), 85(7), 79(5), 78(5), 77(11), 69(5), 65(5), 57(67), 55(6), 41(20), 39(8).

2-Alil-5-metoksifenil-3-metilbutanoat [6g]: bezbojna tečnost; prinos: 64%; RI 1751, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(6) [M^+], 191(5), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(20), 149(6), 147(9), 137(8), 133(7), 103(9), 91(10), 85(8), 79(5), 78(6), 77(8), 57(29), 43(8), 39(7).

2-Alil-5-metoksifenil-pentanoat [6h]: bezbojna tečnost; prinos: 64%; RI 1801, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2950, 2912, 2836, 1755, 1618, 1582, 1466, 1437, 1380, 1236, 1186, 1152, 1110, 1055, 1034, 995, 960, 913, 868, 828, 720; UV (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 200 (2,98), 217 (2,98), 272 (0,32); EIMS m/z (rel. int.): 248(7) [M^+], 165(12), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(27), 149(8), 147(9), 137(8), 133(8), 103(9), 91(9), 85(7), 78(5), 77(9), 65(5), 57(21), 55(5), 41(15), 39(6); izračunato za $C_{15}H_{20}O_3$: C 72,55, H 8,12, O 19,33%; nađeno C 72,53, H 8,15, O 19,32%; 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$), δ 7,13 (dublet, $J = 8,5$ Hz, 1H, CH-3), 6,74 (dublet dubleta, $J = 8,5, 2,6$ Hz, 1H, CH-4), 6,63 (dublet, $J = 2,6$ Hz, 1H, CH-6), 5,86 (dublet dubleta tripleta, $J = 16,5, 10,2, 6,6$ Hz, 1H, CH-9), 5,01 (pseudo dublet kvarteta, $J = 16,5, 1,3$ Hz, 1H, CH-10_{trans}), 5,00 (pseudo dublet kvarteta, $J = 10,2, 1,3$ Hz, 1H, CH-10_{cis}), 3,77 (singlet, 3H, CH₃-7), 3,21 (široki dublet, $J = 6,6$ Hz, 2H, CH₂-8), 2,55 (triplet, $J = 7,5$ Hz, 2H, CH₂-12), 1,75 (kvintet, $J = 7,5$ Hz, 2H, CH₂-13), 1,45 (sektet, $J = 7,5$ Hz, 2H, CH₂-14), 0,97 (triplet, $J = 7,5$ Hz, 3H, CH₃-15); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$), δ 172,1 (C=O), 158,8 (C-5), 149,8 (C-1), 135,6 (C-9), 130,5 (C-3), 124,0 (C-2), 115,8 (C-10), 111,9 (C-4), 107,9 (C-6), 55,2 (C-7), 34,5 (C-12), 28,1 (C-8), 27,2 (C-13), 22,3 (C-14), 13,7 (C-15).

2-Alil-5-metoksifenil-angelat [6i]: bezbojna tečnost; prinos: 65%; RI 1787, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(7,8) [M^+], 164(9) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(11), 103(5), 91(6), 84(6), 83(100) [$C_5H_7O^+$], 77(7), 55(71), 53(5), 39(8).

2-Alil-5-metoksifenil-senecioat [6j]: bezbojna tečnost; prinos: 67%; RI 1842, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(4) [M^+], 164(18) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(5), 84(6), 83(100) [$C_5H_7O^+$], 55(18), 53(5), 39(6).

2-Alil-5-metoksifenil-tiglat [6k]: bezbojna tečnost; prinos: 70%; RI 1845, DB-5MS; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2912, 2836, 1724, 1650, 1618, 1583, 1504, 1465, 1437, 1380, 1238, 1188, 1152, 1110, 1055, 1034, 994, 960, 913, 868, 829, 722; UV (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 199

(3,68), 217 (2,78), 274 (0,32); EIMS m/z (rel. int.): 246(5) [M^+], 164(8) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(10), 91(5), 84(7), 83(100) [$C_5H_7O^+$], 55(54), 39(5); izračunato za $C_{15}H_{18}O_3$: C 73,15, H 7,36, O 19,49%; nađeno C 73,09, H 7,38, O 19,53%; 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$), δ 7,13 (dublet, J = 8,5 Hz, 1H, CH-3), 7,11 (kvartet kvarteta, J = 7,0, 1,3 Hz, 1H, CH-13), 6,74 (dublet dubleta, J = 8,5, 2,6 Hz, 1H, CH-4), 6,63 (dublet, J = 2,6 Hz, 1H, CH-6), 5,86 (dublet dubleta tripleta, J = 16,5, 10,2, 6,6 Hz, 1H, CH-9), 5,02 (pseudo dublet kvarteta, J = 16,5, 1,3 Hz, 1H, CH-10_{trans}), 5,01 (pseudo dublet kvarteta, J = 10,2, 1,3 Hz, 1H, CH-10_{cis}), 3,77 (singlet, 3H, CH₃-7), 3,21 (široki dublet, J = 6,6 Hz, 2H, CH₂-8), 1,95 (široki signal, 3H, CH₃-15), 1,88 (dublet kvarteta, J = 7,0, 1,1 Hz, 3H, CH₃-14); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$), δ 166,2 (C=O), 158,8 (C-5), 149,8 (C-1), 139,4 (C-13), 136,6 (C-9), 130,6 (C-3), 128,1 (C-12), 123,9 (C-2), 115,8 (C-10), 111,9 (C-4), 107,8 (C-6), 55,4 (C-7), 33,9 (C-8), 14,6 (C-14), 12,2 (C-15).

2-Alil-5-metoksifenil-heksanoat [6l]: bezbojna tečnost; prinos: 65%; RI 1890, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 263(1), 262(5) [M^+], 165(12), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(23), 149(7), 148(3), 147(7), 137(8), 135(3), 133(7), 131(3), 121(3), 107(2), 105(3), 103(8), 99(5), 91(8), 78(4), 77(8), 71(7), 65(4), 55(6), 51(3), 43(24), 42(4), 41(11), 39(5).

2-Alil-5-metoksifenil-heptanoat [6m]: bezbojna tečnost; prinos: 60%; RI 1990 DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 277(1), 276(5) [M^+], 165(12), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(20), 149(5), 147(6), 137(7), 135(3), 133(6), 131(4), 121(3), 113(3), 105(3), 103(6), 91(6), 85(3), 77(6), 65(3), 57(4), 55(6), 43(20), 41(11), 39(4).

2-Alil-5-metoksifenil-oktanoat [6n]: bezbojna tečnost; prinos: 62%; RI 2091, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 291(1), 290(4) [M^+], 165(13), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(18), 149(5), 148(3), 147(6), 135(6), 133(5), 131(2), 103(6), 91(5), 77(5), 65(3), 57(15), 55(8), 43(11), 41(13), 39(4).

2-Alil-5-metoksifenil-nonanoat [6o]: bezbojna tečnost; prinos: 55%; RI 2192, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 305(1), 304(4) [M^+], 165(13), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(17), 149(11), 147(5), 137(6), 133(4), 103(5), 91(4), 77(4), 71(5), 65(3), 57(7), 55(8), 43(12), 41(12), 39(3).

2-Alil-5-metoksifenil-dekanoat [6p]: bezbojna tečnost; prinos: 60%; RI 2293, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 319(1), 318(4) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(11), 149(8), 147(5), 137(4), 133(6), 131(5), 103(10), 91(6), 77(5), 71(10), 57(7), 55(13), 43(11), 41(18).

2-Alil-5-metoksifenil-dodekanoat [6q]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 61%; RI 2494, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 347(0,5), 346(2) [M^+], 165(14), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(13), 149(3), 147(4), 137(5), 133(3), 103(3), 91(4), 77(4), 71(2), 57(7), 55(8), 43(12), 41(11).

2-Alil-5-metoksifenil-tetradekanoat [6r]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 65%; RI 2699, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 375(0,5), 374(2) [M^+], 165(15), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(11), 149(3), 137(5), 133(3), 103(3), 91(4), 77(3), 69(3), 57(6), 55(8), 43(13), 41(9).

2-Alil-5-metoksifenil-heksadekanoat [6s]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 52%; RI 2901, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 402(0,1) [M^+], 165(15), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(4), 147(3), 137(4), 103(3), 71(3), 69(3), 55(6), 43(8), 41(7).

2-Alil-5-metoksifenil-oktadekanoat [6t]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 65%; RI 3103, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 430(2) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(7), 149(5), 133(3), 103(4), 91(3), 77(5), 69(4), 57(4), 55(12), 43(13), 41(7).

2-Alil-5-metoksifenil-(Z)-9-octadecenoat [6u]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 59%; RI 3080, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 429(1), 428(3) [M^+], 165(14), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 163(11), 149(3), 137(5), 133(3), 103(3), 95(3), 77(3), 69(6), 67(4), 57(3), 55(11), 43(6), 41(9).

2-Alil-5-metoksifenil-benzoat [6v]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 62%; RI 2102, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 269(1), 268(9) [M^+], 148(4), 106(13), 105(100) [$C_7H_5O^+$], 103(6), 91(9), 78(5), 77(41), 65(5), 51(11), 50(4).

2-Alil-5-metoksifenil-salicilat [6w]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 60%; RI 2181, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 285(1), 284(7) [M^+], 165(4), 164(32), 149(11), 133(5), 131(4), 122(9), 121(100) [$C_7H_5O_2^+$], 115(5), 104(6), 103(9), 93(12), 92(4), 91(12), 77(6), 65(18), 63(6), 55(4), 39(10).

2-Alil-6-metoksifenil-formijat [7a]: bezbojna tečnost; prinos: 68%; RI 1413, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 193(2), 192(11) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 150(4), 149(43), 148(4), 147(10), 137(7), 135(7), 134(7), 133(15), 132(21), 131(48), 122(7), 121(42), 120(4), 119(4), 115(9), 107(6), 106(4), 105(15), 104(27), 103(59), 102(6), 94(6), 93(11), 92(8), 91(58), 89(7), 79(13), 78(17), 77(56), 66(10), 65(29), 64(6), 63(17), 62(6), 55(14), 53(10), 51(24), 50(10), 43(3), 41(6), 39(27), 38(5).

2-Alil-6-metoksifenil-acetat [7b]: bezbojna tečnost; prinos: 70%; RI 1470, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 206(4) [M^+], 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 147(7), 145(3), 138(3), 136(3), 135(6), 134(4), 133(14), 131(17), 121(24), 120(4), 118(3), 104(15), 103(40), 91(18), 90(4), 77(20), 62(5), 43(27), 39(16).

2-Alil-6-metoksifenil-propanoat [7c]: bezbojna tečnost; prinos: 67%; RI 1554, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 220(4) [M^+], 192(3), 165(12), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(20), 147(7), 137(4), 135(5), 133(13), 132(10), 131(23), 122(30), 121(45), 104(10), 103(26), 102(6), 97(5), 91(31), 89(5), 79(13), 78(12), 77(20), 74(11), 70(10), 69(9), 68(6), 67(10), 66(6), 65(13), 63(8), 57(30), 56(32), 55(12), 53(12), 51(20), 50(10), 44(9), 43(17), 42(12), 41(14), 39(20).

2-Alil-6-metoksifenil-izobutanoat [7d]: bezbojna tečnost; prinos: 57%; RI 1595, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 235(1), 234(4) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(12), 148(3), 147(4), 135(5), 133(5), 131(11), 121(8), 105(5), 104(6), 103(13), 91(19), 79(4), 78(4), 77(11), 71(15), 65(9), 63(4), 55(3), 51(5), 43(62), 41(15), 39(10).

2-Alil-6-metoksifenil-butanoat [7e]: bezbojna tečnost; prinos: 52%; RI 1653, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 234(3) [M^+], 165(12), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(13), 147(5), 133(5), 132(6), 131(9), 121(7), 105(5), 104(5), 103(11), 91(14), 79(3), 78(3), 77(9), 71(10), 65(7), 55(3), 51(3), 43(33), 41(11), 39(7).

2-Alil-6-metoksifenil-2-metilbutanoat [7f]: bezbojna tečnost; prinos: 66%; RI 1700, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(3) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(10), 132(6), 131(9), 121(5), 104(5), 103(11), 91(14), 85(8), 77(8), 65(6), 57(70), 41(14), 39(6).

2-Alil-6-metoksifenil-3-metilbutanoat [7g]: bezbojna tečnost; prinos: 67%; RI 1703, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(2) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(11), 132(7), 131(9), 121(5), 103(11), 91(15), 85(8), 77(8), 65(6), 57(32), 43(6), 41(17), 39(8).

2-Alil-6-metoksifenil-pentanoat [7h]: bezbojna tečnost; prinos: 64%; RI 1749, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(2) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(12), 132(7), 131(10), 121(6), 104(5), 103(9), 91(12), 85(7), 77(7), 65(5), 57(21), 55(5), 41(11), 39(5).

2-Alil-6-metoksifenil-angelat [7i]: bezbojna tečnost; prinos: 69%; RI 1725, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(6) [M^+], 164(21) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 103(8), 91(16), 83(100), 79(5), 77(7), 65(5), 55(76), 53(11), 52(5), 51(7), 41(5), 39(14).

2-Alil-6-metoksifenil-senecioat [7j]: bezbojna tečnost; prinos: 62%; RI 1773, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(2) [M^+], 164(19) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 103(5), 91(7), 84(6), 83(100), 55(18), 39(6).

2-Alil-6-metoksifenil-tiglat [7k]: bezbojna tečnost; prinos: 62%; RI 1775, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(9) [M^+], 164(19) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 103(5), 91(8), 84(5), 83(100), 55(49), 39(5).

2-Alil-6-metoksifenil-heksanoat [7l]: bezbojna tečnost; prinos: 58%; RI 1838, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 262(1) [M^+], 165(10), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(10), 148(3), 147(3), 133(5), 131(8), 121(5), 105(4), 103(9), 99(5), 91(13), 78(3), 77(7), 71(9), 65(6), 55(7), 43(28), 42(4), 41(10), 39(7).

2-Alil-6-metoksifenil-heptanoat [7m]: bezbojna tečnost; prinos: 60%; RI 1938, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 276(2) [M^+], 165(14), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(3), 147(4), 131(6), 121(5), 113(4), 103(7), 91(9), 85(3), 77(7), 65(5), 57(4), 55(8), 43(30), 41(12).

2-Alil-6-metoksifenil-oktanoat [7n]: bezbojna tečnost; prinos: 53%; RI 2038, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 290(1) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(7), 147(3), 133(3), 131(6), 103(8), 91(9), 77(5), 65(4), 57(20), 55(11), 43(12), 41(14), 39(4).

2-Alil-6-metoksifenil-nonanoat [7o]: bezbojna tečnost; prinos: 50%; RI 2139, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 304(1) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(6), 133(4), 103(7), 91(7), 77(4), 71(6), 65(3), 57(10), 55(10), 43(12), 41(12), 39(3).

2-Alil-6-metoksifenil-dekanoat [7p]: bezbojna tečnost; prinos: 59%; RI 2240, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 318(2) [M^+], 165(13), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(5), 133(5), 131(3), 103(12), 91(6), 77(5), 71(6), 57(11), 55(13), 43(11), 41(9).

2-Alil-6-metoksifenil-dodekanoat [7q]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 60%; RI 2441, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 347(0,1), 346(0,4) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(5), 103(4), 91(5), 77(3), 71(3), 57(7), 55(10), 43(12), 41(9).

2-Alil-6-metoksifenil-tetradekanoat [7r]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 58%; RI 2645, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 374(0,3) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(4), 103(3), 91(4), 77(3), 69(4), 57(7), 55(10), 43(12), 41(9).

2-Alil-6-metoksifenil-heksadekanoat [7s]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 55%; RI 2844, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 402(0,2) [M^+], 165(12), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(4), 103(3), 77(5), 69(3), 55(7), 43(9), 41(5).

2-Alil-6-metoksifenil-oktadekanoat [7t]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 51%; RI 3054, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 430(0,2) [M^+], 165(13), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(5), 132(3), 103(4), 91(3), 77(7), 69(5), 57(4), 55(14), 43(13), 41(7).

2-Alil-6-metoksifenil-(Z)-9-oktadecenoat [7u]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 50%; RI 3027, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 428(0,3) [M^+], 165(14), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(4), 132(3), 104(3), 95(2), 77(3), 69(7), 67(6), 57(3), 55(13), 43(4), 41(8).

2-Alil-6-metoksifenil-benzoat [7v]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 58%; RI 2058, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 268(5) [M^+], 148(5), 106(13), 105(100) [$C_7H_5O^+$], 103(5), 91(9), 78(3), 77(48), 65(12), 51(18), 50(5).

2-Alil-6-metoksifenil-salicilat [7w]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 61%; RI 2129, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 285(2), 284(8) [M^+], 165(12), 164(34), 149(8), 133(8), 131(6), 122(5), 121(100) [$C_7H_5O_2^+$], 115(12), 104(5), 103(9), 93(12), 91(12), 77(8), 65(18), 63(8), 55(11), 39(9).

5-Alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoat [8a]: bezbojna tečnost; prinos: 58%; RI 1753, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(3) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(18), 132(6), 131(8), 104(7), 103(9), 91(18), 85(6), 77(11), 65(6), 57(54), 55(8), 51(5), 41(21), 39(9).

5-Alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoat [8b]: bezbojna tečnost; prinos: 60%; RI 1759, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(2) [M^+], 165(10), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(20), 133(5), 132(7), 131(7), 104(8), 103(9), 91(18), 85(6), 77(10), 65(6), 57(24), 55(6), 43(7), 41(20), 39(10).

5-Alil-2-metoksifenil-pentanoat [8c]: bezbojna tečnost; prinos: 65%; RI 1808, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(2) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(23), 133(5), 132(8), 131(8), 104(9), 103(10), 91(17), 85(7), 77(10), 65(6), 57(19), 55(9), 41(19), 39(8).

5-Alil-2-metoksifenil-angelat [8d]: bezbojna tečnost; prinos: 60%; RI 1791, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(7) [M^+], 164(24) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 103(8), 91(18), 84(5), 83(100), 77(8), 65(8), 64(1.5), 55(80), 53(9), 51(6), 39(12).

5-Alil-2-metoksifenil-senecioat [8e]: bezbojna tečnost; prinos: 54%; RI 1853, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(3) [M^+], 164(32) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(5), 103(5), 91(12), 84(6), 83(100), 77(6), 55(25), 53(6), 39(10).

5-Alil-2-metoksifenil-tiglat [8f]: bezbojna tečnost; prinos: 68%; RI 1856, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(8) [M^+], 164(26) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 103(6), 91(15), 84(6), 83(100), 79(5), 77(8), 65(6), 55(73), 53(8), 51(5), 39(13).

3-Alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoat [9a]: bezbojna tečnost; prinos: 66%; RI 1705, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(4) [M^+], 165(9), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(13), 132(7), 131(11), 121(5), 103(12), 91(14), 85(10), 77(11), 65(5), 57(65), 41(14), 39(8).

3-Alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoat [9b]: bezbojna tečnost; prinos: 67%; RI 1708, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(3) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(9), 132(8), 131(10), 121(6), 103(15), 91(16), 85(9), 77(7), 65(7), 57(28), 43(10), 41(15), 39(10).

3-Alil-2-metoksifenil-pentanoat [9c]: bezbojna tečnost; prinos: 64%; RI 1754, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(1) [M^+], 165(12), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(8), 132(12), 131(13), 121(5), 104(5), 103(8), 91(15), 85(12), 77(8), 65(5), 57(18), 55(8), 41(12), 39(6).

3-Alil-2-metoksifenil-angelat [9d]: bezbojna tečnost; prinos: 69%; RI 1737, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(5) [M^+], 164(19) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 103(6), 91(12), 83(100), 79(7), 77(8), 65(6), 55(75), 53(10), 51(7), 39(12).

3-Alil-2-metoksifenil-senecioat [9e]: bezbojna tečnost; prinos: 62%; RI 1787, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(3) [M^+], 164(25) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 103(8), 91(12), 84(11), 83(100), 79(7), 77(10), 55(19), 39(8).

3-Alil-2-metoksifenil-tiglat [9f]: bezbojna tečnost; prinos: 62%; RI 1798, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(5) [M^+], 164(20) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 103(6), 91(8), 84(8), 83(100), 55(55), 39(8).

4-Alil-3-metoksifenil-2-metilbutanoat [10a]: bezbojna tečnost; prinos: 64%; RI 1768, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(2) [M^+], 165(13), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(12), 121(9), 103(5), 91(8), 77(6), 57(32), 55(6), 41(14), 39(7).

4-Alil-3-metoksifenil-3-metilbutanoat [10b]: bezbojna tečnost; prinos: 62%; RI 1775, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(1) [M^+], 165(8), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(8), 121(15), 103(8), 91(10), 85(6), 77(7), 57(10), 41(12), 39(7).

4-Alil-3-metoksifenil-pentanoat [10c]: bezbojna tečnost; prinos: 68%; RI 1830, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(3) [M^+], 165(13), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(15), 147(6), 121(11), 103(8), 85(9), 77(11), 65(9), 57(15), 55(6), 39(8).

4-Alil-3-metoksifenil-angelat [10d]: bezbojna tečnost; prinos: 58%; RI 1820, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(8) [M^+], 164(25) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(8), 103(5), 91(12), 84(5), 83(100), 77(11), 65(8), 55(62), 54(8), 53(9), 39(11).

4-Alil-3-metoksifenil-senecioat [10e]: bezbojna tečnost; prinos: 58%; RI 1885, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(3) [M^+], 165(10), 164(8) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(10), 121(8), 103(10), 91(6), 84(7), 83(100), 77(8), 65(7), 55(22), 53(10), 39(10).

4-Alil-3-metoksifenil-tiglat [10f]: bezbojna tečnost; prinos: 64%; RI 1888, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(8) [M^+], 165(12), 164(23) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(6), 103(12), 91(8), 83(100), 79(8), 77(12), 65(9), 55(66), 54(8), 53(12), 39(16).

3-Alil-4-metoksifenil-2-metilbutanoat [11a]: bezbojna tečnost; prinos: 64%; RI 1781, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(3) [M^+], 165(11), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(14), 121(11), 103(9), 91(12), 77(8), 65(6), 57(32), 55(6), 41(14), 39(7).

3-Alil-4-metoksifenil-3-metilbutanoat [11b]: bezbojna tečnost; prinos: 62%; RI 1785, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(3) [M^+], 165(13), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(15), 121(11), 103(7), 91(10), 85(5), 77(7), 57(10), 41(13), 39(6).

3-Alil-4-metoksifenil-pentanoat [11c]: bezbojna tečnost; prinos: 68%; RI 1841, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 248(1) [M^+], 165(15), 164(100) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(23), 147(5), 121(17), 103(6), 85(7), 77(12), 65(8), 57(16), 55(6), 39(5).

3-Alil-4-metoksifenil-angelat [11d]: bezbojna tečnost; prinos: 58%; RI 1830, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(10) [M^+], 164(37) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(7), 103(5), 91(11), 84(6), 83(100), 77(9), 65(7), 55(74), 54(6), 53(9), 39(12).

3-Alil-4-metoksifenil-senecioat [11e]: bezbojna tečnost; prinos: 58%; RI 1897, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(5) [M^+], 165(7), 164(7) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(8), 121(7), 103(9), 91(12), 84(6), 83(100), 77(8), 65(7), 55(30), 53(8), 39(13).

3-Alil-4-metoksifenil-tiglat [11f]: bezbojna tečnost; prinos: 64%; RI 1898, DB-5MS; EIMS m/z (rel. int.): 246(12) [M^+], 165(8), 164(57) [$C_{10}H_{12}O_2^+$], 149(5), 121(5), 103(10), 91(14), 84(6), 83(100), 79(5), 77(9), 65(8), 55(80), 54(6), 53(10), 39(14).

3.4.4. Sinteza biblioteke metil-(ferocenilmetil)acetoacetata

Ferocen (6,21 g, 0,033 mola) je dodat u rastvor N,N,N',N' -tetrametilmetandiamina (10 g, 0,098 mola), 85% (w/w) H_3PO_4 (9,2 g) i 86 ml sirćetne kiseline i smeša je pod inertnom atmosferom (N_2) zagrevana na 170 °C, uz mešanje, 5 h. Nakon toga, rastvor je mešan preko noći na sobnoj temperaturi, dodato je 100 ml vode i izvršena je ekstrakcija dietil-etrom (3×50 ml). Vodeni sloj je ohlađen na ledenom kupatilu i neutralisan vodenim rastvorom natrijum-hidroksida. Dobivena crna uljasta tečnost je bila ekstrahovana etrom (4×80 ml), a nakon uparavanja rastvarača sirovi (N,N -dimetilaminometil)ferocen (prinos: 72%) je sušen preko noći u eksikatoru nad $CaCl_2$ (Lednicer i Hauser, 1960). Mešanjem rastvora (N,N -dimetilaminometil)ferocena (5,88 g, 24,18 mmol) i metil-jodida (5,15 g, 36,3 mmol) u acetonu (100 ml) tokom 2 h na sobnoj temperaturi, dobiveni su narandžasti kristali koji su nakon filtriranja i ispiranja sa malom količinom dietil-etra (2×10 mL) sušeni preko noći u eksikatoru nad $CaCl_2$. Dobiveno je 8,85 g (23 mmol) (ferocenilmetil)trimetilamonijum-jodida (prinos: 95%). Rastvor sirovog jodida (8,85 g) i natrijumove soli metil-acetoacetata (46 mmol, dobivene dodavanjem stehiometrijske količine elementarnog natrijuma u dioksanski rastvor metil-acetoacetata) u suvom 1,4-dioksanu (ukupno 50 ml) refluktovan je 7 h, a zatim mešan preko noći na sobnoj temperaturi. U rastvor je dodato 50 ml vode, pa je on ekstrahovan dihlormetanom (4×100 ml), spojeni organski slojevi su isprani vodom (2×50 ml) i sušeni preko noći anhidrovanim $MgSO_4$. Nakon uparavanja rastvarača, ostatak je prečišćen „dry flash” hromatografijom (SiO_2 /heksan-dietil-etar, 4:1, v/v) i dobiven je čist metil-2-(ferocenilmetil)acetoacetat (6,14 g,

19,54 mmol; prinos 85%). Smeša metil-2-(ferocenilmetil)-acetoacetata (750 mg, 2,39 mmol), odgovarajućeg alkil halogenida (4,78 mmol), anhidrovanog K_2CO_3 (826 mg, 5,98 mmol) i suvog acetona (50 ml) je refluktovana uz mešanje 4 h, a zatim i preko noći na sobnoj temperaturi. Aceton je uparen na rotacionom vakuum uparivaču, dodato je 50 ml vode i dobivena suspenzija je ekstrahovana dietil-etrom (4×50 mL). Nakon sušenja preko noći (mešanjem sa anhidrovanim $MgSO_4$), rastvarač je uparen, a sirovi proizvod je prečišćen „dry flash” hromatografijom (SiO_2 /heksan-dietil-etar 4:1, v/v).

Spektralni podaci i prinosi sintetisanih estara:

Metil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoat [12a]: narandžasti kristali; prinos: 85%; FTIR (ATR) cm^{-1} : 3092, 2952, 1742 (COOMe), 1715 (C=O), 1645, 1435, 1357, 1244, 1204, 1145, 1105, 1024, 1000, 922, 819, 733, 699; UV-Vis (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 205 (3,52), 437 (0,49); EIMS m/z (rel. int.): 315(47), 314(100) [M^+], 282(12), 255(4), 236(48), 212(10), 204(22), 199(17), 171(31), 141(16), 121(44), 95(5), 78(5), 56(7), 43(3); izračunato za $C_{17}H_{22}FeO_2$: C 64,98, H 7,06, Fe 17,77, O 10,18%; nađeno C 64,99, H 7,05%; 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 4,11 (široki singlet, 5H, CH-1''–5''), 4,06–4,01 (preklopljeni signali, 4H, CH-2'–5'), 3,71 (singlet, 3H, CH₃-5), 3,58 (triplet, $J = 7,3$ Hz, 1H, CH-3), 2,92 (dublet, $J = 7,3$ Hz, 2H, CH₂-6), 2,17 (singlet, 3H, CH₃-1); ^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 202,5 (C-2), 169,6 (C-4), 84,6 (C-1'), 68,7 (C-1''–5''), 68,6, 68,5, 67,8, 67,7, (C-2'–5'), 61,7 (C-3), 52,4 (C-5), 29,6 (C-6), 28,7 (C-1).

Metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoat [12b]: narandžasti kristali; prinos: 70%; FTIR (ATR) cm^{-1} : 3092, 2947, 1739 (COOMe), 1705 (C=O), 1644, 1440, 1363, 1280, 1236, 1179, 1170, 1104, 1025, 998, 922, 863, 827, 804, 667; UV-Vis (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 204 (3,60), 438 (0,52); EIMS m/z (rel. int.): 329(21), 328(100) [M^+], 297(5), 250(76), 226(13), 220(24), 199(50), 185(19), 164(4), 155(23), 152(33), 134(8), 122(18), 121(37), 77(4), 56(14), 43(9); izračunato za $C_{18}H_{24}FeO_2$: C 65,87, H 7,37, Fe 17,01, O 9,75%; nađeno C 65,91, H 7,36%; 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 4,11 (široki singlet, 5H, CH-1''–5''), 4,07–4,02 (preklopljeni signali, 3H, CH-3', CH-4' i CH-2' ili CH-5'), 4,00–3,96 (multiplet, 1H, CH-2' ili CH-5'), 3,70 (singlet, 3H, CH₃-5), 3,02 (dublet, $J = 14,1$ Hz, 1H, CH₂-6), 2,83 (dublet, $J = 14,1$ Hz, 1H, CH₂-6), 2,10 (singlet, 3H, CH₃-1), 1,24 (singlet, 3H, CH₃-1''); ^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 205,5 (C-2), 173,0 (C-4), 82,3 (C-1'), 70,0, 69,6 (C-2', C-5'), 68,7 (C-1''–5''), 67,9, 67,8 (C-3', C-4'), 61,1 (C-3), 52,3 (C-5), 35,8 (C-6), 26,5 (C-1), 19,1 (C-1''').

Metil-2-(ferocenilmetil)-2-etil-3-oksobutanoat [12c]: narandžasti kristali; prinos: 63%; FTIR (ATR) cm^{-1} : 3090, 2949, 1738 (COOMe), 1714 (C=O), 1641, 1439, 1360, 1275, 1171, 1106, 1025, 997, 926, 829, 806; UV-Vis (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 205 (3,58), 437 (0,50); EIMS m/z (rel. int.): 343(23), 342(100) [M^+], 340(7), 311(4), 264(14), 236(21), 234(9), 199(41), 152(12), 122(8), 121(20), 56(5), 43(2); izračunato za $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{FeO}_2$: C 66,68, H 7,66, Fe 16,32, O 9,35%; nađeno C 66,67, H 7,66%; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4,13 (široki singlet, 5H, $\text{CH-1}''\text{-5}''$), 4,07–4,00 (preklopljeni signali, 3H, $\text{CH-3}'$, $\text{CH-4}'$ i $\text{CH-2}'$ ili $\text{CH-5}'$), 3,98–3,92 (multiplet, 1H, $\text{CH-2}'$ ili $\text{CH-5}'$), 3,70 (singlet, 3H, $\text{CH}_3\text{-5}$), 3,01–2,85 (AB kvartet, 2H, $\text{CH}_2\text{-6}$), 2,05 (singlet, 3H, $\text{CH}_3\text{-1}$), 1,81 (kvartet, $J = 7,6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-1}'''$), 0,79 (triplet, $J = 7,6$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-2}'''$); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 205,0 (C-2), 172,1 (C-4), 82,2 (C-1'), 69,7, 69,4 (C-2', C-5'), 68,8 (C-1''–5''), 67,8, 67,7 (C-3', C-4'), 65,1 (C-3), 52,0 (C-5), 36,8 (C-6), 27,2 (C-1), 24,3 (C-1'''), 8,2 (C-2''').

Metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoat [12d]: narandžasti kristali; prinos: 84%; FTIR (ATR) cm^{-1} : 3080, 2949, 1751 (COOMe), 1715 (C=O), 1641, 1439, 1402, 1355, 1278, 1167, 1106, 1025, 994, 934, 832, 801, 749, 696; UV-Vis (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 206 (3,62), 438 (0,54); EIMS m/z (rel. int.): 355(23), 354(100) [M^+], 276(10), 274(12), 270(8), 248(22), 218(8), 211(10), 200(8), 199(50), 181(24), 152(20), 139(6), 121(33), 56(10), 43(8); izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{FeO}_2$: C 67,81, H 7,40, Fe 15,76, O 9,03%; nađeno C 67,82, H 7,42%; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 5,60 (multiplet, 1H, $\text{CH-2}'''$), 5,13 (multiplet, 1H, $\text{CH}_2\text{-3}'''$), 5,07 (multiplet, 1H, $\text{CH}_2\text{-3}'''$), 4,13 (široki singlet, 5H, $\text{CH-1}''\text{-5}''$), 4,09–4,02 (preklopljeni signali, 3H, $\text{CH-3}'$, $\text{CH-4}'$ i $\text{CH-2}'$ ili $\text{CH-5}'$), 3,99 (široki singlet, 1H, $\text{CH-2}'$ ili $\text{CH-5}'$), 3,70 (singlet, 3H, $\text{CH}_3\text{-5}$), 3,03–2,86 (AB kvartet, 2H, $\text{CH}_2\text{-6}$), 2,53 (dublet tripleta, $J = 7,3$, 1,0 Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-1}'''$), 2,07 (singlet, 3H, $\text{CH}_3\text{-1}$); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 204,5 (C-2), 172,1 (C-4), 132,2 (C-2'''), 119,1 (C-3'''), 82,2 (C-1'), 69,7, 69,5 (C-2', C-5'), 68,7 (C-1''–5''), 67,9, 67,8 (C-3', C-4'), 64,9 (C-3), 52,3 (C-5), 36,1 (C-1'''), 32,9 (C-6), 27,5 (C-1).

Metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-4-metilpent-4-enoat [12e]: narandžasti kristali; prinos: 62%; FTIR (ATR) cm^{-1} : 3092, 2952, 1742 (COOMe), 1715 (C=O), 1644, 1436, 1355, 1221, 1179, 1156, 1105, 1025, 1000, 897, 819; UV-Vis (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 206 (3,62), 436 (0,52); EIMS m/z (rel. int.): 369(25), 368(100) [M^+], 312(2), 290(14), 281(4), 270(9), 258(10), 248(15), 225(39), 199(61), 195(38), 152(11), 135(7), 121(44), 56(14), 43(12); izračunato za

$C_{21}H_{28}FeO_2$: C 68,49, H 7,66, Fe 15,16, O 8,69%; nađeno C 68,52, H 7,65%; 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 4,88 (pseudo triplet, $J = 1,4$ Hz, 1H, CH-3'''), 4,71 (široki singlet, 1H, CH-3'''), 4,10 (široki singlet, 5H, CH-1''-5''), 4,05–4,03 (preklopljeni signali, 3H, CH-3', CH-4' i CH-2' ili CH-5'), 3,99 (široki singlet, 1H, CH-2' ili CH-5'), 3,68 (singlet, 3H, CH_3 -5), 3,12–2,93 (AB kvartet, 2H, CH_2 -6), 2,68–2,47 (multiplet, 2H, CH_2 -3'''), 2,05 (singlet, 3H, CH_3 -1), 1,67 (široki singlet, 3H, CH_3 -4'''); ^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 205,3 (C-2), 172,4 (C-4), 140,9 (C-2'''), 114,8 (C-3'''), 82,2 (C-1'), 69,7, 69,6 (C-2', C-5'), 68,7 (C-1''-5''), 67,9, 67,8 (C-3', C-4'), 64,8 (C-3), 52,0 (C-5), 40,2 (C-1'''), 34,0 (C-6), 28,1 (C-1), 23,8 (C-4''').

Metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoat [12f]: narandžasti kristali; prinos: 66%; FTIR (ATR) cm^{-1} : 3096, 2949, 1740 (COOMe), 1709 (C=O), 1670, 1436, 1352, 1284, 1233, 1177, 1151, 1103, 1042, 1000, 881, 803, 777; UV-Vis (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 205 (3,61), 439 (0,56); EIMS m/z (rel. int.): 383(19), 382(100) [M^+], 380(9), 281(12), 270(17), 248(10), 238(11), 236(45), 210(19), 209(25), 207(13), 205(10), 200(10), 199(85), 139(8), 135(6), 121(47), 56(10), 43(13); izračunato za $C_{22}H_{30}FeO_2$: C 69,11, H 7,91, Fe 14,61, O 8,37%; nađeno C 69,12, H 7,89%; 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 4,91 (triplet septupleta, $J = 7,0$, 1,4 Hz, 1H, CH-2'''), 4,12 (široki singlet, 5H, CH-1''-5''), 4,04 (široki singlet, 2H, CH-3', CH-4'), 3,99 (široki singlet, 1H, CH-2' ili CH-5'), 3,94 (široki singlet, 1H, CH-2' ili CH-5'), 3,68 (singlet, 3H, CH_3 -5), 3,03–2,84 (AB kvartet, 2H, CH_2 -6), 2,47 (široki dublet, $J = 7,0$ Hz, 2H, CH_2 -1'''), 2,04 (singlet, 3H, CH_3 -1), 1,72 (pseudo kvartet, $J = 1,2$ Hz, 3H, CH_3 -5'''), 1,59 (široki dublet, $J = 1,2$ Hz, 3H, CH_3 -4'''); ^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 205,1 (C-2), 172,4 (C-4), 135,3 (C-2'''), 117,6 (C-3'''), 82,3 (C-1'), 69,7, 69,5 (C-2', C-5'), 68,7 (C-1''-5''), 67,9, 67,8 (C-3', C-4'), 65,0 (C-3), 52,1 (C-5), 32,8 (C-1'''), 30,4 (C-6), 27,3 (C-1), 26,0 (C-5'''), 18,1 (C-4''').

Metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)oktanoat [12g]: narandžasti kristali; prinos: 39%; FTIR (ATR) cm^{-1} : 3060, 2953, 1740 (COOMe), 1712 (C=O), 1639, 1493, 1435, 1352, 1270, 1231, 1196, 1177, 1140, 1080, 997, 841, 809; UV-Vis (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 204 (3,60), 436 (0,54); EIMS m/z (rel. int.): 399(27), 398(100) [M^+], 396(7), 320(16), 290(6), 255(11), 254(19), 249(26), 236(5), 226(8), 225(8), 200(11), 199(79), 197(6), 152(11), 122(9), 121(30), 56(8), 43(8); izračunato za $C_{23}H_{34}FeO_2$: C 69,35, H 8,60, Fe 14,02, O 8,03%; nađeno C 69,30, H 8,62%; 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 4,12 (široki singlet, 5H, CH-1''-5''), 4,06–4,03

(multiplet, 2H, CH-3', CH-4'), 3,98 (široki singlet, 1H, CH-2' ili CH-5'), 3,94 (široki singlet, 1H, CH-2' ili CH-5'), 3,69 (singlet, 3H, CH₃-5), 2,94 (dublet, $J = 2,3$ Hz, 2H, CH₂-6), 2,05 (singlet, 3H, CH₃-1), 1,73 (pseudo triplet, $J = 6,8$ Hz, 2H, CH₂-1'''), 1,33–1,21 (preklopljeni signali, 8H, CH₂-2'''–5'''), 0,87 (pseudo triplet, $J = 6,8$ Hz, 3H, CH₃-6'''); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 205,1 (C-2), 172,2 (C-4), 82,3 (C-1'), 69,7, 69,4 (C-2', C-5'), 68,8 (C-1''–5''), 67,9, 67,8 (C-3', C-4'), 64,6 (C-3), 52,0 (C-5), 37,5 (C-6), 31,6, 31,2, 23,8, 22,4 (C-2'''–5'''), 29,4 (C-1'''), 27,2 (C-1), 13,8 (C-6''').

Metil-2-benzil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoat [12h]: narandžasti kristali; prinos: 68%; FTIR (ATR) cm⁻¹: 3064, 2952, 1744 (COOMe), 1714 (C=O), 1603, 1495, 1434, 1354, 1274, 1246, 1175, 1155, 1105, 1083, 1000, 958, 818, 741, 701; UV-Vis (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 204 (3,60), 438 (0,52); EIMS m/z (rel. int.): 405(27), 404(100) [M⁺], 402(6), 326(10), 295(7), 283(28), 270(9), 266(9), 262(5), 261(34), 260(14), 231(21), 230(10), 229(6), 200(8), 199(51), 122(11), 121(34), 56(10), 43(9); izračunato za C₂₄H₂₈FeO₂: C 71,29, H 6,98, Fe 13,81, O 7,92%; nađeno C 71,30, H 6,99%; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7,33–7,20 (multiplet, 3H, CH-4'''–6'''), 7,14–7,07 (multiplet, 2H, CH-3''', 7'''), 4,17 (široki singlet, 5H, CH-1''–5''), 4,04–4,01 (multiplet, 2H, CH-3', CH-4'), 3,94 (široki singlet, 1H, CH-2' ili CH-5'), 3,90 (široki singlet, 1H, CH-2' ili CH-5'), 3,65 (singlet, 3H, CH₃-5), 3,11 (široki singlet, 2H, CH-6), 2,96 (široki singlet, 2H, CH-1'''), 1,93 (singlet, 3H, CH₃-1); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 205,6 (C-2), 172,2 (C-4), 136,5 (C-2'''), 130,0 (C-4''', 6'''), 128,3 (C-3''', 7'''), 126,8 (C-5'''), 82,1 (C-1'), 70,0, 69,8 (C-2', C-5'), 68,8 (C-1''–5''), 68,0, 67,9 (C-3', C-4'), 66,4 (C-3), 51,9 (C-5), 39,4 (C-1'''), 34,8 (C-6), 28,9 (C-1).

3.4.5. Sinteza biblioteke metil-benzilacetoacetata

Suspencija anhidrovanog K₂CO₃ (23,46 g, 169,74 mmol) u suvom acetonu (150 ml), metil-acetoacetata (8,00 g, 68,89 mmol) i benzil-hlorida (10,42 g, 82,31 mmol) refluktovana je, uz mešanje 4 h, a zatim i preko noći na sobnoj temperaturi. Nakon uparavanja rastvarača, dodato je 100 ml vode i dobivena smeša je ekstrahovana dietil-etrom (4 × 100 ml). Organski slojevi su isprani vodom (2 × 50 ml) i sušeni preko noći (anh. MgSO₄), rastvarač je uparen i dobivena smeša metil-2-benzilacetoacetata i metil-2,2-dibenzilacetoacetata je frakcionisana izokratskom kolonskom hromatografijom (SiO₂/heksan–dietil-etar 9:1, v/v). Prva frakcija je sadržala čist metil-2,2-dibenzilacetoacetat 4,08 g (13,77 mmol; prinos 20%) dok je druga sadržala metil-2-

benzilacetoacetat (10,30 g, 49,94 mmol; prinos 72%). Smeša metil-2-benzilacetoacetata (1,00 g, 4,85 mmol), odgovarajućeg alkil-halogenida (9,70 mmol), anhidrovanog K_2CO_3 (1,67 g, 12,08 mmol) i suvog acetona (50 ml) refluktovana je uz mešanje 4 h a zatim i preko noći na sobnoj temperaturi. Nakon uparavanja rastvarača, dodato je 50 ml vode i dobivena smeša je ekstrahovana dietil-etrom (4×50 ml). Organski slojevi su spojeni i sušeni preko noći anhidrovanim $MgSO_4$, uparen je rastvarač i sirova smeša je frakcionisana „dry flash” hromatografijom (SiO_2 /heksan–dietil-etar 4:1, v/v). Čisti metil-2-alkil-2-benzilacetoacetati su dobiveni u prinosu od 55% do 90%.

Spektralni podaci sintetisanih estara:

Metil-2-benzil-3-oksobutanoat [13a]: bezbojni kristali; prinos: 65%; FTIR (ATR) cm^{-1} : 3070, 2944, 1736 (COOMe), 1713 (C=O), 1644, 1436, 1358, 1262, 1215, 1145, 1050, 1001, 851, 809, 749, 700; UV-Vis (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 194 (2,52); EIMS m/z (rel. int.): 206(4) [M^+], 188(5), 164(11), 163(94), 147(19), 145(11), 133(9), 132(13), 131(100), 129(5), 105(6), 104(26), 103(24), 91(37), 78(17), 77(15), 65(7), 51(7), 43(9); izračunato za $C_{12}H_{14}O_3$: C 69,88, H 6,85, O 23,27%; nađeno C 69,89, H 6,84, O 23,27%; 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 7,30–7,14 (preklopljeni signali, 5H, CH-2'–6'), 3,80 (triplet, $J = 7,6$ Hz, 1H, CH-3), 3,69 (singlet, 3H, CH₃-5), 3,16 (dublet, $J = 7,6$ Hz, 2H, CH₂-6), 2,18 (singlet, 3H, CH₃-1); ^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 202,3 (C-2), 169,6 (C-4), 138,0 (C-1'), 128,7 (C-2', 6'), 128,6 (C-3', 5'), 126,7 (C-4'), 61,1 (C-3), 52,4 (C-5), 34,0 (C-6), 29,6 (C-1). Spektralni podaci su u saglasnosti sa literaturnim (Rafiee et al., 2011).

Metil-2-benzil-2-metil-3-oksobutanoat [13b]: bezbojni kristali; prinos: 88%; FTIR (ATR) cm^{-1} : 3062, 2958, 1742 (COOMe), 1709 (C=O), 1642, 1494, 1454, 1435, 1355, 1273, 1194, 1176, 1095, 989, 811, 747, 701; UV-Vis (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 196 (2,50); EIMS m/z (rel. int.): 220(6) [M^+], 189(8), 188(20), 178(29), 177(89), 161(7), 159(8), 147(18), 146(37), 145(68), 121(12), 118(35), 117(42), 116(10), 115(28), 105(10), 91(100), 79(7), 78(85), 77(10), 65(16), 59(6), 51(7), 43(64); izračunato za $C_{13}H_{16}O_3$: C 70,89, H 7,32, O 21,79%; nađeno C 70,92, H 7,30, O 21,78%; 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 7,28–7,19 (preklopljeni signali, 3H, CH-3'–5'), 7,07 (dublet dubleta, $J = 7,1, 2,1$ Hz, 2H, CH-2', 6'), 3,2 (singlet, 3H, CH₃-5), 3,28 (dublet, $J = 13,7$ Hz, 1H, CH-6), 3,04 (dublet, $J = 13,7$ Hz, 1H, CH-6), 2,16 (singlet, 3H, CH₃-1), 1,29 (singlet, 3H, CH₃-1''); ^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 205,2 (C-2), 172,8 (C-4), 136,3 (C-

1'), 130,0 (C-2', 6'), 128,2 (C-3', 5'), 126,8 (C-4'), 64,3 (C-3), 52,2 (C-5), 34,0 (C-6), 25,6 (C-1), 18,4 (C-1''). Spektralni podaci su u saglasnosti sa literaturnim (Lee i Kim, 2002).

Metil-2-benzil-2-etil-3-oksobutanoat [13c]: bezbojni kristali; prinos: 82%; FTIR (ATR) cm^{-1} : 3064, 2945, 1742 (COOMe), 1709 (C=O), 1640, 1433, 1357, 1231, 1195, 1144, 1083, 993, 862, 744, 699; UV-Vis (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 194 (2,52); EIMS m/z (rel. int.): 234(15) [M^+], 203(9), 202(25), 192(22), 191(55), 177(5), 174(6), 173(13), 161(12), 160(33), 159(69), 145(40), 132(10), 131(30), 117(29), 115(19), 92(8), 91(100), 78(46), 77(9), 65(15), 51(5), 43(53); izračunato za $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_3$: C 71,77, H 7,74, O 20,49%; nađeno C 71,81, H 7,72, O 20,47%; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7,32–7,15 (preklopljeni signali, 3H, CH-3'–5'), 7,04 (dublet dubleta, $J = 7,3, 2,2$ Hz, 2H, CH-2', 6'), 3,70 (singlet, 3H, CH_3 -5), 3,22 (dublet, $J = 14,2$ Hz, 1H, CH-6), 3,11 (dublet, $J = 14,1$ Hz, 1H, CH-6), 2,10 (singlet, 3H, CH_3 -1), 1,86 (kvartet, $J = 7,6$ Hz, 2H, CH_2 -1''), 0,87 (triplet, $J = 7,6$ Hz, 3H, CH_3 -2''); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 204,9 (C-2), 172,3 (C-4), 136,4 (C-1'), 129,9 (C-2', 6'), 128,2 (C-3', 5'), 126,8 (C-4'), 65,2 (C-3), 52,1 (C-5), 36,8 (C-6), 27,2 (C-1), 24,3 (C-1''), 8,3 (C-2'').

Metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoat [13d]: bezbojni kristali; prinos: 90%; FTIR (ATR) cm^{-1} : 3064, 2953, 1744 (COOMe), 1713 (C=O), 1641, 1496, 1435, 1357, 1238, 1171, 1145, 1083, 993, 924, 751, 701; UV-Vis (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 195 (2,49); EIMS m/z (rel. int.): 246(1) [M^+], 206(6), 205(50), 204(16), 203(56), 174(7), 173(63), 172(11), 171(28), 162(6), 144(18), 143(34), 141(10), 131(26), 129(36), 128(29), 127(7), 123(17), 117(7), 115(22), 105(15), 91(100), 78(12), 77(10), 65(19), 51(6), 43(64); izračunato za $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3$: C 73,15, H 7,38, O 19,47%; nađeno C 73,15, H 7,39, O 19,46%; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7,31–7,19 (preklopljeni signali, 3H, CH-3'–5'), 7,06 (dublet dubleta, $J = 7,3, 2,2$ Hz, 2H, CH-2', 6'), 5,70 (multiplet, 1H, CH-2''), 5,18 (multiplet, 1H, CH-3''), 5,11 (multiplet, 1H, CH-3''), 3,71 (singlet, 3H, CH_3 -5), 3,31–3,08 (AB kvartet, 2H, CH_2 -6), 2,57 (široki dublet, $J = 7,2$ Hz, 2H, CH_2 -1''), 2,11 (singlet, 3H, CH_3 -1); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 204,2 (C-2), 171,8 (C-4), 136,1 (C-1'), 132,2 (C-2''), 129,8 (C-2', 6'), 128,3 (C-3', 5'), 126,9 (C-4'), 119,2 (C-3''), 64,8 (C-3), 52,1 (C-5), 37,7 (C-6), 36,1 (C-1''), 27,5 (C-1).

Metil-2-acetil-2-benzil-4-metilpent-4-enoat [13e]: bezbojni kristali; prinos: 79%; FTIR (ATR) cm^{-1} : 3086, 2953, 1747 (COOMe), 1711 (C=O), 1642, 1433, 1354, 1195, 1171, 1083, 900, 743, 701; UV-Vis (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 194 (2,52); EIMS m/z (rel. int.): 260(1) [M^+],

205(10), 203(15), 201(28), 186(15), 185(26), 173(32), 171(9), 169(13), 157(25), 156(6), 155(61), 144(6), 143(21), 142(9), 141(9), 137(30), 131(20), 129(20), 128(11), 125(8), 117(9), 115(22), 109(14), 91(100), 77(10), 65(16), 43(57); izračunato za $C_{16}H_{20}O_3$: C 73,82, H 7,74, O 18,44%; nađeno C 73,79, H 7,75, O 18,46%; 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 7,28–7,18 (preklopljeni signali, 3H, CH-3'–5'), 7,07 (dublet dubleta, $J = 7,2, 2,3$ Hz, 2H, CH-2', 6'), 4,91 (široki singlet, 1H, CH-3''), 4,74 (široki singlet, 1H, CH-3''), 3,69 (singlet, 3H, CH₃-5), 3,30–3,25 (AB kvartet, 2H, CH₂-6), 2,63 (široki singlet, 2H, CH₂-1''), 2,09 (singlet, 3H, CH₃-1), 1,69 (široki singlet, 3H, CH₃-4''); ^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 205,1 (C-2), 172,3 (C-4), 140,9 (C-2''), 136,4 (C-1'), 129,9 (C-2', 6'), 128,2 (C-3', 5'), 126,8 (C-4'), 114,7 (C-3''), 64,6 (C-3), 52,1 (C-5), 40,2 (C-6), 38,8 (C-1''), 28,1 (C-1), 24,0 (C-4'').

Metil-2-acetil-2-benzil-5-metilheks-4-enoat [13f]: bezbojni kristali; prinos: 84%; FTIR (ATR) cm^{-1} : 3069, 2949, 1740 (COOMe), 1711 (C=O), 1644, 1496, 1436, 1354, 1274, 1177, 1153, 1081, 996, 747, 701; UV-Vis (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 193 (2,50); EIMS m/z (rel. int.): 274(1) [M^+], 199(14), 184(10), 183(100), 173(9), 171(10), 152(6), 151(64), 145(7), 131(22), 129(8), 116(15), 115(13), 91(54), 69(18), 43(78); izračunato za $C_{17}H_{22}O_3$: C 74,42, H 8,09, O 17,49%; nađeno C 74,45, H 8,09, O 17,46%; 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 7,25–7,17 (preklopljeni signali, 3H, CH-3'–5'), 7,07 (dublet dubleta, $J = 7,3, 2,3$ Hz, 2H, CH-2', 6'), 4,99 (triplet septupleta, $J = 7,0, 1,4$ Hz, 1H, CH-2''), 3,69 (singlet, 3H, CH₃-5), 3,03–2,84 (AB kvartet, 2H, CH₂-6), 2,51 (dublet dubleta, $J = 7,0, 1,0$ Hz, 2H, CH₂-1''), 2,09 (singlet, 3H, CH₃-1), 1,72 (pseudo kvartet, $J = 1,4$ Hz, 3H, CH₃-5''), 1,59 (široki dublet, $J = 1,0$ Hz, 3H, CH₃-4''); ^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 204,6 (C-2), 172,2 (C-4), 136,3 (C-1'), 135,5 (C-2''), 129,8 (C-2', 6'), 128,1 (C-3', 5'), 126,7 (C-4'), 117,4 (C-3''), 64,6 (C-3), 52,0 (C-5), 37,5 (C-6), 30,1 (C-1''), 27,1 (C-1), 25,9 (C-5''), 18,0 (C-4'').

Metil-2-acetil-2-benziloktanoat [13g]: bezbojni kristali; prinos: 62%; FTIR (ATR) cm^{-1} : 3072, 2945, 1745 (COOMe), 1712 (C=O), 1642, 1496, 1454, 1440, 1355, 1251, 1177, 1121, 1080, 1031, 815, 743, 700; UV-Vis (MeCN, 0,05 M) λ_{max} nm (log ϵ): 196 (2,56); EIMS m/z (rel. int.): 290(10) [M^+], 248(10), 247(43), 216(18), 215(62), 177(17), 174(14), 173(10), 146(10), 145(79), 131(19), 129(8), 117(41), 116(18), 115(22), 102(12), 92(10), 91(100), 78(9), 43(56); izračunato za $C_{18}H_{26}O_3$: C 74,45, H 9,02, O 16,53%; nađeno C 74,39, H 9,05, O 16,56%; 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 7,26–7,18 (preklopljeni signali, 3H, CH-3'–5'), 7,02 (dublet dubleta, $J = 7,3, 2,1$

Hz, 2H, CH-2', 6'), 3,68 (singlet, 3H, CH₃-5), 3,03–2,84 (AB kvartet, 2H, CH₂-6), 2,09 (singlet, 3H, CH₃-1), 1,78 (pseudo triplet, $J = 6,9$ Hz, 2H, CH₂-1''), 1,33–1,24 (preklopljeni signali, 8H, CH₂-2''–5''), 0,88 (pseudo triplet, $J = 6,9$ Hz, 3H, CH₃-6''); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 205,0 (C-2), 172,5 (C-4), 136,5 (C-1'), 129,7 (C-2', 6'), 128,2 (C-3', 5'), 126,8 (C-4'), 64,8 (C-3), 52,1 (C-5), 37,4 (C-6), 31,5, 31,4, 23,8, 22,5 (C-2''–5''), 29,5 (C-1''), 27,2 (C-1), 13,9 (C-6'').

Metil-2,2-dibenzil-3-oksobutanoat [13h]: bezbojni kristali; prinos: 55%; FTIR (ATR) cm⁻¹: 3067, 2945, 1741 (COOMe), 1707 (C=O), 1644, 1495, 1454, 1432, 1354, 1231, 1179, 1154, 1086, 2019, 991, 744, 699; UV-Vis (MeCN, 0,05 M) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ): 195 (2,50); EIMS m/z (rel. int.): 296(1) [M⁺], 254(7), 253(15), 222(11), 221(30), 206(11), 205(91), 178(6), 174(11), 173(97), 144(10), 117(9), 116(25), 115(27), 103(10), 92(9), 91(100), 65(15), 43(33); izračunato za C₁₉H₂₀O₃: C 77,00, H 6,80, O 16,20%; nađeno C 77,02, H 6,81, O 16,17%; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7,27–7,19 (preklopljeni signali, 6H, CH-3'–5', 4''–6''), 7,10 (dublet dubleta, $J = 7,3, 2,3$ Hz, 4H, CH-2', 6', 3'', 7''), 3,66 (singlet, 3H, CH₃-5), 3,21 (široki singlet, 4H, CH₂-6, 1''), 1,93 (singlet, 3H, CH₃-1); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 205,4 (C-2), 172,0 (C-4), 136,3 (C-1', 2''), 130,0 (C-2', 6', 3'', 7''), 128,3 (C-3', 5', 4'', 6''), 126,9 (C-4', 5''), 66,1 (C-3), 51,9 (C-5), 39,8 (C-6, 1''), 29,1 (C-1). Spektralni podaci su u saglasnosti sa literaturnim (Sankar et al., 2012).

3.4.6. Sinteza 2,2-dipropil- i 2,2-dialil-supstituisanih metil-acetoacetata

Suspencija anhidrovanog K₂CO₃ (9,52 g, 68,96 mmol) u suvom acetonu (100 ml), metil-acetoacetata (2,00 g, 17,24 mmol) i alil-bromida (8,21 g, 68,96 mmol) refluktovana je 4 h pa mešana preko noći na sobnoj temperaturi. Nakon uparavanja rastvarača, ostatku je dodata voda (100 ml) i izvršena je ekstrakcija dietil-etrom (4 × 50 ml). Organski slojevi su spojeni i isprani vodom (2 × 50 ml) i sušeni preko noći nad anhidrovanim MgSO₄. Rastvarač je uparen a sirova smeša je frakcionisana „dry flash” hromatografijom (SiO₂/heksan–dietil-etar 4:1, v/v). Dobiveno je 2,64 g (13,45 mmol) metil-2,2-dialilacetoacetata (prinos 78%).

Metil-2,2-dialilacetoacetat (1,00 g, 8,4 mmol) rastvoren je u metanolu i mešan na sobnoj temperaturi sa 10% Pd/C (100 mg) pod atmosferom vodonika (atmosferski pritisak) sve do trenutka kada više nije bilo potrošnje vodonika. Katalizator je uklonjen filtriranjem a rastvarač je uparen na rotacionom vakuum uparivaču. Ostatak je na osnovu TLC i GC-MS analiza predstavljao čist metil-2,2-dipropilacetoacetat (1,00 g, 5 mmol; prinos 98%).

Spektralni podaci sintetisanih estara:

Metil-2-acetil-2-alilpent-4-enoat [14]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 78%; FTIR (ATR) cm^{-1} : 3045, 2940, 1742 (COOMe), 1710 (C=O), 1640, 1436, 1356, 1279, 1210, 1141, 1054, 992, 918; EIMS m/z (rel. int.): 196(1) [M^+], 155(19), 154(40), 153(18), 141(5), 139(10), 138(5), 137(10), 125(7), 123(49), 122(16), 121(9), 113(12), 112(9), 111(8), 96(6), 95(38), 94(19), 93(33), 91(15), 81(31), 80(18), 79(41), 77(20), 67(16), 65(9), 59(19), 53(15), 43(100); izračunato za $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_3$: C 67,32, H 8,22, O 24,46%; nađeno C 67,29, H 8,19, O 24,52%; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 5,67–5,48 (multiplet, 2H, CH-2', 2''), 5,15–5,11 (multiplet, 2H, CH-3', 3''), 5,08–5,04 (multiplet, 2H, CH-3', 3''), 3,73 (singlet, 3H, CH_3 -5), 2,65–2,57 (multiplet, 4H, CH_2 -1', 1''), 2,13 (singlet, 3H, CH_3 -1); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 203,7 (C-2), 171,8 (C-4), 132,1 (C-2', 2''), 119,0 (C-3', 3''), 63,3 (C-3), 52,2 (C-5), 36,0 (C-1', 1''), 26,9 (C-1). Spektralni podaci su u saglasnosti sa literaturnim (Sankar et al., 2012).

Metil-2-acetil-2-propilpentanoat [15]: bezbojna uljasta tečnost; prinos: 76%; FTIR (ATR) cm^{-1} : 2962, 1741 (COOMe), 1716 (C=O), 1651, 1434, 1356, 1149, 1030; EIMS m/z (rel. int.): 200(1) [M^+], 158(34), 130(6), 129(100), 97(13), 73(7), 69(10), 59(6), 55(8), 43(23); izračunato za $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{O}_3$: C 65,97, H 10,06, O 23,97%; nađeno C 65,98, H 10,07, O 23,95%; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 3,72 (singlet, 3H, CH_3 -5), 2,11 (singlet, 3H, CH_3 -1), 1,92–1,72 (preklopljeni signali, 4H, CH_2 -1', 1''), 1,22–1,00 (preklopljeni signali, 4H, CH_2 -2', 2''), 0,92 (pseudo triplet, J = 7,0 Hz, 6H, CH_3 -3', 3''); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 205,3 (C-2), 173,2 (C-4), 63,6 (C-3), 52,1 (C-5), 33,7 (C-1', 1''), 26,7 (C-1), 17,3 (C-2', 2''), 14,4 (C-3', 3''). Spektralni podaci su u saglasnosti sa literaturnim (Wang i Tian, 1999).

3.5. Testiranje biološke aktivnosti estara

3.5.1. Testiranje *in vitro* aktivnosti

3.5.1.1. Korišćeni mikroorganizmi

Antibakterijska aktivnost odabranih sintetisanih jedinjenja ([2a – 2n], [2q], [3], [5], [6], [3f], [3g], [3i – 3k], [5h], [5k], [6h], [6k], [12a – 12h], [13a – 13h], [14] i [15]) testirana je na sojevima bakterija koji pripadaju American Type Culture Collection (Maryland, USA (ATCC)) ili predstavljaju kliničke izolate ili izolate iz hrane: Gram-pozitivne: *Sarcina lutea* (ATCC 9431),

S. lutea (izolat iz hrane), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *S. aureus* (ATCC 6538), *S. aureus* (izolat iz rane), *Bacillus cereus* (ATCC 9139), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), Gram-negativne: *Proteus mirabilis* (ATCC 12453), *P. mirabilis* (izolat iz urina), *Proteus vulgaris* (ATCC 8427), *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048), *E. aerogenes* (izolat iz rane), *Enterobacter cloacae* (izolat iz rane), *Escherichia coli* (ATCC 8739), *E. coli* (izolat iz fecesa), *E. coli* (izolat iz rane), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031), *K. pneumoniae* (izolat iz urina), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *P. aeruginosa* (izolat iz urina) i *Salmonella enterica* (ATCC 13076). Antifungalna aktivnost ([2a – 2n], [2q], [12a – 12h], [13a – 13h], [14] i [15]) testirana je na dve vrste gljivica: kvasac *Candida albicans* (ATCC 10231) i plesni *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404). Bakterijski sojevi su održavani na hranljivom agaru na temperaturi od 37 °C, dok su gljivice kultivisane na Saburo (*Sabouraud*) dekstroznom agaru (SDA) na 30 °C u mikrobiološkoj laboratoriji (Departman za biologiju i ekologiju, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Nišu).

3.5.1.2. Antimikrobna aktivnost

Ispitivanje antimikrobne aktivnosti je vršeno mikrodilucionom metodom (po preporukama *Clinical and Laboratory Standards Institute-CLSI*, 2007). Minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) je određena na osnovu testiranja niza razblaženja ispitivanih supstanci u mikrotitarskim pločama sa 96 bunarića. Bakterije korišćene za testiranje su kultivisane na 37 °C u Mueller Hinton agaru (MHA), a gljivice u SDA agaru na 30 °C. Nakon 18 h kultivisanja, suspenzija bakterija je napravljena u Mueller Hinton bujonu. Turbidimetrijskom metodom, korišćenjem denzitometra (DEN-1 McFarland Densitometer, Biosan), broj mikroorganizama je podešen na 0,5 jedinica na *McFarland*-ovoj skali. Krajnja koncentracija inokuluma bakterija i kvasca je iznosila 5×10^5 CFU/ml (CFU – colony-forming unit). Suspenzija plesni (*A. brasiliensis*) je napravljena u SD bujonu, i konačna veličina fungalnog inokuluma (1×10^4 CFU) je potvrđena brojanjem u Thoma komori. Uzorci za testiranje su pripremljeni rastvaranjem u dimetil-sulfoksidu (DMSO; u opsegu koncentracija 0,0025 – 6 mg/ml za jedinjenja [3] (0,015 – 36,59 mmol/l), [5] (0,015 – 36,59 mmol/l), [6] (0,015 – 36,59 mmol/l), [3f] (0,01 – 24,19 mmol/l), [3g] (0,01 – 24,19 mmol/l), [3i – 3k] (0,01 – 24,39 mmol/l), odnosno u opsegu 0,001 – 4 mg/ml za [12a – 12h], [13a – 13h], [14] i [15] ([12a] (0,003 – 12,74 mmol/l), [12b] (0,003 – 12,20 mmol/l), [12c] (0,0029 – 11,70 mmol/l), [12d] (0,0028 – 11,30 mmol/l), [12e] (0,0027 –

10,87 mmol/l), **[12f]** (0,0026 – 10,47 mmol/l), **[12g]** (0,0025 – 10,05 mmol/l), **[12h]** (0,0025 – 9,90 mmol/l), **[13a]** (0,0049 – 19,42 mmol/l), **[13b]** (0,0045 – 18,18 mmol/l), **[13c]** (0,0043 – 17,09 mmol/l), **[13d]** (0,0041 – 16,26 mmol/l), **[13e]** (0,0038 – 15,38 mmol/l), **[13f]** (0,0036 – 14,60 mmol/l), **[13g]** (0,0034 – 13,79 mmol/l), **[13h]** (0,0034 – 13,51 mmol/l), **[14]** (0,0051 – 20,41 mmol/l), **[15]** (0,005 – 20,0 mmol/l)). Finalna koncentracija DMSO-a u svakom bunariću je najviše iznosila 10% (v/v), za koju je ranije potvrđeno da ne utiče na rast testiranih sojeva. Rastvori etarskog ulja *Scandix pecten-veneris* (8 mg/ml) i čistih estara dugolančanih alkohola su pripremljeni u 0,05% (maseni procenat) vodenom rastvoru surfaktanta tvina 80 (Tween 80) u opsegu koncentracija 0,001 – 8,00 mg/ml (**[2a]** (0,0037 – 29,63 mmol/l), **[2b – 2d]** (0,0035 – 28,17 mmol/l), **[2e]** i **[2f]** (0,0034 – 26,85 mmol/l), **[2g – 2i]** (0,0032 – 25,64 mmol/l), **[2j]** i **[2k]** (0,0031 – 24,54 mmol/l), **[2l – 2o]** (0,0029 – 23,53 mmol/l), **[2p – 2r]** (0,0028 – 22,60 mmol/l)). U slučaju estara dugolančanih alkohola rastvarač (0,05% vodni ratsvor tvina 80) je korišćen kao negativna kontrola. Bakterijski inokulumi su dodati u sve bunariće koji sadrže jedinjenja u odgovarajućim koncentracijama i ploče su inkubirane na 37 °C u toku 24 h (u slučaju gljiva inkubacija je bila na 30 °C u toku 48 h). Streptomycin, hloramfenikol, tetraciklin i nistatin su korišćeni kao pozitivne kontrole dok je rastvarač (10%-tni vodeni rastvor DMSO-a ili acetona) korišćen kao negativna kontrola. Bakterijski rast je vizualizovan dodavanjem 20 µl 0,5%-tnog vodenog rastvora 2,3,5-trifeniltetrazolijum-hlorida (TTC) (Sartoratto et al., 2004). MIC je definisan kao najniža koncentracija jedinjenja koja je sprečavala vidljiv rast mikroorganizma, dok minimalna baktericidna/fungicidna koncentracija (MBC/MFC) označava najnižu koncentraciju koja je ubila 99,9% mikroorganizama. Testovi su ponavljani tri puta u triplikatu.

3.5.1.3. Inhibicija acetilholinesteraze

Dejstvo odabranih jedinjenja (**[1]**, **[1a]**, **[1b]**, **[1h]**, **[1i]**, **[3f – 3k]**, **[5h]**, **[5k]**, **[6h]**, **[6k]**) na aktivnost acetilholinesteraze (AChE) je mereno kolorimetrijski, na osnovu Elmanove (*Ellman*) metode (Adhami et al., 2012). U mikrotitarskim pločama sa 96 bunarića dodato je 25 µl 15 mM ACTI, 125 µl 3 mM DTNB u puferu A (50 mM Tris–HCl, pH 7,9 koji sadrži 0,1 M NaCl i 0,02 M MgCl₂), 50 µl pufera B (50 mM Tris–HCl, pH 7,9 koji sadrži 0,1% BSA) i 25 µl rastvora testiranih jedinjenja (0,156 – 40,000 µg jedinjenja u 1 ml 10% (v/v) DMSO). Apsorbancija rastvora (405 nm) je merena svakih 15 sekundi u toku 1 minuta (pet merenja). Nakon toga, 25 µl rastvora AChE (0,22 U/ml u puferu B) je dodato u svaki bunar, pa je ploča inkubirana 10 minuta

na 25 °C. Nakon ovog perioda, apsorbancija je ponovo merena na 15 sekundi (ukupno osam merenja). Kao negativna kontrola je korišćen 10%-tni vodeni rastvor DMSO-a. Apsorbancija koja je rezultat spontane hidrolize supstrata (apsorbancija merena pre dodavanja enzima (slepa proba)) oduzeta je od vrednosti apsorbancije nakon dodavanja AChE. Različite koncentracije fizostigmina (u opsegu 0,12 – 15 µmol/ml) korišćene su kao pozitivna kontrola. Svaki test, u triplicatu, ponovljen je tri puta.

3.5.1.4. Određivanje citotoksičnosti na fibroblaste pluća (MRC5) i ćelije melanoma (A375)

Humani fibroblast pluća (MRC5 linija ćelija (ATCC)) i ćelijska linija melanoma A375 (ATCC) su uzgajane u vlažnoj atmosferi 95% vazduha i 5% CO₂ (v/v, zasićen vlagom) na 37 °C, i održavane kao monoslojne kulture u RPMI-1640 medijumu koji je sadržavao 100 µg/ml streptomicina, 100 U/ml penicilina i 10% (v/v) *fetal bovine* seruma (FBS). MRC5 i A375 ćelije su tretirane sa dve koncentracije (50 µg/ml i 5 mg/ml) svakog testiranog jedinjenja u toku 24 h, a citotoksični efekat je kvantifikovan na osnovu smanjenja količine 3-(4,5-dimetiltijazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijum-bromida (MTT) (Hansen et al., 1989). Apsorbancija je merena na 490 nm na čitaču mikrotitarskih ploča (MTX Labsystems Inc., Vienna, WY, USA). Test je izveden dva puta u četiri ponavljanja, a rezultati su predstavljeni kao procenat u odnosu na vrednost kontrole (netretiranih ćelija; izražena kao 100%). Početno testiranje je izvršeno za 12 jedinjenja (eugenol [3], 2-alil-3-metoksifenol [5], 2-alil-5-metoksifenol [6], eugenil-2-metilbutanoat [3f], eugenil-3-metilbutanoat [3g], eugenil-senecioat [3j], eugenil-tiglat [3k], eugenil-angelat [3i], 2-alil-3-metoksifenil-valerat [5h], 2-alil-3-metoksifenil-tiglat [5k], 2-alil-5-metoksifenil-valerat [6h] i 2-alil-5-metoksifenil-tiglat [6k]). Pored toga, IC₅₀ vrednosti (koncentracija jedinjenja koja dovodi do 50% smanjenja vijabilnosti ćelija) određene su za 2-alil-5-metoksifenol [6], eugenil-2-metilbutanoat [3f] i eugenil-angelat [3i] za koje su testovi izvedeni u koncentracijama od 1 µg/ml do 1 mg/ml ([6] (6,1 µmol/l – 6,1 mmol/l), [3f] (4,03 µmol/l – 4,03 mmol/l), [3i] (4,1 µmol/l – 4,1 mmol/l)) nakon 48 časovne ćelijske inkubacije.

3.5.2. Testiranje *in vivo* aktivnosti

3.5.2.1. Eksperimentalne životinje

Miševi muškog pola soja BALB/c (20 ± 5 g) stari 5 nedelja dobijeni su iz Vivarijum Instituta za biomedicinska istraživanja, Medicinski fakultet, Univerzitet u Nišu. Životinje su čuvane u grupama od po šest miševa pod standardnim laboratorijskim uslovima: 12 h ciklusi svetla i mraka na 22 ± 2 °C sa stalno dostupnom hranom i vodom. Životinje su aklimatizovane na laboratorijske uslove najmanje 12 h pre testiranja (bez hrane, ali sa dostupnom vodom). Petnaest eksperimentalnih grupa i dve kontrolne (pozitivna i negativna kontrola), sa šest životinja po grupi, korišćeno je u testovima abdominalnih grčeva izazvanih acetilholinom (AChW) i testiranju osetljivosti na termalni nadražaj (Matheus et al., 2005). Osetljivost na termalni nadražaj određena je kod životinja (petnaest grupa) koje su intraperitonealno primile odabrana sintetisana jedinjenja ([1], [1a], [1b], [1h], [1i]; rastvor u maslinovom ulju) neposredno pre eksperimenata u dozama od 12,5, 25 i 50 mg/kg ([1] (0,082 mmol/kg – 0,33 mmol/kg), [1a] (0,069 mmol/kg – 0,28 mmol/kg), [1b] (0,064 mmol/kg – 0,26 mmol/kg), [1h] i [1i] (0,053 mmol/kg – 0,21 mmol/kg)), dok su dve grupe dobile morfijum 5 mg/kg (0,018 mmol/kg) ili maslinovo ulje. Za potrebe testiranja uticaja na nastanak abdominalnih grčeva izazvanih acetilholinom, životinje su primile odabrana jedinjenja ([1], [1a], [1b], [1h], [1i]) 1 h pre eksperimenata. Svi eksperimenti su sprovedeni u skladu sa principima zaštite i korišćenja laboratorijskih životinja u naučnim istraživanjima (Direktiva EEZ od 1986; 86/609/EEC) i odobrene su od strane lokalnog etičkog odbora.

3.5.2.2. Test abdominalnih grčeva izazvanih acetilholinom (*writhing test*)

Životinje su tretirane kao što je opisano u odeljku 3.5.2.1. Jedan sat nakon injektiranja jedinjenja data je i injekcija ACh (5 mg/kg), a broj abdominalnih grčeva (ekstenzija zadnjih ekstremiteta i abdomena) meren je tokom 5 min nakon injekcije (Bittencourt et al., 1995). Procenat inhibicije = $[\text{broj grčeva (kontrola)} - \text{broj grčeva (test)}] / \text{broj grčeva (kontrola)} \times 100$ (Radulović et al., 2013a).

3.5.2.3. Osetljivost na termalni nadražaj - metode vruće ploče (*hot-plate test*) i imerzije repa (*tail immersion test*)

Životinje tretirane kao u odeljku 3.5.2.1. su stavljene na vruću ploču (15, 30, 45, 60, 90 i 120 minuta nakon injektiranja testiranih jedinjenja) zagrejanu na 55 ± 1 °C ili je donji deo repova životinja potopljen u vodu zagrejanu na $50 \pm 0,5$ °C. Osnovna linija (BL) je definisana kao vreme potrebno da životinja reaguje na toplotni nadražaj 60 i 30 minuta pre injektiranja testiranih jedinjenja i morfina i predstavlja normalnu reakciju životinja na temperaturu. Povećanje vremena (%) potrebnog za reakciju (IB) je računato na osnovu formule: $((\text{vreme za reakciju} \times 100)/BL) - 100$ gde je BL vrednost osnovne linije. Antinociceptivnost je kvantifikovana kao površina ispod grafika zavisnosti (*area under the curve*; AUC) i računata kao zbir AUC1 ($AUC1 = 15 \times IB[(\min15)/2 + (\min30) + (\min45) + (\min60)/2]$) i AUC2 ($AUC2 = 30 \times IB[(\min60)/2 + (\min90) + (\min120)/2]$). Procenat produženja reakcije životinje pod dejstvom morfina, odnosno svake koncentracije testiranih jedinjenja je računat na osnovu formule: $\% = AUC/\max$; gde je $\max = [(20 \times 100)/BL - 100] \times 105$ (Matheus et al., 2005). Ako životinja nije reagovala 20 s u testu vruće ploče (*cut off*, vreme 20 s), odnosno 15 s u testu imerzije repa (*cut off*, vreme 15 s), smatralo se da je ona neosetljiva na tu draž (Matheus et al., 2005).

3.5.2.4. Određivanje akutne toksičnosti

Jedna kašika (oko 10 g) liofiliziranih cista račica (*Artemia salina*) je dodata u 1 l pripremljene veštačke morske vode (sastav: NaCl (23,926 g/l), Na₂SO₄ (4,008 g/l), KCl (0,677 g/l), NaHCO₃ (0,196 g/l), KBr (0,098 g/l), H₃BO₃ (0,026 g/l), NaF (0,003 g/l), MgCl₂ (5,077 g/l), CaCl₂ (1,147 g/l), SrCl₂ (0,014 g/l)). Većina cisti se, uz zagrevanje na 25 °C, aerisanje i osvetljavanje, transformisalo nakon 48 h. Nakon toga, po 20 nauplija je prebačeno u Petrijeve šolje koje sadrže testirana jedinjenja ([1], [1a], [1b], [1h], [1i], [3], [5], [3f], [3g], [3i – 3k], [5h], [5k], [6h]) rastvorena u DMSO-u i razblažena morskom vodom. Krajnje koncentracije testiranih jedinjenja u Petrijevim šoljama su bile u opsegu 0,2 – 0,0025 mg/ml za jedinjenja [1], [1a], [1b], [1h], [1i] i u opsegu 0,05 – 0,005 mg/ml za [3], [5], [3f], [3g], [3i – 3k], [5h], [5k], [6h], dok je konačna koncentracija DMSO-a bila manja od 1% (v/v). Pod tim uslovima, DMSO nije uticao na račiće i predstavljao je negativnu kontrolu. Račići nisu hranjeni u toku testiranja. Petrijeve šolje su držane na sobnoj temperaturi pod konstantnim izvorom svetlosti, ali nisu aerisane. Brojanje mrtvih račića je vršeno nakon 24, 48 i 72 h. LC₄₀ ili LC₅₀ (koncentracija koja je letalna za 40 ili

50% račića) je određena nakon statističke analize. Svi testovi su rađeni u triplikatu, a ponavljani su dva puta. Kao pozitivna kontrola su korišćene različite koncentracije natrijum-dodecilsulfata.

3.6. Statistička obrada podataka

Za statističku obradu dobijenih numeričkih podataka i utvrđivanja statističke značajnosti vrednosti korišćena je (ANOVA) analiza varijanse. Interval poverenja je u svim statističkim analizama bio 95%. Metoda analize glavne komponente (PCA) i aglomerativna hijerarhijska klaster analiza (AHC) vršene su pomoću *Excel plug-in* programa XLSTAT, verzija 2011.4.02 i 2012.6.02. Obe metode su primenjene na sledećim grupama varijabli: originalne varijable (procentualni sadržaj sastojaka koji je veći od 1% u uzorcima etarskih ulja ili MIC vrednosti antimikrobne aktivnosti) kao i zbir procenata klasa jedinjenja (monoterpeni, seskviterpeni, diterpeni, fenilpropanoidi, „green leaf“-derivati, benzaldehidi, alifatični estri, masne kiseline, derivati metabolizma masnih kiselina i ostalo). U slučaju AHC analize primenjeni su: Pirsonova (*Pearson*) razlika i Euklidova (*Euclidean*) udaljenost. Vršena PCA analiza je Pirsonovog (n) tipa.

3.7. In silico eksperimenti

3.7.1. Optimizacija geometrije molekula i izračunavanje NMR hemijskih pomeranja i konstanti spin–spin kuplovanja

Kvantno-mehanička izračunavanja za *trans*-sabinol [1] i nekoliko odabranih njegovih estara [1a – 1j] su vršena na DF nivou teorije (*density functional theory*), konkretno Beckeov triparametarnom hibridnom funkcijom zajedno sa Lee–Yang–Parro-vom korelacionom funkcijom, B3LYP. Za sve atome je korišćen osnovni set 6-311G** (d, p). Vrednosti hemijskih pomeranja protona i njihovih konstanti kuplovanja su bili izračunati korišćenjem GIAO-DFT metode (B3LYP, 6-311G** (d, p) osnovni set). Proračuni su izvedeni korišćenjem programskog paketa Gaussian 03 (Frisch et al., 2004).

3.7.2. Eksperimenti molekulskog dokovanja (ukotljavanja)

trans-Sabinol [1], njegovi estri [1a – 1j], kao i poznati AChE inhibitori (rivastigmin i fizostigmin) su dokovani u kristalnu strukturu acetilholin esteraze (AChE) iz vrste jegulje *Torpedo californica* (*Protein Data Bank* (PDB) kod: 1EA5). Svi eksperimenti dokovanja su

izvršeni korišćenjem AutoDock Vina 1.1.2 softvera (Trott i Olson, 2010), kao *blind docking* (dokovanje nije ograničavano na određeni deo proteina) (Rnjan et al., 2010). Zapremina proteina u koju se molekul dokuje (centar x, y, z = 4,91, 64,80, 56,36) obuhvata ceo enzim; veličina prostora za pretraživanje je bila $60 \times 66 \times 60$ Å. Ligandima je bila dozvoljena fleksibilnost u toku dokovanja dok su osnovni skelet receptora i bočni lanci bili potpuno fiksirani. Za svako dokovano jedinjenje je korišćena konformacija dobivena geometrijskom optimizacijom na DFT nivou (6–311**_(d,p) B3LYP). Autodock Tools, verzija 1.5.6 je korišćena za konvertovanje liganda i molekula receptora u odgovarajući (pdbqt) format za AutoDock Vina dokovanje. Isti program je bio korišćen za prikazivanje rezultata dokovanja (Sanner, 1999). Svi *in silico* eksperimenti su rađeni korišćenjem Intel® Core™ i7-3930K 3,20 GHz šestojezgarnog CPU procesora.

4. REZULTATI I DISKUSIJA

4.1. Kombinatorna biblioteka sabinil estara

4.1.1. Kreiranje kombinatorne biblioteke, sinteza i spektralna karakterizacija estara *trans*-sabinola

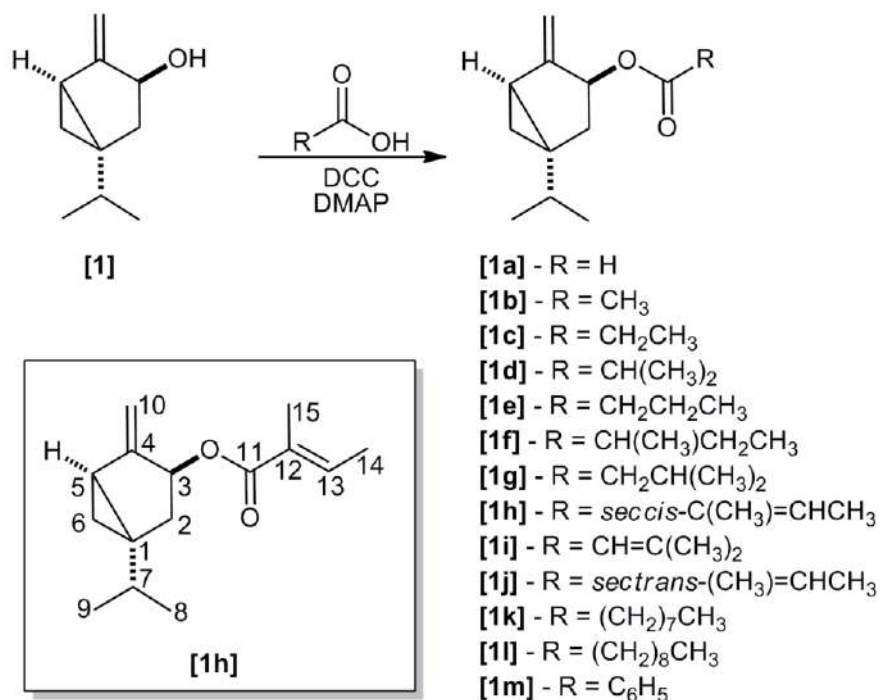
4.1.1.1. Kreiranje biblioteke i sinteza estara

GC-MS analizom uzoraka etarskih ulja nadzemnih delova biljnih vrsta *Achillea falcata* i *A. ageratifolia* subsp. *serbica*, kao i uzorka ulja korena *A. falcata* bilo je uočeno da su glavni sastojci ovih ulja *trans*-sabinol **[1]** i jedan od diastereoizomernih sabinil-acetata **[1b]**. Početna identifikacija glavnih sastojaka je bila bazirana na upoređivanju vrednosti retencionih indeksa i masenih spektara detektovanih sastojaka sa literaturnim vrednostima, odnosno spektrima (Adams, 2007; Cégiéla-Carlio et al., 2005; Mack et al., 2013). Parcijalne jonske struje (PIC; partial ion current) uzoraka ulja **Af1/Af2/As1/As2** (sastav je dat u prilogu 8.1.1), koje odgovaraju promeni intenziteta jona na m/z 91 sa vremenom, ukazivali su na prisustvo i drugih sastojaka sa veoma sličnom fragmentacijom kao što je ona kod glavnih sastojaka ulja - *trans*-sabinola i sabinil-acetata. S obzirom na njihovu malu relativnu zastupljenost u uljima (do nekoliko procenata) hromatografsko izolovanje iz ulja (veoma složene smeše od nekoliko stotina sastojaka) je bilo praktično nemoguće. Stoga je jedini logičan pristup bio sinteza male biblioteke estara *trans*-sabinola, a zatim i njihova ko-hromatografija sa uzorcima etarskog ulja. Broj jedinjenja koja su činila biblioteku je znatno smanjen uzimajući u obzir hromatografske osobine (retencioni indeksi) i fragmentaciju detektovanih sastojaka (o MS i RI analizi će biti detaljnije diskutovano u poglavlju 4.1.2.1). Standardi sabinil estara mravlje, propanske, izobutanske, butanske, 2-metilbutanske, 3-metilbutanske, (*E*)-2-metil-2-butenske (tiglinske), (*Z*)-2-metil-2-butenske (angelika), 3-metil-2-butenske, nonanske, dekanske i benzoeve kiseline su dobiveni polazeći od *trans*-sabinola korišćenjem Štegljihove procedure za esterifikaciju (slika 4.1.1).

4.1.1.2. Nomenklaturni problemi koji se tiču stereohemije derivata sabinola

Pretragom literature je uočeno da je prethodno korišćeno nekoliko načina za imenovanje stereoizomera sabinola i njihovih derivata. Na primer, u prethodnom ispitivanju biljne vrste *Achillea ageratifolia* subsp. *serbica*, koja je i deo istraživanja obuhvaćenih ovom doktorskom disertacijom, Simić i saradnici (Simić et al., 2000) su utvrdili da njeno etarsko ulje sadrži oko

40% „ β -sabinil-acetata”. Na osnovu odličnog slaganja neassigniranih ^1H NMR podataka „ β -sabinil-acetata” (CAS registarski broj 304898-00-8) sa našim podacima (videti Eksperimentalni deo) zaključili smo da se radi o identičnom estru sirćetne kiseline sa istim diastereoizomerom sabinola.



Slika 4.1.1. Shema sinteze estara *trans*-sabinola

Međutim, značenje stereodeskriptora „ β ” iskorišćenog u pomenutom radu je nejasno, a pored toga ne postoji povezana struktura sa pomenutim CAS brojem. Nakon detaljne pretrage literature, nismo našli nijedan drugi navod deskriptora „ β ” za razlikovanje dva diastereoizomera (obično označenih kao *cis* i *trans*) sabinil-acetata, ili bilo kod drugog derivata sabinola. Dodatno, u CAS bazi podataka sledeća imena su navedena kao sinonimi: *trans*-sabinol i (1*R**,3S*,5*R**)-4-metilen-1-(1-metiletil)biciklo[3.1.0]heksan-3-ol, i *trans*-sabinil-acetat i (1*R**,3R*,5*R**)-4-metilen-1-(1-metiletil)biciklo[3.1.0]heksan-3-il-acetat. Odmah je uočljivo suprotno značenje stereodeskriptora *trans* (relativna konfiguracija C-3 stereogenog centra) u alkoholu i njegovom acetatu. Generalno, značenje deskriptora „ β ” je nedvosmisleno u tri slučaja (IUPAC, 1997): ako je poznat referentni stereocentar (kao u šećerima); ako je relativna stereochemija na ovaj način iskazana svim stereogenim centrima (kao u CAS nomenklaturi); ili ako postoji definisana

apsolutna konfiguracija i dogovorena orijentacija strukture, tj. način prikazivanja strukture (kao kod steroida). U samom radu Simić i saradnici (Simić et al., 2000) nisu naveli dodatne informacije o stereochemiji identifikovanog estara, odnosno nije navedena literatura na osnovu koje je iskorišćen deskriptor „ β ”, pored toga nije data struktura sa iskazanom stereochemijom niti postoji deo diskusije koji se tiče stereochemije. Međutim, na osnovu poređenja NMR podataka, može se zaključiti da je „ β -izomer”, iz rada Simića i saradnika (Simić et al., 2000), izomer sa $1R^*,3S^*,5R^*$ -relativnom stereochemijom.

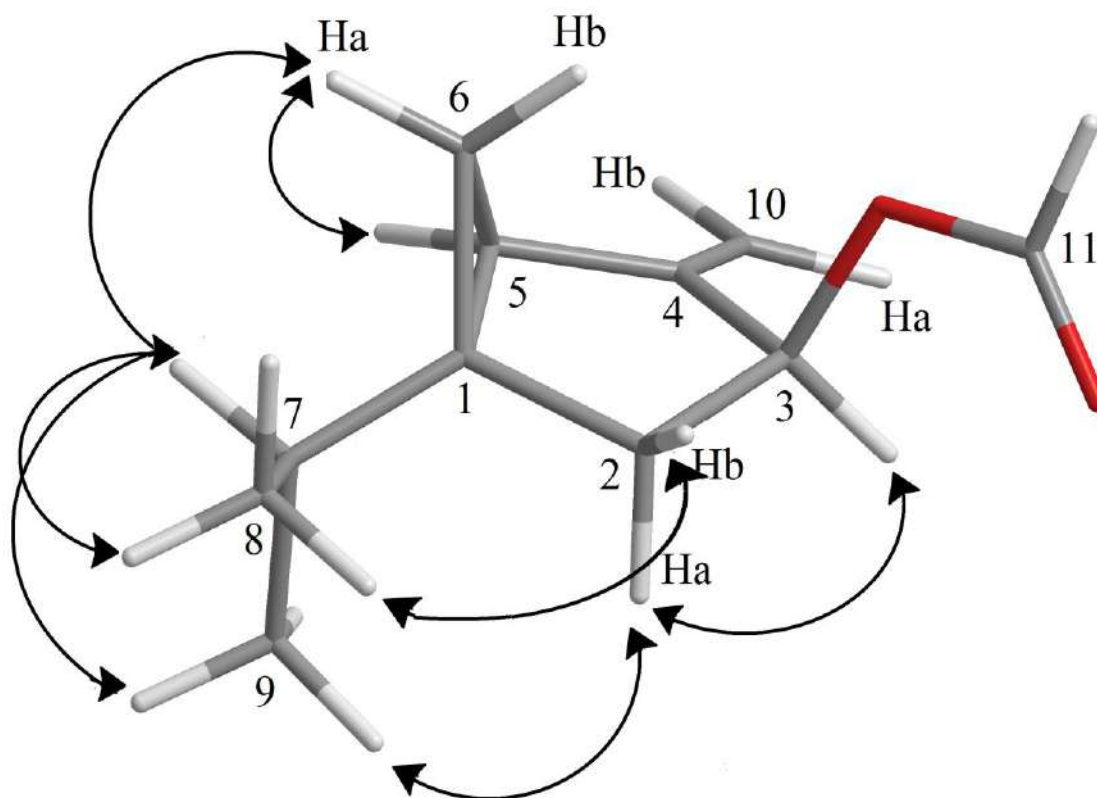
Na osnovu izloženog, može se zaključiti da *cis/trans*, odnosno β nisu pogodni kao stereodeskriptori za razlikovanje diastereoizomernih derivata sabinola; *cis/trans* zbog očigledne konfuzije (estri *trans*-sabinola su nazivani *cis*-sabinil-karboksilatima i obrnuto) i zato što korišćenje deskriptora β ne daje ikakvu stereochemijsku informaciju o ovom bicikličnom sistemu. Verujemo da je jedini način za razrešavanje ovog Gordijevog čvora korišćenje CIP (Cahn-Ingold-Prelog) sistema (IUPAC, 1997). Pošto su po IUPAC-u nazivi, čak i za takve relativno male molekule, veoma komplikovani, predlažemo korišćenje stereochemijske notacije ($1R^*,3S^*,5R^*$) ispred tradicionalnog imena, odnosno da se estri imenuju kao ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-karboksilati kada potiču iz *trans*-sabinola (($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinola), i ($1R^*,3R^*,5R^*$)-sabinil-karboksilati kada estri potiču od *cis*-sabinola (($1R^*,3R^*,5R^*$)-sabinola). Predlažemo ovaj način imenovanja derivata sabinola, a ne korekciju dosadašnje *cis/trans* nomenklature, jer mislimo da bi takva korekcija (prebacivanje *cis*-sabinil estara u *trans* i obrnuto) izazvalo još veću nomenklaturnu konfuziju.

4.1.1.3. NMR spektralna karakterizacija odabranih jedinjenja biblioteke

trans-Sabinol [**1**] i *cis*-sabinol, oba poznata prirodna proizvoda (često prisutni kao isparljivi biljni metaboliti), su diastereoizomeri koji se razlikuju samo u stereochemiji na stereogenom centru C-3 (slika 4.1.1): ($1R^*,3S^*,5R^*$)- odnosno ($1R^*,3R^*,5R^*$)-4-metilen-1-(1-metiletil)-biciklo[3.1.0]heksan-3-ol. U cilju nedvosmislenog određivanja identiteta (a naročito relativne stereochemije) alkohola i estara iz kreirane male biblioteke sabinil estara, izvršili smo detaljnu 1D- i 2D-NMR analizu alkohola [**1**] i nekih od njegovih sintetisanih estara (koji su deo biblioteke, a koji su identifikovani kao glavni sastojci etarskog ulja biljnih vrsta *Achillea falcata* i *A. ageratifolia* subsp. *serbica*, i odabranih novih jedinjenja iz biblioteke). Važno je napomenuti da je detaljnom pretragom literature ustanovljeno da ne postoje 2D-NMR spektralni podaci za

trans-sabinol **[1]** i (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetat **[1b]**, dok su sintetisani estri **[1a]**, **[1h – 1m]** nova jedinjenja (bez spektralnih podataka u literaturi).

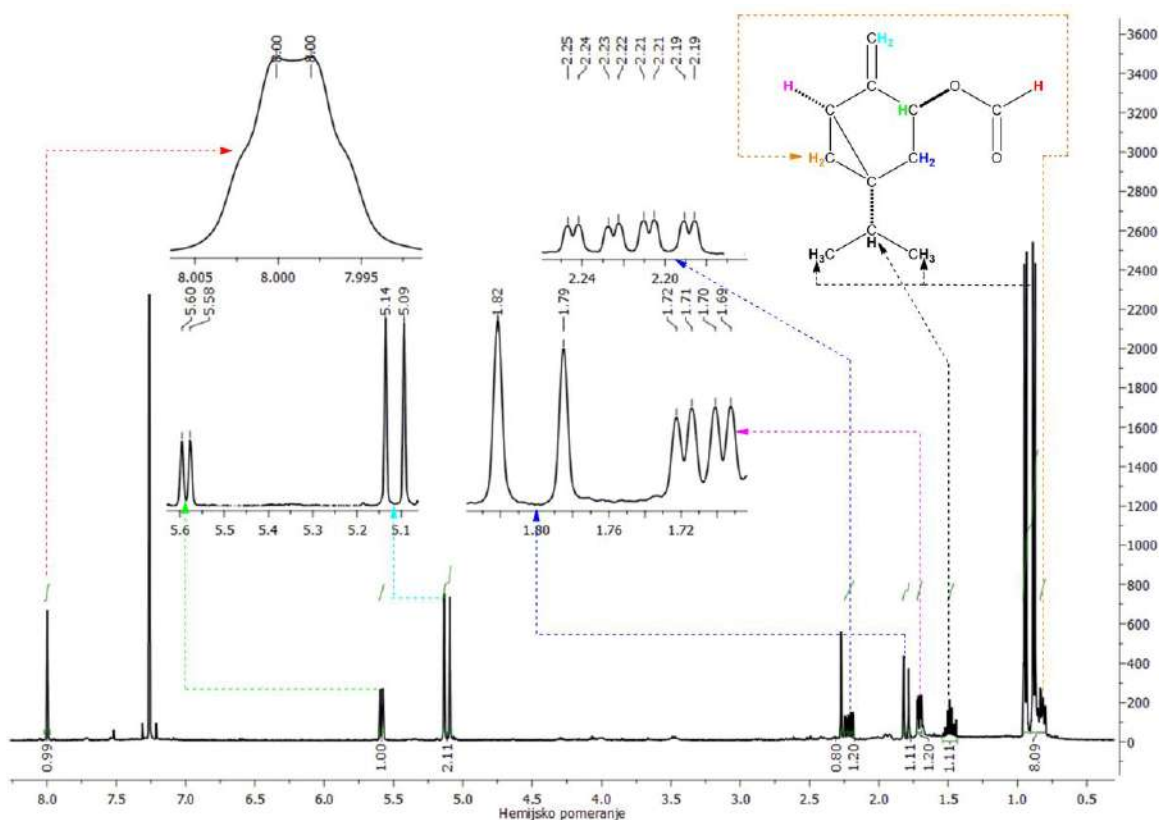
Da bi olakšali potpunu asignaciju $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ NMR signala, izvršena je optimizacija geometrije analiziranih jedinjenja na B3LYP-DFT nivou teorije (6-311**(d,p) osnovni set) i izračunate su odgovarajuće spin-spin konstante kuplovanja, kao i $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ hemijska pomeranja. Konformer jedinjenja **[1a]** sa najmanjom energijom je prikazan na slici 4.1.2; konformeri sa najmanjom energijom ostalih pomenutih jedinjenja su analogni ovoj konformaciji. Optimizovana geometrija (konformacija lađe: C-3 je orijentisan ka ciklopropil delu, dok je ugao između C-2–C-3–C-4 i C-1–C-5–C-6 ravni oko 21°) se u potpunosti slaže sa predhodno objavljenom konformacionom analizom tujana i srodnih jedinjenja (Norin et al., 1973).



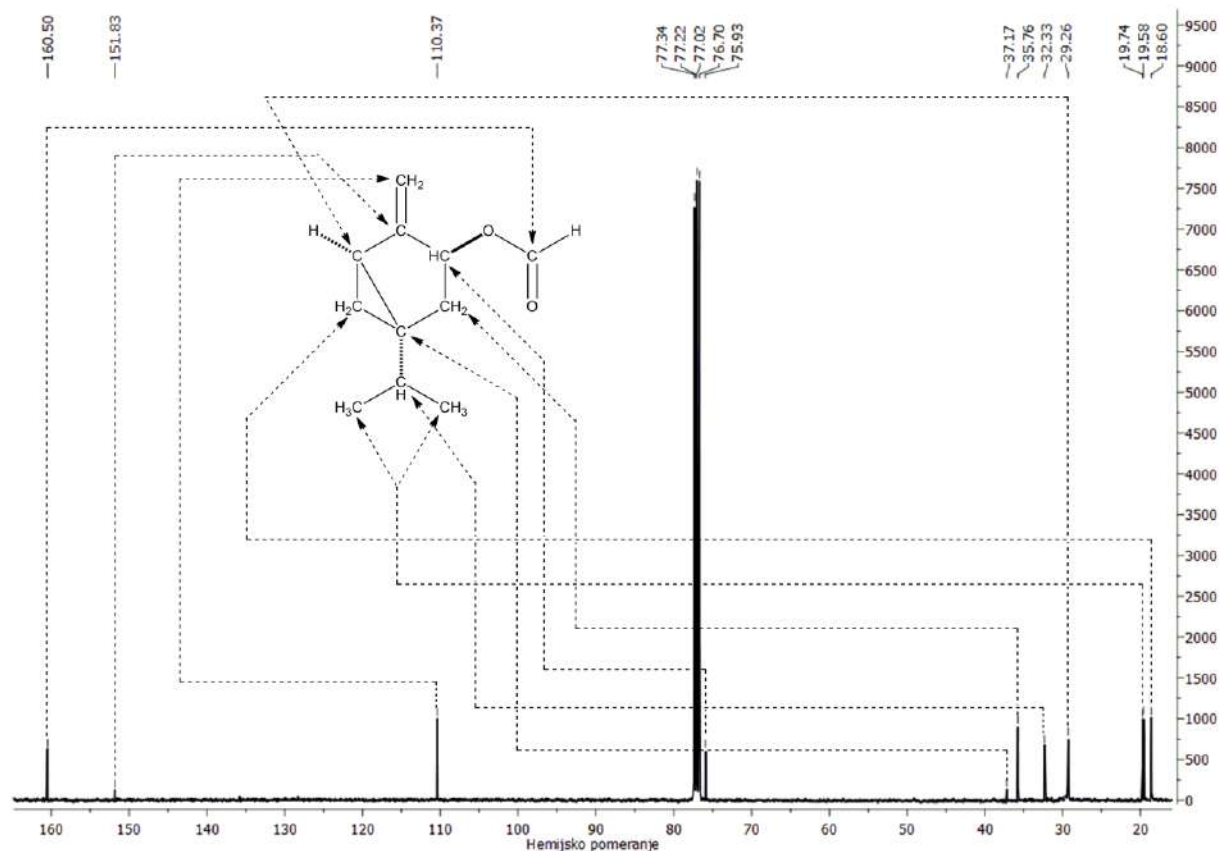
Slika 4.1.2. Optimizovana geometrija (DFT nivo teorije) i važne, eksperimentalno opažene (označene strelicama), NOESY interakcije (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata

Za sva sintetisana jedinjenja iz biblioteke, potpuna asignacija ^1H i ^{13}C NMR signala je bila bazirana na detaljnoj analizi 1D (uključujući ^1H spektre sa homonuklearnim i ^{13}C spektre bez heteronuklearnog dekuplovanja, DEPT90 i DEPT135) i 2D spektara (^1H - ^1H COSY, NOESY, HMBC i HSQC). Asignacija signala je diskutovana samo za formijat **[1a]** i nonanoat **[1k]**; u slučaju svih ostalih estara, asignacija je bila u potpunosti analogna (videti eksperimentalni deo, poglavlje 3.4.1.3 i tabelu 4.1.1).

^1H i ^{13}C NMR spektri formijata **[1a]** su sadržali očekivani broj signala na osnovu pretpostavljene strukture estra (slike 4.1.3 i 4.1.4). Dva dubleta na 0,88 i 0,94 ppm (svaki odgovara integralu od 3 protona) su asignirani kao diastereotopne metil grupe iz izopropil grupe (C-8 i C-9 protoni). Ovi protoni su se kuplovali sa jednim protonom (septuplet) na 1,48 ppm ($^3J = 6,8$ Hz). Povezivanje (HSQC NMR eksperiment) pomenutih ^1H sa odgovarajućim ^{13}C signalima omogućilo je asignaciju ^{13}C NMR signala ugljenikovih atoma iz izopropil grupe (C-7 – 32,3 ppm, C-8 i C-9 – 19,6 ppm i 19,7 ppm).



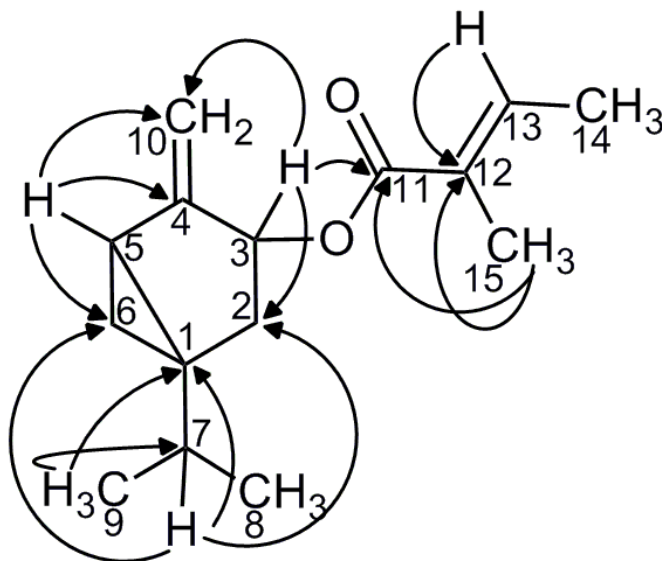
Slika 4.1.3. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-formijata **[1a]** (signal na 2.27 potiče od zaprljanja iz rastvarača)



Slika 4.1.4. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata [1a]

Pored toga, u HMBC spektru je uočena korelacija između svih protona iz izopropil grupe i ugljenika na 37,7 ppm. Na osnovu ovoga ovaj signal (neprotonovani ugljenik; informacija iz DEPT90 i DEPT135 spektara) pripisan je C-1 ugljeniku. Dodatno, C-7 proton se daljinski kuplovao (HMBC spektar) sa ugljenicima čiji su signali na 35,8 i 18,6 ppm (slika 4.1.5). Na osnovu HSQC spektra, signal ugljenika na 35,8 ppm je bio direktno povezan sa protonima čiji se signali u ^1H NMR spektru nalaze na 2,22 i 1,80 ppm. Ovi protoni se kupluju sa protonom čiji je signal 5,59 ppm (direktno vezan za ugljenik na 75,9 ppm) koji je pritom pokazivao HMBC korelaciju sa sp^2 -hibridizovanim ugljenikom (110,4 ppm) i onim iz formil grupe (160,5 ppm; direktno vezanog za proton čiji je signal na 8,00 ppm). Slično tome, signal ugljenikovog atoma metilenske grupe na 18,6 ppm je pokazivao HSQC korelaciju sa protonima na hemijskim pomeranjima od 0,82 i 0,95 ppm i HMBC korelaciju sa vodonikom čiji se signal nalazio na 1,71 ppm. Signal protona na 1,71 ppm (vezan za ugljenik čiji se signal nalazio na 29,3 ppm) je pokazivao HMBC korelacije sa neprotonovanim sp^2 -hibridizovanih ugljenikom (C-4; 151,8

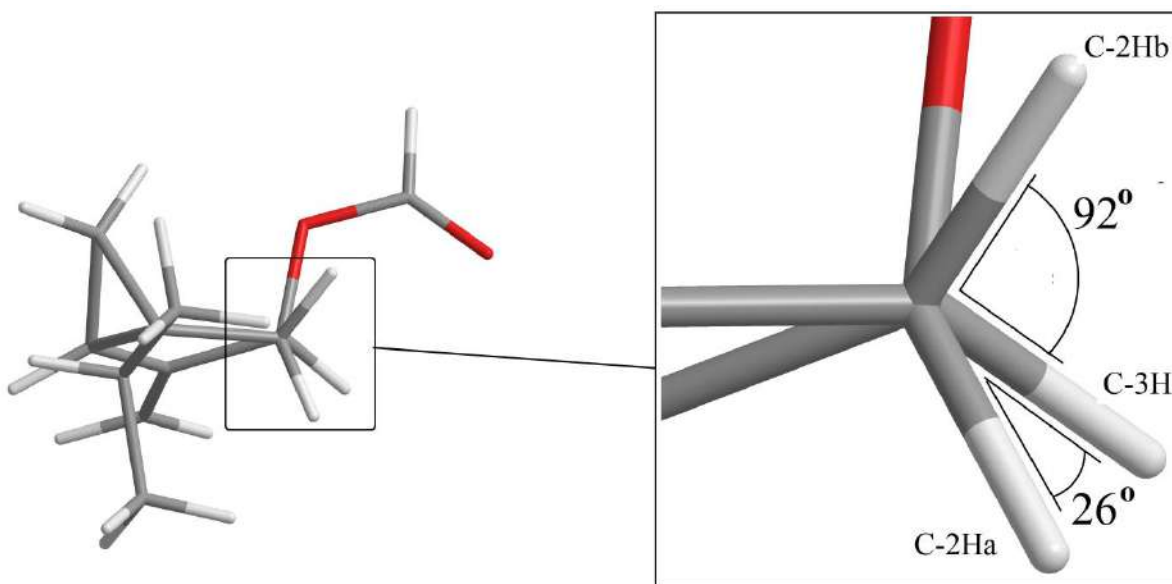
ppm) i ugljenikom čiji je signal na pomeranju od 110,4 ppm (za ovaj ugljenikov atom su direktno vezani protoni koji se javljaju na 5,09 i 5,14 ppm). Na osnovu ovih korelacija, ^1H NMR rezonance na 2,22 i 1,80 ppm su asignirane C-2 protonima; rezonanca na 5,59 ppm C-3 protonu, a rezonance na 1,71 i 0,82 ppm C-6 protonima. ^1H NMR signal na najjačem polju (8,00 ppm) je, na osnovu vrednosti hemijskog pomeranja u ^1H NMR spektru i pokazanim korelacijama u HSQC i HMBC spektrima, dodeljen formil (C-11) protonu.



Slika 4.1.5. Odabrane HMBC interakcije (1R*,3S*,5R*)-sabinil-formijata **[1a]** korišćene u rasvetljavanju strukture

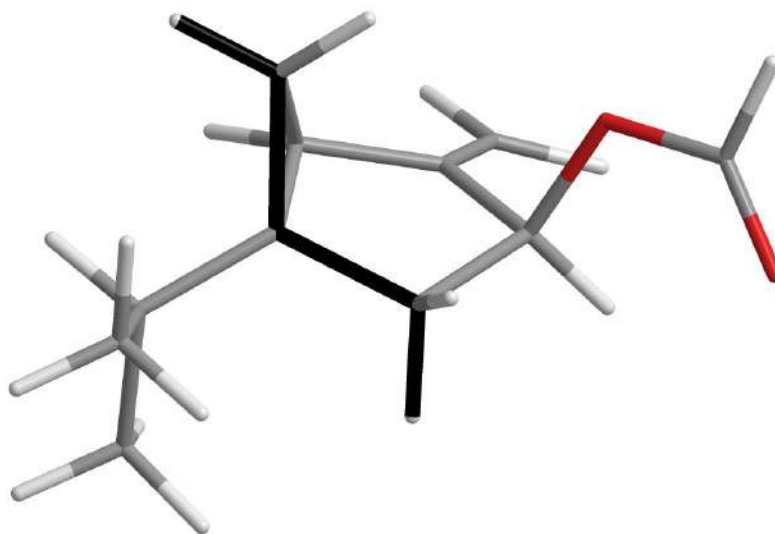
Pored geminalnog kuplovanja ($^2J = 14,6$ Hz), C-2 proton na višem hemijskom pomeranju (2,22 ppm; široki dublet dubleta dubleta) se takođe kupluje i sa C-3 protonom ($^3J = 7,8$ Hz) i jednim od C-6 protona (vodonikom čiji se signal nalazi na 0,82 ppm; daljinsko kuplovanje $^4J = 2,0$ Hz). Sa druge strane, drugi C-2 proton se jedino vidljivo geminalno kuplovao ($^2J = 14,6$ Hz) sa jednim (C-2) protonom. Na osnovu ovoga i konformacije najmanje energije, koja je predstavljena na slici 4.1.2, signal na pomeranju 2,22 ppm potiče od C-2H_a (*pro-R*) protona, a signal na 1,80 ppm od C-2H_b (*pro-S*) protona. Torzioni ugao između C-2H_a i C-3H u predloženom modelu je bio 26° (sinperiplanarna orijentacija; na osnovu čega se očekuje velika vrednost konstante kuplovanja), dok je torzioni ugao između C-2H_a i C-3H u predloženom modelu bio 92° (slika 4.1.6; nije se očekivalo jako kuplovanje ovih protona). W-geometrija C-2H_a-C-2-C-1-C-6-C-6H_a fragmenta (slika 4.1.7) objašnjava uočeno daljinsko kuplovanje

između C-2H_a i C-6H_a (0,82 ppm); izračunata (DFT) vrednost spin-spin kuplovanja je bila +1,4 Hz. Na osnovu pretpostavljene geometrije formijata, ne očekuje se takvo kuplovanje u slučaju C-2H_b ili C-6H_b (0,95 ppm) protona; u prilog tome govore i male vrednosti izračunatih *J* za odgovarajuće parove protona. Takođe, C-2H_a–C-2–C-1–C-5–C-5H fragment (slika 4.1.8) je imao približno W-geometriju (izračunata vrednost spin-spin kuplovanja je iznosila -0,5 Hz). Ovo sprezanje je potvrđeno eksperimentom selektivnog homonuklearnog dekoplovanja; kada je ozračen signal C-5H protona tada je signal C-2H_a protona postao značajno oštiji.

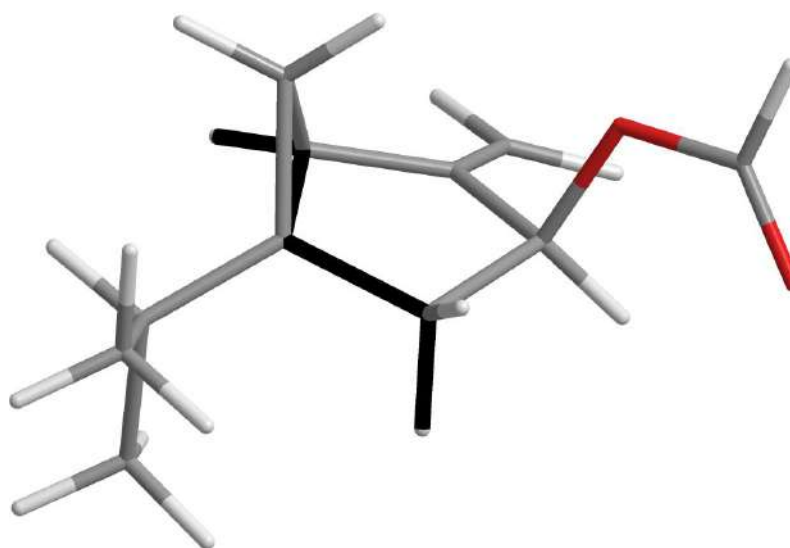


Slika 4.1.6. Torzioni uglovi između C-2H_a (*pro-R*) i C-3H (26°; sinperiplanarna orijentacija) i C-2H_b (*pro-S*) i C-3H protona (92°) u optimizovanoj geometriji (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata

Multipletnost i vrednosti konstanti kuplovanja signala C-2 i C-3 protona se mogu iskoristiti za određivanje relativne stereochemije *trans*-sabinola i njegovih estara. Kao što je opisao Norin sa saradnicima (Norin et al., 1973), i kao što se očekivalo na osnovu vrednosti odgovarajućih diedralnih uglova, u slučaju *cis*-sabinola, konstante kuplovanja C-2H_b i C-3 protona su uporedive sa vrednostima konstanti kuplovanja C-2H_a i C-3 protona; to znači da je u *cis*-sabinolu i njegovim estrima signal C-2H_b protona, najverovatnije, dublet dubleta sa konstantama kuplovanja ²*J* oko 14 Hz i ³*J* oko 7 Hz. Vrednosti hemijskih pomeranja i oblici signala u ¹H NMR spektrima analiziranih jedinjenja su se u potpunosti slagali sa predhodno objavljenim vrednostima za *trans*-sabinol (Norin et al., 1973).

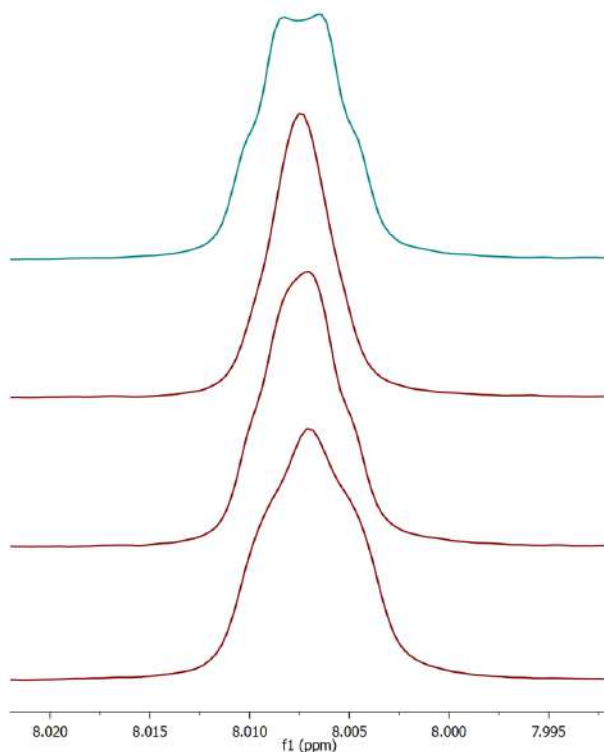


Slika 4.1.7. W-geometrija C-2H_a-C-2-C-1-C-6-C-6H_a fragmenta (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata (odgovarajuće veze su prikazane crnom bojom; numeracija atoma ugljenika i vodonika je prikazana na slici 4.1.2)



Slika 4.1.8. W-geometrija C-2H_a-C-2-C-1-C-5-C-5H fragmenta (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata (odgovarajuće veze su prikazane crnom bojom; numeracija atoma ugljenika i vodonika je prikazana na slici 4.1.2)

Interesantno, signal formil protona je pseudokvartet (slika 4.1.9). Eksperimentima selektivnog homonuklearnog dekuplovanja je utvrđeno da se formil proton kupluje sa protonom C-3H ($^4J = 0,8$ Hz) i sa oba C-2 protona (vrednosti odgovarajućih konstanti 5J su bile manje od 1 Hz). Izračunate vrednosti spin-spin konstanti kuplovanja 4J i 5J za formil proton su -0,9 (C-3H), +0,6 (C-2H_b), i +0,1 Hz (C-2H_a) i slažu se (apsolutne vrednosti) sa eksperimentalno dobivenim vrednostima, kao i sa rezultatima predhodnih analiza konstanti daljinskog kuplovanja u estrima mravlje kiseline (Hayamizu and Yamamoto, 1967). Predložena relativna stereochemija, odnosno optimizovana konformacija (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata, bile su u skladu sa uočenim nOe korelacijama protona (slika 4.1.2). Na primer, bile su uočene nOe korelacije između protona C-2H_a i C-3H, C-6H_a i C-5H, C-9H i C-7H. Zbog male razlike u hemijskom pomeranju signala C-6H_b (0,95 ppm) i C-9H (0,94 ppm), postojanje nOe korelacije između C-6H_b i C-2H_b protona nije bilo moguće sa sigurnošću ni potvrditi niti odbaciti.



Slika 4.1.9. Oblik ^1H NMR signala formil protona (pseudo kvartet; signal prvi odozgo) (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata i promene oblika ovog signala nakon ozračivanja C-3H, C-2H_a i C-2H_b protona (eksperimenti selektivnog homonuklearnog dekuplovanja; redom odozgo na dole; numeracija atoma ugljenika i vodonika je prikazana na slici 4.1.2)

Signali protona iz sabinil dela ostalih analiziranih estara iz kombinatorne biblioteke su imali veoma slična hemijska pomeranja (u istom deuterisanom rastvaraču – CDCl_3)/multipletnost kao i protoni iz (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata. Na primer, signali C-5H su bili u opsegu 1,66 – 1,77 ppm; signali C-7H su bili u opsegu 1,45 – 1,48 ppm, itd. Kao što je bilo očekivano, najveće razlike u spektrima *trans*-sabinola i njegovih estara su bile prisutne u hemijskim pomeranjima protona koji su blizu OH/estarske grupe. U poređenju sa hemijskim pomeranjem protona C-3 u estrima (ovaj proton je vezan za isti ugljenik kao i estarska (-OCOR) grupa), C-3 proton u spektru jedinjenja **[1]** je pomeren ka višem polju za do 1,14 ppm; C-2 protoni su bili pomereni ka višem polju za maksimalno 0,15 ppm; C-10H_a/H_b su bili pomereni ka višem polju za 0,13 ppm. Potpuna asignacija signala NMR spektara ostalih estara iz biblioteke je navedena u eksperimentalnom delu (poglavlje 3.4.1.3) i tabeli 4.1.1.

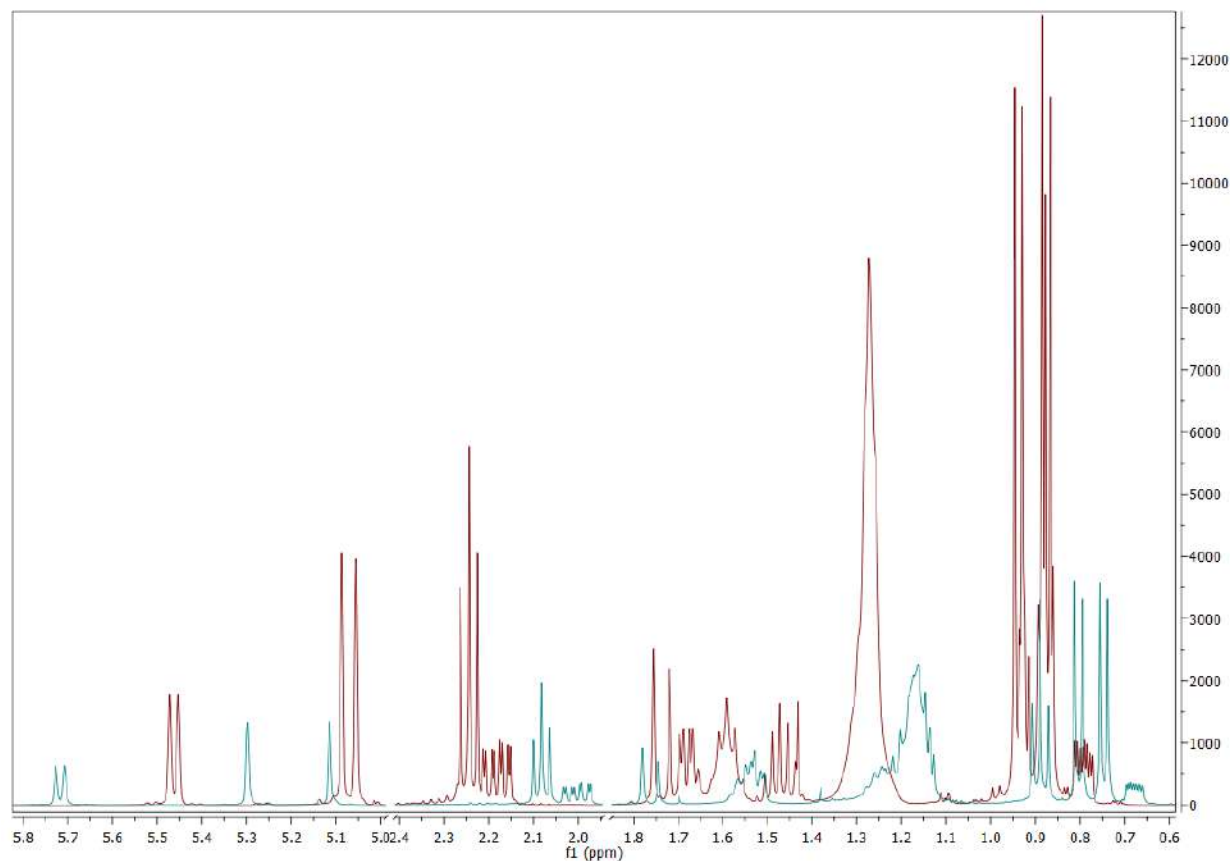
Pretragom literature, ustanovljeno je da postoji samo jedna prethodna studija sa kompletnom NMR asignacijom estra sirćetne kiseline i jednog od diastereoizomernih sabinola (Cégiéla-Carlioze et al., 2005). Nažalost, autori ovog rada nisu definisali da li je analizirano jedinjenje bilo estar *cis*- ili *trans*-sabinola. Uočena razlika u hemijskim pomeranjima u ovoj disertaciji i ^1H i ^{13}C NMR spektara sabinil-acetata iz rada Cégiéla-Carlioze i saradnika (snimljenih u istom rastvaraču) može biti posledica razlike u stereochemiji C-3 ugljenika. Pored formijata, u ovom delu će biti i detaljno opisana NMR asignacija estara *trans*-sabinola sa dugolančanim kiselinama (nonanskom i dekanskom kiselinom). Za nonanoat i dekanat su 1D- (^1H (slika 4.1.10) i ^{13}C , uključujući ^1H spektre sa homonuklearnim i ^{13}C spektre bez heteronuklearnog dekuplovanja, DEPT90 i DEPT135) i 2D- (^1H – ^1H COSY, NOESY, HSQC, HMBC) NMR spektri snimljeni u dva rastvarača (CDCl_3 i C_6D_6).

Podaci iz dobivenih spektara su omogućili asignaciju ^1H i ^{13}C NMR signala na analogan način kao i u slučaju (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata. ^1H i ^{13}C NMR podaci nonanoata **[1k]** su predstavljeni u tabeli 4.1.1 (za dekanat **[1l]** asignacija je navedena u eksperimentalnom delu (poglavlje 3.4.1.3)). Pored stereochemijskih informacija iz NOESY spektara i vrednosti konstanti kuplovanja u ^1H NMR i ^{13}C NMR spektru bez heteronuklearnog dekuplovanja, određivanje stereochemije jedinjenja **[1k]** i **[1l]**, olakšano je eksperimentima homonuklearnog dekuplovanja i eksperimentima sa dodatkom lantanidnog reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$). Spektralni podaci oba jedinjenja su bili veoma slični i zbog toga će u ovom delu biti razmatrana samo spektralna karakterizacija jednog od njih – nonanoata.

Tabela 4.1.1. NMR spektralni podaci (1R*,3S*,5R*)-sabinil-nonanoata i eksperimentalne ΔE_u vrednosti pomeranja protona (^1H) i ugljenika (^{13}C)

Položaj	δ_{H} (ppm) ^a	δ_{H} (ppm) ^b	ΔE_{uH} ^c	δ_{C} (ppm) ^a	δ_{C} (ppm) ^b	ΔE_{uC} ^c
1				37,1 (široki s)	37,2	2,54
2 _a	2,18 (1H, ddd, $J = 14,5, 7,7, 2,2$ Hz)	2,00 (1H, ddd, $J = 14,4, 7,7, 2,1$ Hz) ^e	2,40	35,9 (široki t, $J = 131,1$ Hz)	36,1	4,38
2 _b ^d	1,74 (1H, d, $J = 14,5$ Hz)	1,76 (1H, d, $J = 14,4$ Hz) ^e	5,33			
3 ^d	5,46 (1H, široki d, $J = 7,7$ Hz)	5,72 (1H, široki d, $J = 7,7$ Hz)	11,40	75,9 (pseudo ddq, $J = 155,4, 12,1, 6,1$ Hz)	75,8	4,89
4				152,4 (široki s)	152,8	2,35
5 ^d	1,68 (1H, dd, $J = 8,5, 3,4$ Hz)	1,52 (1H, dd, $J = 8,5, 3,4$ Hz)	1,67	29,4 (široki d, $J = 160,1$ Hz)	29,8	2,68
6 _a	0,79 (1H, ddd, $J = 8,5, 4,4, 2,2$ Hz)	0,68 (1H, ddd, $J = 8,5, 4,3, 2,1$ Hz) ^e	1,87			
6 _b	0,92 (1H, dd, $J = 4,4, 3,4$)	1,14 (1H, dd, $J = 4,3, 3,4$) ^e	3,86	18,7 (široki pseudo t, $J = 161,4$ Hz)	18,9	2,87
7	1,47 (1H, sept, $J = 6,8$ Hz)	1,16-1,22 (9H, preklopljeni signali)	/	32,4 (široki d, $J = 123,5$ Hz)	32,6	0,95
8	0,88 (3H, d, $J = 6,8$ Hz); 0,94 (3H, d, $J = 6,8$ Hz)	0,75 (3H, d, $J = 6,8$ Hz) ^e	0,59	19,6 (pseudo qquint, $J = 124,9, 4,8$ Hz)	19,7	0,54
9		0,80 (3H, d, $J = 6,8$ Hz) ^e	0,40	19,8 (pseudo qquint, $J = 124,8, 4,8$ Hz)	19,8	0,27
10 _a ^d		5,30 (1H, s) ^e	4,13	109,7 (dddd, 159,2, 156,3, 2,8, 2,5 Hz)	110,0	3,54
10 _b ^d	5,09 (1H, s); 5,06 (1H, s)	5,11 (1H, s) ^e	1,73	173,2 (dttd, $J = 7,1, 4,3, 3,9, 2,9$ Hz)	172,4	2,35
11				34,8 (pseudo tquint, $J = 127,9, 3,5$ Hz)	34,8	16,11
12	2,24 (2H, t, $J = 7,5$ Hz)	2,08 (2H, t, $J = 7,4$ Hz)	9,00	25,0 (br tquint, $J = 127,2, 3,8$ Hz)	25,3	8,31
13	1,59 (2H, quint, $J = 7,5$ Hz)	1,56 (2H, quint, $J = 7,5$ Hz)	5,20	29,0 ^e preklopljeni signali	29,4 ^d	3,18
14		$\approx 1,17^f$	2,75	29,2 ^e preklopljeni signali	29,6 ^d	1,45
15-16				29,1 ^e preklopljeni signali	29,5 ^d	0,76
17	1,23-1,31 (10H, preklopljeni signali)	1,16-1,22 (9H, preklopljeni signali)	/	31,8 preklopljeni signali	32,2	0,41
18		1,24 (2H, sext, $J = 7,0$ Hz)	0,00	22,7 (široki t, $J = 124,3$ Hz)	23,0	0,14
19	0,88 (3H, t, $J = 6,9$ Hz)	0,89 (3H, t, $J = 7,0$ Hz)	0,00	14,1 (široki qquint, $J = 124,3, 3,7$ Hz)	14,3	0,00

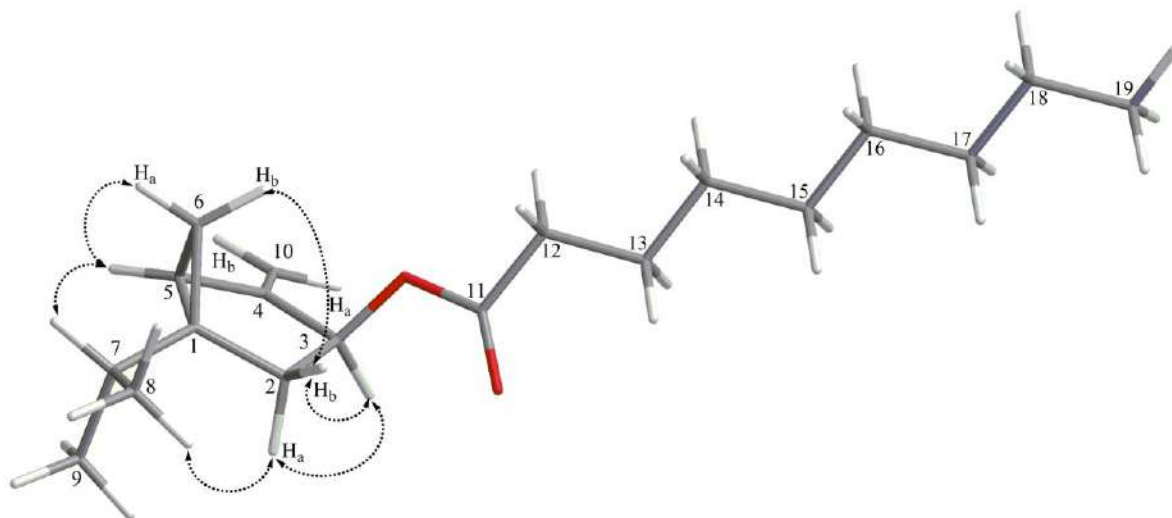
^aNMR spektri snimani na 25 °C u CDCl_3 . ^bNMR spektri snimani na 25 °C u C_6D_6 . ^cEksperimentalne ΔE_u vrednosti za protone (ΔE_{uH}) i ugljenike ^{13}C (ΔE_{uC}). ^dDodatna ^1H - ^1H kuplovanja ($J_{2b-3} = 0,9$ Hz, $J_{3-5} = 0,7$ Hz, $J_{3-10a} \approx 1,0$ Hz, $J_{3-10b} \approx 1,0$ Hz, $J_{5-10a} = 0,9$ Hz, $J_{5-10b} = 0,9$ Hz) su određena eksperimentima ^1H homonuklearnog dekuplovanja. ^eAsignacija je potvrđena NMR eksperimentom sa dodatkom reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$). ^fHemijska pomeranja su određena ekstrapolacijom grafičke zavisnosti $[\text{Eu}(\text{fod})_3]/[\text{trans-sabinil-nonanoat}]$ za vrednost $[\text{Eu}(\text{fod})_3] = 0$. / Izračunavanje ΔE_u nije moguće zbog preklapanja signala u ^1H NMR spektru snimljenom bez $\text{Eu}(\text{fod})_3$, kao i u spektrima nakon dodatka $\text{Eu}(\text{fod})_3$ u molskom odnosu 0,07 – 0,21. Skraćenice: d – dublet, dd – dublet dubleta, ddd – dublet dubleta dubleta, dddd – dublet dubleta dubleta dubleta, sept – septuplet, s – singlet, sext – sekstuplet, t – triplet, quint – kvintet, ddq – dublet dubleta kvarteta, tquint – triplet kvinteta, qquint – kvartet kvinteta.



Slika 4.1.10. Preklopljeni ^1H NMR spektri ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-nonanoata snimljeni u CDCl_3 (prikazan crvenom bojom) i C_6D_6 (prikazan plavom bojom)

Relativna stereohemija tri stereogena centra (*cis* kondenzacija tročlanog i petočlanog prstena i *cis* orijentacija RCOO- grupe i ciklopropana) je inicijalno pretpostavljena na osnovu analize NOESY spektra snimljenog u C_6D_6 (slika 4.1.11) i vrednosti konstanti $^1\text{H-}^1\text{H}$ kuplovanja. Diedralni uglovi nonanoata **[1k]** su procenjeni iz MM2 optimizovanog modela (ChemBio 3D Ultra 12.0, CambridgeSoft) estera u kome je prsten ciklopentana u konformaciji „otvorene koverte” (ugao između ravni C-1-C-2-C-4-C-5 i C-2-C-3-C-4 od 10 do 15°), koja je bila očekivana (Norin et al., 1973). U ovom modelu torzioni ugao između C-2H_a i C-3H je iznosio 17,9° (skoro sinperiplanarna orijentacija), a između C-2H_b i C-3H 91,4°. Vrednost ugla od 91,4° govori o veoma maloj vrednosti konstante kuplovanja između C-2H_b i C-3H protona, što je u skladu sa eksperimentalno određenim vrednostima (0,9 Hz) za nonanoat **[1k]**. Pored ovog kuplovanja C-3H protona, selektivnim homonuklearnim deкупlovanjem su uočena i kuplovanja ovog protona sa C-5H, C-10H_a i C-10H_b protonima ($J_{3-5} = 0,7 \text{ Hz}$, $J_{3-10a} \approx 1 \text{ Hz}$, i $J_{3-10b} \approx 1 \text{ Hz}$).

Takve vrednosti konstanti kuplovanja su bile očekivane za ovako rigidnu strukturu u kojoj je C-3H skoro koplanaran sa C-5H, C-10H_a i C-10H_b, a što je moguće samo u slučaju 1*R**,3*S**,5*R**-dijastereoizomera.

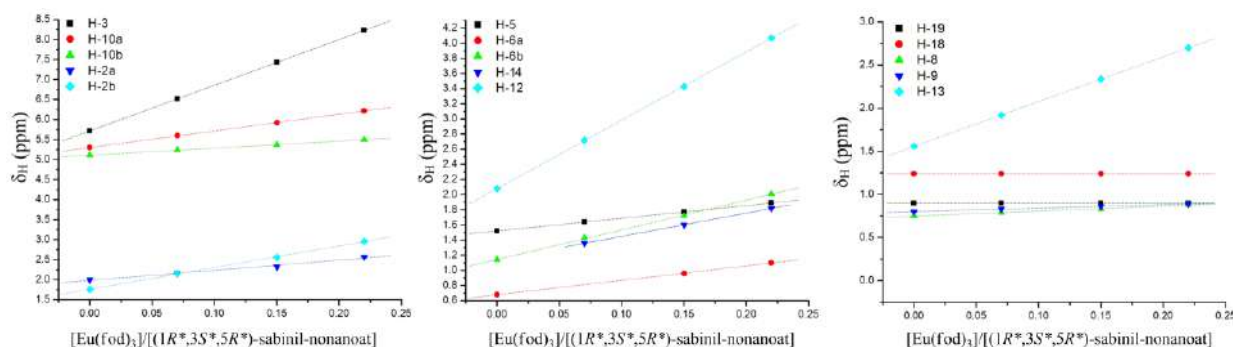


Slika 4.1.11. Optimizovana geometrija (MM2), numeracija C-2, C-6 i C-10 protona, i odabrane NOESY (C₆D₆) interakcije (obeležene strelicama) za (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-nonanoat [**1k**]

Na kraju, nedvosmislena potvrda navedene relativne stereochemije je dobivena iz eksperimenata titracije nonanoata sa lantanidnim reagensom hemijskog pomeranja (Eu(fod)₃) koja je praćena NMR-om (Norin et al. 1973). Estarska grupa je jedino značajno (Luisovo) bazno mesto u molekulu nonanoata [**1k**] i zbog toga se očekuje koordinacija Eu(fod)₃ i karbonilnog kiseonikovog atoma. Dodavanje Eu(fod)₃ je uslovljavalo, više ili manje izraženo, pomeranje svih signala protona ka slabijem polju. Zavisnost promene hemijskog pomeranja (slika 4.1.12) u zavisnosti od odnosa [Eu(fod)₃]/[nonanoat] je, generalno, bila linearna (kvadrat koeficijenta korelacije svih analiziranih protona (*R*²) je bio veći od 0,99) u opsegu molskih odnosa [Eu(fod)₃]/[nonanoat] 0,0 – 0,21.

Najveće vrednosti gradijenta pomeranja (nagib krive na grafiku; ΔEu) su dobivene za protone koji su blizu očekivanog mesta koordinacije kompleksa europijuma (elektronski par na kiseoniku; C-3 i C-12 protoni (ΔEu = 11,40 odnosno 9,00), praćeni C-2H_b, C-13H, C-10H_a i C-6H_b protonima (tabela 4.1.1)). Nažalost, izračunavanje ΔEu vrednosti nije bilo moguće za C-7 i C-15 – C-17 protone zbog preklapanja njihovih signala u protonskom NMR spektru snimljenom bez Eu(fod)₃, kao i u spektrima nakon dodavanja reagensa hemijskog pomeranja u opsegu

molskih odnosa 0,07 – 0,21. Protoni C-18 metilenske i C-19 metil grupe se nisu pomerali ni ka jačem ni ka slabijem polju. Za neke od protona uočena je pojava „*signal crossover*” (npr. C-2H_b – C-2H_a, C-6H_b – C-14H, C-6H_b – C-5H i C-9H – C-19H; slika 4.1.12), na osnovu koje je zaključeno o udaljenosti tih protona i koordinacionog mesta paramagnetnog katjona (Genčić i Radulović, 2015).

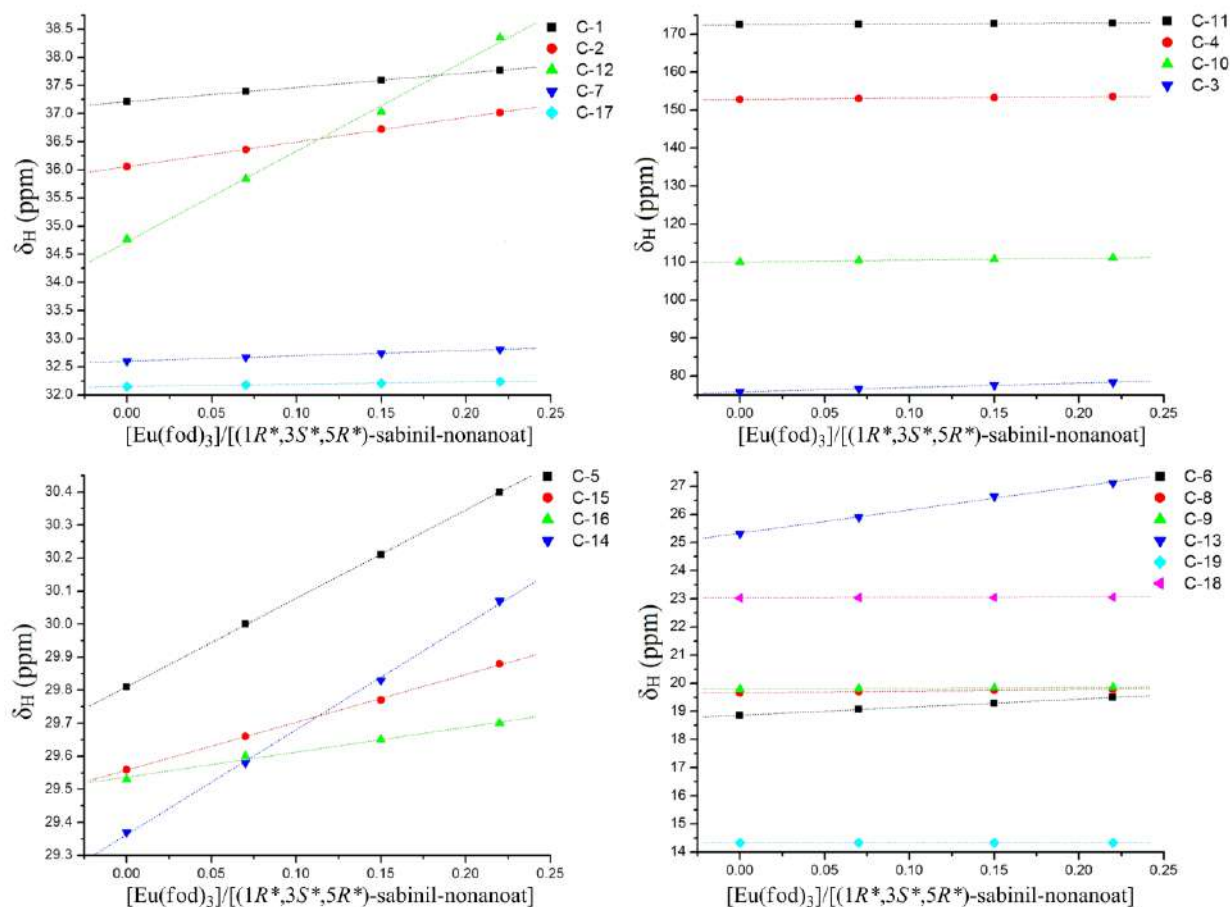


Slika 4.1.12. Grafik zavisnosti promene hemijskog pomeranja protona i molskog odnosa $[\text{Eu}(\text{fod})_3]/[\text{nonanoat}]$ dobiven titracijom (1R*,3S*,5R*)-sabinil-nonanoata reagensom hemijskog pomeranja $\text{Eu}(\text{fod})_3$ (numeracija atoma je prikazana na slici 4.1.11)

Na osnovu rezultata iz prethodnih istraživanja, kompleks europijuma je indukovao veliko paramagnetno pomeranje signala C-6H_b protona samo u slučaju *trans*-sabinola (u slučaju *cis*-sabinola, dodavanje reagensa hemijskog pomeranja nije izazvalo pomeranje odgovarajućih signala (Norin et al., 1973)). Uočeni uticaj (izražen preko ΔEu) dodavanja $\text{Eu}(\text{fod})_3$ na hemijsko pomeranje C-6 protona (razlikovanje C-6H_a i C-6H_b se bazira na osnovu postojanja „W”-kuplovanja C-6H_a i C-2H_a protona), $\Delta\text{Eu} = 1,87$ i $3,86$ za H_a-6, odnosno H_b-6, još jednom je nedvosmisleno potvrdio 1R*,3S*,5R*- relativnu stereohemiju sabinil estara iz kombinatorne biblioteke.

Eksperimenti sa dodatkom $\text{Eu}(\text{fod})_3$ su nam omogućili da izvršimo asignaciju onih ugljenikovih atoma koje nismo mogli asignirati analizom 1D (^{13}C , uključujući ^{13}C spektar bez heteronuklearnog dekuplovanja) i 2D (HMBC, HSQC) NMR spektara (tabela 4.1.1). Naime, asignacija signala C-14 – C-16 ugljenika iz nonanoil dela estra je bila praktično nemoguća zbog veoma bliskih ^{13}C hemijskih pomeranja i preklapanja odgovarajućih protona u ^1H NMR spektru. Postepeni dodatak $\text{Eu}(\text{fod})_3$, molski odnosi 0,07, 0,14 i 0,21, uslovljavao je pseudokontaktno pomeranje svih signala atoma ugljenika-13 ka slabijem polju. Paramagnetno pomeranje signala

je bilo najveće (izraženo preko gradijenta pomeranja ΔEu ; tabela 4.1.1) za ugljenike koji su blizu mesta koordinacije europijuma (npr. C-12, C-13, C-3; slika 4.1.13). Kao što je očekivano, uočene su male razlike u vrednostima ΔEu između signala za ^{13}C i ^1H koji su međusobno vezani, a one potiču od malih razlika u njihovom relativnom položaju u odnosu na katjon europijuma. Ova pojava je prilično univerzalna za sve multinuklearne NMR eksperimente (Gansow et al., 1971).



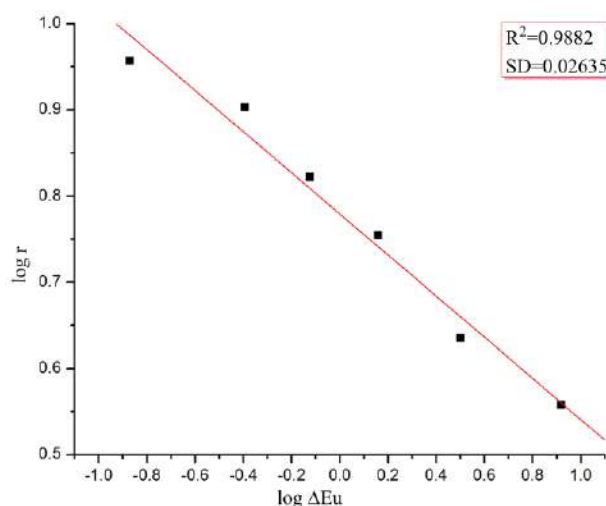
Slika 4.1.13. Grafik zavisnosti hemijskog pomeranja ugljenika-13 i molskog odnosa $[\text{Eu}(\text{fod})_3]/[\text{nonanoat}]$ dobivenog titracijom $(1R^*,3S^*,5R^*)$ -sabinil-nonanoata reagensom hemijskog pomeranja $(\text{Eu}(\text{fod})_3)$ (numeracija atoma je prikazana na slici 4.1.11)

Bez obzira na konformaciju $\text{Eu}(\text{fod})_3$ -estar kompleksa, moglo se očekivati da je Eu vezan za kiseonik $\text{C}=\text{O}$ grupe uvek *trans* u odnosu na alkil niz kiselinskog dela zbog sternih odbijanja. Takođe, očekivano je bilo da alkil niz zauzme cik-cak (sve *anti*), linearnu konformaciju. Bazirano na ovom modelu, sa minimalizovanom energijom pomoću MM2, rastojanje ugljenika

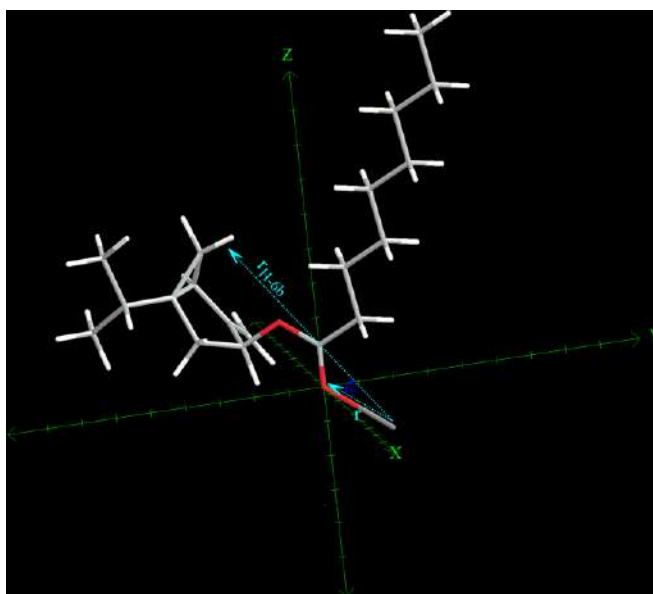
iz alkil niza i karbonilnog kiseonika iskorišćeno je za određivanje položaja C-14 – C-16 ugljenika u odnosu na europijum. Kako ΔE_u vrednost u dugolančanim alkoholima i estrima opada sa povećanjem rastojanja ugljenika u odnosu na koordinaciono mesto, kreirali smo grafik $\log \Delta E_u$ u odnosu na $\log r$, gde je r rastojanje između kiseonika iz karbonilne grupe i odgovarajućeg ugljenika (Norin et al., 1973). Ugljenikovi atomi C-11 i C-12 su bili isključeni iz proračuna zbog očekivanog značajnog udela kontaktnog efekta (ovakva interakcija je posebno značajna u slučaju atoma koji je direktno koordinovan za lantanidni jon, a ograničena je na atome ugljenika i vodonika samo u najbližoj okolini koordinacionog mesta, s obzirom na to da interakcije „kroz veze” značajno opadaju i potpuno nestaju nakon tri do četiri veze (Genčić i Radulović, 2015). Najveći korelacioni koeficijent ($R^2 = 0,9882$; slika 4.1.14) je dobiven kada je rastojanje ugljenikovih atoma C-14, C-15 i C-16 ($r = 4,315, 5,681$, odnosno $7,994 \text{ \AA}$) korelisano sa vrednostima ΔE_u (3,18, 1,45, odnosno 0,76) signala ugljenikovih atoma čija su hemijska pomeranja 29,4, 29,6 i 29,5 ppm. Ovo je omogućilo nedvosmislenu potvrdu asignacije signala C-14 – C-16 ugljenika.

Iz spektara ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-nonanoat-Eu(fod)₃ kompleksa bilo je moguće još odrediti i relativnu orijentaciju oko C-11–O veze. Iz tog razloga, izvršili smo konformacionu analizu korišćenjem tzv. *lanthanide probe* metode (Genčić i Radulović, 2015). Interni pravougli koordinatni sistem je postavljen tako da se karbonilni kiseonikov atom nalazi u koordinatnom početku ($x, y, z [0, 0, 0]$), dok je C=O veza postavljena kao z-osa. Pozicija europijuma je bila okarakterisana dužinom veze Eu–O (r), uglom Eu–O–C-11 (α) i diedarskim uglom Eu–O–C-11–O (θ). Vrednost diedarskog ugla je varirana u opsegu od 0° do 180° , a ugao α je bio u opsegu $110^\circ - 130^\circ$ i dužina veza od $2,20 - 2,40 \text{ \AA}$ sa ciljem utvrđivanja položaja europijuma koji daje najbolje slaganje izračunatih (Δ_{cal}) sa eksperimentalnim vrednostima (ΔE_u). Vrednosti konstanti kuplovanja u 1H NMR spektru protona iz sabinil dela su praktično ostale nepromenjene dodavanjem lantanida, što je sugerisalo da formiranje europijum-sabinil ester kompleksa nema značajnog uticaja na konformaciju sabinil dela. Iz tog razloga su koordinate sabinil dela i njegova geometrija držane konstantnim. Optimalni položaj europijuma je utvrđen korišćenjem *ChemBio 3D Ultra 12.0* softverskog paketa. Geometrijski faktor $((3\cos^2 \theta - 1)/r^3)$ u Mekonel-Robertsonovoj (*McConnell–Robertson*) jednačini je računat za $2_a, 2_b, 3, 5, 6_a, 6_b, 10_a$ i 10_b protone, kao i za sve ugljenike (C-1 – C-19) i to za svaki položaj lantanidnog jona (slika 4.1.15). Dobivene Δ_{cal} vrednosti za protone iz sabinil dela su korelisane sa eksperimentalnim ΔE_u

vrednostima istih protona i najveći koeficijent korelacije ($R^2 = 0,9695$) je dobiven za slučaj kada je europijum bio u položaju: $r = 2,330 \text{ \AA}$, $\alpha = 120,8^\circ$ i $\theta = 180^\circ$ (slika 4.1.16).

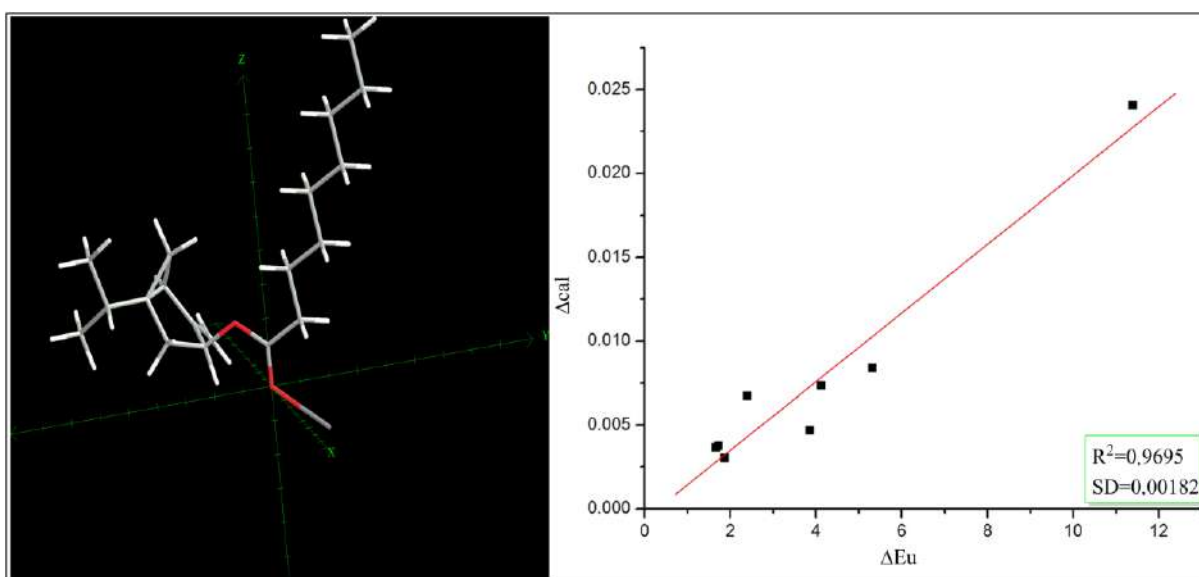


Slika 4.1.14. Grafik zavisnosti $\log \Delta Eu$ od $\log r$ za $(1R^*,3S^*,5R^*)$ -sabinil nonanoat-Eu(fod)₃ kompleks (C-11 i C-12 ugljenici su isključeni zbog velikog udela kontaktne interakcije sa europijumom)



Slika 4.1.15. Konformacija Eu(fod)₃-sabinil-nonanoat kompleksa sa najnižom energijom dobivena pomoću *lanthanide probe* metode. Parametri za izračunavanje Δcal vrednosti u Mekonel-Robertsonovoj jednačini su prikazani za C-6H_b proton

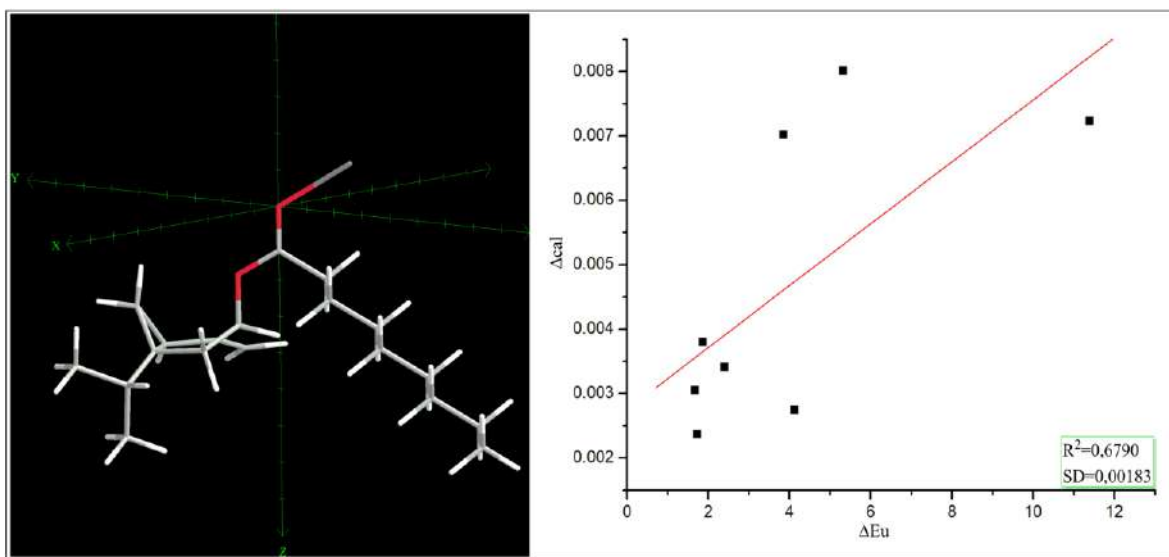
Prikazana konformacija estra u kompleksu (slika 4.1.16) je veoma slična sa konformerom (1R*,3S*,5R*)-sabinil-nonanoata sa najmanjom energijom. Iako je korelacioni koeficijent (R^2) imao visoke vrednosti za konformer **1**, vrednost standardne devijacije (SD; 0,00182) sugerise da (1R*,3S*,5R*)-sabinil-nonanoat–Eu(fod)₃ kompleks može, dodatno, postojati i u konformaciji koja je manje stabilna od konformera **1**. Shodno tome, analizirali smo dodatne položaje europijuma polazeći od konformera **2** (slika 4.1.17) koji ima, bazirano na MM2 proračunu, 2 kcal/mol veću energiju od konformera **1**. Najveći korelacioni koeficijent ($R^2 = 0,6790$) je dobiven kada je europijum lociran na $r = 2,330 \text{ \AA}$, $\alpha = 120,8^\circ$ i $\theta = 180^\circ$ (slika 4.1.17) ponovo sa velikim vrednostima standardne devijacije (SD; 0,00183).



Slika 4.1.16. Konformacija Eu(fod)₃-sabinil-nonanoat kompleksa sa najnižom energijom (konformer **1**) dobivena pomoću *lanthanide probe* metode (parametri položaj europijuma: $r = 2,330 \text{ \AA}$, $\alpha = 120,8^\circ$ i $\theta = 180^\circ$) i korelacija Δcal sa ΔEu za 2_a, 2_b, 3, 5, 6_a, 6_b, 10_a i 10_b protone

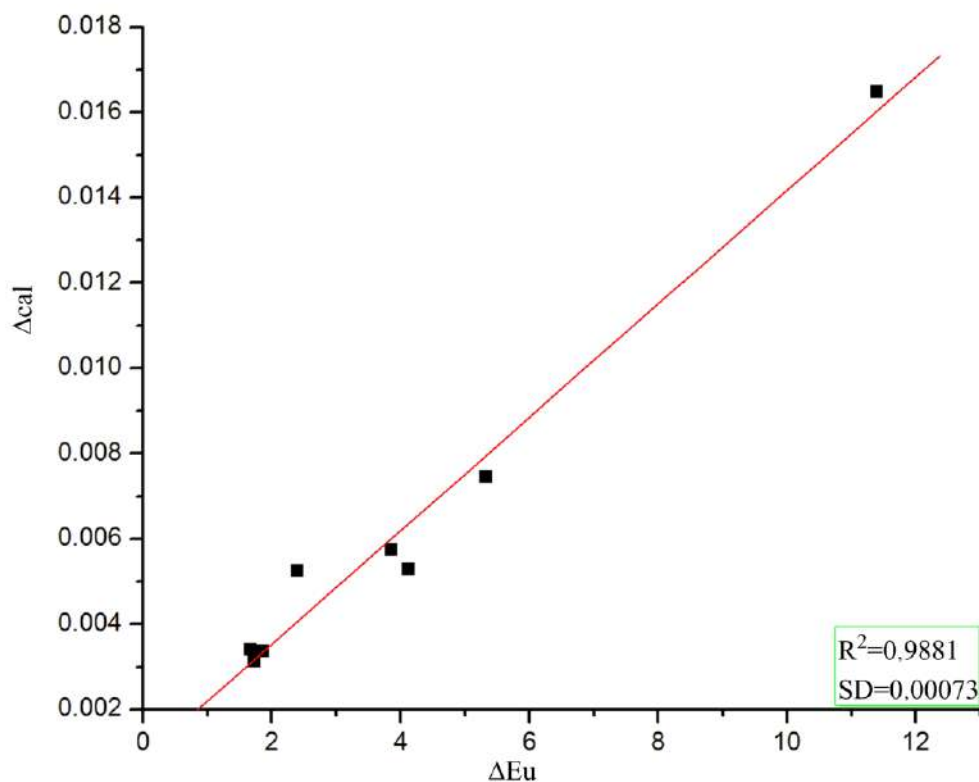
Nakon toga, odlučili smo da izvršimo analizu korelacija između eksperimentalnih ΔEu i izračunatih Δcal za različite smeše konformera **1** i **2**. Čak i mali udeo **2** u konformacionoj smeši uslovljavao je bolju korelaciju između Δcal i ΔEu (na primer, smeša koja je sadržala 5% konformera **2** i 95% konformera **1** je imala $R^2 = 0,9741$ i $SD = 0,00154$). Sistematičnom analizom smeša konformera **1** i **2** sa gradijentom od 1% (od 100% konformera **1** do 100% konformera **2**), utvrđeno je da najveći korelacioni koeficijent ($R^2 = 0,9881$) i najmanju vrednost standardne devijacije ($SD = 0,00073$) ima smeša koja sadrži 55% konformera **1** i 45%

konformera 2 (slika 4.1.18). Oдавde sledi da postoji razlika u zastupljenosti konformera slobodnog sabinil estra i konformacija estra u kompleksu sa lantanidnim reagensom.

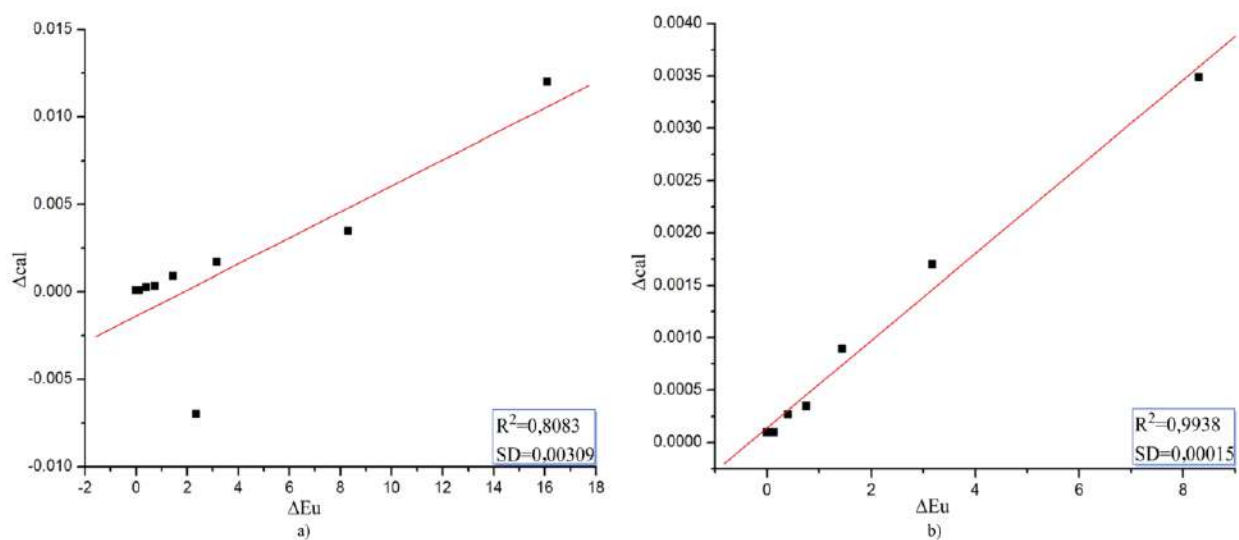


Slika 4.1.17. Konformacija $\text{Eu}(\text{fod})_3$ -sabinil-nonanoat kompleksa sa najnižom energijom (konformer 2) dobivena pomoću *lanthanide probe* metode (položaj europijuma: $r = 2,330 \text{ \AA}$, $\alpha = 120,8^\circ$ i $\theta = 180^\circ$) i korelacija Δcal sa ΔEu za 2_a , 2_b , 3, 5, 6_a , 6_b , 10_a i 10_b protone

Uočeno je da signali C-11 i C-12 atoma pored dipolarne interakcije su pod uticajem kontaktnog efekta sa katjonom europijuma (neočekivano male ΔEu vrednosti za C-11 (2,35) i ekstremno velike vrednosti za C-12 (16,11)). Druga činjenica koja je potvrdila prisustvo kontaktne interakcije kod C-11 i C-12 ugljenika je vrednost korelacionog koeficijenta i standardne devijacije za nonanoil deo molekula (C-11 – C-19). Dobiveni grafik zavisnosti izračunatih Δcal i eksperimentalnih ΔEu vrednosti je imao mnogo veće vrednosti korelacionog koeficijenta i manje vrednosti standardne devijacije ($R^2 = 0,9938$ i $\text{SD} = 0,00015$) kada ugljenici C-11 i C-12, zbog pretpostavljenog udela kontaktne interakcije, nisu uzeti u obzir u odnosu na slučaj kada je grafik sadržao i ugljenike C-11 i C-12 ($R^2 = 0,8083$ i $\text{SD} = 0,00309$; slika 4.1.19). Uočena promena vrednosti ΔEu usled kontaktne interakcije uslovljena građenjem kompleksa sa lantanidnim reagensom hemijskog pomeranja može izazvati ozbiljne probleme u analizi NMR spektara, npr. čest je slučaj da kontaktne interakcije izaziva pogrešnu asignaciju ugljenika prirodnih proizvoda (Genčić i Radulović, 2015). Takođe, problem predstavlja i činjenica da ne postoji konkretan način za predviđanje ili izračunavanje vrednosti udela kontaktne interakcije.



Slika 4.1.18. Korelacija Δcal i ΔEu vrednosti protona iz $Eu(fod)_3$ -sabinil-nonanoat kompleksa smeše konformera **1** i **2** u molskom odnosu 0,55:0,45



Slika 4.1.19. Korelacija Δcal i ΔEu vrednosti za protone iz $Eu(fod)_3$ -sabinil-nonanoat kompleksa za a) C-11-C19 i b) C-13-C19 ugljenike

4.1.2. Hemijski sastav etarskih ulja biljnih vrsta *Achillea falcata* i *A. ageratifolia* subsp. *serbica*

4.1.2.1. *Achillea falcata* L.

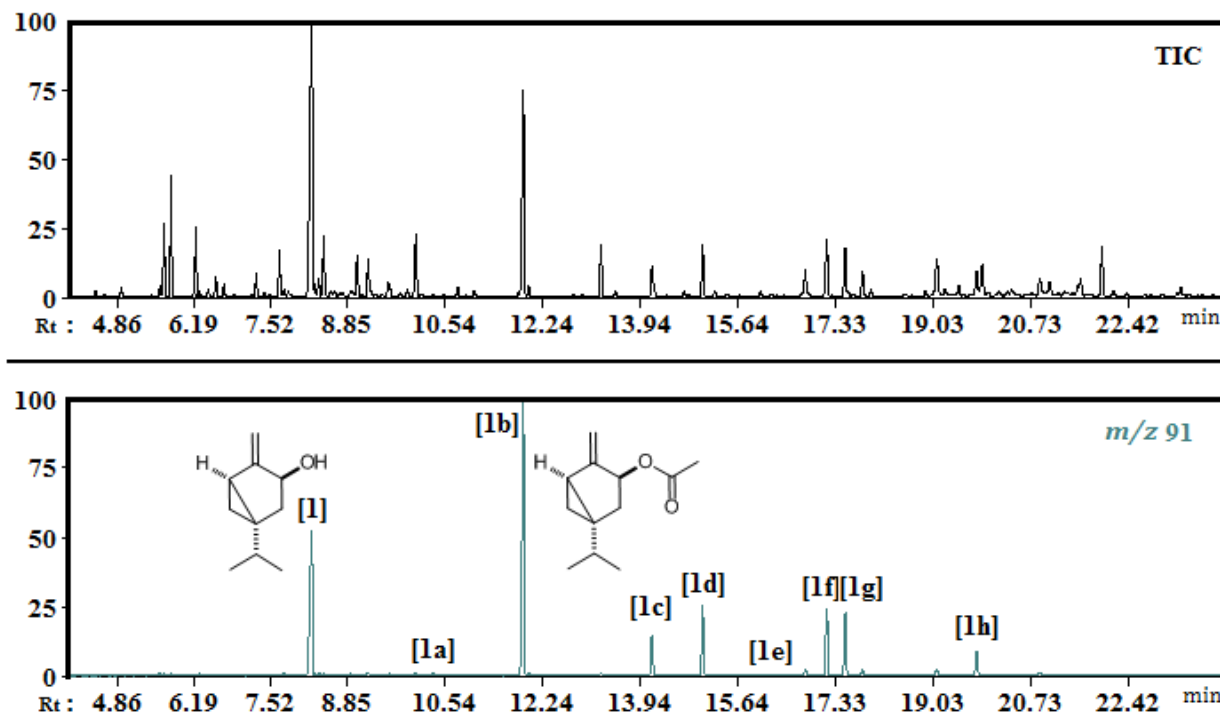
Achillea falcata L. (syn. *A. damascena* DC.) je endemična, mediteranska biljna vrsta iz porodice glavočika (Asteraceae, Compositae; slika 4.1.20), koja je veoma cenjena zbog svojih farmakoloških osobina. Detaljnom pretragom literature je ustanovljeno da je *A. falcata* nedovoljno hemijski ispitana (postoji samo nekoliko istraživanja u kojima su identifikovani i analizirani sekundarni metaboliti iz taksona *A. falcata*). Etarsko ulje ove biljne vrste je do sada ispitivano u tri prethodne studije (Aburjai i Hudaib, 2006; Kürkçüoglu et al., 2003; Senatore et al., 2005) u kojima su ustanovljena tri hemotipa ove biljne vrste.



Slika 4.1.20. Izgled biljne vrste *Achillea falcata* L.

Ovakva hemotipska raznolikost, kao i mali broj fitohemijskih ispitivanja ovog taksona, bili su povod da se izvrši detaljna analiza hemijskog sastava etarskog ulja dobivenog hidrodestilacijom nadzemnog dela i korena biljnog materijala sakupljenog u Siriji (tabela 3.2.1). Uzorci ulja nadzemnih delova i korena su detaljno analizirani (GC-FID i GC-MS) što je omogućilo identifikaciju 180 sastojaka koji su činili 97,4 – 98,4% ukupnih površina pikova u GC hromatogramima (prilog 8.1.1). Tipičan ukupni jonski hromatogram (TIC) uzorka ulja nadzemnih delova (**Af₁**; prilog 8.1.1) je predstavljen na slici 4.1.21. Glavni sastojci ulja su bili (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinol (**[1]**; 19,1%) i (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetat (**[1b]**; 11,4%). U početku identitet glavnih sastojaka je pretpostavljen na osnovu upoređivanja vrednosti retencionih indeksa i masenih spektara sa literaturnim vrednostima (Adams, 2007; Cégiéla-Carlioiz et al., 2005; Mack et al., 2013), a kasnije je potvrđen GC ko-hromatografijom standarda ovih jedinjenja

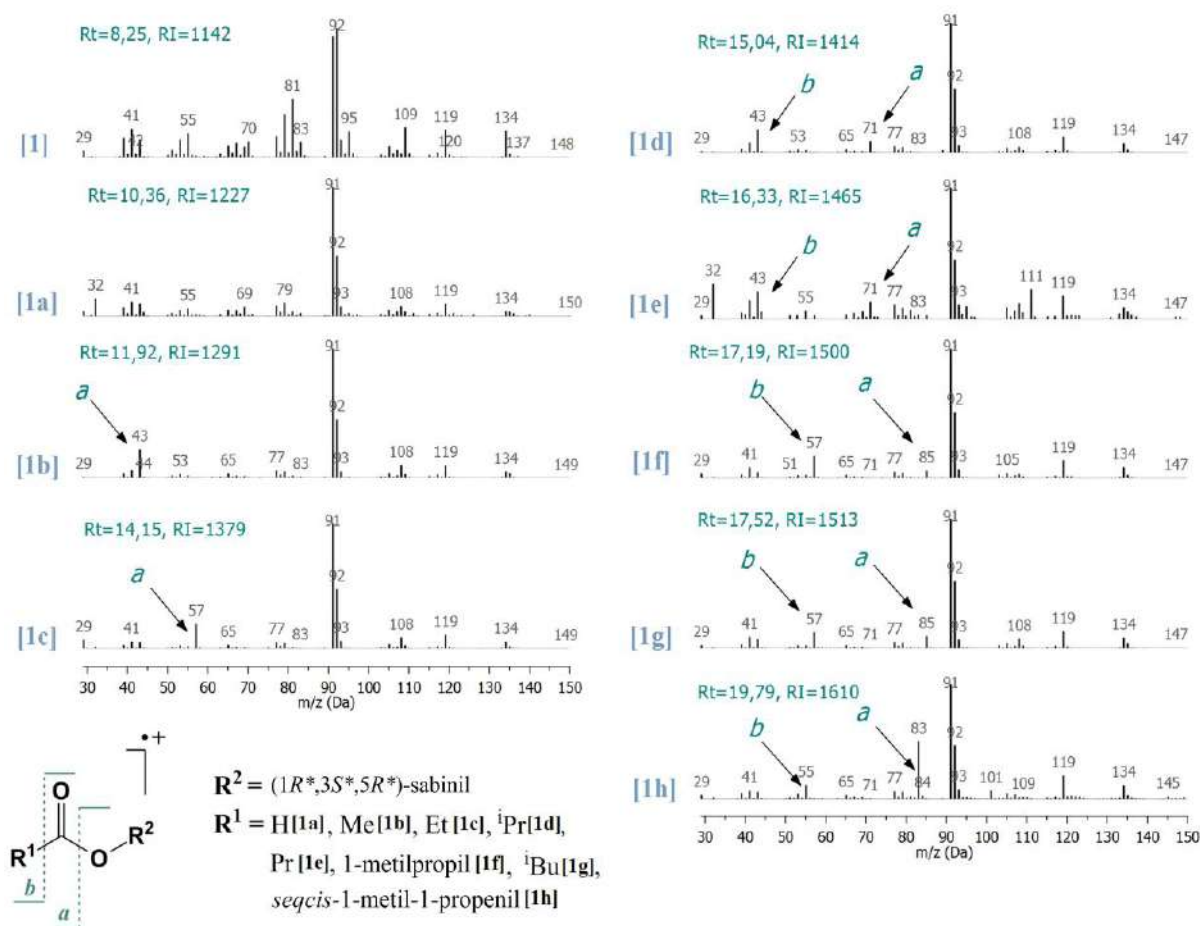
sa uzorcima etarskih ulja korena i nadzemnih delova. Standard (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola je dobiven hidrolizom (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata koji potiče iz biblioteke sekundarnih metabolita istraživačke grupe „OSA” (engl. *Organic Synthesis and Analysis*) Departmana za hemiju, PMF-a u Nišu (struktura oba standarda je potvrđena NMR analizom; eksperimentalni deo). (1*R**,3*S**,5*R**)-Sabinol i njegov acetat su, takođe, bili među glavnim sastojcima i etarskog ulja korena (**Af**₁; 6,5%, odnosno 4,2%).



Slika 4.1.21. Ukupni jonski hromatogram (TIC) i hromatogram parcijalne jonske struje (PIC; *m/z* 91) uzorka etarskog ulja **Af**₁ koji ilustruju prisustvo (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola i njegovih estara

Maseni spektri jedinjenja **[1]** i **[1b]** su predstavljeni na slici 4.1.22. Generalno, MS fragmentacija oba jedinjenja je veoma slična. Na primer, najintenzivniji joni u masenim spektrima su bili na *m/z* 91 i 92. Pored toga, nekoliko fragmenata sa malim (u odnosu na osnovni jon) relativnim intenzitetom (npr. *m/z* 134, 119, 55) su, takođe, bili prisutni u masenim spektrima oba jedinjenja. Fragmentni jon *m/z* 81 (relativni intenzitet 52%) u masenom spektru sabinola nije bio prisutan u masenom spektru acetata. Kao što se i očekivalo, fragmentni jon acetil grupe *m/z* 43 (CH_3CO^+ , nastao raskidanjem C–O veze; obeležen strelicom na slici 4.1.22), iz masenog

spektra (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata, bio je zanemarljivog intenziteta u masenom spektru sabinola.



Slika 4.1.22. Maseni spektri (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola [1], (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata [1b] i 7 drugih sabinil estara iz etarskog ulja biljne vrste *A. falcata* (joni nastali fragmentacijom *a* i *b* su označeni strelicom; R_t (min))

Fragmentacija jedinjenja [1c], [1d], [1f] i [1g] (GC-MS hromatogram uzorka etarskog ulja **Af1**; slika 4.1.21) je bila skoro identična sa fragmentacijom (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata (slika 4.1.22). U cilju detektovanja dodatnih, prisutnih u tragovima, sastojaka ulja sa MS fragmentacijom sličnom kao kod glavnog sastojka [1b], generisali smo hromatogram parcijalne jonske struje (PIC) uzoraka ulja **Af1/Af2** koji je pokazivao promenu jonske struje m/z 91 sa vremenom (slika 4.1.21). To nam je omogućilo da detektujemo dodatne homologe

(1R*,3S*,5R*)-sabinil-acetata (ukupno sedam; pikovi **[1a]**, **[1c – 1h]**, slika 4.1.21), za koje smo pretpostavili da su, takođe, estri sabinola. Za sve detektovane sastojke u PIC hromatogramu, osnovni jon je bio m/z 91, drugi po intenzitetu je bio m/z 92, dok su ostali fragmentni joni (m/z 108, 119, 134) imali značajno manji relativni intenzitet (slika 4.1.21). U masenim spektrima ovih jedinjenja su uočeni i fragmentni joni koji su omogućili identifikaciju kiselinskog dela. Na primer, maseni spektri jedinjenja **[1d]** i **[1e]** su sadržali fragmentne jone na m/z 43 i 71, na osnovu kojih smo pretpostavili da su to najverovatnije estri izobutanske i/ili butanske kiseline (fragmentacioni put a ($C_3H_7CO^+$) i b ($C_3H_7^+$), slika 4.1.22). U odnosu na RI vrednosti acetata (RI = 1291), RI vrednosti (DB-5-MS kolona) za jedinjenja **[1d]** i **[1e]** su za 123 (RI_[1d] = 1414), odnosno 174 RI jedinica (RI_[1e] = 1465) veće. Ovo je takođe ukazivalo da su jedinjenja **[1d]** i **[1e]** homolozi (1R*,3S*,5R*)-sabinil-acetata sa račvastim/linearnim alkil nizom ((1R*,3S*,5R*)-sabinil-izobutanoat i butanoat). Na osnovu ovoga pretpostavili smo da je sastojak ulja **[1a]** verovatno (1R*,3S*,5R*)-sabinil-formijat (RI_[1a] = 1291), **[1c]** (1R*,3S*,5R*)-sabinil-propanoat (fragmentni jon m/z 57 ($C_2H_5CO^+$), RI_[1c] = 1379 (RI = RI_{acetat} + 88)), dok su sastojci **[1f]** i **[1g]** najverovatnije (1R*,3S*,5R*)-sabinil-2-metilbutanoat i 3-metilbutanoat (fragmentni joni m/z 57 ($C_4H_9^+$) i 85 ($C_4H_9CO^+$), RI_[1f] = 1500 (RI = RI_{butanoat} + 35) i RI_[1g] = 1513 (RI = RI_{butanoat} + 48)). Prisustvo fragmentnih jona m/z 55 ($C_4H_7^+$) i 83 ($C_4H_7CO^+$) u masenom spektru jedinjenja **[1h]** je sugerisalo da je ovaj sastojak ulja sabinil estar jedne od izomernih $C_5H_8O_2$ nezasićenih karboksilnih kiselina ((*E*)-2-metil-2-butenske (tiglinske), (*Z*)-2-metil-2-butenske (angelika) ili 3-metil-2-butenske (senecio) kiseline). Takođe, RI vrednosti (RI_[1h] = 1610) su ukazivale na to da je **[1h]** verovatnije estar nezasićene kiseline sa račvastim, a ne sa linearnim nizom.

Ko-injekcija (GC-MS) standarda estara (1R*,3S*,5R*)-sabinola iz kombinatorne biblioteke sa uzorcima ulja je potvrdila pretpostavljeni identitet sastojaka ulja **[1a]**, **[1c – 1g]** i otkrila da je sastojak ulja **[1h]** estar (1R*,3S*,5R*)-sabinola i (*E*)-2-metil-2-butenske (tiglinske) kiseline. Detaljnom pretragom literature (SciFinder pretraga CAS baze podataka) je ustanovljeno da su četiri estra (1R*,3S*,5R*)-sabinola (formijat, tiglata, angelat, senecioat) potpuno nova jedinjenja i da formijat **[1a]** i tiglata **[1h]** predstavljaju novootkrivene prirodne proizvode. Količina (1R*,3S*,5R*)-sabinil-tiglata **[1h]** u etarskom ulju nadzemnih delova biljne vrste *A. falcata*, određena je konstruisanjem (GC-FID) kalibracione prave ($y = 4671,38x + 9,937$; $R^2 = 0,999$). Ovom analizom je utvrđeno da 100 g suvih nadzemnih delova sadrži 0,625 mg (1R*,3S*,5R*)-sabinil-tiglata.

4.1.2.2. *Achillea ageratifolia* (Sm.) Boiss. subsp. *serbica* (Nyman) Heimerl

Jedna od vizuelno i olifaktorno najatraktivnijih biljnih vrsta roda *Achillea* je srpska hajdučka trava (slika 4.1.23; *Achillea ageratifolia* (Sm.) Boiss. subsp. *serbica* (Nyman) Hayek (sin. *A. serbica* Nym.)) – endemična biljna vrsta centralnog dela Balkanskog poluostrva (Richardson, 1976).

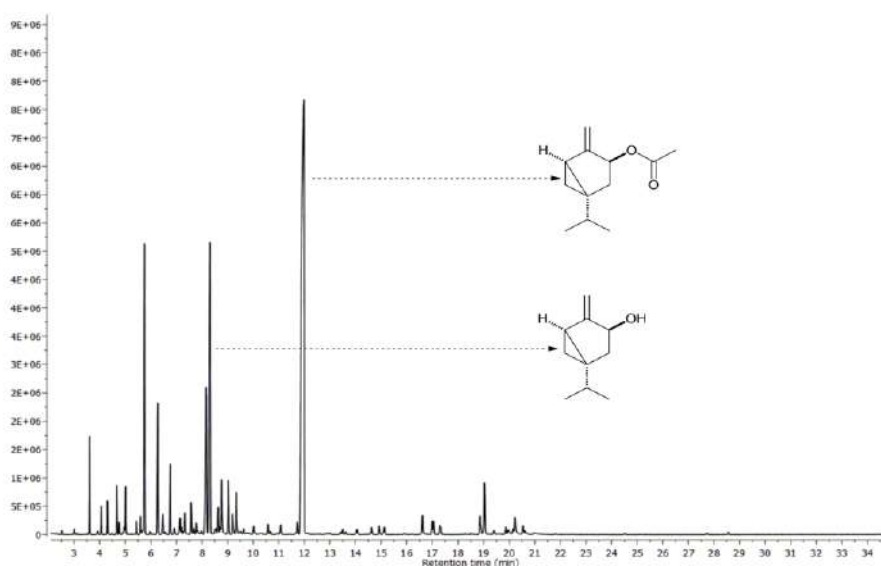


Slika 4.1.23. Izgled biljne vrste *Achillea ageratifolia* subsp. *serbica*

Do sada su isparljivi i neisparljivi metaboliti ove biljne vrste bili predmet istraživanja nekoliko studija (Trifunović et al., 2006; Bohlmann i Jastrow, 1962; Chalchat et al., 1999; Simić et al., 2000). Etarsko ulje je do sada analizirano samo dva puta i to uzorci ulja koji su dobiveni hidrodestilacijom biljnog materijala (nadzemnih delova) sakupljenog iz geografski veoma bliskih populacija (Jelašnička klisura i Suva planina) i najverovatnije sakupljenog tokom dve uzastopne godine (1998-1999; vreme sakupljanja biljnog materijala nije navedeno od strane Šalša i saradnika (Chalchat et al., 1999)). Međutim, ove grupe istraživača su objavile potpuno različite rezultate analize sastava etarskog ulja ovog taksona. Među 15 identifikovanih sastojaka, Simić i saradnici (Simić et al., 2000) su identifikovali “ β -sabinil-acetat” (39,9%), kamfor (33,9%) i 1,8-sineol (8,6%), kao glavne sastojke ulja. Sa druge strane, Šalša i saradnici (Chalchat et al., 1999) su identifikovali 47 sastojaka ulja među kojima su dominantni sastojci bili: *cis*-hrizantenol

(15,9%), kamfor (11,0%), 1,8-sineol (14,2%), *trans*-hrizantenil-acetat (4,4%), α -pinen (5,0%), jomogi-alkohol (5,1%) i 2-pirolidinon (6,3%).

Ovako različiti sastavi ulja su predstavljali povod da izvršimo ponovnu analizu sastava etarskog ulja izolovanog iz biljnog materijala (nadzemni delovi) sakupljenog iz dve populacije (Jelašnička klisura i Suva planina) i tokom dve uzastopne godine (2013. i 2014). Analiza je imala za cilj pokušaj da se odgovori na sledeće pitanje: „Da li postoje dva različita hemotipa ove vrste, odnosno da li sastav ulja zavisi od geografskih i/ili klimatskih faktora?”. Dodatno, nadali smo se da ćemo se susresti sa „ β -sabinil-acetat” hemotipom, kako bi potvrdili stereohemijsko značenje „ β ” (Simić et al., 2000). Kombinacija detaljnih GC-MS i GC-FID analiza, preparativnog hromatografskog razdvajanja sastojaka ulja i dostupnost standarda iz kreirane biblioteke sabinil derivata, omogućila je identifikaciju ukupno 301 sastojka etarskog ulja biljne vrste *A. ageratifolia* subsp. *serbica* dobivenog iz biljnog materijala sa dve različite lokacije i sakupljenog tokom dve uzastopne godine (2013. i 2014). Identifikovani isparljivi metaboliti iz biljnog materijala sakupljenog 2013. godine sa dve lokacije (Suva planina i Jelašnička klisura u blizini Niša), zajedno sa sastavom MPLC frakcija *pool*-ovanog etarskog ulja, predstavljeni su u prilogu 8.1.1. Na slici 4.1.24 je prikazan jonski hromatogram (TIC) uzorka etarskog ulja biljne vrste *A. ageratifolia* subsp. *serbica* dobivenog hidrodestilacijom suvog biljnog materijala sakupljenog juna 2013. godine na Suvoj planini.



Slika 4.1.24. Ukupni jonski hromatogram (TIC) uzorka etarskog ulja biljne vrste *A. ageratifolia* subsp. *serbica*

Na osnovu ovih analiza identifikovano je 95,7 – 98,9% ukupnih površina pikova u hromatogramu etarskog ulja ili MPLC frakcija ulja. Terpenoidi su činili 94,0 i 95,5% etarskog ulja uzorka **As₁**, odnosno **As₂**, sa monoterpenima kao najzastupljenijom klasom (87,8 – 90,5%). Etarsko ulje se uglavnom sastojalo od monoterpena tujanskog, bornanskog i *p*-mentanskog tipa sa sabinil-acetatom (30,8 – 37,9%), kamforom (12,3 – 16,1%), 1,8-sineolom (8,3 – 12,6%) i *trans*-sabinolom (5,0 – 6,3%) kao glavnim sastojcima. Za glavni sastojak ulja (sabinil-acetat) detaljnom NMR analizom, čistog acetata izolovanog kolonskom hromatografijom iz ulja, potvrđeno je da ima istu stereochemiju kao *trans*-sabinol (relativna stereochemija hiralnih centara je 1*R**, 3*S** i 5*R**).

Upoređivanjem sastava etarskih ulja (prilog 8.1.1) uočene su samo kvantitativne razlike između **As₁** i **As₂** (biljni materijal sakupljen iz dve različite populacije iste godine). Najuočljivija je kvantitativna razlika u sadržaju glavnih sastojaka ulja, na primer, sadržaj sabinil-acetata je varirao $\approx 7\%$ u zavisnosti od lokacije populacije odakle je ubran biljni materijal. Međutim, relativni odnos sadržaja glavnih sastojaka ulja je ostao isti. Nasuprot kvantitativnim razlikama između uzoraka iz relativno bliskih mesta sakupljanja biljnog materijala (ali sa značajnom razlikom u nadmorskoj visini), sastav ulja se nije značajno promenio od jedne sezone do druge (2013. i 2014. godina). Uzorci ulja iz 2014. godine se praktično nisu razlikovali (najveće uočene razlike su u prisustvu/odsustvu sastojaka zastupljenih u tragovima, a ukupna razlika ne prelazi 0,1%) od ulja iz 2013. godine. Iz ovog razloga vrednosti relativnog sadržaja sastojaka u uzorcima ulja iz 2014. godine nisu prikazane u tabeli (prilog 8.1.1).

Iako je našom analizom 281 jedinjenje po prvi put identifikovano kao sastojak *A. ageratifolia* subsp. *serbica* etarskog ulja, uključujući i dva potpuno nova prirodna proizvoda o čemu će biti reči kasnije, sastav ulja sa obe lokacije je, generalno, sličan sastavu ulja (makar na osnovu identifikovanih glavnih sastojaka) koji su objavili Simić i saradnici (Simić et al., 2000). Sa druge strane, naši uzorci etarskih ulja, sa visokim sadržajem monoterpena tujanskog tipa (41,1 – 49,4%) su veoma različiti od onih koje su analizirali Šalša i saradnici (Chalchat et al., 1999). Oni su identifikovali 47 jedinjenja iz ulja ovog taksona, sa visokim sadržajem monoterpena pinanskog skeleta (28,7%; npr. *cis*-hrizantenol (15,9%) i *trans*-hrizantenil-acetat (4,4%)), pri čemu monoterpeni tujanskog tipa nisu identifikovani. *trans*-Hrizantenil-acetat je u našim uzorcima ulja identifikovan samo u tragovima dok je sadržaj *cis*-hrizantenola u uzorcima **As₁** i **As₂** bio 0,8 – 1,0%. S obzirom na to da nisu uočene značajne sezonske promene u sastavu

etarskog ulja, kao i da razlike u uslovima životne sredine dve populacije (razlika u nadmorskoj visini od 1215 m) uslovljavaju samo kvantitativne promene u sastavu ulja, zaključili smo da populacije *A. ageratifolia* subsp. *serbica* iz Jelašničke klisure i sa Suve planine pripadaju istom sabinil-acetat-kamfor-1,8-sineol-*trans*-sabinol hemotipu. Ovo je isti hemotip sa koji su se susreli Simić i saradnici (Simić et al., 2000), ali je potpuno različit od onog iz studije Šalše i saradnika (Chalchat et al., 1999). Postoje dva moguća objašnjenja za ovakve razlike u sastavu ulja. Prvo, manje verovatno, da na tako malom prostoru (*A. ageratifolia* subsp. *serbica* raste na površini manjoj od 1 km² u blizini vrha Suve planine, gde je Šalša naveo da su sakupili biljni materijal) rastu dva potpuno različita hemotipa ove biljne vrste, i drugo ili da je izvršena pogrešna taksonomska identifikacija biljnog materijala ili da je nešto pogrešno prilikom izolovanja i/ili obrade etarskog ulja. Sve dok *cis*-hrizantenol-*trans*-hrizantenil-acetat hemotip ne bude ponovo otkriven, postojanje ovog hemotipa biljne vrste *A. ageratifolia* subsp. *serbica* treba uzimati sa rezervom.

Hromatogram koji prikazuje parcijalne jonske struje (PIC; *m/z* 91, 92, 119 i 134 joni) etarskog ulja i nekih od frakcija (prilog 8.1.1) indicirao je prisustvo dodatnih sastojaka sličnih sabinolu, a najverovatnije homologe serije estara ovog alkohola. Nakon detaljnog razmatranja njihovih masenih spektara i vrednosti retencionih indeksa, postupak je bio identičan analizi PIC hromatograma i masenih spektara sastojaka ulja biljne vrste *A. falcata*, ovi sastojci ulja su identifikovani kao estri sabinola i mravlje, propanske, izobutanske, butanske, 2-metilbutanske, 3-metilbutanske, (*E*)-2-metil-2-butenske, nonanske i dekanske kiseline. Ko-hromatografijom uzorka etarskog ulja sa standardima estara iz biblioteke, o njihovoj sintezi i spektralnoj analizi je bilo reči u poglavlju 4.1.1, nedvosmisleno je potvrđeno da etarsko ulje biljne vrste *A. ageratifolia* subsp. *serbica* sadrži (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil estre i to formijat, propanoat, izobutanoat, butanoat, 2-metilbutanoat, 3-metilbutanoat, (*E*)-2-metil-2-butenat (tiglat), nonanoat i dekanoat. Poslednja dva estra, (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-nonanoat i dekanoat, na osnovu detaljne pretrage literature, predstavljaju potpuno nova jedinjenja, pored formijata i tiglata koji su prvi put identifikovani u ovoj disertaciji kao sastojci ulja biljne vrste *A. falcata*, koja nisu do sada nikad opisana ili pomenuta u literaturi. Pretragom literature smo, takođe, uočili da su sabinil estri, izuzev sabinil-acetata, veoma retki sekundarni metaboliti biljnog carstva. Njihovo prisustvo u prirodi je karakteristično za familiju Asteraceae sa samo jednom studijom o identifikaciji ovih estara kao sekundarnih metabolita biljne vrste van ove familije (*Kitagawia baicalensis* (Redow. ex Willd.)

Pimenov; familija Apiaceae (Letchamo et al., 2005). Dodatno, ovi estri nisu podjednako rasprostranjeni u okviru familije glavočika i čini se da su karakteristični za rodove *Achillea* i *Anthemis*.

Novi estri iz ulja *A. ageratifolia* subsp. *serbica* su dodatno kvantifikovani (mg/100 g suvih nadzemnih delova) konstruisanjem kalibracionih pravih (površina ispod GC-FID pikova u odnosu na koncentraciju estara). Konstruisane kalibracione prave (površina = $4498,6856 \times$ količina estra – 49,3379 za nonanoat i površina = $6409,7444 \times$ količina estra – 176,4735 za dekanat) su imale dobar korelacioni koeficijent $R^2 = 0,9997$, odnosno 0,9998. Ovom analizom je utvrđeno da 100 g suvih nadzemnih delova sadrži 12,2 μg (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-nonanoata i 9,8 μg (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-dekanata.

4.1.3. Biološka aktivnost odabranih sintetisanih sabinil estara

4.1.3.1. Određivanje akutne toksičnosti

U koncentracionom opsegu 0,0025 – 0,2 mg/ml (krajnja koncentracija estara u medijumu; **[1]** (0,016 – 1,32 mmol/l), **[1a]** (0,014 – 1,11 mmol/l), **[1b]** (0,013 – 1,03 mmol/l), **[1h]** i **[1i]** (0,011 – 0,85 mmol/l)), *trans*-sabinol i neki njegovi estri (formijat, acetat, tiglat i senecioat) su bili umereno toksični prema vrsti račića *Artemia salina* (tabela 4.1.2).

Tabela 4.1.2. Akutna toksičnost sastojaka etarkog ulja biljne vrste *A. falcata* **[1]**, **[1a]**, **[1b]**, **[1h]** i strukturno srodnog jedinjenja ((1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata **[1i]**) na morske račiće *Artemia salina*

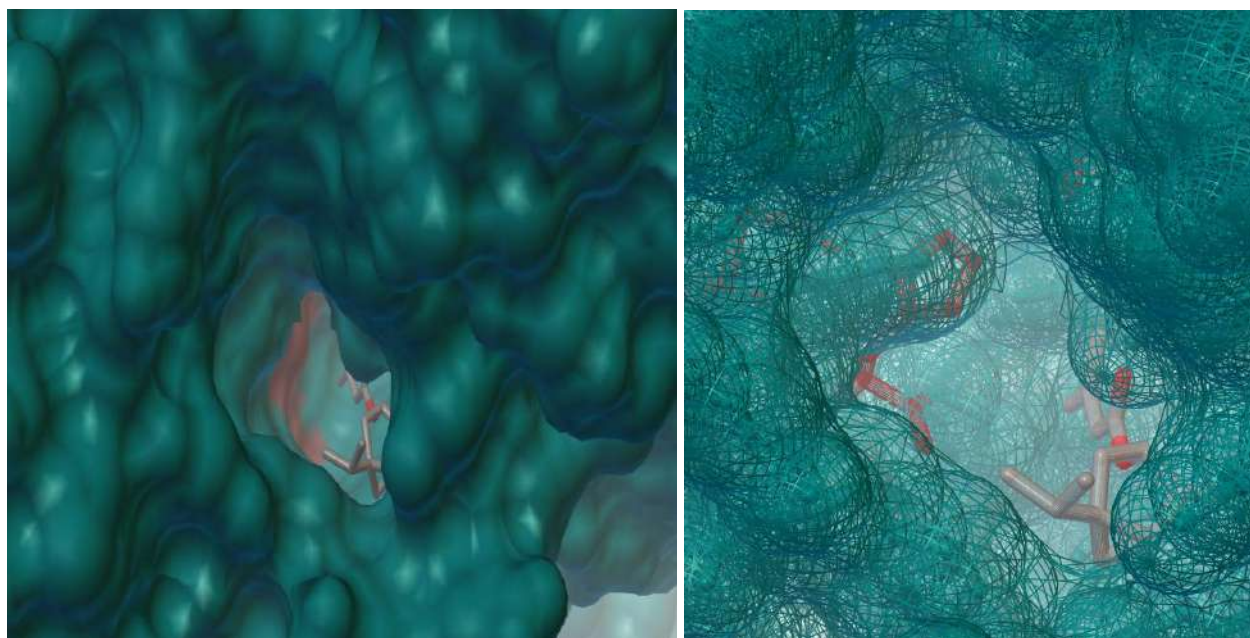
Jedinjenje	LD ₅₀ (mmol/l, nakon 24 h)	LD ₅₀ (mmol/l, nakon 48 h)
<i>trans</i> -Sabinol [1]	0,35	0,26
(1 <i>R</i> *,3 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *)-Sabinil-formijat [1a]	0,29	0,20
(1 <i>R</i> *,3 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *)-Sabinil-acetat [1b]	0,24	0,17
(1 <i>R</i> *,3 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *)-Sabinil-tiglat [1h]	0,15	0,06
(1 <i>R</i> *,3 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *)-Sabinil-senecioat [1i]	0,04	0,03

Najtoksičniji su bili estri tiglinske i senecio kiseline. Dobiveni rezultati se slažu sa prethodnim istraživanjima toksičnosti biljnih ekstrakata/etarskih ulja koja su sadržala sabinil-acetat. Na primer, LC₅₀ vrednosti etarskih ulja vrsta *Lantana camara* i *Artemisia absinthium* ((1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetat je bio glavni sastojak oba ulja) je bila 0,23, odnosno 15,7 – 31,9

$\mu\text{g/ml}$ (Judzientiene et al., 2012; Medeiros et al., 2012). Takođe u nekoliko prethodnih studija je uočeno da su pored račića i neki sisari osetljivi na dejstvo ovog acetata i njegovih homologa. Poznato je da upotreba biljne vrste *Juniperus sabina* izaziva abortus i sprečava razvoj fetusa upravo zbog velikog sadržaja estra jednog od diastereoizomernih sabinola i sirćetne kiseline (Casares, 1964; Pages et al., 1996). Pored toga, upotreba velikih količina *Juniperus* vrsta može izazvati preuranjeni porođaj i rođenje malih, slabih, ili mrtvih teladi i jagnjadi što je, takođe, pripisano prisustvu sabinil-acetata (Burrows i Tyrl, 2012).

4.1.3.2. Inhibicija acetilholinesteraze (AChE)

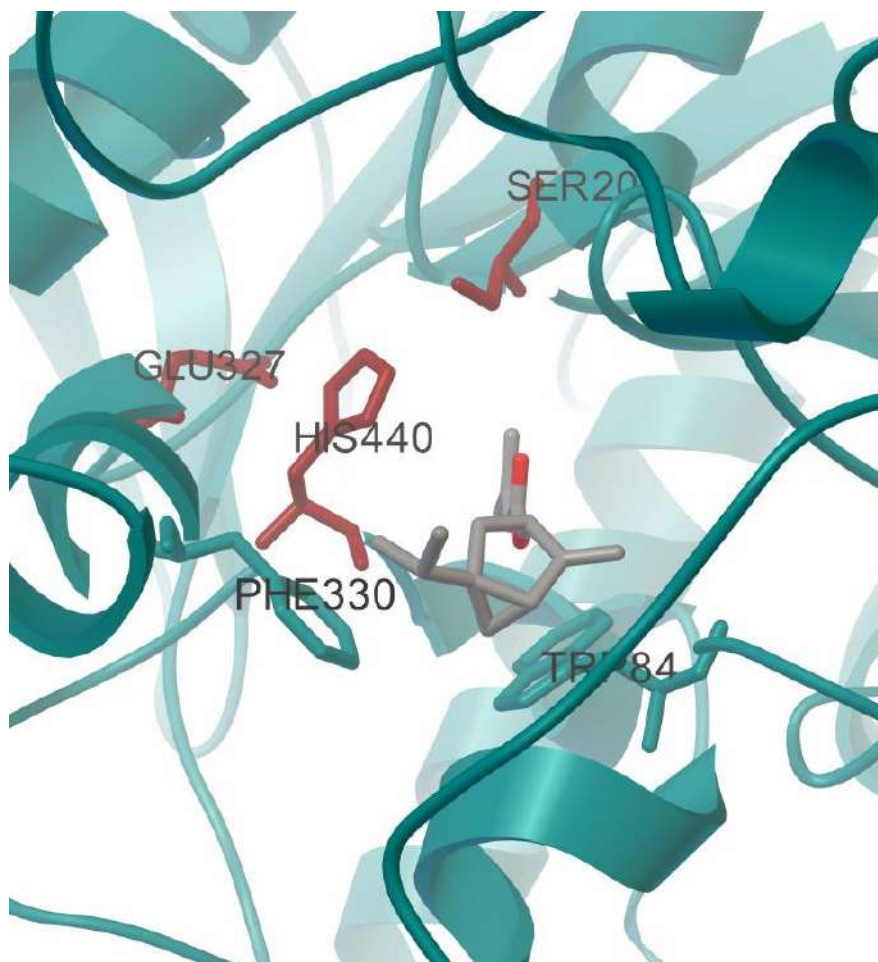
Acetilholinesteraza (AChE) pripada serin-hidrolaza superfamiliji enzima i zadužena je za katalizu hidrolize neurotransmitera acetilholina. Struktura i mehanizam dejstva AChE u procesu neurotransmisije do sada su veoma iscrpno proučeni. Poznato je da se aktivno mesto AChE nalazi u „dubokoj i uskoj klisuri” enzima (slika 4.1.25).



Slika 4.1.25. (1R*,3S*,5R*)-Sabinil-senecioat dokovan u katalitičko mesto „duboke i uske klisure” AChE enzima iz vrste *Torpedo californica* (PDB kod: 1EA5); katalitičke aminokiseline Ser200, His440 i Glu327 (predstavljene crvenom bojom), se nalaze „duboko u klisuri”

Tri aminokiselinska ostatka (Ser200, His440 i Glu327) koji se nalaze na dnu „klisure”, (slike 4.1.25 i 4.1.26) formiraju tzv. katalitičku trijadu i direktno su uključeni u proces hidrolize

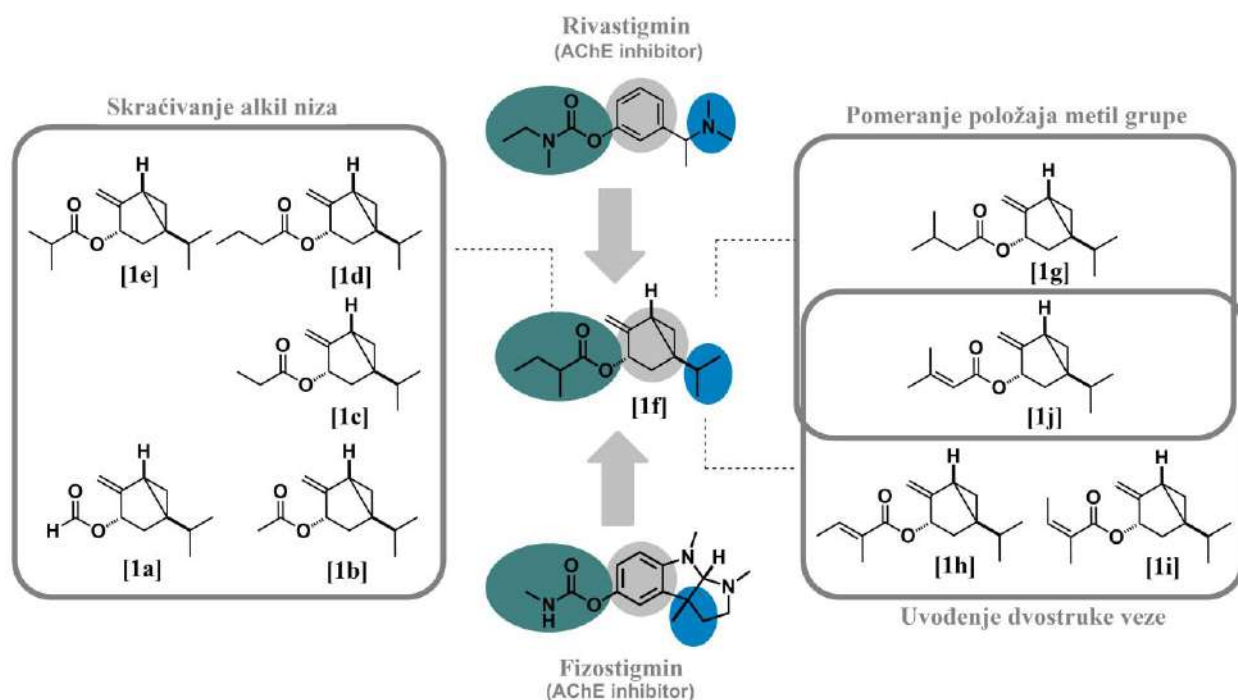
acetilholina (Millard et al., 1999; Sussman et al., 1991). Mnogi AChE inhibitori (neki od ovih inhibitora se koriste u lečenju Alchajmerove bolesti, AB) takođe interaguju sa ovim aminokiselinskim ostacima. Na primer, karbamatna grupa rivastigmina (RS; slika 4.1.27) kovalentno interaguje sa Ser200 i reverzibilno inhibira enzim (Bar-On et al., 2002; Sussman et al., 1991). Isto važi i za drugi AB lek, fizostigmin (FS). Milard i saradnici (Millard et al., 1999) su potvrdili i da su Trp84 i Phe330 takođe važni za interakciju enzima sa ligandom.



Slika 4.1.26. Energetski najpovoljniji položaj (1R*,3S*,5R*)-sabinil-senecioata dokovanog u kristalnu strukturu AChE iz vrste *Torpedo californica* (PDB kod: 1EA5); katalitičke aminokiseline Ser200, His440 i Glu327 su predstavljene crvenom bojom

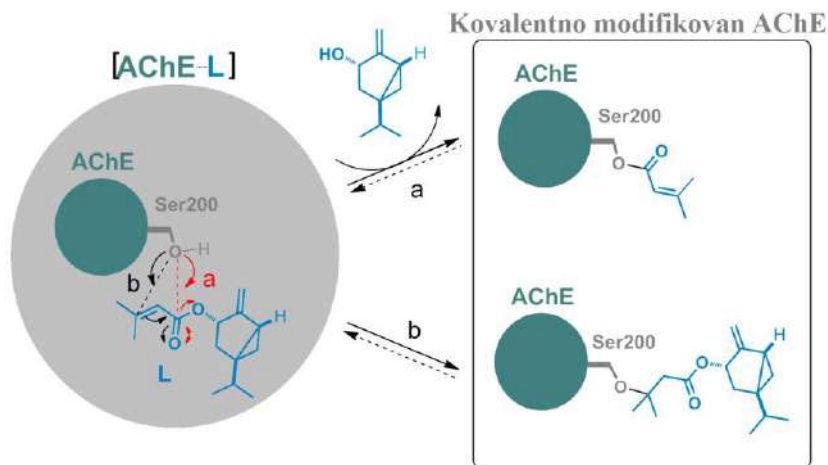
Kao što se uočava na slici 4.1.27, testirani sabinil estri imaju određenu strukturnu sličnost sa RS i FS. Na primer, analogno karbamatnoj grupi u RS/FS, sabinil estri sadrže elektrofilnu estarsku grupu (slika 4.1.27). Primetna je slična supstitucija na biciklo[3.1.0]heksanskom jezgru

estara **[1a – 1j]** i benzenovom prstenu RS i FS; prostorni odnos ključnih strukturnih fragmenata (npr. raspored elektrofilnih grupa i ostalih delova molekula) i ukupan oblik jedinjenja **[1a – 1j]** je uporediv sa onim kod molekula RS ili FS (slika 4.1.27).

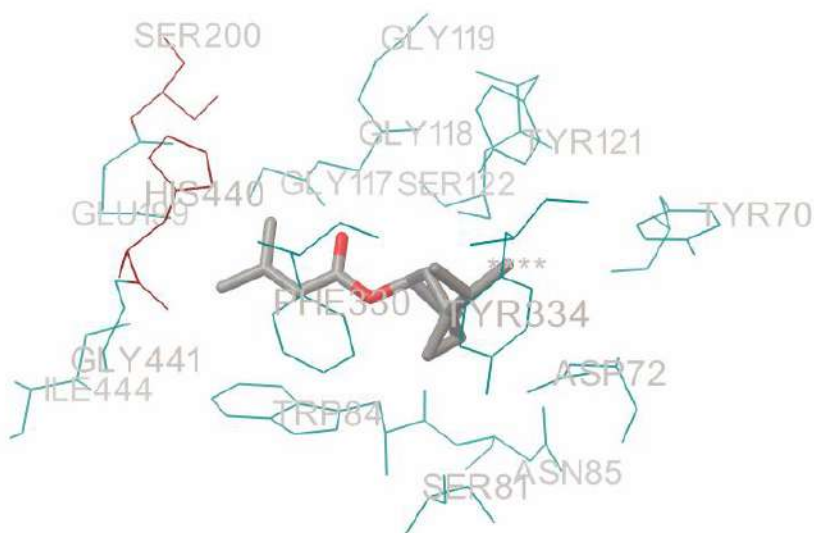


Slika 4.1.27. Strukturna sličnost (1R*,3S*,5R*)-sabinil estara **[1a – 1j]** i inhibitora acetilholinesteraze (rivastigmina i fizostigmina; komercijalnih lekova za lečenje Alchajmerove bolesti)

Na osnovu ovakvih poklapanja delova strukture, sa razlogom se očekivalo da estri **[1a – 1j]** mogu da se uklope u acetilholinestraznu „klisuru” koja sadrži katalitičku trijadu i na taj način inhibiraju dejstvo AChE, tj. pokažu AChE inhibitornu aktivnost. Sabinil estri (ligandi, L) su mogli jednostavno da „blokiraju” pristup ACh aktivnom mestu enzima (oni mogu formirati kompleks sa enzimom, AChE-L) ili čak kovalentnu vezu sa Ser200 (esterifikacija Ser200 OH-grupe; tj. moguća reverzibilna inhibicija, slika 4.1.28, put *a*). Sa druge strane, u slučaju (1R*,3S*,5R*)-sabinil-tiglata, angelata i senecioata, alkoholna grupa iz Ser200 je mogla reagovati sa nezasićenim kiselinskim delom gradeći proizvod konjugovane Majklove adicije (potencijalna reverzibilna inhibicija, slika 4.1.28, put *b*). U oba pretpostavljena slučaja, bilo bi potrebno da se ligand „uklopi” u navedenu usku „klisuru”, dok za kovalentnu interakciju sa Ser200, molekul bi morao da priđe (u odgovarajućoj povoljnoj orijentaciji) određenom aminokiselinskom ostatku.



Slika 4.1.28. Mogući mehanizam eksperimentalno uočene AChE inhibitorne aktivnosti (1R*,3S*,5R*)-sabinil estara: (1) interakcija liganda (na slici je L = (1R*,3S*,5R*)-sabinil-senecioat) sa ostacima aminokiselina prostorno bliskih katalitičkoj trijadi (formiranje AChE-L kompleksa) može blokirati pristup ACh katalitičkom mestu u enzimu; (2) kovalentna modifikacija Ser200 (put a: transesterifikacija ili put b: Majklova adicija) inhibira enzim (reverzibilno ili ireverzibilno)



Slika 4.1.29. Energetski najpovoljniji položaj (1R*,3S*,5R*)-sabinil-senecioata dokovanog u kristalnu strukturu AChE iz vrste *Torpedo californica* (PDB kod: 1EA5) i AChE ostaci aminokiselina koje su na 7 Å oko senecioata; katalitičke aminokiseline Ser200, His440 i Glu327 su predstavljene crvenom bojom

U cilju potvrde pretpostavljenih mehanizama, izvršili smo nekoliko eksperimenata dokovanja liganada **[1a – 1j]**, RS i FS na AChE enzim kao receptor. Interesantno je da su se svi nađeni, energetski povoljni, položaji jedinjenja **[1a – 1j]** nalazili unutar katalitičke „klisure”, što je ukazivalo na to da sabinil estri mogu reagovati sa ostacima aminokiselina iz katalitičke trijade. Najpovoljniji doking položaji (1R*,3S*,5R*)-sabinil-senecioata su predstavljeni na slikama 4.1.26 i 4.1.29. Jedinjenje **[1i]** se nalazi u blizini ostataka aminokiselina koje su važne za aktivnost AChE (Ser200, Glu327, His440, Phe330 i Trp84 (Millard et al., 1999; Sussman et al., 1991)) sa elektrofilnom estarskom grupom/dvostrukom vezom orijentisanom prema Ser200. Ovakvo prostorno uređenje sugerise da se ligand može vezati za enzim na način koji omogućava njihovu kovalentnu modifikaciju. Takođe, sličan rezultat je dobiven i u slučaju drugih testiranih estara *trans*-sabinola.

Kao što se može videti na slici 4.1.27, sintetisani sabinil estri **[1a – 1j]** čine biblioteku jedinjenja u kojoj je struktura jednog dela molekula sistematski varirana. Na primer, polazeći od (1R*,3S*,5R*)-sabinil-2-metilbutanoata (**[1f]** je imao najveće sličnosti sa RS), skraćivanjem alkil niza su formalno dobiveni estri **[1a – 1e]**, dok su promenom položaja metil grupe i/ili uvođenjem dvostruke veze dobiveni estri **[1g – 1j]**. Rezultati eksperimenta dokovanja su ukazivali da ove promene u strukturi mogu biti važne za AChE inhibitornu aktivnost. Izračunate vrednosti energije vezivanja (tabela 4.1.3) su sugerisale da se (1R*,3S*,5R*)-sabinil-tiglat i (1R*,3S*,5R*)-sabinil-senecioat veoma jako vezuju za enzim (energija vezivanja oko 8,5 kcal/mol) dok je (1R*,3S*,5R*)-sabinil-formijat posedovao najmanji afinitet prema AChE. Vrednosti energija vezivanja za estre zasićenih kiselina (oko 7,5 kcal/mol) su manje u odnosu na estre nezasićenih kiselina.

Tabela 4.1.3. Inhibicija acetilholinesteraze i izračunate vrednosti energije vezivanja (molekulsko dokovanje) *trans*-sabinola **[1]** i njegovih estara **[1a]**, **[1b]**, **[1h]** i **[1i]**

Jedinjenje	% AChE inhibicije ^{a)}	Energija vezivanja (kcal/mol)
<i>trans</i> -Sabinol [1]	25,3	-6,5
(1R*,3S*,5R*)-Sabinil-formijat [1a]	18,9	-6,9
(1R*,3S*,5R*)-Sabinil-acetat [1b]	22,7	-7,4
(1R*,3S*,5R*)-Sabinil-tiglat [1h]	23,2	-8,4
(1R*,3S*,5R*)-Sabinil-senecioat [1i]	40,0	-8,3

^{a)} U koncentraciji od 20 µg/ml (**[1]** (0,13 mmol/l), **[1a]** (0,11 mmol/l), **[1b]** (0,10 mmol/l), **[1h]** (0,09 mmol/l), **[1i]** (0,09 mmol/l))

Odabir jedinjenja koja su bila uključena u *in vitro* AChE test je bio baziran na rezultatima eksperimenta dokovanja i na osnovu njihove zastupljenosti u etarskom ulju biljne vrste *A. falcata*. Iz tog razloga, izvršili smo testiranje (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tigata (novog prirodnog proizvoda), senecioata (sa najvećom izračunatom energijom vezivanja) i formijata (sa najmanjom izračunatom energijom vezivanja; novi prirodni proizvod). Takođe, izvršeno je testiranje i *trans*-sabinola i acetata kao glavnih sastojaka ulja biljnih vrsta *A. falcata* i *A. ageratifolia* subsp. *serbica*. Nadali smo se da će ovakav izbor jedinjenja obezbediti osnovu za SAR (odnos strukture i aktivnosti) analizu. Rezultati testiranja inhibicije AChE su predstavljeni u tabeli 4.1.3 i, uopšteno govoreći, su u skladu sa onima iz eksperimenta dokovanja. Kao što je predviđeno, među testiranim estrima, najmanju inhibitornu aktivnost je imao (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijat. Rezultati i *in silico* i *in vitro* testiranja su pokazali da je prisustvo dvogube veze u kiselinskom delu važno za AChE inhibitornu aktivnost, a da je razlika u delovanju **[1h]** i **[1i]** posledica razlike u supstituciji oko dvostruke veze.

Inhibitori acetilholinesteraze se veoma često koriste za lečenje digestivnih problema. Dokazano je da ubrzavaju peristaltiku creva i na taj način ubrzavaju proces varenja hrane (Law et al., 2001). Važno je napomenuti da se čaj dobiven od delova biljne vrste *A. falcata* u narodnoj medicini koristi iz ovog razloga (Aburjai et al., 2007; Alzweiri et al., 2011).

4.1.3.3. Antinociceptivna aktivnost

U nekim slučajevima, antinocicepcija i analgezija se mogu smatrati znacima akutne intoksikacije (Akhila et al., 2007). Iz tog razloga smo ispitali mogućnost uticaja *trans*-sabinola i sabinil estara (**[1a]**, **[1b]**, **[1h]** i **[1i]**) na reakciju miševa na različite nociceptivne stimuluse (termalne i hemijske) u nekoliko antinociceptivnih modela: metoda vruće ploče (VP), metoda imerzije repa (IR) i test abdominalnih grčeva izazvanih acetilholinom (AChW). Ovi modeli su izabrani zato što oni pružaju uvid u različite aspekte (mehanizme) antinocicepcije. Na primer, VP i IR testovima se meri vreme reakcije životinja na termički stimulus. Međutim, rezultati VP testa pretežno govore o supraspinalnoj reakciji na stimulus, dok rezultati IR testa govore o spinalnoj kontroli reakcije na stimulus. Reakcije životinja u IR testu su posredovane spinobulbo-spinalnim spojem ili su posledica procesa učenja (Le Bars et al., 2001). U toku VP testa praćeno je koliko puta je životinja poskakivala i koliko puta je lizala šape (ovo je najčešća reakcija na termalni nadražaj na vrućoj ploči). Lizanje šapa predstavlja reakciju na štetni stimulus, dok je

poskakivanje indikacija afektivnih činilaca bola, pa prema tome u ove reakcije mogu biti uključeni različiti sistemi (Zetler, 1983). Pojava abdominalnih grčeva izazvanih acetilholinom (AChW) nije jedino posledica direktne stimulacije nikotinskih receptora već indirektno može biti povezana i sa oslobađanjem prostaglandina (Hackett and Buckett, 1975; Whittle, 1964). Štaviše, ACh-indukovana grčenja nisu inhibirana samo korišćenjem analgetika i narkotika, već i simpatomimetičkim, antiholinergičkim i antihistaminskim lekovima (Collier et al., 1968). Prema tome, istovremena analiza rezultata sva tri testa (VP i IR i AChW) može omogućiti razjašnjenje mogućeg mehanizma, na primer daje mogućnost određivanja različitih ciljnih sistema uključenih u nocicepciju (Radulović et al., 2013c).

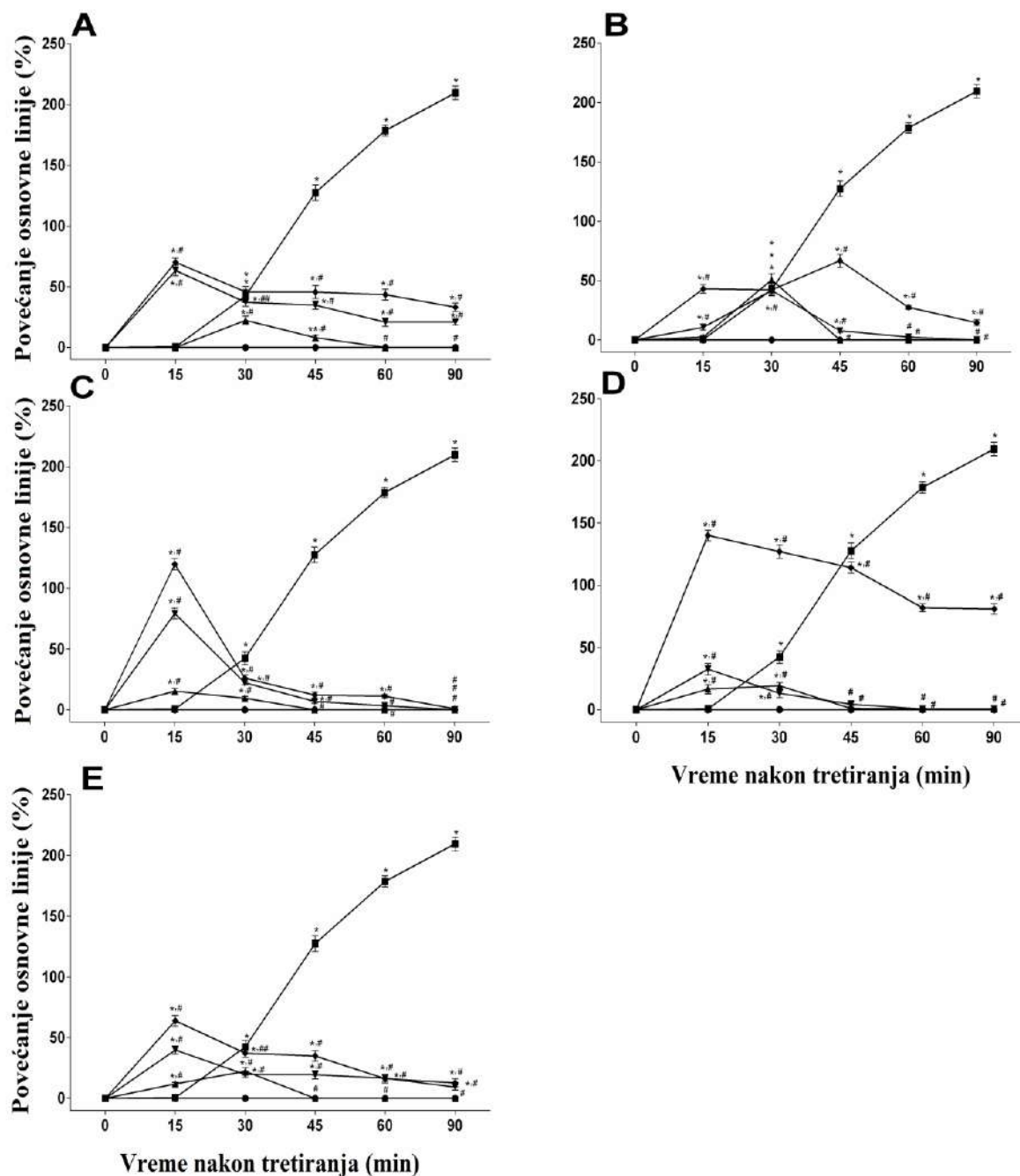
Kao što se može videti iz rezultata prikazanih u tabeli 4.1.4 i na slikama 4.1.30 – 4.1.32, u svim urađenim testovima su svi ispitani sabinil-estri pokazali neki stepen antinociceptivne aktivnosti. Dobiveni rezultati su sugerisali da testirana jedinjenja imaju uticaj i na periferni i na centralni nervni sistem. Međutim, čini se da je mehanizam antinocicepcije, kao i dozna zavisnost *trans*-sabinola i njegovih estara drugačija. Na primer, *trans*-sabinol **[1]** izaziva odlaganje reakcije životinja na termalni stimulus u oba testa (VP i IR; slike 4.1.30 i 4.1.31). U testu vruće ploče, kada je primenjen u najvećoj dozi od 50 mg/kg telesne mase (0,33 mmol/kg), maksimalni efekat *trans*-sabinola je uočen 15 minuta nakon davanja ovog jedinjenja; nakon toga, antinociceptivni efekat se je polako smanjivao tokom 90 minuta. Reakcija životinja tretiranih *trans*-sabinolom u VP testu je bila dozno zavisna (slike 4.1.30 i 4.1.31), dok je nasuprot tome u IR testu najmanja doza *trans*-sabinola (12,5 mg/kg) izazvala najveće produženje vremena reakcije životinja. Pik aktivnosti (maksimalna aktivnost) je zabeležena nakon 15 minuta od injektiranja testiranih jedinjenja (efekat *trans*-sabinola u tom vremenu je dva puta veći od efekta morfina (5 mg/kg (0,018 mmol/kg); slika 4.1.30)). Generalno govoreći, *trans*-sabinol je bio najaktivnije jedinjenje u IR testu (tabela 4.1.4 i slika 4.1.31), dok je u AChW testu **[1]** pokazao umerenu aktivnost (slika 4.1.32). Nasuprot IR testu, najveću aktivnost u VP testu je pokazao (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglat: doza od 50 mg/kg je izazvala povećanje od 140% osnovne linije 15 minuta nakon tretiranja životinje, dok je morfin (5 mg/kg) izazivao veoma malo povećanje osnovne linije ($\approx 1\%$) u tom trenutku eksperimenta (slika 4.1.31). Takođe je bilo uočljivo da sabinil estri (naročito acetat, slika 4.1.32) imaju mnogo veći uticaj na grčenje miševa u odnosu na *trans*-sabinol. Dakle, činilo se da je, za razliku od VP i AChW testova, slobodna alkoholna grupa od značaja za aktivnost *trans*-sabinola u IR testu.

Tabela 4.1.4. Antinociceptivno dejstvo *trans*-sabinola [1] i njegovih estara [1a], [1b], [1h] i [1i] kao i pozitivne kontrole (morfin) u VP i IR testovima izraženo kao procenat povećanja površine ispod krive promene vremena reakcije životinje u toku eksperimenta

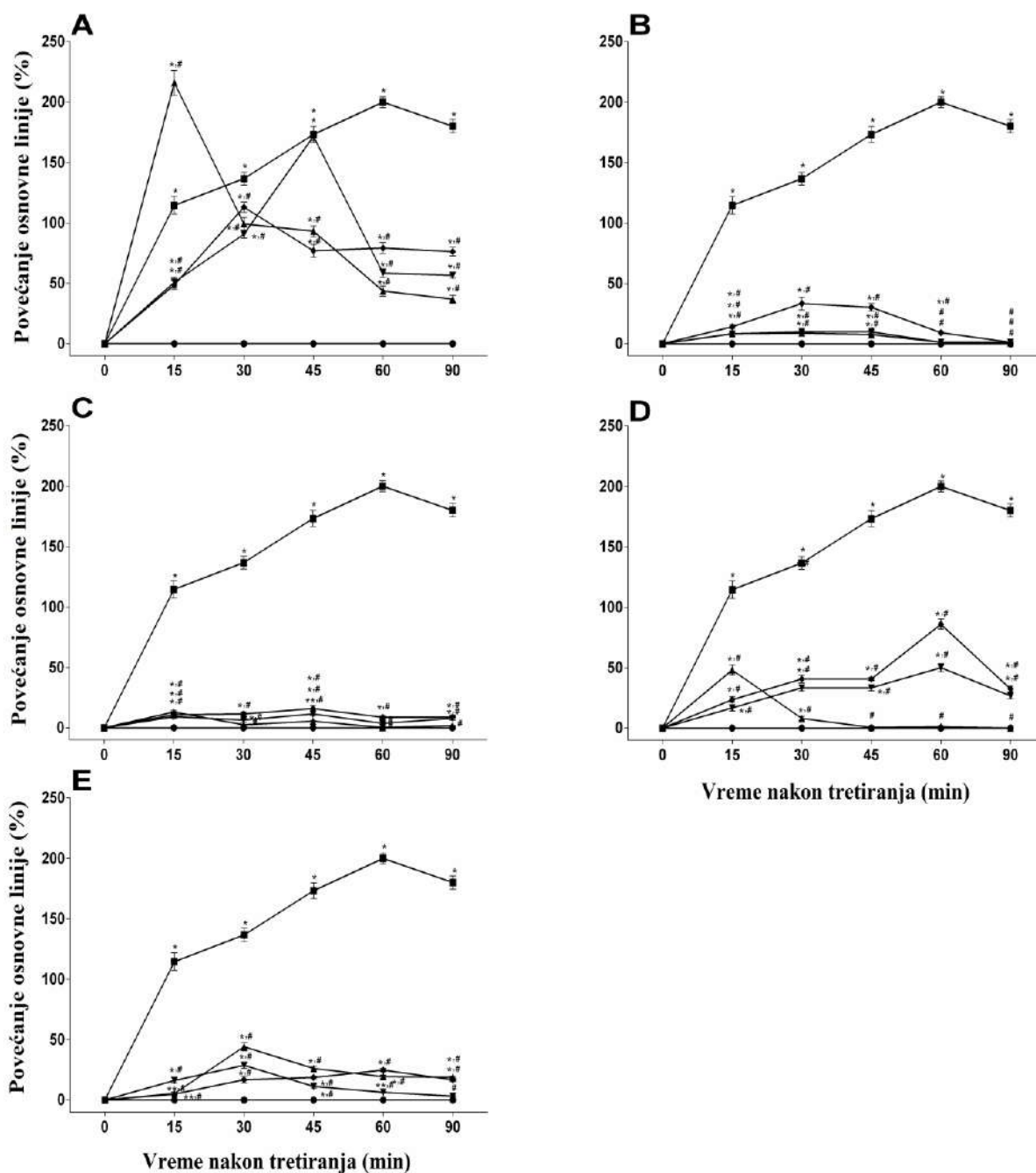
Jedinjenje	(1 <i>R</i> *,3 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *)-Sabinol [1]			(1 <i>R</i> *,3 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *)-Sabinil-formijat [1a]			(1 <i>R</i> *,3 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *)-Sabinil-acetat [1b]			(1 <i>R</i> *,3 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *)-Sabinil-tiglat [1h]			(1 <i>R</i> *,3 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *)-Sabinil-senecioat [1i]			Morfin
Test/doza (mg/kg)	12,5	25	50	12,5	25	50	12,5	25	50	12,5	25	50	12,5	25	50	5
VP	3,1	9,7	14,2	5,4	5,8	14,6	0,1	2,5	5,1	2,3	7,6	8,5	3,2	3,8	39,7	81,8
IR	22,4	21,0	21,3	2,9	3,8	13,6	1,9	5,0	6,1	3,5	10,2	28,2	3,3	20,9	27,0	76,1
AChW	/	17,9	62,7	44,8	40,3	55,2	/	50,7	80,6	31,4	44,8	44,8	14,9	40,3	50,7	/

/ - jedinjenje u datoj koncentraciji nije testirano.

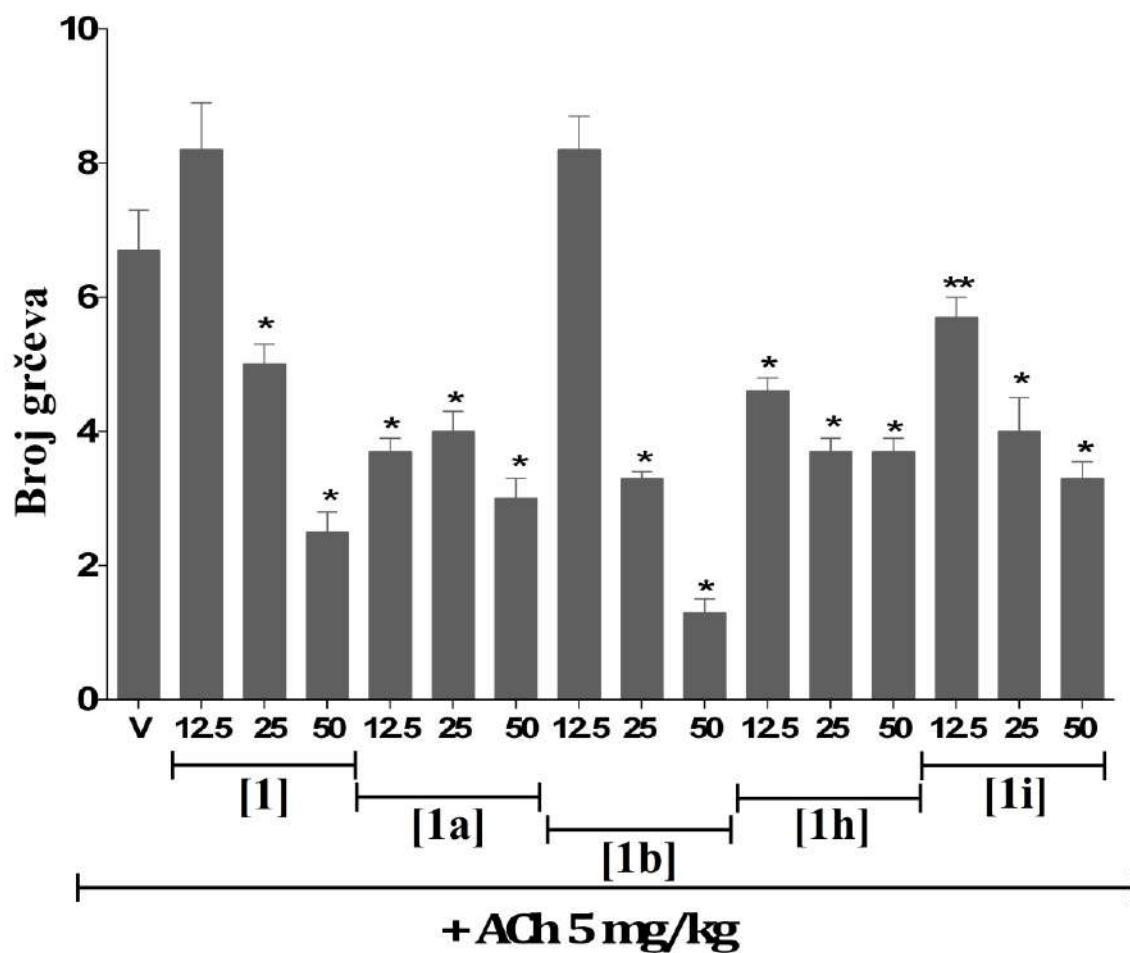
Kompletno razjašnjenje dobivenih razlika u aktivnostima ispitanih jedinjenja, kao i odgovarajuće dozne zavisnosti, nije moguće. Međutim, može se reći da: niske doze možda utiču na određene specifične populacije/subpopulacije receptora koji su uključeni u percepciju stimulusa (što uslovljava da se veća antinociceptivna aktivnost može videti u nižim primenjenim dozama, kao na slici 4.1.31); testirana jedinjenja deluju na opioidne podtipove receptora lociranih na supraspinalom i spinalom nivou (Radulović et al., 2013c) ili da aktiviraju serotonin i adrenergijske bulbospinalne puteve, da dolazi do stimulacije vagusa koja uzrokuje opštu depresiju centralnog nervnog sistema (Le Bars et al., 2001). Uopšteno govoreći, iako AChW test nije specifičan (Whittle, 1964), dobiveni rezultati su pokazali da testirani (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil estri najverovatnije interaguju sa nikotinskim receptorima. Treba imati u vidu da dobivena antinociceptivna aktivnost može biti sekundarna aktivnost sedativnog dejstva primenjenih supstanci (Herrick-Davis et al., 1989). Kratko vreme potrebno za maksimalno delovanje primenjenih supstanci (u VP testu, uočen je maksimalni efekat posle 15 minuta (slika 4.1.30), dok je u IR testu, u većini slučajeva maksimum aktivnosti bio u 30-tom minutu (slika 4.1.31), što ukazuje na to da se primenjeni (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil estri veoma brzo metabolišu.



Slika 4.1.30. Efekat *trans*-sabinola (A), (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata (B), (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata (C), (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglata (D) i (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata (E), u dozama od 12,5 (-▲-), 25 (-▼-) i 50 (-◆-) mg/kg, na reakciju miševa na nociceptivni stimulus u testu vruće ploče u odnosu na morfin (5 mg/kg, -■-) i slepu probu (10 ml/kg, -●-). Rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost povećanja osnovne linije ± S.D. (n = 6)



Slika 4.1.31. Efekat *trans*-sabinola (A), (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata (B), (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata (C), (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglata (D) i (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata (E), u dozama od 12,5 (-▲-), 25 (-▼-) i 50 (-◆-) mg/kg, na reakciju miševa na nociceptivni stimulus u testu imerzije repa u odnosu na morfin (5 mg/kg, ■-) i slepu probu (10 ml/kg, ●-). Rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost povećanja osnovne linije ± S.D. (n = 6)



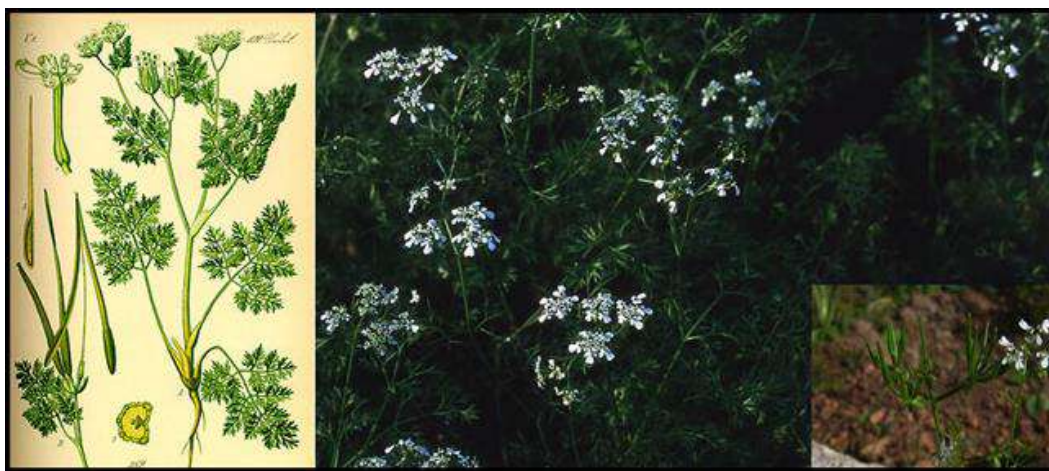
Slika 4.1.32. Efekat *trans*-sabinola [1] i estara ([1a], [1b], [1h] i [1i]), u dozama od 12,5, 25 i 50 mg/kg, na broj grčeva uočenih kod miševa nakon injekcije ACh (V – vehikulum (maslinovo ulje))

4.2. Kombinatorna biblioteka izobutanoata, 2-metilbutanoata i (izo)pentanoata dugolančanih alkohola

4.2.1. Određivanje sastava etarskih ulja biljnih vrsta *Scandix balansae* i *S. pecten-veneris*

4.2.1.1. *Scandix balansae* Reut. ex Boiss.

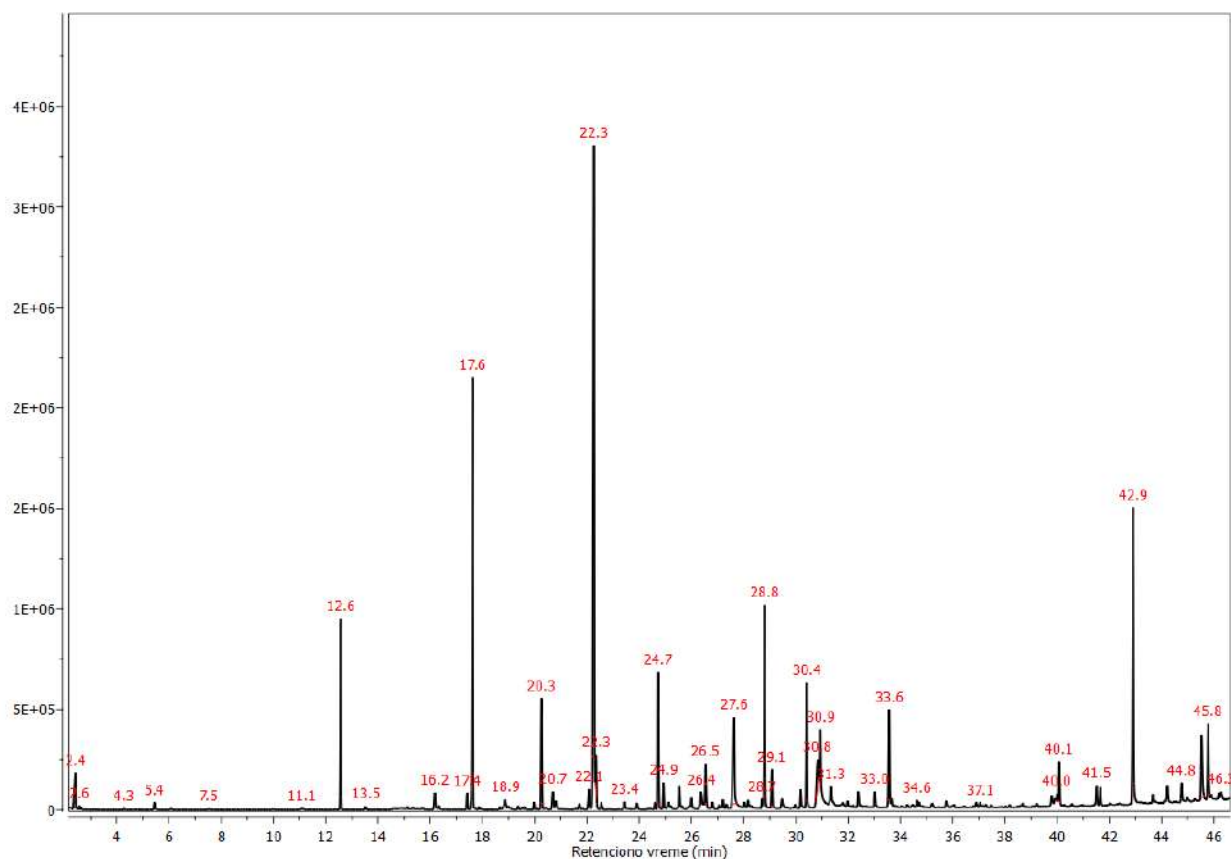
Scandix balansae Reut. ex Boiss. (familija Apiaceae (štitašice)) je endemična biljna vrsta karakteristična za obronke planine Kavkaz (slika 4.2.1). Pretraživanjem dostupne literature utvrđeno je da ne postoje podaci o isparljivim i neisparljivim sekundarnim metabolitima ove biljne vrste što nas je navelo da izvršimo detaljnu analizu etarskog ulja šizokarpa metodom kapilarne gasne hromatografije kuplovane sa masenospektrometrijskom detekcijom. Opredelili smo se za analizu plodova, jer biljne vrste iz familije Apiaceae često upravo tu akumuliraju etarsko ulje (Corsi i Biasci, 1998).



Slika 4.2.1. Izgled biljne vrste *Scandix balansae*

U uzorku etarskog ulja dobivenog hidrodestilacijom suvih plodova je identifikovan 81 sastojak (91,4% ukupnih površina ispod pikova u TIC hromatogramu; slika 4.2.2; prilog 8.2.1; uzorak **S8**). Najzastupljenije klase su bili alkani (51,2%) i jedinjenja nastala iz metabolizma masnih kiselina (29,6%). Utvrđeno je da su glavni sastojci ulja alkani sa 13-17 ugljenikovih atoma (tridekan (6,7%), pentadekan (13,4%) i heptadekan (19,3%)) i dugolančani alkan (nonakozan (7,6%)). U ulju su, pored alkana i jedinjenja nastalih iz metabolizma masnih

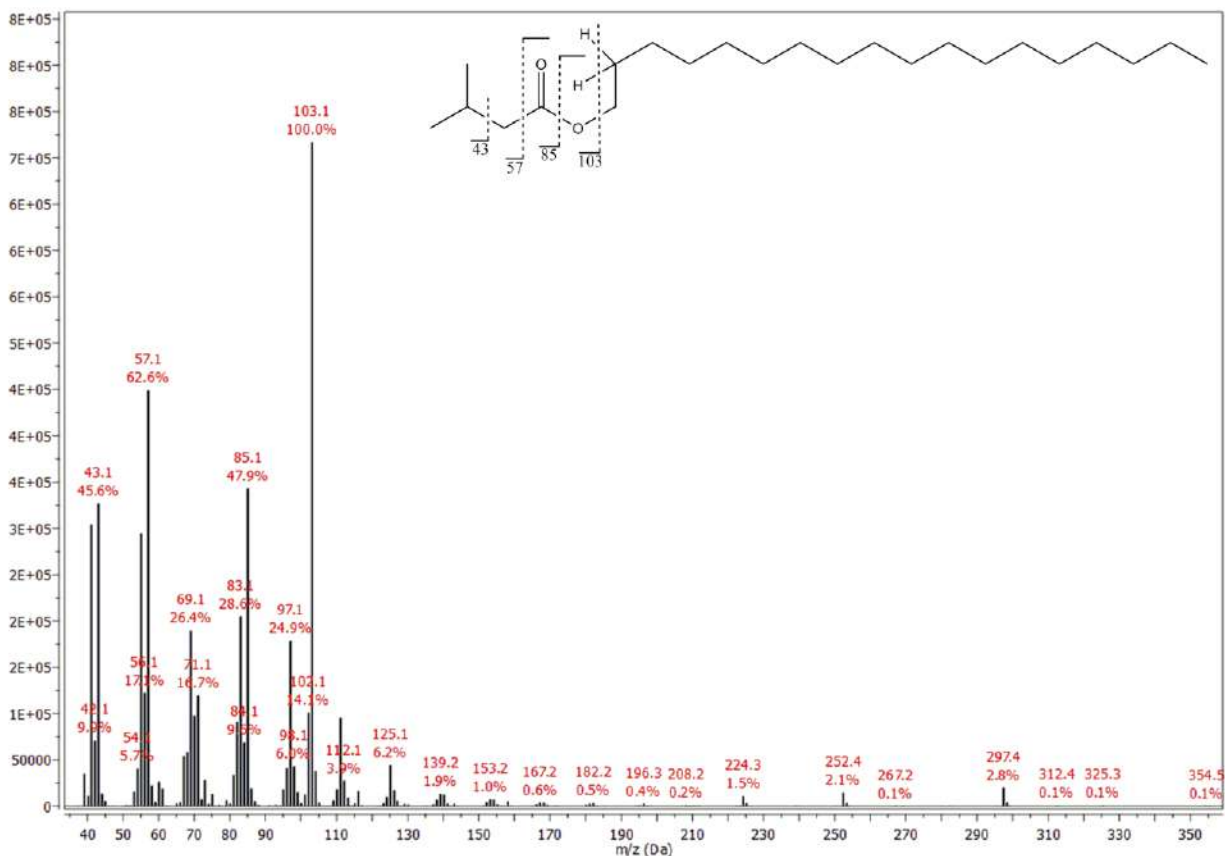
kiselina, identifikovani i *green leaf* derivati (2,0%) i terpeni (monoterpeni u tragovima (< 0,05%), seskviterpeni (0,4%) i diterpeni (4,3%)).



Slika 4.2.2. TIC hromatogram etarskog ulja plodova biljne vrste *Scandix balansae*

Većina identifikovanih sastojaka predstavljala je uobičajene sekundarne metabolite prisutne u etarskim uljima (npr. (*E*)-kariofilen, pulegon itd.). Međutim, neki od sastojaka nisu mogli biti identifikovani zbog nepostojanja masenih spektara kao i vrednosti retencionih indeksa u dostupnim bazama (Wiley, MassFinder i Adams). Na primer, u ulju su detektovana tri sastojka sa relativno velikim vrednostima retencionih indeksa (RI = 2021, 2436 i 2484) i veoma sličnom MS fragmentacijom što je impliciralo da su identifikovana jedinjenja članovi homologe serije prirodnih proizvoda. Na osnovu analize fragmentacija u masenim spektrima, tj. prisustva osnovnog jona na m/z 103 i intenzivnih jona na m/z 85 i 57 (slika 4.2.3), zaključeno je da detektovani sastojci sadrže fragment koji potiče od neke od izomernih pentanskih kiselina (2-metilbutanske, 3-metilbutanske i/ili pentanske kiseline (m/z 103 [$C_4H_9COOH_2^+$], 57 [$C_4H_9^+$] i 85

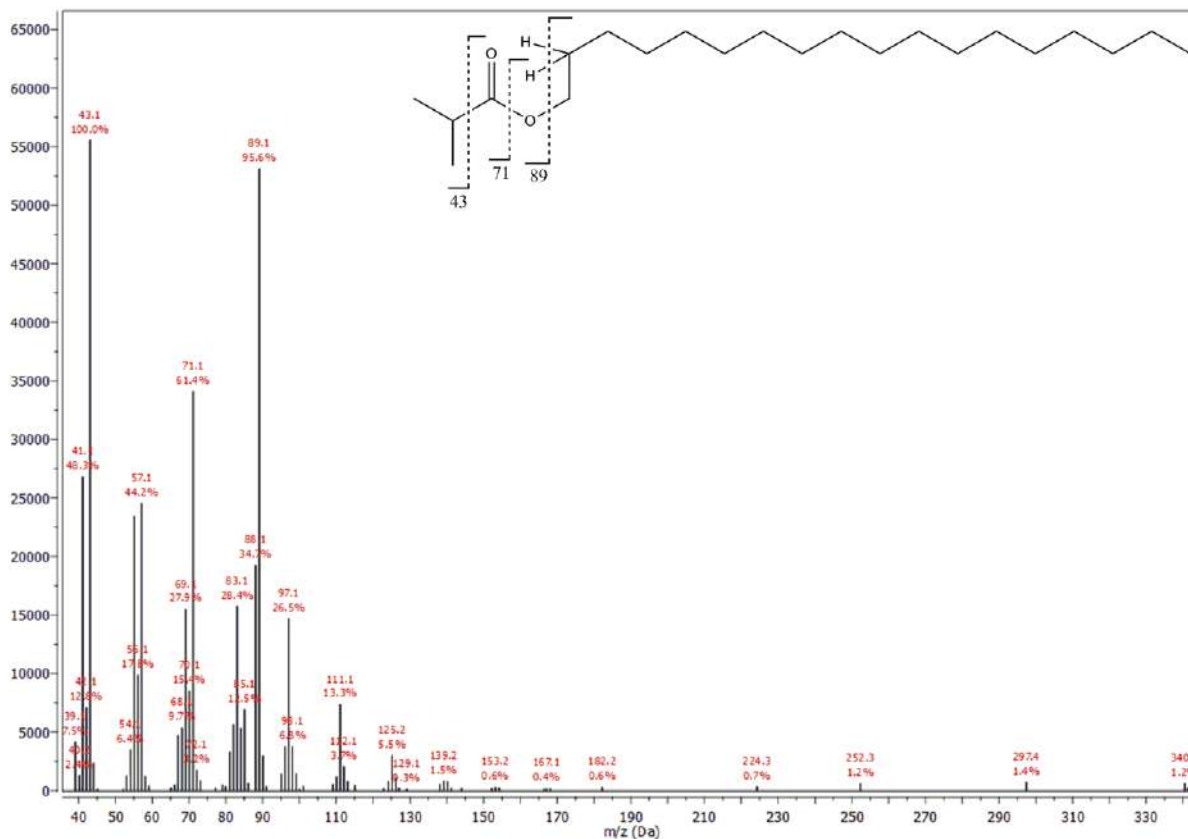
[C₄H₉CO⁺])). Velike vrednosti retencionih indeksa, kao i molekulski joni [M]⁺ na *m/z* 298 i 354, ukazivali su na činjenicu da je reč o estrima (izo)pentanske kiseline i linearnih i/ili račvastih dugolančanih alkohola (tetradekanola i oktadekanola). Ova pretpostavka je bila podržana i razlikama u vrednostima retencionih indeksa (povećanje RI vrednosti za ≈ 100 jedinica po dodatoj metilenskoj grupi) identifikovanih sastojaka i literaturnih vrednosti za heksil-pentanoat, heptil-2-metilbutanoat i heptil-3-metilbutanoat (Forero et al., 2008).



Slika 4.2.3. Maseni spektar sastojka (RI = 2484) etarskog ulja plodova biljne vrste *Scandix balansae* koji je identifikovan kao oktadecil-izovalerat

Pored ova tri sastojka, detektovano je još jedno jedinjenje za koje su vrednosti *m/z* 340 molekulskog jona, *m/z* 43 osnovnog jona i intenzivnih jona na *m/z* 89 i 71 u masenom spektru (slika 4.2.4), kao i vrednost retencionog indeksa (2340), ukazivale na to da je reč o oktadecil-izobutanoatu (njegov reticioni indeks je za ≈ 100 jedinica manji od detektovanih (izo)pentanoata zajedno sa razlikom od 14 Da između *m/z* vrednosti dominantnih pikova u

masenom spektru). S obzirom na kompleksnost etarskog ulja (sadrži 81 sastojak) kao i činjenicu da su identifikovani estri prisutni u malom procentu (do 0,3%), njihovo izolovanje u čistom stanju radi dodatne potvrde strukture nije bilo moguće. U cilju potvrde identifikacije detektovanih sastojaka, izvršena je sinteza biblioteke estara dugolančanih alkohola i (izo)-butanskih i (izo)-pentanskih kiselina (detaljnije o kreiranju biblioteke estara, njihovoj sintezi i spektralnoj analizi će biti reči u poglavlju 4.2.2).



Slika 4.2.4. Maseni spektar sastojka (RI = 2340) etarskog ulja plodova biljne vrste *Scandix balansae* koji je identifikovan kao oktadecil-izobutanoat

Gasno-hromatografska analiza smeše uzorka etarskog ulja sa dobijenim standardima estara iz biblioteke (koinjekcija) je nedvosmisleno potvrdila prvobitnu pretpostavku da su tetradecil-3-metilbutanoat **[2e]**, oktadecil-izobutanoat **[2n]**, oktadecil-3-metilbutanoat **[2q]** i oktadecil-pentanoat **[2r]** sastojci etarskog ulja plodova biljne vrste *S. balansae* od kojih je oktadecil-pentanoat **[2r]** potpuno novo jedinjenje - detaljnom pretragom literature nisu pronađeni nikakvi podaci o ovom jedinjenju.

4.2.1.2. *Scandix pecten-veneris* L.

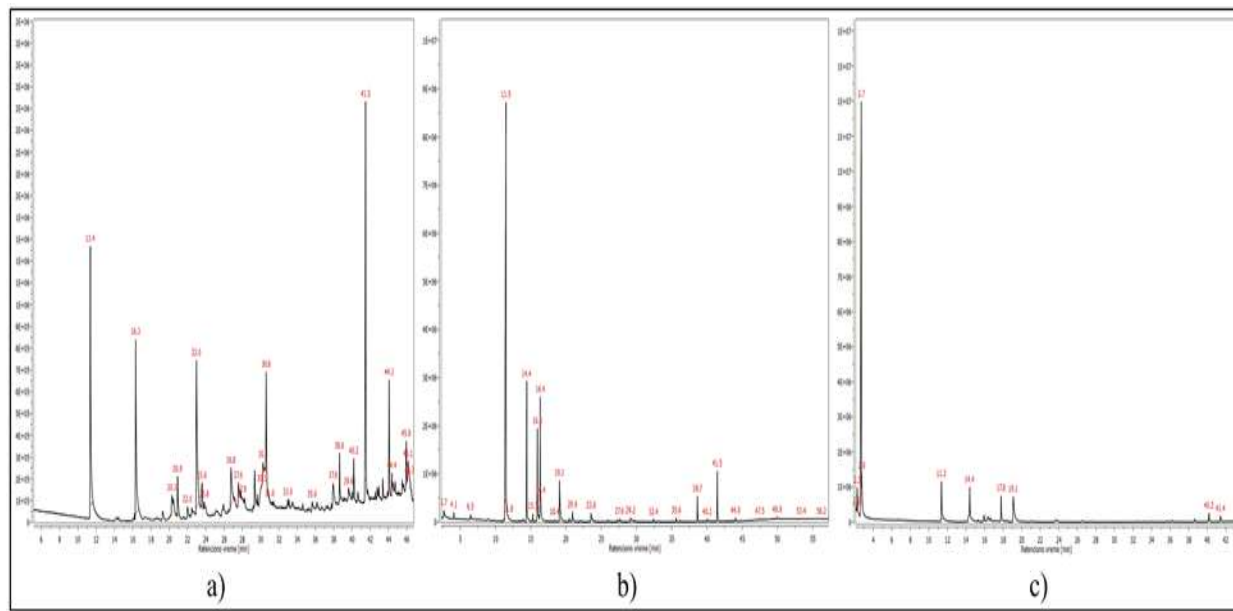
Scandix pecten-veneris L. (Apiaceae; slika 4.2.5) je široko rasprostranjena biljna vrsta u oblasti Sredozemlja i jedini je predstavnik roda *Scandix* u flori Srbije (Josifović, 1974). Pretraživanjem literature je ustanovljeno da je ova štitašica, iako se u Iranu i Turskoj već dugo koristi u tradicionalnoj medicini, nedovoljno fitohemijski ispitana, pri čemu je poslednja analiza sekundarnih metabolita vršena još sredinom osamdesetih godina dvadesetog veka (Kubeczka, 1982).



Slika 4.2.5. Izgled biljne vrste *Scandix pecten-veneris*

Sastav etarskog ulja korena, nadzemnih delova i plodova, na osnovu prinosa ulja nearomatične (0,08 – 0,18% (w/w)) biljne vrste *Scandix pecten-veneris* L. (Apiaceae), izolovanih iz biljnog materijala sakupljenog u Nišu i sa dve lokacije u blizini Niša (tabela 3.2.1) dat je u prilogu 8.2.1. Identifikovana su ukupno 123 sastojaka ulja koji predstavljaju 92,7% – 99,2% ukupnih površina ispod pikova u TIC hromatogramima (slika 4.2.6). Dominantnu klasu jedinjenja, u uzorcima ulja nadzemnih delova i korena, činili su alkani (47,8% – 78,1%). Njihova zastupljenost u etarskom ulju plodova je bila znatno niža (11,1%). Preostali deo uzorka etarskog

ulja plodova su uglavnom činili *green leaf* metaboliti (61,7%) i seskviterpeni (13,4%). Identifikovani monoterpeni su činili samo mali deo ulja nadzemnih delova (0,1% – 0,4%) i plodova (< 0,05%), dok u etarskom ulju korena nisu detektovani čak ni u tragovima.



Slika 4.2.6. TIC hromatogram etarskog ulja a) korena, b) nadzemnih delova i c) plodova biljne vrste *Scandix pecten-veneris*

Pretragom literature ustanovljeno je da je ovako visok sadržaj alkana, sa tridekanom (13,9% – 52,8%), pentadekanom (8,5% – 23,5%) i/ili heptadekanom (1,2% – 5,2%) kao glavnim sastojcima ulja, karakterističan jedino za etarska ulja biljnih vrsta iz roda *Scandix*. Ovaj podatak može imati hemotaksonomski značaj zato što su, za razliku od dugolančanih *n*-alkana koji su generalno česti biljni metaboliti, *n*-alkani srednje dužine lanca (konkretno tridekan, pentadekan i heptadekan) retki metaboliti za koje se čini da ne potiču iz mitohondrijalnog biosintetskog puta (Radulović et al., 2012b). Identifikacija 109 od 123 sastojaka ulja je izvršena na osnovu poređenja masenih spektara i odgovarajućih retencionih indeksa sa literaturnim vrednostima kao i GC-koinjekcijom ulja sa dostupnim standardima. Preostalih 14 pikova u GC hromatogramu je poticalo od dve serije jedinjenja za koje je pretpostavljeno da su to estri dugolančanih alkohola i (izo)butanske kao i (izo)pentanske kiseline. Njihova struktura je, kao i u slučaju sastojaka ulja vrste *Scandix balansae*, pretpostavljena na osnovu karakteristične MS fragmentacije, kao i na osnovu vrednosti njihovih retencionih indeksa. Fragmenti na *m/z* 103, 101, 85, 57 i 43, koji se

slažu sa fragmentacijom pentanoata (Adams, 2007) i molekulskih jona na m/z 270, 284, 298, 312, 326, 340 i 354 (relativni intenzitet 1% – 9%) su ukazivali da su to estri (izo)pentanske kiseline i dugolančanih alkohola.

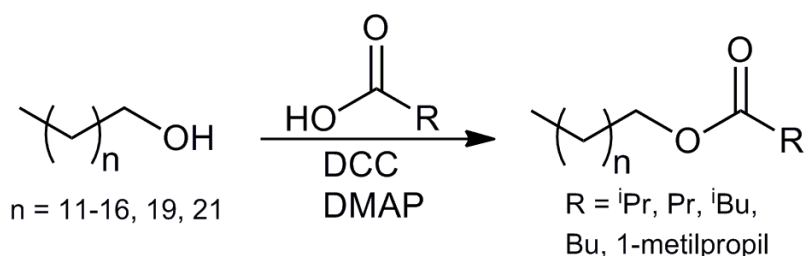
Za masene spektre jedinjenja iz druge serije sastojaka etarskih ulja je bilo karakteristično prisustvo osnovnog jona na m/z 43 [$C_3H_7^+$] i intenzivnih jona na m/z 89 [$C_3H_7COOH_2^+$] i 71 [$C_3H_7CO^+$], što je ukazivalo da su to estri izobutanske kiseline ili butanske kiseline. GC-koinjekcija sintetisanih standarda estara sa uzorcima etarskog ulja je potvrdila prisustvo tridecil- **[2a]**, tetradecil- **[2d]**, pentadecil- **[2f]**, heksadecil- **[2i]**, heptadecil- **[2k]**, oktadecil- **[2n]**, heneikozil- **[2s]** i trikozil-izobutanoata **[2t]**, kao i tridecil- **[2c]**, tetradecil- **[2e]**, pentadecil- **[2h]**, heksadecil- **[2j]**, heptadecil- **[2m]** i oktadecil-3-metilbutanoata (izopentanoata) **[2q]** u etarskom ulju biljne vrste *S. pecten-veneris* (prilog 8.2.1; uzorci **S1 – S7**) od kojih su tridecil- **[2a]**, pentadecil- **[2f]**, heptadecil- **[2k]**, heneikozil- **[2s]** i trikozil-izobutanoati **[2t]**, kao i tridecil- **[2c]**, pentadecil- **[2h]** i heptadecil-3-metilbutanoati **[2m]** potpuno nova jedinjenja koja su po prvi put bila identifikovana kao biljni sekundarni metaboliti.

Upoređivanjem sastava ovog etarskog ulja sa prethodnim istraživanjima (Ashraf et al., 1979; Kubeczka, 1982) uočene su značajne razlike kako u broju, tako i u identitetu detektovanih metabolita. U prethodna dva ispitivanja hemijskog sastava etarskog ulja identifikovano je 10 (Ashraf et al., 1979), odnosno 12 sastojaka (Kubeczka, 1982). U etarskom ulju korena, Ašraf i saradnici (Ashraf et al., 1979) su identifikovali samo 10 sastojaka ulja među kojima su dominirale dodekanska kiselina (laurinska kiselina; 38,0%) i 2-undekanon (11,0%). Rezultati druge po redu analize sastava ulja vrste *S. pecten-veneris* (Kubeczka, 1982) se mnogo više slažu sa rezultatima naše analize zato što je i tada nađeno da su glavni sastojci ulju alkani. Od svega 12 sastojaka detektovanih u istraživanju Kubečke i saradnika (Kubeczka, 1982), glavni sastojci su bili tridekan (19,4%), pentadekan (18,5%), heptadekan (23,0%), tetradekanal (8,0%) i (*E*)-4-(prop-1-enil)fenil-butanoat (u tom radu imenovan kao anil-butirat, 9,9%) u etarskom ulju nadzemnih delova, odnosno tridekan (13,7%), pentadekan (12,7%), heptadekan (3,5%), tetradekanal (0,3%) i (*E*)-4-(prop-1-enil)fenil-butanoat (53,0%) u etarskom ulju korena. Ovako značajne razlike, naročito sa prvim istraživanjem (Ashraf et al., 1979), bi se mogle objasniti postojanjem različitih hemotipova ovog taksona, klimatskih faktora, postojanja infekcije biljaka, vremena branja i drugih faktora koji mogu dovesti do promene u profilu isparljivih sastojaka.

4.2.2. Kreiranje kombinatorne biblioteke, sinteza estara dugolančanih alkohola i njihova spektralna karakterizacija

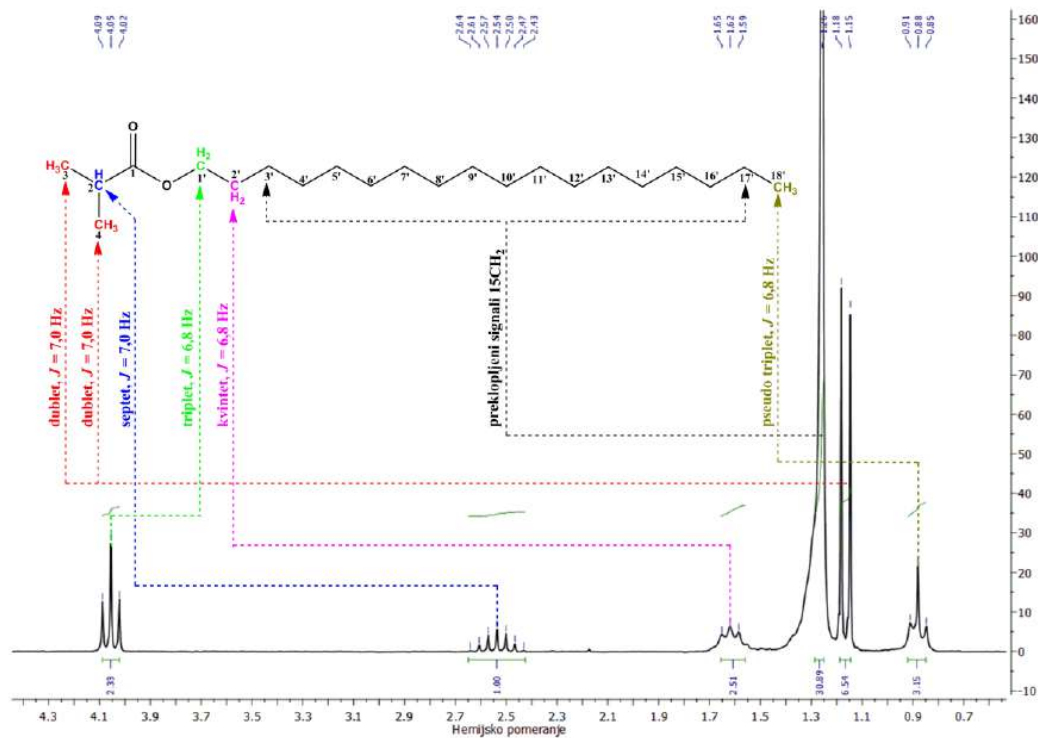
Motivisani krajnje ograničenom i specifičnom rasprostranjenošću detektovanih sekundarnih metabolita odlučili smo da potvrdimo njihov pretpostavljeni identitet kreiranjem biblioteke gore navedenih estara. Odlučili smo se za sintetski pristup usled kompleksnosti etarskih ulja biljnih vrsta *S. balansae* i *S. pecten-veneris*, kao i činjenice da su identifikovani estri prisutni u malom procentu (do 3,3%), pa je njihovo hromatografsko izolovanje u čistom stanju radi dodatne potvrde strukture bilo potpuno nemoguće. Pored toga, ako se na osnovu dostupnih podataka ne možemo odlučiti za neki od izomera sa veoma sličnim spektralnim i hromatografskim osobinama, najlogičniji i jedini sveobuhvatni pristup je kreiranje biblioteke jedinjenja svih izomera, a zatim njihova koinjekcija sa uzorcima etarskog ulja što bi nedvosmisleno potvrdilo identitet detektovanih sekundarnih metabolita.

Prilikom kreiranja biblioteke, uzet je u obzir biosintetski put po kojem ova jedinjenja nastaju da bi smanjili ukupan broj jedinjenja koja treba sintetisati. Tako je kreirana biblioteka estara izobutanske, butanske, 2-metilbutanske, 3-metilbutanske i pentanske kiseline sa dugolančanim *n*-alkoholima (C_{13} – C_{18} , C_{21} i C_{23}) korišćenjem Štegljohove metode (slika 4.2.7).

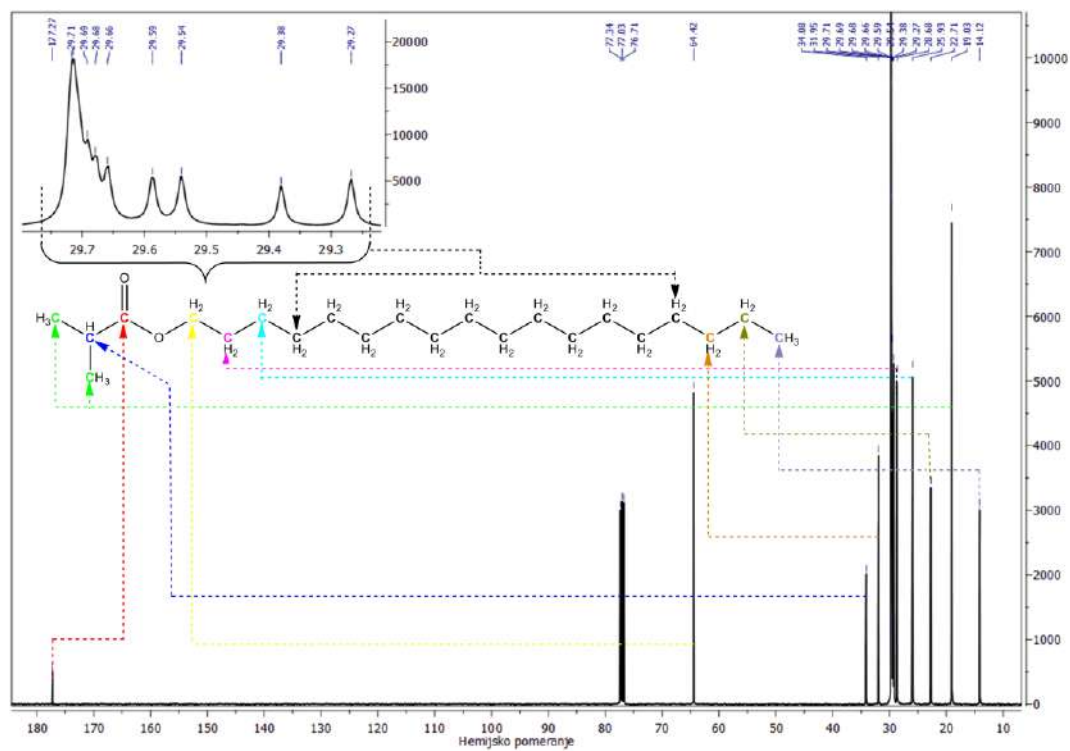


Slika 4.2.7. Sinteza estara dugolančanih *n*-alkohola [2a – 2t]

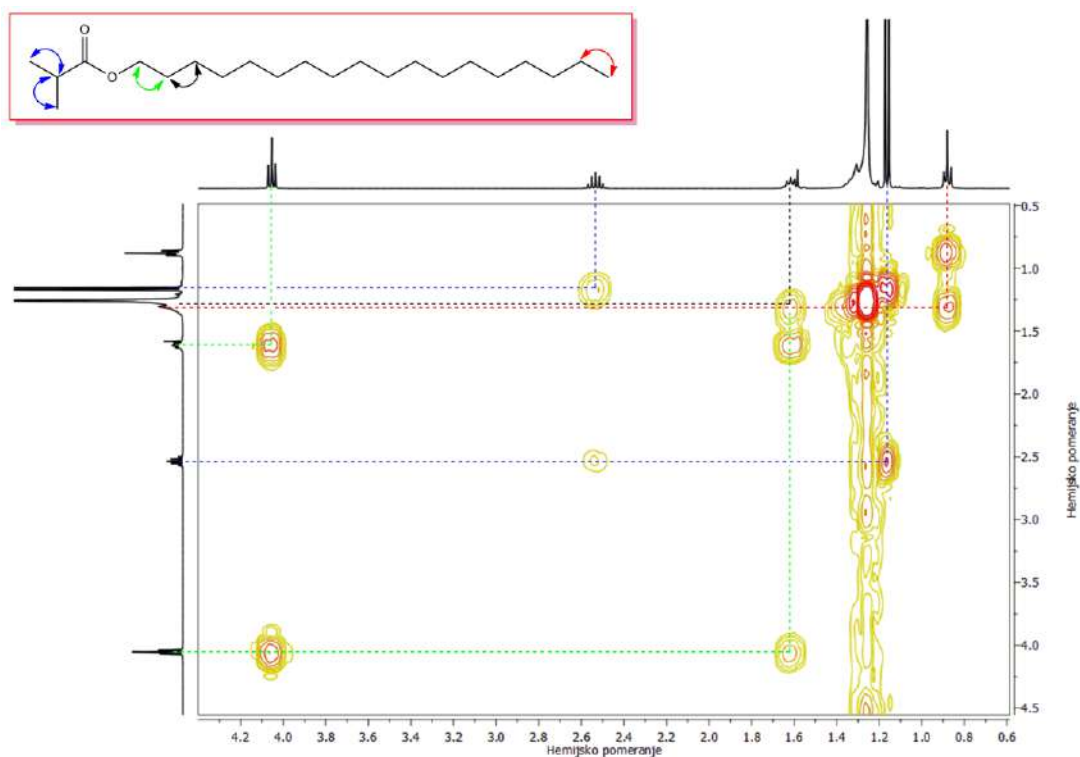
Ukupni prinos estara [2a – 2t], vrlo slabog mirisa voskaste note, bio je u intervalu od 72% do 87%. Svi sintetisani estri [2a – 2t] su detaljno spektralno okarakterisani (^1H - i ^{13}C -NMR, IR, MS; prilozi 8.2.2 – 8.2.81), a njihova struktura je u potpunosti potvrđena analizom 1D- i 2D-NMR spektara (slike 4.2.8 – 4.2.12). Iako smo utvrdili da sintetisani estri iz serije 2-metilbutanoata nisu prisutni u ulju, ova serija nam je pružila mogućnost upoređenja njihovih spektralnih/hromatografskih/bioloških karakteristika sa ostalim sintetisanim (izo)pentanoatima iz etarskog ulja.



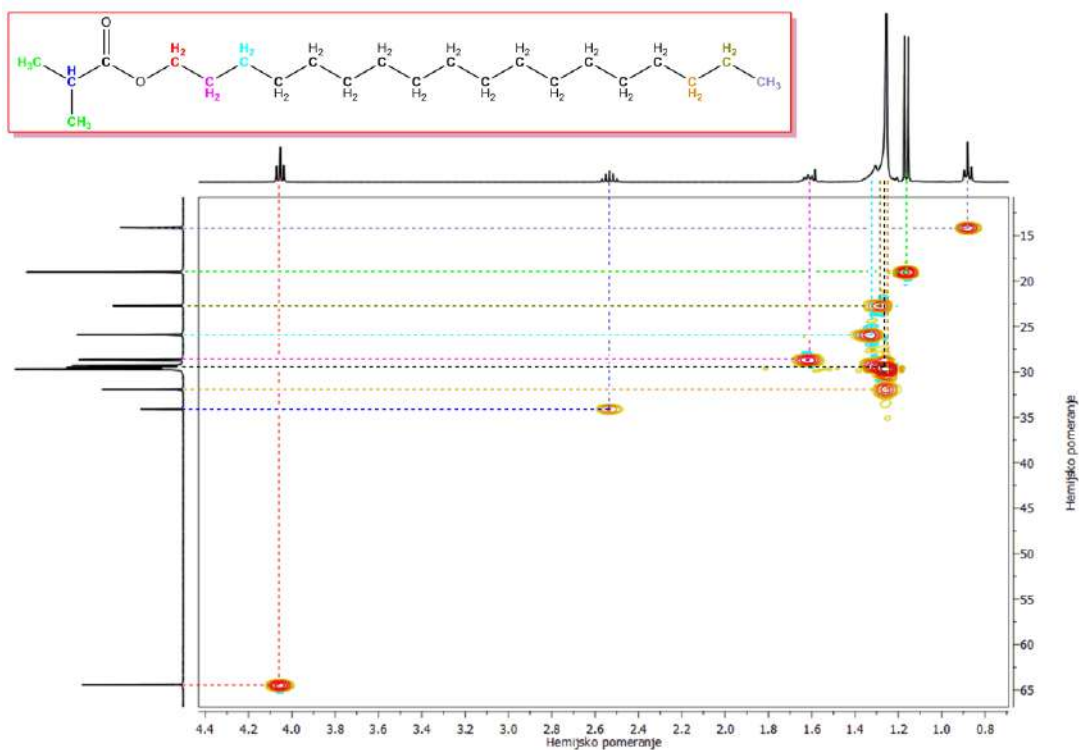
Slika 4.2.8. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar oktadecil-izobutanoata [**2n**]



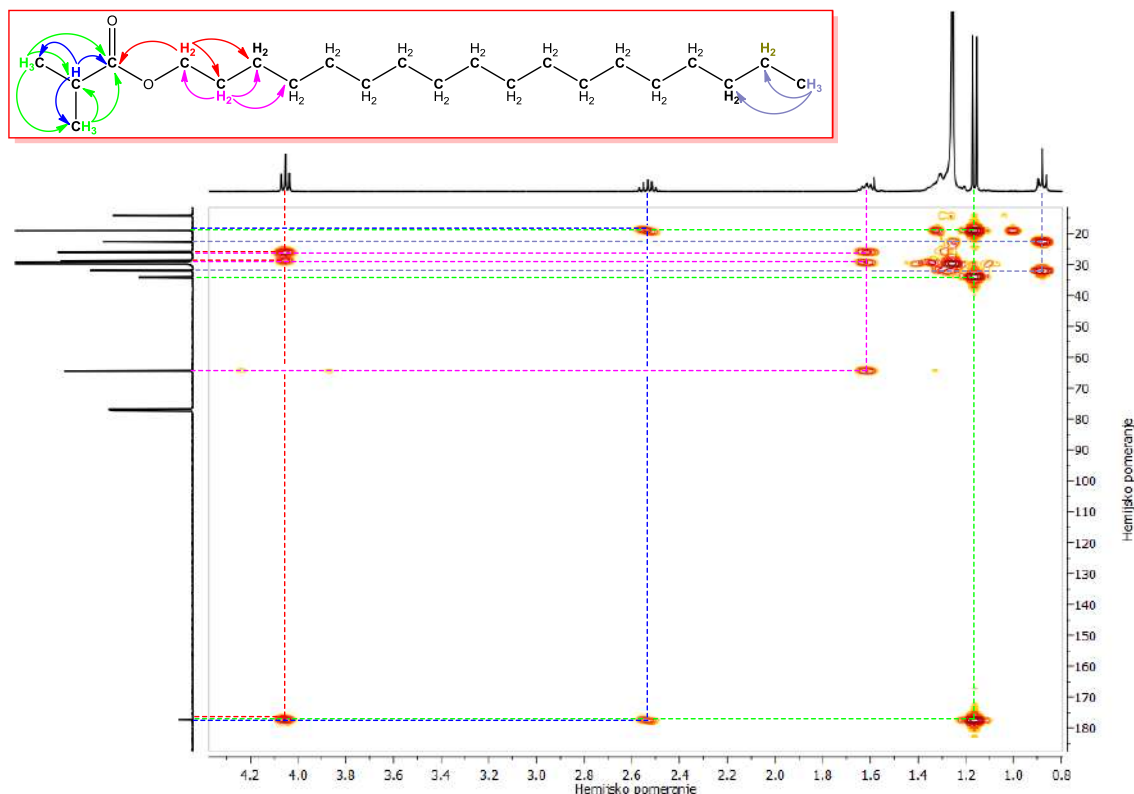
Slika 4.2.9. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar oktadecil-izobutanoata [**2n**]



Slika 4.2.10. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar (CDCl_3 ; ^1H : 400 MHz) oktadecil-izobutanoata [2n]



Slika 4.2.11. HSQC spektar (CDCl_3 ; ^1H : 400 MHz, ^{13}C : 101 MHz) oktadecil-izobutanoata [2n]



Slika 4.2.12. HMBC spektar (CDCl_3 ; ^1H : 400 MHz, ^{13}C : 101 MHz) oktadecil-izobutanoata [2n]

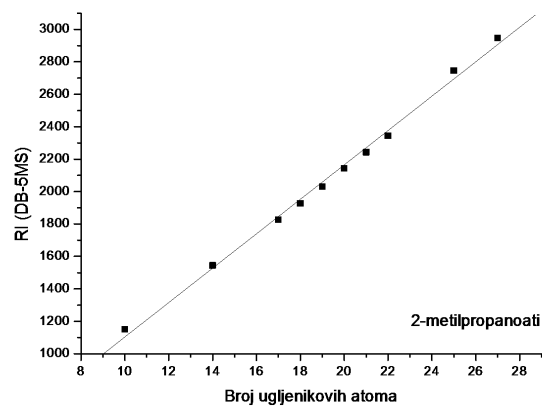
4.2.3. Veza strukture molekula i njihovih gasno-hromatografskih osobina (retencionih indeksa)

Sintetisana biblioteka homologih serija izobutanoata i izopentanoata identifikovanih u etarskom ulju biljnih vrsta *S. pecten-veneris* i *S. balansae*, kao i serija 2-metilbutanoata, sa pravilnom promenom vrednosti njihovih retencionih indeksa, omogućila nam je da ispitamo vezu strukture ovih estara sa njihovim gasno-hromatografskim osobinama (retencioni indeksi). Upoređivanjem vrednosti retencionih indeksa ovih estara uočene su pravilne razlike (ΔRI) između izomernih butanoata kao i izomernih pentanoata. Vrednosti retencionih indeksa butanoata su za oko 30 RI jedinica bile veće u odnosu na izobutanoate sa istim brojem ugljenikovih atoma. Kod izomernih pentanoata postojanje račve kod 3-metilbutanoata (izovalerata) uslovljavalo je da su njihove vrednosti retencionih indeksa bile za oko 50 RI jedinica manje u odnosu na odgovarajuće pentanoate (valerate), dok su 2-metilbutanoati eluirali najbrže sa GC (DB-5MS) kolone, sa oko 5 jedinica manjim RI vrednostima u odnosu na izomerne 3-metilbutanoate (tabela 4.2.1).

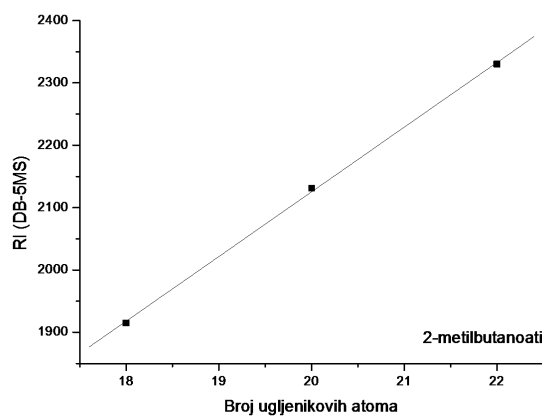
Prvo je razmatrana zavisnost vrednosti retencionih indeksa (DB-5MS kolona) od broja ugljenikovih atoma u molekulima estara. Kao što se može uočiti na slici 4.2.13, uočena je linearna zavisnost RI vrednosti od broja C atoma estara iste kiseline i različitih dugolančanih *n*-alkohola. Dobivene jednačine ($RI = 41,8 + 106,14 \times C$ za izobutanoate; slika 4.2.13a, $RI = 50,3 + 103,75 \times C$ za 2-metilbutanoate; slika 4.2.13b i $RI = 102,8 + 101,39 \times C$ za 3-metilbutanoate; slika 4.2.13c, gde je C ukupan broj ugljenikovih atoma u molekulu) su imale odlične vrednosti koeficijenta korelacije ($r^2 \geq 0,99$).

Daljom analizom, uočeno je da niži članovi kombinatorne biblioteke pokazuju mnogo nepravilniju promenu retencionih indeksa (ΔRI između susednih članova kombinatorne biblioteke u opsegu 95 – 112) u odnosu na članove sa alkoholnim delom koji sadrži 15 ili više ugljenikovih atoma ($\Delta RI = 100 - 101$). Ovakva ΔRI je bila uočena za sve serije jedinjenja biblioteke (tabela 4.2.1) i može se objasniti različitim udelom promena molekulskih osobina izazvanih uvođenjem dodatnih metilenskih grupa kod nižih i viših članova homologih serija biblioteke. Čini se da je, ukoliko je niz duži od petnaest ugljenikovih atoma, promena RI vrednosti izomernih butanoata i pentanoata skoro ista kao i za seriju *n*-alkana (tj. prisustvo estarske grupe ima znatno manji uticaj na vrednosti retencionih indeksa kod estara dugolančanih alkohola u odnosu na rastući alkil niz).

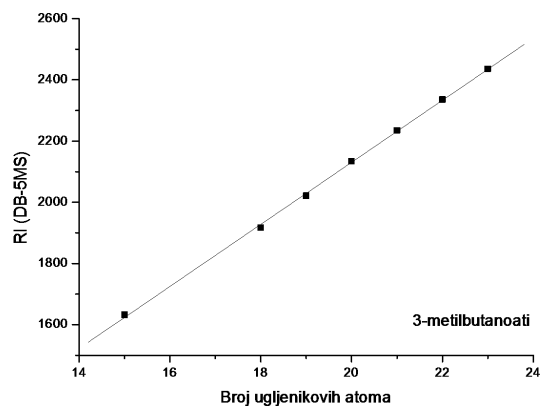
Nakon toga su vrednosti nekoliko topoloških indeksa (Vinerov (Wiener, 1947), Balabanov (Balaban, 1983) i molekularni topološki indeks (*molecular topological index* (Schultz, 1989)); izračunatih pomoću *ChemBio3D Ultra* 12.0 softvera), koji uzimaju u obzir postojanje metil račvi kao i mesta račvanja u kiselinskom delu, kao jedine razlike među sintetisanim estrima, iskorišćene za dobijanje univerzalne jednačine koja može predvideti vrednosti retencionih indeksa svih sintetisanih estara. Jednačine dobivene pojedinačnom upotrebom ovih topoloških indeksa nisu mogle uspešno da se koriste za predviđanje vrednosti retencionih indeksa. Tek je uvođenje sva tri pomenuta indeksa u jednu jednačinu, uključujući i broj ugljenikovih atoma u molekulu estara, rezultovalo jednačinom ($RI = 240,5 + 91,2 \times C + 2,94 \times WI + 4,6 \times 10^{-5} \times BI - 0,381 \times MTI$, gde je C ukupan broj ugljenikovih atoma u molekulu, WI vrednost Vinerovog indeksa, BI vrednost Balabanovog indeksa i MTI vrednost molekulskog topološkog indeksa) koja predviđa vrednosti retencionih indeksa sa prihvatljivom greškom, od ± 18 RI jedinica (izuzev heneikozil-izobutanoata [2s] kod koga je razlika u eksperimentalnoj i predviđenoj vrednosti retencionih indeksa iznosila 38,5 jedinica; tabela 4.2.1 i slika 4.2.14).



a)

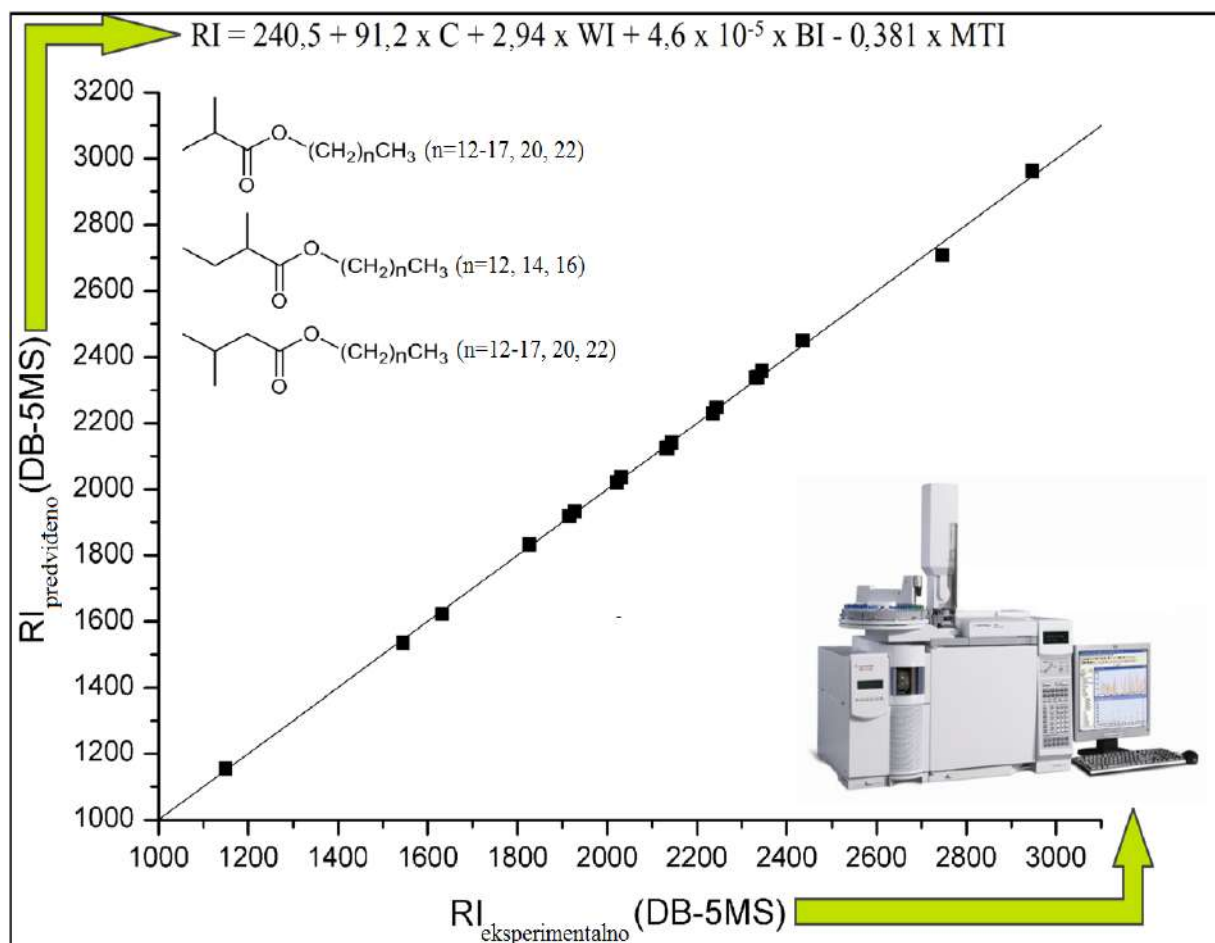


b)



c)

Slika 4.2.13 Zavisnost RI vrednosti (DB-5MS kolona) od broja ugljenikovih atoma u molekulu estra iste kiseline ((a) - izobutanske, (b) - 2-metilbutanske i (c) - 3-metilbutanske kiseline) i različitih dugolančanih *n*-alkohola



Slika 4.2.14. Razlika između eksperimentalnih i predviđenih vrednosti retencionih indeksa za seriju estara iz kreirane kombinatorne biblioteke

Dobivenu jednačinu treba obazrivo koristiti u slučaju identifikacije 2-metilbutanoata i 3-metilbutanoata zato što ova jedinjenja imaju veoma slične vrednosti retencionih indeksa (Δ RI između 2-metilbutanoata i 3-metilbutanoata je oko 5 jedinica). Međutim, i eksperimentalne i predviđene vrednosti retencionih indeksa pokazuju da 2-metilbutanoati uvek brže eluiraju, što olakšava njihovu identifikaciju naročito u slučaju kada se oba izomera nađu u istom GC hromatogramu. Dobivena jednačina, takođe, može uspešno da se iskoristi za razlikovanje izomernih butanoata i pentanoata, odnosno onih estara koji imaju istu molekulsku formulu, ali se razlikuju u dužini i alkoholne i kiselinske grupe. To znači da ukoliko MS fragmentacija indicira da je analizirano jedinjenje estar butanske ili pentanske kiseline sa *n*-alkoholima, korišćenjem ove jednačine, čak i u slučajevima nepostojanja molekulskog jona, može se odrediti broj ugljenikovih atoma u molekulu estara, odnosno broj ugljenikovih atoma u kiselinskom delu.

Tabela 4.2.1. Estri dugolančanih *n*-alkohola i izobutanske, 2-metilbutanske i 3-metilbutanske kiseline: eksperimentalni i predviđeni retencioni indeksi (RI)

Jedinjenje	RI ¹⁾	RI ²⁾
Tridecil-izobutanoat [2a]	1827	1832
Tridecil-2-metilbutanoat [2b]	1915	1918
Tridecil-3-metilbutanoat [2c]	1917	1919
Tetradecil-izobutanoat [2d]	1927	1933
Tetradecil-3-metilbutanoat [2e]	2021	2020
Pentadecil-izobutanoat [2f]	2031	2036
Pentadecil-2-metilbutanoat [2g]	2131	2123
Pentadecil-3-metilbutanoat [2h]	2134	2124
Heksadecil-izobutanoat [2i]	2143	2141
Heksadecil-3-metilbutanoat [2j]	2235	2229
Heptadecil-izobutanoat [2k]	2243	2248
Heptadecil-2-metilbutanoat [2l]	2330	2337
Heptadecil-3-metilbutanoat [2m]	2336	2338
Oktadecil-izobutanoat [2n]	2340	2358
Oktadecil-2-metilbutanoat [2p]	2430	2447
Oktadecil-3-metilbutanoat [2q]	2436	2449
Heneikozil-izobutanoat [2s]	2746	2708
Trikozil-izobutanoat [2t]	2947	2962

¹⁾ Retencioni indeksi (RI) estara dugolančanih alkohola sa izobutanskom, 2-metilbutanskom i 3-metilbutanskom kiselinom na DB-5MS koloni.

²⁾ Predviđene RI vrednosti po jednačini datoj u tekstu.

4.2.4. Prirodna rasprostranjenost estara dugolančanih alkohola iz kombinatorne biblioteke

Iako estri dugolančanih alkohola predstavljaju strukturno relativno jednostavne molekule, detaljna pretraga literature je pokazala da su ova jedinjenja veoma retka ili u nekim slučajevima potpuno nova. Pregled njihove rasprostranjenosti u prirodi je dat u tabeli 4.2.2.

Pentadecil- [2f], heptadecil- [2k], heneikozil- [2s] i trikozil-izobutanoat [2t], tridecil- [2b], pentadecil- [2g] i heptadecil-2-metilbutanoat [2l], tridecil- [2c], pentadecil- [2h] i heptadecil-3-metilbutanoat [2m], kao i oktaedecil-pentanoat [2r] nikada do sada nisu identifikovani, opisani ili pomenuti u literaturi. Izuzev tridecil- [2a] i oktaedecil-izobutanoata [2n], tetradecil- [2e], heksadecil- [2j] i oktaedecil-3-metilbutanoata [2q] i svih 2-metilbutanoata [2b, 2g, 2l] iz tabele 4.2.2, svi ostali estri su po prvi put identifikovani kao sekundarni metaboliti nekog organizma.

Tabela 4.2.2. Prirodna rasprostranjenost estara dugolančanih alkohola sa izobutanskom i 3-metilbutanskom kiselinom

Jedinjenje	Životinjska ¹⁾ /biljna ²⁾ vrsta	Referenca
Tridecil-izobutanoat [2a]	<i>Cataglyphis bicolor</i> ¹⁾ <i>Adenophora tetraphylla</i> ²⁾	Gokcen et al., 2002 Wang et al., 2008
Tridecil-3-metilbutanoat* [2c]	/	
Tetradecil-izobutanoat [2d]	<i>Riptortus clavatus</i> ¹⁾ <i>Melipona bicolor</i> ¹⁾ <i>Riptortus pedestris</i> ¹⁾ <i>Capra aegagrus</i> ¹⁾	Yasuda et al., 2007 Abdalla et al., 2004 Mizutani et al., 2008 He et al., 2009
Tetradecil-3-metilbutanoat [2e]	<i>Alligator mississippiensis</i> ¹⁾ <i>Castor fiber</i> ¹⁾	Ibrahim et al., 1998 Groenneberg, 1979
Pentadecil-izobutanoat* [2f]	/	
Pentadecil-3-metilbutanoat* [2h]	/	
Heksadecil-izobutanoat [2i]	<i>Lasiopodomys brandtii</i> ¹⁾	Zhang et al., 2007
Heksadecil-3-metilbutanoat [2j]	<i>Macrotomia densiflora</i> ²⁾ <i>Valeriana officinalis</i> var. <i>latifolia</i> ²⁾ <i>Elaeagnus moorcroftii</i> ²⁾ <i>Angelica dahurica</i> ²⁾	Papageorgiou et al., 1997 Huang et al., 2009 Yan et al., 1988 Ling et al., 2011
Heptadecil-izobutanoat* [2k]	/	
Heptadecil-3-metilbutanoat* [2m]	/	
Oktadecil-izobutanoat [2n]	<i>Riptortus clavatus</i> ¹⁾ <i>Riptortus pedestris</i> ¹⁾ <i>Polyergus rufescens</i> ¹⁾	Yasuda et al., 2007 Mizutani et al., 2008 D'Ettorre et al., 2000
Oktadecil-3-metilbutanoat [2q]	<i>Macrotomia densiflora</i> ²⁾ <i>Alligator mississippiensis</i> ¹⁾	Papageorgiou et al., 1997 Ibrahim et al., 1998
Oktadecil-pentanoat* [2r]	/	
Heneikozil-izobutanoat* [2s]	/	
Trikozil-izobutanoat* [2t]	/	

*) Nova jedinjenja. ¹⁾ Životinjska vrsta koja sadrži pomenuti dugolančani estar. ²⁾ Biljna vrsta koja sadrži pomenuti dugolančani estar.

4.2.5. Kvantifikacija identifikovanih estara dugolančanih alkohola u biljnom materijalu

U cilju određivanja količine estara u suvom biljnom materijalu vrsta *S. pecten-veneris* i *S. balansae*, konstruisane su odgovarajuće kalibracione prave korišćenjem gasno-hromatografske analize sa plameno-jonizacionim detektorom (GC-FID). Dobivene kalibracione prave u koncentracionom opsegu 0,0688 – 1,1 mg/ml su imale izuzetno visoke vrednosti korelacionog koeficijenta (R^2) u intervalu 0,9965 – 0,9999 (tabela 4.2.3). Utvrđeno je da 100 g suvog korena biljne vrste *S. pecten-veneris* sadrži 0 – 0,31 mg estara dugolančanih alkohola, 0 – 3,27 mg u 100 g suvih nadzemnih delova i 0 – 0,03 mg u 100 g suvih plodova. Takođe je utvrđeno da 100 g suvih plodova biljne vrste *S. balansae* sadrži 0,54 mg tetradecil-3-metilbutanoata [2e], 0,61 mg oktadecil-izobutanoata [2n], 0,65 mg oktadecil-3-metilbutanoata [2q] i 0,83 mg oktadecil-pentanoata [2r] (tabela 4.2.3).

Tabela 4.2.3. Kvantifikacija estara dugolančanih alkohola u biljnom materijalu vrsta *Scandix*

Jedinjenje	Jednačina kalibracione prave	Korelacioni koeficijent (R^2)	Sadržaj estara ¹⁾			
			S1 ²⁾	S2 ²⁾	S3 ²⁾	S4 ²⁾
Tridecil-izobutanoat [2a]	$C = 1,3639 \times 10^{-4}A + 0,0111$	0,9982	-	-	0,21	-
Tridecil-2-metilbutanoat [2b]	$C = 1,5724 \times 10^{-4}A + 0,0072$	0,9994	-	-	-	-
Tridecil-3-metilbutanoat [2c]	$C = 2,4488 \times 10^{-4}A + 0,0125$	0,9986	0,14	-	0,02	-
Tetradecil-izobutanoat [2d]	$C = 1,3582 \times 10^{-4}A + 0,0092$	0,9978	0,31	0,02	0,91	-
Tetradecil-3-metilbutanoat [2e]	$C = 2,4435 \times 10^{-4}A + 0,0115$	0,9974	0,15	-	0,72	0,54
Pentadecil-izobutanoat [2f]	$C = 1,3513 \times 10^{-4}A + 0,0088$	0,9992	0,14	-	3,27	-
Pentadecil-2-metilbutanoat [2g]	$C = 1,5664 \times 10^{-4}A + 0,0064$	0,9994	-	-	-	-
Pentadecil-3-metilbutanoat [2h]	$C = 2,4377 \times 10^{-4}A + 0,0108$	0,9989	0,15	-	2,18	-
Heksadecil-izobutanoat [2i]	$C = 1,3413 \times 10^{-4}A + 0,0075$	0,9995	0,16	-	0,57	-
Heksadecil-3-metilbutanoat [2j]	$C = 2,4394 \times 10^{-4}A + 0,0102$	0,9965	0,03	-	0,05	-
Heptadecil-izobutanoat [2k]	$C = 1,3364 \times 10^{-4}A + 0,0062$	0,9988	0,05	-	0,04	-
Heptadecil-2-metilbutanoat [2l]	$C = 1,5598 \times 10^{-4}A + 0,0058$	0,9981	-	-	-	-
Heptadecil-3-metilbutanoat [2m]	$C = 2,4302 \times 10^{-4}A + 0,0075$	0,9994	0,05	-	0,02	-
Oktadecil-izobutanoat [2n]	$C = 1,3256 \times 10^{-4}A + 0,0045$	0,9998	0,04	-	0,42	0,61
Oktadecil-3-metilbutanoat [2q]	$C = 2,4211 \times 10^{-4}A + 0,0015$	0,9999	0,06	-	0,04	0,56
Oktadecil-pentanoat [2r]	$C = 1,7892 \times 10^{-4}A + 0,0021$	0,9986	-	-	-	0,83
Henekozil-izobutanoat [2s]	$C = 1,3208 \times 10^{-4}A + 0,0036$	0,9974	-	0,03	0,04	-
Trikozil-izobutanoat [2t]	$C = 1,3158 \times 10^{-4}A + 0,0025$	0,9989	-	-	0,03	-

¹⁾ Sadržaj estara u uzorku biljnog materijala je izražen kao miligrami estara u 100 grama suvog biljnog materijala.

²⁾ S1 = *S. pecten-veneris* suvi koren, S2 = *S. pecten-veneris* suvi plodovi, S3 = *S. pecten-veneris* suvi nadzemni delovi bez plodova, S4 = *S. balansae* suvi plodovi.

4.2.6. Hemotaksonomski značaj identifikovanih estara dugolančanih alkohola

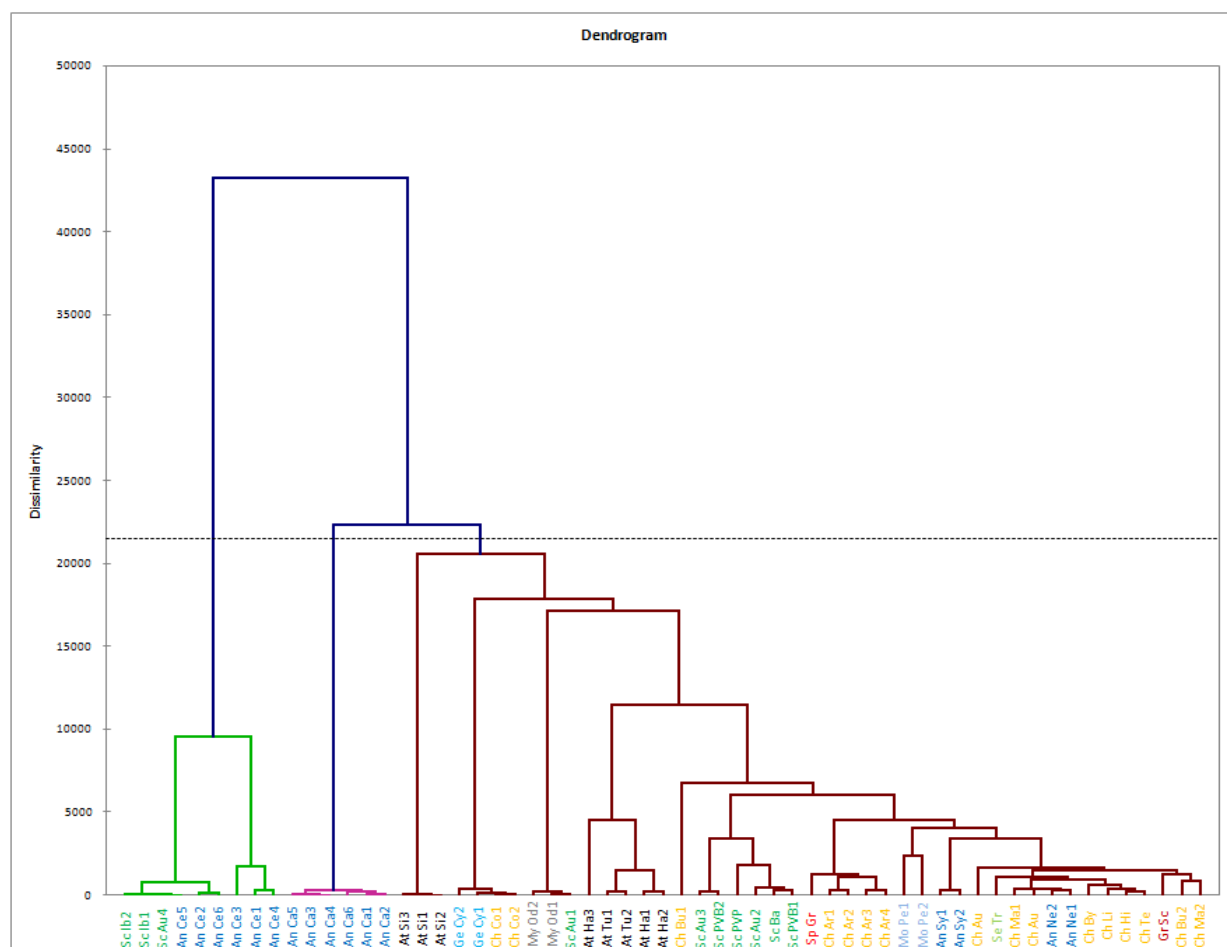
S obzirom da identifikovane serije estara predstavljaju veoma retka/nova jedinjenja, kao i da do sada pomenuti estri nisu identifikovani kao sekundarni metaboliti biljnih vrsta iz porodice Apiaceae, odlučili smo da ispitamo hemotaksonomski potencijal sastava etarskih ulja za određivanje taksonomskih odnosa u okviru familije Apiaceae, roda *Scandix* i/ili plemena Scandiceae generalno ili na nivou taksona (npr. kao markeri za *S. balansae*, *S. pecten-veneris* itd.) korišćenjem multivarijantne statističke analize (MVA). Izvršene su dve odvojene analize u cilju otkrivanja potencijalnih evolutivnih trendova i veza u okviru plemena Scandiceae međusobnim upoređivanjem dostupnih podataka o sastojcima etarskih ulja taksona iz ovog plemena (prilog 8.2.82), a nakon toga i statistička analiza proširene baze podataka sa uzorcima etarskih ulja nasumično odabranih plemena iz porodice Apiaceae.

Obe statističke metode (aglomerativno hijerarhijsko klasterovanje (AHC) i analiza glavne komponente (PCA)) su primenjene korišćenjem originalnih (sastojci ulja koji su makar u jednom uzorku bili prisutni sa više od 1%) i modifikovanih podataka, gde su kao varijable korišćene klase identifikovanih sastojaka etarskih ulja (monoterpeni, seskviterpeni, diterpeni, fenilpropanoidi, *green leaf* metaboliti, benzaldehidi, alifatični estri, masne kiseline i derivati dobiveni iz masnih kiselina).

Analiza glavne komponente (PCA) u kojoj su korišćene originalne varijable je pokazala da između velikog broja sastojaka etarskih ulja postoji značajna korelacija (izražena kao korelacioni koeficijent; r^2). Visoke vrednosti korelacionog koeficijenta ($\geq +0,9$) su među alkanima, monoterpenima, seskviterpenima, masnim kiselinama i derivatima masnih kiselina. Na primer, svi korelacioni koeficijenti između derivata masnih kiselina (palmitinske kiseline, linoleinske kiseline, metil-oktadekanoata, tetradekanala, heksadekanala i oktadekanala) imaju vrednosti veće od +0,98. Koeficijent koji opisuje korelaciju između *cis*- i/ili *trans*-sabinen-hidrata sa terpinen-4-olom takođe ima visoku vrednost ($\geq +0,982$). Kao što je predloženo u nedavnom istraživanju (Radulović et al., 2012c) rezultati PCA analize (dobivene vrednosti koeficijenta korelacije) mogu biti iskorišćene za istraživanje (makar hipotetički) biosintetskih puteva sugerišući da je sinteza konkretnih sastojaka etarskih ulja blisko povezana, tj. često uključuje i isti sistem enzima i/ili isti biosintetski intermedijer. Iz tog razloga, dobivena pozitivna korelacija između pomenutih monoterpena nije iznenađujuća znajući da se biosinteza dva izomerna sabinen-hidrata vrši preko terpinen-4-il katjona (T4C). Ovaj katjon se formira [1,2]-H

premeštanjem iz α -terpinil katjona (univerzalnog intermedijera monocikličnih monoterpena). Ukoliko T4C odmah interaguje sa vodom dobija se terpinen-4-ol dok sekundarnom ciklizacijom nastaje tujanski katjon koji dovodi do građenja *cis*- ili *trans*-sabinen-hidrata (Hyatt et al., 2007; Mahmoud et al., 2004). Korelacioni koeficijent između nekih acikličnih monoterpena (linalool, geranil-acetat, geranil-izovalerat, neril-acetat i neril-propanoat) ima vrednost veću od +0,923 dok je u slučaju kamfena i bornil-acetata, biosintetski blisko povezanih, vrednost korelacionog koeficijenta je još veća (+0,951). Pored monoterpena i neki seskviterpeni su međusobno jako korelirali, npr: γ -amorfen, τ -kadinol, γ -kadinol i murola-4(14),15-dien ($\geq +0,998$); β -bisabolen, β -kubeben, 4-hidroksigermakren D, *ar*-kurkumen i γ -kurkumen ($\geq +0,955$); (*Z,E*)-farnezen i (*E,E*)- α -farnezen ($\geq +0,974$). Drugi parovi biosintetski povezanih sekundarnih metabolita sa visokim vrednostima korelacionog koeficijenta su bili: fenhol-fenhil-acetat (+0,974), apiol-elemicin (+0,997), 1-heksanol-(*E*)-2-heksenal (+0,974), tridekan-pentadekan (+0,942) i oktakozan-pentakozan (+0,959). Ovakva povezanost tridekana i pentadekana, kao i oktakozana i pentakozana se može objasniti radom istih enzima zaduženih za njihovu biosintezu, a koji vrše transformaciju masnih kiselina do pomenutih alkana elongacijom ili dekarboksilacijom/dekarbonilacijom (Radulović et al., 2012c). Neočekivano visoke vrednosti koeficijenta korelacije su dobivene u slučaju nekoliko seskviterpena i nekih derivata masnih kiselina (npr. γ -amorfen, τ -kadinol, γ -kadinol i murola-4(14),15-dien sa nonanom i dekanom, $\geq +0,998$; *ar*-kurkumena, γ -kurkumena, β -bisabolena i β -kubebena sa 1-oktanolom i 1-okten-3-il-acetatom, $\geq +0,928$).

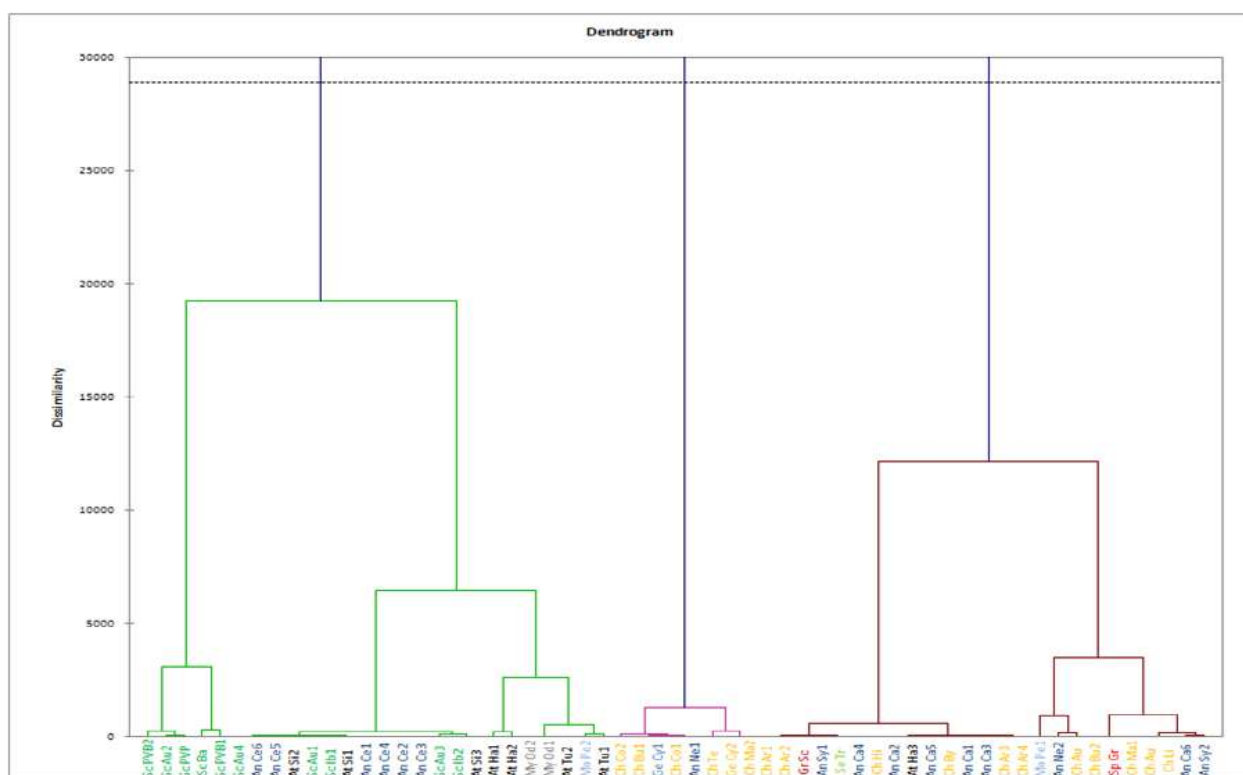
Dendrogram dobiven kao rezultat AHC analize korišćenjem originalnih varijabli je dat na slici 4.2.15, a zbog bolje vizualizacije rezultata skraćeni uzorci (prilog 8.2.82) iz različitih rodova su predstavljene različitim bojama (AHC1). Na dendrogramu su uočene tri statistički različite grupe, C1 – C3. Grupa C1 sadrži biljne vrste (uzorke ulja biljnih vrsta *Scandix iberica* i *Anthriscus cerefolium*) koje pretežno sadrže fenilpropanoide (1-alil-2,4-dimetoksibenzen i estragol) dok grupa C2 sadrži samo uzorke biljne vrste *Anthriscus caucalis* (An Ca1 – An Ca6). Ostali uzorci koji pripadaju rodu *Anthriscus* su prepoznati kao statistički različiti i bili su raspoređeni u klasama C1 (*Anthriscus caucalis*) i C3 (*Anthriscus nemorosa* i *Anthriscus sylvestris*). Grupa C3 sadržavala je najveći broj uzoraka (44 od ukupno 59 uzoraka) među kojima i uzorak etarskog ulja biljne vrste *Scandix balansae*. Ova grupa je takođe najraznovrsnija u pogledu glavnih sastojaka ili klasa sastojaka u uzorcima etarskih ulja.



Slika 4.2.15. Dendrogram (AHC analiza; kao varijable su korišćeni procenti sastojaka ulja (samo oni sastojci ulja koji su makar u jednom uzorku prisutni sa više od 1%)) predstavlja razlike u hemijskom sastavu 59 uzoraka etarskih ulja različitih vrsta plemena Scandiceae (skraćenice su date u prilogu 8.2.82) dobivene na osnovu razlike u Euklidovoj (*Euclidean*) udaljenosti (razlike (*dissimilarity*) u intervalu [0-22000])

Na osnovu dendrograma (slika 4.2.15), očigledno je da analizirane vrste iz rodova plemena Scandiceae ne čine monofiletsku grupu. Iako različite vrste koje pripadaju istom rodu pokazuju tendenciju grupisanja (primeri za to se mogu naći među različitim taksonima rodova *Athamanta*, *Geocaryum*, *Chaerophyllum*, *Scandix*, *Myrrhis*, *Anthriscus* i *Molopospermum*) u nekoliko slučajeva uzorci etarskih ulja biljnih vrsta koje pripadaju istom rodu su bili klasifikovani u statistički različitim grupama (npr. uzorak ulja (Sc Au4) biljne vrste *Scandix australis* je smešten u C1, dok su preostali uzorci (Sc Au1 – Sc Au3) grupisani u C3, kao i u slučaju ranije pomenutih vrsta roda *Anthriscus* (koje su se javljale u sve tri klade C1 – C3).

Nedostatak primene pojedinačnih sastojaka kao MVA varijabli je taj što statistički aparat ne prepoznaje sličnosti između uzoraka ulja sa različitim, ali biosintetski povezanim sastojcima (npr. kamfor/borneol, *trans*-/cis-sabinen-hidrat, α/δ -kadinen itd; (Hyatt et al., 2007; Mahmoud et al., 2004; Radulović et al., 2009a). Jedan od pristupa rešavanju ovog problema je korišćenje modifikovanih podataka gde se kao varijable koriste klase identifikovanih sastojaka etarskih ulja (Radulović et al., 2007). Iz tog razloga smo odlučili da ponovimo multivarijantnu analizu korišćenjem osam transformisanih varijabli (monoterpeni, seskviterpeni, diterpeni, fenilpropanoidi, *green leaf* metaboliti, benzaldehidi, alifatični estri, masne kiseline i derivati dobiveni iz masnih kiselina). Korišćenjem ovog tipa varijabli je dobiven dendrogram dat na slici 4.2.16.

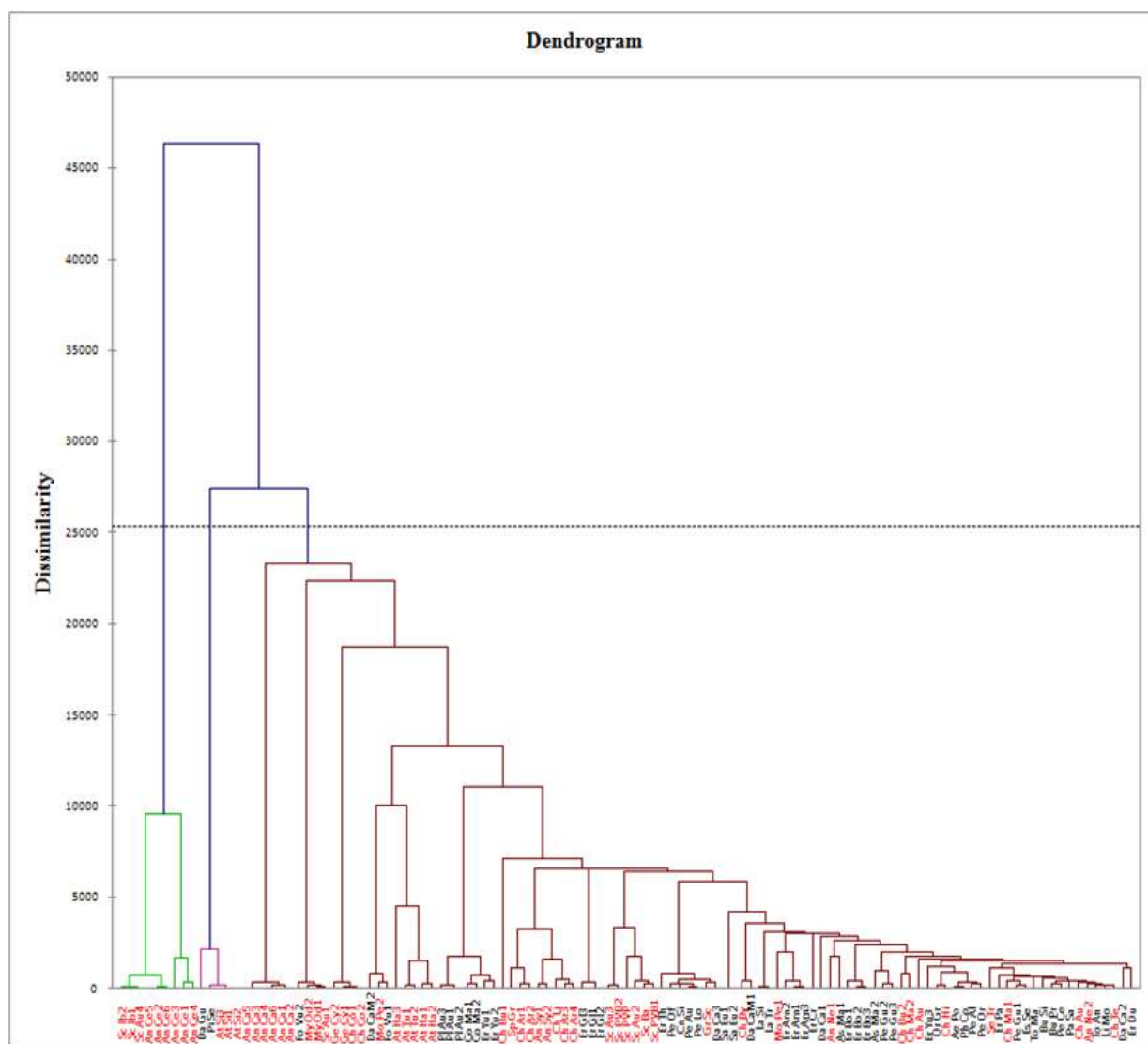


Slika 4.2.16. Uvećanje (u intervalu [0-30000]) dendrograma (AHC analiza) dobivenog korišćenjem relativnih količina klasa sastojaka (monoterpena, seskviterpena, diterpena, fenilpropanoida, *green leaf* metabolita, benzaldehida, alifatičnih estara, masnih kiselina i derivata masnih kiselina) 59 uzoraka etarskih ulja različitih vrsta plemena Scandiceae (skraćenice su date u prilogu 8.2.82) dobivene na osnovu razlike u Euklidovoj (*Euclidean*) udaljenosti (razlike (*dissimilarity*) u intervalu [0-26000])

Grupisanje uzoraka u dendrogramu AHC2 se evidentno razlikovalo od grupisanja zapaženog u dendrogramu AHC1, ali su na kraju obe AHC analize (AHC1 i AHC2) dovele do istog zaključka, tj. da ne postoje značajne razlike u profilu isparljivih metabolita biljnih vrsta iz različitih rodova plemena Scandiceae. Iako su sličnosti između isparljivih profila taksona plemena Scandiceae dovoljne da ukažu na bliske odnose između svih vrsta plemena Scandiceae i možda čak dovoljne da opravdaju plemensku pripadnost svih rodova, analize izvršene korišćenjem drugih varijabli (morfoloških karakteristika, neisparljivih metabolita itd.) ukazuju na problematične odnose unutar plemena Scandiceae. Prema Hejvudu (Heywood, 1971), koji je izvršio klasifikaciju na osnovu morfoloških karakteristika, rodovi *Geocaryum* i *Molopospermum* su bili uključeni u pleme Scandiceae. Nasuprot tome, Pimenov i Leonov (Pimenov i Leonov, 1993) preporučuju da ove rodove treba isključiti iz plemena Scandiceae. Takođe, Kalestani (Calestani, 1905) i Serso-Larival (Cerceau-Larival, 1962) se slažu da je rod *Athamanta* deo ovog plemena, dok Hejvud (Heywood, 1971), kao i Pimenov i Leonov (Pimenov i Leonov, 1993) imaju suprotno mišljenje. Rezultati nedavnog istraživanja, ITS DNA (*nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequence*) filogenetska analiza plemena Scandiceae, ukazuju da su rodovi *Athamanta* i *Geocaryum* članovi plemena, dok bi rod *Molopospermum* trebao biti isključen iz ovog plemena (Downie et al., 2000). Na prvi pogled, rezultati multivarijantne analize (dendrogrami AHC1 i AHC2) nisu podržavali izdvajanje pomenutih rodova iz plemena Scandiceae. Umesto toga, velika sličnost između uzoraka isparljivih metabolita biljnih vrsta rodova *Athamanta*, *Geocaryum* i *Molopospermum* sa uzorcima drugih taksona iz plemena Scandiceae je dodatno potvrdila da pomenuti rodovi pripadaju ovom plemenu.

U cilju daljeg ispitivanja odnosa taksona u okviru plemena Scandiceae, ponovili smo statističke analize korišćenjem većeg broja podataka koji uključuje i uzorke etarskih ulja predstavnika rodova van plemena Scandiceae. Za proširenje baze korišćeni su podaci o sastavu etarskih ulja 56 uzoraka taksona iz različitih rodova familije Apiaceae koji je u nedavnom istraživanju iskorišćen za određivanje hemotaksonomskih odnosa podfamilije Saniculoideae (Radulović et al., 2012c). Međusobni odnosi uzoraka, dendrogram AHC1, bili su generalno uočljivi i na novom dobivenom dendrogramu (rezultati prvobitne AHC1 analize nisu promenjeni dodavanjem novih varijabli; slika 4.2.17). Međutim, uzorci biljnih vrsta predstavnika rodova van plemena Scandiceae su bili smešteni u iste klade kao i uzorci predstavnika taksona iz Scandiceae na osnovu čega se može zaključiti da isparljivi metaboliti, uključujući i estre dugolančanih

alkohola, nisu pogodni za razgraničavanje različitih rodova/plemena. Drugim rečima, čini se da evolucija isparljivih metabolita taksona Scandiceae nije rod-specifična i ne prati morfološku evoluciju. Umesto toga, individualni taksoni (pripadnici različitih rodova/vrsta ili samo različite populacije jedne vrste) su možda evoluirali tako da su sposobni da ispune specifične zahteve okoline (Croteau et al., 2000).



Slika 4.2.17. Dendrogram (AHC analiza; procenti sastojaka ulja korišćeni kao varijable) predstavlja razlike u hemijskom sastavu 115 uzoraka etarskih ulja različitih vrsta porodice Apiaceae (uzorci vrsta plemena Scandiceae su obojeni crveno, skraćenice uzoraka su date u prilogu 8.2.82) dobivene na osnovu razlike u Euklidovoj (*Euclidean*) udaljenosti (razlike (*dissimilarity*) u intervalu [0-25200])

4.2.7. Mikrobiološka aktivnost odabranih jedinjenja iz kombinatorne biblioteke

Neki od estara dugolančanih alkohola identifikovanih u etarskim uljima biljnih vrsta *S. pecten-veneris* i *S. balansae* su ranije bili detektovani u sekretima insekata (tabela 4.2.2), što je ukazivalo na mogućnost da ovi estri imaju važnu biološku ulogu i u biljnom organizmu kao, na primer, u uspostavljanju odnosa između jedinki određene biljne populacije i/ili u odnosima biljaka sa drugim činiocima njihove okoline. S obzirom na to da se isparljivi metaboliti koji imaju pomenutu ulogu najčešće nalaze na površini biljnog materijala (na površini nadzemnih delova) odlučili smo da izvršimo analizu dihlormetanskog ispirka nadzemnih delova biljne vrste *S. pecten-veneris*. Analiza je pokazala da ispirak ne sadrži, čak ni u tragovima, identifikovane estre kao ni glavne sastojke ulja što je ukazivalo na to da oni, verovatno, imaju neku drugu ulogu u biljnom organizmu. U cilju pronalaženja njihove potencijalne uloge, imajući u vidu da su brojna istraživanja potvrdila značajnu mikrobiološku aktivnost sastojaka etarskih ulja (Radulović et al., 2012b), izvršili smo testiranje antimikrobne aktivnosti sintetisanih estara mikrodilucionom metodom prema preporukama instituta za kliničke laboratorijske standarde (*Clinical and Laboratory Standards Institute-CLSI*, 2007). Pored odabranih estara iz biblioteke (identifikovanih kao sastojci ulja analiziranih *Scandix* vrsta) testirani su i sintetisani estri 2-metilbutanske kiseline, etarsko ulje biljne vrste *Scandix pecten-veneris* i tridekan kao jedan od glavnih sastojaka etarskih ulja *S. pecten-veneris* i *S. balansae*. Uzorci su testirani na šest sojeva bakterija (*Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella enterica*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis* i *Staphylococcus aureus*) i dve vrste gljiva (*Candida albicans* i *Aspergillus brasiliensis*). Većina testiranih uzoraka je pokazala antimikrobnu aktivnost prema pomenutim mikroorganizmima, osim u slučaju bakterije *Escherichia coli*, pri čemu su vrednosti minimalne inhibitorne (MIC) i minimalne baktericidne/fungicidne koncentracije (MBC/MFC) bile u rasponu od 1,00 do 8,00 mg/ml (tabela 4.2.4). Među testiranim uzorcima, najaktivniji je bio tridecil-3-metilbutanoat [**2c**] MIC = 1,00 – 4,00 mg/ml (3,5 – 14,0 mmol/l) i MBC/MFC = 1,00 – 4,00 mg/ml (3,5 – 14,0 mmol/l)) dok je najmanju aktivnost pokazao heksadecil-3-metilbutanoat [**2j**]. 3-Metilbutanoati tetradekanola [**2e**], heptadekanola [**2m**] i oktadekanola [**2q**] su inhibirali rast samo po jednog mikroorganizma. Estri su pokazali veoma slabu aktivnost protiv testiranih gljivica sa relativno visokim MIC vrednostima (4,00 – 8,00 mg/ml (8,0 – 24,6 mmol/l)). Međutim, testiranje je pokazalo značajnu inhibitornu aktivnost etarskog ulja *S. pecten-veneris* i sintetisanih estara prema bakteriji *Bacillus cereus*. Tri mikroorganizma (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica* i

Aspergillus brasiliensis) su u potpunosti bili rezistentni na dejstvo etarskog ulja i estara čak i u najvećoj testiranoj koncentraciji. Može se zaključiti da dobivena selektivna, slaba do umerena antimikrobna aktivnost ispitivanog ulja i estara dugolančanih alkohola pokazuje da identifikovani estri kao i ostali sastojci etarskih ulja *S. pecten-veneris* i *S. balansae* ne igraju značajnu ulogu u odbrani biljnog organizma od mikroorganizama.

Kombinatorne biblioteke odabranih prirodnih i sintetskih biološki aktivnih estara

Tabela 4.2.4. Antimikrobna aktivnost etarskog ulja biljne vrste *Scandix pecten-veneris*, tridekana i odabranih estara iz kombinatorne biblioteke – minimalna inhibitorna (MIC) i minimalna baktericidna/fungicidna koncentracija (MBC/MFC)

Testirani uzorak	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Bacillus cereus</i>		<i>Escherichia coli</i>		<i>Proteus vulgaris</i>		<i>Salmonella enterica</i>		<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus brasiliensis</i>	
	ATCC 6538		ATCC 6633		ATCC 9139		ATCC 8739		ATCC 8427		ATCC 13076		ATCC 10231		ATCC 16404	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MFC	MIC	MFC
	mmol/l															
Tridekan	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT	21,7	21,7	NA	NT
Etarsko ulje ^{a)}	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	NA	NT	NA	NT	NA	NT	8,0	8,0	NA	NT
Tridecil-izobutanoat [2a]	NA	NT	29,6	NA	14,8	14,8	NA	NT	29,6	29,6	NA	NT	NA	NT	NA	NT
Tridecil-2-metilbutanoat [2b]	NA	NT	NA	NT	14,1	14,1	NA	NT	14,1	14,1	NA	NT	NA	NT	NA	NT
Tridecil-3-metilbutanoat [2c]	NA	NT	14,0	NA	7,0	7,0	NA	NT	3,5	3,5	14,0	14,0	14,0	14,0	NA	NT
Tetradecil-izobutanoat [2d]	NA	NT	NA	NT	14,0	14,0	NA	NT	14,0	14,0	NA	NT	NA	NT	NA	NT
Tetradecil-3-metilbutanoat [2e]	NA	NT	NA	NT	6,7	6,7	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT
Pentadecil-izobutanoat [2f]	26,8	26,8	NA	NT	13,4	13,4	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT
Pentadecil-2-metilbutanoat [2g]	NA	NT	NA	NT	6,4	6,4	NA	NT	12,8	12,8	NA	NT	NA	NT	NA	NT
Pentadecil-3-metilbutanoat [2h]	NA	NT	NA	NT	3,2	3,2	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT
Heksadecil-izobutanoat [2i]	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT	12,8	NA
Heksadecil-3-metilbutanoat [2j]	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT
Heptadecil-izobutanoat [2k]	NA	NT	NA	NT	12,3	12,3	NA	NT	NA	NT	NA	NT	24,6	24,6	NA	NT
Heptadecil-2-metilbutanoat [2l]	23,6	NA	NA	NT	11,8	NA	NA	NT	23,6	NA	NA	NT	NA	NT	NA	NT
Heptadecil-3-metilbutanoat [2m]	NA	NT	NA	NT	11,8	NA	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT
Oktadecil-izobutanoat [2n]	NA	NT	NA	NT	23,6	NA	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT
Oktadecil-3-metilbutanoat [2q]	NA	NT	NA	NT	22,6	22,6	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT	NA	NT
AB [*]) (MIC) μ mol/l	0,2 ^a		0,88 ^a		0,88 ^a		3,6 ^a		0,43 ^a		0,43 ^a		0,84 ^b		6,7 ^b	

^{a)} mg/ml; ^{*}) AB–antibiotik/antimikotik (^a-tetraciklin i ^b-nistatin) su korišćeni kao pozitivne kontrole.

NA = uzorak nije aktivan.

NT = uzorak nije testiran.

4.3. Kombinatorna biblioteka alilmetoksifenil estara

4.3.1. Identifikacija nepoznatih sastojaka etarskog ulja biljne vrste *Anthemis segetalis*

Matricaria chamomilla L. (nemačka kamilica) i *Anthemis nobilis* L. (syn. *Chamaemelum nobile* (L.) All; rimska kamilica), poznate pod zajedničkim narodnim imenom „kamilice”, spadaju u grupu najstarijih, a pritom i dalje intenzivno korišćenih, medicinskih biljnih vrsta (Srivastava et al., 2010). Kamilice se preporučuju za lečenje širokog spektra zdravstvenih problema i nalaze se na FDA (*US Food and Drug Administration*) i GRAS (*Generally Recognized As Safe*) listama (Srivastava et al., 2010). Međutim, mnoge druge vrste iz porodice Asteraceae (Compositae), od kojih su neke veoma toksične npr. izazivaju alergije (Benner and Lee, 1973; Radulović et al., 2010), rastu na istim područjima i mogu biti lako pogrešno botanički identifikovane kao *M. chamomilla* ili *A. nobilis* od strane (neiskusnih) sakupljača biljaka. Takođe je veoma važno istaći pogrešno mišljenje da svi taksoni koji su morfološki slični rimskoj ili nemačkoj kamilici poseduju iste (i samo) pozitivne farmakološke karakteristike kao ove dve biljne vrste. Jedan od takvih primera je i *Anthemis segetalis* Ten. (syn. *A. brachycentros* J. Gay ex W.D.J. Koch, *Cota brachycentros* J. Gay, *C. segetalis* (Ten.) Holub). *Anthemis segetalis* (slika 4.3.1) je rasprostranjena biljna vrsta u jugoistočnoj Evropi (Italija i Balkansko poluostrvo (Vučković et al., 2010)) i pripada istom rodu kao i rimska kamilica (*Anthemis nobilis*).



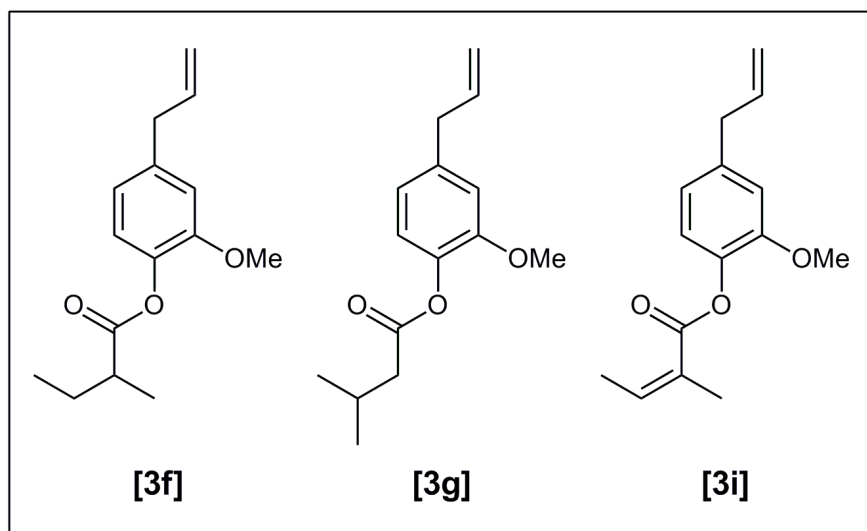
Slika 4.3.1. Izgled biljne vrste *Anthemis segetalis* Ten.

U literaturi postoji veoma mali broj fitohemijskih studija ove biljne vrste (Radulović et al., 2009b; Vučković et al., 2010). Nedavno su članovi naše istraživačke grupe izvršili detaljnu (GC i GC-MS) analizu sastava etarskog ulja nadzemnih delova *A. segetalis* (Radulović et al., 2009b), prilikom koje je detektovano 150 sastojaka, uključujući i tri jedinjenja identifikovana analizom masenih spektara, ali za koja nisu postojali dostupni literaturni podaci. U tom trenutku dostupni podaci su omogućili samo da se pretpostavi da su oni prirodno veoma retko zastupljeni estri nekog regioizomera alilmetoksifenola sa izomernim pentanskim i izomernim 2-pentenskim kiselinama (za detalje videti Radulović et al. (2009b)).

Čak i u slučaju najpoznatijeg alilmetoksifenola - eugenola (4-alil-2-metoksifenola) nije bilo literaturnih MS i RI podataka, a dodatni problem sa identifikacijom takvih regioizomernih jedinjenja je taj što oni imaju veoma slične masene spektre, a takođe bi se očekivalo da imaju i veoma bliske RI vrednosti. Iz tog razloga, konačna potvrda njihove strukture (identifikacije) nije mogla da se izvrši samo na osnovu MS/RI podataka (to se u slučaju nekih alilmetoksifenola, do sada, pokazalo pogrešnim (Ali et al., 2000; Šmelcerović et al., 2007)). Za nedvosmislenu identifikaciju je bila potrebna i NMR analiza, kao i IR analiza, a što zahteva uzorke potpuno čistih jedinjenja. Nažalost, ova jedinjenja nisu mogla biti izolovana iz dobivenog uzorka etarskog ulja usled njihove male zastupljenosti u ulju (0,1 – 0,2%) i složenosti smeše (etarsko ulje sadrži više od 150 sastojaka). Iz tog razloga, jedini logični pristup je bio kreiranje sintetske kombinatorne biblioteke (o kreiranju biblioteke i sintezi estara više u poglavlju 4.3.2) estara regioizomera alilmetoksifenola, a zatim njihova GC-koinjekcija sa uzorcima etarskog ulja. Kombinacijom NMR, IR, MS, GC i GC-MS analiza, uključujući i kohromatografiju etarskog ulja i sintetisanih jedinjenja, utvrđeno je da su prirodno zastupljeni estri (tj. sastojci etarskog ulja biljne vrste *A. segetalis*) eugenil-angelat **[3i]**, eugenil-2-metilbutanoat **[3f]** i eugenil-3-metilbutanoat **[3g]** (slika 4.3.2).

Pretragom literature je utvrđeno da je eugenil-angelat **[3i]** potpuno novo jedinjenje koje je u ovoj analizi po prvi put detektovano kao biljni i/ili životinjski metabolit. Pored toga, pretragom je utvrđeno da je samo nekoliko estara regioizomera alilmetoksifenola do sada identifikovano u prirodi (Baranauskienė, 2007; Hendriks et al., 1977; Kollmannsberger et al., 2000; Lin et al., 1977; Tomczykowa et al., 2005). Kreiranjem GC-FID kalibracionih pravih, određena je količina ovih estara u svežem biljnom materijalu: 0,22 mg (eugenil-2-metilbutanoat **[3f]**), 0,13 mg

(eugenil-3-metilbutanoat [3g]) i 0,21 mg (eugenil-angelat [3i]) na 100 g nadzemnih delova ove biljne vrste (tabela 4.3.1).



Slika 4.3.2. Identifikovani eugenil estri iz etarskog ulja biljne vrste *A. segetalis*

Tabela 4.3.1. GC-FID kvantifikacija eugenil estara iz etarskog ulja biljne vrste *A. segetalis*

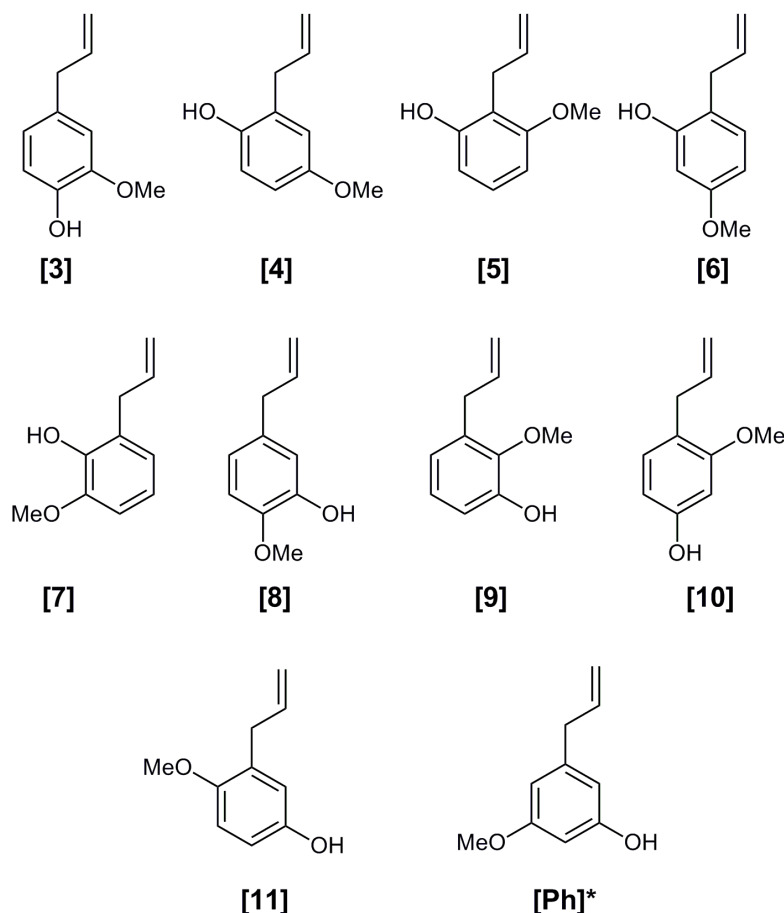
Jedinjenje	C ^a	Jednačina	Korelacioni koeficijent (R ²)	Sadržaj ^b
Eugenil-angelat [3i]		$C = 2,2852 \times 10^{-4}A + 3,4047 \times 10^{-4}$	0,99979	0,21
Eugenil-3-metilbutanoat [3g]	1 – 0,0625	$C = 1,5235 \times 10^{-4}A + 1,0342 \times 10^{-4}$	1,00000	0,13
Eugenil-2-metilbutanoat [3f]		$C = 1,3285 \times 10^{-4}A + 1,2342 \times 10^{-4}$	0,99986	0,22

^a) Opseg koncentracija (mg/ml),
^b) Sadržaj je izražen kao mg estra u 100 g svežih nadzemnih delova.

4.3.2. Dizajn i kreiranje biblioteke alilmetoksifenil estara

Jedini način za određivanje strukture prethodno detektovanih metabolita iz ulja, za koje je GC-MS analizom pretpostavljeno da su to estri regioizomera alilmetoksifenola i izomernih pentanskih, odnosno pentenskih kiselina, bio je sinteza estara izomera alilmetoksifenola i pentanskih, odnosno pentenskih kiselina, a nakon toga njihova GC-koinjekcija sa uzorcima etarskog ulja. Iz tog razloga smo kreirali kombinatornu biblioteku od 54 estra (od kojih je 49 potpuno novih jedinjenja) devet (od mogućih 10) regioizomera alilmetoksifenola (slika 4.3.3) i izomernih pentanskih, odnosno 2-pentenskih kiselina (slika 4.3.4).

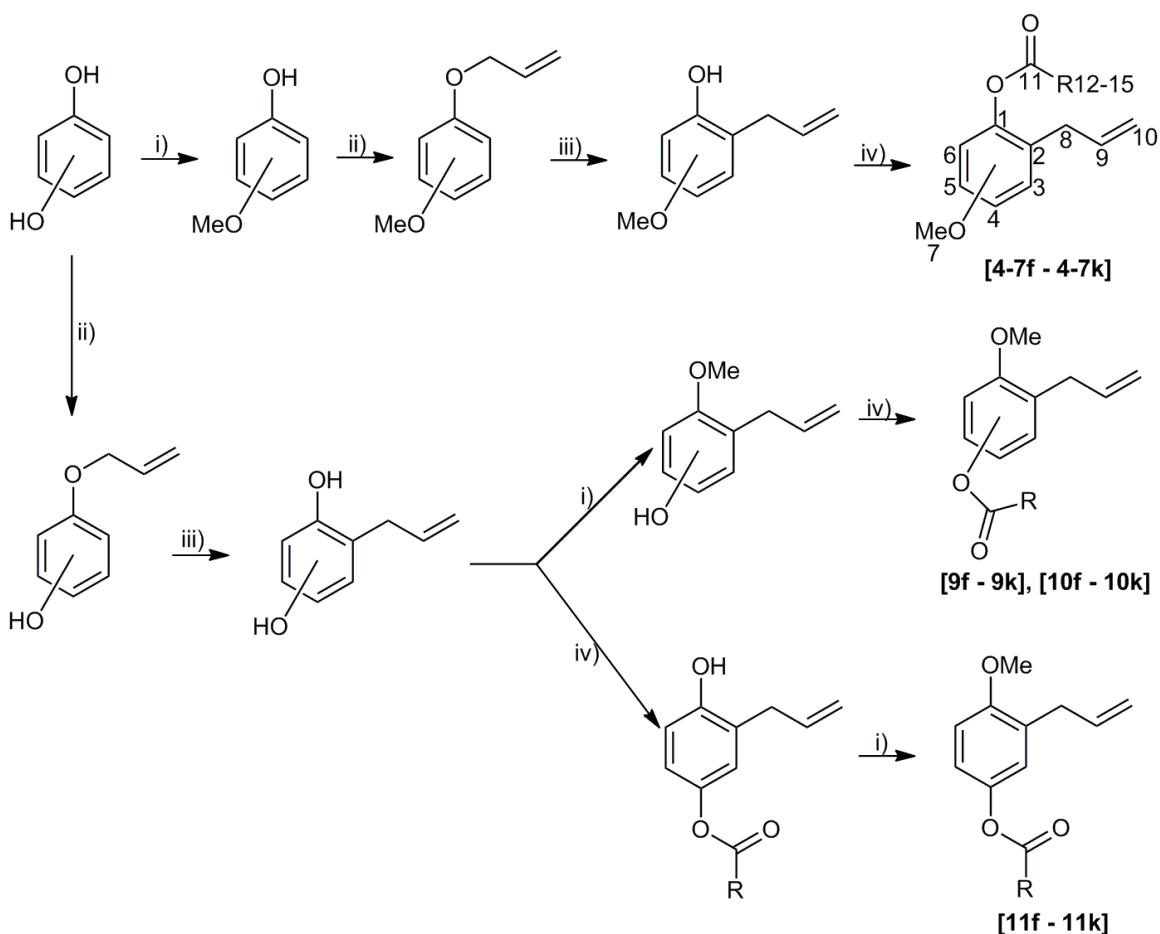
Semimikro količine estara **[3f – 3k]** i **[8a – 8f]** su dobivene direktno u procesu esterifikacije prirodno zastupljenih fenola – eugenola (4-alil-2-metoksifenola **[3]**), odnosno kavibetola (5-alil-2-metoksifenola **[8]**). Kao početni materijal za sintezu ostalih derivata iz biblioteke **[4-7f – 4-7k]** i **[9-11a – 9-11f]** korišćeni su rezorcinol, katehol ili hidrohinon. Sintetska strategija (slika 4.3.4) je bila bazirana na četiri različite reakcije: bazno katalizovano metilovanje (i) i *o*-alilovanje početnih fenola (ii), Klajzenovo premeštanje (iii) i Štegljovu esterifikaciju (iv). Za dobivanje različitih regioizomera korišćen je samo različiti redosled ovih sintetskih koraka.



Slika 4.3.3. Regioizomerni alilmetoksifenoli (3-alil-5-metoksifenol **[Ph]*** nije bilo moguće sintetisati korišćenim sintetskim pristupom)

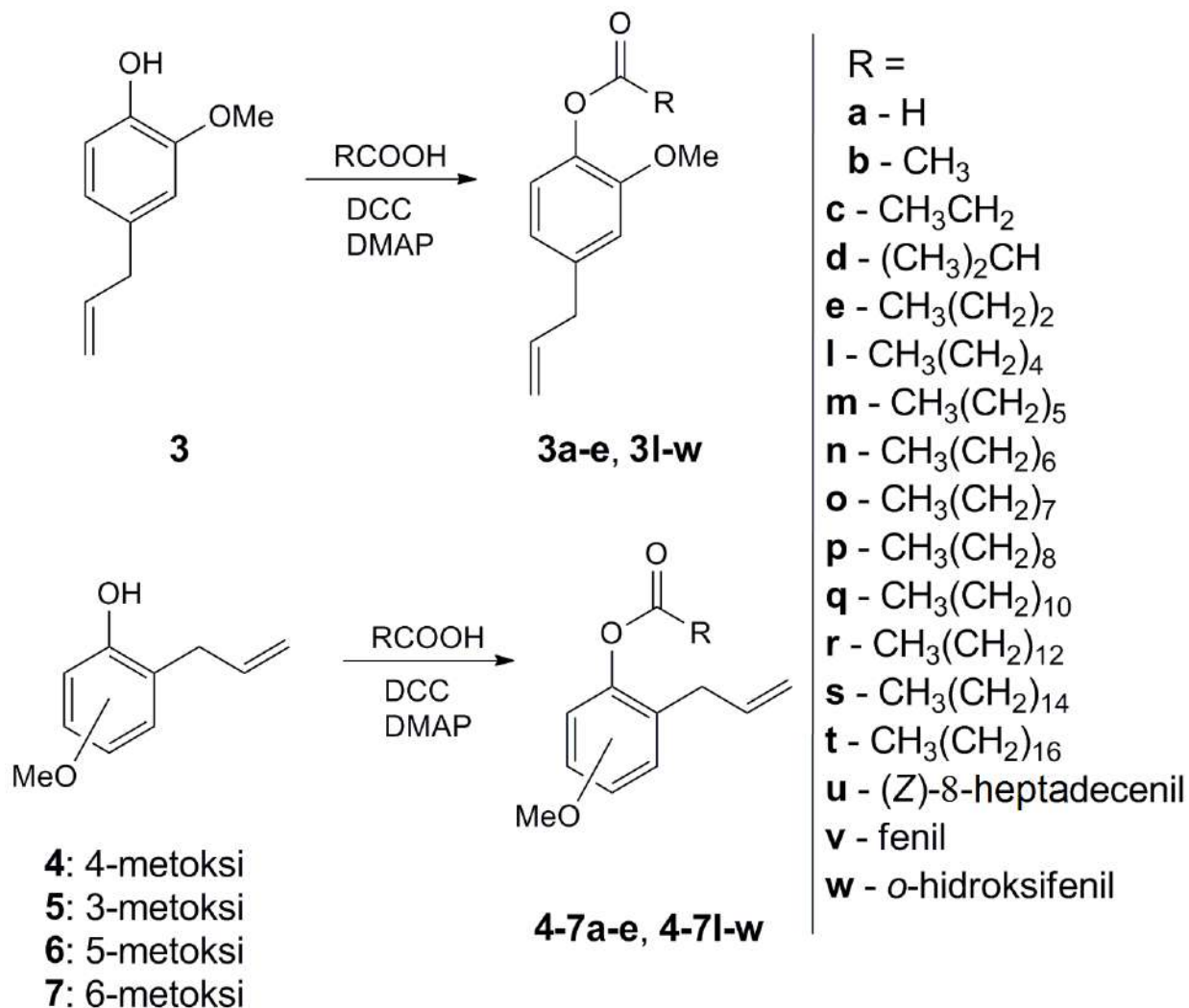
U slučaju serija derivata **[4-7f – 4-7k]** prvo smo pripremili sve izomerne *O*-alil-*O*-metilbenzendiole (reakcije (i) i (ii) na slici 4.3.4). Klajzenovim premeštanjem (premeštanje alil grupe u *orto* položaj; reakcija (iii) na slici 4.3.4), a zatim esterifikacijom (iv) su dobiveni željeni

derivati. U slučaju drugih serija derivata **[9-11a – 9-11f]** odgovarajući benzendioli su podvrgnuti Klajzenovom premeštanju odmah nakon *O*-alilovanja. Na taj način pripremljeni *C*-alilbenzendioli su prvo metilovani, a onda esterifikovani u slučaju derivata katehola **[9a – 9f]** i rezorcinola **[10a – 10f]** ili prvo esterifikovani, a onda metilovani u slučaju hidrohinona **[11a – 11f]**. Od dve slobodne fenolne grupe, onu koja je *orto* u odnosu na alil grupu (zbog sterne zaklonjenosti) je bilo mnogo teže metilovati ili esterifikovati. Stoga, kada je dobiveni 2-alil-1,4-benzendiol prvo esterifikovan, a onda metilovan, glavni proizvodi su bili 3-alil-4-metoksifenil estri **[11a – 11f]**. Obrnutim redosledom sintetskih koraka (prvo metilovanje, a onda esterifikacija) su dobiveni 2-alil-4-metoksifenil estri **[4f – 4k]**. Nažalost, ovim sintetskim pristupom nije bilo moguće dobiti 5-alil-3-metoksifenol, odnosno njegove estre.



Slika 4.3.4. Sinteza izomernih alilmetoksifenil-pentanoata, odnosno 2-pentenoata. (i) MeI, K₂CO₃, DMF, 24 h, sobna temperatura; (ii) alil-bromid, K₂CO₃, DMF, 24 h, sobna temperatura; (iii) 220 °C, 4 h, N₂; (iv) RCOOH, DCC/DMAP, CH₂Cl₂, 24 h, sobna temperatura

Dobivena biblioteka estara (54 jedinjenja) omogućila je identifikaciju svih alilmetoksifenil estara iz etarskog ulja biljne vrste *A. segetalis*. Međutim, da bi proučili odnos strukture estara regioizomernih alilmetoksifenola i njihovih hromatografskih osobina, tj. omogućili njihovu identifikaciju i kada standardi jedinjenja nisu dostupni, proširili smo početnu biblioteku derivata eugenola [3] i 4 njegovih regioizomera [4 – 7] sintezom njihovih estara sa homologom serijom od 13 *n*-kiselina (C_1 - C_4 i C_6 - C_{10} , C_{12} , C_{14} , C_{16} , C_{18} ; slika 4.3.5).



Slika 4.3.5. Sinteza alilmetoksifenil estara

Pored eugenola, od 10 mogućih regioizomera alilmetoksifenola, odabrali smo seriju 2-alil izomera uz variranje položaja metoksi grupe na jezgru. Promena dužine *n*-alkil niza u kiselinskom delu je omogućila upoređivanje vrednosti retencionih indeksa (ΔRI) susednih estara

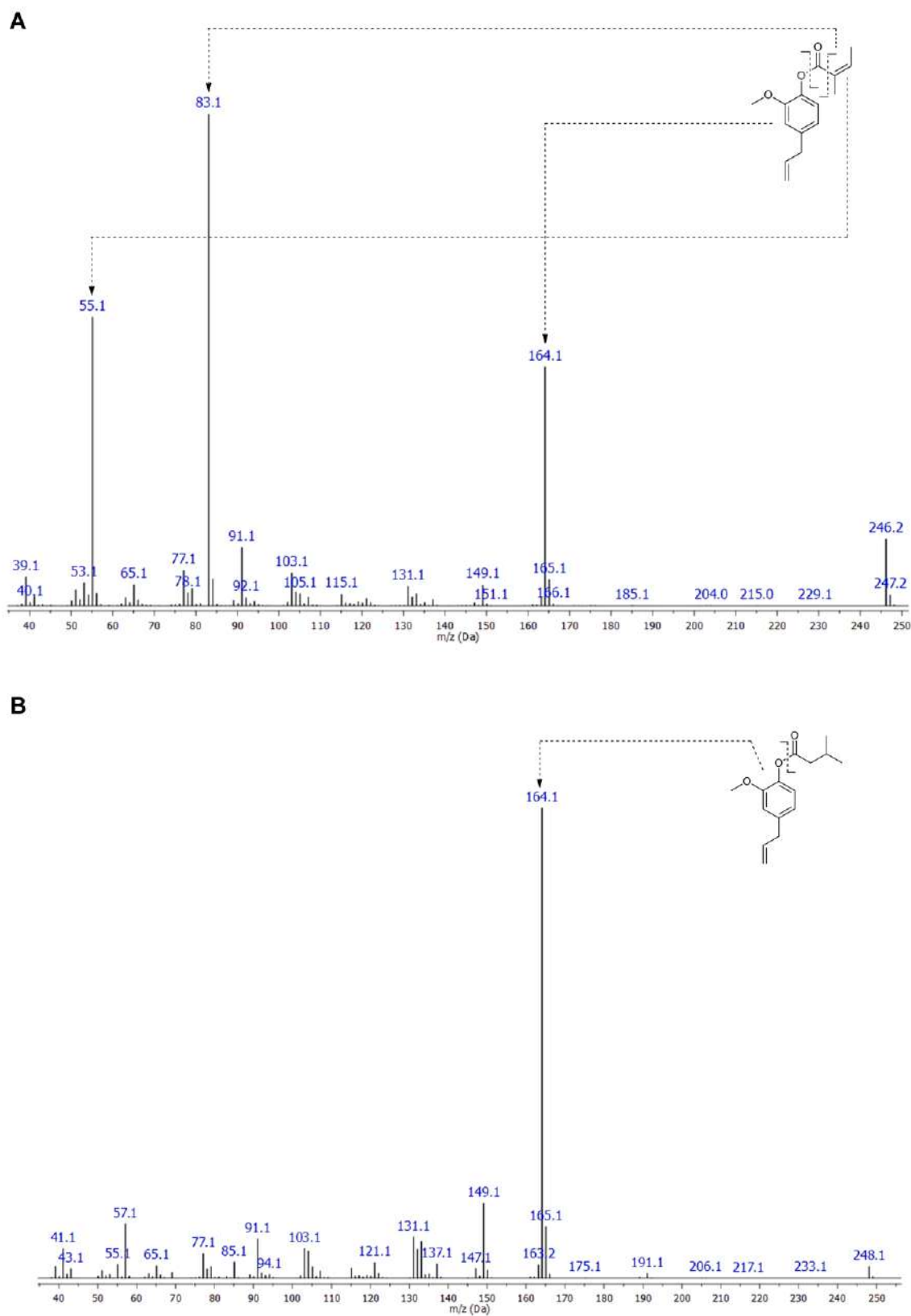
iz serija (efekat uvođenja metilenske grupe na gasno-hromatografske osobine). Takođe, dopunjene početne serije estara alilmetoksifenola su bile pogodne za ispitivanje veze retencionih indeksa estara izomernih alilmetoksifenola sa istim kiselinama s obzirom da ih je veoma teško razlikovati samo na osnovu masenih spektara. Pored estara *n*-kiselina izvršili smo i sintezu odgovarajućih izobutanoata **[3-7d]**, oleata **[3-7u]**, benzoata **[3-7v]** i salicilata **[3-7w]** sa ciljem utvrđivanja uticaja uvođenja određenih strukturnih fragmenata na RI vrednosti (račvanje alkil niza, nezasićenje ili uvođenje aromatičnog prstena u strukturu estara).

Prinos estara (računajući samo korak esterifikacije) je bio u opsegu 50 – 84%. Pretraživanjem literature je utvrđeno da 55 jedinjenja od 85 dodatnih estara predstavlja potpuno nova jedinjenja bez dostupnih spektralnih ili hromatografskih podataka. Iz toga sledi da kreirana biblioteka estara regioizomernih alilmetoksifenola od 139 estara sadrži ukupno 104 potpuno nova jedinjenja uključujući i po prvi put detektovani sekundarni metabolit – eugenil-angelat **[3i]**.

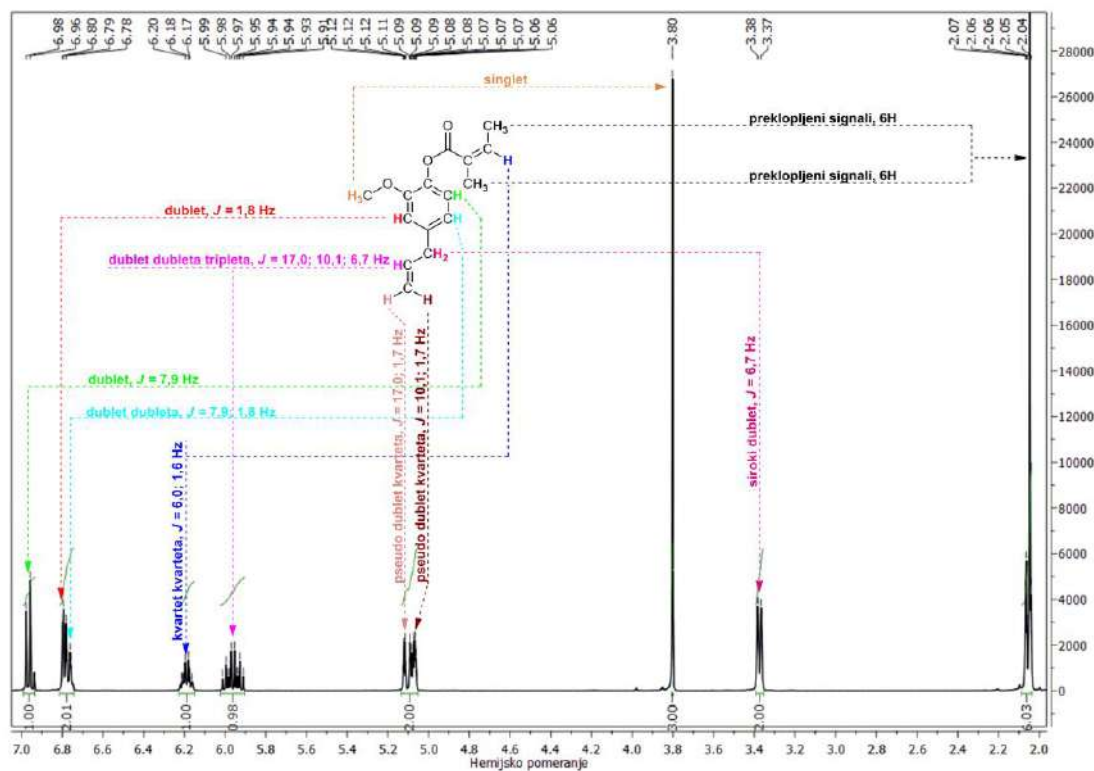
4.3.3. Spektralna karakterizacija

U masenim spektrima sintetisanih jedinjenja su uočene fragmentacije karakteristične za alilmetoksifenole i odgovarajuću kiselinu i generalno su veoma slične za sve korišćene fenole. Na primer, serije izomernih pentanoata su sadržale molekulski jon ($[M]^+$) na m/z 248 i osnovni jon na 164 $[C_{10}H_{12}O_2]^+$, dok je kod serija izomernih 2-pentenoata osnovni jon bio na m/z 83 $[C_5H_7O]^+$ (slika 4.3.6). Pored toga, odnos relativnih intenziteta fragmentnih jona u masenim spektrima izomernih estara su bili veoma slični. Osnovni jon u masenim spektrima homologue serije estara alifatičnih *n*-kiselina (C_1 - C_{10} , C_{12} , C_{14} , C_{16} , C_{18}), izobutanske i oleinske kiseline je bio na m/z 164 $[C_{10}H_{12}O_2]^+$. U masenim spektrima serije estara benzoeve i salicilne kiseline osnovni jon je bio na m/z 105 $[C_7H_5O]^+$, odnosno 121 $[C_7H_5O_2]^+$, redom.

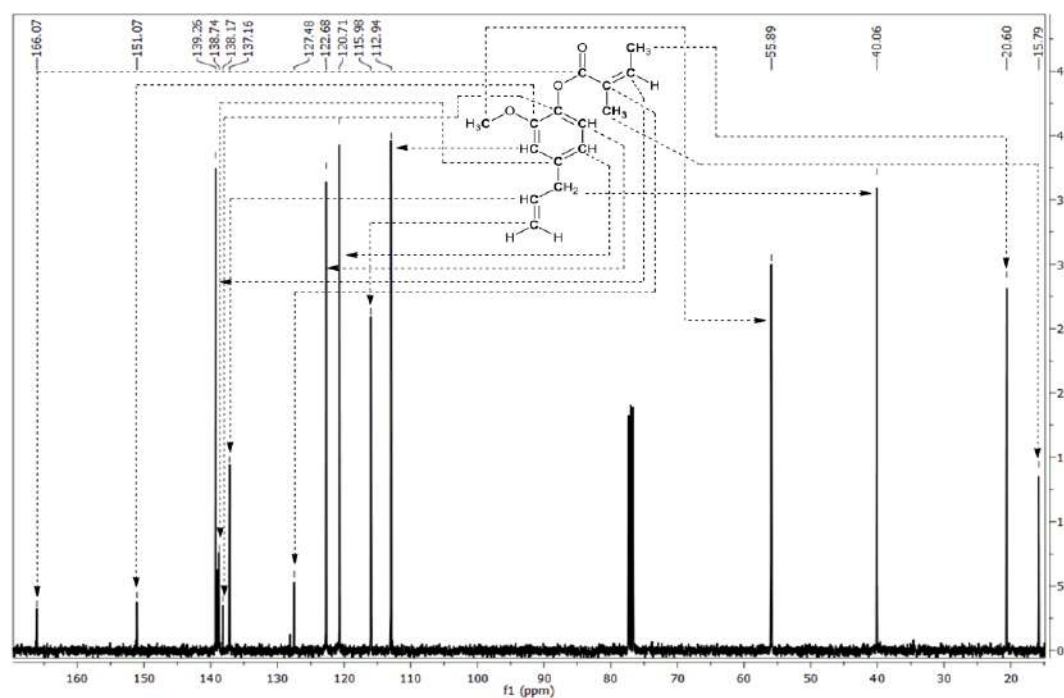
Pored MS, 1H - i ^{13}C -NMR (sa potpunom asignacijom svih 1H i ^{13}C signala) spektara, u eksperimentalnom delu (poglavlje 3.4.3.2) i priložima (deo 8.3) prikazani su i IR i UV spektralni podaci za neke sintetisane alilmetoksifenil estre (**[3f]**, **[3g]**, **[3i]**, **[3j]**, **[3k]**, **[3n]**, **[3v]**, **[5h]**, **[5k]**, **[6h]**, **[6k]**). Potpuna asignacija 1H i ^{13}C NMR signala (slike 4.3.7 i 4.3.8) je izvršena analizom 1D i 2D (1H – 1H COSY (slika 4.3.9), HSQC (slika 4.3.10), HMBC (slike 4.3.11) i NOESY) spektara, a dobiveni rezultati su bili u saglasnosti sa predloženim strukturama kao i sa literaturnim podacima za eugenil-2-metilbutanoat **[3f]**, eugenil-3-metilbutanoat **[3g]** i eugenil-benzoat **[3v]** (Hendriks et al., 1977; Lin et al., 2007; Sadeghian et al., 2008).



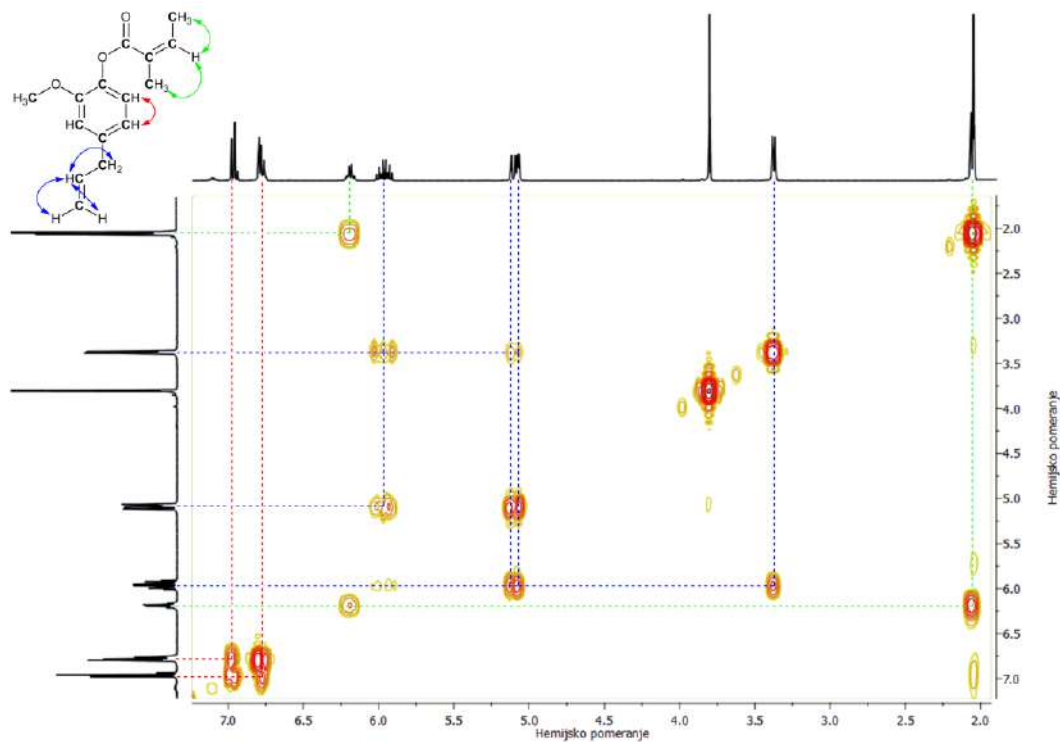
Slika 4.3.6. Maseni spektri eugenil-angelata (A) i eugenil-izovalerata (B)



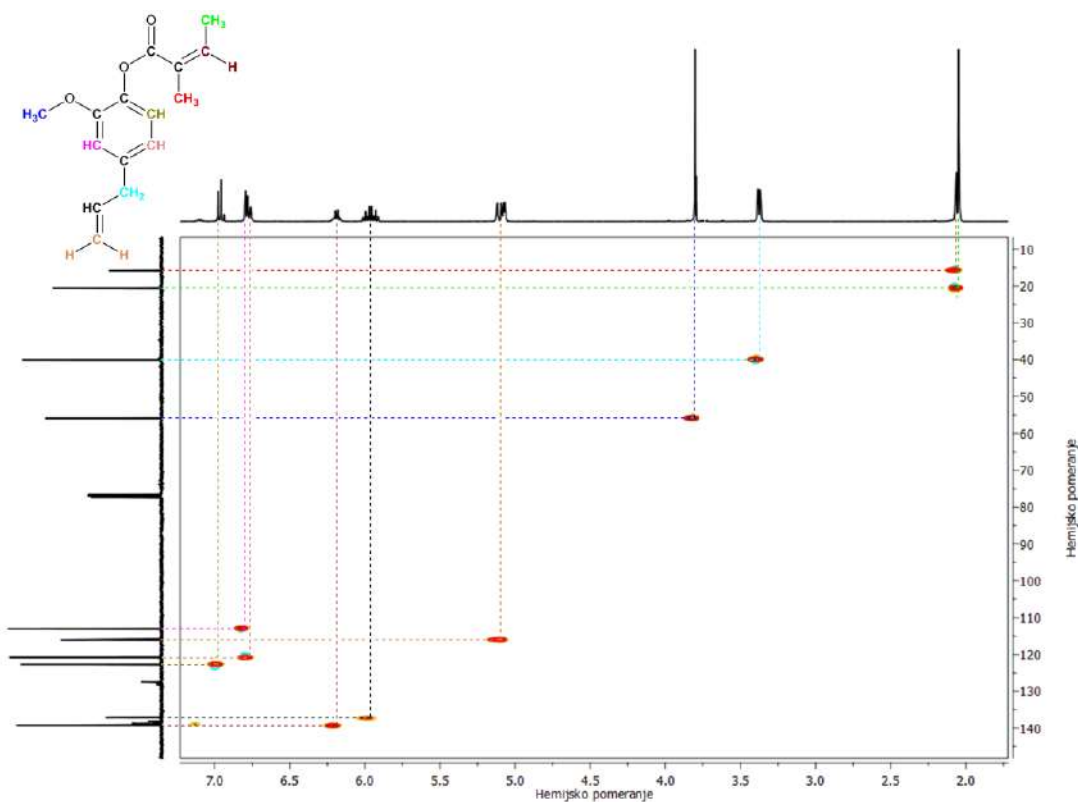
Slika 4.3.7. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar eugenil-angelata [3i]



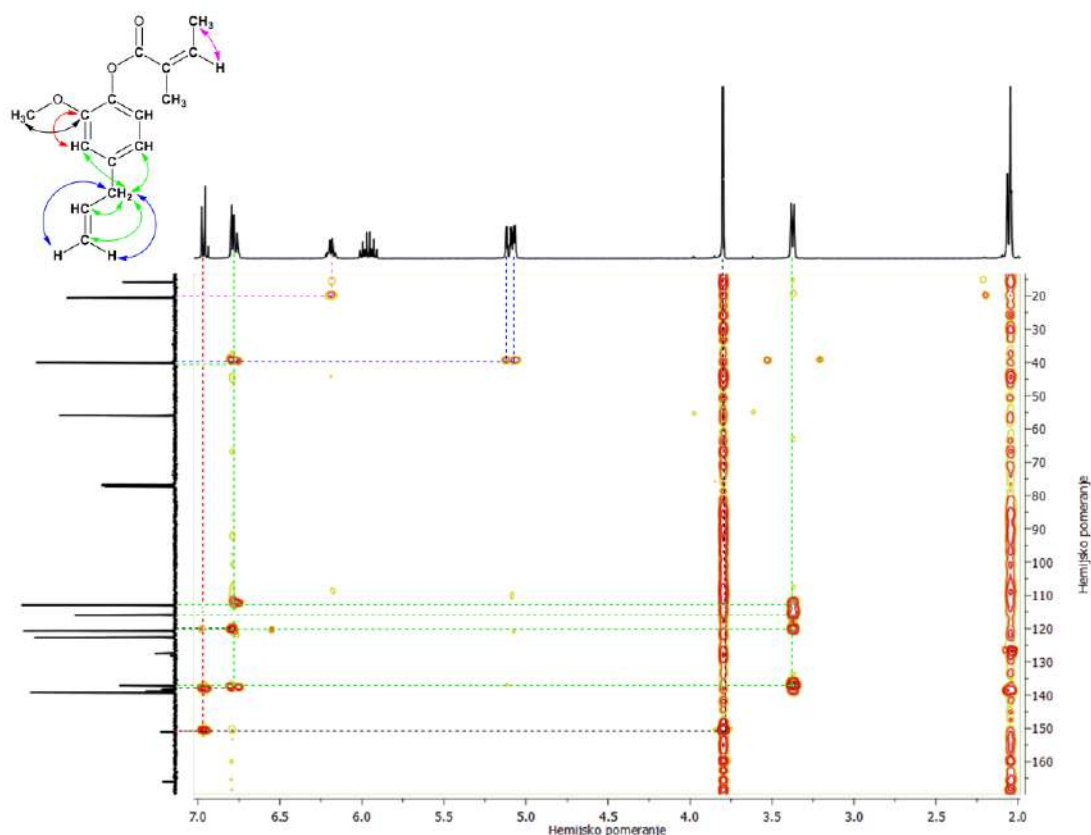
Slika 4.3.8. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar eugenil-angelata [3i]



Slika 4.3.9. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar eugenil-angelata [3i]



Slika 4.3.10. HSQC spektar eugenil-angelata [3i]



Slika 4.3.11. HMBC spektar eugenil-angelata [3i]

Spektri estara iz iste homologe serije (npr. serije [3], [5] ili [6]) su se razlikovali samo u singalima koji potiču iz kiselinskog dela dok su se upoređivanjem spektara estara različitih alilmetoksifenola i istih kiselina (npr. upoređivanjem spektara jedinjenja [3k], [5k] i [6k]) uočavale samo razlike koje potiču od signala različitih regioizomera alilmetoksifenola. Kao što se i očekivalo, signali protona iz alilnog spinskog sistema su imali ista hemijska pomeranja i oblik u spektrima svih estara eugenola ($\delta = 5,10 - 5,13, 5,08 - 5,11$ (protoni iz alkenskog dela alil grupe) i $3,37 - 3,41$ ppm za protone iz metilenske grupe). Isti trend je bio prisutan i kod estara iz homologe serije [5] ($\delta = 4,94 - 4,97, 4,93 - 4,95, 3,31 - 3,32$ ppm) i [6] ($\delta = 5,01 - 5,02, 5,00 - 5,01, 3,21$ ppm), mada su signali bili malo pomereni ka višem polju. U slučaju svih estara, hemijsko pomeranje signala protona iz $-OCH_3$ grupe je bilo $3,77 - 3,84$ ppm dok su hemijska pomeranja signala protona aromatičnog jezgra fenola bila u opsegu $6,63 - 7,19$ ppm. Ovakvo pomeranje protona ka jačem polju je bilo očekivano s obzirom da je benzenov prsten u korišćenim fenolima sadržao dve elektron-donorske grupe (signali protona iz nesupstituisanog benzena se nalaze na $7,26$ ppm u 1H -NMR spektru). Upravo su razlike u obliku signala

(multipletnosti) i hemijskom pomeranju protona sa aromatičnog jezgra estara različitih alilmetoksifenola omogućile njihovu potpunu asignaciju. Sa druge strane, razlike u kiselinom delu estara istih alilmetoksifenola su nam omogućile razlikovanje estara 2-metilbutanske/3-metilbutanske/pentanske kiseline, odnosno senecio/tiglinke/angelika kiseline. Važno je napomenuti da jedino u slučaju eugenil-oktanoata upotrebom 1D i 2D ($^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY, HSQC, HMBC i NOESY) NMR spektara nije bila moguća asignacija C_{15} - C_{17} ugljenika i protona iz *n*-alkil (heptil) niza usled njihove velike sličnosti.

4.3.4. Veza strukture molekula i njihovih gasno-hromatografskih osobina (retencionih indeksa)

Retencioni indeksi (DB-5MS kolona) svih sintetisanih izomernih pentanoata, odnosno 2-pentenoata su navedeni u tabeli 4.3.2. Iako su dobivene vrednosti retencionih indeksa obuhvatale veliki deo hromatograma (1700 – 1841 za izomerne pentanoate i 1725 – 1898 za izomerne 2-pentenoate), nekoliko grupa izomera je praktično koeluiralo (npr. [7f], [7g] i [9a]; [8a], [6f] i [6g] ili [9c], [6i] i [9e]). Na osnovu dobivenih vrednosti RI, može se generalizovati da, bez obzira na korišćeni fenol, estri eluiraju sledećim redosledom sa DB-5MS kolone: 2-metilbutanoati $\approx$ 3-metilbutanoati < angelati < valerati < senecioati $\approx$ tiglati (tabela 4.3.2) sa prosečnim razlikama između izomernih estara: $\Delta\text{RI}_{(\text{isovalerati}/2\text{-metilbutanoati})} = 5$, $\Delta\text{RI}_{(\text{valerati}/\text{isovalerati})} = 50$, $\Delta\text{RI}_{(\text{senecioati}/\text{angelati})} = 56$ i $\Delta\text{RI}_{(\text{tiglati}/\text{senecioati})} = 4$.

Tabela 4.3.2. Vrednosti retencionih indeksa sintetisanih izomernih pentanoata, odnosno 2-pentenoata (DB 5-MS)

	2-metilbutanoat (f)	3-metilbutanoat (g)	pentanoat (h)	angelat (i)	senecioat (j)	tiglat (k)
2-Alil-4-metoksifenil [4]	1760	1766	1815	1796	1851	1853
2-Alil-3-metoksifenil [5]	1726	1730	1779	1765	1812	1815
2-Alil-5-metoksifenil [6]	1746	1751	1801	1787	1842	1845
2-Alil-6-metoksifenil [7]	1700	1703	1749	1725	1773	1775
3-Alil-2-metoksifenil [9]	1705	1708	1754	1737	1787	1798
3-Alil-4-metoksifenil [11]	1781	1785	1841	1830	1897	1898
4-Alil-2-metoksifenil [3]	1761	1769	1816	1800	1857	1861
4-Alil-3-metoksifenil [10]	1768	1775	1830	1820	1885	1888
5-Alil-2-metoksifenil [8]	1753	1759	1808	1791	1853	1856

Očigledno je bilo da potpuna identifikacija i razlikovanje izomernih estara alilmetoksifenola nije moguća korišćenjem samo masenih spektara i vrednosti retencionih

indeksa usled njihove velike sličnosti. Iz tog razloga, rezultati nekih od prethodnih istraživanja, gde su identifikovani estri eugenola kao sastojci etarskih ulja (samo na osnovu GC-MS analize), treba uzeti sa rezervom. Na primer, nedavno je eugenil-valerat identifikovan kao sastojak etarskog ulja biljne vrste *H. perforatum* (Šmelcerović et al., 2007), ali bez ikakve potvrde da se radi upravo o eugenolu kao jednom od 10 mogućih regioizomera alilmetoksifenola. Na osnovu vrednosti iz tabele 4.3.2, vrednosti retencionih indeksa koje su autori (Šmelcerović et al., 2007) naveli za eugenil-valerat (1832; DB-5MS kolona) se mnogo bolje slaže sa vrednostima za 4-alil-3-metoksifenil-valerat (1830, tabela 4.3.2). U jednom drugom slučaju (Ali et al., 2000), određena RI vrednost (GC kolona iste polarnosti kao i ona koja je bila korišćena u našoj GC analizi) za pretpostavljeni eugenil-valerat je 50 (!) jedinica niža u odnosu na RI vrednosti većine analiziranih estara pentanske (valerijanske) kiseline iz tabele 4.3.2. Zato je od izuzetne važnosti, u cilju potvrde strukture ovih izomera, izvršiti dodatne strukturne analize (npr. NMR analiza izolovanog jedinjenja) ili ko-hromatografija uzorka etarskog ulja sa standardima jedinjenja. Nadamo se da će dobiveni MS i RI podaci pomoći da se olakša buduća identifikacija ovakvih derivata, minimizuje broj grešaka u identifikaciji i da će ovde otkrivene greške u prethodnim studijama usloviti povećanje opreznosti istraživača prilikom identifikacije sekundarnih metabolita koji bi mogli realno (biosintetski) da postoje kao veliki broj izomera.

Pretragom literature je uočeno da su izomerni alilmetoksifenil pentanoati, odnosno 2-pentenoati generalno veoma retka jedinjenja. Isto se pokazalo i prilikom pretrage prisustva ostalih estara alilmetoksifenola (npr. formijata, acetata, propanoata itd.). Verujemo da je to posledica nepostojanja MS i RI podataka u literaturi, a što je uslovljavalo „zanemarivanje” potencijalno detektovanih takvih sastojaka pri analizi etarskih ulja drugim fitohemijskim analizama. To nas je motivisalo, kao što je već navedeno, da proširimo početnu biblioteku estara alilmetoksifenola. Uporednom analizom hromatogafskih osobina unutar homologih serija, kao i upoređivanjem homologih serija različitih regioizomera alilmetoksifenola pokušano je da se uvede jednačina koja bi omogućila teorijsko predviđanje retencionih indeksa ovih jedinjenja. Analizom dobivenih RI vrednosti u okviru svih homologih serija estara (tabela 4.3.3) je uočeno da jedinjenja sa manjim molekulskim masama (formijati, acetati, propanoati i butanoati) imaju manje pravilnu promenu retencionih indeksa između susednih članova (57 – 63 jedinica za formijate/acetate i u opsegu 93 – 97 za acetate/propanoate/butanoate) u odnosu na heksanoate i više članove serija ($\Delta RI = 101 - 102$). Ovo je verovatno posledica manje drastične promene

strukture uvođenjem metilenskih grupa u jedinjenja $C_6 - C_{18}$ u odnosu na $C_1 - C_4$ (tj. prisustvo estarske grupe je imalo manji „doprinos” RI vrednosti u odnosu na alifatični niz kod članova biblioteke sa većim molekulskim masama). Takođe, upoređenjem odnosa vrednosti retencionih indeksa i broja ugljenikovih atoma u *n*-alkil nizu kiselinskog dela estara homologih serija alilmetoksifenola [3 – 7] došlo se do jednačina ($RI = 1304,84 + 101,05 \times C$ za eugenil, $RI = 1257,24 + 101,99 \times C$ za 2-alil-3-metoksifenil, $RI = 1304,12 + 100,96 \times C$ za 2-alil-4-metoksifenil, $RI = 1281,80 + 101,17 \times C$ za 2-alil-5-metoksifenil i $RI = 1229,24 + 101,14 \times C$ za 2-alil-6-metoksifenil estre, gde je C bio ukupan broj atoma ugljenika u kiselinskom delu, a koeficijenti korelacije za sve jednačine su bili veći od 0,99), koje se mogu iskoristiti za predviđanje RI vrednosti nepoznatih estara *n*-kiselina i alilmetoksifenola. Ove jednačine su se pokazale veoma korisnim za izračunavanje vrednosti retencionih indeksa u slučaju nepoznatih estara (npr. [3 – 7] undekanoata, tridekanoata, pentadekanoata itd.).

Pored osnovnih jednačina koje uključuju samo broj ugljenikovih atoma u kiselinskom delu, odlučili smo da kreiramo i jednačine koje uključuju i druge strukturne karakteristike molekula estara izražene preko različitih topoloških indeksa (u našem slučaju Vinerov (Wiener, 1947), Balabanov (Balaban, 1983) i molekulski topološki indeks (Schultz, 1989)). Korelacija pojedinih topoloških indeksa sa retencionim indeksima ili istovremeno dva indeksa sa RI vrednostima dobivane su jednačine sa nezadovoljavajućim predviđanjima retencionih indeksa. Međutim, kombinacija sva tri topološka indeksa je dovela do jednačina (prilog 8.3.210) koje predviđaju teorijske RI vrednosti sa veoma malom greškom od $\pm 0 - 11$ jedinica (tabela 4.3.3).

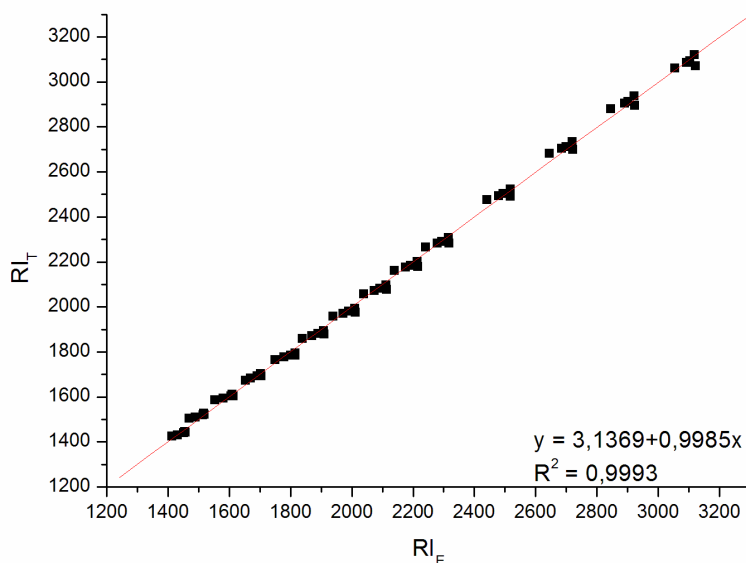
Nedostatak ovih jednačina je to što mogu da se koriste samo u okviru serija estara alilmetoksifenola. Iz tog razloga smo uvođenjem i četvrtog parametra (broja ugljenikovih atoma u kiselinskom delu) pokušali da dobijemo univerzalnu jednačinu za izračunavanje vrednosti retencionih vrednosti estara svih mogućih regioizomera alilmetoksifenola. Rezultujuća jednačina ($RI = 1217,3141 - 1,6284 \times 10^{-4} \times B - 0,6404 \times MTI + 5,2455 \times W + 68,4139 \times C$, gde je B, Balabanov indeks, MTI, molekulski topološki indeks, W, Vinerov indeks i C, ukupan broj ugljikovih atoma u kiselinskom delu), predviđala je vrednosti retencionih indeksa sa malom greškom od $\pm 0 - 10$ jedinica izuzev nekoliko estara kod kojih je greška bila $\pm 20 - 35$ jedinica u poređenju sa eksperimentalnim RI vrednostima (slika 4.3.12).

Tabela 4.3.3. Eksperimentalne i teorijske vrednosti retencionih indeksa alilmetoksifenil estara

		Eugenil		2-Alil-4-metoksifenil		2-Alil-3-metoksifenil		2-Alil-5-metoksifenil		2-Alil-6-metoksifenil	
		[3]		[4]		[5]		[6]		[7]	
		RI ^a	RI ^b	RI ^a	RI ^b	RI ^a	RI ^b	RI ^a	RI ^b	RI ^a	RI ^b
Formijat	a	1457	1457	1454	1458	1432	1428	1451	1447	1413	1417
Acetat	b	1519	1520	1517	1519	1489	1489	1514	1509	1470	1471
Propanoat	c	1613	1614	1610	1613	1581	1582	1606	1600	1554	1555
Izobutanoat	d	1654	1655	1652	1656	1625	1625	1647	1639	1595	1597
Butanoat	e	1705	1705	1703	1704	1670	1671	1692	1689	1653	1653
2-Metilbutanoat	f	1761	1761	1760	1762	1726	1726	1746	1743	1700	1701
3-Metilbutanoat	g	1769	1769	1766	1768	1730	1731	1751	1748	1703	1704
Pentanoat	h	1816	1816	1815	1817	1779	1780	1801	1798	1749	1749
Angelat	i	1800	1801	1796	1801	1765	1766	1787	1778	1725	1727
Senecioat	j	1857	1858	1851	1856	1812	1814	1842	1832	1773	1775
Tiglat	k	1861	1862	1853	1859	1815	1816	1845	1834	1775	1778
Heksanoat	l	1910	1910	1908	1909	1869	1870	1890	1887	1838	1838
Heptanoat	m	2011	2011	2010	2011	1971	1972	1990	1988	1938	1938
Oktanoat	n	2113	2113	2112	2113	2073	2074	2091	2088	2038	2038
Nonanoat	o	2215	2215	2213	2214	2175	2176	2192	2189	2139	2139
Dekanoat	p	2317	2317	2316	2316	2279	2280	2293	2290	2240	2241
Dodekanoat	q	2518	2518	2517	2518	2480	2481	2494	2490	2441	2442
Tetradekanoat	r	2721	2721	2719	2722	2685	2686	2699	2693	2645	2647
Heksadekanoat	s	2923	2923	2921	2924	2891	2893	2901	2894	2844	2846
Oktadekanoat	t	3121	3121	3118	3122	3092	3094	3103	3096	3054	3056
(Z)-9-Oktadecenoat	u	3099	3099	3098	3101	3070	3071	3080	3073	3027	3029
Benzoat	v	2124	2124	2120	2121	2089	2089	2102	2099	2058	2059
Salicilat	w	2203	2203	2199	2202	2166	2166	2181	2175	2129	2131

RI^a – Eksperimentalne vrednosti retencionih indeksa alilmetoksifenil estara (DB-5MS kolona).
 RI^b – Predviđene vrednosti retencionih indeksa.

Pored navedenog, generalno, redosled eluiranja estara istih kiselina i različitih alilmetoksifenola je bio: $RI_{2\text{-alil-6-metoksifenil estri}} < RI_{2\text{-alil-3-metoksifenil estri}} < RI_{2\text{-alil-5-metoksifenil estri}} < RI_{2\text{-alil-4-metoksifenil estri}} < RI_{4\text{-alil-2-metoksifenil estri}}$.



Slika 4.3.12. Korelacija vrednosti eksperimentalno dobivenih retencionih indeksa (RI_E ; DB-5-MS kolona) i izračunatih RI vrednosti (RI_T)

4.3.5. Biološka/farmakološka aktivnost odabranih derivata iz biblioteke alilmetoksifenil estara

Da bi utvrdili da li su alilmetoksifenil estri toksični i/ili poseduju korisne farmakološke osobine, za odabrana jedinjenja iz biblioteke (eugenil-angelat **[3i]**, eugenil-2-metilbutanoat **[3f]**, eugenil-3-metilbutanoat **[3g]**, eugenil-tiglat **[3k]**, eugenil-senecioat **[3j]**, 2-alil-3-metoksifenil-valerat **[5h]**, 2-alil-3-metoksifenil-tiglat **[5k]**, 2-alil-5-metoksifenil-valerat **[6h]** i 2-alil-5-metoksifenil-tiglat **[6k]**), testirana je njihova akutna toksičnost prema račićima (*Artemia salina*), citotoksičnost na netransformisanu (fibroblast, MRC5) i transformisanu (melanoma, A375) ćelijsku liniju. Takođe smo ispitivali njihovu inhibitornu aktivnost na acetilholinesterazu. Pored toga, motivisani prethodnim rezultatima o aktivnosti derivata eugenola (Pauli i Kubeczka, 2010), odlučili smo da ispitamo i njihovu antibakterijsku aktivnost protiv odabranih bakterija (ukupno 17 Gram-pozitivnih i Gram-negativnih sojeva bakterija). Izbor jedinjenja za testiranje nije bio

slučajan. Jedinjenja **[3k]** i **[3j]** su testirana da bi se utvrdio uticaj različite stereochemije dvostruke veze i položaj metil grupe (α ili β) u kiselinskom delu na biološku aktivnost alilmetoksifenil estara. Uporedo sa estrima iz biblioteke, testirali smo i početne fenole (eugenol **[3]**, 2-alil-3-metoksifenol **[5]** i 2-alil-5-metoksifenol **[6]**) da bi utvrdili kakav uticaj ima slobodna fenolna grupa na biološku aktivnost.

4.3.5.1. Određivanje akutne toksičnosti

Rezultati testiranja akutne toksičnosti su dati u tabeli 4.3.4. Više od polovine testiranih jedinjenja (**[3k]**, **[5h]**, **[6h]**, **[5k]** i **[6k]**), uključujući i novi sekundarni metabolit iz etarskog ulja biljne vrste *A. segetalis* – eugenil-angelat **[3i]**, nisu pokazali aktivnost u testiranim koncentracijama 0,005 – 0,05 mg/ml (veće koncentracije nisu mogle biti testirane zbog slabe rastvorljivosti jedinjenja u veštačkoj morskoj vodi). Ostala testirana jedinjenja (tabela 4.3.4) su pokazala slabu akutnu toksičnost.

Tabela 4.3.4. Akutna toksičnost metabolita iz etarskog ulja biljne vrste *A. segetalis* i strukturno srodnih jedinjenja

Jedinjenje ^a	Mortalitet ^b	Mortalitet ^c	LC ₄₀ ^d	LC ₄₀ ^e
Eugenol [3]	55,0	82,5	0,15	0,05
2-Alil-3-metoksifenol [5]	72,5	82,5	0,12	0,06
[3f]	62,5	92,5	0,12	<0,02
[3g]	55,0	80,0	0,16	0,04
[3j]	42,5	70,0	0,18	0,07

^a) U tabeli su prikazana samo jedinjenja aktivna u testiranim koncentracijama.

^b) Mortalitet za koncentracije 0,05 mg/ml (0,30 mmol/l za fenole, odnosno 0,20 mmol/l za estre) u % nakon 24 h.

^c) Mortalitet za koncentracije 0,05 mg/ml (0,30 mmol/l za fenole, odnosno 0,20 mmol/l za estre) u % nakon 48 h.

^d) μ mol/ml, nakon 24 h.

^e) μ mol/ml, nakon 48 h.

Nekoliko jedinjenja, čak i u najvećoj testiranoj koncentraciji, uzrokovala su smrt oko 50% jedinki (npr. **[3]**, **[3f]**, **[3g]**) i iz tog razloga nismo mogli sa sigurnošću da izračunamo LC₅₀. Umesto toga, izračunali smo LC₄₀ vrednosti kako bi omogućili lakše međusobno upoređivanje toksičnosti testiranih jedinjenja, naročito upoređivanje toksičnosti estara i odgovarajućih fenola. Kao što se može uočiti iz tabele 4.3.4. sva jedinjenja su pokazala sličan stepen toksičnosti (LC₄₀)

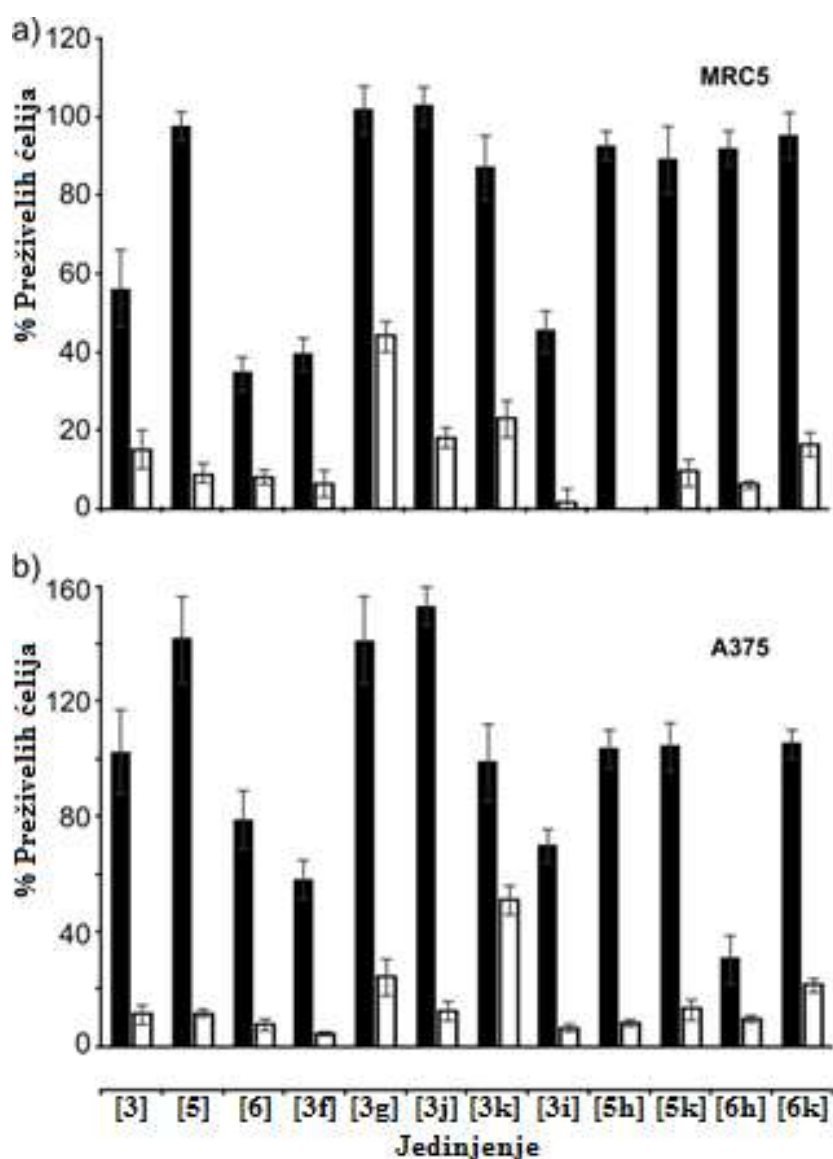
prema račićima *Artemia salina* u intervalu 0,12 do 0,18 $\mu\text{mol/ml}$ (nakon perioda inkubacije od 24 h), odnosno od 0,02 do 0,07 $\mu\text{mol/ml}$ (nakon inkubacije od 48 h).

4.3.5.2. *In vitro* citotoksičnost (antiproliferativna aktivnost)

Testirano je dejstvo odabranih jedinjenja iz kombinatorne biblioteke alilmetoksifenola ([3], [5] i [6]) i njihovih derivata ([3f], [3g], [3i], [3j], [3k], [5h], [5k], [6k] i [6h]) na proliferaciju netransformisane (MRC5) i transformisane (A375) ćelijske linije (slika 4.3.13). Sva testirana jedinjenja su pokazala citotoksični efekat na obe ćelijske linije kada su bila primenjena u visokim koncentracijama (5 mg/ml). U ovoj koncentraciji, 4-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoat [3g] i 4-alil-2-metoksifenil-tiglat [3k] su pokazivali najslabiji antiproliferativni efekat. Ovi derivati su bili sposobni da inhibiraju 60% i 70% ćelijske proliferacije obe ćelijske linije. Kada su testirane 100 puta niže koncentracije (50 $\mu\text{g/ml}$) citotoksični efekat se smanjio što je potvrdilo koncentracijsku zavisnost citotoksičnosti. U koncentraciji od 50 $\mu\text{g/ml}$, jedinjenja [6], [3f], [3i] pokazivala su najveći citotoksični efekat i inhibirala proliferaciju fibroblasta 50 – 60% i 20 – 40% u slučaju ćelija melanoma. Generalno, nije uočena selektivnost prema nekoj ćelijskoj liniji. S druge strane, primetan je bio značajan stimulatorni efekat na *in vitro* proliferaciju ćelija melanoma kada su jedinjenja [6], [3g] ili [3j] dodata u medijum. Ova jedinjenja nisu pokazala citotoksični efekat na ćelije fibroblasta. Ovako različito dejstvo na *in vitro* proliferaciju ćelija je takođe zabeleženo kada su kao test jedinjenja korišćene polinezasićene masne kiseline (Mollerup i Haugen, 1996). Na osnovu početnih rezultata odabrana su tri jedinjenja sa najvećim citotoksičnim potencijalom (2-alil-5-metoksifenol [6], eugenil-2-metilbutanoat [3f] i eugenil-angelat [3i]) i određena je njihova IC_{50} vrednost nakon 48 h inkubacije. U slučaju ćelija fibroblasta, za derivate [3f] i [3i] određena je IC_{50} vrednosti od 50 $\mu\text{g/ml}$ (200 μM), dok je IC_{50} za fenol [6] iznosila 200 $\mu\text{g/ml}$ (1,2 mM). IC_{50} vrednost za eugenil-2-metilbutanoat [3f] je iznosila 50 $\mu\text{g/ml}$ (200 μM), za eugenil-angelat [3i] 60 $\mu\text{g/ml}$ (244 μM), a za 2-alil-5-metoksifenol [6] 300 $\mu\text{g/ml}$ (1,8 mM) u slučaju ćelija melanoma. Dobivene IC_{50} vrednosti su relativno visoke u odnosu na IC_{50} vrednosti poznatih citotoksika i ukazuju na slabu citotoksičnost testiranih derivata.

Za eugenol [3], kao jedan od najpoznatijih alilmetoksifenola, ranije je potvrđeno da izaziva apoptozu u masnim ćelijama (Park et al., 2005) i ćelijama HL-60 (*Human promyelocytic leukemia cells*) (Okada et al., 2005). Ranije određene IC_{50} vrednosti za eugenol su bile u opsegu

od 20 do 130 μM za različite ćelijske linije, a nađeno je da on nema efekat na ćelije melanoma pri koncentraciji od 100 μM , čak i posle šest dana tretmana (Pisano et al., 2007). Naši rezultati ukazuju na to da je prisustvo eugenola u medijumu (u koncentraciji 300 μM) imalo veći uticaj na ćelije fibroblasta u odnosu na ćelije melanoma A375, što je u saglasnosti sa prethodno dobivenim rezultatima.



Slika 4.3.13. Efekat eugenola, njegovih regioizomera i nekoliko odabranih estara na proliferaciju (a) fibroblasta MRC5 i (b) ćelija melanoma A375. Ćelije su tretirane sa 50 $\mu\text{g/ml}$ (■) i 5 mg/ml (□) supstance tokom 24 h

4.3.5.3. Inhibitorna aktivnost na acetilholinesterazu (AChE)

Kao i u slučaju testiranja akutne toksičnosti (*Artemia salina*), pokazalo se da većina testiranih derivata iz biblioteke ne inhibira acetilholinesterazu. Čak i u najvećoj testiranoj koncentraciji, 0,16 $\mu\text{mol/ml}$ (40 $\mu\text{g/ml}$), samo su eugenil estri angelika **[3i]**, senecio **[3j]** i 2-metilbutanske kiseline **[3f]** pokazali izvestan efekat inhibirajući aktivnost acetilholinesteraze 35,4% **[3i]**, 17,4% **[3j]** i 26,1% **[3f]**.

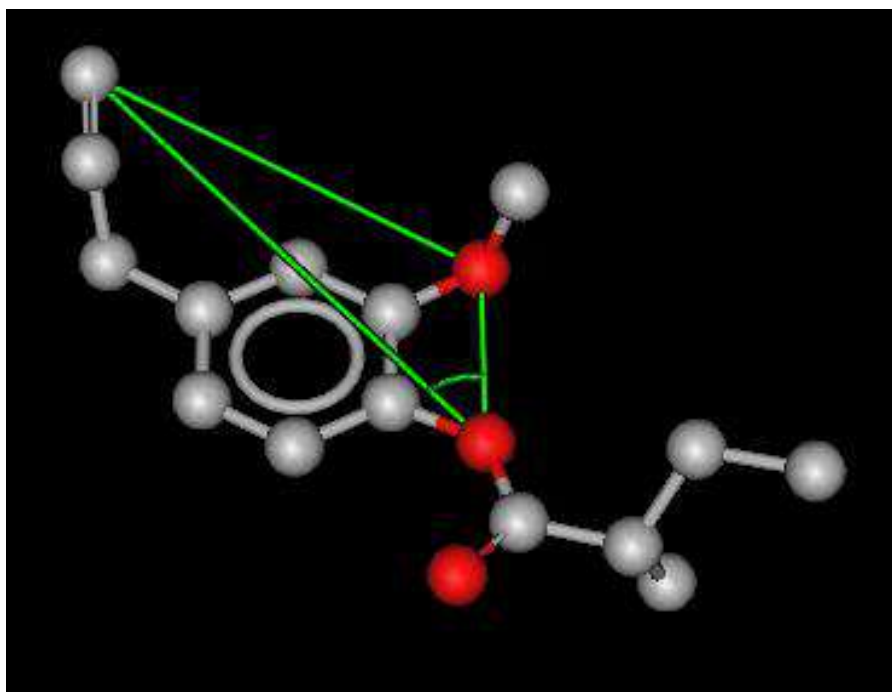
4.3.5.4. Antibakterijska aktivnost

Za odabrane alilmetoksifenole i njihove estre je takođe bila testirana antibakterijska aktivnost prema 17 sojeva bakterija (ATCC sojeva, kao i kliničkih izolata ili izolata iz hrane). Generalno, sva jedinjenja su pokazivala značajan antibakterijski potencijal sa MIC vrednostima u opsegu 0,0025 – 6,00 mg/ml (tabela 4.3.5). I Gram-pozitivni i Gram-negativni sojevi su pokazivali veoma sličnu osetljivost na testirana jedinjenja, gde su generalno ATCC sojevi pokazivali nešto veću osetljivost u odnosu na odgovarajuće izolate. Rast sojeva *Proteus mirabilis* i *Enterobacter cloacae* je bio inhibiran prisustvom svih testiranih jedinjenja u medijumu. S druge strane najotporniji soj je bio *Sarcina lutea*. Ovo je bio veoma iznenađujući rezultat, jer su Gram-pozitivni sojevi generalno poznati po većoj osetljivosti u odnosu na Gram-negativne (Radulović et al., 2011).

Najjaču antimikrobnu aktivnost su pokazali 2-alil-3-metoksifenol (**[5]**; MIC = 0,32 – 3,00 mg/ml (1,95 – 18,29 mmol/l); srednja vrednost svih MIC vrednosti = 0,87 mg/ml (5,30 mmol/l)), 2-alil-5-metoksifenil-tiglat (**[6k]**; MIC = 0,32 – 6,00 mg/ml (1,30 – 24,39 mmol/l); srednja vrednost svih MIC vrednosti = 1,08 mg/ml (4,39 mmol/l)) i eugenol (**[3]**; MIC 0,32 – 1,50 mg/ml (1,95 – 9,15 mmol/l); srednja vrednost svih MIC vrednosti = 1,16 mg/ml (7,07 mmol/l)). Eugenol je inhibirao rast svih testiranih sojeva bakterija (tabela 4.3.5) što je bilo i očekivano na osnovu prethodnih studija u kojima je pokazano jako antimikrobno dejstvo ovog alilmetoksifenola protiv širokog spektra mikroorganizama (Didry et al., 1994; Shapiro et al., 1994; Ali et al., 2005; Tippayatum & Chonhenchob, 2007; Qiu et al., 2010; Rico-Molina et al., 2012; El-Abed et al., 2011). Što se tiče sekundarnih metabolita iz etarskog ulja nadzemnih delova biljne vrste *A. segetalis*, eugenil-angelat **[3i]**, 2-metilbutanoat **[3f]** i 3-metilbutanoat **[3g]**, su pokazali aktivnost samo na određen broj bakterija (tabela 4.3.5).

4.3.6. Veza strukture odabranih jedinjenja biblioteke i njihovih bioloških osobina (SAR)

Razmatrajući strukturu derivata alilmetoksifenola i njihove biološke karakteristike (SAR) se moglo zaključiti da su metoksi grupa, $-OC(O)-$ ($-OH$ u slučaju fenola) grupa i dvostruka veza iz alil grupe delovi farmakofore testiranih jedinjenja. Potencijalni farmakoforni trougao (zelene linije) najstabilnijeg (otimizovan na MMFF94 nivou teorije) konformera eugenil-2-metilbutanoata **[3f]** je prikazan na slici 4.3.14. Kao što se očekivalo, konformacije najnižih energija ostalih eugenil estara su bile uporedive sa onom **[3f]** izuzimajući kiselinski deo (ovo je bilo potvrđeno preliminarnom pretragom konformacionog prostora testiranih jedinjenja). To nas je navelo na zaključak da su dužine i uglovi farmakofornih trouglova takođe međusobno slični. Drugim rečima, u okviru podfamilije estara istog regioizomera alilmetoksifenola, razlike u biološkoj aktivnosti između konkretnih estara su najverovatnije prouzrokovane 3D razlikama u kiselinskom delu molekula.



Slika 4.3.14. Konformer eugenil-2-metilbutanoata **[3f]** sa najnižom energijom (MMFF94 nivo teorije; *MarvinSketch* 5.9.1; H-atomi nisu prikazani; O-atomi su prikazani crvenom bojom; C-atomi su prikazani sivom bojom; mogući farmakoforni trougao je prikazan zelenom bojom)

Tabela 4.3.5. Antibakterijska aktivnost testiranih jedinjenja izražena kao minimalna inhibitorna koncentracija (MIC; mmol/l)

Bakterijski sojevi		[3]	[5]	[6]	[3f]	[3g]	[3i]	[3j]	[3k]	[5h]	[5k]	[6h]	[6k]	S*	C*
<i>Sarcina lutea</i>	ATCC 9431	9,15	> 36,60	> 36,60	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	0,67	< 0,07
<i>Sarcina lutea</i>	izolat (hrana)	9,15	> 36,60	> 36,60	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	0,17	0,30
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	4,58	2,29	> 36,60	1,51	> 24,19	> 24,19	24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	1,51	0,34	< 0,07
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	4,58	2,29	> 36,60	12,10	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	24,19	> 24,19	> 24,19	3,02	0,67	0,60
<i>Staphylococcus aureus</i>	izolat (rana)	9,15	4,58	> 36,60	3,02	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	3,02	1,34	0,30
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 12453	4,58	2,29	> 36,60	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	12,10	> 24,19	> 24,19	> 24,19	3,02	1,34	0,30
<i>Proteus mirabilis</i>	izolat (urin)	4,58	2,29	4,58	> 24,19	6,05	1,51	12,10	12,10	12,10	6,05	24,19	12,10	0,34	< 0,07
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13048	9,15	2,29	> 36,60	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	12,10	24,19	3,02	0,34	0,15
<i>Enterobacter aerogenes</i>	izolat (rana)	9,15	2,29	> 36,60	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	24,19	> 24,19	1,51	0,17	0,30
<i>Enterobacter cloacae</i>	izolat (rana)	4,58	2,29	9,15	0,76	24,19	6,05	24,19	6,05	24,19	6,05	24,19	24,19	0,17	0,30
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	9,15	9,15	> 36,60	24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	24,19	> 24,19	3,02	1,34	1,21
<i>Escherichia coli</i>	izolat (feces)	9,15	9,15	> 36,60	12,10	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	24,19	> 24,19	> 24,19	3,02	1,34	2,41
<i>Escherichia coli</i>	izolat (rana)	2,29	2,29	> 36,60	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	24,19	> 24,19	> 24,19	1,51	0,67	0,30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 10031	4,58	4,58	> 36,60	3,02	> 24,19	> 24,19	> 24,19	24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	3,02	0,17	1,21
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	izolat (urin)	9,15	9,15	> 36,60	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	> 24,19	24,19	> 24,19	> 24,19	1,51	0,17	2,41
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC	9,15	9,15	18,30	1,51	1,51	> 24,19	> 24,19	> 24,19	3,02	24,19	24,19	1,51	1,34	2,41
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	izolat (urin)	9,15	18,30	18,30	1,51	1,51	> 24,19	> 24,19	24,19	6,05	> 24,19	24,19	1,51	0,67	2,41

*) S – Streptomycin, C – hloramfenikol; koncentracije antibiotika su izražene u µmol/l.

Nasuprot tome, pomenuti trougao se značajno razlikuje kada se uporede očekivane farmakofore estara različitih regioizomernih fenola (npr. [3] i [5]). U takvim slučajevima pokazana različita biološka aktivnost je verovatno bila posledica različitog rastojanja između farmakofornih tačaka. Pored toga, esterifikacija fenolne OH grupe značajno povećava lipofilnost molekula što može biti jedan od značajnijih uzroka različite aktivnosti estara i odgovarajućih fenola (npr. eugenola i njegovih estara). U slučaju analize akutne toksičnosti (*Artemia salina*), čini se da kiselinski deo (zasićeni, račvasti alkil niz kod 2-metilbutanske i 3-metilbutanske kiseline) ima važan uticaj na aktivnost. Takođe, manja je toksičnost kada je metil grupa kiselinskog dela u β -položaju u poređenju sa α položajem (tabela 4.3.4). Valerati, angelati i tiglati nisu bili toksični. Eugenil-senecioat [3j] je bio najmanje toksičan od svih testiranih derivata dok je najveću toksičnost pokazao eugenil-2-metilbutanoat [3f]. Aktivnost eugenola [3] je bila neznatno manja u odnosu njegov estar (eugenil-2-metilbutanoat [3f]) kao i u odnosu na njegov regioizomer 2-alil-3-metoksifenol [5]. Kako je ranije pomenuto, ovo može biti posledica različite orijentacije -OH, -OMe i alil grupa kod dva izomerna fenola. Rezultati testiranja *in vitro* citotoksičnosti su potpuno saglasni sa rezultatima testiranja akutne toksičnosti: [3f] je bio najaktivniji među testiranim derivatima. Uvođenje dvostruke veze u kiselinski deo i translokacija metil grupe sa α - na β - ili γ -C atom su uslovljavale smanjenje citotoksičnosti na obe testirane ćelijske linije (fibroblasti i ćelije melanoma). Takođe je na osnovu rezultata bilo očigledno da je aktivnost fenola ([3], [5] i [6]) zavisila od međusobnog rastojanja i orijentacije -OH, -OMe i alil grupa i generalno je isti odnos postojao i kod estara istih kiselina i različitih regioizomera alilmetoksifenola.

Iako većina jedinjenja nije pokazala inhibirajuću aktivnost, rezultati testiranja uticaja na AChE su i dalje bili veoma interesantni iz SAR perspektive. Za razliku od eugenil-angelata koji je pokazao najveću aktivnost, preostala dva eugenil estra sa izomernim nezasićenim kiselinama (senecio i tiglinskom kiselinom) su pokazivali znatno slabiju ili čak zanemarljivu aktivnost. Pored toga, aktivnost eugenil-2-metilbutanoata je bila manja nego u slučaju angelata, dok njegov izomer (3-metilbutanoat) nije bio aktivan. Ovakvo ponašanje derivata je ukazivalo da prisustvo, položaj supstitucije i stereohemija dvostruke veze imaju važnu ulogu za pojavu i/ili izraženost aktivnosti.

Što se tiče antibakterijske aktivnosti serije derivata [3] i [5], fenoli su pokazivali veću i manje selektivnu aktivnost u odnosu na njihove estre, dok je suprotno važno za seriju derivata [6] u kojoj su testirani estri (npr. [6f]) imali veću aktivnost u odnosu na fenol [6] koji je takođe imao veće MIC vrednosti u odnosu na regioizomerne alilmetoksifenole [3] i [5].

Međutim, ovako nepovoljan odnos (u slučaju antibakterijske aktivnosti) –OH, –OMe i alil grupa kod fenola **[6]** u tiglatu **[6f]** bio je kompenzovan uvođenjem novog strukturnog fragmenta - α,β -nezasićenog karbonila tiglinske kiseline.

Na osnovu ovih testiranja može se generalno zaključiti da su eugenil estri prisutni u etarskom ulju biljne vrste *A. segetalis* slabo do umereno toksični. Ukupna količina pomenutih estara u 100 g svežih nadzemnih delova je bila oko 0,55 mg. S obzirom da se biljne infuzije pripremaju ekstrakcijom nekoliko grama suvog biljnog materijala u oko 200 ml vode, to bi značilo da jedna šolja čaja biljnog materijala vrste *A. segetalis* sadrži najviše ukupno 1 $\mu\text{g/ml}$ eugenil estara. Uopšteno govoreći, u ovoj koncentraciji ovi estri nisu bili aktivni ni u jednom biološkom testiranju, pa je stoga razumno očekivati da njihovo prisustvo u etarskom ulju ne bi uticalo negativno na konzumenta.

4.4. Kombinatorna biblioteka metil-(ferocenilmetil)acetoacetata i odgovarajućih benzil analoga

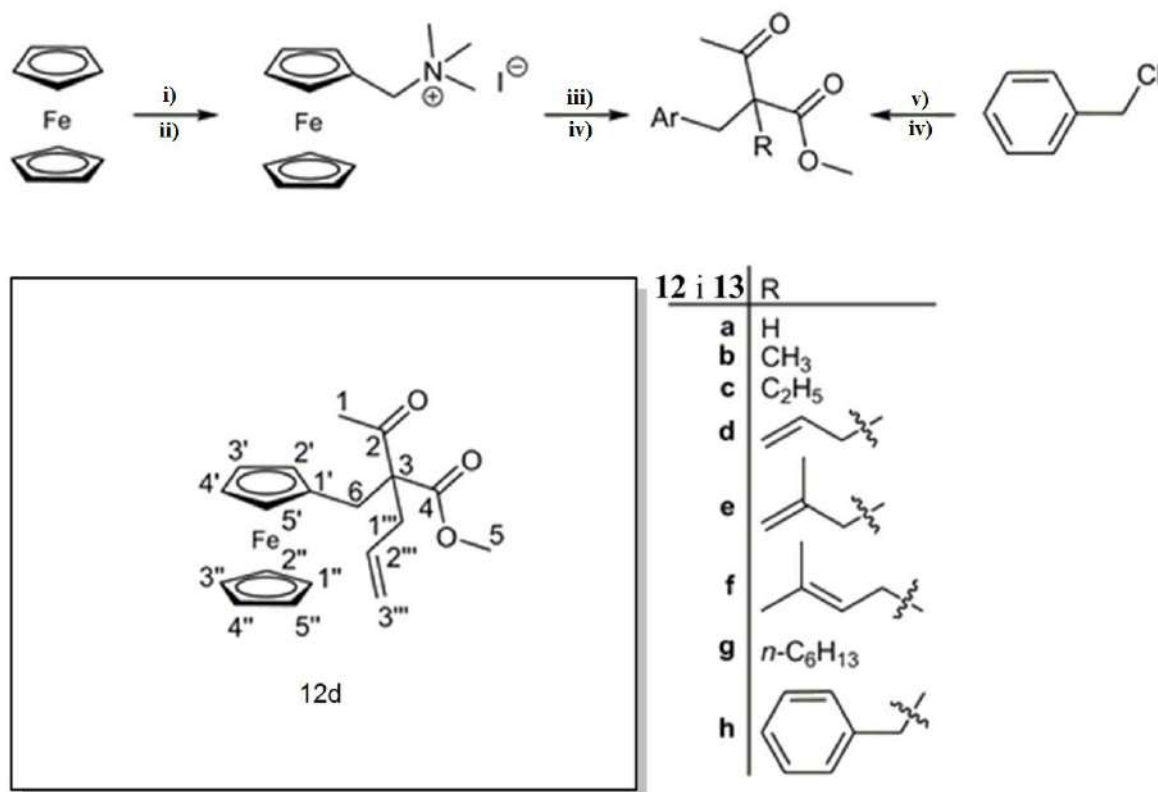
4.4.1. Dizajn i kreiranje biblioteke

Značajan broj biološki aktivnih derivata ferocena je, od otkrića ferocena do danas, sintetisan sa ciljem da se poboljšaju postojeće biološke osobine odgovarajućih fenil analoga i/ili umanje njihove neželjene karakteristike (npr. smanji toksičnost, poveća metabolička stabilnost). Postoji veliki broj slučajeva kada je došlo do povećanja biološke aktivnosti derivata koji su nastali kao rezultat formalne izmene fenil jezgra ferocenskim (Allardyce et al., 2005; Biot et al., 1997; Damljanović et al., 2009a; Damljanović et al., 2009b; Damljanović et al., 2012; Fouda et al., 2007; Ilić et al., 2010; Ilić et al., 2012; Jaouen et al., 2000; Neuse, 2005; Pejović et al., 2012a; Pejović et al., 2012b; Staveren i Metzler-Nolte, 2004), ali postoji mali broj studija u kojima se istovremeno ispituju i upoređuju derivati ferocena i njihovi fenil analozi. Naročito je oskudan broj radova o posledicama ovakve formalne izmene na antimikrobnu aktivnost (Arbi et al., 2011).

Poslednjih nekoliko godina članovi naše istraživačke grupe („OSA”) su izvršili sintezu značajnog broja novih jedinjenja koja sadrže ferocen od kojih su neka pokazala značajnu aktivnost protiv patogenih mikroorganizama (Damljanović et al., 2009a; Damljanović et al., 2009b; Damljanović et al., 2012; Ilić et al., 2010; Ilić et al., 2012; Pejović et al., 2012a; Pejović et al., 2012b). Motivisani rezultatima Torozijana i njegovih saradnika (Torosyan et al., 1987), koji su utvrdili antibakterijsku aktivnost derivata 3-oksobutanske kiseline, odlučeno je da se osmisli mala biblioteka derivata ove kiseline, polazeći od metil-3-oksobutanoata, koji u položaju 2 sadrže ferocenil jezgro, kao i njihovih fenil analoga, a nakon toga da se testira njihova aktivnost protiv većeg broja različitih sojeva patogenih (prema čoveku) mikroorganizama. Pored toga, dizajnirana biblioteka jedinjenja bi predstavljala odličnu polaznu tačku za uporednu analizu spektralnih i hromatografskih osobina ovih analoga, kao i za sintezu mnogih drugih derivata korisnih, ne samo u farmaciji, već i u drugim granama nauke (katalize, organske sinteze, hemije materijala, itd.). Naš cilj je, takođe, bio i da utvrdimo kakav uticaj na pomenutu aktivnost ima i deo molekula bez ferocenil ili fenil jezgra zbog čega je odlučeno da se sintetišu dva derivata metil-3-oksobutanoata koji ne sadrže ferocenil ili fenil jezgro.

Sintetski pristup koji je bio iskorišćen za sintezu ove biblioteke, a koja sadrži dve serije derivata metil-3-oksobutanoata [**12a – 12h**] i [**13a – 13h**], predstavljen je na slici 4.4.1. Polazeći od ferocena i *bis*-(*N,N*-dimetilamino)metana dobiven je (*N,N*-

dimetilamino)metilferocen korišćenjem pristupa koji je prethodno detaljno opisan u istraživanju Lednicera i Hauzera (Lednicer i Hauser, 1960). Nakon toga je u reakciji dobivenog (*N,N*-dimetilamino)metilferocena sa viškom metil-jodida dobivena kvaternarna amonijum so, (ferocenilmetil)trimetilamonijum-jodid ($[(C_5H_5)Fe(C_5H_4CH_2NMe_3)]^+ I^-$), u visokom prinosu (95%).



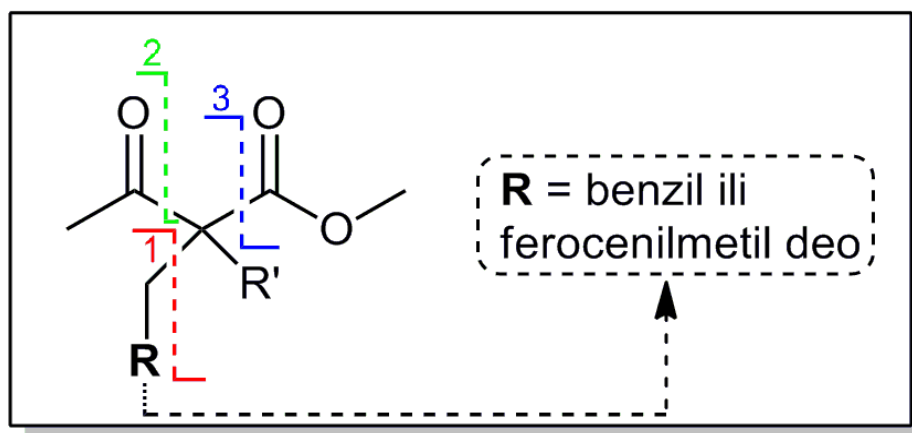
Slika 4.4.1. Sinteza metil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoata [**12a** – **12h**] i metil-2-benzil-3-oksobutanoata [**13a** – **13h**] (Reagensi: i) CH₂(NMe₂)₂, H₃PO₄, CH₃COOH; ii) višak CH₃I; iii) CH₃COCH₂COOMe/NaOMe; iv) RX, K₂CO₃; v) CH₃COCH₂COOMe/ K₂CO₃)

Natrijumova so metil-acetoacetata, dobivena dodavanjem stehiometrijske količine elementarnog natrijuma u dioksanski rastvor metil-acetoacetata, podvrgnuta je reakciji (nukleofilna supstitucija) sa sintetisanim (ferocenilmetil)trimetilamonijum-jodidom i dobiven je metil-2-(ferocenilmetil)acetoacetat [**12a**] u prinosu od 85%. Drugi korak u sintezi ferocenil derivata biblioteke, alkilovanje, izvršen je reakcijom dobivenog metil-2-(ferocenilmetil)acetoacetata [**12a**] sa viškom odgovarajućeg alkil-halogenida u prisustvu anhidrovanog kalijum-karbonata. Odgovarajući 2,2-disupstituisani metil-acetoacetati [**12a** – **12h**] su dobiveni u različitom prinosu (39% – 84%), a prinos se očekivano smanjivao sa povećanjem dužine alkil niza.

Na analogan način, polazeći od benzil-hlorida i metil-acetoacetata, izvršena je i sinteza fenil analoga (metil-2-alkil-2-benzil-3-oksobutanoata [13a – 13h]. Pored zamene fenil jezgra ferocenskim, odlučeno je da se variraju i ostali delovi molekula. Promenom dužine lanca [12 i 13a, b i g], kao i uvođenjem supstituiscane dvostruke veze (mono-, di- i trisupstituiscane dvostruke veze [12 i 13d, e i f]) želeli smo da ispitamo kako ove promene u strukturi utiču na njegove biološke karakteristike. Pored toga, izvršena je i sinteza dva dodatna jedinjenja (metil-2-acetil-2-alil-4-pentenoata [14] i metil-2-acetil-2-propilpentanoata [15]), koja ne zadrže ni fenil niti ferocetil jezgro, u cilju utvrđivanja bioloških karakteristika acetoacetatnog skeleta. Detaljnom pretragom literature je utvrđeno da su sva sintetisana jedinjenja iz biblioteke metil-acetoacetata, izuzev [13a], [13b], [13h], [14] i [15] (Lee i Kim, 2002; Rafiee et al., 2011; Sankar et al., 2012; Wang i Tian, 1999), potpuno nova jedinjenja (ukupno 13).

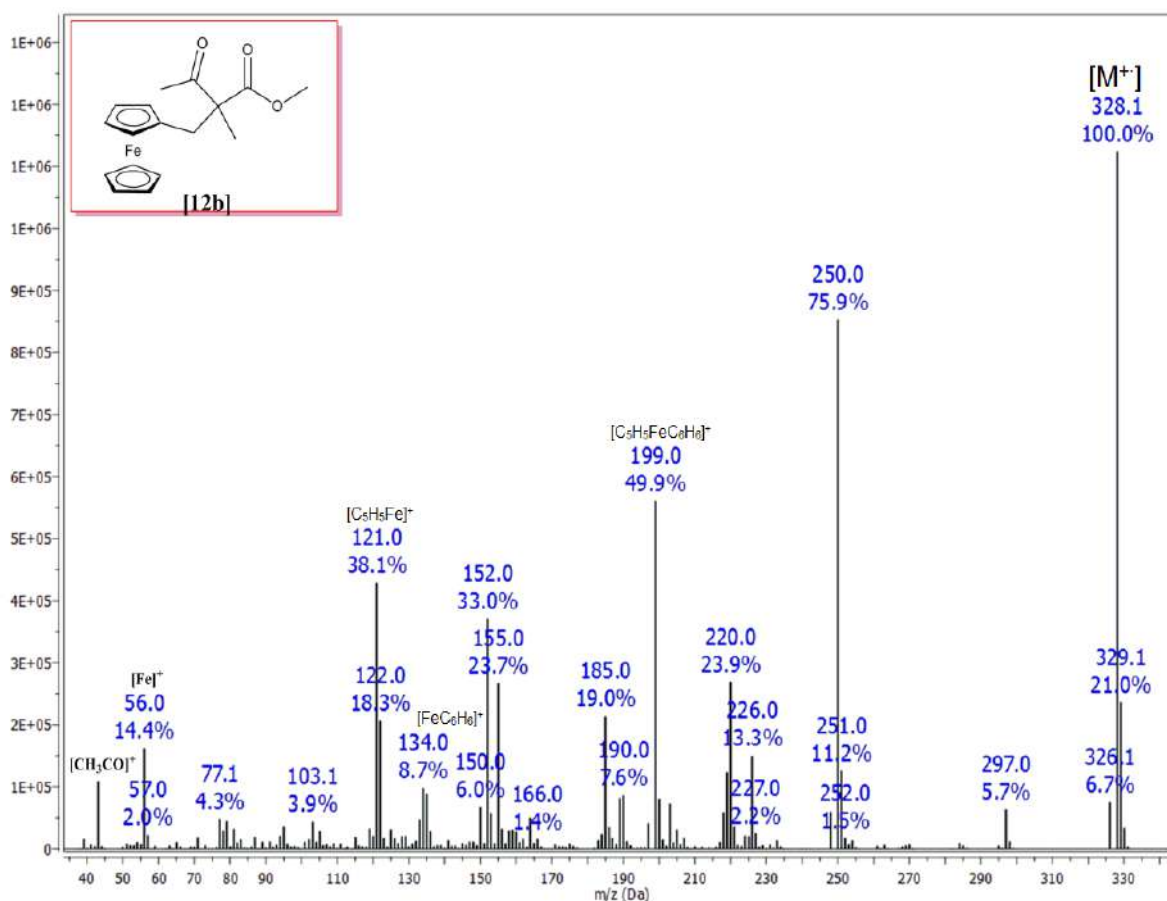
4.4.2. Spektralna karakterizacija derivata metil-2-oksobutanoata

Sintetisana jedinjenja [12a – 12h], [13a – 13h], [14] i [15] su potpuno spektralno okarakterisana standardnim tehnikama (MS, IR, UV-Vis, ^1H i ^{13}C NMR (1D i 2D), uključujući i NMR spektre snimljene uz dodatak lantanidnog reagensa hemijskog pomeranja; prilozi 8.4.1 – 8.4.120). Svi dobiveni spektralni podaci su u potpunosti bili u skladu sa predloženim strukturama kao i sa literaturnim podacima za poznata jedinjenja: [13a] (Rafiee et al., 2011), [13b] (Lee i Kim, 2002), [13h] (Sankar et al., 2012), [14] (Sankar et al., 2012) i [15] (Wang i Tian, 1999). U masenim spektrima su uočene fragmentacije karakteristične za alkil supstituiscani metil-acetoacetat, kao i za ferocetilmetil strukturni fragment (slika 4.4.2).



Slika 4.4.2. MS fragmentacija benzil ili ferocetilmetil supstituiscanih metil-acetoacetata (1) i fragmentacija karakteristična samo za jedinjenja sa benzil grupom (2, 3)

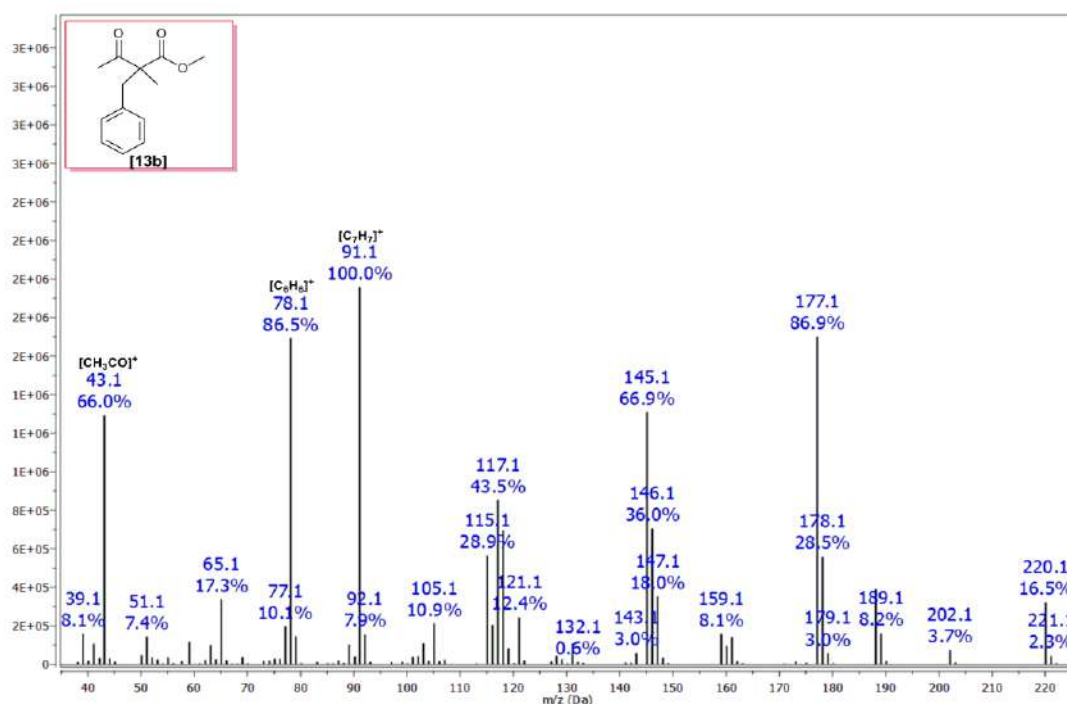
Pored molekulskih jona $[M^+]$, koji su u isto vreme bili i osnovni joni (slika 4.4.3), maseni spektri jedinjenja **[12a – 12h]** su sadržavali i jone visokog intenziteta na m/z 43 $[\text{CH}_3\text{CO}]^+$, 56 $[\text{Fe}]^+$, 121 $[\text{C}_5\text{H}_5\text{Fe}]^+$ i 199 $[\text{C}_5\text{H}_5\text{FeC}_5\text{H}_4\text{CH}_2]^+$. Zanimljivo je da joni formirani gubitkom fragmenta $[M - \text{C}_5\text{H}_5]^+$, koji su karakteristični za jedinjenja koja poseduju ferocetil jezgro, nisu bili uočeni u masenim spektrima jedinjenja **[12a – 12h]**, već su bili prisutni joni koji su rezultat istovremenog gubitka ciklopentadienil i $\text{CH}_3\text{COC}(\text{R})\text{COOCH}_3$ fragmenata (slika 4.4.3), što je rezultiralo pojavom naočigled benzen-gvožđe kompleksa $[\text{FeC}_6\text{H}_6]^+$. Na postojanje ovog kompleksa, takođe, ukazuje i pojava intenzivnog jona na m/z 199 za koji je pretpostavljeno da potiče od sendvič kompleksa gvožđa sa ciklopentadienilidnim anjonom i benzenom kao ligandima $[\text{C}_5\text{H}_5\text{FeC}_6\text{H}_6]^+$.



Slika 4.4.3. Maseni spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata **[12b]**

Sa druge strane kod serije metil-acetoacetata koji sadrže benzil grupu **[13a – 13h]**, tropilijum jon (m/z 91) je predstavljao, izuzev kod jedinjenja **[13a]** i **[13f]**, najintenzivniji jon u masenom spektru (slika 4.4.4). Zanimljivo je da neki od najdominantnijih jona, detektovanih u masenim spektrima svih jedinjenja iz serije benzil supstituisanih metil-

acetoacetata **[13a – 13h]**, formiranih gubitkom acetil ili COOMe grupe, nisu detektovani kod jedinjenja iz serije metil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoata **[12a – 12h]**.

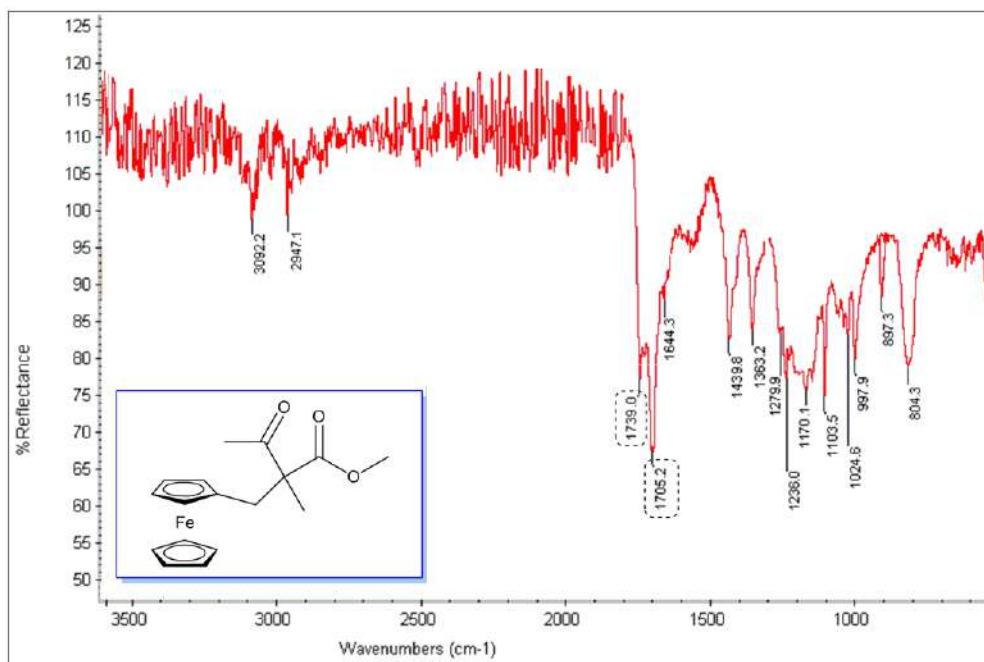


Slika 4.4.4. Maseni spektar metil-2-benzil-2-metil-3-oksobutanoata **[13b]**

Glavna zajednička odlika IR spektara svih metil-acetoacetata iz biblioteke (slika 4.4.5) su intenzivne trake na 1705 – 1715 cm⁻¹ za **[12a – 12h]**, odnosno 1710 – 1715 cm⁻¹ za **[13a – 13h]**, **[14]** i **[15]**, koje se mogu pripisati vibracijama ketonske karbonilne grupe (C=O), i 1738 – 1751 cm⁻¹ apsorpcija druge karbonilne grupe (COOMe). UV spektri svih ferocenil supstituisanih metil-acetoacetata **[12a – 12h]** su sadržali dva apsorpciona maksimuma na približno istim talasnim dužinama, 205 i 438 nm, dok su UV spektri fenil analoga **[13a – 13h]** sadržali samo jedan apsorpcioni maksimum na oko 195 nm.

Uz nekoliko izuzetaka, ¹H i ¹³C rezonancije iz NMR spektara (snimljenih na 200 (¹H) i 50 (¹³C) MHz) svih sintetisanih metil-acetoacetata su bile asignirane na osnovu integrala i multiplernosti signala, očekivanim efektima supstituenata i poređenjem dobivenih rezultata sa literaturnim podacima: **[13a]** (Rafiee et al., 2011), **[13b]** (Lee i Kim, 2002), **[13h]** (Sankar et al., 2012) i **[14]** (Sankar et al., 2012). U ¹H NMR spektrima jedinjenja **[12a – 12h]**, široki singlet koji potiče od protona iz nesupstituisanog ciklopentadienil prstena ferocena se pojavljivao na gotovo istom hemijskom pomeranju, u intervalu 4,17 – 4,11 ppm. Zanimljivo je da se u spektrima sintetisanih jedinjenja **[12a – 12h]** pojavljivao različit broj i oblik signala protona iz monosupstituisanog prstena ferocenil grupe, a ovakva pojava je verovatno bila

uslovljena različitim anizotropnim efektom karbonilnih grupa. Ovim protonima je u ^1H NMR spektru jedinjenja **[12a]** odgovarao samo široki signal na 4,06 – 4,01 ppm (integral od četiri protona), dok su se u spektrima jedinjenja **[12f]** i **[12g]** javila tri multipleta (4,07 – 4,02 (2H), 4,01 – 3,96 (1H) i 3,96 – 3,91 (1H)), a spektri preostalih metil-acetoacetata (**[12b – 12e]** i **[12h]**) sadrže dva multipleta (4,09 – 4,00 (3H) i 4,01 – 3,92 (1H)).



Slika 4.4.5. IR spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata **[12b]**

Sa druge strane, protoni sa fenil jezgra kod serije metil-acetoacetata **[13a – 13h]** su imali skoro ista hemijska pomeranja, u opsegu 7,32 – 6,90 ppm. Preostali signali u protonskom spektru koje su sadržavala sva jedinjenja iz biblioteke su: singleti u intervalu 3,73 – 3,65 ppm (3H, COOCH_3) i 2,18 – 1,93 ppm (3H, CH_3CO), kao i AB multiplet signal drugog reda u intervalu 3,12 – 2,78 ppm ($-\text{CH}_2\text{Fc}$) za **[12c – 12f]** i u intervalu 3,32 – 2,99 ppm ($-\text{CH}_2\text{Ph}$) za **[13d – 13g]**. Pojava očekivanih signala u alifatičnom, karbonilnom, fenil i/ili ferocenil regionu ^{13}C NMR spektara svih sintetisanih jedinjenja je potvrdila strukturu sintetisanih ferocenil, fenil i dialkil supstituisanih metil-acetoacetata. U cilju rezolucije preklopljenih signala u protonskom NMR spektru jedinjenja **[12b]**, **[12d]**, **[12f]** i **[13b]**, odlučeno je da se ponovo snime ^1H i ^{13}C NMR spektri ovih jedinjenja na 400 (^1H) i 101 (^{13}C) MHz (tabela 4.4.1, slike 4.4.6 – 4.4.10). Pored 1D (^1H i ^{13}C), u cilju dodatne potvrde prethodne asignacije spektara metil-acetoacetata, snimljeni su i 2D NMR spektri (DEPT, ^1H – ^1H COSY (slika 4.4.8), HSQC (slika 4.4.9), HMBC (slika 4.4.10) i NOESY (tabela 4.4.2)).

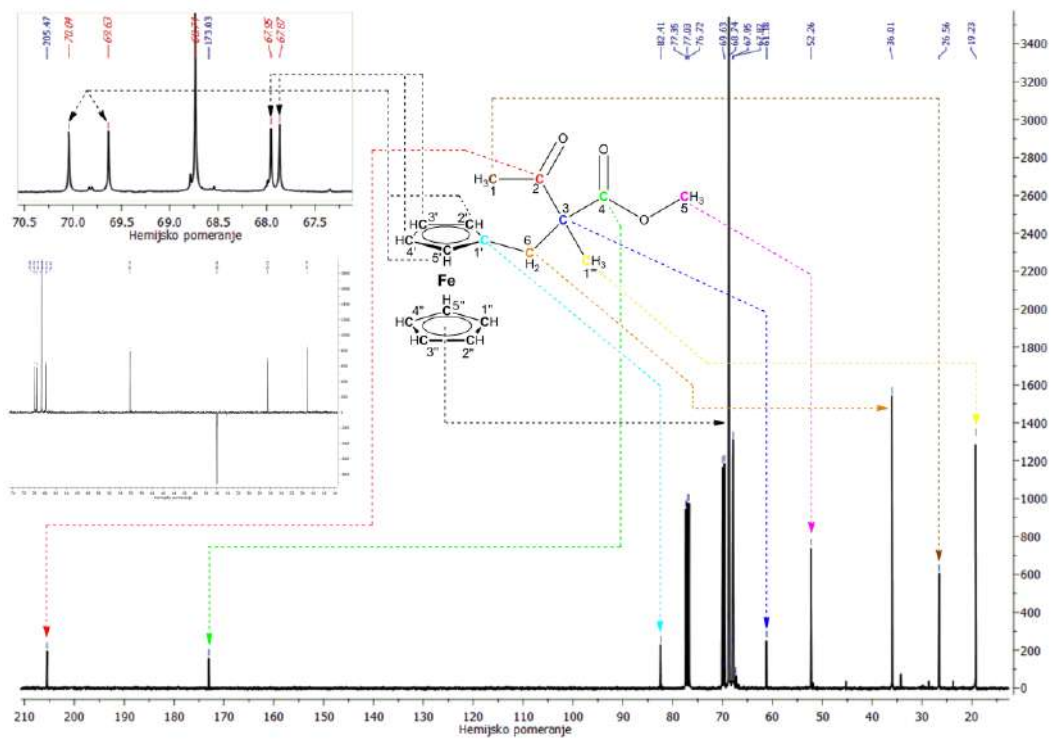
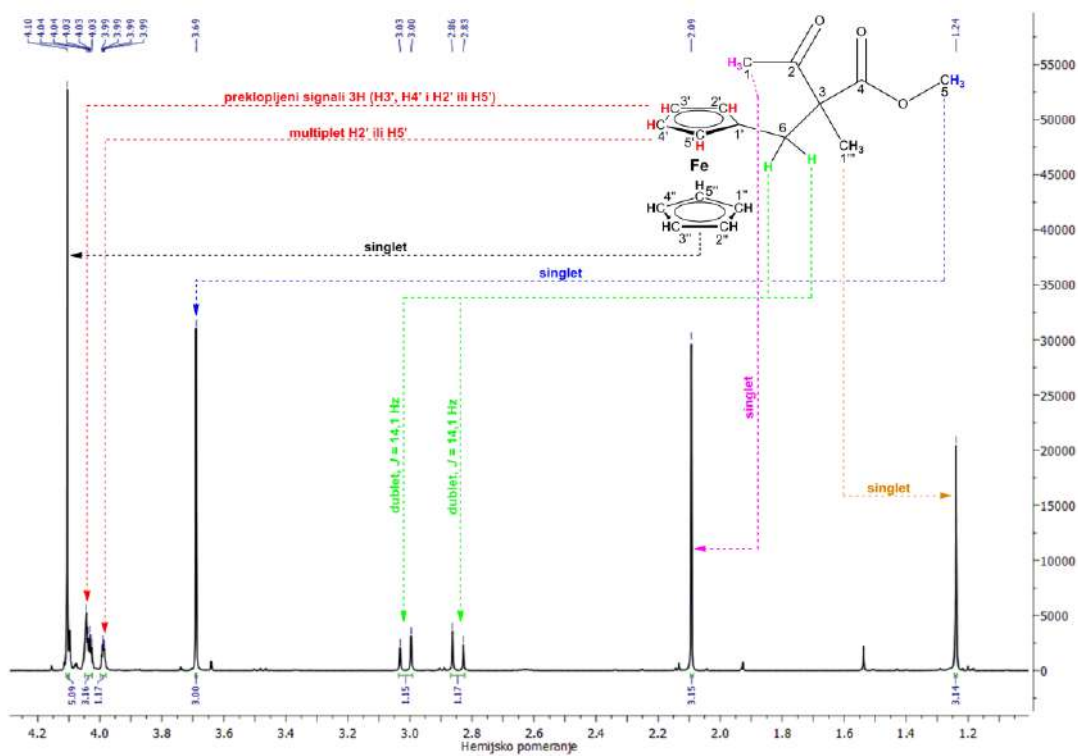


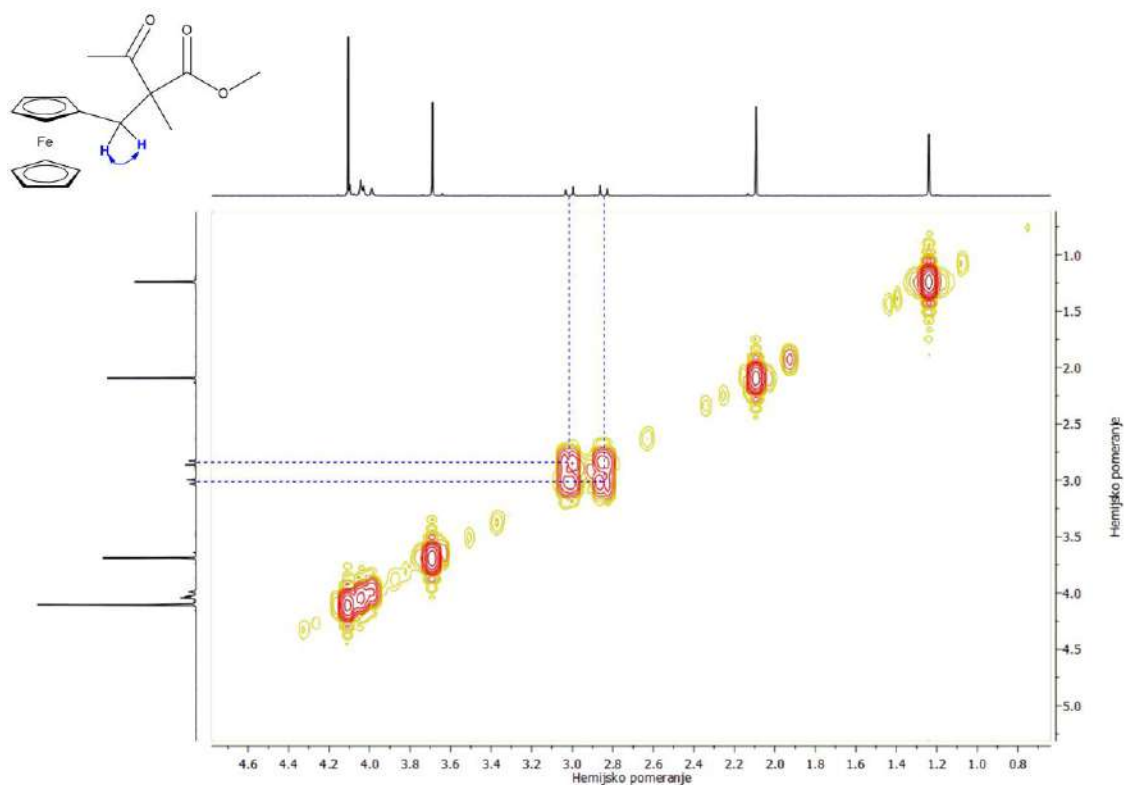
Tabela 4.4.1. ^1H i ^{13}C NMR spektroskopski podaci (400 (^1H) i 101 (^{13}C) MHz) za jedinjenja [12b], [12f], [12d] i [13d]

	[12b]		[12f]		[12d]		[13d]	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
1	2,12 (s, 3H)	26,5	2,06 (s, 3H)	27,3	2,08 (s, 3H)	27,5	2,13 (s, 3H)	27,5
2	/	205,4	/	205,1	/	204,5	/	204,2
3	/	61,1	/	65,0	/	65,1	/	64,9
4	/	173,0	/	172,4	/	172,1	/	171,1
5	3,72 (s, 3H)	52,2	3,70 (s, 3H)	52,0	3,72 (s, 3H)	52,1	3,72 (s, 3H)	52,1
6	3,04 (d, $J = 14,1$ Hz, 1H), 2,87 (d, $J = 14,1$ Hz, 1H)	36,0	3,02 (d, $J = 14,5$ Hz, 1H), 2,96 (d, $J = 14,5$ Hz, 1H)	33,0	3,02 (d, $J = 14,5$ Hz, 1H), 2,96 (d, $J = 14,5$ Hz, 1H)	33,0	3,26 (d, $J = 14,1$ Hz, 1H), 3,17 (d, $J = 14,1$ Hz, 1H)	37,8
2' i 6'	/	/	/	/	/	/	7,10 (d, $J = 6,5$ Hz, 2H)	129,9
1'	/	82,4	/	82,3	/	82,0	/	136,2
3', 5', 4'	/	/	/	/	/	/	7,32–7,17 (preklapljeni signali, 3H)	126,9, 128,3
2' ili 5'	4,02 (dt, $J = 2,5, 1,4$ Hz, 1H)	69,6	3,97 (pseudo q, $J = 1,8$ Hz, 1H)	69,5	4,00 (dd, $J = 3,1, 1,7$ Hz, 1H)	69,5	/	/
2' ili 5'	/	/	4,01 (pseudo q, $J = 1,8$ Hz, 1H)	69,7	4,05 (dd, $J = 3,1, 1,7$ Hz, 1H)	69,7	/	/
3', 4' (i 2' ili 5' za [12b])	4,07–4,02 (preklapljeni signali, 3H)	67,8, 67,9, 70,0	4,05 (pseudo t, $J = 1,8$ Hz, 2H)	67,8, 67,9	4,08 (dd, $J = 3,1, 1,7$ Hz, 2H)	67,9, 68,0	/	/
1''–5''	4,11 (široki s, 5H)	68,7	4,13 (široki s, 5H)	68,7	4,13 (široki s, 5H)	68,7	/	/
1'''	1,27 (s, 3H)	19,2	2,49 (široki d, $J = 7,0$ Hz, 2H)	30,5	2,55 (dt, $J = 7,3, 1,2$ Hz, 2H)	36,3	2,61 (široki d, $J = 7,2$ Hz, 2H)	36,2
2'''	/	/	4,94 (t st, $J = 7,0, 1,4$ Hz, 1H)	117,7	5,64 (m, 1H)	132,5	5,78 (m, 1H)	132,3
3'''	/	/	/	135,3	cis-H 5,12 (m, 1H), trans-H 5,15 (m, 1H)	119,0	cis-H 5,14 (m, 1H), trans- H 5,18 (široki singlet, 1H)	119,2
4'''(cis sa CH ₂)	/	/	1,61 (široki d, $J = 1,4$ Hz 3H)	18,1	/	/	/	/
5'''(trans sa CH ₂)	/	/	1,74 (pseudo q, $J = 1,4$ Hz, 3H)	26,0	/	/	/	/

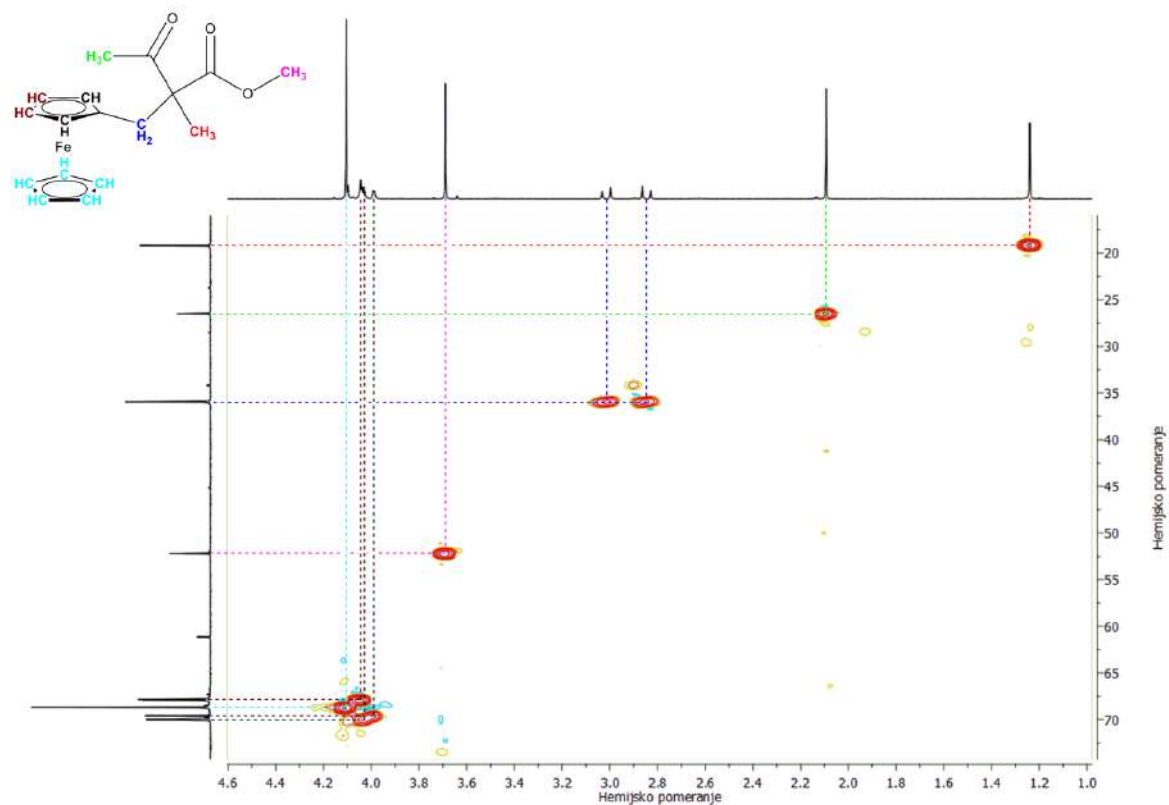
Korišćene skraćenice: s-singlet, d-dublet, dd-dublet dubleta, dt-dublet tripleta, t st-triplet septupleta, m-multiplet, q-kvartet.

Tabela 4.4.2. Uočene NOESY interakcije (400 MHz) za jedinjenja [12b], [12f], [12d] i [13d]

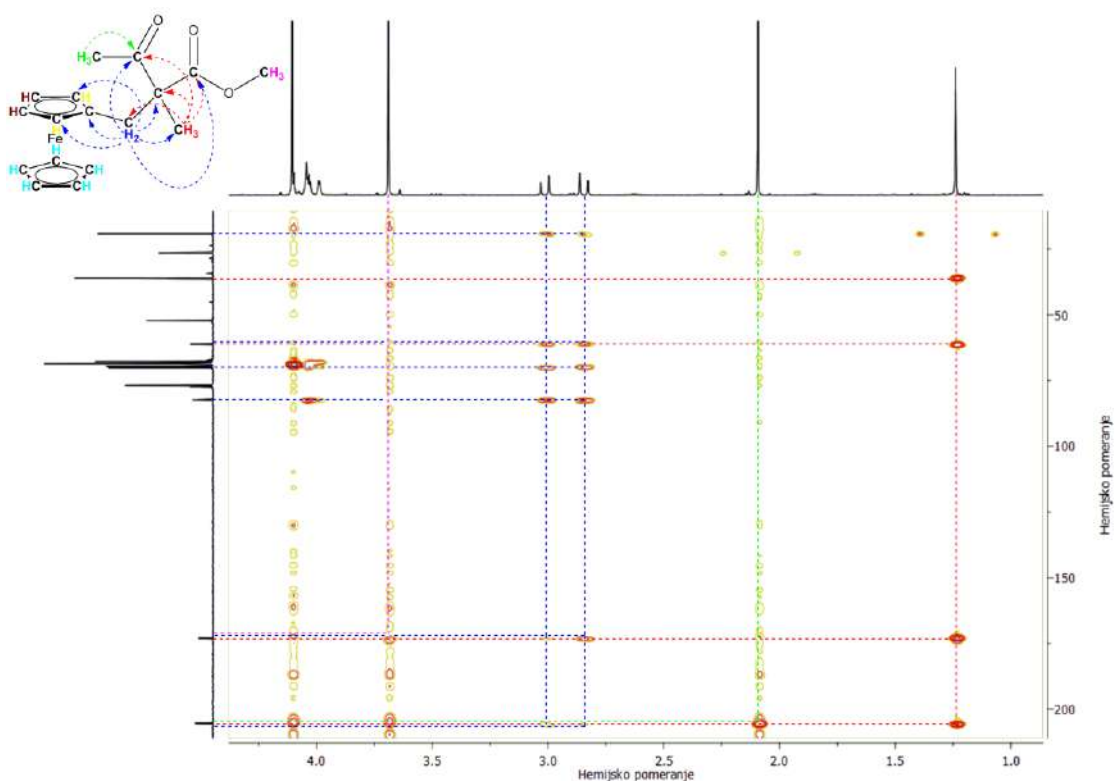
	3b	3f	3d	4d
H-1	H-1''', H-5, H-6, H-2', H-5'	H-5, H-6, H-2' or H-5' ($\delta = 4.01$), H-1''', H-2''', H-5'''	H-5, H-6, H-2' ili H-5' ($\delta = 4,05$), H-1''', H-2''', H-3'''	H-5, H-6, H-2' ili H-6', H-1''', H-2''', H-3'''
H-5	H-1, H-6, H-1'''	H-1, H-6, H-1''', H-4''', H-5'''	H-1, H-6, H-2' ili H-5' ($\delta = 4,05$), H-1''', H-2'''	H-1, H-6, H-2' ili H-6', H-3' i/ili H-4', H-5', H-1''', H-2''', H-3'''(-cis)
H-6	H-1, H-5, H-1''', H-2', H-5'	H-1, H-5, H-2', H-5', H-1''', H-2''', H-4''', H-5'''	H-1, H-5, H-2', H-5', H-1''', H-2''', H-3'''(-trans)	H-1, H-5, H-2' ili H-6', H-3' i/ili H-4', H-5', H-1''', H-2''', H-3'''(-cis)
H-2' ili H-5' (na nižem hemijskom pomeranju)	H-1, H-6, H-1'''	H-6, H-1'''	H-6, H-1'''	/
H-2' ili H-5' (na višem hemijskom pomeranju)	/	H-1, H-6, H-1''', H-2''', H-4''', H-5'''	H-1, H-6, H-1''', H-2'''	/
H-2' ili H-6'	/	/	/	H-1, H-5, H-6, H-1''', H-2''', H-3''' (-cis)
H-3' i/ili H-4', H-5'	/	/	/	H-5, H-6, H-1'''
H-3', H-4' (i za 3b H-2' ili H-5')	H-1, H-6, H-1'''	/	/	/
H-1''-H-5''	/	/	/	/
H-1'''	H-1, H-5, H-6, H-2', H-5'	H-1, H-5, H-6, H-2', H-5', H-2''', H-4''', H-5'''	H-1, H-5, H-6, H-2''', H-3''', H-2', H-5'	H-1, H-5, H-6, H-2' ili H-6', H-3' i/ili H-4', H-5', H-2''', H-3'''
H-2'''	/	H-1, H-6, H-2' ili H-5' ($\delta = 4,01$), H-1''', H-5'''	H-1, H-5, H-6, H-2' ili H-5' ($\delta = 4,05$), H-1''', H-3'''(-cis)	H-1, H-5, H-6, H-2' ili H-6', H-1''', H-3'''(-cis)
H-3'''	/	/	H-3''' (-cis): H-1, H-1''', H-2'''. H-3''' (-trans): H-1, H-1''', H-6	H-3''' (-cis): H-1, H-5, H-6, H-2' ili H-6', H-1''', H-2'''. H-3''' (-trans): H-1, H-1'''
H-4'''	/	H-5, H-6, H-2' ili H-5' ($\delta = 4,01$), H-1'''	/	/
H-5'''	/	H-1, H-5, H-6, H-2' ili H-5' ($\delta = 4,01$), H-1''', H-2'''	/	/



Slika 4.4.8. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b]



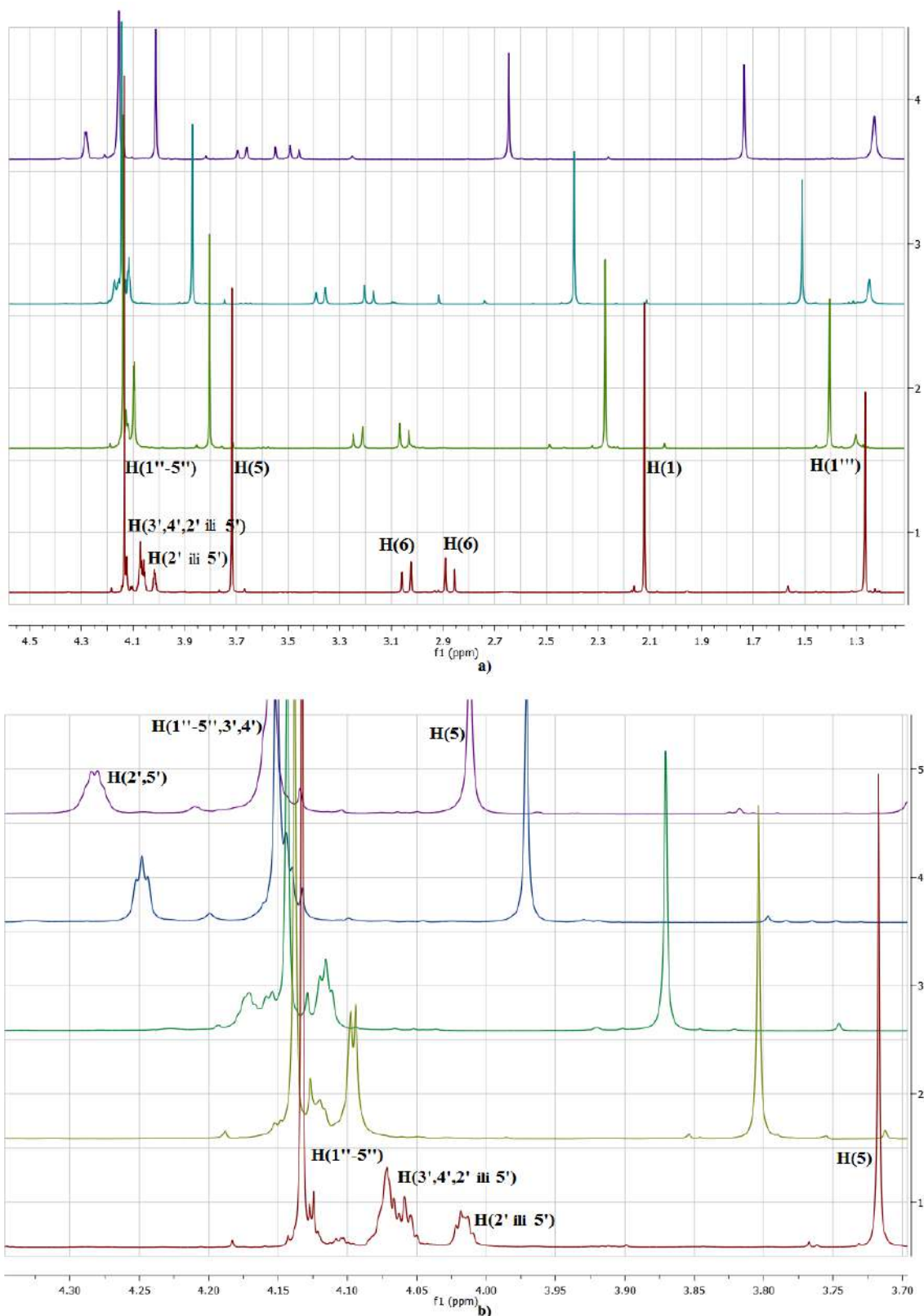
Slika 4.4.9. HSQC spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b]



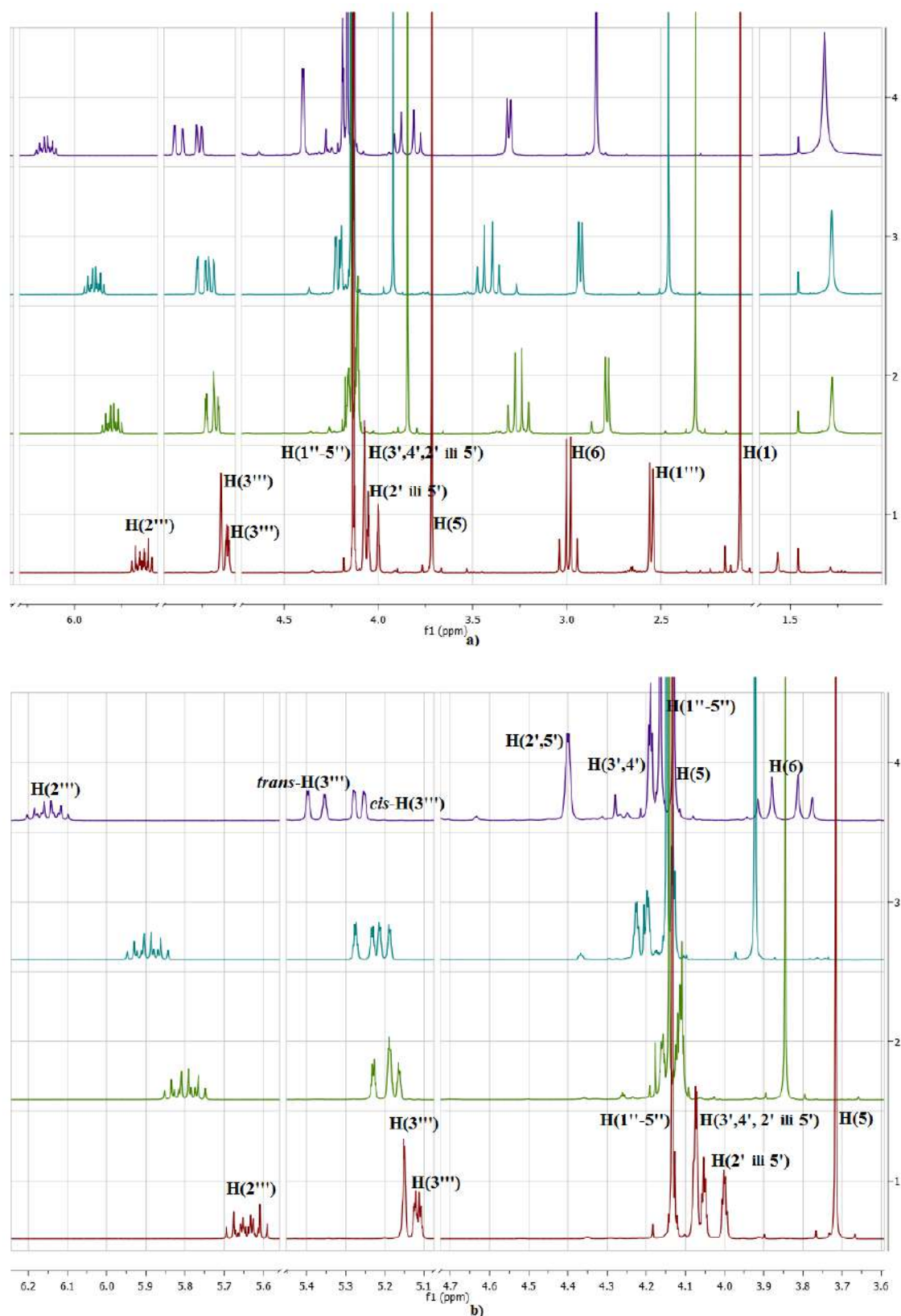
Slika 4.4.10. HMBC spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata **[12b]**

U pokušaju da potvrdimo asignaciju signala supstituisanog ciklopentadienil prstena ferocena u jedinjenju **[12b]** kao i signala C2''' i C3''' protona u **[12d]** snimljeni su njihovi ^1H NMR spektri na 400 MHz uz dodatak lantanidnog reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$ (*tris*(6,6,7,7,8,8,8-heptafluor-2,2-dimetil-3,5-oktandionat)europijum(III))). Kao što se može uočiti na slikama 4.4.11 i 4.4.12, hemijsko pomeranje protona se menjalo u zavisnosti od količine dodatog reagensa ($\text{Eu}(\text{fod})_3$), što se objašnjava građenjem kompleksa derivata metil-acetoacetata **[12b]** sa katjonom europijuma (Eu^{3+}) iz ($\text{Eu}(\text{fod})_3$), gde usled njihove dipolarne (pseudokontaktne) interakcije (lokalne promene magnetnog polja) dolazi do promena hemijskih pomeranja protona (Akhmedov et al., 2010).

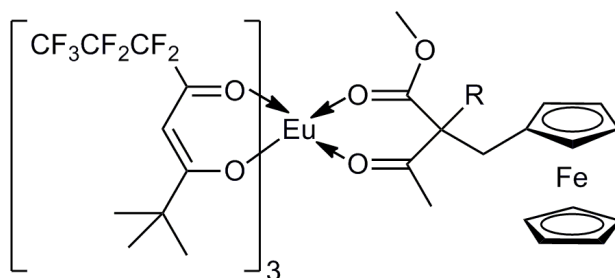
Jedinjenja analizirana u eksperimentima sa dodatkom lantanidnog reagensa hemijskog pomeranja **[12b]** i **[12d]** su sadržala dva potencijalna atoma za koje je moguća koordinacija europijuma (slobodni elektronski parovi na oba karbonilna kiseonika prisutna u acetoacetatnom delu molekula (slika 4.4.13)). Kompleksiranje predloženo na slici 4.4.13 je potkrepljeno značajnim promenama hemijskih pomeranja protona koji su bili u neposrednoj blizini karbonilne grupe i skoro zanemarljivim promenama u hemijskom pomeranju protona koji su bili udaljeni od karbonilnih grupa (npr. protoni iz nesupstituisanog prstena ciklopentadiena ferocenil grupe).



Slika 4.4.11. a) ^1H NMR spektar jedinjenja **[12b]** snimljen u CDCl_3 bez reagensa hemijskog pomeranja (**1**), a spektar (**2**) sa 4,2%, (**3**) sa 8,4% i (**4**) sa 12,6% $\text{Eu}(\text{fod})_3$ (izraženo kao molski odnos reagensa hemijskog pomeranja i jedinjenja **[12b]**); **b)** Odgovarajuća uvećanja spektara jedinjenja **[12b]** u intervalu 3,70 – 4,30 ppm



Slika 4.4.12. a) ^1H NMR spektar jedinjenja **[12d]** snimljen u CDCl_3 bez reagensa hemijskog pomeranja **(1)**, a spektar **(2)** sa 4,2%, **(3)** sa 8,4% i **(4)** sa 16,8% $\text{Eu}(\text{fod})_3$ (izraženo kao molski odnos reagensa hemijskog pomeranja i jedinjenja **[12d]**); **b)** Odgovarajuća uvećanja spektra pod **a)** jedinjenja **[12d]** u intervalima 3,6 – 4,7, 5,1 – 5,4 i 5,6 – 6,3 ppm



Slika 4.4.13. Predložena struktura kompleksa $\text{Eu}(\text{fod})_3$ i metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata (**[12b]**; R = metil) ili metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-4-pentenoata (**[12d]**; R = alil)

Povećanje količine $\text{Eu}(\text{fod})_3$ je uslovalo pomak signala protona iz supstituisanog ciklopentadienil prstena ferocena (H-3', 4' i 2' ili 5') ka slabijem polju. Signali multipleta, iz NMR spektra jedinjenja **[12b]**, na 4,02 i 4,05 ppm, dodatkom ovog reagensa su se pomerali ka slabijem polju i nakon dodatka 12 mg $\text{Eu}(\text{fod})_3$ su se transformisali u jedan multiplet na 4,28 ppm, što je bilo u skladu sa njihovom prethodnom asignacijom (H-2' i H-5' proton). Sa druge strane, multiplet koji potiče od H-3' i H-4' protona, sa početnih 4,07 ppm, shodno očekivanju, se znatno sporije pomerao sa dodatkom $\text{Eu}(\text{fod})_3$ i, sa dodatih 12 mg $\text{Eu}(\text{fod})_3$, došlo je do preklapanja ovog multipleta sa singletom protona iz nesupstituisanog ciklopentadienilnog prstena ferocena.

Kao u slučaju **[12b]**, postepeno dodavanje $\text{Eu}(\text{fod})_3$ u uzorak **[12d]** je rezultiralo pojednostavljanjem njegovog protonskog spektra. Spinski sistemi višeg reda (multipleti na 5,12 i 5,15 ppm) jedinjenja **[12d]** koji su odgovarali protonima iz alil grupe (C-2''' i C-3''' protoni), dodatkom lantanidnog reagensa hemijskog pomeranja su transformisani u spinske sisteme prvog reda, tj. u dublet dubleta tripleta (H-2'''), dublet dubleta (*trans*-H-3''' (u odnosu na H-2''')) i dublet dubleta (*cis*-H-3''' (u odnosu na H-2''')) protone sa dodatkom 12 mg $\text{Eu}(\text{fod})_3$ reagensa.

4.4.3. Rendgenska strukturna analiza metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metil-4-heksenoata **[12f]**

Monokristal metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metil-4-heksenoata **[12f]** je bio podesan za rendgensku strukturnu analizu (tabela 4.4.3). Analiza je pokazala da su ciklopentadienilni (Cp) prsteni jedinjenja **[12f]** u eklipsnoj konformaciji (slike 4.4.14 i 4.4.15). Torzioni ugao dela molekula C-12-Cg1-Cg2-C-17 iznosi $-2,0^\circ$ (Cg1 i Cg2 su centriodi odgovarajućih ciklopentadienidnih prstenova). Diedralni ugao između Cp prstenova

u ferocenil grupi je iznosio $1,7(2)^\circ$. Rastojanje Fe–Cg za supstituisani prsten je $1,645 \text{ \AA}$, dok je za nesupstituisani prsten to rastojanje bilo $1,651 \text{ \AA}$.

Tabela 4.4.3. Kristalografski podaci metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metil-4-heksenoata [12f]

[12f]	
Empirijska formula	$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{Fe}$
Molekulska masa	382,27
Boja i oblik kristala	Narandžast, prizma
Veličina kristala (mm^3)	$0,20 \times 0,16 \times 0,13$
Temperatura (K)	293(2)
Talasna dužina ($\text{\AA}$)	1,5418
Kristalni sistem	Monoklinični
Prostorna grupa	$P2_1/a$
Dimenzije jedinične ćelije	
a ($\text{\AA}$)	9,6899(4)
b ($\text{\AA}$)	19,8839(7)
c ($\text{\AA}$)	10,6516(4)
α ($^\circ$)	90
β ($^\circ$)	110,053(4)
γ ($^\circ$)	90
V ($\text{\AA}^3$); zapremina jedinične ćelije	1927,86(13)
Z (broj molekula po jediničnoj ćeliji)	4
D_{calc} (Mg/m^3); izračunata gustina kristala	1,317
μ (mm^{-1})	6,394
θ opseg za prikupljanje podataka ($^\circ$)	4,42 do 72,10
Sakupljene refleksije	6819
Nezavisne refleksije, R_{int}	3711; 0,0293
Iscrpnost (%) do $\theta = 67^\circ$	99,9
Metoda utaćnjavanja	<i>full-matrix least-squares on F^2</i>
Podaci/ograničenja/parametri	3711/0/230
Faktor slaganja (<i>goodness-of-fit</i>) F^2	1,056
Konačni R_1/wR_2 faktori [$I > 2\sigma(I)$]	0,0451/0,1116
Najveća razlika difrakcionog pika i rupe (<i>largest diff. peak and hole</i> ; ($\text{e\AA}^{-3}$))	0,347/−0,577

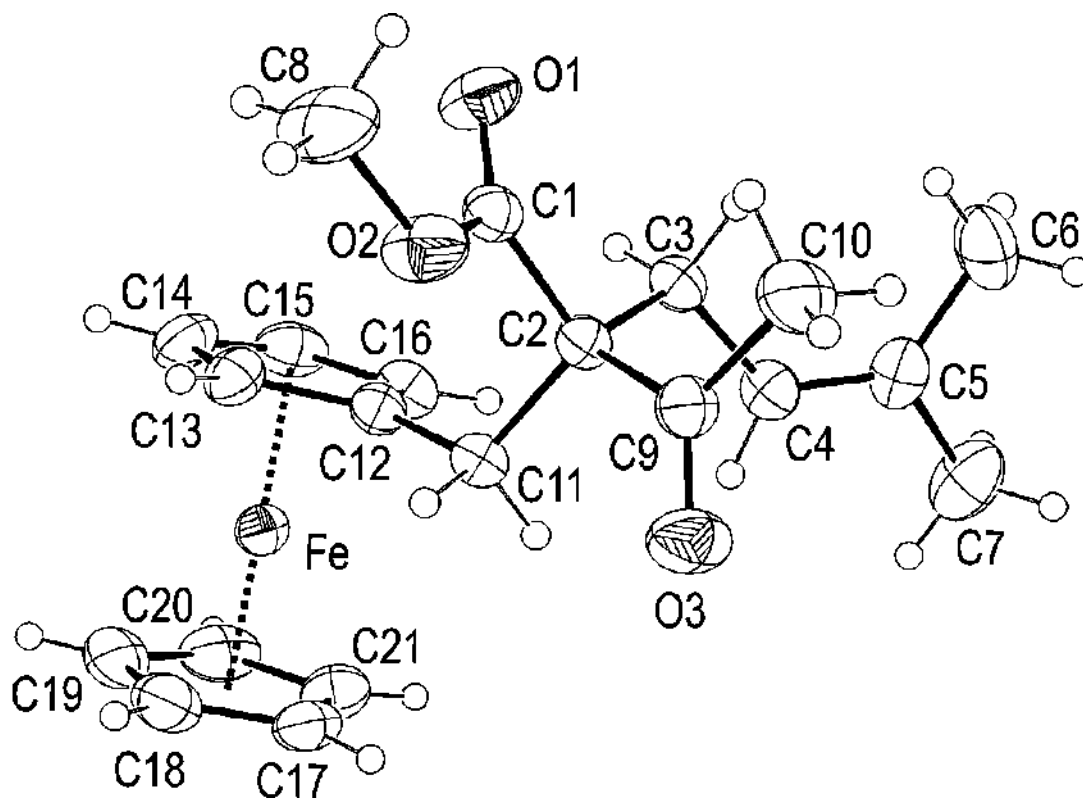
C-2 atom, koji zauzima centralno mesto u molekulu formira četiri najduže C–C veze u molekulu metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metil-4-heksenoata [12f] (tabela 4.4.4). Dužine veza C-2–C-3 i C-3–C-11 su iznosile $1,55 \text{ \AA}$, a što se moglo očekivati jer su i C-11 i C-3 sp^3 hibridizovani atomi. Međutim, C-3–C-2–C-11 ugao [$112,8(2)^\circ$] je značajno odstupao

od očekivanog ugla za tetraedarsku geometriju oko C-2 atoma (tabela 4.4.4). Najkraća C–C veza u molekulu je bila C-4–C-5 [1,319(4) Å] što se i očekuje od lokalizovane dvostruke veze.

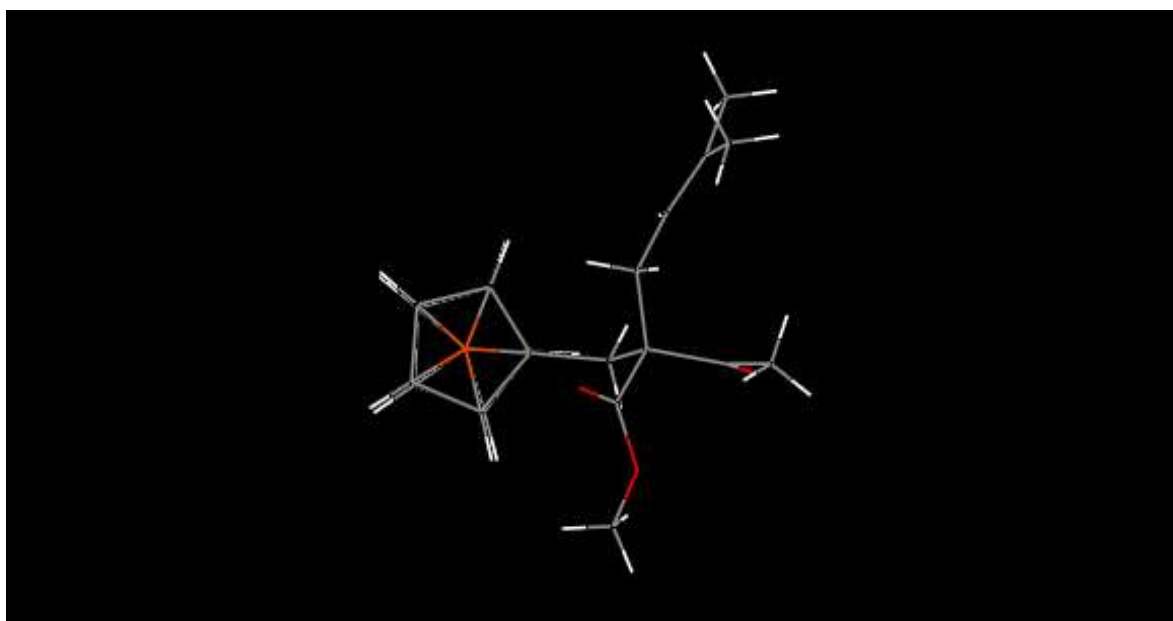
Tabela 4.4.4. Dužine (Å) i uglovi (°) odabranih veza u metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metil-4-heksenoatu [12f]

[12f]			
dužine veza (Å)		uglovi veza (°)	
O1–C1	1,186(3)	C1–O2–C8	115,6(2)
O2–C1	1,333(3)	O1–C1–O2	124,1(2)
O2–C8	1,443(3)	O1–C1–C2	125,8(2)
O3–C9	1,200(3)	O2–C1–C2	110,04(19)
C1–C2	1,529(3)	C1–C2–C9	109,24(19)
C2–C9	1,539(3)	C1–C2–C11	108,75(19)
C2–C11	1,548(3)	C9–C2–C11	109,32(18)
C2–C3	1,550(3)	C1–C2–C3	107,78(19)
C3–C4	1,501(3)	C9–C2–C3	108,9(2)
C4–C5	1,319(4)	C11–C2–C3	112,82(19)
C5–C6	1,494(4)	C4–C3–C2	113,9(2)
C5–C7	1,510(4)	C5–C4–C3	126,6(3)
C9–C10	1,503(4)	C4–C5–C6	125,1(3)
C11–C12	1,501(3)	C4–C5–C7	120,4(3)
		C6–C5–C7	114,5(3)
		O3–C9–C10	121,0(2)
		O3–C9–C2	121,6(2)
		C10–C9–C2	117,3(2)
		C12–C11–C2	114,57(19)

Svi atomi (bez atoma vodonika) koji su činili fragmente, C-1–O-1–O-2–C-8 i C-3–C-4–C-5–C-6–C-7, bili su skoro koplanarni (srednja vrednost kvadratne devijacije za ove dve ravni je bila 0,001 Å, odnosno 0,027 Å, a vrednost diedralnog ugla između tih ravni: 60,4(1)°). Fragment, C-11–C-2–C-9–O-3–C-10, je takođe bio planaran (srednja vrednost kvadratne devijacije je bila 0,047 Å, a vrednosti diedralnog ugla sa C-1–O-1–O-2–C-8, odnosno sa C-3–C-4–C-5–C-6–C-7: 80,7(2)°, odnosno 66,7(1)°).

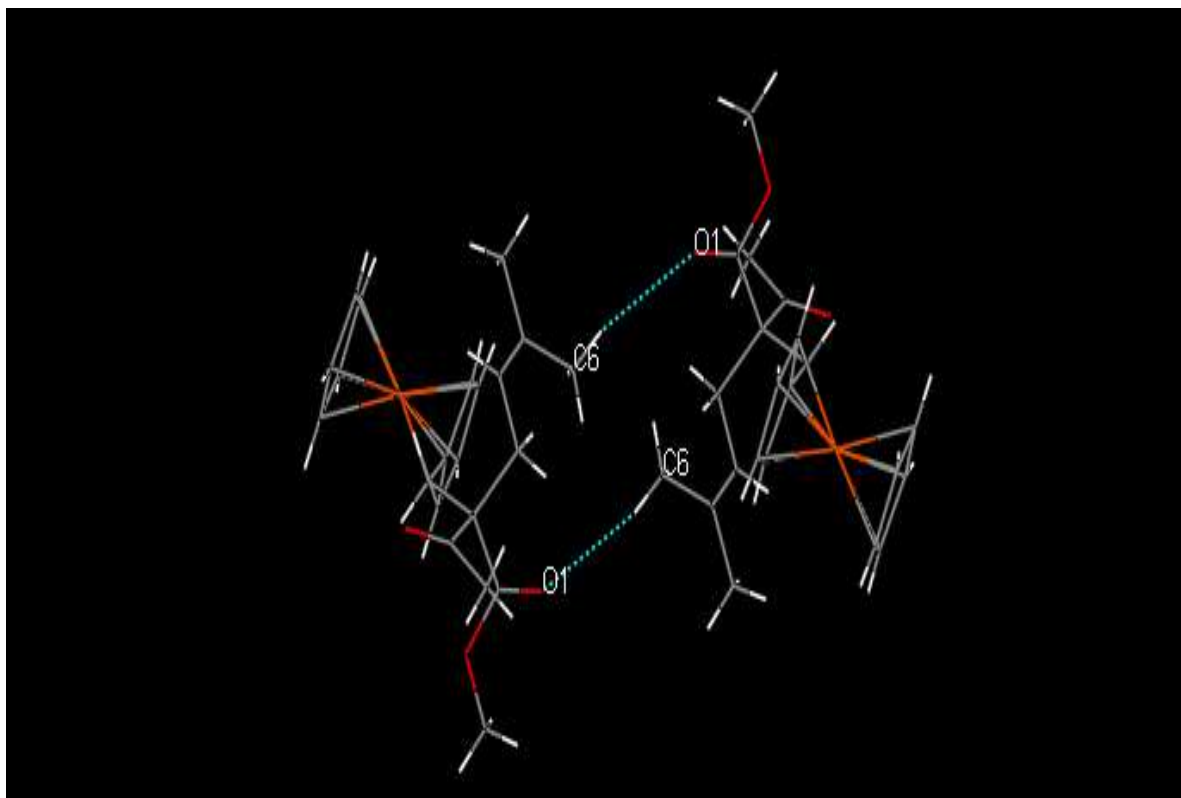


Slika 4.4.14. Molekulska struktura (ORTEP prikaz, u elipsoidama sa 40% verovatnoće) metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metil-4-heksenoata [**12f**] sa numeracijom atoma korišćenom pri strukturnoj analizi



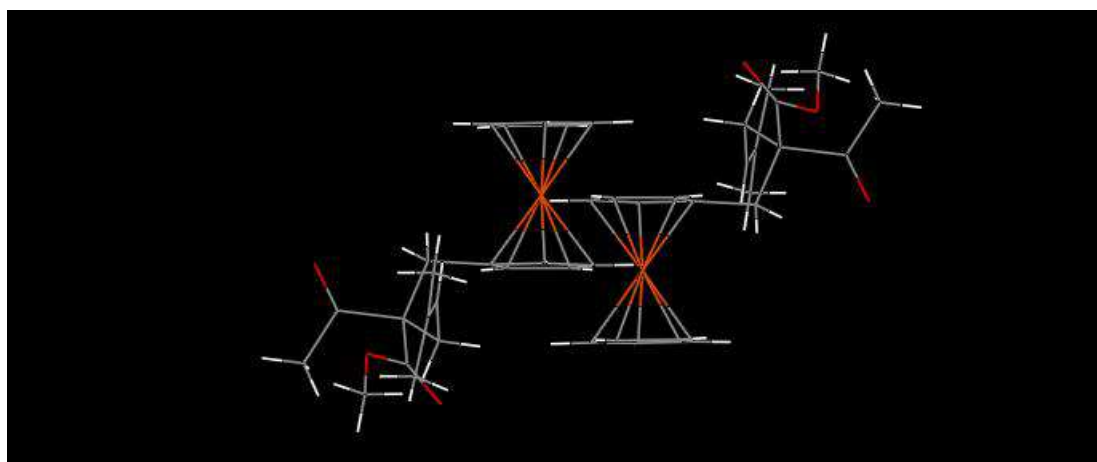
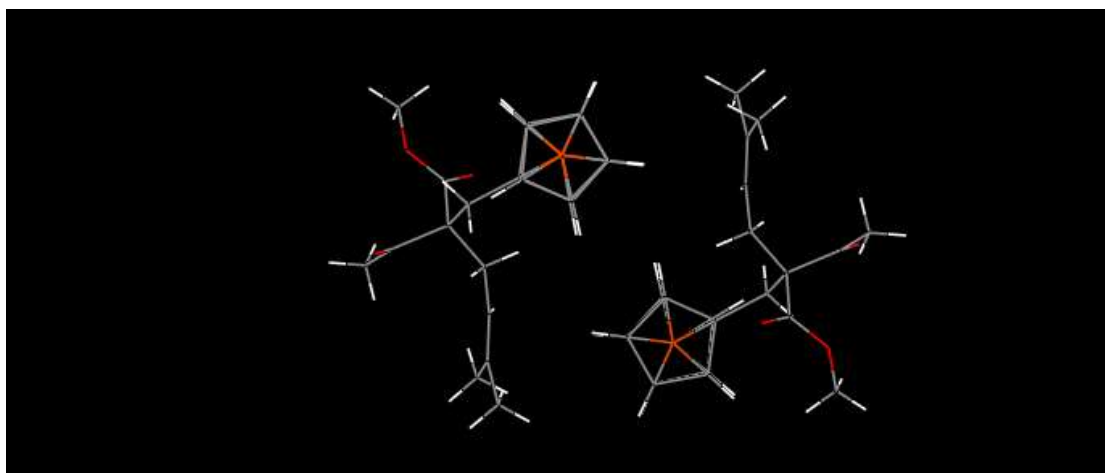
Slika 4.4.15. Projekcija metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metil-4-heksenoata [**12f**] koja pokazuje eklipsnu konformaciju ciklopentadiena (*software MERCURY* je korišćen za pripremu slika)

U kristalnoj strukturi metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metil-4-heksenoata **[12f]** ne postoje klasične vodonične veze. Jedino veza (*short contact*) C-6–H-6b $\cdots$ O1ⁱ [simetrijski kod: (i) $-x-1, -y, -z$; C6 $\cdots$ O1ⁱ, 3,609(4); H-6b $\cdots$ O1ⁱ, 2,67Å; C-6–H-6b $\cdots$ O1ⁱ, 167°] se može uzeti u obzir kao prisutna slaba vodonična veza dok su ostale C–H $\cdots$ O interakcije imale veće H $\cdots$ O rastojanje i manji C–H $\cdots$ O ugao. Prisutna slaba vodonična veza, C6–H6b $\cdots$ O1ⁱ, povezivala je molekule u centrosimetrični dimer kao što je prikazano na slici 4.4.16.

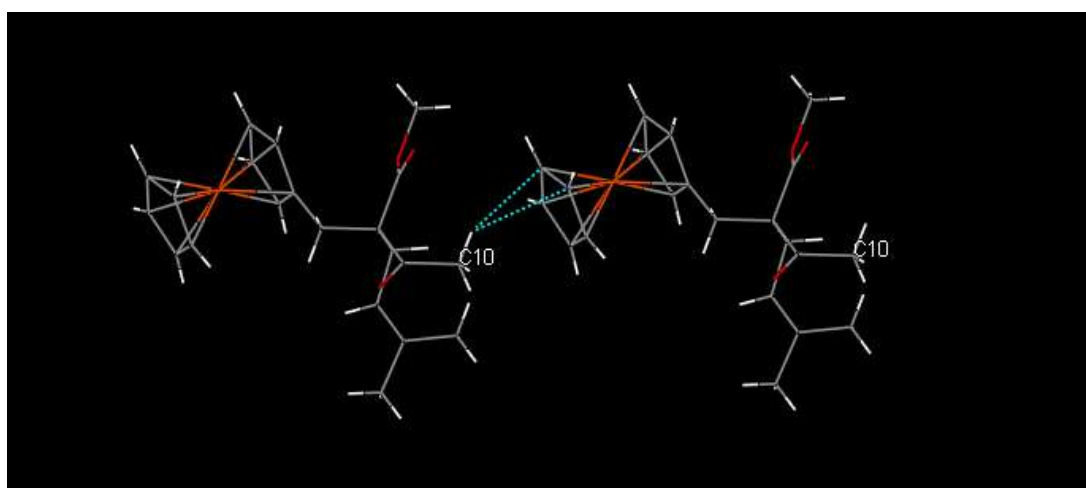


Slika 4.4.16. Prikaz slabe vodonične veze, C-6–H-6b $\cdots$ O-1ⁱ [simetrijski kod: (i) $-x-1, -y, -z$], koja povezuje molekule metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metil-4-heksenoata **[12f]** u centrosimetrični dimer

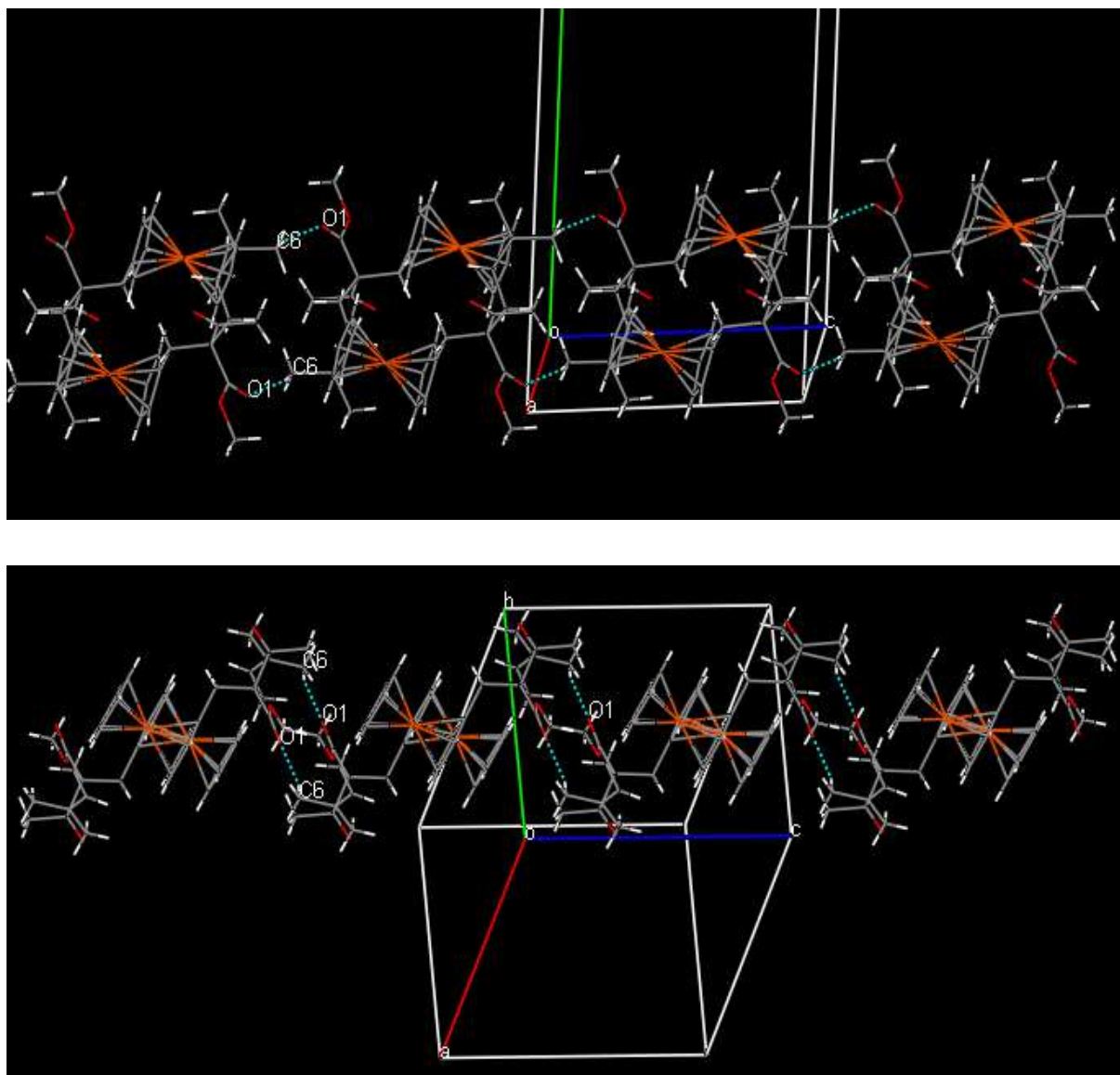
U nedavnom istraživanju Bogdanović i Novaković (Bogdanović i Novaković, 2011) su utvrdili da skoro 60% kristalnih struktura koje sadrže monosupstituisani ferocen (Fc) formiraju Fc-Fc dimer kao zajednički gradivni blok. Formiranje ovog dimera se zasniva na odličnoj elektrostatičkoj komplementarnosti između dve Fc jedinice koje su paralelno postavljene i u direktnom su kontaktu. Takva interakcija je bila prisutna i u kristalnoj strukturi metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metil-4-heksenoata **[12f]** i zajedno sa C6–H6b $\cdots$ O1ⁱ formira dvostruki lanac u kristalnoj rešetki (slike 4.4.17 i 4.4.18). Ovi lanci su bili međusobno povezani slabim C–H $\cdots$ π interakcijama sa ciklopentadienilnim prstenovima kao π -akceptorima C–H veza (slika 4.4.19).



Slika 4.4.17. Interakcija dva jezgra ferocena (Fc-Fc) bazirana na elektrostatičkoj komplementarnosti između dve ferocenil grupe (Bogdanović i Novaković, 2011). Fc-Fc dimeri su prikazani u dve ortogonalne projekcije



Slika 4.4.18. Učešće nesupstituisanog Cp prstena u C-H... π interakcijama kao π -akceptor C-10 metil grupe (isprekidanom plavom linijom su obeleženi C...H kontakti sa rastojanjem manjim od 2,9 Å



Slika 4.4.19. Lanac (u dve projekcije) formiran postojanjem C-6–H-6b $\cdots$ O-1 slabih vodoničnih veza (slika 4.4.16) i Fc-Fc interakcija (slika 4.4.17)

4.4.4. Elektrohemijsko ispitivanje odabranih metil-acetoacetata koji sadrže ferocensko jezgro

Poznato je da je vrednost redoks potencijala ferocen/fericenijum katjon veoma važna za postojanje antimikrobnog potencijala derivata ferocena, naročito protiv gljivice *Candida albicans* (Ilić et al., 2012; Damljanović et al., 2009a). Iz tog razloga je odlučeno da se izvrši elektrohemijska karakterizacija odabranih jedinjenja iz biblioteke koji sadrže ferocen kako bi se stekao uvid u kojoj meri će vrednost/promena vrednosti redoks potencijala imati veze sa antimikrobnom aktivnošću jedinjenja iz biblioteke. Elektrohemijske osobine odabranih derivata ([12a], [12b], [12d], [12e], [12f] i [12h]) ispitivane su cikličnom voltametrijom u

acetonitrilu koji sadrži 0,1 mol/l litijum-perhlorata kao elektrolita. Sva jedinjenja su podlegla redoks procesu na sličnom potencijalu ($E_{1/2} = +364,5$ do $+392,0$ mV, tabela 4.4.5).

Tabela 4.4.5. Rezultati ciklične voltametrije

Jedinjenje ^a	$E_{p,a}$ (mV) ^b	$E_{p,c}$ (mV) ^b	ΔE_p (mV) ^c	$E_{1/2}$ (mV) ^d	$I_{p,a}$ (μ A) ^e	$I_{p,c}$ (μ A) ^e	$I_{p,a}/I_{p,c}$
Ferocen	391	320	71	355,5	34,5	-32,16	1,073
[12a]	421	333	88	377	29,80	-32,19	0,926
[12b]	406	323	83	364,5	41,10	-37,02	1,110
[12d]	430	354	76	392	28,89	-27,43	1,053
[12e]	421	336	85	378,5	30,47	-28,62	1,065
[12f]	412	327	85	369,5	35,43	-34,11	1,039
[12h]	436	348	88	392	28,20	-26,70	1,056

^a-Konzentracija jedinjenja: 5 mM; korišćeni elektrolit: LiClO₄ (0,1 M) u acetonitrilu; frekvencija skeniranja: $\nu = 100$ mVs⁻¹.

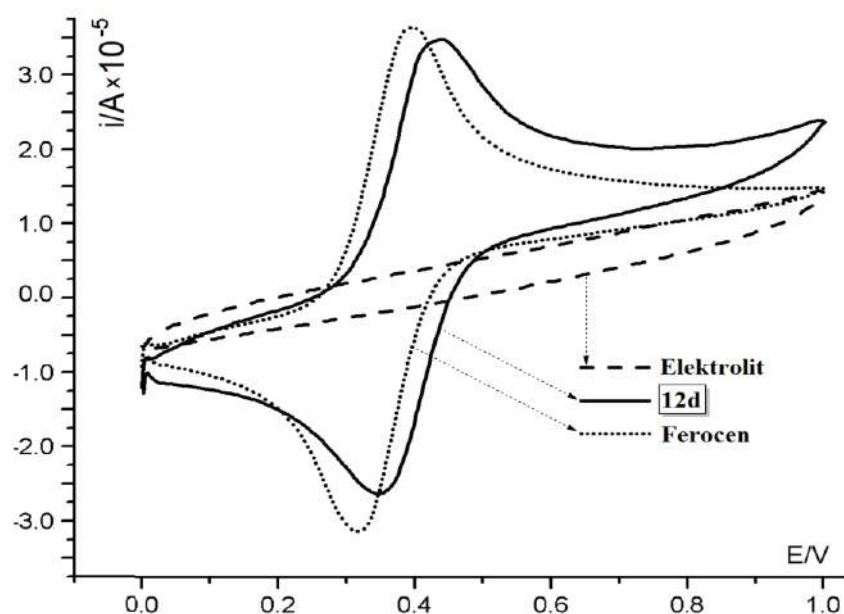
^b- $E_{p,a}$ i $E_{p,c}$: pik anodnog, odnosno katodnog potencijala u odnosu na referentnu elektrodu (Ag/AgCl).

^c- $\Delta E_p = E_{p,a} - E_{p,c}$.

^d- $E_{1/2} = \frac{1}{2}(E_{p,a} + E_{p,c})$.

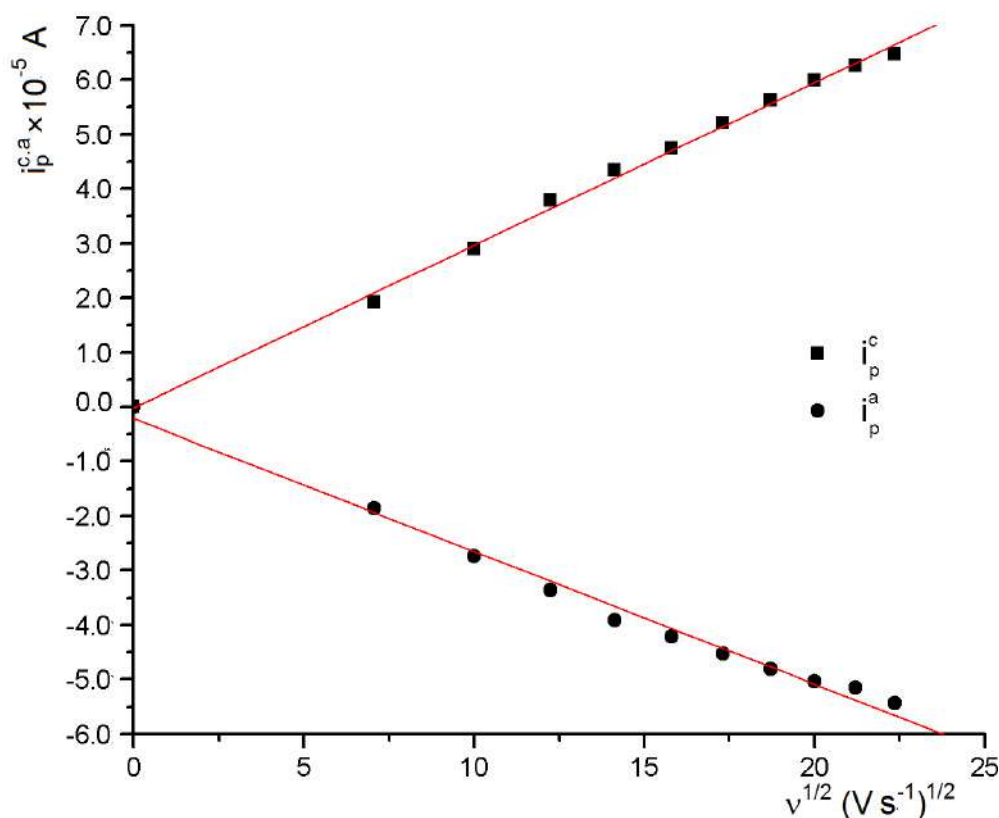
^e- $I_{p,a}$ i $I_{p,c}$: pik anodne, odnosno katodne struje.

S obzirom na to da grupe koje su vezane za jezgro ferocena u derivatima [12a], [12b], [12d], [12e], [12f] i [12h] ne utiču na njegov π -elektronski sistem, dobivene su očekivane vrednosti redoks potencijala koje su bile veoma slične vrednosti redoks potencijala nesupstituisanog ferocena (tabela 4.4.5). Na slici 4.4.20 je predstavljen reprezentativni primer ciklovoltamograma jedinjenja iz biblioteke (konkretno za metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-4-pentenoat [12d]).



Slika 4.4.20. Ciklovoltamogrami jedinjenja [12d] (5 mM), ferocena (5 mM) i elektrolita (0,1 M rastvor LiClO₄ u acetonitrilu)

Razlike između anodnog i katodnog potencijala su bile veoma blizu teorijskih vrednosti (tabela 4.4.5), pikovi anodne i katodne struje su bili proporcionalni kvadratnom korenu frekvencije skeniranja, a njihov odnos je bio nezavisan od brzine skeniranja što je ukazivalo na difuziono kontrolisan proces (slika 4.4.21).



Slika 4.4.21. Katodna i anodna struja metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-4-pentenoata [12d] dobivena na različitim frekvencijama skeniranja u acetonitrilu

4.4.5. Antimikrobna aktivnost sintetisanih jedinjenja iz biblioteke metil-acetoacetata

In vitro antimikrobna aktivnost sintetisanih derivata metil-acetoacetata je ispitana na šest sojeva bakterija (tri Gram-pozitivna i tri Gram-negativna) i dve gljive korišćenjem mikrodilucione metode. Rezultati određivanja MIC, MBC ili MFC vrednosti su prikazani u tabeli 4.4.6 kao prosečne vrednosti tri ponavljanja. Samo su jedan soj bakterija (*Bacillus cereus*) i oba soja gljiva bili osetljivi na dejstvo svih ispitivanih jedinjenja. Jedinjenja iz biblioteke su imala inhibitorno dejstvo na rast mikroorganizama, pri čemu su MIC vrednosti bile u opsegu 0,0050 – 20,6 $\mu\text{mol/ml}$. U većini slučajeva MBC vrednosti su bile jednake MIC vrednostima ili dva puta veće. Gram-pozitivni bakterijski sojevi su bili najosetljiviji (naročito soj *B. cereus*) na dejstvo derivata metil-acetoacetata. Minimalna inhibitorna koncentracija za

metil-acetoacetate koji sadrže ferocen [12a – 12h] je bila u opsegu 0,2 – 10,5 $\mu\text{mol/ml}$ u slučaju Gram-pozitivnih sojeva bakterija, 1,4 – 9,9 $\mu\text{mol/ml}$ za Gram-negativne sojeve, a 0,0050 – 11,7 $\mu\text{mol/ml}$ u slučaju gljivica. Pored *B. cereus*, rast sojeva *Staphylococcus aureus* i *Salmonella enterica* je bio značajno inhibiran prisustvom testiranih jedinjenja u medijumu, dok je najotporniji soj bio bakterija *Escherichia coli*. Od svih testiranih jedinjenja najveću antimikrobnu aktivnost su pokazali [12e] i [12a] inhibirajući rast svih testiranih sojeva (opseg aktivne koncentracije za [12e] je bio 0,0050 – 5,4 $\mu\text{mol/ml}$, a 3,2 – 6,4 $\mu\text{mol/ml}$ za [12a]).

Serijski metil-acetoacetati [13a – 13h] koji sadrže fenil umesto ferocenil grupe je generalno pokazala slabiju antimikrobnu aktivnost sa vrednostima minimalne inhibitorne koncentracije u opsegu od 0,30 do 16,3 $\mu\text{mol/ml}$. Korišćeni sojevi Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija su pokazali veoma sličnu osetljivost (Gram-pozitivne MIC = 1,7 – 9,7 $\mu\text{mol/ml}$ i za Gram-negativne MIC = 6,9 – 16,3 $\mu\text{mol/ml}$) na testiranu seriju metil-acetoacetata [13a – 13h]. Kao i u slučaju metil-acetoacetata koji sadrže ferocen [12a – 12h] i u slučaju fenil analoga, najosetljiviji su bili sojevi gljivica (MIC = 0,30 – 9,1 $\mu\text{mol/ml}$). Najmanje selektivnu aktivnost je pokazao derivat [13d] koji je inhibirao rast svih sojeva, ali u relativno visokim koncentracijama u opsegu 4,1 – 16,3 $\mu\text{mol/ml}$. Iako su MIC vrednosti veće u odnosu na seriju [12a – 12h], ova jedinjenja inhibiraju rast i onih mikroba na koje derivati koji sadrže ferocen nisu bili aktivni, na primer inhibitorno dejstvo jedinjenja [12d] i [13d] na soj *S. aureus*. Najveću osetljivost na fenil derivate je pokazao soj *C. albicans*, dok su najveću otpornost pokazali sojevi bakterija *E. coli* i *S. aureus*.

Sintetisani derivati metil-acetoacetata koji nisu posedovali fenil i/ili ferocenil jezgro [14] i [15] su pokazali relativno malu aktivnost sa višim vrednostima aktivnih inhibitornih koncentracija (u opsegu 5,0 – 20,6 $\mu\text{mol/ml}$). Takođe treba pomenuti da je metil-2-acetil-2-alil-4-pentenoat [14] bio najslabiji antimikrobni agens jer je inhibitorno delovao samo u najvećoj testiranoj koncentraciji od 4 mg/ml (20,6 $\mu\text{mol/ml}$), dok je metil-2-acetil-2-propilpentanoat [15] bio aktivniji i manje selektivan sa MIC = 5,0 – 10,0 $\mu\text{mol/ml}$ (tabela 4.4.6). S obzirom da jedinjenja [14] i [15] nisu sadržala ferocenil i/ili fenil jezgro, slaba aktivnost ovih derivata je pokazala da sam skelet metil-acetoacetata nema značajan antimikrobni potencijal. Sa druge strane, ovi rezultati su nedvosmisleno potvrdili da prisustvo fenil i/ili ferocenil grupe višestruko povećava antimikrobnu aktivnost sintetisanih jedinjenja iz biblioteke u odnosu na nesupstituisani metil-acetoacetat.

Tabela 4.4.6. Minimalna inhibitorna (MIC) i minimalna baktericidna (MBC)/fungicidna (MFC) koncentracija ($\mu\text{mol/ml}$) jedinjenja [12a – 12h], [13a – 13h], [14] i [15]

	Bakterije												Gljive			
	Gram-pozitivne						Gram-negativne						<i>Aspergillus brasiliensis</i>		<i>Candida albicans</i>	
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Escherichia coli</i>		<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Salmonella enterica</i>						
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MFC	MIC	MFC
[12a]	3,2	3,2	3,2	3,2	6,4	6,4	6,4	6,4	3,2	3,2	6,4	6,4	3,2	6,4	3,2	3,2
[13a]	9,7	9,7	9,7	9,7	/	/	/	/	9,7	9,7	9,7	19,4	0,3	2,4	4,9	4,9
[12b]	0,8	1,5	/	/	1,5	3,1	/	/	/	/	/	/	1,5	6,1	1,5	3,1
[13b]	4,5	4,5	4,5	9,1	/	/	/	/	9,1	9,1	9,1	18,2	1,1	9,1	9,1	9,1
[12c]	0,7	0,7	1,5	2,9	0,2	0,4	/	/	/	/	1,5	2,9	2,9	11,7	0,2	0,7
[13c]	4,3	4,3	8,6	17,1	/	/	/	/	8,6	17,1	8,6	8,6	4,3	17,1	4,3	4,3
[12d]	2,8	2,8	/	/	/	/	/	/	/	/	2,8	5,7	5,7	/	0,2	0,7
[13d]	8,1	16,3	8,1	16,3	16,3	16,3	16,3	16,3	16,3	16,3	16,3	16,3	16,3	/	4,1	4,1
[12e]	1,4	2,7	1,4	2,7	0,2	0,3	5,4	5,4	2,7	5,4	1,4	5,4	1,4	5,4	0,005	0,1
[13e]	3,9	7,7	7,7	15,4	/	/	/	/	7,7	15,4	7,7	7,7	1,9	7,7	1,9	3,9
[12f]	5,2	5,2	/	/	10,5	10,5	/	/	/	/	/	/	10,5	/	0,3	1,3
[13f]	14,6	14,6	14,6	14,6	/	/	/	/	14,6	14,6	14,6	14,6	14,6	/	7,3	14,6
[12g]	1,3	2,5	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	2,5	10,1	0,6	1,3
[13g]	6,9	6,9	6,9	6,9	/	/	6,9	13,8	/	/	6,9	6,9	6,9	13,8	3,4	6,9
[12h]	1,2	2,5	/	/	2,5	4,9	/	/	/	/	2,5	9,9	2,5	9,9	1,2	2,5
[13h]	1,7	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	/	/	3,4	6,8	3,4	6,8	3,4	13,6	1,7	6,8
[14]	20,6	/	20,6	/	/	/	20,6	/	20,6	/	20,6	/	20,6	/	20,6	20,6
[15]	10,0	20,0	/	/	/	/	/	/	10,0	20,0	10,0	20,0	10,0	/	5,0	10,0
AB*	0,9 ^a		0,9 ^a		0,2 ^a		3,5 ^a		0,4 ^a		0,4 ^a		6,7 ^b		0,8 ^b	

*AB – antibiotici (^a-tetraciklin i ^b-nistatin; nmol/ml) korišćeni kao pozitivne kontrole.

/ – jedinjenje nije aktivno.

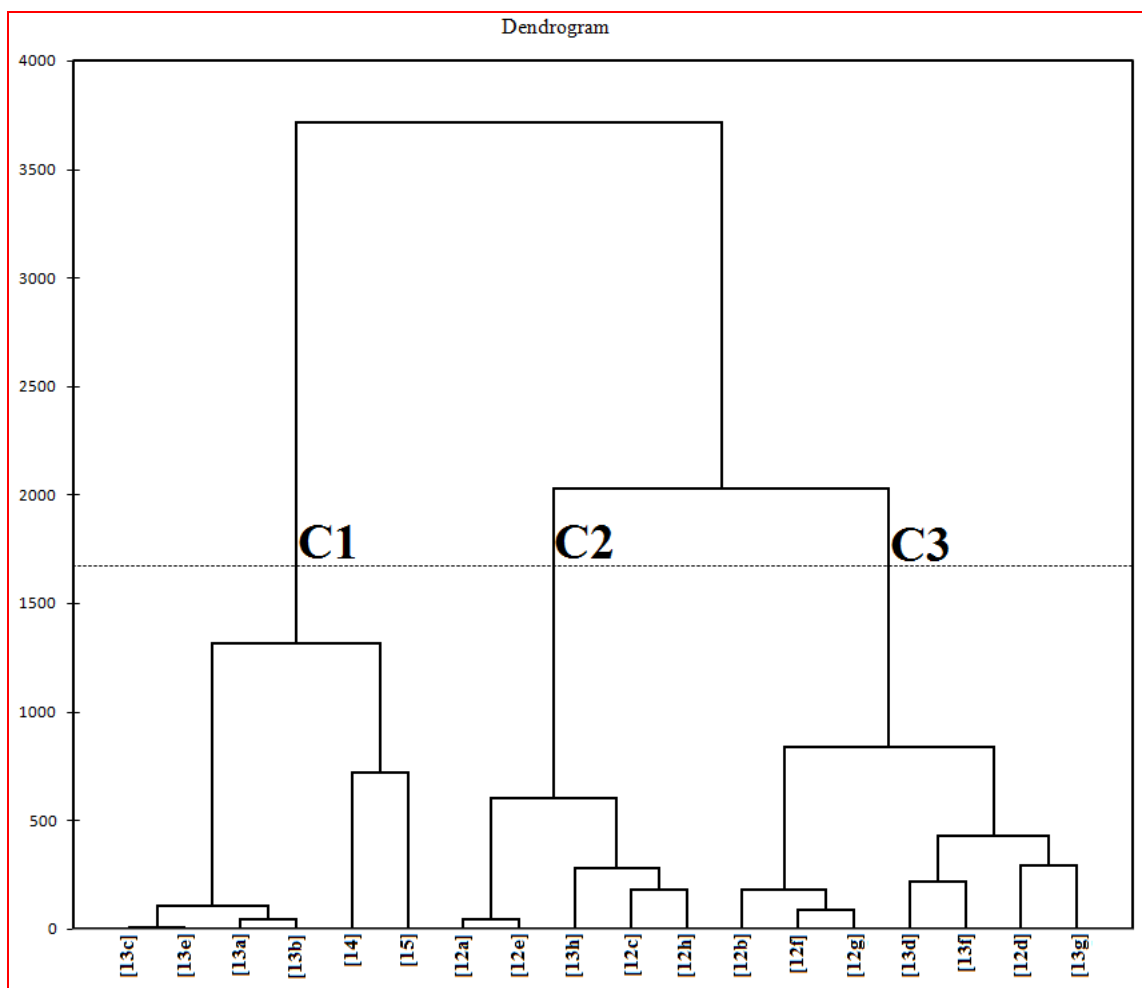
Najznačajniji rezultat koji je otkriven ovim testiranjem je velika osetljivost sojeva gljivica na metil-acetoacetate koji sadrže ferocen **[12a – 12h]** (npr. MIC **[12e]** = 5 nmol/ml u slučaju *C. albicans*). Ovi rezultati su jasno pokazali da se sintetisani derivati metil-acetoacetata (naročito **[12e]**) mogu potencijalno iskoristiti u lečenju kandidijaze (Biot et al., 2002) (antifungalna aktivnost metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-4-metil-4-pentenoata **[12e]** je uporediva sa aktivnošću komercijalno dostupnog antifungalnog leka – nistatina, tabela 4.4.6).

Poređenje većeg broja podataka koji se odnose na veći broj opservacija i varijabli (u ovom slučaju serija derivata metil-acetoacetata je predstavljala opservacije dok je njihova antimikrobna aktivnost predstavljala varijable) se najčešće vrši korišćenjem multivarijantne statističke analize (npr. aglomerativno hijerarhijsko klasterovanje – AHC (Berrazeg et al., 2013; Damljanović et al., 2009a; Pejović et al., 2012b)). U cilju klasifikacije testiranih jedinjenja na osnovu njihove pokazane antimikrobne aktivnosti izvršili smo AHC analizu korišćenjem dobijenih MIC vrednosti derivata **[12a – 12h]**, **[13a – 13h]**, **[14]** i **[15]** protiv šest sojeva bakterija i dva soja gljiva (tabela 4.4.6) kao varijabli. Dobiveni dendrogram AHC analize je predstavljen na slici 4.4.22.

Aglomerativno hijerarhijsko klasterovanje (AHC) je pokazalo prisustvo tri grupe jedinjenja (C1 – C3; skraćenice korišćenih derivata su date u tabeli 4.4.6). Grupa C1 je sadržala dve odvojene podgrupe od kojih jedna sadrži samo derivate sa fenil grupom (**[13a]**, **[13b]**, **[13c]** i **[13e]**) i veoma je bliska drugoj podgrupi koja sadrži samo dva derivata metil-acetoacetata **[14]** i **[15]**. Zajednička osobina ovih derivata (**[13a]**, **[13b]**, **[13c]** i **[13e]**) je nepostojanje aktivnosti u slučaju sojeva *S. aureus* i *E. coli*. Jedinjenja iz druge podgrupe iz C1, pored rezistentnosti dva pomenuta soja bakterija na njihovo dejstvo, ne inhibiraju rast i soja *B. subtilis*. U poređenju sa **[14]** i **[15]**, jedinjenja **[13a]**, **[13b]**, **[13c]** i **[13e]** imaju niže MIC vrednosti (5,0 – 20,6 μ mol/ml) za sve sojeve prema kojima su pokazali aktivnost što je potvrdilo da prisutno aromatično jezgro (fenil grupa) igra važnu ulogu u pokazanoj antimikrobnoj aktivnosti sintetisanih metil-acetoacetata.

Klasa C2 je sadržavala 5 jedinjenja (od kojih četiri sadrže ferocensku (**[12a]**, **[12c]**, **[12e]** i **[12h]**) i jedan derivat sa fenil grupom **[13h]**) koja su bila najaktivnija protiv svih testiranih sojeva bakterija i gljivica (npr. MIC vrednosti u slučaju gljivice *C. albicans* su bili 5 nmol/ml). Ova klasa je bila dodatno podeljena na dve podklase, od kojih je prva sadržavala jedinjenja sa najvećom aktivnošću (**[12a]** i **[12e]**) dok je druga sadržavala metil-2-(ferocenilmetil)-2-etil-3-oksobutanoat **[12c]**, metil-2,2-dibenzil-3-oksobutanoat **[13h]** i metil-2-benzil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoat **[12h]**. Preostala jedinjenja su bila raspoređena u dve podklase grupe C3 od kojih je jedna sadržavala samo derivate sa ferocenil grupom, a

druga derivate sa fenil grupom uključujući i jedan ferocetil derivat (metil-2-acetil-2-(ferocetilmetil)-4-pentenoat **[12d]**). Bilo je razumno očekivati da veličina molekula koji imaju istu farmakoforu utiče na stepen interakcije sa ciljnim biomolekulima testiranih (mikro)organizama što je i uslovalo grupisanje derivata koji sadrže ferocensko jezgro i njihovih fenil analoga između, i unutar, klasa dobijenih AHC analizom.



Slika 4.4.22. Dendrogram (AHC analiza) razlika antimikrobne aktivnosti (MIC vrednosti jedinjenja **[12a – 12h]**, **[13a – 13h]**, **[14]** i **[15]** protiv šest bakterijskih sojeva i dva soja gljiva) 18 jedinjenja iz biblioteke metil-acetoacetata dobivene na osnovu razlike u Euklidovoj (*Euclidean*) udaljenosti korišćenjem agregacionog kriterijuma - Vardova (*Ward*) metoda

Na osnovu dobivenog dendrograma (slika 4.4.22) bilo je evidentno, manje ili više homogeno, grupisanje jedinjenja koja sadrže ferocetil ili fenil grupu i koja pokazuju različitu biološku aktivnost. Generalno, dobiveni rezultati (tabela 4.4.6, slika 4.4.22) su jasno pokazali uticaj formalne zamene fenil grupe ferocenskom na biološku (u ovom slučaju antimikrobnu) aktivnost aromatičnih jedinjenja. Pored toga, u našem slučaju je uvođenje ferocenske umesto

fenil grupe učinilo jedinjenja aktivnijim antimikrobnim agensima. Takođe je, makar u slučaju testiranih mikroorganizama, pokazano da su derivati koji sadrže fenil grupu **[13a – 13h]** aktivniji od dialkil supstituisanih derivata (**[14]** i **[15]**).

Drugi i mnogo važniji (svakako mnogo primenjiviji) rezultat ovog testiranja antimikrobne aktivnosti je bio taj što su se derivati metil-acetoacetata pokazali kao veoma efektni inhibitori rasta soja *C. albicans*. Opšte je poznata činjenica da hemohromatoza predstavlja ozbiljan faktor rizika za pojavu kandidijaze, kao i da je rast vrsta *Candida* inhibiran nedostatkom gvožđa u organizmu (Biot et al., 2000). U slučaju jedinjenja iz biblioteke, čini se da gvožđe iz ferocenskog jezgra nije dostupno za gljivice, međutim, neki autori predlažu da je antifungalna aktivnost jedinjenja koja sadrže ferocen posledica povećanja koncentracije Fe^{3+} jona (Swarts et al., 2001).

5. ZAKLJUČAK

Pretragom literature je uočeno da je kombinatorni (sintetski) pristup do sada iskorišćen samo u nekoliko slučajeva za identifikaciju sekundarnih metabolita biljaka (Berger et al., 1999; Khan et al., 1999; Radulović et al., 2013b; Vermeulen et al., 2001; Vermeulen et al., 2003; Vermeulen i Collin, 2002; Vermeulen i Collin, 2003). U pomenutim istraživanjima prikazane su pozitivne strane korišćenja ovog pristupa; pored identifikacije novih jedinjenja, kreirane biblioteke su pružile i mogućnost ispitivanja odnosa strukture i biološke/farmakološke aktivnosti sintetisanih derivata. Rezultati ove doktorske disertacije, tj. kreirane sintetske kombinatorne biblioteke u toku njene izrade, nedvosmisleno su potvrdile sve prednosti ovog pristupa, naročito kod identifikacije sastojaka prisutnih u malim količinama u etarskim uljima. Uspešnost primene ovog pristupa se ovde pokazala stoprocentnom: uspešno su identifikovani svi prirodni proizvodi koje nije bilo moguće identifikovati uobičajenim izolaciono-identifikacionim pristupom. Identifikovani su novi sekundarni metaboliti biljnih vrsta *Achillea falcata* L. ((1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijat i tiglat), *Achillea ageratifolia* (Sm.) Boiss. subsp. *serbica* (Nyman) Heimerl ((1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijat, tiglat, nonanoat i dekanooat), *Scandix balansae* Reut. ex Boiss. (oktadecilvalerat), *Scandix pecten-veneris* L. (estri izobutanske kiseline i *n*-C₁₅, C₁₇, C₂₁ i C₂₃ alkohola, kao i estri izovalerijanske kiseline i *n*-C₁₃, C₁₅ i C₁₇ alkohola) i *Anthemis segetalis* Ten (eugenil-angelat, 2-metilbutanoat i 3-metilbutanoat).

Takođe je dokazano da je kombinatorni sintetski pristup, iako je bio vremenski zahtevniji, u značajnoj prednosti u odnosu na češće korišćeni izolaciono-identifikacioni pristup, jer su prirodni proizvodi i srodna jedinjenja dobivani (sintetisani) u količinama koje su omogućile potpunu spektralnu karakterizaciju jedinjenja i ispitivanje odabranih bioloških/farmakoloških aktivnosti. Kao dokaz toga predstavlja činjenica da je utvrđena biološka aktivnost predstavnika svake od kreiranih sintetskih biblioteka: antinociceptivna aktivnost i inhibicija aktivnosti acetilholinesteraze jedinjenja iz biblioteke estara (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola, antimikrobna aktivnost jedinjenja iz biblioteke estara dugolančanih alkohola i (izo)butanske i (izo)pentanskih kiselina, kao i akutna toksičnost, citotoksičnost, inhibicija aktivnosti acetilholinesteraze i antimikrobna aktivnost prirodnih eugenil estara i odabranih regioizomera biblioteke estara alilmetoksifenola. Primena ovog pristupa je omogućila upoređivanje biološke aktivnosti serija analoga, u našem slučaju upoređivanje biološke aktivnosti alkil supstituisanih metil-2-(ferocenilmetil)acetoacetata i njihovih benzil supstituisanih analoga. Uočeno je da jedinjenja iz biblioteke poseduju širok opseg aktivnosti, od neaktivnih jedinjenja do onih koja su veoma aktivna sa MIC vrednostima u opsegu 0,0050

– 20,6 $\mu\text{mol/ml}$, kao i da značajno veću aktivnost pokazuju metil-acetoacetati koji sadrže ferocensko jezgro.

Na kraju, interesantno je napomenuti da je za sva testirana jedinjenja (testirano je 50 od ukupno 189 sintetisanih jedinjenja), pokazano da poseduju neku vrstu aktivnosti od kojih najveći farmakološki potencijal i, u budućnosti moguću farmakološku primenu, imaju estri (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola (formijat, acetat, tiglat i senecioat). Maksimalna antinociceptivna aktivnost je zabeležena nakon 15 minuta od davanja ovih jedinjenja životinjama, npr. efekat (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola u tom vremenu je dva puta veći od efekta morfina. Metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-4-metil-4-pentenoat poseduje antifungalnu aktivnost prema soju *Candida albicans*, a koja je bila uporediva sa aktivnošću nistatina.

6.1. IZVOD

Dobiveni su sledeći rezultati:

jedinjenja imaju značajan biološki/farmakološki potencijal. U koncentracionom opsegu 0,0025 – 0,2 mg/ml (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinol, (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijat, acetat, tiglat i senecioat su pokazali umerenu toksičnost na slanovodne račiće. Sabinol i pomenuti estri su, takođe, pokazali i antinociceptivnu aktivnost u tri različita *in vivo* modela. (1*R**,3*S**,5*R**)-Sabinol je izazivao produžetak vremena potrebnog za reakciju životinje na termalni nadražaj u dva testa (metode vruće ploče (*hot-plate*) i imerzije repa (*tail immersion*)). U testiranju zasnovanom na metodi vruće ploče, kada je primenjen u najvećoj dozi (50 mg/kg), maksimalni efekat (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola je uočen nakon 15 minuta od trenutka davanja testiranog jedinjenja životinji. Takođe, (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglat, u dozi od 50 mg/kg, izazvao je povećanje osnovne linije za 140% nakon 15 minuta od davanja jedinjenja laboratorijskoj životinji. Pored toga, pomenuta jedinjenja su umereno inhibirala aktivnost acetilholinesteraze (u testiranoj koncentraciji od 20 µg/ml ova jedinjenja su izazvala smanjenje aktivnosti acetilholinesteraze do 40%).

❖ Detaljne GC i GC-MS analize uzoraka etarskih ulja biljnih vrsta *Scandix pecten-veneris* i *S. balansae* omogućile su identifikaciju 123, odnosno 81 sastojka ulja, redom. Pretragom literature je ustanovljeno da (ne)isparljivi metaboliti biljne vrste *S. balansae* do sada nisu nikada izučavani, dok je u poslednjem istraživanju sekundarnih metabolita biljne vrste *S. pecten-veneris* identifikovano samo 12 sastojaka etarskog ulja. Na osnovu masenih spektara, kao i na osnovu vrednosti retencionih indeksa, pretpostavljeno je da etarsko ulje obe biljne vrste sadrži dve serije estara (izomerne butanoate i pentanoate) dugolančanih, nerazgranatih alkohola. Početna pretpostavka o strukturi nepoznatih sastojaka ulja je potvrđena kreiranjem sintetske biblioteke takvih estara, a zatim i upoređivanjem njihovih masenih spektara, RI vrednosti kao i GC-MS koinjekcijom uzoraka čistih estara sa uzorcima etarskog ulja. Ukupno osam estara iz biblioteke (sedam iz etarskog ulja biljne vrste *S. pecten-veneris* (estri izobutanske kiseline i *n*-C₁₅, C₁₇, C₂₁ i C₂₃ alkohola, kao i estri izovalerijanske kiseline i *n*-C₁₃, C₁₅ i C₁₇ alkohola) i jedan iz etarskog ulja biljne vrste *S. balansae* (oktadecil-valerat)) predstavlja potpuno nove prirodne proizvode. Pretragom literature je ustanovljeno da su do sada estri izomernih butanskih i pentanskih kiselina dugolančanih alkohola veoma retko detektovani u biljnom svetu i da su češće prisutni kao metaboliti insekata ili drugih životinja. Rezultati *in vitro* testiranja antimikrobne aktivnosti su pokazali da su svi testirani mikroorganizmi bili podložni dejstvu testiranih estara kao i etarskog ulja biljne vrste *S. pecten-veneris*, izuzev bakterije *Escherichia coli*, sa MIC i MBC/MFC vrednostima u opsegu od 1,00 do 8,00 mg/ml. Multivarijantna statistička analiza (AHC i PCA) je pokazala da su pomenuti estri potencijalni hemotaksonomski markeri na nivou roda i/ili vrste, kao i da

metabolizam isparljivih sekundarnih metabolita taksona iz plemena Scandiceae nije rod-specifičan niti prati njihovu morfološku evoluciju.

❖ U cilju potvrde identifikacije strukture sastojaka etarskog ulja biljne vrste *Antemis segetalis* Ten. (Asteraceae) izvršena je sinteza kombinatorne biblioteke od 54 izomernih pentanoata i izomernih 2-pentenoata regioizomernih alilmetoksifenola (ukupno 49 potpuno novih jedinjenja). GC-MS analiza u kombinaciji sa analizom 1D- i 2D-NMR spektara jedinjenja iz biblioteke nedvosmisleno je potvrdila da su eugenil-angelat, 2-metilbutanoat i 3-metilbutanoat (0,21, 0,22 i 0,13 mg u 100 g svežeg biljnog materijala) sekundarni metaboliti prisutni u etarskom ulju biljne vrste *A. segetalis*. U cilju istraživanja hromatografskih osobina (retencionih indeksa) u okviru ove serije, kao i između serija estara izomernih alilmetoksifenola, početna biblioteka je dopunjena sa još 85 dodatnih estara eugenola, 2-alil-3-metoksifenola, 2-alil-4-metoksifenola, 2-alil-5-metoksifenola i 2-alil-6-metoksifenola sa 17 kiselina. Dobivena QSPR jednačina omogućava predviđanje vrednosti retencionih indeksa ovakvih i srodnih jedinjenja, tj. početnu identifikaciju ovakvih jedinjenja bez njihove sinteze. Pri testiranju akutne toksičnosti i citotoksičnosti prirodnih eugenil estara i odabranih strukturnih izomera iz biblioteke uočeno je da su pomenuti estri slabo do umereno toksični prema testiranim organizmima/linijama ćelija. Takođe, testirani estri su bili slabi inhibitori acetilholinesteraze i ne pokazuju značajnu antimikrobnu aktivnost.

❖ U cilju određivanja odnosa hemijskih i bioloških osobina ferocenskih derivata i njihovih fenil analoga, izvršeno je kreiranje biblioteke od 18 metil-acetoacetata (di)supstituisanih u položaju 2 (od kojih su 13 nova jedinjenja). Testirana je *in vitro* antimikrobna aktivnost sintetisanih jedinjenja na šest različitih sojeva bakterija i dve gljive. Uočeno je da jedinjenja iz biblioteke imaju širok opseg aktivnosti, od neaktivnih jedinjenja do onih koja su veoma aktivna (MIC vrednosti u opsegu 0,0050 – 20,6 µmol/ml). Metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-4-metil-4-pentenoat je pokazao najveću antimikrobnu aktivnost protiv svih testiranih mikroorganizama, naročito u slučaju soja *C. albicans* sa MIC vrednostima koje su bile uporedive sa MIC vrednostima nistatina. Statistička analiza (multivarijantna) dobivenih MIC vrednosti je pokazala da ferocenski derivati imaju različitu (i u ovom slučaju značajno veću) antimikrobnu aktivnost u odnosu na fenil analoge. Dobiveni rezultati su obećavajući u smislu mogućeg razvoja novih antimikotika, baziranih na metil-acetoacetatima koji sadrže ferocensko jezgro, za lečenje kandidijaze.

6.2. SUMMARY

This PhD thesis, entitled: "Combinatorial libraries of selected natural and synthetic biologically active esters", presents the results of successful identification and a means of arriving at (milli)gram quantities of selected natural esters achieved through the application of a synthetic combinatorial approach. Three libraries with 171 compounds in total, among them 121 new compounds, were prepared for this purpose. Also the combinatorial library approach was successfully applied for a systematic comparison of chemical/biological properties of ferrocene-containing compounds and their corresponding phenyl analogs: a library of eighteen (13 new) 2-substituted methyl acetoacetates was synthesized. The structures of the synthesized esters were characterized through extensive spectral MS, NMR (1D- and 2D-NMR), FTIR and UV-Vis analyses, and in the case of ferrocene-containing compounds by electrochemical (cyclic voltammetry) and X-ray analysis. Stereochemistry of the compounds and overlapping resonances occurring in the corresponding ^1H NMR spectra, in the case of (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinyl esters and esters that contained ferrocene unit, respectively, were inferred/resolved by the application of an NMR methodology that employed a lanthanide-induced shift reagent (Eu(fod)₃). All esters from combinatorial libraries that were identified as plant metabolites were quantified by GC analyzes with a flame ionization detector (FID) and appropriate calibration curves were set up. Based on the (ethno)pharmacological properties of esters with similar molecular structure, the obtained samples of the pure esters were assayed for different biological and/or pharmacological activities (*in vitro* antimicrobial, *in vivo* antinociceptive, *in vitro* acetylcholinesterase inhibitory activities and their toxicity (*in vitro* cytotoxicity against two cell lines (fibroblast and melanoma) and acute toxicity against *Artemia salina*)).

The following results were obtained:

❖ Detailed analyses of the essential-oil profile of the under- and/or aboveground parts of *Achillea falcata* and *A. ageratifolia* subsp. *serbica*, revealed that both species produce new or components with a restricted occurrence in the Plant Kingdom. The synthesized library of (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinyl esters provided unequivocal proof that both species produce (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinol and several of its esters (four of which (the formate, tiglate, nonanoate and decanoate) were newly discovered natural products). Additionally, a nomenclature confusion regarding the relative stereochemistry of sabinyl esters, that came from the opposing use of *cis*- and *trans*- for the parent alcohols and the derived esters, was addressed. We propose the use of CIP notation in connection with the trivial names to avoid further ambiguities. The herein presented results regarding the acute toxicity, AChE inhibitory activity and antinociceptive activity of (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinol and selected (1*R**,3*S**,5*R**)-

sabinyl esters further corroborate that these compounds might be able to interact with different targets in crustacean/mammalian organisms and that they have an influence on both the peripheral and central nervous systems. When applied in the concentration range 0.0025 – 0.2 mg/ml, (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinol and (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinyl formate, acetate, tiglate and senecioate showed moderate toxicity in *Artemia salina* acute toxicity assay. (1*R**,3*S**,5*R**)-Sabinol and the mentioned esters displayed antinociceptive action in three *in vivo* models: (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinol caused an increase in animal response to thermal stimuli in both hot plate and tail immersion tests. In the hot plate test, when applied in the highest dose (50 mg/kg), the maximal effect of the alcohol was observed 15 min after the administration. (1*R**,3*S**,5*R**)-Sabinyl tiglate, at 50 mg/kg, produced a 140% baseline increase 15 min after the treatment in the hot plate test. Additionally, (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinol and its esters moderately inhibited acetylcholinesterase (at the concentration of 20 µg/ml, these compounds caused a reduction of acetylcholinesterase activity up to 40%).

❖ Detailed GC and GC-MS analyses of the essential-oil samples of *Scandix pecten-veneris* and *S. balansae* enabled the identification of 123 and 81 constituents, respectively. In contrast, in the latest phytochemical report on *S. pecten-veneris* only 12 essential-oil constituents were identified. On the other hand, to the best of our knowledge, there are no previous studies on either the volatile or nonvolatile secondary metabolites of *S. balansae*. In the course of the identification procedure, gas chromatography (GC) and GC combined with mass spectrometry (MS) analyses revealed that the essential-oil samples from both umbellifers contained isomeric butanoates and pentanoates of long-chain 1-alkanols. A synthetic library of the tentatively identified esters allowed the accumulation of their spectral data and final identity corroboration. Eight esters from the library (seven from *S. pecten-veneris* essential-oil samples (*n*-C₁₅, C₁₇, C₂₁ and C₂₃ isobutyrate, as well as *n*-C₁₃, C₁₅ and C₁₇ isovalerate) and one from *S. balansae* oil sample (octadecyl pentanoate)) turned out to be new natural metabolites. Up to now the isomeric esters of butanoic and pentanoic acids of straight-chain alcohols with 6–23 carbon atoms (identity hinted by the MS fragmentation patterns in the preliminary analyses of the mentioned oils) were either new or very rare in the Plant Kingdom and were more characteristic of insect or other animal species. The *in vitro* antimicrobial activity assay revealed that all screened microorganisms were susceptible to the action of the tested compounds and the essential oil, except for the bacterium *Escherichia coli*, with MIC and MBC/MFC values ranging from 1.00 to 8.00 mg/ml. Multivariate statistical analyses (AHC and PCA) demonstrated that the mentioned esters were excellent candidates for chemotaxonomic markers at species and even genus levels, as well as, that the

evolution of the volatiles' metabolism of Scandiceae taxa was neither genera-specific nor follows their morphological evolution.

❖ To determine the exact structure of the previously tentatively identified minor essential-oil constituents of a Chamomile species (*Antemis segetalis* Ten. (Asteraceae)), we synthesized a combinatorial library of 54 regioisomeric allylmethoxyphenyl pentanoates and 2-pentenoates (49 completely new compounds). GC-MS in combination with 1D- and 2D-NMR analyses of the synthesized compounds provided unambiguous data that led to a straightforward identification of the mentioned *A. segetalis* constituents as eugenyl angelate, 2-methylbutanoate and 3-methylbutanoate (0.21, 0.22, and 0.13 mg/100 g of fresh plant material, respectively). In the aim to explore the gas chromatographic behavior (retention index trends) among and between series of isomeric allylmethoxyphenyl esters, the starting combinatorial library of 54 regioisomeric allylmethoxyphenyl pentanoates and 2-pentenoates was enlarged with 85 additional esters of 4-allyl-2-methoxyphenol (eugenol), 2-allyl-3-methoxyphenol, 2-allyl-4-methoxyphenol, 2-allyl-5-methoxyphenol and 2-allyl-6-methoxyphenol (*o*-eugenol) with 17 different acids. The results of biological activity tests showed that the naturally occurring eugenyl esters and selected structurally related compounds from the library demonstrated a low to moderate toxicity. They were also relatively weak inhibitors of AChE and of microbial growth.

❖ A series of eighteen (13 new) 2-substituted methyl acetoacetates containing ferrocenyl and/or phenyl units were synthesized in low-to-good yields. Within this small library, along with the ferrocenyl group being formally replaced with a phenyl group, other moieties were varied as well. The compounds were screened for their *in vitro* antimicrobial activity against six bacteria and two fungal/yeast strains. They demonstrated a wide range of activities, from low to highly active compounds, with MIC values in the range 0.0050 – 20.6 µmol/ml. Methyl 2-acetyl-2-(ferrocenylmethyl)-4-methyl-4-pentenoate showed the highest antimicrobial activity against the tested strains, especially in the case of *C. albicans* with a MIC value similar to that of nystatin. AHC statistical analysis of the antimicrobial assay results confirmed that the compounds having a ferrocene unit instead of a phenyl unit have a different (and in the present study, greater) activity. The obtained results are also promising in terms of the possible development of new anticandidal agents based of ferrocene-containing acetoacetates.

7. LITERATURA

- Abdalla FC, Graeme JR, Morgan D, Cruz-Landim C (2004) *J. Brazil Chem. Soc.* **15**: 621.
- Abel U, Koch C, Speitling M, Hansske FG (2002) *Curr. Opin. Chem. Biol.* **6**: 453.
- Aburjai T, Hudaib M (2006) *Pharmacogn. Mag.* **2**: 188.
- Aburjai T, Hudaib M, Tayyema R, Yousef M, Qishawi M (2007) *J. Ethnopharmacol.* **110**: 294.
- Adams RP (2007) *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography-Mass Spectrometry*, Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL, USA.
- Adhami HR, Linder T, Kaehlig H, Schuster D, Zehl M, Krenn L (2012) *J. Ethnopharmacol.* **139**: 142.
- Aharoni A, Keizer LCP, Bouwmeester HJ, Sun ZK, Alvarez-Huerta M, Verhoeven HA, Blaas J, van Houwelingen A, De Vos RCH, van der Voet H, Jansen RC, Guis M, Mol J, Davis RW, Schena M, van Tunen AJ, O'Connell AP (2000) *Plant Cell*, **12**: 647.
- Akhmedov NG, Dacko CA, Güven A, Söderberg BCG (2010) *Magn. Reson. Chem.* **48**: 134.
- Ali M, Chaudhari A, Velasco-Negueruela A, Pérez-Alonso, MJ (2000) *J. Essent. Oil Res.* **12**: 64.
- Ali SM, Khan AA, Ahmed I, Musaddiq M, Ahmed KS, Polasa H, Rao LV, Habibullah CM, Sechi LA, Ahmed N (2005) *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* **4**: 1.
- Allardyce CS, Dorcier A, Scolaro C, Dyson PJ (2005) *Appl. Organomet. Chem.* **19**: 1.
- Alzweiri M, Al Sarhan A, Mansi K, Hudaib M, Aburjai T (2011) *J. Ethnopharmacol.* **137**: 27.
- Aneesh TP, Belzik N, Nisha AR, Resiya S, Silvipriya KS, Asokan MA, Sonu J (2010) *Inventi Rapid: Med. Chem.* **1**: 1.
- Arbi M, Pigeon P, Top S, Rhouma A, Aifa S, Rebai A, Vessièrès A, Plamont MA, Jaouen G J (2011) *Organomet. Chem.* **696**: 1038.
- Ashraf M, Ahmad R, Bhatti MK (1979) *Pakistan J. Sci. Ind. Res.* **22**: 320.
- Bajorath J (2002) *J. Comput. Aided. Mol. Des.* **16**: 431.
- Balaban AT (1983) *Pure Appl. Chem.* **55**: 199.
- Bamoniri A, Ebrahimabadi AH, Mazoochi A, Behpour M, Kashi FJ, Batooli H (2010) *Food Chem.* **122**: 553.
- Bar-On P, Millard CB, Harel M, Dvir H, Enz A, Sussman JL, Silman I (2002) *Biochemistry* **41**: 3555.
- Baranauskiene R (2007) *Chem. Nat. Compd.* **43**: 331.
- Başer KHC, Buchbauer G (2009) *Handbook of Essential Oils Science, Technology, and Applications*, CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, USA.

- Başer KHC, Demirci F (2007) In Berger RG (Ed.). *Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*, Springer.
- Başer KHC, Ermin N, Demirçakmak B (1998) *J. Essent. Oil Res.* **10**: 463.
- Başer KHC, Tabanca N, Özek T, Demirci B, Duran A, Duman H (2000) *Flavour Frag. J.* **15**: 43.
- Beavers MP, Chen X (2002) *J. Mol. Graph. Model.* **20**: 463.
- Beekwilder J, Alvarez-Huerta M, Neef E, Verstappen FWA, Bouwmeester HJ, Aharoni A (2004) *Plant Physiol.* **135**: 1865.
- Benner MH, Lee HJ (1973) *J. Allergy Clin. Immunol.* **52**: 307.
- Berger C, Martin N, Collin S, Gijs L, Khan JA, Piraprez G, Spinnler HE, Vulfson EN (1999) *J. Agric. Food Chem.* **47**: 3274.
- Berrazeg M, Drissi M, Medjahed L, Rolain JM (2013) *J. Med. Microbiol.* **62**: 864.
- Biot C, François N, Maciejewski L, Brocard J, Poulain D (2000) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **10**: 839.
- Biot C, Glorian G, Maciejewski LA, Brocard JS, Domarle O, Blampain G, Millet P, Georges AJ, Abessolo H, Dive D, Lebibi J (1997) *J. Med. Chem.* **40**: 3715.
- Bittencourt SC, De Lima TCM, Morato GS (1995) *Gen. Pharmacol.* **26**: 1083.
- Blagojević PD, Radulović NS, Palić RM, Stojanović GS (2006) *J. Agr. Food Chem.* **54**: 4780.
- Bogdanović GA, Novaković SB (2011) *Cryst. Eng. Comm.* **13**: 6930.
- Bohlmann F, Jastrow H (1962) *Chem. Ber.* **95**: 1742.
- Boldi AM (2006) *Combinatorial Synthesis of Natural Product-Based Libraries*, CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, USA.
- Borman S (2004) *Chem. Eng. News*, **82**: 32.
- Bos R, Koulman A, Woerdenbag HJ, Quax WJ, Pras N (2002) *J. Chromatogr. A* **966**: 233.
- Brown RD, Martin YC (1997) *J. Med. Chem.* **40**: 2304.
- Bunin BA, Ellman JA (1992) *J. Am. Chem. Soc.* **114**: 10997.
- Burrows GE, Tyrl RJ (2012) *Toxic plants of North America* (2nd Edn.), John Wiley & Sons, Oxford, UK.
- Buzas A, Egnell C, Freon P (1962) *C. R. Acad. Sci.* **255**: 945.
- Carrasco FR, Schmidt G, Romero AL, Sartoretto JL, Caparroz-Assef SM, Bersani-Amado CA, Cuman RK (2009) *J. Pharm. Pharmacol.* **61**: 961.
- Casares R (1964) *Food Cosmet. Toxicol.* **2**: 680.
- Calestani V (1905) *Webbia*, **1**: 89.

- Camarda L, Stefano VD, Pitonzo R (2008) *Chem. Nat. Compd.* **44**: 532.
- Cégiéla-Carlio P, Bessière J-M, David B, Mariotte A-M, Gibbons S, Dijoux-Franca M-G (2005) *Flavour Fragr. J.* **20**: 671.
- Cerceau-Larrival MTH (1962) *Mem. Mus. Natl. Hist. Nat., Ser. B, Bot.* **14**: 1.
- Chaiken IM, Janda KD (1996) *Molecular diversity and combinatorial chemistry*, American Chemical Society, Washington, DC, USA.
- Chalchat J-C, Gorunovic MS, Petrovic SD (1999) *J. Essent. Oil Res.* **11**: 306.
- Chavez-Riveros A, Garrido M, Apan MTR, Zambrano A, Díaz M, Bratoeff E (2014) *Eur. J. Med. Chem.* **82**: 498.
- Chen F, D'Auria JC, Tholl D, Ross JR, Gershenzon J, Noel JP, Pichersky E (2003) *Plant J.* **36**: 577.
- Chen C, Li X, Neumann CS, Lo MM-C, Schreiber SL (2005) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **44**: 2249.
- Chizzola R (2009) *Nat. Prod. Commun.* **4**: 1235.
- Chizzola R (2011) *Nat. Prod. Commun.* **6**: 1147.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2007) *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Seventeenth informational supplement. Document M 100-S17*, NCCLS, Wayne, PA, USA.
- Collier HOJ, Dinneen LC, Johnson CA, Schneider C (1968) *Br. J. Pharmacol. Chemother.* **32**: 295.
- Conroy D, Moisala A, Cardoso S, Windle A, Davidson J (2010) *Chem. Eng. Sci.* **65**: 2965.
- Corsi G, Biasci D (1998) *Ann. Bot.* **81**: 157.
- Croteau R, Kutchan TM, Lewis NG (2000) In: Buchanan B, Gruissem W, Jones R (Ed) *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, American Society of Plant Physiologists, p. 1250.
- Damljanović I, Vukićević M, Radulović N, Palić R, Ellmerer E, Ratković Z, Joksović MD, Vukićević RD (2009a) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **19**: 1093.
- Damljanović I, Čolović M, Vukićević M, Manojlović D, Radulović N, Wurst K, Laus G, Ratković Z, Joksović M, Vukićević RD (2009b) *J. Organomet. Chem.* **694**: 1575.
- Damljanović I, Stevanović D, Pejović A, Vukićević M, Novaković SB, Bogdanović GA, Mihajlov-Krstev T, Radulović N, Vukićević RD (2011) *J. Organomet. Chem.* **696**: 3703.
- Demirci B, Koşar M, Demirci F, Dinç M, Başer KHC (2007) *Food Chem.* **105**: 1512.
- Den Dool H, Kratz PD (1963) *J. Chromatogr.* **11**: 436.

- D'Ettorre P, Errard C, Ibarra F, Francke W (2000) *Chemoecology* **10**: 135.
- Didry N, Dubreuil L, Pinkas M (1994) *Pharm. Acta Helv.* **69**: 25.
- Dorman HJ, Deans SG (2000) *J. Appl. Microbiol.* **88**: 308.
- Downie SR, Katz-Downie DS, Spalik K (2000) *Am. J. Bot.* **87**: 76.
- Dubar F, Bohic S, Slomianny C, Morin JC, Thomas P, Kalamou H, Guérardel Y, Cloetens P, Khalife J, Biot C (2012) *Chem. Commun.* **48**: 910.
- Dubar F, Slomianny C, Khalife J, Dive D, Kalamou H, Guérardel Y, Grellier P, Biot C (2013) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **52**: 7690.
- Dudareva N, Murfitt LM, Mann CJ, Gorenstein N, Kolosova N, Kish CM, Bonham C, Wood K (2000) *Plant Cell*, **12**: 949.
- Dudareva N, Pichersky E, Gershenzon J (2004) *Plant Physiol.* **135**: 1893.
- Ebrahimabadi AH, Djafari-Bidgoli Z, Mazoochi A, Kashi FJ, Batooli H (2010) *Food Control* **21**: 1173.
- Edmund S (1763) *Philos. Tr. Soc. Lond.* **53**: 195.
- El-Abed S, Houari A, Latrache H, Remmal A, Koraichi SI (2011) *Res. J. Microbiol.* **6**: 394.
- Emelyanov VE, Simonenko LS, Skvortsov VN (2001) *Chem. Technol. Fuel Oil* **37**: 224.
- Feher M, Schmidt JM (2003) *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **43**: 218.
- Fiorina VJ, Dubois RJ, Brynes S (1978) *J. Med. Chem.* **21**: 393.
- Forero MD, Quijano CE, Pino JA (2008) *Flavour Frag. J.* **24**: 25.
- Fouda MFR, Abd-Elzaher MM, Abdelsamaia RA, Labib AA (2007) *Appl. Organomet. Chem.* **21**: 613.
- Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, et al. (2004) Gaussian 03, Gaussian, Inc., Wallingford CT.
- Furka A, Sebestyén F, Asgedom M, Dibó G (1991) *Int. J. Pept. Protein Res.* **37**: 487.
- Gang DR, Beuerle T, Ullmann P, Werck-Reichhart D, Pichersky E (2002) *Plant Physiol.* **130**: 1536.
- Gao C, Tian C, Lu Y, Xu J, Luo J, Guo X (2011) *Food Control* **22**: 517.
- Ganesan A (2001) *Pure Appl. Chem.* **73**: 1033.
- Gansow OA, Willcott MR, Lenkinski RE (1971) *J. Am. Chem. Soc.* **93**: 4295.
- Genčić MS, Radulović NS (2015) *RSC Adv.* **5**: 72670.
- Geysen HM, Meloen RH, Barteling SJ (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**: 3998.
- Gielen M, Tiekink E (2005) *Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents: The Use of Metals in Medicine*, John Wiley & Sons Ltd., Chichester, England.
- Gilon C, Klausner Y, Hassner A (1979) *Tetrahedron Lett.* **20**: 3811.

- Gokcen OA, Morgan ED, Dani FR, Agosti D, Wehner R (2002) *J. Chem. Ecol.* **28**: 71.
- Golebiowski A, Klopfenstein SR, Portlock DE (2001) *Curr. Opin. Chem. Biol.* **5**: 273.
- Gordon EM, Kerwin JF (1998) *Combinatorial chemistry and molecular diversity in drug discovery*, Wiley, New York, USA.
- Gordon EM, Patel DV, Jacobs JW, Gordeev MF, Zhou J (1997) *Chimia*, **51**: 821.
- Gorin BI, Ferguson CG, Thatcher GRJ (1997) *Tetrahedron Lett.* **38**: 2791.
- Groenneberg TO (1979) *Chem. Scripta* **13**: 56.
- Gurib-Fakim A (2006) *Mol. Aspects Med.* **27**: 1.
- Hackett D, Buckett WR (1975) *Eur. J. Pharmac.* **30**: 280.
- Hammer KA, Carson CF, Riley TV (1999) *J. Appl. Microbiol.* **86**: 985.
- Hansen MB, Nielsen SE, Berg K (1989) *J. Immunol. Meth.* **119**: 203.
- Hayamizu K, Yamamoto O (1967) *J. Mol. Spectrosc.* **23**: 121.
- He S, Yang X, Li H, Ma Y (2009) *Shipin Gongye Keji* **30**: 133.
- Heindel ND, Lemke TF, Lenke SM, Fish VB (1968) *J. Med. Chem.* **11**: 369.
- Hendriks H, Smith D, Hazelhoff B (1977) *Phytochemistry* **16**: 1853.
- Henkel T, Brunne RM, Müller H, Reichel F (1999) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **38**: 643.
- Henry M, Briolant S, Fontaine A, Mosnier J, Baret E, Amalvict R, Fusai T, Fraisse L, Rogier C, Pradines B (2008) *Antimicrob. Agents Ch.* **52**: 2755.
- Herrick-Davis S, Chippari S, Luttinger D, Ward SJ (1989) *Eur. J. Pharmacol.* **162**: 365.
- Heywood VH (1971) *The biology and chemistry of the Umbelliferae*, Academic Press, London, UK.
- Houghten RA (1985) *P. Natl. Acad. Sci.* **82**: 5131.
- Huang B, Qin L, Chu Q, Zhang Q, Gao L, Zheng H (2009) *Chromatographia* **69**: 489.
- Hyatt DC, Youn B, Zhao Y, Santhamma B, Coates RM, Croteau RB, Kang C (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**: 5360.
- Ibrahim SA, Avery JW, Weldon PJ, Wheeler JW (1998) *Biosciences* **53**: 201.
- Ilić D, Damljanović I, Stevanović D, Vukićević M, Blagojević P, Radulović N, Vukićević RD (2012) *Chem. Biodivers.* **9**: 2236.
- Ilić D, Damljanović I, Stevanović D, Vukićević M, Radulović N, Kahlenberg V, Laus G, Vukićević RD (2010) *Polyhedron* **29**: 1863.
- Jaouen G, Top S, Vessieres A, Alberto R (2000) *J. Organomet. Chem.* **600**: 23.
- José DP, Bartholomeeusen K, da Cunha RD, Abreu CM, Glinski J, da Costa TBF, Rabay AFMB, Filho LFP, Dudycz LW, Ranga U, Peterlin BM, Pianowski LF, Tanuri A, Aguiar RS (2014) *Virology*, **462-463**: 328.

- Josifović M (1974) *Flora SR Srbije*, Tom V, SANU, Naučno delo, Beograd, Srbija.
- Judzentiene A, Budiene J, Gircyte R, Masotti V, Laffont-Schwob I (2012) *Rec. Nat. Prod.* **6**: 180.
- Jung G (2008) *Combinatorial Chemistry: Synthesis, Analysis, Screening*, WILEY-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Germany.
- IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). XML on-line corrected version: <http://goldbook.iupac.org> (2006-) created by M. Nic, J. Jirat, B. Kosata; updates compiled by A. Jenkins. ISBN 0-9678550-9-8. doi:10.1351/goldbook.A00003.
- Kalemba D, Kunicka A (2003) *Curr. Med. Chem.* **10**: 813.
- Kapetanios C, Karioti A, Bojović S, Marin P, Veljić M, Skaltsa H (2008) *Chem. Biodivers.* **5**: 101.
- Kaya A, Demirci B, Başer KHC (2007) *J. Essent. Oil Res.* **19**: 155.
- Kealy TJ, Pauson PL (1951) *Nature*, **168**: 1039.
- Khan JA, Gijs L, Berger C, Martin N, Piraprez G, Spinnler HE, Vulfson EN, Collin S (1999) *J. Agric. Food Chem.* **47**: 3269.
- Kim I-H, Nishi K, Kasagami T, Morisseau C, Liu J-Y, Tsai H-J, Hammock BD (2012) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **22**: 5889.
- Knudsen JT, Tollsten L (1993) *Bot. J. Linn. Soc.* **113**: 263.
- Kollmannsberger H, Fricke G, Paulus H, Nitz S (2000) *Adv. Food Sci.* **22**: 47.
- Kondapi AK, Satyanarayana N, Saikrishna AD (2006) *Arch. Biochem. Biophys.* **450**, 123.
- Koto R, Imamura M, Watanabe C, Obayashi S, Shiraishi M, Sasaki Y, Azuma H (2006) *J Cardiovasc Pharmacol.* **48**: 850.
- Kovačević N (2004) *Etarska ulja. Osnovi farmakognozije*. Srpska školska knjiga, Beograd, Srbija.
- Kubeczka KH (1982) *Aromat. Plants* **7**: 165.
- Kürkçüoğlu M, Başer KHC, Işcan G, Malyer H, Kaynak G (2006) *Flavour Frag. J.* **21**: 115.
- Kürkçüoğlu M, Demirci B, Tabanca N, Özek T, Başer KHC (2003) *Flavour Fragr. J.* **18**: 192.
- Law NM, Bharucha AE, Undale AS, Zinsmeister AR (2001) *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **281**: G1228.
- Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW (2001) *Pharmacol. Rev.* **53**: 597.

- Lednicer D, Hauser CR (1960) In: Newmann MS (Ed) *Organic Syntheses*, Vol. 40. Wiley, New York, p 31.
- Lee M, Kim DH (2002) *Bioorgan. Med. Chem.* **10**: 913.
- Lee M-L, Schneider G (2001) *J. Comb. Chem.* **3**: 284.
- Letchamo W, Korolyuk EA, Tkachev AV (2005) *J. Essent. Oil Res.* **17**: 577.
- Lin CF, Shen CC, Chen CC, Sheu SJ, Huang YL (2007) *Phytochemistry* **68**: 2450.
- Ling L, Lei L, Wei Z, Jingxia Z, Diya L, Ziyang L (2011) *Yaowu Fenxi Zazhi* **31**: 112.
- Loev B, Flores M (1961) *J. Org. Chem.* **26**: 3595.
- Mack L, Gros P, Burkhardt J, Seifert K (2013) *Phytochemistry* **96**: 158.
- Mahmoud SS, Williams M, Croteau R (2004) *Phytochemistry* **65**: 547.
- Matheus ME, Berrondo LF, Vieitas EC, Menezes FS, Fernandes PD (2005) *J. Ethnopharmacol.* **102**: 377.
- Medeiros LBP, Rocha MS, de Lima SG, de Sousa Júnior GR, Citó AMGL, da Silva D, Lopes JAD, Moura DJ, Saffi J, Mobin M, da Costa JGM (2012) *Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn.* **22**: 1259.
- Merrifield RB (1963) *J. Am. Chem. Soc.* **85**: 2149.
- Millard CB, Kryger G, Ordentlich A, Greenblatt HM, Harel M, Ravess ML, Segall Y, Barak D, Shafferman A, Silman I, Sussman JL (1999) *Biochemistry* **38**: 7032.
- Miller SA, Tebbott JA, Tremaine JF (1952) *J. Chem. Soc.* 632.
- Mizutani N, Wada T, Yasuda T, Endo N, Yamaguchi T, Moriya S (2008) *Appl. Entomol. Zool.* **43**: 585.
- Mollerup S, Haugen A (1996) *Br. J. Cancer.* **74**: 613.
- Neises B, Steglich W (1978) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **17**: 522.
- Neises B, Steglich W (1990) *Coll.* **7**: 93.
- Neuse EW (2005) *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.* **15**: 3.
- Newman DJ, Cragg GM (2007) *J. Nat. Prod.* **70**: 461.
- Newman DJ, Cragg GM, Snader KM (2003) *J. Nat. Prod.* **66**: 1022.
- Nickavar B, Mojab F, Mojahedi A (2009) *Chem. Nat. Compd.* **45**: 443.
- Nicolaou KC, Cho SY, Hughes R, Winssinger N, Smethurst C, Labischinski H, Endermann R (2001a) *Chem. Eur. J.* **7**: 3798.
- Nicolaou KC, Hughes R, Pfefferkorn JA, Barluenga S, Roecker AJ (2001b) *Chem. Eur. J.* **7**: 4280.
- Nicolaou KC, Pastor J, Winssinger NC, Murphy F (1998) *J. Am. Chem. Soc.* **120**: 5132.
- Nicolaou KC, Pfefferkorn JA (2001) *Biopolymers*, **60**: 171.

- Nicolaou KC, Pfefferkorn J, Xu J, Winssinger N, Ohshima T, Kim S, Hosokawa S, Vourloumis D, van Delft F, Li T (1999) *Chem. Pharm. Bull.* **47**: 1199.
- Nicolaou KC, Winssinger N, Pastor J, Ninkovic S, Sarabia F, He Y, Vourloumis D, Yang Z, Li T, Giannakakou P, Hamel E (1997) *Nature*, **387**: 268.
- Nilakantan R, Immermann F, Haraki K (2002) *Comb. Chem. High T. Scr.* **5**: 105.
- Nori-Shargh D, Raftari S, Deyhimi F (2007) *Flavour Frag. J.* **22**: 350.
- Norin T, Strömberg S, Weber M (1973) *Acta Chem. Scand.* **27**: 1579.
- Obrecht D, Villalgordo JM (1998) *Solid-supported combinatorial and parallel synthesis of small-molecular-weight compound libraries*, Pergamon, Oxford, England.
- Okada N, Hirata A, Murakami Y, Shoji M, Sakagami H, Fujisawa S (2005) *Anticancer. Res.* **25**: 3263.
- Ortholand Y-Y, Ganesan A (2004) *Curr. Opin. Chem. Biol.* **8**: 271.
- Otera J (2003) *Esterification – Methods, Reactions, and Applications*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, Weinheim.
- Oxford Diffraction (2008) CrysAlis CCD and CrysAlis RED Versions 1.171.32.24, Oxford Diffraction Ltd., Abington, England.
- Pages N, Fournier G, Baduel C, Turt N, Rusnac M (1996) *Phytother. Res.* **10**: 438.
- Papageorgiou VP, Mellidis AS, Yannovits-Argiriadis N (1997) *Agro. Food. Ind. Hi-Tec*, **8**: 24.
- Park BS, Song YS, Yee SB, Lee BG, Seo SY, Park YC, Kim JM, Kim HM, Yoo YH (2005) *Apoptosis* **10**: 193.
- Pauli A, Kubeczka KH (2010) *Nat. Prod. Commun.* **9**: 1387.
- Pavlović M, Petrović S, Milenković M, Couladis M, Tzakou O, Niketić M (2011) *Nat. Prod. Commun.* **6**: 271.
- Pejović A, Damljanović I, Stevanović D, Vukićević M, Novaković SB, Bogdanović GA, Radulović N, Vukićević RD (2012a) *Polyhedron* **31**: 789.
- Pejović A, Denić MS, Stevanović D, Damljanović I, Vukićević M, Kostova K, Tavlinova-Kirilova M, Randelović P, Stojanović NM, Bogdanović GA, Blagojević P, D'hooghe M, Radulović NS, Vukićević RD (2014) *Eur. J. Med. Chem.* **83**: 57.
- Pejović A, Stevanović D, Damljanović I, Vukićević M, Novaković SB, Bogdanović GA, Mihajilov-Krstev T, Radulović N, Vukićević RD (2012b) *Helv. Chim. Acta.* **95**: 1425.
- Piggott AM, Karuso P (2004) *Comb. Chem. High Throughput Screen.* **7**: 607.

- Pimenov MG, Leonov MV (1993) *The genera of the Umbelliferae*, Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- Pinheiro MMG, Radulović NS, Miltojević AB, Boylan F, Fernandes PD (2014) *Eur. J. Pharmacol.* **727**: 106.
- Pisano M, Pagnan G, Loi M, Mura ME, Tilocca MG, Palmieri G, Fabbri D, Dettori MA, Delogo G, Ponzoni M, Rozzo C (2007) *Mol. Cancer.* **6**: 8.
- Pott MB, Hippauf F, Saschenbrecker S, Chen F, Ross J, Kiefer I, Slusarenko A, Noel JP, Pichersky E, Effmert U, Piechulla B (2004) *Plant Physiol.* **135**: 1946.
- Pradines B, Fusai T, Daries W, Laloge V, Rogier C, Millet P, Panconi E, Kombila M, Parzy D (2001) *J. Antimicrob. Chemother.* **48**: 179.
- Qiu J, Feng H, Lu J, Xiang H, Wang D, Dong J, Wang J, Wang X, Liu J, Deng X (2010) *Appl. Environ. Microb.* **76**: 5846.
- Radulović NS (2012) *Serbian Biochemical Society Second Conference University of Belgrade*, Belgrade, Serbia.
- Radulović NS, Blagojević PD, Palić RM (2009a) *Nat. Prod. Commun.* **4**: 405.
- Radulović NS, Blagojević PD, Randelović PJ, Stojanović NM (2013c) *Curr. Top. Med. Chem.* **13**: 2134.
- Radulović N, Blagojević P, Skropeta D, Zarubica A, Zlatković B, Palić R (2010) *Nat. Prod. Commun.* **5**: 121.
- Radulović NS, Blagojević PD, Zlatković BK, Palić RM (2009) *J. Chin. Chem. Soc.* **56**: 642.
- Radulović N, Denić M, Stojanović-Radić Z, Skropeta D (2012b) *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **89**: 2165.
- Radulović NS, Dekić MS, Randelović PJ, Stojanović NM, Zarubica A, Stojanović-Radić Z (2012a) *Food Chem. Toxicol.* **50**: 2016.
- Radulović N, Dekić M, Stojanović-Radić Z, Palić R, (2011) *Turk. J. Chem.* **35**: 1.
- Radulović NS, Mladenović MZ, Đorđević ND (2012c) *Chem. Biodiversity* **9**: 1320.
- Radulović N, Đorđević N, Zlatković B, Palić R (2008) *Chem. Pap.* **62**: 603.
- Radulović N, Zlatković B, Palić R, Stojanović G (2007) *Nat. Prod. Commun.* **2**: 453.
- Radulović NS, Denić MS, Stojanović-Radić ZZ (2013b) *Phytochem. Anal.* **25**: 75.
- Radulović NS, Zlatković DB, Randelović PJ, Stojanović NM, Novaković SB, Akhlaghi H (2013a) *Food Funct.* **4**: 1751.
- Rafiee E, Khodayari M, Joshaghani M (2011) *Can. J. Chem.* **89**: 1533.
- Ramage G, Milligan S, Lappin DF, Sherry L, Sweeney P, Williams C, Bagg J, Culshaw S (2012) *Front. Microbiol.* **3**: 220.

- Ratković Z, Juranić ZD, Stanojković T, Manojlović D, Vukićević RD, Radulović N, Joksović MD (2010) *Bioorg. Chem.* **38**: 26.
- Richardson IBK (1976) *Flora Europaea* vol. 4, Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Rico-Molina D, Aparicio-Ozores G, Dorantes-Alvarez L, Hernández-Sánchez H (2012) *Am. J. Food Technol.* **7**: 289.
- Rnjan N, Andreasen KF, Kumar S, Hyde-Volpe D, Arya DP (2010) *Biochemistry* **49**: 9891.
- Ross JR, Nam KH, D'Auria JC, Pichersky E (1999) *Arch. Biochem. Biophys.* **367**: 9.
- Rouhi AM (2003a) *Chem. Eng. News*, **81**: 77.
- Rouhi AM (2003b) *Chem. Eng. News*, **81**: 104.
- Saad NY, Muller CD, Lobstein A (2013) *Flavour Fragr. J.* **28**: 269.
- Sadeghian H, Seyedi SM, Saberi MR, Arghiania Z, Riazi M (2008) *Bioorgan. Med. Chem.* **16**: 890.
- Sanner MF (1999) *J. Mol. Graph. Model.* **17**: 57.
- Sankar U, Raju C, Uma R (2012) *Curr. Chem. Lett.* **1**: 123.
- Sartoratto A, Machado ALM, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MCT, Rehder VLG (2004) *Braz. J. Microbiol.* **35**: 275.
- Schreiber SL (2005) *Nat. Chem. Biol.* **1**: 64.
- Schultz HP (1989) *J. Chem. Inf. Comp. Sci.* **29**: 227.
- Senatore F, Napolitano F, Apostolides Arnold N, Bruno M, Herz W (2005) *Flavour Fragr. J.* **20**: 291.
- Shalit M, Guterman I, Volpin H, Bar E, Tamari T, Menda N, Adam Z, Zamir D, Vainstein A, Weiss D, Pichersky E, Lewinsohn E (2003) *Plant Physiol.* **131**: 1868.
- Shapiro S, Meier A, Guggenheim B (1994) *Oral Microbiol. Immunol.* **9**: 202.
- Sheldrick GM (2008) *Acta Crystallogr. A* **64**: 112.
- Simić N, Anđelković S, Palić R, Vajs V, Milosavljević S (2000) *Flavour Fragr. J.* **15**: 141.
- Šmelcerović A, Spiteller M, Ligon AP, Šmelcerović Ž, Raabe N (2007) *Biochem. Syst. Ecol.* **35**: 99.
- Sneader W (2000) *BMJ* **321**: 1591.
- Srivastava JK, Shankar E, Gupta S (2010) *Mol. Med. Rep.* **3**: 895.
- Staveren DR, Metzler-Nolte N (2004) *Chem. Rev.* **104**: 5931.
- Steglich W, Höfle G (1969) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **8**: 981.
- Stepnicka P (2008) *Ferrocenes: Ligands, materials and biomolecules*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK.

- St-Pierre B, Laflamme P, Alarco AM, De Luca V (1998) *Plant J.* **14**: 703.
- Suerbaev KA, Zhaksylykova GZ, Appazov NO (2013) *J. Pet. Environ. Biotechnol.* **4**: 1.
- Sussman JL, Harel M, Frolow F, Oefner C, Goldman A, Toker L, Silman I (1991) *Science* **253**: 872.
- Swarts JC, Swarts DM, Maree MD, Neuse EW, Madeleine C, Lier JE (2001) *Anticancer Res.* **21**: 2033.
- Terrett NK, Gardner M, Gordon DW, Kobylecki RJ, Steele J (1995) *Tetrahedron*, **30**: 8135.
- Thompson LA, Ellman JA (1996) *Chem. Rev.* **96**: 555.
- Tietze LF, Bell HP, Chandrasekhar S (2003) *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **42**: 3996.
- Tippayatum P, Chonhenchob V (2007) *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* **41**: 319.
- Tomczykowa M, Gudej J, Majda T, Gora J (2005) *J. Essent. Oil Res.* **17**: 632.
- Tomić A, Petrović S, Pavlović M, Couladis M, Tzakou O, Milenković M, Vučićević D (2008) *Chem. Nat. Compd.* **44**: 789.
- Top S, Vessieres A, Cabestaing C, Laios I, Leclercq G, Provot C, Jaouen G (2001) *J. Organometal. Chem.* **637**: 500.
- Torosyan GO, Gekchyan GG, Akopyan GS, Babayan ZR, Mkrtchyan AA, Babayan AT (1987) *Fiziologicheski Aktivnye Veshchestva* **19**: 9.
- Trifunović S, Milosavljević S, Vajs V, Macura S, Todorović N (2008) *Magn. Reson. Chem.* **46**: 427.
- Trott O, Olson AJ (2010) *J. Comput. Chem.* **31**: 455.
- Tümen G, Başer KHC (1997) *J. Essent. Oil Res.* **9**: 335.
- Vajs V, Milosavljević S, Tešević V, Živanović P, Jančić R, Todorović B, Slavkovska V (1995) *J. Essent. Oil Res.* **7**: 529.
- Van Poecke RMP, Posthumus MA, Dicke M (2001) *J. Chem. Ecol.* **27**: 1911.
- Van Staveren DR, Metzler-Nolte N (2004) *Chem. Rev.* **104**: 5931.
- Velasco-Negueruela A, Pérez-Alonso MJ, Burzaco A (1991) *J. Essent. Oil Res.* **3**: 469.
- Vermeulen C, Collin S (2002) *J. Agric. Food Chem.* **50**: 5654.
- Vermeulen C, Collin S (2003) *J. Agric. Food Chem.* **51**: 3618.
- Vermeulen C, Guyot-Declerck C, Collin S (2003) *J. Agric. Food Chem.* **51**: 3623.
- Vermeulen C, Pellaud J, Gijs L, Collin S (2001) *J. Agric. Food Chem.* **49**: 5445.
- Vučković I, Vujisić Lj, Stešević D, Radulović S, Lazić M, Milosavljević S (2010) *Phytother. Res.* **24**: 225.
- Walker K, Croteau R (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**: 583.
- Wang XQ, Tian YG (1999) *Zhongguo Yiyao Gongye Zazhi* **30**: 389.

- Wang SP, Xu FY, Zhang GZ, Zhang XW (2008) *Hebei Daxue Xuebao, Ziran Kexueban* **28**: 373.
- Warner TD, Mitchell JA (2002) *P. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**: 13371.
- Watson C (1999) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **38**: 1903.
- Whittle BA (1964) *Br. J. Pharmacol. Chemother.* **22**: 246.
- Wiener H (1947) *J. Am. Chem. Soc.* **69**: 17.
- Wilkinson G, Rosenblum M, Whiting MC, Woodward RB (1952) *J. Am. Chem. Soc.* **74**: 2125.
- Wilson SR, Czarnik AW (1997) *Combinatorial chemistry synthesis and applications*, Wiley, New York, USA.
- Woodward RB (1941) *J. Am. Chem. Soc.* **63**: 1123.
- Xiao X-Y, Parandoosh Z, Nova MP (1997) *J. Org. Chem.* **62**: 6029.
- Yan H, Wang Q, Wei F (1988) *Youji Huaxue* **8**: 346.
- Yasuda T, Mizutani N, Honda Y, Endo N, Yamaguchi T, Moriya S, Fukuda T, Sasaki R (2007) *Appl. Entomol. Zool.* **42**: 161.
- Yeary RA (1969) *Toxicol. Appl. Pharm.* **15**: 666.
- Zetler G (1983) *Eur. J. Pharmac.* **92**: 151.
- Zhang J, Zhao C, Rao X, Wang D, Liu X, Qin X, Zhang Z (2007) *Dongwu Xuebao* **53**: 616.
- Živanović P, Đoković D, Vajs V, Slavkovska V, Todorović B, Milosavljević S (1994) *Pharmazie* **49**: 463.

– Spisak priloga –

Prilog 8.1.1. Hemijski sastav etarskih ulja izolovanih iz biljnih vrsta *Achillea falcata* i *A. ageratifolia* subsp. *serbica*

Prilog 8.1.2. Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola [1]

Prilog 8.1.3. IR spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola [1]

Prilog 8.1.4. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola [1]

Prilog 8.1.5. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola [1]

Prilog 8.1.6. ¹H – ¹H COSY spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola [1]

Prilog 8.1.7. DEPT90 spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola [1]

Prilog 8.1.8. DEPT135 spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola [1]

Prilog 8.1.9. HSQC spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola [1]

Prilog 8.1.10. HMBC spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola [1]

Prilog 8.1.11. NOESY spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola [1]

Prilog 8.1.12. Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata [1a]

Prilog 8.1.13. IR spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata [1a]

Prilog 8.1.14. ¹H – ¹H COSY spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata [1a]

Prilog 8.1.15. DEPT90 spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata [1a]

Prilog 8.1.16. DEPT135 spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata [1a]

Prilog 8.1.17. HSQC spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata [1a]

Prilog 8.1.18. HMBC spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata [1a]

Prilog 8.1.19. NOESY spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata [1a]

Prilog 8.1.20. Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata [1b]

Prilog 8.1.21. IR spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata [1b]

Prilog 8.1.22. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata [1b]

Prilog 8.1.23. ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata [1b]

Prilog 8.1.24. ¹H – ¹H COSY spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata [1b]

Prilog 8.1.25. DEPT90 spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata [1b]

Prilog 8.1.26. DEPT135 spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata [1b]

Prilog 8.1.27. HSQC spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata [1b]

Prilog 8.1.28. HMBC spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata [1b]

Prilog 8.1.29. NOESY spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata [1b]

Prilog 8.1.30. Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-propanoata [1c]

Prilog 8.1.31. Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-izobutanoata [1d]

- Prilog 8.1.32.** Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-butanoata [1e]
- Prilog 8.1.33.** Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-2-metilbutanoata [1f]
- Prilog 8.1.34.** Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-3-metilbutanoata [1g]
- Prilog 8.1.35.** Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglata [1h]
- Prilog 8.1.36.** IR spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglata [1h]
- Prilog 8.1.37.** ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglata [1h]
- Prilog 8.1.38.** ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglata [1h]
- Prilog 8.1.39.** ¹H – ¹H COSY spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglata [1h]
- Prilog 8.1.40.** DEPT90 spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglata [1h]
- Prilog 8.1.41.** DEPT135 spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglata [1h]
- Prilog 8.1.42.** HSQC spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglata [1h]
- Prilog 8.1.43.** HMBC spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglata [1h]
- Prilog 8.1.44.** NOESY spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglata [1h]
- Prilog 8.1.45.** Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata [1i]
- Prilog 8.1.46.** IR spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata [1i]
- Prilog 8.1.47.** ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata [1i]
- Prilog 8.1.48.** ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata [1i]
- Prilog 8.1.49.** ¹H – ¹H COSY spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata [1i]
- Prilog 8.1.50.** DEPT90 spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata [1i]
- Prilog 8.1.51.** DEPT135 spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata [1i]
- Prilog 8.1.52.** HSQC spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata [1i]
- Prilog 8.1.53.** HMBC spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata [1i]
- Prilog 8.1.54.** NOESY spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata [1i]
- Prilog 8.1.55.** Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-angelata [1j]
- Prilog 8.1.56.** Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-nonanoata [1k]
- Prilog 8.1.57.** IR spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-nonanoata [1k]
- Prilog 8.1.58.** ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-nonanoata [1k]
- Prilog 8.1.59.** ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-nonanoata [1k]
- Prilog 8.1.60.** ¹H – ¹H COSY (CDCl₃) spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-nonanoata [1k]
- Prilog 8.1.61.** DEPT90 (CDCl₃) spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-nonanoata [1k]
- Prilog 8.1.62.** DEPT135 (CDCl₃) spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-nonanoata [1k]
- Prilog 8.1.63.** HSQC (CDCl₃) spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-nonanoata [1k]
- Prilog 8.1.64.** HMBC (CDCl₃) spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-nonanoata [1k]
- Prilog 8.1.65.** NOESY (CDCl₃) spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-nonanoata [1k]

- Prilog 8.1.66.** ^1H NMR (400 MHz, C_6D_6) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-nonanoata [1k]
- Prilog 8.1.67.** ^{13}C NMR (101 MHz, C_6D_6) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-nonanoata [1k]
- Prilog 8.1.68.** $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY (C_6D_6) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-nonanoata [1k]
- Prilog 8.1.69.** DEPT90 (C_6D_6) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-nonanoata [1k]
- Prilog 8.1.70.** DEPT135 (C_6D_6) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-nonanoata [1k]
- Prilog 8.1.71.** HSQC (C_6D_6) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-nonanoata [1k]
- Prilog 8.1.72.** HMBC (C_6D_6) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-nonanoata [1k]
- Prilog 8.1.73.** NOESY (C_6D_6) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-nonanoata [1k]
- Prilog 8.1.74.** ^{13}C NMR (101 MHz, C_6D_6) spektar bez heteronuklearnog dekuplovanja ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-nonanoata [1k]
- Prilog 8.1.75.** Maseni spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-dekanoata [1l]
- Prilog 8.1.76.** IR spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-dekanoata [1l]
- Prilog 8.1.77.** ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-dekanoata [1l]
- Prilog 8.1.78.** ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-dekanoata [1l]
- Prilog 8.1.79.** $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY (CDCl_3) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-dekanoata [1l]
- Prilog 8.1.80.** DEPT90 (CDCl_3) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-dekanoata [1l]
- Prilog 8.1.81.** DEPT135 (CDCl_3) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-dekanoata [1l]
- Prilog 8.1.82.** HSQC (CDCl_3) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-dekanoata [1l]
- Prilog 8.1.83.** HMBC (CDCl_3) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-dekanoata [1l]
- Prilog 8.1.84.** NOESY (CDCl_3) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-dekanoata [1l]
- Prilog 8.1.85.** ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar bez heteronuklearnog dekuplovanja ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-dekanoata [1l]
- Prilog 8.1.86.** ^1H NMR (400 MHz, C_6D_6) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-dekanoata [1l]
- Prilog 8.1.87.** ^{13}C NMR (101 MHz, C_6D_6) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-dekanoata [1l]
- Prilog 8.1.88.** $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY (C_6D_6) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-dekanoata [1l]
- Prilog 8.1.89.** DEPT90 (C_6D_6) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-dekanoata [1l]
- Prilog 8.1.90.** DEPT135 (C_6D_6) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-dekanoata [1l]
- Prilog 8.1.91.** HSQC (C_6D_6) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-dekanoata [1l]
- Prilog 8.1.92.** HMBC (C_6D_6) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-dekanoata [1l]
- Prilog 8.1.93.** NOESY (C_6D_6) spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-dekanoata [1l]
- Prilog 8.1.94.** Maseni spektar ($1R^*, 3S^*, 5R^*$)-sabinil-benzoata [1m]
- Prilog 8.2.1.** Hemijski sastav etarskih ulja izolovanih iz vrsta *Scandix balansae* i *Scandix pecten-veneris*
- Prilog 8.2.2.** Maseni spektar tridecil-izobutanoata [2a]

- Prilog 8.2.3.** IR spektar tridecil-izobutanoata [2a]
- Prilog 8.2.4.** ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar tridecil-izobutanoata [2a]
- Prilog 8.2.5.** ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar tridecil-izobutanoata [2a]
- Prilog 8.2.6.** Maseni spektar tridecil-2-metilbutanoata [2b]
- Prilog 8.2.7.** IR spektar tridecil-2- metilbutanoata [2b]
- Prilog 8.2.8.** ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar tridecil-2-metilbutanoata [2b]
- Prilog 8.2.9.** ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar tridecil-2-metilbutanoata [2b]
- Prilog 8.2.10.** Maseni spektar tridecil-3-metilbutanoata [2c]
- Prilog 8.2.11.** IR spektar tridecil-3-metilbutanoata [2c]
- Prilog 8.2.12.** ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar tridecil-3-metilbutanoata [2c]
- Prilog 8.2.13.** ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar tridecil-3-metilbutanoata [2c]
- Prilog 8.2.14.** Maseni spektar tetradecil-izobutanoata [2d]
- Prilog 8.2.15.** IR spektar tetradecil-izobutanoata [2d]
- Prilog 8.2.16.** ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar tetradecil-izobutanoata [2d]
- Prilog 8.2.17.** ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar tetradecil-izobutanoata [2d]
- Prilog 8.2.18.** Maseni spektar tetradecil-3-metilbutanoata [2e]
- Prilog 8.2.19.** IR spektar tetradecil-3-metilbutanoata [2e]
- Prilog 8.2.20.** ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar tetradecil-3-metilbutanoata [2e]
- Prilog 8.2.21.** ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar tetradecil-3-metilbutanoata [2e]
- Prilog 8.2.22.** Maseni spektar pentadecil-izobutanoata [2f]
- Prilog 8.2.23.** IR spektar pentadecil-izobutanoata [2f]
- Prilog 8.2.24.** ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar pentadecil-izobutanoata [2f]
- Prilog 8.2.25.** ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar pentadecil-izobutanoata [2f]
- Prilog 8.2.26.** Maseni spektar pentadecil-izobutanoata [2g]
- Prilog 8.2.27.** IR spektar pentadecil-izobutanoata [2g]
- Prilog 8.2.28.** ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar pentadecil-2-metilbutanoata [2g]
- Prilog 8.2.29.** ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar pentadecil-2-metilbutanoata [2g]
- Prilog 8.2.30.** Maseni spektar pentadecil-3-metilbutanoata [2h]
- Prilog 8.2.31.** IR spektar pentadecil-3-metilbutanoata [2h]
- Prilog 8.2.32.** ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar pentadecil-3-metilbutanoata [2h]
- Prilog 8.2.33.** ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar pentadecil-3-metilbutanoata [2h]
- Prilog 8.2.34.** Maseni spektar heksadecil-izobutanoata [2i]
- Prilog 8.2.35.** IR spektar heksadecil-izobutanoata [2i]
- Prilog 8.2.36.** ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar heksadecil-izobutanoata [2i]

- Prilog 8.2.37.** ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar heksadecil-izobutanoata [2i]
- Prilog 8.2.38.** Maseni spektar heksadecil-3-metilbutanoata [2j]
- Prilog 8.2.39.** IR spektar heksadecil-3-metilbutanoata [2j]
- Prilog 8.2.40.** ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar heksadecil-3-metilbutanoata [2j]
- Prilog 8.2.41.** ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar heksadecil-3-metilbutanoata [2j]
- Prilog 8.2.42.** Maseni spektar heptadecil-izobutanoata [2k]
- Prilog 8.2.43.** IR spektar heptadecil-izobutanoata [2k]
- Prilog 8.2.44.** ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar heptadecil-izobutanoata [2k]
- Prilog 8.2.45.** ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar heptadecil-izobutanoata [2k]
- Prilog 8.2.46.** Maseni spektar heptadecil-2-metilbutanoata [2l]
- Prilog 8.2.47.** IR spektar heptadecil-2-metilbutanoata [2l]
- Prilog 8.2.48.** ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar heptadecil-2-metilbutanoata [2l]
- Prilog 8.2.49.** ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar heptadecil-2-metilbutanoata [2l]
- Prilog 8.2.50.** Maseni spektar heptadecil-3-metilbutanoata [2m]
- Prilog 8.2.51.** IR spektar heptadecil-3-metilbutanoata [2m]
- Prilog 8.2.52.** ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar heptadecil-3-metilbutanoata [2m]
- Prilog 8.2.53.** ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar heptadecil-3-metilbutanoata [2m]
- Prilog 8.2.54.** Maseni spektar oktadecil-izobutanoata [2n]
- Prilog 8.2.55.** IR spektar oktadecil-izobutanoata [2n]
- Prilog 8.2.56.** ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar oktadecil-izobutanoata [2n]
- Prilog 8.2.57.** ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar oktadecil-izobutanoata [2n]
- Prilog 8.2.58.** Maseni spektar oktadecil-butanoata [2o]
- Prilog 8.2.59.** IR spektar oktadecil-butanoata [2o]
- Prilog 8.2.60.** ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar oktadecil-butanoata [2o]
- Prilog 8.2.61.** ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar oktadecil-butanoata [2o]
- Prilog 8.2.62.** Maseni spektar oktadecil-2-metilbutanoata [2p]
- Prilog 8.2.63.** IR spektar oktadecil-2-metilbutanoata [2p]
- Prilog 8.2.64.** ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar oktadecil-2-metilbutanoata [2p]
- Prilog 8.2.65.** ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar oktadecil-2-metilbutanoata [2p]
- Prilog 8.2.66.** Maseni spektar oktadecil-3-metilbutanoata [2q]
- Prilog 8.2.67.** IR spektar oktadecil-3-metilbutanoata [2q]
- Prilog 8.2.68.** ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar oktadecil-3-metilbutanoata [2q]
- Prilog 8.2.69.** ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar oktadecil-3-metilbutanoata [2q]
- Prilog 8.2.70.** Maseni spektar oktadecil-pentanoata [2r]

Prilog 8.2.71. IR spektar okta decil-pentanoata [2r]

Prilog 8.2.72. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar okta decil-pentanoata [2r]

Prilog 8.2.73. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar okta decil-pentanoata [2r]

Prilog 8.2.74. Maseni spektar heneikozil-izobutanoata [2s]

Prilog 8.2.75. IR spektar heneikozil-izobutanoata [2s]

Prilog 8.2.76. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar heneikozil-izobutanoata [2s]

Prilog 8.2.77. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar heneikozil-izobutanoata [2s]

Prilog 8.2.78. Maseni spektar trikozil-izobutanoata [2t]

Prilog 8.2.79. IR spektar trikozil-izobutanoata [2t]

Prilog 8.2.80. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar trikozil-izobutanoata [2t]

Prilog 8.2.81. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar trikozil-izobutanoata [2t]

Prilog 8.2.82. Skraćenice uzoraka predhodno analiziranih etarskih ulja biljnih vrsta iz plemena Scandiceae iskorišćenih za multivarijantnu statističku analizu

Prilog 8.3.1. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-formijata (eugenil-formijata) [3a]

Prilog 8.3.2. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-acetata (eugenil-acetata) [3b]

Prilog 8.3.3. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-propanoata (eugenil-propanoata) [3c]

Prilog 8.3.4. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-izobutanoata (eugenil-izobutanoata) [3d]

Prilog 8.3.5. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-butanoata (eugenil-butanoata) [3e]

Prilog 8.3.6. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoata (eugenil-2-metilbutanoata) [3f]

Prilog 8.3.7. IR spektar 4-alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoata (eugenil-2-metilbutanoata) [3f]

Prilog 8.3.8. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoata (eugenil-2-metilbutanoata) [3f]

Prilog 8.3.9. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoata (eugenil-2-metilbutanoata) [3f]

Prilog 8.3.10. ^1H – ^1H COSY spektar 4-alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoata (eugenil-2-metilbutanoata) [3f]

Prilog 8.3.11. DEPT spektar 4-alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoata (eugenil-2-metilbutanoata) [3f]

Prilog 8.3.12. HSQC spektar 4-alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoata (eugenil-2-metilbutanoata) [3f]

Prilog 8.3.13. HMBC spektar 4-alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoata (eugenil-2-metilbutanoata) [3f]

Prilog 8.3.14. NOESY spektar 4-alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoata (eugenil-2-metilbutanoata) [3f]

Prilog 8.3.15. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata (eugenil-3-metilbutanoata) [3g]

Prilog 8.3.16. IR spektar 4-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata (eugenil-3-metilbutanoata) [3g]

Prilog 8.3.17. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata (eugenil-3-metilbutanoata) [3g]

Prilog 8.3.18. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata (eugenil-3-metilbutanoata) [3g]

Prilog 8.3.19. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar 4-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata (eugenil-3-metilbutanoata) [3g]

Prilog 8.3.20. DEPT spektar 4-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata (eugenil-3-metilbutanoata) [3g]

Prilog 8.3.21. HSQC spektar 4-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata (eugenil-3-metilbutanoata) [3g]

Prilog 8.3.22. HMBC spektar 4-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata (eugenil-3-metilbutanoata) [3g]

Prilog 8.3.23. NOESY spektar 4-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata (eugenil-3-metilbutanoata) [3g]

Prilog 8.3.24. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-pentanoata (eugenil-pentanoata) [3h]

Prilog 8.3.25. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-angelata (eugenil-angelata) [3i]

Prilog 8.3.26. IR spektar 4-alil-2-metoksifenil-angelata (eugenil-angelata) [3i]

Prilog 8.3.27. DEPT spektar 4-alil-2-metoksifenil-angelata (eugenil-angelata) [3i]

Prilog 8.3.28. NOESY spektar 4-alil-2-metoksifenil-angelata (eugenil-angelata) [3i]

Prilog 8.3.29. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-senecioata (eugenil-senecioata) [3j]

Prilog 8.3.30. IR spektar 4-alil-2-metoksifenil-senecioata (eugenil-senecioata) [3j]

Prilog 8.3.31. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-senecioata (eugenil-senecioata) [3j]

Prilog 8.3.32. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-senecioata (eugenil-senecioata) [3j]

Prilog 8.3.33. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar 4-alil-2-metoksifenil-senecioata (eugenil-senecioata) [3j]

Prilog 8.3.34. DEPT spektar 4-alil-2-metoksifenil-senecioata (eugenil-senecioata) [3j]

- Prilog 8.3.35.** HSQC spektar 4-alil-2-metoksifenil-senecioata (eugenil-senecioata) [3j]
- Prilog 8.3.36.** HMBC spektar 4-alil-2-metoksifenil-senecioata (eugenil-senecioata) [3j]
- Prilog 8.3.37.** NOESY spektar 4-alil-2-metoksifenil-senecioata (eugenil-senecioata) [3j]
- Prilog 8.3.38.** Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-tiglata (eugenil-tiglata) [3k]
- Prilog 8.3.39.** IR spektar 4-alil-2-metoksifenil-tiglata (eugenil-tiglata) [3k]
- Prilog 8.3.40.** ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-tiglata (eugenil-tiglata) [3k]
- Prilog 8.3.41.** ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-tiglata (eugenil-tiglata) [3k]
- Prilog 8.3.42.** ^1H – ^1H COSY spektar 4-alil-2-metoksifenil-tiglata (eugenil-tiglata) [3k]
- Prilog 8.3.43.** DEPT spektar 4-alil-2-metoksifenil-tiglata (eugenil-tiglata) [3k]
- Prilog 8.3.44.** HSQC spektar 4-alil-2-metoksifenil-tiglata (eugenil-tiglata) [3k]
- Prilog 8.3.45.** HMBC spektar 4-alil-2-metoksifenil-tiglata (eugenil-tiglata) [3k]
- Prilog 8.3.46.** NOESY spektar 4-alil-2-metoksifenil-tiglata (eugenil-tiglata) [3k]
- Prilog 8.3.47.** Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-heksanoata (eugenil-heksanoata) [3l]
- Prilog 8.3.48.** Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-heptanoata (eugenil-heptanoata) [3m]
- Prilog 8.3.49.** Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-oktanoata (eugenil-oktanoata) [3n]
- Prilog 8.3.50.** IR spektar 4-alil-2-metoksifenil-oktanoata (eugenil-oktanoata) [3n]
- Prilog 8.3.51.** ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-oktanoata (eugenil-oktanoata) [3n]
- Prilog 8.3.52.** ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-oktanoata (eugenil-oktanoata) [3n]
- Prilog 8.3.53.** ^1H – ^1H COSY spektar 4-alil-2-metoksifenil-oktanoata (eugenil-oktanoata) [3n]
- Prilog 8.3.54.** DEPT spektar 4-alil-2-metoksifenil-oktanoata (eugenil-oktanoata) [3n]
- Prilog 8.3.55.** HSQC spektar 4-alil-2-metoksifenil-oktanoata (eugenil-oktanoata) [3n]
- Prilog 8.3.56.** HMBC spektar 4-alil-2-metoksifenil-oktanoata (eugenil-oktanoata) [3n]
- Prilog 8.3.57.** NOESY spektar 4-alil-2-metoksifenil-oktanoata (eugenil-oktanoata) [3n]
- Prilog 8.3.58.** Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-nonanoata (eugenil-nonanoata) [3o]
- Prilog 8.3.59.** Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-dekanoata (eugenil-dekanoata) [3p]
- Prilog 8.3.60.** Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-dodekanoata (eugenil-dodekanoata) [3q]
- Prilog 8.3.61.** Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-tetradekanoata (eugenil-tetradekanoata) [3r]

Prilog 8.3.62. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-heksadekanoata (eugenil-heksadekanoata) [3s]

Prilog 8.3.63. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-oktadekanoata (eugenil-oktadekanoata) [3t]

Prilog 8.3.64. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-(Z)-9-oktadecenoata (eugenil-(Z)-9-oktadecenoata) [3u]

Prilog 8.3.65. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-benzoata (eugenil-benzoata) [3v]

Prilog 8.3.66. IR spektar 4-alil-2-metoksifenil-benzoata (eugenil-benzoata) [3v]

Prilog 8.3.67. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-benzoata (eugenil-benzoata) [3v]

Prilog 8.3.68. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-benzoata (eugenil-benzoata) [3v]

Prilog 8.3.69. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar 4-alil-2-metoksifenil-benzoata (eugenil-benzoata) [3v]

Prilog 8.3.70. DEPT spektar 4-alil-2-metoksifenil-benzoata (eugenil-benzoata) [3v]

Prilog 8.3.71. HSQC spektar 4-alil-2-metoksifenil-benzoata (eugenil-benzoata) [3v]

Prilog 8.3.72. HMBC spektar 4-alil-2-metoksifenil-benzoata (eugenil-benzoata) [3v]

Prilog 8.3.73. NOESY spektar 4-alil-2-metoksifenil-benzoata (eugenil-benzoata) [3v]

Prilog 8.3.74. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-salicilata (eugenil-salicilata) [3w]

Prilog 8.3.75. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-formijata [4a]

Prilog 8.3.76. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-acetata [4b]

Prilog 8.3.77. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-propanoata [4c]

Prilog 8.3.78. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-izobutanoata [4d]

Prilog 8.3.79. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-butanoata [4e]

Prilog 8.3.80. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-2-metilbutanoata [4f]

Prilog 8.3.81. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-3-metilbutanoata [4g]

Prilog 8.3.82. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-pentanoata [4h]

Prilog 8.3.83. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-angelata [4i]

Prilog 8.3.84. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-senecioata [4j]

Prilog 8.3.85. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-tiglata [4k]

Prilog 8.3.86. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-heksanoata [4l]

Prilog 8.3.87. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-heptanoata [4m]

Prilog 8.3.88. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-oktanoata [4n]

Prilog 8.3.89. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-nonanoata [4o]

Prilog 8.3.90. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-dekanoata [4p]

- Prilog 8.3.91.** Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-dodekanoata [4q]
- Prilog 8.3.92.** Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-tetradekanoata [4r]
- Prilog 8.3.93.** Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-heksadekanoata [4s]
- Prilog 8.3.94.** Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-oktadekanoata [4t]
- Prilog 8.3.95.** Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-(Z)-9-octadecenoata [4u]
- Prilog 8.3.96.** Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-benzoata [4v]
- Prilog 8.3.97.** Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-salicilata [4w]
- Prilog 8.3.98.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-formijata [5a]
- Prilog 8.3.99.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-acetata [5b]
- Prilog 8.3.100.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-propanoata [5c]
- Prilog 8.3.101.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-izobutanoata [5d]
- Prilog 8.3.102.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-butanoata [5e]
- Prilog 8.3.103.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-2-metilbutanoata [5f]
- Prilog 8.3.104.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-3-metilbutanoata [5g]
- Prilog 8.3.105.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-pentanoata [5h]
- Prilog 8.3.106.** IR spektar 2-alil-3-metoksifenil-pentanoata [5h]
- Prilog 8.3.107.** ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) spektar 2-alil-3-metoksifenil-pentanoata [5h]
- Prilog 8.3.108.** ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) spektar 2-alil-3-metoksifenil-pentanoata [5h]
- Prilog 8.3.109.** $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar 2-alil-3-metoksifenil-pentanoata [5h]
- Prilog 8.3.110.** DEPT spektar 2-alil-3-metoksifenil-pentanoata [5h]
- Prilog 8.3.111.** HSQC spektar 2-alil-3-metoksifenil-pentanoata [5h]
- Prilog 8.3.112.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-angelata [5i]
- Prilog 8.3.113.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-senecioata [5j]
- Prilog 8.3.114.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-tiglata [5k]
- Prilog 8.3.115.** IR spektar 2-alil-3-metoksifenil-tiglata [5k]
- Prilog 8.3.116.** ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) spektar 2-alil-3-metoksifenil-tiglata [5k]
- Prilog 8.3.117.** ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) spektar 2-alil-3-metoksifenil-tiglata [5k]
- Prilog 8.3.118.** $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar 2-alil-3-metoksifenil-tiglata [5k]
- Prilog 8.3.119.** DEPT spektar 2-alil-3-metoksifenil-tiglata [5k]
- Prilog 8.3.120.** HSQC spektar 2-alil-3-metoksifenil-tiglata [5k]
- Prilog 8.3.121.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-heksanoata [5l]
- Prilog 8.3.122.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-heptanoata [5m]
- Prilog 8.3.123.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-oktanoata [5n]
- Prilog 8.3.124.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-nonanoata [5o]

- Prilog 8.3.125.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-dekanoata [5p]
- Prilog 8.3.126.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-dodekanoata [5q]
- Prilog 8.3.127.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-tetradekanoata [5r]
- Prilog 8.3.128.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-heksadekanoata [5s]
- Prilog 8.3.129.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-oktadekanoata [5t]
- Prilog 8.3.130.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-(Z)-9-oktadecenoata [5u]
- Prilog 8.3.131.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-benzoata [5v]
- Prilog 8.3.132.** Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-salicilata [5w]
- Prilog 8.3.133.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-formijata [6a]
- Prilog 8.3.134.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-acetata [6b]
- Prilog 8.3.135.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-propanoata [6c]
- Prilog 8.3.136.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-izobutanoata [6d]
- Prilog 8.3.137.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-butanoata [6e]
- Prilog 8.3.138.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-2-metilbutanoata [6f]
- Prilog 8.3.139.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-3-metilbutanoata [6g]
- Prilog 8.3.140.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-pentanoata [6h]
- Prilog 8.3.141.** IR spektar 2-alil-5-metoksifenil-pentanoata [6h]
- Prilog 8.3.142.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-angelata [6i]
- Prilog 8.3.143.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-senecioata [6j]
- Prilog 8.3.144.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-tiglata [6k]
- Prilog 8.3.145.** IR spektar 2-alil-5-metoksifenil-tiglata [6k]
- Prilog 8.3.146.** ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) spektar 2-alil-5-metoksifenil-tiglata [6k]
- Prilog 8.3.147.** ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) spektar 2-alil-5-metoksifenil-tiglata [6k]
- Prilog 8.3.148.** ^1H – ^1H COSY spektar 2-alil-5-metoksifenil-tiglata [6k]
- Prilog 8.3.149.** DEPT spektar 2-alil-5-metoksifenil-tiglata [6k]
- Prilog 8.3.150.** HSQC spektar 2-alil-5-metoksifenil-tiglata [6k]
- Prilog 8.3.151.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-heksanoata [6l]
- Prilog 8.3.152.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-heptanoata [6m]
- Prilog 8.3.153.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-oktanoata [6n]
- Prilog 8.3.154.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-nonanoata [6o]
- Prilog 8.3.155.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-dekanoata [6p]
- Prilog 8.3.156.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-dodekanoata [6q]
- Prilog 8.3.157.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-tetradekanoata [6r]
- Prilog 8.3.158.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-heksadekanoata [6s]

- Prilog 8.3.159.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-oktadekanoata [6t]
- Prilog 8.3.160.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-(Z)-9-octadecenoata [6u]
- Prilog 8.3.161.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-benzoata [6v]
- Prilog 8.3.162.** Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-salicilata [6w]
- Prilog 8.3.163.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-formijata [7a]
- Prilog 8.3.164.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-acetata [7b]
- Prilog 8.3.165.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-propanoata [7c]
- Prilog 8.3.166.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-izobutanoata [7d]
- Prilog 8.3.167.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-butanoata [7e]
- Prilog 8.3.168.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-2-metilbutanoata [7f]
- Prilog 8.3.169.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-3-metilbutanoata [7g]
- Prilog 8.3.170.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-pentanoata [7h]
- Prilog 8.3.171.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-angelata [7i]
- Prilog 8.3.172.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-senecioata [7j]
- Prilog 8.3.173.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-tiglata [7k]
- Prilog 8.3.174.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-heksanoata [7l]
- Prilog 8.3.175.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-heptanoata [7m]
- Prilog 8.3.176.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-oktanoata [7n]
- Prilog 8.3.177.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-nonanoata [7o]
- Prilog 8.3.178.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-dekanoata [7p]
- Prilog 8.3.179.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-dodekanoata [7q]
- Prilog 8.3.180.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-tetradekanoata [7r]
- Prilog 8.3.181.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-heksadekanoata [7s]
- Prilog 8.3.182.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-oktadekanoata [7t]
- Prilog 8.3.183.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-(Z)-9-octadecenoata [7u]
- Prilog 8.3.184.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-benzoata [7v]
- Prilog 8.3.185.** Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-salicilata [7w]
- Prilog 8.3.186.** Maseni spektar 5-alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoata [8a]
- Prilog 8.3.187.** Maseni spektar 5-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata [8b]
- Prilog 8.3.188.** Maseni spektar 5-alil-2-metoksifenil-pentanoata [8c]
- Prilog 8.3.189.** Maseni spektar 5-alil-2-metoksifenil-angelata [8d]
- Prilog 8.3.190.** Maseni spektar 5-alil-2-metoksifenil-senecioata [8e]
- Prilog 8.3.191.** Maseni spektar 5-alil-2-metoksifenil-tiglata [8f]
- Prilog 8.3.192.** Maseni spektar 3-alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoata [9a]

- Prilog 8.3.193.** Maseni spektar 3-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata [9b]
- Prilog 8.3.194.** Maseni spektar 3-alil-2-metoksifenil-pentanoata [9c]
- Prilog 8.3.195.** Maseni spektar 3-alil-2-metoksifenil-angelata [9d]
- Prilog 8.3.196.** Maseni spektar 3-alil-2-metoksifenil-senecioata [9e]
- Prilog 8.3.197.** Maseni spektar 3-alil-2-metoksifenil-tiglata [9f]
- Prilog 8.3.198.** Maseni spektar 4-alil-3-metoksifenil-2-metilbutanoata [10a]
- Prilog 8.3.199.** Maseni spektar 4-alil-3-metoksifenil-3-metilbutanoata [10b]
- Prilog 8.3.200.** Maseni spektar 4-alil-3-metoksifenil-pentanoata [10c]
- Prilog 8.3.201.** Maseni spektar 4-alil-3-metoksifenil-angelata [10d]
- Prilog 8.3.202.** Maseni spektar 4-alil-3-metoksifenil-senecioata [10e]
- Prilog 8.3.203.** Maseni spektar 4-alil-3-metoksifenil-tiglata [10f]
- Prilog 8.3.204.** Maseni spektar 3-alil-4-metoksifenil-2-metilbutanoata [11a]
- Prilog 8.3.205.** Maseni spektar 3-alil-4-metoksifenil-3-metilbutanoata [11b]
- Prilog 8.3.206.** Maseni spektar 3-alil-4-metoksifenil-pentanoata [11c]
- Prilog 8.3.207.** Maseni spektar 3-alil-4-metoksifenil-angelata [11d]
- Prilog 8.3.208.** Maseni spektar 3-alil-4-metoksifenil-senecioata [11e]
- Prilog 8.3.209.** Maseni spektar 3-alil-4-metoksifenil-tiglata [11f]
- Prilog 8.3.210.** QSAR jednačine za izračunavanje teorijskih vrednosti retencionih indeksa estara regioizomera alilmetoksifenola (**M**olekulski **T**opološki **I**ndeks (**MTI**), **B**alabanov (**B**) i **V**inerov (**W**iener; **W**) indeks)
- Prilog 8.4.1.** Maseni spektar metil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoata [12a]
- Prilog 8.4.2.** IR spektar metil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoata [12a]
- Prilog 8.4.3.** ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoata [12a]
- Prilog 8.4.4.** ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoata [12a]
- Prilog 8.4.5.** Maseni spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b]
- Prilog 8.4.6.** IR spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b]
- Prilog 8.4.7.** ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b]
- Prilog 8.4.8.** ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b]
- Prilog 8.4.9.** DEPT spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b]
- Prilog 8.4.10.** NOESY spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b]

Prilog 8.4.11. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b] nakon dodavanja 3 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)

Prilog 8.4.12. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b] nakon dodavanja 3 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)

Prilog 8.4.13. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b] nakon dodavanja 6 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)

Prilog 8.4.14. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b] nakon dodavanja 6 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)

Prilog 8.4.15. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b] nakon dodavanja 9 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)

Prilog 8.4.16. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b] nakon dodavanja 9 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)

Prilog 8.4.17. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b] nakon dodavanja 12 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)

Prilog 8.4.18. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b] nakon dodavanja 12 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)

Prilog 8.4.19. Maseni spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-etil-3-oksobutanoata [12c]

Prilog 8.4.20. IR spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-etil-3-oksobutanoata [12c]

Prilog 8.4.21. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-etil-3-oksobutanoata [12c]

Prilog 8.4.22. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-etil-3-oksobutanoata [12c]

Prilog 8.4.23. Maseni spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]

Prilog 8.4.24. IR spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]

Prilog 8.4.25. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]

Prilog 8.4.26. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]

Prilog 8.4.27. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]

Prilog 8.4.28. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]

Prilog 8.4.29. ^1H – ^1H COSY spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]

Prilog 8.4.30. DEPT spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]

- Prilog 8.4.31.** HSQC spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]
- Prilog 8.4.32.** HMBC spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]
- Prilog 8.4.33.** NOESY spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]
- Prilog 8.4.34.** ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 3 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)
- Prilog 8.4.35.** ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 3 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)
- Prilog 8.4.36.** ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 6 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)
- Prilog 8.4.37.** ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 6 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)
- Prilog 8.4.38.** ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 9 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)
- Prilog 8.4.39.** ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 9 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)
- Prilog 8.4.40.** ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 12 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)
- Prilog 8.4.41.** ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 12 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)
- Prilog 8.4.42.** ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 15 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)
- Prilog 8.4.43.** ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 15 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)
- Prilog 8.4.44.** ^1H – ^1H COSY spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 15 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)
- Prilog 8.4.45.** DEPT spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 15 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)
- Prilog 8.4.46.** HSQC spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 15 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)
- Prilog 8.4.47.** HMBC spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 15 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)
- Prilog 8.4.48.** NOESY spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 15 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)

Prilog 8.4.49. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 18 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)

Prilog 8.4.50. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 18 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)

Prilog 8.4.51. Maseni spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-4-metilpent-4-enoata [12e]

Prilog 8.4.52. IR spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-4-metilpent-4-enoata [12e]

Prilog 8.4.53. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-4-metilpent-4-enoata [12e]

Prilog 8.4.54. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-4-metilpent-4-enoata [12e]

Prilog 8.4.55. Maseni spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]

Prilog 8.4.56. IR spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]

Prilog 8.4.57. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]

Prilog 8.4.58. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]

Prilog 8.4.59. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]

Prilog 8.4.60. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]

Prilog 8.4.61. ^1H – ^1H COSY spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]

Prilog 8.4.62. DEPT spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]

Prilog 8.4.63. HSQC spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]

Prilog 8.4.64. HMBC spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]

Prilog 8.4.65. NOESY spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]

Prilog 8.4.66. Maseni spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)oktanoata [12g]

Prilog 8.4.67. IR spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)oktanoata [12g]

Prilog 8.4.68. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)oktanoata [12g]

Prilog 8.4.69. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)oktanoata [12g]

Prilog 8.4.70. Maseni spektar metil-2-benzil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoata [12h]

Prilog 8.4.71. IR spektar metil-2-benzil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoata [12h]

Prilog 8.4.72. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-benzil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoata [12h]

Prilog 8.4.73. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-benzil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoata [12h]

Prilog 8.4.74. Maseni spektar metil-2-benzil-3-oksobutanoata [13a]

Prilog 8.4.75. IR spektar metil-2-benzil-3-oksobutanoata [13a]

Prilog 8.4.76. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-benzil-3-oksobutanoata [13a]

Prilog 8.4.77. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-benzil-3-oksobutanoata [13a]

Prilog 8.4.78. Maseni spektar metil-2-benzil-2-metil-3-oksobutanoata [13b]

Prilog 8.4.79. IR spektar metil-2-benzil-2-metil-3-oksobutanoata [13b]

Prilog 8.4.80. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-benzil-2-metil-3-oksobutanoata [13b]

Prilog 8.4.81. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-benzil-2-metil-3-oksobutanoata [13b]

Prilog 8.4.82. Maseni spektar metil-2-benzil-2-etil-3-oksobutanoata [13c]

Prilog 8.4.83. IR spektar metil-2-benzil-2-etil-3-oksobutanoata [13c]

Prilog 8.4.84. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-benzil-2-etil-3-oksobutanoata [13c]

Prilog 8.4.85. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-benzil-2-etil-3-oksobutanoata [13c]

Prilog 8.4.86. Maseni spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]

Prilog 8.4.87. IR spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]

Prilog 8.4.88. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]

Prilog 8.4.89. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]

Prilog 8.4.90. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]

Prilog 8.4.91. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]

Prilog 8.4.92. ^1H – ^1H COSY spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]

Prilog 8.4.93. DEPT spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]

Prilog 8.4.94. HSQC spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]

Prilog 8.4.95. HMBC spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]

Prilog 8.4.96. NOESY spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]

Prilog 8.4.97. Maseni spektar metil-2-acetil-2-benzil-4-metilpent-4-enoata [13e]

Prilog 8.4.98. IR spektar metil-2-acetil-2-benzil-4-metilpent-4-enoata [13e]

Prilog 8.4.99. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-benzil-4-metilpent-4-enoata [13e]

Prilog 8.4.100. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-benzil-4-metilpent-4-enoata [13e]

Prilog 8.4.101. Maseni spektar metil-2-acetil-2-benzil-5-metilheks-4-enoata [13f]

Prilog 8.4.102. IR spektar metil-2-acetil-2-benzil-5-metilheks-4-enoata [13f]

Prilog 8.4.103. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-benzil-5-metilheks-4-enoata [13f]

Prilog 8.4.104. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-benzil-5-metilheks-4-enoata [13f]

Prilog 8.4.105. Maseni spektar metil-2-acetil-2-benziloktanoata [13g]

Prilog 8.4.106. IR spektar metil-2-acetil-2-benziloktanoata [13g]

Prilog 8.4.107. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-benziloktanoata [13g]

Prilog 8.4.108. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-benziloktanoata [13g]

Prilog 8.4.109. Maseni spektar metil-2,2-dibenzil-3-oksobutanoata [13h]

Prilog 8.4.110. IR spektar metil-2,2-dibenzil-3-oksobutanoata [13h]

Prilog 8.4.111. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2,2-dibenzil-3-oksobutanoata [13h]

Prilog 8.4.112. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2,2-dibenzil-3-oksobutanoata [13h]

Prilog 8.4.113. Maseni spektar metil-2-acetil-2-alilpent-4-enoata [14]

Prilog 8.4.114. IR spektar metil-2-acetil-2-alilpent-4-enoata [14]

Prilog 8.4.115. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-alilpent-4-enoata [14]

Prilog 8.4.116. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-alilpent-4-enoata [14]

Prilog 8.4.117. Maseni spektar metil-2-acetil-2-propilpentanoata [15]

Prilog 8.4.118. IR spektar metil-2-acetil-2-propilpentanoata [15]

Prilog 8.4.119. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-propilpentanoata [15]

Prilog 8.4.120. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-propilpentanoata [15]

Kombinatorne biblioteke odabranih prirodnih i sintetskih biološki aktivnih estara

Prilog 8.1.1. Hemijski sastav etarskih ulja izolovanih iz biljnih vrsta *Achillea falcata* i *A. ageratifolia* subsp. *serbica*

RI ²	Sastojci	Klasa	Af ₁	Af ₂	As ₁	As ₂	As (MPLC frakcije)												ID ³
							F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	
731	3-Metil-1-butanol	FAD	0,1	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	MS, RI
762	1-Pentanol	FAD	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
765	3-Metil-2-buten-1-ol	FAD	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
778	3-Metil-2-butenal	FAD	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
785	Butan-2,3-diol	FAD	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
802	Heksanal	FAD	tr	tr	-	tr	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
828	3-Metilbutanska kiselina	FAD	1,4	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
830	2-Metilbutanska kiselina	FAD	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
831	Furfural	FAD	tr	tr	tr	tr	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
844	Furfuril-alkohol	FAD	1,2	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
845	(E)-2-Heksenal	FAD	-	-	-	0,1	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
846	(E)-3-Heksen-1-ol	FAD	tr	-	0,1	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	MS, RI
855	(Z)-2-Heksen-1-ol	FAD	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	MS, RI
865	1-Heksanol	FAD	tr	0,4	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7	MS, RI
873	(Z)-4-Heksen-1-ol	FAD	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
892	2-Heptanon	FAD	-	-	tr	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
902	Nonan	FAD	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
904	Heptanal	FAD	tr	-	-	tr	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
908	Santolinatrien	MH	tr	-	0,8	1,7	2,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
926	Artemizijatrien	MH	-	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
927	Triciklen	MH	-	-	-	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
928	α-Tujen	MH	tr	-	0,1	0,1	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
934	α-Pinen	MH	2,8	-	0,3	0,6	1,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
944	Tujan	MH	-	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
944	6-Metil-2-heptanon	FAD	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
948	Kamfen	MH	tr	-	0,5	0,7	2,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
954	Tuja-2,4(10)-dien	MH	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
955	Benzaldehid	SM	0,2	1,6	tr	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
958	1-Heptanol	FAD	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,2	MS, RI, CoI
968	Heksanska kiselina	FAD	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
970	Artemizeol	MO	-	-	tr	tr	-	-	tr	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
971	Sabinen	MH	0,4	-	0,2	1,0	3,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
975	1-Okten-3-ol	FAD	tr	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
978	6-Metil-5-hepten-2-on	K	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI

Kombinatorne biblioteke odabranih prirodnih i sintetskih biološki aktivnih estara

Nastavak priloga 8.1.1.																			
978	β-Pinen	MH	tr	-	0,2	0,3	1,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
988	3-Oktanon	FAD	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,2	-	-	-	MS, RI
990	β-Mircen	MH	-	-	tr	tr	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
991	2-Pentilfuran	FAD	tr	-	tr	0,1	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
992	Dehidro-1,8-sineol	MO	tr	-	tr	0,2	-	-	tr	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1000	Jomogi-alkohol	MO	0,5	-	1,2	1,1	-	-	-	-	-	-	-	tr	9,1	6,5	1,3	0,5	MS, RI, CoI, NMR
1001	Oktanal	FAD	tr	-	tr	tr	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1002	2-Metilpropil-3-metilbutanoat	FAD	-	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1004	(E)-3-Heksenil-acetat	FAD	-	-	-	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1006	α-Felandren	MH	-	-	tr	tr	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1007	Heksil-acetat	FAD	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1008	(E,E)-2,4-Heptadienal	FAD	tr	-	tr	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1011	δ-3-Karen	MH	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1017	α-Terpinen	MH	0,3	-	0,2	0,3	2,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1023	p-Cimen	MH	0,4	-	1,2	0,5	4,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1027	Limonen	MH	-	-	0,1	0,1	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1030	Santolina-alkohol	MO	3,0	0,9	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	MS, RI
1030	(Z)-β-Ocimen	MH	-	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1032	Benzil-alkohol	SM	-	1,5	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	MS, RI, CoI
1033	1,8-Sineol	MO	4,9	tr	12,6	8,3	-	-	1,3	10,2	0,7	0,1	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI, NMR
1034	(E)-3-Okten-2-on	FAD	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	MS, RI
1036	Lavanda-lakton	FAD	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	MS, RI
1038	Fenilacetaldehid	SM	tr	1,8	tr	tr	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1039	cis-p-Menta-2,8-dien-1-ol	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1052	(E)-β-Ocimen	MH	-	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1057	(5Z)-2,6-Dimetil-1,5,7-oktatrien-3-ol	MO	-	-	0,2	tr	-	-	-	-	-	-	2,1	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1059	Artemizija-keton	MO	1,9	-	1,9	3,2	-	6,5	2,8	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI, NMR
1061	γ-Terpinen	MH	0,2	-	0,3	tr	7,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1065	(5E)-2,6-Dimetil-1,5,7-oktatrien-3-ol	MO	-	-	0,5	0,3	-	-	-	-	-	-	5,6	0,2	-	-	-	-	MS, RI
1066	Heptanska kiselina	FAD	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1067	2-Metilbenzaldehyd	SM	-	-	-	tr	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1067	(Z)-3-Heksenil-propanoat	FAD	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1068	Acetofenon	SM	tr	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1069	cis-Linalool-oksidi (furanoidni)	MO	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,5	0,5	0,2	MS, RI, CoI
1071	p-Krezol	SM	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1073	cis-Sabinen-hidrat	MO	0,9	tr	0,6	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	0,9	2,9	2,7	1,9	MS, RI, CoI
1082	Artemizija-alkohol	MO	0,5	tr	1,5	1,7	-	-	-	-	-	0,2	27,2	8,5	0,3	-	-	-	MS, RI, CoI, NMR
1087	Gvajakol	SM	tr	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI

Kombinatorne biblioteke odabranih prirodnih i sintetskih biološki aktivnih estara

Nastavak priloga 8.1.1.																			
1088	Terpinolen	MH	0,1	-	tr	0,1	2,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1091	<i>p</i> -Cimenen	SM	-	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1095	3-Metilbutil-2-metilbutanoat	FAD	-	-	tr	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1096	Linalool	MO	tr	-	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-	0,9	2,6	0,8	-	-	-	MS, RI, CoI
1100	Undekan	FAD	-	tr	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1101	<i>trans</i> -Sabinen-hidrat	MO	-	-	0,8	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,4	MS, RI, CoI
1102	2-Metilbutil-3-metilbutanoat	FAD	-	-	tr	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1104	Nonanal	FAD	-	0,7	-	0,2	-	0,2	0,3	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1104	Hotrienol	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,3	-	-	-	MS, RI, CoI
1105	Filifolon	MO	-	-	tr	0,1	-	tr	0,2	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1106	(<i>E</i>)-6-Metil-3,5-heptadien-2-on	K	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,2	-	-	-	MS, RI
1107	<i>cis</i> -Tujon	MO	0,2	-	0,2	0,6	-	-	tr	0,7	0,7	0,7	0,9	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1111	Izohrizantenon	MO	-	-	-	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1112	2-Fenil-1-etanol	SM	0,1	1,3	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	MS, RI, CoI
1114	<i>p</i> -Menta-1,3,8-trien	MH	-	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1115	<i>endo</i> -Fenhol	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1118	<i>trans</i> -Tujon	MO	1,5	tr	0,5	0,9	-	tr	0,7	3,5	1,0	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1120	Dehidrosabina-keton	MO	tr	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	MS, RI, CoI
1120	<i>trans-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol	MO	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,8	0,5	0,2	MS, RI, CoI
1122	Izoforon	O	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1122	<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol	MO	-	-	0,3	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	3,3	1,5	0,5	0,1	MS, RI, CoI
1126	Hzizantenon	MO	0,3	tr	0,7	0,4	-	-	-	0,6	3,9	0,2	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1126	α -Kamfolenal	MO	-	-	0,1	tr	-	-	tr	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1129	<i>trans</i> -Hzizantenon	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	0,6	-	MS, RI, CoI
1131	<i>trans</i> -Kar-3-en-2-ol	MO	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	MS, RI, CoI
1133	Izotujol	MO	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8	2,3	4,4	MS, RI, CoI
1135	<i>cis-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol	MO	0,2	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	MS, RI, CoI
1137	3-Nonen-2-on	FAD	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1139	<i>trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol	MO	-	-	0,3	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	3,4	MS, RI, CoI
1140	<i>p</i> -Menta-3-en-8-ol	MO	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1142	(1 <i>R</i> *,3 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *)-Sabinol	MO	19,1	6,5	5,0	6,3	-	-	-	-	tr	tr	6,4	49,3	52,1	3,5	0,5	-	MS, RI, CoI, NMR
1143	Ipsdienol	MO	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	MS, RI
1144	<i>cis</i> -Verbenol	MO	0,5	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1146	<i>trans</i> -Verbenol	MO	0,9	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	3,4	MS, RI, CoI
1148	Kamfor	MO	2,9	tr	16,1	12,3	-	-	-	tr	19,6	74,5	0,3	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI, NMR
1148	Neoizotujan-3-ol	MO	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	MS, RI, CoI
1149	Jorgovan-aldehid B	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	MS, RI

Kombinatorne biblioteke odabranih prirodnih i sintetskih biološki aktivnih estara

Nastavak priloga 8.1.1.																			
1151	Kamfen-hidrat	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,2	-	-	-	MS, RI, CoI
1152	(Z)-3-Nonen-1-ol	FAD	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	MS, RI
1153	Nerol-oksidi	MO	-	-	-	tr	-	-	-	0,1	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1154	Eukarvon	MO	0,3	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1155	cis-Hrizantemol	MO	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,3	MS, RI, CoI
1156	Pentilbenzen	SM	-	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1157	Izoborneol	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	0,1	0,2	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1157	β -Pinen-oksidi	MO	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1158	Sabina-ke-ton	MO	0,3	-	tr	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	1,5	1,4	-	MS, RI, CoI
1162	trans-Pinokamfon	MO	-	-	-	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1163	cis-Hrizantenol	MO	-	-	1,0	0,8	-	-	-	-	-	-	9,5	16,5	3,4	-	-	-	MS, RI, CoI, NMR
1164	Pinokarvon	MO	0,2	-	0,3	0,1	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1165	1-Nonanol	FAD	-	0,3	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1166	Lavandulol	MO	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	0,1	tr	-	-	-	MS, RI, CoI
1168	Umbelunon	MO	0,4	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	MS, RI
1168	Artemizil-acetat	MO	-	-	0,3	tr	-	0,1	0,3	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1169	Oktanska kiselina	FAD	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	MS, RI, CoI
1170	δ -Terpineol	MO	0,2	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1170	trans-Kar-2-en-4-ol	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1171	p-Menta-1,5-dien-8-ol	MO	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1172	Borneol	MO	2,0	0,8	0,8	1,8	-	-	-	-	-	-	-	0,1	14,3	24,9	14,5	9,4	MS, RI, CoI, NMR
1172	cis-Linalool-oksidi (piranoidni)	MO	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,9	MS, RI, CoI
1174	Mentol	MO	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1175	cis-Pinokamfon	MO	tr	-	tr	tr	-	-	-	0,3	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1179	Terpinen-4-ol	MO	1,2	0,8	1,8	1,5	-	-	-	-	0,1	0,4	36,9	12,7	0,6	-	-	-	MS, RI, CoI, NMR
1181	Thuj-3-en-10-al	MO	0,2	-	0,4	0,7	-	-	-	-	13,2	1,6	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI, NMR
1187	trans-p-Menta-1(7),8-dien-2-ol	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,8	0,2	-	-	MS, RI, CoI
1189	2-Dekanon	FAD	-	-	tr	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1189	p-Cimen-8-ol	MO	tr	-	0,2	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,3	0,8	0,2	MS, RI, CoI
1194	Mirtenol	MO	0,2	-	0,2	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8	2,4	0,8	tr	MS, RI, CoI
1195	(Z)-4-Decenal	FAD	tr	tr	tr	tr	-	tr	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1197	cis-Piperitol	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	0,3	0,8	tr	-	-	-	MS, RI, CoI
1198	α -Terpineol	MO	0,6	0,6	1,5	1,3	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	3,9	18,4	24,3	MS, RI, CoI, NMR
1198	Mirtenal	MO	0,3	tr	tr	0,2	-	-	-	0,1	2,3	tr	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1199	1-Dodecen	FAD	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1199	Metilčavikol	SM	-	-	tr	tr	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1200	Dodekan	FAD	-	0,7	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1202	Šafranal	MO	-	-	-	tr	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI

Kombinatorne biblioteke odabranih prirodnih i sintetskih biološki aktivnih estara

Nastavak priloga 8.1.1.																			
1203	α -Kamfolenol	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	MS, RI
1207	γ -Terpineol	MO	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	2,8	MS, RI, CoI
1208	<i>trans</i> -Piperitol	MO	0,4	tr	0,2	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	1,1	0,5	0,2	-	MS, RI, CoI
1210	Dekanal	FAD	0,2	0,6	0,1	0,2	-	0,5	0,3	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1214	Fragranol	MO	3,3	1,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1218	2,6,6-Trimetil-2,4-cikloheptadien-1-on	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	MS, RI
1219	<i>trans</i> -Karveol	MO	0,2	-	0,4	0,4	-	-	-	-	-	-	-	tr	2,5	6,8	6,1	1,3	MS, RI, CoI
1221	β -Ciklocitral	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1224	Nerol	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	0,3	MS, RI, CoI
1225	<i>m</i> -Kumenol	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	0,1	0,4	0,1	-	-	-	MS, RI, CoI
1226	<i>p</i> -Kumenol	MO	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,4	-	-	-	MS, RI, CoI
1227	(1 <i>R</i> *,3 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *)-Sabinil-formijat	MO	0,3	tr	tr	tr	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1228	<i>cis-p</i> -Menta-1(7),8-dien-2-ol	MO	0,1	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	tr	-	MS, RI, CoI
1231	<i>cis</i> -Karveol	MO	tr	-	0,1	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	0,4	1,0	0,2	MS, RI, CoI
1233	(<i>Z</i>)-3-Heksenil-3-metilbutanoat	FAD	0,1	tr	-	tr	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1234	Metiltilmol	MO	-	-	tr	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1235	<i>trans</i> -Hrizantenil-acetat	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1239	Neral	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1241	Kumin-aldehid	MO	0,5	tr	0,3	0,3	-	-	0,2	2,2	1,2	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1244	Karvon	MO	tr	-	0,3	0,1	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1244	<i>p</i> -Menta-1(7),8(10)-dien-9-ol	MO	-	-	-	tr	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1250	<i>cis</i> -Mirtanol	MO	-	1,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1252	Geraniol	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,8	MS, RI, CoI
1252	Čavikol	SM	-	-	0,1	tr	-	-	-	-	-	0,1	0,4	0,2	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1253	(<i>Z</i>)-4-Decen-1-ol	FAD	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	MS, RI
1254	Piperiton	MO	0,3	0,4	tr	tr	-	-	-	-	-	0,1	0,4	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1256	2-Feniletal-acetat	SM	-	-	tr	0,1	-	-	-	-	1,1	0,1	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1257	<i>trans-p</i> -Menta-2-en-7-ol	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	0,2	MS, RI, CoI
1258	Karvenon	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	tr	0,1	-	-	-	-	-	MS, RI
1259	<i>trans</i> -Mirtanol	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,1	MS, RI, CoI
1259	Fragranil-formijat	MO	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1260	(<i>E</i>)-2-Decenal	FAD	-	-	0,1	tr	-	-	-	-	2,6	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1261	<i>cis</i> -Hrizantenil-acetat	MO	-	-	0,2	0,3	-	0,2	0,7	0,9	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1262	3-Izotujanol-acetat	MO	-	-	-	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1262	Nonanska kiselina	FAD	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	MS, RI, CoI
1269	1-Dekanol	FAD	tr	0,3	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	MS, RI, CoI
1270	Geranial	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1274	Izopiperitenon	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	MS, RI

Kombinatorne biblioteke odabranih prirodnih i sintetskih biološki aktivnih estara

Nastavak priloga 8.1.1.																			
1275	Perila-aldehid	MO	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1275	cis-Verbenil-acetat	MO	-	-	-	tr	-	-	-	tr	0,9	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1283	trans- α -Nekrodol-acetat	MO	-	-	-	tr	-	-	-	-	1,3	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1285	trans-Linalool-oksid-acetat (piranoidni)	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	MS, RI
1286	α -Terpinen-7-al	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1287	Bornil-acetat	MO	0,2	-	0,1	0,4	-	0,2	1,2	7,7	2,7	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1288	Lavandulil-acetat	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1291	(1R*,3S*,5R*)-Sabinil-acetat	MO	11,4	4,2	30,8	37,9	0,2	45,7	88,8	68,3	19,6	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI, NMR
1299	Timol	MO	0,4	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	1,0	16,1	MS, RI, CoI
1298	Perila-alkohol	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,5	MS, RI
1300	Tridekan	FAD	tr	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1302	Terpinen-4-il-acetat	MO	-	-	0,1	0,1	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1304	trans-Pinokarvil-acetat	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1305	Undekanal	FAD	tr	tr	tr	tr	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1308	Karvakrol	MO	0,1	1,5	0,6	tr	-	-	-	-	-	tr	0,3	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1316	(E,E)-2,4-Dekadienal	FAD	tr	tr	0,1	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1322	(Z)-3-Heksenil-tiglat	FAD	-	-	tr	tr	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1326	cis-Pinokarvil-acetat	MO	-	-	-	tr	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1328	Heksil-tiglat	FAD	-	-	-	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1330	p-Menta-1,4-dien-7-ol	MO	0,1	-	0,1	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8	3,4	MS, RI
1332	Mirtenil-acetat	MO	-	-	-	0,1	-	tr	tr	0,2	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1336	trans-Karvil-acetat	MO	-	-	0,2	0,1	-	0,1	0,1	0,7	0,3	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1337	δ -Elemen	SH	-	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1341	Fragranil-acetat	MO	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1349	α -Kubeben	SH	tr	-	tr	tr	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1351	α -Terpinil-acetat	MO	-	-	-	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1354	α -Longipinen	SH	-	-	-	0,1	3,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1357	Eugenol	SM	0,3	5,9	0,3	0,2	-	-	-	-	-	1,3	0,9	0,1	tr	tr	tr	-	MS, RI, CoI
1360	(E)-2-Undecenal	FAD	-	-	-	tr	-	-	-	-	1,7	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1362	cis-Karvil-acetat	MO	-	-	0,1	0,1	-	-	0,1	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1365	Dekanska kiselina	FAD	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,5	tr	MS, RI, CoI
1369	Ciklosativen	SH	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1373	α -Jangen	SH	-	-	tr	tr	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1379	(1R*,3S*,5R*)-Sabinil-propanoat	MO	2,0	0,4	0,1	0,2	-	2,4	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1380	Geranil-aceton	MO	-	-	-	tr	-	-	-	0,2	1,3	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1384	α -Kopaen	SH	tr	0,6	0,1	tr	2,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1385	(E)- β -Damascenon	O	-	-	tr	tr	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1387	β -Burbonen	SH	0,1	-	tr	tr	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI

Kombinatorne biblioteke odabranih prirodnih i sintetskih biološki aktivnih estara

Nastavak priloga 8.1.1.																			
1390	β -Kubeben	SH	tr	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1391	1-Tetradecen	FAD	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1392	(E)-Jasmon	MO	tr	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	0,2	MS, RI
1393	β -Elemen	SH	-	-	tr	tr	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1396	Vanilin	SM	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1399	(Z)-Jasmon	MO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	1,5	0,7
1400	Tetradekan	FAD	-	-	tr	tr	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1401	2-Dodekanon	FAD	-	-	-	tr	-	-	-	-	0,8	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1406	Metileugenol	SM	0,3	tr	0,4	0,2	-	-	-	-	-	1,9	1,4	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1408	Longifolen	SH	-	-	-	tr	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1411	α -Gurjunen	SH	-	-	tr	tr	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1414	(1R*,3S*,5R*)-Sabinil-izobutanoat	MO	2,7	0,8	0,1	0,3	tr	6,8	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1421	p-Cimen-7-ol-acetat	MO	-	-	0,1	0,1	-	-	-	0,2	9,5	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1423	α -Cedren	SH	0,4	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1426	(E)-Kariofilen	SH	-	tr	0,2	0,2	9,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1429	β -Cedren	SH	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1433	β -Kopaen	SH	tr	-	tr	tr	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1434	Perilil-acetat	MO	tr	tr	-	-	-	tr	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1438	Fragranil-propanoat	MO	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1438	Mirtenil-propanoat	MO	-	-	-	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1441	Aromadendren	SH	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1445	(Z,E)-2,6-Dodekadienal	FAD	-	-	tr	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1453	Geranilaceton	K	tr	tr	tr	tr	-	-	-	-	0,3	tr	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1454	(E)- β -Farnezen	SH	0,3	2,5	0,1	0,1	2,8	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1456	α -Humulen	SH	-	-	tr	tr	0,4	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1462	(E)-2-Dodecenal	FAD	-	-	-	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1462	Aloaromadendren	SH	-	-	tr	tr	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1465	(1R*,3S*,5R*)-Sabinil-butanoat	MO	tr	-	-	tr	-	0,2	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1466	γ -Dekalakton	FAD	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1467	10-epi- β -Akoradien	SH	0,2	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1470	1-Dodekanol	FAD	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	MS, RI
1478	γ -Murolen	SH	-	-	tr	tr	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1479	Fragranil-izobutanoat	MO	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1482	ar-Kurkumen	SH	0,2	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1484	Germakren D	SH	1,8	3,2	0,6	0,6	23,9	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1485	Fenetil-2-metilbutanoat	SM	-	-	tr	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1485	(E)- β -Jonon	O	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	tr	0,1	-	-	-	-	-	MS, RI

Kombinatorne biblioteke odabranih prirodnih i sintetskih biološki aktivnih estara

Nastavak priloga 8.1.1.																			
1489	Fenetil-3-metilbutanoat	SM	-	-	-	0,1	-	-	-	0,2	1,2	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1491	β -Selinen	SH	tr	-	tr	tr	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1499	Biciklogermakren	SH	-	-	0,2	0,4	12,5	3,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI, NMR
1500	Pentadekan	FAD	-	-	tr	tr	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1500	(1 <i>R</i> *,3 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *)-Sabinil-2-metilbutanoat	MO	3,1	1,7	0,3	0,4	-	10,8	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1508	δ -Amorfen	SH	-	-	tr	tr	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1511	β -Kurkumen	SH	-	-	tr	tr	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1512	Tridekanal	FAD	-	tr	tr	tr	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1513	(1 <i>R</i> *,3 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *)-Sabinil-3-metilbutanoat	MO	2,6	1,7	0,1	0,4	tr	15,4	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1513	(<i>E,E</i>)- α -Farnezen	SH	-	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1515	γ -Kadinen	SH	-	-	-	tr	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1516	Seskvisineol	SO	0,2	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1517	Izobornil-3-metilbutanoat	MO	-	-	tr	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1518	Kubebol	SO	0,3	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	MS, RI
1520	7- <i>epi</i> - α -Selinen	SH	-	-	-	tr	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1520	δ -Kadinen	SH	tr	tr	0,1	tr	1,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1525	β -Seskvifelandren	SH	1,5	4,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1527	<i>cis</i> -Kalamenen	SH	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1527	Mirtenil-butanoat	MO	-	-	-	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1534	<i>trans</i> -Kadina-1,4-dien	SH	-	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1540	α -Kadinen	SH	-	-	tr	tr	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1542	(<i>E</i>)- α -Bisabolen	SH	-	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1544	α -Kalakoren	SH	tr	-	tr	tr	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1553	Elemicin	SM	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	-	-	-	MS, RI
1563	(<i>E</i>)-Nerolidol	SO	tr	4,5	-	tr	-	-	-	-	-	-	0,6	0,4	0,6	-	-	-	MS, RI
1565	β -Kalakoren	SH	-	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1570	(<i>Z</i>)-3-Heksenil-benzoat	FAD	-	-	tr	tr	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1577	Neril-2-metilbutanoat	MO	-	-	-	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1580	Neril-3-metilbutanoat	MO	-	-	tr	tr	-	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1582	Mint-oksid	SO	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1583	<i>epi</i> -Junen-10-ol	SO	-	-	tr	tr	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1584	Fragranil-3-metilbutanoat	MO	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1586	Spatulenol	SO	2,2	6,4	1,2	0,3	-	-	-	-	-	-	-	0,3	0,4	2,1	0,5	-	MS, RI
1586	Globulol	SO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	0,2	MS, RI
1587	Kariofilen-oksid	SO	0,4	2,0	1,7	1,7	-	-	-	-	-	16,2	0,8	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI, NMR
1588	Klovenol	SO	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-	MS, RI
1593	β -Kopaen-4 α -ol	SO	tr	-	0,1	tr	-	-	-	-	-	-	0,8	0,3	0,4	-	-	-	MS, RI
1597	4(14)-Salvialen-1-on	SO	0,5	1,7	-	tr	-	-	-	-	0,9	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI

Kombinatorne biblioteke odabranih prirodnih i sintetskih biološki aktivnih estara

Nastavak priloga 8.1.1.																			
1600	Heksadekan	FAD	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1606	Kopaborneol	SO	-	-	0,2	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1609	Tetradekanal	FAD	-	-	-	tr	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1610	(1R*,3S*,5R*)-Sabinil-tiglat	MO	1,8	2,1	tr	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1615	Humulen-epoksid II	SO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1616	Junenol	SO	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1616	β -Panasinsen-5 α -ol	SO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	0,4	MS, RI
1617	Neidentifikovano jedinjenje ⁴⁾	N	1,6	2,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1620	Torilenol	SO	0,3	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1630	Murola-4,10(14)-dien-1 β -ol	SO	-	-	0,1	tr	-	-	-	-	-	-	0,9	-	-	-	-	-	MS, RI
1631	<i>epi</i> -1-Kubenol	SO	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1636	Kariofila-4(12),8(13)-dien-5 α -ol	SO	-	-	0,2	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,2	6,6	0,4	MS, RI
1637	β -Cedren-9-on	SO	-	-	tr	tr	-	-	-	tr	0,7	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1638	<i>epi</i> - α -Murolol	SO	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1639	Kariofila-4(12),8(13)-dien-5 β -ol	SO	-	-	0,7	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15,5	13,7	3,6	MS, RI, CoI
1642	<i>epi</i> - α -Kadinol	SO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	tr	0,2	0,3	-	-	-	MS, RI
1647	α -Murolol	SO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	0,7	MS, RI
1658	Akorenol B	SO	0,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1658	β -Eudezmol	SO	0,4	2,7	0,4	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,5	6,4	1,9	MS, RI
1659	<i>neo</i> -Intermedeol	SO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,3	4,1	1,5	MS, RI
1660	Selin-11-en-4 α -ol	SO	-	-	0,2	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,7	tr	-	MS, RI
1673	14-Hidroksi-(Z)-kariofilen	SO	-	-	0,2	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,5	4,5	0,6	MS, RI
1676	γ -Dodekalakton	FAD	-	-	0,1	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7	MS, RI
1679	1-Tetradekanol	FAD	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1679	Mustakon	SO	0,2	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1679	Valeranon	SO	0,1	-	tr	tr	-	-	-	0,1	2,3	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1680	Helifolenol B	SO	-	-	-	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1683	α -Bisabolol	SO	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	0,1	0,3	0,4	-	-	-	MS, RI
1688	Eudezma-4(15),7-dien-1 β -ol	SO	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-	MS, RI
1688	1-Heptadecen	FAD	-	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1690	Germakra-4(15),5,10(14)-trien-1 α -ol	SO	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1699	2-Pentadekanon	FAD	-	-	tr	tr	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1700	Amorfa-4,9-dien-2-ol	SO	0,1	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1700	Heptadekan	FAD	-	-	tr	tr	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1704	10- <i>nor</i> -Kalamenen-10-on	SO	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1719	<i>ar</i> -Kurkumen-15-al	SO	0,2	1,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1720	Pentadekanal	FAD	0,2	0,8	0,1	tr	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1729	Fragranil-heksanoat	MO	0,2	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI

Kombinatorne biblioteke odabranih prirodnih i sintetskih biološki aktivnih estara

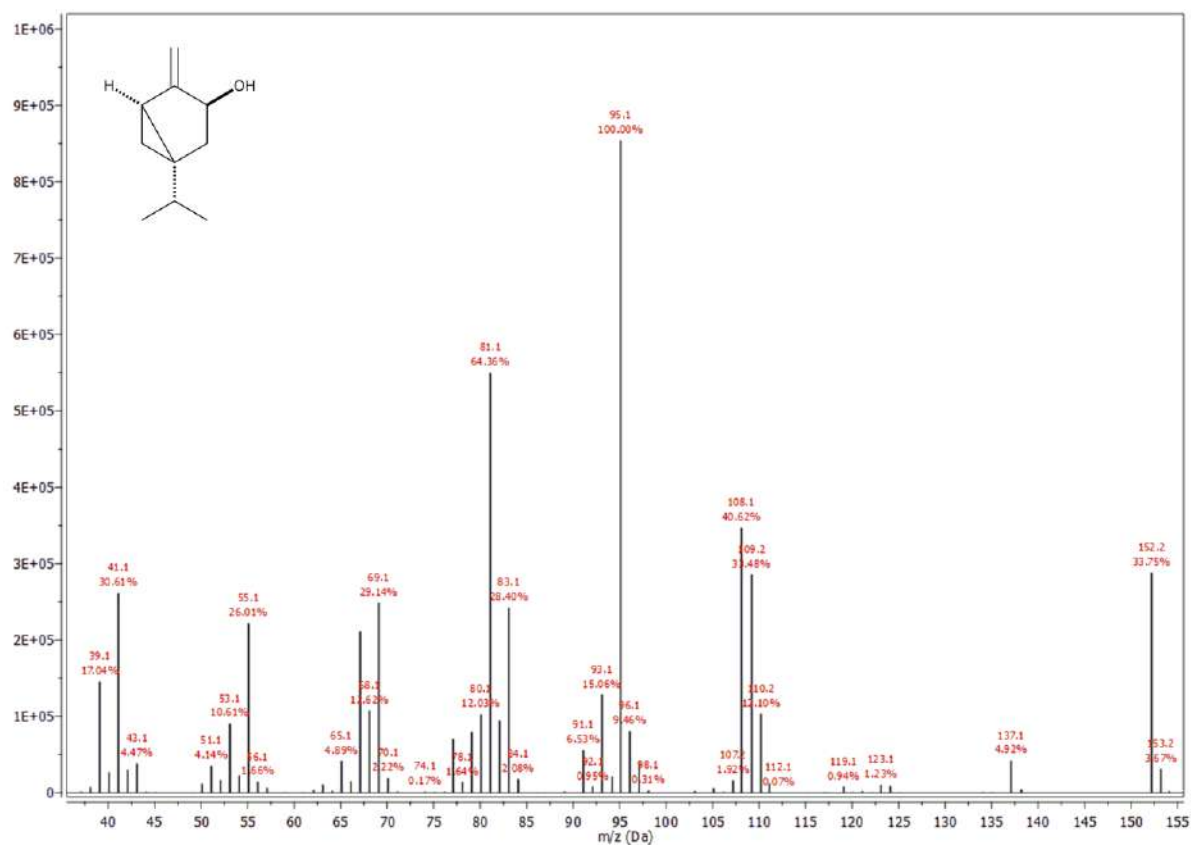
Nastavak priloga 8.1.1.																			
1730	(Z)-Nuciferol	SO	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1733	Hamazulen	O	-	-	-	tr	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1736	(E)-Seskvilavandulil-acetat	SO	-	-	tr	tr	-	-	-	0,1	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1740	Mint-sulfid	SO	-	-	-	tr	-	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1745	Izobiciklogermakrenal	SO	0,2	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1751	γ -Kostol	SO	-	8,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1760	β -Akoradienol	SO	0,3	1,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1763	Tetradekanska kiselina	FAD	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1773	1-Pentadekanol	FAD	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	MS, RI, CoI
1781	14-Hidroksi- α -muurolen	SO	tr	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	MS, RI
1800	Oktadekan	FAD	-	-	tr	tr	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1801	14-Hidroksi- δ -kadinen	SO	0,3	0,4	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	MS, RI
1818	Heksadekanal	FAD	-	-	tr	tr	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1826	Izopropil-tetradekanoat	FAD	1,0	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1828	Fragranil-heptanoat	MO	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1840	Heksahidrofarnesil-aceton	K	1,2	0,1	0,1	0,1	-	-	-	0,3	6,4	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1888	1-Heksadekanol	FAD	tr	0,8	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1896	1-Nonadecen	FAD	-	-	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1900	Nonadekan	FAD	tr	tr	tr	tr	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1902	2-Heptadekanon	FAD	-	-	-	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1911	Heptadekanal	FAD	-	-	tr	tr	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1932	Metil-heksadekanoat	FAD	tr	-	tr	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1933	Fragranil-oktanoat	MO	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1940	(1R*,3S*,5R*)-Sabinil-nonanoat	MO	-	-	tr	tr	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1966	Heksadekanska kiselina	FAD	tr	5,9	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1976	1-Heptadekanol	FAD	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	MS, RI, CoI
2000	Eikozan	FAD	-	-	tr	tr	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
2046	(1R*,3S*,5R*)-Sabinil-dekanoat	MO	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
2082	1-Oktadekanol	FAD	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	MS, RI, CoI
2100	Heneikozan	FAD	tr	tr	0,2	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
2200	Dokozan	FAD	-	-	-	tr	0,1	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
2280	1-Eikozanol	FAD	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	MS, RI
2300	Trikozan	FAD	tr	tr	-	0,2	0,8	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
2400	Tetrakozan	FAD	-	-	tr	tr	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
2500	Pentakozan	FAD	-	-	-	tr	0,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
2600	Heksakozan	FAD	-	-	tr	tr	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
2700	Heptakozan	FAD	-	-	-	tr	1,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
2800	Oktakozan	FAD	-	-	tr	tr	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI

Kombinatorne biblioteke odabranih prirodnih i sintetskih biološki aktivnih estara

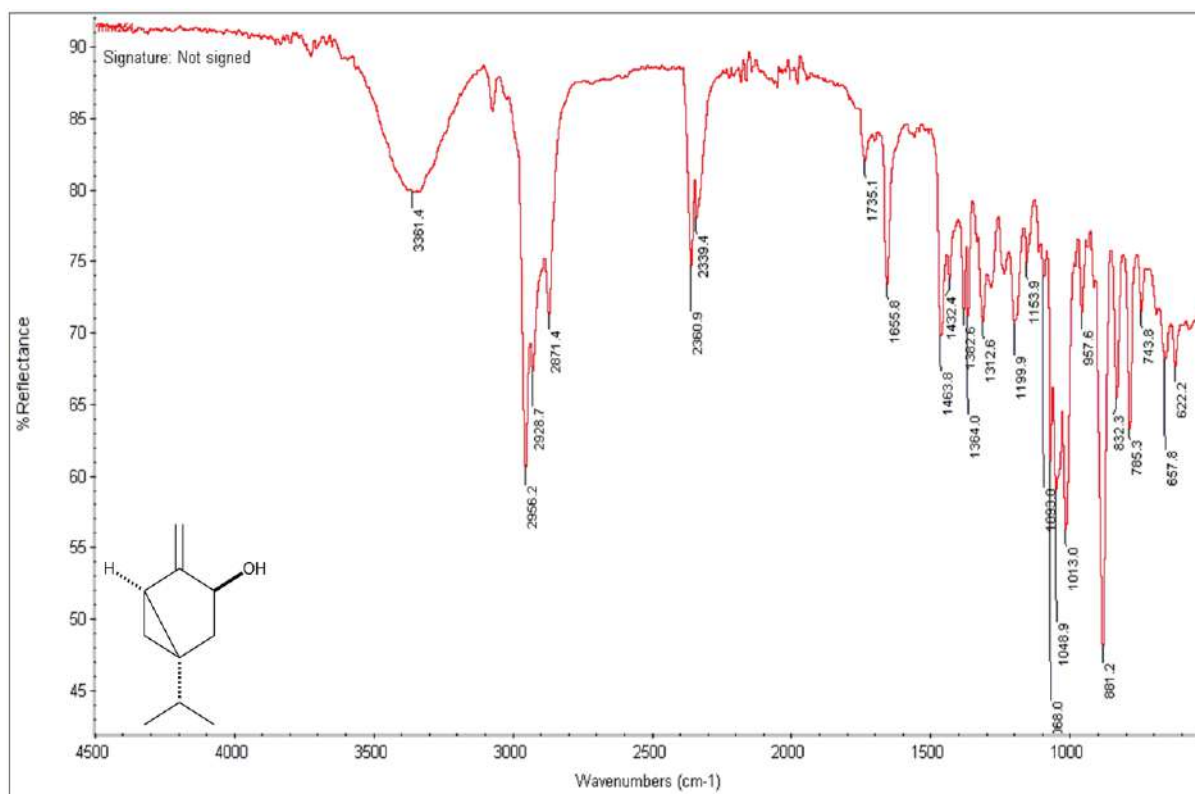
Nastavak priloga 8.1.1.																			
2900	Nonakozan	FAD	-	-	-	tr	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
	Ukupno (%)		98,4	97,4	95,8	97,1	98,4	96,3	97,8	98,9	96,7	97,6	97,1	96,0	98,4	96,3	97,0	97,8	
	Monoterpenoidi (ugljovodonici)	MH	4,2	-	4,5	6,0	30,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Monoterpenoidi (oksigenovani)	MO	72,6	28,2	83,2	84,4	0,2	89,4	96,9	97,6	79,2	78,2	91,4	92,8	94,1	58,7	58,9	86,4	
	Seskviterpenoidi (ugljovodonici)	SH	5,6	11,5	1,3	1,4	59,9	4,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Seskviterpenoidi (oksigenovani)	SO	7,8	30,4	5,0	3,7	-	0,6	-	0,4	5,0	16,2	3,2	2,6	3,6	37,9	37,0	9,3	
	Masne kiseline i jedinjenja izvedena iz metabolizma masnih kiselina	FAD	4,5	11,5	0,8	0,8	7,4	2,1	0,9	0,3	5,4	-	tr	0,1	0,2	0,2	1,7	2,1	
	Jedinjenja šikimatnog puta	SM	0,9	13,0	0,8	0,6	tr	0,3	-	0,3	2,6	3,3	2,4	0,6	0,3	tr	tr	tr	
	Jedinjenja nastala iz karotenoida	K	1,2	0,1	0,1	0,1	-	-	-	0,3	6,7	tr	-	tr	0,2	-	-	-	
	Ostali	O	tr	-	tr	tr	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Neidentifikovana jedinjenja	N	1,6	2,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

¹⁾ Uzorci etarskih ulja biljne vrste *Achillea falcata* (**Af**₁-nadzemni deo, **Af**₂-koren) i nadzemnih delova vrste *A. ageratifolia* subsp. *serbica* (**As**₁ i **As**₂) kao i MPLC frakcija ukupnog ulja **As** (F1-F12); tr = trag (< 0.05%); - = komponenta nije detektovana. ²⁾ RI = eksperimentalno određeni retencioni indeksi na DB-5MS koloni koinjekcijom homologe serije n-alkana C₇-C₃₀. ³⁾ ID = Identifikacija; Identitet jedinjenja je potvrđen poređenjem njihovih masenih spektara sa spektrima iz Wiley 6, Nist 02, MassFinder 2.3, izračunatih retencionih indeksa sa literaturnim vrednostima (Adams, 2007), koinjekcijom sa odgovarajućim standardom i ¹³C-NMR analizom. ⁴⁾ Maseni spektar (EI, 70 eV; m/z, rel. int) neidentifikovane komponente: 221(1), 220(1), 140(10), 139(100), 121(4), 109(5), 96(3), 95(21), 93(4), 81(5), 71(7), 67(4), 55(3), 43(34), 41(3).

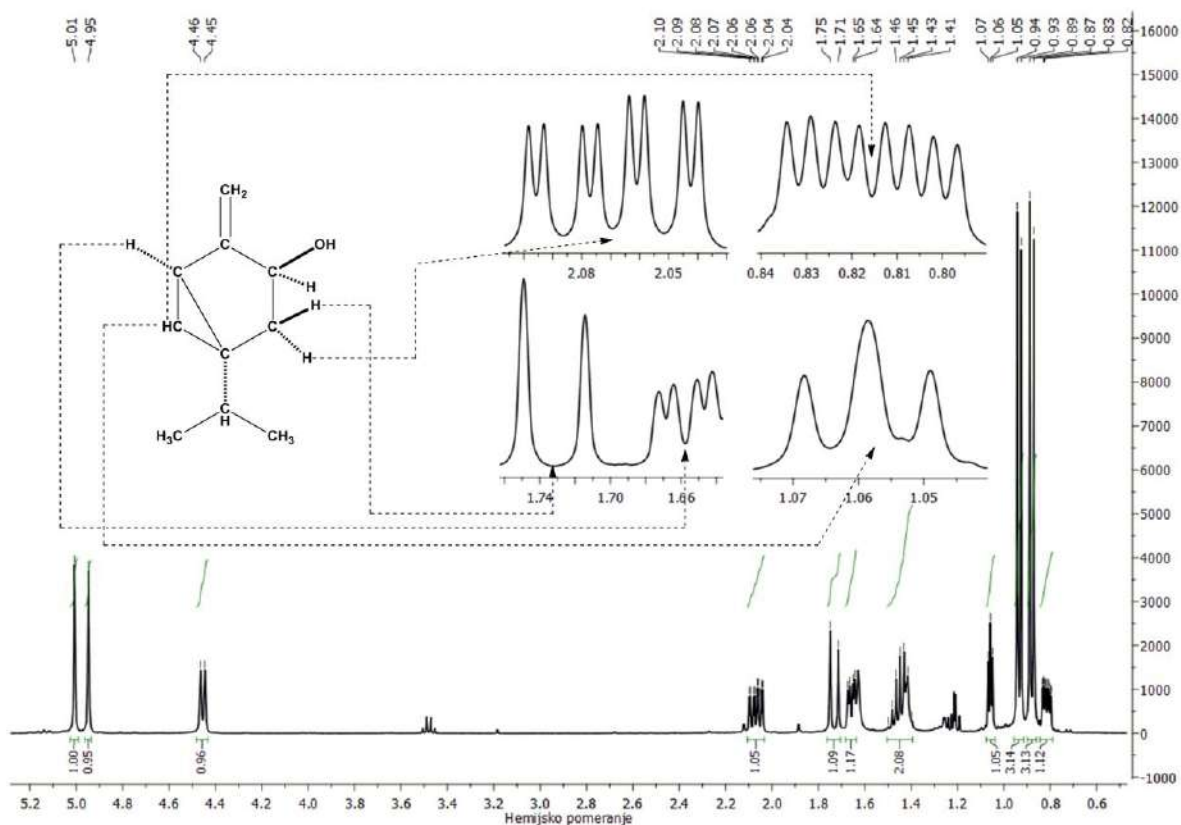
Prilog 8.1.2. Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola [1]



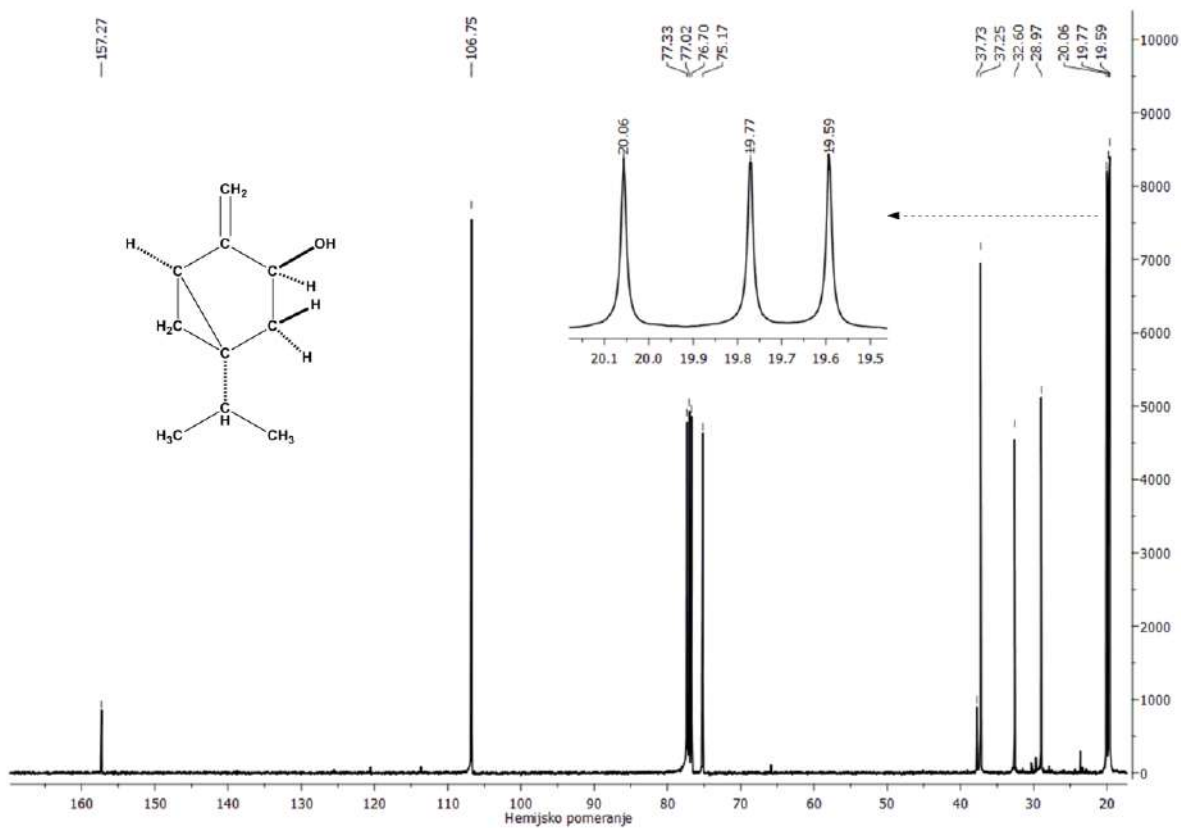
Prilog 8.1.3. IR spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola [1]



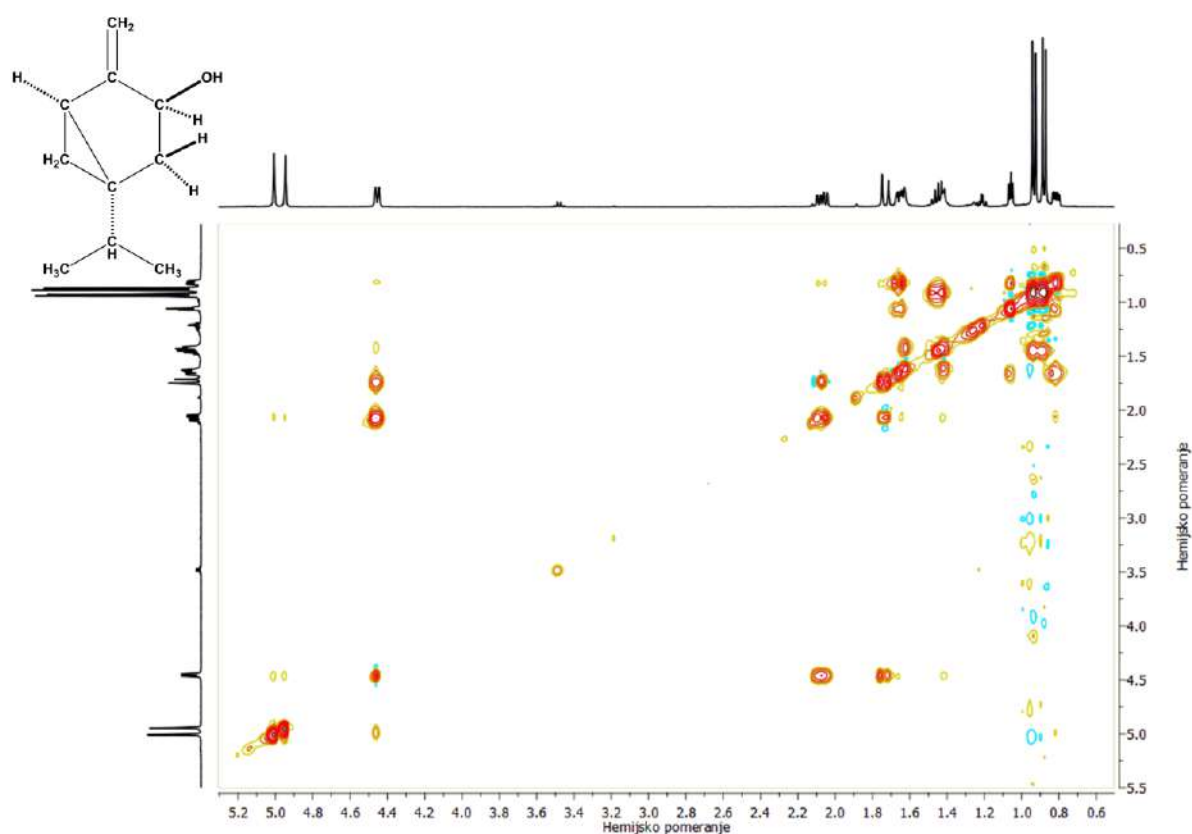
Prilog 8.1.4. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinola [1]



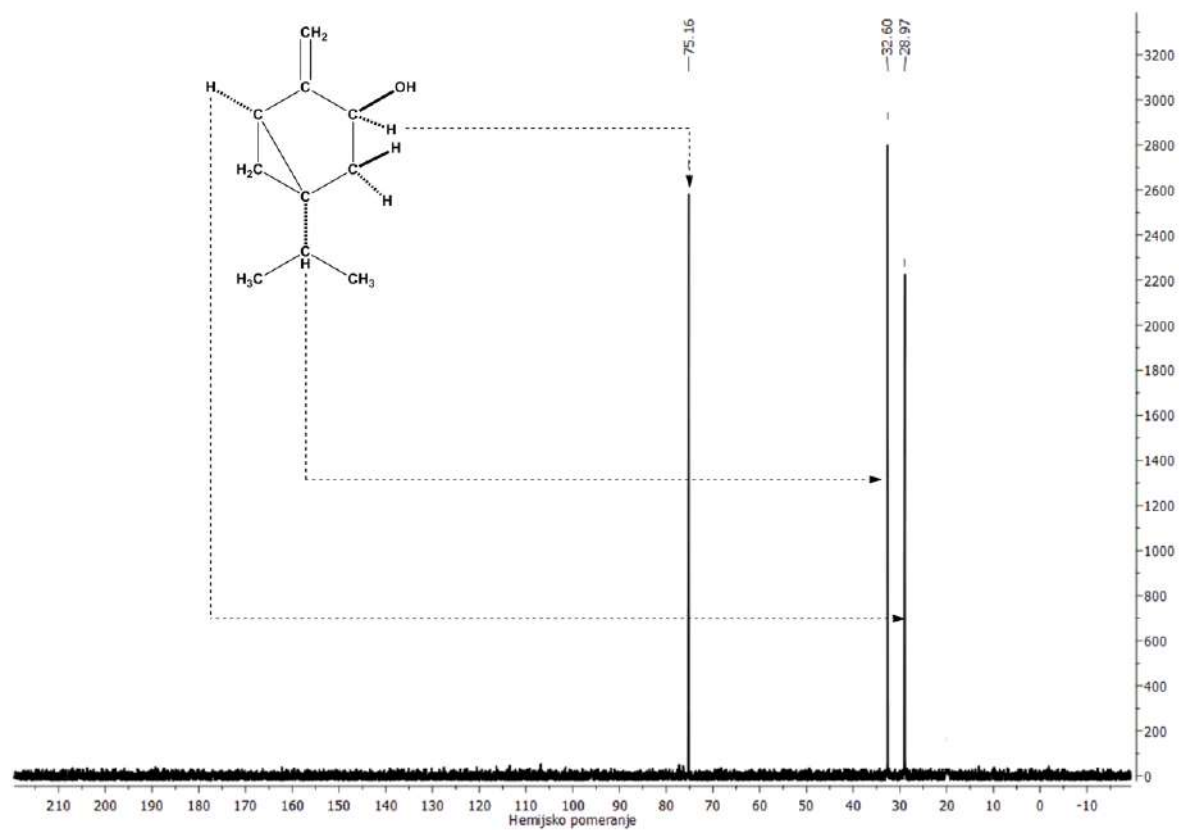
Prilog 8.1.5. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinola [1]



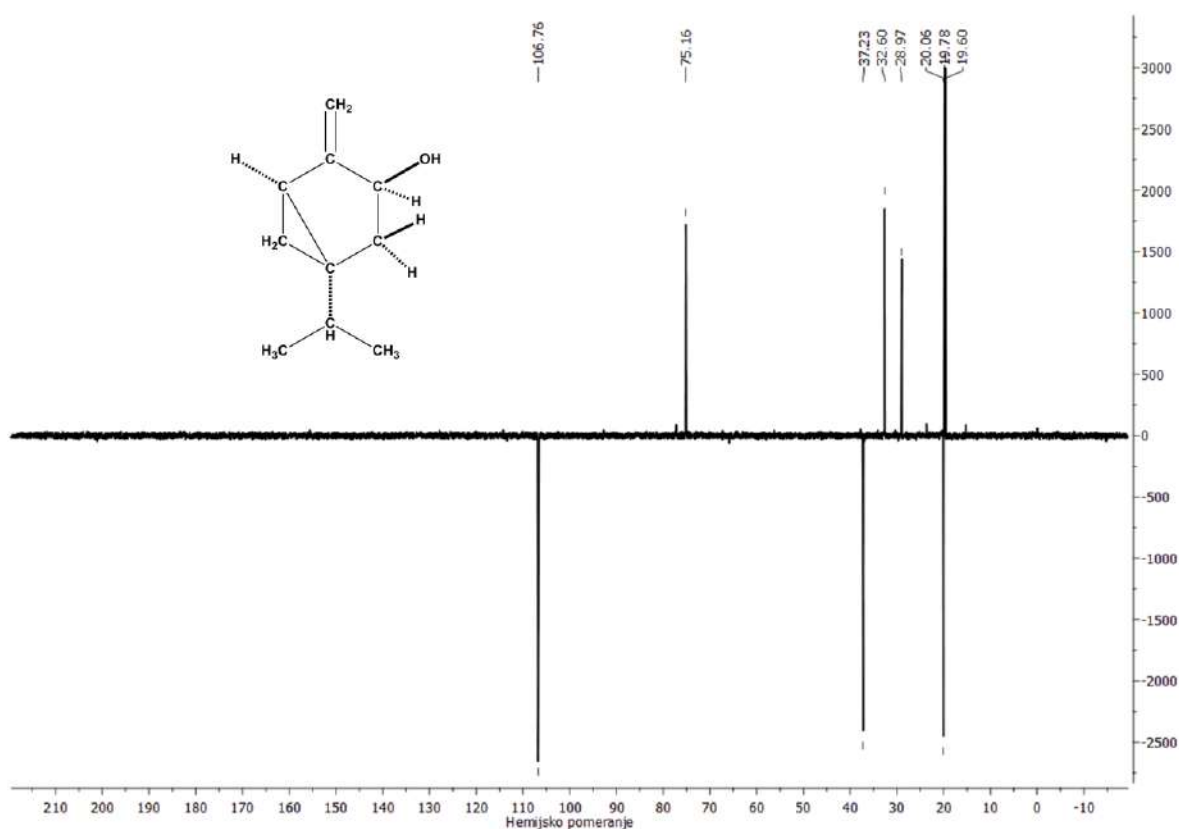
Prilog 8.1.6. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinola [1]



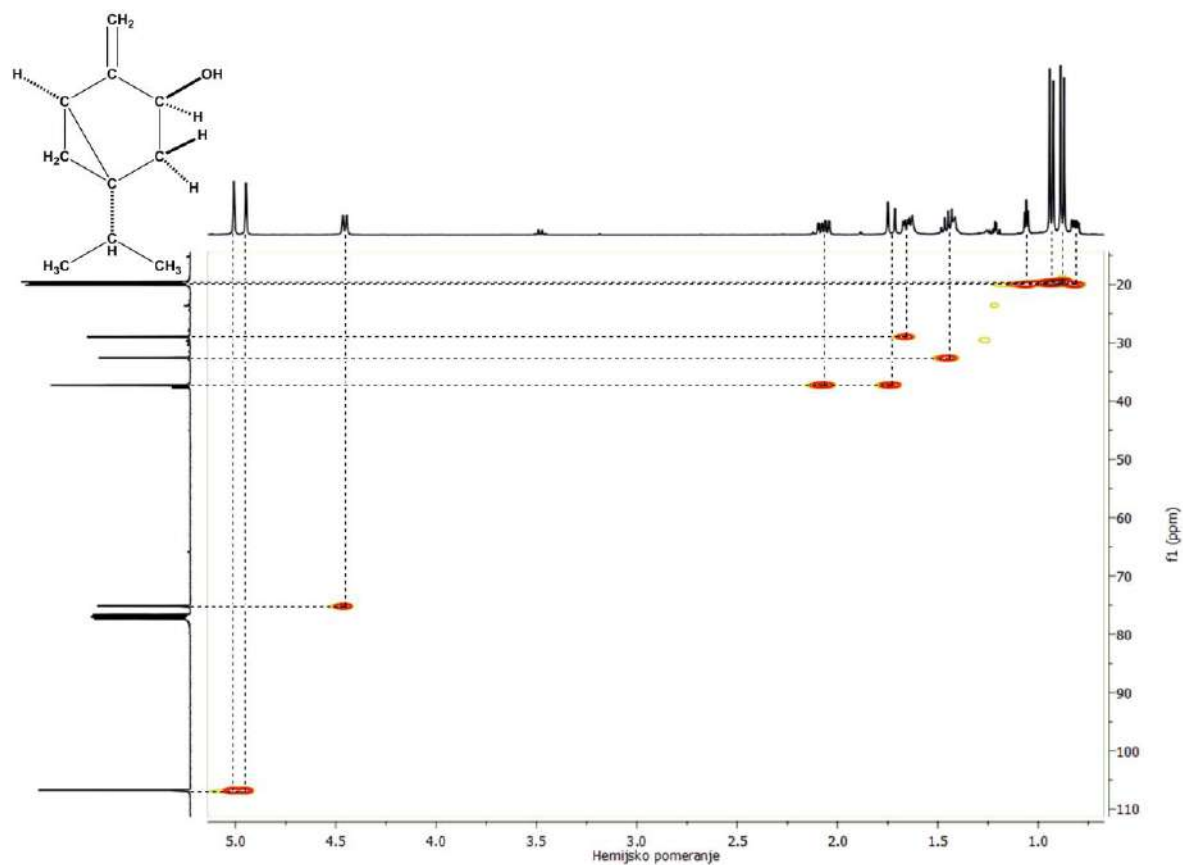
Prilog 8.1.7. DEPT90 spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinola [1]



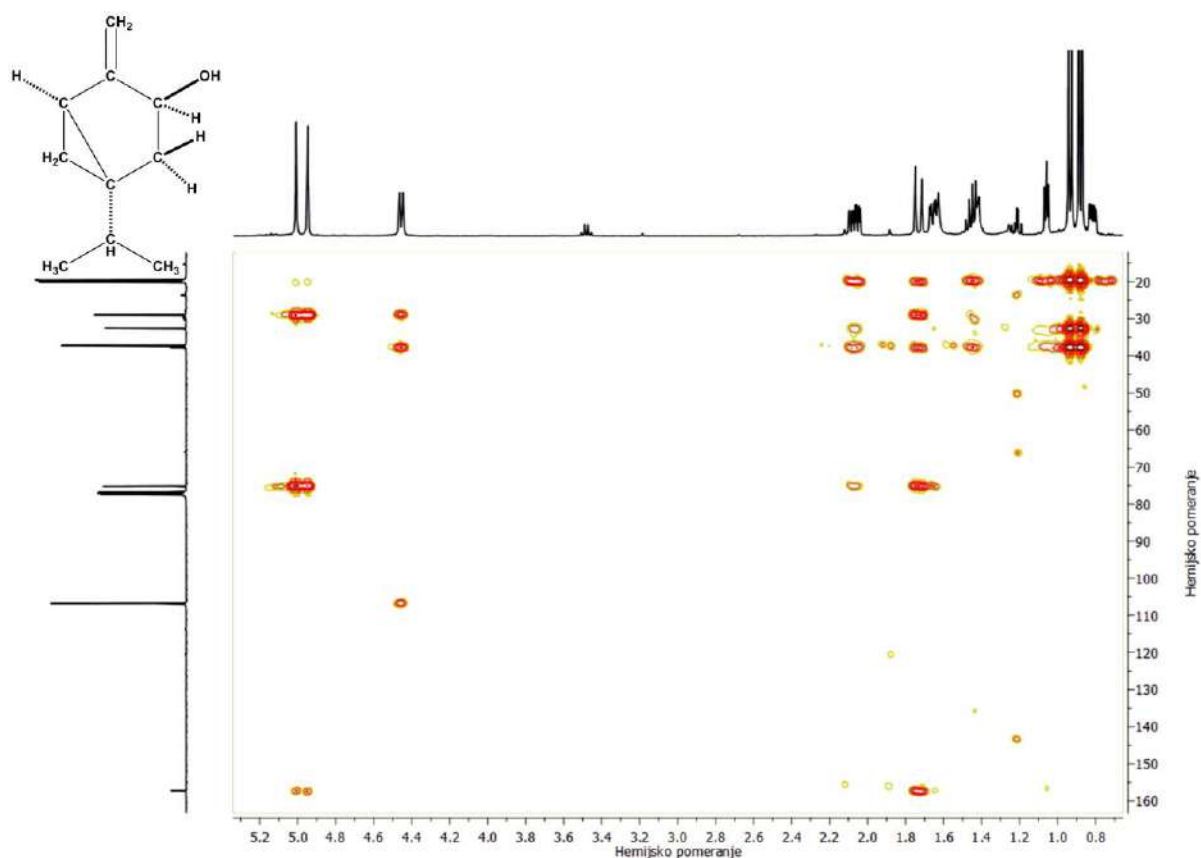
Prilog 8.1.8. DEPT135 spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola [1]



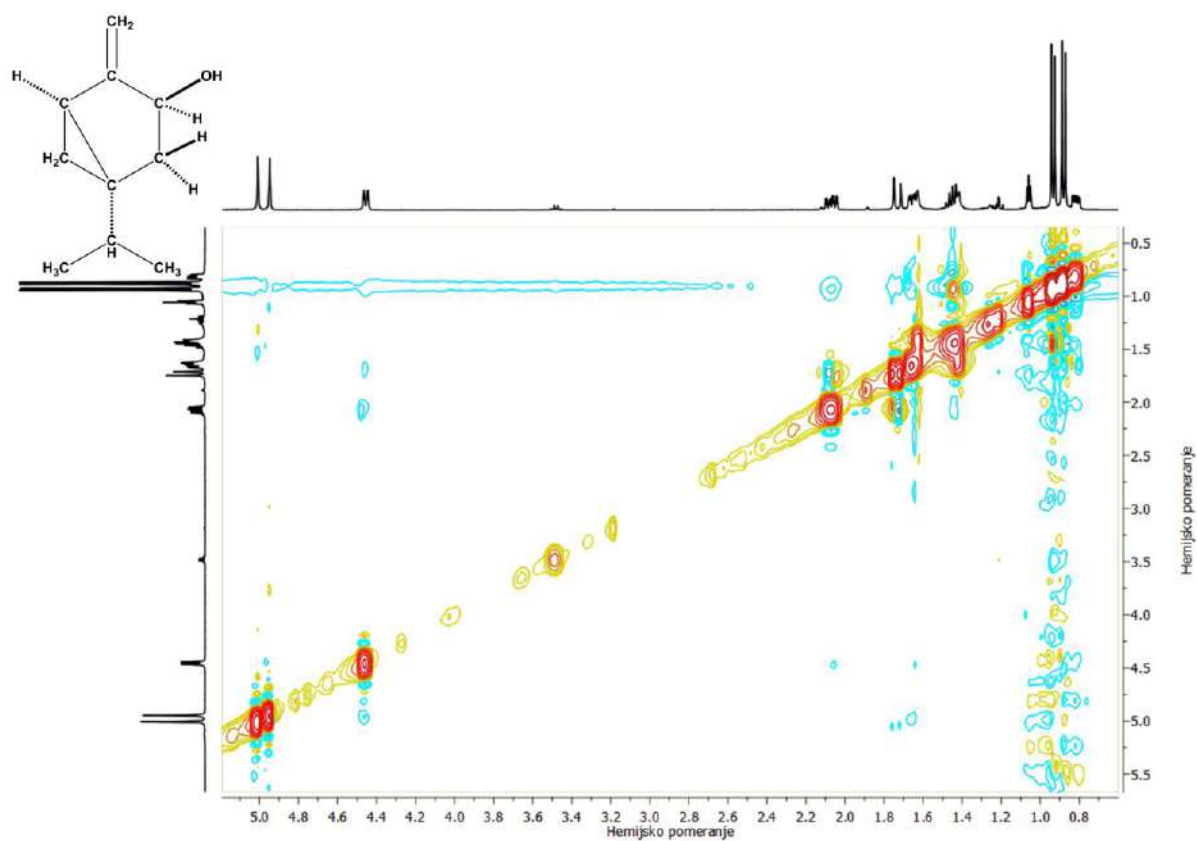
Prilog 8.1.9. HSQC spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola [1]



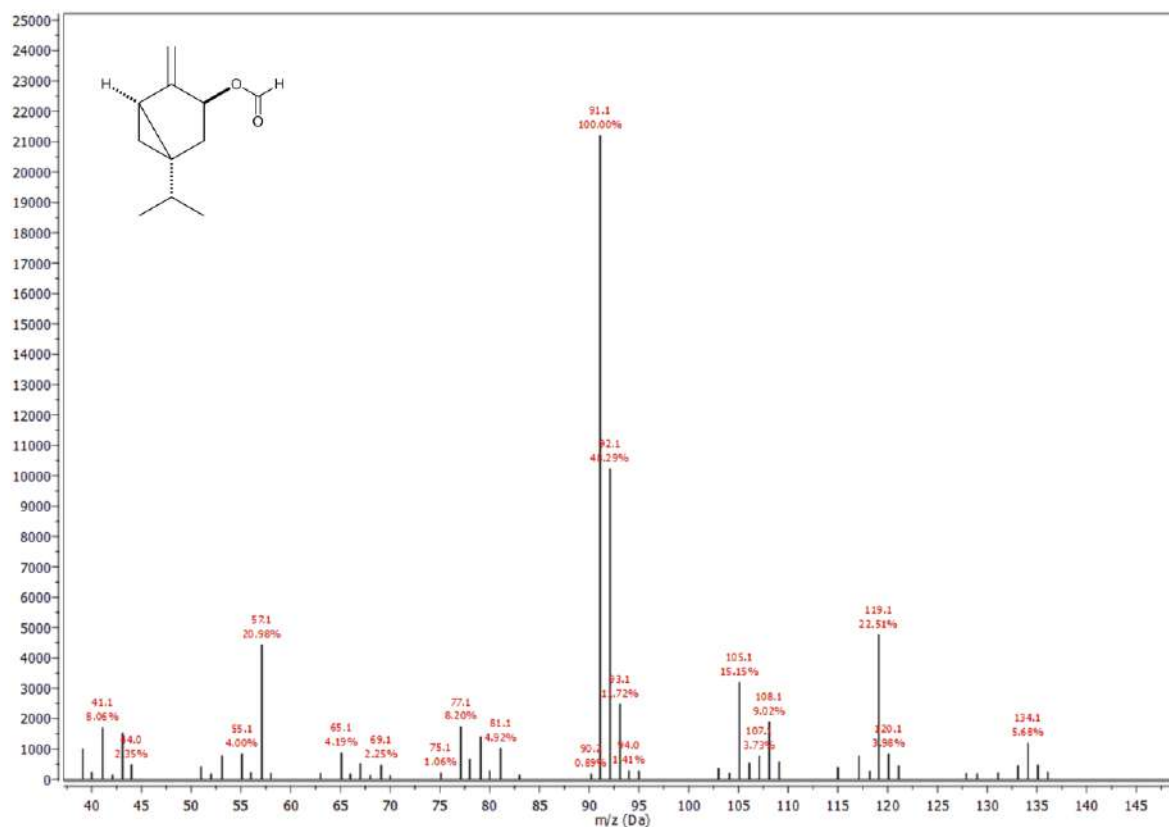
Prilog 8.1.10. HMBC spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola [1]



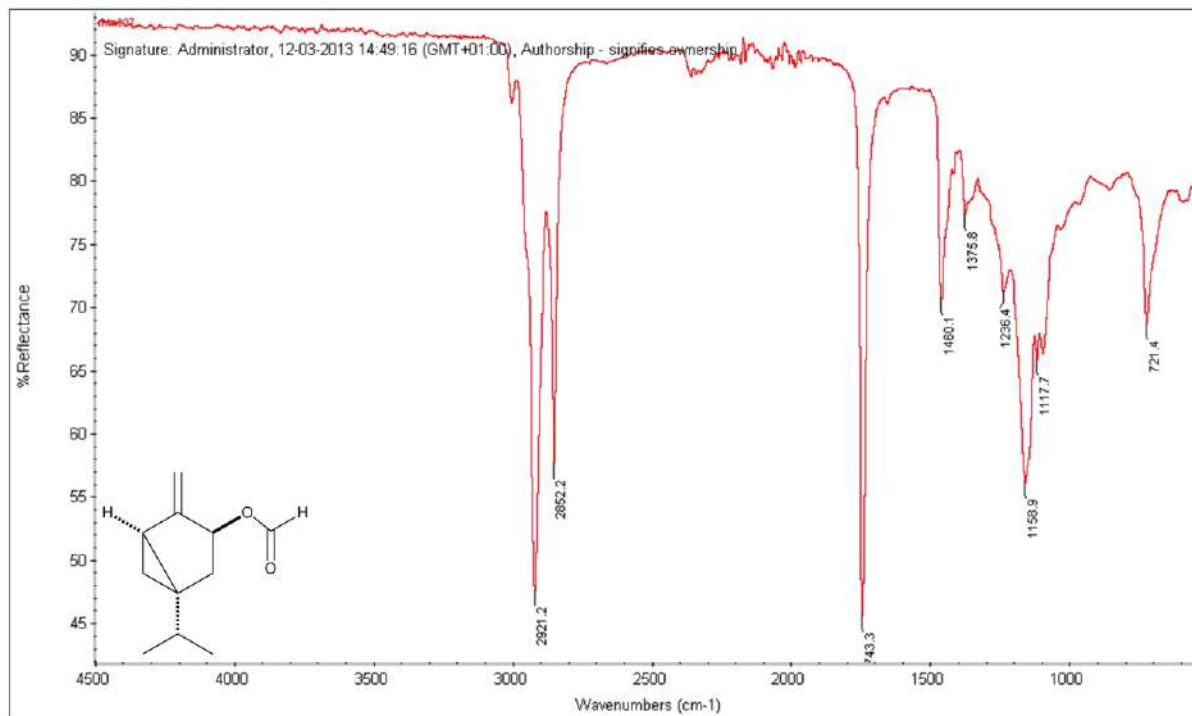
Prilog 8.1.11. NOESY spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinola [1]



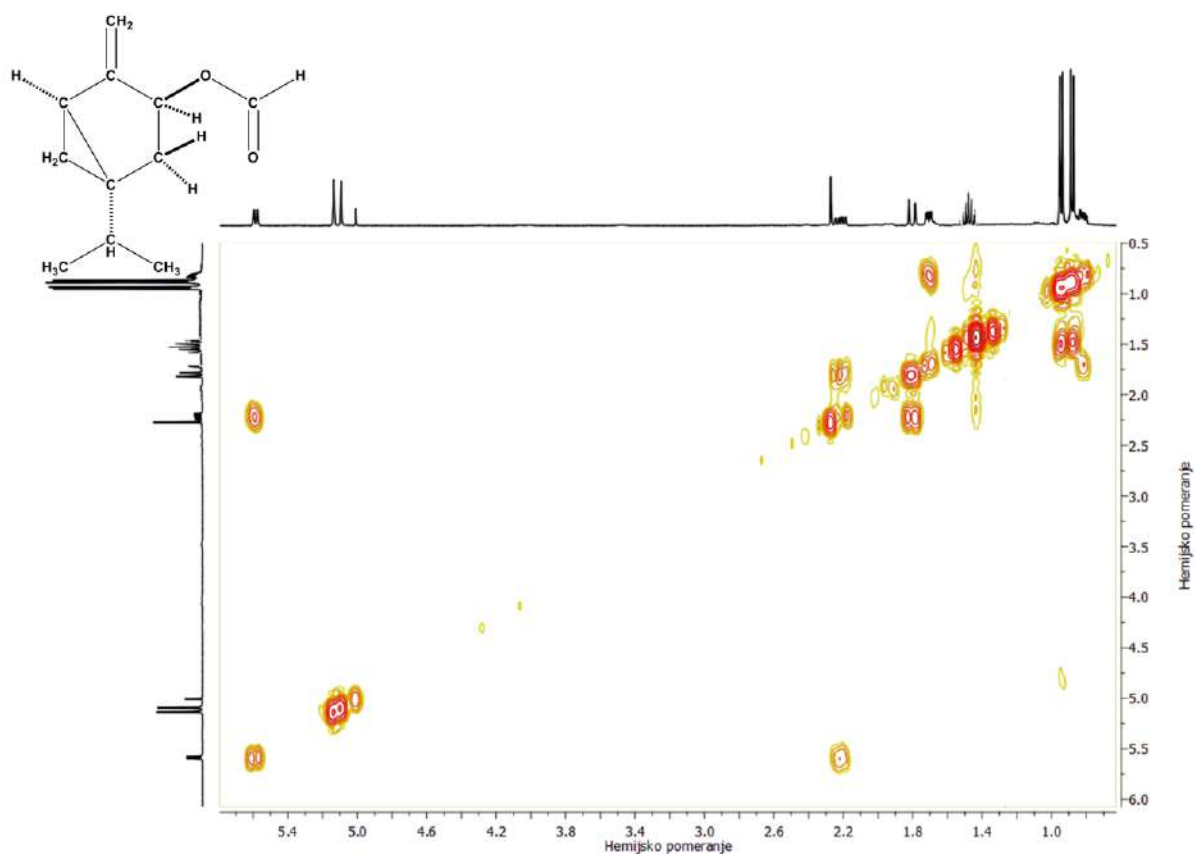
Prilog 8.1.12. Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata [**1a**]



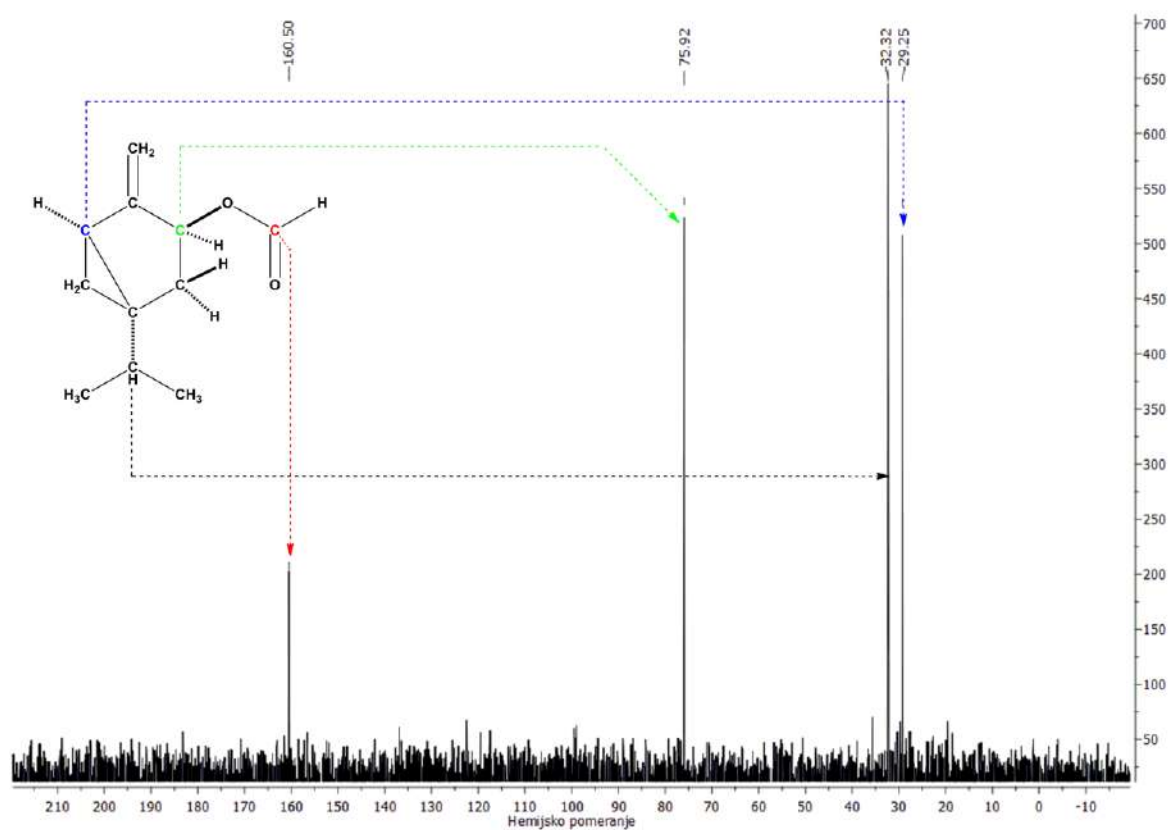
Prilog 8.1.13. IR spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata [**1a**]



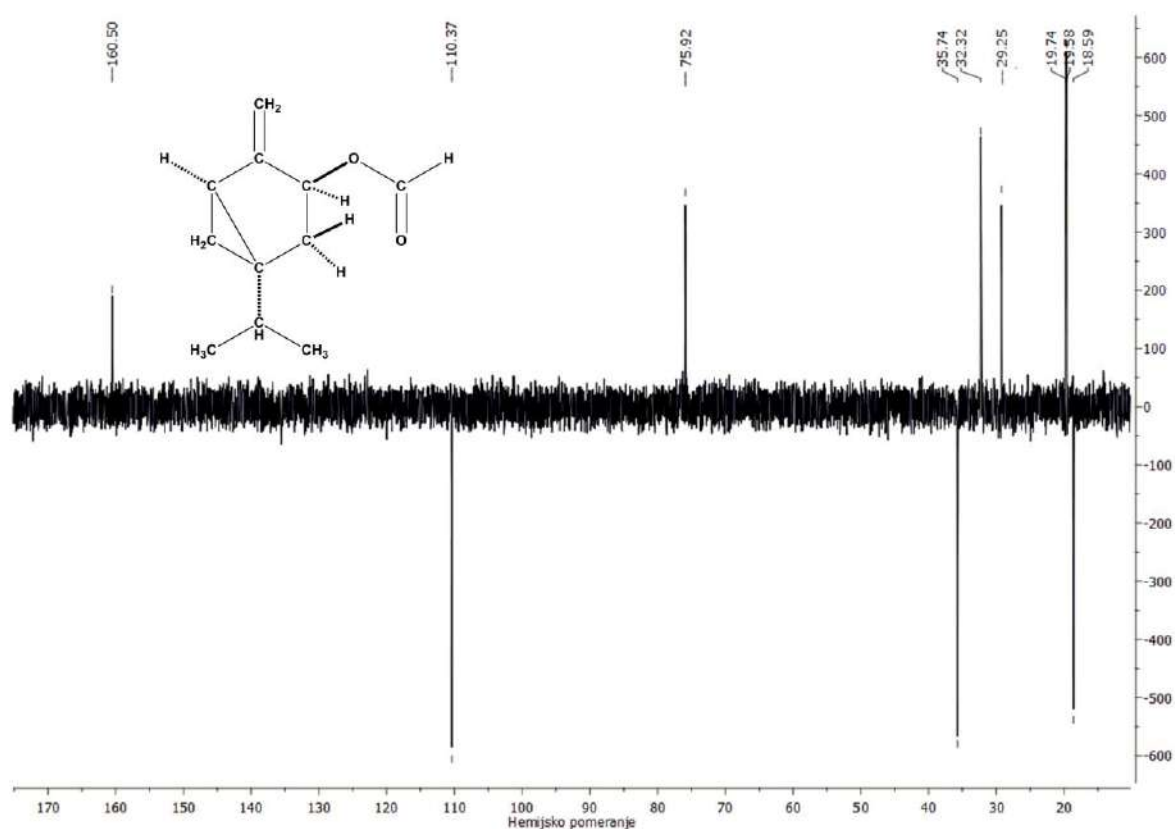
Prilog 8.1.14. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata [1a]



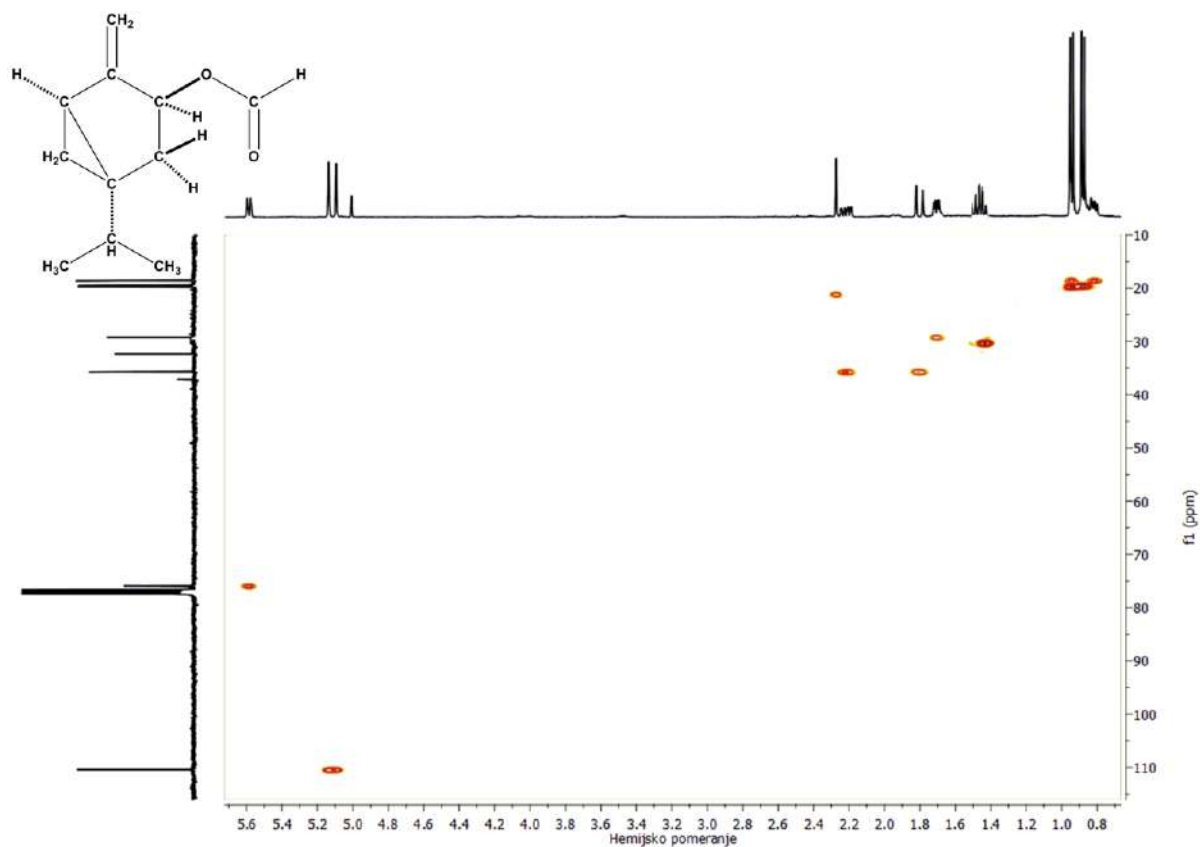
Prilog 8.1.15. DEPT90 spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata [1a]



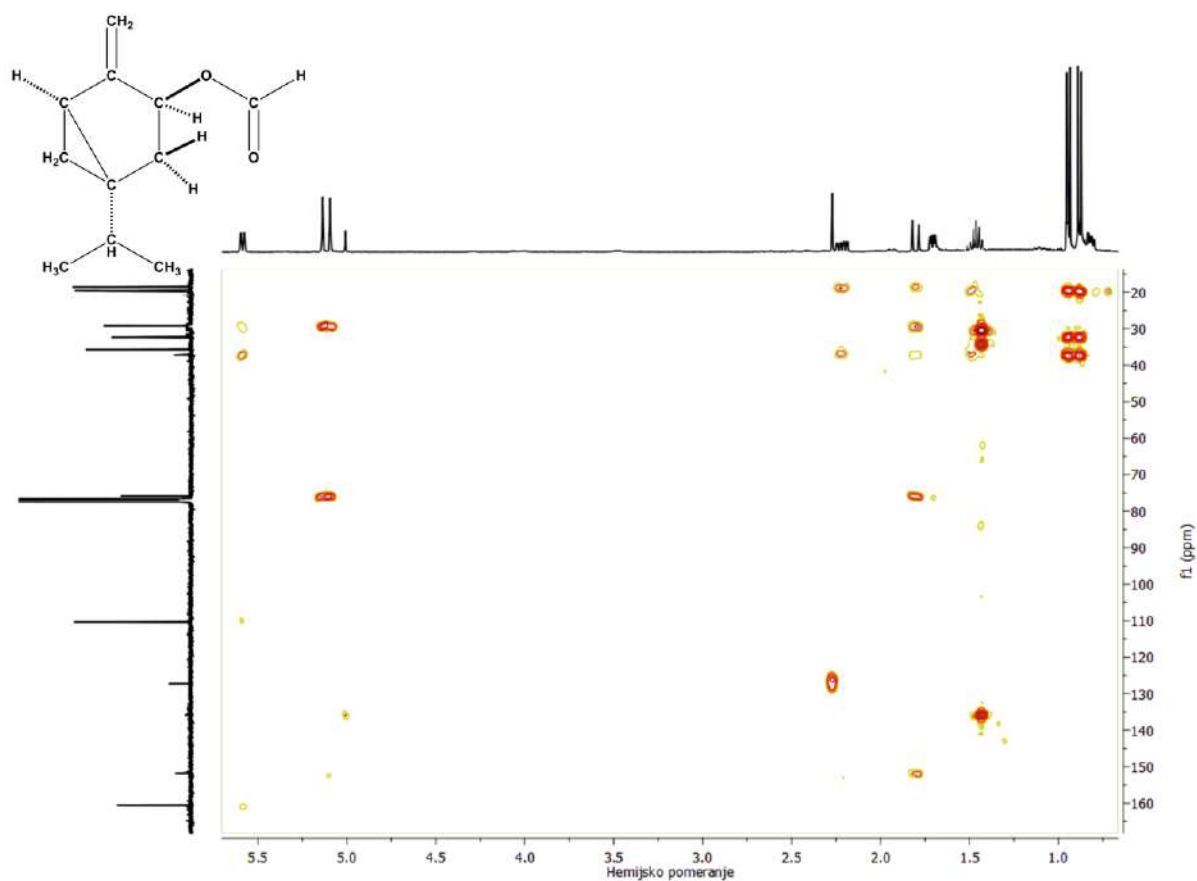
Prilog 8.1.16. DEPT135 spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata [1a]



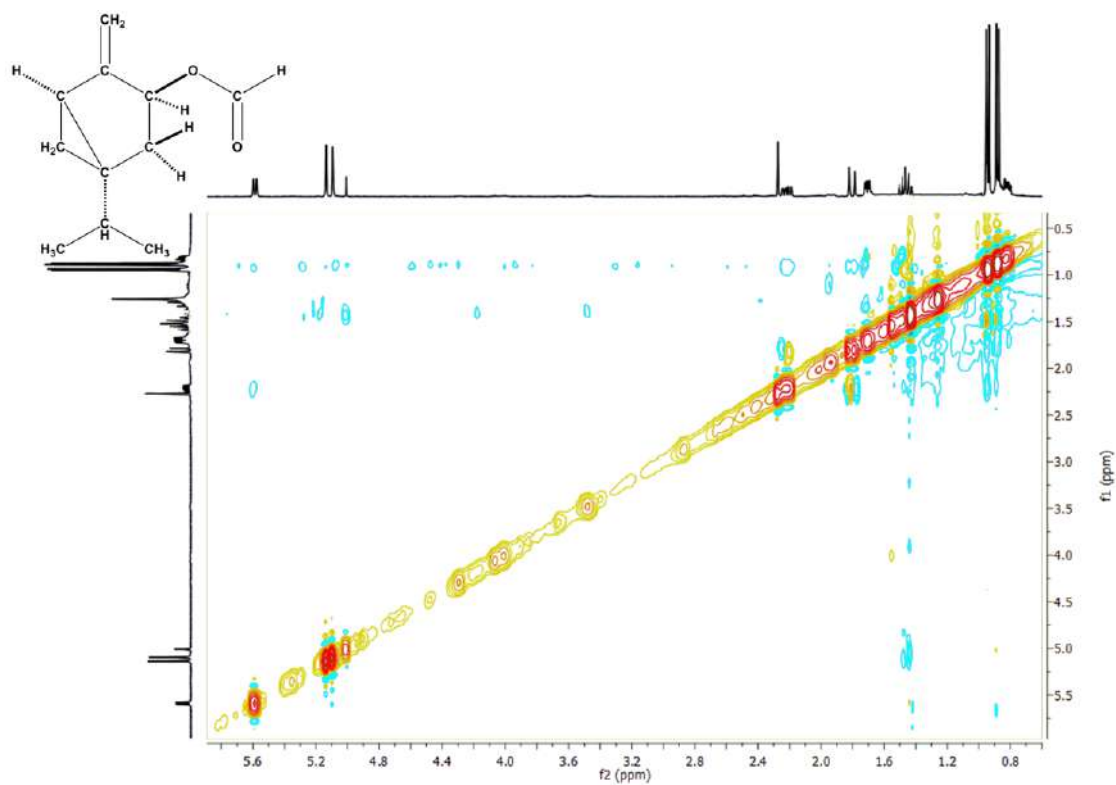
Prilog 8.1.17. HSQC spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-formijata [1a]



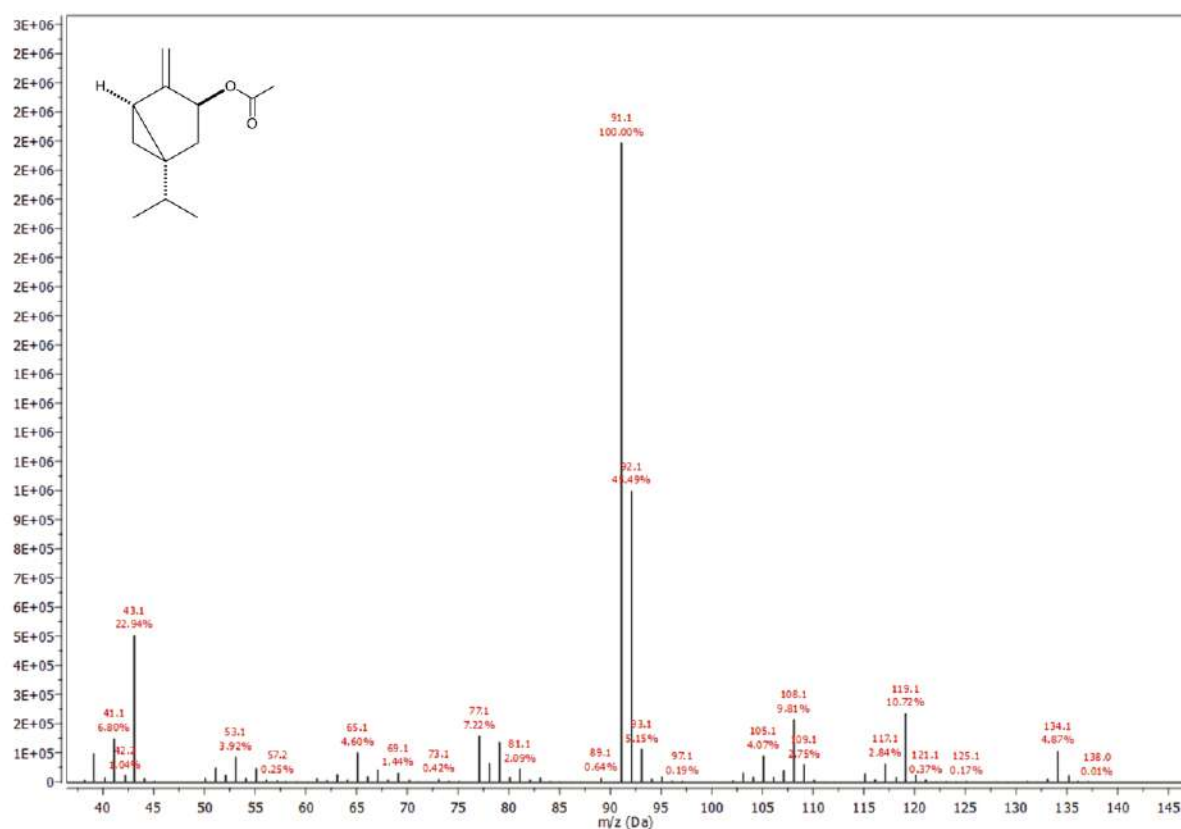
Prilog 8.1.18. HMBC spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-formijata [**1a**]



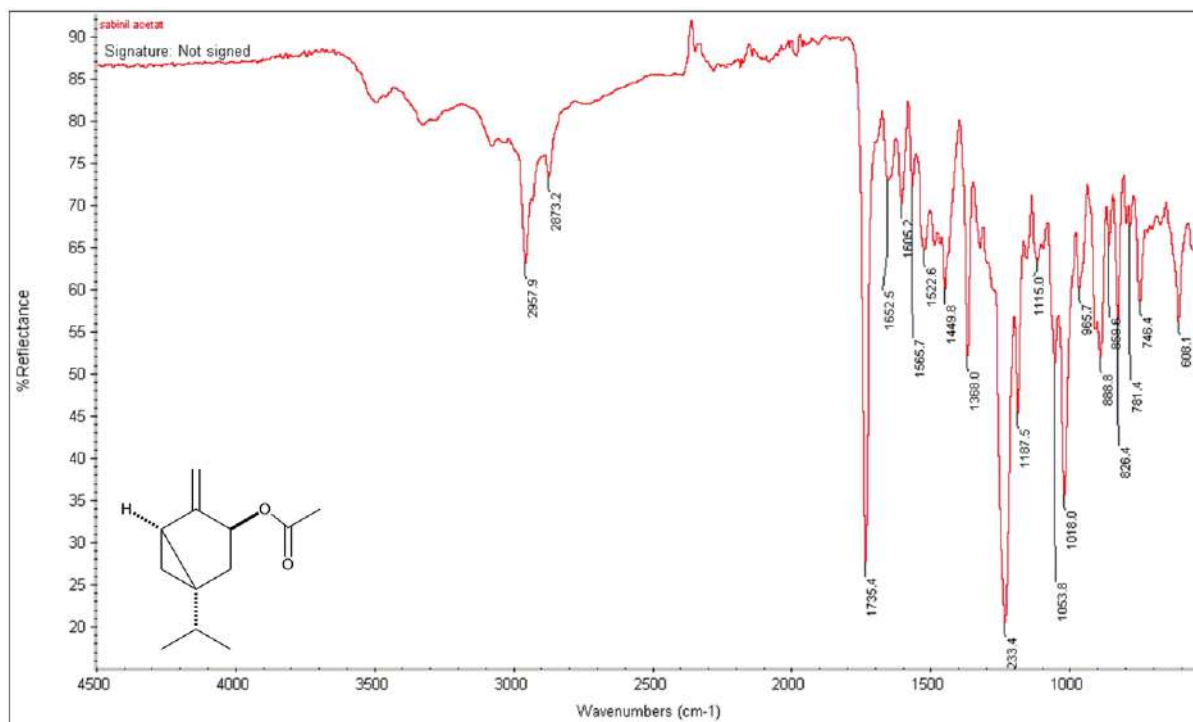
Prilog 8.1.19. NOESY spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-formijata [**1a**]



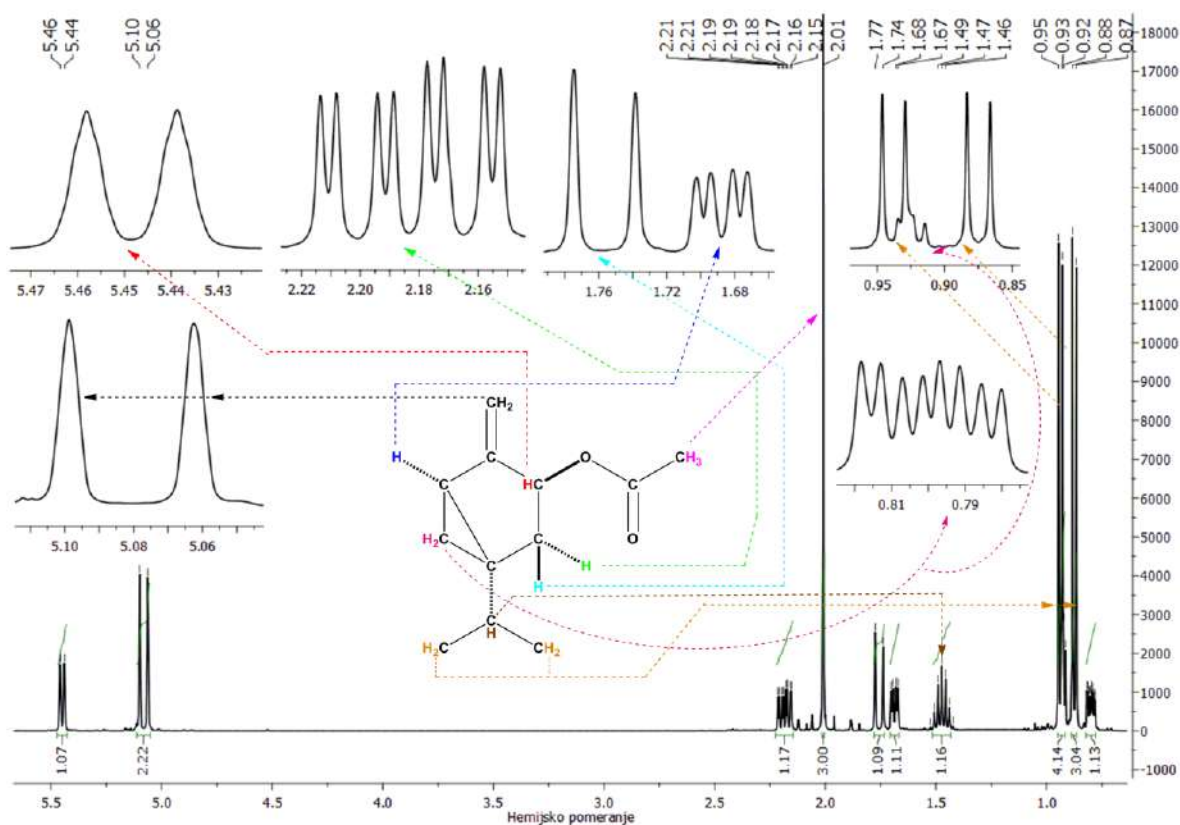
Prilog 8.1.20. Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata [**1b**]



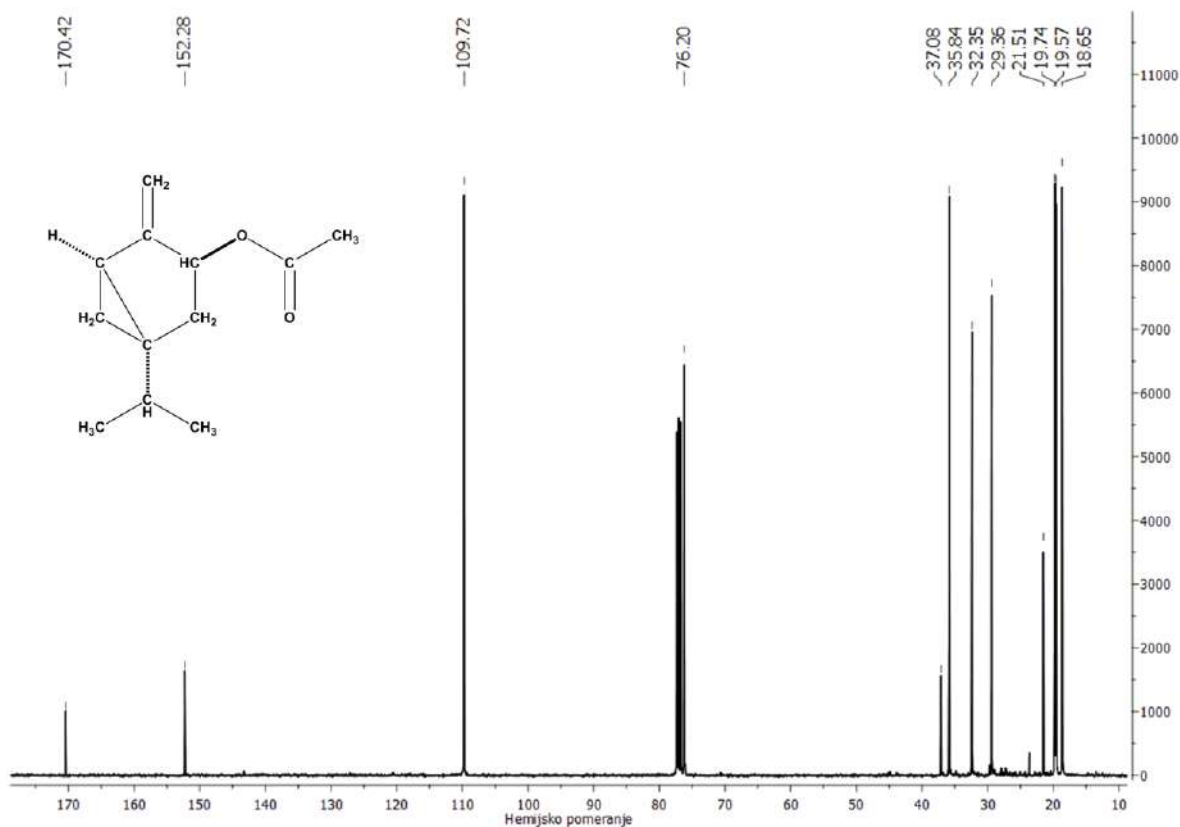
Prilog 8.1.21. IR spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata [**1b**]



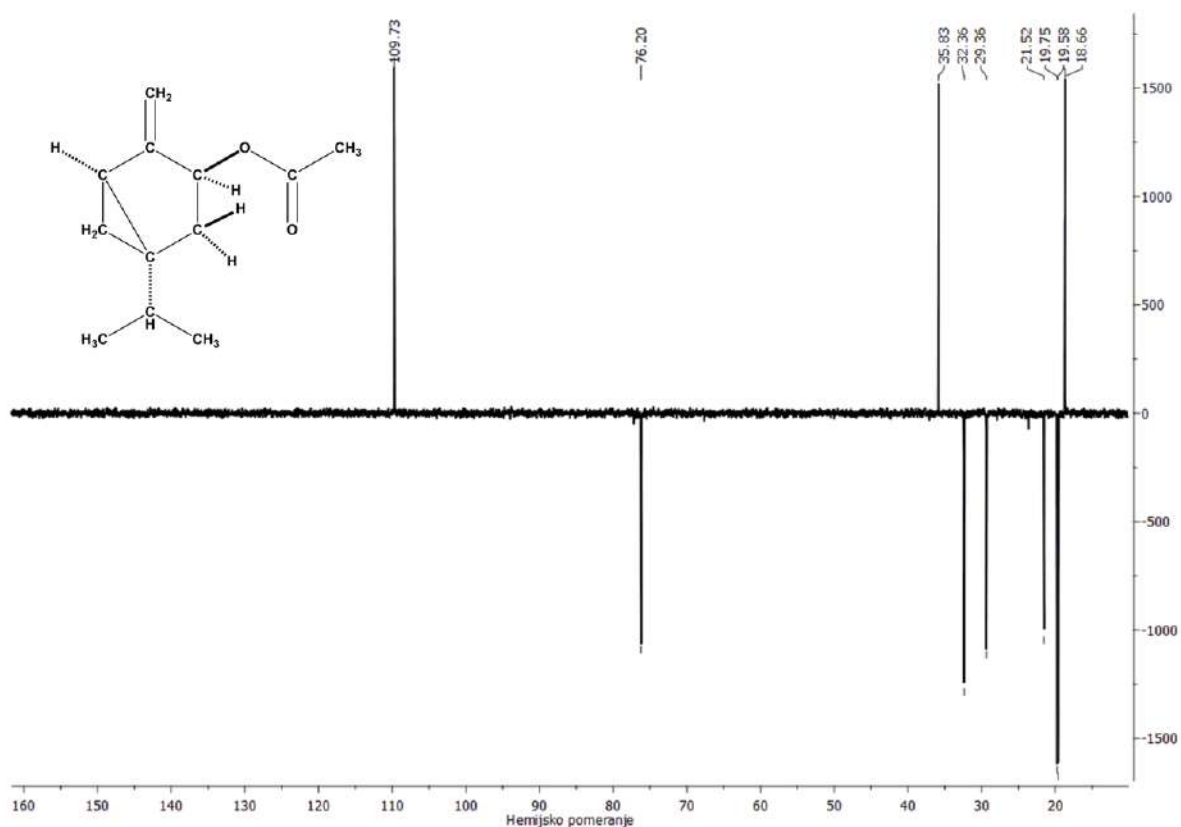
Prilog 8.1.22. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-acetata [**1b**]



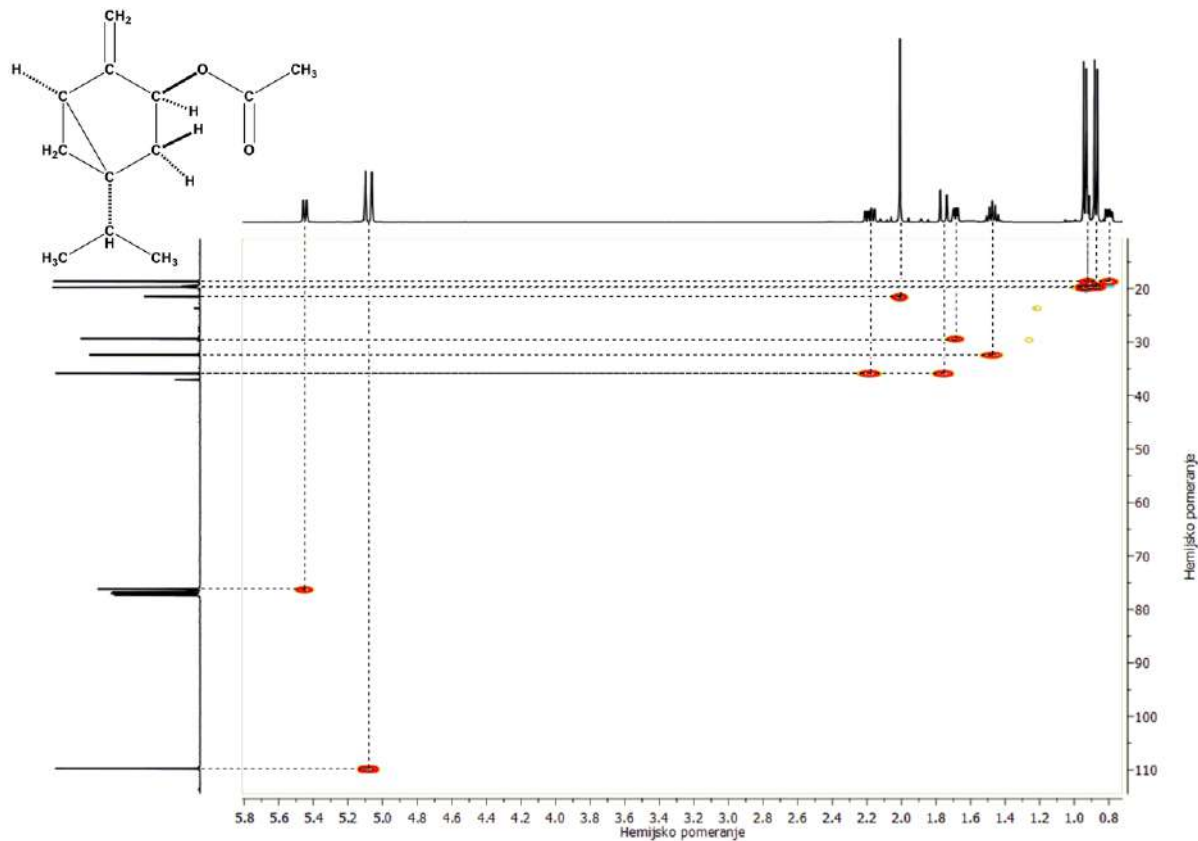
Prilog 8.1.23. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-acetata [**1b**]



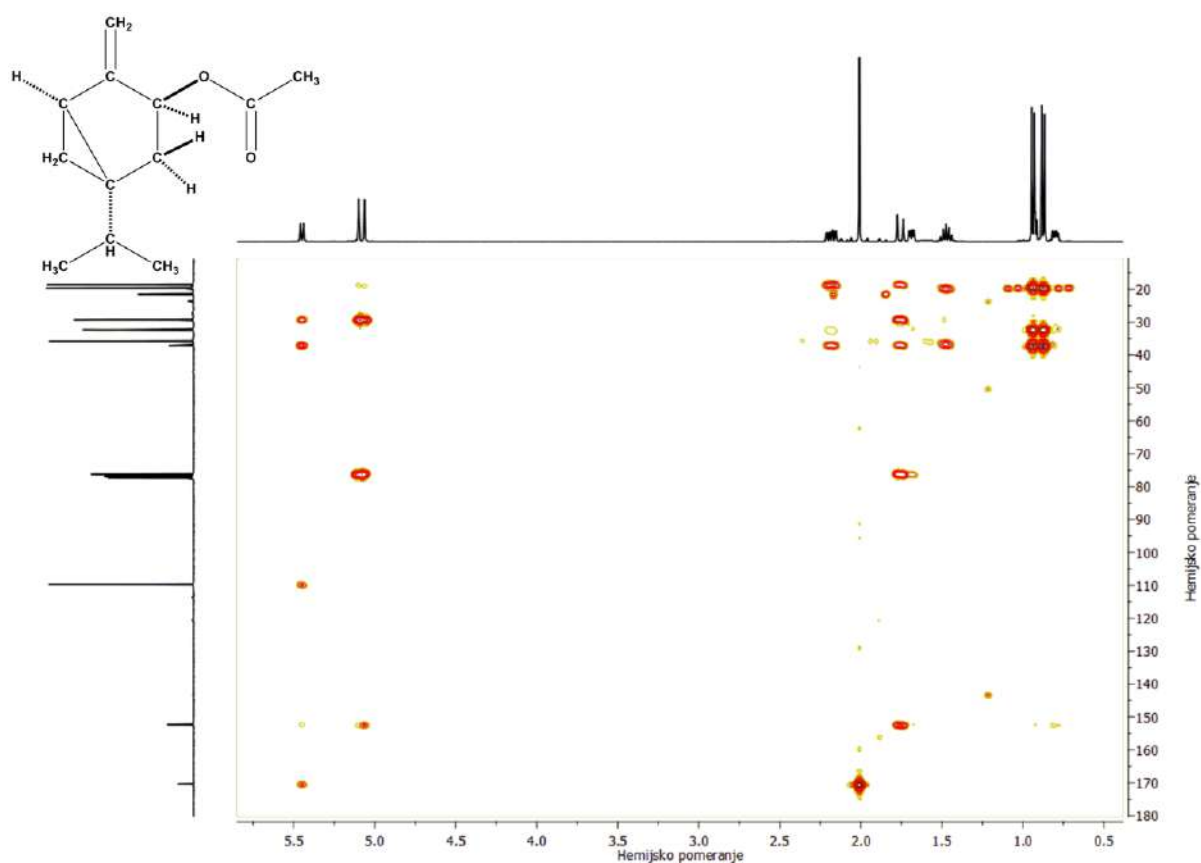
Prilog 8.1.26. DEPT135 spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata [1b]



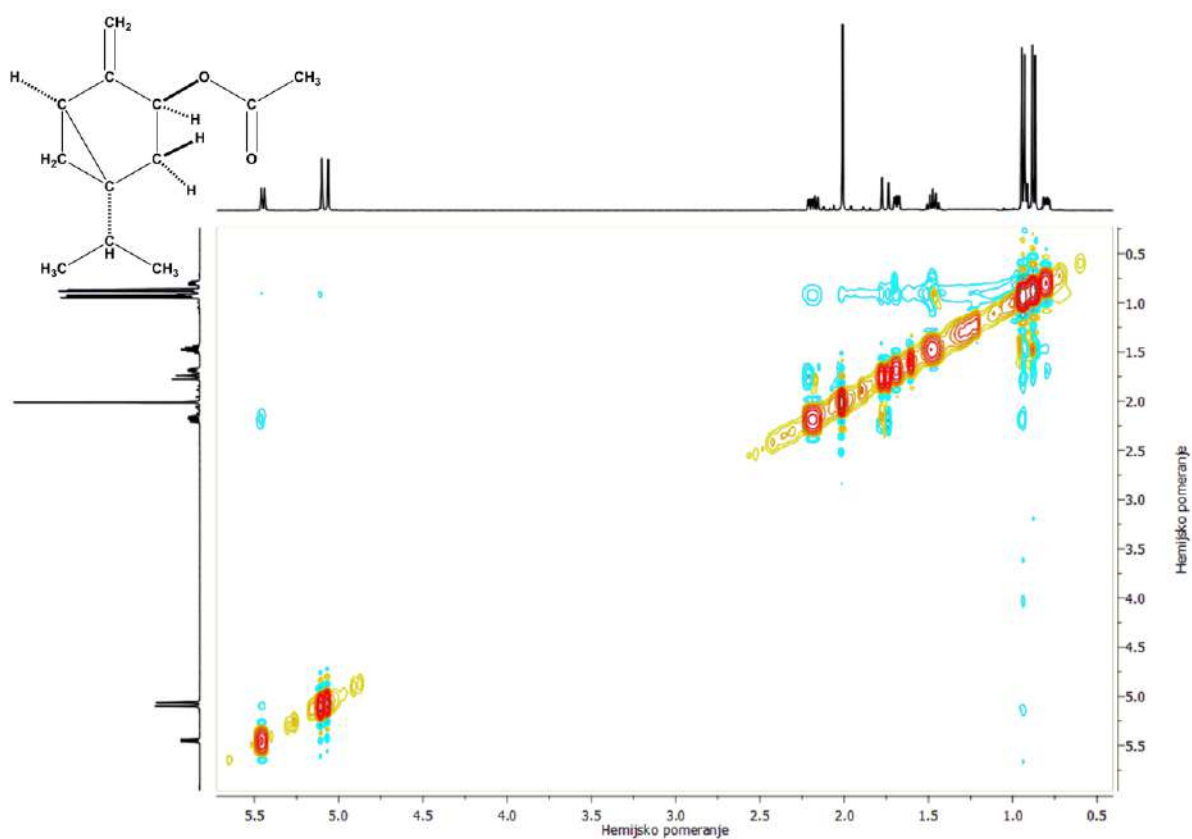
Prilog 8.1.27. HSQC spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-acetata [1b]



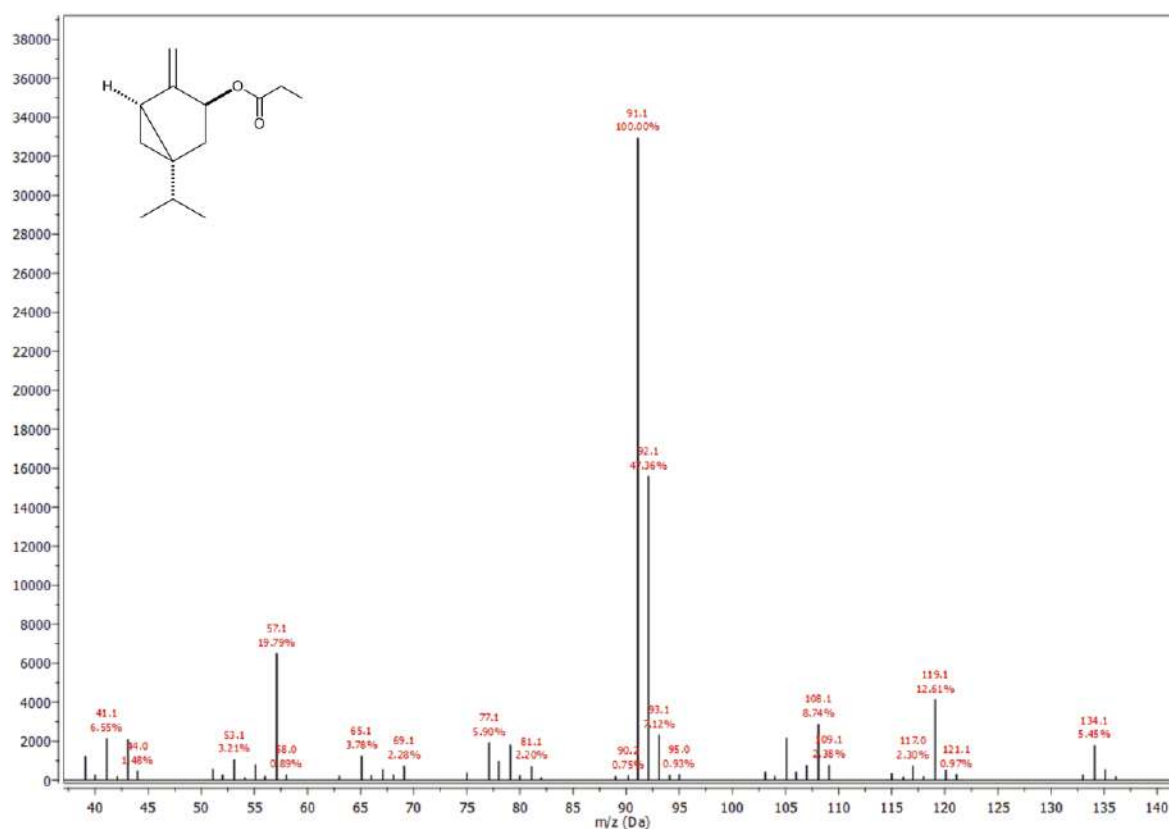
Prilog 8.1.28. HMBC spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-acetata [**1b**]



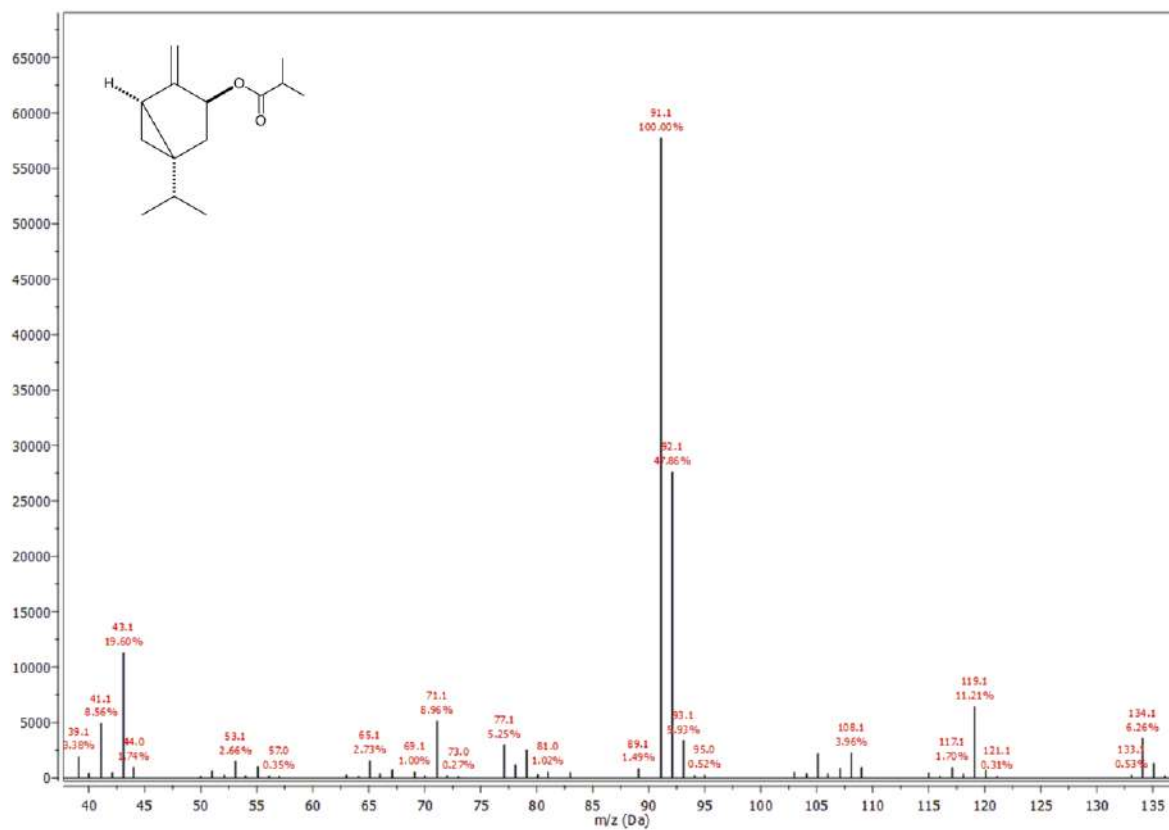
Prilog 8.1.29. NOESY spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-acetata [**1b**]



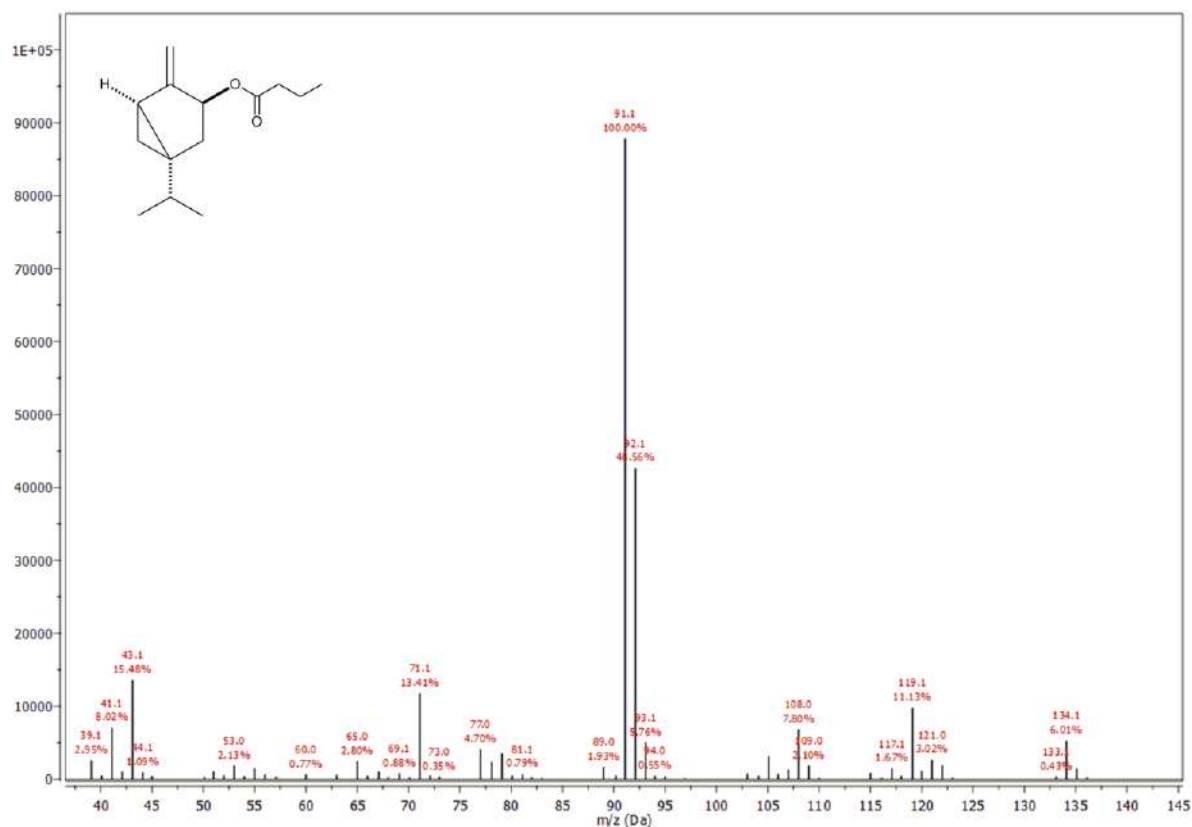
Prilog 8.1.30. Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-propanoata [**1c**]



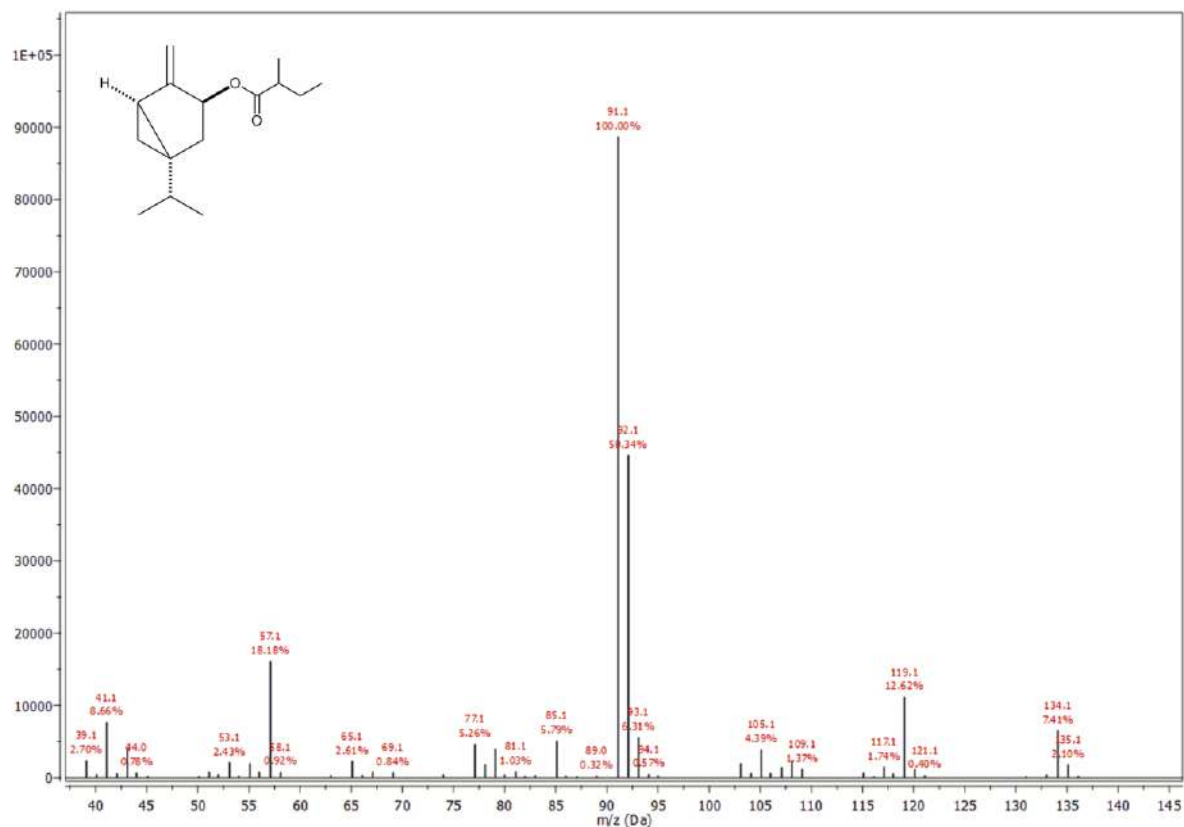
Prilog 8.1.31. Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-izobutanoata [**1d**]



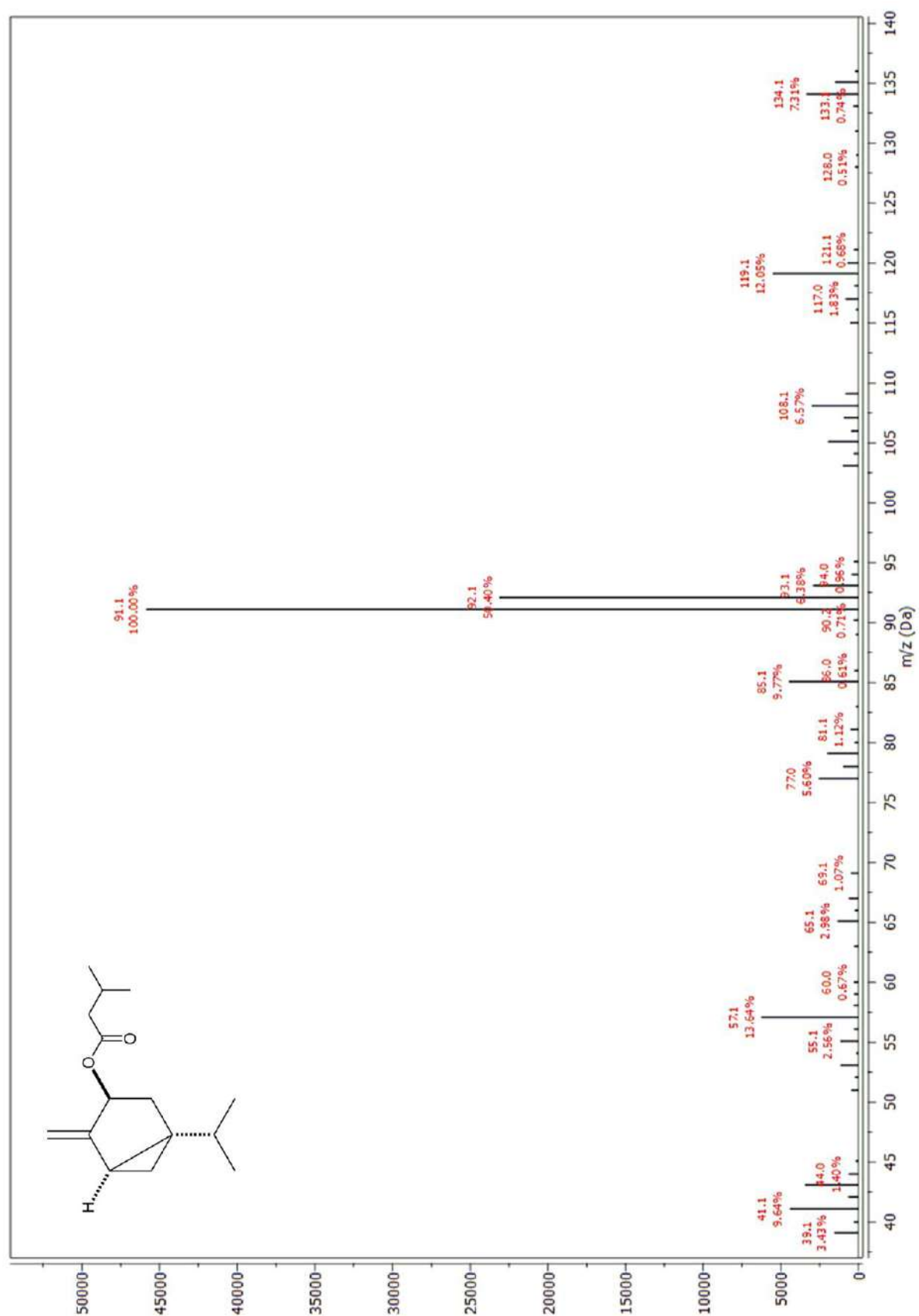
Prilog 8.1.32. Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-butanoata [1e]



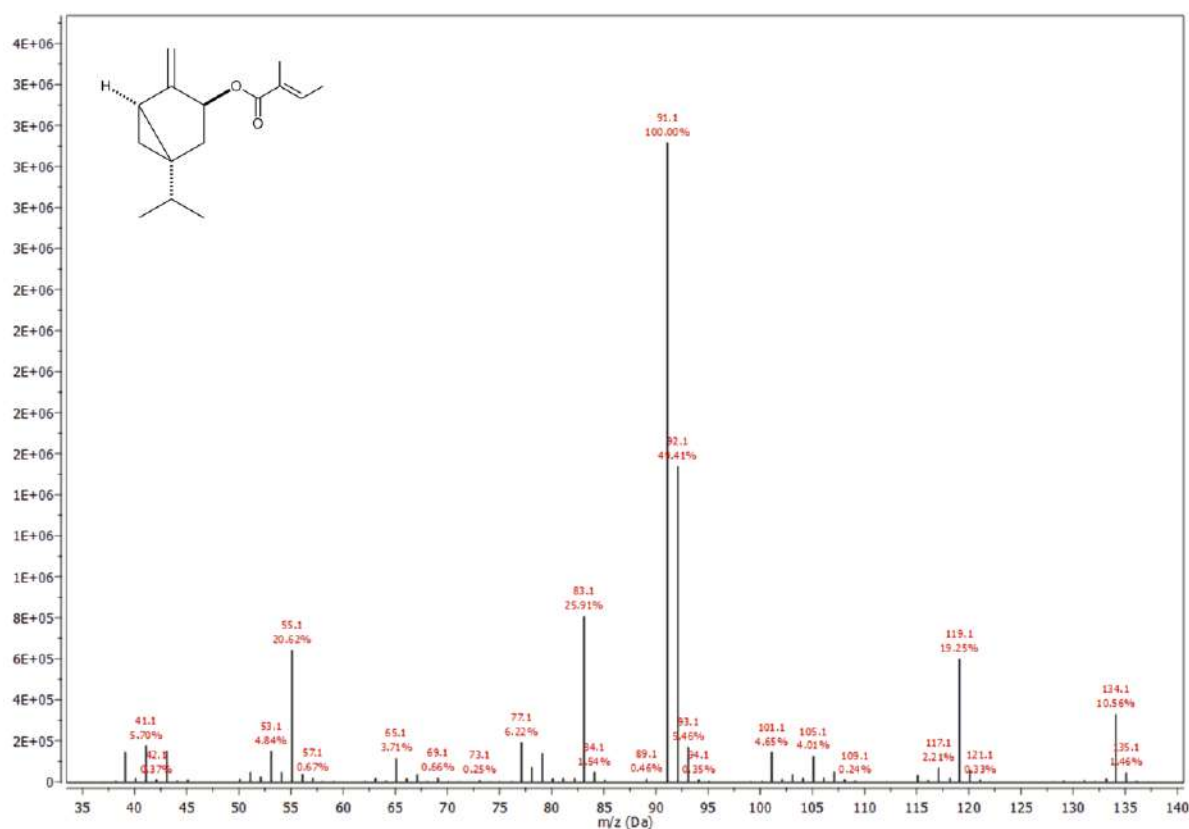
Prilog 8.1.33. Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-2-metilbutanoata [1f]



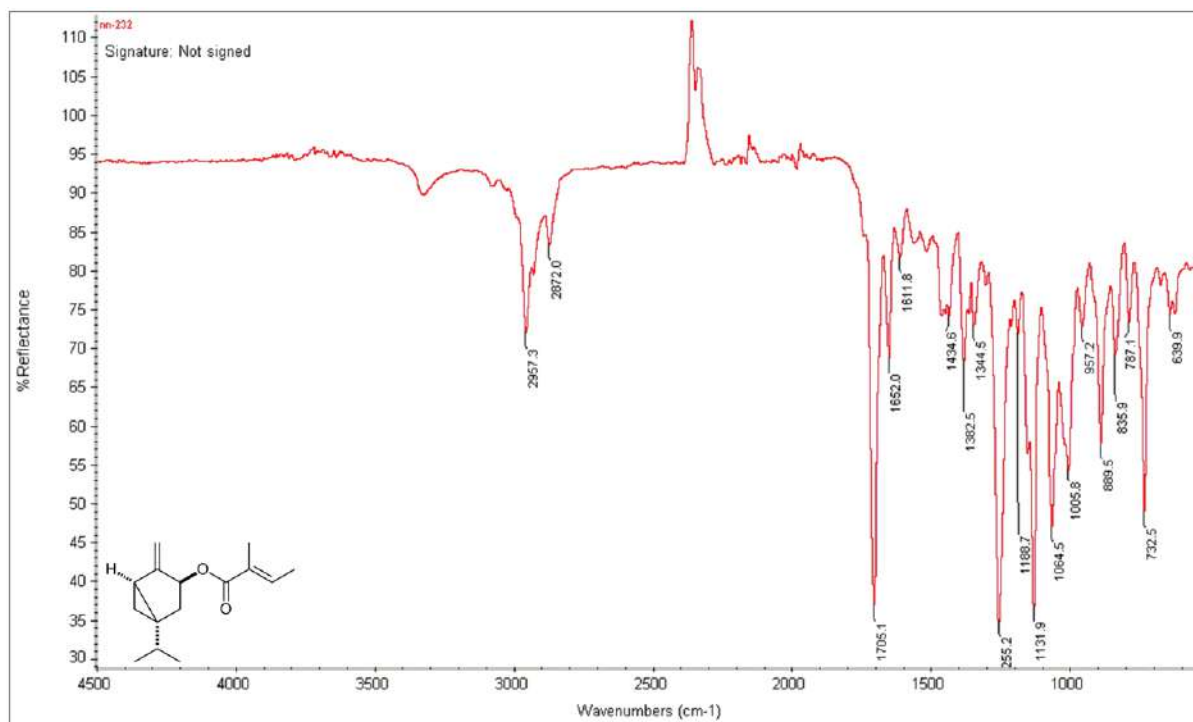
Prilog 8.1.34. Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-3-metilbutanoata [1g]



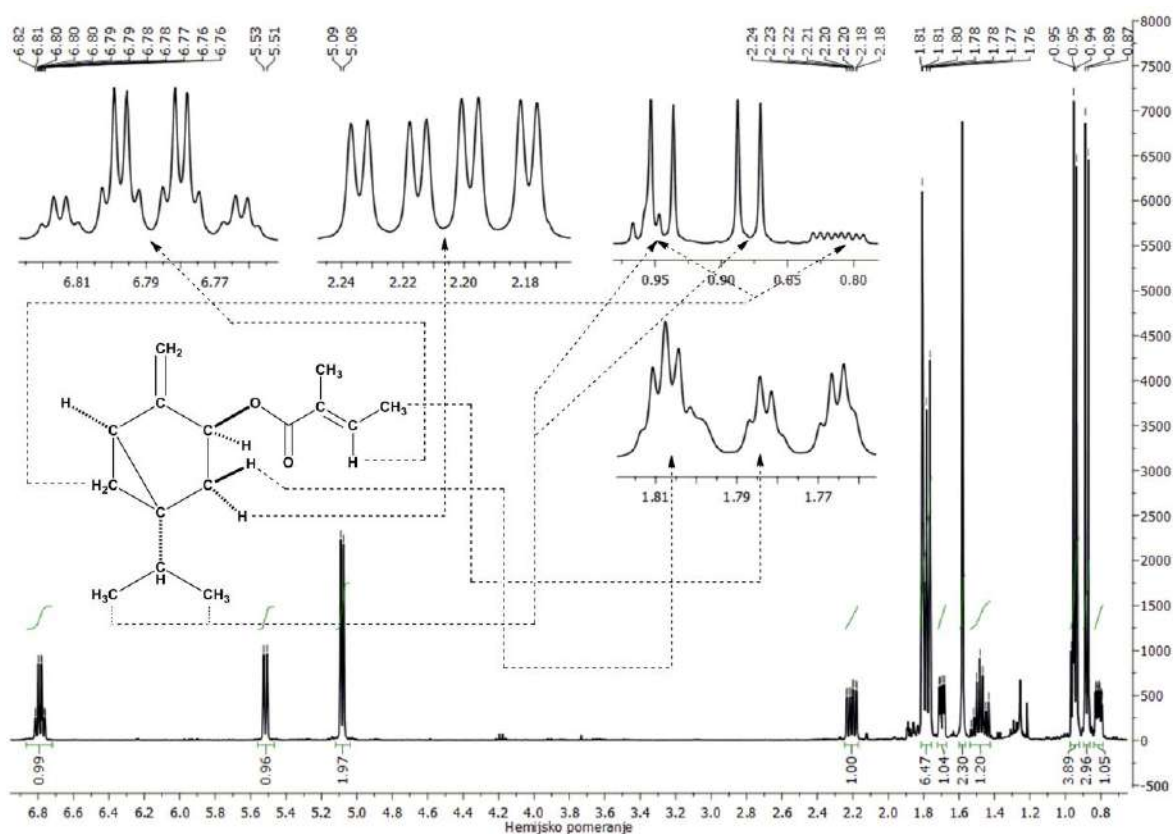
Prilog 8.1.35. Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglata [1h]



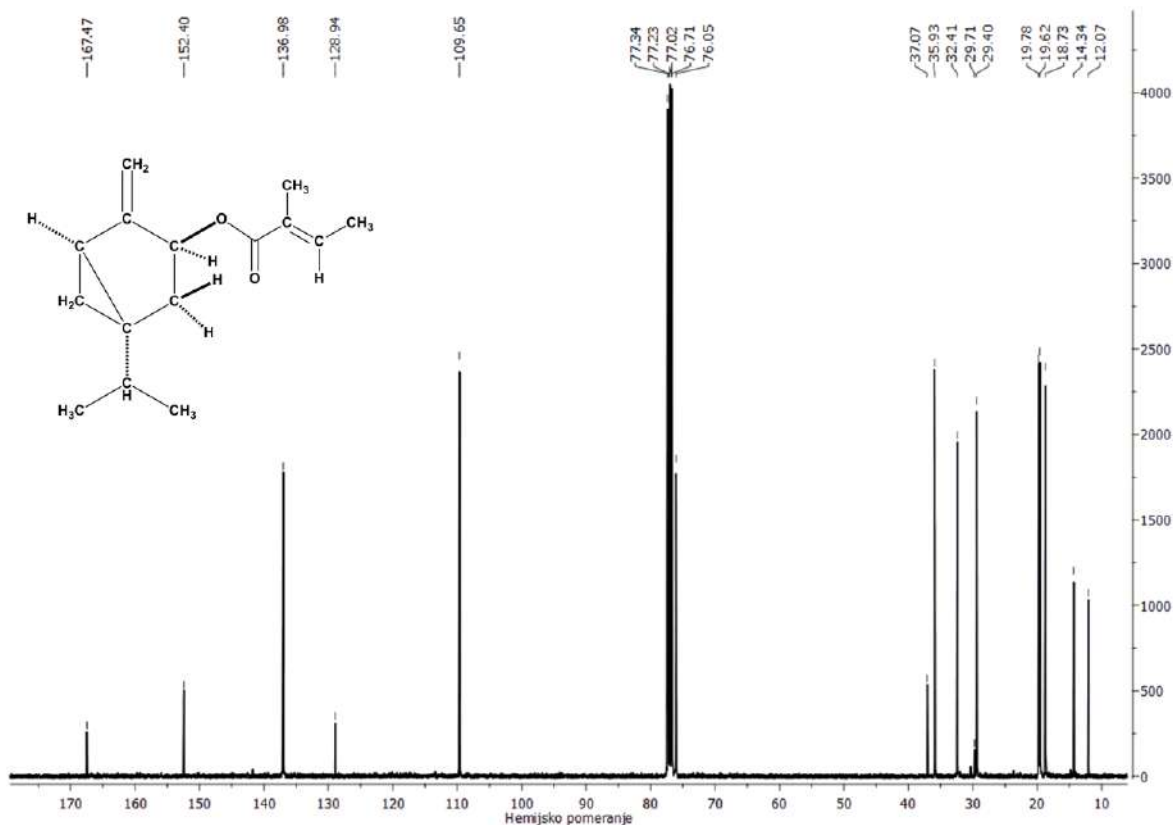
Prilog 8.1.36. IR spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglata [1h]



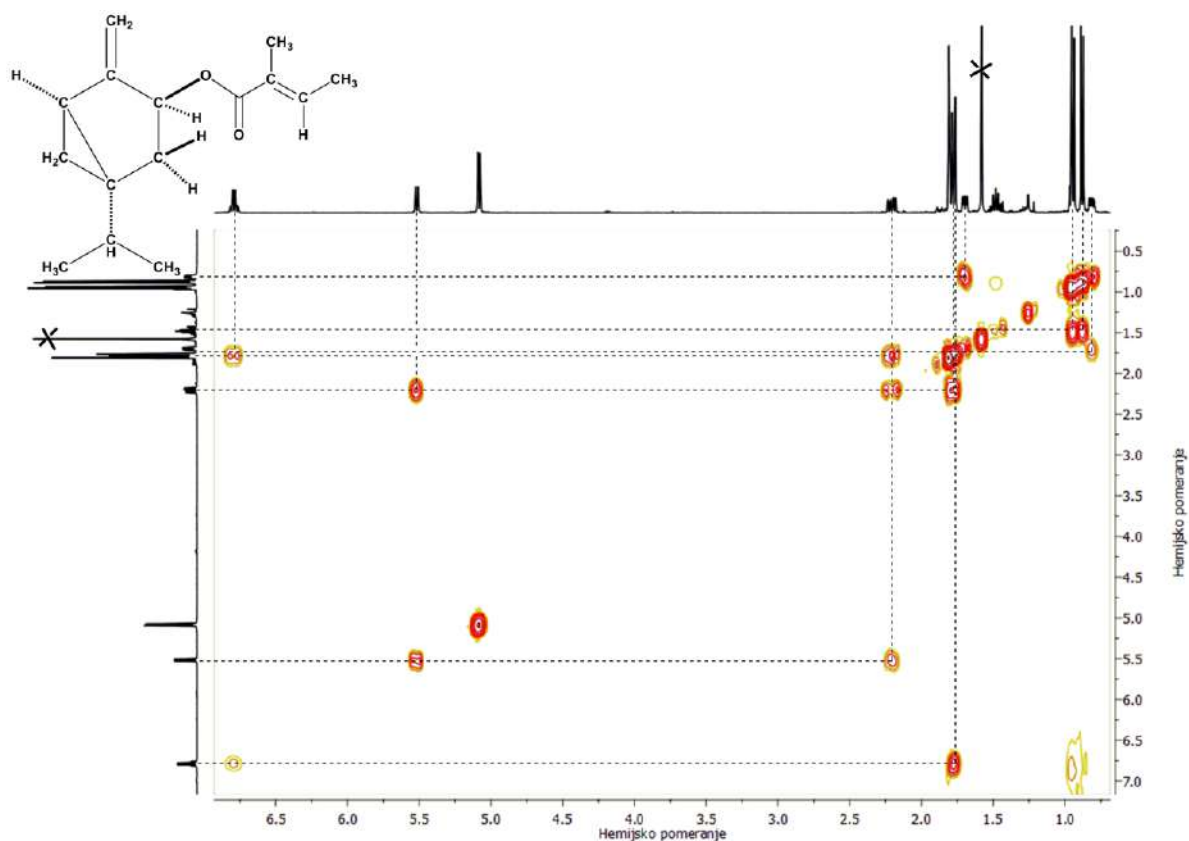
Prilog 8.1.37. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-tiglata [**1h**]



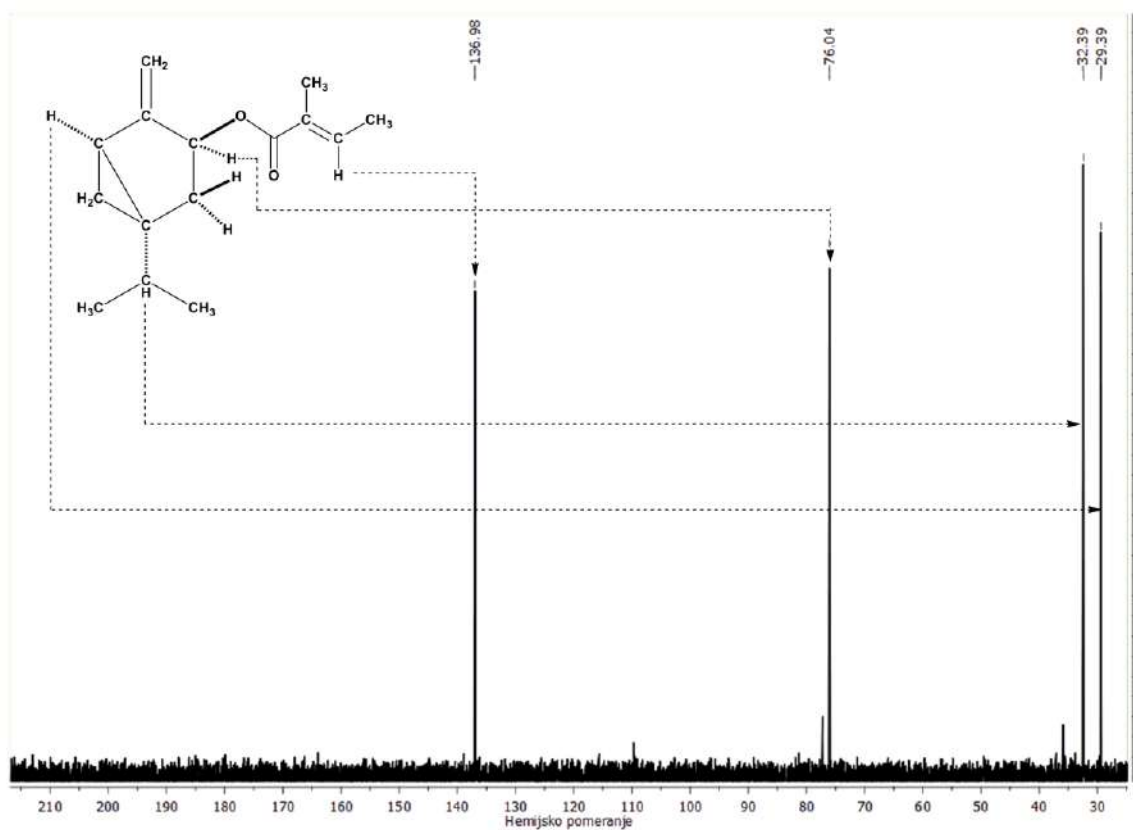
Prilog 8.1.38. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-tiglata [**1h**]



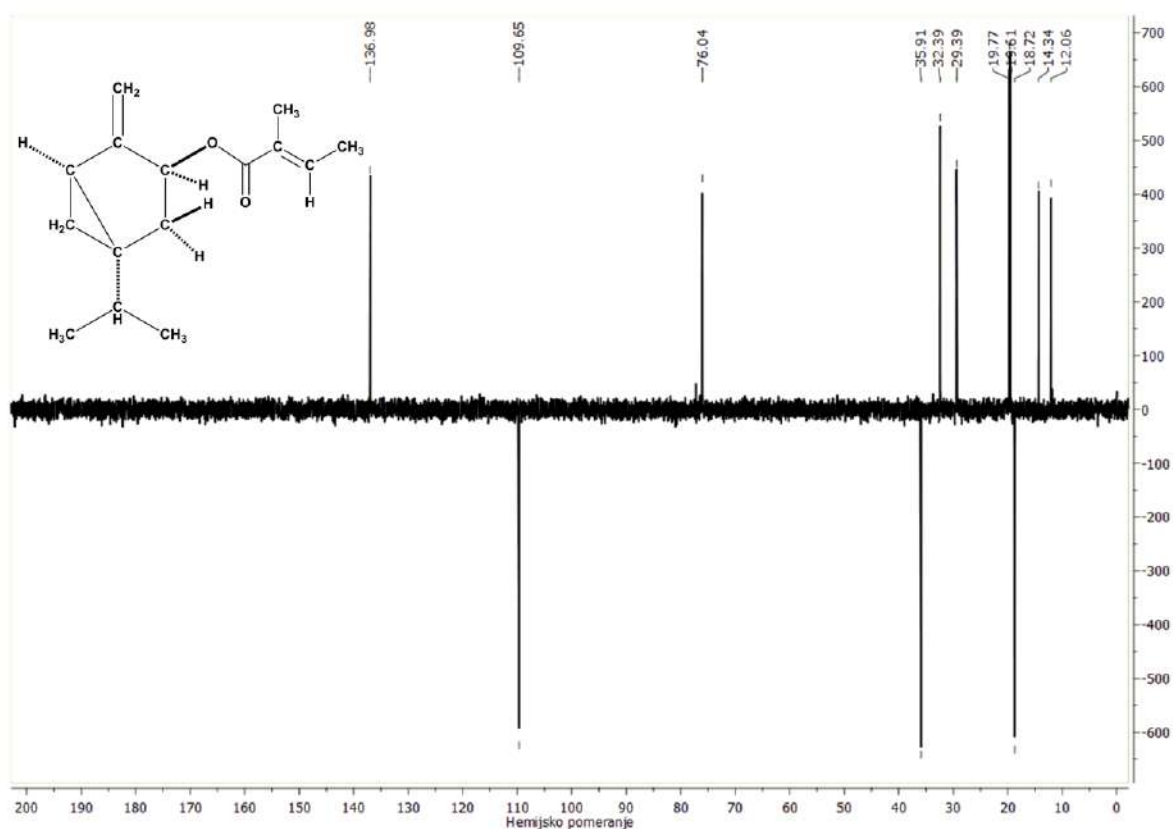
Prilog 8.1.39. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglata [**1h**]



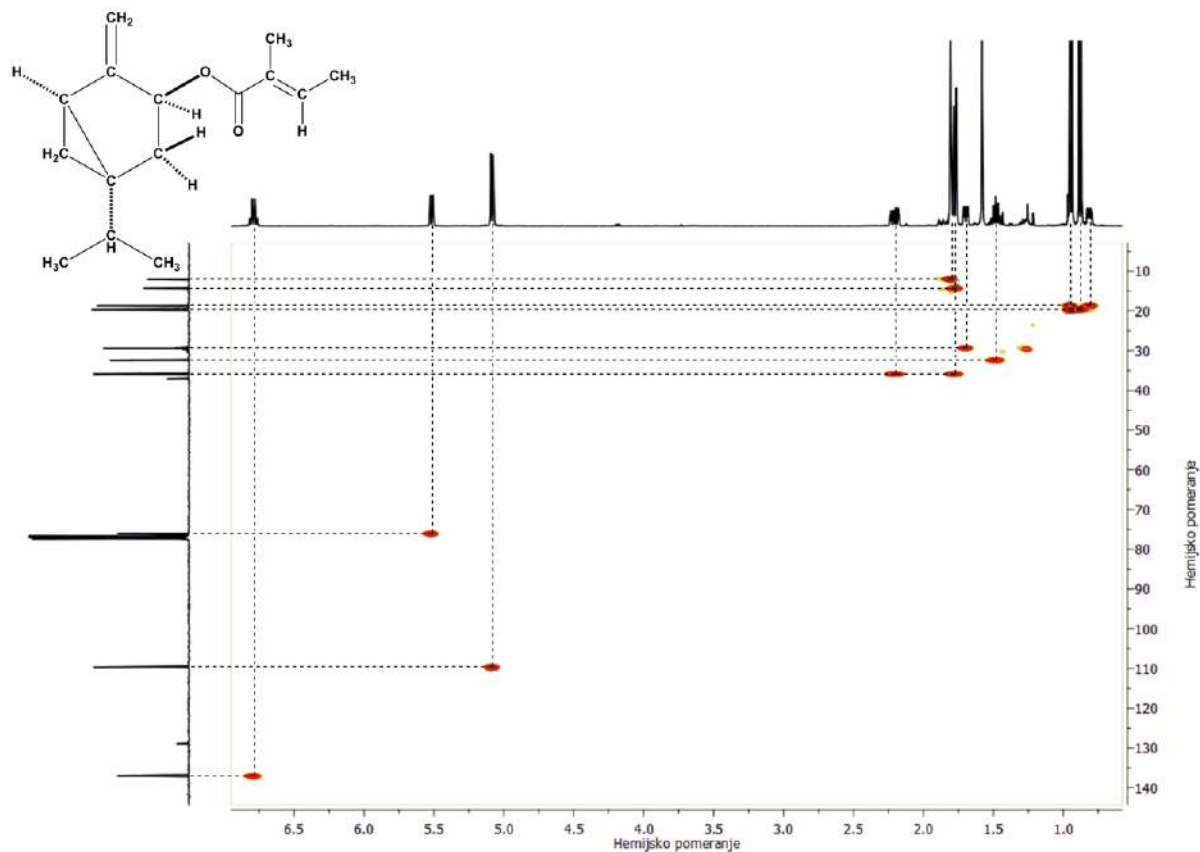
Prilog 8.1.40. DEPT90 spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglata [**1h**]



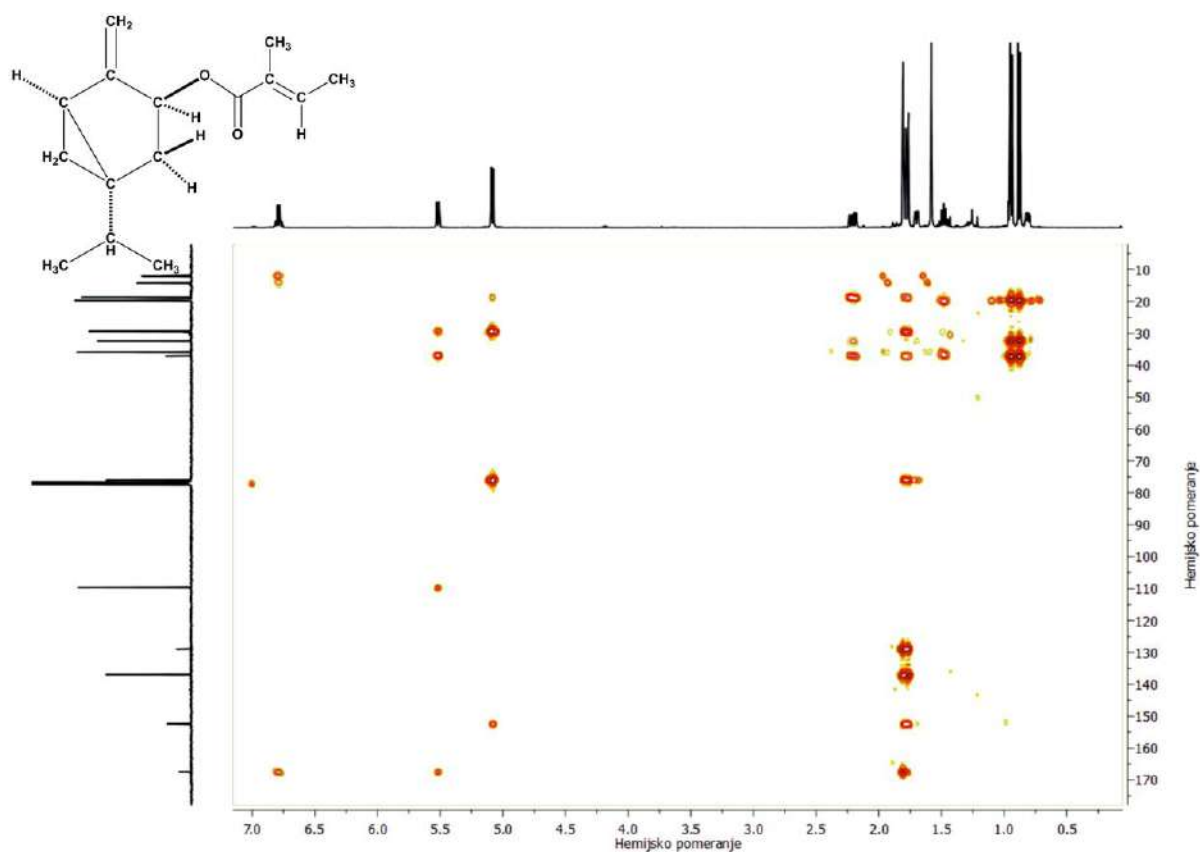
Prilog 8.1.41. DEPT135 spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglata [1*h*]



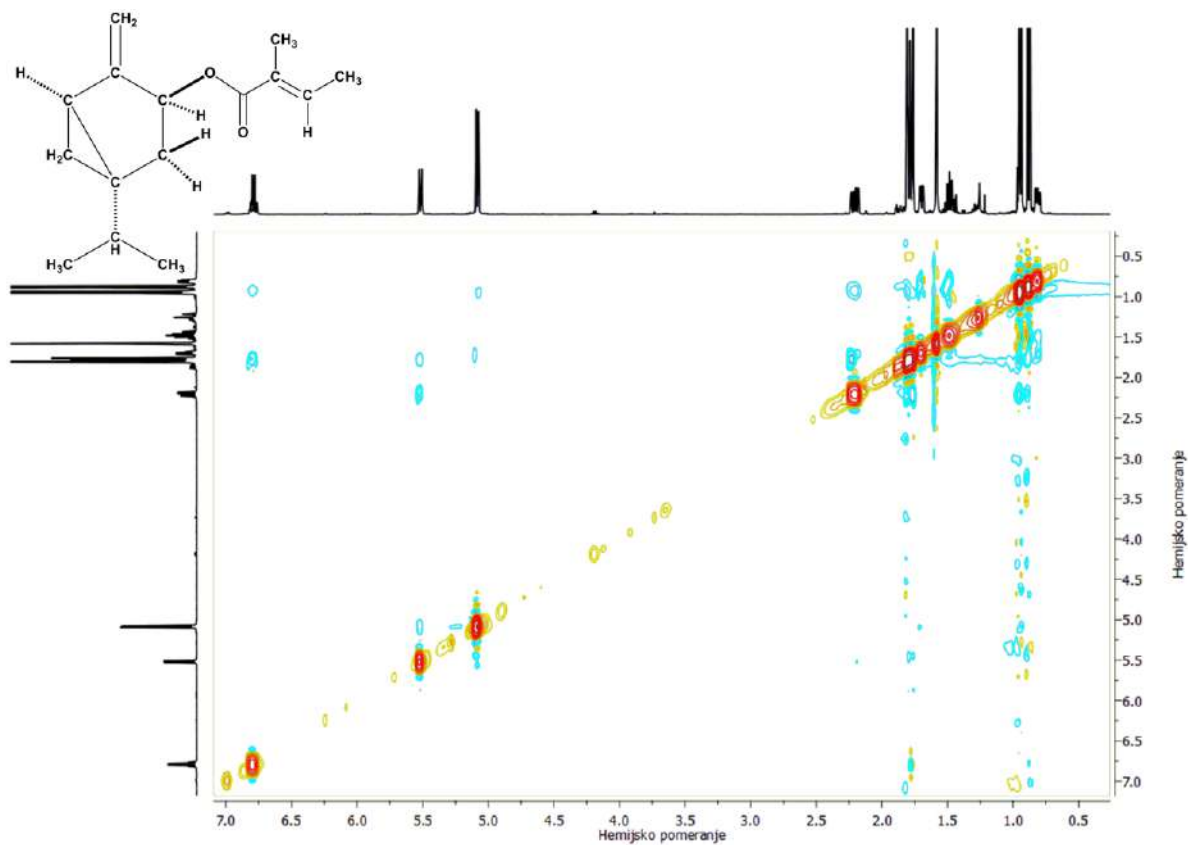
Prilog 8.1.42. HSQC spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglata [1*h*]



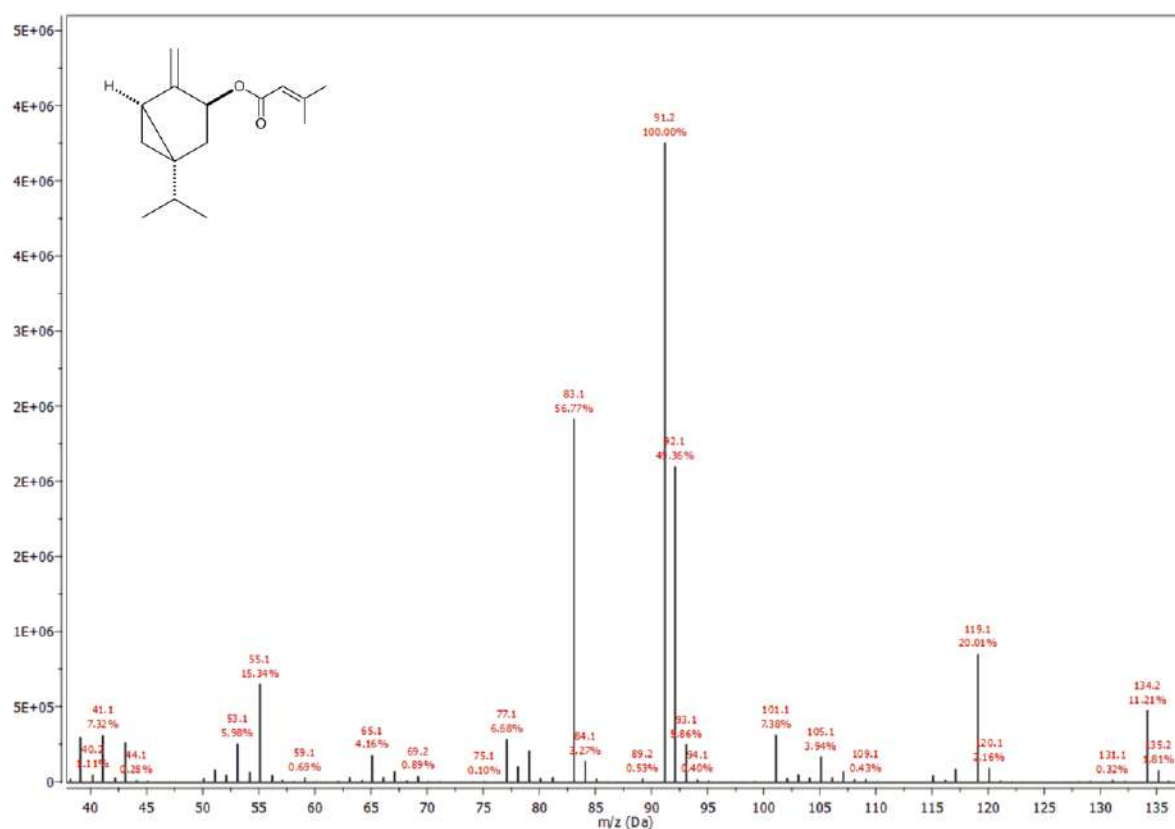
Prilog 8.1.43. HMBC spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglata [1h]



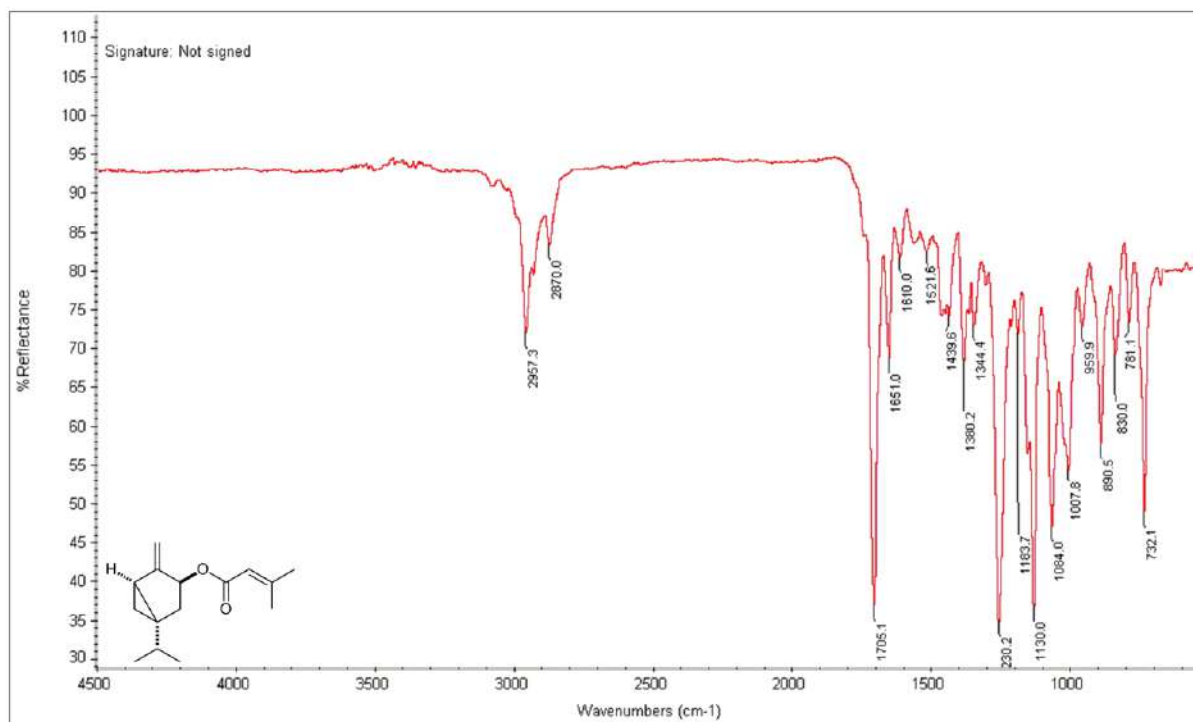
Prilog 8.1.44. NOESY spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-tiglata [1h]



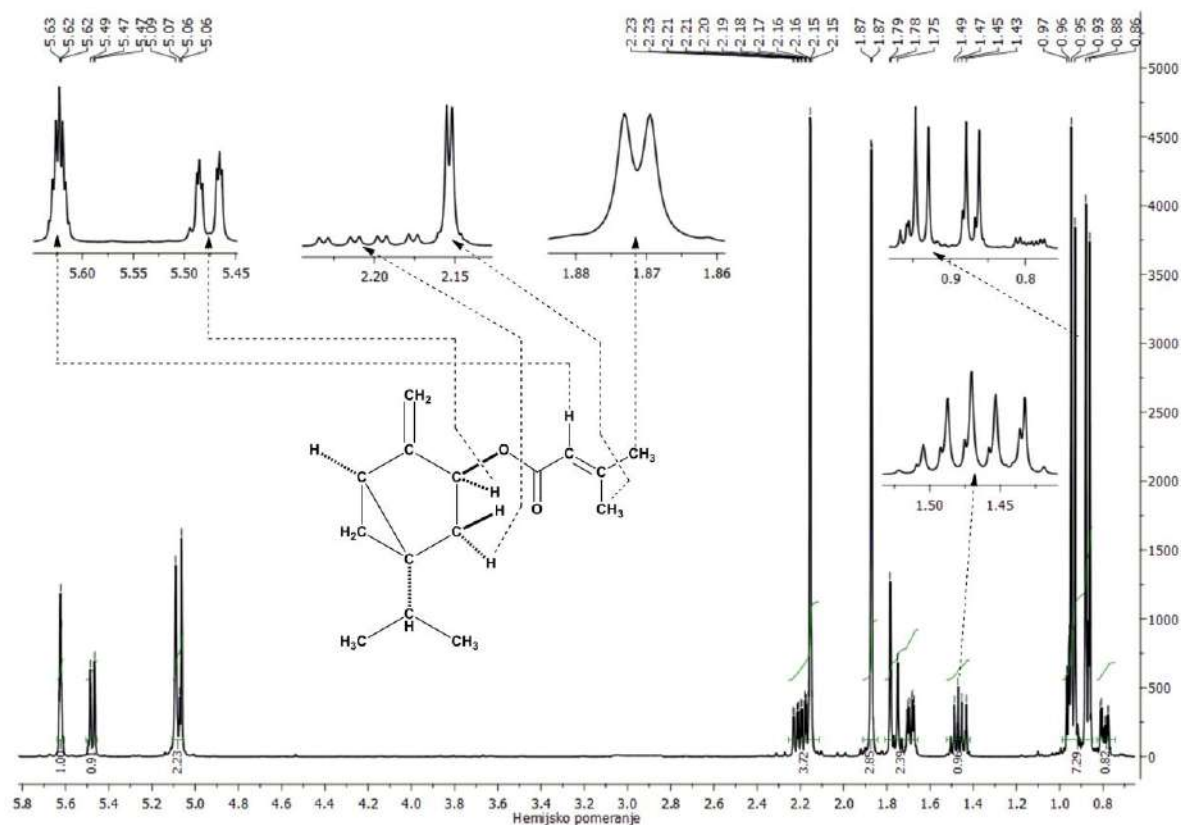
Prilog 8.1.45. Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata [1i]



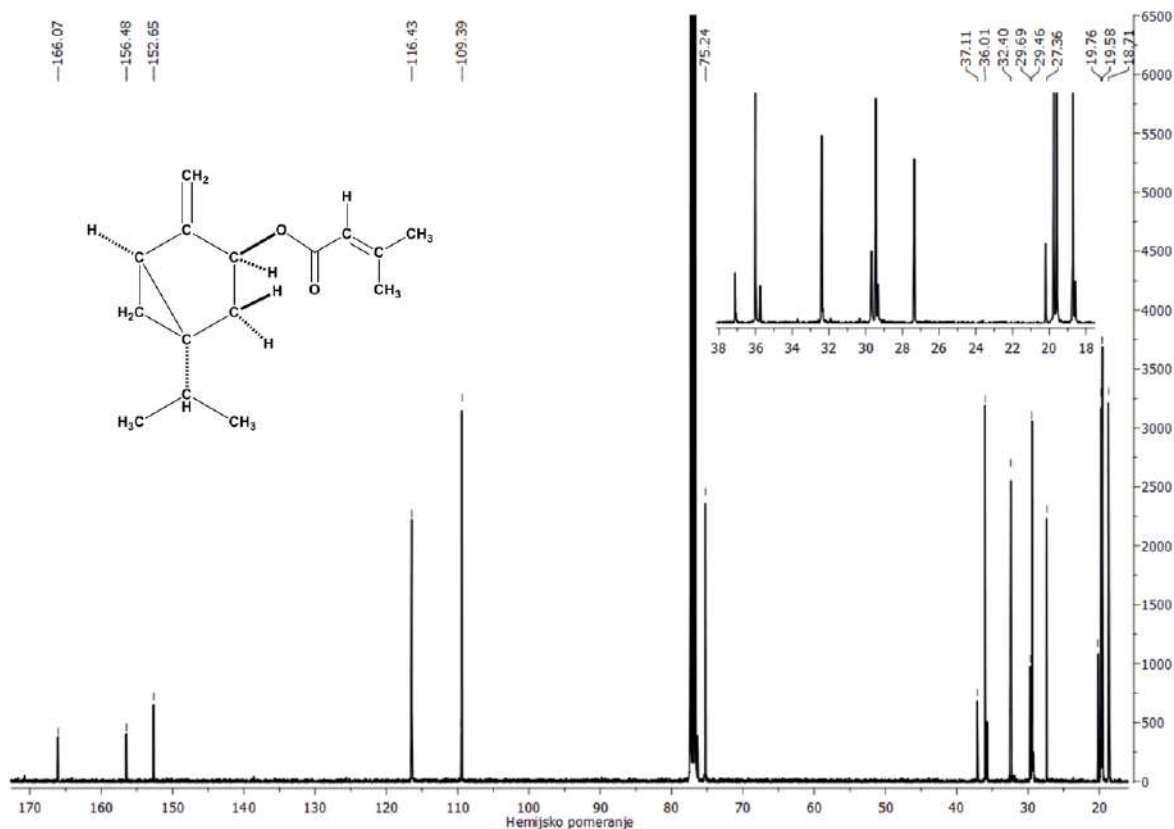
Prilog 8.1.46. IR spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata [1i]



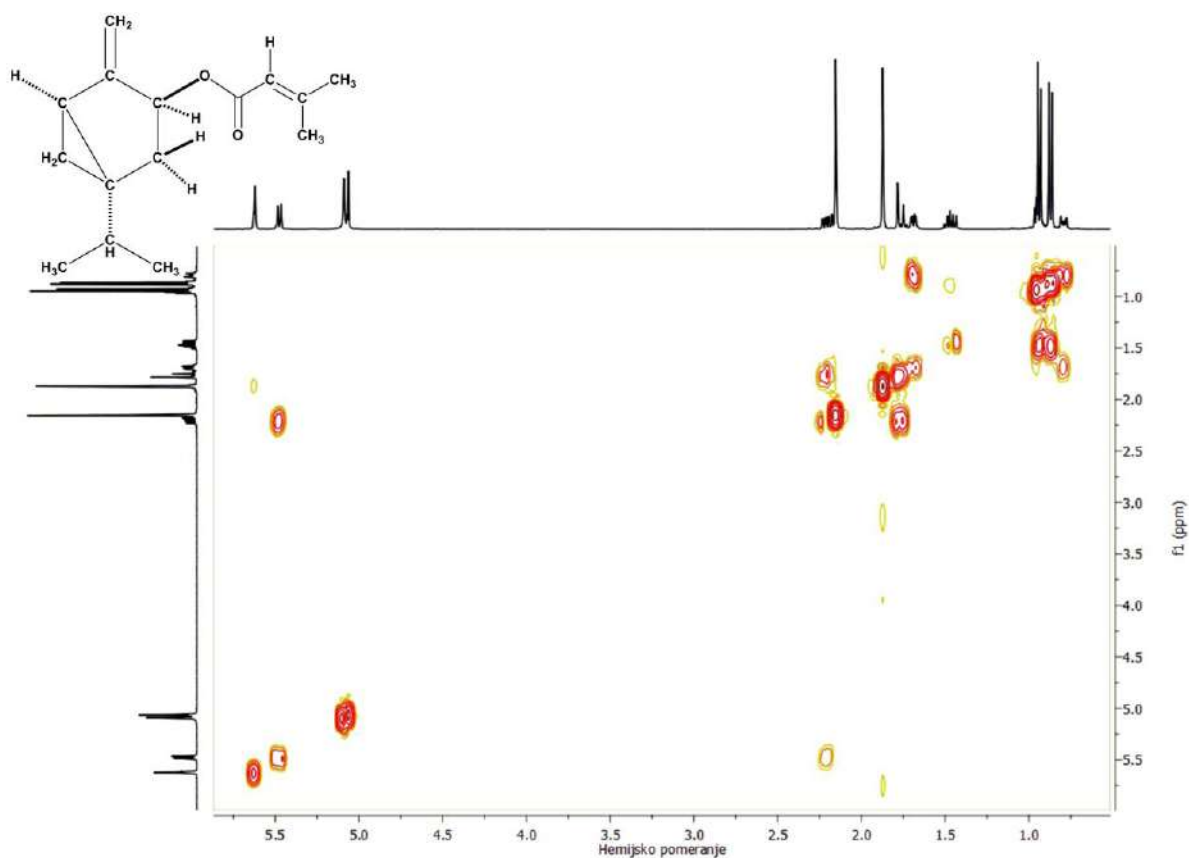
Prilog 8.1.47. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-senecioata [**1i**]



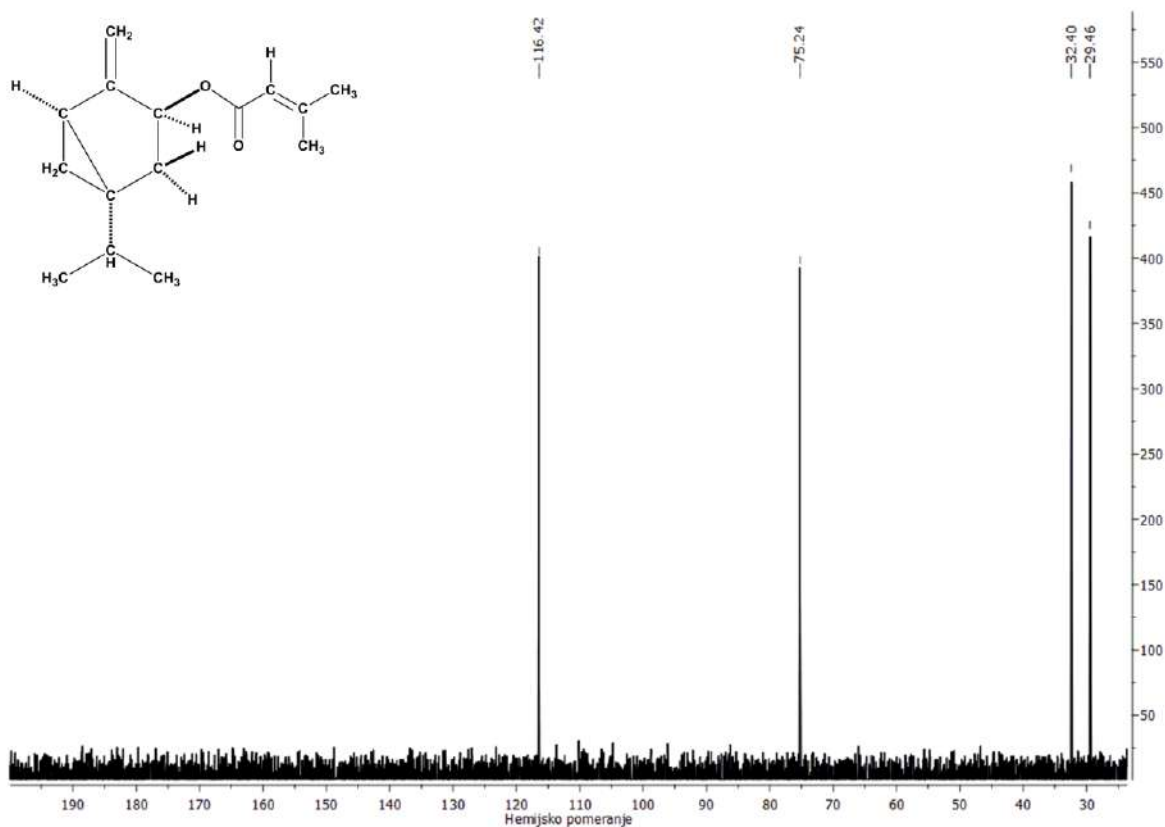
Prilog 8.1.48. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-senecioata [**1i**]



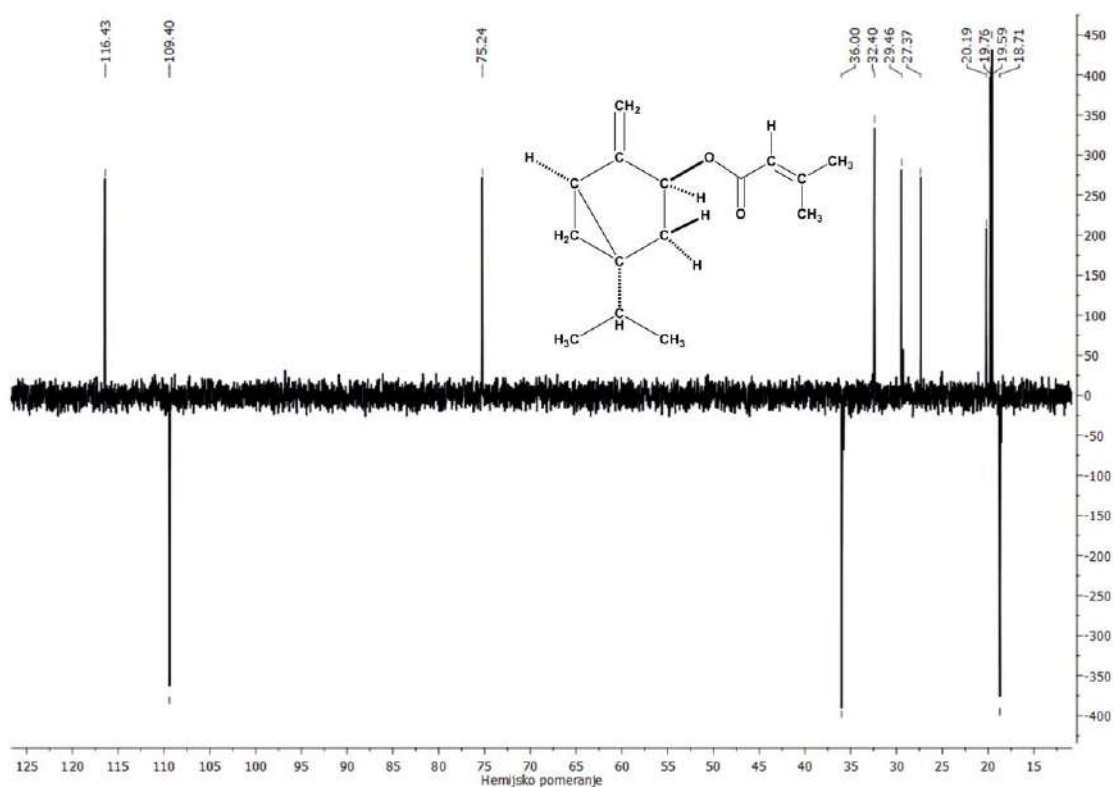
Prilog 8.1.49. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata [1i]



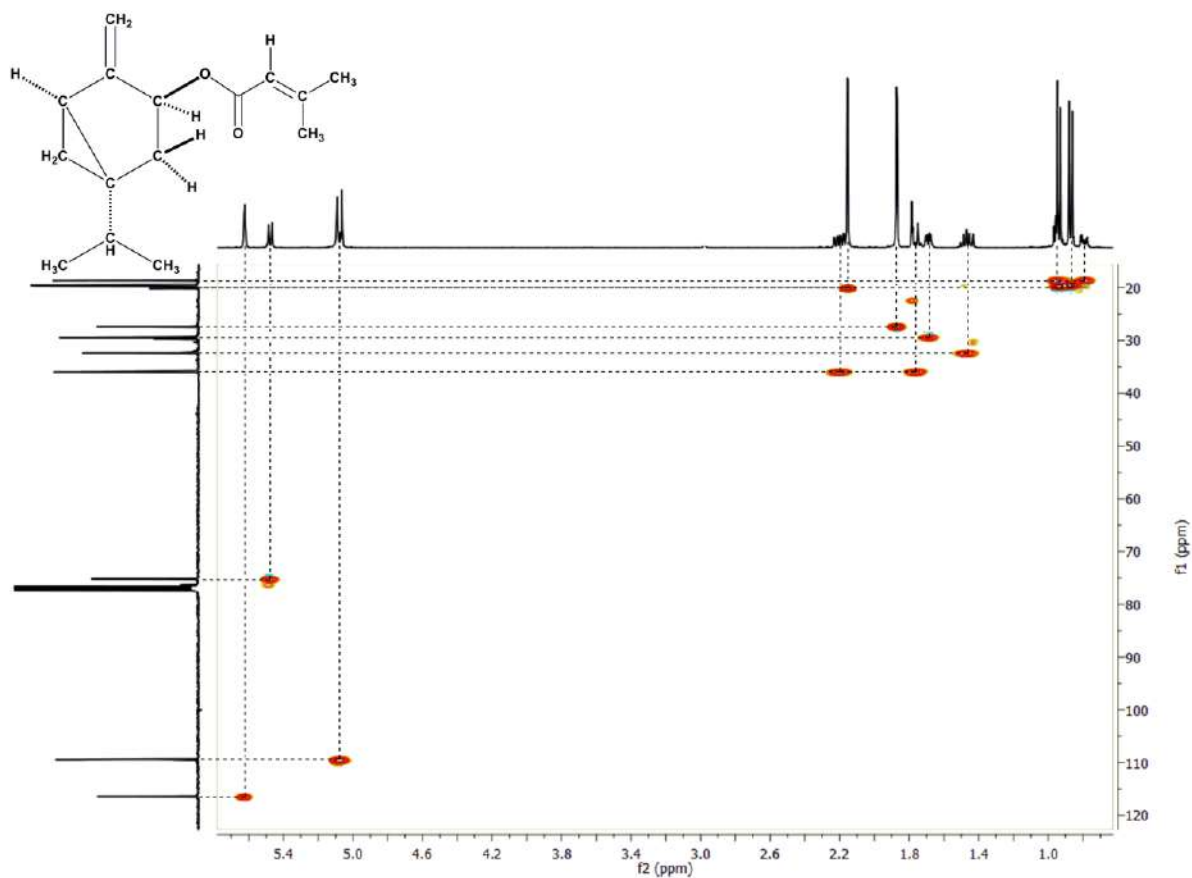
Prilog 8.1.50. DEPT90 spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata [1i]



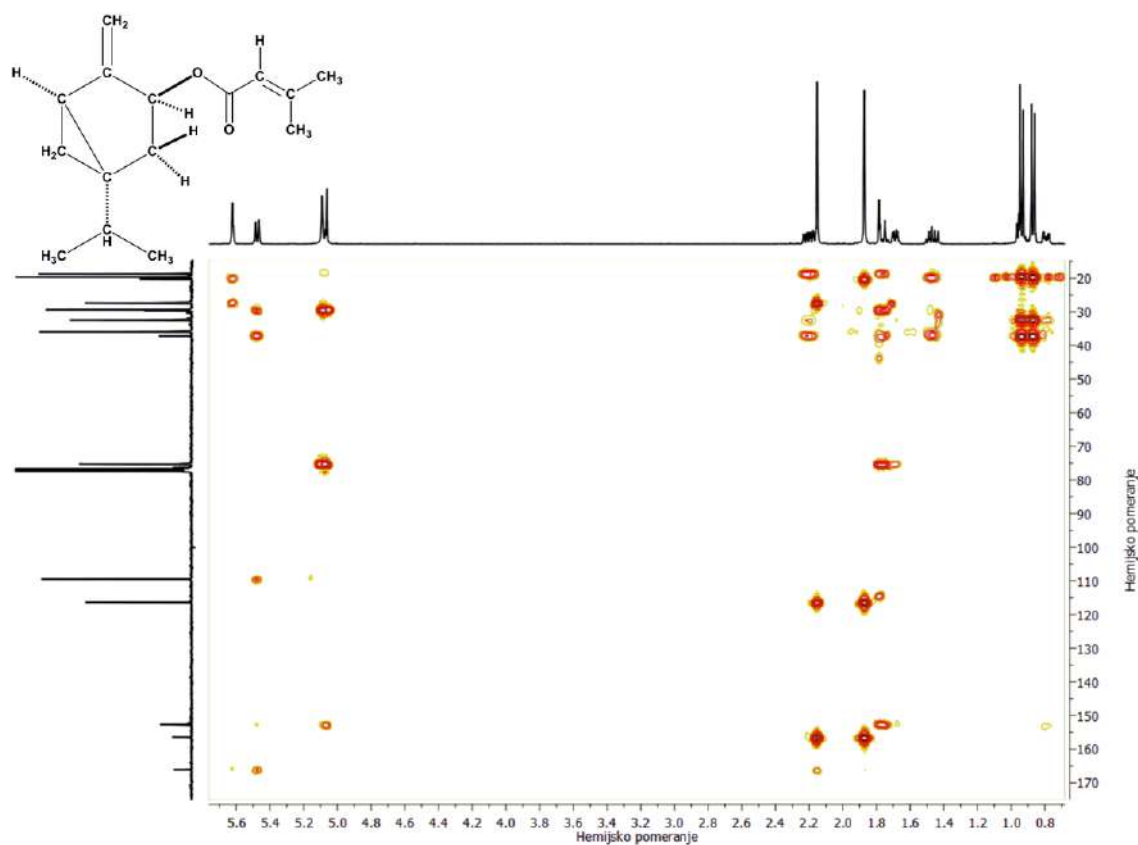
Prilog 8.1.51. DEPT135 spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata [**1i**]



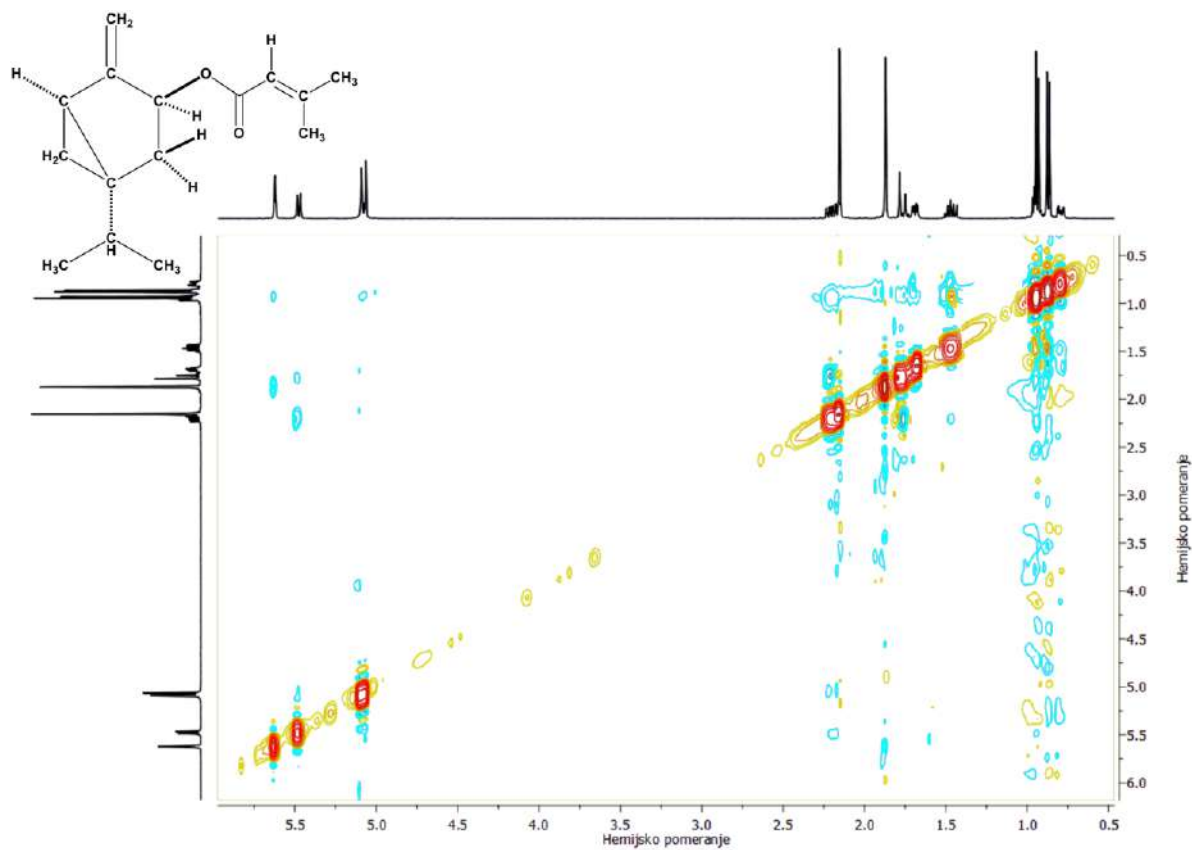
Prilog 8.1.52. HSQC spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata [**1i**]



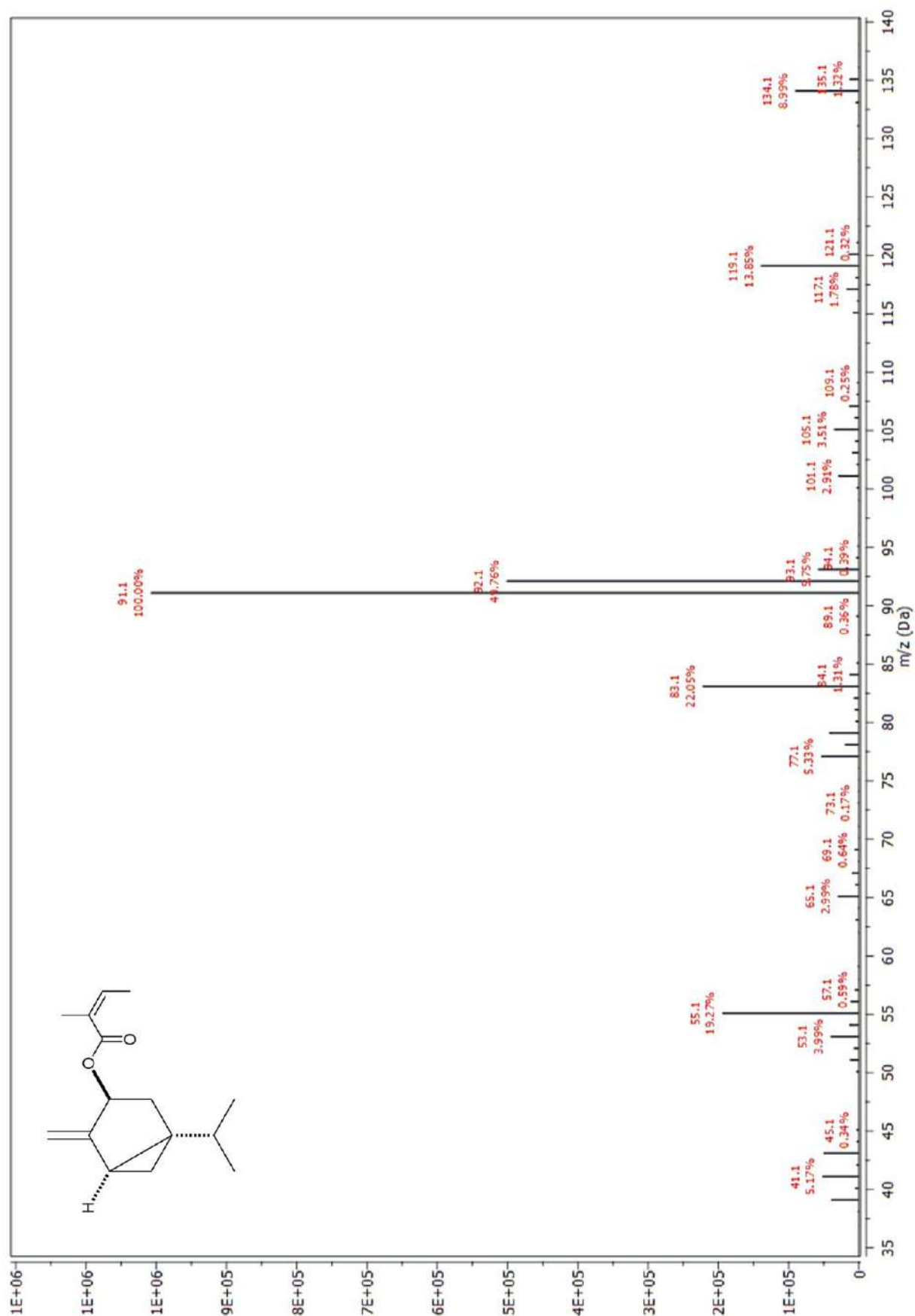
Prilog 8.1.53. HMBC spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata [1i]



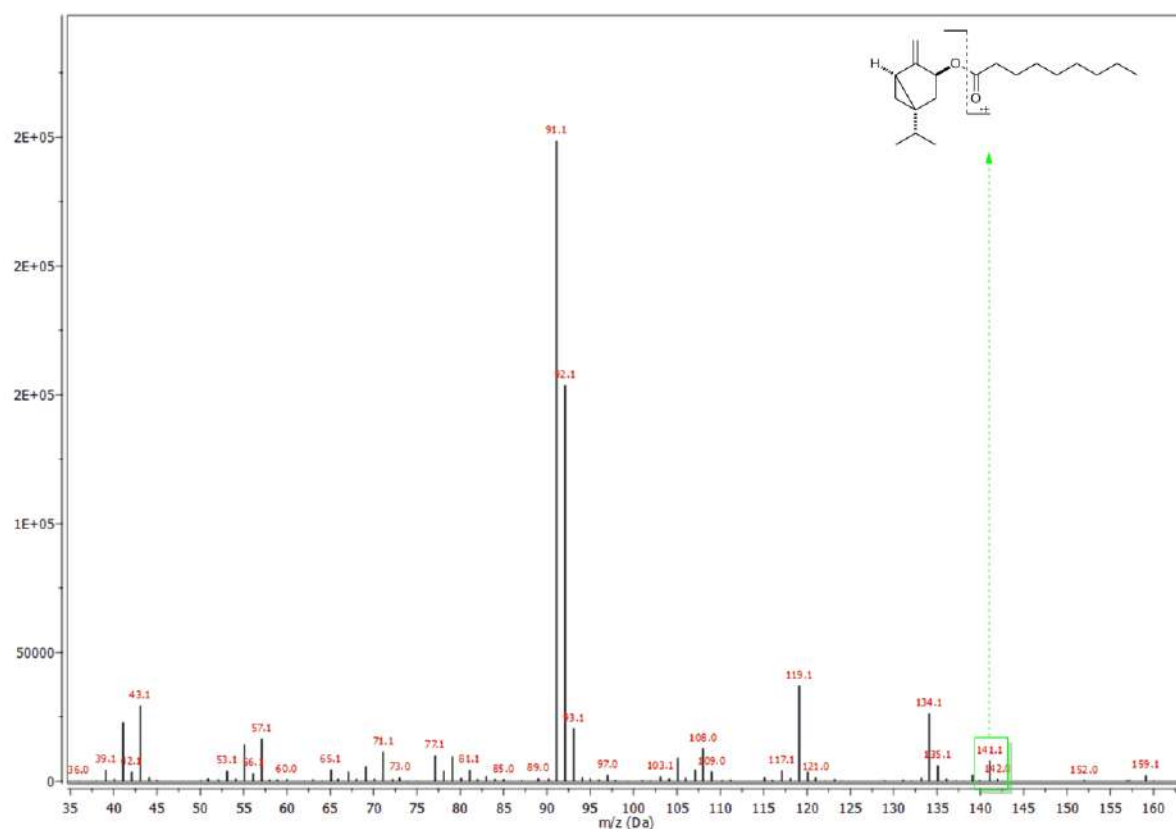
Prilog 8.1.54. NOESY spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-senecioata [1i]



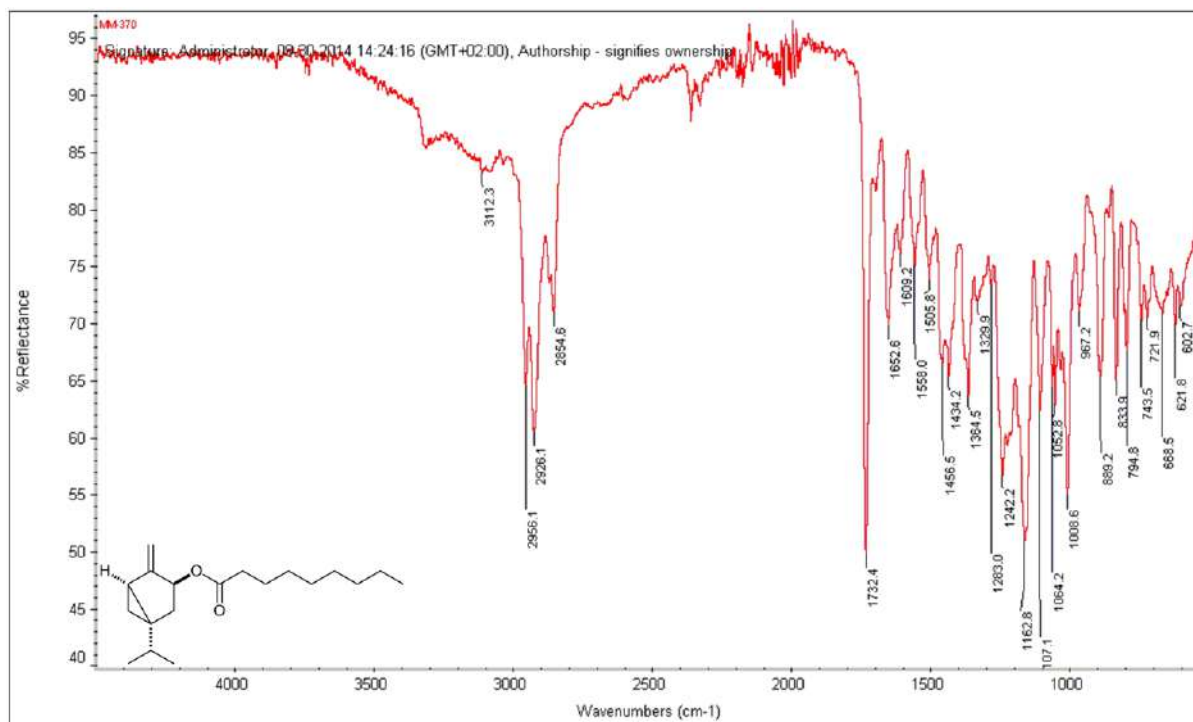
Prilog 8.1.55. Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-angelata [1j]



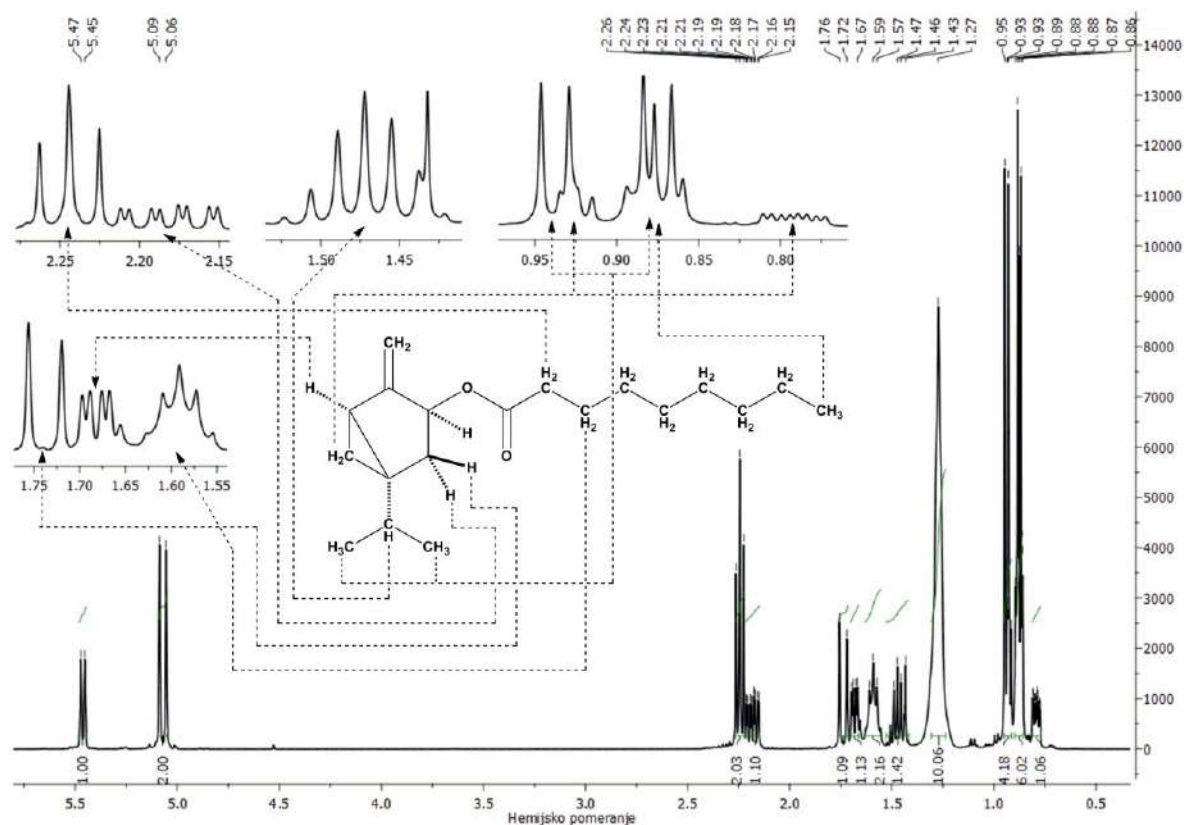
Prilog 8.1.56. Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-nonanoata [1k]



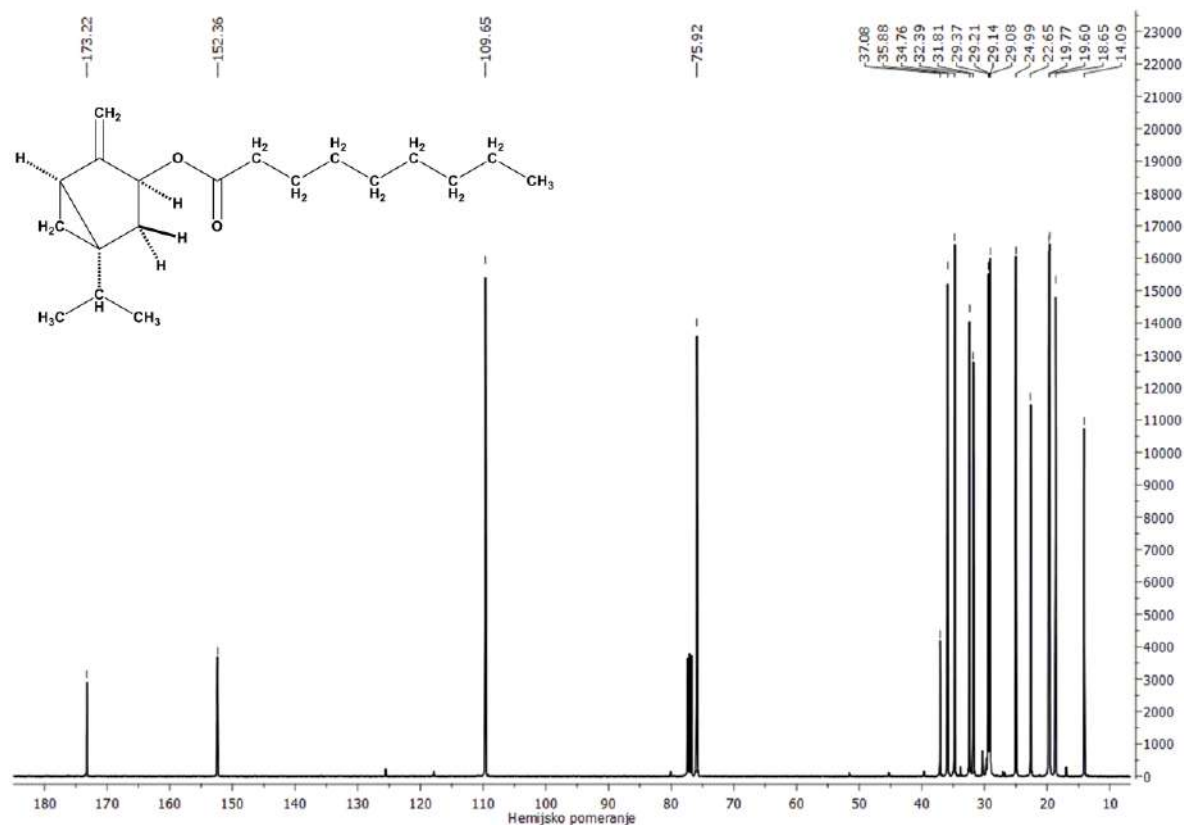
Prilog 8.1.57. IR spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-nonanoata [1k]



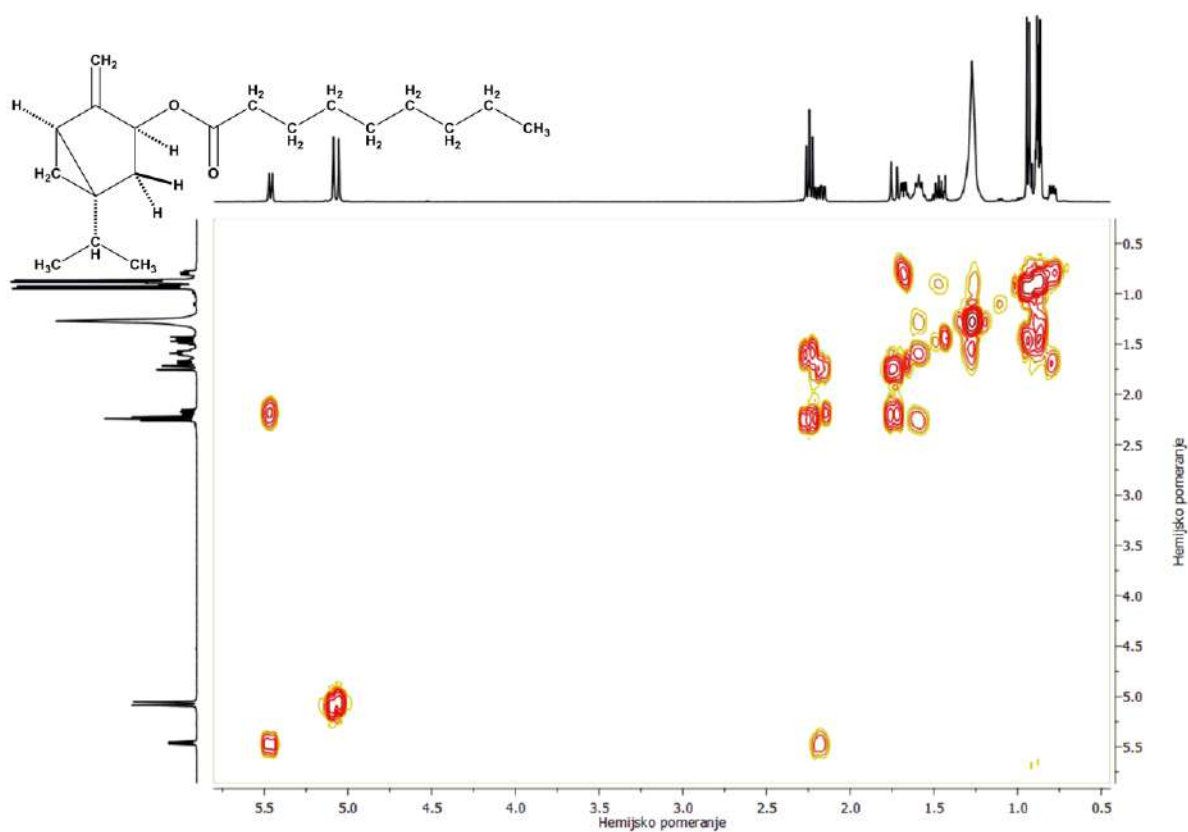
Prilog 8.1.58. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-nonanoata [**1k**]



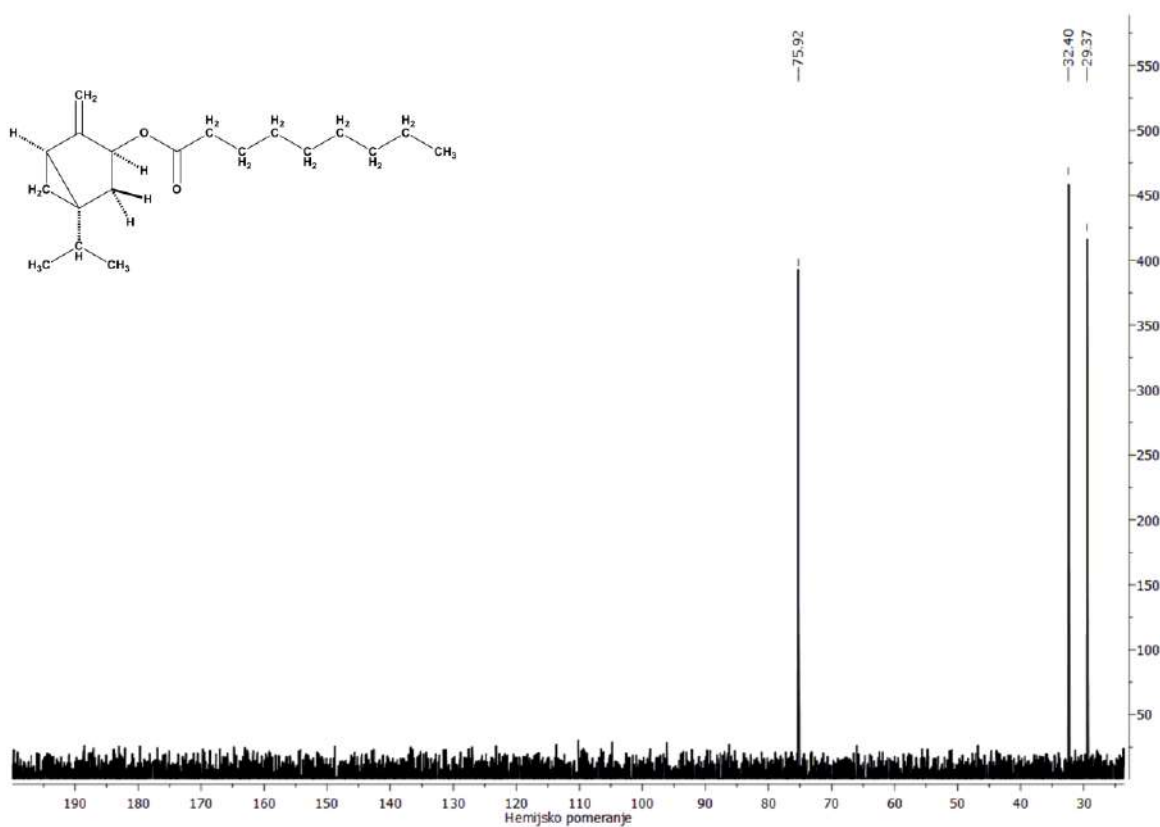
Prilog 8.1.59. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-nonanoata [**1k**]



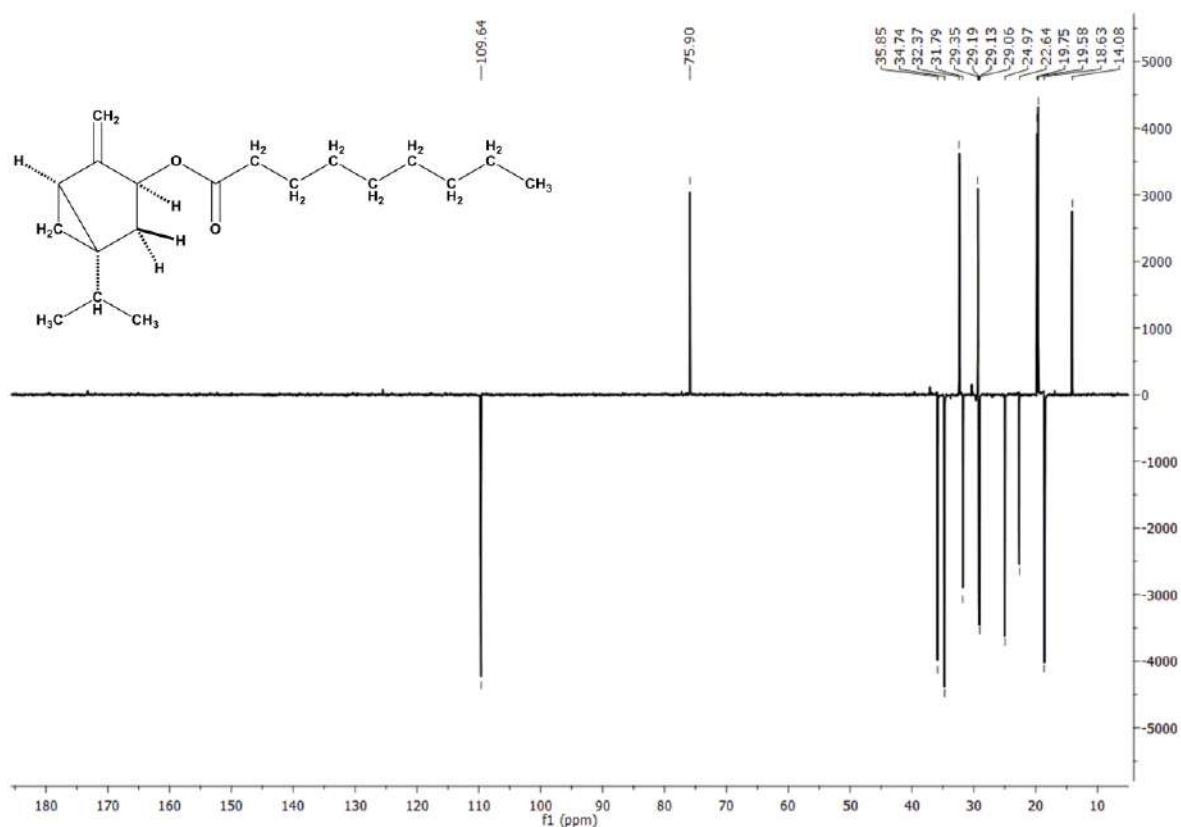
Prilog 8.1.60. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY (CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-nonanoata [**1k**]



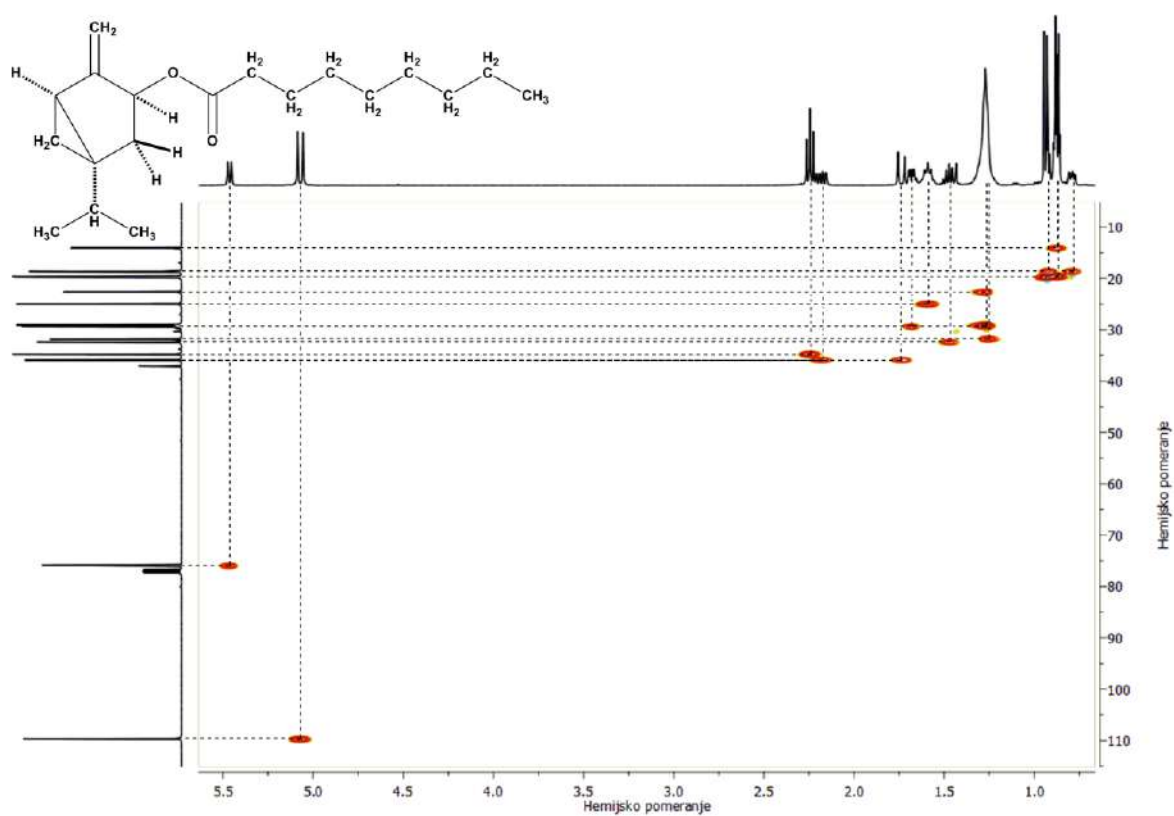
Prilog 8.1.61. DEPT90 (CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-nonanoata [**1k**]



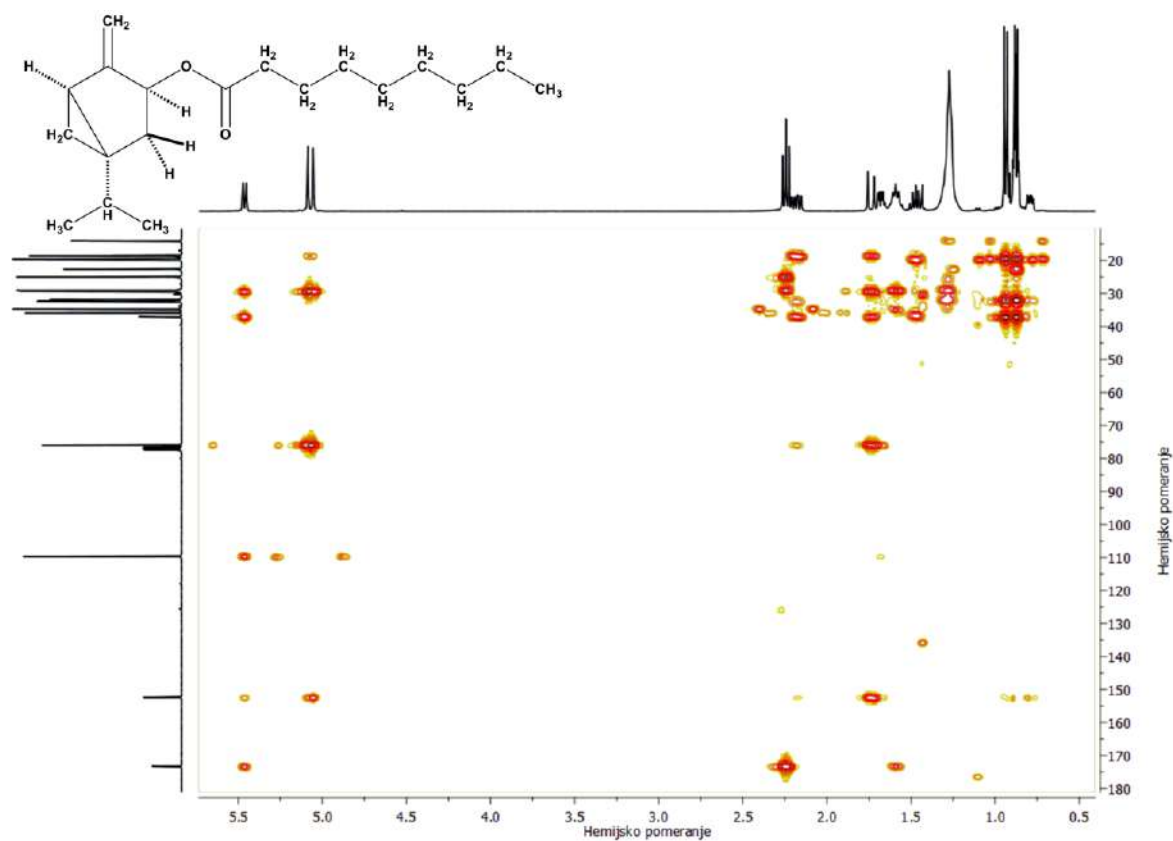
Prilog 8.1.62. DEPT135 (CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-nonanoata [1k]



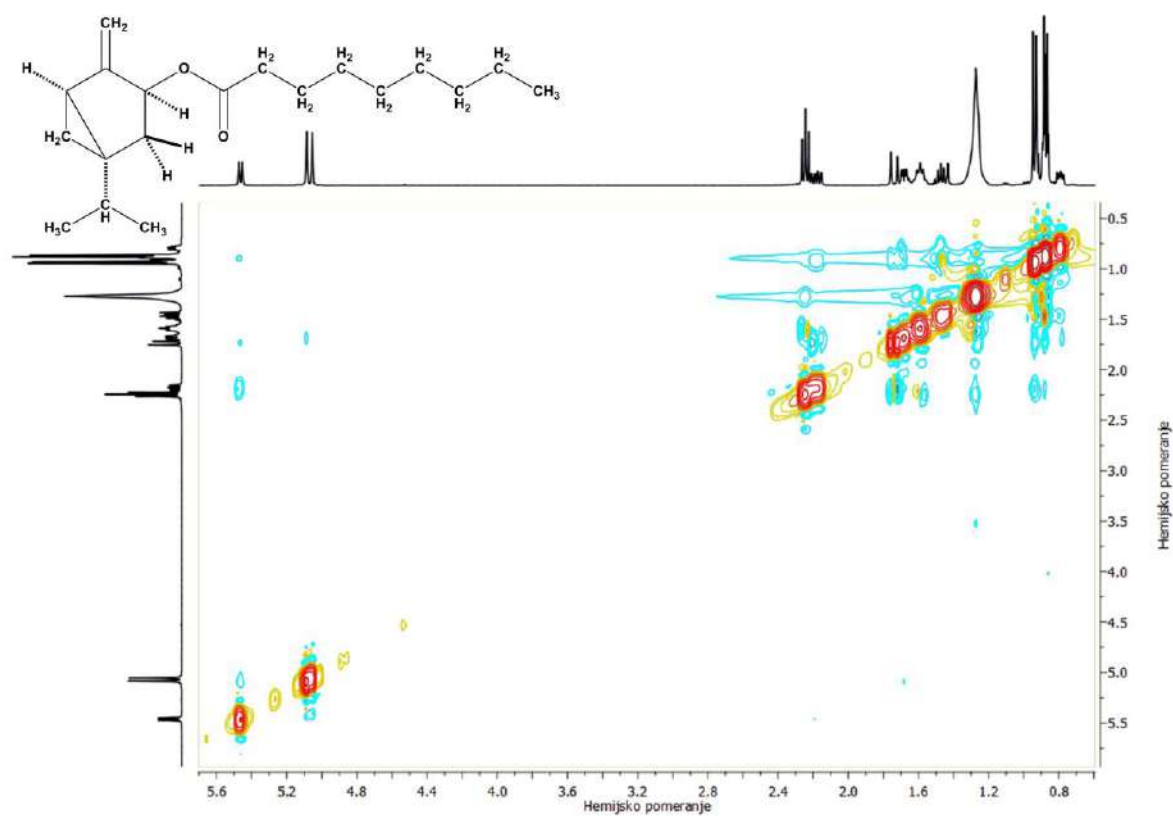
Prilog 8.1.63. HSQC (CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-nonanoata [1k]



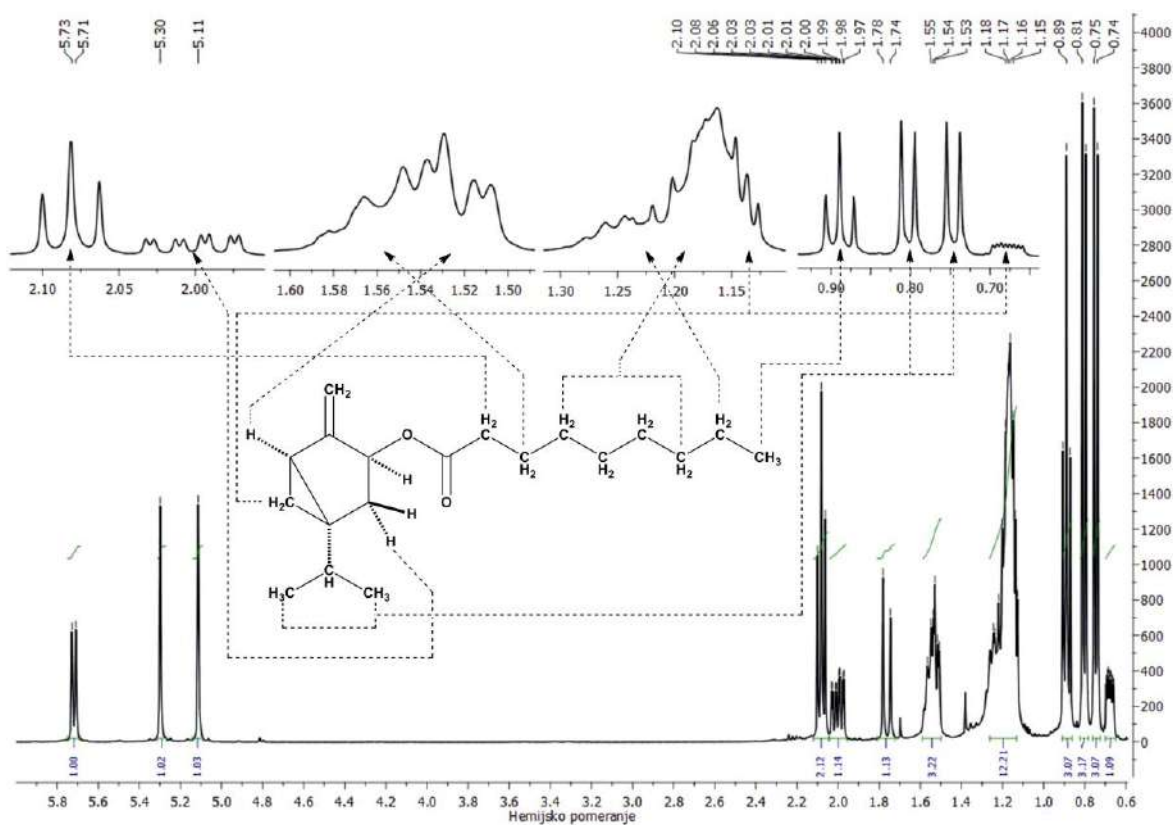
Prilog 8.1.64. HMBC (CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-nonanoata [**1k**]



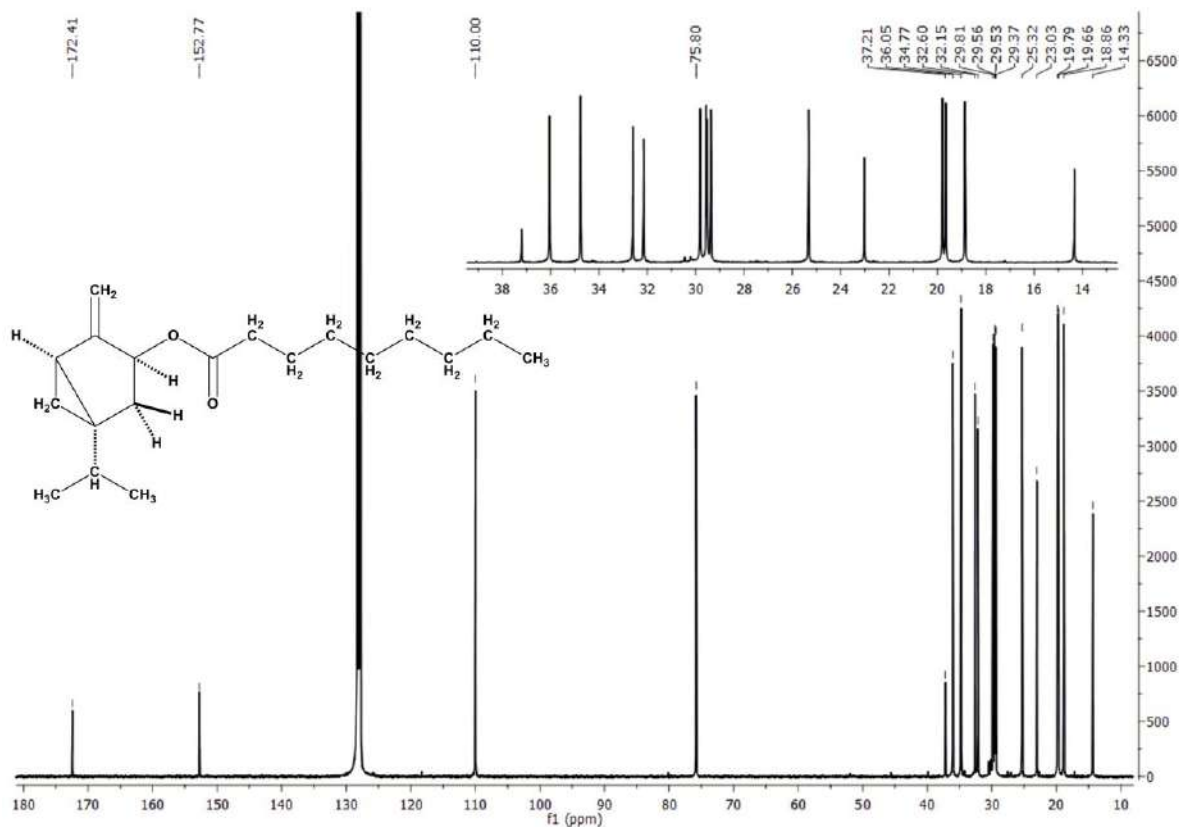
Prilog 8.1.65. NOESY (CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-nonanoata [**1k**]



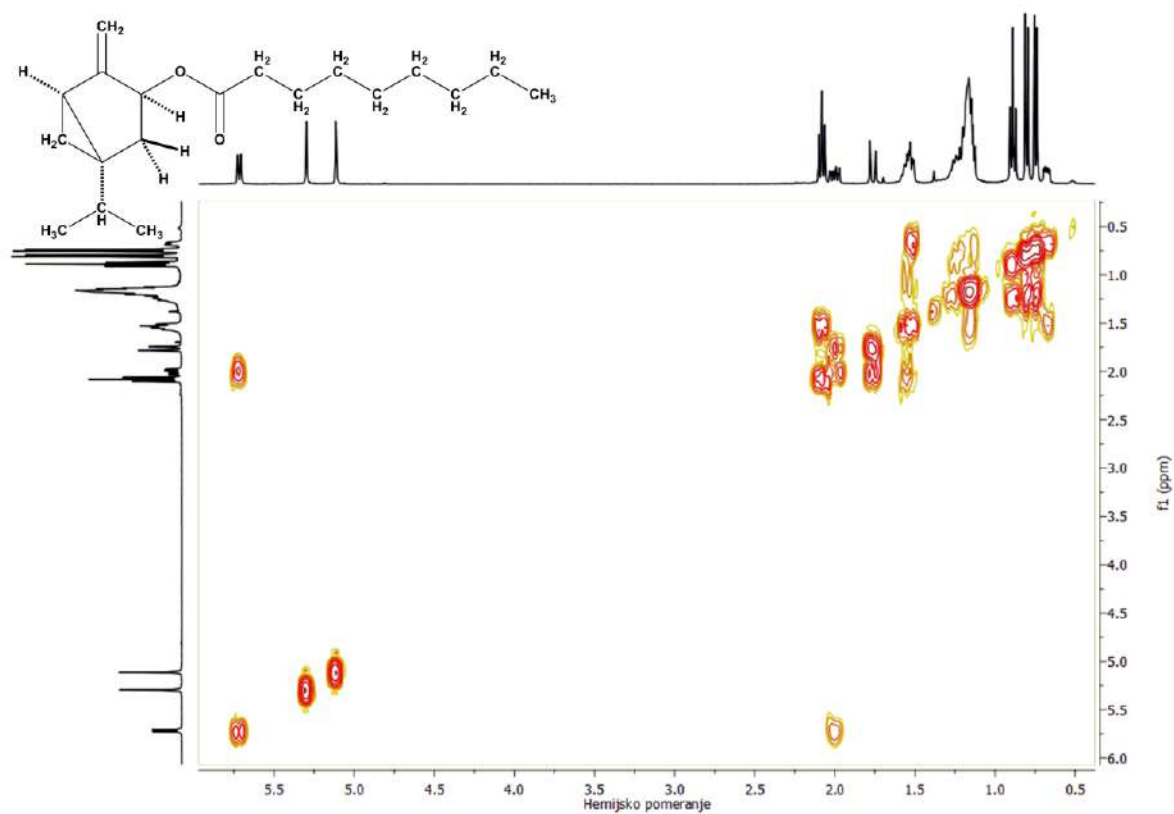
Prilog 8.1.66. ^1H NMR (400 MHz, C_6D_6) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-nonanoata [**1k**]



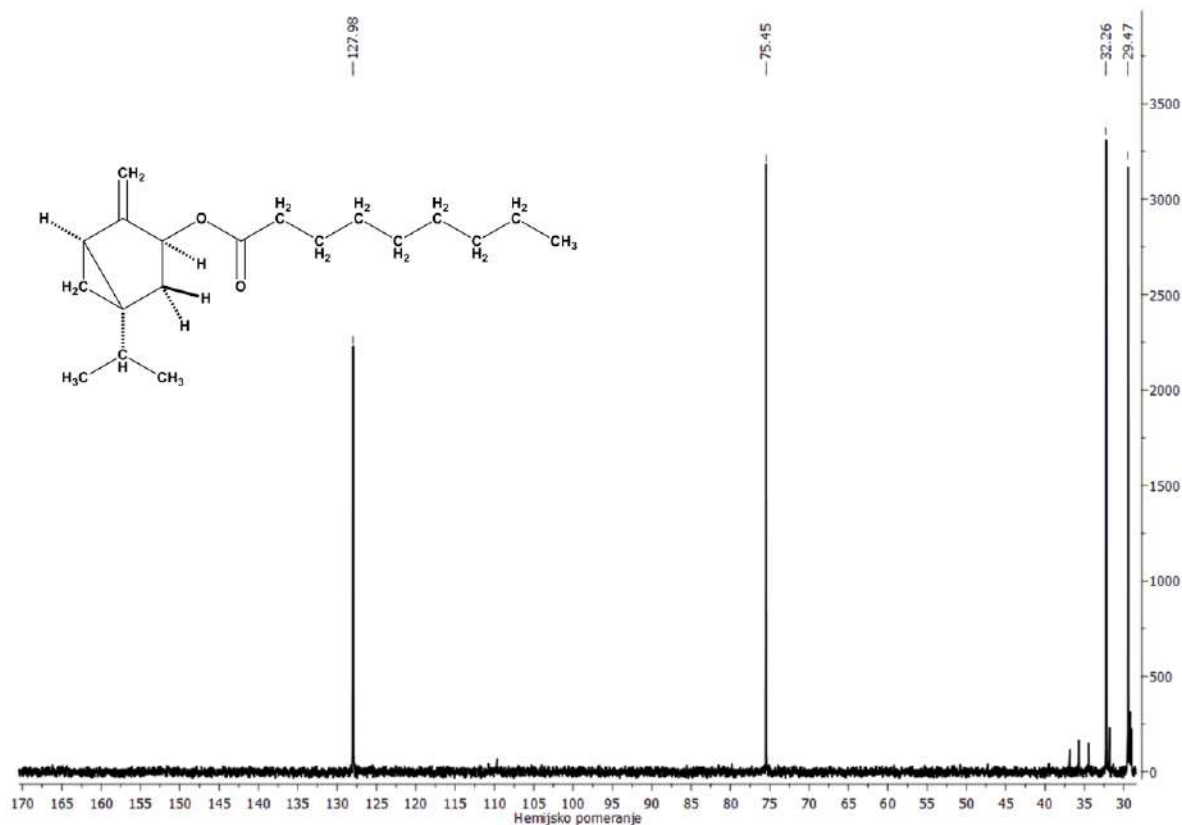
Prilog 8.1.67. ^{13}C NMR (101 MHz, C_6D_6) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-nonanoata [**1k**]



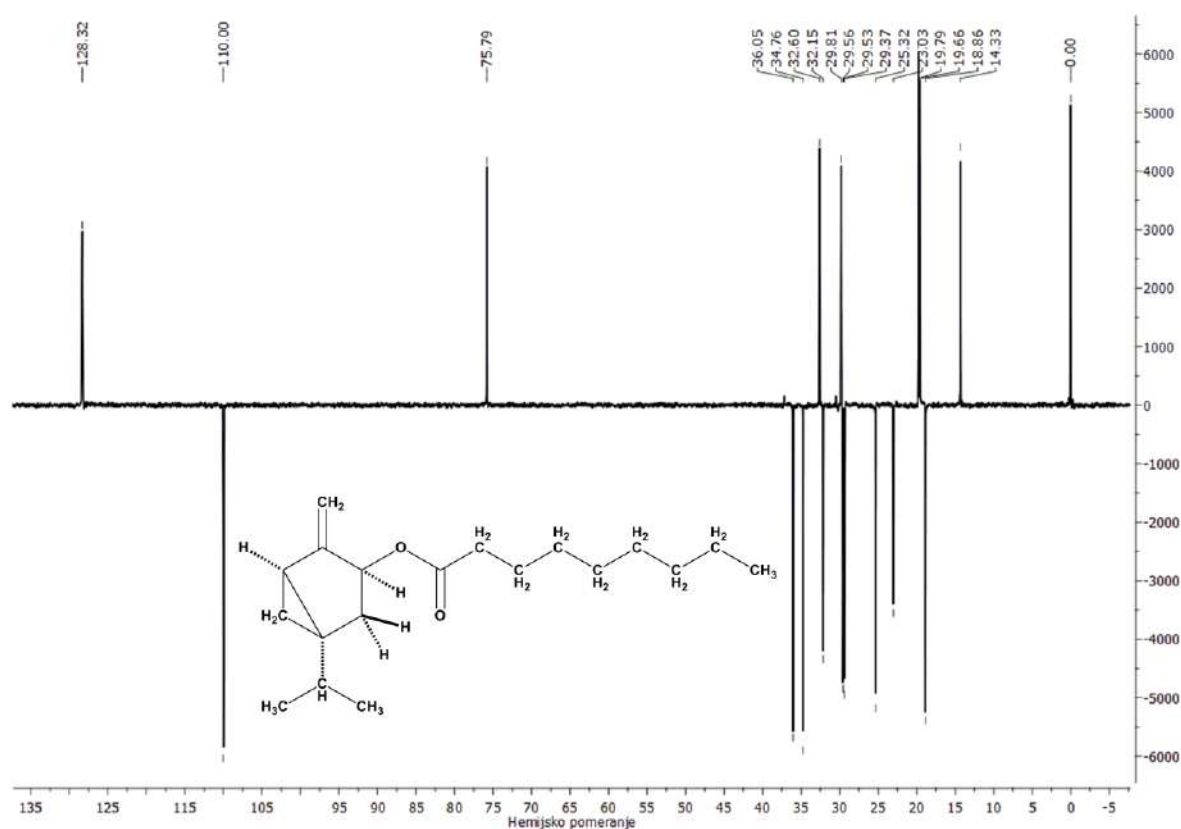
Prilog 8.1.68. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY (C_6D_6) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-nonanoata [1k]



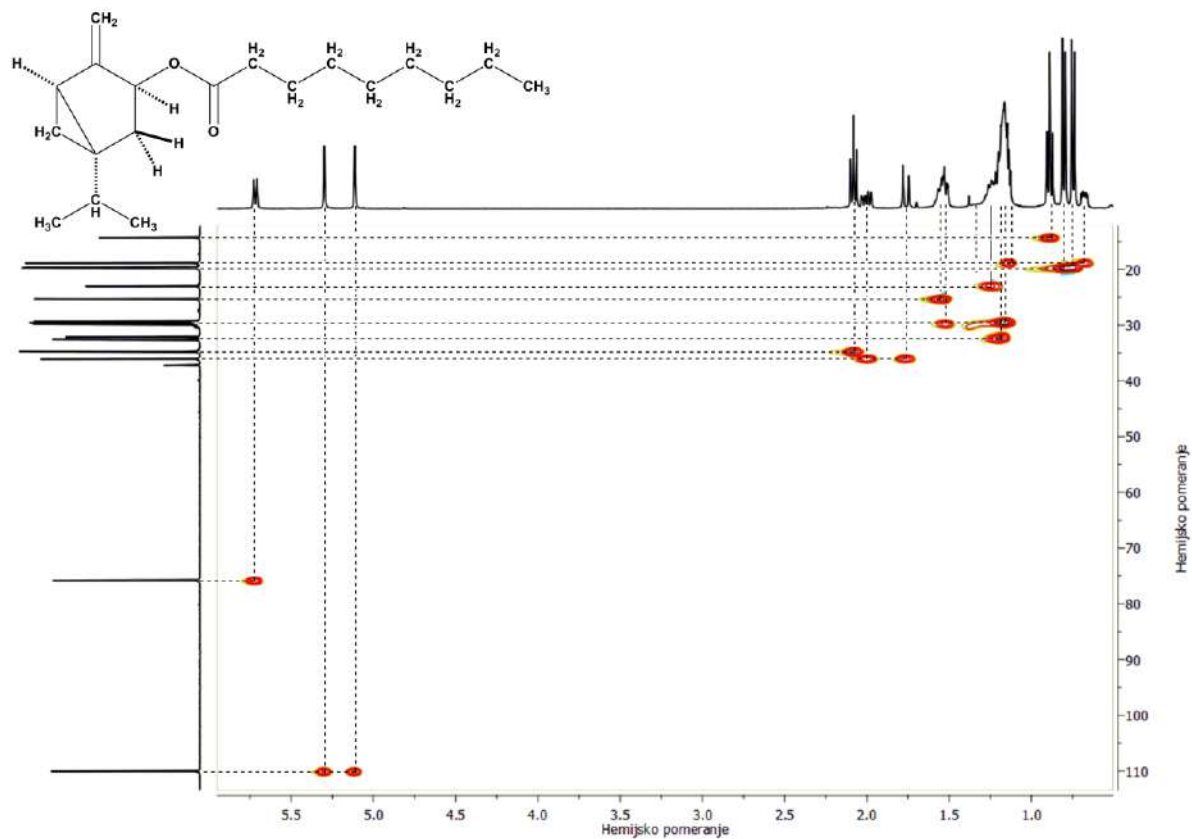
Prilog 8.1.69. DEPT90 (C_6D_6) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-nonanoata [1k]



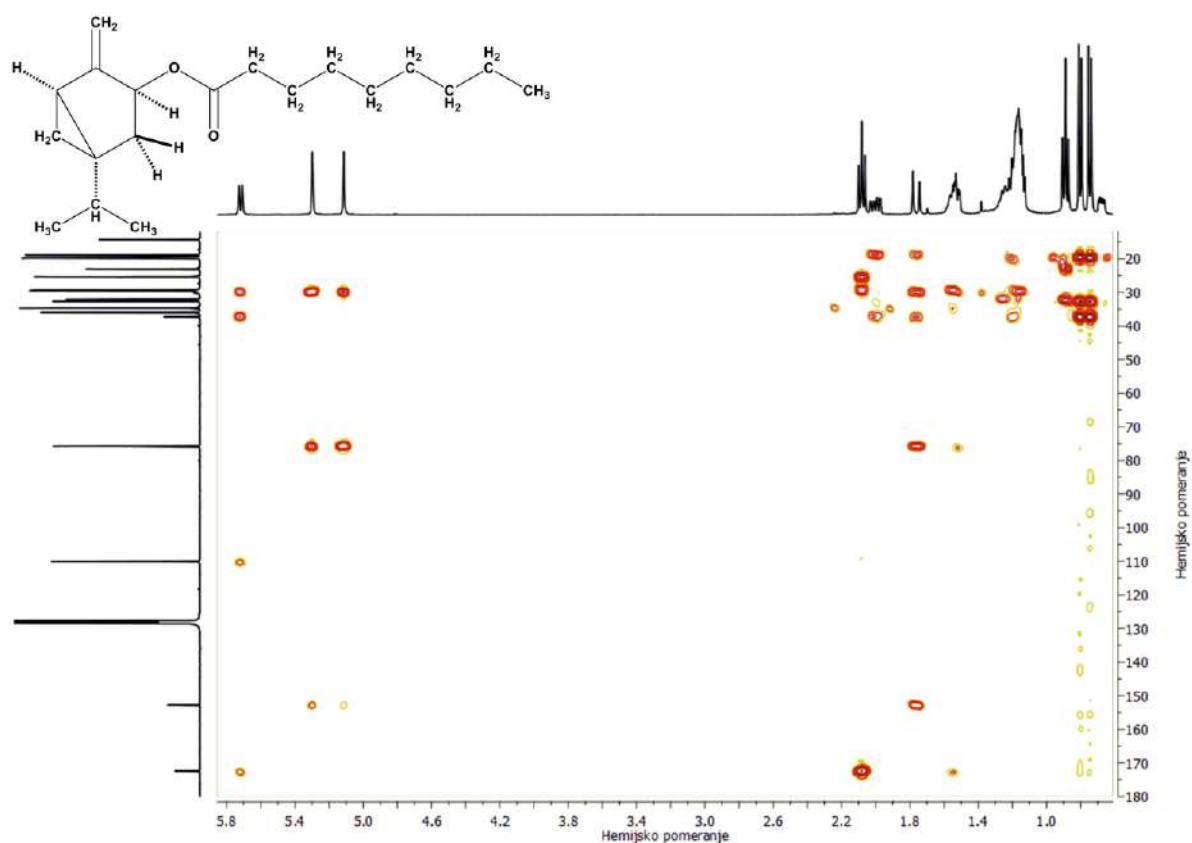
Prilog 8.1.70. DEPT135 (C_6D_6) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-nonanoata [**1k**]



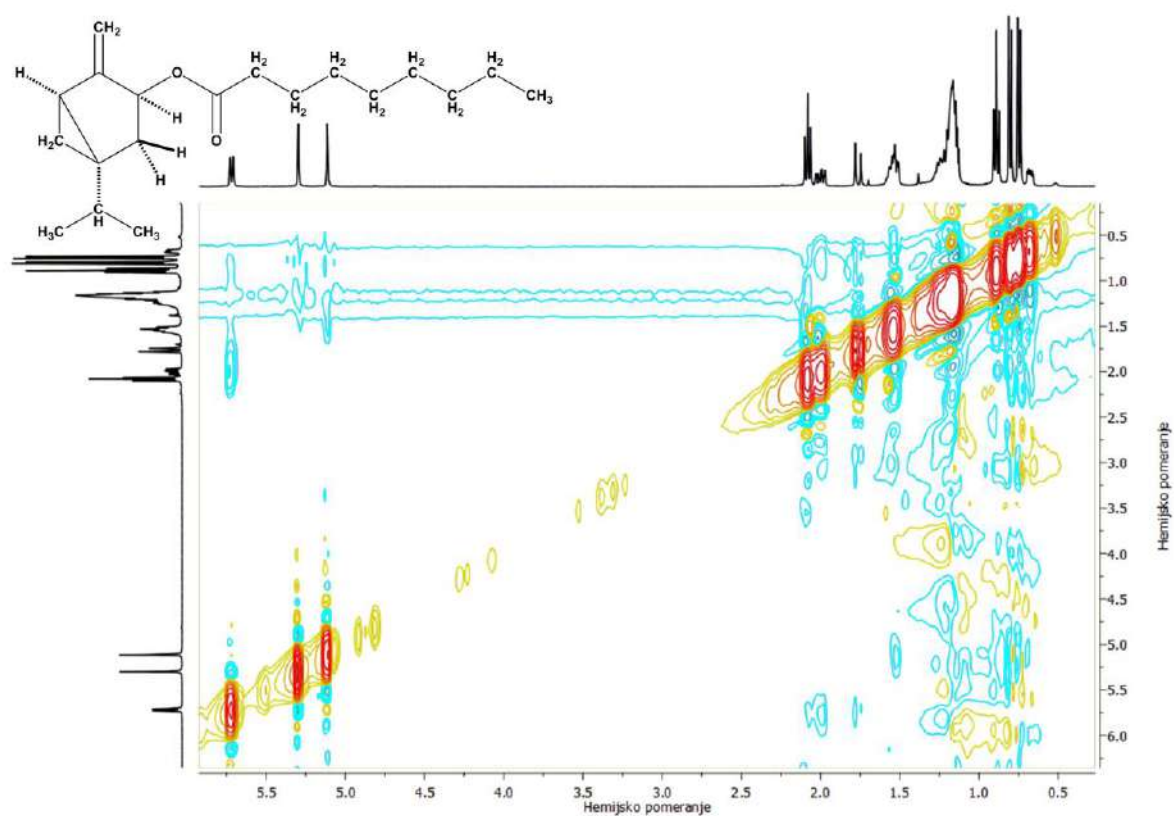
Prilog 8.1.71. HSQC (C_6D_6) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-nonanoata [**1k**]

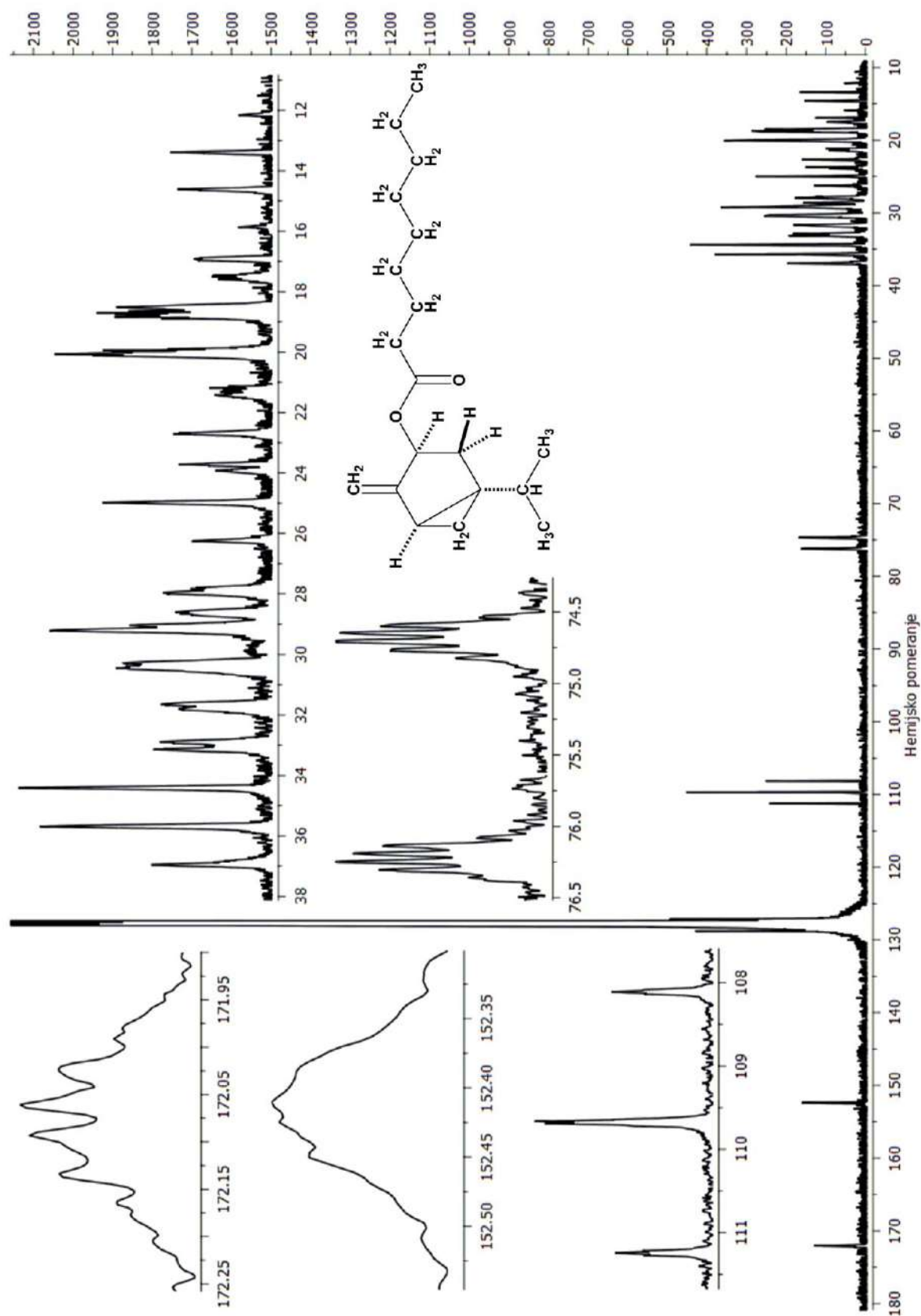


Prilog 8.1.72. HMBC (C_6D_6) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-nonanoata [1k]

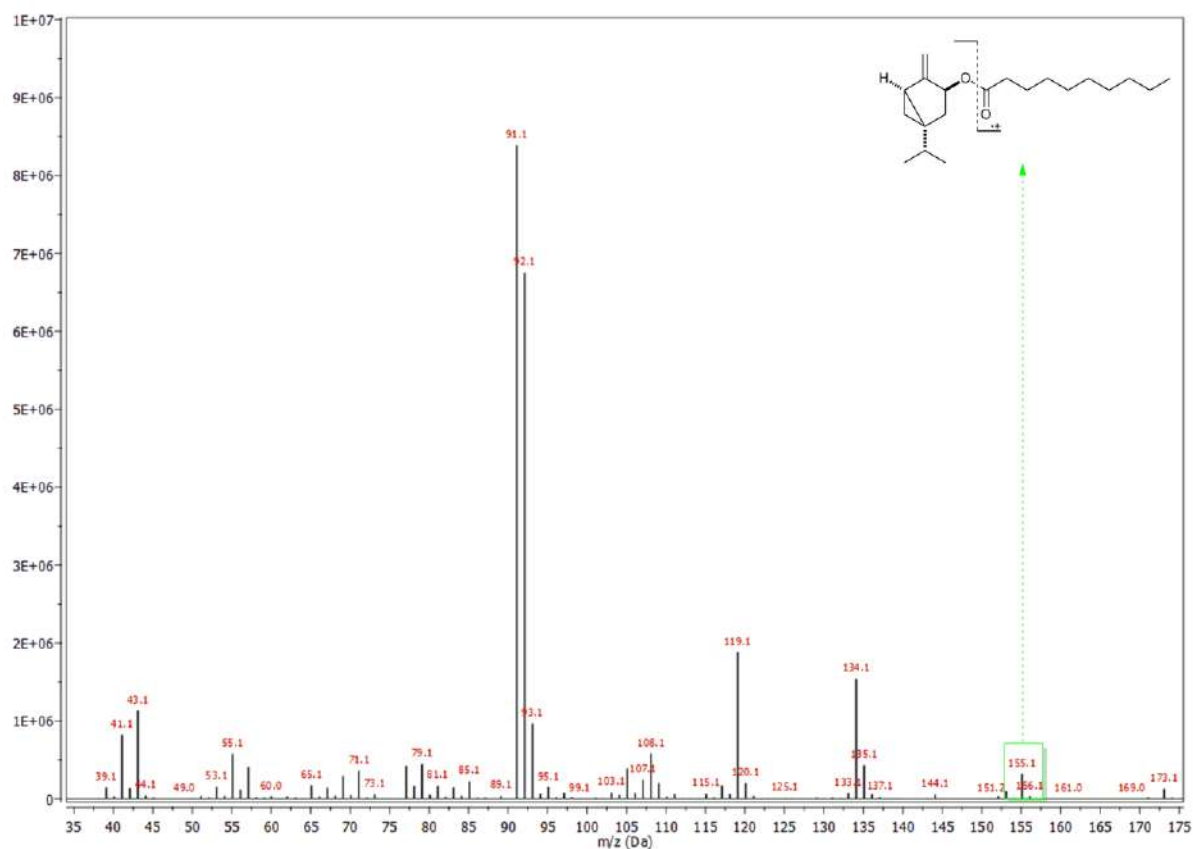


Prilog 8.1.73. NOESY (C_6D_6) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-nonanoata [1k]

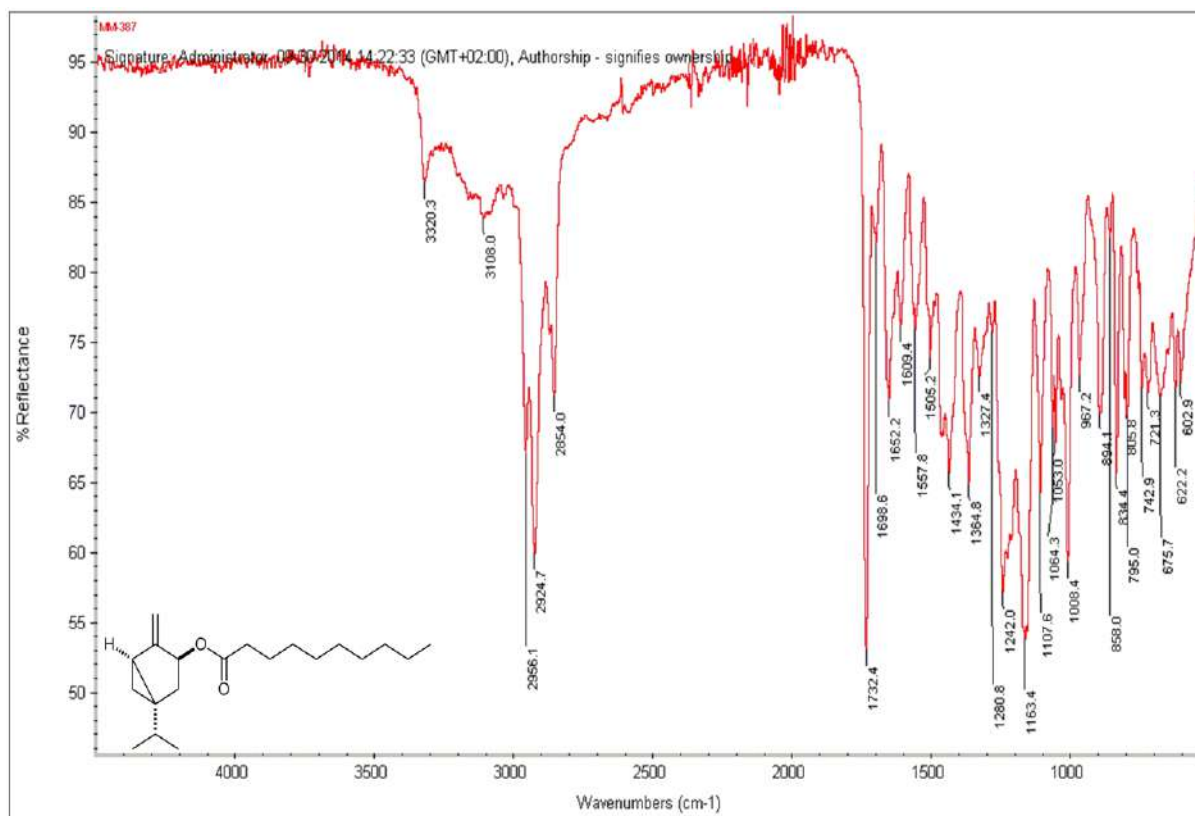




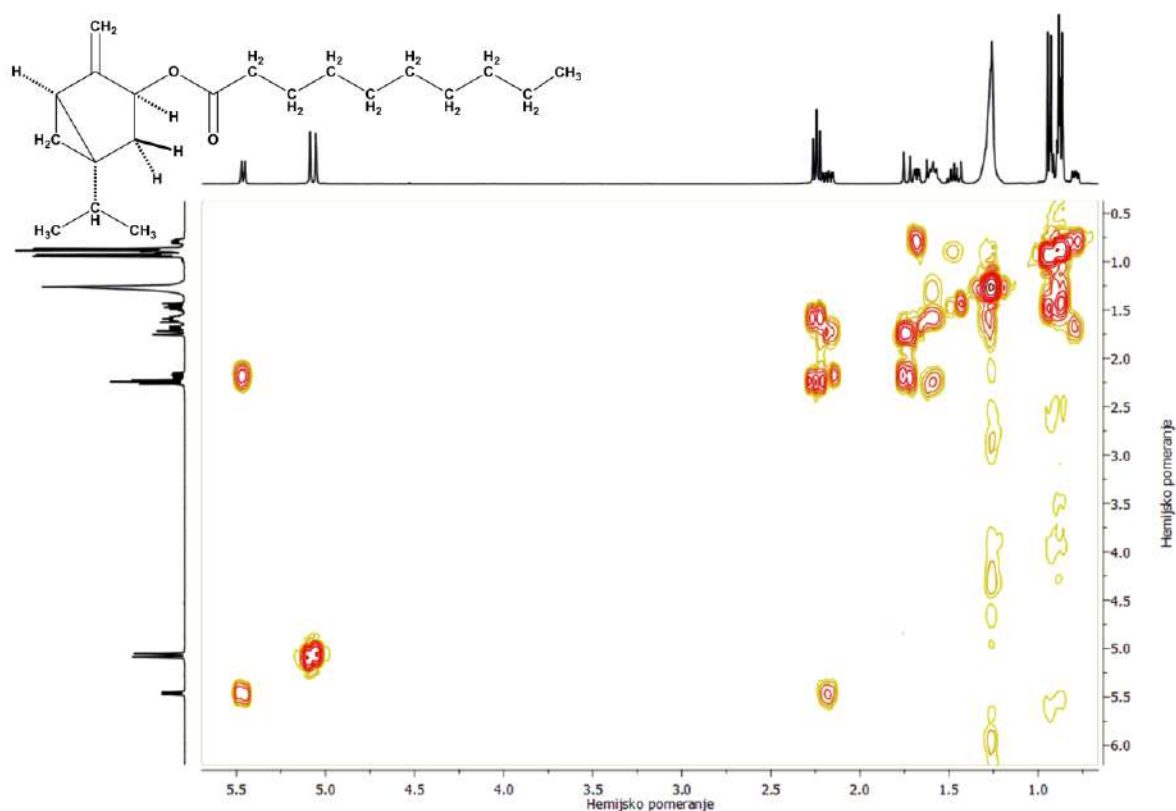
Prilog 8.1.75. Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-dekanoata [11]



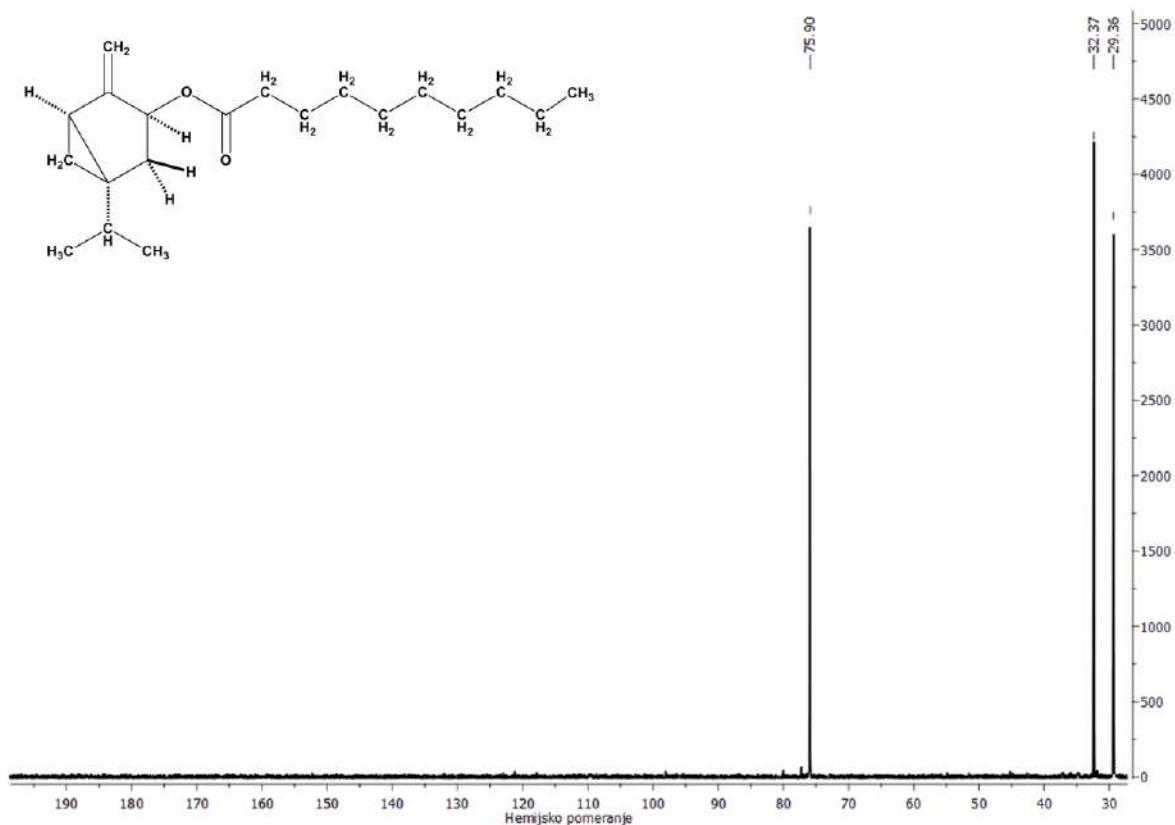
Prilog 8.1.76. IR spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-dekanoata [11]



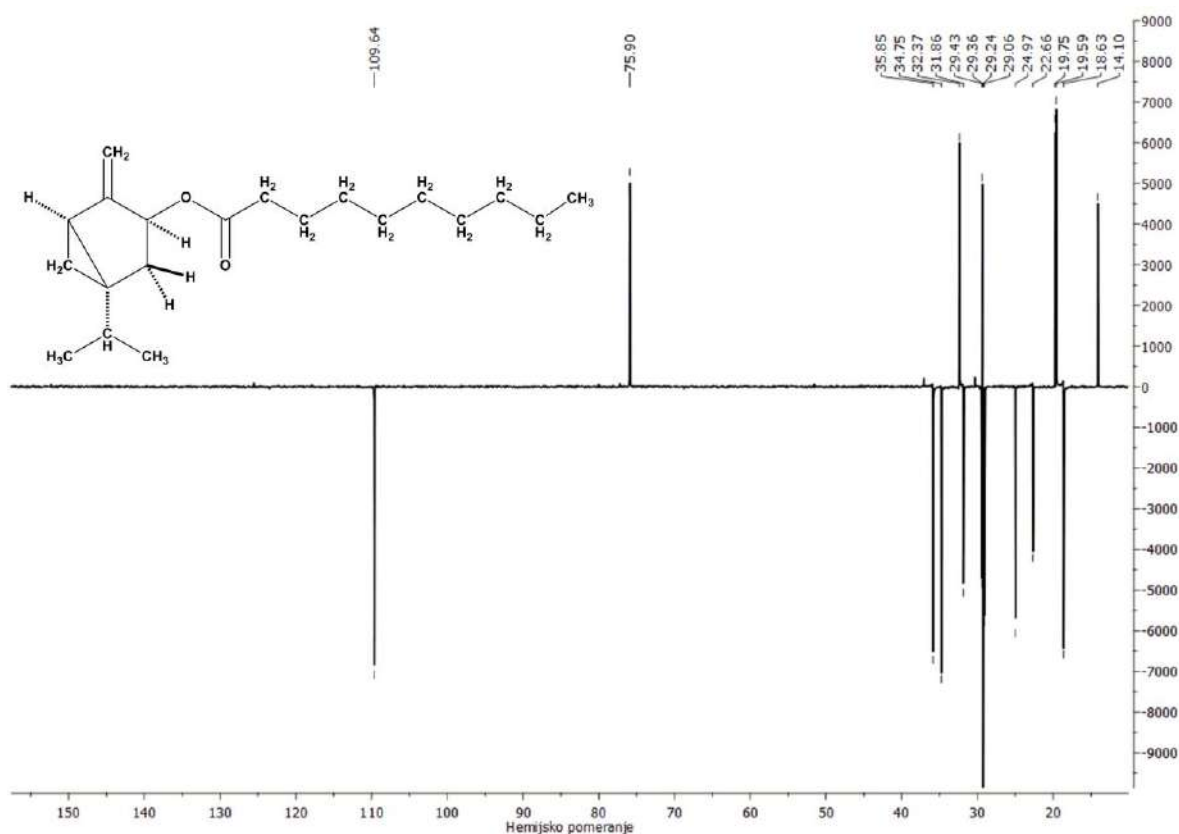
Prilog 8.1.79. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY (CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-dekanoata [11]



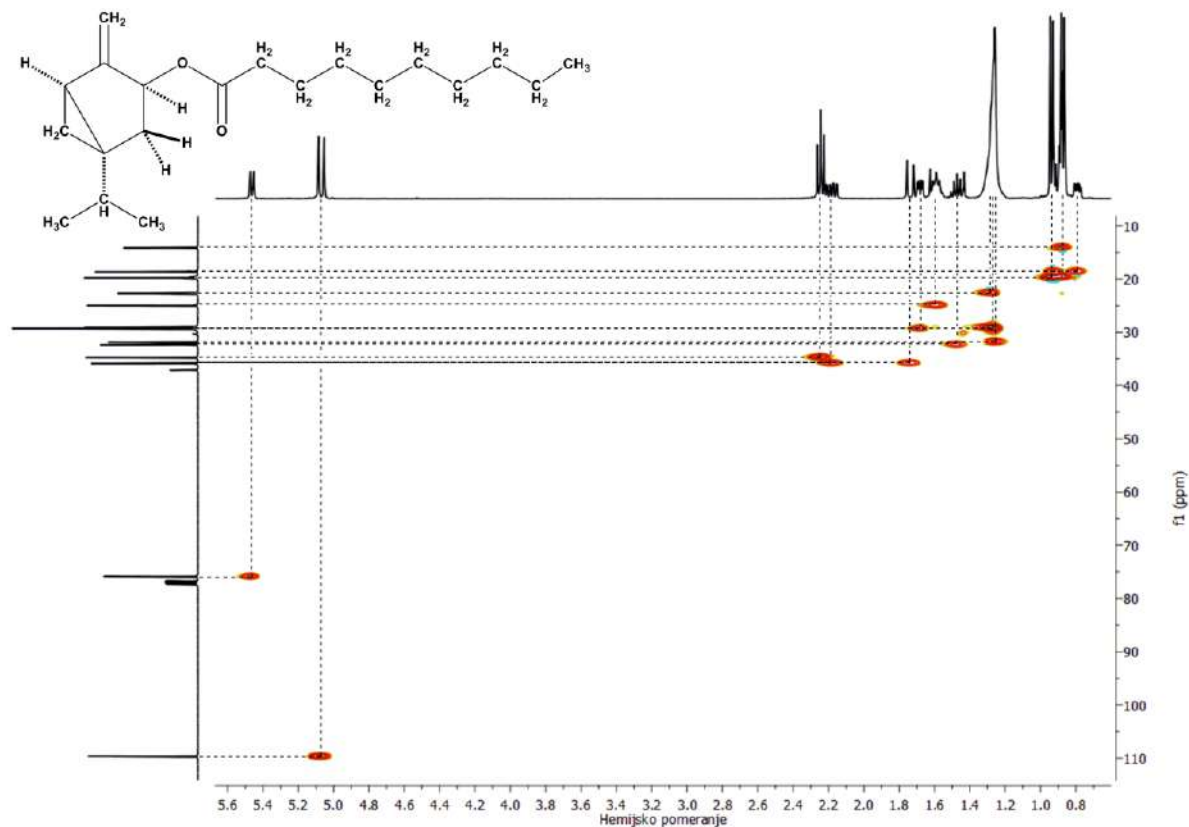
Prilog 8.1.80. DEPT90 (CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-dekanoata [11]



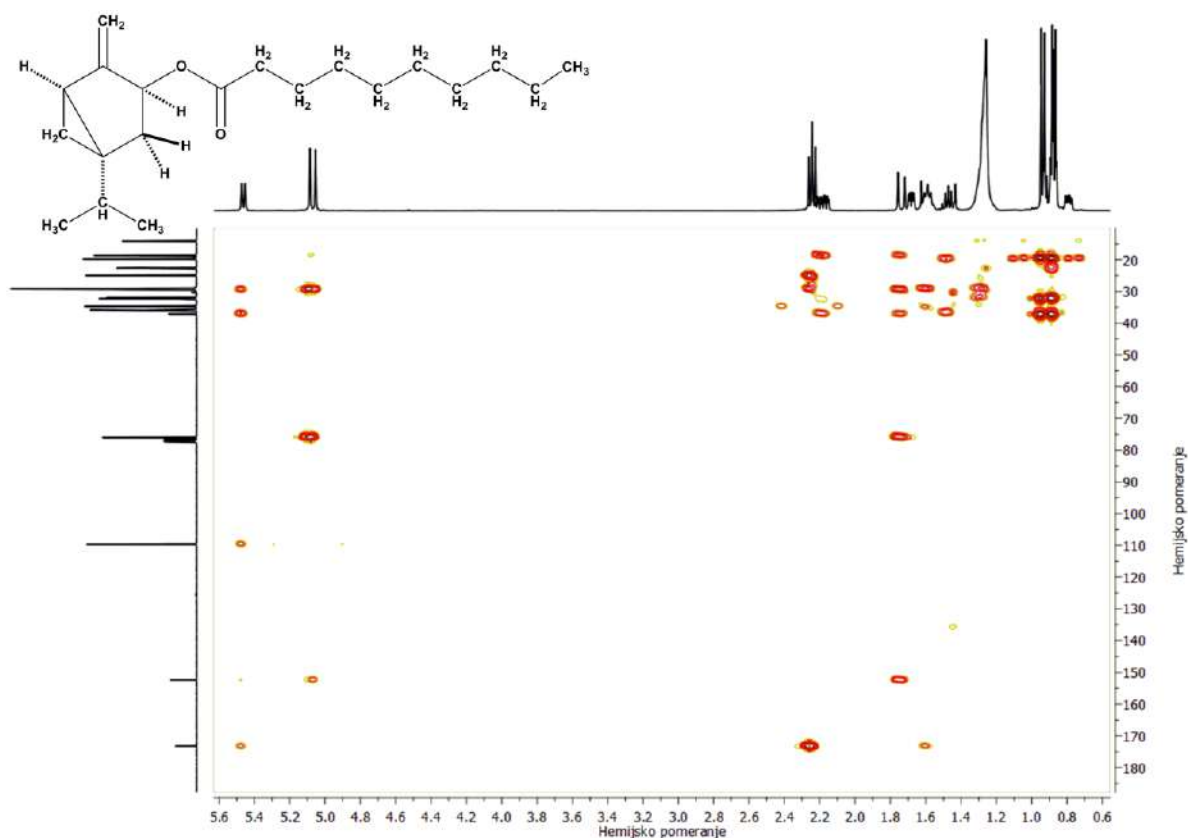
Prilog 8.1.81. DEPT135 (CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-dekanoata [11]



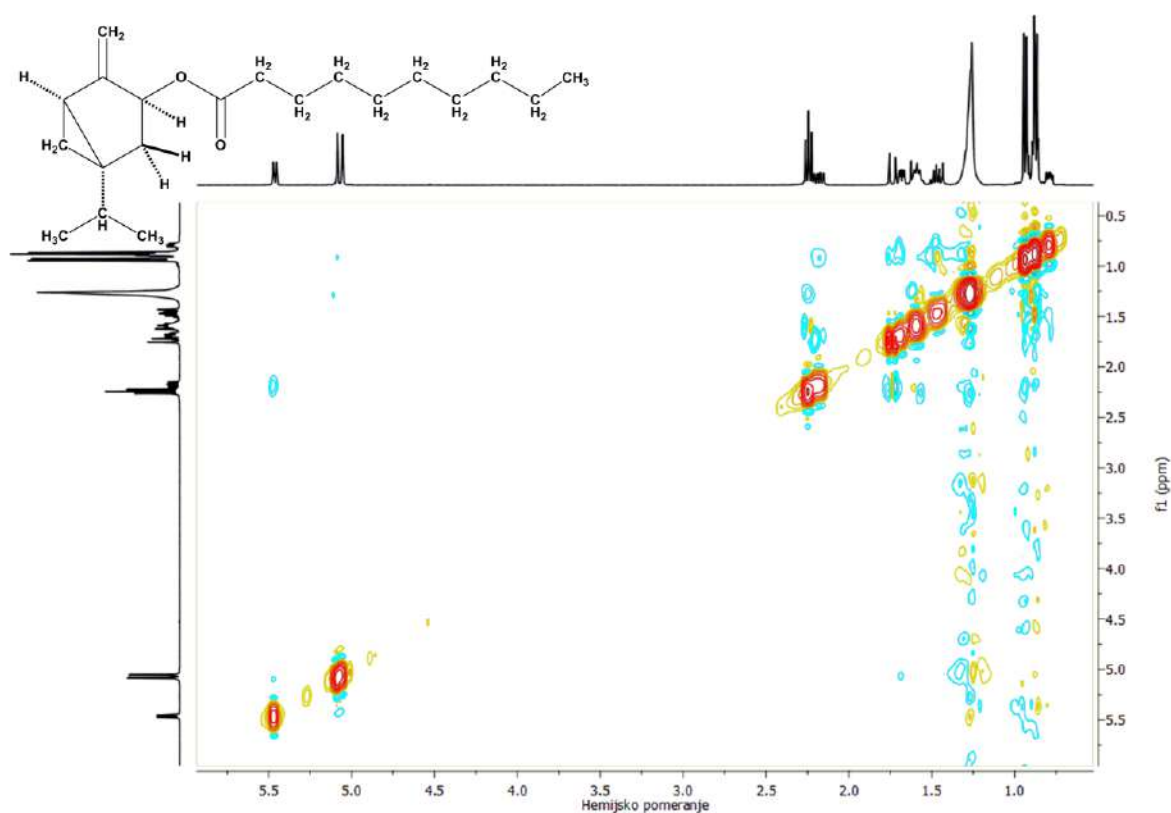
Prilog 8.1.82. HSQC (CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-dekanoata [11]



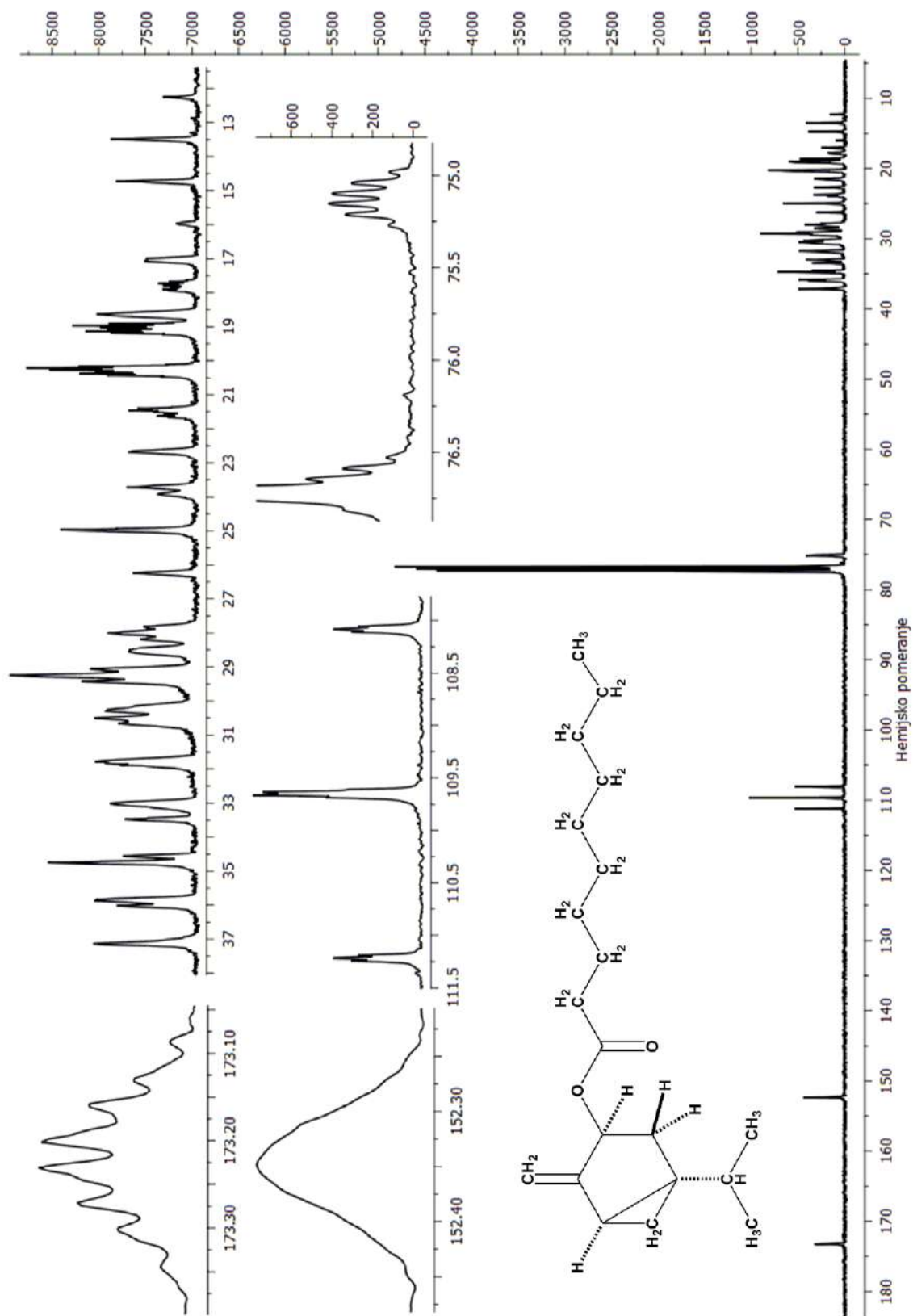
Prilog 8.1.83. HMBC (CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-dekanoata [11]



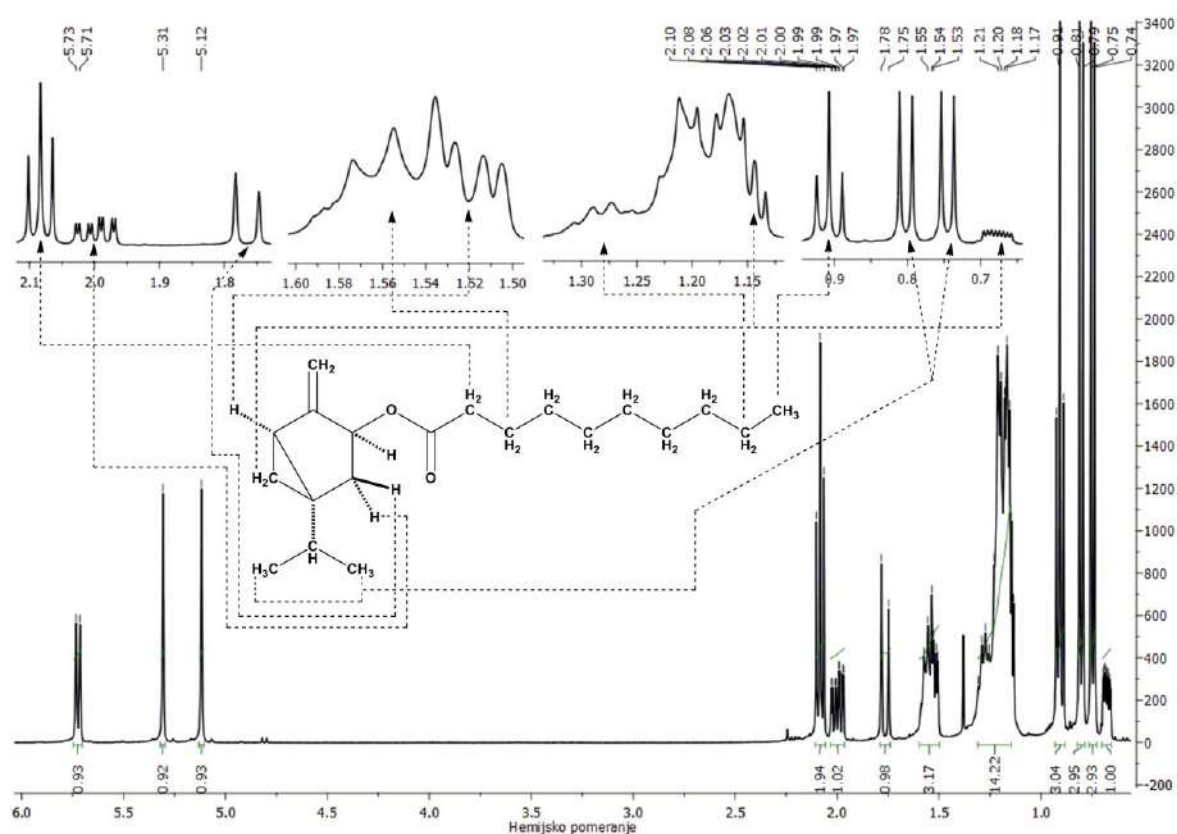
Prilog 8.1.84. NOESY (CDCl_3) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-dekanoata [11]



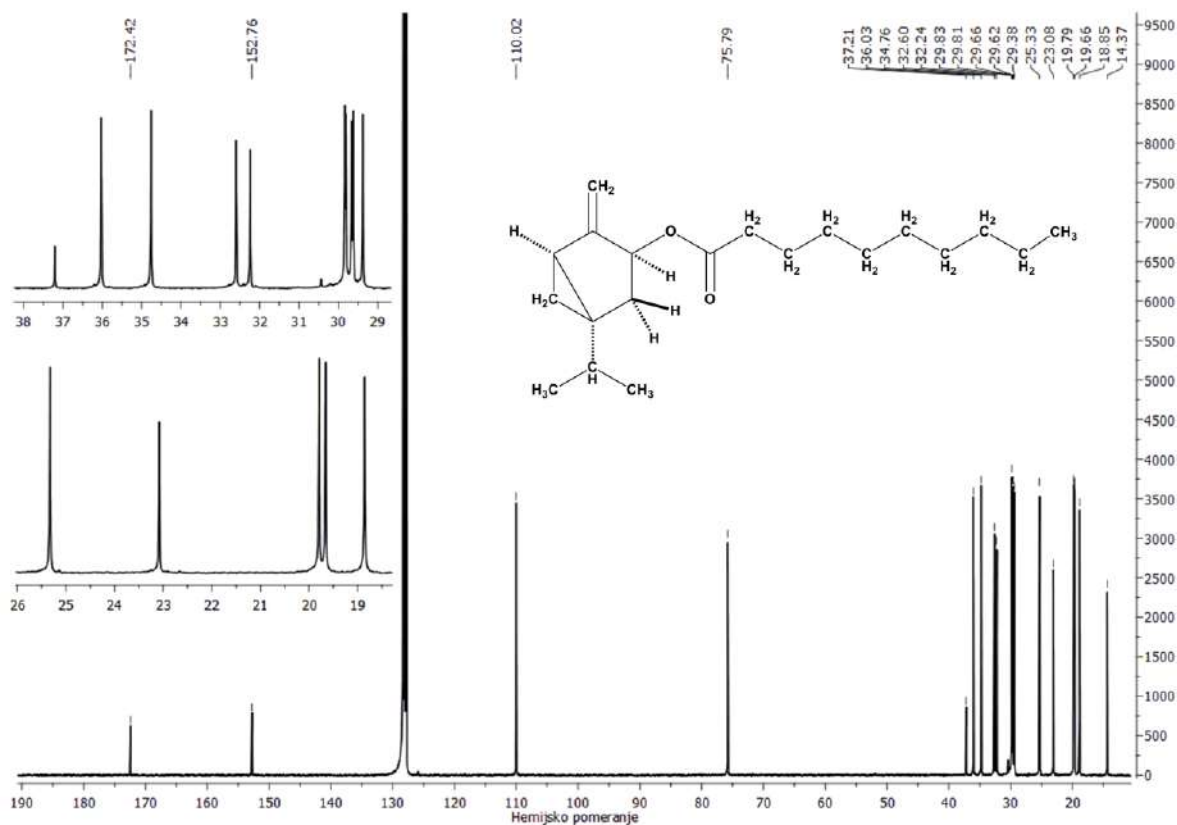
Prilog 8.1.85. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar bez heteronuklearnog dekuplovanja (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-dekanoata [**11**]



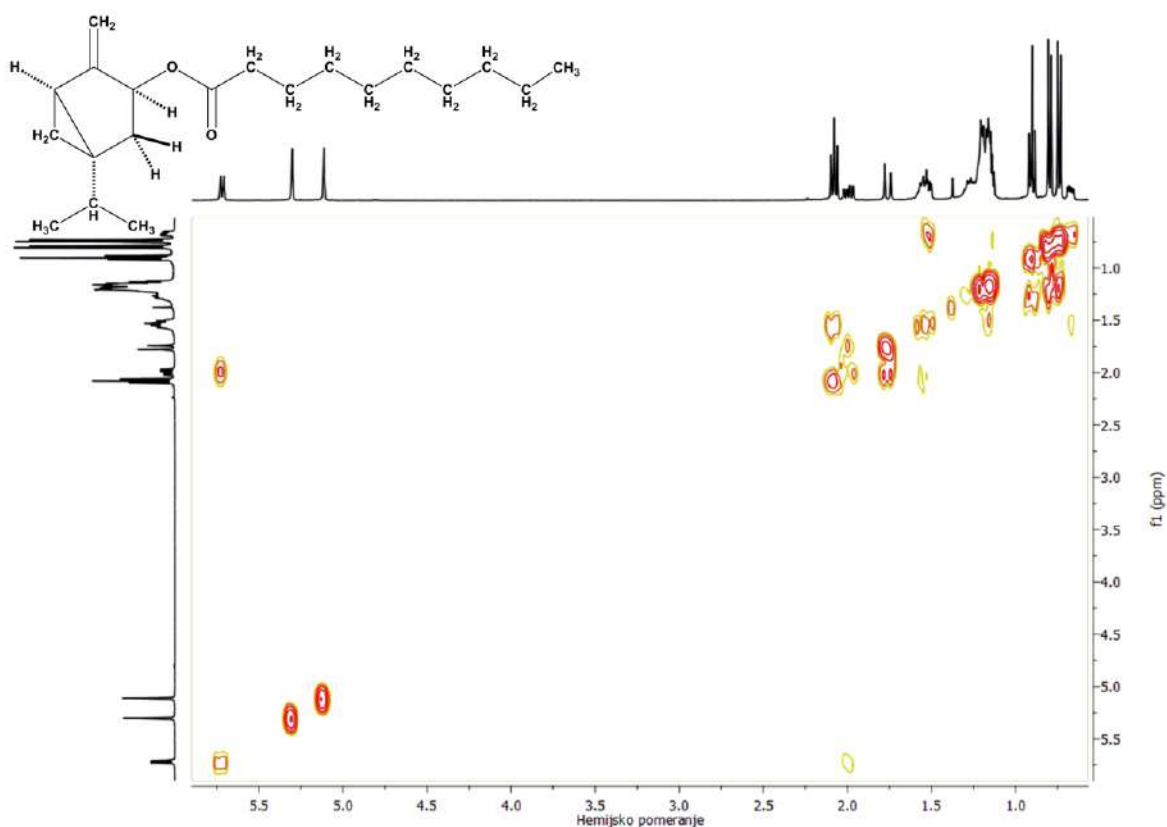
Prilog 8.1.86. ^1H NMR (400 MHz, C_6D_6) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-dekanoata [11]



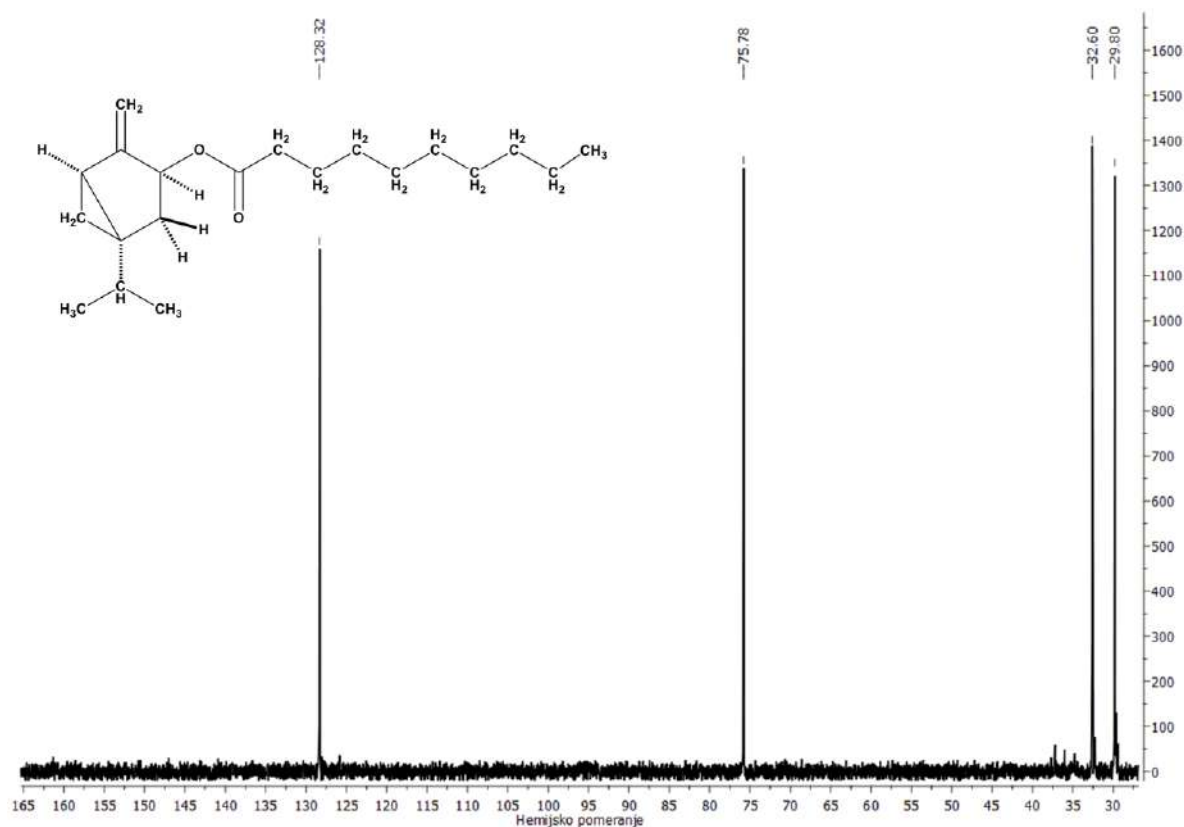
Prilog 8.1.87. ^{13}C NMR (101 MHz, C_6D_6) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-dekanoata [11]



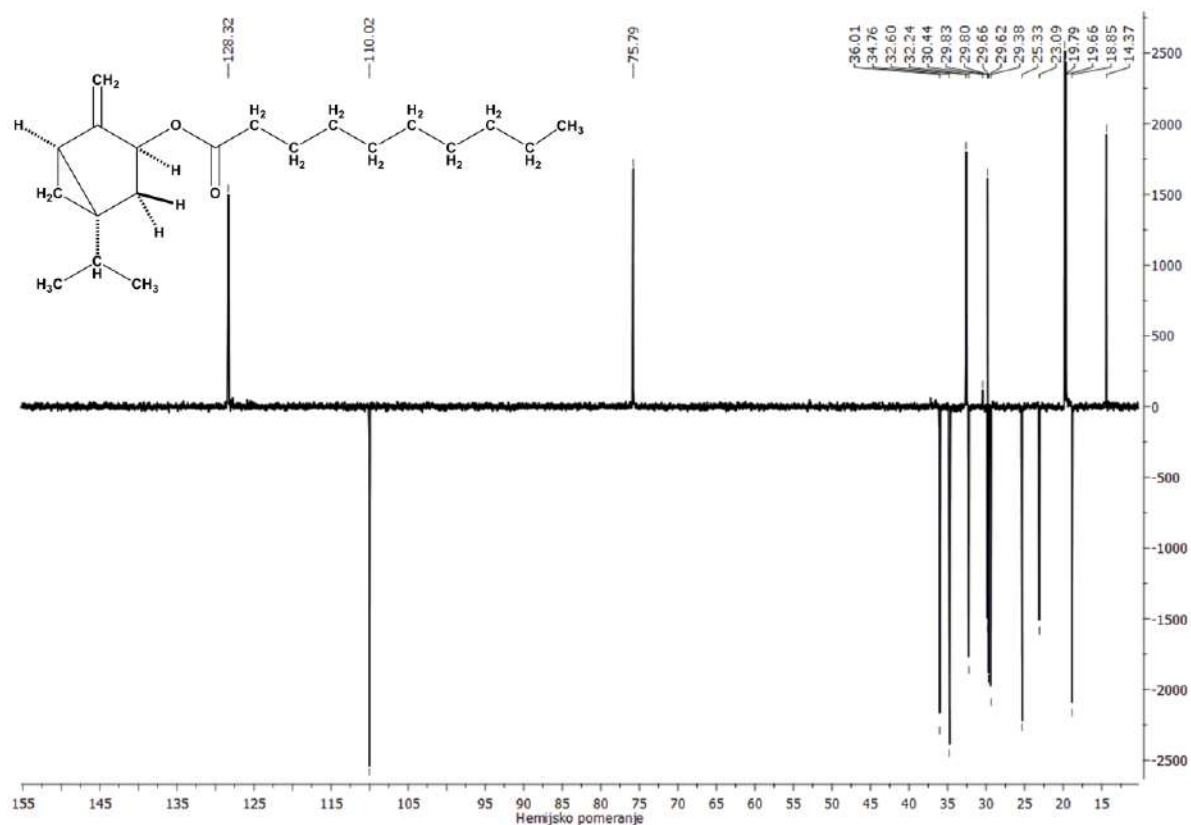
Prilog 8.1.88. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY (C_6D_6) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-dekanoata [11]



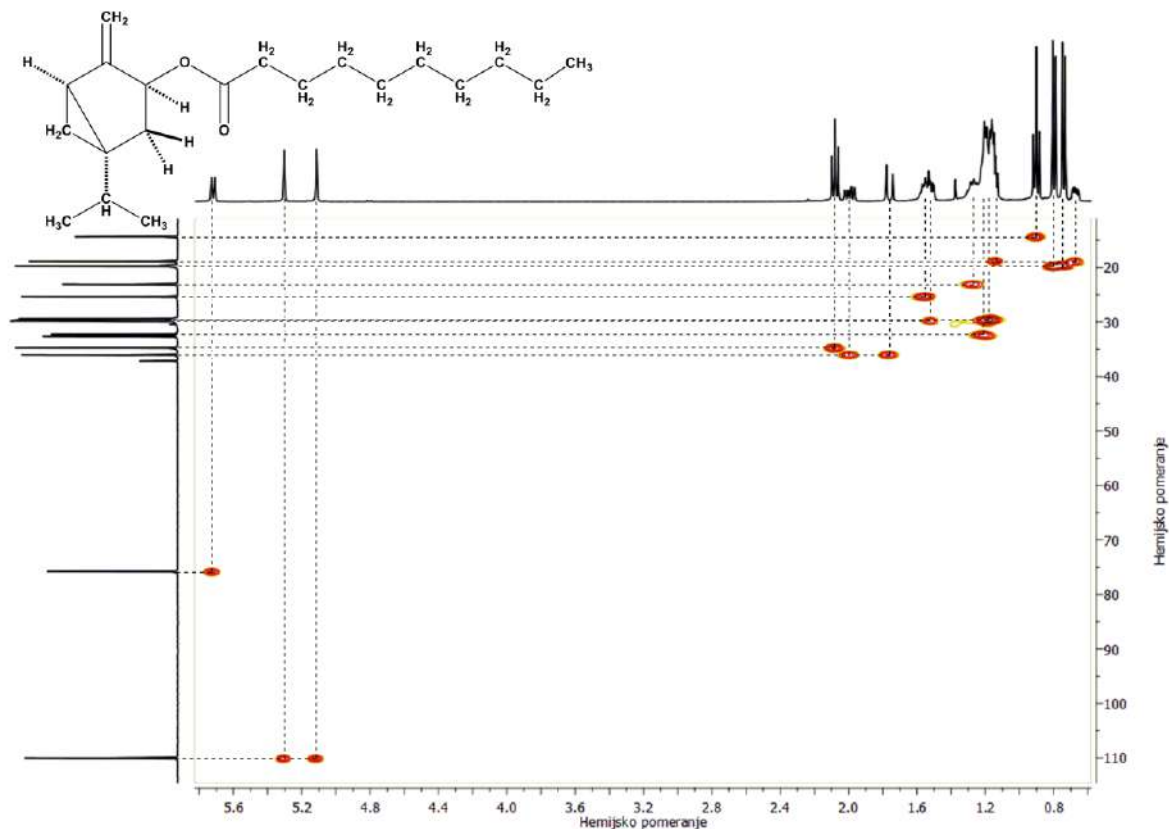
Prilog 8.1.89. DEPT90 (C_6D_6) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-dekanoata [11]



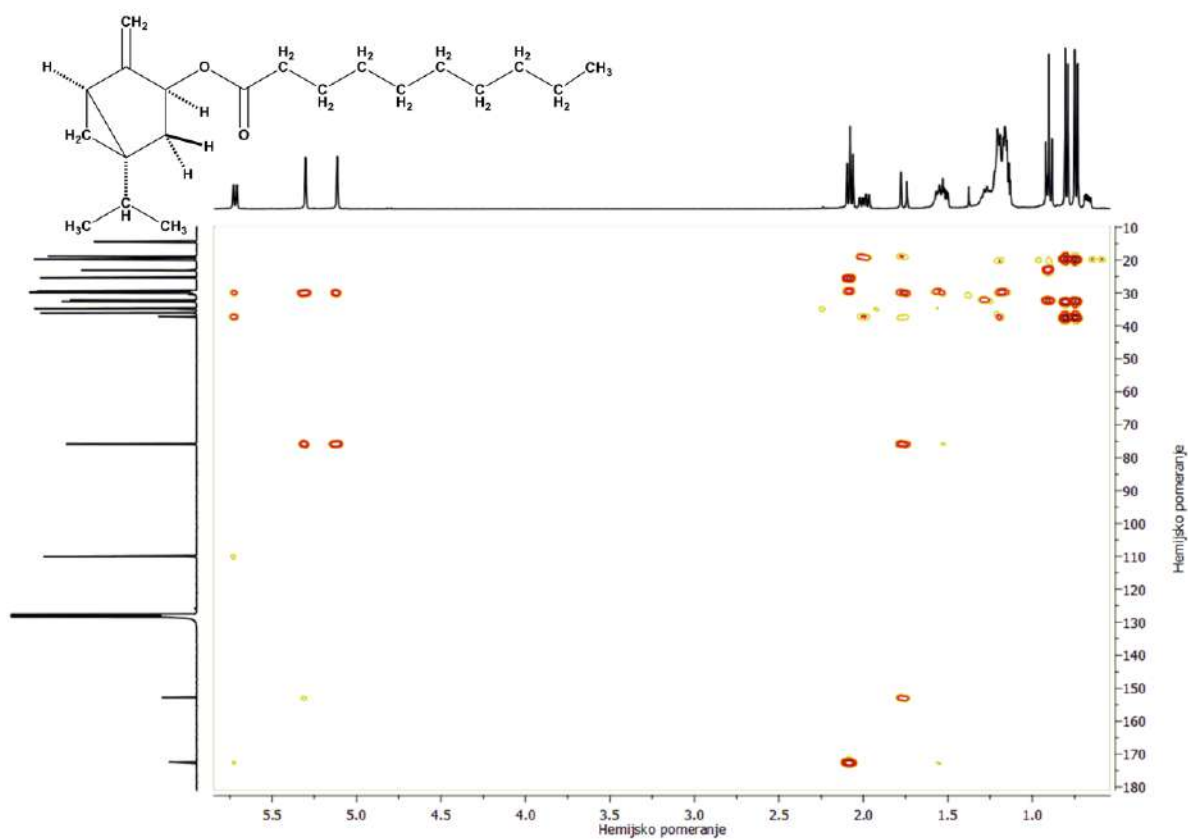
Prilog 8.1.90. DEPT135 (C_6D_6) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-dekanoata [11]



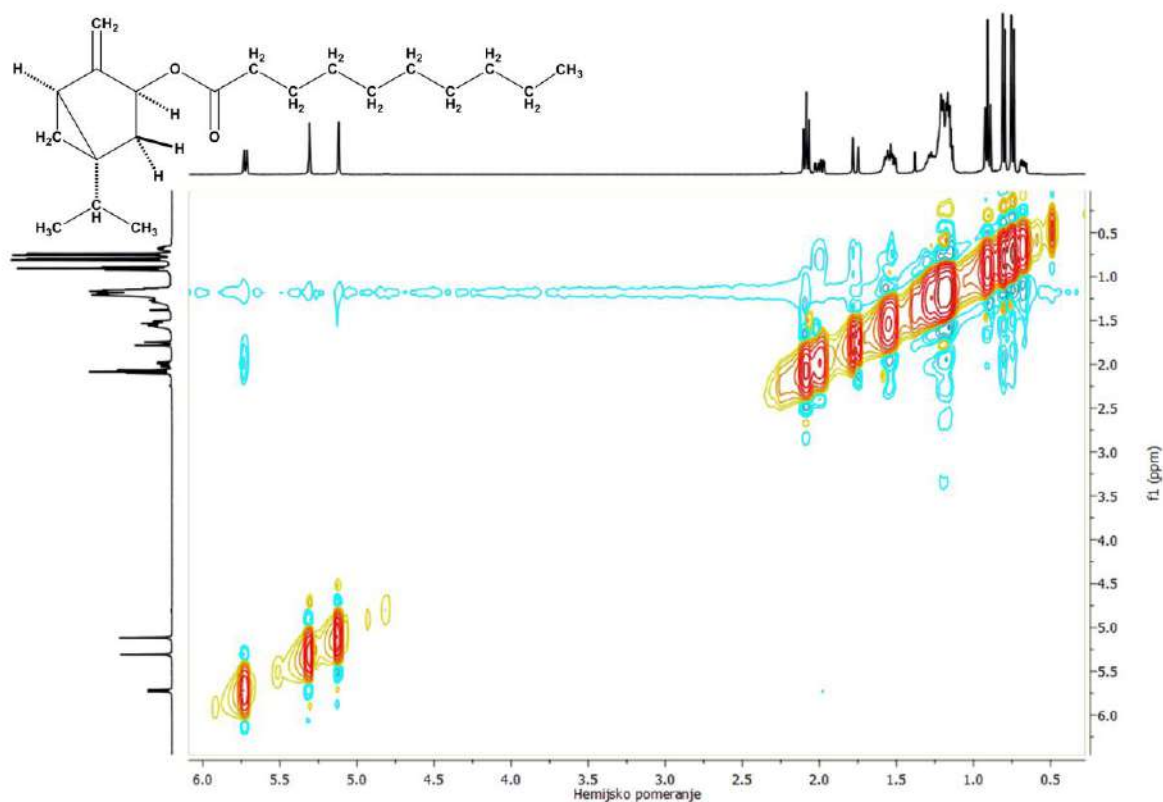
Prilog 8.1.91. HSQC (C_6D_6) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-dekanoata [11]



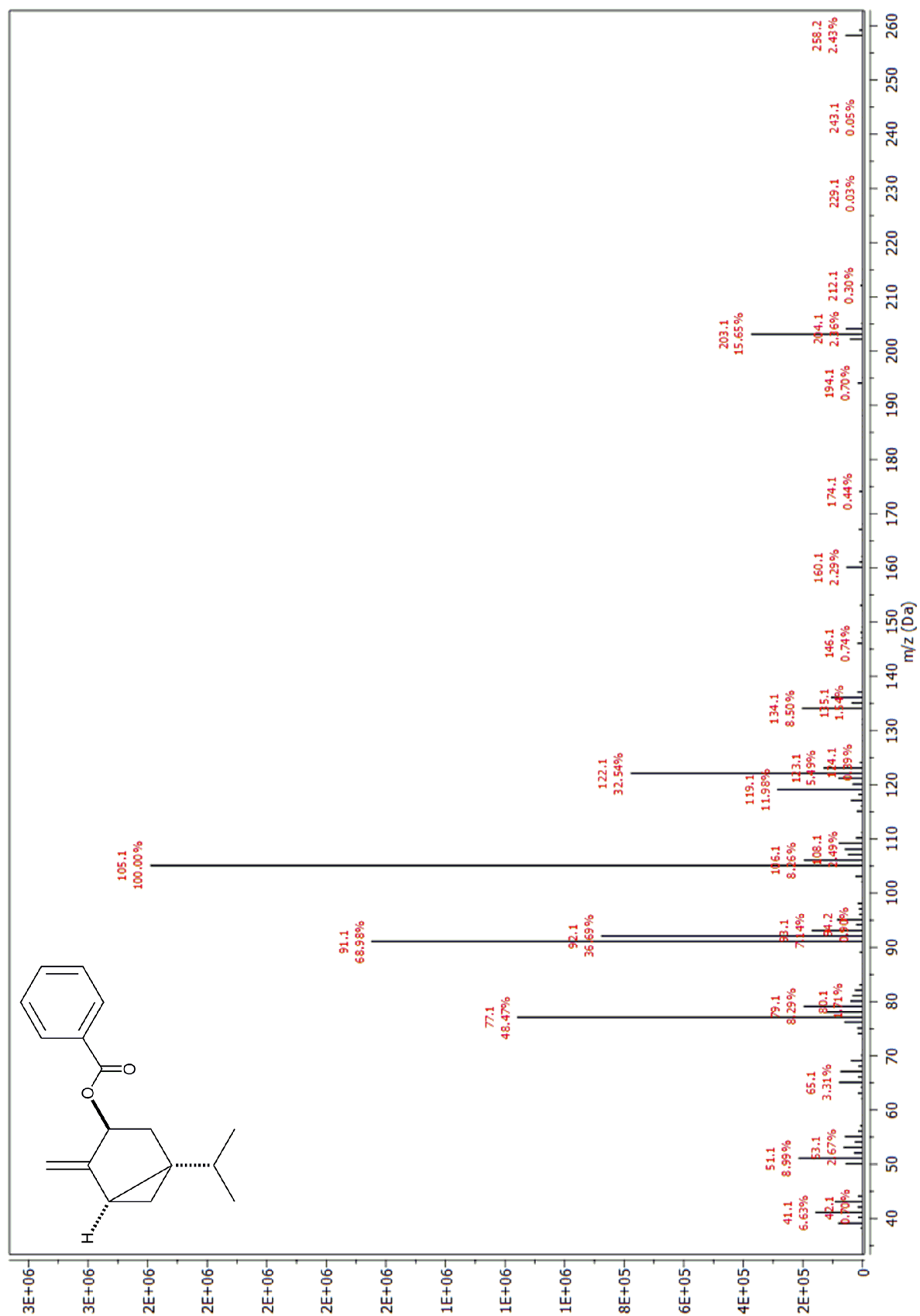
Prilog 8.1.92. HMBC (C_6D_6) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-dekanoata [11]



Prilog 8.1.93. NOESY (C_6D_6) spektar ($1R^*,3S^*,5R^*$)-sabinil-dekanoata [11]



Prilog 8.1.94. Maseni spektar (1*R**,3*S**,5*R**)-sabinil-benzoata [1m]



Prilog 8.2.1. Hemijski sastav etarskih ulja izolovanih iz vrsta *Scandix balansae* i *Scandix pecten-veneris*

RI ¹	Sastojci	Klasa ²	S1 ³	S2 ³	S3 ³	S4 ³	S5 ³	S6 ³	S7 ³	S8 ³	ID ⁴
763	Butanska kiselina	G	-	-	-	-	-	-	-	1,6	MS, RI, CoI
784	Butan-2,3-diol	G	-	-	-	-	-	-	-	0,2	MS, RI
799	Etil-butanoat	G	-	-	-	-	-	-	-	0,2	MS, RI, CoI
800	Oktan	A	-	-	-	-	-	-	-	tr	MS, RI, CoI
827	2-Metilbutanska kiselina	G	-	-	-	-	-	-	-	tr	MS, RI, CoI
832	3-Metilbutanska kiselina	G	-	-	-	-	-	-	-	tr	MS, RI, CoI
851	(Z)-3-Heksen-1-ol	G	4,4	0,2	1,3	54,0	-	-	-	tr	MS, RI
871	1-Heksanol	G	tr	-	-	7,7	-	-	-	-	MS, RI, CoI
934	α -Pinen	M	-	-	tr	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
967	Heksanska kiselina	G	-	-	-	-	-	-	-	tr	MS, RI, CoI
976	Sabinen	M	-	-	0,4	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1020	β -Felandren	M	0,1	0,1	-	-	-	-	-	tr	MS, RI
1052	(E)- β -Ocimen	M	tr	0,1	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1100	Undekan	A	0,2	0,7	0,6	-	-	-	-	tr	MS, RI, CoI
1118	Nonanal	FA	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1142	(Z)-3-Heksenil-butanoat	G	0,2	0,4	-	-	-	-	-	tr	MS, RI, CoI
1150	Heksil-izobutanoat	G	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1200	Dodekan	A	0,1	0,2	tr	-	-	-	-	tr	MS, RI, CoI
1210	Dekanal	FA	-	tr	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1235	(Z)-3-Heksenil-3-metilbutanoat	G	tr	tr	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1241	Pulegon	M	-	-	-	-	-	-	-	tr	MS, RI
1265	2-Metildodekan	A	tr	tr	-	-	-	-	tr	-	MS, RI
1293	1-Tridecen	FA	tr	tr	tr	-	-	tr	tr	tr	MS, RI
1300	Tridekan	A	24,1	50,7	52,8	8,5	13,9	39,2	22,9	6,7	MS, RI, CoI
1354	4-Hidroksibenzaldehid	O	-	-	-	-	-	-	-	tr	MS, RI
1373	Ciklosativen	S	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1380	α -Kopaen	S	tr	tr	tr	tr	-	-	-	-	MS, RI
1388	β -Burbonen	S	tr	-	tr	-	-	-	-	-	MS, RI
1393	β -Elemen	S	0,1	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI

Kombinatorne biblioteke odabranih prirodnih i sintetskih biološki aktivnih estara

Nastavak priloga 8.2.1.											
1397	1-Tetradecen	FA	tr	0,1	-	-	-	-	-	tr	MS, RI
1400	Tetradekan	A	0,5	0,5	tr	-	-	1,1	-	0,2	MS, RI, CoI
1408	(Z)-Kariofilen	S	tr	tr	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1409	Dodekanal	FA	-	-	-	-	-	-	-	tr	MS, RI
1416	Metileugenol	PP	-	-	-	tr	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1424	(E)-Kariofilen	S	18,5	13,5	10,0	8,2	tr	0,5	tr	tr	MS, RI, CoI
1436	β -Kopaen	S	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1443	Metil-(4-hidroksifenil)acetat	O	-	-	-	-	-	-	-	0,7	MS, RI
1450	Metil-4-hidroksibenzoat	O	-	-	-	-	-	-	-	0,5	MS, RI
1456	(E)- β -Farnezen	S	tr	tr	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1461	Humulen	S	1,3	0,8	0,5	tr	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1478	Germakren D	S	tr	-	7,2	tr	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1485	<i>trans</i> -Muurola-4(14),5-dien	S	0,2	tr	-	1,1	-	-	-	-	MS, RI
1494	1-Pentadecen	FA	0,5	0,3	-	-	tr	0,5	0,6	0,5	MS, RI
1500	Biciklogermakren	S	1,4	-	tr	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1500	Pentadekan	A	16,5	19,4	8,5	1,3	10,7	23,5	21,9	13,4	MS, RI, CoI
1511	Tridekanal	FA	tr	-	-	-	-	-	-	tr	MS, RI
1513	(E,E)- α -Farnezen	S	tr	-	2,5	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1515	(Z)-2-Pentadecen	FA	0,4	0,5	-	-	-	-	-	tr	MS, RI
1520	(E)-Metilzoeugenol	PP	tr	-	-	tr	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1525	δ -Amorfen	S	0,4	tr	-	tr	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1537	6-Decenil-izobutanoat*	FA	tr	0,1	tr	-	-	-	-	-	MS, RI
1545	Decil-izobutanoat	FA	tr	tr	tr	tr	-	-	-	-	MS, RI
1555	Izokariofilen-oksid	S	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1559	1-(4-Hidroksi-3-metoksifenil)-2-propanon	O	-	-	-	-	-	-	-	0,2	MS, RI
1566	Germakren B	S	3,4	0,1	tr	4,1	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1576	Izočavikol-butanoat	PP	0,7	0,5	-	-	-	0,5	tr	-	MS, RI, CoI
1576	1-Tridekanol	FA	-	-	-	-	-	-	-	0,2	MS, RI
1580	Spatulenol	S	-	-	-	-	-	-	-	tr	MS, RI
1582	Germakren D-4-ol	S	0,5	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1586	Kariofilen-oksid	S	0,7	0,3	tr	tr	-	-	-	0,4	MS, RI, CoI

Kombinatorne biblioteke odabranih prirodnih i sintetskih biološki aktivnih estara

Nastavak priloga 8.2.1.											
1600	Heksadekan	A	0,2	0,1	tr	-	-	-	tr	0,2	MS, RI, CoI
1603	Humulen-epoksid I	S	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1612	Tetradekanal	FA	3,0	2,7	5,8	8,4	tr	-	tr	2,7	MS, RI
1630	Metil-4-hidroksimandelat	O	-	-	-	-	-	-	-	1,1	MS, RI
1632	Decil-3-metilbutanoat	FA	0,1	tr	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1646	Kariofila-4(12),8(13)-dien-5 α -ol	S	0,3	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1651	<i>epi</i> - α -Muurolol	S	0,1	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1657	Eugenil-izobutanoat	PP	0,1	tr	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1664	α -Kadinol	S	0,3	-	-	tr	-	-	-	-	MS, RI
1669	Epoksiizočavikol-butanoat*	PP	-	-	-	-	-	5,1	0,7	-	MS, RI
1669	(<i>E</i>)-2-Tetradecen-1-ol	FA	-	-	-	-	-	-	-	tr	MS, RI
1677	1-Tetradekanol	FA	-	-	-	-	-	-	-	0,2	MS, RI
1694	1-Heptadecen	FA	0,2	0,1	-	-	-	-	-	0,5	MS, RI
1700	Heptadekan	A	5,2	2,6	1,2	tr	1,7	3,7	5,2	19,3	MS, RI, CoI
1717	(<i>Z</i>)-2-Heptadecen	FA	0,1	tr	-	-	-	-	-	tr	MS, RI
1720	Pentadekanal	FA	0,2	tr	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1722	(2 <i>E</i> ,6 <i>Z</i>)-Farnezol	S	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1739	(<i>E</i>)-Pseudoizoeugenil-izobutanoat	PP	1,0	1,1	tr	-	0,7	-	-	-	MS, RI
1756	Tetradekanska kiselina	FA	-	-	-	-	-	-	-	0,2	MS, RI, CoI
1778	1-Pentadekanol	FA	-	-	-	-	-	-	-	0,2	MS, RI
1778	Epoksipseudoizoeugenil-izobutanoat*	O	0,3	0,2	-	-	10,5	2,4	3,0	tr	MS, RI
1802	(<i>Z</i>)-11-Heksadecenal	FA	tr	0,1	tr	0,7	-	-	-	-	MS, RI
1810	(<i>E</i>)-9-Heksadecenal	FA	-	-	-	-	-	-	-	0,2	MS, RI
1817	Heksadekanal	FA	0,7	0,1	0,8	-	1,5	-	0,7	3,1	MS, RI
1826	(<i>E</i>)-Pseudoizoeugenil-2-metilbutanoat	O	0,3	-	-	-	tr	-	-	0,7	MS, RI
1827	Tridecil-izobutanoat	FA	0,2	tr	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1836	Neofitadien izomer I	D	0,4	-	tr	-	-	-	0,7	0,4	MS, RI
1840	Heksahidrofarnetil-aceton	O	tr	-	-	-	-	-	-	0,2	MS, RI
1841	(<i>E</i>)-Pseudoizoeugenil-3-metilbutanoat	PP	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI
1861	Neofitadien izomer II	D	tr	tr	-	-	-	-	-	0,2	MS, RI
1879	Neofitadien izomer III	D	-	-	-	-	-	-	-	0,4	MS, RI

Kombinatorne biblioteke odabranih prirodnih i sintetskih biološki aktivnih estara

Nastavak priloga 8.2.1.											
1885	(E)-Epoksipseudoizoeugenil-2-metilbutanoat	PP	0,1	0,3	-	-	tr	-	-	-	MS, RI
1896	1-Nonadecen	FA	-	-	-	-	-	-	-	0,7	MS, RI
1900	Nonadekan	A	-	tr	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
1905	(E)-2-Nonadecen	FA	-	-	-	-	-	-	-	1,3	MS, RI
1913	Metil-heksadekanoat	FA	tr	-	-	-	-	-	-	tr	MS, RI
1917	Tridecil-3-metilbutanoat	FA	0,1	tr	tr	-	-	-	tr	-	MS, RI, CoI
1918	Heptadekanal	FA	-	-	-	-	-	-	-	0,2	MS, RI, CoI
1927	Tetradecil-izobutanoat	FA	0,2	0,1	tr	tr	0,9	-	tr	-	MS, RI, CoI
1932	Metil-heksadekanoat	FA	-	-	-	-	-	-	-	0,2	MS, RI, CoI
1961	Heksadekanska kiselina	FA	0,4	tr	-	-	3,5	0,9	6,1	4,3	MS, RI, CoI
1982	1-Heptadekanol	FA	-	-	-	-	-	-	-	0,2	MS, RI
1991	(Z)-13-Oktadecenal	FA	0,2	tr	tr	-	tr	-	-	-	MS, RI
1992	Etil-heksadekanoat	FA	0,2	tr	-	-	-	-	-	0,2	MS, RI, CoI
2018	Oktadekanal	FA	0,2	tr	0,3	tr	0,9	-	-	5,1	MS, RI
2021	Tetradecil-3-metilbutanoat	FA	0,1	tr	tr	-	0,7	-	0,4	0,2	MS, RI, CoI
2031	Pentadecil-izobutanoat	FA	0,1	tr	tr	-	0,3	3,3	0,9	-	MS, RI, CoI
2049	cis-Falkarinol	O	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
2057	Heptadekanska kiselina	FA	-	-	-	-	-	-	-	tr	MS, RI, CoI
2082	1-Heptadekanol	FA	-	-	-	-	-	-	-	0,2	MS, RI
2100	Heneikozan	A	0,1	0,3	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
2102	Metil-(Z,Z,Z)-9,12,15-oktadekatrienoat	FA	tr	-	-	tr	-	-	tr	-	MS, RI, CoI
2107	(E)-Fitol	D	0,8	-	0,6	-	-	tr	1,5	3,3	MS, RI
2134	Pentadecil-3-metilbutanoat	FA	0,1	tr	tr	-	2,1	-	0,3	-	MS, RI, CoI
2143	Heksadecil-izobutanoat	FA	0,1	0,1	tr	-	0,5	-	0,6	-	MS, RI, CoI
2130	(E,E)-9,12-Oktadekadienska kiselina	FA	-	-	-	-	-	-	-	2,2	MS, RI
2135	Metil-oktadekanoat	FA	-	-	-	-	-	-	-	3,8	MS, RI, CoI
2159	Oktadekanska kiselina	FA	-	-	-	-	-	-	-	0,9	MS, RI, CoI
2163	Etil-(E,E)-9,12-oktadekadienoat	FA	0,1	tr	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
2180	(Z)-3-Heksenil-tetradekanoat	FA	tr	-	-	-	6,2	-	-	-	MS, RI
2196	Etil-oktadekanoat	FA	tr	tr	-	-	7,8	-	2,1	-	MS, RI, CoI
2200	Dokozan	A	-	-	-	-	-	-	tr	-	MS, RI, CoI

Kombinatorne biblioteke odabranih prirodnih i sintetskih biološki aktivnih estara

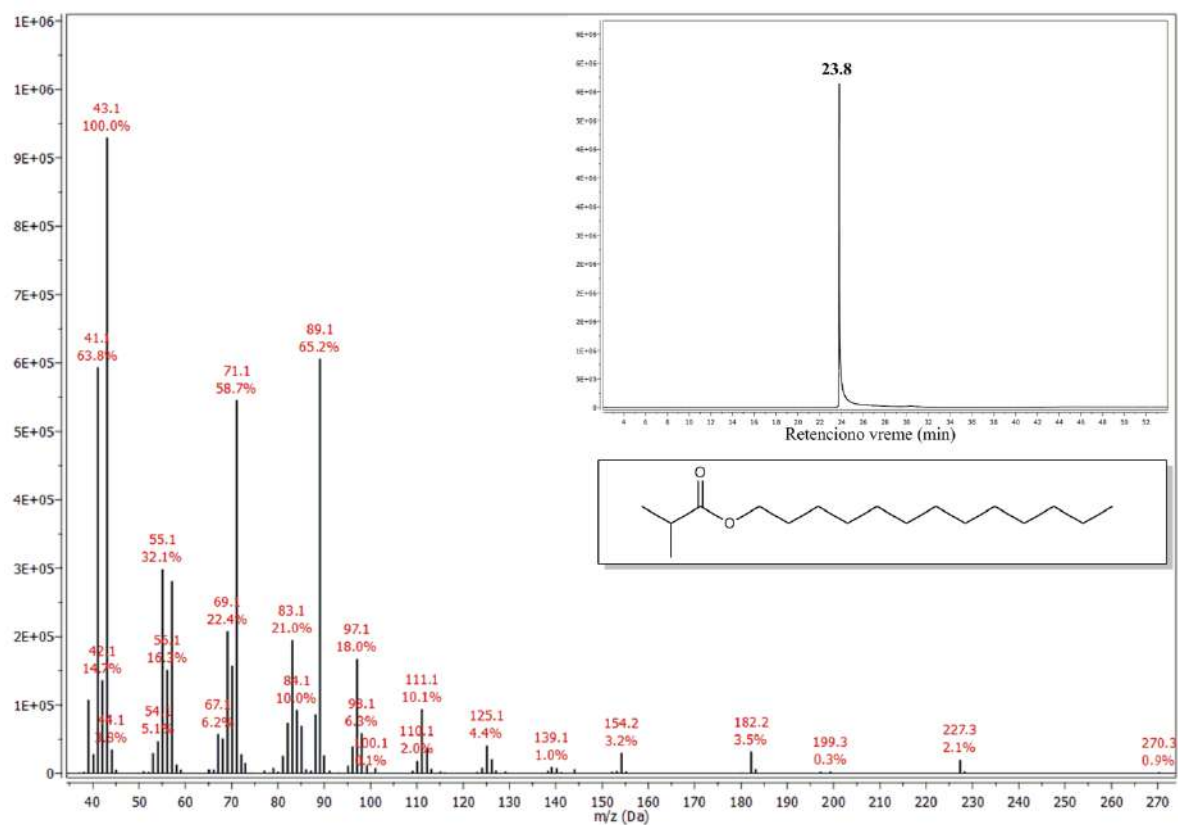
Nastavak priloga 8.2.1.											
2206	(E)-2-Dokozen	FA	-	-	-	-	-	-	-	tr	MS, RI
2216	(E)-Fitil-acetat	D	-	-	-	-	-	-	tr	-	MS, RI, CoI
2235	Heksadecil-3-metilbutanoat	FA	tr	tr	tr	-	-	-	tr	-	MS, RI, CoI
2243	Heptadecil-izobutanoat	FA	tr	tr	tr	-	-	-	tr	-	MS, RI, CoI
2291	1-Eikozanol	FA	tr	-	-	-	-	-	-	0,2	MS, RI
2300	Trikozan	A	0,1	tr	0,2	tr	0,1	-	tr	0,2	MS, RI, CoI
2336	Heptadecil-3-metilbutanoat	FA	tr	tr	tr	-	tr	-	-	-	MS, RI, CoI
2340	Oktadecil-izobutanoat	FA	tr	tr	tr	-	tr	-	0,4	0,2	MS, RI, CoI
2382	(Z)-3-Heksenil-heksadekanoat	FA	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
2383	1-Heneikozanol	FA	-	-	-	-	-	-	-	0,2	MS, RI
2391	Butil-oktadekanoat	FA	-	-	-	-	-	-	1,0	-	MS, RI, CoI
2400	Tetrakozan	A	tr	tr	tr	tr	-	-	tr	-	MS, RI, CoI
2436	Oktadecil-3-metilbutanoat	FA	tr	tr	tr	-	tr	-	tr	0,2	MS, RI, CoI
2484	Oktadecil-pentanoat	FA	-	-	-	-	-	-	-	0,3	MS, RI, CoI
2489	1-Dokozanol	FA	tr	-	tr	-	-	-	-	0,2	MS, RI
2500	Pentakozan	A	0,2	tr	0,3	tr	tr	-	0,6	0,2	MS, RI, CoI
2562	2-Metilpentakozan	A	tr	-	-	-	-	-	tr	-	MS, RI
2600	Heksakozan	A	0,1	0,1	tr	tr	tr	-	0,9	tr	MS, RI, CoI
2693	1-Heptakozen	FA	-	-	-	-	-	-	-	0,4	MS, RI
2700	Heptakozan	A	1,1	tr	2,0	0,4	2,1	0,8	3,0	1,3	MS, RI, CoI
2736	Metil-tetrakozanoat	FA	tr	-	-	-	tr	-	-	-	MS, RI, CoI
2746	Heneikozil-izobutanoat	FA	tr	-	-	-	-	-	-	tr	MS, RI, CoI
2765	2-Metilheptakozan	A	tr	-	-	-	-	0,8	tr	-	MS, RI
2800	Oktakozan	A	0,2	tr	tr	tr	tr	tr	1,0	0,5	MS, RI, CoI
2808	(E)-Skvalen	O	0,1	-	tr	1,3	1,8	0,5	1,8	0,5	MS, RI, CoI
2847	Heksakozanal	FA	tr	-	-	-	tr	0,3	-	-	MS, RI
2900	Nonakozan	A	2,8	0,3	3,8	0,9	13,9	6,9	8,4	7,6	MS, RI, CoI
2929	Heptakozanon	FA	-	-	-	-	-	-	0,9	-	MS, RI, CoI
2947	Trikozil-izobutanoat	FA	tr	-	-	-	-	-	-	-	MS, RI, CoI
3000	Triakontan	A	tr	tr	tr	-	tr	tr	0,7	0,5	MS, RI, CoI
3049	Oktakozanal	FA	tr	-	-	-	0,8	0,5	-	-	MS, RI

Kombinatorne biblioteke odabranih prirodnih i sintetskih biološki aktivnih estara

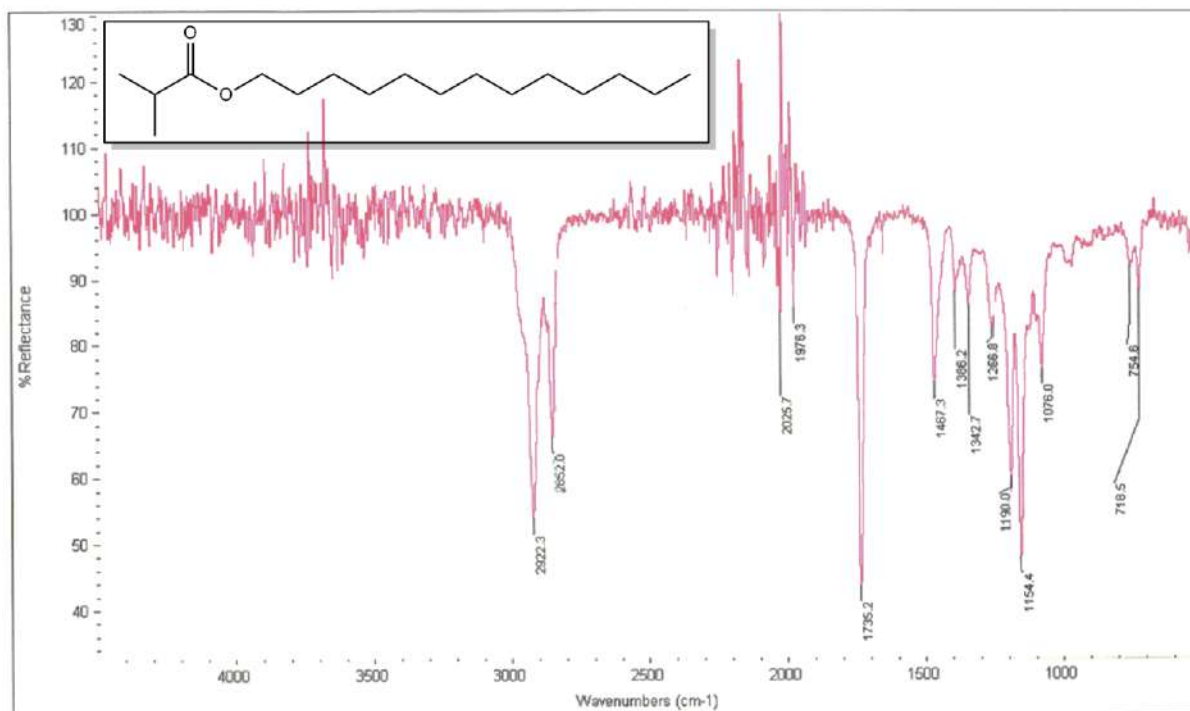
Nastavak priloga 8.2.1.											
3100	Hentriakontan	A	0,2	0,5	0,3	tr	4,3	2,2	3,3	1,1	MS, RI, CoI
3101	(E)-2-Hentriakonten	FA	-	-	-	-	-	-	-	0,9	MS, RI
3116	2-Nonakozanon	FA	tr	-	-	-	0,8	-	1,2	-	MS, RI
3180	Triakontanal	FA	tr	-	-	-	2,3	-	-	-	MS, RI
3200	Dotriakontan	A	-	-	-	-	1,1	-	0,4	-	MS, RI, CoI
3230	2-Triakontanon	FA	-	-	-	-	2,5	-	3,0	-	MS, RI
Ukupno (%)			96,0	97,9	99,2	96,6	92,7	93,0	95,3	91,4	
	Alkani	A	51,6	75,4	69,7	11,1	47,8	78,1	68,4	51,2	
	Diterpeni	D	1,2	tr	0,6	-	tr	tr	2,2	4,3	
	Jedinjenja šikimatnog puta	PP	4,0	2,8	0,1	tr	12,4	8,2	4,3	-	
	“Green leaf” jedinjenja	G	4,6	0,6	1,3	61,7	-	-	-	2,0	
	Masne kiseline i srodna jedinjenja	FA	7,2	4,2	6,9	9,1	30,7	5,5	18,4	29,6	
	Monoterpeni	M	0,1	0,2	0,4	-	-	-	-	tr	
	Ostali	O	0,1	-	-	1,3	1,8	0,5	1,8	3,9	
	Seskviterpeni	S	27,2	14,7	20,2	13,4	tr	0,5	tr	0,4	

¹⁾ Redosled eluiranja sa DB-5MS kolone (RI = vrednosti eksperimentalno određenih retencionih indeksa koinjekcijom homologe serije *n*-alkana C₇-C₃₃); ²⁾ Klase jedinjenja: Alkani (A), diterpeni (D), fenil propanoidi (PP), “green leaf” jedinjenja (G), masne kiseline i srodna jedinjenja (FA), monoterpeni (M), ostali (O), seskviterpeni (S). ³⁾ tr = trag (<0,05%), - = komponenta nije detektovana, (S1, S2, S3)-nadzemni delovi, (S4)-plodovi, (S5, S6, S7)-koren biljne vrste *S. pecten-veneris*, (S8)-plodovi biljne vrste *S. balansae*. ⁴⁾ ID = identifikacija, MS = identitet komponenti je utvrđen poređenjem njihovih masenih spektara sa spektrima iz Wiley 6, Nist 02, MassFinder 2.3 i interne MS biblioteke, RI = poređenjem retencionih indeksa literaturnim vrednostima (Adams, 2007), CoI = koinjekcijom odgovarajućeg standard. ^{*}) Nije utvrđen tačan izomer.

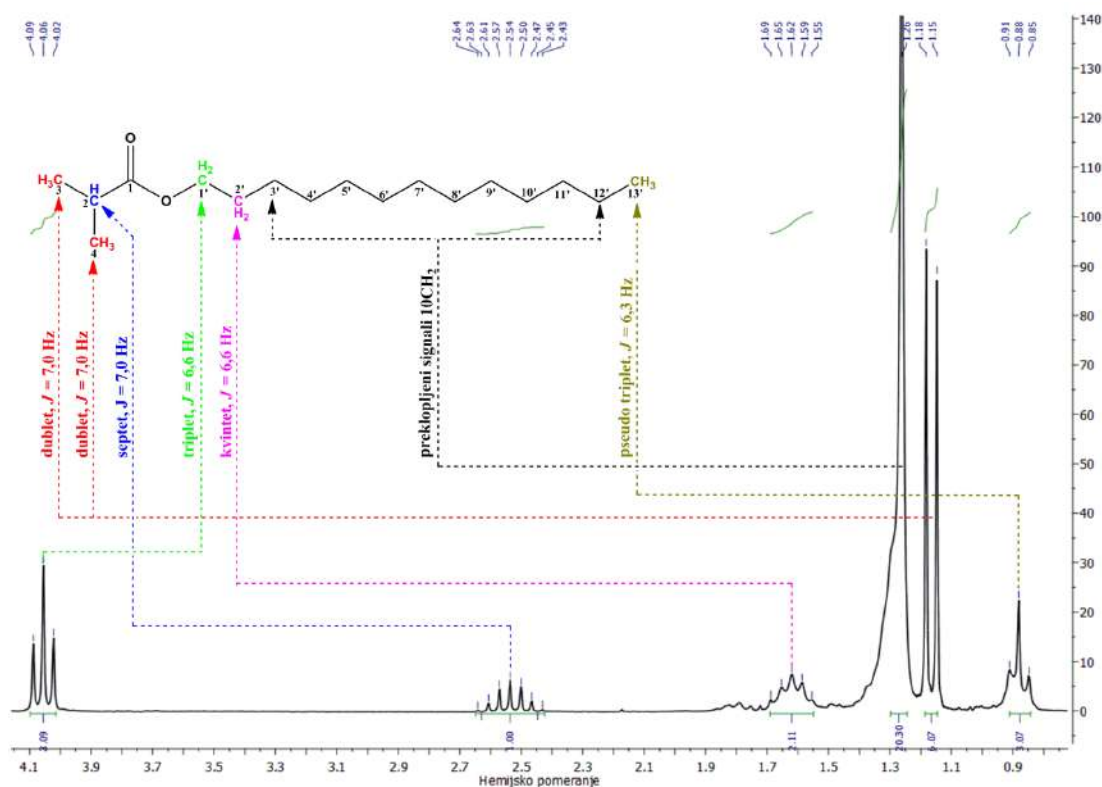
Prilog 8.2.2. Maseni spektar tridecil-izobutanoata [2a]



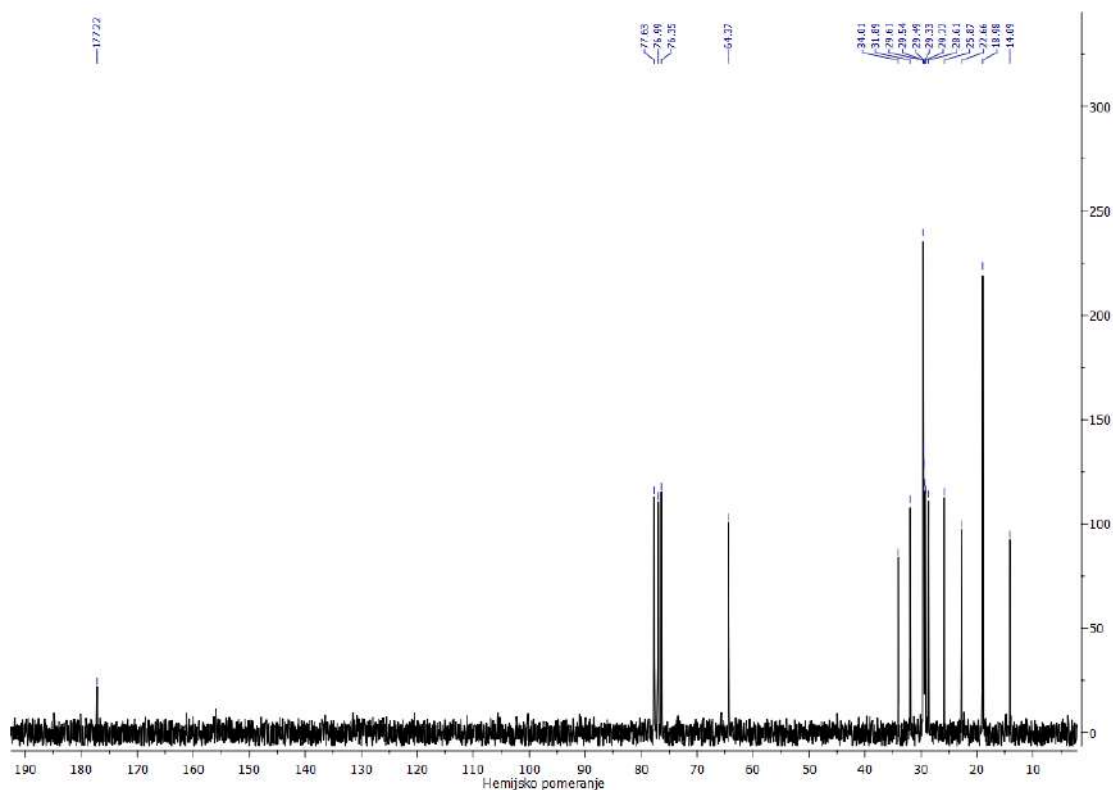
Prilog 8.2.3. IR spektar tridecil-izobutanoata [2a]



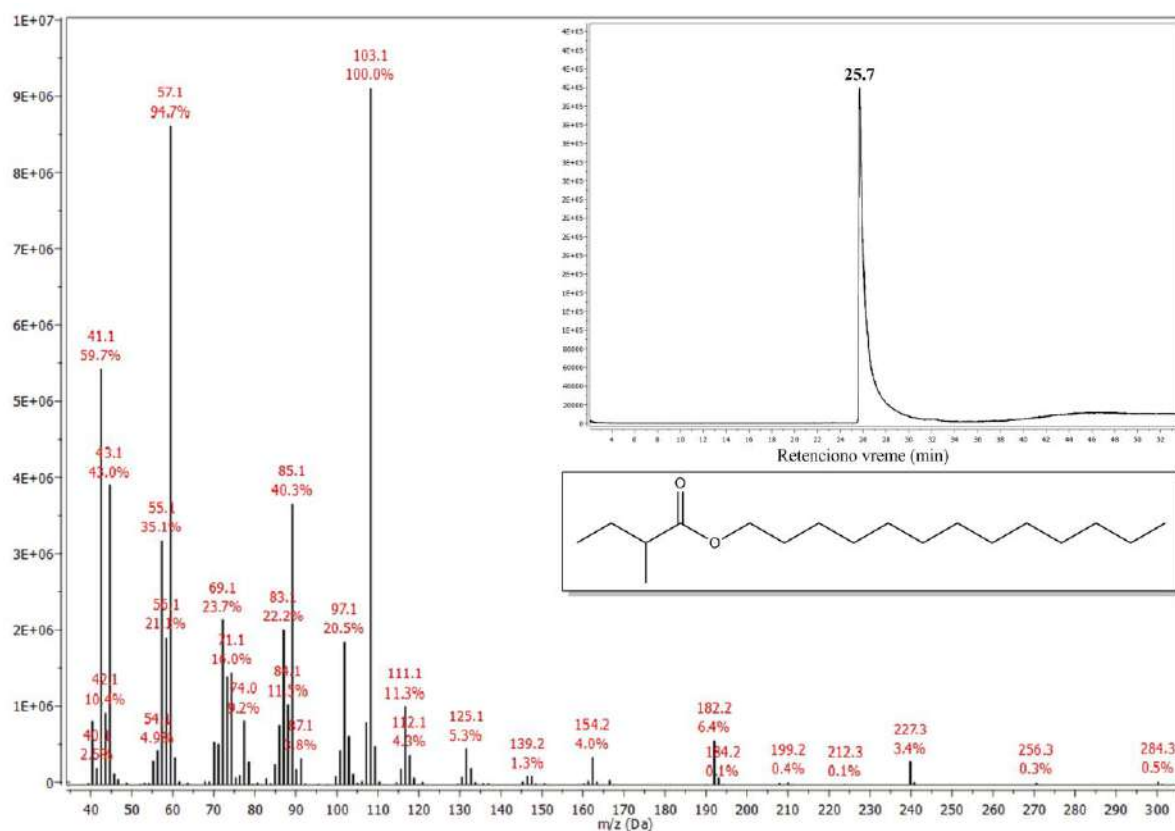
Prilog 8.2.4. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar tridecil-izobutanoata [2a]



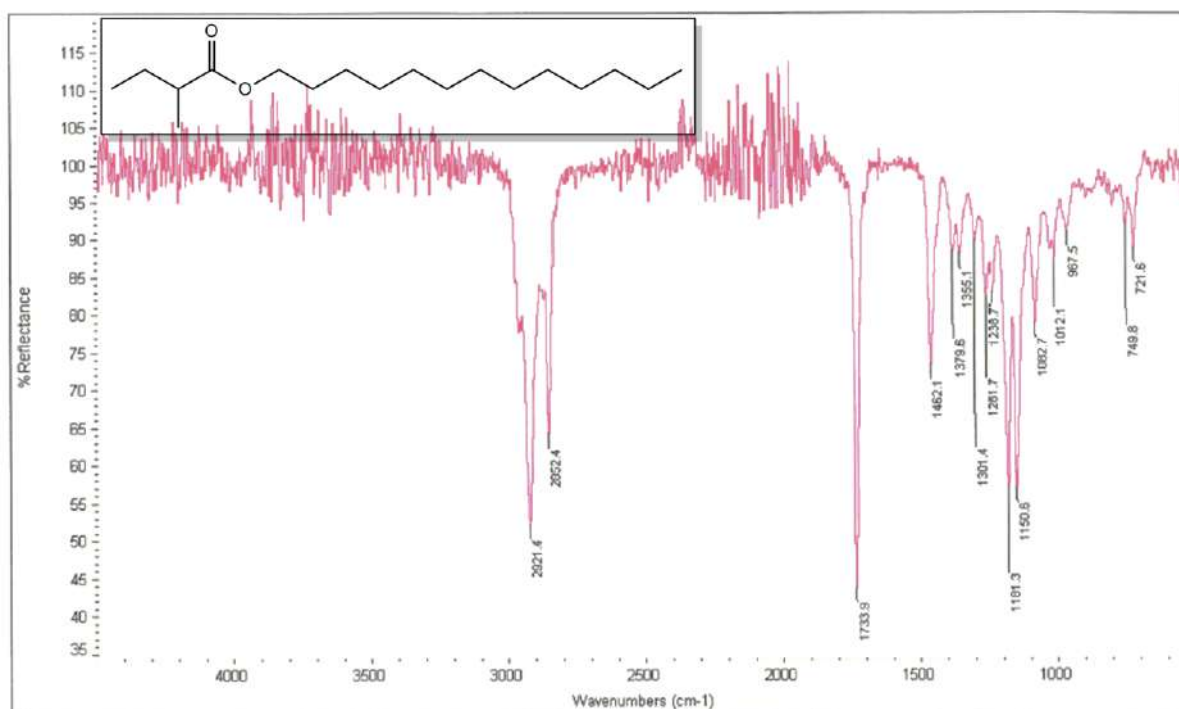
Prilog 8.2.5. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar tridecil-izobutanoata [2a]



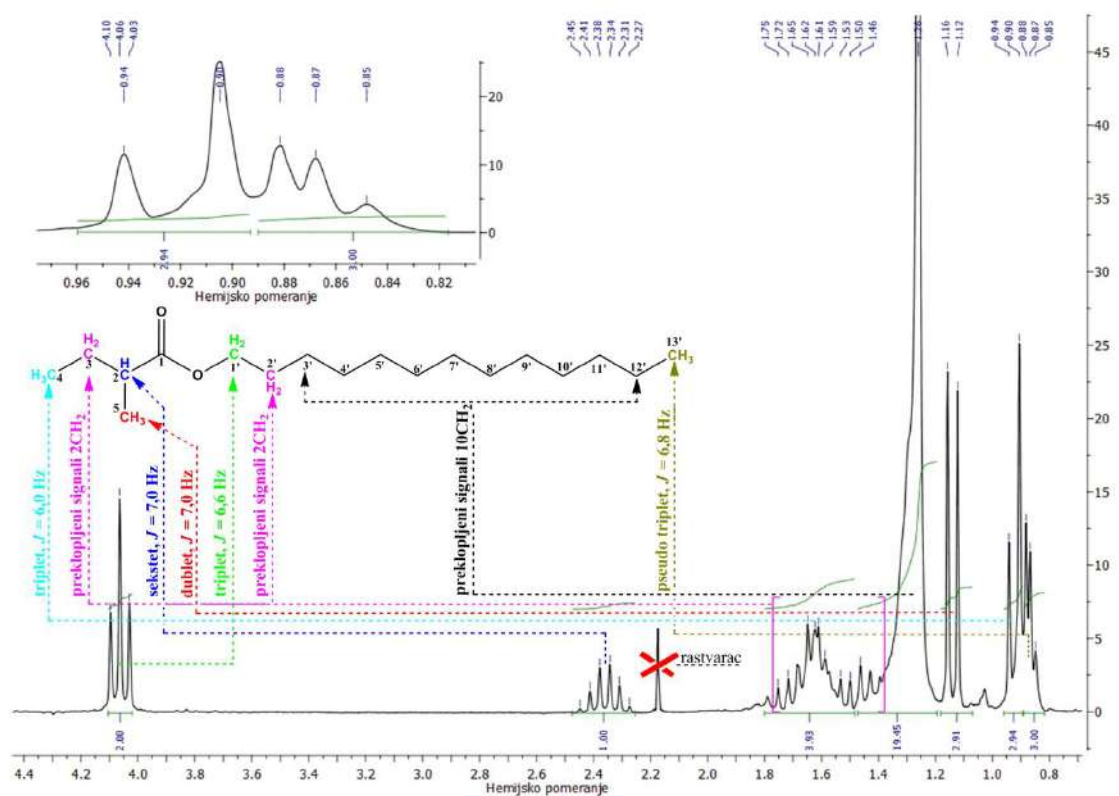
Prilog 8.2.6. Maseni spektar tridecil-2-metilbutanoata [2b]



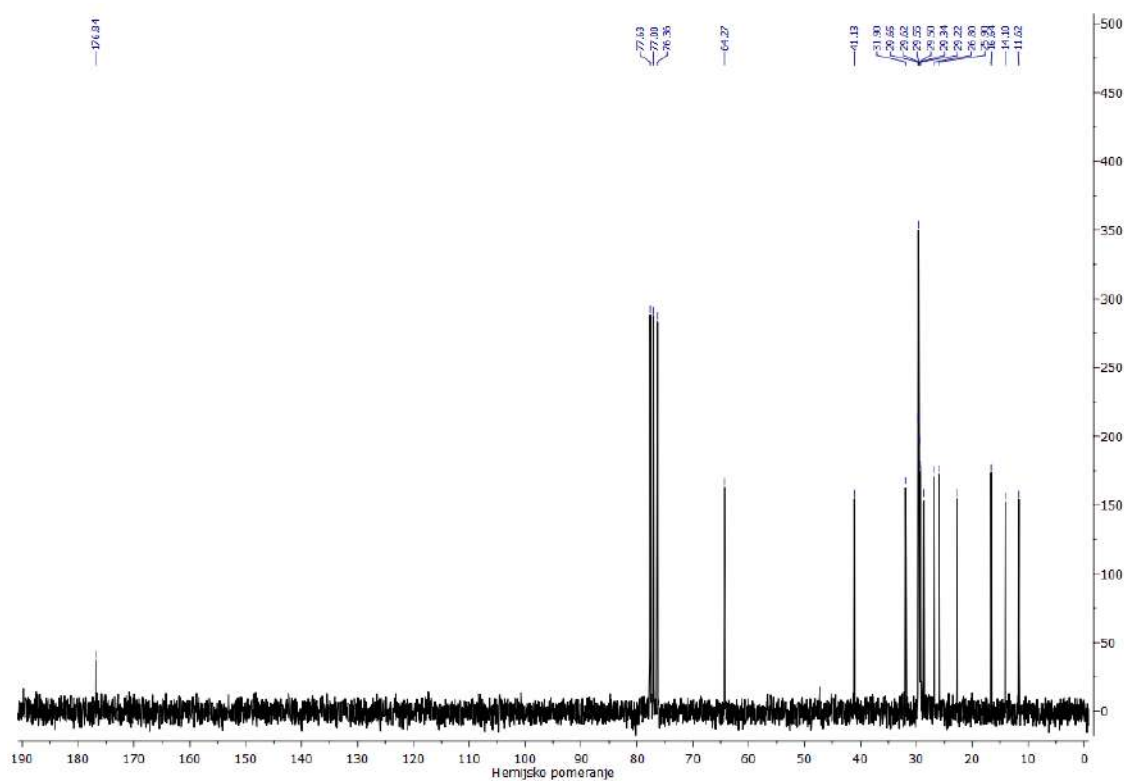
Prilog 8.2.7. IR spektar tridecil-2-metilbutanoata [2b]



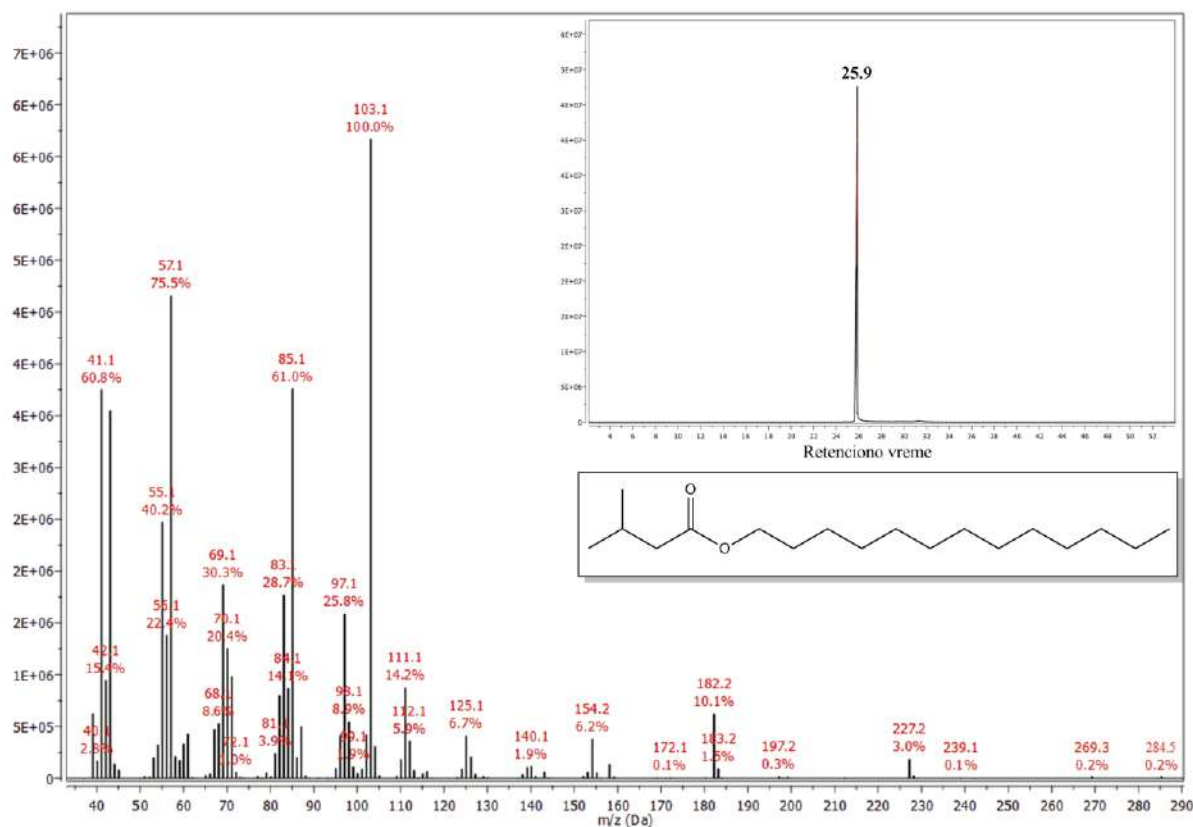
Prilog 8.2.8. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar tridecil-2-metilbutanoata [2b]



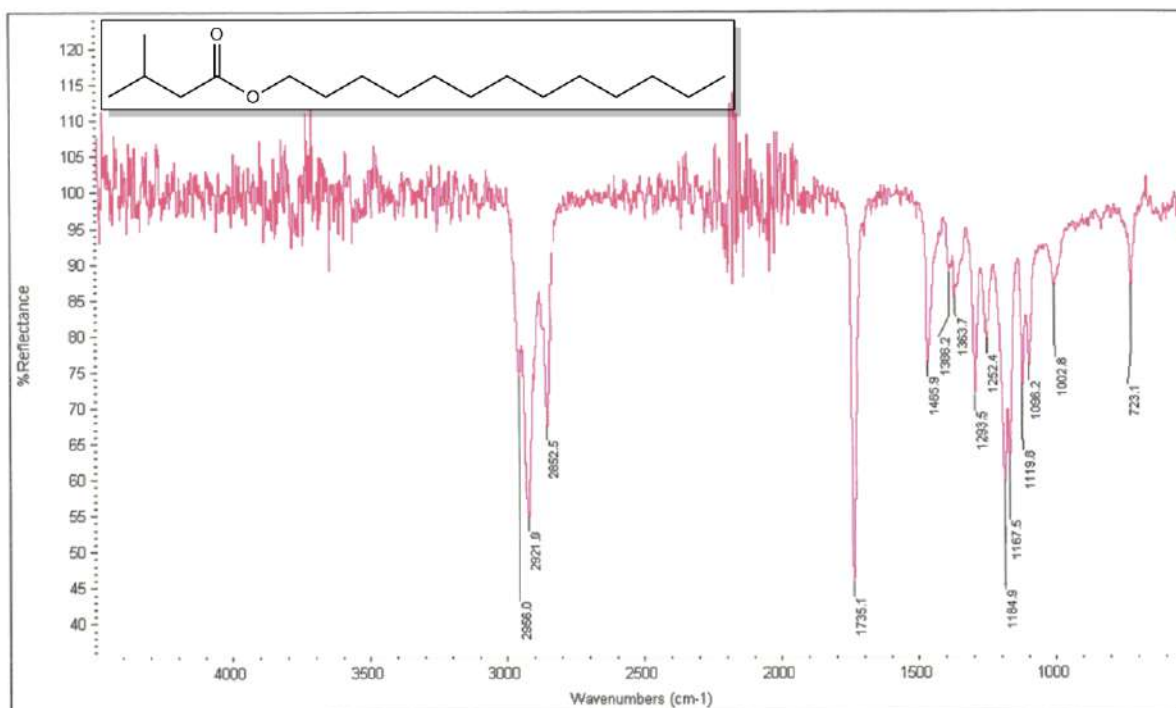
Prilog 8.2.9. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar tridecil-2-metilbutanoata [2b]



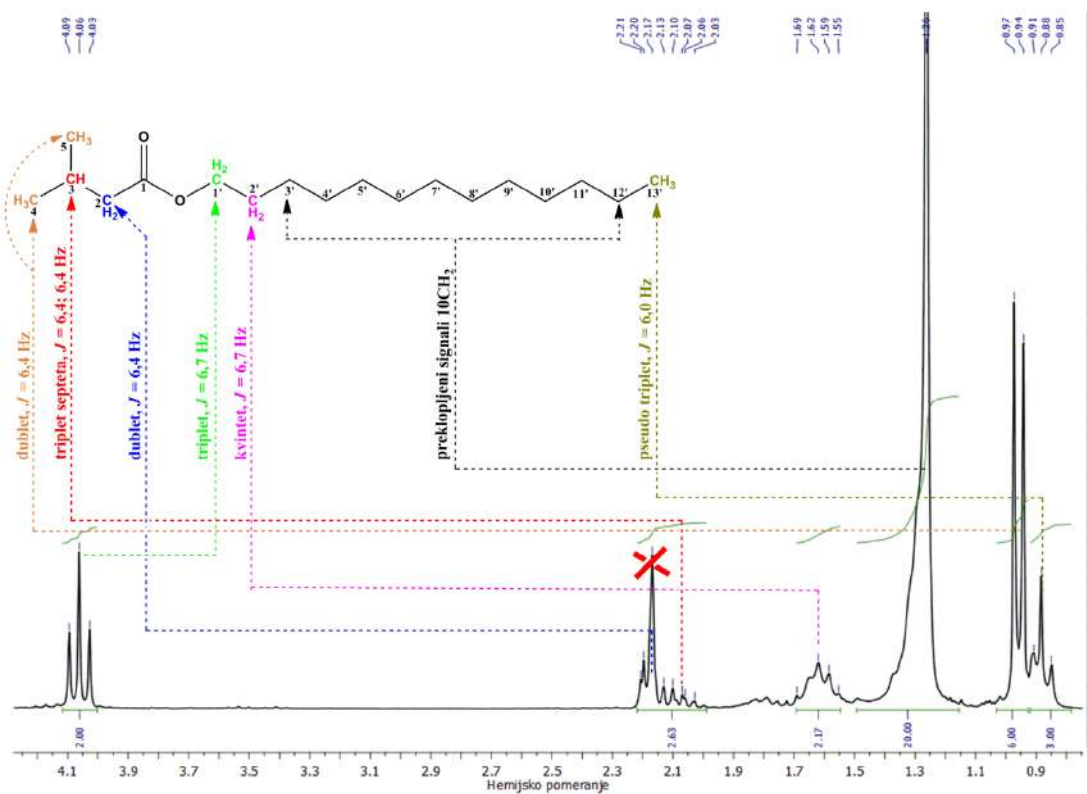
Prilog 8.2.10. Maseni spektar tridecil-3-metilbutanoata [2c]



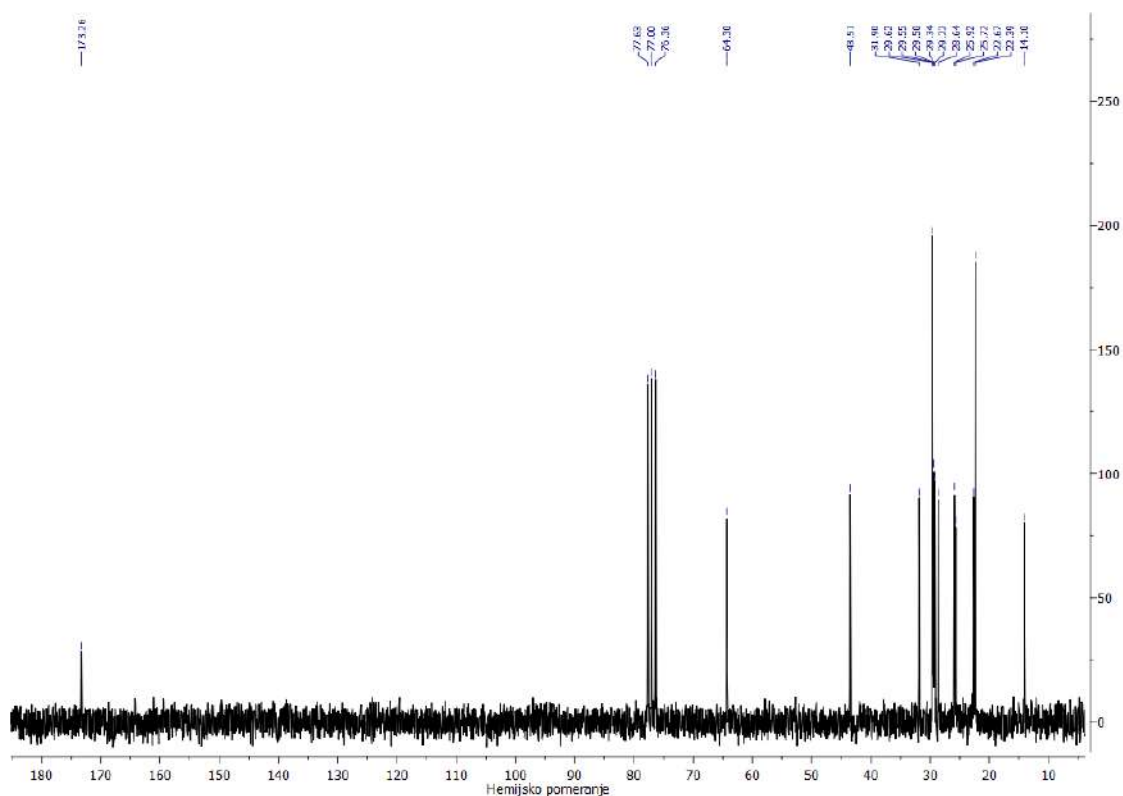
Prilog 8.2.11. IR spektar tridecil-3-metilbutanoata [2c]



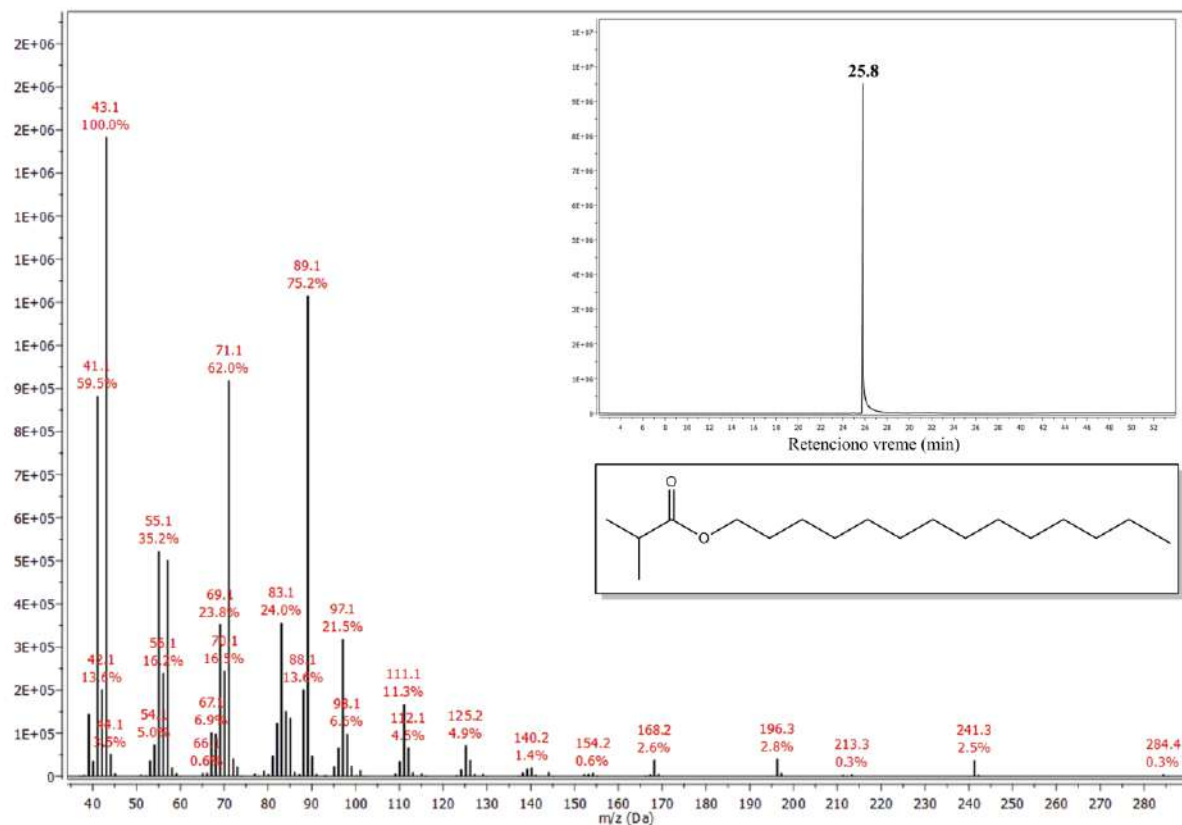
Prilog 8.2.12. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar tridecil-3-metilbutanoata [2c]



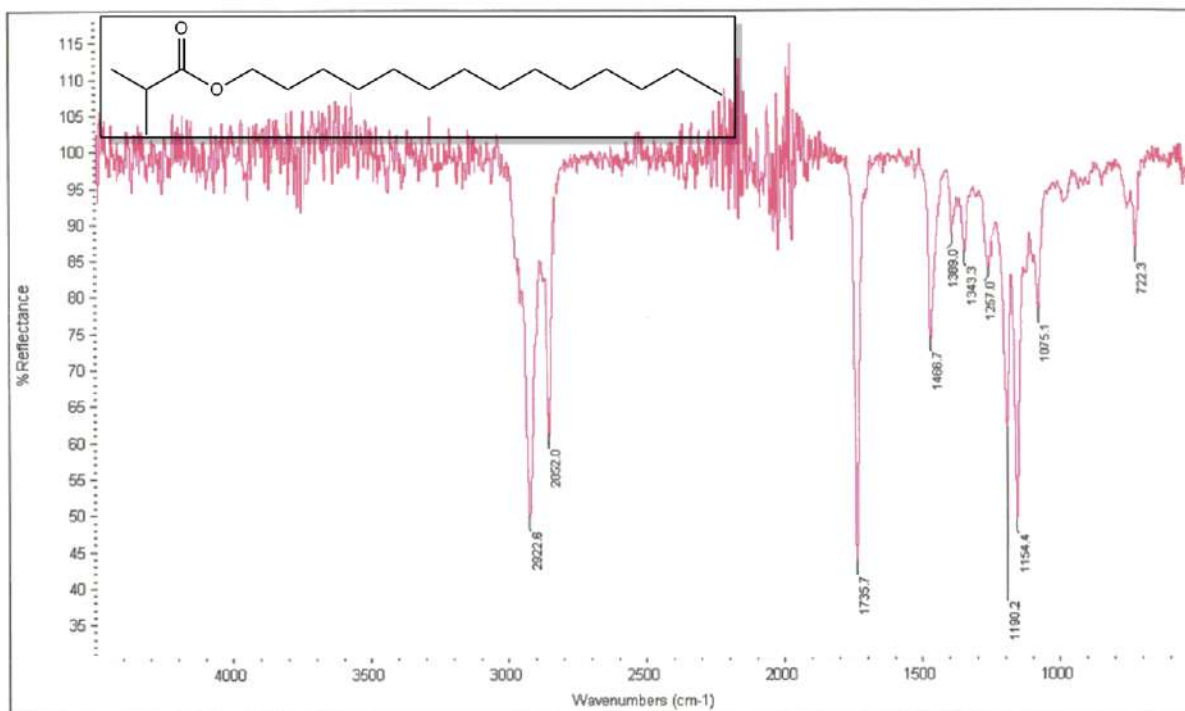
Prilog 8.2.13. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar tridecil-3-metilbutanoata [2c]



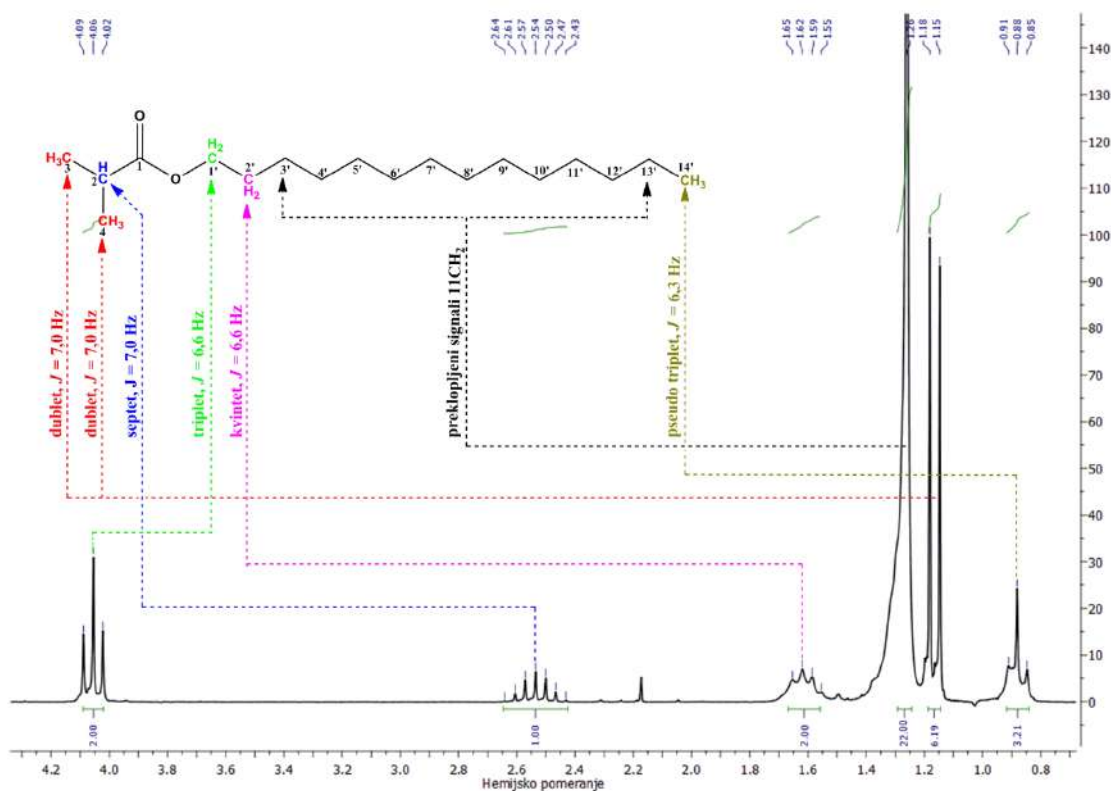
Prilog 8.2.14. Maseni spektar tetradecil-izobutanoata [2d]



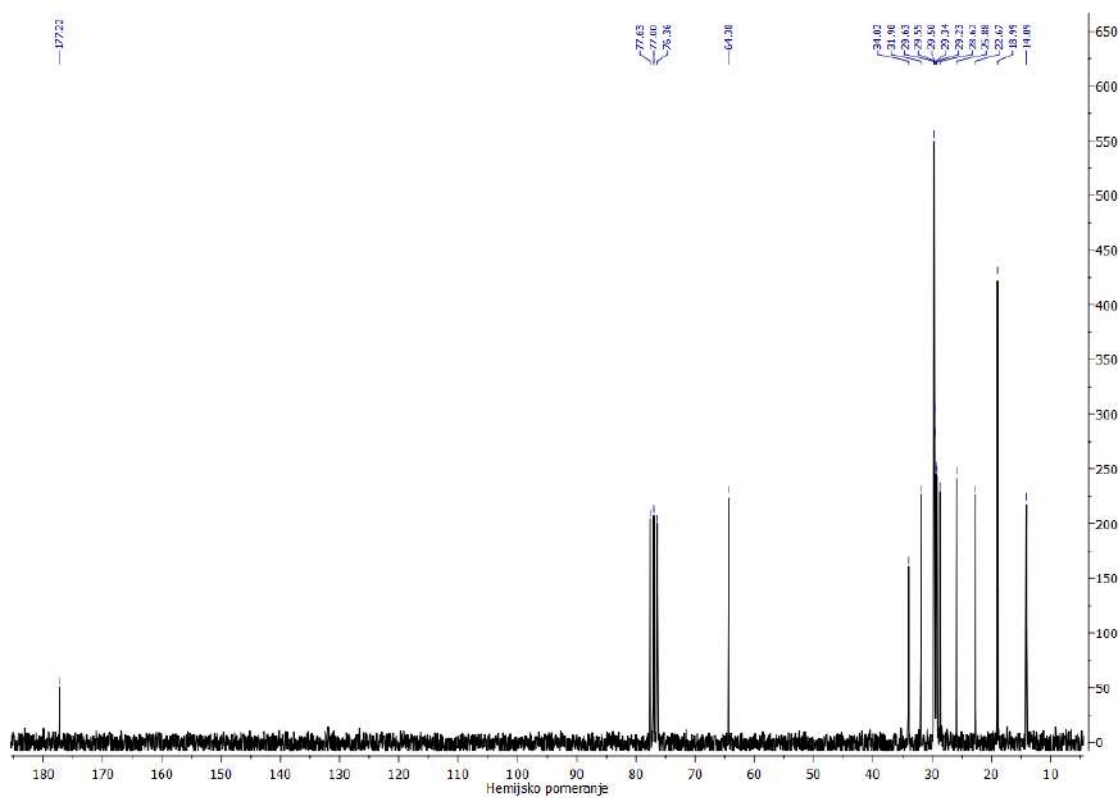
Prilog 8.2.15. IR spektar tetradecil-izobutanoata [2d]



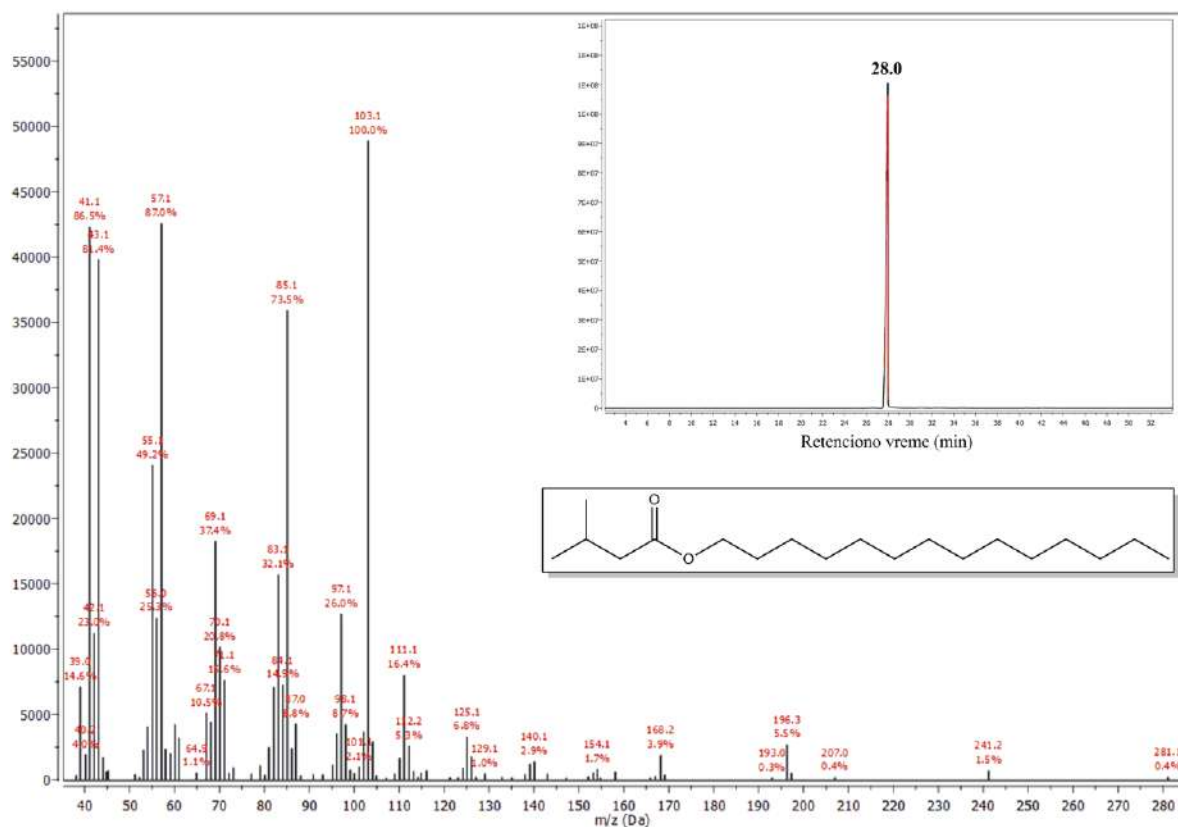
Prilog 8.2.16. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar tetradecil-izobutanoata [2d]



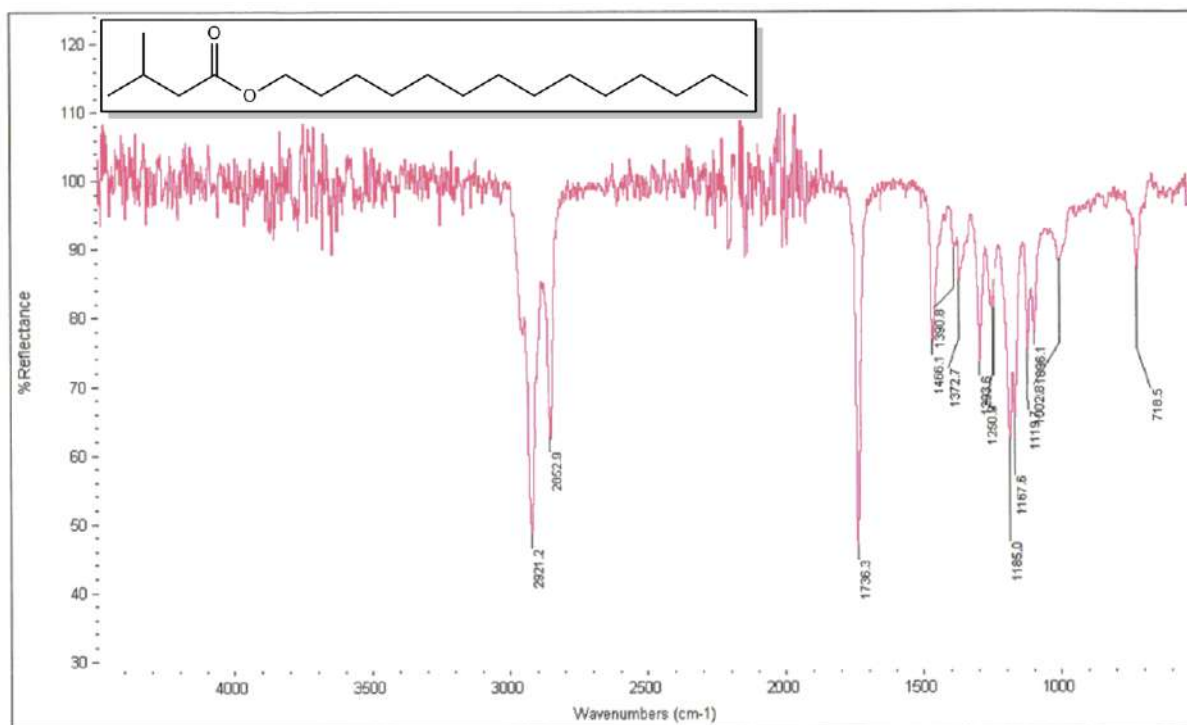
Prilog 8.2.17. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar tetradecil-izobutanoata [2d]



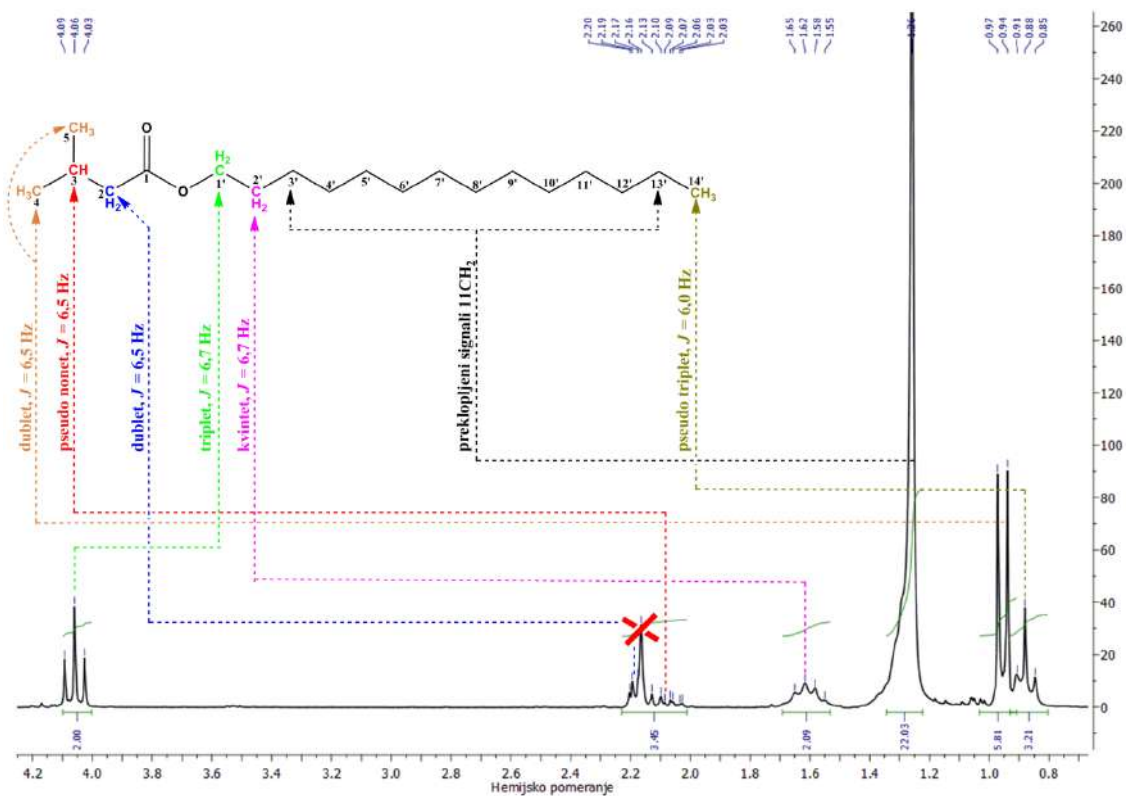
Prilog 8.2.18. Maseni spektar tetradecil-3-metilbutanoata [2e]



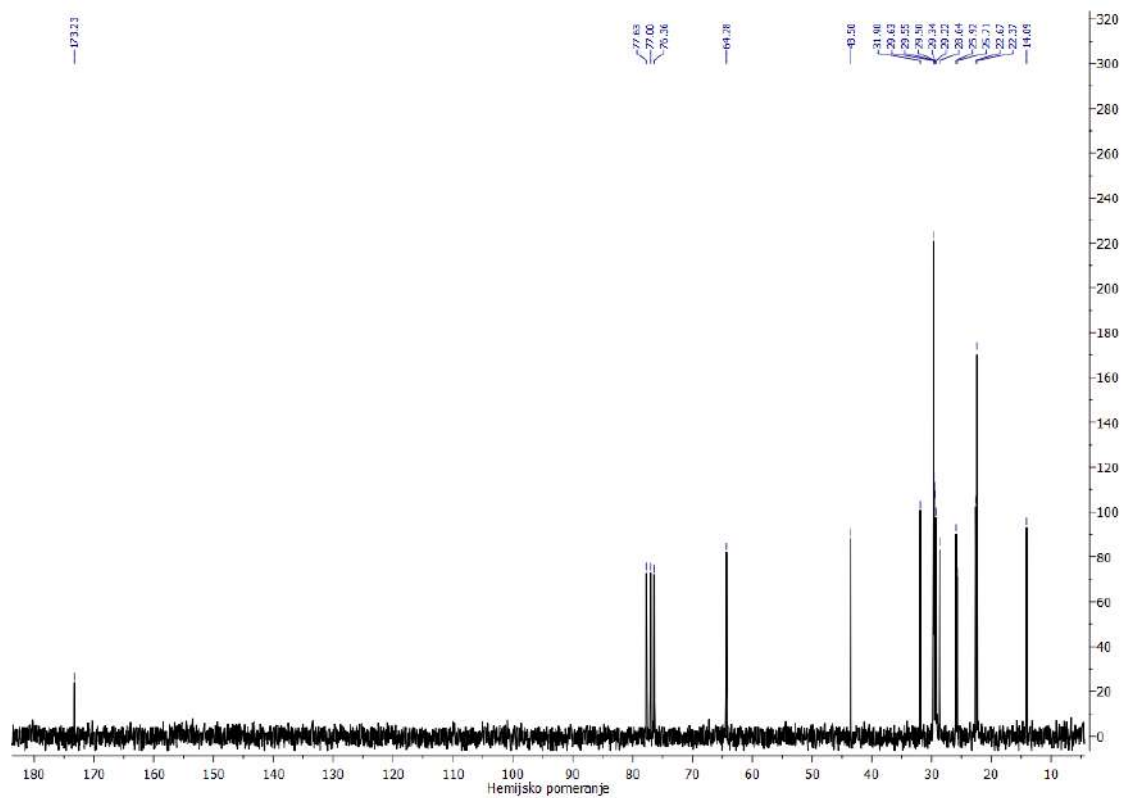
Prilog 8.2.19. IR spektar tetradecil-3-metilbutanoata [2e]



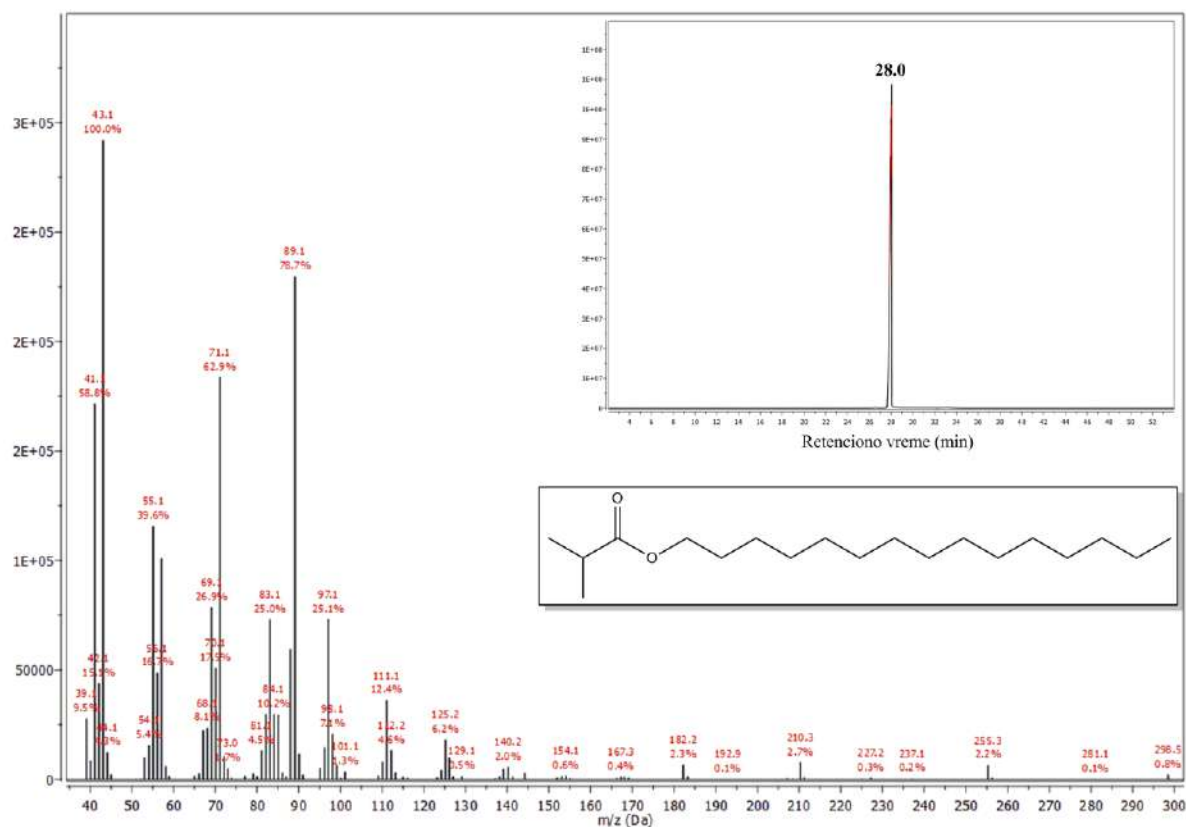
Prilog 8.2.20. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar tetradecil-3-metilbutanoata [2e]



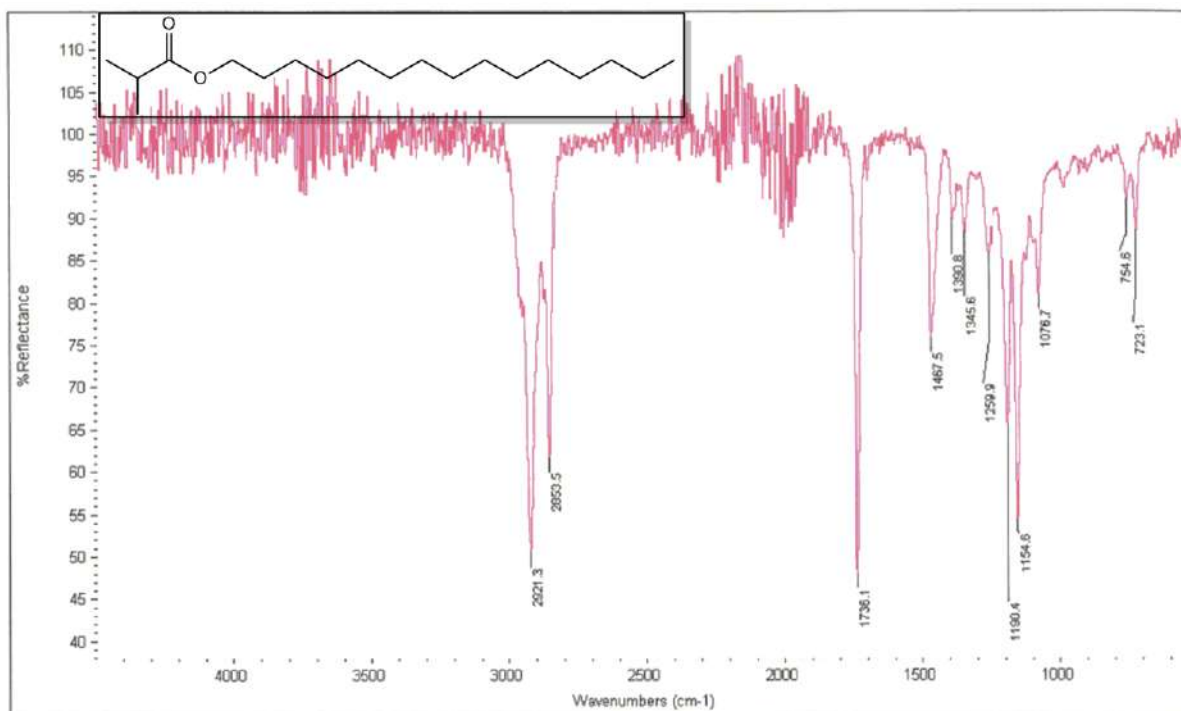
Prilog 8.2.21. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar tetradecil-3-metilbutanoata [2e]



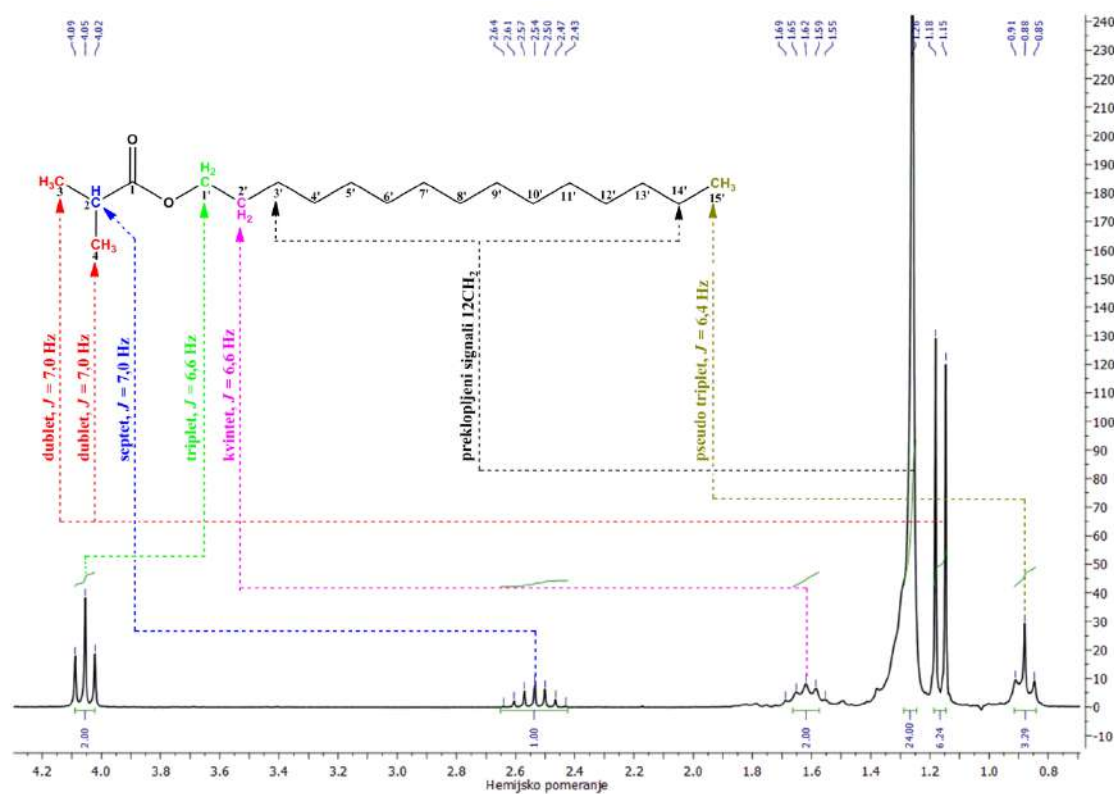
Prilog 8.2.22. Maseni spektar pentadecil-izobutanoata [2f]



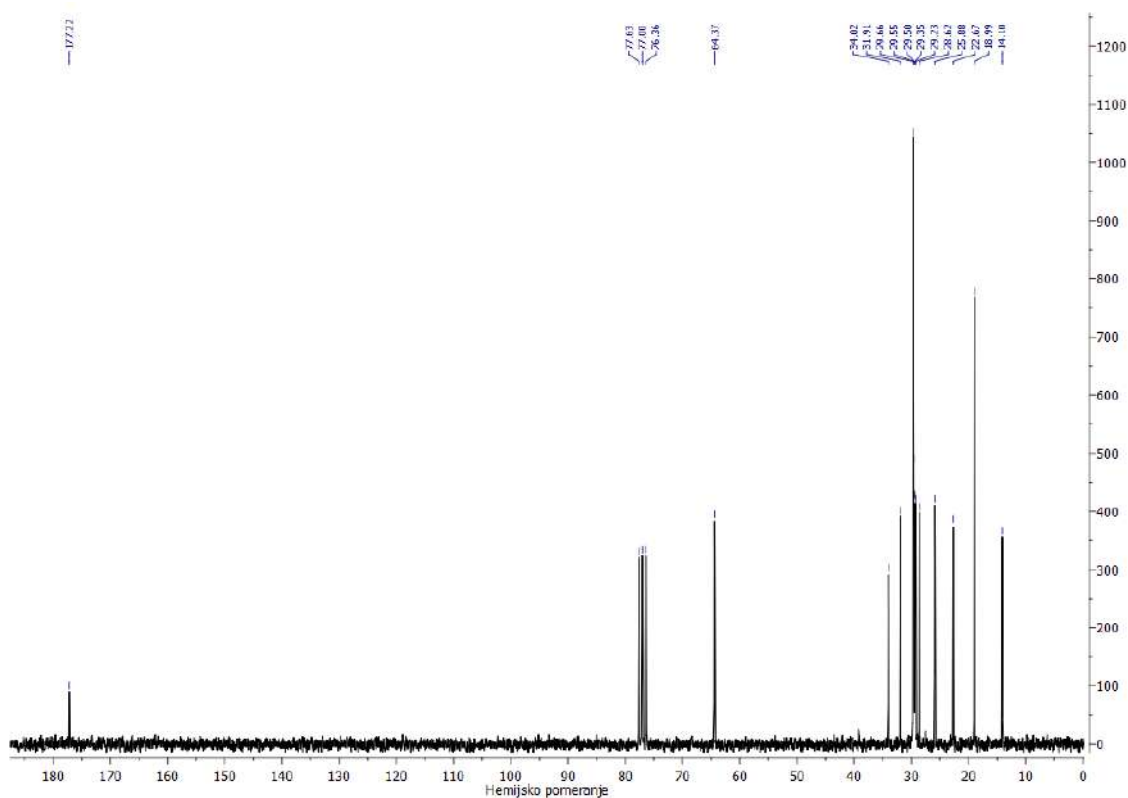
Prilog 8.2.23. IR spektar pentadecil-izobutanoata [2f]



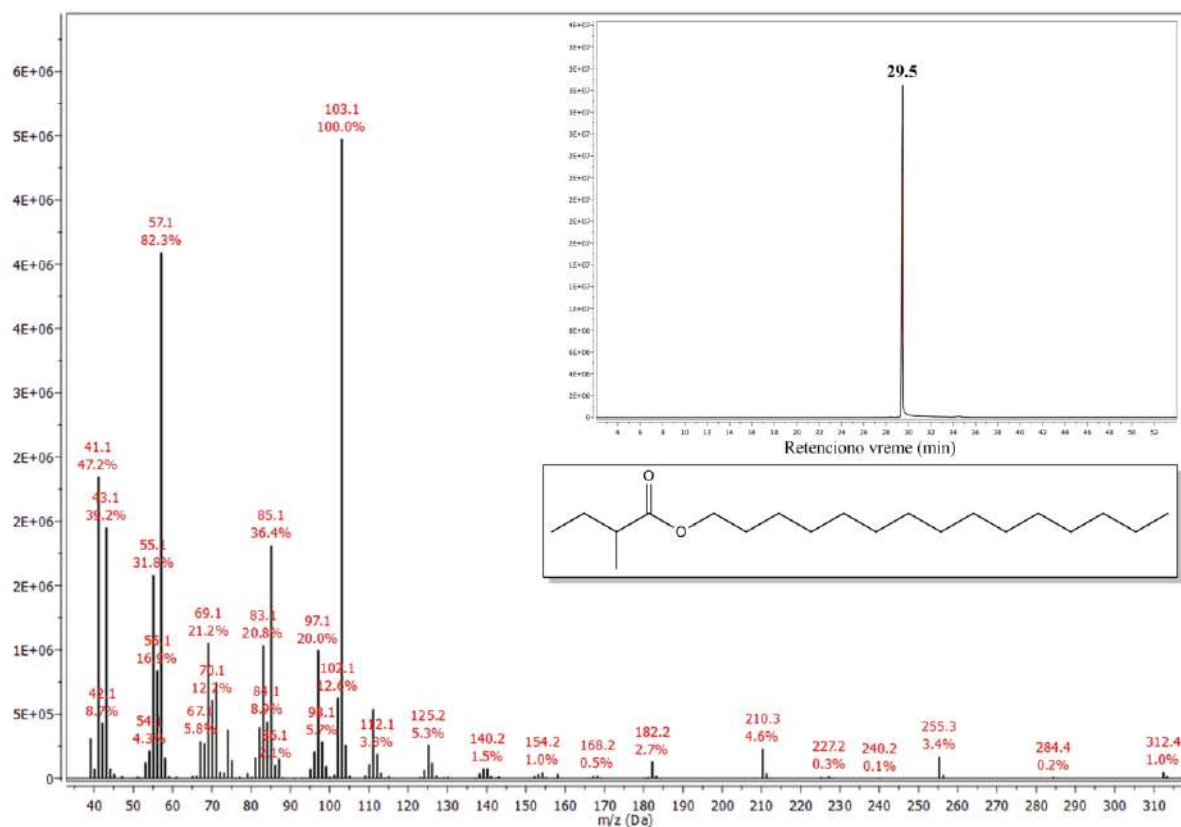
Prilog 8.2.24. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar pentadecil-izobutanoata [2f]



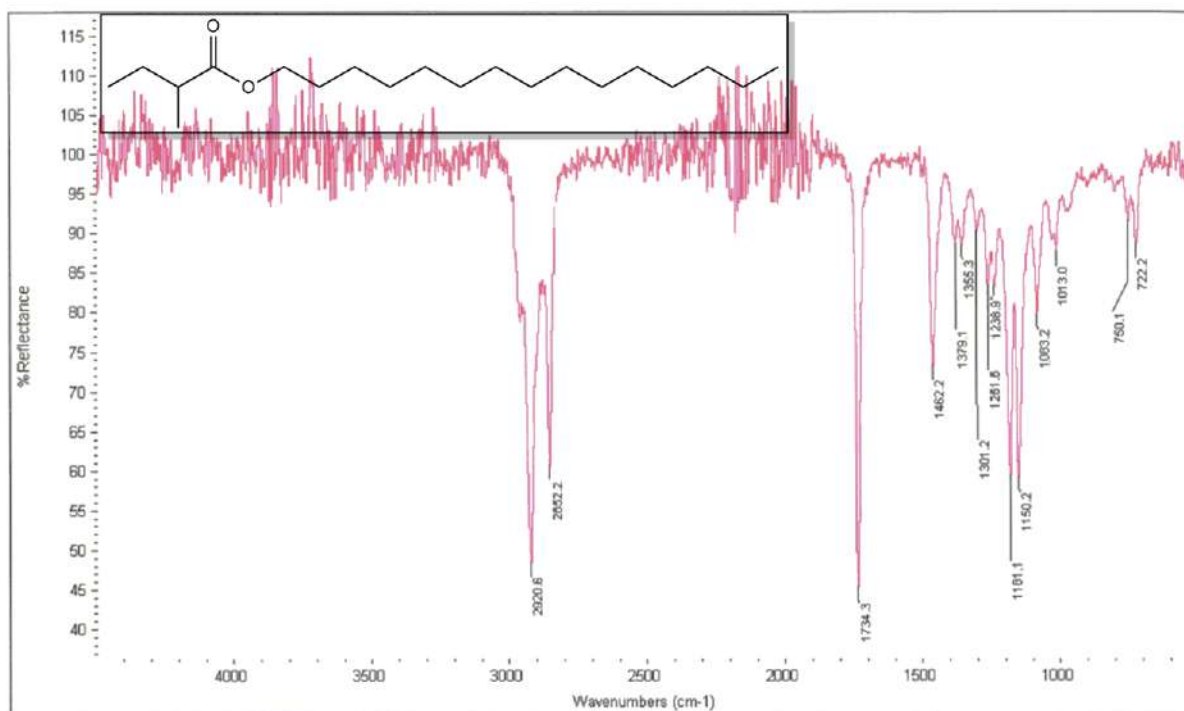
Prilog 8.2.25. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar pentadecil-izobutanoata [2f]



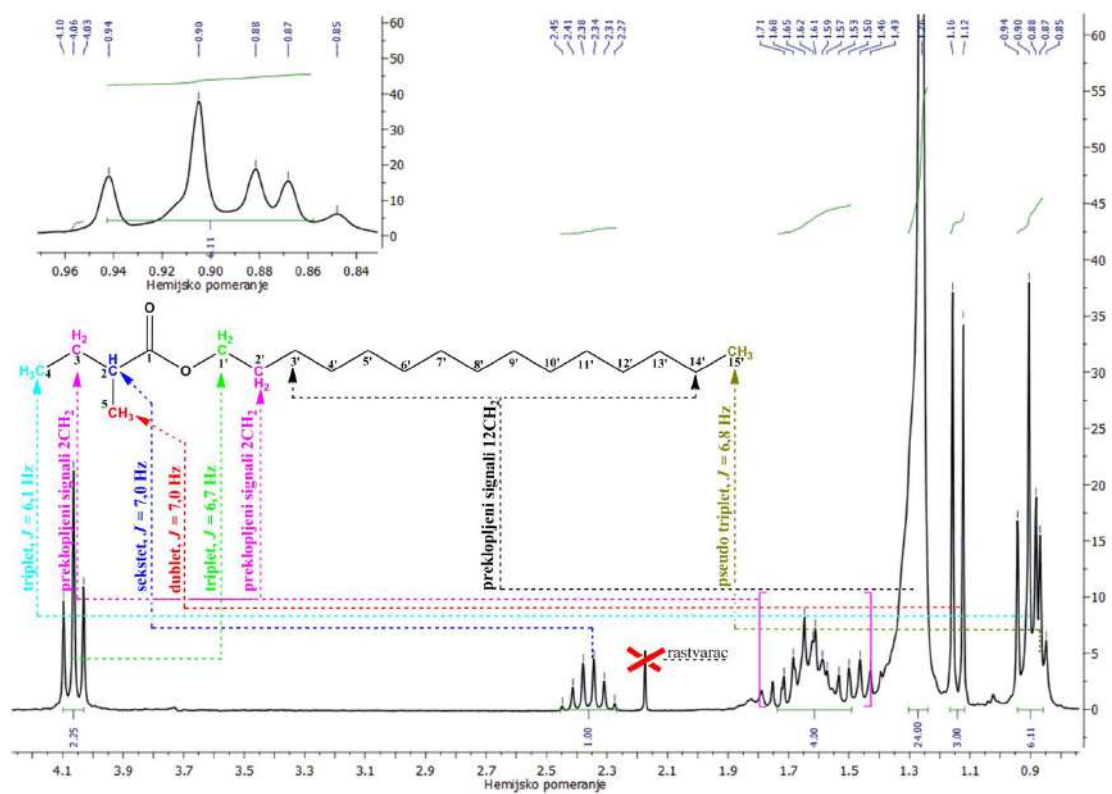
Prilog 8.2.26. Maseni spektar pentadecil-2-metilbutanoata [2g]



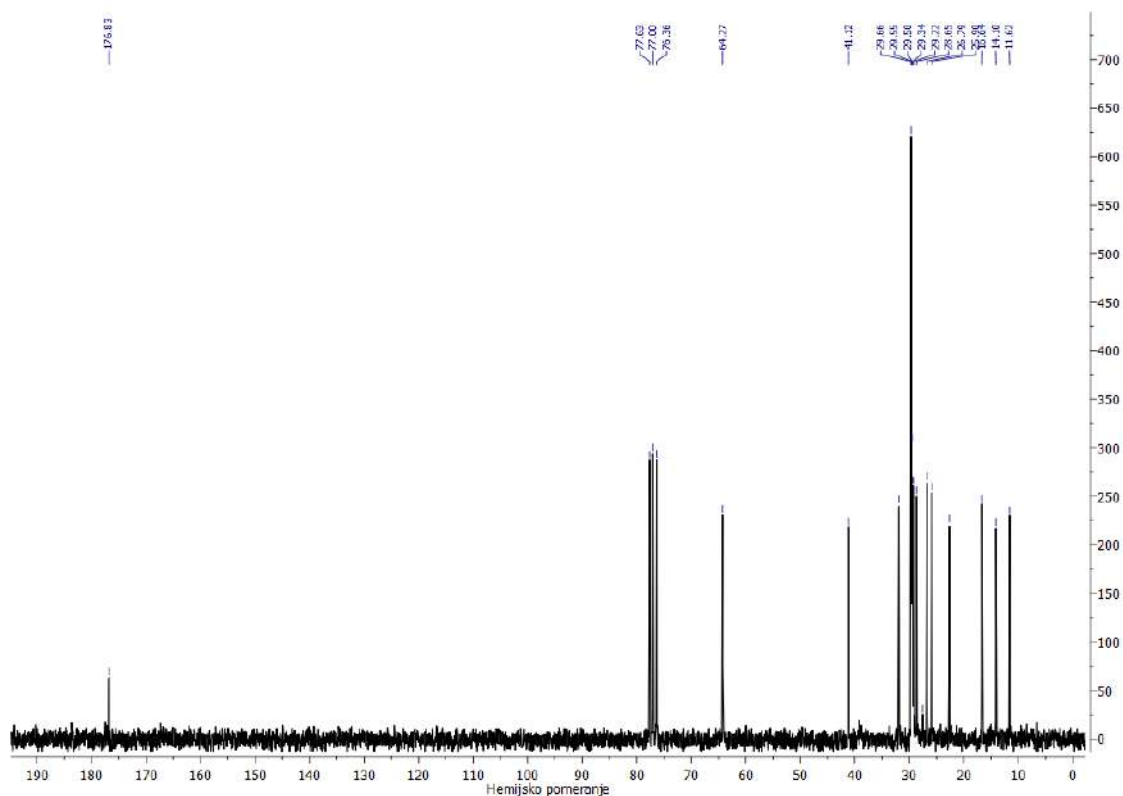
Prilog 8.2.27. IR spektar pentadecil-2-metilbutanoata [2g]



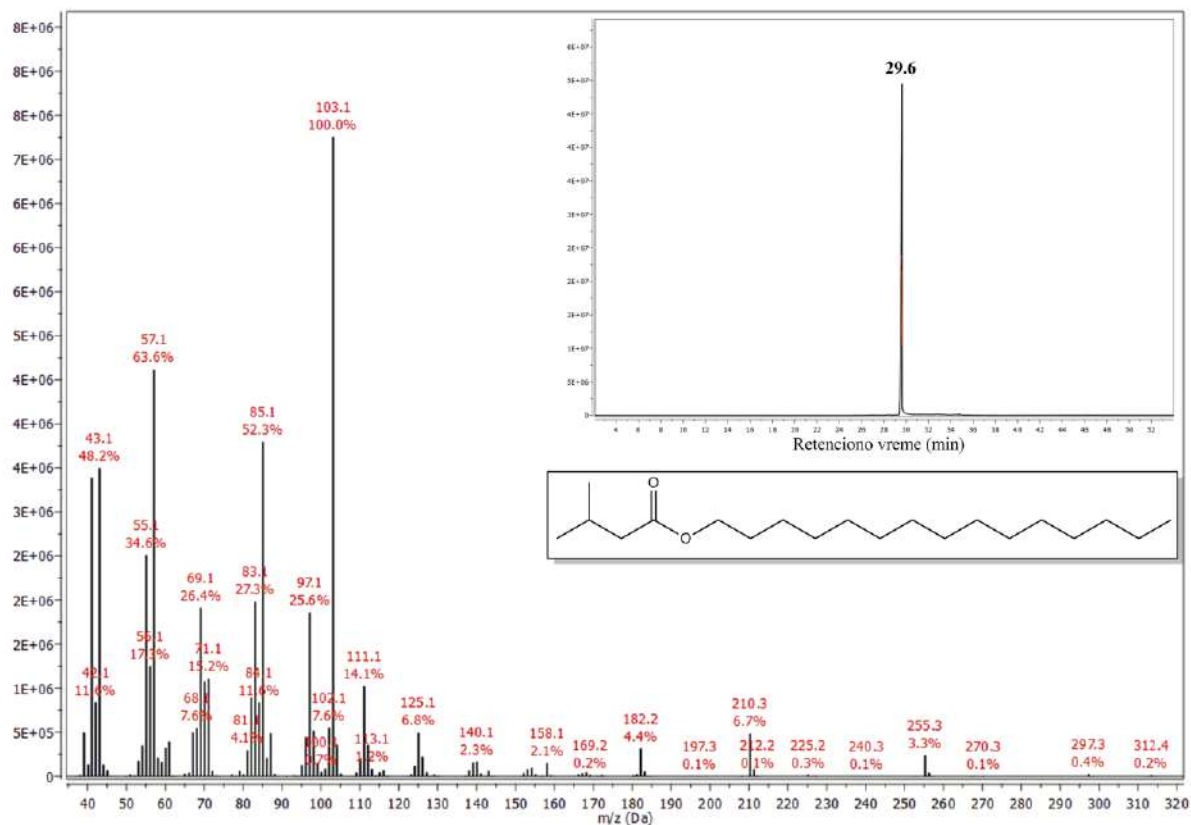
Prilog 8.2.28. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar pentadecil-2-metilbutanoata [2g]



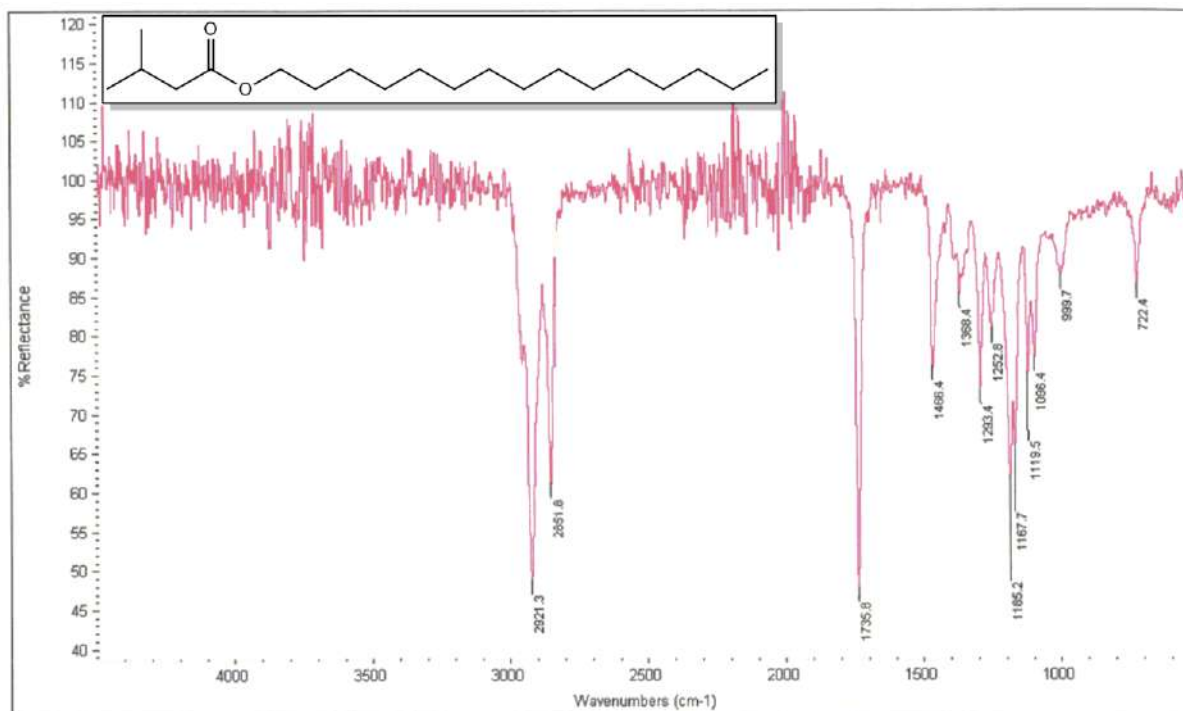
Prilog 8.2.29. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar pentadecil-2-metilbutanoata [2g]



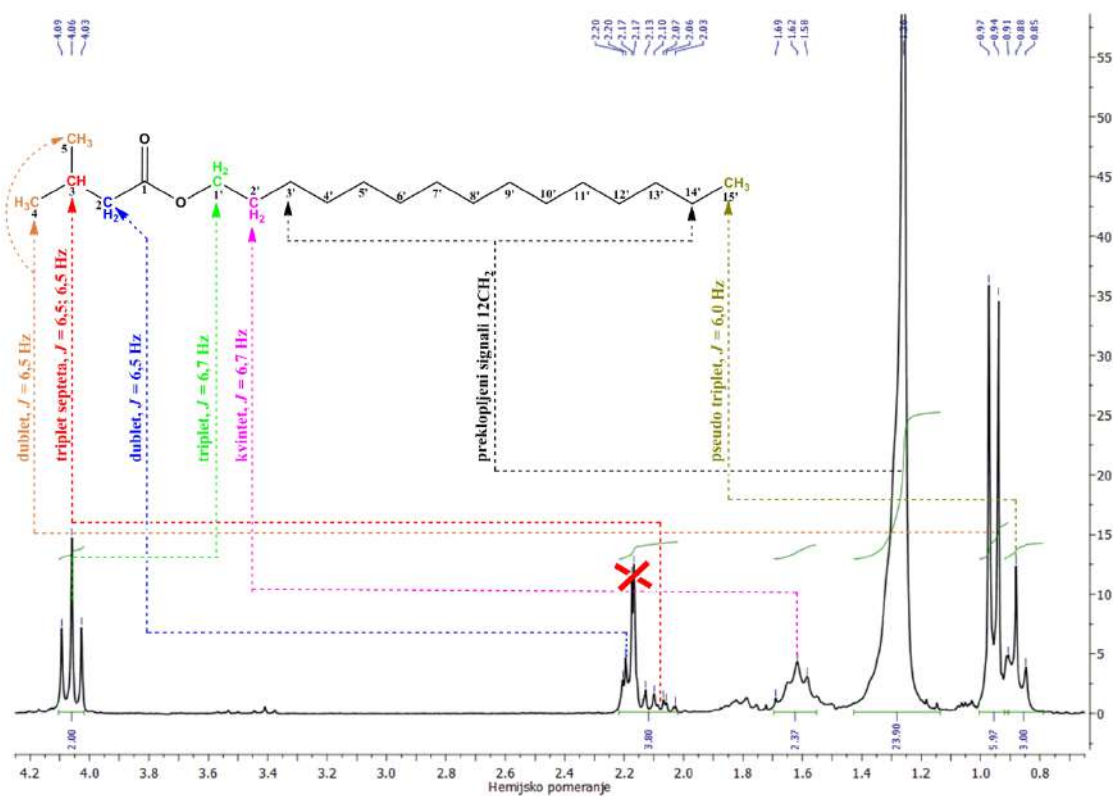
Prilog 8.2.30. Maseni spektar pentadecil-3-metilbutanoata [2h]



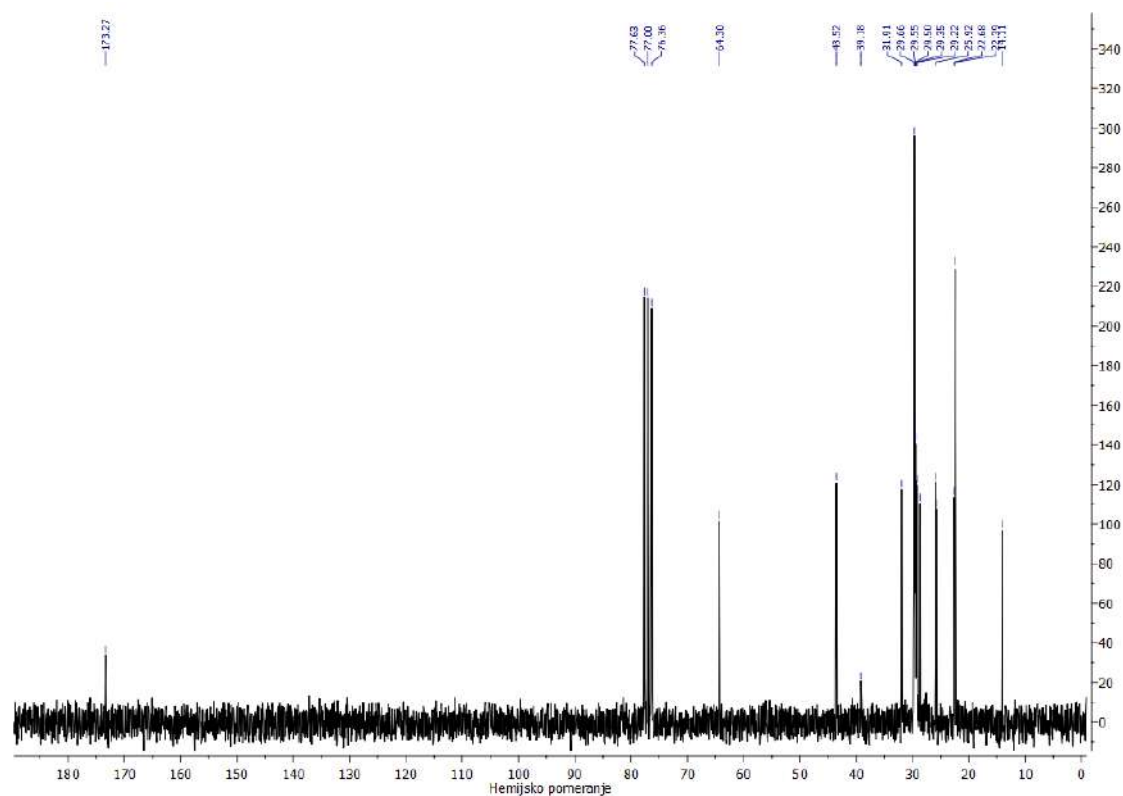
Prilog 8.2.31. IR spektar pentadecil-3-metilbutanoata [2h]



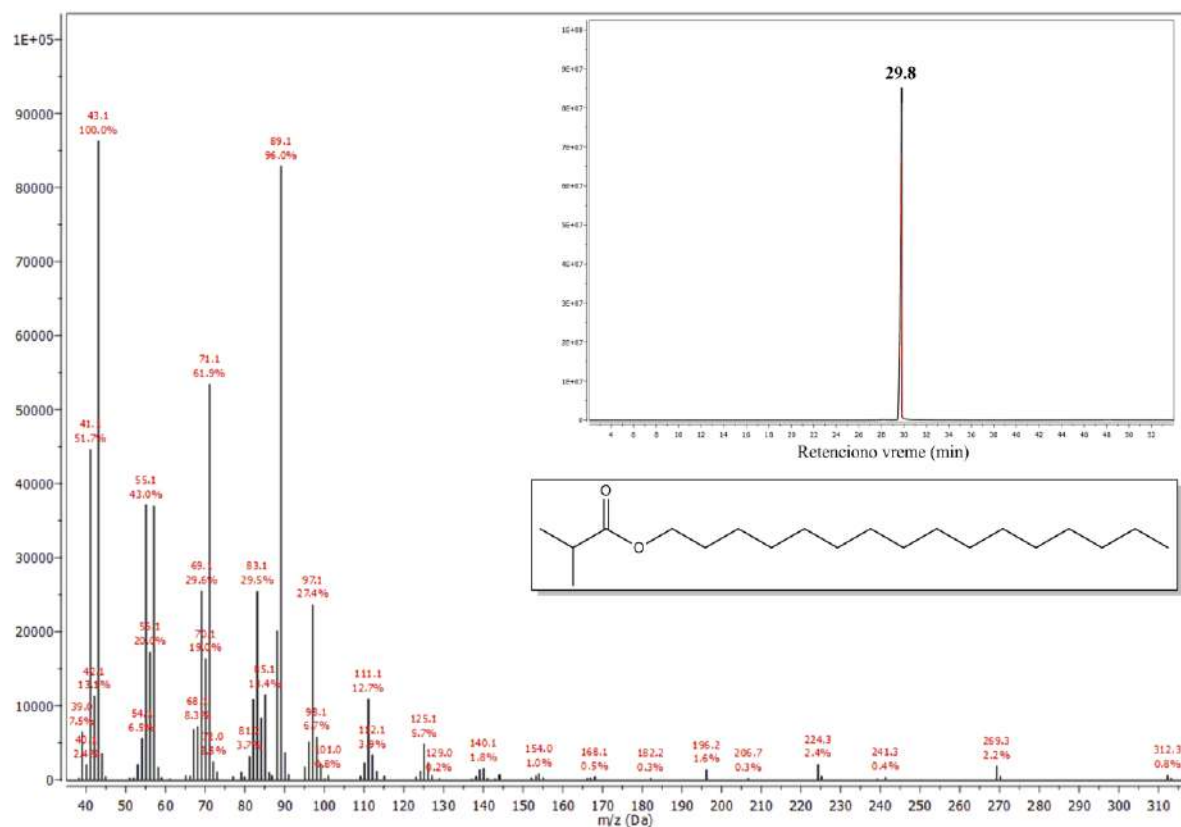
Prilog 8.2.32. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar pentadecil-3-metilbutanoata [2h]



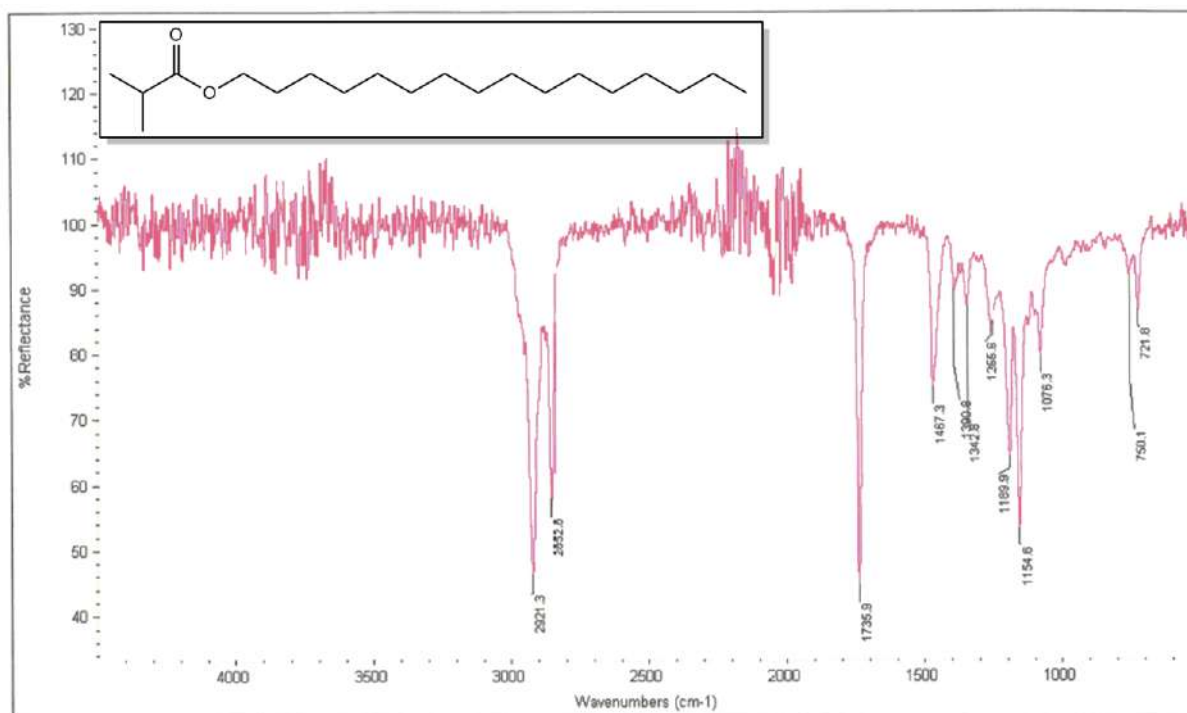
Prilog 8.2.33. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar pentadecil-3-metilbutanoata [2h]



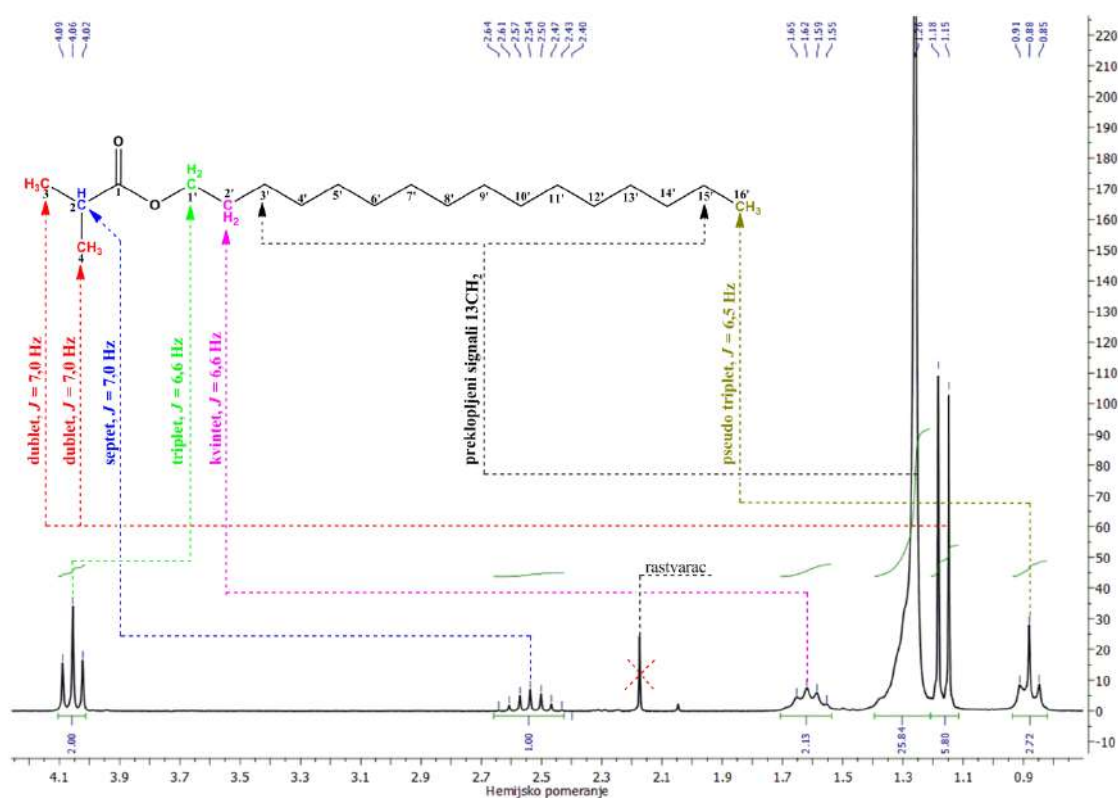
Prilog 8.2.34. Maseni spektar heksadecil-izobutanoata [2i]



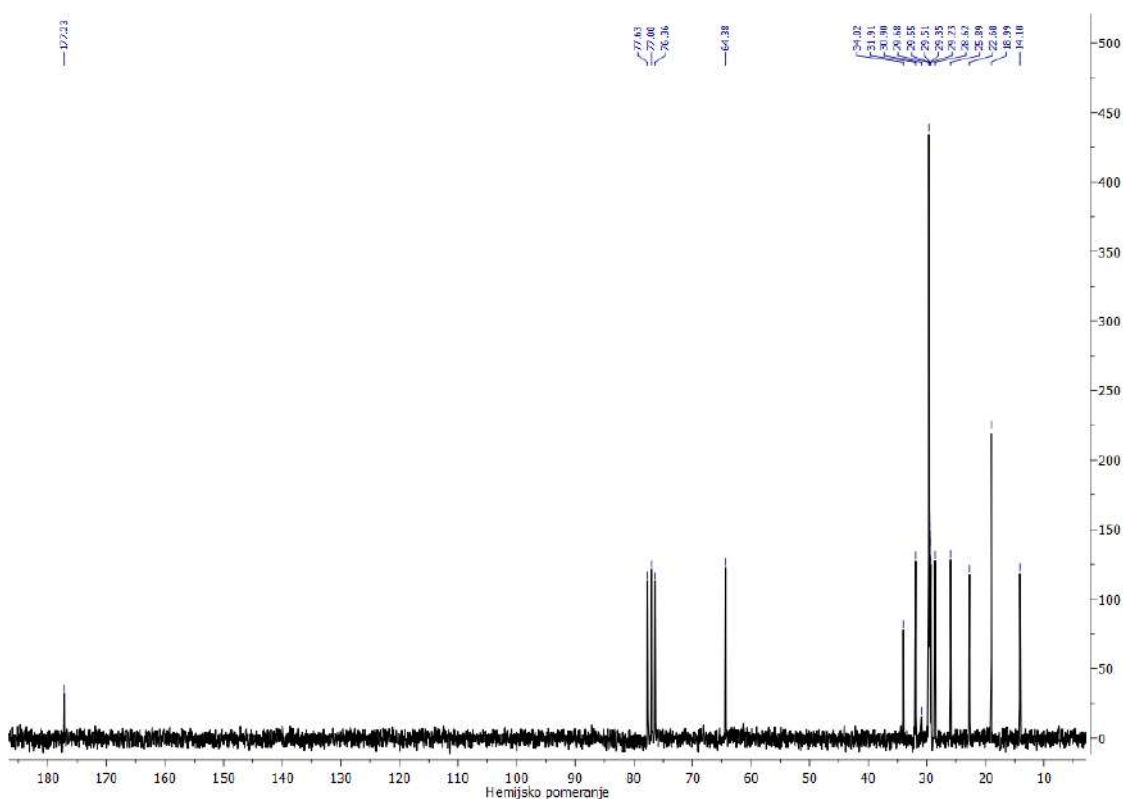
Prilog 8.2.35. IR spektar heksadecil-izobutanoata [2i]



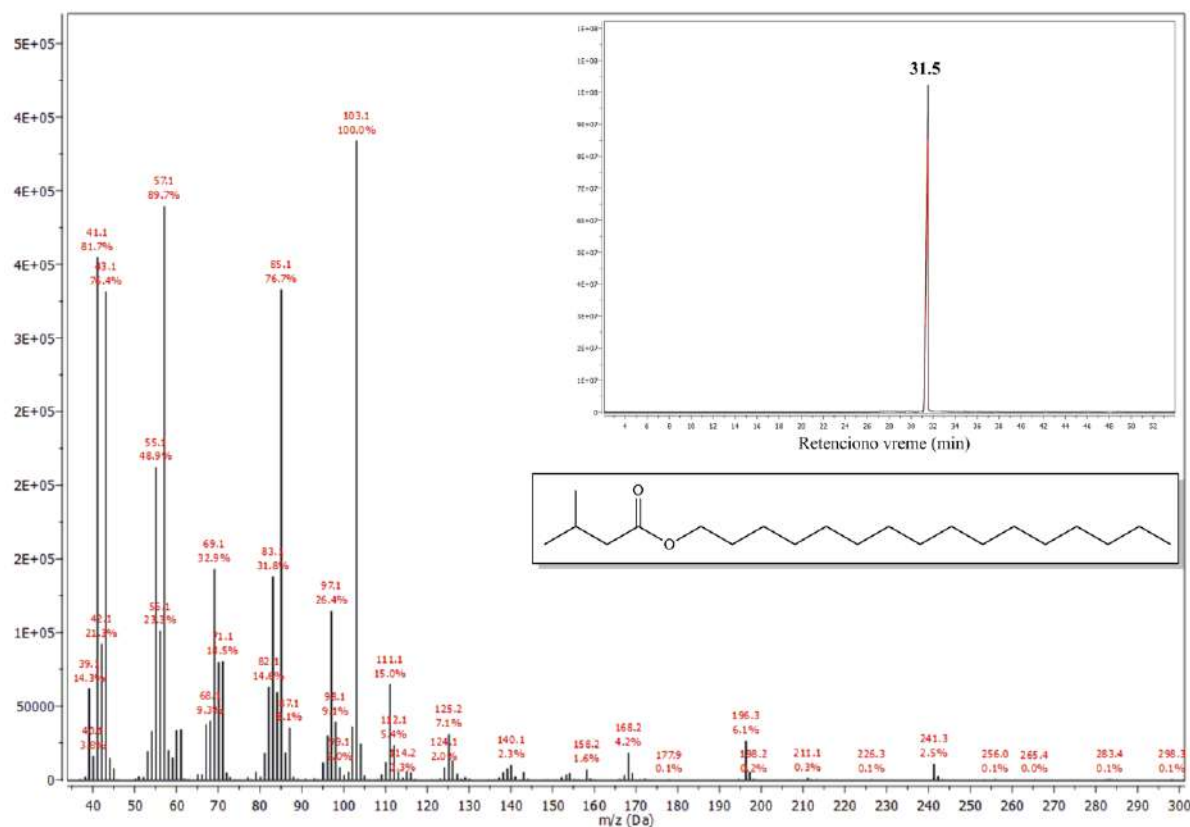
Prilog 8.2.36. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar heksadecil-izobutanoata [2i]



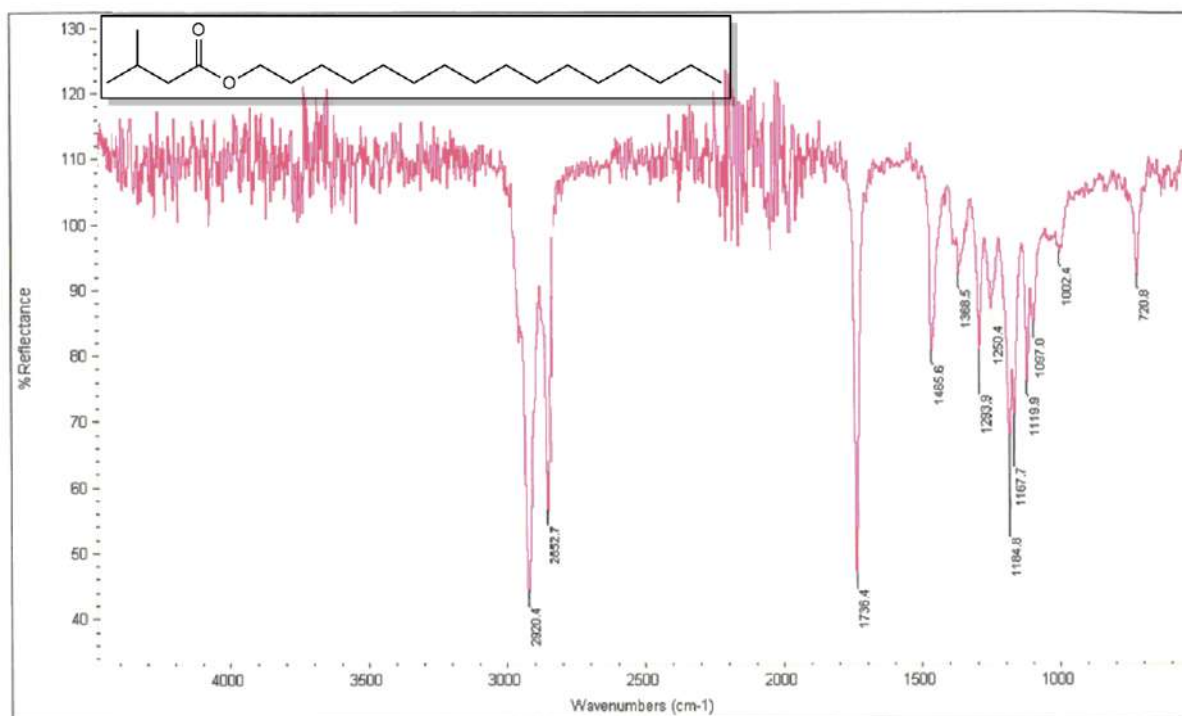
Prilog 8.2.37. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar heksadecil-izobutanoata [2i]



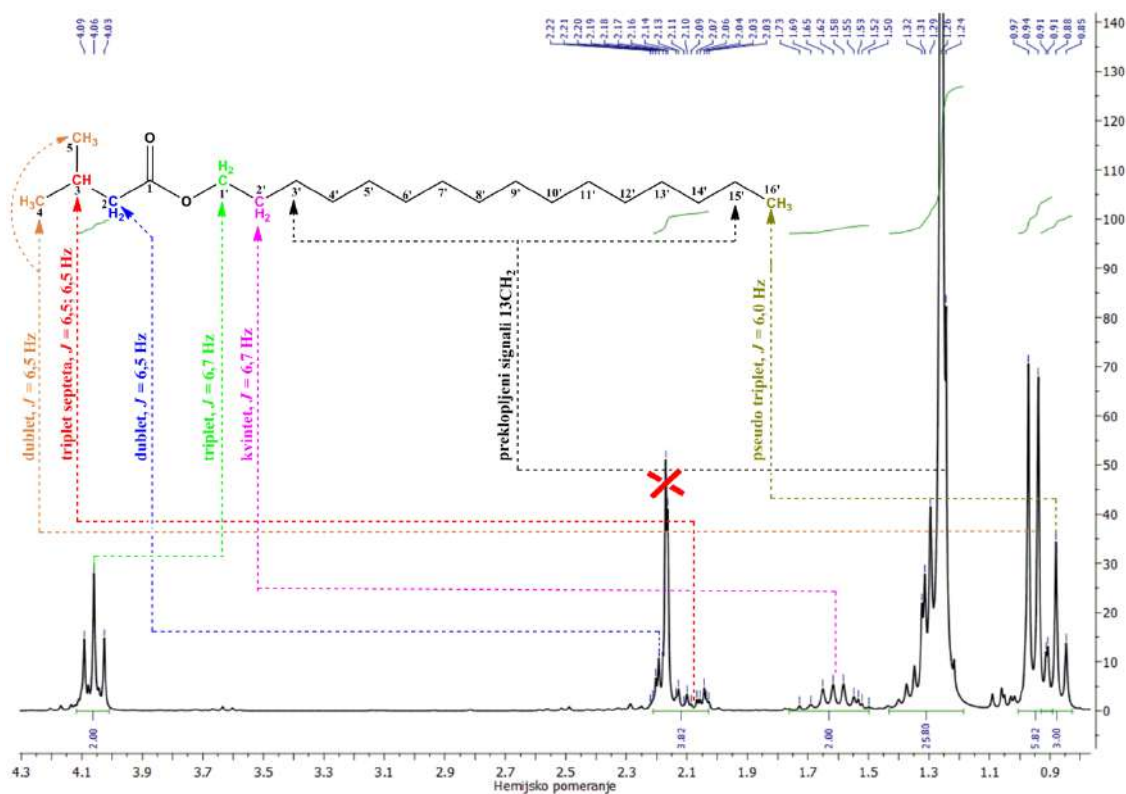
Prilog 8.2.38. Maseni spektar heksadecil-3-metilbutanoata [2j]



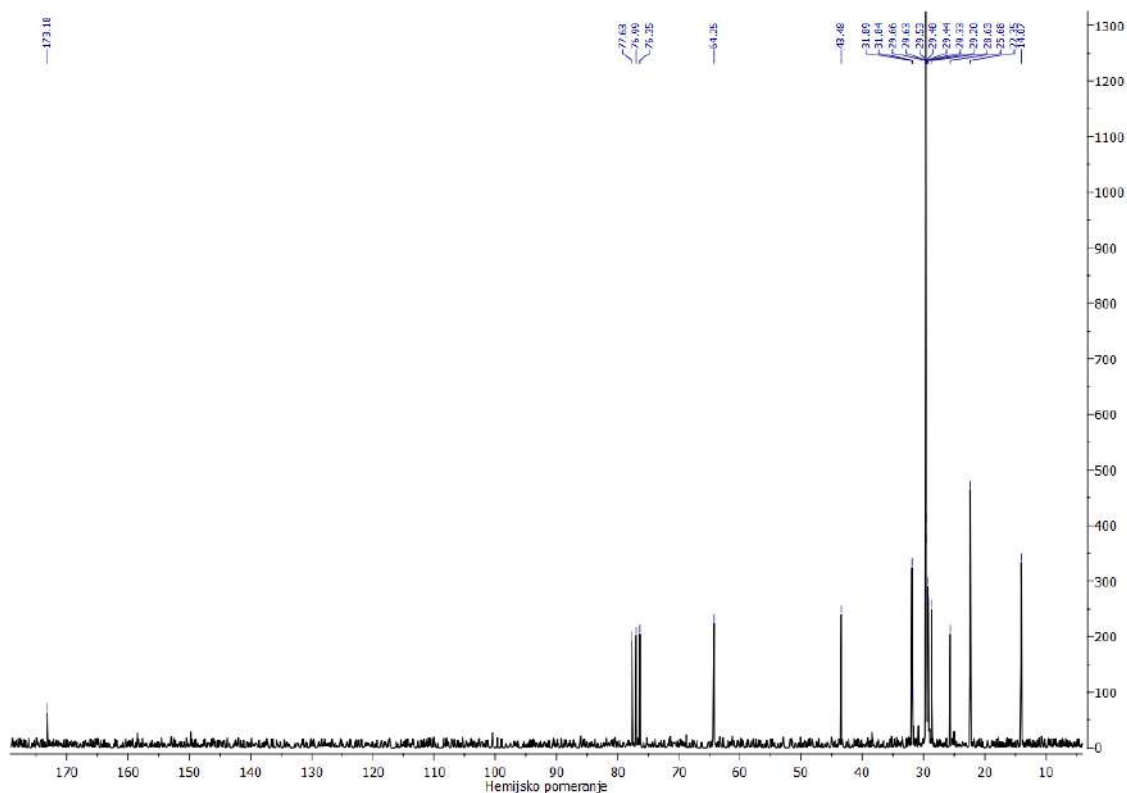
Prilog 8.2.39. IR spektar heksadecil-3-metilbutanoata [2j]



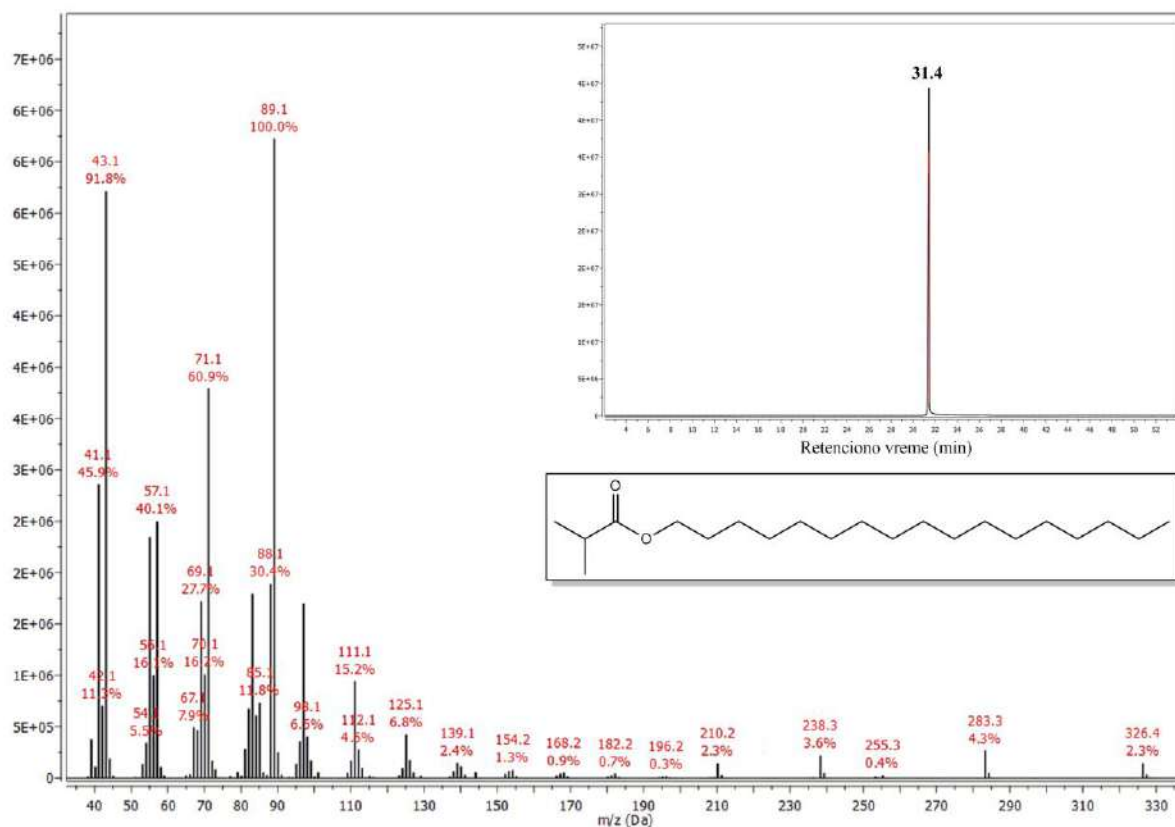
Prilog 8.2.40. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar heksadecil-3-metilbutanoata [2j]



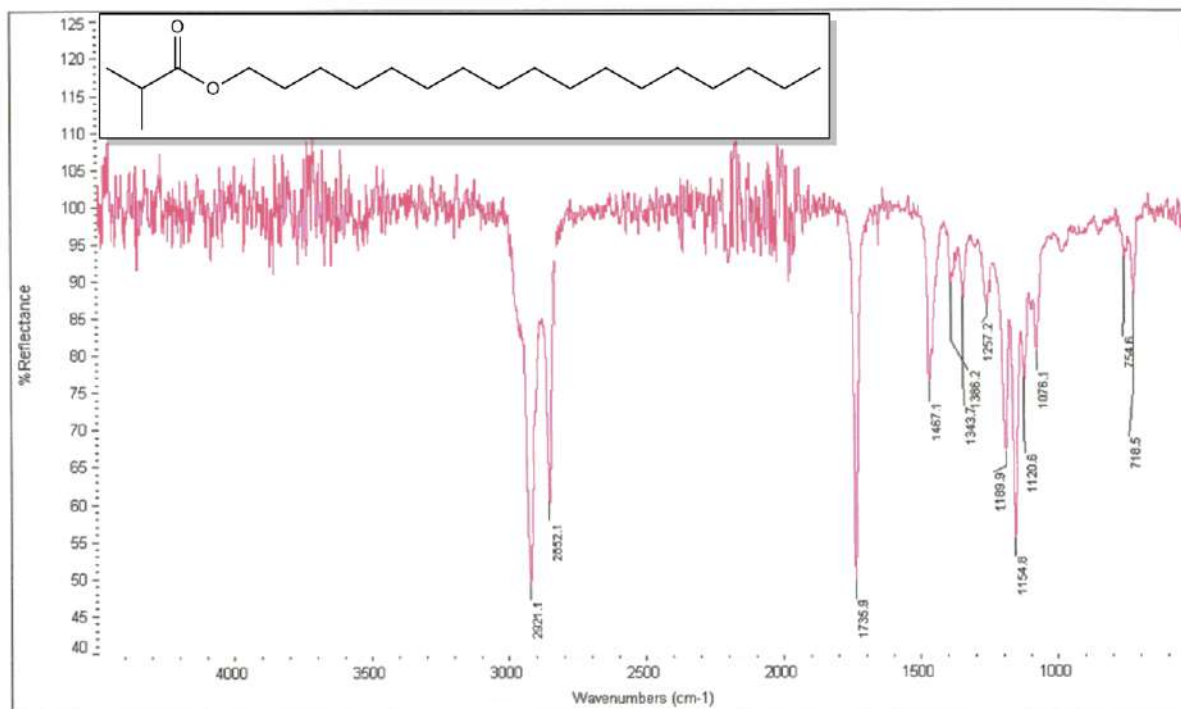
Prilog 8.2.41. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar heksadecil-3-metilbutanoata [2j]



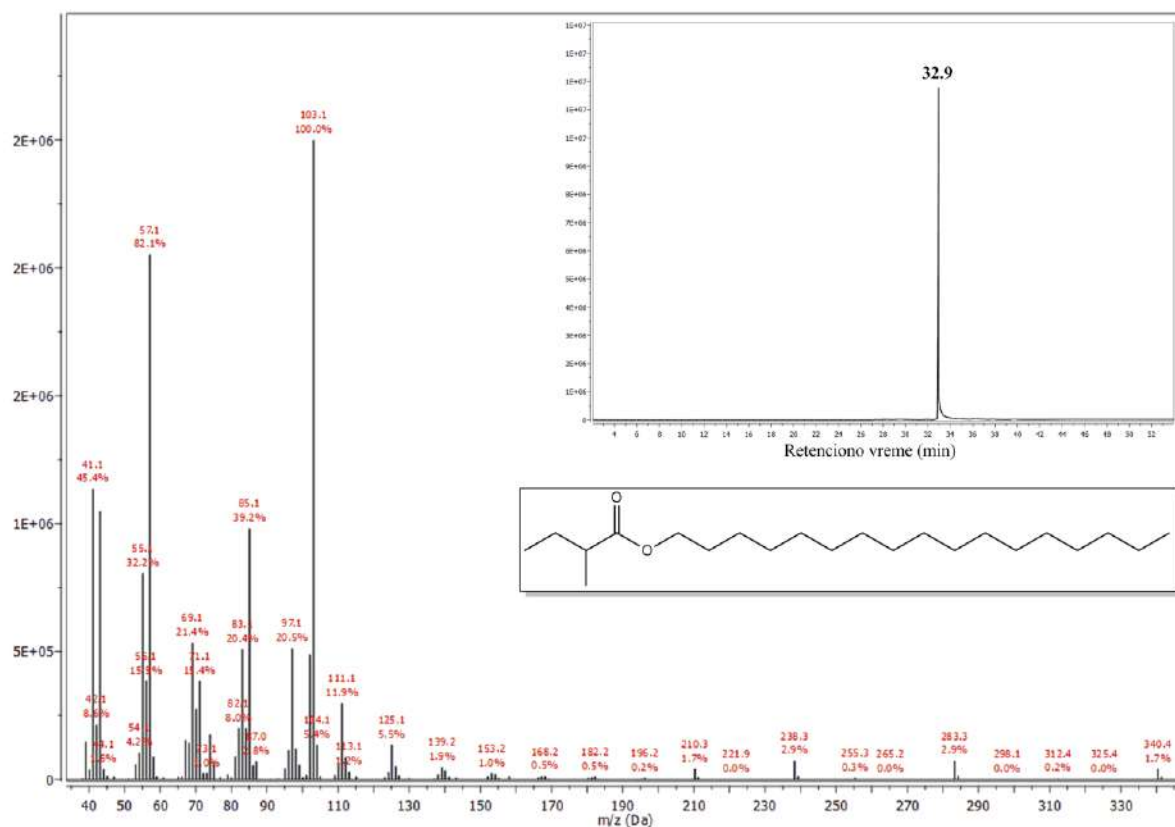
Prilog 8.2.42. Maseni spektar heptadecil-izobutanoata [2k]



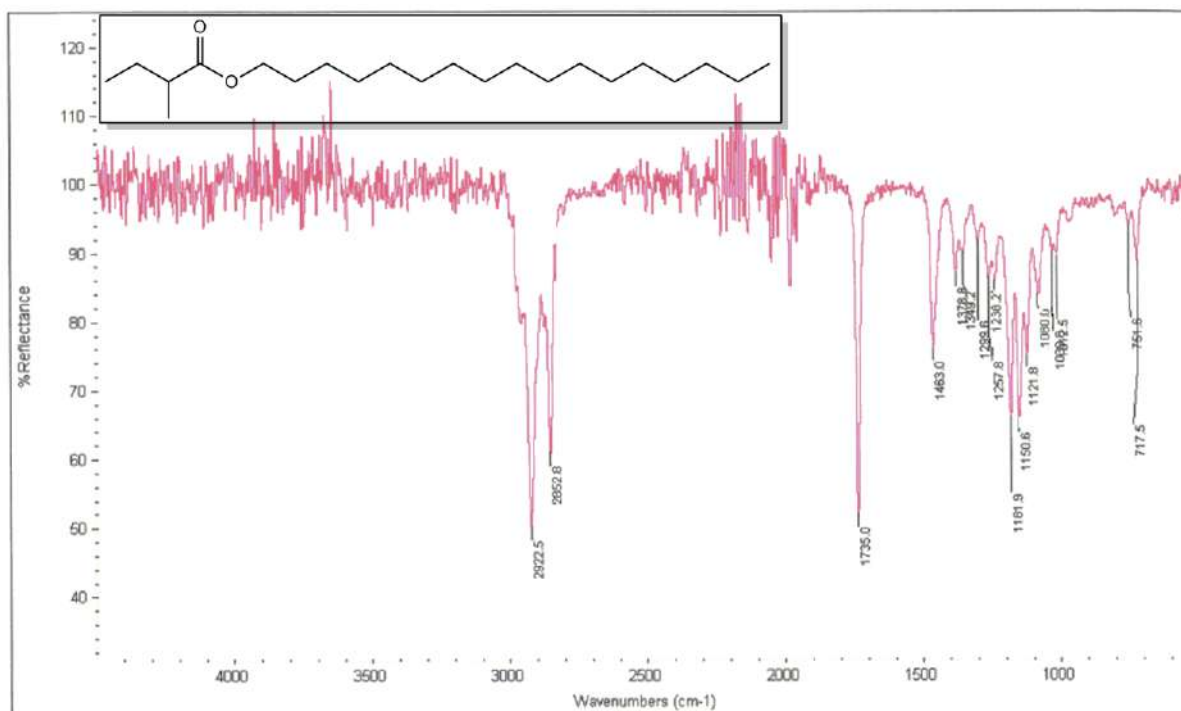
Prilog 8.2.43. IR spektar heptadecil-izobutanoata [2k]



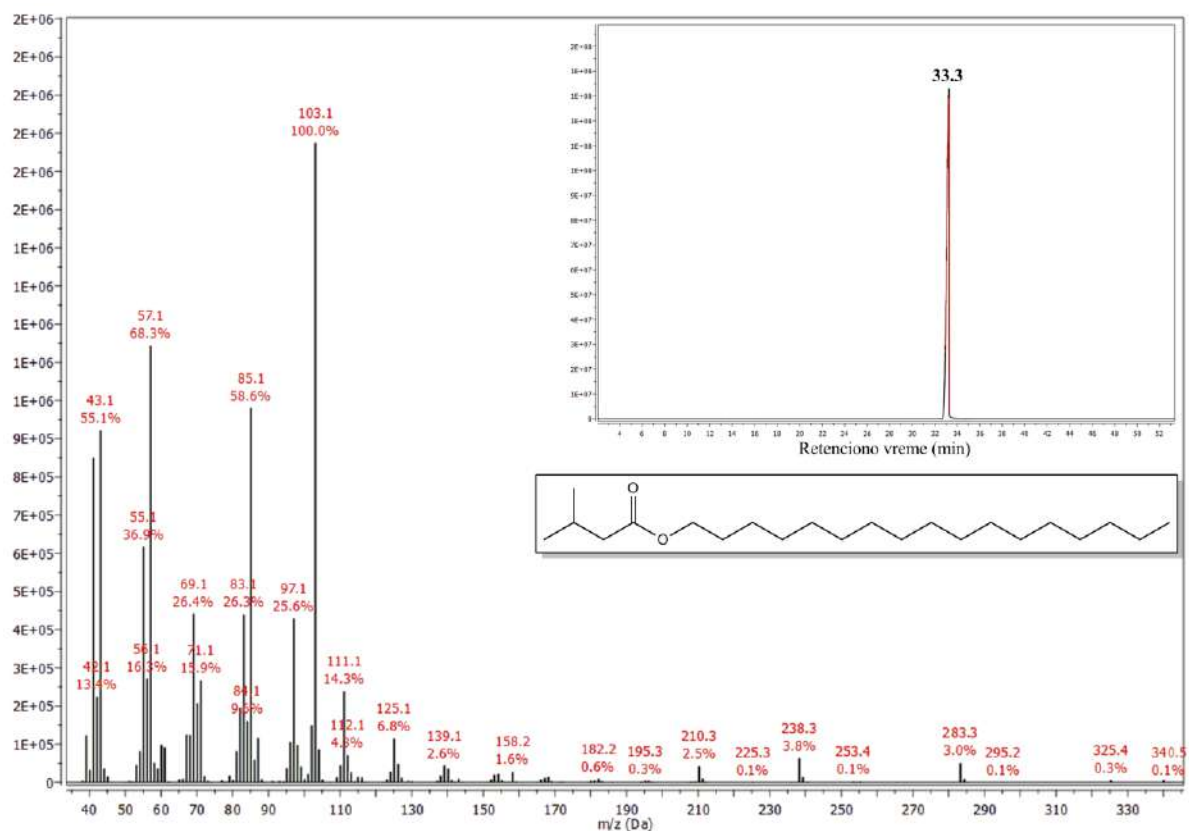
Prilog 8.2.46. Maseni spektar heptadecil-2-metilbutanoata [21]



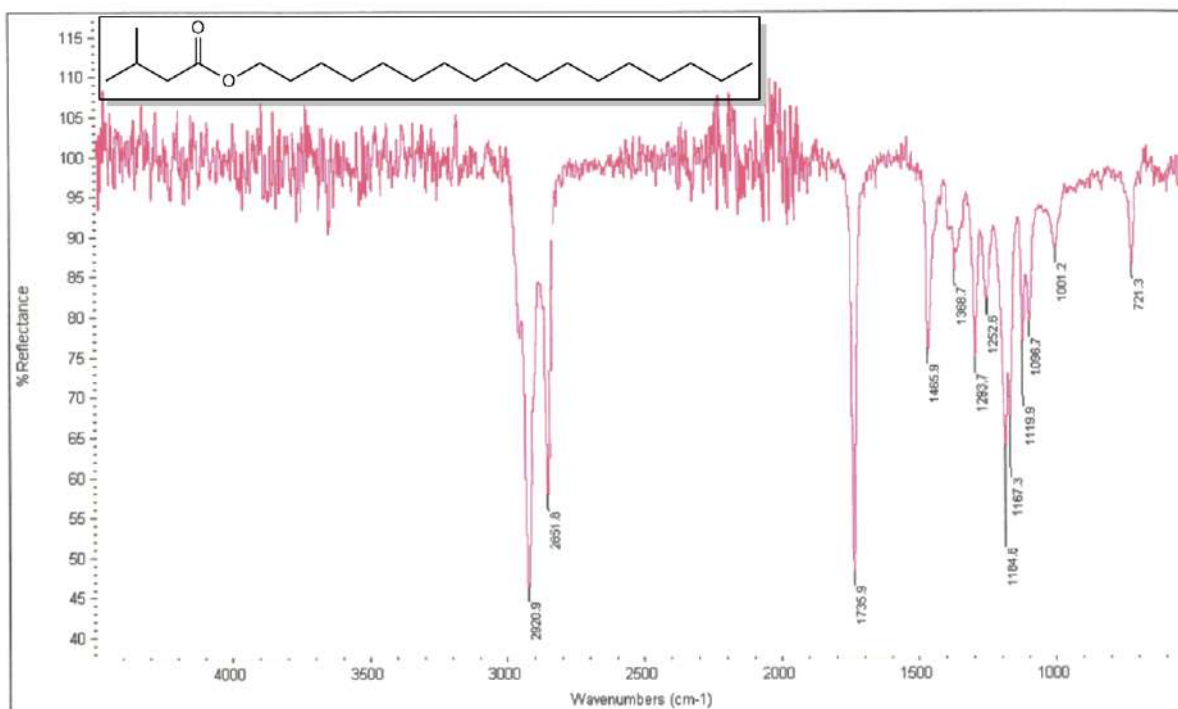
Prilog 8.2.47. IR spektar heptadecil-2-metilbutanoata [21]



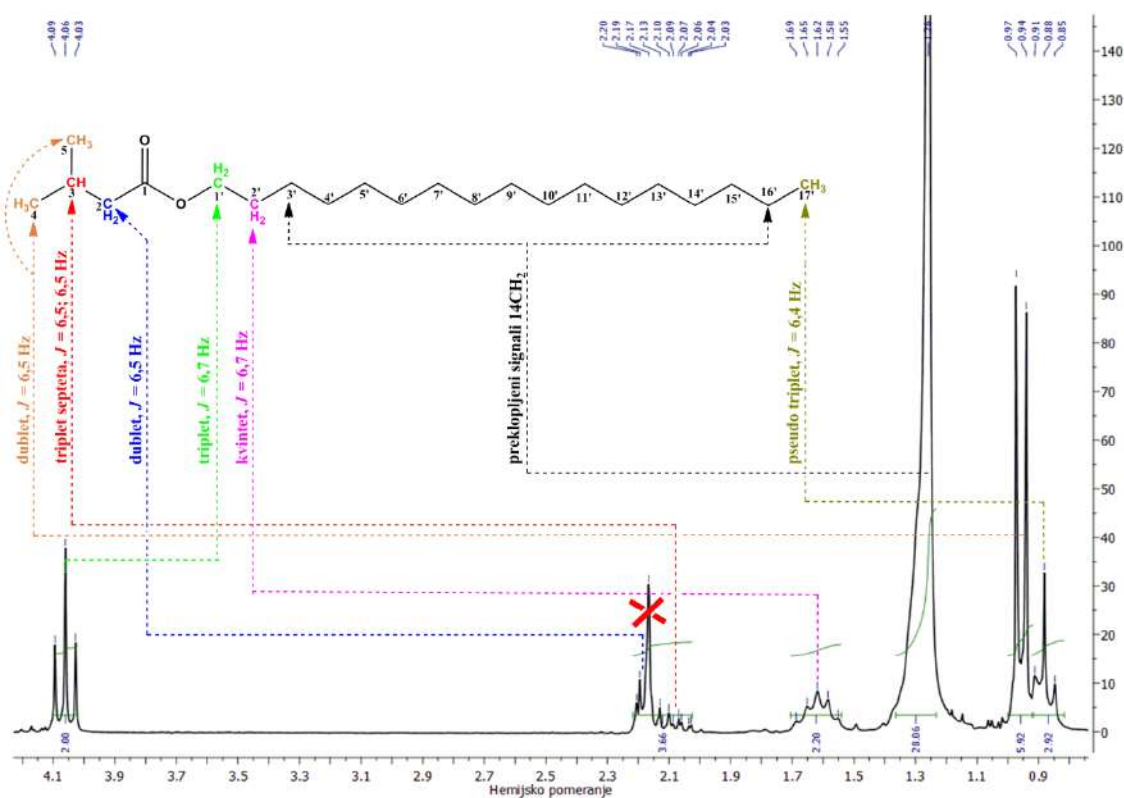
Prilog 8.2.50. Maseni spektar heptadecil-3-metilbutanoata [2m]



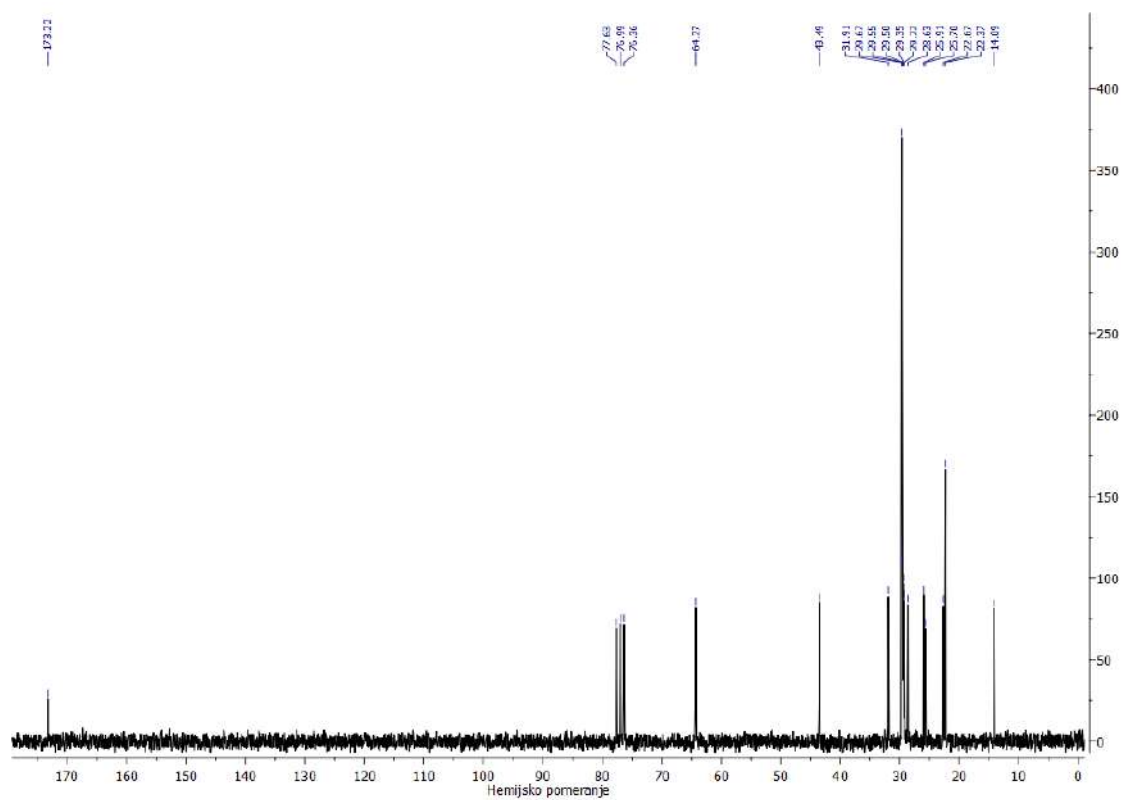
Prilog 8.2.51. IR spektar heptadecil-3-metilbutanoata [2m]



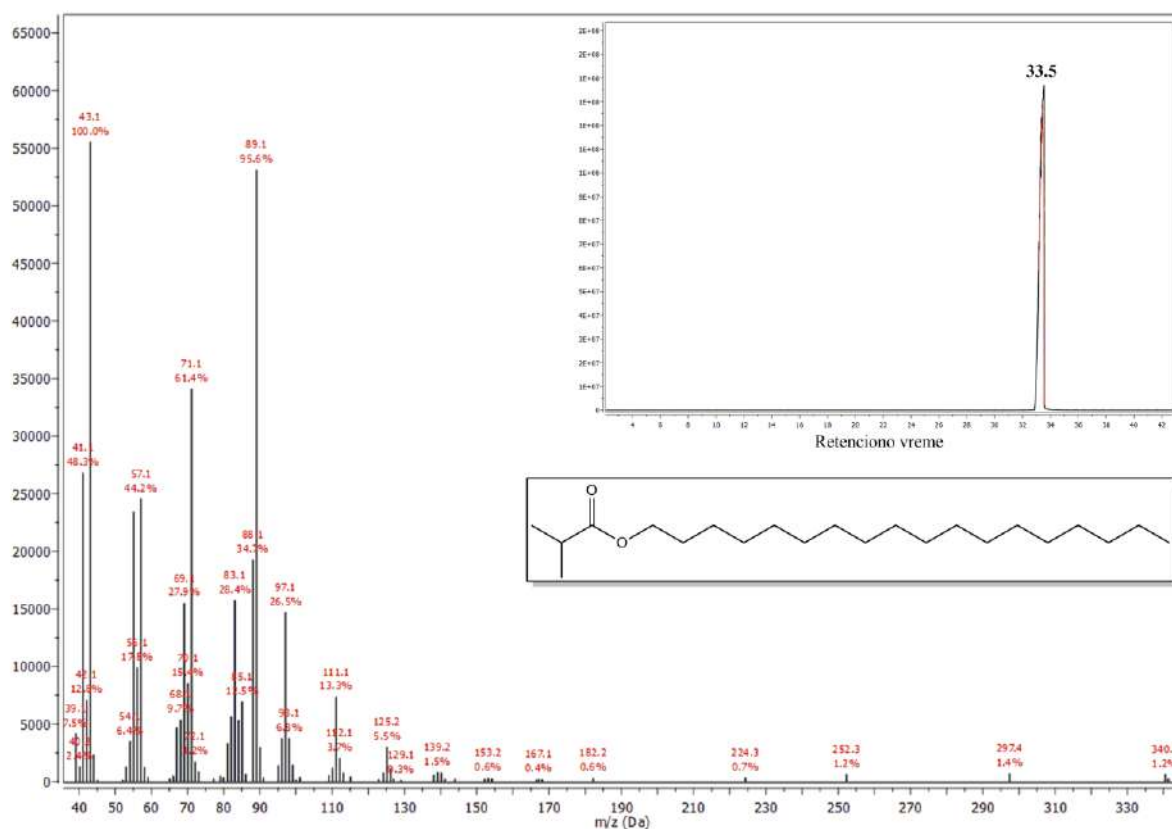
Prilog 8.2.52. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar heptadecil-3-metilbutanoata [2m]



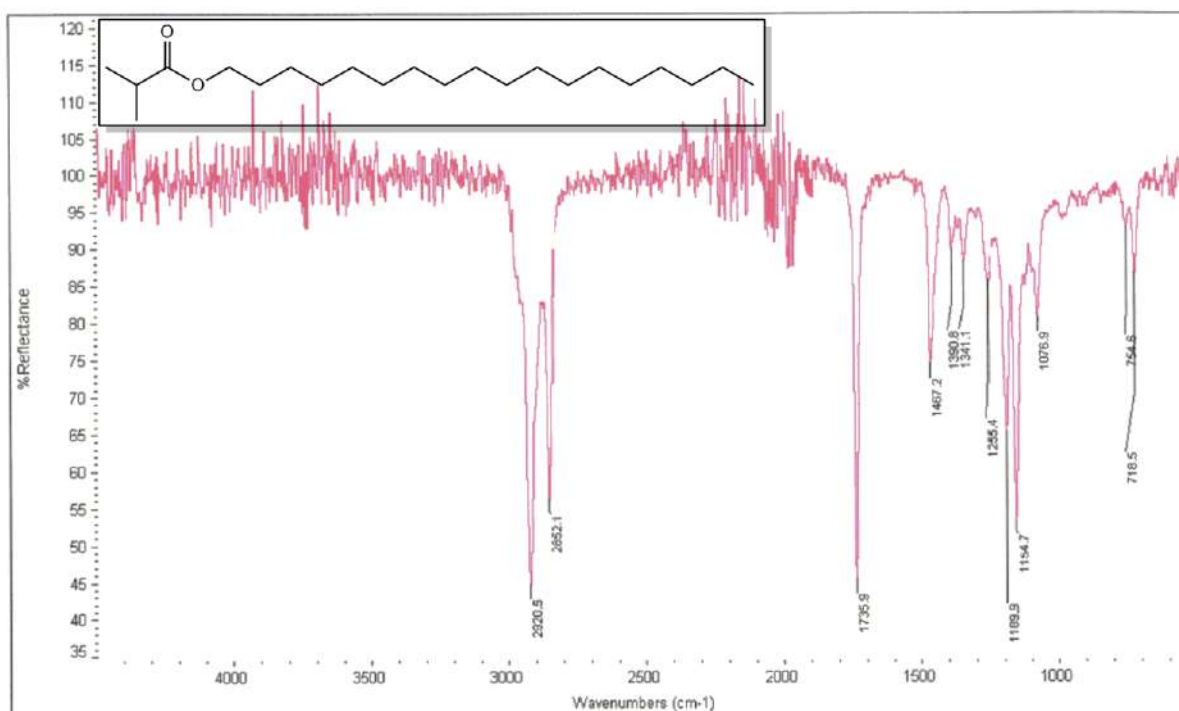
Prilog 8.2.53. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar heptadecil-3-metilbutanoata [2m]



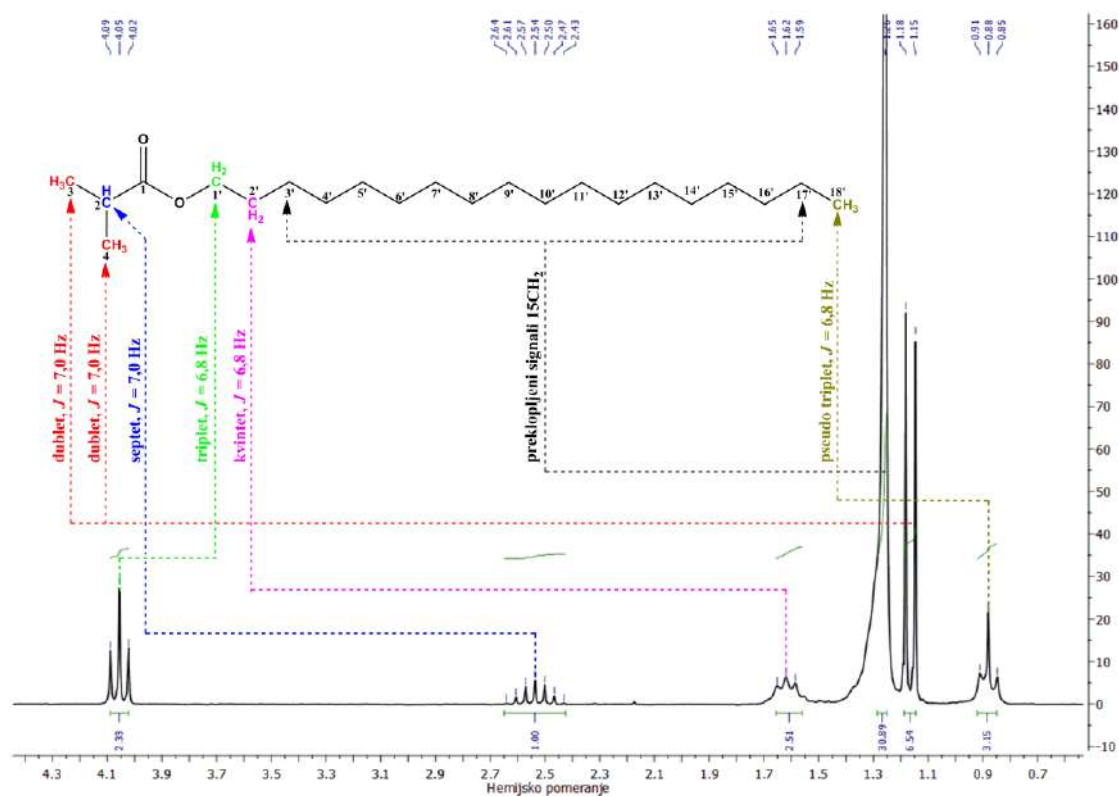
Prilog 8.2.54. Maseni spektar okta decil-izobutanoata [2n]



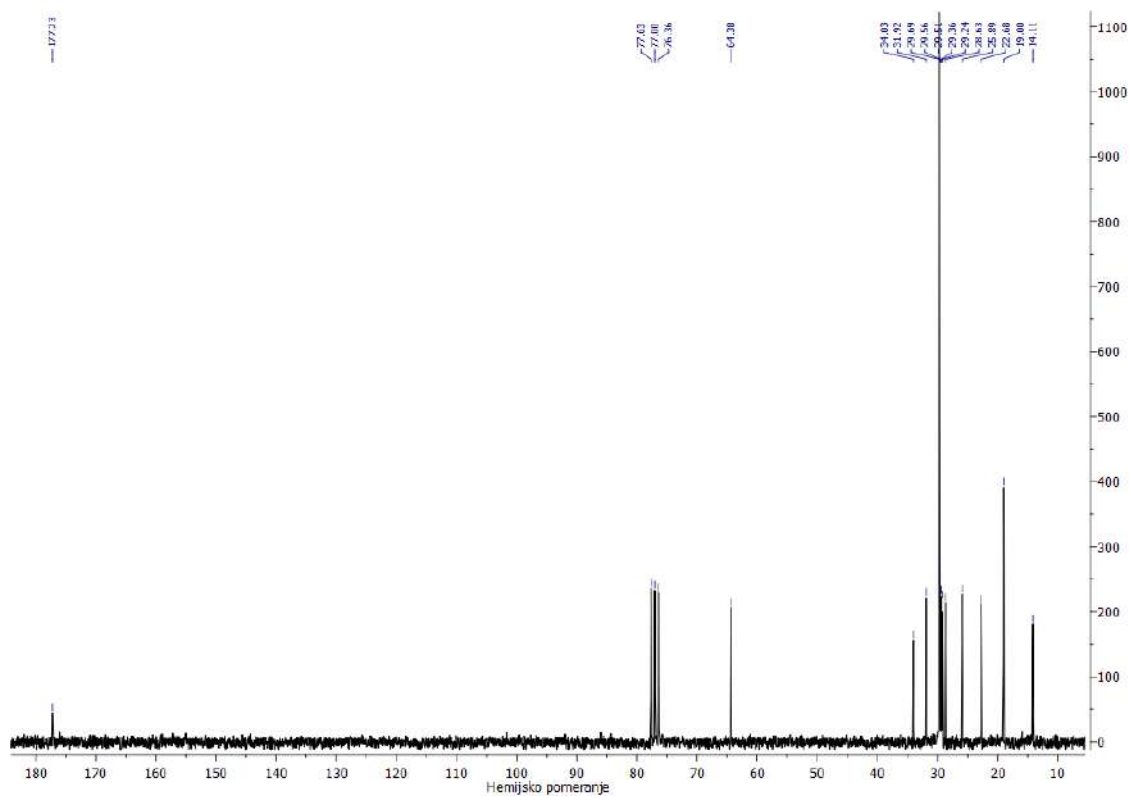
Prilog 8.2.55. IR spektar okta decil-izobutanoata [2n]



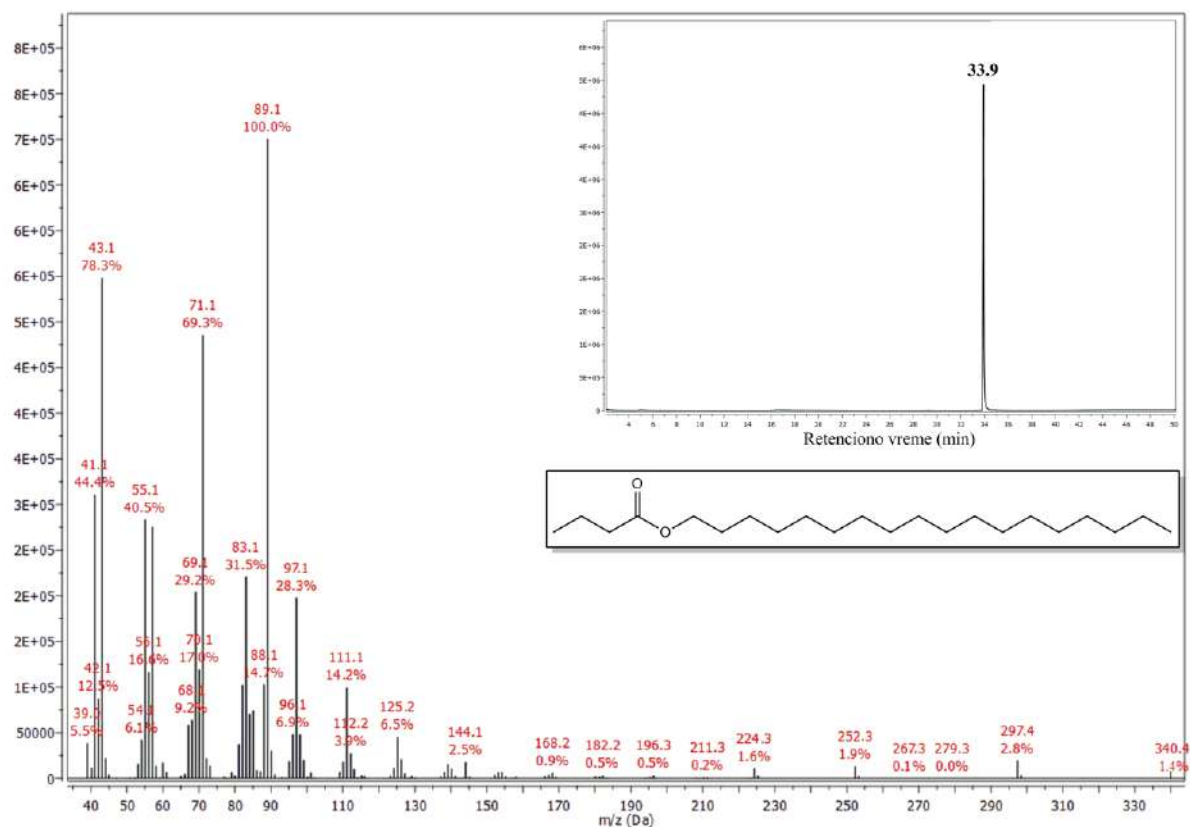
Prilog 8.2.56. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar okta decil-izobutanoata [2n]



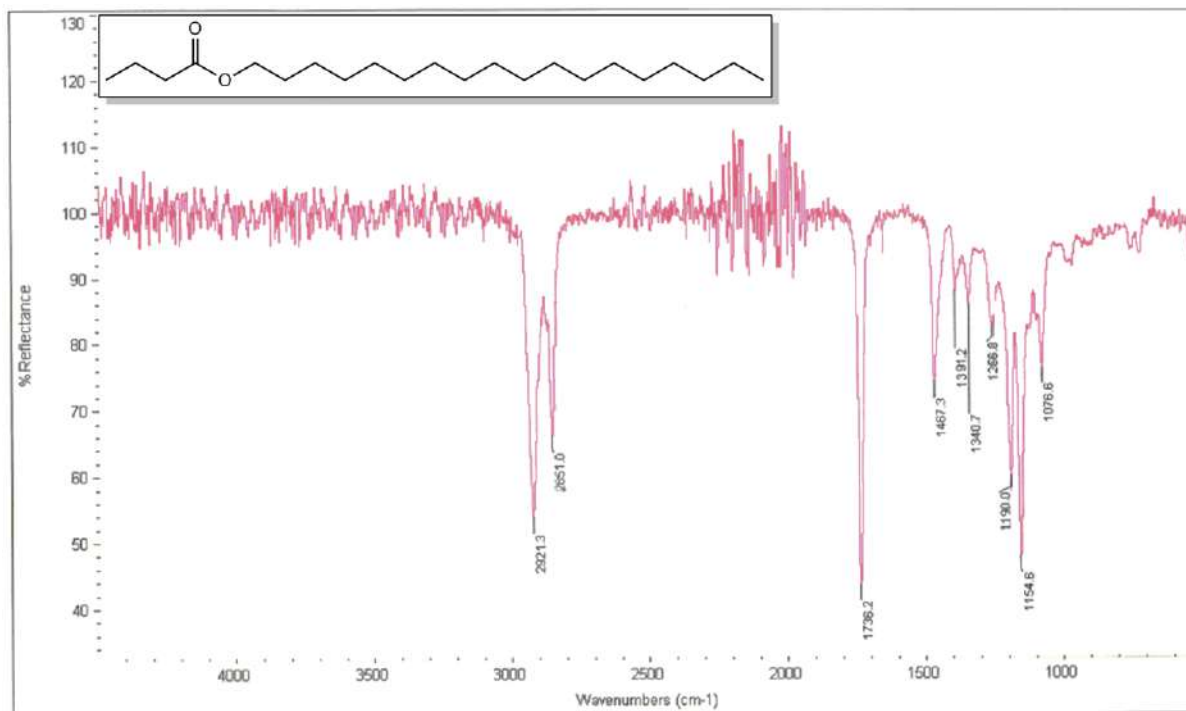
Prilog 8.2.57. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar okta decil-izobutanoata [2n]



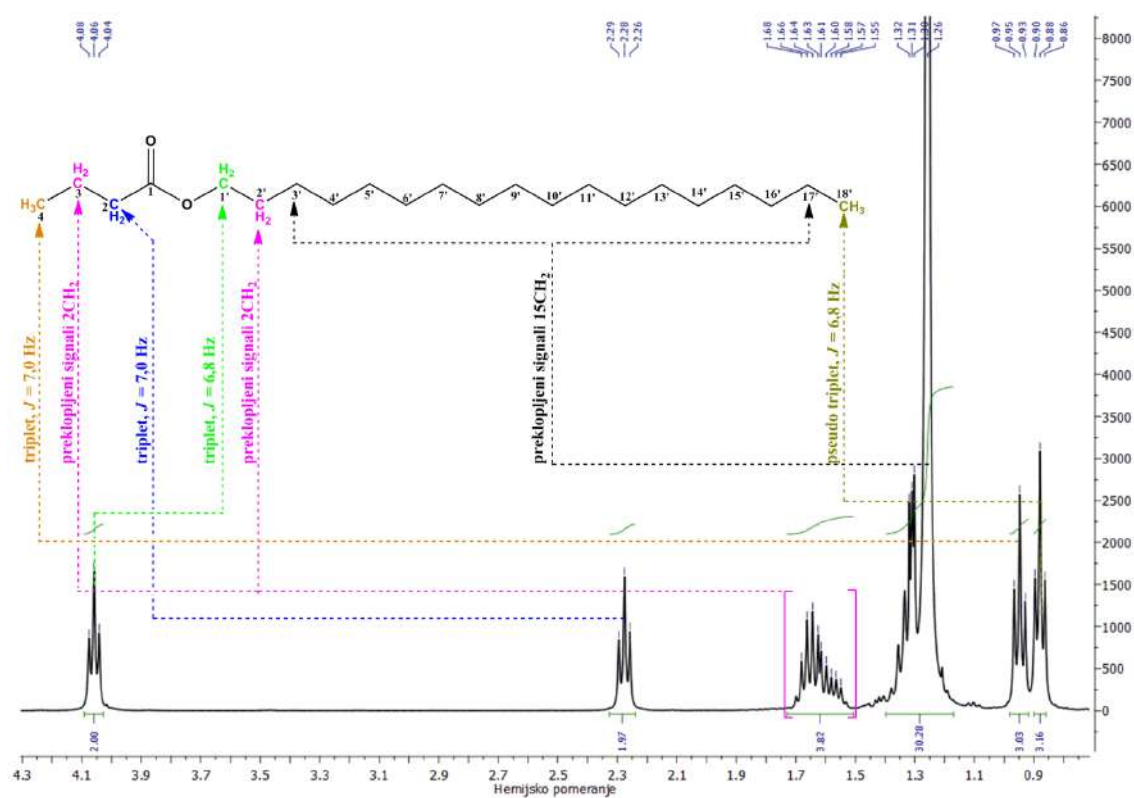
Prilog 8.2.58. Maseni spektar okta decil-butanoata [2o]



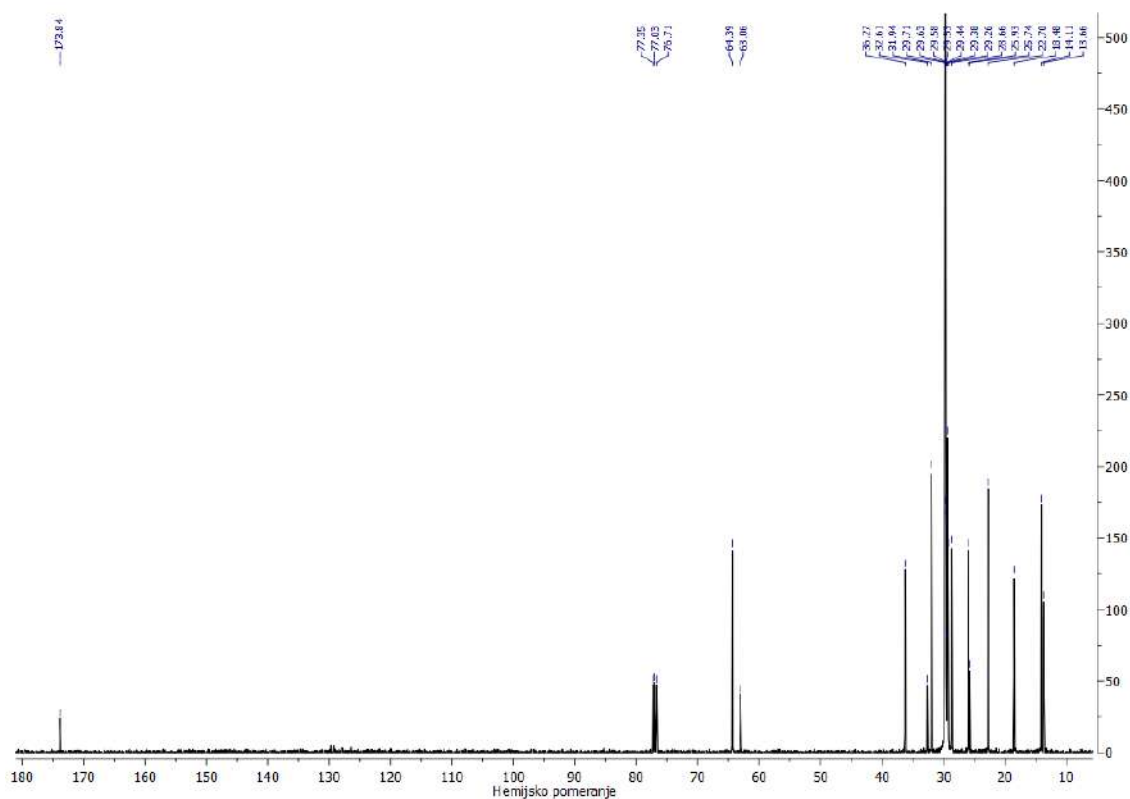
Prilog 8.2.59. IR spektar okta decil-butanoata [2o]



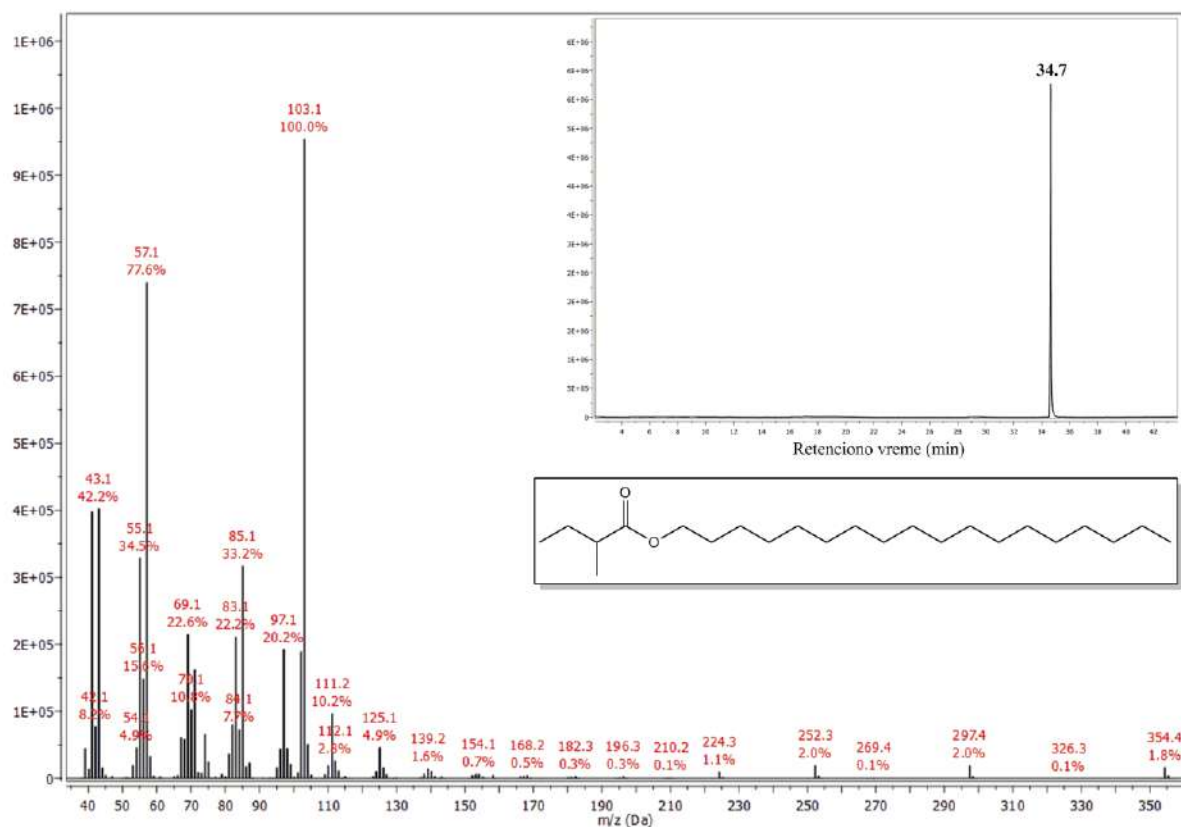
Prilog 8.2.60. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar oktaedecil-butanoata [2o]



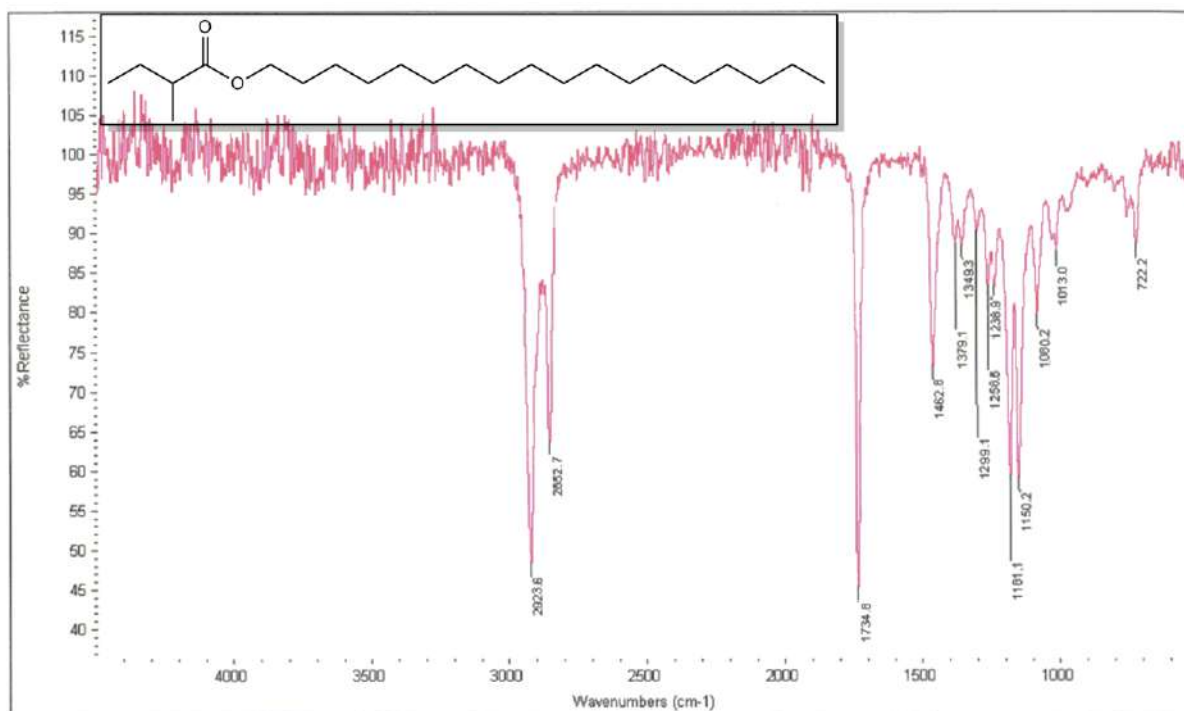
Prilog 8.2.61. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar oktaedecil-butanoata [2o]



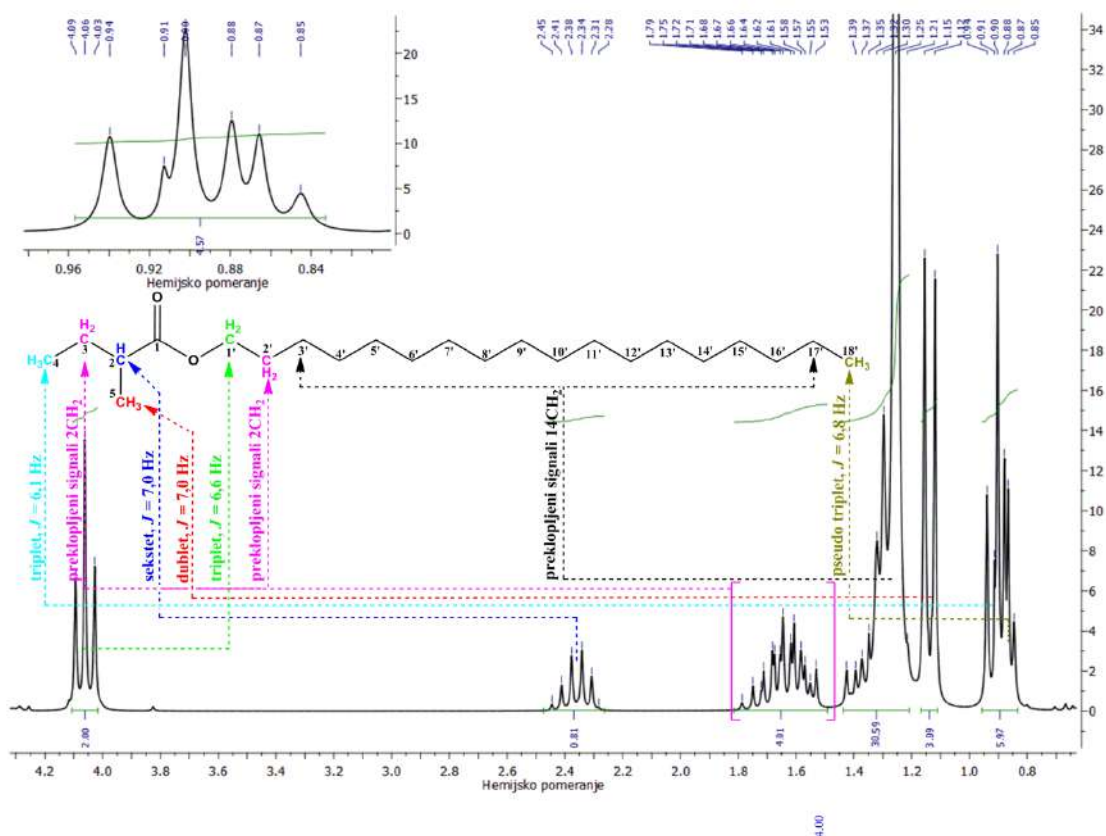
Prilog 8.2.62. Maseni spektar okta decil-2-metilbutanoata [2p]



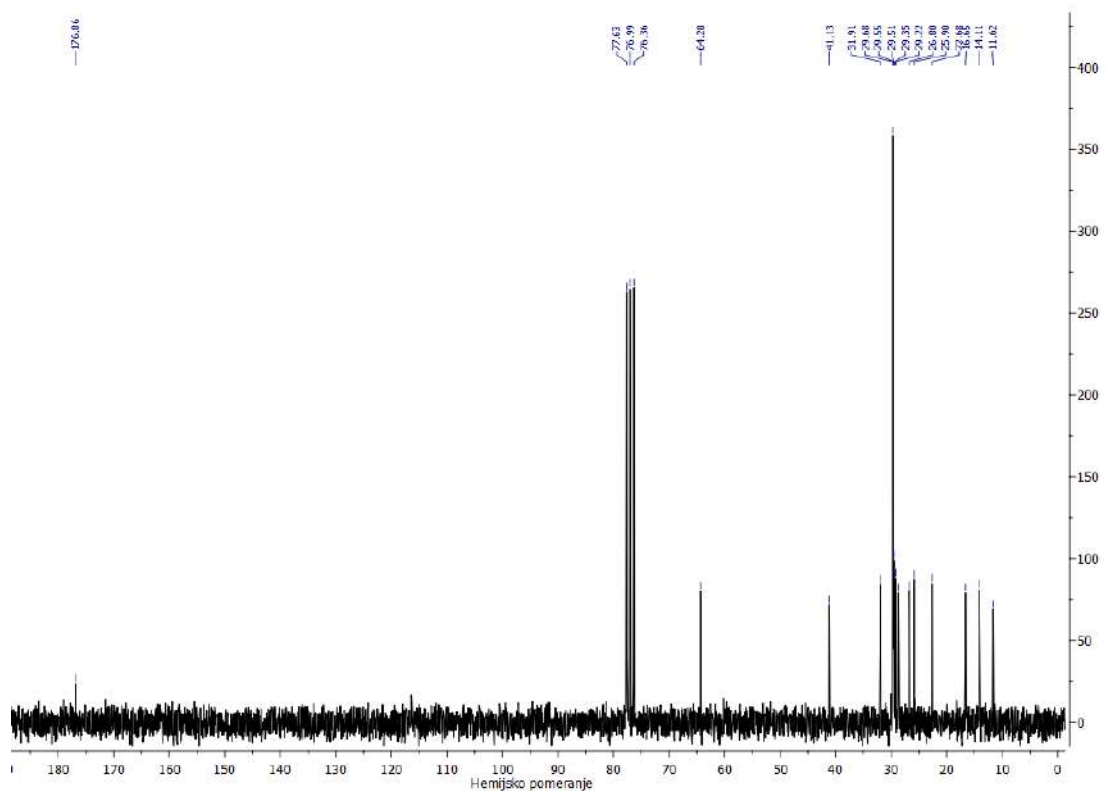
Prilog 8.2.63. IR spektar okta decil-2-metilbutanoata [2p]



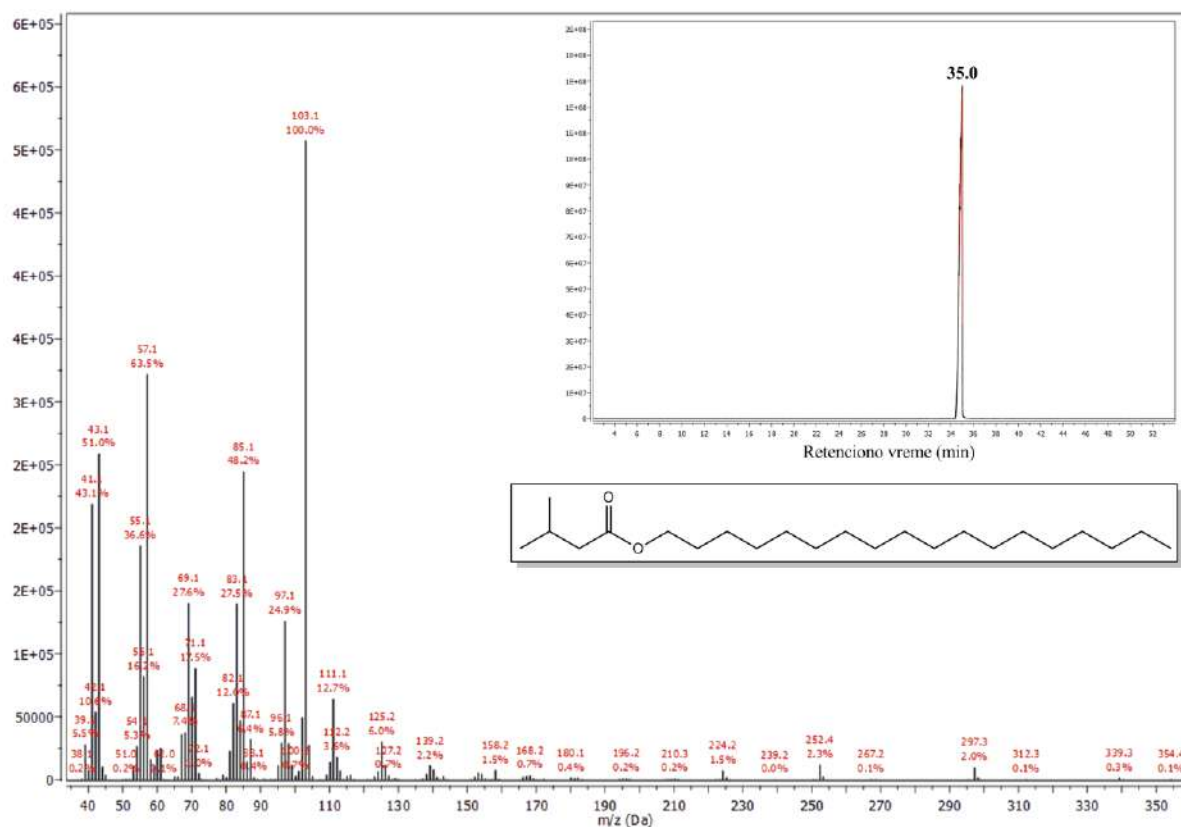
Prilog 8.2.64. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar okta decil-2-metilbutanoata [2p]



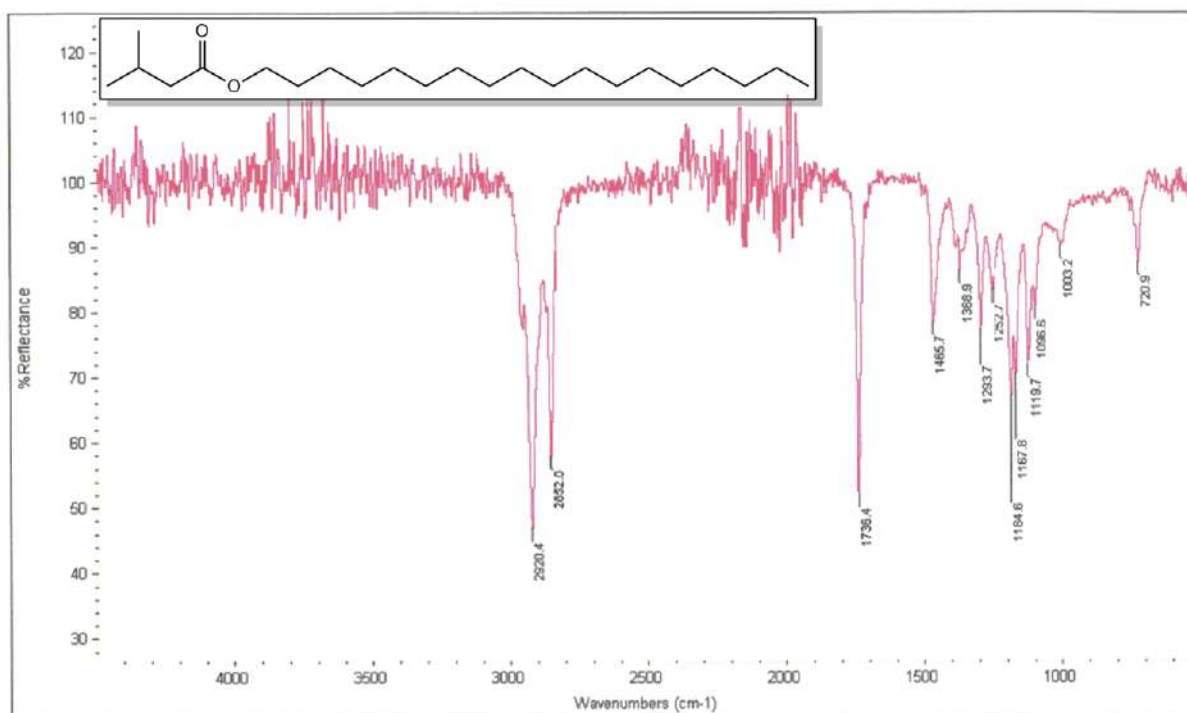
Prilog 8.2.65. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar okta decil-2-metilbutanoata [2p]



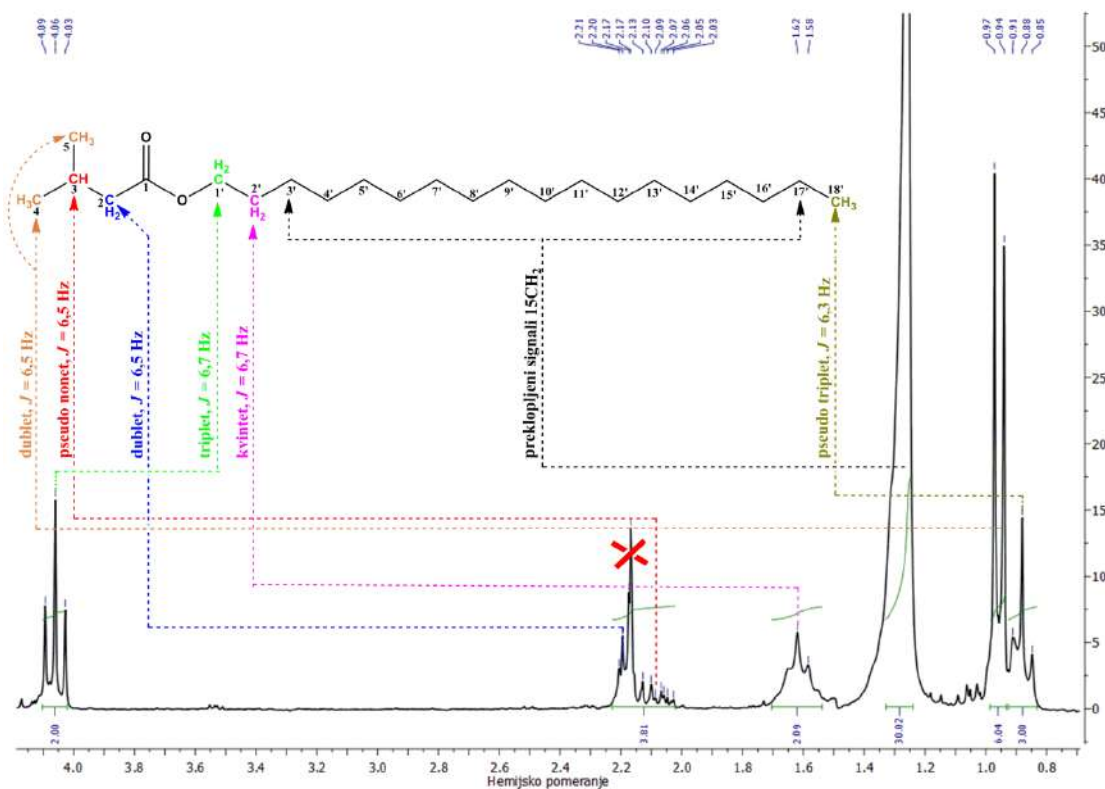
Prilog 8.2.66. Maseni spektar oktadecil-3-metilbutanoata [2q]



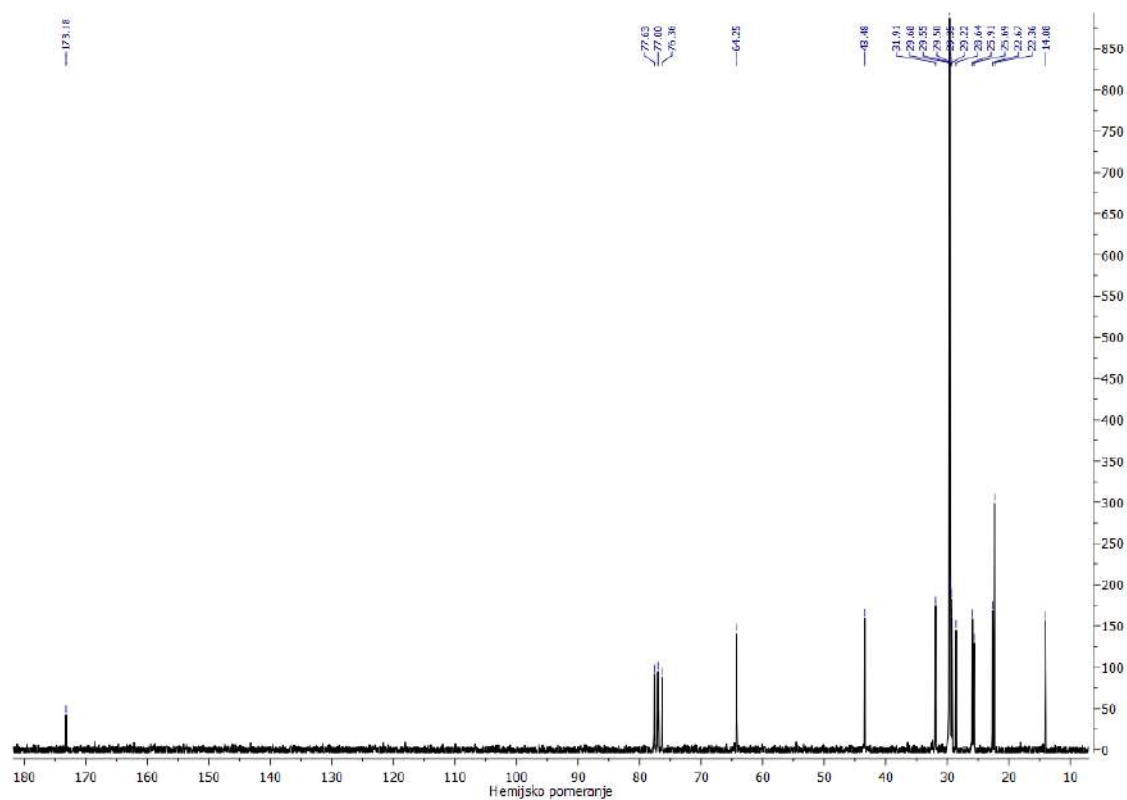
Prilog 8.2.67. IR spektar oktadecil-3-metilbutanoata [2q]



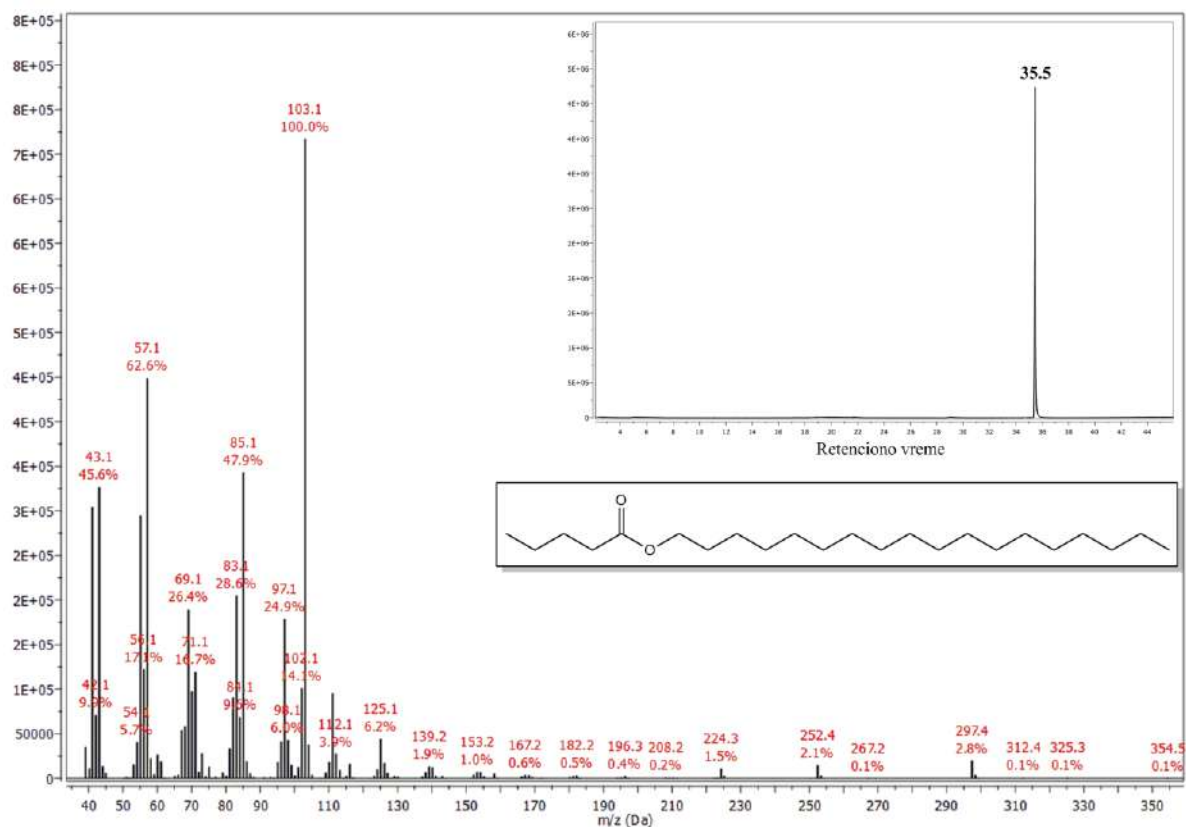
Prilog 8.2.68. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar okta decil-3-metilbutanoata [2q]



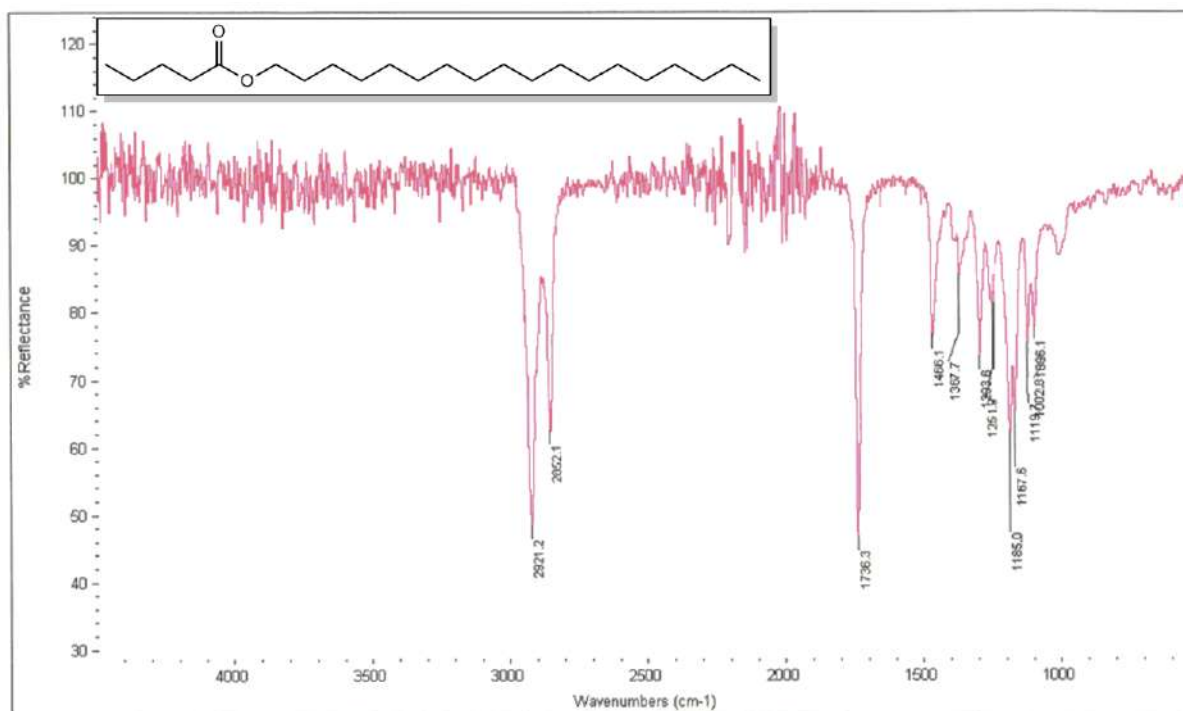
Prilog 8.2.69. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar okta decil-3-metilbutanoata [2q]



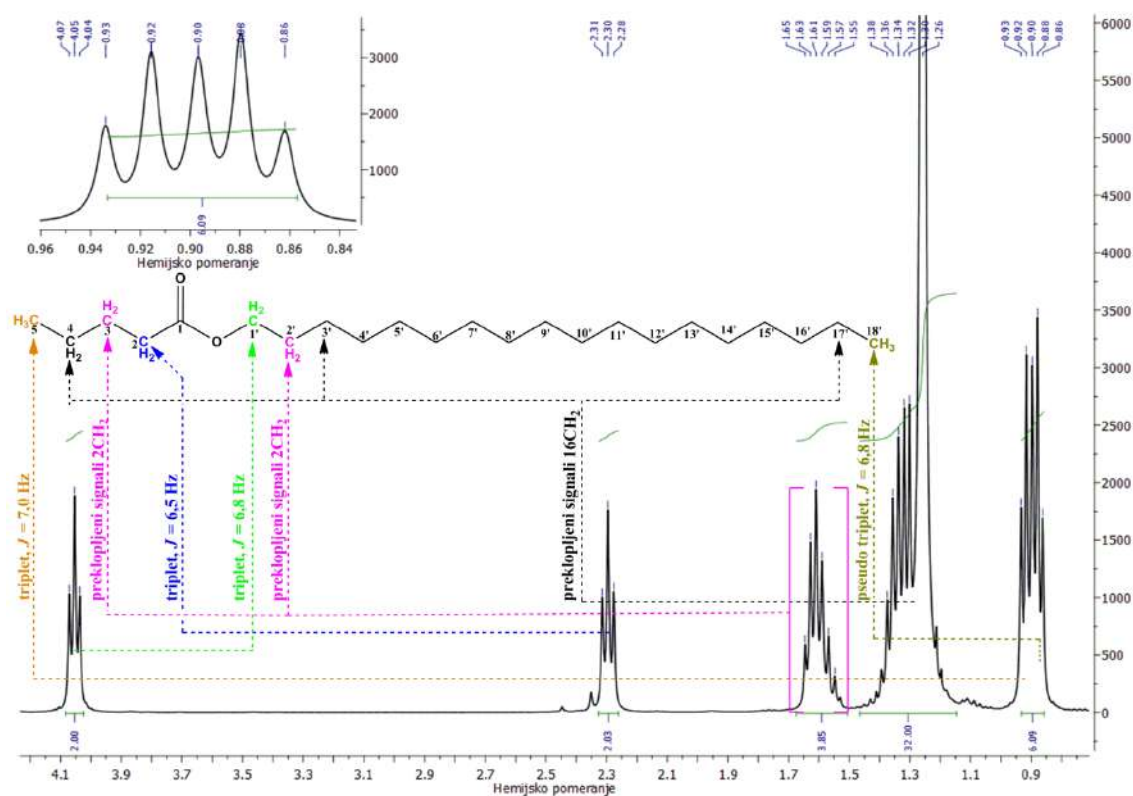
Prilog 8.2.70. Maseni spektar okta decil-pentanoata [2r]



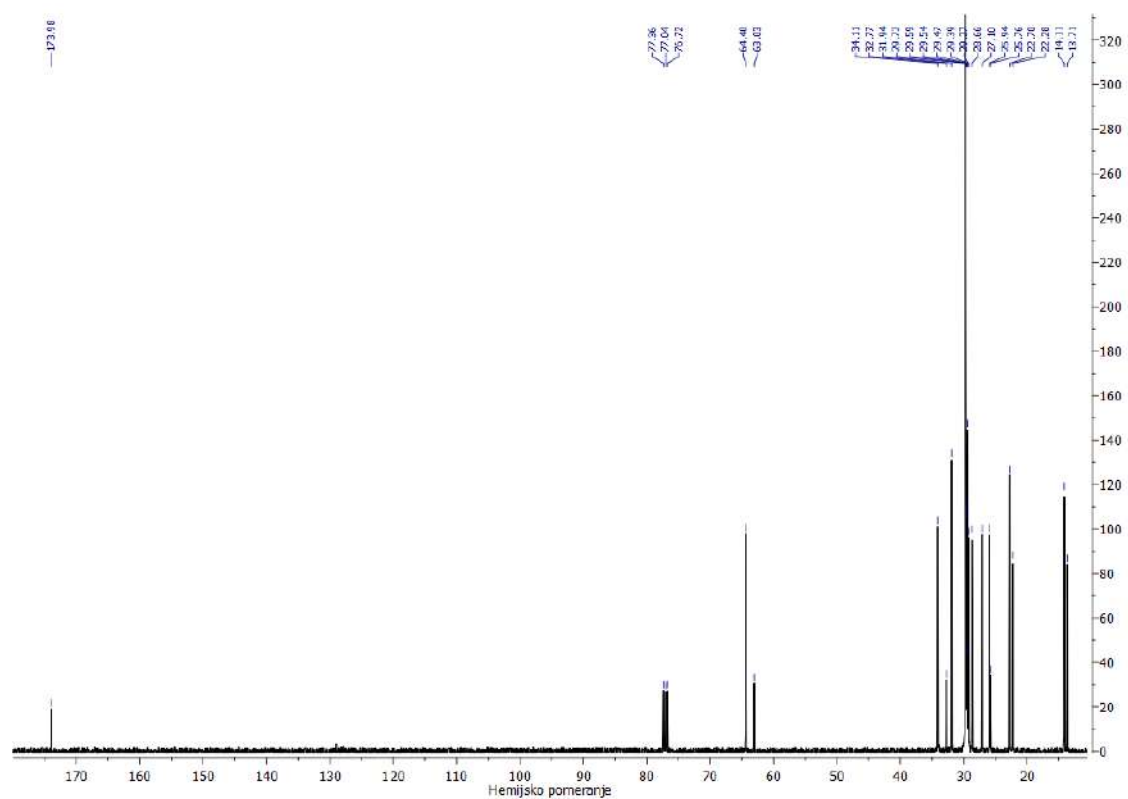
Prilog 8.2.71. IR spektar okta decil-pentanoata [2r]



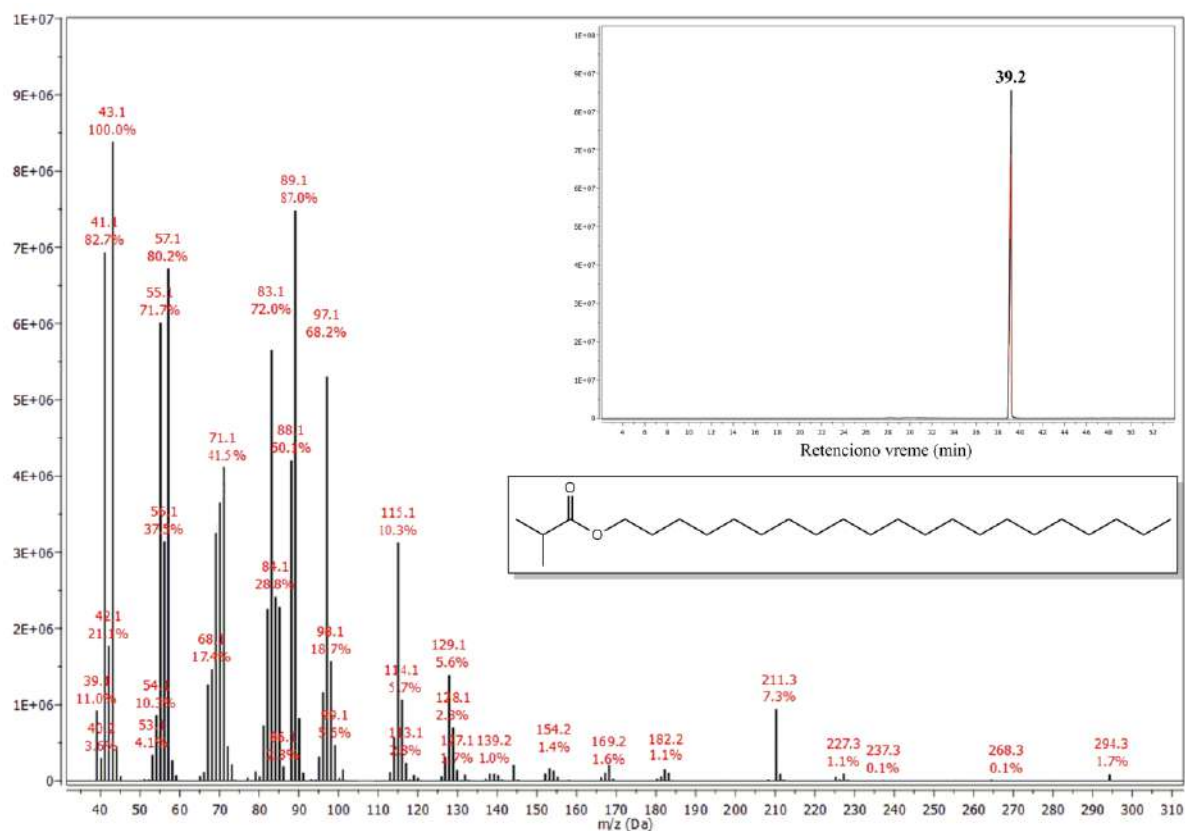
Prilog 8.2.72. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar oktaedecil-pentanoata [2r]



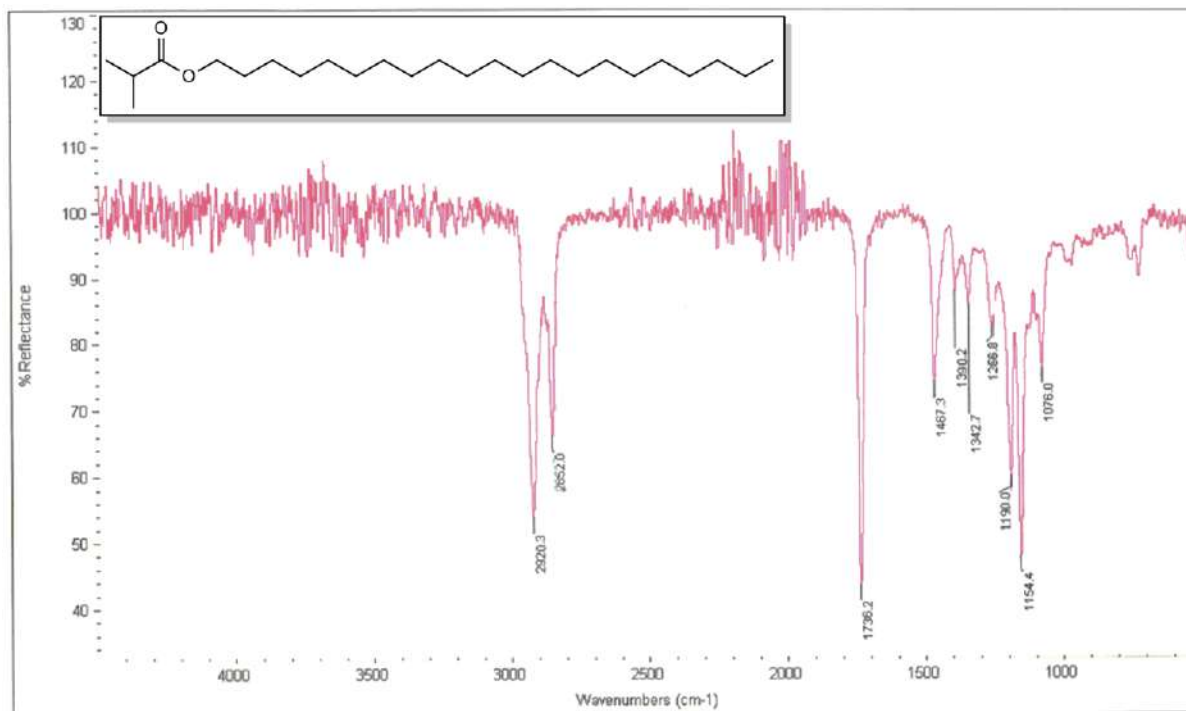
Prilog 8.2.73. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar oktaedecil-pentanoata [2r]



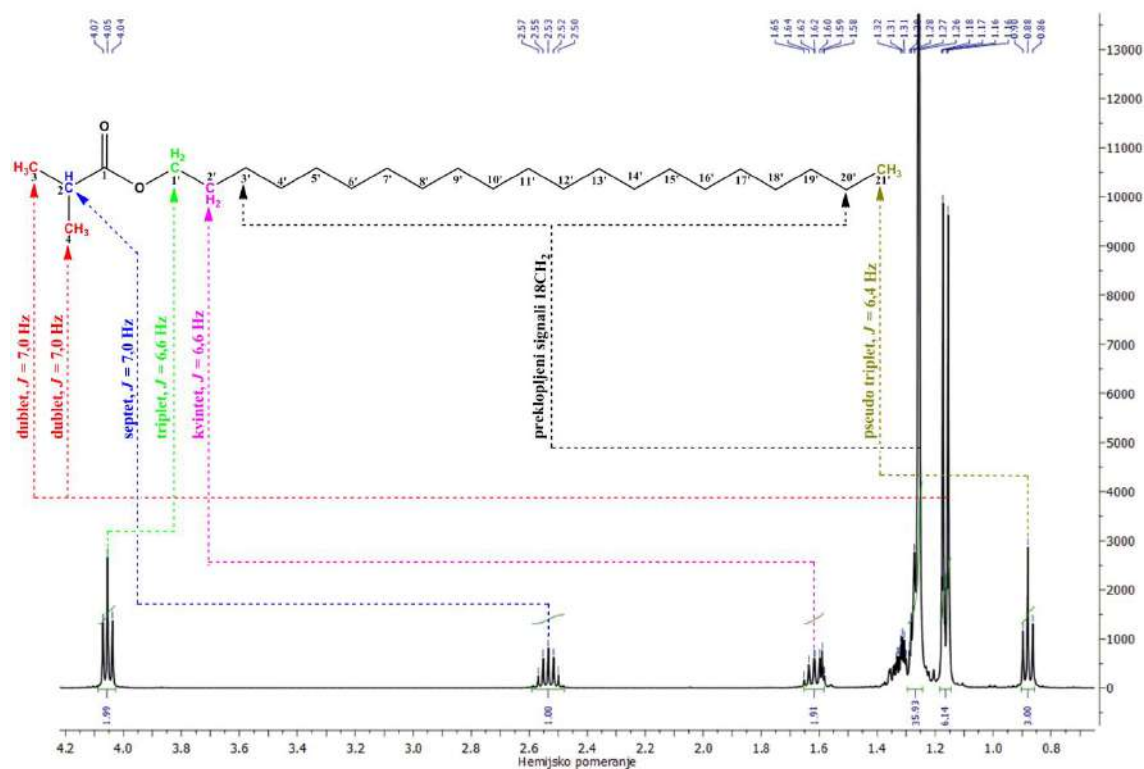
Prilog 8.2.74. Maseni spektar heneikozil-izobutanoata [2s]



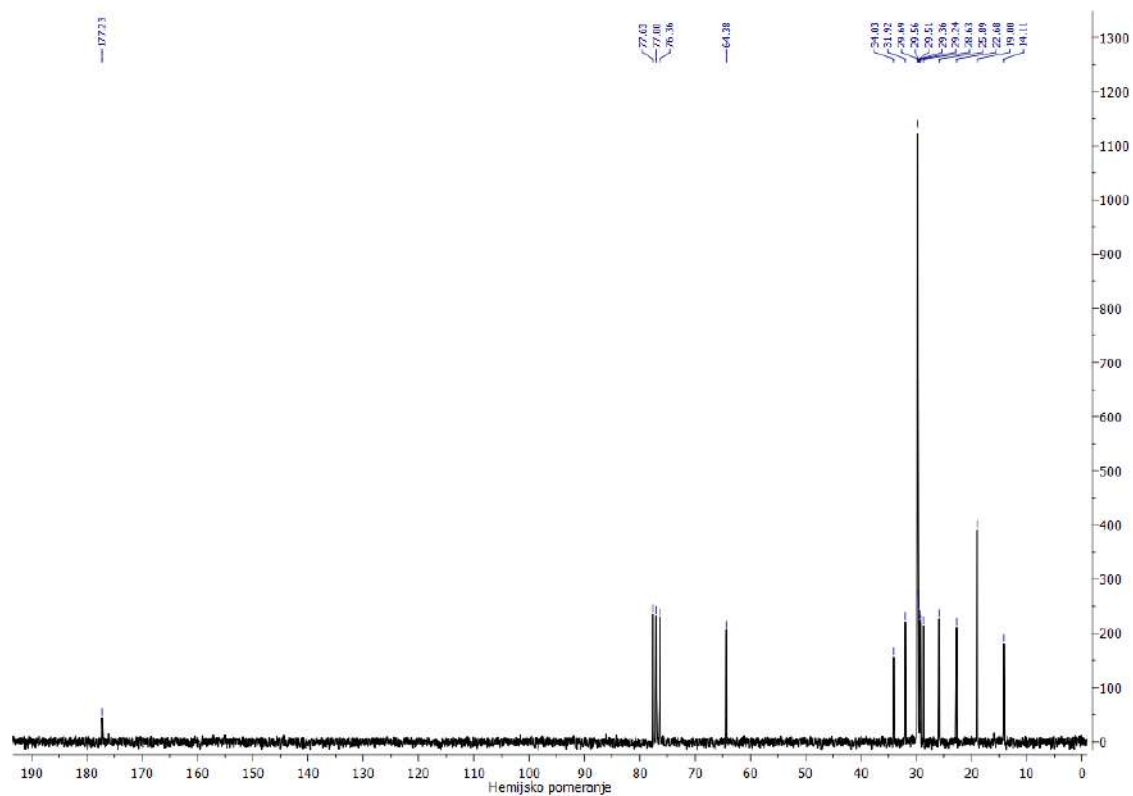
Prilog 8.2.75. IR spektar heneikozil-izobutanoata [2s]



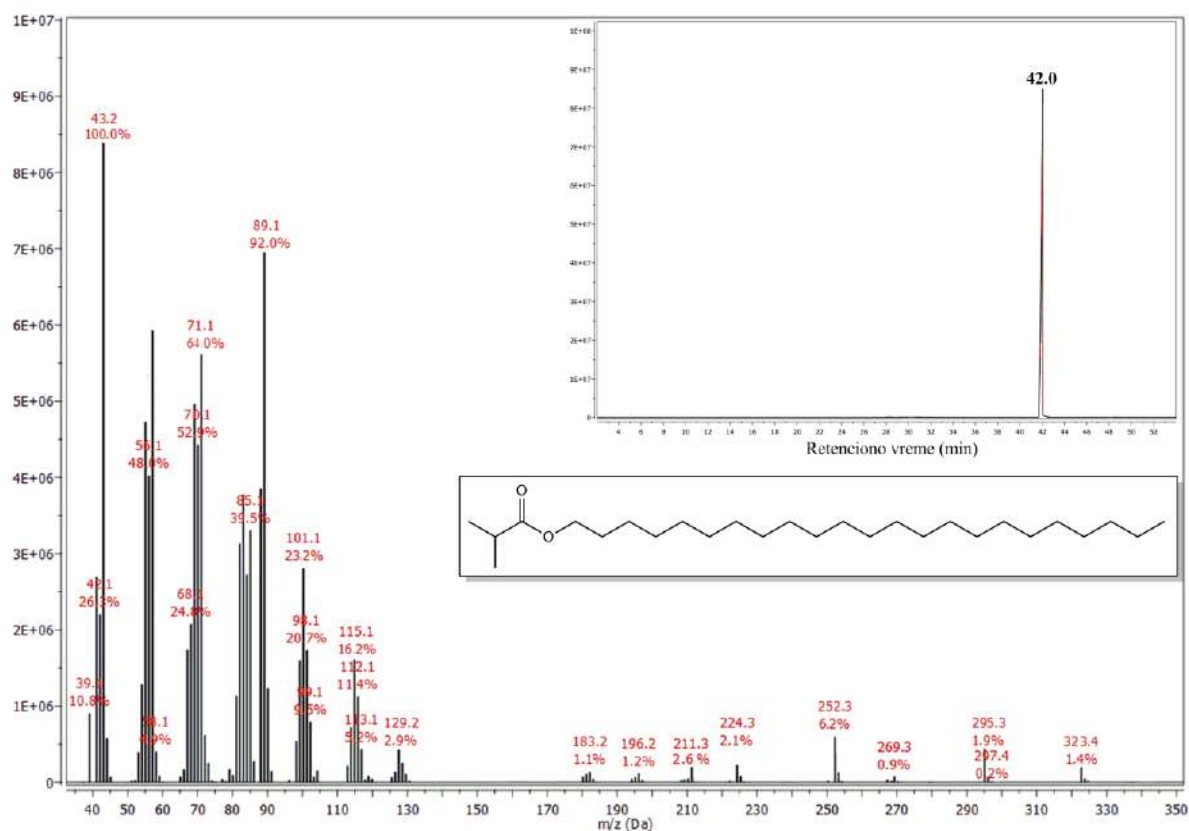
Prilog 8.2.76. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar heneikozil-izobutanoata [2s]



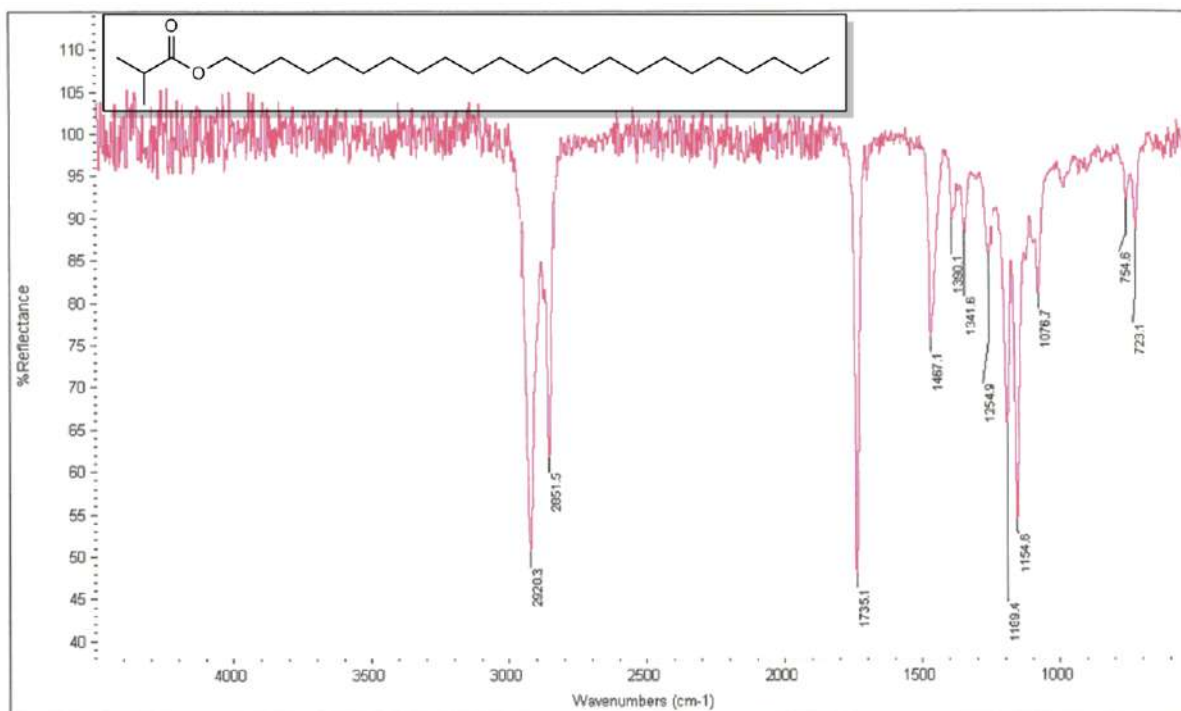
Prilog 8.2.77. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar heneikozil-izobutanoata [2s]



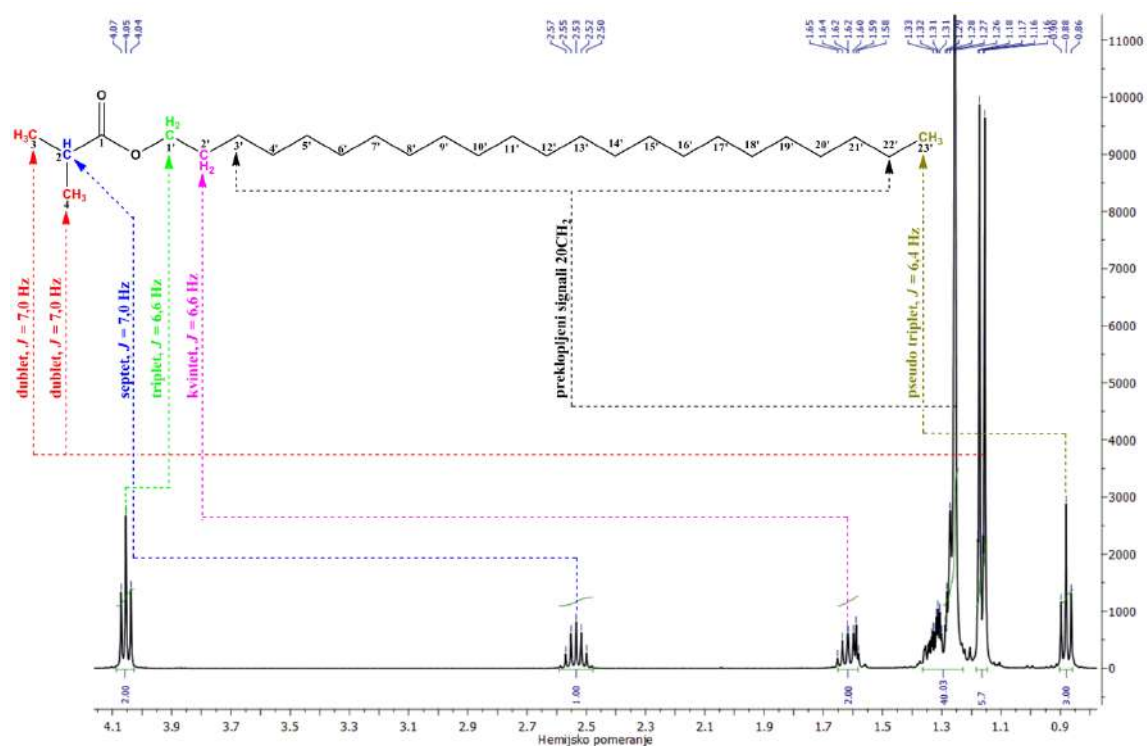
Prilog 8.2.78. Maseni spektar trikozil-izobutanoata [2t]



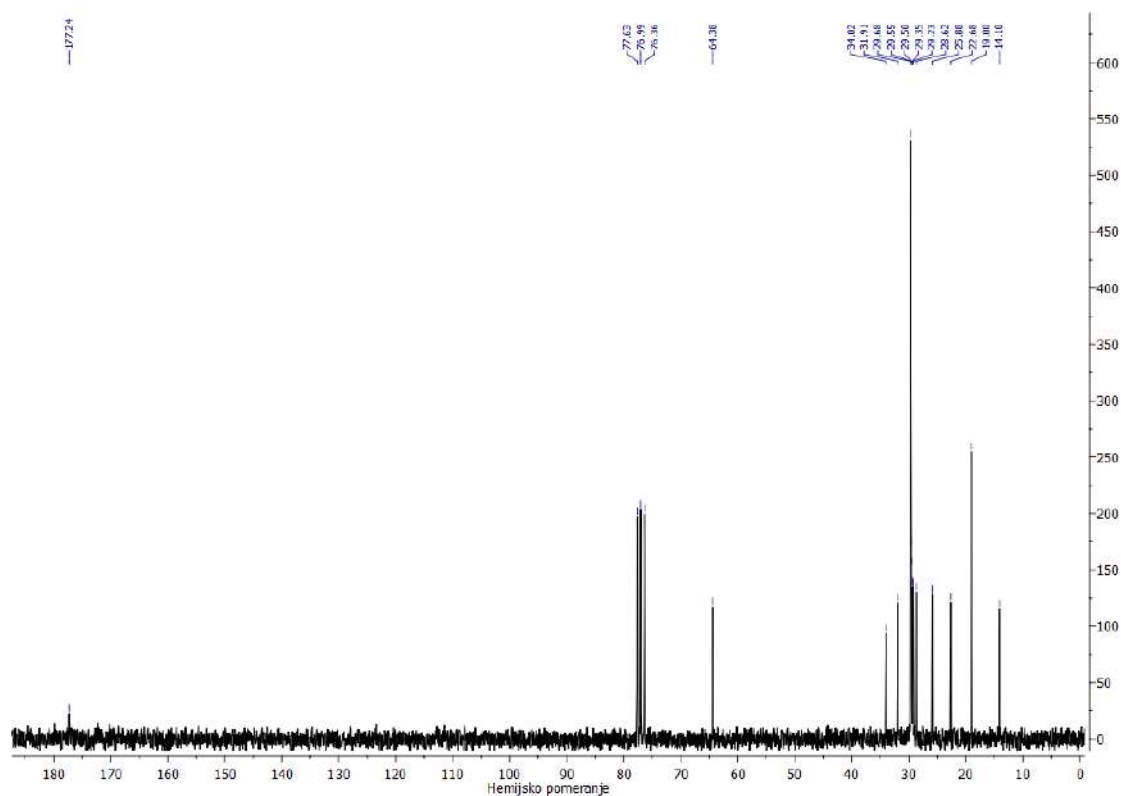
Prilog 8.2.79. IR spektar trikozil-izobutanoata [2t]



Prilog 8.2.80. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar trikozil-izobutanoata [2t]



Prilog 8.2.81. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar trikozil-izobutanoata [2t]



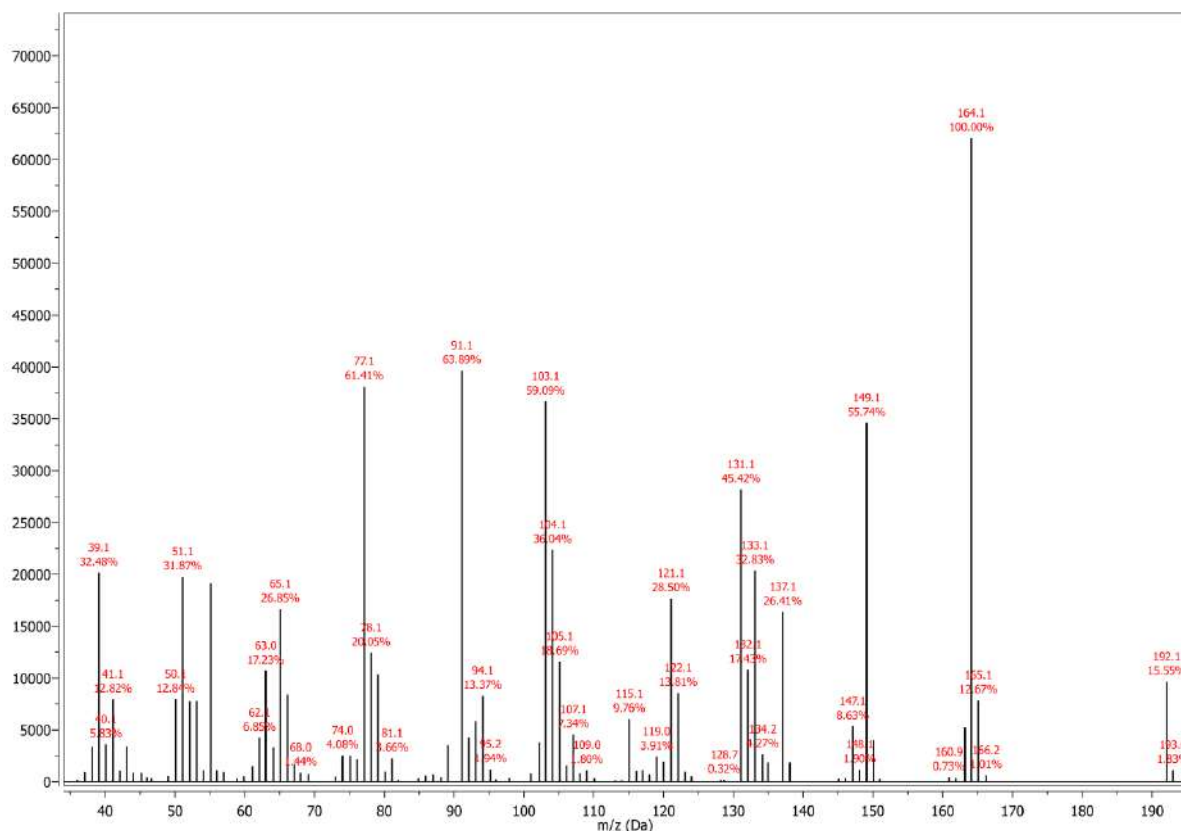
Prilog 8.2.82. Skraćenice uzoraka predhodno analiziranih etarskih ulja biljnih vrsta iz plemena Scandiceae iskorišćenih za multivarijantnu statističku analizu

Skraćenice	Biljna vrsta	Referenca
	<i>Anthriscus caucalis</i> M. Bieb.	
An Ca1-2	Stablo	(Chizzola, 2011)
An Ca3-4	List	(Chizzola, 2011)
An Ca5-6	Plod	(Chizzola, 2011)
	<i>Anthriscus cerefolium</i> (L.) Hoffm. var. <i>trichocarpa</i> Neil.	
An Ce1	Stablo	(Chizzola, 2011)
An Ce2	List	(Chizzola, 2011)
An Ce3	Nadzemni deo	(Chizzola, 2011)
An Ce4-5	Plod	(Chizzola, 2011)
An Ce6	Nadzemni deo	(Başer et al., 1998)
	<i>Anthriscus nemorosa</i> (M. B.) Speng.	
An Ne1	Nadzemni deo	(Nickavar et al., 2009)
An Ne2	Koren	(Pavlović et al., 2011)
	<i>Anthriscus sylvestris</i> (L.) Hoffm.	
An Sy1	List	(Bos et al., 2002)
An Sy2	Koren	(Bos et al., 2002)
	<i>Athamanta haynaldii</i> Borb. & Uechtr.	
At Ha1	Cvet	(Živanović et al., 1994)
At Ha2	Nezreli plod	(Živanović et al., 1994)
At Ha3	Zreli plod	(Živanović et al., 1994)
At Ha4	Plod	(Tomić et al., 2008)
	<i>Athamanta sicula</i> L.	
At Si1	Cvet	(Camarda et al., 2008)
At Si2	Seme	(Camarda et al., 2008)
At Si3	List	(Camarda et al., 2008)
	<i>Athamanta turbith</i> subsp. <i>hungarica</i> (Borbas) Tutin	
At Tu1	Plod	(Tomić et al., 2008)
	<i>Chaerophyllum aksekiense</i> A. Duran et Duman	
Ch Ak	Plod	(Başer et al., 2000)
	<i>Chaerophyllum aromaticum</i> L.	
Ch Ar1-2	List	(Chizzola, 2009)
Ch Ar3-4	Plod	(Chizzola, 2009)
Ch Au	<i>Chaerophyllum aureum</i> L.	(Kapetanos et al., 2008)
	<i>Chaerophyllum bulbosum</i> L.	
Ch Bu1	Plod	(Kubeczka, 1982)
Ch Bu2	Koren	(Kubeczka, 1982)
	<i>Chaerophyllum byzantinum</i> Boiss.	
Ch By	Nadzemni deo	(Kürkçüoğlu et al., 2006)
	<i>Chaerophyllum coloratum</i> L.	
Ch Co1	Plod	(Vajs et al., 1995)
Ch Co2	Šizokarp	(Vajs et al., 1995)
Ch Hi	<i>Chaerophyllum hirsutum</i> L.	(Kapetanos et al., 2008)
Ch Li	<i>Chaerophyllum libanoticum</i> Boiss. et Kotschy	(Demirci et al., 2007)
	<i>Chaerophyllum macropodium</i> Boiss.	
Ch Ma1	List	(Ebrahimabadi et al., 2010)
Ch Ma2	Cvet	(Ebrahimabadi et al., 2010)
Ch Te	<i>Chaerophyllum temulum</i> L.	(Kapetanos et al., 2008)
	<i>Geocaryum cynapioides</i> (Guss.) L. Engstrand	
Ge Cy1-2	Nadzemni deo	(Radulović et al., 2008)
	<i>Grammosciadium scabridum</i> Boiss.	
Gr Sc	Nadzemni deo	(Nori-Shargh et al., 2007)
	<i>Molopospermum peloponnesiacum</i> (L.) W. D. J. Koch	
Mo Pe1	Terpenoidni aldehidi-estarski tip	(Kubeczka, 1982)
Mo Pe2	Dil apiol tip	(Kubeczka, 1982)
	<i>Myrrhis odorata</i> (L.) Scop.	

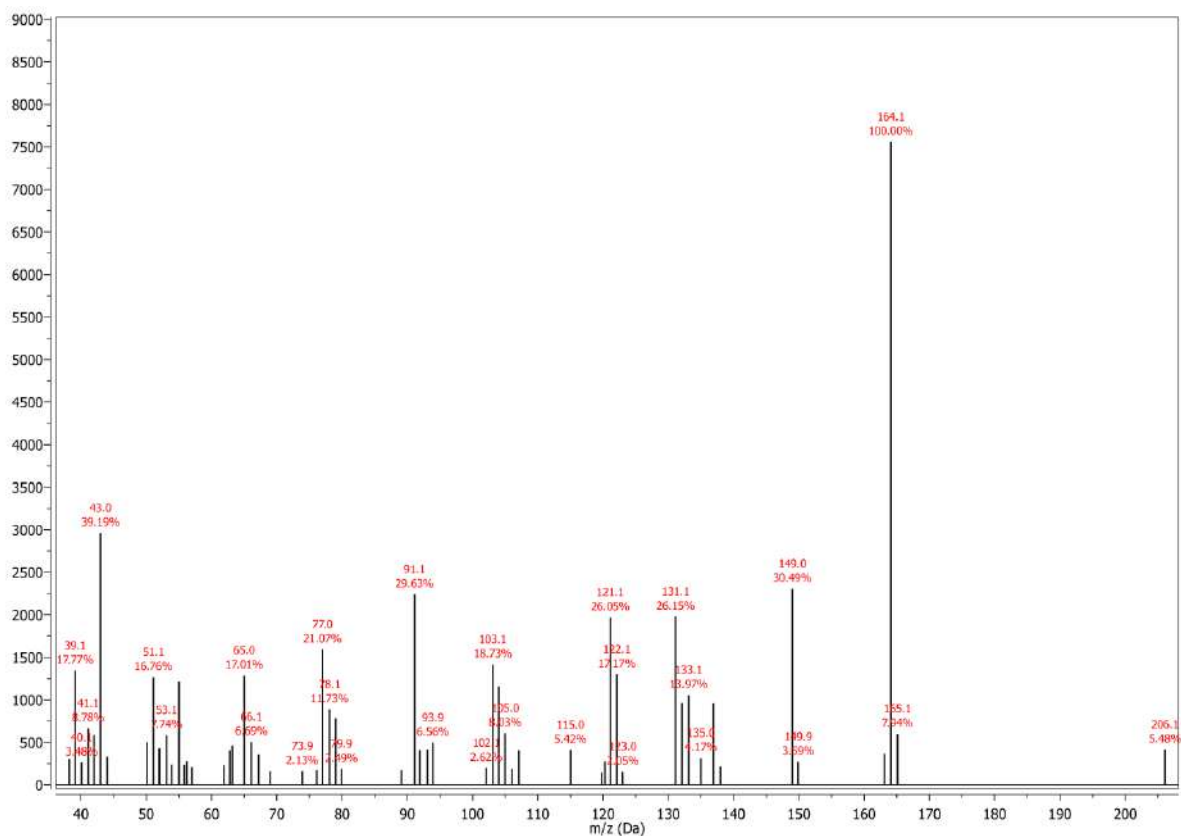
Nastavak priloga 8.2.82.

My Od1	Plod	(Kubeczka, 1982)
My Od2	Koren <i>Scandix australis</i> L.	(Kubeczka, 1982)
Sc Au1	Nadzemni deo	(Velasco-Negueruela et al., 1991)
Sc Au2	Plod	(Kubeczka, 1982)
Sc Au3	Koren <i>Scandix australis</i> L. subsp. <i>grandiflora</i> (L.) Thell.	(Kubeczka, 1982)
Sc Au4	Nadzemni deo <i>Scandix balansae</i> Reut. ex Boiss.	(Tümen i Başer, 1997) Naši rezultati analize
Sc Ba	Plod <i>Scandix iberica</i> Bieb.	
Sc Ib1	Cvet	(Kaya et al., 2007)
Sc Ib2	Plod <i>Scandix pecten-veneris</i> L. subsp. <i>brachycharpa</i> (Guss.) Tell	(Kaya et al., 2007)
Sc PVB1	Nadzemni deo	(Kubeczka, 1982)
Sc PVB2	Koren <i>Scandix pecten-veneris</i> L. subsp. <i>pecten-veneris</i> L.	(Kubeczka, 1982)
Sc PVP	Nadzemni deo <i>Semenovia tragioides</i> Boiss.	(Kubeczka, 1982)
Se Tr	Nadzemni deo <i>Sphallerocarpus gracilis</i> (Besser ex Trevir.) Koso-Pol.	(Bamoniri et al., 2010)
Sp Gr	Seme	(Gao et al., 2011)

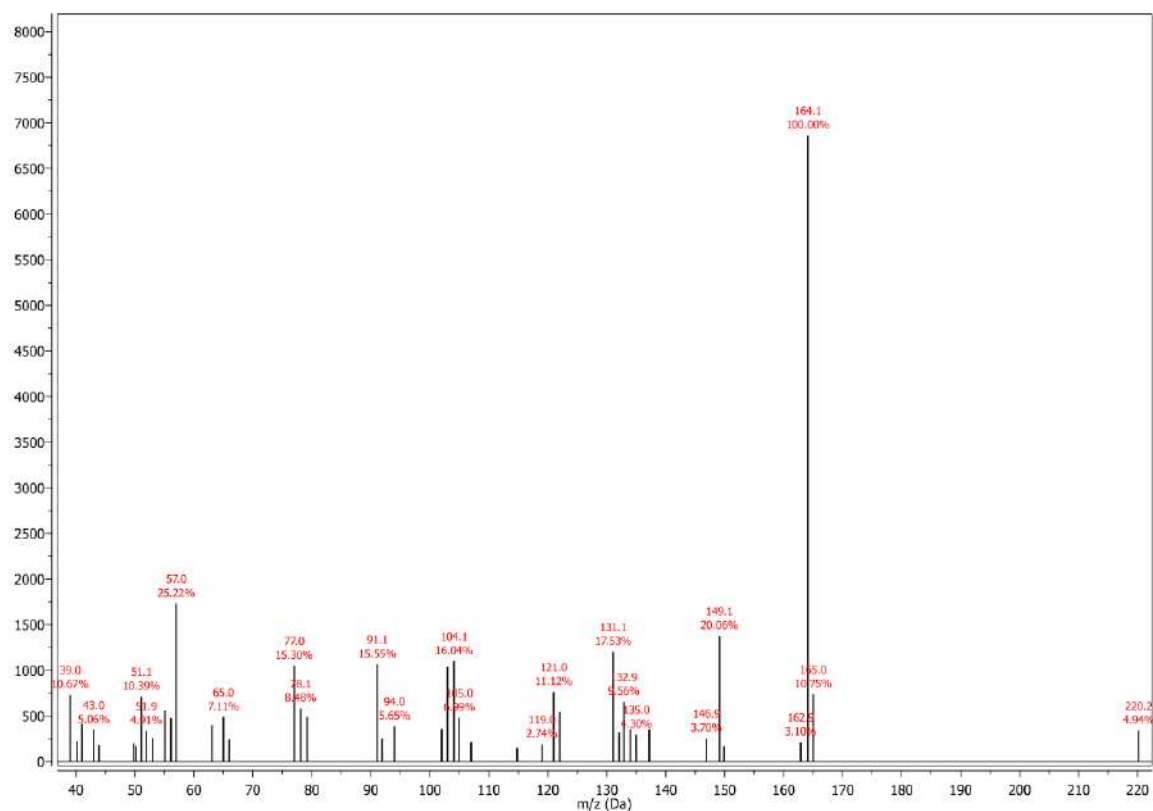
Prilog 8.3.1. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-formijata (eugenil-formijata) [3a]



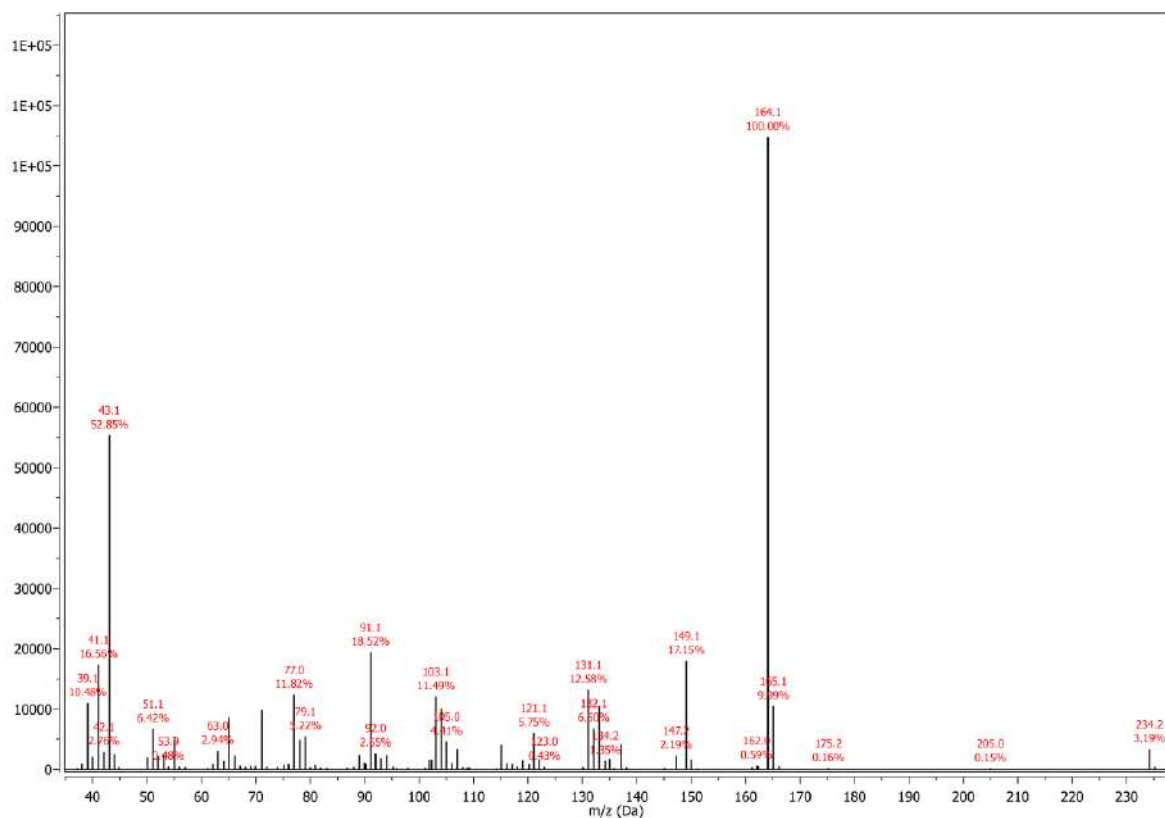
Prilog 8.3.2. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-acetata (eugenil-acetata) [3b]



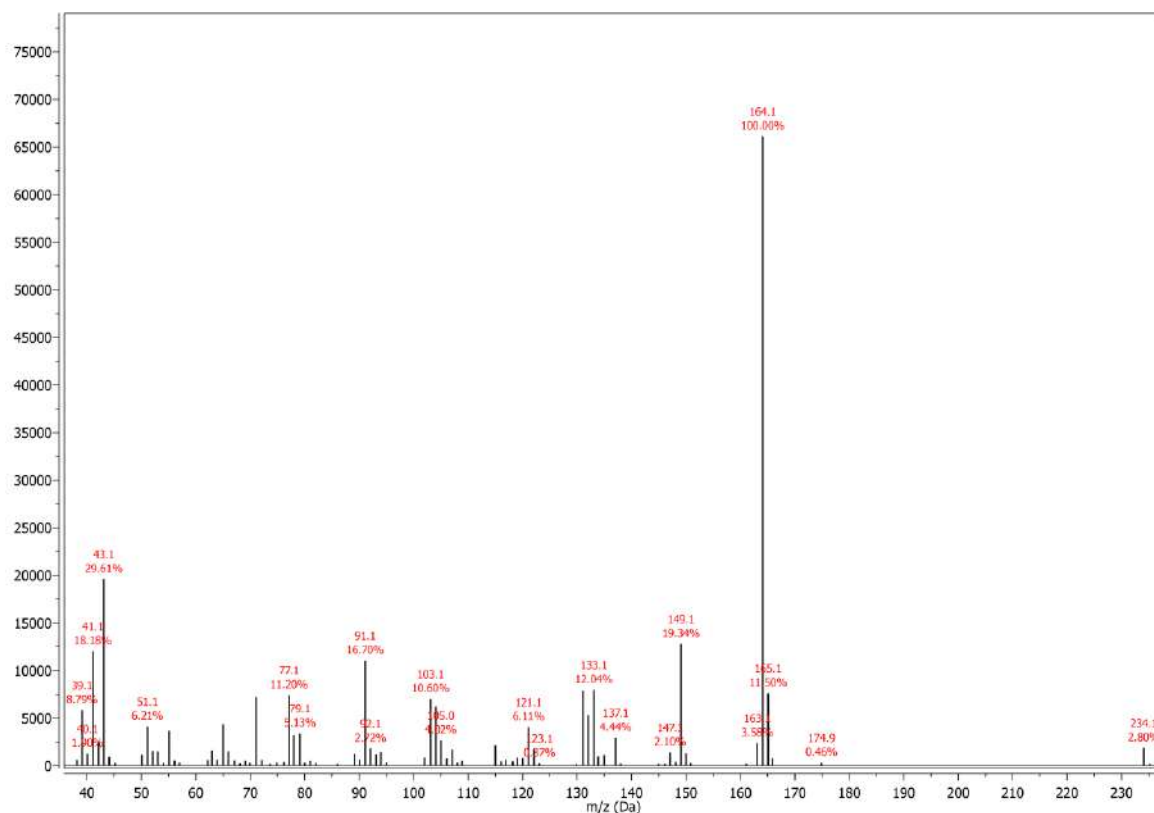
Prilog 8.3.3. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-propanoata (eugenil-propanoata) [3c]



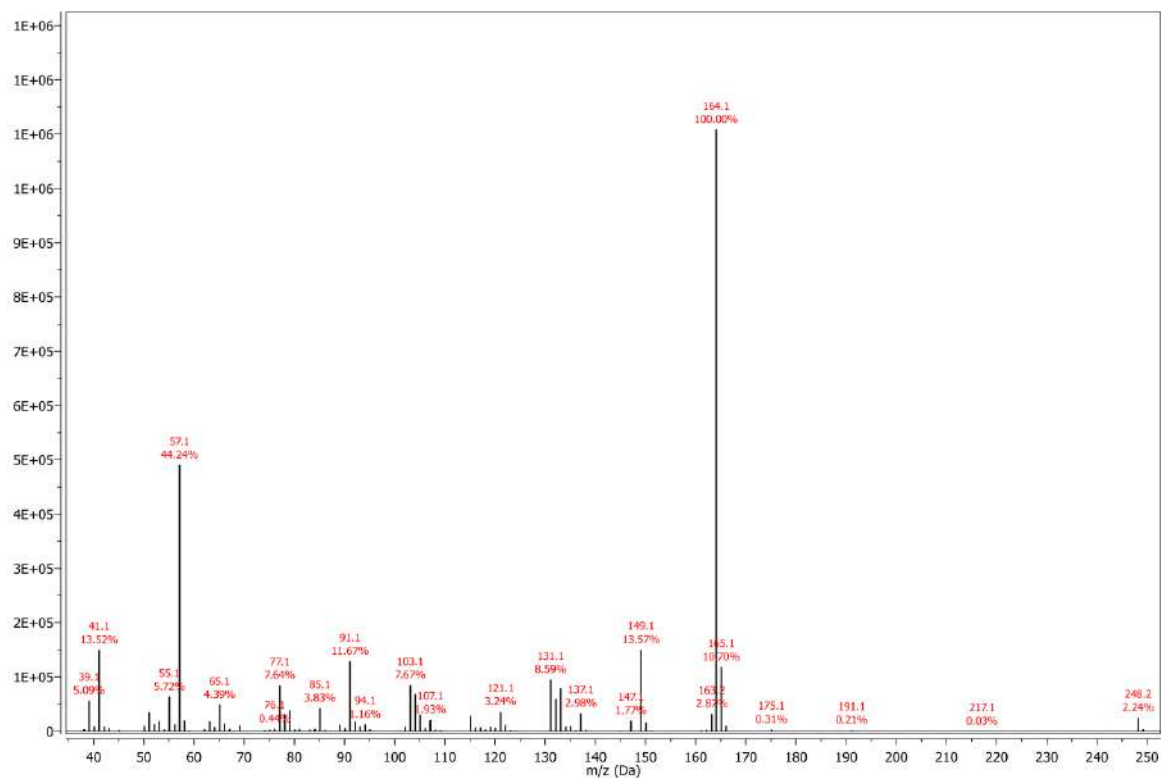
Prilog 8.3.4. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-izobutanoata (eugenil-izobutanoata) [3d]



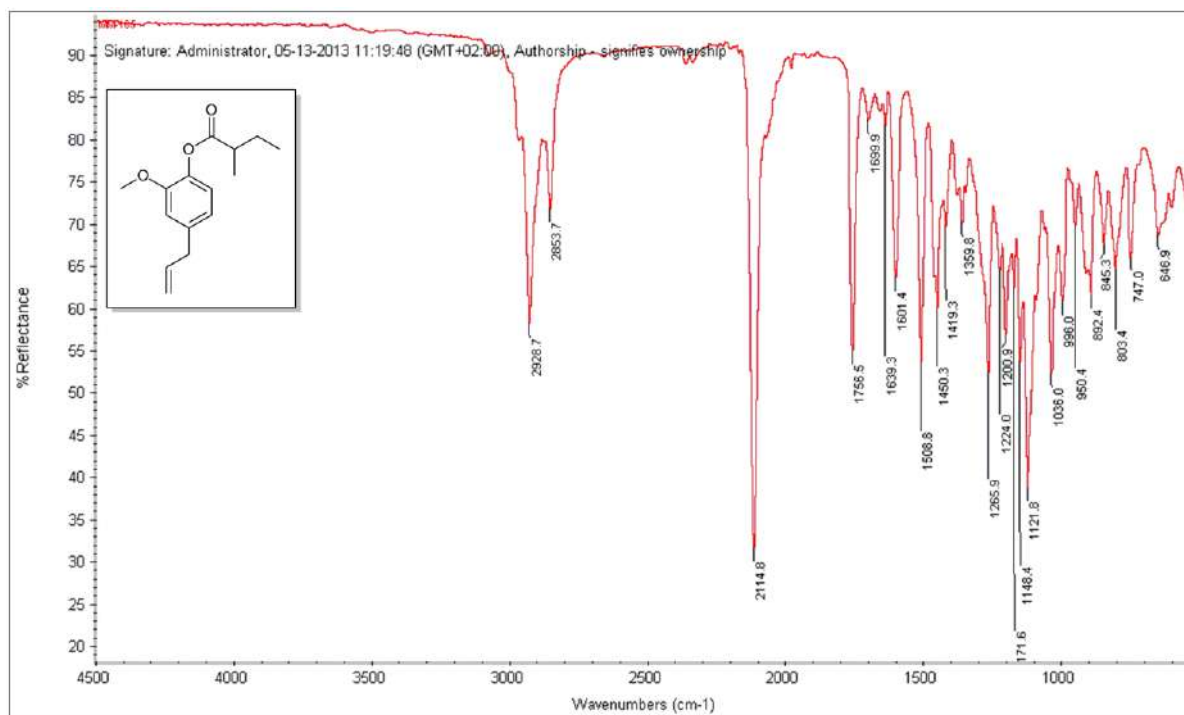
Prilog 8.3.5. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-butanoata (eugenil-butanoata) [3e]



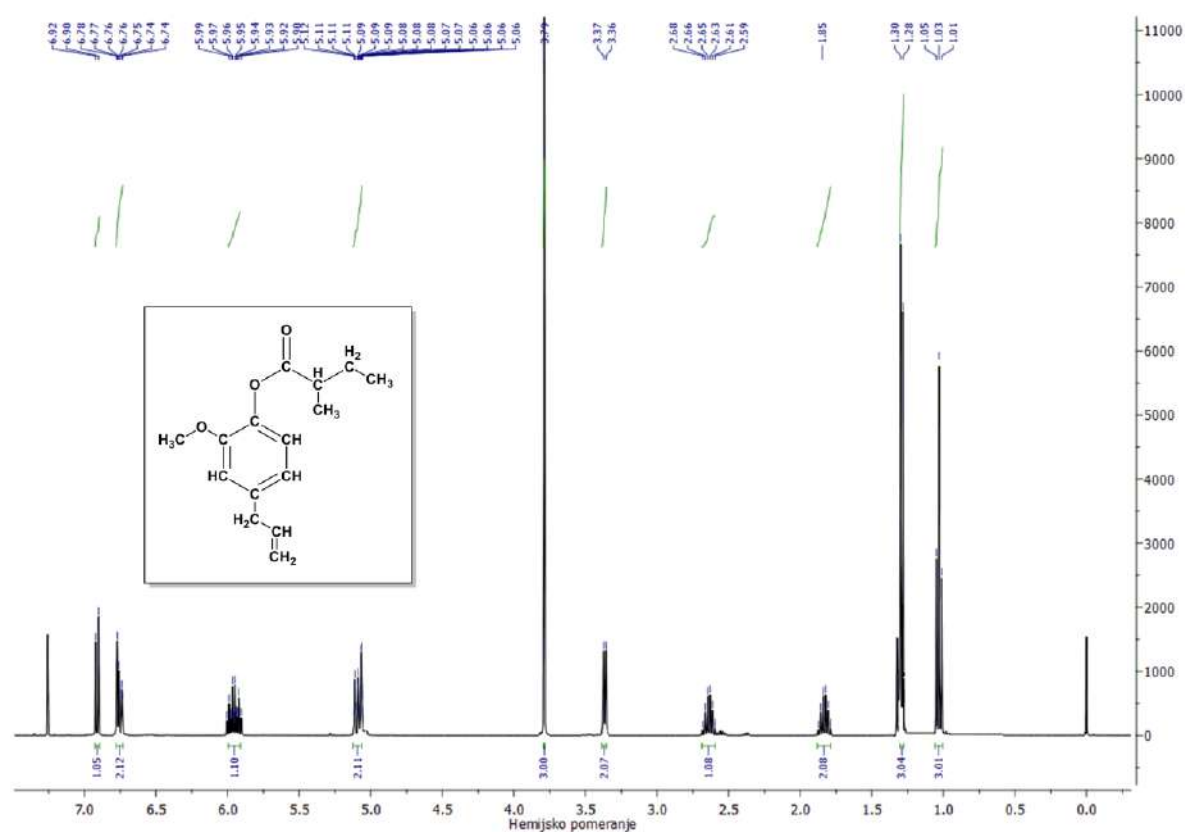
Prilog 8.3.6. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoata (eugenil-2-metilbutanoata) [3f]



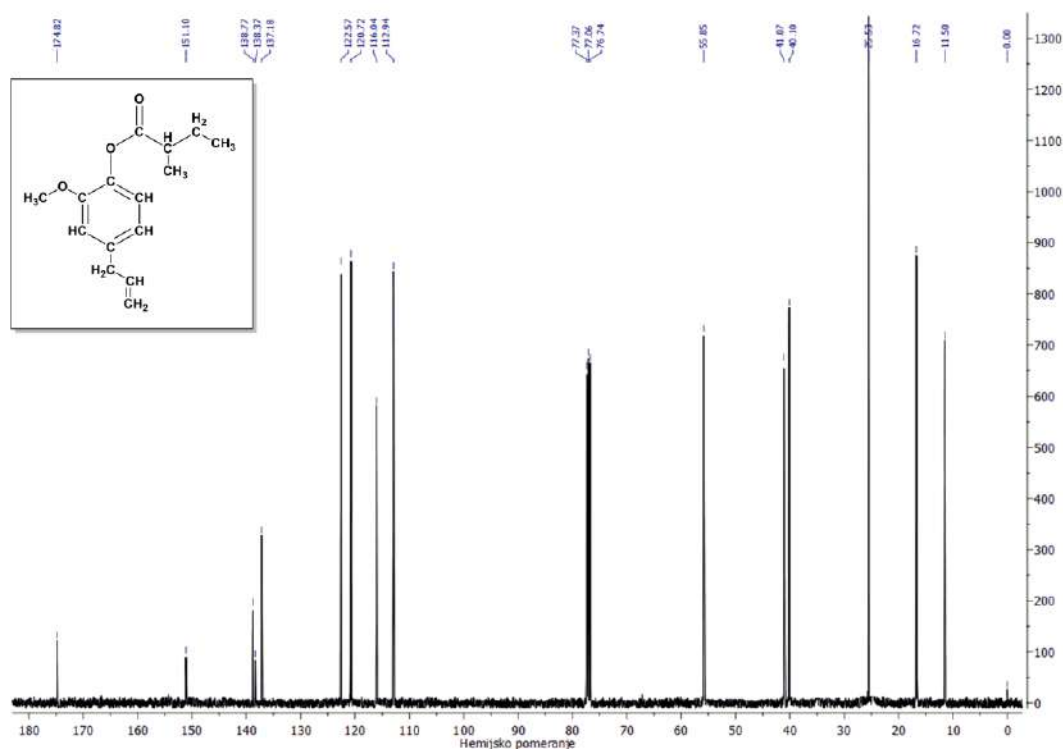
Prilog 8.3.7. IR spektar 4-alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoata (eugenil-2-metilbutanoata) [3f]



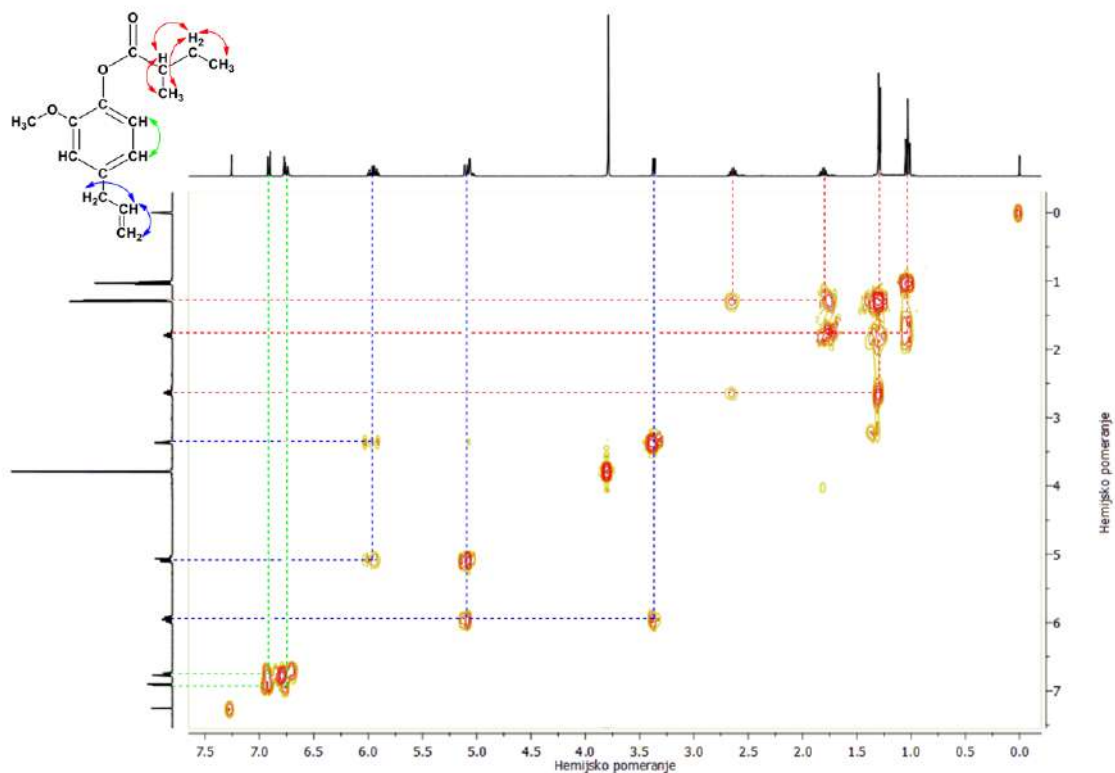
Prilog 8.3.8. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) spektar 4-alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoata (eugenil-2-metilbutanoata) [3f]



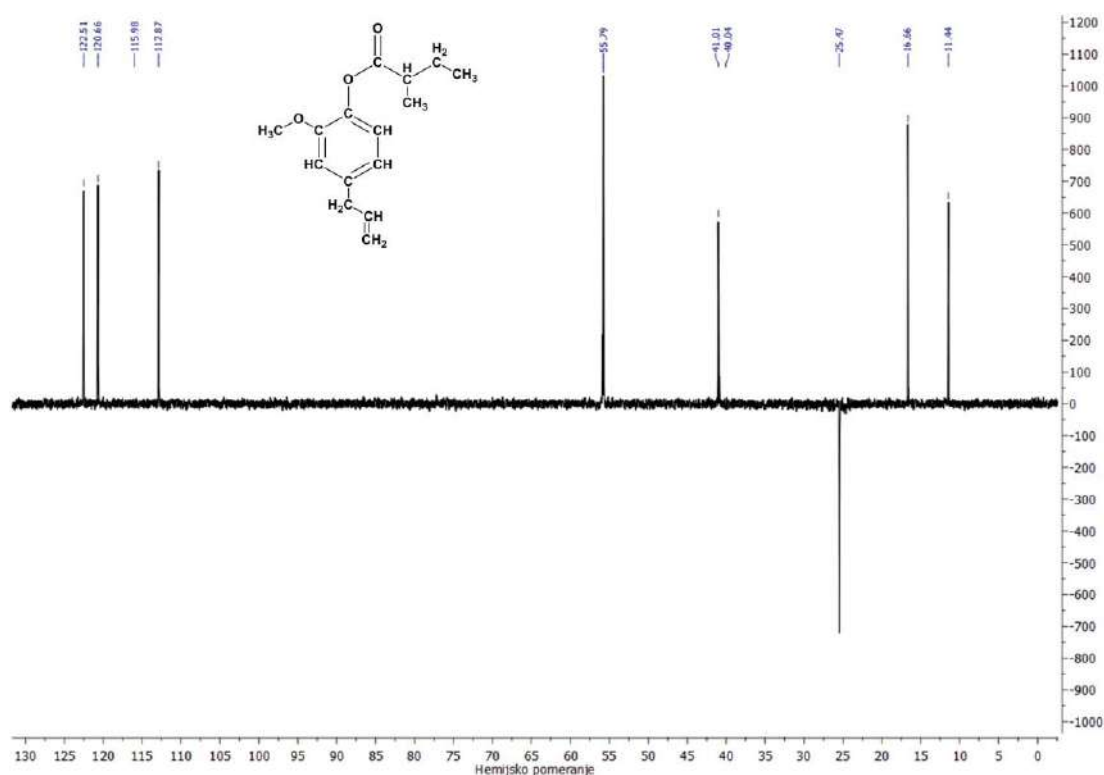
Prilog 8.3.9. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoata (eugenil-2-metilbutanoata) [3f]



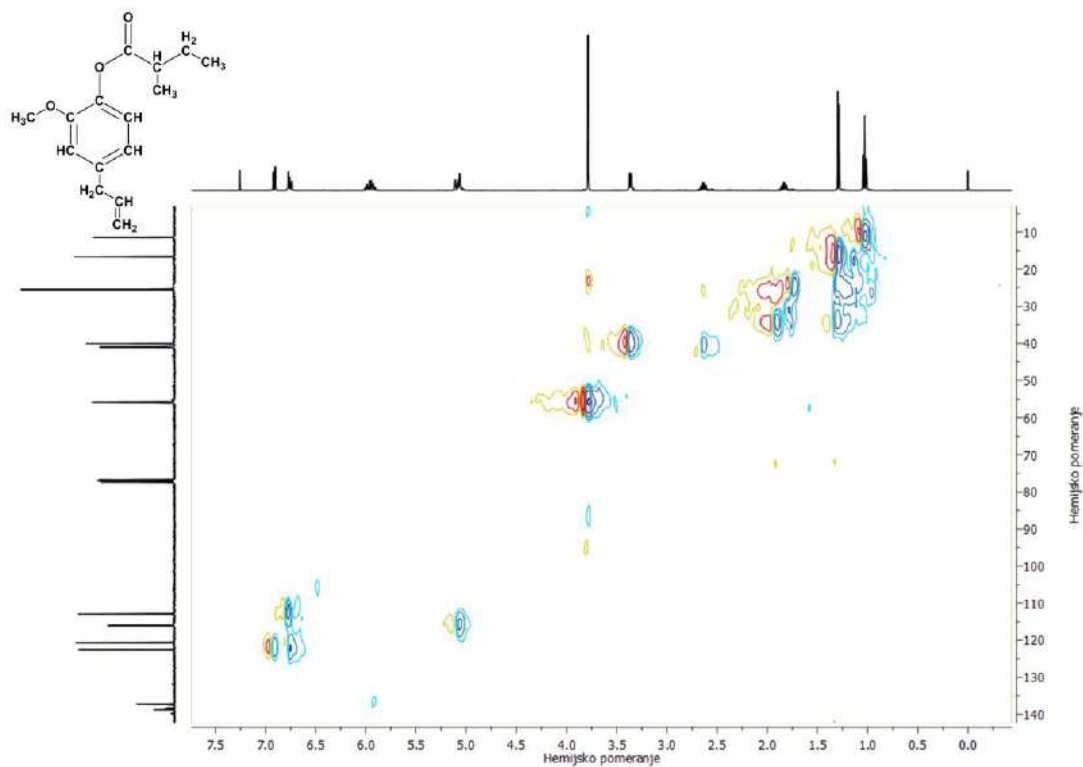
Prilog 8.3.10. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar 4-alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoata (eugenil-2-metilbutanoata) [3f]



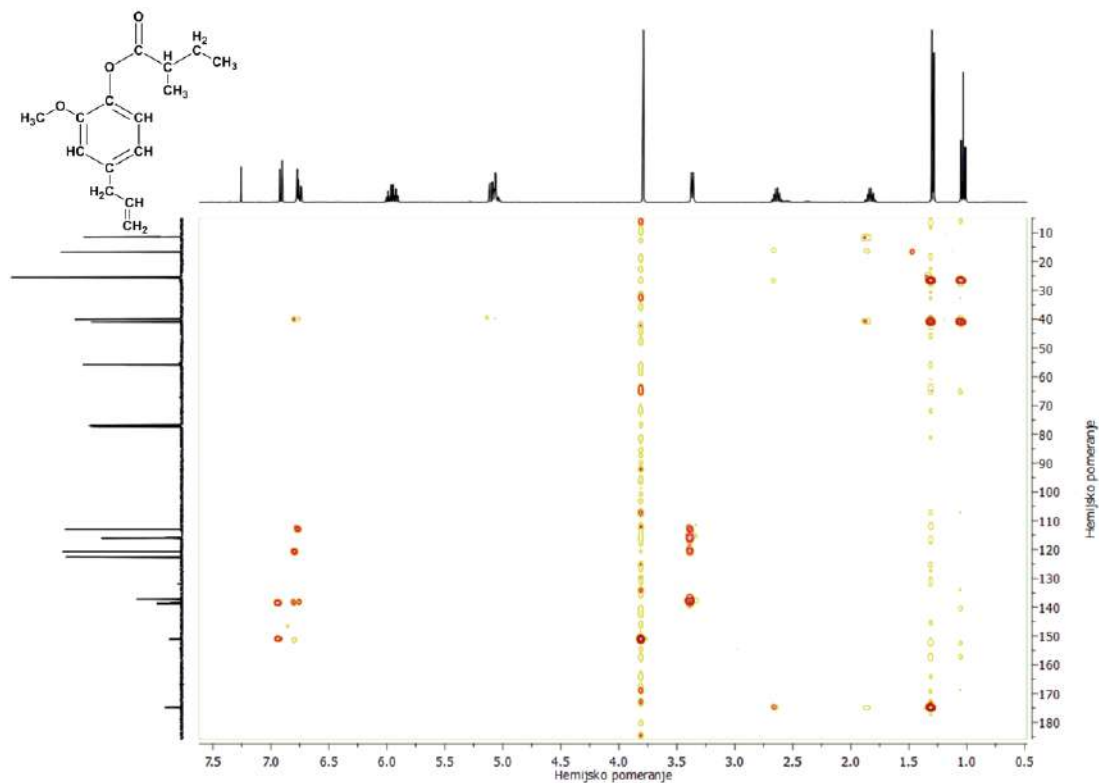
Prilog 8.3.11. DEPT spektar 4-alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoata (eugenil-2-metilbutanoata) [3f]



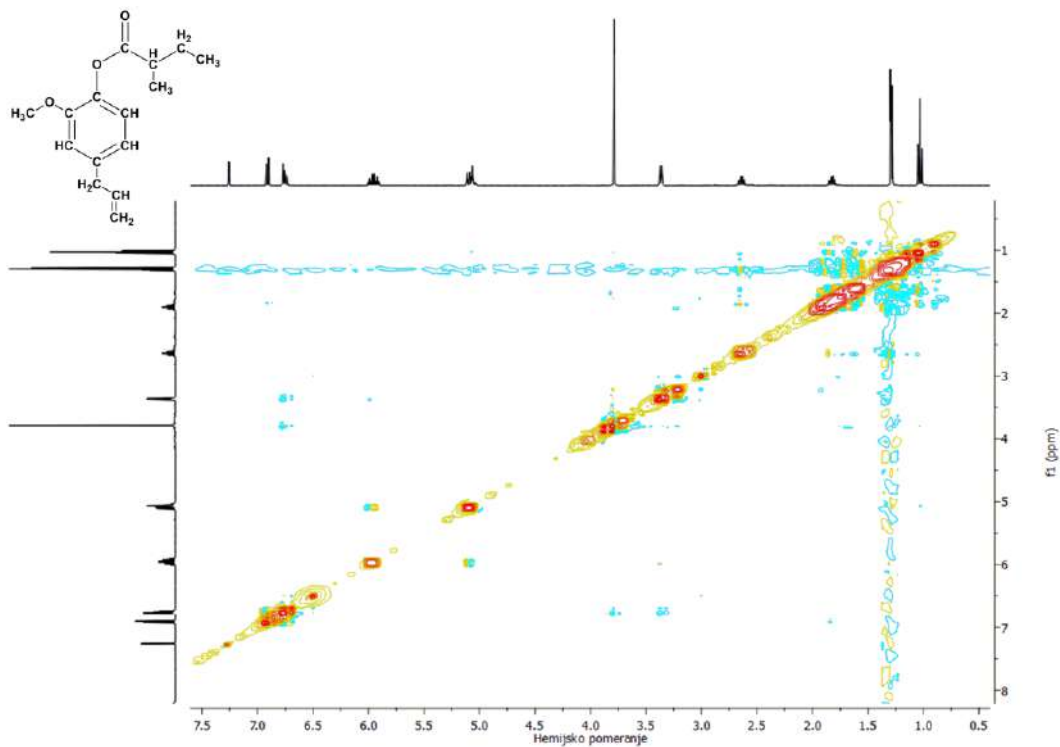
Prilog 8.3.12. HSQC spektar 4-alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoata (eugenil-2-metilbutanoata) [3f]



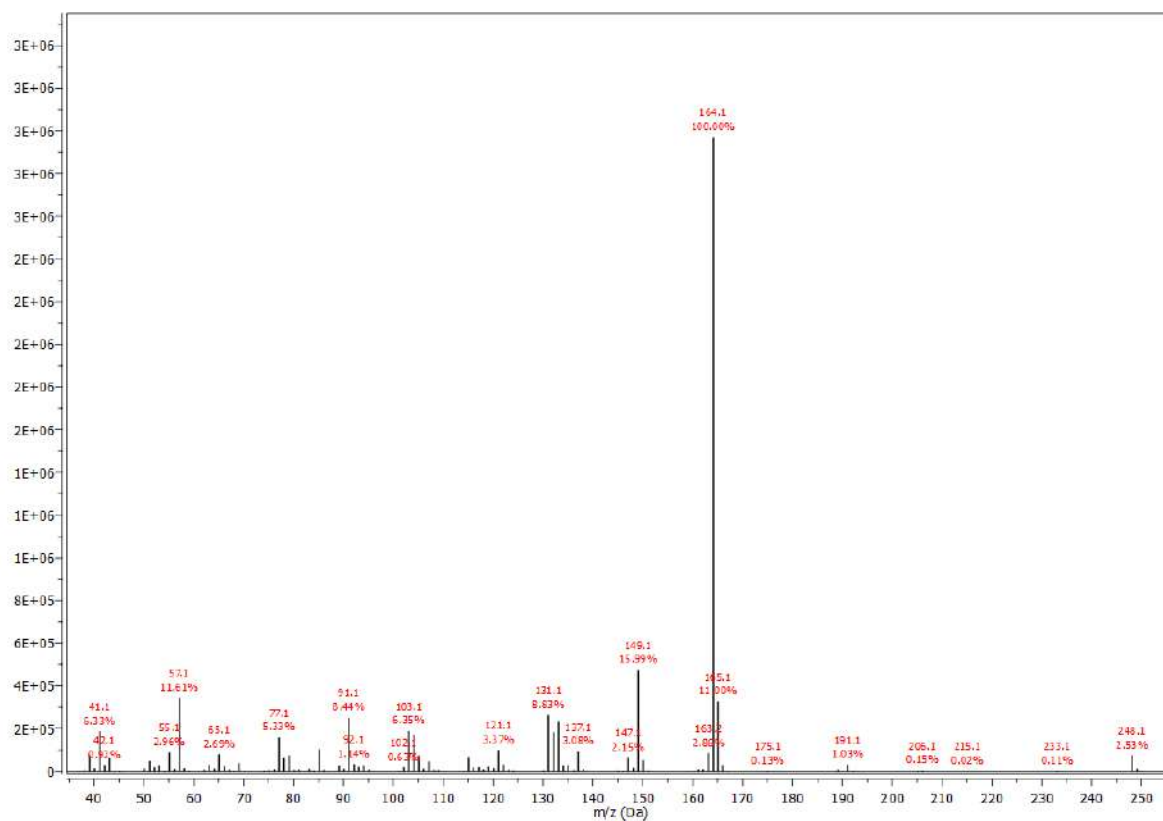
Prilog 8.3.13. HMBC spektar 4-alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoata (eugenil-2-metilbutanoata) [3f]



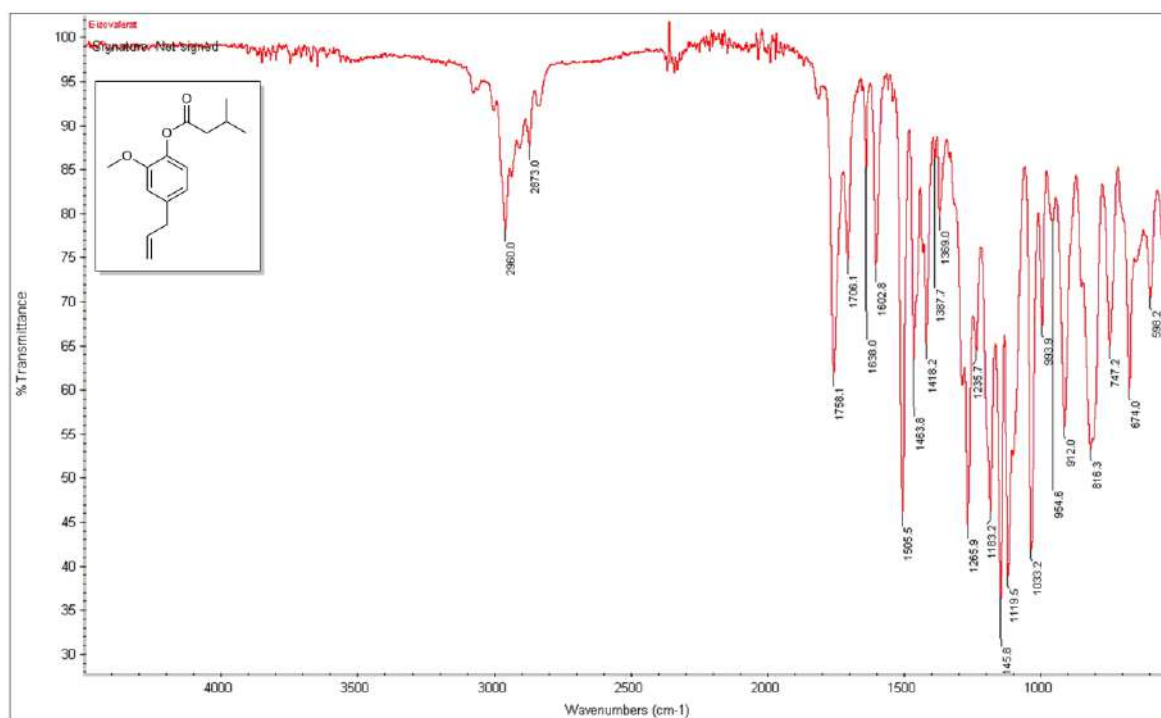
Prilog 8.3.14. NOESY spektar 4-alil-2-metoksifenil-2-metilbutanoata (eugenil-2-metilbutanoata) [3f]



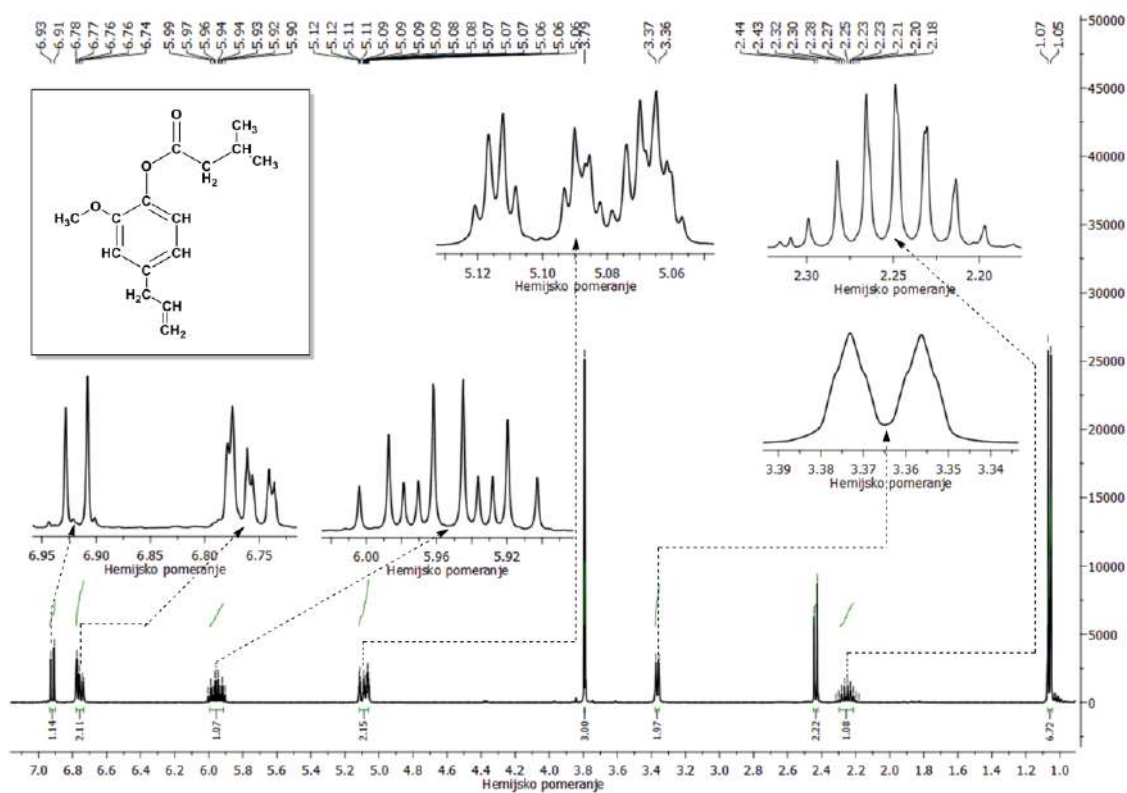
Prilog 8.3.15. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata (eugenil-3-metilbutanoata) [3g]



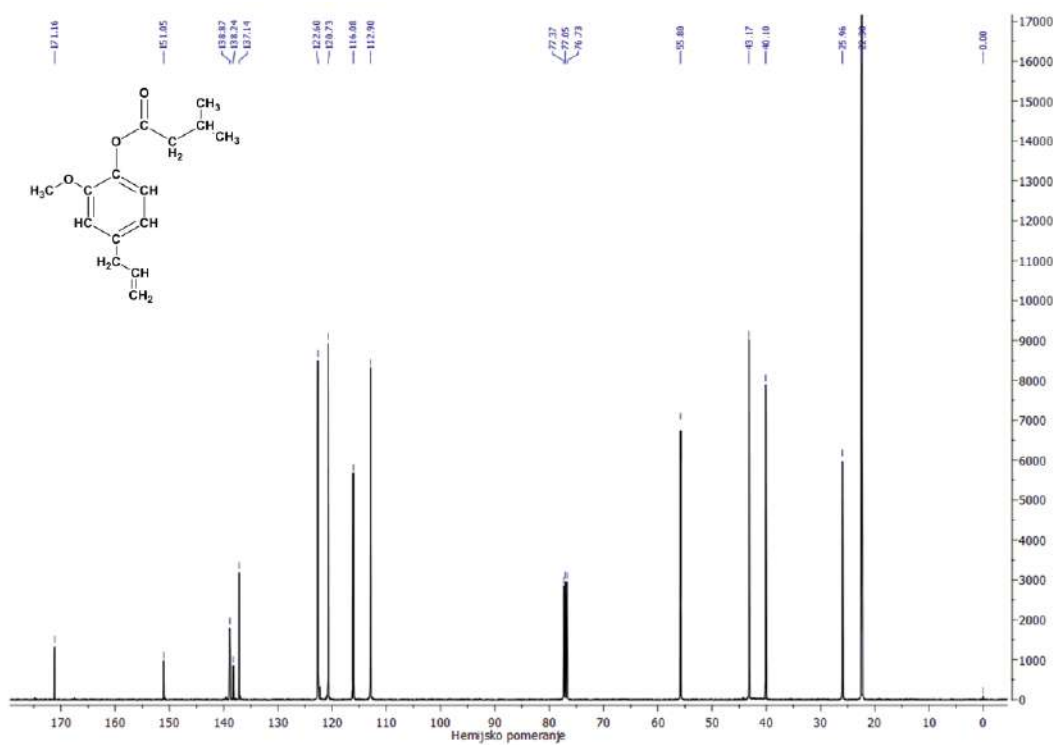
Prilog 8.3.16. IR spektar 4-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata (eugenil-3-metilbutanoata) [3g]



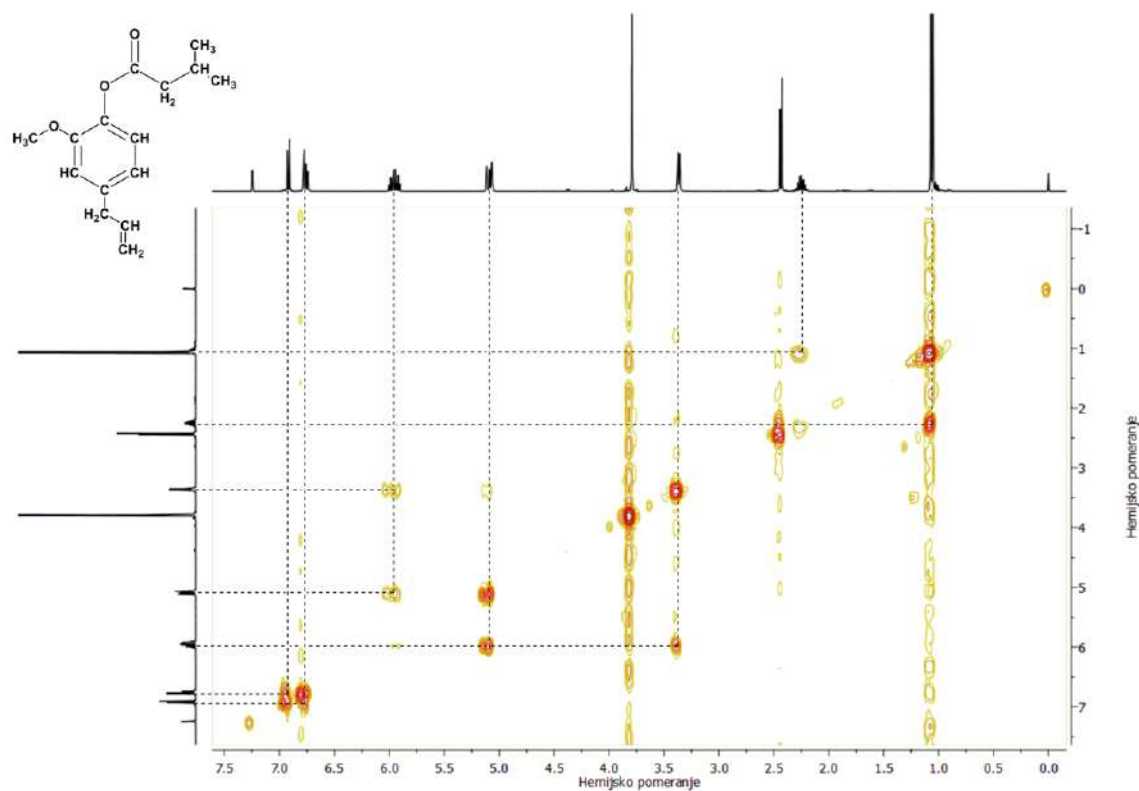
Prilog 8.3.17. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata (eugenil-3-metilbutanoata) [3g]



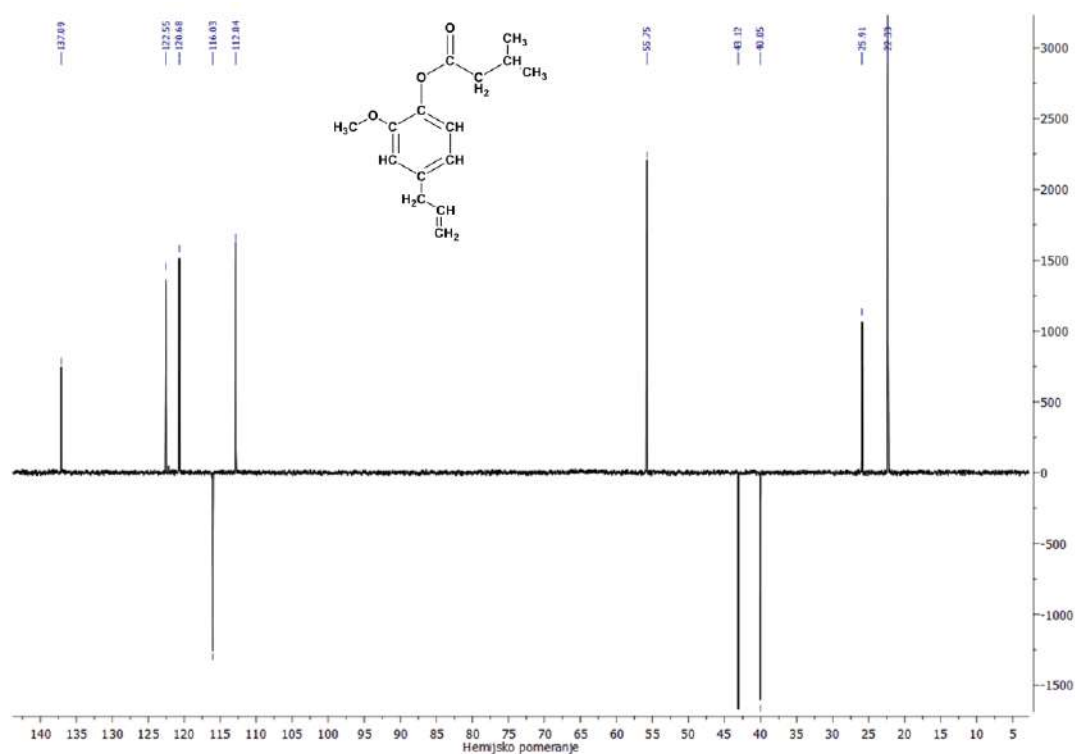
Prilog 8.3.18. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata (eugenil-3-metilbutanoata) [3g]



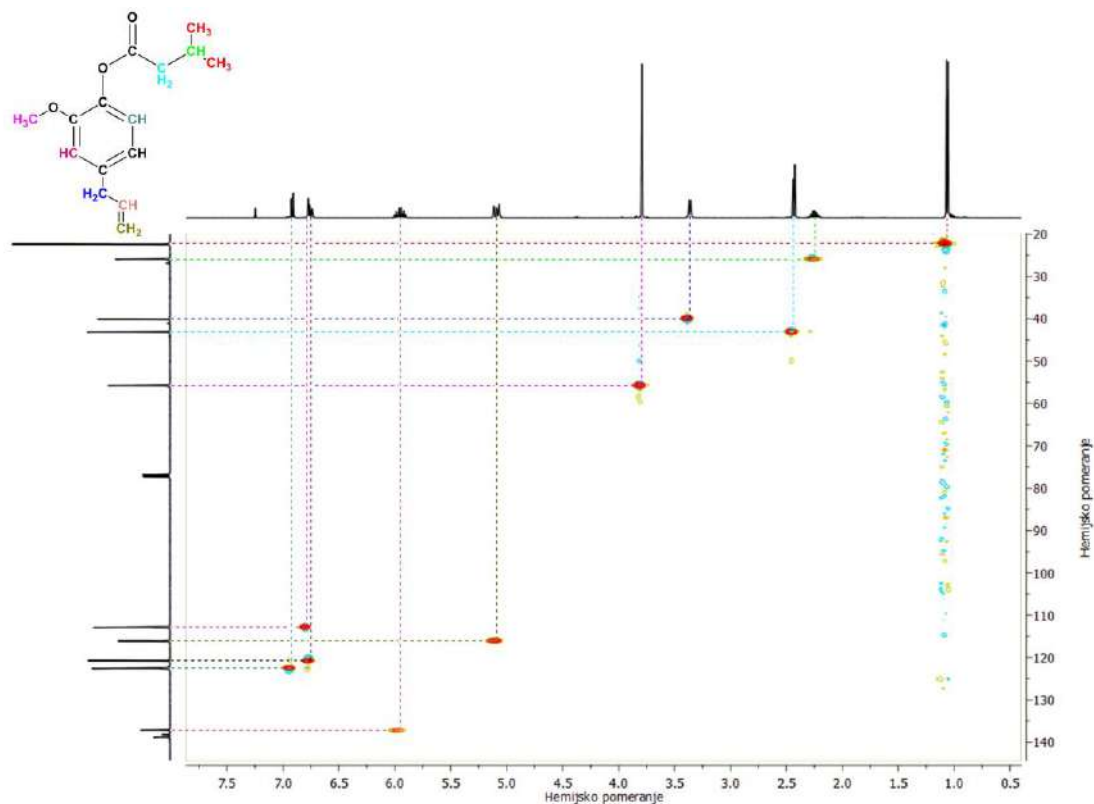
Prilog 8.3.19. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar 4-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata (eugenil-3-metilbutanoata) [3g]



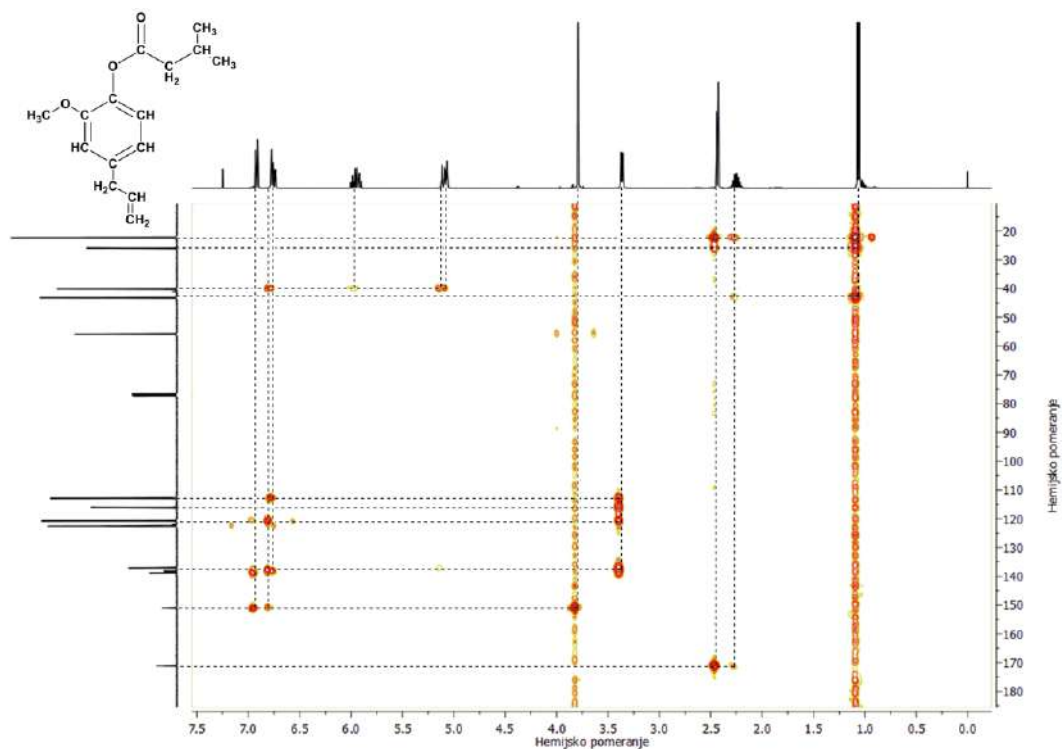
Prilog 8.3.20. DEPT spektar 4-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata (eugenil-3-metilbutanoata) [3g]



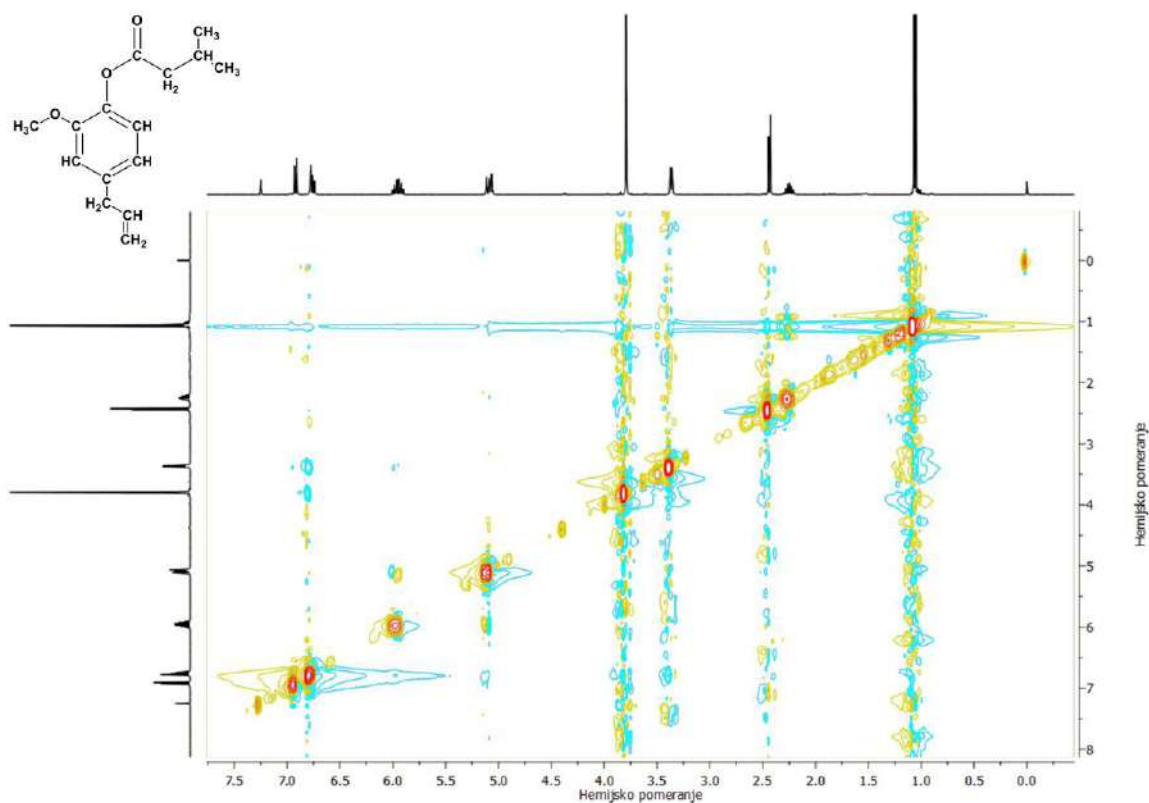
Prilog 8.3.21. HSQC spektar 4-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata (eugenil-3-metilbutanoata) [3g]



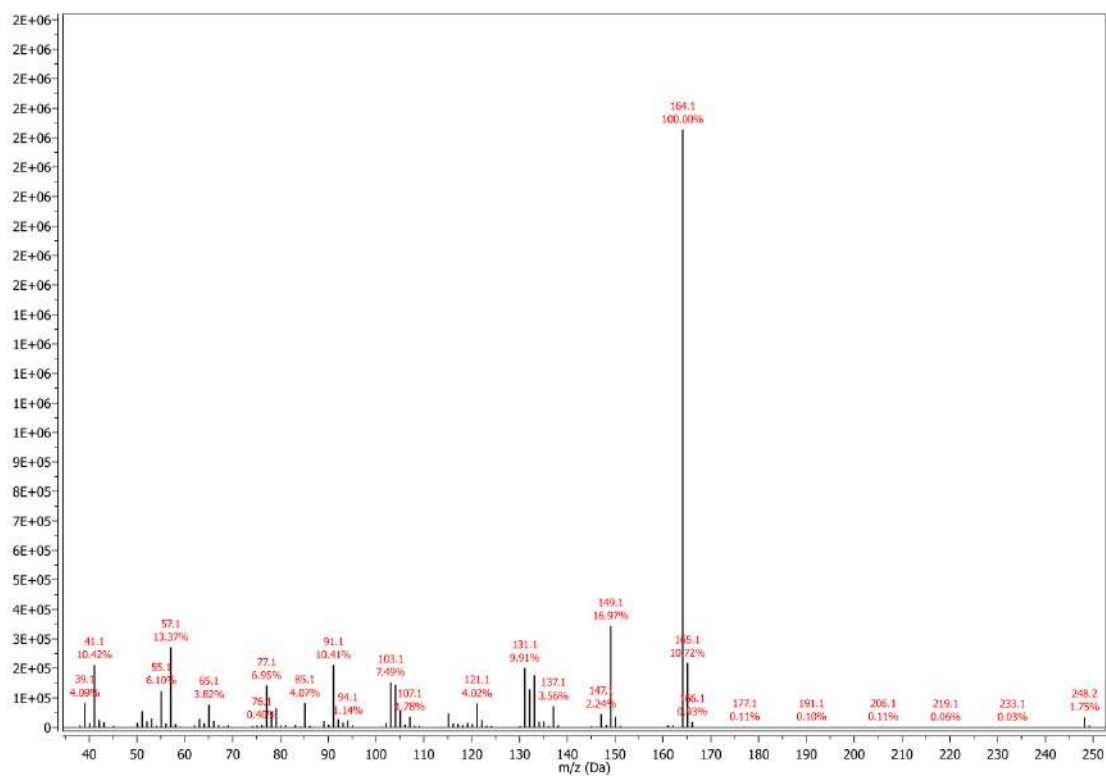
Prilog 8.3.22. HMBC spektar 4-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata (eugenil-3-metilbutanoata) [3g]



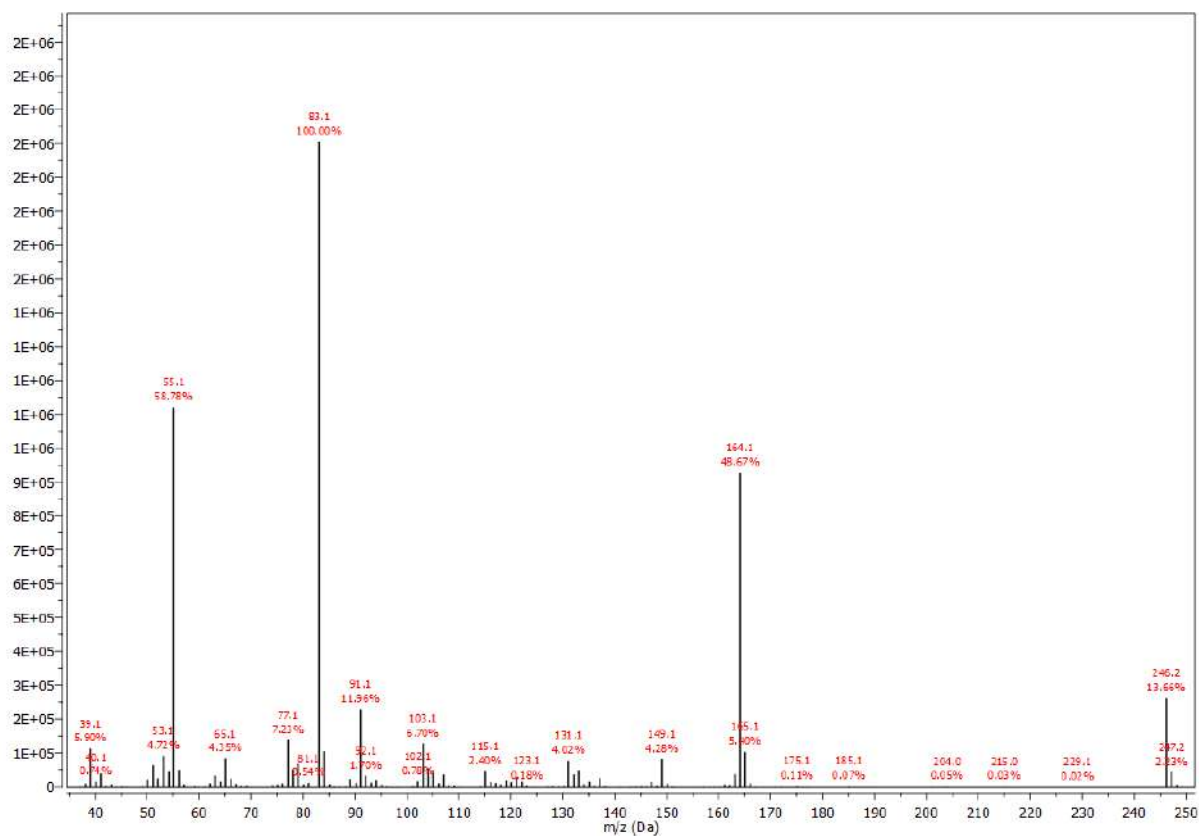
Prilog 8.3.23. NOESY spektar 4-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata (eugenil-3-metilbutanoata) [3g]



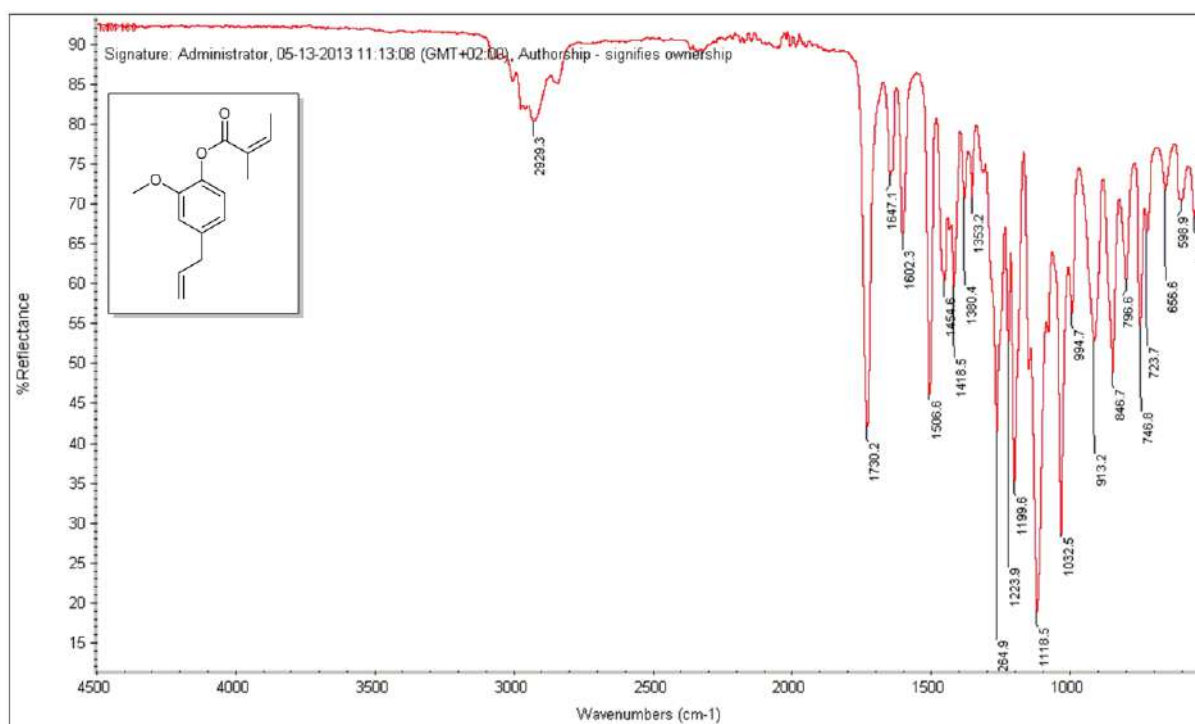
Prilog 8.3.24. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-pentanoata (eugenil-pentanoata) [3h]



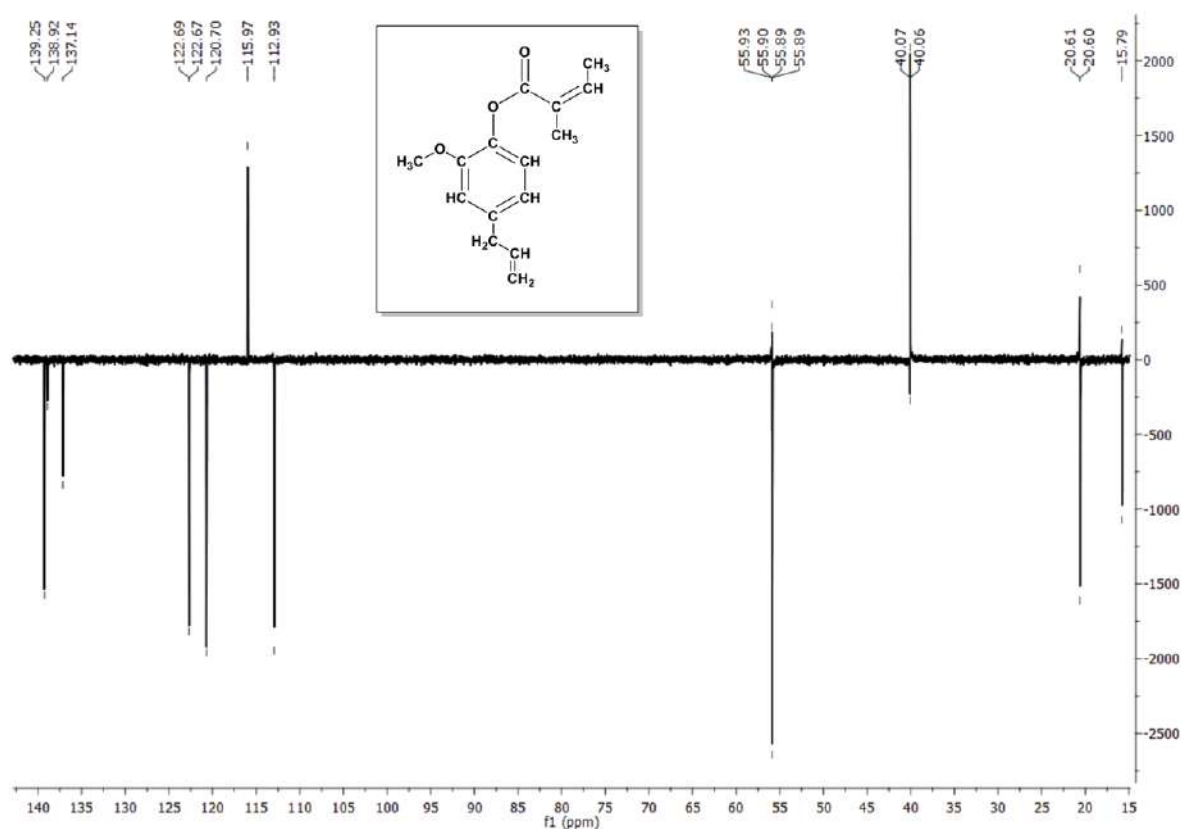
Prilog 8.3.25. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-angelata (eugenil-angelata) [3i]



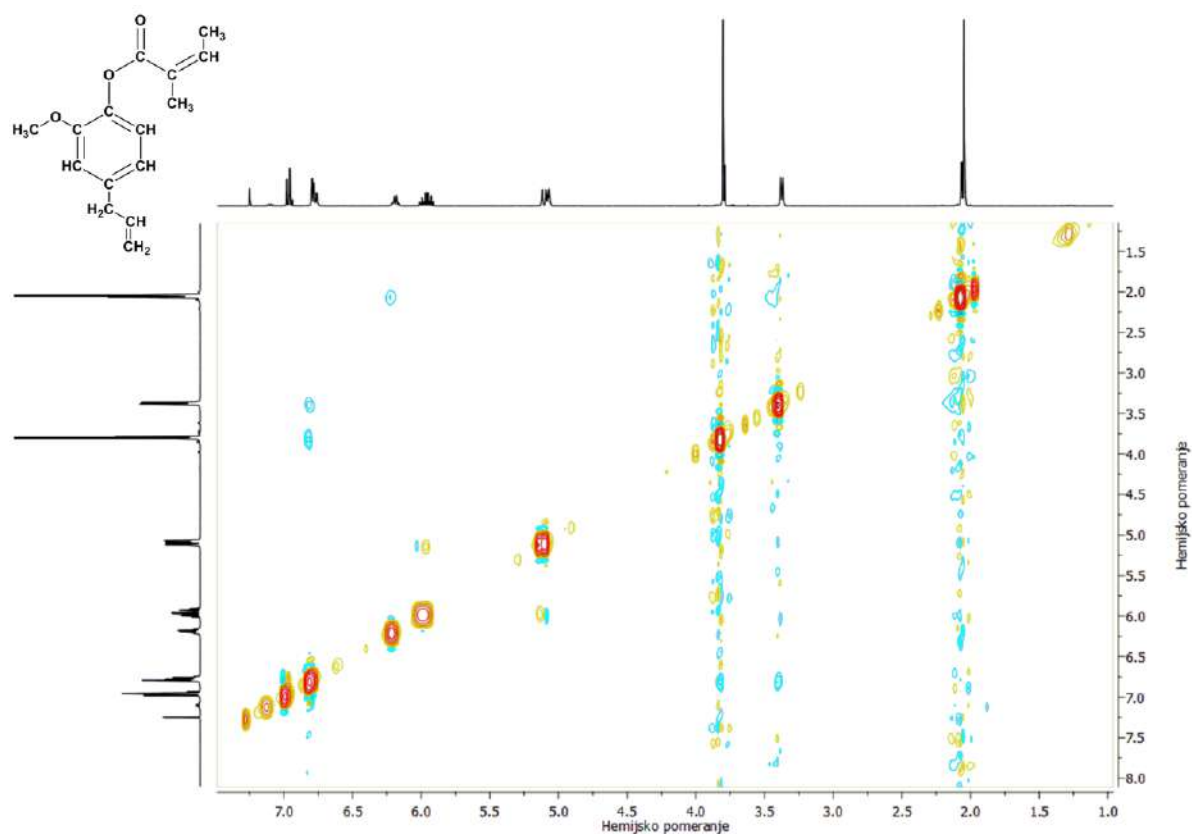
Prilog 8.3.26. IR spektar 4-alil-2-metoksifenil-angelata (eugenil-angelata) [3i]



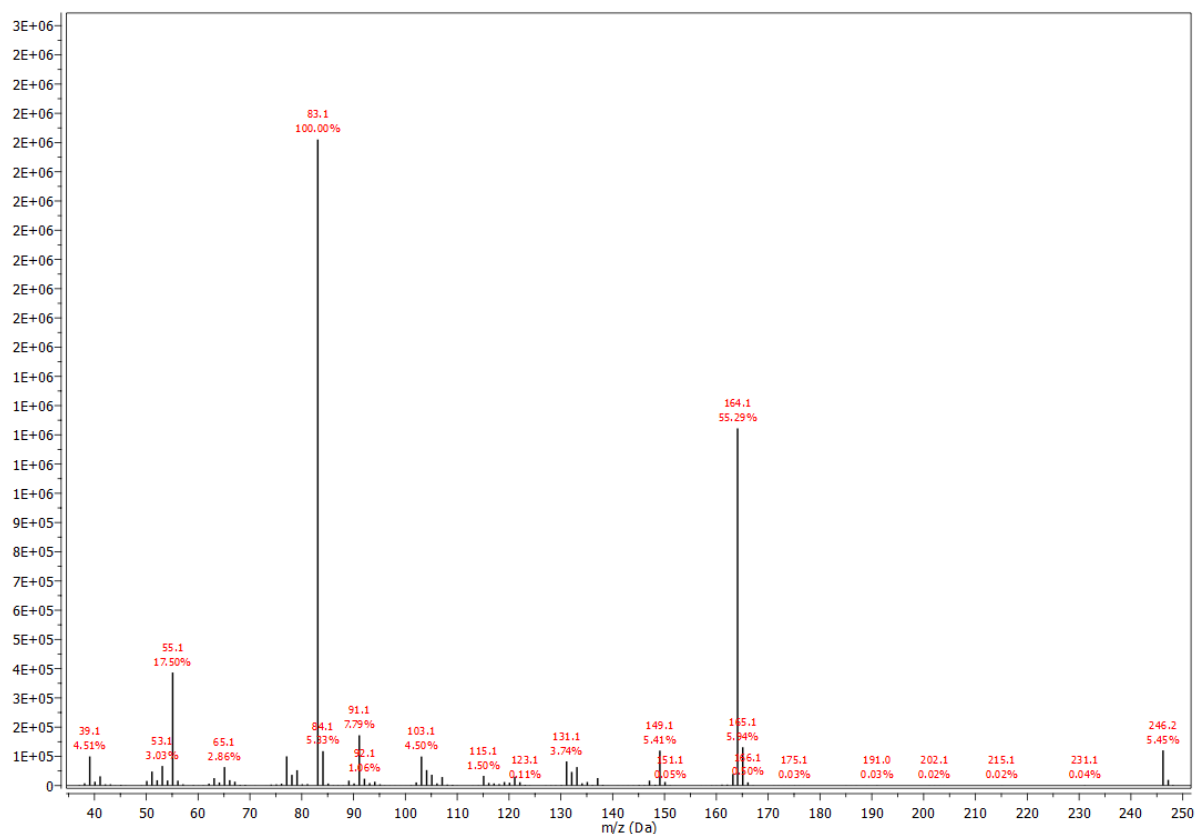
Prilog 8.3.27. DEPT spektar 4-alil-2-metoksifenil-angelata (eugenil-angelata) [3i]



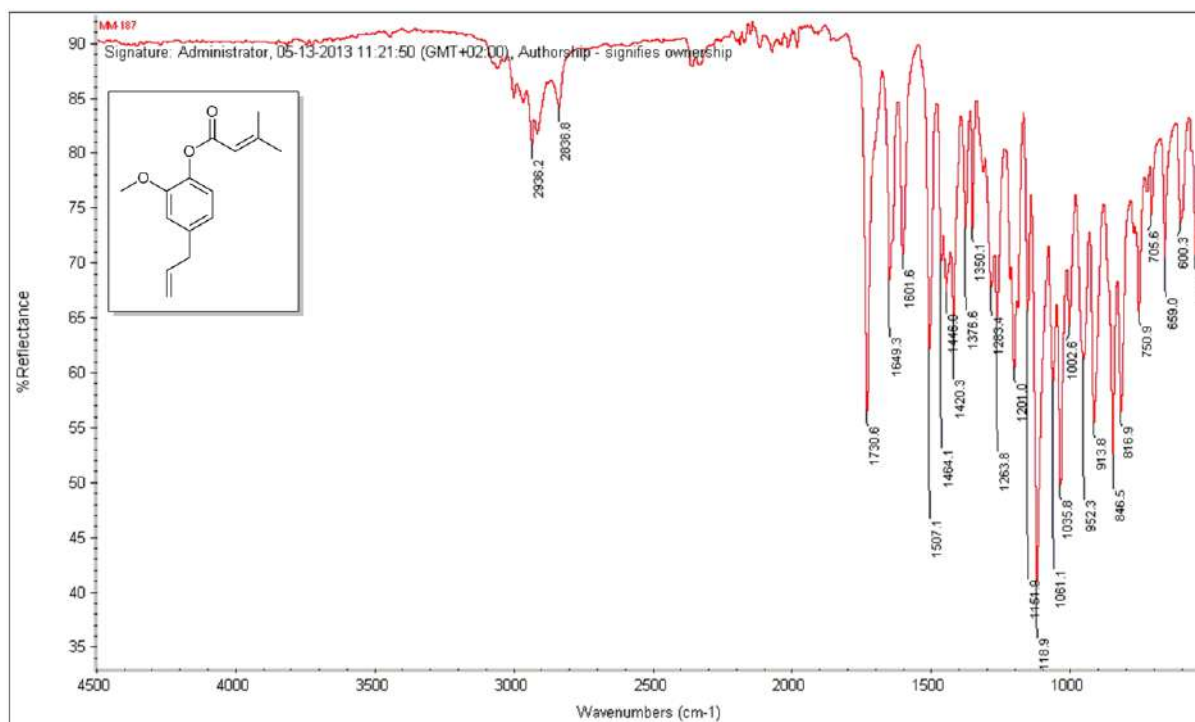
Prilog 8.3.28. NOESY spektar 4-alil-2-metoksifenil-angelata (eugenil-angelata) [3i]



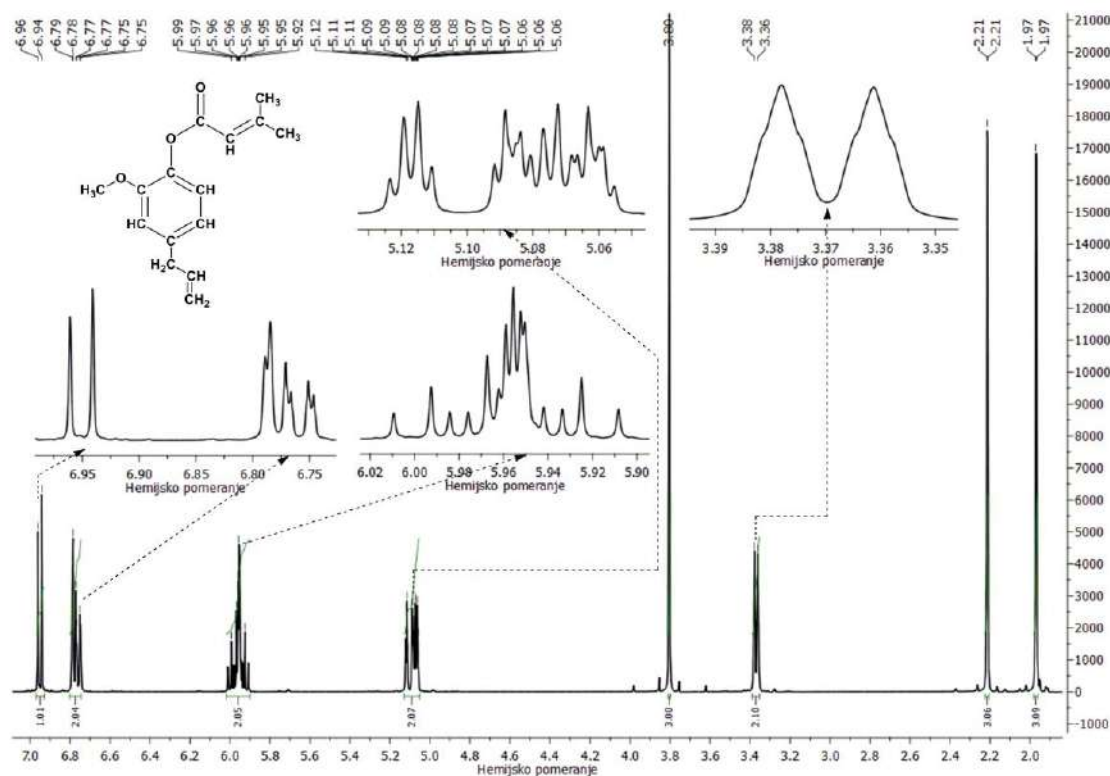
Prilog 8.3.29. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-senecioata (eugenil-senecioata) [3j]



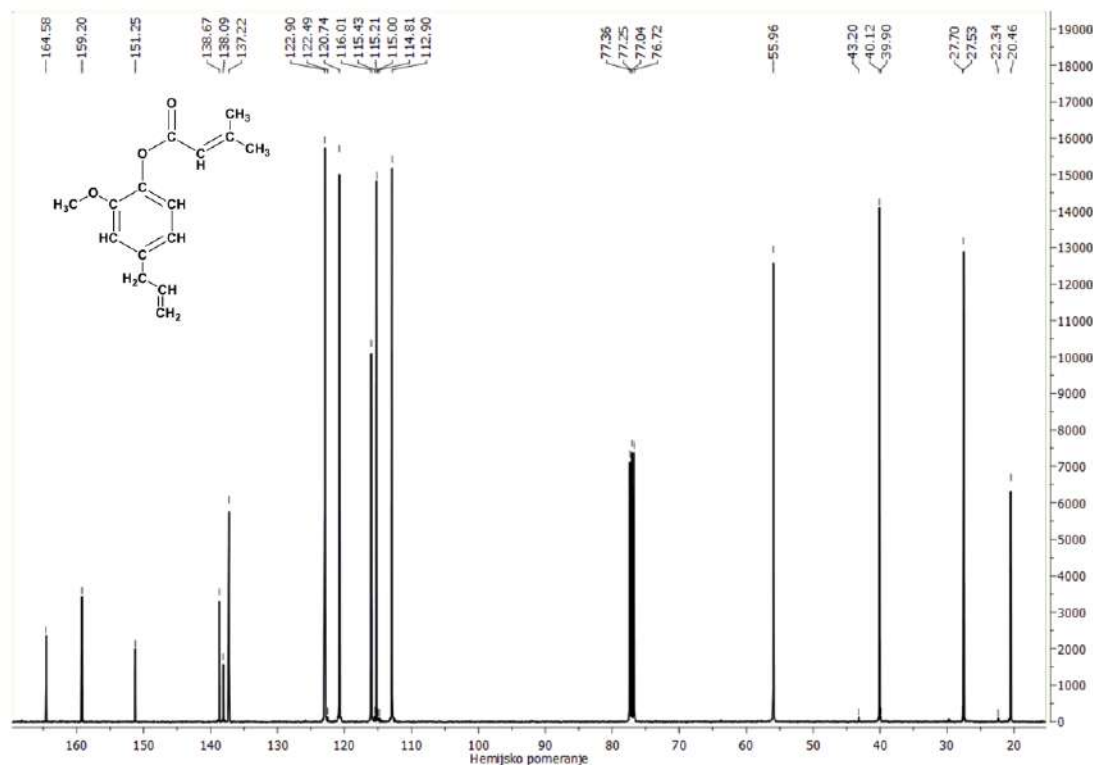
Prilog 8.3.30. IR spektar 4-alil-2-metoksifenil-senecioata (eugenil-senecioata) [3j]



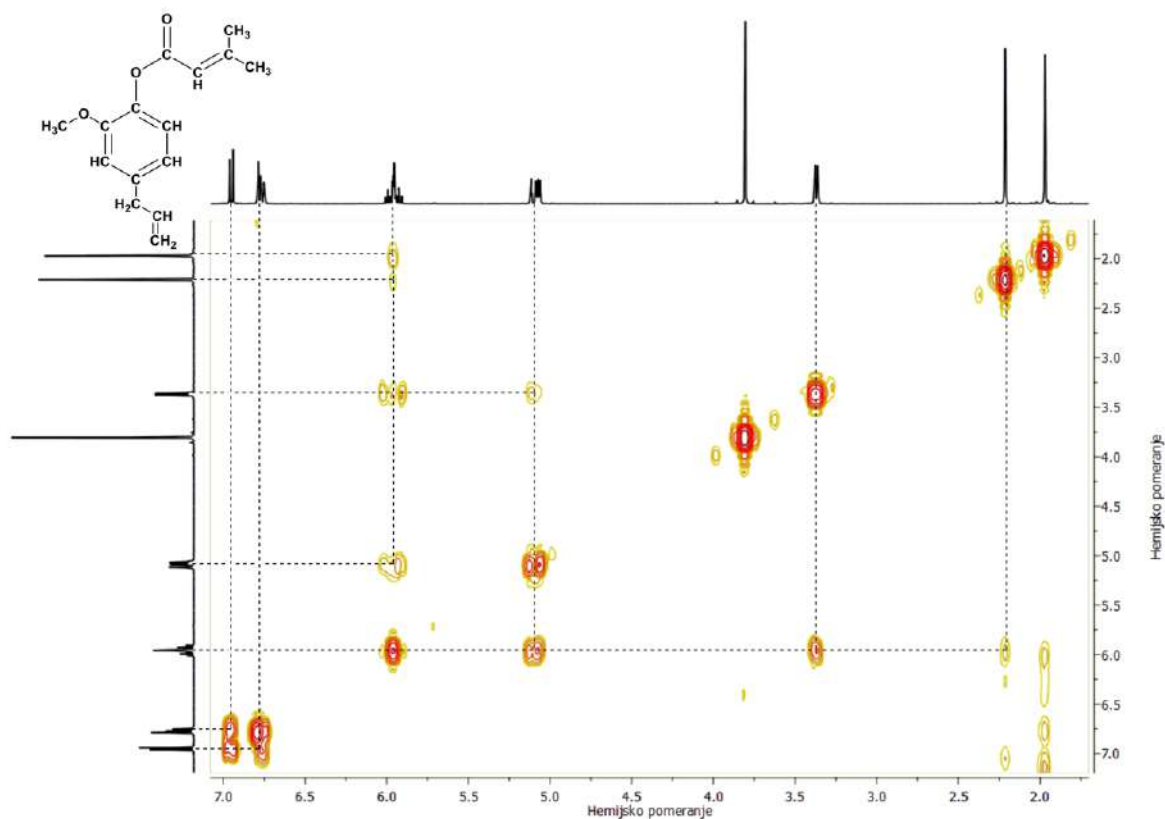
Prilog 8.3.31. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-senecioata (eugenil-senecioata) [3j]



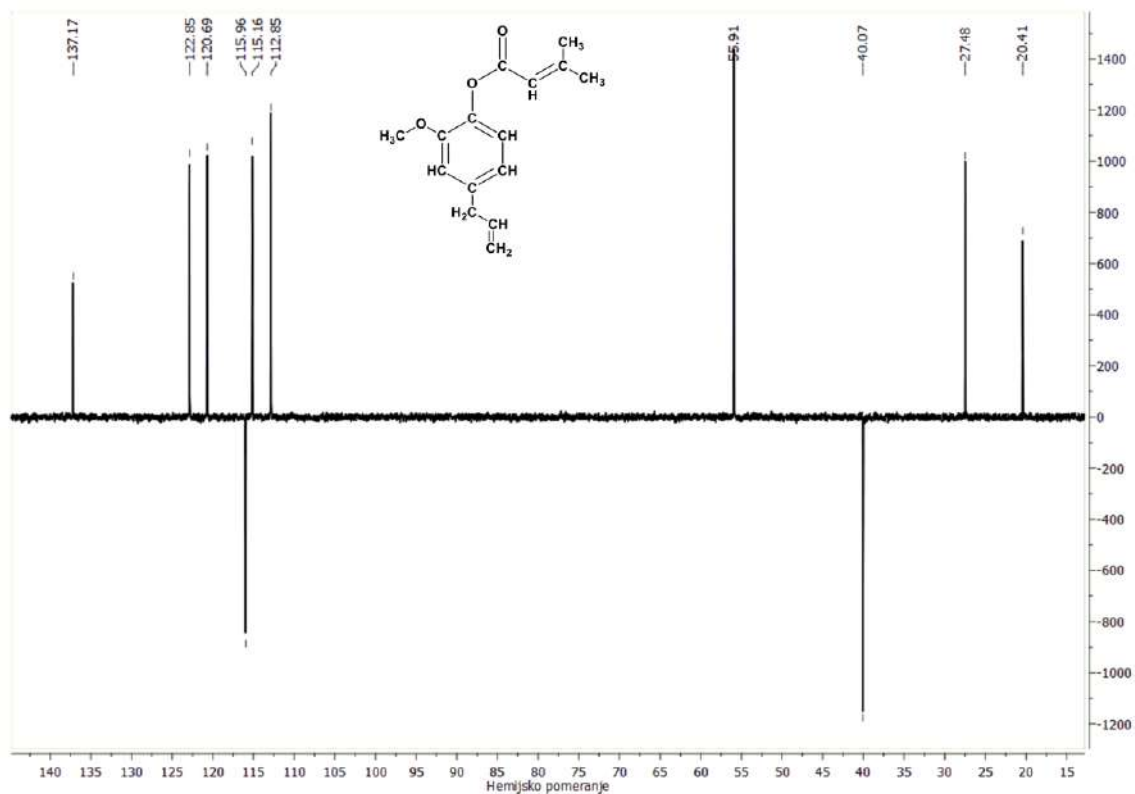
Prilog 8.3.32. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-senecioata (eugenil-senecioata) [3j]



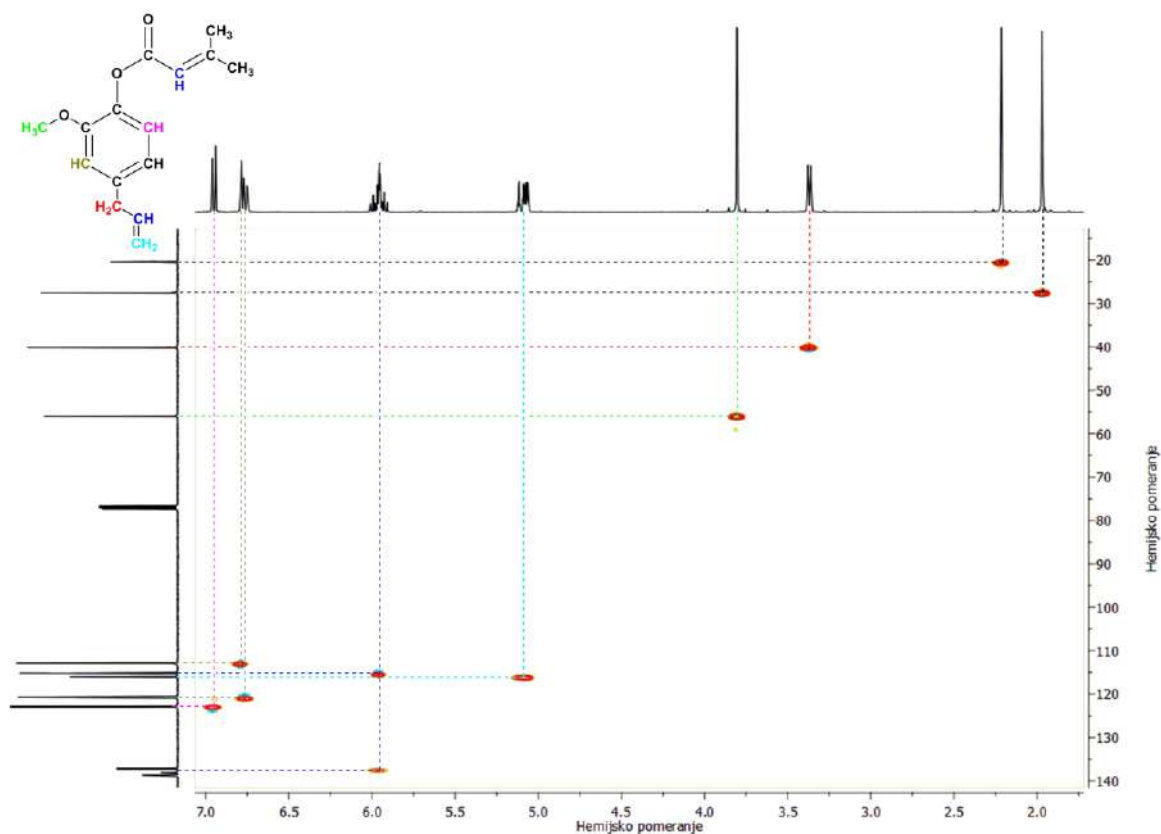
Prilog 8.3.33. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar 4-alil-2-metoksifenil-senecioata (eugenil-senecioata) [3j]



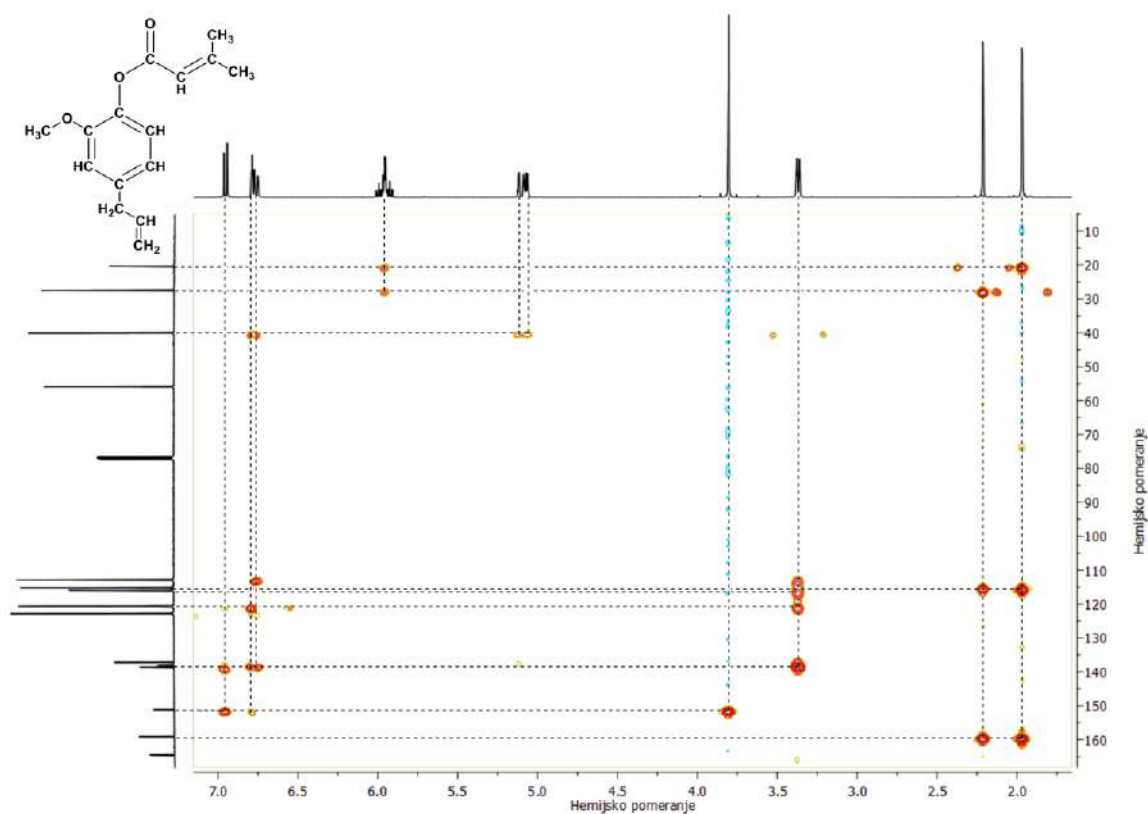
Prilog 8.3.34. DEPT spektar 4-alil-2-metoksifenil-senecioata (eugenil-senecioata) [3j]



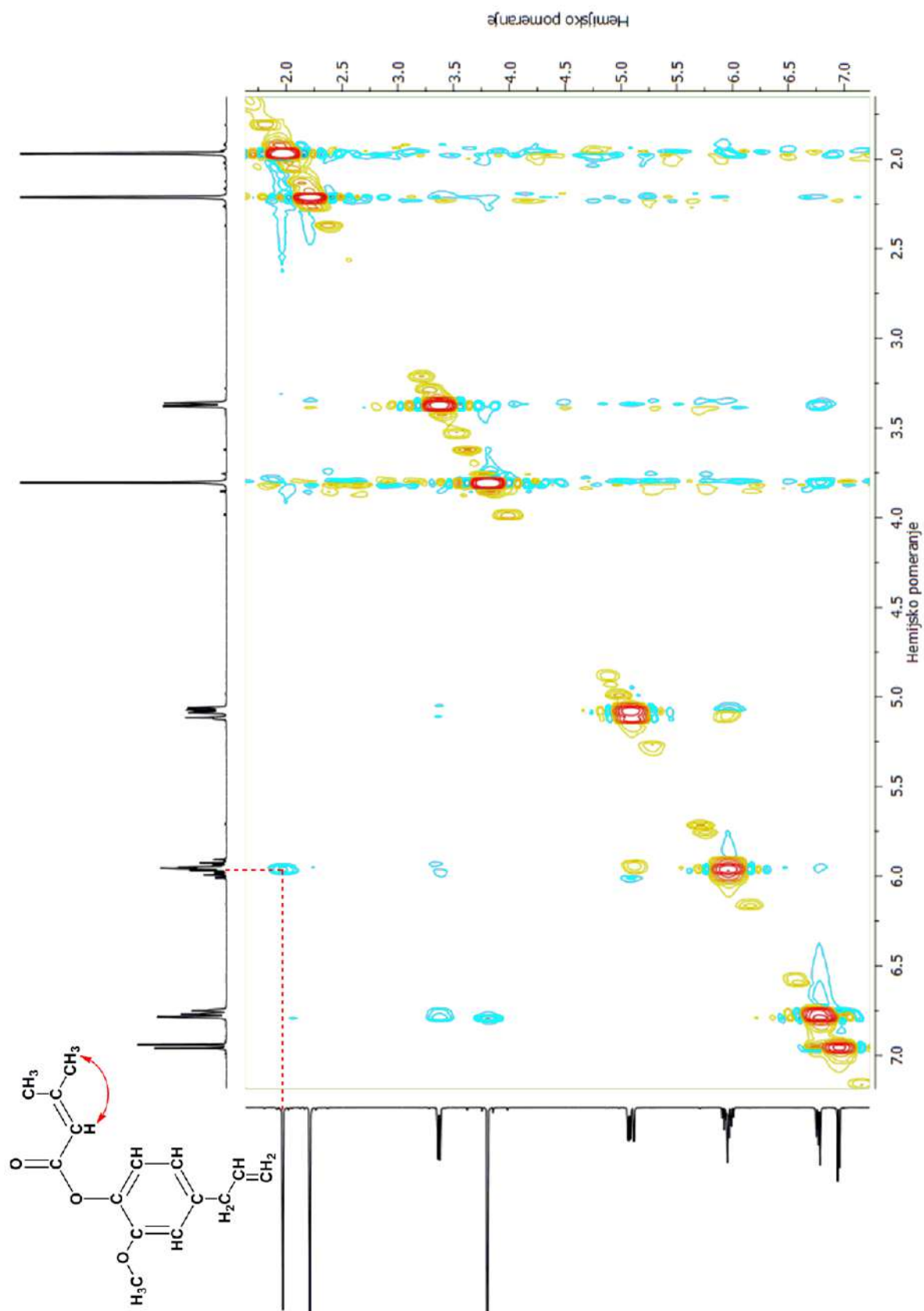
Prilog 8.3.35. HSQC spektar 4-alil-2-metoksifenil-senecioata (eugenil-senecioata) [3j]



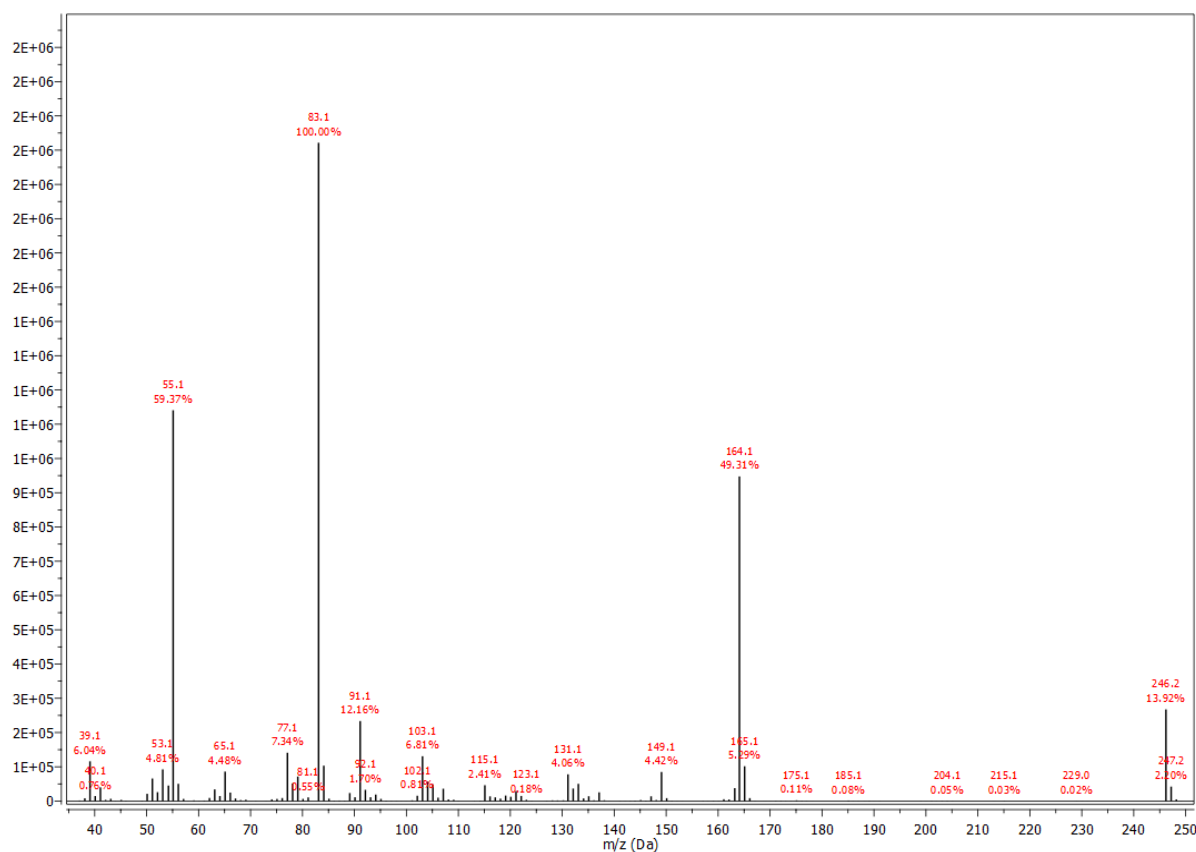
Prilog 8.3.36. HMBC spektar 4-alil-2-metoksifenil-senecioata (eugenil-senecioata) [3j]



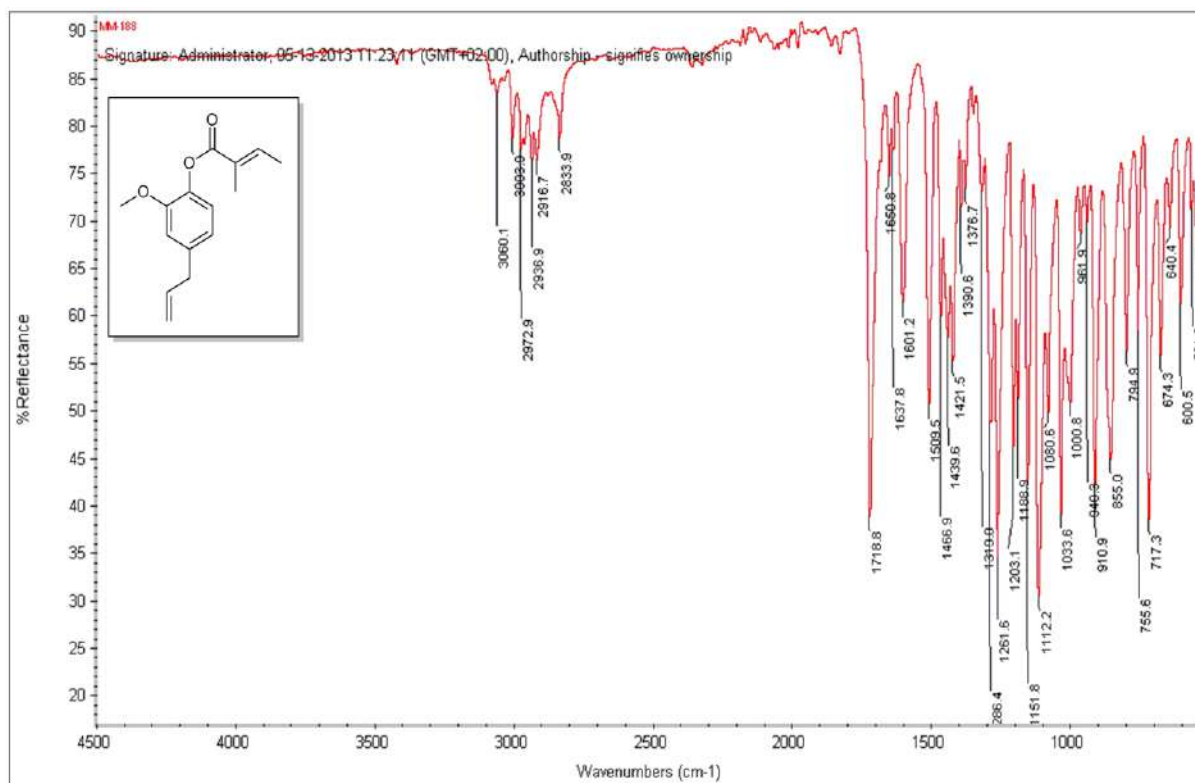
Prilog 8.3.37. NOESY spektar 4-alil-2-metoksifenil-senecioata (eugenil-senecioata) [3j]



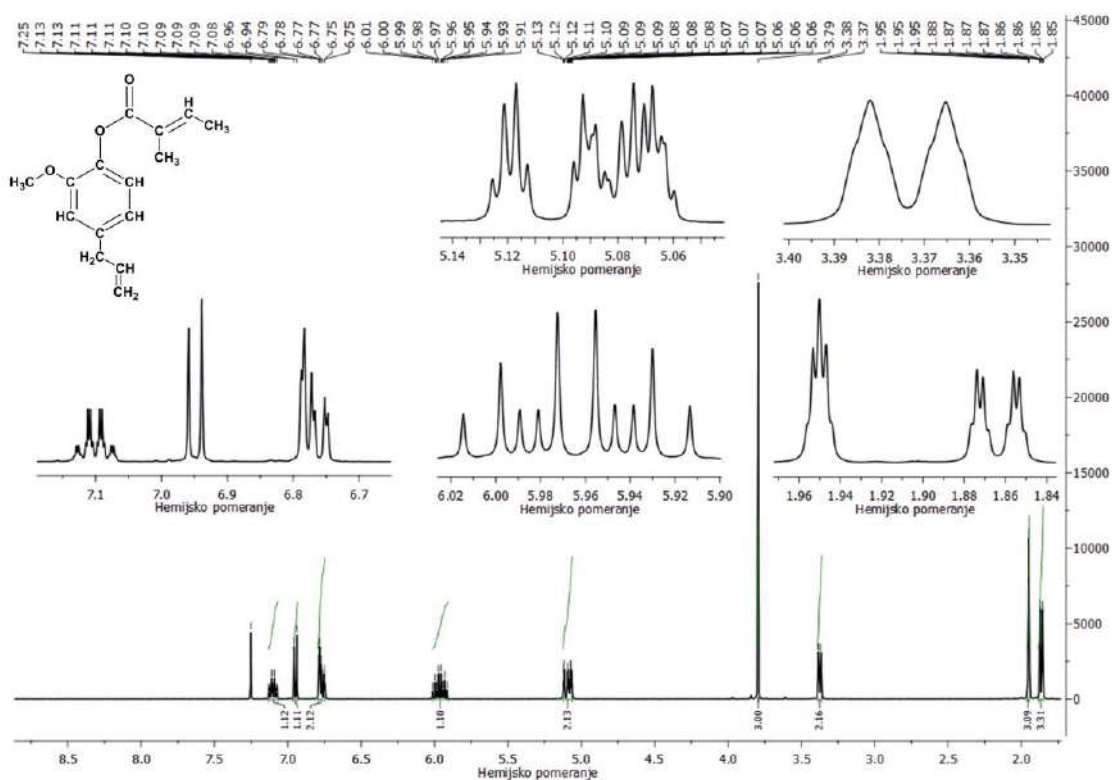
Prilog 8.3.38. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-tiglata (eugenil-tiglata) [3k]



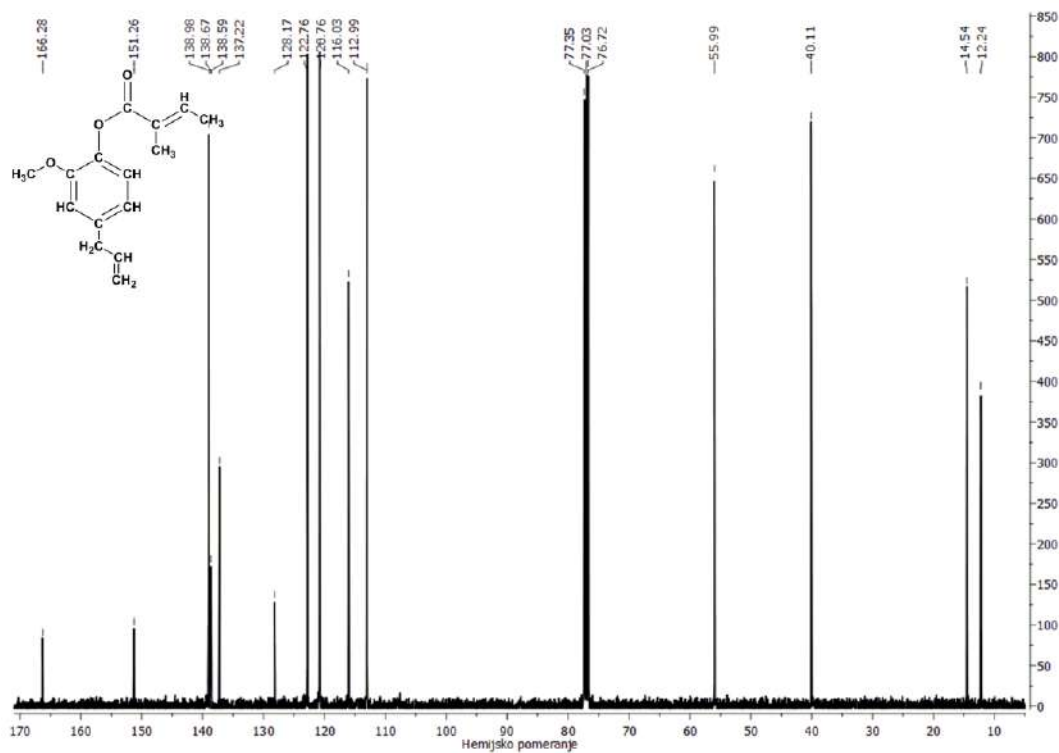
Prilog 8.3.39. IR spektar 4-alil-2-metoksifenil-tiglata (eugenil-tiglata) [3k]



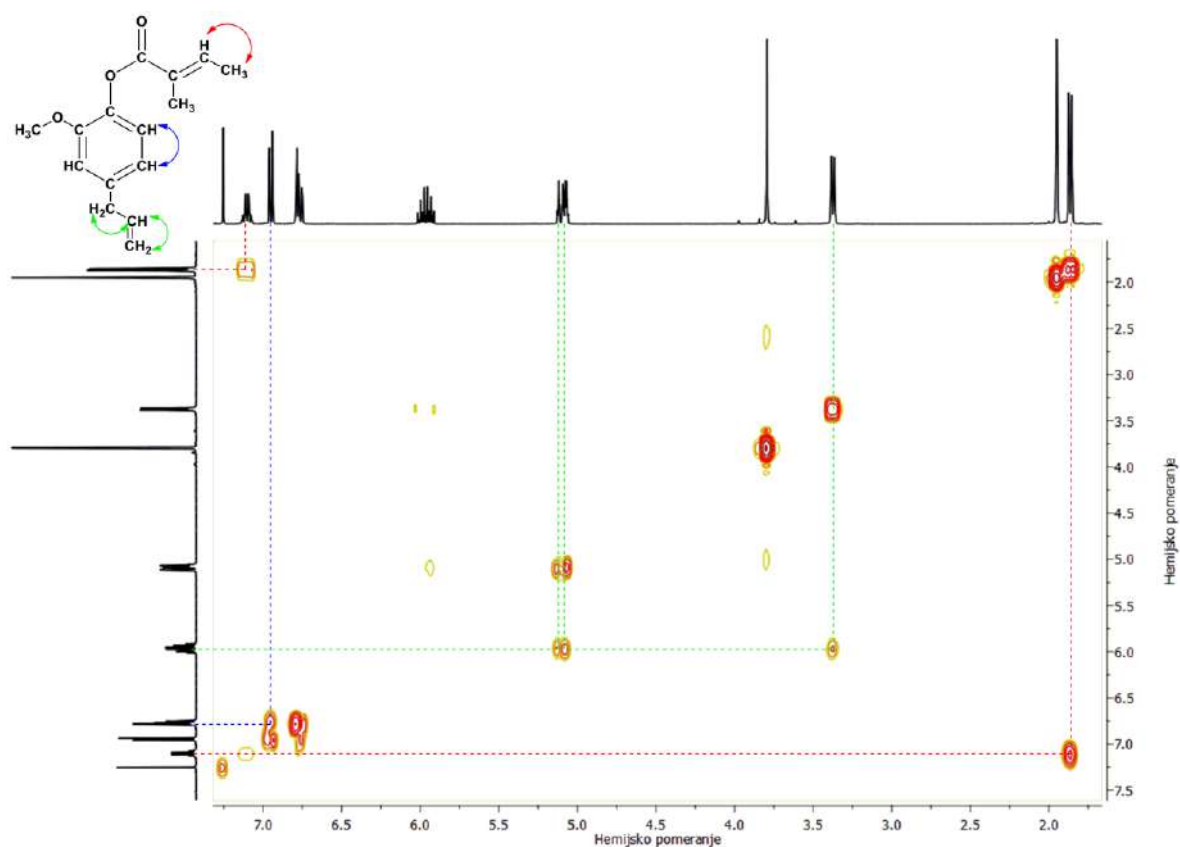
Prilog 8.3.40. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-tiglata (eugenil-tiglata) [3k]



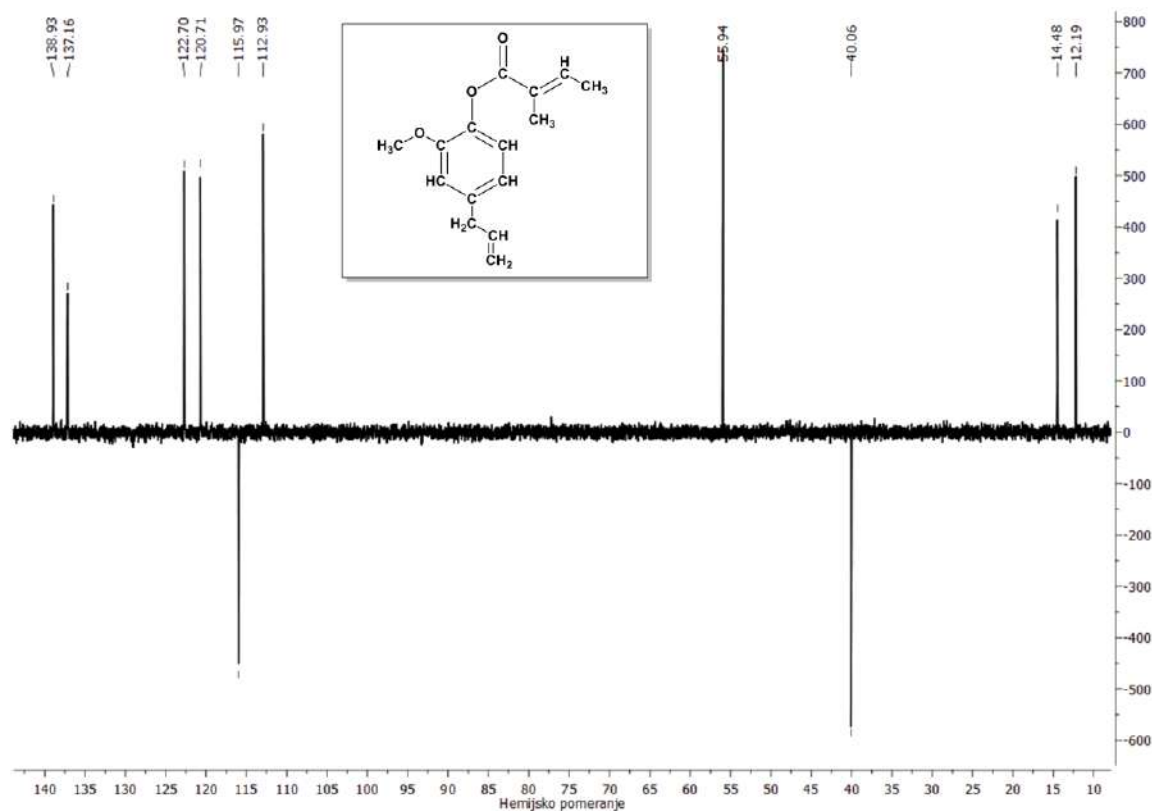
Prilog 8.3.41. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-tiglata (eugenil-tiglata) [3k]



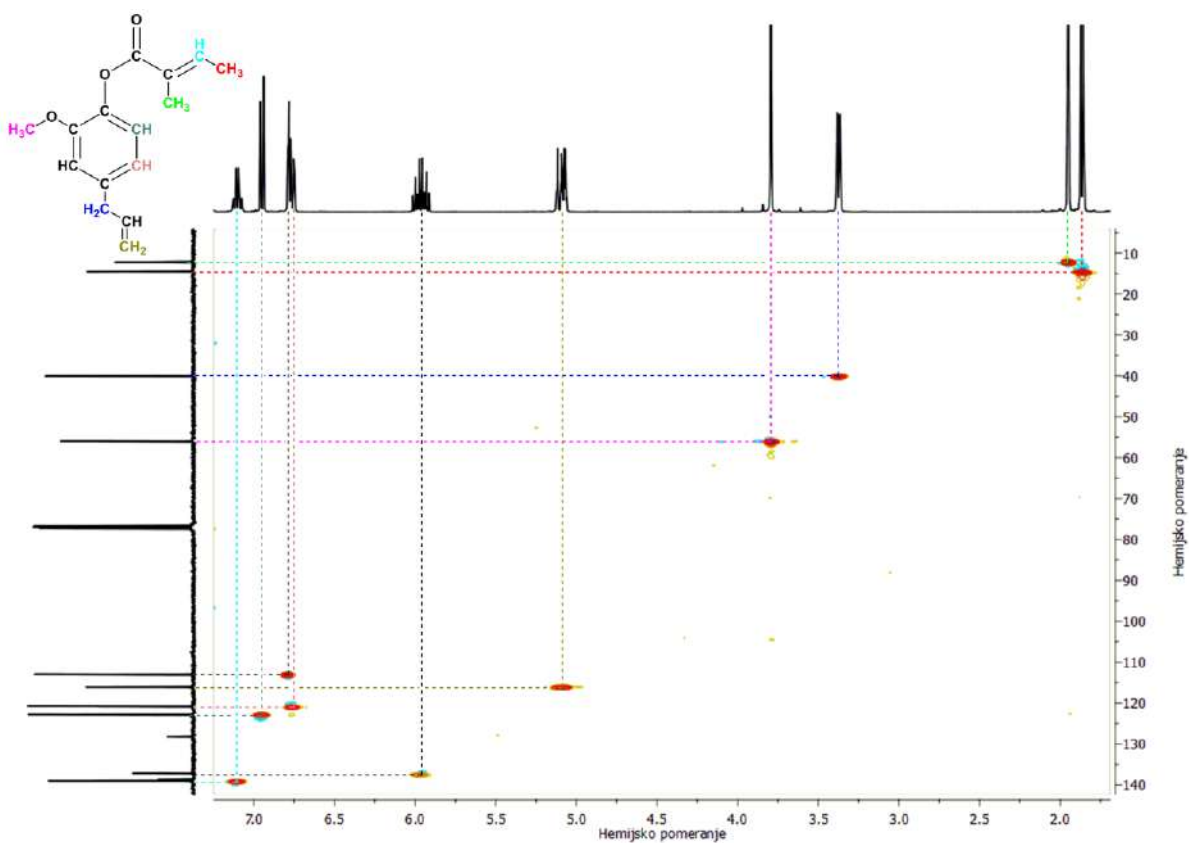
Prilog 8.3.42. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar 4-alil-2-metoksifenil-tiglata (eugenil-tiglata) [3k]



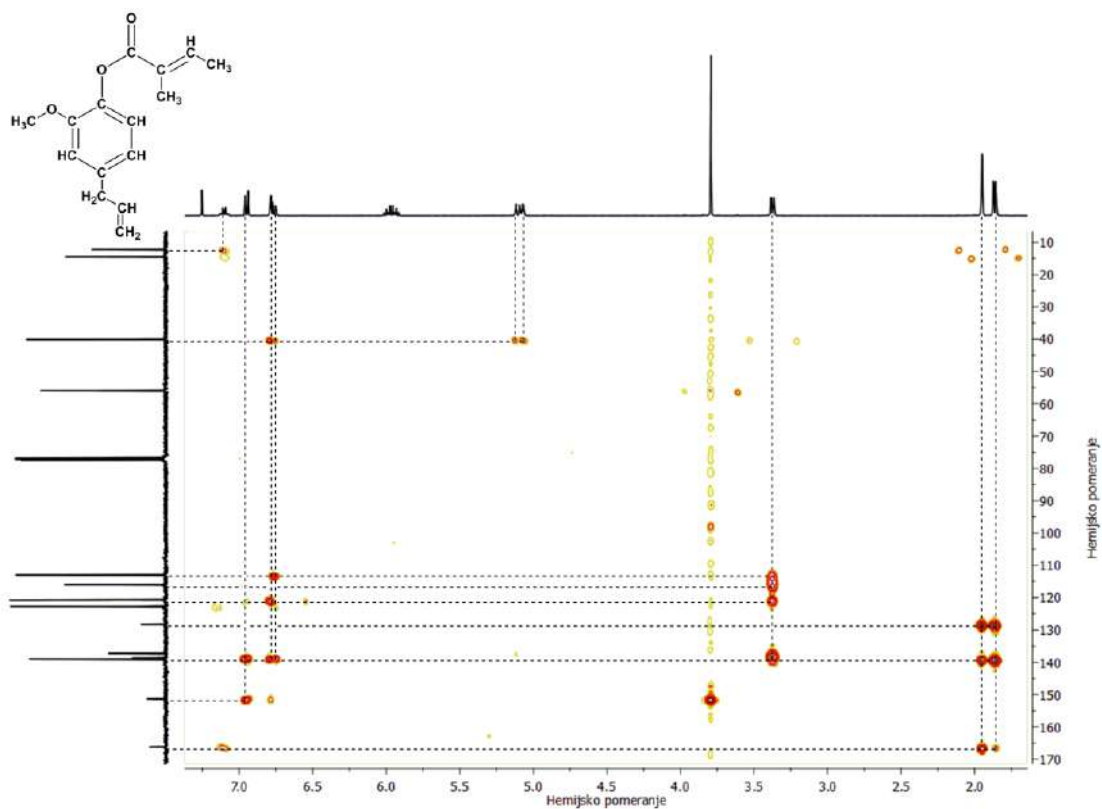
Prilog 8.3.43. DEPT spektar 4-alil-2-metoksifenil-tiglata (eugenil-tiglata) [3k]



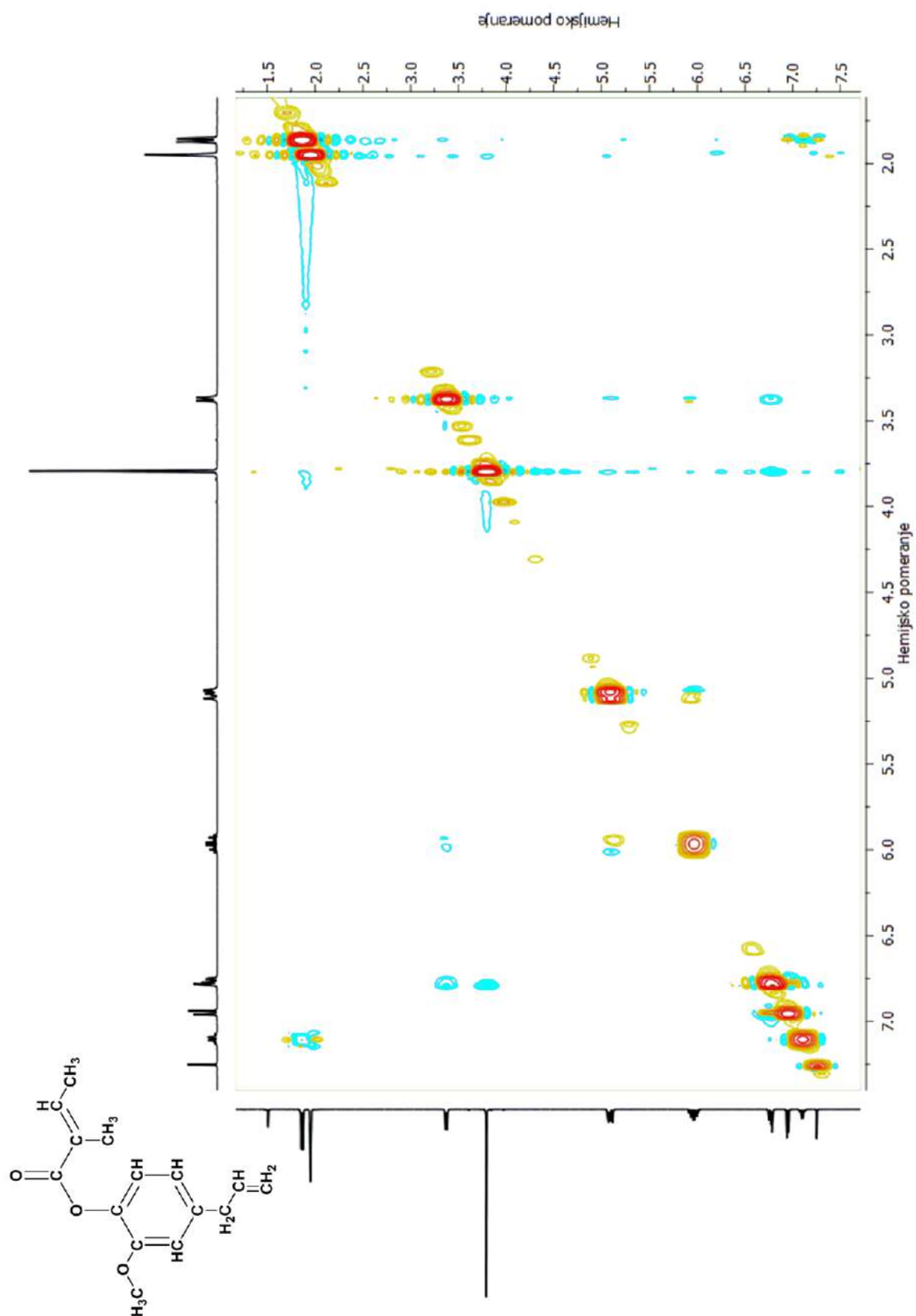
Prilog 8.3.44. HSQC spektar 4-alil-2-metoksifenil-tiglata (eugenil-tiglata) [3k]



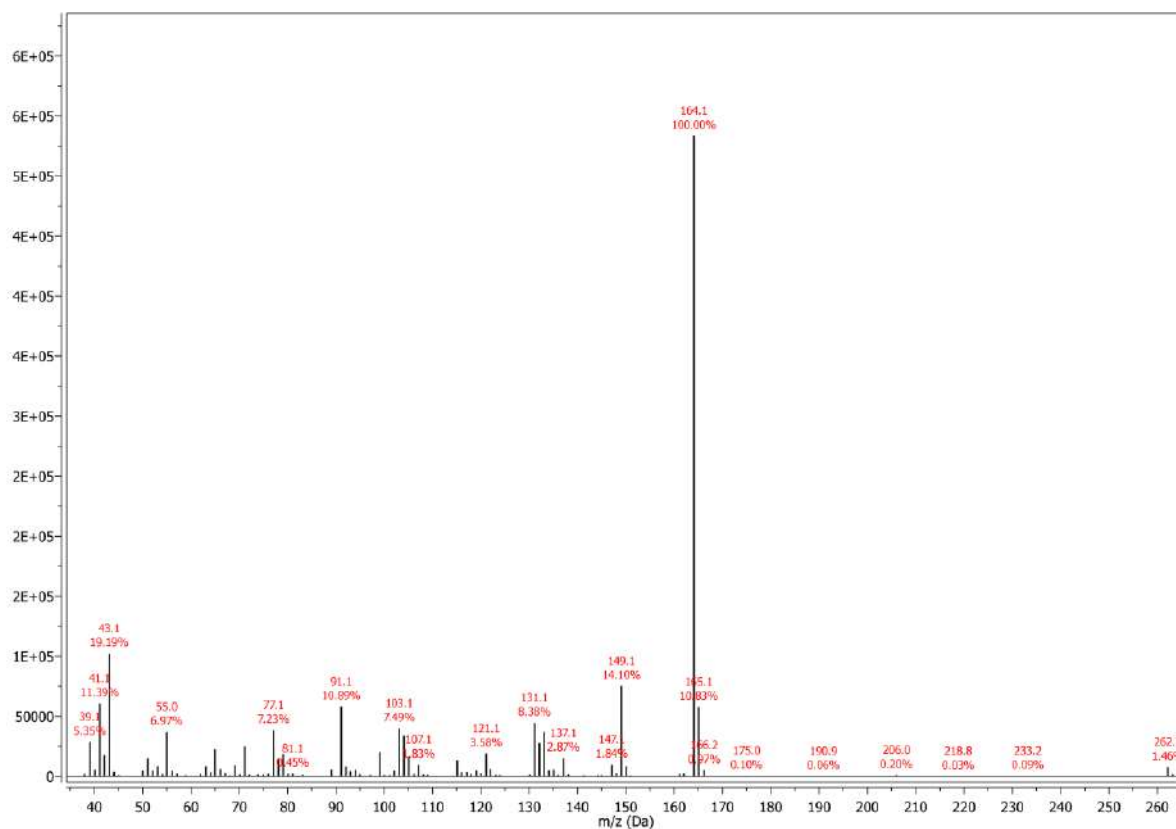
Prilog 8.3.45. HMBC spektar 4-alil-2-metoksifenil-tiglata (eugenil-tiglata) [3k]



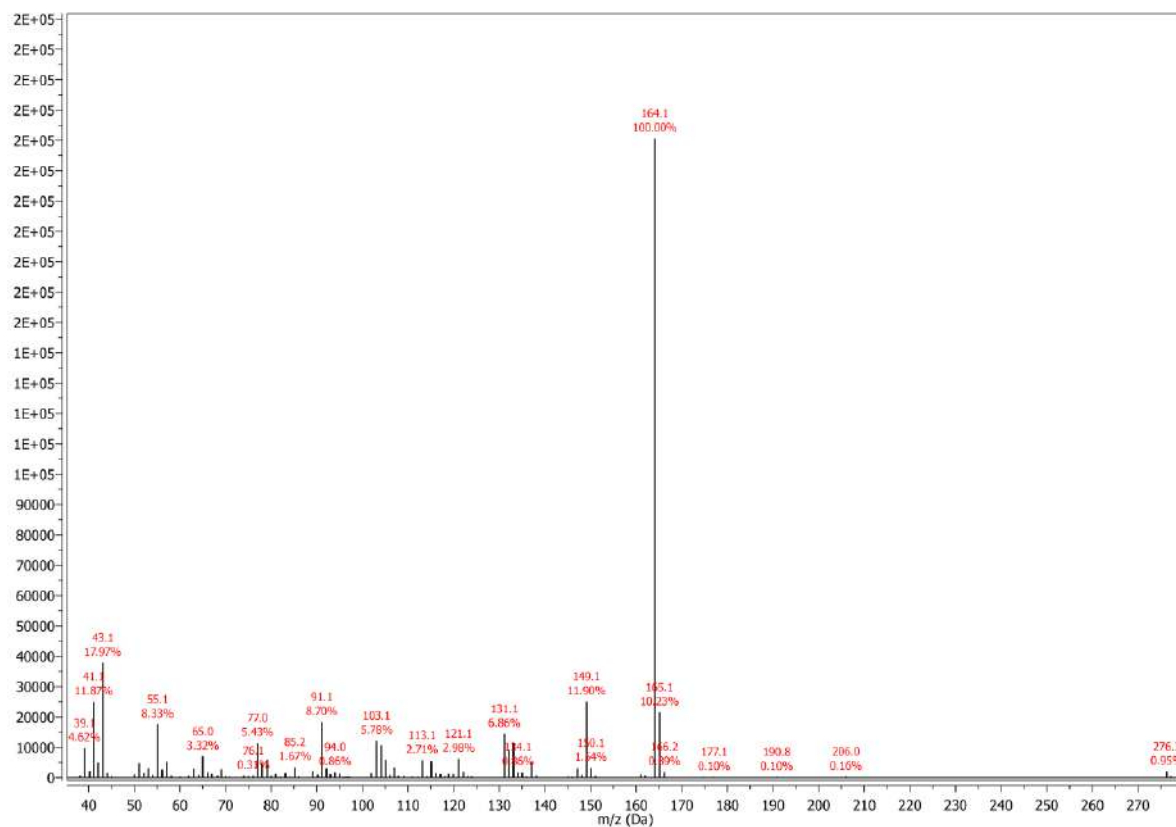
Prilog 8.3.46. NOESY spektar 4-alil-2-metoksifenil-tiglata (eugenil-tiglata) [3k]



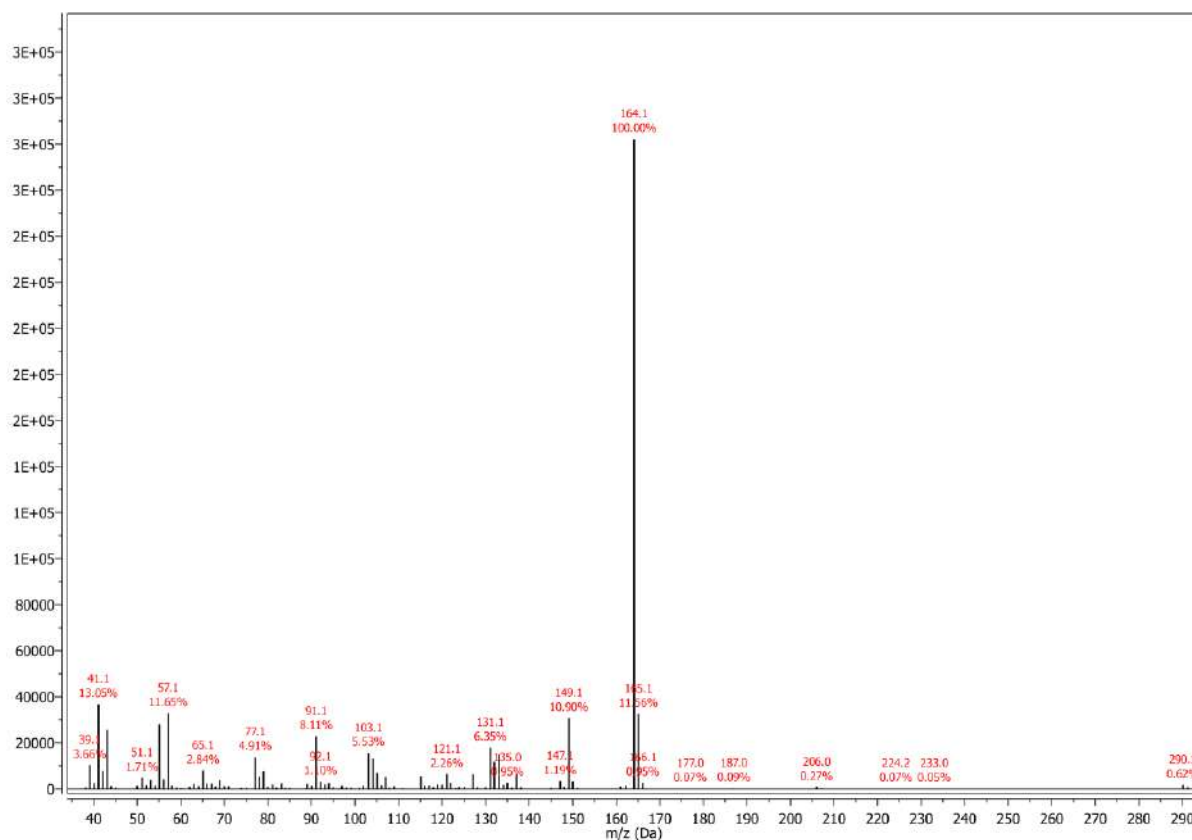
Prilog 8.3.47. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-heksanoata (eugenil-heksanoata) [3l]



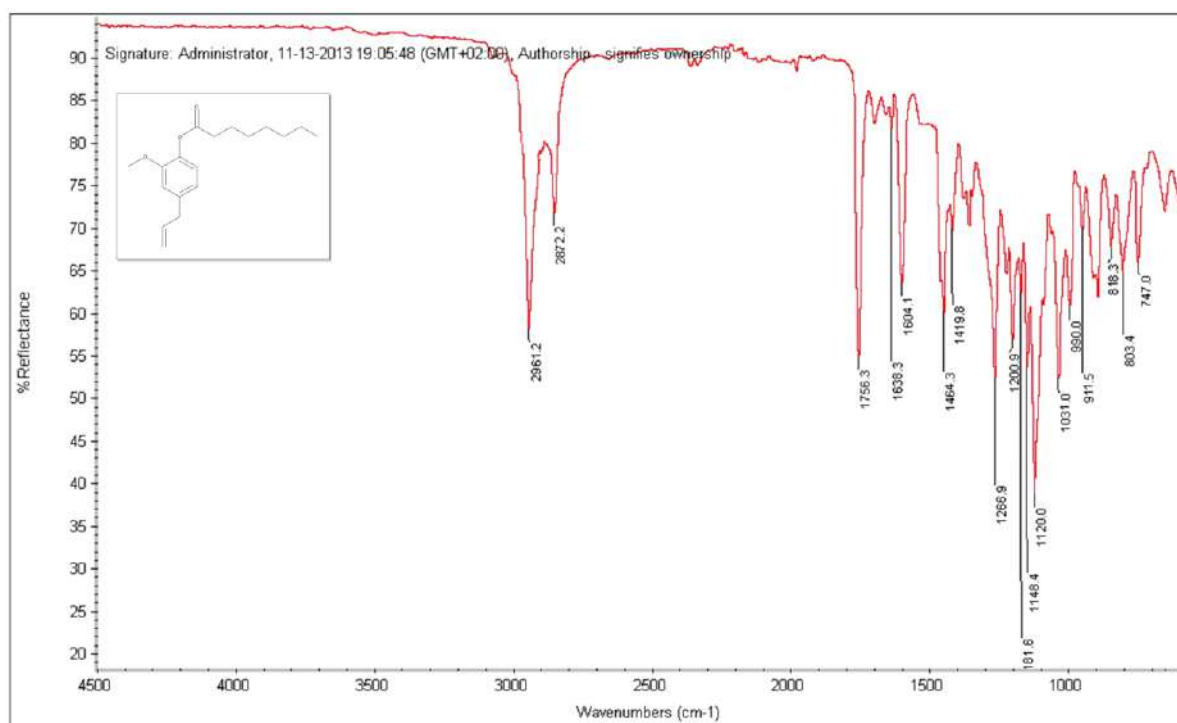
Prilog 8.3.48. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-heptanoata (eugenil-heptanoata) [3m]



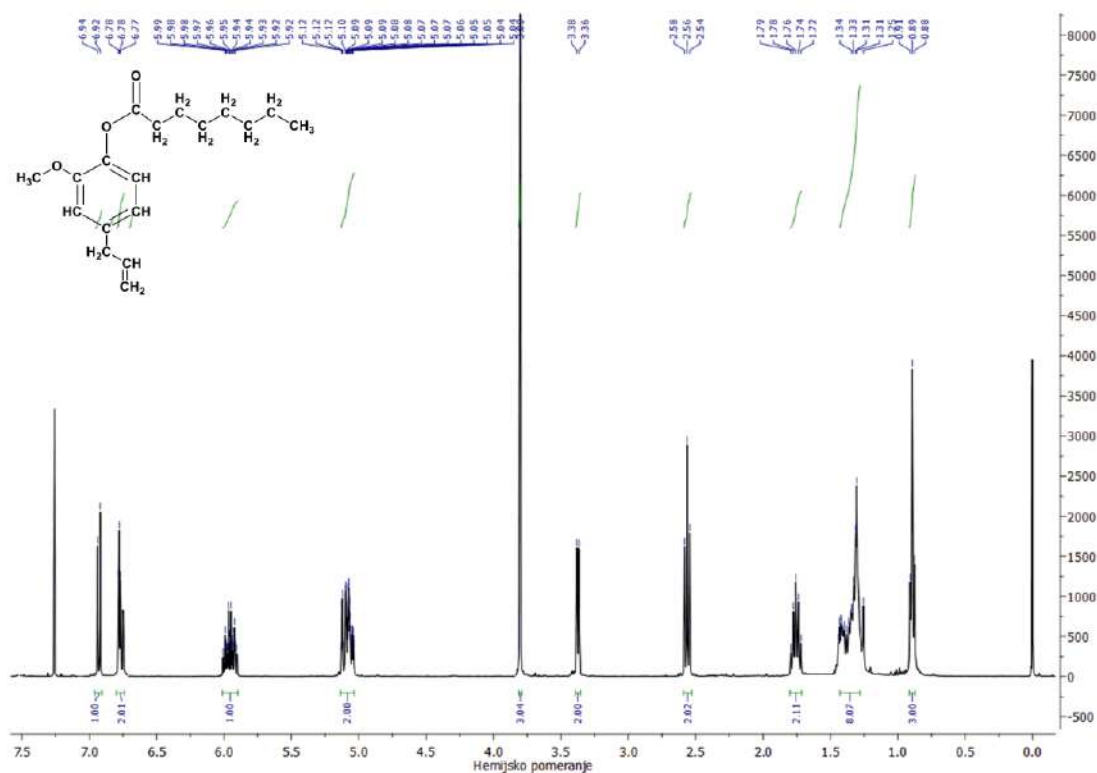
Prilog 8.3.49. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-oktanoata (eugenil-oktanoata) [3n]



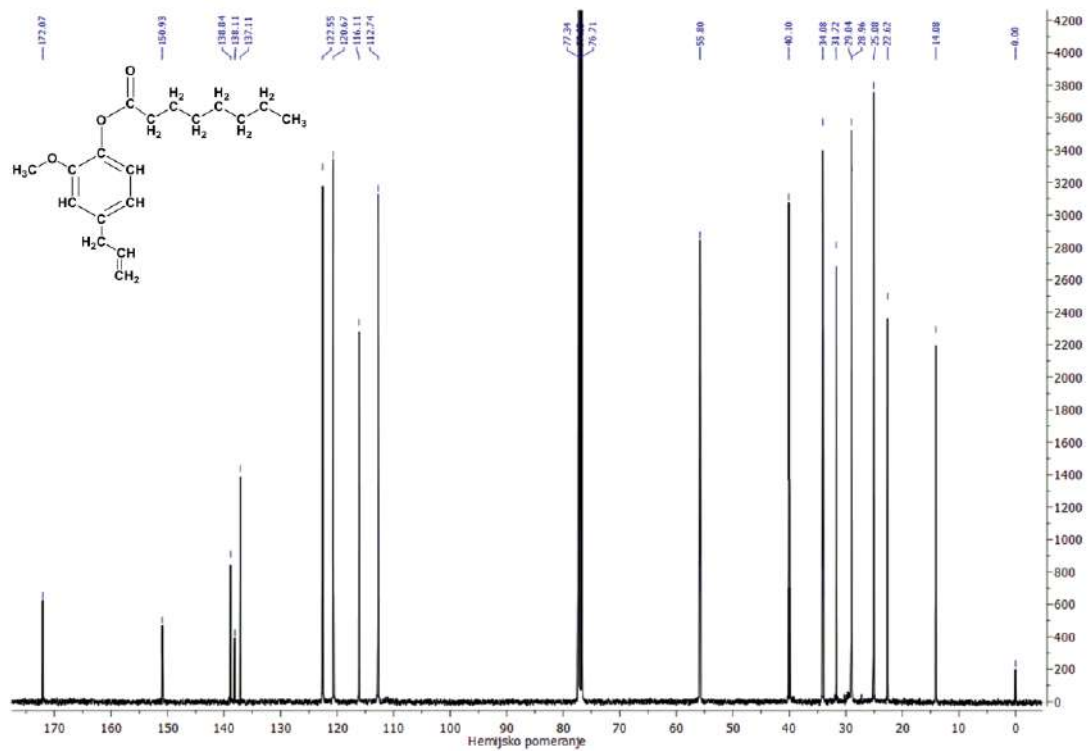
Prilog 8.3.50. IR spektar 4-alil-2-metoksifenil-oktanoata (eugenil-oktanoata) [3n]



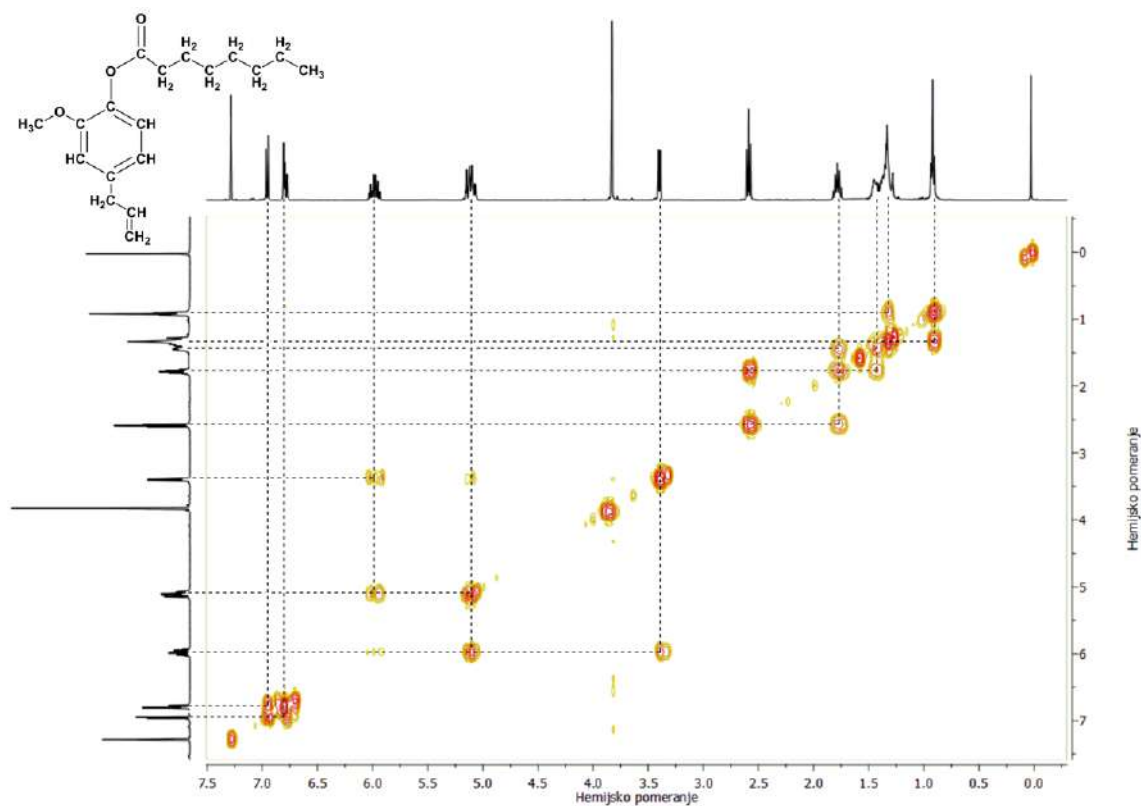
Prilog 8.3.51. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-oktanoata (eugenil-oktanoata) [3n]



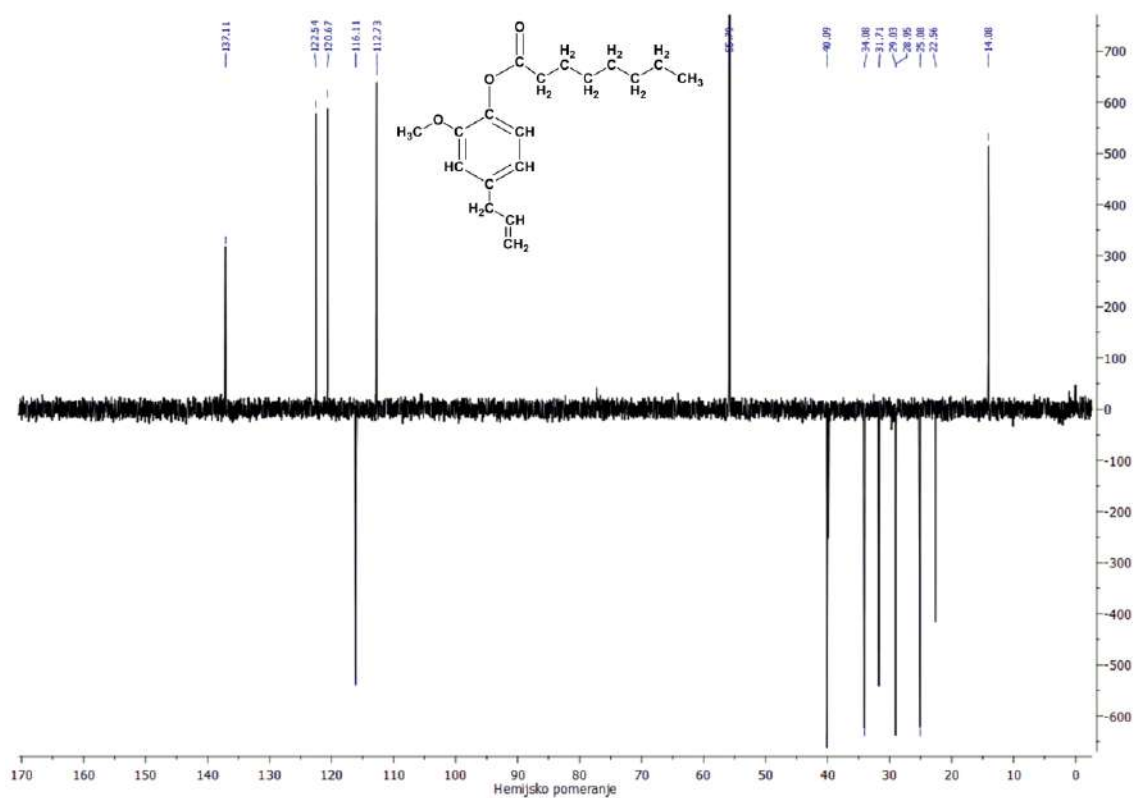
Prilog 8.3.52. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-oktanoata (eugenil-oktanoata) [3n]



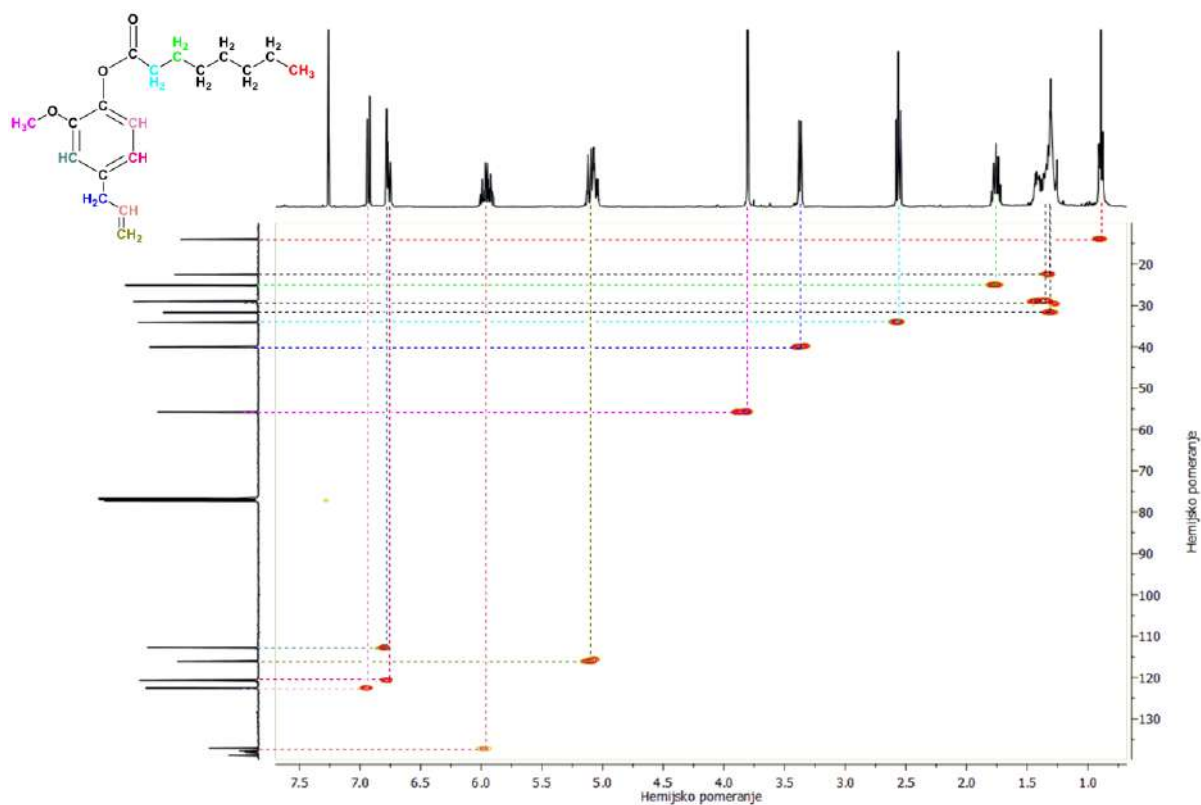
Prilog 8.3.53. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar 4-alil-2-metoksifenil-oktanoata (eugenil-oktanoata) [3n]



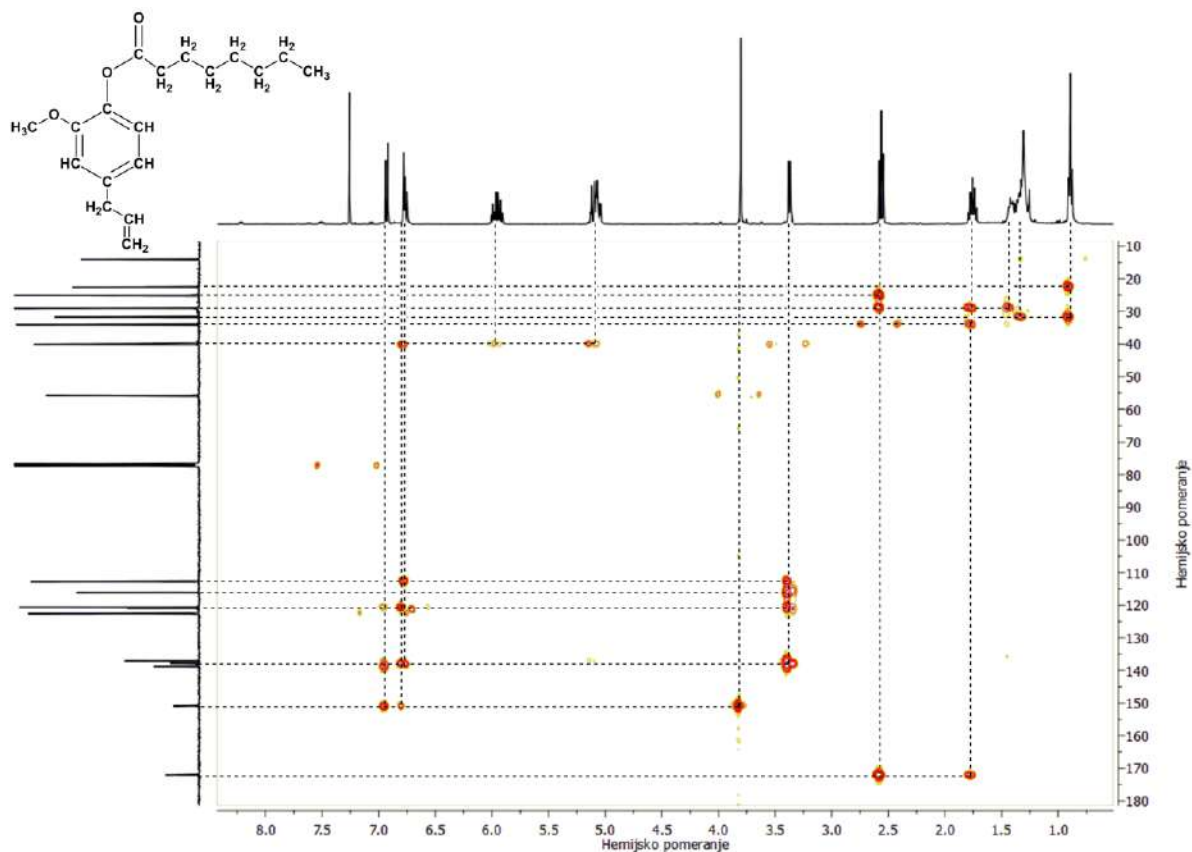
Prilog 8.3.54. DEPT spektar 4-alil-2-metoksifenil-oktanoata (eugenil-oktanoata) [3n]



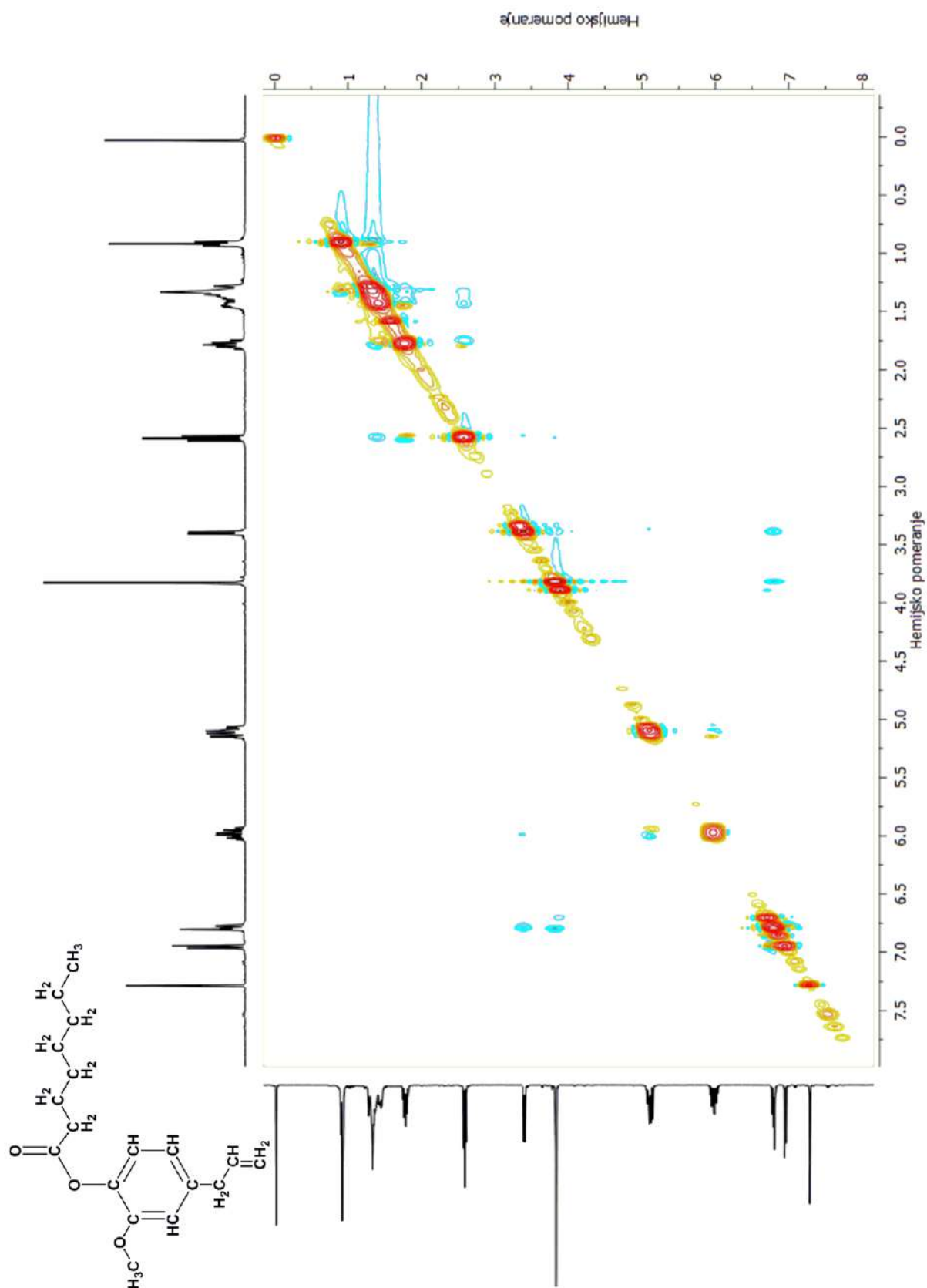
Prilog 8.3.55. HSQC spektar 4-alil-2-metoksifenil-oktanoata (eugenil-oktanoata) [3n]



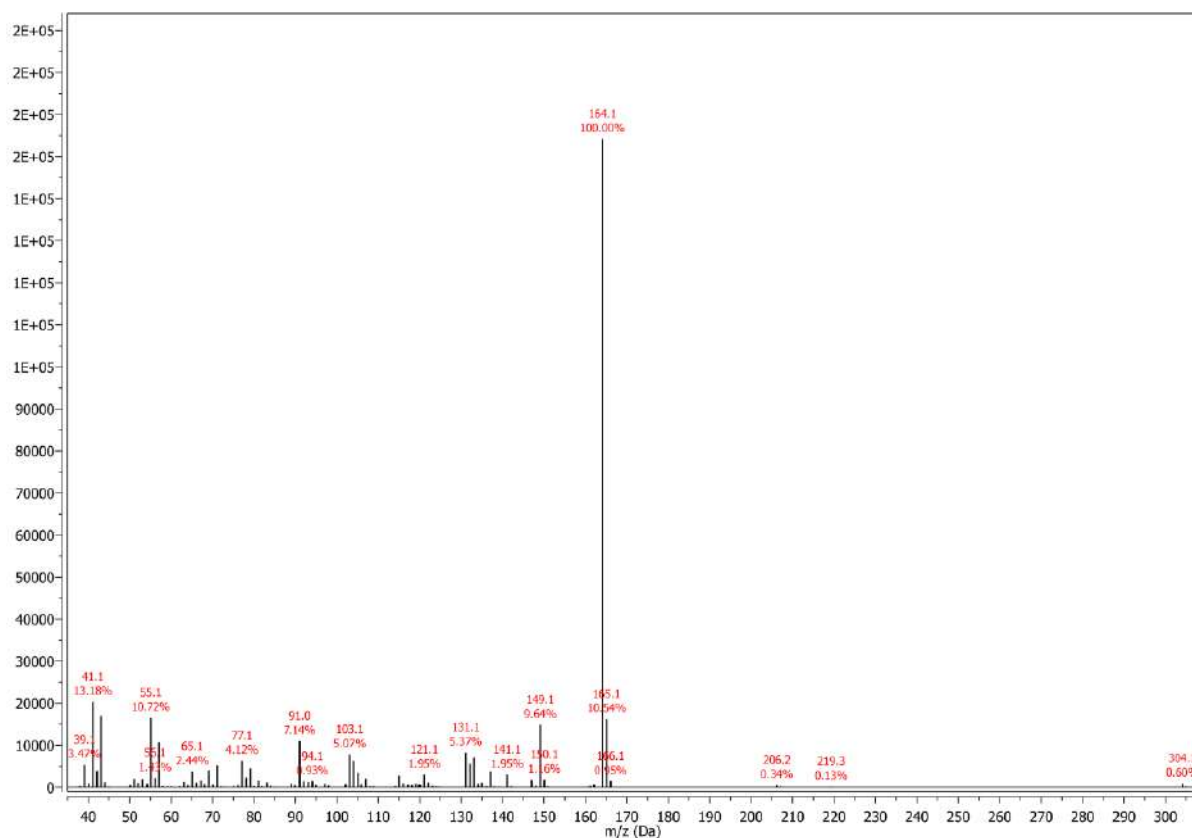
Prilog 8.3.56. HMBC spektar 4-alil-2-metoksifenil-oktanoata (eugenil-oktanoata) [3n]



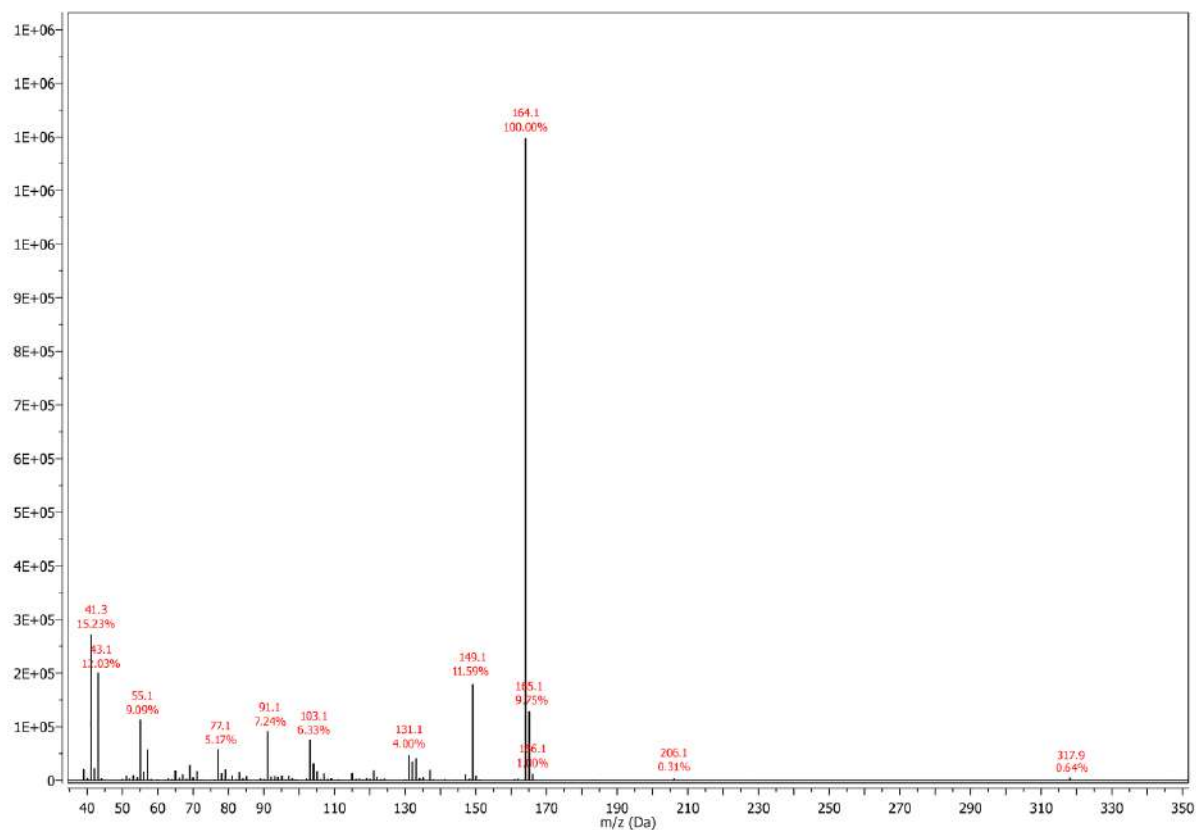
Prilog 8.3.57. NOESY spektar 4-alil-2-metoksifenil-oktanoata (eugenil-oktanoata) [3n]



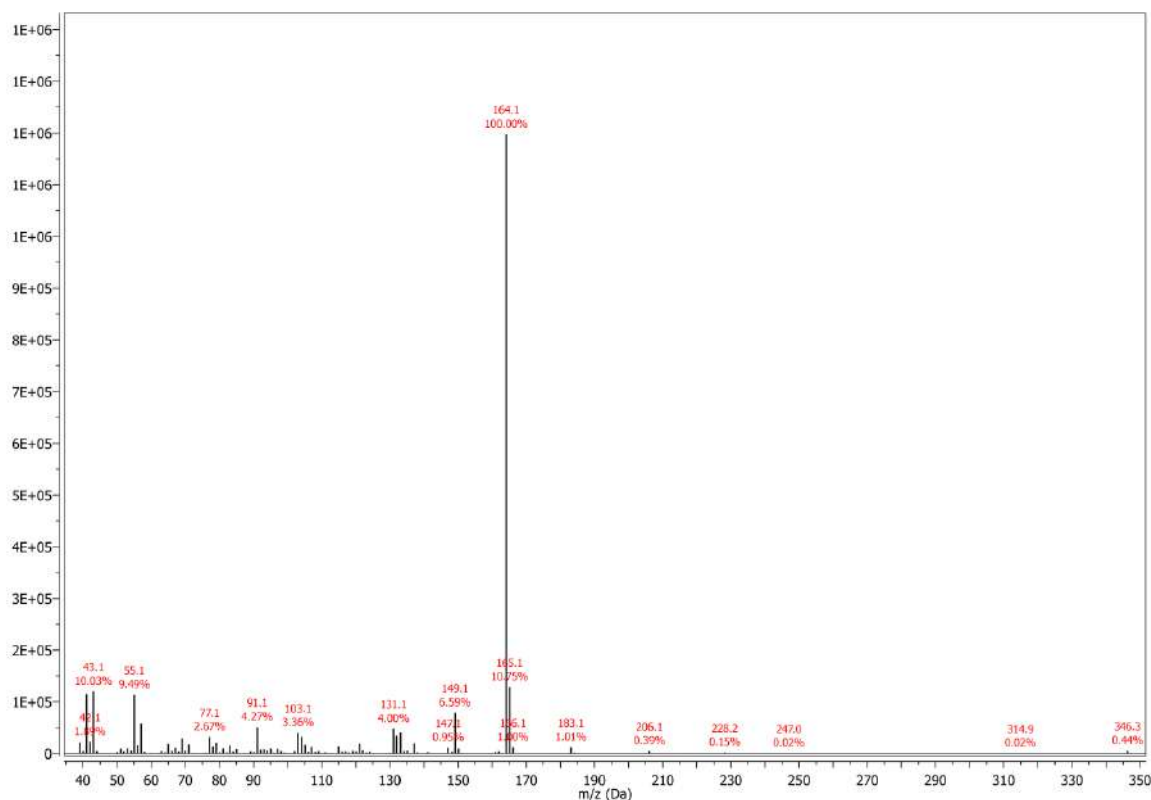
Prilog 8.3.58. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-nonanoata (eugenil-nonanoata) [3o]



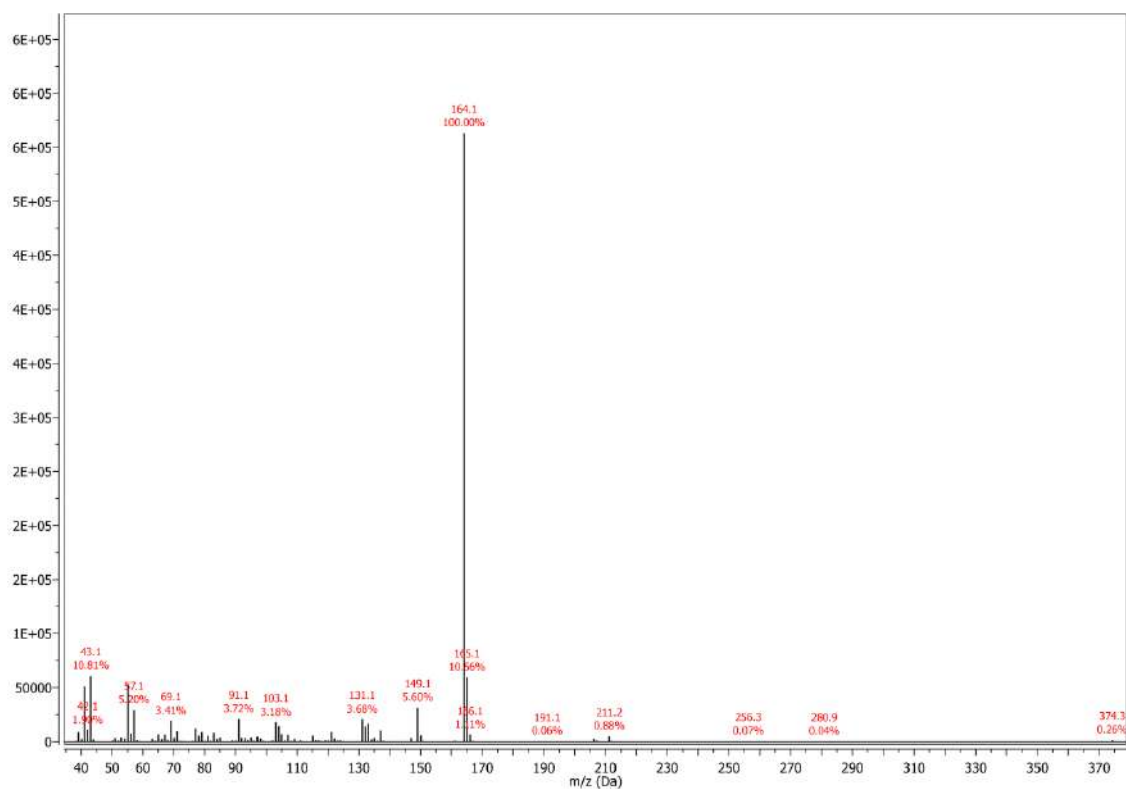
Prilog 8.3.59. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-dekanoata (eugenil-dekanoata) [3p]



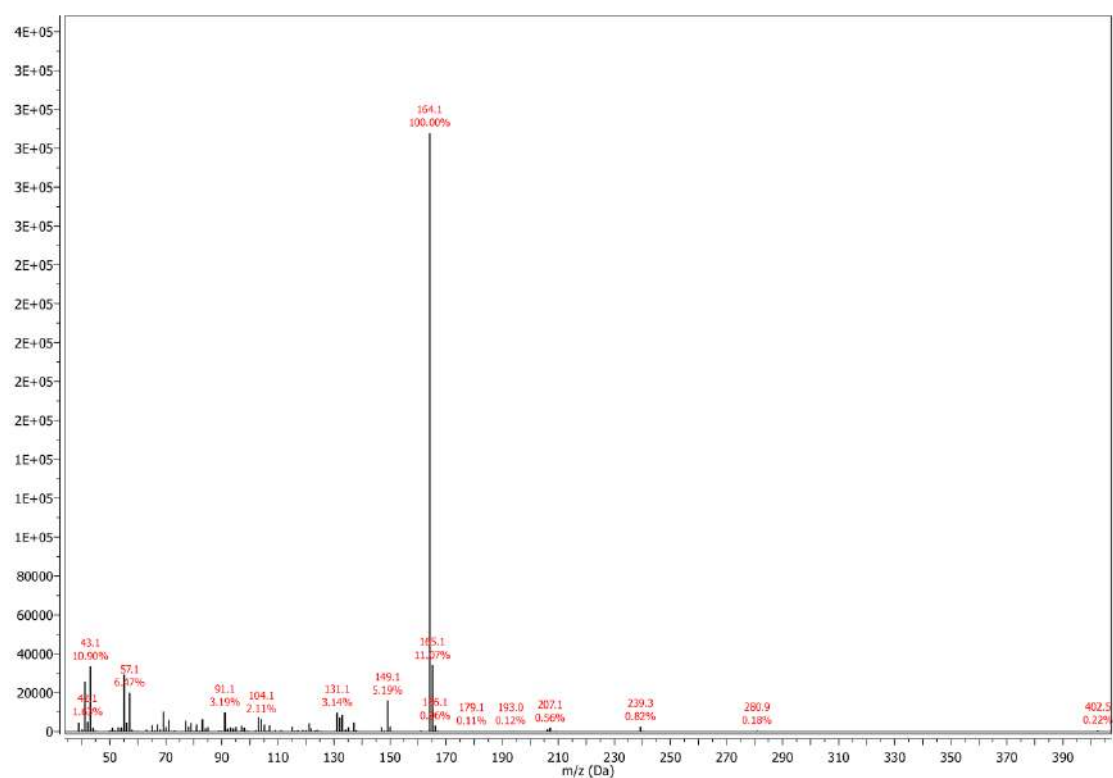
Prilog 8.3.60. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-dodekanoata (eugenil-dodekanoata) [3q]



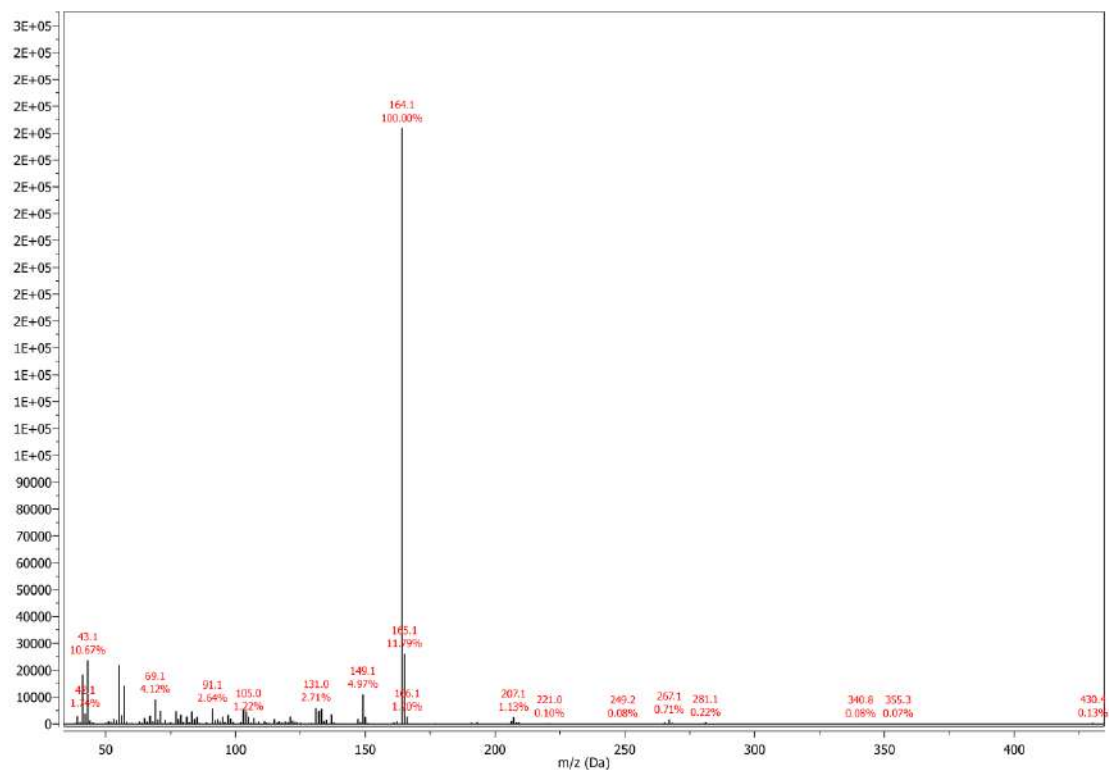
Prilog 8.3.61. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-tetradekanoata (eugenil-tetradekanoata) [3r]



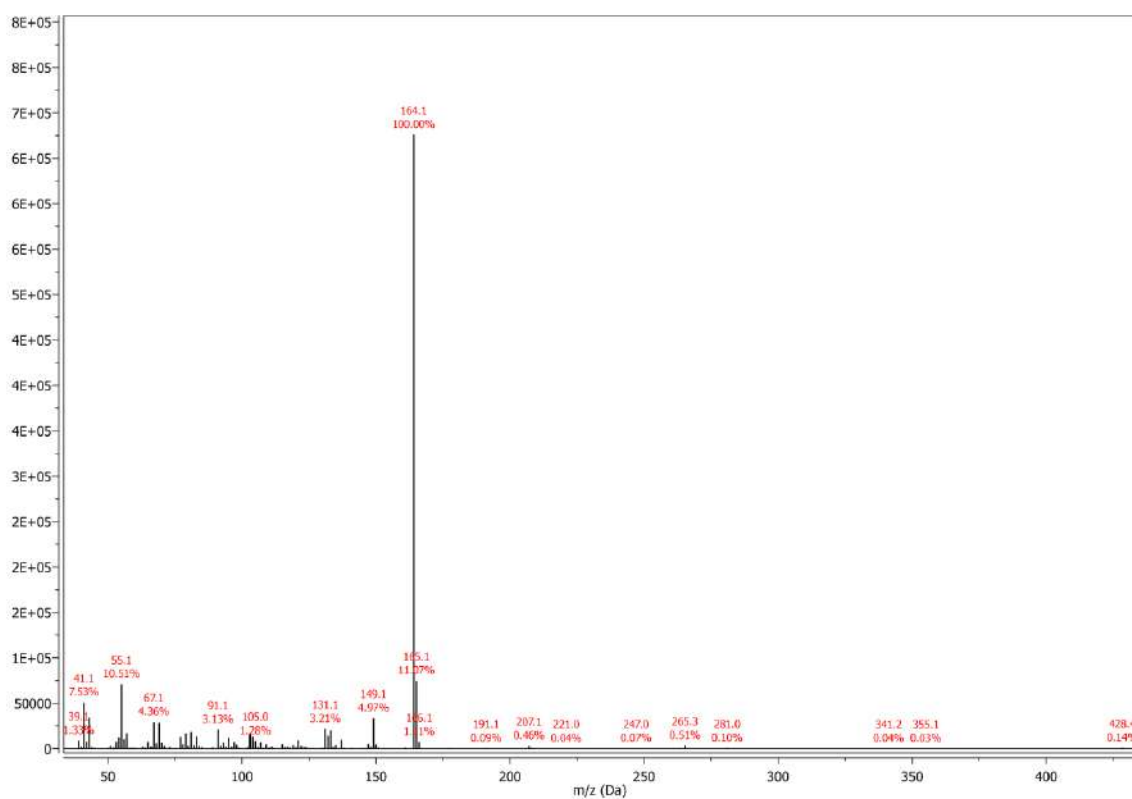
Prilog 8.3.62. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-heksadekanoata (eugenil-heksadekanoata) [3s]



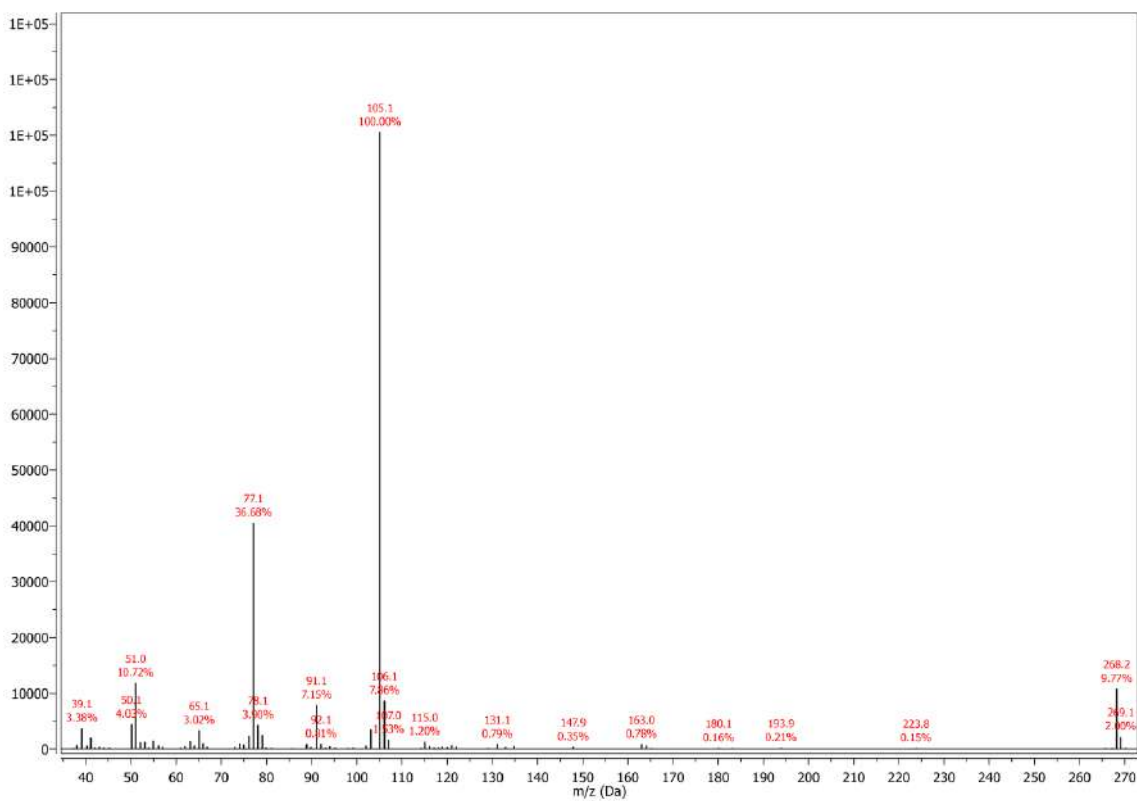
Prilog 8.3.63. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-oktadekanoata (eugenil-oktadekanoata) [3t]



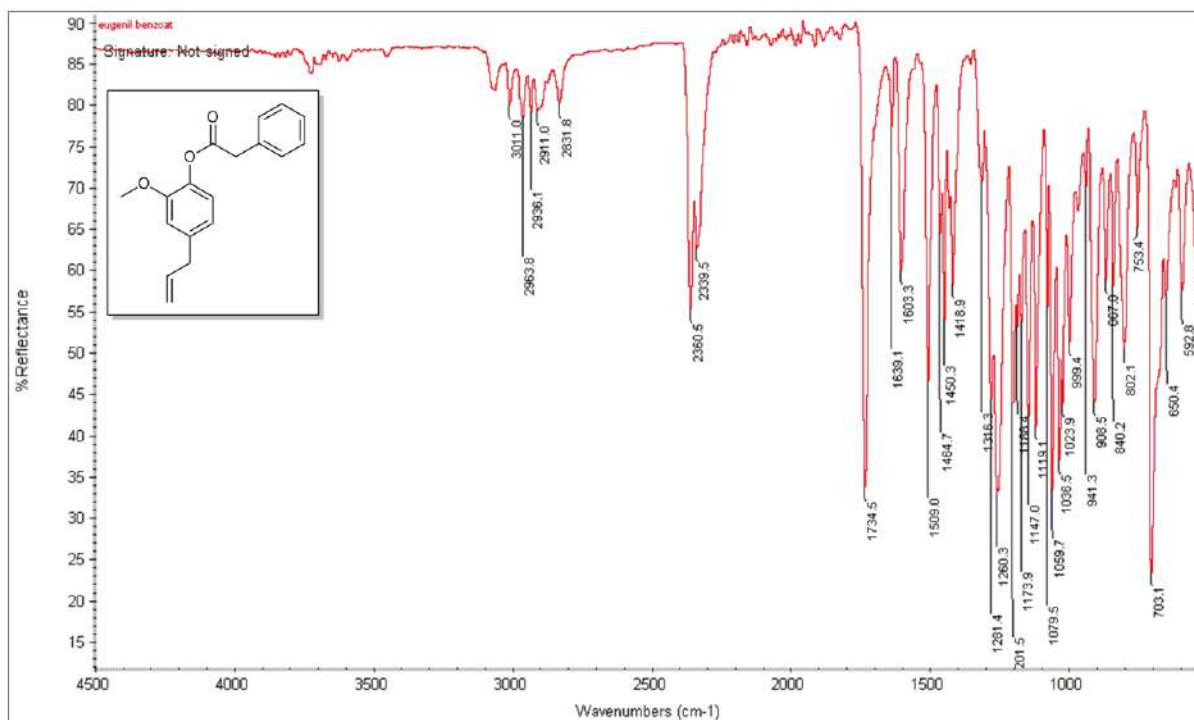
Prilog 8.3.64. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-(Z)-9-oktadecenoata (eugenil-(Z)-9-oktadecenoata) [3u]



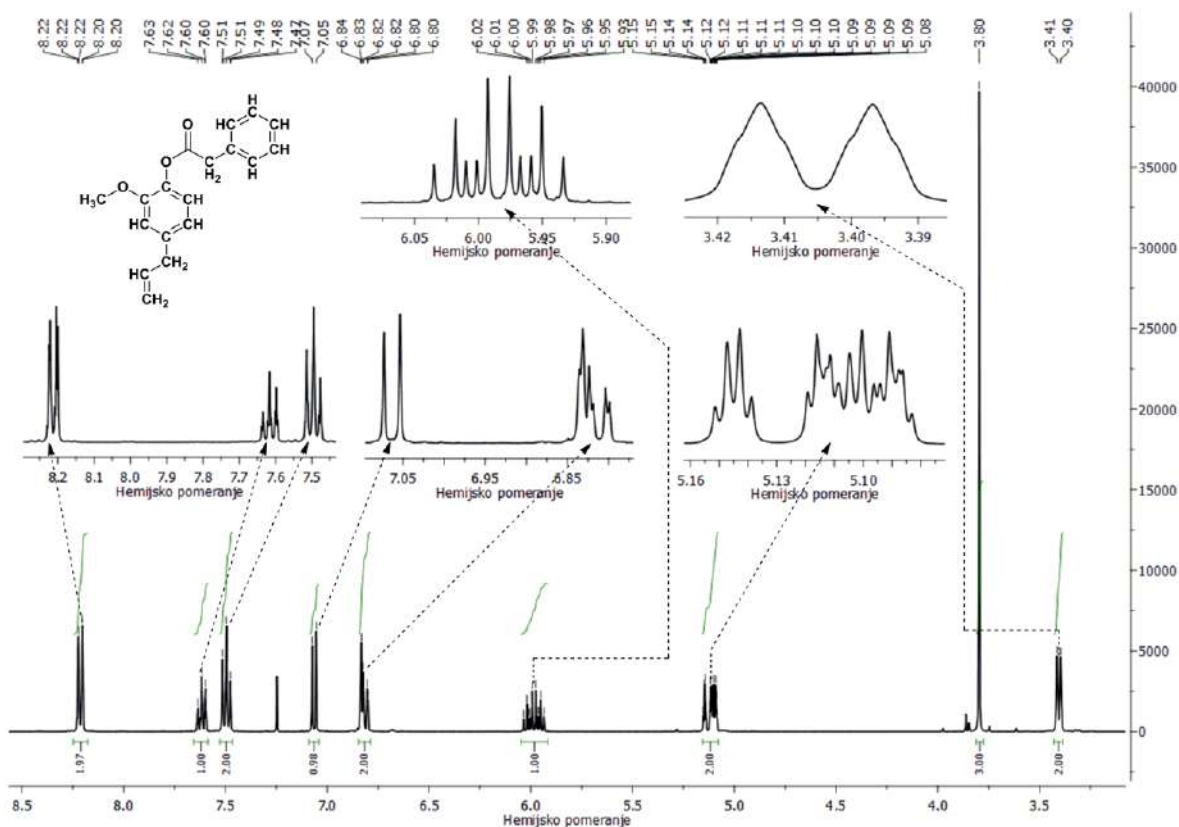
Prilog 8.3.65. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-benzoata (eugenil-benzoata) [3v]



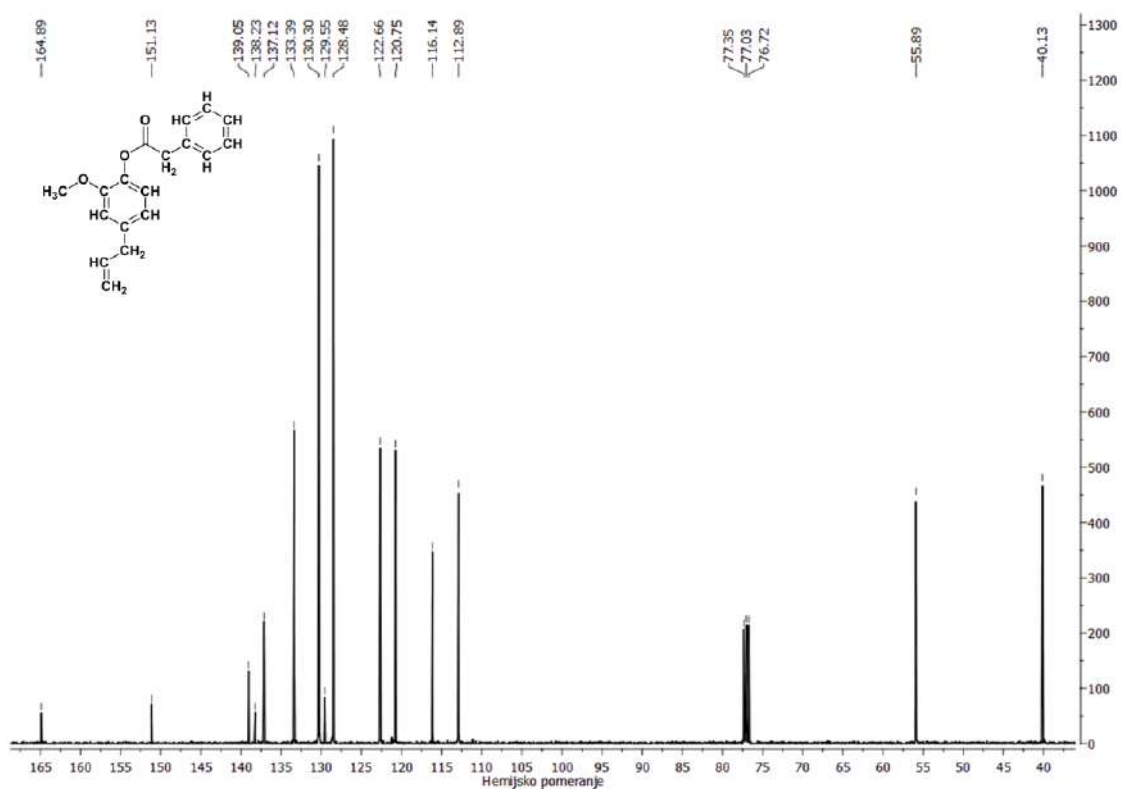
Prilog 8.3.66. IR spektar 4-alil-2-metoksifenil-benzoata (eugenil-benzoata) [3v]



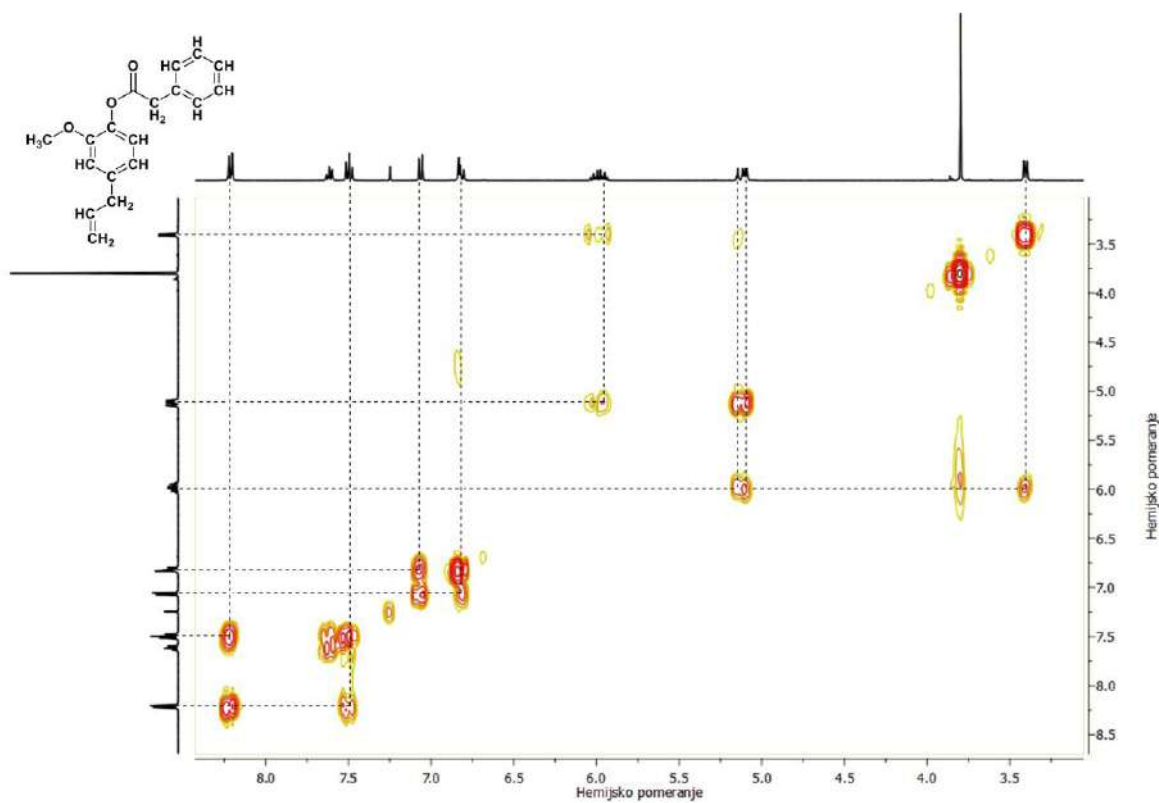
Prilog 8.3.67. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) spektar 4-alil-2-metoksifenil-benzoata (eugenil-benzoata) [3v]



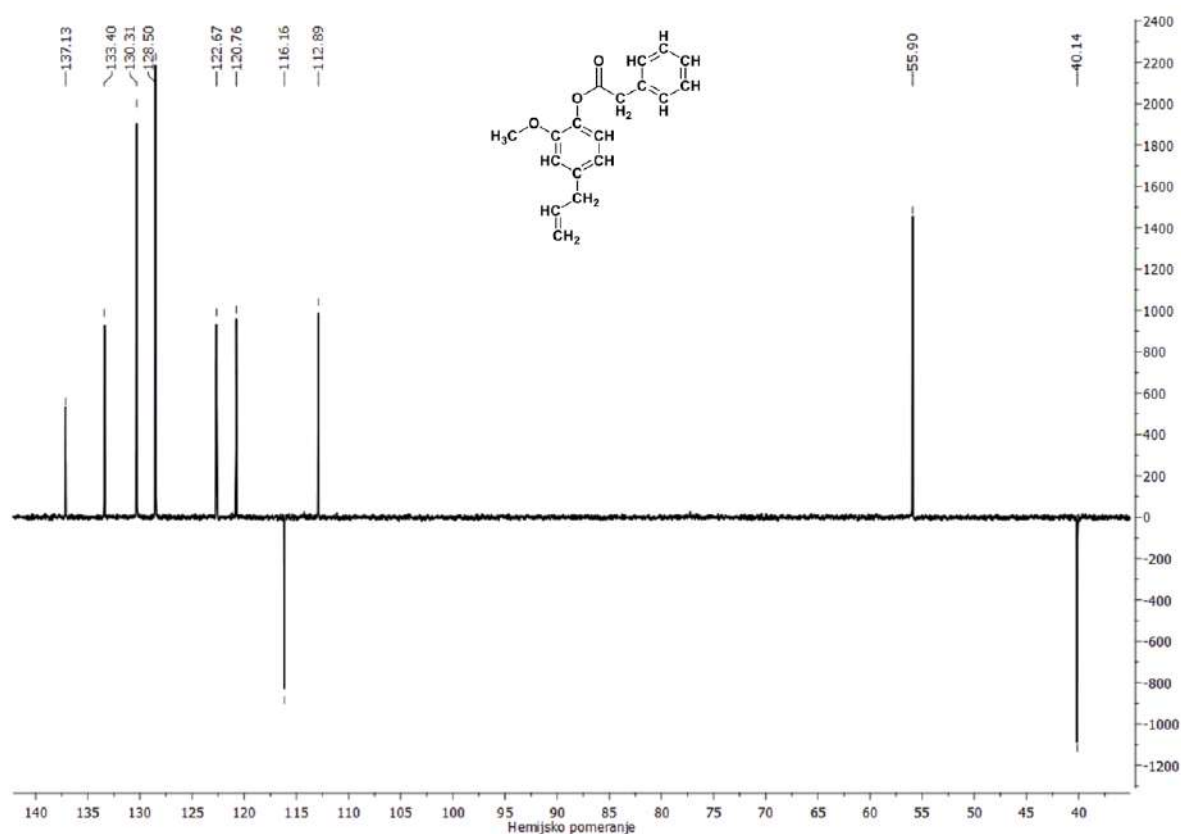
Prilog 8.3.68. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar 4-alil-2-metoksifenil-benzoata (eugenil-benzoata) [3v]



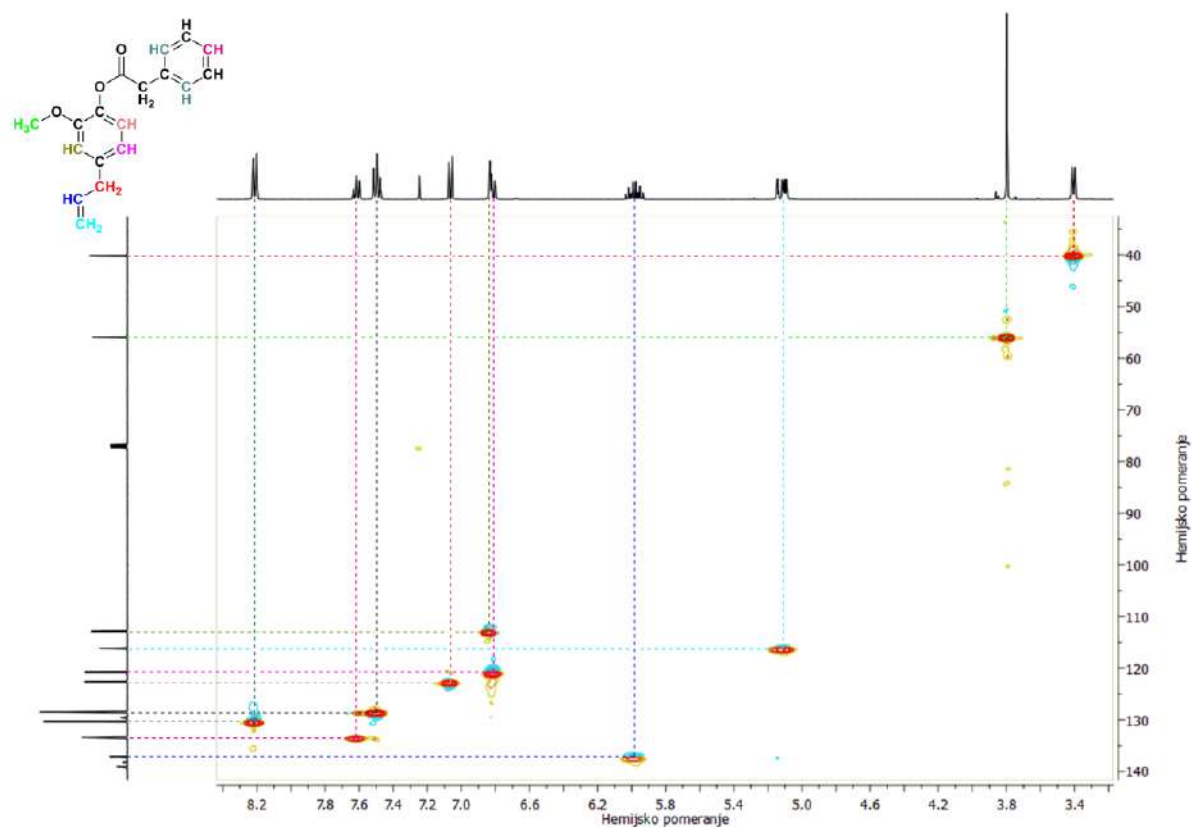
Prilog 8.3.69. ^1H – ^1H COSY spektar 4-alil-2-metoksifenil-benzoata (eugenil-benzoata) [3v]



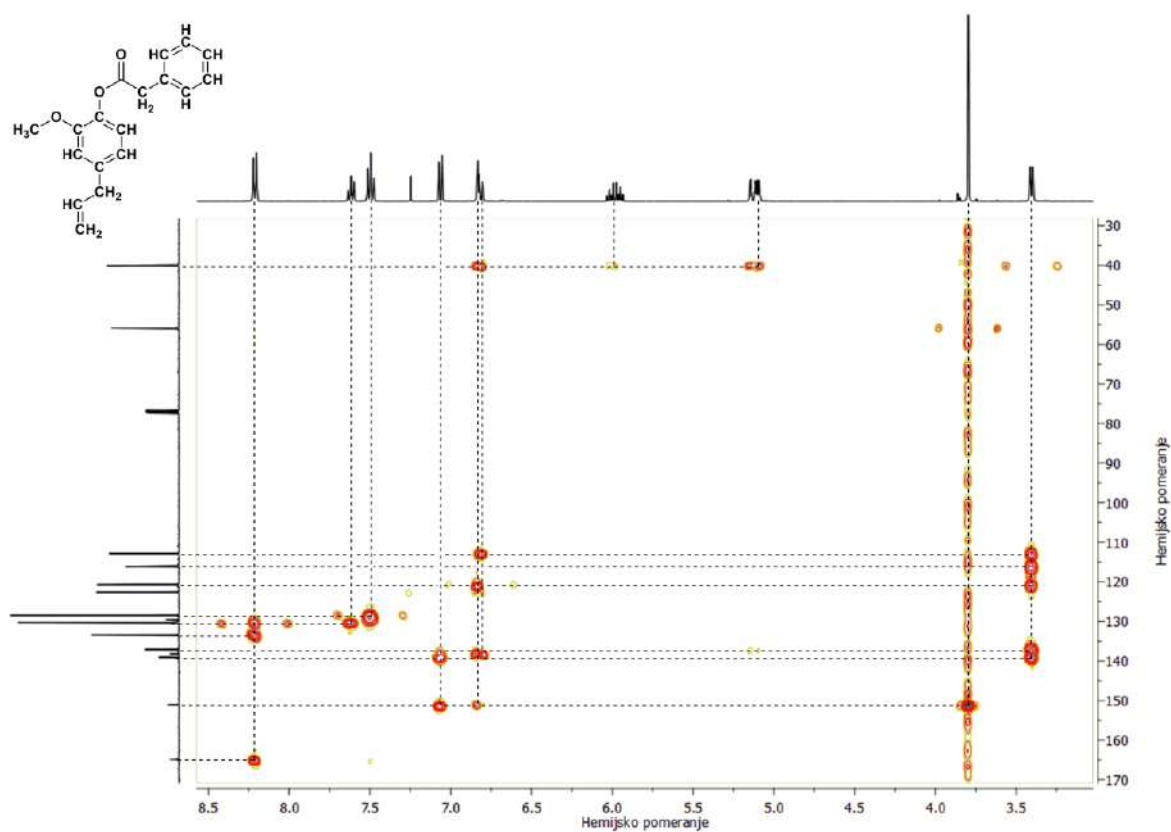
Prilog 8.3.70. DEPT spektar 4-alil-2-metoksifenil-benzoata (eugenil-benzoata) [3v]



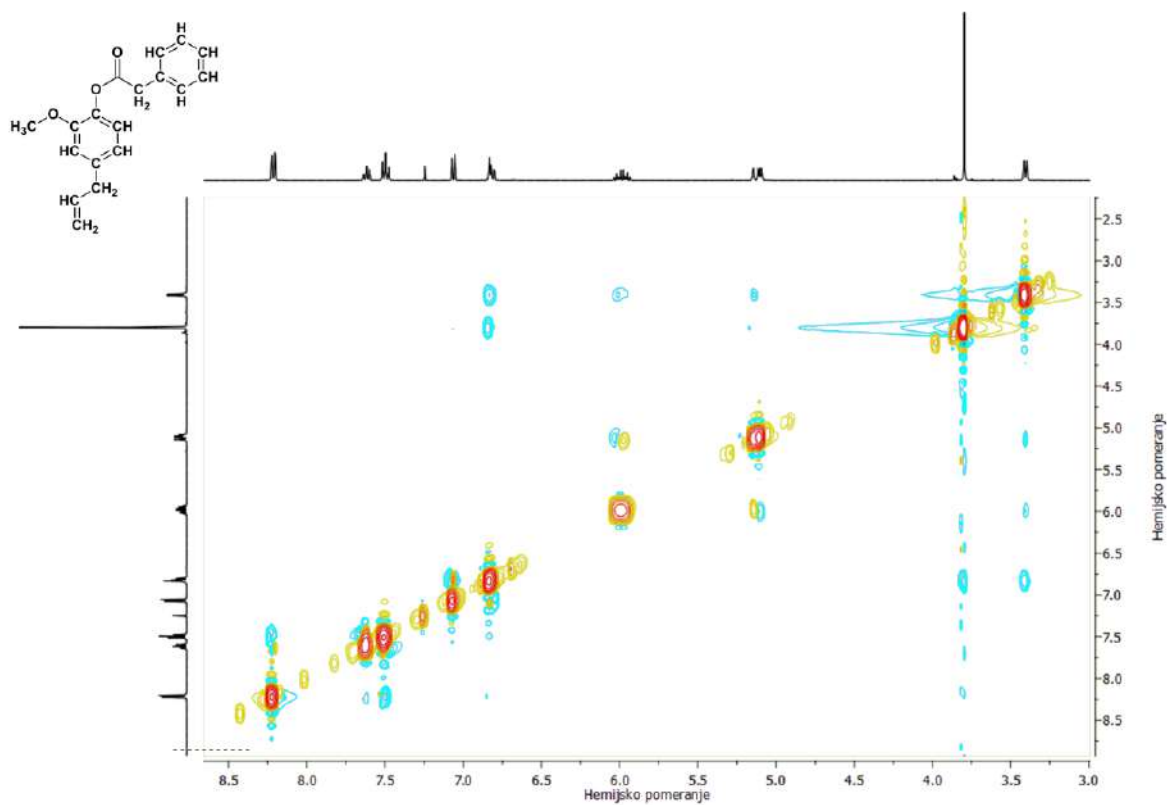
Prilog 8.3.71. HSQC spektar 4-alil-2-metoksifenil-benzoata (eugenil-benzoata) [3v]



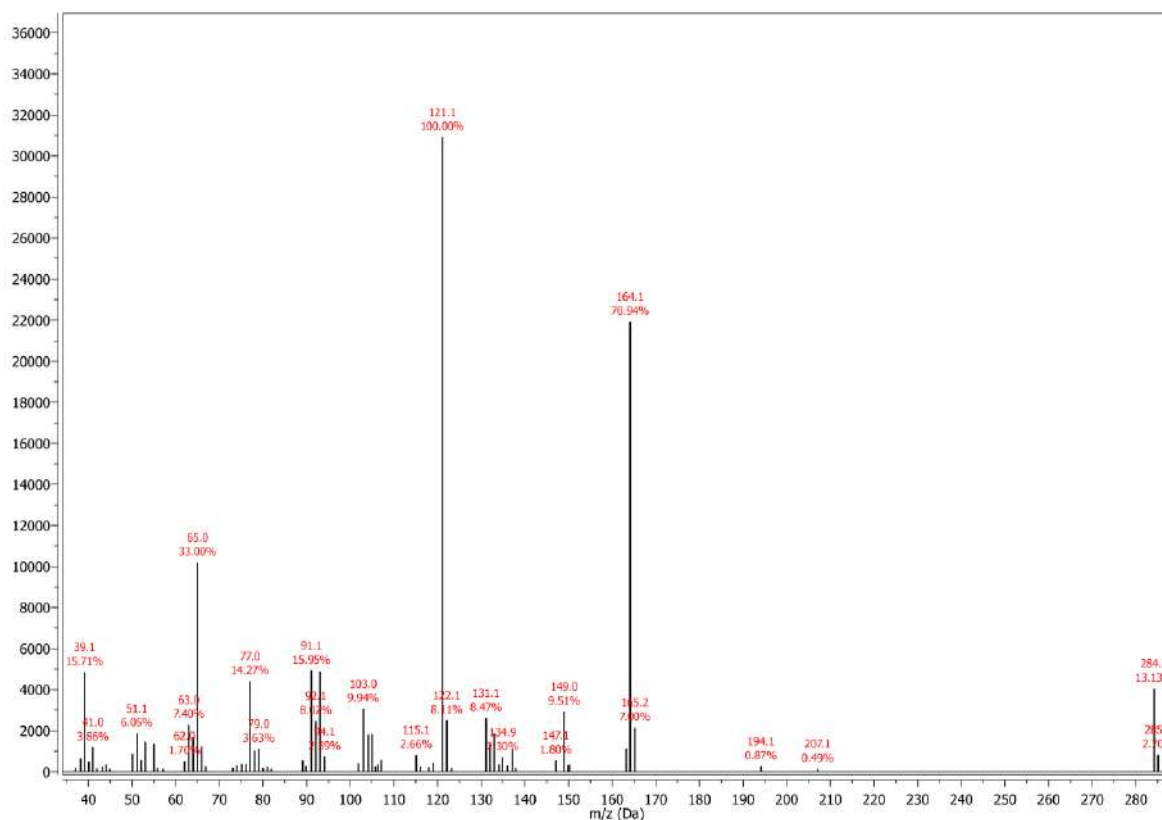
Prilog 8.3.72. HMBC spektar 4-alil-2-metoksifenil-benzoata (eugenil-benzoata) [3v]



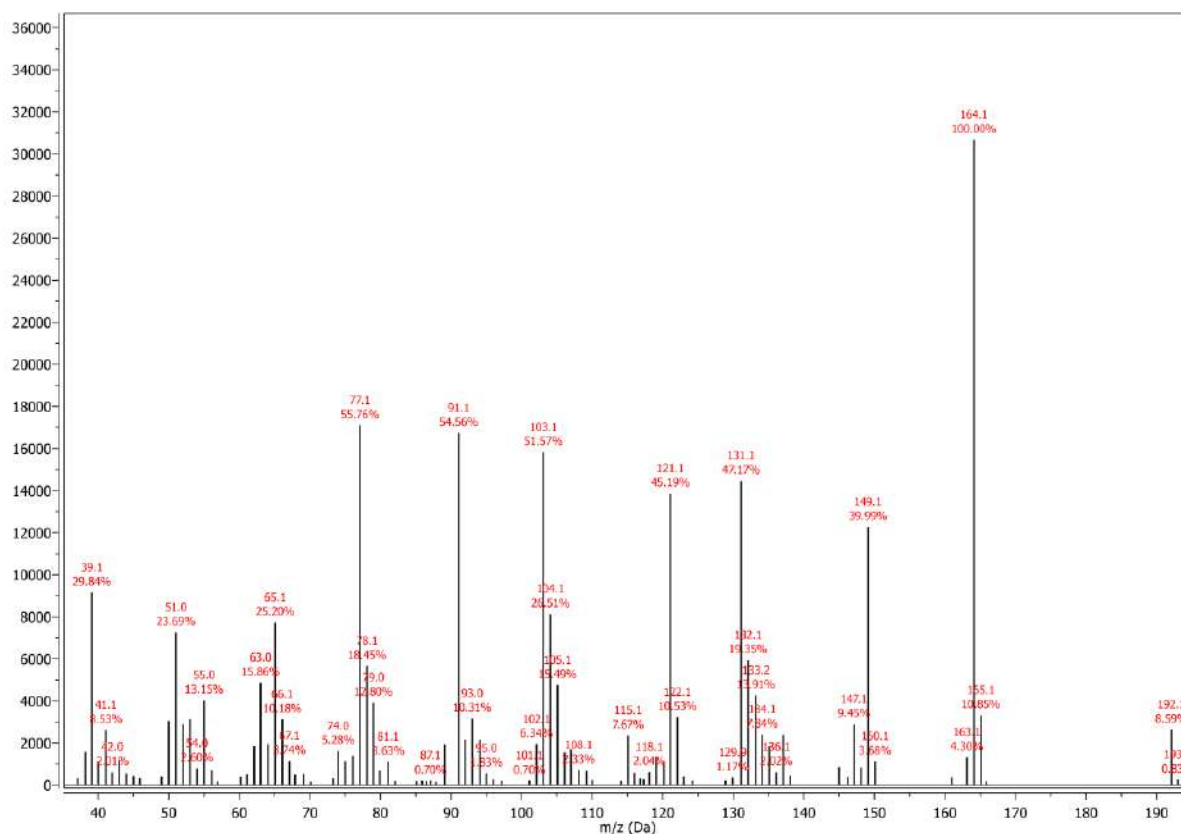
Prilog 8.3.73. NOESY spektar 4-alil-2-metoksifenil-benzoata (eugenil-benzoata) [3v]



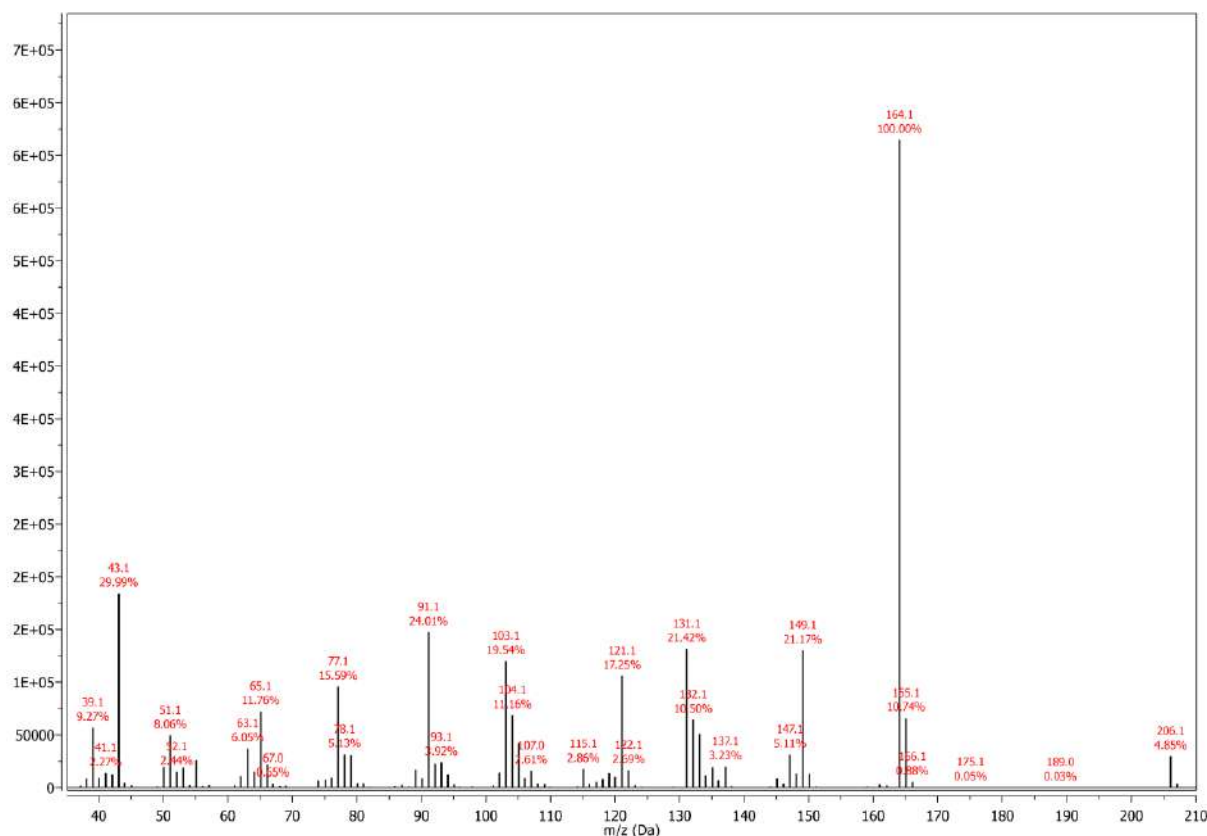
Prilog 8.3.74. Maseni spektar 4-alil-2-metoksifenil-salicilata (eugenil-salicilata) [3w]



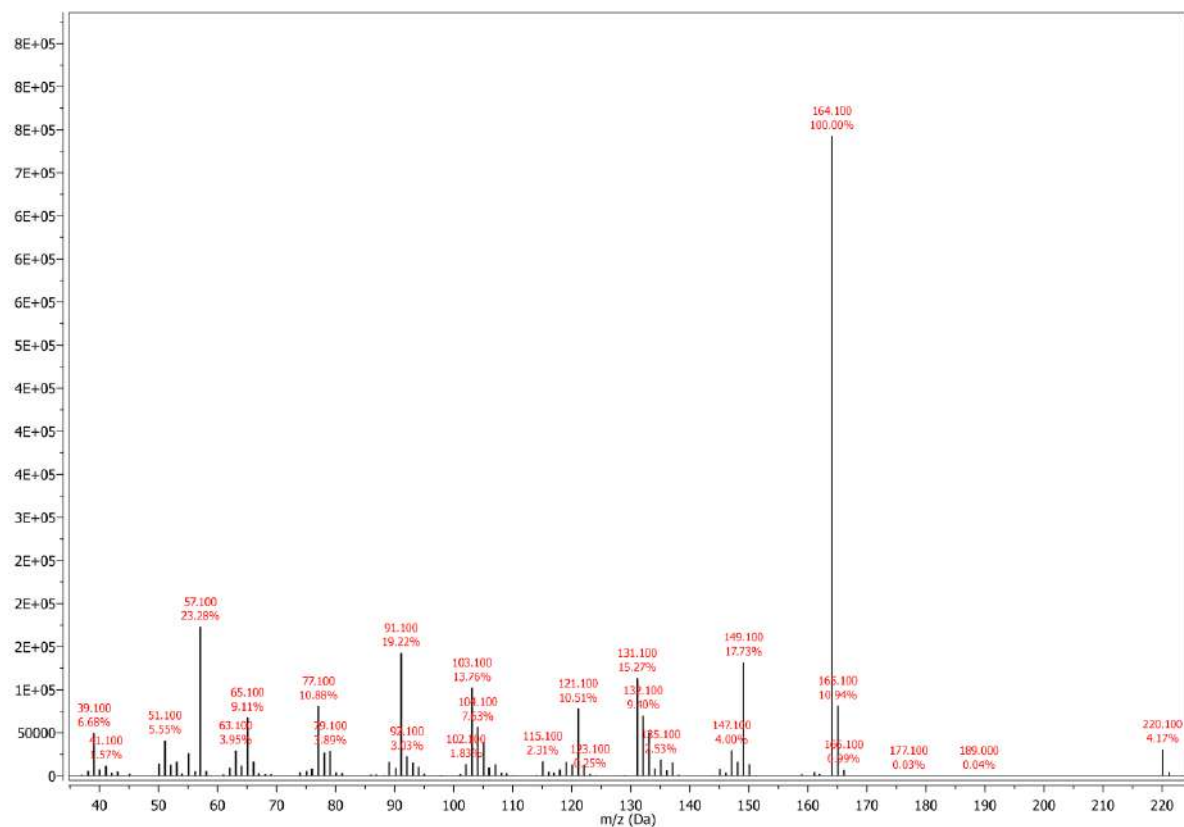
Prilog 8.3.75. Maseni spektar 2-allyl-4-methoxyphenyl formate [4a]



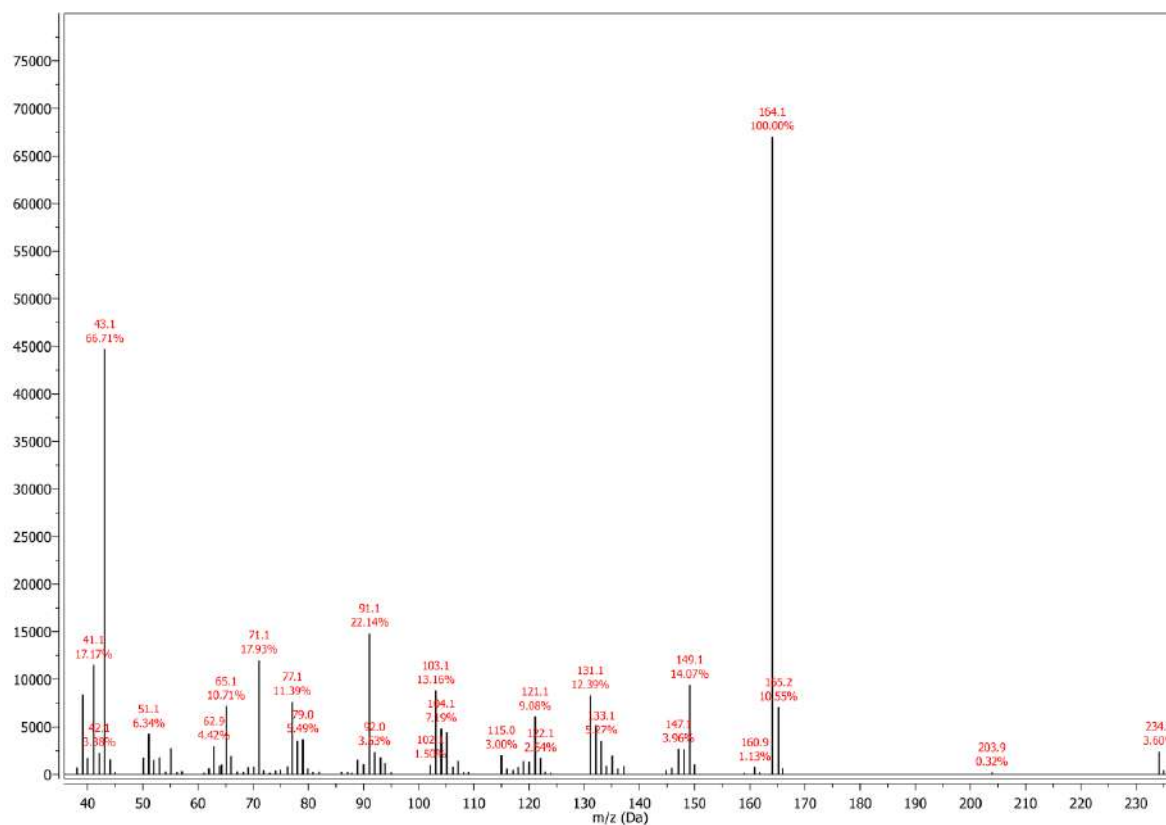
Prilog 8.3.76. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-acetata [4b]



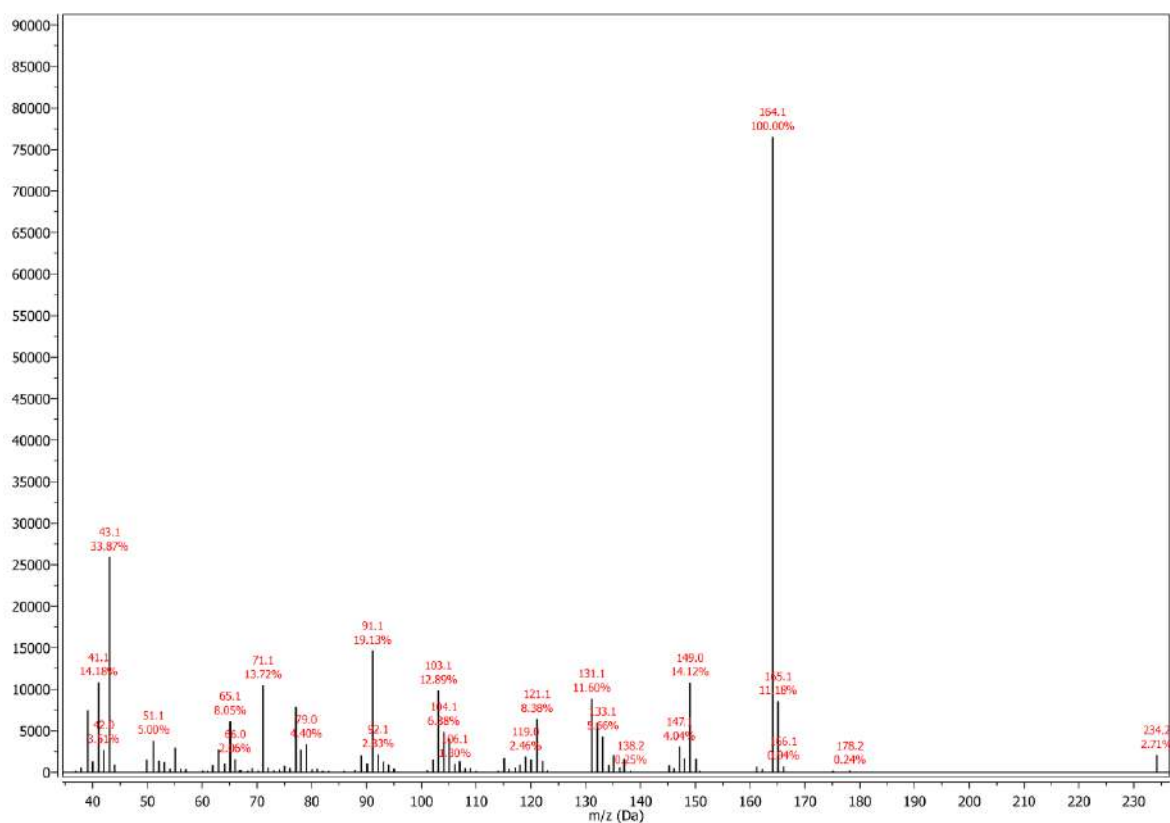
Prilog 8.3.77. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-propanoata [4c]



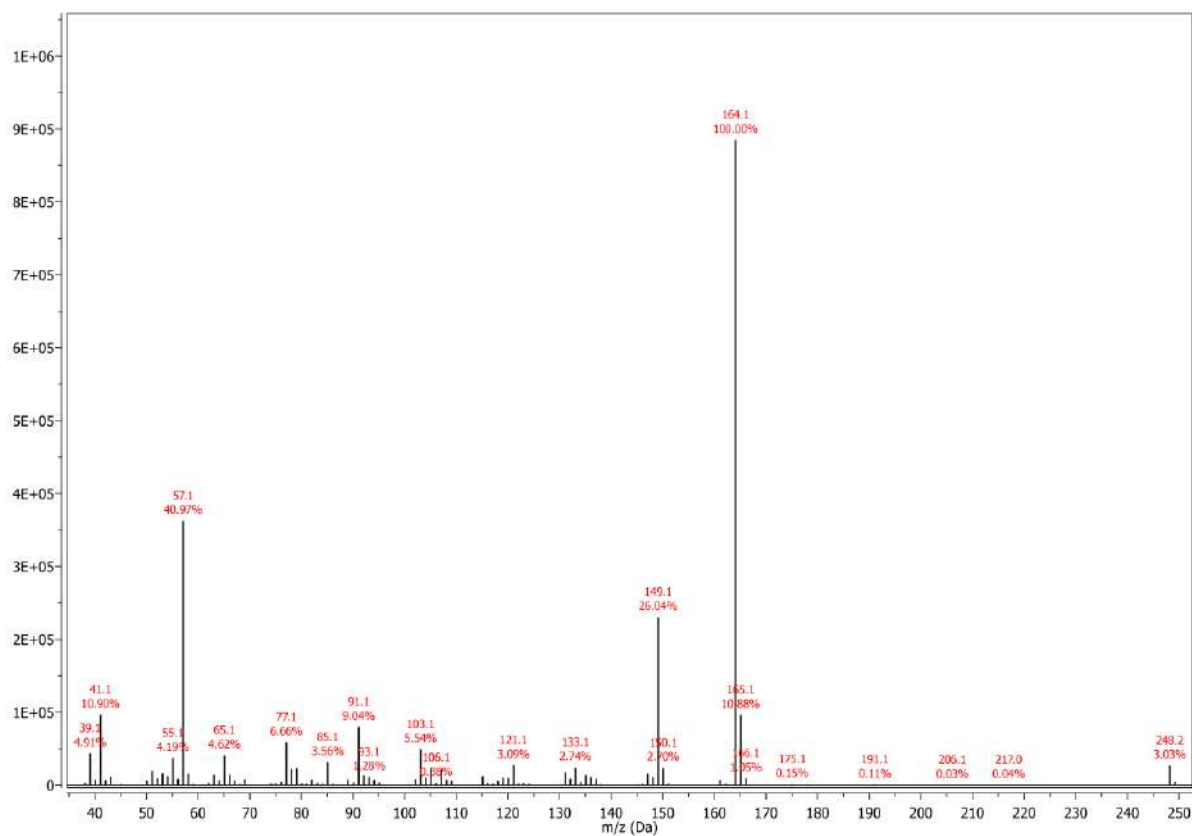
Prilog 8.3.78. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-izobutanoata [4d]



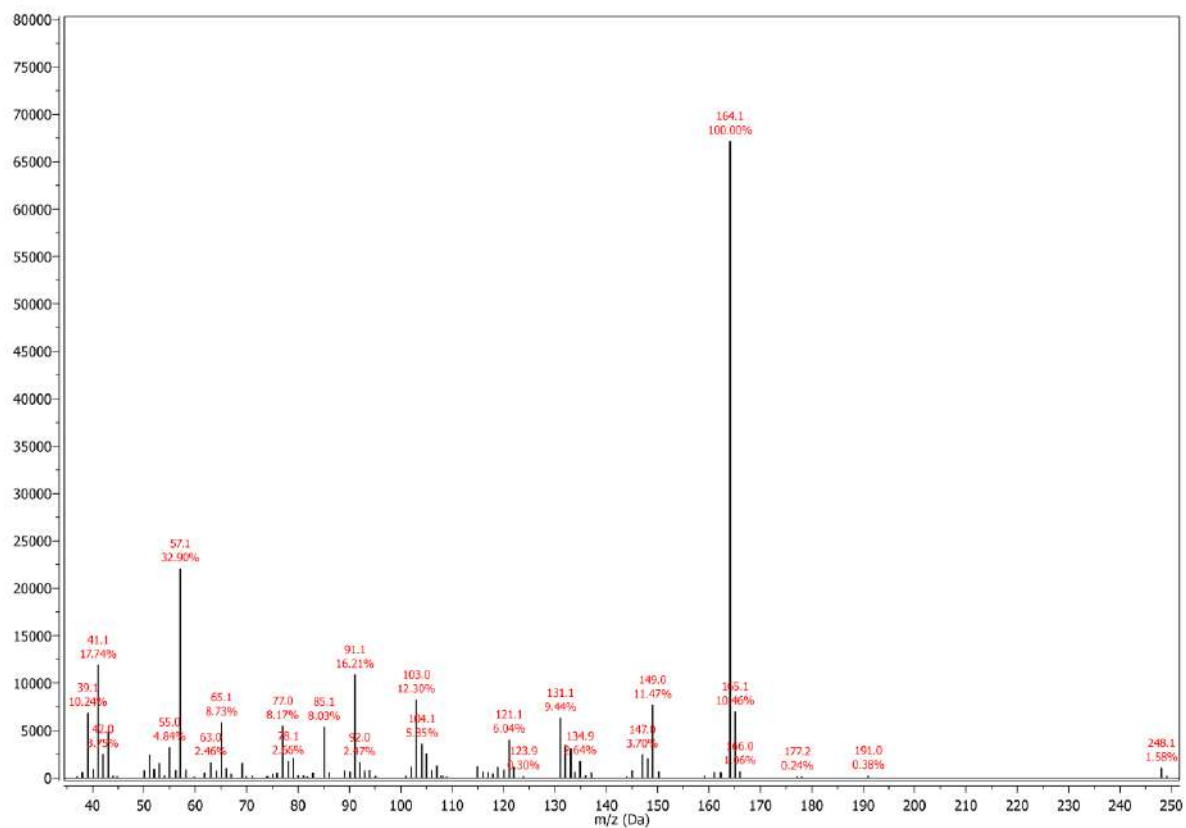
Prilog 8.3.79. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-butanoata [4e]



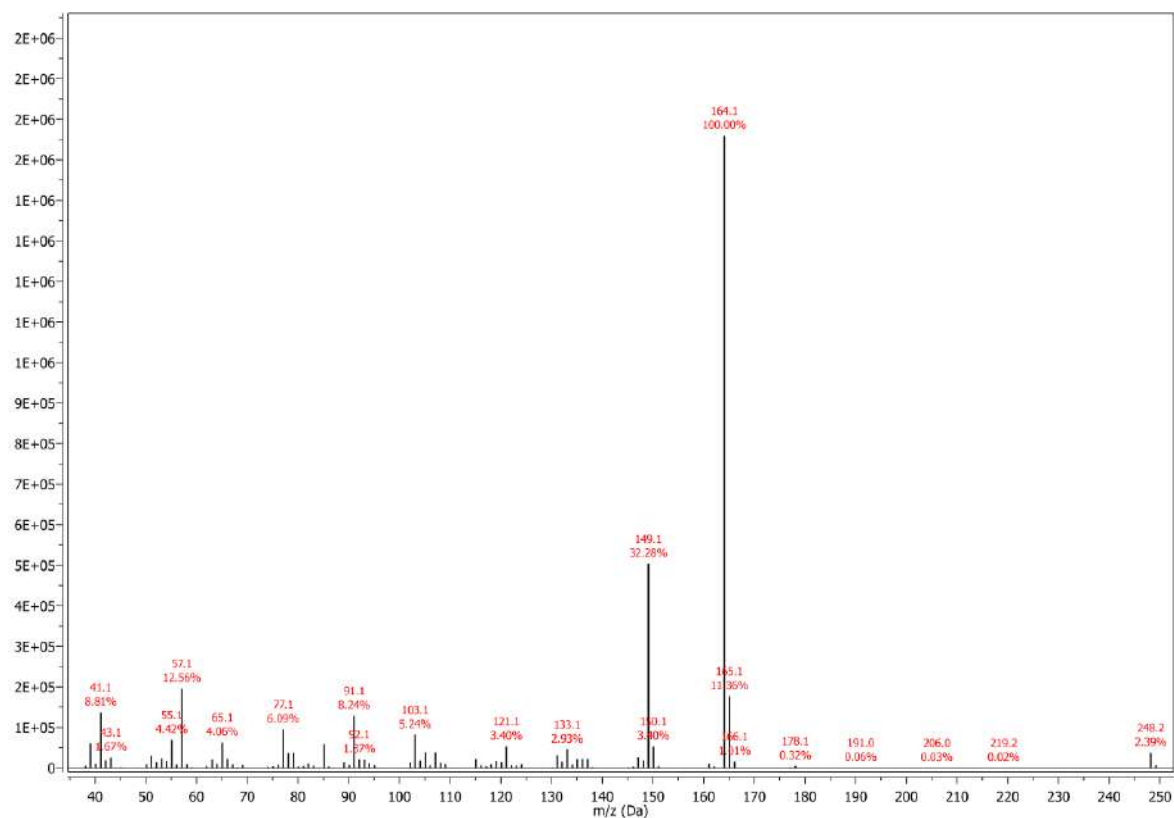
Prilog 8.3.80. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-2-metilbutanoata [4f]



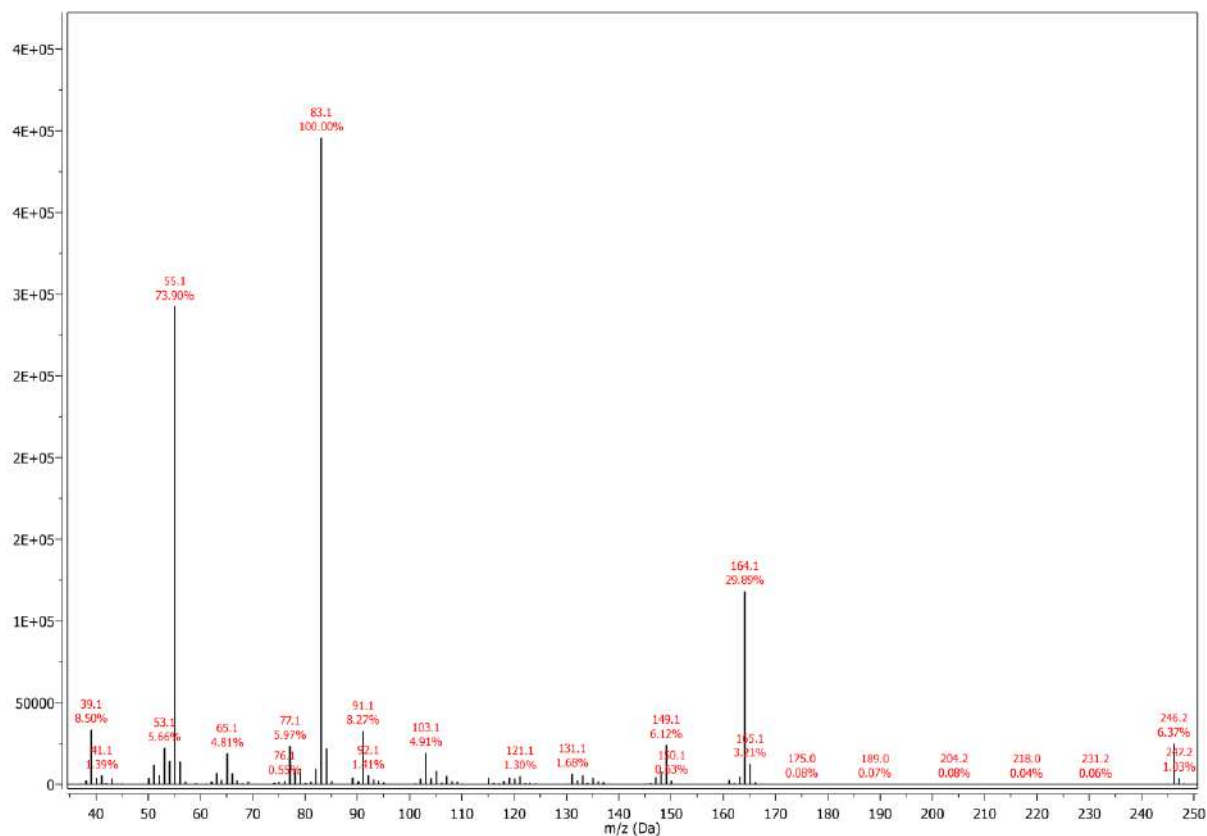
Prilog 8.3.81. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-3-metilbutanoata [4g]



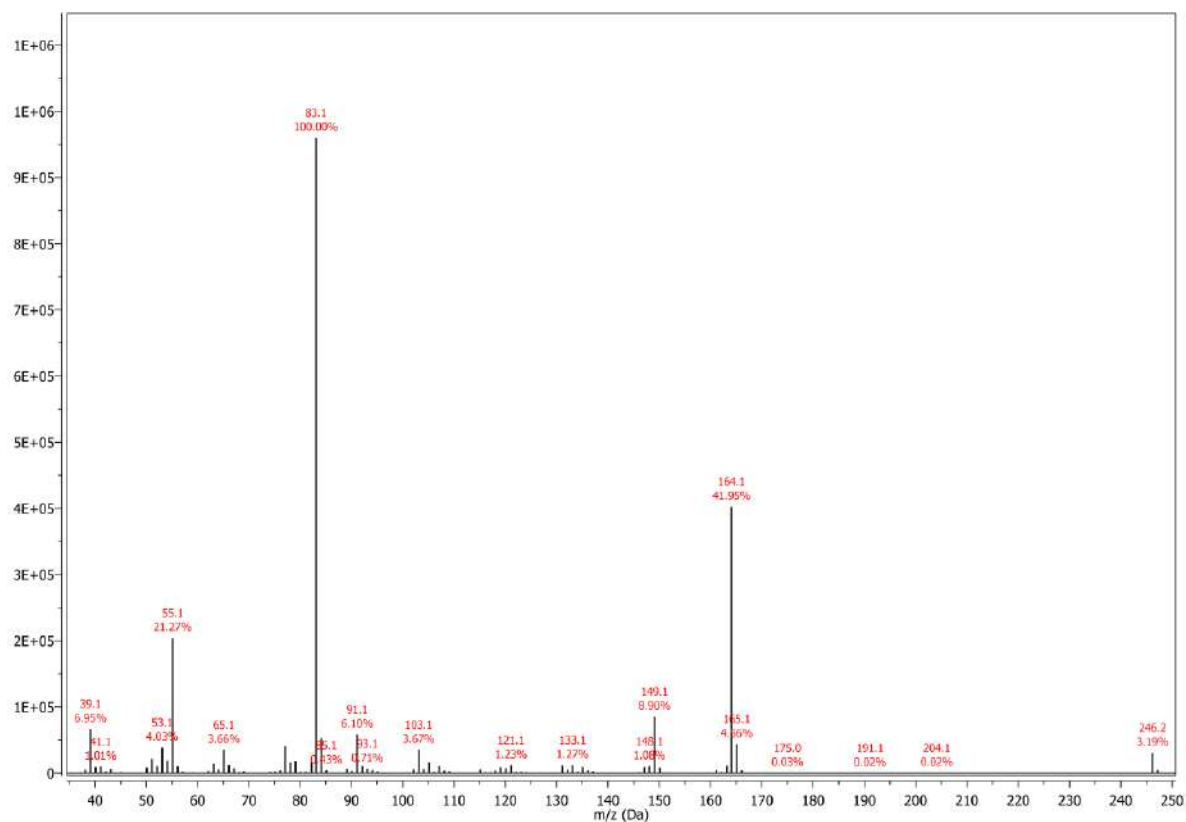
Prilog 8.3.82. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-pentanoata **[4h]**



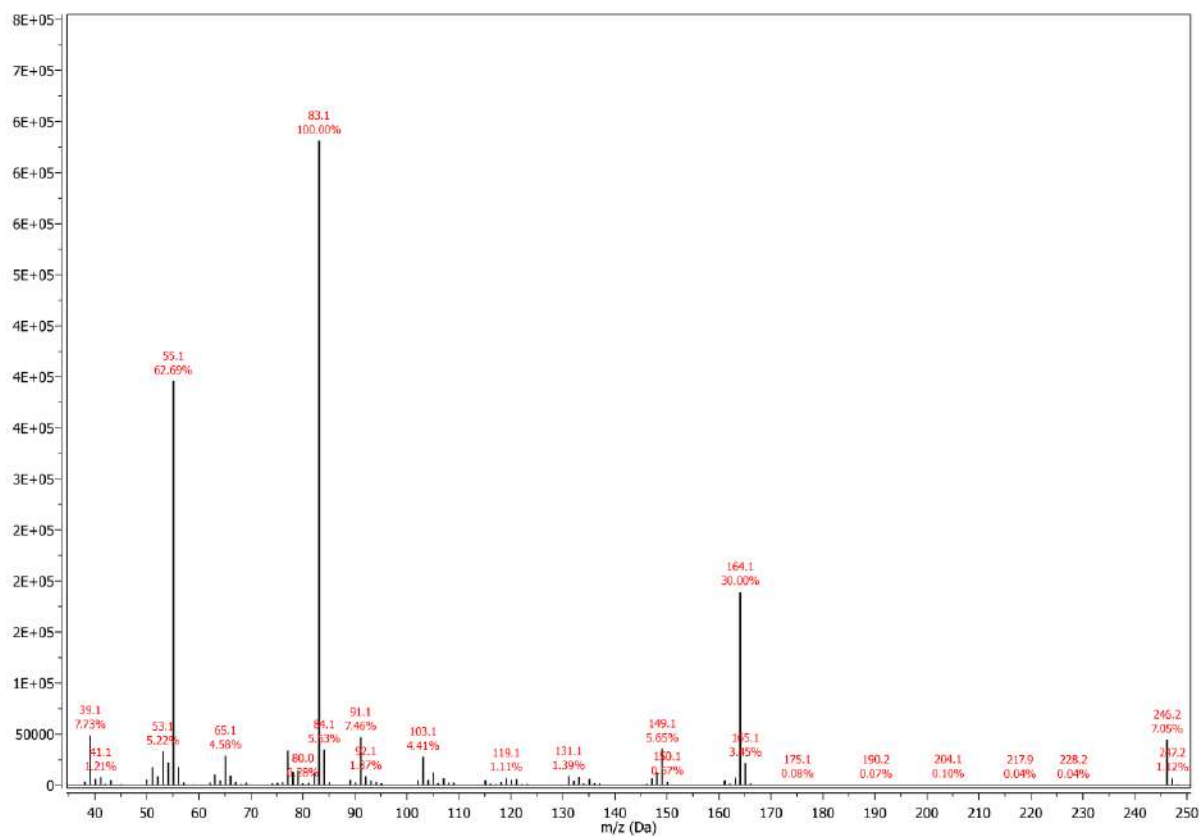
Prilog 8.3.83. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-angelata **[4i]**



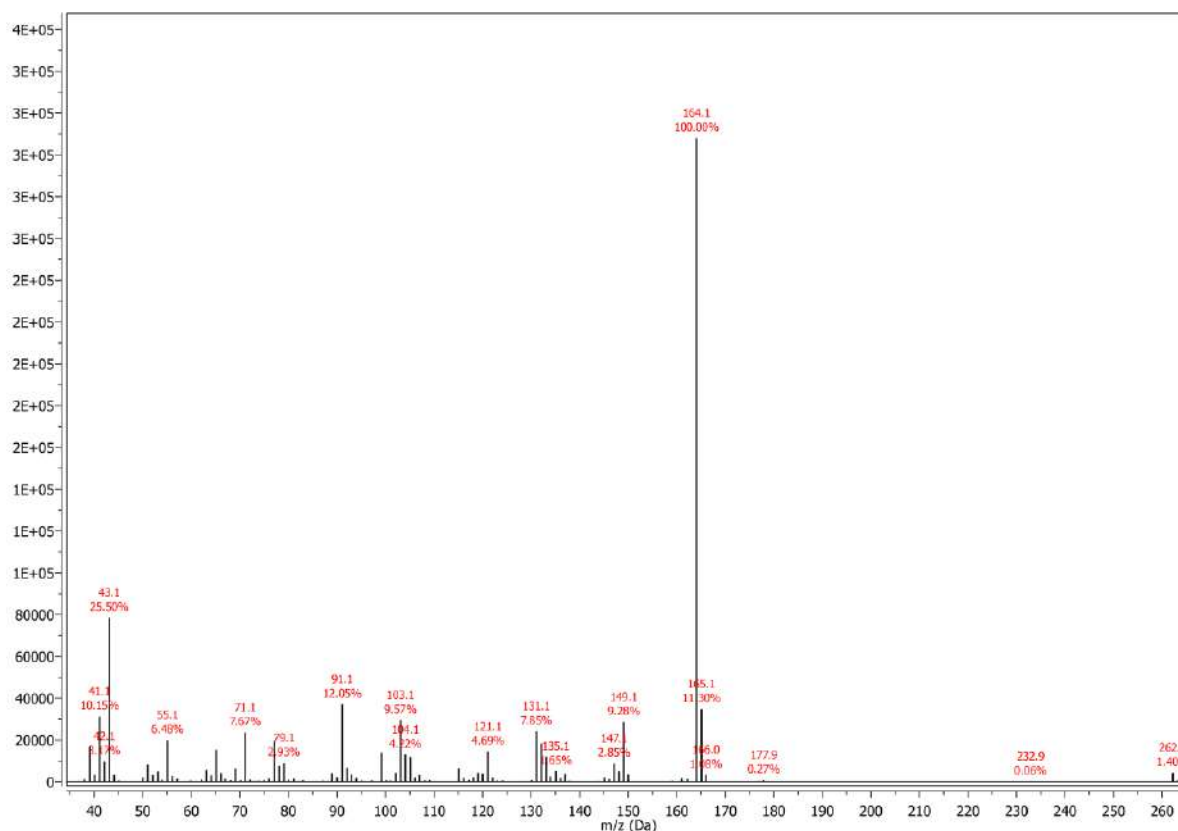
Prilog 8.3.84. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-senecioata [4j]



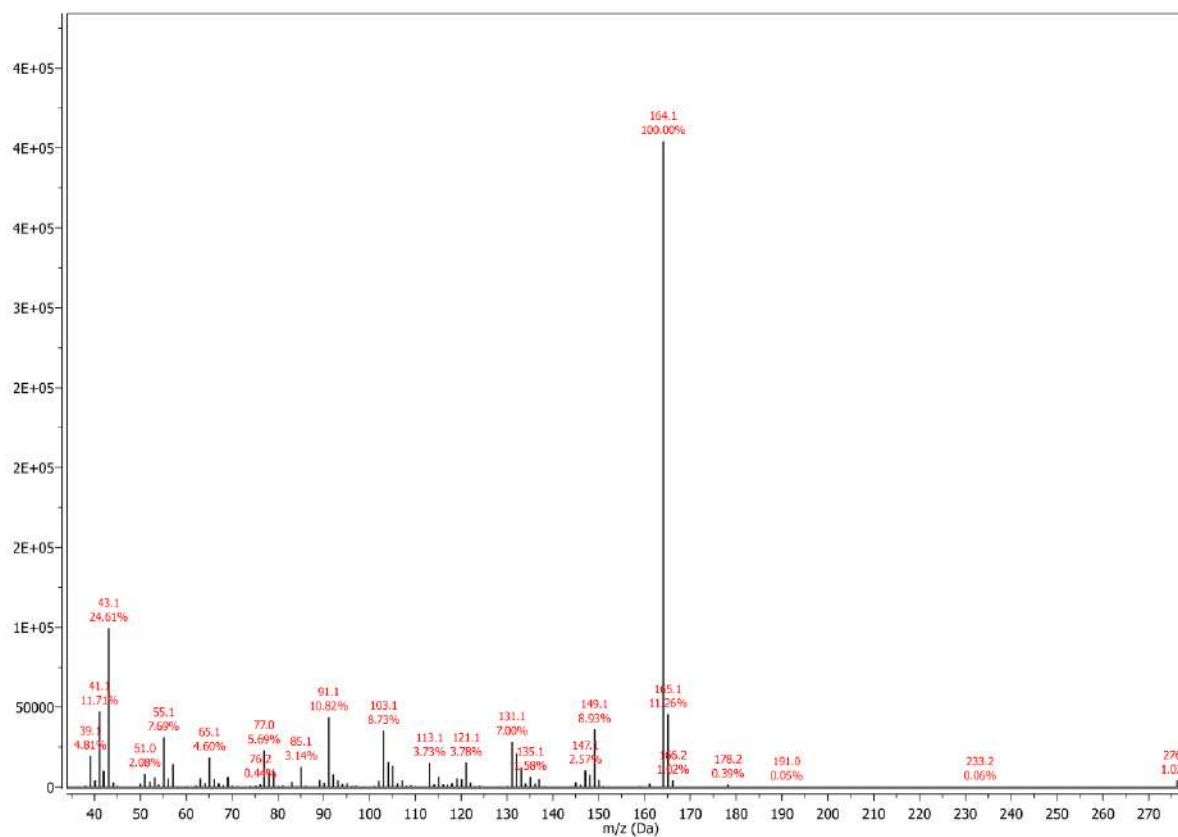
Prilog 8.3.85. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-tiglata [4k]



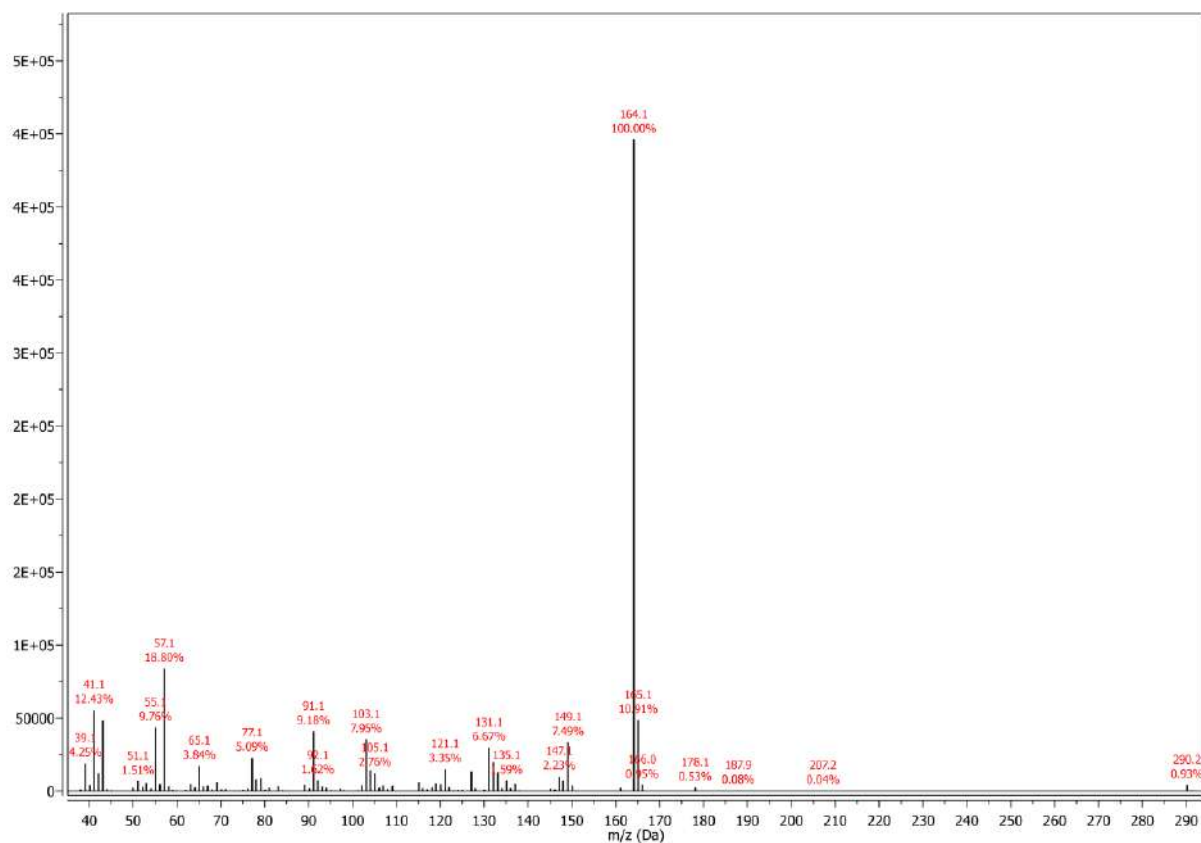
Prilog 8.3.86. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-heksanoata [4l]



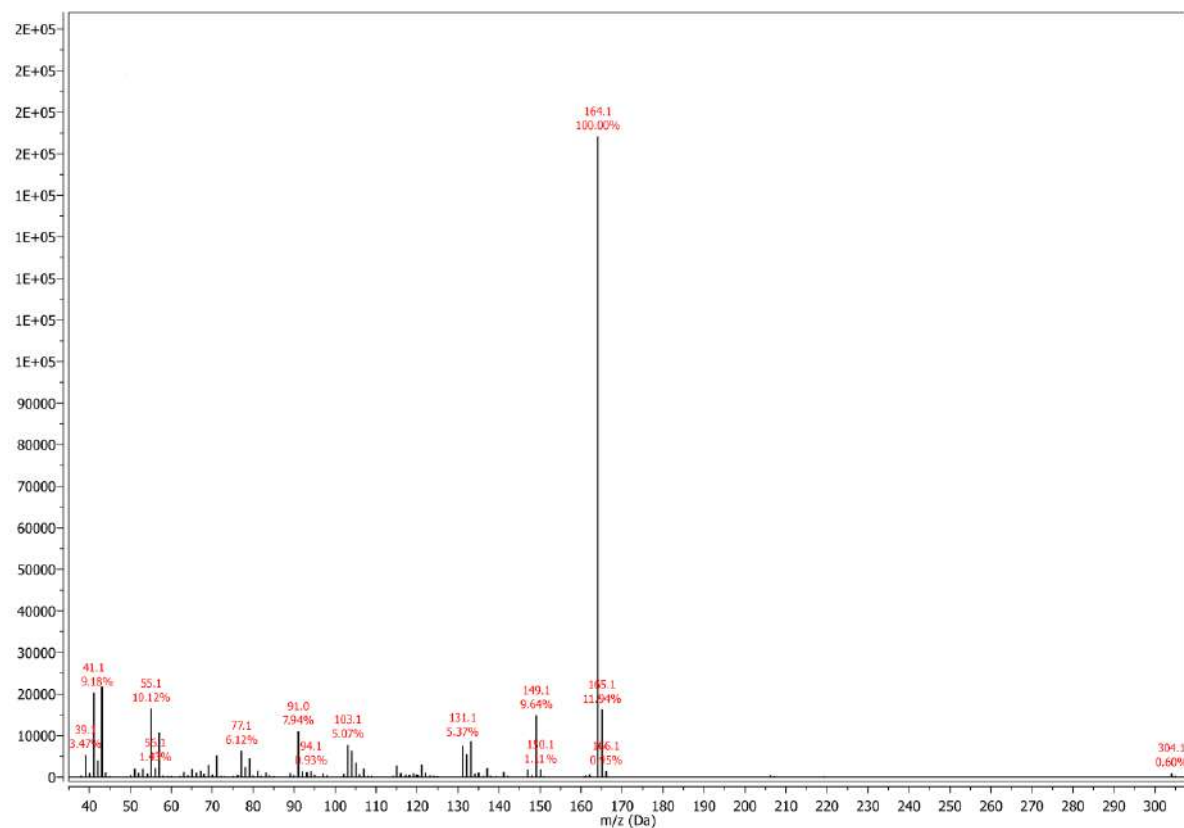
Prilog 8.3.87. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-heptanoata [4m]



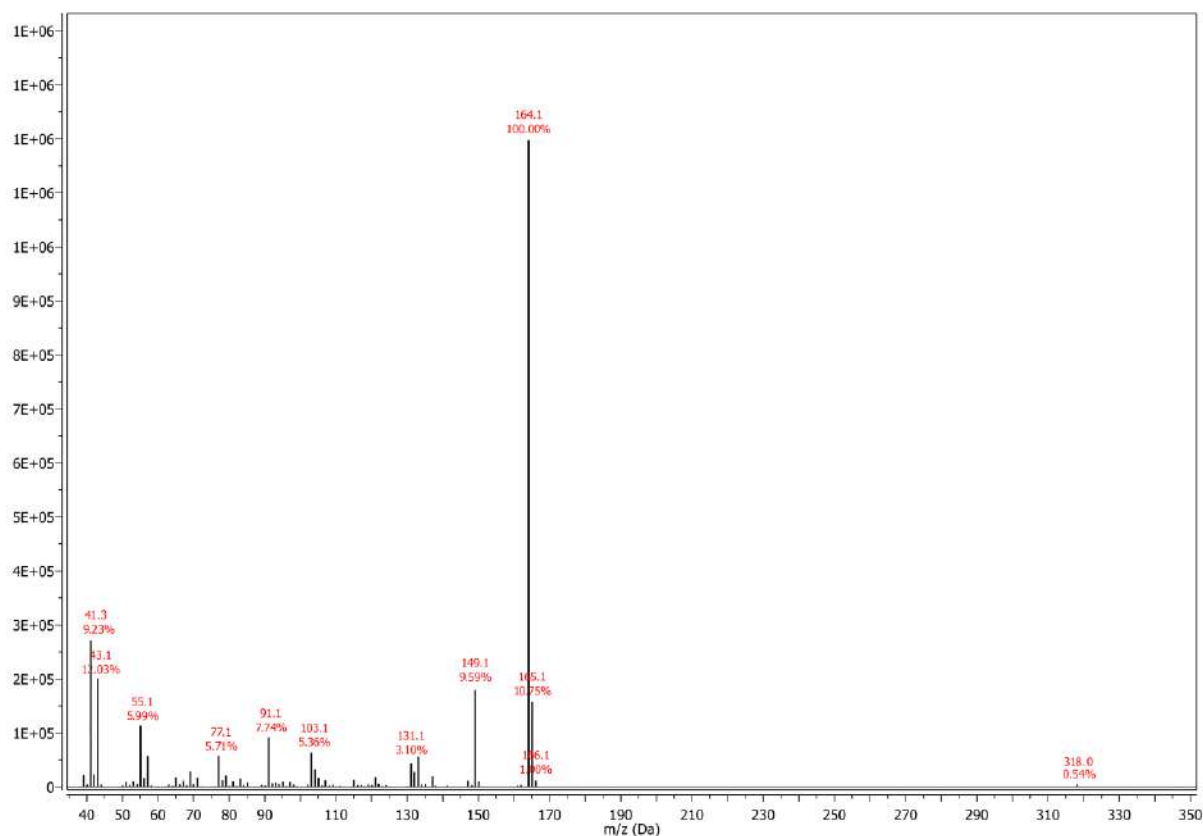
Prilog 8.3.88. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-oktanoata [4n]



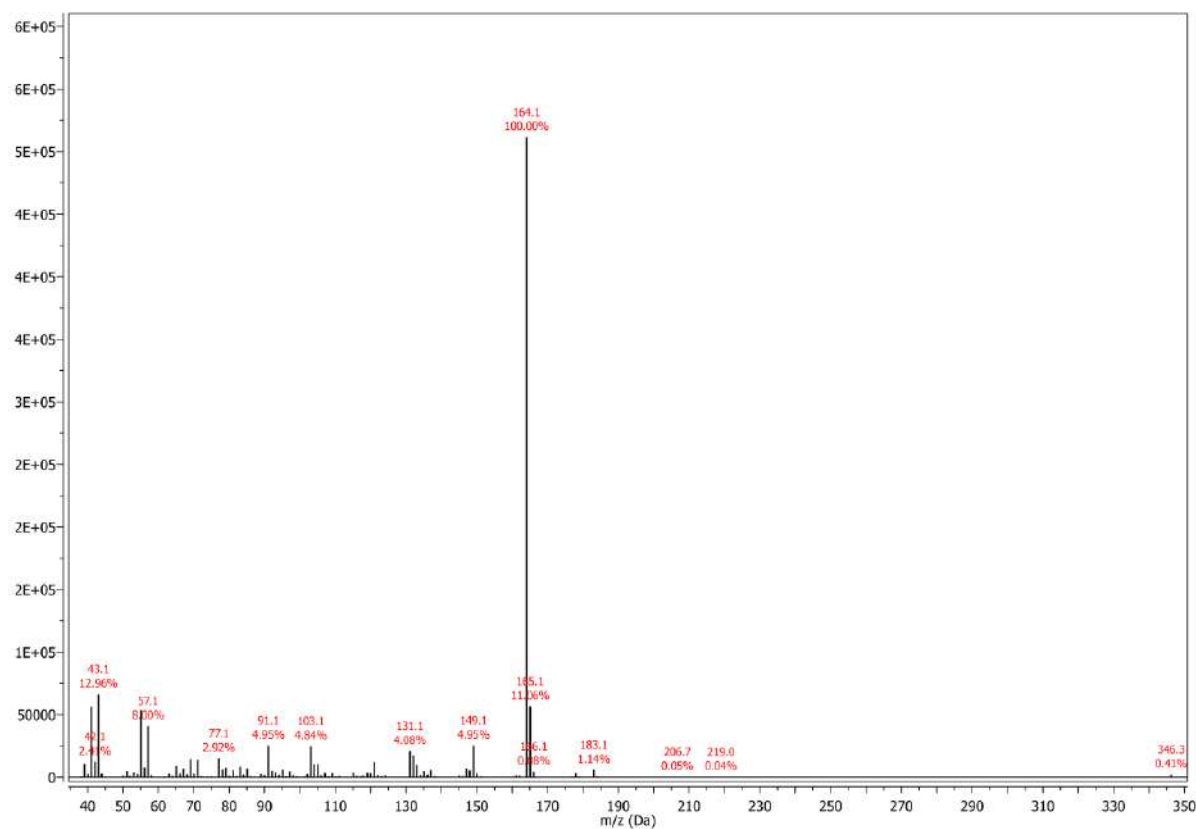
Prilog 8.3.89. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-nonanoata [4o]



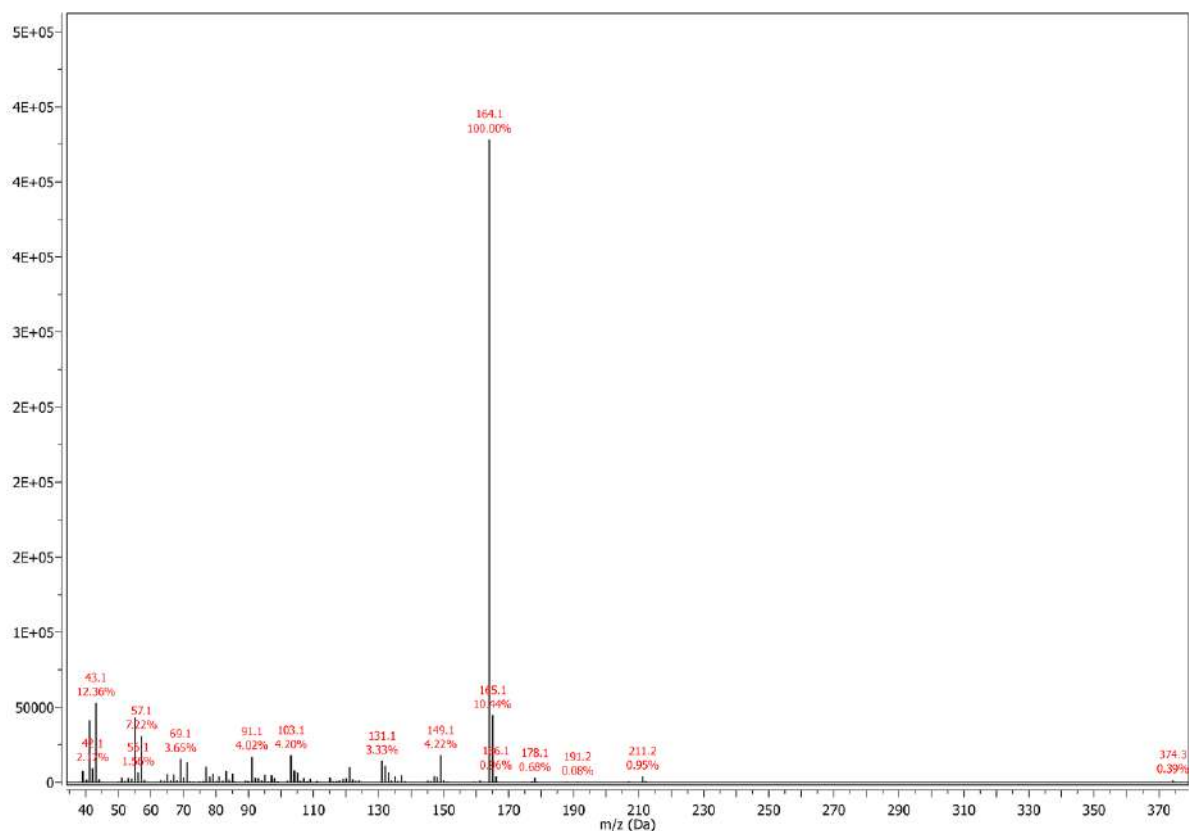
Prilog 8.3.90. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-dekanoata [4p]



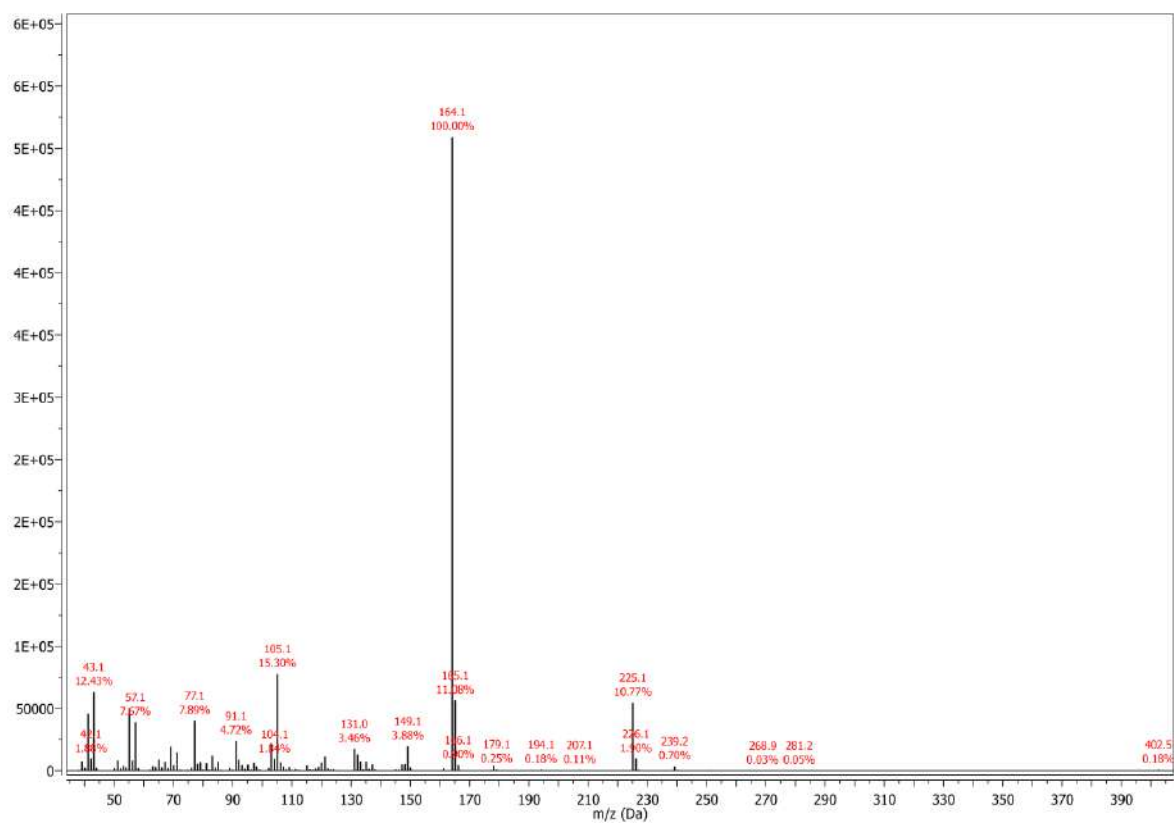
Prilog 8.3.91. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-dodekanoata [4q]



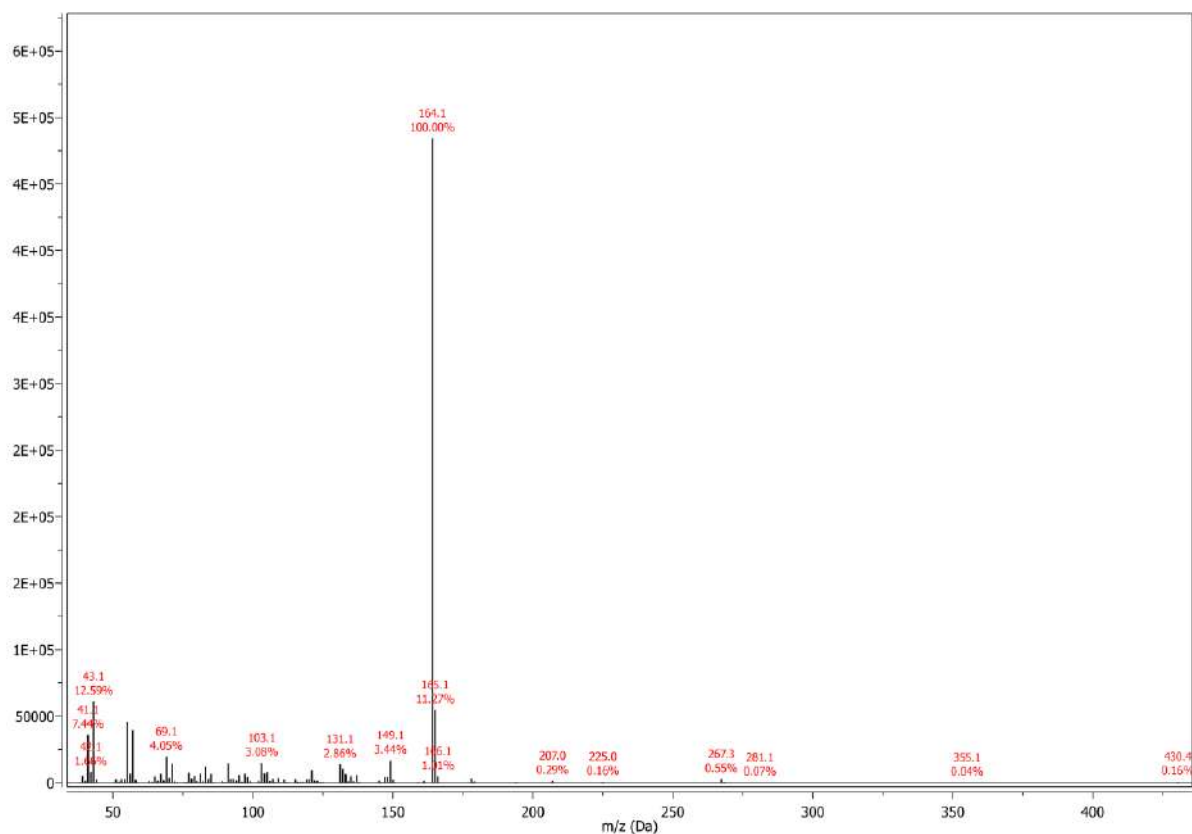
Prilog 8.3.92. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-tetradekanoata [4r]



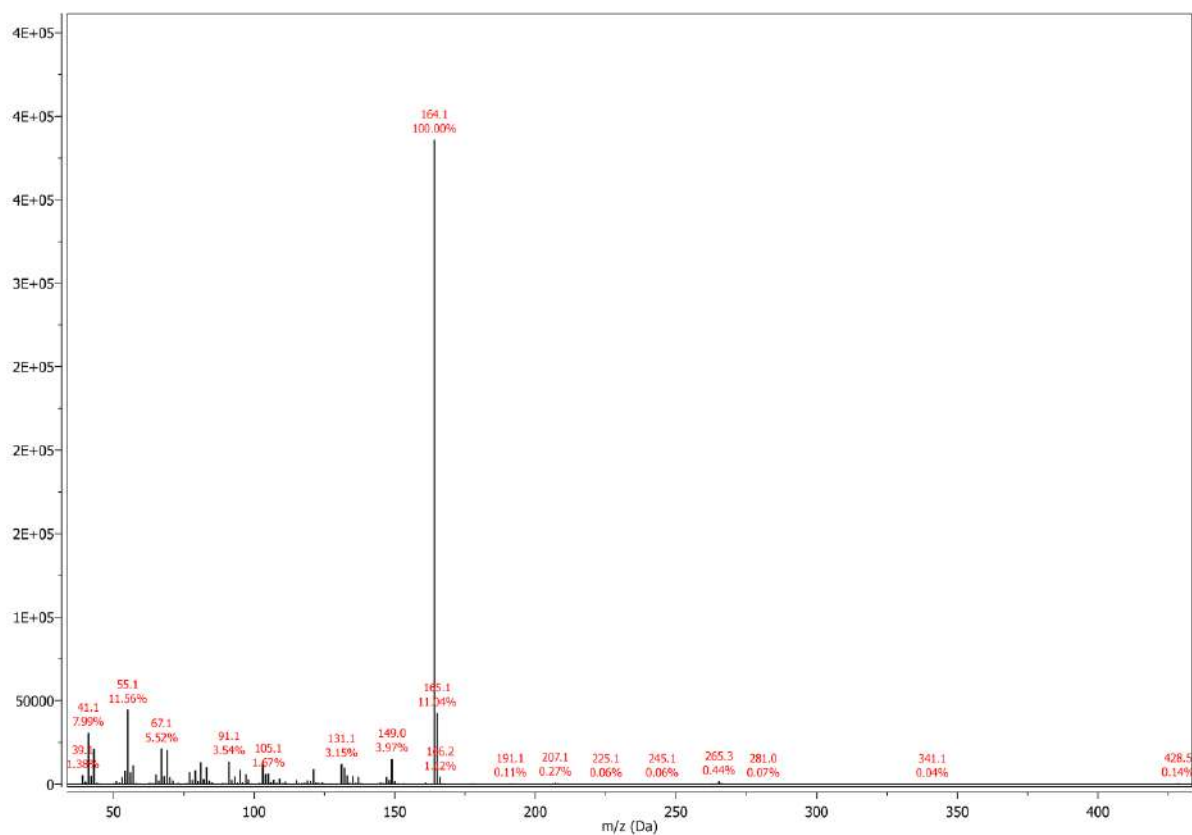
Prilog 8.3.93. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-heksadekanoata [4s]



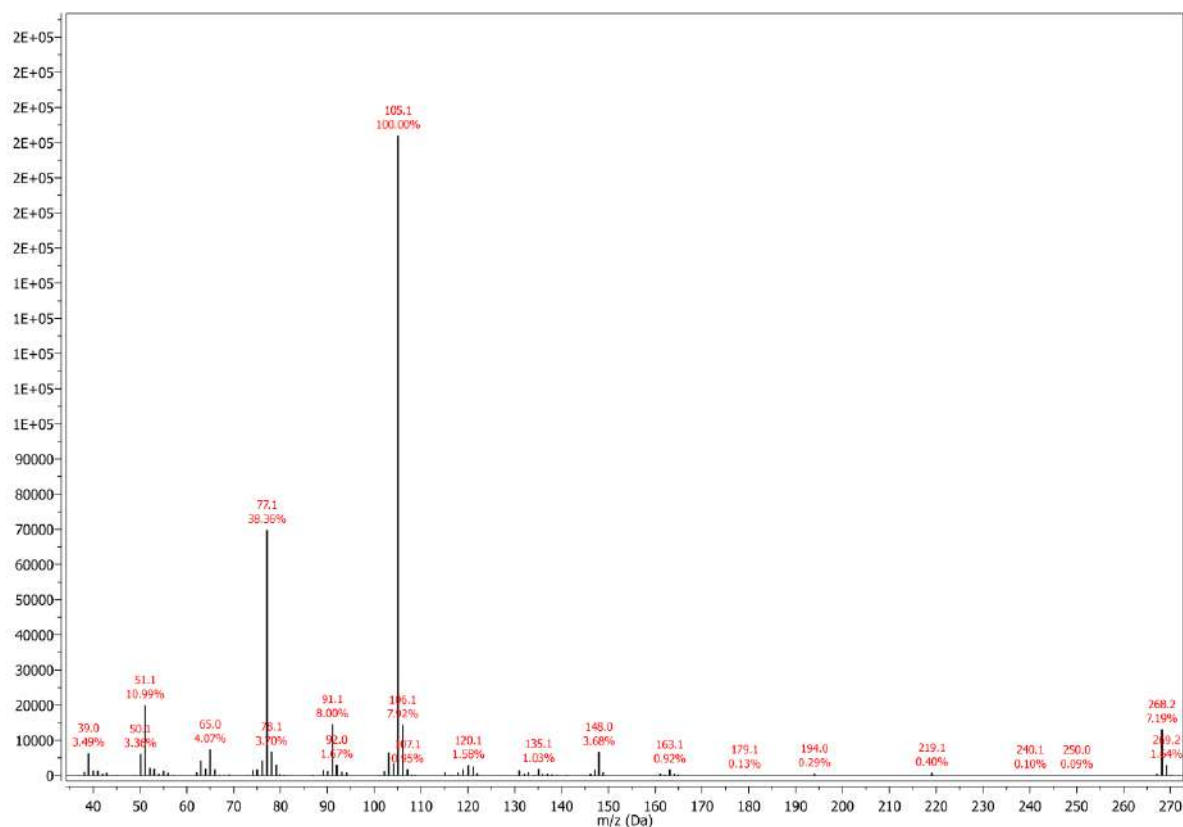
Prilog 8.3.94. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-oktadekanoata [4t]



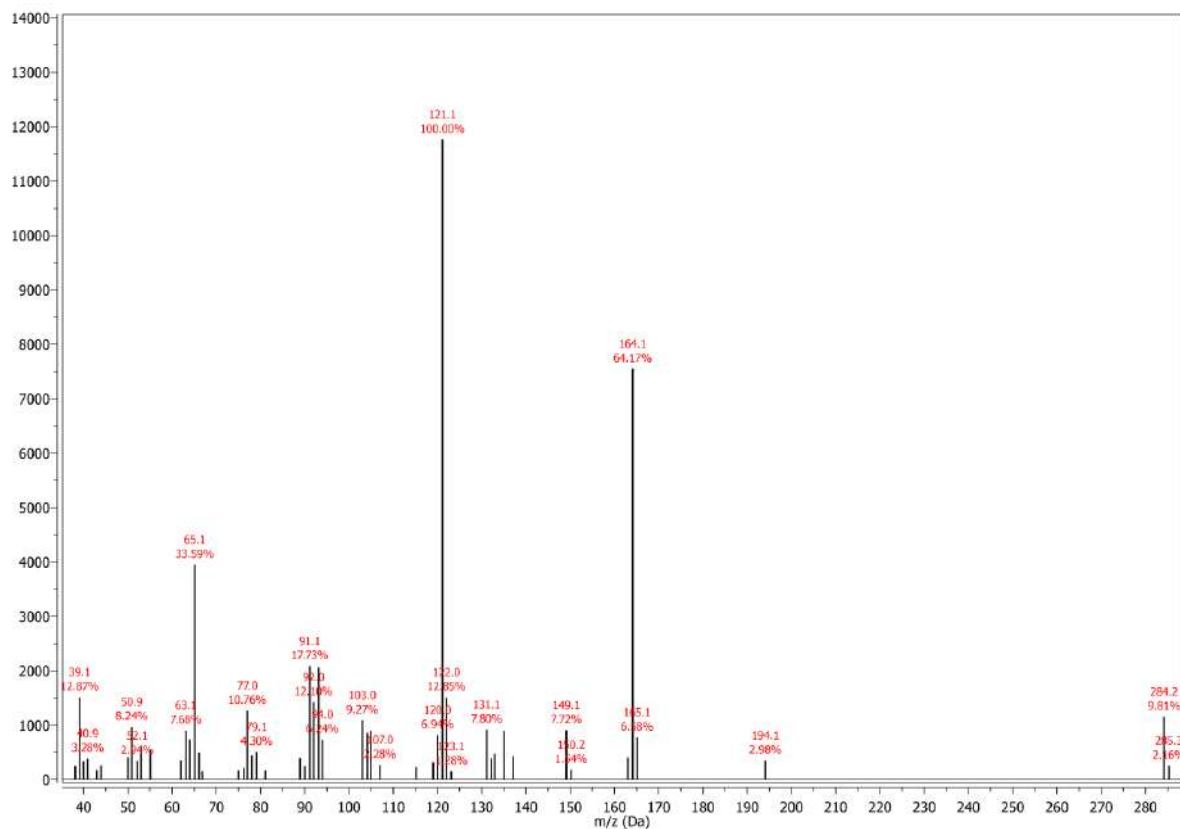
Prilog 8.3.95. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-(Z)-9-octadecenoata [4u]



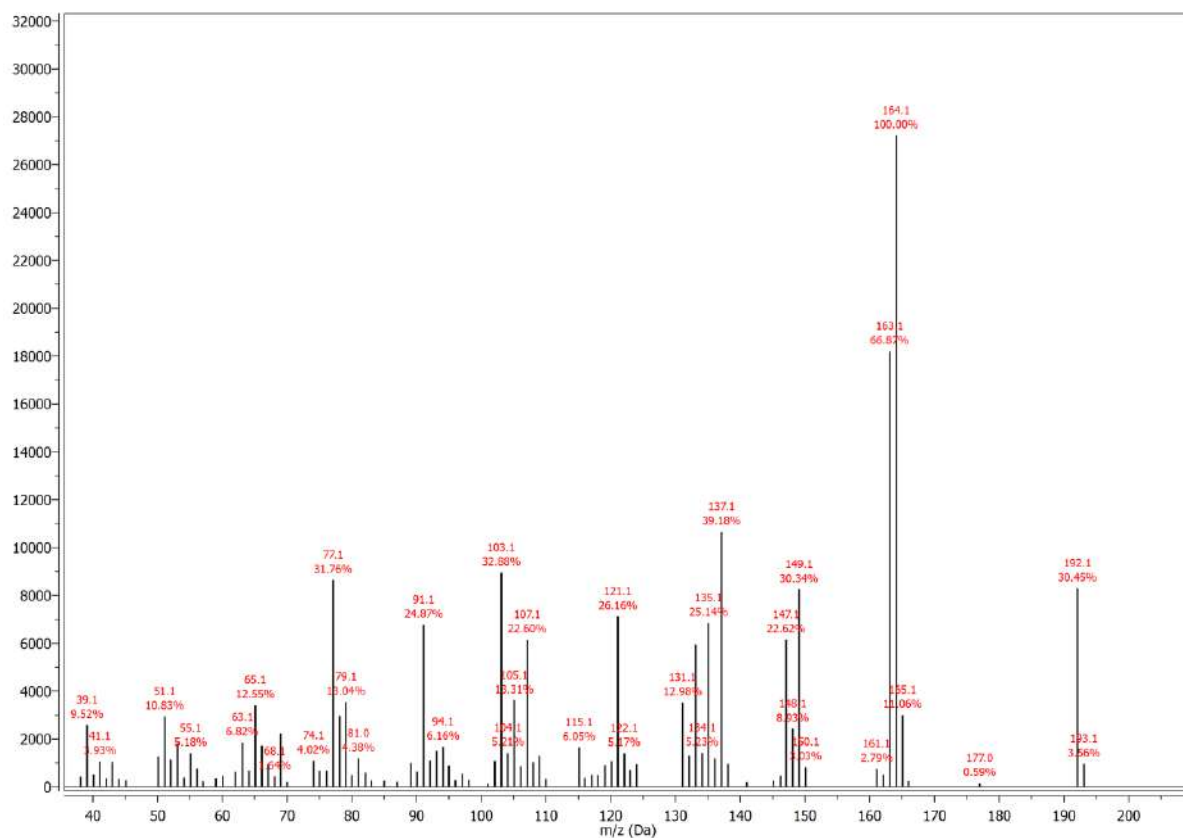
Prilog 8.3.96. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-benzoata [4v]



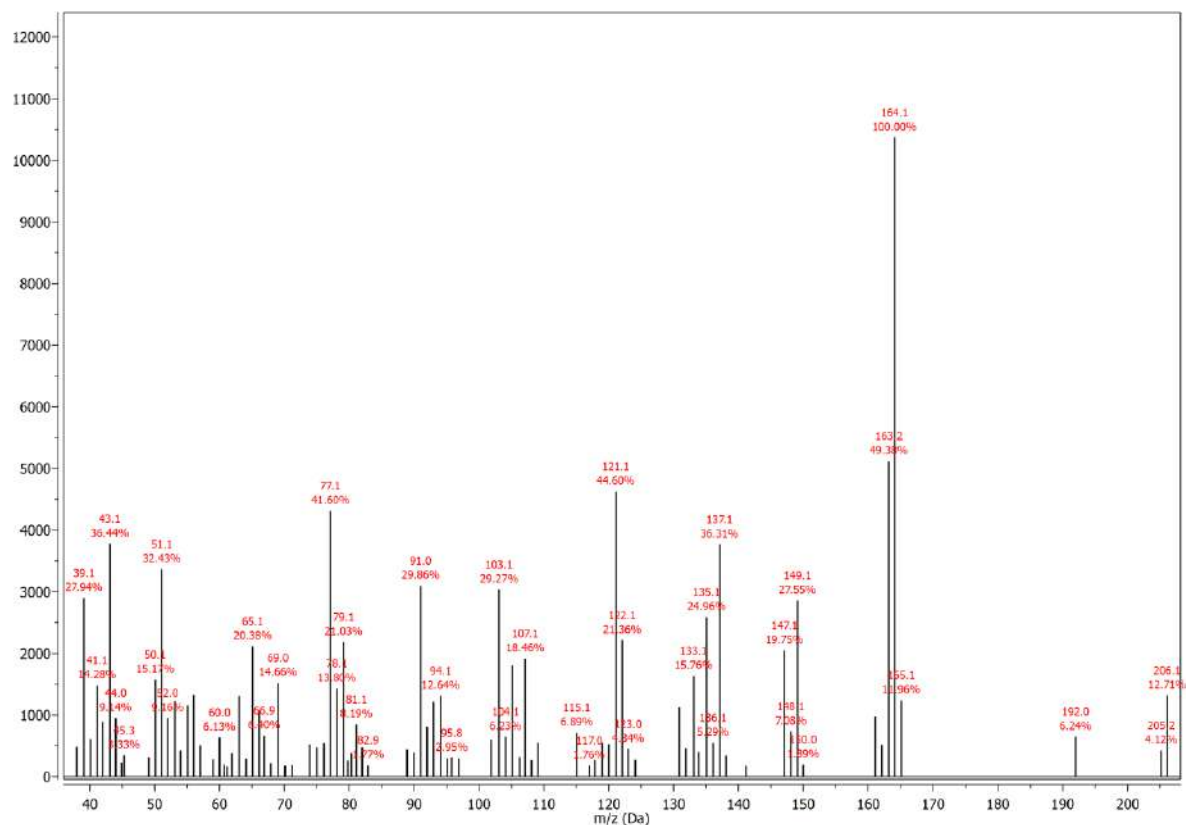
Prilog 8.3.97. Maseni spektar 2-alil-4-metoksifenil-salicilata [4w]



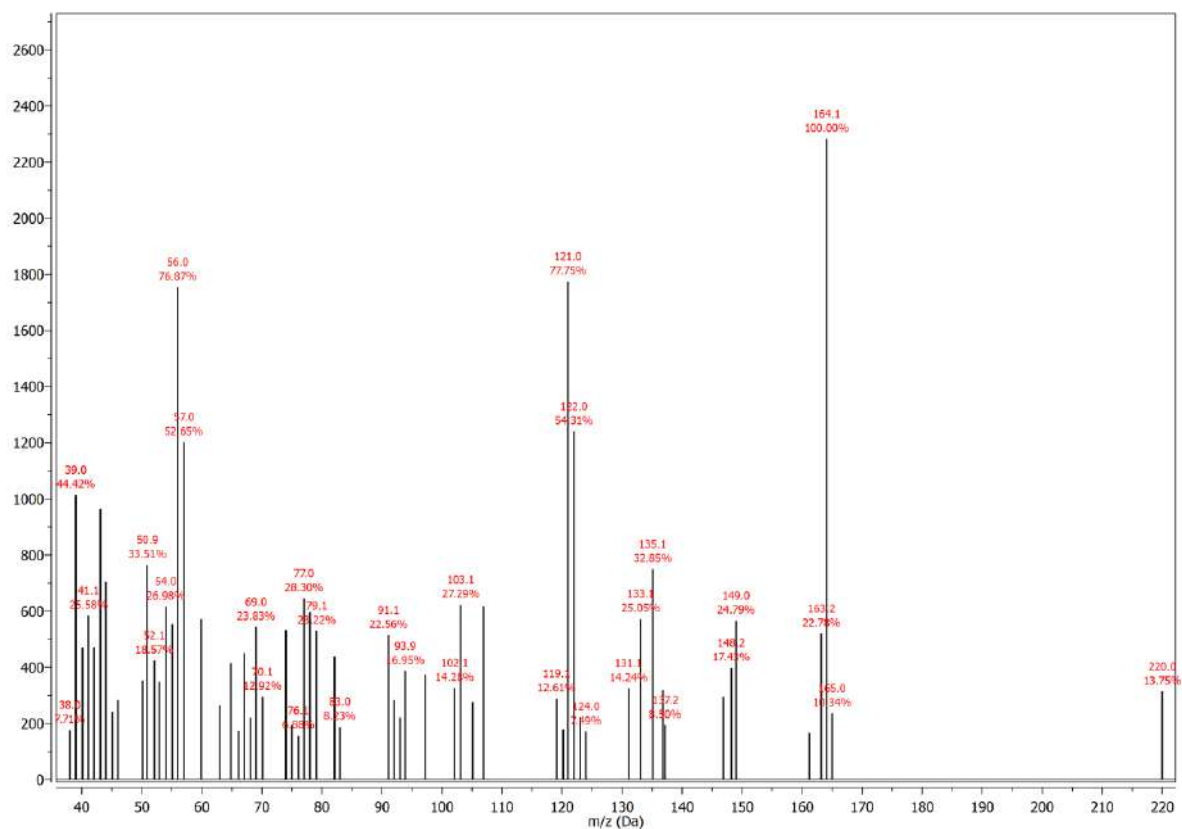
Prilog 8.3.98. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-formijata [5a]



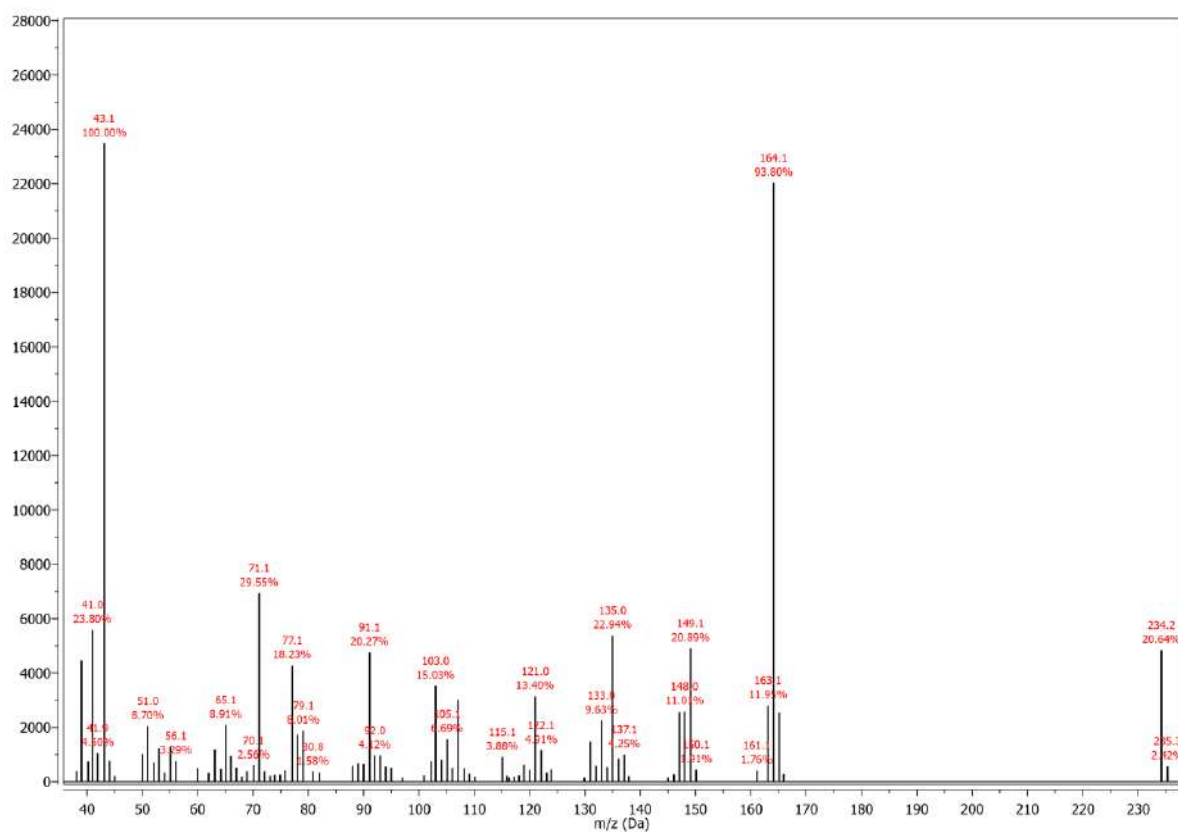
Prilog 8.3.99. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-acetata [5b]



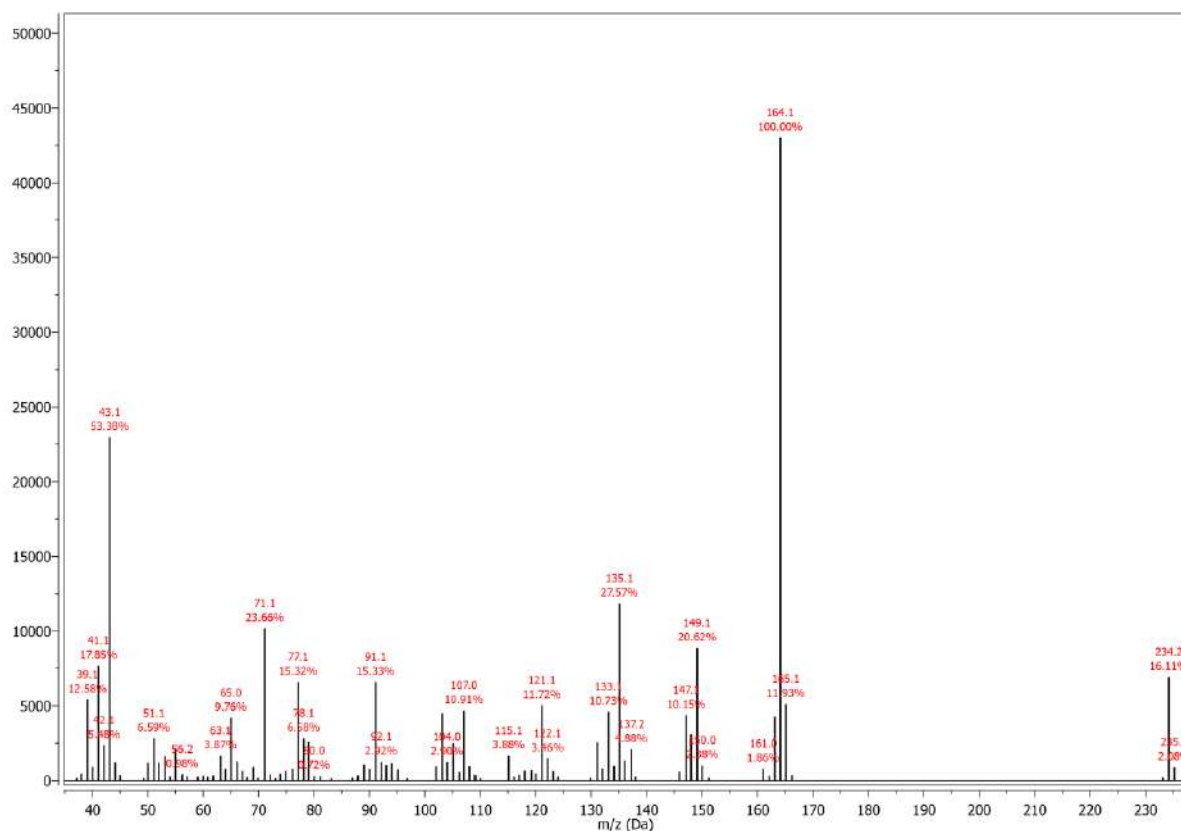
Prilog 8.3.101. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-propanoata [5c]



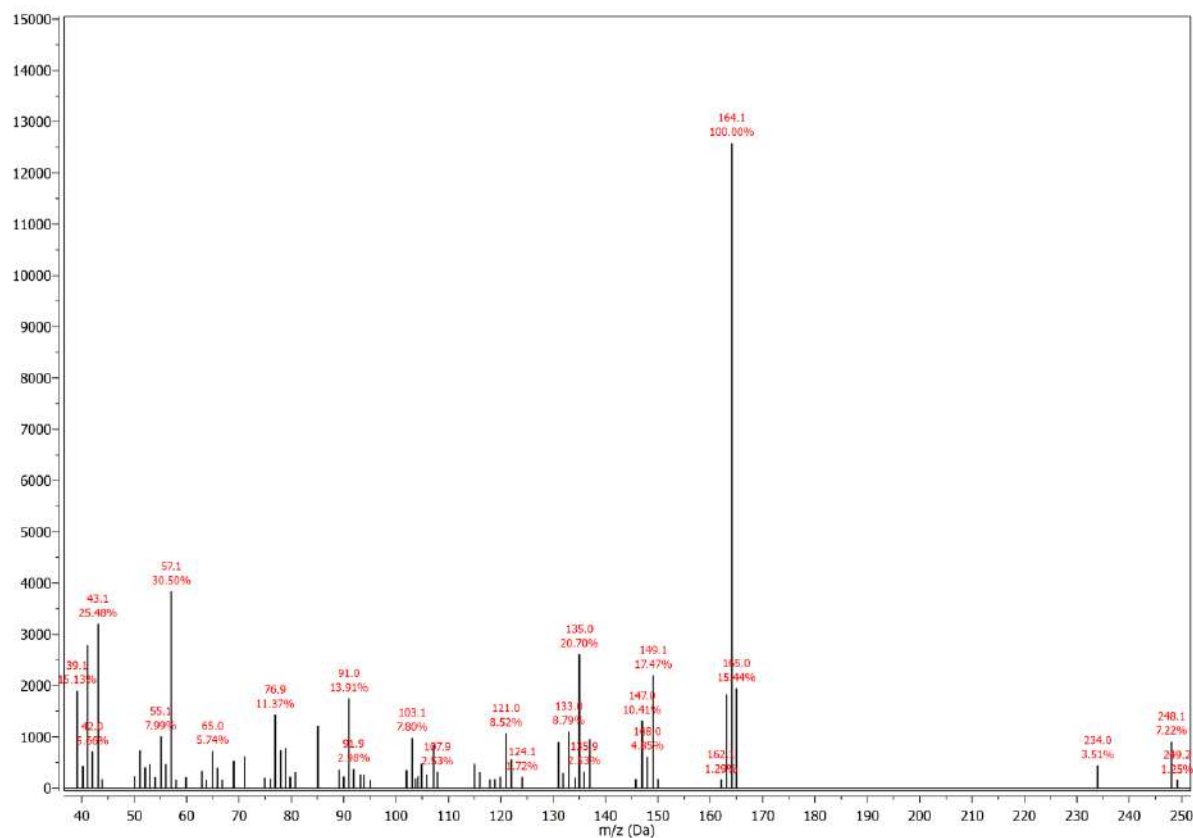
Prilog 8.3.101. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-izobutanoata [5d]



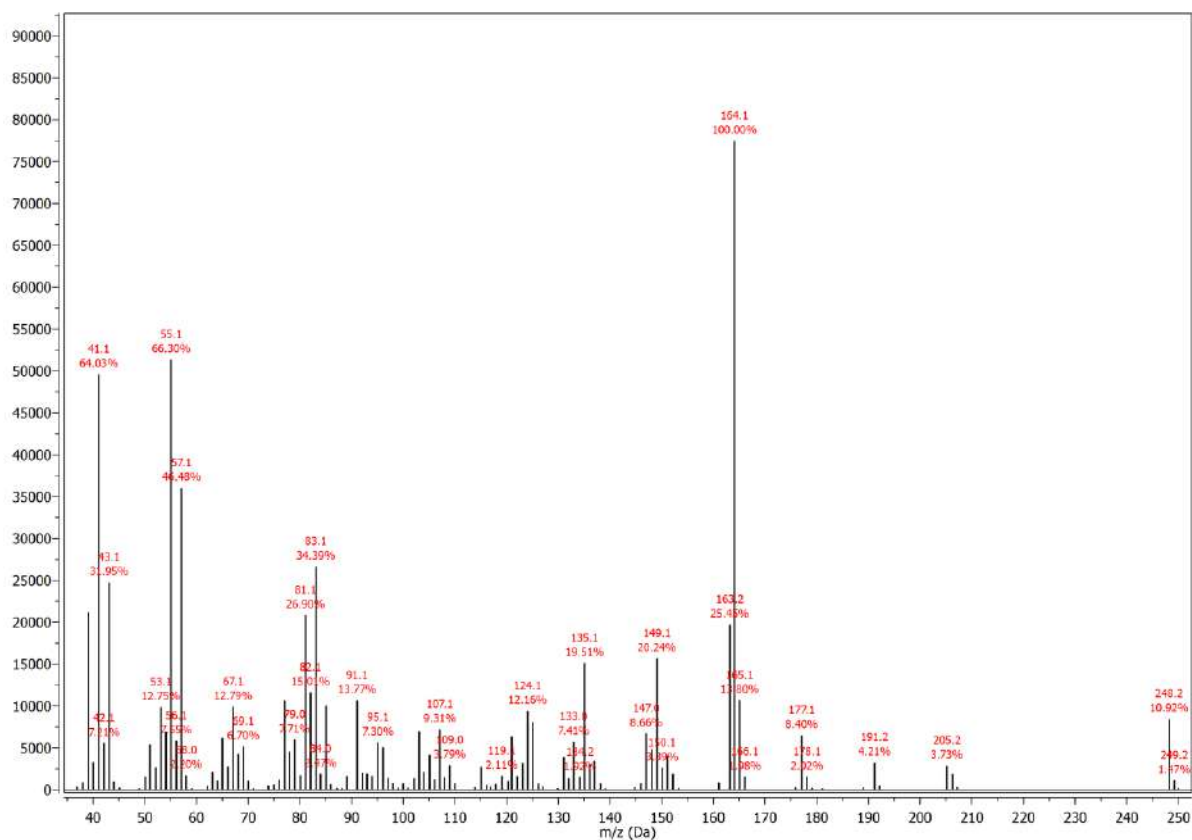
Prilog 8.3. 102. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-butanoata [5e]



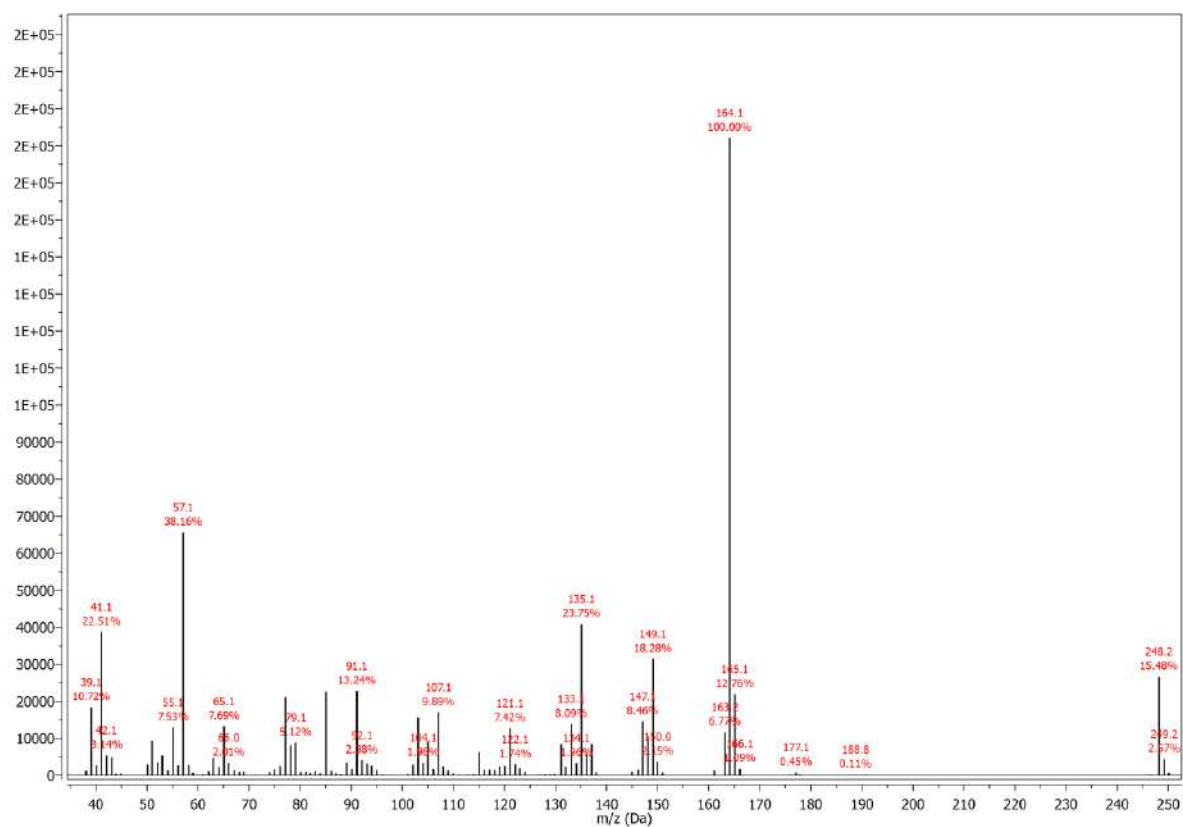
Prilog 8.3.103. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-2-metilbutanoata [5f]



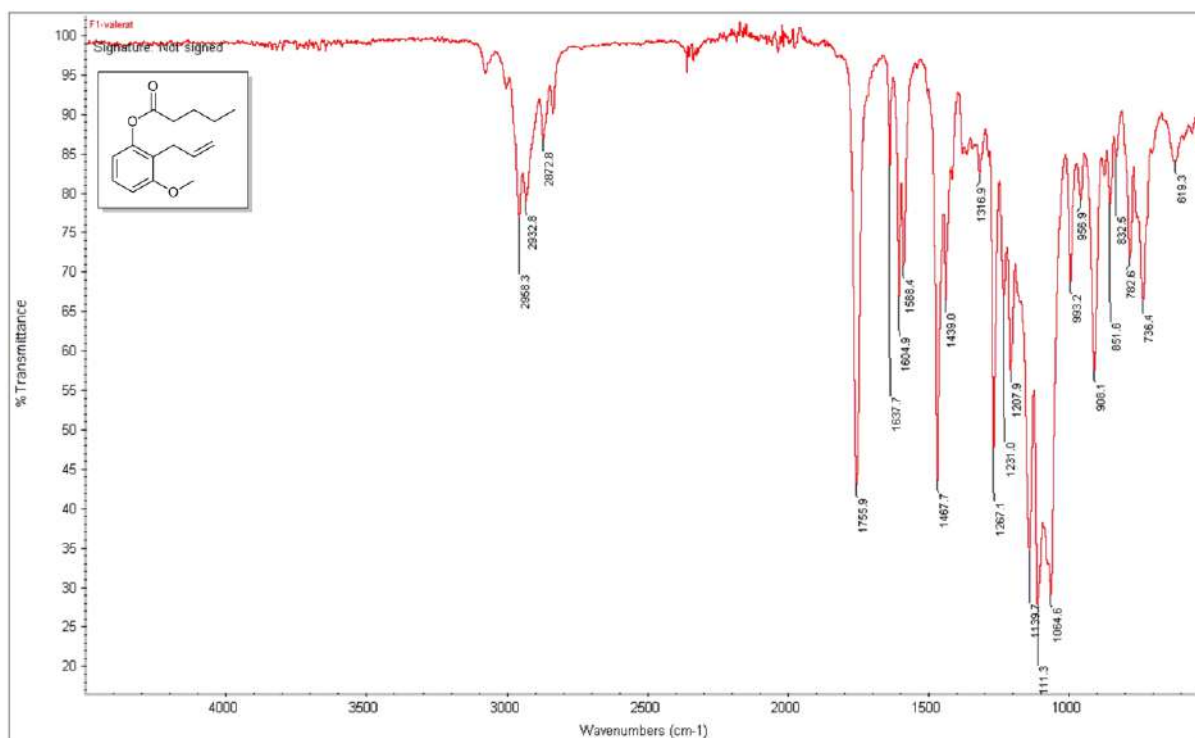
Prilog 8.3.104. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-3-metilbutanoata [5g]



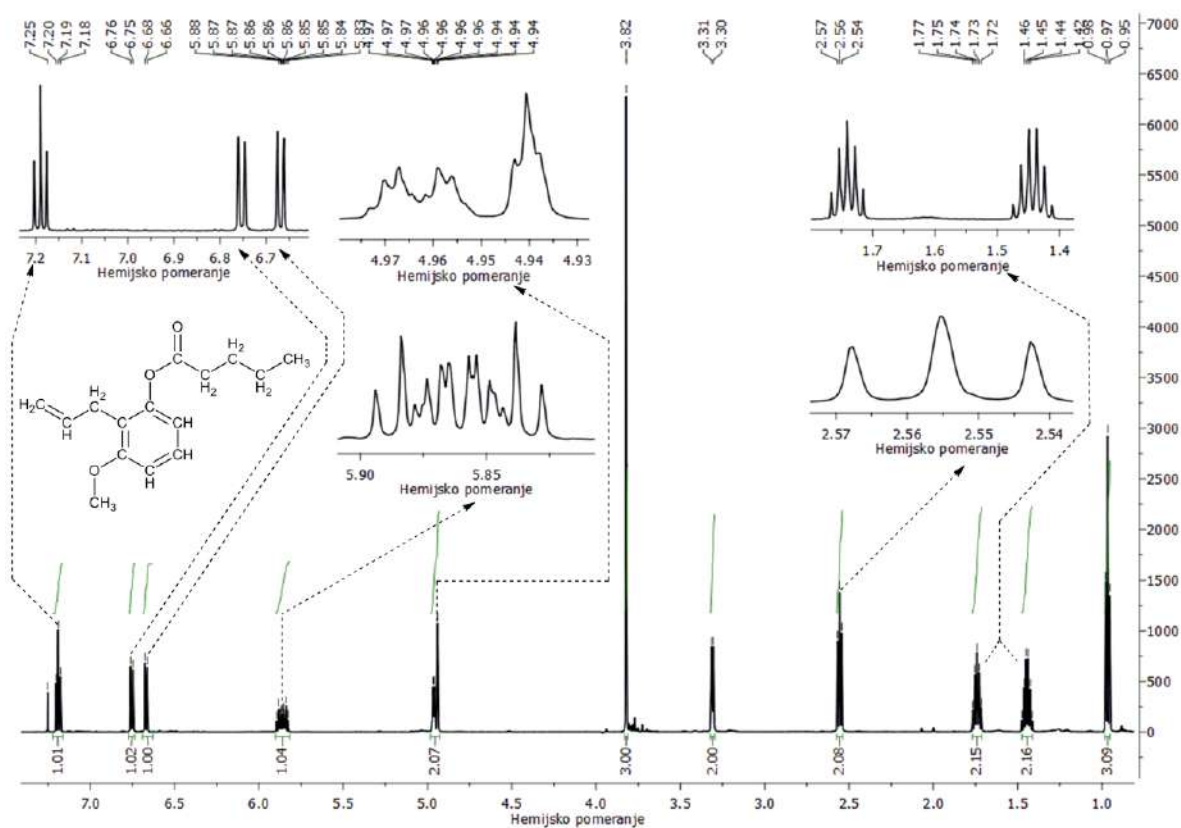
Prilog 8.3.105. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-pentanoata [5h]



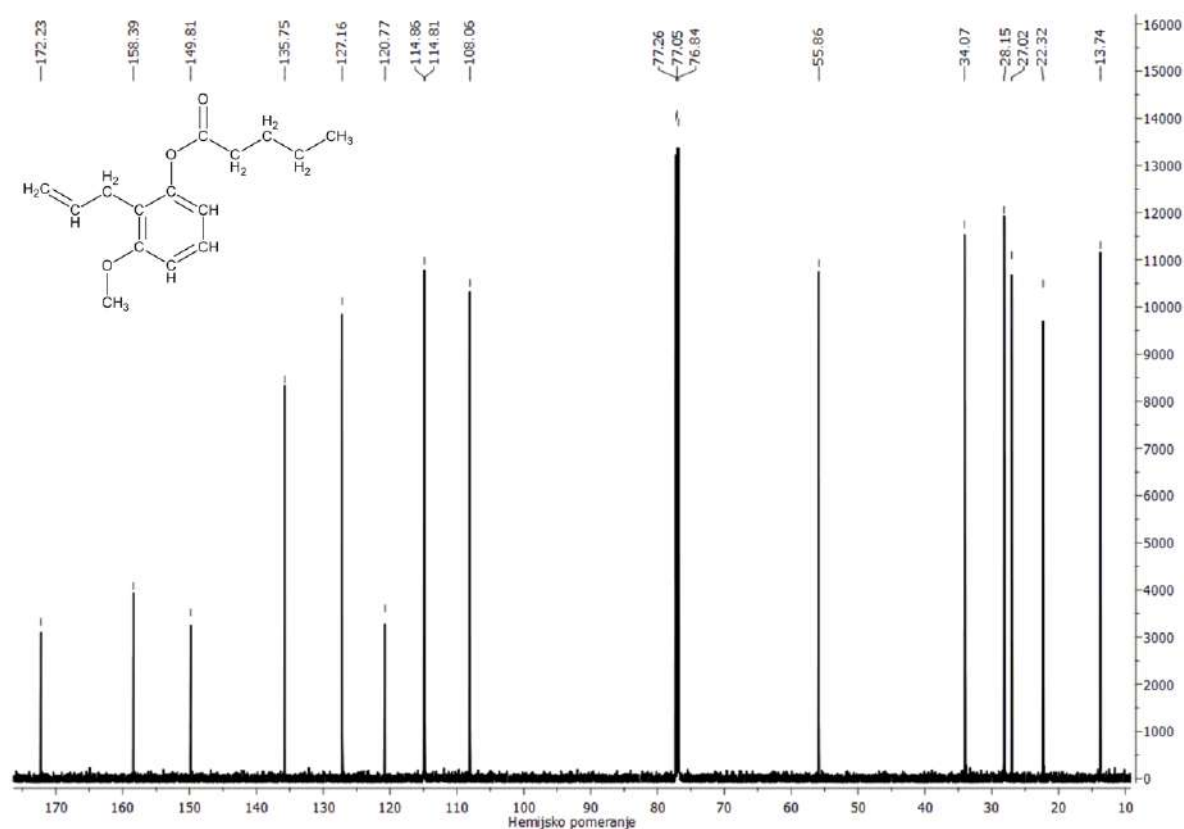
Prilog 8.3.106. IR spektar 2-alil-3-metoksifenil-pentanoata [5h]



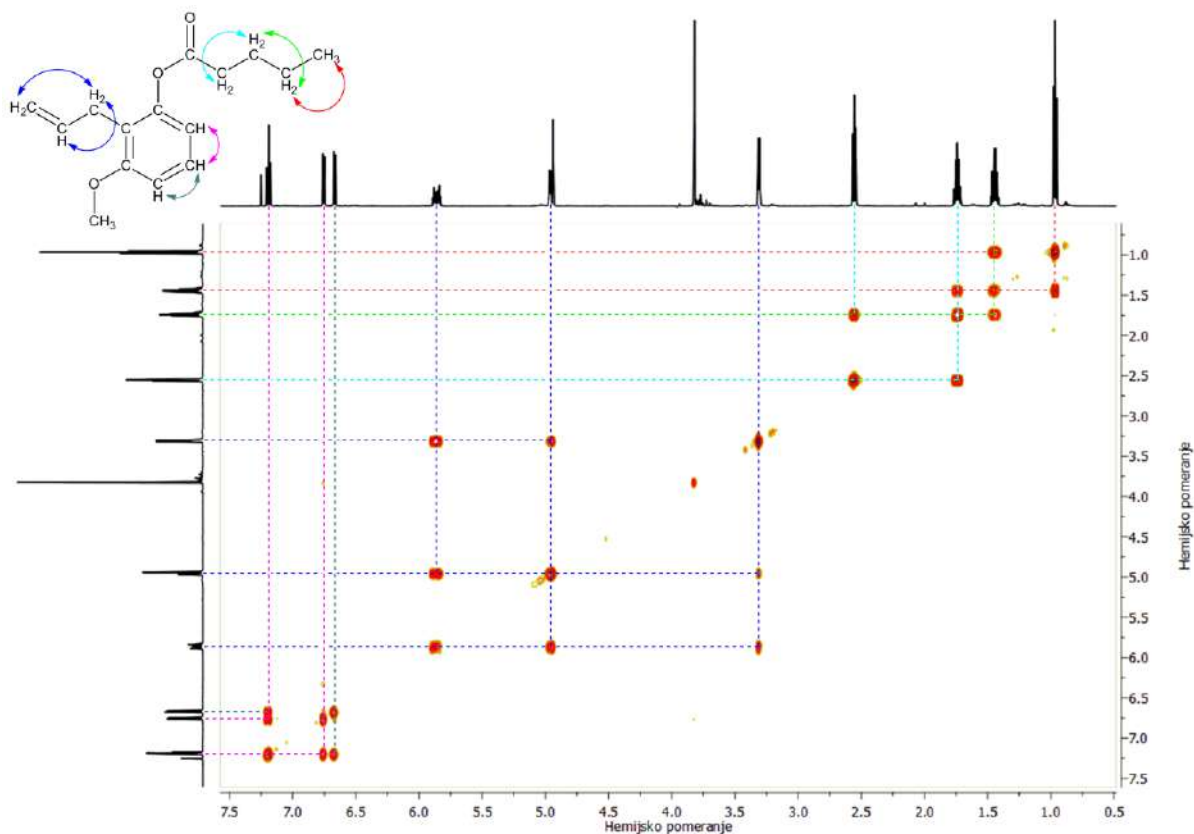
Prilog 8.3.107. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) spektar 2-alil-3-metoksifenil-pentanoata [5h]



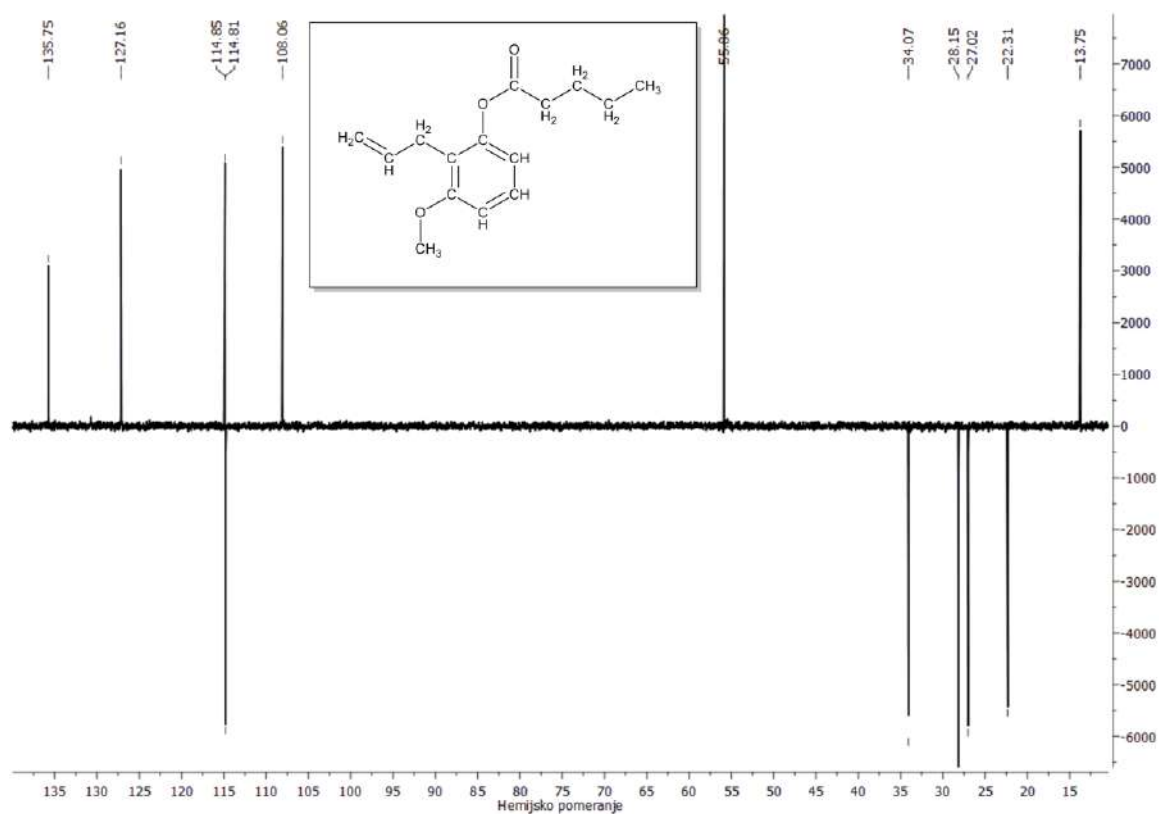
Prilog 8.3.108. ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) spektar 2-alil-3-metoksifenil-pentanoata [5h]



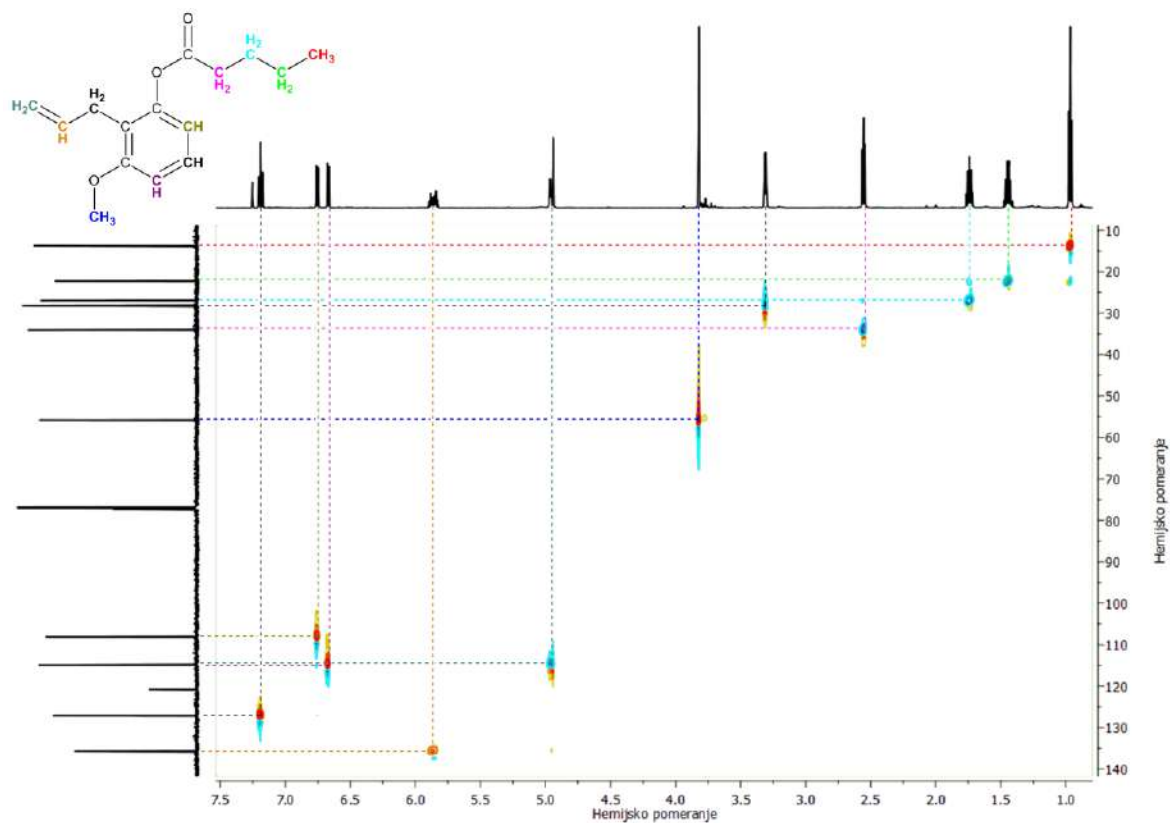
Prilog 8.3.109. ^1H – ^1H COSY spektar 2-alil-3-metoksifenil-pentanoata [5h]



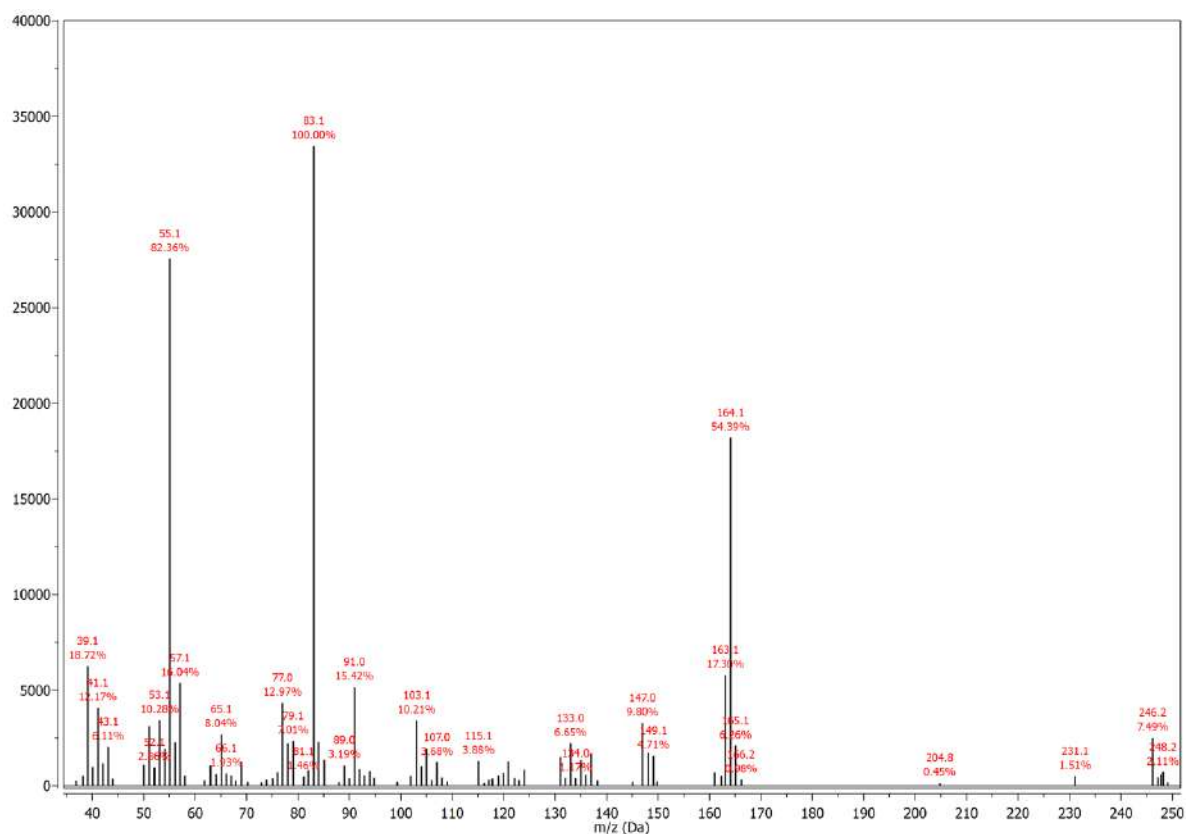
Prilog 8.3.110. DEPT spektar 2-alil-3-metoksifenil-pentanoata [5h]



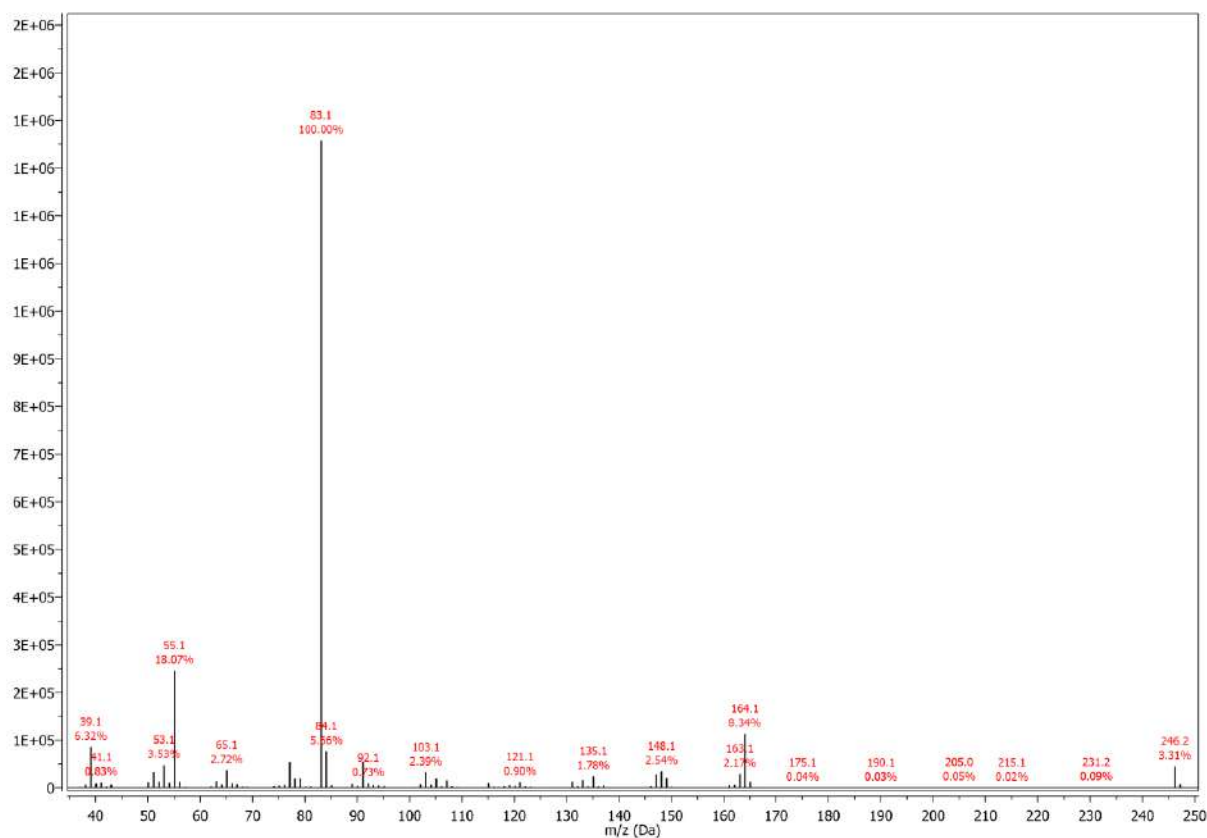
Prilog 8.3.111. HSQC spektar 2-alil-3-metoksifenil-pentanoata [5h]



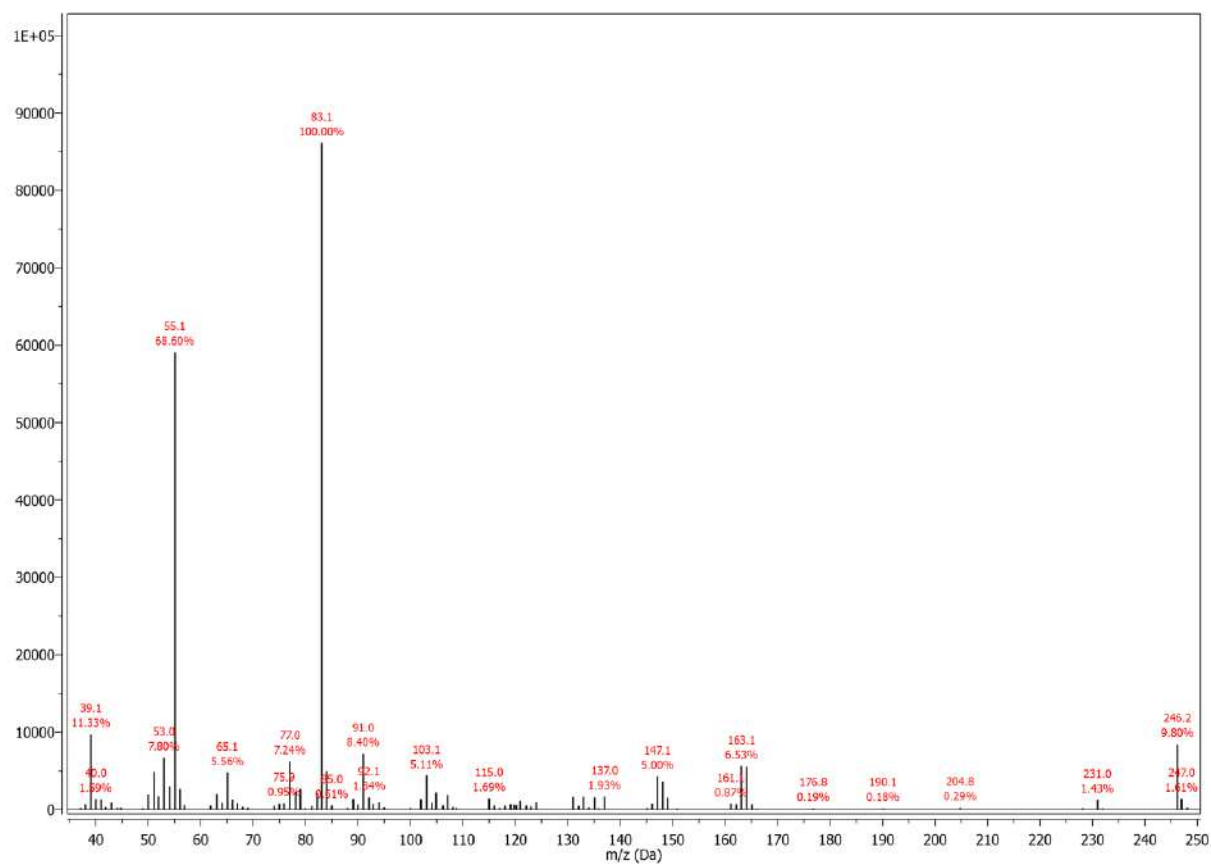
Prilog 8.3.112. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-angelata [5i]



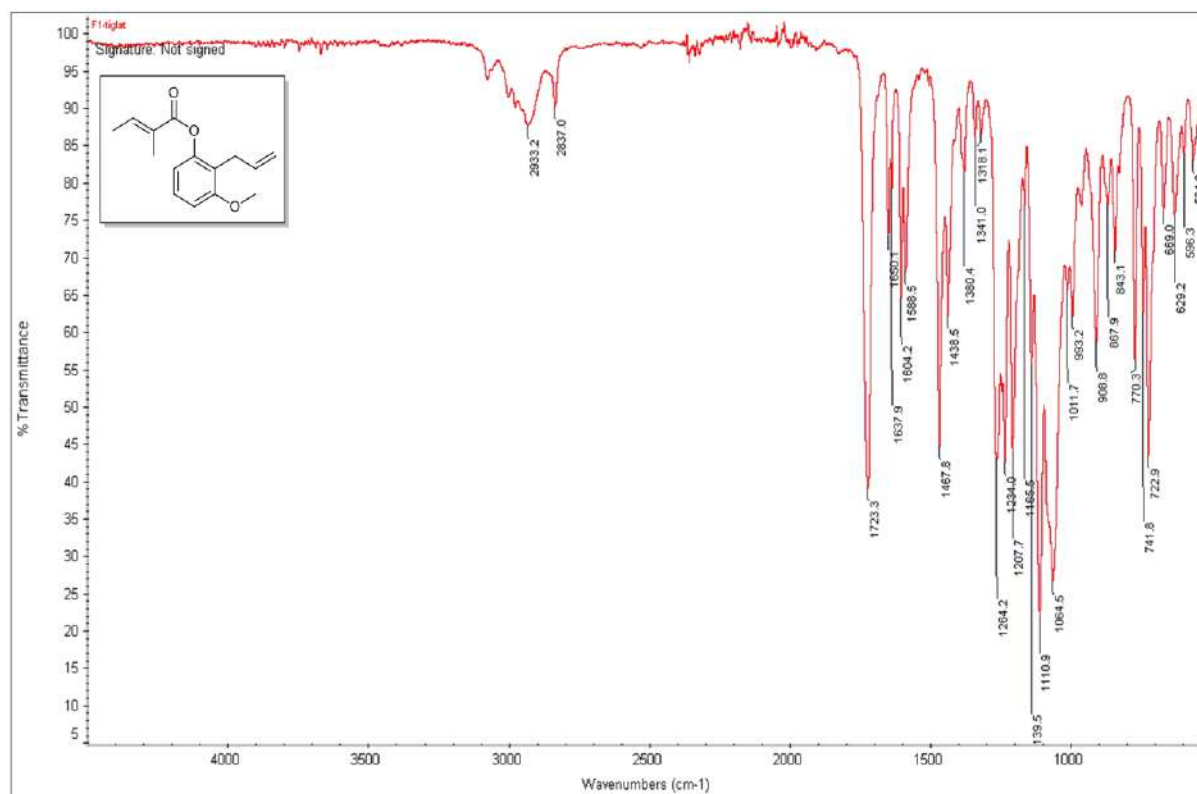
Prilog 8.3.113. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-senecioata [5j]



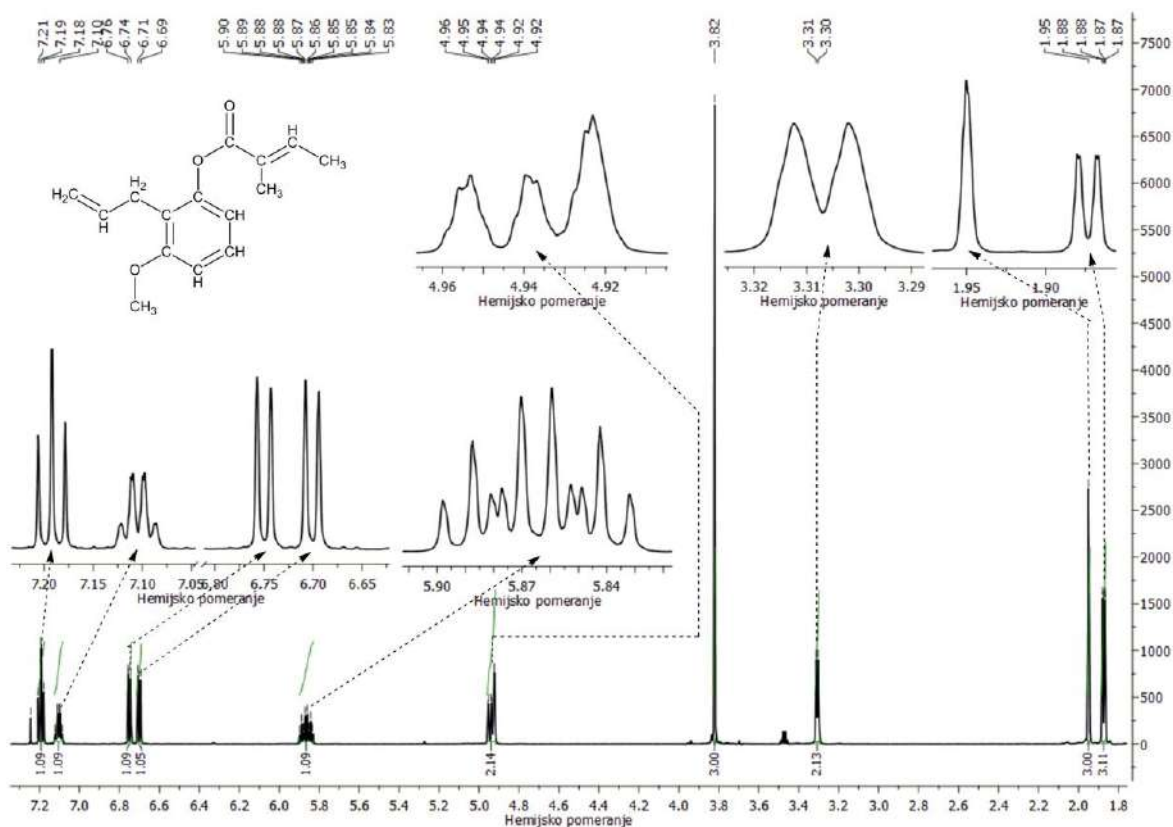
Prilog 8.3.114. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-tiglata [5k]



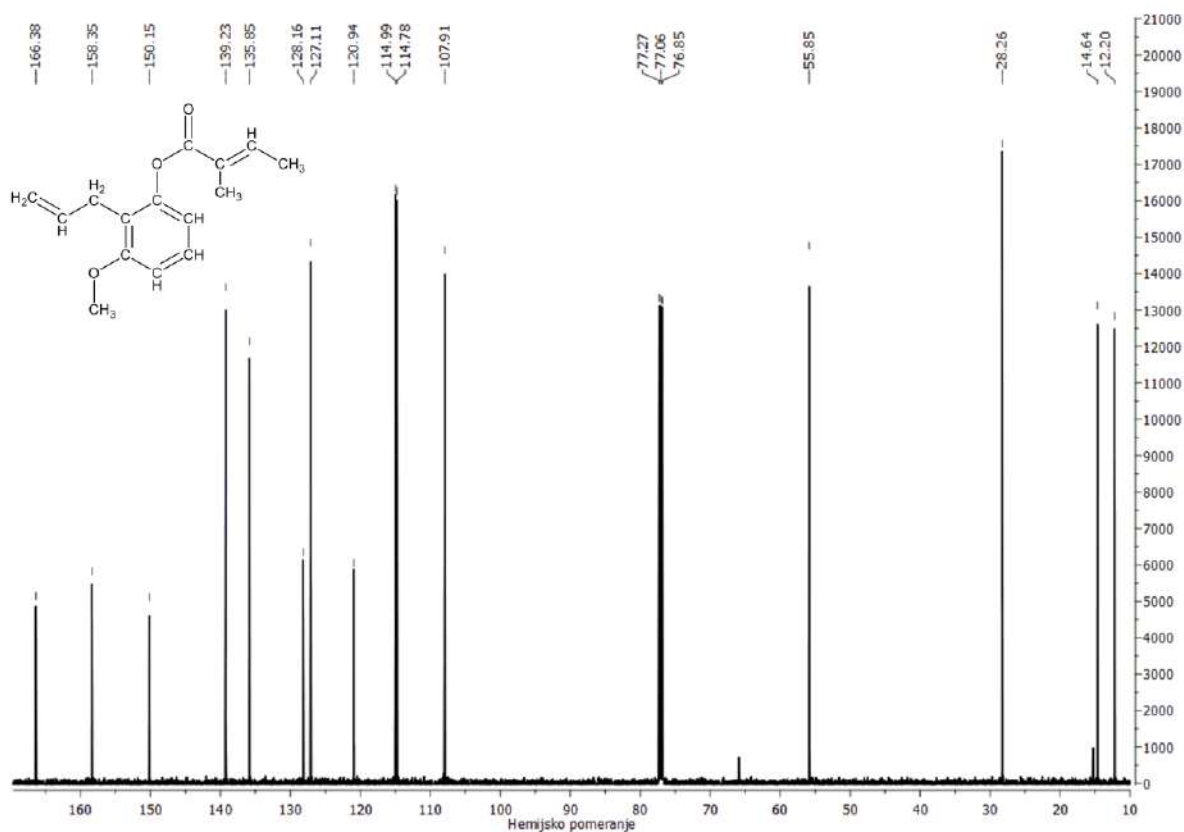
Prilog 8.3.115. IR spektar 2-alil-3-metoksifenil-tiglata [5k]



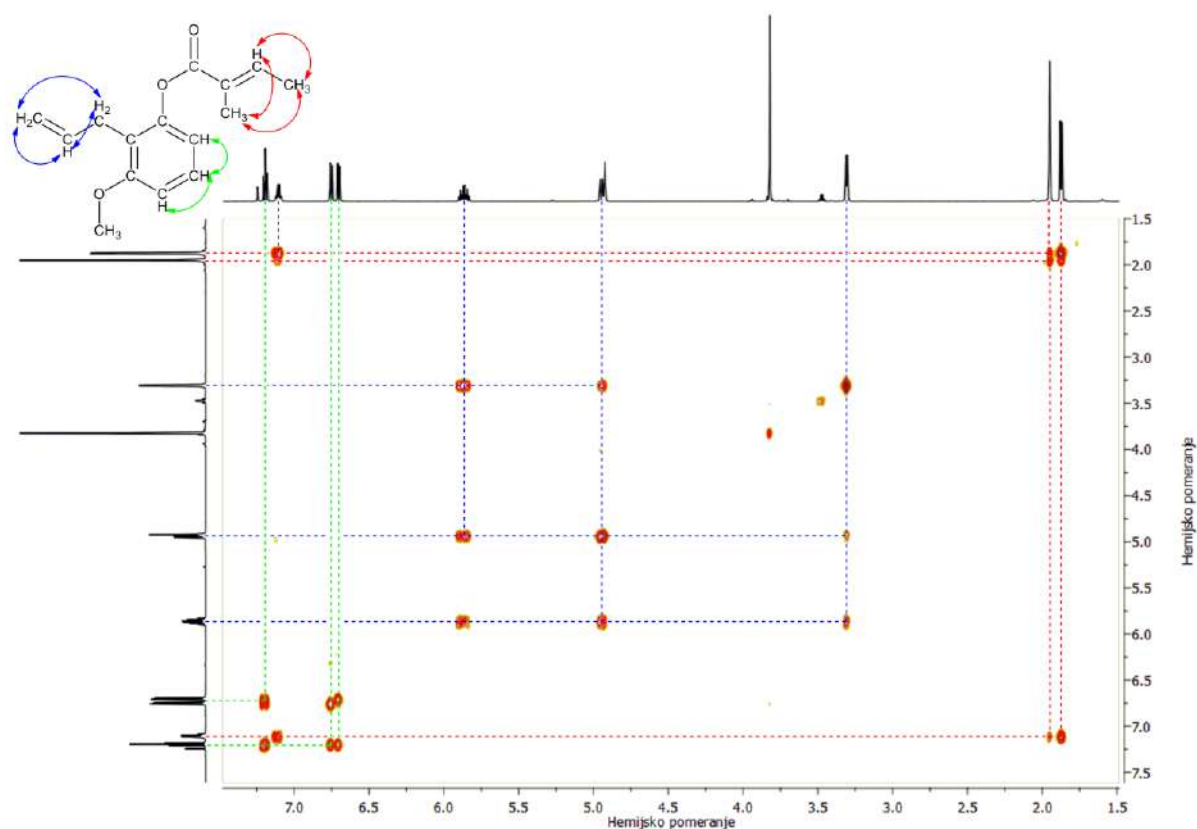
Prilog 8.3.116. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) spektar 2-alil-3-metoksifenil-tiglata [5k]



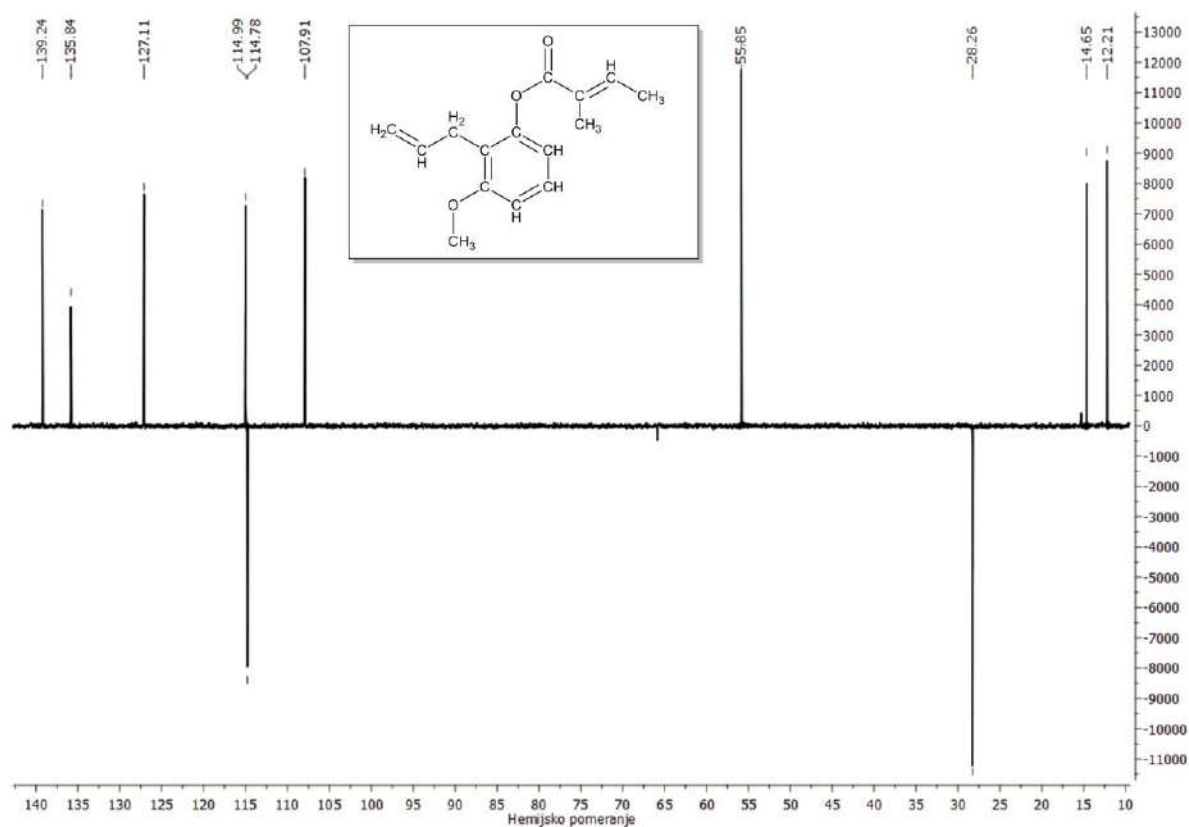
Prilog 8.3.117. ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) spektar 2-alil-3-metoksifenil-tiglata [5k]



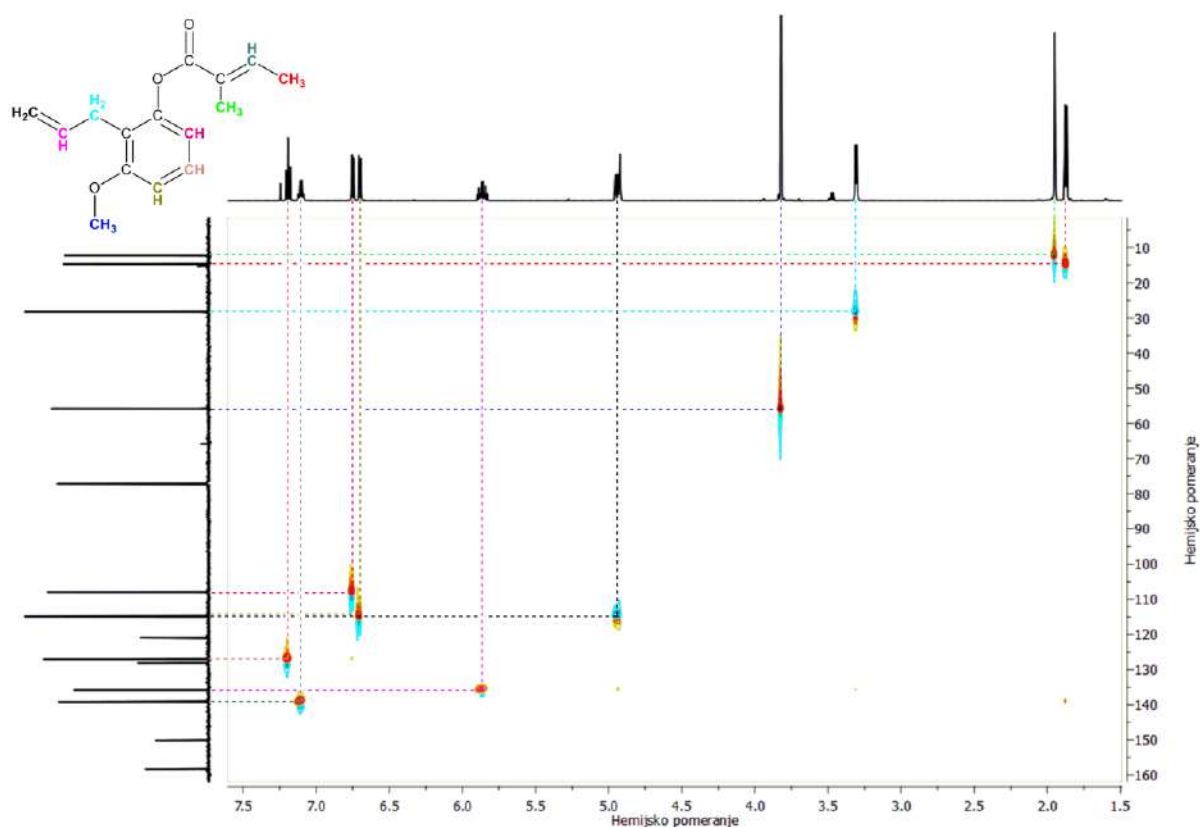
Prilog 8.3.118. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar 2-alil-3-metoksifenil-tiglata [5k]



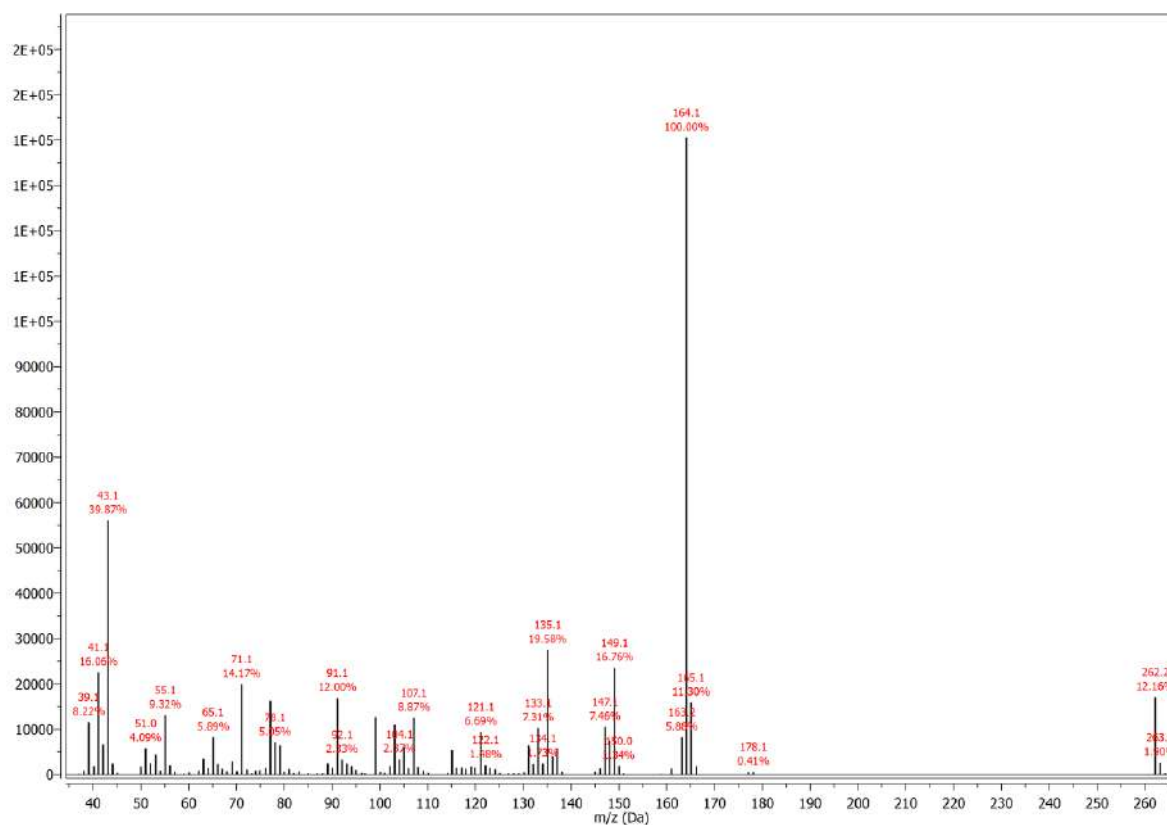
Prilog 8.3.119. DEPT spektar 2-alil-3-metoksifenil-tiglata [5k]



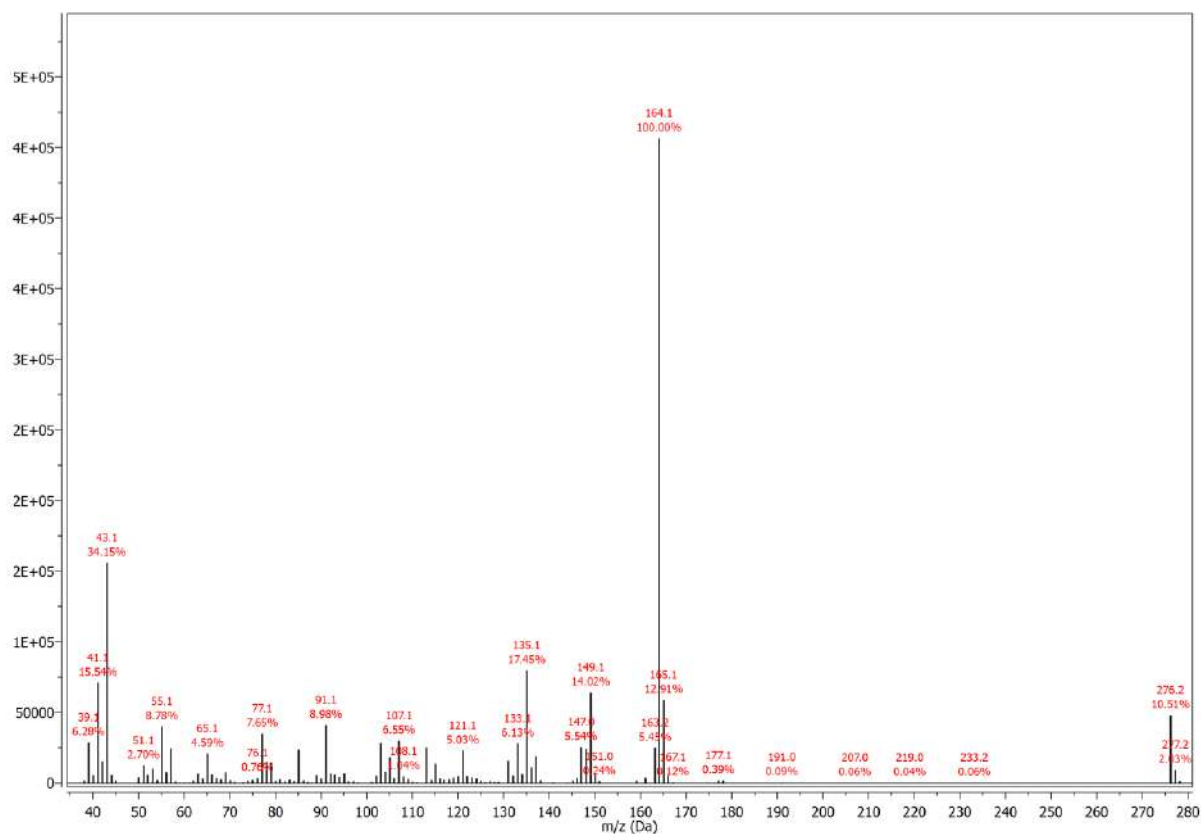
Prilog 8.3.120. HSQC spektar 2-alil-3-metoksifenil-tiglata [5k]



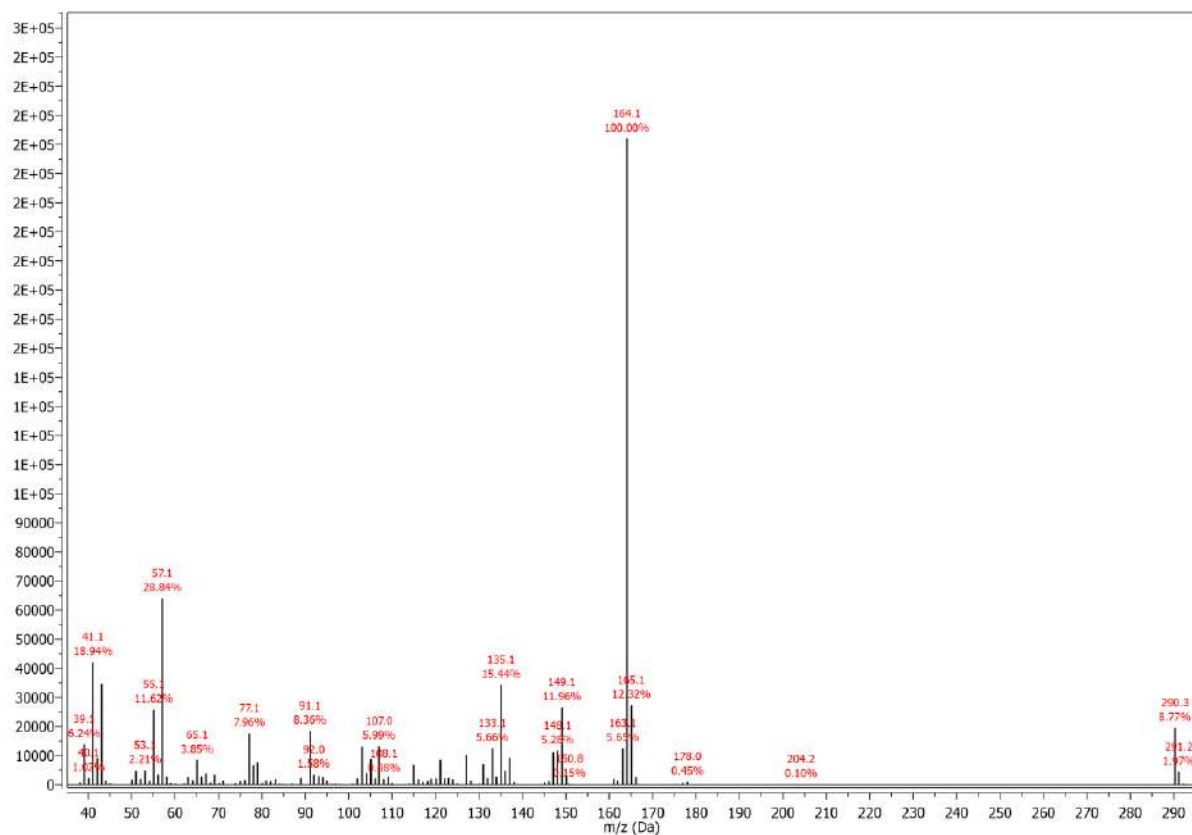
Prilog 8.3.121. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-heksanoata [5l]



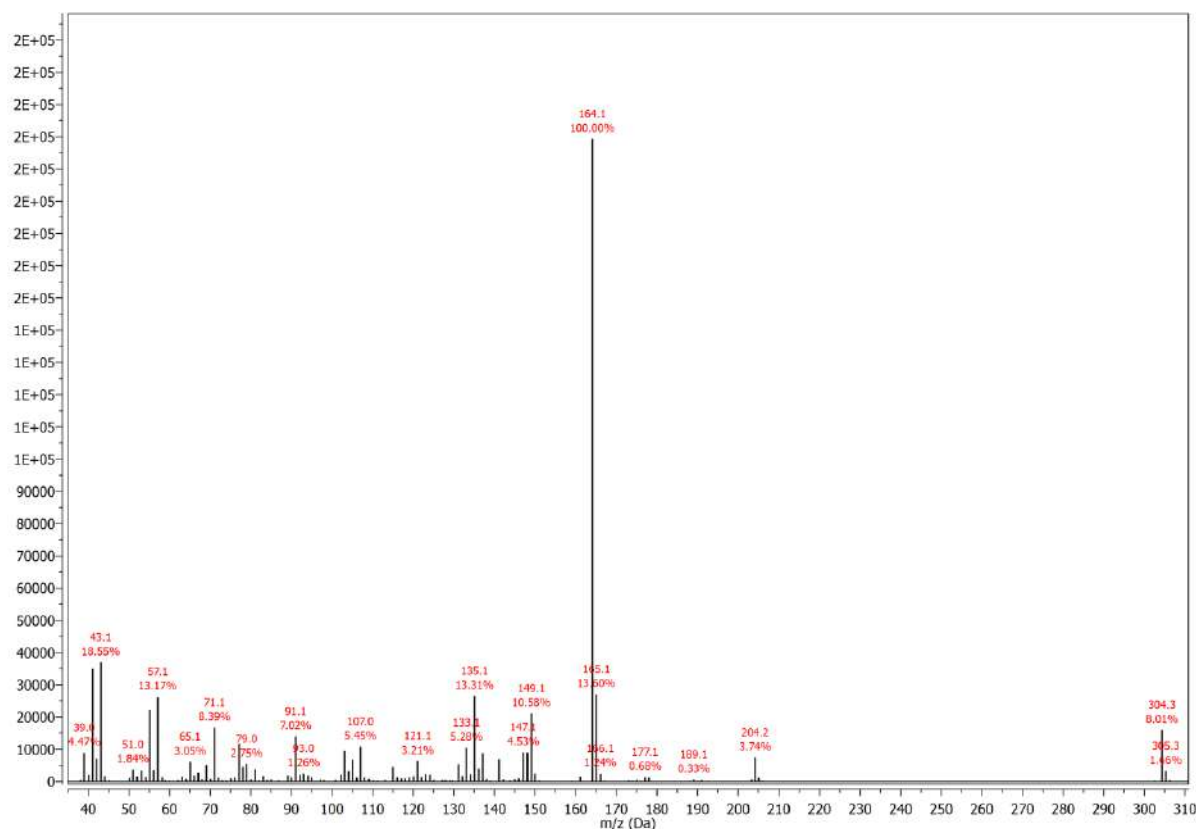
Prilog 8.3.122. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-heptanoata [5m]



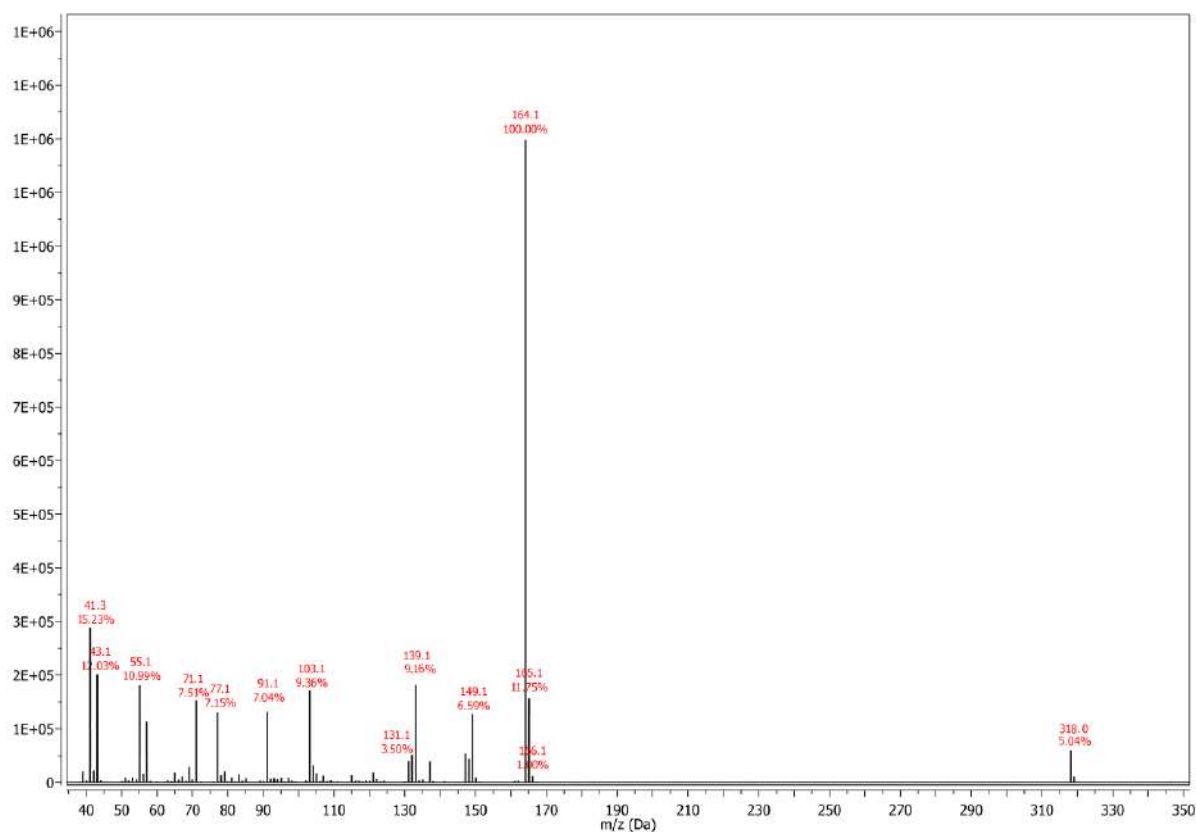
Prilog 8.3.123. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-oktanoata [5n]



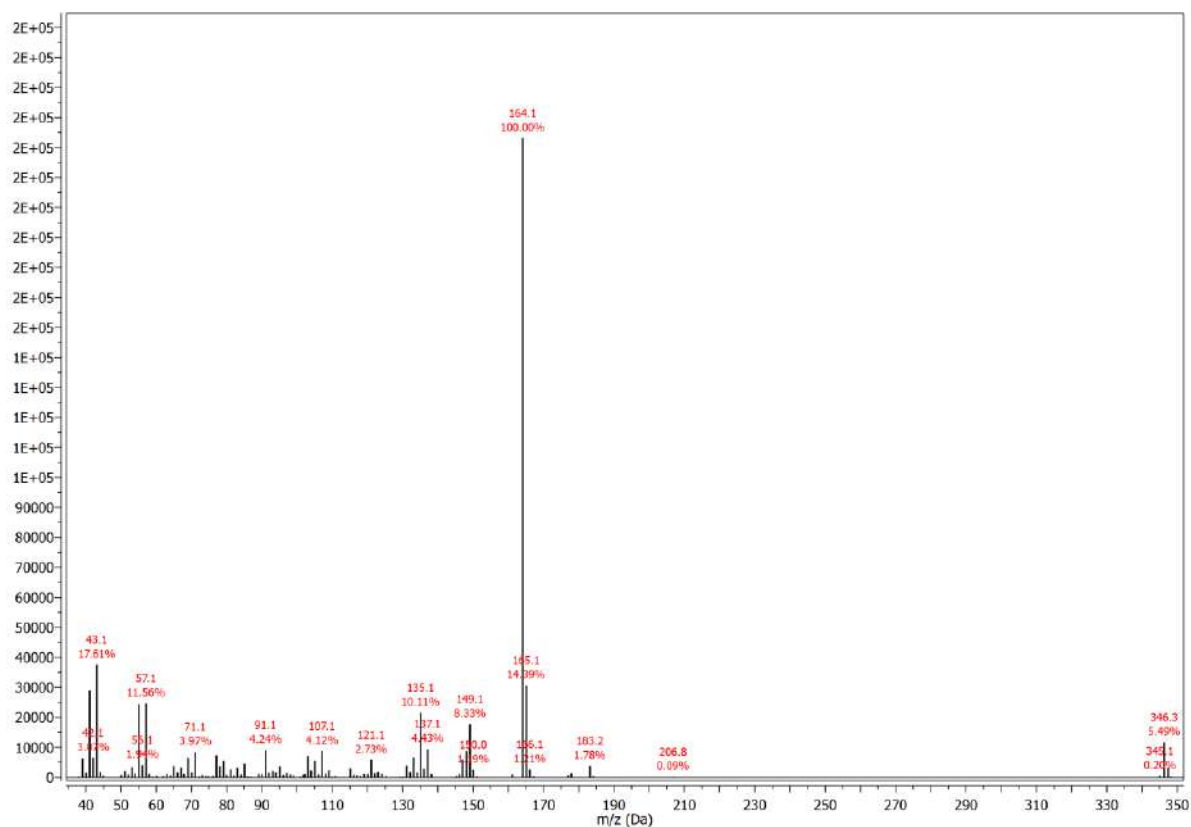
Prilog 8.3.124. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-nonanoata [5o]



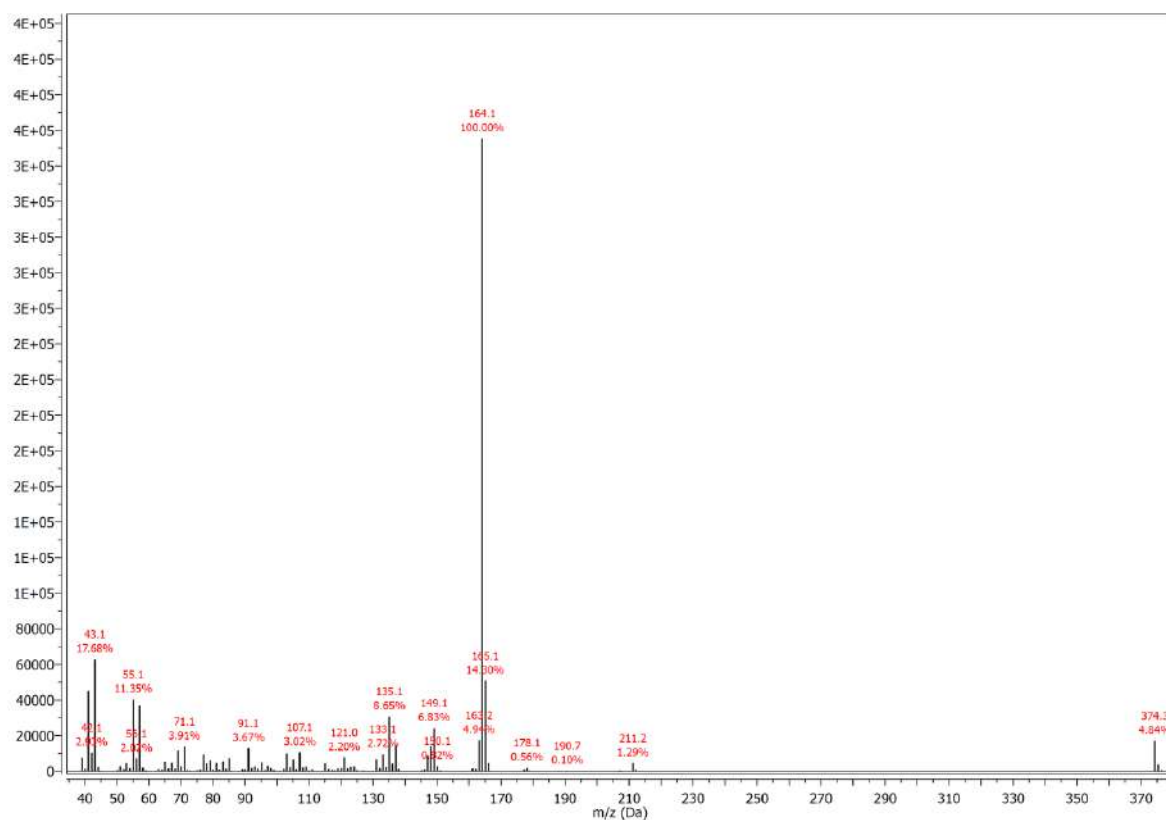
Prilog 8.3.125. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-dekanoata [5p]



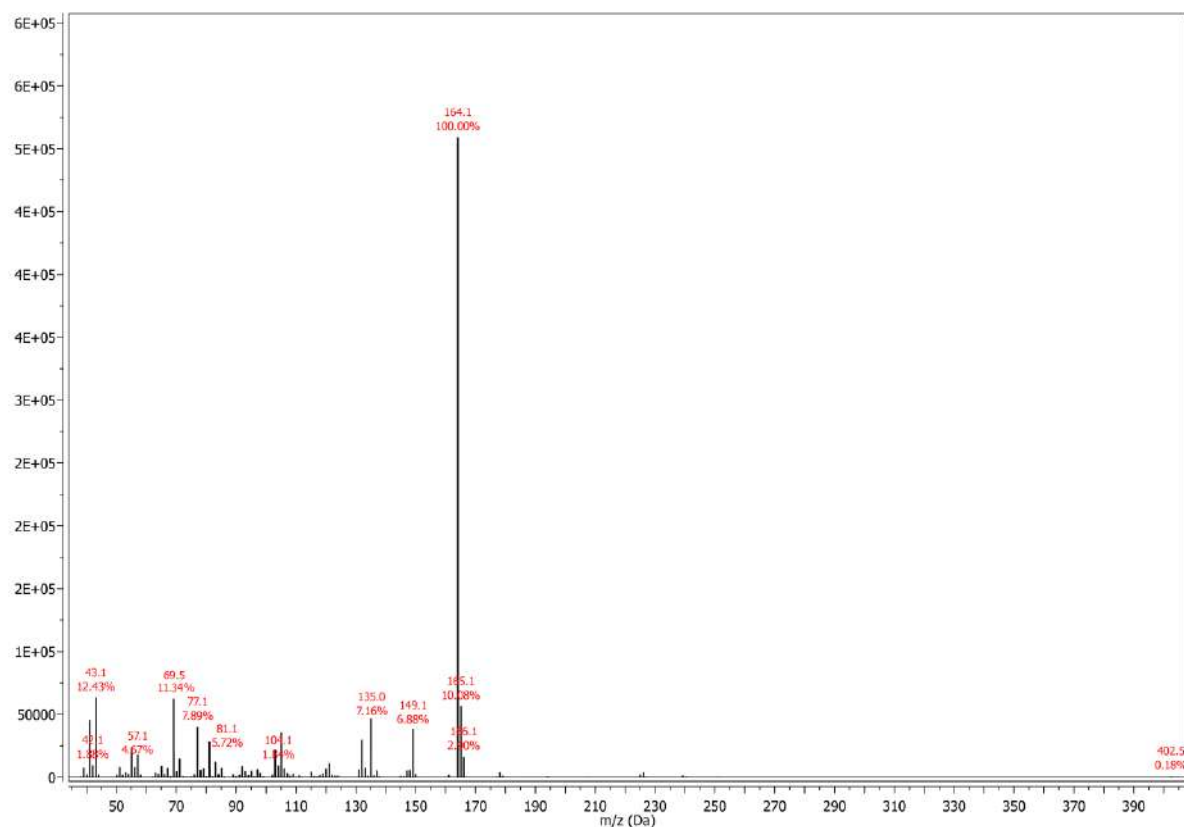
Prilog 8.3.126. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-dodekanoata [5q]



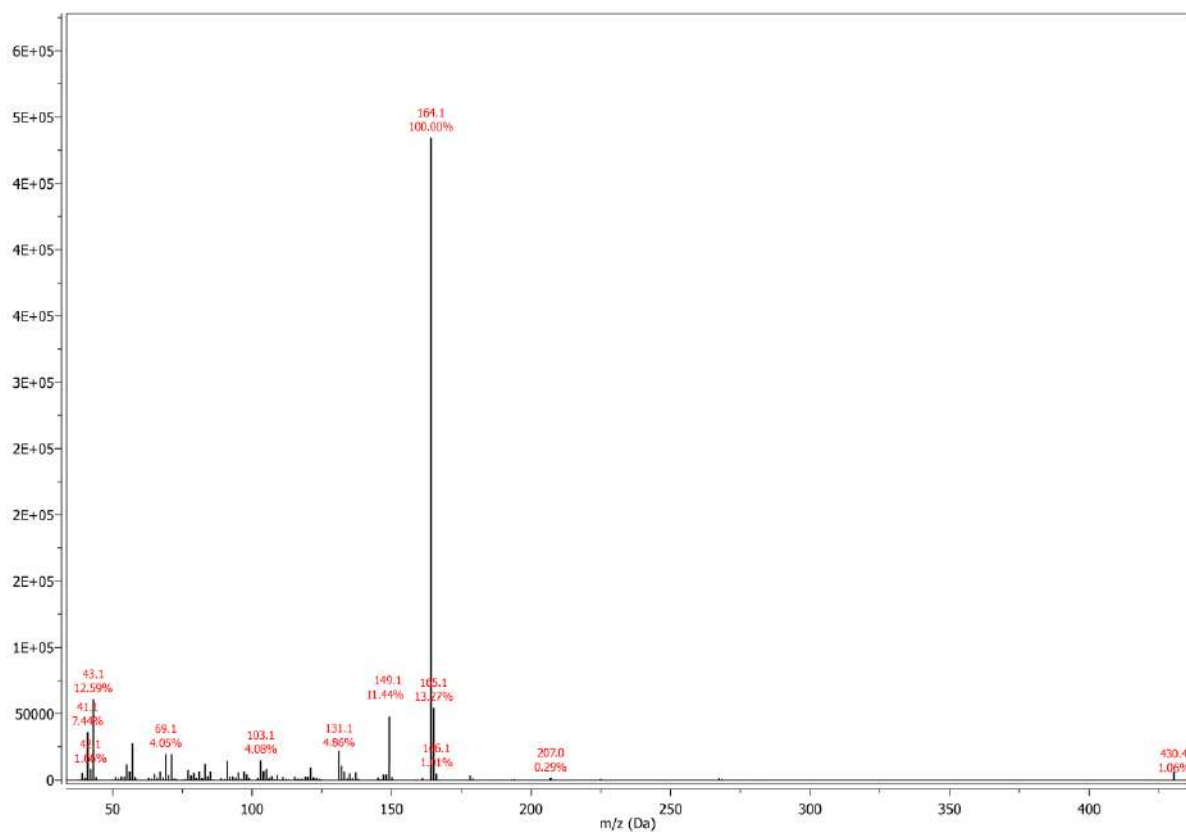
Prilog 8.3.127. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-tetradekanoata [5r]



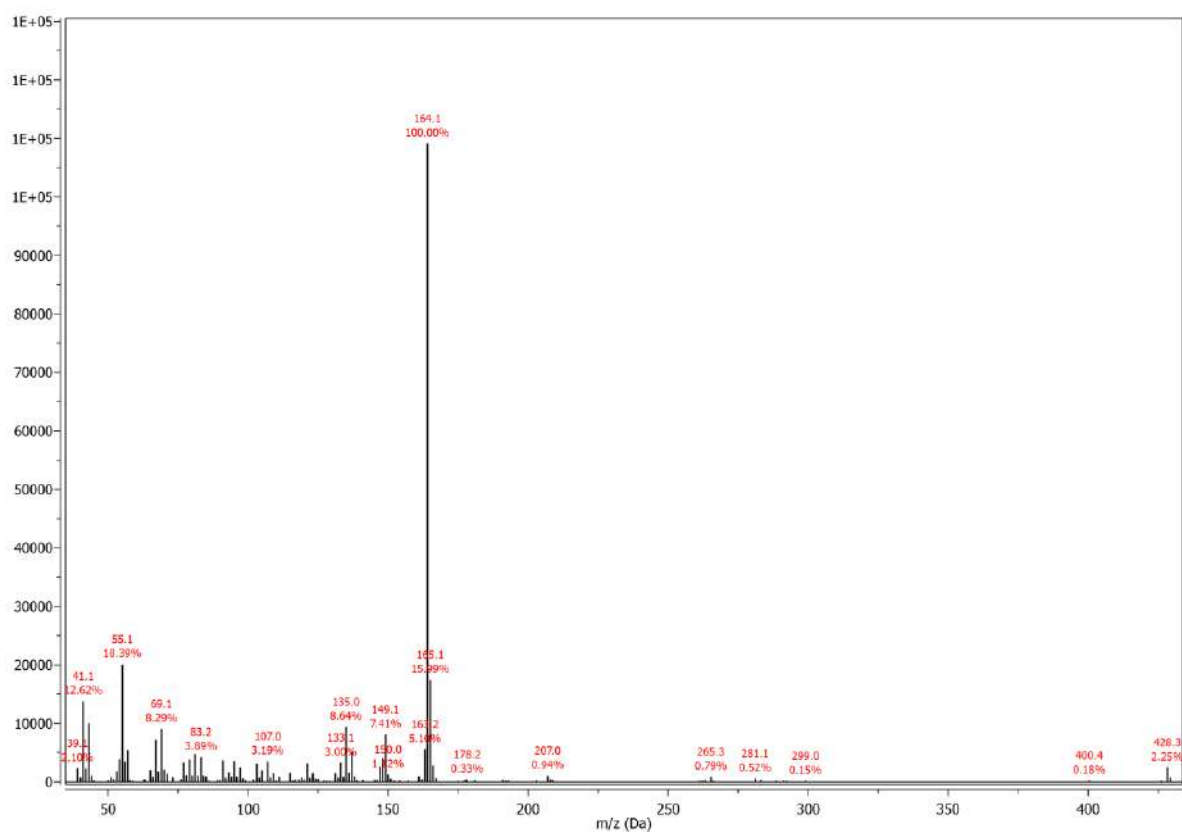
Prilog 8.3.128. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-heksadekanoata [5s]



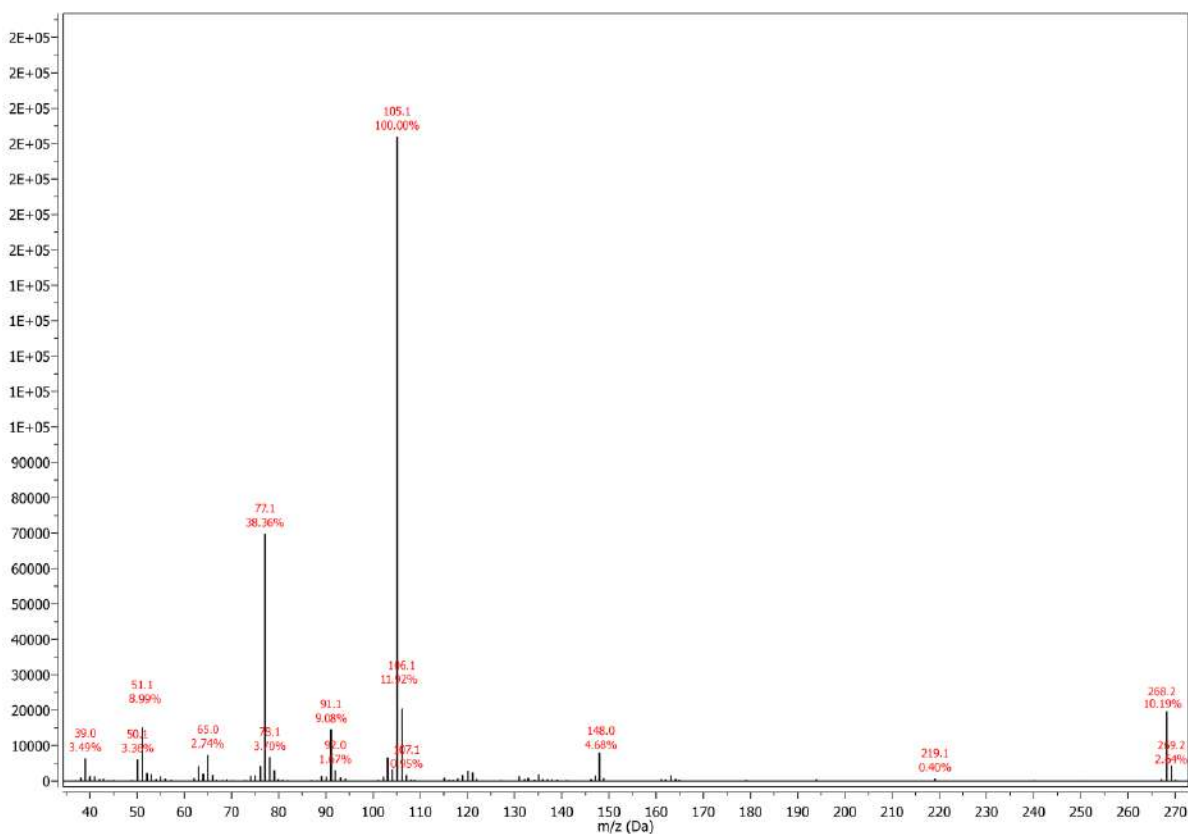
Prilog 8.3.129. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-oktadekanoata [5t]



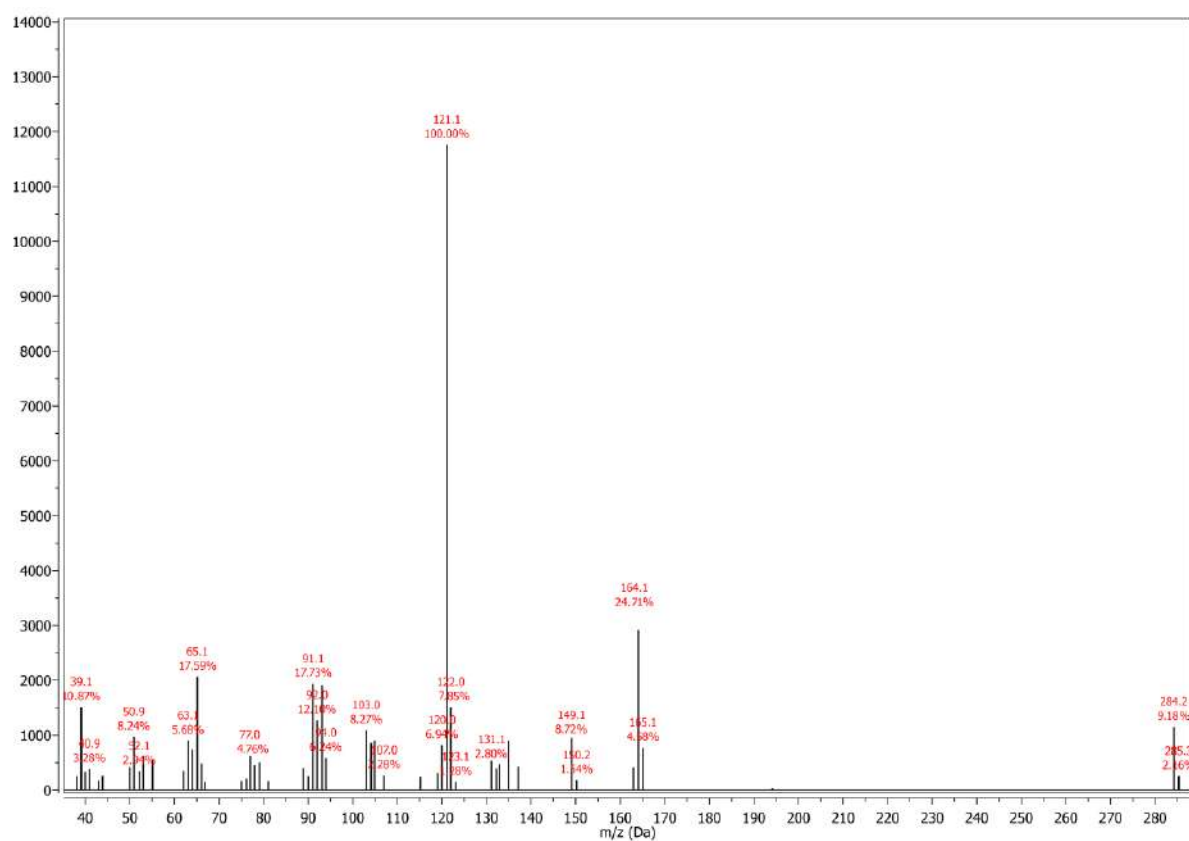
Prilog 8.3.130. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-(Z)-9-oktadecenoata [5u]



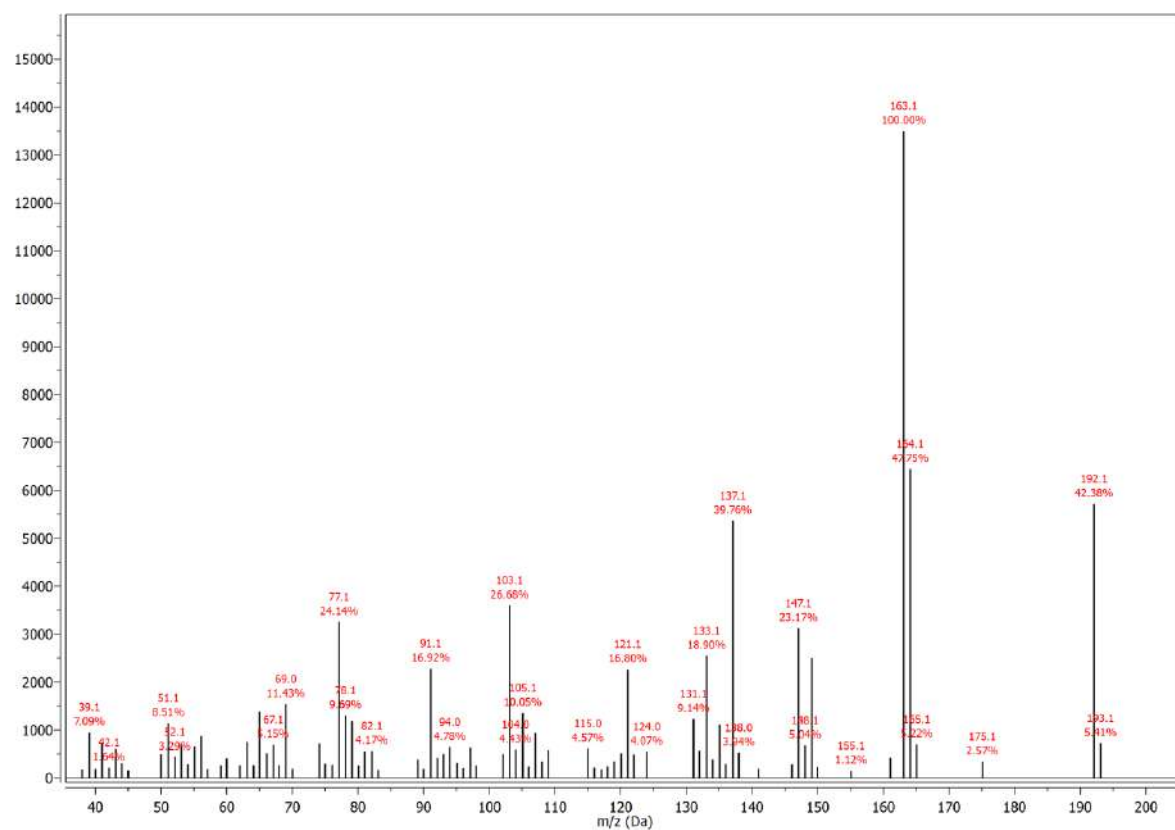
Prilog 8.3.131. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-benzoata [5v]



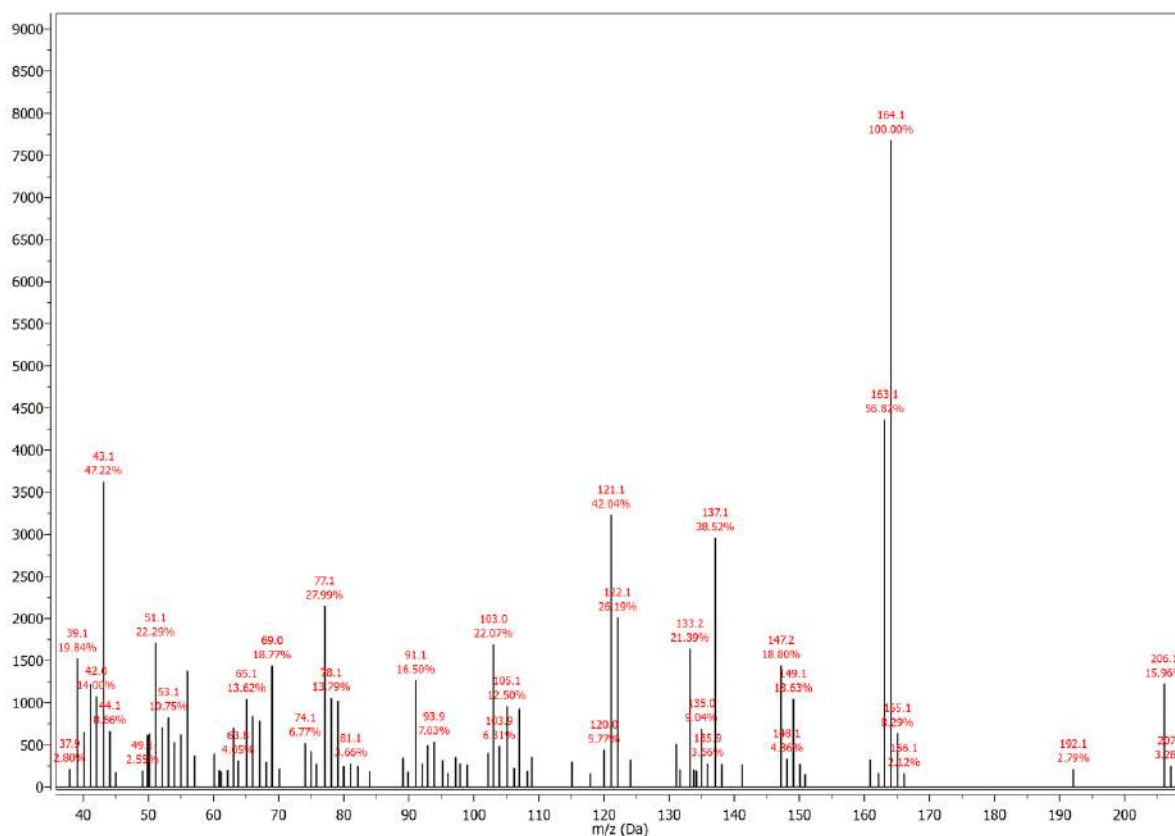
Prilog 8.3.132. Maseni spektar 2-alil-3-metoksifenil-salicilata [5w]



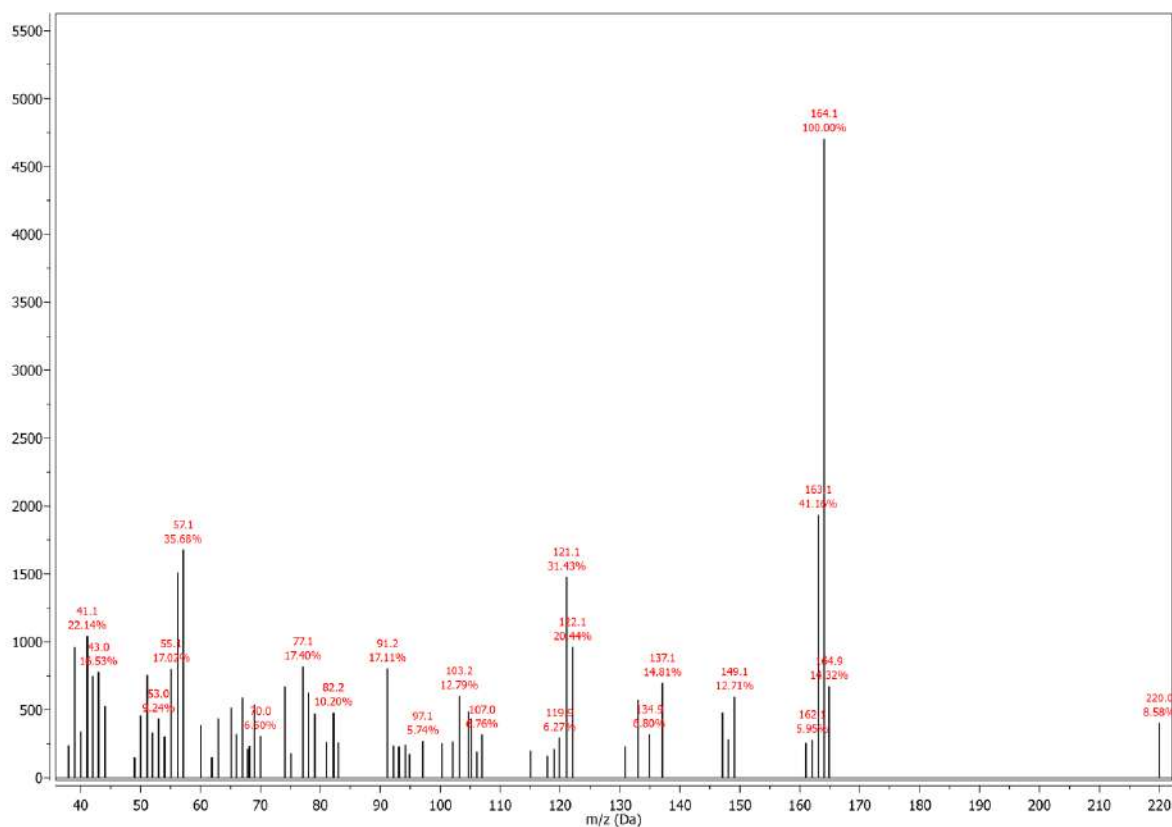
Prilog 8.3.133. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-formijata [6a]



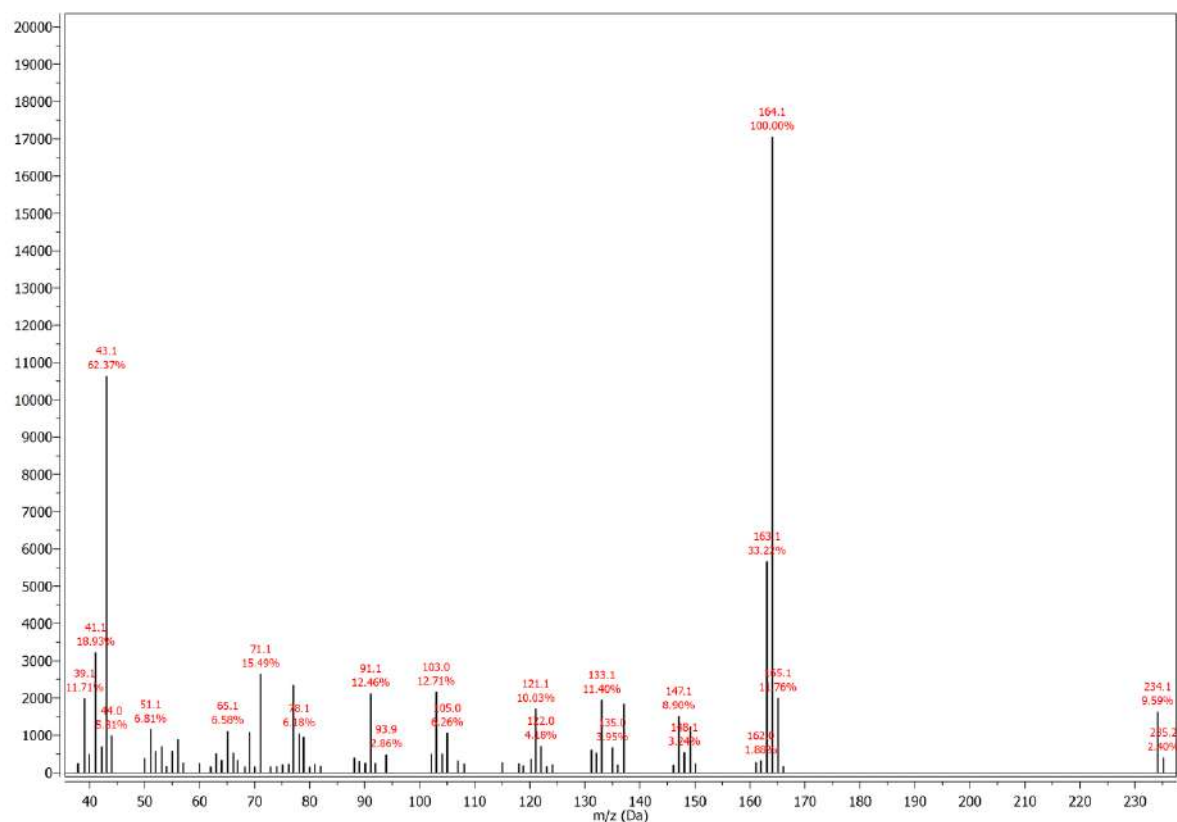
Prilog 8.3.134. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-acetata [6b]



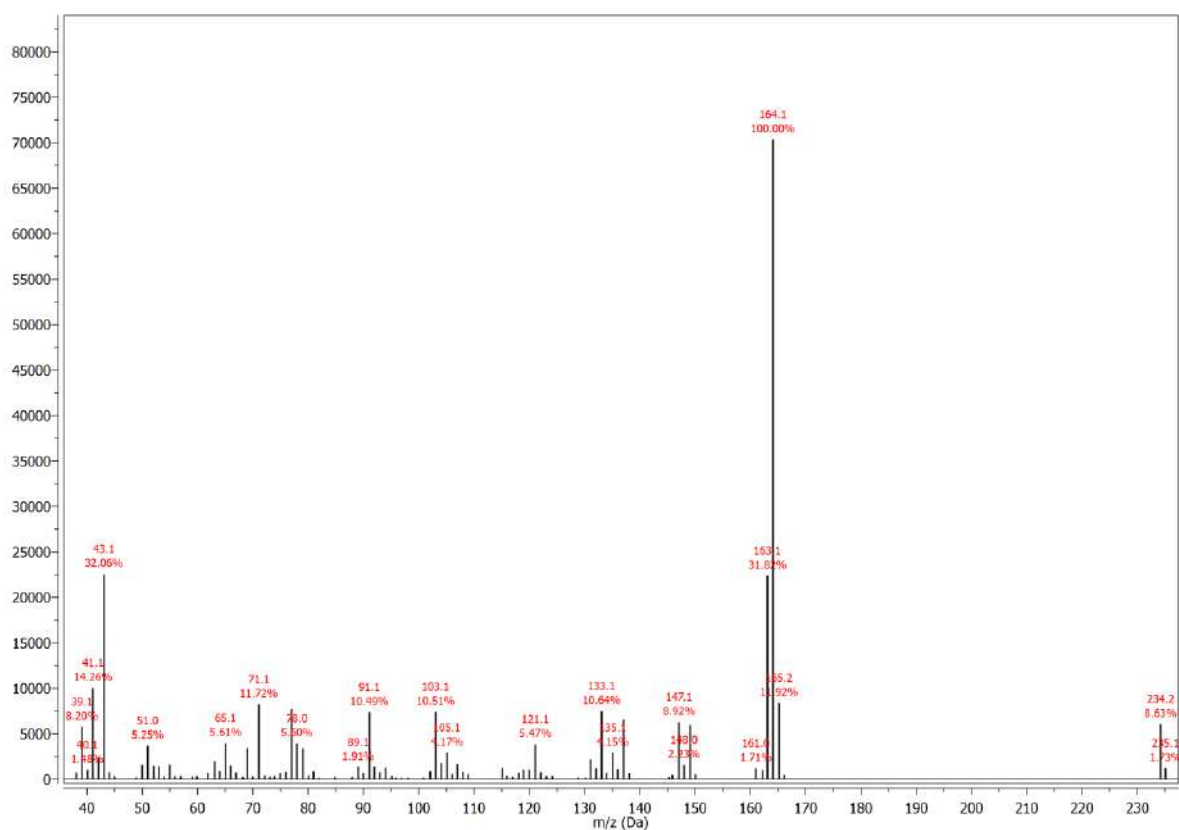
Prilog 8.3.135. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-propanoata [6c]



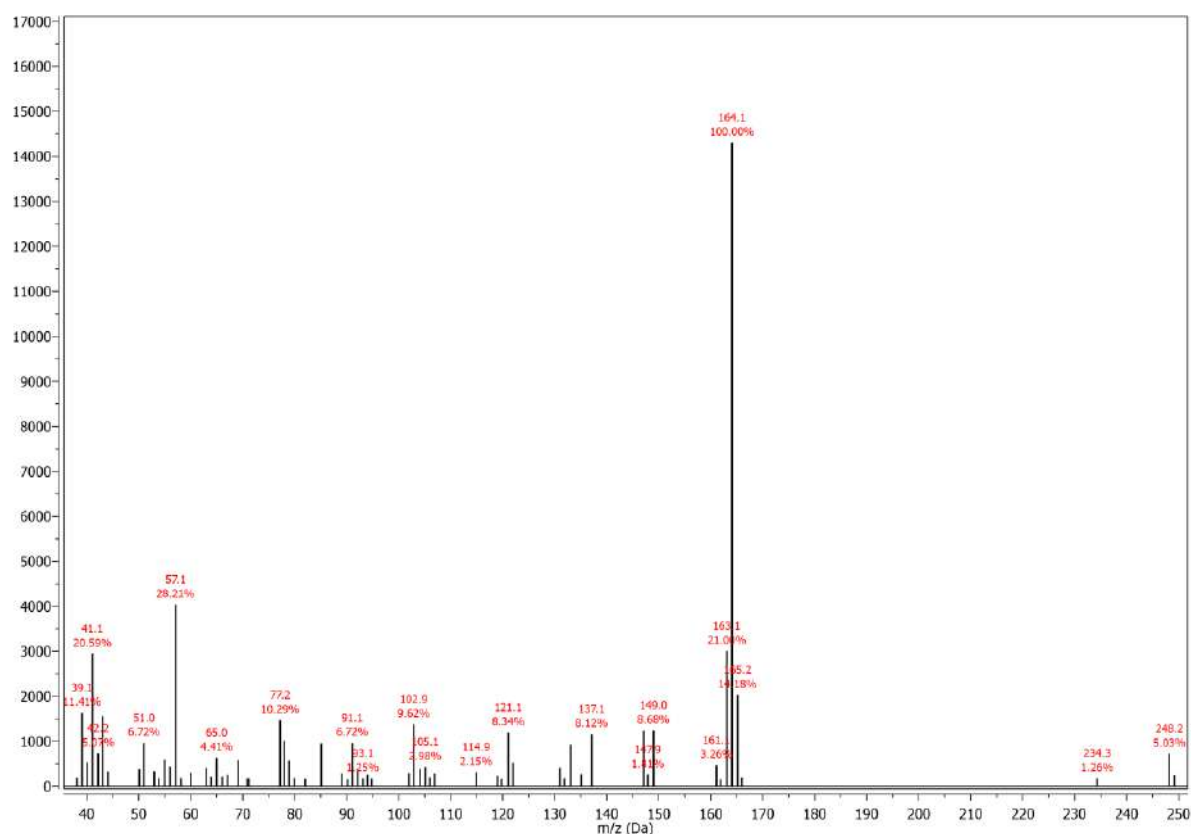
Prilog 8.3.136. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-izobutanoata [6d]



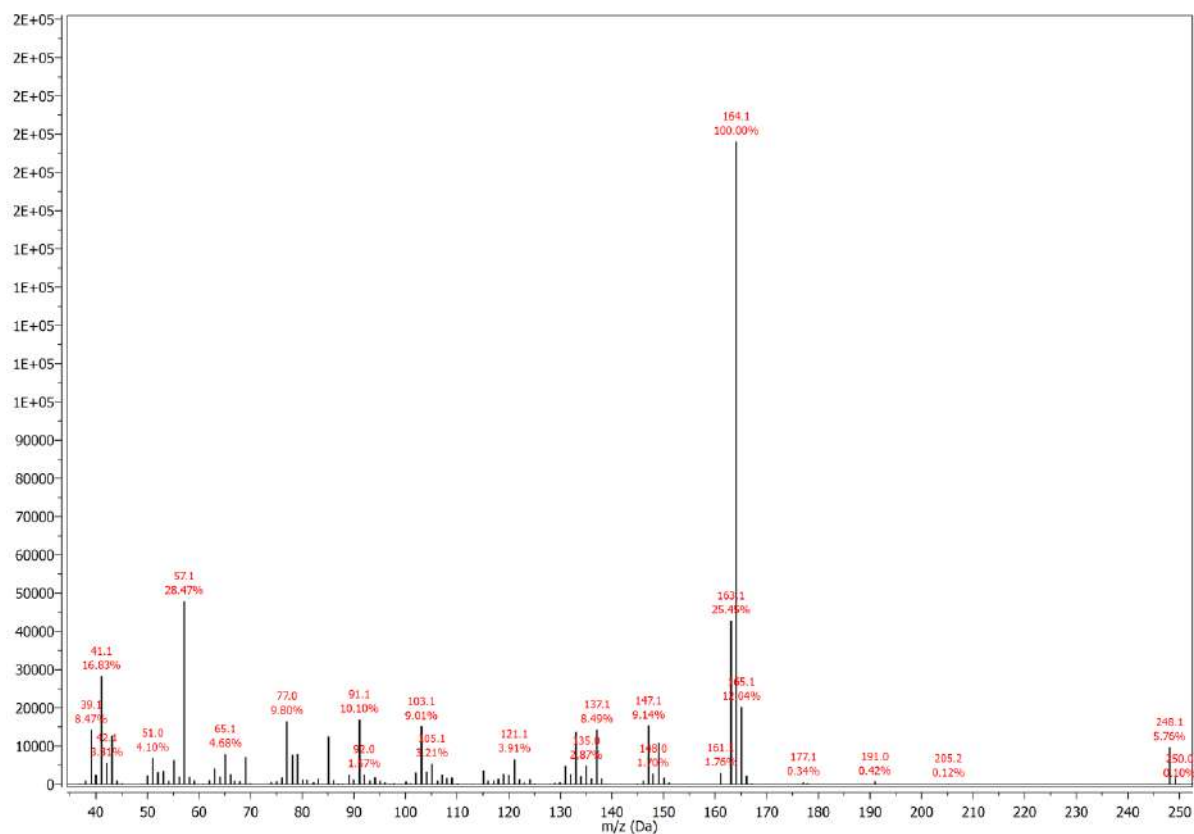
Prilog 8.3.137. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-butanoata [6e]



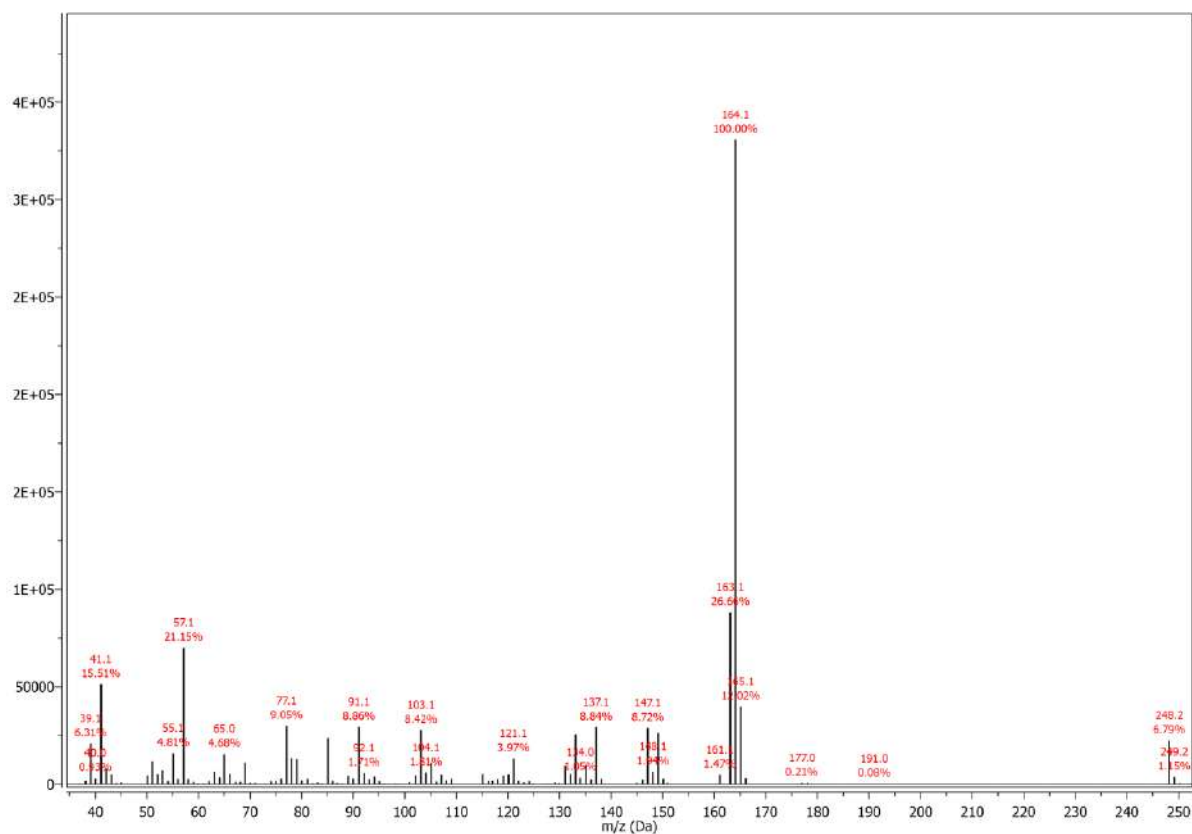
Prilog 8.3.138. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-2-metilbutanoata [6f]



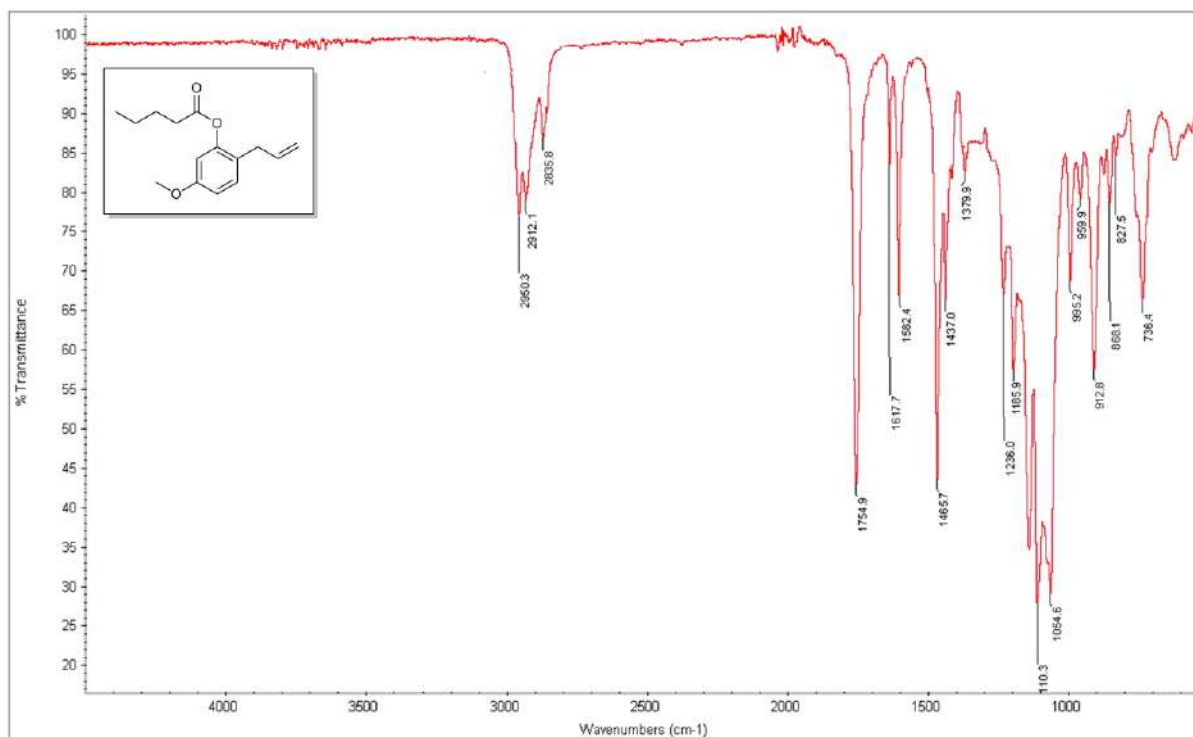
Prilog 8.3.139. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-3-metilbutanoata [6g]



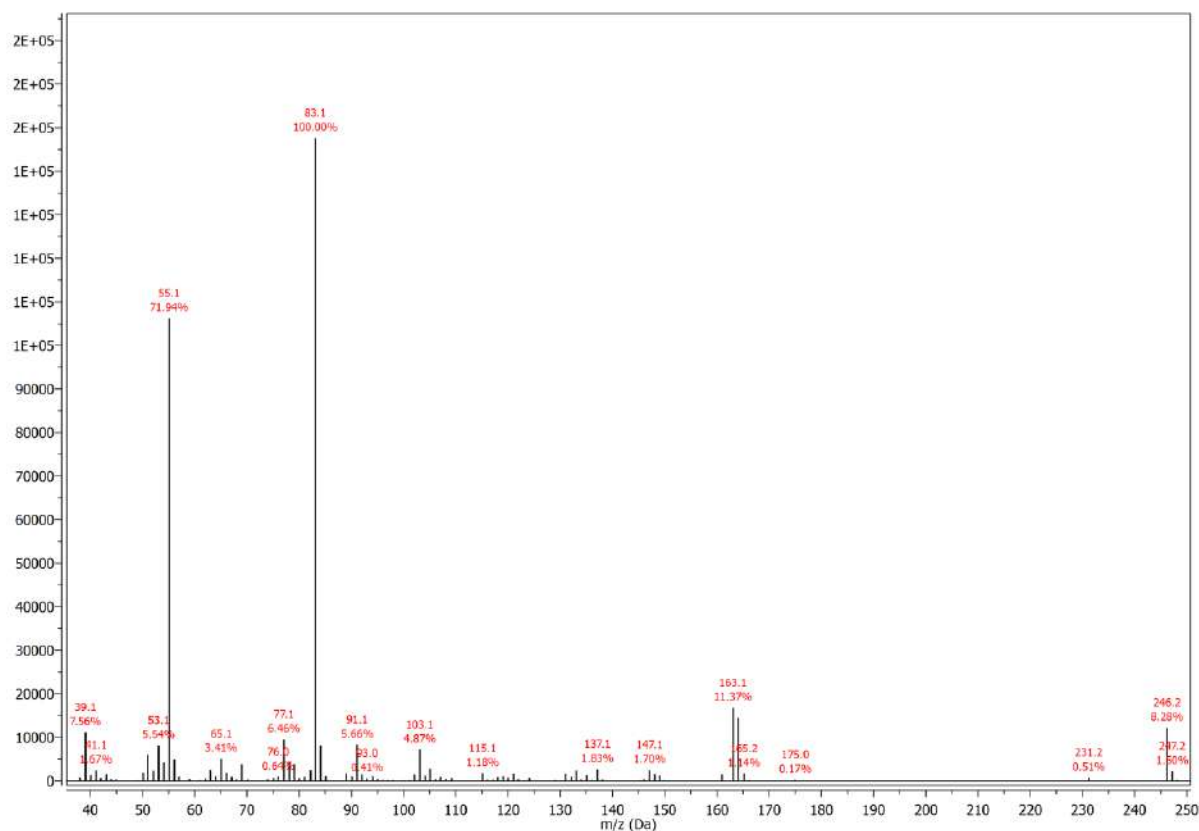
Prilog 8.3.140. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-pentanoata [6h]



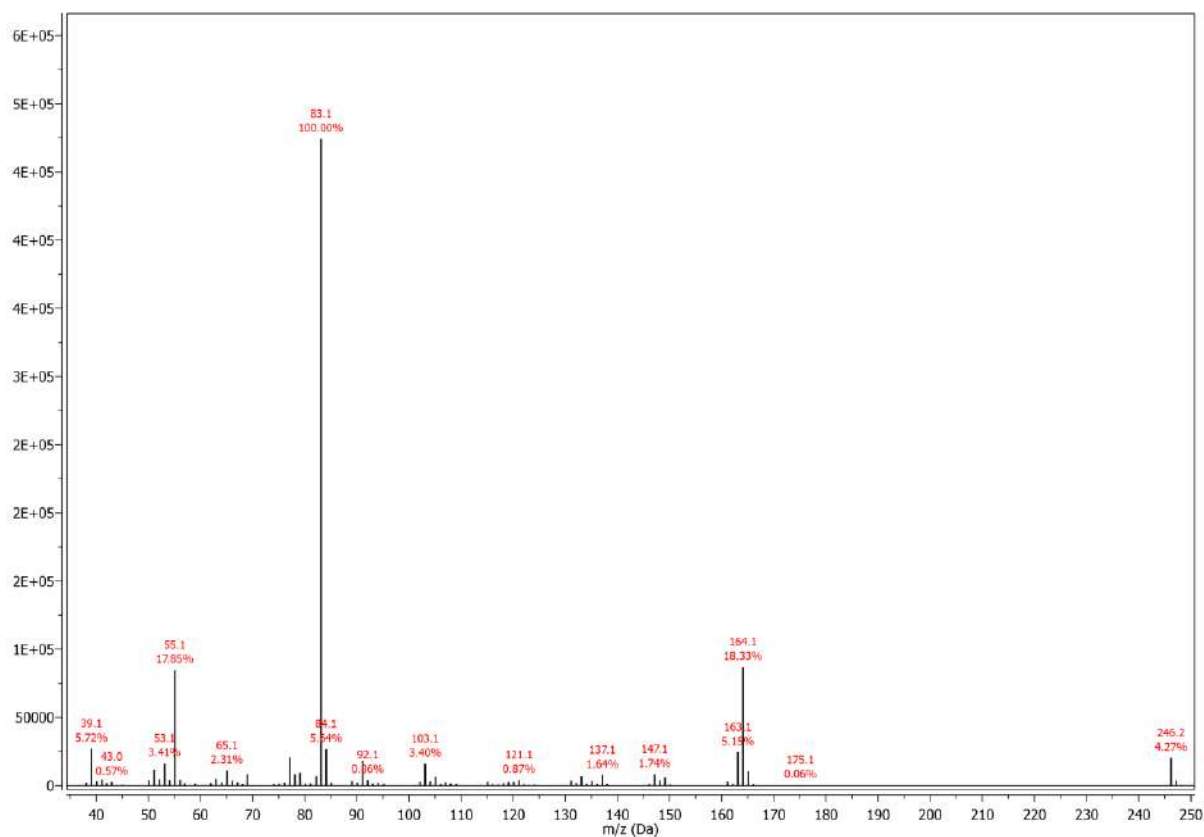
Prilog 8.3.141. IR spektar 2-alil-5-metoksifenil-pentanoata [6h]



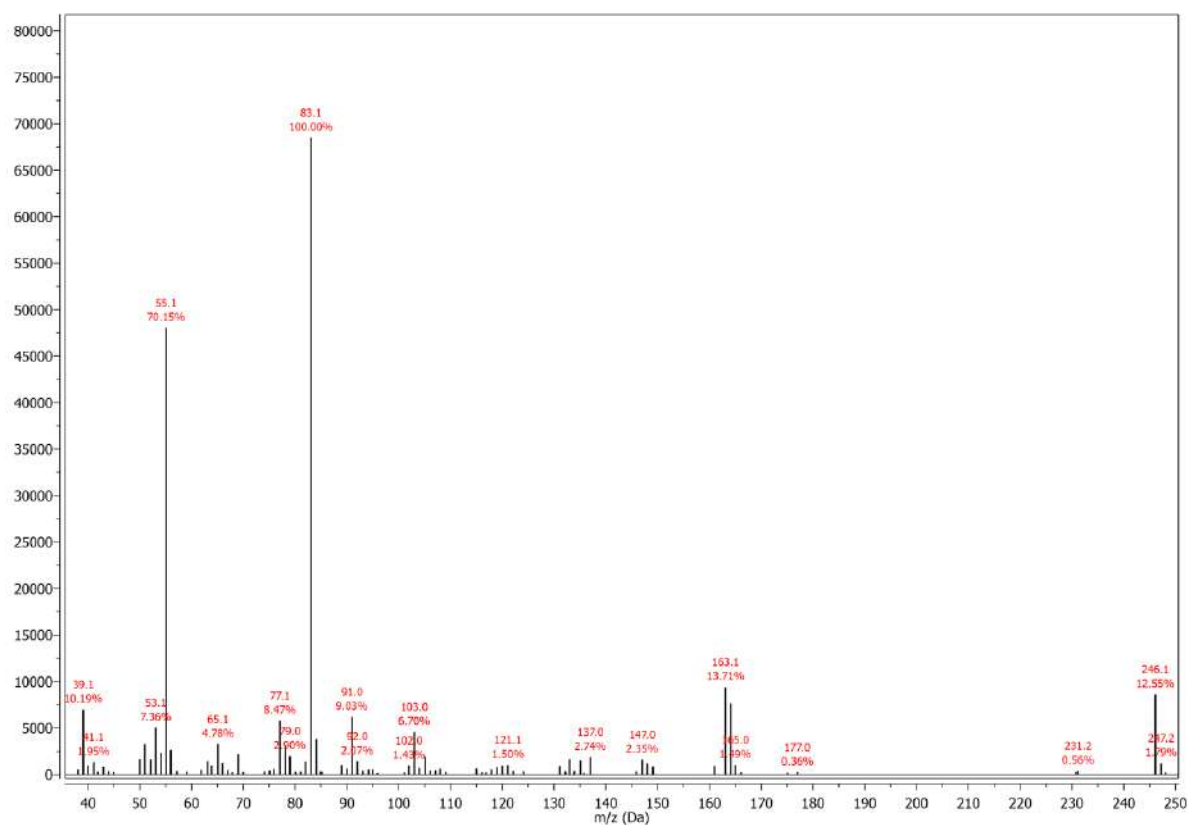
Prilog 8.3.142. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-angelata [6i]



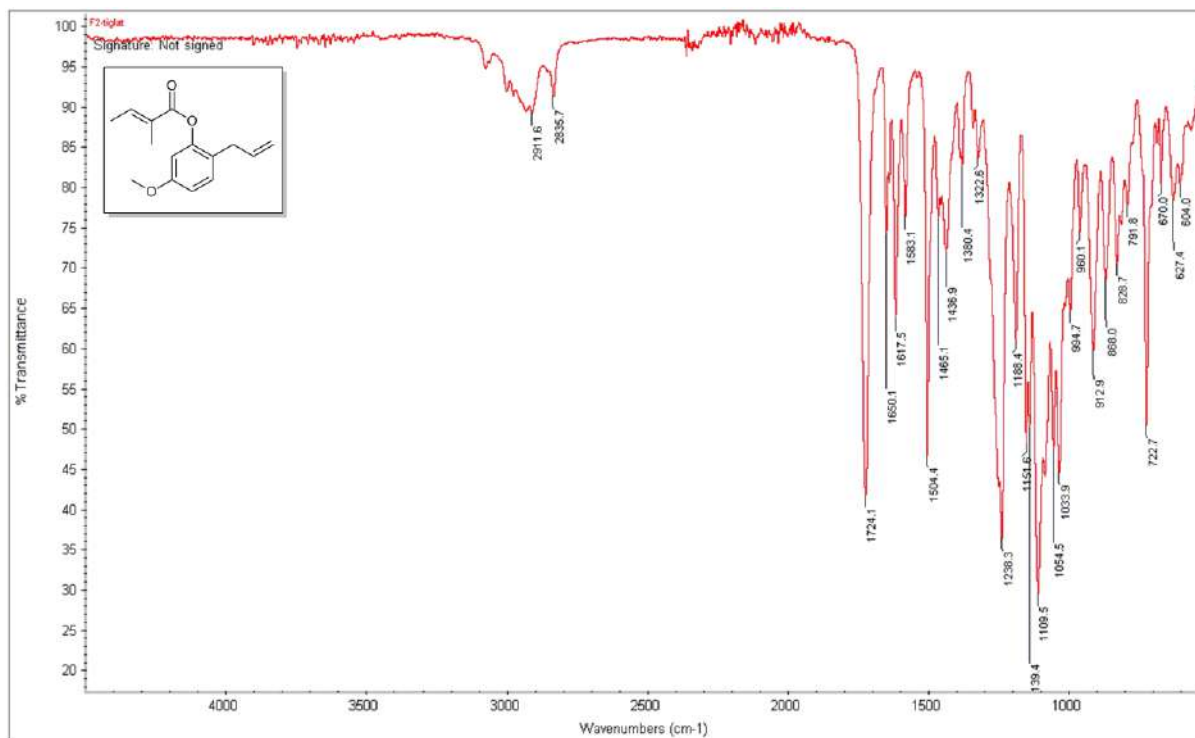
Prilog 8.3.143. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-senecioata [6j]



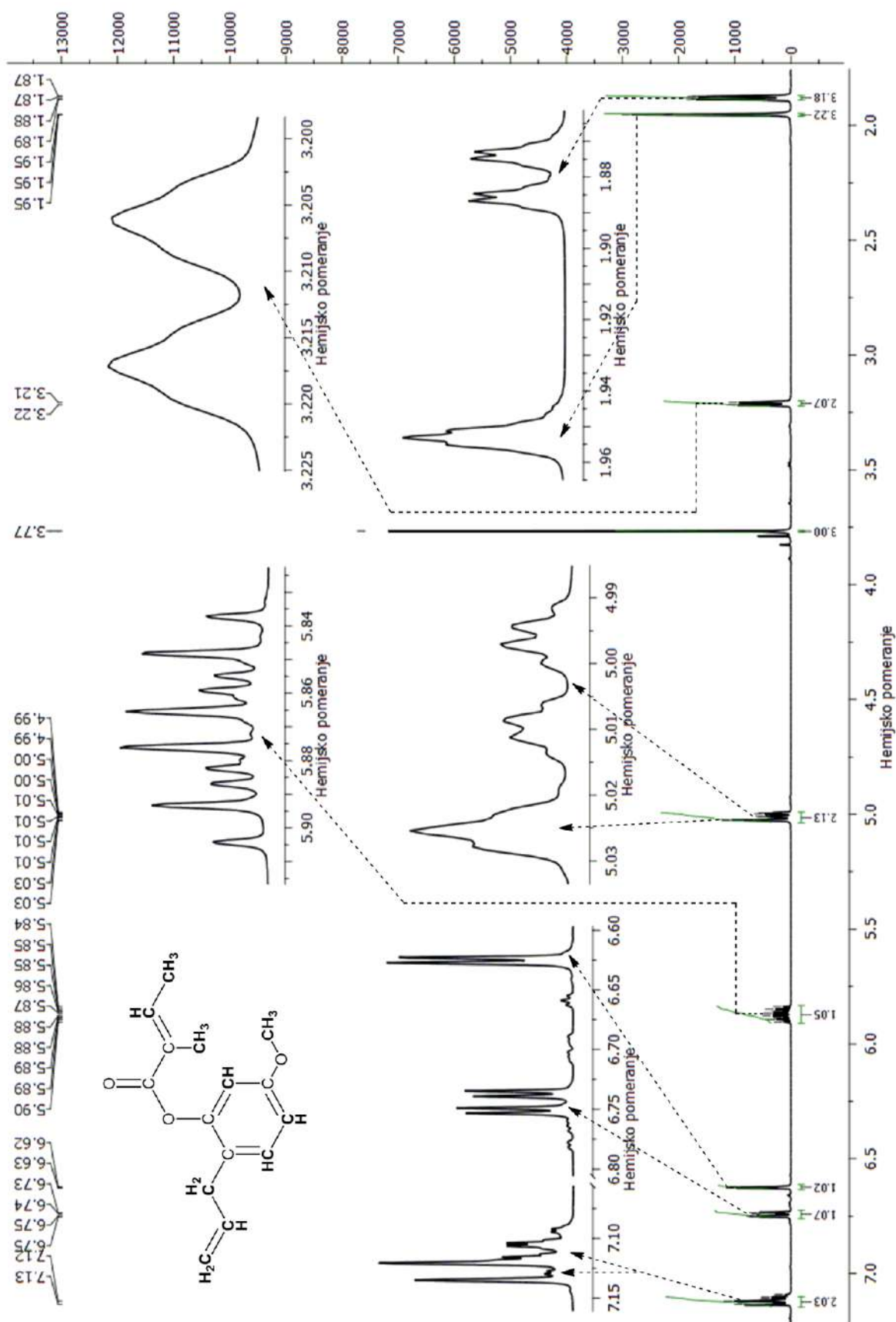
Prilog 8.3.144. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-tiglata [6k]



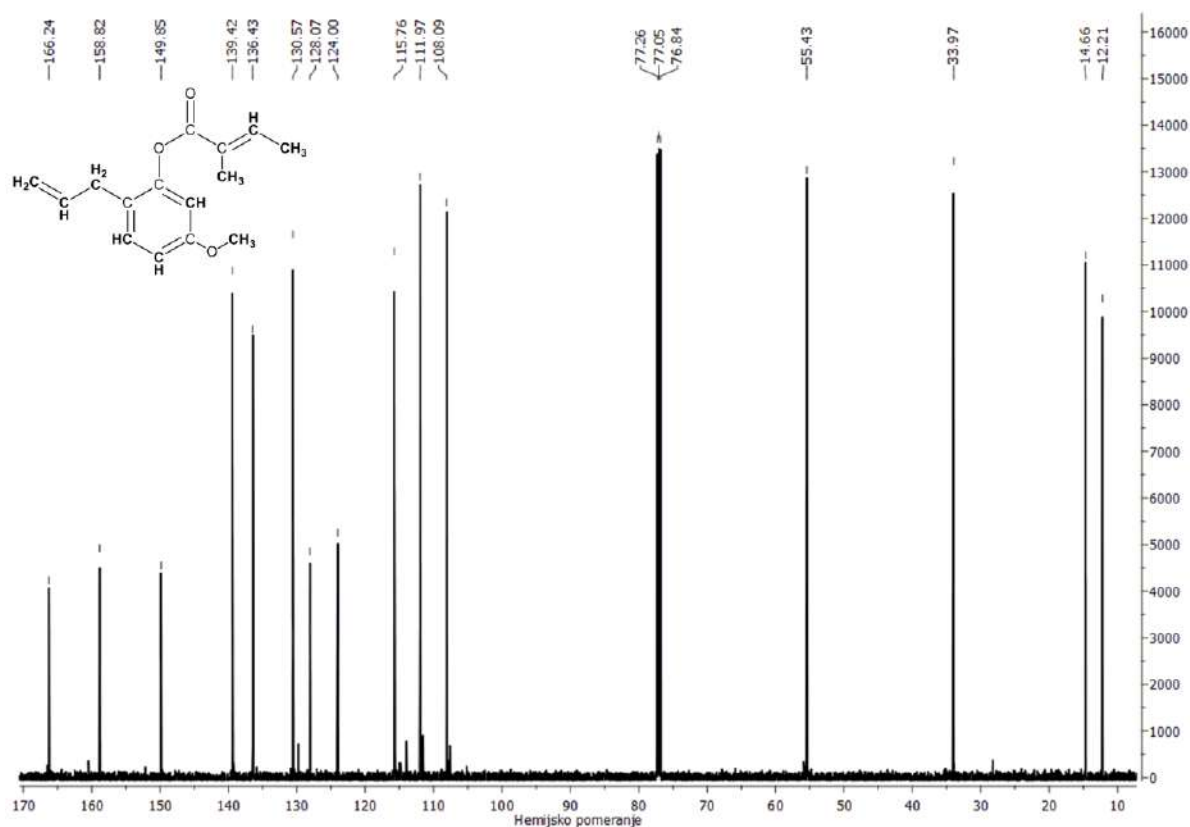
Prilog 8.3.145. IR spektar 2-alil-5-metoksifenil-tiglata [6k]



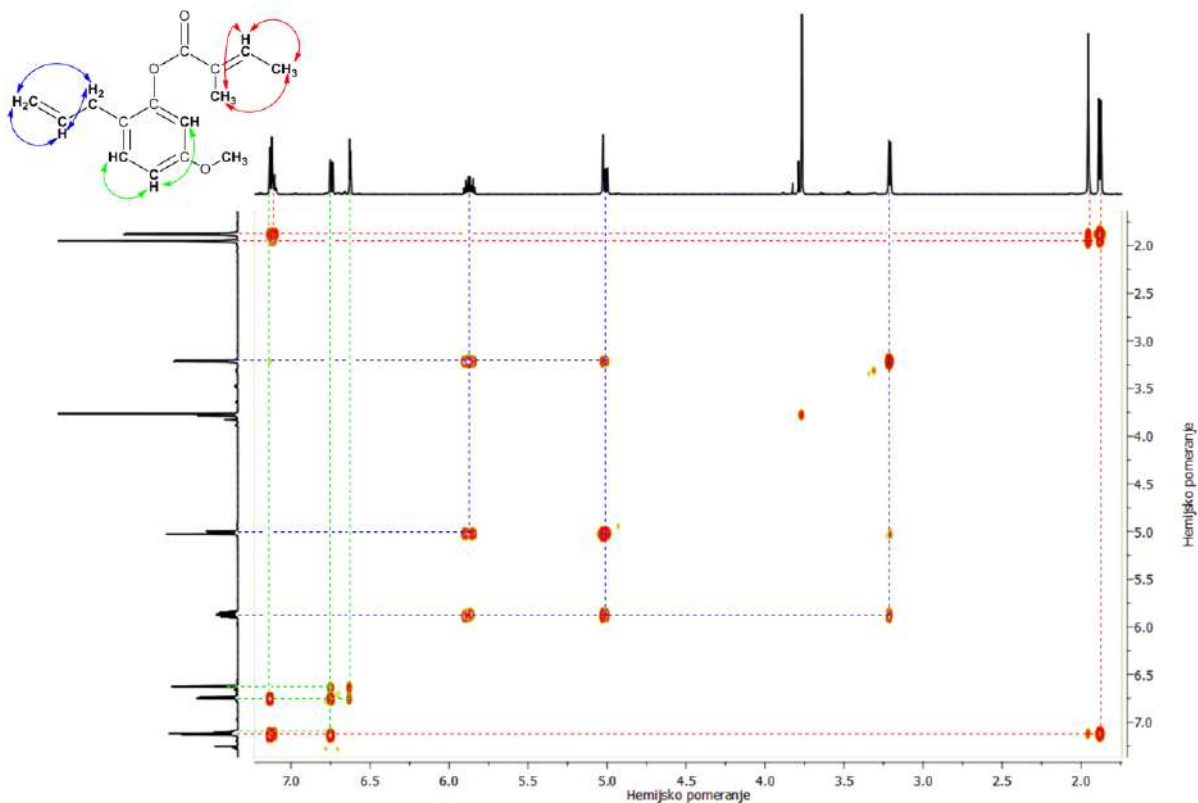
Prilog 8.3.146. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) spektar 2-alil-5-metoksifenil-tiglata [6k]



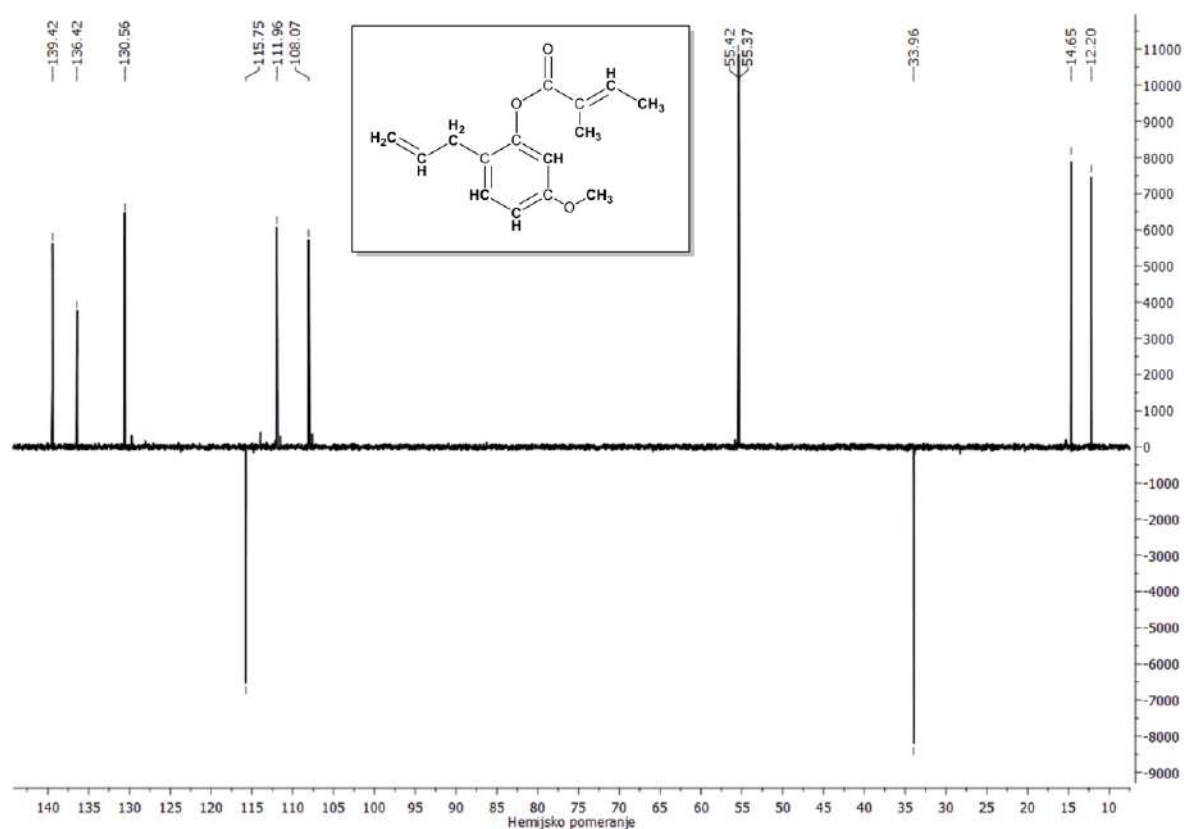
Prilog 8.3.147. ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) spektar 2-alil-5-metoksifenil-tiglata [6k]



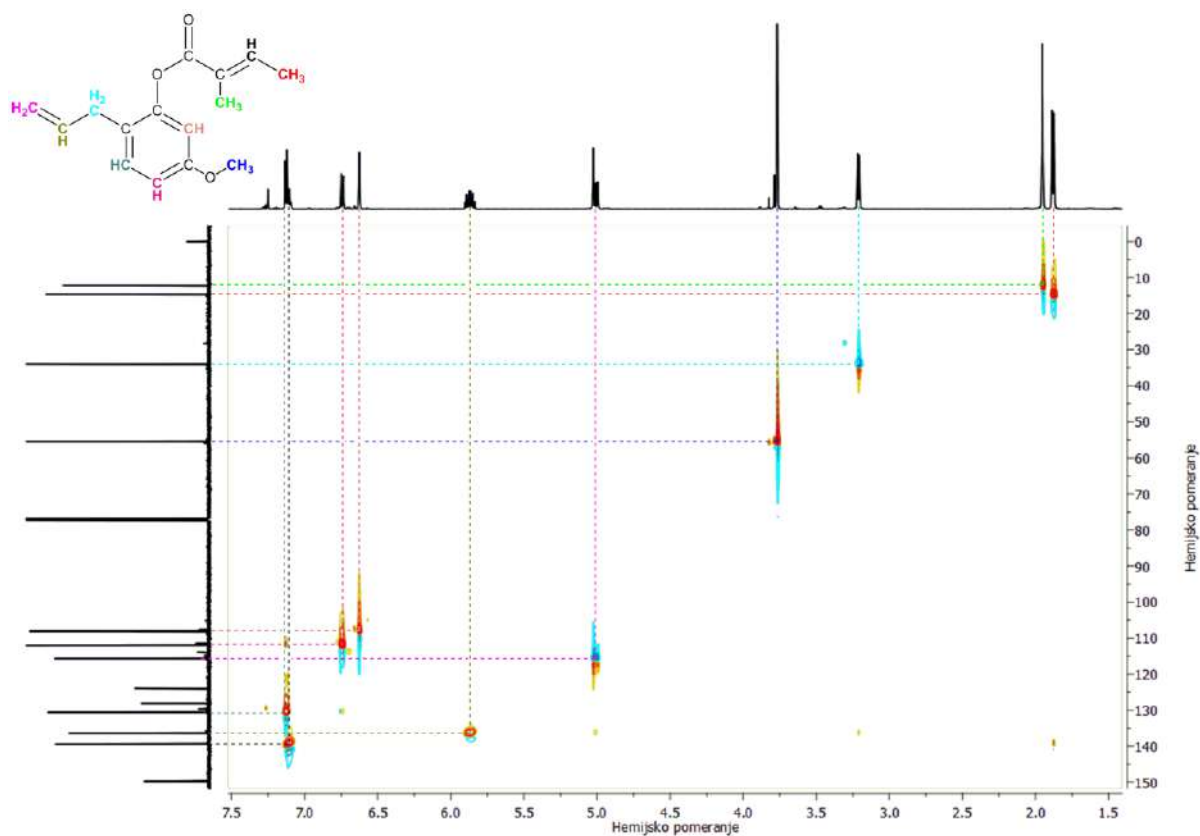
Prilog 8.3.148. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar 2-alil-5-metoksifenil-tiglata [6k]



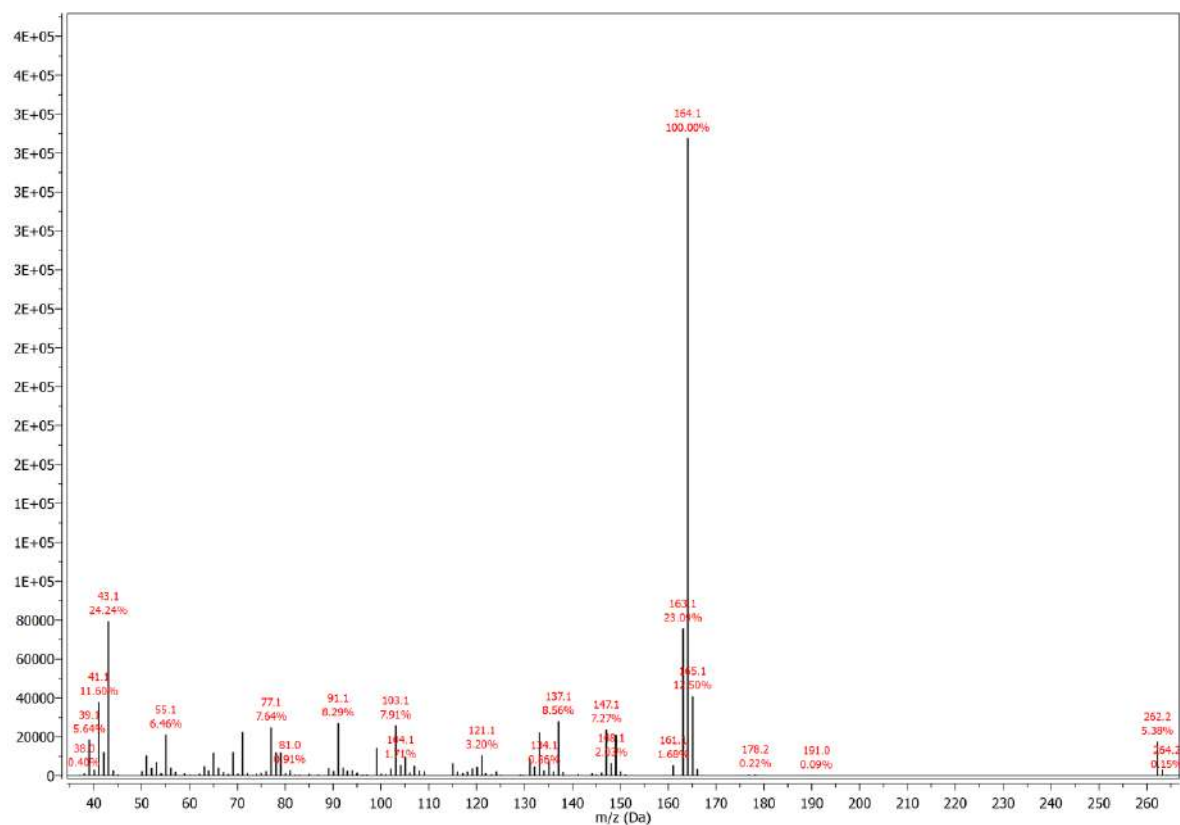
Prilog 8.3.149. DEPT spektar 2-alil-5-metoksifenil-tiglata [6k]



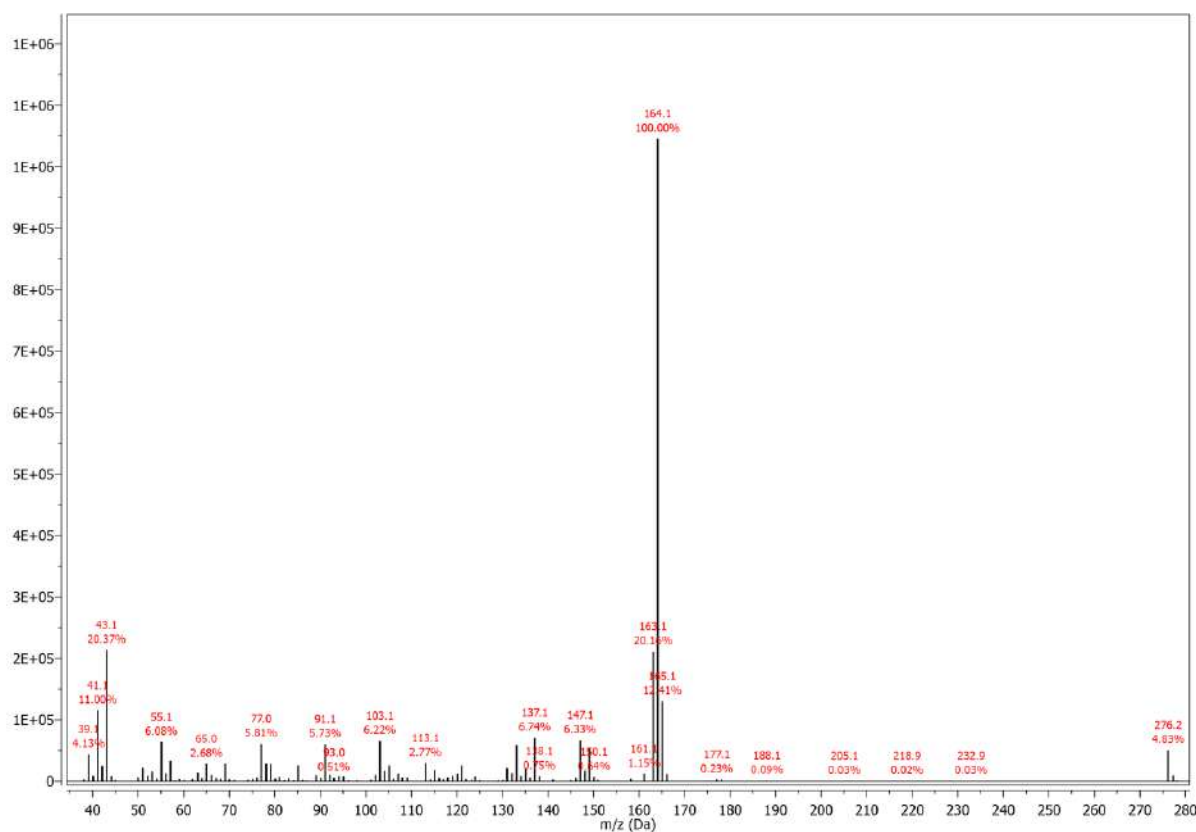
Prilog 8.3.150. HSQC spektar 2-alil-5-metoksifenil-tiglata [6k]



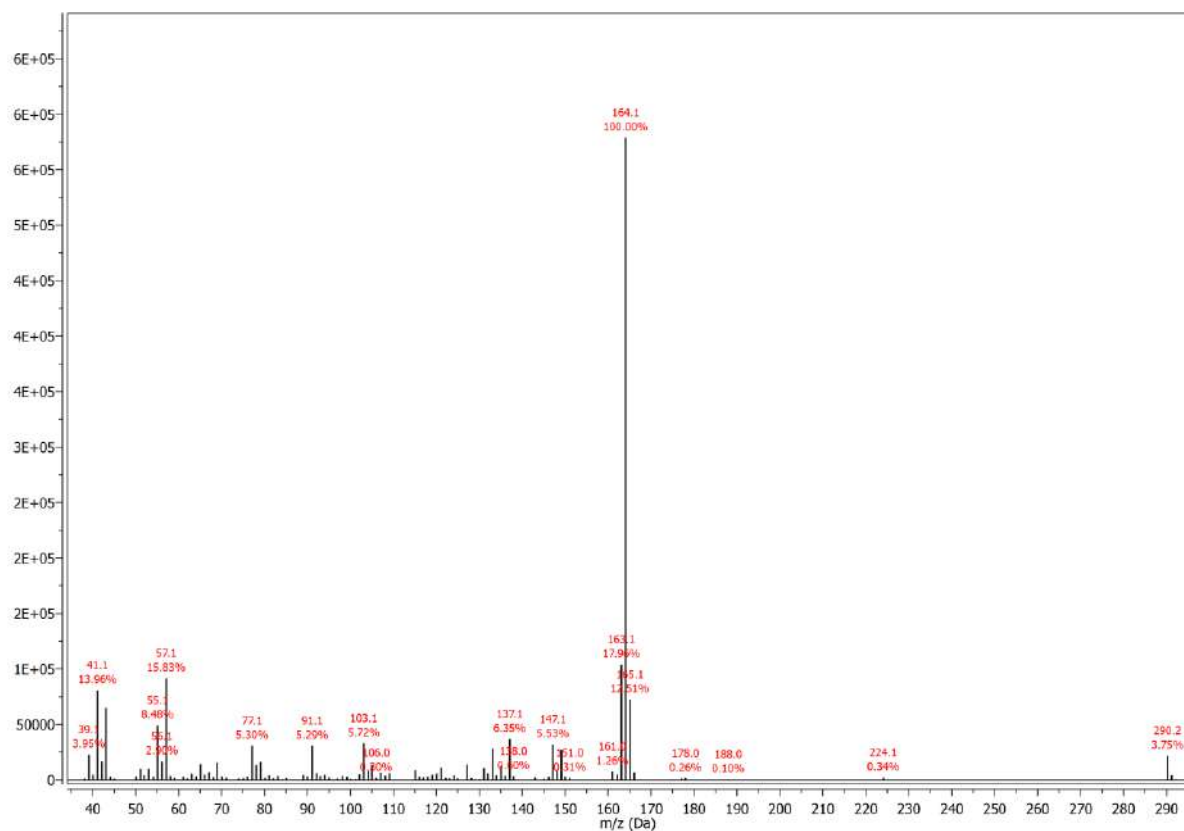
Prilog 8.3.151. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-heksanoata [6l]



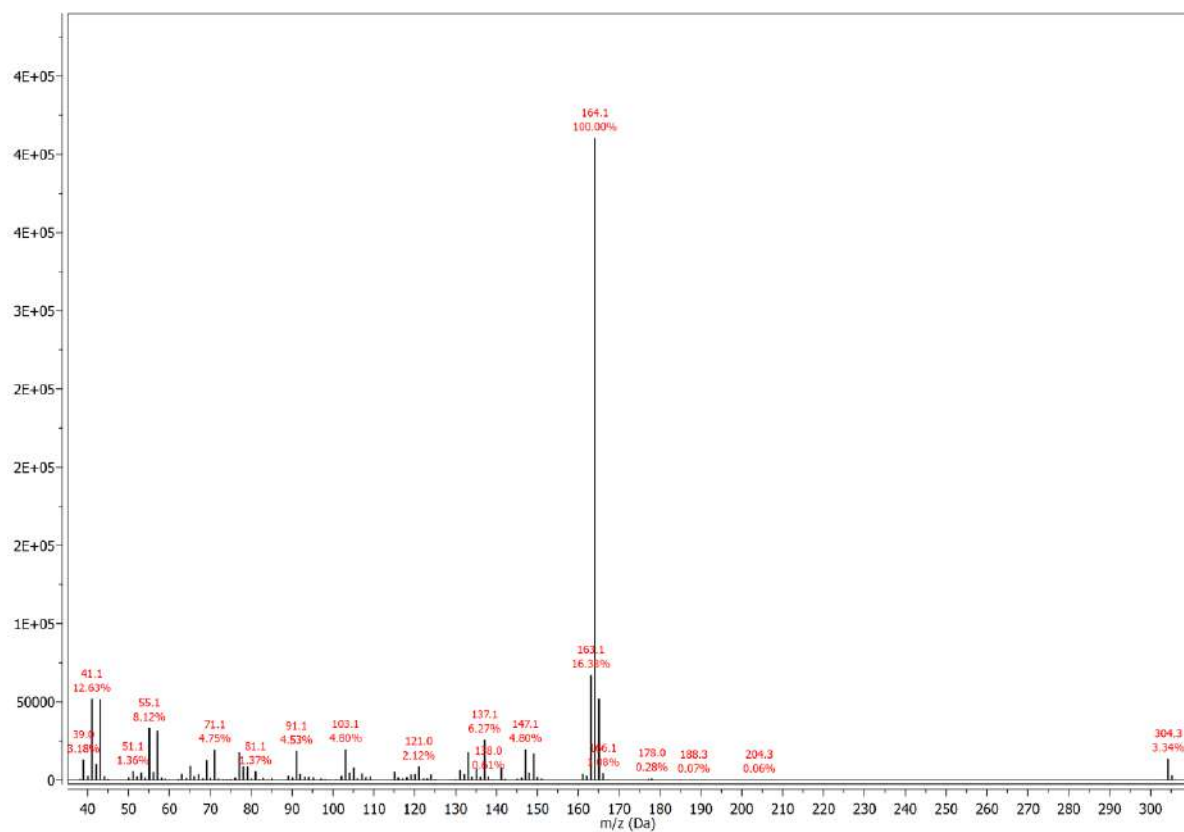
Prilog 8.3.152. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-heptanoata [6m]



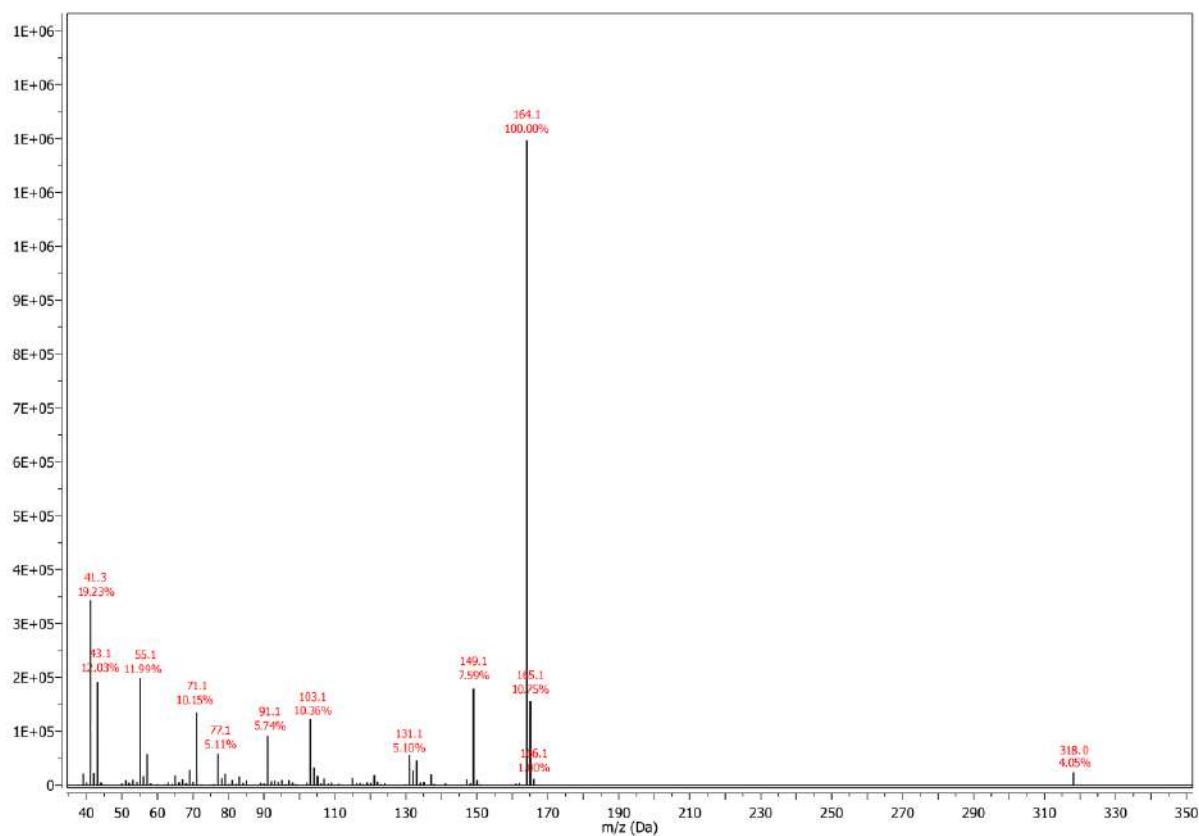
Prilog 8.3.153. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-oktanoata [6n]



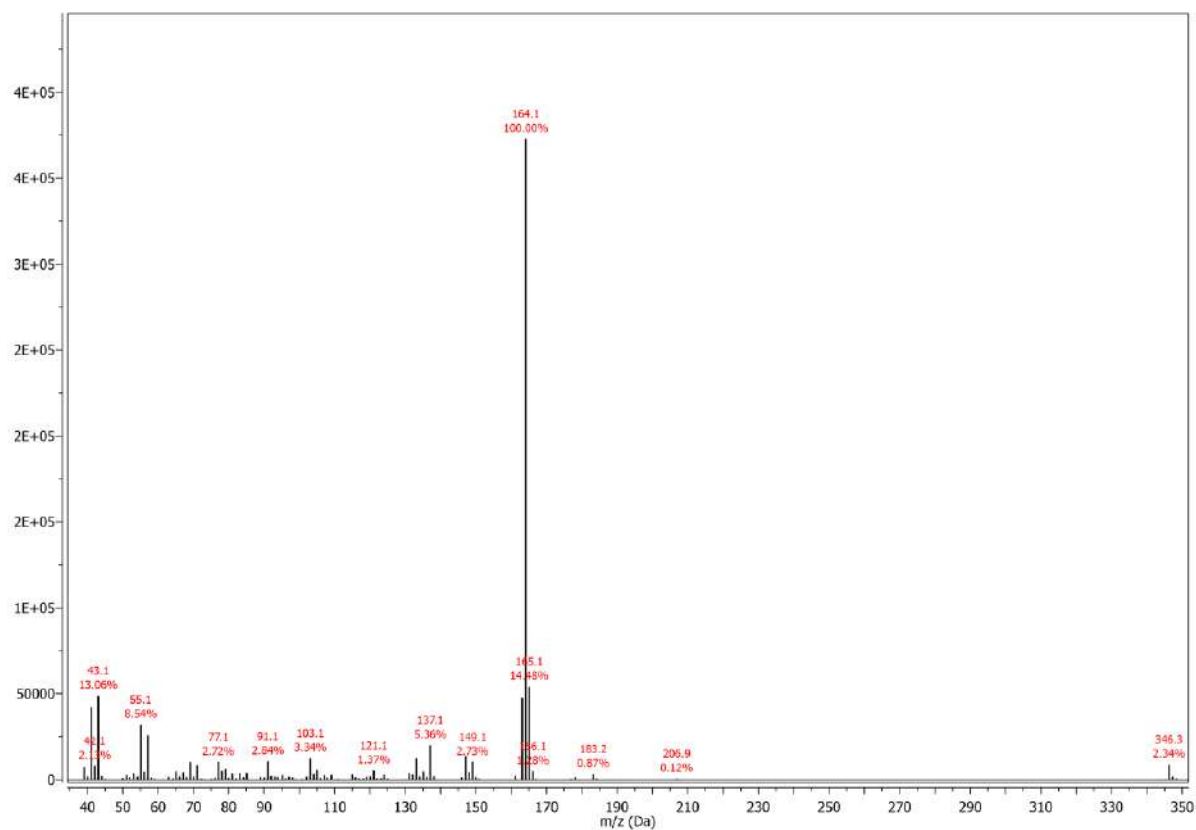
Prilog 8.3.154. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-nonanoata [6o]



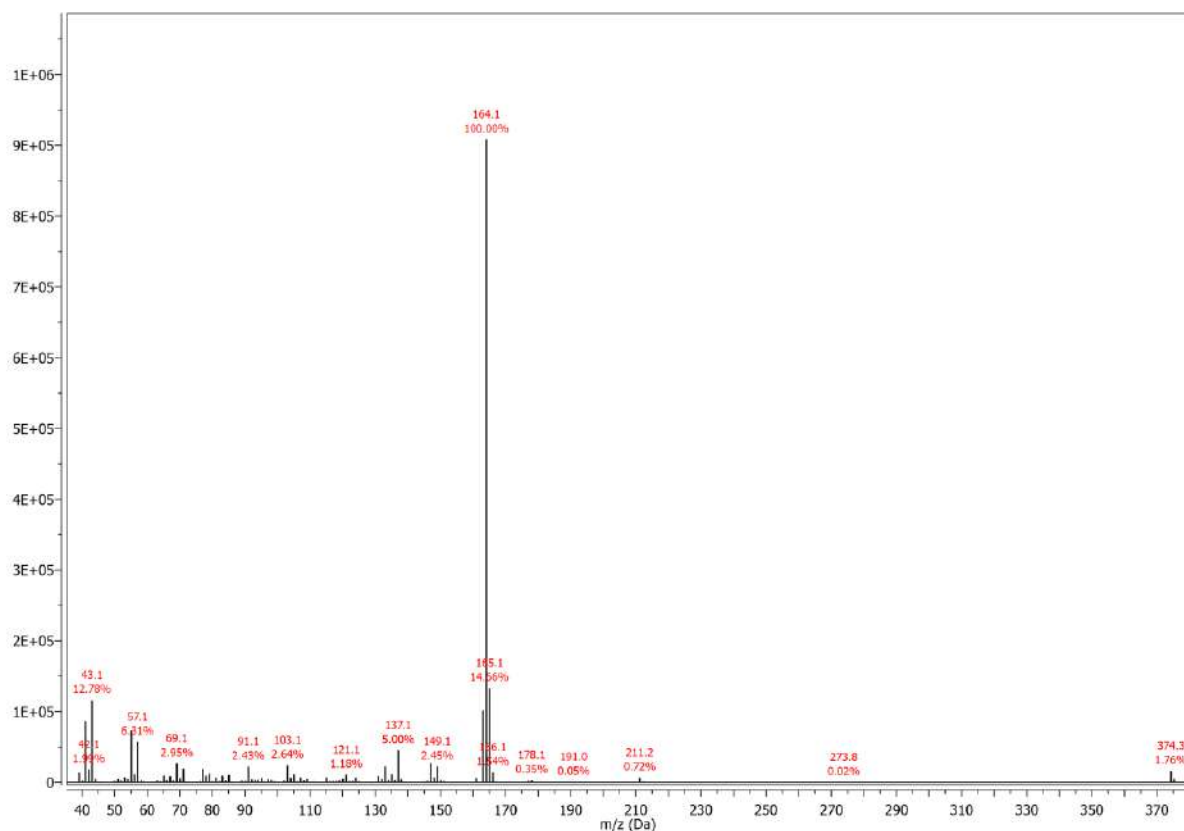
Prilog 8.3.155. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-dekanoata [6p]



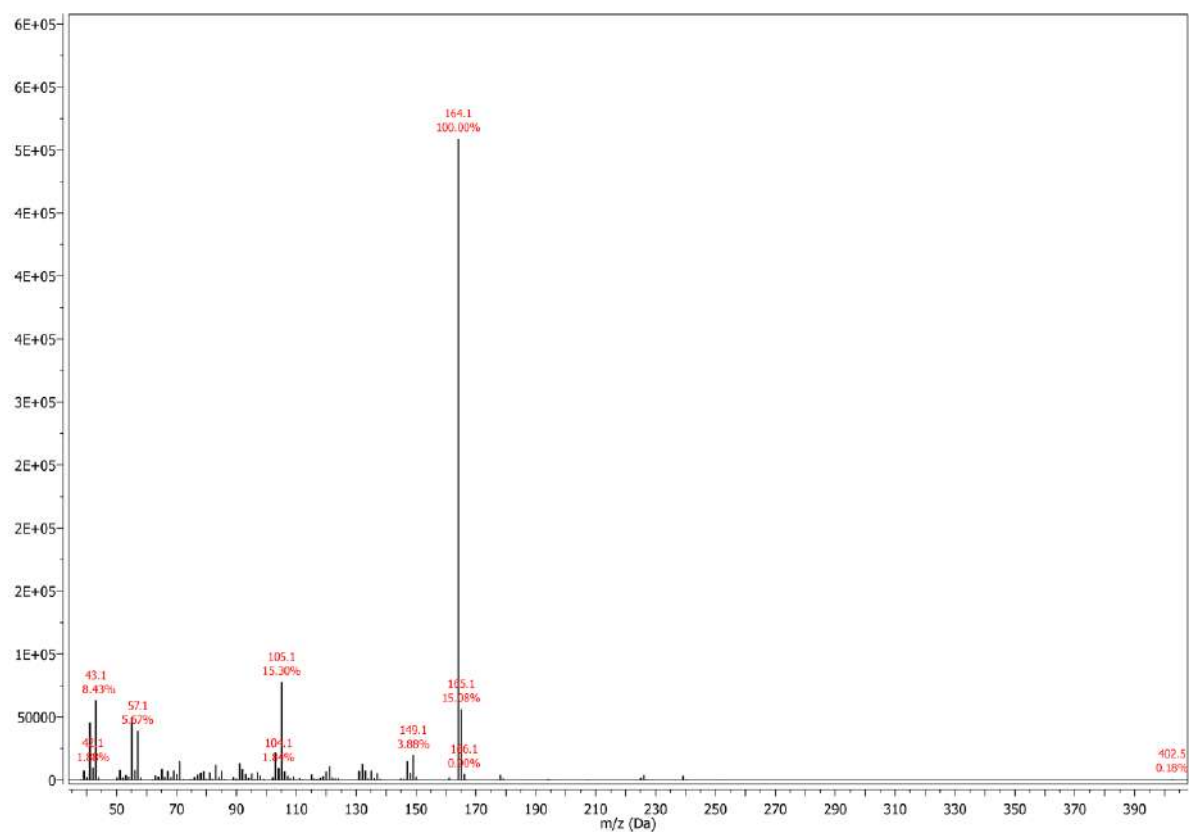
Prilog 8.3.156. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-dodekanoata [6q]



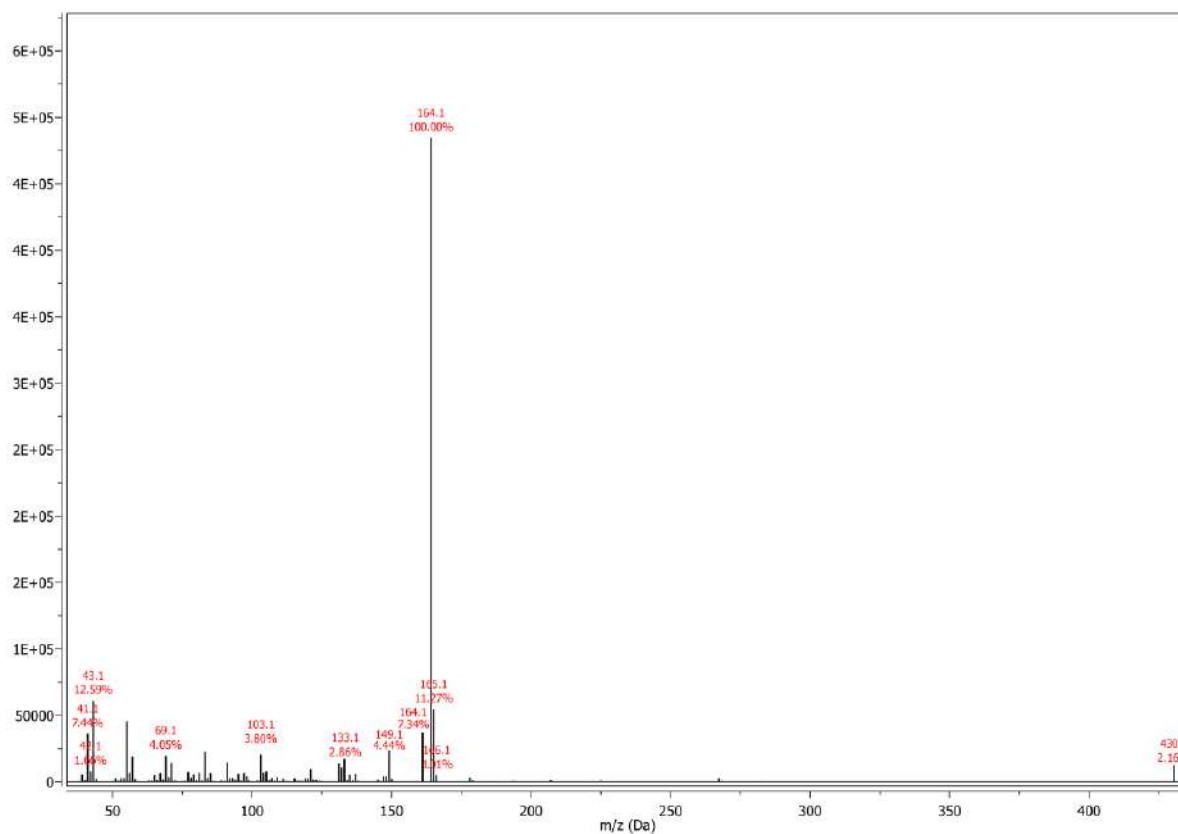
Prilog 8.3.157. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-tetradekanoata [6r]



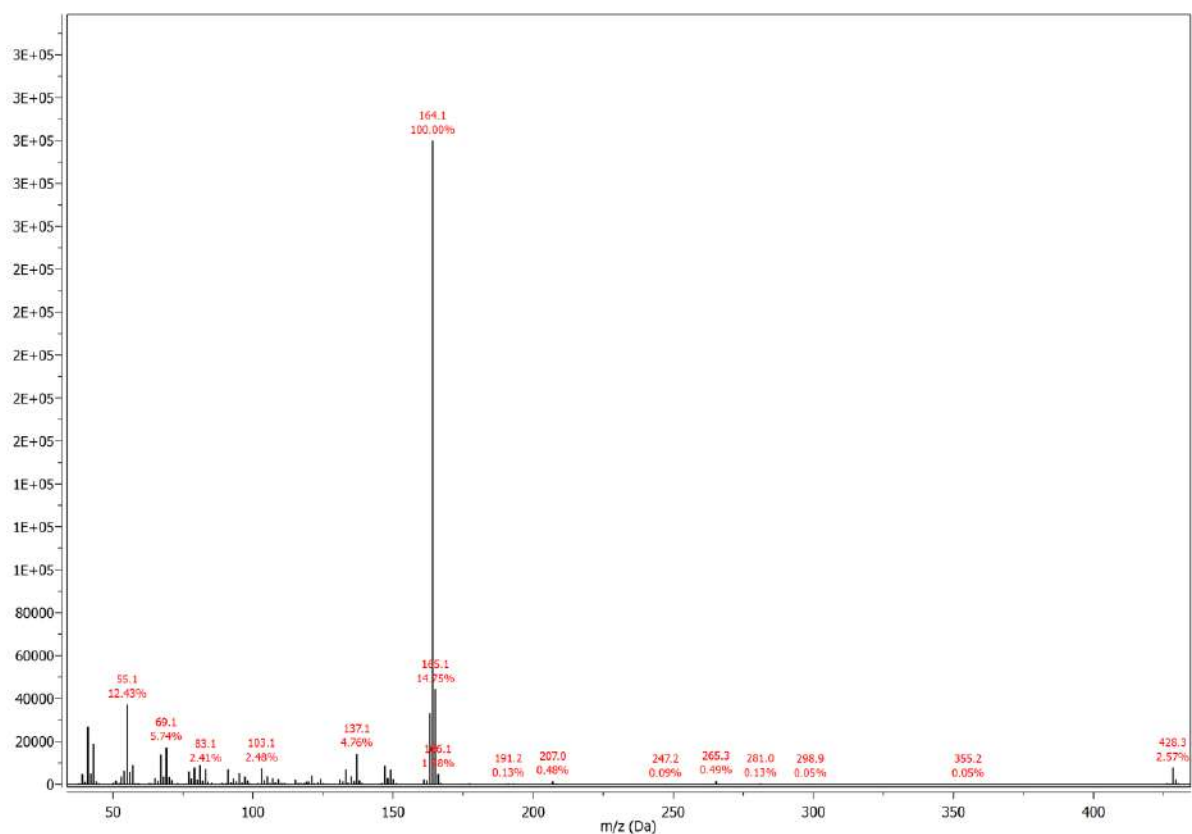
Prilog 8.3.158. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-heksadekanoata [6s]



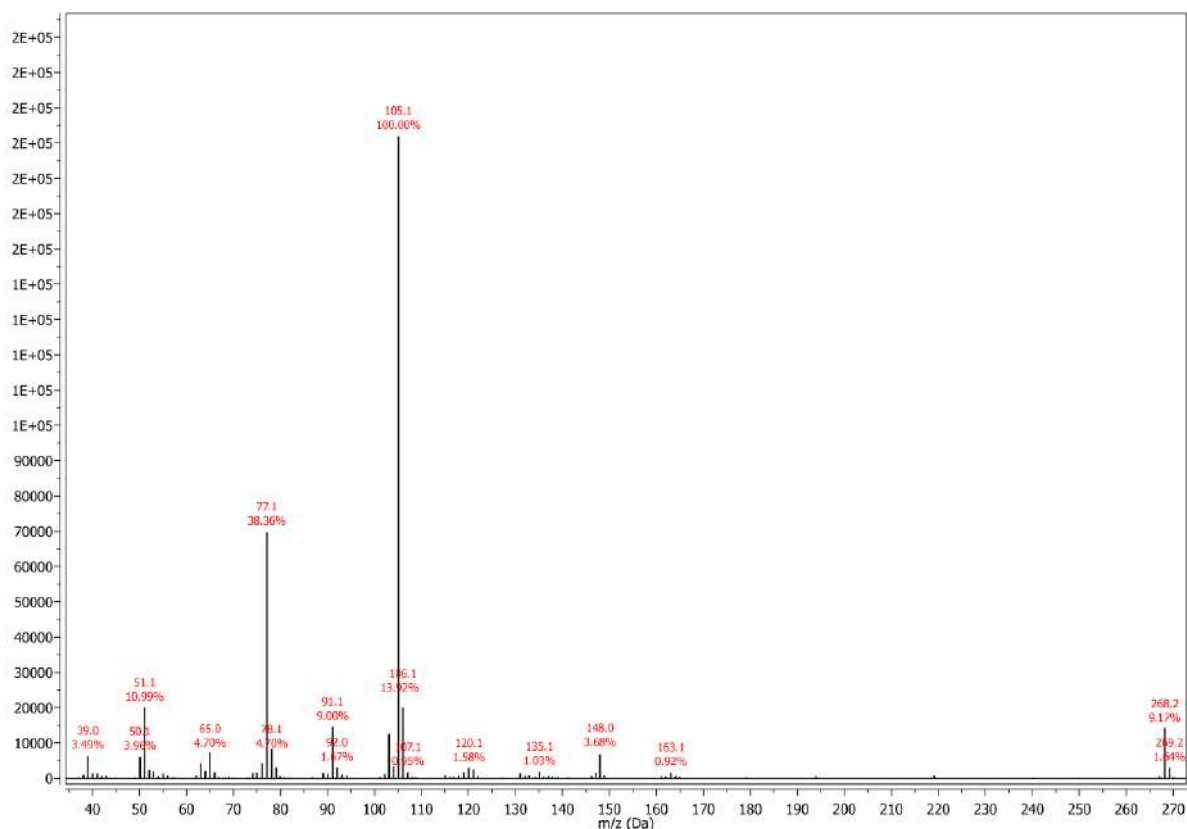
Prilog 8.3.159. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-oktadekanoata [6t]



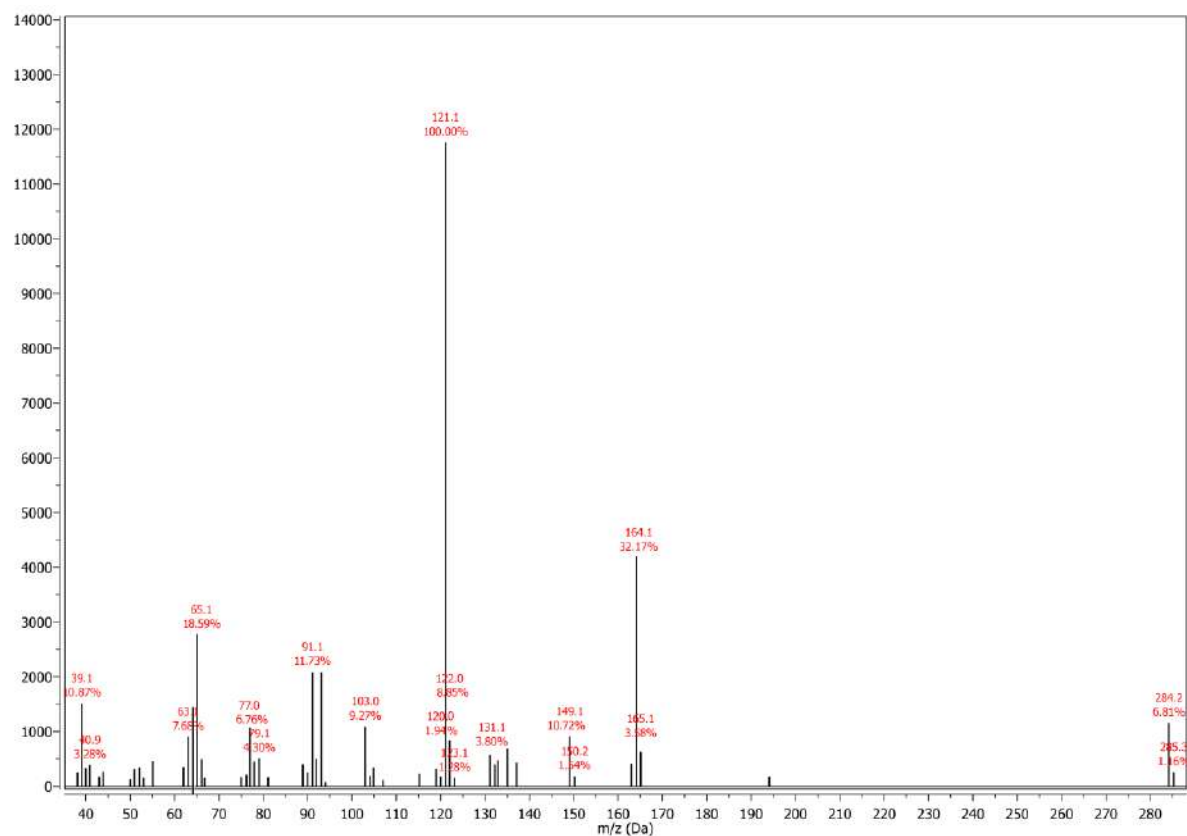
Prilog 8.3.160. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-(Z)-9-octadecenoata [6u]



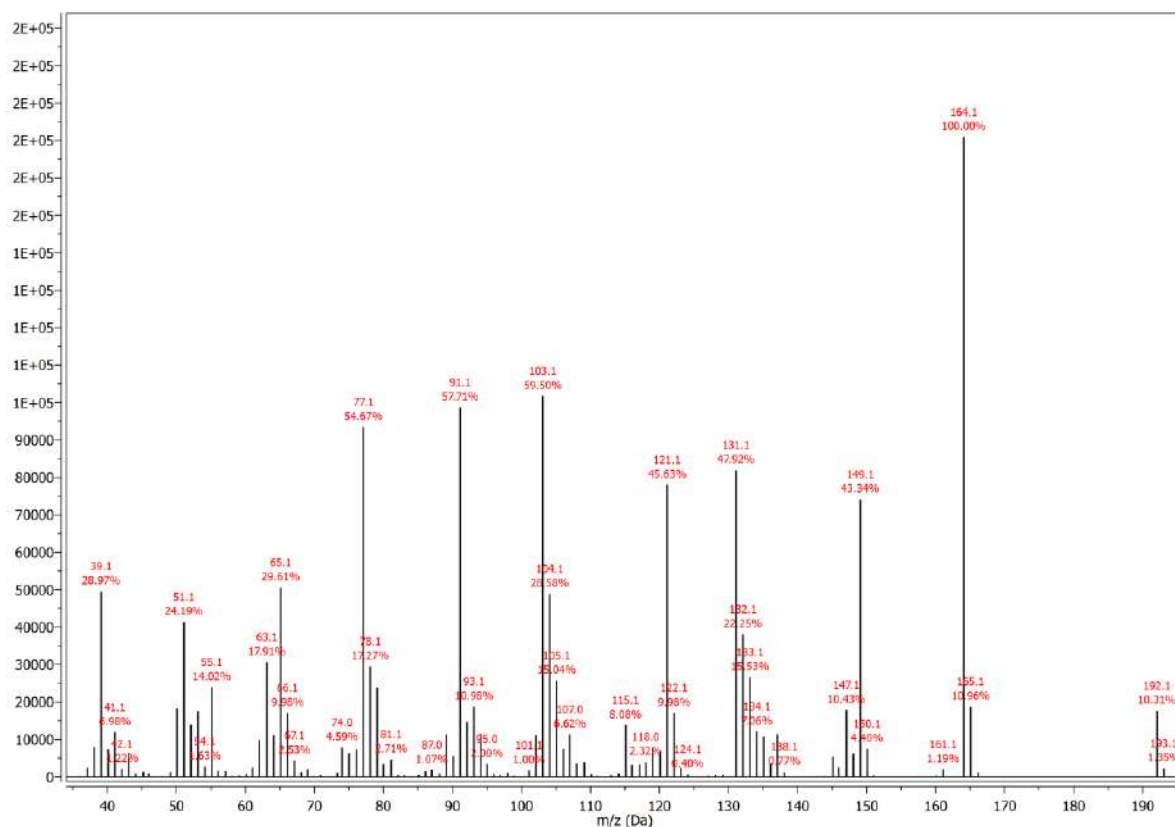
Prilog 8.3.161. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-benzoata [6v]



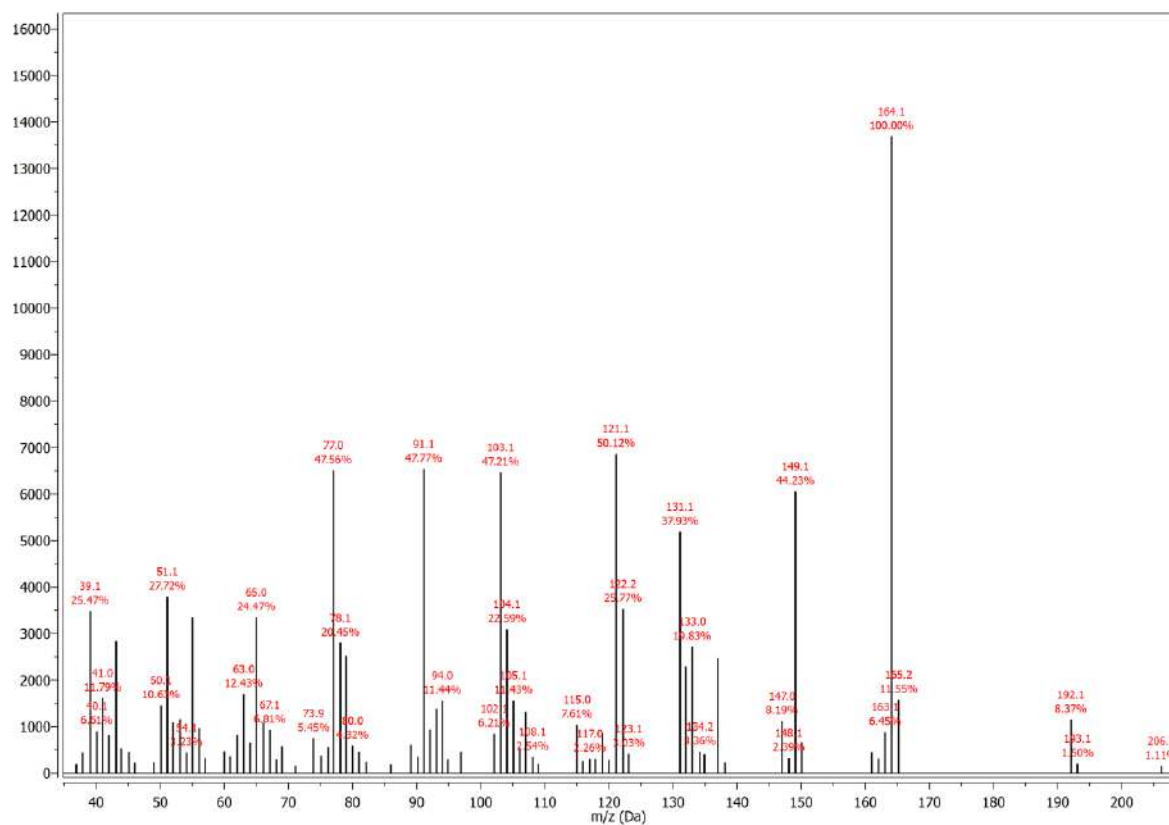
Prilog 8.3.162. Maseni spektar 2-alil-5-metoksifenil-salicilata [6w]



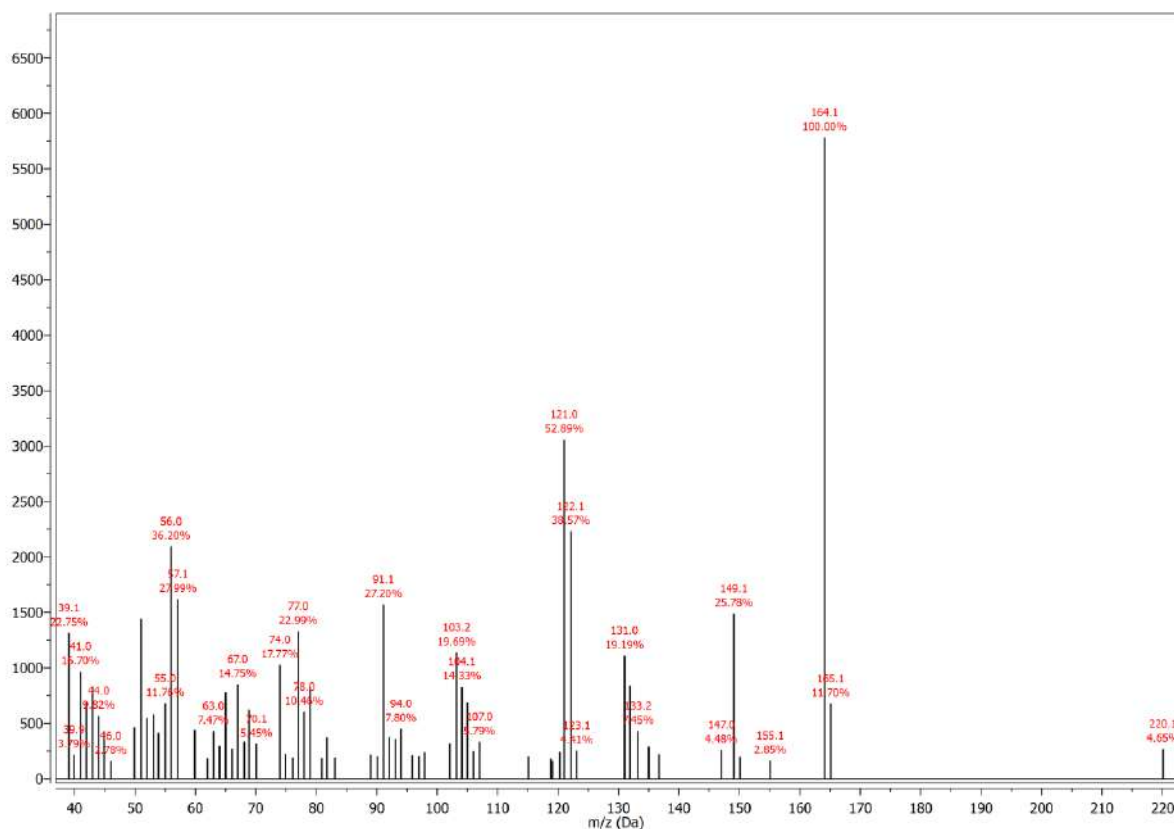
Prilog 8.3.163. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-formijata [7a]



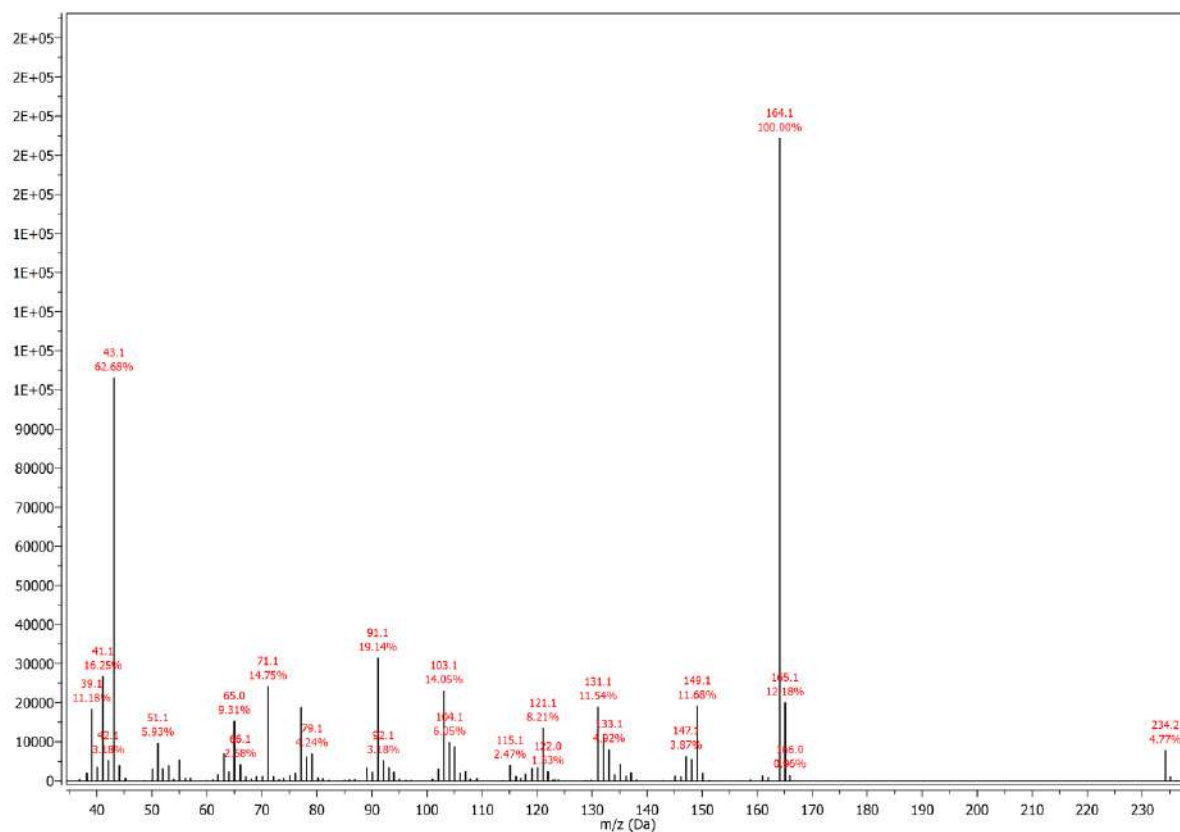
Prilog 8.3.164. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-acetata [7b]



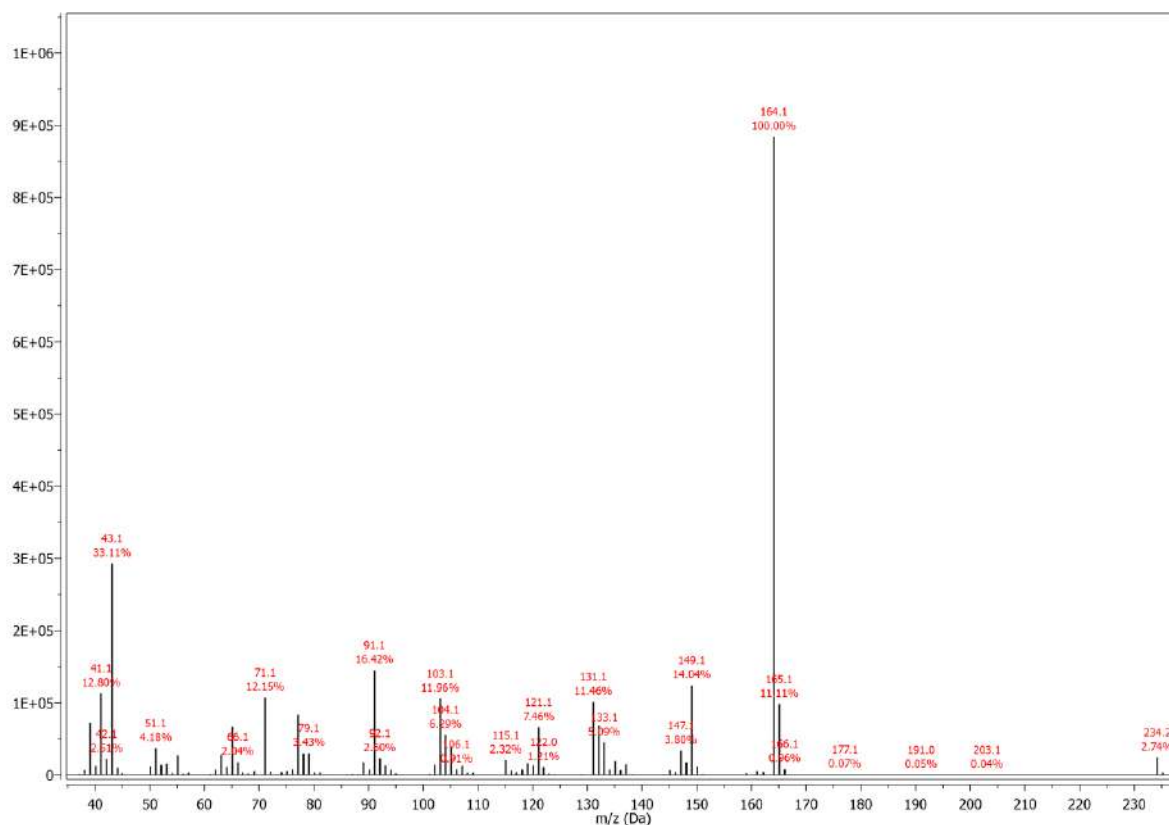
Prilog 8.3.165. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-propanoata [7c]



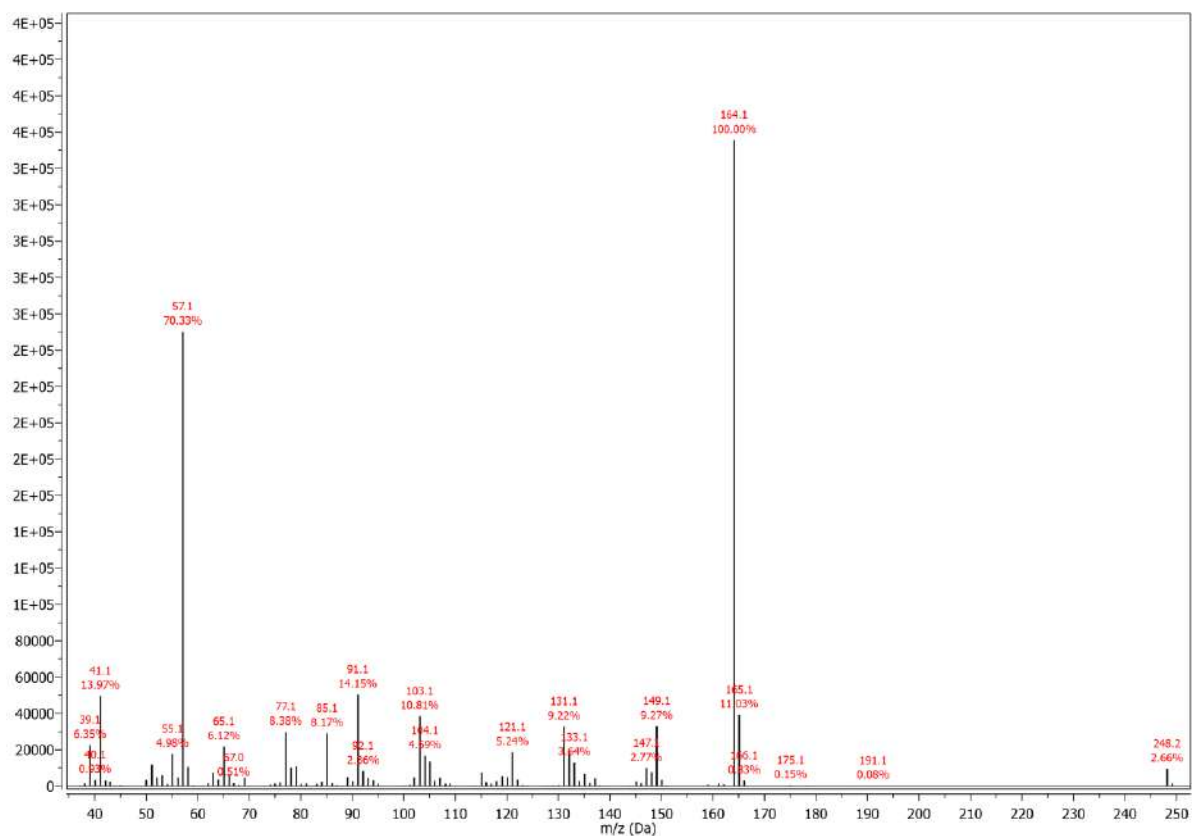
Prilog 8.3.166. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-izobutanoata [7d]



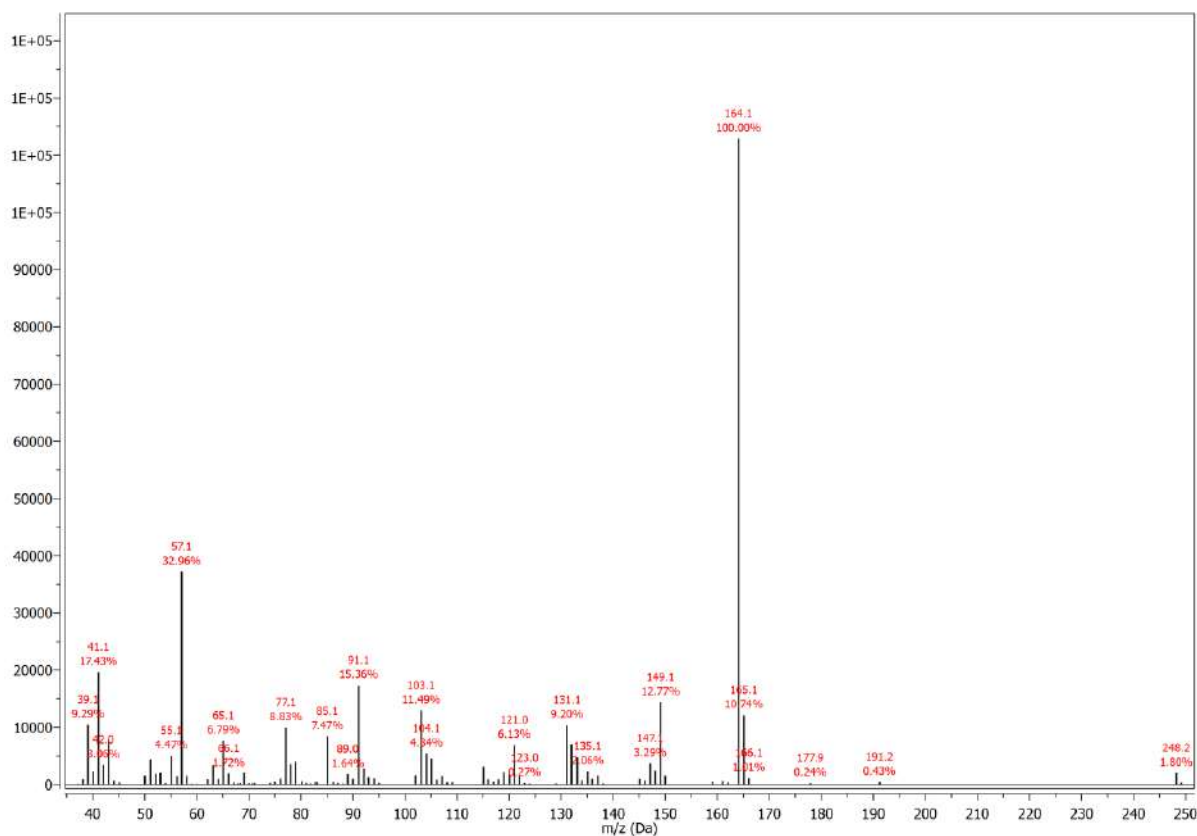
Prilog 8.3.167. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-butanoata [7e]



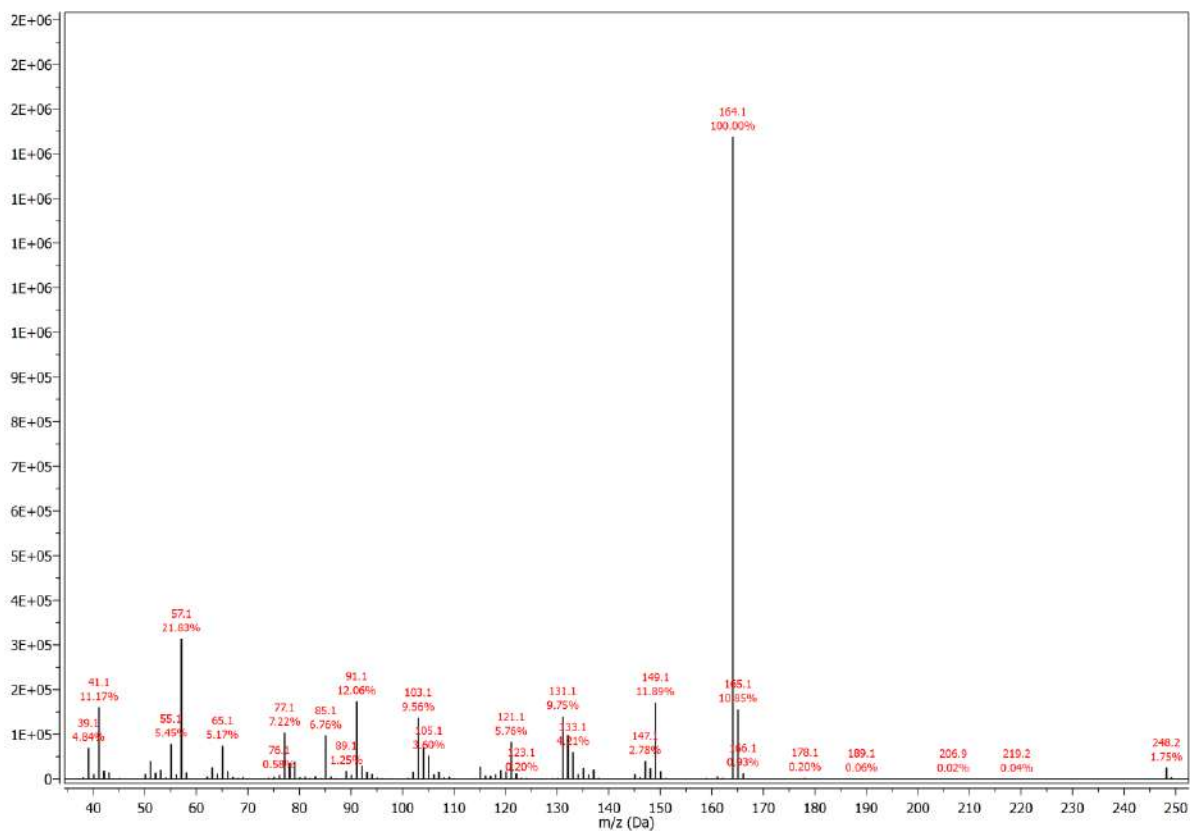
Prilog 8.3.168. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-2-metilbutanoata [7f]



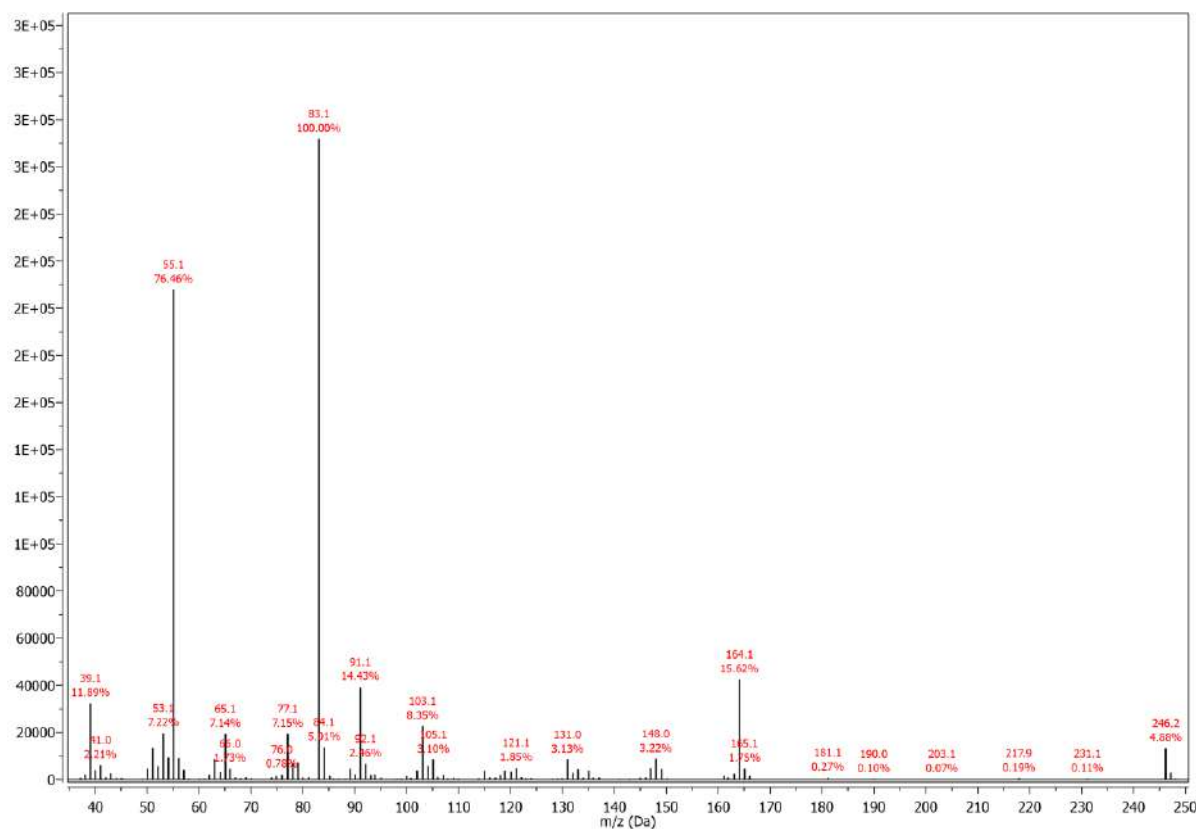
Prilog 8.3.169. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-3-metilbutanoata [7g]



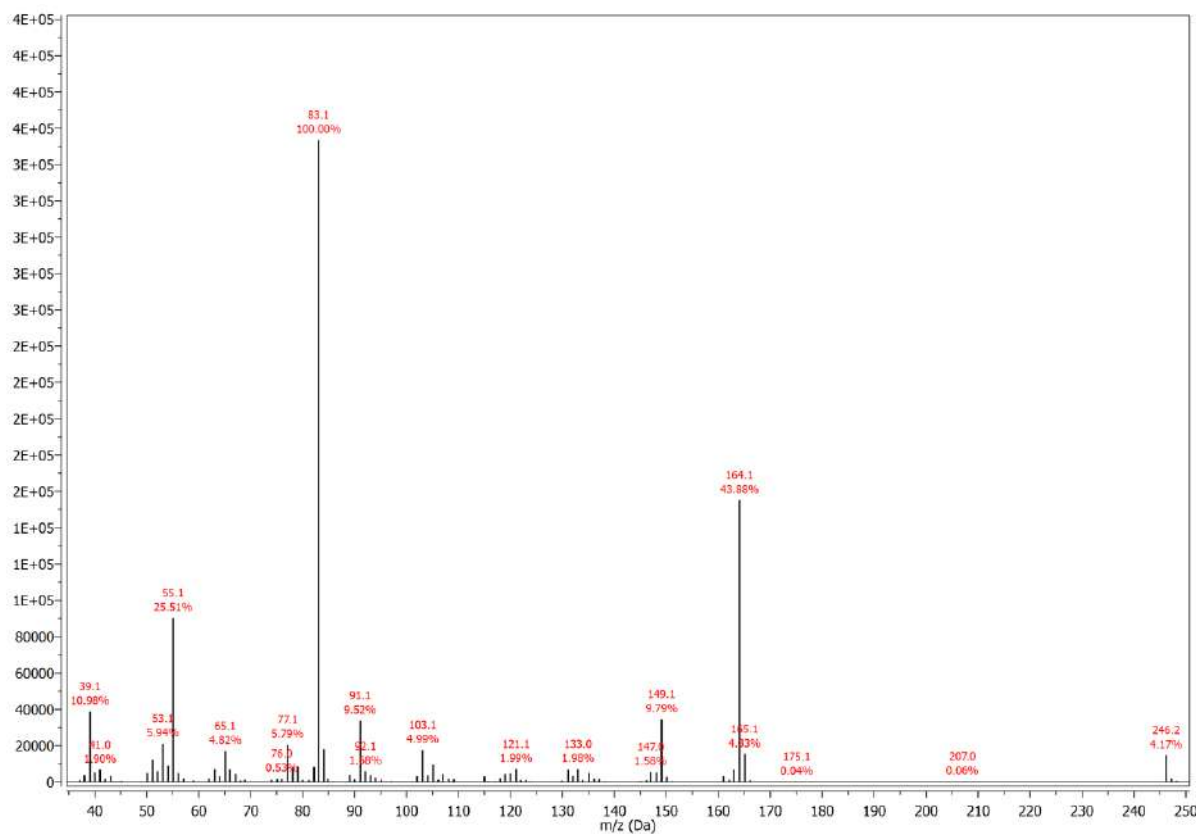
Prilog 8.3.170. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-pentanoata [7h]



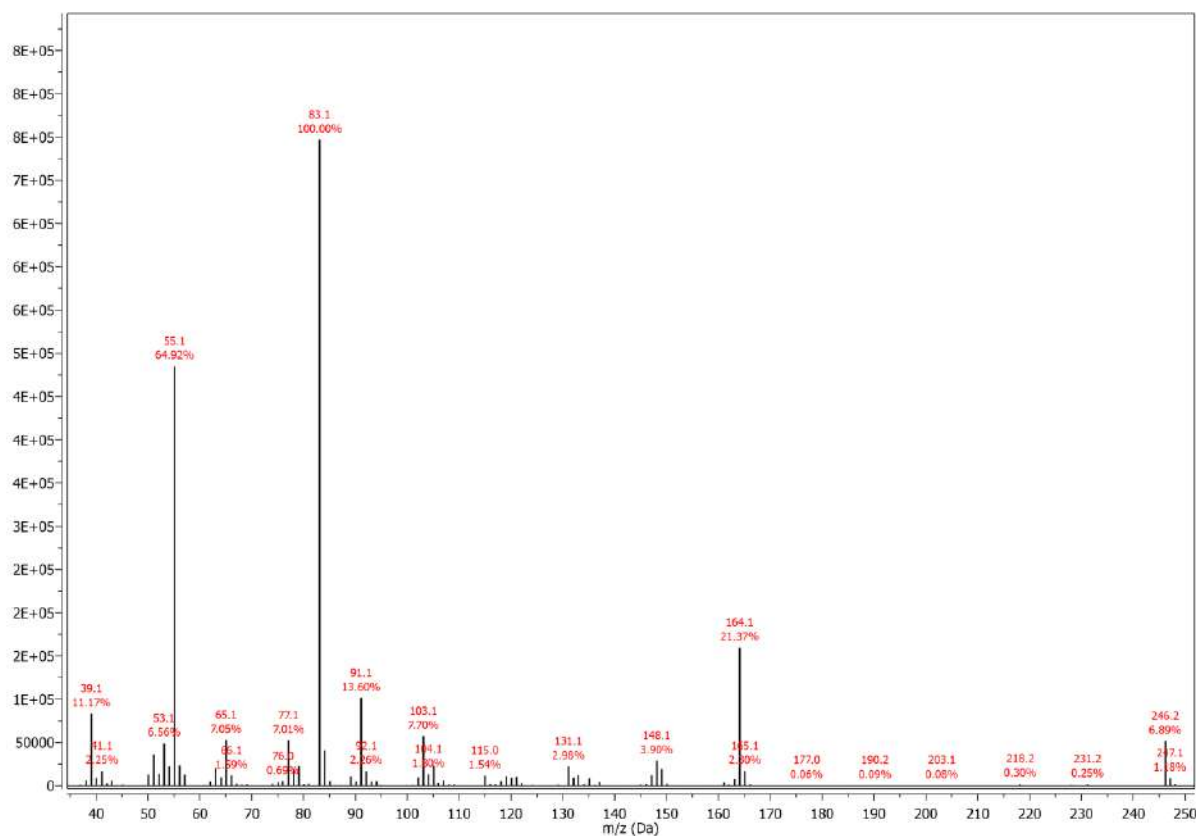
Prilog 8.3.171. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-angelata [7i]



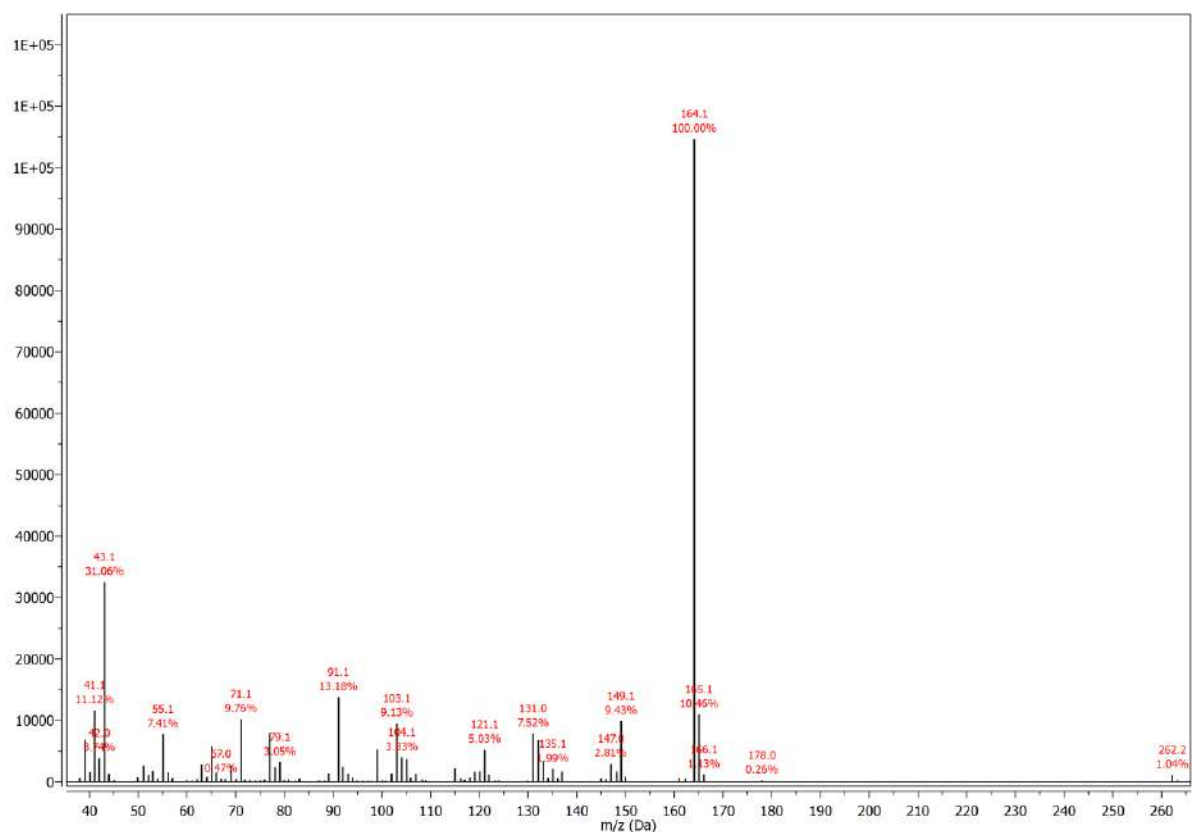
Prilog 8.3.172. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-senecioata [7j]



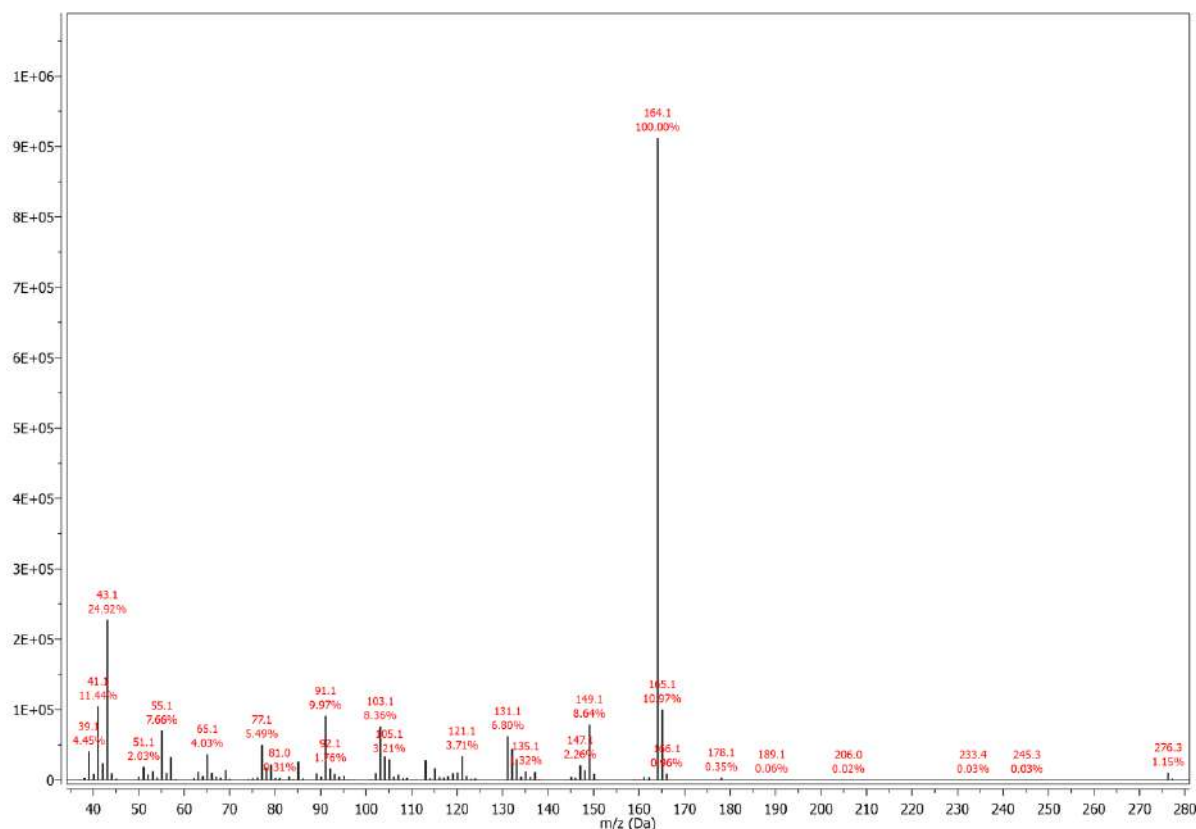
Prilog 8.3.173. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-tiglata [7k]



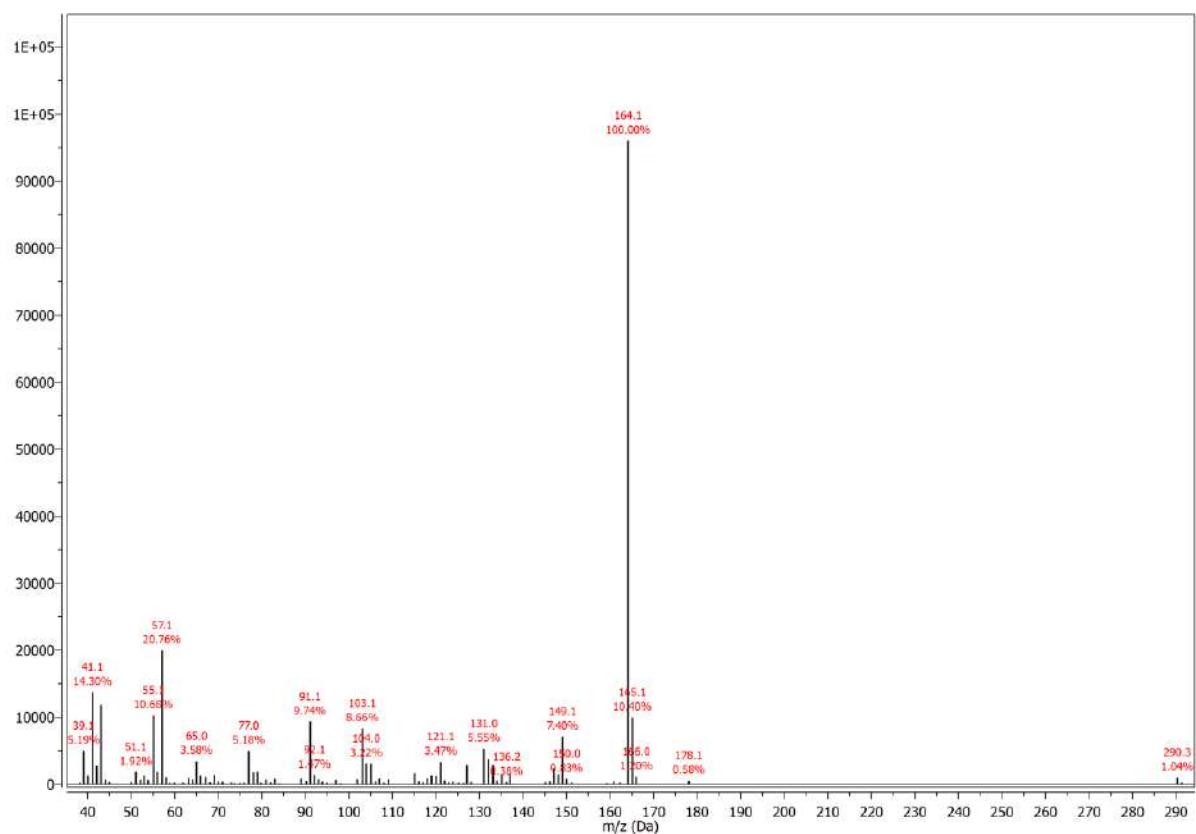
Prilog 8.3.174. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-heksanoata [7l]



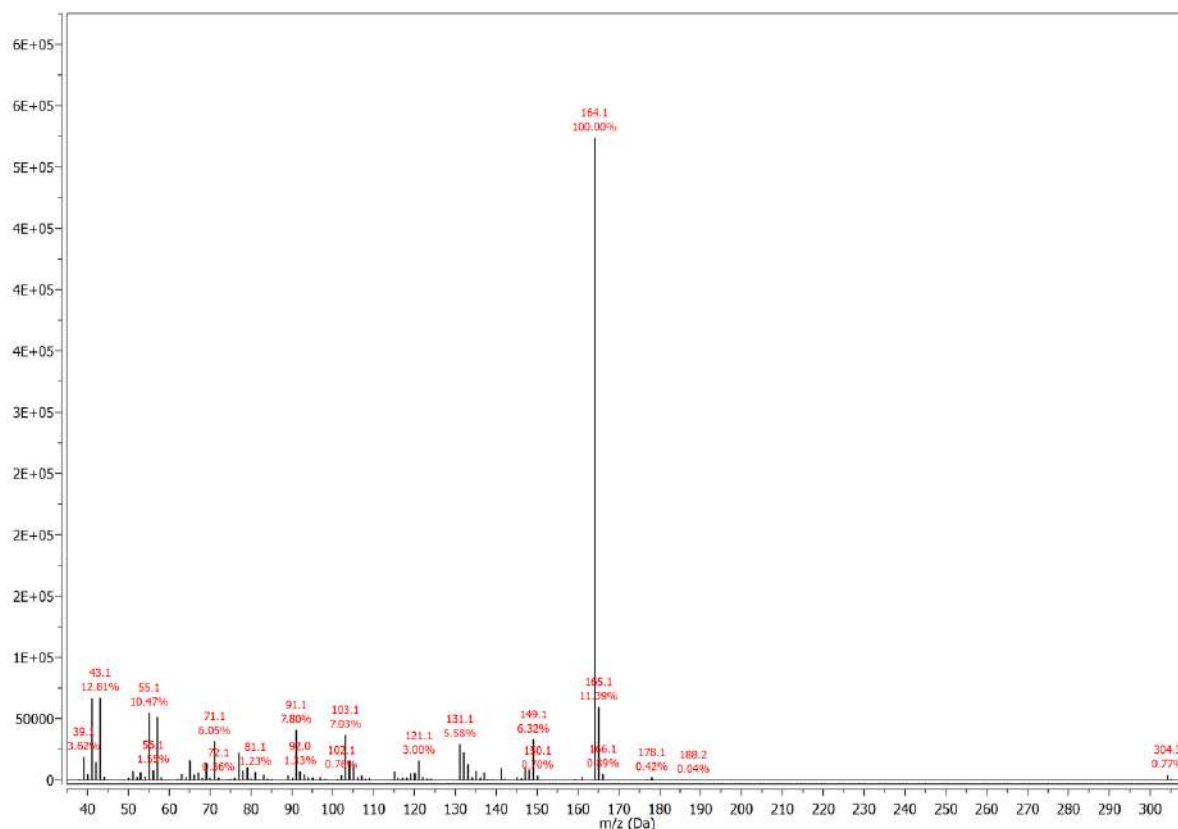
Prilog 8.3.175. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-heptanoata [7m]



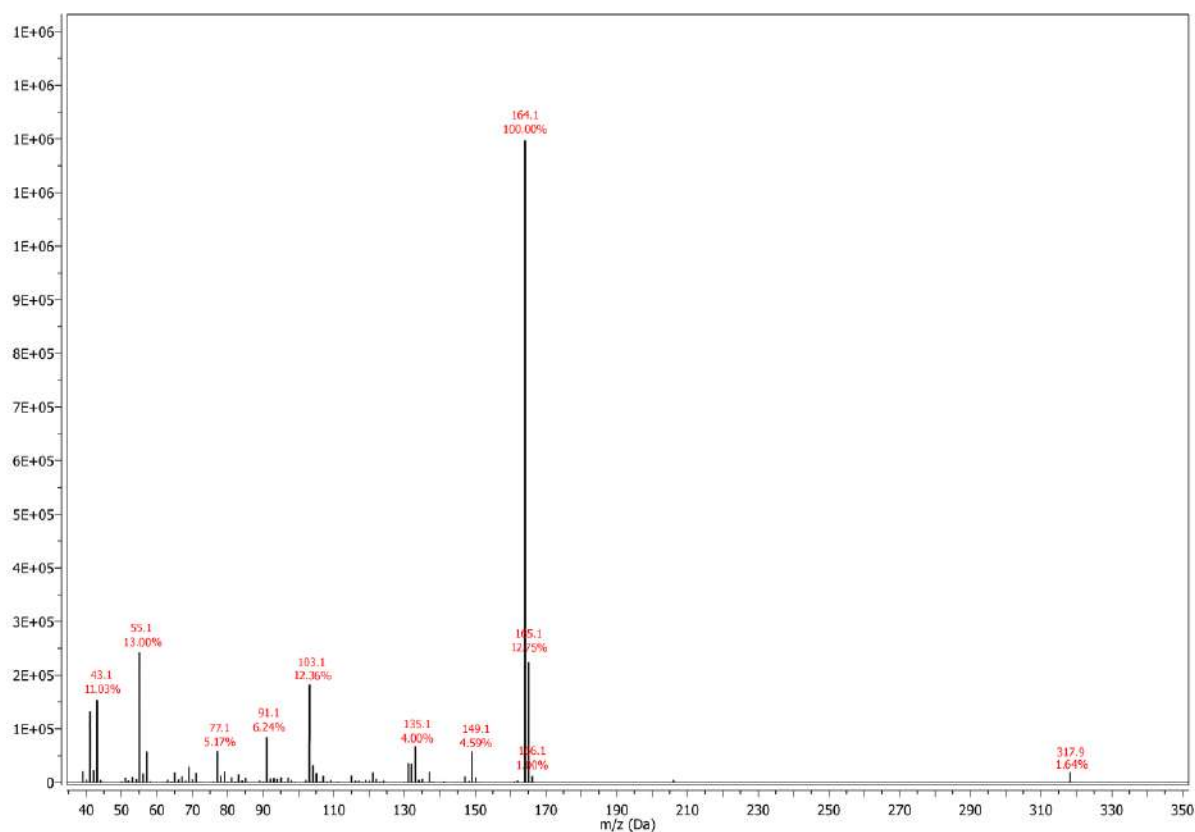
Prilog 8.3.176. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-oktanoata [7n]



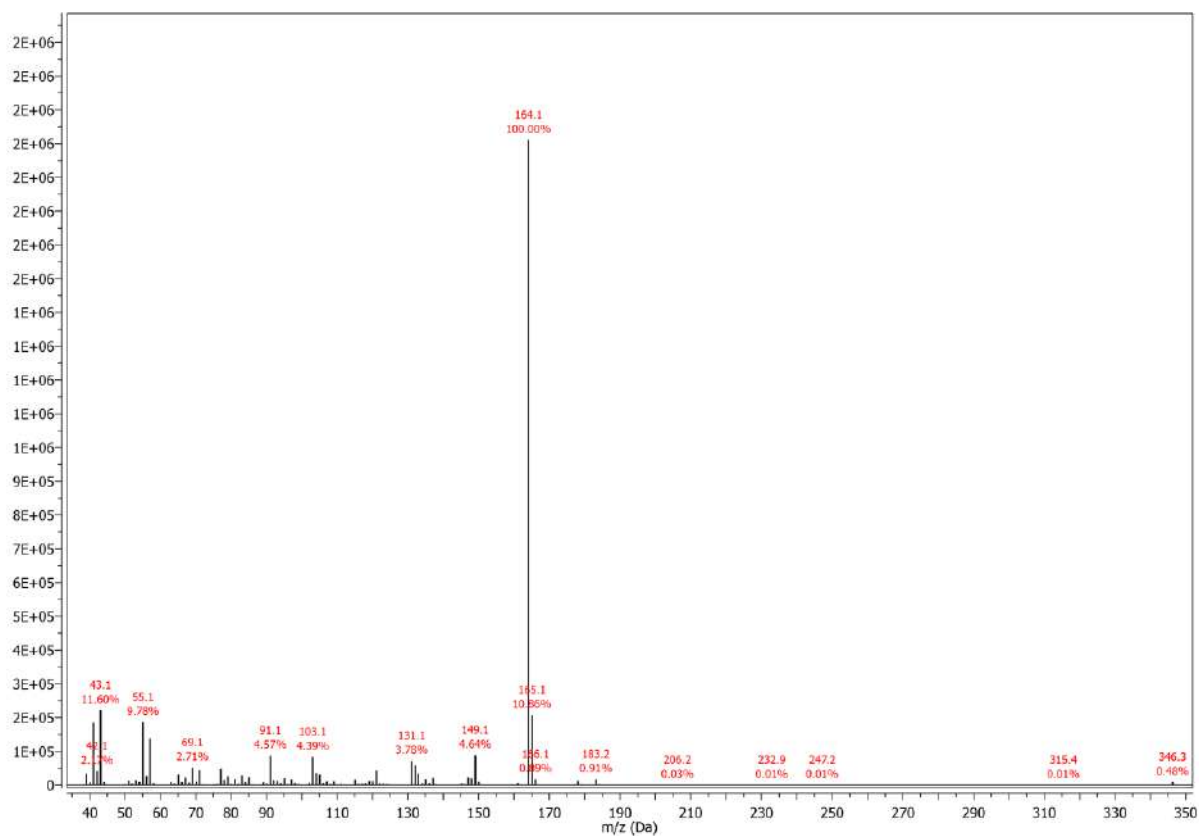
Prilog 8.3.177. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-nonanoata [7o]



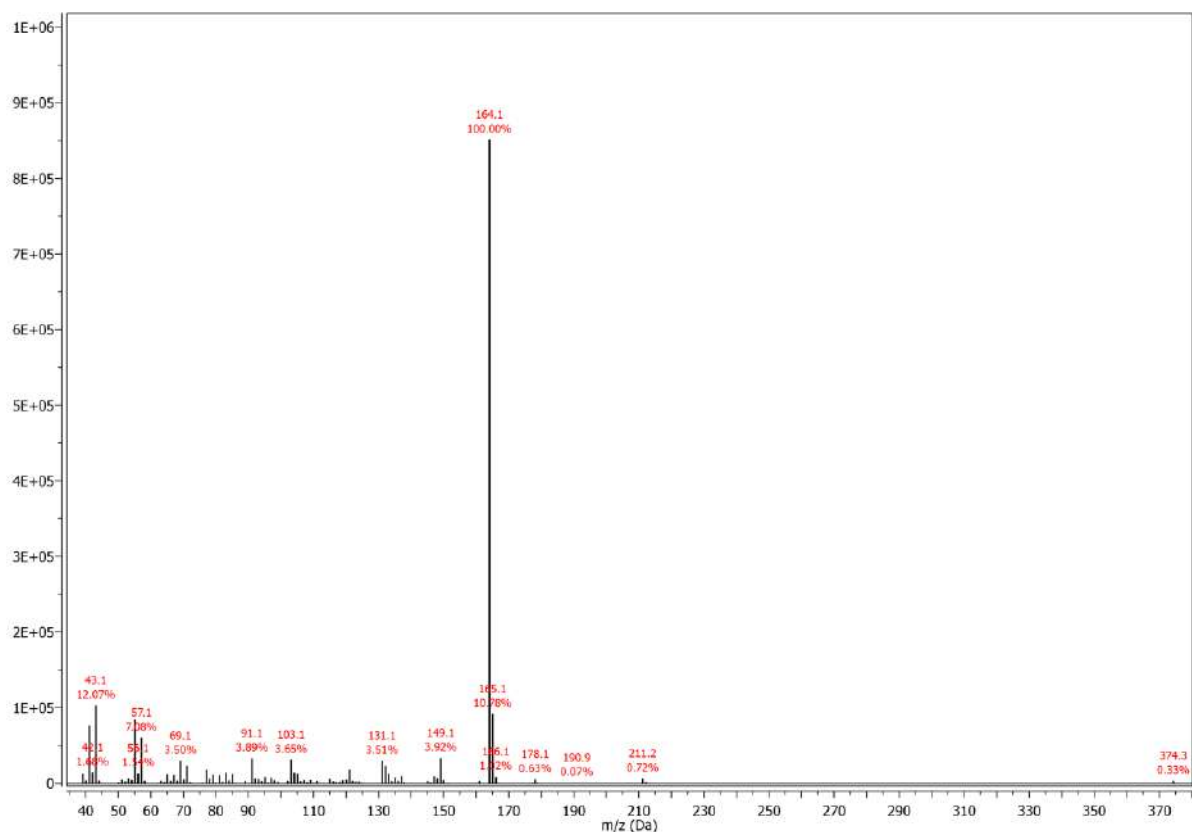
Prilog 8.3.178. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-dekanoata [7p]



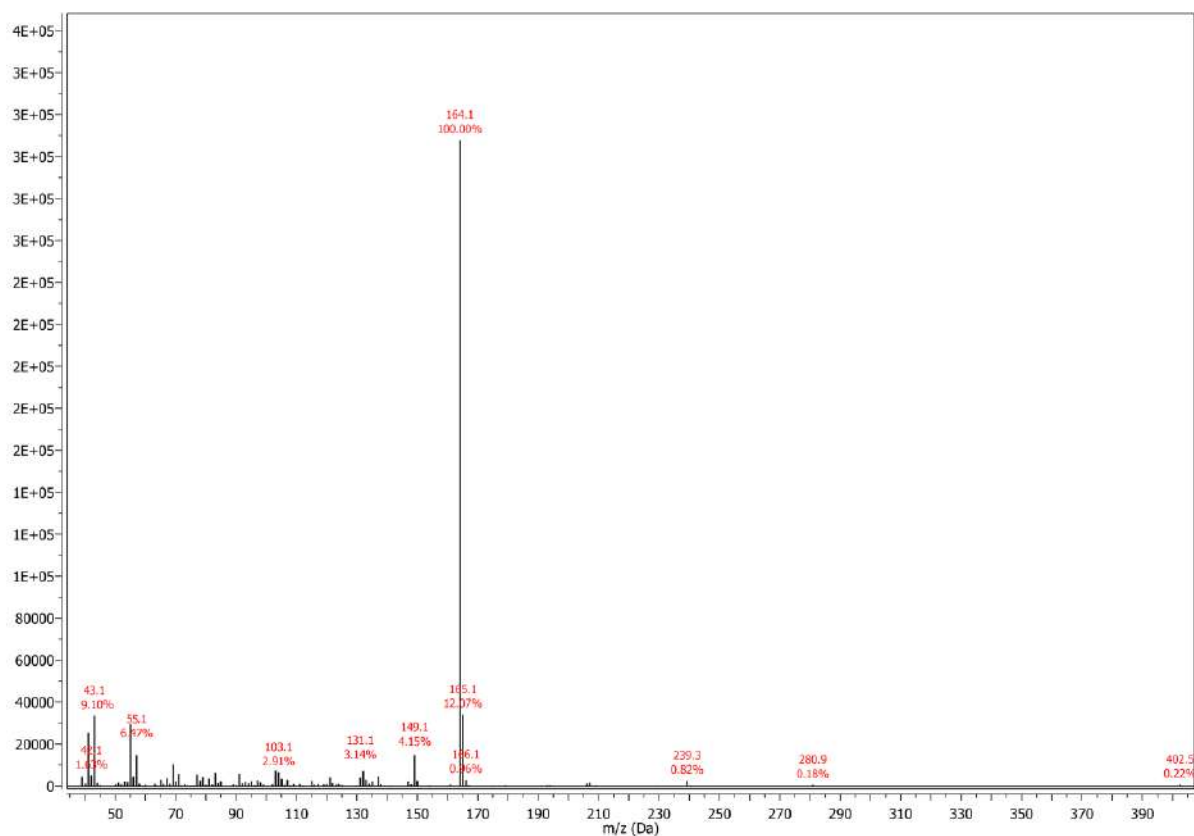
Prilog 8.3.179. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-dodekanoata [7q]



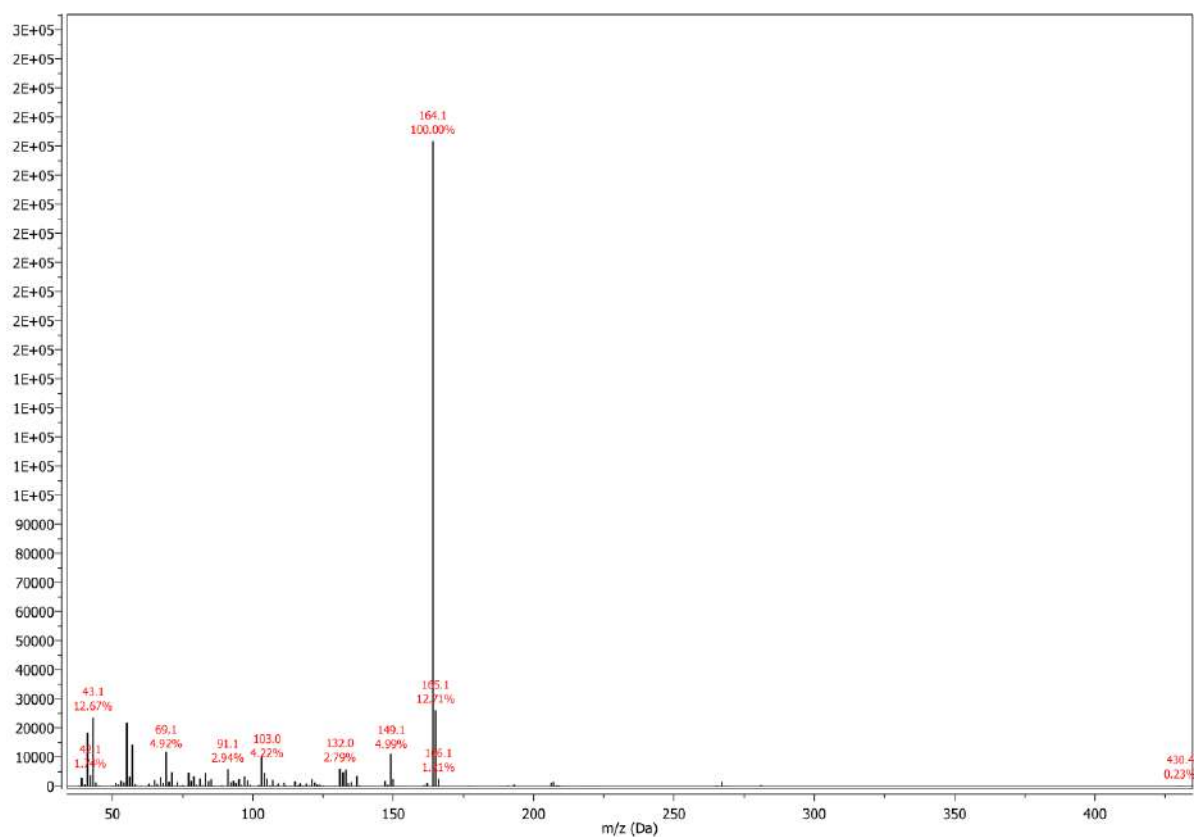
Prilog 8.3.180. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-tetradekanoata [7r]



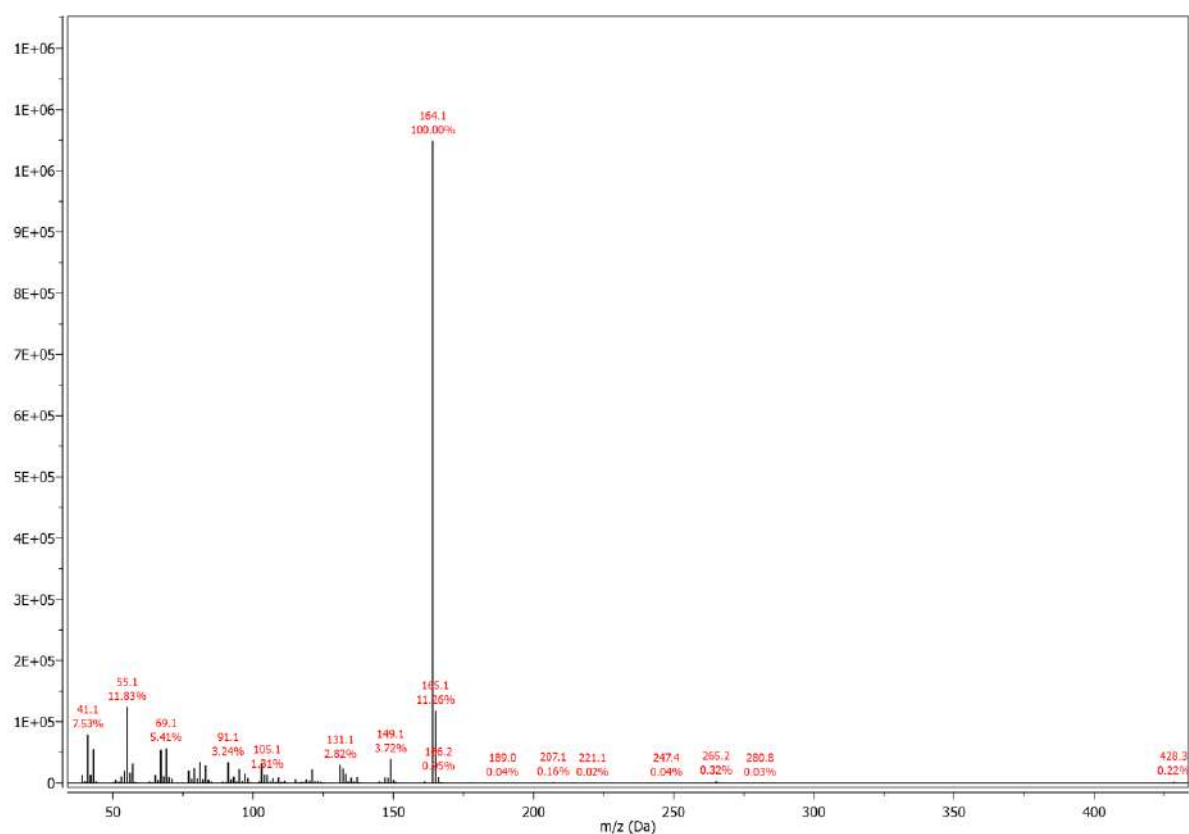
Prilog 8.3.181. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-heksadekanoata [7s]



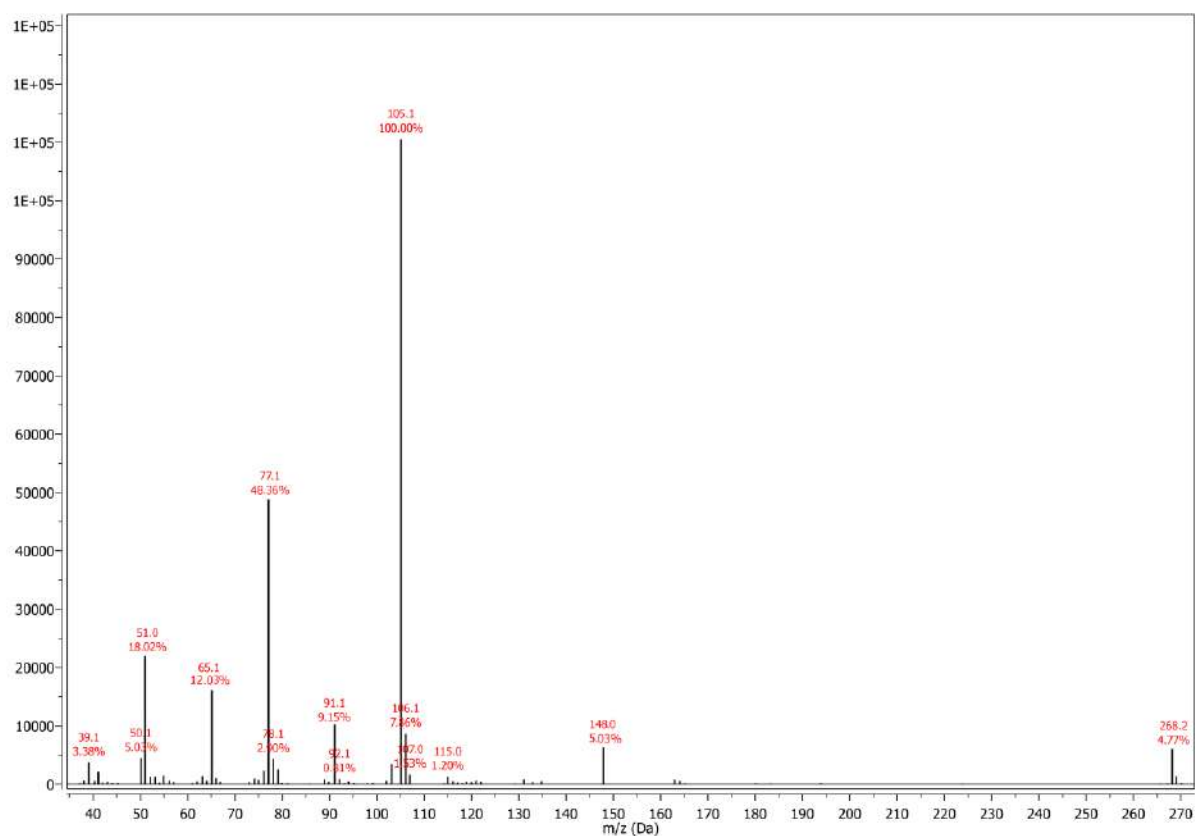
Prilog 8.3.182. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-oktadekanoata [7t]



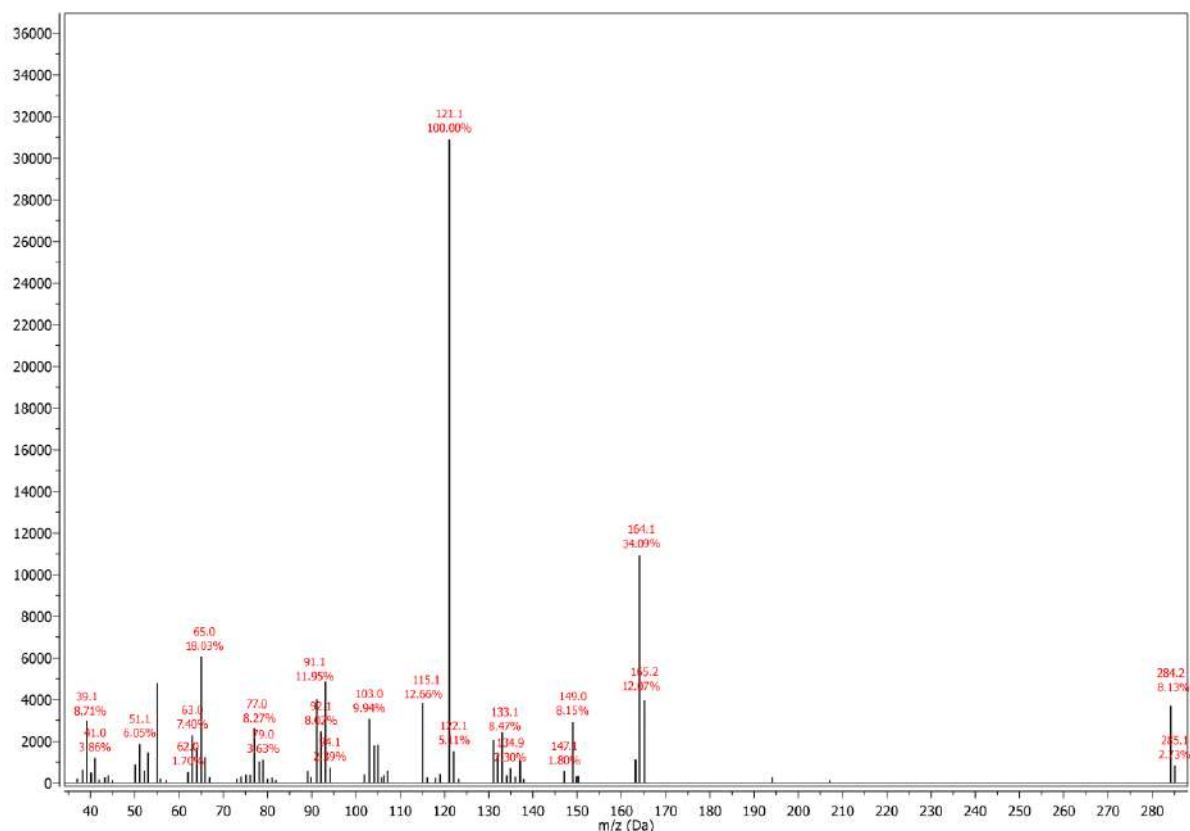
Prilog 8.3.183. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-(Z)-9-octadecenoata [7u]



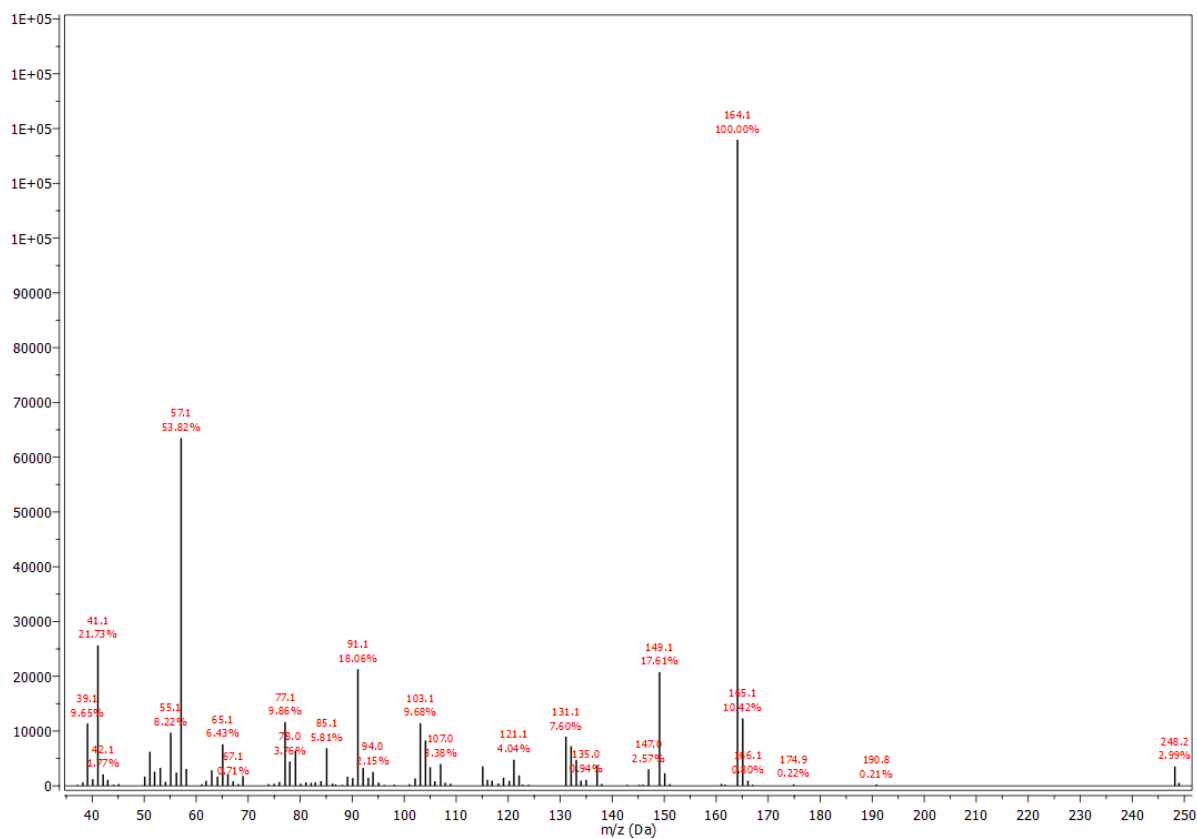
Prilog 8.3.184. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-benzoata [7v]



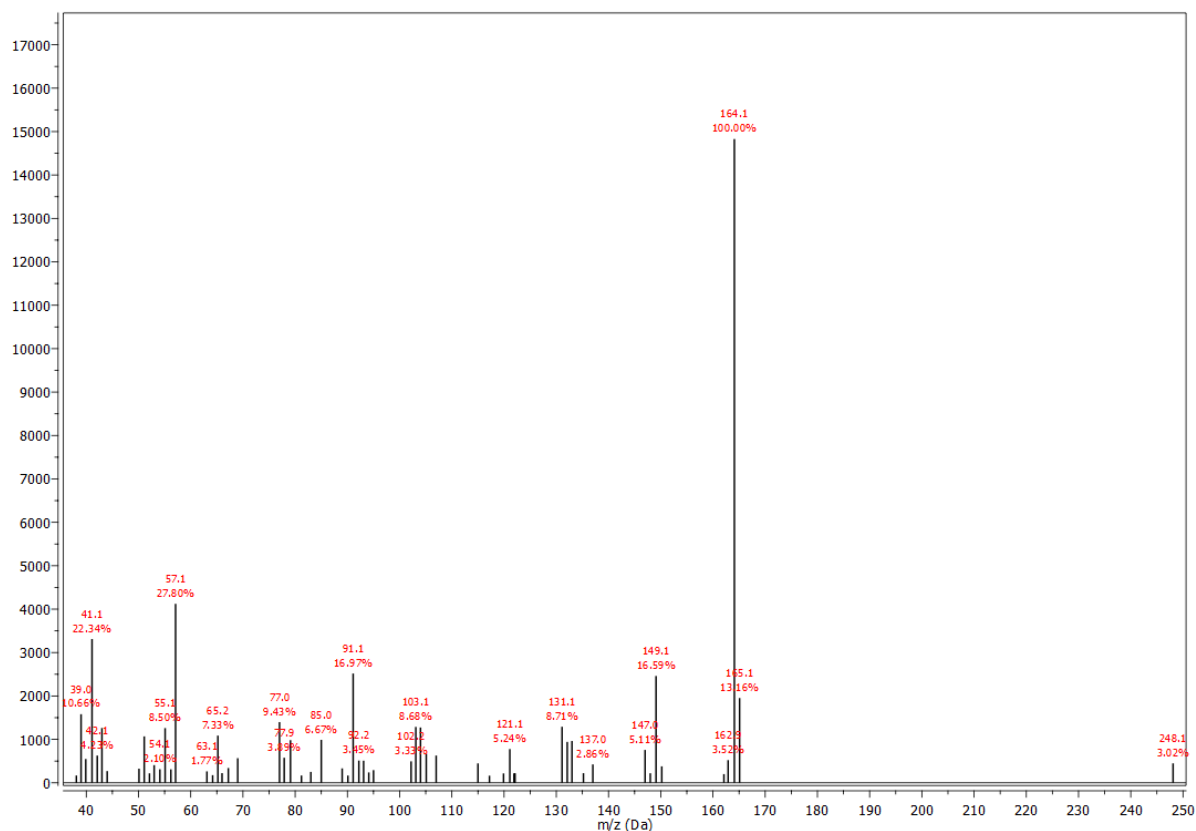
Prilog 8.3.185. Maseni spektar 2-alil-6-metoksifenil-salicilata [7w]



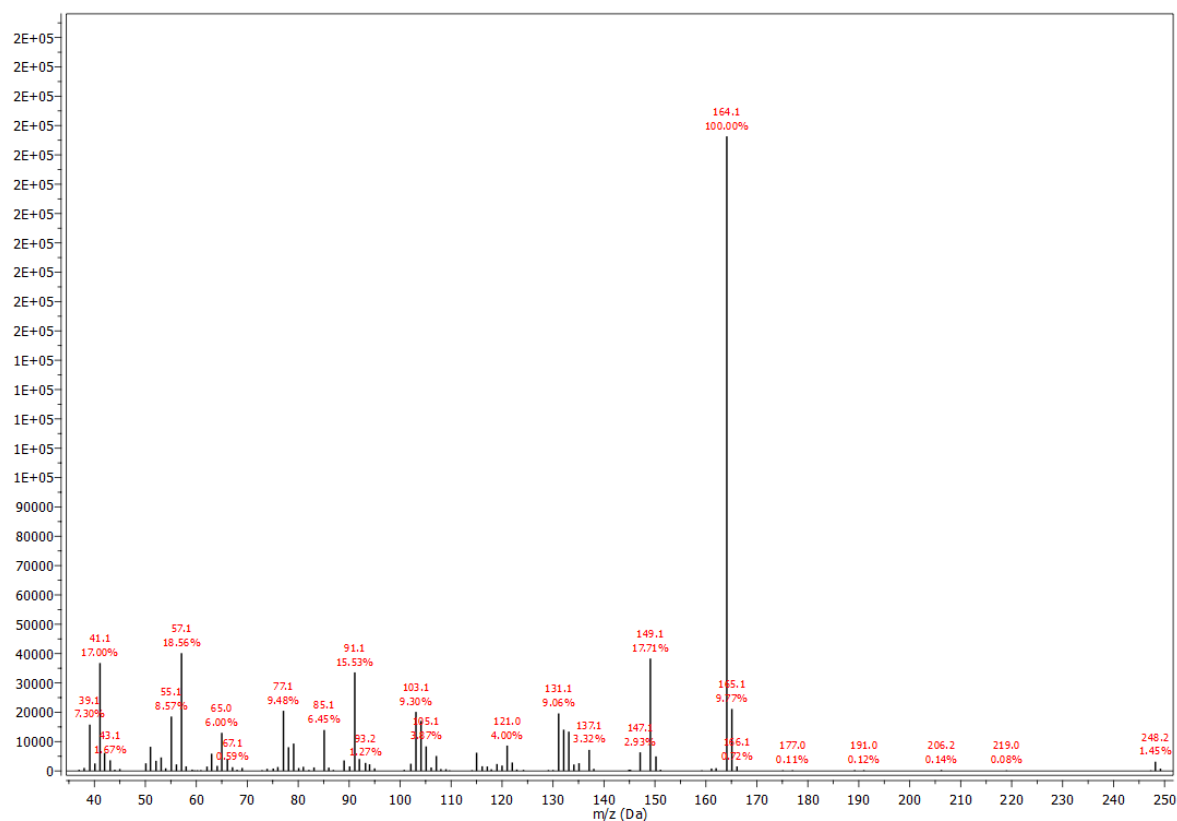
Prilog 8.3.186. Maseni spektar 5-allyl-2-methoxyphenyl-2-methylbutanoate [8a]



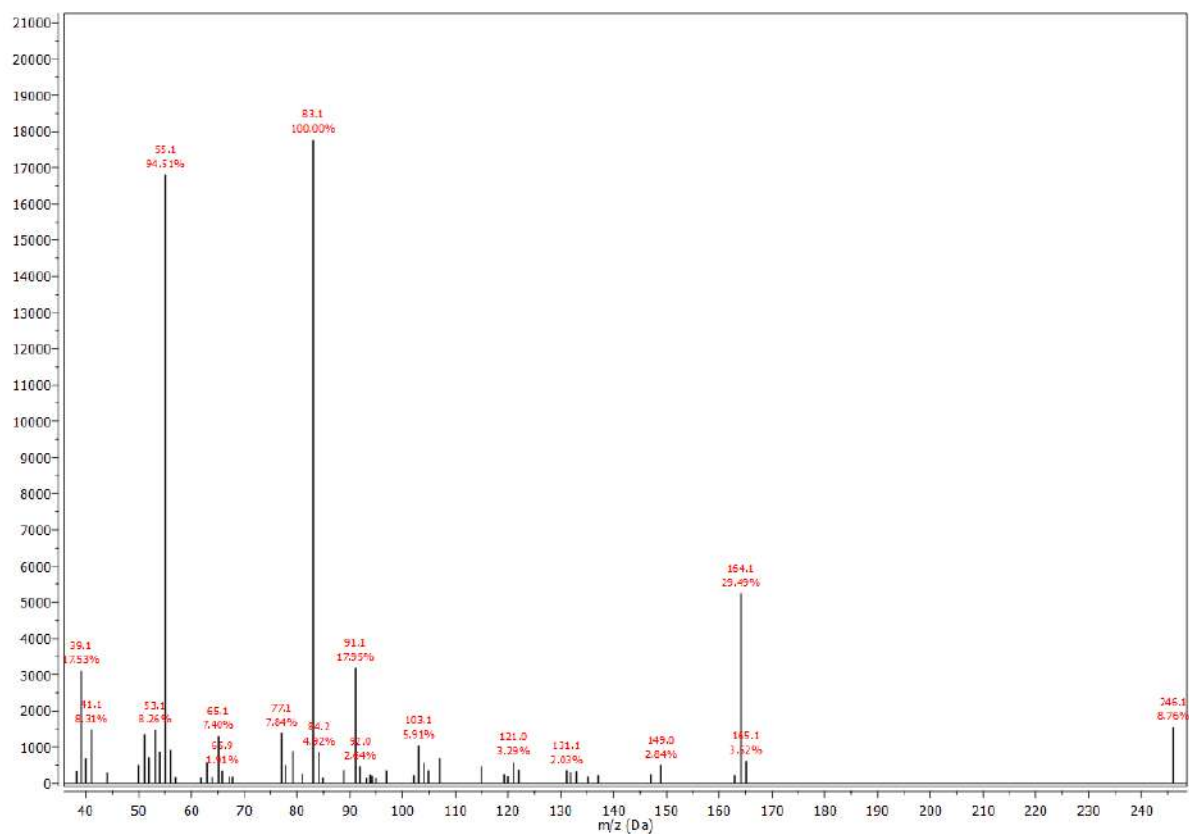
Prilog 8.3.187. Maseni spektar 5-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata [8b]



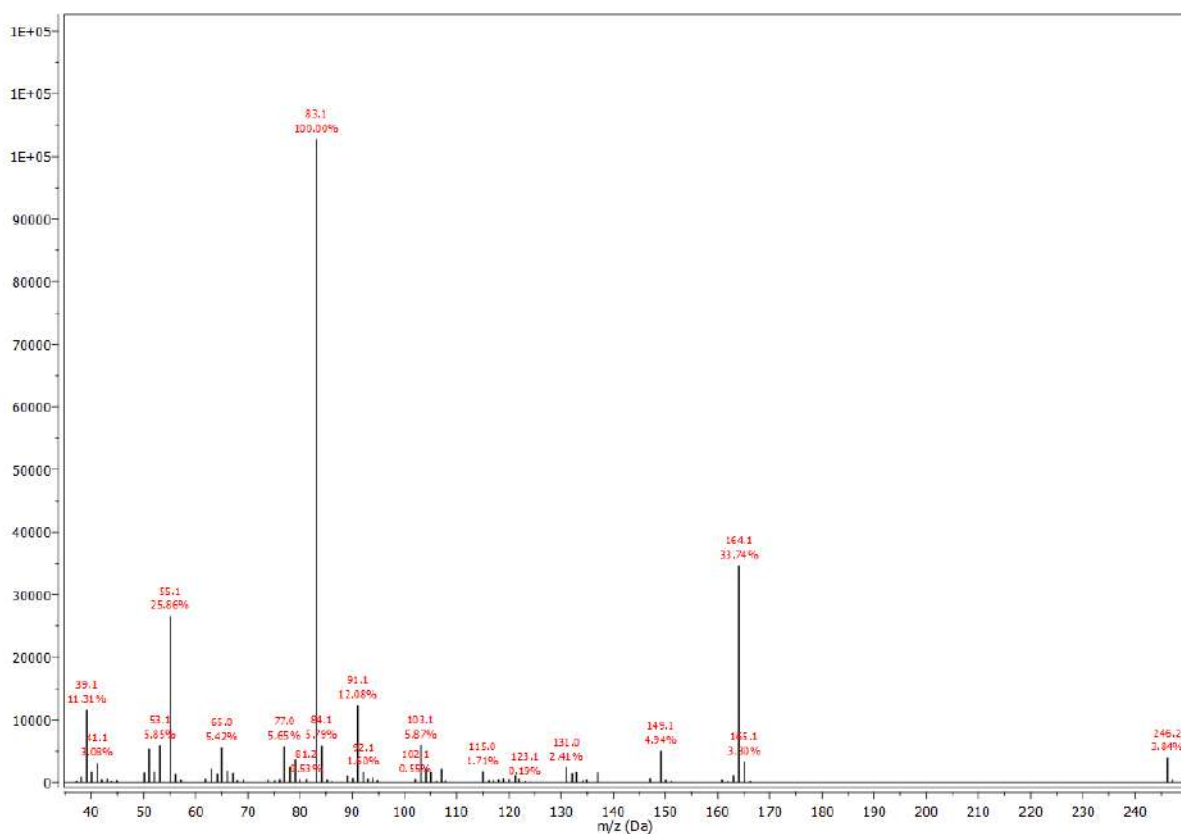
Prilog 8.3.188. Maseni spektar 5-alil-2-metoksifenil-pentanoata [8c]



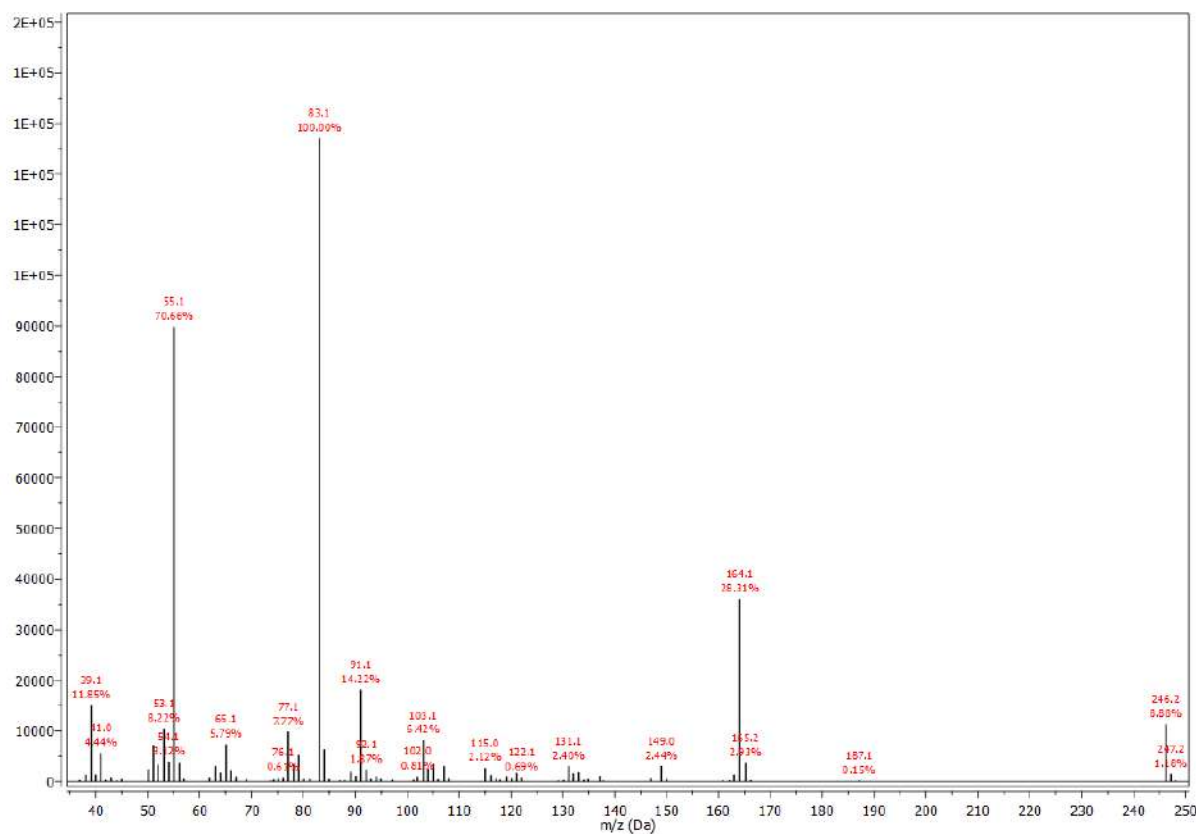
Prilog 8.3.189. Maseni spektar 5-alil-2-metoksifenil-angelata [8d]



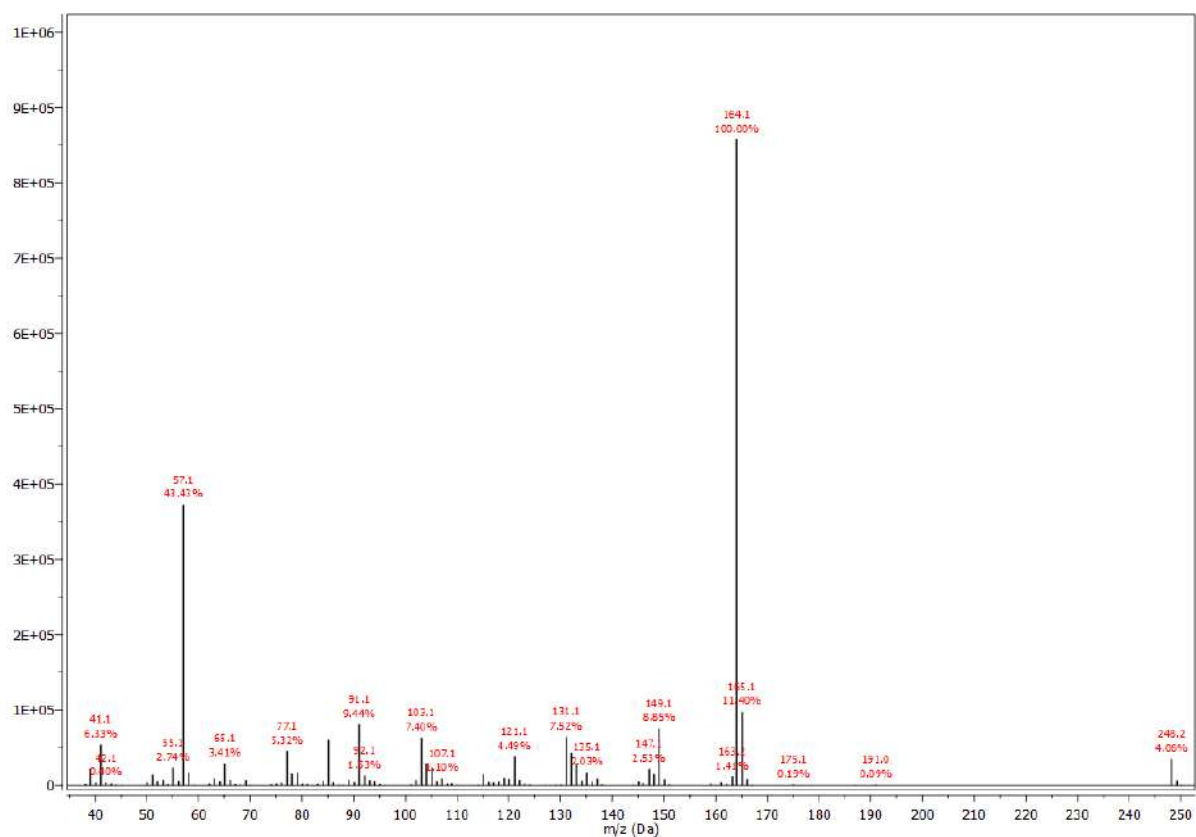
Prilog 8.3.190. Maseni spektar 5-alil-2-metoksifenil-senecioata [8e]



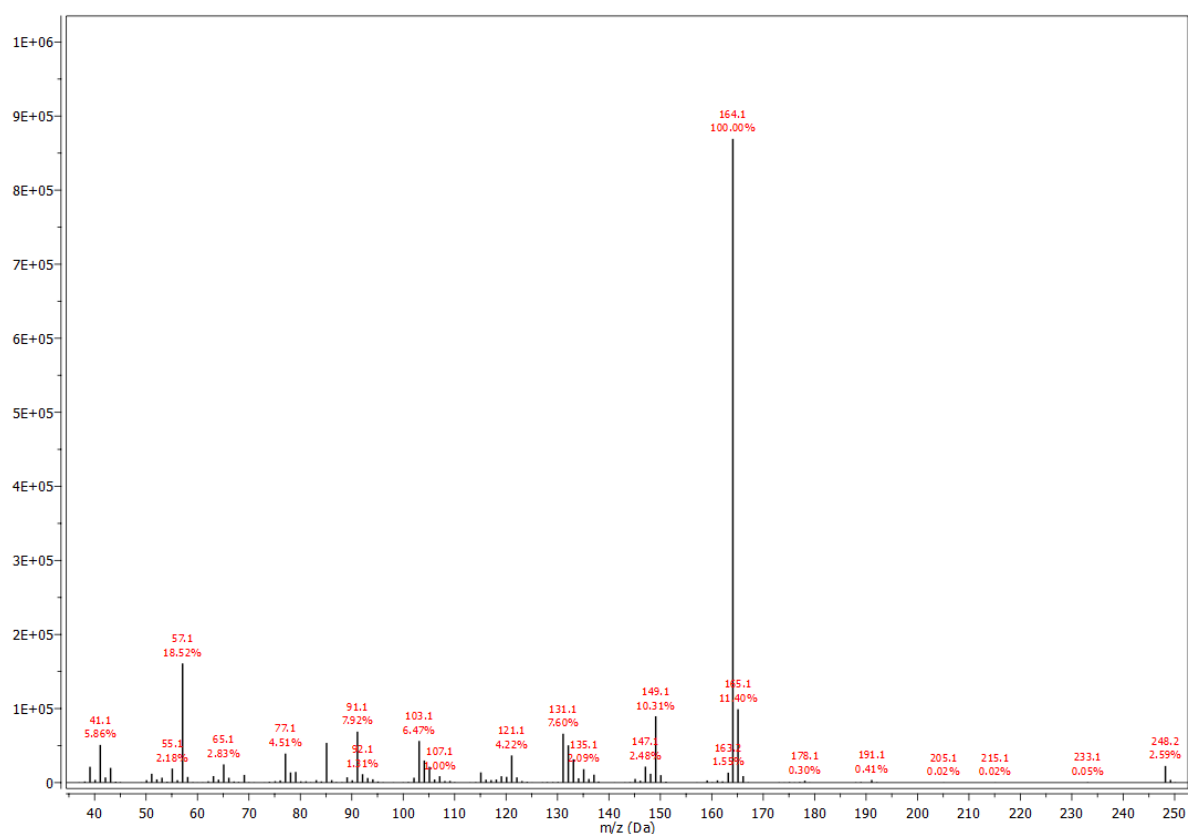
Prilog 8.3.191. Maseni spektar 5-alil-2-metoksifenil-tiglata [8f]



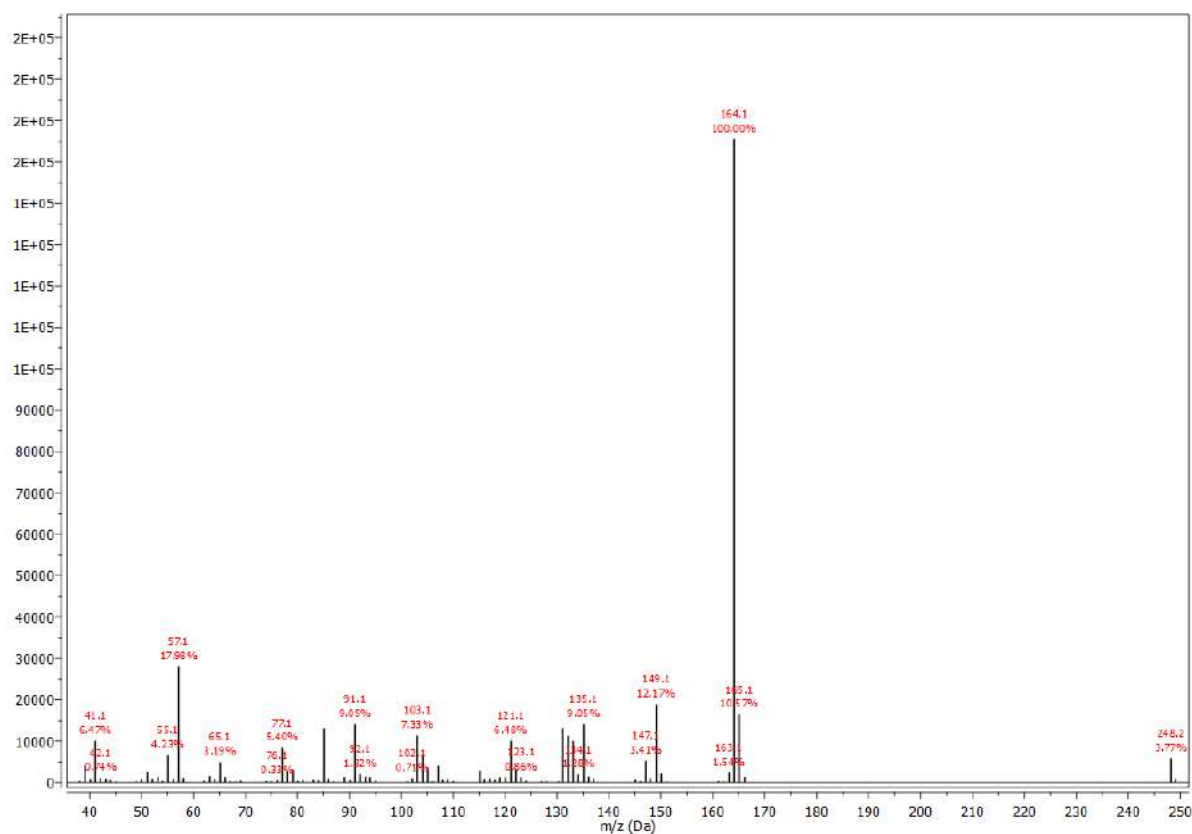
Prilog 8.3.192. Maseni spektar 3-allyl-2-methoxyphenyl-2-methylbutanoate [9a]



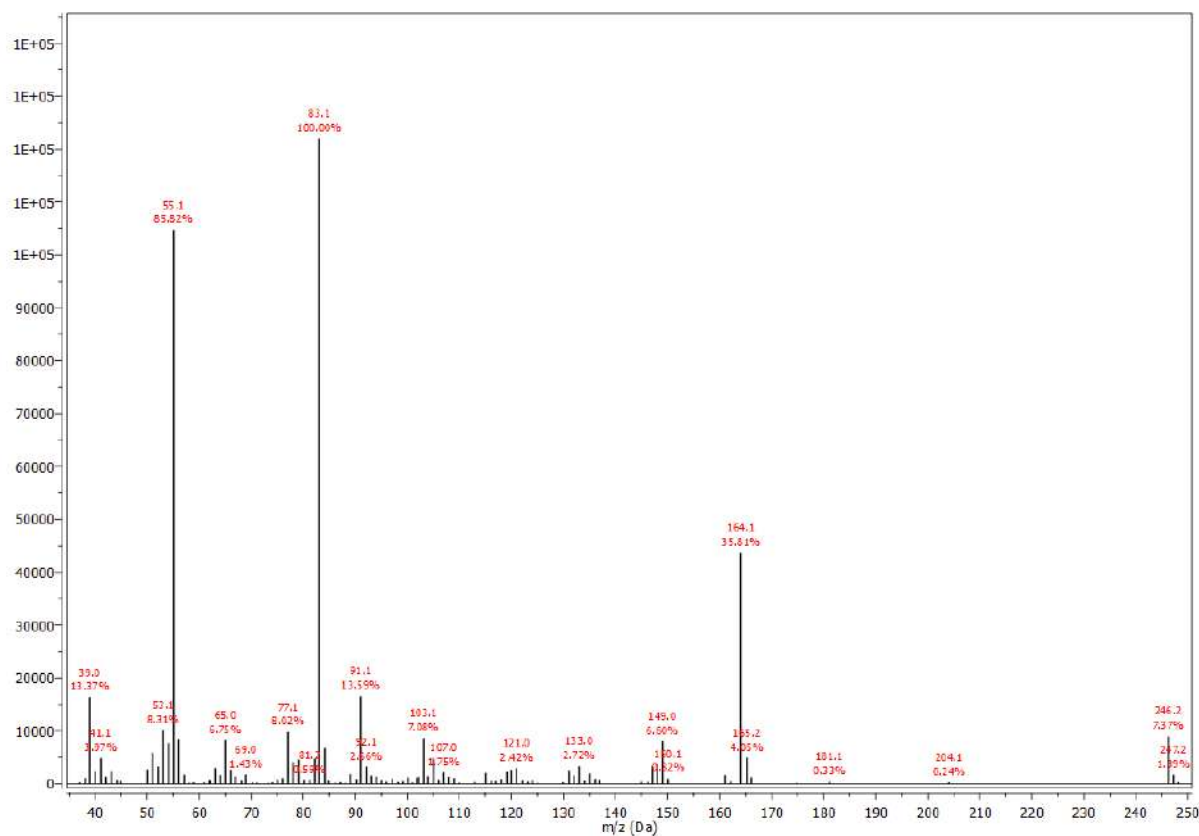
Prilog 8.3.193. Maseni spektar 3-alil-2-metoksifenil-3-metilbutanoata [9b]



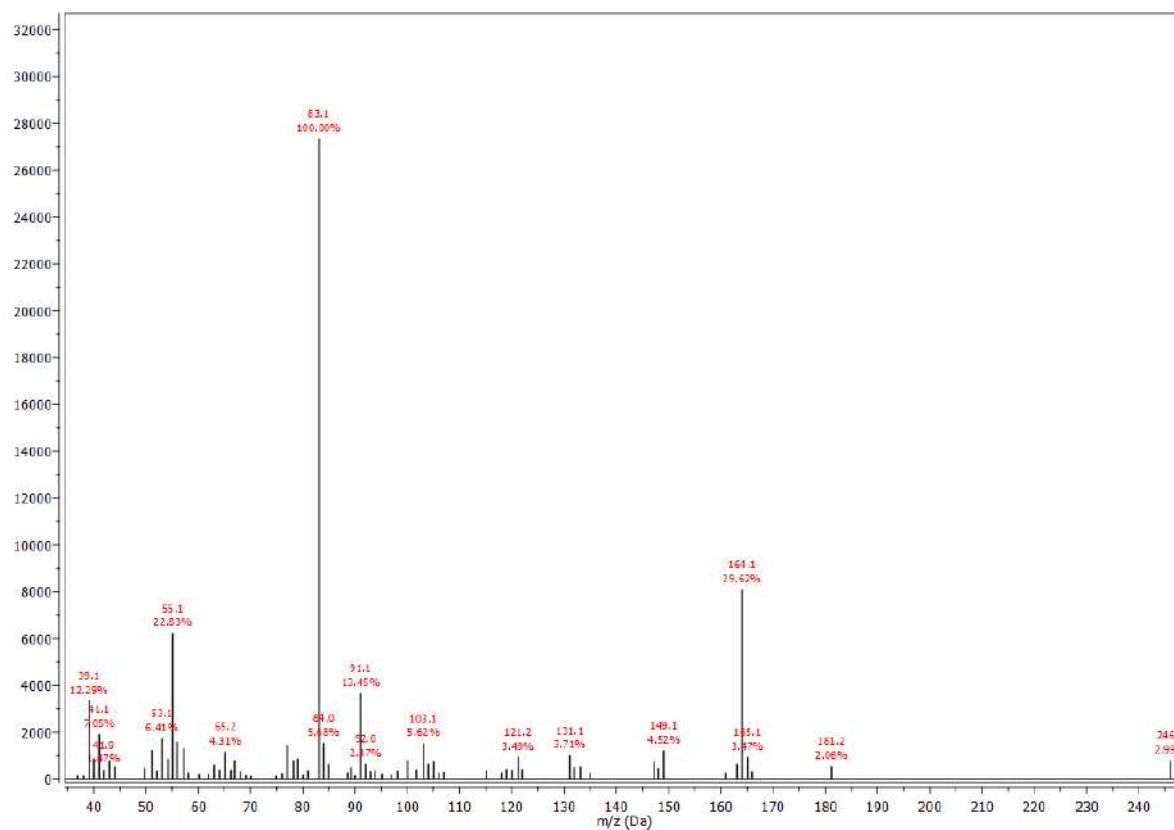
Prilog 8.3.194. Maseni spektar 3-alil-2-metoksifenil-pentanoata [9c]



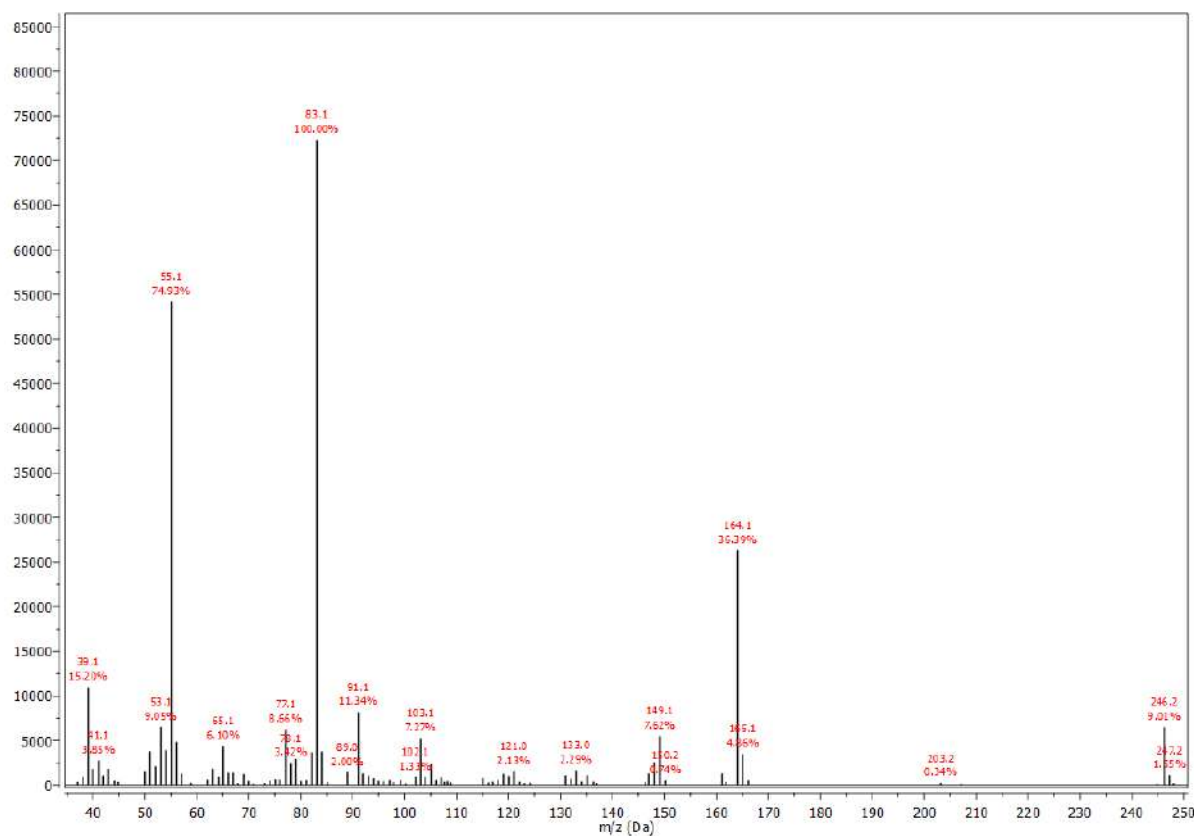
Prilog 8.3.195. Maseni spektar 3-alil-2-metoksifenil-angelata [9d]



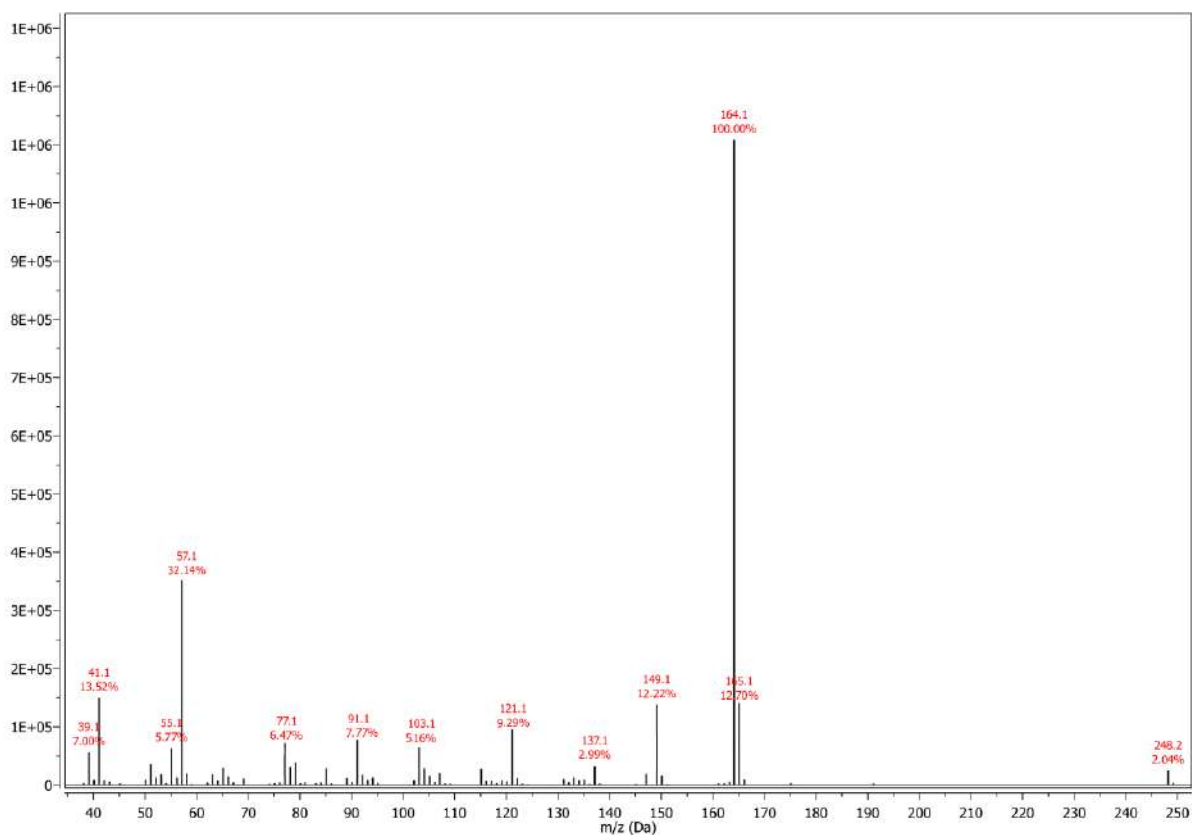
Prilog 8.3.196. Maseni spektar 3-alil-2-metoksifenil-senecioata [9e]



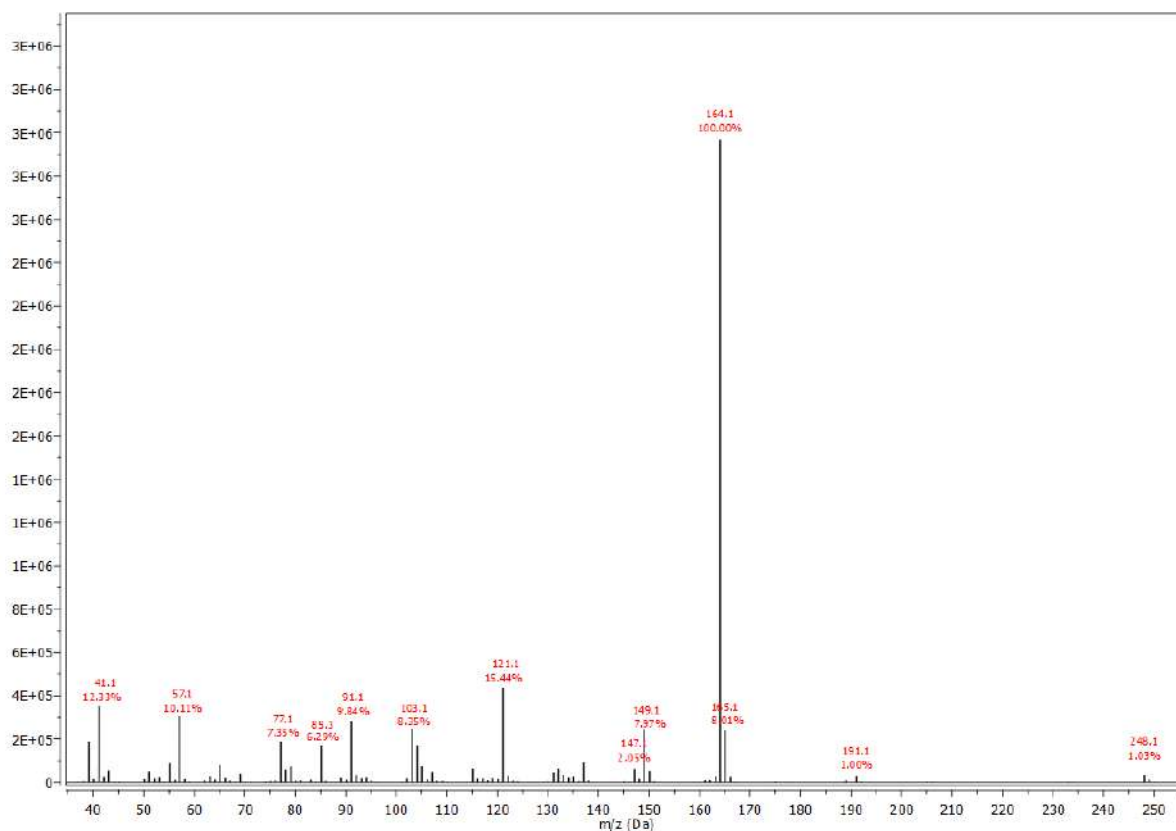
Prilog 8.3.197. Maseni spektar 3-alil-2-metoksifenil-tiglata [9f]



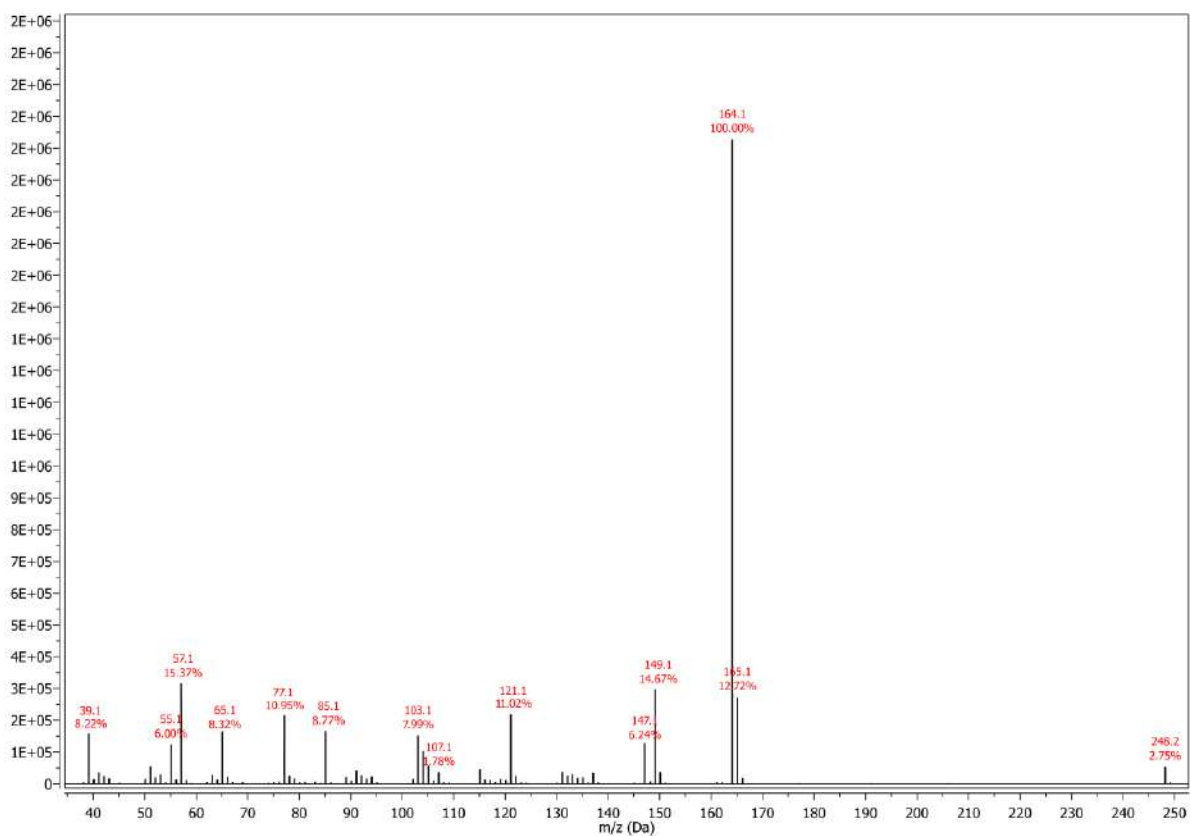
Prilog 8.3.198. Maseni spektar 4-allyl-3-methoxyphenyl-2-methylbutanoate [10a]



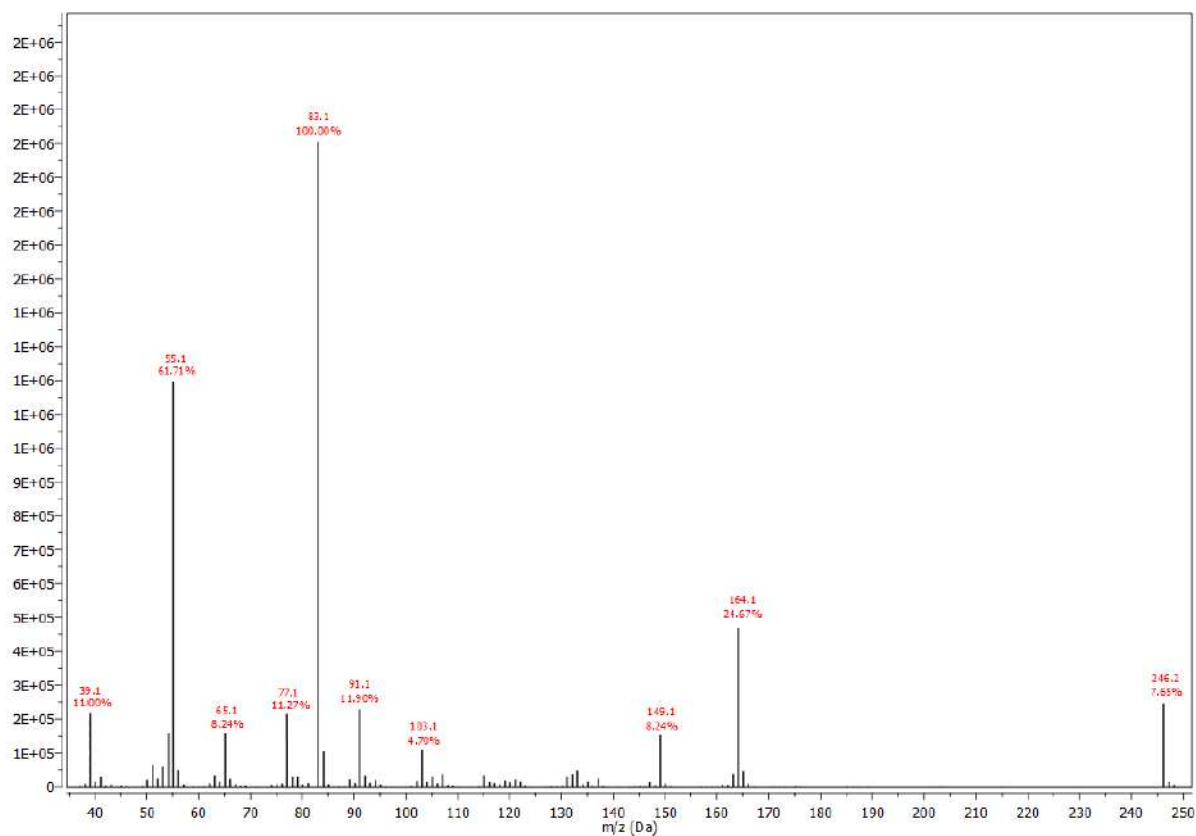
Prilog 8.3.199. Maseni spektar 4-alil-3-metoksifenil-3-metilbutanoata [10b]



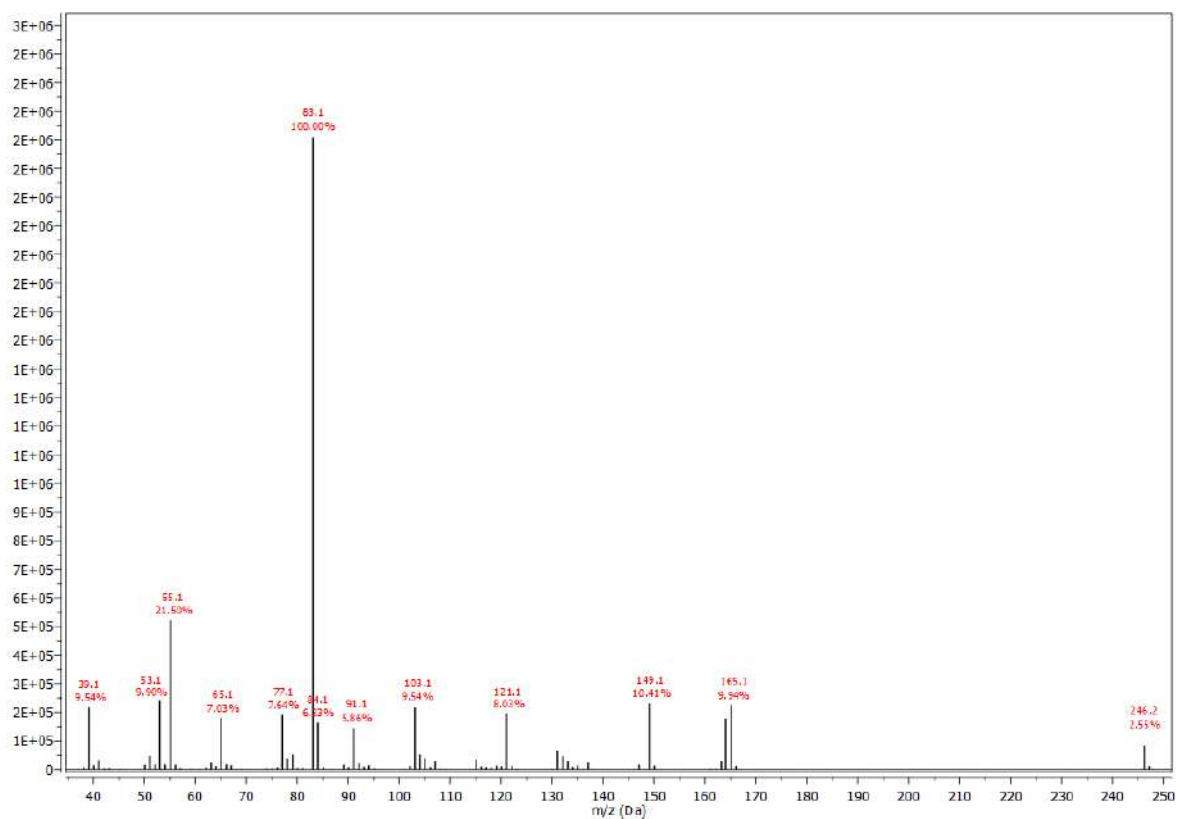
Prilog 8.3.200. Maseni spektar 4-alil-3-metoksifenil-pentanoata [10c]



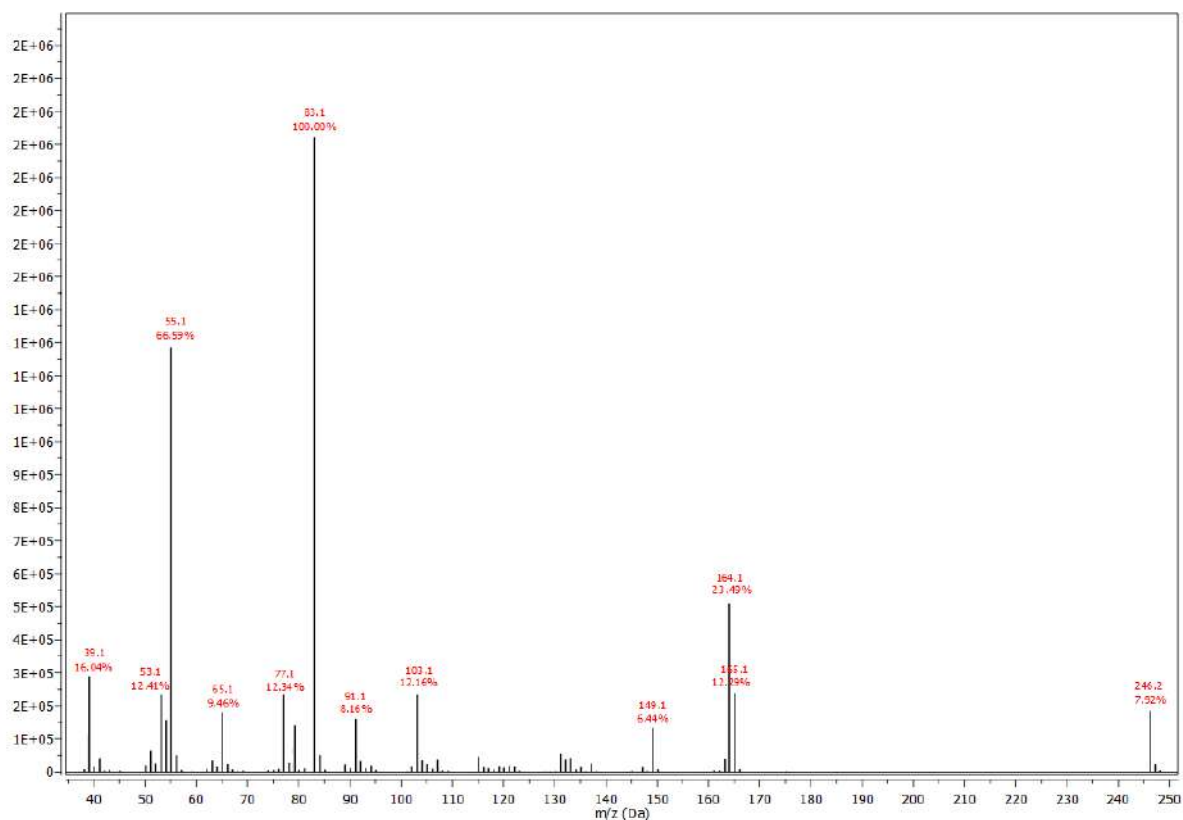
Prilog 8.3.201. Maseni spektar 4-alil-3-metoksifenil-angelata [10d]



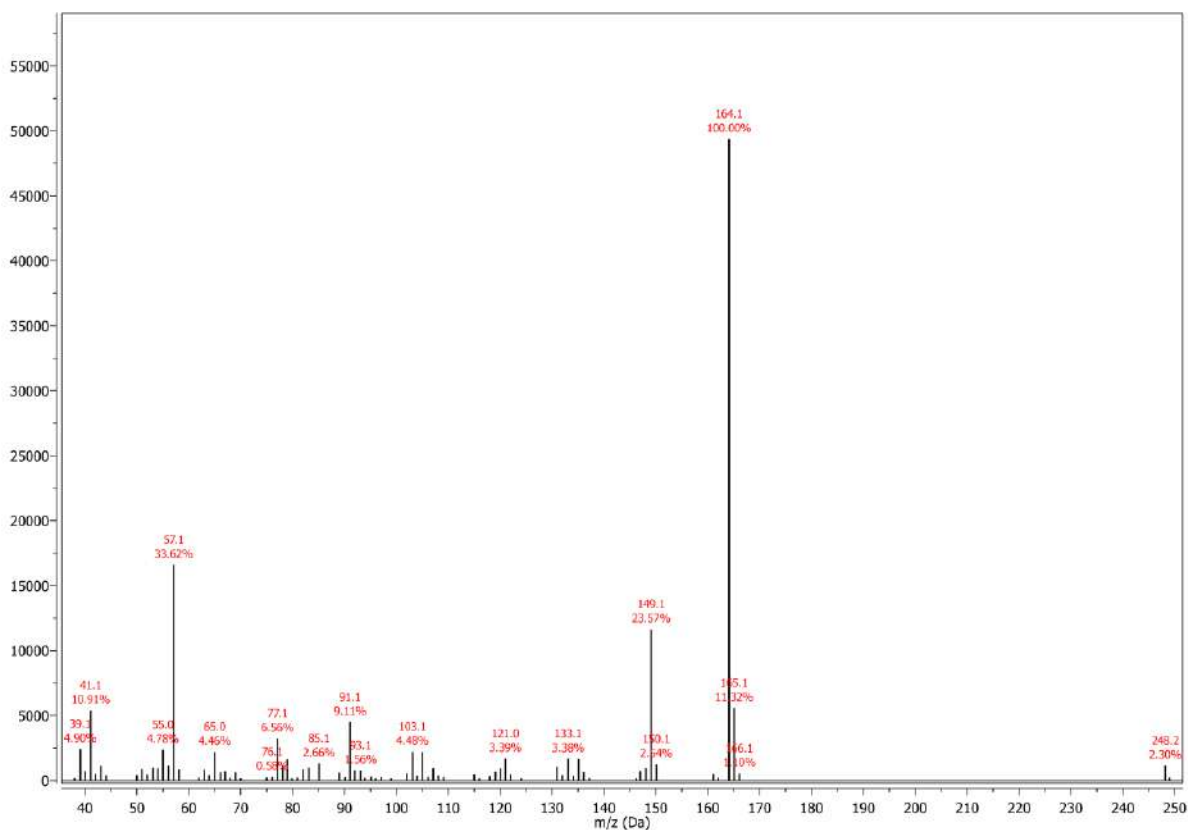
Prilog 8.3.202. Maseni spektar 4-alil-3-metoksifenil-senecioata [10e]



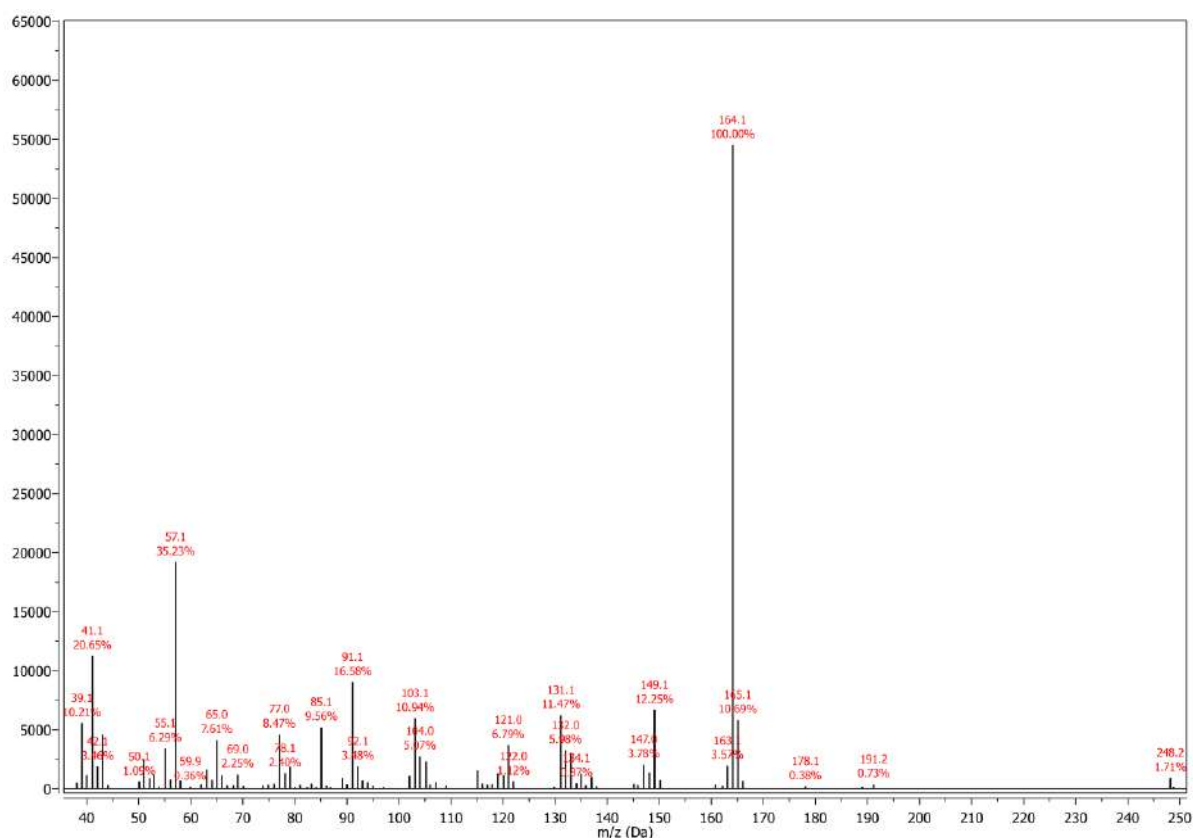
Prilog 8.3.203. Maseni spektar 4-alil-3-metoksifenil-tiglata [10f]



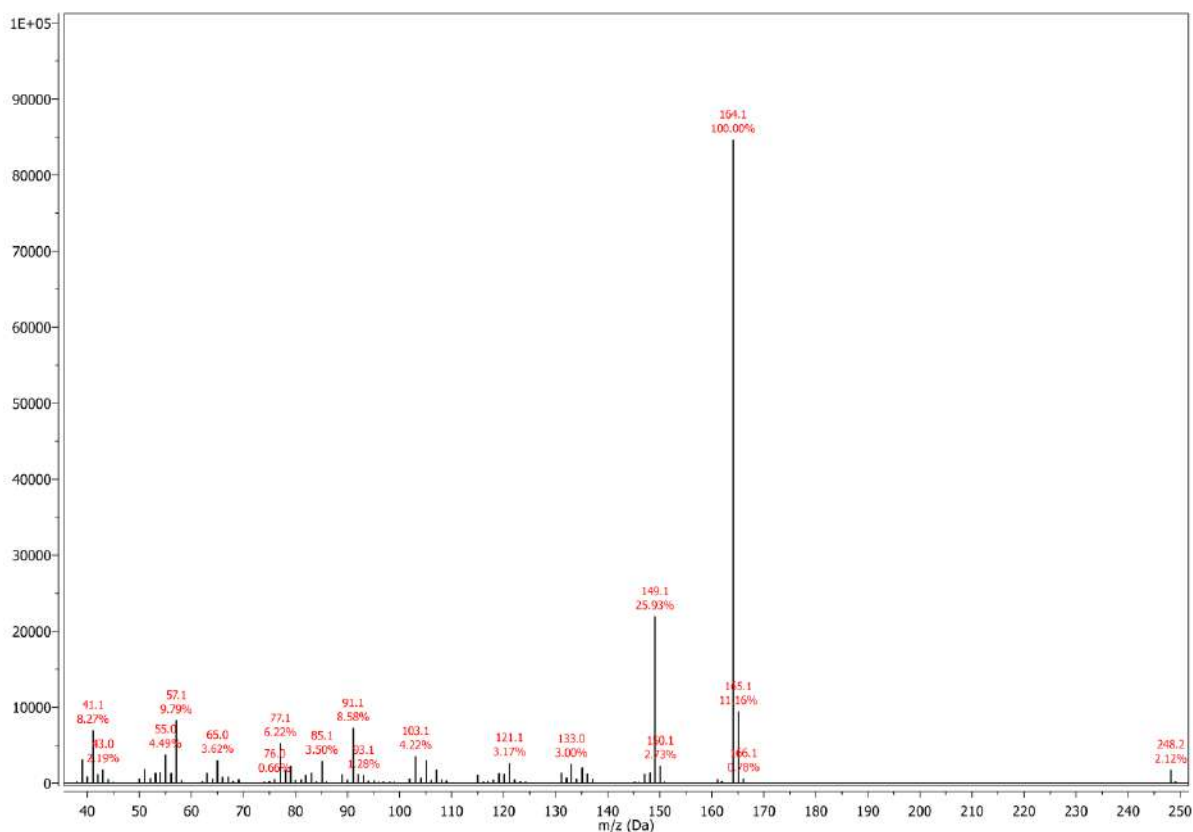
Prilog 8.3.204. Maseni spektar 3-allyl-4-methoxyphenyl-2-methylbutanoate [11a]



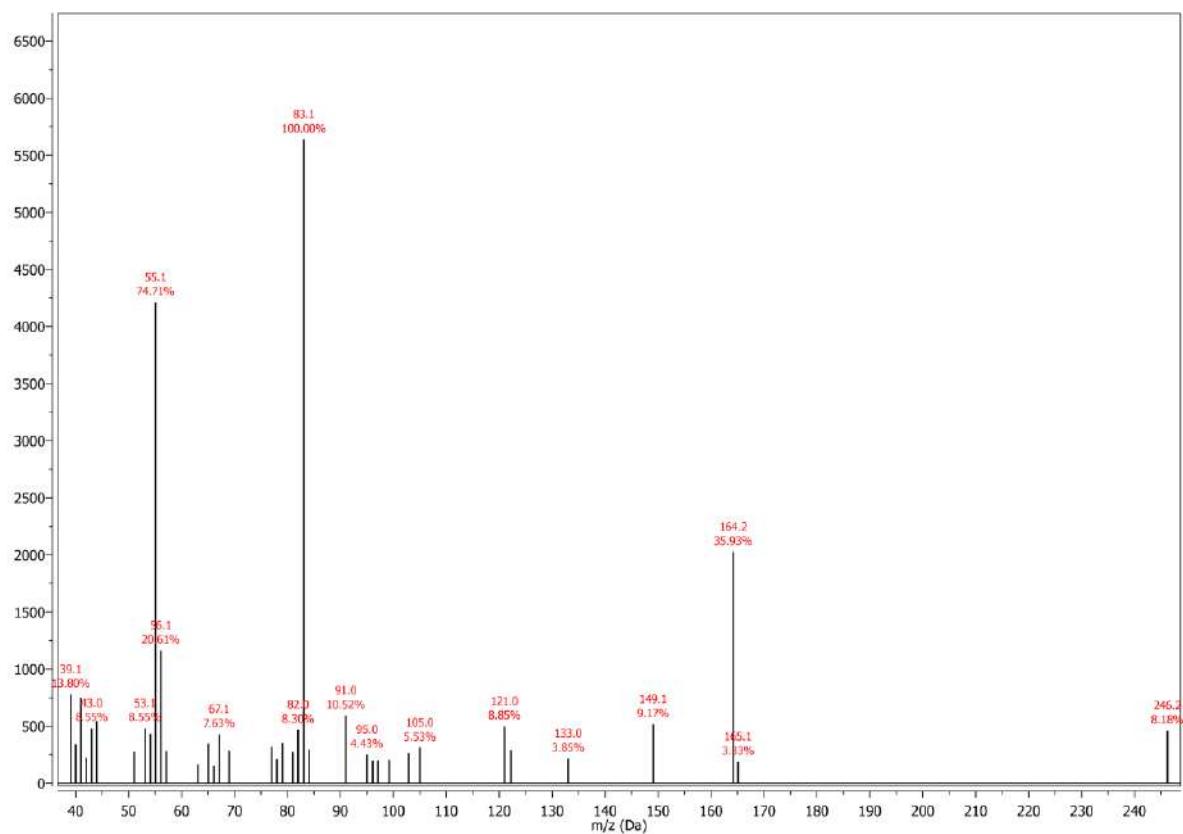
Prilog 8.3.205. Maseni spektar 3-alil-4-metoksifenil-3-metilbutanoata [11b]



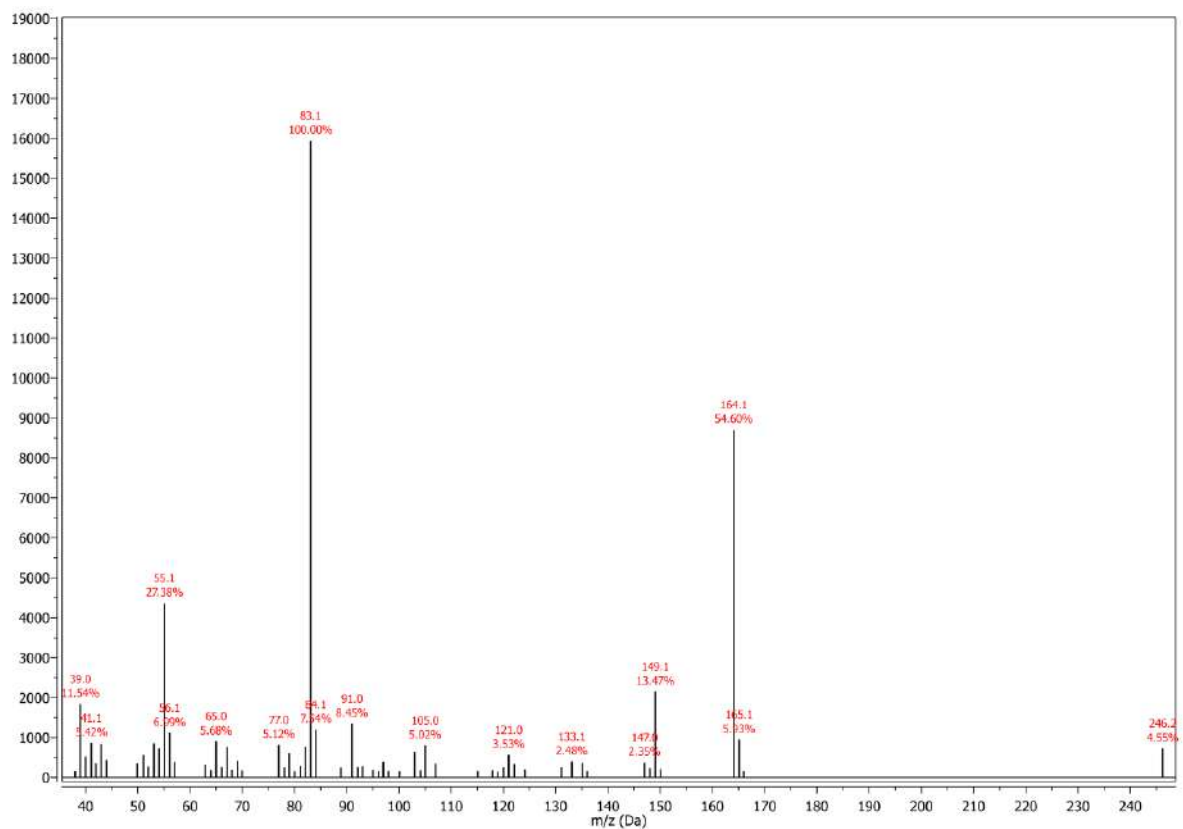
Prilog 8.3.206. Maseni spektar 3-alil-4-metoksifenil-pentanoata [11c]



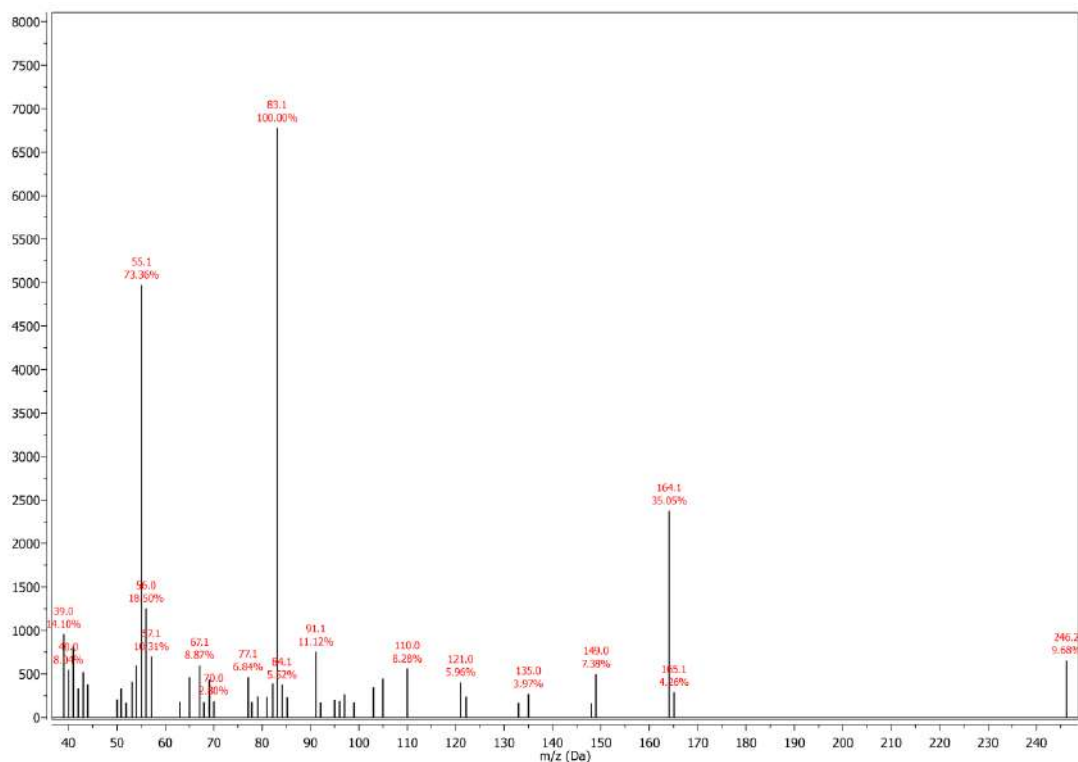
Prilog 8.3.207. Maseni spektar 3-alil-4-metoksifenil-angelata [11d]



Prilog 8.3.208. Maseni spektar 3-alil-4-metoksifenil-senecioata [11e]



Prilog 8.3.209. Maseni spektar 3-alil-4-metoksifenil-tiglata [11f]



Prilog 8.3.210. QSAR jednačine za izračunavanje teorijskih vrednosti retencionih indeksa estara regioizomera alilmetoksifenola (**Molekulski Topološki Indeks (MTI)**, **Balaban (B)** i **Viner (Wiener; W)** indeks)

Formijati:

$$RI = 3,989755493164E+003 - 2,166670680046E+000*(B) - 1,375000663102E+000*(MTI) + 4,212507476807E+002*(W)$$

Acetati:

$$RI = 6,691173934937E+001 + 4,540009573102E-001*(B) - 8,146362397820E-001*(MTI) - 9,102171158791E+001*(W)$$

Propanoati:

$$RI = -1,345571050644E+002 + 4,017797328997E-001*(B) - 6,848248681054E-001*(MTI) - 9,266377073526E+001*(W)$$

Izobutanoati:

$$RI = 2,614200830460E+002 + 1,990455309860E-001*(B) - 6,834448345471E-001*(MTI) - 4,914413464069E+001*(W)$$

Butanoati:

$$RI = 8,363445425034E+002 + 4,557566903532E-002*(B) - 6,340967561118E-001*(MTI) - 6,672153234482E+000*(W)$$

Pentanoati:

$$RI = 2,937264127731E+002 + 1,462281949352E-001*(B) - 6,300567130093E-001*(MTI) - 3,972449481487E+001*(W)$$

Heksanoati:

$$RI = 3,880983176231E+002 + 9,138613881078E-002*(B) - 5,992980105802E-001*(MTI) - 2,610789650679E+001*(W)$$

Heptanoati:

$$RI = 3,882352986336E+002 + 7,527960161678E-002*(B) - 5,337888817303E-001*(MTI) - 2,394290554523E+001*(W)$$

Oktanoati:

$$RI = 3,650090432167E+002 + 6,400980986655E-002*(B) - 4,879703922197E-001*(MTI) - 2,257200330496E+001*(W)$$

Nonanoati:

$$RI = 3,455220279694E+002 + 5,488949717255E-002*(B) - 4,222155392636E-001*(MTI) - 2,156522563100E+001*(W)$$

Dekanoati:

$$RI = 2,320351114273E+002 + 5,732058582362E-002*(B) - 3,576766909100E-001*(MTI) - 2,582212340832E+001*(W)$$

Dodekanoati:

$$RI = 2,461459026337E+002 + 3,532712726155E-002*(B) - 3,466657700483E-001*(MTI) - 1,801709163189E+001*(W)$$

Tetradekanoati:

$$RI = 1,339600601196E+002 + 2,926124306396E-002*(B) - 2,837756783701E-001*(MTI) - 1,790177613497E+001*(W)$$

Heksadekanoati:

$$RI = -4,535357074738E+002 + 3,576147375861E-002*(B) - 2,112057888880E-001*(MTI) - 2,707711011171E+001*(W)$$

Oktadekanoati:

$$RI = 1,205457687378E+001 + 1,966713496950E-002*(B) - 1,769717424177E-001*(MTI) - 1,656938421726E+001*(W)$$

Oleati:

$$RI = -3,717486724854E+002 + 2,404806966661E-002*(B) - 1,995798796415E-001*(MTI) - 2,046914321184E+001*(W)$$

Benzoati:

$$RI = 7,414566371441E+002 + 8,079306007130E-002*(B) - 4,274292086484E-001*(MTI) - 1,752589645982E+001*(W)$$

Salicilati:

$$RI = 6,643770780563E+002 + 6,299481657334E-002*(B) - 4,776749685407E-001*(MTI) - 1,408468650281E+001*(W)$$

2-Metilbutanoati:

$$RI = 6,137265276909E+002 + 7,388932147296E-002*(B) - 6,519615489524E-001*(MTI) - 1,694684320688E+001*(W)$$

Izovalerati:

$$RI = 4,493946166039E+002 + 9,209619613830E-002*(B) - 6,099579471629E-001*(MTI) - 2,286093458533E+001*(W)$$

Tiglati:

$$RI = 2,272391700745E+001 + 1,611401839182E-001*(B) - 7,031325402204E-001*(MTI) - 4,343090942502E+001*(W)$$

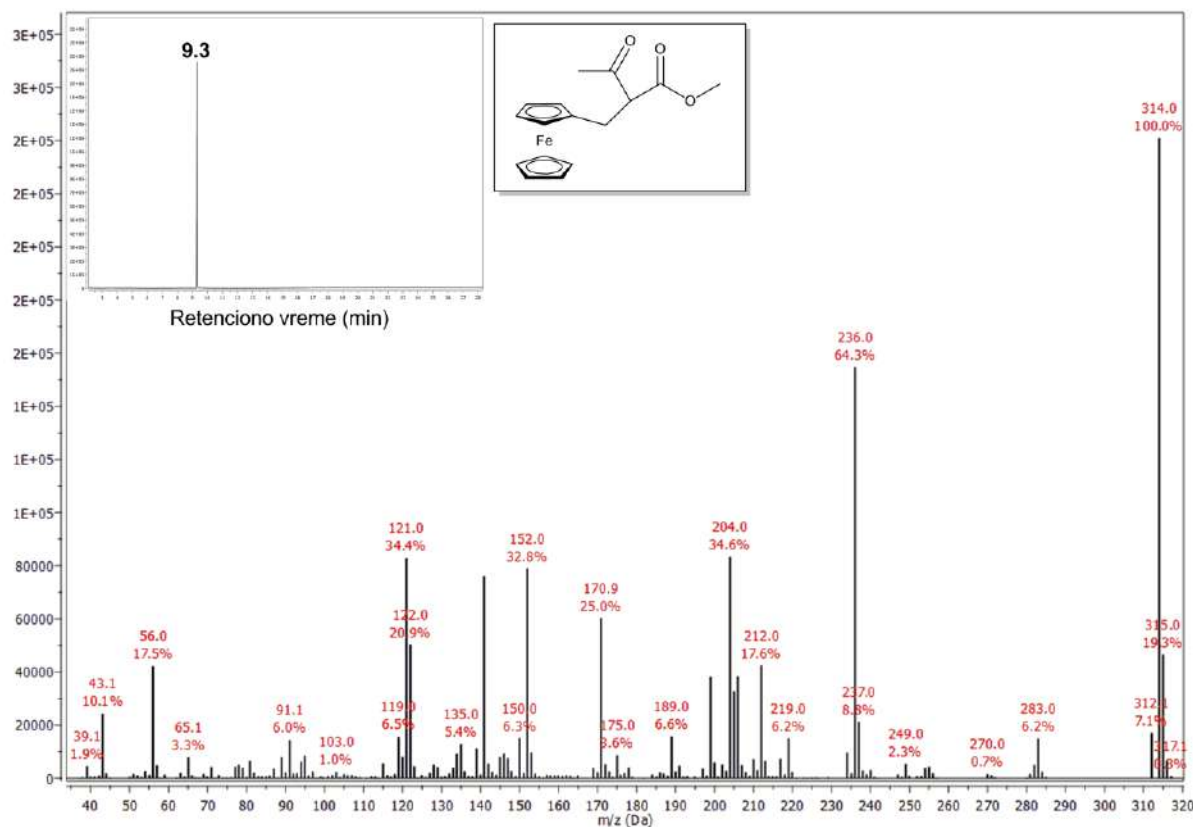
Angelati:

$$RI = -1,606432580948E+001 + 1,972664503846E-001*(B) - 6,384534031386E-001*(MTI) - 5,552042612433E+001*(W)$$

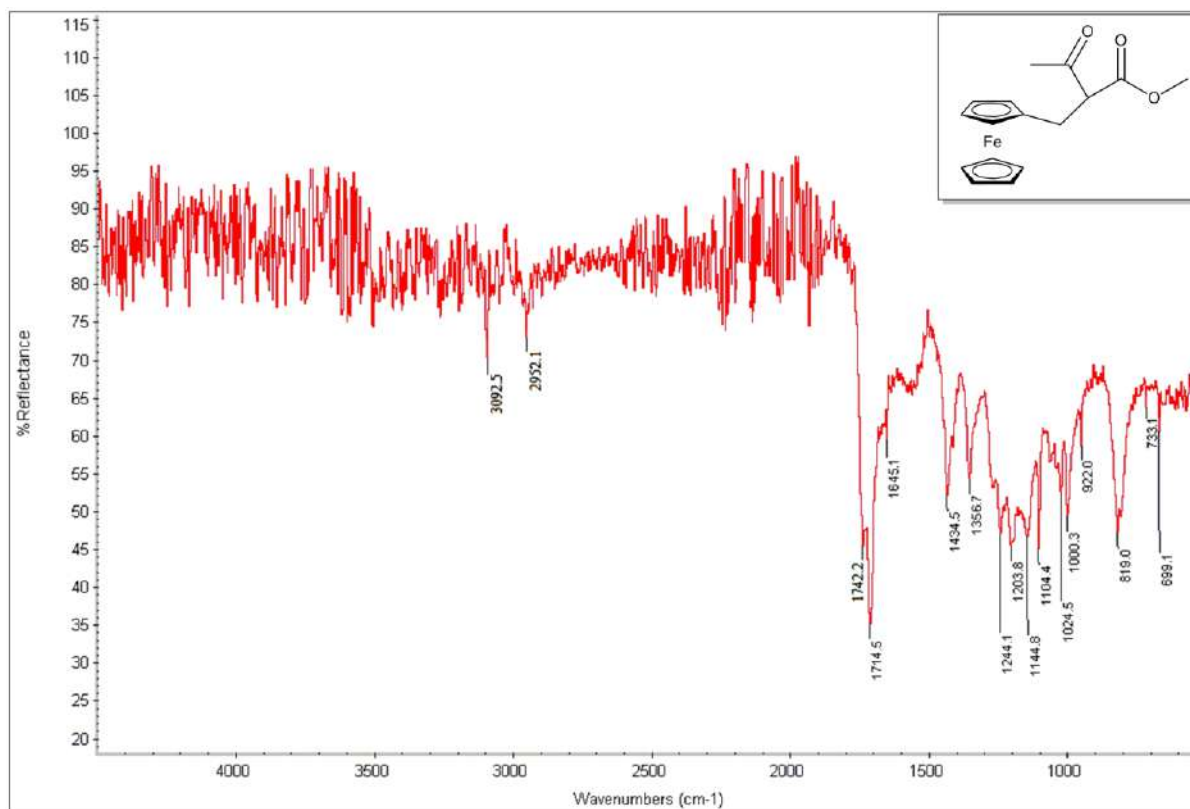
Senecioati:

$$RI = -7,203476715088E+001 + 1,848236022051E-001*(B) - 7,007778463885E-001*(MTI) - 5,092970725894E+001*(W)$$

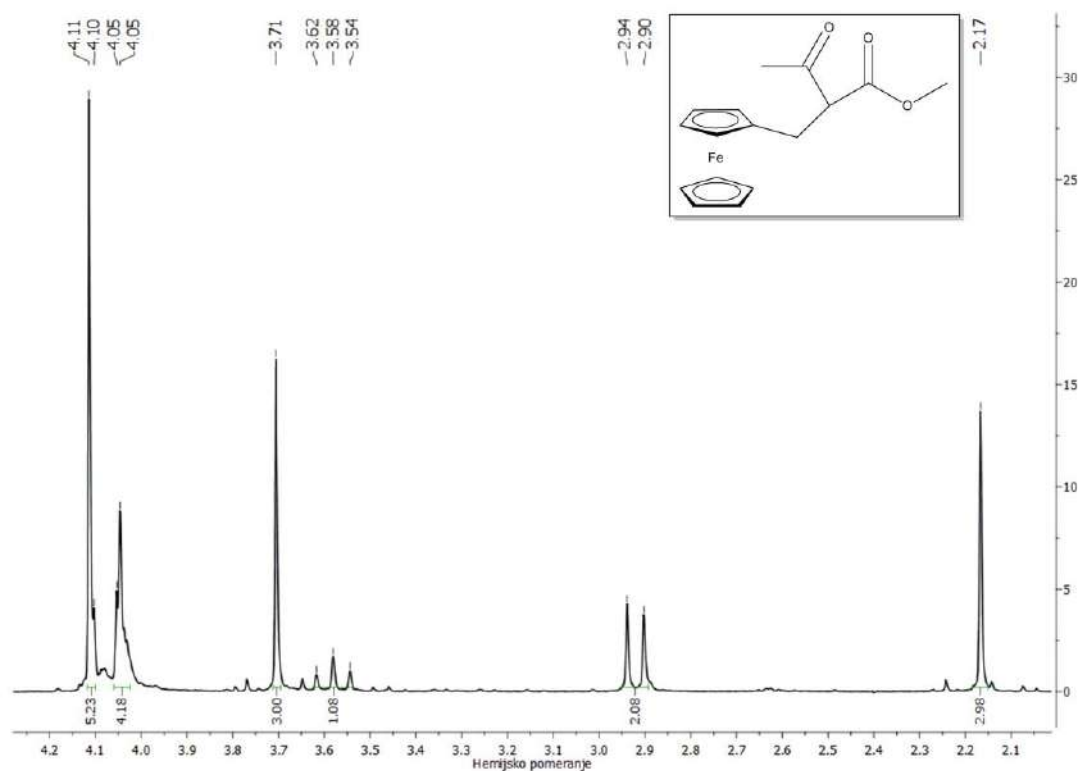
Prilog 8.4.1. Maseni spektar metil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoata [12a]



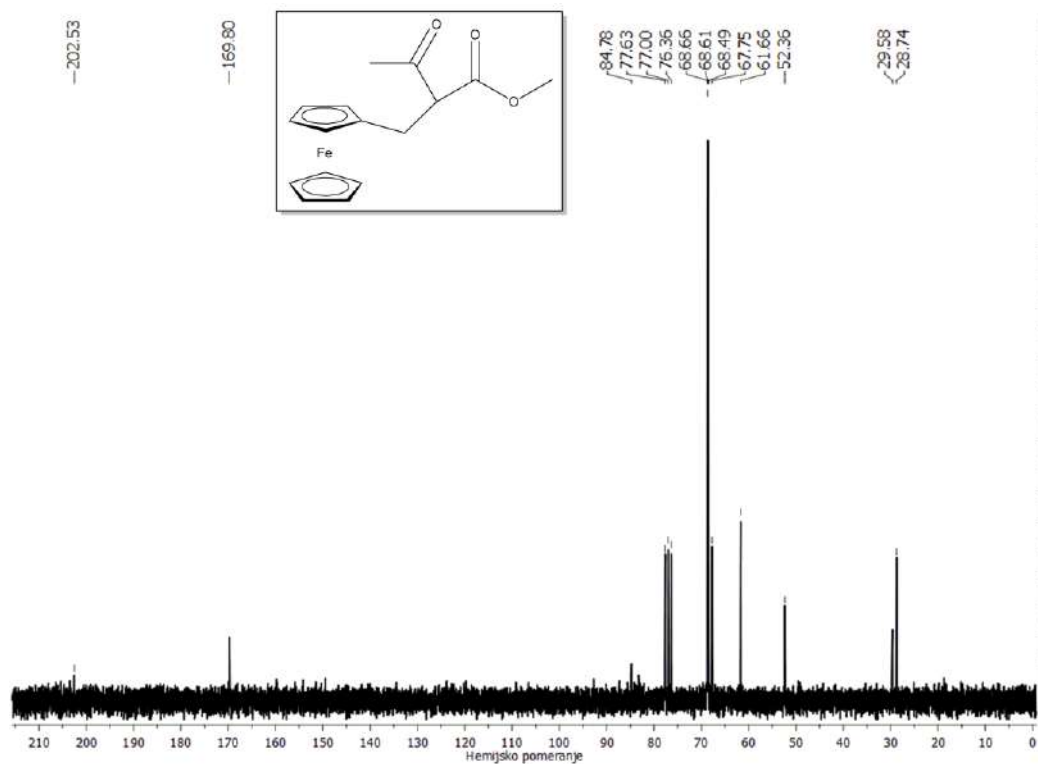
Prilog 8.4.2. IR spektar metil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoata [12a]



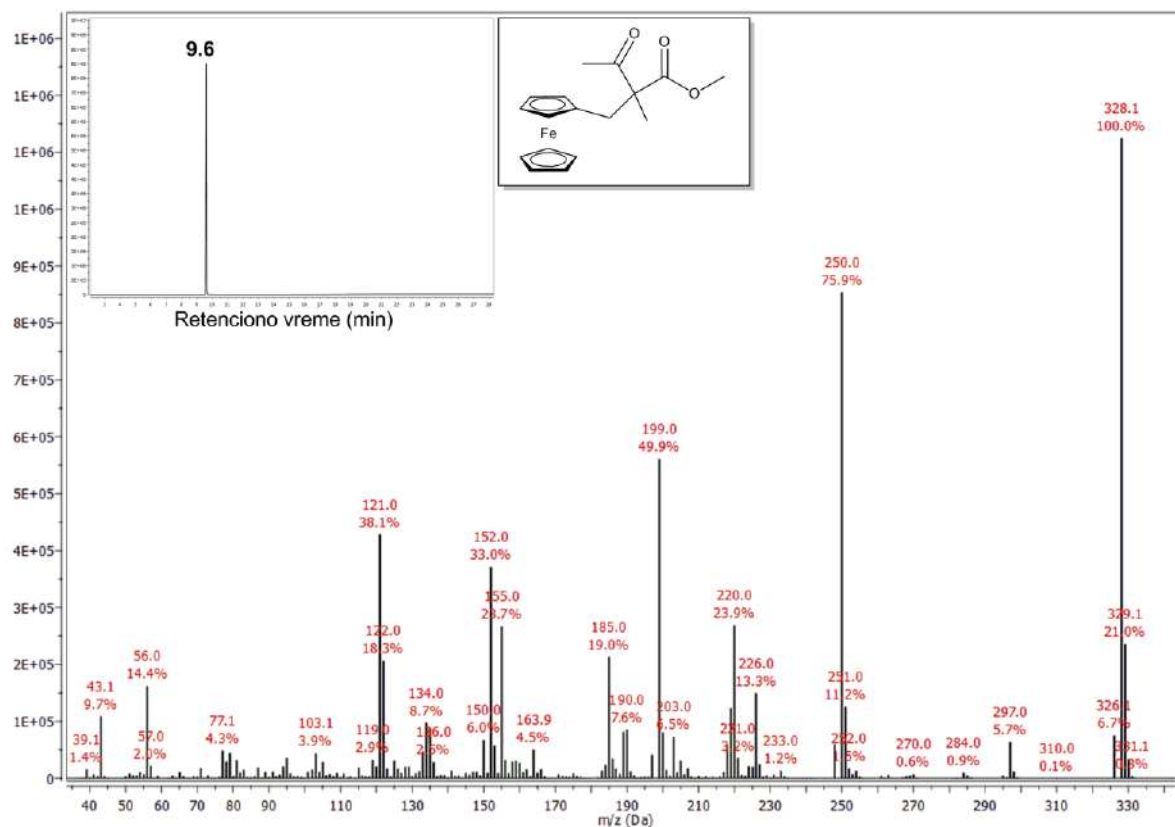
Prilog 8.4.3. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoata [12a]



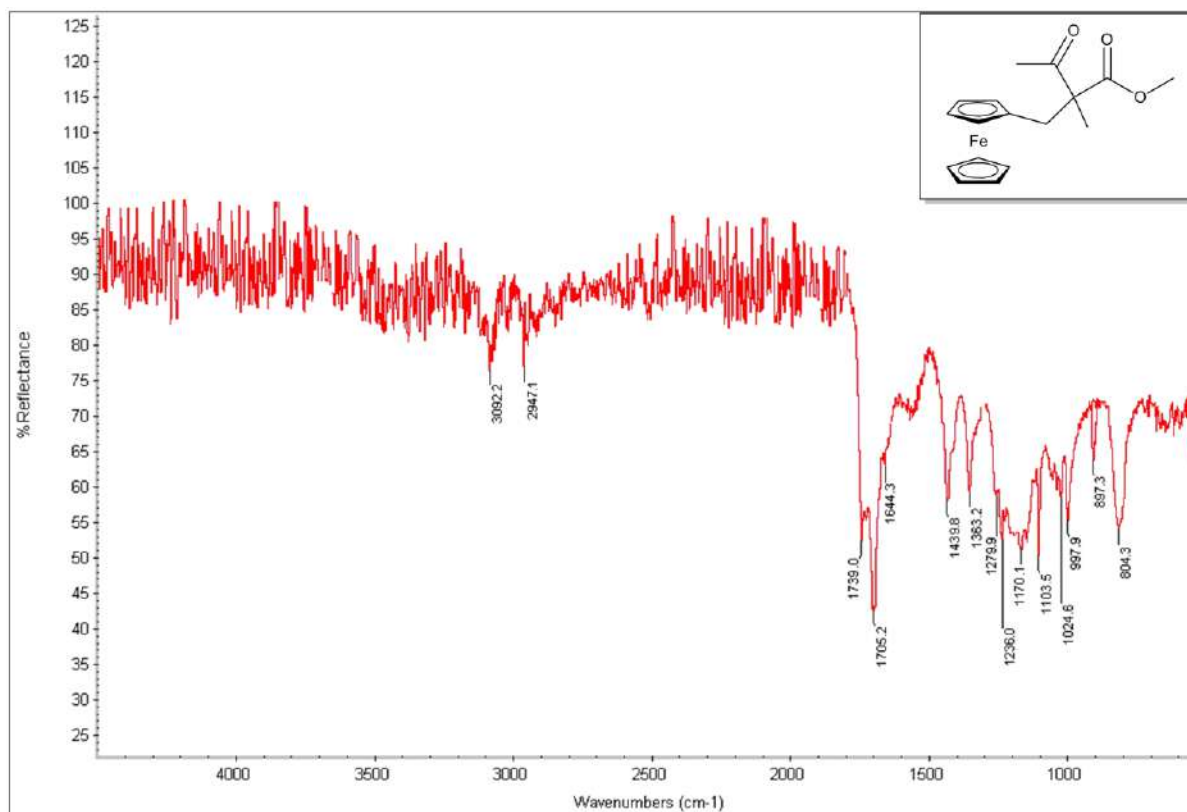
Prilog 8.4.4. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoata [12a]



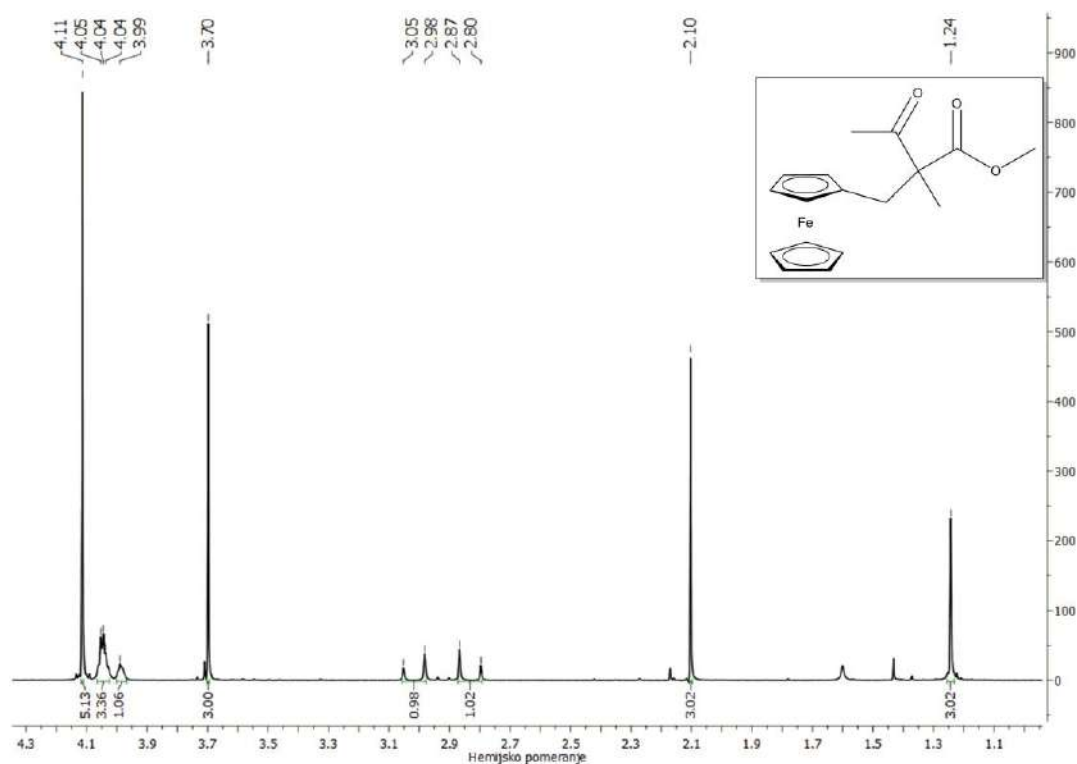
Prilog 8.4.5. Maseni spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b]



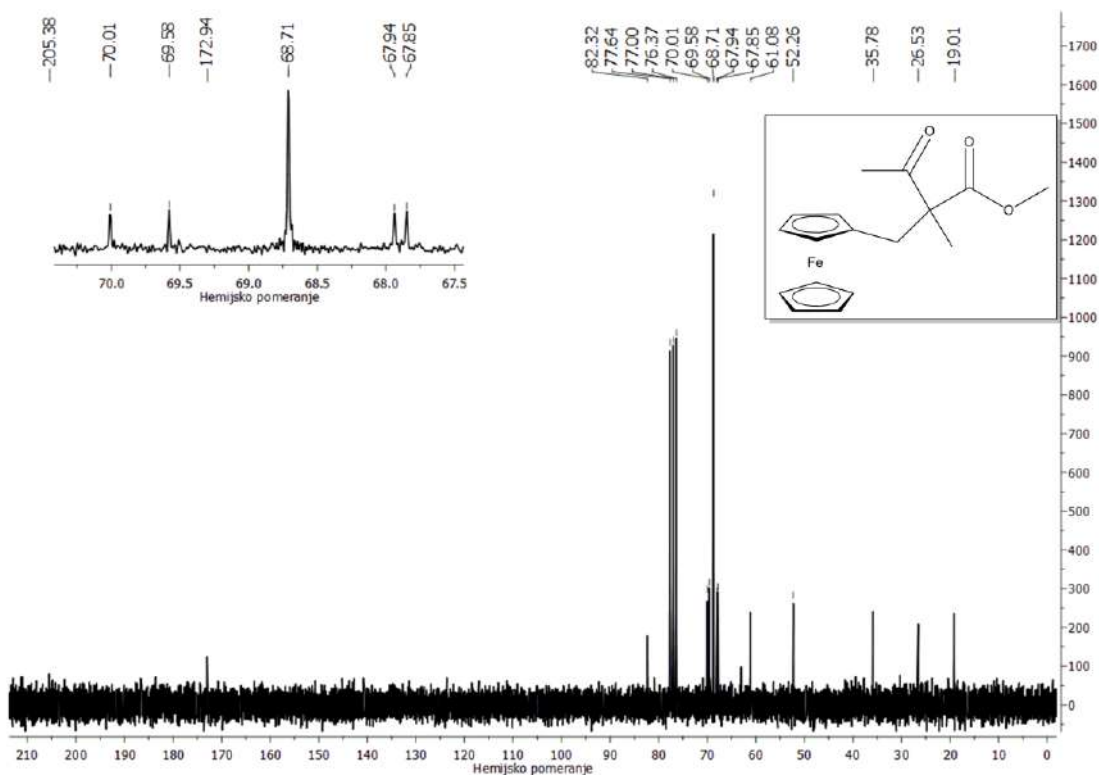
Prilog 8.4.6. IR spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b]



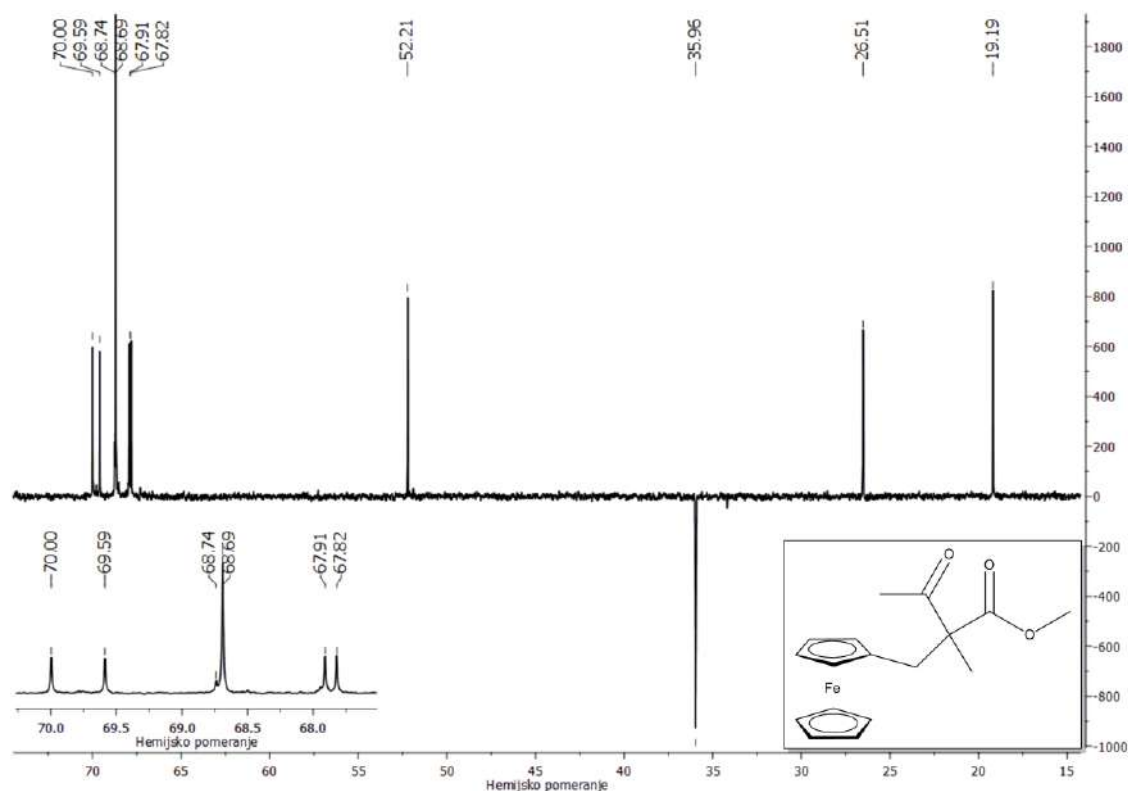
Prilog 8.4.7. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b]



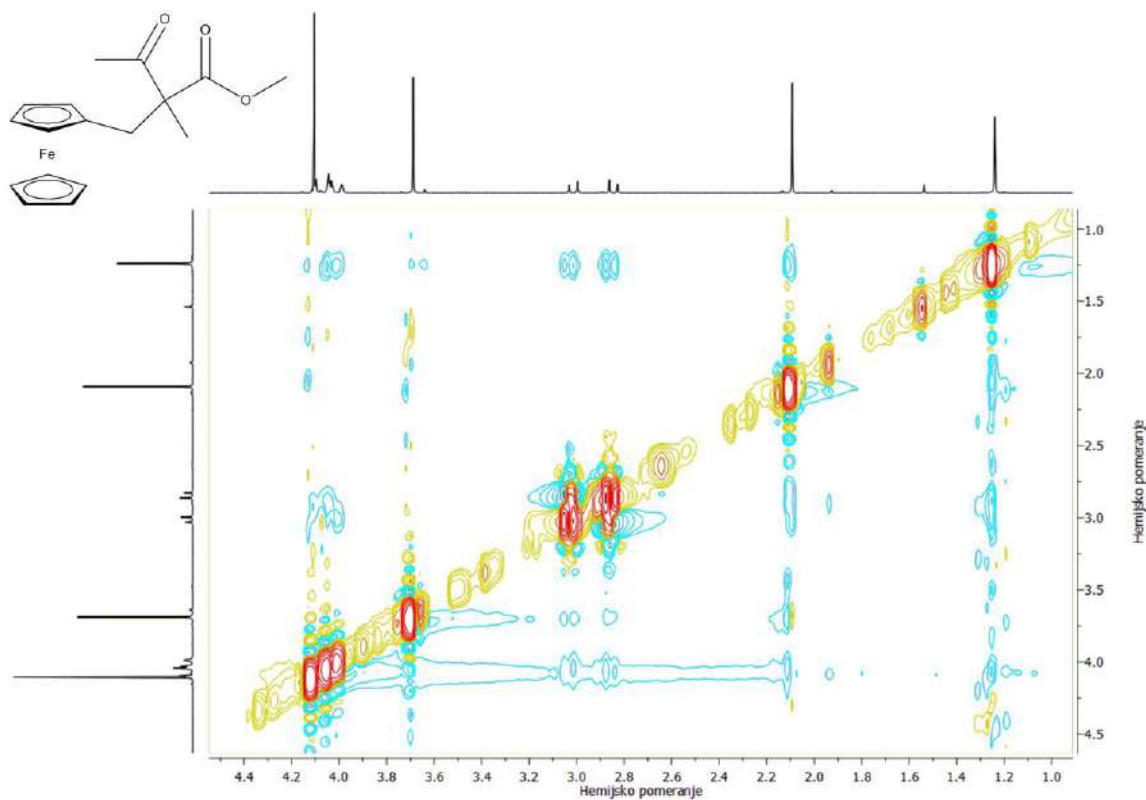
Prilog 8.4.8. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b]



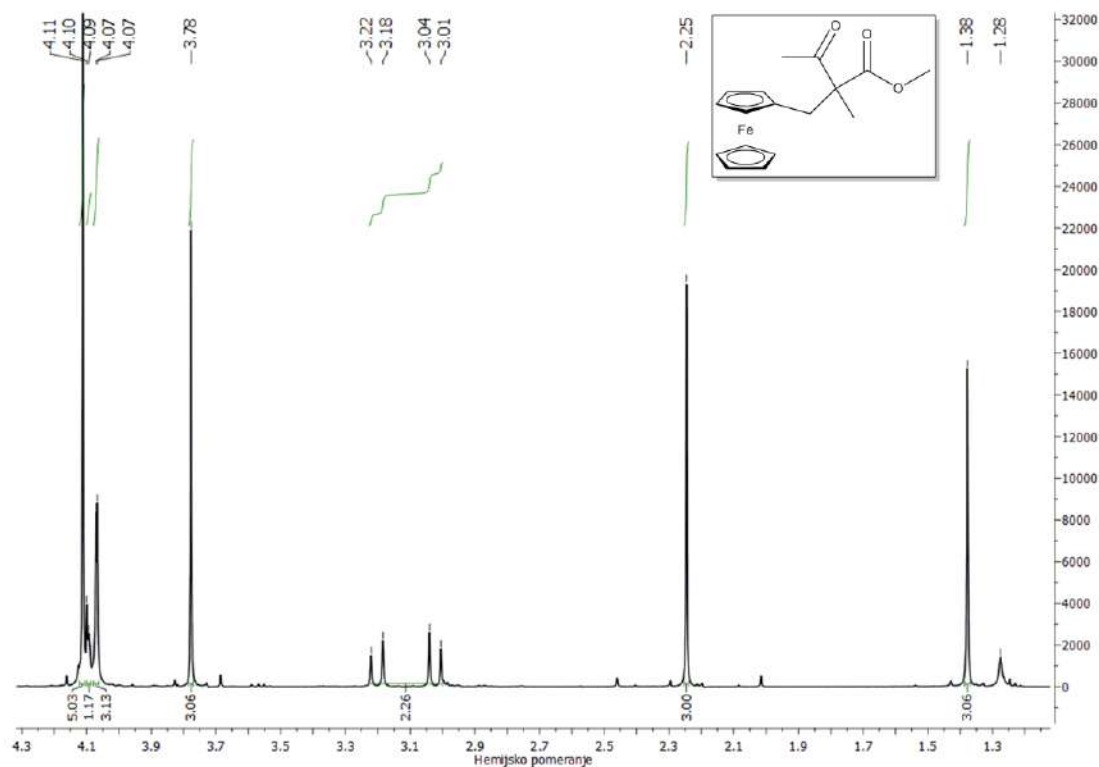
Prilog 8.4.9. DEPT spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b]



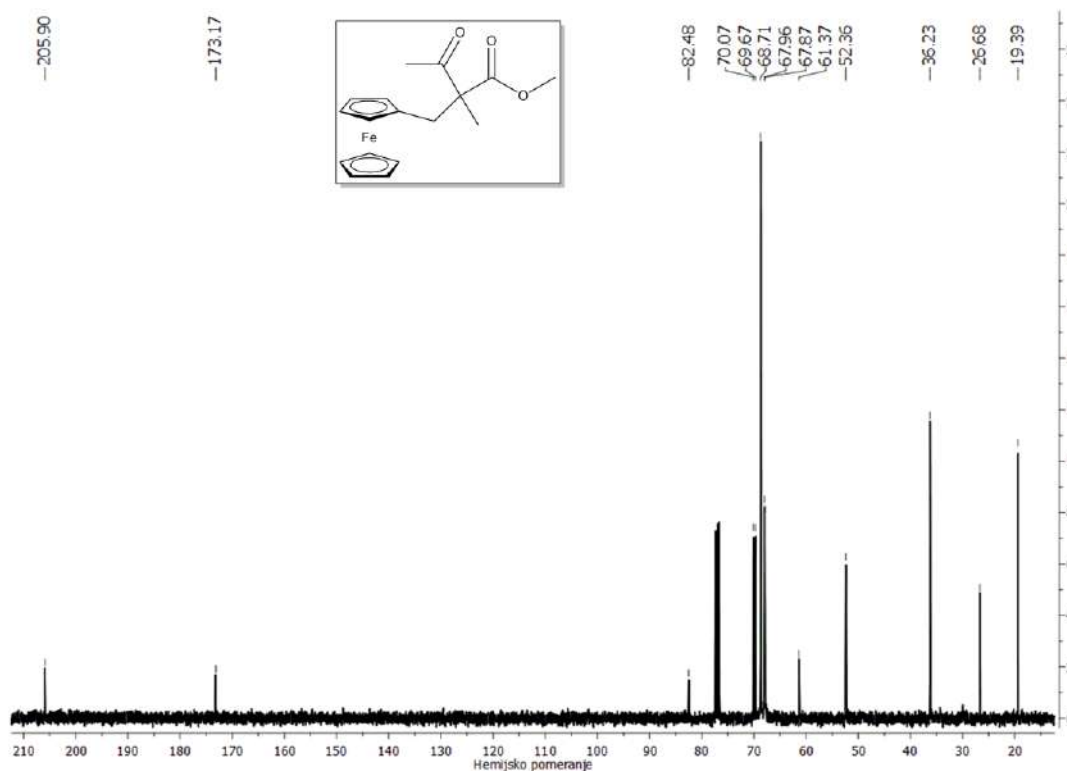
Prilog 8.4.10. NOESY spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b]



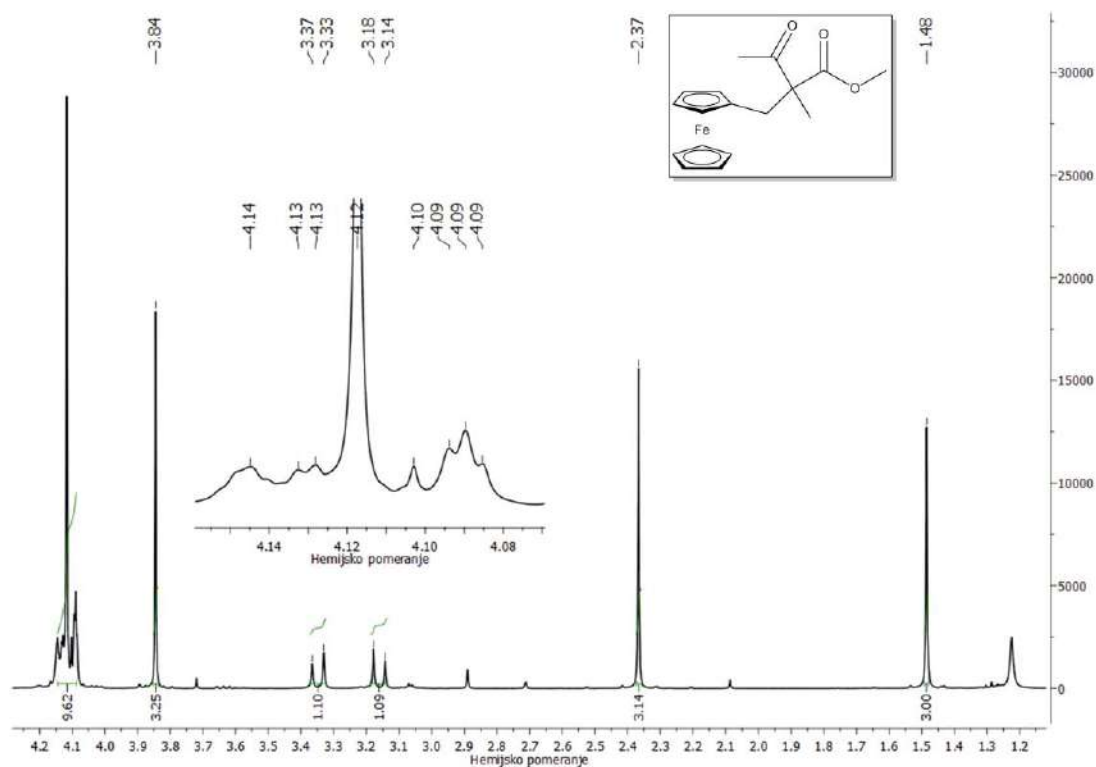
Prilog 8.4.11. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b] nakon dodavanja 3 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



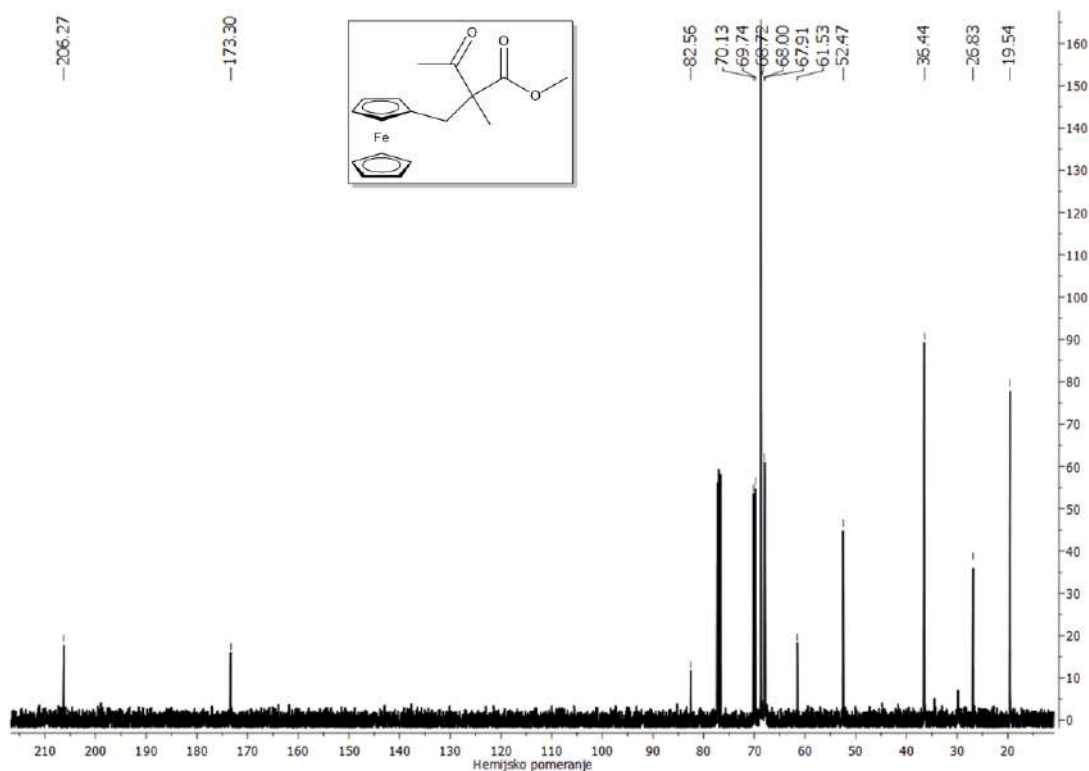
Prilog 8.4.12. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b] nakon dodavanja 3 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



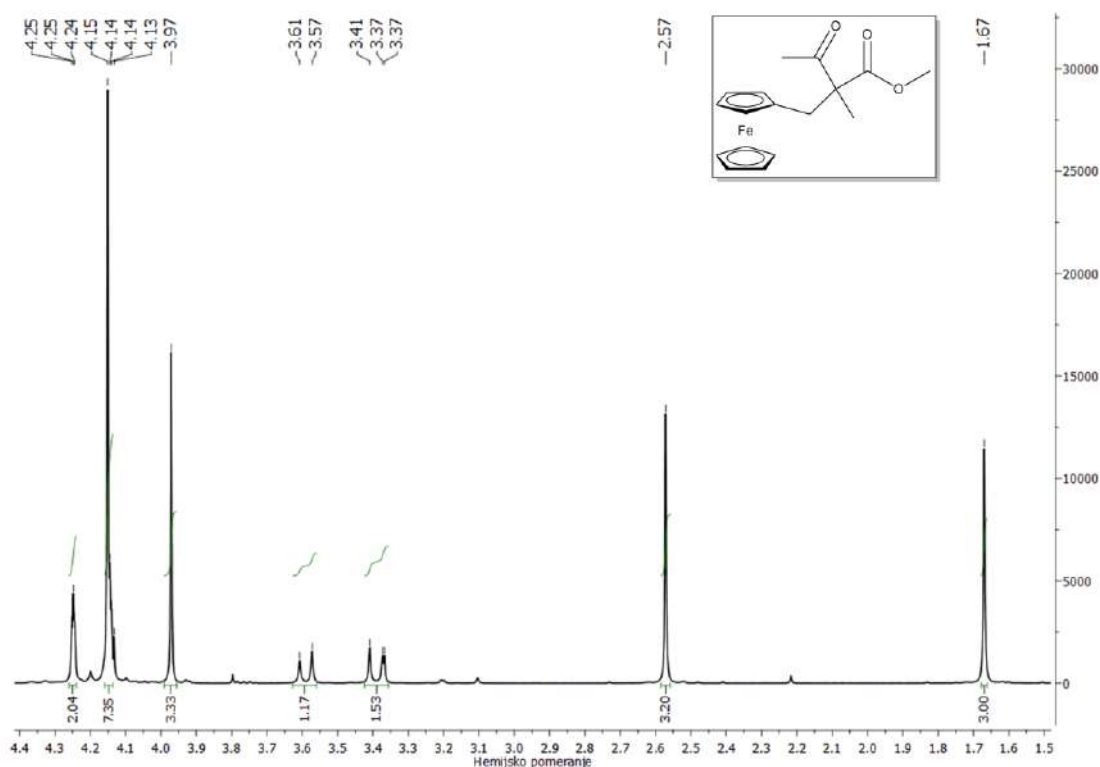
Prilog 8.4.13. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b] nakon dodavanja 6 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



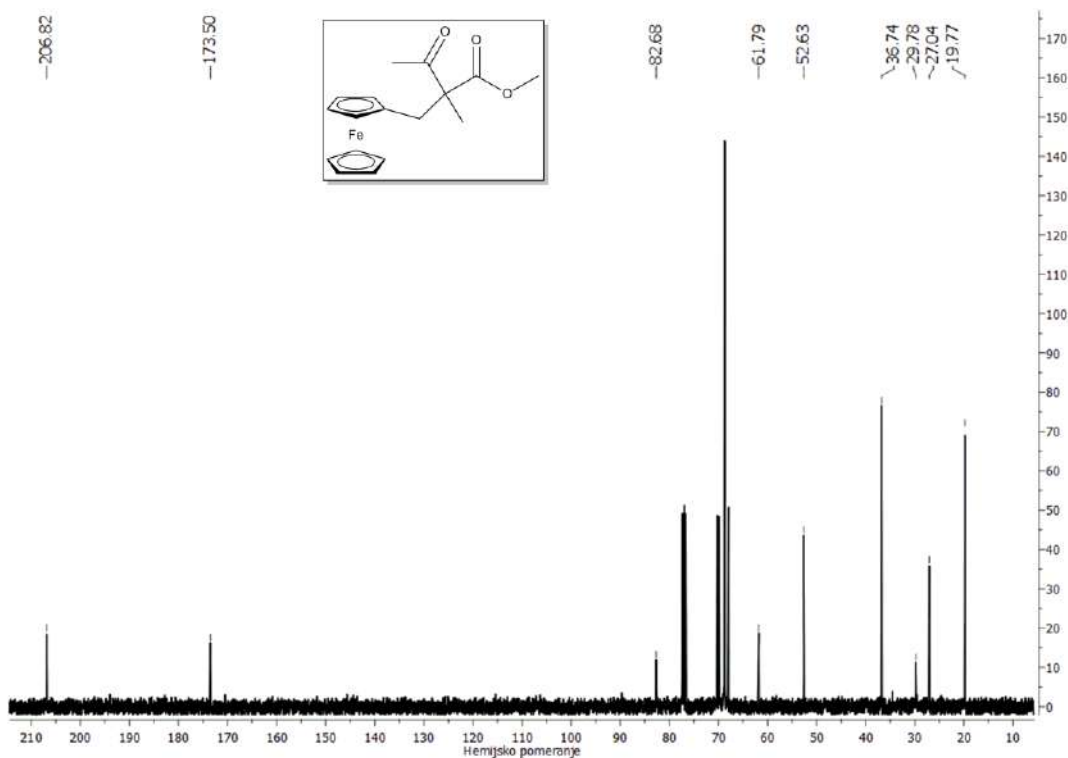
Prilog 8.4.14. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b] nakon dodavanja 6 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



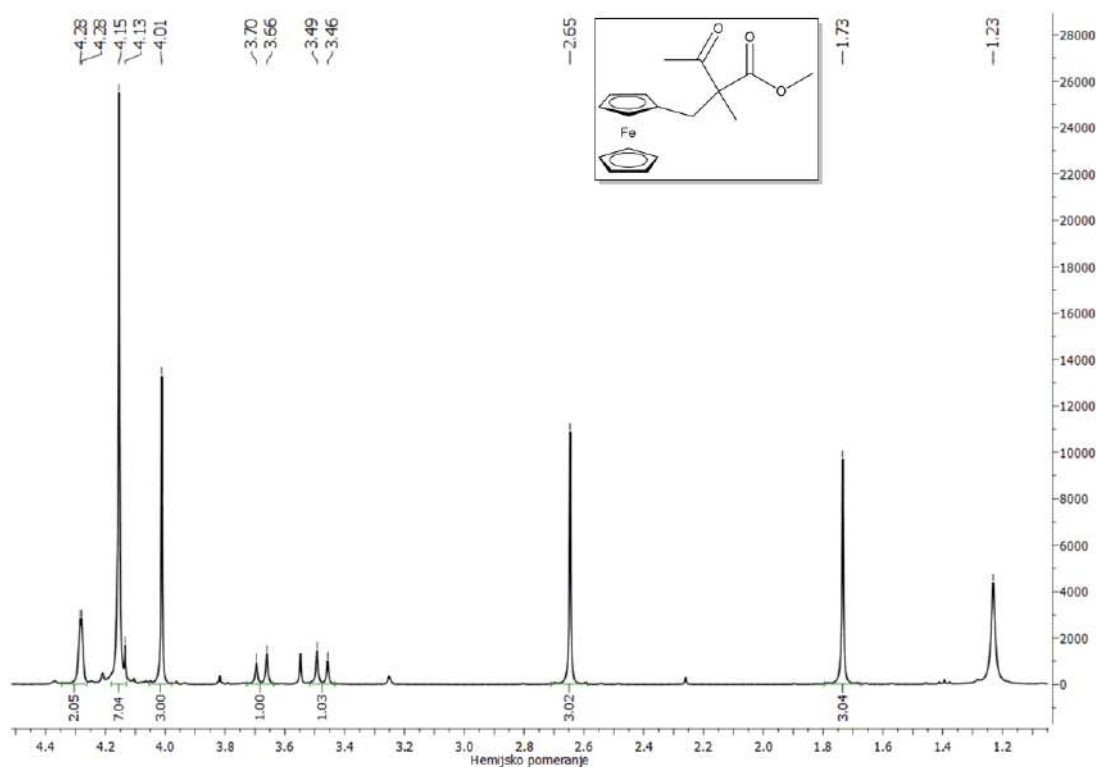
Prilog 8.4.15. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b] nakon dodavanja 9 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



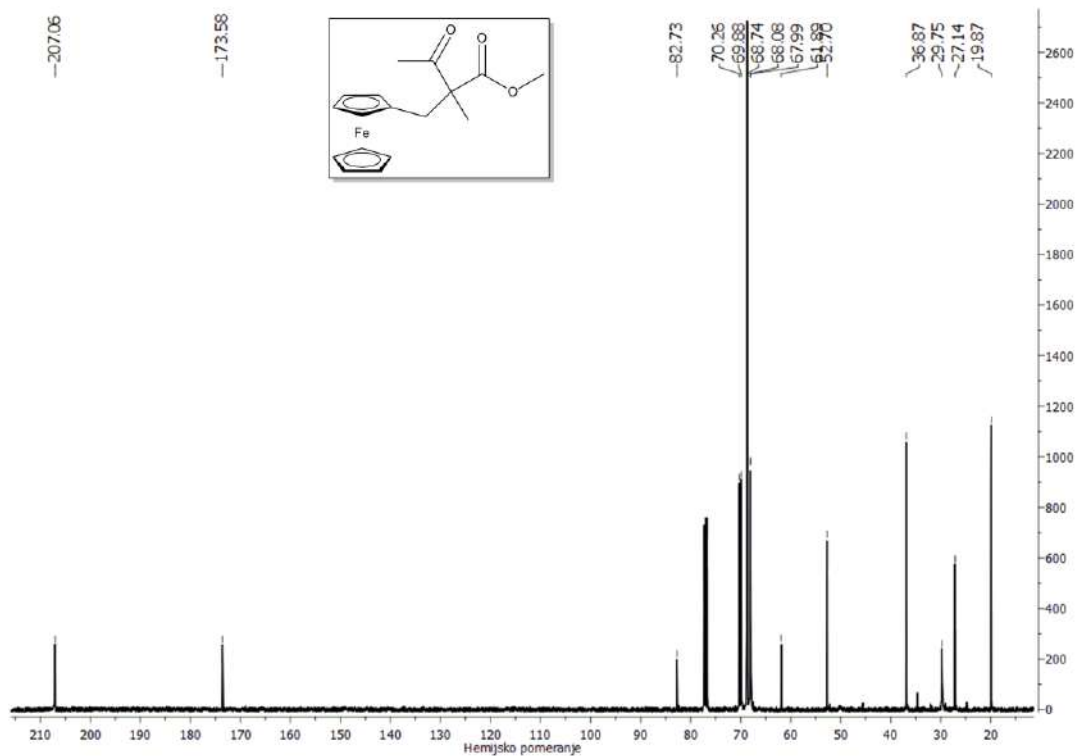
Prilog 8.4.16. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b] nakon dodavanja 9 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



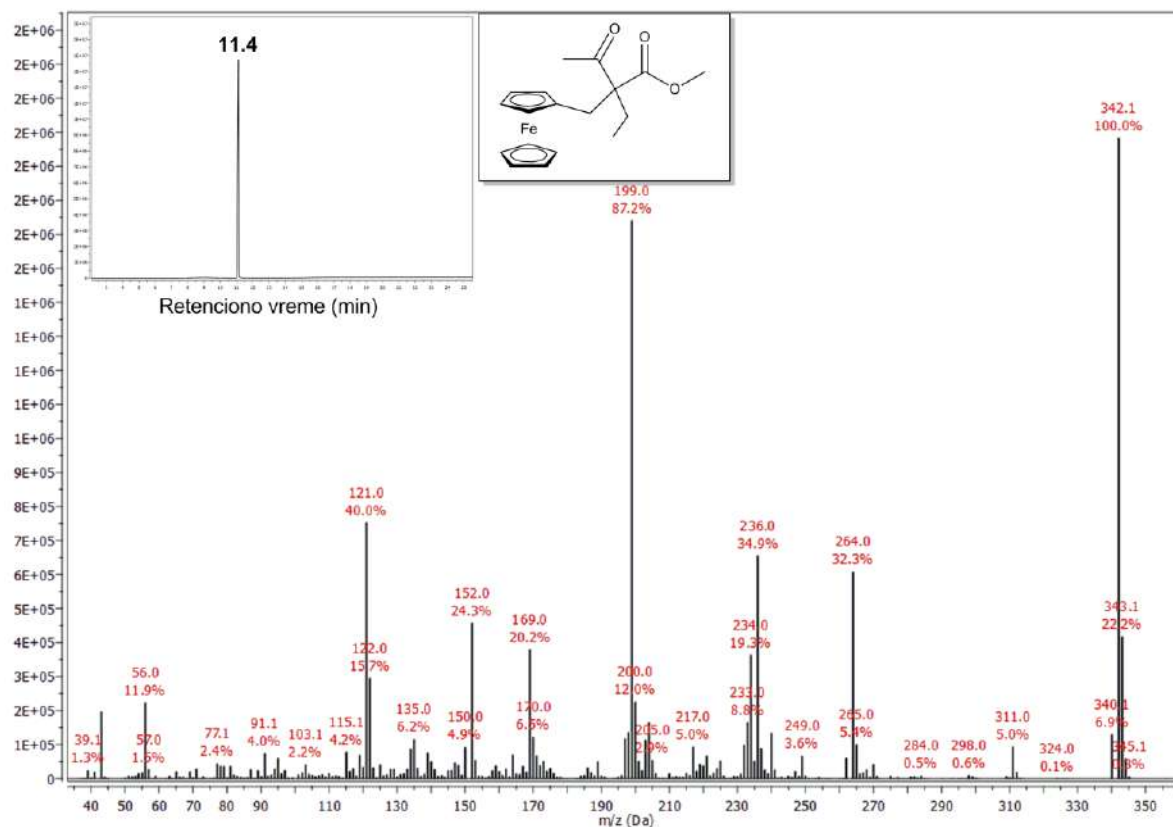
Prilog 8.4.17. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b] nakon dodavanja 12 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



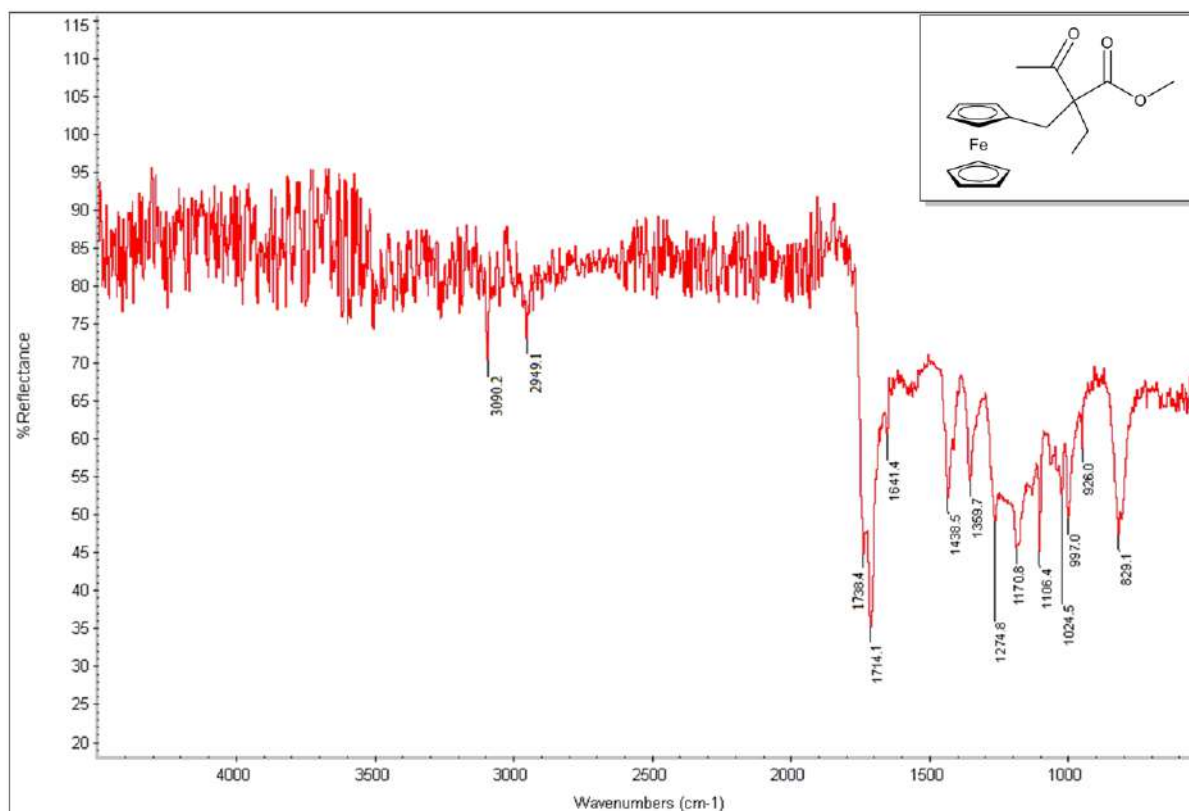
Prilog 8.4.18. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-metil-3-oksobutanoata [12b] nakon dodavanja 12 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



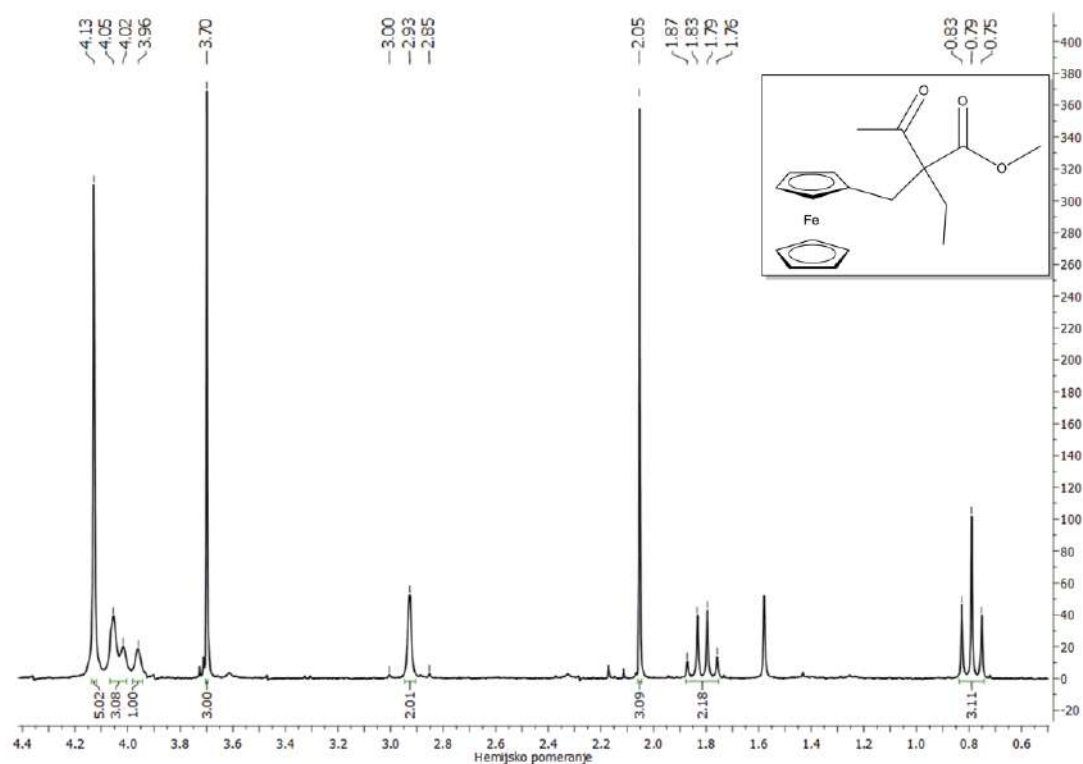
Prilog 8.4.19. Maseni spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-etil-3-oksobutanoata [12c]



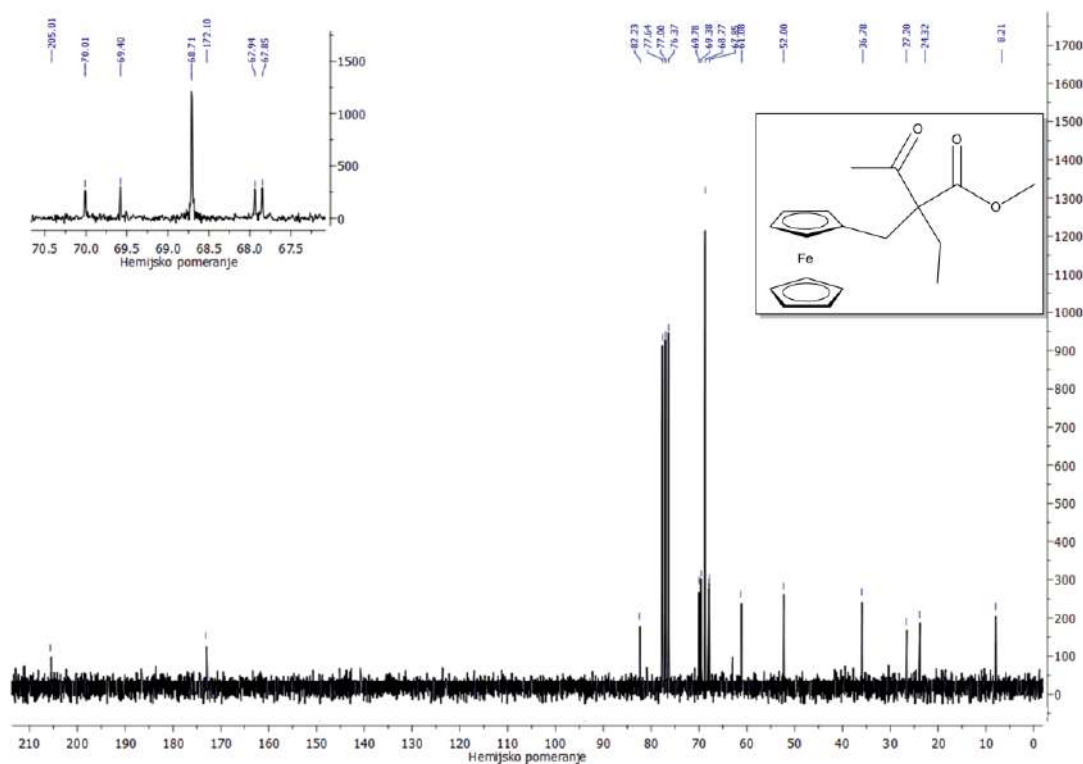
Prilog 8.4.20. IR spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-etil-3-oksobutanoata [12c]



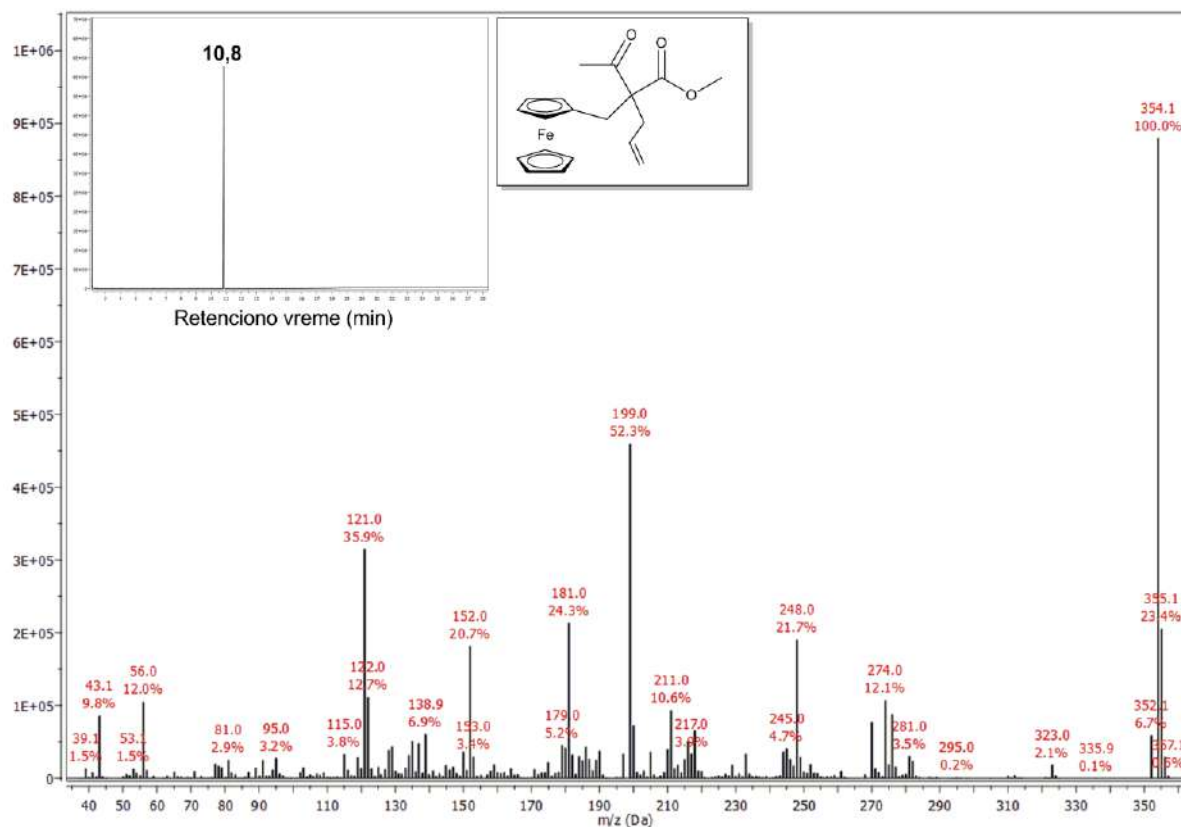
Prilog 8.4.21. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-etil-3-oksobutanoata [12c]



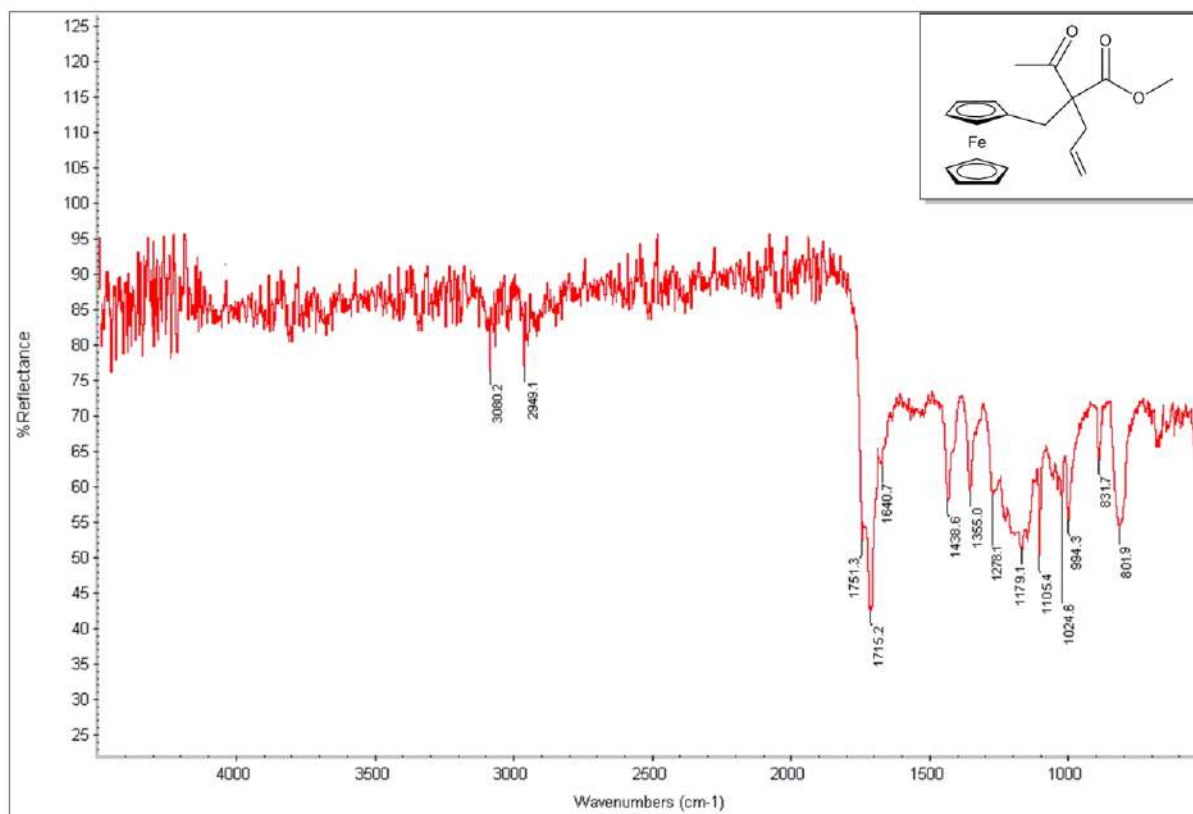
Prilog 8.4.22. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-(ferocenilmetil)-2-etil-3-oksobutanoata [12c]



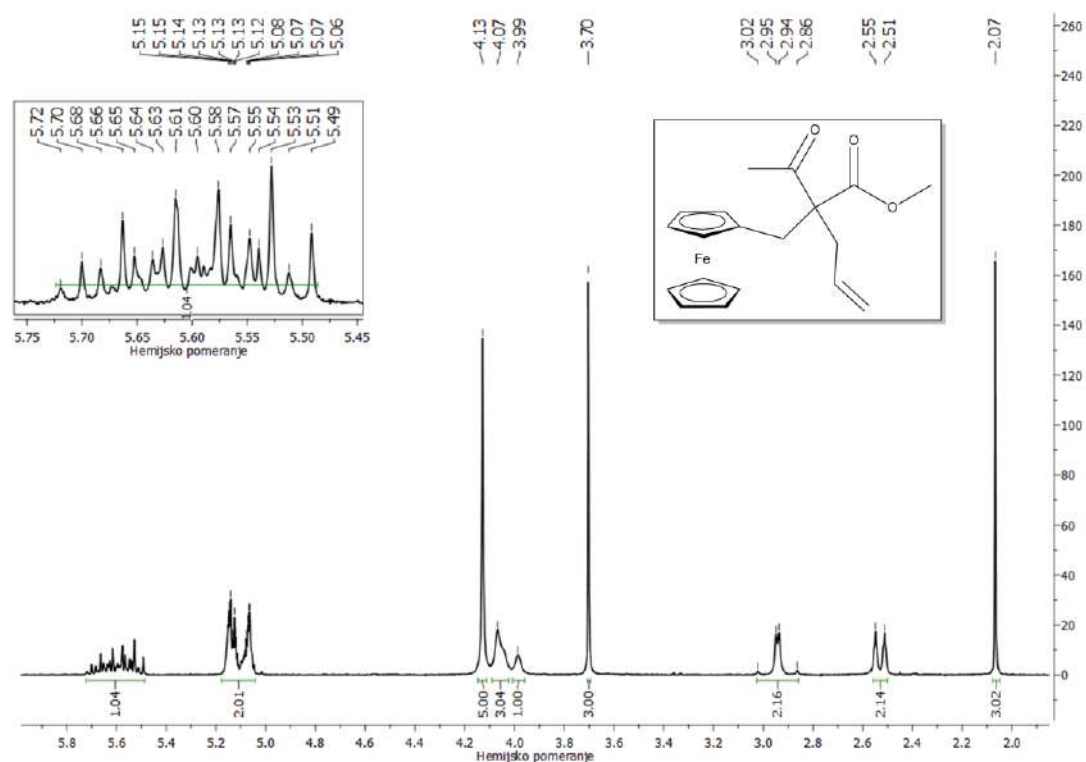
Prilog 8.4.23. Maseni spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]



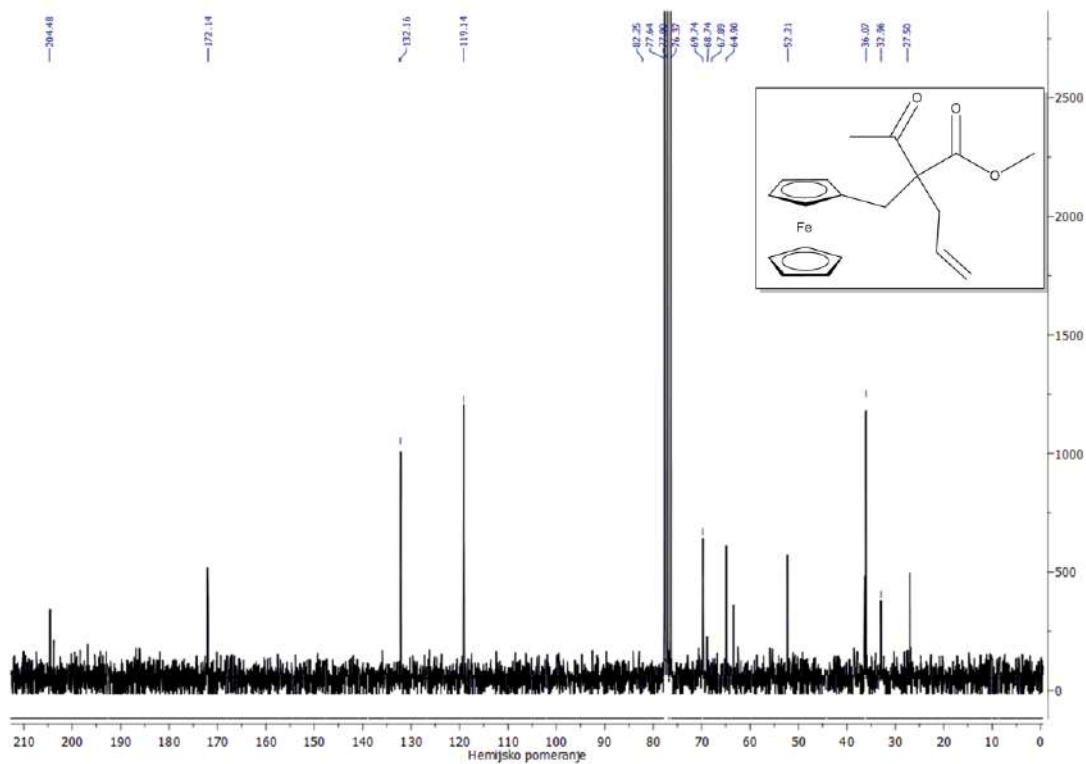
Prilog 8.4.24. IR spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]



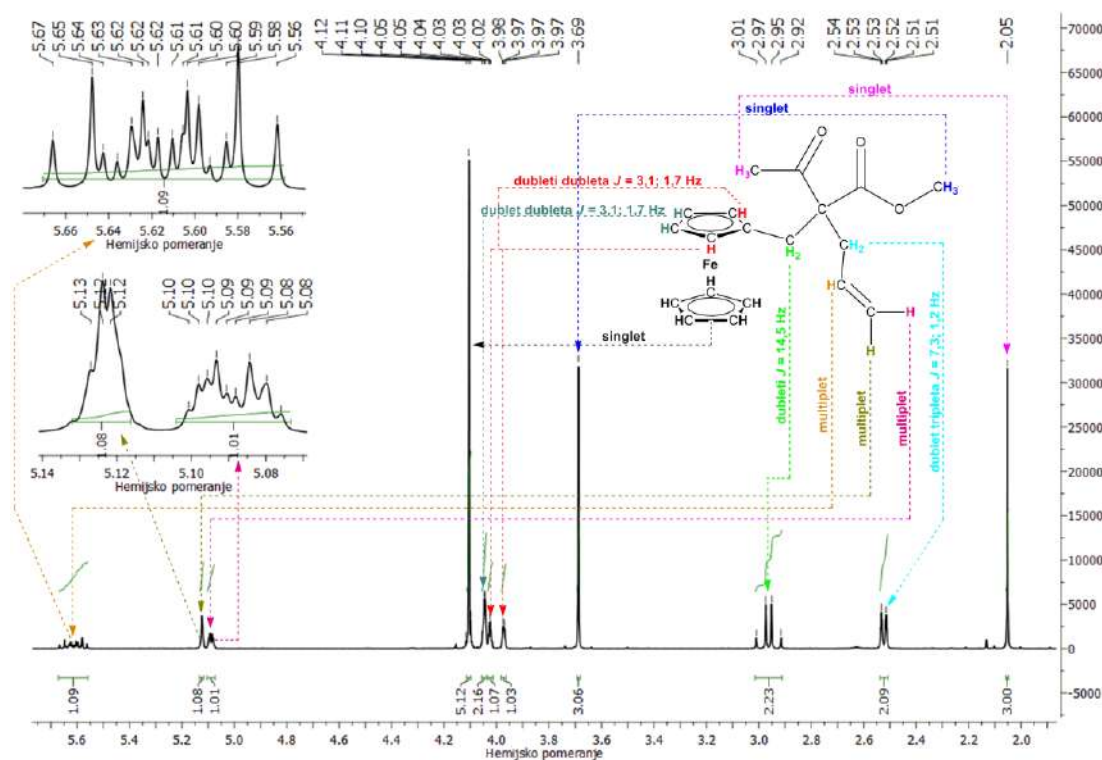
Prilog 8.4.25. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]



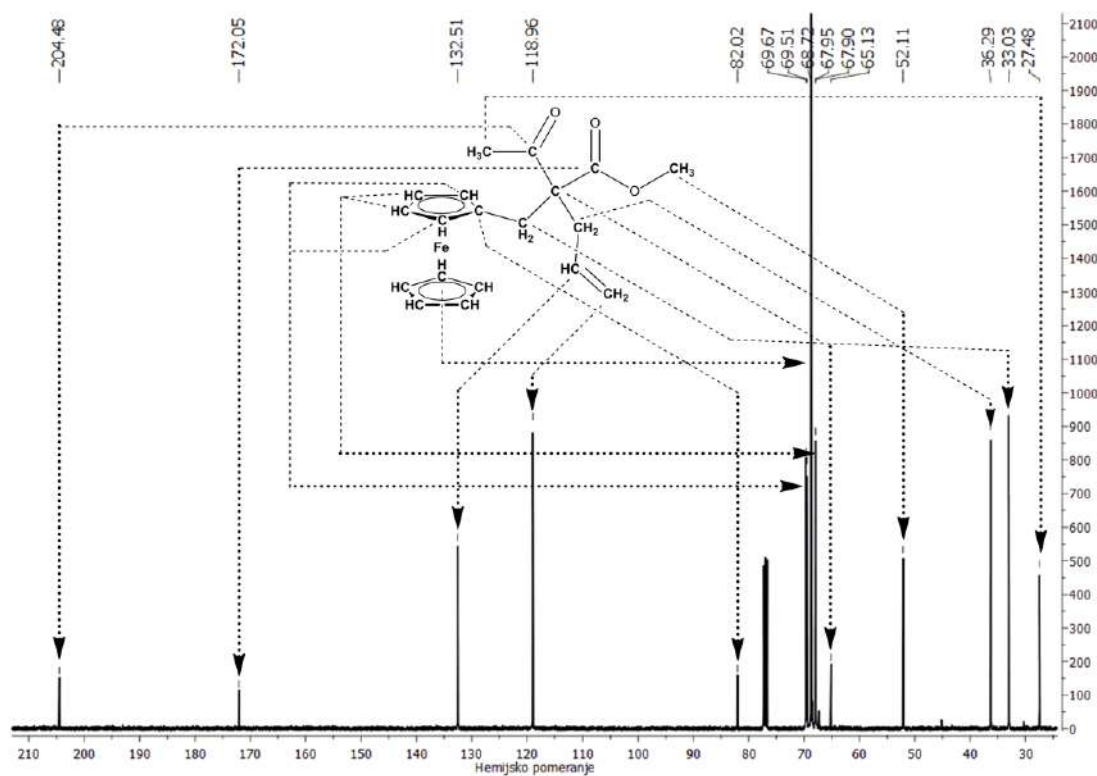
Prilog 8.4.26. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]



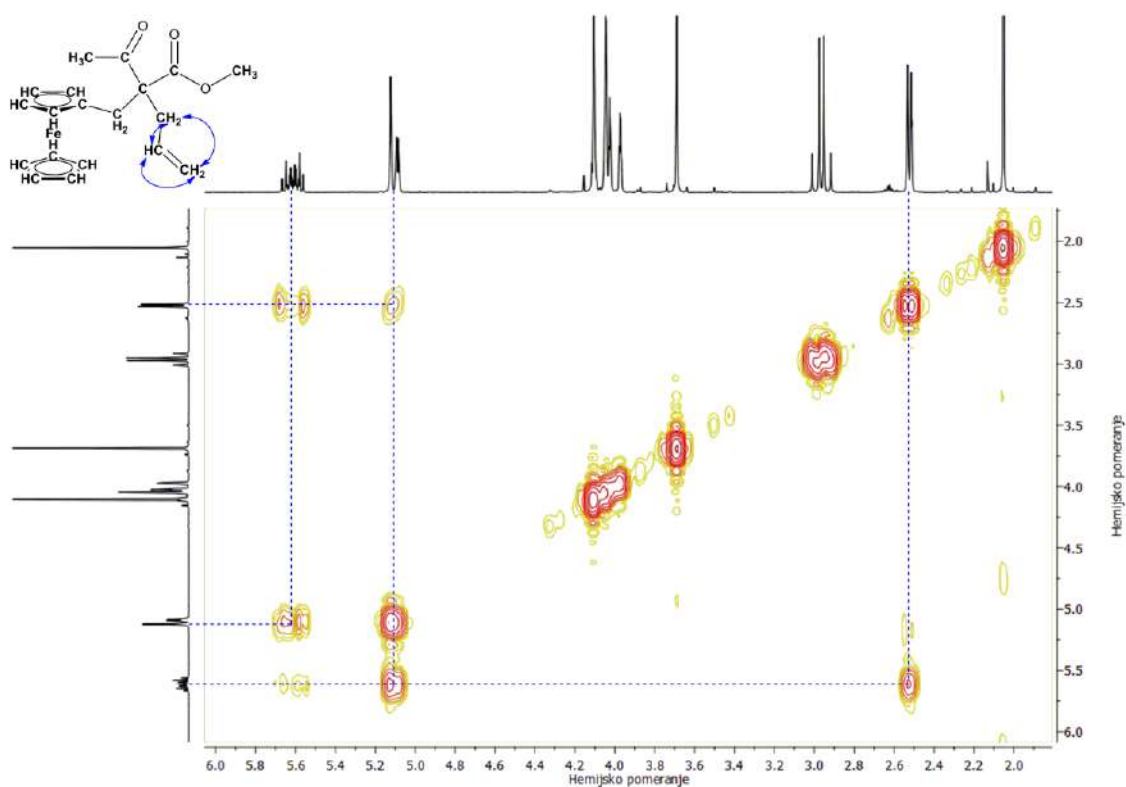
Prilog 8.4.27. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]



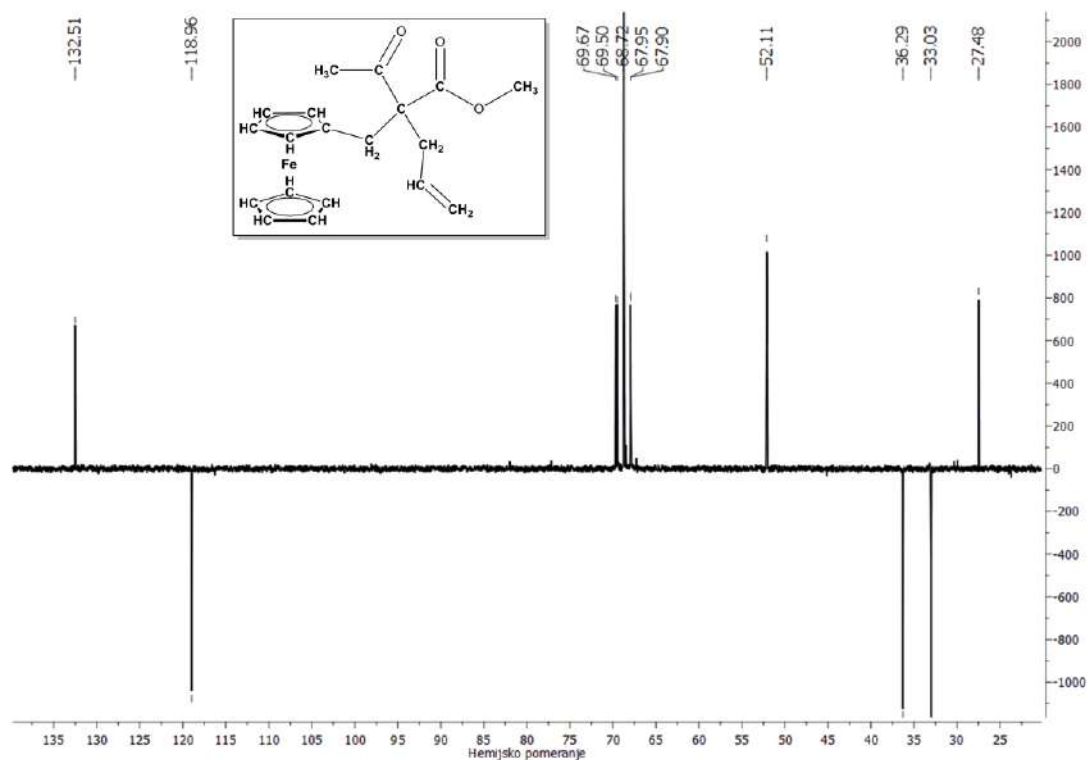
Prilog 8.4.28. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]



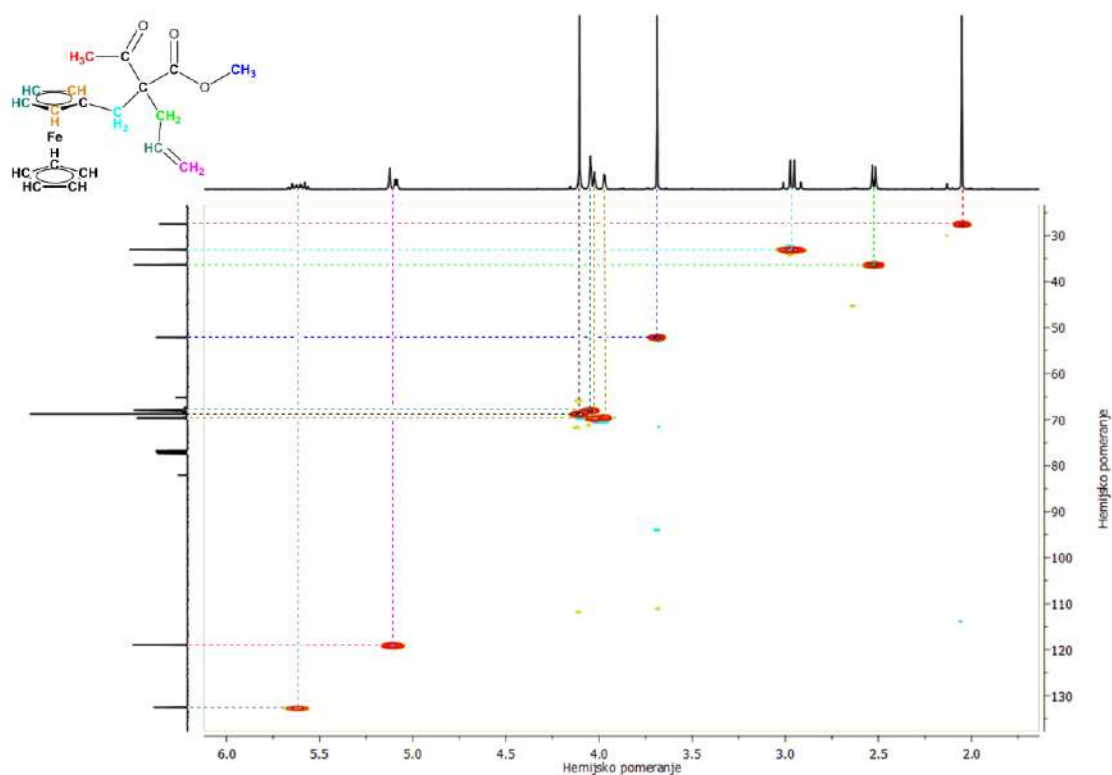
Prilog 8.4.29. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]



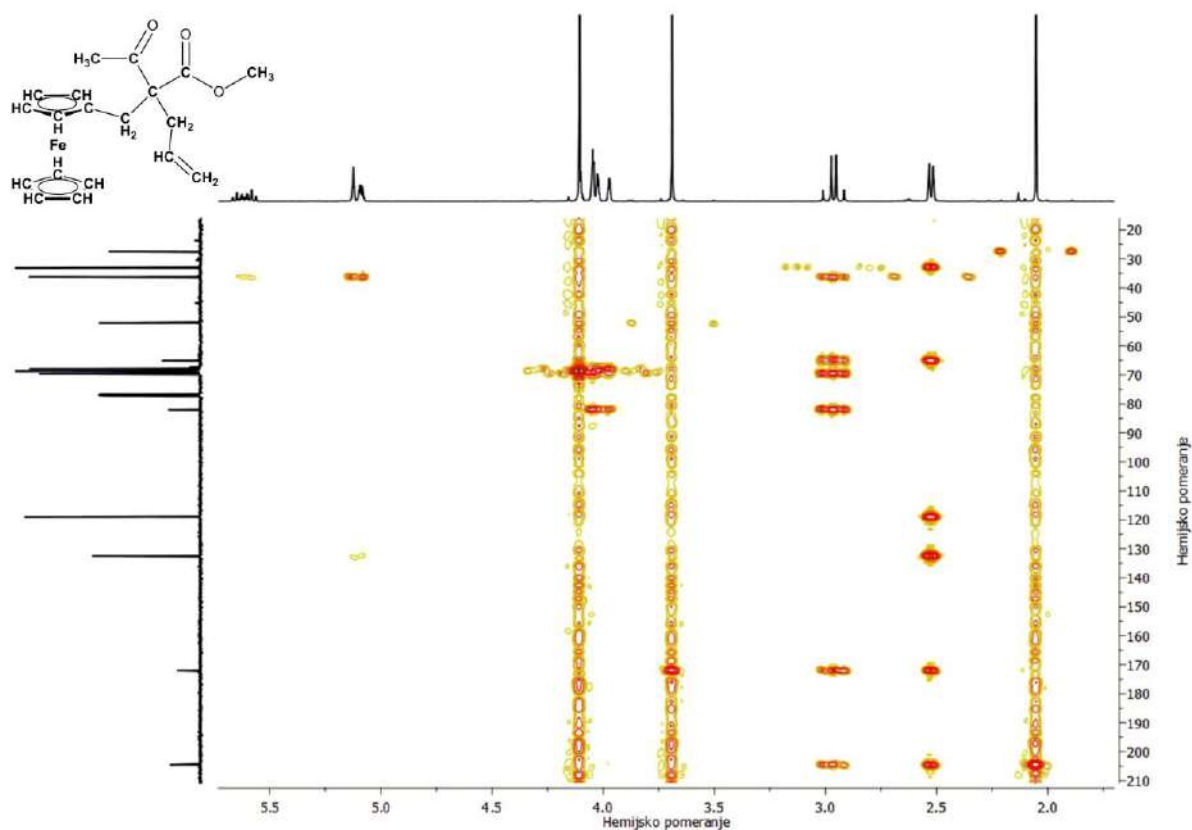
Prilog 8.4.30. DEPT spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]



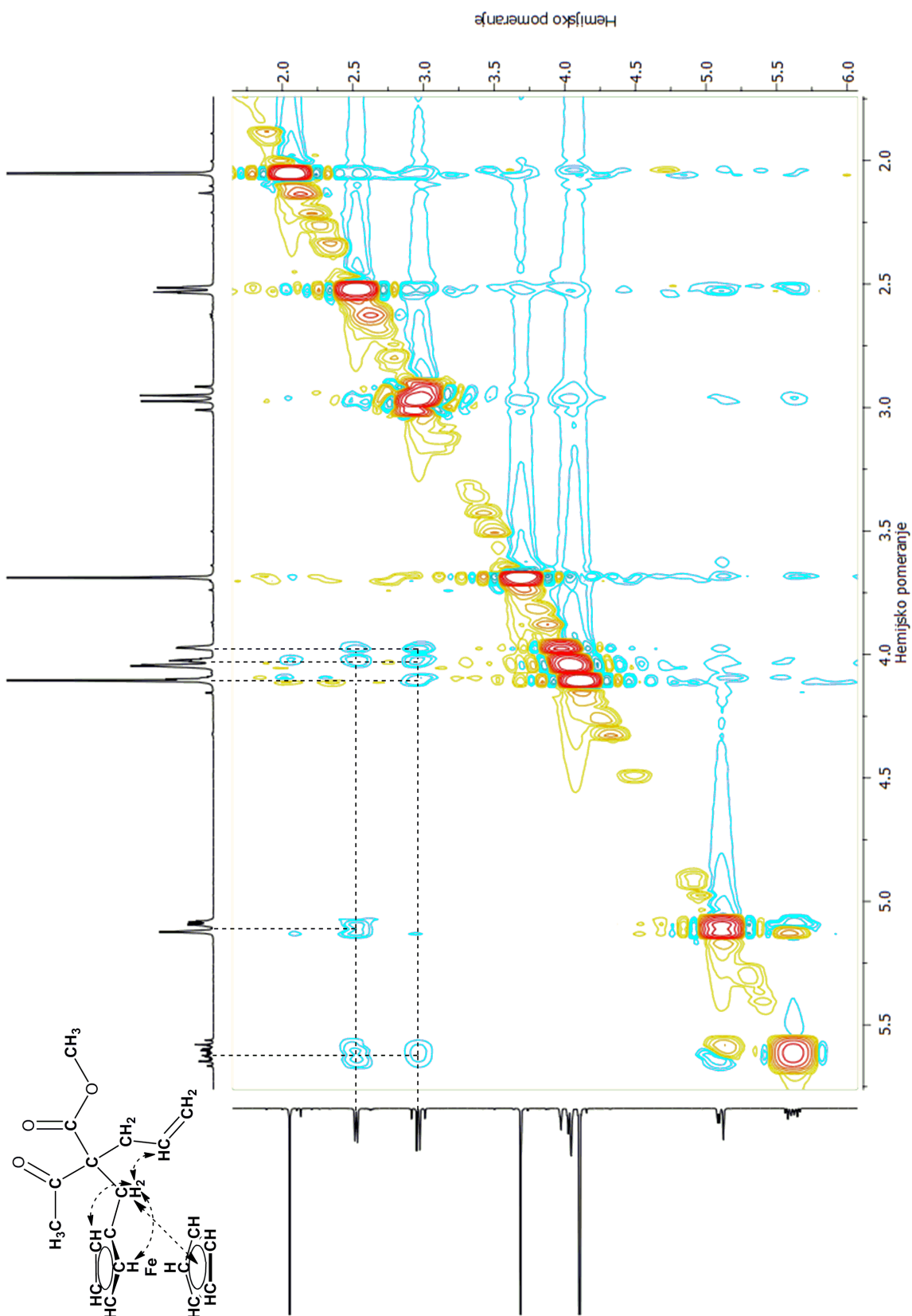
Prilog 8.4.31. HSQC spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]



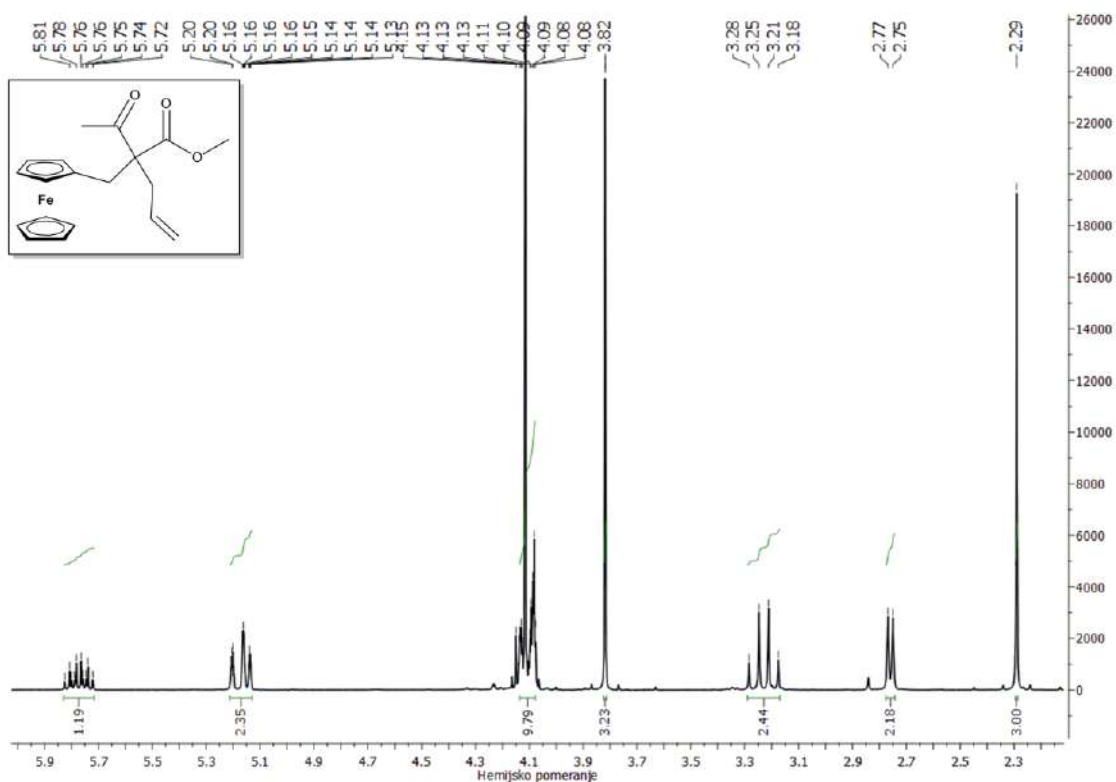
Prilog 8.4.32. HMBC spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]



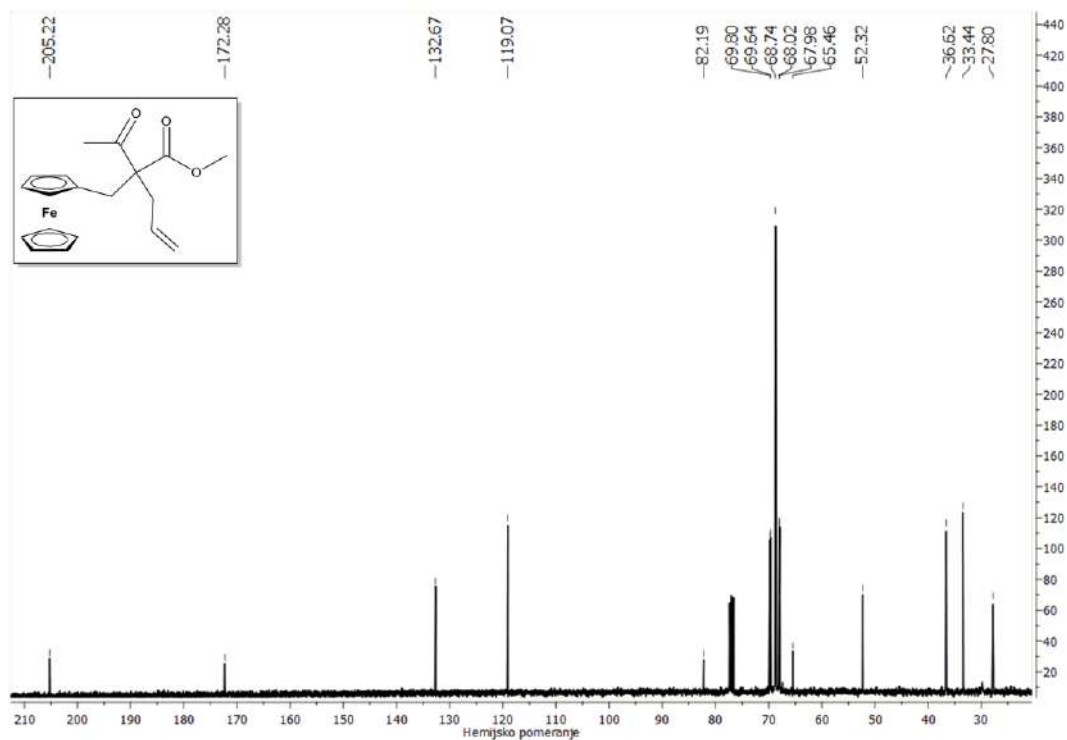
Prilog 8.4.33. NOESY spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d]



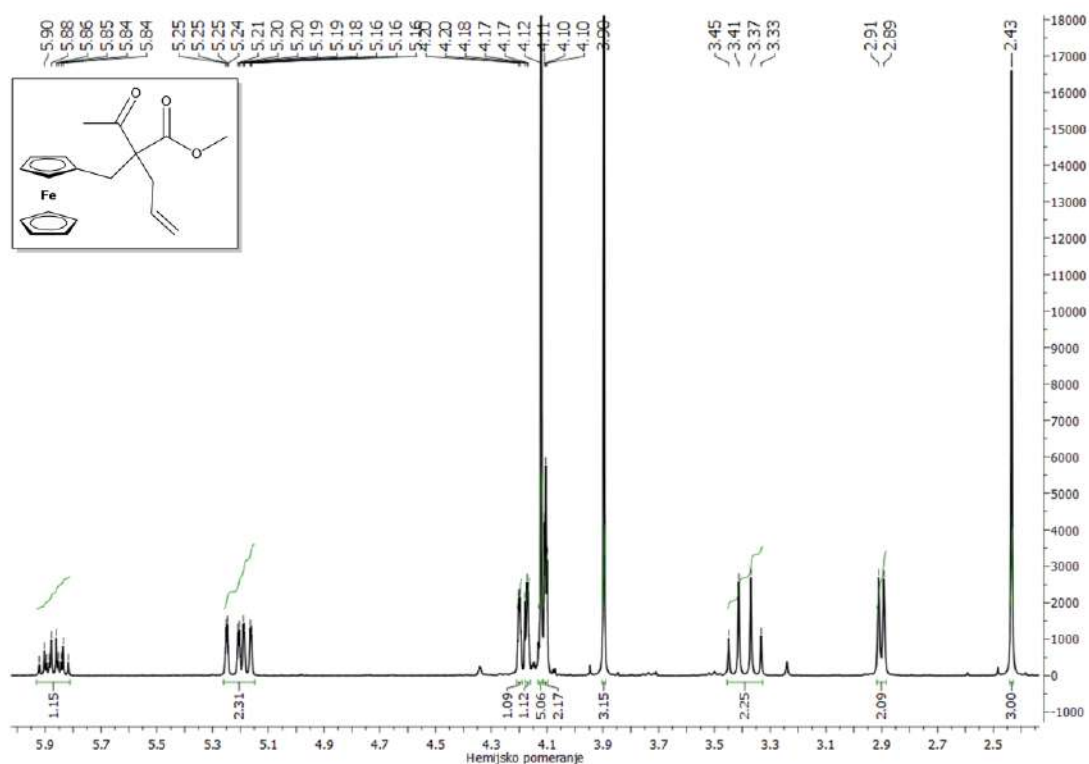
Prilog 8.4.34. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 3 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



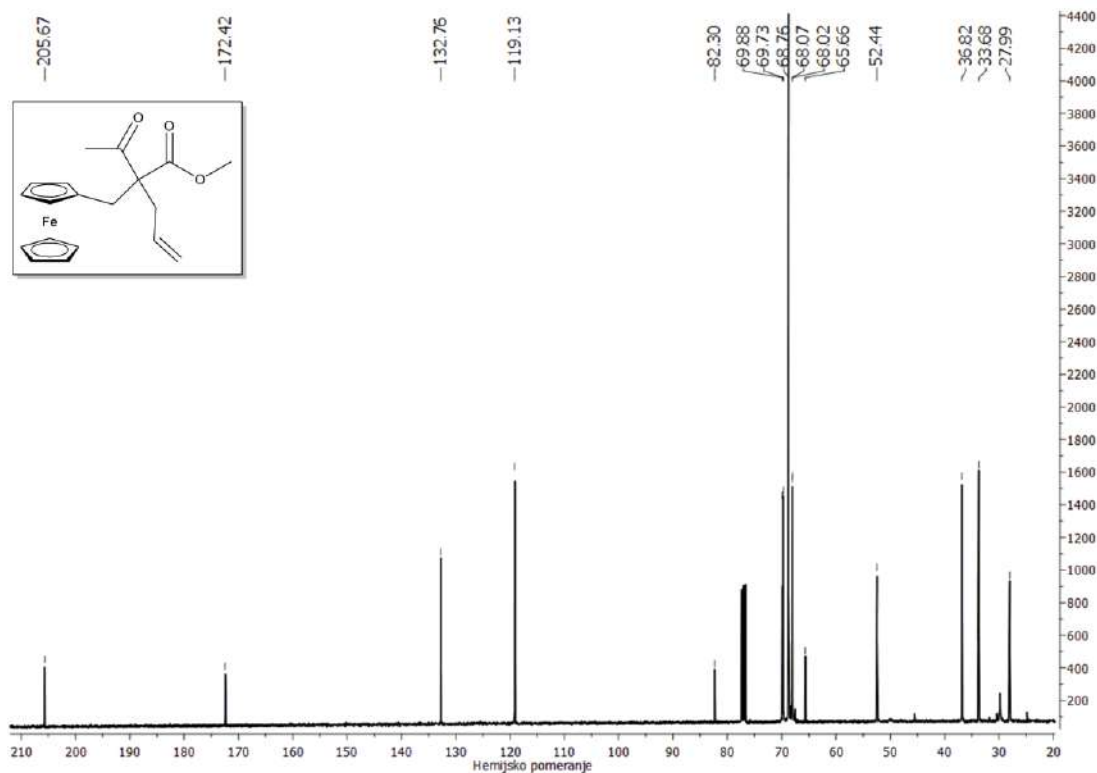
Prilog 8.4.35. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 3 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



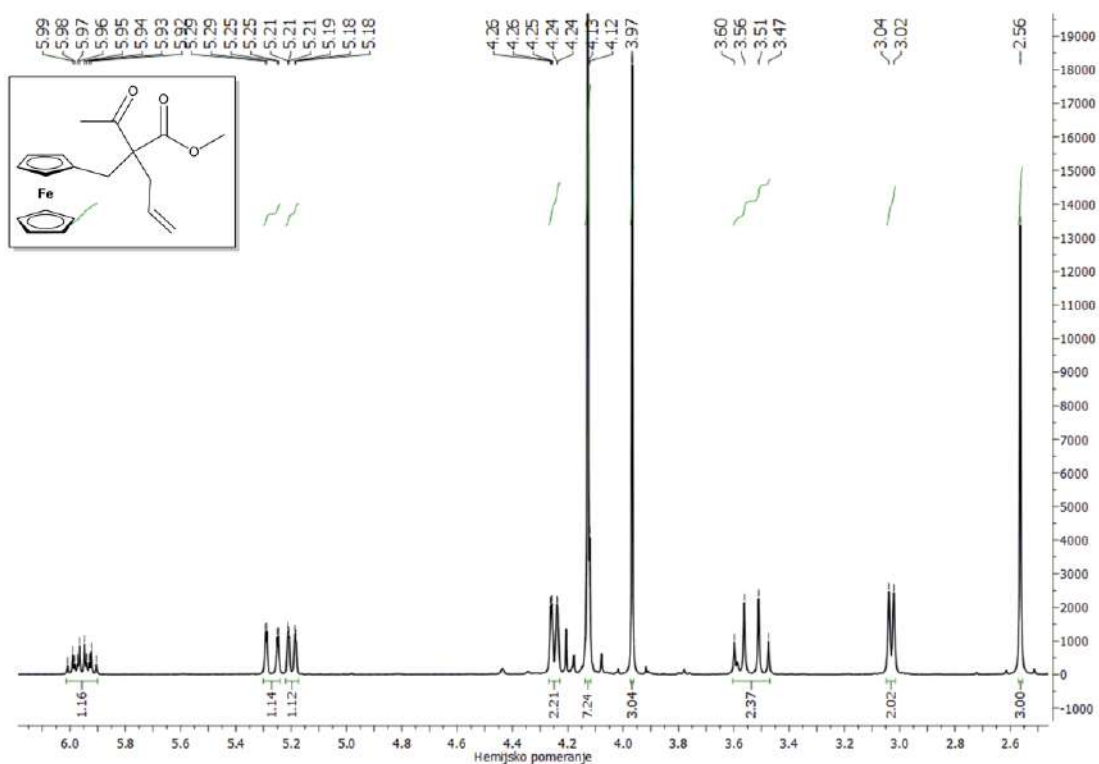
Prilog 8.4.36. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [**12d**] nakon dodavanja 6 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



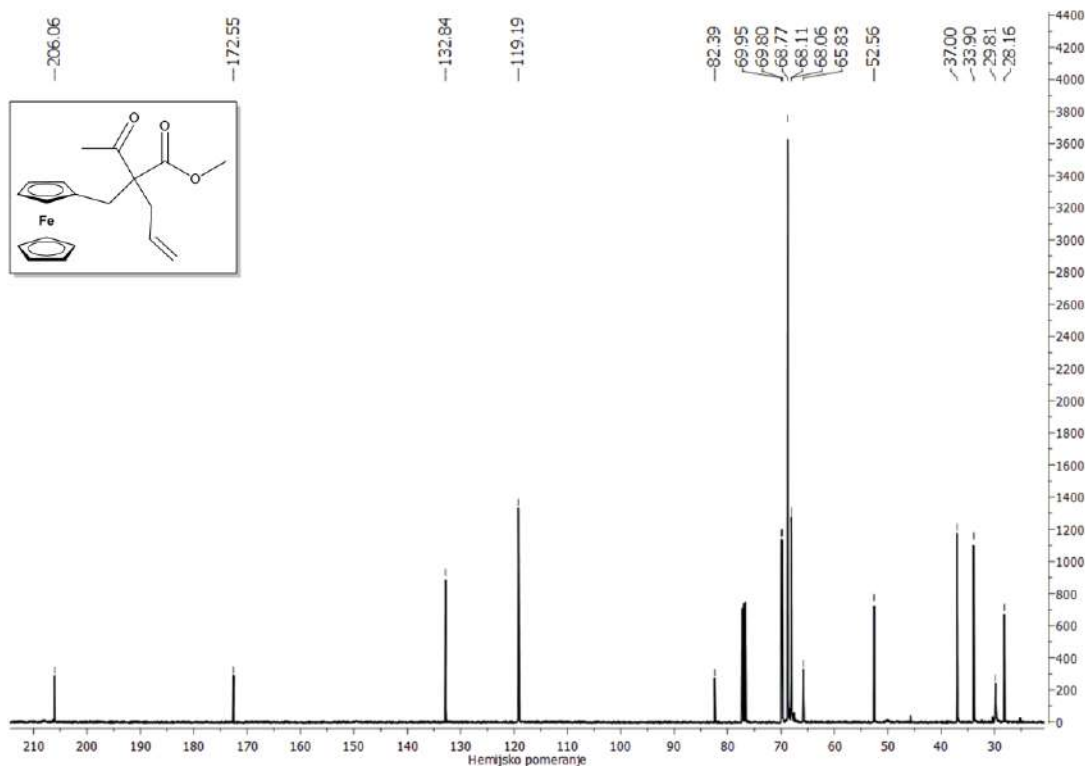
Prilog 8.4.37. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [**12d**] nakon dodavanja 6 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



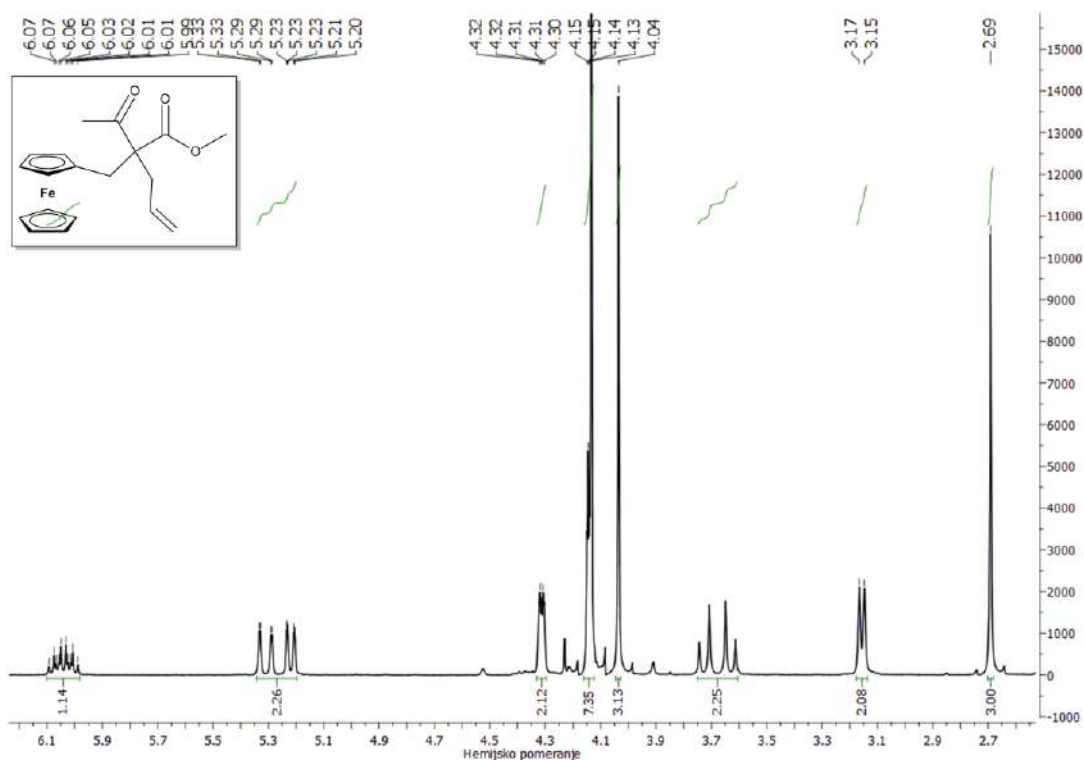
Prilog 8.4.38. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 9 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



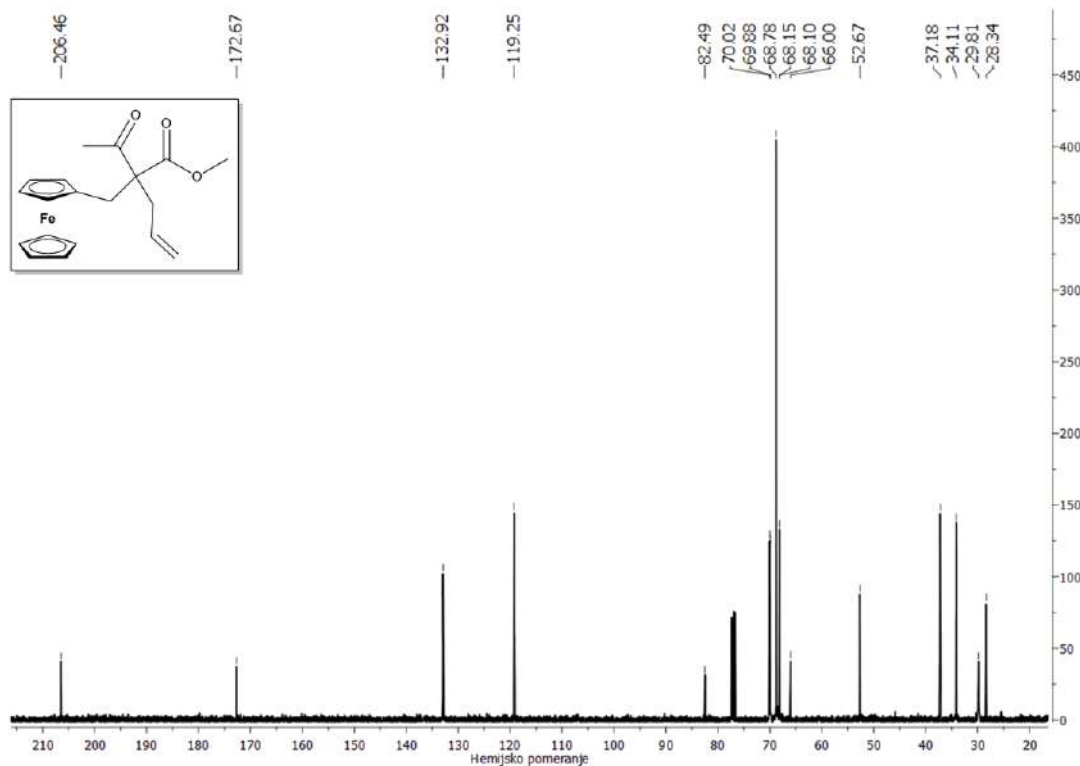
Prilog 8.4.39. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 9 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



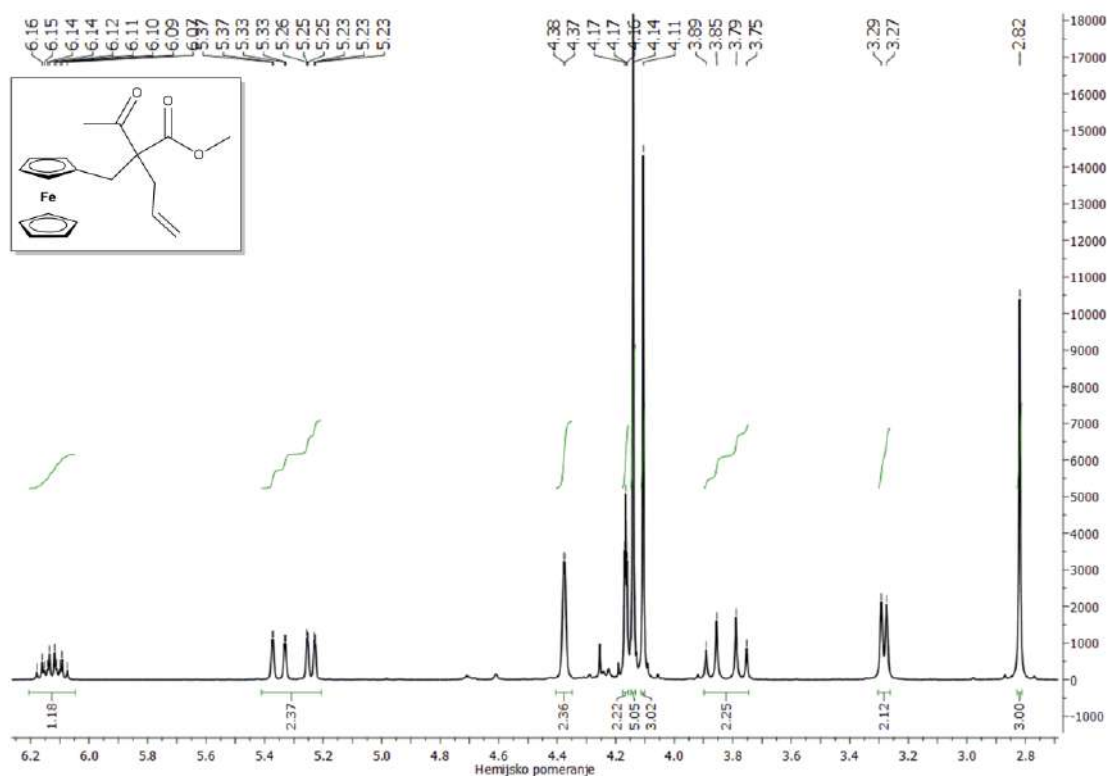
Prilog 8.4.40. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [**12d**] nakon dodavanja 12 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



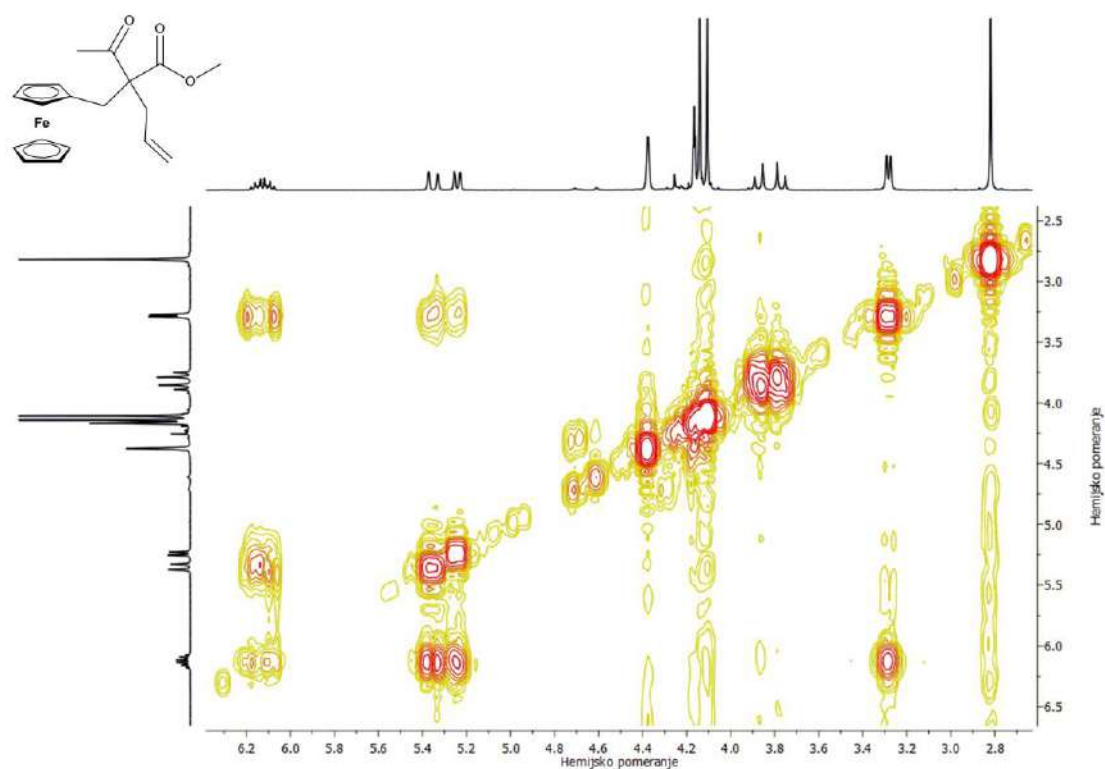
Prilog 8.4.41. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [**12d**] nakon dodavanja 12 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



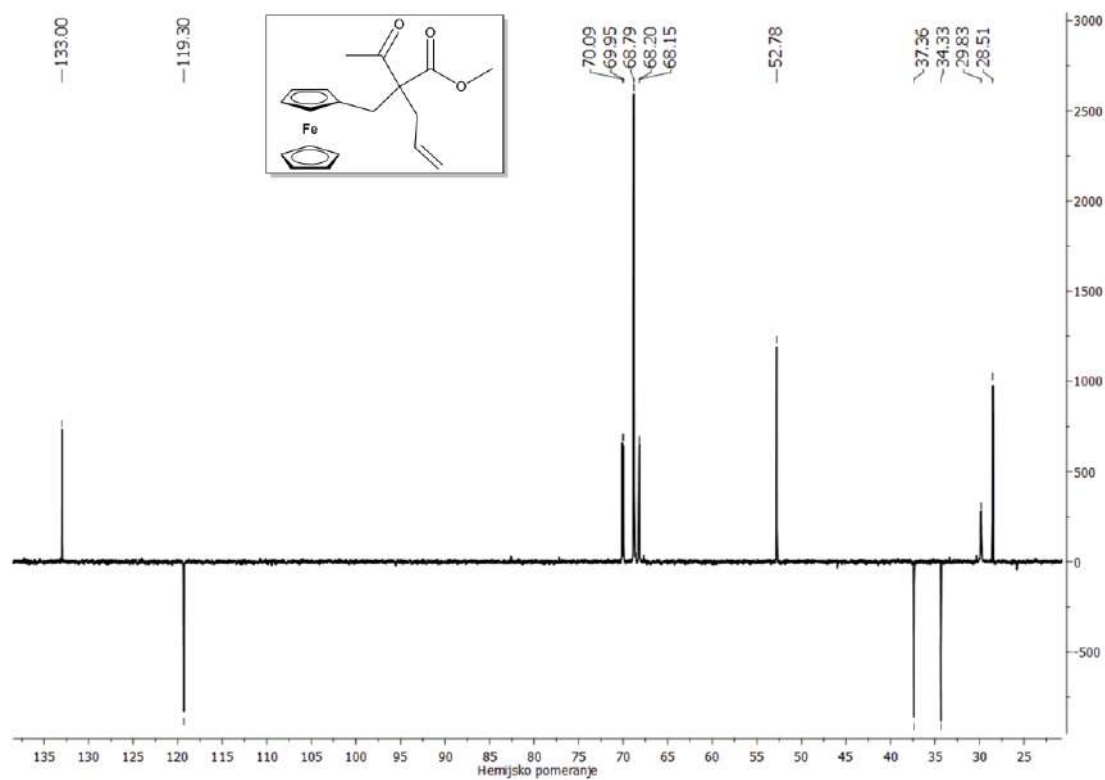
Prilog 8.4.42. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [**12d**] nakon dodavanja 15 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



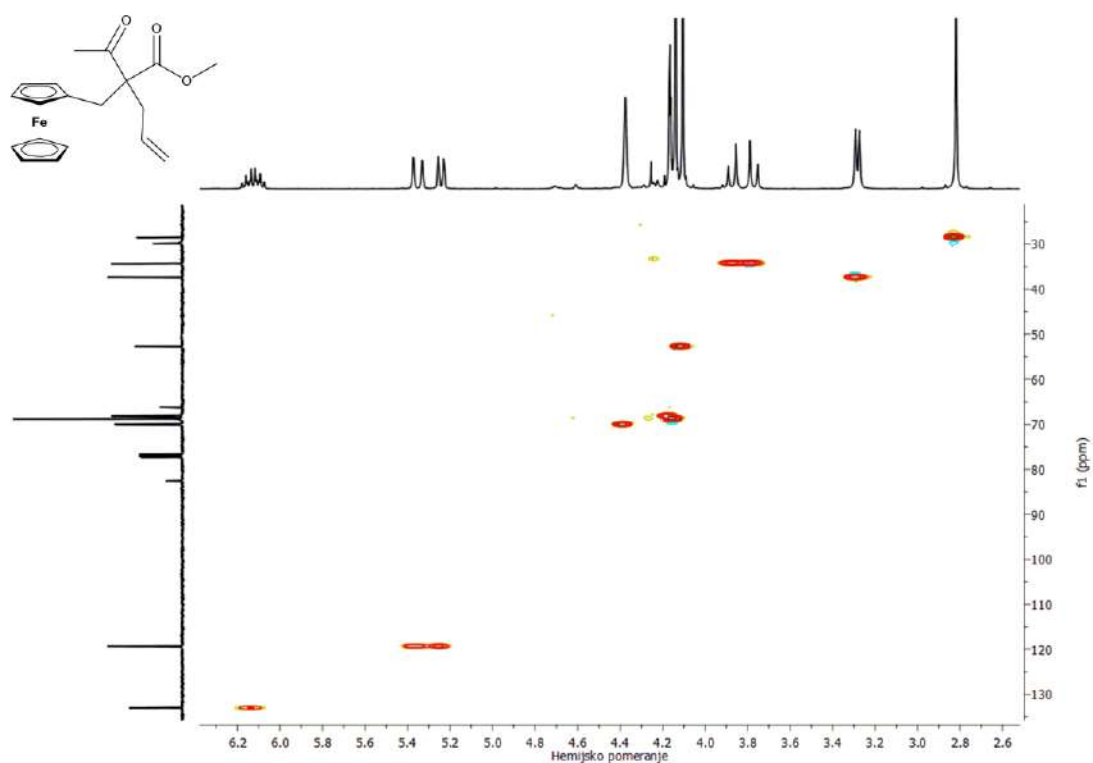
Prilog 8.4.44. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 15 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



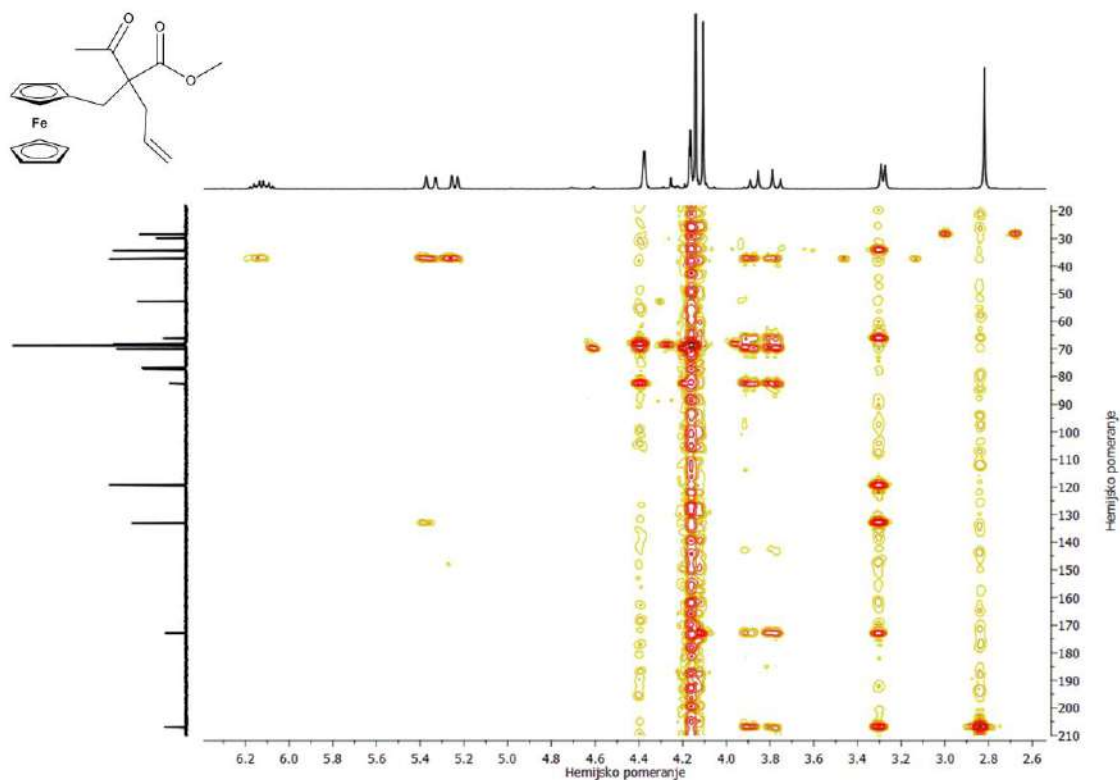
Prilog 8.4.45. DEPT spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 15 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



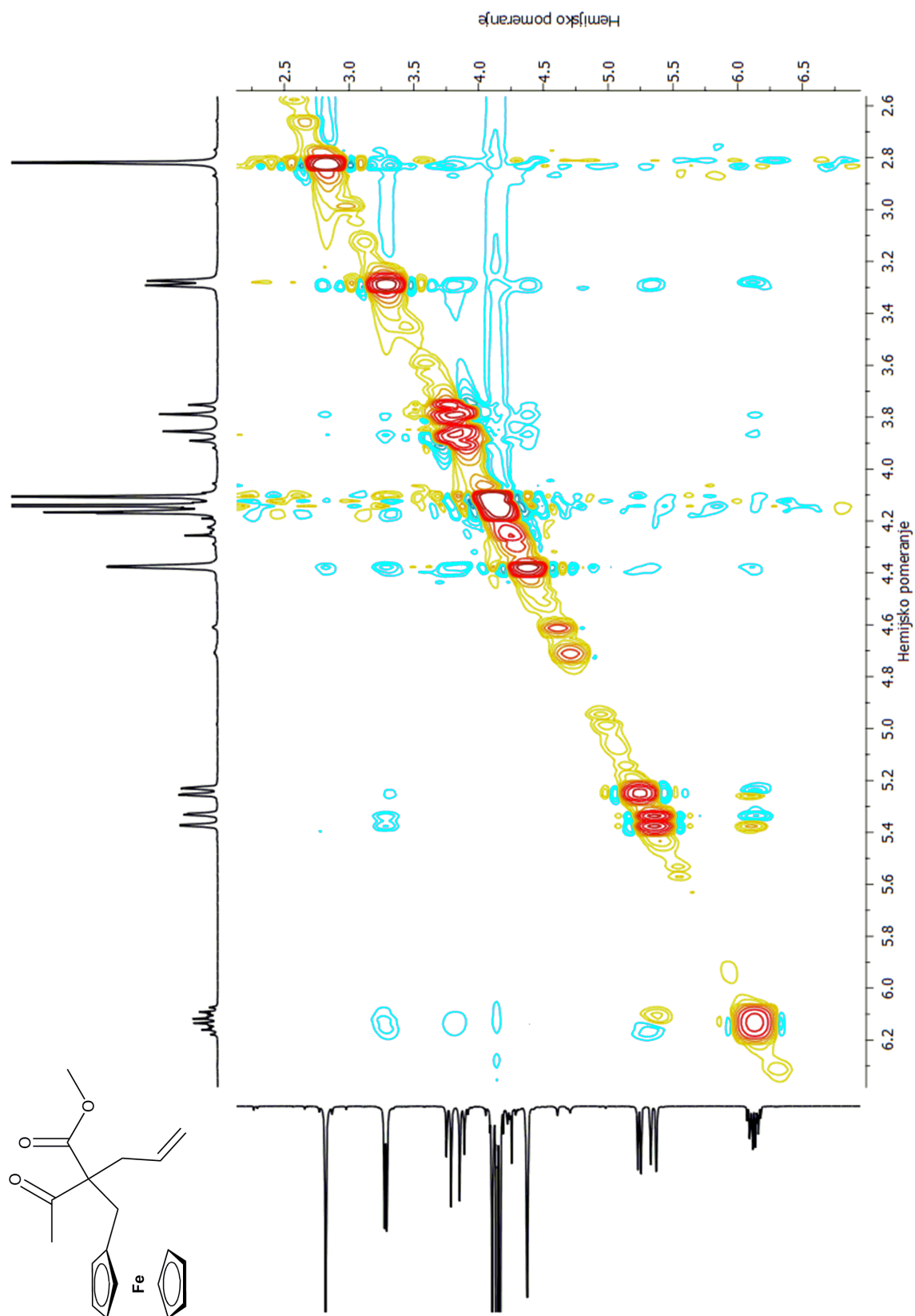
Prilog 8.4.46. HSQC spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata **[12d]** nakon dodavanja 15 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



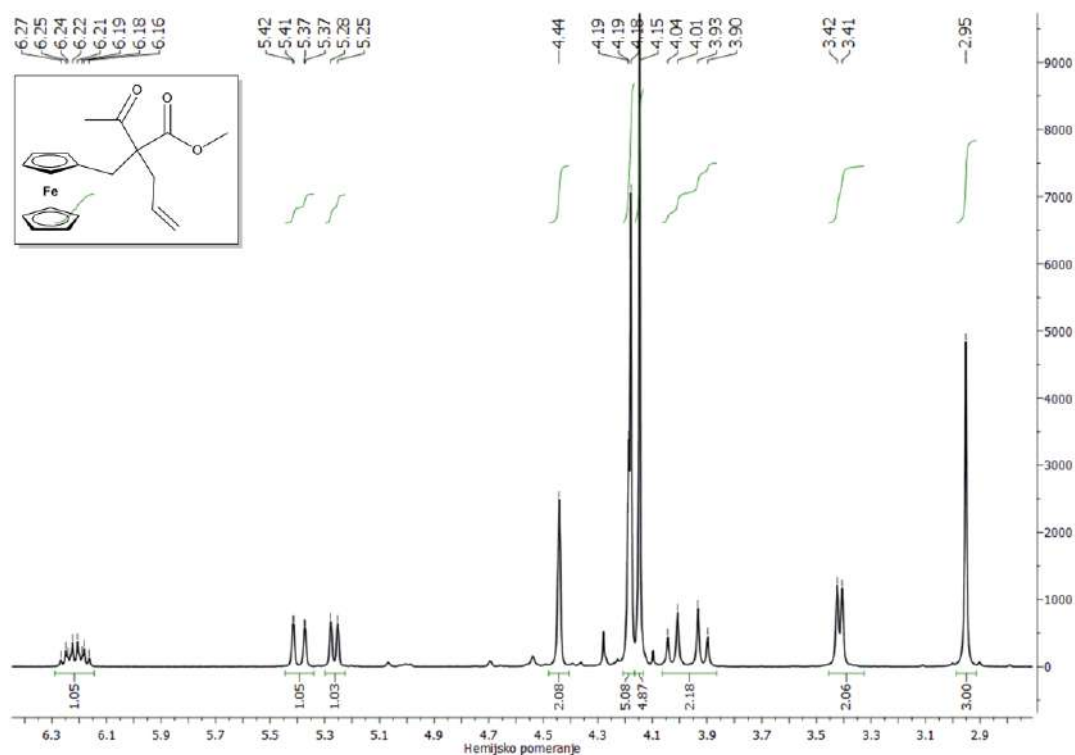
Prilog 8.4.47. HMBC spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata **[12d]** nakon dodavanja 15 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



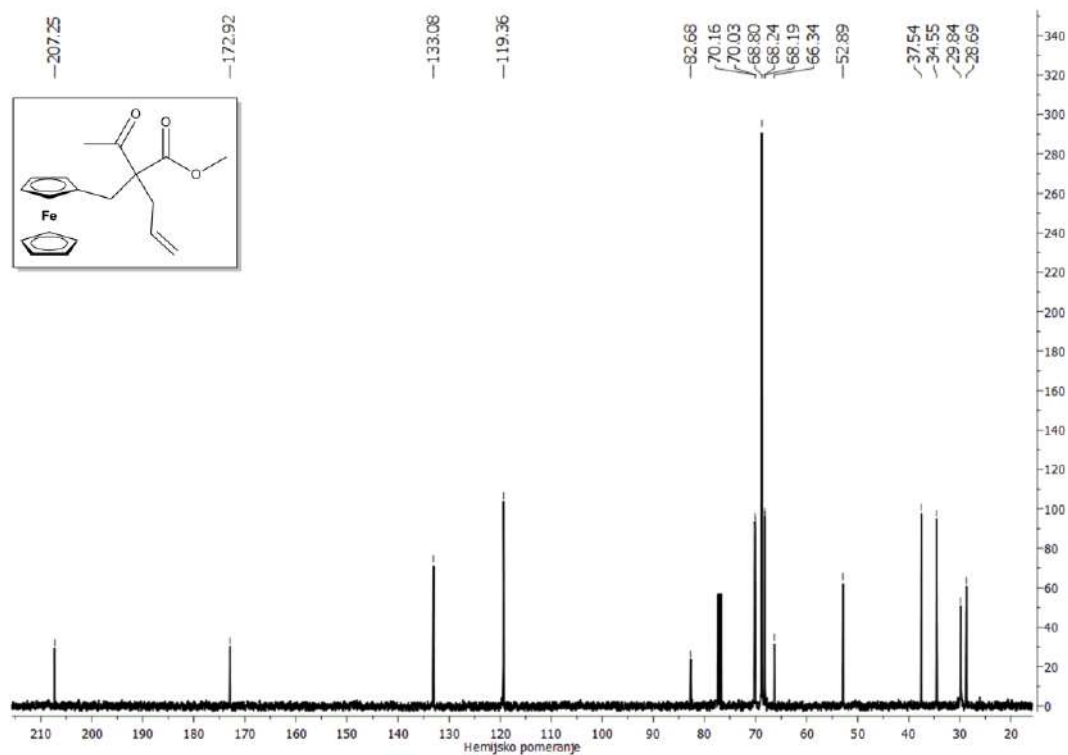
Prilog 8.4.48. NOESY spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 15 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



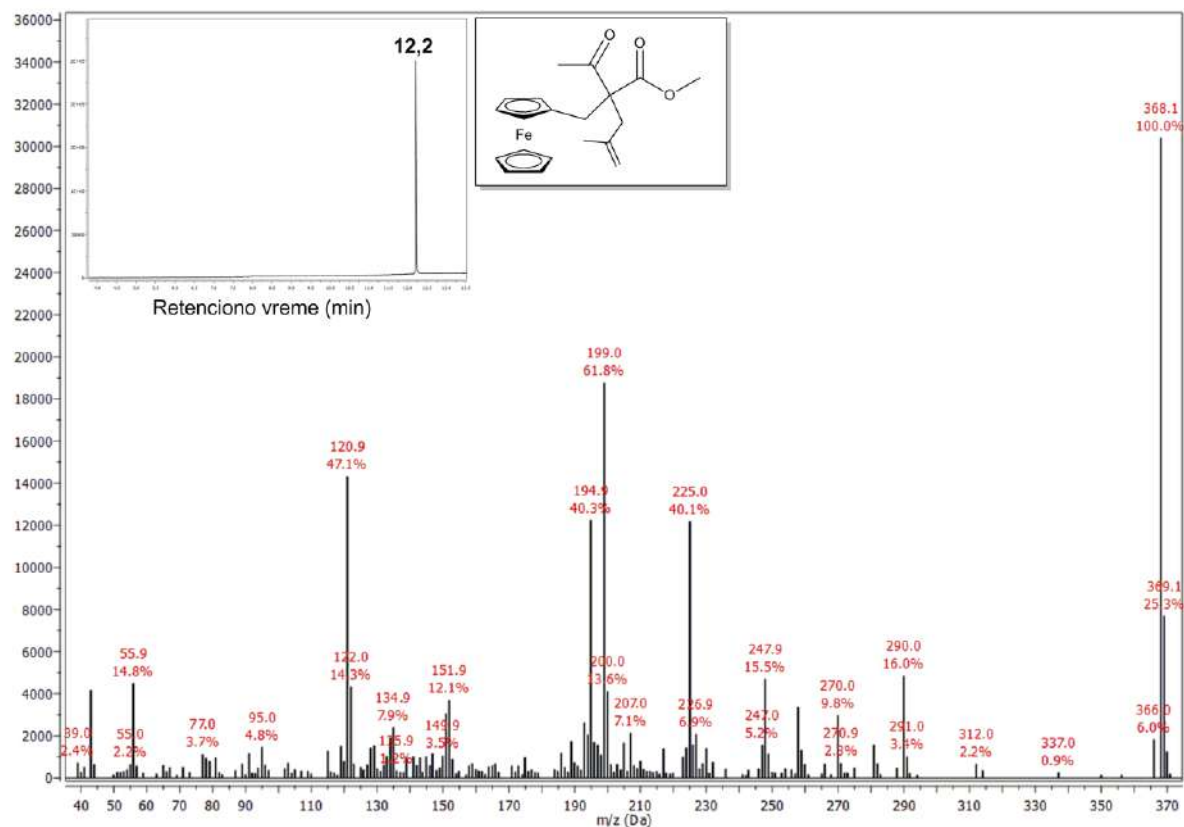
Prilog 8.4.49. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 18 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



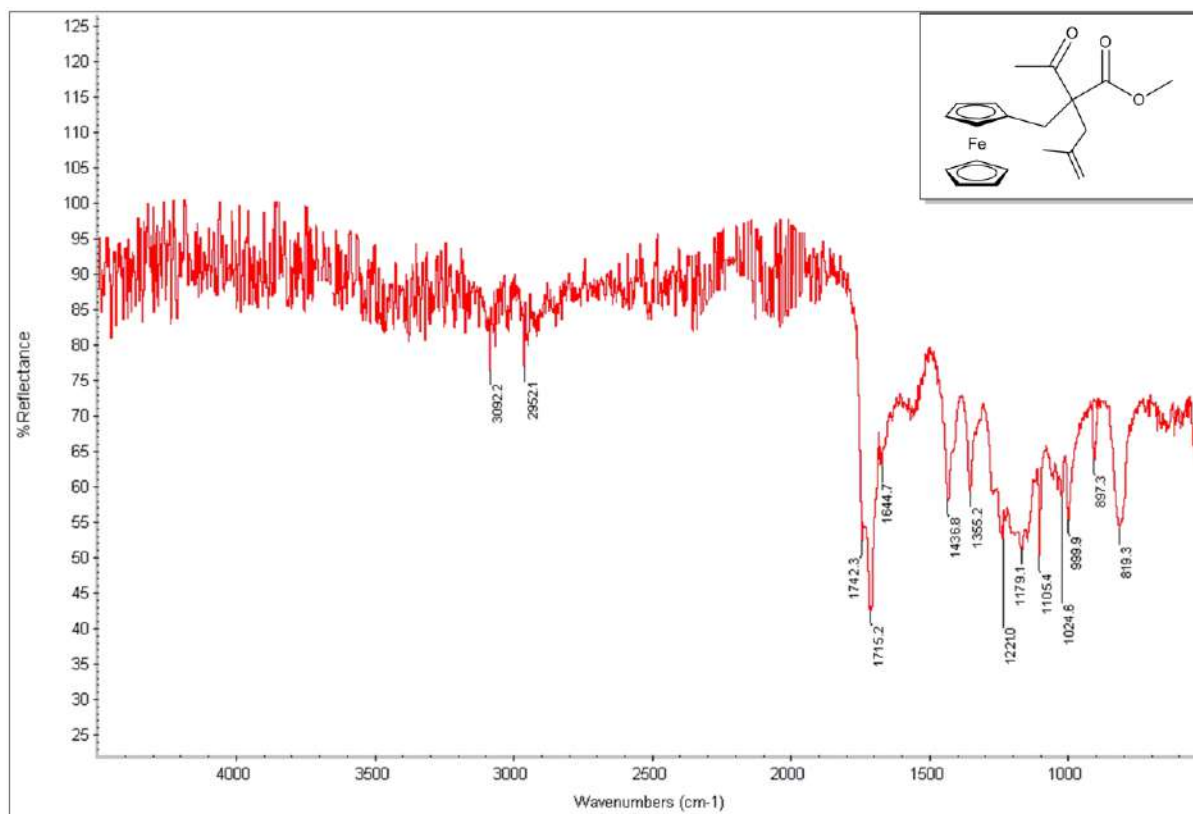
Prilog 8.4.50. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)pent-4-enoata [12d] nakon dodavanja 18 mg reagensa hemijskog pomeranja ($\text{Eu}(\text{fod})_3$)



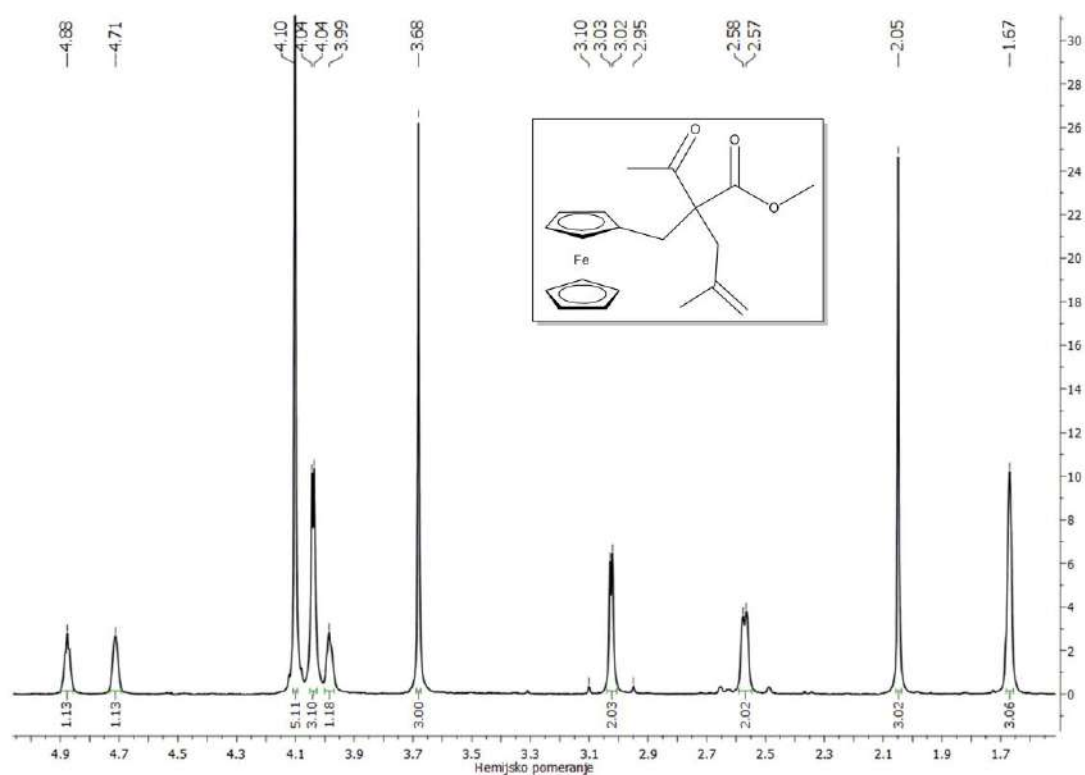
Prilog 8.4.51. Maseni spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-4-metilpent-4-enoata [12e]



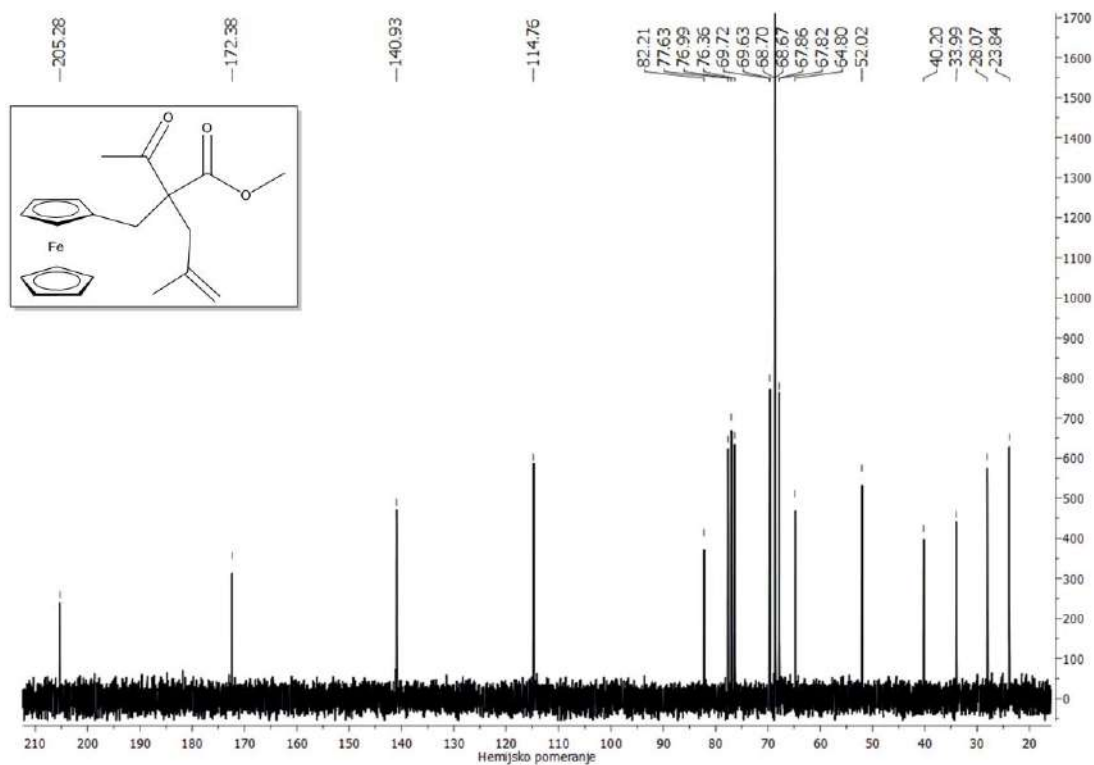
Prilog 8.4.52. IR spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-4-metilpent-4-enoata [12e]



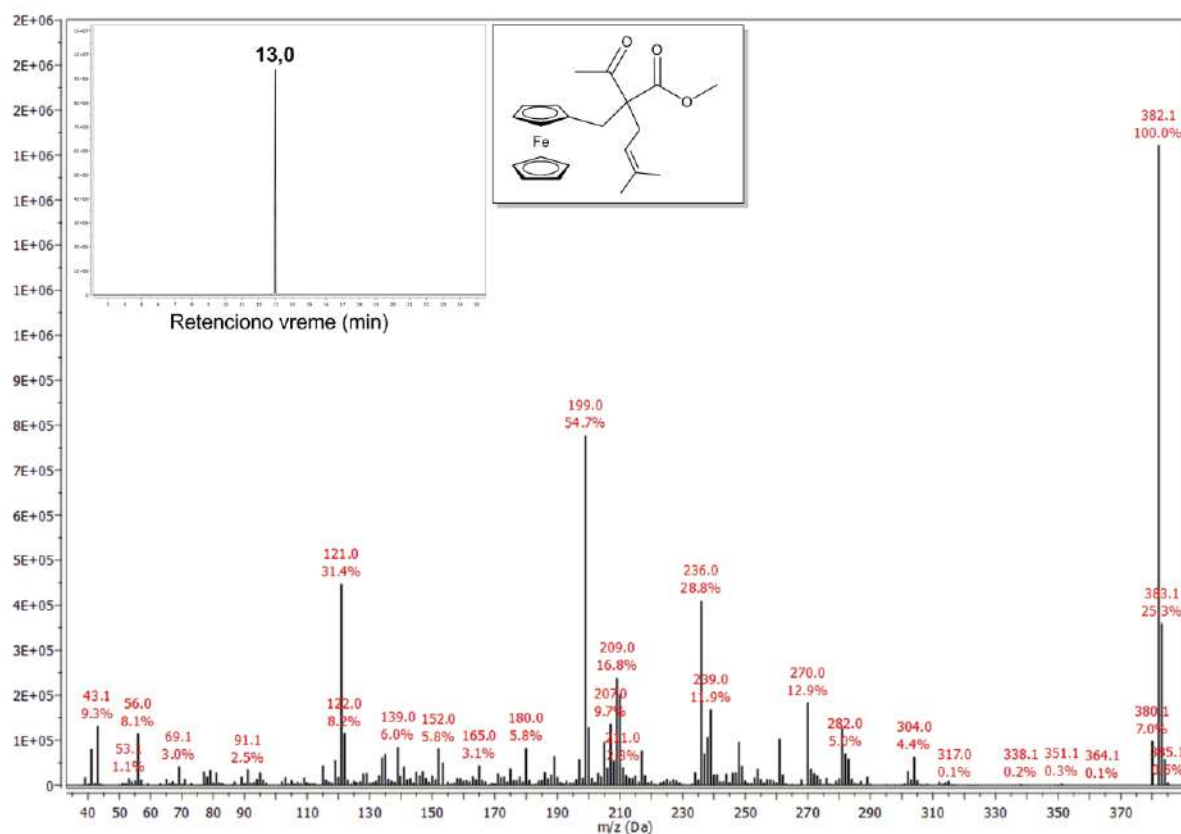
Prilog 8.4.53. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-4-metilpent-4-enoata [12e]



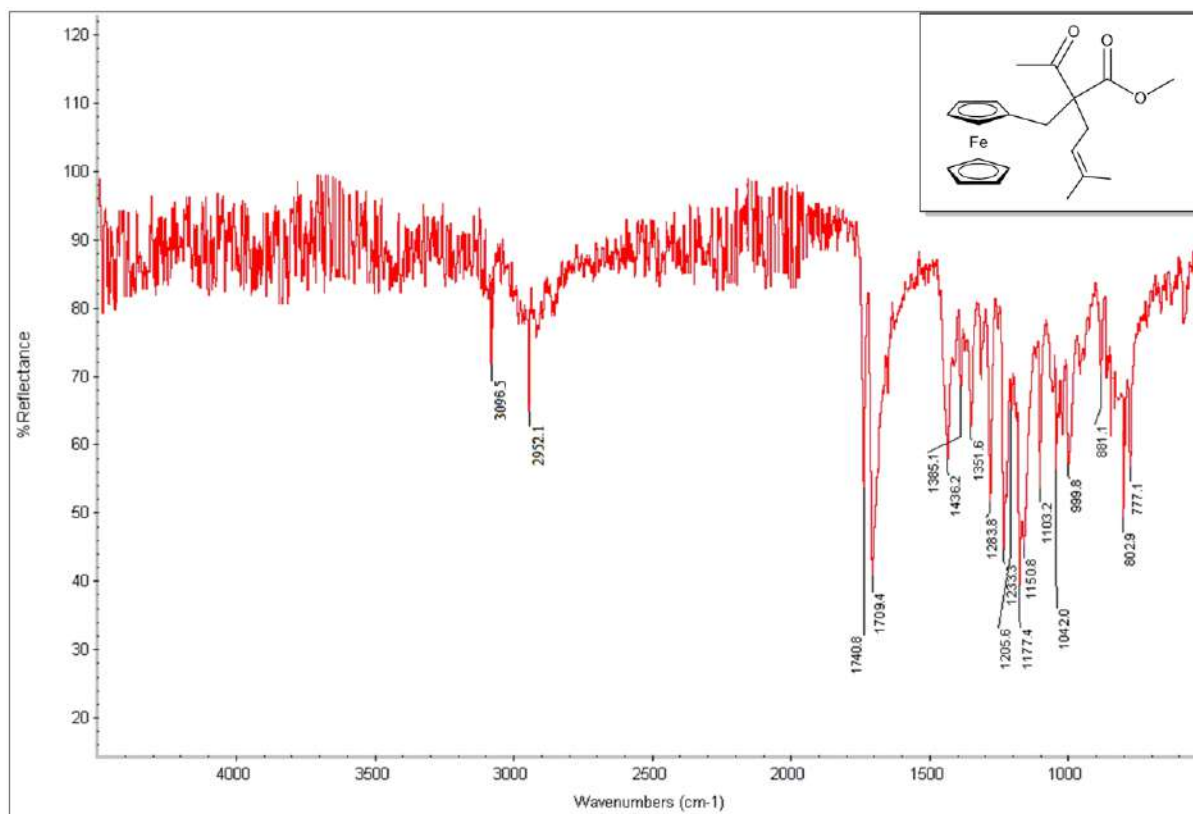
Prilog 8.4.54. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-4-metilpent-4-enoata [12e]



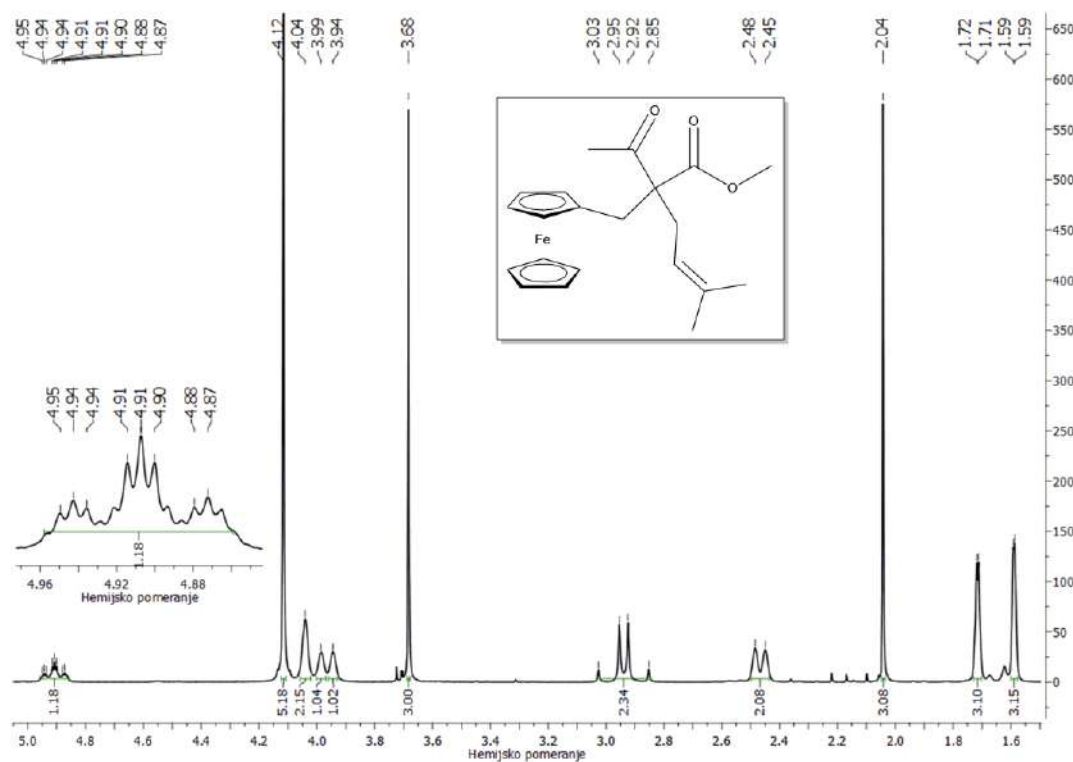
Prilog 8.4.55. Maseni spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]



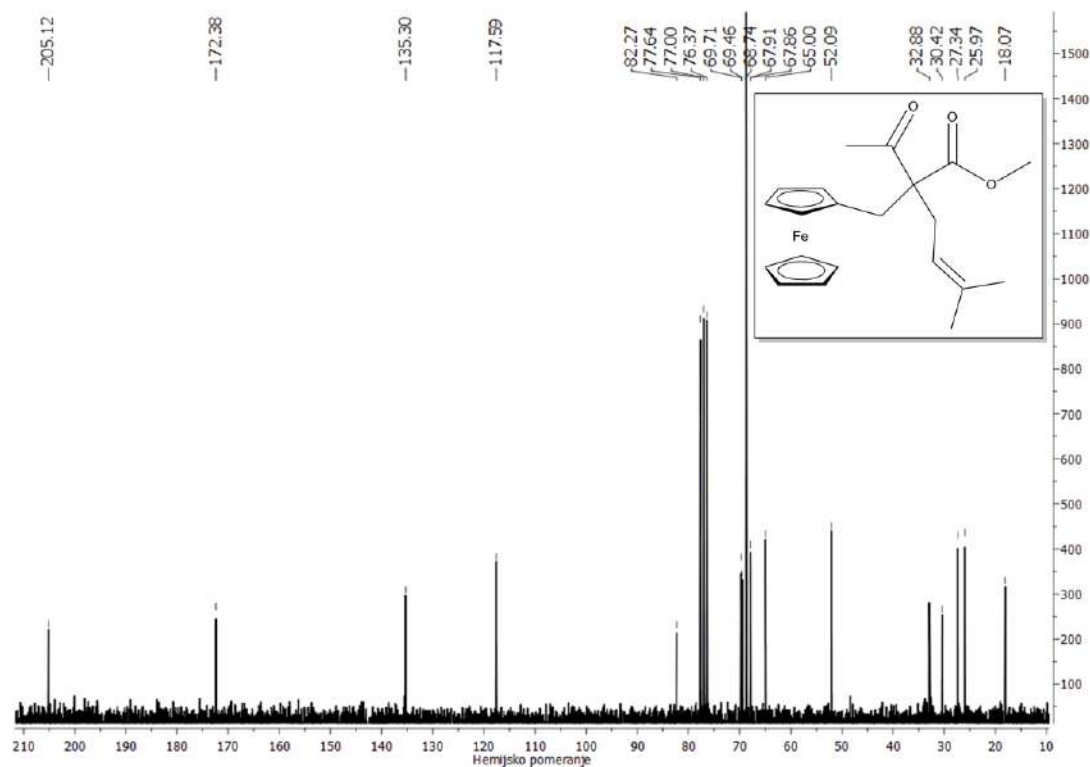
Prilog 8.4.56. IR spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]



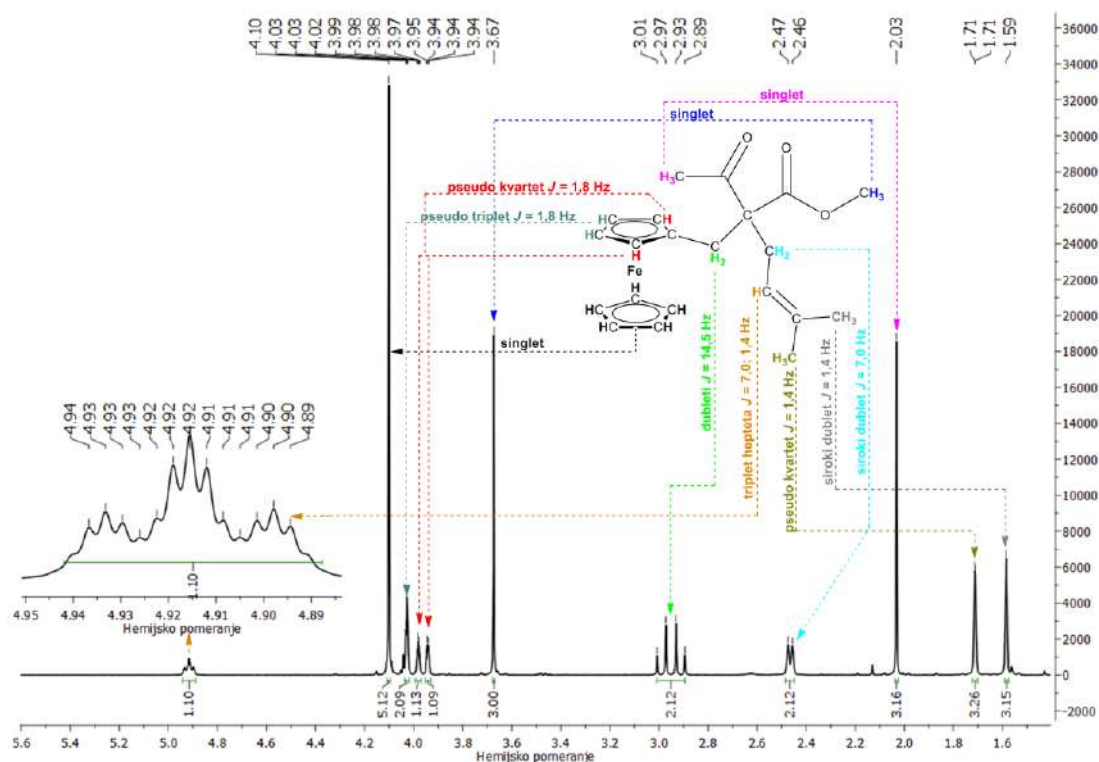
Prilog 8.4.57. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]



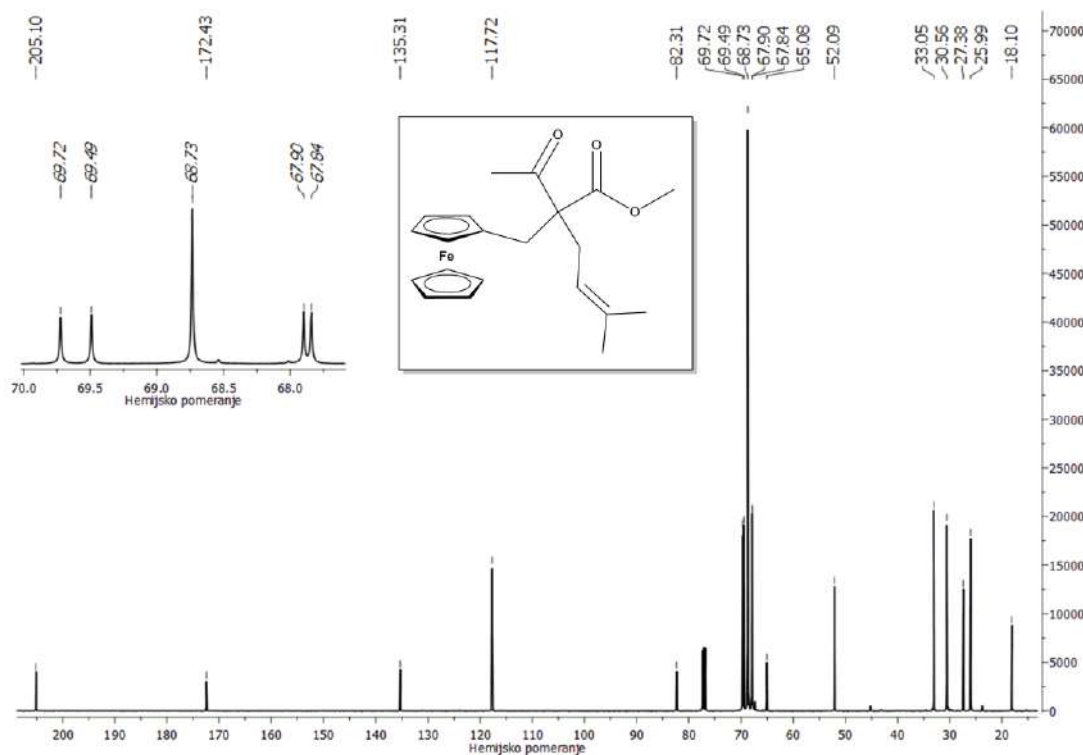
Prilog 8.4.58. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]



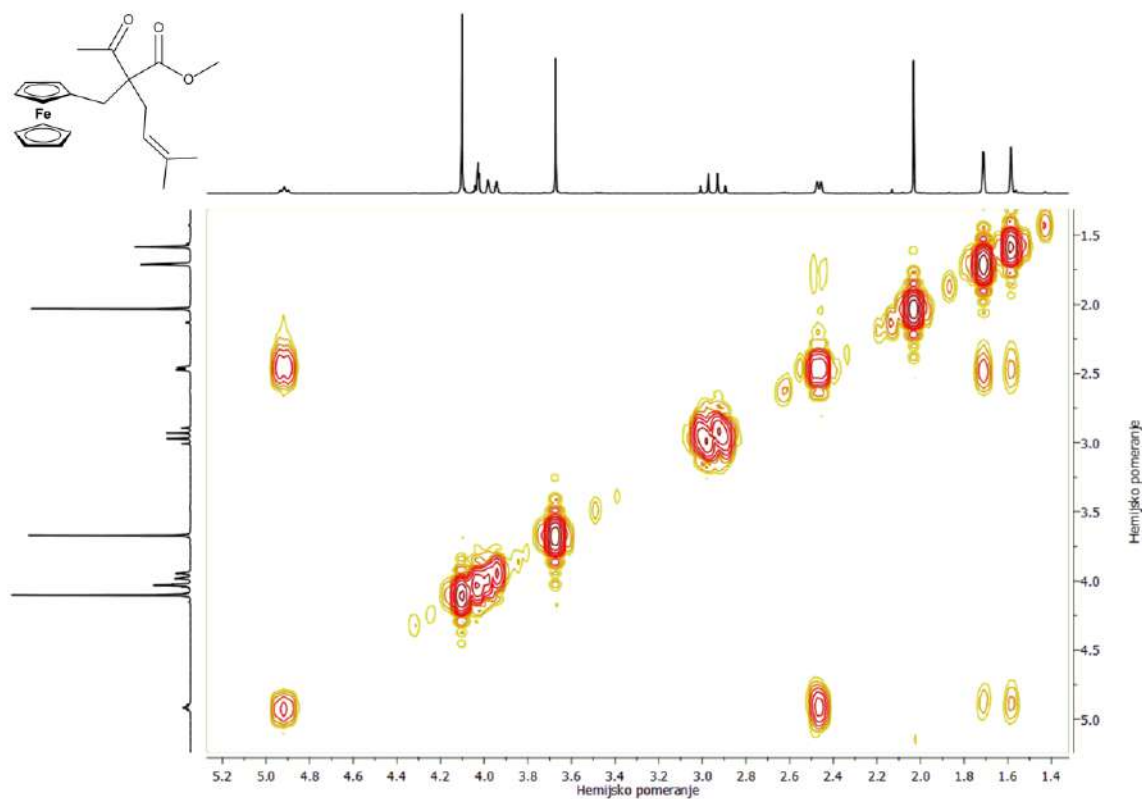
Prilog 8.4.59. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]



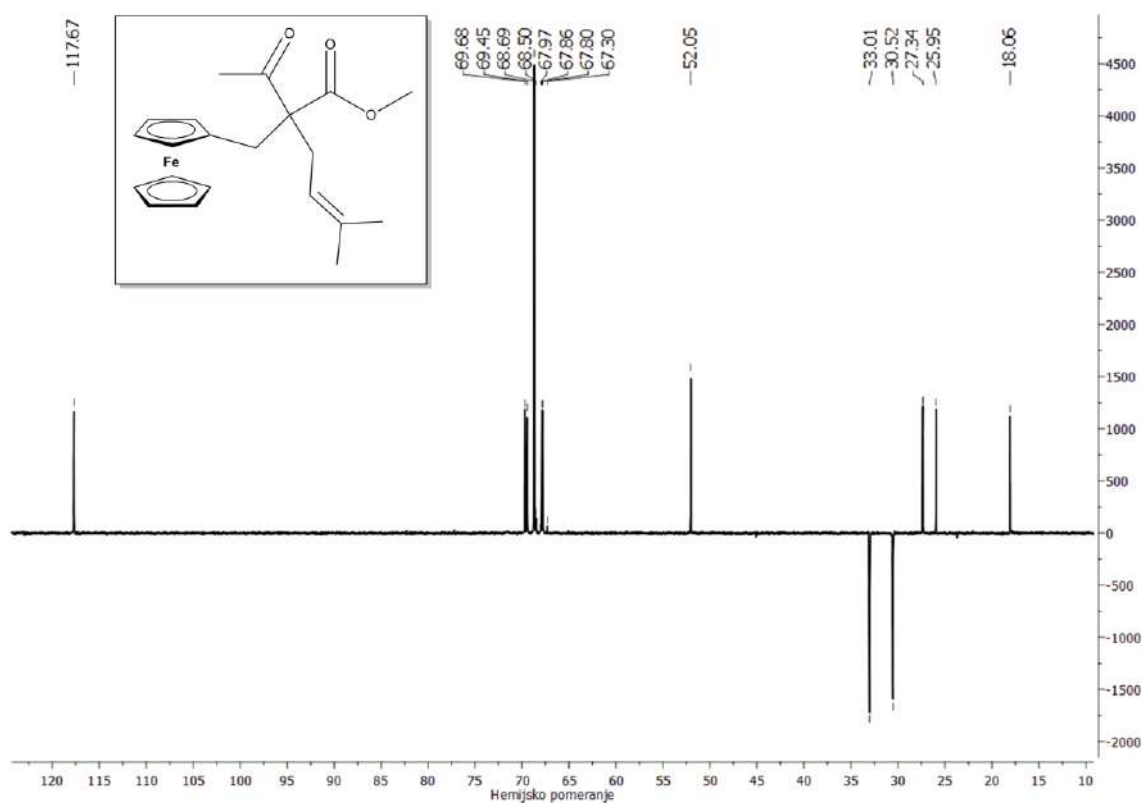
Prilog 8.4.60. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]



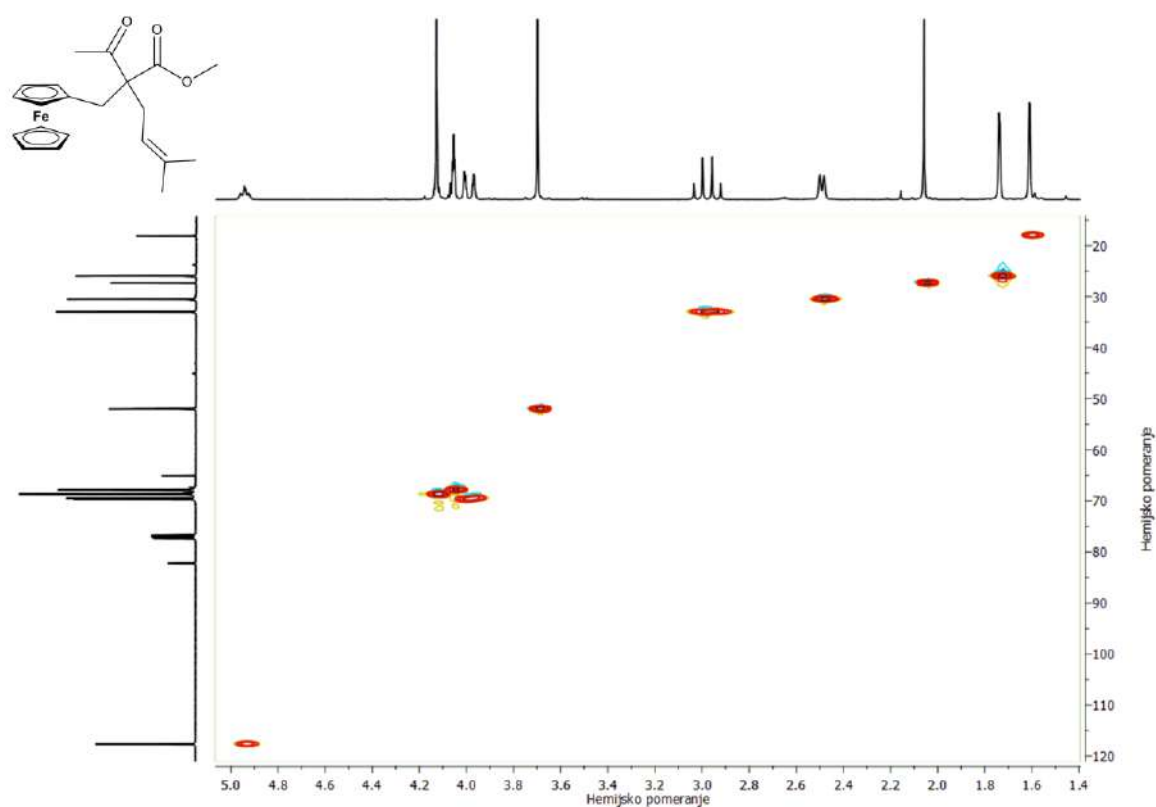
Prilog 8.4.61. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]



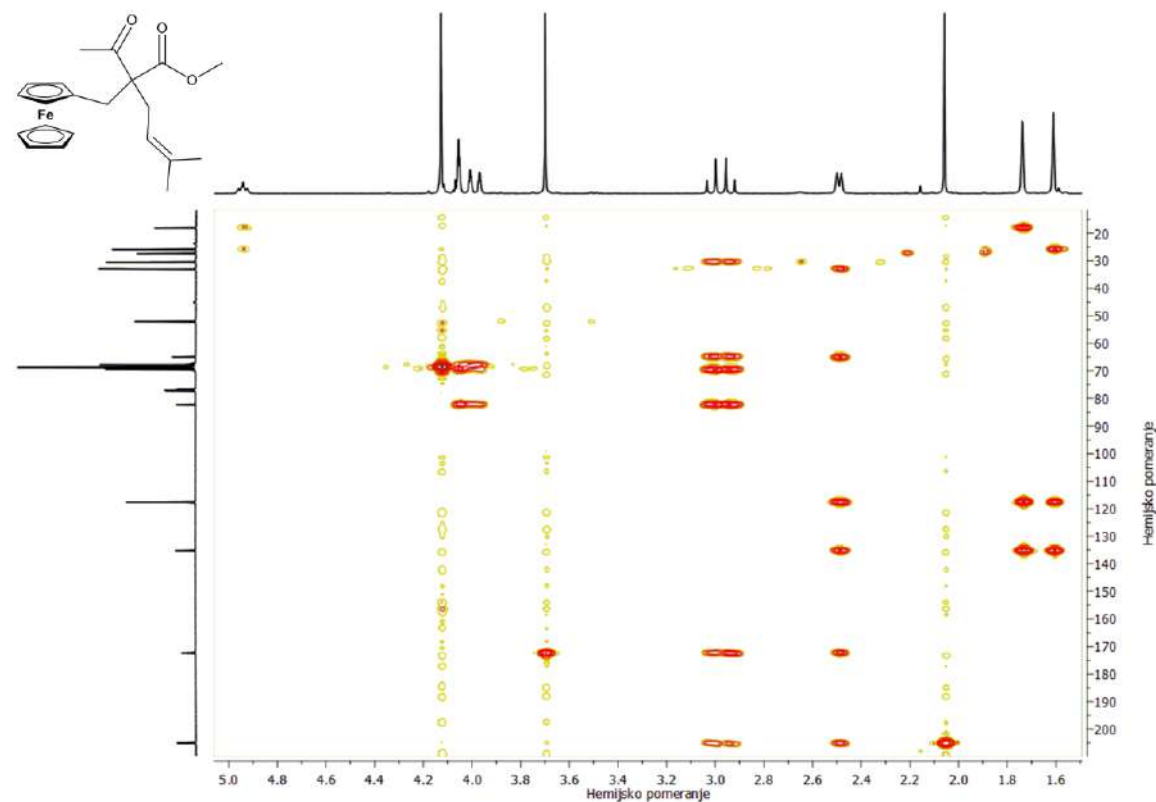
Prilog 8.4.62. DEPT spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]



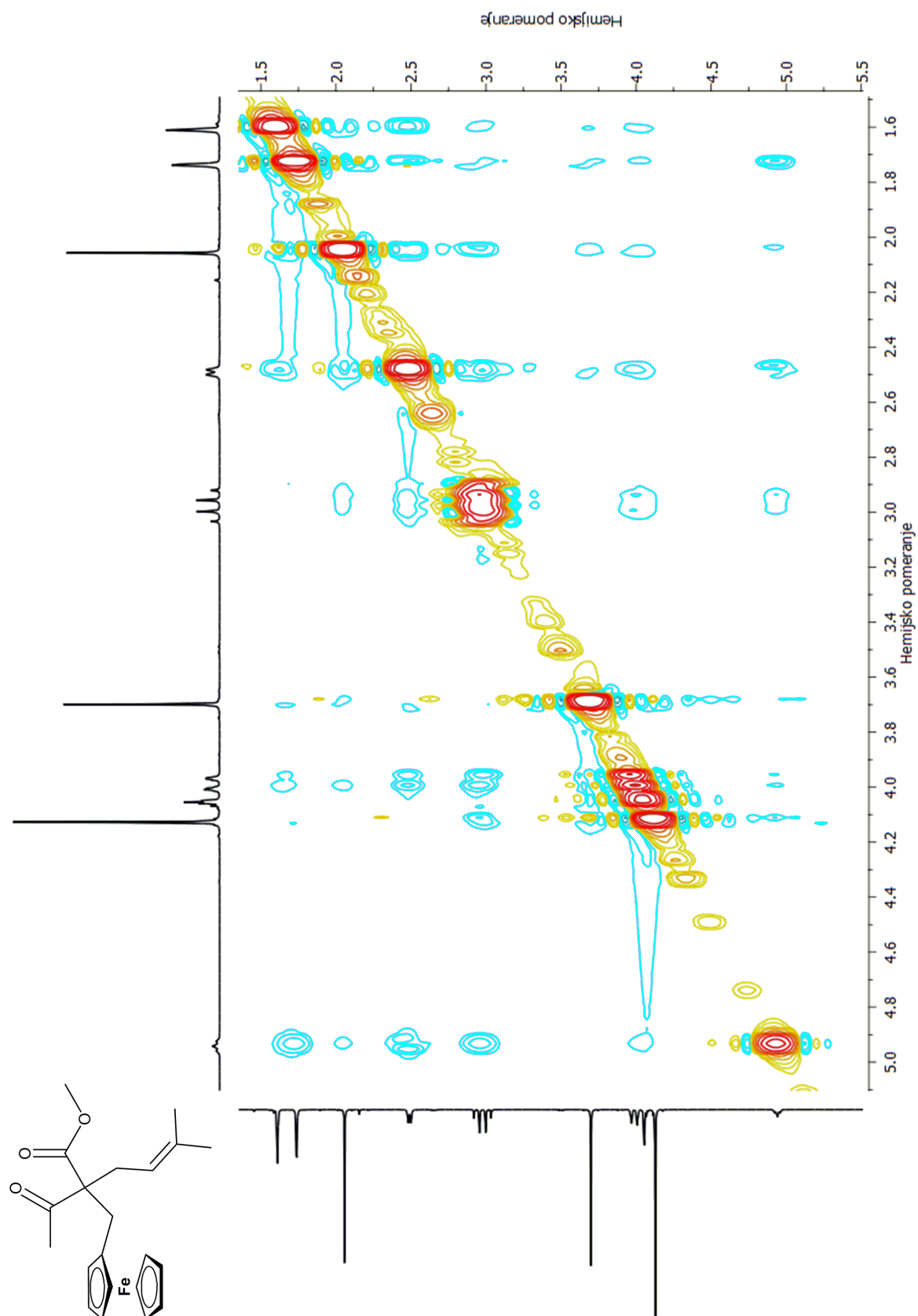
Prilog 8.4.63. HSQC spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]



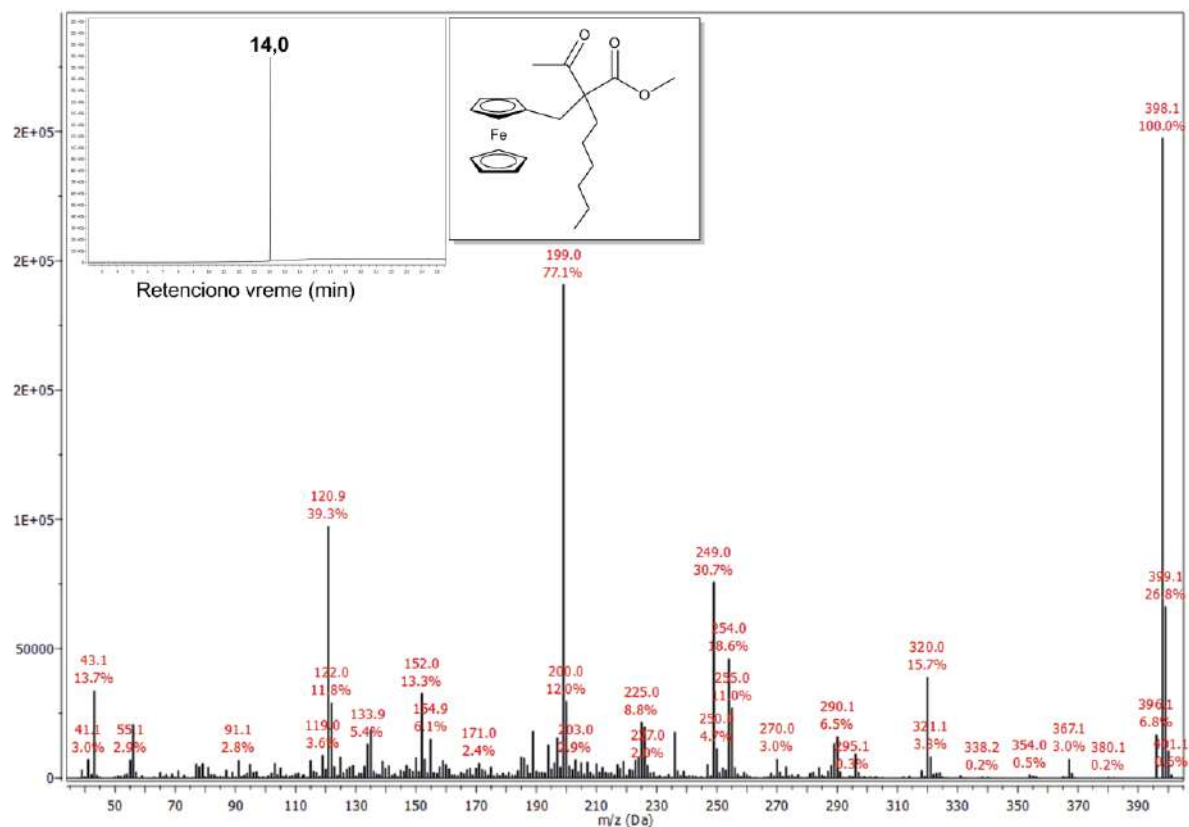
Prilog 8.4.64. HMBC spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]



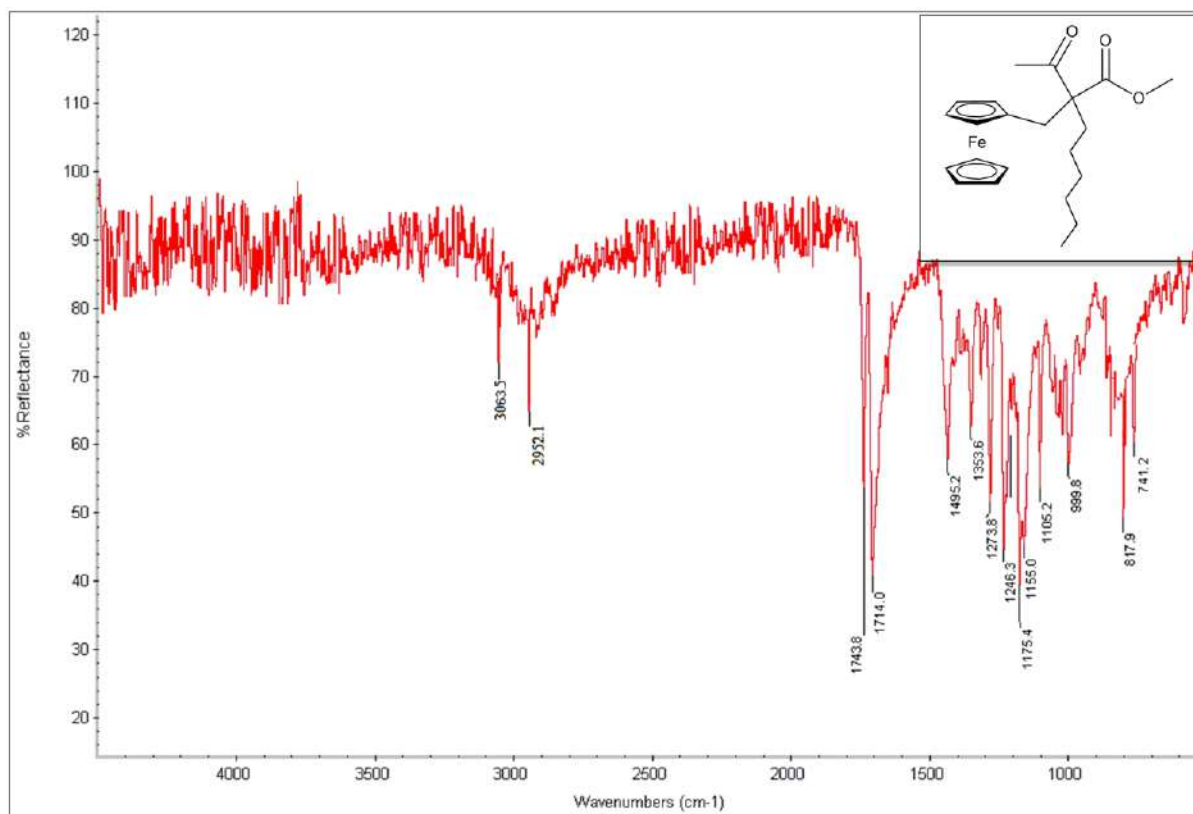
Prilog 8.4.65. NOESY spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)-5-metilheks-4-enoata [12f]



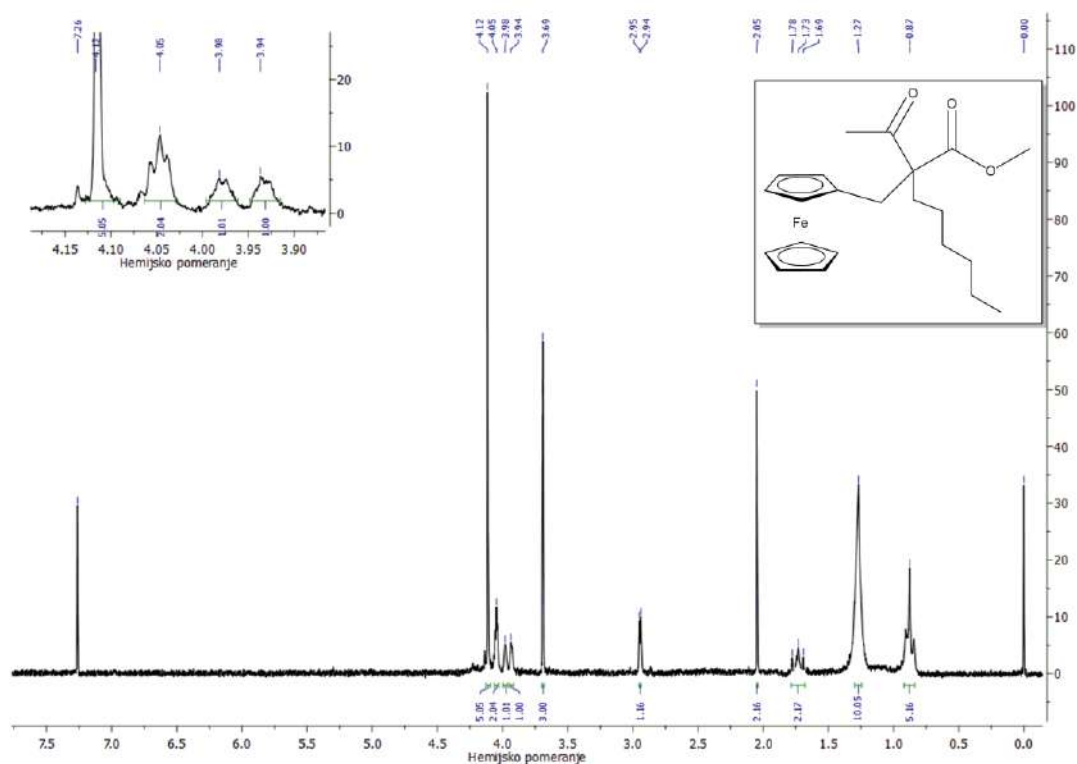
Prilog 8.4.66. Maseni spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)oktanoata [12g]



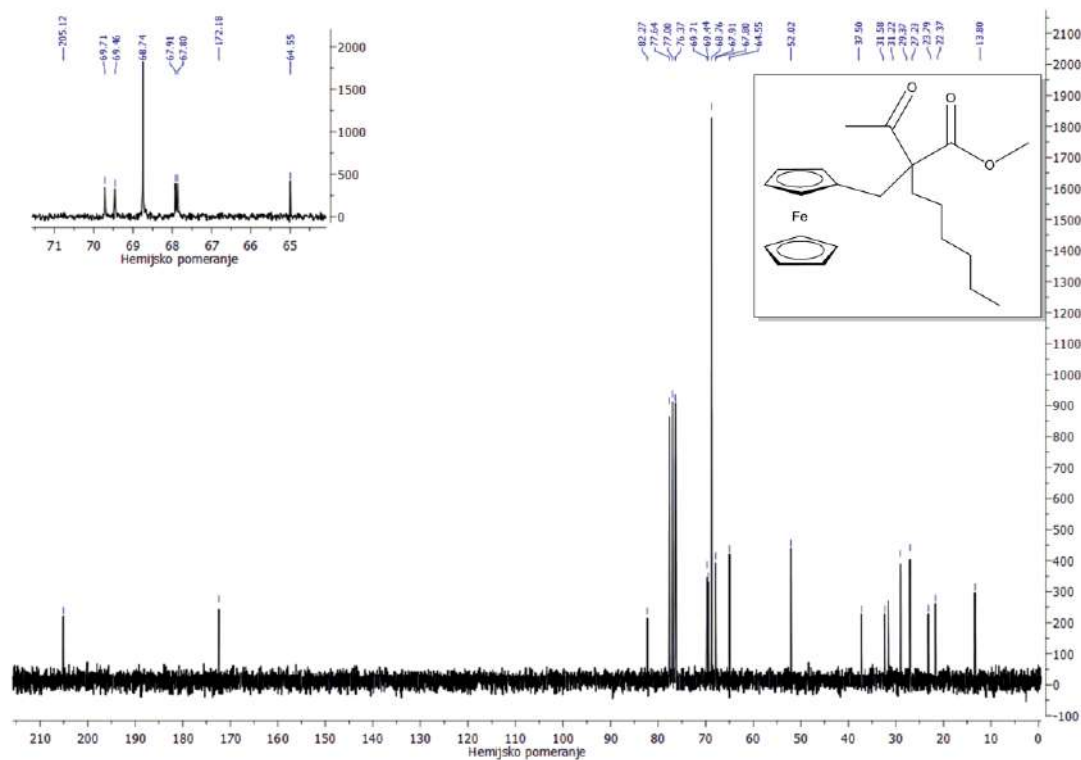
Prilog 8.4.67. IR spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)oktanoata [12g]



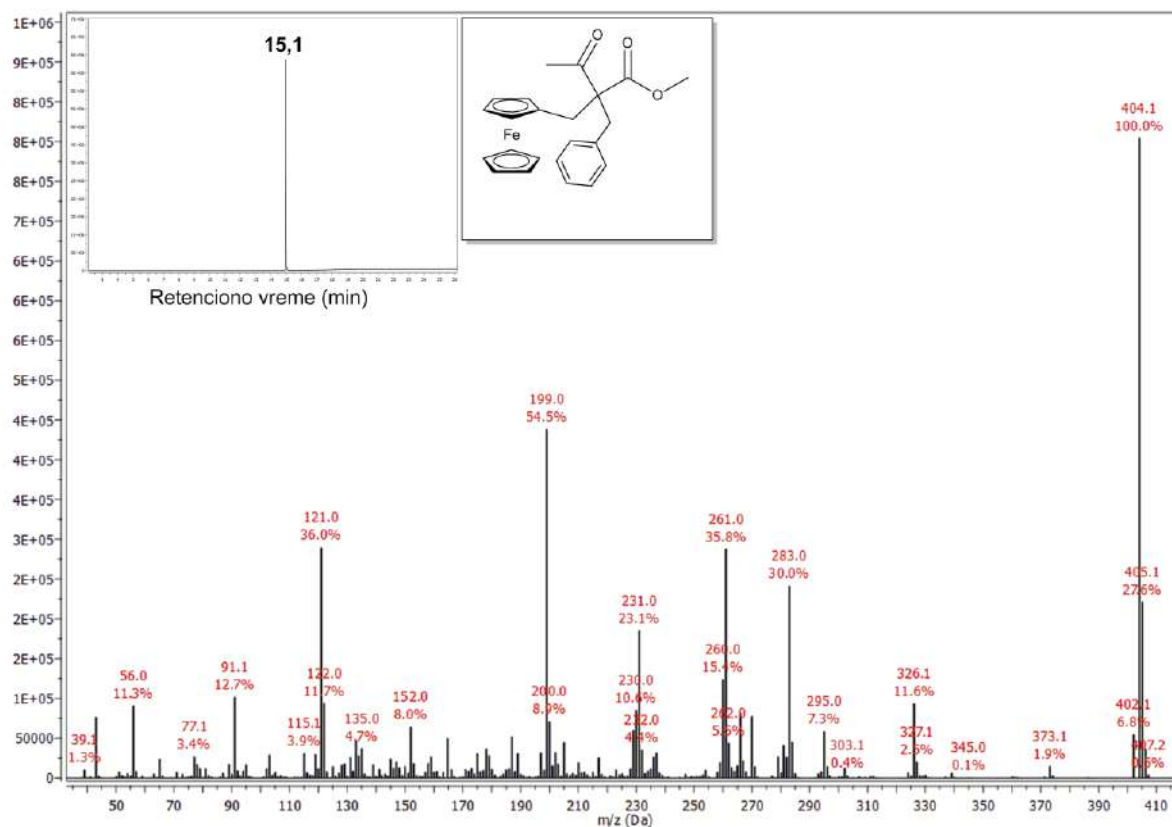
Prilog 8.4.68. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)oktanoata [12g]



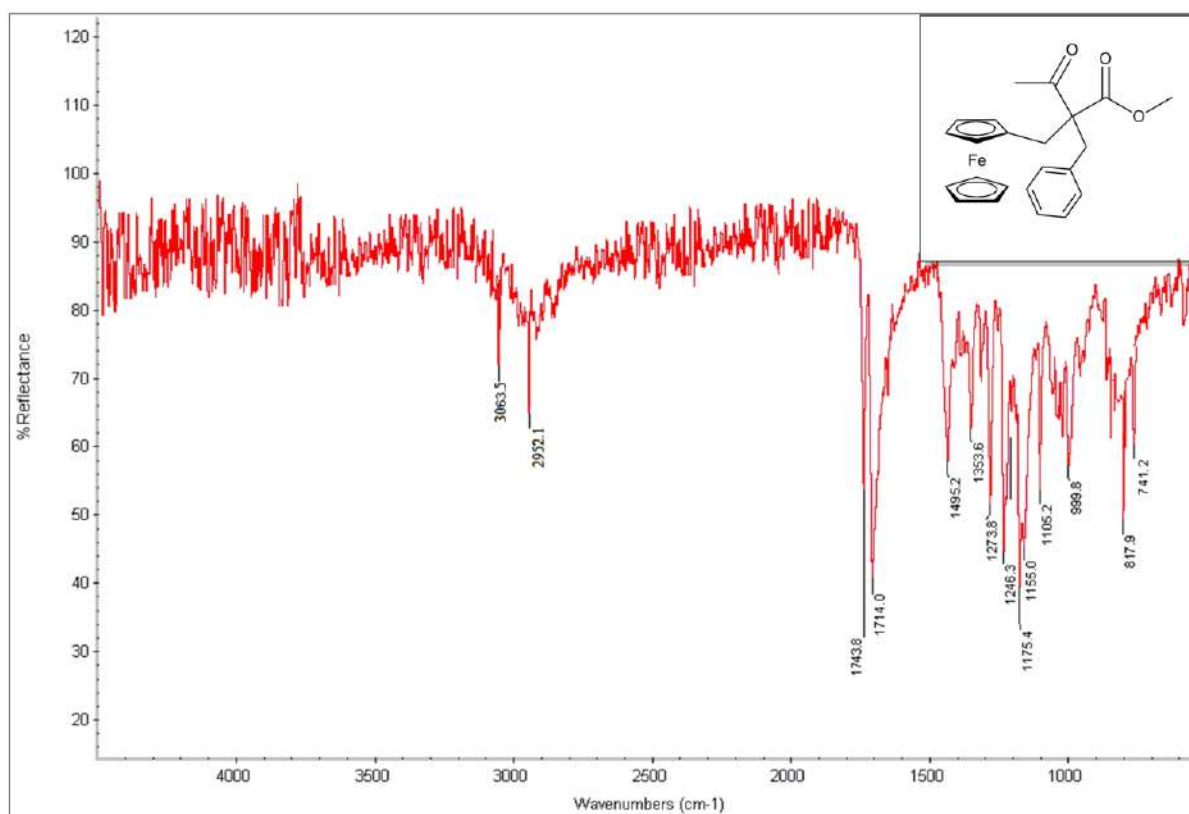
Prilog 8.4.69. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-(ferocenilmetil)oktanoata [12g]



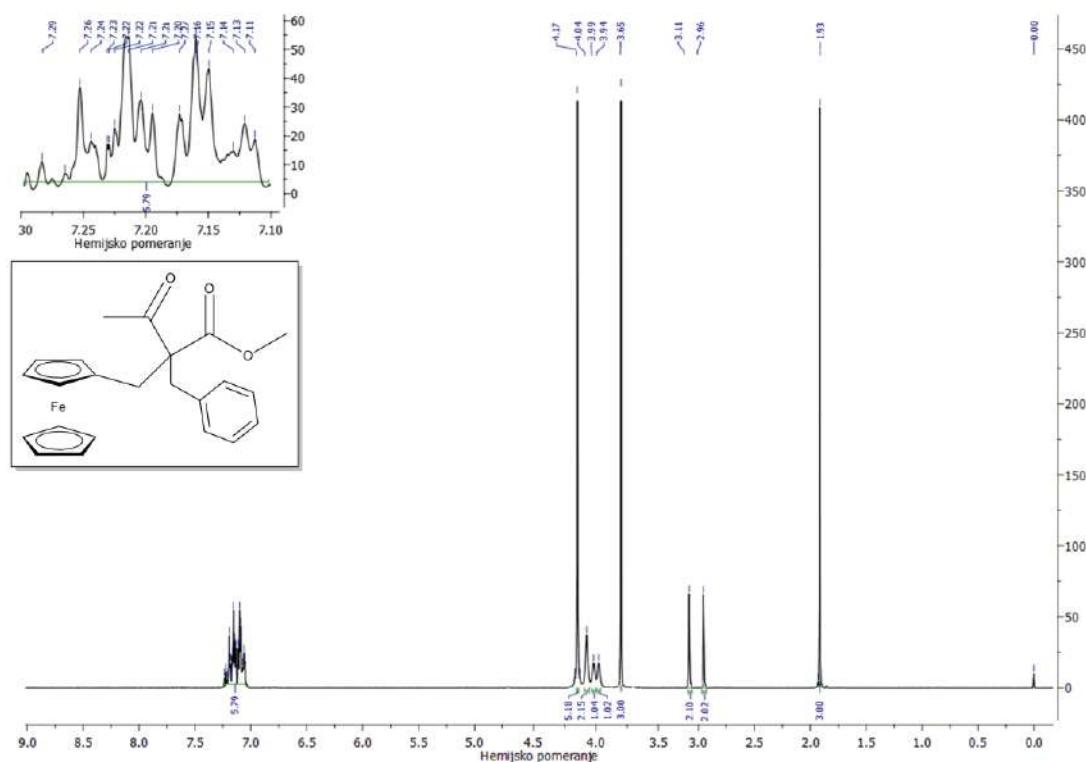
Prilog 8.4.70. Maseni spektar metil-2-benzil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoata [12h]



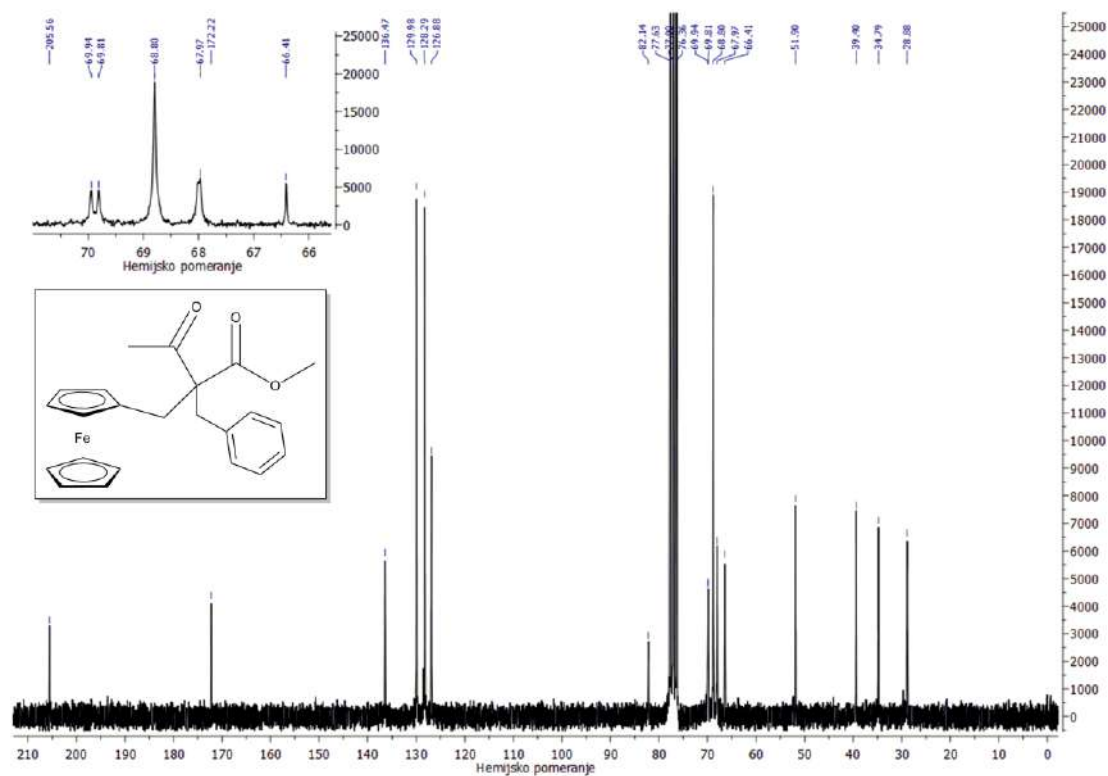
Prilog 8.4.71. IR spektar metil-2-benzil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoata [12h]



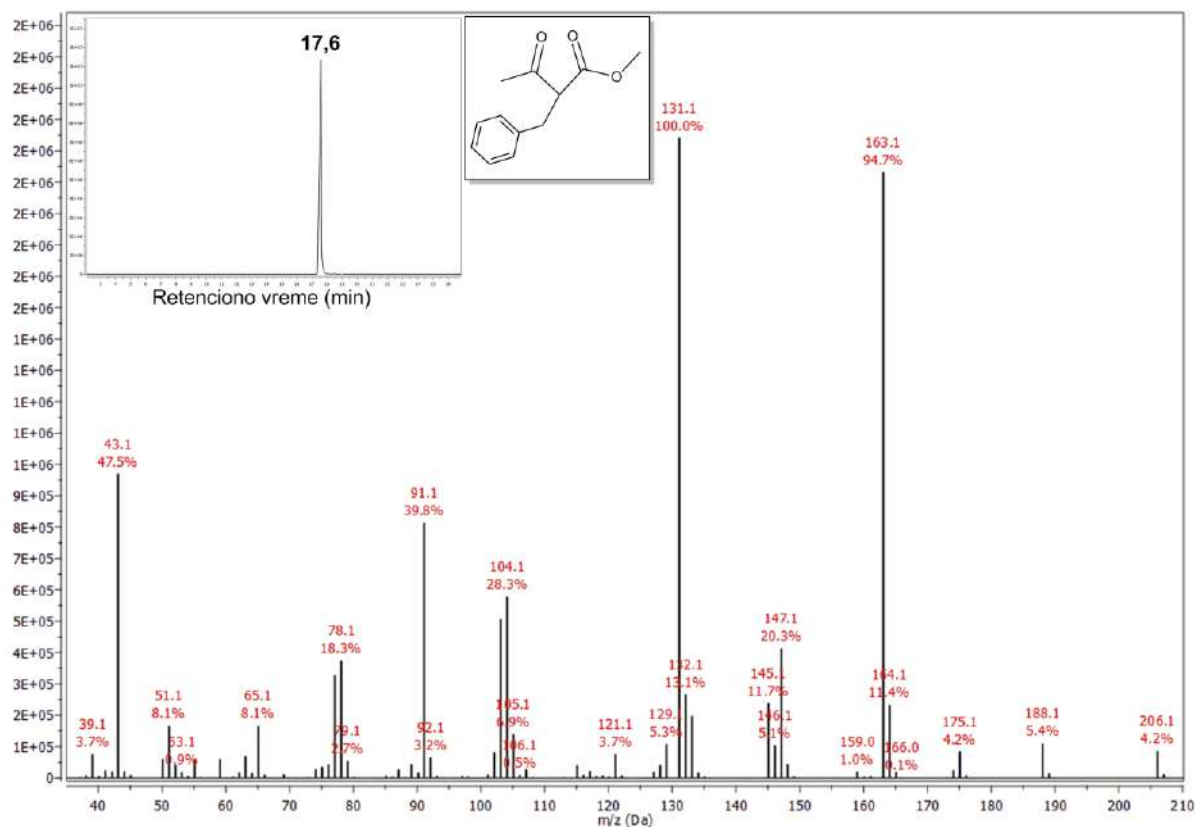
Prilog 8.4.72. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-benzil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoata [12h]



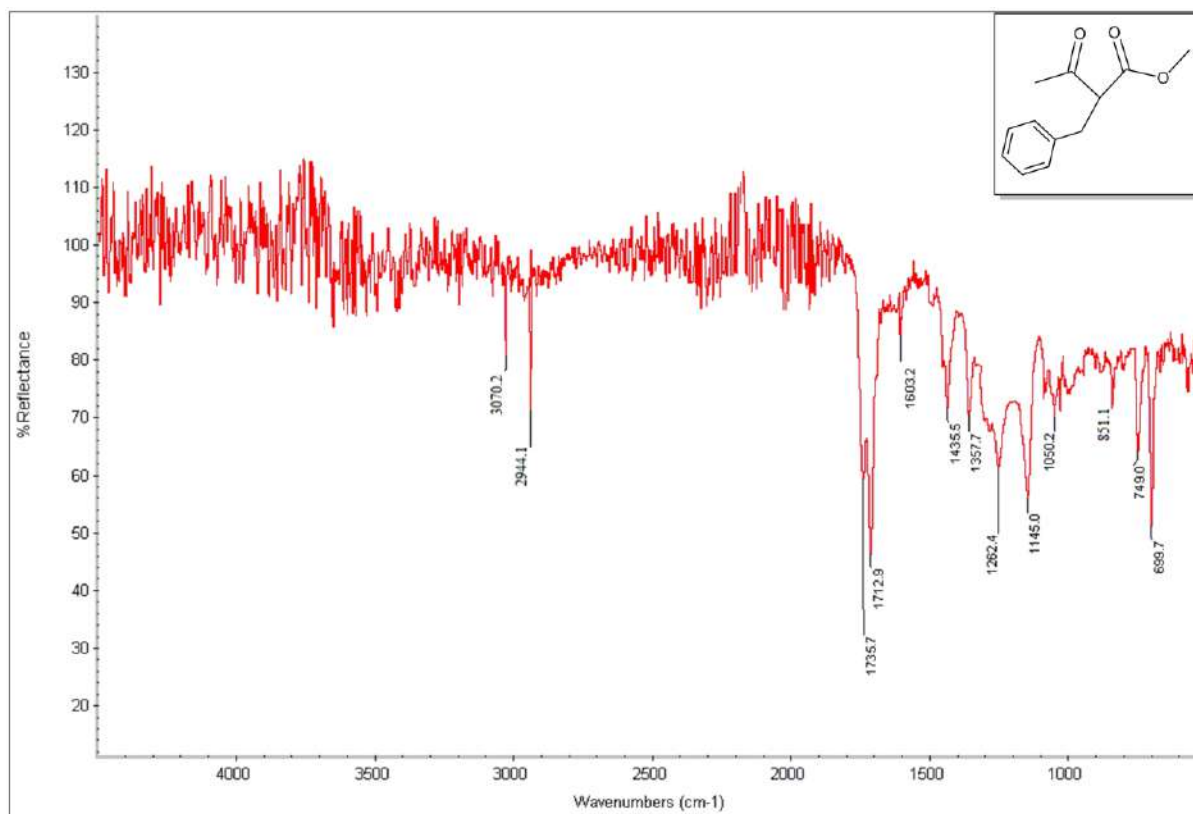
Prilog 8.4.73. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-benzil-2-(ferocenilmetil)-3-oksobutanoata [12h]



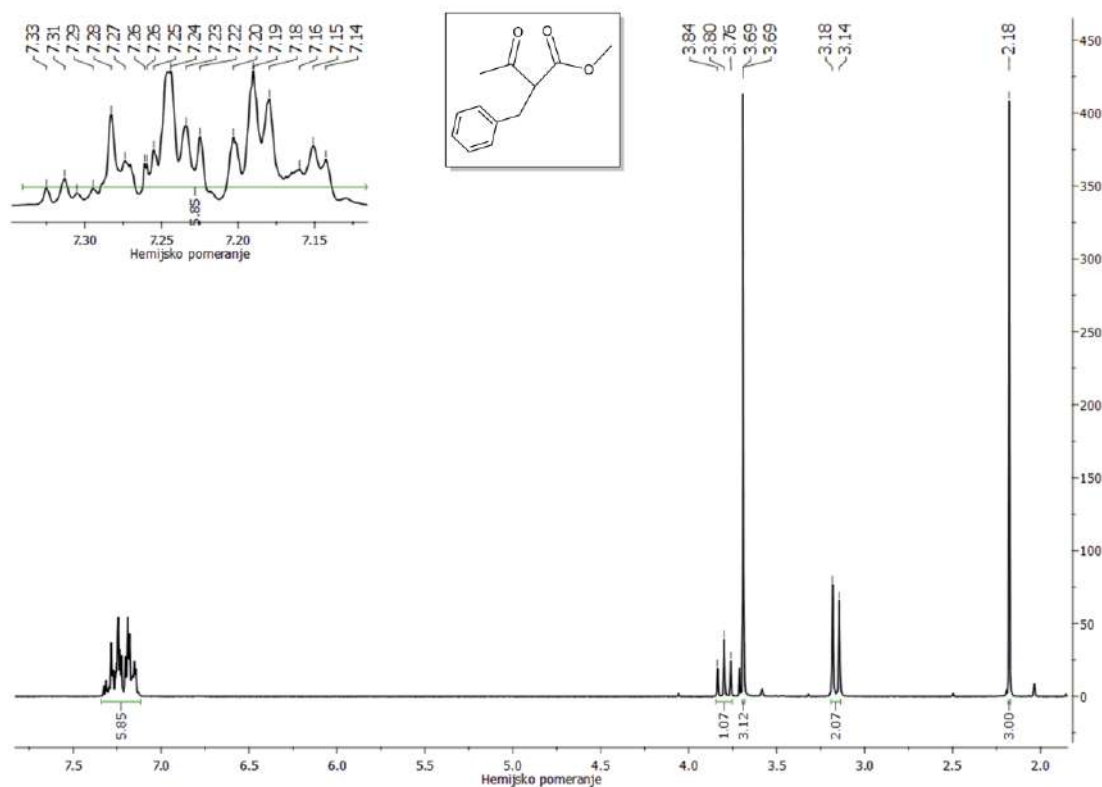
Prilog 8.4.74. Maseni spektar metil-2-benzil-3-oksobutanoata [13a]



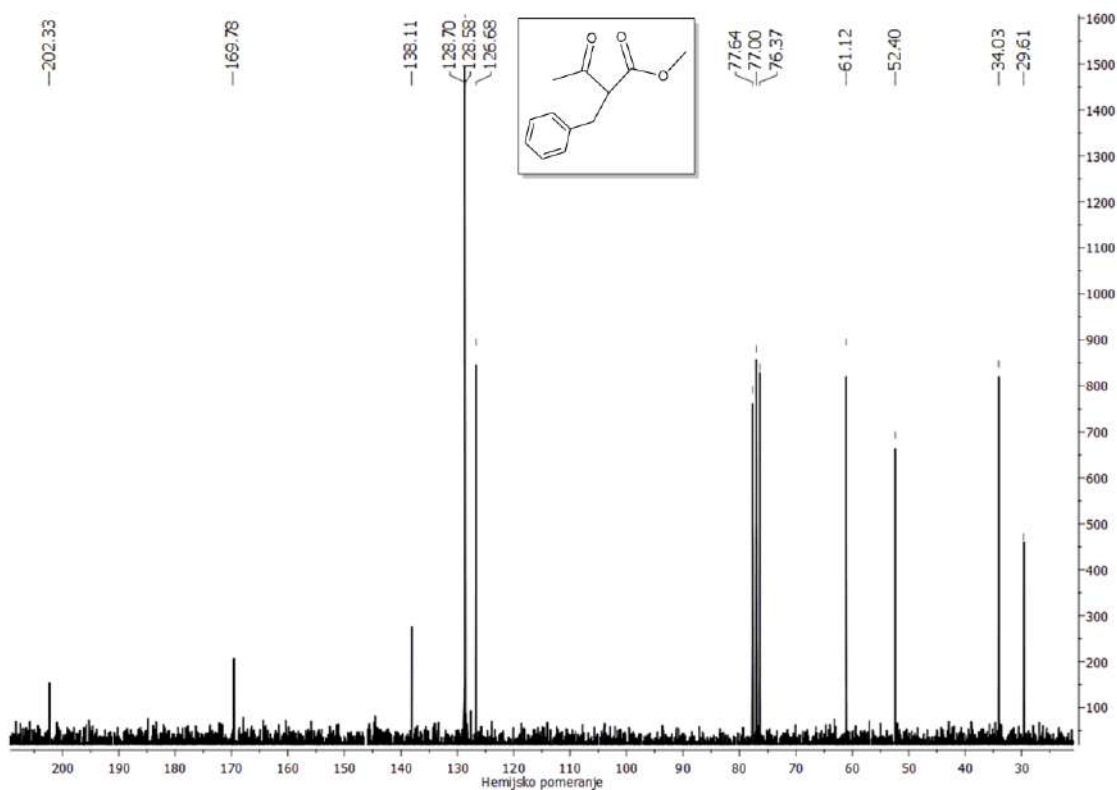
Prilog 8.4.75. IR spektar metil-2-benzil-3-oksobutanoata [13a]



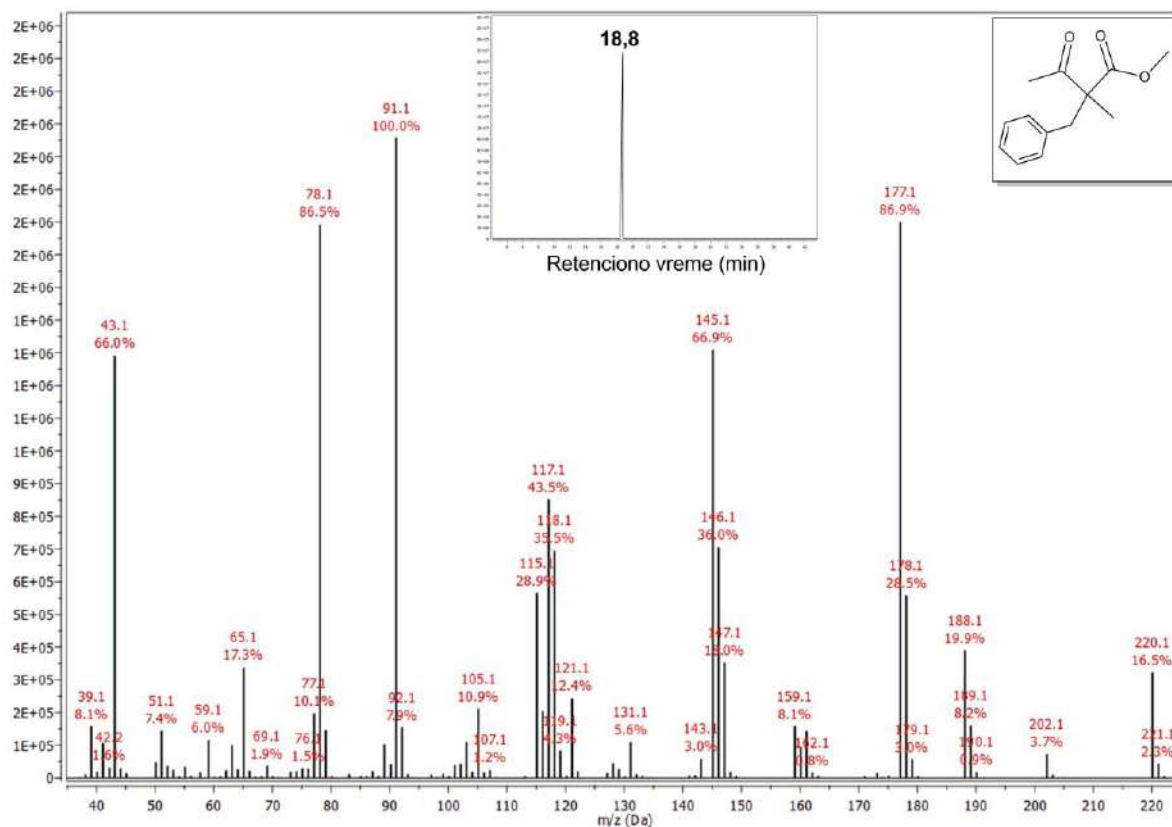
Prilog 8.4.76. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-benzil-3-oksobutanoata [13a]



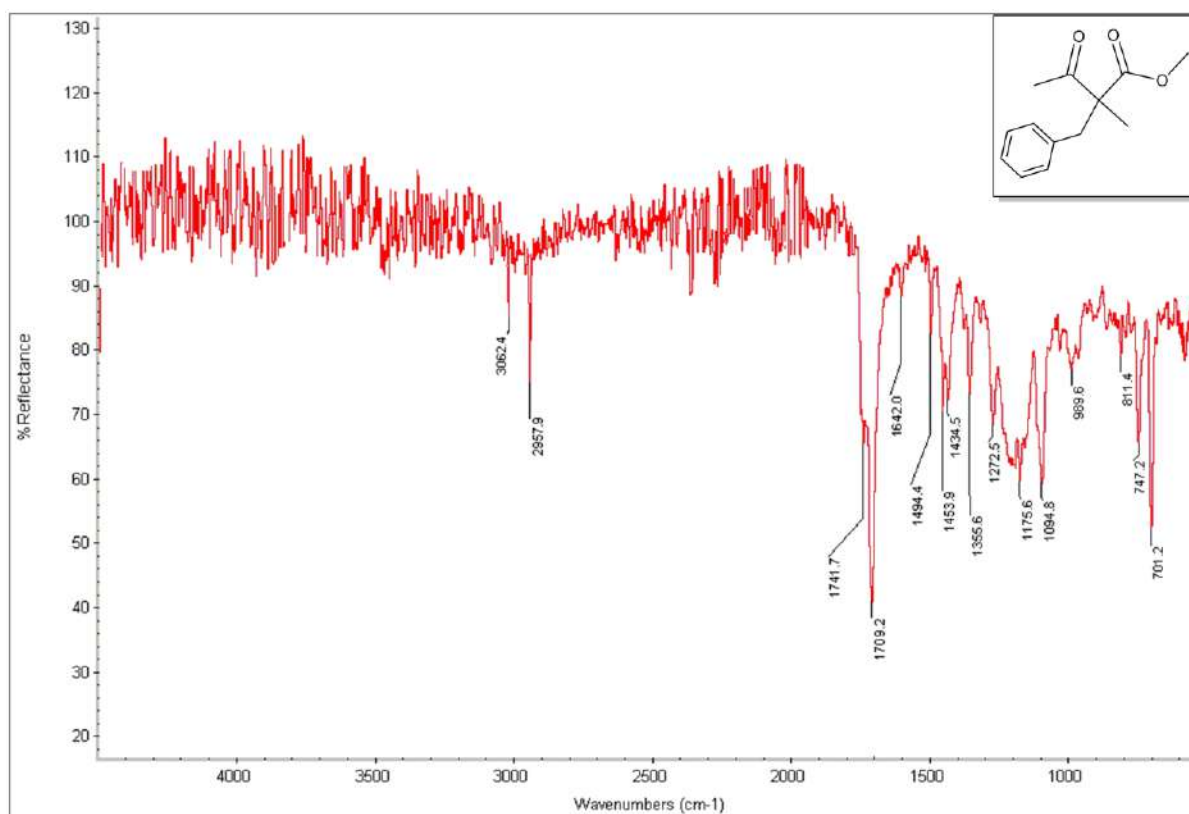
Prilog 8.4.77. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-benzil-3-oksobutanoata [13a]



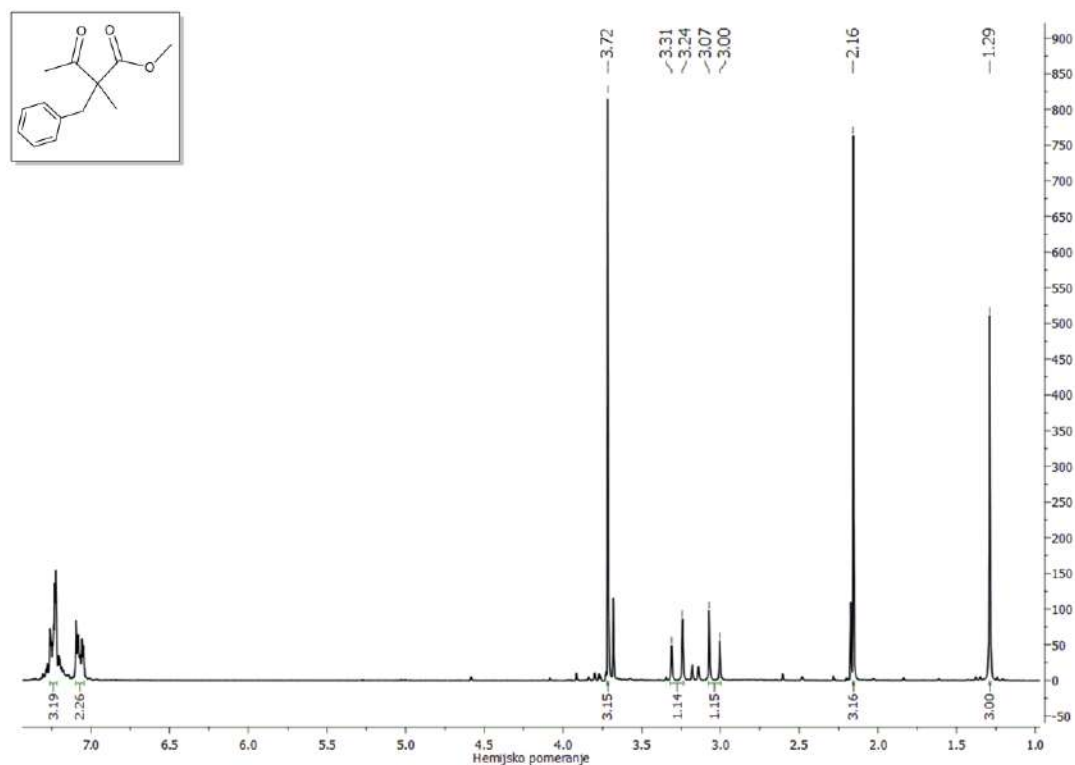
Prilog 8.4.78. Maseni spektar metil-2-benzil-2-metil-3-oksobutanoata [13b]



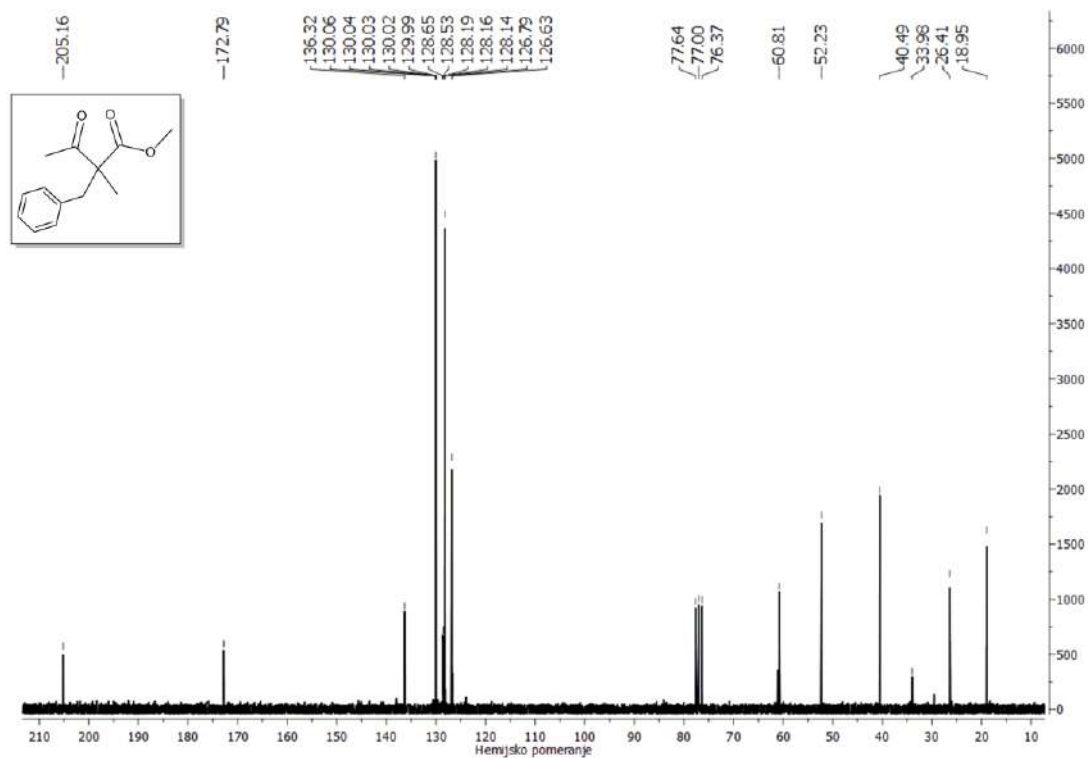
Prilog 8.4.79. IR spektar metil-2-benzil-2-metil-3-oksobutanoata [13b]



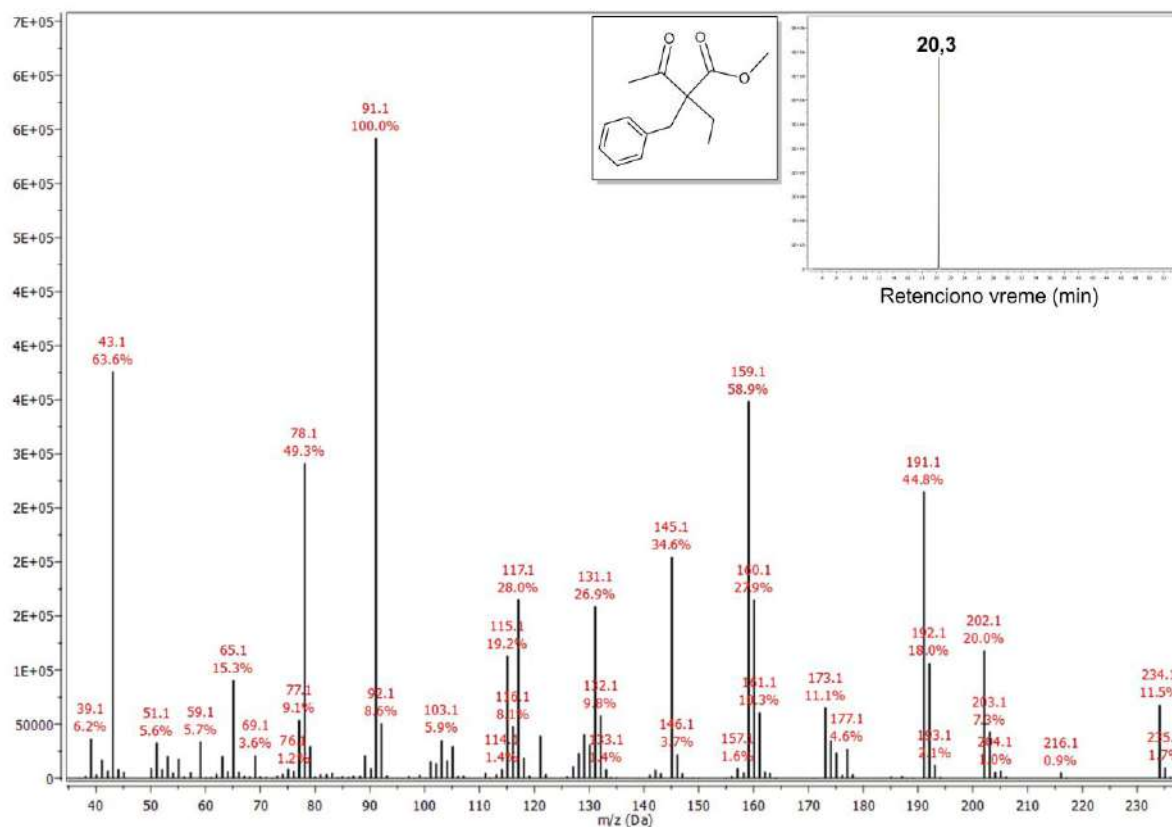
Prilog 8.4.80. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-benzil-2-metil-3-oksobutanoata [13b]



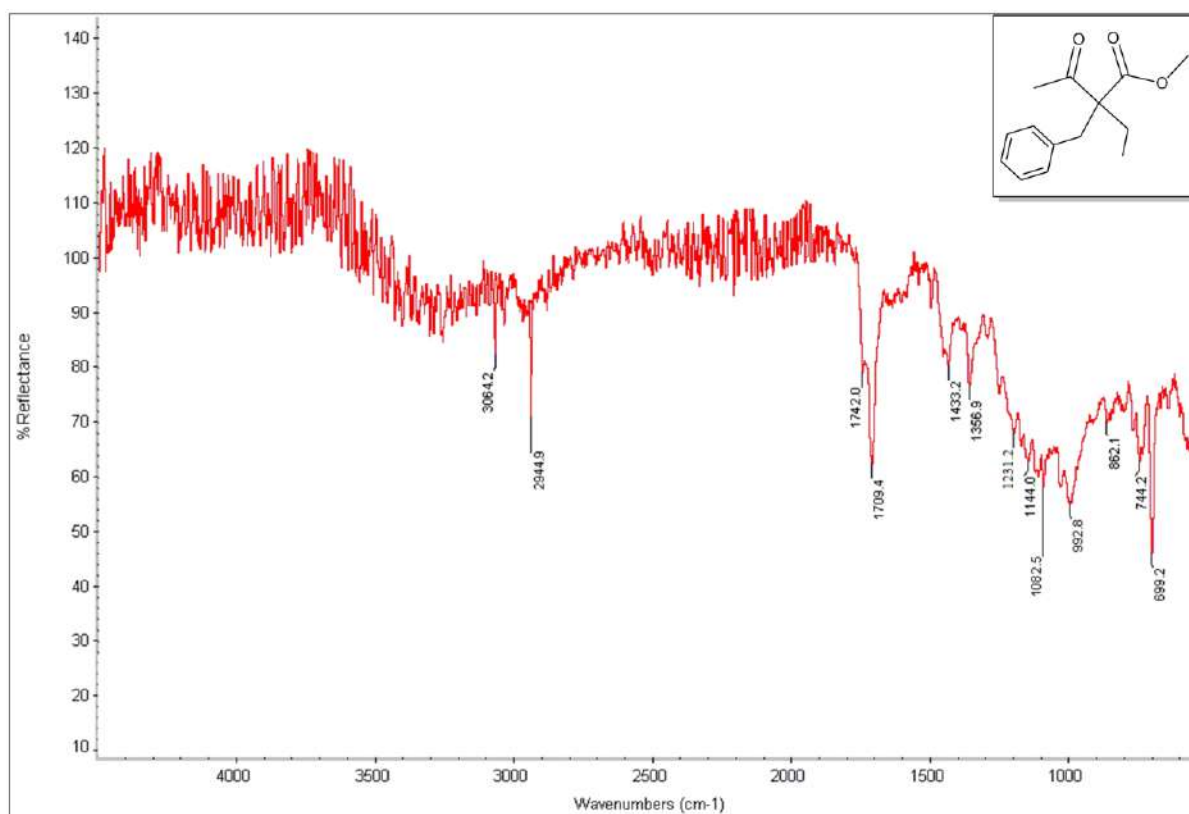
Prilog 8.4.81. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-benzil-2-metil-3-oksobutanoata [13b]



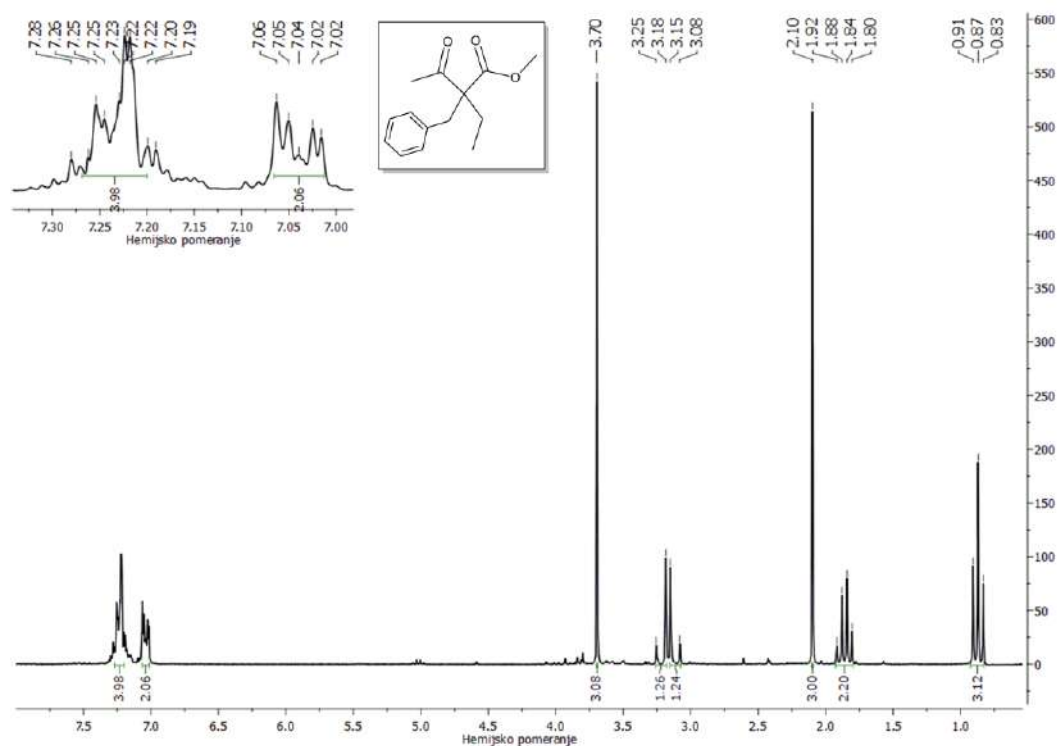
Prilog 8.4.82. Maseni spektar metil-2-benzil-2-etil-3-oksobutanoata [13c]



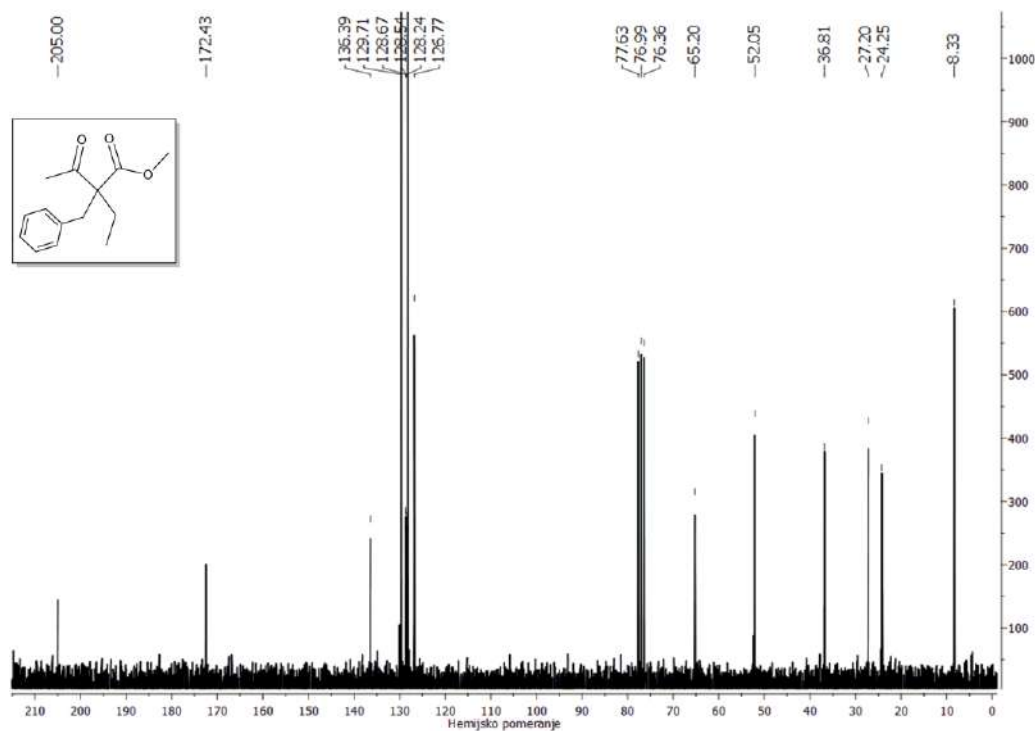
Prilog 8.4.83. IR spektar metil-2-benzil-2-etil-3-oksobutanoata [13c]



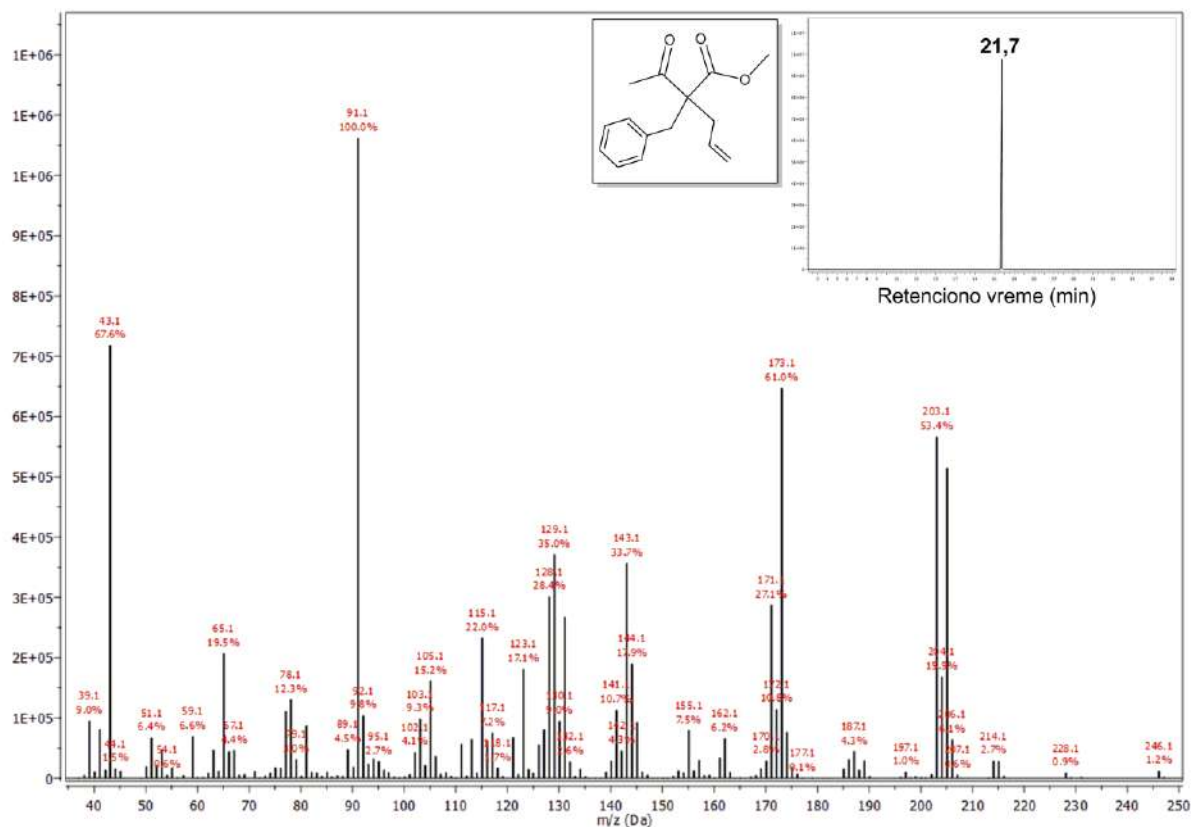
Prilog 8.4.84. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-benzil-2-etil-3-oksobutanoata [13c]



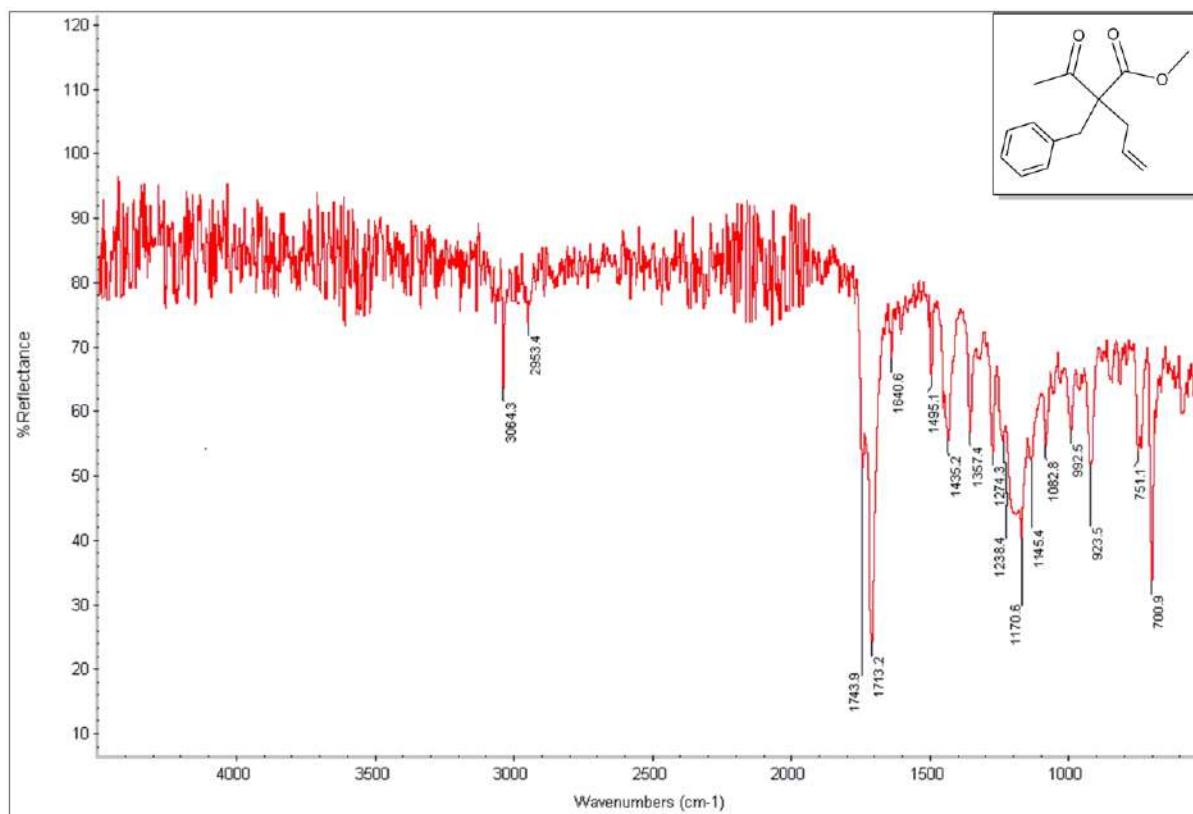
Prilog 8.4.85. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-benzil-2-etil-3-oksobutanoata [13c]



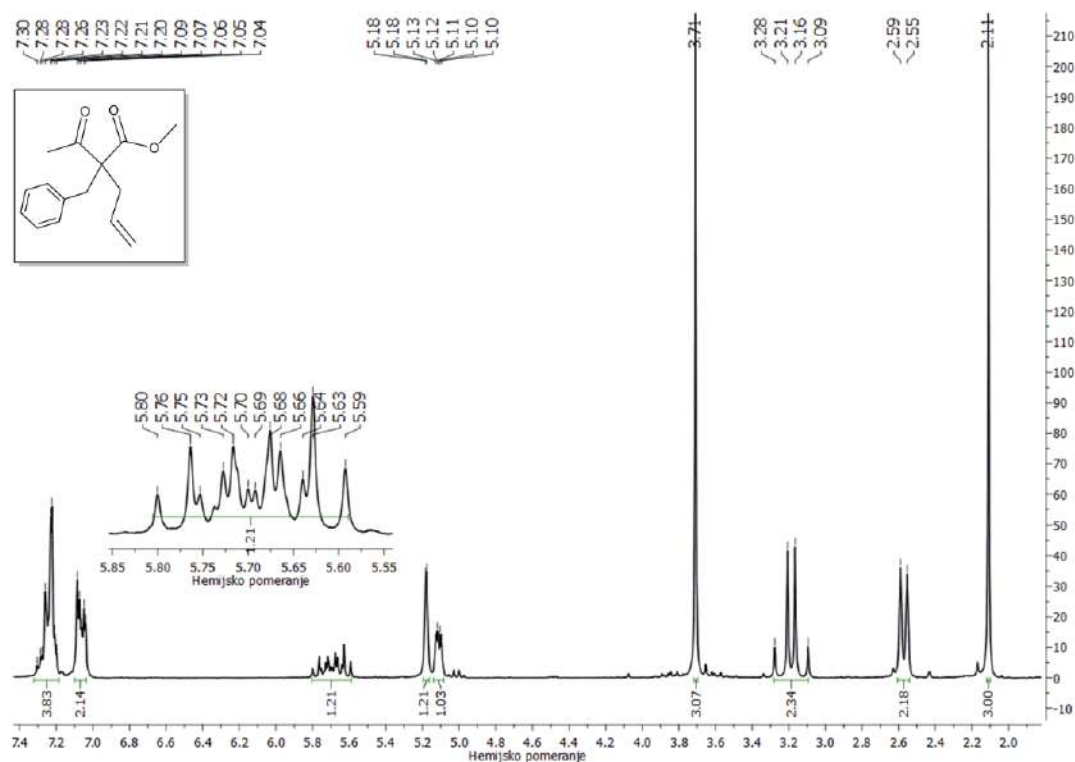
Prilog 8.4.86. Maseni spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]



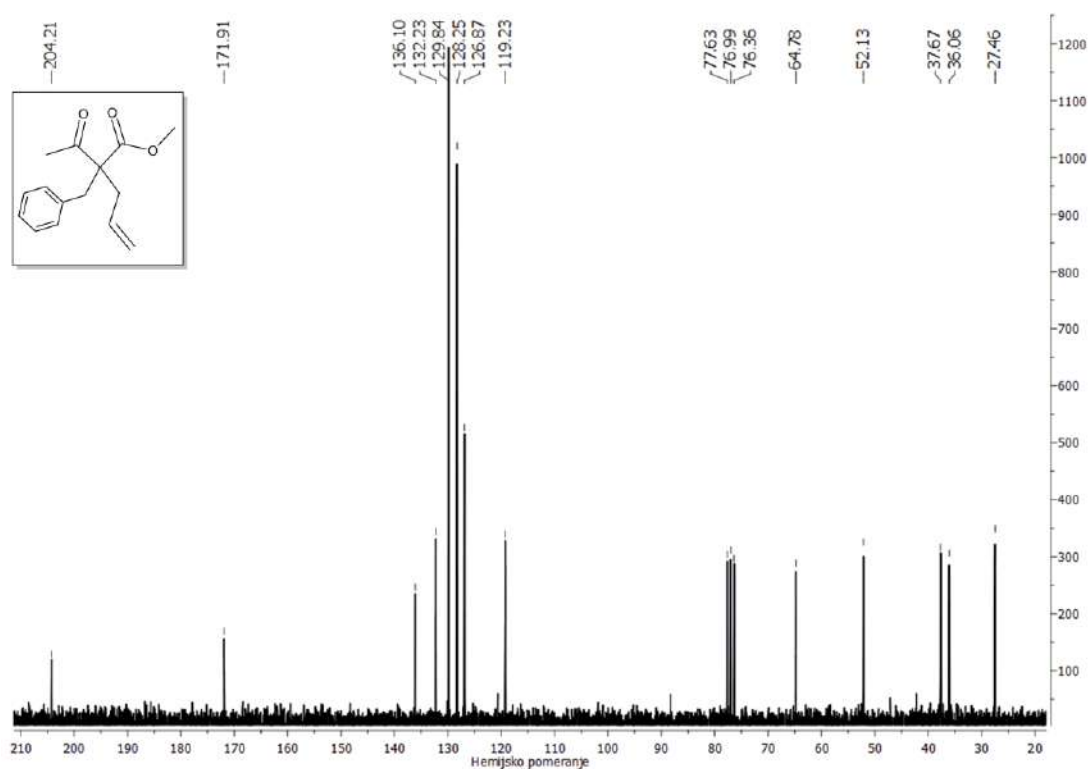
Prilog 8.4.87. IR spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]



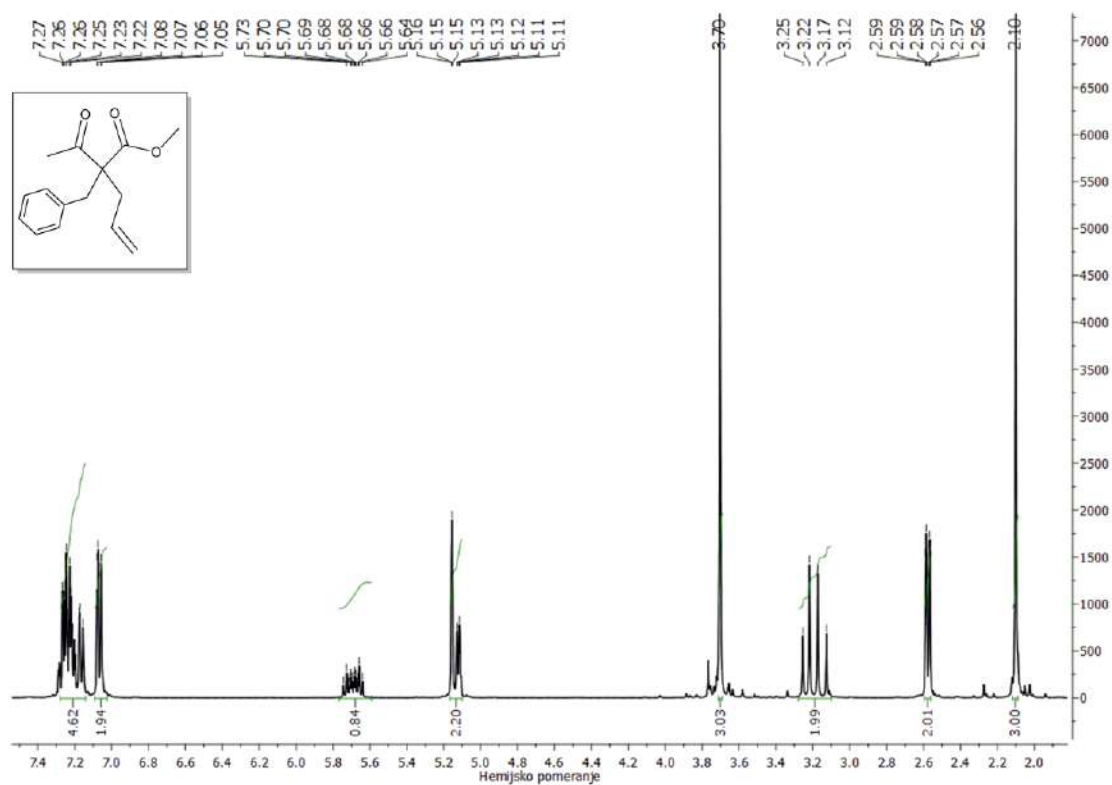
Prilog 8.4.88. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]



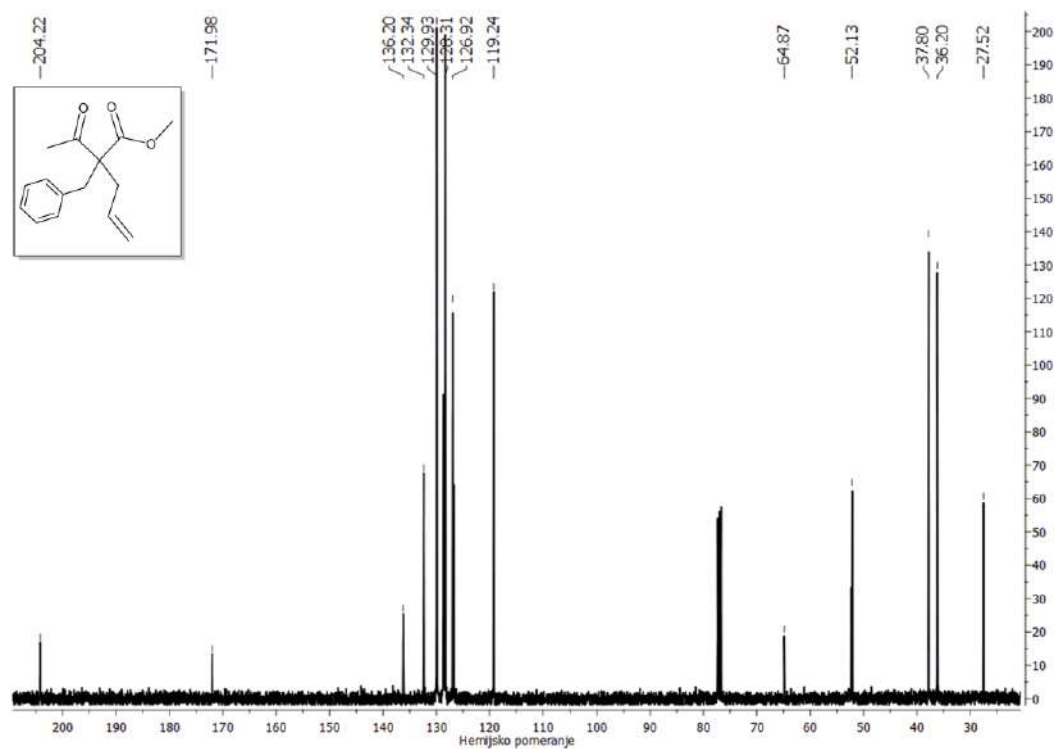
Prilog 8.4.89. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]



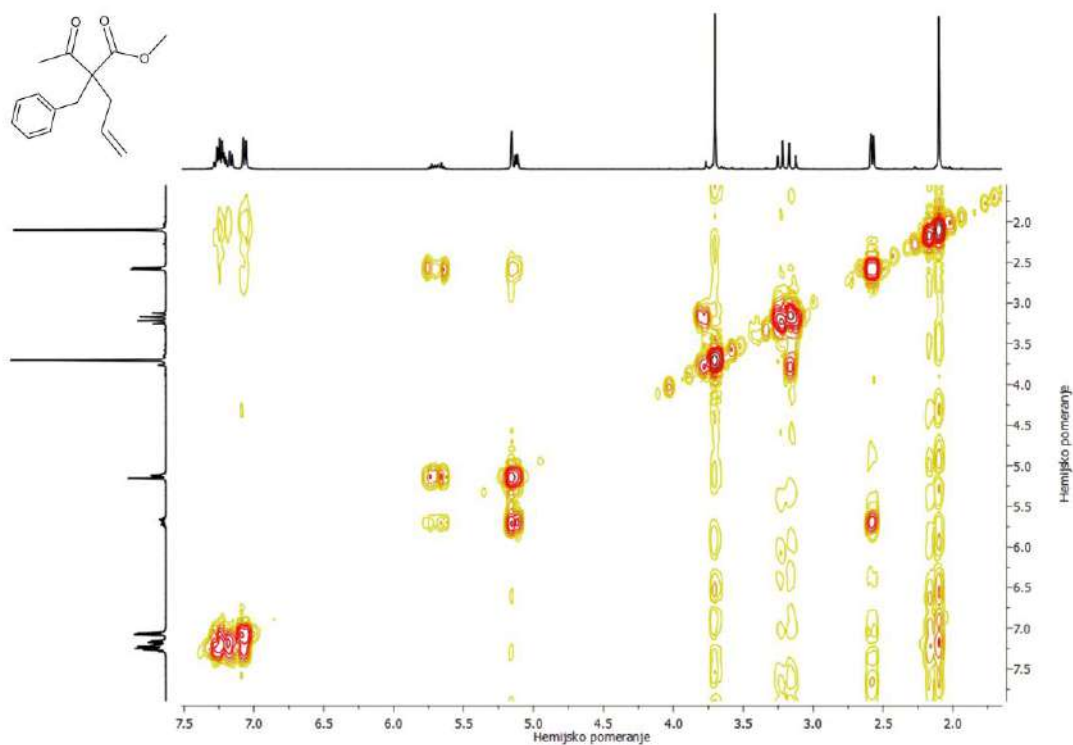
Prilog 8.4.90. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]



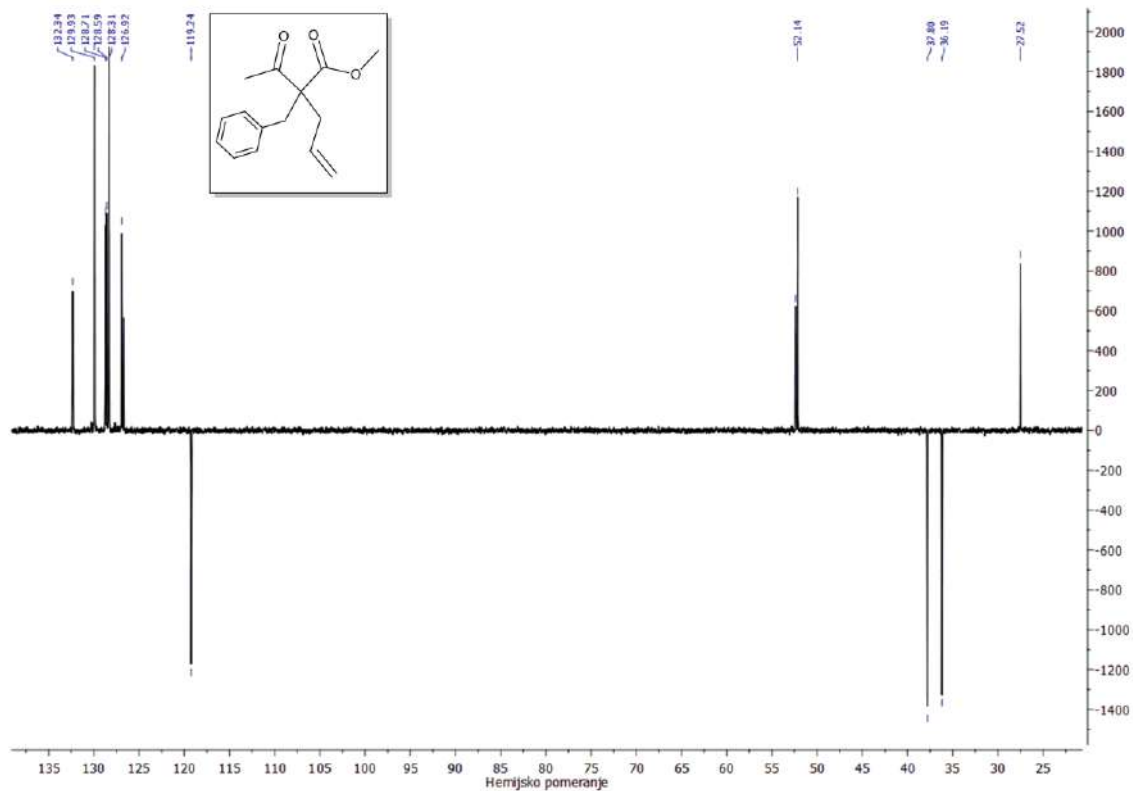
Prilog 8.4.91. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]



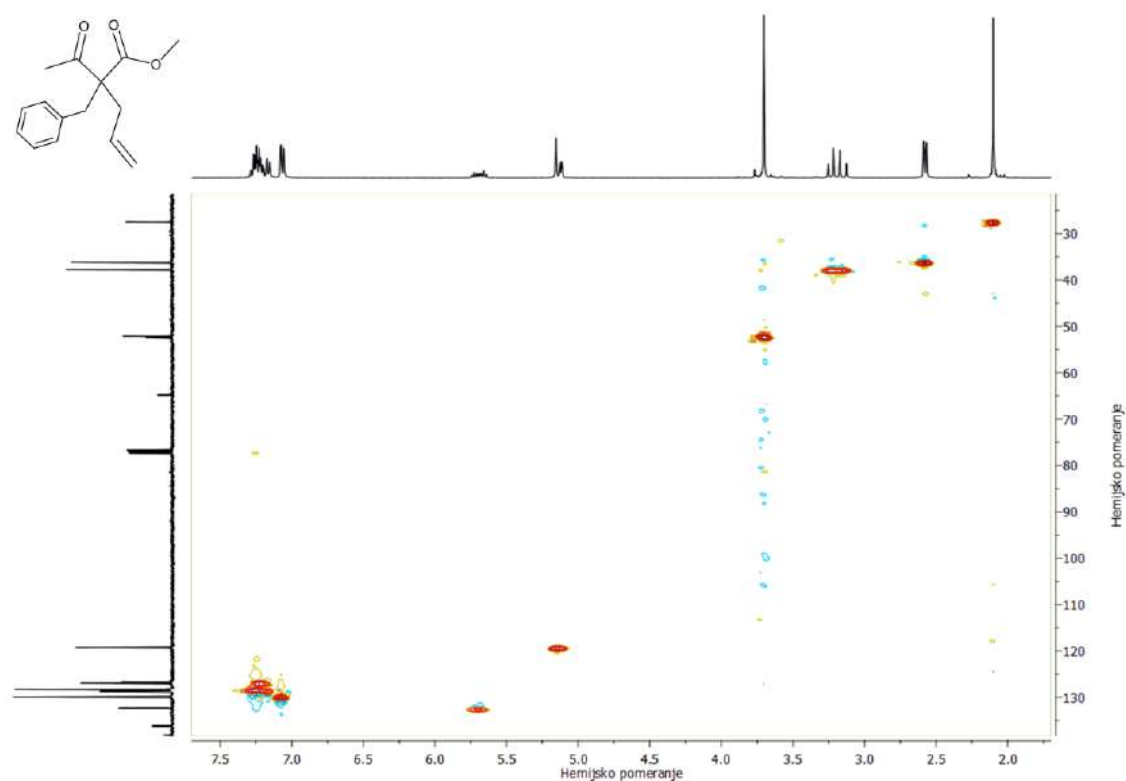
Prilog 8.4.92. $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]



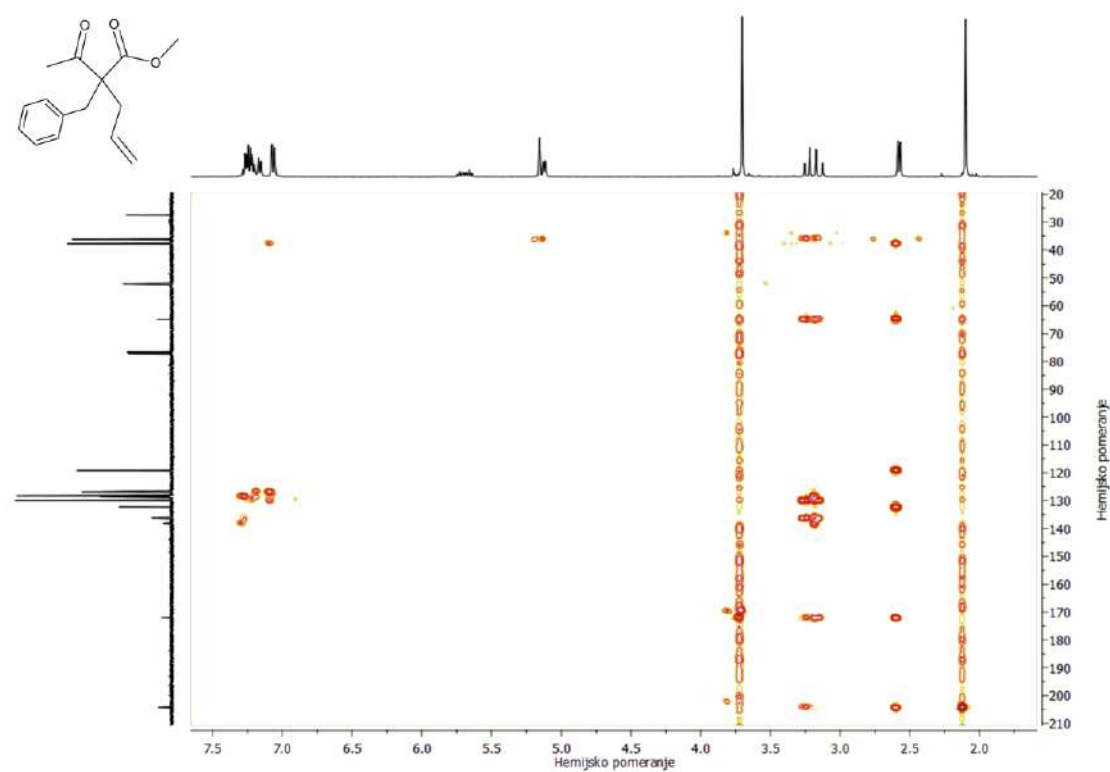
Prilog 8.4.93. DEPT spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]



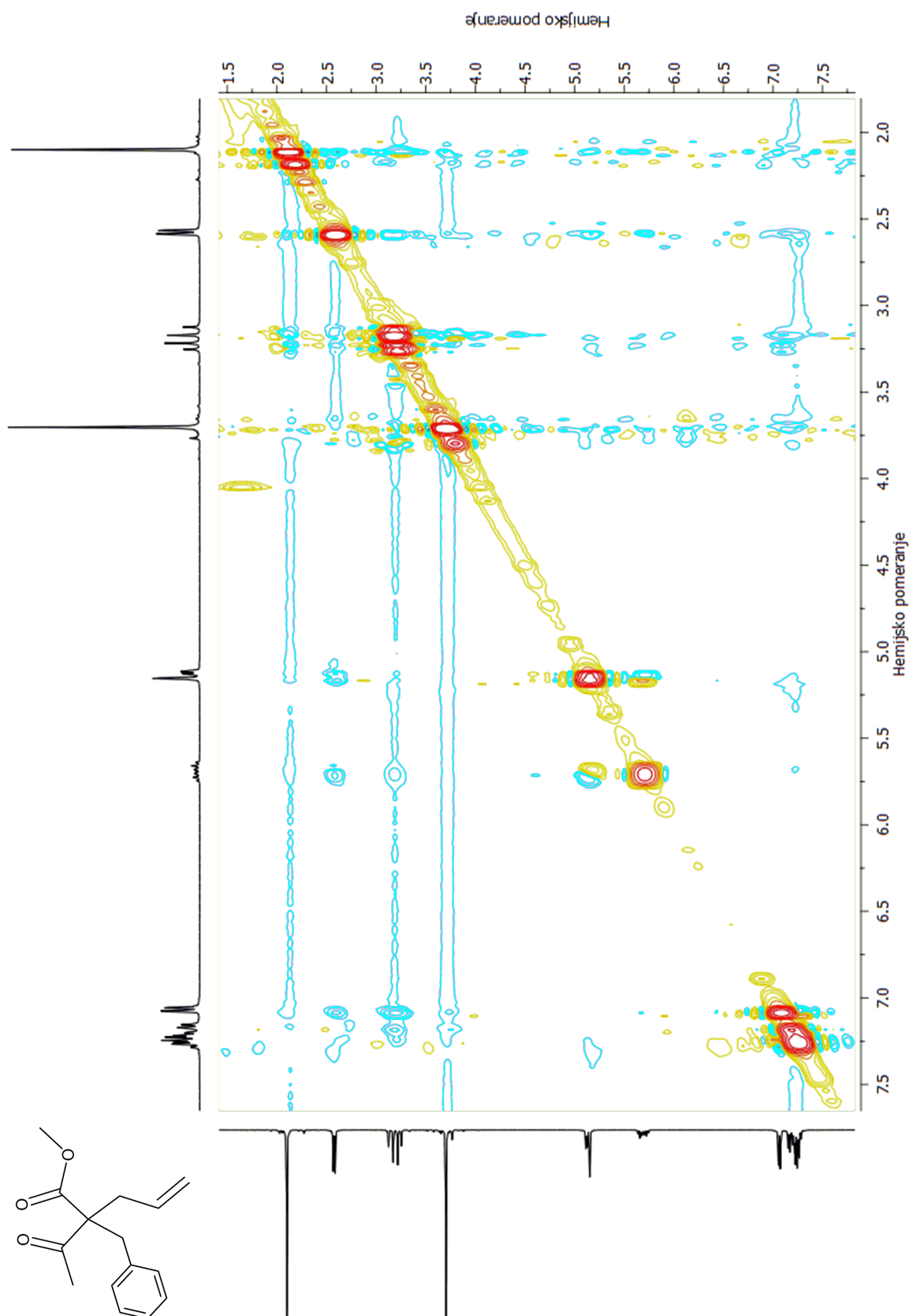
Prilog 8.4.94. HSQC spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]



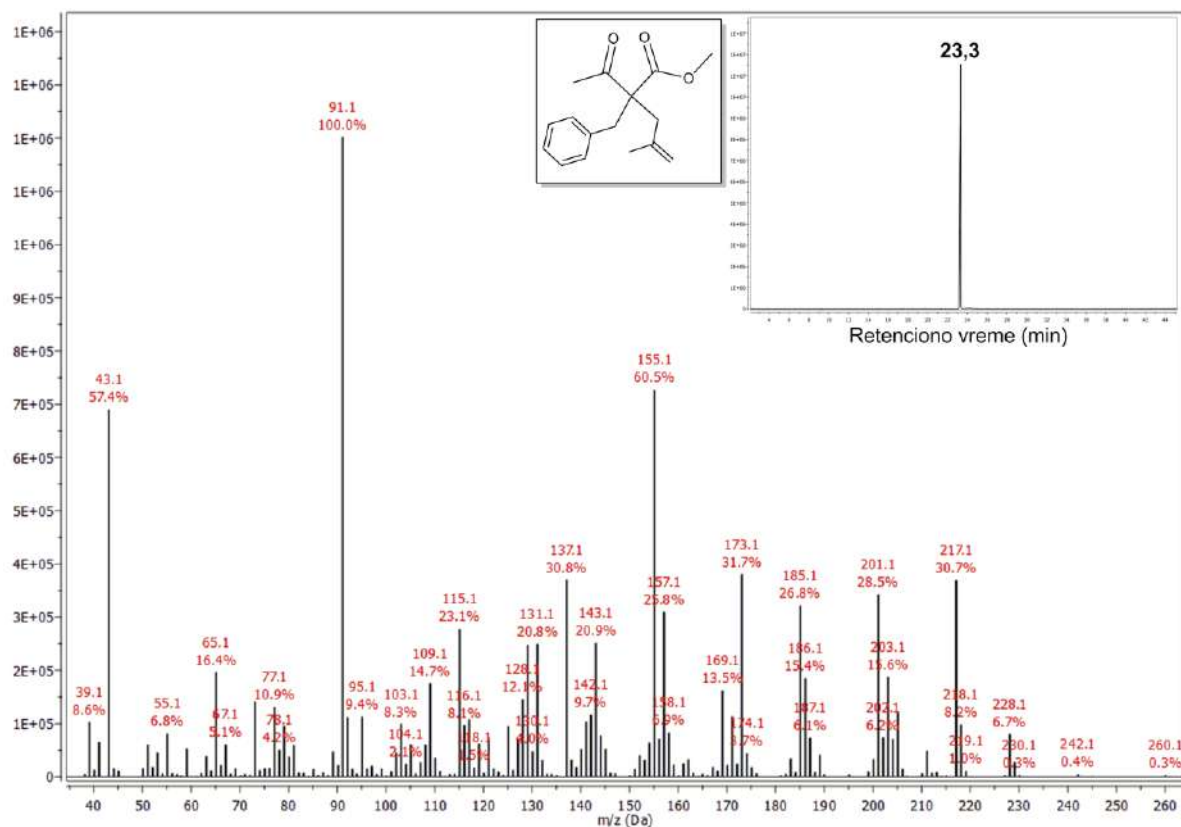
Prilog 8.4.95. HMBC spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]



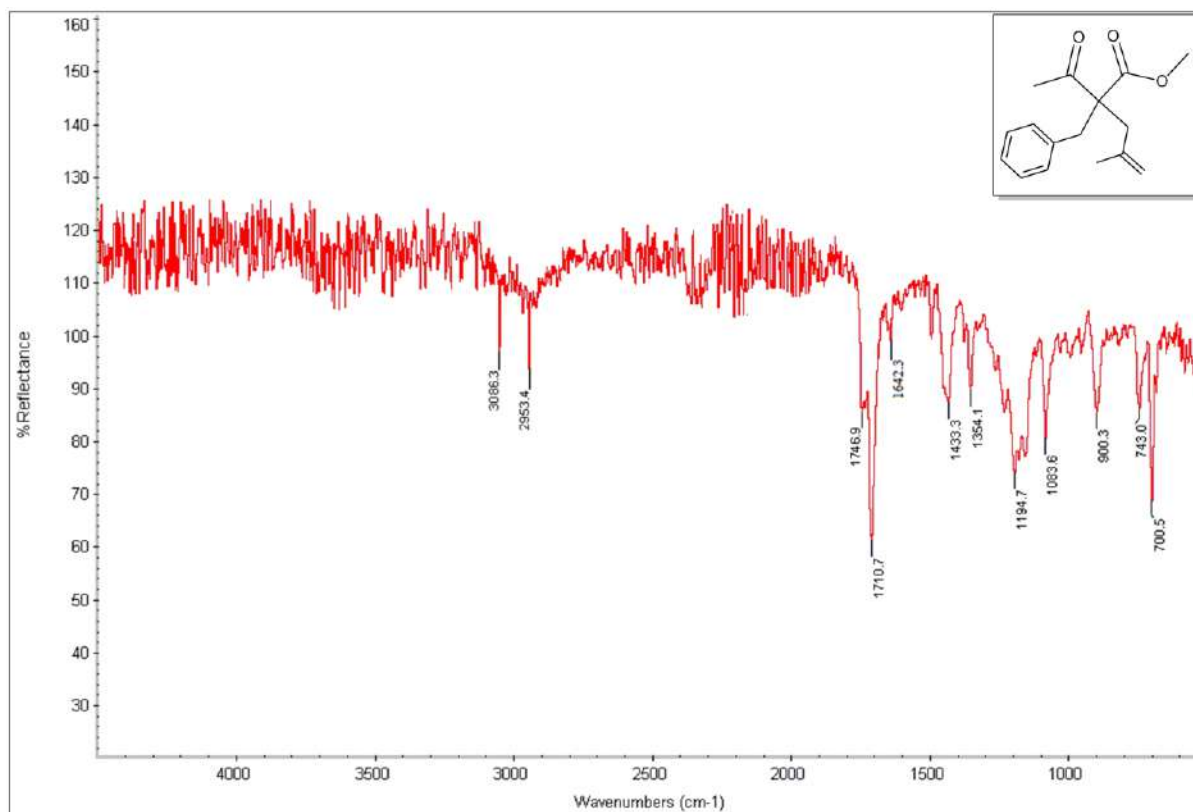
Prilog 8.4.96. NOESY spektar metil-2-acetil-2-benzilpent-4-enoata [13d]



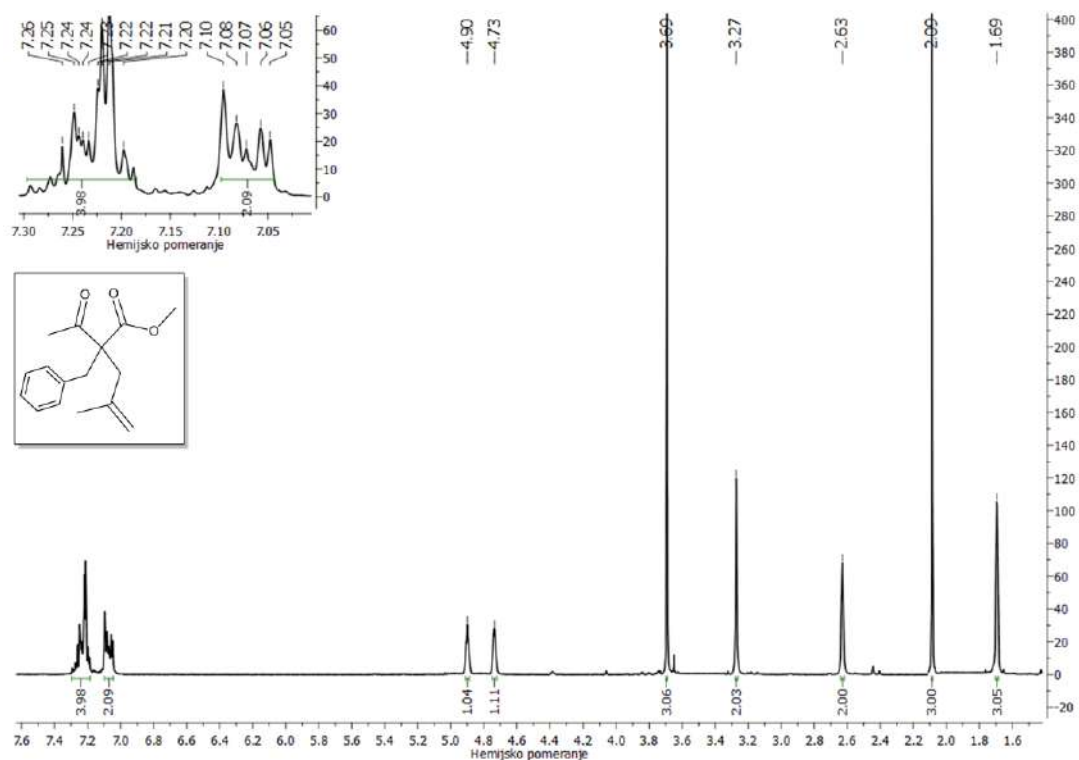
Prilog 8.4.97. Maseni spektar metil-2-acetil-2-benzil-4-metilpent-4-enoata [13e]



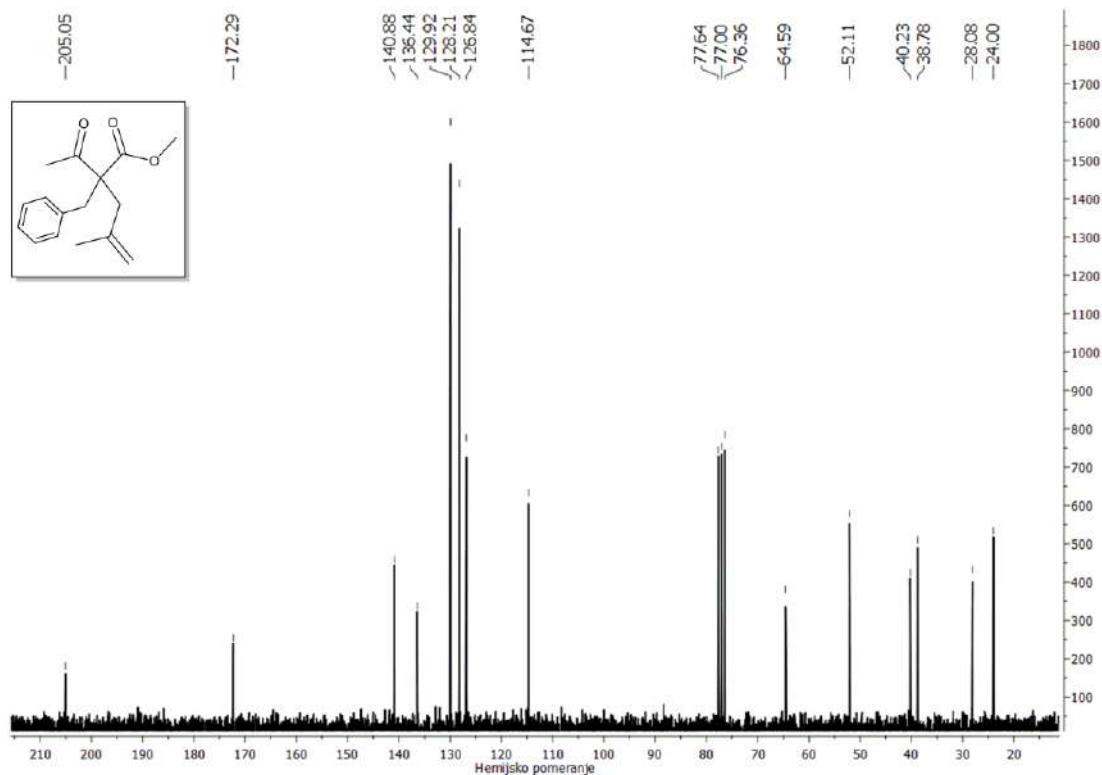
Prilog 8.4.98. IR spektar metil-2-acetil-2-benzil-4-metilpent-4-enoata [13e]



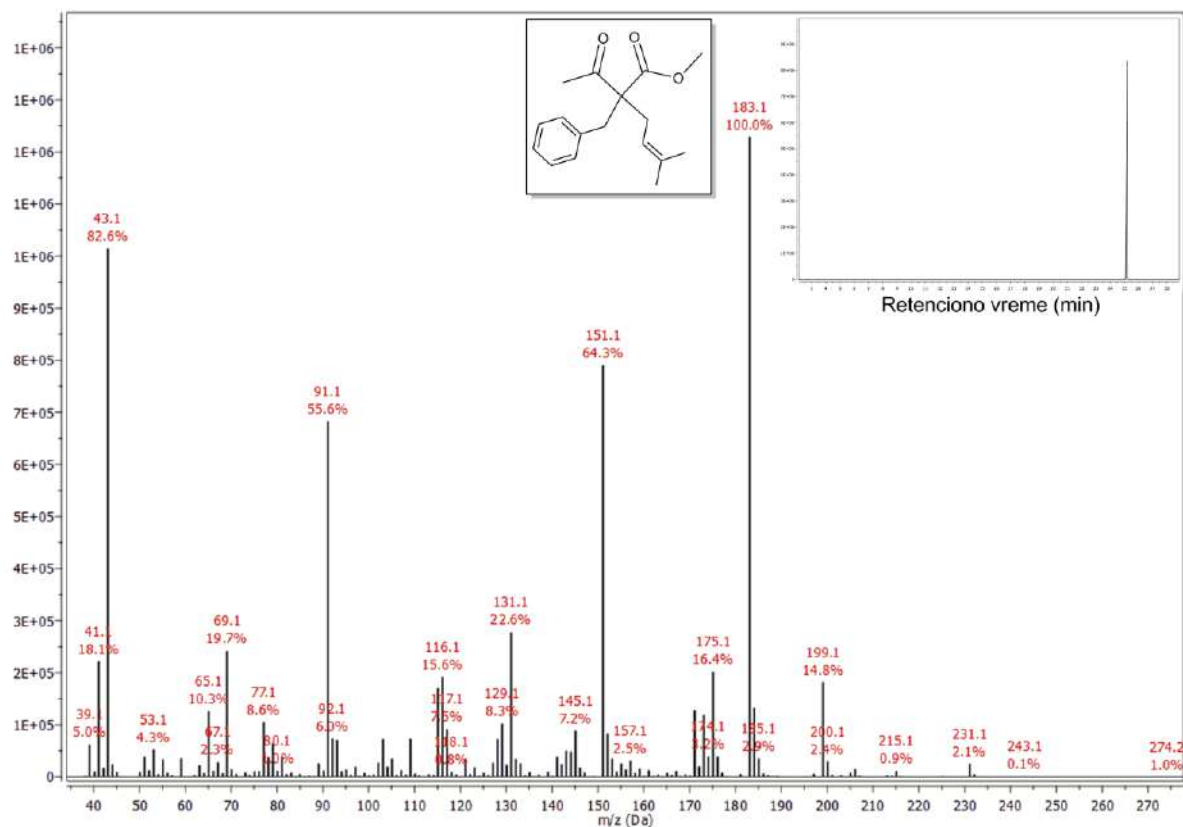
Prilog 8.4.99. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-benzil-4-metilpent-4-enoata [13e]



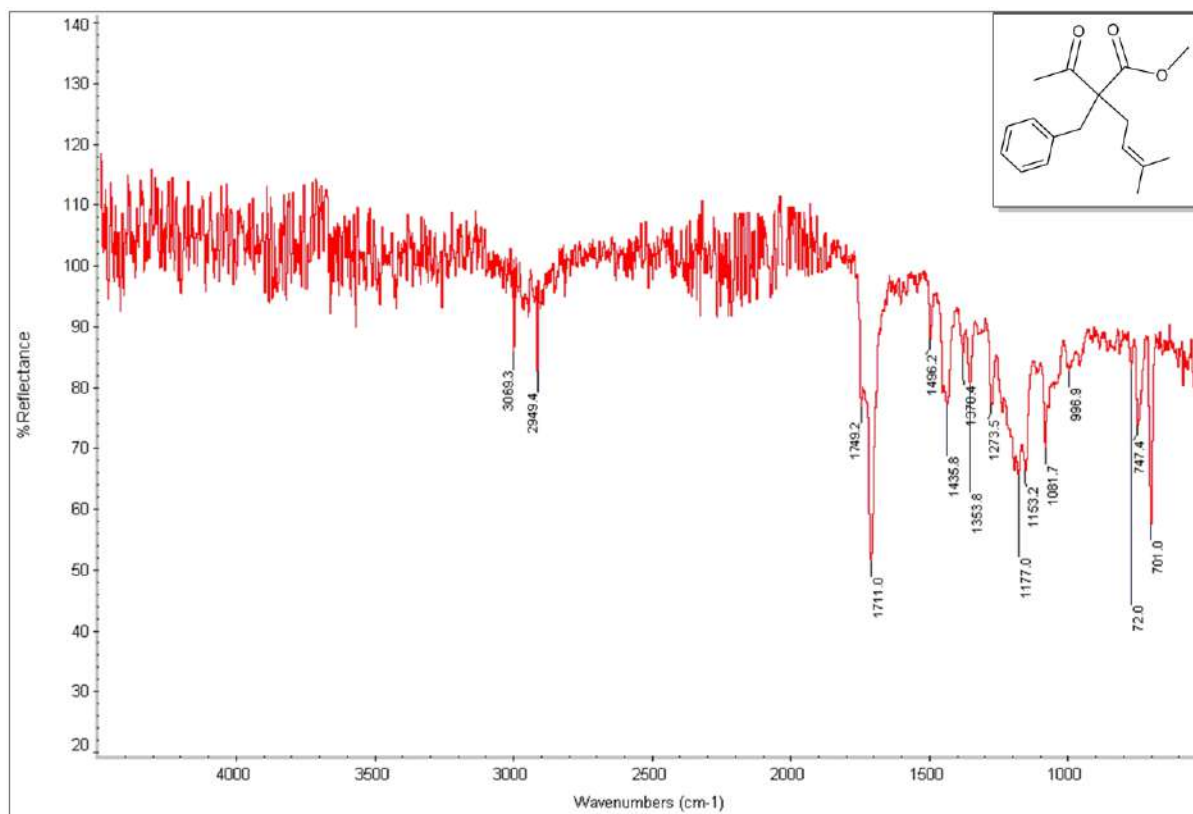
Prilog 8.4.100. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-benzil-4-metilpent-4-enoata [13e]



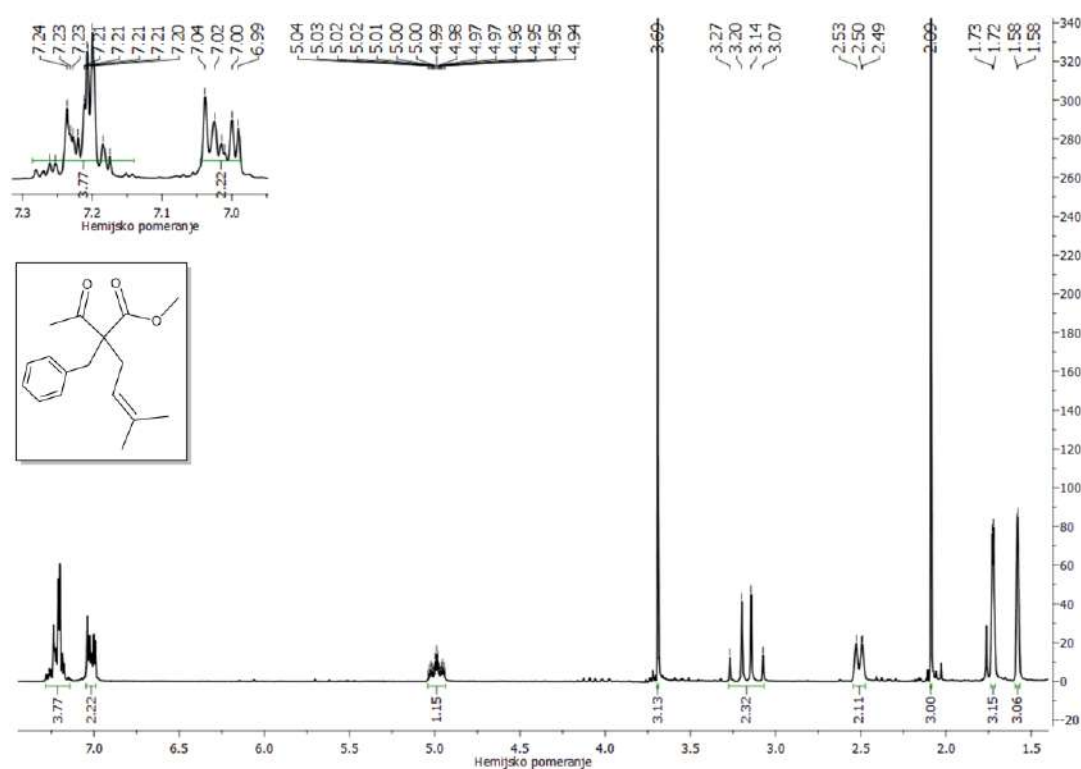
Prilog 8.4.101. Maseni spektar metil-2-acetil-2-benzil-5-metilheks-4-enoata [13f]



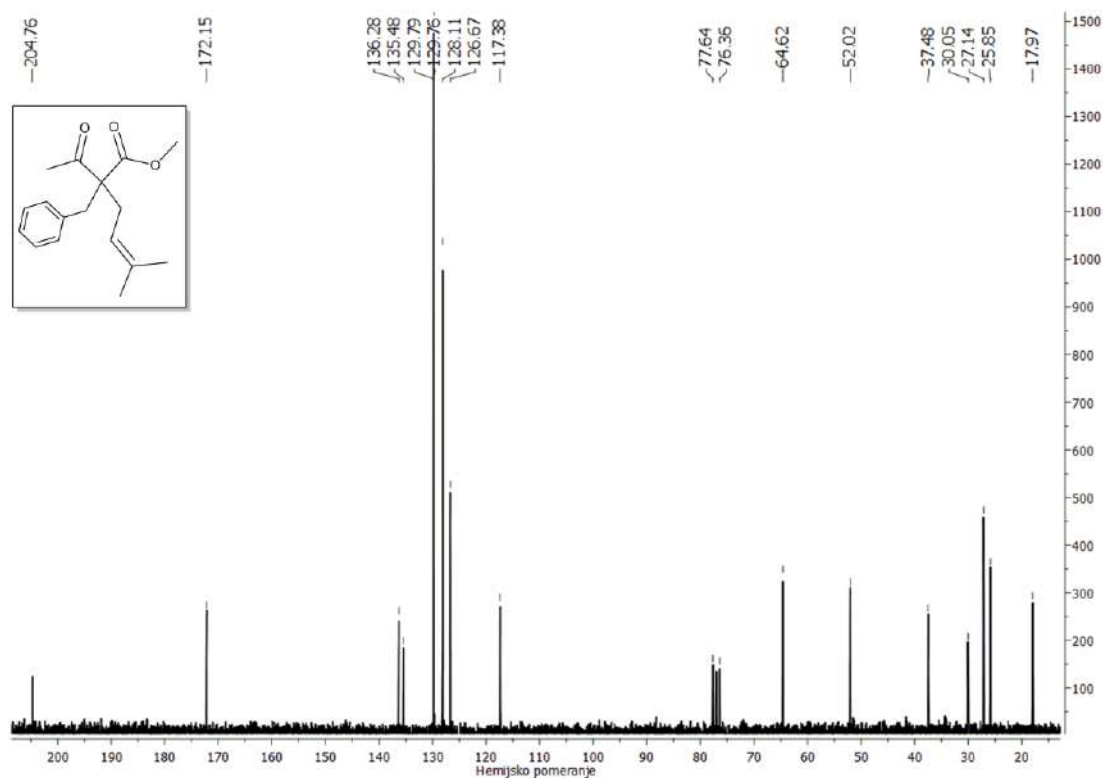
Prilog 8.4.102. IR spektar metil-2-acetil-2-benzil-5-metilheks-4-enoata [13f]



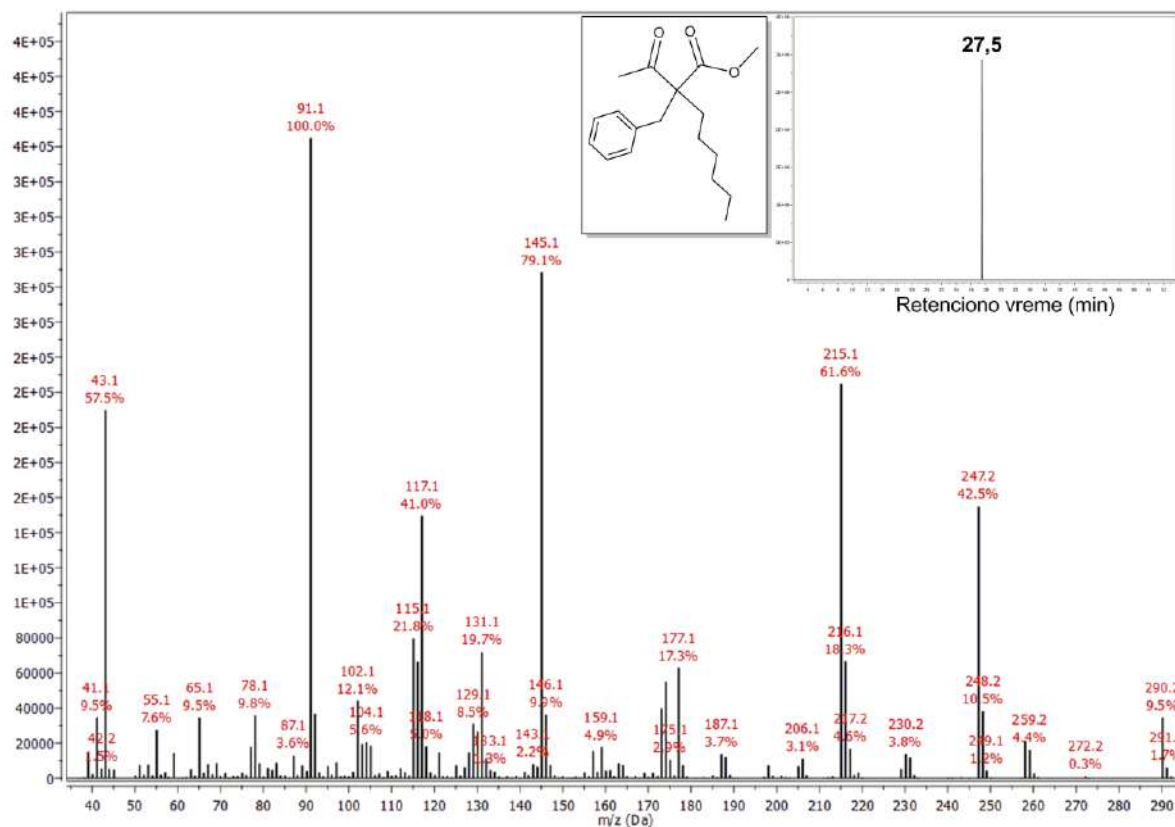
Prilog 8.4.103. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-benzil-5-metilheks-4-enoata [13f]



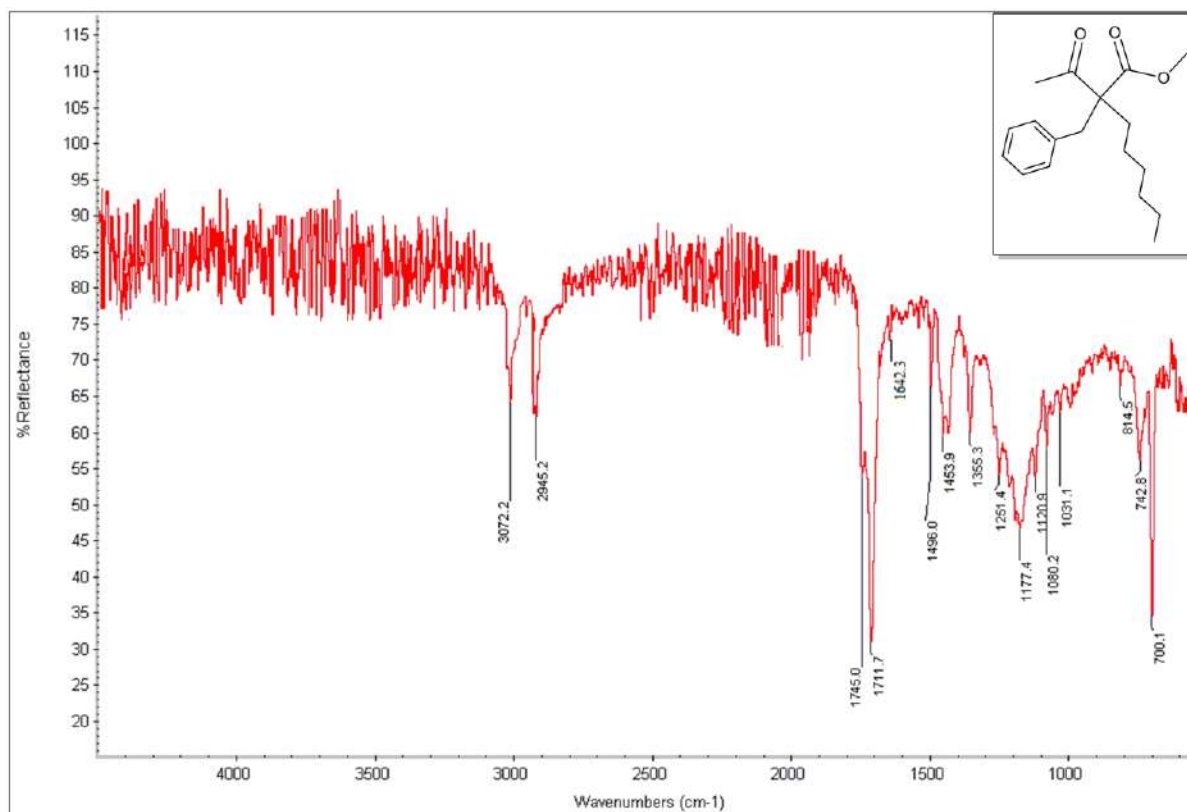
Prilog 8.4.104. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-benzil-5-metilheks-4-enoata [13f]



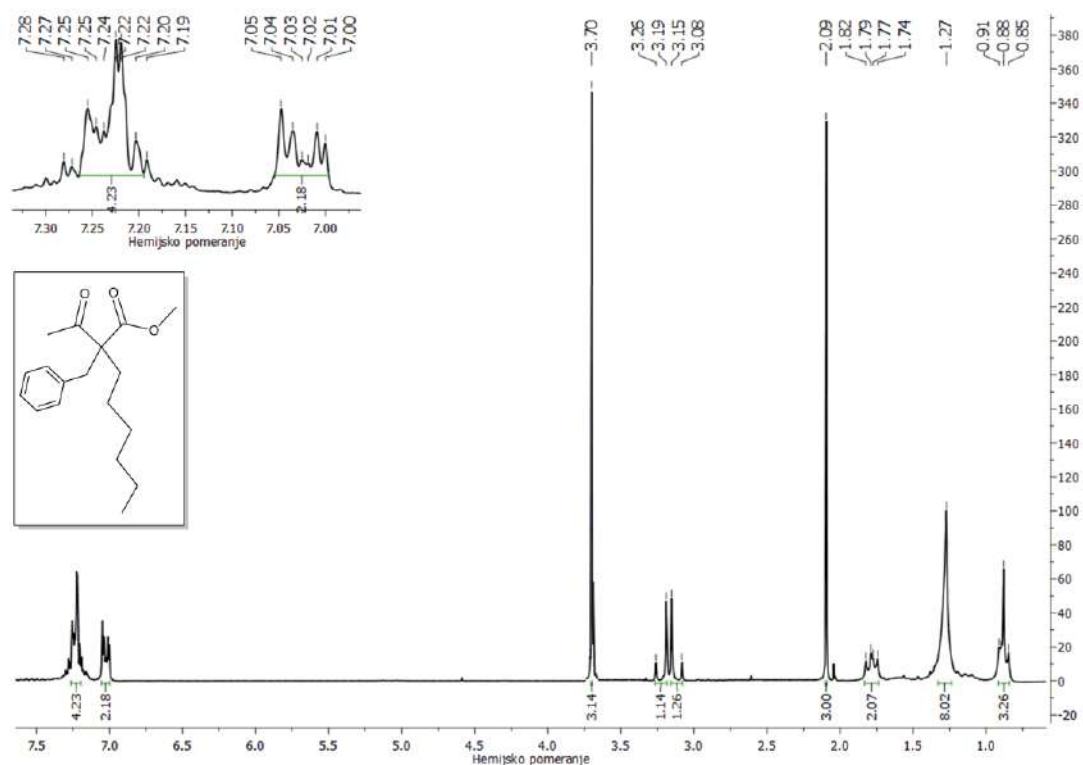
Prilog 8.4.105. Maseni spektar metil-2-acetil-2-benziloktanoata [13g]



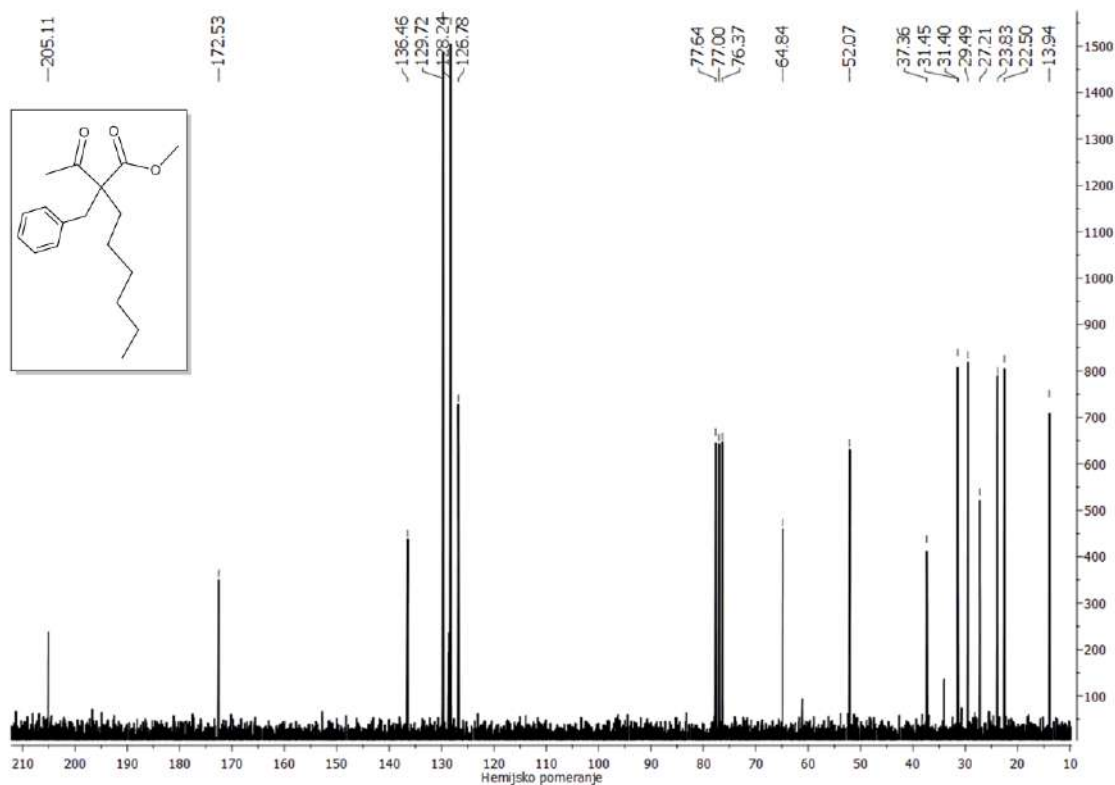
Prilog 8.4.106. IR spektar metil-2-acetil-2-benziloktanoata [13g]



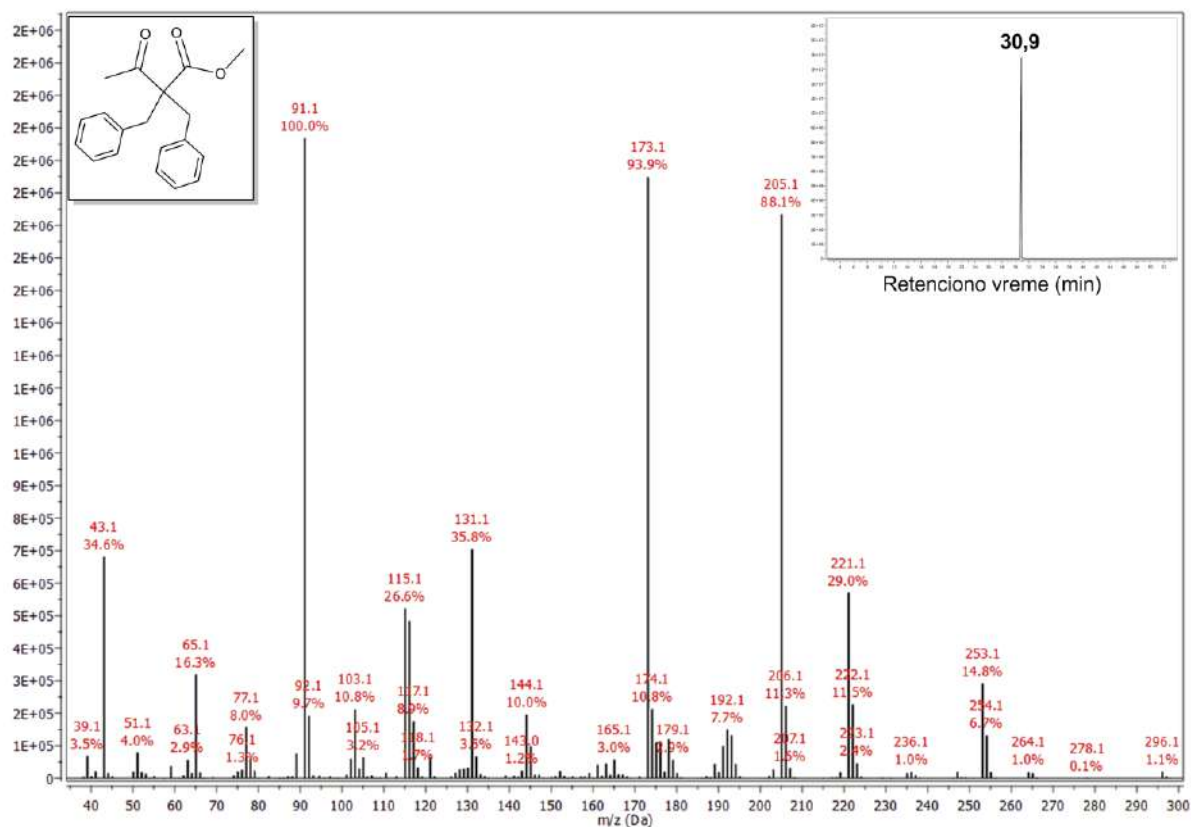
Prilog 8.4.107. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-benziloktanoata [13g]



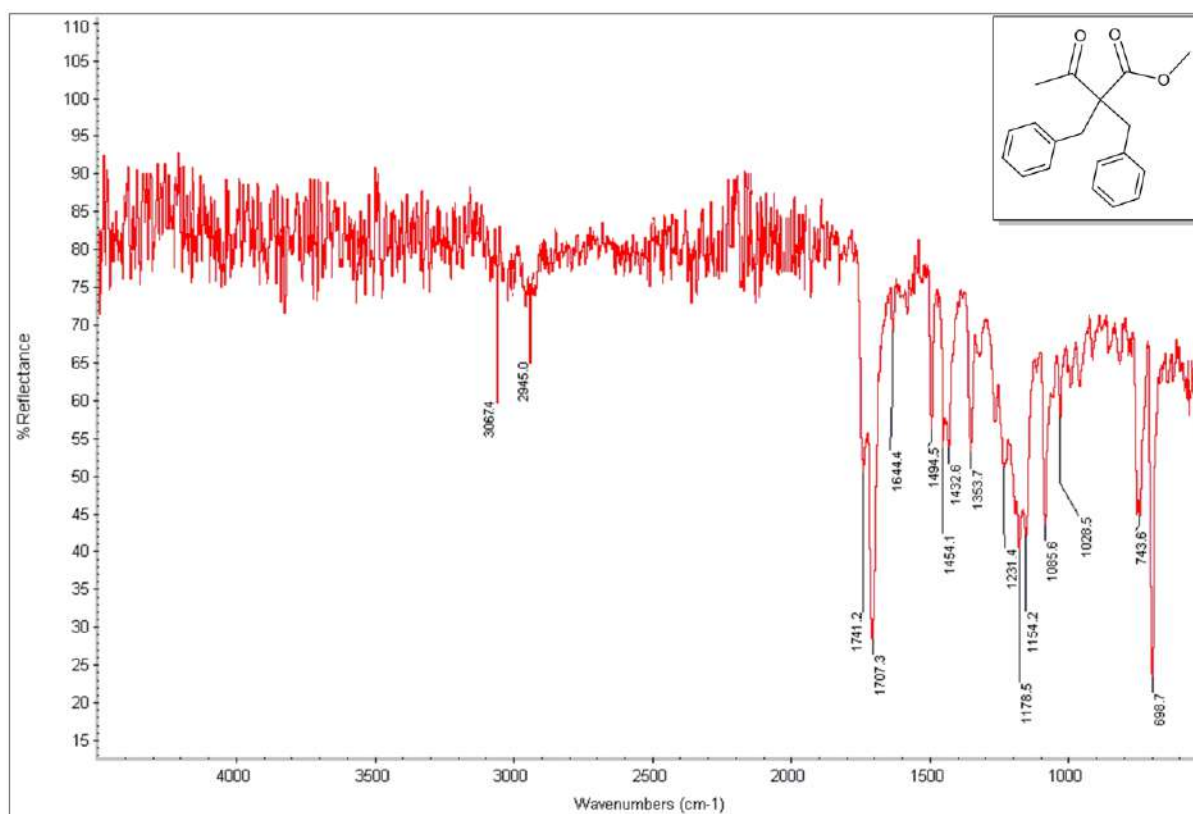
Prilog 8.4.108. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-benziloktanoata [13g]



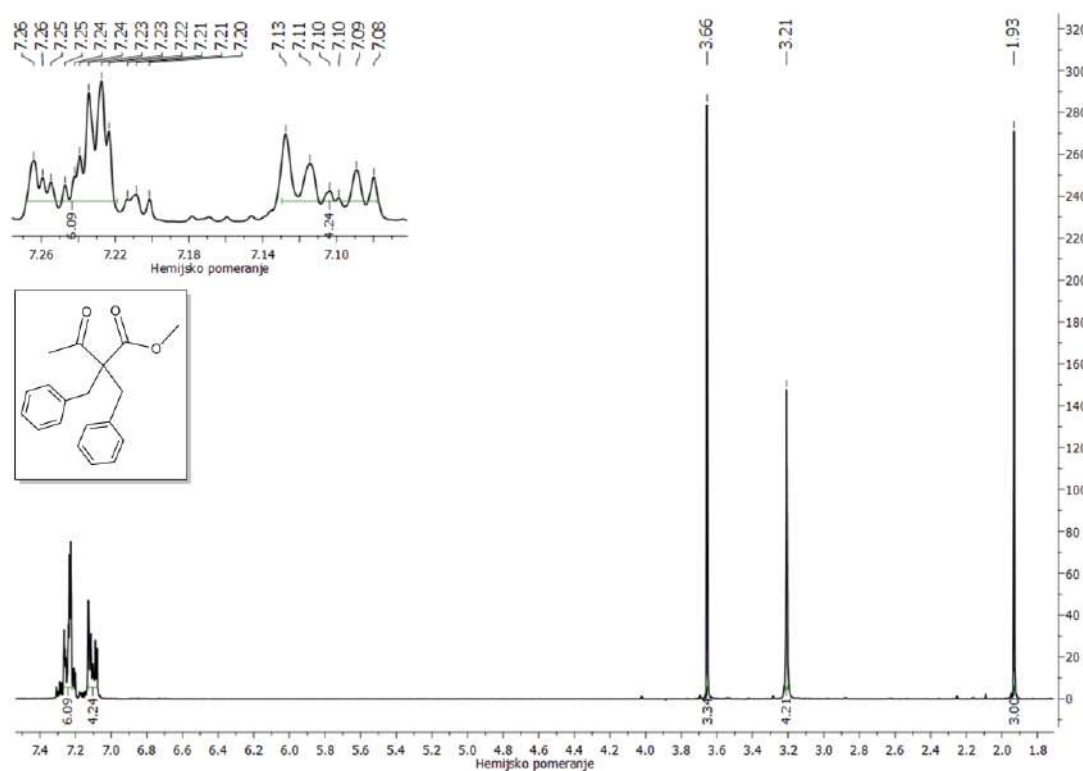
Prilog 8.4.109. Maseni spektar metil-2,2-dibenzil-3-oksobutanoata [13h]



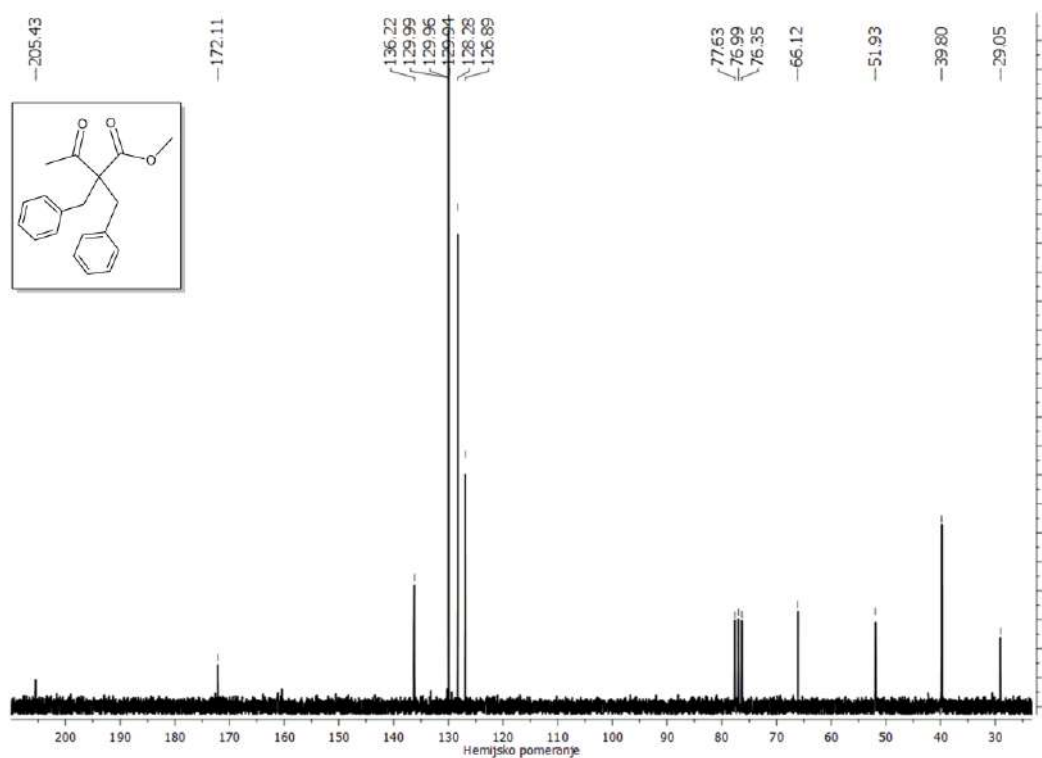
Prilog 8.4.110. IR spektar metil-2,2-dibenzil-3-oksobutanoata [13h]



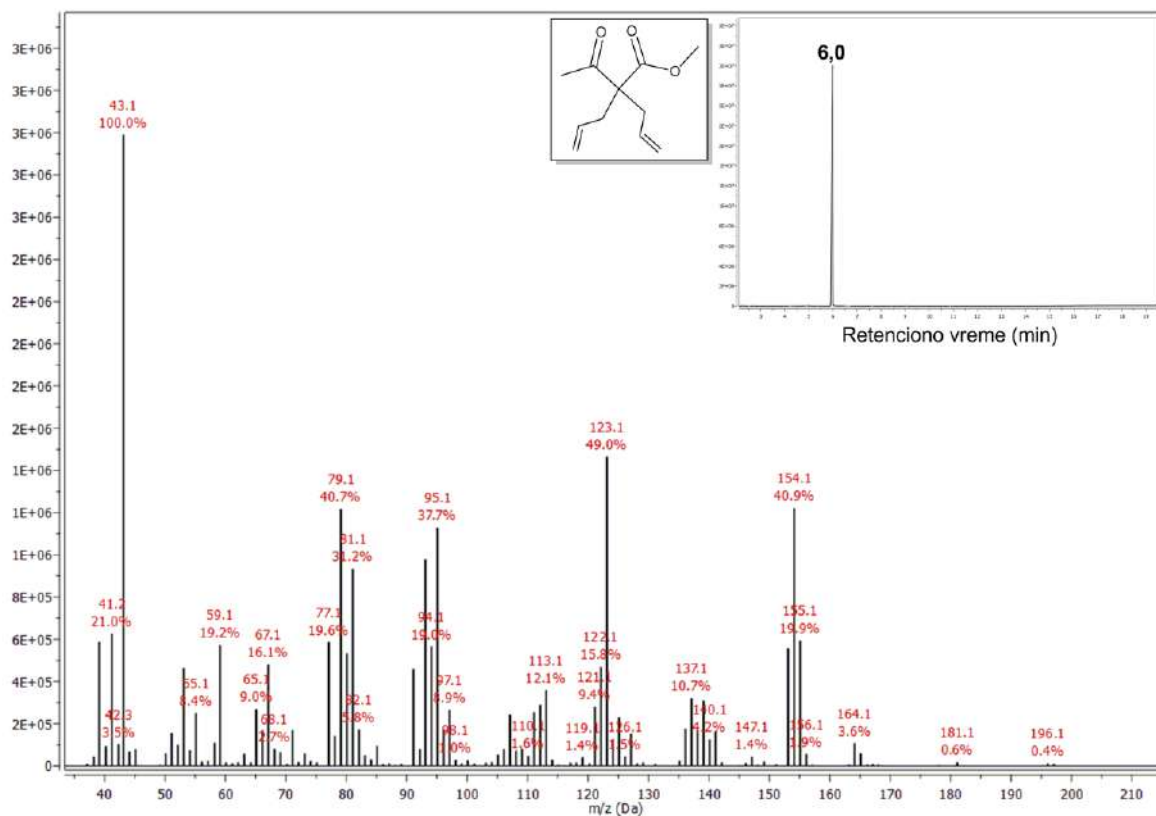
Prilog 8.4.111. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2,2-dibenzil-3-oksobutanoata [13h]



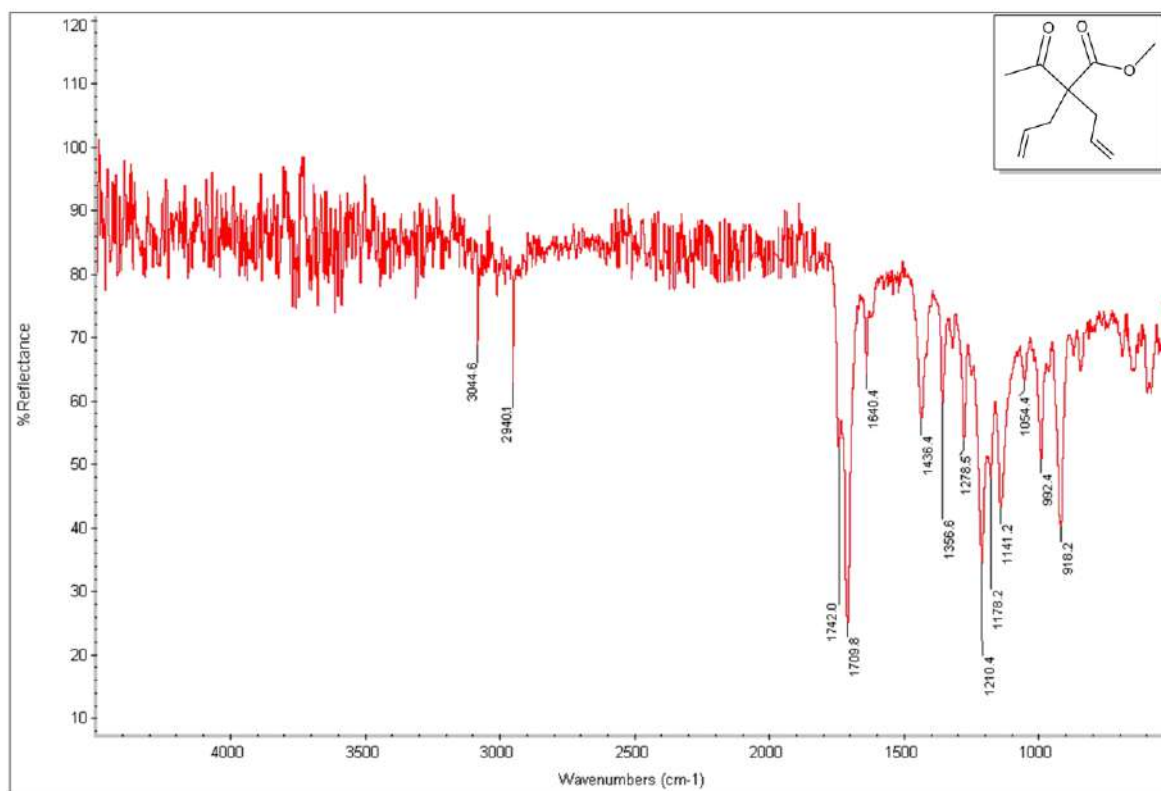
Prilog 8.4.112. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2,2-dibenzil-3-oksobutanoata [13h]



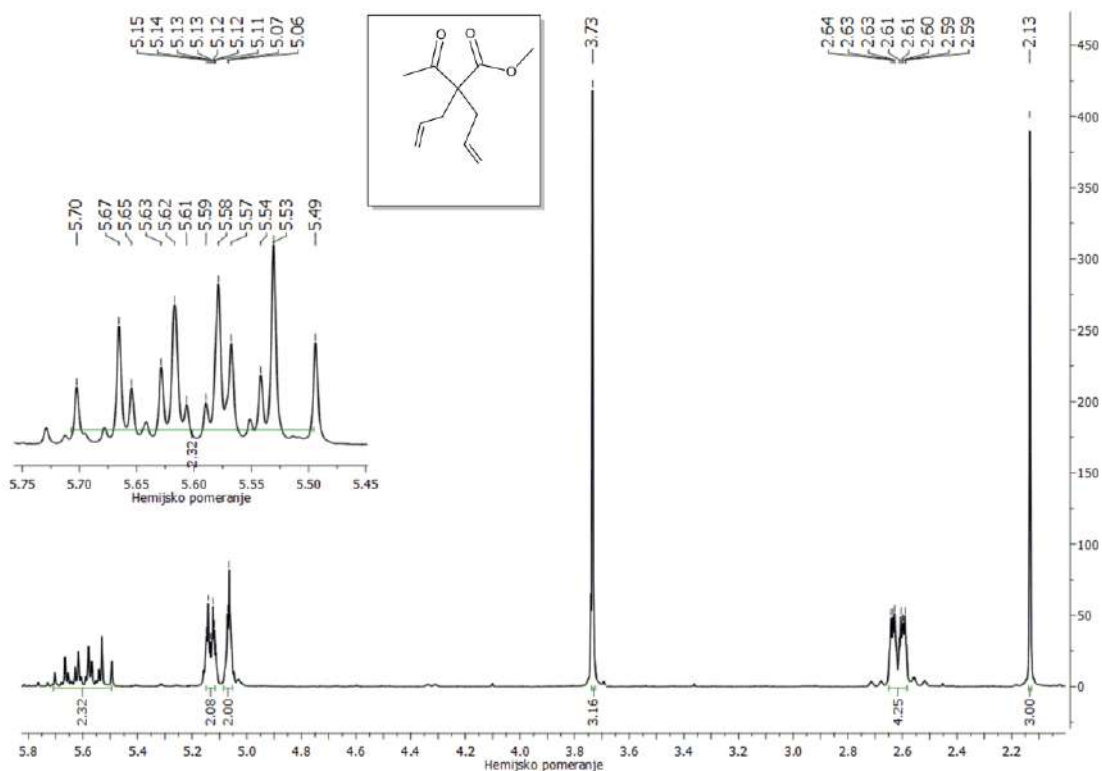
Prilog 8.4.113. Maseni spektar metil-2-acetil-2-alilpent-4-enoata [14]



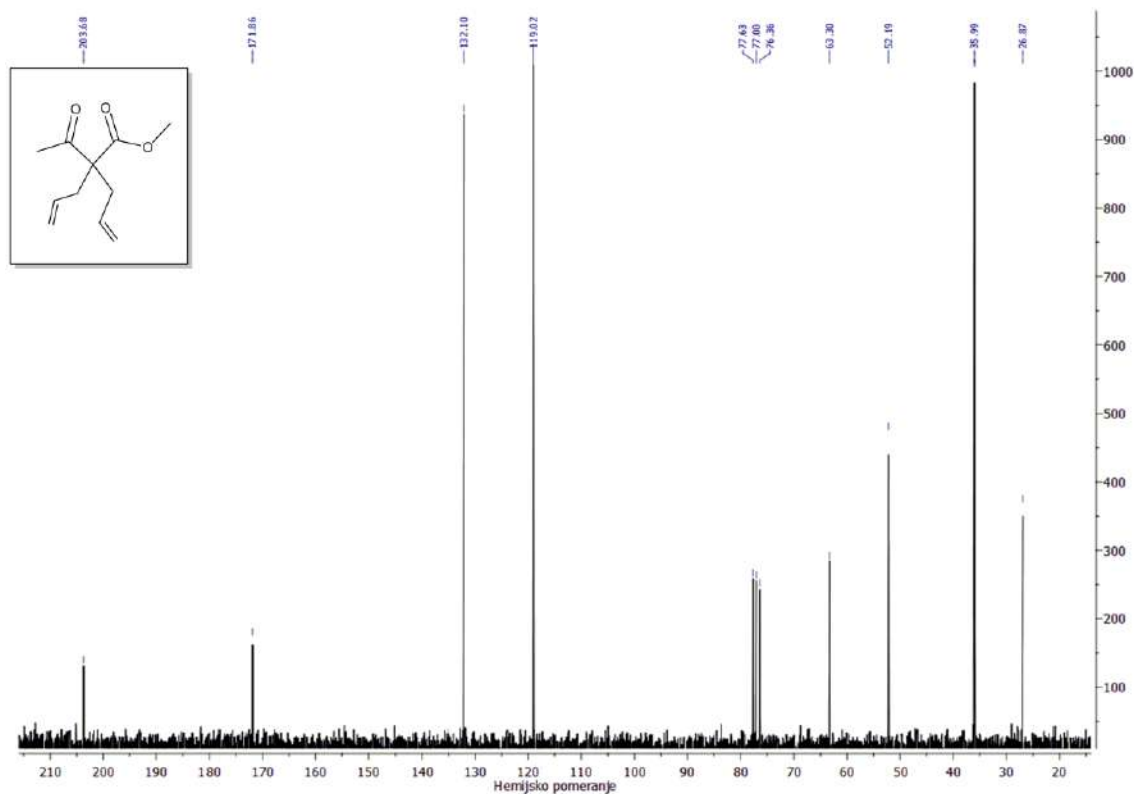
Prilog 8.4.114. IR spektar metil-2-acetil-2-alilpent-4-enoata [14]



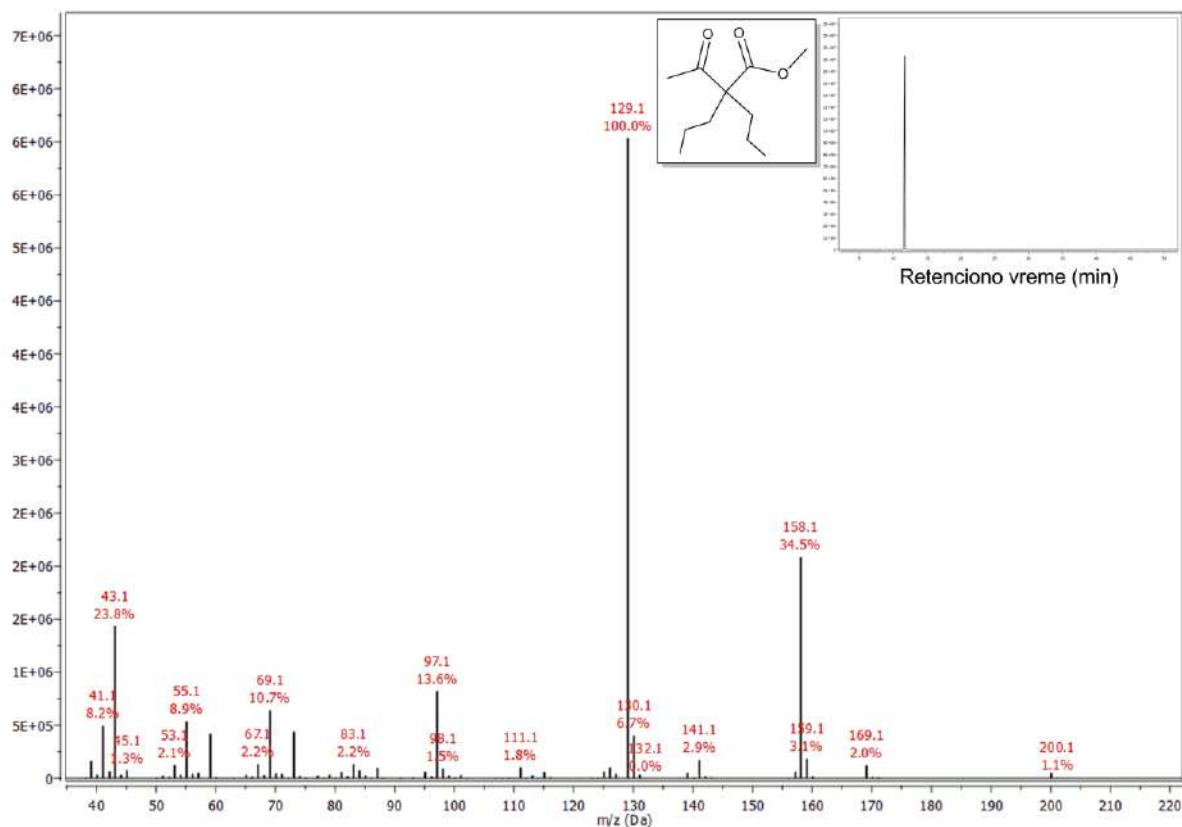
Prilog 8.4.115. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-alilpent-4-enoata [14]



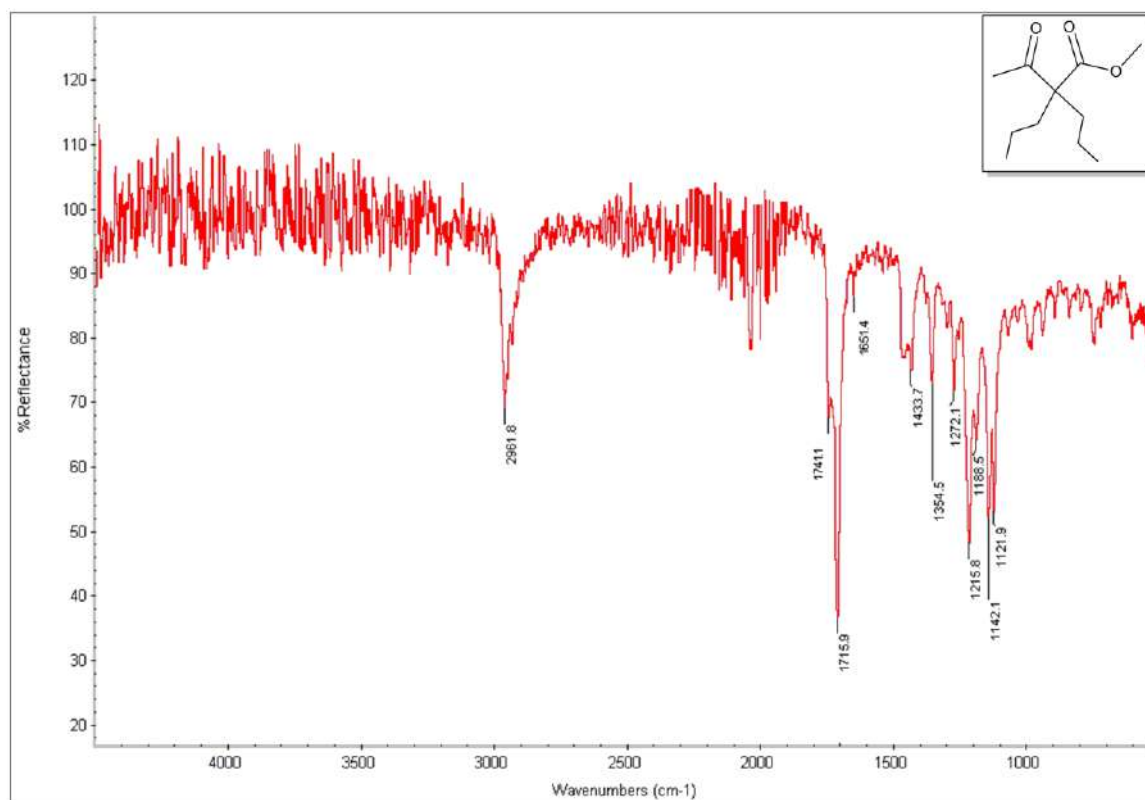
Prilog 8.4.116. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-alilpent-4-enoata [14]



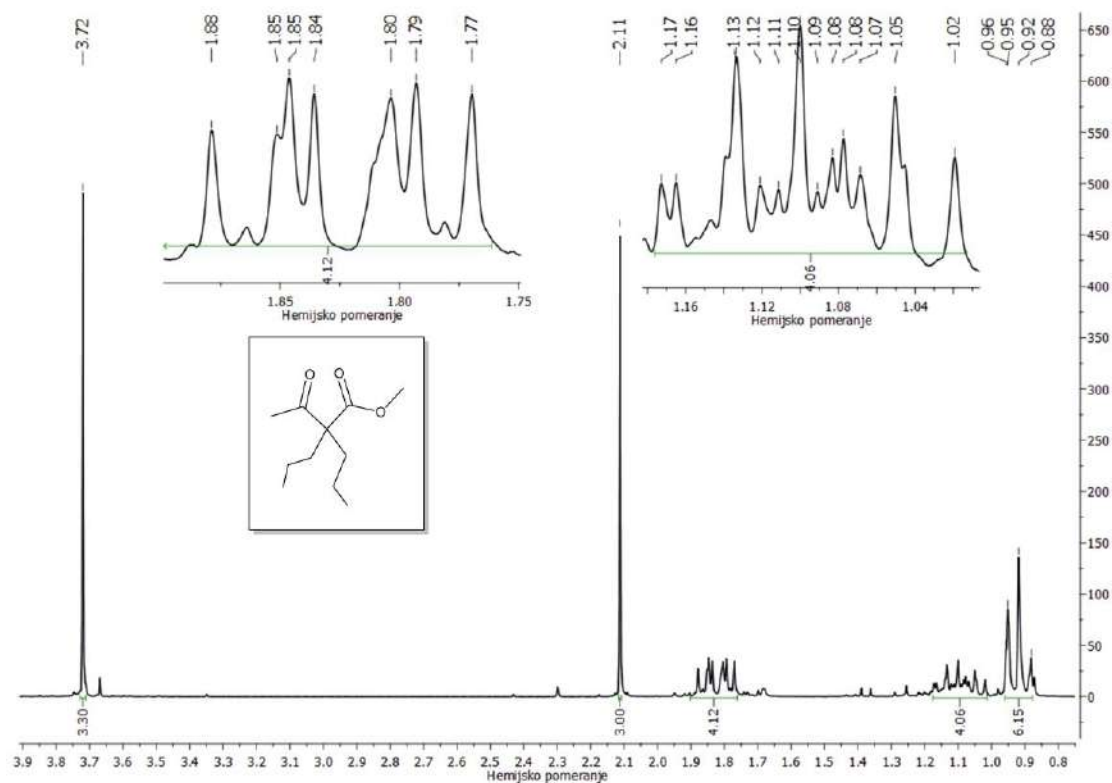
Prilog 8.4.117. Maseni spektar metil-2-acetil-2-propilpentanoata [15]



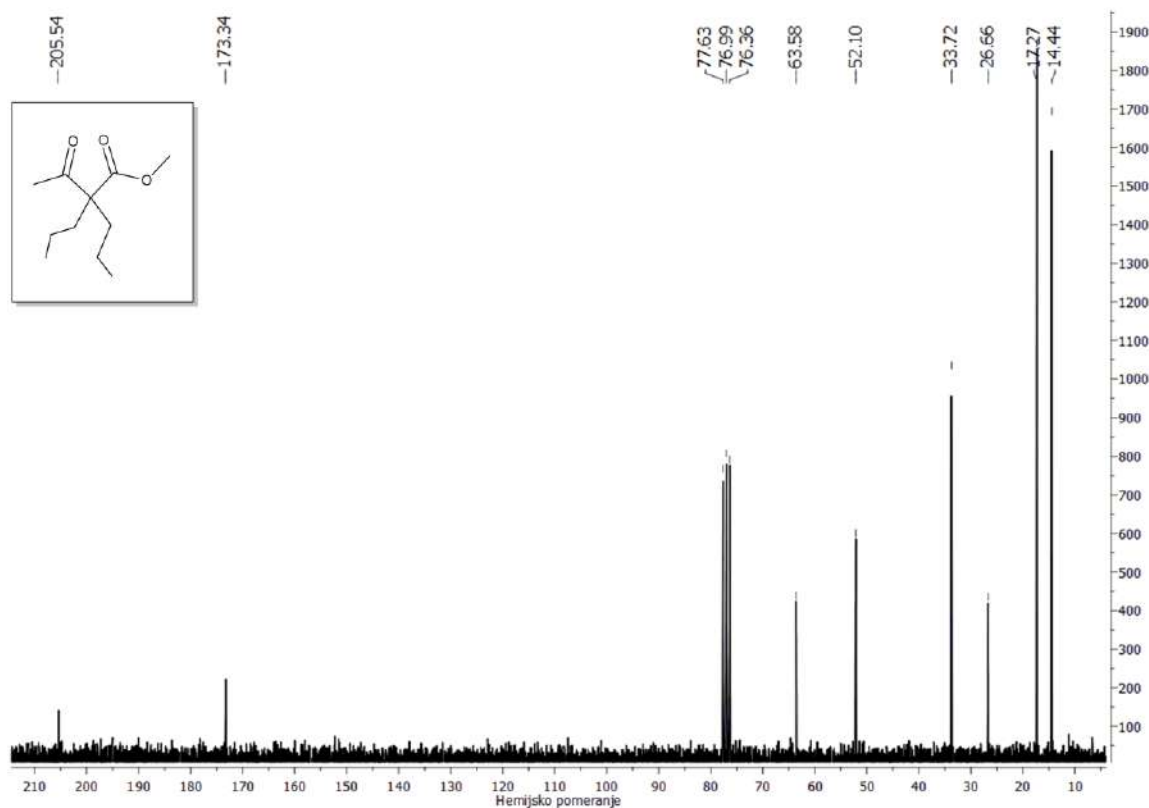
Prilog 8.4.118. IR spektar metil-2-acetil-2-propilpentanoata [15]



Prilog 8.4.119. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-propilpentanoata [15]



Prilog 8.4.120. ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) spektar metil-2-acetil-2-propilpentanoata [15]



9. BIOGRAFIJA AUTORA

Marko Mladenović je rođen 31.03.1987. godine u Leskovcu. Osnovnu školu „Braća Milenković” i prirodno-matematički smer Gimnazije „Stevan Jakovljević” završio je kao učenik generacije i nosilac diplome „Vuk Karadžić”. Dobitnik je specijalnog priznanja princa Aleksandra Karađorđevića za izuzetan uspeh u srednjoj školi, 2006. godine.

Prirodno-matematički fakultet u Nišu, Odsek za hemiju, upisao je školske 2006/07. godine. Studije je završio 2010. godine, sa prosečnom ocenom 9,40 i ocenom 10 na diplomskom radu. Dobitnik je godišnje nagrade Srpskog hemijskog društva za 2011. godinu za izuzetan uspeh u toku studija. Doktorske akademske studije na Departmanu za hemiju istog fakulteta upisao je školske 2010/11. Položio je sve ispite predviđene studijskim programom sa ocenom 10. Završio je školu masene spektrometrije - *The Mass Spectrometry in Environmental Pollutants Detection* - koju su organizovali Prirodno-matematički fakultet u Nišu i Université Pierre et Marie Curie (Pariz) 2013 i 2014. godine. Školske 2013/2014 godine je bio angažovan za izvođenje studentskih vežbi iz predmeta Principi organske sinteze, a školske 2016/2017 za izvođenje studentskih vežbi iz predmeta Preparativna organska hemija na Departmanu za hemiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Nišu.

Od 01.02.2011. godine kao istraživač-pripravnik a od 24. 04. 2013. godine kao istraživač-saradnik učestvuje na projektu „Kombinatorne biblioteke heterogenih katalizatora, prirodnih proizvoda, modifikovanih prirodnih proizvoda i njihovih analoga: put ka novim biološkim agensima”.

10. BIBLIOGRAFIJA

M₂₁ – Radovi objavljeni u vrhunskim međunarodnim časopisima

- Niko S. Radulović, Marko Z. Mladenović, Polina D. Blagojević, Zorica Z. Stojanović-Radić, Tatjana Ilic-Tomic, Lidija Senerovic, Jasmina Nikodinovic-Runic “Toxic essential oils. Part III: Identification and biological activity of new allylmethoxyphenyl esters from a Chamomile species (*Anthemis segetalis* Ten.)”, *Food and Chemical Toxicology* **2013**, 62, 554-565.
- Niko S. Radulović, Marko Z. Mladenović, Zorica Stojanović-Radić, Goran A. Bogdanović, Dragana Stevanović, Rastko D. Vukićević “Synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of a small library of ferrocene-containing acetoacetates and phenyl analogs - the discovery of a potent anticandidal agent”, *Molecular Diversity* **2014**, 18, 497-510.
- Niko S. Radulović, Marko Z. Mladenović, Zorica Stojanović-Radić, “Synthesis of small libraries of natural products: New esters of long-chain alcohols from the essential oil of *Scandix pecten-veneris* L. (Apiaceae)”, *Flavour and Fragrance Journal* **2014**, 29, 255-266.
- Niko S. Radulović, Marko Z. Mladenović, Pavle J. Randjelovic, Nikola M. Stojanović, Milan S. Dekić, Polina D. Blagojević “Toxic essential oils. Part IV: The essential oil of *Achillea falcata* L. as a source of biologically/pharmacologically active *trans*-sabinyl esters”, *Food and Chemical Toxicology* **2015**, 80, 114-129.
- Marko Z. Mladenović, Niko S. Radulović, “The essential oil of *Achillea ageratifolia* (Sm.) Boiss. subsp. *serbica* (Nyman) Heimerl (Asteraceae) revisited: the stereochemical nomenclature issues, structural elucidation and synthesis of (new) sabinyl esters”, *Flavour and Fragrance Journal* **2017**, 32, 5-23.

M₂₂ – Radovi objavljeni u istaknutim međunarodnim časopisima

- Niko S. Radulović, Marko Z. Mladenović, Nevenka D. Đorđević, “Chemotypification of *Astrantia major* L. (Apiaceae): Essential oil and Lignan Profiles of fruits”, *Chemistry and biodiversity* **2012**, 9, 1320-1337.
- Niko S. Radulović, Marko Z. Mladenović, Polina D. Blagojević, “A ‘Low-Level’ Chemotaxonomic Analysis of the Plant Family Apiaceae: The Case of *Scandix balansae* Reut. ex Boiss. (Tribe Scandiceae)”, *Chemistry and biodiversity* **2013**, 10, 1202-1219.

- Niko S. Radulović, Marko Z. Mladenović, Polina D. Blagojević, “(Un)Targeted Metabolomics in Asteraceae: Probing the Applicability of Essential-Oil Profiles of *Senecio* L. (Senecioneae) Taxa in Chemotaxonomy”, *Chemistry and biodiversity* **2014**, 11, 1330-1353.
- Tatjana Mitrović, Slaviša Stamenković, Vladimir Cvetković, Niko Radulović, Marko Mladenović, Milan Stanković, Marina Topuzović, Ivana Radojević, Olgica Stefanović, Sava Vasić, Ljiljana Čomić, “*Platismatia glauca* and *Pseudoevernina furfuracea* lichens as sources of antioxidant, antimicrobial and antibiofilm agents”, *EXCLI Journal* **2014**, 13, 938-953.

M₂₃ – radovi objavljeni u međunarodnim časopisima

- Tatjana Lj. Mitrović, Slaviša M. Stamenković, Vladimir J. Cvetković, Niko S. Radulović, Marko Z. Mladenović, Milan S. Stanković, Marina D. Topuzović, Ivana D. Radojević, Olgica D. Stefanović, Sava M. Vasić, Ljiljana R. Čomić, Dragana S. Šeklić, Ana D. Obradović, Snežana D. Marković, “Contribution to the knowledge of the chemical composition and biological activity of the lichens *Cladonia foliacea* Huds. (Wild.) and *Hypogymnia physodes* (L.)”, *Oxidation communications* **2016**, 38, 2016-2032.
- Niko S. Radulović, Vojkan M. Miljković, Marko Z. Mladenović, Goran S. Nikolić “Essential oils of *Morus alba* and *M. nigra* leaves: Effect of drying on the chemical composition”, *Natural Product Communications* **2017**, 12, 115-118.

M₅₂ – radovi objavljeni u časopisu nacionalnog značaja

- Marko Z. Mladenović, Niko S. Radulović, “Quantitative structure-retention relationship of gas chromatographic retention indices of long-chain esters: The case of *Scandix-pecten-veneris* L. essential-oil constituents”, *Facta Universitatis, Series Physics, Chemistry and Technology* **2016**, 14, 97-104.

M₃₄ – Radovi saopšteni na međunarodnim skupovima objavljeni u izvodu

- N. S. Radulović, M. Z. Mladenović; New esters of long chain alcohols and isobutanoic and isovaleric acids from the essential oil of *Scandix pecten-veneris* L. (Apiaceae); P-19, Book of Abstract 2012, 43th International Symposium on Essential Oils, Lisbon, Portugal.
- N. S. Radulović, P. D. Blagojević, M. Z. Mladenović; Volatile secondary metabolites of *Senecio vernalis* Waldst. & Kit.; P-20, Book of Abstract 2012, 43th International Symposium on Essential Oils, Lisbon, Portugal.

- N. S. Radulović, M. Z. Mladenović, N. D. Đorđević; Chemotypification of *Astrantia major* L. (Apiaceae) inferred from its fruit essential oil profile; P-29, Book of Abstract 2012, 43th International Symposium on Essential Oils, Lisbon, Portugal.
- P. J. Randelović, N. S. Radulović, M. Z. Mladenović, N. M. Stojanović, M. S. Dekić; Biologically active *trans*-sabinol esters from the essential oil of *Achillea falcata* L. (Asteraceae); PP-160, Book of Abstract 2014, 45th International Symposium on Essential Oils, Istanbul, Turkey.
- P. D. Blagojević, N. S. Radulović, M. Z. Mladenović, Z. Z. Stojanović-Radić, T. Ilić-Tomić, L. Senerović, J. Nikodinović-Runić; Identification and biological activity of allylmethoxyphenyl esters from *Anthemis segetalis* Ten. (Asteraceae) essential oil; PP-163, Book of Abstract 2014, 45th International Symposium on Essential Oils, Istanbul, Turkey.
- N. S. Radulović, M. Z. Mladenović, M. D. Vukićević, R. D. Vukićević; Volatile secondary metabolites of *Conocephalum conicum* (L.) Dum. from Serbia; PP-150, Book of Abstract 2014, 45th International Symposium on Essential Oils, Istanbul, Turkey.
- P. D. Blagojević, N. S. Radulović, M. Z. Mladenović; Chemical analysis of *Scandix balansae* Reut. ex Boiss. (tribe Scandiceae) fruit essential oil and a “low-level” chemotaxonomic analysis of the plant family Apiaceae; PP-164, Book of Abstract 2014, 45th International Symposium on Essential Oils, Istanbul, Turkey.
- N. M. Stojanović, P. J. Randjelović, I. R. Ilić, M. Z. Mladenović, N. S. Radulović; The first report on the acute toxicity of the highly valued essential oil of lemon balm (*Melissa officinalis* L., Lamiaceae) in female BALB/c mice; OP-1, Book of Abstract 2016, 47th International Symposium on Essential Oils, Nice, France.
- V. M. Miljković, M. Z. Mladenović, G. Nikolić, N. S. Radulović; Effect of drying on the volatile profile of *Morus alba* L. and *M. nigra* L. leaves; PP-59, Book of Abstract 2016, 47th International Symposium on Essential Oils, Nice, France.

M₆₄ - Radovi saopšteni na skupovima nacionalnog značaja objavljeni u izvodu

- N. S. Radulović, M. Z. Mladenović; Synthesis of methoxy-(propenyl)phenyl esters from the essential oil of *Anthemis segetalis* Ten. (Asteraceae); BH15-P, Book of Abstracts 2011, 49th Meeting of the Serbian Chemical Society, Kragujevac, Serbia.
- N. S. Radulović, M. Z. Mladenović; New octadecyl esters from the essential oil of *Scandix balansae* Reut. ex Boiss (Apiaceae) fruits; BH-P4, Book of Abstracts 2012, 50th Meeting of the Serbian Chemical Society, Belgrade, Serbia.

- N. S. Radulović, M. Z. Mladenović; New esters of long chain alcohols and isobutanoic and isovaleric acids from the essential oil of *Scandix pecten-veneris* L. (Apiaceae); HA P16, Book of Abstract 2012, First international conference of young chemists of Serbia, Belgrade, Serbia.
- N. S. Radulović, P. D. Blagojević, M. Z. Mladenović; Volatile secondary metabolites of *Senecio vernalis* Waldst. & Kit.; HA P17, Book of Abstract 2012, First international conference of young chemists of Serbia, Belgrade, Serbia.
- M. Z. Mladenović, N. S. Radulović; New esters of *trans*-sabinol from the essential oil of *Achillea serbica* Nym. (Asteraceae): synthesis and structural elucidation; HA P09, Book of Abstract 2015, Third international conference of young chemists of Serbia, Belgrade, Serbia.
- N. S. Radulović, M. Z. Mladenović, P. D. Blagojević; A low-level chemotaxonomic analysis of the plant family Apiaceae: the case of *Scandix balansae* Reut. ex Boiss. (tribe Scandiceae); Book of Abstract 2013, 11th Symposium on the Flora of Southeastern Serbia and Neighbouring Regions, Vlasina, Serbia.
- M. Z. Mladenović, N. S. Radulović, Z. Z. Stojanović-Radić, D. Stevanović, R. D. Vukićević; Synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of a small library of ferrocene-containing acetoacetates and phenyl analogs-the discovery of a potent anticandidal agent; OH-P01, Book of Abstracts 2014, 51th Meeting of the Serbian Chemical Society, Nis, Serbia.
- N. S. Radulović, M. G. Nikolić, M. Z. Mladenović, R. D. Vukićević; Synthesis and spectral characterization of a library of 1-phenylpyrazoles containing a ferrocene unit and their phenyl analogues; OH-P03, Book of Abstracts 2014, 51th Meeting of the Serbian Chemical Society, Nis, Serbia.
- M. Z. Mladenović, N. S. Radulović, S. Filipović; The essential oil of *Achillea ageratifolia* (Sm.) Boiss. subsp. *serbica* (Nyman) Heimerl (Asteraceae) revisited: structural elucidation and synthesis of (new) sabinyl esters; Book of Abstract 2016, 12th Symposium on the Flora of Southeastern Serbia and Neighbouring Regions, Kopaonik, Serbia.

11. IZJAVE AUTORA



Прилог 1.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом
КОМБИНАТОРНЕ БИБЛИОТЕКЕ ОДАБРАНИХ ПРИРОДНИХ И СИНТЕТСКИХ
БИОЛОШКИ АКТИВНИХ ЕСТАРА

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

У Нишу, 07. 02. 2017.

Аутор дисертације:

Марко З. Младеновић

Потпис докторанда:



Прилог 2.

**ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Име и презиме аутора: Марко Младеновић

Студијски програм: Хемија

Наслов рада: Комбинаторне библиотеке одабраних природних
и синтетских биолошки активних естара

Ментор: др Нико С. Радловић

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације истоветна електронској верзији, коју сам предао/ла за уношење у **Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Нишу, 07.02.2017.

Аутор дисертације: Марко З. Младеновић

Потпис докторанда:



Прилог 3.

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да, у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, унесе моју докторску дисертацију, под насловом:

КОМБИНАТОРНЕ БИБЛИОТЕКЕ ОДАБРАНИХ ПРИРОДНИХ И СИНТЕТСКИХ
БИОЛОШКИ АКТИВНИХ ЕСТАРА

која је моје ауторско дело.

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

Моју докторску дисертацију, унету у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио/ла.

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

(Молимо да подвучете само једну од шест понуђених лиценци; кратак опис лиценци је у наставку текста).

У Нишу, 07.02.2017.

Аутор дисертације:

Марко З. Младеновић

Потпис докторанда:

ТИПОВИ ЛИЦЕНЦИ

1. Ауторство. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора, на начин одређен од аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци (CC BY 3.0).

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора, на начин одређен од аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела (CC BY-NC 3.0).

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе вашег дела у делима других аутора, ако се наведе име аутора, на начин одређен од аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела (CC BY-NC-ND 3.0).

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора, на начин одређен од аутора или даваоца лиценце, и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прераде (CC BY-NC-SA 3.0).

5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе вашег дела у делима других аутора, ако се наведе име аутора, на начин одређен од аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела (CC BY-ND 3.0).

6. Ауторство – делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора, на начин одређен од аутора или даваоца лиценце, и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода (CC BY-SA 3.0).