

# Primjena eutektičkih otopala u reakciji kvaternizacije nikotinamida i 2-brom-4'-metilacetofenona

---

Krijan, Luka

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:464798>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-20**

REPOZITORIJ

PTF OS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar  
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Prehrambeno–tehnološki fakultet Osijek

Procesno inženjerstvo

LUKA KRIJAN

DIPLOMSKI RAD

**PRIMJENA EUTEKTIČKIH OTAPALA U REAKCIJI KVATERNIZACIJE  
NIKOTINAMIDA I 2-BROM-4'-METILACETOFENONA**

Mentor: izv. prof. dr. sc. Dajana Gašo-Sokač

Komentor: doc. dr. sc. Valentina Bušić

Osijek, 2019.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek  
Zavod za primjenjenu kemiju i ekologiju  
Katedra za kemiju i ekologiju  
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

**Diplomski sveučilišni studij Procesno inženjerstvo****Znanstveno područje:** Prirodne znanosti**Znanstveno polje:** Kemija**Nastavni predmet:** Organska kemija**Tema rada** je prihvaćena na IV redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2018./2019. održanoj 29. siječnja 2019.**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Dajana Gašo-Sokač**Komentor:** doc. dr. sc. Valentina Bušić

Primjena eutektičkih otapala u reakciji kvaternizacije nikotinamida i 2-brom-4'-metilacetofenona  
Luka Krijan, 0253037493

**Sažetak:** Razvojem kemije dolazi do utjecaja na okoliš i promjena koje se javljaju u okolišu i ostaju kao trajne posljedice. Iz tog razloga krenulo se sa razvojem u smjeru korištenja otapala koja će imati mali utjecaj na okoliš. Veliki potencijal imaju eutektička otapala. Upravo su ona obrađena u ovom radu kako bi se utvrdile činjenice koje su temelj za daljnje očuvanje okoliša. U ovom radu su izvedene i opisane reakcije kvaternizacije nikotinamida sa 2-brom-4'-metilacetofenomom kao elektrofilom. Reakcije su izvedene u eutektičkim otapalima na bazi kolin-klorida. Korištene su tri metode za provođenje spomenute reakcije, a to su: konvencionalna metoda uz miješanje i zagrijavanje, metoda podpomognuta mikrovalnim zračenjem i metoda pod utjecajem ultrazvučnog zračenja.

**Gljučne riječi:** zelena kemija, eutektička otapala, nikotinamid, 2-brom-4'-metilacetofenon, kvaternizacija

**Rad sadrži:** 42 stranica  
20 slika  
8 tablica  
0 priloga  
19 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** Hrvatski

**Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:**

1.	izv. prof. dr. sc. <i>Maja Molnar</i>	Predsjednik
2.	izv. prof. dr. sc. <i>Dajana Gašo-Sokač</i>	član-mentor
3.	doc. dr. sc. <i>Valentina Bušić</i>	član-komentor
4.	izv. prof. dr. sc. <i>Ivica Strelec</i>	zamjena člana

**Datum obrane:** 19. srpnja 2019.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u** Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

**BASIC DOCUMENTATION CARD**

GRADUATE THESIS

**University Josip Juraj Strossmayer in Osijek**  
**Faculty of Food Technology Osijek**  
**Department of Applied Chemistry and Ecology**  
**Subdepartment of Chemistry and Ecology**  
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

**Graduate program** Process engineering  
**Scientific area:** Natural science  
**Scientific field:** Chemistry  
**Course title:** Organic chemistry  
**Thesis subject** was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. IV held on January 29, 2019.  
**Mentor:** Dajana Gašo-Sokač, Associate Prof., PhD  
**Technical assistance:** *Valentina Bušić*, Assistant Prof., PhD

Application of Eutectic Solvents in the Quaternization Reaction of Nicotinamide and 2-Bromo-4'-methylacetophenones  
Luka Krijan, 0253037493

**Summary:** Development of chemistry has environmental impact in term of changes occurring in the environment that remain as lasting consequences. For this reason, solvents with minimum environmental impact have been developed. Eutectic solvents have big potential. These solvents were examined in this master thesis to determine the facts that are the basis for environmental protection. In this paper, the quaternization of nicotinamide with 2-bromo-4'-methylacetophenones as electrofile was performed and described. The reactions were performed in eutectic solvents based on choline-chloride. Three methods for carrying out reaction were used: conventional method with mixing and heating, method supported by microwave radiation and ultrasonic radiation method.

**Key words:** green chemistry, eutectic solvents, nicotinamide, 2-bromo-4'-methylacetophenones, quaternization

**Thesis contains:** 42 pages  
20 figures  
8 tables  
0 supplements  
19 references

**Original in:** Croatian

**Defense committee:**

- |    |   |              |
|----|---|--------------|
| 1. | <i>Maja Molnar</i> , PhD, associate prof.       | chair person |
| 2. | <i>Dajana Gašo-Sokač</i> , PhD, associate prof. | supervisor   |
| 3. | <i>Valentina Bušić</i> PhD, assistant prof.     | member       |
| 4. | <i>Ivica Strelec</i> , PhD, associate prof.     | stand-in     |

**Defense date:** July 19.2019

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

## Zahvale

Veliku zahvalnost, u prvom redu, dugujem svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Dajani Gašo-Sokač koja mi je omogućila izradu ovog diplomskog rada i što je uvijek imala strpljenja i vremena za moje brojne upite. Znam da Vam nije bilo lako sa mnom, ali nadam se da Vam ostajem u dobrom sjećanju.

Hvala doc. dr. sc. Valentini Bušić na predanoj pomoći i savjetima tijekom pisanja diplomskog rada.

Također, zahvaljujem se svojim prijateljima, znam da nije lako biti prijatelj, naročito MOJ prijatelj, zato budite svjesni da ste posebni. Hvala vam na tome što ste zajedničkim druženjima (probama, nastupima, izlascima) i razgovorom nemirka kao što sam ja izveli na pravi put. Naravno prijatelju Luki hvala na poticajnim savjetima jer studiranje bez njega ne bi bilo tako zabavno.

I na kraju najveću zaslugu i zahvalnost pripisujem svojoj obitelji koja je bila glavni poticaj i oslonac, a posebno baki Jeli kojoj posvećujem ovaj Diplomski rad. Hvala ti na velikom srcu i ljubavi. Studiranje uz vas je bilo jednostavno.

Hvala Vam na ovih pet nezaboravnih godina!

Ovaj rad je sufinancirala Hrvatska zaklada za znanost projektom "*Zelene tehnologije u sintezi heterocikličkih spojeva*" (UIP-2017-05-6593).

## POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

°C	stupanj Celzijusa
ChCl	kolin-klorid
DES	eutektička otapala ( <i>Deep Eutectic Solvents</i> )
EPA	Agencija za zaštitu okoliša ( <i>Environmental Protection Agency</i> )
g	gram
g/mol	gram po molu
HBA	akceptor vodikovih veza ( <i>Hydrogen Bond Acceptor</i> )
HBD	donor vodikovih veza ( <i>Hydrogen Bond Donor</i> )
NA	nikotinamid
kg	kilogram
mL	mililitar
mS/cm	milisiemens po centimetru
NAD	nikotinamid adenin dinukleotid
TLC	tankoslojna tekućinska kromatografija ( <i>Thin Layer Chromatography</i> )
TMS	tetrametilsilan
$t_t$	temperatura tališta
$t_v$	temperatura vrelišta
W	vat

# Sadržaj

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA.....	i
BASIC DOCUMENTATION CARD.....	ii
<b>1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>2. LITERATURNI PREGLED.....</b>	<b>4</b>
2.1. Zelena kemija.....	5
2.2. Ionske tekućine.....	7
2.3. Eutektička otapala.....	10
2.4. Heterociklički spojevi.....	14
2.5. Reakcije kvaternizacije.....	16
2.6. Primjena kvaternih amonijevih soli.....	18
2.7. Niacin (nikotinska kiselina, nikotinamid, niacinamid) .....	19
2.8. Ultrazvučna i mikrovalna sinteza.....	20
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO.....</b>	<b>22</b>
3.1. Materijali i metode.....	23
3.1.1. Kemikalije korištene pri radu.....	24
3.2. Metode.....	25
3.2.1. Priprava eutektičkih otapala.....	25
3.2.2. Konvencionalna metoda sinteze.....	26
3.2.3. Sintaza potpomognuta mikrovalovima.....	27
3.2.4. Sintaza pod utjecajem ultrazvuka.....	27
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA.....</b>	<b>28</b>
4.1. Rezultati konvencionalne sinteze .....	29
4.2. Rezultati sinteze potpomognute mikrovalovima.....	30
4.3. Rezultati sinteze pod utjecajem ultrazvuka.....	32
<b>5. KARAKTERIZACIJA DOBIVENOG PRODUKTA.....</b>	<b>33</b>
<b>6. ZAKLJUČCI.....</b>	<b>38</b>
<b>7. LITERATURA.....</b>	<b>40</b>

## **1. UVOD**

Kemija kao prirodna znanost razvijala se dugi niz godina te je svoj razvoj nastavila i danas, a jedan od glavnih ciljeva razvoja kemije, kemijske a osobito farmaceutske industrije bio je profit. Pod tim se podrazumijeva razvoj kemije u cilju postizanja što boljih rezultata odnosno ishoda proizvodnje, a ujedno što manja ulaganja uz veću dobit. Razvojem, modifikacijom i sintezom novih kemijskih spojeva olakšana je proizvodnja u kemijskoj, petrokemijskoj, farmaceutskoj industriji. S druge strane sve većom uporabom kemijskih spojeva (lijekovi, otapala, pesticidi,...) javljaju se i brojni problemi, a najvažniji su negativan utjecaj na okoliš. Kao poseban problem znanstvenici su istaknuli otapala koja se u velikoj količini primjenjuju u većini industrija sa stalnim povećanjem njihove količine. Hlapljiva organska otapala čine dvije trećine svih industrijski emisija, većina ih je toksična, a njihovo regeneriranje i recikliranje je ekološki i financijski neprihvatljivo. Na taj način kroz godine došlo je do velikih negativnih utjecaja na okoliš, a s tim i na zdravlje ljudi. Jednostavno se može zaključiti da se okolina odnosno cjelokupni eko-sustav drastično i nepovratno mijenja. Stalnom upotrebom kemikalija okoliš se prilagodio raznim spojevima koji su postali sastavni dio okoline. Kada se kaže prilagodio pod tim se podrazumijeva agresivni napad na okoliš koji je „nemoćan“ u takvim situacijama. Mnoge kemikalije dovode do uništavanja okoliša koji je stvaran godinama, a nestaje u kratkom periodu. Dolazi do ubrzanog povećanja ozonskih rupa, promjena vodenog sustava te ugibanja bioflora, onečišćenja zraka i tla. Upravo su to bili glavni problemi kojima se bavi „zelena“ kemija, grana kemije koja nastoji smanjiti štetan utjecaj kemije na okoliš, između ostalog i smanjiti uporabu štetnih otapala, omogućiti provođenje reakcija uz upotrebu otapala koja su manje štetna i toksična. [1]

Zadnjih desetak godina „zelena“ otapala privlače sve veću pažnju šire javnosti kako u znanosti tako i u industriji. Početak njihove primjene naziva se „zelenom“ revolucijom čemu svjedoči i veliki broj radova koji su objavljeni na tom području. Neke od procjena su da je objavljeno oko 60 tisuća radova kroz desetak godina. Ova skupina otapala zbog svojih jednostavnih fizikalno-kemijskih svojstava značajno se primjenjuje u organskim sintezama gdje zamjenjuju izuzetno toksična i opasna otapala. Jedan od primjera takvih otapala su eutektička otapala koja se opisuju kao ekološki prihvatljiva i biorazgradiva otapala. Zapravo se radi o smjesi dviju ili više komponenata kojima je talište niže od tališta svake čiste komponente ili bilo koje druge mješavine. Eutektička otapala nalikuju ionskim tekućinama ali se od njih razlikuju sastavom. Posjeduju svojstva koja ih čine privlačnim i poželjnim „zelenim“

otapalima jedno od njih je da se mogu prirediti od netoksičnih spojeva. Jedan od takvih spojeva je kolin-klorid (ChCl) koji je zbog svoje netoksičnosti, pristupačnosti i biorazgradivosti često zastupljen u pripravi eutektičkih otapala. Takva otapala dosta su zastupljena u organskim sintezama, a mogu poslužiti kao katalizatori u pojedinim sintezama. [1]

Cilj ovog diplomskog rada bio je sinteza kvaterne amonijeve soli nikotinamida i 2-brom-4'-metilacetofenona uz korištenje eutektičkih otapala kao zamjena za klasična otapala, te ispitivanje mogućnosti korištenja eutektičkih otapala u sintezi potpomognutoj mikrovalovima i ultrazvučnoj sintezi. Zadatak je bio pripremiti eutektička otapala na bazi kolin-klorida kao akceptora vodikovih veza (HBA) i različitih prirodnih organskih spojeva kao donora vodikovih veza (HBD). U prvoj fazi rada priređeno je 11 eutektičkih otapala, u drugoj fazi rada sintetizirana je kvaterna amonijeve soli nikotinamida i 2-brom-4'-metilacetofenona, 3-karbamoil-1-(2-okso-2-(*p*-tolil)etil)piridinijev bromid u priređenim eutekticima na tri načina (konvencionalna sinteza, sinteza potpomognuta mikrovalovima i ultrazvučna sinteza), a konačna treća faza obuhvaćala je izolaciju i pročišćavanje nastalih produkata, te njihovu identifikaciju.

## **2. LITERATURNI PREGLED**

## 2.1. Zelena kemija

Zelena kemija je definirana kao program za osmišljavanje, razvoj i primjenu kemijskih proizvoda i procesa koji reduciraju ili uklanjaju upotrebu ili proizvodnju supstanci opasnih po zdravlje čovjeka i okoliš. Osnovni cilj kojemu zelena kemija teži je smanjiti upotrebu štetnih otapala, sirovina, energije i reducirati rizik za ljudsko zdravlje i utjecaj na okoliš. [2] Zelena kemija se bazira na 12 temeljnih načela koja su prikazana u **Tablici 1**. [3]

**Tablica 1.** 12 načela „zelene“ kemije [3]

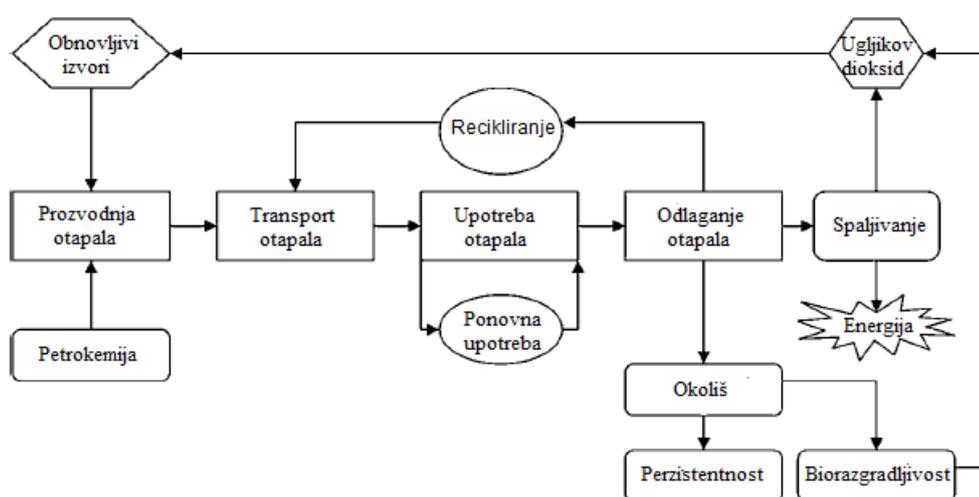
1.	Bolje je spriječiti nastajanje otpada nego ga obrađivati i uništavati nakon što je nastalo
2.	Iskorišćenje po atomu, odnosno maksimalno uključivanje ulaznih sirovina u gotovi proizvod
3.	Osmišljavanje manje opasnih kemijskih sinteza, bez upotrebe toksičnih spojeva
4.	Osmišljavanje sigurnijih kemikalija: zadržati učinkovitost, smanjiti toksičnost
5.	Uporaba sigurnijih otapala i reakcijskih uvjeta
6.	Štednja energije, sobna temperatura i tlak
7.	Uporaba obnovljivih sirovina, odnosno sirovina koje se mogu višestruko koristiti
8.	Redukcija procesa kroz smanjenje vremenskog tijeka procesa
9.	Kataliza- ubrzavanje procesa upotrebom katalizatora
10.	Dizajniranje razgradivih produkata
11.	Kontrola procesa praćenjem samog procesa i kontroliranjem smanjenja nastajanja opasnih tvari
12.	Sigurnost- smanjenjem upotrebe opasnih tvari u procesima koje mogu uzrokovati štetne posljedice

Danas se sve više znanja i truda ulaže u smanjenje količine otpadnih i štetnih tvari. Znanstvenici su suglasni s idejom da se klasična otapala zamijene neškodljivim ili da se pronađu nove metode sinteze koje smanjuju ili u potpunosti eliminiraju uporabu organskih otapala. Temelj načela 5. je odabir otapala koja su sigurna i zahtijevaju manju potrošnju energije te samim time smanjuju negativan utjecaj na okoliš i zdravlje ljudi. Pod manjom potrošnjom energije podrazumijeva se kompletan proces proizvodnje otapala, odnosno da

se u proizvodnji što manje energije utroši za reakcije dobivanja otapala. Najznačajnija otapala koja se sve više primjenjuju su voda, ionske tekućine, superkritični fluidi. Ionske tekućine podrazumijevaju organske soli koje su pri sobnoj temperaturi u tekućem stanju. Sastoje se od kationa i aniona, te ih karakterizira niska temperatura tališta. Stabilne su pri visokim temperaturama na zraku i u vodi. Odlikuje ih dobra sposobnost otapanja koja im omogućuje široku primjenu. [4]

12 je temeljnih zlatnih pravila odnosno načela „Zelene kemije“. Prvo načelo govori da treba razvijati procese koji će stvarati što manje otpada. Nastankom manje količine otpada manje truda, energije i rada će se ulagati u uklanjanje tog nastalog otpada. Iz toga se može zaključiti da se prvo načelo suprotstavlja dosadašnjoj ustaljenoj praksi „prvo onečisti pa zatim počisti“. Drugo načelo zelene kemije jasno govori kako je potrebno osmisliti sintezu kojom će se doći do maksimalnog iskorištenja reaktanata. Kroz takav pristup ostvarit će se pozitivan utjecaj na okoliš smanjenjem nastajanja nusprodukata odnosno otpada, a isto tako i ekonomski učinak iskorištavanjem plaćenog polaznog materijala. S tim načelom lako se može povezati i treće načelo odnosno može se reći da se ono naslanja na drugo načelo. Dizajnom manje opasnih sinteza povećava se sigurnost za ljude ali isto tako i okoliš, a na takav način dolazi do temelja zelene kemije da se zaštiti pojedinac ali isto tako i okoliš. Nadalje treba koristiti sigurnije kemikalije, odnosno produkti sinteze trebaju biti sigurni (netoksični). Ali uz sve to potrebno je osigurati i efikasnost djelovanja kemikalija jer bez toga ne može doći do ostvarivanja cilja zelene kemije, a to je dobiti produkte uz manje štetne kemikalije. Načelo 5. jasno govori da je potrebno izbjegavati upotrebu pomoćnih tvari, a u slučaju nužde koristiti pomoćne tvari ili otapala koja su što manje štetna i sigurna. S time se smanjuje i mogućnost incidenta, a ujedno su i manji troškovi ulaganja u sigurnosne mjere. Kao što je već ranije spomenuto jedan od vrlo važnih koraka je i ekonomičnost o čemu govori načelo 6. Potrebno je reakcije provoditi pri sobnoj temperaturi i tlaku kad god je to moguće i na taj način uštedjeti energiju, povećati učinkovitost i smanjiti složenost procesa. Takav pozitivan učinak se može postići poštivajući sljedeće načelo upotrebom obnovljivih izvora. Korištenjem obnovljivih polaznih sirovina reducirat će se proces i izbjeći nastajanje nepotrebnih derivata i na taj način ispuniti načelo broj 8. Smanjenje otpada postiže se korištenjem katalizatora koji imaju veliku prednost pred stehiometrijskim omjerom reaktanata. Katalizatori su tvari koje će ubrzati reakciju, smanjiti vrijeme provedbe, povećati

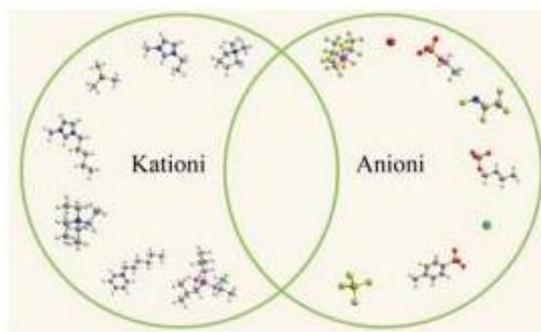
učinkovitost, a uz sve to imaju mogućnost ponovne upotrebe. Možda i jedno od najvažnijih načela zelene kemije je načelo 11., koje govori o kontroli procesa. Za sve ranije navedeno potrebno je poštivanje ovog načela. Bez kvalitetne kontrole sinteze neće se postići dobivanje željenih produkata, ni ušteda energije, a isto tako ni zaštita okoliša. Zadnje načelo govori o sigurnosti, reakcije odnosno sinteze treba provesti kako bi reducirali mogućnost eksplozije, požara ili ispuštanja štetnih tvari u okoliš. Ako se smanji emisija otapala, plinova ili drugih kemikalija u okoliš smanjit će se i troškovi sanacije navedenih. [5]



**Slika 1.** „Životni ciklus“ otapala [5]

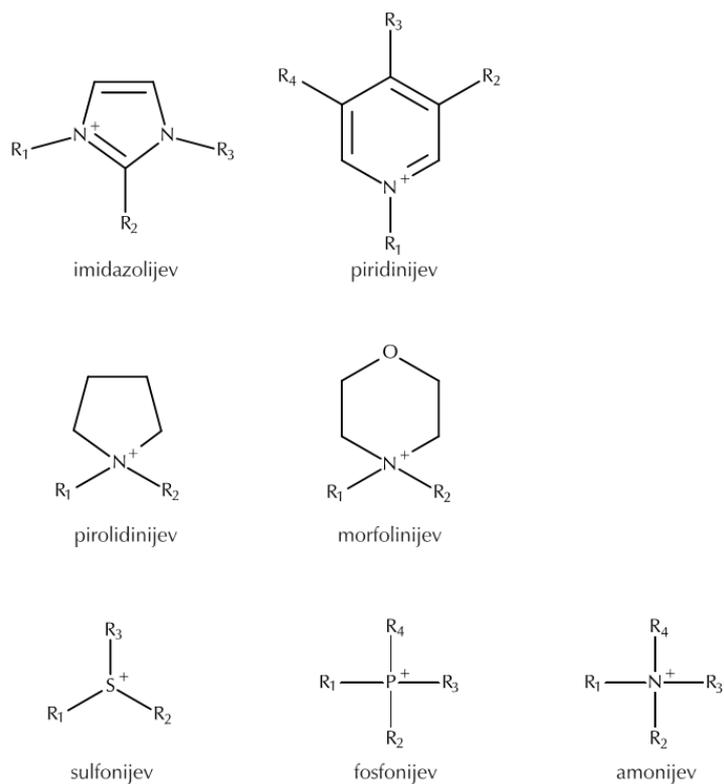
## 2.2. Ionske tekućine

Ionske tekućine pripadaju organskim solima koje su pri sobnoj temperaturi u tekućem stanju. Odlikuju se specifičnim svojstvima za razliku od klasični organskih otapala koja su građena od molekula ionske tekućine su građene od iona. Temperatura tališta im je niža od 100°C. Karakterizira ih visok stupanj nesimetričnosti zbog čega ne kristaliziraju, a sastavljene su od kationa i aniona. **Slika 2.** [6]

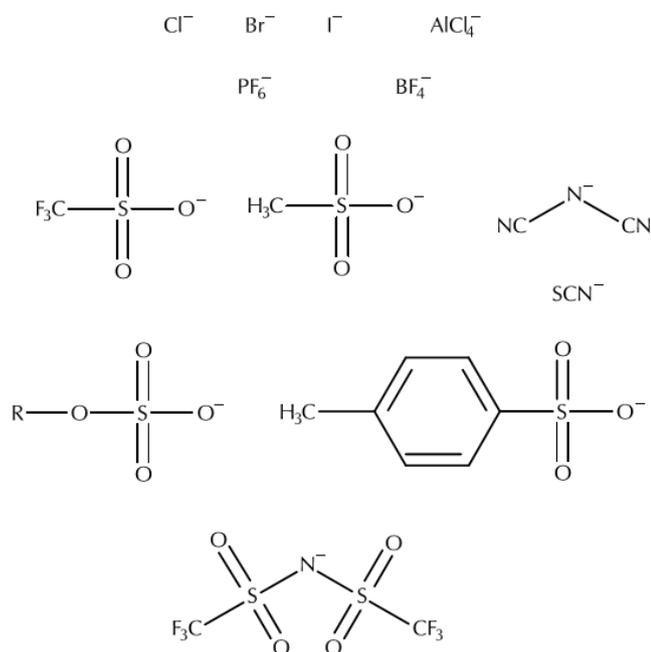


**Slika 2.** Struktura ionske tekućine [6]

Osnova razlika ionskih tekućina i ionskih spojeva je niska temperatura tališta. Broj kombinacija kationa i aniona je gotovo neograničen što omogućava primjenu ionskih tekućina u različite svrhe, a iz tog razloga se često nazivaju dizajniranim otapalima. U njihovom sastavu kationi su različito supstituirane organske molekule male simetrije s pozitivno nabijenim fosforovim, dušikovim ili sumporovim atomom. R predstavlja bočne supstituirane alkilne lance, **slika 3**, dok s druge strane anioni su sulfati, halogenidi, nitrati i dr. [3] **Slika 4.** Moguć je veliki broj različitih kombinacija kationa i aniona, a upravo su oni odgovorni za svojstva ionskih tekućina, te je nemoguće predvidjeti unaprijed kakva će svojstva ionske tekućine dati pojedina kombinacija kationa i aniona. Anioni utječu na toplinsku vodljivost te postojanost na zraku i u vodi. Ionske kapljevine s anionima kao što su halogenidi ( $[\text{Cl}]$ ,  $[\text{Br}]$ ,  $[\text{I}]$ ),  $[\text{CH}_3\text{COO}]$ ,  $[\text{NO}_3]$  i  $[\text{BF}_4]$  su hidrofilne, dok su one s  $[\text{PF}_6]$ ,  $[\text{N}(\text{SO}_2\text{CF}_3)_2]$  i tetraalkilboratnim  $[\text{BR}_1\text{R}_2\text{R}_3\text{R}_4]$  anionom hidrofobne. Ionske tekućine imaju velike prednosti u odnosu na standardna otapala: tekućine su u širokom temperaturnom rasponu, otapaju različite anorganske i organske tvari, nezapaljive, neeksplozivne, velika električna vodljivost, nehlapljive što je posljedica Coulombovih sila. [3]



**Slika 3.** Struktura nekih kationa koji tvore ionske tekućine [7]



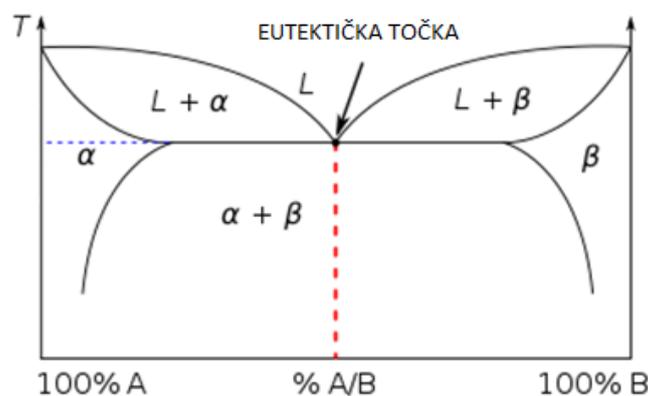
**Slika 4.** Struktura nekih aniona koji tvore ionske tekućine [7]

Ionske tekućine se uobičajeno dijele na: ionske tekućine prve, druge i treće generacije. Karakteristika prve generacije je da su to soli koje se sastoje od različito

supstituiranih imidazolijevih i pirdinijevih kationa s anionima anorganskog podrijetla, dok su ionske tekućine druge generacije soli koje ne sadrže halogenide i stabilne su u prisutnosti vode. Ionske tekućine treće generacije su soli koje sadrže neku funkcijsku skupinu ili su kiralne. Jedna vrlo značajna karakteristika ionskih tekućina je ta da se mogu reciklirati. S obzirom da se dobivaju iz neobnovljivih sirovina te je sinteza dugotrajna i skupa, znanstvenici se sve više okreću novim generacijama ionskih tekućina koje nazivamo eutektička otapala. [4]

### 2.3. Eutektička otapala

Eutektik je pojam koji se koristi za označavanje mješavine dviju ili više tvari koja ima nižu temperaturu tališta od svake pojedine komponente ili bilo koje druge smjese, što je posljedica nastanka intermolekularnih (nekovalentnih) interakcija. Kao primjer mogu se uzeti van der Waalove sile i vodikove veze. Eutektička točka je najniža točka u kojoj eutektik (eutektičko otapalo) postoji kao tekućina, a ima jednak sastav tekuće i plinovite faze. Takav sastav eutektika najčešće se prikazuje eutektičkim dijagramom. [7]



**Slika 5.** Fazni dijagram dvokomponentnog sustava [6]

Kako je već ranije spomenuto eutektička otapala su smjese dviju ili više komponenata koje mogu biti u tekućem ili krutom stanju, a temperatura tališta im je niža od bilo koje pojedinačne komponente. U slučaju da su komponente koje tvore eutektik primarni

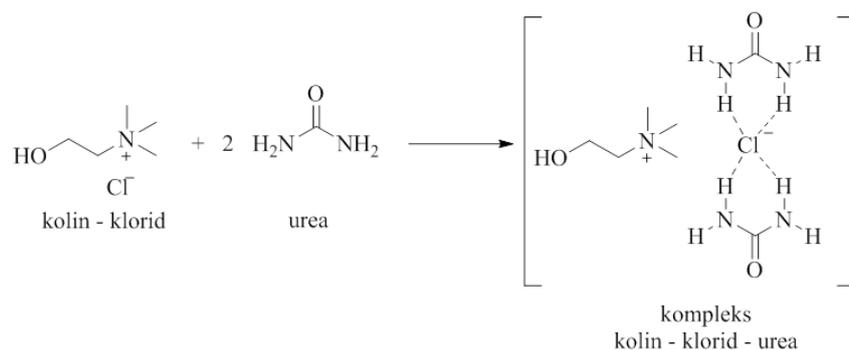
metaboliti onda se takva otapala nazivaju prirodnim eutektičkim otapalima. Pripadaju četvrtoj generaciji ionskih tekućina što znači da se pripremaju mješanjem neke kvaterne soli i određenim donorom vodikove (HBD) veze u odgovarajućem omjeru, te kao posljedica javlja se nastajanje snažnih vodikovih veza između komponenti homogene smjese. Eutektičke smjese odlikuju se svojstvima kao što su: biorazgradivost, netoksičnost, dostupnost, stabilnost, manje toksična prema okolišu, cijenom pristupačna te imaju veliki broj spektara spojeva koji se mogu koristiti za pripremu eutektičkih otapala što omogućuje njihovu kombinaciju i dizajniranje fizikalno-kemijskih svojstava. [1]

U prethodnom tekstu napisano je smo da se razlikuju određeni tipovi eutektičkih otapala. Kako bi klasificirali eutektička otapala prvo se mora razumjeti njihovu opću formulu:  $Cat^+X^-zY$ . gdje  $Cat$  predstavlja amonijev, sulfonijev ili fosfonijev kation,  $X$  predstavlja Lewisovu bazu (većinom halogenidni ion), dok  $z$  predstavlja broj molekula koje reagiraju s anionom, a  $Y$  Bronstedovu kiselinu. **Tablica 2.** [4]

**Tablica 2.** Klasifikacija eutektičkih otapala [4]

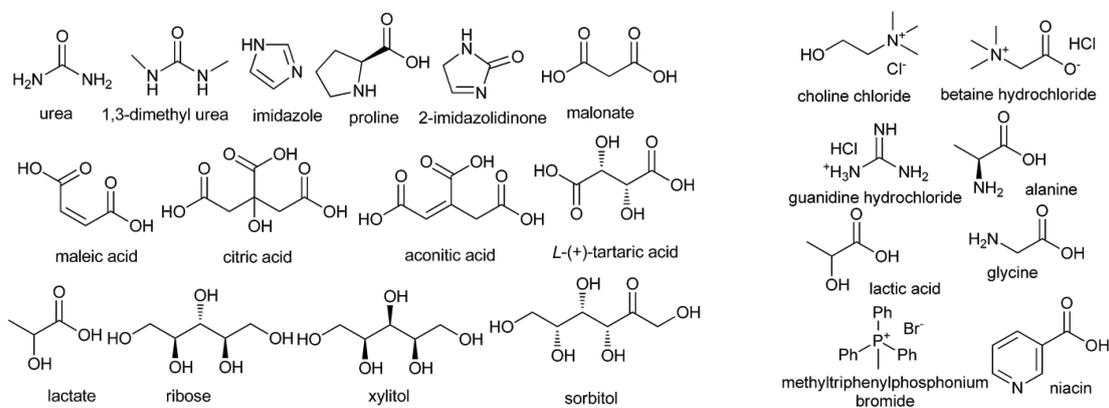
Tip	OPĆA FORMULA	Primjer
TIP I	$Cat^+X^- x zMCl_x$	$ChCl + ZnCl_2$
TIP II	$Cat^+X^- x zMCl_x x yH_2O$	$ChCl + CoCl_2 x 6H_2O$
TIP III	$Cat^+X^- x zRZ$	$ChCl + CO(NH_2)_2$
TIP IV	$MCl_x + RZ = MCl^{+x-1} x RZ + MCl^{-x-1}$	$ZnCl_2 + CO(NH_2)_2$

Tip I sastoji se od metalne soli i kvaterne amonijeve soli, a metalni halogenidi su ograničeni za prvi tip eutektičkih otapala. Tip II sastoji se od organske soli i metalne soli, te se povećava raspon halogenida koji se koriste. Kolin-klorid kao organska sol i donor vodika tvore eutektik trećeg tipa. Eutektička otapala tipa III nereaktivni su s vodom, a veliki broj vodikovih veza omogućuje da se pripreme raznovrsna otapala, a s obzirom da svojstva eutektika uvelike ovise o vodikovim vezama mogu se dizajnirati tako da točno odgovaraju određenoj namjeni. Stoga ovu grupu otapala karakterizira veliki raspon primjene. [3] **Slika 6.**



**Slika 6.** Reakcija nastajanja eutektičkog otapala ChCl/urea [4]

Kao ranije spomenute prednosti odnosno glavne karakteristike eutektičkih otapala treba naglasiti da se ističu svojom lakoćom pročišćavanja. Osim toga vrlo važno je naglasiti da im se lako mogu mijenjati komponente odnosno sastav i na taj način utjecati na svojstva tj. dizajnirati fizikalno-kemijska svojstva za različite namjene. To mogu biti zamjenska otapala u području nekih važnih procesa: sinteza, ekstrakcija, kataliza i sl. [8]



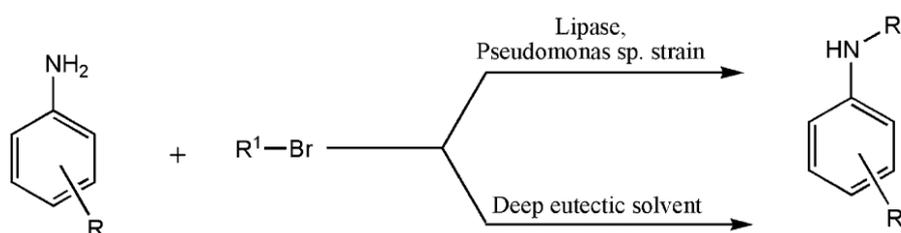
**Slika 7.** Neki od primjera donora i akceptora vodikovih veza koji tvore eutektička otapala [9]

Iako se eutektička otapala smatraju boljom varijantom od ionskih tekućina jedna je činjenica jako važna, a to je da njihov utjecaj na okoliš nije još u potpunosti istražen. Naime

kao što je vidljivo iz u **Tablici 2.** , otapala tipa I, II, III, IV sadrže mnoge metale u svome sastavu koji su toksični te njihov utjecaj na prirodu nije potpuno istražen iz razloga jer su i sami prirodno prisutni u prirodi. Također jedna važna stavka je da eutektička otapala imaju nizak tlak para pa nemaju emisije u atmosferu, no njihovim mješanjem s vodom djelomično dolazi do otpuštanja u vodeni medij. Iz svega navedenom možemo zaključiti da eutektička otapala nisu potpuno „zelena“ te je potrebno osmisliti protokol za njihovo recikliranje i uklanjanje iz vodenog medija. [2]

Veliki broj eutektičkih otapala je na bazi kolin-klorida, (2-hidroksietil)-trimetilamonijev kation, iz razloga jer je najjeftiniji i nije toksičan, u Europi je klasificiran kao provitamin te je njegova proizvodnja izuzetno velika. Kao glavni dodatak se koristi u stočnoj hrani.

Singht i njegovi suradnici [10] bavili su se ispitivanjem upotrebe eutektika kao otapala te su ustanovili kako su eutektička otapala pogodna za zamjenu organskih otapala za reakcije alkiliranja amina. Također su ispitivali i reakcije *N*-alkiliranja anilina s heksil-bromidom, pri čemu su ostvarili i do 79 %-tno iskorištenje u eutektičkom otapalu. **Slika 8.**



**Slika 8.** *N*-alkiliranje aromatskih amina, Singht i suradnici [10]

Eutektičko otapalo kolin klorid/urea uspješno je reciklirano ekstrakcijom pomoću etil-acetata kroz dvije faze. Otapalo je korišteno u još 5 sintezi te se njegova katalitička aktivnost vrlo malo smanjila nakon 4 sinteze što ukazuje da se može koristiti višekratno. **Tablica 3.** [4]

Sam postupak obuhvaćao je pripremu eutektičkog otapala od 7 grama kolin-klorida i 6 grama uree u omjeru 1 : 2. Smjesa je grijana na 70°C preko noći, a zatim ohlađena na sobnu temperaturu. Sinteze su obuhvaćale upotrebu 1 mmol aktivnog metilenskog spoja, 1

mmol aldehida i 1 mL eutektičkog otapala. Smjesa je miješana i zagrijavana preko noći na 80°C. Zatim je reakcijska smjesa naizmjenično isprana s metilen-kloridom i vodom. Sloj metilen-klorida uparen je na rotacijskom uparivaču pri sniženom tlaku kako bi se dobio čisti produkt. [4]

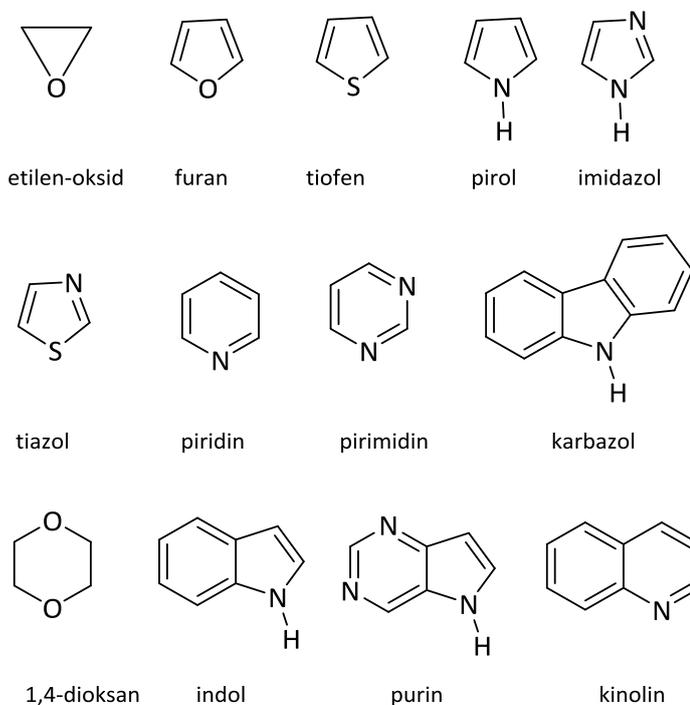
**Tablica 3.** Mono *N*-alkilacija aromatičnih amina s alkil bromidom uz lipazu u eutektičkom otapalu kolin-klorid/urea [1]

Ar	Alkilna Skupina	Reakcija katalizirana lipazom		Reakcija DES	
		Vrijeme ekstrakcije (h)	Iskorištenje (%)	Vrijeme reakcije (h)	Iskorištenje (%)
-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Heksil	4	85	4	78
-C <sub>10</sub> H <sub>7</sub>	Heksil	4,5	84	5	73
<i>m</i> -MeOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Heksil	2,5	82	3	80
<i>o</i> -MeC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Heksil	4	82	2,5	70
<i>p</i> -MeC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Heksil	4	82	3	77
<i>o</i> -ClC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Heksil	6	78	6	70
<i>p</i> -ClC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Heksil	5	80	5	75
3,4-diClC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Heksil	4	77	8	73
<i>p</i> -NO <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Heksil	5	74	10	70
<i>m</i> -NO <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Heksil	5	77	9	72
<i>p</i> -FC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Heksil	5	80	7	74
-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Butil	2	80	2	80
<i>p</i> -ClC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Butil	4,5	79	3	77
<i>p</i> -NO <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Butil	5	75	6	73
-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Benzil	3	85	3	89
<i>m</i> -MeOC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Benzil	1,2	83	1,5	87
<i>p</i> -ClC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Benzil	2	81	2,5	80

## 2.4. Heterociklički spojevi

Heterociklički su spojevi organski ciklički spojevi kod kojih se prsten osim ugljika sastoji od još najmanje jednog atoma nekog drugog elementa. Atomi koji su najčešće prisutni u strukturi heterocikličkih spojeva su kisik, sumpor i dušik. Heterociklički prstenovi sastavni su dio mnogih spojeva koji su nužni za odvijanje normalnih životnih funkcija. U tu skupinu ubrajamo: ugljikohidrate, vitamine, alkaloidne, koenzime, neke aminokiseline i nukleinske kiseline. Razvrstavaju se s obzirom na broj atoma u prstenu, vrsti i broju

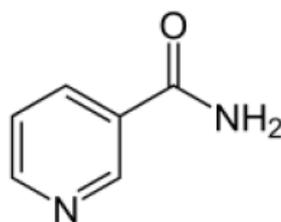
heteroatoma. U ovoj skupini osobito su važni spojevi s peteročlanim i šesteročlanim prstenom. **Slika 9.** Furan se može istaknuti kao spoj s nezasićenim peteročlanim prstenom, dok s druge strane od spojeva s nezasićenim šesteročlanim prstenom možemo kao primjer istaknuti piridin. [11]



**Slika 9.** Neki od predstavnika heterocikličkih aromatskih spojeva [11]

Njihovu važnost možemo prikazati na sljedeći način. Derivati furana sastavni su dio aroma, mirisa, lijekova i sl. Pirolni prsten sastavni je dio molekule klorofila, a indol sastavni dio aminokiseline triptofan. Heterociklički produkti sve više se koriste kod raznih sinteza jer se lako mogu pripremiti i ukloniti. Piridin je spoj baznog karaktera s dušikom kao heteroatomom, tekućina oštrog mirisa i topiva u vodi. Piridinski prsten osnova je nekih važnih spojeva kao što su vitamin B<sub>6</sub> i nikotinamid-adenin-dinukleotida (NAD). Piridin sam po sebi kao i njegove baze služi kao otapalo za organske kemikalije, anorganske soli, za proizvodnju nikotinske kiseline i lijekova. Heterociklički prsten piridina čine atom dušika i pet atoma ugljika. Kao aromatski spoj nije podložan reakcijama adicije, ali podliježe reakcijama elektrofilne aromatske supstitucije. Važno je naglasiti da se iz piridina sintetiziraju tri piridin-

karboksline kiseline: pikolinska, nikotinska i izonikotinska. Ime nikotinska kiselina potječe iz razloga jer je prvi put dobivena oksidacijom nikotina. [8]

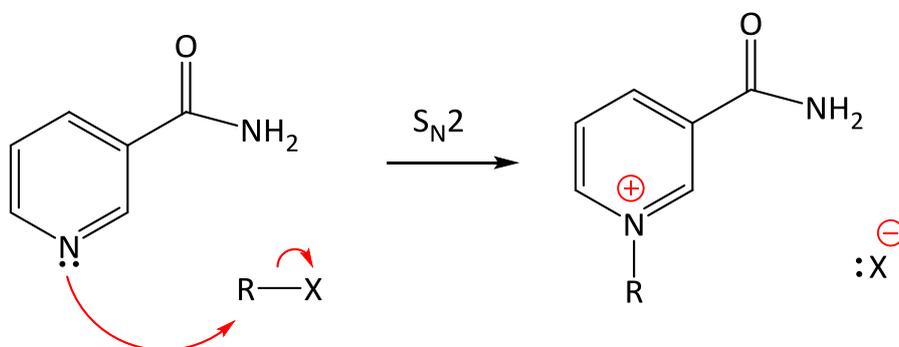


**Slika 10.** Nikotinamid [8]

Amid nikotinske kiseline naziva se nikotinamid. **Slika 10.** Važan je u sastavu koenzima: nikotinamid-adenin-dinukleotida ( $\text{NAD}^+$ ) i nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfata ( $\text{NADP}^+$ ). Reducirani spojevi navedenih koenzima su  $\text{NADH}$  i  $\text{NADPH}$ , a sudjeluju kao prijenosnici elektrona u reakcija oskidacije i redukcije. S obzirom da su to ključne biokemijske reakcije koje se odvijaju u ljudskom organizmu možemo uvidjeti da je važnost nikotinamida velika. [12]

## 2.5. Reakcije kvaternizacije

Reakcije kvaternizacije su reakcije koje se odvijaju  $\text{S}_{\text{N}}2$  mehanizmom nukleofilne supstitucije drugog reda, kojeg karakterizira nukleofilni napad na ugljikov atom na kojemu je vezan halogen uz istovremeni odlazak halogena. **Slika 11.**

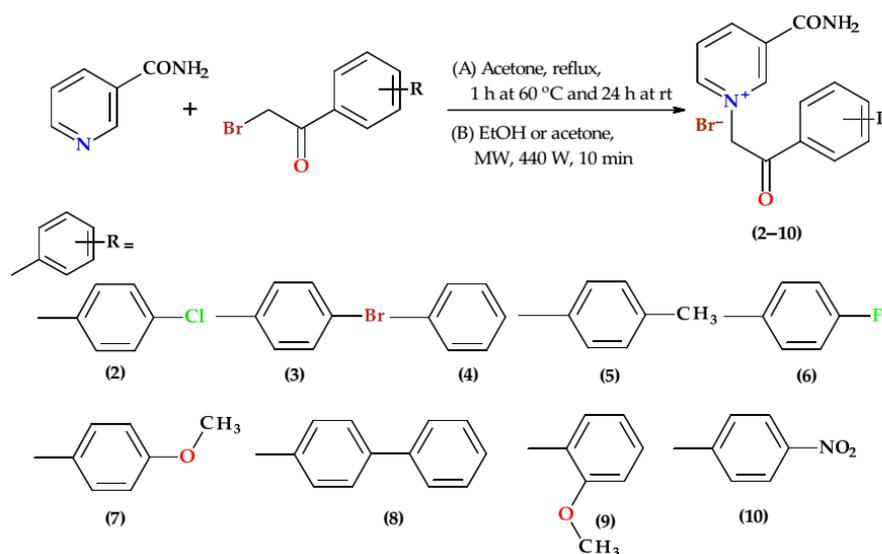


**Slika 11.** Mehanizam  $\text{S}_{\text{N}}2$  reakcije

Reakcije kvaternizacije se odvijaju između terciarnog amina i alkil-halogenida (metil-halogenida ili primarnog halogenida) pri čemu nastaje kvaternarna amonijeva sol. [8]

Karakteristike kvaternih amonijevih soli su: dobra topljivost u vodi, visoka temperatura tališta, ne reagiraju s lužinama, posjeduju četiri alkilne ili arilne skupine na dušikovu atomu, te se pored svega koriste u raznim proizvodima za njegu i detergentima zbog posjedovanja antimikrobnih svojstava. [13].

Siber i suradnici su ispitivali reakcije kvaternizacije nikotinamida sa različitim elektrofilima metil-jodidom te supstituiranim 2-bromacetofenonima (4-Cl, 4-Br, 4-H, 4-CH<sub>3</sub>, 4-F, 4-OCH<sub>3</sub>, 4-Ph, 2-OCH<sub>3</sub>, 4-NO<sub>2</sub>) konvencijalnom metodom sinteze te sintezom potpomognutom mikrovalovima [14]. **Slika 12.** Pokazalo se da su kvaternizacije nikotinamida koje su se odvijale uz mikrovalno zagrijavanje imale znatno veće iskorištenje i znatno kraćem vremenu i do 8 puta kraće vrijeme odvijanja reakcije (reakcijsko vrijeme smanjeno sa jednog dana u konvencionalnoj sintezi na 10-20 minuta kod sinteze potpomognute mikrovalovima).



**Slika 12.** Kvaternizacija nikotinamida, Siber i suradnici [14]

## 2.6. Primjena kvaternih amonijevih soli

Kvaterne amonijeve soli imaju široku primjenu te se koriste kao dezinficijensi i antiseptici. Također kod trovanja organofosfornim spojevima (živčani bojni otrovi i pesticidi) predstavljaju potencijalne antidote supstancije koje spriječavaju ili poništavaju djelovanje otrova. Osobito aktivne su kvaterne soli piridina i derivata piridina, nikotinamida, izonikotinamida i piridoksal-oksima koje se koriste kao antidoti kod trovanja bojnim otrovima i pesticidima. Gašo-Sokač i suradnici su sintetizirali seriju derivata piridoksal-oksima kvaternizacijom s odgovarajućim elektrofilima i ispitali njihovu antidotsku aktivnost odnosno sposobnost reverzibilne inhibicije i reaktivacije acetilkolinesteraze inhibirane bojnim otrovima tabunom, paraoksonom [15].

Neke kvaterne amonijeve soli posjeduju antibakterijsku aktivnost prema Gram-pozitivnim i Gram-negativnim bakterijama. Dobre su za uništavanje gljivica, ameba i virusa s ovojnicom. Djeluju na principu uništavanja stanične membrane. Tretiranjem bakterija s kvaternim amonijevim solima dolazi do ispuštanja bakterijskih stanica u okolinu u kojoj se bakterije nalaze i na poslijetku dolazi do raspadanja membrane. Razlika u otpornosti između Gram-negativnih i Gram-pozitivnih bakterija je uočljiva iz sljedećeg; Gram negativne bakterije posjeduju vanjsku membranu te je pristup kvaternim amonijevim solima otežan. Već ranije spomenuti nikotinamid koristi se kao antibakterijsko i antikancerogeno sredstvo. Angiogenza tumora je proces u kojemu tumorske stanice stvaraju vlastitu mrežu krvnih žila pomoću kojih se hrane, rastu i šire. Taj proces osobito je važan za rast zloćudnih tumora koji kada dosegnu promjer od 1-2 mm moraju koristiti vlastitu mrežu. Odnosno stanice stvaraju angiogene signale- kemijske tvari koje tjeraju okolne žile da puštaju svoje izdanke prema tumoru. Kada ti izdanci dospiju do tumora ponovno se uspostavlja dobava hrane i kisika za tumor te on nastavlja rasti i razvijati se. U tim trenucima nikotinamid inhibira djelovanje angiogenih signala. [15]

Siber i suradnici su ispitali antifungicidno djelovanje derivata nikotinamida prema gljivicama *Fusarium oxysporum*, *Fusarium culmorum*, *Macrophomina phaseolina* and *Sclerotinia sclerotiorum* u koncentracijama 10 µg/mL i 100 µg/mL. [14] Autori su utvrdili da šest nosintetiziranih spojeva pokazuje snažnu inhibiciju rasta gljiva i to u koncentraciji već od 10 µg/mL, a svi spojevi pokazuju snažnu inhibiciju rasta *S. Sclerotiorum* u koncentraciji

100 µg/mL. Autori su pokazali da novosintetizirani spojevi derivati nikotinamida mogu poslužiti za sintezu alternativnih ekološki prihvatljivijih fungicida.

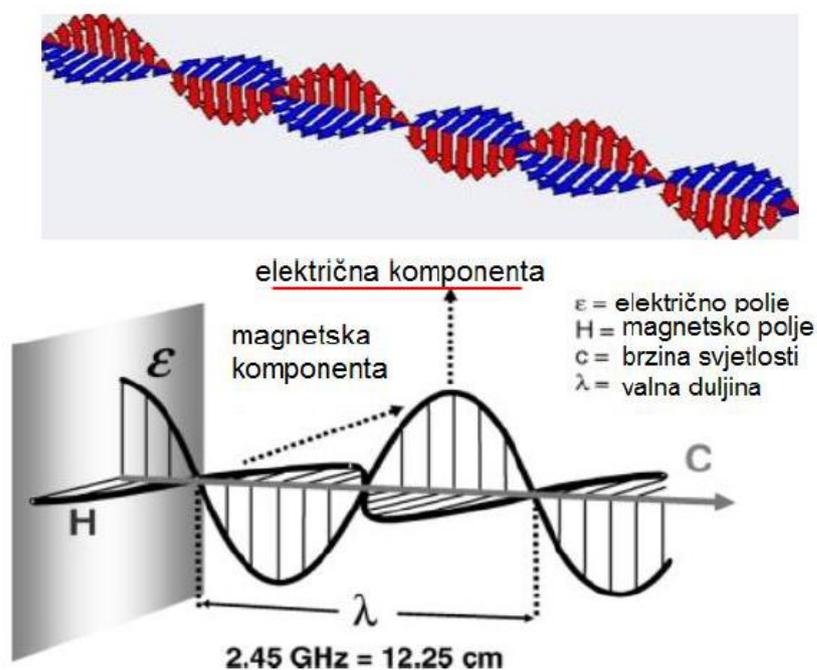
## **2.7. Niacin (nikotinska kiselina, nikotinamid, niacinamid)**

Nalazi se u B-kompleksu, a poznat je kao vitamin B3. U organizmu se može stvarati uz pomoć aminokiseline triptofana. Osobe koje pate od nedostatka ovog vitamina nemaju sposobnost proizvodnje niacina iz aminokiseline triptofana. Upravo je to razlog zašto se avitaminoze rijetko javljaju. Značajnu ulogu ima u sintezi spolnih hormona kao što su: estrogen, progesteron, testosteron. Osim toga od velike je važnosti za održavanje nervnog sustava i moždanih funkcija. Upotrebom niacinamida smanjuje se mogućnost crvenila i osipa koji se javljaju u slučaju upotrebe nikotinske kiseline. U slučaju nedostatka javlja se bolest poznata kao pelagra. Očituje se kao dermatitis i proljev. Vrlo lako se liječi dodatkom 60 mg triptofana u organizam. Bolest se sprječava dodacima prehrani, a najbolji izvori su: riba, pšenične klice, jaja, avokado, pečeni kikiriki i sl. Kao dodaci većinom se koriste pilule od 50 do 1000 mg u prahu. Činjenica da se Pelagra pojavljuje u područjima gdje je glavna hrana kukuruz razlog je koji nas umiruje po pitanju mogućnosti obolijevanja od navedene bolesti. Kao što smo ranije spomenuli u slučaju uzimanja dodataka može se javiti pojava crvenila, samo po sebi ne predstavlja veliki rizik za zdravlje ljudi. Jednostavnim prelaskom na niacinamid crvenilo se umiruje. No kod uzimanja velikih količina niacina može dovesti do smetnji u oslobađanju šećera u organizmu. Uzrokujući pogoršanje kontrole glukoze i dovođenja do pojave nekih bolesti. Novija istraživanja su dovela do zaključaka da su za smanjenje kolesterola u krvi odgovorne male količine niacina, što nam ukazuje na potrebu za smanjenjem količine niacina koji se unosi u organizam. [16]

Metode za određivanje niacina temelje se na određivanju koncentracije njegovih metabolita u mokraći: *N'*-metilnikotinamid i *N'*-metil-2-piridon-5-karboksamid pomoću HPLC metodom. Za istu svrhu razvijena je i metoda kapilarne elektroforeze. Uobičajeno se mokraćom izlučuje 20 - 30 % niacina u obliku metilnikotinamida, a 40 - 60 % se izlučuje u obliku piridona. [17]

## 2.8. Ultrazvučna i mikrovalna sinteza

Sinteza potpomognuta mikrovalovima postala je rutinska metoda koja se primjenjuje za provođenje reakcija u mnogim granama kemije. Na samim počecima većina kemijskih reakcija bila je provođena u kućnim mikrovalnim pećnicama, danas se koriste sofisticirani mikrovalni reaktori. Razvoj reaktora doveo je do sve veće upotrebe mikrovalne sinteze u organskoj kemiji kao i drugim granama znanosti. U elektromagnetskom spektru mikrovalno zračenje nalazi se između infracrvenog zračenja i radiofrekventnih valova, što odgovara frekvencijama između 0,30 GHz i 300 GHz. Do samog zagrijavanja dolazi zbog interakcije komponenti električnog polja mikrovalnog zračenja i nabijenih dijelova materije koji su podvrgnuti mikrovalnom zračenju. Veliki utjecaj na zračenje imaju i otapala koja se koriste. Polarna otapala s dipolarnim momentom se smatraju osobito povoljnim za provedbu mikrovalnog zračenja odnosno zagrijavanja. Kao takvo otapalo posebno se ističe nama svima dobro poznato otapalo, a to je voda. Mikrovalno zračenje je elektromagnetsko zračenje koje se sastoji od električne i magnetske komponente. **Slika 13.** Upravo je ta električna komponenta odgovorna za interakciju s materijalom. [18]



**Slika 13.** Električna i magnetska komponenta mikrovalnog zračenja [18]

Većina reakcija provodi se u otopinama, a veliki utjecaj na mikrovalno zračenje imaju otapala. Pri odabiru otapala njihova temperatura vrelišta nije odlučujući čimbenik iz razloga

jer se sva otapala mikrovalnim zračenjem mogu zagrijati kroz par sekundi. Također kada su otapala izložena mikrovalnom zračenju njihove temperature vrelišta su više u odnosu na temperaturu kod klasičnih zagrijavanja i taj efekt se naziva efekt pregrijavanja. Apsorpcijska moć otapala izražava se tangensom gubitka  $\delta$ , a s obzirom na njegovu vrijednost otapala se dijele u tri skupine:

1. visoko apsorbirajuća otapala –  $\tan \delta > 0,5$
2. Srednje apsorbirajuća otapala –  $\tan \delta = 0,5 - 0,1$
3. Nisko apsorbirajuća otapala –  $\tan \delta < 0,1$

Kako bi detaljnije uvidjeli važnost mikrovalnog zračenja istaknut ćemo neke prednosti u odnosu na konvencionalnu metodu zagrijavanja. Kod konvencionalnog zagrijavanja izvor topline i reakcijska posuda su u direktnom kontaktu. Takav način može uzrokovati različite poteškoće prilikom provođenja reakcija. S druge strane mikrovalno zračenje uzrokuje učinkovito zagrijavanje reakcijske smjese direktnom interakcijom molekula otapala, reagensa i katalizatora koji su prisutni u reakcijskom mediju sa mikrovalnim zračenjem. Međutim s obzirom da reakcijska smjesa izravno apsorbira energiju jer su stjenke reakcijske posude nepropusne, dolazi do lokalnog pregrijavanja pojedinih dijelova reakcijske smjese. [18]

Uz upotrebu ranije spomenutog mikrovalnog zračenja također se može istaknuti upotreba ultrazvuka. On na otopinu djeluje kao mahanička sila te dovodi do kavitacije. Takav efekt moguće je postići samo u tekućinama što ukazuje na važnost upotrebe otapala u kemiji. Najčešće korišten uređaj kojim se ultrazvuk prevodi u tekućinu je ultrazvučna kupelj. Pretvornici se nalaze na dnu kupelji koja je napunjena vodom ili nekom drugom tekućinom, a tikvica s otopinom se uranja u tekućinu. Zbog svoje jednostavnosti i učinkovitosti takvi uređaji se često koriste. Prijenos ultrazvuka je neizravan s obzirom da putuje od pretvornika ultrazvučnih valova kroz tekućinu zatim kroz stjenku da bi došao do otopine na koju djeluje. Kao što vidimo put koji ultrazvučni valovi prelaze je velik pa se intenzitet zvuka prolaskom kroz tekućinu smanjuje. Proučavanje kako ultrazvuk utječe na reakcijsku smjesu potrebno je poznavanje točnih karakteristika ultrazvuka zbog čega se ultrazvučna kupelj ne može koristiti za točna mjerenja. Kao rješenje nudi se mogućnost da se medij koji vodi ultrazvuk zamijeni sa otopinom u kojoj se odvija reakcija i na taj način ostvari izravan prijenos. Ali takav način zahtjeva dodatne preinake uređaja i troškove koji poskupljuju sam proces. [19]

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. Materijali i metode

Tankoslojna kromatografija je rađena na pločicama silikagela Kiesegel 60 F-254, Merck, dimenzija 20 x 20cm i debljine sloja 2 mm. Kromatogrami su razvijani smjesom otapala kloroform : metanol (6 : 1,5). Detekcija se odvijala pomoću UV lampe na 254 i 366 nm.

Uređaj korišten za snimanje IR spektra: Cary 630 FTIR, Agilent Technologies, za snimanje IR spektra korišten je nastavak: ATR ( eng. Attenuat ed total reflection). Transmisija se mjerila u spektru od 4000 – 650  $\text{cm}^{-1}$ , te je za detekciju korišten sljedeći detektor: DTGS (eng. Deuterated triglycine sulfate), a za korekciju spektra korištena je: Happ Genzelova apodizacija. Rezultati su obrađivani pomoću Agilent MicroLab Software-a.

Mikrovalne sinteze provedene su u modificiranoj kućnoj mikrovalnoj pećnici marke Electrolux EMS 2105s.

Spektri nuklearne magnetske rezonancije (NMR) snimani su na instrumentu spektrometar Bruker AV600 u DMSO- $d_6$  na 298 K u Centru za NMR Instituta „Ruđer Bošković“ radeći pri 600.135 MHz za  $^1\text{H}$  i pri 150.903 MHz za  $^{13}\text{C}$ . Kemijski pomaci  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  izraženi su u ppm prema tetrametilsilanu (*TMS*).

Temperature tališta određene su na elektrotermalnom digitalnom uređaju SMP3 (Mettler Toledo, Hrvatska).

### 3.1.1. Kemikalije korištene pri radu

Kolin-klorid;  $C_5H_{14}ClNO$ ; 139,63 g/mol;  $t_f=298-304\text{ }^\circ\text{C}$ , Acros Organics, 1 kg

2-Brom-4'-metilacetofenon;  $C_9H_9BrO$ ; 213,07 g/mol;  $t_f=52-53\text{ }^\circ\text{C}$ ; Acros Organics; 25 g

Nikotinamid;  $C_6H_6N_2O$ ; 122, 12 g/mol;  $t_f=150\text{ }^\circ\text{C}$ ; Acros Organics ,1 kg

Sorbitol;  $C_6H_{14}O_6$ ; 182, 17 g/mol;  $t_f=98-100\text{ }^\circ\text{C}$ ; Acros Organics, 1 kg

Ksilitol;  $HOCH_2[CH_2(OH)]_3CH_2OH$ ; 152, 15 g/mol;  $t_f=94-97\text{ }^\circ\text{C}$ ; Acros Organics, 1kg

Mliječna kiselina;  $C_3H_6O_3$ ; 90,08 g/mol;  $t_v=125\text{ }^\circ\text{C}$ ; Acros Organics, 500 mL

*N*-metilurea;  $C_2H_6N_2O$ ; 74,08 g/mol;  $t_f=98-102\text{ }^\circ\text{C}$ , Acros Organics, 100 g;

Tiourea;  $CH_4N_2S$ ; 76,12 g/mol;  $t_f=171-175\text{ }^\circ\text{C}$ ; Acros Organics; 250 g

Glukoza;  $C_6H_{12}O_6$ ; 180, 16 g/mol;  $t_f=150-152\text{ }^\circ\text{C}$ ; Acros Organics, 1 kg

Fruktoza;  $C_6H_{12}O_6$ ; 180, 16 g/mol;  $t_f=103\text{ }^\circ\text{C}$ ; Acros Organics, 1kg

Acetamid;  $C_2H_5NO$ ; 59,07 g/mol;  $t_f=79-81\text{ }^\circ\text{C}$ ; Acros Organics, 100 g

Oksalna kiselina;  $C_2H_2O_4 \times 2\text{ }H_2O$ ; 126 g/mol;  $t_f=98-101\text{ }^\circ\text{C}$ , Alkaloid-Skopje; 250 g

*Trans* - cimetna kiselina;  $C_9H_8O_2$ ; 148,161 g/mol;  $t_f=131-136\text{ }^\circ\text{C}$ , Acros Organics, 2,5 kg

Otapala: kloroform, metanol, apsolutni etanol, aceton.

Sve upotrjebljene kemikalije su bile analitičke čistoće.

## 3.2. METODE

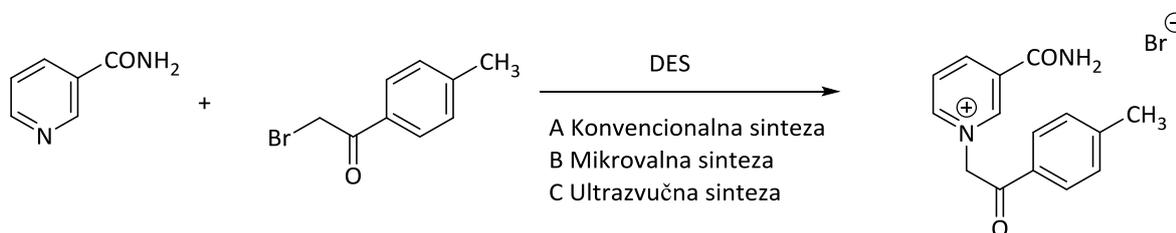
### 3.2.1. Priprava eutektičkih otapala

Priprava potrebnih eutektičkih otapala provedena je miješanjem 5 grama kolin-klorida s odgovarajućim količinom različitih HBD-a. Dobivena je smjesa zagrijavana uz miješanje na magnetskoj mješalici pri temperaturi 80 °C. Tijekom miješanja i zagrijavanja nastale su stabilne homogene tekućine, koje su ohlađene, te kao takve, korištene kao otapala u reakciji kvaternizacije nikotinamida.

**Tablica 4.** Priprava eutektičkih otapala

ChCl : <i>N</i> -metilurea	5g : 7,42g
ChCl : Tiourea	5g : 5,45g
ChCl : Glukoza	5g : 6,45g
ChCl : Fruktoza	5g : 6,45g
ChCl : Acetamid	5g : 4,23g
ChCl : Oksalna kiselina	5g : 3,21g
ChCl : <i>trans</i> -cimetna kiselina	5g : 5,31g
ChCl : Glicerol (1:2)	5g : 4,68 mL
ChCl : Sorbitol	5g : 6,52 g
ChCl : Ksilitol	5g : 5,45 g
ChCl : Mliječna kiselina	5g : 5,34 mL

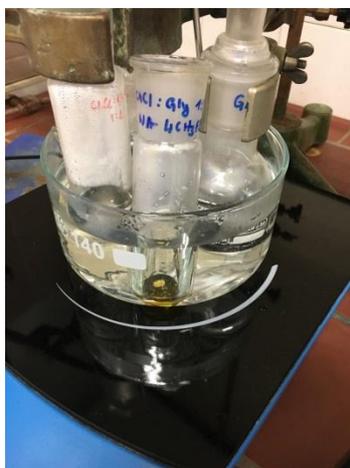
### 3.2.2. Konvencionalna metoda sinteze



**Slika 14.** Sinteza 3-karbamoil-1-(2-okso-2-(*p*-tolil)etil)piridinijevog bromida u eutektičkim otapalima

Ekvimolarna smjesa od 1,19 mmol nikotinamida i 2-brom-4'-metilacetofenona otopljena je u eutektičkim otapalima navedenim u **Tablici 4** (odnos molova reaktanta i ChCl-a = 1 : 10). Reakcijska je smjesa miješana na magnetskoj miješalici nekoliko sati (**Tablica 5**) na 80 °C, te potom 24 sata na sobnoj temperaturi, a potom je u nju dodan 96 %-tni etanol prilikom čega se istaložio sirovi produkt. Produkt je od filtriran te prekrizaliziran iz odgovarajućeg otapala.

Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala kloroform : metanol = 6 : 1,5.



**Slika 15.** Sinteza konvencionalnom metodom

### 3.2.3. Sinteza potpomognuta mikrovalovima

Ekvimolarna smjesa od 1,19 mmol nikotinamida i 2-brom-4'-metilacetofenona otopljena je u pripremljenim eutektičkim otapalima (odnos molova reaktanta i  $\text{CHCl}_3$  = 1 : 10). Reakcijska je smjesa podvrgnuta mikrovalnom zračenju određeno vrijeme pri snazi od 440 W, a potom je u nju dodan 96 %-tni etanol prilikom čega se istaložio sirovi produkt. Produkt je odfiltriran te prekrizaliziran iz odgovarajućeg otapala.

### 3.2.4. Sinteza pod utjecajem ultrazvuka

Provedene su i reakcije sinteze derivata nikotinamida pomoću ultrazvuka. Kvaternizacija u ultrazvučnoj kupelji je provedena pri temperaturi od 80 °C pri kojoj je produkt vidljiv u svim ispitanim eutektičkim otapalima.

Ekvimolarna smjesa od 1,19 mmol nikotinamida i 2-brom-4'-metilacetofenona otopljena je u pripremljenim eutektičkim otapalima (odnos molova reaktanta i  $\text{CHCl}_3$  = 1 : 10). Reakcijska je smjesa ostavljena u ultrazvučnoj kupelji 3 sata na 80 °C. Nakon sinteze u reakcijsku je smjesu dodan 96 %-tni etanol prilikom čega se istaložio sirovi produkt. Produkt je odfiltriran te prekrizaliziran iz odgovarajućeg otapala.

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

Cilj ovog diplomskog rada je bio ispitati mogućnost sinteze 3-karbamoil-1-(2-okso-2-(*p*-tolil)etil)piridinijevog bromida, kvaterne soli nikotinamida i 2-brom-4-metilacetofenonom uz korištenje 11 eutektičkih otapala kao zamjene za klasična otapala. Iz tog razlog prvo su pripremljena eutektička otapala na bazi kolin-klorida. Pri sintezi eutektika nisu nastajali nusprodukti.

#### 4.1. Rezultati konvencionalne sinteze

Iz priloženih podataka u **Tablici 5** vidljivo je kako su najbolji uvjeti za provedene reakcija kvaternizacije nikotinamida sa 2-brom-4-metilacetofenonom konvencionalnom metodom pri uvjetima od 80°C uz miješanje, u eutektičkom otapalu kolin-klorid : oksalna kiselina (1 : 2). Uz dobiveno iskorištenje u reakciji kvaternizacije od 55%.

**Tablica 5.** Vrijeme reakcija i prinosi produkata u konvencionalnoj metodi provedenoj u eutektičkim otapalima na bazi kolin-klorida

R. br.	Eutektičko otapalo	Omjer ChCl : HBD*	Vrijeme (h)	Prinos (%) -CH <sub>3</sub>
1	ChCl : Urea	1 : 2	3	54
2	ChCl : <i>N</i> -metilurea	1 : 3	3	33
3	ChCl : Tiourea	1 : 2	4	32
4	ChCl : Glukoza	1 : 1	6	27
5	ChCl : Fruktaza	1 : 1	6	38
6	ChCl : Ksilitol	1 : 1	5	43
7	ChCl : Sorbitol	1 : 1	5	48
8	ChCl : Glicerol	1 : 2	3	45
9	ChCl : Acetamide	1 : 2	3	17
10	ChCl : Jabučna kiselina	1 : 1	2	28
11	ChCl : Limunska kiselina	1 : 2	2	38
12	ChCl : malonska kiselina	1 : 1	2	25
<b>13</b>	<b>ChCl : oksalna kiselina</b>	<b>1 : 1</b>	<b>2</b>	<b>55</b>
14	ChCl : 1,3-dimetilurea	1 : 1	-	-
15	ChCl : Mliječna kiselina	1 : 2	2	18
16	ChCl : Levulinska kiselina	1 : 2	2	43
17	ChCl : <i>trans</i> -cimetna kiselina	1 : 1	2	15

## 4.2. Rezultati sinteze potpomognute mikrovalovima

Optimizacija mikrovalne sinteze u eutektičkim otapalima provedena je na reakciji kvaternizacije nikotinamida s 2-brom-4'-metilacetofenonom. Dobiveni rezultati pokazuju da je najoptimalnije vrijeme 1 minuta pri snazi od 440 W. **Tablica 6.** Pri većoj snazi i dužem vremenu dolazi do raspada i karbonizacije u gotovo svim eutektičkim otapalima pa je potrebna optimalna snaga i optimalno vrijeme. U nekim eutektičkim otapalima kao što su: glukoza i fruktoza bila je evidentirana karbonizacija već nakon par sekundi, te je u tom slučaju željeni produkt iz reakcijske smjese identificiran pomoću masene spektroskopije, ali ga više nije bilo moguće izolirati.

**Tablica 6.** Optimizacija reakcije kvaternizacije nikotinamida sa 2-brom-4'-metilacetofenona pod utjecajem mikrovalnog zračenja

Snaga	Vrijeme	Iskorištenje
440	20	12
440	40	56
440	60	89
440	80	76
440	100	83

Iz navedenih podataka u **Tablici 7** vidljivo je kako su najbolji uvjeti za provođenje reakcija kvaternizacije nikotinamida sa supstituiranim 2-brom-4-metilacetofenonom u mikrovalnoj sintezi pri snazi od 440 W i trajanju od 1 minute u eutektičkom otapalu kolin-klorid : oksalna kiselina (1 : 2) pri čemu je iskorištenje reakcije gotovo kvantitativno (98 %).

**Tablica 7.** Vrijeme reakcija i prinos produkata u sintezi potpomognutoj mikrovalovima u eutektičkim otapalima na bazi kolin-klorida

R. br.	Eutektičko otapalo	Omjer ChCl:HBD	Vrijeme (min)	Prinos (%)-
1	ChCl : Urea	1 : 2	1	64
2	ChCl : <i>N</i> -metilurea	1 : 3	1	46
3	ChCl : Tiourea	1 : 2	1	39
4	ChCl : Glukoza	1 : 1	1	Nije izoliran
5	ChCl : Fruktosa	1 : 1	1	Nije izoliran
6	ChCl : Ksilitol	1 : 1	1	64
7	ChCl : Sorbitol	1 : 1	1	68
8	ChCl : Glicerol	1 : 2	1	68
9	ChCl : Acetamide	1 : 2	1	23
10	ChCl : Jabučna kiselina	1 : 1	1	88
11	ChCl : Limunska kiselina	1 : 2	1	81
12	ChCl : Malonska kiselina	1 : 1	1	64
<b>13</b>	<b>ChCl : Oksalna kiselina</b>	<b>1 : 1</b>	<b>1</b>	<b>98</b>
14	ChCl : 1,3-Dimetilurea	1 : 1	1	-
15	ChCl : Mliječna kiselina	1 : 2	1	47
16	ChCl : Levulinska kiselina	1 : 2	1	53
17	ChCl : <i>trans</i> -cimetna kiselina	1 : 1	1	30

### 4.3. Rezultati sinteze pod utjecajem ultrazvuka

**Tablica 8.** Vrijeme reakcija i prinos produkata u sintezi pod utjecajem ultrazvuka u eutektičkim otapalima na bazi kolin-klorida

R. br.	Eutektičko otapalo	Omjer ChCl: HBD*	Vrijeme (h)	Snaga UZV	Prinos (%) -CH <sub>3</sub>
1	ChCl : Urea	1 : 2	4		72
2	ChCl : <i>N</i> -metilurea	1 : 3	4		62
3	ChCl : Tiourea	1 : 2	4		54
4	ChCl : Glukoza	1 : 1	4		25
5	ChCl : Fruktaza	1 : 1	4		40
6	ChCl : Ksilitol	1 : 1	4		47
7	ChCl : Sorbitol	1 : 1	4		50
<b>8</b>	<b>ChCl : Glicerol</b>	<b>1 : 2</b>	<b>4</b>		<b>84</b>
9	ChCl : Acetamide	1 : 2	4		21
10	ChCl : Jabučna kiselina	1 : 1	4		55
11	ChCl : Limunska kiselina	1 : 2	4		59
12	ChCl : malonska kiselina	1 : 1	4		42
13	ChCl : oksalna kiselina	1 : 1	4		82
14	ChCl : 1,3-dimetilurea	1 : 1	4		-
15	ChCl : Mliječna kiselina	1 : 2	4		38
16	ChCl : Levulinska kiselina	1 : 2	4		51
17	ChCl : <i>trans</i> -cimetna kiselina	1 : 1	4		18

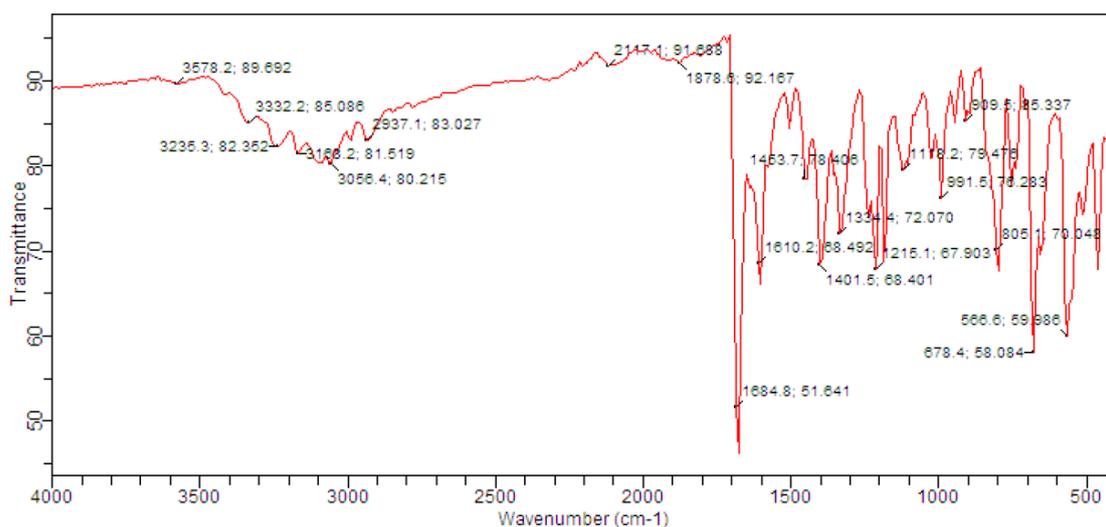
\*ChCl – kolin-klorid; HBD – donor vodikove veze, \* identificiran TLC-om, ali nije izoliran

Iz podataka u **Tablici 8** zaključeno je kako su najbolji uvjeti za provođenje reakcija kvaternizacije nikotinamida sa supstituiranih 2-bromacetofenonona u eutektičkom otapalu kolin-klorid : glicerol (1 : 2) pri čemu iskorištenje reakcije iznosi 84% s metilnom skupinom kao supstituentom.

## **5. KARAKTERIZACIJA DOBIVENOG PRODUKTA**

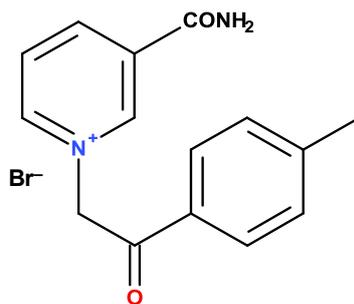
Kemijska struktura dobivenog spoja 3-karbamoil-1-(2-okso-2-(*p*-tolil)etil)piridinijevog bromida određena je spektroskopskim metodama, IR spektroskopije, NMR spektroskopije, masene spektroskopije i elementarne analize.

IR spektroskopijom su vidljive apsorpcijske vrpce koje odgovaraju istezanju  $\nu\text{N-H}$ ,  $\nu\text{NH}_2$ ,  $\nu\text{NH}_2$  i  $\delta\text{N-C-C}$  skupina pri 3400, 3350, 3180, 1690–1650  $\text{cm}^{-1}$ . Vidljiva je također i apsorpcijska vrpca istezanja veze C=O u području između 1800 i 1650  $\text{cm}^{-1}$ . Apsorpcijske vrpce aromatskih prstenova  $\nu\text{C-C}_{\text{Ar}}$  vidljive su pri 1650, 1580, 1400  $\text{cm}^{-1}$  dok su vrpce između aromatskih ugljikovih i vodikovih atoma  $\nu\text{C-H}_{\text{Ar}}$  vidljive pri 3030, 3010  $\text{cm}^{-1}$  (**Slika 16.**)



**Slika 16.** IR spektar 3-karbamoil-1-(2-okso-2-(*p*-tolil)etil)piridinijevog bromida

Broj, multiplicitet i integrali NMR signala odgovaraju očekivanim molekularnim strukturama. Aromatično područje  $^1\text{H-NMR}$  spektara sadrži četiri signala iz piridinske skupine (od H-2 do H6), dva signala iz amidne skupine ( $\text{NH}_2$ ) i dva dubleta, koji odgovaraju fenilnim protonima (H-10/14 i H -11/13). Aromatično područje  $^1\text{H-NMR}$  spektra također sadrži tri signala iz supstituiranog fenilnog prstena (H-16/20, H17/19, H18). Sve aromatske  $^{13}\text{C}$  jezgre nađene su u rasponu 150 - 120 ppm.



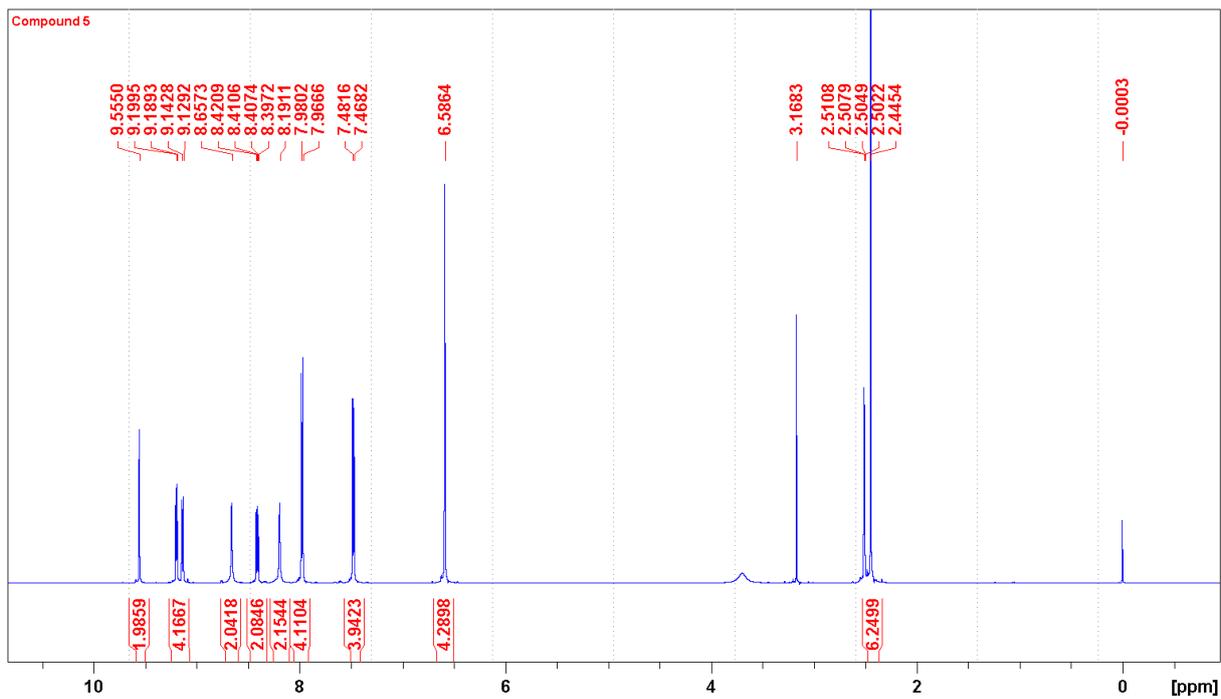
**Slika 17.** 3-karbamoil-1-(2-okso-2-(*p*-tolil)etil)piridinijev bromid

IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  3578,2; 3332,2; 3235,3; 3168,2; 3056,4; 2937,1; 2117,1; 1878,6; 1684,8; 1610,2; 1463,7; 1401,5; 1334,4; 1215,1; 118,2; 991,5, 986; 909,5; 805,1  $\text{cm}^{-1}$

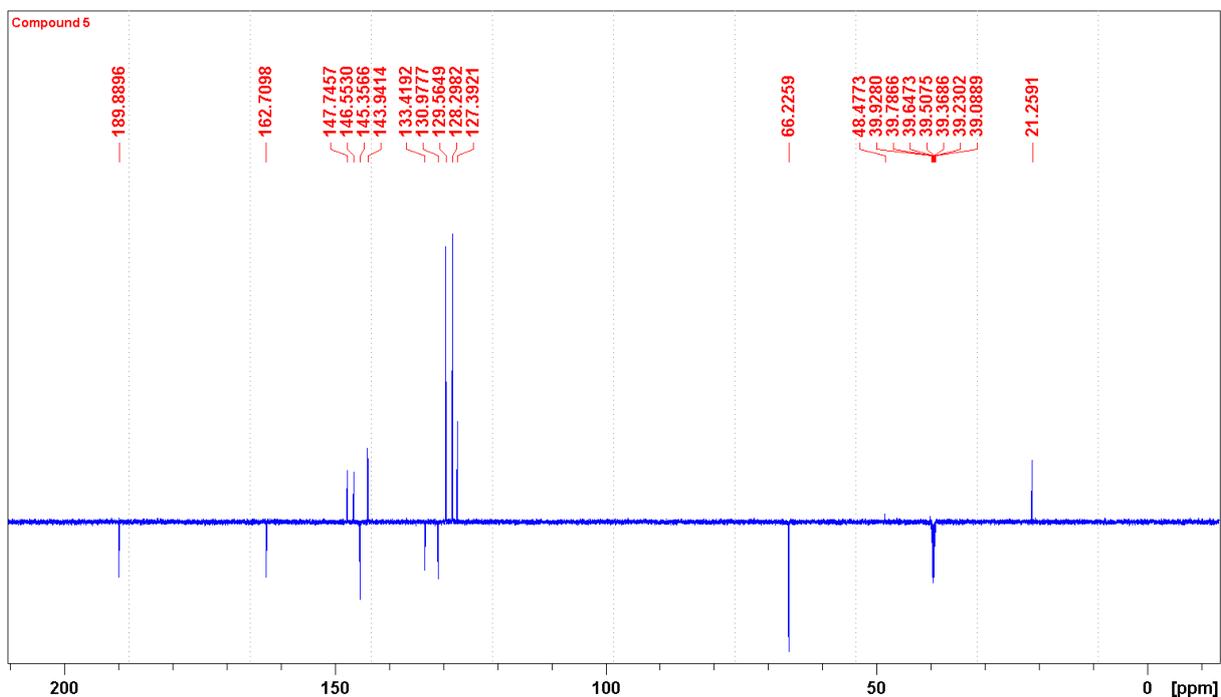
$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 600,135 MHz):  $\delta$  9,55 (1H, s, H-2), 9,19 (1H, dt,  $J = 6,2, 0,9$  Hz, H-6), 9,13 (1H, dt,  $J = 8,1, 1,3$  Hz, H-4), 8,66 (1H, br s, NHa), 8,41 (1H, dd,  $J = 8,1; 6,2$  Hz, H-5), 8,19 (1H, br s, NHb), 7,97 (2H, d,  $J = 8,04$  Hz, H-10, H-14), 7,47 (2H, d,  $J = 8,04$  Hz, H-11, H-13), 6,58 (2H, s, H-7), 2,44 (3H, s,  $\text{CH}_3$ ) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 150,903 MHz):  $\delta$  189,9 (C, C-8), 162,7 (C,  $\text{CONH}_2$ ), 147,7 (CH, C-6), 146,5 (CH, C-2), 145,3 (C, C-12), 143,9 (CH, C-4), 133,4 (C, C-3), 130,9 (C, C-9), 129,6 (CH, C-11, C-13), 128,3 (CH, C-10, C-14), 127,4 (CH, C-5), 66,2 ( $\text{CH}_2$ , C-7), 21,2 ( $\text{CH}_3$ , C-15) ppm;

MS  $m/z$  255 [ $\text{M}^+$ ] (100); anal. Calcd. mass for  $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{BrN}_2\text{O}_2$ : C 53,75; H 4,51; Br 23,84; N 8,36; O 9,55. Found: C 52,62; H 4,49, N 8,35%.

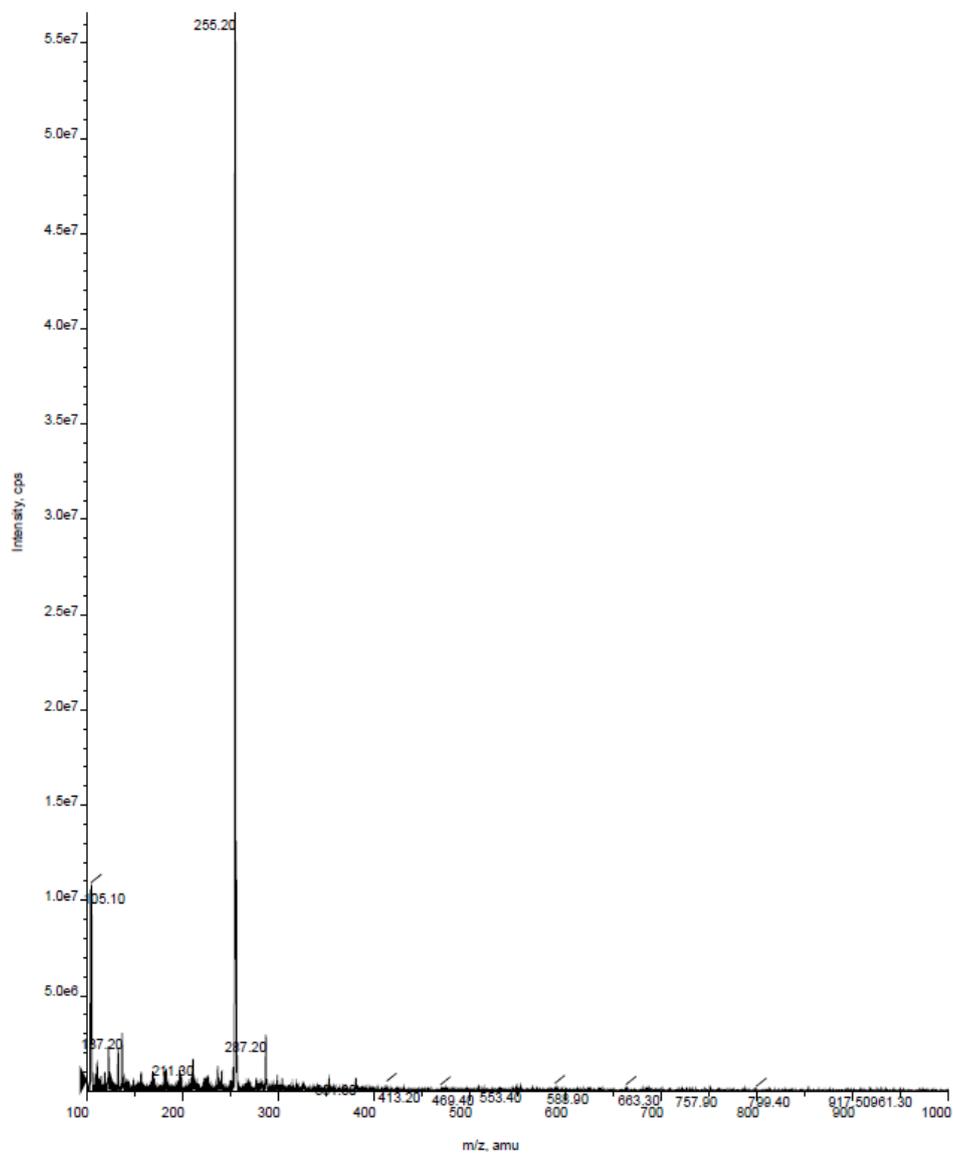


**Slika 18.**  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ ) spektr 3-karbamoil-1-(2-okso-2-(*p*-tolil)etil)piridinijevog bromida



**Slika 19.**  $^{13}\text{C}$  APT NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ ) spektr 3-karbamoil-1-(2-okso-2-(*p*-tolil)etil)piridinijevog bromida

U masenom je spektru u pozitivnom modu identificiran kationski oblik MS  $m/z$  255 [ $M^+$ ] (100 %) dobivene kvaterne soli (**Slika 20.**)



**Slika 20.** Maseni spektar 3-karbamoil-1-(2-okso-2-(*p*-tolil)etil)piridinijevog bromida u pozitivnom modu

## **6. ZAKLJUČCI**

Postupci su provedeni trima metodama: konvencionalnom, ultrazvučnom i mikrovalnom. Na osnovu zapažanja tijekom rada i dobivenih rezultata zaključeno da je od svih korištenih postupaka najbolje rezultate pokazala sinteza 3-karbamoil-1-(2-okso-2-(*p*-tolil)etil)piridinijevog bromida pod utjecajem mikrovalnog zračenja.

Konvencionalnom metodom dobivena su vrlo niska iskorištenja, pri čemu je najveće iskorištenje sinteze 3-karbamoil-1-(2-okso-2-(*p*-tolil)etil)piridinijevog bromida od 55 % dobiveno u eutektskom otapalu kolin-klorid : oksalna kiselina (1 : 2).

Mikrovalnom sintezom znato je smanjeno vrijeme reakcije s nekoliko sati na jednu minutu. U ovom slučaju najbolji rezultat reakcije kvaternizacije nikotinamida i 2-brom-4'-metilacetofenona također dobiven je u eutektskom otapalu kolin-klorid : oksalna kiselina (1: 2) uz gotovo kvantitativno iskorištenje od 98 %.

Ultrazvučna sinteza također se pokazala boljom u odnosu na konvencionalnu. Najviše iskorištenje dobiveno je u eutektskom otapalu kolin-klorid : glicerol (1 : 2) uz iskorištenje od 84 %.

Iz navedenog možemo zaključiti kako mikrovalna sinteza pokazuje niz prednosti: kraće vrijeme reakcije i veći prinos, dok su joj nedostaci lokalno pregrijavanje reakcijske smjese što vodi raspadu eutektskog otapala i nastajanju nusprodukata koji otežavaju pročišćavanje produkta.

## **7. LITERATURA**

- [1] J. H. Clark, *Green Chemistry: challenges and opportunities*, Department of Chemistry, University of York, York, UK YO1 5DD, (1998)
- [2] E. S. Beach, Z. Cui, P. T. Anastas, *Green Chemistry: A design framework for sustainability. Energy Environ. Sci.*, **2**:1038-1049, (2009).
- [3] P. T. Anastas, J. C. Warner, *Green Chemistry: Theory and practice*, Oxford University Press, (1998)
- [4] Jaroš Tatjana: Reakcije kvaternizacije pomoću eutektičkih otapala na bazi kolin-klorida. Diplomski rad. Odjel za kemiju, Osijek, 2017.
- [5] Dragan Miro: Zelena otapala u farmaceutskoj industriji. Diplomski rad. Kemijsko tehnološki fakultet i medicinski fakultet, Split, 2017.
- [6] Njegovac Tihana: „Zelena“ sinteza organskih spojeva. Završni rad. Odjel za kemiju, Osijek, 2015.
- [7] E. L. Smith, A. P. Abbott, K. S. Ryder, *Deep Eutectic Solvents (DESs) and Their Applications. Chem. Rev.* **114**:11060-11082, (2012).
- [8] J. Gorzinsky Smith: *Organic chemistry*, McGraw-Hill, New York, (2011)
- [9] P. Liu, J.-W. Hao, L.-P. Mo, Zhan-Hui Zhang: Recent advances in the application of deep eutectic solvents as sustainable media as well as catalysts in organic reactions. *RSC Adv.* **5**:48675, (2015).
- [10] B. Singh, H. Lobo, G. Shankarling: Selective N-Alkylation of Aromatic Primary Amines Catalyzed by Bio-catalyst or Deep Eutectic Solvent, Springer Science and Business Media. *Catal Lett* **141**:178-182, (2011).
- [11] K. Schofield: *Hetero- atomic nitrogen compounds*, Springer Science, Business Media New York, 1967.
- [12] S. H. Pine: *Organska kemija*, Školska knjiga Zagreb, 1994.

- [13] J. Bai, C. Liao, Y. Liu, X. Qin, J. Chen, Y. Qiu, D. Qin, Z. Li, Z. C. Tu, and S. Jiang: Structure-Based Design of Potent Nicotinamide Phosphoribosyltransferase Inhibitors with Promising in Vitro and in Vivo Antitumor Activities. *J. Med. Chem* 59:5766-5779, (2016).
- [14] T. Siber, V. Bušić, D. Zobundžija, S. Roca, D. Vikić-Topić, K. Vrandečić, D. Gašo-Sokač: An improved method for the quaternization of nicotinamide and antifungal activities of its derivatives. *Molecules* 24:24, (2019).
- [15] D. Gašo-Sokač, M. Katalinić, Z. Kovarik, V. Bušić, S. Kovač: Synthesis and evaluation of novel analogues of vitamin B<sub>6</sub> as reactivators of tabun and paraoxon inhibited acetylcholinesterase, *Chemico-Biological Interactions* 187:234-237, (2010).
- [16] Earl Mindell: Vitaminska biblija, Izvori Zagreb, 1998.
- [17] Karlson Peter: Biokemija, Školska knjiga Zagreb, 1971
- [18] C. O. Kappe, D. Dallinger, S. S. Murphree: Practical microwave synthesis for organic chemists, Wiley-WCH, Weinheim, 2009.
- [19] T. J. Mason, J. P. Lorimer: Applied Sonochemistry, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2002.