



**ПРИРОДНО - МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ  
НИШ**

**КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА**

Редни број, <b>РБР:</b>	
Идентификациони број, <b>ИБР:</b>	
Тип документације, <b>ТД:</b>	монографска
Тип записа, <b>ТЗ:</b>	текстуални / графички
Врста рада, <b>ВР:</b>	докторска дисертација
Аутор, <b>АУ:</b>	Невенка Д. Цакић
Ментор, <b>МН:</b>	Нико Радуловић
Наслов рада, <b>НР:</b>	<b>Алкалоиди, фенилпропаноиди, стероиди и терпеноиди из одабраних биљних врста фамилије <i>Ariaceae</i></b>
Језик публикације, <b>ЈП:</b>	српски
Језик извода, <b>ЈИ:</b>	српски и енглески
Земља публикавања, <b>ЗП:</b>	Србија
Уже географско подручје, <b>УГП:</b>	Србија
Година, <b>ГО:</b>	2012.
Издавач, <b>ИЗ:</b>	ауторски репринт
Место и адреса, <b>МА:</b>	Ниш, Вишеградска 33.
Физички опис рада, <b>ФО:</b>	9 поглавља, 269 страна, 30 слика, 19 табела, 16 шема, 99 прилога
Научна област, <b>НО:</b>	хемија
Научна дисциплина, <b>НД:</b>	органска хемија и биохемија
Предметна одредница/Кључне речи, <b>ПО:</b>	<i>Conium maculatum</i> L., <i>Carum graecum</i> Boiss. & Heldr., <i>Daucus carota</i> L., <i>Daucus guttatus</i> Sibth. & Sm. ssp. <i>zahariadii</i> , <i>Geocaryum cynapioides</i> (Guss.) L. Engstrand, <i>Pleurospermum austriacum</i> L., етарска уља, синтеза, antimikrobna aktivnost, analgetska aktivnost, 2-pentilpiperidin
<b>УДК</b>	543.645 : 582.893.6 + 547.92 : 582.893.6 + 547.597 : 582.893.6
Чува се, <b>ЧУ:</b>	библиотека
Важна напомена, <b>ВН:</b>	
Извод, <b>ИЗ:</b>	Извршена је детаљна хемијска анализа етарских уља врста <i>Conium maculatum</i> L., <i>Carum graecum</i> Boiss. & Heldr., <i>Daucus carota</i> L., <i>Daucus guttatus</i> ssp. <i>zahariadii</i> Heywood, <i>Geocaryum cynapioides</i> (Guss.) L. Engstrand и <i>Pleurospermum austriacum</i> (L.) Hoffm, као и диетилетарских и дихлорметанских екстраката врста <i>C. maculatum</i> и <i>Daucus carota</i> L. Етарска уља ендемичних врста за Балканско полуострво, <i>C. graecum</i> , <i>D. guttatus</i> ssp. <i>zahariadii</i> и <i>G. cynapioides</i> , први пут су испитана у овом раду. GC-MS анализом базних екстраката и етарског уља плодова врсте <i>C. maculatum</i> утврђено је присуство новог алкалоида – 2-пентилпиперидина (који је назван конмакулатин). Овај нови алкалоид је синтетисан, спектрално окарактерисан (IR, NMR, MS) и GC ко-инјектиран са природним узорцима чиме је потврђено његово присуство у истим. Конмакулатин је показао периферну и централну аналгетску активност у дозама 10-20 mg/kg, а у већим је био леталан за мишеве. Тестирање микробиолошке активности екстракта шизокарпа врсте <i>D. carota</i> је показало изражено дејство према Грам-позитивној бактерији <i>Micrococcus flavus</i> и Грам-негативној бактерији <i>Escherichia coli</i> . Етарско уље врсте <i>D. guttatus</i> је показало највећу активност према Грам-позитивној бактерији <i>Corynebacterium pyogenes</i> (MIC=0,781 mg/ml).
Датум прихватања теме, <b>ДП:</b>	15.09.2010.
Датум одбране, <b>ДО:</b>	}
Чланови комисије, <b>КО:</b>	Председник: Члан: Члан, ментор:



ПРИРОДНО - МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ  
НИШ

KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number, <b>ANO</b> :	
Identification number, <b>INO</b> :	
Document type, <b>DT</b> :	monograph
Type of record, <b>TR</b> :	textual / graphic
Contents code, <b>CC</b> :	doctoral dissertation
Author, <b>AU</b> :	Nevenka D. Cakić
Mentor, <b>MN</b> :	Niko Radulović
Title, <b>TI</b> :	<b>Alkaloids, phenylpropanoids, steroids and terpenoids from selected Apiaceae species</b>
Language of text, <b>LT</b> :	Serbian
Language of abstract, <b>LA</b> :	English
Country of publication, <b>CP</b> :	Serbia
Locality of publication, <b>LP</b> :	Serbia
Publication year, <b>PY</b> :	2012
Publisher, <b>PB</b> :	author's reprint
Publication place, <b>PP</b> :	Niš, Višegradaska 33.
Physical description, <b>PD</b> :	9 chapters, 269 pages, 19 tables, 30 pictures, 16 schemes, 99 appendixes
Scientific field, <b>SF</b> :	chemistry
Scientific discipline, <b>SD</b> :	organic chemistry and biochemistry
Subject/Key words, <b>S/KW</b> :	<i>Conium maculatum</i> L., <i>Carum graecum</i> Boiss. & Heldr., <i>Daucus carota</i> L., <i>Daucus guttatus</i> ssp. <i>zahariadii</i> Heywood, <i>Geocaryum cynapioides</i> (Guss.) L. Engstrand, <i>Pleurospermum austriacum</i> (L.) Hoffm., essential oil, synthesis, antimicrobial activity, antinociceptive activity, 2-pentylpiperidine
<b>UC</b>	543.645 : 582.893.6 + 547.92 : 582.893.6 + 547.597 : 582.893.6
Holding data, <b>HD</b> :	library
Note, <b>N</b> :	
Abstract, <b>AB</b> :	Detailed chemical analyses of <i>Conium maculatum</i> L., <i>Carum graecum</i> Boiss. & Heldr., <i>Daucus carota</i> L., <i>Daucus guttatus</i> ssp. <i>zahariadii</i> Heywood, <i>Geocaryum cynapioides</i> (Guss.) L. Engstrand and <i>Pleurospermum austriacum</i> (L.) Hoffm. essential oils, as well as the dichloromethane and diethyl ether extracts of <i>C. maculatum</i> and <i>D. carota</i> were performed using GC and GC-MS techniques. The essential oils of the Balkan endemics, <i>C. graecum</i> , <i>D. guttatus</i> ssp. <i>zahariadii</i> and <i>G. cynapioides</i> , were investigated herein for the first time. GC-MS analyses of the essential oils and the alkaline dichloromethane extracts of the fruits of <i>C. maculatum</i> revealed the presence of a new natural alkaloid – 2-pentylpiperidine (named conmaculatin). The structure of this compound was corroborated by means of synthesis, followed by spectral characterization (IR, NMR and MS) and finally GC co-injected with the natural samples. Conmaculatin's strong peripheral and central antinociceptive activity in mice was observed in a narrow dose range (10–20 mg/kg), whereas it was found to be lethal in higher doses. The antimicrobial assays revealed that the oil of <i>D. guttatus</i> and the extract of <i>D. carota</i> had the highest effect on the growth of <i>Micrococcus flavus</i> and <i>Escherichia coli</i> , whereas the oil of <i>D. guttatus</i> possessed mentionworthy activity against <i>Corynebacterium pyogenes</i> , with the value of MIC - 0,781 mg/ml.
Accepted by the Scientific Board on, <b>ASB</b> :	September 15 <sup>th</sup> 2010
Defended on, <b>DE</b> :	
Defended Board, <b>DB</b> :	President:
	Member:
	Member, Mentor:

*Skraćenice*

<b>ACh</b>	Acetilholin (acetylcholine)
<b>AHC</b>	Aglomerativna hijerarhijska klaster analiza (agglomerative hierarchical clustering)
<b>AMDIS</b>	Automatizovani sistem za identifikaciju i dekonvoluciju masenih spektara (automated mass spectral deconvolution and identification system)
<b>amu</b>	Atomska jedinica mase (atomic mass unit)
<b>ANOVA</b>	Jednodimenzionalna analiza varijanse (analysis of variance)
<b>aq</b>	Vodeni rastvor (aqueous solution)
<b>ATCC</b>	Kontrolni laboratorijski sojevi mikroorganizama (American Type Culture Collection)
<b>ax</b>	Aksijalno (axial)
<b>CoA</b>	Koenzim A
<b>DMSO</b>	Dimetil-sulfoksid (dimethylsulfoxide)
<b>EI-MS</b>	Elektronjonizaciona-masena spektrometrija (Electron Ionization Mass Spectrometry)
<b>eq</b>	Ekvatorijalno (equatorial)
<b>et al</b>	I drugi (et alia)
<b>eV</b>	Elektron volt
<b>FGA</b>	Functional group addition
<b>FGI</b>	Functional group interconversion
<b>FID</b>	Plameno-jonizaciona detekcija (flame ionization detection)
<b>FT</b>	Fourier-ova transformacija
<b>FTIR</b>	Furije-transformisana infracrvena spektroskopija (Fouriertransformed infrared spectroscopy)
<b>GC</b>	Gasna hromatografija (gas chromatography)
<b>GC-FID</b>	Gasna hromatografija-plameno-jonizaciona detekcija (gas chromatography-flame ionization detection)
<b>GC-MS</b>	Gasna hromatografija-masena spektrometrija (gas chromatography-mass spectrometry)
<b><sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY</b>	Homonuklearna <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H-korelisana dvodimenzionalna nuklearno-magnetna rezonantna spektroskopija ( <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H Correlation Spectroscopy)
<b>HETCOR</b>	Heteronuclear Correlation Spectroscopy
<b>IR</b>	Infracrvena (Infrared)
<b>LD<sub>50</sub></b>	Letalna doza 50% (lethal dose, 50%)

<b>m/z</b>	Odnos masa/naelektrisanje
<b>MBC</b>	Minimalna baktericidna koncentracija (minimum bactericidal concentration)
<b>MFC</b>	Minimalna fungicidna koncentracija (minimal fungicidal concentration)
<b>MHA</b>	Mueller Hinton agar
<b>MHz</b>	Megaherc
<b>MIC</b>	Minimalna inhibitorna koncentracija (minimal inhibitory concentration)
<b>MPLC</b>	Tečna hromatografija pri srednjim pritiscima (Medium Pressure Liquid Chromatography)
<b>MS</b>	Masena spektrometrija (mass spectrometry)
<b>MSD</b>	Maseno-selektivni detektor (mass selective detector)
<b>NADPH</b>	Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)
<b>NCCLS</b>	National committee for clinical laboratory standards
<b>NMR</b>	Nuklearna magnetna rezonanca (nuclear magnetic resonance)
<b>PCA</b>	Metoda analize glavne komponente (principal component analysis)
<b>ppm</b>	Parts per milion
<b>rDNK</b>	Ribozomalna dezoksiribonukleinska kiselina
<b>RI</b>	Retencioni indeks (retention index)
<b>R<sub>t</sub></b>	Retenciono vreme (retention time)
<b>SAM</b>	S-adenozil-metionin (S-adenosyl-methionine)
<b>SDA</b>	Sabouraud-dekstrozni agar (sabouraud dextrose agar)
<b>SDBS</b>	Spectral database for organic compounds
<b>TIC</b>	Ukupni jonski hromatogram (total ion chromatogram)
<b>T<sub>k</sub></b>	Tačka ključanja
<b>TLC</b>	Tankoslojna hromatografija (thin-layer chromatography)
<b>TMS</b>	Tetrametilsilan (tetramethylsilane)
<b>TPS</b>	Terpen sinaza
<b>TTC</b>	2,3,5-Trifeniltetrazolijum-hlorid (2,3,5-triphenyltetrazolium chloride)
<b>UV</b>	Ultraljubičasta (ultraviolet)
<b>v/v</b>	Odnos zapremine (volume/volume)
<b>w/w</b>	Odnos masa (weighy/weight)

# *Sadržaj*

<b>1. Uvod</b> .....	1
<b>2. Ciljevi rada</b> .....	4
<b>3. Opšti deo</b> .....	6
3.1. Biosinteza terpena, steroida, fenilpropanoida i alkaloida .....	7
3.1.1. Terpeni .....	9
3.1.2. Steroidi .....	10
3.1.3. Fenilpropanoidi .....	11
3.1.4. Alkaloidi .....	12
3.2. Morfološke i etnofarmakološke karakteristike odabranih biljnih vrsta familije <i>Apiaceae</i> .....	13
3.2.1. Biljna vrsta <i>Geocaryum cynapioides</i> (Guss.) Engstrand .....	14
3.2.2. Biljna vrsta <i>Daucus carota</i> L. ....	21
3.2.3. Biljna vrsta <i>Daucus guttatus</i> ssp. <i>zahariadii</i> .....	21
3.2.4. Biljna vrsta <i>Carum graecum</i> Boiss. et Heldr. ssp. <i>graecum</i> .....	22
3.2.5. Biljna vrsta <i>Conium maculatum</i> L. ....	22
3.2.6. Biljna vrsta <i>Pleurospermum austriacum</i> (L.) Hoffm. ....	23
3.3. Hemijski profil odabranih biljnih vrsta porodice <i>Apiaceae</i> i njihov botanički značaj ....	23
3.3.1. Hemijski sastav etarskih ulja biljne vrste <i>D. carota</i> .....	36
3.3.1.1. Hemijski sastav etarskog ulja šizokarpa biljne vrste <i>D. carota</i> .....	27
3.3.1.2. Hemijski sastav etarskih ulja nadzemnih delova i korena biljne vrste <i>D. carota</i> .....	28
3.3.1.3. Mikrobiološka aktivnost etarskih ulja i drugih sastojaka biljnih vrsta roda <i>Daucus</i> .....	45
3.3.2. Hemijski sastav etarskih ulja biljnih vrsta roda <i>Carum</i> .....	47
3.3.3. Alkaloidi biljne vrste <i>C. maculatum</i> .....	48
<b>4. Eksperimentalni deo</b> .....	51
4.1. Biljni materijal i priprema uzoraka .....	52
4.1.1. Biljni materijal .....	52
4.1.2. Izolovanje etarskih ulja .....	52
4.1.3. Izolovanje dietil-etarskih i dihlormetanskih ekstrakata .....	52
4.1.4. Sililovanje ekstrakta biljne vrste <i>C. maculatum</i> .....	55
4.2. Metode razdvajanja i analize .....	55
4.2.1. Gasna hromatografija – masena spektrometrija (GC-MS) i gasna hromatografija GC) .....	55
4.2.1.1. Gasna hromatografija – masena spektrometrija (GC-MS) .....	55
4.2.1.2. Identifikacija sastojaka .....	56
4.2.2. Nuklearno-magnetna rezonantna (NMR) spektroskopija .....	56
4.2.3. Infracrvena spektroskopija (FTIR).....	56

4.2.4. Hromatografija na tankom sloju (TLC).....	56
4.2.5. Tečna hromatografija pri srednjim pritiscima (MPLC) .....	57
4.2.6. „Flash dry“ hromatografija .....	57
4.3. Hemikalije i rastvarači.....	57
4.4. Opis sintetičkih koraka.....	58
4.4.1. Sinteza adipinske kiseline i dietil-adipata .....	58
4.4.2. Sinteza 2-etoksikarbonilciklopentanona (Dieckmann-ova kondenzacija dietil- adipata) .....	59
4.4.3. Sinteza n-pentil-jodida .....	60
4.4.4. Sinteza 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanona .....	60
4.4.5. Sinteza 2-pentilciklopentanona .....	61
4.4.6. Sinteza oksima 2-pentilciklopentanona „solvent free“ reakcijom .....	61
4.4.7. Sinteza $\delta$ -dekalaktama (Beckmann-ovo premeštanje) .....	62
4.4.8. Sinteza 2-pentilpiperidina .....	64
4.5. Ispitivanje mikrobiološke aktivnosti .....	65
4.5.1. Korišćeni mikroorganizmi.....	65
4.5.2. Testiranje <i>in vitro</i> mikrobiološke aktivnosti .....	65
4.6. Biološka aktivnost alkaloida .....	66
4.6.1. Eksperimentalne životinje .....	66
4.6.2. Test abdominalnih grčeva izazvanih acetilholinom (writhing test) .....	67
4.6.3. Osetljivost na termalni nadražaj - metoda vruće ploče (hot-plate test).....	67
4.7. Statistička analiza podataka.....	67
4.7.1 Multivarijantna analiza: metoda analize glavne komponente i aglomerativna hijerarhijska klaster analiza .....	68
<b>5. Rezultati i diskusija</b> .....	69
5.1. <i>Isparljivi sastojci biljne vrste Daucus guttatus ssp. zahariadii, samoniklih populacija i komercijalnih uzoraka D. carota</i> .....	70
5.1.1. Mikrobiološka aktivnost etarskog ulja/ekstrakta biljnih vrsta <i>D. guttatus ssp. zahariadii</i> i <i>D. carota</i> .....	87
5.2. <i>Hemijski sastav etarskog ulja listova biljne vrste Carum graecum Boiss. et Heldr. ssp. graecum</i> .....	90
5.3. <i>Hemijski sastav etarskog ulja biljne vrste Geocaryum cynapioides (Guss.) L. Engstrand</i> .....	92
5.4. <i>Sinteza i spektralna karakterizacija 2-pentilpiperidina</i> .....	98
5.5. <i>Isparljivi sastojci biljne vrste C. maculatum</i> .....	118
5.5.1. Hemijski sastav baznih ekstrakata nadzemnih delova i plodova vrste <i>C. maculatum</i> .....	118
5.5.2. Hemijski sastav etarskih ulja nadzemnih delova biljne vrste <i>C. maculatum</i> .....	128
5.5.3. Hemijski sastav dihlormetanskih ekstrakata korena vrste <i>C. maculatum</i> .....	140
5.5.4. Toksičnost i antinociceptivna (analgetska) aktivnost 2-pentilpiperidina .....	150



5.6. Steroidi iz dihlormetanskog ekstrakta biljne vrste <i>C. maculatum</i> .....	152
5.7. Ispaljivi sastojci vrste <i>Pleurospermum austriacum (L.) Hoffm.</i> .....	161
<b>6. Izvod</b> .....	168
<b>7. Summary</b> .....	172
<b>8. Literatura</b> .....	176
<b>9. Prilog</b> .....	185
9.1. TIC hromatogrami analiziranih uzoraka .....	187
9.2. (GC)MS, IR i NMR spektri sintetisanih jedinjenja.....	238
9.3. Maseni spektri steroida, alkaloida i neidentifikovanih jedinjenja prisutnih u uzorcima vrste <i>C. maculatum</i> .....	262

# *1. Uvod*

Sistematika biljaka se najpre zasnivala na morfologiji, fiziologiji i geobotanici, a tek u novije vreme je akcenat istraživanja stavljen na fitohemiju, najmlađu disciplinu u ovoj oblasti. Rezultati koji su dobijeni korišćenjem ne samo klasičnih i savremenih bioloških metoda, već i najsavremenijih hemijskih tehnika, ukazuju da dosadašnji sistem klasifikacije, u kome se različite biljke grupišu na osnovu samo morfologije npr. reproduktivnih organa (uključujući plodove i semena) može biti zastareo, neprecizan i pogrešan. U mnogo slučajeva je pokazano kako hemijski sastav taksona može poslužiti kao dodatni, a često i odlučujući faktor-karakter prilikom klasifikacije biljnih vrsta (i ostalih organizama). Zato je neophodno unaprediti ovakva istraživanja, a u cilju dobijanja sve veće količine informacija iz detaljnih hemijskih analiza. Na osnovu dobijenih rezultata, prisustva jedinjenja ili klase jedinjenja u biljnom taksonu, rodovi, vrste i niže taksonomske kategorije bi se mogle svrstati u neke nove grupe, odnosno, mogla bi se naći adekvatna srodnička veza između njih. Na taj način se može doći ne samo do srodničkih odnosa između taksona koji se teško razlikuju već i do novih hemotaksona (taksona koji su "hemijski srodni"). Važnost ovih ispitivanja se ogleda i u tome što je čak sedamdeset i pet procenata jedinjenja koja se danas koriste u medicinske svrhe biljnog porekla, a četvrtina od njih se još uvek izoluje iz biljne droge. Većina ovih jedinjenja su sekundarni metaboliti (Duke, 1990). Farnsworth i saradnici (1985) su izračunali da je 74% od 119 tada ispitanih lekova biljnog porekla otkriveno kao rezultat hemijskog ispitivanja sa ciljem izolovanja aktivnih supstanci odgovornih za njihovu tradicionalnu upotrebu.

Aromatično bilje je od davnih vremena privlačilo pažnju čoveka koji ga je upotrebljavao kao lek, začim, za aromatizaciju raznih napitaka, pripremu kozmetičkih ulja i smola za ulepšavanje, kao i u druge svrhe. U XIX i XX veku dolazi do ekspanzije korišćenja etarskih ulja i ona dobijaju sve veći farmakomedicinski i privredni značaj u celom svetu, a njihova proizvodnja i upotreba ni danas nije ništa manja. Pomoću savremenih tehnika i metoda otkriveno je da su etarska ulja složene smeše alifatičnih i aromatičnih jedinjenja i da se sastoje od raznih ugljovodonika, alkohola, aldehida, ketona, estara, fenola, kiselina, alkaloida i drugih supstanci. Ova jedinjenja predstavljaju sekundarne biljne metabolite koje ona koristi u odbrambene svrhe ili pri interakciji sa okolinom (sa drugim biljkama, biljojedima, patogenima i oprašivačima). Jedna od široko rasprostranjenih porodica, čije se vrste koriste u ishrani (šargarepa – *Daucus carota* L., celer – *Apium graveolens* L., kim – *Carum carvi* L., peršun – *Petroselinum crispum* (Mill.) A.W.Hill, mirođija – *Anethum graveolens* L., itd), kao lekovite ili čak kao ukrasne biljke, je porodica Umbeliferae – Štitašice (od latinske reci *umbella* što znači "hlad"), u narodu poznate kao biljke "sa kišobranom (štitom)". Savremeniji naziv ove familije je Apiaceae i smatra se da ona sadrži oko 418 različitih rodova i 3100 vrsta. Danas se uzima da se ona sastoji od tri podfamilije: Hydrocotyloideae (42 roda i oko 469-490 vrsta), Saniculoideae, sa oko 9 rodova i 304-325 vrsta i Apioideae, daleko najveća podfamilija sa oko 404 roda i preko 3000 vrsta. Biljke iz ove porodice su uglavnom zeljaste sa šupljim stabljikama i raznolikim, često i višestruko perasto deljenim listovima. Ispitivanjem hemijskog sastava ekstrakata i etarskih ulja nađeno je da vrste iz ove familije sadrže: fenilpropanoide (Zidorn *et al*, 2005), flavonoide (Saleh *et al*, 1983), proste kumarine (Halim *et al*, 1991; Baba *et al*, 1982; Gonzalez *et al*, 1982; Svendsen, 1954; Mimica-Dukić i Popović, 2008), preniloksikumarine (Curini *et al*, 2006), furanokumarine (Berenbaum, 1980; Schulzova *et al*, 2007), monoterpenske kumarine, seskviterpenske kumarine, seskviterpene (Abd El-Razek *et al*, 2003), iregularne diterpene (Van Klink *et al*, 2000), diterpene (De Pascual,

1978), triterpene (de Paula Reis *et al*, 1996; Kobayashi i Ogihara, 1981), steroide (Park *et al*, 1993), poliacetilene (Meot-Duros *et al*, 2010) i ostale manje zastupljene klase jedinjenja.

Podaci o medicinskoj upotrebi biljaka iz ove porodice (*A. graveolens*) postoje još iz vremena drevnih Egipćana i antičkih Grka. Osim toga, ovo je jedina familija u čijem se sastavu, pored plemenitih jestivih i lekovitih vrsta, nalaze i dve vrlo otrovne biljne vrste (*Conium maculatum* L. – kukuta i *Cicuta virosa* L. – vodena kukuta). Poznavanje toksičnih osobina kukute datira još od davnina, a njenim mnogobrojnim žrtvama pripada i grčki filozof Sokrat. Veliki broj smrtnih slučajeva trovanjem ovom biljnom vrstom je posledica sličnosti sa mnogim drugim taksonima. Za biljnu vrstu *C. maculatum*, pored alkaloida – nosioca njene toksičnosti, ispitivana su i ostala biološki aktivna jedinjenja: flavonoidi, kumarini, poliacetileni i vitamini (Zdanevich i Belodubrovskaya, 1997; Khodzhimatov i Bobokhodzhaeva, 1976). Ona ipak može naći i određenu medicinsku primenu, kada se koristi u vrlo malim količinama. Za tu njenu osobinu se zna još iz vremena antičkih Grka i Arabljana koji su je koristili protiv bolova, otoka i infekcije kože, a i danas se koristi protiv grčenja i kao sedativ (Vetter, 2004).

Biljna vrsta *Carum graecum* Boiss. & Heldr. koja pripada, takođe, ovoj porodici i rodu kima (*C. carvi*), nikada do sada nije fitohemijski ispitivana, verovatno zato što je ona endemični takson koji je rasprostranjen u planinskim krajevima južnog dela Balkanskog poluostrva. *Daucus guttatus* Sibth. & Sm. ssp. *zahahadii* Heywood i *Geocaryum cynapioides* (Guss.) L. Engstrand su, isto tako, endemične vrste za Balkansko poluostrvo koje do sada nikada nisu ispitivane hemijski. Al-Safadi (2008) je ispitivao izoenzime, proteine i gensku variabilnost vrsta roda *Daucus* u Siriji. Na osnovu njegovih rezultata se uzorci divlje i kultivisane šargarepe (*D. carota*) svrstavaju u istu grupu sa uzorkom biljne vrste *D. guttatus*. *Daucus carota* je rasprostranjena širom sveta, jedna je od najpoznatiji biljnih vrsta, a o njoj upotrebi u medicini, kao i u kulinarstvu, postoji ogroman broj podataka. U šargarepi su nađeni poliacetileni-falkarinol i falkarindiol za koje se smatra da poseduju antialergijsko, antiinflamatorno, antifungalno i antibakterijsko dejstvo (Zidorn *et al*, 2005). Takođe, više puta je određivana mikrobiološka aktivnost konstituenta ove biljne vrste. *Pleurospermum austriacum* (L.) Hoffm. je još jedna od vrsta koje do sada nisu fitohemijski ispitivane. Ona pripada rodu *Pleurospermum* za koji se može reći da ima problematičnu sistematiku. Ruski autori su oformili *Pleurospermum sensu stricto* od samo dve vrste (*P. austriacum* (L.) Hoffm. i *P. uralense* Hoffm.), dok se ostale vrste klasifikuju u rodove *Aulacospermum*, *Hymenidium*, *Hymenolaena*, *Physospermopsis* i *Pterocyclus* (Zehui i Watson, 2005). Smatra se, ipak, da su to samo taksonomske hipoteze i da je neophodno još mnogo raditi na ovoj podeli. Osim toga što biljna vrsta *P. austriacum* nije do sada ispitivana, generalno je i ceo rod *Pleurospermum*, fitohemijski gledano, nedovoljno istražen. Etarsko ulje je ispitivano samo kod biljne vrste *P. lindleyanum*, dok su kod ostalih vrsta uglavnom analizirani kumarini (lindlejanin, 6,7-dihidroksikumarin, marmezin, marmezinin i dr. (Tan, 2006)), fenilpropanoidi i drugi neisparljivi konstituenti.

## *2. Ciljevi rada*

Uzorci biljnog porekla nekada sadrže malu količinu nepoznatih sekundarnih metabolita, koji mogu posedovati jaku biološku aktivnost ili su (bio)hemijski interesantni, a ne mogu se iz ovog ili nekog drugog razloga izolovati u čistom stanju. Potvrđivanje pretpostavljenih struktura takvih jedinjenja može se izvršiti njihovom sintezom, koja pruža i dovoljne količine supstance za razne biološke testove.

Imajući sve prethodno u vidu, za ciljeve ove doktorske disertacije postavljeno je ispitivanje biljnih vrsta: *C. maculatum*, *C. graecum*, *D. carota*, *D. guttatus* ssp. *zahariadii*, *G. cynapioides* i *P. austriacum*, a obuhvatalo je sledeće:

1. Izolovanje i detaljnu analizu hemijskog sastava etarskih ulja i etarskih ili dihlormetanskih ekstrakata navedenih biljnih vrsta;
2. Sintezu odabranih identifikovanih sekundarnih metabolita pomenutih biljnih vrsta;
3. Usporednu statističku analizu isparljivih konstituenata biljnih vrsta *D. guttatus* i *D. carota*;
4. Analizu alkaloida i steroida biljne vrste *C. maculatum*;
5. Spektroskopsku i strukturnu karakterizaciju izolovanih i/ili sintetisanih sekundarnih metabolita;
6. Ispitivanje mikrobiološke aktivnosti odabranih ekstrakata i čistih jedinjenja;
7. Na osnovu dobijenih, kao i prethodno objavljenih rezultata, uočavanje (bio)hemijskih karakteristika vrste, sekcije ili drugih taksonomskih kategorija.

Ispitivanja su bila sprovedena korišćenjem sledećih metoda:

- *Dobijanje ekstrakata i etarskih ulja*: ekstrakcija dietil-etrom i dihlormetanom u ultrazvučnom kupatilu i hidrodestilacija po Clevenger-u.
- *Analiza* – gasna hromatografija (GC) i gasna hromatografija - masena spektrometrija (GC-MS).
- *Mikrobiološka aktivnost* – disk difuzioni metod, mikrodiluciona metoda po preporukama NCCLS-a.
- *Spektralna i strukturna karakterizacija*: nuklearna magnetna spektroskopija ugljenika i vodonika ( $^1\text{H}$ - i  $^{13}\text{C}$ -NMR, jedno- i dvodimenzionalna), infracrvena spektroskopija (IR) i masena spektrometrija (MS).
- *Statistička analiza*: EXCEL plug-in XLSTAT, verzija 2009.4.05.

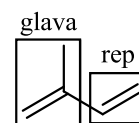
### *3. Opšti deo*

### 3.1. Biosinteza terpena, steroida, fenilpropanoida i alkaloida (Dewick, 2002)

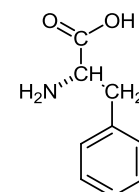
Procesom glikolize, koji se odvija u citosolu, nastaju osnovne gradivne jedinice za veliki broj sekundarnih metabolita koji su krajnji proizvodi različitih biosintetskih puteva. Najznačajniji prekursori ovih metabolita su acetil-koenzim A, šikimska kiselina, mevalonska kiselina, deoksiksiluloza-5-fosfat, kao i manji broj aminokiselina. Na šemi 3.1 prikazani su osnovni prekursori u sintezi terpena, steroida, fenilpropanoida i alkaloida, najznačajnijih sekundarnih metabolita etarskih ulja, koji su između ostalog karakteristični za biljne vrste porodice Apiaceae. Sinteza ovih metabolita može se odvijati kombinovanjem nekoliko istih ili različitih gradivnih jedinica, što povećava broj struktura u prirodi, i samim tim otežava potpodelu biljnih vrsta zasnovanu jedino na osnovu biosintetskog puta metabolita. Prirodni proizvodi nastaju kombinacijom gradivnih jedinica acetatnog, šikimatnog i deoksiksiluloznog puta.

S obzirom na to da se u toku biosinteze kiseonik na više načina može vezati za ili ukloniti iz jedinjenja, osnovnom strukturom smatra se ugljovodonični skelet, sa ili bez atoma azota. U tom smislu se osnovne gradivne jedinice sekundarnih metabolita mogu podeliti na:

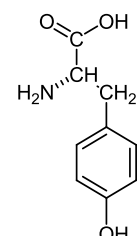
- $C_2$ : Ekvivalent dvouglenične jedinice je acetil-koenzim A. Ova dva ugljenika najčešće vode poreklo iz jednostavne acetil grupe estara ili nekog dugog alkil lanca (kao u slučaju masnih kiselina), a ponekad mogu biti deo aromatičnih sistema (npr. fenola), kada se acetil-koenzim A prvo konvertuje u reaktivniji malonil-koenzim A, a tek onda inkorporira u ciljni molekul.
- $C_5$ : Razgranati lanac sa pet ugljenika – *izoprenska (izoprenoidna) jedinica* – formira se iz mevalonske kiseline ili deoksiksiluloze-5-fosfata. Mevalonska kiselina nastaje iz tri molekula acetil-koenzima A, uz dekarboksilaciju, pa se u molekule dalje ugrađuje kao  $C_5$  skelet. Alternativni prekursor, deoksiksiluloza-5-fosfat, je derivat šećera sa nerazgranatim ugljeničnim nizom koji podleže premeštanjima i formira razgranat skelet izoprena.
- $C_6C_3$ : Fenilpropanoidi nastaju iz ugljeničnog skeleta bilo L-fenilalanina ili tirozina, dve od tri aminokiseline koje vode poreklo iz šikimatne kiseline (šema 3.1). Bočni niz ovih jedinjenja može biti zasićen, nezasićen i oksigenovan, a njegovim skraćanjem nastaju  $C_6C_2$  ili  $C_6C_1$  gradivne jedinice.
- $C_4N$ : Ova grupa jedinjenja poseduje heterociklični skelet – pirolidinski/pirolski. Oni nastaju iz neproteinske aminokiseline L-ornitina, čija se  $\delta$ -amino grupa ugrađuje u strukturu (za razliku od većine aminokiselina kod kojih je to  $\alpha$ -amino grupa).
- $C_5N$ : Jedinjenja sa ovim skeletom nastaju kao ona sa  $C_4N$  osnovom, s tom razlikom što je njihov prekursor L-lizin, dok je azotov atom koji se ugrađuje u skelet  $\epsilon$ -amino grupa. Ova jedinjenja su najčešće derivati piperidina/piridina.



Izopren



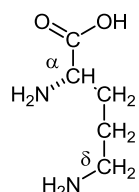
L-Fenilalanin



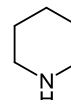
L-Tirozin



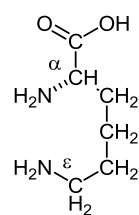
Pirolidin



L-Ornitin

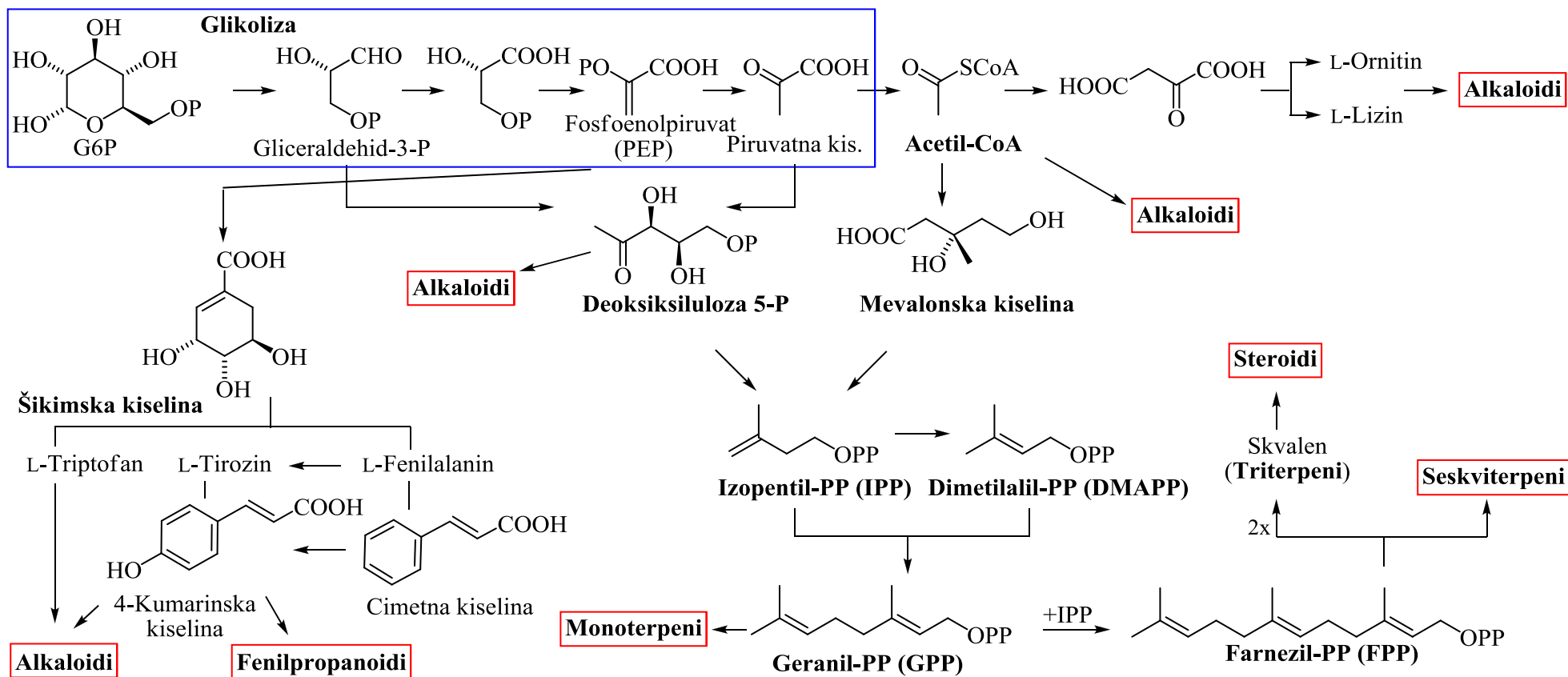


Piperidin



L-Lizin



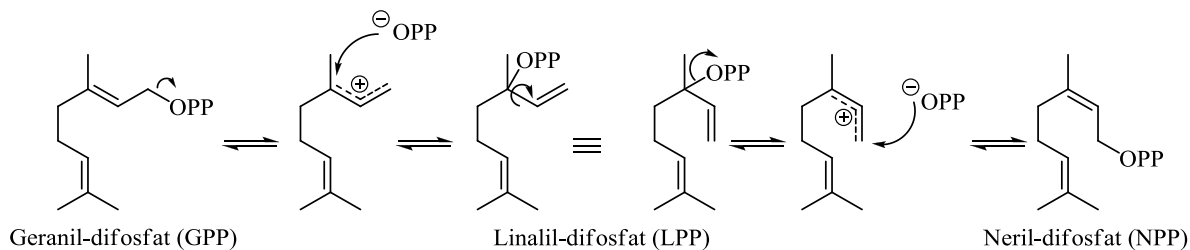


Šema 3.1. Prikaz glavnih prekursora u biosintezi sekundarnih metabolita: terpena, steroida, fenilpropanoida i alkaloida.

### 3.1.1. Terpeni

Terpeni predstavljaju najbrojniju grupu sekundarnih metabolita biljaka. Kao što je već rečeno, izoprenoidne jedinice, koje čine osnovnu građu terpenoida, biosintetski mogu nastati na dva načina, preko mevalonske kiseline ili deoksiksiluloze-5-fosfata. Na osnovu broja ovih jedinica terpeni se dele na: hemi-, mono-, seskvi-, di-, tri-, tetraterpene, kao i iregularne monoterpene, sesterterpene, iridoide i dr. U toku njihove sinteze dolazi do formiranja karbkatjona, što je često praćeno Wagner–Meerwein-ovim premeštanjima, čime se objašnjava postojanje velikog broja ovih struktura. Izopren je prirodni proizvod koji nije uključen u biosintetski put terpena, već su kao biohemijski aktivne izoprenske jedinice identifikovani dimetilalil-difosfat (DMAPP) i izopentil-difosfat (IPP) (šema 3.1). Tri molekula acetil-koenzima A formiraju mevalonsku kiselinu, koja nizom transformacija prelazi u fosforilovani izopren. Ovaj proces počinje fosforilovanjem primarne alkoholne grupe, zatim dolazi do dekarboksilacije, dehidratacije i nastanka IPP-a, koji izomerizuje u DMAPP. Jedino je eksperimentalno moguće potvrditi preko kog biosintetskog prekursora se formiraju određeni terpeni. Mnogi organizmi proizvode terpena na oba načina, u tom slučaju oni su uglavnom konkurentni. U biljkama se sinteza terpena preko mevalonskog puta odvija u citosolu, a preko deoksiksiluloze-5-fosfata u hloroplastima. Triterpeni i steroidi su produkti citosola i formiraju se mevalonskim putem, dok se veliki broj ostalih terpena formira u hloroplastima, iz deoksiksiluloze-5-fosfata.

Geranil-difosfat (GPP) nastaje vezivanjem DMAPP-a i IPP-a, posredstvom enzima prenil-transferaze, u kome je nova dvostruka veza *trans*. Iz njega, jonizacijom nastaje alil-katjon (geranil), a potom, ponovnim vezivanjem difosfatne grupe na tercijarni karbkatjon, dolazi do formiranja izomernog linalil-difosfata (LPP), dok se vezivanjem na isti atom nakon promene stereohemije dvostruke veze (koja je sada *cis*) formira drugi izomer – neril-difosfat (NPP), što je prikazano na šemi 3.2. Ova tri jedinjenja mogu dati veliki broj različitih ugljovodoničnih ili oksigenovanih monoterpena: alkohola, aldehida, etara ili estara (najčešće acetata).

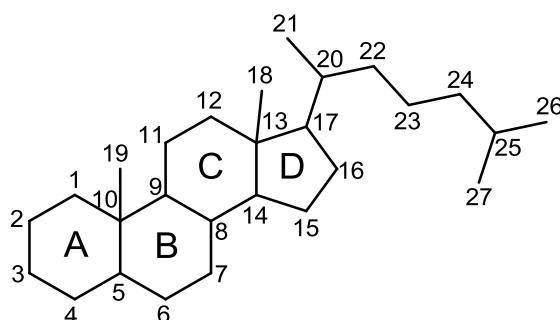


Šema 3.2. Formiranje linalil i neril-difosfata iz geranil-difosfata.

Vezivanjem još jedne IPP jedinice za geranil-difosfat formira se farnezil-difosfat (FPP), najznačajniji prekursor seskviterpena (šema 3.1). Zbog broja dvostrukih veza i produženog ugljovodoničnog lanca, povećava se broj mogućih ciklizacija, što dovodi do nastanka ogromnog broja novih mono-, di- i tricikličnih jedinjenja.

### 3.1.2. Steroidi

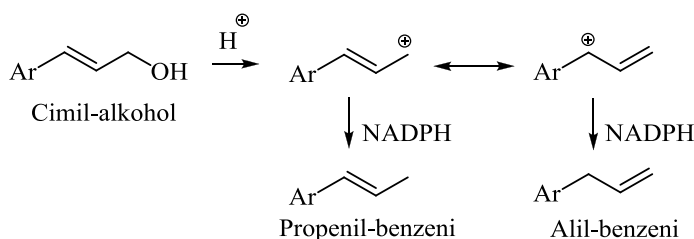
Steroidi su modifikovani triterpeni koji poseduju tetracikličnu strukturu kao lanosterol, ali bez metil grupa na C-4 i C-14 ugljeniku. Triterpeni se ne formiraju povećanjem niza dodavanjem IPP jedinica, kao što je to slučaj kod ostalih terpena, već se dva molekula FPP-a povezuju rep-rep i grade novi ugljovodonik – skvalen. U početku je proces formiranja skvalena bio nejasan zbog neophodnog povezivanja C-1 ugljenika FPP jedinica, da bi zatim iz jetre pacova bio izolovan preskvalen-difosfat, ciklopropanski derivat, za koji se pokazalo da nastaje kuplovanjem C-1 atoma sa jednog molekula FPP-a i C-1 i C-2 atoma sa drugog, a koji predstavlja intermedijer u sintezi skvalena. Nakon ciklizacije i demetilovanja ovog triterpena dolazi do formiranja steroidnog jezgra, koje je prikazano na slici 3.1. Najjednostavniji steroid je holesterol, a daljom modifikacijom njegove strukture, posebno bočnog lanca, nastaje veliki broj biološki aktivnih prirodnih jedinjenja, sterola, steroidnih saponina, srčanih glikozida, kortikosteroida i seksualnih hormona sisara. U prirodi se mogu naći steroidi kod kojih su A i B prstenovi kondenzovani *cis* ili *trans* ili imaju nezasićenje na položaju 4 ili 5. Svi prirodni steroidi imaju *trans* kondenzovane B i C prstenove, dok se *cis* mogu dobiti sintetički. Isto važi i za slučaj C i D prstena, sa retkim izuzecima gde su oni *cis* kondenzovani (kao kod srčanih glikozida). Najveći broj steroida ima oksigenaciju na C-3 atomu.



Slika 3.1. Osnovni (holestanski) skelet steroida i njegova numeracija

### 3.1.3. Fenilpropanoidi

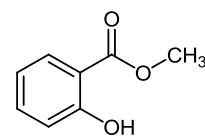
Šikimska kiselina<sup>1</sup> je glavni prekursor za dobijanje aromatičnih prirodnih jedinjenja (metil-salicilat, vanilin i dr), pre svega aromatičnih aminokiselina, L-triptofana (L-Trp), L-tirozina (L-Tyr) i L-fenilalanina (L-Phe), od kojih su druge dve direktno uključene u biosintezu fenilpropanoida. Prvi metabolički korak, dezaminacija, je eliminacija amino-grupe (amonijaka) iz bočnog niza aminokiseline, što u slučaju L-Phe dovodi do formiranja odgovarajuće *trans*-cimetne kiseline, a u slučaju L-Tyr, 4-kumarinske kiseline (šema 3.1). Nakon redukcije do cimil-alkohola, moguća je migracija dvostruke veze u bočnom lancu, preko intermedijernog alil-katjona, a zatim uz hidrid iz NADPH se mogu dobiti alil-benzeni (npr. eugenol) i propenil-benzeni (npr. anetol), prikazani na šemi 3.3. Na ovaj način se, posretstvom većeg broja enzima, dobijaju različiti fenilpropanoidi i njihovim daljim kuplovanjem – lignani.



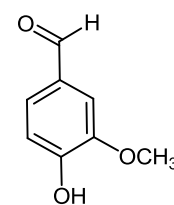
Šema 3.3. Formiranje propenil-benzena i alil-benzena iz cimil-alkohola

Kumarini, koji su veoma zastupljeni u biljnim vrstama porodice Apiaceae, takođe, vode poreklo iz cimetne kiseline. Hidroksilacija aromatičnog jezgra u *orto* položaju u odnosu na bočni niz je ključni korak u formiranju laktona cimetne kiseline – kumarina.<sup>2</sup> Za nastajanje ovih laktona neophodni su enzimski procesi, *cis-trans* izomerizacije i laktonizacije. Na isti način, iz 4-kumarinske kiseline nastaje umbeliferon, još jedan jednostavni derivat kumarina. Smatra se da oni koji imaju dodatnu oksigenaciju na aromatičnom prstenu (npr. eskuletin i skopoletin) nastaju u kasnijoj fazi sinteze oksigenacijom jednostavnijih prekursora, umbeliferona ili kumarina, a ne oksigenacijom cimetne kiseline na samom početku biosinteze.

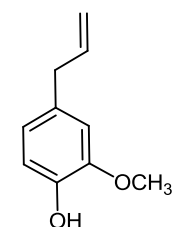
Veliki broj prirodnih kumarina ima znatno kompleksniju strukturu koja nastaje inkorporiranjem izoprenskih jedinica na jednostavnije jezgro (šema 3.4). Aromatični prsten umbeliferona aktiviran (nukleofilan) je u *orto* položaju u odnosu na hidroksilnu grupu i samim tim može biti dodatno alkilovan, npr. dimetilalil-difosfatom. Tako, uvedena dimetilalil grupa u demetilsUberozin dalje može da ciklizuje uz učešće fenolne grupe što dovodi do formiranja marmezina. Pod dejstvom enzima monooksigenaze dolazi do gubitka hidroksi-izopropil grupe (uz



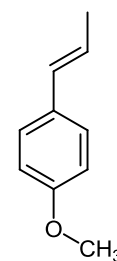
Metil-salicilat



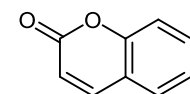
Vanilin



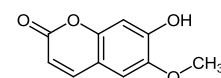
Eugenol



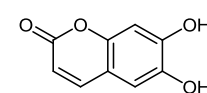
Anetol



Kumarin



Skopoletin

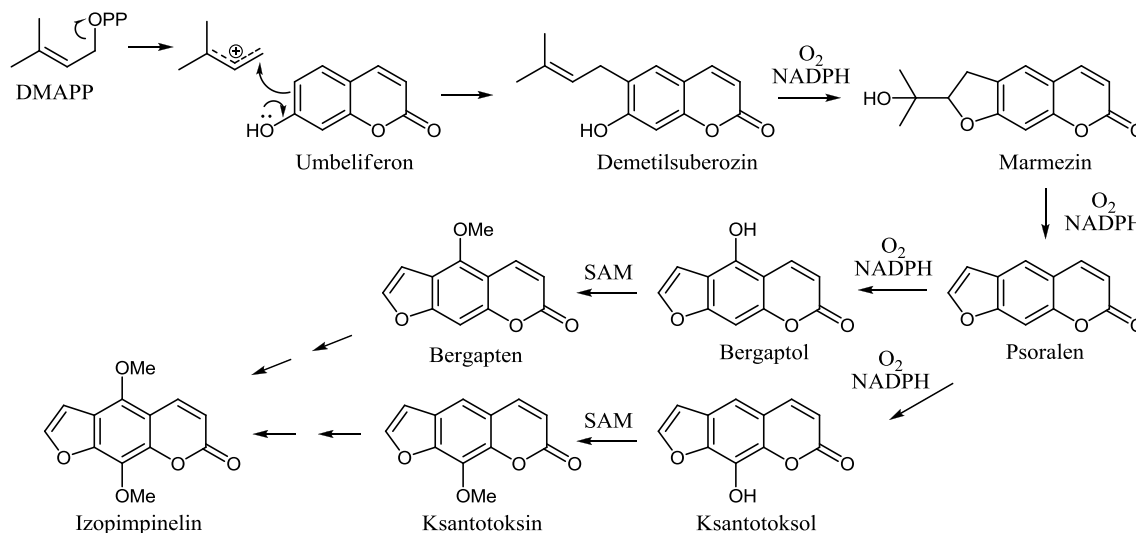


Askuletin

<sup>1</sup> Prvi put je izolovana iz biljnih vrsta roda *Illicium*, japanski „shikimi“, mnogo godina pre nego što je otkrivena njena uloga u metabolizmu.

<sup>2</sup> Prvi put izolovan iz semena južnoameričke drvenaste biljke *Dipteryx (Coumarouna) odorata*.

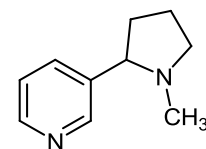
nastajanje acetona) i formiranja furanokumarina psoralena<sup>3</sup> (šema 3.4). Ovaj kumarin je prekursor za neke druge furanokumarine kao što su: bergapten, ksantotoksin i izopimpinelin, za koje se, takođe, veruje da se njihova dalja modifikacija odvija u kasnijim fazama biosinteze, a ne na stupnju cimetne kiseline.



Šema 3.4. Biosintetski put nastajanja furanokumarina preko inkorporiranja izoprenske jedinice u umbeliferon

### 3.1.4. Alkaloidi

Alkaloidi<sup>4</sup> su prirodni sastojci biljaka (ređe životinja) koji imaju više ili manje kompleksnu strukturu u kojoj dominira molekul azota. Mnogi od njih su nazvani po biljnoj vrsti iz koje su prvi put izolovani, kao na primer atropin (*Atropa bella-donna*), nikotin (*Nicotiana tabacum*), kokain (*Erytroxylon coca*) i dr. Najčešće su to primarni, sekundarni ili tercijarni amini, koji su odgovorni za baznost jedinjenja i koji se u prirodi nalaze u obliku soli, što olakšava njihovo izolovanje. Baznost ovih jedinjenja zavisi od njihove strukture, kao i od prisustva i regiohemije drugih funkcionalnih grupa, zbog čega neki od njih mogu biti neutralni. Samo nekoliko proteinskih aminokiselina je uključeno u biosintezu alkaloida, a najčešće lizin, tirozin, triptofan, fenilalanin i histidin, i neproteinske ornitin i antranilna kiselina. U strukturi alkaloida često je pored azota zadržana skeletna struktura aminokiseline iz koje on nastaje, uz gubitak ugljenikovog atoma karboksilne kiseline. Tirozin je vrlo čest prekursor alkaloida, za razliku od fenilalanina, koji je u pojedinim slučajevima samo donor ugljeničnog skeleta alkaloida, ne i azota, kao kod efedrina. Alkaloidi koji nastaju iz aminokiselina i sadrže heteroatom još se nazivaju i pravi alkaloidi, dok se oni koji nemaju heterociklični N-atom nazivaju protoalkaloidi. Najveći broj alkaloida



Nikotin



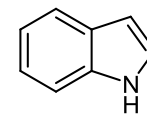
*Nicotiana tabacum*

<sup>3</sup> Psoraleni su furanokumarini karakteristični za biljne vrste porodica Apiaceae i Rutaceae.

<sup>4</sup> Ime im potiče od arapske reči „al kali“, što znači bazno.

deli se na osnovu toga iz kojih aminokiselina nastaje, pa iz ornitina uglavnom nastaju pirolidinski i tropanski alkaloidi, iz lizina piperidinski, hinolizidinski i indolizidinski, dok nikotinska kiselina proizvodi piridinske, a tirozin feniletil-amine i jednostavne tetrahidroizohinolinske alkaloidne.

Veliki broj alkaloida sadrži azot iz aminokiselina, koji je u strukturu inkorporiran reakcijom transaminacije sa odgovarajućim aldehydima ili ketonima u relativno kasnoj fazi sinteze, dok je ostatak molekula proizvod acetatnog ili šikimatnog puta, ili je terpeneske ili steroidne prirode. Alkaloidi nastali na ovaj način uobičajeno se nazivaju pseudoalkaloidima. Mnoge biljne vrste iz porodice Solanaceae sadrže steroidne alkaloidne (solanin, tomatidin), koji su obično vezani u obliku glikozida, a oslobađaju se prilikom varenja. U prirodi su poznati i alkaloidi sa mono-, seskvi-, di- i triterpenskim skeletima.



Indol

### 3.2. Morfološke i etnofarmakološke karakteristike odabranih biljnih vrsta porodice Apiaceae

Biljne vrste iz porodice Apiaceae su jednogodišnje, dvogodišnje ili višegodišnje zeljaste biljke, a ređe mogu biti polužbunovi. Stabljika, prečnika do 5 cm, većinom je sa šupljim internodijama i može dostići visinu do 3 m. Listovi su raspoređeni naizmenično, ređe naspramno, i najčešće su jednom ili više puta perasto deljeni. Cvetovi su sitni, dvopolni, retko jedнопolni, nekada su grupisani u proste štitove i tada imaju oblik glavica, a mnogo češće su u obliku složenih štitova, gde se bočne grane prvog reda ne završavaju cvetovima, već prostim štitovima. Cvetovi se sastoje iz 5 čašičnih i 5 kruničnih listića, 5 prašnika i 2 oplodna listića. Plod je šizokarpium, zreo se raspada u dve jednosemene merikarpije. U zidu plodnika, svuda okolo ili između glavnih rebara u brazdama, ređe ispod glavnih rebara, nalaze se kanali sa etarskim uljem. Seme je vrlo različitog oblika i građe, i često prirasta za zid plodnika (Nikolić, 1973). U Tabeli 3.1 prikazano je filogenetsko stablo porodice Apiaceae.

**Tabela 3.1.** Filogenetsko stablo porodice Apiaceae

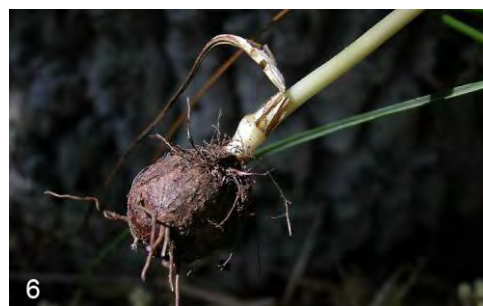
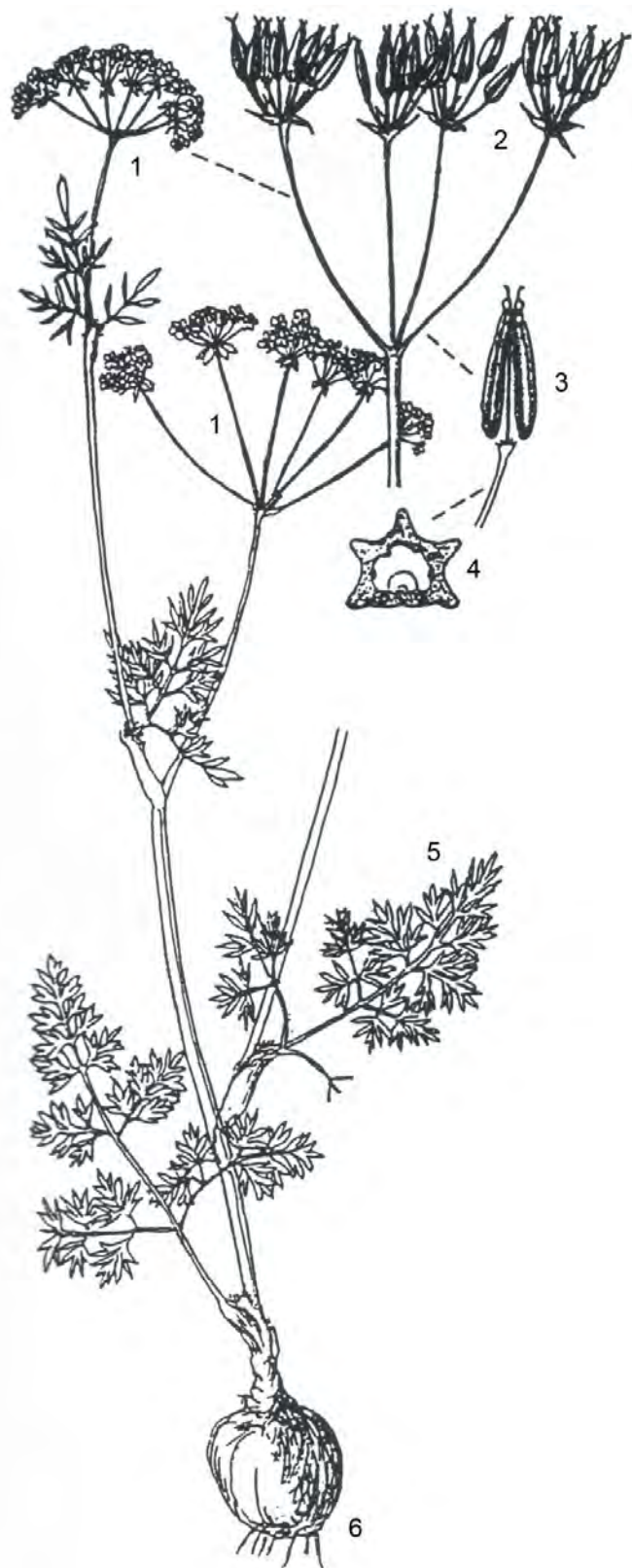
Taksonomske kategorije	Taksoni
<i>Regnum</i> – Carstvo	Plantae Haeckel, 1866– Biljke
<i>Subregnum</i> – Podcarstvo	Viridaplantae Cavalier-Smith, 1981-Zelene biljke
<i>Superphylum</i> – Nadodeljak	Spermatophyta – Biljke sa semenom
<i>Phylum</i> – Odeljak	Tracheophyta Sinnott, 1935 ex Cavalier-Smith, 1998– Vaskularne
<i>Subphylum</i> – Pododeljak	Euphyllophytina
<i>Classis</i> – Klasa	Magnoliopsida Brongniart, 1843– Dikotiledone biljke
<i>Subclassis</i> – Podklasa	Cornidae Frohne & Jensen ex Reveal, 1994
<i>Superordo</i> – Nadred	Aralianae, Tahtajan, 1967
<i>Ordo</i> – Red	Apiales Nakai, 1930
<i>Familia</i> – Familija	Apiaceae Lindley, 1836

Iako je znatan broj rodova familije Apiaceae precizno taksonomski grupisan, zbog velikog broja taksona koji su tokom proteklih godina menjali taksonomski status i infrageneričku poziciju, sistematika određenog broja rodova, samim tim i vrsta, još uvek je otvoreno pitanje. Među pojedinim autorima postoje neslaganja u pogledu taksona koji pripadaju određenim tribusima, a ponekad i u istraživanjima istih autora neki rodovi menjaju svoj infragenerički status (Pimenov i Sdobina, 1984; Schneyer *et al*, 1991). Većina vrsta porodice Apiaceae jeste polimorfna, pri čemu se polimorfizam odnosi pre svega na oblik i stepen deljenosti lista, stepen dlakavosti, karakter cveta, morfologiju ploda, odnosno glavne karaktere koji se koriste u determinaciji. Pored toga, za preciznu identifikaciju ovih taksona potrebni su svi delovi biljke, a u većini slučajeva čak i delovi koji pripadaju različitim fenofazama (cvet, plod). Zbog svega toga je sistematika ovih taksona vrlo složena, a determinacija teška (Nikolić, 1973; Tutin *et al*, 1968).

### 3.2.1. Biljna vrsta *Geocaryum cynapioides* (Guss.) Engstrand

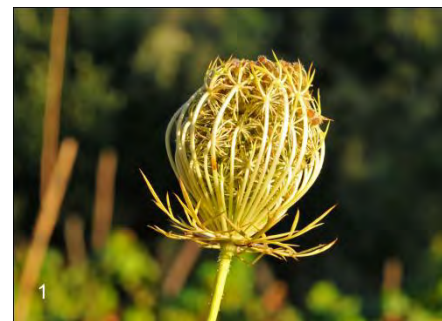
*Geocaryum* Guss. je taksonomski jako složen rod. Ball je 1968. okarakterisao samo tri vrste u Evropi, dok je Engstrand 1977. pokazao da najpoznatija vrsta ovog roda *G. cynapioides* (Guss.) Engstrand (sin. *Huetia cynapioides* (Guss.) P. W. Ball.) predstavlja dve grupe taksona sa različitim brojem hromozoma, a čije populacije su izolovane u reproduktivnom smislu. On je razlikovao 13 vrsta, od kojih je veliki broj taksonomski problematičan i morfološki veoma sličan (Spalik *et al*, 2001).

*Geocaryum cynapioides* je višegodišnja zeljasta biljka sa jajasto zadebljalim korenom. Ima stabljiku koja je uspravna i glatka, ili samo pri osnovi trepljasto dlakava, dok je pri vrhu razgranata. Listovi ove biljke su glatki, dvostruko perasto deljeni, a režnjevi su sečeni na kratke, duguljasto linearne isečke, dok su gornji listovi sa užim režnjevima i isečcima do 1 mm. Štitovi poseduju 6 do 14 zrakova čija je dužina do 4 cm. Cvetovi su beli, a plod linearan, izdužen, sjajan, duboko izbrazdan, gotovo duži od peteljke. Izgled ove biljne vrste dat je na slici 3.2. Njena opšta rasprostranjenost je na Balkanskom poluostrvu, u centralnoj i južnoj Italiji, pa se može reći da je ona subendemična vrsta (Nikolić, 1973). Dodatni sinonimi ove biljne vrste su: *Freyera cynapioides* (Guss.) Griseb., *Myrrhis cynapioides* (Guss.), *Biasolettia tuberosa* W. D. J. Koch. i *B. cynapioides* Drude.

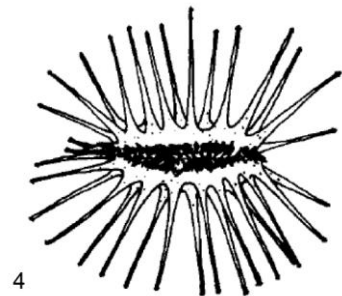
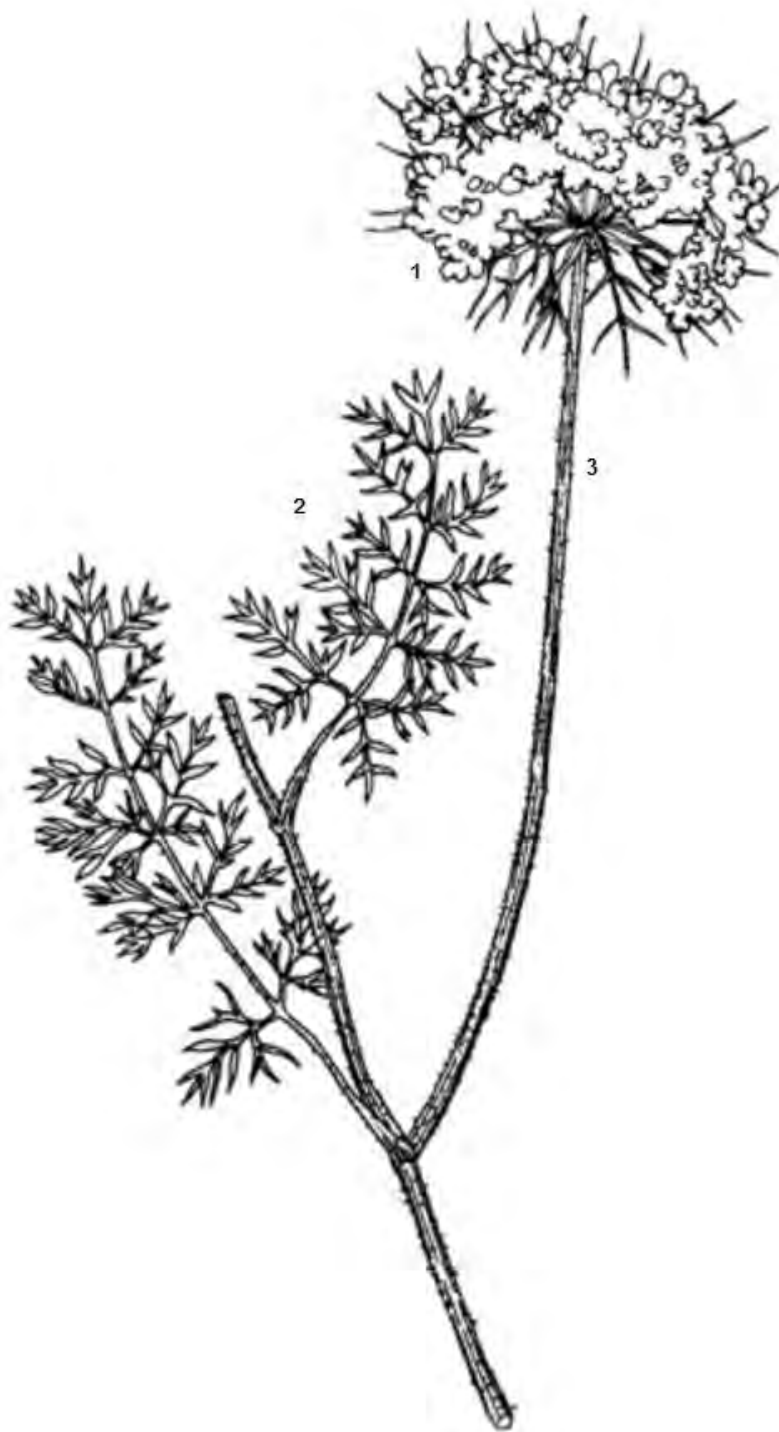


**Slika 3.2.** Izgled biljne vrste *G. cynapioides* (Guss.) L. England: 1-štit u cvetu, 2-zreli štit, 3-šizokarp, 4-poprečni presek šizokarpa, 5-list, 6-koren

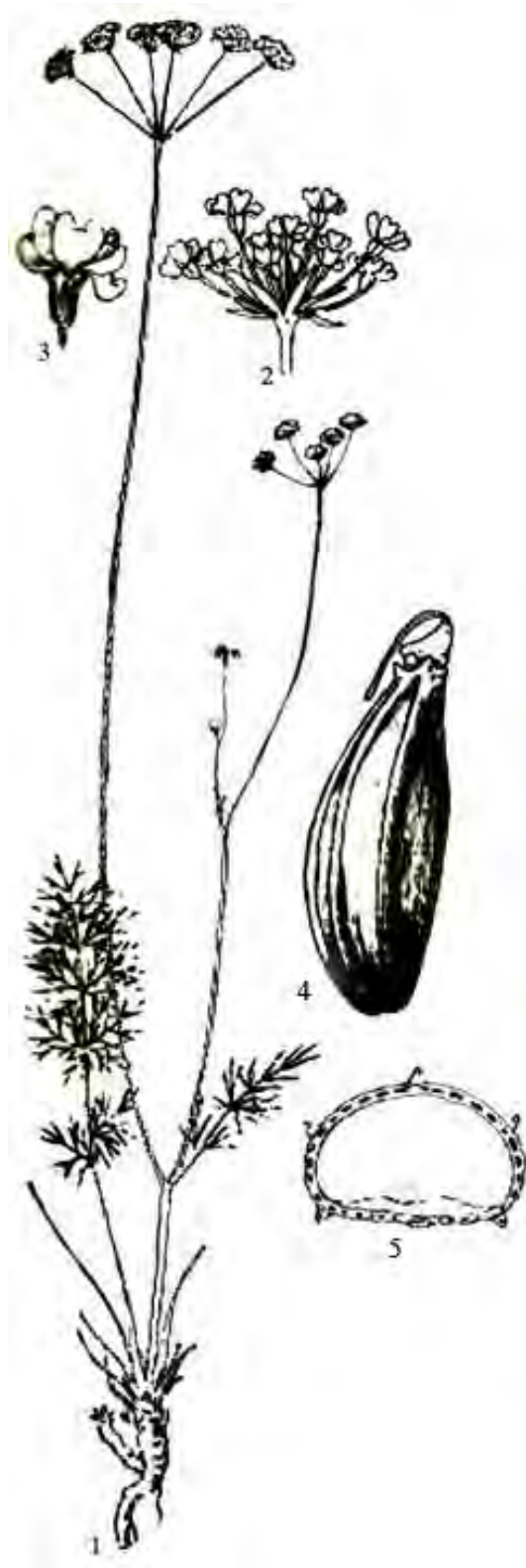




**Slika 3.3.** Izgled biljne vrste *Daucus carota* L. ssp. *sativus* : 1-zreo štit, 2-štit u punom cvetu, 3-šizokarpi, 4-list, 5-koren, 6 i 7-uzdužni i poprečni presek šizokarpa



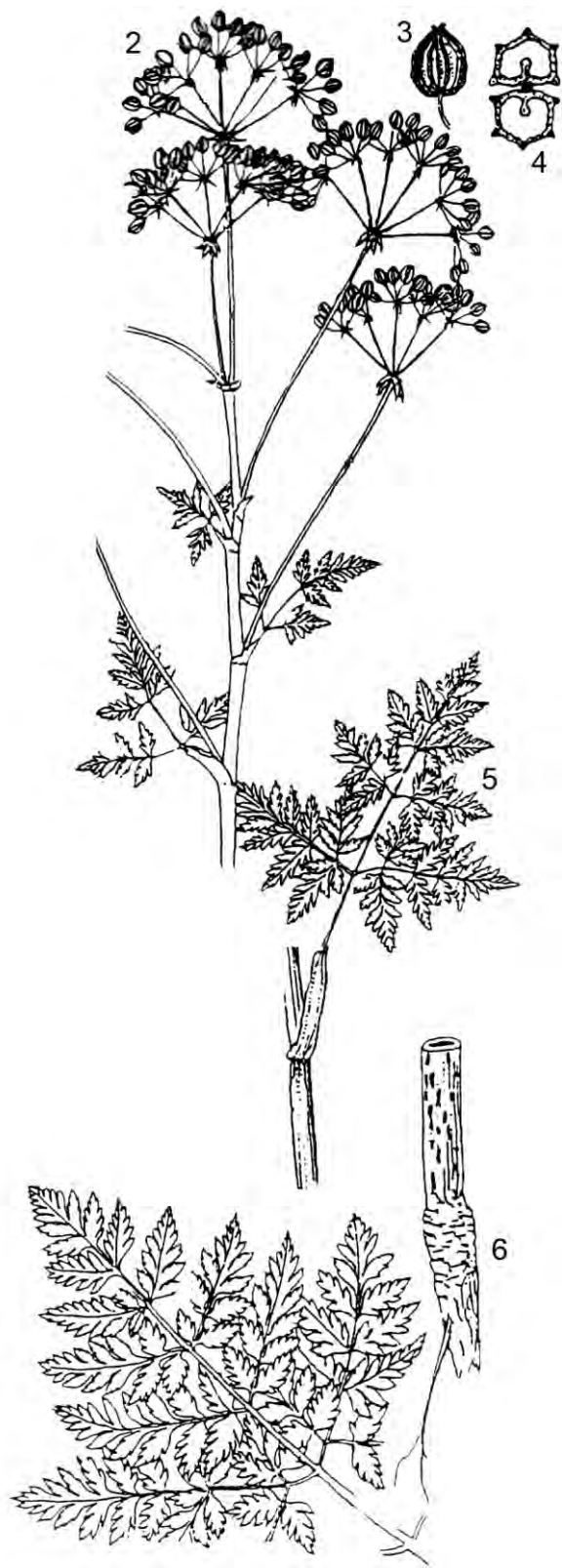
**Slika 3.4.** *Daucus guttatus*: 1-štit u cvetu, 2-list, 3-stablo, 4-šizokarp, 5-poprečni presek šizokarpa.



**Slika 3.5.** Opšti izgled biljke *Carum graecum* Boiss. et Heldr: 1–koren; 2–deo cvasti; 3–cvet; 4–merikarpium (jedna zrela polovina šizokarpa); 5–poprečni presek kroz merikarpium.



**Slika 3.6.** Izgled biljne vrste *Conium maculatum*: 1-štit u cvetu, 2-zreli štit, 3-cvet, 4-list, 5-šizokarp, 6-poprečni presek šizokarpa, 7-koren



**Slika 3.7.** Izgled biljne vrsta *Pleurospermum austriacum* (L.) Hoffm: 1-štit u punom cvetu, 2-zreo štit, 3-šizokarp, 4-poprečni presek šizokarpa, 5-list, 6-koren

### 3.2.2. Biljna vrsta *Daucus carota* L.

Rod *Daucus* L. je jedan od najraznovrsnijih u porodici Apiaceae. Najrasprostranjeniji je u Mediteranskom regionu, a posebno u severnoj Africi i Evropi. Najnovije procene pokazuju da postoji oko 25 vrsta ovog roda, grupisanih u 5 sekcija (Camadro *et al*, 2007). Jedna od najpoznatijih je često uzgajana vrsta, *D. carota* ssp. *carota*, u narodnu poznata kao šargarepa ili mrkva. Ona predstavlja kultivisani oblik širokorasprostranjene, samonikle vrste *D. carota* ssp. *sativus*, koja se može naći na livadama, nasipima, obalama, međama, poljima i u svim šumama. To je dvogodišnja, ređe jednogodišnja biljka sa vretenastim, jednostavnim ili ponekad razgranatim korenom crvene, žute ili bele boje. U kulturi je koren uvek repastog oblika i crveno-narandžaste boje. Stabljika visine 50-60 cm je rebrasta, čekinjasto dlakava, ređe gola. Listovi su 2 do 4 puta perasto deljeni, jajasti ili izduženo jajasti, prizemni na drškama, gornji sedeći, sa izduženim, po obodu opnastim rukavcem. Cvetovi su hermafroditni, grupisani u složene štitove sa zracima različite dužine, koji su najčešće pokriveni oštrim dlakama. Mali štitovi se sastoje od većeg broja cvetova. U sredini štita nalazi se jedan cvet tamno-purpurne boje. Plod je šizokarpijum sa 5 glavnih i 4 sporedna rebra (Nikolić, 1973). Na slici 3.3 prikazan je izgled biljne vrste *D. carota* ssp. *sativus*.

Šargarepa je od davnina poznata kao lek i koristi se u ishrani. Može se konzumirati na razne načine: pečena, kuvana, sveža, u supama, jelima i kao sok. Svež koren se u narodu koristi kao digestiv, antihelmintik, antidijabetik, a njegov sok još i kao lek za bolesti jetre i kod reumatizma. Smatra se lekom protiv žutice, a poznata je i njegova upotreba kod lečenja crevnih parazita. Takođe, veoma je važna njegova industrijska upotreba za proizvodnju dijetetskih preparata. Šargarepa je kao polivitaminsko povrće značajna u profilaksi i lečenju hipo- i avitaminoza, u jačanju organizma i povećanju njegove otpornosti prema infektivnim bolestima (Sarić, 1989). Ona još ima diuretsko dejstvo, koristi se u prevenciji kancera, kao i u lečenju angine (Vermeulen, 2006). Koren samonikle šargarepe, takođe, se može koristiti u ishrani, ali samo dok je mlad, jer brzo postaje drvenast i težak za konzumiranje. Kultivisanje ove vrste dovelo je do umanjenja gorčine i tvrdoće, kao i povećanja sadržaja šećera korena (Rose, 2006).

### 3.2.3. Biljna vrsta *Daucus guttatus* ssp. *zahariadii*

Ova biljna vrsta je endemična za Balkansko poluostrvo. To je jednogodišnja biljka koja često ima veći broj uspravnih i hrapavih stabala. Donji listovi su joj izduženi i dvostruko perasto deljeni. Štitovi su zbijeni sa 8 do 10 zrakova. Listići involukruma su perasto deljeni i duži od štitova. Cvetovi su beli, a kod centralnih štitova i svih štitića postoje središnji tamno-purpurni cvetovi. Plod je dužine 3 mm, sa bodljama malo spojenim pri osnovi, duplo dužim od prečnika plodića. Može se naći na ogoljenim brežuljcima u submediteranskom području (Nikolić, 1973). Na slici 3.4 je prikazan izgled biljne vrste *D. guttatus*.



Distribucija biljne vrste *D. carota* u Evropi, Aziji i Australiji



Distribucija biljne vrste *D. carota* u Americi



Izgled različitih kultivara šargarepe

### 3.2.4. Biljna vrsta *Carum graecum* Boiss. et Heldr. ssp. *graecum*

Rod *Carum* sadrži od 20 do 30 vrsta koje se mogu naći u Evropi, Severnoj Africi i Aziji (Papini *et al*, 2007). Najpoznatija je biljna vrsta *C. carvi* – kim. Endemična vrsta za Balkansko poluostrvo, koja je rasprostranjena na visokoplaninskim pašnjacima, je *Carum graecum* Boiss. et Heldr. ssp. *graecum*. Ona je višegodišnja zeljasta biljka čija je stabljika uspravna, tanka, kruta, sa račvastim i uspravnim granama, delimično obrasla listovima. Prizemni listovi su lancetasti, perasto deljeni na 8-10 naspramnih režnjeva, koji su celi ili isečeni na 2-3 linearna, zašiljena isečka, a oni na stabljici su prosto ili perasto deljeni. Štitovi su sa 3-6 uspravnih zrakova, a plod je duguljast, sa istaknutim, debelim, beličastim rebrima. Sinonimi za ovu biljnu vrstu su: *C. rigidulum* (Viv.) Koch ex DC, *C. meoides* Hal., *Apium meoides* Calest., *Silaus meoides* Gris. (Nikolić, 1973). Izgled biljne vrste je dat na slici 3.5.



Izgled ploda  
kima

### 3.2.5. Biljna vrsta *Conium maculatum* L.

Biljna vrsta *Conium maculatum* L. (kukuta) je jedan od naših najpoznatijih i najotrovnijih korova, vrlo neprijatnog mirisa. Raste po naseljima i oko njih, pored ograda, puteva i uopšte po zapuštenim, đubrevitim i neurednim mestima. Kukute ima po skoro celoj Zemljinoj kugli. Njene toksične osobine iskorišćene su još 399. godine pre Hrista, kada je grčki filozof Sokrat ubijen sokom ove biljke. Prvobitno su je stari Rimljani zvali *Cicuta*<sup>5</sup>, a kasnije je Linnaeus nazvao grčkim imenom *Conium maculatum*<sup>6</sup>. To je veoma visoka i razgranata dvogodišnja biljka koja prve godine formira samo osnovnu rozetu<sup>7</sup>, a u drugoj stablo i cvetove. Njena puna visina dostiže i do 2 metra. Stabljika je uspravna, glatka, razgranata, snažna, šuplja, svetlo-zelena, uzduž prugasta i naročito na donjoj polovini posuta iregularnim braonkastim pegama. Listovi su meki, goli, krupni, u celini trouglasti. Donji listovi su brojni sa dugim stabljikama, perasto deljeni, zupčasti i šiljasti, dok su gornji dosta manji. Štitovi su mali i veoma brojni na termalnim položajima, sa 12 do 16 zrakova. Plod je šizokarpijum, širok i jajast, sa dva semena (Nikolić, 1973). Izgled biljne vrste dat je na slici 3.6.



Slika Smrt  
Sokratova<sup>8</sup>

Iako je kukuta veoma toksična, narod je koristio za lečenje izvesnog broja bolesti, međutim, mala je razlika između njene terapijske i otrovne doze, što značajno ograničava njenu upotrebu u medicinske svrhe. Ipak, postoje podaci o njenoj oficinalnoj upotrebi u medicini, objavljeni 1934. godine u Britanskom Farmaceutskom kodeksu (Bowman i Snaghvi, 1963). Ova biljka se koristi za

<sup>5</sup> Kasnije je vodena kukuta dobila ime *Cicuta virosa*.

<sup>6</sup> Od grčkog *konas* što znači „zavrteti“ – zato što konzumiranje ove biljke izaziva ataksiju, tremor i konvulziju, i *maculatum* što na latinskom znači „pegava“, a odnosi se na stablo.

<sup>7</sup> Faza u razvoju korova, kod kojih se lišće raspoređuje u radialnom obliku pri osnovi kratkog, bezlisnog stabla.

<sup>8</sup> Slika: The Death of Socrates by Jacques-Louis David, 1787, Metropolitan Museum of Art, New York. Izvor: <http://www.ibiblio.org/wm/paint/auth/david/socrates.jpg>

spoljašnju upotrebu, protiv herpesa i u obliku melema i ulja protiv neuralgije (Tucakov, 1973). Nedavno je pokazano da se nezreli sušeni šizokarpi ove biljne vrste mogu koristiti kao antispazmodik, sedativ ili analgetik (López, 1999). Osim toga, šizokarpi kukute u kombinaciji sa plodovima biljnih vrsta *Stachys officinalis* i *Foeniculum vulgare* korišćeni su protiv besnila. Ova smeša još je upotrebljavana kao antidot prilikom trovanja strihninom (Le Stragne, 1977).

### 3.2.6. Biljna vrsta *Pleurospermum austriacum* (L.) Hoffm.

*Pleurospermum*<sup>9</sup> Hoffm. je široko rasprostranjen rod sa vrlo problematičnom taksonomijom. Ruski autori su *Pleurospermum sensu stricto* ograničili na samo dve vrste *P. austriacum* (Tutin *et al*, 1968) i *P. uralense*, dok su ostale svrstane u rodove *Aulacospermum*, *Hymenidium*, *Hymenolaena*, *Physospermopsis* i *Pterocyclus* (Zehui i Watson, 2005). Ova prilično radikalna klasifikacija do sada nije naišla na široko prihvatanje, mada je i sami autori smatraju taksonomskom hipotezom.

*Pleurospermum austriacum* je dvogodišnja do višegodišnja biljka, sa zadebljalim razgranatim rizomom, na čijem se gornjem delu nalaze končasti čuperci. Stabljika je uspravna i dostiže visinu 60 do 150 cm, šuplja je, debela i izbrazdana, sa oštrim rebrima. U gornjem delu je razgranata, a može biti gola ili pokrivena sitnim maljama. Listovi su nešto deblji, tamno-zeleni, sjajni, a po obodu i po zupcima pokriveni sitnim maljama. Donji listovi su vrlo krupni, trostruko 2 do 3 puta perasto deljeni. Gornji listovi su manji, manje deljeni, sedeći su, sa kratkim rukavcem, koji je po obodu opnat i ponekad obuhvata stabljiku. Štit je velik, do 20 cm u prečniku, najčešće sa 12 do 20 zrakova dužine do 15 cm, pokrivenih kratkim maljama. Krunični listići su beli, jajasto lancetasti, dužine oko 2,5-3 mm. Plod je dužine 5-8 mm, širine oko 6 mm, jajastog, elipsoidnog ili je loptastog oblika. Plodići se sastoje od 5 krilatih, po obodu krivudavih rebara. Izgled biljne vrste *P. austriacum* je prikazan na slici 3.7.

## 3.3. Hemijski profil odabranih biljnih vrsta porodice Apiaceae i njihov botanički značaj

Kod problematične klasifikacije biljnih vrsta, pokazalo se da je upotreba samo bioloških markera nedovoljna, i da ih treba dopuniti korišćenjem podataka dobijenih multidisciplinarnim istraživanjima, koja između ostalog uvažavaju fitohemijske studije. Iz tog razloga, sastojci etarskih ulja (brzo i lako dostupne informacije) imaju sve značajnije mesto u hemotaksonomiji. Međutim, ulogu ovakvih hemijskih karaktera u sistematici ne treba shvatiti presudnom, jer iako mogu biti od pomoći, u nekim slučajevima mogu navesti na pogrešan zaključak. Treba imati na umu da hemijska evolucija ne mora da prati biološku, kao i da količina i sastav etarskog ulja zavise kako od genetičke tako i od fiziološke varijabilnosti, a koja podrazumeva

<sup>9</sup> Naziv roda potiče od grčke reči *pleura* što znači „rebro, bok“, a izabran je zbog izgleda ploda (*spermum*).



razviće organa, aktivnost oprašivača, sezonske varijacije i uticaj lokaliteta (Figueiredo *et al*, 2008). Zato je, s obzirom na ove faktore, radi utvrđivanja postojanja hemijskog polimorfizma i politipizma, između ostalog neophodno ispitivati varijacije hemijskog sastava etarskih ulja/ekstrakta nastale kao uticaj ovih faktora.

U nastavku će biti dat pregled literature koji treba da oslika na primeru porodice Apiaceae postojanje hemijskog polimorfizma i politipizam i njihovu zavisnost od bioloških, ekoloških faktora. Ovaj literaturni pregleda glavnih sastojaka etarskih ulja (čiji je sadržaj preko 1%) samoniklih biljnih vrsta porodice Apiaceae, podfamilije Apioideae, obuhvata preko 150 vrsta i oko 50 rodova sa područja Evrope, Mediterana i Male Azije (Chizzola, 2010a). Rezultati ovog istraživanja pokazuju da u sastav etarskih ulja ovih taksona ulaze veoma različite grupe jedinjenja: terpeni (monoterpeni, seskviterpeni, rede diterpeni), fenilpropanoidi i alifatična i aromatična jedinjenja drugog biosintetskog porekla (oktil-estri, trimetilbenzalhehidi i alifatični aldehidi).

Prinosi etarskih ulja biljnih vrsta porodice Apiaceae značajno variraju. Varijacija može biti usled različitog načina izražavanja prinosa, izolovanja iz različitog organa biljke, uticaja lokaliteta, kao i faze ontogenetskog razvića. Najveći sadržaj ulja vrsta ove familije je, u najvećem broju slučajeva, u šizokarpima, sa izuzetkom biljne vrste *Angelica archangelica* ssp. *litoralis* kod koje je on manji od 0,03%, i biljne vrste *Ferula communis* L. ssp. *glauca* (L.) Rouy & Camus, gde je on, iako veći nego u ostalim organima (koren, list i cvet), svega 0,09% (tabela 3.2). Šizokarpi biljne vrste *Ferulago isaurica* Pesmen i *Ferulago longistylis* Boiss. su najbogatiji etarskim uljem (12,0 i 6,4%, v/w(!)) u ovoj porodici (Özkan *et al*, 2008; Erdurak *et al*, 2006). Biljne vrste ove porodice se mogu grupisati u one bogate ili siromašne etarskim uljima. Biljna vrsta *Ferula communis* predstavlja dobar primer da je varijabilnost prinosa vezana i za promene sastava ulja i postojanje različitih hemotipova. Tako je prinos etarskog ulja jednog hemotipa 0,01%, dok je prinos ulja drugog 0,05% (Rubiolo *et al*, 2006).

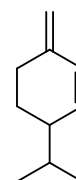
Hemijskim profili mogu pratiti morfološku podelu, ali to nije uvek slučaj. Na primer,  $\beta$ -felandren je najzastupljeniji sastojak ulja šizokarpa dve podvrste *A. archangelica*: ssp. *archangelica* - 65,0% i ssp. *litoralis* (Fries) Thell. - 76,0% (Nivinskiene *et al*, 2007; Bernard, 2001). Takođe, dve vrste roda *Heracleum*, *H. crenatifolium* Boiss. i *H. platytaenium* Boiss, sadrže velike količine oktil-acetata u uljima šizokarpa (93,7 i 87,6%), pa se u tom slučaju hemijski karakteri ne mogu smatrati dobrim indikatorima za njihovo razlikovanje. Za razliku od navedenih primera, kod već pomenute *F. communis* različit hemijski sastav ulja nadzemnih delova biljke može da ima značajnu ulogu u klasifikaciji, jer se mogu razlikovati dva morfološki veoma slična taksona čija se etarska ulja karakterišu značajnim količinama seskviterpena, aristolenom (47,1%) u jednom i alohedikariolom (53,7%) u drugom hemotipu (Rubiolo *et al*, 2006). Sličan primer je kod biljne vrste *Pimpinella tragiium*, kod koje se tri podvrste razlikuju po sadržaju glavnog sastojka



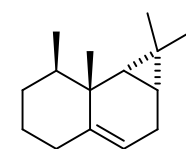
Izgled biljne vrste *Angelica archangelica* ssp. *litoralis*



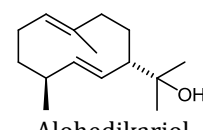
Izgled biljne vrste *Ferula communis* ssp. *glauca*



$\beta$ -Felandren



Aristolen



Alohedikariol

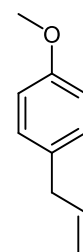
ulja – geijeren za podvrstu *lithophila* (Schischkin) Tutin, (*Z*)- $\beta$ -farnezen za podvrstu *polyclada* (Boiss. & Heldr.) Tutin, a  $\alpha$ -pinen i  $\beta$ -bisabolen za podvrstu *pseudotragium* (DC) Matthews (Chizzola, 2010a). Da hemijski markeri prate taksonomiju na nivou roda, može se potvrditi i primerom roda *Chaerophyllum*. Kod vrste *aksekiense*, koja je endem za područje Male Azije, kao glavni sastojak ulja šizokarpa identifikovan je heptakozan, dok je u ulju vrste *coloratum* istog roda, koja je endem za jadransko područje, (*E*)- $\beta$ -farnezen bio najzastupljeniji (Baser *et al*, 2000; Vajs *et al*, 1995).

Usled mogućnosti postojanja slučajne metaboličke konvergencije neophodna je dodatna obazrivost u ovakvoj (hemo-)sistematizaciji. Tako je dominantan sastojak etarskih ulja biljne vrste *Myrrhis odorata* (L.) Scop., sa područja Finske i Rusije, (*E*)-anetol (preko 80%), dok je u srodnički gledano udaljenoj vrsti *Pimpinella anisetum* Boiss. & Ball. sa područja Turske ovaj fenilpropanoid, takođe, sadržan sa 55,2-82,8% (Uusitalo *et al*, 1999; Tkachenko i Zenkevich, 1993; Baser *et al*, 1999; Tepe *et al*, 2006). Slično kod biljnih vrsta dalekih „rođaka“ *Anthriscus cerefolium* (L.) Hoffm. i *Myrrhoides nodosa* (L.) Cannon u etarskom ulju zajedničko prisustvo preko 74% istog fenilpropanoida – estragola (Baser *et al*, 1998; Simandi, 1996; Menković *et al*, 2009; Tümen *et al*, 2005). Sa druge strane, pomenute biljne vrste tj. njihovi glavni sastojci mogu se iskoristiti kao dobar primer hemijskih markera na nivou familije.

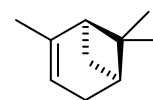
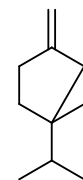
Potpuno poznavanje hemijskog profila, podrazumeva informacije o isparljivim sastojcima iz različitih organa biljne vrste u svim fenofazama. Na primer, endemična biljna vrsta za područje Kanarskih ostrva, *Pimpinella cumbrae*, karakteriše se prisustvom seskviterpena  $\alpha$ -bisabolola i monoterpena  $\delta$ -3-karena u nadzemnom delu biljke, dok je u korenu dominantan  $\beta$ -dihidroagarofuran (Velasco-Negueruela *et al*, 2002).

Terpenoidi, fenilpropanoidi i alkaloidi su najviše korišćene klase sekundarnih metabolita u hemotaksonomske svrhe. Dobar primer toga je biljna vrsta *D. carota* koja se karakteriše postojanjem tri terpeneska hemotipa:  $\alpha$ -pinen/sabinen-, karotol- i geranil-acetat-tipovi. Međutim,  $\alpha$ -pinen i sabinen nisu samo karakteristični za *D. carota* već su to najzastupljeniji monoterpeni i u uljima nadzemnih delova mnogih biljnih vrsta ove porodice (tabela 3.2), kao i ulja korena biljnih vrsta *A. archangelica* L., *Chaerophyllum hirsutum* L., *Ferulago isaurican*, *Peucedanum officinale* L. i *Peucedanum osthrotium* (Nivinskiene *et al*, 2005; Chalchat i Garry, 1997; Kubecka *et al*, 1989; Erdurak *et al*, 2006; Figuérédo *et al*, 2009; Cisowski *et al*, 2001).

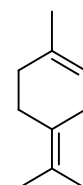
Isparljivi sastojci korena u odnosu na iste iz ostalih biljnih organa fitohemijski gledano su najmanje istraženi. Pored monoterpena najzastupljenije klase jedinjenja u uljima korena su fenilpropanoidi a ređe seskviterpeni. U biljnoj vrsti *Athamanta turbith* (L.) Brot. ssp. *haynaldii* prisutan je fenilpropanoid apiol (48,5%), dok je u podvrsti *hungarica* dominantan drugi fenilpropanoid miristicin (54,2%) (Tomić *et al*, 2009), koji je karakterističan i za biljnu vrstu *Portenschlagiella ramosissima* (nalazi se u svim njenim organima) (Soković *et al*, 2008). Elemicin je najzastupljeniji fenilpropanoid u korenu biljnih vrsta *F. communis* ssp. *glauca*, *Thapsia garganica* L. i jednoj od *Thapsia villosa* L. (Maggi *et al*, 2009; Avato i Smitt, 2000; Avato i Rosito,



Estragol

 $\alpha$ -Pinen

Sabinen

 $\alpha$ -Terpinolen

**Tabela 3.2.** Glavni sastojci etarskih ulja biljnih vrsta podfamilije Apioideae\*

Biljna vrsta	Deo biljke	Poreklo	Prinos %	Glavni sastojci ulja
<i>Aeg pod</i>	L	Estonija	0,2	germakren D 15,6; $\beta$ -pinen 11,1; limonen 8,2; $\gamma$ -terpinen 8,2
<i>Aeg pod</i>	S	Estonija	0,4	$\beta$ -pinen 29,4; limonen 18,4; $\alpha$ -pinen 15,7; $\gamma$ -terpinen 15,5
<i>Aeg pod</i>	B	C. Balkan	0,11	$\alpha$ -pinen 13,3; limonen 9,4; <i>p</i> -cimen 8,8; ( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimen 5,2
<i>Ang a</i>	K	Litvanija	0,2-0,5	$\alpha$ -pinen 15,7-20,8; $\delta$ -3-karen 15,4-16,9; $\beta$ -felandren 13,5-15,4; limonen 8,0-9,2
<i>Ang a</i>	K	Francuska	0,2	$\alpha$ -pinen 32,2; $\delta$ -3-karen 16,2; <i>p</i> -cimen 6,4; mircen 5,2
<i>Ang a</i>	Š	Litvanija	0,8-1,4	$\beta$ -felandren 33,6-63,4; sabinen 2,5-20,4; $\alpha$ -pinen 4,2-15,8; $\alpha$ -felandren 2,6-7,4
<i>Ang a ar</i>	Š	Francuska	0-2,0	$\beta$ -felandren 65,0; $\alpha$ -pinen 2,3-6,6; mircen 2,4-3,2
<i>Ang a li</i>	Š	Francuska	<0,03	$\beta$ -felandren 76,0; $\alpha$ -pinen 4,2; $\alpha$ -felandren 3,4
<i>Ang a no</i>	K	Francuska	0,21	$\delta$ -3-karen 13,0; $\alpha$ -pinen 9,8; <i>p</i> -menta-2,8-dien-1-ol 8,6; limonen 7,3
<i>Ang het</i>	K	Francuska	0,07	nonan 9,2; 1-(5-metilfuranil)-1-buten-3-on 2,4-3,5; heptil-izovalerat 1,2-2,0
<i>Ang het</i>	Š	Francuska	0,54	$\beta$ -felandren 39,0; $\alpha$ -pinen 23,3; kamfen 2,5
<i>Ang s el</i>	K	Francuska	0,17	nonan 18,7; $\alpha$ -pinen 16,2; $\beta$ -felandren 12
<i>Ang s sy</i>	Š	Francuska	1,8	limonen 56,1; $\alpha$ -pinen 11,3; $\alpha$ -bisabolol 5,8
<i>Ang s sy</i>	Š	Turska	0,26	$\alpha$ -pinen 25,6; $\beta$ -felandren 9,1; bornil-acetat 7,3; limonen 5,6; karvakrol 5,6; mircen 4,4; $\alpha$ -čamigren 3,4
<i>Ant cer</i>	B	Mađarska	0,10	estragol 80,0; 1-alil-2,4-dimetoksibenzen 16,0
<i>Ant cer</i>	B	Turska	0,42	estragol 83,1; 1-alil-2,4-dimetoksibenzen 15,2; undekan 1,8
<i>Ant syl</i>	K	Holandija	0,25	$\beta$ -felandren 45,4; ( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimen 16,9; $\alpha$ -pinen 4,6; benzen acetaldehid 3,8
<i>Ant syl</i>	L	Holandija	0,10	$\beta$ -felandren 38,8; mircen 16,7; <i>trans</i> -sabinil acetat 7,7; sabinen 6,2
<i>Api nod</i>	B	Italija	0,08	limonen 27,7; <i>p</i> -cimen 23,1; miristicin 18,5; $\beta$ -pinen 6,6
<i>Ath mac</i>	B	Grčka	1,2	sabinen 50,5; terpinen-4-ol 8,7; $\beta$ -pinen 7,1; <i>p</i> -cimen 4,7
<i>Ath sic</i>	S	Italija	np	apiol 85,2; miristicin 4,1; izoleden 2,0
<i>Ath sic</i>	L	Italija	np	apiol 80,4; miristicin 4,5; $\alpha$ -pinen 1,8
<i>Ath sic</i>	C	Italija	np	apiol 87,8; miristicin 4,8; $\alpha$ -kopaen 1,5
<i>Ath sic</i>	L	Sicilija	0,29	miristicin 97,6
<i>Ath sic</i>	Š	Sicilija	0,38	miristicin 41,3; $\delta$ -3-karen 22,6; $\alpha$ -terpinolen 20,5; $\beta$ -felandren 5,8
<i>Ath t ha</i>	C	Balkan	0,04	miristicin 39,6; neidentifikovan seskviterpenski ugljovodonik 21,1; $\beta$ -pinen 17,3; $\alpha$ -terpinolen 2,8
<i>Ath t ha</i>	Š	Balkan	0,28	$\beta$ -pinen 71,7; neidentifikovan seskviterpenski ugljovodonik 4,7; $\alpha$ -pinen 4,6; $\beta$ -kariofilen 3,8; miristicin 3,6

\* Tabela je u celini preuzeta iz rada Chizzola (2010a) u kome se mogu naći sve korišćene reference

**Tabela 3.2.** (nastavak)

Biljna vrsta	Deo biljke	Poreklo	Prinos %	Glavni sastojci ulja
<i>Ath t ha</i>	K	Srbija	0,28	apiol 48,5; miristicin 22,3; $\alpha$ -terpinolen 11,2; $\gamma$ -muurolen 3,5
<i>Ath t hu</i>	K	Srbija	0,59	miristicin 54,2; apiol 32,6; germakren B 3,6; $\gamma$ -muurolen 2,9
<i>Ber ere</i>	B	Srbija	0,005	(Z)-falkarinol 21,5; $\beta$ -seskvifelandren 17,2; (E)-kariofilen 14,9; $\gamma$ -terpinen 14,0
<i>Bif rad</i>	B	Turska	0,42	(E)-2-tridecenal 47,2; (E)-2-tetradecenal 23,4; tridekanal 5,9; (E)-2-dodecenal 5,8; undekanal 3,1; tetradekanal 2,5
<i>Bup fru</i>	B	Grčka	1,49	$\alpha$ -pinen 37,8; $\beta$ -pinen 28,6; limonen 21,7; (Z)- $\beta$ -ocimen 5,4
<i>Bup fru</i>	S	Italija	3,6	$\gamma$ -terpinen 48,8; $\alpha$ -felandren 12,2; sabinen 12,1; dihidrokarveol 5,1; citronelil-acetat 4,2
<i>Bup fru</i>	L	Italija	2,3	sabinen 39,7; $\beta$ -felandren 38,7; limonen 5,0
<i>Bup fru</i>	B	Libija	np	$\beta$ -felandren 49,3; $\alpha$ -pinen 15,3
<i>Bup fru</i>	Š	Španija	np	$\alpha$ -pinen 41,2; $\beta$ -pinen 35,9; limonen 4,1
<i>Bup fru</i>	Š	Francuska	2,5	$\beta$ -pinen 39,1; $\alpha$ -pinen 35,4; $\beta$ -felandren 7,4; $\alpha$ -tujen 2,3; mircen 1,9
<i>Bup fru</i>	N	Korzika	np	$\beta$ -felandren 67,7; sabinen 9,3; limonen 5,6
<i>Bup gib</i>	B	Španija	1,3	2,3,4-trimetilbenzaldehyd 17,2; sabinen 9,2; $\alpha$ -pinen 5,9; gvajol 5,3; terpinen-4-ol 5,1; <i>trans</i> -hrizantenil-acetat 4,7; elemol 4,3
<i>Bup gib</i>	Š	Španija	2,2	$\alpha$ -pinen 42,7; sabinen 28,3; limonen 9,0; 2,3,4-trimetilbenzaldehyd 4,5
<i>Bup gib</i>	B	Španija	np	sabinen 31,1; $\alpha$ -pinen 15,6; 2,3,4-trimetilbenzaldehyd 10,9
<i>Bup gib</i>	S	Španija	0,3-0,7	sabinen 5,0-22,0; 2,3,4-trimetilbenzaldehyd 9,0-14,0
<i>Bup gib</i>	L	Španija	0,8-1,8	sabinen 12,0-34,0; limonen 8,0-23,0
<i>Bup pra</i>	B	C. Balkan	0,05	spatulenol 17,7; kariofilenoksid 6,1; 2-metiloktil-butanoat 5,8; 6,10,14-trimetilpentadekan-2-on 5,1; $\beta$ -funebren 4,7
<i>Bup rig</i>	B	Španija	0,94	$\beta$ -pinen 26,7; $\alpha$ -pinen 26,4; mircen 26,2; limonen 12,2
<i>Bup sib</i>	B	C. Balkan	0,08	heptanal 22,8; kariofilenoksid 4,9; 2-pentilfuran 4,7; $\beta$ -pinen 3,6; perilaldehid 3,5
<i>Cau pla</i>	B	Hrvatska	0,05	spatulenol 10,0; (E)-2-nonenal 3,8; terpinen-4-ol 2,2; 2-hidroksi-5-metoksibenzaldehid 2,0; $\delta$ -kadinen 1,7
<i>Cha aks</i>	Š	Turska	1,1	heptakozan 10,1; humulen epoksid II 7,8; (Z,Z)- $\beta$ -farnezen 6,2; kariofilenoksid 6,0
<i>Cha aro</i>	L	Austrija	0,4-0,7	$\gamma$ -terpinen 32,0-50,6; 2,6-dimetil-1,3,5,7-oktatetraen 9,7-12,2; <i>p</i> -cimen 4,6-10,8; germakren D 6,0-7,4
<i>Cha aro</i>	Š	Austrija	1,5-2,0	$\gamma$ -terpinen 21,0-33,8; $\beta$ -felandren 14,3-30; $\beta$ -pinen 14,3-17,7; 2,6-dimetil-1,3,5,7-oktatetraen 1,9-4,7
<i>Cha aur</i>	B	C. Balkan	0,09	<i>endo</i> -fenhil-acetat 37,4; kariofilenoksid 15,6; <i>endo</i> -fenhol 7,1; $\beta$ -pinen 4,4
<i>Cha byz</i>	B	Turska	0,8	sabinen 30,0; <i>p</i> -cimen-8-ol 16,0; $\alpha$ -terpinolen 11,5; terpinen-4-ol 4,6
<i>Cha col</i>	Š	Crna Gora	1,1	(E)- $\beta$ -farnezen 79,2; $\beta$ -pinen 7,0; (Z)- $\beta$ -ocimen 4,3; (E)- $\beta$ -ocimen 1,6
<i>Cha hir</i>	B	C. Balkan	0,1	limonen 14,7; sabinen 13,6; $\gamma$ -terpinen 7,6; $\alpha$ -terpinolen 7,1
<i>Cha hir</i>	K	Nemačka	0,33	$\beta$ -pinen 12,1-25,3; $\alpha$ -terpinolen 2,5-44,3; $\beta$ -felandren 6,3-17,6; $\alpha$ -felandren 6,0-14,8

**Tabela 3.2.** (nastavak)

Biljna vrsta	Deo biljke	Poreklo	Prinos %	Glavni sastojci ulja
<i>Cha hir</i>	L	Nemačka	0,76	sabinen 25,9; akorenon B 9,5; mircen 8,4; germakren D 8,3
<i>Cha hir</i>	Š	Nemačka	1,9	β-pinen 22,0-25,2; γ-terpinen 8,6-20,2; akorenon B 5,5-18,5; α-fenhil-acetat 1,4-10,5
<i>Cha lib</i>	Š	Turska	np	β-felandren 17,6; limonen 15,9; β-pinen 8,8; sabinen 8,5
<i>Cha tem</i>	B	C. Balkan	0,03	sabinen 11,3; β-bisabolen 5,6; germakren D 4,5; oktanal 4,3
<i>Cni sia</i>	B	C. Balkan	0,11	α-pinen 22,5; sabinen 16,0; 1,8-sineol 4,0; α-kalakoren 3,3; α-kopaen 3,2; kariofilenoksid 3,4
<i>Con cap</i>	B	Grčka	0,16	α-pinen 37,8; sabinen 29,2; <i>p</i> -cimen 4,7; limonen 4,1
<i>Con mac</i>	C	Srbija	0,06	germakren D 27,2; ( <i>Z</i> )-β-ocimen 14,3; mircen 9,3; ( <i>E</i> )-nerolidol 7,1
<i>Con mac</i>	L	Srbija	0,04	germakren D 41,0; ( <i>E</i> )-β-ocimen 22,3; ( <i>E</i> )-nerolidol 4,8; mircen 3,9
<i>Cri mar</i>	N	Korzika	np	γ-terpinen 42,2; β-felandren 20,3; dilapiol 7,9; metil-timol 7,3
<i>Cri mar</i>	B	Portugal	np	γ-terpinen 26,0-55,0; sabinen 7,0-42,0; metil-timol 12,0-19,4; ( <i>Z</i> )-β-ocimen 2,3-6,2
<i>Dau c</i>	N	Korzika	np	β-bisabolen 22,6; ( <i>E</i> )-metil izoeugenol 21,8; elemicin 16,3; α-pinen 15,9
<i>Dau c</i>	C	Poljska	0,28	α-pinen 40,7; sabinen 18,3; mircen 7,0; limonen 5,3; terpinen-4-ol 4,8
<i>Dau c ca</i>	Š	Litvanija	0,5-0,7	sabinen 28,2-37,5; α-pinen 16,0-24,5; terpinen-4-ol 4,6-7,5; γ-terpinen 2,9-6,0; limonen 2,3-4,0
<i>Dau c ca</i>	K	Austrija	0,2	α-terpinolen 26,2-56,3
<i>Dau c ca</i>	L	Austrija	0,1-0,3	α-pinen 20,9-44,8; sabinen 11,3-19,5; limonen 3,9-12,7
<i>Dau c ca</i>	Š	Austrija	0,8-1,6	sabinen 21,5-46,6; α-pinen 23,5-30,4; β-pinen 4,6-13,1
<i>Dau c ca</i>	C	Portugal	np	α-pinen 37,9; geranil-acetat 25,0; ( <i>E</i> )-kariofilen 4,9; β-bisabolen 2,9
<i>Dau c ca</i>	Š	Portugal	np	geranil-acetat 65,0; α-pinen 13,0; β-pinen 2,3; karotol 1,5
<i>Dau c ca</i>	C	Sardinija	0,7	karotol 25,1; 11α( <i>H</i> )-himahal-4-en-1β-ol 21,6; β-bisabolen 17,6; elemicin 6,4
<i>Dau c ca</i>	Š	Sardinija	1,0	β-bisabolen 51,0; 11α( <i>H</i> )-himahal-4-en-1β-ol 9,0; elemicin 5,2; karotol 2,4
<i>Dau c gu</i>	Š	Španija	2,3-2,5	geranil-acetat 51,7-77,0; sabinen 4,4-11,1; linalool 4,0-5,2; geraniol 2,3
<i>Dau c ha</i>	C	Portugal	0,4	sabinen 28,3-33,8; α-pinen 12,6-16,0; limonen 11,0-11,8; elemicin 5,9-6,2; ( <i>E</i> )-metil izoeugenol 7,4
<i>Dau c ha</i>	Š	Portugal	0,6-1,0	elemicin 26,0-31,0; sabinen 27,6-29; α-pinen 10,1-12,2; limonen 5,5-6,5; ( <i>E</i> )-metil izoeugenol 6,9
<i>Dau c</i>	K	Tunis	0,07	dilapiol 46,6; miristicin 29,7; limonen 3,6; <i>p</i> -cimen 1,5
<i>Dau c</i>	C	Tunis	0,21	sabinen 51,9; terpinen-4-ol 11,0; <i>p</i> -cimen 4,2; eudesm-6-en-4α-ol 3,6
<i>Dau c mx</i>	S	Liban	0,1	preizokalamendiol 32,7; šjobunon 24,3
<i>Dau c mx</i>	L	Liban	0,17	preizokalamendiol 18,0; šjobunon 16,8; β-kubeben 12,7
<i>Dau c mx</i>	Š	Liban	2,6	( <i>E</i> )-metil izoeugenol 37,2; β-bisabolen 34,7; β-azaron 17,7

**Tabela 3.2.** (nastavak)

Biljna vrsta	Deo biljke	Poreklo	Prinos %	Glavni sastojci ulja
<i>Dau cri</i>	B	Algerija	np	izočavikol-izobutirat 39,0; oktil-acetat 12,3; $\alpha$ -pinen 9,9; izočavikol-2-metilbutirat 6,5
<i>Dau gin</i>	L	Italija	0,04	sabinen 26,8; $\alpha$ -pinen 10,8; germakren D 6,9; limonen 5,7
<i>Dau gin</i>	Š	Italija	1,21	sabinen 60,6; $\alpha$ -pinen 12,2; terpinen-4-ol 5,4
<i>Dau gla</i>	S	Egipat	0,1	terpinen-4-ol 22,1; $\gamma$ -terpinen 19,5; $\beta$ -felandren 6,3; ocimen 6,2; elemicin 6,0
<i>Dau gla</i>	L	Egipat	0,67	$\gamma$ -terpinen 21,9; limonen 21,7; elemicin 17,2; terpinen-4-ol 5,3
<i>Dau gla</i>	Š	Egipat	4,0	limonen 37,0; elemicin 32,7; silvestren 18,1; $\gamma$ -terpinen 2,9
<i>Dau lit</i>	B	Turska	0,2	<i>cis</i> -hrizantenil-acetat 46,8; mircen 18,7; <i>cis</i> -hrizantenol 5,6; dodekanal 4,4
<i>Dau reb</i>	B	Algerija	0,4	$\alpha$ -pinen 39,7; sabinen 21,2; $\beta$ -cimen 5,9
<i>Ech ten</i>	B	Turska	2,0	metileugenol 36,6; $\delta$ -3-karen 36,6; <i>p</i> -cimen 7,6; $\alpha$ -felandren 6,1
<i>Ele asc</i>	B	Grčka	0,02	sabinen 35,3; $\alpha$ -pinen 27,4; mircen 6,0; $\beta$ -pinen 5,2
<i>Fal vul</i>	B	Iran	np	spatulanol 27,1; karvakrol 20,9
<i>Fer arr</i>	L	Korzika	0,14	$\beta$ -felandren 16,6; germakra-1(10),5-dien-11-ol 15,4; linalool 12,5; $\alpha$ -terpineol 4,9; ( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimen 4,7
<i>Fer cam</i>	L	Italija	0,06	$\gamma$ -terpinen 14,5; kariofilenoksid 4,0-5,9; humulen epoksid II 2,2-5,4; $\alpha$ -kadinol 5,9
<i>Fer cam</i>	C	Italija	0,4-0,7	$\alpha$ -pinen 8,3-16,2; mircen 9,5-18,7; $\gamma$ -terpinen 8,3-32,9; <i>p</i> -cimen 6,8-8,6
<i>Fer com</i>	L	Korzika	np	mircen 53,5; aristolen 8,5; $\alpha$ -pinen 6,6; ( <i>E,E</i> )-farnezol 4,3
<i>Fer com</i>	B	Sardinija	0,01	aristolen 47,1; ( <i>E,E</i> )-farnezol 21,2; $\beta$ -gurjunen 7,6; $\beta$ -selinen 2,3
<i>Fer com</i>	B	Sardinija	0,05	alohedikariol 53,7; neidetifikovano jedinjenje (Mr 222) 12,1; $\delta$ -kadinen 4,1; $\alpha$ -pinen 3,3
<i>Fer com</i>	C	Sardinija	<0,01	$\alpha$ -gurjunen 40,7; $\beta$ -gurjunen 7,1; aristolon 4,2; cikloheksadekanolid 3,9; $\alpha$ -selinen 3,9; kamazulen 2,3
<i>Fer ela</i>	Š	Turska	0,27	nonan 27,1; $\alpha$ -pinen 12,7; germakren B; 10,3; neidetifikovano jedinjenje 8,4
<i>Fer gla</i>	K	Italija	0,03	elemicin 9,0; ( <i>E</i> )- $\beta$ -farnezen 8,4; $\alpha$ -zingiberen 6,9; miristicin 6,0
<i>Fer gla</i>	L	Italija	0,05	( <i>E</i> )-kariofilen 20,5; kariofilenoksid 13,9; $\alpha$ -humulen 7,6; germakren D 6,8; mircen 3,0
<i>Fer gla</i>	C	Italija	0,06	germakren D 16,4; mircen 10,1; ( <i>E</i> )-kariofilen 9,4; $\alpha$ -pinen 6,8
<i>Fer gla</i>	Š	Italija	0,09	$\alpha$ -pinen 36,6; $\beta$ -pinen 17,8; mircen 4,1; germakren D 2,1
<i>Fer isa</i>	K	Turska	0,7	$\alpha$ -terpinolen 42,1; mircen 27,0; $\gamma$ -terpinen 11,7; limonen 4,6
<i>Fer isa</i>	Š	Turska	12,0**	$\alpha$ -pinen 31,5; limonen 24,2; mircen 16,9; $\alpha$ -felandren 4,3
<i>Fer lon</i>	Š	Turska	6,4**	2,3,6-trimetilbenzaldehyd 29,4; $\alpha$ -pinen 16,7; ( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimen 15,9; sabinen 6,2
<i>Fer nod</i>	B	Grčka	3,0	$\alpha$ -pinen 31,1; $\alpha$ -kamfolenal 6,4; $\alpha$ -kopaen 6,1; <i>p</i> -cimen 4,1
<i>Fer ori</i>	B	Turska	0,51	$\beta$ -felandren 23,6; ( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimen 13,8; $\alpha$ -pinen 12,5; $\alpha$ -felandren 11,5; dehidroseskvisineol 10,9

**Tabela 3.2.** (nastavak)

Biljna vrsta	Deo biljke	Poreklo	Prinos %	Glavni sastojci ulja
<i>Fer syl</i>	B	Grčka	0,1	spatulenol 13,0; heksadekanska kiselina 7,3; kariofilenoksid 6,7; $\beta$ -patčulen 6,6; $\beta$ -burbonen 5,8; karvakrol 5,1
<i>Fer syr</i>	K	Turska	1,1	bornil-acetat 69,4; $\alpha$ -terpinolen 12,5; $\gamma$ -terpinen 2,4; mircen 1,9; limonen 1,9
<i>Fer syr</i>	Š	Turska	4,8	mircen 15,3; gvaja-4,6-dien 10,7; kubenol 8,8; 2,3,6-trimetilbenzaldehyd 8,8
<i>Fer szo</i>	S	Turska	0,05	$\beta$ -eudezmol 29,5; $\alpha$ -eudezmol 16,6; $\alpha$ -pinen 6,4; $\beta$ -pinen 4,3
<i>Fer szo</i>	L	Turska	0,4	$\beta$ -eudezmol 32,0; $\alpha$ -eudezmol 18,2; $\alpha$ -pinen 8,6; $\beta$ -pinen 4,6
<i>Fer thy</i>	B	Grčka	0,8	spatulenol 31,1; 2,4,5-trimetilbenzaldehyd 17,3; karvakrol 13,8; <i>ent</i> -3 $\beta$ -hidroksi-13- <i>epi</i> -manoil-oksid 6,6
<i>Her cre</i>	Š	Turska	3,7	oktil-acetat 93,7; oktanol 1,1; oktil-izovalerat 1,0
<i>Her pap</i>	Š	Turska	np	oktil-acetat 31,5; heksil-butirat 17,0; oktil-heksanoat 10,2
<i>Her pla</i>	Š	Turska	5,3	oktil-acetat 87,6; oktil-heksanoat 3,0; ( <i>Z</i> )-4-oktenil-acetat 2,1; oktanol 1,0
<i>Her sp p</i>	B	Grčka	0,06	oktil-acetat 17,4; limonen 13,1; ( <i>E</i> )-kariofilen 6,5; ( <i>E</i> )- $\beta$ -farnezen 6,3; estragol 4,9
<i>Her sp t</i>	Š	Turska	3,7	oktanol 39,2; oktil-butirat 27,4; oktil-acetat 10,6; miristicin 3,1
<i>Her sp t</i>	Š	Turska	np	oktanol 50,3; oktil-butirat 24,6; oktil-acetat 7,3
<i>Her sp t</i>	Š	Turska	2,0	oktil-butirat 37,7; oktil-acetat 31,6; apiol 9,3; ( <i>Z</i> )-4-oktenil-acetat 3,3
<i>Kun sic</i>	B	Algerija	0,4	spatulenol 2,8-14,8; salvia-4(14)-en-1-on 10,1-16,4; kariofilenoksid 12,2; 1,5-epoksisalvia-4(14)-en 5,2-6,5; hrizantenil-acetat 5,2
<i>Las gal</i>	L	Francuska	np	$\beta$ -pinen 24,0; $\alpha$ -pinen 20,1; mircen 14,6; sabinen 10,4
<i>Las gal</i>	Š	Francuska	0,7	$\beta$ -pinen 14,8-38,5; $\alpha$ -pinen 17-28,5; mircen 2,6-11,8; sabinen 17,2
<i>Las gar</i>	-	Italija	np	mircen 15,7; $\beta$ -felandren 14,4; sabinen 9,7; $\gamma$ -muurolen 7,8
<i>Las lat</i>	L	Austrija	np	sabinen 29,9-73,1; $\alpha$ -pinen 7,0-10,5; germakren D 3,0-7,9; limonen 2,3-9,2
<i>Las lat</i>	Š	Austrija	np	sabinen 49,5-53,5; $\alpha$ -pinen 4,7-9,9; limonen 8,5-12,3
<i>Las pet</i>	B	Turska	1,34	$\alpha$ -pinen 48,9; sabinen 25,9
<i>Las sil</i>	B	C. Balkan	1,21	perilaldehid 41,1; limonen 16,9; $\alpha$ -pinen 13,9; mircen 4,4; kamfen 2,5
<i>Las sil</i>	Š	Francuska	3,0	perilaldehid 75,0; limonen 22,0; perilalkohol 0,8
<i>Las tri</i>	B	C. Balkan	0,13	perilaldehid 37,0; limonen 14,3; $\alpha$ -pinen 13,5; $\beta$ -pinen 8,2; sabinen 3,7
<i>Las tri</i>	L	Austrija	<0,2	bornil-angelat 67,3-73,5; $\alpha$ -pinen 3,4-12,6; $\beta$ -pinen 1,2-4,2; ( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimen 1,6-3,1
<i>Las tri</i>	Š	Austrija	4-4,7	limonen 45,1-77,3; perilaldehid 8,6-46,3; $\alpha$ -pinen 4,5-9,3
<i>Las tri</i>	Š	Turska	np	limonen 26,7-91,0; perilaldehid 4,4 - 62,0
<i>Las zer</i>	L	Makedonija	0,14	$\beta$ -pinen 20,0; terpinen-4-ol 12,0; hamazulen 1,8

**Tabela 3.2.** (nastavak)

Biljna vrsta	Deo biljke	Poreklo	Prinos %	Glavni sastojci ulja
<i>Las zer</i>	C	Makedonija	0,22	sabinen 18,5; limonen 12,0; $\beta$ -felandren 12,0; terpinen-4-ol 10,6; hamazulen 1,1
<i>Meu ath</i>	K	np	np	(Z)-ligustilid 36,2; ( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimen 14,4; (Z)-3-butilidenftalid 6,3
<i>Meu ath</i>	B	np	np	( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimen 34,9; <i>p</i> -cimen 12,1; (Z)- $\beta$ -ocimen 10,2; $\delta$ -3-karen 6,2
<i>Meu ath</i>	B	Nemačka	np	limonen 33,5; $\alpha$ -felandren 15,3; mircen 13,4; ( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimen 11,6; 3-but-2-eniliden-4,5,6,7-tetrahidroftalid 3,5
<i>Meu ath</i>	B	Španija	0,06	( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimen 29,7; $\gamma$ -terpinen; 17,6; $\alpha$ -terpinolen 16,9; <i>p</i> -cimen 9,9; (Z)- $\beta$ -ocimen 8,6
<i>Myr nod</i>	B	Turska	0,1	estragol 74,1; 1-alil-2,4-dimetoksibenzen 12,4; heksadekanska kiselina 1,7; germakren D 1,2
<i>Myr nod</i>	B	Crna Gora	0,62	sabinen 36,4; limonen 27,7; $\beta$ -pinen 9,8; terpinen-4-ol 3,8
<i>Myr odo</i>	L	Finska	1,5	( <i>E</i> )-anetol 83,1; estragol 2,6; germakren D 1,1; mircen 1,1
<i>Myr odo</i>	L	Rusija	0,3	( <i>E</i> )-anetol 82,0; $\alpha$ -terpineol 3,5; germakren D 2,9; elemol 2,2
<i>Myr odo</i>	B	Srbija	np	<i>p</i> -cimen 62; $\alpha$ -terpinen 8,9; $\delta$ -kadinen 5,3; pačulen 4,0
<i>Oen cro</i>	B	Sardinija	0,04	( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimen 26,2; sabinen 25,7; (Z)- $\beta$ -ocimen 11,0; $\beta$ -pinen 10,9; ( <i>E,E</i> )- $\alpha$ -farnezen 4,6
<i>Oen cro</i>	Š	Italija	1,0	1,8-sineol 21,7; kamfor 9,0; heptanal 8,1; heptadeka-8,10-dien-4,6-diin-1,12-diol 3,8; ( <i>E</i> )-kariofilen 3,3
<i>Oen div</i>	L	Portugal	np	$\beta$ -bisabolen 17,7; limonen 16,0; ( <i>E</i> )-kariofilen 15,3
<i>Oen pim</i>	B	Grčka	0,083	$\gamma$ -terpinen 43,4; <i>o</i> -cimen 17,8; $\beta$ -seskvifelandren 8,3; $\beta$ -pinen 6,8
<i>Orl gra</i>	B	C. Balkan	0,13	sabinen 25,4; $\alpha$ -pinen 9,6; $\gamma$ -terpinen 5,6; terpinen-4-ol 5,2; ( <i>E</i> )-kariofilen 4,7
<i>Pas hir</i>	B	C. Balkan	0,2	heksil-butanoat 55,4; (Z)-4-decenal 2,7; butil-butanoat 2,5; etil-( <i>E</i> )-4-decenoat 2,5
<i>Pas sat</i>	B	C. Balkan	0,26	(Z)- $\beta$ -ocimen 10,8; heksil-butanoat 10,4; ( <i>E</i> )- $\beta$ -farnezen 6,1; lavandulil-acetat 5,2; germakren D 3,7
<i>Pas sat</i>	Š	Turska	np	oktil-butirat 79,5; oktil-heksanoat 5,3; heksil-butirat 3,3
<i>Peu als</i>	B	C. Balkan	0,13	$\alpha$ -pinen 21,4; limonen 11,0; germakren D 4,6; mircen 4,4
<i>Peu als</i>	Š	Poljska	0,48	sabinen 22,0; $\alpha$ -pinen 20,7; limonen + $\beta$ -felandren 18,7; germakren D 7,9; ( <i>E</i> )-kariofilen 5,5
<i>Peu aus</i>	B	C. Balkan	0,13	$\alpha$ -pinen 24,5; limonen 9,2; kamfen 8,7; triciklen 7,7
<i>Peu cer</i>	B	C. Balkan	0,09	$\alpha$ -pinen 12,6; limonen 11,5; $\beta$ -pinen 10,2; sabinen 10,0; mircen 9,1
<i>Peu cer</i>	L	Austrija	np	germakren D 12,2-15,4; sabinen 6,8-27,8; $\beta$ -pinen 6,4-13,5; $\alpha$ -pinen 5,6-7,0; (Z)- $\beta$ -ocimen 4,9-6,9
<i>Peu cer</i>	Š	Austrija	np	sabinen 21,9-50,0; $\beta$ -pinen 15,2-33,1; $\alpha$ -pinen 9,0-28,1; limonen 4,0
<i>Peu cer</i>	Š	Poljska	1,64	$\alpha$ -pinen 31,3; sabinen 31,0; $\beta$ -pinen 21,7; limonen + $\beta$ -felandren 3,6; germakren B 3,5
<i>Peu long</i>	B	C. Balkan	0,15	$\alpha$ -pinen 36,3; kamfen 7,6; limonen 7,6; sabinen 5,0
<i>Peu off</i>	B	C. Balkan	0,09	$\alpha$ -pinen 38,7; sabinen 15,0; $\beta$ -pinen 8,8; mircen 5,3
<i>Peu off</i>	K	Srbija	0,24	limonen 28,2; $\alpha$ -pinen 28,1; sabinen 8,3; $\delta$ -3-karen 4,0



**Tabela 3.2.** (nastavak)

Biljna vrsta	Deo biljke	Poreklo	Prinos %	Glavni sastojci ulja
<i>Peu off</i>	S	Srbija	0,08	limonen 17,4; mircen 11,7; $\beta$ -pinen 8,7; $\alpha$ -pinen 5,2
<i>Peu off</i>	L	Srbija	0,64	$\alpha$ -pinen 24,8; $\beta$ -pinen 17,6; limonen 11,3; mircen 9,5
<i>Peu off</i>	C	Srbija	1,21	mircen 22,0; limonen 14,0; $\alpha$ -felandren 13,3; $\beta$ -pinen 9,9; $\alpha$ -pinen 7,2; sabinen 4,4
<i>Peu ore</i>	B	C. Balkan	5,24	$\alpha$ -pinen 19,2; $\beta$ -pinen 12,3; $\alpha$ -terpinolen 6,9; limonen 4,7
<i>Peu ore</i>	Š	Litvanija	np	limonen 44,1-82,4; $\gamma$ -terpinen 12,2-17,5; $\beta$ -pinen 8,5-14,5; $\alpha$ -pinen 4,0-8,3;
<i>Peu ost</i>	K	Poljska	np	sabinen 35,2; terpinen-4-ol 26,6
<i>Peu ost</i>	B	Poljska	np	( <i>E</i> )-kariofilen 16,1; $\alpha$ -humulen 15,8; sabinen 4,7
<i>Peu pan</i>	K	Korzika	0,44	$\beta$ -izociklolavandulil-acetat 15,8; $\beta$ -ciklolavandulil-acetat 13,9; lavandulil-acetat 9,8; $\beta$ -izociklolavandulil-izobutirat 7,3
<i>Peu pan</i>	L	Korzika	0,17	$\beta$ -ciklolavandulil-izobutirat 17,8; $\beta$ -ciklolavandulil-acetat 16,1; $\beta$ -izociklolavandulil-acetat 6,1; $\beta$ -ciklolavandulol 4,3
<i>Peu ver</i>	Š	Italija	0,125	sabinen 63,0; $\alpha$ -felandren 9,3; mircen 8,1; nerol 3,5
<i>Peu ver</i>	B	Italija	0,05	sabinen 36,6; ( <i>E</i> )-anetol 29,5; $\alpha$ -pinen 6,3; $\alpha$ -felandren 5,6; mircen 4,7
<i>Phy cor</i>	B	C. Balkan	0,06	$\alpha$ -pinen 12,5; ( <i>E</i> )- $\beta$ -farnezen 9,9; perilaldehid 8,2; spatulenol 8,0; germakren D 5,4; limonen 4,2
<i>Pim ani</i>	B	Turska	np	( <i>E</i> )-anetol 55,2; estragol 41,9
<i>Pim ani</i>	Š	Turska	np	( <i>E</i> )-anetol 77,1; estragol 22,4
<i>Pim ani</i>	B	Turska	2,07	( <i>E</i> )-anetol 82,8; estragol 14,5; limonen 1,1
<i>Pim cum</i>	K	Kan. Os.	0,34	izokesan 17,0; $\beta$ -dihidroagarofuran 15,0; 2-metilbutanska kiselina 10,0; geijeren 10,0
<i>Pim cum</i>	Š	Kan. Os.	1,6	$\alpha$ -bisabolol 39,0; $\delta$ -3-karen 16,0; limonen 8,0
<i>Pim cum</i>	L	Kan. Os.	0,56	$\alpha$ -bisabolol 53,0; $\delta$ -3-karen 11,0
<i>Pim fla</i>	B	Turska	2,61	limonen 47,0; ( <i>E</i> )-anetol 37,9; $\alpha$ -pinen 6,0; $\gamma$ -terpinen 3,5
<i>Pim sax</i>	K	Turska	0,17	epoksi pseudoizoeugenil-2-metilbutirat 66,6; 4-(3-metiloksiranil)-fenil-2-metilbutirat 3,7; 4-(1-propenil)-fenil-2-metilbutirat 3,3
<i>Pim sax</i>	S, L	Turska	0,32	$\beta$ -pinen 28,4; sabinen 14,3; mircen 18,9; limonen 11,1
<i>Pim sax</i>	Š	Turska	1,67	sabinen 40,7; $\beta$ -pinen 20,6; mircen 14,1; limonen 3,1
<i>Pim ser</i>	B	C. Balkan	np	apiol 76,8; ( <i>E</i> )-kariofilen 10,3; germakren D 4,9; $\alpha$ -humulen 1,0
<i>Por ram</i>	K	C. Gora	1,85	miristicin 68,5; $\alpha$ -terpinolen 9,8; $\gamma$ -terpinen 6,2; elemicin 4,1
<i>Por ram</i>	B	C. Gora	1,46	miristicin 88,9; limonen 1,7; sabinen 1,4; $\gamma$ -terpinen 1,4; felandral 1,4
<i>Por ram</i>	Š	C. Gora	2,1	miristicin 61,1; $\gamma$ -terpinen 18,5; $\alpha$ -terpinen 9,7; $\alpha$ -terpinolen 1,4
<i>Por ram</i>	Š	Hrvatska	1,2	$\gamma$ -terpinen 41,0; miristicin 25,3; <i>p</i> -cimen 14,5; $\beta$ -pinen 5,7; ( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimen 5,4

**Tabela 3.2.** (nastavak)

Biljna vrsta	Deo biljke	Poreklo	Prinos %	Glavni sastojci ulja
<i>Pra den</i>	K	Turska	3,2	$\delta$ -3-karen 49,3; (Z)-nona-3,5-diin-7-en 20,4; <i>p</i> -cimen 2,6
<i>Pra den</i>	Š	Turska	<0,02	sabinen 26,1; <i>p</i> -cimen 19,7; $\beta$ -felandren 3,3
<i>Pra hey</i>	Š	Turska	0,3-0,9	( <i>E</i> )- $\beta$ -bisabolenal 18,0-53,3; $\beta$ -bisabolenol 2,3-14,6; $\beta$ -bisabolen 10,1-12,1; germakren D 13,5
<i>Pra uec</i>	Š	Turska	0,7	<i>p</i> -cimen 10,9; $\beta$ -felandren 7,8; $\gamma$ -terpinen 7,0; $\alpha$ -felandren 6,3; (Z)- $\beta$ -ocimen 4,6
<i>Pra uec</i>	Š	Turska	np	7- <i>epi</i> -1,2-dehidroseskvisineol 13,4; $\alpha$ -pinen 11,2; $\beta$ -felandren 6,8; $\alpha$ -bisabolol 5,0
<i>Rid seg</i>	B	Sardinija	0,4	$\alpha$ -felandren 53,3; $\alpha$ -terpinolen 20,2; $\beta$ -felandren 9,0; dilapiol 4,8
<i>Sca ibe</i>	C	Turska	np	estragol 90,5; (Z)- $\beta$ -ocimen 2,6; ( <i>E</i> )-anetol 2,5
<i>Sca ibe</i>	Š	Turska	np	estragol 85,8; (Z)- $\beta$ -ocimen 8,1 ; ( <i>E</i> )-anetol 2,2
<i>Ses and</i>	Š	Turska	np	karotol 52,7; germakren D 8,7; $\alpha$ -pinen 4,9
<i>Ses ann</i>	B	Srbija	np	germakren D 29,8; sabinen 10,3; (Z)- $\beta$ -ocimen 9,8; limonen 8,6
<i>Ses cam</i>	B	Turska	np	$\alpha$ -pinen 35,8; kamfen 5,8; limonen 5,8; bornil-acetat 5,4
<i>Ses cam</i>	Š	Turska	1,5	$\alpha$ -pinen 26,2; ( <i>E</i> )-seskvilavandulol 11,8; mircen 8,5; germakren D 6,2
<i>Ses lib</i>	B	np	np	( <i>E</i> )-kariofilen 20,4; spatulenol 11,9; kariofilenoksid 11,5; euazaron 10,7; $\delta$ -kadinen 9,2
<i>Ses lib</i>	B	C. Balkan	0,22	spatulenol 7,7; bornil-acetat 5,2; $\alpha$ -bisabolol 5,9; limonen 4,8; germakren D 4,5
<i>Ses mon</i>	B	Grčka	0,076	$\alpha$ -pinen 32,3; $\beta$ -felandren 19,1; sabinen 17,0; kamfen 3,9
<i>Ses pet</i>	Š	Turska	3,4	karotol 20,7; $\gamma$ -terpinen 11,3; sabinen 9,5; germakren D 7,8
<i>Ses peu</i>	B	Srbija	0,34	$\alpha$ -pinen 69,4; $\beta$ -pinen 4,9; limonen 4,6; <i>p</i> -cimen 2,9
<i>Ses res</i>	Š	Turska	np	4 $\alpha$ -hidroksigermakra-1(10)-5-dien 21,7; $\beta$ -pinen 13,7; $\alpha$ -pinen 13,7
<i>Ses rig</i>	-	Srbija	np	$\alpha$ -pinen 53,3; limonen 10,0; germakren D 9,3
<i>Ses tor</i>	B	Italija	np	mircen 29,2; $\alpha$ -pinen 18,6; $\beta$ -pinen 13,2; limonen 10,6; akorenon 6,3
<i>Ses tor</i>	B	Turska	np	$\alpha$ -pinen 35,9; sabinen 8,8; ( <i>E</i> )-seskvilavandulol 8,4; $\beta$ -pinen 7,0
<i>Ses tor</i>	Š	Turska	np	( <i>E</i> )-seskvilavandulol 37,0; sabinen 19,7; $\alpha$ -pinen 13,5; $\beta$ -felandren 7,8
<i>Sil sil</i>	L	Austrija	0,2	$\alpha$ -pinen 29,8; miristicin 27,2; (Z)- $\beta$ -ocimen 12,4; ( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimen 12,3; 2,4,5-trimetilbenzaldehyd 4,1
<i>Sil sil</i>	Š	Austrija	0,2-0,3	miristin 60,0; ( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimen 13,0-22,0; (Z)- $\beta$ -ocimen 3,4-8,7
<i>Smy olu</i>	K	Italija	0,03	$\beta$ -felandren 34,4; furanodien 16,9; kurceren 12,1; germakron 8,1
<i>Smy olu</i>	S	Italija	0,01	$\beta$ -felandren 17,0; germakren B 14,2; mircen 13,1; furanodien 7,5
<i>Smy olu</i>	L	Italija	0,01	furanodien 19,3; mircen 14,4; kurceren 13,2; ( <i>E</i> )-kariofilen 12,5
<i>Tha gar</i>	K	Italija	np	elemicin 54,0-73,0; latifolon 20,0-32,0

**Tabela 3.2.** (nastavak)

Biljna vrsta	Deo biljke	Poreklo	Prinos %	Glavni sastojci ulja
<i>Smy per</i>	K	Italija	0,01	$\alpha$ -pinen 39,3; aromadendren 13,3; $\alpha$ -terpinil-valerat 10,0; $\beta$ -pinen 8,3; $\gamma$ -muurolen 8,3; butilftalid 5,6
<i>Smy per</i>	B	Italija	0,02	aromadendren 49,9; neril-izovalerat 10,5; $\gamma$ -muurolen 4,9; $\alpha$ -santalen 4,9; germakron 3,9; $\alpha$ -terpinil-valerat 3,9
<i>Smy per</i>	Š	Turska	0,65	germakren D 45,2; 1 $\beta$ -acetoksifuranoeudesm-3-en 9,0; 1 $\beta$ -acetoksifuranoeudesm-4(15)-en 4,7; germakron 4,5; $\beta$ -pinen 4,4
<i>Tha max</i>	K	np	np	elemicin 24,0-29,7; kariofilenoksid 13,2-20,7; spatulenol 11,8-20,3; humulen-oksid 3,1-17,7; bornil-acetat 6,3-6,8
<i>Tha vil</i>	K	np	np	$\beta$ -oploopenon 50,8; spatulenol 15,3; $\beta$ -kopaen-4- $\alpha$ -ol 7,5; cedril-acetat 6,9
<i>Tha vil</i>	K	np	np	elemicin 22,4; 2,5-dimetoksi- <i>p</i> -cimen 11,9; spatulenol 11,5
<i>Tha vil</i>	K	np	np	( <i>E</i> )-kariofilen 13,8; farnezil-acetat 13,0; $\alpha$ -jonon 12,1
<i>Tha vil</i>	K	np	np	gvajol 35,0; elemicin 10,0-25,0
<i>Tha vil</i>	K	np	np	farnezil-acetat 24,3; ( <i>E</i> )-kariofilen 21,2; kariofilenoksid 18,6
<i>Tha vil</i>	Š	Portugal	np	geranil-acetat 78,6-92,2; limonen 8,3; linalool 5,1
<i>Tor apu</i>	B	Italija	np	( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimen 17,3; $\alpha$ -humulen 11,4; oktil-oktanoat 8,8
<i>Tor apu</i>	Š	Turska	np	oktil-heksanoat 44,0; oktil-oktanoat 34,5
<i>Tor apu</i>	Š	Turska	np	$\alpha$ -humulen 28,7; oktil-heksanoat 11,7; farnezil aceton 9,8
<i>Tor arv</i>	L	Egipat	0,26	( <i>E</i> )- $\beta$ -farnezen 32,5; ( <i>E,E</i> )- $\alpha$ -farnezen 13,6; $\beta$ -kubeben 12,8; $\beta$ -kariofilen 8,4
<i>Tor hass</i>	Š	Turska	np	oktil-heksanoat 72,7; oktil-oktanoat 12,7; oktanol 3,3
<i>Tor jap</i>	B	C. Balkan	0,1	4-hidroksigermakren D 12,3; kariofilenoksid 8,3; $\tau$ -muurolol 6,1; $\delta$ -kadinen 5,6; germakren D 4,7; germakren B 4,2; perilaldehid
<i>Tor ket</i>	Š	Turska	np	oktil-oktanoat 28,9; oktanol 11,6; bornil-acetat 7,2
<i>Tor lan</i>	Š	Turska	np	oktil-heksanoat 58,8; oktanol 21,5
<i>Tor max</i>	B	C. Balkan	0,1	oktil-2-metilbutanoat 25,0; oktil-izobutanoat 16,1; humulen epoksid II 5,2; $\alpha$ -humulen 3,9
<i>Tor pes</i>	Š	Turska	np	oktil-heksanoat 56,0; oktil-oktanoat 15,7; oktanol 14,5; heksadekanska kiselina 6,0
<i>Tor pus</i>	Š	Turska	np	oktil-heksanoat 73,2
<i>Tor pus</i>	Š	Turska	np	oktil-heksanoat 68,8; oktil-2-metilbutirat 17,8; oktanol 4,2
<i>Tor tra</i>	Š	Turska	np	oktil-oktanoat 79,9; oktanol 11,0; oktanska kiselina 2,9
<i>Tri dal</i>	B	Italija	0,16	miristicin 32,7; limonen 19,4; karvakrolmetil-etar 18,7; ( <i>E</i> )-kariofilen 13,7
<i>Tri gla</i>	B	Srbija	0,8	germakren D 14,7; spatulenol 12,5; biciklogermakren 5,4; ( <i>E,E</i> )-2,4-nonadienal 4,3; globulol 4,1
<i>Tri gla</i>	Š	Turska	1,1	germakren D 19,6; $\delta$ -kadinen 13,2; $\alpha$ -pinen 13,0; germakren D-4-ol 6,4; $\alpha$ -kadinol 5,6
<i>Zos abs</i>	Š	Turska	0,9	oktil-acetat 38,4; oktil-heksanoat 31,9; oktanol 12,9; oktil-oktanoat 6,0

B-cela biljka, C-cvet, K-koren, L-list, N-nadzemni delovi biljke, S-stabljika, Š-šizokarpi, C. Balkan-Centralni Balkan, Kan. Os.-Kanarska ostrva, np-ne postoji podatak

*Aeg pod-Aegopodium podagraria* L., *Ang a-Angelica archangelica* L., *Ang a ar-Angelica archangelica* L. ssp. *archangelica*, *Ang a li-Angelica archangelica* L. ssp. *litoralis* (Fries) Thell., *Ang a no-Angelica archangelica* L. ssp. *norvegica* (Rupr.) Nordh., *Ang het-Angelica heterocarpa* Lloyd, *Ang s el-Angelica sylvestris* L. var. *elatior*, *Ang s sy-Angelica sylvestris* L. var. *sylvestris*, *Ant cer-Anthriscus cerefolium* (L.) Hoffm., *Ant syl-Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm., *Api nod-Apium nodiflorum* (L.) Lag., *Ath sic-Athamanta sicula* L., *Ath t ha-Athamanta turbith* (L.) Brot. ssp. *haynaldii* (Borbás & Uechtr.) Tutin, *Ath t hu-Athamanta turbith* (L.) Brot. ssp. *hungarica* (Borbás) Tutin, *Ath mac-Athamanta macedonica* (L.) Sprengel, *Ber ere-Berula erecta* (Hudson) Coville ssp. *erecta*, *Bif rad-Bifora radians* M. Bieb., *Bup fru-Bupleurum fruticosum* L., *Bup gib-Bupleurum gibraltarium* Lam., *Bup pra-Bupleurum praealtum* L., *Bup rig-Bupleurum rigidum* L. ssp. *paniculatum* (Brot.) H. Wolff, *Bup sib-Bupleurum sibthorpiatum* S. S. var. *diversifolium* (Roch) Hay, *Cau pla-Caucalis platycarpus* L., *Cha aks-Chaerophyllum aksekiense* A. Duran et H. Duman, *Cha aro-Chaerophyllum aromaticum* L., *Cha aur-Chaerophyllum aureum* L., *Cha byz-Chaerophyllum byzantinum* Boiss., *Cha col-Chaerophyllum coloratum* L., *Cha hir-Chaerophyllum hirsutum* L., *Cha lib-Chaerophyllum libanoticum* Boiss. et Kotchy, *Cha tem-Chaerophyllum temulum* L., *Cni sia-Cnidium sialifolium* (Jacq) Simk. ssp. *orientale* (Boiss) Tut., *Con mac-Conium maculatum* L., *Con cap-Conopodium capillifolium* (Guss.) Boiss., *Cri mar-Crithmum maritimum* L., *Dau c ma-Daucus carota* L. ssp. *maritimus* (Lam.) Batt., *Dau c ca-Daucus carota* L. ssp. *carota*, *Dau c gu-Daucus carota* L. ssp. *gummifer* Hooker fil., *Dau c ha-Daucus carota* L. ssp. *halophilus*, *Dau c mx-Daucus carota* L. ssp. *maximus* (Desf.) Pall., *Dau cri-Daucus crinitus* Desf., *Dau gin-Daucus gingidium* L. ssp. *gingidium*, *Dau gla-Daucus glaber* Forssk, *Dau lit-Daucus littoralis* Sibth. et Sm., *Dau reb-Daucus reboudii* Coss., *Ech ten-Echinophora tenuifolia* L. ssp. *sibthorpiana* (Guss.) Tutin, *Ele asc-Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol., *Fal vul-Falcaria vulgaris* Bernh., *Fer arr-Ferula arrigoni* Bocchieri, *Fer com-Ferula communis* L., *Fer ela-Ferula elaeochytris* Korovin, *Fer gla-Ferula communis* L. ssp. *glauca* (L.) Rouy & Camus, *Fer ori-Ferula orientalis* L., *Fer szo-Ferula szowitsiana* DC, *Fer cam-Ferulago campestris* (Besser) Grecescu, *Fer isa-Ferulago isaurica* Pesmen, *Fer lon-Ferulago longistylis* Boiss., *Fer nod-Ferulago nodosa* (L.) Boiss., *Fer syl-Ferulago sylvatica* (Besser) Reichenb., *Fer syr-Ferulago syriaca* Boiss., *Fer thy-Ferulago thyriflora* (Sibth. & Sm.) Koch, *Her sp t-H. sphondylium* L. ssp. *ternatum* (Velen.) Brummit, *Her cre-Heracleum crenatifolium* Boiss., *Her pap-Heracleum paphlagonicum* Czeczott, *Her pla-Heracleum platytaenium* Boiss., *Her sph-Heracleum sphondylium* L. ssp. *pyrenaicum* Lam., *Kun sic-Kundmannia sicula* (L.) DC, *Las tri-Laser trilobum* (L.) Brokh., *Las zer-Laserpitium siler* L. ssp. *zernyi* (Hayek) Tutin, *Las gal-Laserpitium gallicum* L., *Las gar-Laserpitium siler* L. ssp. *garganicum* (Ten.) Arcangeli, *Las lat-Laserpitium latifolium* L., *Las pet-Laserpitium petrophilum* Boiss. et Heldr., *Las sil-Laserpitium siler* L., *Meu ath-Meum athamanticum* Jacq., *Myr odo-Myrrhis odorata* (L.) Scop., *Myr nod-Myrrhoides nodosa* (L.) Cannon = *Physocaulis nodosus* (L.) W. D. J. Koch, *Oen cro-Oenanthe crocata* L., *Oen div-Oenanthe divaricata* (R. Br.) Mabb., *Oen pim-Oenanthe pimpinelloides* L., *Orl gra-Orlaya grandiflora* (L.) Hoffm., *Pas hir-Pastinaca hirsuta* Pancic, *Pas sat-Pastinaca sativa* L., *Peu als-Peucedanum alsaticum* L., *Peu aus-Peucedanum austriacum* (Jacq.) Koch, *Peu cer-Peucedanum cervaria* (L.) Lapeyr., *Peu long-Peucedanum longifolium* W. et K., *Peu off-Peucedanum officinale* L., *Peu ore-Peucedanum oreoselinum* (L.) Moench, *Peu ost-Peucedanum osthrutium* (L.) W. D. J. Koch, *Peu pan-Peucedanum paniculatum* Loisel, *Peu ver-Peucedanum verticillare* (L.) Koch ex DC., *Phy cor-Physospermum cornubiense* (L.) DC, *Pim ani-Pimpinella anisetum* Boiss. & Ball., *Pim cum-Pimpinella cumbrae* Link, *Pim fla-Pimpinella flabellifolia* (Boiss.) Benth. ex Drude, *Pim sax-Pimpinella saxifraga* L., *Pim ser-Pimpinella serbica* (Vis.) Bentham & Hooker, *Ple aus-Pleurospermum austriacum* (L.) Hoffm., *Por ram-Portenschlagiella ramosissima* Tutin, *Pra den-Prangos denticulata* Fisch et Mey., *Pra hey-Prangos heyniae* H. Duman et F. M. Watson, *Pra uec-Prangos uechtritzii* Boiss. et Hauskn., *Rid seg-Ridolfia segetum* (L.) Moris, *Sca ibe-Scandix iberica* Bieb., *Ses and-Seseli andronakii* Woron., *Ses ann-Seseli annuum* L., *Ses cam-Seseli campestre* Besser, *Ses lib-Seseli libanotis* (L.) Koch, *Ses mon-Seseli montanum* L., *Ses pet-Seseli petraeum* M. Bieb., *Ses peu-Seseli peucedanoides* (Bieb.) Kos.-Pol., *Ses res-Seseli resinosum* Freyn et Sint., *Ses rig-Seseli rigidum* Waldst. & Kit., *Ses tor-Seseli tortuosum* L., *Sil sil-Silaum silaus* (L.) Schinz & Thell., *Smy olu-Smyrniium olusatrum* L., *Smy per-Smyrniium perfoliatum* L., *Tha gar-Thapsia garganica* L., *Tha max-Thapsia maxima* Miller, *Tha vil-Thapsia villosa* L., *Tor apu-Tordylium apulum* L., *Tor has-Tordylium hasselquistiae* DC, *Tor ket-Tordylium ketenoglu* H. Duman et A. Duran, *Tor lan-Tordylium lanatum* (Boiss.) Boiss., *Tor max-Tordylium maximum* L., *Tor pes-Tordylium pestalozzae* Boiss., *Tor pus-Tordylium pustulosum* Boiss., *Tor tra-Tordylium trachycarpum* (Boiss.) Al-Eisawi et Jury, *Tor arv-Torilis arvensis* (Huds.) Link, *Tor jap-Torilis japonica* (Houtt.) DC, *Tri dal-Trinia dalechampii* (Ten.) Janchen, *Tri gla-Trinia glauca* (L.) Dumort, *Zos abs-Zosima absinthifolia* (Vent.) Link

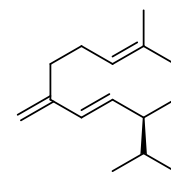
2002). Fenilpropanoidi nisu sastojci isključivo etarskih ulja korena već se mogu naći i u nadzemnim delovima (*D. carota* ssp. *halophilus*, *Trinia dalechampii*, *Pimpinella serbica*) (Tavares *et al*, 2008; Epifano *et al*, 2009; Kapetanios *et al*, 2008). U biljnoj vrsti *Athamanta sicula* sadržaj apiola (0-87,8%) i miristicina (4,1-97,6%), zavisi od staništa, što je još jedan od primera uticaja ekoloških faktora na sastav ulja (Camarda *et al*, 2008).

Seskviterpeni su najmanje zastupljena klasa jedinjenja ulja, a među njima je germakren D najčešće identifikovan sastojak. Etarska ulja iz biljnih vrsta roda *Smyrniium* karakterišu se prisustvom seskviterpenskih jedinjenja furanoidnog tipa. Tako su u *S. olusatrum* prisutni kurceren i furanodien (furanoelemen), dok biljnu vrstu *S. perfoliatum* karakteriše prisustvo 1 $\beta$ -acetoksifurano-3-eudezmena i 1 $\beta$ -acetoksifurano-4(15)-eudezmena (tabela 3.2).

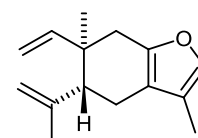
Od svih biljnih vrsta porodice Apiaceae navedenih u tabeli 3.2, one iz rodova *Heracleum* i *Tordylium* karakterišu se oktil-estrima, najviše acetatima (do 93,7% u rodu *Heracleum*) ili heksanoatima (do 79,9% u rodu *Tordylium*).

### 3.3.1. Hemijski sastav etarskih ulja biljne vrste *D. carota*

U zavisnosti od faze fenološkog razvića u kome je biljni materijal ove vrste uzorkovan, kao i od toga iz kog biljnog organa je ulje izolovano, a uzimajući u obzir i eko-geografske faktore, može se uočiti velika varijabilnost u sadržaju i sastavu ulja ove vrste. U listovima generalno je značajno manji sadržaj ulja u odnosu na šizokarpe i kreće se od 0,04 do 0,3% (Khanna, 1989; Mojab *et al*, 2008; Gonny *et al*, 2004; Saad *et al*, 1995; Flamini *et al*, 2007; Chizzola, 2010b). Gonny i saradnici (2004) su ispitivali ovu biljnu vrstu kroz njen ontogenetski razvoj i uočili da je najmanji sadržaj ulja u listu i stablu u toku (0,05%) i posle cvetanja (0,08%). U celom nadzemnom delu biljke pre cvetanja je, takođe, nizak sadržaj (0,09%), dok je najveći sadržaj ulja u fazi posle cvetanja u štitu (0,6%). Maxia i saradnici (2009) ispitivali su etarsko ulje iz štitova samonikle *D. carota* u kojima je sadržaj ulja u periodu cvetanja bio 0,7%, dok je u poslednjoj fazi (sa zrelim šizokarpima) iznosio 1,0%. U štitovima tri različita kultivara iz Poljske, količina ulja bila je od 0,15 do 0,51% (Kula *et al*, 2006). Najveći sadržaj etarskih ulja uočeni su u uzorcima komercijalnih plodova (2,2-7,8%), dok je u šizokarpima samoniklih biljaka on znatno manji (0,45-1,6%) (Imamu *et al*, 2007; Özcan i Chalchat, 2007; Ashraf *et al*, 1979; Kameoka *et al*, 1989; Chizzola, 2010b). Prinosi ulja za različite podvrste ove biljne vrste se međusobno razlikuju. Tako je kod podvrste *maximus*, sadržaj ulja u šizokarpima, listovima i stablu: 2,6%; 0,2% i 0,1%, dok je kod podvrste *hispanicus* ta vrednost 0,04% u listovima, a 1,12% u šizokarpima (Saad *et al*, 1995; Flamini *et al*, 2007). Štit podvrste *halophilus* u cvetu sadrži 0,4% ulja, dok je prinos ulja u štitu sa zrelim plodovima 1,0% (Tavares *et al*, 2008).



Germakren D

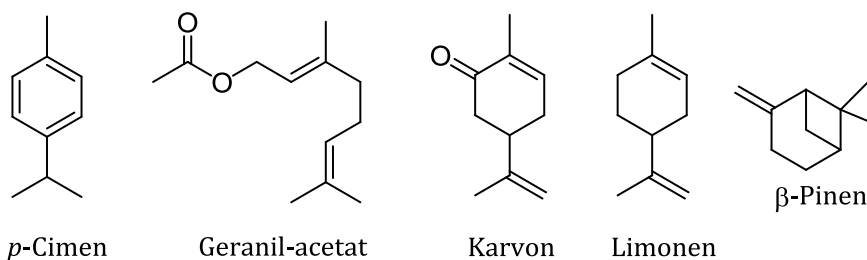


Kurceren

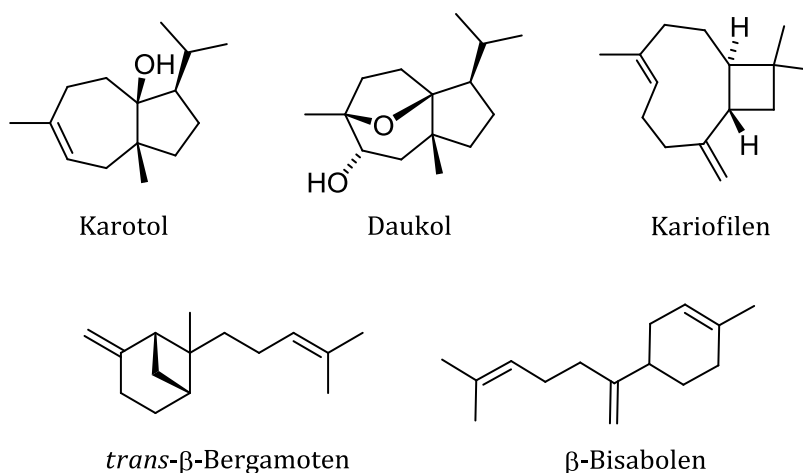
### 3.3.1.1. Hemijski sastav etarskog ulja šizokarpa biljne vrste *D. carota*

Ovo etarsko ulje od davnina nalazi širok spektar primene (u ishrani, etnofarmakologiji i kozmetici), pa je zbog toga u više navrata ispitivano. Postoji veći broj revijalnih radova na ovu temu (Lawrence 1980, 1988, 1999, 2006). Najčešće detektovani sastojci bili su monoterpeni:  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, *p*-cimen, geranil-acetat, karvon i limonen kao i seskviterpeni: daukol, kariofilen, *trans*- $\beta$ -bergamoten, karotol i bisabolen (slika 3.8; Lawrence, 1980). Pigulevskii i saradnici (1965) su naveli monoterpen geraniol kao dominantnu komponentu (24-50%) i male količine geranil-acetata kao sastojke etarskog ulja šizokarpa samonikle biljne vrste sa jedne od ispitivanih lokacija. U uljima sa drugog područja na većem broju lokacija detektovali su u najvećim količinama geranil-acetat (47-52%). Njihovi rezultati mogu poslužiti kao primer uticaja ekoloških faktora na sastav ulja.

Monoterpeni:



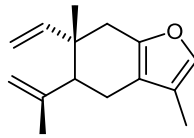
Seskviterpeni:



**Slika 3.8.** Strukture terpena identifikovanih u etarskim uljima biljne vrste *D. carota*

Uticaj sredine, tj. ekoloških faktora na sastav etarskog ulja može se oslikati poređenjem uzoraka komercijalnog porekla i onih koji potiču od samoniklih biljaka, a odnosi se na varijabilnost pojedinih terpena koji predstavljaju dominantne komponente: karotola, daukola, geranil-acetata, kariofilen-oksida,  $\alpha$ -pinena i sabinena. Naime, Nigam i Radhakrishnan (1963) su identifikovali karotol (70,0%) i daukol (11,3%) kao glavne sastojke plodova komercijalnog uzorka, a do vrlo sličnih rezultata došli su Talwar i saradnici (1963), u čijem uzorku je bilo 50,7% karotola i 7,1% daukola. Međutim, Stahl (1964) je ispitujući više uzoraka kultivisane forme ove biljne vrste uočio velike varijacije u njihovom sastavu: karotol (9,0-63,0%), geranil-acetat (0-48,0%) i kariofilen-oksid (2,5-20,0%). Ovako velike razlike u sadržaju karotola i geranil-acetata uočene su i u uzorcima samoniklih biljnih vrsta sa različitim lokacija, čiji je udeo varirao od 0 do 80% (Pigulevskii *et al*, 1965). Daljim istraživanjem, i komparacijom kultivisanih i samoniklih biljnih vrsta, pored varijacije u sadržaju karotola i geranil-acetata, uočena je i varijacija u sadržaju  $\alpha$ -pinena i sabinena. Na primer, Benecke i saradnici (1987) koji su poredili jedanaest uzoraka (7 kultivisanih) sa područja Nemačke, uočili su veliku razliku u sadržaju geranil-acetata (0,2-31,6%), karotola (5,9-52,6%),  $\alpha$ -pinena (0,7-16,4%) i sabinena (1,2-27,8%). Do sličnih rezultata je došao i Lawrence (1988) koji je ispitivanjem većeg broja samoniklih i kultivisanih biljnih vrsta uočio varijacije istih monoterpena,  $\alpha$ -pinena (1,0-29,0%) i sabinena (0,4-60,4%), kao i geranil-acetata (0,3-52,8%) i karotola (tr-54,9%). Na osnovu pomenutih rezultata istraživanja, sumiranih u tabeli 3.3 (sadržaj glavnih sastojaka ( $\geq 5\%$ ) etarskih ulja zrelih i nezrelih šizokarpa), koja su obuhvatala veliki broj uzoraka različitog porekla (samonikle, kultivisane i komercijalne uzorke) sa različitih lokacija, a uzimajući u obzir odnos glavnih komponenti, može se zaključiti da biljnu vrstu *D. carota* karakterišu tri hemotaksonomska markera – sabinen/ $\alpha$ -pinen, karotol i geranil-acetat.

Sabinen je često praćen velikim količinama  $\alpha$ -pinena (i obrnuto) u ovim uljima pa se takva ulja svrstavaju u sabinen/ $\alpha$ -pinen hemotip. Zastupljenost sabinena je u uzorcima komercijalnih biljaka veća u odnosu na uzorke samoniklih. Etarsko ulje šizokarpa biljne vrste *Daucus gingidium* L. ssp. *gingidium* sadrži 60,6% sabinena. Taksonomska klasifikacija ove biljne vrste jedan je od primera gde je morfološki zasnovana klasifikacija naišla na problem. Naime, neki autori je smatraju zasebnom vrstom roda *Daucus*, a drugi podvrstom *hispanicus* (Gouan) vrste *carota* (Flamini *et al*, 2007). U ovakvim slučajevima hemijski profil biljne vrste značajno pomaže kod taksonomske sistematizacije. Imajući u vidu to da je sabinen, prisutan samo još u jednoj biljnoj vrsti roda *Daucus*, *D. reboudii* Coss (21,2%), i to da je nađen u svim ispitanim uzorcima vrste *D. carota*, njegova količina i prisustvo u vrsti *Daucus gingidium* L. ssp. *gingidium* sugerišu da ona, možda, ipak jeste samo podvrsta *D. carota*, a ne zasebna vrsta roda *Daucus*.



Furanoelemen

**Tabela 3.3.** Glavni sastojci etarskih ulja šizokarpa biljne vrste *D. carota*

Sastojci	%	Reference
Azaronaldehid	6,1	Kameoka <i>et al.</i> (1989)
Bornil-acetat	5,6	Ashraf <i>et al.</i> (1979)
Daucen	8,7	Özcan i Chalchat (2007)
Daukol	8,8-24,5	Ashraf <i>et al.</i> (1979), El-Gendi (1990), Hilal <i>et al.</i> (1977)
Elemicin	5,2-31,0	Tavares <i>et al.</i> (2008), Gonny <i>et al.</i> (2004), Maxia <i>et al.</i> (2009)
Geranil-acetat	6,6-65,0	Perineau <i>et al.</i> (1991), Seifert <i>et al.</i> (1968), Cu <i>et al.</i> (1989), Staniszewska <i>et al.</i> (2005), Maxia <i>et al.</i> (2009), Kilbarda <i>et al.</i> (1996), Ashraf <i>et al.</i> (1979), Srinivas (1986), Chizzola (2010b)
Kalaren	5,8	Raina <i>et al.</i> (2004)
Kamfen	8,1	Ashraf <i>et al.</i> (1979)
Kariofilen-oksidi	7,7	Soković <i>et al.</i> (2009)
Karotol	5,2-77,5	Özcan i Chalchat (2007), Raina <i>et al.</i> (2004), Maxia <i>et al.</i> (2009), Misiak <i>et al.</i> (2004), Seifert <i>et al.</i> (1968), Srinivas (1986), Hilal <i>et al.</i> (1977), Staniszewska <i>et al.</i> (2005), Ashraf <i>et al.</i> (1979), Ashraf <i>et al.</i> (1977), Toulemonde <i>et al.</i> (1987), Cu <i>et al.</i> (1989), El-Gendi (1990), Perineau <i>et al.</i> (1991), Kilbarda <i>et al.</i> (1996), Soković <i>et al.</i> (2009)
Limonen	5,3-11,8	Tavares <i>et al.</i> (2008), Staniszewska i Kula (2001), Kula <i>et al.</i> (2006)
Linalool	6,0-6,8	Seifert <i>et al.</i> (1968), Srinivas (1986), Cu <i>et al.</i> (1989)
Mircen	5,6-24,0	Kula <i>et al.</i> (2006), Staniszewska i Kula (2001), Góra <i>et al.</i> (2002), Soković <i>et al.</i> (2009), Gonny <i>et al.</i> (2004)
<i>p</i> -Cimen	5,6	Staniszewska <i>et al.</i> (2005)
Sabinen	5,1-60,6	Soković <i>et al.</i> (2009), Gonny <i>et al.</i> (2004), Flamini <i>et al.</i> (2007), Toulemonde <i>et al.</i> (1987), Seifert <i>et al.</i> (1968), Tavares <i>et al.</i> (2008), Góra <i>et al.</i> (2002), Perineau <i>et al.</i> (1991), Staniszewska i Kula (2001), Chizzola (2010b), Mockute i Nivinskiene (2004), Staniszewska <i>et al.</i> (2005)
Terpinen-4-ol	4,8-11,0	Jabrane <i>et al.</i> (2009), Flamini <i>et al.</i> (2007), Staniszewska i Kula (2001), Mockute i Nivinskiene (2004)
Terpinil-acetat	18,9	Ashraf <i>et al.</i> (1979)
Tetrakozan	5,8	Raina <i>et al.</i> (2004)



**Tabela 3.3.** (nastavak)

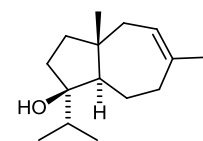
Sastojci	%	Reference
<i>cis</i> - $\alpha$ -Bergamoten	5,5	Imamu <i>et al.</i> (2007)
$\alpha$ -Amorfen	7,6	Soković <i>et al.</i> (2009)
$\alpha$ -Azaron	8,8-40,3	Imamu <i>et al.</i> (2007), Kameoka <i>et al.</i> (1989), Saad <i>et al.</i> (1995)
$\alpha$ -Ilangen	5,2	Soković <i>et al.</i> (2009)
$\alpha$ -Muurolen	8,23-11,0	Soković <i>et al.</i> (2009)
$\alpha$ -Pinen	9,0-30,4	Gonny <i>et al.</i> (2004), Flamini <i>et al.</i> (2007), Cu <i>et al.</i> (1989), Tavares <i>et al.</i> (2008), Staniszevska i Kula (2001), Staniszevska <i>et al.</i> (2005), Maxia <i>et al.</i> (2009), Mockute i Nivinskiene (2004), Toulemonde <i>et al.</i> (1987), Kilbarda <i>et al.</i> (1996), Soković <i>et al.</i> (2009), Góra <i>et al.</i> (2002), Chizzola (2010b)
$\beta$ -Azaron	17,6	Saad <i>et al.</i> (1995)
$\beta$ -Bisabolen	5,5-80,5	El-Gendi (1990), Imamu <i>et al.</i> (2007), Ashraf <i>et al.</i> (1977), Ashraf <i>et al.</i> (1979), Kilbarda <i>et al.</i> (1996), Maxia <i>et al.</i> (2009), Gonny <i>et al.</i> (2004), Kameoka <i>et al.</i> (1989), Saad <i>et al.</i> (1995)
$\beta$ -Bisabolol	8,4	Raina <i>et al.</i> (2004)
$\beta$ -Gurjunen	5,8	Raina <i>et al.</i> (2004), Lawrence (2006)
$\beta$ -Kariofilen	5,3-13,2	Staniszevska <i>et al.</i> (2005), Kula <i>et al.</i> (2006), Misiak <i>et al.</i> (2004), Soković <i>et al.</i> (2009), Kilbarda <i>et al.</i> (1996)
$\beta$ -Pinen	5,1-13,1	Srinivas (1986), Tavares <i>et al.</i> (2008), Chizzola (2010b)
$\gamma$ -Terpinen	6,0	Mockute i Nivinskiene (2004)
( <i>E</i> )-Metilzoeugenol	6,9-41,6	Gonny <i>et al.</i> (2004), Tavares <i>et al.</i> (2008), Saad <i>et al.</i> (1995), Maxia <i>et al.</i> (2009)
( <i>Z,Z</i> )- $\alpha$ -Farnezen	5,9	Özcan i Chalchat (2007)
11- $\alpha$ -( <i>H</i> )-Himahal-4-en-1 $\beta$ -ol	9,0-21,6	Maxia <i>et al.</i> (2009)

Iz tabele se može videti da je veliki broj uzoraka kao glavni sastojak imao karotol, koji je, kao što je pomenuto, u uljima komercijalnih uzoraka znatno zastupljeniji nego u uljima samoniklih biljaka. Istraživanje koje su sproveli Misiak i saradnici (2006) pokazalo je da mnogi sastojci šargarepe imaju alelopatski efekat, a najviše karotol i daukol, što donekle može objasniti veliki sadržaj karotola u komercijalnim uzorcima. Uzorci šizokarpa koji kao glavni sastojak imaju karotol uglavnom su siromašni geranil-acetatom i obrnuto, pa se samim tim ova dva terpena mogu smatrati bitnim markerima za razlikovanje samoniklih i kultivisanih biljnih vrsta *D. carota*. Ova hemijska razlika može biti od pomoći pri određivanju porekla šizokarpa samo na osnovu sastava etarskog ulja.

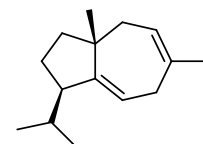
Pored pomenutih terpena, u velikom broju uzoraka nalazi se i  $\beta$ -bisabolen (tabela 3.3). On je glavni sastojak šizokarpa vrste *D. carota* sa područja Uzbekistana (komercijalni uzorak – 80,5%) (Imamu *et al*, 2007) i Sardinije (samonikla biljka – 51,0%) (Maxia *et al*, 2009), kao i u podvrsti *D. carota* ssp. *maximus* (Desf.) Ball – 34,7% (Saad *et al*, 1995). Međutim, treba primetiti da je postojanje pojedinih hemotipova kod vrste *carota*, do sada određivano samo na osnovu sadržaja nekolicine terpena ( $\alpha$ -pinena, sabinena, karotola ili geranil-acetata), a da se  $\beta$ -bisabolen, iako je detektovan u značajnim količinama u ulju šizokarpa, nije koristio u te svrhe (Gonny *et al*, 2004; Ashraf *et al*, 1979). To svakako otvara mogućnost za razmatranje postojanja novog hemotipa vrste *D. carota*.

U odnosu na ukupan broj taksona koji pripadaju rodu *Daucus*, mali broj njih je endemičan. Jedna od njih je podvrsta *D. carota* ssp. *halophilus*, endem za jugozapadnu Evropu (Portugal). Ona se razlikuje od svih ostalih podvrsta po sadržaju velike količine fenilpropanoida – elemicina (31%) u ulju šizokarpa (Tavaras *et al*, 2008). Praćene su varijacije hemijskog sastava ove biljne vrste u toku ontogeneze, a najveća promena je uočljiva za sadržaj elemicina, koji je u porastu tokom razvića, pa je samim tim najveća količina ovog fenilpropanoida u štiti sa zrelim plodovima. Kako su fenilpropanoidi nađeni samo u uljima taksona sa mediteranskog područja i Portugala, elemicin se može smatrati hemotaksonomskim markerom *D. carota* ssp. *halophilus*.

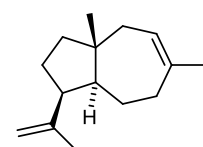
Seskviterpeni koji nisu prisutni u velikoj količini u uljima šizokarpa, a ipak karakteristični za biljnu vrstu *D. carota* jesu: *trans*-dauka-8-en-4 $\beta$ -ol, *trans*-dauka-8,11-dien, dauka-5,8-dien, dauka-5,8- $\beta$ -oksid, kao i akora-4,9-dien, akora-4,10-dien, (*E*)- $\beta$ -10,11-dihidro-10,11-epoksifarnezen (Mazzoni *et al*, 1999; Dhillon *et al*, 1989).



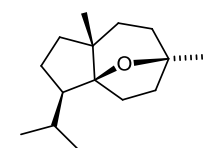
*trans*-Dauka-8-en-4 $\beta$ -ol



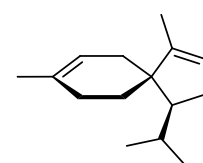
Dauka-5,8-dien



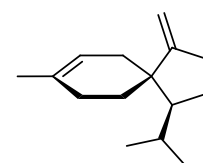
*trans*-Dauka-8,11-dien



dauka-5,8- $\beta$ -oksid



Akora-4,9-dien



Akora-4,10-dien

### 3.3.1.2. Hemijski sastav etarskih ulja nadzemnih delova i korena biljne vrste *D. carota*

Najveći broj istraživanja koja se tiču biljne vrste *D. carota* bave se njenim šizokarpima. Međutim, postoje podaci o hemijskom sastavu cvetnih štitova, listova, stabljika i korena. Dominantne klase jedinjenja u etarskim uljima pomenutih organa jesu terpeni i fenilpropanoidi.

Kao i u slučaju šizokarpa, postoje varijacije hemijskog profila etarskih ulja, a koje su u vezi sa ekološkim faktorima (lokalitetom) i poreklom uzorka (kultivari, komercijalne ili samonikle vrste). U nadzemnim delovima samonikle biljke najviše su zastupljeni monoterpeni (72,0-96,1%), pretežno ugljovodonici (72,0-85,6%), dok je sadržaj seskviterpena značajno manji (2,2-10,5%) (Staniszewska *et al*, 2005; Góra *et al*, 2002; Staniszewska i Kula, 2001). Istraživanje koje su sproveli Maxia i saradnici (2009) na uzorcima cvetova samonikle šargarepe sa područja Portugala i Sardinije (atlantske i mediteranske obale) pokazalo je, u prvom slučaju, najveći udeo monoterpena u uljima (ugljovodonika – 49,5% i oksigenovanih – 24,2%), a u drugom dominantno prisustvo seskviterpena (oksigenovanih – 48,5% i ugljovodonika – 30,0%). Primer varijacije sastava u zavisnosti od porekla uzraka mogu biti kultivari iz Poljske, gde u jednom kultivaru dominiraju ugljovodonični monoterpeni (66-85%) (Kula *et al*, 2006), a u drugom kultivaru oksigenovani seskviterpeni (44,0-51,0%) (Staniszewska *et al*, 2005). Takođe, u etarskom ulju nadzemnog dela komercijalne biljne vrste sa Korzike dominiraju fenilpropanoidi – 45,9%, praćeni ugljovodoničnim monoterpenima – 38,6%, što ga bitno razlikuje od gore pomenutih uzoraka nadzemnih delova samoniklih biljaka i kultivara (Gonny *et al*, 2004).

Etarsko ulje koje je izolovano samo iz listova ove vrste sa područja Indije, razlikuje se od ostalih po tome što su monoterpeni (30,0%), seskviterpeni (27,8%) i fenilpropanoidi (26,4%) skoro jednako zastupljeni u njemu (Mojab *et al*, 2008).

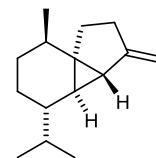
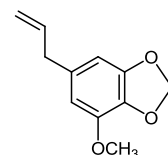
Hemijski polimorfizam, osim što se može uočiti kod biljaka sa različitih lokaliteta, porekla, kao i u različitim organima iste vrste, često je jasno izražen i kod morfološki determinisanih podvrsta. U slučaju podvrste *D. carota* ssp. *maximus* fenilpropanoidi su potpuno odsutni iz listova i stabljike, dok su u šizokarpima najdominantnija klasa jedinjenja (56,8%), praćena ugljovodoničnim seskviterpenima (40,8%). U ostalim nadzemnim delovima biljke dominiraju oksigenovani seskviterpeni (listovi – 51,2% i stablo – 80,0%). Monoterpeni su u svim uzorcima veoma malo prisutni (Saad *et al*, 1995). Za razliku od pomenute biljne vrste, ugljovodonični monoterpeni čine glavnu klasu jedinjenja u vrstama *D. carota* ssp. *halophilus* (52,6-76,8% u cvetu) i *D. carota* ssp. *hispanicus* (66,2-87,8% u listovima). Sledeći po zastupljenosti su ugljovodonični seskviterpeni, čiji je sadržaj u ovim vrstama daleko manji u odnosu na uzorke biljne vrste *D. carota* ssp. *maximus* (Taveras *et al*. 2008; Flamini *et al*. 2007).

U tabeli 3.4. navedeni su glavni sastojci etarskih ulja izolovanih iz nadzemnih delova biljne vrste *D. carota* (list, stabljika i/ili cvet), u različitim fazama (pre cvetanja i u toku cvetanja), kao i iz korena. Sabinen i  $\alpha$ -pinen su nađeni u velikom

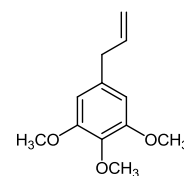
broju uzoraka. Pomenuto istraživanje Maxia i saradnika (2009) navodi da je u ulju iz štita biljke u punom cvetu sa područja Sardinije kao glavni sastojak identifikovan karotol (25%), dok je njegova količina u štitu sa zrelim šizokarpima bila neznatna (u njemu je dominirao  $\beta$ -bisabolen). Ovakva razlika u sadržaju seskviterpena dve jako bliske fenofaze upućuje na važnost ispitivanja u svim fazama pre svrstavanja dotične populacije u hemotipove, tj. korišćenja isključivo uzoraka istih karakteristika (ista fenofaza, deo biljke, sezona sakupljanja biljnog materijala) u te svrhe. Za primer može poslužiti i uzorak sa područja Portugala, u kome je u ulju iz štita u punom cvetu dominirao  $\alpha$ -pinen (37,9%), dok je u štitu sa zrelim plodovima to bio geranil-acetat. Generalno,  $\alpha$ -pinen je dominantni sastojak većeg broja uzoraka cvetnih štitova, a njegova količina u njima je znatno veća u odnosu na zrele šizokarpe ili listove. Nešto manja količina ovog monoterpena u cvetu, u odnosu na druge delove biljke, zapažena je kod podvrste *D. carota* ssp. *halophilus*: 12,6-16,0% (Tavares *et al.* 2008). Najveća količina sabinena zabeležena je u uzorku cvetova podvrste *D. carota* ssp. *maritimus*, 51,6% i *D. carota* ssp. *halophilus*, 28,3-33,8% (Jabrane *et al.* 2009; Tavares *et al.* 2008), što ih razlikuje od drugih ispitivanih podvrsta.

Postojanje hemotaksonomskih markera jasno je izraženo kod podvrste *maximus* koju karakteriše prisustvo seskviterpena preizokalamendiola (17,9-32,7%), izomera šijobunona (16,8-24,3%) i  $\beta$ -kubebena (12,7%) koji ulaze u sastav listova i stabljika, a odsutni su iz drugih biljnih vrsta ovog roda (Saad *et al.*, 1995). Osim toga, ovu biljnu vrstu karakteriše i prisustvo fenilpropanoida – (*E*)-metileugenola (37,2%) i (*Z*)-azarona (17,6%)<sup>10</sup>.

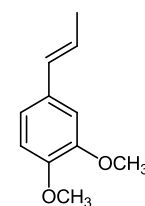
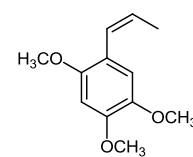
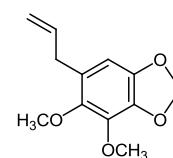
Etarsko ulje korena biljne vrste *D. carota* privlačilo je nešto manju pažnju u odnosu na ulje nadzemnih delova. Na području Srbije ono je okarakterisano monoterpenom – sabinenom (36,7%) (Soković 2009), dok je sa područja Austrije u dva navrata kao dominantni sastojak identifikovan  $\alpha$ -terpinolen (26,2 i 56,3%) (Chizzola, 2010b). Ulje korena podvrste *maximus* u velikoj količini sadrži fenilpropanoide, dilapiol (46,6%) i miristicin (29,7%).

 $\beta$ -Kubeben

Miristicin



Elemicin

(*E*)-Metil-  
izoeugenol(*Z*)-Azaron

Dilapiol

<sup>10</sup> Ovi fenilpropanoidi su poznati kao stimulatori u interakciji sa oprašivačima (*Psila rosae* F.) šargarepe, celera, peršuna i paškanata (Saad, 1995; Guerin i Stadler, 1984). Zbog količine ovih fenilpropanoida u etarskom ulju ploda podvrste *maximus*, ona se smatra jeftinim prirodnim sredstvom za poboljšanje oprašivanja šargarepe.

**Tabela 3.4.** Glavni sastojci etarskih ulja nadzemnog dela i korena biljnih vrsta *D. carota*

Sastojci	%	Reference
Dilapiol	46,6	Jabrane <i>et al.</i> (2009)
Elemicin	5,9-16,3	Tavares <i>et al.</i> (2008), Maxia <i>et al.</i> (2009), Rossi <i>et al.</i> (2007)
Geranil-acetat	15,0	Maxia <i>et al.</i> (2009)
Germakren D	6,9-14,0	Flamini <i>et al.</i> (2007), Chizzola (2010b)
Karotol	5,6-25,1	Maxia <i>et al.</i> (2009), Kula <i>et al.</i> (2006), Khanna <i>et al.</i> (1989)
Karvon	8,8	Khanna <i>et al.</i> (1989)
Limonen	5,3-12,7	Kula <i>et al.</i> (2006), Góra <i>et al.</i> (2002), Gonny <i>et al.</i> (2004), Soković <i>et al.</i> (2009), Flamini <i>et al.</i> (2007), Staniszevska i Kula (2001), Staniszevska <i>et al.</i> (2005), Tavares <i>et al.</i> (2008), Chizzola (2010b)
Linalil-acetat	8,3	Khanna <i>et al.</i> (1989)
Linalool	14,9	Khanna <i>et al.</i> (1989)
Mircen	5,2-24,0	Khanna <i>et al.</i> (1989), Mojab <i>et al.</i> (2008), Gonny <i>et al.</i> (2004), Soković <i>et al.</i> (2009), Góra <i>et al.</i> (2002), Staniszevska i Kula (2001), Staniszevska <i>et al.</i> (2005), Kula <i>et al.</i> (2006)
Miristicin	4,9-29,7	Jabrane <i>et al.</i> (2009), Chizzola (2010b)
<i>p</i> -Cimen	7,4	Chizzola (2010b)
Preizokalamendiol	17,9-32,7	Saad <i>et al.</i> (1995)
Sabinen	6,4-51,6	Jabrane <i>et al.</i> (2009), Soković <i>et al.</i> (2009), Kula <i>et al.</i> (2006), Gonny <i>et al.</i> (2004), Flamini <i>et al.</i> (2007), Khanna <i>et al.</i> (1989), Tavares <i>et al.</i> (2008), Góra <i>et al.</i> (2002), Staniszevska <i>et al.</i> (2005), Staniszevska i Kula (2001), Chizzola (2010b)
Šjobunon izomer	16,8-24,3	Saad <i>et al.</i> (1995)
Terpinen-4-ol	5,0-11,0	Jabrane <i>et al.</i> (2009), Staniszevska i Kula (2001), Staniszevska <i>et al.</i> (2005)
<i>trans</i> -Anetol	23,5	Mojab <i>et al.</i> (2008)
<i>trans</i> -Fitol	7,0	Soković <i>et al.</i> (2009)
$\alpha$ -Bisabolol	6,0	Soković <i>et al.</i> (2009)
$\alpha$ -Pinen	10,8-51,2	Gonny <i>et al.</i> (2004), Flamini <i>et al.</i> (2007), Tavares <i>et al.</i> (2008), Kula <i>et al.</i> (2006), Staniszevska & Kula (2001), Staniszevska <i>et al.</i> (2005), Maxia <i>et al.</i> (2009), Soković <i>et al.</i> (2009), Góra <i>et al.</i> (2002), Chizzola (2010b), Rossi <i>et al.</i> (2007)
$\alpha$ -Terpinil-acetat	5,3	Khanna <i>et al.</i> (1989)
$\alpha$ -Terpinolen	9,2-56,3	Chizzola (2010b)
$\beta$ -Bisabolen	17,6-21,8	Maxia <i>et al.</i> (2009), Rossi <i>et al.</i> (2007)
$\beta$ -Kariofilen	5,8	Kula <i>et al.</i> (2006)
$\beta$ -Kubeben	12,7	Saad <i>et al.</i> (1995)
$\beta$ -Pinen	5,1-8,2	Tavares <i>et al.</i> (2008), Soković <i>et al.</i> (2009), Chizzola (2010b)
( <i>E</i> )-metilzoeugenol	9,4-41,6	Gonny <i>et al.</i> (2004), Tavares <i>et al.</i> (2008), Rossi <i>et al.</i> (2007)
11- $\alpha$ -( <i>H</i> )-himahal-4-en-1 $\beta$ -ol	21,6	Maxia <i>et al.</i> (2009)

### 3.3.1.3. Mikrobiološka aktivnost etarskih ulja i drugih sastojaka biljnih vrsta roda *Daucus*

Na osnovu većeg broja istraživanja poznat je širok spektar gram-pozitivnih i negativnih bakterija, gljivica i plesni protiv kojih su etarska ulja vrsta roda *Daucus* pokazala aktivnost (tabela 3.5). Na primer, Misiak i saradnici (2004) su pokazali da karotol iz semena šargarepe ima jako antifungalno dejstvo protiv patogene gljivice *Alternaria alternata*. Takođe, pokazalo se da etarsko ulje nadzemnog dela šargarepe ima antimikrobno dejstvo protiv crevne bakterije *Campylobacter jejuni* (uzročnika gastroenteritisa kod ljudi), a kao glavni aktivni sastojci identifikovani su (*E*)-metilizeugenol i elemicin (Rossi *et al*, 2007). Kilibarda i saradnici (1996) su ispitivali aktivnost ulja plodova šargarepe protiv gram-pozitivnih bakterija: meticilin rezistentne bakterije *Staphylococcus aureus* (izazivač pneumonije, meningitisa, toksičnog šok sindroma i dr) i *Streptococcus pyogenes* ( $\beta$ -hemolyticus), i pokazali da je ono aktivno, što su kasnije potvrdili Chao i saradnici (2008).

**Tabela 3.5.** Mikroorganizmi protiv kojih su etarska ulja vrsta roda *Daucus* pokazala aktivnost

<b><u>Gram pozitivne bakterije</u></b>	
<i>Bacillus cereus</i>	Kumarasamy <i>et al.</i> (2002; 2005), Ahmed <i>et al.</i> (2005), Soković <i>et al.</i> (2009)
<i>Bacillus subtilis</i>	Staniszewska <i>et al.</i> (2005), Staniszewska i Kula (2002), Mansour <i>et al.</i> (2004), Ahmed <i>et al.</i> (2005), Ozçelik <i>et al.</i> (2004)
<i>Enterococcus faecalis</i>	Jabrane <i>et al.</i> (2009)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Kumarasamy <i>et al.</i> (2005)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Friedman <i>et al.</i> (2002), Soković <i>et al.</i> (2009)
<i>Micrococcus flavus</i>	Soković <i>et al.</i> (2009)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Staniszewska <i>et al.</i> (2005), Kumarasamy <i>et al.</i> (2005), Jabrane <i>et al.</i> (2009), Imamu <i>et al.</i> (2007), Staniszewska i Kula (2002), Mansour <i>et al.</i> (2004), Ahmed <i>et al.</i> (2005), Soković <i>et al.</i> (2009), Ozçelik <i>et al.</i> (2004)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Jabrane <i>et al.</i> (2009)
<i>Streptomyces scabies</i>	Ahmed <i>et al.</i> (2005)
<b><u>Gram negativne bakterije</u></b>	
<i>Campylobacter coli</i>	Rossi <i>et al.</i> (2007)
<i>Campylobacter jejuni</i>	Friedman <i>et al.</i> (2002), Rossi <i>et al.</i> (2007)
<i>Campylobacter lari</i>	Rossi <i>et al.</i> (2007)
<i>Citrobacter freundii</i>	Kumarasamy <i>et al.</i> (2005)
<i>Enterobacter cloacae</i>	Soković <i>et al.</i> (2009)
<i>Escherichia coli</i>	Staniszewska <i>et al.</i> (2005), Kumarasamy <i>et al.</i> (2005), Jabrane <i>et al.</i> (2009), Ahmed <i>et al.</i> (2005), Soković <i>et al.</i> (2009)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Jabrane <i>et al.</i> (2009)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Staniszewska <i>et al.</i> (2005), Jabrane <i>et al.</i> (2009), Ahmed <i>et al.</i> (2005), Soković <i>et al.</i> (2009)
<i>Salmonella typhimurium</i>	Jabrane <i>et al.</i> (2009), Soković <i>et al.</i> (2009)
<i>Serratia marcescens</i>	Jabrane <i>et al.</i> (2009)
<i>Shigella sp.</i>	Jabrane <i>et al.</i> (2009)

Tabela 3.5. (nastavak)

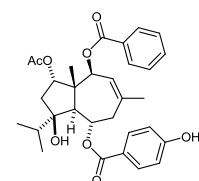
**Gljivice**

<i>Aspergillus flavus</i>	Maxia <i>et al.</i> (2009), Soković <i>et al.</i> (2009), Tavares <i>et al.</i> (2008)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Maxia <i>et al.</i> (2009), Soković <i>et al.</i> (2009), Tavares <i>et al.</i> (2008)
<i>Aspergillus niger</i>	Maxia <i>et al.</i> (2009), Ahmed <i>et al.</i> (2005), Tavares <i>et al.</i> (2008)
<i>Candida albicans</i>	Staniszewska <i>et al.</i> (2005), Maxia <i>et al.</i> (2009), Imamu <i>et al.</i> (2007), Staniszewska i Kula (2002), Mansour <i>et al.</i> (2004), Tavares <i>et al.</i> (2008)
<i>Candida parapsilosis</i>	Maxia <i>et al.</i> (2009), Tavares <i>et al.</i> (2008)
<i>Epidermophyton floccosum</i>	Maxia <i>et al.</i> (2009), Tavares <i>et al.</i> (2008)
<i>Fulvia fulvum (fulva)</i>	Soković <i>et al.</i> (2009)
<i>Fusarium oxysporum</i>	Ahmed <i>et al.</i> (2005)
<i>Fusarium sporotrichoides</i>	Soković <i>et al.</i> (2009)
<i>Microsporum canis</i>	Maxia <i>et al.</i> (2009), Tavares <i>et al.</i> (2008)
<i>Microsporum gypseum</i>	Maxia <i>et al.</i> (2009), Tavares <i>et al.</i> (2008)
<i>Penicillium expansum</i>	Staniszewska <i>et al.</i> (2005)
<i>Penicillium funiculosum</i>	Soković <i>et al.</i> (2009)
<i>Penicillium ochrochloron</i>	Soković <i>et al.</i> (2009)
<i>Trichoderma viride</i>	Soković <i>et al.</i> (2009)
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Maxia <i>et al.</i> (2009), Tavares <i>et al.</i> (2008)
<i>Trichophyton rubrum</i>	Maxia <i>et al.</i> (2009), Tavares <i>et al.</i> (2008)

**Plesni**

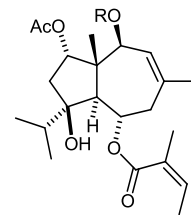
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Soković <i>et al.</i> (2009)
<i>Candida guilliermondii</i> ( <i>Pichia guilliermondii</i> )	Maxia <i>et al.</i> (2009), Tavares <i>et al.</i> (2008)
<i>Candida krusei</i>	Maxia <i>et al.</i> (2009), Tavares <i>et al.</i> (2008)
<i>Candida tropicalis</i>	Maxia <i>et al.</i> (2009), Tavares <i>et al.</i> (2008)
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Maxia <i>et al.</i> (2009), Tavares <i>et al.</i> (2008)

Soković i saradnici (2009) su ispitivali aktivnost ulja različitih delova biljke (zrele i nezrele šizokarpe, cvetove, listove, stabljiku i koren) protiv 8 bakterija i 8 gljivica, i ustanovili su da najveću aktivnost imaju ulja šizokarpa. Najosetljiviji sajevi bili su: *B. cereus*, protiv koga su bili aktivni svi ispitani uzorci; *P. aeruginosa* i *E. coli* kod kojih su uzorci imali veću aktivnost od poznatog i komercijalno dostupnog agensa sterptomicina, dok su se gljivice pokazale kao najosetljivije na dejstvo ovih ulja. Uzorci su i u poslednjem slučaju pokazali veću aktivnost od komercijalno dostupnih antifungicida: bifonazola i ketokonazola. Jabrane i saradnici (2009) su ispitivali antibakterijsku aktivnost ulja cvetova i korena podvrste *maritimus*. Oba ulja su pokazala aktivnost protiv ispitivanih bakterija datih u tabeli 3.5. Protiv *Escherichia coli* ulje cvetova je bilo aktivnije od ulja korena, dok je obrnuto bilo u slučaju *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* i *Shigella* sp. Veća aktivnost ulja korena potiče od prisustva fenilpropanoida dilapiola i miristicina. Slično, Tavares i saradnici (2008) su ispitivanjem aktivnosti ulja iz štitova podvrste *halophilus* u fazi cvetanja i sazrevanja, uočili direktnu vezu između sadržaja fenilpropanoida elemicina i aktivnosti. Naime, sazrevanjem ploda dolazi do porasta sadržaja elemicina, a samim tim i aktivnosti. Ulja plodova i listova biljne vrste *D. glaber* pokazala su aktivnost protiv gram-negativnih bakterija *Staphylococcus aureus* i



Jedinjenje 1

*B. subtilis*, dok je ulje izolovano iz stabljike pokazalo antifungalnu aktivnost protiv *Candida albicans* (Mansour *et al*, 2004). Od tri neisparljiva derivata daucenskih seskvitrepena izolovanih iz korena šargarepe, 2 $\alpha$ -acetiloksi-4 $\beta$ -hidroksi-6 $\alpha$ -*p*-hidroksibenzoiloksi-10 $\beta$ -benzoiloksi-dauc-8-en (1), 2 $\alpha$ -acetiloksi-4 $\beta$ -hidroksi-6 $\alpha$ -angeloiloksi-10 $\beta$ -benzoiloksi-dauc-8-en (2) i 2 $\alpha$ -acetiloksi-4 $\beta$ -hidroksi-6 $\alpha$ -angeloiloksi-10 $\beta$ -cinamoiloksidauc-8-en (3), prva dva su ispitivana na aktivnost protiv gram-pozitivnih (*Staphylococcus aureus*, *Streptomyces scabies*, *B. subtilis* i *B. cereus*) i gram-negativnih (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) bakterija, kao i gljivica (*Fusarium oxysporum* i *Aspergillus niger*) i pokazala su aktivnost protiv svih navedenih bakterija, osim *Escherichia coli* (Ahmed *et al*, 2005).



Jedinjenje 2:  
R=benzil

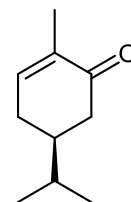
Jedinjenje 3:  
R=cinamoil

### 3.3.2. Hemijski sastav etarskih ulja biljnih vrsta roda *Carum*

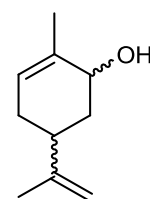
Biljna vrsta *Carum carvi*, u narodu poznata kao kim, za koju se veruje da je najstarija začinska biljka u Evropi, najrasprostranjenija je i veoma eksploatisana vrsta roda *Carum* (Rosengarten, 1969). Gajenje kima je u mnogim zemljama važna privredna grana, što objašnjava veliko interesovanje istraživača za njegov hemijski sastav. Ova biljka sadrži etarsko ulje u svim organima. Najveći sadržaj etarskog ulja je u plodu i kreće se u opsegu od 2 do 8% (Bailer *et al*, 2001).

Najzastupljenija jedinjenja u etarskom ulju plodova kima su monoterpeni, najčešće karvon<sup>11</sup>, *cis/trans*-karveol, *cis/trans*-dihidrokarvon, limonen,  $\gamma$ -terpinen, terpinolen, mircen, *p*-cimen,  $\alpha$ - i  $\beta$ -pinen (Ruszkowska, 1998). Veći broj istraživanja je pokazao da su bez obzira na vrstu ispitivanih kultivara i njihovo poreklo, karvon i limonen glavni sastojci ulja ploda, i najčešće zajedno čine preko 95% ulja (Putievsky *et al*, 1994; Arganosa *et al*, 1998; Tewari i Mathela, 2003; Iacobellis *et al*, 2005; Lawrence 2006; Seidler-Lozykowska *et al*, 2010; Fang *et al*, 2010, Chowdhury, 2002). Pokazano je da broj sunčanih dana, pored toga što utiče na količinu etarskog ulja u biljci, utiče i na odnos ova dva jedinjenja u njemu. Naime, sa većim brojem sunčanih dana povećava se i sadržaj karvona u odnosu na limonen (Bouwmeester, 1998). Na osnovu analize velikog broja uzoraka ploda ove biljne vrste, može se sa sigurnošću reći da je karvon karakterističan za nju.

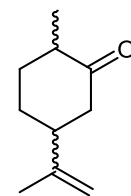
Fang i saradnici (2010) su u svoj literaturni pregled sastava etarskih ulja biljne vrste *C. carvi* greškom uključili i dva uzorka iz Irana. Jedan od njih odnosio se na biljnu vrstu *Nigella sativa*, koju su autori nazvali „caraway“ (Jalali-Heravi *et al*, 2007). Naime, oni su u svoj pregled uključili vrstu iz druge familije i kao značajnu razliku naveli njen drugačiji hemijski sastav, koji se ogleda u odsustvu karvona i limonena, i dominantnom prisustvu  $\gamma$ -terpinena, 2,4(10)-tujadiena i *p*-cimena. Narodni nazivi biljaka nisu tako jednoznačni kao botanički. Kim (eng. caraway) je poznata biljna vrsta *C. carvi*, dok je *C. bulbocastanum* poznat kao crni kim. Kako je crni kim retko dostupna biljna vrsta, umesto njega se često koristi biljna vrsta *N. sativa*, koja inače pripada familiji Ranunculaceae, a koju iz tog razloga u nekim područjima u narodu takođe



Karvon



*cis/trans*-  
Karveol



*cis/trans*-  
Dihidrokarvon

<sup>11</sup> Ovo jedinjenje je 1841. godine prvi put izolovano iz biljne vrste *C. carvi* i po kojoj je dobilo ime.



nazivaju „caraway“ (kod nas crni kim). Osim toga što se greške najčešće javljaju u slučajevima morfološki sličnih biljnih vrsta, ovaj primer pokazuje da one mogu nastati zbog nesmotrenosti istraživača. Takođe, ovo je jedan od dobrih primera kako hemijski profil biljne vrste može ukazati na pogrešno zaključivanje.

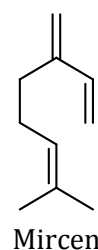
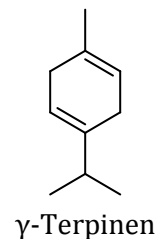
Varijabilnost sastava ulja izolovanog iz različitih biljnih organa ove vrste potvrdili su Wichtmann i Stahl-Biskup (1987) ispitivanjem ulja herbe i korena. U slučaju ulja herbe dominantan je bio germakren D (75%), praćen  $\beta$ -kariofilenom,  $\beta$ -elemenom, humulenom i germakrenima A i B. U slučaju korena, glavna klasa jedinjenja u ranijoj fazi razvića bili su alifatični aldehidi (68%), dok je germakren B (51%) dominirao u kasnijoj fazi. Takođe, u ulju nadzemnog dela ove biljne vrste, u fazi cvetanja, uočeno je dominantno prisustvo fenilpropanoida estragola (65,0%), praćenog limonenom (14,3%) i  $\beta$ -pinenom (7,4%) (De Almeida *et al*, 2010).

Fenolni monoterpeni su hemotaksonomski markeri druge vrste ovog roda – *copticum*. Većinu ispitanih uzoraka ove biljne vrste karakteriše visok sadržaj timola koji se kreće od 35% do 55%, dok se sadržaj karvakrola, kod drugog hemotipa, kreće do 45%. Ostali sastojci, zastupljeni u manjim količinama u uljima ove vrste su:  $\gamma$ -terpinen, *p*-cimen,  $\beta$ -pinen i  $\alpha$ -terpinolen (Balbaa *et al*, 1973; Srivastava *et al.*, 1999; Khajeh *et al*, 2004; Lucchesi *et al*, 2004; Mohagheghzadeh *et al*, 2007; Oroojalian *et al*, 2010). Monoterpeni su najzasupljenija klasa jedinjenja i u vrstama *C. gracile* i *C. anethifolium* (Joshi *et al*, 1984; Naik *et al*, 2001).

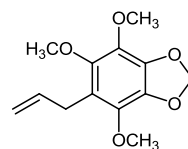
Etarsko ulje nadzemnih delova vrste *C. montanum* (endem), sadrži najviše fenilpropanoida, od kojih je najzastupljeniji notoapiol (62,8%), zatim miristicin, apiol i dilapiol. Notoapiol je, takođe, prisutan i u vrsti *C. nigrum*. U korenu *C. montanum* detektovano je prisustvo svih pomenutih fenilpropanoida, a najviše notoapiola (78%) (Laouer *et al*, 2009; Singh *et al*, 2006). Osim u pomenutim vrstama, veliki sadržaj ove klase jedinjenja uočen je i kod ulja ploda vrste *C. bulbocastanum* (dilapiol – 44,6%) i ulju listova vrste *C. roxburgianum* (apiol – 20,81%) (Kapoor *et al*, 2010; Chowdhury *et al*, 2009).

### 3.3.3. Alkaloidi biljne vrste *C. maculatum*

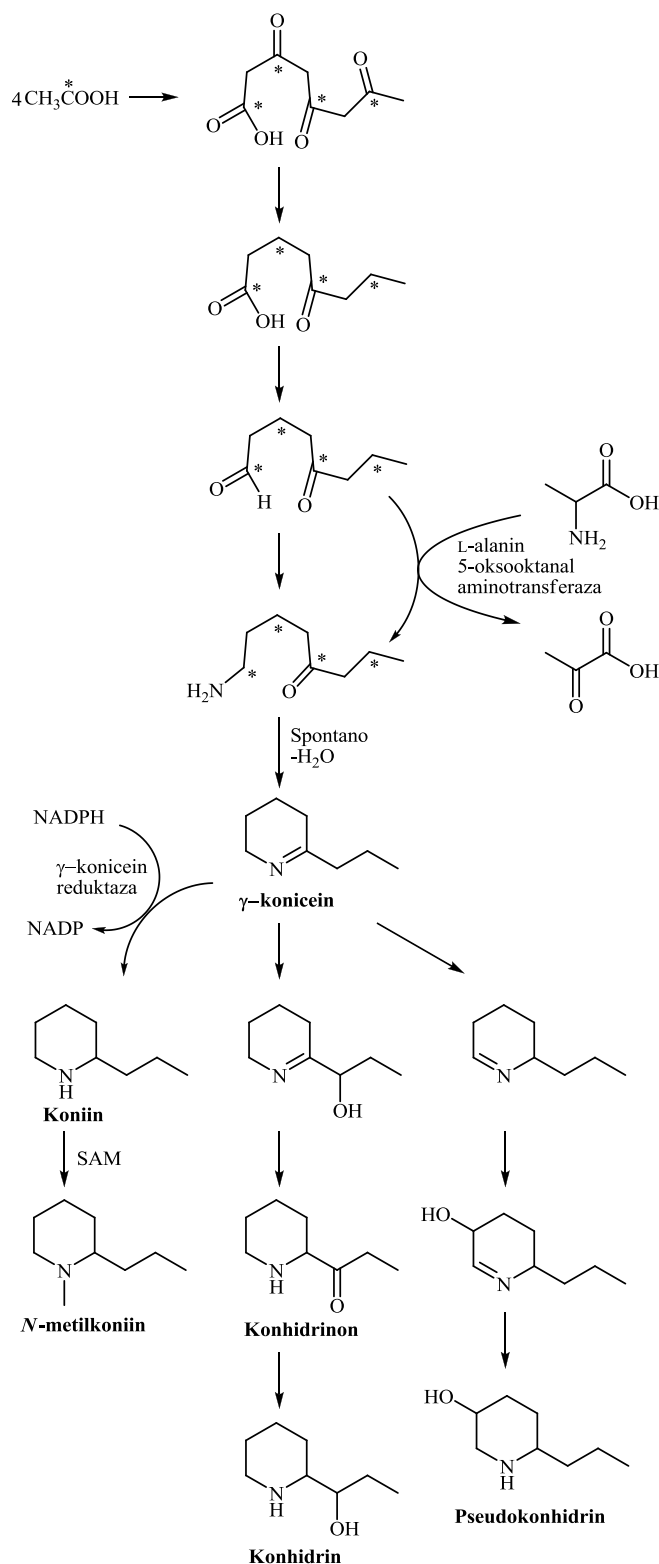
Biljna vrsta *C. maculatum* je poznata po piperidinskim alkaloidima, od kojih su prvo nađeni koniin, *N*-metil-koniin, konhidrin, pseudokonhidrin i  $\gamma$ -konicein, a kasnije konhidrinon i *N*-metil-pseudokonhidrin (njihove strukture su prikazane na šemi 3.5). Pored pomenutih alkaloida sa osam ugljenikovih atoma, Smith i Lang (1998) su u uzorcima ove biljne vrste identifikovali dihomolog  $\gamma$ -koniceina i konhidrina (jedinjenja sa 10 C atoma). Piperidinski alkaloidi mogu biosintetski nastati iz lizina, acetatnim i/ili mevalonatnim putem. Leete (1964) je izveo eksperiment kojim je pokazao da su piperidinski alkaloidi kukute proizvodi acetatnog biosintetskog puta nastali linearnim povezivanjem četiri acetatne jedinice (vidi šemu 3.5). Azot je inkorporiran u kasnijem stadijumu uz prisustvo L-alanina enzimskom reakcijom



*Nigella sativa*



Notoapiol



Šema 3.5. Prikaz biosintetskog puta piperidinskih alkaloida vrste *C. maculatum*

reduktivne-transaminacije sa 5-oksooktanalom. Nakon transaminacije, nastali 5-okso-oktilamin podleže neenzimskoj ciklizaciji što dovodi do formiranja piperidinskog jezgra, tj.  $\gamma$ -koniceina (šema 3.5). Eksperimenti sa izotopski obeleženim  $\gamma$ -koniceinom-1'-<sup>14</sup>C *in vivo* su rezultovali u koniinu i pseudokonhidrinu, kod kojih se

radioaktivnost nalazila na položaju C-1' atoma propil grupe (bočni niz). Ovo je pokazalo da  $\gamma$ -konicein može biti njihov prekursor. Slično tretiranje biljke izvedeno je dvojako (u stakleniku i na otvorenom), što je u slučaju staklenika dovelo do formiranja konhidrina, a u slučaju testa na otvorenom pseudokonhidrina, što ukazuje na to da uslovi rasta biljke utiču na proizvodnju alkaloida (Leete i Adityachaudhury, 1967). Uočeno je da relativna količina ovih alkaloida u biljci zavisi od više faktora, između ostalog temperature, vlage i faze razvića biljke.

Leete i Olson (1972) su eksperimentalno pokazali da 1'-alilnom oksidacijom  $\gamma$ -koniceina nastaje iminski intermedijer koji se tautomerizacijom prevodi u odgovarajući enamin koji predstavlja enolni oblik konhidrinona, a on keto-enolnom tautomerizacijom prelazi u konhidrinon. Dalje, njegovom redukcijom nastaje konhidrin. Takođe, tautomerije između dva enaminska oblika (migracija dvostruke veze između N i C2 atoma u piperidinskom prstenu u položaj između N i C6 atoma), omogućavaju dalje hidroksilovanje novog alilnog (C-5) atoma pri čemu nastaje pseudokonhidrin (Leete i Adityachaudhury, 1967). Iz koniina, posredstvom enzima koniin-metiltransferaze, reakcijom transmetilacije koristeći *S*-adenozil-L-metionin kao izvor metil grupe, dolazi do formiranja *N*-metilkoniina (López *et al*, 1999). Međusobna biosintetska zavisnost alkaloida može se ilustrovati i na osnovu njihove relativne količine u biljnom tkivu, a pre svega količina  $\gamma$ -koniceina i koniina. U koliko je količina koniina velika, količina njegovog prekursora ( $\gamma$ -koniceina) je manja, i obrnuto. Prema istraživanju koje su sprovedi Fairbairn i Challen (1959), sadržaj  $\gamma$ -koniceina je veći u biljci u sezoni povećanih padavina, dok je količina koniina veća u sušnom periodu, kao i da se ukupna količina alkaloida znatno povećava tokom sunčanih dana (López, 1999). Na samom početku razvića, u listovima mlade biljke (faza rasta), sadržaj alkaloida je neznatan, i uglavnom je prisutan  $\gamma$ -konicein i male količine konhidrina (Cromwell, 1956). Tokom faza cvetanja i polinacije dolazi do velikih promena u sadržaju alkaloida. U fazi cvetanja znatno se smanjuje udeo  $\gamma$ -koniceina u korist koniina, dok je u zrelih šizokarpima dominantan *N*-metil-koniin. Uočeno je da količine  $\gamma$ -koniceina i koniina jako fluktuiraju i tokom dana, porast prvog uslovljava opadanje drugog i obratno (Fairbairn i Suwal, 1961).

Hronična toksičnost ovih piperidinskih alkaloida (teratogenost) blisko je povezana sa njihovom strukturom. Naime, utvrđeno je da bočni lanac u položaju 2 piperidinskog prstena mora biti *n*-propil ili duži ugljovodonični niz da bi on pokazao aktivnost (npr. 2-etilpiperidin nije toksičan). Takođe, parcijalna nezasićenost povećava toksičnost, usled čega  $\gamma$ -konicein ima nižu vrednost LD<sub>50</sub> od koniina, dok aromatizacija piperidinskog prstena rezultuje potpunim gubitkom hronične toksičnosti (López *et al*, 1999).

Corsi i Biasci (1998) su pokazali da se alkaloidi nalaze u svim tkivima. Sadržaj alkaloida u različitim organima biljne vrste *C. maculatum* varira: 0-0,5% u korenu, u nadzemnom delu mlade biljke 0,02-0,7%; u listovima 0,3-1,5%; cvetovima 1,0%; nezrelim šizokarpima 1,6-3,0%, zrelih šizokarpima 0,2-1,0% i u semenima 0,02-0,9% (López *et al*, 1999).

## *4. Eksperimentalni deo*

## 4.1. Biljni materijal i priprema uzoraka

### 4.1.1. Biljni materijal

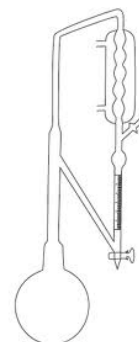
Podaci o biljnom materijalu korišćenom za analizu dati su u tabeli 4.1, gde su pored spiska ispitivanih biljnih vrsta navedeni godina, mesec i lokaliteti sa kojih su sakupljane, vaučer brojevi pod kojima su pohranjene u herbarijumu (BEOU-Herbarijum biološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu; HPMF-Herbarijum Prirodno-matematičkog fakulteta, Univerziteta u Nišu). Pored toga u tabeli su navedeni: deo biljke koji je korišćen za analizu (sa oznakom koja se odnosi na to da li je on korišćen za destilaciju-D ili ekstrakciju-E), odvaga i prinos (w/w, obračunato prema masi svežeg biljnog materijala).

### 4.1.2. Izolovanje etarskih ulja

Etarska ulja su izolovana iz svežeg biljnog materijala, koji je nakon usitnjavanja i tačnog odmeravanja mase hidrodestilovan u originalnom aparatu po Clevenger-u u toku 2,5 h. Dobijena etarska ulja su ekstrahovana dietil-etrom, a zatim su dobijeni ekstrakti sušeni anhidrovanim magnezijum-sulfatom (tabela 4.1). Nakon odvajanja sredstva za sušenje filtriranjem i rastvarača destilacijom na rotacionom vakuum uparivaču na sobnoj temperaturi, određen je prinos ulja. Sva etarska ulja su analizirana neposredno nakon izolovanja korišćenjem metoda GC i GC-MS.

### 4.1.3. Izolovanje dietil-etarskih i dihlormetanskih ekstrakata

Usitnjeni sveži biljni materijal je nakon merenja potapan u odgovarajuću zapreminu rastvarača (oko 50 ml na 10 g biljnog materijala) i ostavljen u zatvorenom sudu, na suvom i mračnom mestu u periodu od mesec dana. U svim slučajevima korišćen je dietil-etar kao rastvarač, osim u slučaju biljne vrste *C. maculatum* za čije se ekstrahovanje koristio dihlormetan. Zbog potrebe da se iz ove biljne vrste ekstrahuju alkaloidi u slobodnom stanju, biljni materijal je particionisan između vodenog rastvora i natrijum-hidroksida. Dobijeni ekstrakt je filtriran kroz malu kolonu napakovanu sa 1 g celita (Celite®, Merck, Germany), da bi se uklonio sav nerastvorni deo. Odmah nakon toga, a neposredno pred GC i GC-MS analize, uz pomoć struje azota, na sobnoj temperaturi, vršeno je koncentrovanje ekstrakta do zapremine od 10 ml. Jedna porcija ekstrakta analizirana je (GC i GC-MS) bez prethodnog filtriranja kroz celit. Na taj način je potvrđeno da nema zadržavanja isparljivih jedinjenja na pomenutoj fazi. Prinos suvog ekstrakta određen je nakon potpunog uklanjanja rastvarača destilacijom na rotacionom vakuum uparivaču (tabela 4.1).



Izgled  
aparature po  
Clevenger-u

**Tabela 4.1.** Podaci o ispitivanim uzorcima

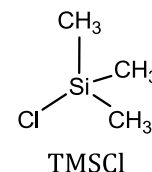
Takson	Lokalitet	Vreme branja	Vaučer broj	Biljni delovi	Odvaga (g)	Prinos (w/w, %)	Oznaka
<b><i>Conium maculatum</i> L.</b>	<u>Crveni krst</u>	mart 2009	HPMF 200905	nadzemni delovi-E	250	0,10	C1E
				nadzemni delovi-D	450	0,05	C1D
				koren-E	200	0,09	C1Ek
		april 2009	HPMF 200907	nadzemni delovi-E	450	0,16	C2E
				nadzemni delovi-D	800	0,02	C2D
				koren-E	200	0,19	C2Ek
		maj 2009	HPMF 200910	nadzemni delovi-E	300	0,08	C3E
				nadzemni delovi-D	700	0,03	C3D
				koren-E	150	0,04	C3Ek
	jun 2009	HPMF 200913	nadzemni delovi-E	300	0,17	C4E	
			nadzemni delovi-D	600	0,01	C4D	
			koren-E	160	0,40	C4Ek	
	jul 2009	HPMF 200915	šizokarpi-E	62	0,44	C5E	
			šizokarpi-D	110	0,09	C5D	
			koren-E	60	0,44	C5Ek	
<u>Ledena stena</u>	april 2009	HPMF 200906	nadzemni delovi-E	450	0,11	L2E	
			nadzemni delovi-D	400	0,03	L2D	
			koren-E	200	0,21	L2Ek	
	maj 2009	HPMF 200908	nadzemni delovi-E	400	0,02	L3E	
			nadzemni delovi-D	700	0,01	L3D	
			koren-E	200	0,18	L3Ek	
	jun 2009	HPMF 200911	nadzemni delovi-E	300	0,16	L4E	
			nadzemni delovi-D	700	0,01	L4D	
			koren-E	200	0,22	L4Ek	
jul 2009	HPMF 200914	šizokarpi-E	61	1,70	L5E		
		šizokarpi-D	120	0,01	L5D		
		koren-E	64	0,40	L5Ek		
<u>Palilula</u>	maj 2009	HPMF 200909	nadzemni delovi-E	500	0,17	P3E	
			nadzemni delovi-D	1000	0,04	P3D	
			koren-E	250	0,16	P3Ek	

**Tabela 4.1.** (nastavak)

Takson	Lokalitet	Vreme branja	Vaučer broj	Biljni delovi	odvaga (g)	prinos (w/w, %)	oznaka
<b><i>Conium maculatum</i> L.</b>	Palilula	jun 2009	HPMF 200912	nadzemni delovi-E	200	0,60	P4E
				nadzemni delovi-D	700	0,01	P4D
				koren-E	170	0,30	P4Ek
	jul 2009	HPMF 200916	šizokarpi-E	71	1,45	P5E	
			šizokarpi-D	93	0,02	P5D	
			koren-E	75	0,35	P5Ek	
<b><i>Carum graecum</i> Boiss. &amp; Heldr.</b>	Suva planina	jun 2007	BEOU 16237	list-D	200	0,05	Cg
<b><i>Daucus carota</i> ssp. <i>carota</i> L.</b>	market Maxi	jul 2008	HPMF NĐ0807	šizokarpi-E	2,9	5,84	B
				koren-D	955	0,03	C
				koren-E	267	0,18	D
<b><i>Daucus carota</i> ssp. <i>sativus</i> L.</b>	obala reke Nišava	jul 2008	HPMF NĐ0809	beli cvet-E	1	0,50	E
				crni cvet-E	0,3	0,30	F
				koren-E	75	0,64	G
				šizokarpi-E	46	1,59	H
				šizokarpi-D	40	0,12	I
				nadzemni delovi-D	1200	0,80	J
<b><i>Daucus guttatus</i> Sibth. &amp; Sm. ssp. <i>zahariadii</i> Heywood</b>	obala reke Pčinja	jul 2008	HPMF NĐ0711	nadzemni delovi-D	40	0,72	A
<b><i>Geocaryum cynapioides</i> (Guss.) L. Engstrand</b>	Cvetkova reka	jun 2007	BEOU 16201	cela biljka-D	255	0,03	GCy1
	Stara planina	jul 2007	BEOU 16204	nadzemni delovi-D	80	0,06	GCy2
<b><i>Pleurospermum austriacum</i> (L.) Hoffm.</b>	Stara planina	jul 2007	HPMF 200705	list-D	250	0,012	Pau-l
				stablo-D	250	0,003	Pau-s
				šizokarpi-D	250	0,086	Pau-š

#### 4.1.4. Sililovanje ekstrakta biljne vrste *C. maculatum*

Ekstrakt vrste *C. maculatum* (uzorak L5Ek) je podvrgnut tipičnoj proceduri sililovanja (Visser, 1980): trimetilsilil-hlorid (TMSCl; 0,2 mol) je uz mešanje dodat u već pripremljenu smešu suvog ekstrakta (oko 250 mg), suvog trietil-amina (0,3 mmol), dimetilsulfoksida (0,02 mmol) i suvog dietil-etra (10 ml). Temperatura reakcione smeše je održavana na 10 °C povremenim hlađenjem. Nakon sat vremena reakcija je prekinuta sipanjem u smešu led-voda (10 ml). Vodom isprani etarski sloj je osušen anhidrovanim magnezijum-sulfatom, a zatim je rastvarač uklonjen na vakuum-uparivaču. Ostatak nakon uparavanja je potpuno rastvoren u suvom dietil-etru (koncentracija uzorka je bila 10 mg/ml), a zatim analiziran GC i GC-MS metodama.



## 4.2. Metode razdvajanja i analize

### 4.2.1. Gasna hromatografija - masena spektrometrija (GC-MS) i gasna hromatografija (GC)

#### 4.2.1.1. Gasna hromatografija - masena spektrometrija (GC-MS)

Gasno-hromatografska analiza etarskih ulja, ekstrakata i sintetisanih jedinjenja izvršena je na aparatu HP 6890N, na HP-5MS ili DB-5 kapilarnoj koloni (5% fenilmetilsiloksan, 30 m × 0,25 mm, debljina filma 0,25 μm, Agilent Technologies, SAD), opremljenim FID detektorom. Kao noseći gas, korišćen je helijum, sa konstantnim protokom od 1 ml/min. Temperaturni uslovi: radna temperatura injektora i detektora 250 °C, odnosno 320 °C; linearni temperaturni program kolone u opsegu od 70 °C – 315 °C, sa temperaturnim povećanjem od 5 °C/min, a zatim izotermalno u trajanju od 10 minuta. Injektirano je 1 μl rastvora uzorka u etru (1 mg u 1 ml dietil-etra) (1:100), u pulsnom "split" modu (40:1), pri protoku od 1,5 ml/min u prvih 30 sekundi, a zatim 1,0 ml/min do kraja analize. GC-FID analiza je rađena pod istim eksperimentalnim uslovima. Procentualni sastav pojedinih komponenata određen je na osnovu površina pikova, bez korišćenja korekcionih faktora. Jonizacija je vršena elektronima energije 70 eV, sa akvizicijom u *m/z* opsegu 35–650 i skeniranjem na 0,32 s.



Izgled aparata Agilent gasnog hromatografa

Obrada TIC i masenih hromatograma vršena je u programu MestreNova (ver. 6.0.2-5475, Mestrelab Research, Španija).



#### 4.2.1.2. Identifikacija sastojaka

Podaci su obrađeni 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 preklopljenih pikova, dok je NIST MS Search obezbedio algoritam za pretragu biblioteka masenih spektara. Hemijski sastav ispitivanih uzoraka određen je upoređivanjem linearnih retencionih indeksa pojedinih sastojaka (Adams, 2007), izračunatih u odnosu na retencionna vremena  $C_7 - C_{37}$  alkana (Van den Dool *et al*, 1963), sa literaturnim vrednostima, poređenjem masenih spektara sa spektrima jedinjenja iz biblioteka *Wiley Registry of Mass Spectral Data 6<sup>th</sup> Edition*, *NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library 05*, *Mass Finder 2.3*, Adams (Adams, 2007) i MS biblioteke laboratorije za organsku analizu i sintezu, PMF-a u Nišu, kao i koinjektiranjem standardnih supstanci (alkani, nekoliko terpenoida, steroida i aromatičnih jedinjenja, sintetisana jedinjenja).

#### 4.2.2. Nuklearno-magnetna rezonantna (NMR) spektroskopija

Jednodimenzionalni i dvodimenzionalni NMR spektri su snimani na uređaju Varian Unity 200 NMR (200 MHz za  $^1\text{H}$ , a 50 MHz za  $^{13}\text{C}$ ) koristeći  $\text{CDCl}_3$  kao rastvarač. Vrednosti hemijskih pomeranja su date u  $\delta$  (ppm) jedinicama, a konstante kuplovanja u Hz. Unutrašnji standard za  $^1\text{H}$  NMR bio je tetrametilsilan (TMS) ( $\delta$  0,00), a za  $^{13}\text{C}$  NMR deuterohloroform  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  77,0). 2D NMR spektri ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HETCOR) snimani su uz primenu uobičajenih pulsnih sekvenci. Dobijeni podaci su obrađeni u programu MestRec Ver. 4.9.9.9, Mestrelab Research. Predviđanja hemijskih pomeranja u  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektrima izvršena su u programu ChemDraw Ultra 11.0, CambridgeSoft.



Izgled  
Varian Unity  
200 NMR  
uređaja

#### 4.2.3. Infracrvena spektroskopija (FTIR)

FT infracrveni spektri (FT = Fourier-ova transformacija), neat (dijamantska igla), ATR–attenuated total reflectance, su snimani na instrumentu Thermo Nicolet, model 6700.

#### 4.2.4. Hromatografija na tankom sloju (TLC)

Za određivanje sistema rastvarača koji bi se koristio pri preparativnom MPLC razdvajanju ili „flash dry“ hromatografijom korišćena je tankoslojna hromatografija (TLC). TLC je vršena na aluminijumskim pločama sa prethodno

nanešenim slojem silika-gela 60 (Merck, Darmstadt, Nemačka). Kao eluenti za TLC, pri razdvajanju smeše proizvoda Beckmann-ove reakcije, korišćena su 2 rastvora heksana i etra u odnosu: 5:1 i 2:1 (v/v). Ovim eluentima nije postignuto zadovoljavajuće razdvajanje sastojaka smeše, pa je za njeno razdvajanje na MPLC koloni primenjen gradijent od čistog heksana do čistog etra, dok je za „flash dry“ hromatografiju korišćen ili gradijent analogan prethodnom ili gradijent: heksan:etar =1:1 (v/v), heksan:etar =1:3 (v/v), čist etar, 5% metanol u etru (v/v), 10% metanol u etru (v/v), čist metanol. Kao eluenti za TLC, pri razdvajanju izomernih  $\delta$ -dekalaktama i  $\alpha$ -pentil- $\delta$ -valerolaktama, korišćena su 3 rastvora heksana i etra u odnosu (v/v): 3:1, 1:1 i 1:2, kao i čist etar. Međutim, ovim eluentima nije postignuto zadovoljavajuće razdvajanje izomernih laktama, pa je pri preparativnom MPLC razdvajanju primenjen gradijent od čistog heksana do čistog etra. Mrlje na TLC-u su vizualizovane pomoću UV lampe (254 i 365 nm) i izazivane 30% sumpornom kiselinom, nakon čega su ploče zagrevane.

#### 4.2.5. Tečna hromatografija pri srednjim pritiscima (MPLC)

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

#### 4.2.6. „Flash dry“ hromatografija

Za preparativno razdvajanje pomoću „flash dry“ hromatografije korišćena je jednostavna aparatura koja se sastojala od kolone silika gela 60 (>230 mesh-a, proizvođač Merck, Darmstadt, Nemačka), napakovane na sinterovanom staklenom levku srednje poroznosti i veličine, i standardne boce za vakuum filtraciju.

### 4.3. Hemikalije i rastvarači

Sve hemikalije koje su korišćene u radu (p.a. čistoće): natrijum, azotna kiselina, cikloheksanol, sumporna kiselina, hidrosilamin-hidrohlorid, anhidrovani kalijum-karbonat i kalcijum-hlorid, natrijum-hidroksid, kalijum-hidroksid, magnezijum-sulfat, natrijum-karbonat, hlorovodonična kiselina, glacijalna sirćetna kiselina, 1-pentanol, jod, crveni fosfor, litijum-aluminijumhidrid, aktivni uglj, standardni uzorci: određeni terpeni ((*E*)- $\beta$ -kariofilen, humulen, germakren D,  $\beta$ -bisabolen,  $\alpha$ -pinen, kamfen,  $\beta$ -pinen, mircen,  $\alpha$ -terpinen, *p*-cimen, limonen, *cis/trans*-linalool-oksidi (furanoidni), terpinen-4-ol, metiltimol, metilkarvakrol,



Slika MPLC instrumenta

spatulenol, kariofilen-oksidi,  $\alpha$ -bisabolol), ergosta-5-en-3 $\beta$ -ol, stigmasta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol, stigmasta-5-en-3 $\beta$ -ol, kao i rastvarači dietil-etar, dihlormetan, heksan, metanol, etanol, hloroform, aceton, toluen, ksilen i benzen, nabavljeni su od kompanija Sigma Chemical Co. (St. Luis, SAD), Acros Organics (New Jersey, SAD), Aldrich Chemical Co. (Steineheim, Nemačka), Merck (Darmstadt, Nemačka), J. T. Baker (Deventer, Holandija), Supelco (Bellefonte, SAD), Centrohem (Stara Pazova, Srbija), Zorka (Šabac, Srbija) i Zdravlje (Leskovac, Srbija). Rastvarači su neposredno pre korišćenja predestilovani, dok su ostale hemikalije upotrebljene bez prethodnog prečišćavanja.

#### 4.4. Opis sintetičkih koraka

##### 4.4.1. Sinteza adipinske kiseline i dietil-adipata (Vogel, 1989)

U trogri balon od 2 l, koji je opremljen kapalicom, magnetnom mešalicom i efikasnim refluks kondenzatorom, dodato je 950 ml konc. azotne kiseline, koja je zagrejana do ključanja, a zatim je veoma polako, uz mešanje, ukapavan cikloheksanol. Oksidi azota koji su se izdvajali tokom reakcije odvođeni su pomoću creva sa vrha refluks kondenzatora i hvatani su pod vodom. Dodato je ukupno 266 ml (250 g; 2,52 mol) cikloheksanola tokom 5 h. Reakciona smeša je refluktovana još dodatnih 30 min, a reakcija je završena izvlačenjem oksida azota pod vakuumom pri čemu se boja reakcione smeše promenila iz tamno crvene u bledo žutu. Vrela reakciona smeša je izlivena u času i ostavljena preko noći. Hlađenjem su se izdvojili beli kristali adipinske kiseline koji su filtrirani na sinterovanom staklenom levku i isprani vodom. Dobijeno je 354 g vlažne, sirove adipinske kiseline.

Sva količina kiseline je dodata u balon od 4 l, koji je deo aparature za frakcionu destilaciju, kao i 870 ml etanola, 440 ml toluena i 2 ml konc. sumporne kiseline. Reakciona smeša je zagrejana, i nakon što se adipinska kiselina rastvorila, destilovala je azeotropna smeša etanola, toluena i vode na 75 °C. Destilat je sakupljan u erlenmajeru koji je sadržao 365 g anhidrovanog kalijum-karbonata. Destilacija je prekinuta kada je temperatura na vrhu frakcione kolone dosegla 78 °C. Destilat i kalijum-karbonat su snažno promešani, a zatim profiltrirani kroz Büchnerov levak. Filtrat je vraćen u balon i ceo postupak ponavljen još jednom, dok je krajnji filtrat spojen sa ostatkom iz balona odakle je dietil-adipat odvojen destilacijom pod sniženim pritiskom. Prvo su destilovali etanol i toluen, dok je dietil-adipat hvatan u frakciji između 157-167 °C (pritisak nije meren). Dobijeno je 434 g dietil-adipata u vidu žućkaste tečnosti (90% čistoće, na osnovu GC-MS).

Da bi se iz dietil-adipata uklonile kisele primese (monoetil-adipat (6% na osnovu GC-MS), heksanska kiselina (0,6 % na osnovu GC-MS) i eventualno precipitovana neizreagovana adipinska kiselina), sirovi dietil-adipat je rastvoren u

etru i izvršena je bazna ekstakcija dva puta sa po 200 ml 10% rastvora natrijum-karbonata. Etarski sloj je zatim ispran sa 200 ml vode i osušen iznad magnezijum-sulfata. Etar je uklonjen na rotacionom vakuum uparivaču. Dobijeno je 425 g prečišćenog dietil-adipata (99% čistoće, na osnovu GC-MS). Ukupni prinos dietil-adipata iz cikloheksanola bio je 85%.

**Dietil-adipat (C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub>):** R<sub>t</sub>=14,05 min (RI (HP-5MS)=1390); (GC)EI-MS *m/z* (relativni intezitet u %): 202 (0,1) [M]<sup>+</sup>, 174 (0,2), 157 (81,2), 139 (0,6), 128 (64,4), 111 (100), 101 (32,2), 83 (26,1), 73 (30,7), 55 (59,4), 43 (15,5).

#### 4.4.2. Sinteza 2-etoksikarbonilciklopentanona (Dieckmann-ova kondenzacija dietil-adipata) (Vogel, 1989)

U balon od 1 l, koji je povezan sa refluks kondenzatorom zaštićenim od uticaja atmosfere kalcijum-hloridnom cevčicom, dodato je 12,20 g (0,53 mol) natrijuma i 100 ml suvog ksilena. Balon je zagrevan uz mešanje da bi se natrijum otopio, a magnetom je dispergovan tečni natrijum pod ksilenom na sitne kapljice. Kada je natrijum izgranuliran do pogodne veličine (očvršćavanje prilikom hlađenja uz mešanje), prekinuto je zagrevanje, dok je sadržaj balona ostavljen da se uz mešanje ohladi do sobne temperature. Ksilen je odekantovan, a granulirani natrijum ispran dva puta sa po 50 ml apsolutno suvog etra. Isprani natrijum je preliven sa 290 ml suvog benzena i odjednom je dodato 70,70 g (0,35 mol) dietil-adipata, a potom i 0,70 ml apsolutnog etanola. Reakciona smeša je zatim zagrevana uz mešanje. Nakon 1 h od početka zagrevanja došlo je do burne reakcije pri čemu je reakciona smeša očvrsla (nastao je tzv. „sodium cake“ od natrijum-enolata). Reakciona smeša je refluktovana još 7 h i ostavljena preko noći. Zatim je dodavana razblažena hlorovodonična kiselina (1:1) sve dok crveni Congo papir nije poplaveo. Odvojen je sloj benzena, a vodeni sloj je ekstrahovan dva puta sa po 50 ml istog rastvarača. Spojeni ekstrakti su isprani sa 50 ml 5% (w/w) natrijum-karbonata i 75 ml vode, a zatim su osušeni iznad anhidrovanog magnezijum-sulfata. Benzen je uklonjen na rotacionom vakuum uparivaču. Dobijeno je 53,50 g smeše koja je sadržala 55% 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanona, dok je ostatak najvećim delom činio neizreagovani dietil-adipat (41%), na osnovu GC-MS. Prinos reakcije bio je 54%. Odlučeno je da se za dalje reakcije koristi ova smeša jer dietil-adipat ne bi trebalo da ih ometa, a u koraku hidrolize i dekarboksilacije trebalo bi da se ukloni iz reakcione smeše.

Ksilen i etar korišćeni u ovoj reakciji bili su prethodno sušeni direktno natrijumom, dok je benzen pre sušenja iznad natrijuma, sušen i predestilovan iznad anhidrovanog kalcijum-hlorida.

**2-Etoksikarbonilciklopentanon (C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>):** R<sub>t</sub>=9,32 min (RI(HP-5MS)=1201); (GC)EI-MS *m/z* (relativni intezitet u %): 156 (11,8) [M]<sup>+</sup>, 128 (80,8), 111 (60,4), 110 (49,7), 101 (32,7), 83 (29,6), 73 (81,9), 65 (0,9), 55 (100), 39 (15,7).

#### 4.4.3. Sinteza *n*-pentil-jodida (Vogel, 1989)

U balon od 250 ml, koji je opremljen refluks kondenzatorom, dodato je 8 g (0,26 mol) crvenog fosfora i 57 ml (0,50 mol) 1-pentanola. Smeša je zagrejana da blago ključa, pa je kroz kondenzator, u malim porcijama, dodato 63,50 g (0,50 mol) fino usitnjenog joda. Dodavanje joda je trajalo oko 30 min pri čemu je dozvoljeno da se nakon dodatka svake porcije stiša egzotermna reakcija. Reakciona smeša je refluktovana još 2 h, a zatim je predestilovan sirovi proizvod. Sirovi *n*-pentil-jodid je odvojen i redom ispran jednakim zapreminama vode, konc. hlorovodonične kiseline, vode, 10% (w/w) rastvora natrijum-karbonata i zatim ponovo vodom. Nakon ispiranja, proizvod je osušen iznad anhidrovanog kalcijum-hlorida i predestilovan. Sakupljena je frakcija na 154-156 °C. Dobijeno je 66,10 g *n*-pentil-jodida. Prinos *n*-pentil-jodida bio je 67%.

***n*-Pentil-jodid (C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>I):** T<sub>k</sub>=154-156 °C ; R<sub>t</sub>=3,76 min (RI(HP-5MS)=924); (GC)EI-MS *m/z* (relativni intezitet u %): 198 (33,2) [M]<sup>+</sup>, 169 (0,3), 155 (6,6), 141 (4,7), 127 (10,6), 71 (85,7), 55 (18,3), 43 (100).

#### 4.4.4. Sinteza 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanona (Xie *et al*, 2006)

U troglrom balonu od 1 l, koji je opremljen efikasnim refluks kondenzatorom, kapalicom i magnetnom mešalicom, pomešano je 103,22 g (0,75 mol) anhidrovanog kalijum-karbonata i 240 ml acetona. U dobijenu smešu je, zatim, polako, uz mešanje, ukapavan rastvor 53,50 g sirovog 2-etoksikarbonilciklopentanona (29,26 g (0,19 mol) 2-etoksikarbonilciklopentanona u smeši) u 125 ml suvog acetona. Nakon tridesetpetominutnog mešanja na sobnoj temperaturi, u reakcionu smešu veoma polako je ukapavano 38 ml (0,29 mol) *n*-pentil-jodida. Reakciona smeša je refluktovana još 2 h i ostavljena preko noći. Aceton je uparen na rotacionom vakuum uparivaču, a ostatak je ispran više puta etrom. Etarski ekstrakti su spojeni, isprani vodom, osušeni iznad anhidrovanog magnezijum-sulfata, pa je etar uparen na rotacionom vakuum uparivaču. Dobijeno je 54,50 g smeše koja sadrži 67% 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanona i 5% njegovog izomera, 2-etoksikarbonil-5-pentilciklopentanona, na osnovu GC-MS. Ukupni prinos, oba izomera, bio je 93%.

**2-Etoksikarbonil-2-pentilciklopentanon (C<sub>13</sub>H<sub>22</sub>O<sub>3</sub>):** R<sub>t</sub>=18,15 min (RI(HP-5MS)=1561); (GC)EI-MS *m/z* (relativni intezitet u %): 226 (0,2) [M]<sup>+</sup>, 198 (0,6), 181

(8,2), 169 (4,9), 156 (100), 141 (10,5), 128 (11,9), 110 (48), 95 (15,9), 81 (10,2), 67 (17), 55 (26,9), 41 (22,2).

**2-Etoksikarbonil-5-pentilciklopentanon** ( $C_{13}H_{22}O_3$ ):  $R_t=20,33$  min (RI(HP-5MS)=1658); (GC)EI-MS  $m/z$  (relativni intezitet u %): 226 (7,6)  $[M]^+$ , 197 (0,3), 181 (7,5), 169 (1,7), 156 (25,6), 141 (0,9), 128 (13,3), 110 (100), 99 (0,9), 82 (9,5), 68 (3,4), 55 (18,7), 43 (13,7).

#### 4.4.5. Sinteza 2-pentilciklopentanona

U balon od 1 l, koji je opremljen refluks kondenzatorom, dodato je 40,40 g proizvoda prethodnog koraka (0,13 mol 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanona i 2-etoksikarbonil-5-pentilciklopentanona), 180 ml 20% hlorovodonične kiseline i 100 ml glacijalne sirćetne kiseline (smeša za kiselu hidrolizu (Ikan i Ravid, 1974)). Reakciona smeša je refluktovana tokom 24 h. Rastvor je zatim zaalkalisan pomoću 40% (w/w) natrijum-hidroksida i ekstrahovan više puta etrom. Etarski ekstrakti su spojeni, isprani vodom i osušeni iznad anhidrovanog magnezijum-sulfata. Etar je uklonjen na rotacionom vakuum uparivaču. Ostatak nakon uparavanja imao je karakterističan, prijatan miris koji podseća na mentol. Dobijeno je 17 g smeše koja sadrži 82% 2-pentilciklopentanona i 17% nedekarboksilovanog 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanona, na osnovu GC-MS. Prinos reakcije je bio 69%.

**2-Pentilciklopentanon** ( $C_{10}H_{18}O$ ):  $R_t=10,35$  min (RI(HP-5MS)=1242); (GC)EI-MS  $m/z$  (relativni intezitet u %): 154 (8,8)  $[M]^+$ , 125 (1,2), 112 (1,9), 97 (15,6), 91 (0,4), 84 (100), 79 (2), 69 (7), 63 (0,2), 55 (18,6), 50 (0,3), 41 (20,4).

#### 4.4.6. Sinteza oksima 2-pentilciklopentanona „solvent free“ reakcijom (Vukićević *et al*, 2006)

U tarioniku je prvo dobro usitnjeno 15 g (0,22 mol) hidroksilamin-hidrohlorida, a zatim je u porcijama dodavan natrijum-hidroksid i 2-pentilciklopentanon. Nove količine natrijum-hidroksida i 2-pentilciklopentanona dodavane su tek nakon dobrog usitnjavanja baze i što bolje homogenizacije. Ukupno je dodato 8,68 g (0,22 mol) natrijum-hidroksida i 17 g smeše dobijene nakon reakcije dekarboksilacije (0,09 mol 2-pentilciklopentanona). Reakciona smeša je ostavljena da odstoji oko 72 h, a zatim je više puta ekstrahovana etrom, ekstrakti su spojeni, isprani vodom i osušeni iznad anhidrovanog magnezijum-sulfata. Etar je uparen na rotacionom vakuum uparivaču. Dobijeno je 17,88 g smeše sa karakterističnim mirisom koja sadrži 91% (*E*)-oksima 2-pentilciklopentanona, 7% (*Z*)-oksima 2-pentilciklopentanona i 2% oksima 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanona, na osnovu GC-MS, u vidu žute tečnosti. Prinos reakcije bio je

115% u odnosu na polaznu količinu čistog 2-pentilciklopentanona.

**(E)-Oksim 2-pentilciklopentanona (C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>NO):** R<sub>t</sub>=14,89 min (RI(HP-5MS)=1425); (GC)EI-MS *m/z* (relativni intezitet u %): 169 (1) [M]<sup>+</sup>, 152 (2,1), 140 (1,9), 122 (1,3), 112 (19,7), 99 (100), 91 (0,7), 82 (5,7), 74 (0,1), 67 (19,6), 55 (8,6), 41 (15); IR (cm<sup>-1</sup>): 3258,9 (O-H), 2926,5, 1670,7 (C=N), 1452,5, 1197, 919,6, 725,3; <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub>(ppm): 0,84 (3H, t, C(5')H<sub>3</sub>), 1,16-1,42 (8H, m), 1,46-2,04 (4H, m), 2,26-2,66 (3H, m, C(2)H i C(5)H<sub>2</sub>), 9,30 (1H, bs, C(1)=N-OH); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>C</sub>(ppm): 13,9; 22,4; 22,5; 27,1; 27,2; 31,6; 31,7; 32,1; 42,9; 169,3.

**(Z)-Oksim 2-pentilciklopentanona (C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>NO):** R<sub>t</sub>=14,58 min (RI(HP-5MS)=1412); (GC)EI-MS *m/z* (relativni intezitet u %): 169 (1,3) [M]<sup>+</sup>, 152 (7,7), 140 (2), 122 (4,3), 112 (24,2), 99 (100), 91 (1,1), 82 (15,4), 67 (21,8), 55 (14,2), 41 (23,6).

**Oksim 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanona (C<sub>13</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub>):** R<sub>t</sub>=22,36 min (RI(HP-5MS)=1751); (GC)EI-MS *m/z* (relativni intezitet u %): 195 (5,2), 171 (36,5), 155 (8,2), 135 (6,1), 125 (100), 112 (11,2), 96 (10,4), 80 (13,2), 67 (16,2), 55 (15,6), 41 (24,2).

#### 4.4.7. Sinteza δ-dekalaktama (Beckmann-ovo premeštanje) (Hildebrand i Bogert, 1936)

U erlenmajer od 250 ml dodato je 3 ml 75% (v/v) sumporne kiseline, koja je zagrejana, uz mešanje, do 108 °C. Zatim je veoma polako u kiselinu ukapavana smeša 8,85 g (0,05 mol) oksima 2-pentilciklopentanona i 8,9 ml 75% (v/v) sumporne kiseline. Tokom ukapavanja temperatura je održavana na oko 108 °C. Kada je dodata celokupna količina smeše oksima i kiseline, reakciona smeša je ostavljena da se uz mešanje ohladi do sobne temperature. Reakciona smeša je zatim izlivena u približno istu zapreminu destilovane vode, a dodato je i 1,2 g aktivnog uglja. Vodeni i uljani sloj su razdvojeni dekantovanjem. Vodeni sloj je neutralisan 40% rastvorom natrijum-hidroksida, pa je više puta dobro ekstrahovan hloroformom. Ekstrakti su spojeni, osušeni iznad anhidrovanog magnezijum-sulfata, a hloroform je uparen na vakuum uparivaču. Uljani sloj je ekstrahovan hloroformom na isti način. Iz vodenog sloja je dobijeno 2,81 g smeše proizvoda Beckmann-ovog premeštanja i fragmentacije koja sadrži 76% δ-dekalaktama, 18% α-pentil-δ-valerolaktama, 1% γ-dekalaktana i još nekoliko minornih proizvoda, na osnovu GC-MS. Iz uljanog sloja je dobijeno 3,51 g smeše proizvoda Beckmann-ovog premeštanja i fragmentacije koja sadrži 57% δ-dekalaktama, 27% α-pentil-δ-valerolaktama, 7% γ-dekalaktana, 2% δ-dekalaktana i još nekoliko minornih proizvoda, na osnovu GC-MS. Ukupni prinos proizvoda Beckmann-ovog premeštanja, tj. δ-dekalaktama i α-pentil-δ-

valerolaktama, bio je 64%, dok je prinos  $\delta$ -dekalaktama bio 47%.

Ceo postupak je ponovljen još jednom sa 8,15 g (0,05 mol) oksima 2-pentilciklopentanona i 11 ml (2,8 ml + 8,2 ml) 75% (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, bez dodatka aktivnog uglja i bez razdvajanja uljanog i vodenog sloja, već su oni zajedno neutralisani 40% (w/w) rastvorom natrijum-hidroksida. Ovim postupkom dobijeno je 5,16 g smeše proizvoda Beckmann-ovog premeštanja i fragmentacije koja sadrži 66%  $\delta$ -dekalaktama, 21%  $\alpha$ -pentil- $\delta$ -valerolaktama, 6%  $\gamma$ -dekalaktona, 0,7%  $\delta$ -dekalaktona i još nekoliko minornih proizvoda, na osnovu GC-MS. Ukupni prinos proizvoda Beckmann-ovog premeštanja bio je 56%, dok je prinos  $\delta$ -dekalaktama bio 37%.

Smeša proizvoda dobijena ekstrakcijom vodenog sloja razdvojena je na MPLC koloni gradijentom od čistog heksana do čistog etra. Dobijeno je 0,55 g čistog  $\delta$ -dekalaktama i 0,8 g smeše izomera,  $\delta$ -dekalaktama i  $\alpha$ -pentil- $\delta$ -valerolaktama. Iz frakcije 8 (eluent etar:heksan=4:1 (v/v)) iskristalisalo je 70 mg (*E*)-oksima 2-pentilciklopent-2-enona, jednog od minornih proizvoda.

Smeša proizvoda dobijena ekstrakcijom uljanog sloja razdvojena je „flash dry“ hromatografijom i to gradijentom (po 100 ml): heksan:etar =1:1 (v/v), heksan:etar =1:3 (v/v), čist etar, 5% metanol u etru (v/v), 10% metanol u etru (v/v), čist metanol. Dobijeno je 1,44 g smeše izomera,  $\delta$ -dekalaktama i  $\alpha$ -pentil- $\delta$ -valerolaktama.

Smeša proizvoda ponovljenog Beckmann-ovog premeštanja takođe je razdvojena „flash dry“ hromatografijom. Primenjen je analogni gradijent od čistog heksana do čistog etra i izdvojeno je 1 g  $\delta$ -dekalaktama i 2,1 g smeše izomernih laktama. Smeša izomera je dalje razdvajana pomoću MPLC-a istim gradijentom, a dobijeno je još 0,36 g čistog  $\delta$ -dekalaktama.

**$\delta$ -Dekalaktam (C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>NO):** R<sub>t</sub>=19,69 min (RI(HP-5MS)=1629); (GC)EI-MS *m/z* (relativni intezitet u %): 169 (2,8) [M]<sup>+</sup>, 141 (0,1), 124 (0,12), 112 (0,5), 98 (100), 93 (0,1), 82 (0,7), 77 (0,1), 70 (5,1), 65 (0,2), 55 (23,1), 41 (5,1); IR (cm<sup>-1</sup>): 3203,1 (N-H), 2927,2, 2857,8, 1657,9 (C=O), 1406,8, 1166,1, 957,6, 726,6; <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ <sub>H</sub>(ppm): 0,82 (3H, t, C(5')H<sub>3</sub>), 1,12-1,46 (9H,m), 1,50-1,72 (1H, m), 1,74-1,92 (2H, m), 2,10-2,40 (2H, m, C(2)H<sub>2</sub>), 3,35 (1H, sext, C(5)H), 6,48 (1H, s, C(1)ONH); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ <sub>C</sub>(ppm): 13,8; 19,6; 22,3; 24,7; 28,2; 31,1; 31,5; 36,7; 53,0; 172,7.

**$\alpha$ -Pentil- $\delta$ -valerolaktam (C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>NO):** R<sub>t</sub>=19,11 min (RI(HP-5MS)=1603); (GC)EI-MS *m/z* (relativni intezitet u %): 169 (1,2) [M]<sup>+</sup>, 154 (0,4), 140 (1), 126 (6,1), 112 (25,4), 99 (100), 94 (0,4), 84 (8,2), 79 (0,7), 69 (4,4), 55 (14,3), 41 (12,9).



**$\gamma$ -Dekalakton (C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>):** R<sub>t</sub>=15,97 min (RI(HP-5MS)=1469); (GC)EI-MS *m/z* (relativni intezitet u %): 152 (0,2), 141 (0,4), 128 (8,2), 113 (2,3), 100 (4,3), 85 (100), 69 (3,4), 55 (10), 41 (10,1).

**$\delta$ -Dekalakton (C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>):** R<sub>t</sub>=16,65 min (RI(HP-5MS)=1497); (GC)EI-MS *m/z* (relativni intezitet u %): 152 (2,5), 141 (1), 134 (2), 123 (1,2), 114 (10,4), 108 (2,3), 99 (100), 84 (4,9), 71 (40,8), 55 (31,3), 42 (29,5).

**(E)-Oksim 2-pentilciklopent-2-enona (C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>NO):** R<sub>t</sub>=15,89 min (RI(HP-5MS)=1466); (GC)EI-MS *m/z* (relativni intezitet u %): 167 (30,4) [M]<sup>+</sup>, 150 (26), 124 (26,1), 111 (100), 106 (15,9), 94 (44,9), 79 (35,4), 67 (21,1), 53 (19,4), 41 (30,3); IR (cm<sup>-1</sup>): 3211,5 (O-H), 3060,9 (C=C-H), 2918,1, 1664,2 (C=N), 1463,5, 974,4, 723,5; <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ <sub>H</sub>(ppm): 0,87 (3H, t, C(5')H<sub>3</sub>), 1,24-1,34 (4H, m, C(3')H<sub>2</sub> i C(4')H<sub>2</sub>), 1,52 (2H, qu, C(2')H<sub>2</sub>), 2,19 (2H, tq, C(1')H<sub>2</sub>), 2,45 (2H, m), 2,71 (m, 2H), 6,24 (1H, m, C(3)H), 9,05 (1H, bs, C(1)=N-OH); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ <sub>C</sub>(ppm): 13,9; 22,4; 25,4; 26,2; 27,1; 28,9; 31,7; 140,6; 141,6; 167,8.

#### 4.4.8. Sinteza 2-pentilpiperidina (Davies *et al*, 2004)

U balonu od 100 ml, koji je opremljen magnetnom mešalicom i efikasnim refluks kondenzatorom, rastvoreno je 0,2 g (1,18 mmol)  $\delta$ -dekalaktama u 30 ml apsolutno suvog etra, a zatim je u malim porcijama dodato 0,22 g (5,9 mmol) fino sprasjenog litijum-aluminijumhidrida. Reakciona smeša je refluktovana tokom 16 h. Reakcija je zaustavljena ukapavanjem 2 M rastvora kalijum-hidroksida pri čemu se izdvojio beli talog. Etarski sloj je odekantovan, a talog je ispran nekoliko puta dihlormetanom. Dihlormetanski ekstrakti spojeni su sa etarskim slojem, osušeni iznad anhidridovanog magnezijum-sulfata, a rastvarači su uklonjeni na vakuum uparivaču. Dobijeno je 0,19 g smeše, sa karakterističnimaminskim mirisom, koja sadrži 73% 2-pentilpiperidina i 5% neizreagovanog laktama, na osnovu GC-MS, u vidu bezbojne tečnosti. Prinos reakcije bio je 75%.

**2-Pentilpiperidin (C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>N):** R<sub>t</sub>=9,36 min (R<sub>i</sub>(HP-5MS)=1202); (GC)EI-MS *m/z* (relativni intezitet u %): 155 (0,7) [M]<sup>+</sup>, 154 (1,4), 140 (0,1), 126 (0,6), 112 (1), 96 (1,1), 84 (100), 77 (0,2), 70 (1,8), 56 (9,3), 41 (5); IR (cm<sup>-1</sup>): 3229,8 (N-H), 2923,2, 2853,0, 1451,9, 1328,0, 1118,6, 734,6; <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ <sub>H</sub>(ppm): 0,79 (3H, t), 0,9-1,72 (14H, m), 2,24-2,42 (1H, m), 2,44-2,74 (2H, ddd), 2,90-3,04 (1H, m); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ <sub>C</sub>(ppm): 13,8; 22,4; 24,7; 25,4; 26,4; 31,9; 32,7; 37,2; 47,0; 56,8.

## 4.5. Ispitivanje mikrobiološke aktivnosti

### 4.5.1. Korišćeni mikroorganizmi

Za određivanje antimikrobne aktivnosti etarskog ulja (A) i ekstrakta (B), korišćeno je pet Gram-pozitivnih, četiri Gram-negativna soja bakterija i dva fungalna mikroorganizma (tabela 4.2).

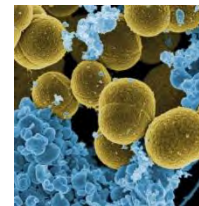
**Tabela 4.2.** Mikroorganizmi korišćeni za ispitivanje antimikrobne aktivnosti

Gram-pozitivne bakterije	
<i>Bacillus cereus</i>	klinički izolat
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
<i>Corynebacterium pyogenes</i>	ATCC 19411
<i>Micrococcus flavus</i>	ATCC 10240
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Sarcina lutea</i>	ATCC 9341
Gram-negativne bakterije	
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739, klinički izolat
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 10031, klinički izolat
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 8427
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC 13076
Gljivice	
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC 16404
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231

### 4.5.2. Testiranje *in vitro* mikrobiološke aktivnosti

**Mikrodiluciona metoda.** Ispitivanje antimikrobne aktivnosti vršeno je i mikrodilucionom metodom (National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), 2007). Određivanje minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) vršeno je metodom serije razblaženja na mikrotitarskim pločama sa 96 bunarića (well). Bakterije su kultivisane na Mueller Hinton agaru (MHA) (37 °C), a gljivice na Sabouraud dekstroznom agaru (SDA) (30 °C). Posle 18 časova kultivisanja, napravljena je bakterijska suspenzija u Mueller Hinton bujonu, pri čemu je turbidimetrijskom metodom broj mikroorganizama standardizovan na 0,5 jedinica na McFarland-ovoj skali. Konačna koncentracija bakterijskog inokuluma iznosila je  $5 \times 10^5$  CFU/ml. Apsorbancija svake od suspenzija merena je spektrofotometrijski (UV/VIS 1610, Shimadzu, Japan). Suspenzije gljivica su napravljene u Sabouraud dekstroznom agaru (SDA). Broj živih mikroorganizama utvrđen je korišćenjem hemocitometra (za bakterije) i "Thoma chamber" (za gljivice). Fungalni inokulum je

Neke od ispitivanih bakterija:



*S. aureus*



*S. lutea*



*B. subtilis*



*B. cereus*



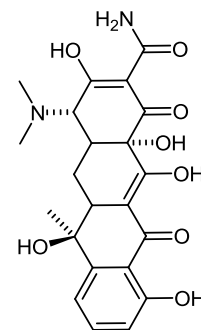
*E. coli*



*S. enterica*

iznosio  $1 \times 10^4$  CFU/ml.

Uzorci za testiranje su pripremljeni rastvaranjem u 10% vodenom rastvoru dimetil-sulfoksida (DMSO). Početna koncentracija uzoraka je iznosila 50,0 mg/ml za uzorak A i 140,0 mg/ml za uzorak B (oznake uzoraka videti u tabeli 4.1). Napravljena je serija razblaženja osnovnih rastvora razblaživanjem u odnosu 1:1 sa krajnjim koncentracijama u opsegu 0,024-25 mg/ml za uzorak A i 0,068-70,0 mg/ml za uzorak B. Najveća koncentracija DMSO-a u bunarićima je bila 2% (v/v). Mikrotitarske ploče su, nakon dodavanja inokuluma u bunariće ploče, inkubirane na 37 °C u toku 24 časa (bakterije) ili 30 °C u toku 48 časa (gljivice). Bakterijski rast je vizualizovan dodavanjem 20  $\mu$ l 0,5%-tnog vodenog rastvora 2,3,5-trifeniltetrazolijum-hlorida (TTC) (Sartoratto *et al*, 2004). Tetraciklin i nistatin su korišćeni kao pozitivna, a rastvarač (10% rastvor DMSO-a u vodi) kao negativna kontrola (rezultati kontrola su uključeni u tabelu 5.2). MIC je definisan kao najniža koncentracija ispitivanog uzorka koja sprečava vidljiv rast mikroorganizma (crveno obojenje na dnu čašica nakon dodavanja TTC-a), dok minimalna baktericidalna/fungicidalna koncentracija (MBC/MFC) označava najnižu koncentraciju koja ubija 99,9% mikroorganizama. Prilikom određivanja MBC/MFC, bujon je uzet iz svih čašica bez vidljivog rasta, inokuliran i inkubiran 24 časa na 37 °C za bakterije ili u toku 48 časa na 30 °C za gljivice čiji je rast praćen. Testovi su ponavljani četiri puta.



Tetraciklin,  
poliketidni  
antibiotik

## 4.6. Biološka aktivnost alkaloida

### 4.6.1. Eksperimentalne životinje

Eksperimentalni deo rada je izveden u Brazilu – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Svi eksperimenti su izvođeni na laboratorijskim miševima (18-25 g; Swiss mice) muškog pola, čuvanim na sobnoj temperaturi ( $22 \pm 2$  °C) u laboratoriji (Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Óxido Nítrico), sa dnevno-noćnim režimom svetla i slobodnim pristupom hrani i vodi. Dvanaest sati pre svakog eksperimenta, životinje su dobijale samo vodu, da bi se izbegao uticaja hrane na aktivnost ispitivane supstance. Istraživanja su bila u skladu sa načelima i uputstvima koje je usvojio Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA), odobren od strane Biomedical Science Institute/UFRJ, Ethical Committee for Animal Research, protokol DFBCICB-015.



Izgled  
laboratorijskog  
miša  
(Swiss mice)

---

#### 4.6.2. Test abdominalnih grčeva izazvanih acetilholinom (writhing test)

Miševi su tretirani na način koji je prvi put opisao Whittle (Whittle, 1964), a adaptirao Matheus *et al.* (2005). Ukupan broj abdominalnih grčeva (ekstenzija zadnjih ekstremiteta i abdomena) izazvanih intraperitonealnom injekcijom acetilholina (ACh, 4 mg/kg), beležen je u vremenskom periodu od petog do dvadesetog minuta od momenta davanja ACh-a. Pre testiranja miševima je injektiran 2-pentilpiperidin ili rastvarač (kukuruzno ulje), 15 min pre upotrebe ACh-a.

#### 4.6.3. Osetljivost na termalni nadražaj - metoda vruće ploče (hot-plate test)

Miševi su testirani po metodi koju su prvi put opisali Sahley i Berntson (1979), a koja je prilagođena potrebama eksperimenata (Matheus *et al.*, 2005). Temperatura površine ploče (Insight equipments, Brazil) bila je  $55 \pm 1$  °C. Nakon dejstva toplotnog stimulusa mereno je vreme potrebno da životinja odreaguje (latencija u sekundama). Lizanje prednjih ili zadnjih šapa kao i skakutanje, smatralo se pozitivnom reakcijom na noksu. Vremenska zavisnost efekta standardnih analgetika i testirane supstance praćena je u intervalima od 15 min. Miševima je injektiran 2-pentilpiperidin (10 ili 20 mg/kg) 15 min pre injekcije ACh-a. Osnovna linija je određena kao srednja vrednost vremena latencije, mereno 30 ili 60 minuta pre davanja ACh-a ili morfina, i definisana je kao normalana reakcija životinje na dati temperaturni stimulus. Porast osnovne linije (%) računato je po formuli:  $((\text{reakciono vreme} \times 100) / \text{osnovna linija}) - 100$ .

### 4.7. Statistička analiza podataka

Analiza varijanse (ANOVA) korišćena je za statističku obradu dobijenih podataka i utvrđivanje značajnosti razlike između srednjih vrednosti. U svim statističkim analizama, interval poverenja bio je 95%.

---

#### **4.7.1 Multivarijantna analiza: metoda analize glavne komponente i aglomerativna hijerarhijska klaster analiza**

Metoda analize glavne komponente (PCA) i aglomerativna hijerarhijska klaster analiza (AHC) dobijenih setova podataka vršena je pomoću Excel plug-in programa XLSTAT, verzije 2009.4.05. Obe metode su primenjene na sledećim setovima varijabli: originalne varijable (procentualni sadržaj sastojaka koji je veći od 1%) i sume procenata klasa jedinjenja (monoterpeni, seskviterpeni, diterpeni, triterpeni, fenilpropanoidi, „green leaf“-derivati, poliacetileni, steroidi i ostalo – kao deveta klasa). U slučaju AHC analize primenjeni su: Prinsonova (Pearson) razlika (kao kriterijum grupisanja korišćeni su prosto povezivanje, prosečna veza između grupa-*unweighted pair-group average* i potpuno povezivanje) i Euklidska udaljenost (kriterijum grupisanja: prosečna veza između grupa-*unweighted pair-group average* i Vardov (Ward) metod). Vršena je PCA analiza Pirsonovog (n) tipa.

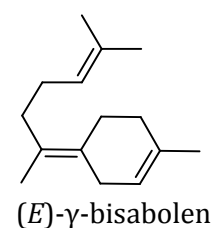
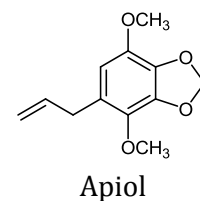
## *5. Rezultati i diskusija*

### 5.1. Isparljivi sastojci biljne vrste *Daucus guttatus* ssp. *zahariadii*, samoniklih populacija i komercijalnih uzoraka *D. carota*

Sastav etarskog ulja nadzemnih delova biljne vrste *Daucus guttatus* ssp. *zahariadii*, kao i etarskih ulja i dietil-etarskih ekstrakata kultivisane i samonikle biljne vrste *D. carota* (šargarepa – nadzemni delovi, cvetovi, šizokarpi i koren) dati su u tabeli 5.1, a prinosi i oznake uzoraka u tabeli 4.1. Ukupno je identifikovano 336 jedinjenja, od kojih 108 u etarskom ulju biljne vrste *D. guttatus*, što predstavlja 99,8% tog ulja (ukupan procenat površine pikova u GC hromatogramu). Broj identifikovanih sastojaka u biljnoj vrsti *D. carota* varira od 52 (uzorak F) do 163 (uzorak J), a to čini 82,9-99,8% ulja/ekstrakta. Više od 50% ulja biljne vrste *D. guttatus* sačinjavaju fenilpropanoidi, a glavni sastojak je apiol sa 43,3%, praćen seskviterpenom  $\beta$ -bisabolenom (34,2%). Vrlo je karakteristično prisustvo apiola u etarskom ulju ove vrste, jer do sada nema podataka o postojanju tog fenilpropanoida u taksonima roda *Daucus*. U uzorcima vrste *D. carota* najčešće nema fenilpropanoida, sa izuzetkom malih količina miristicina (0,7%) u uzorku D, eugenola (0,1%) u uzorku C i metileugenola (0,1%) u uzorku I. Pomenuta tri fenilpropanoida su prisutna jedino još u dve biljne vrste roda *Daucus*, *D. syrticus* (El-Alfy *et al*, 1994) i *D. glaber* (Mansour *et al*, 2004).

Zavisno od ispitivanog materijala različitih biljnih organa ili biljaka različitog porekla, u uljima su identifikovani vrlo različiti glavni sastojci. U etarskom ulju nadzemnog dela samonikle vrste *D. carota* (uzorak J), to su monoterpeni  $\alpha$ -pinen (29,3%) i sabinen (16,8%), a ista jedinjenja su dominantna i u ekstraktu belih cvetova ove vrste ( $\alpha$ -pinen-28,3%, sabinen-16,8%), dok je u crnim cvetovima pored  $\alpha$ -pinena (33,8%) u većoj količini prisutan i  $\beta$ -bisabolen (22,1%). Ulje korena komercijalnog uzorka kao glavne sastojke ima  $\beta$ -kariofilen (29,9%) i (*E*)- $\gamma$ -bisabolen (20,6%), dok ekstrakt istog biljnog materijala sadrži najveću količinu (*E*)- $\gamma$ -bisabolena (14,8%) i falkarindiola (13,4%). Međutim, glavni sastojci ekstrakta korena samonikle šargarepe je  $\alpha$ -terpinolen (25,4%). Geranil-acetat je dominantan i u ulju (53,2%) i u ekstraktu (36,6%) šizokarpa samonikle šargarepe, dok je u ekstraktu šizokarpa komercijalnog uzorka najzastupljenije jedinjenje karotol (55,2%).

Seskviterpeni (38,2%) su druga klasa po zastupljenosti etarskog ulja vrste *D. guttatus*, od toga oksigenovani derivati sa 0,9, a ugljovodonici sa 37,3%, dok su monoterpeni zastupljeni sa samo 2,6%. Osim u ovom uzorku, seskviterpeni su glavna klasa jedinjenja u uzorcima komercijalne šargarepe (59,2 ulja i 36,6% ekstrakta), dok je u uzorcima F (33,2%) i B (25,6%) to druga klasa po zastupljenosti. Samo tri seskviterpena ( $\beta$ -kariofilen, *trans*- $\alpha$ -bergamoten i germakren D) i pet monoterpena ( $\alpha$ -pinen, sabinen,  $\beta$ -pinen,  $\beta$ -mircen i limonen) zajednički su sastojci svih ispitivanih ulja i ekstrakata. Monoterpenski ugljovodonici su najzastupljenija klasa jedinjenja uzorka etarskog ulja nadzemnog dela (stabljika, listovi i cvetovi) samonikle šargarepe (66,2%), kao i u uzorcima G, F i E (50,2, 44,6 i 55,9% istim



**Tabela 5.1.** Hemijski sastav etarskih ulja/ekstrakata biljnih vrsta *D. carota* i *D. guttatus* ssp. *zahariadii*

Sastojci	RI <sup>a</sup>	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	klasa
3-Metil-1-butanol	736	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	O
1-Pentanol	762	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	O
Butanska kiselina	763	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	O
(Z)-2-Penten-1-ol	765	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	GR
Heksanal	803	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	GR
Furfural	833	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	O
(E)-2-Heksenal	851	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	GR
(E)-3-Heksen-1-ol	851	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	GR
(Z)-3-Heksen-1-ol	852	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	GR
1-Heksanol	862	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	GR
3-Metil-2-butanska kiselina	877	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	O
2,4-Heksandion	880	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	O
Heptanal	911	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	tr	GR
$\alpha$ -Tujon	929	-	tr	tr	-	tr	-	tr	tr	tr	tr	MT
$\alpha$ -Pinen	935	0,3	2,0	0,1	0,1	28,3	33,8	5,4	7,5	3,3	29,3	MT
Kamfen	953	tr	tr	tr	-	1,3	tr	0,3	0,3	0,2	1,5	MT
(E)-2-Heptenal	955	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	GR
Tuja-2,4(10)-dien	959	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	MT
Benzaldehid	964	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	O
Sabinen	977	0,3	3,5	tr	0,1	16,8	7,8	1,7	3,1	5,1	16,0	MT
2,3-Oktandion	982	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O
$\beta$ -Pinen	984	tr	tr	0,1	tr	2,4	0,1	2,3	1,3	1	2,6	MT
6-Metil-5-hepten-2-on	987	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	O
$\beta$ -Mircen	992	0,6	0,9	4,3	1,1	3,1	0,3	1,1	0,8	1,2	4,0	MT
<i>trans</i> -Dehidroksi-linalool oksid	992	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	MT*
2-Pentilfuran	993	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	GR
Dehidro-1,8-sineol	995	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	MT*
Mezitilen	999	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	O
Oktanal	1003	tr	-	0,2	tr	-	-	-	-	tr	tr	GR
$\alpha$ -Felandren	1008	-	-	0,1	tr	tr	-	0,3	-	-	tr	MT





**Tabela 5.1.** (nastavak)

Sastojci	RI	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	klasa
2-Metilbutil-2-metilbutanoat	1107	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O
Nonanal	1107	tr	-	tr	-	-	tr	-	tr	-	tr	GR
2,6-Dimetilcikloheksanol	1113	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	O
2-Etil-1,3-dimetilbenzen	1115	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	O
2-Fenil-1-etanol	1116	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	O
<i>p</i> -Menta-1,3,8-trien	1116	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	MT
<i>trans-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol	1123	tr	-	tr	-	-	-	-	tr	0,1	tr	MT*
<i>cis-p</i> -Menta-2-en-1-ol	1124	-	-	tr	-	-	-	-	-	tr	tr	MT*
$\alpha$ -Kamfolenal	1129	-	tr	-	-	-	-	-	tr	0,1	tr	MT*
<i>cis</i> -Limonen-oksid	1135	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	MT*
<i>cis-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol	1137	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	MT*
( <i>E,E</i> )-2,6-Dimetilokta-1,3,5,7-tetraen	1139	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	MT
Ipsdienol	1142	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	MT*
<i>trans</i> -Pinokarveol	1144	tr	tr	-	-	-	-	-	tr	0,3	tr	MT*
4-Ketoizoforon	1145	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O
<i>cis</i> -Verbenol	1145	tr	-	-	-	-	-	-	-	0,6	tr	MT*
( <i>E</i> )-Epoksi-ocimen	1146	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	MT*
<i>trans</i> -Sabinol	1146	-	tr	-	-	-	-	-	-	tr	-	MT*
<i>trans</i> -Verbenol	1148	-	tr	-	-	-	-	-	tr	-	2,1	MT*
Kamfor	1152	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	MT*
2,6-Dimetilokta-1,5,7-trien-3-ol <sup>1</sup>	1155	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	MT*
( <i>Z</i> )-2-Nonenal	1159	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	GR
2-Metil-6-metilenokta-1,7-dien-3-ol	1161	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MT*
Sabina keton	1162	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	MT*
( <i>E</i> )-2-Nonenal	1163	tr	-	0,3	-	-	-	-	tr	0,5	-	GR
Oktanska kiselina	1164	-	-	tr	0,4	-	-	-	-	-	-	O
<i>trans</i> -Linalool-oksid-acetat	1267	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	MT*
Pinokarvon	1167	tr	tr	-	-	-	-	-	tr	0,1	tr	MT*
<i>p</i> -Menta-1,5-dien-8-ol	1170	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	MT*
Borneol	1176	-	-	0,1	tr	-	-	tr	tr	0,1	-	MT*

**Tabela 5.1.** (nastavak)

Sastojci	RI	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	klasa
<i>cis</i> -Pinokamfon	1181	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	MT*
Terpinen-4-ol	1182	tr	-	tr	-	-	-	-	-	0,2	7,9	MT*
<i>p</i> -Cimen-8-ol	1189	tr	-	0,2	-	-	-	0,3	-	-	tr	MT*
Naftalen	1189	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	O
<i>p</i> -Menta-1,5-dien-7-ol	1193	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	MT*
<i>trans-p</i> -Menta-1(7),8-dien-2-ol	1195	tr	-	-	-	-	-	-	tr	0,1	-	MT*
$\alpha$ -Terpineol	1195	tr	-	-	-	-	-	-	-	0,4	tr	MT*
Mirtenol	1197	tr	-	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	MT*
Dodekan	1200	tr	-	0,1	0,3	0,1	0,1	tr	-	-	tr	O
<i>cis</i> -Piperitol	1200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	MT*
Mirtenal	1201	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	MT*
Dekanal	1209	tr	-	tr	-	-	-	-	-	tr	-	GR
<i>trans</i> -Piperitol	1211	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	tr	MT*
<i>trans</i> -3(10)-Karen-2-ol	1214	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	MT*
Verbenon	1215	-	tr	-	-	-	-	-	tr	0,1	tr	MT*
$\beta$ -Ciklocitral	1222	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	O
<i>trans</i> -Karveol	1223	tr	-	-	-	-	-	-	tr	0,1	tr	MT*
Nerol	1230	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	tr	MT*
Timol metiletar	1230	tr	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	MT*
<i>cis</i> -Karveol	1234	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	MT*
<i>cis-p</i> -Menta-1(7),8-dien-2-ol	1235	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	MT*
Neral	1243	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	tr	MT*
Kumin aldehid	1244	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	MT*
Karvon	1247	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	MT*
<i>trans</i> -Hrizantenil-acetat	1248	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	MT*
Geraniol	1255	-	tr	tr	-	-	-	-	3,4	5,2	tr	MT*
( <i>E</i> )-2-Decenal	1256	tr	-	0,1	-	-	-	-	-	0,1	tr	GR
<i>cis</i> -Hrizantenil-acetat	1258	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	MT*
Nonanska kiselina	1267	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	O
Geranial	1272	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,1	tr	MT*

**Tabela 5.1.** (nastavak)

Sastojci	RI	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	klasa
<i>cis</i> -Tetrahidrojasmon	1278	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	O
Izobornil-acetat	1289	-	tr	-	-	0,1	tr	-	-	-	tr	MT*
<i>p</i> -Cimen-7-ol	1293	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	MT*
Bornil-acetat	1293	tr	-	4	1,1	-	-	0,6	0,3	0,3	-	MT*
2-Undekanon	1293	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	O
$\alpha$ -Terpinen-7-al	1294	-	tr	tr	-	-	-	-	-	tr	-	MT*
Timol	1294	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	MT*
<i>trans</i> -Sabinil-acetat	1297	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	MT*
Tridekan	1300	tr	-	tr	0,5	0,3	0,1	tr	tr	tr	tr	O
<i>trans</i> -Pinokarvil-acetat	1302	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	MT*
Teaspiran A (Izomer 1)	1303	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	O
Undekanal	1308	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	GR
Neidentifikovano jedinjenje 1	1308	-	-	2,1	-	-	-	-	-	-	-	O
<i>cis</i> -Pinokarvil-acetat	1317	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	MT*
( <i>E,E</i> )-2,4-Dekadienal	1318	tr	-	-	-	-	-	-	-	0,1	tr	GR
Teaspiran B	1319	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	O
Mirtenil acetat	1325	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	MT*
<i>p</i> -Menta-1,4-dien-7-ol	1332	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	MT*
<i>trans</i> -Piperitil-acetat	1339	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	MT*
$\delta$ -Elemen	1341	-	-	-	0,1	tr	-	-	-	-	tr	ST
<i>trans</i> -Karvil-acetat	1343	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	MT*
4-Izopropenil-1-metil-1,2-cikloheksandiol <sup>1</sup>	1348	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	MT*
$\alpha$ -Terpinil-acetat	1352	-	tr	tr	-	0,1	tr	tr	-	0,2	tr	MT*
$\alpha$ -Kubeben	1353	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	ST
$\alpha$ -Longipinen	1357	-	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	tr	ST
Neril-acetat	1358	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,2	-	MT*
Eugenol	1361	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	tr	PHP
Dekanska kiselina	1365	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	O
( <i>E</i> )-2-Undecenal	1366	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	GR



**Tabela 5.1.** (nastavak)

Sastojci	RI	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	klasa
$\gamma$ -Dekanolakton	1471	-	tr	-	-	-	-	-	-	tr	tr	O
1-Dodekanol	1475	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	O
<i>cis</i> -Murolo-4(14),5-dien	1477	tr	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	ST
$\gamma$ -Murolen	1477	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	ST
Dauka-5,8-dien	1477	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	ST
10- <i>epi</i> - $\beta$ -Akoradien	1479	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	ST
$\gamma$ -Kurkumen	1481	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	ST
$\beta$ -Akoradien	1485	0,2	-	-	-	-	-	0,6	-	-	-	ST
( <i>Z, E</i> )- $\alpha$ -Farnezen	1486	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	ST
<i>ar</i> -Kurkumen	1486	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	ST
$\gamma$ -Himahalen	1487	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	ST
Germakren D	1488	0,4	tr	0,8	0,3	2,6	0,4	3,7	0,8	0,4	3,4	ST
3-Metil-2-butenil-benzoat	1489	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	O
( <i>E</i> )- $\beta$ -Jonon	1490	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	tr	O
$\beta$ -Selinen	1493	0,1	tr	-	-	-	-	-	tr	0,1	tr	ST
1-Feniletil-2-metilbutanoat	1494	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O
( <i>Z, E</i> )- $\alpha$ -Farnezen	1496	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	ST
( <i>E</i> )-Metil izoeugenol	1496	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	PHP
<i>cis</i> - $\beta$ -Gujen	1497	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ST
Pentadekan	1500	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	O
$\alpha$ -Selinen	1501	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	ST
$\alpha$ -Zingiberen	1502	0,1	tr	0,3	0,1	-	-	tr	-	-	-	ST
Biciklogermakren	1503	0,6	-	0,2	-	0,8	0,2	0,3	0,3	0,3	tr	ST
( <i>E, E</i> )- $\alpha$ -Farnezen	1505	-	-	0,2	0,1	-	-	0,3	-	-	-	ST
Izodaucen	1505	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	ST
( <i>Z</i> )- $\alpha$ -Bisabolen	1512	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	ST
$\beta$ -Bisabolen	1517	34,2	4,3	0,9	0,5	10,4	22,1	0,3	4,9	0,9	-	ST
Seskvisineol	1518	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	ST*
$\delta$ -Amorfen	1520	-	-	-	-	tr	tr	-	-	0,1	-	ST
$\delta$ -Kadinen	1520	-	-	tr	-	-	-	tr	tr	-	tr	ST









**Tabela 5.1.** (nastavak)

Sastojci	RI	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	klasa
Neidentifikovano jedinjenje 4	2113	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	0
(E)-Fitol	2116	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	1,6	DT*
(Z,Z)-9,12-Oktadekadienska kiselina	2129	-	-	0,1	1,4	-	-	0,6	3,9	-	-	0
Neidentifikovano jedinjenje 5	2133	-	-	-	-	-	-	2,9	-	-	-	0
Neidentifikovano jedinjenje 6	2139	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	0
Etil-(Z,Z)-9,12-oktadekadienoat	2142	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0
(Z)-9-Oktadecenska kiselina	2147	-	2,9	-	-	-	-	-	8,6	-	-	0
Neidentifikovano jedinjenje 7	2147	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	0
Oktadekanska kiselina	2160	-	-	-	0,7	-	-	0,6	4,7	-	-	0
Falkarindiol	2199	-	-	0,1	13,4	-	-	4,9	-	-	-	PA
Dokozaan	2200	tr	-	-	-	tr	tr	-	-	tr	tr	0
Neidentifikovano jedinjenje 8	2276	-	-	-	-	-	-	4,0	-	-	-	0
Neidentifikovano jedinjenje 9	2278	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	0
1-Trikozen	2285	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	tr	0
Falkarindiol 3-acetat	2286	-	-	0,2	3,3	-	-	-	-	-	-	PA
Trikozaan	2300	tr	tr	-	-	0,1	tr	-	0,5	tr	tr	0
2-Etilheksil-3-(4-metoksifenil)-2-propenoat <sup>1</sup>	2316	-	-	tr	0,7	-	-	-	-	-	-	0
Eikozanska kiselina	2362	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	0
Tetrakozaan	2400	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0
Pentakozaan	2500	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	2,8	0
Dokozanska kiselina	2566	-	-	-	0,1	-	-	-	0,5	-	0,3	0
Etil-dokozanoat	2593	-	-	-	-	0,1	tr	-	-	-	-	0
Heksakozaan	2600	tr	tr	-	-	0,1	-	-	-	tr	tr	0
1-Heptakozen	2693	-	-	-	-	tr	0,3	-	-	-	-	0
Heptakozaan	2700	tr	tr	tr	-	1,7	0,3	-	2,3	0,1	tr	0
Metil-tetrakozanoat	2728	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	0
4-Metilheptakozaan	2759	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	0
Etil-tetrakozanoat	2793	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	0

**Tabela 5.1.** (nastavak)

Sastojci	RI	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	klasa
Oktakozan	2800	tr	tr	-	-	0,3	0,1	-	0,8	tr	-	O
(E)-Skvalen	2809	-	-	0,1	1,5	0,1	0,2	0,3	-	-	-	TT
2-Metiloktakozan	2861	-	-	-	-	tr	tr	-	tr	tr	-	O
Nonakozan	2900	tr	-	tr	0,1	6,3	12,1	tr	6,7	0,1	tr	O
Heksakozanska kiselina	2961	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	O
3-Metilnonakozan	2972	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	O
Triakontan	3000	-	tr	-	-	0,1	tr	-	0,5	-	-	O
Hentriakontan	3100	-	-	-	-	1,5	0,1	-	-	-	tr	O
Holesterol	3101	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	S
$\alpha$ -Tokoferol	3101	-	-	-	0,3	tr	tr	-	-	-	-	O
Dotriakontan	3200	-	tr	-	-	0,1	-	-	-	-	-	O
Kampesterol	3211	-	-	-	0,8	-	-	0,9	-	-	-	S
Stigmasterol	3244	-	-	-	3,3	0,6	0,1	3,4	1,8	-	-	S
$\beta$ -Sitosterol	3314	-	-	-	3,0	1,7	0,3	5,7	3,4	-	-	S
$\beta$ -Amirin	3352	-	-	-	-	tr	-	-	0,5	-	-	TT*
Stigmasta-4,22-dien-3-on	3399	-	-	-	0,4	-	-	0,6	-	-	-	S
$\alpha$ -Amirin	3414	-	-	-	-	tr	-	-	0,5	-	-	TT*
Amirin acetat <sup>1</sup>	3474	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	TT*
Stigmasta-4-en-3-on	3482	-	-	-	-	-	-	0,9	0,3	-	-	S
Ukupno identifikovano		99,8	99,8	92,6	95,2	88,4	92,2	82,9	92,5	91,2	94,1	
Broj identifikovanih sastojaka		108	92	116	69	64	52	59	93	108	163	
Fenilpropanoidi-PHP		59,0	-	0,1	0,7	-	-	tr	-	0,1	tr	
Diterpeni-DT		tr	-	tr	-	tr	tr	-	tr	-	tr	
Oksigenovani diterpeni-DT*		-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,6	
"Green leaf" derivati-GR		tr	-	0,6	tr	tr	tr	-	tr	0,7	tr	
Monoterpeni-MT		2,6	6,4	17,5	9,3	55,9	44,6	50,2	14,3	13,0	66,2	
Oksigenovani monoterpeni-MT*		tr	7,6	6,2	2,0	0,4	0,3	0,9	18,9	66,5	11,1	
Steroidi-S		-	-	-	7,8	2,3	0,4	11,5	5,5	-	-	
Seskviterpeni-ST		37,3	25,6	59,2	36,6	17,6	33,2	11,3	13,6	5,6	5,2	
Oksigenovani seskviterpeni-ST*		0,9	57,3	3,9	0,7	1,4	0,4	0,9	2,1	4,8	2,7	

**Tabela 5.1.** (nastavak)

Klasa	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Triterpeni-TT	-	-	0,1	1,5	0,1	0,2	0,3	-	-	-
Oksigenovani triterpeni-TT*	-	-	-	-	tr	tr	-	1,0	-	-
Ostalo-O	tr	2,9	1,0	13,0	10,7	13,1	2,6	37,1	0,5	7,3
Poliacetileni-PA	-	-	4,0	23,6	-	-	5,2	-	-	-

<sup>1</sup>- nije poznata tačna stereochemija; tr- trag (<0.05%)

<sup>a</sup>- Jedinjenja su navedena po redosledu eluiranja sa HP-5MS kolone (RI eksperimentalno određeni retencioni indeksi na pomenutoj koloni koinjekcijom homologe serije *n*-alkana C<sub>7</sub>-C<sub>35</sub>)

Neidentifikovano jedinjenje 1: EIMS, 70 eV, *m/z* (rel.int.): 151(29), 134(34), 109(100), 91(18), 81(17), 69(26), 43(82), 41(24)

Neidentifikovano jedinjenje 2: EIMS, 70 eV, *m/z* (rel.int.): 245(10), 244(45), 215(24), 187(16), 131(17), 117(97), 115(40), 105(29), 91(100), 57(24)

Neidentifikovano jedinjenje 3: EIMS, 70 eV, *m/z* (rel.int.): 244(10), 159(97), 131(62), 129(83), 117(87), 115(58), 103(82), 91(71), 77(64), 57(100), 41(61)

Neidentifikovano jedinjenje 4: EIMS, 70 eV, *m/z* (rel.int.): 218(11), 200(24), 185(62), 160(88), 159(45), 146(45), 145(100), 105(32), 59(33), 55(30)

Neidentifikovano jedinjenje 5: EIMS, 70 eV, *m/z* (rel.int.): 280(12), 121(23), 93(100), 92(27), 80(37), 69(24), 41(22)

Neidentifikovano jedinjenje 6: EIMS, 70 eV, *m/z* (rel.int.): 286(9), 159(76), 145(60), 141(47), 131(36), 115(53), 106(44), 91(51), 55(33), 43(100)

Neidentifikovano jedinjenje 7: EIMS, 70 eV, *m/z* (rel.int.): 289(12), 147(40), 133(40), 129(40), 128(47), 115(36), 91(48), 55(36), 43(100), 41(34)

Neidentifikovano jedinjenje 8: EIMS, 70 eV, *m/z* (rel.int.): 232(12), 159(21), 121(21), 119(13), 93(17), 83(100), 55(59)

Neidentifikovano jedinjenje 9: EIMS, 70 eV, *m/z* (rel.int.): 334(10), 177(12), 137(21), 119(25), 107(11), 83(100), 55(53), 43(16), 41(14)

redom). Ova klasa jedinjenja je najdominantnija i u biljnoj vrsti *D. reboudii* (Djarri *et al.*, 2006).

U sredini cvetnog štita vrste *D. carota* nalazi se po jedan cvet crne boje okružen belim cvetovima (slika 3.2). Pretpostavlja se da bi on mogao da ima ulogu kod oprašivanja, pa je moguće da se njegov hemijski sastav razlikuje od sastava ostalih cvetova u štitu, što je i bio razlog zasebnog ispitivanja. Generalno, hemijski sastav cvetova je kvalitativno jako sličan, dok je velika razlika uočena u količini nonakozana (6,3% u belim i 12,1% u crnim cvetovima),  $\beta$ -kariofilena (1,5 i 10,1%) i  $\beta$ -bisabolena (10,4 i 22,1%). Uzimajući u obzir zastupljenost glavnih sastojaka, ekstrakti cvetova imaju veću sličnost sa uzorkom nadzemnih delova biljne vrste *D. guttatus* (količina seskviterpena, i naročito  $\beta$ -bisabolena) nego sa uljem nadzemnih delova same vrste *D. carota*. Velika varijabilnost isparljivih sastojaka u ispitivanim vrstama roda *Daucus* jasno se može uočiti i na osnovu odnosa glavnih klasa jedinjenja i glavnog sastojka. Tako je u uzorku B (komercijalni šizokarpi) klasa oksigenovanih seskviterpena najdominantnija (57,3%), sa najvećim sadržajem karotola (55,2%, koji je detektovan samo u tom uzorku), dok je u uzorku I (šizokarpi samonikle biljne vrste) dominirala klasa oksigenovanih monoterpena, sa najvećom količinom geranil-acetata (53,2%).

Kako je u opštem delu već opisano, najveća pažnja istraživača bila je usmerena na ispitivanje šizokarpa biljnih vrsta roda *Daucus*, a veći broj njih je identifikovao karotol kao glavni sastojak ulja komercijalnih uzoraka (Ashraf *et al.*, 1979 i dr). Misiak i saradnici (2004) su pokazali da mnogi sastojci šargarepe imaju alelopatski efekat, posebno karotol i daukol. Značajna je činjenica da su karotol (55,2%) i daukol (tr) prisutni samo u uzorku B (komercijalni uzorak), a da je u uzorcima H i J (samonikla biljka) dominantan geranil-acetat (14,2% i 52,2%), koji je u uzorku B prisutan sa samo 7,6%, jer ukazuje na to da (a)biotički stres utiče na povećanje nivoa karotola u biljci, a kako poseduje alelopatske osobine, to može biti jedan od razloga zbog čega upravo komercijalni uzorci sadrže veliku količinu ovog jedinjenja.

U opštem delu je pomenuto da se, na osnovu sastava ulja šizokarpa, šargarepe mogu podeliti u četiri hemotipa: geranil-acetat, karotol, sabinen/ $\alpha$ -pinen, i onaj tip kod koga su ovi sastojci prisutni u jednakim količinama. Uzorak šizokarpa samonikle biljne vrste *D. carota*, koji je analiziran u okviru ovog rada, može se svrstati u geranil-acetat hemotip, dok se ulje nadzemnih delova ove vrste kao i uzorci cvetova mogu svrstati u  $\alpha$ -pinen/sabinen hemotip, jer sadrže redom: 29,3, 28,3 i 33,8%  $\alpha$ -pinena, praćenog sabinenom (7,8-16,8%).

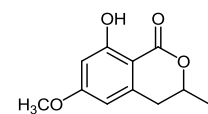
Isparljivi sastojci korena iz uzoraka komercijalne i samonikle šargarepe (C, D i G) veoma su različiti. U komercijalnim uzorcima (C i D), prevladavaju seskviterpenski ugljovodonici, dok su u uzorku G monoterpeni oni koji dominiraju. Glavni sastojci ulja korena samonikle šargarepe je  $\alpha$ -terpinolen, dok su u ulju komercijalnog uzorka korena šargarepe dominantni  $\beta$ -kariofilen (29,9 ulja i 16,3% ekstrakta) i (E)- $\beta$ -bisabolen (20,6 i 14,8%). Takođe, svi ispitivani uzorci korena

razlikuju se po količini poliacetilena prisutnim u njima. Oko četvrtine uzorka D sačinjeno je od poliacetilena, i to pretežno od falkarindiola (13,4%) i falkarinola (6,9%). Falkarindiol-3-acetat (0,2 u uzorku C i 3,3% u uzorku D) nije detektovan u uzorku G. Pferschy-Wenzig i saradnici (2009) su pokazali da je najveća količina falkarindiola u površinskim delovima korena, dok je falkarinol podjednako zastupljen u celom korenu. Za ovaj polinezasićeni alkohol i njegov acetat se veruje da oni nastaju kao odgovor biljke (šargarepe) na abiotički i biotički stres, kao i da zbog njih šargarepa nekada ima odbojno gorki ukus (Czepa i Hofmann, 2003), a poseduju i antialergijsko, antiinflamatorno, antifungalno i antibakterijsko dejstvo (Zidorn *et al*, 2005). Dodatno, ukazano je i na njihovo citotoksično dejstvo na brojne linije ćelija kancera (leukemija), kao i da imaju sinergističko citotoksično dejstvo sa drugim anti-kancer jedinjenjima (Zidorn *et al*, 2005). Još jedan fitoaleksin, 6-metoksimelein, koji nastaje istim poliketidnim biosintetskim putem kao i falkarinol i njegovi derivati, i koji je vrlo karakterističan za šargarepu, identifikovan je jedino u uzorku D (5,3%) (Czepa i Hofmann, 2003). Pored toga bitno je naglasiti i koincidenciju prisustva ovog izokumarina i velike količine poliacetilena u uzorku D. Ovo jasno ukazuje na to da je biljka bila izložena nekoj vrsti stresa. Odsustvo 6-metoksimeleina iz odgovarajućih ulja dobijenih hidrodestilacijom može ukazivati na to da je ovo jedinjenje nestabilno pri uslovima destilacije sa vodenom parom.

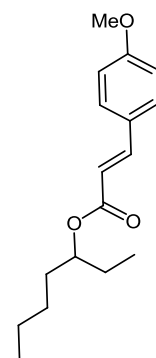
Tri detektovana jedinjenja 2-etilheksil-3-(4-metoksifenil)-2-propenoat, 2-etilheksil-salicilat<sup>12</sup> u uzorcima C i D, i holesterol u uzorku D, jasno ukazuju na kontaminiranje uzoraka uticajem ljudi i mogu se smatrati antropogenim markerima komercijalnih uzoraka šargarepe.

Postojanje fenilpropanoida u etarskom ulju vrste *D. guttatus* i njihovo odsustvo iz vrste *D. carota*, kao i visok sadržaj apiola i njegovo vrlo oskudno nalaženje u biljnim vrstama roda *Daucus*, ne samo da odvajaju ovu biljnu vrstu od vrste *D. carota*, već i od ostalih taksona ovog roda. Prisustvo monoterpena ( $\alpha$ -pinen, sabinen i  $\alpha$ -terpinolen), praćenih seskviterpenskim ugljovodonicima ( $\beta$ -kariofilen,  $\beta$ -bisabolen i (*E*)- $\gamma$ -bisabolen) pretežno prisutnih u nadzemnim delovima i cvetovima vrste *D. carota*, kao i velike količine karotola ili geranil-acetata u šizokarpima, i polinezasićenih alkohola u korenu, još jednom potvrđuje da je prilikom analize preporučljivo raditi odvojeno sve biljne organe zbog velike kvalitativne i kvantitativne varijabilnosti jedinjenja.

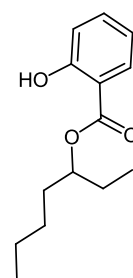
Da bi hemotaksonomska diskusija i/ili utvrđivanje biogenetskog značaja sumiranih podataka o isparljivim sastojcima bili olakšani kao i statistički podržani, urađene su analiza glavne komponente (PCA) i aglomerativna hijerarhijska klaster analiza (AHC). Obe metode primenjene su na sledećim setovima varijabli: originalne varijable (procentualni sadržaj sastojaka koji je veći od 1%) i sume procenata posebnih klasa jedinjenja (monoterpeni, seskviterpeni, diterpeni, triterpeni, fenilpropanoidi, „green leaf“ derivati, poliacetileni, steroidi i ostalo – kao deveta klasa). Dva dendrograma, dobijena kao rezultat klaster analize, predstavljena su na



6-Metoksimelein



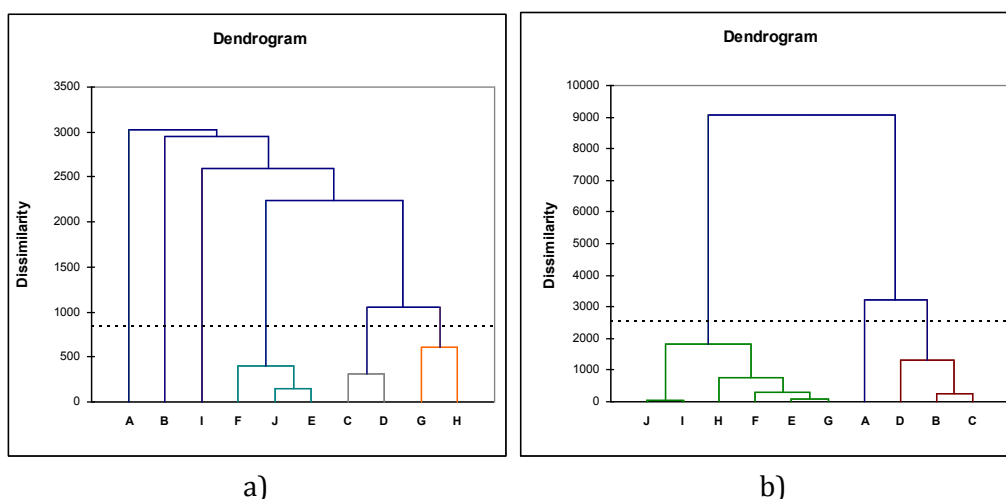
2-Etilheksil-3-(4-metoksifenil)-2-propenoat



2-Etilheksil-salicilat

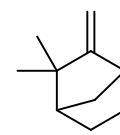
<sup>12</sup> Ovo jedinjenje se koristi u kozmetici (preparati za sunčanje)

slici 5.1. Sa dendrograma *a*), za koji su kao varijable korišćeni sadržaji sastojaka jasno se uočava da je etarsko ulje vrste *guttatus* odvojeno u posebnu grupu u odnosu na sve uzorke vrste *carota*, ukazujući pri tom da njegov glavni sastojak (apiol) može biti hemotaksonomski marker ove vrste. Pored toga, na ovom dendrogramu se može uočiti još pet grupa. Ekstrakt i etarsko ulje dobijeni iz komercijalnih uzoraka korena smešteni su u istu kladu, koja je jako blizu tj. veoma je slična uzorku korena samonikle šargarepe. Uzorci F, J i E (različiti organi nadzemnih delova samonikle šargarepe) smešteni su u istu kladu, na osnovu čega je moguće pretpostaviti da su isparljivi sastojci nadzemnih delova šargarepe locirani u cvetovima. Na osnovu grupisanja ova tri uzorka (F, J i E) može se potvrditi njihova pripadnost pomenutom  $\alpha$ -pinen/sabinen hemotipu. Sa druge strane, geranil-acetat koji je, takođe, jedan od predloženih hemotaksonomskih markera, ni u jednom slučaju nije bio karakterističan za bilo koju od klada. Obe AHC analize pokazuju da ulja/ekstrakti (veća različitost se može uočiti kod ulja) bilo da su izolovani iz različitih organa vrste *carota*, bilo da su iz komercijalnih ili samoniklih biljaka, pripadaju istim kladama u dendrogramu. Na dendrogramu *b*), za koji su kao varijable korišćeni sadržaji (sumirani procenti) klasa jedinjenja, mogu se uočiti tri grupe. Interesantno je da dve klade grupišu uzorke vrste *carota*, od kojih jedna uzorke samonikle biljke, a druga komercijalne uzorke. Treća klada, kojoj pripada samo uzorak A tj. etarsko ulje nadzemnog dela vrste *guttatus*, jasno se odvaja od ostalih, ali je srodnija grupi u kojoj su svrstani uzorci komercijalne šargarepe. Grupa kojoj pripadaju uzorci samoniklih biljaka je dalje podeljena na dve podklade, od kojih je jedna sačinjena od uzorka etarskih ulja, a druga uzorka ekstrakata.

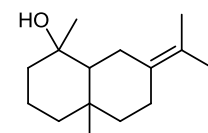


**Slika 5.1.** Dendrogrami (AHC analize) dobijeni korišćenjem a) procenata identifikovanih sastojaka ulja/ekstrakta kao originalne varijable (procentualni sadržaj sastojaka koji je veći od 1% u najmanje jednom od 10 uzorka) i b) relativne količine (suma procenata) sastojaka različitih klasa (monoterpeni, seskviterpeni, diterpeni, triterpeni, fenilpropanoidi, „green leaf“-derivati, poliacetileni, steroidi i ostalo – kao deveta klasa) dobijeni korišćenjem razlika u Euklidovom rastojanju (u okviru intervala [0, 3100] za slučaj *a* i [0, 9100] za *b*) i agregacionog kriterijuma-Ward-ov metod.

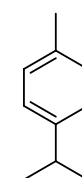
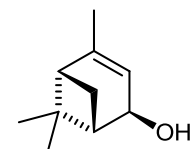
PCA analiza kod koje su korišćene originalne varijable (procentualni sadržaj sastojaka koji je veći od 1%) pokazala je značajne veze između sastojaka etarskih ulja i ekstrakata. Visoki koeficijenti korelacije uočeni su kod izomernih jedinjenja:  $\gamma$ -terpinena i terpinolena (+0,893),  $\alpha$ -terpinena i limonena (+0,733). *p*-Cimen je pokazao jaku korelaciju sa  $\gamma$ -terpinenom (+0,979), terpinolonom (+0,817) i limonenom (+0,802), verovatno zato što su ova tri terpena supstrati iste dehidrogenaze koja vodi do aromatičnog *p*-cimena. Mono i seskviterpen sintetaze iz biljnog sveta su karakteristične po tome, što jedan isti supstrat mogu da transformišu u veliki broj različitih produkata. U ovom slučaju, to je očigledno na primeru  $\gamma$ -terpinena i terpinolena koji nastaju iz istog  $\alpha$ -terpinil katjona. Uzajamna zavisnost monoterpenskih i seskviterpenskih biosintetskih puteva može se uočiti iz velikog broja korelacija sastojaka, kao na primer između  $\alpha$ -bisabolola i tri monoterpena: terpinen-4-ola, *trans*-verbenola i  $\alpha$ -terpinena (0,960, 0,961 i 0,961), a takođe, i germakrena D sa četiri monoterpena ugljovodonika: kamfenom,  $\beta$ -terpinenom, limonenom i *p*-cimenom (0,736, 0,914, 0,876 i 0,818). PCA analiza, takođe, pokazuje jaku korelaciju linaloola sa geraniolom i geranil-acetatom (0,868 i 0,971), i svih njih sa eudesma-7(11)-en-4-olom (0,739, 0,762 i 0,741). Korelacije između samih seskviterpena su, takođe, brojne. Jedan eksplicitni primer je veza između  $\beta$ -kariofilena, humulena i (*E*)- $\gamma$ -bisabolena u opsegu vrednosti koeficijenata od 0,789 do 0,933. Svi oni su dodatno bili u korelaciji sa (*Z*)-falkarinolom. Kao što je verovatno i očekivano, ovaj polinezasićeni alkohol je bio u vezi i sa drugim acetilenima i 6-metoksimeleinom (0,871), ukazujući na zajednički acetatni biosintetski put. Jaka korelacija postoji između apiola i miristicina (0,999), što se može objasniti time da su oni bili supstrati iste oksigenaze. Ova dva fenilpropanoide su u korelaciji sa  $\beta$ -bisabolenom (0,803 i 0,797), pored apiola jedinim sastojkom koji je u većoj količini prisutna komponenta u ulju vrste *guttatus*, a to ukazuje na prisustvo glavnog biosintetičkog puta u ovoj vrsti, za koji se zna da vodi do velikog broja sastojaka. Interesantno je pomenuti da je PCA analiza pokazala jaku korelaciju heksahidrofarnezil acetona – prisutnog u uzorcima J (2,3%), I (0,1%), H (0,3%) i u tragovima u uzorku A, koji je prethodno identifikovan kao produkt autooksidacije bočnog lanca hlorofila – sa (*E*)-fitolom (1,0), hidrolitičkim produktom hlorofila (Rontain *et al*, 1996).



Kamfen



Eudesma-7(11)-en-4-ol

 $\alpha$ -Terpinen*trans*-Verbenol

### 5.1.1. Mikrobiološka aktivnost etarskog ulja/ekstrakta biljnih vrsta *D. guttatus* ssp. *zahariadii* i *D. carota*

Antimikrobna aktivnost etarskog ulja izolovanog iz nadzemnog dela vrste *D. guttatus* i ekstrakta šizokarpa vrste *D. carota* (uzorak A) ispitivana je mikrodilucionom metodom prema preporukama američkog nacionalnog komiteta za kliničke laboratorijske standarde (National Committee for Clinical Laboratory Standards-NCCLS, 2007). Korišćeni su kontrolni laboratorijski sojevi



mikroorganizama, American Type Culture Collection (ATCC), Maryland, SAD i izolati (Odeljak 4.5.1). Uzorci su ispitani na dvanaest bakterijskih sojeva i dve gljivice. Aktivnost etarskog ulja vrste *D. guttatus* do sada nije ispitivana, a uzorak B je izabran kao reprezentativni za analizu zbog velikog sadržaja karotola u njemu. Rezultati testiranja antimikrobne aktivnosti su dati u tabeli 5.2. Generalno, uzorak B je pokazao veću aktivnost protiv svih ispitivanih mikroorganizama u odnosu na uzorak A. Ekstrakt vrste *D. carota* pokazao je aktivnost protiv svih bakterija sa MIC vrednostima u opsegu od 0,546 do 8,750 mg/ml i MBC od 1,093 do 35,0 mg/ml. Ekstrakt je pokazao najveću aktivnost protiv ATCC bakterija *M. flavus* i *E. coli* (MIC = 0,546 mg/ml za obe vrste). Pored antibakterijskog dejstva ekstrakt je pokazao aktivnost i protiv gljivica. Najniža MIC vrednost određena je u slučaju patogenog kvasca *C. albicans* (MIC = MBC = 0,273 mg/ml).

**Tabela 5.2.** Minimalna inhibitorna (MIC) i minimalna baktericidna/fungicidna koncentracija (MBC/MFC) ekstrakta šizokarpa vrste *D. carota* i etarskog ulja vrste *D. guttatus* ssp. *zahariadii*

Mikroorganizmi		Ekstrakt <i>D. carota</i> (mg/ml)		Ulje <i>D. guttatus</i> (mg/ml)		Tetraciklin (µg/ml)	Nistatin (µg/ml)
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MIC
<b>Gram negativne bakterije</b>							
<i>E. coli</i>	izolat	4,375	35,00	12,50	25,00	0,195	NT
<i>E. coli</i>	ATCC 8739	0,546	8,750	6,250	>25,00	1,562	NT
<i>K. pneumoniae</i>	ATCC 10031	4,375	8,750	6,250	6,250	0,390	NT
<i>K. pneumoniae</i>	izolat	2,187	2,187	3,125	25,00	0,390	NT
<i>P. vulgaris</i>	ATCC 8427	2,187	8,750	1,562	>25,00	0,390	NT
<i>S. enterica</i>	ATCC 13076	0,546	35,00	3,125	>25,00	0,195	NT
<b>Gram pozitivne bakterije</b>							
<i>B. cereus</i>	izolat	2,187	2,187	12,50	12,50	0,195	NT
<i>B. subtilis</i>	ATCC 6633	8,750	17,50	3,125	25,00	0,195	NT
<i>C. pyogenes</i>	ATCC 19411	1,093	4,375	0,781	25,00	1,562	NT
<i>M. flavus</i>	ATCC 10240	0,546	4,375	6,250	>25,00	0,390	NT
<i>S. aureus</i>	ATCC 25923	1,093	1,093	3,125	6,250	0,098	NT
<i>S. lutea</i>	ATCC 9341	2,187	2,187	1,562	>25,00	1,562	NT
<b>Gljivice</b>							
<i>A. niger</i>	ATCC 16404	17,50	17,50	>25,00	>25,00	NT	0,781
<i>C. albicans</i>	ATCC 10231	0,273	0,273	>25,00	>25,00	NT	6,250

NT- nije testirano

Etarsko ulje vrste *D. guttatus* u većini slučajeva je imalo umerenu aktivnost, pokazujući inhibitorno dejstvo u intervalu koncentracija 0,781-12,50 mg/ml, sa najvećom aktivnošću protiv *C. pyogenes* (MIC = 0,781 mg/ml). S druge strane, MBC vrednosti znatno su veće u odnosu na MIC vrednosti. Treba naglasiti da najveća testirana koncentracija ulja uzorka A (25,0 mg/ml) nije imala uticaj na rast gljivičnih organizama, a to je ujedno i najveća razlika u aktivnosti uzoraka A i B.

Do sad je u više navrata ispitivana aktivnost ulja i ekstrakata vrsta roda *Daucus*, što je prethodno opisano u opštem delu (poglavlje 3.4), a obuhvatalo je 20 bakterija i 22 gljivice. Ispitivani uzorci pokazali su veoma različite aktivnosti, ponekad uz izraženu selektivnost (Kumarasamy *et al*, 2002). U nekim studijama su bili okarakterisani i aktivni principi uzoraka (Ahmed *et al*, 2005; Rossi *et al*, 2007), uglavnom terpenoidi i/ili fenilpropanoidi. Generalno su etarska ulja pokazala veću aktivnost od ekstrakata.

Rezultati ispitivanja aktivnosti ekstrakta šizokarpa šargarepe koje su sproveli Kumarasamy *et al*. (2002) pokazali su da taj uzorak ima znatno jače dejstvo (MIC 0,01 mg/ml) protiv *B. cereus* od uzorka B (MIC 2,19 mg/ml). Ova razlika se mogla javiti kao posledica upotrebe drugačijeg rastvarača prilikom ekstrahovanja biljnog materijala ili zbog drugačije osetljivosti sojeva *B. cereus* (u ovom radu je korišćen klinički izolat, koji se generalno smatra otpornijim).

Aktivnost ekstrakta vrste *D. carota* bi se mogla delimično objasniti prisustvom velike količine karotola u njemu, za koji se, takođe, zna da ima i antifungalno dejstvo protiv fitopatogene vrste *Alternaria alternata* (Misiak *et al*, 2004). Kako se ispitivani uzorci znatno razlikuju u količini ovog seskviterpena, moglo bi se reći da njegovo prisustvo/odsustvo doprinosi velikoj razlici u njihovoj antimikrobnoj aktivnosti.

Za apiol koji je u uzorku A prisutan u značajnim količinama do sada je pokazano da poseduje veoma slabu aktivnost protiv fitopatogene gljivice *Colletotrichum fragariae*, a da je uopšte neaktivan protiv cijanobakterija i zelenih algi (Meepagala *et al*, 2005). Navedeni rezultati potvrđeni su i ovom prilikom jer je uzorak A pokazivao vrlo malu aktivnost, a u opsegu testirane koncentracije protiv gljivičnih mikroorganizama, ona je u potpunosti izostala. Pored toga, manje zastupljeni miristicin, jedan od fenilpropanoida čija je antimikrobna aktivnost potvrđena u nekoliko navrata (Narasimhan i Dhake, 2006), kao i  $\beta$ -bisabolen, za koji je, takođe, poznato da je antimikrobni agens (Nascimento *et al*, 2007), nisu rezultovali u nekoj značajnoj aktivnosti ovog uzorka.

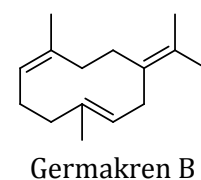
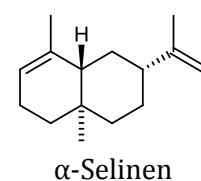
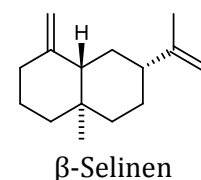
Posebno treba istaći antibakterijsko dejstvo ulja vrste *D. guttatus* protiv patogene *C. pyogenes*. Ovi rezultati ukazuju na to da bi vrsta *D. guttatus* ssp. *zahariadii*, mogla biti jedna od mogućih kandidata za hibridizaciju šargarepe (dobijanje novih sorti šargarepe). Iako genetski kompatibilne, njihovo ukrštanje moglo bi dati nove, hemijski interesantne vrste, što je posebno važno zbog pomenute antimikrobne aktivnosti biljne vrste *D. guttatus* protiv patogenih mikroorganizama.

## 5.2. Hemijski sastav etarskog ulja listova biljne vrste *Carum graecum* Boiss. et Heldr. ssp. *graecum*

Na osnovu gasno-hromatografske i analize gasno-hromatografske sa masenom spektrometrijom identifikovano je 85 jedinjenja u etarskom ulju izolovanom iz listova vrste *Carum graecum* Boiss. et Heldr. ssp. *graecum*, što predstavlja 96,9% ukupne površine detektovanih pikova u hromatogramu (tabela 5.3). Glavni sastojci ulja su dilapiol (29,0%), germakren D (17,0%),  $\beta$ -selinen (11,8%), germakren B (7,7%) i  $\alpha$ -selinen (4,7%). Seskviterpeni čine najzastupljeniju klasu jedinjenja u ulju (56,9%), a oni sa germakranskim (27,1%) i selinanskim (17,1%) skeletima čine više od polovine ove frakcije. Druga klasa po zastupljenosti je klasa fenilpropanoida (29,1%), koji čine jedino dilapiol, elemicin (0,1%) i 6-metoksi-elemicin (<0,05%). Monoterpeni su zastupljeni sa samo 5,6%, što je vrlo neobično za vrste roda *Carum*, imajući u vidu to da su u velikom broju slučajeva u ulju šizokarpa najčešće glavni sastojci  $\gamma$ -terpinen, *p*-cimen, limonen, timol, karvakrol ili karvon, pre svega u vrstama *copticum* i *carvi*, kao i *gracile* Lindl i *anethifolium* Benth. (Oroojalian *et al*, 2010; Seidler-Lozykowska *et al*, 2010; Pura *et al*, 2001; Joshi *et al*, 1984).

U sledećim slučajevima navedeni su primeri vrsta roda *Carum* koji kao glavne sastojke ulja sadrže fenilpropanoide. U etarskom ulju šizokarpa vrste *C. bulbocastanum* dilapiol je bio najdominantniji sa 44,6%, praćen natoapiolom (8,3%), dok je u vrsti *C. nigrum* količina dilapiola bila 29,0%, a notoapiola 5,8% (Singh *et al*, 2006). Notoapiol (62,8%) je kao glavni sastojak identifikovan u ulju nadzemnog dela vrste *C. montanum*, a pored njega u ulju su bila prisutna još tri fenilpropanoida: dilapiol (8,5%), miristicin (0,4%) i apiol u tragovima. Osim u nadzemnom delu notoapiol (78,0%) i dilapiol (9,0%) su identifikovani i u ulju korena ove biljne vrste (Laouer *et al*, 2009). Pored pomenutih, i u vrsti *C. roxburghianum* Benth., fenilpropanoid apiol (20,81%) je glavni sastojak ulja listova, dok je njegova količina u ulju korena 18,7%, u kome je još identifikovan i miristicin (12,3%) koji je bio odsutan iz ulja listova (Chowdhury *et al*, 2009). U jednom uzorku vrste *C. carvi* je uočeno prisustvo fenilpropanoida – metil čavikola (estragola-65,0%) u ulju nadzemnog dela (u punom cvetu) i znatno manje količine monoterpena limonena (14,3%) i  $\beta$ -pinena (7,4%) (De Almeida, 2010).

Iz navedenih primera se može uočiti da su pored monoterpena i fenilpropanoidi vrlo karakteristična klasa jedinjenja etarskih ulja vrsta roda *Carum*. Dilapiol je, pored prisustva u ulju listova vrste *C. graecum*, identifikovan i u vrstama *bulbocastanum* i *nigrum*, čija su etarska ulja šizokarpa veoma slična i na osnovu zastupljenosti drugih sastojaka (germakren B i  $\beta$ -selinen). S druge strane, fenilpropanoidi prisutni u nadzemnom delu vrsta *C. montanum* (notoapiol), *C. roxburghianum* Benth. (apiol) i *C. carvi* (metilčavikol) se razlikuju od nadzemnog dela (listova) biljne vrste *C. graecum* koja sadrži velike količine dilapiola. Kako je to jedina vrsta roda *Carum* koja u listovima sadrži znatne količine dilapiola, on se može smatrati hemotaksonomskim markerom ove vrste.



**Tabela 5.3.** Isparljivi sastojci etarskog ulja listova vrste *Carum graecum*

Sastojci	RI <sup>a</sup>	%	Klasa	Sastojci	RI	%	Klasa
(Z)-2-Pentenol	765	tr	G	Dodekanal	1411	tr	G
Heksanal	801	tr	G	Akora-3,7(14)-dien	1422	tr	ST
Furfural	828	tr	O	(E)- $\beta$ -Kariofilen	1428	3,6	ST
(Z)-3-Heksen-1-ol	850	0,4	G	$\beta$ -Kopaen	1437	0,1	ST
Heksanol	863	tr	G	$\gamma$ -Elemen	1440	0,4	ST
Heptanal	903	tr	G	(E)- $\beta$ -Farnezen	1460	1,9	ST
$\alpha$ -Pinen	938	tr	MT	$\alpha$ -Humulen	1462	0,1	ST
Sabinen	978	tr	MT	<i>cis</i> -Kadina-1(6),4-dien	1471	0,3	ST
1-Okten-3-ol	978	tr	G	4,5-di- <i>epi</i> -Aristolohen	1477	0,3	ST
$\beta$ -Pinen	984	1,9	MT	Selina-4,11-dien	1483	0,3	ST
$\beta$ -Mircen	993	0,8	MT	Amorfa-4,7(11)-dien	1484	0,3	ST
2-Pentil-furan	993	tr	O	Germakren D	1490	17,0	ST
Mezitenil	1000	tr	O	$\beta$ -Selinen	1496	11,8	ST
Oktanal	1004	0,2	G	$\alpha$ -Selinen	1504	4,7	ST
(E)-3-Heksenil-acetat	1007	tr	G	$\beta$ -Alasken	1505	tr	ST
$\alpha$ -Felandren	1010	tr	MT	(E,E)- $\alpha$ -Farnezen	1511	0,5	ST
<i>p</i> -Cimen	1028	0,1	MT	Germakren A	1514	2,4	ST
Limonen	1032	0,3	MT	$\beta$ -Bisabolen	1514	0,8	ST
$\beta$ -Felandren	1034	0,9	MT	$\gamma$ -Kadinen	1522	0,1	ST
(Z)- $\beta$ -Ocimen	1037	tr	MT	$\beta$ -Seskvifelandren	1529	1,0	ST
Fenilacetaldehid	1048	0,4	O	$\delta$ -Kadinen	1529	0,4	ST
(E)- $\beta$ -Ocimen	1048	tr	MT	(E)- $\gamma$ -Bisabolen	1538	0,1	ST
5-Metildekan	1056	tr	O	$\alpha$ -Kadinen	1545	0,1	ST
$\gamma$ -Terpinen	1062	0,7	MT	Elemicin	1561	0,1	PH
Terpinolen	1093	0,5	MT	Germakren B	1567	7,7	ST
Metil-benzoat	1093	tr	O	Germakren D-4-ol	1584	tr	ST
Undekan	1100	tr	O	Spatulenol	1587	tr	ST
Linalool	1102	tr	MT	Kariofilen-oksid	1592	tr	ST
Nonanal	1106	tr	G	6-Metoksielemicin	1602	tr	PH
1-Okten-3-il-acetat	1112	tr	G	Dilapiol	1634	29,0	PH
(E)-2-Nonenal	1161	tr	G	$\alpha$ -Eudezmol	1661	tr	ST
Lavandulol	1169	tr	MT	$\alpha$ -Kadinol	1664	tr	ST
$\alpha$ -Terpineol	1196	tr	MT	Selin-11-en-4-ol*	1665	0,3	ST
Metiltimol	1233	0,2	MT	Germakra-4(15),5,10(14)-trien-1 $\alpha$ -ol	1696	tr	ST
Metilkarvakrol	1238	0,2	MT	Kriptomerion	1733	tr	ST
(E)-2-Decenal	1264	tr	G	Heksahidrofarnezilaceton	1848	tr	O
Lavandulil-acetat	1292	tr	MT	(Z)-Falkarinol	2041	2,9	O
<i>p</i> -Vinilgvajakol	1319	tr	O	(E)-Fitol	2119	0,1	O
(E,E)-2,4-Dekadienal	1321	tr	G	Trikozan	2300	tr	O
Citronelil-acetat	1355	tr	MT	Pentakozan	2500	tr	O
$\alpha$ -Kopaen	1383	tr	ST	Heptakozan	2700	tr	O
$\beta$ -Burbonen	1392	0,1	ST	Nonakozan	2900	1,3	O
$\beta$ -Elemen	1398	2,6	ST				
<b>ukupno identifikovano</b>	<b>96,9</b>			monoterpeni (MT)		5,6	
seskviterpeni (ST)	56,9			"green leaf" derivati (G)		0,6	
fenilpropanoidi (PH)	29,1			ostalo (O)		4,7	

<sup>a</sup>- Jedinjenja su navedena po redosledu eluiranja sa HP-5MS kolone (RI eksperimentalno određeni retencioni indeksi na pomenutoj koloni koinjekcijom homologe serije *n*-alkana C<sub>7</sub>-C<sub>29</sub>); tr- trag (<0.05%); \*- tačan stereoizomer nije određen

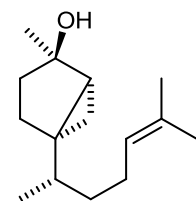
Međutim, imajući u vidu primere nekih biljnih vrsta porodice Apiaceae (*Crithmum maritimum* L. (Pateira *et al*, 1999) i *Molopospermum peloponnesiacum* L. (Kubeczka i Ullmann, 1983)) u kojima postoji velika varijacija u sadržaju dilapiola, kao posledica postojanja hemotipova ili drugačije akumulacije metabolita u različitim organima, ova klasifikacija se odnosi isključivo na infragenerički nivo.

### 5.3. Hemijski sastav etarskog ulja biljne vrste *Geocaryum cynapioides* (Guss.) L. Engstrand

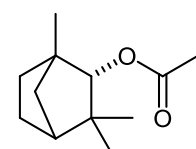
U etarskom ulju biljne vrste *Geocaryum cynapioides* (Guss.) L. Engstrand, u uzorku GCy1 (štit u cvetu, stabljika, list i koren) identifikovano je 44 sastojaka, što predstavlja 98,7% ukupnog ulja, dok je u uzorku GCy2 (stabljika, list i štit sa zrelim šizokarpima) identifikovano 123 sastojaka, koji čine 98,4% ulja. Terpenoidi su najzastupljenija klasa jedinjenja (97,3%-GCy1 i 93,0%-GCy2) sa mnogo većim udelom seskviterpena (97,2%-GCy1 i 86,5%-GCy2) u odnosu na monoterpena (0,1% i 6,5%). U oba uzorka više od 80% ulja pripada ugljovodoničnim seskviterpenima, među kojima je najdominantniji (*E*)- $\beta$ -farnezen (73,3%-GCy1 i 57,7%-GCy2), praćen (*E,E*)- $\alpha$ -farnezenom (4,8%-GCy1 i 14,6%-GCy2) i *trans*-seskvisabinen-hidratom (12,2%-GCy1 i 3,0%-GCy2). U okviru seskviterpenske frakcije najbrojniji su sastojci sa bisabolanskim skeletom ili njima srodni (SB, 13 u oba uzorka), a zatim oni sa acikličnim (farnezanskim) skeletom (SA, 5 u GCy1 i 10 u GCy2 uzorku), dok je njihov kvantitativni odnos obrnut (SB: 13,9%-GCy1 i 4,3%-GCy2; SA: 80,1%-GCy1 i 77,7%-GCy2). Kvalitativno se uzorci GCy1 i GCy2 razlikuju po prisustvu/odsustvu *endo*-fenhil-acetata (dominantan u monoterpenskoj frakciji uzorka GCy2) i tri seskviterpenska laktona, jedan selinanskog (kalitrisin – 5,10-di-*epi*-eudesma-1,4(14)-dien-8,12-olid) i dva gvajanskog tipa (grilakton – gvaja-3,10(14)-dien-6,12-olid i jalkagvajanolid – gvaja-3,7(11),10(14)-trien-6,12-olid).

Ova razlika se može povezati sa stepenom razvića biljke (fenofaze). Laktone gvajanskog tipa su generalno veoma retki sekundarni metaboliti i do sada su nađeni samo u biljnim vrstama porodice Apiaceae, i to u rodovima – *Ferula* (pet vrsta ovog roda sadrži grilakton (Kabilov *et al*, 1994; Casinovi *et al*, 1989; Nurmukhamedova *et al*, 1982; Malone *et al*, 1980; Kir'yalov, 1964), dok dve sadrže jalkagvajanolid (Kabilov *et al*, 1994; Casinovi *et al*, 1989; Filippini *et al*, 2000)) i *Anthriscus* (grilakton je identifikovan u biljnoj vrsti *A. nitida*), što sugeriše na postojanje bliske srodničke veze između pomenutih rodova i roda *Geocaryum*, a to potvrđuju i morfološke sličnosti u slučaju biljne vrste *A. nitida* (Muckensturm *et al*, 1995).

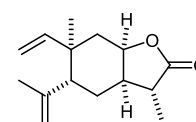
Nedavna filogenetska analiza zasnovana na ispitivanju *internal transcribed spacer*-a (ITS) jedarnih rDNK, pokazala je da sedam rodova iz familije Apiaceae, uključujući *Geocaryum* i *Anthriscus*, čine izdvojenu grupu u okviru tribusa Scandiacae, podfamilije Apioideae (Downie *et al*, 2000a). Osim toga, u još jednom filogenetskom istraživanju na osnovu *rpl16* i *rpoC1* introna DNK hloroplasta, uočeno



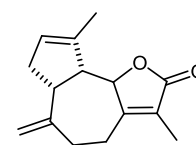
*trans*-Seskvisabinen hidrat



*endo*-Fenhilacetat



Kalitrisin



Jalkagvajanolid



Šizokarpi biljne vrte *A. nitida*

**Tabela 5.4.** Isparljivi sastojci etarskog ulja vrste *Geocaryum cynapioides*

Sastojci	RI <sup>a</sup>	Gcy1(%)	Gcy2(%)	Klasa	Sastojci	RI	Gcy1(%)	Gcy2(%)	Klasa
3-Metil-2-buten-1-ol	784	-	tr	H	<i>cis</i> -Linalool oksid (furanoidi)	1076	-	tr	MA
3-Metil-2-butenal	791	-	tr	H	Terpinolen	1093	-	0,1	MM
Heksanal	803	-	tr	G	Fenhon	1095	-	tr	MF
Furfural	834	-	tr	G	Undekan	1101	-	tr	O
( <i>E</i> )-2-Heksenal	852	-	0,1	G	Linalool	1102	-	tr	MA
( <i>Z</i> )-3-Heksen-1-ol	853	0,3	-	G	Nonanal	1106	-	tr	G
( <i>Z</i> )-2-Heksen-1-ol	861	0,1	tr	G	( <i>E</i> )-6-Metilhepta-3,5-dien-2-on	1109	-	tr	C
1-Heksanol	863	tr	tr	G	1-Okten-3-il acetat	1112	-	tr	G
Heptanal	903	-	tr	G	<i>endo</i> -Fenhol	1119	-	0,1	MF
3-Metiltiopropanal	909	-	tr	O	<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol	1127	-	tr	MM
$\alpha$ -Tujen	930	-	tr	MT	( <i>E</i> )-2-Nonenal	1161	-	tr	G
$\alpha$ -Pinen	938	-	0,1	MP	Terpinen-4-ol	1183	-	tr	MM
Kamfen	954	-	tr	MB	$\alpha$ -Terpineol	1196	-	tr	MM
( <i>E</i> )-2-Heptenal	956	-	tr	G	Dekanal	1208	-	tr	G
Benzaldehid	965	-	tr	O	( <i>E,E</i> )-2,4-Nonadienal	1218	-	tr	G
Sabinen	978	-	0,3	MT	<i>endo</i> -Fenhil-acetat	1225	-	4,7	MF
$\beta$ -Pinen	984	-	0,1	MP	( <i>E</i> )-2-Decenal	1264	-	tr	G
6-Metil-5-hepten-2-on	987	-	0,1	C	Izobornil-acetat	1290	-	0,1	MB
Mircen	993	-	0,2	MA	( <i>E,Z</i> )-2,4-Dekadienal	1297	-	tr	G
2-Pentilfuran	994	-	tr	G	Tridekan	1300	-	tr	O
2,4,6-Trimetilpiridin	999	-	tr	O	p-Vinilgvajakol	1319	-	tr	O
( <i>E,Z</i> )-2,4-Heptadienal	1001	-	tr	G	( <i>E,E</i> )-2,4-Dekadienal	1320	-	tr	G
Oktanal	1004	-	tr	G	Ciklosativen	1375	-	tr	S
$\alpha$ -Felandren	1010	-	tr	MM	$\alpha$ -Kopaen <sup>b</sup>	1383	tr	tr	S
( <i>E,E</i> )-2,4-Heptadienal	1014	-	tr	G	Geranil-acetat	1386	tr	-	MA
$\alpha$ -Terpinen	1021	-	tr	MM	$\beta$ -Burbonen	1392	tr	tr	S
<i>p</i> -Cimen	1028	-	0,1	MM	$\beta$ -Kubeben	1397	-	tr	S
Limonen	1032	-	0,2	MM	$\beta$ -Elemen	1398	tr	tr	SE
( <i>Z</i> )- $\beta$ -Ocimen	1037	0,1	tr	MA	Seskvitujen <sup>c, d</sup>	1410	0,1	tr	SB
Fenilacetaldehid	1047	-	0,3	O	$\beta$ -Kariofilen <sup>b</sup>	1428	0,7	0,9	SC
( <i>E</i> )- $\beta$ -Ocimen	1048	tr	-	MA	Himahala-2,4-dien	1434	tr	0,5	SH
( <i>E</i> )-2-Oktenal	1059	-	tr	G	$\alpha$ - <i>trans</i> -Bergamoten <sup>b, d</sup>	1441	tr	tr	SB
$\gamma$ -Terpinen	1062	-	0,5	MM	( <i>Z</i> )- $\beta$ -Farnezen <sup>b</sup>	1448	tr	tr	SA
<i>cis</i> -Sabinen hidrat	1071	-	tr	MT	( <i>E</i> )- $\beta$ -Farnezen <sup>b, c, d</sup>	1465	73,3	57,7	SA

**Tabela 5.4. (nastavak)**

Sastojci	RI <sup>§</sup>	Gcy1(%)	Gcy2(%)	Klasa	Sastojci	RI	Gcy1(%)	Gcy2(%)	Klasa
$\alpha$ -Humulen	1465	-	tr	SC	<i>neo</i> -Intermedeol	1669	-	0,1	SS
$\gamma$ -Kurkumen <sup>c, d</sup>	1485	0,1	0,1	SB	<i>epi</i> - $\beta$ -Bisabolol <sup>c, d, OH</sup>	1677	0,2	tr	SB
Germakren D <sup>b</sup>	1490	2,1	0,7	SG	$\beta$ -Bisabolol <sup>c, d, OH</sup>	1690	tr	0,2	SB
( <i>E</i> )- $\beta$ -Jonon	1492	-	tr	C	Šjobunol	1701	-	0,4	SE
( <i>Z,E</i> )- $\alpha$ -Farnezen <sup>c, d</sup>	1498	2,0	4,3	SA	$\beta$ -Sinensal	1703	-	tr	SA
<i>cis</i> - $\beta$ -Gvajen	1498	-	-	SGG	$\beta$ -Sinensal izomer*	1719	-	0,6	SA
Pentadekan	1500	tr	tr	O	$\alpha$ -Sinensal	1772	-	tr	SA
Biciklogermakren	1505	0,4	0,2	SG	2,7(14)-Bisaboladien-12-ol	1773	-	0,1	SB
( <i>Z</i> )- $\alpha$ -Bisabolen	1508	tr	tr	SB	Heksadekanal	1819	-	tr	G
( <i>E,E</i> )- $\alpha$ -Farnezen <sup>c, d</sup>	1514	4,8	14,6	SA	Neofitadiene izomer II	1841	-	0,1	D
$\beta$ -Bisabolen <sup>b, c, d</sup>	1514	tr	-	SB	Heksahidrofarnezil-aceton	1848	-	tr	C
$\beta$ -Kurkumen <sup>c, d</sup>	1517	0,2	0,1	SB	Nonadekan	1900	-	tr	O
Seskvisineol	1520	tr	-	SB	Kalitrisin	1945	-	tr	SS
$\beta$ -Seskvifelandren <sup>b, c, d</sup>	1529	tr	-	SB	Heksadekanska kiselina	1963	tr	0,1	O
( <i>E</i> )- <i>iso</i> - $\gamma$ -Bisabolen	1531	-	0,1	SB	Grilakton	1971	-	0,1	SGG
( <i>E</i> )- $\gamma$ -Bisabolen <sup>c, d</sup>	1538	tr	0,1	SB	Jalkagvajanolid	1987	-	0,5	SGG
<i>ar</i> -Himahalen	1546	-	tr	SH	1-Eikozen	1994	tr	-	O
Seskviruža furan	1558	-	tr	SA	Eikozan	2000	tr	tr	O
<i>cis</i> -Seskvisabinen- hidrat <sup>b, c, d, OH</sup>	1559	1,1	0,4	SB	Heneikozan	2100	tr	tr	O
( <i>E</i> )-Nerolidol <sup>b</sup>	1568	tr	0,3	SA	( <i>E</i> )-Fitol	2119	-	0,1	D
Dendrolazin	1577	-	0,2	SA	1-Dokozen	2194	tr	-	O
Zingiberenol <sup>b</sup>	1586	-	0,2	SB	Dokozen	2200	tr	tr	O
Kariofilen-oksid	1592	-	0,2	SC	Trikozan	2300	0,2	0,4	O
<i>trans</i> -Seskvisabinen hidrat <sup>b, c, d, OH</sup>	1592	12,2	3,0	SB	Tetrakozaan	2400	tr	0,1	O
Gvajol	1605	-	0,1	SGG	Pentakozaan	2500	0,3	0,7	O
Tetradekanal	1615	-	tr	G	Metil-dokozanoat	2532	-	tr	O
Humulen epoksid II	1619	-	0,1	SC	1-Heksakozen	2595	-	tr	O
Humulen epoksid III	1623	-	0,2	SC	Heksakozaan	2600	tr	tr	O
$\alpha$ -Akorenol	1636	-	0,2	SAA	Heptakozaan	2700	0,2	1,0	O
$\beta$ -Akorenol	1640	-	0,1	SAA	Oktakozaan	2800	-	0,1	O
Selin-11-en-4 $\alpha$ -ol	1664	-	0,2	SS	Nonakozaan	2900	0,3	2,3	O
					Triakontan	3000	-	tr	O
					Hentriakontan	3100	-	tr	O

**Tabela 5.4.** (nastavak)

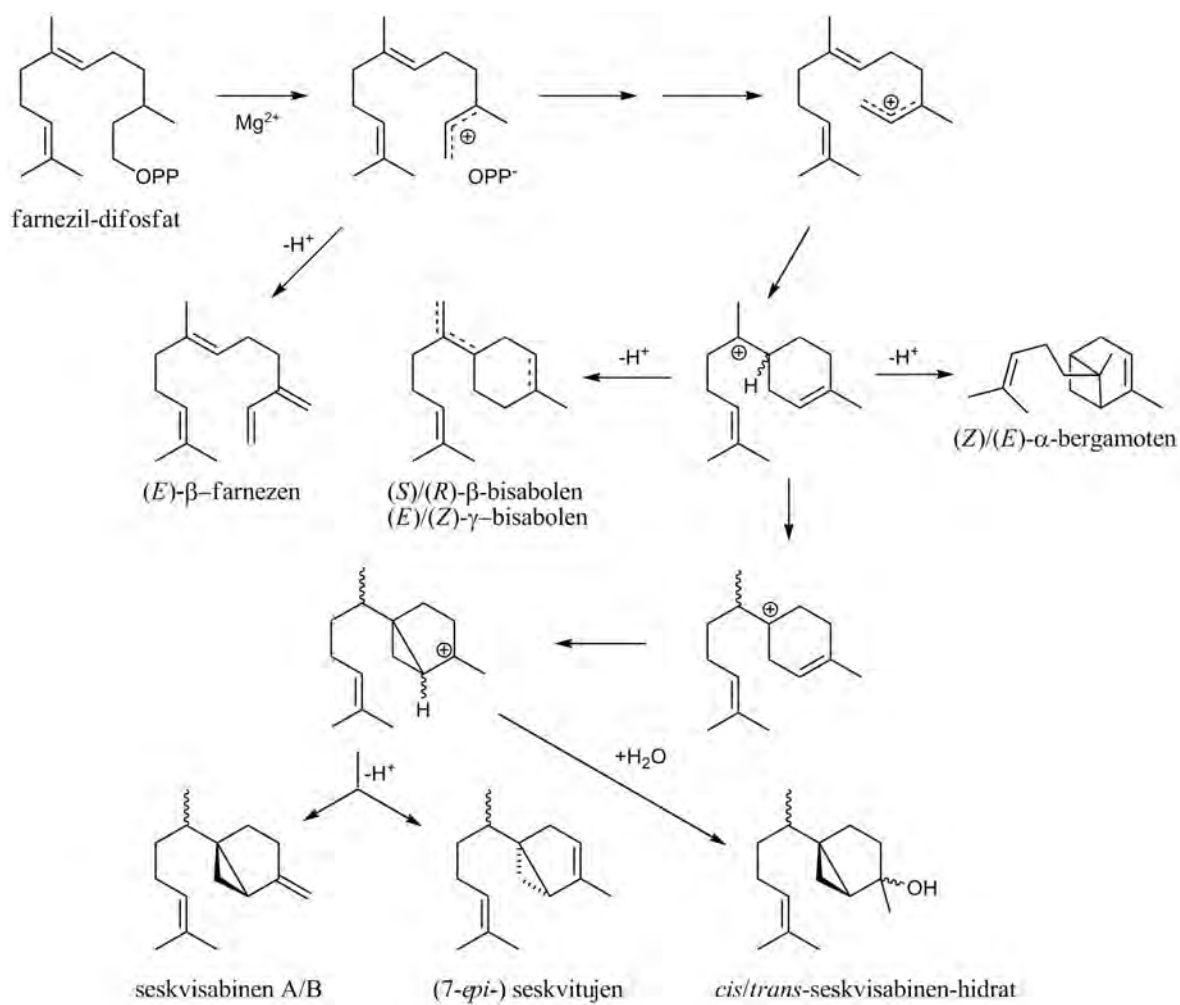
	Gcy1(%)	Gcy2(%)		Gcy1(%)	Gcy2(%)
<u>Totalno identifikovano</u>	98,7	98,4			
<u>Hemiterpeni (H) 0+2**</u>	-	tr	<u>Seskviterpeni 25+46</u>	97,2	86,5
<u>Monoterpeni (M) 3+23</u>	0,1	6,5	ugljovodonici	83,7	79,3
ugljovodonici	0,1	1,6	oksigenovani	13,5	7,2
oksigenovani	tr	4,9	aciklični-farnezani (SA) 5+10	80,1	77,7
aciklični (MA) 3+4	0,1	0,2	akorani (SAA) 0+2	-	0,3
bornani/kamfani (MB) 0+2	-	0,1	bisabolani i slični njima (SB)	13,9	4,3
fenhanski skelet (MF) 0+3	-	4,8	kariofilani i slični njima (SC)	0,7	1,4
<i>p</i> -mentani (MM) 0+9	-	0,9	germakrani (SG) 2+2	2,5	0,9
pinani (MP) 0+2	-	0,2	gvajani (SGG) 0+3	-	0,7
tujani (MT) 0+3	-	0,3	elemeni (SE) 1+2	tr	0,4
<u>Diterpeni (D) 0+2</u>	-	0,2	himahalani (SH) 1+2	tr	0,5
<u>„Green leaf“ jedinjenja (G) 3+22</u>	0,4	0,1	selinani (SS) 0+3	-	0,3
<u>Karotenoidi 0+4</u>	-	0,1	drugi seskviterpeni (S) 2+4	tr	tr
Ostalo 13+24	1,0	5,0			

Gcy1- procentualni sastav etarskog ulja dobijenog iz svežih nadzemnih delova (cvet, stablo i list) i rizoma; Gcy2- procentualni sastav etarskog ulja dobijenog isključivo iz svežih nadzemnih delova sa zrelih štitom (šizokarpima); \*tačan izomer nije determinisan; \*\* vrednosti predstavljaju broj različitih identifikovanih sastojaka određene klase u uzorcima Gcy1 i Gcy2, tim redom; tr- trag (<0.05%); a- Jedinjenja su navedena po redosledu eluiranja sa HP-5MS kolone (RI eksperimentalno određeni retencioni indeksi na pomenutoj koloni koinjeksijom homologe serije *n*-alkana C<sub>7</sub>-C<sub>31</sub>); b- jedinjenja koja su identifikovana kao produkti terpenске sintetaze (TPS10) (Koellner *et al*, 2004, 2006; Schnee *et al*, 2006); c- jedinjenja koja su identifikovana kao produkti terpenске sintetaze (TPS5) (Koellner *et al*, 2004, 2006; Schnee *et al*, 2006); d- jedinjenja koja su identifikovana kao produkti terpenске sintetaze (TPS4) (Koellner *et al*, 2004, 2006; Schnee *et al*, 2006); OH- seskviterpenски alkoholi za koje se pretpostavlja da su povezani sa jedinjenjima koja su produkti terpenске sintetaze kroz hidrataciju odgovarajućih olefina (Koellner *et al*, 2004, 2006; Schnee *et al*, 2006).



je da su vrste roda *Ferula* bliske vrstama tribusa Scandiaceae (Downie *et al*, 2000b), što dodatno potvrđuje srodnost rodova sa vrstama u kojima je prisutan grilakton.

Skorašnja ispitivanja isparljivih sastojaka kukuruza (*Zea mays*, Poaceae), pokazala su da u njemu postoje najmanje tri terpenke sintetaze odgovorne za biosintezu velikog broja jedinjenja nastalih preko farnezil-difosfata (Koellner *et al*, 2004, 2006; Schnee *et al*, 2006). I glavni i minorni proizvodi ovih sintetaza su veoma slični (ili isti) seskviterpenima identifikovanim u uljima vrste *G. cynapioides*. U tabeli 5.4. su sastojci koji su zajednički za ove dve vrste, a koji su produkti pomenutih enzima kukuruza, označeni slovima a, b i c u eksponentu. Jedna od sintetaza (b-TPS10), pored dominantne sinteze bergamotanskih i farnezanskih seskviterpena (glavnih u vrsti *G. cynapioides*), katalizuje i proizvodnju kadinanskih i germakranskih seskviterpenskkih ugljovodonika, koji su minorni sastojci ulja vrste *G. cynapioides*. Druga dva enzima (c-TPS5 i d-TPS4) sintetišu strukturno slične, ali stereohemijski različite bisabolanske, seskvitujanske i seskvisabinanske terpene, a takođe i terpenke alkohole farnezanske serije koji predstavljaju glavne sastojke vrste *G. cynapioides*. Seskvisabineni A i B nisu identifikovani u ulju biljne vrste *G. cynapioides*, iako su oni jedni od glavnih produkata sintetaza kukuruza. Međutim, katjon koji vodi do ovih jedinjenja (Koellner *et al*, 2004, 2006; Schnee *et al*, 2006) kao i do seskvitujena (prisutnog u biljnoj vrsti *G. cynapioides*), podleže drugoj reakciji u vrsti *G. cynapioides* – ne dešava se eliminacija H<sup>+</sup> koja vodi do seskvisabinena, nego nukleofilnim napadom vode, nastaju seskviterpenski alkoholi *cis*- i *trans*-seskvisabinen-hidrati (šema 5.1). Iako se može uočiti sličnost u hemijskom sastavu isparljivih metabolita vrsta *G. cynapioides* i *Z. mays*, kao i u mogućem mehanizmu nastajanja istih, neophodno je detaljnije istražiti moguće prisustvo sintetaza (TPS10, TPS5 i TPS4) u vrsti *G. cynapioides*, a što bi mogao biti primer konvergentne evolucije (Koellner *et al*, 2004, 2006; Schnee *et al*, 2006).



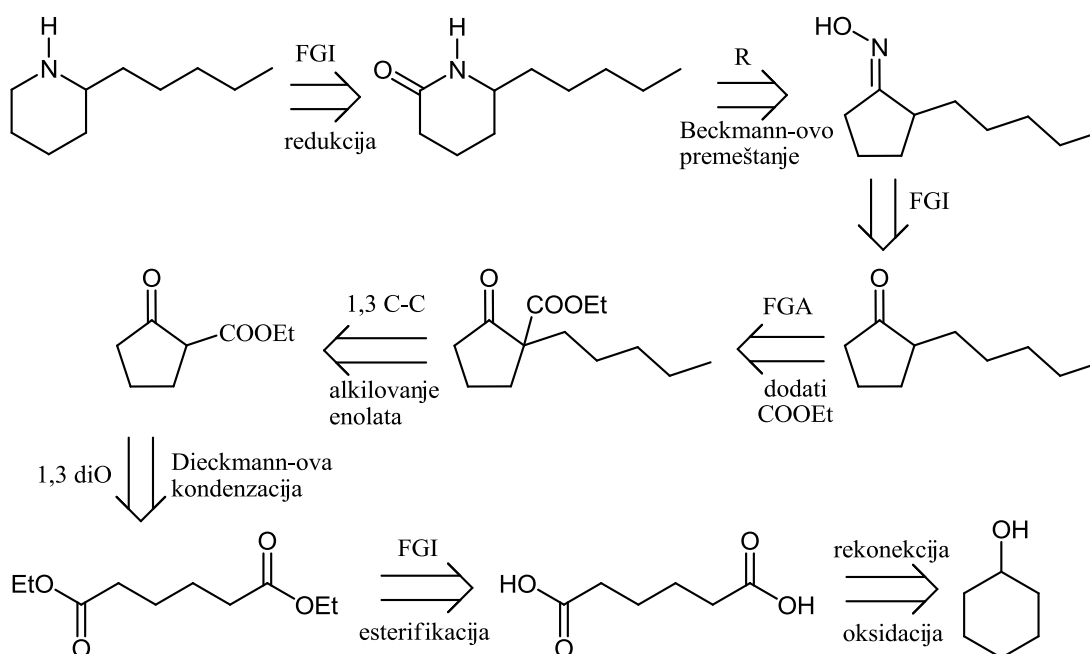
Šema 5.1. Prikaz biosintetskog puta ka određenim seskviterpenima

## 5.4. Sinteza i spektralna karakterizacija 2-pentilpiperidina

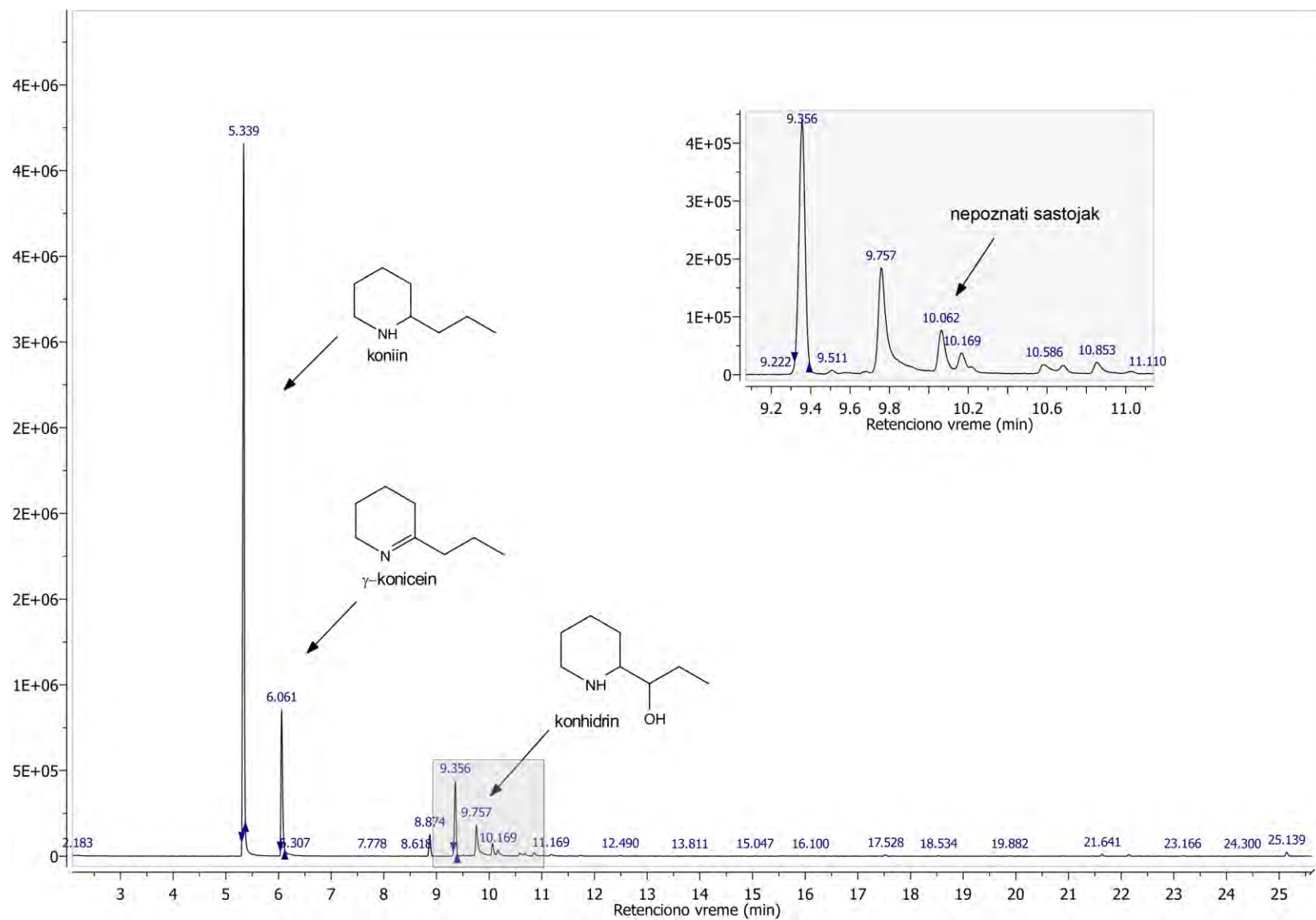
U gasnim hromatogramima baznih ekstrakata, kao i u hidrodestilatima ploda vrste *C. maculatum*, uočena nepoznata komponenta na  $R_t=10,062$  min, čiji je sadržaj manji od 1%. Na osnovu fragmentacije ovog sastojka, intenziteta osnovnog jona na  $m/z$  84, analognog sa koniinom (2-propilpiridinom), kao i vrednosti retencionog indeksa, za 200 jedinica više vrednosti u odnosu na koniin, pretpostavljeno je da je reč o 2-pentilpiperidinu. Na slikama 5.2. i 5.3. predstavljeni su pomenuti maseni spektri kao i deo GC hromatograma na kome je uočena nepoznati sastojak. Izolovanje ovog metabolita bilo je praktično nemoguće zbog malog sadržaja i sličnosti sa matriksom u kome se nalazi. Da bi se potvrdila gore navedena pretpostavka, bilo je neophodno izvršiti sintezu ovog jedinjenja, kao i koinjektiranjem sa hidrodestilatima ili baznim ekstraktom.

### 5.4.1. Sinteza 2-pentilpiperidina

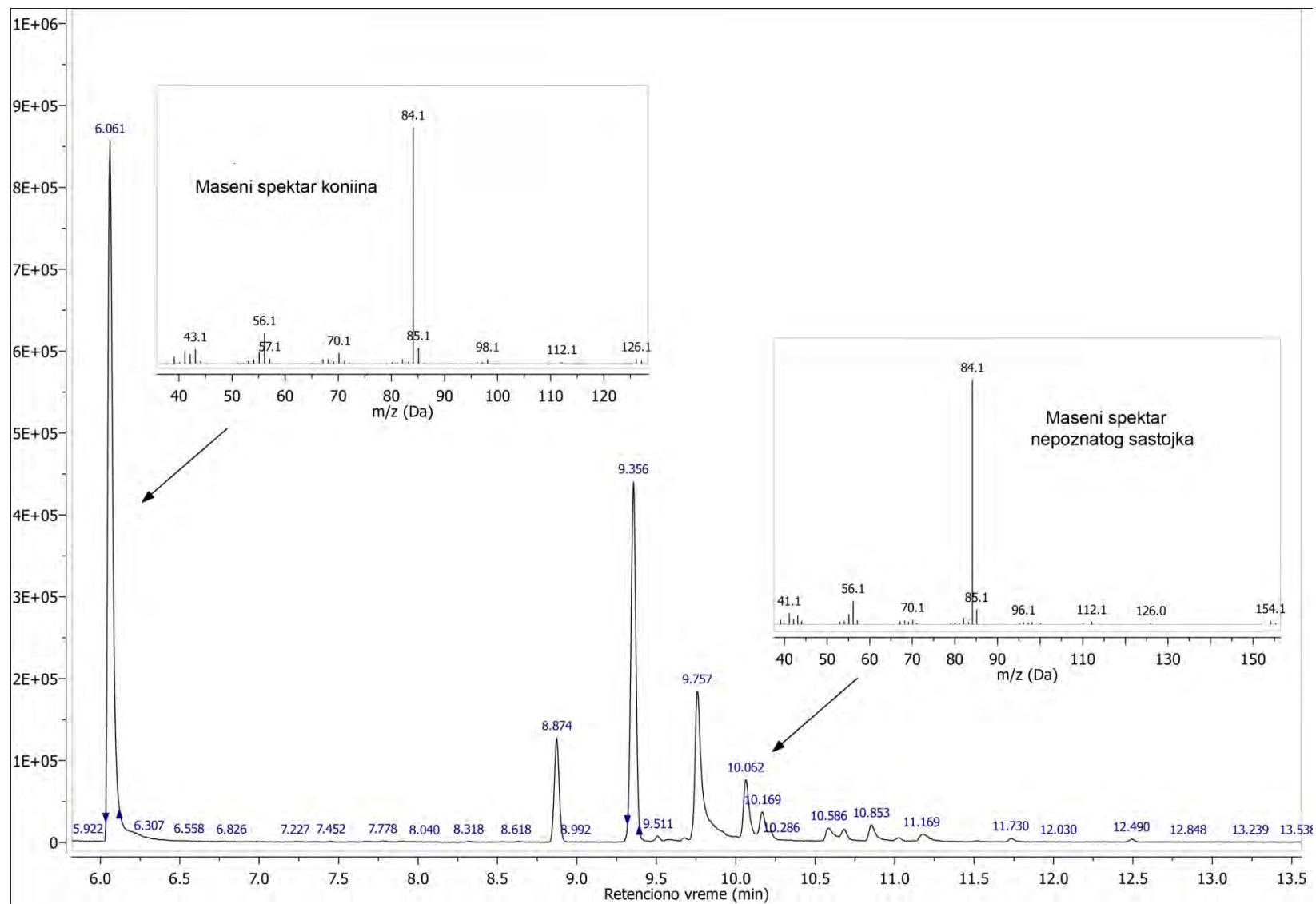
Sledeća retrosintetska šema predstavlja jednu od mogućih planova sinteze 2-pentilpiperidina:



Šema 5.2. Retrosintetska šema za sintezu 2-pentilpiperidina

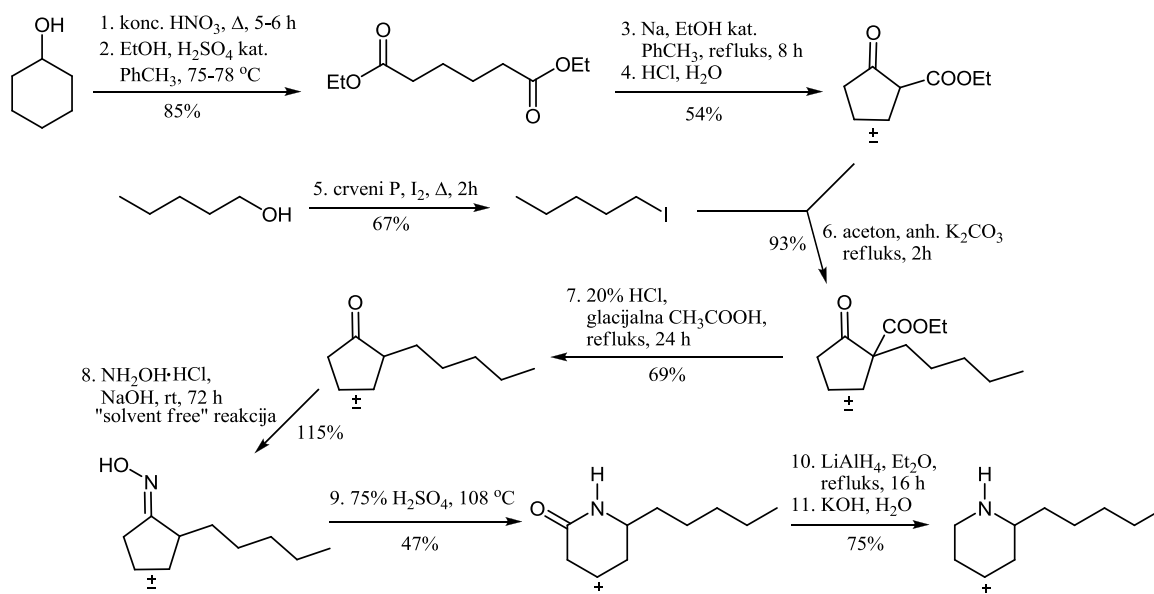


Slika 5.2. Deo TIC hromatograma uzorka C5E u kome je uočen nepoznati sastojak



Slika 5.3. Prikaz masenih spektara koniina i nepoznatog sastojka

Prateći predloženu strategiju, polazeći od lako dostupnog cikloheksanola, izvedena je sinteza ( $\pm$ )-2-pentilpiperidina čiji su ključni koraci bili formiranje petočlanog prstena Dieckmann-ovom kondenzacijom i njegova ekspanzija do šestočlanog prstena insercijom N-atoma tokom Beckmann-ovog premeštanja (šema 5.3).



Šema 5.3. Ostvarena sinteza 2-pentilpiperidina u ovom radu sa ukupnim prinisom od 12%<sup>13</sup>

Ukupni prinis sinteze 2-pentilpiperidina, koja je izvedena u 11 reakcionih koraka, polazeći od cikloheksanola, bio je 12%. Pored krajnjeg proizvoda, 2-pentilpiperidina, još dva sintetska intermedijera ( $\delta$ -dekalaktam i (*E*)-oksim 2-pentilciklopentanona) kao i jedan sporedni proizvod ((*E*)-oksim 2-pentilciklopent-2-enona) su detaljno spektralno okarakterisani (GC-MS, IR, <sup>1</sup>H NMR i <sup>13</sup>C NMR)<sup>14</sup> jer, takođe, predstavljaju potpuno nova jedinjenja. Tokom ove sinteze dobijeno je još šest potpuno novih jedinjenja: 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanon, 2-etoksikarbonil-5-pentilciklopentanon, (*Z*)-oksim 2-pentilciklopentanona, oksim 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanona,  $\alpha$ -pentil- $\delta$ -valerolaktam i 3-pentilpiperidin. Ovih šest jedinjenja nije detaljno spektralno okarakterisano, već su osim retencionim indeksima, koji su poznati i za ostale intermedijere i sporedne proizvode u sintezi, okarakterisani još i masenim spektrima.

Kao polazno jedinjenje korišćen je cikloheksanol koji je oksidovan azotnom kiselinom do adipinske kiseline. Pretpostavljeni mehanizam ove oksidacije je vrlo složen i obuhvata građenje estera, cikloheksil-nitrata, koji se raspada u sledećem stupnju do cikloheksanona (Godt i Quinn, 1956). Dalja oksidacija cikloheksanona se

<sup>13</sup> Prinis u 8. reakcionom koraku je izražen u odnosu na polaznu količinu 2-pentilciklopentanona

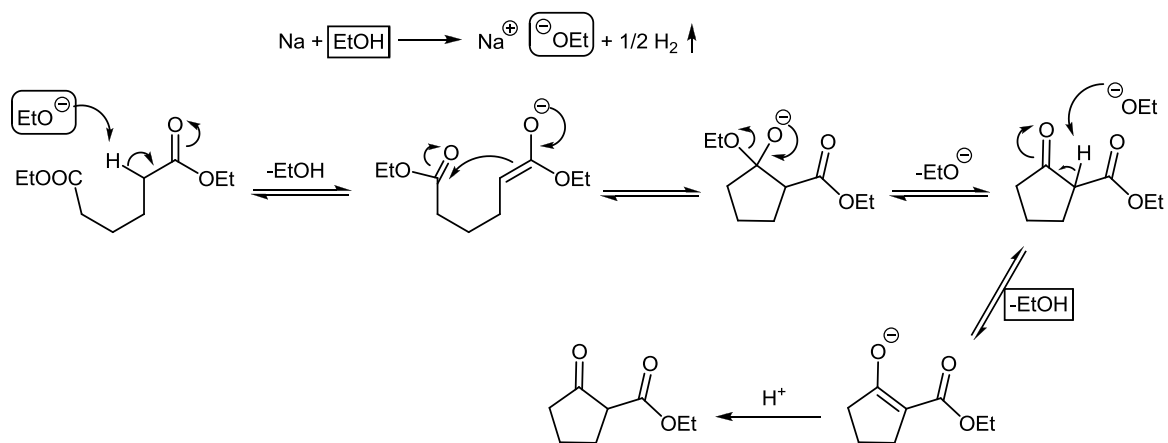
<sup>14</sup> 2-Pentilpiperidin je dodatno okarakterisan i 2D NMR spektrima (HETCOR i <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY)

odvija kroz sukcesivno nitrozovanje i nitrovanje, a nastali intermedijer podleže hidrolizi koja je praćena otvaranjem prstena. Tokom otvaranja prstena formira se jedna od karboksilnih grupa, dok druga nastaje hidrolizom nitrozo i nitro grupe uz izdvajanje vrsta koje se dalje razlažu do azot-monoksida, odnosno azot-dioksida.

Adipinska kiselina, dobijena oksidacijom cikloheksanola, esterifikovana je do dietil-adipata, klasičnom Fisher-ovom metodom, u prisustvu male količine  $H_2SO_4$ . Kiselina ima katalitičku ulogu, jer protonovanjem karbnilne grupe povećava njenu elektrofilnost.

Prinos dietil-adipata iz cikloheksanola bio je 85%. Dietil-adipat je identifikovan poređenjem njegovog masenog spektra sa spektrima iz baza Wiley7 i NIST02. Pik na retencionom vremenu ( $R_t$ ) 14,05 min u gasnom hromatogramu odgovarao je dietil-adipatu sa molekulskim jonom  $[M^+]$  na  $m/z$  202 i osnovnim jonom  $[M - OCH_2CH_3 - HOCH_2CH_3]^+$  na  $m/z$  111. Još dva jona u masenom spektru bila su značajnog intenziteta:  $[M - OCH_2CH_3]^+$  na  $m/z$  157 i  $[M - OCH_2CH_3 - CH_2CH_3]^+$  na  $m/z$  128.

Jedan od ključnih koraka u sintezi 2-pentilpiperidina bila je Dieckmann-ova kondenzacija kojom je formiran petočlani prsten, tj. 2-etoksikarbonilciklopentanon, sa položajem 2 aktiviranim za dalje alkilovanje. Reakcija je izvedena u suvom benzenu, u prisustvu viška fino granuliranog Na i katalitičkih količina EtOH, koji u reakciji sa elementarnim Na daje  $EtO^-$  jone. Uloga  $EtO^-$  jona je da generišu enolat jedne od COOEt grupa koji zatim vrši intramolekulski nukleofilni napad na karbnilni C-atom druge COOEt grupe (šema 5.4).



Šema 5.4. Mehanizam Dieckmann-ove kondenzacije dietil-adipata

Nakon Dieckmann-ove kondenzacije dobijena je smeša čiji su glavni sastojci bili 2-etoksikarbonilciklopentanon i neizreagovani dietil-adipat. Identifikacija 2-etoksikarbonilciklopentanona je izvršena poređenjem njegovog masenog spektra sa spektrom iz baza Wiley7 i NIST02. Pik na  $R_t=9,32$  min u gasnom hromatogramu odgovarao je 2-etoksikarbonilciklopentanonu sa molekulskim jonom  $[M^+]$  na  $m/z$  156 i osnovnim jonom  $[M - CH_2=CH_2 - COOEt]^+$  na  $m/z$  55. U masenom spektru bili su prisutni i sledeći joni  $[M - CH_2=CH_2]^+$  na  $m/z$  128, nastao McLafferty-evom

fragmentacijom, zatim,  $[M - EtO]^+$  na  $m/z$  111,  $[M - EtOH]^+$  na  $m/z$  110 i  $[M - CH_2=CH_2 - CO_2]^+$  na  $m/z$  83. Prinos 2-etoksikarbonilciklopentanona bio je 54%. Niži nego očekivani prinos je možda posledica očvršćavanja reakcione smeše usled obrazovanja tzv. „sodium cake“-a natrijum-enolata (Vogel, 1989) što je veoma otežalo njeno efikasno mešanje.

2-Etoksikarbonilciklopentanon nije razdvajan od neizreagovanog dietil-adipata jer on ne smeta u koraku alkilovanja, a pretpostavljeno je da će tokom hidrolize i dekarboksilacije proizvoda alkilovanja doći i do hidrolize dietil-adipata, pri čemu bi se nastala adipinska kiselina lako odvojila tokom obrade reakcione smeše.

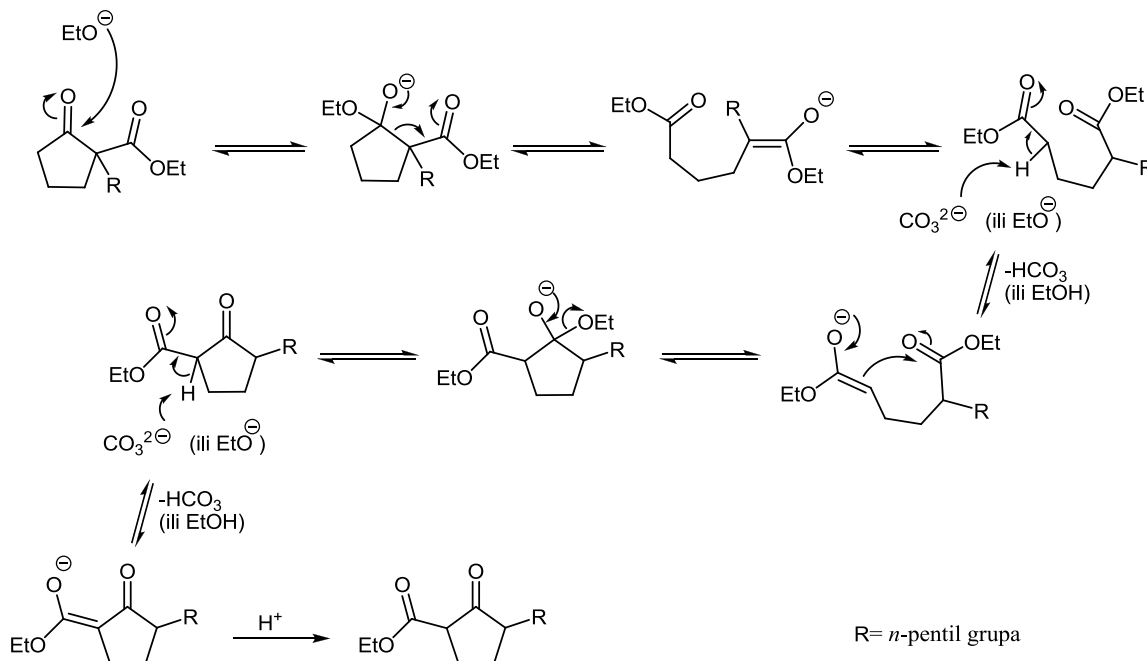
Smeša dobijena nakon Dieckmann-ove kondenzacije podvrgnuta je alkilovanju, pomoću *n*-pentil-jodida u prisustvu velikog viška čvrstog  $K_2CO_3$  u acetonu. Reakcija alkilovanja se najverovatnije odvija na čvrstoj fazi, tj.  $K_2CO_3$  (heterogena kataliza), koji ima ulogu baze pri formiranju stabilnog enolata 2-etoksikarbonilciklopentanona. Nastali enolat je zatim nukleofilno supstituisao  $I^-$  jone *n*-pentil-jodidu formirajući 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanon – glavni proizvod reakcije (67% u smeši, prema GC-MS).

Pored 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanona, kao sporedni proizvod nastao je i njegov regioizomer, 2-etoksikarbonil-5-pentilciklopentanon (5% u smeši, prema GC-MS). Ukupan prinos oba regioizomera bio je 93%. 2-Etoksikarbonil-2-pentilciklopentanon identifikovan je poređenjem masenog spektra sa spektrom 2-etoksikarbonil-2-propilciklopentanona (Dowd i Choi, 1989) jer u literaturi nisu postojali podaci za odgovarajući spektar ovog jedinjenja. Pik na  $R_t=18,15$  min u gasnom hromatogramu odgovarao je 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanonu sa molekulskim jonom  $[M^+]$  na  $m/z$  226, osnovnim jonom  $[M - C_5H_{10}]^+$  na  $m/z$  156, koji je nastao McLafferty-evom fragmentacijom i još jednim jonom srednjeg intenziteta  $[M - C_5H_{10} - EtOH]^+$  na  $m/z$  110. Pik na  $R_t=20,33$  min, koji ima veoma sličnu fragmentaciju, najverovatnije odgovara 2-etoksikarbonil-5-pentilciklopentanonu. Jedina razlika je u intenzitetima jona, jer je pored molekulskog  $[M^+]$  na  $m/z$  226, osnovni jon uočen  $[M - C_5H_{10} - EtOH]^+$  na  $m/z$  110, dok je i jon  $[M - C_5H_{10}]^+$  na  $m/z$  156, nastao McLafferty-evom fragmentacijom, takođe bio značajnog intenziteta.

Nastanak 2-etoksikarbonil-5-pentilciklopentanona može se objasniti sekvencom *retro*-Dieckmann-ova kondenzacija 2-etoksikarbonil-2-pentil ciklopentanona – Dieckmann-ova kondenzacija pri kojoj enolat gradi karbonilna grupa čiji  $\alpha$ -položaj nije alkilovan jer samo tada nastaje proizvod kondenzacije, tj. 2-etoksikarbonil-5-pentilciklopentanona, koji može dati stabilan enolat (šema 5.5).

*n*-Pentil-jodid, koji je korišćen pri alkilovanju, dobijen je iz 1-pentanola dejstvom  $PI_3$ , koji je stvoren *in situ*. Mehanizam ove reakcije obuhvata nukleofilni napad OH-grupe 1-pentanola na  $PI_3$  (tj.  $S_N2$  supstituciju na fosforu) kojim se OH grupa pretvara u dobru odlazeću grupu. Nastali  $I^-$  jon u drugom stupnju vrši  $S_N2$  na ugljeniku, pri čemu se obrazuju krajnji proizvodi *n*-pentil-jodid i dijodid fosforaste kiseline (koji dalje može da učestvuje u analognim reakcionim koracima).

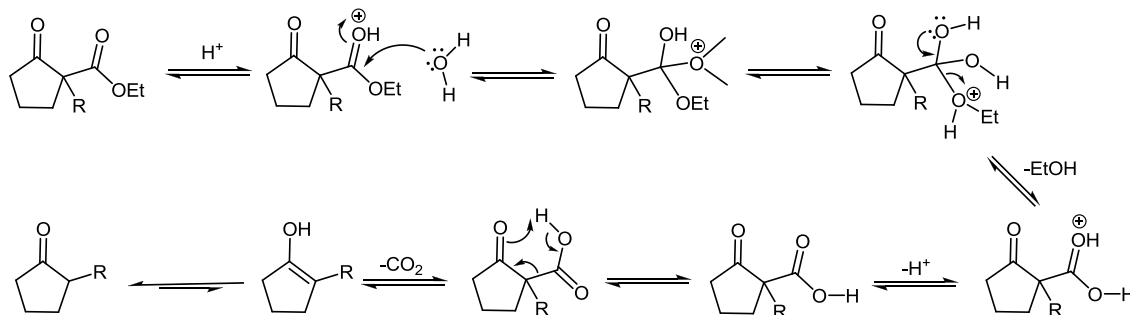




Šema 5.5. Pretpostavljeni mehanizam nastajanja 2-etoksikarbonil-5-pentilciklopentanona

Prinos *n*-pentil-jodida bio je 67%, a njegova struktura je potvrđena poređenjem njegovog masenog spektra sa spektrom iz baza Wiley7 i NIST02. Pik na  $R_t=3,76$  min u gasnom hromatogramu odgovarao je *n*-pentil-jodidu sa molekulskim jonom  $[M^+]$  na  $m/z$  198 i osnovnim jonom  $[M - I]^+$  na  $m/z$  71. U masenom spektru bio je prisutan i karakteristični  $I^+$  jon, tj.  $[M - C_5H_{11}]^+$ , na  $m/z$  127.

Najproblematičniji korak u sintezi bila je hidroliza i dekarboksilacija 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanona. Kiseloj dekarboksilaciji  $\beta$ -keto kiseline najčešće prvo prethodi bazna hidroliza estera. Međutim, s obzirom da bi u slučaju ovog supstrata baza mogla da dovede do *retro*-Dieckmann-ove kondenzacije i značajnog gubitka u prinosu, primenjena je kisela hidroliza estera praćena simultanom dekarboksilacijom. Stupanj dekarboksilacije se odvija preko šestočlanog prelaznog stanja uz koncertovani prenos vodonika na karbonilnu grupu i kidanje C-C veze koje je praćeno izdvajanjem  $CO_2$  (*retro*-Alder-en reakcija). Nastali enol brzo tautomerizuje do znatno stabilnijeg ketona (šema 5.6). Nedostatak kisele hidroliza u odnosu na bazu, je to što je ona znatno sporija.



Šema 5.6. Mehanizam hidrolize i dekarboksilacije 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanona

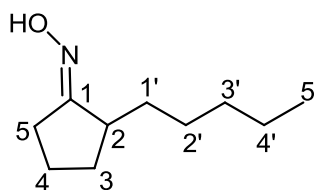
Smeša dobijena nakon alkilovanja refluktovana je u prisustvu viška 20% HCl (w/w). Hidroliza i dekarboksilacija su išle veoma sporo, tako da je sadržaj 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanona i 2-pentilciklopentanona u reakcionoj smeši nakon 3 h refluktovanja bio 70%, odnosno 14%, na osnovu GC-MS (ostatak je najvećim delom činio višak *n*-pentil-jodida dodat pri alkilovanju). Dobar deo nastalog 2-pentilciklopentanona nastao je dekarboksilacijom izomera, tj. 2-etoksikarbonil-5-pentilciklopentanona, koga više nije bilo u reakcionoj smeši. Sporija hidroliza i dekarboksilacija 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanona, u odnosu na njegov regioizomer, može se pripisati sternoj zaklonjenosti COOEt-grupe *n*-pentil grupom. Tokom prvih 3 h refluktovanja, takođe su potpuno bili hidrolizovani i dietil-adipat i etil-heksanoat (jedan od kontaminanata reakcione smeše, nastao kao proizvod oksidacije/esterifikacije *n*-heksanola, koji se nalazio u cikloheksanolu). Ovo ukazuje na to da je stupanj dekarboksilacije, a ne hidrolize, bio onaj koji je ograničavao sumarnu brzinu reakcije. Nakon 12 h refluktovanja sadržaj 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanona i 2-pentilciklopentanona u reakcionoj smeši bio je 62%, odnosno 35%, na osnovu GC-MS. Dodatnu poteškoću predstavljala je činjenica da je delimično hidrolizovani estar, stajanjem preko noći, činio da reakciona smeša postane „eksplozivna“. Nagomilavanje proizvoda hidrolize je bio najverovatniji uzrok ovakve energične dekarboksilacije pri ponovnom zagrevanju reakcione smeše. Problem spore i burne reakcije rešen je dodatkom glacijalne AcOH (Ikan i Ravid, 1974).

2-Pentilciklopentanon bio je u prinosu od 69%. Ustvari, dobijena je smeša koja je sadržala 82% 2-pentilciklopentanona i 17% nedekarboksilovanog 2-etoksikarbonil-2-pentil-ciklopentanona, na osnovu GC-MS. Struktura 2-pentilciklopentanona potvrđena je poređenjem njegovog masenog spektra sa spektrima iz baza Wiley7 i NIST02. Pik na  $R_t=10,35$  min u gasnom hromatogramu odgovarao je 2-pentilciklopentanonu sa molekulskim jonom  $[M^+]$  na  $m/z$  154 i osnovnim jonom  $[M - C_5H_{10}]^+$ ,  $m/z$  84, koji je nastao McLafferty-evom fragmentacijom.

2-Pentilciklopentanon je preveden u odgovarajući oksim primenom „solvent free“ reakcije (Vukićević *et al*, 2006). Homogenizacijom smeše, dobijene nakon hidrolize i dekarboksilacije, sa viškom čvrstog hidroksilamin-hidrohlorida i natrijum-hidroksida dobijena je smeša čiji je glavni sastojak bio (*E*)-oksim 2-pentilciklopentanona (91%, prema GC-MS), a ostatak su činili (*Z*)-oksim 2-pentilciklopentanona (7%) i oksim 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanona (2%). S obzirom da je jedan od njenih sastojaka bio zastupljen sa više od 90%, dobijena smeša nije razdvajana i uzeto je da snimljeni IR i NMR spektri smeše odgovaraju njenom najzastupljenijem sastojku.

Identifikacija (*E*)- i (*Z*)-oksima 2-pentilciklopentanona preliminarno je postignuta analizom njihovih masenih spektara (GC-MS), jer detaljni pregled literature nije pokazao bilo kakve podatke o ova dva stereoizomera (niti su bili prethodno sintetisani, niti na neki drugi način identifikovani, pa se mogu smatrati

potpuno novim jedinjenjima). Za pikove na  $R_t$  14,58 i 14,89 min u gasnom hromatogramu pretpostavljeno je da odgovaraju ovim izomernim oksimima sa potpuno analognom fragmentacijom u masenom spektru. Uzeto je da veći pik (91 naspram 7%), na vremenu 14,89 min, odgovara termodinamički stabilnijem (*E*)-oksimu. Molekulski jon  $[M^+]$  izomernih oksima nalazio se na  $m/z$  169, što odgovara njihovoj molekulknoj masi ( $C_{10}H_{19}NO$ ). Korišćenjem  $^{13}C$  NMR spektroskopije potvrđeno je prisustvo 10 signala u spektru, koji odgovaraju neekvivalentnim C atomima u molekulu. Signal na 169,3 ppm, u tzv. oblasti nezasićenih ugljenikovih atoma vezanih za heteroatom (Clayden, 2001), potiče od ugljenika iz C(1)=N veze (slika 5.4).



**Slika 5.4.** Numeracija C atoma kod (*E*)-oksimu 2-pentilciklopentanona korišćena pri asignaciji NMR spektara

Potpuna asignacija  $^{13}C$  spektra nije bila moguća, zbog velikog broja bliskih signala u alifatičnoj oblasti (0-50 ppm), ali se za nekoliko signala moglo utvrditi kojim C atomima odgovaraju. Pretpostavljeno je da signali na 42,9 i 32,1 ppm potiču od C(2) i C(5) atoma koji su vezani direktno za oksimsku grupu, i samim tim jače osećaju njen induktivni efekat u odnosu na preostale C atome u molekulu. Na najmanjem pomeranju  $\delta=13,9$  ppm nalazi se C atom metil grupe, dok se ostali alifatični C atomi, 4 atoma iz  $CH_2$  grupa bočne pentil grupe i C(3) i C(4) atomi prstena, nalaze usko grupisani u oblasti između 22,4 i 31,7 ppm. U  $^1H$  NMR spektru, koji je, takođe, veoma složen, tri H atoma vezana za C(2) i C(5) atome daju multiplet na 2,26-2,66 ppm. Ovim H atomima odgovara najveće  $\delta$ , u odnosu na ostale alifatične H atome, upravo zbog blizine elektronegativne oksimske grupe. Na najmanjem hemijskom pomeranju u  $^1H$  NMR spektru (0,84 ppm) nalazi se triplet koji potiče od  $CH_3$  grupe. Ostalih 12 alifatičnih H atoma daju dva multiplleta na 1,16-1,42 i 1,46-2,04 ppm.

Signal na 9,30 ppm iz  $^1H$  NMR spektra, koji odgovara H atomu iz OH grupe oksima, kao i trake  $\nu(O-H)=3100-3300\text{ cm}^{-1}$  i  $\nu(C=N)=1670,7\text{ cm}^{-1}$  u IR spektru, ukazivali su na prisustvo oksimske funkcionalne grupe u molekulu. Osnovni jon u masenom spektru,  $[M - C_5H_{10}]^+$ , koji se nalazio na  $m/z$  99 (McLafferty-eva fragmentacija) govori o bočnoj pentil grupi koja je u  $\alpha$  položaju u odnosu na C=NOH grupu. Izuzetno dobro slaganje  $\delta$  dva C atoma vezana za oksimsku grupu sa hemijskim pomeranjima analognih C atoma u (*E*)-oksimu 2-alilciklopentanona (Gulla *et al*, 2006), kao i sa predviđenim pomeranjima (ChemDraw), potvrdilo je da je nastao stabilniji (*E*) izomer. Naime, kod (*E*)-oksimu 2-alilciklopentanona je

$\delta(\text{C}(2))=43,1$  i  $\delta(\text{C}(5))=36,8$  ppm, dok je kod (*Z*)-oksima 2-alilciklopentanona  $\delta(\text{C}(2))=39,2$  ppm i  $\delta(\text{C}(5))=34,6$  ppm. Program ChemDraw, takođe, predviđa veće  $\delta$  za C(2) atom u (*E*)-oksimu nego u (*Z*)-oksimu 2-pentilciklopentanona, na 46,8, odnosno 40,8 ppm. Veće  $\delta$  C(2) u odnosu na C(5) atom može se objasniti većim brojem supstituenata vezanih za njega, kao i efektivnijim preklapanjem  $\sigma(\text{C}-\text{C})$  i  $\sigma^*(\text{N}-\text{O})$  u antiperiplanarnom (kod C(2) atoma), nego u sinperiplanarnom odnosu (kod C(5) atoma), usled čega C(2) atom oseća nešto jači stereoelektronski efekat oksimske grupe. Takođe, treba imati na umu da je razlika u hemijskim pomeranjima između C atoma koji su *anti* i *syn* u odnosu na OH grupu, kod oksima ciklopentanona, tako da *anti* atom ponovo ima veće  $\delta$  u odnosu na *syn* C atom, 31,3 naspram 28,0 ppm (SDBS)<sup>15</sup>.

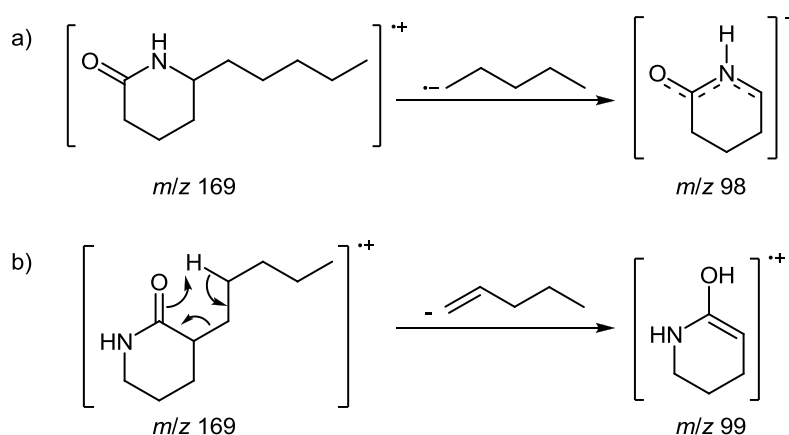
Stvaranje oksima 2-pentilciklopentanona bilo je stereoselektivno uz favorizovanje stabilnijeg (*E*)-oksima, jer je (*Z*)-oksim destabilizovan sternim odbijanjem OH i *n*-pentil grupe. Prinos oba izomerna oksima 2-pentilciklopentanona bio je 115% (!) u odnosu na početnu količinu 2-pentilciklopentanona. Ovakav prinos se može objasniti time da je pod primenjenim reakcionim uslovima došlo i do delimične hidrolize i dekarboksilacije COOEt-grupe oksima, ili samog keto-estra, 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanona prisutnog u startnom materijalu. U prilog ovome ide i činjenica da je sadržaj nedekarboksilovanog oksima u dobijenoj smeši svega 2% dok je sadržaj keto-estra u polaznoj smeši bio 17% (na osnovu GC-MS).

Beckmann-ovo premeštanje oksima 2-pentilciklopentanona do  $\delta$ -dekalaktama je možda bio i najvažniji korak u sintezi jer je ostvarena regioselektivna insercija N-atoma tj. ekspanzija peto- do šestočlanog prstena koji se redukcijom može lako prevesti u piperidinski prsten. Upravo ovaj sintetski korak svrstava ovu sintezu 2-pentilpiperidina u grupu sinteza koje koriste strategiju insercije N-atoma. Beckmann-ovo premeštanje je postignuto zagrevanjem oksima 2-pentilciklopentanona u 70%  $\text{H}_2\text{SO}_{4(\text{aq})}$ . Glavni proizvod reakcije bio je željeni  $\delta$ -dekalaktam, dok su kao sporedni proizvodi dobijeni njegov regioizomer  $\alpha$ -pentil- $\delta$ -valerolaktam, dva laktona,  $\gamma$ -dekalakton i  $\delta$ -dekalakton, kao i još nekoliko minornih proizvoda od kojih je identifikovan samo (*E*)-oksim 2-pentil-2-ciklopentenona, koji je iskristalisao u čistom obliku iz jedne od frakcija dobijenih pri hromatografskom razdvajanju reakcione smeše.

Proizvodi Beckmann-ovog premeštanja, odnosno fragmentacije, preliminarno su identifikovani poređenjem njihovih masenih spektara sa spektrima iz baza Wiley7 i NIST02, ili analizom masenih spektara ukoliko se radilo o potpuno novim jedinjenjima. Poređenjem masenih spektara pikova na  $R_t$  15,97 i 16,65 min u gasnom hromatogramu, sa masenim spektrima iz baza, potvrđeno je da pik na  $R_t=15,97$  min odgovara  $\gamma$ -dekalaktonu, a pik na  $R_t=16,65$  min odgovara  $\delta$ -dekalaktonu. Osnovni jon kod  $\gamma$ -dekalaktana bio je  $[\text{M} - \text{C}_6\text{H}_{13}]^+$  na  $m/z$  85, a kod  $\delta$ -dekalaktana  $[\text{M} - \text{C}_5\text{H}_{11}]^+$  na  $m/z$  99. Analizom masenih spektara pikova na  $R_t$  19,11 min i 19,69 min u gasnom hromatogramu pretpostavljeno je da pik na  $R_t=19,69$  min odgovara  $\delta$ -dekalaktamu,

<sup>15</sup> Spectral Database for Organic Compounds

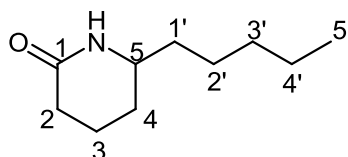
a pik na  $R_t=19,11$  min njegovom regioizomeru, tj.  $\alpha$ -pentil- $\delta$ -valerolaktamu. Molekulski jon  $[M^+]$  oba izomerna laktama nalazio se na  $m/z$  169, što se slaže sa njihovom molekulskom masom ( $C_{10}H_{19}NO$ ). Najbitnija razlika u njihovim masenim spektrima bila je u osnovnom jonu, koji je kod  $\alpha$ -pentil- $\delta$ -valerolaktama  $[M - C_5H_{10}]^+$  na  $m/z$  99 (šema 5.7), nastao McLafferty-evom fragmentacijom, koja se ne može ostariti kod  $\delta$ -dekalaktama, kod koga je osnovni jon  $[M - C_5H_{11}]^+$  na  $m/z$  98 (šema 5.7). Osnovni jon na  $m/z$  99 kod  $\alpha$ -pentil- $\delta$ -valerolaktama ukazuje na bočnu pentil grupu u  $\alpha$  položaju u odnosu na C=O vezu, dok osnovni jon na  $m/z$  98 kod  $\delta$ -dekalaktama, koji je nastao „ $\alpha$ -cleavage” fragmentacijom karakterističnom za amide, govori o bočnoj pentil grupi u odnosu na N-atom amidne grupe.



**Šema 5.7.** a) MS fragmentacija  $\delta$ -dekalaktama (osnovni jon  $m/z$  98);  
b) MS fragmentacija  $\alpha$ -pentil- $\delta$ -valerolaktama (osnovni jon  $m/z$  99)

Nakon hromatografskih razdvajanja proizvoda Beckmann-ovog premeštanja, koja su uključivala „flash dry“ i MPLC hromatografiju, odnosno fragmentacije, dobijen je čist  $\delta$ -dekalaktam (na osnovu GC-MS) čija je struktura dodatno potvrđena analizom IR i NMR spektra. U  $^{13}C$  NMR spektru bilo je prisutno 10 signala što odgovara broju C atoma u  $\delta$ -dekalaktamu. Signal na 172,9 ppm u  $^{13}C$  NMR spektru koji potiče od ugljenika iz C(1)=O veze (slika 5.5), signal na  $\delta=6,48$  ppm u  $^1H$  NMR spektru koji daje amidni proton (CONH), kao i trake  $\nu(N-H)=3203,1$   $cm^{-1}$  i  $\nu(C=O)=1657,9$   $cm^{-1}$  u IR spektru, potvrdili su postojanje amidne funkcionalne grupe u molekulu. Prisustvo samo jedne trake za  $\nu(N-H)$  u IR spektru ukazalo je na sekundarni amid. C(5) atom, koji je direktno vezan za N-atom amidne grupe, najjače oseća njen induktivni efekat, pa daje signal na 53,0 ppm u tzv. oblasti zasićenih ugljenikovih atoma vezanih za heteroatom (50-100 ppm). Zbog istog uticaja amidne grupe, H atom vezan za C(5) atom daje nepravilan sekstet na 3,35 ppm, što je znatno veće  $\delta$  u odnosu na ostale alifatične H atome u laktamu. Prisustvo samo jednog H atoma na ovom relativno velikom  $\delta$  ukazuje na to da je C(5) atom tercijaran. Na najvećem pomeranju u alifatičnoj oblasti, tj. na  $\delta=36,7$  ppm, nalazi se C(2) atom koji je u  $\alpha$  položaju u odnosu na karbonilni C-atom amidne grupe, ali ne oseća toliko jako

i direktno njen uticaj kao C(5) atom (koji ne samo da je direktno vezan za azot, nego je i više supstituisan). Dva protona vezana za ovaj C atom daju multiplet na 2,10-2,40 ppm u  $^1\text{H}$  NMR spektru, dok se svi ostali protoni (12 H), izuzev protona  $\text{CH}_3$  grupe koji daju približan triplet na 0,82 ppm, nalaze između 1 i 2 ppm čime je onemogućena njihova potpuna asignacija. Signal na najmanjem hemijskom pomeranju u alifatičnoj oblasti  $^{13}\text{C}$  NMR spektra ( $\delta=13,8$  ppm), potiče od ugljenika  $\text{CH}_3$  grupe. Preostali C atomi bočne pentil grupe, kao i C(3) i C(4) atomi prstena, daju bliske signale u delu alifatične oblasti između 19,6 i 31,5 ppm  $^{13}\text{C}$  NMR spektra. Dobijena hemijska pomeranja u  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  NMR spektru  $\delta$ -dekalaktama dobro su se slagala sa predviđenim hemijskim pomeranjima za  $\delta$ -dekalaktam (ChemDraw) kao i sa pomeranjima analognih i zajedničkih atoma iz 6-propilpiperidin-2-ona (Davies *et al*, 2004).

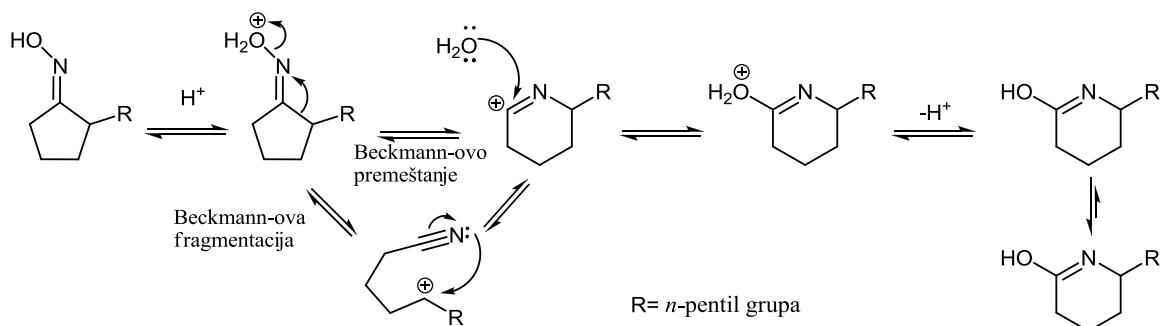


**Slika 5.5.** Numeracija C atoma kod  $\delta$ -dekalaktama korišćena pri asignaciji NMR spektara

Identitet (*E*)-oksima 2-pentil-2-ciklopentenona, jednog od minornih proizvoda, utvrđena je analizom (GC)MS, IR i NMR spektara. Ovi spektri su dati u Prilogu 9.2.

Na osnovu GC-MS analize, ukupni prinos proizvoda Beckmann-ovog premeštanja, tj.  $\delta$ -dekalaktama i  $\alpha$ -pentil- $\delta$ -valerolaktama, bio je 64%, dok je prinos samo  $\delta$ -dekalaktama bio 47%.

Uloga kiseline pri Beckmann-ovom premeštanju je da protonovanjem OH-grupe oksima načini od nje dobru odlazeću grupu. Kod cikličnih oksima kao intermedijer se najverovatnije javlja nitrilijum jon koji nastaje usled simultanog premeštanja alkil grupe, koja je *anti* u odnosu na protonovanu OH-grupu, i izdvajanja vode. Premeštanje alkil grupe je stereospecifično jer do najbolje interakcije između  $\sigma(\text{C-C})$  veze koja migrira i  $\sigma^*(\text{N-O})$  odlazeće grupe dolazi samo ukoliko su one u *anti* položaju jedna u odnosu na drugu. Hvatanjem nitrilijum jona vodom, deprotonovanjem i brzom tautomerijom nastaje  $\delta$ -dekalaktam (šema 5.8). Međutim, moguć je i alternativni mehanizam – Beckmann-ova fragmentacija. Fragmentacijom se, kao intermedijer, dobija sekundarni karbkatjon čijom se rekombinacijom, nukleofilnim napadom azota cijano grupe, ponovo zatvara prsten. Dalji tok ovog alternativnog mehanizma poklapa se sa mehanizmom Beckmann-ovog premeštanja. Prisustvo izomernih laktona kao sporednih proizvoda, identifikovanih pomoću GC-MS u reakcionoj smeši, potvrđuje da je pod ovim reakcionim uslovima došlo i do Beckmann-ove fragmentacije, odnosno da je najverovatnije  $\delta$ -dekalaktam nastao i Beckmann-ovim premeštanjem i fragmentacijom.

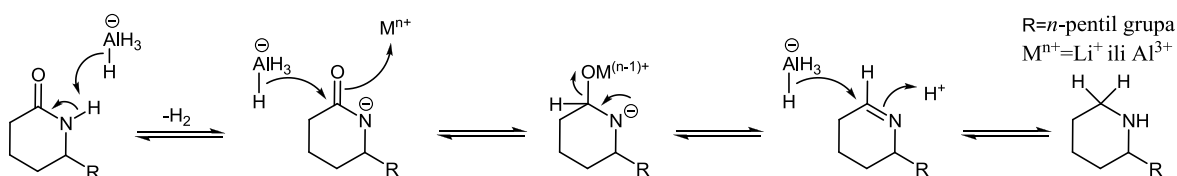


**Šema 5.8.** Mehanizam Beckmann-ovog premeštanja i fragmentacije (*E*)-oksima 2-pentilciklopentanona

$\alpha$ -Pentil- $\delta$ -valerolaktam (regioizomerni proizvod) nastao je analognim mehanizmom Beckmann-ovog premeštanja iz (*Z*)-oksima 2-pentilciklopentanona, koji je bio prisutan od samog početka kao primesa, ali je i dodatno nastao uravnotežavanjem (*E*)- i (*Z*)-oksima u kiseloj sredini. Do alternativne Beckmann-ove fragmentacije (*Z*)-oksima 2-pentilciklopentanona najverovatnije ne dolazi, jer bi se kao intermedijer javio nestabilni primarni karbkatjon. S obzirom da u kiseloj sredini dolazi do međusobnog uravnotežavanja (*E*)- i (*Z*)- oksima, pri čemu je položaj ravnoteže na strani stabilnijeg (*E*)- stereoisomera, i kada bi se reakcija vršila sa čistim (*Z*)-oksimom 2-pentilciklopentanona, najverovatnije bi se dobila slična krajnja smeša, sa približno istim sadržajem glavnog i sporednih proizvoda.

Poslednji korak u sintezi bila je redukcija  $\delta$ -dekalaktama pomoću  $\text{LiAlH}_4$  do krajnjeg proizvoda, ( $\pm$ )-2-pentilpiperidina. Redukcija  $\delta$ -dekalaktama do 2-pentilpiperidina je izvedena u apsolutno suvom  $\text{Et}_2\text{O}$  u prisustvu velikog viška  $\text{LiAlH}_4$ , koji je nakon završetka reakcije preveden u  $\text{LiAlO}_2$ , tj.  $\text{Li}[\text{Al}(\text{OH})_4]$ , dejstvom koncentrovanog vodenog rastvora  $\text{KOH}$  (Davies *et al*, 2004). Prinos reakcije bio je 75%.

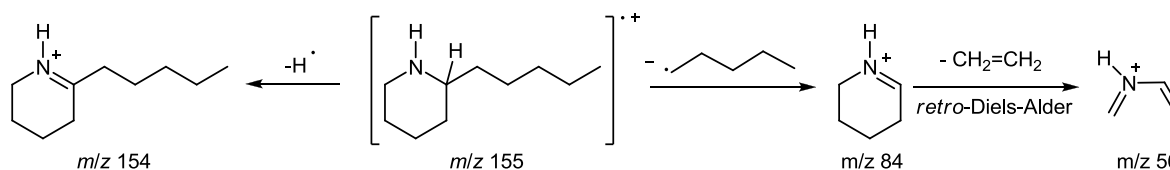
Mehanizam redukcije laktama  $\text{LiAlH}_4$  obuhvata deprotonovanje amidnog protona, a nakon koga sledi nukleofilni napad kompleksnog hidridnog jona na karbonilnu grupu amida koja je vezala za sebe neku od Lewis-ovih kiselina,  $\text{Li}^+$  ili  $\text{Al}^{3+}$  jone (šema 5.9). Nastali tetraedarski intermedijer se raspada dajući imin, zato što je alkosid bolja odlazeća grupa u odnosu na dva puta negativno naelektrisani imid. Deprotonovanje amidnog protona prethodi nukleofilnom napadu na karbonilnu grupu jer su kiselo-bazne reakcije znatno brže, a i sam  $\text{LiAlH}_4$  je veoma jaka baza. Poslednji stupanj je nukleofilna adicija hidridnog jona na imin pri čemu se obrazuje sekundarni amin. Kako je imin znatno elektrofilniji od amida ne postoji kompeticija između njih, već se imin odmah nakon nastanka prevodi u amin.



**Šema 5.9.** Mehanizam redukcije  $\delta$ -dekalaktama pomoću  $\text{LiAlH}_4$

### 5.4.2. Spektralna karakterizacija 2-pentilpiperidina

Struktura 2-pentilpiperidina utvrđena je analizom njegovih (GC)MS, IR i NMR spektara. Pik na  $R_t=10,62$  min u gasnom hromatogramu odgovarao je 2-pentilpiperidinu sa molekulskim jonom  $[M]^+$  na  $m/z$  155, koji se slaže sa njegovom molekulskom masom ( $C_{10}H_{21}N$ ). U  $^{13}C$  NMR spektru bilo je prisutno 10 signala što odgovara broju C atoma u 2-pentilpiperidinu. Signali na 57 i 47 ppm u  $^{13}C$  NMR spektru, koji potiču od C atoma direktno vezanih za azot, kao i traka na  $\nu(N-H)=3200-3500\text{ cm}^{-1}$  u IR spektru ukazuju na postojanje sekundarneaminske grupe u molekulu. Prisustvo samo jedne trake za  $\nu(N-H)$  u IR spektru potvrđuje da je reč o sekundarnom aminu, a njena velika širina da je N-H grupa u vodonično-vezanom obliku. Osnovni jon  $[M - C_5H_{11}]^+$  na  $m/z$  84 u MS spektru, koji je kao i jon  $[M-H]^+$  na  $m/z$  154 nastao „ $\alpha$ -cleavage” fragmentacijom karakterističnom za amine, govori o bočnoj pentil grupi  $\alpha$  u odnosu na sekundarnu amino grupu (šema 5.10). Dalja fragmentacija podrazumeva gubitak etena iz osnovnog iminijum jona (najverovatnije *retro*-Diels-Alder), čime se prati fragmentacioni obrazac karakterističan za piperidinski prsten.



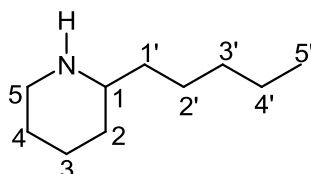
Šema 5.10. MS fragmentacija 2-pentilpiperidina

Poređenjem masenog spektra 2-pentilpiperidina sa masenim spektrom piperidina, koji se lako može naći u literaturi (npr. SDBS baza), uočena je velika sličnost u njihovim fragmentacijama, koja se ogleda u zajedničkom osnovnom jonu na  $m/z$  84, zatim, zajednički je i jon na  $m/z$  70, kao i grupe jona na  $m/z$  55-57 i 41-44. Ova analogija u fragmentacijama može se uzeti kao dodatna potvrda postojanja piperidinskog prstena u sintetisanom molekulu, 2-pentilpiperidinu. U masenom spektru ovog piperidina bila je prisutna i alkanska serija jona nastala postepenom fragmentacijom bočne pentil grupe.

Asignacija signala iz  $^{13}C$  spektra nije bila u potpunosti moguća jer su svi signali na međusobno bliskim  $\delta$  u alifatičnoj oblasti (0-50 ppm) izuzev signala na 56,8 ppm, u oblasti zasićenih C atoma vezanih za heteroatom, koji potiče od C(1) atoma (slika 5.6) direktno vezanog za N-atom, i koji samim tim, najjače oseća njegov induktivni efekat. Atom C(5), koji je, takođe, direktno vezan za N-atom, nalazi se na nešto manjem  $\delta=47,0$  ppm, na samoj gornjoj granici alifatične oblasti, što se može pripisati njegovoj manjoj supstituisanosti u odnosu na C(1) atom. Očekivalo bi se, iz istih razloga, da i protoni vezani za ove C atome, zajedno saaminskim protonom, budu na najvećem  $\delta$  u  $^1H$  NMR spektru. I zaista, u  $^1H$  NMR spektru postoji multiplet

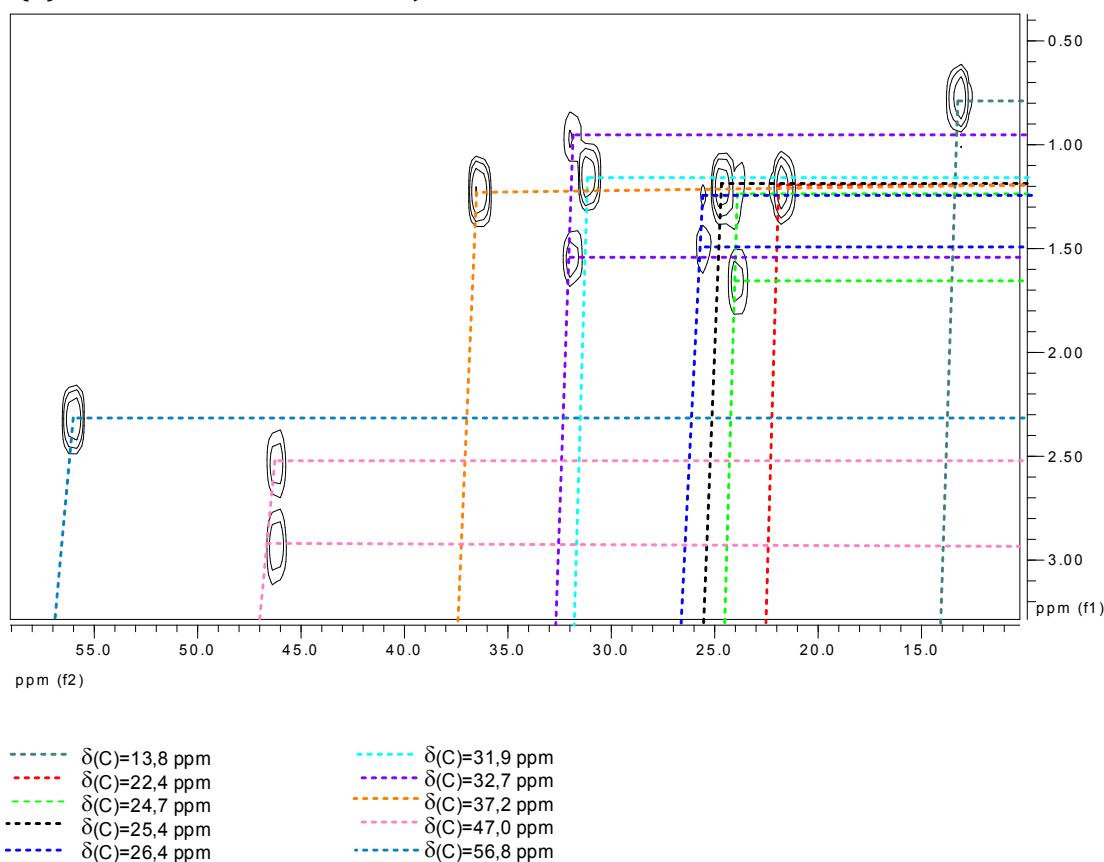


od jednog H atoma na 2,24-2,42 ppm (jedinični integral), signal (ddd) od dva protona na 2,44-2,74 ppm i još jedan multiplet od jednog protona na 2,90-3,04 ppm (prilog 9.2). Signali koje daju ostali protoni (14 H), izuzev protona metil grupe koji daju triplet na 0,79 ppm, su gusto zbijeni u oblasti od 0,90 do 1,72 ppm.



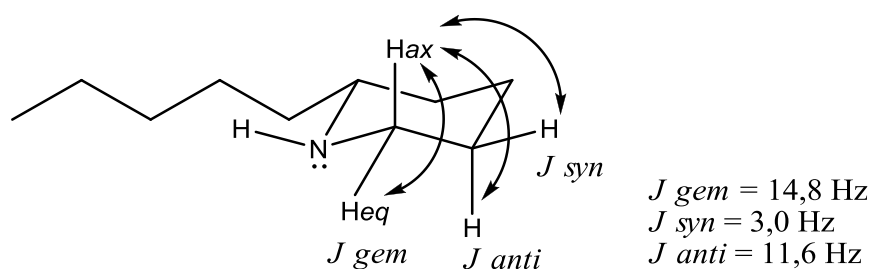
**Slika 5.6.** Numeracija C atoma kod 2-pentilpiperidina korišćena pri asignaciji NMR spektara

Da bi što potpunije ciljni molekul bio okarakterisan i da bi se potvrdio njegov identitet, snimljeni su i 2D NMR spektri: HETCOR i  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY. U HETCOR spektru (C-H sprezanje kroz jednu vezu), koji je prikazan na slici 5.7, se vidi da se C(1) atom na 56,8 ppm kupluje sa protonom multipleta na 2,24-2,42 ppm, a da se C(5) atom kupluje sa protonom na 2,90-3,04 ppm i jednim od protona na 2,44-2,74 ppm. Drugi proton na 2,44-2,74 ppm (integral 2) je najverovatnije N-H proton, jer samo on od ostalih protona u molekulu može biti na tako velikom  $\delta$ , ali je neophodno naglasiti da je do ovog preklapanja signala aminskog protona sa signalom jednog od protona na C(5) atomu došlo sasvim slučajno.



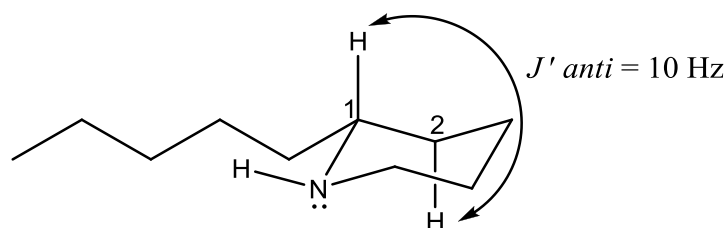
**Slika 5.7.** HETCOR spektar 2-pentilpiperidina

Protoni na C(5) atomu su međusobno diastereotopni, a kako su njihova hemijska okruženja značajno različita (*ax* i *eq*), nalaze se na različitim hemijskim pomeranjima. Njihovo različito hemijsko okruženje posledica je stereoelektronske interakcije aksijalnog (*ax*) H atoma sa slobodnim elektronskim parom sa azota. 2-Pentilpiperidin najverovatnije zauzima konformaciju u kojoj je pentil grupa u ekvatorijalnom, a slobodni elektronski par u aksijalnom položaju (slika 5.8).  $H_{ax}$  atom, na C(5) atomu, oseća uticaj slobodnog elektronskog para sa azota, jer je sa njim u antiperiplanarnom odnosu (preklapanje orbitala  $n(N) \rightarrow \sigma^*(C-H)$ ), i usled toga najverovatnije daje signal na manjem  $\delta$  (2,44-2,74 ppm), zajedno sa aminskim protonom (slučajno izohron), dok ekvatorijalni (*eq*) H atom daje signal na 2,90-3,04 ppm. Oblik signala (ddd) na 2,44-2,74 ppm nastaje usled različitog sprezanja  $H_{ax}$  na C(5) atomu sa geminalnim protonom ( $H_{eq}$  na C(5)), sa *syn* i sa *anti* H na C(4) atomu.  $H_{ax}$  atom se prvo, i najjače, spreže sa geminalnim,  $H_{eq}$  atomom ( $J_{gem}=14,8$  Hz), dajući dublet (slika 5.8), zatim se spreže sa H atomom na C(4) sa kojim je u *anti* (torzioni ugao  $\sim 180^\circ$ ) odnosu ( $J_{anti}=11,6$  Hz) obrazujući dublet dubleta, a dublet dubleta (ddd) nastaje nakon sprezanja sa H atomom na C(4) sa kojim je u *syn* odnosu ( $J_{syn}=3,0$  Hz).



**Slika 5.8.** Prikaz sprezanja koje objašnjava ddd na 2,44-2,74 ppm

Za H vezan za C(1) atom, izračunata je konstanta vicinalnog sprezanja (sa jednim od diastereotopnih H atoma sa C(2)) od 10 Hz. Ova vrednost reda je veličine konstante sprezanja dva vicinalna protona u *anti* odnosu (Milosavljević, 2004), pa se ovaj H atom mora nalaziti u aksijalnom položaju (slika 5.9), dok pentil grupa zauzima ekvatorijalni položaj čime je opravdana pretpostavka da 2-pentilpiperidin zauzima upravo ovu konformaciju.

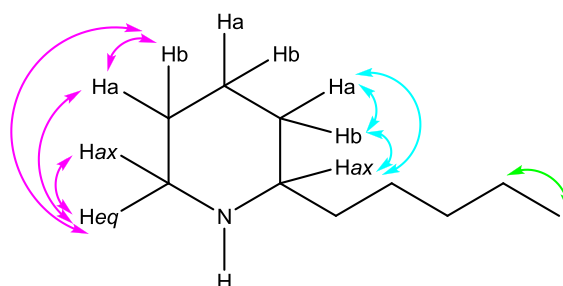


**Slika 5.9.** Prikaz vicinalnog sprezanja H1 i *anti* H2 atoma

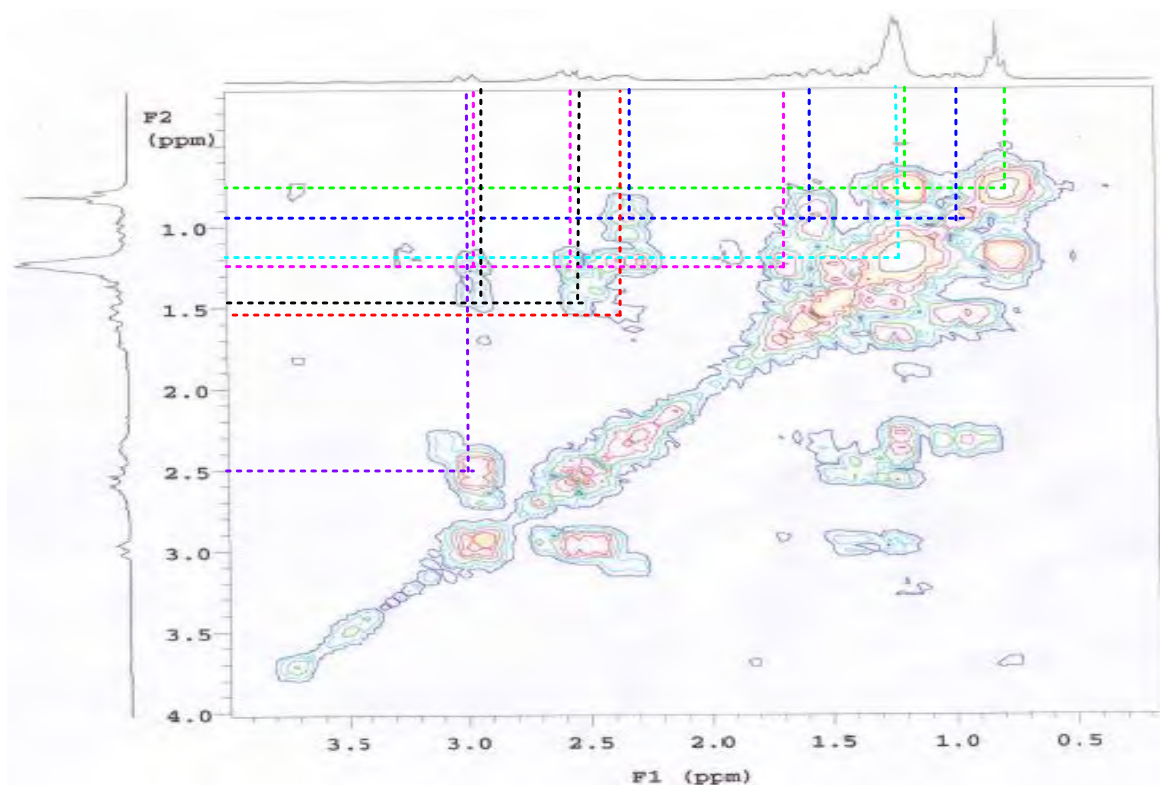
HETCOR spektar pokazuje da pored ovog para, postoje još tri para diastereotopnih protona, koji su najverovatnije protoni iz CH<sub>2</sub> grupa prstena, pa signali na 32,7, 26,4 i 24,7 ppm u <sup>13</sup>C NMR spektru potiču od preostalih C atoma prstena (C(2), C(3) i C(4) atom). Diastereotopni CH<sub>2</sub> protoni iz pentil grupe najverovatnije se, usled slobodne rotacije, nalaze na istom hemijskom pomeranju. Na najmanjem hemijskom pomeranju u <sup>13</sup>C NMR spektru, na δ=13,8 ppm, nalazi se C atom metil grupe, dok ostala četiri C atoma bočne pentil grupe (C(1'), C(2'), C(3') i C(4')) daju signale na 22,4, 25,4, 31,9 i 37,2 ppm. Protoni sa ova četiri C atoma, zajedno sa protonima na C(2), C(3) i C(4) atomima prstena, daju multiplet od 14 H atoma na 0,90-1,72 ppm, s tim što su signali protona iz bočne pentil grupe gusto zbijeni u oblasti od 1,15-1,35 ppm gde je i najveći intenzitet signala. U ovoj oblasti nalaze se i po jedan od diastereotopnih (H<sub>a</sub>) protona sa C atoma na 24,7 i 26,4 ppm. Drugi diastereotopni (H<sub>b</sub>) atom sa C atoma na 26,4 ppm nalazi se na oko 1,5 ppm, zajedno sa H<sub>b</sub> atomom sa C atoma na 32,7 ppm, dok H<sub>a</sub> atom ovog C atoma daje signal na oko 0,95 ppm. Na približno 1,65 ppm nalazi se signal koji daje H<sub>b</sub> atom sa C atoma na 24,7 ppm. Još jedan izuzetno bitan podatak koji daje HETCOR spektar je da u molekulu postoji deset neekvivalentnih C atoma na kojima se nalazi dvadeset H atoma, što je u skladu sa molekulskom formulom 2-pentilpiperidina (C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>N).

Uočena sprezanja u <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY spektru su šematski prikazana na slici 5.10, dok je on predstavljen na slici 5.11. Na osnovu spektra može se uočiti da se:

- protoni metil grupe sprežu sa protonima iz multiplleta na 0,9-1,72 ppm čime se potvrđuje da u ovaj multiplet ulaze i protoni sa C(4')H<sub>2</sub> grupe susedne metil grupi,
- diastereotopni protoni (H<sub>ax</sub> i H<sub>eq</sub>) na C(5) međusobno sprežu,
- oba diastereotopna protona sa C atoma na 32,7 ppm (na δ≈0,95 ppm i δ≈1,5 ppm) sprežu, ne samo međusobno, već i sa protonom na C(1). Imajući ovo u vidu može se tvrditi da signal na 32,7 ppm potiče od C(2) atoma,
- diastereotopni protoni na C(5) atomu sprežu sa protonima na oko δ≈1,2 i 1,5 ppm (koji se i međusobno sprežu), što odgovara pomeranjima diastereotopnih protona sa C atoma na 26,4 ppm, pa se može zaključiti da ovaj signal daje C(4) atom i da preostali signal na 24,7 ppm potiče od C(3) atoma. Ovakav odnos hemijskih pomeranja može se objasniti time da se C(2) i C(4) atomi nalaze bliže elektronegativnom azotu.

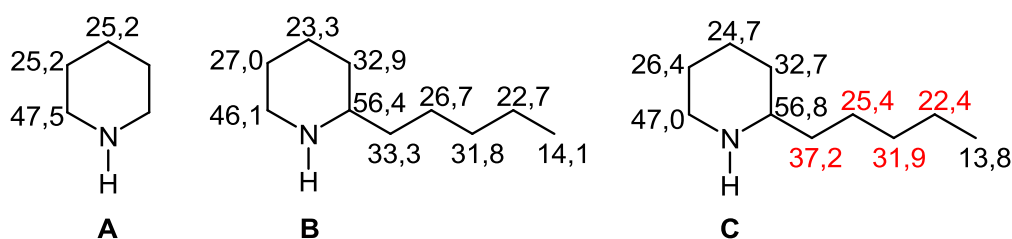


**Slika 5.10.** Šematski prikaz uočenih sprezanja H atoma u <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY spektru 2-pentilpiperidina



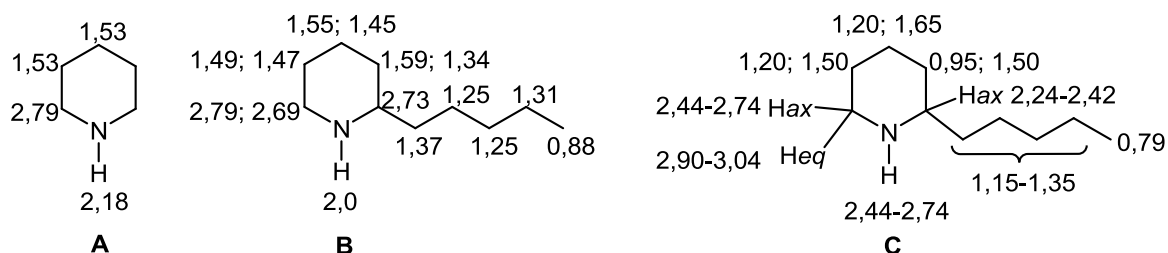
**Slika 5.11.**  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY spektar 2-pentilpiperidina sa istaknutim bitnim korelacijama

Hemijska pomeranja asigniranih signala u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru (slika 5.12) u odličnoj su korelaciji sa  $\delta$  C atoma u samom piperidinu, kao i sa  $\delta$  za 2-pentilpiperidin predviđenim pomoću ChemDraw-a, što još jednom potvrđuje prisustvo piperidinskog prstena u molekulu. Ovakvo slaganje  $\delta$  već asigniranih C atoma sa njihovim predviđenim pomeranjima (ChemDraw), omogućava potpunu asignaciju  $^{13}\text{C}$  NMR preraspodelom preostalih  $\delta$ , tako da se ona najbolje slažu sa predviđenim  $\delta$  za neasignirane C atome. Pri čemu se dobija da je:  $\delta(\text{C}(1'))=37,2$ ,  $\delta(\text{C}(2'))=25,4$ ,  $\delta(\text{C}(3'))=31,9$  i  $\delta(\text{C}(4'))=22,4$  ppm, što je i naznačeno crvenom bojom na slici 5.12.



**Slika 5.12.** Poređenje hemijskih pomeranja u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru piperidina (A, SDBS), predviđenih (B, ChemDraw) i asigniranih (C) hemijskih pomeranja u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru 2-pentilpiperidina

Takođe, postoji dobro slaganje hemijskih pomeranja u  $^1\text{H}$  NMR spektru 2-pentilpiperidina sa predviđenim  $\delta$  za njegove H atome, kao i sa  $\delta$  zajedničkih H atoma u piperidinu (slika 5.13).



**Slika 5.13.** Poređenje hemijskih pomeranja u  $^1\text{H}$  NMR spektru piperidina (A, SDBS), predviđenih (B, ChemDraw) i asigniranih (C)<sup>16</sup> hemijskih pomeranja u  $^1\text{H}$  NMR spektru 2-pentilpiperidina

Asignirana hemijska pomeranja C i H atoma u 2-pentilpiperidinu sumirana su u tabeli 5.5.

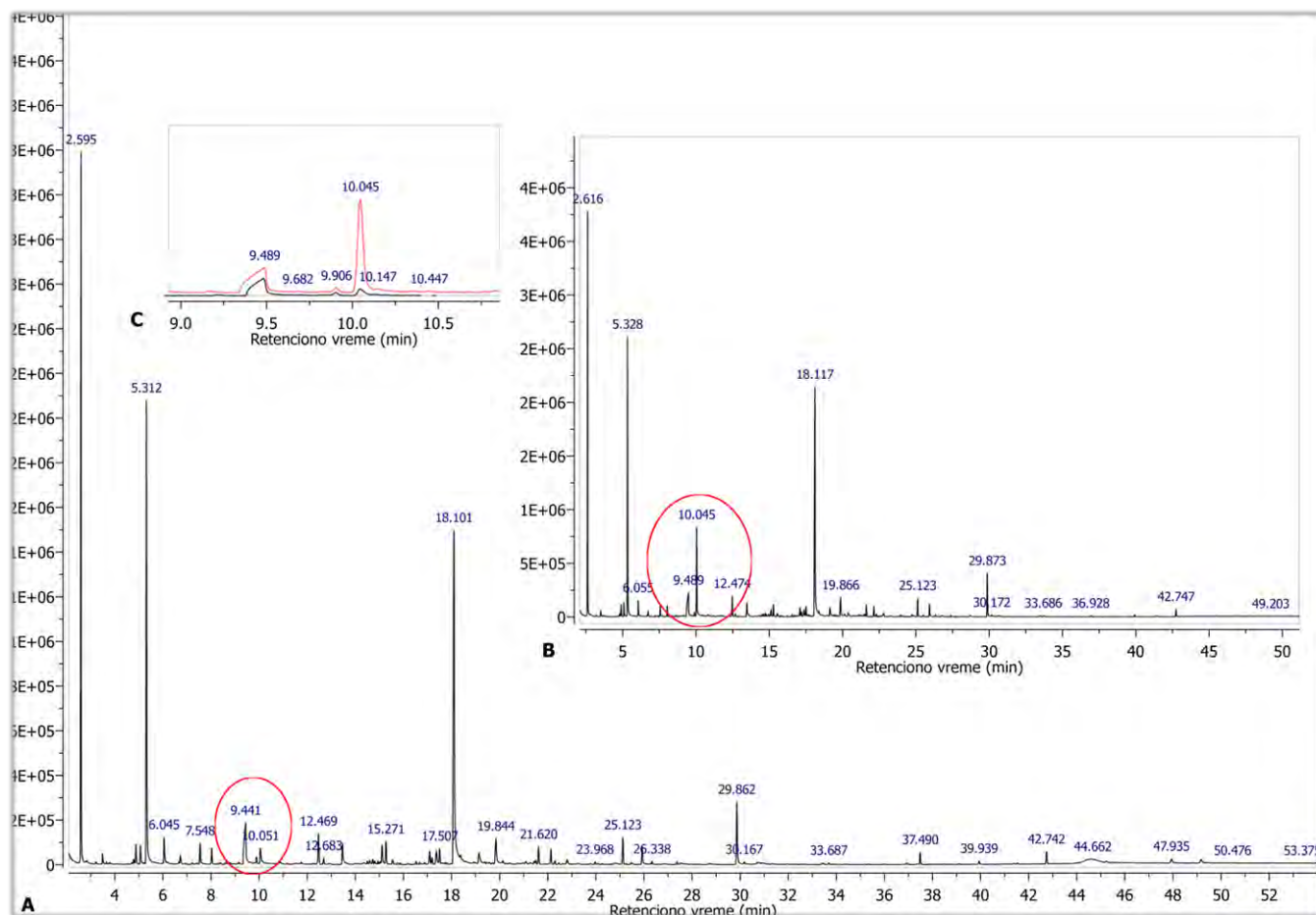
**Tabela 5.5.** Asignirana hemijska pomeranja C i H atoma u 2-pentilpiperidinu

Atom	$\delta_c$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm)	Broj H atoma i oblik signala
1	56,8	2,24-2,42	(1H, m)
2	32,7	a	$\approx 0,95$
		b	$\approx 1,50$
3	24,7	a	$\approx 1,20$
		b	$\approx 1,65$
4	26,4	a	$\approx 1,20$
		b	$\approx 1,50$
5	47,0	ax	2,44-2,74 (1H, ddd) <sup>†</sup>
		eq	2,90-3,04 (1H, m)
1'	37,2	$\approx 1,15-1,35$	(14 H, m)*
2'	25,4	$\approx 1,15-1,35$	
3'	31,9	$\approx 1,15-1,35$	
4'	22,4	$\approx 1,15-1,35$	
5'	13,8	0,79	(3H, t)
N-H	/	2,44-2,74	(1H, deo multipleta) <sup>†</sup>

\*, † delovi istog signala

<sup>16</sup> Crvenom bojom su označena  $\delta$  koja su dodeljena C atomima na osnovu slaganja sa predviđenim  $\delta$  tih C atoma (ChemDraw)

Fragmentacija 2-pentilpiperidina u masenom spektru slagala se sa fragmentacijom jedinjenja iz hidrodestilata ploda i baznih ekstrakata nadzemnog dela i ploda vrste *C. maculatum*, za koje se sumnjalo da je 2-pentilpiperidin. Radi potpune potvrde da se radi o istom jedinjenju izvršeno je GC koinjektiranje sintetisanog 2-pentilpiperidina sa hidrodestilatom ploda *C. maculatum*. Porast intenziteta pika na  $R_t=10,045$  min<sup>17</sup> u gasnom hromatogramu nesumnjivo je potvrdio da je reč o 2-pentilpiperidinu (slika 5.14) Takođe, pokazano je da je ovaj potpuno novi piperidinski alkaloid prirodni proizvod.



**Slika 5.14.** Gasni hromatogram hidrodestilata ploda vrste *C. maculatum* pre (A) i nakon (B) GC koinjektiranja sintetisanog ( $\pm$ )-2-pentilpiperidina, kao i međusobno upoređenje označenog dela hromatograma (C)

<sup>17</sup> Razlika u ovom  $R_t$  (i onom navedenom u ekperimentalnom delu) za 2-pentilpiperidin javlja se usled promene kolone.

## 5.5. Isparljivi sastojci biljne vrste *C. maculatum*

Hemijska analiza etarskih ulja kao i baznih dihlormetanskih ekstrakata nadzemnih delova i dihlormetanskih ekstrakata korena vrste *C. maculatum* vršeno je GC i GC-MS metodama. Biljni materijal je sakupljan sa tri različite lokacije (tri, četiri ili pet branja). Rezultati analize etarskih ulja prikazani su u tabeli 5.6, dok su rezultati analize ekstrakata nadzemnih delova prikazani u tabeli 5.7, a korena u tabeli 5.8, dok su oznake uzoraka i njihovi prinosi dati u tabeli 4.1. u eksperimentalnom delu. Najveća varijacija prinosa ulja uočena je kod uzoraka biljaka sa lokacije Crveni krst, kod kojih on opada sa sazrevanjem biljke, do poslednje faze (u šizokarpima) kada je u znatnom porastu (0,09%). U uzorcima biljaka sa preostale dve lokacije prinos ulja je značajno manji (0,01-0,04%). Najveći prinos ekstrakata je dobijen iz šizokarpa (0,44-1,70%). Najviše različitih jedinjenja je identifikovano u etarskim uljima, ukupno 291, što čini 74,7-99,0% ulja. U baznim ekstraktima identifikovano je 163 sastojaka što iznosi od 81,4 do 95,2% ekstrakta (uključujući steroide o kojima će posebno biti reči u poglavlju 5.6). U ekstraktima korena identifikovano je ukupno 196 sastojaka, što čini 82,1-94,8% ekstrakta (uključujući steroide).

### 5.5.1. Hemijski sastav baznih ekstrakata nadzemnih delova i plodova vrste *C. maculatum*

U velikom broju uzoraka baznih ekstrakata nadzemnih delova, u prvim fazama razvića dominiraju alkaloidi (29,9-76,6%). Do sada je u vrsti *C. maculatum* identifikovano deset alkaloida, o čemu je bilo reči u opštem delu (poglavlje 3.3.3). Od tih deset u ispitivanim baznim ekstraktima identifikovani su koniin,  $\gamma$ -konicein, konhidrin, konhidrinon, pseudokonhidrin i 2-pentil-3,4,5,6-tetrahidropiridin (dihomolog  $\gamma$ -koniceina). Kao što je već pomenuto, smatra se da je količina alkaloida, na samom početku biološkog razvića, veoma mala i da je  $\gamma$ -konicein dominantan u toj fazi (Cromwell, 1956), a da je udeo alkaloida najveći u šizokarpima u fazi sazrevanja (López *et al*, 1999). Međutim, u slučaju uzoraka sa lokacije Crveni krst, najveći sadržaj alkaloida je detektovan u prvoj fazi razvića, 76,7%, sa  $\gamma$ -koniceinom (47,8%) kao glavnim sastojkom, praćenim koniinom (15,8%), konhidrinom (8,5%) i pseudokonhidrinom (2,9%). U sledećim fenofazama sadržaj alkaloida je znatno opao (C2E-29,9; C3E-16,0 i C4E-17,3%), dok je u zrelih šizokarpima ponovo došlo do porasta njihovog ukupnog udela (C5E-39,0%). U poslednjoj fazi (možda u vezi sa dehidratacijom tkiva), sa porastom sadržaja koniina (30,6%), uočen je i mali porast sadržaja  $\gamma$ -koniceina (7,1%), u odnosu na prethodne tri faze, dok su ostali alkaloidi prisutni u jako maloj količini. Promena odnosa sadržaja pojedinih alkaloida, posebno povećanje količine koniina (7,0-17,1%) u kasnijim fazama razvića, u saglasnosti je sa dosadašnjim rezultatima, za razliku od ukupnog sadržaja alkaloida u početnoj fazi razvića.

Biljni materijal sa lokacije Palilula sakupljan je nešto kasnije u odnosu na onaj sa lokacije Crveni krst, što nije uticalo na sadržaj alkaloida. Tako je i kod ovih uzoraka uočeno dominantno prisustvo  $\gamma$ -koniceina na početku razvića (P3E-22,8%), dok je količina koniina (10,9%) u njemu bila najniža. U sledećoj fazi uočen je porast sadržaja koniina (P4E-35,6%). U uzorku P3E je zabeležen najveći sadržaj konhidrinona (14,2%). Imajući u vidu biosintezu ovog alkaloida (šema 3.5), može se reći da je u fazi 4 razvoja biljke, sa lokacije Palilula, proces alilneoksidacije bio izraženiji u odnosu na druge dve lokacije, jer je produkcija konhidrinona bila veća u odnosu na koniin. Interesantno je primetiti da je količina konhidrinona veća na početku razvića, dok se značajnije prisustvo konhidrina uočava u kasnijim fazama, u kojima, takođe, opada sadržaj  $\gamma$ -koniceina u korist koniina, što je u skladu sa literaturnim podacima (López *et al*, 1999). Uzimajući u obzir biosintetske puteve pomenutih alkaloida, moglo bi se reći da reduktaze postaju aktivnije u kasnijoj fazi razvića ove vrste. U svim ispitivanim uzorcima uočeno je odsustvo *N*-metilkoniina, prethodno identifikovanog u ovoj vrsti, a samim tim i enzima koniin-metiltransferaze (López *et al*, 1999).

Biljni materijal sa lokacije Ledena stena je kasnije sakupljan u odnosu na lokaciju Crveni krst (15-20 dana zakašnjenja), a ranije u odnosu na lokaciju Palilula, pa bi se očekivalo da na početku razvića i u njemu bude detektovana značajna količina biosintetskog prekursora svih ovih alkaloida –  $\gamma$ -koniceina. Međutim, njegov sadržaj je u uzorku L2E 1,1%, dok je najveći uočen za uzorak L3E 3,0%. U uzorku L2E, koji je prvi sakupljan sa ove lokacije, koniin je detektovan samo u tragovima, dok je u kasnijim fazama bio dominantan sa skoro konstantnim sadržajem oko 20%. Sa razvićem biljke došlo je i do nagle produkcije alkaloida tj. dominantnog prisustva  $\gamma$ -konicein-reduktaze, koja dovodi do formiranja koniina, kao i u slučaju ostale dve lokacije. Uticaj ekoloških faktora, o čemu je bilo reči u opštem delu, bi mogao objasniti kvalitativne i kvantitativne varijacije alkaloida u ispitivanim uzorcima. Veoma velika produkcija alkaloida na početku ontogenetskog razvića u biljkama sa lokacije Crveni krst i Palilula nije u saglasnosti sa njihovom manjom zastupljenošću u biljkama sa lokacije Ledena stena, što bi se takođe moglo objasniti uticajem ekoloških faktora.

U poglavlju 5.4 detaljno je opisana identifikacija, sinteza i karakterizacija 2-pentilpiperidina, dihomologa koniina. Kako je u uzorcima pored dihomologa koniina identifikovan i dihomolog  $\gamma$ -koniceina (osim u uzorcima L2E, P4E i L4E), može se pretpostaviti da do njihove biosinteze dolazi na isti način kao i kod para koniin/ $\gamma$ -konicein, sa jednom acetatnom jedinicom više. Analizom uzoraka sa lokacije Crveni krst, u fazama 1, 2 i 3 uočeno je dominantno prisustvo dihomologa  $\gamma$ -koniceina (1,1; 3,7 i 0,4%) u odnosu na 2-pentilpiperidin. U poslednjoj fazi razvića, u šizokarpima (uzorak C5E), dolazi do porasta sadržaja 2-pentilpiperidina (0,8%) u odnosu na dihomolog  $\gamma$ -koniceina (0,3%), što je u saglasnosti sa tvrdnjom o najvećem sadržaju  $\gamma$ -koniceina (i njegovog dihomologa) u početnim fazama razvića i kasnijom konverzijom u koniin. I uzorci sa lokacije Palilula pokazali su istu pravilnost: u



**Tabela 5.6.** Hemijski sastav baznih ekstrakata nadzemnih delova i ploda biljne vrste *C. maculatum*

Sastojci	RI <sup>a</sup>	Klasa	C1E	L2E	C2E	L3E	C3E	P3E	L4E	C4E	P4E	L5E	C5E	P5E
2-Metilpentanal	745	O	tr	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
3-Metil-2-butenal	778	O	0,1	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	tr
Heksanal	801	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr
Butil-acetat	809	G	0,7	1,8	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	tr
(E)-3-Heksen-1-ol	847	G	0,1	0,5	0,5	0,1	0,5	0,1	-	0,2	0,1	-	-	-
(E)-2-Heksen-1-ol	858	G	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
1-Heksanol	861	G	-	-	0,1	-	0,1	-	-	0,1	tr	tr	-	tr
p-Ksilen	870	O	0,2	0,4	tr	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-
2-Heptanon	887	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr
Stiren	896	O	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cikloheksanon	901	O	0,7	1,3	0,1	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-
Heptanal	901	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr
α-Pinen	936	MT	-	-	tr	tr	tr	-	-	tr	tr	-	-	-
Benzaldehid	963	O	-	-	tr	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-
Sabinen	975	MT	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
β-Pinen	980	MT	0,1	tr	tr	0,2	0,1	0,1	-	0,1	tr	-	-	-
2-Oktanon	988	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr
Mircen	989	MT	0,9	0,4	0,2	0,8	0,7	0,4	2,3	1,7	1,9	-	-	-
Mezitilen	997	O	0,1	-	tr	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-
Koniin	1002	A	15,8	tr	17,1	20,9	7,0	10,9	21,7	15,4	35,6	22,1	30,6	22,3
2-Etil-1-heksanol	1025	O	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Limonen	1030	MT	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-
β-Felandren	1031	MT	tr	-	tr	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
(Z)-β-Ocimen	1035	MT	-	8,3	4,7	2,8	1,2	1,8	0,5	0,2	0,5	-	-	-
γ-Konicein	1036	A	47,8	1,1	8,0	3,0	3,6	22,8	0,9	0,8	0,4	1,3	7,1	1,3
(E)-β-Ocimen	1045	MT	0,7	1,3	0,5	0,3	1,2	0,9	1,4	1,6	3,7	-	-	-
γ-Terpinen	1058	MT	-	-	-	-	0,1	-	-	tr	-	-	-	-
1-Oktanol	1061	G	tr	-	0,1	-	-	tr	-	-	tr	tr	-	tr
2-Nonanon	1090	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr

**Tabela 5.6.** (nastavak)

Sastojci	RI	Klasa	C1E	L2E	C2E	L3E	C3E	P3E	L4E	C4E	P4E	L5E	C5E	P5E
Undekan	1100	O	-	-	tr	-	tr	-	-	tr	tr	tr	tr	tr
Nonanal	1101	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr
2-Butiril-3,4-dihidro-2 <i>H</i> -pirol	1112	A	0,1	0,2	tr	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-
Feniletil alkohol	1113	O	-	-	0,1	-	-	-	-	-	tr	tr	-	tr
<i>alo</i> -Ocimen	1128	MT	-	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
2-Propionilpiridin	1131	A	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Propionil-3,4,5,6-tetrahidropiridin	1147	A	0,2	-	0,1	0,3	1,0	0,2	-	0,1	tr	0,3	-	0,1
Tetralin	1165	O	-	-	0,1	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-
Konhidrinon	1186	A	8,5	-	0,1	0,5	3,1	14,2	0,1	-	0,1	0,1	tr	0,4
Pseudokonhidrin	1189	A	2,9	-	0,2	0,2	0,1	4,4	0,4	0,2	1,8	0,2	tr	2,5
Konhidrin	1193	A	-	-	-	-	-	tr	-	0,5	0,3	0,4	0,2	3,0
Dodekan	1200	O	-	tr	0,2	tr	0,2	-	tr	0,2	0,1	tr	-	0,2
2-Pentilpiperidin	1205	A	tr	-	0,6	1,3	tr	0,4	tr	0,2	0,7	0,6	0,8	0,4
2-Pentil-3,4,5,6-tetrahidropiridin (dihomolog $\gamma$ -koniceina)	1237	A	1,1	-	3,7	tr	0,4	0,5	-	0,1	-	tr	0,3	0,1
2-Propionil-1,4,5,6-tetrahidropiridin	1242	A	0,3	-	0,3	0,3	0,8	0,3	-	tr	tr	0,3	tr	tr
( <i>Z</i> )-2-Decenal	1247	G	-	-	0,2	0,7	-	0,1	-	tr	tr	tr	-	tr
( <i>E</i> )-2-Decenal	1254	G	-	-	0,1	tr	0,1	0,1	-	-	tr	-	-	-
Tridekan	1300	O	-	tr	0,2	tr	0,1	-	0,3	tr	0,3	tr	tr	0,1
Undekanal	1301	G	-	-	0,1	-	-	tr	-	-	-	tr	-	-
2-Hidroksi-5-etil-acetofenon	1312	O	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
( <i>E,E</i> )-2,4-Dekadienal	1320	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
$\alpha$ -Kopaen	1379	ST	tr	tr	0,4	0,2	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	tr	-	-
$\beta$ -Burbonen	1388	ST	-	-	tr	-	tr	-	-	tr	tr	tr	-	tr
$\alpha$ -Duprezjanen	1389	ST	0,1	0,2	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-
1-Tetradecen	1391	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr
$\beta$ -Kubeben	1395	ST	-	tr	0,3	-	0,2	0,1	-	0,1	0,1	-	-	-
Tetradekan	1400	O	tr	tr	tr	-	-	tr	-	-	tr	tr	tr	tr
Dodekanal	1409	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr

**Tabela 5.6.** (nastavak)

Sastojci	RI	Klasa	C1E	L2E	C2E	L3E	C3E	P3E	L4E	C4E	P4E	L5E	C5E	P5E
$\beta$ -Funebren	1417	ST	0,2	1,3	0,6	0,7	0,3	-	-	0,1	-	-	-	-
( <i>E</i> )-Kariofilen	1423	ST	1,4	1,4	0,8	tr	0,1	0,5	-	tr	0,1	-	-	-
$\beta$ -Duprezjanen	1426	ST	-	-	-	0,3	-	-	-	tr	-	-	-	-
$\beta$ -Kopaen	1433	ST	-	-	-	0,2	-	tr	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -Gurjunen	1434	ST	-	-	0,2	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-	-
<i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamoten	1437	ST	-	-	-	0,1	-	tr	-	-	tr	-	-	-
Akora-3,5-dien	1440	ST	-	0,2	0,2	0,2	0,1	-	-	-	-	-	-	-
( <i>E</i> )- $\beta$ -Farnezen	1456	ST	0,1	tr	0,1	0,2	0,1	-	-	-	tr	-	-	-
$\alpha$ -Humulen	1458	ST	-	-	0,1	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -Akoradien	1470	ST	tr	tr	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-
10- <i>epi</i> - $\beta$ -Akoradien	1478	ST	tr	tr	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
$\gamma$ -Kurkumen	1481	ST	0,1	0,4	0,2	0,5	0,2	-	-	tr	-	-	-	-
Germakren D	1485	ST	1,6	5,8	8,8	1,6	4,6	2,5	1,6	1,7	0,8	-	-	-
( <i>Z,E</i> )- $\alpha$ -Farnezen	1494	ST	0,1	0,2	0,4	0,9	0,1	0,1	0,2	tr	0,3	-	-	-
$\alpha$ -Zingiberen	1495	ST	-	tr	-	0,1	0,1	0,1	-	-	tr	-	-	-
2-Tridekanon	1495	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr
Biciklogermakren	1500	ST	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pentadekan	1500	O	tr	-	-	-	-	-	tr	0,1	0,3	0,2	tr	0,2
$\alpha$ -Muurolen	1503	ST	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
( <i>E,E</i> )- $\alpha$ -Farnezen	1508	ST	tr	0,2	-	1,5	0,1	-	tr	tr	0,2	-	-	-
$\beta$ -Bisabolen	1509	ST	tr	0,2	-	0,3	0,2	0,2	0,1	tr	0,1	-	-	-
$\delta$ -Kadinen	1522	ST	-	-	0,1	-	0,1	-	-	tr	tr	-	-	-
$\beta$ -Seskvifelandren	1525	ST	0,7	4,3	0,1	4,7	2,4	3,6	1,3	0,5	1,3	-	-	-
Dauka-4(11),8-dien	1533	ST	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Elemicin	1556	PHP	0,1	-	1,0	-	-	0,1	-	0,1	-	-	-	-
( <i>E</i> )-Nerolidol	1564	ST*	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
( <i>Z</i> )-3-Heksenil-oktanoat	1576	G	-	-	-	-	0,1	tr	-	-	tr	-	-	-
( <i>Z</i> )-5-Heksadecen	1579	O	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	tr	-	tr
Heksil-oktanoat	1581	G	0,2	tr	-	-	tr	-	-	tr	-	-	-	-

**Tabela 5.6.** (nastavak)

Sastojci	RI	Klasa	C1E	L2E	C2E	L3E	C3E	P3E	L4E	C4E	P4E	L5E	C5E	P5E
Heksadekan	1600	O	-	tr	-	-	-	-	-	tr	0,1	tr	tr	tr
Kariofila-2(12),6(13)-dien-5 $\alpha$ -ol	1608	ST*	0,1	-	0,1	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-
(Z)-7-Tetradecenol	1669	O	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-
(E,E)-6,8-Heptadekadien	1669	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
1-Tetradekanol	1675	O	-	-	-	-	-	-	tr	-	0,5	0,1	0,2	0,2
Heptadekan	1700	O	-	-	-	-	-	-	tr	tr	0,3	0,2	0,2	0,2
(E,Z)-2,6-Farnezol	1714	ST*	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Benzil-oktanoat	1747	G	0,4	0,5	-	-	tr	0,3	-	-	-	-	-	tr
Oktil-oktanoat	1776	G	0,2	tr	-	-	0,1	0,1	tr	0,1	tr	-	-	-
Antracen	1781	O	tr	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oktadekan	1800	O	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	tr
Heksadekanal	1816	O	tr	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
Neofitadien izomer <sup>1</sup>	1837	DT	-	0,2	-	-	tr	-	-	-	tr	-	-	-
Heksahidrofarnezilacetone	1840	O	tr	tr	-	-	tr	tr	-	0,1	tr	0,4	0,1	0,5
Neofitadien izomer <sup>1</sup>	1862	DT	0,1	3,1	1,1	0,4	1,7	0,5	0,5	0,7	0,4	tr	-	tr
1-Heksadekanol	1876	O	-	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	tr	-	0,1
Neofitadien izomer <sup>1</sup>	1879	DT	-	0,4	0,2	-	0,3	0,1	-	0,2	0,1	-	-	-
Nonadekan	1900	O	-	-	-	-	-	-	tr	-	0,1	tr	tr	0,1
Metil-palmitat (Metil-heksadekanoat)	1923	O	-	-	-	0,2	tr	tr	-	0,1	0,2	tr	-	0,1
Heksadekanska kiselina	1962	O	-	11,3	-	-	-	-	-	0,5	tr	tr	-	-
Etil-palmitat	1993	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr
Eikozan	2000	O	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	-	tr
(Z)-Falkarinol	2037	PA	0,4	2,2	-	15,9	5,0	8,8	14,8	11,6	3,7	-	-	-
1-Oktadekanol	2083	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	0,1	0,3
Metil-linolelaidat	2091	O	-	-	-	0,4	0,3	-	tr	0,1	0,4	0,1	-	0,1
(Metil-(E,E)-9,12-Oktadekadienoat)														
Metil-linolenat (Metil-(Z,Z,Z)-9,12,15-Oktadekatrienoat)	2096	O	-	-	-	0,5	0,6	-	tr	0,2	0,2	-	-	-
Heneikozan	2100	O	tr	-	-	-	-	-	tr	0,2	0,4	tr	0,1	0,3

**Tabela 5.6.** (nastavak)

Sastojci	RI	Klasa	C1E	L2E	C2E	L3E	C3E	P3E	L4E	C4E	P4E	L5E	C5E	P5E
Metil-petroselinat	2100	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-
(Metil-(Z)-6-oktadecenoat) (E)-Fitol	2115	DT*	0,3	3,6	9,7	10,9	24,2	1,9	4,3	6,3	3,7	0,4	0,5	0,5
Metil-oktadekanoat	2124	0	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	tr
Linoleinska kiselina	2132	0	-	-	-	-	-	-	-	1,3	-	0,5	0,2	0,1
Oleinska kiselina ((Z)-9-Oktadecenska kiselina)	2140	0	-	-	-	-	-	-	-	7,3	0,4	3,4	2,4	0,3
Linolenska kiselina	2147	0	-	31,3	-	-	-	0,1	-	-	tr	-	-	-
Etil-linoleat	2158	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
Etil-(E)-9-oktadecenska kiselina	2165	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-	0,1
Neidetifikovano jedinjenje 10 <sup>2</sup>	2189	0	0,2	0,5	0,7	0,5	-	0,2	4,9	2,9	-	-	-	-
Dokozaan	2200	0	-	-	tr	-	-	-	-	tr	-	0,1	-	0,1
Falkarindiol	2205	PA	-	0,7	-	1,9	-	3,4	-	-	4,1	-	-	-
Eikozanol	2284	0	0,2	-	0,1	-	-	0,1	-	tr	tr	0,2	0,1	0,1
Trikozaan	2300	0	tr	tr	0,1	tr	0,1	-	0,4	0,4	0,2	0,1	0,2	0,3
2-Heneikozanon	2306	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
1-Heneikozanol	2364	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
1-Tetrakozan	2389	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
Tetrakozan	2400	0	-	-	-	-	-	tr	tr	0,1	0,1	tr	tr	0,1
Dokozaan	2430	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
1-Dokozaan	2491	0	2,8	2,2	3,4	0,6	0,2	1,2	0,3	0,3	0,6	0,7	0,3	1,2
Pentakozan	2500	0	-	-	0,3	-	0,1	0,2	0,8	0,5	0,4	0,4	0,3	0,7
2-Trikozaanon	2509	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
Metil-dokozaan	2517	0	0,3	-	-	-	0,1	0,1	-	0,1	-	-	-	-
1-Trikozaan	2593	0	tr	-	0,1	-	-	0,1	-	0,1	0,1	0,1	-	0,2
Heksakozan	2600	0	-	-	-	-	-	-	tr	0,1	0,1	0,1	tr	0,2
1-Tetrakozanol	2694	0	2,6	7,7	6,4	3,1	1,1	3,7	0,8	0,9	1,0	0,1	0,3	0,6
Metil-tetrakozan	2695	0	0,3	0,7	-	-	0,2	0,4	0,2	0,3	0,1	1,0	-	0,3
(Metil-lignocerat) Heptakozan	2700	0	-	-	-	0,2	0,6	-	1,8	1,3	1,6	2,8	1,5	3,0

**Tabela 5.6. (nastavak)**

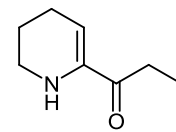
Sastojci	RI	Klasa	C1E	L2E	C2E	L3E	C3E	P3E	L4E	C4E	P4E	L5E	C5E	P5E
4-Metilheptakozan	2765	0	-	-	-	-	-	-	-	0,1	tr	tr	-	0,1
Pentakozanol	2793	0	0,2	tr	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	0,3
Oktakozan	2800	0	tr	-	-	-	0,3	0,1	0,5	0,3	0,7	1,0	0,6	1,2
Skvalen	2810	0	-	-	0,3	-	0,1	-	-	0,1	0,3	0,4	0,3	0,2
Metil-pentakozanoat	2830	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
Nonakozan	2900	0	0,3	1,6	1,5	0,9	2,3	1,7	8,4	6,1	12,5	18,5	7,7	24,1
Heksil-dokozanoat	2985	0	-	-	4,3	4,1	4,6	2,7	12,5	8,1	0,6	0,4	0,2	0,5
Triakontan	3000	0	tr	-	-	-	0,1	0,6	0,3	0,2	0,6	0,7	0,3	0,8
Hentriakontan	3100	0	-	-	-	-	0,9	-	1,2	0,6	2,4	1,4	-	1,5
$\alpha$ -Tokoferol	3101	0	-	-	-	0,5	0,9	0,4	-	1,6	1,4	0,6	-	0,5
$\beta$ -Amirin	3352	TT*	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	1,3	-	0,6
$\alpha$ -Amirin	3414	TT*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	0,8	1,2
Tetradecil-eikozanoat	3567	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,8	28,5	-
Steroidi <sup>3</sup>		S	-	-	7,6	10,7	12,9	2,1	6,3	7,4	6,4	12,6	6,2	12,6
<b>Ukupno</b>			<b>93,3</b>	<b>95,7</b>	<b>87,1</b>	<b>94,3</b>	<b>86,2</b>	<b>94,9</b>	<b>88,9</b>	<b>84,3</b>	<b>93,1</b>	<b>84,5</b>	<b>90,1</b>	<b>84,0</b>
Alkaloidi		A	76,7	1,3	29,9	26,5	16,0	53,8	23,1	17,3	38,9	25,3	39,0	30,1
Diterpeni			0,4	7,3	11,0	11,3	26,2	2,5	4,8	7,2	4,2	0,4	0,5	0,5
oksigenovani		DT*	0,3	3,6	9,7	10,9	24,2	1,9	4,3	6,3	3,7	0,4	0,5	0,5
ugljovodnici		DT	0,1	3,7	1,3	0,4	2,0	0,6	0,5	0,9	0,5	-	-	-
Fenilpropanoidi		PHP	0,1	-	1,0	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-
"Green leaf" derivati		G	1,6	2,8	1,1	0,8	0,8	0,8	-	0,3	0,1	tr	-	tr
Monoterpeni (ugljovodnici)		MT	1,7	10,0	5,4	4,1	3,3	3,2	4,2	3,6	6,1	-	-	-
Ostalo		O	8,0	57,0	18,2	11,2	12,9	12,8	32,4	34,3	26,2	43,4	43,6	39,0
Poliacetileni		PA	0,4	2,9	-	17,8	5,0	12,2	14,8	11,6	7,8	-	-	-
Steroidi		S	-	-	6,6	10,7	12,9	2,1	6,3	7,4	6,4	12,6	6,2	12,6
Seskviterpeni			4,4	14,4	13,9	11,9	9,1	7,4	3,3	2,6	3,0	-	-	-
oksigenovani		ST*	0,1	-	0,4	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-
ugljovodnici		ST	4,3	14,4	12,5	11,9	9,1	7,3	3,3	2,6	3,0	-	-	-
Triterpeni (oksigenovani)		TT*	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	2,8	0,8	1,8

<sup>a</sup>- Jedinjenja su navedena po redosledu eluiranja sa HP-5MS kolone (RI eksperimentalno određeni retencioni indeksi na pomenutoj koloni koinjekcijom homologe serije *n*-alkana C<sub>7</sub>-C<sub>37</sub>); <sup>1</sup>- nije utvrđen stereoisomer; <sup>2</sup>-Maseni spektar neidentifikovanog jedinjenja 10 je dat u prilogu 9.3 <sup>3</sup>-Steroidi su posebno obrađeni u poglavlju 5.6.

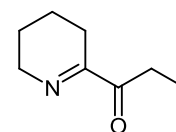
početnoj fazi razvića veći je udeo dihomologa  $\gamma$ -koniceina, a kasnije koniina. Određena odstupanja opet se javljaju u uzorcima sakupljenim sa Ledene stene, jer u uzorku L2E nije uočen nijedan dihomolog, dok je kasnije povećana količina dihomologa koniina, koji je najviše prisutan u fazi 3 (1,3%), što je vrlo slično odnosu koniina i  $\gamma$ -koniceina u uzorcima sa ove lokacije.

Pored pomenutih alkaloida, u uzorcima baznih dihlormetanskih ekstrakata identifikovani su još 2-propionil-1,4,5,6-tetrahidropiridin, 2-propionil-3,4,5,6-tetrahidropiridin i 2-propionilpiridin (prisutan jedino u uzorku C2E u tragovima), koji prethodno nisu detektovani u uzorcima ove biljne vrste. Prva dva međusobno tautomerna alkaloida, identifikovana su na osnovu poređenja masenih spektara sa onim iz baze podataka, kao i poređenjem retencionih indeksa sa literaturnim vrednostima (Hofmann i Schieberle, 1998; Starckenmann *et al*, 2005). Pomenuti alkaloidi su sastavne mirisne komponente kivanog pirinča, hleba, kokica, biskvita i drugih namirnica u kojima nastaju kao produkti Maillard-ove reakcije. Naše čulo mirisa je osetljivo na veoma niske koncentracije propioniltetrahidropiridina (0,2 ng/l u vazduhu; Hofmann i Schieberle, 1998; Starckenmann *et al*, 2005). Imajući u vidu način pripreme i obrade ekstrakata, može se reći da ova dva alkaloida nisu produkti Maillard-ove reakcije, već da ih biljka sintetiše. Kako se zna da u koraku biosinteze konhidrinona dolazi do 1'-alilne hidroksilacije  $\gamma$ -koniceina, može se pretpostaviti da daljom oksidacijom ovog intermedijera mogu nastati pomenuta dva tautomera. Saznanje da je  $\gamma$ -konicein prekursor svih (C8) alkaloida ove vrste, dobar je argument koji ide u prilog ovoj pretpostavci. Drugi mogući put biosinteze je oksidacija konhidrinona do ovih alkaloida. Ono što ovoj pretpostavci ide u prilog je prisustvo 2-propionilpiridina u jednom uzorku, koji može nastati dodatnom oksidacijom ova dva alkaloida. To može ukazivati na prisustvo određenih enzima – dehidrogenaza, od kojih neki mogu biti odgovorni za produkciju pomenutih alkaloida iz konhidrinona. Imajući sve navedeno na umu, neophodno je izvršiti dodatna detaljna ispitivanja kojim bi se utvrdio pravi biosintetski put ovih jedinjenja.

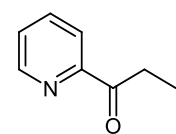
Peti alkaloid koji do sada nije nađen u vrsti *C. maculatum*, a identifikovan u uzorcima baznih ekstrakata jeste 2-butiril-3,4-dihidro-2*H*-pirol. Kao i za sve ostale alkaloidne ove biljne vrste, i za ovaj se može pretpostaviti da vodi poreklo iz  $\gamma$ -koniceina. Kako je već poznato da se odvija 1'-alilna hidroksilacija  $\gamma$ -koniceina, može se pretpostaviti da je ona moguća i u položaju 3, što bi dovelo do formiranja 3-hidroksi- $\gamma$ -koniceina. Nakon dalje oksidacije, do  $\gamma$ -konicein-3-ona, i izomerizacije (hidroliza nastalog intermedijera do diketo-amina i dalja spontana kondenzacija) nastaje 2-butiril-3,4-dihidro-2*H*-pirol. Pretpostavljena biosinteza 2-butiril-3,4-dihidro-2*H*-pirol prikazana je na šemi 5.11. Naravno, mehanizam nastajanja ovog alkaloida, takođe, je neophodno dodatno ispitati. Osim toga, prisustvo ovog jedinjenja u ekstraktima vrste *C. maculatum* treba potvrditi koinjekcijom, kao i u slučaju 2-pentilpiperidina, što će svakako biti predmet daljeg istraživanja.



2-Propionil-  
1,4,5,6-  
tetrahidropiridin

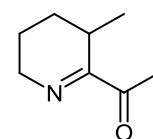


2-Propionil-  
3,4,5,6-  
tetrahidropiridin

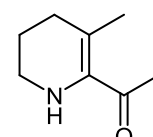


2-Propionil-  
piridin

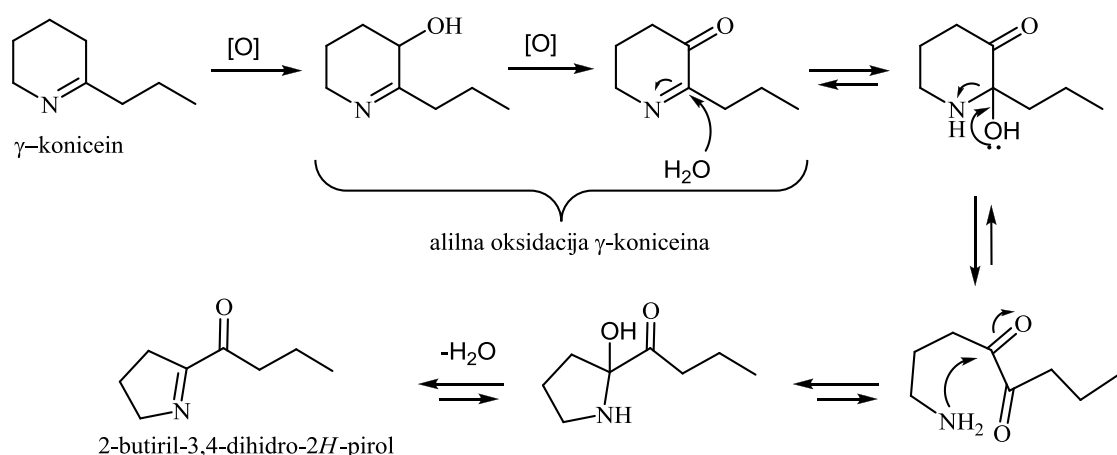
2-Acetil-3-  
metiltetrahidro  
piridini:



iminski  
tautomer



enaminski  
tautomer



**Šema 5.11.** Moguća šema nastajanja 2-butiril-1-pirolina (2-butiril-3,4-dihidro-2H-pirola) iz  $\gamma$ -koniceina

Pored deset alkaloida identifikovanih u baznim ekstraktima nadzemnih delova ove vrste, u njima je detektovan i veliki broj drugih jedinjenja iz klasa terpena, fenilpropanoida, poliacetilena i dr. Uzorak L2E najviše odstupa od svih ostalih jer je u njemu sadržaj alkaloida samo 1,3%, dok je klasa „ostalo“ (57,0%) najzastupljenija. Razlog tome je prisustvo velike količine linolenske (31,3%) i heksadekanske kiseline (11,3%). Druga klasa po zastupljenosti su seskviterpeni (14,4%), što ga dodatno razlikuje od ostalih uzoraka. Uzorak L3E se razlikuje od ostalih po većem sadržaju poliacetilena (17,8%), od kojih 15,9% pripada (*Z*)-falkarinolu. Ovog poliacetilenskog alkohola ima najviše u fazama 3 i 4 (3,7-15,9%), dok je u poslednjoj fazi odsutan iz svih uzoraka. Drugi poliacetilen prisutan samo u uzorcima sa lokacija Ledena stena i Crveni krst jeste falkarindiol (0,7-4,1%). Uzorak C3E je jedini kod koga su diterpeni (26,2%) najdominantnija klasa, a (*E*)-fitol glavni sastojak (24,2%). U uzorcima u fazama 4 i 5 (sa izuzetkom P4E) dominantna klasa je „ostalo“ (32,4-43,6%), a nonakozan (6,1-24,1%) jeste jedini sastojak prisutan u svim uzorcima, sa najvećim sadržajem u onima sa lokacije Palilula. U ovoj klasi ističe se i prisustvo oleinske kiseline (7,3%) u uzorku C4E, heksil-dokozanoata u uzorcima C4E (8,1%) i L4E (12,5%), kao i tetradecil-eikozanoata u uzorcima L5E (8,8%) i C5E (28,5%).

Sadržaj germakrena D najveći je u fazi 2 (L2E-5,8 i C2E-8,8%), a znatno opada s daljim razvićem biljke (0,6-4,6%), dok je u poslednjoj fazi razvića odsutan iz svih uzoraka. Najveći sadržaj ovog seskviterpena uočen je u uzorcima kukute sa lokacije Crveni krst. Slično je i u slučaju monoterpena (*Z*)- $\beta$ -ocimena, čija je zastupljenost najveća u fazama 2 i 3, znatno opada u fazi 4 i potpuno izostaje u fazi 5.

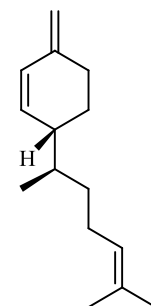


### 5.5.2. Hemijski sastav etarskih ulja nadzemnih delova biljne vrste *C. maculatum*

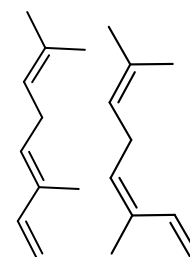
Osim baznih dihlormetanskih ekstrakata, iz istog biljnog materijala izolovana su i etarska ulja i izvršena je njihova analiza. Sastav ulja dat je u tabeli 5.7, dok su oznake uzoraka i prinosi ulja dati u tabeli 4.1, u eksperimentalnom delu. U početnim fazama razvića može se uočiti velika produkcija terpena, kao na primer u uzorcima L2D, C2D, L3D, P4D, C3D, gde je najdominantnija seskviterpenska klasa (35,2-57,8%). Dominantni sastojak ove klase, koji je prisutan u svim uzorcima je germakren D, čiji se udeo kreće u opsegu 11,7-32,2% (sem u poslednjoj fazi, u kojoj on izostaje, u uzorcima sa sve tri lokacije, kao i u slučaju ekstrakta). Takođe, glavni sastojak uzorka L2D je seskviterpen  $\beta$ -seskvifelandren (22,5%), dominantan i u uzorku L3D (10,7%). U uzorcima P3D, L4D i C4D monoterpenni predstavljaju glavnu klasu (39,7-43,7%). Sastojci koji najveći udeo ove klase su mircen, (*E*)- i (*Z*)- $\beta$ -ocimen, a koji su potpuno odsutni u poslednjoj fazi razvića. Mircen dominira u svim uzorcima ulja iz faze 4 (13,3-17,3%), (*E*)- $\beta$ -ocimen u uzorcima L4D-15,5 i C4D-21,8%, dok je (*Z*)- $\beta$ -ocimen zastupljen u prvim fazama razvića u uzorcima C1D-15,4, C2D-13,9 i P3D-32,3%. U pomenutim grupama uzoraka kod kojih dominiraju seskviterpeni, monoterpenni su sledeća klasa po zastupljenosti, i obrnuto (sem u slučaju uzoraka C1D, L2D i L3D), a ukupni udeo terpena u njima varira od 56,6 do 76,6%. U uzorcima sa lokacije Ledena stena, L2D i L3D, druga klasa po zastupljenosti su diterpeni (14,4 i 14,8%), a ukupan udeo terpena iznosi 65,6 i 72,6%. U uzorku C1D procentualni sadržaj terpena jeste 53,9%.

U poslednjoj fazi razvića (faza 5), u uzorcima sa svih lokacija, uočen je najveći sadržaj jedinjenja iz klase „ostalo“, 57,8-62,55%. Dominantna jedinjenja su pre svega 1-oktadekanol (P5D-23,2; L5D-10,3 i C5D-21,1%), 1-heksadekanol (4,1-6,2%), tridekan (1,6-4,3%) i nonakozan (1,9-6,0%). U uzorcima ulja nije uočeno prisustvo (*Z*)-falkarindiola, kao u slučaju ekstrakta, već samo (*Z*)-falkarinola (0,3-13,0%), koji je prisutan u uzorcima sa svih lokacija, osim u poslednjoj fenofazi.

Iako je reč o „neutralnoj“ hidrodestilaciji, u većem broju uzoraka uočeno je prisustvo alkaloida. Uzorak C1D je jedini u kome su alkaloidi (36,0%) najdominantnija klasa. U njemu je najzastupljeniji  $\gamma$ -konicein (21,3%), dok je 2-butiril-3,4-dihidro-2*H*-pirol prisutan sa 10,9%, što je mnogo više nego u bilo kom drugom uzorku ulja (0,2-1,6%) ili ekstrakta (0,1-0,2%). Uzimajući u obzir pretpostavku biosintetskog puta ovog jedinjenja (šema 5.11), kao i njegovu malu zastupljenost u drugim uzorcima u odnosu na C1D, a takođe i velike količine  $\gamma$ -koniceina u ovom uzorku, moglo bi se pretpostaviti da je ono u ovako velikoj količini moglo nastati iz  $\gamma$ -koniceina pod uslovima hidrodestilacije. Nešto veća količina alkaloida uočena je i u poslednjoj fazi razvića biljke sa sve tri lokacije (12,3-23,7%). Pored  $\gamma$ -koniceina (P5D-5,6; L5D-3,4; C5D-13,4%), u ovim uzorcima identifikovan je i koniin (5,6-7,8%), koji nije bio prisutan u ranijim fazama. Pored pomenutih alkaloida, u manjoj količini identifikovani su skoro svi alkaloidi koji su prisutni u



$\beta$ -seskvifelandren



(*E*)-/(*Z*)- $\beta$ -ocimen

**Tabela 5.7.** Hemijski sastav etarskih ulja nadzemnih delova biljne vrste *C. maculatum*

Sastojci	RI <sup>a</sup>	Klasa	C1D	L2D	C2D	L3D	C3D	P3D	L4D	C4D	P4D	L5D	C5D	P5D
Piridin	739	O	-	-	tr	0,1	-	0,1	-	tr	tr	-	-	-
(Z)-2-Penten-1-ol	765	G	-	-	0,1	-	tr	-	tr	tr	0,1	-	-	-
3-Metil-2-buten-1-ol	765	O	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
Toluen	773	O	0,1	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-Metil-2-butenal	778	O	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
Mezitol-oksid	801	O	0,1	-	0,2	1,1	-	tr	-	-	-	-	-	-
Heksanal	801	G	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	tr
Butil-acetat	809	G	0,3	-	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Furfural	833	G	tr	-	tr	tr	-	tr	-	tr	tr	-	-	-
(E)-3-Heksen-1-ol	847	G	-	-	0,6	-	tr	tr	tr	0,1	0,1	-	-	-
(Z)-3-Heksen-1-ol	851	G	0,4	2,0	6,8	2,2	5,0	1,7	2,6	1,3	3,5	-	-	-
(E)-2-Heksen-1-ol	858	G	-	0,4	1,5	0,3	0,5	-	0,2	0,2	0,4	-	-	-
1-Heksanol	861	G	tr	-	-	0,1	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	-	tr	0,3
2-Heptanon	887	G	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-
Cikloheksanon	901	O	0,2	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Heptanal	901	G	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	tr	0,3	0,4	0,4
(E,E)-2,4-Heksadienal	912	G	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-
α-Tujen	927	MT	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-
α-Pinen	936	MT	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	tr	-	-	-
1-Butoksi-2-propanol	937	O	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(E)-2-Heptenal	954	G	-	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	-	-	-
1-Heptanol	961	G	-	-	tr	-	-	tr	-	-	-	0,3	-	tr
Benzaldehid	963	O	tr	0,1	0,2	-	-	tr	tr	tr	tr	-	-	0,4
(Z)-Okta-1,5-dien-3-ol	971	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-
(Z,E)-1,3,6-Oktatrien	973	O	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	0,6	-	0,7
1-Okten-3-ol	975	G	-	-	tr	-	-	tr	-	-	-	2,5	1,4	2,1
Sabinen	975	MT	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	0,1	-	-	-
β-Pinen	980	MT	0,2	-	0,2	-	0,1	0,2	0,5	0,7	0,4	-	-	-

**Tabela 5.7.** (nastavak)

Sastojci	RI <sup>a</sup>	Klasa	C1D	L2D	C2D	L3D	C3D	P3D	L4D	C4D	P4D	L5D	C5D	P5D
Mircen	989	MT	2,9	0,1	2,7	0,3	2,4	3,4	17,3	14,8	13,3	-	-	-
1,8-Dehidro-sineol	995	MT	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-
2,4,6-Trimetilpiridin	996	O	-	tr	-	-	-	tr	-	-	tr	-	-	-
Mezitilen	997	O	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Propilpiridin	998	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,1
( <i>E</i> )-3-Heksenil-acetat	1001	G	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
Oktanal	1001	G	tr	0,1	0,1	tr	tr	0,2	-	-	-	-	-	0,4
Koniin	1002	A	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	7,8	7,6	5,6
( <i>Z</i> )-3-Heksenil-acetat	1004	G	-	0,2	1,1	0,1	1,7	0,5	0,6	1,2	2,0	-	-	-
Heksil-acetat	1010	G	-	-	0,1	-	tr	-	tr	0,1	0,1	-	-	-
$\alpha$ -Felandren	1010	MT	-	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	-	-	-
( <i>E</i> )-2-Heksenil-acetat	1011	G	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-
( <i>E,E</i> )-2,4-Heptadienol	1019	G	-	-	tr	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-
2-Etil-1-heksanol	1025	O	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
$\alpha$ -Terpinen	1026	MT	-	-	-	-	-	tr	-	tr	-	-	-	-
<i>p</i> -Cimen	1027	MT	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	0,2	-	-	-
Limonen	1030	MT	tr	-	-	-	-	0,1	0,5	0,5	tr	-	-	-
$\beta$ -Felandren	1031	MT	tr	-	0,2	-	0,4	0,1	-	-	-	-	-	-
( <i>Z</i> )- $\beta$ -Ocimen	1035	MT	15,4	8,6	13,9	1,9	5,7	32,3	4,2	3,3	9,0	-	-	-
$\gamma$ -Konicein	1036	A	21,3	0,6	4,5	-	-	0,2	-	tr	-	3,4	13,4	5,6
Fenilacetaldehid	1036	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7	0,7
( <i>E</i> )- $\beta$ -Ocimen	1045	MT	2,1	0,8	3,3	0,7	6,0	6,3	15,5	21,8	2,6	-	-	-
( <i>E</i> )-2-Oktenal	1057	G	-	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	-	-	-
$\gamma$ -Terpinen	1058	MT	-	-	0,1	-	tr	0,1	0,5	0,1	0,3	-	-	-
1-Oktanol	1061	G	-	0,1	0,2	tr	tr	0,2	0,1	0,1	0,1	1,2	1,1	0,8
( <i>E</i> )-2-Okten-1-ol	1066	G	-	-	tr	-	-	-	-	tr	tr	0,3	tr	0,1
<i>p</i> -Menta-2,4(8)-dien	1088	MT	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-
2-Nonanon	1090	G	-	-	-	-	-	-	-	0,1	tr	-	-	0,3
Linalool	1100	MT	-	-	-	-	tr	-	tr	0,1	0,1	-	-	-

**Tabela 5.7.** (nastavak)

Sastojci	RI <sup>a</sup>	Klasa	C1D	L2D	C2D	L3D	C3D	P3D	L4D	C4D	P4D	L5D	C5D	P5D
Undekan	1100	O	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	0,3	-	0,3
Nonanal	1101	G	-	0,1	0,1	tr	0,1	0,1	0,2	0,3	0,4	2,5	2,7	1,3
Izopentil-2-metilbutanoat	1102	O	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-
2-Metilbutil-izovalerat	1107	O	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
2-Butiril-3,4-dihidro-2 <i>H</i> -pirol	1112	A	10,9	1,2	1,6	0,3	1,1	0,7	-	0,2	-	-	0,4	-
( <i>E,E</i> )-2,4-Oktadienol	1117	G	-	tr	0,2	-	-	0,1	-	tr	-	-	-	-
3-Oktil-acetat	1118	G	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
Neidentifikovano jedinjenje 11 <sup>1</sup>	1124	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,9	1,1	1,0
<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol	1124	MT*	-	-	0,3	0,1	0,7	0,1	0,5	0,3	0,5	-	-	-
<i>alo</i> -Ocimen	1128	MT	-	0,1	0,2	-	tr	0,5	-	-	-	-	-	-
2-Pentil-1-pirolin	1130	A	2,2	0,2	0,3	tr	0,1	0,1	-	-	-	-	tr	-
2-Propionilpiridin	1131	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-
( <i>Z</i> )-Epoksi-ocimen	1135	MT*	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
<i>trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol	1142	MT*	tr	-	0,1	0,1	0,4	0,1	0,2	0,2	0,2	-	-	-
2-Propionil-3,4,5,6-tetrahidropiridin	1147	A	0,2	0,3	0,1	-	tr	tr	-	0,1	-	0,3	-	-
( <i>E</i> )-2-Nonenal	1157	G	-	-	0,1	-	tr	0,1	tr	0,1	0,1	0,3	tr	-
Tetralin	1165	O	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nonanol	1169	G	-	-	tr	tr	tr	tr	-	tr	tr	0,3	-	0,1
1,3,5-Undekatrien <sup>2</sup>	1172	O	-	-	-	-	-	tr	-	-	tr	-	-	-
Neidentifikovano jedinjenje 12 <sup>1</sup>	1178	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,0	tr	3,5
1-Decen-3-ol	1179	G	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
3-Dekanon	1181	G	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
2-Izobutil-3-metoksipirazin	1181	O	-	tr	tr	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-
Naftalen	1182	O	tr	-	0,1	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-
Terpinen-4-ol	1183	MT*	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-
1,3,5-Undekatrien <sup>2</sup>	1184	O	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
Kripton	1190	MT	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
2-Dekanon	1190	G	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,3	-	-
$\alpha$ -Terpineol	1194	MT	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-



**Tabela 5.7.** (nastavak)

Sastojci	RI <sup>a</sup>	Klasa	C1D	L2D	C2D	L3D	C3D	P3D	L4D	C4D	P4D	L5D	C5D	P5D
2-Metilnaftalen	1297	O	0,2	-	0,2	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-
<i>trans</i> -Sabinil-acetat	1297	MT*	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
Tridekan	1300	O	-	-	-	0,2	0,1	-	0,2	0,1	0,1	4,3	2,7	1,6
Undekanal	1301	G	-	0,2	tr	-	-	-	tr	tr	tr	0,9	0,3	0,4
2,4-Dimetilheksil-butanoat	1304	O	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-
( <i>E</i> )-3-Heksenil-tiglat	1311	G	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Hidroksi-5-etil-acetofenon	1312	O	-	0,2	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1-Metilnaftalen	1314	O	tr	tr	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>p</i> -Vinil-gvajakol	1316	O	tr	0,2	0,2	0,1	tr	0,1	tr	tr	tr	-	-	-
( <i>E,E</i> )-2,4-Dekadienal	1320	G	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	-	-	0,7	0,3
( <i>Z</i> )-3-Heksenil-tiglat	1321	G	tr	tr	-	0,1	-	-	-	-	tr	-	-	-
Izopropil-metoksi-metilbenzen <sup>2</sup>	1327	MT*	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Heptil-2-metilbutanoat	1334	G	-	-	tr	tr	-	tr	-	-	tr	-	-	-
Neidentifikovano jedinjenje 13 <sup>1</sup>	1339	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,0	1,1	2,4
<i>trans</i> -Karvil-acetat	1341	MT*	-	-	-	-	-	-	-	0,2	0,3	-	-	-
( <i>E</i> )-3-Undecen-2-on	1341	G	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -Kubeben	1352	ST	-	-	tr	-	tr	tr	-	tr	tr	-	-	-
( <i>E</i> )-2-Undecenal	1364	G	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-
Neril-acetat	1366	MT*	tr	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1-Undekanol	1373	G	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	0,3	tr	0,1
$\alpha$ -Kopaen	1379	ST	0,3	0,4	0,7	0,7	1,4	0,6	1,1	0,6	1,3	0,3	tr	tr
Bifenil	1381	O	tr	tr	-	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-
Daucen	1382	ST	-	0,5	-	-	0,2	-	0,4	-	-	-	-	-
2- <i>epi</i> - $\alpha$ -Funebren	1385	ST	-	-	0,2	0,2	tr	-	-	-	0,1	-	-	-
$\beta$ -Burbonen	1388	ST*	-	0,2	0,2	-	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,6	tr	tr
$\alpha$ -Duprezjanen	1389	ST	0,4	-	0,4	1,4	0,6	-	-	0,3	-	-	-	-
$\beta$ -Kubeben	1393	ST	0,2	0,3	0,7	0,3	1,2	0,6	1,0	0,4	1,4	0,3	-	-
$\beta$ -Elemen	1394	ST	-	tr	0,1	0,2	0,2	tr	-	-	-	-	-	-
Tetradekan	1400	O	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	0,3	tr	0,1

**Tabela 5.7.** (nastavak)

Sastojci	RI <sup>a</sup>	Klasa	C1D	L2D	C2D	L3D	C3D	P3D	L4D	C4D	P4D	L5D	C5D	P5D
(E)-Jasmon	1401	O	-	-	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
2,7-Dimetilnaftalen	1407	O	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Italicen	1407	ST	-	-	-	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-
Dodekanal	1409	G	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	3,1	0,6	1,4
$\beta$ -Funebren	1417	ST	1,2	tr	2,3	6,2	2,8	tr	0,9	0,5	0,7	0,9	-	-
$\alpha$ -Cedren	1421	ST	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-	0,3	-	-
(E)-Kariofilen	1423	ST	8,8	5,3	2,9	-	2,3	5,7	0,3	0,3	0,3	-	-	-
$\beta$ -Duprezjanen	1426	ST	-	-	-	3,0	-	-	0,3	0,3	0,2	-	-	-
$\beta$ -Cedren	1428	ST	tr	-	tr	1,0	0,7	-	0,2	-	0,1	0,3	-	-
$\gamma$ -Elemen	1430	ST	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -Kopaen	1433	ST	-	tr	0,2	0,1	0,2	0,2	0,5	0,1	-	0,3	-	-
$\beta$ -Gurjunen	1434	ST	-	-	-	-	-	-	-	0,4	0,2	-	-	-
<i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamoten	1437	ST	-	0,1	-	0,1	-	tr	-	-	0,1	-	-	-
$\alpha$ -Gvajen	1438	ST	-	-	0,6	-	0,7	-	-	-	-	-	-	-
Akora-3,5-dien	1440	ST	0,2	-	0,5	1,5	0,6	-	0,1	0,2	0,2	-	-	-
(Z)- $\beta$ -Farnezen	1444	ST	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
Nerilaceton	1447	O	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,3	-	-
$\beta$ -Barbaten	1448	ST*	tr	-	0,1	tr	-	tr	-	-	-	-	-	-
Acenaftilen	1451	O	0,2	tr	0,1	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
Geranilaceton	1454	O	-	-	-	-	tr	-	-	0,1	-	-	-	-
$\alpha$ -Himahalen	1454	ST	-	tr	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
<i>trans</i> -Karvil-propanoat	1455	MT*	-	-	-	-	-	-	-	0,1	tr	-	-	-
(E)- $\beta$ -Farnezen	1456	ST	-	tr	0,4	1,4	0,4	-	0,3	0,2	0,2	-	-	-
$\alpha$ -Humulen	1458	ST	0,7	0,7	0,3	-	0,3	0,5	-	0,1	0,2	-	-	-
Amorfa-4,11-dien	1460	ST	-	0,3	-	-	tr	-	0,4	0,1	-	0,3	-	-
$\alpha$ - <i>neo</i> -Kloven	1465	ST	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\gamma$ -Dekalakton	1468	O	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	0,3	0,6	0,4
$\beta$ -Akoradien	1470	ST	tr	tr	0,4	1,1	0,5	-	0,1	0,2	0,2	-	-	-
<i>cis</i> -Muurola-4(14),5-dien	1473	ST	-	tr	-	-	-	-	tr	0,1	0,1	-	-	-

**Tabela 5.7.** (nastavak)

Sastojci	RI <sup>a</sup>	Klasa	C1D	L2D	C2D	L3D	C3D	P3D	L4D	C4D	P4D	L5D	C5D	P5D
1-Dodekanol	1474	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	0,3	0,2
9- <i>epi</i> -( <i>E</i> )-Kariofilen	1475	ST	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
Dauka-5,8-dien	1476	ST	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-
10- <i>epi</i> - $\beta$ -Akoradien	1478	ST	tr	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -Neokalitropsen	1481	ST	-	-	0,8	0,8	0,4	-	-	-	-	-	-	-
$\gamma$ -Muurolen	1481	ST	-	-	-	-	-	0,1	-	tr	tr	-	-	-
$\gamma$ -Kurkumen	1481	ST	-	-	-	2,7	1,2	-	0,4	0,3	-	-	-	-
Neidentifikovano jedinjenje 14 <sup>1</sup>	1483	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,2	0,6	0,3
Neidentifikovano jedinjenje 15 <sup>1</sup>	1484	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,9	2,1	0,7
Germakren D	1485	ST	11,7	12,0	16,1	13,0	32,2	15,4	18,3	12,7	22,8	-	-	-
( <i>E</i> )- $\beta$ -Jonon	1488	O	-	tr	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
1-Feniletil-2-metilbutanoat	1488	O	0,4	-	-	tr	-	tr	-	tr	0,4	-	-	-
11- $\alpha$ ( <i>H</i> )-Himahala-1,4-dien	1492	ST	0,2	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-
( <i>Z,E</i> )- $\alpha$ -Farnezen	1494	ST	-	0,7	0,9	5,5	1,3	1,4	1,3	-	tr	-	-	-
$\alpha$ -Zingiberen	1495	ST	tr	0,6	-	-	-	-	0,2	0,1	0,1	-	-	-
2-Tridekanon	1495	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,8	tr	0,2
<i>epi</i> -Kubebol	1499	ST*	-	-	tr	-	0,2	0,1	-	-	-	-	-	-
Biciklogermakren	1500	ST	tr	0,2	0,7	0,2	0,9	0,3	0,6	0,6	1,0	-	-	-
Pentadekan	1500	O	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	2,5	0,6	0,8
Izodaucen	1503	ST	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -Muurolen	1503	ST	-	-	tr	0,1	tr	0,1	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -Himahalen	1504	ST	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
( <i>E,E</i> )- $\alpha$ -Farnezen	1508	ST	-	tr	0,4	3,5	0,5	0,7	-	0,3	0,5	-	-	-
$\beta$ -Bisabolen	1509	ST	0,5	2,0	0,4	0,3	0,4	0,7	1,1	0,2	0,4	-	-	-
Tridekanal	1511	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
Germakren A	1512	ST	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,1	-	-	-
$\alpha$ -Kuprenen	1513	ST	-	-	-	0,5	0,2	-	-	0,1	-	-	-	-
$\gamma$ -Kadinen	1516	ST	-	-	-	-	-	-	-	0,3	0,2	-	-	-
Dibenzofuran	1517	O	tr	0,1	tr	0,2	-	tr	-	-	-	-	-	-



**Tabela 5.7.** (nastavak)

Sastojci	RI <sup>a</sup>	Klas	C1D	L2D	C2D	L3D	C3D	P3D	L4D	C4D	P4D	L5D	C5D	P5D
<i>N,N</i> -Dimetil- 5,6,7,8-tetrahidro-1-naftalenamin	1518	O	0,4	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kubebol	1519	ST*	-	-	-	tr	0,2	0,1	-	-	-	-	-	-
<i>cis</i> -Dihidroagarofuran	1519	ST*	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
$\delta$ -Kadinen	1522	ST	-	-	-	-	-	-	0,6	-	0,8	-	-	-
$\beta$ -Seskvifelandren	1525	ST	1,8	22,5	1,4	10,7	2,8	2,7	5,7	2,0	3,5	-	-	-
Dauka-4(11),8-dien	1533	ST	-	1,7	-	-	0,6	-	0,8	-	-	-	-	-
( <i>E</i> )- $\gamma$ -Bisabolen	1533	ST	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>cis</i> -Kalamenen	1536	ST	-	-	0,1	0,2	tr	-	-	0,1	0,1	-	-	-
Elemicin	1556	PHP	2,5	0,6	0,3	-	-	0,1	0,1	0,3	0,1	-	-	-
( <i>E</i> )-Nerolidol	1564	ST*	0,8	0,4	0,6	0,5	0,2	0,5	0,2	0,2	-	-	-	-
( <i>Z</i> )-3-Heksenil-benzoat	1572	G	-	-	-	-	tr	-	0,6	-	-	-	-	-
Dendrolazin	1573	ST	-	-	-	-	-	-	-	0,2	0,1	-	-	-
( <i>Z</i> )-3-Heksenil-oktanoat	1576	G	-	0,5	0,6	0,2	0,7	0,3	-	0,2	0,5	-	-	-
Tridekanol	1579	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-	-
Heksil-oktanoat	1581	G	0,7	0,5	0,2	-	tr	0,2	0,1	0,2	0,2	-	-	-
9 <i>H</i> -Fluoren	1583	O	0,2	0,1	tr	0,1	tr	0,2	0,1	0,1	-	0,3	-	-
2-Feniletil-tiglat	1584	O	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-
Kariofilen-oksid	1588	ST*	0,3	0,2	0,1	-	tr	0,1	-	0,1	0,1	-	-	-
Salvia-4(14)-en-1-on	1596	ST*	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	-	-	-
Heksadekan	1600	O	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	5,9	1,4	-
Kariofil-2(12),6(13)-dien-5 $\alpha$ -ol	1608	ST*	2,0	0,3	0,5	0,1	tr	0,5	-	-	-	-	-	-
Tetradekanal	1613	O	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	tr
Humulen-epoksid II	1614	ST*	tr	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-
Junenol	1624	ST*	-	-	tr	-	tr	tr	-	-	0,1	-	-	-
Dilapiol	1627	PHP	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Murola-4,10(14)-dien-1 $\beta$ -ol	1629	ST*	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	-	-	-
1- <i>epi</i> -Kubenol	1632	ST*	0,8	0,6	0,1	-	0,2	0,5	0,2	0,1	-	-	-	-
<i>cis</i> -Gvaja-3,9-dien-11-ol	1643	ST*	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-

**Tabela 5.7.** (nastavak)

Sastojci	RI <sup>a</sup>	Klasa	C1D	L2D	C2D	L3D	C3D	P3D	L4D	C4D	P4D	L5D	C5D	P5D
Selina-3,11-dien-6 $\alpha$ -ol	1646	ST*	3,1	-	-	0,3	-	-	0,1	-	-	-	-	-
( <i>E</i> )-5-Kariofilen-12-al	1647	ST*	-	-	0,7	-	-	1,3	-	-	-	-	-	-
<i>epi</i> - $\alpha$ -Murolol ( $\tau$ -murolol)	1647	ST*	-	-	-	-	tr	-	-	0,2	0,1	-	-	-
$\alpha$ -Murolol	1649	ST*	-	-	-	-	0,1	-	-	-	0,1	-	-	-
Kubenol	1650	ST*	-	-	tr	tr	0,1	-	0,1	0,2	0,1	-	-	-
$\alpha$ -Kadinol	1659	ST*	-	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,3	-	-	-
Kadina-4,10(14)-dien-1 $\alpha$ -ol	1662	ST*	-	-	-	-	-	-	-	0,2	0,2	-	-	-
<i>epi</i> - $\beta$ -Bisabolol	1671	ST*	tr	-	0,3	0,5	0,2	0,1	0,1	0,3	0,2	-	-	-
1-Tetradekanol	1675	O	tr	-	0,2	-	-	-	-	-	-	2,5	0,8	1,4
Akorenon izomer <sup>2</sup>	1681	ST*	0,3	-	0,8	1,0	0,6	-	-	tr	-	-	-	-
$\alpha$ -Bisabolol	1690	ST*	-	0,3	0,1	0,2	tr	-	0,1	-	-	-	-	-
2,3-Dihidrofarnesol	1692	ST*	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Germakra-4(15),5,10(14)-trien-1 $\alpha$ -ol	1692	ST*	-	-	0,1	-	0,1	0,1	0,1	0,5	0,9	-	-	-
Eudezma-4(15),7-dien-1 $\beta$ -ol	1693	ST*	-	-	-	-	-	-	tr	0,3	0,2	-	-	-
Akorenon izomer <sup>2</sup>	1694	ST*	-	-	0,2	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-
Heptadekan	1700	O	-	-	-	-	-	-	tr	tr	0,1	2,2	0,7	1,3
( <i>E,Z</i> )-2,6-Farnesol	1714	ST*	-	-	-	-	tr	-	0,1	0,1	0,1	-	-	-
Pentadekanal	1715	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	0,3	0,3
Metil-tetradekanoat	1731	O	-	0,1	0,1	-	0,1	tr	tr	-	-	-	-	-
Mint-sulfid	1744	ST	-	tr	tr	tr	tr	0,1	-	-	-	-	-	-
Benzil-oktanoat	1747	G	-	0,4	tr	0,1	0,2	tr	0,1	0,1	0,1	-	-	-
7,14-Anhidro-amorfa-4,9-dien	1755	ST*	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-
Oktil-oktanoat	1776	G	tr	0,3	0,1	tr	tr	0,1	0,1	0,1	0,2	-	tr	tr
1-Pentadekanol	1778	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
Antracen	1781	O	1,0	0,1	0,3	0,4	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1	0,3	0,4	-
14-Hidroksi- $\delta$ -kadinen	1796	ST*	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	-	-	-
Oktadekan	1800	O	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	0,3	tr	tr
Heksadekanal	1816	O	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	tr	0,3	0,2
Izopropil-tetradekanoat	1823	O	-	-	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-

**Tabela 5.7.** (nastavak)

Sastojci	RI <sup>a</sup>	Klasa	C1D	L2D	C2D	L3D	C3D	P3D	L4D	C4D	P4D	L5D	C5D	P5D
( <i>E,E</i> )-2,6-Farnezil-acetat	1840	ST*	tr	1,1	0,4	0,2	0,2	0,2	-	0,1	0,1	-	-	3,2
Heksahidrofarnezilacetone	1840	O	-	-	-	-	-	-	tr	0,1	0,1	3,4	4,1	-
Feniletil-oktanoat	1847	G	tr	0,1	0,1	tr	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-	-
Neofitadien izomer <sup>2</sup>	1862	DT	0,9	1,8	0,9	0,6	0,5	1,0	0,3	0,4	0,5	-	-	-
1-Heksadekanol	1876	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,1	5,7	6,2
Neofitadien izomer <sup>2</sup>	1879	DT	-	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	tr	-	-
Citronelil-izooktanoat	1879	MT*	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nonadekan	1900	O	-	-	-	-	-	-	0,1	0,2	tr	0,3	0,4	0,6
Heptadekanal	1918	O	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr	-	tr
Heksadekanska kiselina	1962	O	-	-	-	-	-	tr	tr	-	0,1	0,3	-	-
1-Heptadekanol	1981	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
1-Eikozen	1993	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	tr	tr
Eikozan	2000	O	-	-	tr	-	-	-	-	tr	tr	tr	tr	tr
Oktadekanal	2021	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	0,4	0,3
( <i>E,E</i> )-Geranilinalool	2022	DT	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-
( <i>Z</i> )-Falkarinol	2037	PA	0,3	4,4	5,8	12,7	9,7	7,0	10,0	13,0	9,4	-	-	-
1-Oktadekanol	2083	O	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	tr	10,3	21,1	23,2
Heneikozan	2100	O	-	-	tr	-	tr	-	0,2	0,2	0,1	0,3	1,4	1,1
( <i>E</i> )-Fitol	2115	DT*	0,5	12,4	7,1	14,0	6,9	4,5	1,6	2,1	2,2	-	0,8	0,3
Nonadekanal	2123	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
( <i>E</i> )-Fitol-acetat	2220	DT*	-	tr	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1-Eikozanol	2285	O	-	tr	0,1	-	-	tr	-	tr	-	-	0,4	0,4
Trikozan	2300	O	tr	tr	-	0,1	-	-	0,7	0,6	0,7	0,3	1,0	0,8
Tetrakozaan	2400	O	-	-	tr	-	-	-	0,1	0,1	0,1	-	0,3	0,3
Dokozaan	2430	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	tr
1-Dokozaan	2491	O	-	0,2	0,1	0,1	-	tr	-	-	tr	-	tr	-
Pentakozaan	2500	O	-	-	-	-	tr	-	-	0,4	0,4	0,3	1,7	1,4
Metil-dokozaan	2517	O	-	0,1	tr	-	-	tr	-	tr	tr	-	-	-
Heksakozaan	2600	O	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	tr	tr	0,1

**Tabela 5.7.** (nastavak)

Sastojci	RI <sup>a</sup>	Klasa	C1D	L2D	C2D	L3D	C3D	P3D	L4D	C4D	P4D	L5D	C5D	P5D
Tetrakozanal	2633	0	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
4-Metilheksakozan	2665	0	-	0,2	0,1	0,2	tr	0,1	-	-	tr	-	-	-
1-Tetrakozanol	2694	0	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-
Metil-tetrakozanoat (Metil-lignocerat)	2695	0	-	0,1	0,1	-	-	tr	-	tr	tr	-	-	-
Heptakozan	2700	0	-	-	-	-	-	-	0,2	0,4	0,4	0,6	2,9	1,8
Oktakozan	2800	0	-	-	-	-	-	-	tr	0,1	0,1	0,3	0,7	0,4
Nonakozan	2900	0	-	-	0,1	0,2	0,3	0,1	tr	0,7	1,4	1,9	6,0	4,3
Triakontan	3000	0	-	-	-	-	-	-	-	0,1	tr	-	-	-
<b>Totalno identifikovano:</b>			<b>98,6</b>	<b>90,0</b>	<b>94,6</b>	<b>94,8</b>	<b>99,0</b>	<b>96,2</b>	<b>95,2</b>	<b>92,3</b>	<b>91,7</b>	<b>93,9</b>	<b>92,5</b>	<b>82,6</b>
Alkaloidi	A		36,0	2,6	7,6	0,3	1,2	1,0	-	0,4	-	14,9	23,7	12,3
Diterpeneni			1,4	14,4	8,2	14,8	7,5	5,7	2,0	2,7	2,9	-	0,8	0,3
oksigenovani	DT*		0,5	12,4	7,1	14,0	6,9	4,5	1,6	2,1	2,2	-	0,8	0,3
ugljovodonici	DT		0,9	2,0	1,1	0,8	0,6	1,2	0,4	0,6	0,7	-	-	-
“Green leaf” derivati	G		1,7	5,0	13,0	3,2	8,8	4,6	5,3	5,0	9,0	13,5	7,8	9,0
Monoterpeni			20,6	10,2	21,4	3,1	16,1	43,7	39,7	42,8	27,9	-	-	-
oksigenovani	MT*		-	0,6	0,8	0,2	1,5	0,7	0,9	1,2	1,9	-	-	-
ugljovodonici	MT		20,6	9,6	20,6	2,9	14,6	43,0	38,8	41,6	26,0	-	-	-
Ostalo	O		2,8	1,5	3,0	2,9	0,6	1,1	2,1	3,4	4,4	62,5	60,2	57,8
Poliacetileni	PA		0,3	4,4	5,8	12,7	9,7	7,0	10,0	13,0	9,4	-	-	-
Fenilpropanoidi	PHP		2,5	0,7	0,4	-	-	0,2	0,1	0,3	0,1	-	-	-
Seskviterpeni			33,3	51,2	35,2	57,8	55,1	32,9	36,0	24,7	38,0	3,0	-	3,2
oksigenovani	ST*		7,3	3,5	4,3	3,0	2,5	3,8	1,4	3,2	3,1	0,6	-	3,2
ugljovodonici	ST		26,0	47,7	30,9	54,8	52,6	29,1	34,6	21,5	34,9	2,4	-	-

<sup>a</sup>- Jedinjenja su navedena po redosledu eluiranja sa HP-5MS kolone (RI eksperimentalno određeni retencioni indeksi na pomenutoj koloni koinjekcijom homologe serije *n*-alkana C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub>); <sup>1</sup>-Maseni spektri neidentifikovanih jedinjenja 11-15 su dati u prilogu 9.3; <sup>2</sup>- Nije utvrđen stereoisomer

ekstraktu, osim pseudokonhidrina i konhidrinona. Osim toga, u uzorku P5D identifikovan je 2-propilpiridin, dok je u većem broju uzoraka identifikovan 2-pentil-1-pirolin, u vrlo malim količinama.

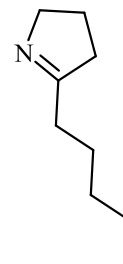
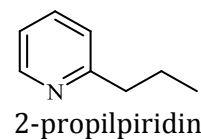
Uticaj sezonskih varijacija na ovu biljnu vrstu potvrđen je poređenjem rezultata dobijenih iz biljnog materijala sakupljanog u proleće 2009. i 2011. godine. Biljni materijal sakupljan 2011. godine hidrodestilovan je i u neutralnoj i u baznoj sredini (oba TIC hromatograma prikazana su na slici 5.15). Rezultati su pokazali da se alkaloidi nisu pojavili u ulju koje je dobijeno neutralnom hidrdestilacijom, za razliku od onih iz 2009. godine. Kada je ona urađena u baznoj sredini, glavne komponente ulja bile su alkaloidi. Ovakve kvantitativne varijacije alkaloida, jasno ukazuju da je vrsta *C. maculatum* podložna sezonskim uticajima.

### 5.5.3. Hemijski sastav dihlormetanskih ekstrakata korena vrste *C. maculatum*

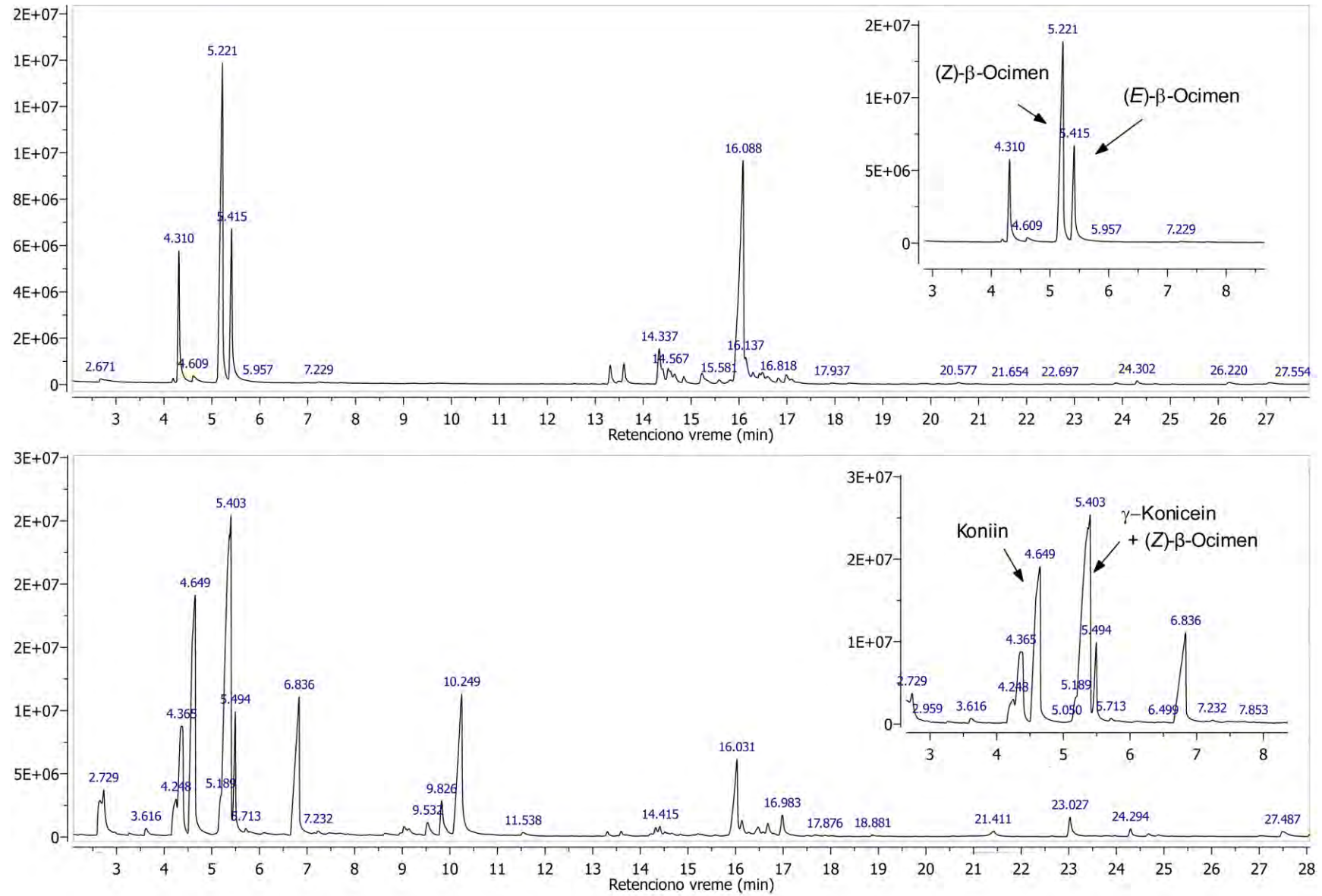
Osim baznih ekstrakata nadzemnih delova, vršena je analiza „neutralnih“ dihlormetanskih ekstrakata korena vrste *C. maculatum*, takođe, sa tri lokacije i u više faza. Rezultati su prikazani u tabeli 5.8, a oznake uzoraka u tabeli 4.1 u eksperimentalnom delu. Ono što je posebno interesantno u ovim uzorcima jeste potpuno odsustvo alkaloida. Može se pronaći podatak da je mlađi koren kukute otrovniji od starijeg (Tucakov, 1973). Međutim, u ovim uzorcima nisu nađeni derivati piperidina za koje se smatra da su toksični principi kukute, već bi to mogli biti poliacetileni, koji su u njima identifikovani.

U polovini ispitanih uzoraka glavna klasa jedinjenja su poliacetileni (26,7-55,0%). Falkarindiol je najzastupljeniji u skoro svim uzorcima (21,0-46,8%). Izuzeci su uzorci C1Ek i P4Ek, kao i svi uzorci iz faze 5. U uzorku C1Ek (*Z*)-falkarinol je drugi sastojak po zastupljenosti (18,3%), dok je u ostalim uzorcima ovaj poliacetilen prisutan u manjim količinama (3,5-13,2%). Uzorak C1Ek, osim po sadržaju (*Z*)-falkarinola, od svih ostalih uzoraka razlikuje se po sadržaju monoterpena (36,1%). Glavni sastojak ovog uzorka je (*Z*)- $\beta$ -ocimen (19,6%), koji je u ostalim uzorcima vrlo malo zastupljen.

Uzorak P4Ek odstupa od svih ostalih zbog velikog sadržaja kumarina (46,8%). Dominantni pripadnici ove klase su: izobergaptin (24,3%), izopimpinelin (10,6%) i bergaptin (8,1%). Al-Barwani i Eltayeb (2004) su pokazali da veliki broj furanokumarina iz listova i semena ove biljne vrste ima ulogu fitoaleksina i da oni pokazuju antifungalnu aktivnost, posebno ksantotoksin i izopimpinelin (u ispitivanim uzorcima su prisutni u opsegu od 1,1 do 10,6%, osim u uzorku C1Ek). Oni su u svojim eksperimentima pokazali da se akumulacija kumarina vremenski razlikuje od trenutka infekcije biljke, te da se svi pomenuti kumarini akumuliraju mnogo pre psolarena. Razlog tome može biti činjenica da je on prekursor svih ostalih furanokumarina. Osim toga, kako je prisustvo ovih jedinjenja primećeno i u uzorcima neinficiranih jedinki, može se reći da ova jedinjenja pripadaju fitoanticipinima. To su jedinjenja koje biljka proizvodi pre mikrobiološkog napada, ili



2-pentil-1-pirolin



**Slika 5.15.** Poređenje TIC hromatograma etarskih ulja dobijenih A-neutralnom i B-baznom hidrodestilacijom







**Tabela 5.8.** (nastavak)

Sastojci	RI	Klasa	C1Ek	L2Ek	C2Ek	L3Ek	C3Ek	P3Ek	L4Ek	C4Ek	P4Ek	L5Ek	C5Ek	P5Ek
(Z)-3-Heksenil-valerat	1231	G	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(Z)-2-Decenal	1247	G	0,2	0,4	0,3	0,5	0,6	0,3	0,4	0,8	0,3	tr	tr	tr
(E)-2-Decenal	1254	G	2,1	0,1	0,1	0,3	0,2	0,1	0,1	0,2	0,3	tr	tr	tr
(E)-2-Decen-1-ol	1267	G	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Undekanon	1293	G	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(E,Z)-2,4-Dekadienal	1295	G	-	-	-	0,1	tr	-	tr	0,1	-	-	-	-
Tridekan	1300	O	-	tr	tr	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	tr	0,2
Undekanal	1301	G	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(E,E)-2,4-Dekadienal	1320	G	0,1	-	-	0,1	0,1	tr	tr	0,1	tr	-	-	-
Heptil-2-metilbutanoat	1334	O	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(E)-3-Undecen-2-on	1341	G	0,2	-	-	-	tr	-	-	tr	-	-	-	-
Ciklosativen	1373	ST	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -Kopaen	1379	ST	tr	-	0,1	0,2	0,1	-	0,1	0,1	tr	-	-	-
Daucen	1382	ST	-	0,2	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
2- <i>epi</i> - $\alpha$ -Funebren	1385	ST	-	-	0,1	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -Elemen	1387	ST	0,3	-	0,1	-	-	0,4	-	-	1,4	-	-	-
$\alpha$ -Duprezjanen	1389	ST	0,1	tr	0,1	0,1	0,1	-	0,1	-	-	-	-	-
Tetradekan	1400	O	-	tr	tr	-	-	tr	-	-	-	tr	-	-
Vanilin	1403	O	-	0,2	0,2	0,1	tr	0,1	0,1	tr	0,2	-	-	tr
Metileugenol	1404	PHP	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-
Dodekanal	1409	G	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -Barbaten	1415	ST	0,5	0,1	0,1	-	-	tr	-	-	-	tr	-	-
$\beta$ -Funebren	1417	ST	0,5	0,1	0,3	0,3	0,5	tr	0,1	0,3	-	-	-	-
(E)-Kariofilen	1423	ST	1,1	0,1	0,3	0,1	0,1	0,4	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -Duprezjanen	1426	ST	-	tr	-	0,1	0,1	-	0,1	0,1	-	-	-	-
<i>cis</i> -Tujopsen	1429	ST	0,2	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -Kopaen	1433	ST	-	-	tr	0,1	0,1	-	0,1	0,1	-	-	-	-
$\beta$ -Gurjunen	1434	ST	-	-	-	0,2	0,1	-	-	-	0,1	-	-	-
<i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamoten	1437	ST	0,1	tr	tr	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-



**Tabela 5.8.** (nastavak)

Sastojci	RI	Klasa	C1Ek	L2Ek	C2Ek	L3Ek	C3Ek	P3Ek	L4Ek	C4Ek	P4Ek	L5Ek	C5Ek	P5Ek
$\alpha$ -Bisabolol	1690	ST*	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Heptadekan	1700	O	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	tr	-	-
Pentadekanal	1715	O	-	-	-	0,1	0,1	-	0,1	0,1	tr	tr	tr	tr
Tetradekanska kiselina	1764	O	-	-	-	0,1	-	-	0,1	0,1	-	-	-	-
Oktil-oktanoat	1776	O	0,4	0,2	0,4	0,2	0,5	0,3	0,1	0,1	-	-	-	-
Antracen	1781	O	0,1	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-
Oktadekan	1800	O	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
Psoralen	1833	K	-	2,0	tr	0,3	0,1	0,3	2,2	0,5	2,0	0,3	0,7	0,7
( <i>E,E</i> )-2,6-Farnezil-acetat	1840	ST*	0,2	-	0,1	0,1	0,1	0,1	-	0,1	-	-	-	-
Pentadekanska kiselina	1859	O	-	-	-	0,2	-	-	0,3	0,5	-	-	-	0,2
( <i>Z</i> )-9-Heksadecen-1-ol	1859	O	-	tr	0,2	-	0,2	tr	-	-	-	-	-	-
1-Heksadekanol	1876	O	-	-	0,2	0,1	tr	tr	-	-	-	-	-	-
Nonadekan	1900	O	-	-	tr	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
Metil-palmitat	1923	O	-	-	-	0,1	5,6	tr	-	tr	-	-	1,9	-
Heksadekanska kiselina	1962	O	0,1	0,4	1,0	5,5	-	0,9	8,3	7,5	2,7	3,6	-	3,3
Skopoletin	1966	K	-	-	0,2	-	-	0,3	-	-	0,3	-	-	-
Eikozan	2000	O	-	tr	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-
Seselin	2001	K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2
( <i>Z</i> )-Falkarinol	2037	PA	18,3	8,2	12,8	13,2	4,7	12,4	5,3	12,9	3,5	0,2	0,1	0,3
Izobergaptan	2045	K	-	4,4	0,4	0,7	1,3	1,3	-	2,3	24,3	0,4	0,2	1,8
Bergaptan	2067	K	-	2,6	0,6	1,0	1,8	1,0	3,1	-	8,1	-	-	0,7
Metil-linolelaidat (Metil-( <i>E,E</i> )-9,12-oktadekadienoat)	2091	O	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-
Metil-linolenat (Metil-( <i>Z,Z,Z</i> )-9,12,15-oktadekatrienoat)	2096	O	-	-	tr	0,1	0,1	-	tr	-	0,1	-	-	-
Heneikozan	2100	O	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
( <i>E</i> )-Fitol	2115	DT*	-	-	tr	0,1	0,1	tr	-	0,1	-	tr	-	tr
Neidentifikovano jedinjenje 16 <sup>2</sup>	2125	O	-	-	-	-	-	-	3,8	5,1	3,8	0,1	1,2	0,8
Linoleinska kiselina	2132	O	-	0,1	0,4	6,1	9,4	0,4	9,0	11,3	3,6	3,6	2,0	3,6



**Tabela 5.8.** (nastavak)

Sastojci	RI	Klasa	C1Ek	L2Ek	C2Ek	L3Ek	C3Ek	P3Ek	L4Ek	C4Ek	P4Ek	L5Ek	C5Ek	P5Ek
Steroidi <sup>3</sup>		S	-	2,8	5,3	8,9	10,4	1,8	11,2	10,5	5,4	68,3	61,8	60,0
Totalno identifikovano			92,3	94,8	91,0	85,1	82,1	92,0	89,7	94,1	90,0	93,8	94,2	93,0
Diterpeni (oksigenovani)		DT*	-	-	tr	0,1	0,1	tr	-	0,1	-	tr	-	tr
“Green leaf” derivati		G	7,1	1,9	2,9	2,8	3,3	2,7	3,2	4,9	3,0	0,2	0,1	-
Kumarini		K	2,2	18,6	6,5	7,3	12,4	9,3	12,5	8,3	46,8	2,8	2,9	7,3
Monoterpeni		MT	36,1	3,3	12,0	5,5	3,5	13,7	2,9	4,3	1,2	-	0,3	-
Ostalo		O	2,9	2,4	4,5	21,7	17,2	4,8	25,4	31,4	12,8	21,7	16,1	24,7
Poliacetileni		PA	23,5	55,0	53,2	34,2	30,1	50,3	26,7	28,5	12,5	0,8	7,0	1,0
Fenilpropanoidi		PHP	2,3	5,8	0,7	0,3	1,5	4,7	5,5	3,0	5,7	-	5,1	tr
Steroidi		S	-	2,8	5,3	8,9	10,4	1,8	11,2	10,5	5,4	68,3	61,8	60,0
Seskviterpeni			18,2	5,0	5,9	4,3	3,6	4,7	2,3	3,1	2,6	-	0,9	-
oksigenovani		ST*	0,9	0,1	0,2	0,1	0,1	0,3	-	0,1	-	-	-	-
ugljovodonici		ST	17,3	4,9	5,7	4,2	3,5	4,4	2,3	3,0	2,6	-	0,9	-

<sup>a</sup>- Jedinjenja su navedena po redosledu eluiranja sa HP-5MS kolone (RI eksperimentalno određeni retencioni indeksi na pomenutoj koloni koinjeksijom homologe serije *n*-alkana C<sub>7</sub>-C<sub>37</sub>); <sup>1</sup>- Nije utvrđen stereoisomer; <sup>2</sup>-Maseni spektar neidentifikovanog jedinjenja 16 dat je u prilogu 9.3; <sup>3</sup>-Steroidi su posebno obrađeni u poglavlju 5.6.

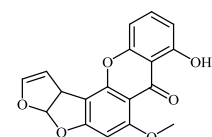
posle napada, kada nastaju derivatizacijom (transformacijom) već postojećih biljnih jedinjenja (Van Etten *et al*, 1994). Imajući u vidu da je u ekstraktima korena identifikovan veći broj kumarina, kao i da su oni prisutni skoro u svim fazama razvića biljke, sa svih lokacija, može se pretpostaviti da oni jesu fitoanticipini, te da biljka nije bila inficirana. Jedino se u uzorku P4Ek, kao što je već rečeno, uočava veliki porast sadržaja furanokumarina, te se za njega možda može reći da je bio izložen napadu nekog mikroorganizma.

U uzorku C4Ek, iako je najdominantniji sastojak poliacetilenski alkohol, najzastupljenija klasa je „ostalo“ (31,4%), a uočeno je i značajno prisustvo palmitinske (7,5%) i linoleinske kiseline (11,3%). Ova klasa je druga po zastupljenosti u većem broju uzoraka iz kasnije faze (12,8-25,4%), u kojima su, sa udelom većim od 5%, prisutne oleinska (L5Ek-6,2 i C5Ek-6,1%), linoleinska (L3Ek-6,1; C3Ek-9,4 i L4Ek-9,0%) i palmitinska kiselina (L3Ek-5,5 i L4Ek-8,3%), kao i metil-palmitat u uzorku C3Ek-5,6%. Iz navedenih rezultata može se uočiti da uzorci sa lokacije Palilula ne sadrže pomenuta jedinjenja u velikim količinama, iako je ova klasa druga po zastupljenosti u uzorcima P4Ek i P5Ek, što sugerise da se u ovim uzorcima nalazi veliki broj jedinjenja koja pripadaju ovoj klasi, što dovodi do značajne vrednosti ukupne sume pomenute klase.

U poslednjoj fazi razvića, u uzorcima sa svih lokacija, uočen je veliki porast sadržaja steroida (60,0-68,3%). U poglavlju 5.6. biće posebno reči o njihovim strukturama i načinu identifikacije.

Ono što je, takođe, interesantno u uzorcima P5Ek i C5Ek, jeste prisustvo antropogenog markera – sterigmatocistina. To je otrov dermatoksinog tipa. Njega proizvode gljivice roda *Aspergillus*. Pojava ovog toksina nije tako česta, a najviše primera za njihovo nalaženje je vezano za pšenicu, kukuruz i stočnu hranu lošeg kvaliteta, kao i tvrdi sir i zrna zelene kafe. Gljivica *A. versicolor* često je izolovana iz žitarica, voća, mermelada, suhomesnatih proizvoda i dr, pa može predstavljati opasnost po ljude. Relativno visok nivo sterigmatocistina formira se u hlebu i salamama posle inokulacije ove gljivice (preuzeto sa sajta en.wikipedia.org). Na osnovu sadržaja ovog toksina u uzorcima P5Ek-3,0% i C5Ek-0,1%, može se reći da je biljka sa ovih lokacija bila izložena ovoj gljivici. Zbog prisustva sterigmatocistina i acetilena, ova dva uzorka pokazivala bi određenu toksičnost, iako su u njima odsutni alkaloidi. Kako je u uzorcima sa lokacije Palilula uočeno najveće prisustvo ovog toksina u fazi 5, a u prethodnoj fazi najveće prisustvo furanokumarina, fitoaleksina, može se reći da je na ovoj lokaciji biljka bila izložena značajnim ekološkim faktorima u toku razvića.

Na osnovu svega se može videti da je sekundarni metabolizam vrste *C. maculatum* podložan uticajima ekoloških faktora kao i da sadržaj etarskih ulja i ekstrakata ove biljne vrste varira od organa do organa.



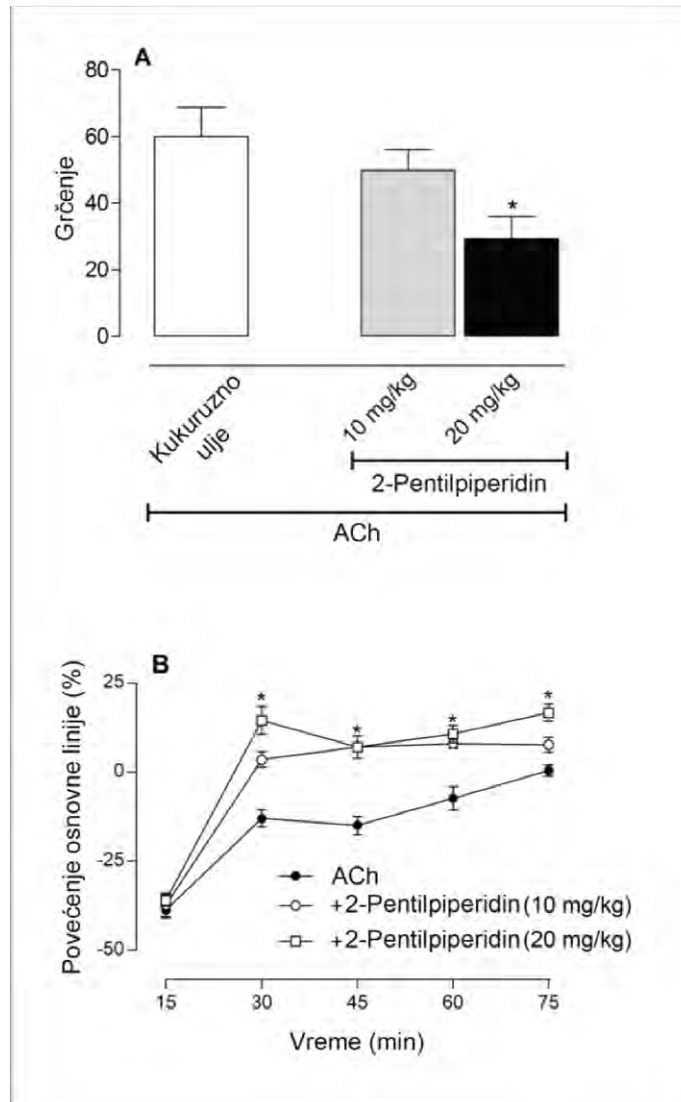
Strukturalna formula sterigmatocistina

#### 5.5.4. Toksičnost i antinociceptivna (analgetska) aktivnost 2-pentilpiperidina

Prve studije o antinociceptivnom dejstvu alkaloida kukute (koniin) izveli su Arihan i saradnici (2009). Oni su utvrdili da u „hot-plate test“-u (osetljivost na termalni nadražaj - metoda vruće ploče) koniin u dozi od 10 mg/kg, vrlo malo utiče na vreme latencije (vreme reakcije na termalni stimulus), a u dozi od 20 mg/kg ono se znatno povećava, dok morfin (pozitivna kontrola) u dozama od 0,3 i 1 mg/kg produžava ovo vreme, ono je statistički značajno tek u dozi od 5 mg/kg. Slični rezultati su dobijeni i za „writhing test“ (smanjenje broja abdominalnih grčeva izazvanih sirćetnom kiselinom) u kome je upotreba koniina u dozi od 20 mg/kg znatno smanjila broj abdominalnih konstrikcija. Morfin nije pokazao značajno dejstvo u ovom testu pri koncentraciji 0,1 mg/kg, ali je ono bilo primetno već pri dozi od 1 mg/kg. Autori su pokazali da koniin ima antinociceptivno dejstvo u opsegu od 10 do 20 mg/kg, dok je doza od 25 mg/kg bila letalna. Takođe, oni su utvrdili da koniin deluje posredstvom nikotinskih receptora.

Imajući ovo na umu, kao i veoma slične strukturne karakteristike 2-pentilpiperidina i koniina (dihomoloji), može se pretpostaviti da sintetisani molekul (poglavlje 5.4) može imati slično dejstvo. Iz tog razloga 2-pentilpiperidin je administriran miševima i urađeni su „hot plate“ i „writhing“ testovi radi određivanja njegove periferne i centralne analgetske aktivnosti. U oba testa je uočena antinociceptivna aktivnost ovog jedinjenja u vrlo uskom opsegu doza, 10-20 mg/kg. Na osnovu vrednosti letalne doze ( $LD_{50}=25$  mg/kg), može se reći da su koniin i njegov dihomolog podjednako toksični, kao i da su oni aktivni u uskom subletalnom opsegu. Writhing test je pokazao da primena 2-pentilpiperidina u dozi od 10 mg/kg dovodi do smanjenja od 0,5 jedinica u broju grčeva (što je kvantitativni kriterijum za postojanje analgezije), dok je doza od 20 mg/kg izazvala inhibiciju grčenja od oko 60% u odnosu na kontrolnu grupu ( $P<0,05$ ; Slika 5.16). Poređenja radi, treba imati na umu da morfin u dozi od 0,3 mg/kg izaziva smanjenje broja grčeva od 3,5 jedinica. Kvantitativno gledano, i na osnovu ovog testa može se zaključiti da je analgetska aktivnost 2-pentilpiperidina (smanjenje broja grčeva izazvanih hemijskim nadražajem) uporediva sa onom prethodno publikovanoj za koniin (Arihan *et al*, 2009). Administracija 2-pentilpiperidina (20 mg/kg), 15 minuta pre acetilholina (ACh), izaziva obrnuti efekat onom koji proizvodi sam ACh. Aktivnost 2-pentilpiperidina, takođe, je kvalitativno drugačija u odnosu na onu izazvanu morfinom. Nedavno je u *in vitro* i *in vivo* farmakološkim studijama na mišićima čovekovog fetusa i miševa pokazano da se koniin vezuje za nikotinske receptore (Lee *et al*, 2008; Green *et al*, 2010). Zbog sličnosti 2-pentilpiperidina sa koniinom, moguće je da i on svoju antinociceptivnu aktivnost pokazuje preko nikotinskih receptora. Pored toga, dobro je poznato da nikotin, agonist nikotinskih receptora, poseduje analgetski efekat, kako kod životinja tako i kod ljudi. Međutim, u studijama sa

životinjama pokazano je da su potrebne visoke doze nikotina za produkciju antinociceptivnog efekta koji je relativno blag i kratkotrajan (Decker i Meyer, 1999). Iz tog razloga neophodna su dodatna istraživanja mehanizma aktivnosti 2-pentilpiperidina kako bi se otkrilo da li se njegova aktivnost odvija preko nikotinskih ili muskarinskih receptora.



**Slika 5.16.**

- A** – Efekti 2-pentilpiperidina na ACh indukovano grčenje kod miševa;  
**B** – Rezultati „hot-plate” testa. Kontrolne grupe su tretirane kukuruznim uljem i ACh (4 mg/kg, i.p). \* $P < 0.05$  pri poređenju tretirane grupe sa grupom koja je tretirana kukuruznim uljem.

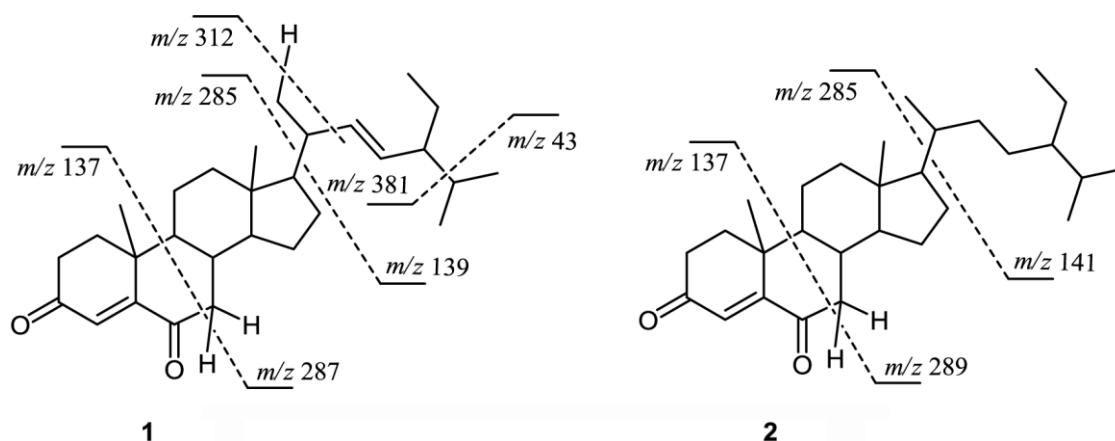


## 5.6. Steroidi iz dihlormetanskog ekstrakta biljne vrste *C. maculatum*

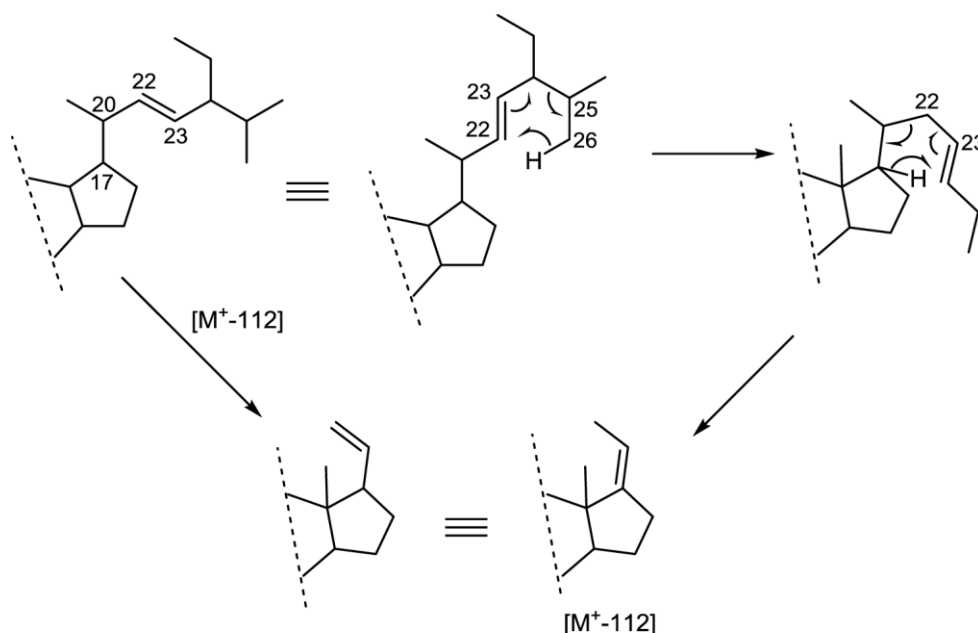
Identifikacija steroida vršena je komparacijom masenih spektara sa masenim spektrima steroida iz baza Wiley i NIST, GC-koinjektiranjem standardnih uzoraka (kad god je to bilo moguće) i derivatizacijom trimetilsilil-hloridom (TMSCl). Građenje silil-etara je vršeno u cilju potvrđivanja identifikacije na osnovu pomeranja RI vrednosti TMS derivata. Njihovi MS su takođe bili informativni u smislu potvrđivanja strukture steroida. U tri slučaja nije bilo moguće na ovaj način izvršiti identifikaciju, pa je o njima detaljnije pisano u nastavku.

U poslednjoj fenološkoj fazi razvića vrste *C. maculatum* u ekstraktima korena identifikovana su četiri različita steroida, 3,6-diona. Za dva, koja imaju bliske RI vrednosti, su predložene strukture stigmasta-4,22-dien-3,6-dion (**1**) i stigmasta-4-en-3,6-dion (**2**). Jedinjenje **2**, koje poseduje  $M^+m/z$  426 u masenom spektru, je identifikovano na osnovu poređenja sa masenim spektrom iz baze i na osnovu literaturnih podataka (Ghosh i Bhattacharya, 2005). Jedinjenje **1**, slične ms fragmentacije sa steroidom **2**, ima jedno dodatno nezasićenje što se vidi iz njegovog molekulskog jona ( $m/z$  424) (nije pronađen odgovarajući spektar u pomenutim ms bazama). Razlike u masenim spektrima ova dva jedinjenja se ne uočavaju ispod vrednosti  $m/z$  285, što odgovara katjonu koji nastaje gubitkom bočnog lanca (BL) sa C-17 atoma. Ovo jasno ukazuje na to da je dodatno nezasićenje smešteno u bočnom lancu steroida stigmasta-4-en-3,6-diona te da jedinjenja **1** i **2** imaju isto jezgro [ $M^+$ -BL,  $m/z$  285]. Glavni MS fragmenti ova dva steroida su prikazani na slici 5.17. Pozicija dvostruke veze između C22 i 23 je određena prisustvom karakterističnog jona [ $M^+$ -112], koji nastaje uzastopnim retro-Alder-en-ovim reakcijama, što je prikazano na slici 5.18 (Georges *et al*, 2006). Položaj nezasićenja dodatno potvrđuju sledeće dve činjenice: 1) jedinjenja koja takođe blisko eluiraju, 5 $\alpha$ -stigmasta-3,6-dion i 5 $\alpha$ -stigmasta-22-en-3,6-dion (druga dva 3,6-diona u ekstraktu), identifikovana na osnovu literaturnih podataka (Georges *et al*, 2006), pokazuju iste retencione osobine kao i jedinjenja **1** i **2**, imaju isti inkrement u RI vrednostima; 2) razlika u masenim spektrima pomenutih steroida, koji se, takođe, razlikuju po položaju dvostruke veze u bočnom nizu, identična je onoj kao kod jedinjenja **1** i **2**.

Sličan način identifikacije je primenjen i u slučaju steroida 5 $\alpha$ -stigmasta-22-en-3 $\beta$ -ola (**3**), detektovanog u uzorcima L5Ek (1,5%) i P5Ek (0,8%). 5 $\alpha$ -Ergosta-22-en-3 $\beta$ -ol poseduje analogni i skoro identičan maseni spektar (NIST07) kao jedinjenje **3**, a njihovi ms se razlikuju samo u vrednostima molekulskih jona i to za 14 amu (atomic mass unit), što ukazuje na to da su oni homologni. Stigmasta-4,6-dien-3-on, sa molekulskim jonom na  $m/z$  410, je identifikovan na isti način upoređivanjem masenog spektra sa spektrom steroida holesta-4,6-dien-3-ona, čiji je molekulski jon na  $m/z$  382. Oduzimanjem vrednosti  $M^+$  jona, dobija se razlika od 28 amu, kojom se potvrđuje da je reč o dihomolognim jedinjenjima.



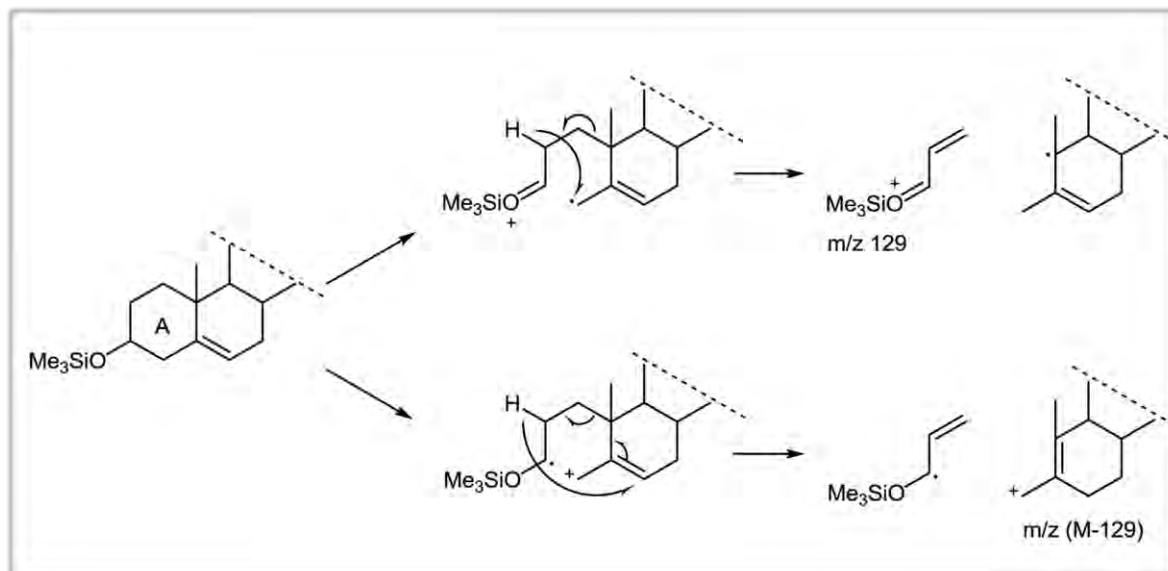
Slika 5.17. Glavni fragmentni joni jedinjenja 1 i 2



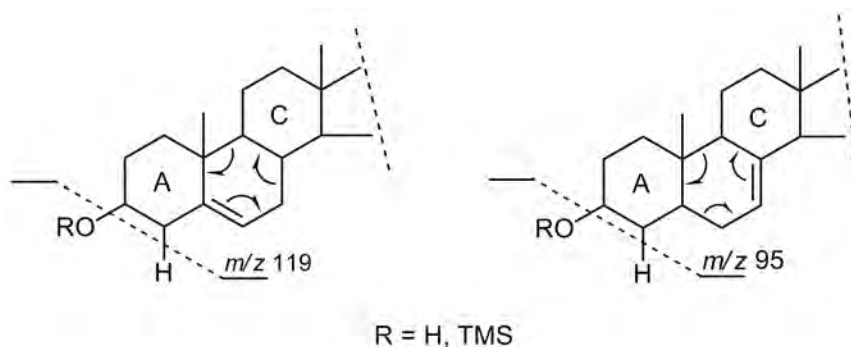
Slika 5.18. Fragmentacija bočnog niza kod steroida koji imaju dvostruku vezu između C22 i 23

Uzorak L5Ek odabran je za derivatizaciju (sililovanje) zbog velikog sadržaja i brojnosti sterola u njemu. Derivatizacijom su potvrđene predložene strukture nekih sterola, kao na primer nealilnih 3-hidroksi- $\Delta^5$ -steroida: ergosta-5-en-3 $\beta$ -ol, stigmasta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol i stigmasta-5-en-3 $\beta$ -ol. Za ove trimetilsilil-etre je jako karakteristično prisustvo dva komplementarna fragmenta,  $m/z$  129 i  $[M-129]^+$ , što jasno razlikuje  $\Delta^5$ -sterole od ostalih nezasićenih 3-sterola (Brooks, 1979). Formiranje pomenutih fragmenata prikazano je na slici 5.19. Pored toga, sililovanje dodatno olakšava utvrđivanje položaja dvostruke veze u prstenu B, jer retro-Diels-Alder-ova fragmentacija koja se dešava i kod alkohola i TMS-derivata, daje karakteristične fragmente na  $m/z$  95 za 5 $\alpha$ -stigmasta-7-en-3 $\beta$ -ol i na  $m/z$  119 za  $\Delta^5$ -

steroide. Pomenuta fragmentacija prikazana je na slici 5.20. Generalno, svi steroli i njihovi TMS derivati koji imaju jednu dvostruku vezu u jezgru imaju karakterističan jon na  $m/z$  255, koji nastaje gubitkom bočnog lanca i molekula vode kod alkohola ili bočnog lanca i  $\text{HOSiMe}_3$  kod etara (Pelillo *et al*, 2003).



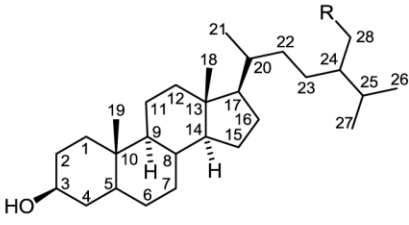
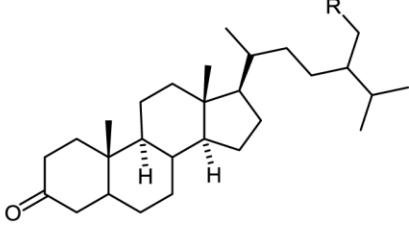
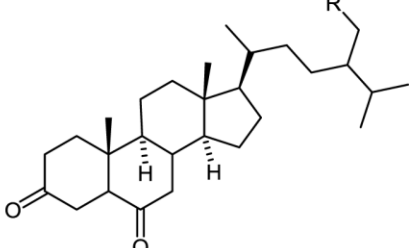
**Slika 5.19.** Formiranje karakterističnog fragmenta kod TMS derivata  $\Delta^5$ -steroida



**Slika 5.20.** Diels-Alder-ova reakcija u prstenu B i karakteristični fragmenti za  $\Delta^5$  i  $\Delta^7$ -steroide

Podaci o ispitivanim uzorcima, kao i prinosima ekstrakata se nalaze u tabeli 4.1. u eksperimentalnom delu. Ukupno je identifikovano dvadeset i četiri različita steroida, a njihove strukture su date na slici 5.21, a oznake u tabeli 5.9. Steroidi su u ispitivanim ekstraktima zastupljeni sa 2,0-68,3% (sumirani procenti površina ispod pikova GC u TIC hromatogramima). Samo šest steroida je bilo ergostanskog skeleta, dok su ostali stigmastani. Steroidi su glavna klasa jedinjenja ekstrakta korena u poslednjoj fazi fenološkog razvića (najveća količina steroida po gramu svežeg biljnog materijala, 61,0-68,3%, w/w), a najdominantniji su stigmasta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol (14,4-15,5%) i stigmasta-5-en-3 $\beta$ -ol ( $\beta$ -sitosterol, 12,5-18,9%), koji je ujedno i najčešći fitosterol. Oba sterola su bila prisutna u svim ispitivanim uzorcima. Osim kod pomenutih steroida i kod svih ostali je prisutna C-3 oksigenacija. Prisustvo ovog tipa jedinjenja u biljkama iz veoma različitih familija je poznato, što se može videti na

primerima sledećih identifikovanih steroida (tabela 5.9):  $5\alpha$ -stigmasta-22-en- $3\beta$ -ol (*Kirganelia reticulata* – Euphorbiaceae, *Allamanda cathartica* – Apocynaceae (Jain i Nagpal, 2002; Agrawal i Sharma, 1983)),  $5\alpha$ -stigmasta-7,16-dien- $3\beta$ -ol (identifikovan jedino u biljnoj vrsti *Clinopodium vulgare* – Lamiaceae (Hadjieva *et al*, 2004)),  $5\alpha$ -stigmasta-7,22-dien-3-on (*Gustavia augusta* – Lecythidaceae, *Clinopodium umbrosum* – Lamiaceae (De Souza *et al*, 2001; Lee *et al*, 1993)),  $5\alpha$ -stigmasta-7,22-dien- $3\beta$ -ol (*Camellia japonica* – Theaceae, *Bupleurum aureum* – Apiaceae (Suarez, 1971; Troshchenko i Limasova, 1967)), i  $5\alpha$ -stigmasta-7-en- $3\beta$ -ol (*Cucurbita pepo* – Cucurbitaceae, *Tricholepis glaberrima* Asteraceae (Itokawa *et al*, 1982; Chawla *et al*, 1976)).

Struktura steroida	Oznaka	$\Delta$	R
	E1	5,7,9(11),22	H
	E2	5,8,22	H
	E3	5,7,22	H
	E4	7,22	H
	E5	5	H
	S1	5,22	CH <sub>3</sub>
	S2	22	CH <sub>3</sub>
	S3	7,22	CH <sub>3</sub>
	S4	5	CH <sub>3</sub>
	S5	/	CH <sub>3</sub>
	S7	7	CH <sub>3</sub>
	S10	7,16	CH <sub>3</sub>
	S18*	5	CH <sub>3</sub>
	E6	4	H
	S6	/	CH <sub>3</sub>
	S8	7,22	CH <sub>3</sub>
	S9	4,22	CH <sub>3</sub>
	S11	7	CH <sub>3</sub>
	S12	4	CH <sub>3</sub>
	S13	4,6	CH <sub>3</sub>
	S14	4,22	CH <sub>3</sub>
	S15	4	CH <sub>3</sub>
S16	22	CH <sub>3</sub>	
S17	/	CH <sub>3</sub>	

**Slika 5.21.** Strukture identifikovanih steroida u vrsti *C. maculatum* (oznake su date u tabeli 5.9)

**Tabela 5.9.** Identifikovani steroidi dihlormetanskih ekstrakata biljne vrste *C. maculatum*

Steroidi	Oznaka	RI	RI (TMS)	<i>m/z</i> M <sup>+</sup>
Ergosta-5,7,9(11),22-tetraen-3 $\beta$ -ol	E1	315	-	394
Ergosta-5,8,22-trien-3 $\beta$ -ol	E2	315	-	396
Ergosta-5,7,22-trien-3 $\beta$ -ol	E3	318	-	396
5 $\alpha$ -Ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ -ol	E4	320	-	398
Ergosta-5-en-3 $\beta$ -ol <sup>a</sup>	E5	321	3231	400
Stigmasta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol <sup>a</sup>	S1	324	3262	412
5 $\alpha$ -Stigmasta-22-en-3 $\beta$ -ol	S2	325	-	414
5 $\alpha$ -Stigmasta-7,22-dien-3 $\beta$ -ol	S3	329	-	412
Stigmasta-5-en-3 $\beta$ -ol <sup>a</sup>	S4	331	3329	414
5 $\alpha$ -Stigmasta-3 $\beta$ -ol <sup>a</sup>	S5	332	3343	416
Ergosta-4-en-3-on	E6	335	-	398
5 $\alpha$ -Stigmasta-3-on	S6	337	-	414
5 $\alpha$ -Stigmasta-7-en-3 $\beta$ -ol <sup>a</sup>	S7	338	3401	414
5 $\alpha$ -Stigmasta-7,22-dien-3-on	S8	339	-	410
Stigmasta-4,22-dien-3-on <sup>a</sup>	S9	339	-	410
5 $\alpha$ -Stigmasta-7,16-dien-3 $\beta$ -ol <sup>a</sup>	S10	340	-	412
5 $\alpha$ -Stigmasta-7-en-3-on	S11	342	-	412
Stigmasta-4-en-3-on	S12	345	-	412
Stigmasta-4,6-dien-3-on <sup>a</sup>	S13	351	-	410
Stigmasta-4,22-dien-3,6-dion	S14	353	-	424
Stigmasta-4-en-3,6-dion <sup>a</sup>	S15	354	-	426
5 $\alpha$ -Stigmasta-22-en-3,6-dion <sup>a</sup>	S16	359	-	426
5 $\alpha$ -Stigmasta-3,6-dion <sup>a</sup>	S17	360	-	428
3 $\beta$ -Hydroxystigmasta-5-en-7-on <sup>a</sup>	S18	360	-	428

RI- retenconi indeksi na DB-5 koloni; TMS- steroli konvertovani u trimetilsilil etre;

<sup>a</sup>- EIMS, 70 eV, *m/z* (rel. int. %): S10- 314(20), 271(100), 131(35), 121(28), 107(75), 95(50), 91(47), 55(46); S7- 414(100), 255(95), 107(52), 105(45), 95(33), 91(37), 55(48), 43(69); TMS etri S7- 486(32), 471(18), 381(10), 255 (60), 229(18), 213(14), 147(10); S13- 410(84), 174(45), 161(48), 160(57), 136(100), 95(49), 57(50), 43(76); S18- 428(100), 395(29), 287(37), 205(14), 187(35), 161(36), 135(34), 43(52); Maseni spektri sterola S9, S15, S16 i S17 su identični kao oni prethodno publikovani za ova jedinjenja (Ghosh i Bhattacharya, 2005; Georges *et al*, 2006); Maseni spektri trimetilsilil etara steroida S5, S4, S1 i E5 su identični prethodno publikovanim (Brooks *et al*, 1968). Linearni retencioni indeksi (u odnosu na C<sub>7</sub>-C<sub>37</sub> alkane na DB-5MS koloni) (Van den Dool i Kratz, 1963) poređeni su sa literaturnim vrednostima (Iida *et al*, 2001; Jonsson *et al*, 2005).

**Tabela 5.10.** Procentualni sadržaj steroida na osnovu GC (FID) hromatograma dihlormetanskih ekstrakata korena vrste *C. maculatum*

Steroidi <sup>a</sup> /uzorci	C2Ek	C3Ek	C4Ek	C5Ek	L2Ek	L3Ek	L4Ek	L5Ek	P3Ek	P4Ek	P5Ek
E1 <sup>b</sup>	-	-	-	0,3	-	-	-	0,5	-	-	0,3
E2	-	-	-	0,4	-	-	-	0,5	-	-	0,3
E3	-	-	-	6,5	-	-	-	6,0	-	-	5,3
E4	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	0,2
E5	0,1	-	0,2	1,0	-	0,2	0,2	1,4	-	0,1	1,0
S1	3,0	5,0	5,0	15,2	1,8	4,6	4,9	14,4	1,1	3,1	15,5
S2	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-
S3	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	1,0
S4	2,0	4,7	4,1	12,5	1,0	3,5	4,8	18,9	0,7	2,1	13,6
S5	-	-	0,4	1,9	-	-	0,5	2,5	-	-	-
E6	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-
S6	-	-	-	1,4	-	-	-	1,3	-	-	1,1
S7	0,2	0,4	0,2	0,9	-	0,3	0,2	1,7	-	-	1,4
S8	-	-	-	-	-	-	-	4,9	-	-	-
S9	-	-	0,2	9,0	-	0,1	0,2	-	-	-	9,6
S11	-	-	-	-	-	-	-	0,8	-	-	1,0
S12	-	0,3	0,4	8,5	-	0,2	0,4	9,7	-	0,1	10,1
S13	-	-	-	0,8	-	-	-	0,8	-	-	0,6
S14	-	-	-	0,6	-	-	-	0,4	-	-	tr
S15	-	-	-	1,2	-	-	-	0,9	-	-	tr
S16	-	-	-	0,2	-	-	-	0,6	-	-	tr
S17	-	-	-	0,3	-	-	-	1,1	-	-	tr
S18	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-
Ukupno:	5,3	10,4	10,5	61,8	2,8	8,7	11,2	68,4	1,8	5,4	60,0

tr- tragovi (<0,05%).

<sup>a</sup>- jedinjenja su navedena po redosledu eluiranja sa DB-5 kolone;

<sup>b</sup>- oznake steroida date su u tabeli 5.9.

**Tabela 5.11.** Procentualni sadržaj steroida na osnovu GC (FID) hromatograma dihlormetanskih ekstrakata nadzemnih delova i šizokarpa (C5E, L5E i P5E) vrste *C. maculatum*

Steroidi <sup>a</sup> /uzorci	C2E*	C3E	C4E	C5E	L3E	L4E	L5E	P3E	P4E	P5E
E2 <sup>b</sup>	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	0,4
E3	-	-	-	1,4	-	-	2,4	-	-	2,4
E5	-	-	0,1	-	-	-	0,4	-	0,2	0,5
S1	3,3	4,2	3,2	2,3	5,1	3,4	4,5	1,2	2,2	4,0
S2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8
S3	tr	2,1	0,9	-	tr	-	-	-	tr	tr
S4	3,0	3,0	1,8	1,6	4,1	2,1	2,9	0,8	2,3	2,4
S5	-	-	-	0,3	-	-	0,8	-	-	-
S7	1,3	2,8	1,2	0,6	1,5	0,8	1,1	-	1,5	1,2
S9	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	0,3
S10	-	0,8	0,2	-	-	-	-	-	0,3	0,2
S12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4
Ukupno:	7,6	12,9	7,4	6,2	10,7	6,3	12,6	2,0	6,5	12,6

\*-oznake uzoraka date su u tabeli 4.1 u eksperimentalnom delu

tr- tragovi (<0,05%);

<sup>a</sup>- jedinjenja su navedena po redosledu eluiranja sa DB-5 kolone;

<sup>b</sup>- oznake steroida date su u tabeli 5.9.

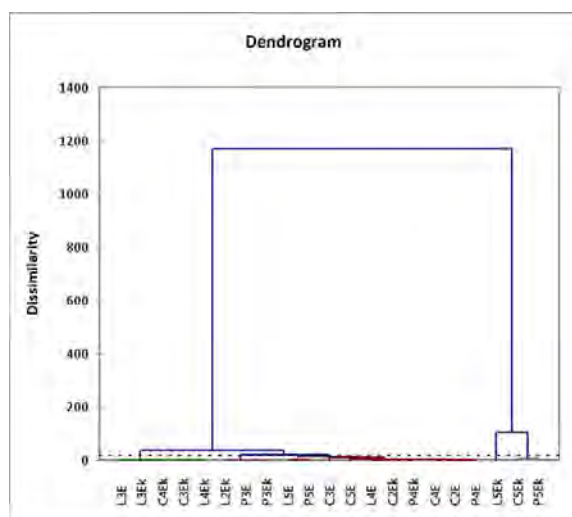
Stigmasta-4-en-3,6-dion je često prisutan u uzorcima zajedno sa 4-en-3-on ili 3,6-dion steroidima ( $5\alpha$ -stigmasta-3,6-dion, stigmasta-4-en-3-on, stigmasta-4,22-dien-3-on i/ili stigmasta-4,22-dien-3,6-dion), na primer u biljnim vrstama *Aristolochia triangularis*, *Aristolochia tubiflora* (Aristolochiaceae), *Polygonum chinensis* (Polygonaceae) i *Ptychopetalum olacoides* (Olacaceae) (Ruecker *et al*, 1981; Gouping *et al*, 1995; Tsai *et al*, 1998; Ito *et al*, 1995). Pomenuti steroidi su interesantni zbog njihovog anti-inflamatornog i anti-alergijskog dejstva, prethodno određenog u uzorku vrste *P. chinensis* (Tsai *et al*, 1998). Stigmasta-4,22-dien-3,6-dion, identifikovan u vrsti *Pistia stratiotes* (Araceae), pokazao je inhibitorno dejstvo na rast pojedinih mikroalgi (Aliotta *et al*, 1991).  $5\alpha$ -Stigmasta-7-en-3-on je prethodno identifikovan jedino u uzorcima tri biljne vrste: *Gypsophila trichotoma* (Caryophyllaceae) (Krasteva *et al*, 2008), *Centratherum anthelminticum* (Asteraceae) (Mehta *et al*, 2005) i *Coccinia indica* (Cucurbitaceae) (Sucrow i Reimerdes, 1968) dok je stigmasta-4,6-dien-3-on u biljnom svetu nađen jedino u vrstama *Senecio crassiflorus* (Asteraceae) (Tettamanzi *et al*, 1994) i *Prosopis alpataco* (Fabaceae) (Mazzuca i Balzaretti, 2003). Nekoliko identifikovanih steroida vrste *C. maculatum* (tabela 5.10) su veoma retki u prirodi. Stigmasta-22-en-3,6-dion, detektovan jedino u poslednjoj fazi fenološkog razvića u sva tri uzorka, prethodno je identifikovan jedino u ekstraktu stabljike biljne vrste *Phoenix dactylifera* (Arecaceae) (Fernandez *et al*, 1983).  $3\beta$ -Hidroksi-stigmasta-5-en-7-on je detektovan samo u uzorku C5Ek, a prethodno pronađen u vrsti *Oryza sativa* (Poaceae) (Macias *et al*, 2006).

U cilju klasifikacije uzoraka, urađene su analiza glavne komponente (PCA) i aglomerativna hijerarhijska analiza (AHC) koristeći GC (FID) procenite steroida kao varijable. Dendrogram dobijen AHC analizom je prikazan na slici 5.22. Može se uočiti da su identifikovani steroidi ekstrakta svrstani u pet grupa. Generalno, svi uzorci su statistički veoma slični, što se vidi iz male vrednosti divergencije. Uzorci C5Ek i P5Ek, koren biljne vrste *C. maculatum* u poslednjoj fenofazi sa lokacija Crveni krst i Palilula, svrstani su u jednu kladu na osnovu AHC analize. Ona je bila jako srodna uzorku korena sa lokacije Ledena stena (L5Ek), ali je on ipak svrstan u posebnu kladu. Veliki broj minornih sastojaka je zajednički za ova tri uzorka, a razlikuju se po sadržaju steroida stigmasta-7,22-dien-3-on i stigmasta-4,22-dien-3-on (tabela 5.10). Uzorci L2Ek, P3E i P3Ek su smešteni u istu kladu verovatno zato što poseduju samo dva steroida (stigmasterol i  $\beta$ -sitosterol) u vrlo malim količinama u poređenju sa ostalim uzorcima (0,7-1,8%). Pod pretpostavkom da biosinteza steroida prati fenološki razvoj biljaka, moglo bi se reći da biljke sa lokacije Palilula kasne u sazrevanju u odnosu na biljke sa lokacije Ledena stena. Iako je u poslednjoj fazi fenološkog razvića nivo biosinteze steroida bio skoro izjednačen u svim uzorcima, prethodna pretpostavka bi se mogla objasniti ekološkim faktorima (temperatura, vremenske prilike i dr, za svaku lokaciju posebno).

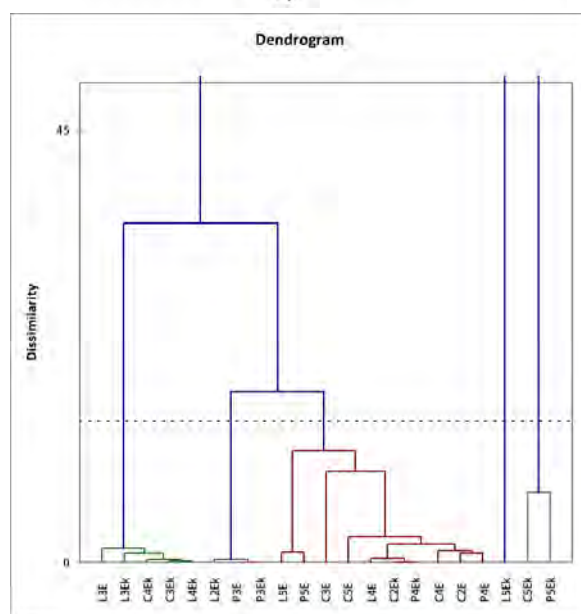
PCA analiza za koju su korišćene originalne varijable (relativni sadržaj identifikovanih jedinjenja) je pokazala veliku korelaciju između nekih jedinjenja ekstrakata. Visoka vrednost koeficijenta je postojala između određenih steroida i



njihovih dehidro derivata: ergosta-5,7,9(11),22-tetraen-3 $\beta$ -ola i ergosta-5,7,22-trien-3 $\beta$ -ola (0,901); stigmasta-5,22-dien-3 $\beta$ -ola i stigmasta-5-en-3 $\beta$ -ola (0,958); 5 $\alpha$ -stigmasta-3-ona i stigmasta-4-en-3-ona (0,983); stigmasta-4-en-3-ona i stigmasta-4,6-dien-3-ona (0,979); 5 $\alpha$ -stigmasta-22-en-3,6-diona i 5 $\alpha$ -stigmasta-3,6-diona (0,998); stigmasta-4,22-dien-3,6-diona i stigmasta-4-en-3,6-diona (0,998), verovatno zato što je biosinteza ovih jedinjenja međuzavisna (npr. možda su svi supstrati iste dehidrogenaze).



a)



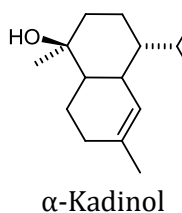
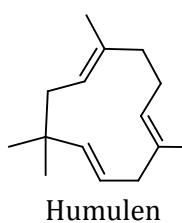
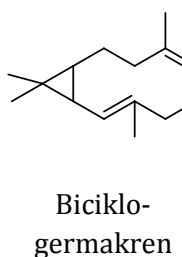
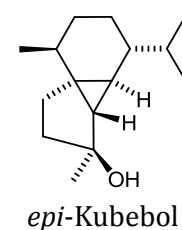
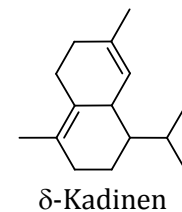
b)

**Slika 5.23.** Dendrogram (AHC analiza) za koji su kao varijable korišćeni procentualni sadržaj identifikovanih steroida a), i njegovo uvećanje b), dobijeni korišćenjem divergencije Euklid-ovog rastojanja (divergencija u okviru intervala [0, 1200]) i agregacionog kriterijuma-Ward-ov metod.

### 5.7. Isparljivi sastojci vrste *Pleurospermum austriacum* (L.) Hoffm.

Prinosi etarskih ulja različitih delova vrste *Pleurospermum austriacum* (L.) Hoffm., kao i oznake uzoraka prikazani su u tabeli 4.1 u eksperimentalnom delu, dok su rezultati detaljnih GC i GC-MS analiza isparljivih sastojaka dati u tabeli 5.12. Ukupno je u uljima identifikovano 205 jedinjenja (156 u šizokarpima, 116 u listovima, 117 u stabljici), što ukupno čini 94,5-98,6% ulja. U svim uzorcima su seskviterpeni najzastupljenija klasa (85,7-90,5%), kojoj pripada preko polovine identifikovanih jedinjenja, a pretežno su to ugljovodonici, dok su oksigenovani derivati prisutni u znatno manjoj količini. U samoj klasi seskviterpena, dominantni su oni sa germakranskim skeletom (71,9%-šizokarpi, 63,2%-listovi, 52,2%-stabljika), a glavni sastojak je bio germakren D sa 66,5% u šizokarpima, 62,4% u listovima i 49,0% u stabljici. Druga zastupljena jedinjenja (čiji je sadržaj veći od 1% u ulju) u sva tri uzorka su bili  $\beta$ -kariofilen (3,1-5,7%),  $\delta$ -kadinen (3,6-5,0%) i (*E*)- $\beta$ -farnezen, dok su u listovima to (*Z*)-3-heksen-1-ol (8,8%), 1-heksanol (1,3%) i *epi*-kubebol (2,4%), u šizokarpima  $\beta$ -felandren (2,3%) i biciklogermakren (3,3%) i u stabljici humulen (1,4%),  $\alpha$ -kadinol (3,0%) i heksadekanska kiselina (5,2%). Jedinjenja prisutna samo u jednom od uzoraka su: šjobunol (0,3%),  $\alpha$ -felandren (0,3%), *cis*-muurola-3,5-dien (0,1%), aristolon (0,1%) i cinamil-valerat (0,1%) u ulju šizokarpa, zatim 1-feniletil-3-metilbutanoat (0,2%) detektovan u ulju listova i  $\gamma$ -muurolen (0,8%), gosonorol (0,3%), *cis*-kalamenen-10-ol (0,5%),  $\alpha$ -bisabolol (0,9%), tetradekanska kiselina (0,5%) i 14-hidroksi- $\delta$ -kadinen (0,4%) identifikovani u ulju stabljike. Ispitivani uzorci se razlikuju i po količini identifikovanih „green leaf“ jedinjenja u njima, koji dominiraju u ulju listova (10,9%), što je i očekivano.

Istraživanja vezana za etarska ulja biljnih vrsta iz roda *Pleurospermum* su jako oskudna. Jedinji podatak o isparljivim sastojcima taksona ovog roda se odnosi na etarsko ulje vrste *P. lindleyanum* (mada je po mišljenju jedne grupe autora (Pimenov i Kljuykov, 2000), ovaj takson svrstan u rod *Hymnidium* (*H. stellatum*)) (Zehui i Watson, 2005). U ovoj vrsti je identifikovano 73 jedinjenja, među kojima: 1-propoksi-2-propanol, miristicin, 1,2,3-metoksi-5-(2-propenil)-benzen, *cis*-azaron, heksan, apiol, dimetil-etar, 1,2-dimetoksi-4-(2-propenil)-benzen, etil-acetat, spatulenol,  $\alpha,\alpha',4$ -trimetil-benzenmetanol, *trans*-metil-*iso*-eugenol i  $\beta$ -felandren. Na osnovu navedenog sastava, vrlo je očigledno da su autori ili pogrešno izvršili identifikaciju nekih od jedinjenja ili su identifikovali zaprljanja (kontaminante) iz rastvarača kao sastojke ulja, koja su unešena u uzorak prilikom njegove obrade (1-propoksi-2-propanol, dimetil-etar, heksan, etil-acetat). Pored toga, autori su naveli da je i cikloserin najzastupljeniji (20,77%) sastojak etarskog ulja (Ajiaikebaier i Lu, 2002). Zajednički sastojak ulja vrsta *P. lindleyanum* i *P. austriacum* su spatulenol i  $\beta$ -felandren.



**Tabela 5.12.** Hemijski sastav etarskih ulja nadzemnih delova vrste *P. austriacum*

Sastojci	RI <sup>a</sup>	Pau-š	Pau-l	Pau-s	Klasa
Piridin	743	-	tr	-	O
( <i>E</i> )-2-Pental	744	-	tr	-	G
1-Pentanol	762	-	-	tr	G
( <i>Z</i> )-2-Penten-1-ol	765	tr	0,2	tr	G
(±)-2,3-Butandiol	780	-	-	tr	O
<i>meso</i> -2,3-Butandiol	785	-	-	tr	O
Heksanal	801	tr	tr	tr	G
Furfural	834	tr	tr	tr	O
( <i>E</i> )-3-Heksen-1-ol	852	-	0,1	tr	G
( <i>Z</i> )-3-Heksen-1-ol	861	0,2	8,8	1,4	G
Heksanol	863	tr	1,3	0,4	G
2-Butilfuran	885	tr	tr	tr	G
( <i>E,Z</i> )-2,4-Heksadienal <sup>1</sup>	895	tr	-	-	G
Nonan	900	tr	-	tr	O
Cikloheksanon	903	-	tr	-	O
( <i>E,E</i> )-2,4-Heksadienal	913	-	tr	-	G
α-Tujen	930	tr	-	-	M
α-Pinen	939	0,1	-	tr	M
Kamfen	955	tr	-	-	M
( <i>E</i> )-2-Heptenal	957	tr	tr	-	G
Benzaldehid	967	tr	tr	tr	O
Sabinen	978	0,1	tr	tr	M
β-Pinen	984	tr	-	-	M
Mircen	993	tr	-	-	M
2-Pentilfuran	995	tr	tr	tr	G
2,4,6-Trimetilpiridin	999	-	tr	-	O
Meziten	1001	tr	-	-	O
Oktanal	1005	tr	tr	tr	G
( <i>E</i> )-3-Heksenil-acetat	1008	0,1	0,2	tr	G
α-Felandren	1010	0,3	-	-	M
1-Heksil-acetat	1013	-	tr	-	G
(2 <i>E,4E</i> )-2,4-Heptadienal	1014	-	tr	tr	G
α-Terpinen	1021	tr	-	-	M
<i>p</i> -Cimen	1029	tr	tr	tr	M
Limonen	1033	tr	tr	-	M
β-Felandren	1034	2,3	tr	-	M
β-Izoforon	1044	tr	-	-	O
Fenilacetaldehid	1048	tr	0,2	tr	O
( <i>E</i> )-β-Ocimen	1048	tr	-	-	M
( <i>Z</i> )-2-Oktenal	1059	tr	-	-	G
γ-Terpinen	1062	tr	tr	-	M
Artemizija keton	1062	tr	-	-	M
1-Oktanol	1070	-	tr	-	G
Acetofenon	1072	-	-	tr	O
<i>cis</i> -Linalool-oksid (furanoidni)	1077	tr	-	-	M
Terpinolen	1094	tr	-	-	M
<i>trans</i> -Linalool-oksid (furanoidni)	1094	tr	-	-	M
3-Izopropil-2-metoksipirazin	1098	tr	-	-	O
Undekan	1100	tr	tr	tr	O
Linalool	1103	tr	tr	tr	M
Nonanal	1107	0,1	0,1	-	G
Hotrienol	1107	tr	-	-	M

**Tabela 5.12. (nastavak)**

Sastojci	RI	Pau-š	Pau-l	Pau-s	Klasa
2-Metilbutil-izovalerat	1109	tr	-	-	O
3-Metil-3-butenil-3-metilbutanoat	1118	tr	-	-	O
<i>endo</i> -Fenhol	1120	tr	-	-	M
Dehidrosabina keton	1127	tr	-	-	M
$\alpha$ -Izoforon	1127	tr	-	-	O
( <i>E</i> )-2-Nonenal	1162	tr	-	-	G
Terpinen-4-ol	1184	tr	-	-	M
Naftalen	1191	tr	-	-	O
Kripton	1194	tr	-	-	M
( <i>Z</i> )-4-Decenal	1199	tr	-	-	G
Metil-salicilat	1201	tr	0,2	tr	O
Dekanal	1208	tr	tr	-	G
<i>endo</i> -Fenhil-acetat	1225	tr	tr	-	M
$\beta$ -Ciklocitral	1227	-	tr	-	O
( <i>E,E</i> )-2,4-Nonadien-1-ol	1227	tr	-	-	G
( <i>Z</i> )-3-Heksenil-2-metilbutanoat	1234	tr	tr	-	G
( <i>Z</i> )-3-Heksenil-3-metilbutanoat	1238	0,1	0,2	tr	G
1-Heksil-2-metilbutanoat	1238	tr	-	-	G
Metiltimol	1238	tr	-	-	M
1-Heksil-izovalerat	1243	0,2	tr	tr	G
Metilkarvakrol	1248	tr	-	-	M
( <i>E</i> )-2-Decenal	1265	tr	-	-	G
1-Tridecen	1294	tr	-	-	O
( <i>E,Z</i> )-2,4-Dekadienal	1297	tr	-	-	G
Tridekan	1300	tr	tr	-	O
2-Metilnaftalen	1300	tr	-	-	O
Undekanal	1309	tr	-	-	G
( <i>E</i> )-3-Heksenil-tiglat	1317	tr	tr	-	G
<i>p</i> -Vinilgvajakol	1319	-	tr	-	O
( <i>E,E</i> )-2,4-Dekadienal	1321	tr	tr	tr	G
1-Heksil-senecioat	1323	tr	tr	-	G
( <i>E</i> )-9-Undecenal	1325	-	-	tr	G
Bicikloelemen	1343	0,1	tr	-	S
$\alpha$ -Kubeben	1355	0,1	tr	tr	S
Ciklosativen	1374	tr	-	-	S
$\alpha$ -Ilangen	1378	tr	tr	tr	S
$\alpha$ -Kopaen	1383	1,0	1,0	0,7	SCO
Geranil-acetat	1390	tr	tr	tr	M
$\beta$ -Burbonen	1392	tr	tr	tr	S
$\beta$ -Kubeben	1397	0,6	0,8	0,6	S
$\beta$ -Elemen	1398	0,5	tr	tr	S
Dodekanal	1411	tr	tr	tr	G
$\alpha$ -Gurjunen	1419	0,2	tr	-	S
<i>cis</i> - $\alpha$ -Bergamoten	1421	-	-	tr	SBI
$\beta$ -Kariofilen	1428	3,1	5,7	4,9	SC
$\beta$ -Kopaen	1437	0,3	0,3	0,4	SCO
<i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamoten	1441	-	tr	tr	SBI
$\beta$ -Gurjunen	1443	0,8	tr	tr	S
Aromadendren	1448	tr	tr	-	S
<i>cis</i> -Muurola-3,5-dien	1454	0,1	-	-	SCA
( <i>E</i> )- $\beta$ -Farnezen	1460	1,0	1,2	1,5	SA
Humulen	1462	0,4	0,6	1,4	SC

**Tabela 5.12.** (nastavak)

Sastojci	RI	Pau-š	Pau-l	Pau-s	Klasa
<i>cis</i> -Muurola-4(14),5-dien	1472	0,3	0,2	0,3	SCA
$\gamma$ -Muurolen	1484	-	-	0,8	SCA
$\gamma$ -Kurkumen	1485	-	-	tr	SBI
Herberten	1488	-	-	tr	SBI
1-Feniletil-3-metilbutanoat	1496	-	0,2	-	O
Germakren D	1498	66,5	62,4	49,0	SGE
10,11-Epoksi-kalamenen	1498	-	-	tr	SCA
$\beta$ -Selinen	1500	tr	-	0,2	S
$\alpha$ -Zingiberen	1502	tr	0,4	-	SBI
<i>trans</i> -Muurola-4(14),5-dien	1503	0,4	tr	0,6	SCA
<i>epi</i> -Kubebol	1504	tr	2,4	tr	SCA
Biciklogermakren	1507	3,3	tr	2,3	SGE
$\alpha$ -Muurolen	1507	tr	tr	tr	SCA
( <i>E,E</i> )- $\alpha$ -Farnezen	1511	0,6	1,3	1,7	SA
$\alpha$ -Kuprenen	1511	tr	tr	tr	SBI
$\beta$ -Bisabolen	1514	-	0,5	1,0	SBI
Germakren A	1515	0,6	tr	-	SGE
$\delta$ -Amorfen	1515	tr	-	-	SCA
$\beta$ -Kurkumen	1517	0,2	0,4	0,8	SBI
$\gamma$ -Kadinen	1523	0,5	0,3	0,5	SCA
Kubebol	1524	tr	tr	-	SCA
$\delta$ -Kadinen	1532	3,9	3,6	5,0	SCA
( <i>E</i> )- $\gamma$ -Bisabolen	1538	0,2	0,4	0,7	SBI
<i>trans</i> -Kadina-1,4-dien	1540	0,1	tr	tr	SCA
$\alpha$ -Kadinen	1546	0,1	tr	tr	SCA
$\alpha$ -Kalakoren	1552	tr	tr	0,2	SCA
<i>cis</i> -Muurola-5-en-4 $\beta$ -ol	1557	tr	-	-	SCA
Dodekanska kiselina	1557	-	-	tr	O
<i>cis</i> -Kadinen-etar	1564	tr	-	-	SCA
<i>cis</i> -Muurola-5-en-4 $\alpha$ -ol	1565	tr	-	-	SCA
( <i>E</i> )-Nerolidol	1568	0,1	0,1	0,5	SA
$\beta$ -Kalakoren	1571	tr	tr	tr	SCA
$\gamma$ -Undekalakton	1574	tr	-	-	O
Mintoksid	1576	0,1	0,1	0,3	S
( <i>E</i> )-Dendrolazin	1582	tr	tr	tr	SA
Germakren D-4-ol	1584	0,9	0,3	-	SGE
Spatulenol	1587	tr	0,1	0,2	S
10- <i>epi</i> -Junenol	1590	-	-	tr	S
Kariofilen-oksid	1593	0,3	0,5	0,9	SC
$\beta$ -Kopaen-4 $\alpha$ -ol	1595	tr	-	-	SCO
<i>cis</i> - $\beta$ -Elemenon	1597	-	-	tr	S
Salvial-4(14)-en-1-on	1603	0,1	tr	tr	S
3-Fenilpropil-2-metilbutanoat	1610	tr	-	-	O
Rosifoliol	1611	-	-	tr	S
3-Fenilpropil-3-metilbutanoat	1613	tr	-	-	O
Tetradekanal	1615	0,1	0,3	0,3	O
1,10-di- <i>epi</i> -Kubenol	1623	tr	tr	0,5	SCA
Junenol	1629	0,2	0,1	0,6	S
$\alpha$ -Korokalen	1630	-	-	tr	SCA
<i>nor</i> -Kopanon	1632	-	tr	tr	SCO
1- <i>epi</i> -Kubenol	1637	0,1	0,2	0,2	SCA
Gosonorol	1645	-	-	0,3	S

**Tabela 5.12.** (nastavak)

Sastojci	RI	Pau-š	Pau-l	Pau-s	Klasa
$\tau$ -Kadinol ( <i>epi</i> - $\alpha$ -kadinol)	1650	0,5	0,3	0,9	SCA
$\tau$ -Muurolol ( <i>epi</i> - $\alpha$ -muurolol)	1650	0,5	0,3	1,0	SCA
$\alpha$ -Muurolol	1655	0,2	0,2	0,7	SCA
$\alpha$ -Kadinol	1664	1,4	0,9	3,0	SCA
<i>cis</i> -Kalamenen-10-ol	1667	-	-	0,5	SCA
<i>trans</i> -Kalamenen-10-ol	1678	tr	0,2	tr	SCA
Cinamil-valerat <sup>1</sup>	1688	0,1	-	-	0
<i>epi</i> - $\alpha$ -Bisabolol	1690	0,1	0,3	0,9	SBI
$\alpha$ -Bisabolol	1692	-	-	0,9	SBI
Germakra-4(15),5,10(14)-trien-1 $\alpha$ -ol	1696	0,6	0,5	0,9	SGE
Šjobunol	1701	0,3	-	-	S
3-Fenilpropil-heksanoat <sup>1</sup>	1701	tr	-	-	0
(2 <i>Z</i> ,6 <i>Z</i> )-Farnezol	1705	-	-	tr	SA
Amorfa-4,9-dien-2 $\alpha$ -ol	1713	tr	-	tr	SCA
Pentadekanal	1717	tr	-	tr	0
(2 <i>E</i> ,6 <i>Z</i> )-Farnezal	1720	tr	tr	tr	SA
(2 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-Farnezol	1727	0,1	tr	0,4	SA
(2 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-Farnezal	1747	tr	tr	tr	SA
Mint-sulfid	1749	tr	0,1	tr	S
Tetradekanska kiselina	1763	-	-	0,5	0
Aristolon	1772	0,1	-	-	S
14-Hidroksi- $\alpha$ -muurolen	1782	tr	tr	tr	SCA
14-Hidroksi- $\delta$ -kadinen	1811	-	-	0,4	SCA
Heksadekanal	1818	tr	tr	tr	0
Neofitadien, izomer II	1841	0,1	0,8	tr	DT
Pentadekanska kiselina	1862	-	-	tr	0
Nonadekan	1900	tr	-	-	0
Metil-heksadekanoat	1928	-	-	tr	0
( <i>Z</i> )-9-Heksedekanska kiselina (palmitoleinska kiselina)	1944	-	-	tr	0
Izofitol	1950	-	tr	-	DT
Heksadekanska kiselina	1962	tr	-	5,2	0
( <i>Z</i> , <i>Z</i> )-Geranil-linalool	1971	-	tr	-	DT
Etil-heksadekanoat	1996	-	-	tr	0
Eikozan	2000	tr	-	-	0
Izopropil-heksadekanoat	2027	0,3	-	1	0
( <i>E</i> , <i>E</i> )-Geranil-linalool	2034	tr	0,1	tr	DT
1-Oktadekanol	2083	-	-	tr	0
Heneikozan	2100	0,1	tr	-	0
( <i>E</i> )-Fitol	2117	-	tr	-	DT
Dokozan	2200	tr	tr	-	0
1-Eikozanol	2281	tr	-	-	0
Trikozan	2300	0,2	0,1	tr	0
1-Tetrakozen	2396	-	tr	tr	0
Tetrakozan	2400	tr	tr	tr	0
Pentakozan	2500	0,2	0,1	tr	0
Heksakozan	2600	-	-	tr	0
Heptakozan	2700	-	tr	-	0
( <i>E</i> )-Skvalen	2833	-	-	tr	0
Ukupno identifikovano:		95,1	98,6	94,5	

**Tabela 5.12.** (nastavak)

	Pau-š	Pau-l	Pau-s
Broj identifikovanih jedinjenja	156	116	117
Monoterpeni	2,8 (27)*	tr (8)	tr (5)
ugljovodonici	2,8 (15)	tr (6)	tr (3)
oksigenovani derivati	tr (12)	tr (2)	tr (2)
Seskviterpeni	90,5 (66)	85,7(58)	85,7 (67)
ugljovodonici	85,8 (40)	79,5(37)	72,6 (36)
oksigenovani derivati	4,7 (26)	6,2 (21)	13,1 (31)
Aciklični seskviterpeni (SA)	1,8 (7)	2,6 (7)	4,1 (8)
Bisabolani (SBI)	0,5 (5)	2,0 (7)	4,3 (10)
Kariofilani (SC)	3,8 (3)	6,8 (3)	7,2 (3)
Kadinani (SCA)	8,1 (25)	8,6 (19)	14,6 (24)
Kopaani (SCO)	1,3 (3)	1,3 (3)	1,1 (3)
Germakrani (SGE)	71,9 (5)	63,2 (5)	52,2 (3)
Ostali seskviterpeni (S)	3,1 (18)	1,2 (14)	2,2 (16)
Diterpeni	0,1 (2)	0,9 (5)	tr (2)
“Green leaf” jedinjenja (G)	0,7 (27)	10,9(24)	1,8 (16)
Ostalo	1,0 (34)	1,1 (21)	7,0 (27)

<sup>a</sup>- Jedinjenja su navedena po redosledu eluiranja sa HP-5MS kolone (RI eksperimentalno određeni retencioni indeksi na pomenutoj koloni koinjeksijom homologe serije *n*-alkana C<sub>7</sub>-C<sub>29</sub>); tr - trag (<0.05%); <sup>1</sup>- Nije utvrđena stereochemija; \*-Broj u zagradi predstavlja broj sastojaka identifikovanih u datoj klasi

Germakranski seskviterpeni su biljni metaboliti koji među prvima nastaju u biosintezi seskviterpena iz farnezil-difosfata. Biosinteza ovih sekundarnih metabolita je jako složena jer oni mogu nastati mevalonatnim putem ili iz metileritritola, ili čak kombinacijom oba biosintetska puta, što je opisano u opštem delu (Umlauf *et al*, 2004). Nedavno je pokazano da postoji direktna veza između količine etarskog ulja u biljci sa njegovim hemijskim sastavom i da su ona koja su siromašna uljem (prinos manji od 0,1%) bogata masnim kiselinama i karotenoidnim derivatima, dok su ona čiji je prinos znatno veći od 0,1%, bogata monoterpenima i/ili fenilpropanoidima (Radulović *et al*, 2009). Dve vrlo bitne činjenice, količina monoterpena (0,0-2,8%) i prinos etarskih ulja, koji je jako mali u svim ispitivanim uzorcima (0,003-0,086%, w/w), potvrđuju da se i u ovom primeru može videti veza između sastava ulja i njegove količine. Takođe se ovim može potvrditi, da su ulja sa velikim prinosom, bogata ili monoterpenima ili fenilpropanoidima (odsutnim iz ovog uzorka). Sličnu hipotezu o vezi između sastava i prinosa ulja je postavio i Lawrence (1992), koji je uočio da su biljne vrste iz porodice Lamiaceae koje su bile siromašne etarskim uljima, uglavnom proizvodile seskviterpenske ugljovodonike, među kojima je germakren D bio glavni sastojak. Ova činjenica se ne odnosi samo na biljne vrste ove familije, već je to slučaj i kod biljne vrste *Tamarix boveana* (Tamaricaceae) kod koje etarska ulja nadzemnih delova biljke čine samo 0,18-0,57%, a germakren D (7,69-31,43%) i jedinjenja biosintetski bliska njemu predstavljaju glavne sastojke (Saïdana *et al*, 2008). Osim toga u istraživanju koje je sprovedeno na biljnoj vrsti *Lippia alba* (Verbenaceae) pokazana je veza između morfoloških karakteristika i sastava isparljivih sastojaka, gde je jedan od hemotaksonomskih markera bio upravo germakren D, a kriterijum po kome su određeni taksoni svrstani u istu grupu se bazirao na količini ovog seskviterpena u uzorcima (Hennebellea, 2006). Posebno su interesantni rezultati ispitivanja vrste *Artemisia annua*, kod koje je količina seskviterpena u listovima bez žlezda bila više nego duplo veća u odnosu na one sa žlezdama, računato po masi svežeg biljnog materijala. Odsustvo monoterpena u etarskom ulju listova koji su bez žlezda, ukazivalo je upravo na to da se monoterpeni akumuliraju u specijalizovanim sekretornim ćelijama žlezda unutar trihoma (Tellez *et al*, 1999). Nedavno su Biswas *et al*. (2009) potvrdili da je količina žlezdanih trihoma u korelaciji sa količinom monoterpena, kao i da spoljašni faktori, pre svega temperatura, i drugi abiotički stresovi, utiču na samu produkciju žlezdanih trihoma. Na osnovu svega se može zaključiti da se velike količine germakrena D i njemu sličnih metabolita, očekuju u etarskim uljima biljnih vrsta koje ne poseduju veliki broj žlezdanih trihoma, niti podležu složenom biohemijskom mehanizmu produkcije isparljivih monoterpena ili fenilpropanoida, kao što je to slučaj sa vrstom *P. austriacum*.



## *6. Izvod*

Doktorska disertacija pod nazivom „Alkaloidi, fenilpropanoidi, steroidi i terpenoidi iz odabranih biljnih vrsta porodice Apiaceae“, obuhvata fitohemijsko ispitivanje šest vrsta: *Conium maculatum* L, *Carum graecum* Boiss. & Heldr, *Daucus carota* L, *Daucus guttatus* ssp. *zahariadii* Heywood, *Geocaryum cynapioides* (Guss.) L. Engstrand i *Pleurospermum austriacum* (L.) Hoffm. Etarska ulja vrste *P. austriacum*, kao i endemičnih vrsta za Balkansko poluostrvo, *C. graecum*, *D. guttatus* ssp. *zahahadii* i *G. cynapioides*, prvi put su ispitivana u ovoj disertaciji. Izolovanjem (ekstrakcija dietil-etrom i dihlormetanom i hidroddestilacija po Clevenger-u) i detaljnom analizom isparljivih sastojaka (gasna hromatografija i gasna hromatografija - masena spektrometrija), gore navedenih biljnih vrsta, dobijeni su sledeći rezultati:

- U etarskim uljima dva uzoraka (nadzemnih delova i korena, kao i samo nadzemnih delova) vrste *G. cynapioides* identifikovano je 44 i 123 sastojaka, koji su činili 98,7 i 98,4% ukupnog sadržaja ulja. Terpenoidi su bili najzastupljenija klasa jedinjenja (97,3 i 93,0%) sa mnogo većim udelom seskviterpena (97,2 i 86,5%) u odnosu na monoterpena (0,1 i 6,5%). Glavni sastojak oba ulja bio je (*E*)- $\beta$ -farnezen (73,3 i 57,7%) dok su ostali zastupljeni sastojci bili: (*E,E*)- $\alpha$ -farnezen (4,8 i 14,6%) i *trans*-seskvisabinen hidrat (12,2 i 3,0%). Kvalitativno su se dva uzorka razlikovala po prisustvu/odsustvu *endo*-fenhil-acetata i tri seskviterpenska laktona (jedan selinanskog i dva gvajanskog tipa).
- Identifikovano je 85 jedinjenja u etarskom ulju izolovanom iz listova vrste *C. graecum*, što predstavlja 96,9% ukupne površine detektovanih pikova u hromatogramu. Seskviterpeni su bili najzastupljenija klasa jedinjenja u ulju (56,9%), a oni sa germakranskim (27,1%) i selinanskim (17,1%) skeletima su činili više od polovine ove frakcije. Glavni sastojci ulja bili su dilapiol (29,0%), germakren D (17,0%),  $\beta$ -selinen (11,8%), germakren B (7,7%) i  $\alpha$ -selinen (4,7%). Kako je dilapiol retko prisutan u vrstama roda *Carum*, a identifikovan je u šizokarpima vrsta *bulbocastanum* i *nigrum* i u listovima samo kod vrste *graecum*, ovaj fenilpropanoid se može smatrati hemotaksonomskim markerom na infrageneričkom nivou.
- U uljima različitih delova biljne vrste *P. austriacum* ukupno je identifikovano 205 jedinjenja (156 u šizokarpima, 116 u listovima, 117 u stabljici), što ukupno čini 94,5-98,6% ulja. Najzastupljenija klasa jedinjenja u svim uzorcima bili su seskviterpeni (85,7-90,5%), kojima je pripadalo preko polovine identifikovanih jedinjenja, pretežno ugljovodonka, dok su oksigenovani derivati bili prisutni u znatno manjoj količini. U samoj klasi seskviterpena, dominantni su bili oni sa germakranskim skeletom (71,9% u šizokarpima, 63,2% u listovima, 52,2% u stabljici), a glavni sastojak je

bio germakren D sa 66,5% u šizokarpima, 62,4% u listovima i 49,0% u stabljici.

- U uporednoj analizi isparljivih sastojaka vrste *Daucus guttatus* ssp. *zahariadii*, samoniklih populacija i komercijalnih uzoraka vrste *D. carota*, identifikovano je 336 jedinjenja. Od toga je 108 jedinjenja identifikovano u etarskom ulju vrste *D. guttatus*, što predstavlja 99,8% tog ulja. Broj identifikovanih sastojaka u vrsti *D. carota* varirao je od 52 do 163, a to je činilo 82,9-99,8% ulja/ekstrakta. Više od 50% ulja biljne vrste *D. guttatus* sačinjavali su fenilpropanoidi, a glavni sastojak je bio apiol sa 43,3%, praćen seskviterpenom  $\beta$ -bisabolenom (34,2%). U etarskom ulju nadzemnih delova samonikle vrste *D. carota*, to su bili monoterpeni  $\alpha$ -pinen (29,3%) i sabinen (16,8%), a ista jedinjenja su dominirala i u ekstraktu belih cvetova ove vrste ( $\alpha$ -pinen-28,3%, sabinen-16,8%), dok je u crnim cvetovima pored  $\alpha$ -pinena (33,8%) u većoj količini bio prisutan i  $\beta$ -bisabolen (22,1%). Ulje korena komercijalnog uzorka kao glavne sastojke imalo je  $\beta$ -kariofilen (29,9%) i (*E*)- $\gamma$ -bisabolen (20,6%), dok je ekstrakt istog biljnog materijala sadržao najveću količinu (*E*)- $\gamma$ -bisabolena (14,8%) i falkarindiola (13,4%). Glavni sastojak ekstrakta korena samonikle šargarepe bio je  $\alpha$ -terpinolen (25,4%). Geranil-acetat je dominirao i u ulju (53,2%) i u ekstraktu (36,6%) šizokarpa samonikle šargarepe, dok je u ekstraktu šizokarpa komercijalnog uzorka najzastupljenije jedinjenje bilo karotol (55,2%). Postojanje fenilpropanoida u etarskom ulju vrste *D. guttatus* i njihovo odsustvo iz uzoraka vrste *D. carota*, kao i visok sadržaj apiola i njegovo vrlo oskudno nalaganje u biljnim vrstama roda *Daucus*, odvaja ovu biljnu vrstu od vrste *D. carota*, kao i od ostalih taksona ovog roda.
- Testirana je antimikrobna aktivnost etarskog ulja izolovanog iz nadzemnog dela vrste *D. guttatus* i ekstrakta šizokarpa vrste *D. carota* na dvanaest bakterijskih sojeva i dve gljivice. Ekstrakt je pokazao veću aktivnost u odnosu na ulje protiv svih ispitivanih mikroorganizama sa MIC (minimalna inhibitorna koncentracija) vrednostima u opsegu od 0,546 do 8,750 mg/ml i MBC (minimalna baktericidna koncentracija) od 1,093 do 35,0 mg/ml. Ekstrakt je pokazao najveću aktivnost protiv ATCC sojeva *M. flavus* i *E. coli* (MIC = 0,546 mg/ml za obe vrste). Najniža MIC vrednost određena je u slučaju patogenog kvasca *C. albicans* (MIC = MBC = 0,273 mg/ml). Etarsko ulje vrste *D. guttatus* u većini slučajeva je imalo umerenu aktivnost, pokazujući inhibitorno dejstvo u intervalu koncentracija 0,781-12,50 mg/ml, sa najvećom aktivnošću protiv *C. pyogenes* (MIC = 0,781 mg/ml).
- Hemijska analiza etarskih ulja kao i baznih dihlormetanskih ekstrakata nadzemnih delova i dihlormetanskih ekstrakata korena vrste *C.*

*maculatum*, dobijenih iz biljnog materijala koji je sakupljan sa tri različite lokacije (tri, četiri ili pet branja), pokazala je da je sadržaj glavnih jedinjenja veoma varijabilan. U etarskim uljima kao i baznim dihlormetanskim ekstraktima nadzemnih delova dominantni su bili alkaloidi. Među njima je prvi put identifikovan alkaloid 2-pentilpiperidin (konmakulatin), koji je sintetisan polazeći od cikloheksanola. Sinteza je vršena u osam koraka, sa ukupnim prinosom reakcije od 12%. Korišćna je metoda insercije N atoma u petočlani prsten, Beckmann-ovim premeštanjem odgovarajućeg oksima. Konmakulatin je spektralno okarakterisan (GC-MS, IR i NMR) i koinjektiran sa prirodnim uzorcima. Od ostalih alkaloida  $\gamma$ -konicein je bio glavni sastojak na početku fenološkog razvića biljke (21,3-47,8%), dok je u kasnijim fazama to bio koniin (21,7-35,6%). Ista pravilnost u kvantitativnom smislu je uočena i kod para 2-pentilpiperidina/2-pentil-3,4,5,6-tetrahidropiridina (dihomoloji  $\gamma$ -koniceina i koniina). Ispitana je periferna i centralna analgetska aktivnost 2-pentilpiperidina („hot plate“ i „writhing“ testovi) pri čemu je uočena antinociceptivna aktivnost ovog jedinjenja u vrlo uskom opsegu doza, 10-20 mg/kg.

U dihlormetanskim ekstraktima korena nije uočeno prisustvo alkaloida. U prvoj fazi razvića uočeno je značajno prisustvo poliacetilena, pre svega falkarindiola (21,0-46,8%). U kasnijim fazama u uzorcima sa jedne lokacije dominirali su kumarini (46,8%), a među njima: izobergaptin (24,3%), izopimpinelin (10,6%) i bergaptin (8,1%). U uzorcima sa svih lokacija je u poslednjoj fazi razvića uočeno dominantno prisustvo steroida (61,0-68,3%). Najzastupljeniji steroidi bili su stigmasta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol (stigmasterol, 14,4-15,5%) i stigmasta-5-en-3 $\beta$ -ol ( $\beta$ -sitosterol 12,5-18,9%).

Rezultati ove doktorske disertacije ukazuju na postojanje hemijskog polimorfizma, kod biljaka sa više lokaliteta, kao u slučaju biljnih vrsta *G. cynapioides* i *C. maculatum*. Biljna vrsta *D. carota* je primer kod koga se uočava polimorfizam kao posledica drugačijeg porekla biljke. Takođe, on se javlja i kao posledica ispitivanja različitih organa iste biljne vrste, kao u slučaju biljnih vrsta *C. maculatum*, *D. carota* i *C. graecum* (na osnovu podataka iz literature i onih dobijenih u ovoj disertaciji). Svi dobijeni rezultati potvrđuju važnost detaljnog ispitivanja hemijskog profila biljnih vrsta, uključujući informacije o isparljivim sastojcima iz različitih biljnih organa, kao i ispitivanje u toku fenološkog razvoja. Osim toga, ova disertacija obogaćuje bazu podataka o isparljivim sekundarnim metabolitima biljnih vrsta porodice Apiaceae.

## *7. Summary*

---

PhD thesis entitled "Alkaloids, phenylpropanoids, steroids and terpenoids from selected plant species of the family Apiaceae" presents the results of phytochemical investigations of six species of this family: *Conium maculatum* L, *Carum graecum* Boiss. & Heldr, *Daucus carota* L, *Daucus guttatus* ssp. *zahariadii* Heywood, *Geocaryum cynapioides* (Guss.) L. Engstrand and *Pleurospermum austriacum* (L.) Hoffm. The essential oils of *C. graecum*, *D. guttatus* ssp. *zahariadii* and *G. cynapioides*, three Balkan endemic taxa, and *P. austriacum*, were studied herein for the first time. The isolation (diethyl ether and dichloromethane extraction and Clevenger hydrodistillation) and a detailed analysis of volatile compounds (gas chromatography and gas chromatography - mass spectrometry), gave the following results:

- Forty four and one hundred-twenty three constituents identified in the oils obtained from *G. cynapioides* (aerial parts and roots and only aerial parts) accounted for 98.7% and 98.4% of the total oils, respectively. The terpenoid fractions represented 97.3% and 93.0% of the oils unevenly distributed between mono- and sesquiterpenoids (0.1% and 6.5% monoterpenoids, 97.2% and 86.5% sesquiterpenoids). The major component of both oils was (*E*)- $\beta$ -farnesene (73.3 % and 57.7 %) while the other major contributors were: (*E,E*)- $\alpha$ -farnesene (4.8 % and 14.6 %) and *trans*-sesquisabinene hydrate (12.2% and 3.0%). Qualitatively the difference between the two samples was in the presence/absence of *endo*-fenchyl acetate and three sesquiterpene lactones, one from the selinane and two from the guaiane series.
- Eighty five constituents identified in the essential oil obtained from the leaves of *C. graecum*, accounted for 96.9% of the total oil. The major fraction of the oil was constituted of sesquiterpenes (56.9%), wherein sesquiterpenes with germacrane and selinane skeletons made up more than a half of this fraction (27.1 and 17.1%, respectively). The major components of the oil were: dill apiole (29.0%), germacrene D (17.0%),  $\beta$ -selinene (11.8%), germacrene B (7.7%) and  $\alpha$ -selinene (4.7%). The rather restricted natural occurrence of dill apiole within the genus *Carum*, high content in the ripe fruits of two species (*C. bulbocastanum* and *C. nigrum*), and in the leaf oil of *C. graecum*, suggested that this compound could be used as a chemotaxonomic marker at the infrageneric level.
- Two hundred and five constituents were identified in the essential oils from different plant parts of an endangered plant species *P. austriacum* (156 in fruits, 116 in leaves, 117 in stalks), and these accounted for 94.5–98.6 % of the total oils. Sesquiterpenoid fractions were the most abundant (85.7–90.5 %) in all samples, which included more than half of the compounds. These were mainly hydrocarbons and were present in a

greater number compared to the oxygenated derivatives. Germacranes and related sesquiterpenoids were the major amongst this class (71.9 % in the fruits, 63.2 % in the leaves and 52.2 % in the stalks). The major component was germacrene D, 66.5 % in the fruits, 62.4 % in the leaves and 49.0 % in the stalks.

- In the comparative study of the essential oil obtained from aerial parts of *Daucus guttatus* ssp. *zahariadii* and the essential oils and diethyl ether extracts of cultivated and wild-growing *D. carota*, 336 components were identified in total. One hundred and eight components were identified in the essential oil of *D. guttatus*, which accounted for 99.8% of the total oil (area percentage of the GC chromatograms). The number of identified constituents varied in *D. carota* samples from 52 to 163 and these made up 82.9–99.8% of the total oils/extracts. *Daucus guttatus* oil mainly consisted of phenylpropanoids (more than 50% of the total oil), with apiol as the predominant one (43.3%), followed by a sesquiterpene- $\beta$ -bisabolene (34.2%).  $\alpha$ -Pinene (29.3%) and sabinene (16.8%) were the main constituents of the oils of aerial parts of wild-growing *D. carota* and in the extracts of wild-growing white flowers (28.3% and 16.8%, respectively), while in the extracts of coloured flowers, those were  $\alpha$ -pinene (33.8%) and  $\beta$ -bisabolene (22.1%). The essential oil from commercial carrot roots had  $\beta$ -caryophyllene as the major constituent (29.9%), while (*E*)- $\gamma$ -bisabolene (14.8%) and falcarindiol (13.4%) were the main constituents in the extract of the same sample. Carrot oil was also rich in (*E*)- $\gamma$ -bisabolene (20.6%). Opposite to that, the major constituent of the extract of the roots of wild-growing *D. carota* was  $\alpha$ -terpinolene (25.4%). Both, the oil and extract of the seeds of wild-growing *D. carota* had geranyl acetate as the predominant constituent (53.2% and 36.6%, respectively). Commercial seeds extract differed from the wild-growing *D. carota* extract in having carotol (55.2%) as its major contributor. The occurrence of phenylpropanoids in the essential oil of *D. guttatus* clearly separates *D. guttatus* from *D. carota*, as well as from other *Daucus* taxa.

The antimicrobial activity of *D. guttatus* oil and the extract of commercial carrot seeds were evaluated against 12 bacterial strains, one yeast and one mold species. The extract of *D. carota* showed higher activity against bacteria and fungi, with MIC values ranging from 0.546 to 8.750 mg/ml and MBC from 1.093 to 35.0 mg/ml. The most prominent inhibitory action of the extract was observed against ATCC strains of *M. flavus* and *E. coli* (MIC = 0.546 mg/ml, both species). The lowest antifungal activity of extract was shown against the pathogenic yeast *C. albicans* (MIC = MBC = 0.273 mg/ml). *Daucus guttatus* essential oil had, in most cases, moderate antibacterial activity, showing inhibitory effect at 0.781–12.50 mg/ml with its peak against *C. pyogenes* (MIC = 0.781 mg/ml).

- Chemical analysis of the essential oils and alkaline dichloromethane extracts of the aerial parts and dichloromethane extracts of the roots of *C. maculatum*, obtained from plant material collected from three different locations (three, four or five different stages of phenological development), showed quantitative and qualitative variations of the major contributors. Alkaloids were the predominant constituents of the essential oils and alkaline dichloromethane extracts of the aerial parts. Among these, 2-pentylpiperidine (named conmaculatin) was identified for the first time as a new natural compound. In order to corroborate its identity it was synthesized (and GC co-injected with the natural samples) starting from cyclohexanol in eight reaction steps with the overall yield of 12%. The synthetic strategy relied on the N atom insertion into a five member ring through a Beckmann rearrangement of the appropriate oxime. The structure of conmaculatin was confirmed by spectral means (GC-MS, IR and NMR). In regard to the phenological variation of the alkaloids content,  $\gamma$ -coniceine was the main constituent at the beginning of plant development (21.3-47.8%), while at the end it was coniine who dominated (21,7-35,6%). The same correlation were found for 2-pentylpiperidine and 2-pentyl-3,4,5,6-tetrahydropyridine (dihomologues of  $\gamma$ -coniceine and coniine). Conmaculatin's strong peripheral and central antinociceptive activity (hot plate and writhing tests) in mice was observed in a narrow dose range (10–20 mg/kg).

None of the alkaloids was detected in the dichloromethane root extracts. However, steroid compounds (61.0-68.3%) were found to be the main root chemical constituents in the samples from all three locations, at the last phonological stage. The predominant were stigmasta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol (stigmasterol, 14.4–15.5%) and stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol ( $\beta$ -sitosterol, 12.5–18.9%). At the first stages of phonological development polyacetylenes were the major constituents, especially falcarindiol (21.0-46.8%). Later, in the samples from one location coumarins were predominant: isobergaptene (24.3%), isopimpinelin (10.6%) and bergapten (8.1%).

The results of this dissertation show the existence of a significant extent of chemical typification, which was observed in the plants from different locations, as in the case of *G. cynapioides* and *C. maculatum*. *Daucus carota* serves as an example where chemovariation was observed as a consequence of different plant origin. Also, it appears that the secondary metabolites from different plant organs like those investigated for *C. maculatum*, *D. carota* and *C. graecum* (according to literature data and results obtained herein) show variation. All results herein confirm the importance of detailed chemical investigations of the volatile components from different plant organs and in all phenological stages.



## *8. Literatura*

- Adams RP. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*, 4<sup>th</sup> Ed., Allured Publishing Corporation, Carol Stream, **2007**.
- Agrawal PK and Sharma MP. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* **1983**, *45*, 246.
- Ahmed AA, Bishr MM, El-Shanawany MA, Attia EZ, Ross SA and Pare PW. *Phytochemistry* **2005**, *66*, 1680.
- Ajjaikebaier A and Lu Q. *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa* **2002**, *14*, 46.
- Al-Barwani FM and Eltayeb EA. *Biochemical Systematics and Ecology* **2004**, *32*, 1097.
- Aliotta G, Monaco P, Pinto G, Pollio A and Previtera L. *Journal of Chemical Ecology* **1991**, *17*, 2223.
- Al-Safadi B. *Biologia* **2008**, *63*, 177.
- Arganosa GC, Sosulski FW and Slinkard AE. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants* **1998**, *6*, 9.
- Arihan O, Boz M, Iskit AB and Ilhan M. *Journal of Ethnopharmacology* **2009**, *125*, 274.
- Ashraf M, Aziz J, Karim A and Bhatti MK. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research* **1977**, *20*, 103.
- Ashraf M, Zaidi SA, Mahmood S and Bhatti MK. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research* **1979**, *22*, 258.
- Avato P and Rosito I. *Journal of Essential Oil Research* **2002**, *14*, 20.
- Avato P and Smitt UW. *Journal of Essential Oil Research*, **2000**, *12*, 303.
- Baba K, Matsuyama Y, Ishida T, Inoue M and Kozawa M. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **1982**, *30*, 2036.
- Bailer J, Aichinger T, Hackl G, De Hueber K and Dachler M, *Industrial Crops and Products* **2001**, *14*, 229.
- Balbaa SI, Hilal SH and Haggag MY, *Planta Medica* **1973**, *23*, 312.
- Baser KHC, Ermin N and Demircakmak B. *Journal of Essential Oil Research* **1998**, *10*, 463.
- Baser KHC, Özek T, Tabanca N and Duman H. *Journal of Essential Oil Research*, **1999**, *11*, 445.
- Baser KHC, Tabanca N, Özek T, Demirci B, Duran A and Duman H. *Flavour and Fragrance Journal*, **2000**, *15*, 43.
- Benecke R, Reichold K, Kessel M and Schmidt W. *Pharmazie* **1987**, *42*, 256.
- Berenbaum MR. *Furanocoumarin chemistry, insect herbivory, and coevolution in the Umbelliferae*, PhD dissertation No. 8102948, **1980**, 243.
- Bernard C. *Journal of Essential Oil Research* **2001**, *13*, 260.
- Biswas KK, Foster AJ, Aung T and Mahmoud SS. *Acta Physiol Plant* **2009**, *31*, 13.
- Bowman WC and Sanghvi IS. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **1963**, *15*, 1.
- Brooks CJW, Horning EC and Young JS. *Lipids* **1968**, *3*, 391.
- Brooks CJW. *Philosophical transactions of the Royal Society A* **1979**, 293, 53.
- Camadro L, Cauhepe MA and Simon PW. *Genetic Resources and Crop Evolution* **2007**, *54*, 855.
- Camarda L, Di Stefano V and Pitonzo R. *Chemistry of Natural Compounds* **2008**, *44*, 532.
- Casinovi CG, Tomassini L and Nicoletti M. *Gazzetta Chimica Italiana* **1989**, *119*, 563.
- Chalchat J and Garry R. *Journal of Essential Oil Research* **1997**, *9*, 311.
- Chao S, Young G, Oberg C and Nakaoka K. *Flavour and Fragrance Journal* **2008**, *23*, 444.
- Chawla AS, Kapoor VK, Sangal PK, Gupta AK and Evans FJ. *Planta Medica* **1976**, *30*, 151.

- Chizzola R. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants* **2010b**, *13*, 12.
- Chizzola R. *Natural Product Communications* **2010a**, *5*, 1477.
- Chowdhury AR. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants* **2002**, *5*, 158.
- Chowdhury JU, Bhuiyan M, Nazrul I and Begum J. *Journal of Scientific Research* **2009**, *1*, 160.
- Cisowski W, Sawicka U, Mardarowicz M, Asztemborska M and Luczkiewicz M. *Zeitschrift für Naturforschung C* **2001**, *56*, 930.
- Clayden J, Greeves N, Warren S and Wothers P. *Organic Chemistry*, Oxford University Press, New York, **2001**.
- Corsi G and Biasci D. *Annals of Botany* **1998**, *81*, 157.
- Cromwell J. *Biochemical Journal* **1956**, *64*, 259.
- Cu JQ, Perineau F, Delmas M and Gaset A. In: Bhattacharyya SC, Sen N and Sethi KL (Ed). Proceedings of 11<sup>th</sup> International Congress of Essential Oils, *Fragrances and Flavors*, Springer, **1989**, *4*, 89.
- Curini M, Cravotto G, Epifano F and Giannone G. *Current Medicinal Chemistry* **2006**, *13*, 199.
- Czepa A and Hofmann T. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2003**, *51*, 3865.
- Davies SG, Burke AJ, Garner C, McCarthy TM, Roberts PM, Smith AD, Rodriguez-Solla H and Vickers RJ, *Organic and Biomolecular Chemistry* **2004**, *2*, 1387.
- De Almeida LFR, Frei F, Mancini E, De Martino L and De Feo V. *Molecules* **2010**, *15*, 4309.
- De Pascual TJ, Grande C and Grande M. *Tetrahedron Letters* **1978**, *46*, 4563.
- De Paula RJE, Farinazzo VLW and De Albuquerque BF. *Revista Brasileira de Farmacia* **1996**, *77*, 71.
- De Souza ADL, Da Rocha AFI, Pinheiro MLB, Andrade CHS, Galotta ALAQ and Dos Santos MPSS. *Quimica Nova* **2001**, *24*, 439.
- Decker MW and Meyer MD. *Biochemical Pharmacology* **1999**, *58*, 917.
- Dewick PM. *Medicinal Natural Products*, 2<sup>nd</sup> Ed., John Wiley and Sons, Ltd., **2002**.
- Dhillon RS, Gautam VK, Kalsi PS and Chhabra BR. *Phytochemistry* **1989**, *28*, 639.
- Djarri L, Medjroubi K, Akkal S, Elomri A, Seguin E and Vérité P. *Flavour and Fragrance Journal* **2006**, *21*, 647.
- Dowd P and Choi SC. *Tetrahedron* **1989**, *45*, 77.
- Downie SR, Katz-Downie DS and Spalik K. *American Journal of Botany* **2000a**, *87*, 76.
- Downie SR, Katz-Downie, DS and Watson MF. *American Journal of Botany* **2000b**, *87*, 273.
- Duke JA. In: Janick J and Simon JE (Ed). Advances in new crops, *Timber Press*, Portland, OR., **1990**, 491.
- El-Alfy TS, El-Dahmy S, Koheil MA, Shehata AH and El-Migirab SI. *Bulletin of the Faculty of Pharmacy* **1994**, *32*, 103.
- El-Gendi H. *Seifen, Oele, Fette, Wachse* **1990**, *116*, 534.
- El-Razek AMH, Ohta S and Hirata T. *Heterocycles* **2003**, *60*, 689.
- Epifano F, Leporini L, Luzzi R, Menghini L and Tammaro F. *Journal of Essential Oil Research* **2009**, *21*, 323.
- Erdurak CS, Coşkun M, Demirci B and Baser KHC. *Flavour and Fragrance Journal* **2006**, *21*, 118.
- Fairbairn W and Challen B. *Biochemical Journal* **1959**, *72*, 556.
- Fairbairn W and Suwal N. *Phytochemistry* **1961**, *1*, 38.
- Fang R, Jiang CH, Wang XY, Zhang HM, Liu ZL, Zhou L, Du SS and Deng ZW. *Molecules* **2010**, *15*, 9391.

- Farnsworth NR, Akerlele O, Bingel AS, Guo ZG and Soejarto DD. *Bulletin of the World Health Organization* **1985**, 63, 965.
- Fernandez IM, Pedro JR and Seoane E. *Phytochemistry* **1983**, 22, 2087.
- Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG and Scheffer JJC. *Flavour and Fragrance Journal* **2008**, 23, 213.
- Figuérédo G, Chalchat J, Petrović S, Maksimović Z, Gorunović M, Boza P and Radić J. *Journal of Essential Oil Research* **2009**, 21, 123.
- Filippini MH, Tomi F and Casanova J. *Flavour and Fragrance Journal* **2000**, 15, 195.
- Flamini G, Cioni PL, Maccioni S and Baldini R. *Food Chemistry* **2007**, 103, 1237.
- Friedman M, Henika PR and Manderell RE. *Journal of food protection* **2002**, 65, 1545.
- Georges P, Sylvestre M, Ruegger H and Bourgeois P. *Steroids* **2006**, 71, 647.
- Ghosh K and Bhattacharya TK. *Molecules* **2005**, 10, 798.
- Godt HC and Quinn JF. *Journal of the American Chemical Society* **1956**, 78, 1461.
- Gonny M, Bradesi P and Casanova J. *Flavour and Fragrance Journal* **2004**, 19, 424.
- Gonzalez AG, Lopez DH, Hierro MI, Medina MC and Rodriguez LF. *Quimica Organica y Bioquimica* **1982**, 78, 274.
- Góra J, Lis A, Kula J, Staniszewska M and Woloszyn A. *Flavour and Fragrance Journal* **2002**, 17, 445.
- Gouping P, Fengchang L, Yuanzhu C and Shouxun Z. *Zhongcaoyao* **1995**, 26, 623.
- Green BT, Lee ST, Panter KE, Welch KD, Cook D, Pfister JA and Kem WR. *Neurotoxicology and Teratology* **2010**, 32, 383.
- Guerin PM and Stadler E. *Ecological Entomology* **1984**, 9, 413.
- Gulla M, Bierer L, Schmidt S, Redcliffe L and Jäger V. *Zeitschrift für Naturforschung B* **2006**, 61, 471.
- Hadjieva P, Popova E, Tzvetkova A and Hadjieva B. *Bulgarian Chemistry and Industry* **2004**, 75, 96.
- Halim AF, Lahloub MF, Saad HEA and Ahmed AF. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **1991**, 7, 402.
- Hennebellea T, Sahpaza S, Dermontb C, Josephc H. and Bailleul F. *Chemistry and Biodiversity* **2006**, 3, 1125.
- Hilal H, El Shamy AM and Haggag MY. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **1977**, 16, 509.
- Hildebrand JG and Bogert MT. *Journal of the American Chemical Society* **1936**, 58, 650.
- Hofmann T and Schieberle P. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1998**, 46, 2721.
- Iacobellis NS, Cantore PL, Capasso F and Senatore F. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2005**, 53, 57.
- Iida T, Hikasaka M, Goto J and Nambara T. *Journal of Chromatography A* **2001**, 937, 97.
- Ikan R and Ravid U. *Journal of Organic Chemistry* **1974**, 39, 2637.
- Imamu X, Yili A, Aisa HA, Maksimov VV, Veshkurova ON and Salikhov ShI. *Chemistry of Natural Compounds* **2007**, 43, 495.
- Ito Y, Hirayama F, Aikawa Y, Kondo H, Sagara K and Shoji J. *Nature Medicine* **1995**, 49, 487.
- Itokawa H, Oshida Y, Ikuta A and Inatomi H. *Yakugaku Zasshi* **1982**, 102, 318.
- Jabrane JHB, Harzallah-Skhiri F, Mastouri M, Casanova J and Mighri Z. *Chemistry and Biodiversity* **2009**, 6, 881.
- Jain R and Nagpal S. *Journal of the Indian Chemical Society* **2002**, 79, 776.

- Jalali-Heravi M, Zekavat N and Sereshti H. *Journal of Chromatography A* **2007**, 1143, 215.
- Jonsson P, Johansson AI, Gullberg J, Trygg J, Jiye A, Grung B, Marklund S, Sjöström M, Antti H and Moritz T. *Analytical Chemistry* **2005**, 77, 5635.
- Joshi P, Pant AK and Mathela CS. *Journal of the Indian Chemical Society* **1984**, 61, 895.
- Kabilov MN, Saidkhodzhaev AI, Malikov VM and Melibaev S. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii* **1994**, 4, 565.
- Kameoka H, Sagara K and Miyazawa M. *Nippon Nogei Kagaku Kaishi* **1989**, 63, 185.
- Kapetanios C, Kariot A, Bojović S, Marin P, Velić M, Skaltsa H. *Chemistry and Biodiversity* **2008**, 5, 101.
- Kapoor IPS, Singh B, Singh G, De Heluani CS, De Lampasonab MP and Catalanb CAN. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2010**, 90, 385.
- Khajeh M, Yamini Y, Sefidkon F and Bahramifar N. *Food Chemistry* **2004**, 86, 587.
- Khanna RK, Sharma OS and Singh A. In: Bhattacharyya SC, Sen N and Sethi KL (Ed). *Proceedings of 11<sup>th</sup> International Congress of Essential Oils, Fragrances and Flavors*, Springer, **1989**, 4, 173.
- Khodzhimatov M and Bobokhodzhaeva S. *Izvestiya Akademii Nauk Tadzhikskoi SSR, Otdelenie Biologicheskikh Nauk* **1976**, 2, 81.
- Kilibarda V, Nanušević N, Dogović N, Ivanić R and Savin K. *Pharmazie* **1996**, 51, 777.
- Kir'yalov NP. *Zhurnal Obshchei Khimii* **1964**, 34, 3831.
- Kobayashi Y and Ogihara Y. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **1981**, 29, 2230.
- Koellner TG, O'Maille PE, Gatto N, Boland W, Gershenson J and Degenhardt J. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **2006**, 448, 83.
- Koellner TG, Schnee C, Gershenson J and Degenhardt J. *Plant Cell* **2004**, 16, 1115.
- Krasteva IN, Popov IS, Balabanova VI, Nikolov SD and Pencheva IP. *Quimica Nova* **2008**, 31, 1125.
- Kubecka KH, Bohn I, Schulze W and Formacek V. *Journal of Essential Oil Research* **1989**, 1, 249.
- Kubeczka KH and Ullmann I. *Zeitschrift fur Naturforschung C* **1983**, 38, 3.
- Kula J, Izydorczyk K, Czajkowska A and Bonikowski R. *Flavour and Fragrance Journal* **2006**, 21, 667.
- Kumarasamy Y, Cox PJ, Jaspars M, Nahar L and Sarker SD. *Journal of Ethnopharmacology* **2002**, 83, 73.
- Kumarasamy Y, Nahar L, Byres M, Delazar A and Sarker SD. *Journal of Herbal Pharmacotherapy* **2005**, 5, 61.
- Lang DG and Smith RA. In: Garland T and Barr AC (Ed). *Toxic plants and other natural toxicants*. CAB International, Oxford, **1998**, 419.
- Laouer H, Meriem EK, Prado S and Baldovini N. *Phytotherapy Research* **2009**, 23, 1726.
- Lawrence BM. *Essential Oil 1988-1991*, Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL, 1992, 194.
- Lawrence BM. *Perfumer & Flavorist* **2006a**, 31, 39.
- Lawrence BM. *Perfumer & Flavorist* **2006b**, 31, 54.
- Lawrence BM. *Perfumer & Flavorist* **1988** 13, 61.
- Lawrence BM. *Perfumer & Flavorist* **1999**, 24, 52.
- Lawrence BM. *Perfumer & Flavorist* **1980**, 5, 29.
- Le Stragane R. *A History of Herbal Plants*, Angus and Robertson, London, **1977**.
- Lee SM, Lai JS and Kuo YH. *Journal of the Chinese Chemical Society* **1993**, 40, 87.
- Lee ST, Green BT, Welch KD, Pfister JA and Panter KE. *Chemical Research in*

- Toxicology* **2008**, 21, 2061.
- Leete E and Adityachaudhury N. *Phytochemistry* **1967**, 6, 219.
- Leete E and Olson O. *Journal American Chemical Society* **1972**, 94, 5472.
- Leete EJ. *Journal of the American Chemical Society* **1964**, 86, 2509.
- Šarić MR. *Lekovite biljke SR Srbije*, Odeljenje prirodno-matematičkih nauka, Beograd, **1989**, 228.
- López A, Cid S and Bianchini L. *Toxicon* **1999**, 37, 841.
- Lucchesi ME, Chemat F and Smadja J. *Flavour and Fragrance Journal* **2004**, 19, 134.
- Macias FA, Chinchilla N, Varela RM and Molinillo JMG. *Steroids* **2006**, 71, 603.
- Maggi F, Cecchini C, Cresci A, Coman MM, Tirillini B, Sagratini G and Papa F. *Fitoterapia* **2009**, 80, 68.
- Malone JF, Parves M, Karim A, McKervey MA, Ahmad I and Bhatti MK. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2: Physical Organic Chemistry* **1980**, 11, 1683.
- Mansour ES, Maatooq GT, Khalil AT, Marwan ESM and Sallam AA. *Zeitschrift für Naturforschung C* **2004**, 59, 373.
- Matheus ME, Berrondo LF, Vieitas EC, Menezes FS and Fernandes PD. *Journal of Ethnopharmacology* **2005**, 102, 377.
- Maxia A, Marongiu B, Piras A, Porcedda S, Tuveri E, Goncalves MJ, Cavaleiro C and Salgueiro L. *Fitoterapia* **2009**, 80, 57.
- Mazzoni V, Tomi F and Casanova J. *Flavour and Fragrance Journal* **1999**, 14, 268.
- Mazzuca M and Balzaretto VT. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2003**, 83, 1072.
- Meepagala KM, Sturtz G, Wedge DE, Schrader KK and Duke S. *Journal of Chemical Ecology* **2005**, 31, 1567.
- Mehta BK, Mehta D and Verma M. *Natural Products Research* **2005**, 19, 435.
- Menković NR, Savikin KP, Zdunić GM and Gojgić-Cvijović G. *Journal of Essential Oil Research* **2009**, 21, 89.
- Meot-Duros L, Cerantola S, Talarmin H, Le Meur C and Le Floch G. *Food and chemical toxicology* **2010**, 48, 553.
- Mimica-Dukić N and Popović M. *Medicinal Plants* **2008**, 21, 147.
- Misiak J, Lipok J, Nowakowska EM, Wieczorek PP, Mlynarz P and Kafarski P. *Zeitschrift fuer Naturforschung C* **2004**, 59, 791.
- Mockute D and Nivinskiene O. *Journal of Essential Oil Research* **2004**, 16, 277.
- Mohagheghzadeh A, Faridi P and Ghasemi Y. *Food Chemistry* **2007**, 100, 1217.
- Mojab F, Hamedi A, Nickavar B and Javidnia K. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants* **2008**, 11, 271.
- Muckensturm B, Diyani F and Reduron JP. *Biochemical Systematics and Ecology* **1995**, 23, 875.
- Naik JP, Rao LJM, Shankaracharya NB and Nagalakshmi S. *Journal of Food Science and Technology* **2001**, 38, 277.
- Narasimhan B and Dhake AS. *Journal of Medicinal Food* **2006**, 9, 395.
- Nascimento AMA, Brandao MGL, Oliveira GB, Fortes ICP and Chartone-Souza E. *Antonie van Leeuwenhoek* **2007**, 92, 95.
- Neguieruela VA, Perez-Alonso MJ, Pérez de Paz PL, García VC, Palá-Paúl J and Inigo A. *Flavour and Fragrance Journal* **2002**, 17, 468.
- Nigam SS and Radhakrishnan C. *Perfumery and Essential Oil Records* **1963**, 54, 87.
- Nikolić V. In: Josifović M (Ed). *Flora SR Srbije V*, SANU, Beograd, **1973**, 183–349.
- Nivinskiene O, Butkiene R and Mockute D. *Journal of Essential Oil Research* **2005**, 17,

- 373.
- Nivinskiene O, Butkiene R and Mockute D. *Journal of Essential Oil Research* **2007**, *19*, 477.
- Nurmukhamedova MR, Kasymov ShZ and Melibaev S. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii* **1982**, *2*, 261.
- Oroojalian F, Kasra-Kermanshahi R, Azizi M and Bassami MR. *Food Chemistry* **2010**, *120*, 765.
- Özcan MM and Chalchat JC. *Grasas y Aceites* **2007**, *58*, 359.
- Ozçelik B, Kusmenoglu Ş, Turkoz S and Abbasoglu U. *Pharmaceutical Biology* **2004**, *42*, 526.
- Özkan AMG, Demirci B, Demirci F and Başer KHC. *Journal of Essential Oil Research* **2008**, *20*, 569.
- Papini A, Banci F and Nardi E. *Genetics and Molecular Biology* **2007**, *30*, 475.
- Park JC, Yu YB and Lee JH. *Saengyak Hakhoechi* **1993**, *24*, 244.
- Pateira L, Nogueira T, Antunes A, Venancio F, Tavares R and Capelo J. *Flavour and Fragrance Journal* **1999**, *14*, 333.
- Pelillo M, Iafelice G, Marconi E and Caboni MF. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2003**, *17*, 2245.
- Perineau F, Ganou L and Gaset A. *Industries Alimentaires et Agricoles* **1991**, *108*, 357.
- Pferschy-Wenzig EM, Getzinger V, Kunert O, Woelkart K, Zahrl J and Bauer R. *Food Chemistry* **2009**, *114*, 1083.
- Pigulevskii GV, Kovaleva VI and Motskus DV. *Rastitel'Nye Resursy* **1965**, *1*, 227.
- Pimenov MG and Kljuykov EV. *Feddes Repertorium* **2000**, *111*, 517.
- Pimenov MG and Sdobina LI. *Botanicheskij Zhurnal* **1984**, *69*, 283.
- Putievsky E, Ravid U, Dudai N and Katzir I. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants* **1994**, *2*, 81.
- Radulović N, Blagojević P and Palić R. *Natural Product Communications* **2009**, *4*, 410.
- Raina VK, Kumar A, Naqvi AA, Tandon S, Aggarwal KK and Kahol AP. *Indian Perfumer* **2004**, *48*, 425.
- Bouwmeester HJ. In: Németh É (Ed). *Caraway- The Genus Carum*, Harwood Academic Publisher, Amsterdam, **1998**, 96.
- Rose F. *The Wild Flower Key*, Penguin Books Ltd, London, **2006**, 346.
- Rosengarten FJ. *The book of spices*, Livingston publishing Co., Wynnewood, Pennsylvania, **1969**, 151-159.
- Rossi G, Bao L, Luciani A, Panighi J, Desjobert JM, Costa J, Casanova J, Bolla JM and Berti L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2007**, *55*, 7332.
- Rubiolo P, Matteodo M, Riccio G, Ballero M, Christen P, Fleury-Souverain S, Veuthey J and Bicchi C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2006**, *54*, 7556.
- Ruecker G, Langmann B and De Siqueira NS. *Planta Medica* **1981**, *41*, 143.
- Ruszkowska J. In: Németh É (Ed). *Caraway- The Genus Carum*, Harwood Academic Publisher, Amsterdam, **1998**, 35-54.
- Saad HEA, El-Sharkawy SH and Halim AF. *Pharmaceutica Acta Helvetiae* **1995**, *70*, 79.
- Sahley TL and Berntson GG. *Psychopharmacology* **1979**, *65*, 279.
- Saïdana D, Mahjoub MA, Boussaada O, Chriaa J, Chéraif I, Daami M, Mighri Z and Helal AN. *Microbiological Research* **2008**, *163*, 445.
- Saleh NA, El-Negoumy SI, El-Hadidi M and Hosni HA. *Phytochemistry* **1983**, *22*, 1417.
- Sartoratto A, Machado ALM, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MCT and Rehder VLG. *Brazilian Journal of Microbiology* **2004**, *35*, 275.

- Schnee C, Koellner TG, Held M, Turlings TCJ, Gershenzon J and Degenhardt J. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2006**, *103*, 1129.
- Schneyer VC, Borshchenko GP, Pimenov MG and Leonov MV. *Botanicheskij Zhurnal* **1991**, *76*, 245.
- Schulzova V, Hajslova J, Botek P and Peroutka R. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2007**, *87*, 2763.
- Seidler-Lozykowska K, Baranska M, Baranski R and Krol D. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2010**, *58*, 5271.
- Seifert RM, BATTERY RG and Ling L. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **1968**, *19*, 383.
- Simandi B, Oszagyan M, Lemberkovis E, Petri G, Kery A and Fejes S. *Journal of Essential Oil Research* **1996**, *8*, 305.
- Singh G, Marimuthu P, De Heluani CS and Catalan CAN. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2006**, *54*, 174.
- Soković M, Stojković D, Glamočlija J, Ćirić A, Ristić M and Grubišić D. *Pharmaceutical Biology*, **2009** *47*, 38.
- Soković MD, Glamočlija J, Ćirić A and Grubišić D. *Journal of Essential Oil Research* **2008**, *20*, 369.
- Spalik K, Wojewodzka A and Downie SR. *Edinburgh Journal of Botany* **2001**, *58*, 331.
- Srinivas SR, *Atlas of Essential oil*, Bronx, New York, **1986**.
- Srivastava M, Saxena A and Baby P. *Acta Alimentaria* **1999**, *28*, 291.
- Stahl E. *Archives of Pharmacal Research* **1964**, *297*, 500.
- Staniszewska M and Kula J. *Journal of Essential Oil Research* **2001**, *13*, 439.
- Staniszewska M, Kula J, Wieczorkiewicz M and Kusewicz D. *Journal of Essential Oil Research* **2005**, *17*, 579.
- Starkenmann C, Naef R, Velluz A, Mayenzet F and Sun HD. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2005**, *53*, 9161.
- Suarez RS. *Acta Cientifica Compostelana* **1971**, *8*, 185.
- Sucrow W and Reimerdes A. *Zeitschrift für Naturforschung B* **1968**, *23*, 42.
- Svensen AB. *Johan Grundt Tanum Forlag, Oslo*, **1954**, 144.
- Talwar YP, Nigam MC and Handa KL. *Indian Oil and Soap Journal* **1963**, *28*, 249.
- Tan JJ, Tan CH, Wang YQ, Jiang SH and Zhu DY. *Helvetica Chimica Acta* **2006**, *89*, 117.
- Tavares AC, Gonçalves MJ, Cavaleiro C, Cruz MT, Lopes MC, Canhoto J and Salgueiro LR. *Journal of Ethnopharmacology* **2008**, *119*, 129.
- Tellez RM, Canel C, Rimando MA and Duke OS. *Phytochemistry* **1999**, *52*, 1040.
- Tepe B, Akpulat HA, Sokmen M, Daferera D, Yumrutas O, Aydin E, Polissiou M, Sokmen A. *Food Chemistry* **2006**, *97*, 719.
- Tettamanzi MC, Jares EA, Iannone LM and Pomilio AB. *Fitoterapia* **1994**, *65*, 468.
- Tewari M and Mathela CS. *Indian Perfumer* **2003**, *47*, 347.
- Tkachenko KG and Zenkevich IG. *Journal of Essential Oil Research* **1993**, *5*, 329.
- Tomić A, Petrović S, Pavlović M, Tzakou O, Couladis M, Milenković M, Vučicević D and Lakušić B. *Journal of Essential Oil Research* **2009**, *21*, 276.
- Toulemonde B, Paul F and Beauverd D. *Parfums, Cosmetiques, Aromes* **1987**, *77*, 65.
- Troshchenko AT and Limasova TI. *Khimija Prirodnykh Soyedineniy* **1967**, *3*, 145.
- Tsai PL, Wang JP, Chang CW, Kuo SC and Chao PD. *Phytochemistry* **1998**, *49*, 1663.
- Tucakov J. *Lečenje biljem*, Izdavačko preduzeće rad, Beograd, **1973**, 421-423.
- Tümen G, Kürkçüoğlu M, Demirci B and Baser KHC. *Journal of Essential Oil Research* **2005**, *17*, 126.

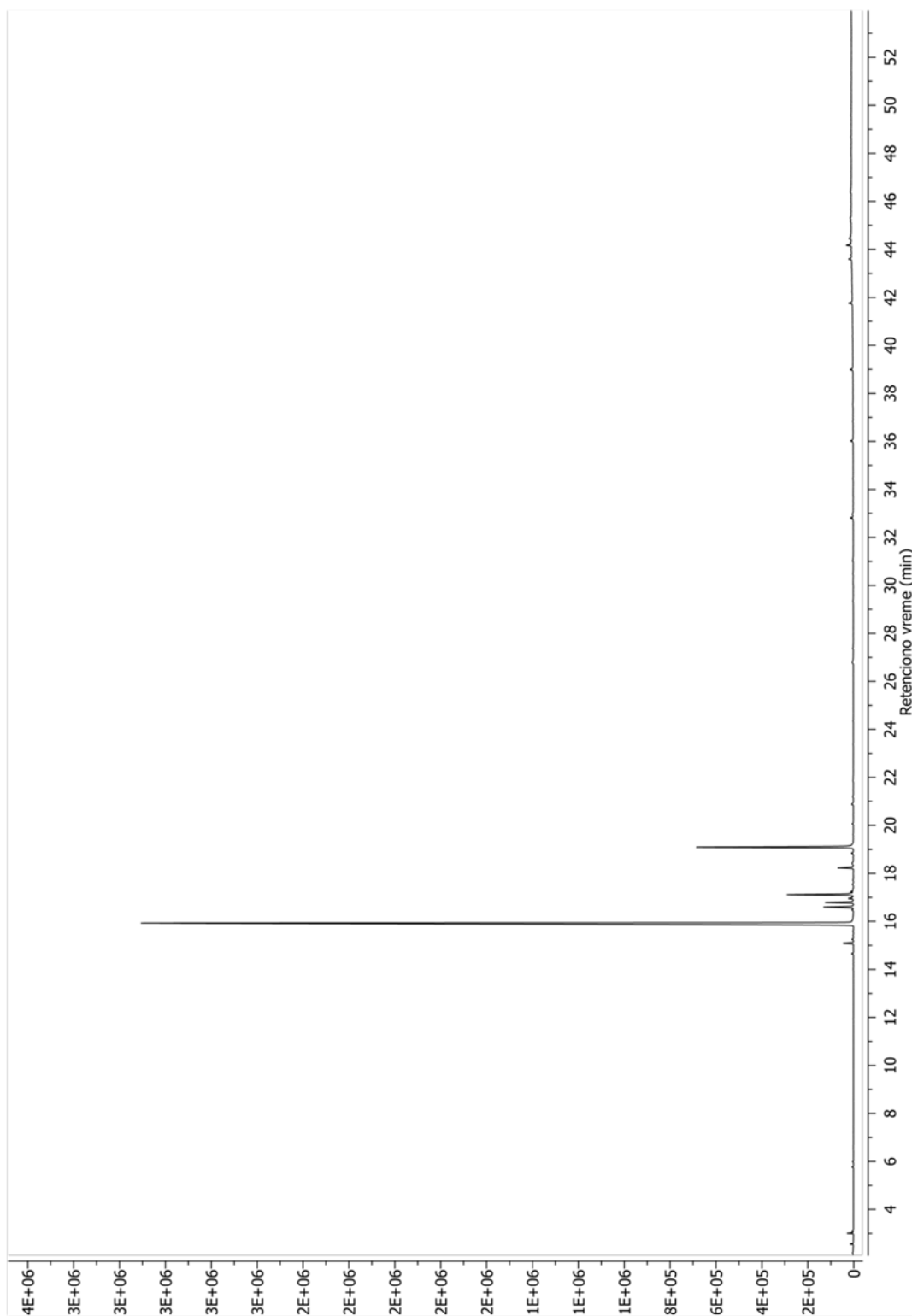


- 
- Tutin TG. In: Tutin TG, Heywood VH, Burges NA, Moore DM, Valentine DH, Walters SM and Webb DA (Ed). *Flora Europaea* Vol. 2, Cambridge University Press, Cambridge, UK, **1968**, 315–319.
- Umlauf D, Zapp J, Becker H and Adam KP. *Phytochemistry* **2004**, *65*, 2470.
- Uusitalo JS, Jalonen JE, Aflatuni A, Luoma SL. *Journal of Essential Oil Research* **1999**, *11*, 423.
- Vajs V, Milosavljević S, Tešević V, Živanović P, Jančić R, Todorović B and Slavkovska V. *Journal of Essential Oil Research* **1995**, *7*, 529.
- Van den Dool H and Kratz PD. *Journal of Chromatography* **1963**, *11*, 463.
- Van Etten HD, Mansfield JW, Bailey JA and Farmer EE. *Plant Cell* **1994**, *6*, 1191.
- Van Klink JW, Barlow AJ, Benn MH, Perry NB and Weavers RT. *Australian Journal of Chemistry* **2000**, *53*, 939.
- Vermeulen N. *The complete encyclopedia of herbs*, Rebo publishers, Lisse, **2006**, 105.
- Vetter J. *Food and Chemical Toxicology* **2004**, *42*, 1373.
- Visser RG, Bos HJT and Brandsma L. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas* **1980**, *99*, 70.
- Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*, 5<sup>th</sup> edition, Longman Scientific & Technical, Harlow, **1989**.
- Vukićević RD, Damljanović I and Vukićević M. *Monatshefte für Chemie* **2006**, *137*, 301.
- Whittle BA. *British Journal of Pharmacology* **1964**, *22*, 246.
- Wichtmann EM and Stahl-Biskup E. *Flavour and Fragrance Journal* **1987**, *2*, 83.
- Xie L, Du H, Hu Z, Zhang T, Zhao S and Wang X. *Pub. No.:* WO 2006/045246, *International Application No.:* PCT/CN2005/001765, **2006**.
- Zdanevich EV and Belodubrovskaya GA. *Rastitel'nye Resursy* **1997**, *33*, 108.
- Zehui P and Watson FM. *Flora of China* **2005**, *14*, 40.
- Zidorn C, Johrer K, Ganzera M, Schubert B, Sigmund EM, Mader J, Greil R, Ernst P and Stuppner EH. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2005**, *53*, 2518.

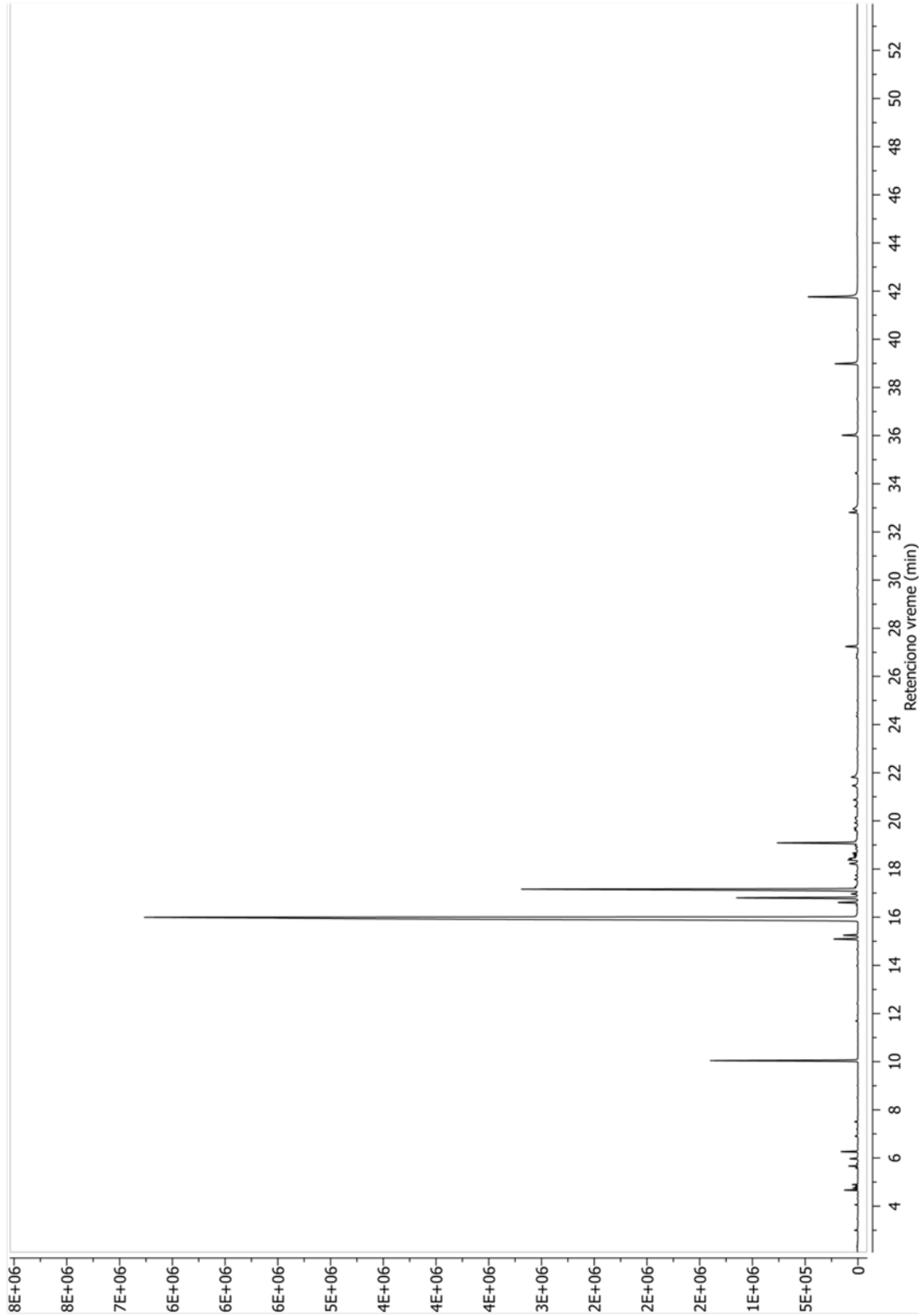
## *9. Prilog*

### 9.1. TIC hromatogrami analiziranih uzoraka

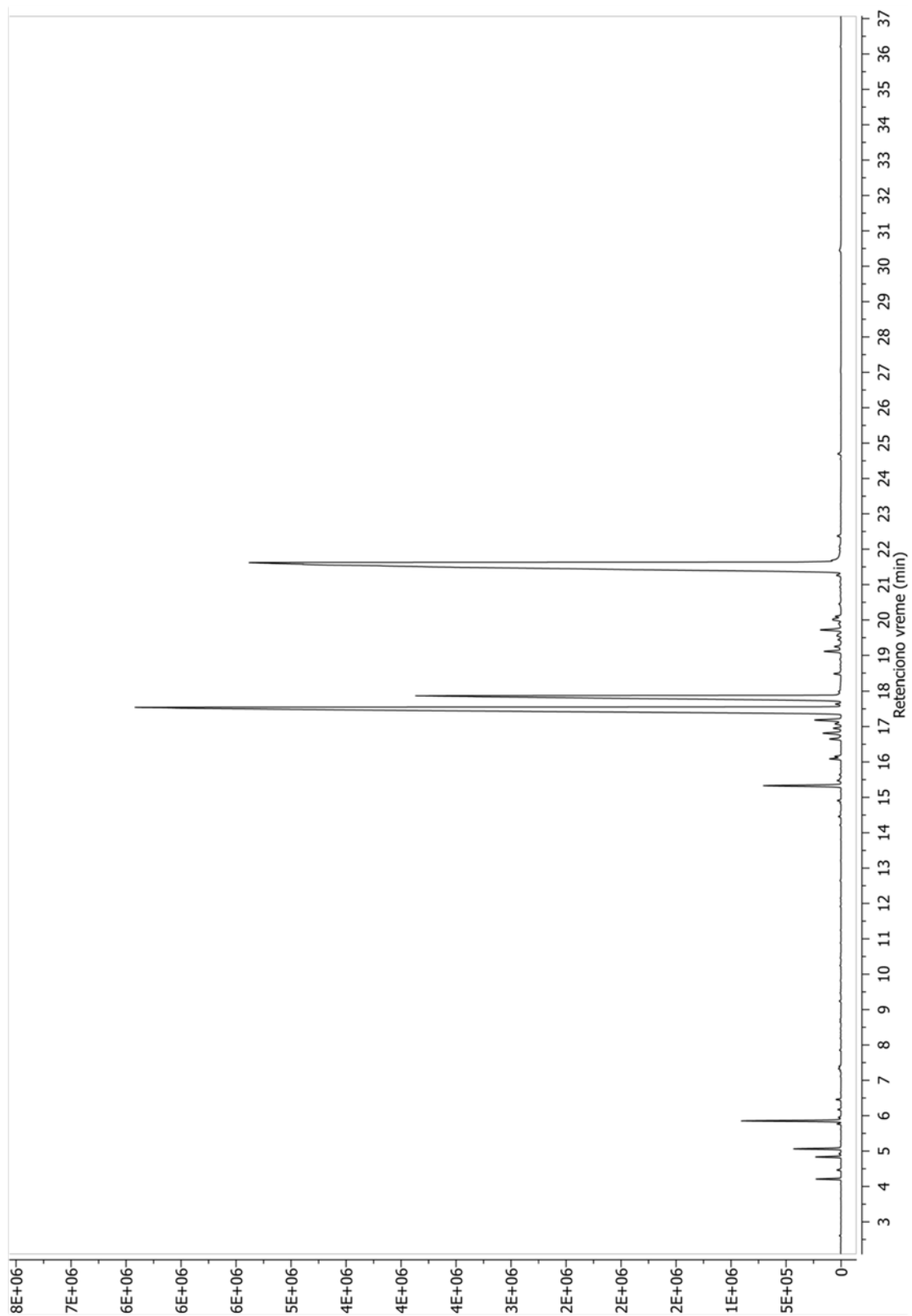
Etarsko ulje nadzemnih delova vrste *Geocaryum cynapioides* (Guss.) L. Engstrand (uzorak GCy1)

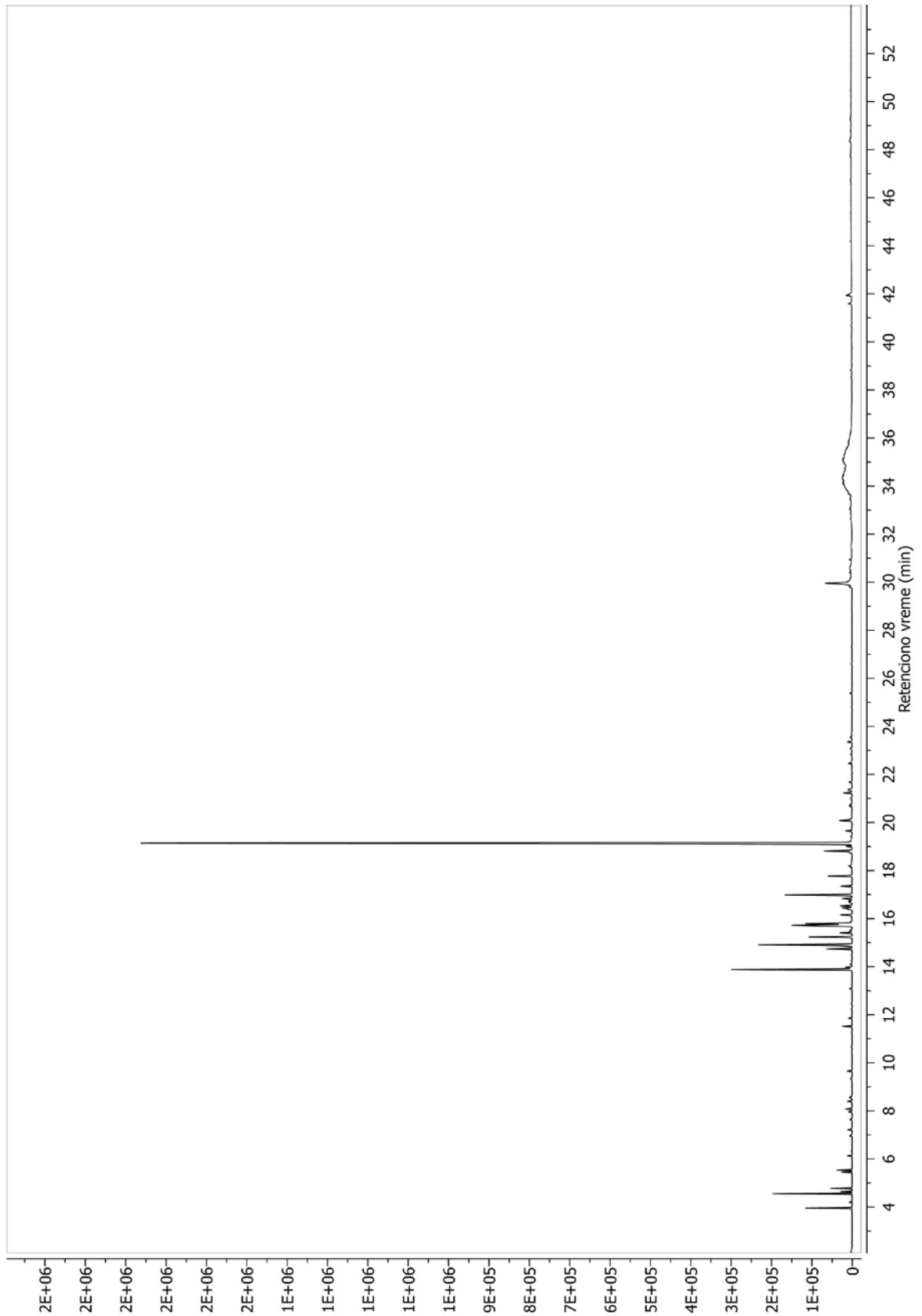


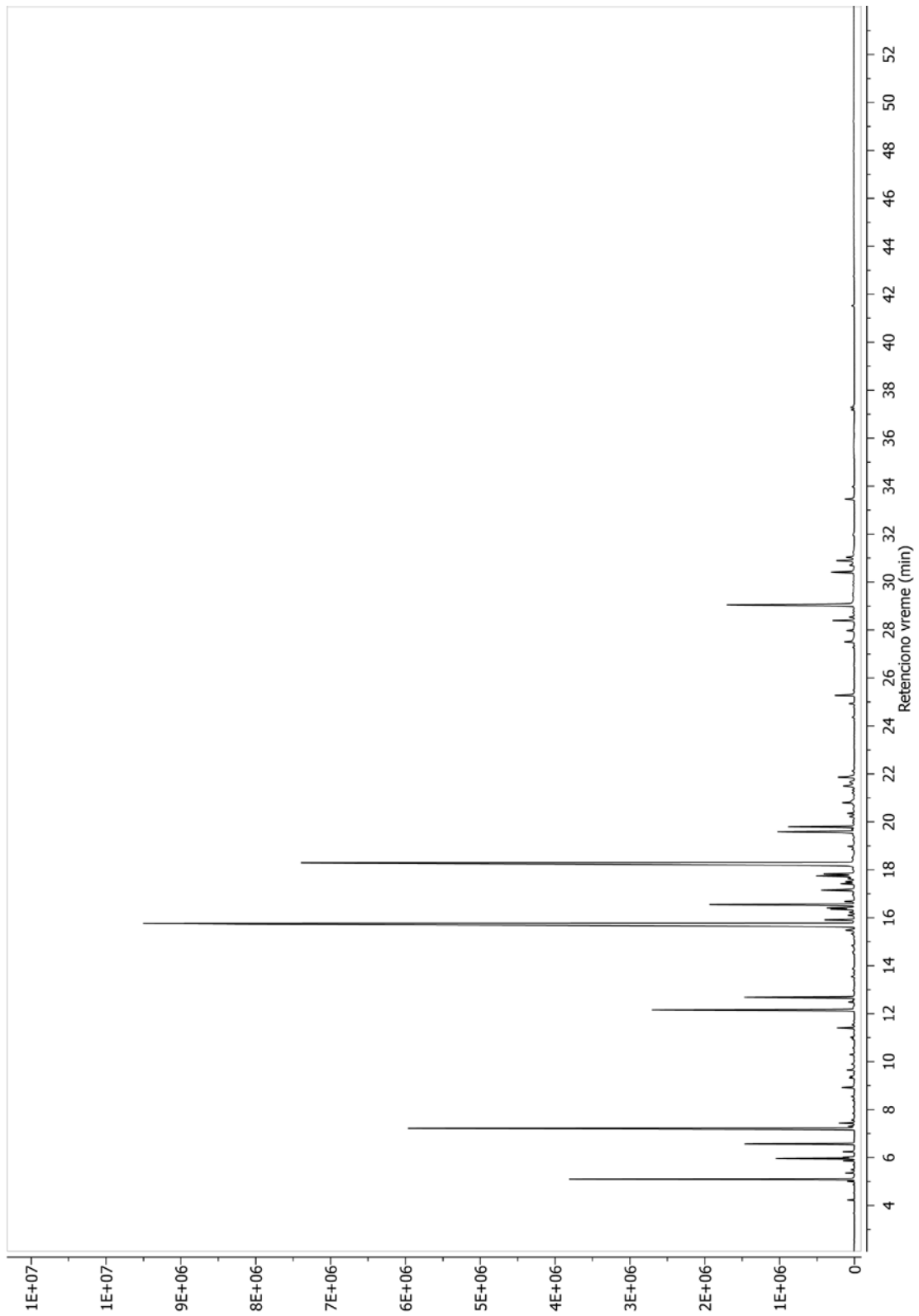
Etarsko ulje nadzemnih delova vrste *Geocaryum cynapioides* (Guss.) L. Engstrand (uzorak GCy2)

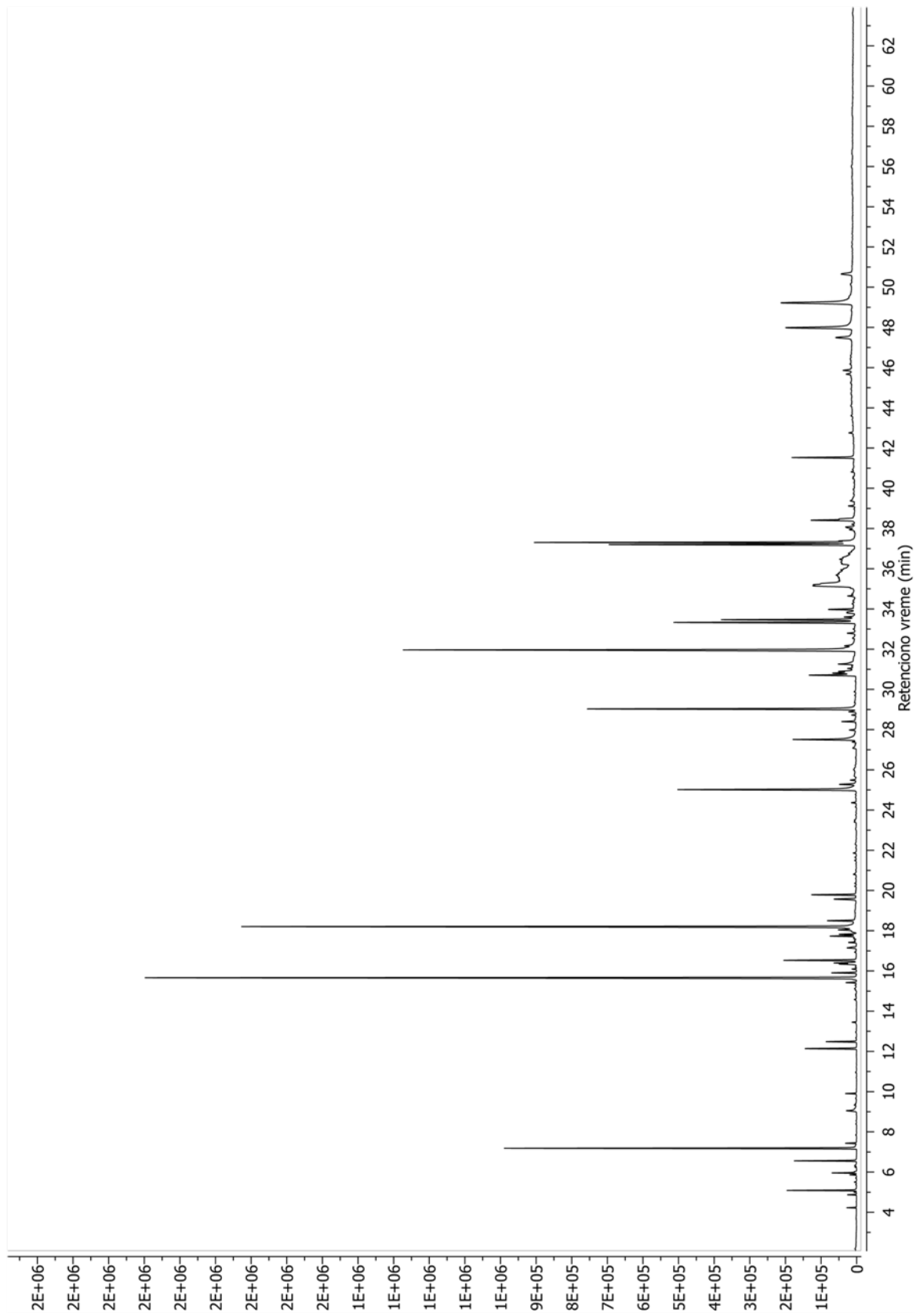


Etarsko ulje nadzemnih delova vrste *Daucus guttatus* Sibth. & Sm. ssp. *zahariadii*  
Heywood (uzorak A)

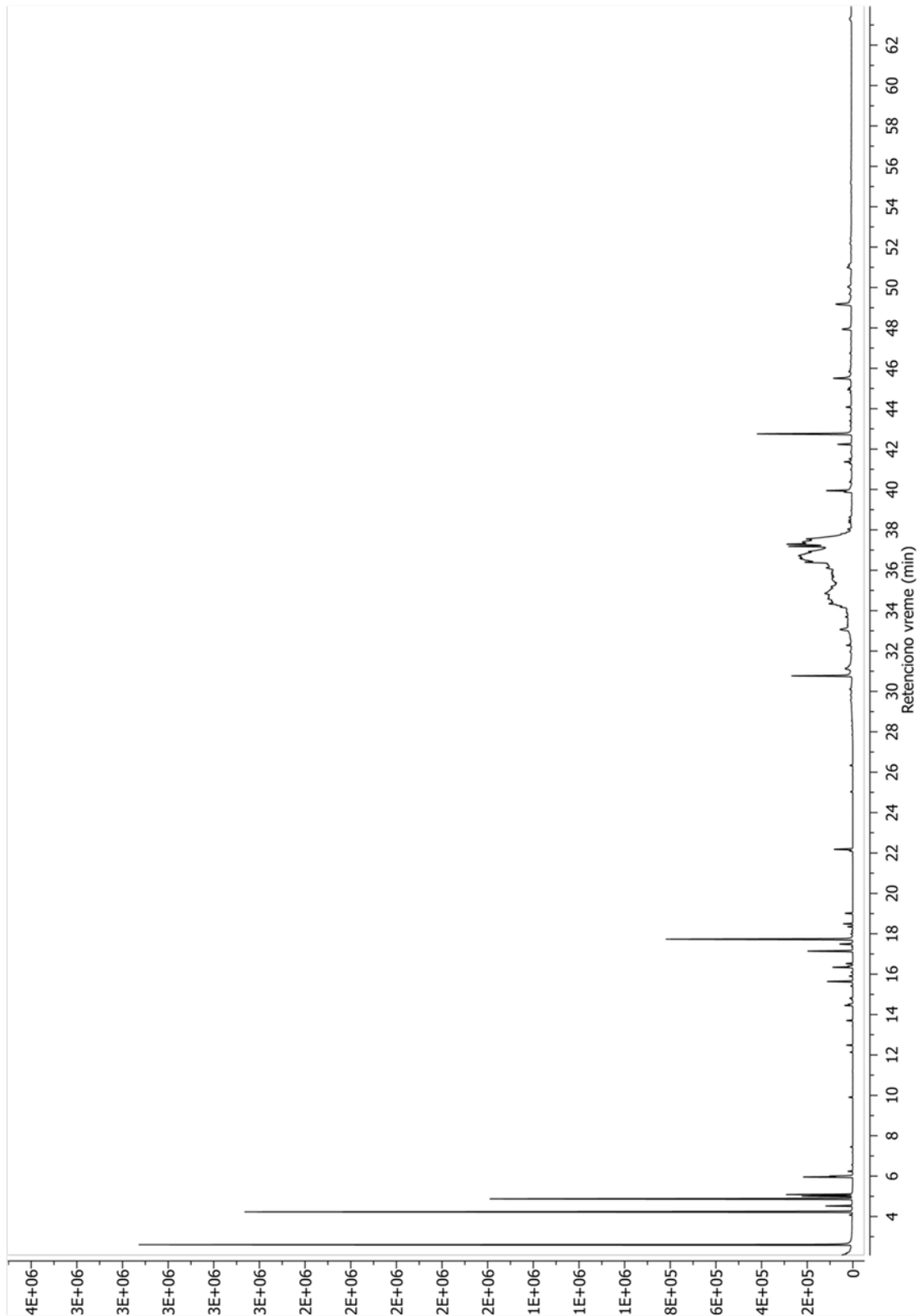


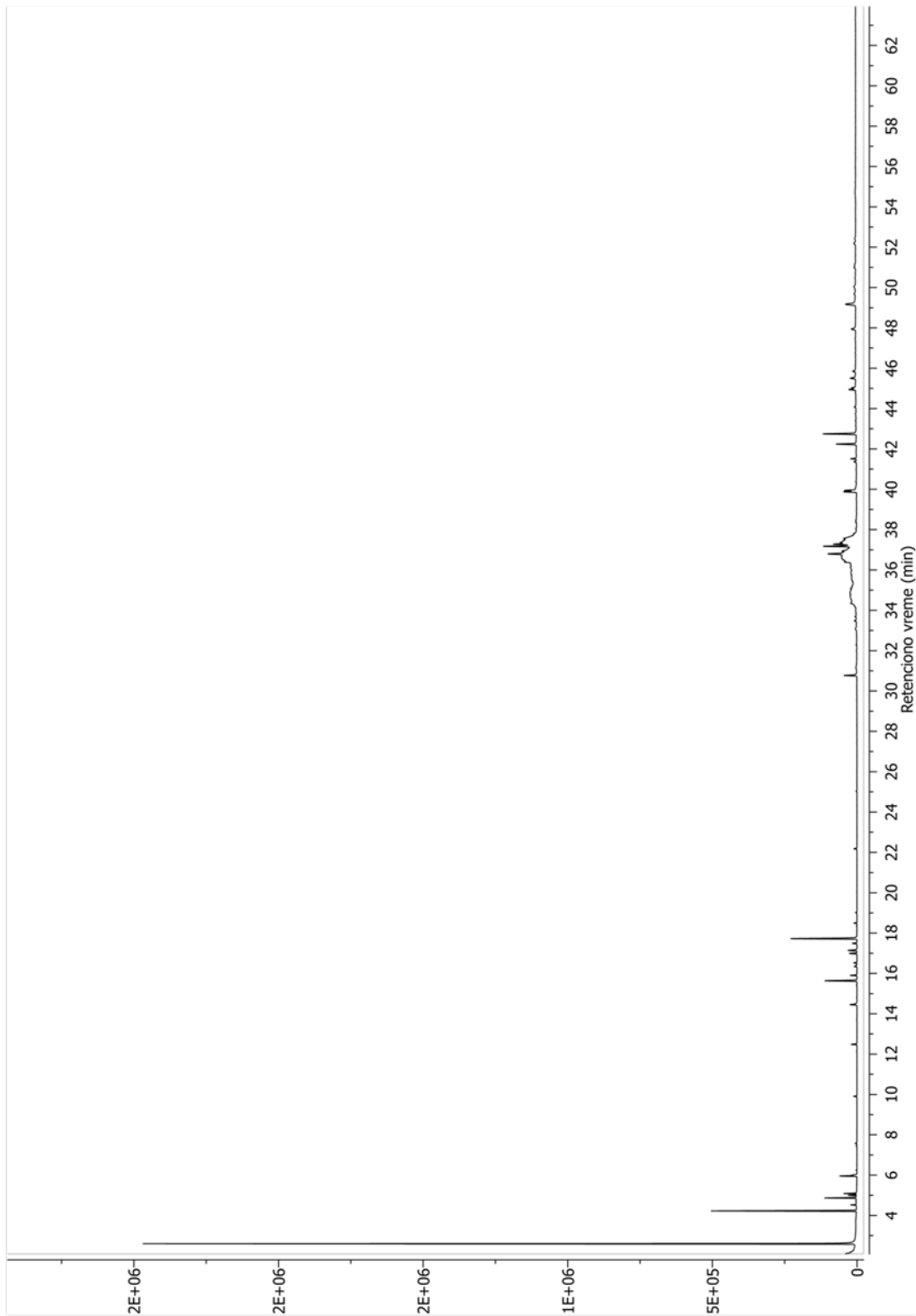
Ekstrakt šizokarpa vrste *Daucus carota* ssp. *carota* L. (uzorak B)

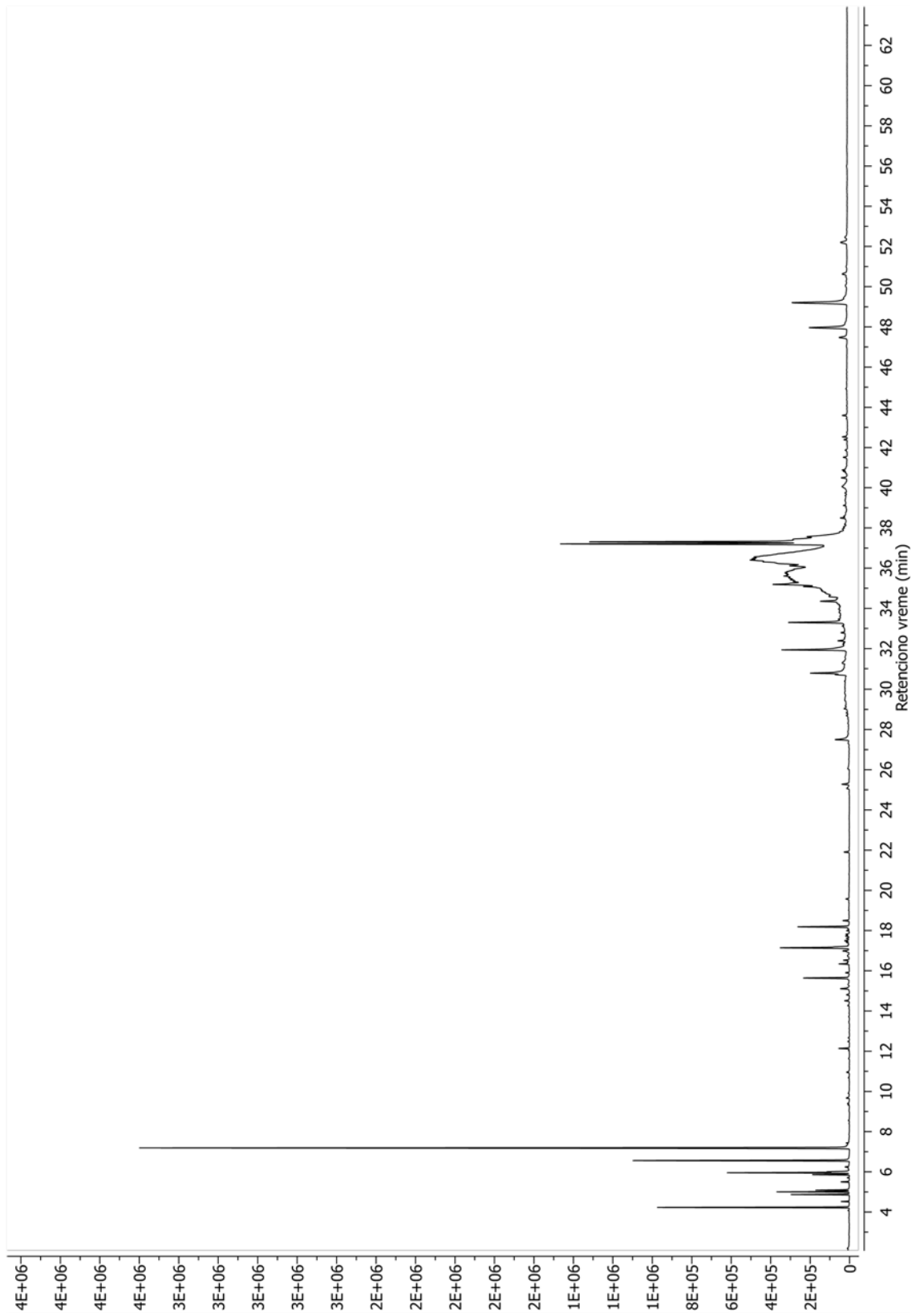
Etarsko ulje korena vrste *Daucus carota* ssp. *carota* L. (uzorak C)

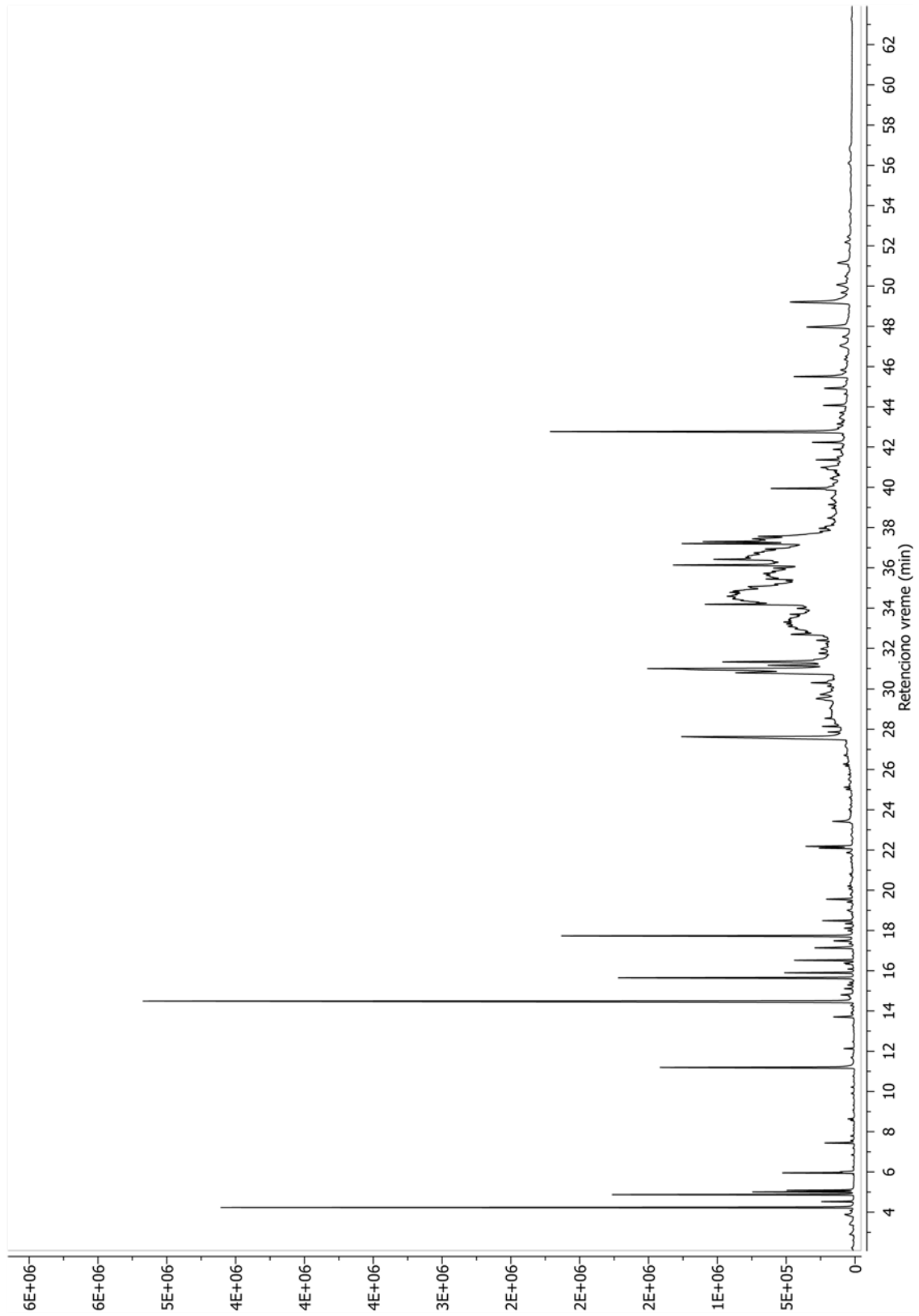
Ekstrakt korena vrste *Daucus carota* ssp. *carota* L. (uzorak D)

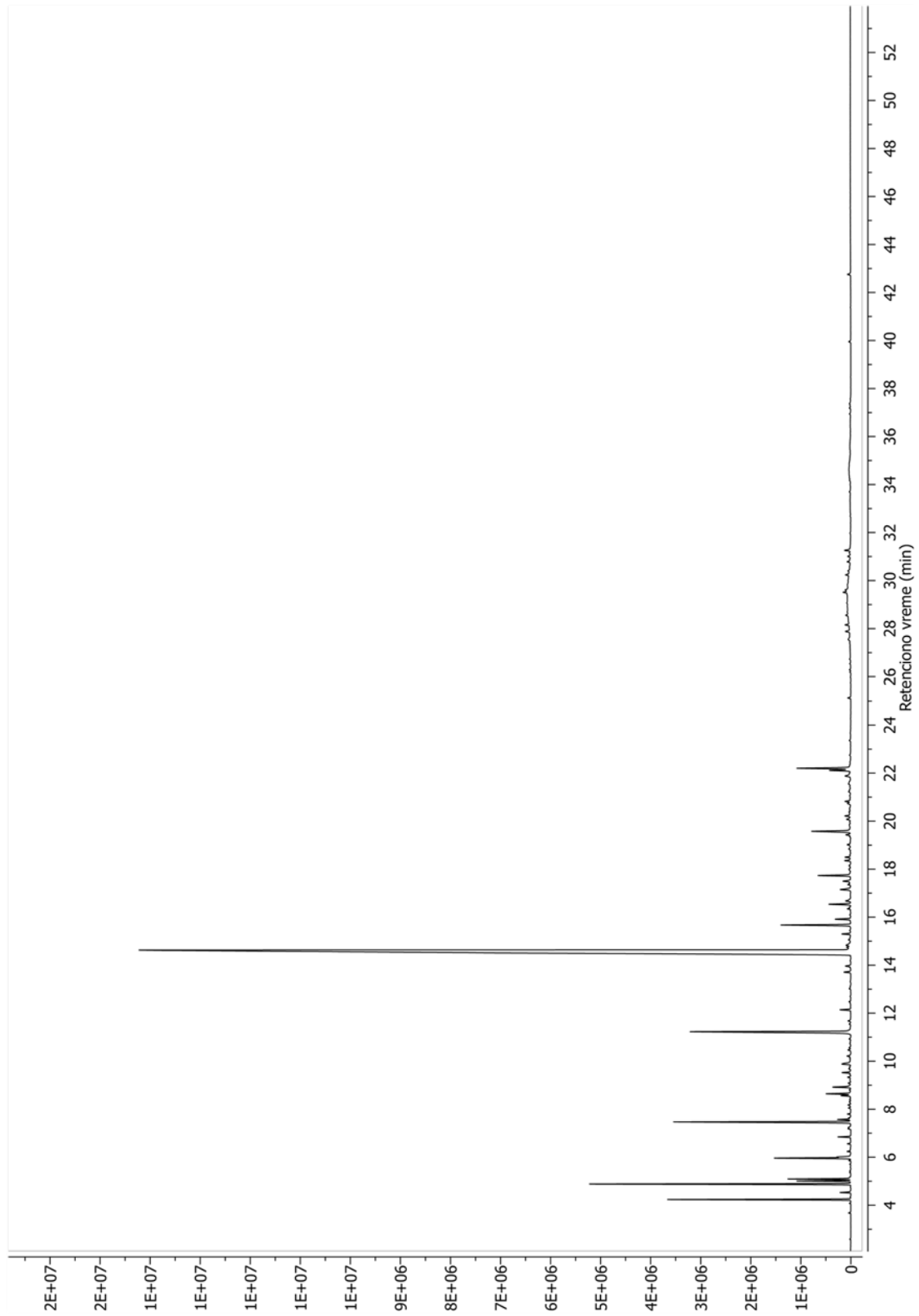


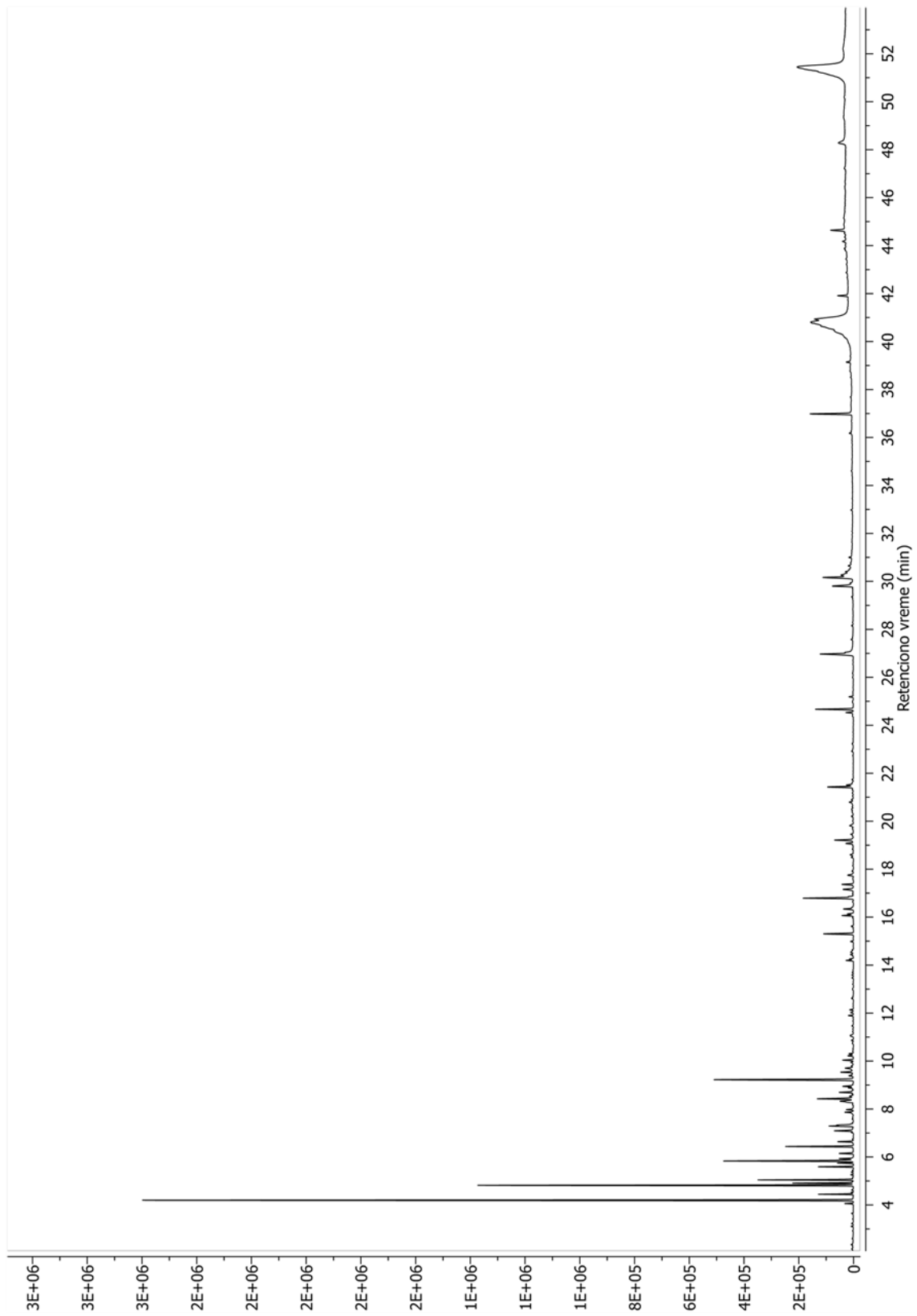
Ekstrakt belog cveta vrste *Daucus carota* ssp. *sativus* L. (uzorak E)

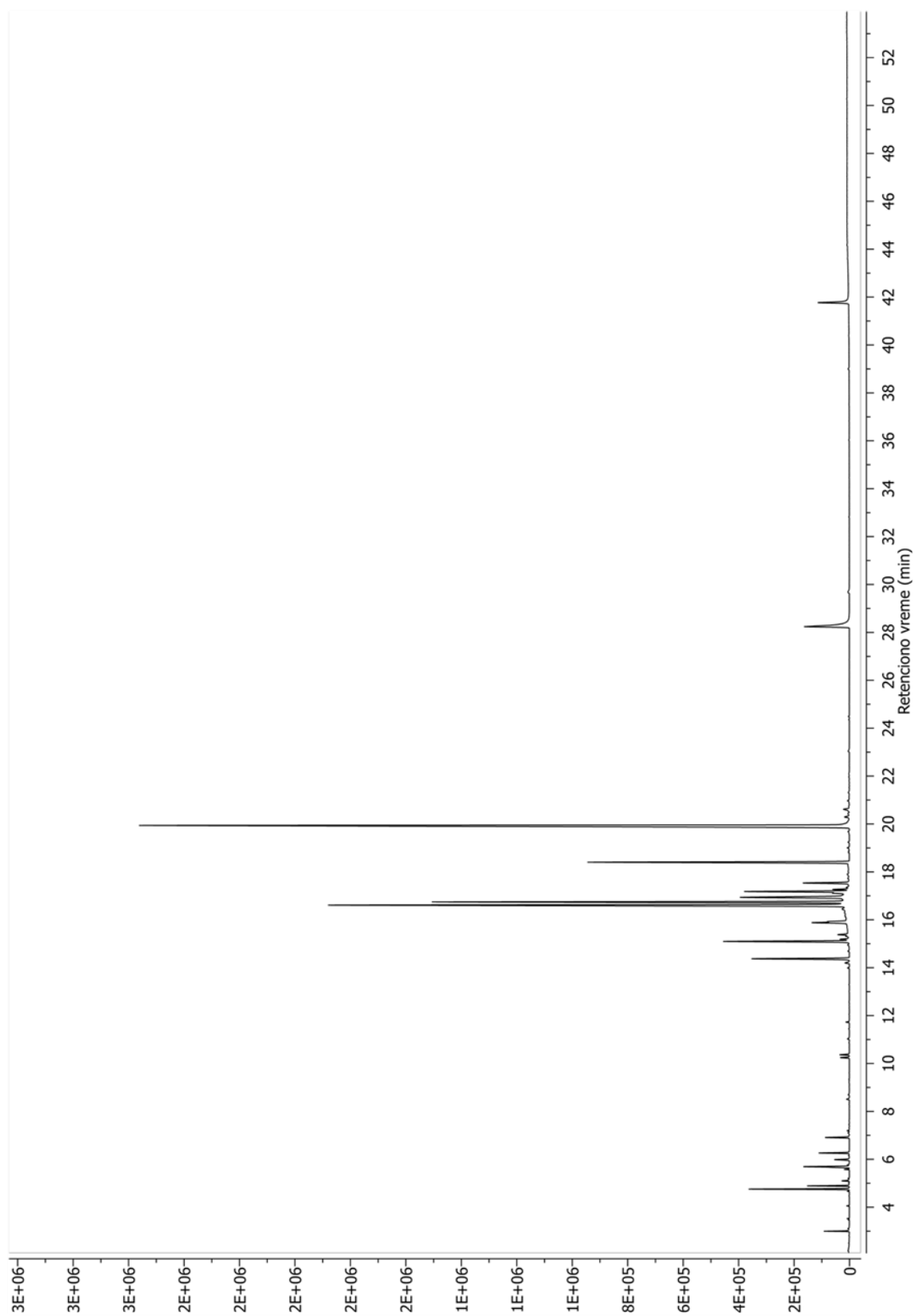
Ekstrakt crnog cveta vrste *Daucus carota* ssp. *sativus* L. (uzorak F)

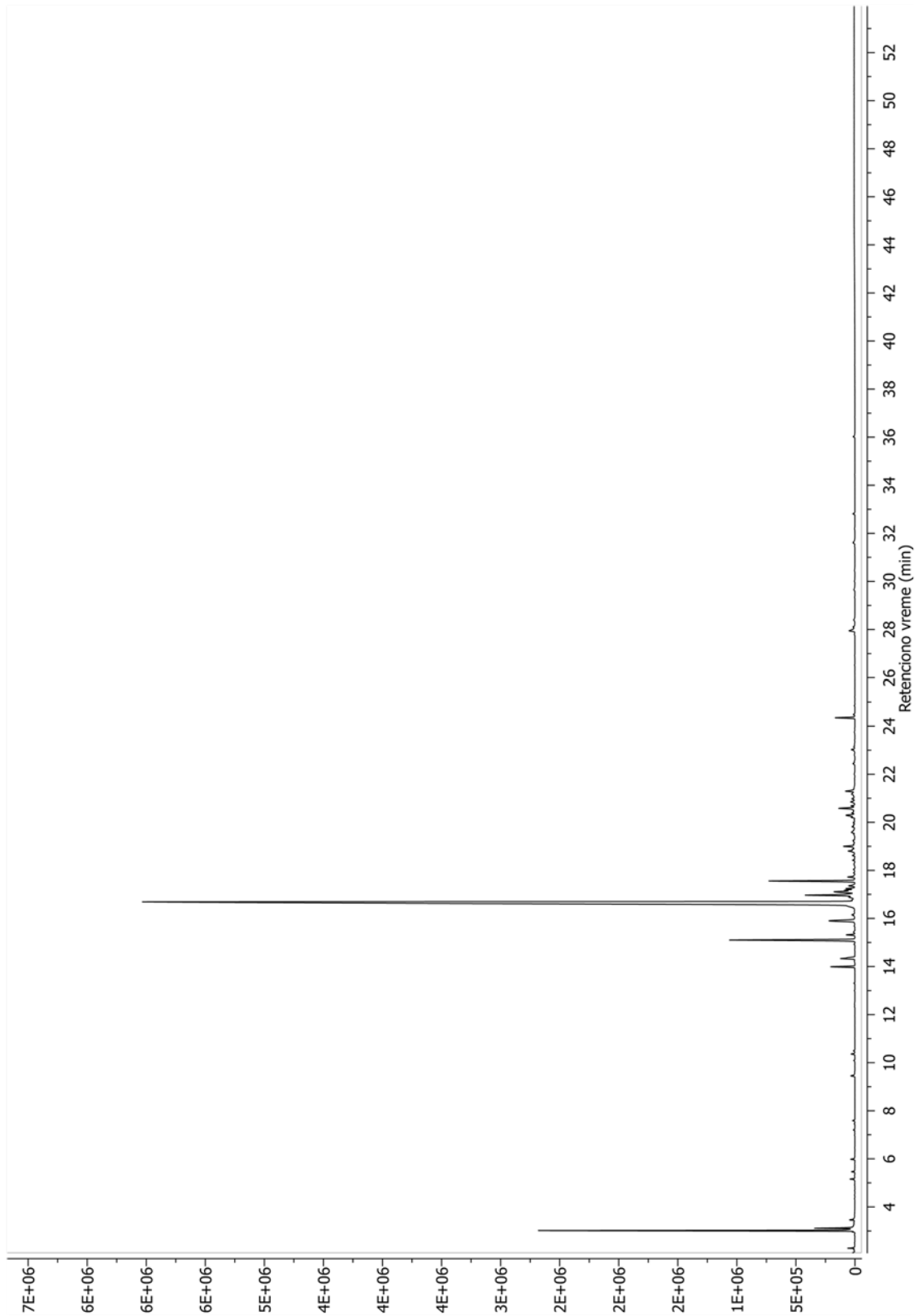
Ekstrakt korena vrste *Daucus carota* ssp. *sativus* L. (uzorak G)

Ekstrakt šizokarpa vrste *Daucus carota* ssp. *sativus* L. (uzorak H)

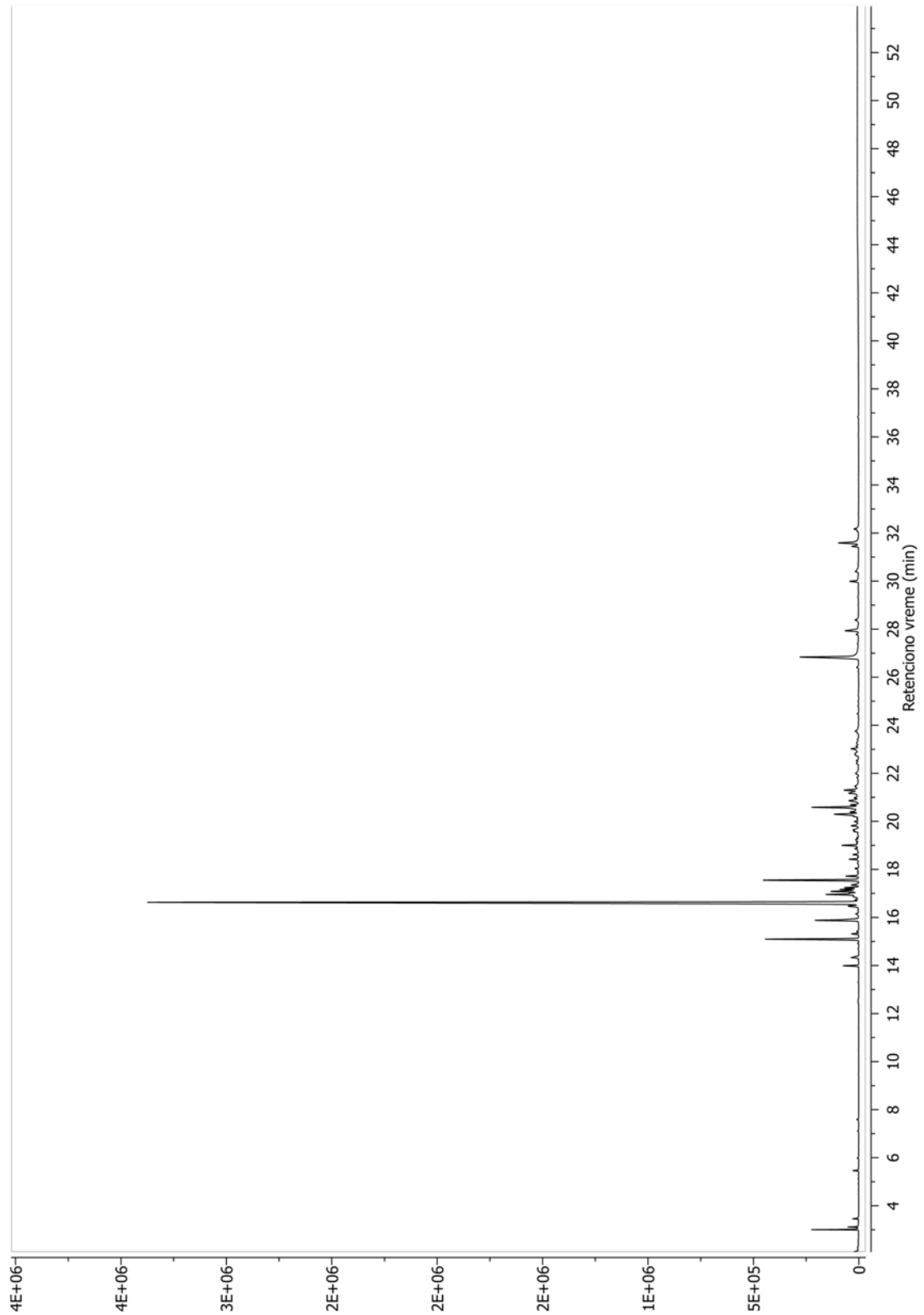
Etarsko ulje šizokarpa vrste *Daucus carota* ssp. *sativus* L. (uzorak I)

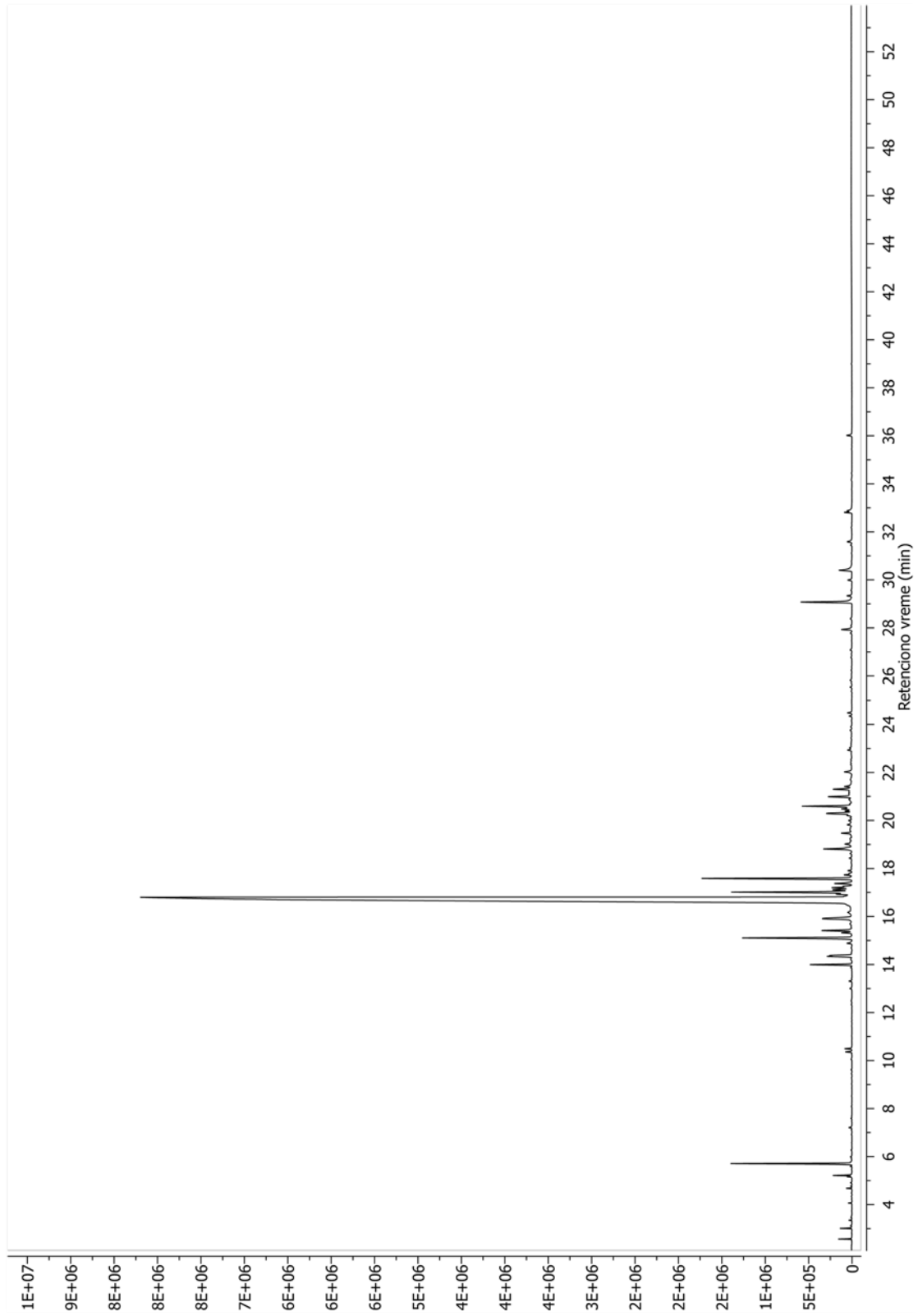
Etarsko ulje nadzemnih delova vrste *Daucus carota* ssp. *sativus* L. (uzorak J)

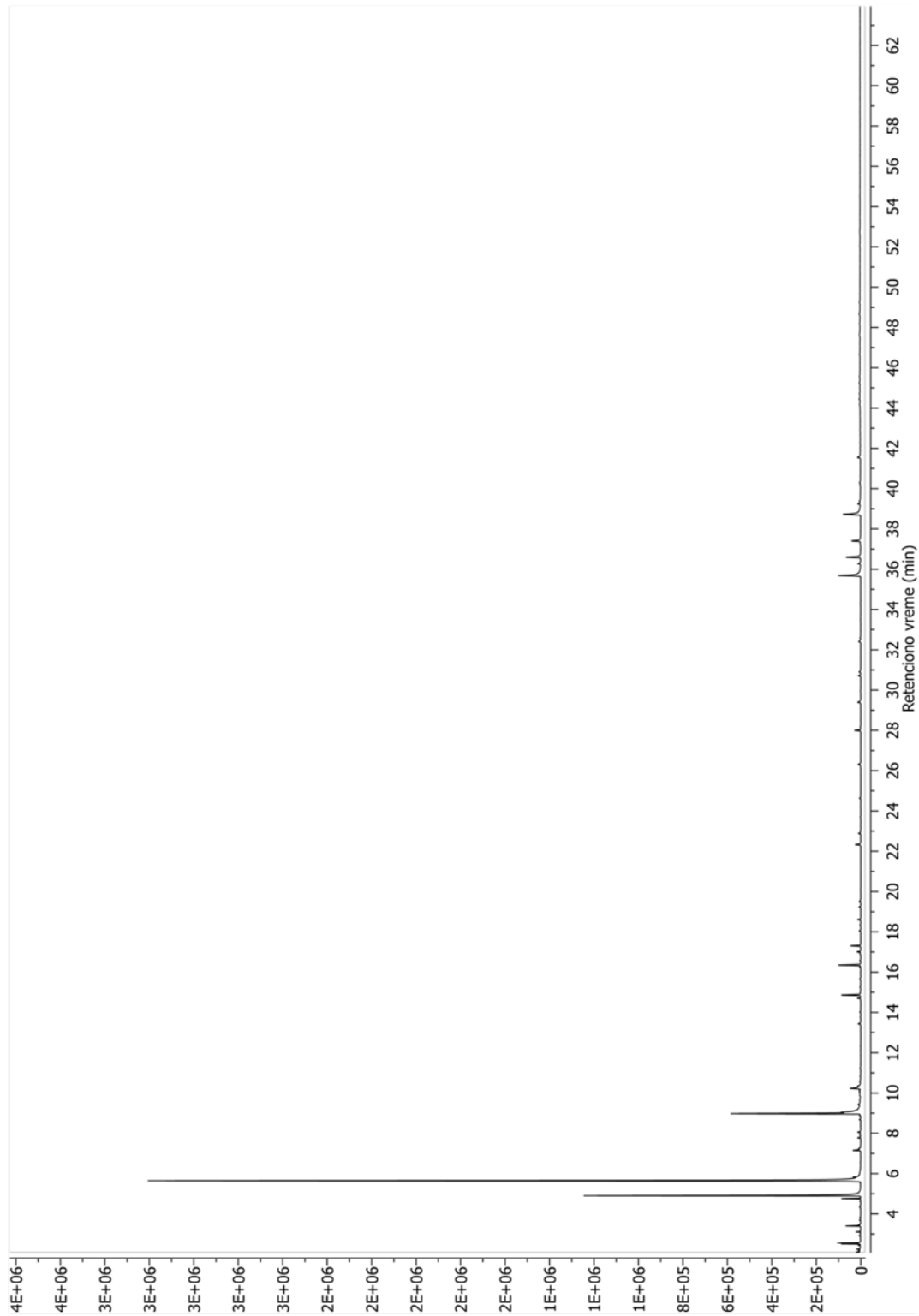
Etarsko ulje listova vrste *Carum graecum* Boiss. & Heldr. (uzorak Cg)

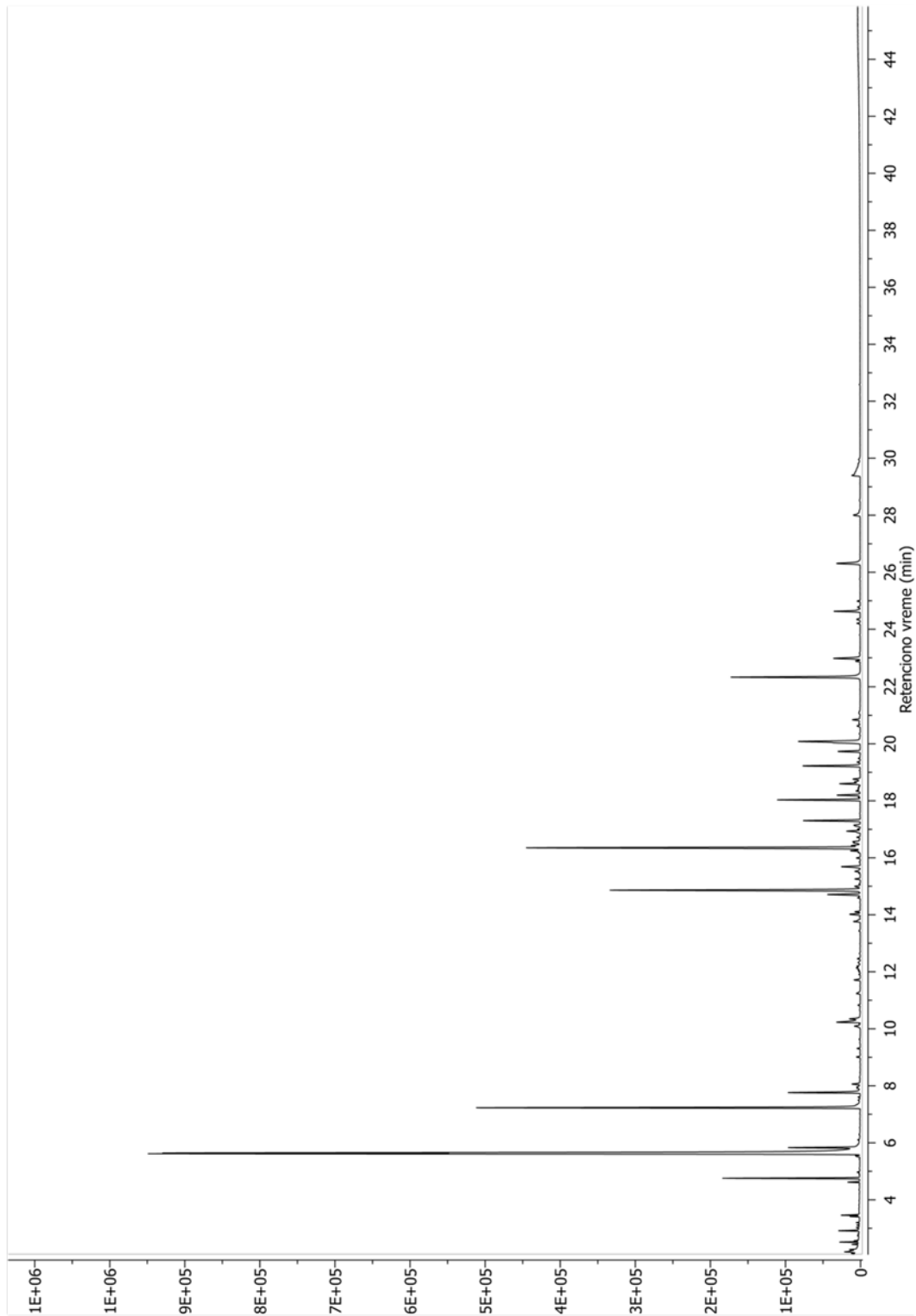
Etarsko ulje listova vrste *Pleurospermum austriacum* (L.) Hoffm. (uzorak Pau-I)

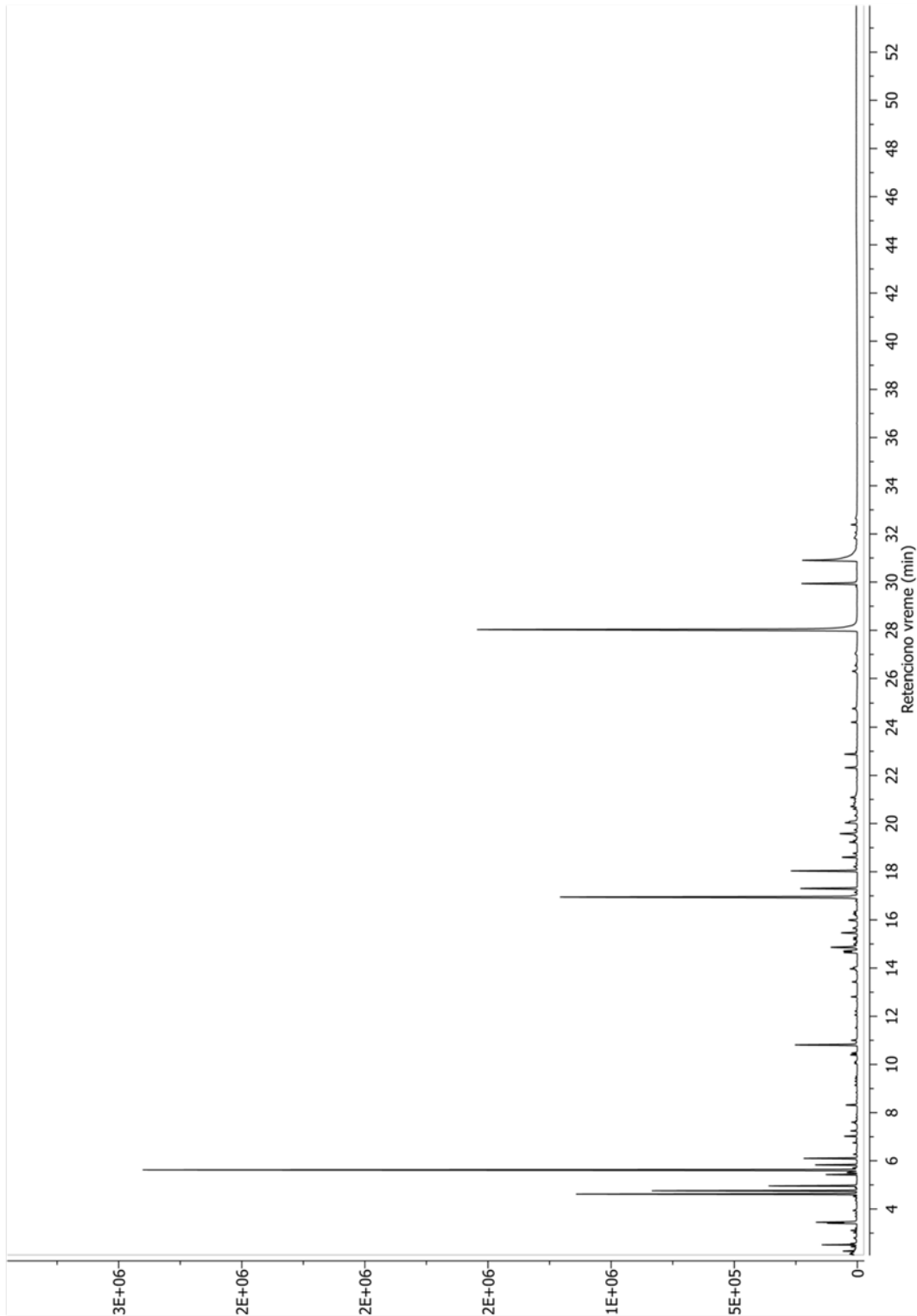


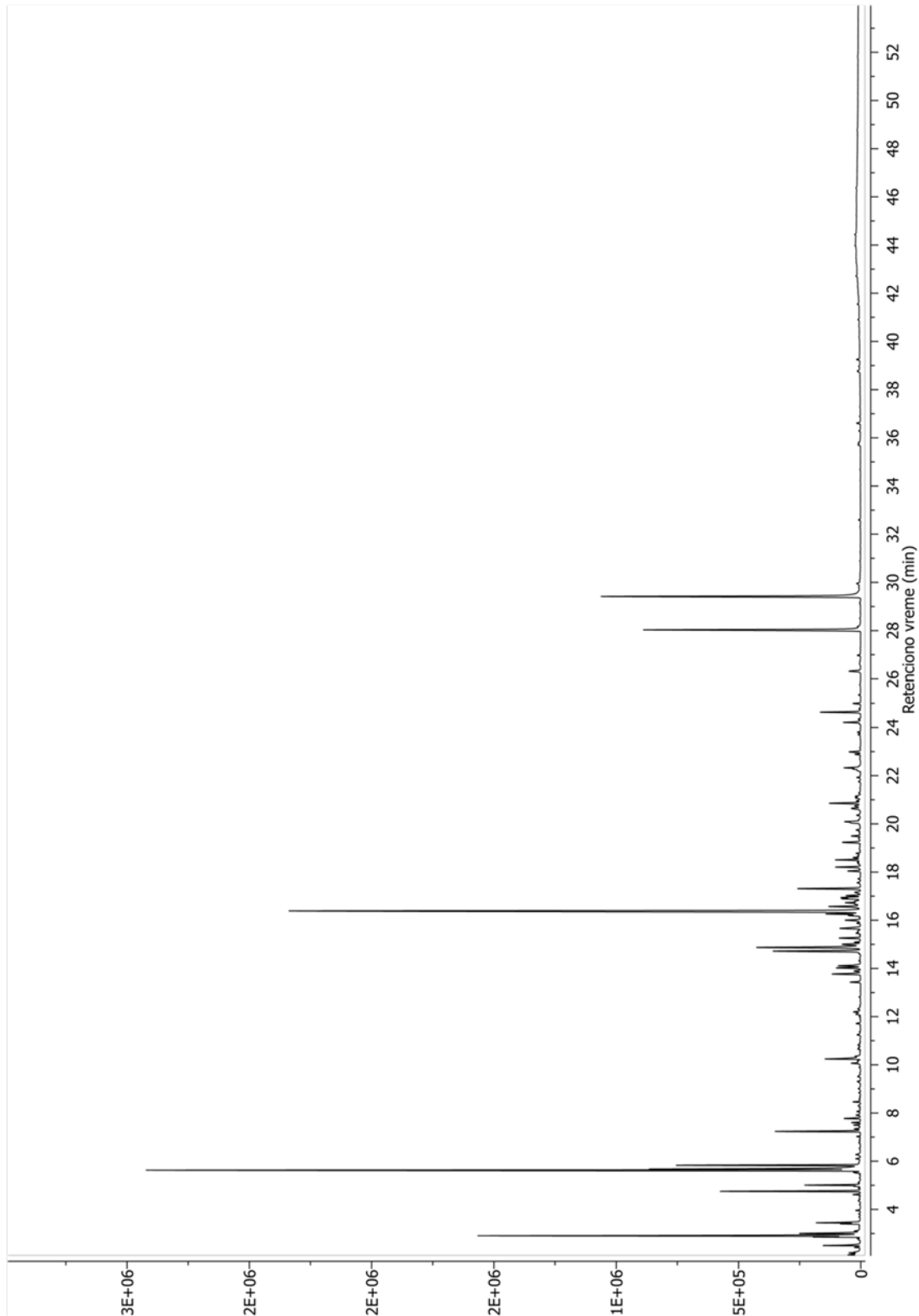
Etarsko ulje stabljike vrste *Pleurospermum austriacum* (L.) Hoffm. (uzorak Pau-s)

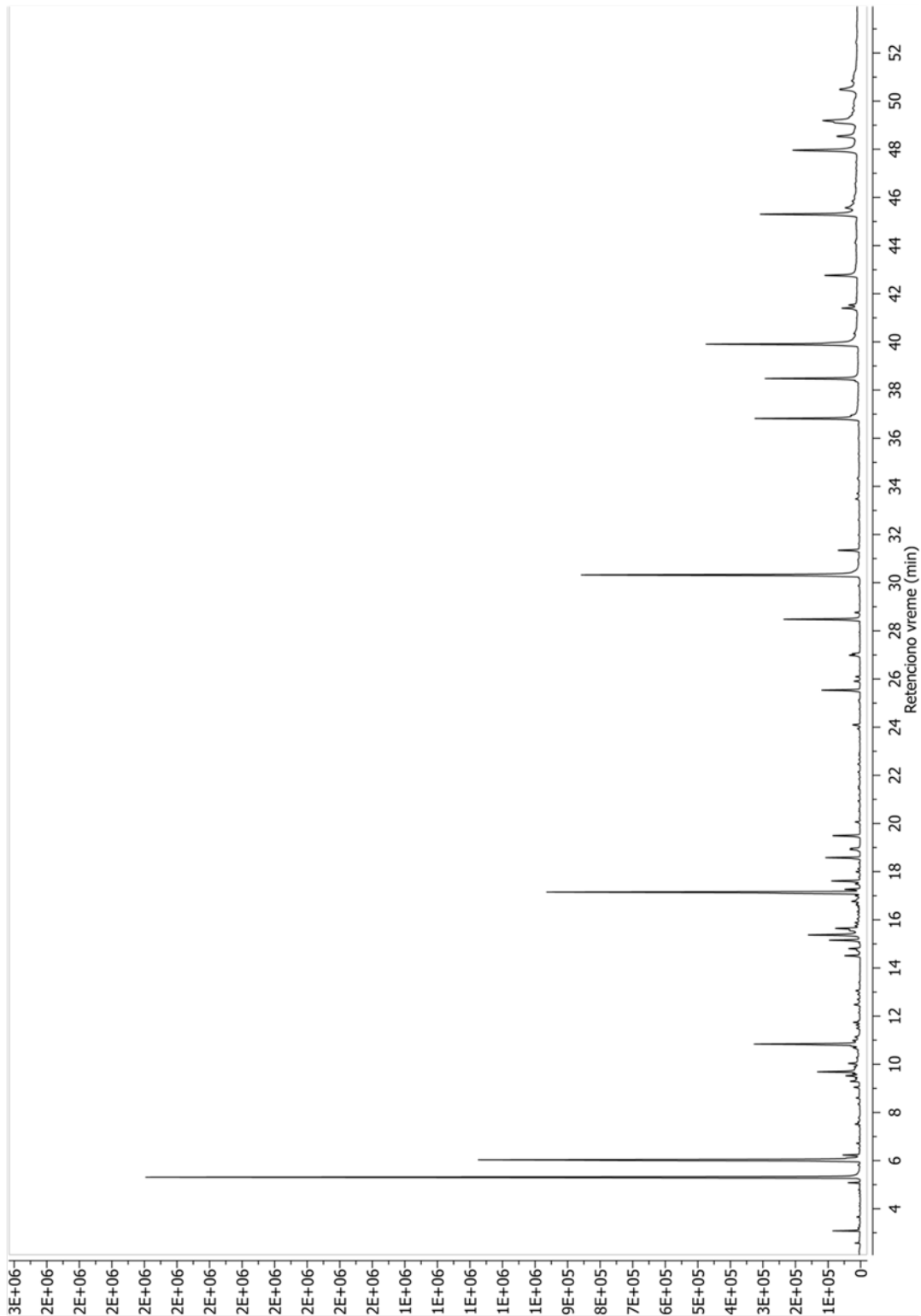
Etarsko ulje šizokarpa vrste *Pleurospermum austriacum* (L.) Hoffm. (uzorak Pau-š)

Ekstrakt nadzemnih delova vrste *Conium maculatum* L. (uzorak C1E)

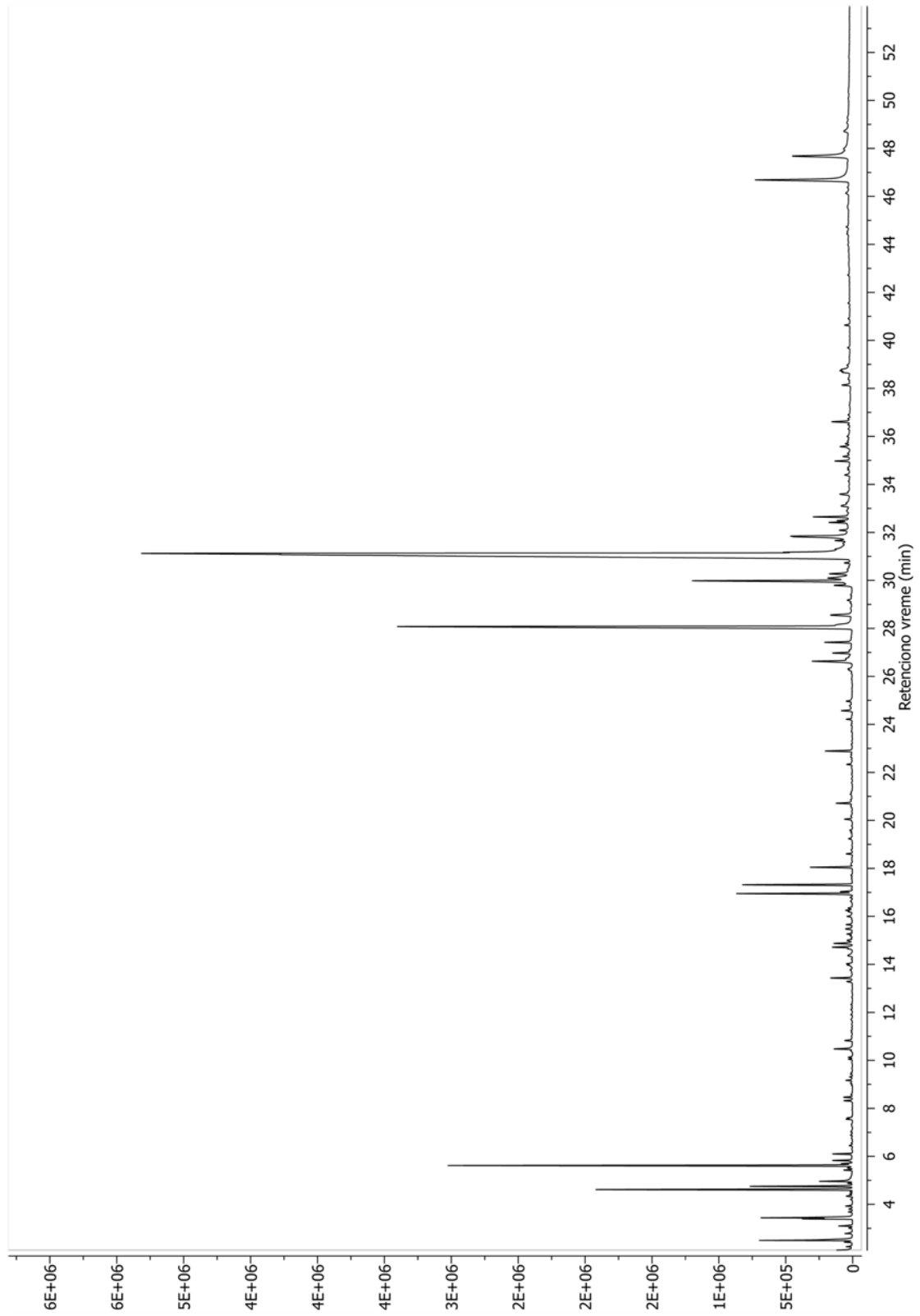
Etarsko ulje nadzemnih delova vrste *Conium maculatum* L. (uzorak C1D)

Ekstrakt korena vrste *Conium maculatum* L. (uzorak C1Ek)

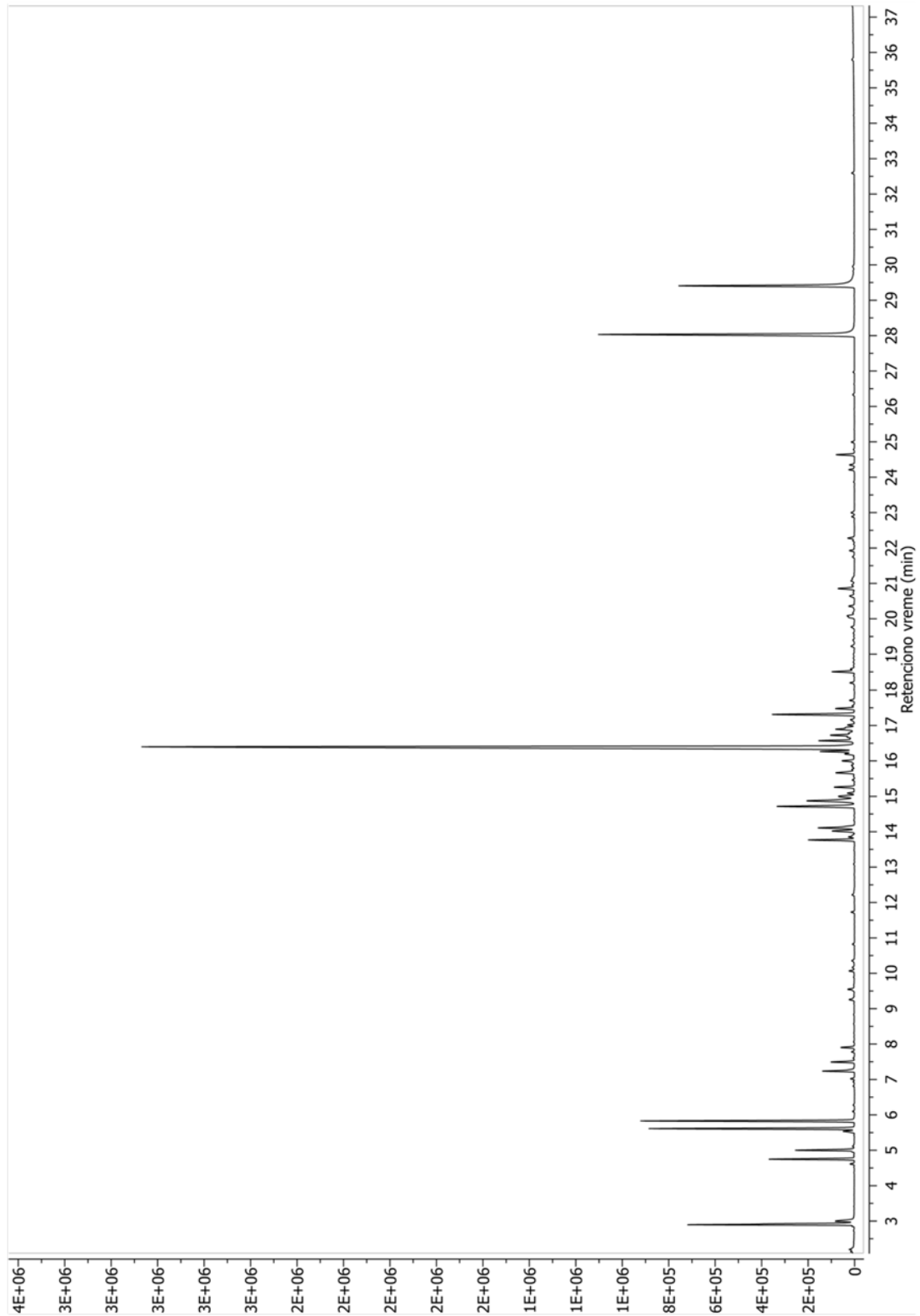
Etarsko ulje nadzemnih delova vrste *Conium maculatum* L. (uzorak C2D)

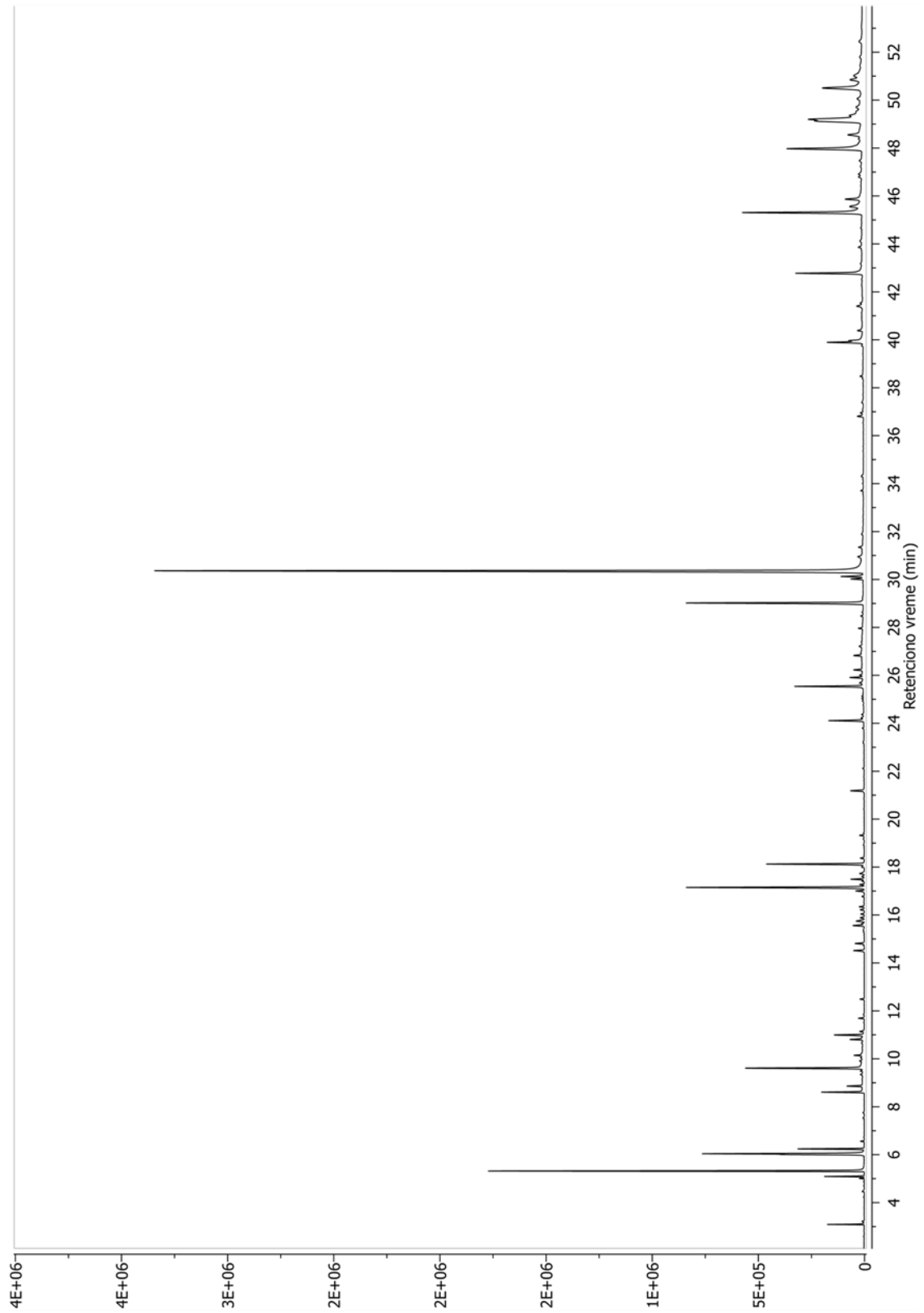
Ekstrakt nadzemnih delova vrste *Conium maculatum* L. (uzorak C2E)

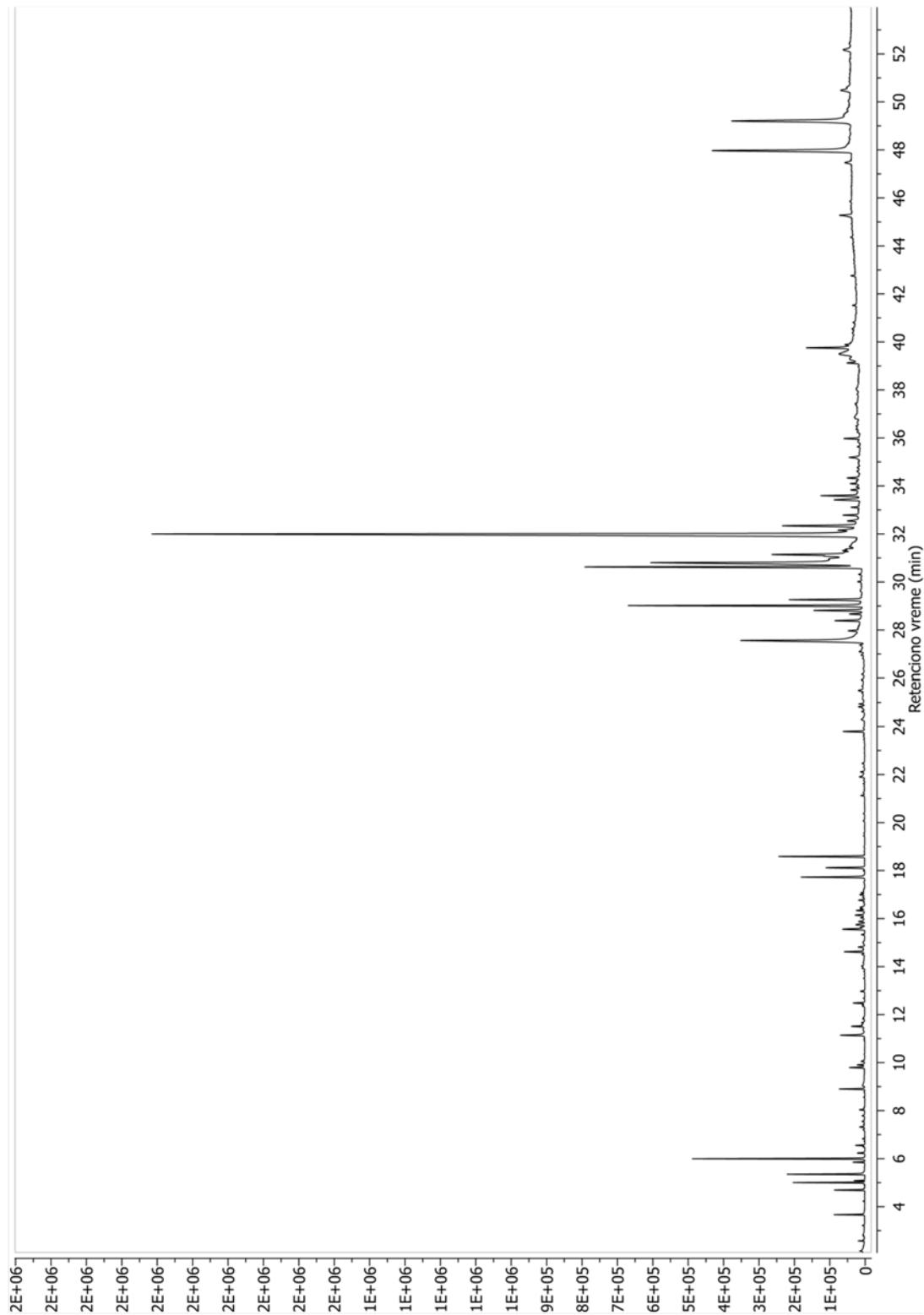
Ekstrakt korena vrste *Conium maculatum* L. (uzorak C2Ek)

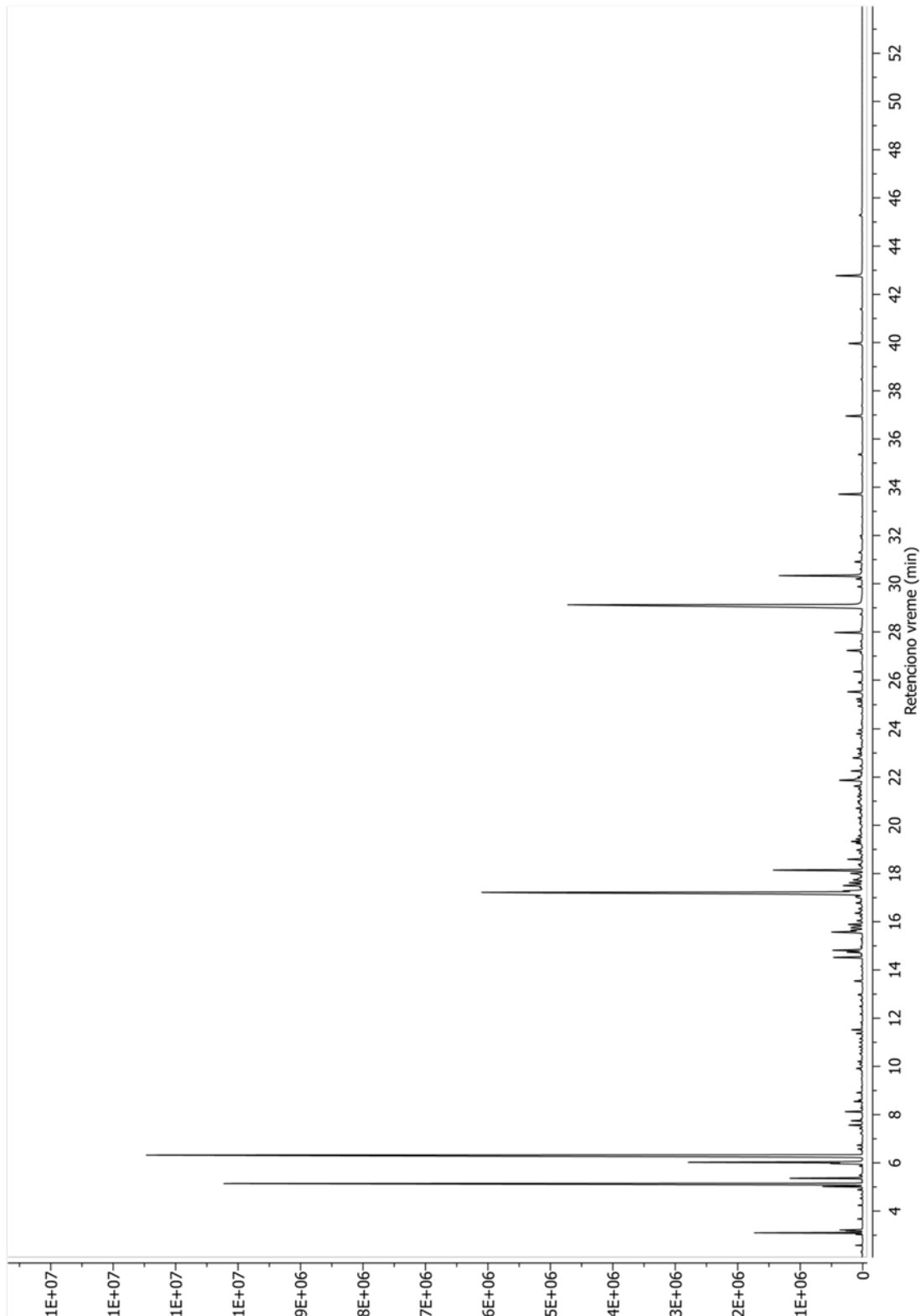


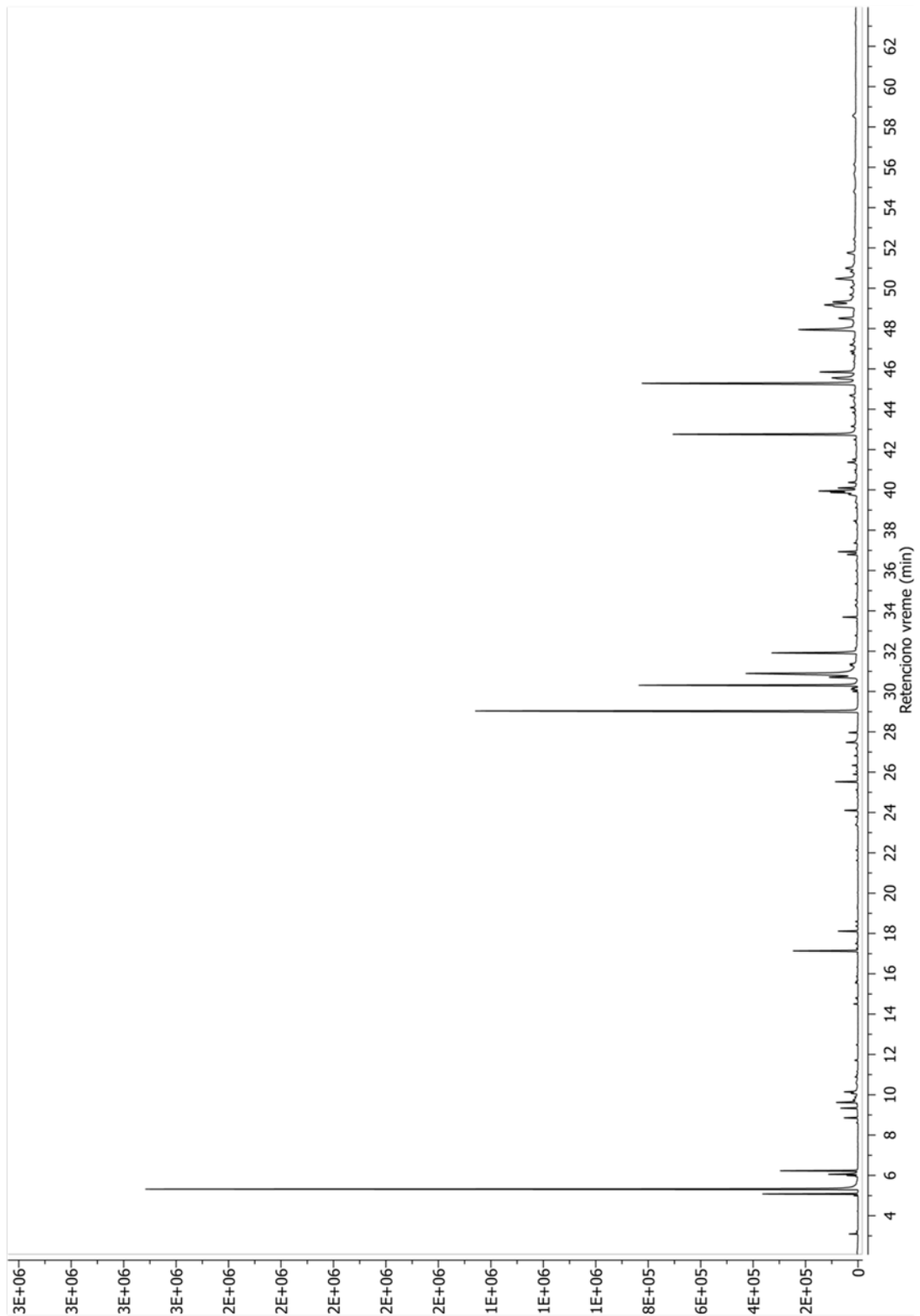


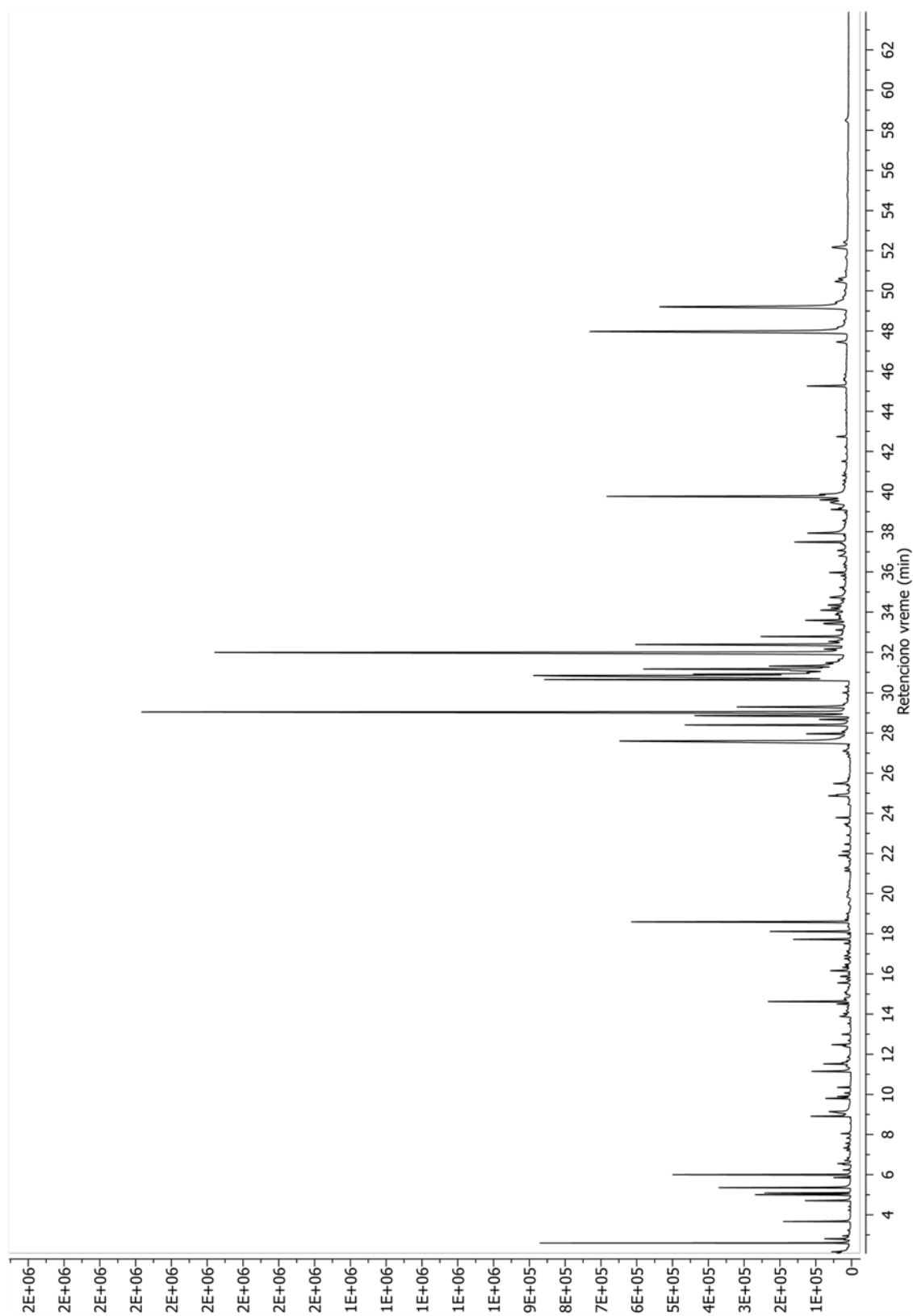
Etarsko ulje nadzemnih delova vrste *Conium maculatum* L. (uzorak C3D)

Ekstrakt nadzemnih delova vrste *Conium maculatum* L. (uzorak C3E)

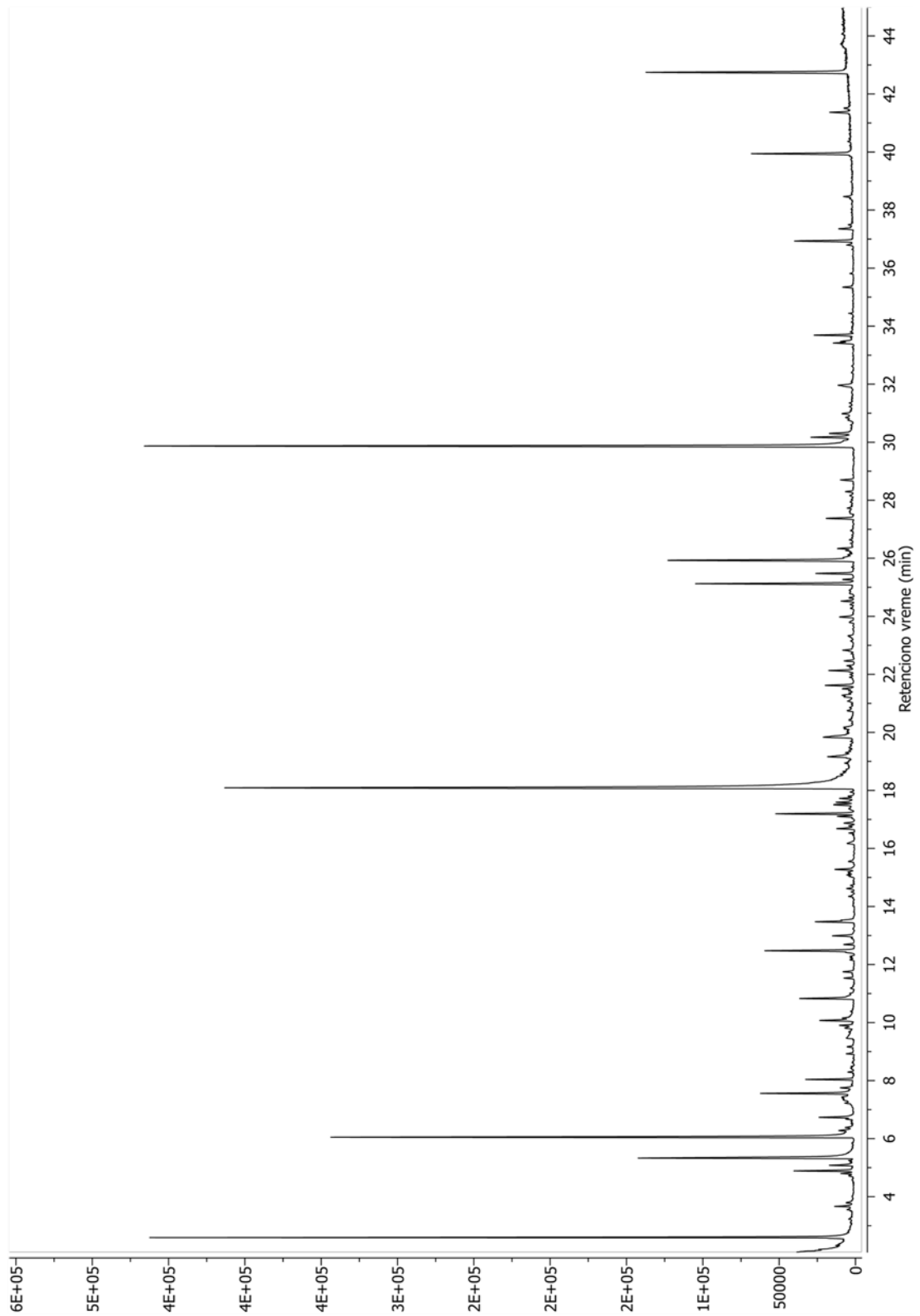
Ekstrakt korena vrste *Conium maculatum* L. (uzorak C3Ek)

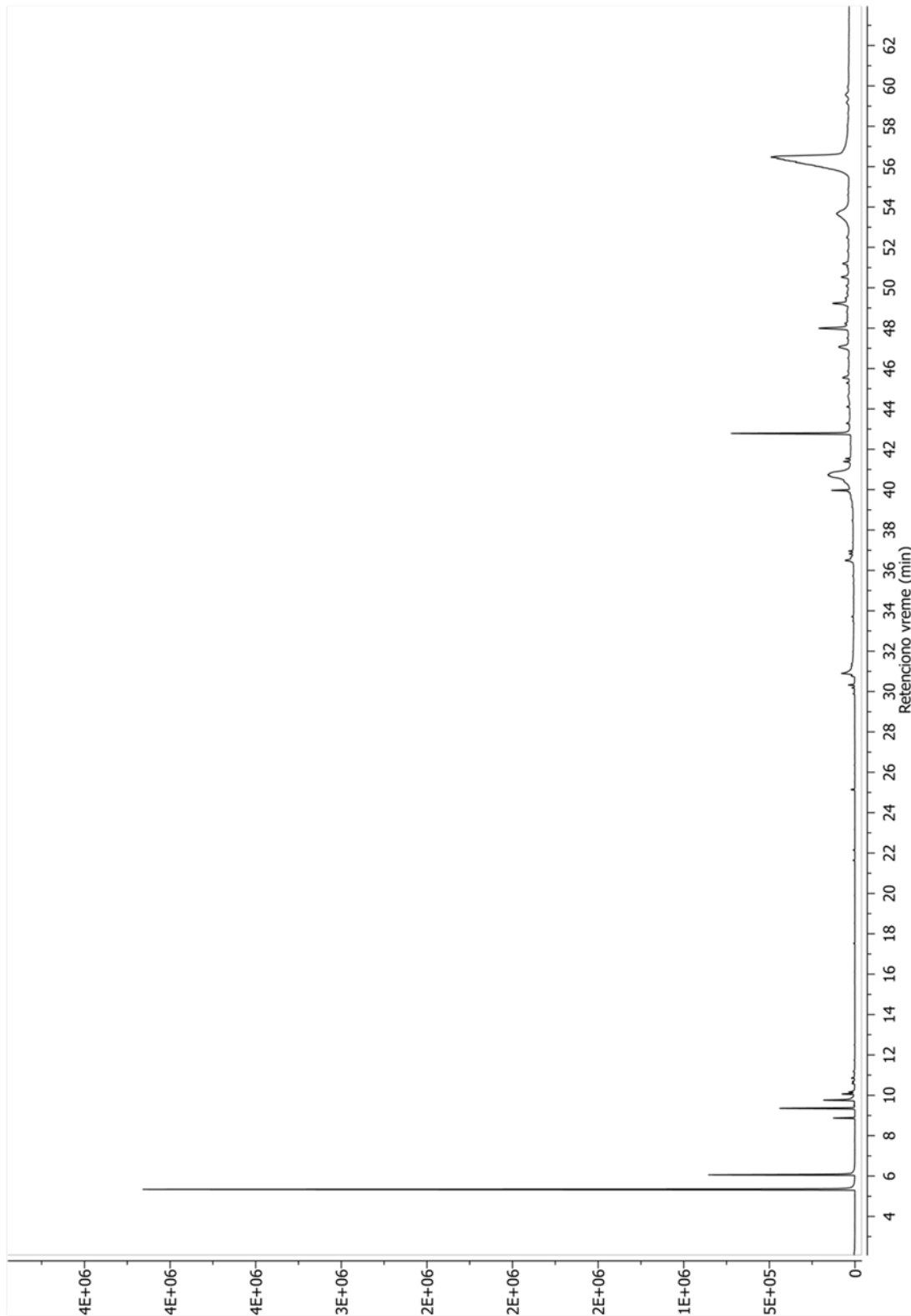
Etarsko ulje vrste *Conium maculatum* L. (uzorak C4D)

Ekstrakt nadzemnih delova vrste *Conium maculatum* L. (uzorak C4E)

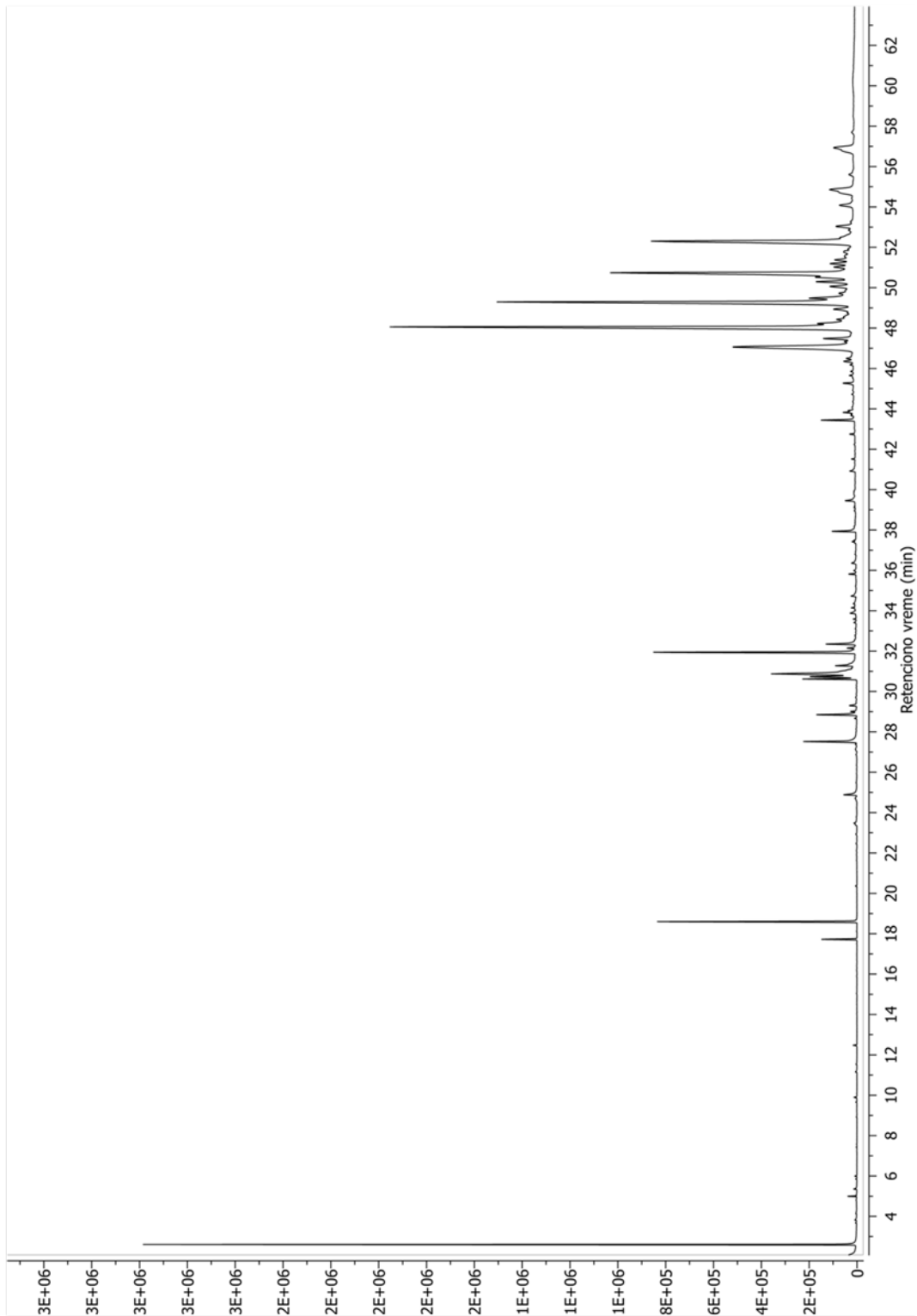
Ekstrakt korena vrste *Conium maculatum* L. (uzorak C4Ek)

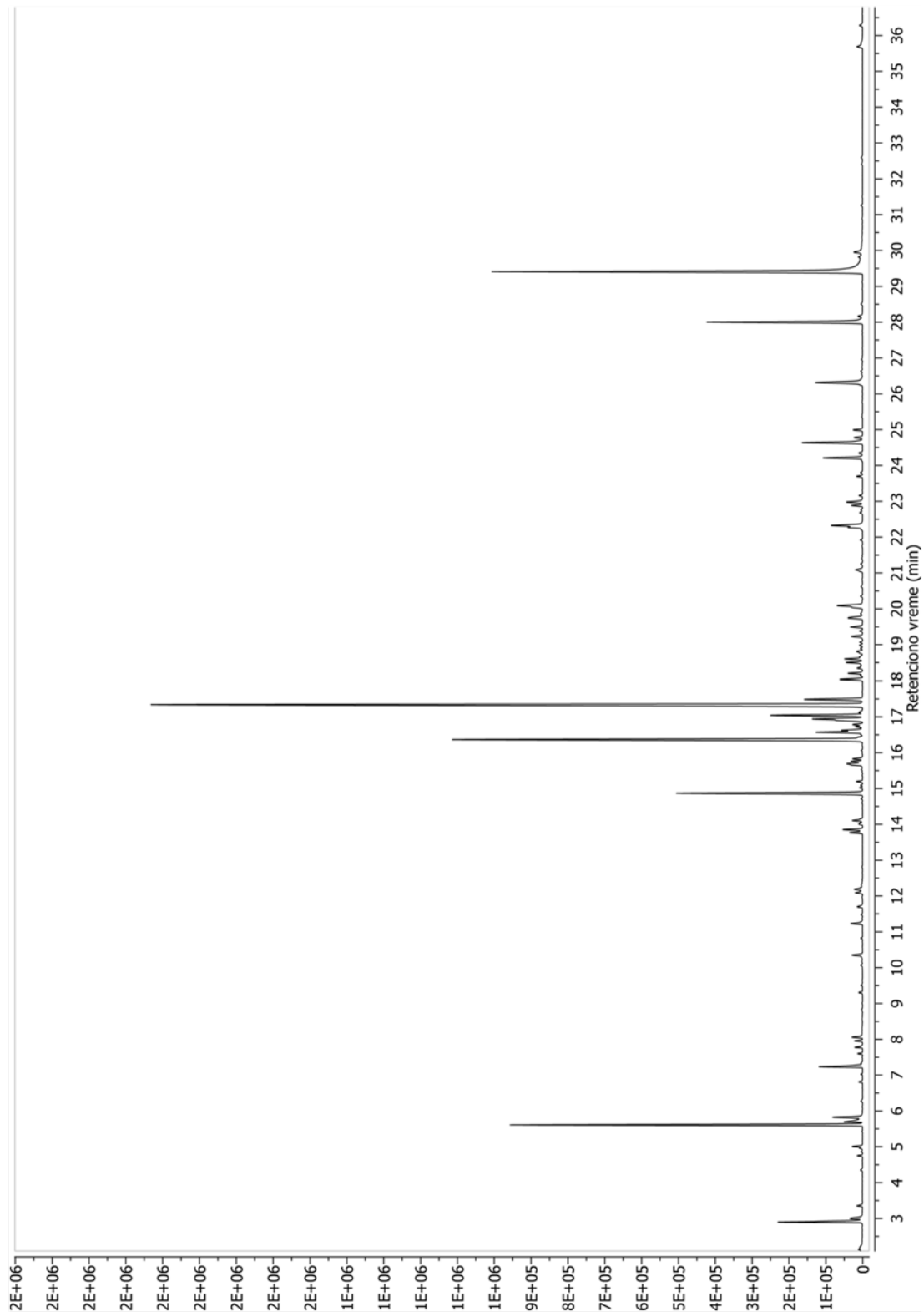
Etarsko ulje nadzemnih delova vrste *Conium maculatum* L. (uzorak C5D)

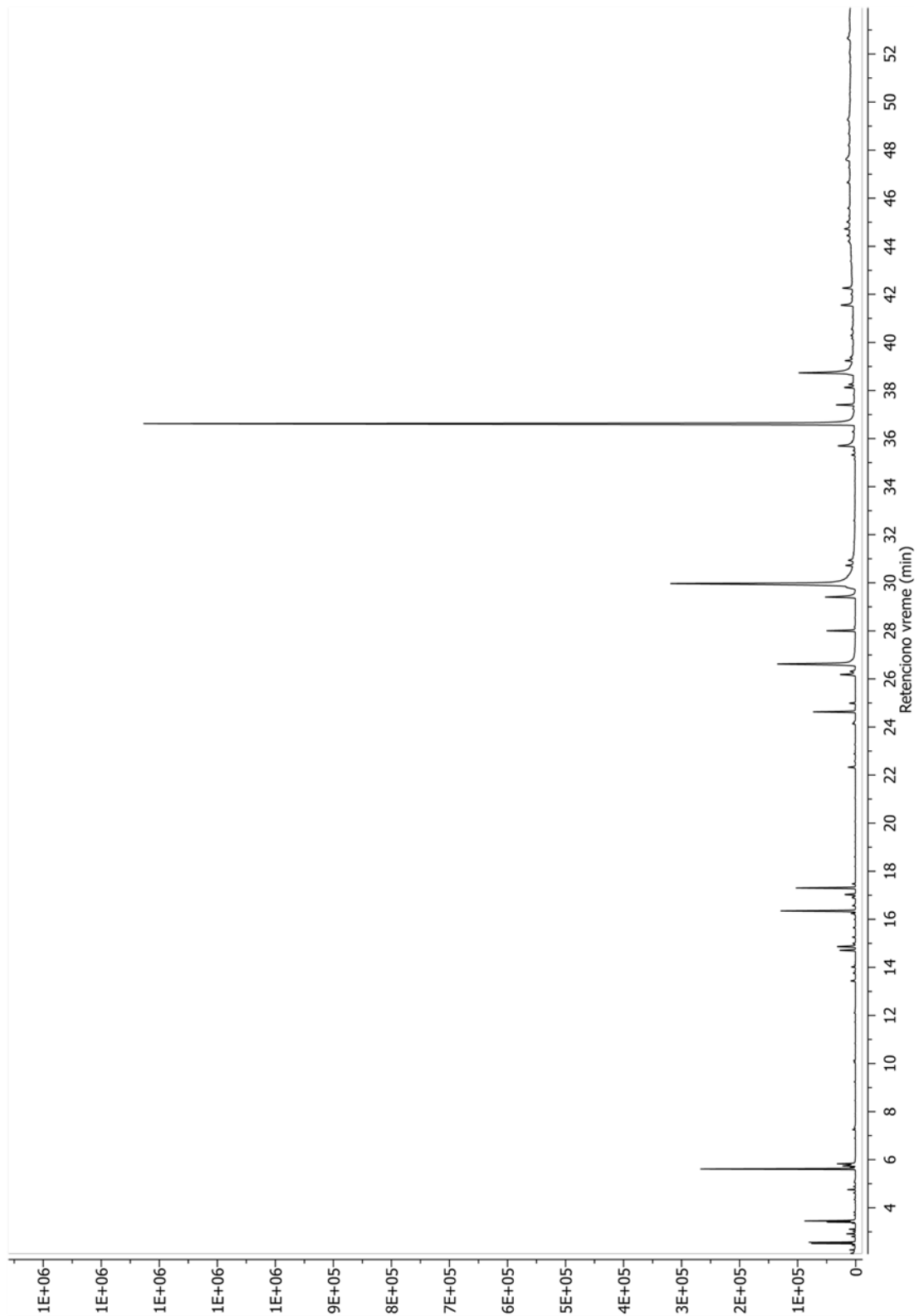


Ekstrakt nadzemnih delova vrste *Conium maculatum* L. (uzorak C5E)

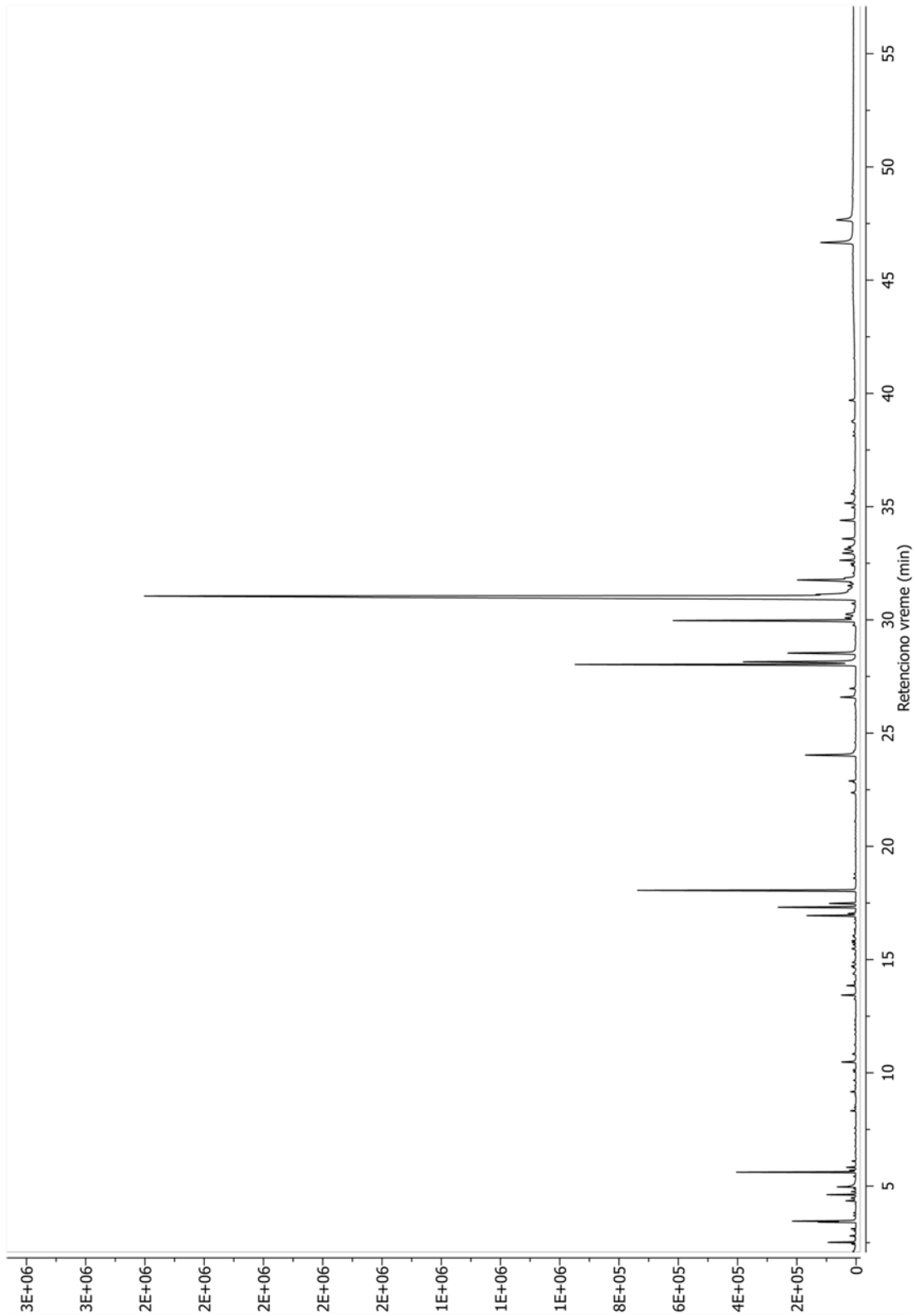


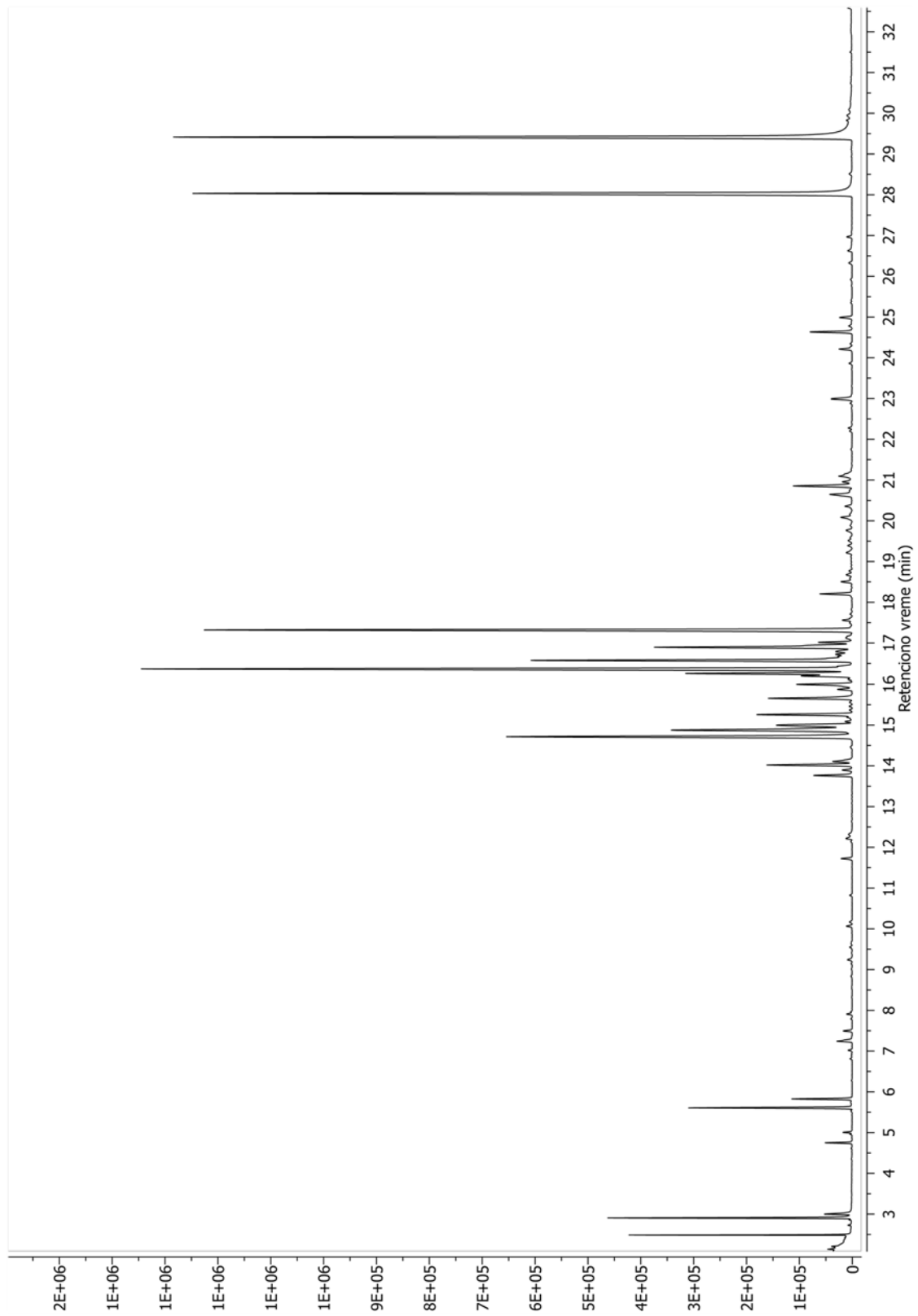
Ekstrakt korena vrste *Conium maculatum* L. (uzorak C5Ek)

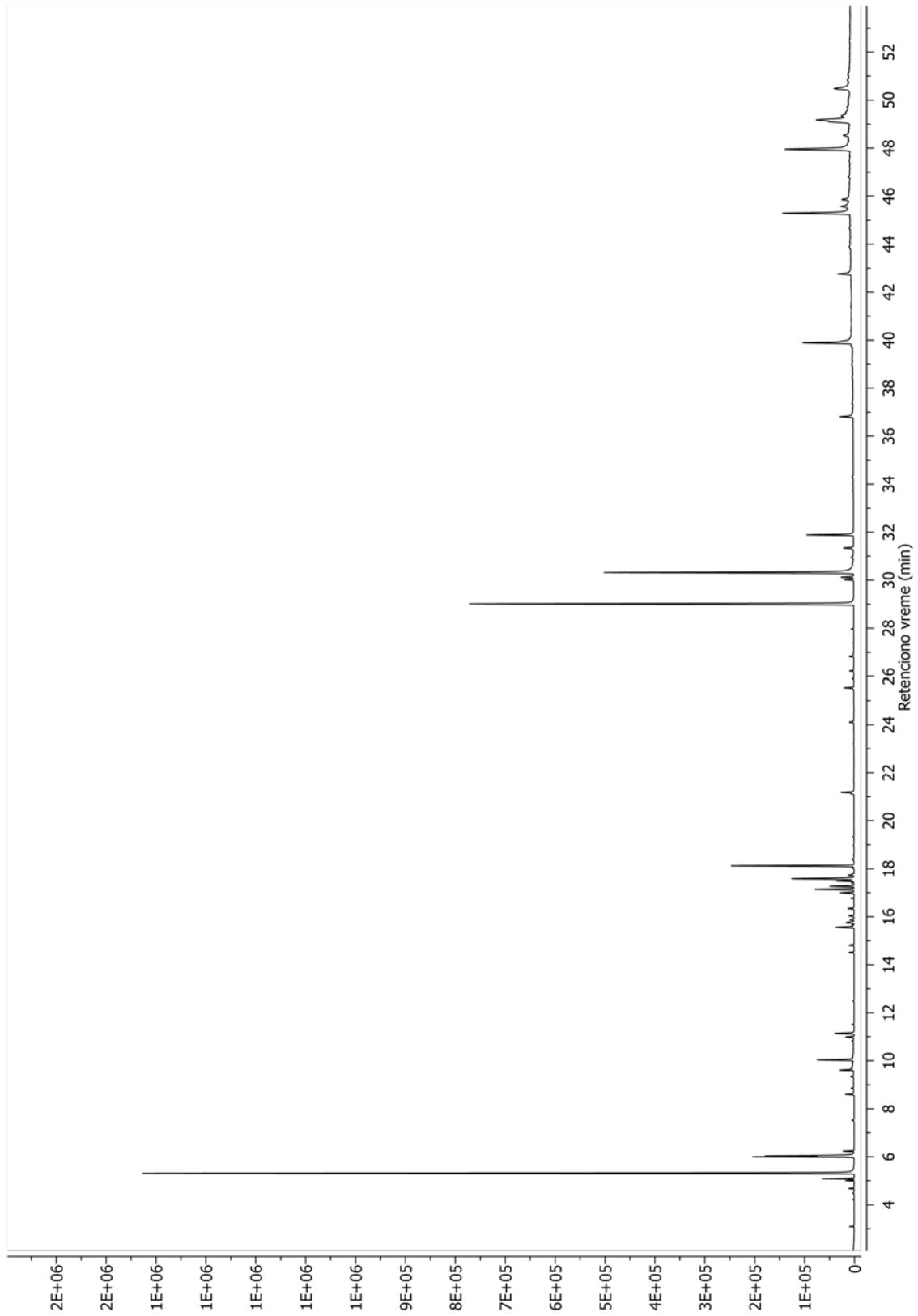
Etarsko ulje nadzemnih delova vrste *Conium maculatum* L. (uzorak L2D)

Ekstrakt nadzemnih delova vrste *Conium maculatum* L. (uzorak L2E)

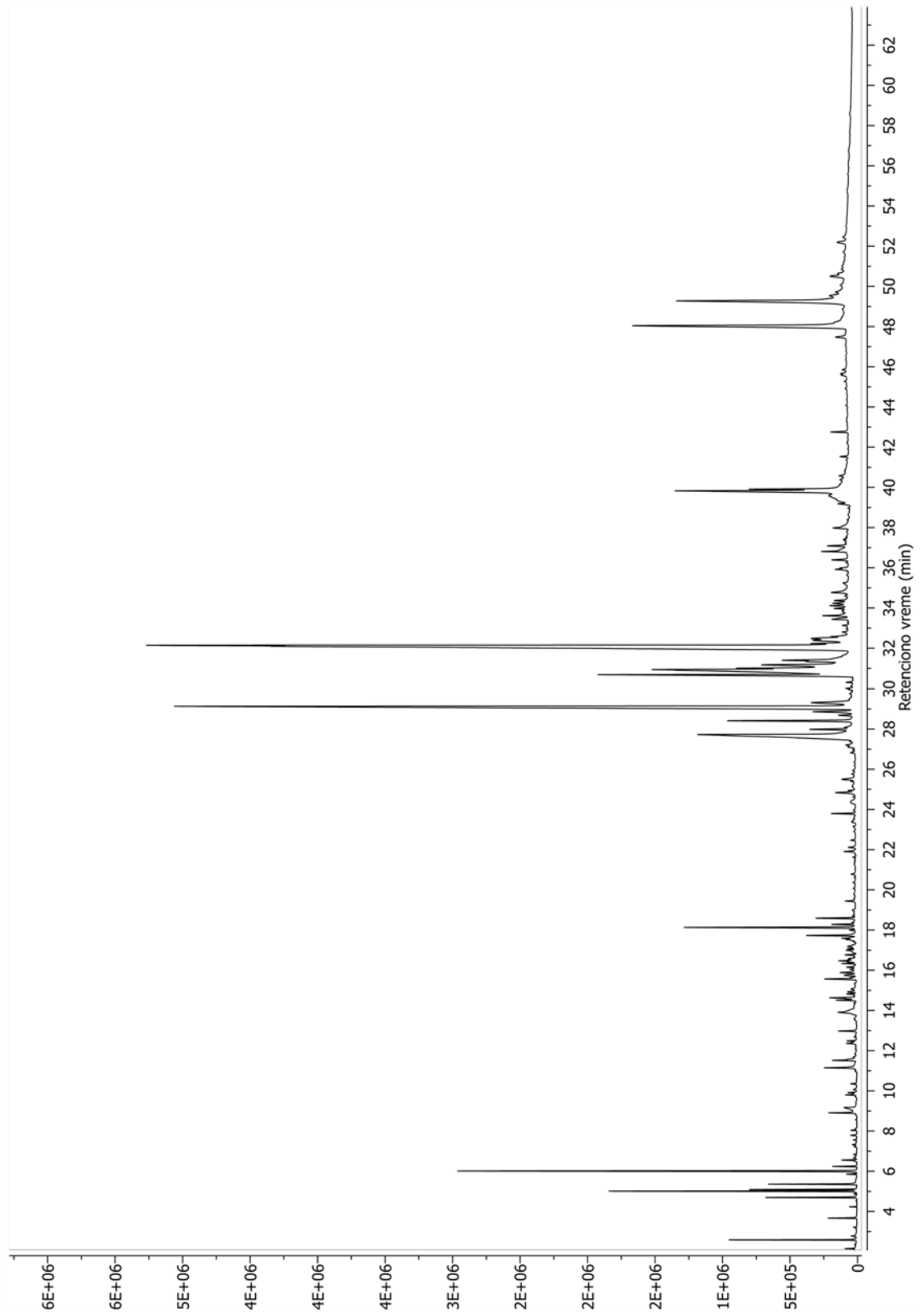
Ekstrakt korena vrste *Conium maculatum* L. (uzorak L2Ek)

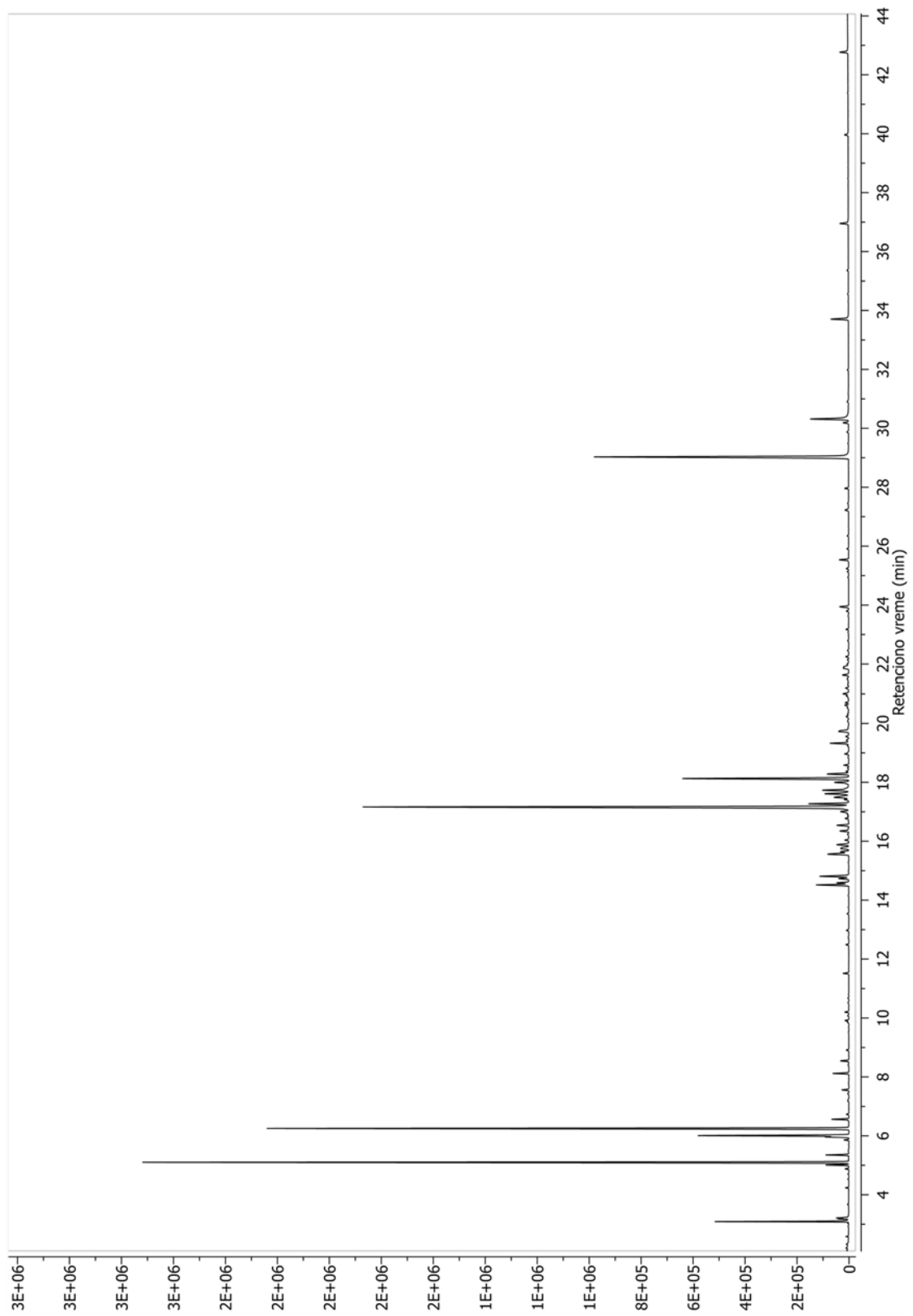


Etarsko ulje nadzemnih delova vrste *Conium maculatum* L. (uzorak L3D)

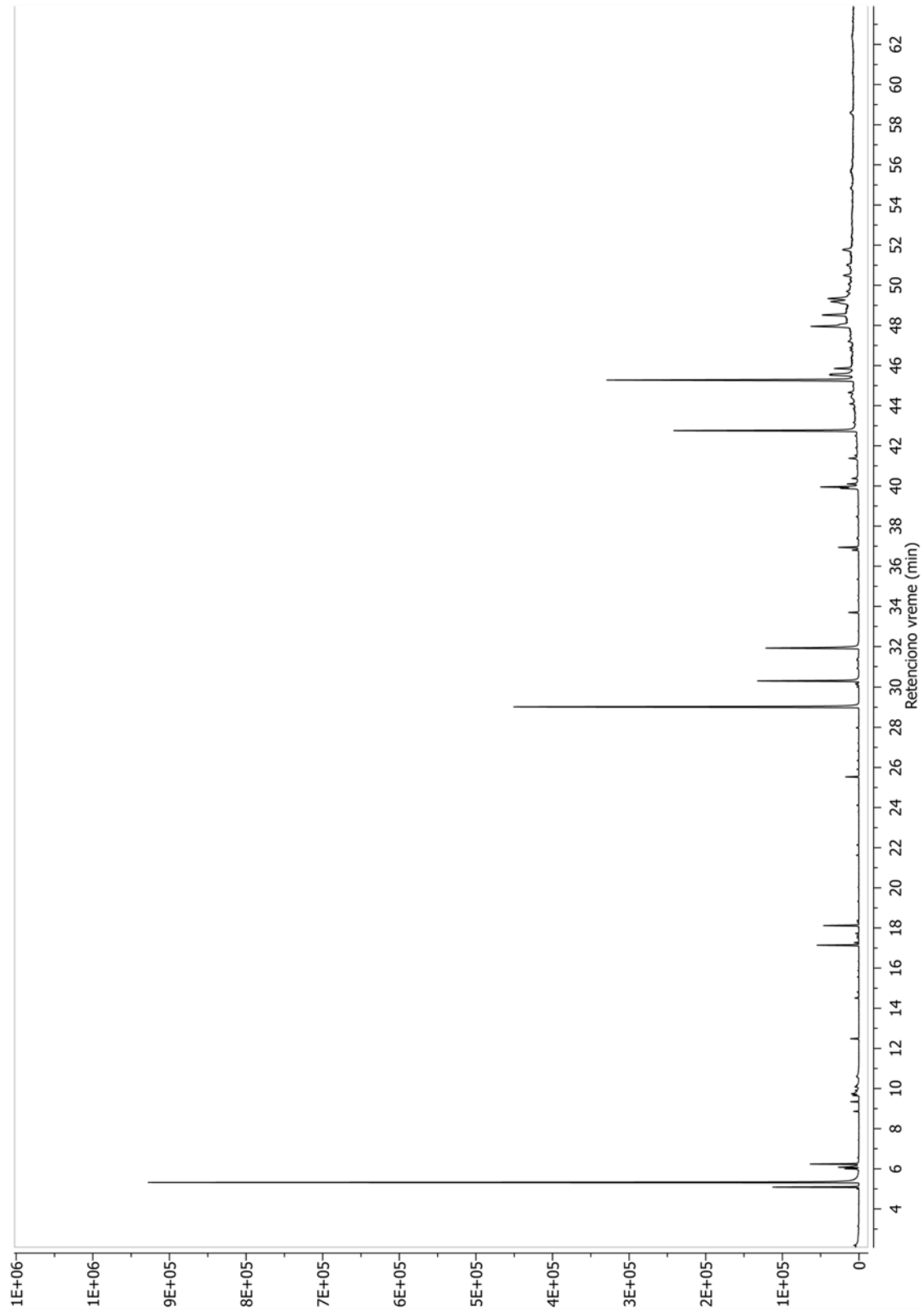
Ekstrakt nadzemnih delova vrste *Conium maculatum* L. (uzorak L3E)

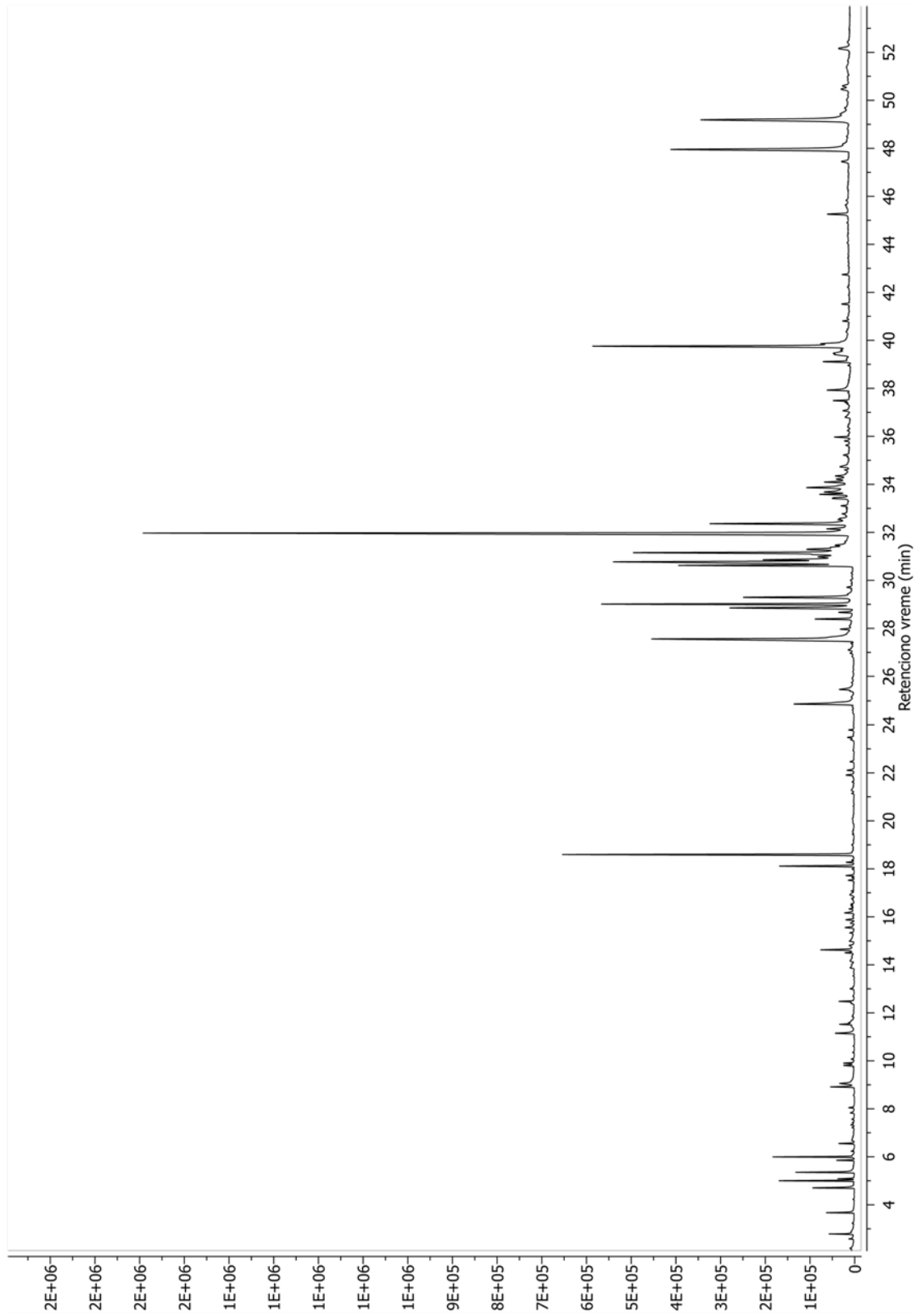
Ekstrakt korena vrste *Conium maculatum* L. (uzorak L3Ek)

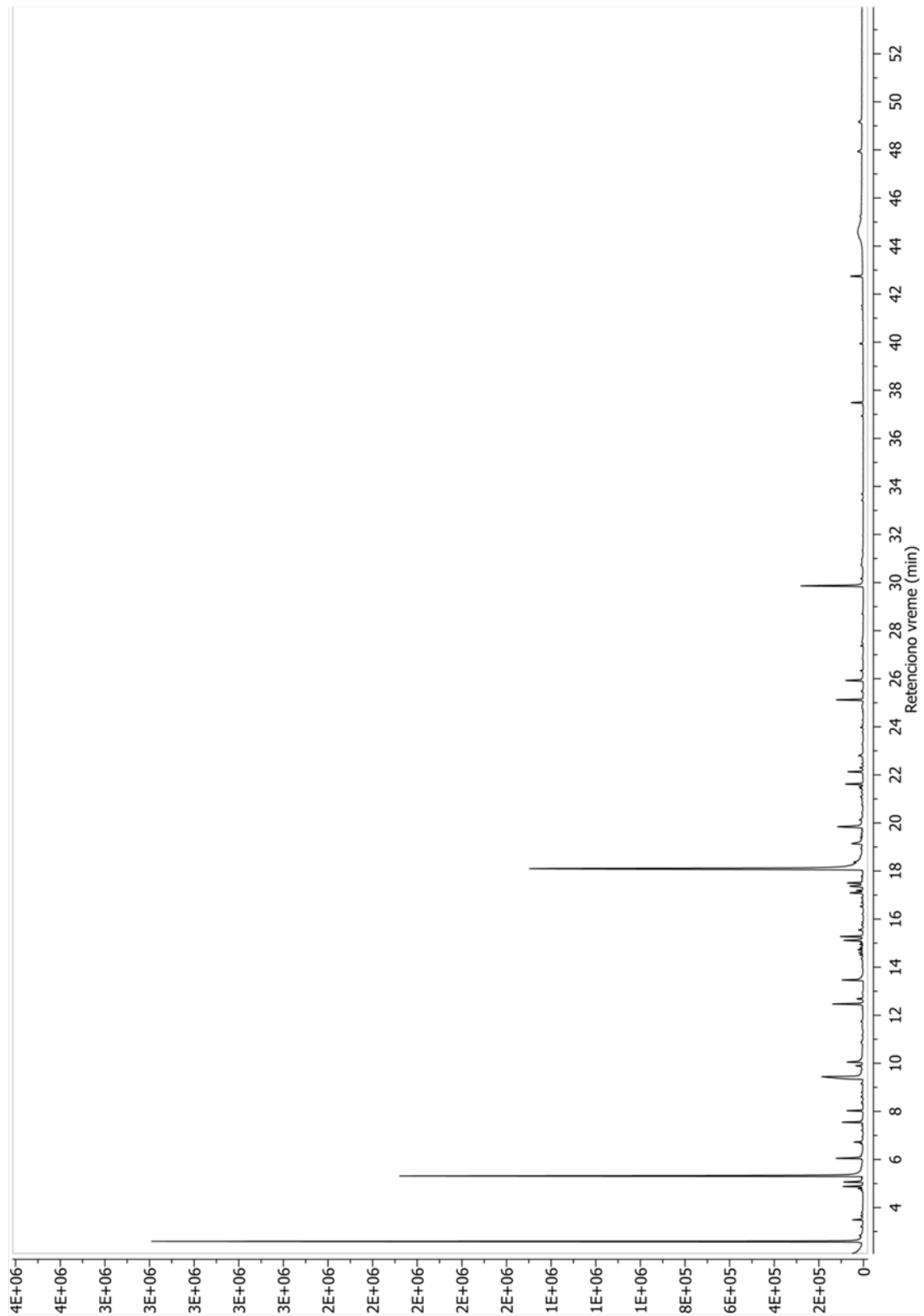


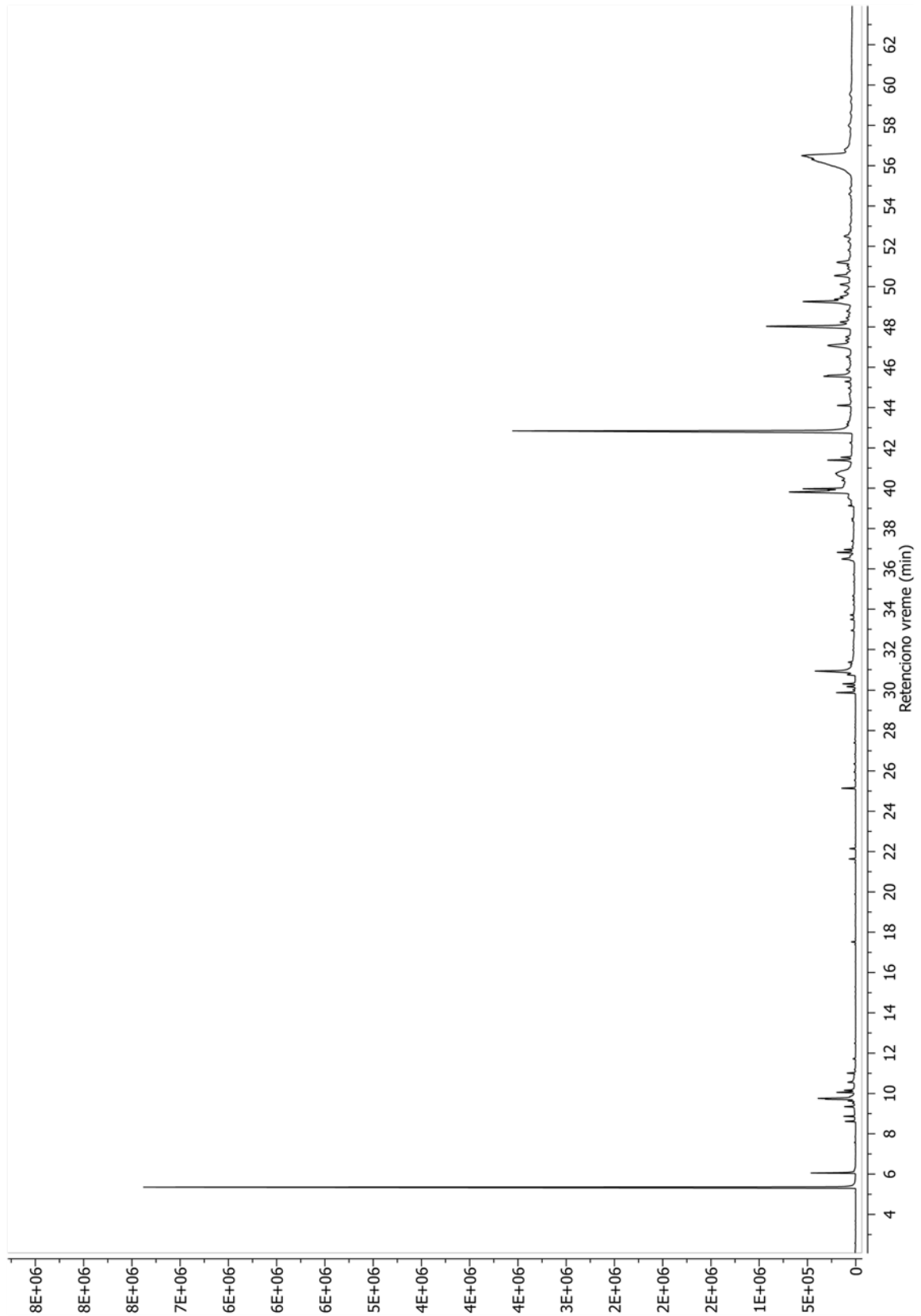
Etarsko ulje nadzemnih delova vrste *Conium maculatum* L. (uzorak L4D)

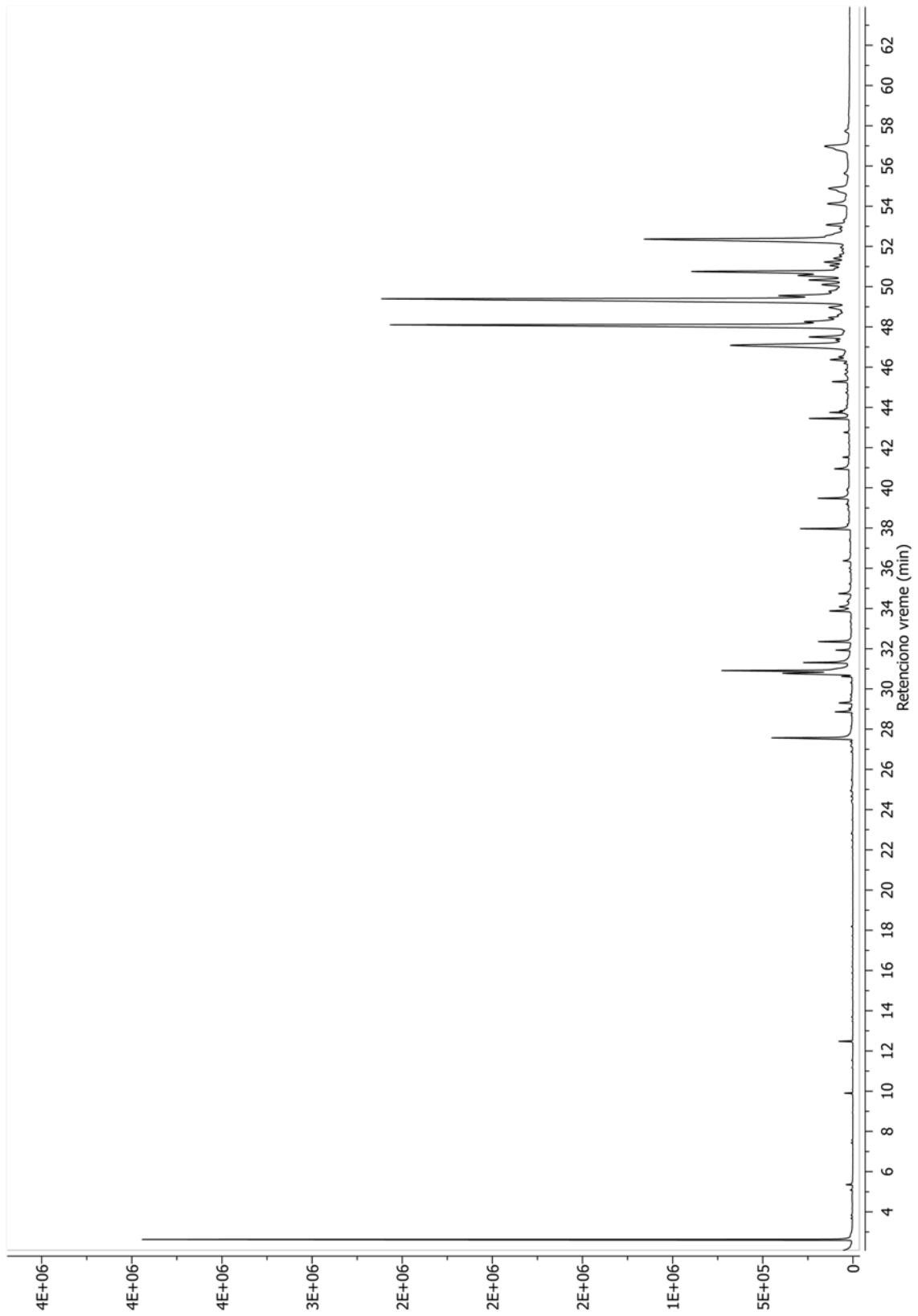


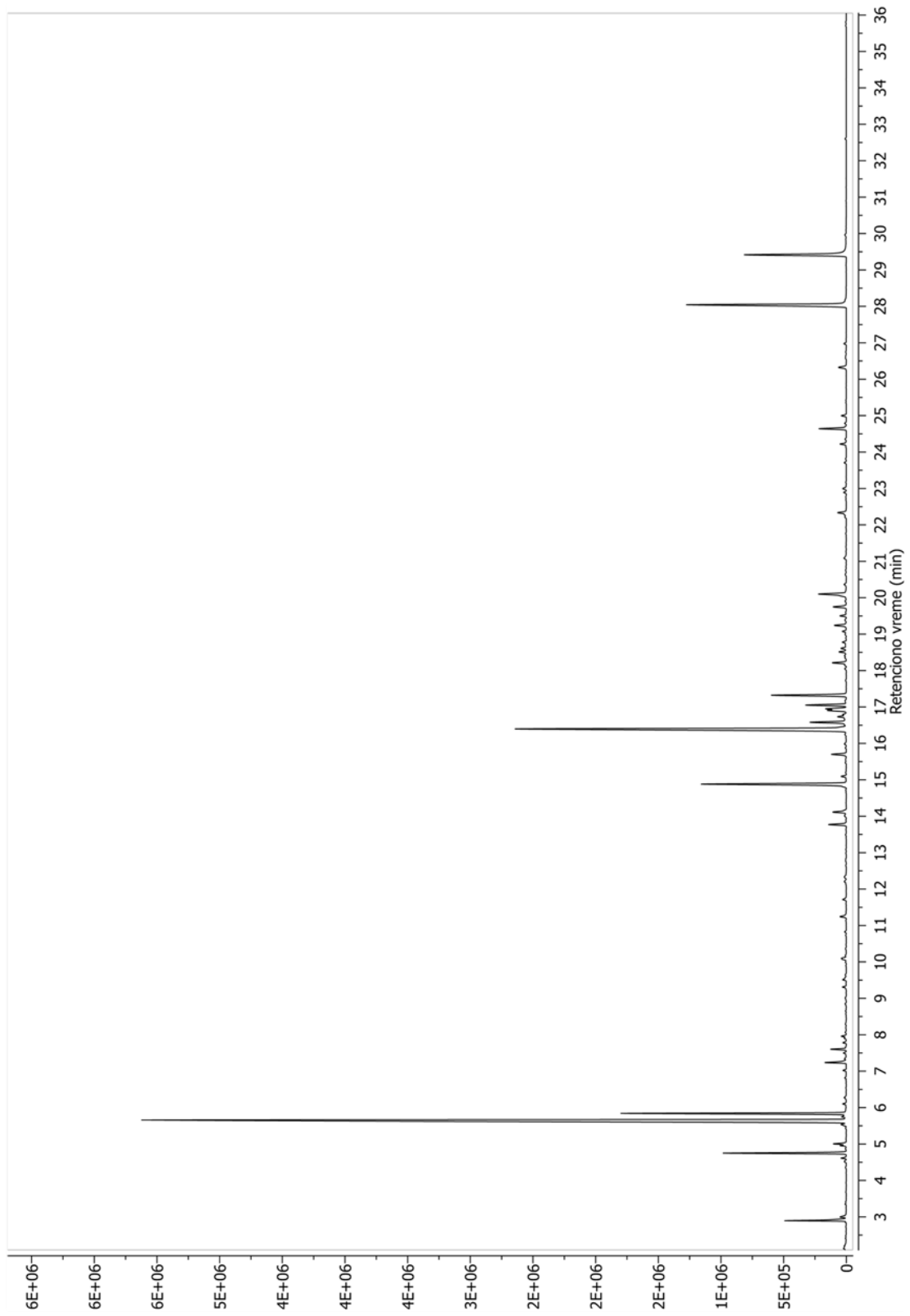
Ekstrakt nadzemnih delova vrste *Conium maculatum* L. (uzorak L4E)

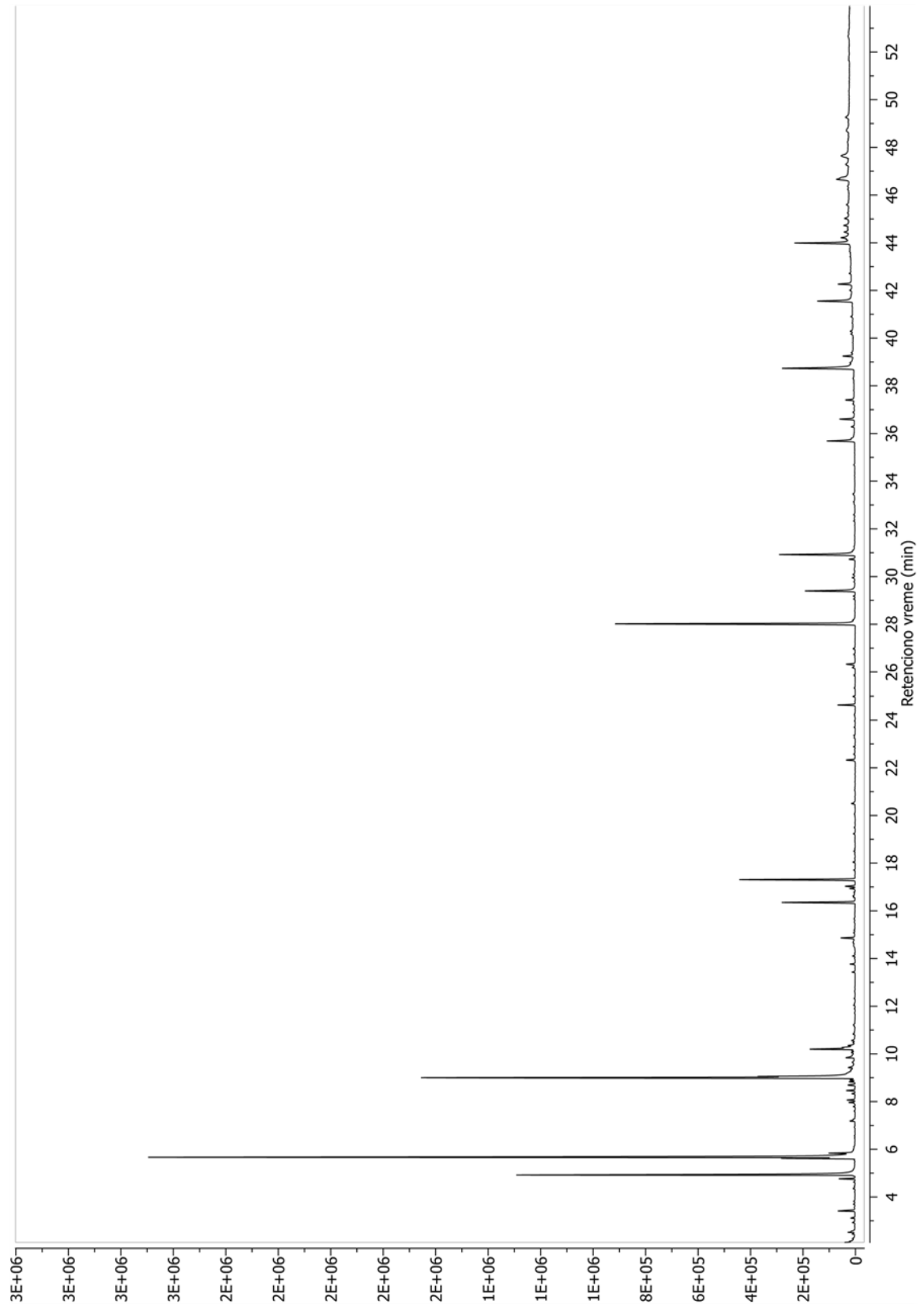
Ekstrakt korena vrste *Conium maculatum* L. (uzorak L4Ek)

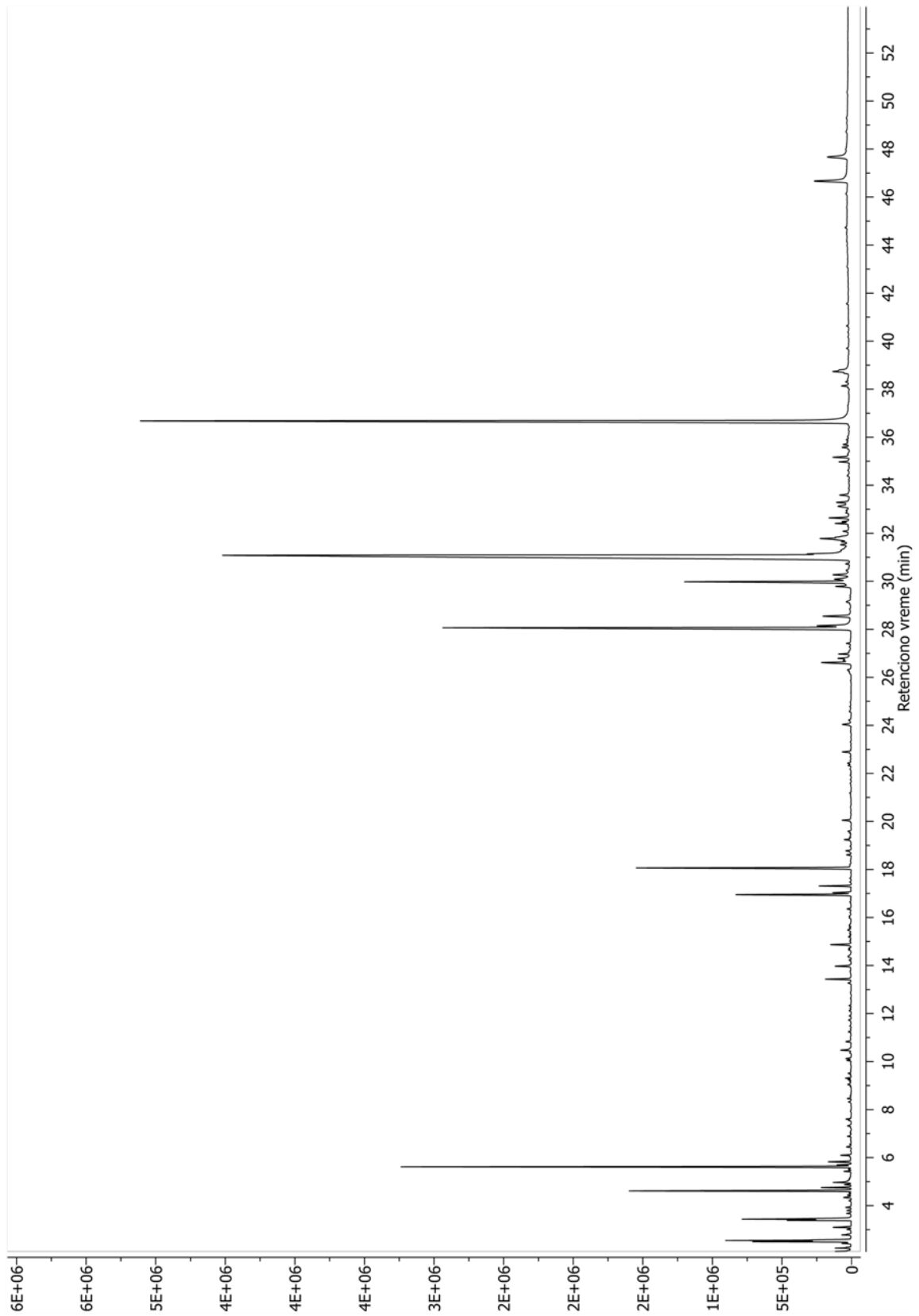
Etarsko ulje nadzemnih delova *Conium maculatum* L. (uzorak L5D)

Ekstrakt nadzemnih delova *Conium maculatum* L. (uzorak L5E)

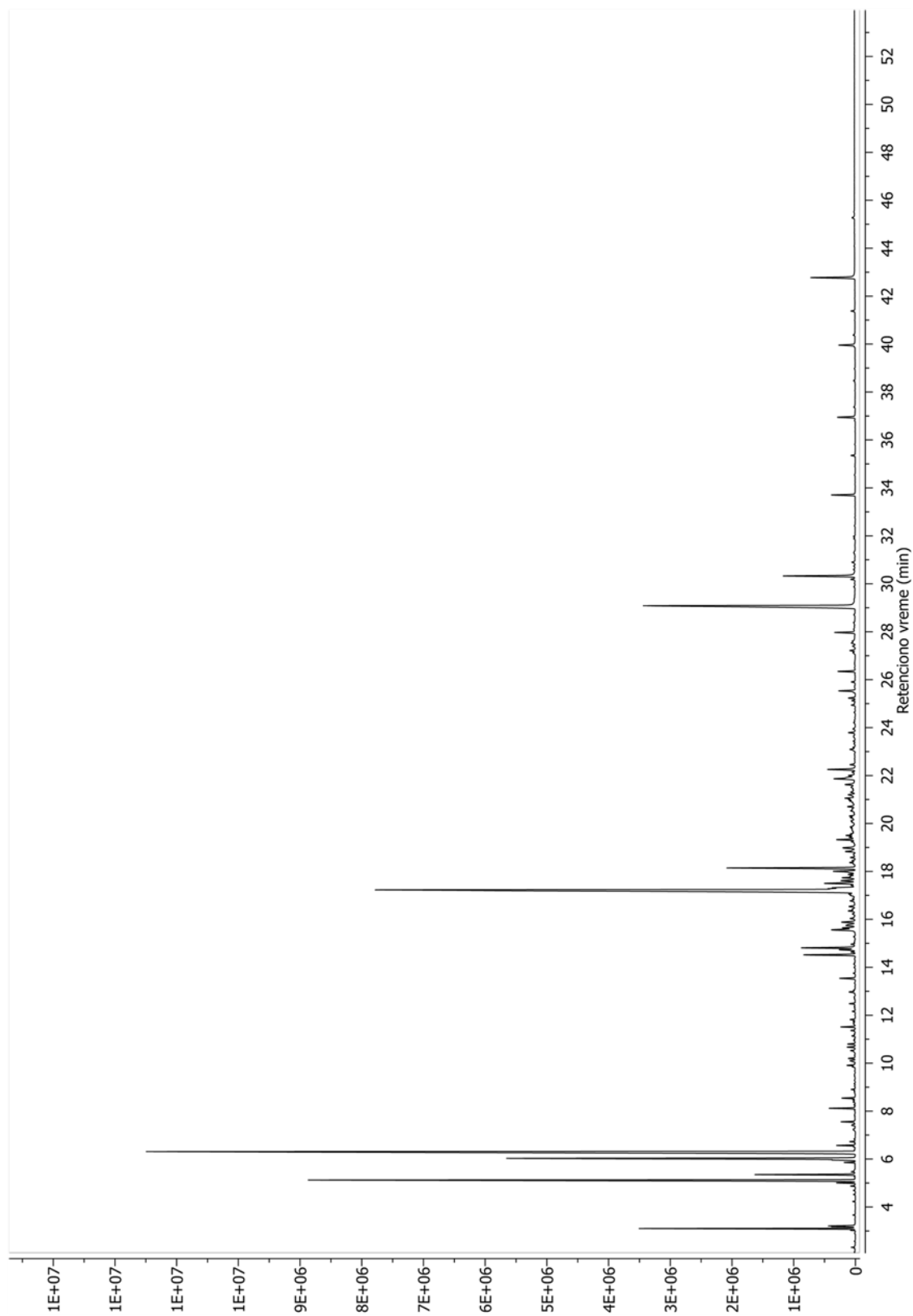
Ekstrakt korena vrste *Conium maculatum* L. (uzorak L5Ek)

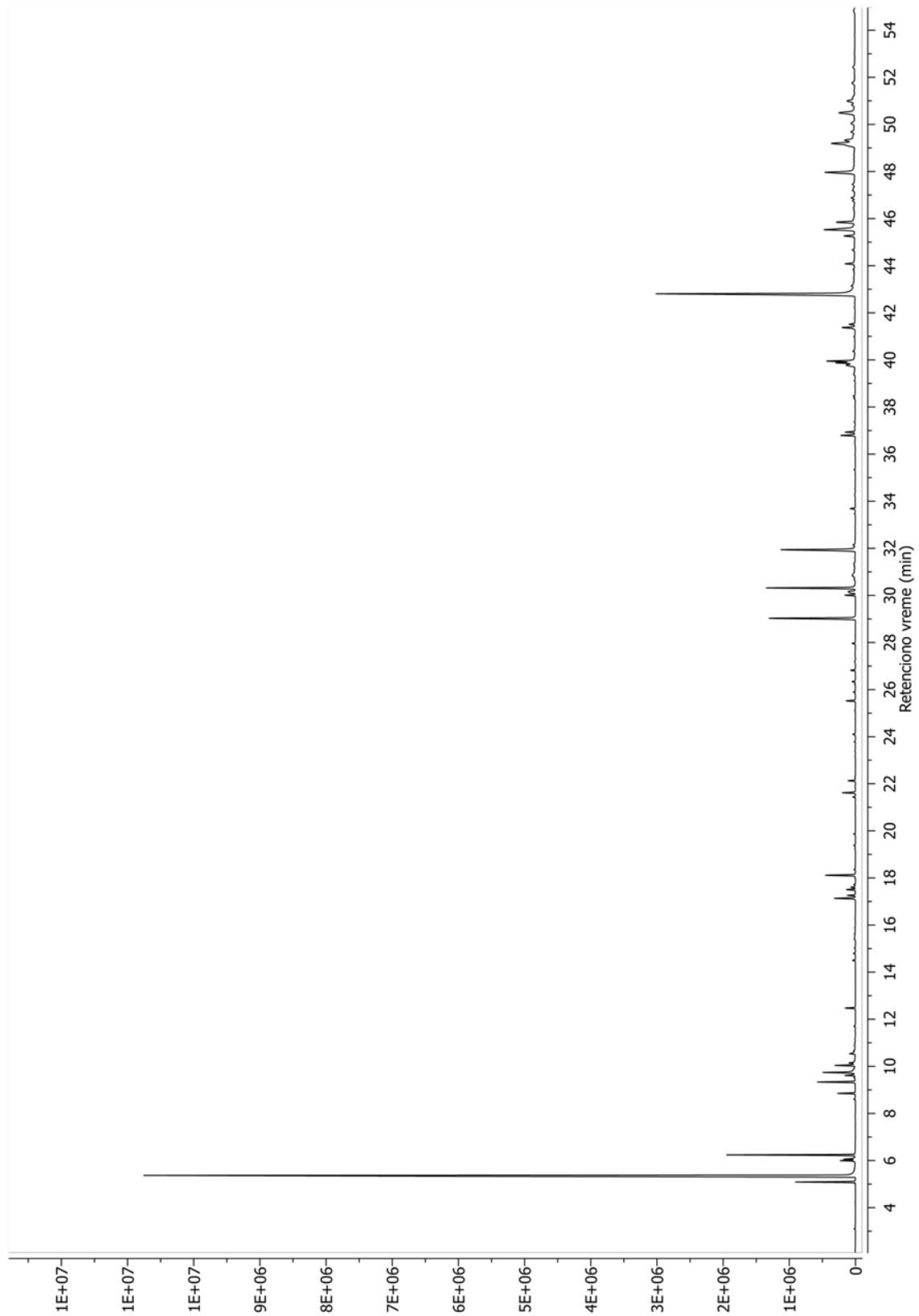
Etarsko ulje nadzemnih delova vrste *Conium maculatum* L. (uzorak P3D)

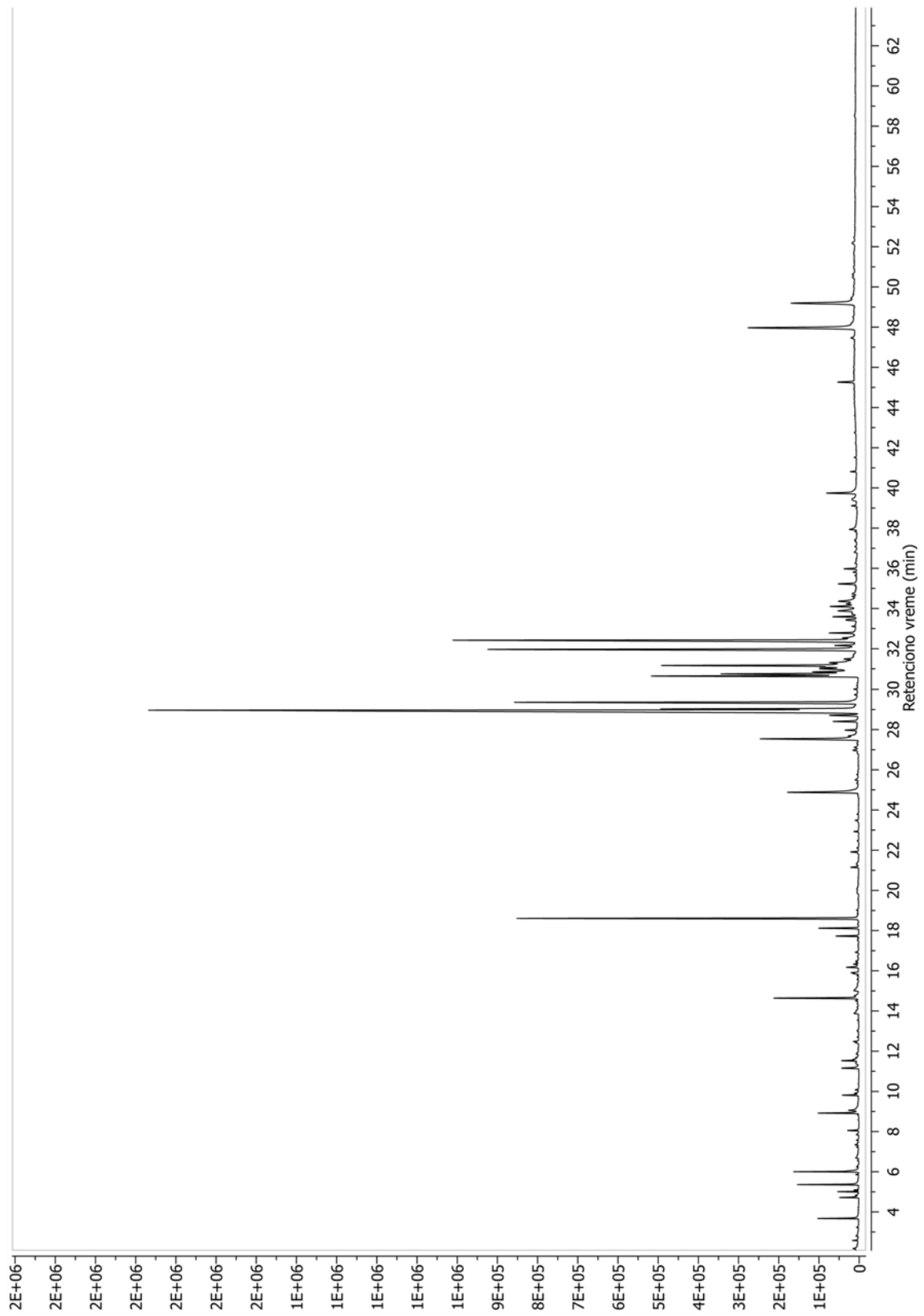
Ekstrakt nadzemnih delova vrste *Conium maculatum* L. (uzorak P3E)

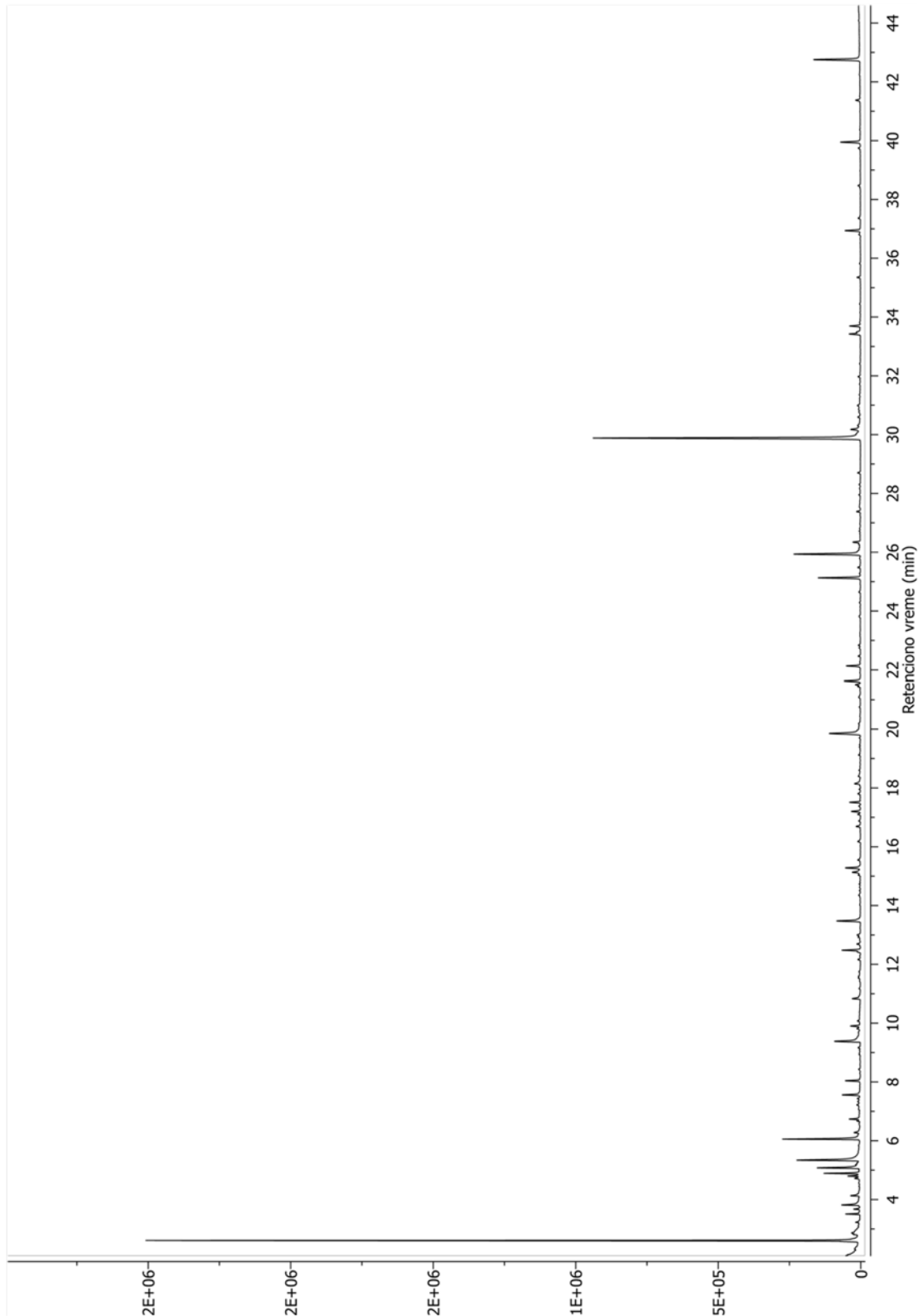
Ekstrakt korena vrste *Conium maculatum* L. (uzorak P3Ek)

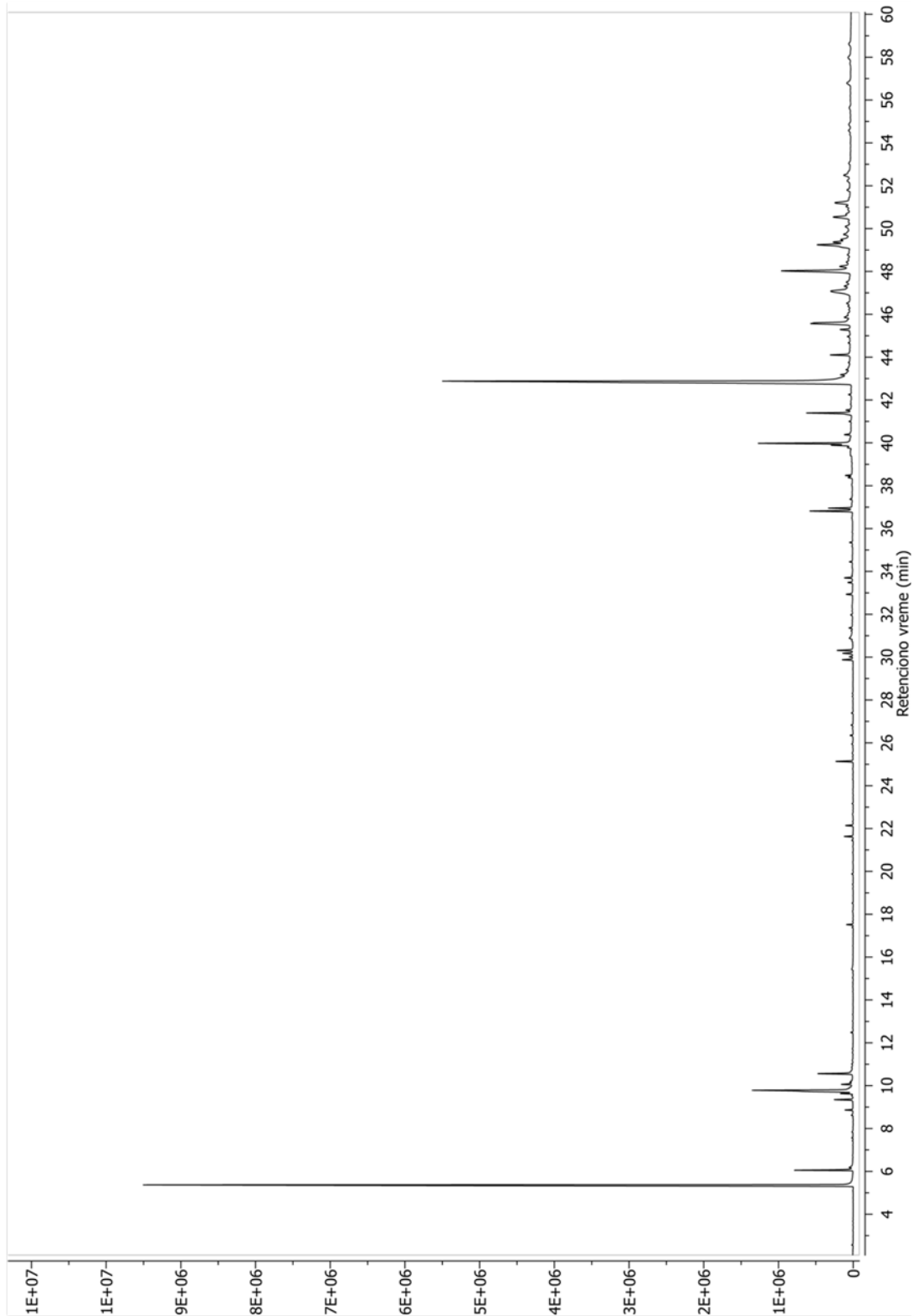


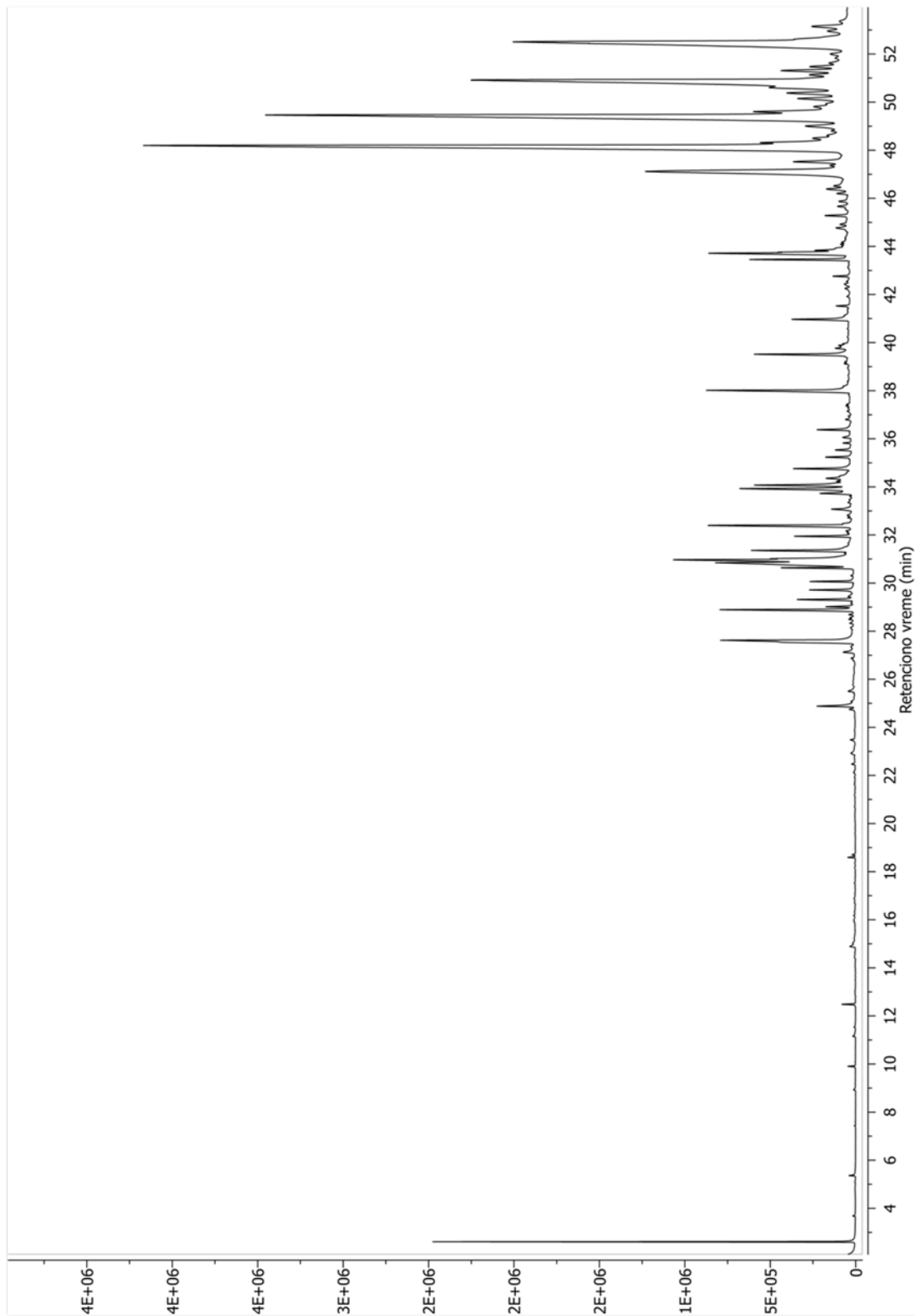
Etarsko ulje nadzemnih delova *Conium maculatum* L. (uzorak P4D)

Ekstrakt nadzemnih delova *Conium maculatum* L. (uzorak P4E)

Ekstrakt korena vrste *Conium maculatum* L. (uzorak P4Ek)

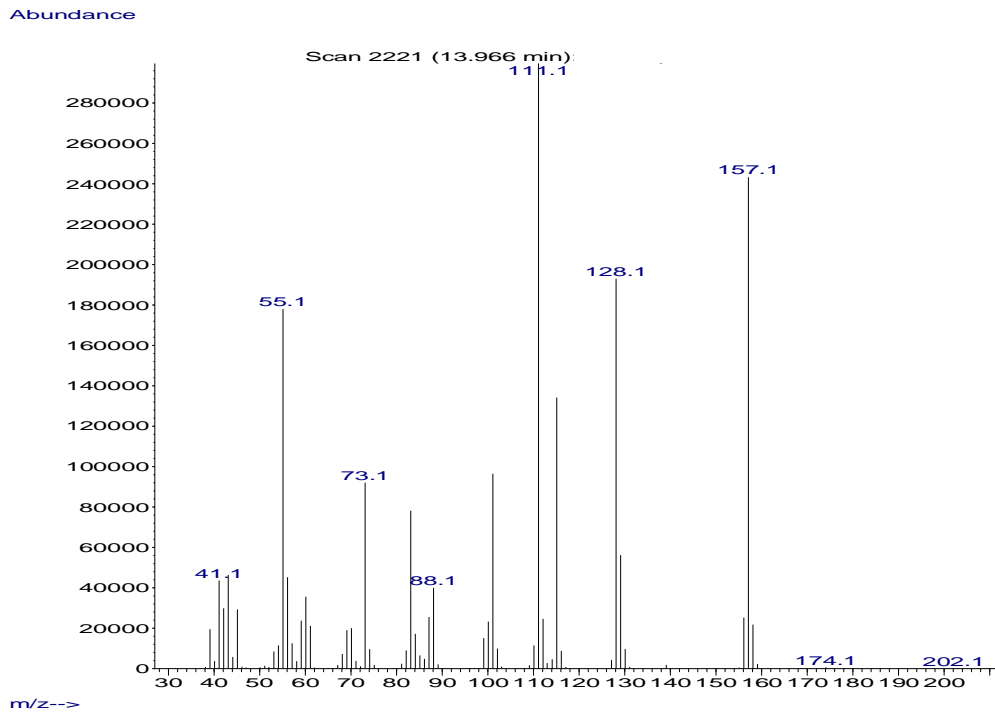
Etarsko ulje nadzemnih delova *Conium maculatum* L. (uzorak P5D)

Ekstrakt nadzemnih delova *Conium maculatum* L. (uzorak P5E)

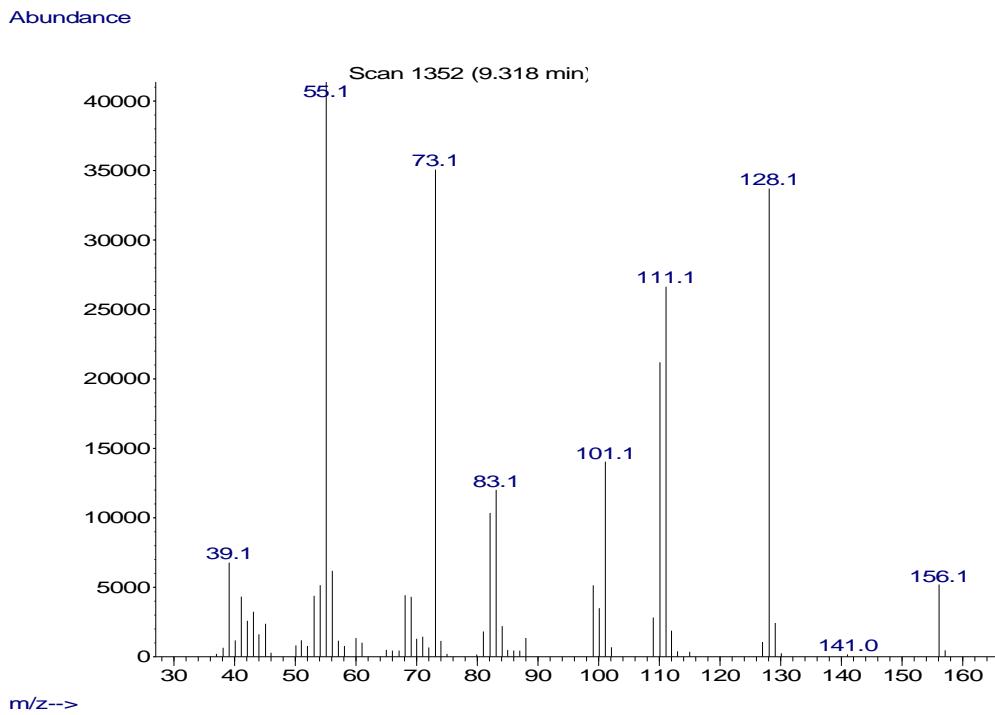
Ekstrakt korena *Conium maculatum* L. (uzorak P5Ek)

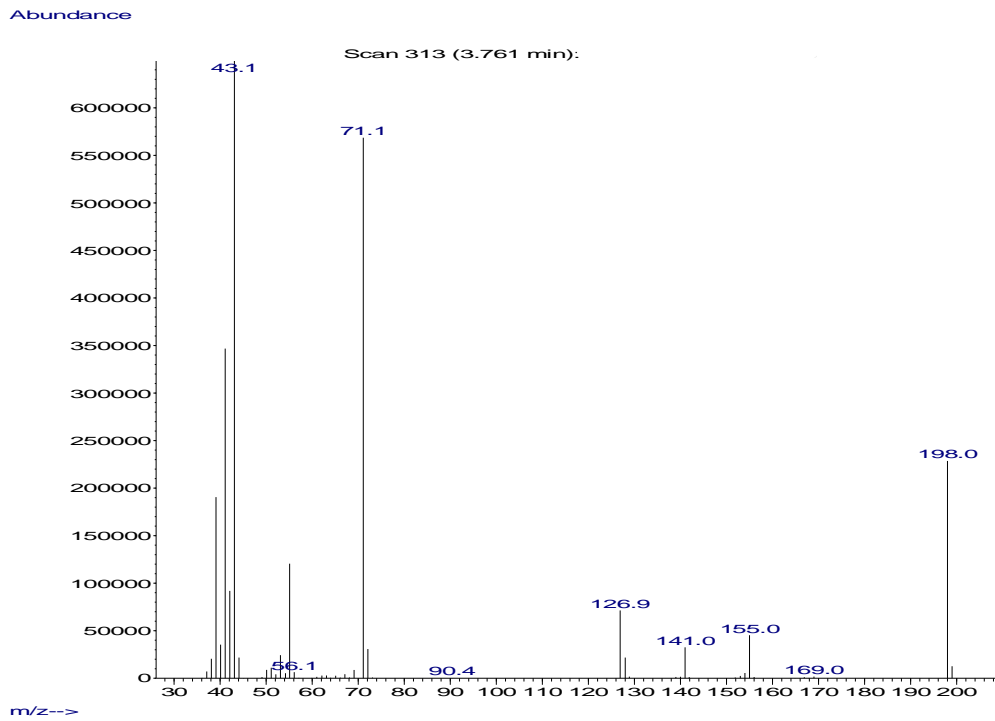
## 9.2. (GC)MS, IR i NMR spektri sintetisanih jedinjenja

## Maseni spektar dietil-adipata

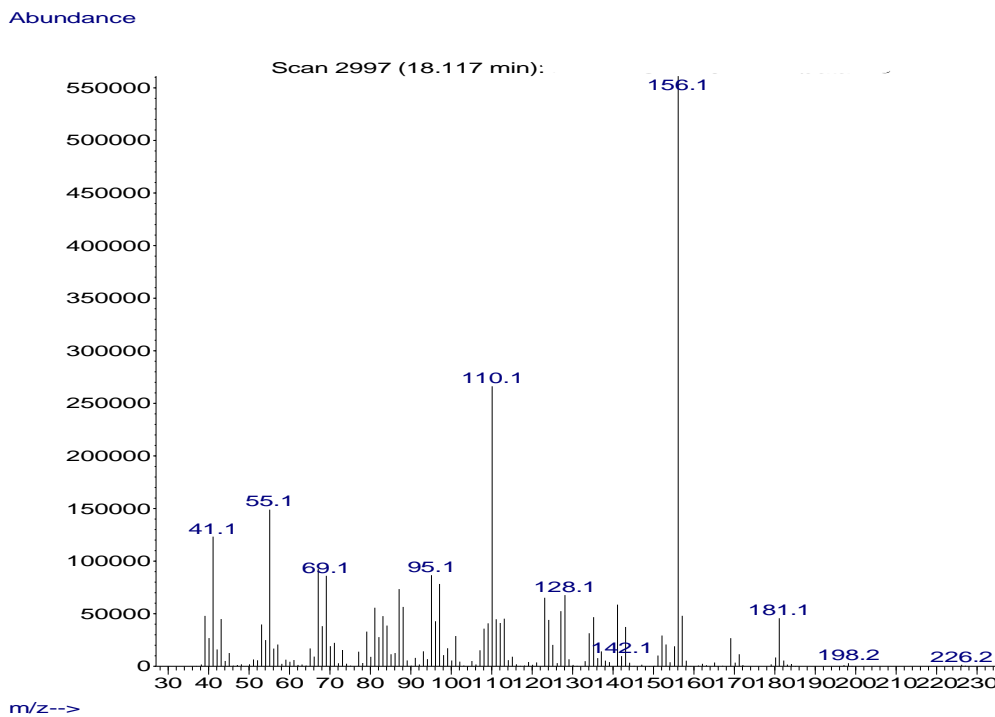


## Maseni spektar 2-etoksikarbonilciklopentanona



Maseni spektar *n*-pentil-jodida

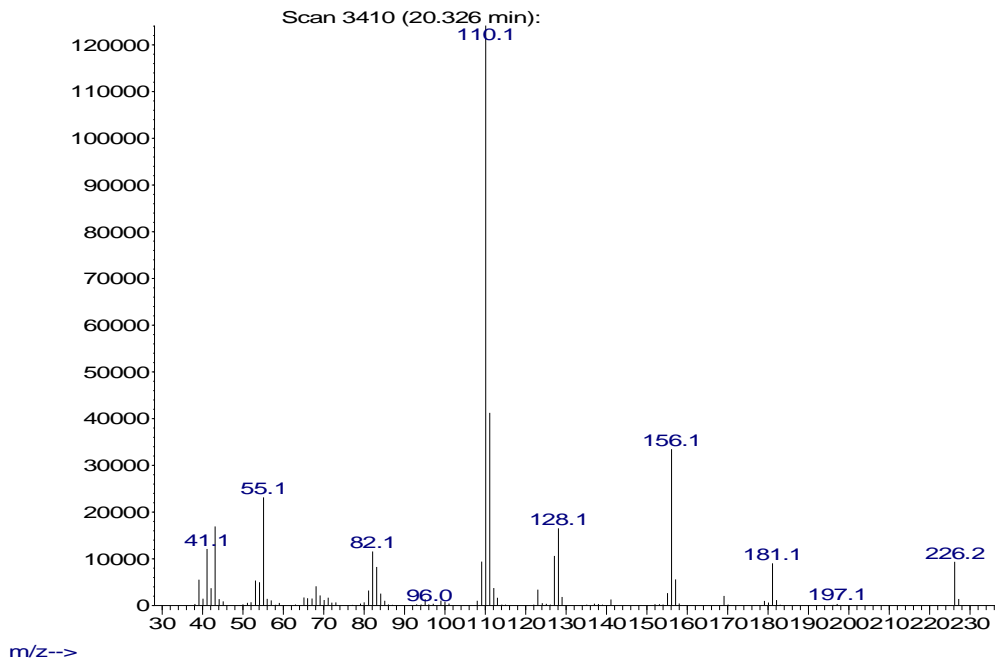
## Maseni spektar 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanona



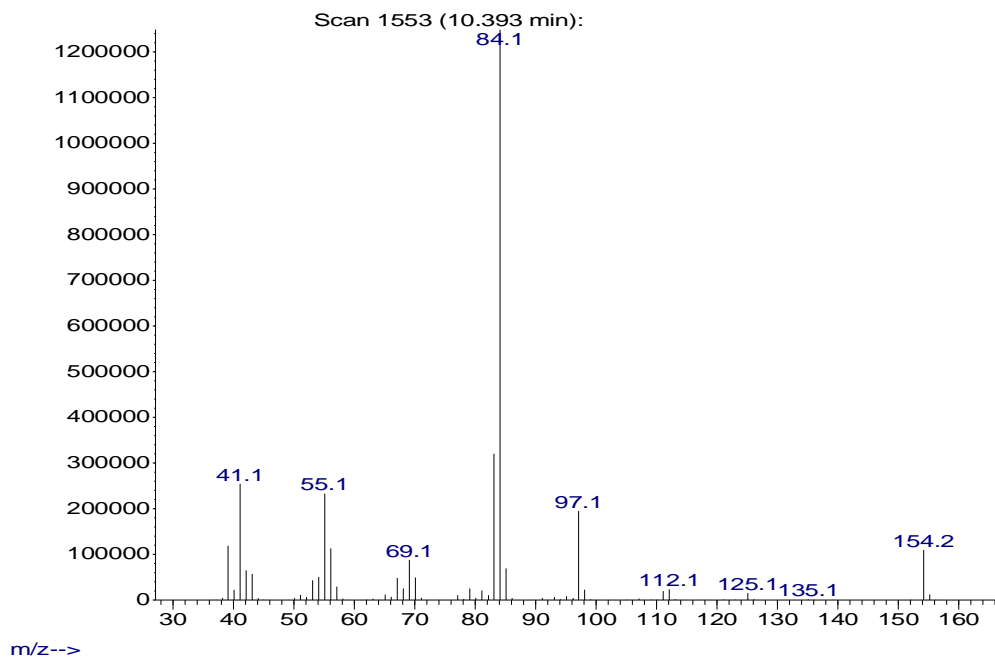


**Maseni spektar 2-etoksikarbonil-5-pentilciklopentanona**

Abundance

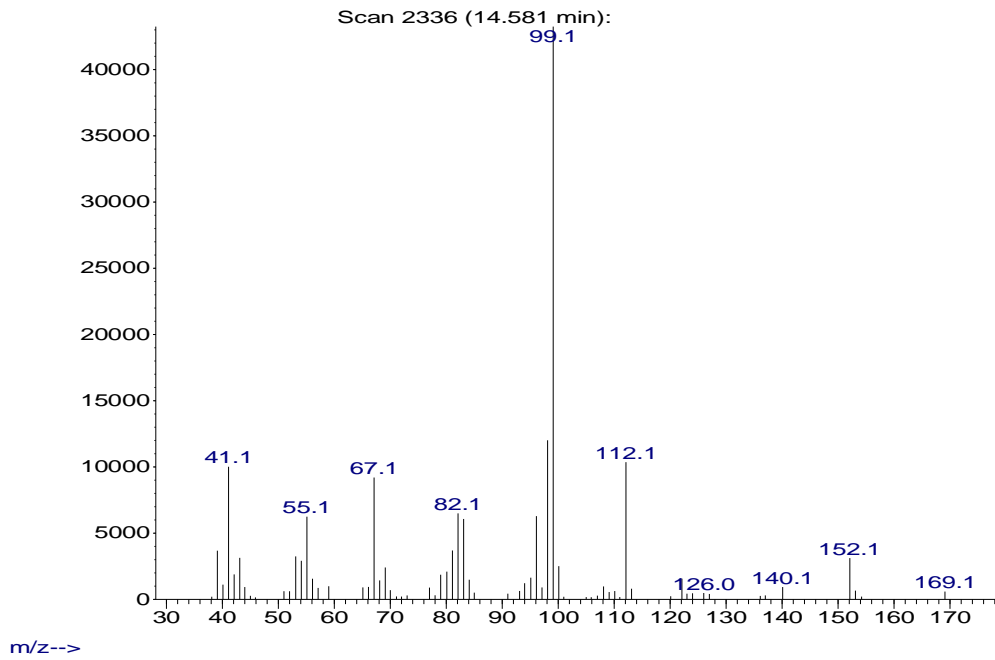
**Maseni spektar 2-pentilciklopentanona**

Abundance

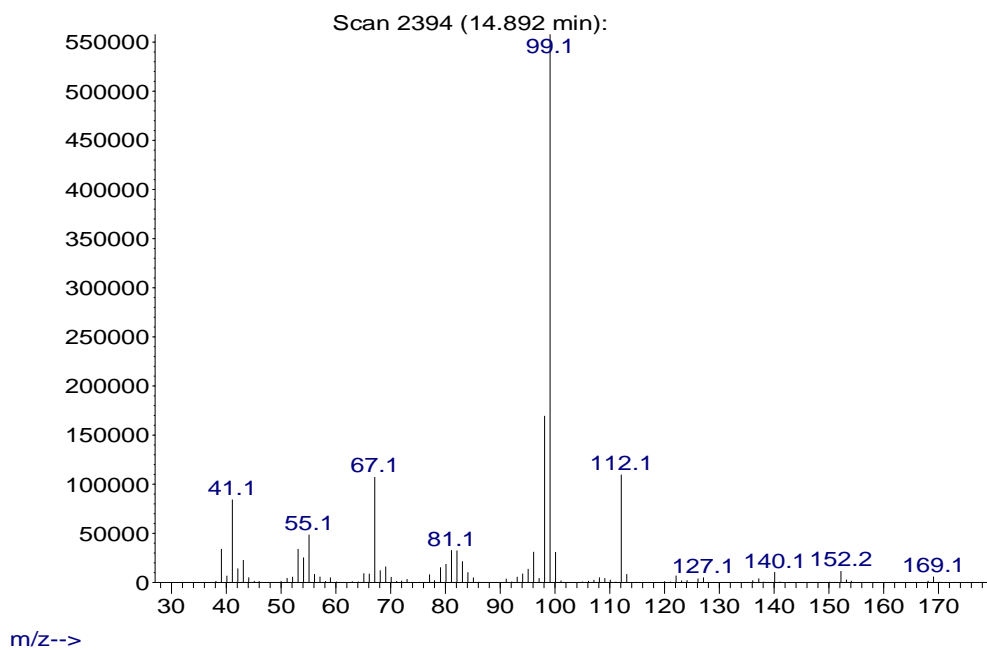


**Maseni spektar (Z)-oksima 2-pentilciklopentanona**

Abundance

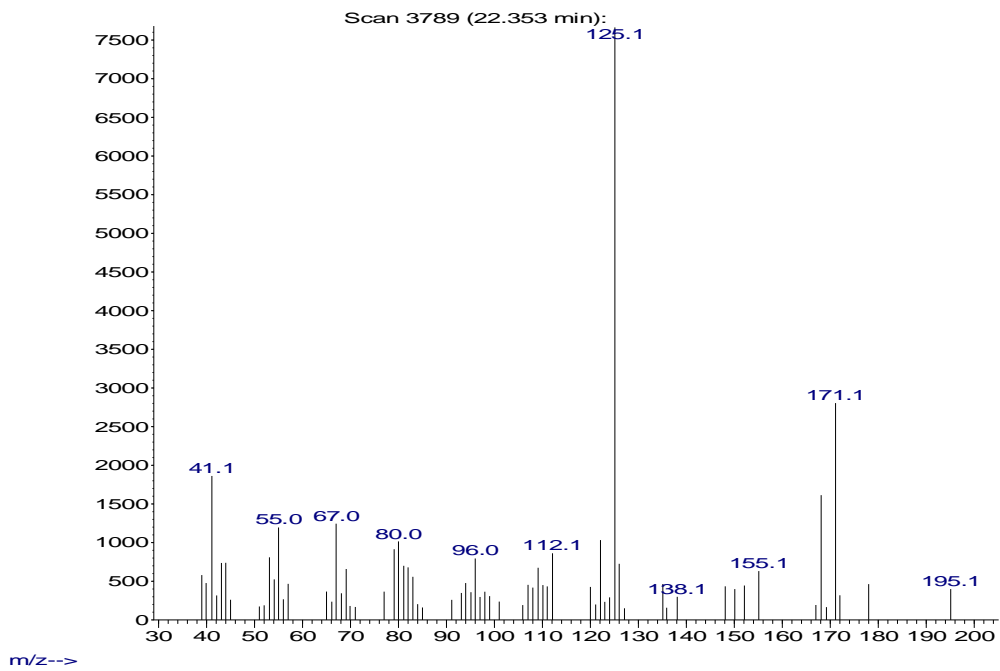
**Maseni spektar (E)-oksima 2-pentilciklopentanona**

Abundance

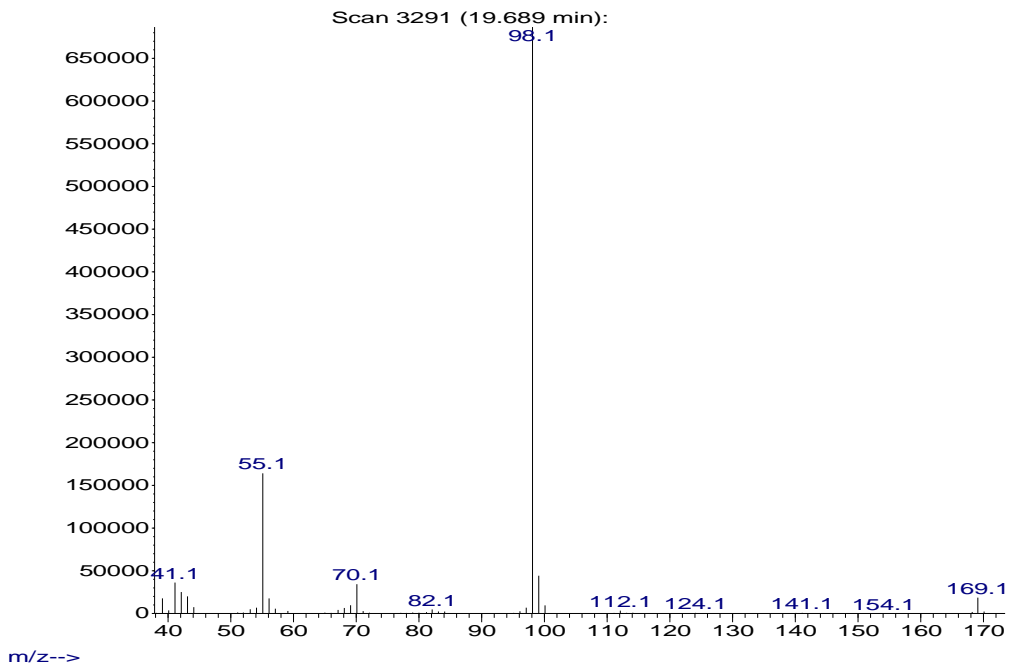


**Maseni spektar oksima 2-etoksikarbonil-2-pentilciklopentanona**

Abundance

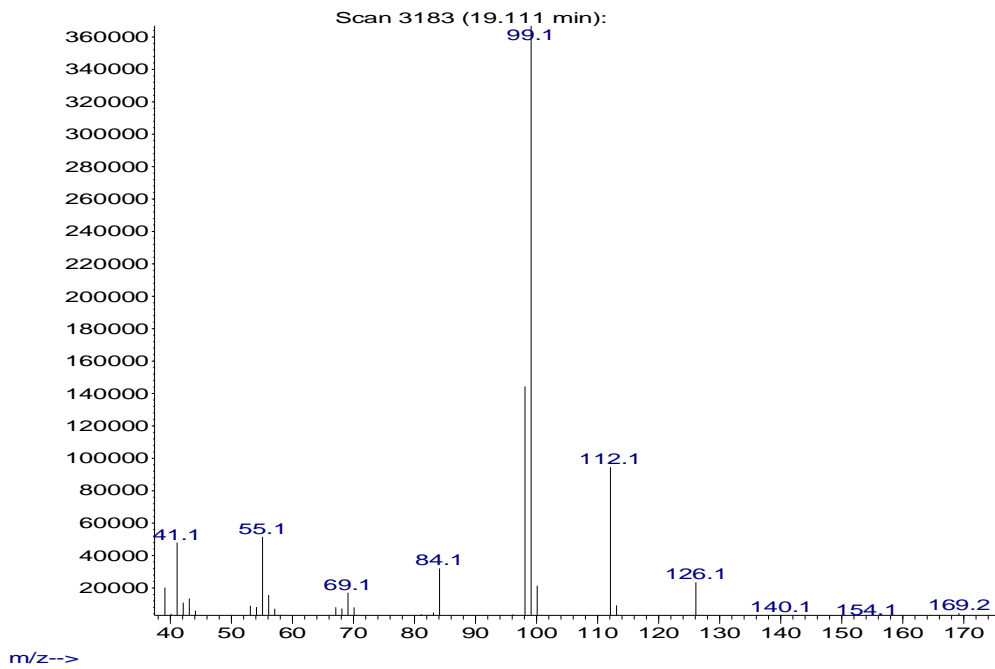
**Maseni spektar  $\delta$ -dekalaktama**

Abundance

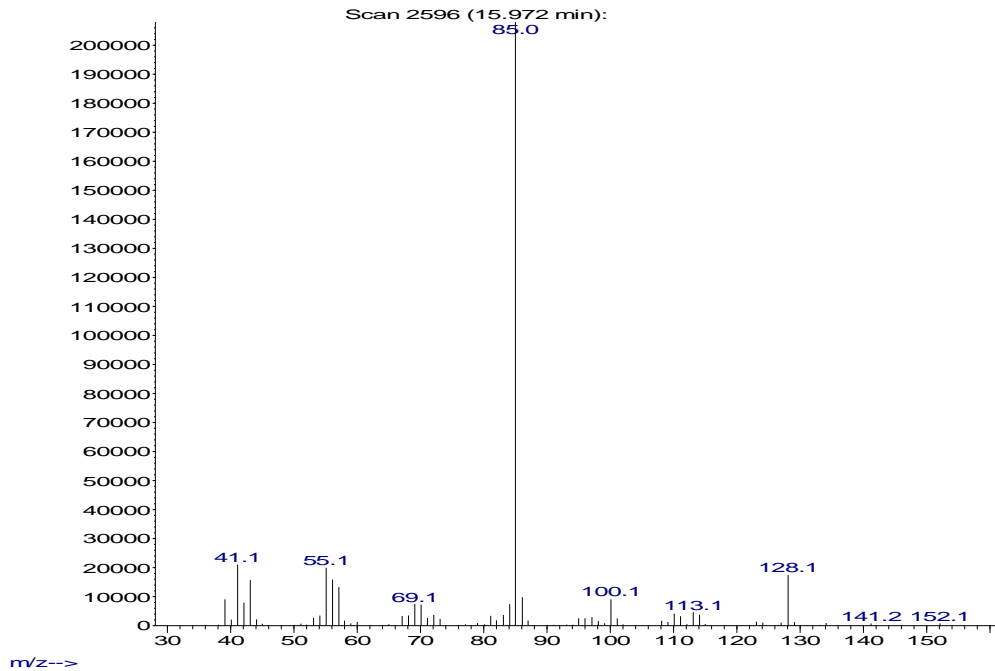


**Maseni spektar  $\alpha$ -pentil- $\delta$ -valerolaktama**

Abundance

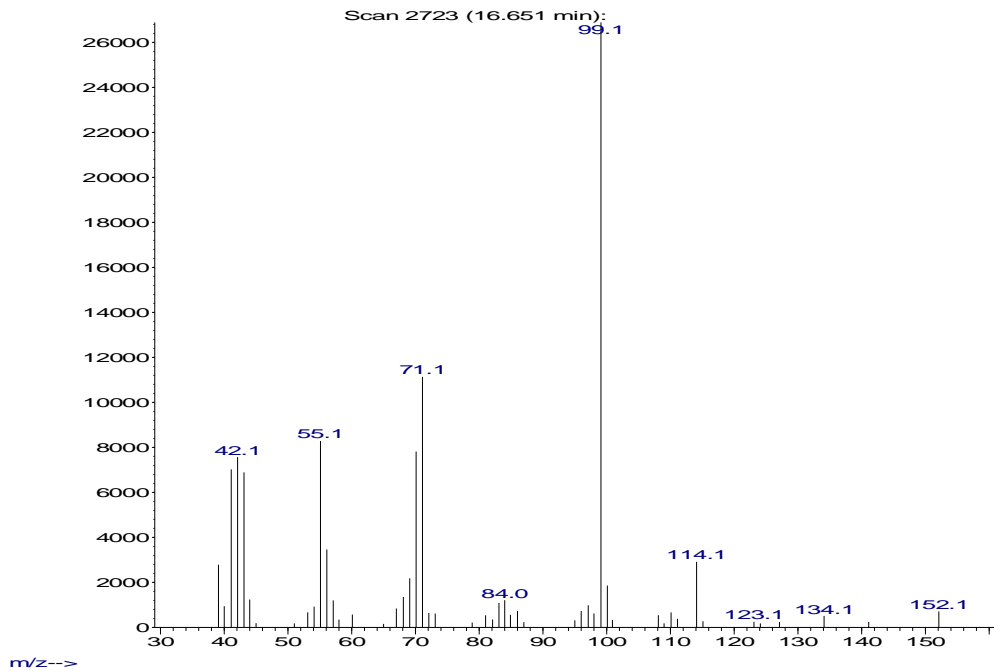
**Maseni spektar  $\gamma$ -dekalaktona**

Abundance

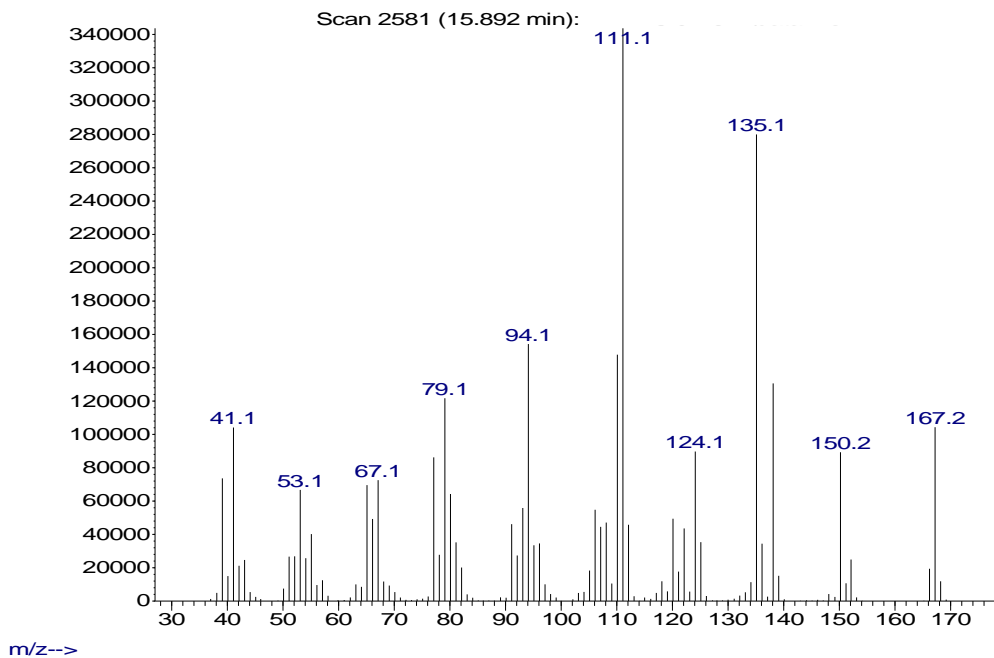


Maseni spektar  $\delta$ -dekalaktona

Abundance

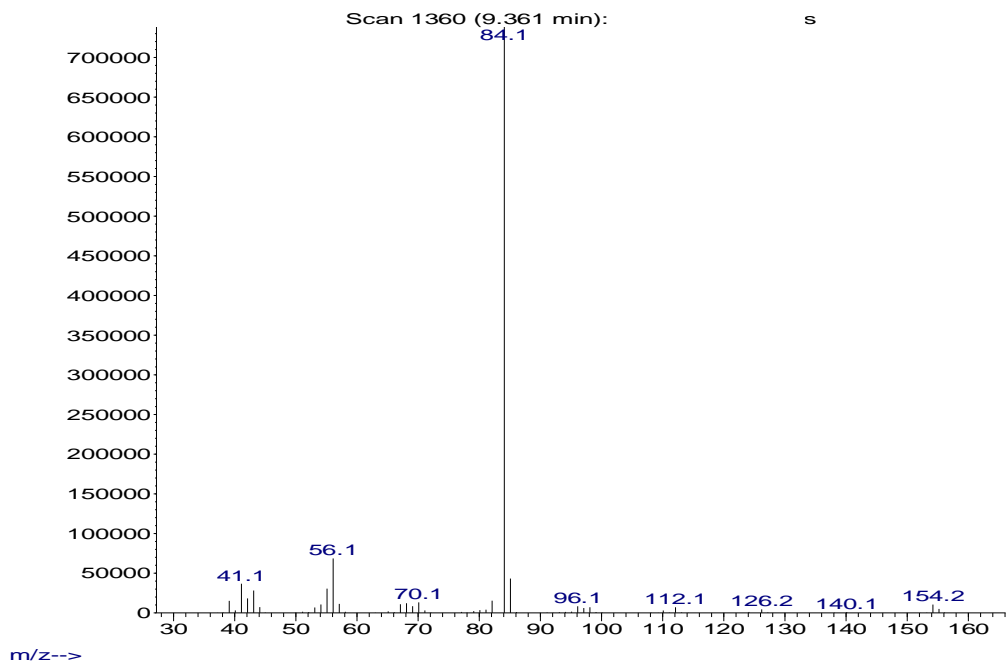
Maseni spektar (*E*)-oksima 2-pentilciklopent-2-enona

Abundance

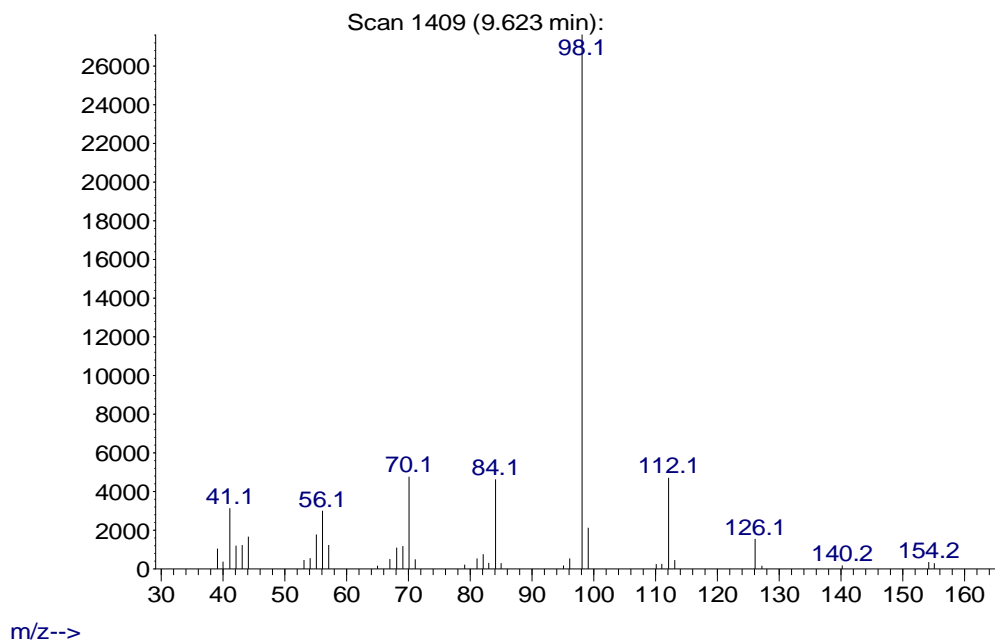


**Maseni spektar 2-pentilpiperidina**

Abundance

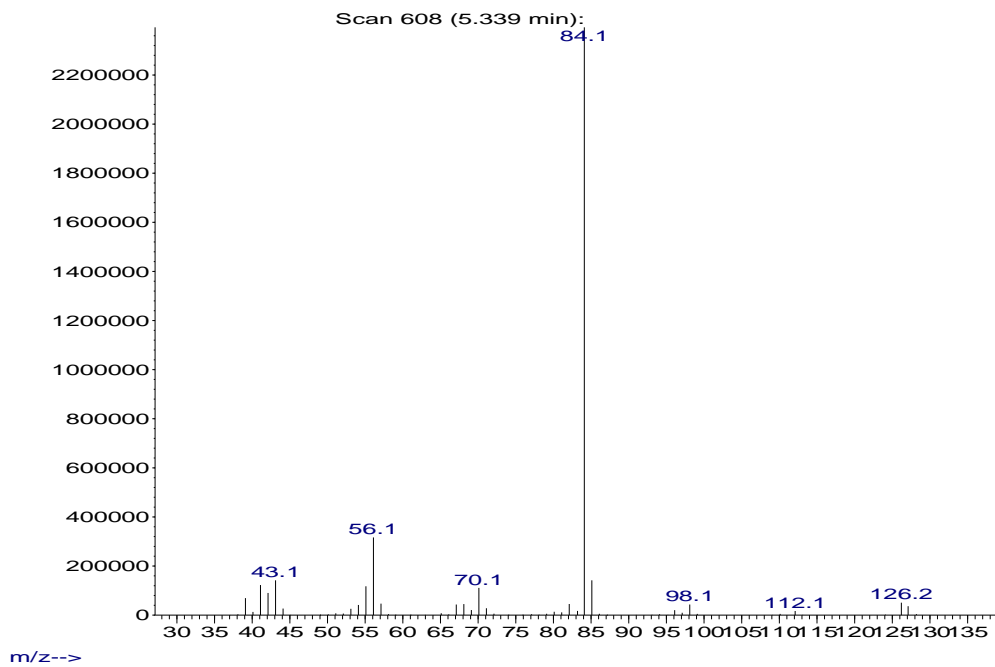
**Maseni spektar 3-pentilpiperidina**

Abundance

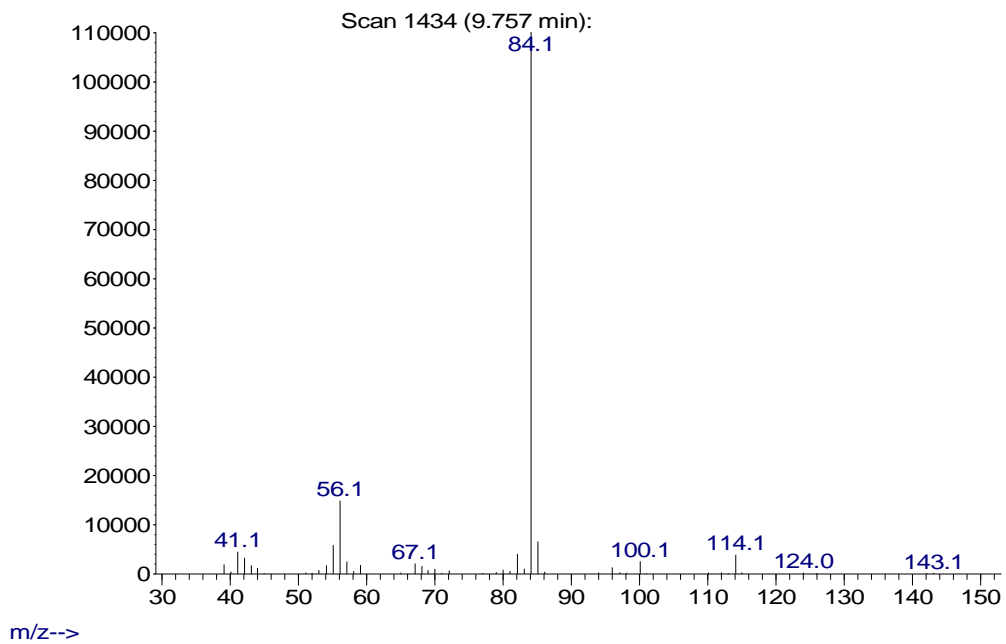


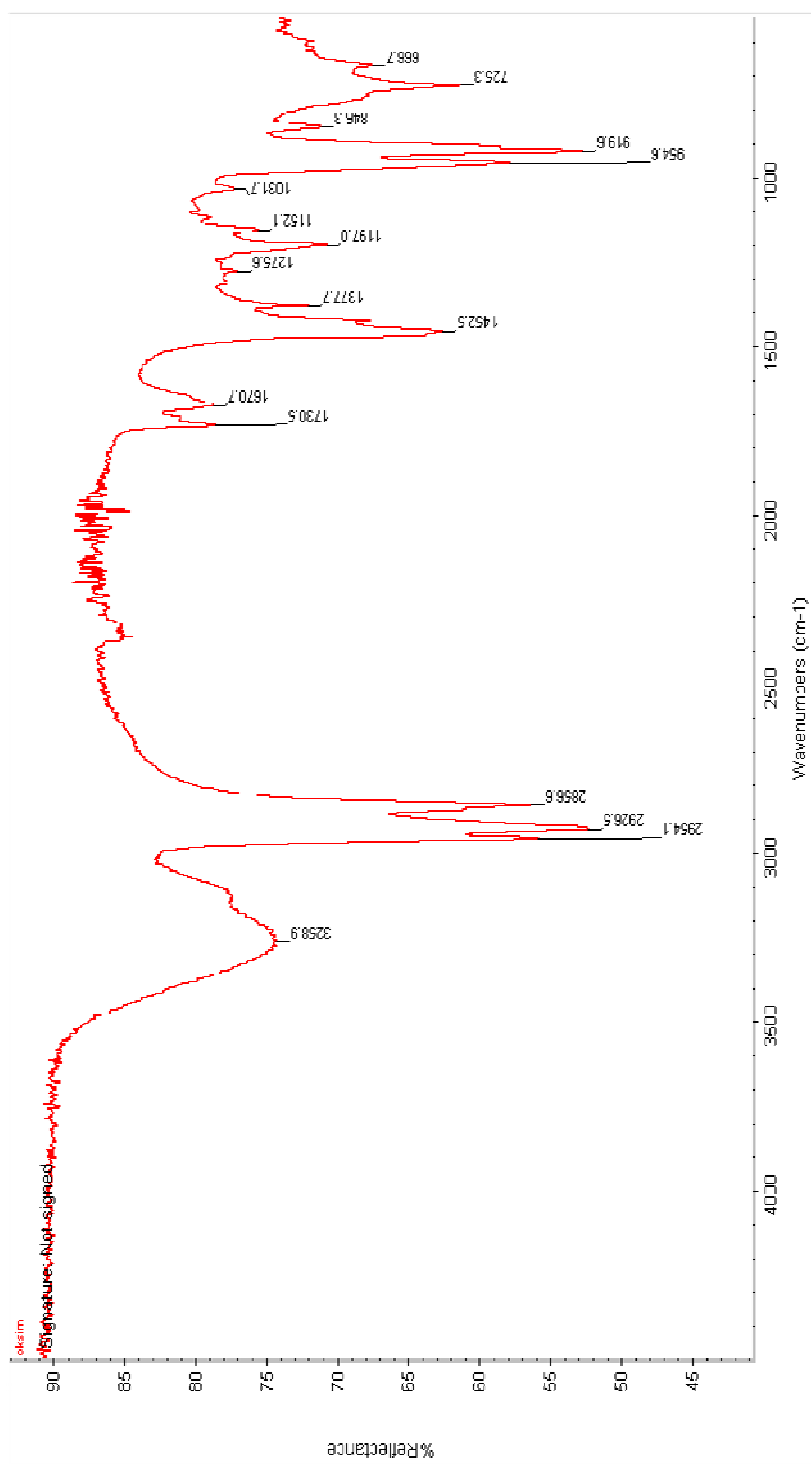
**Maseni spektar koniina (2-propilpiperidina)**

Abundance

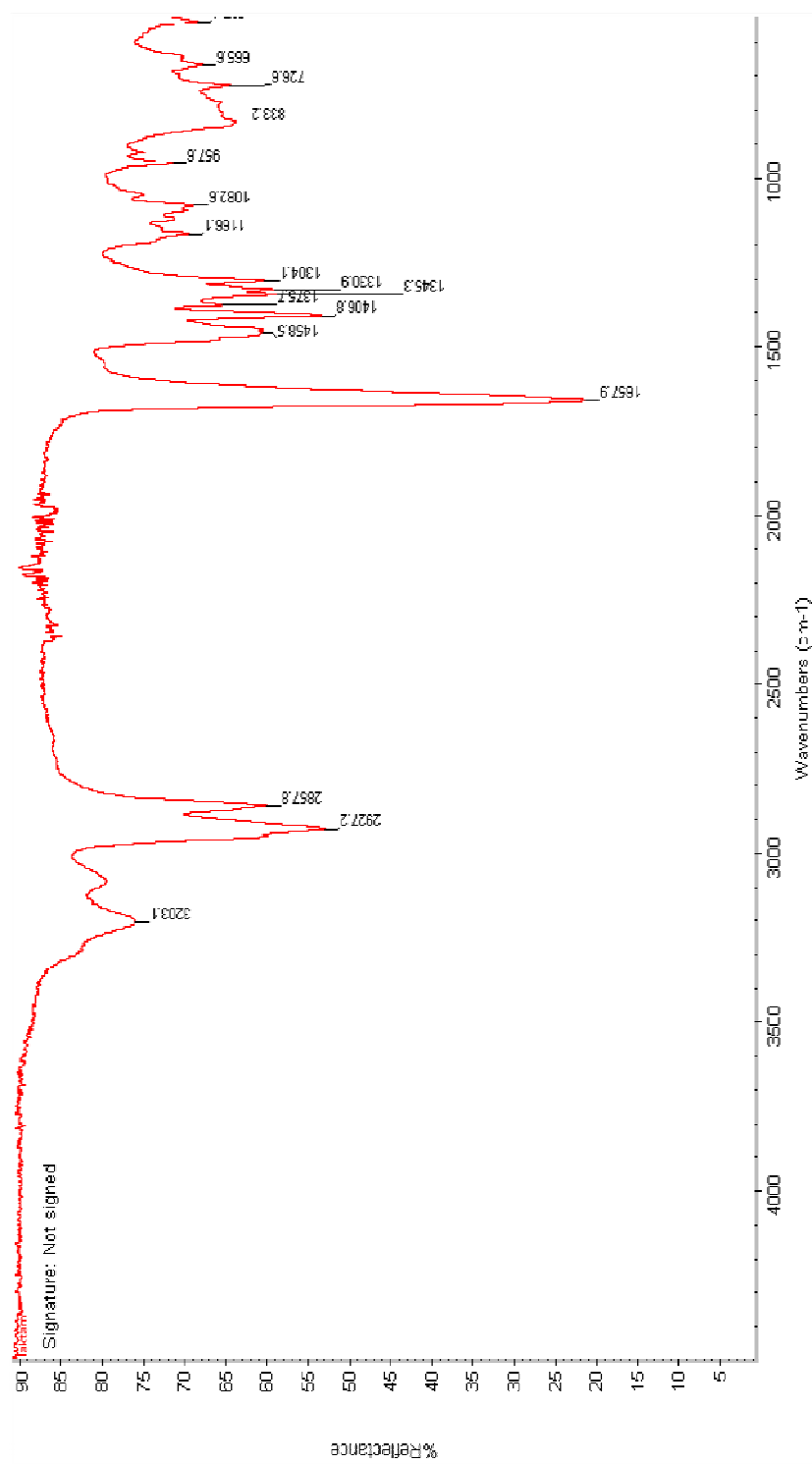
**Maseni spektar konhidrina (1-(piperidin-2-il)propan-1-ola)**

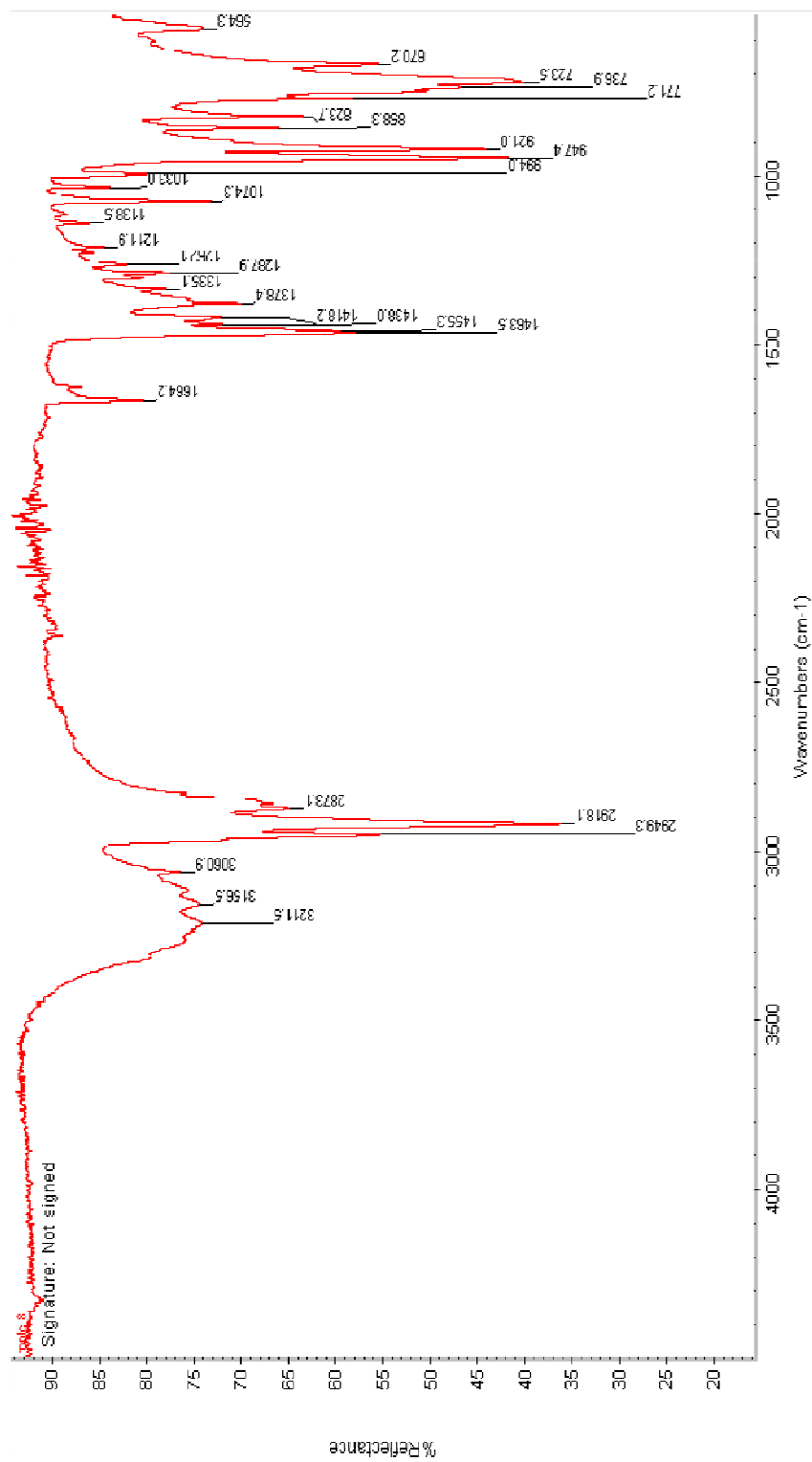
Abundance



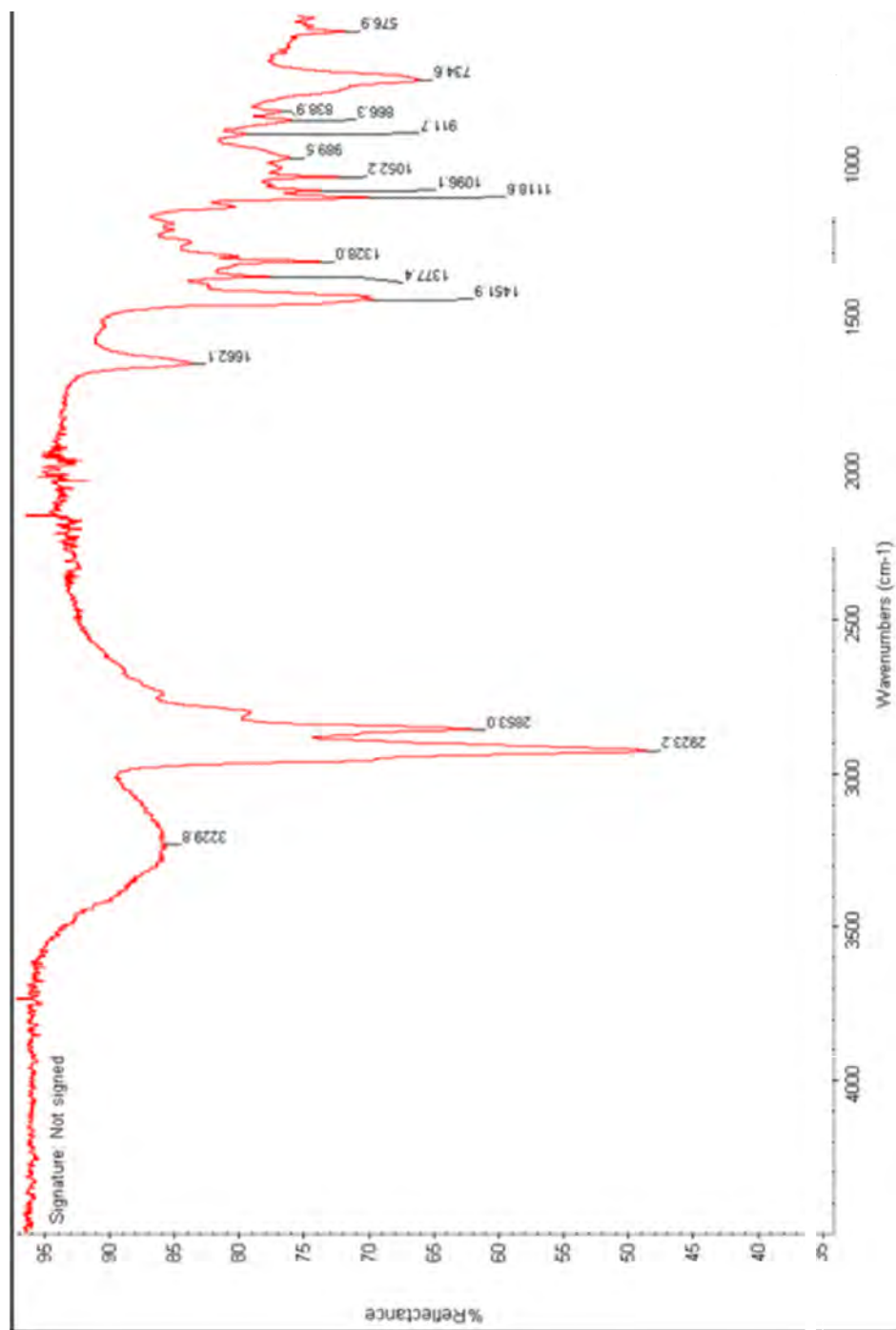
IR spektar (*E*)-oksima 2-pentilciklopentanona

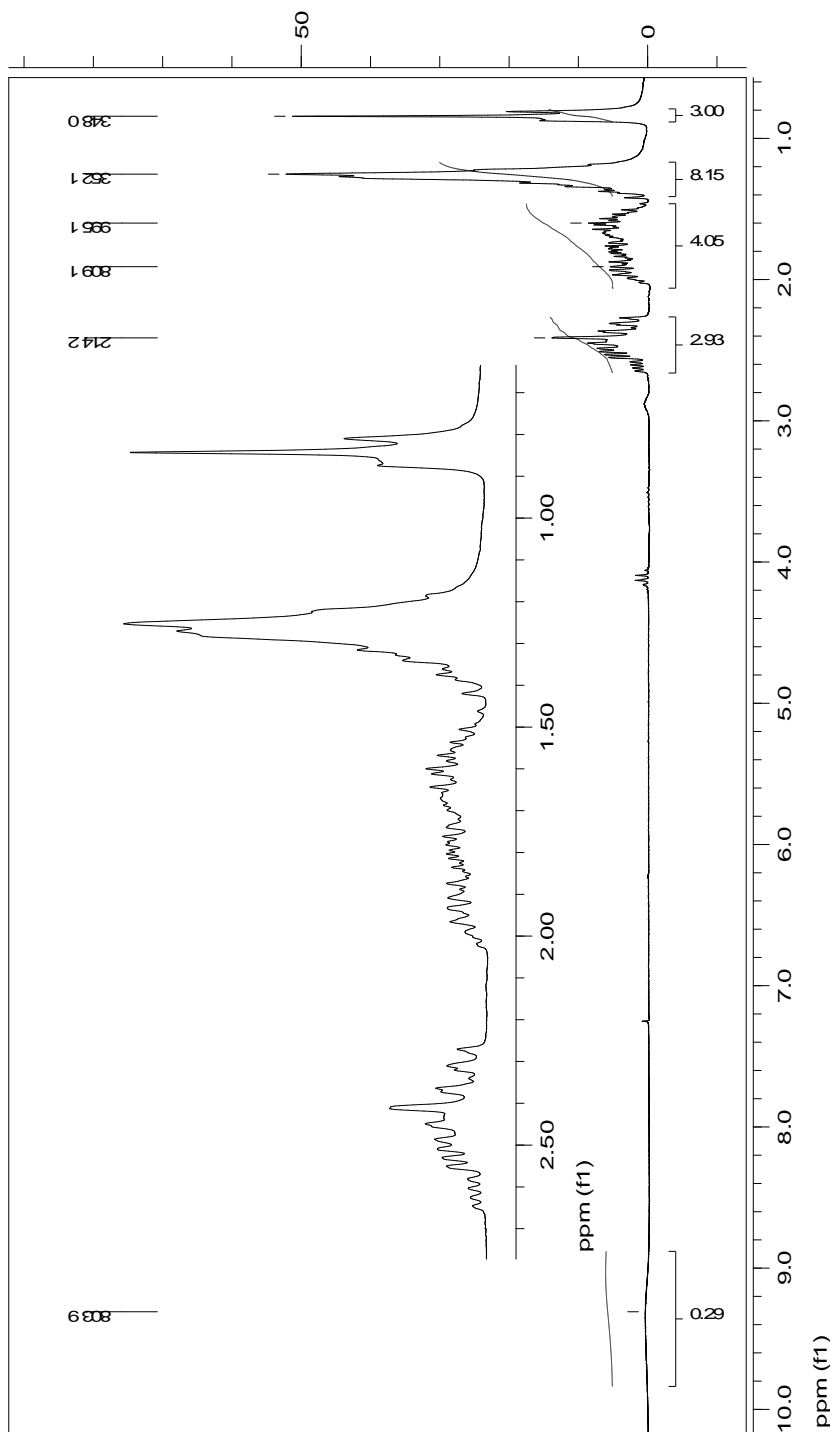


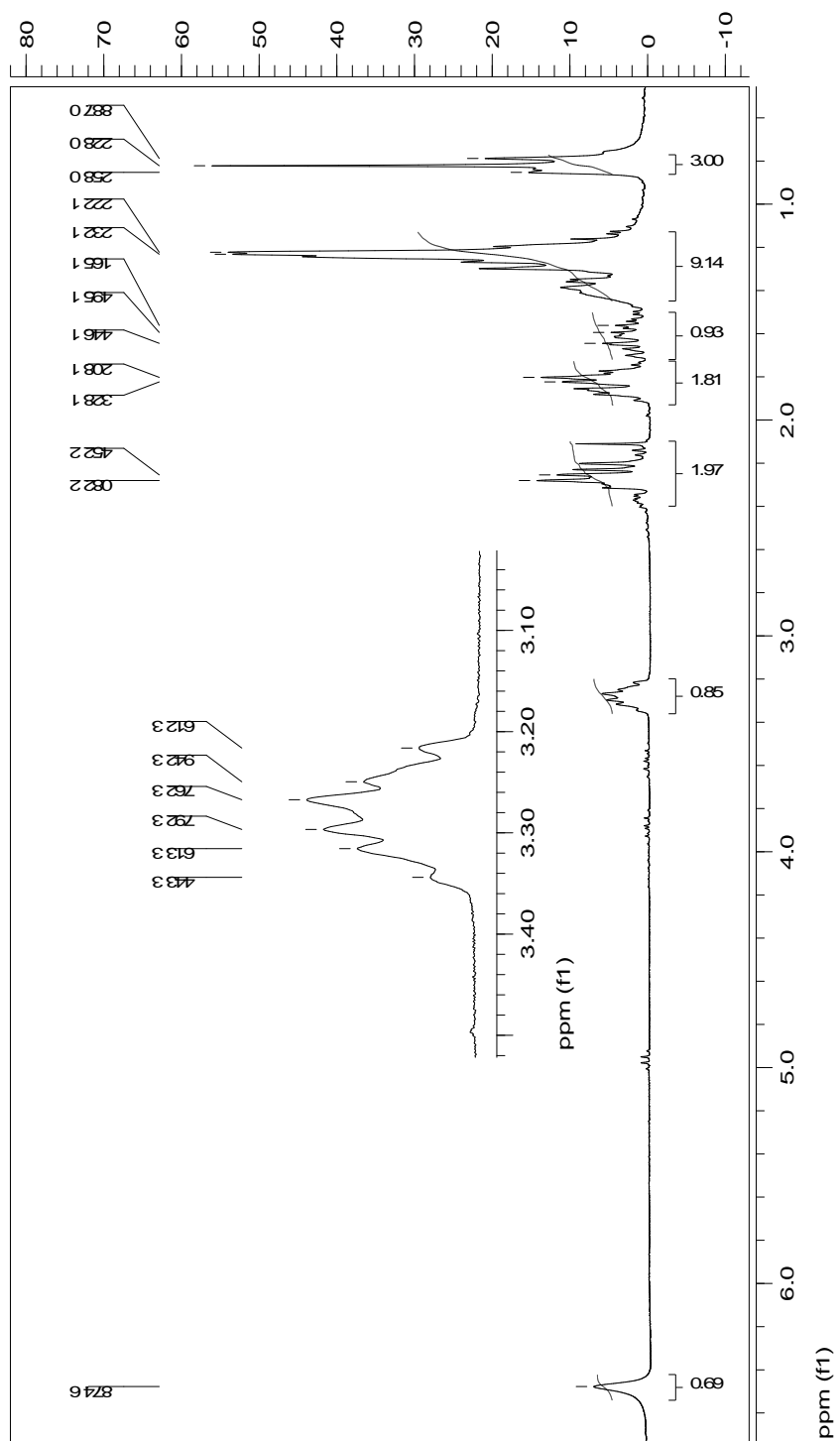
IR spektar  $\delta$ -dekalaktama

IR spektar (*E*)-oksima 2-pentilciklopent-2-enona

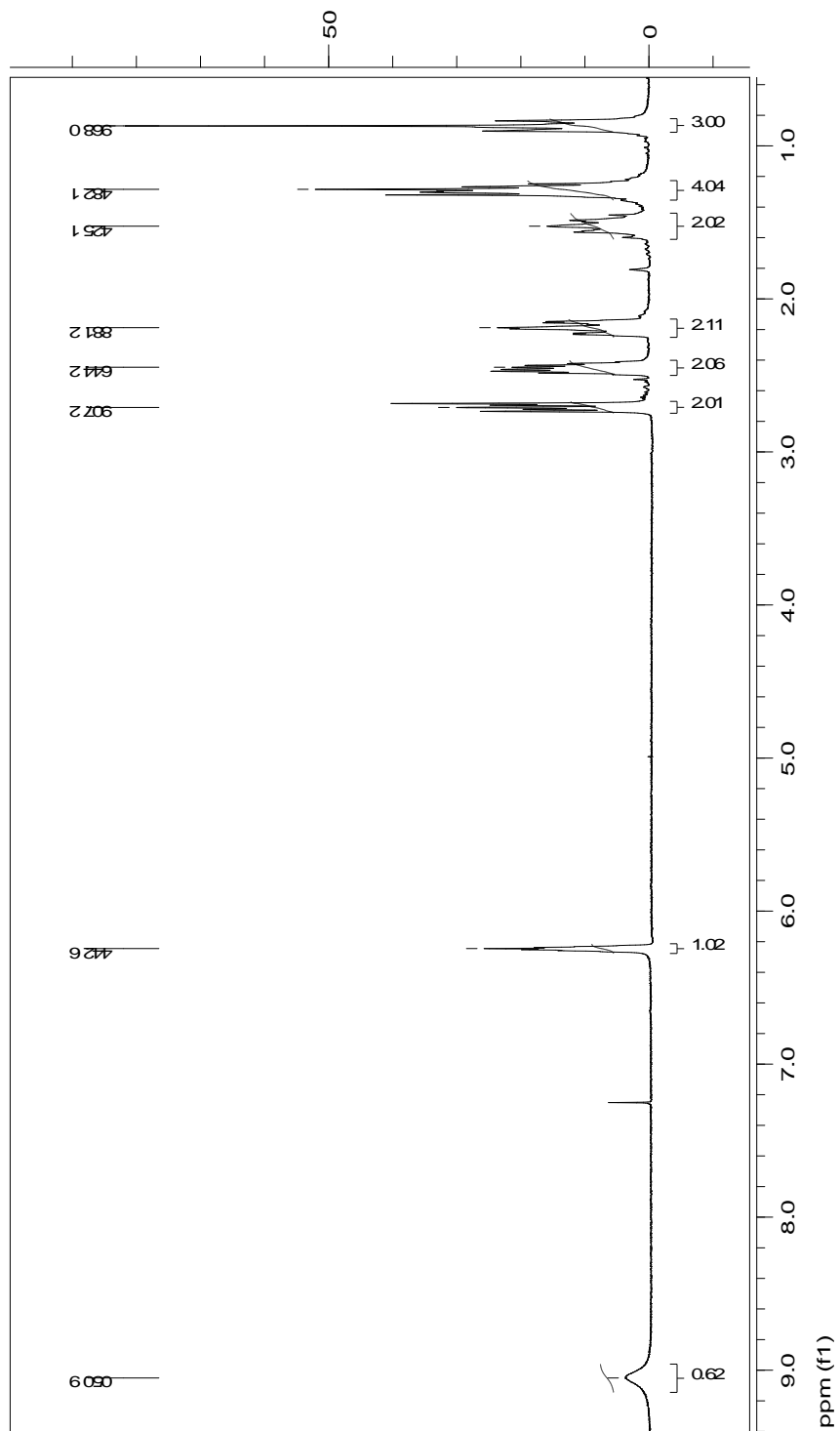
## IR spektar 2-pentilpiperidina

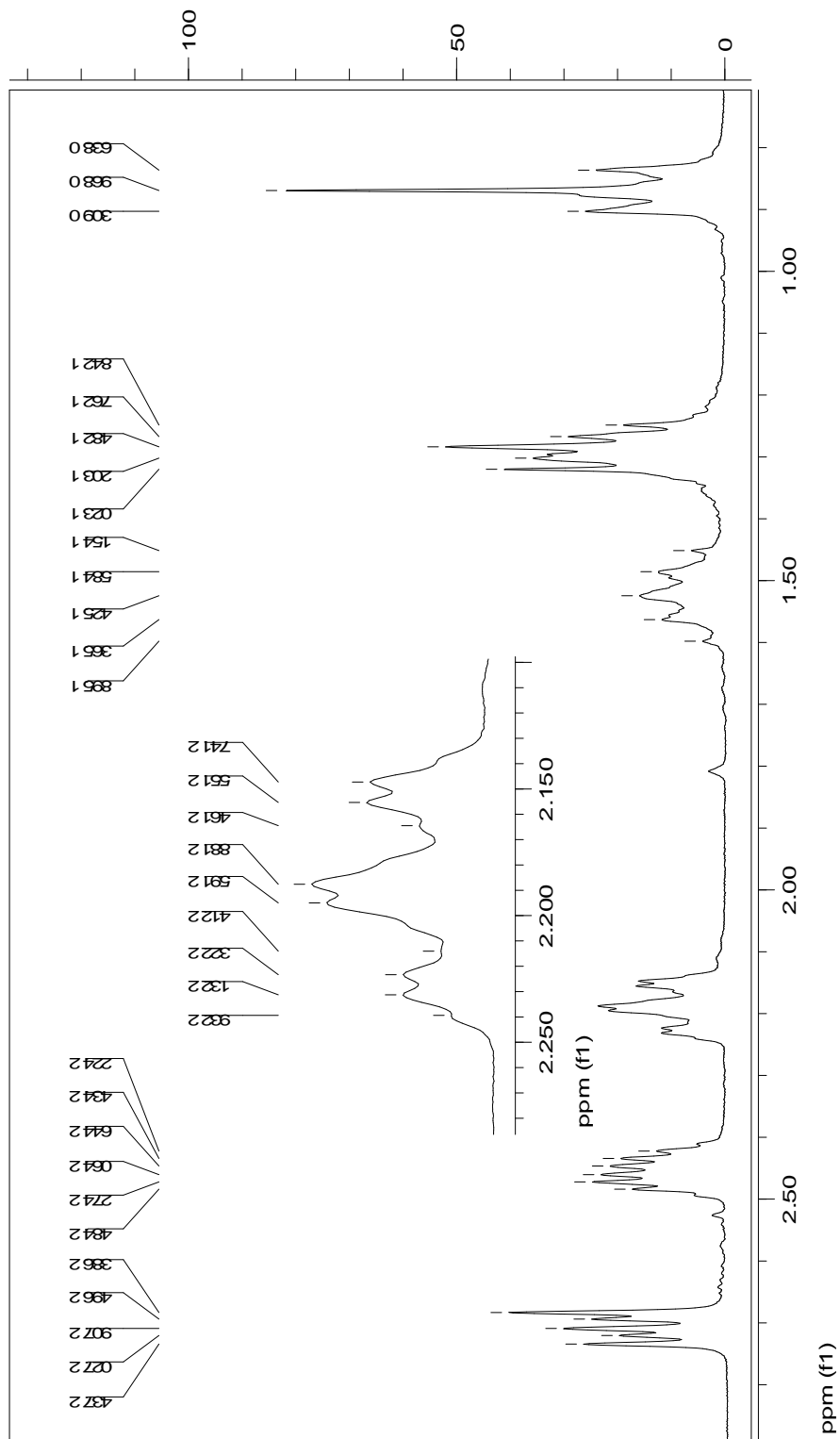


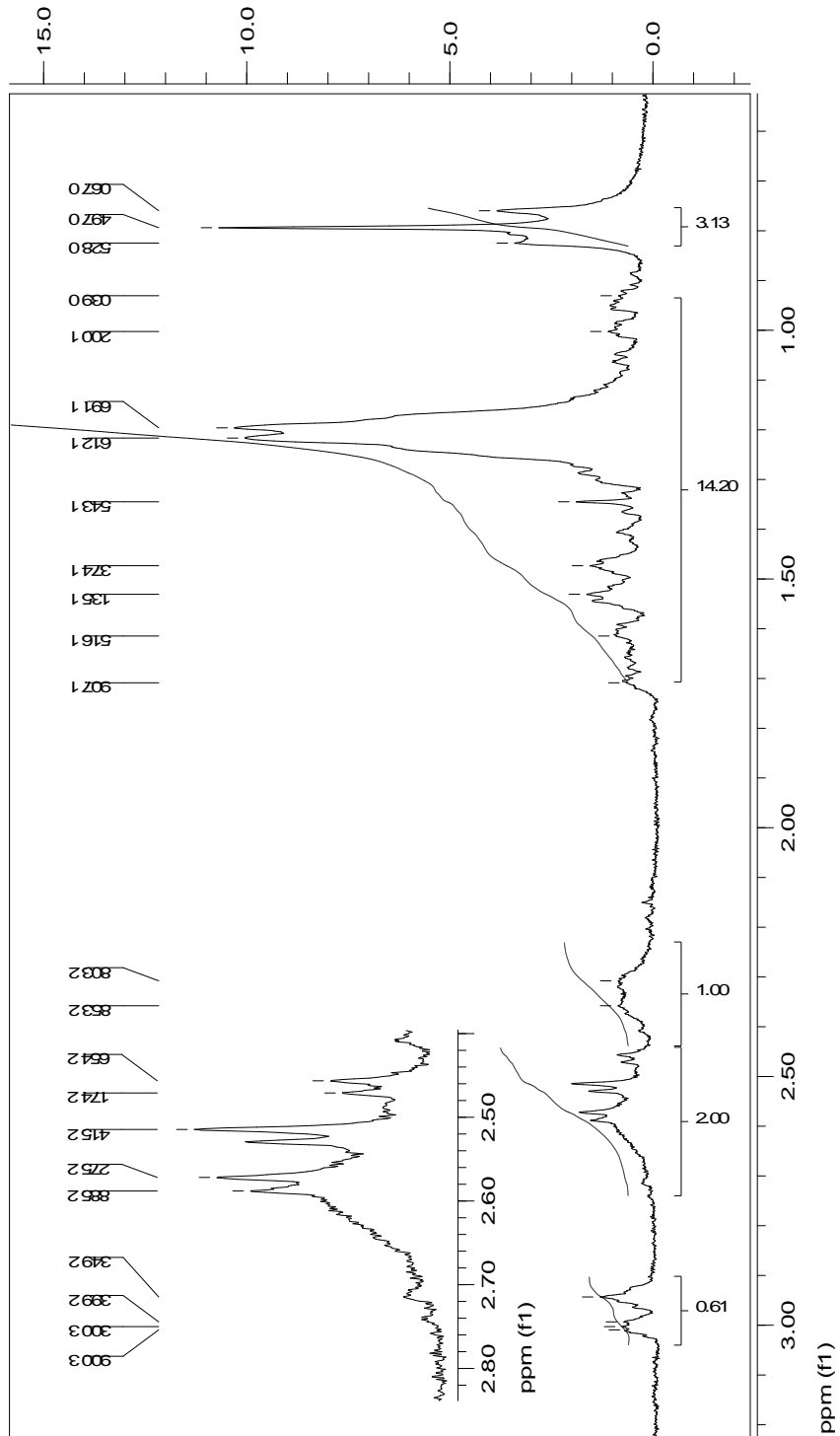
$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spektar (*E*)-oksima 2-pentilciklopentanona

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spektar  $\delta$ -valerolaktama

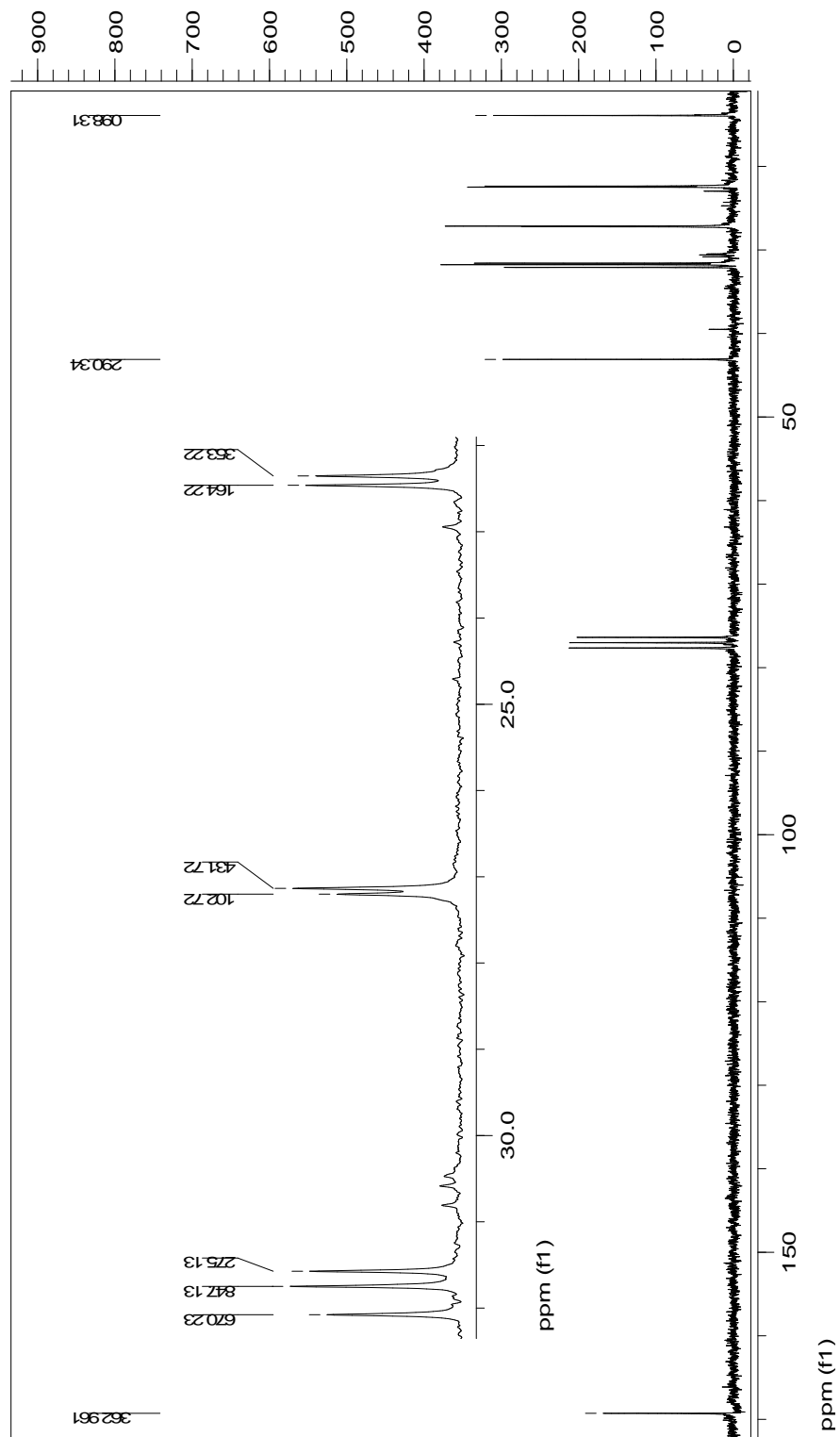
$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spektar (*E*)-oksima 2-pentilciklopent-2-enona

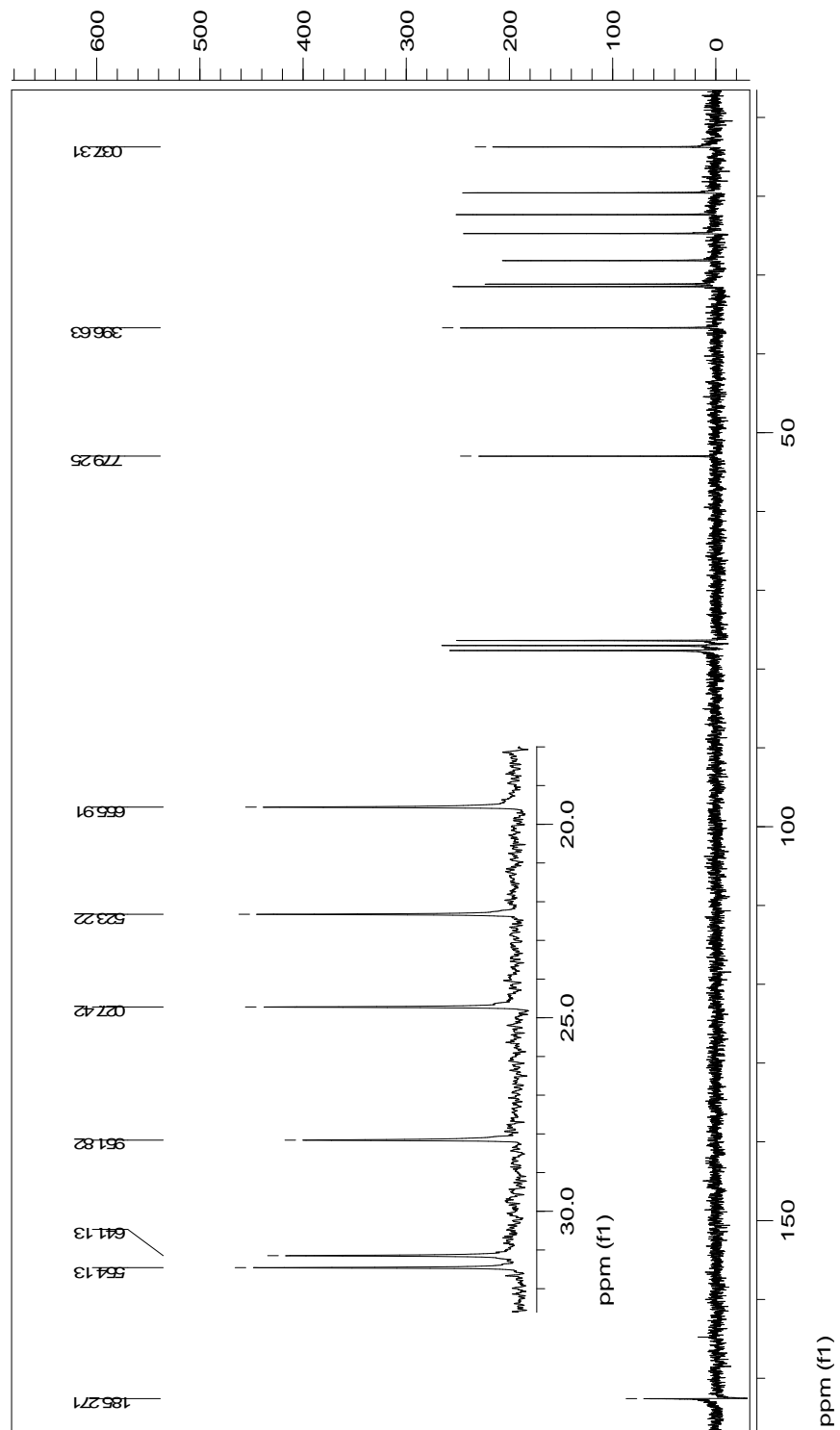


Deo  $^1\text{H}$ NMR spektra (*E*)-oksima 2-pentilciklopent-2-enona na  $\delta < 3$  ppm

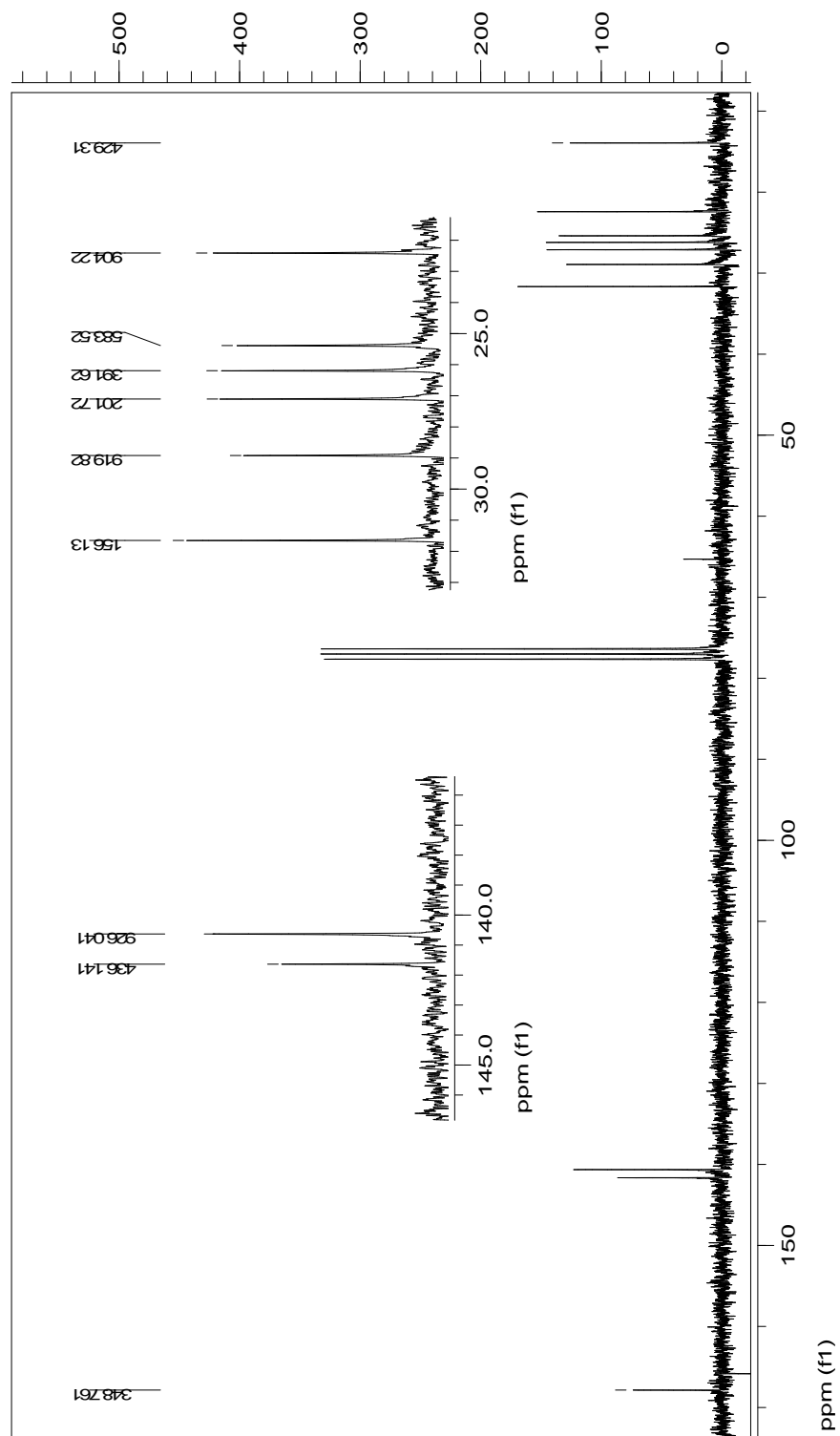
$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spektar 2-pentilpiperidina

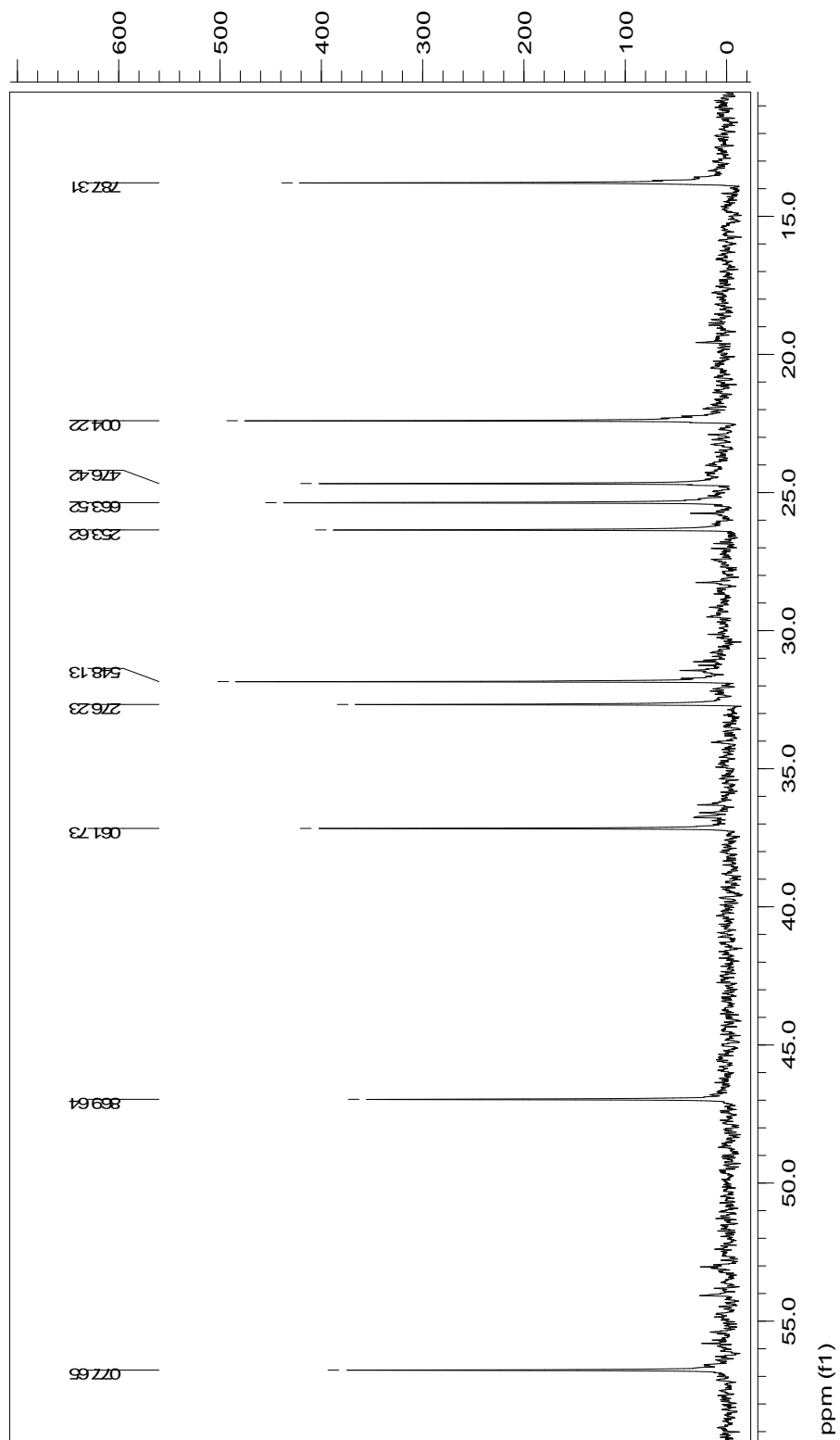


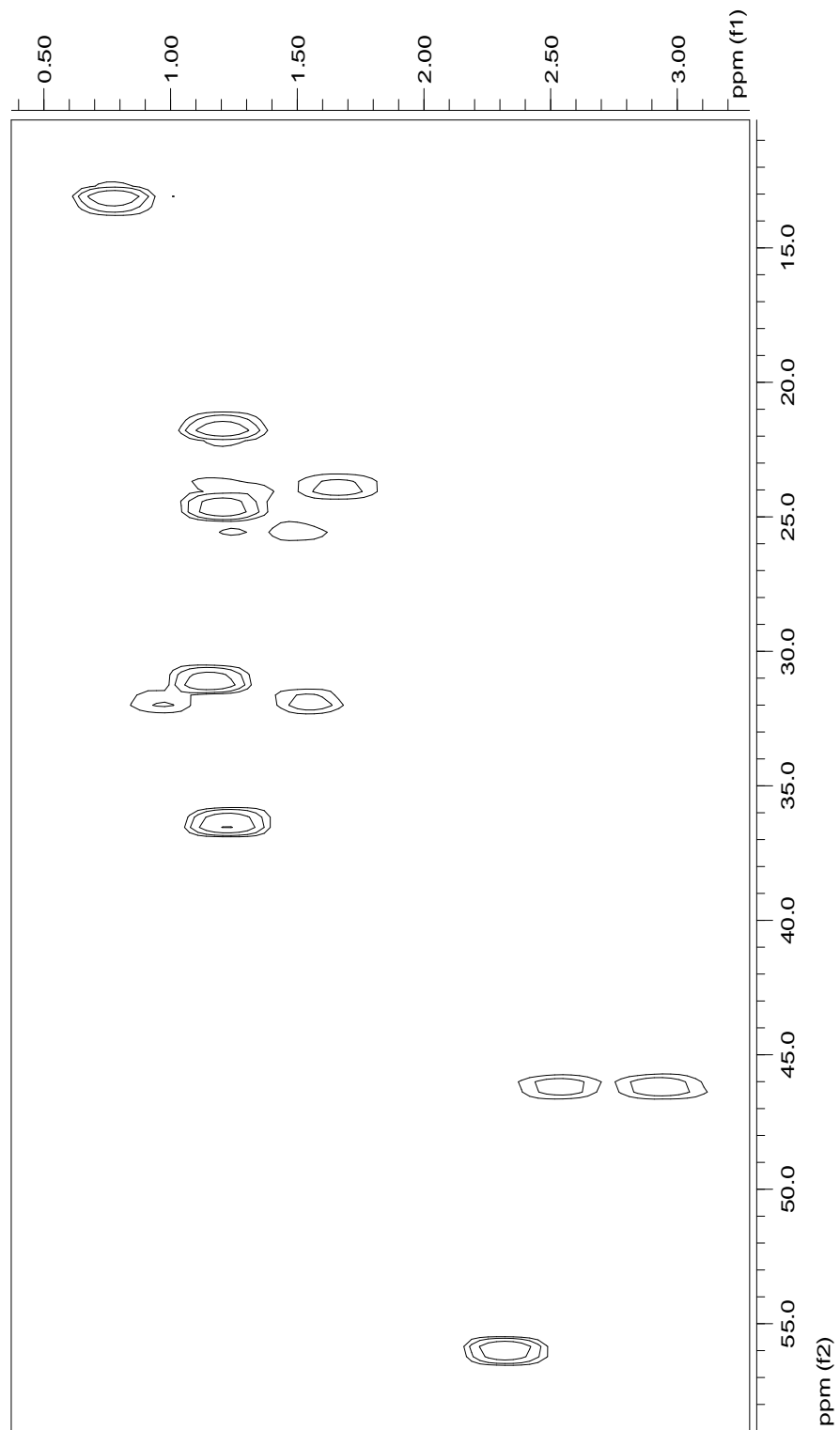
$^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spektar (*E*)-oksima 2-pentilciklopentanona

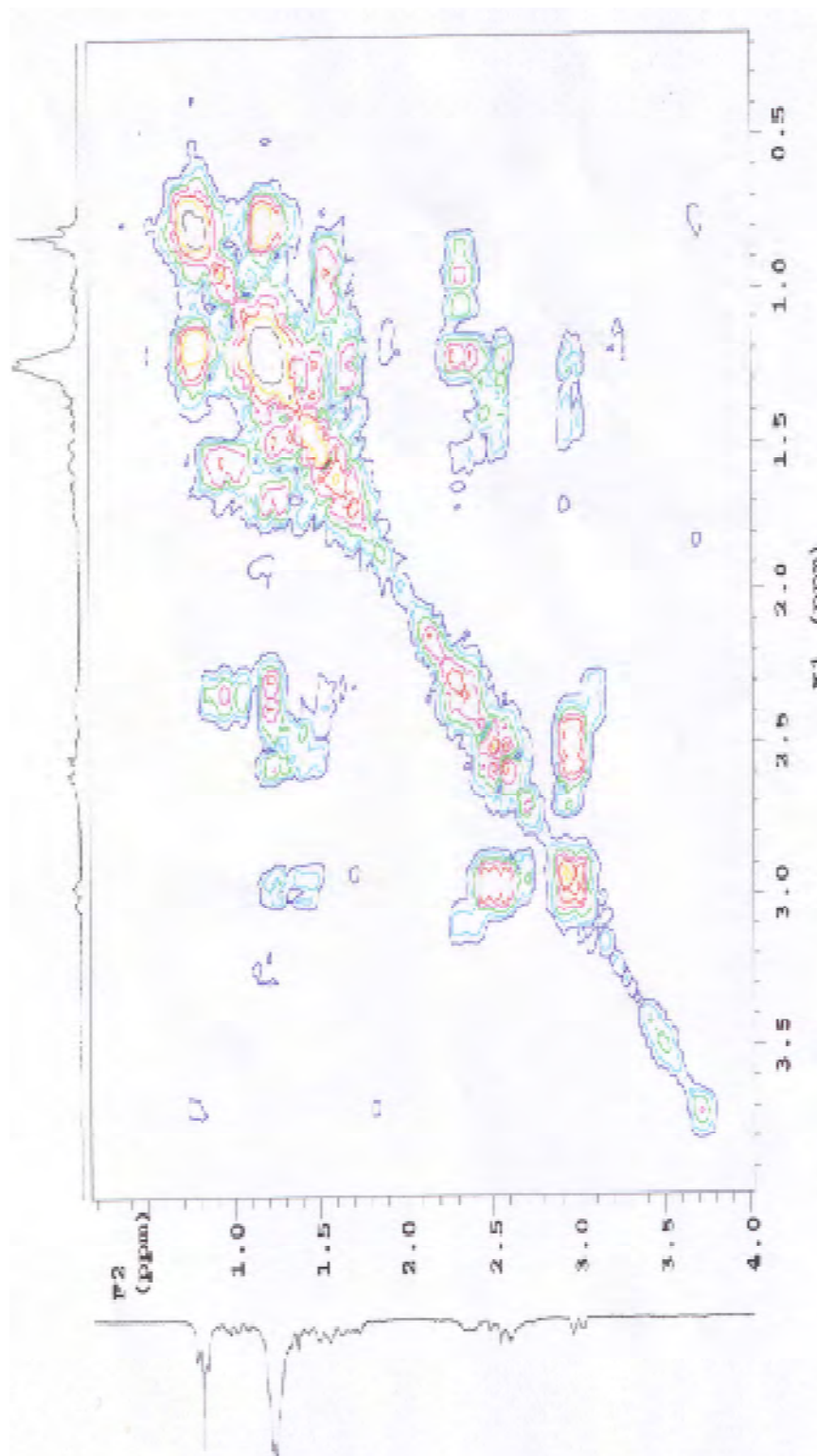
$^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spektar  $\delta$ -dekalaktama

$^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spektar (*E*)-oksima 2-pentilciklopent-2-enona



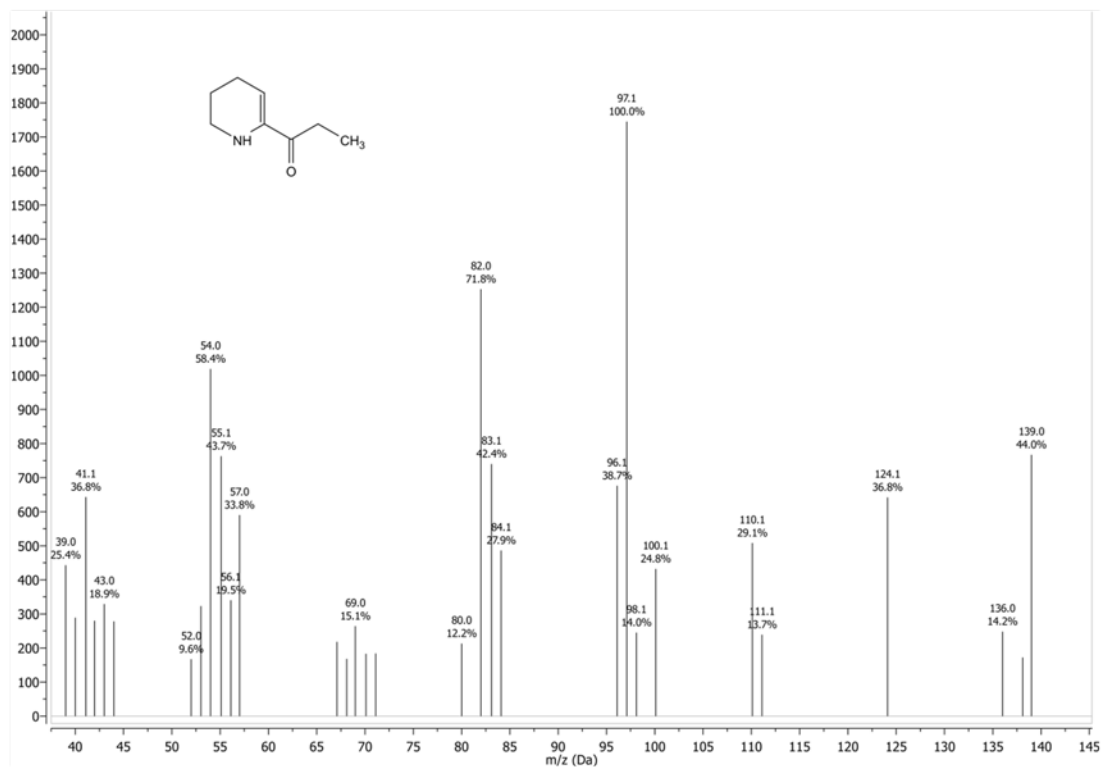
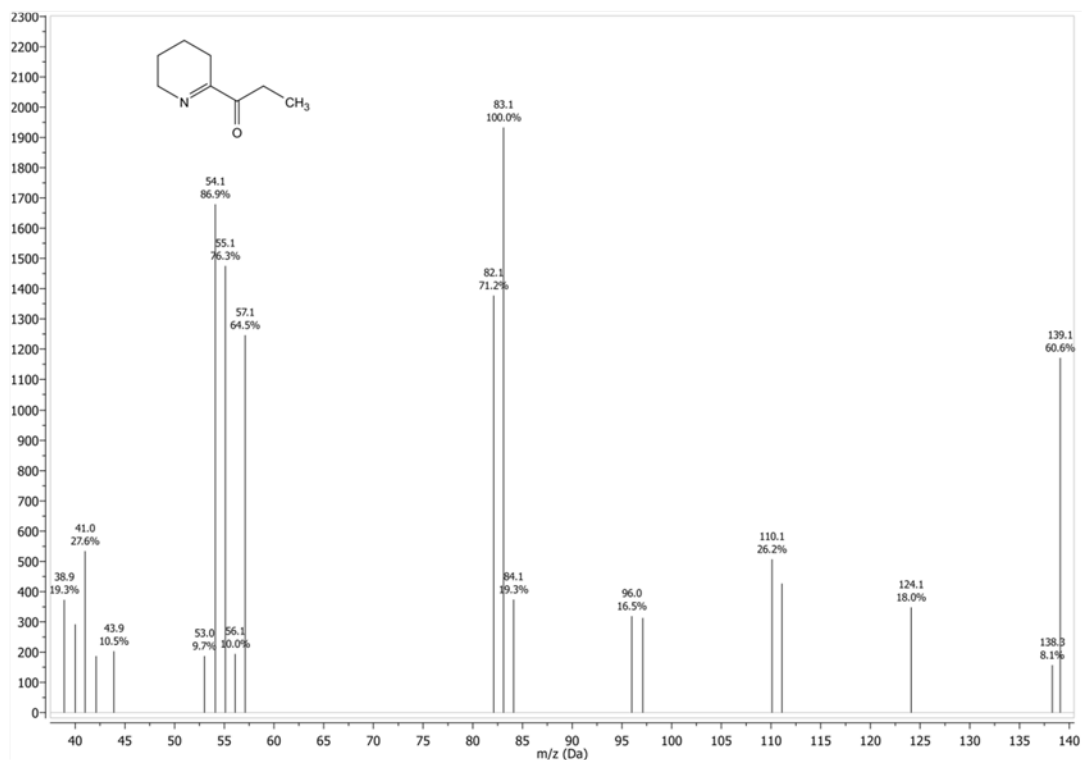
$^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spektar 2-pentilpiperidina

HETCOR (CDCl<sub>3</sub>) spektar 2-pentilpiperidina

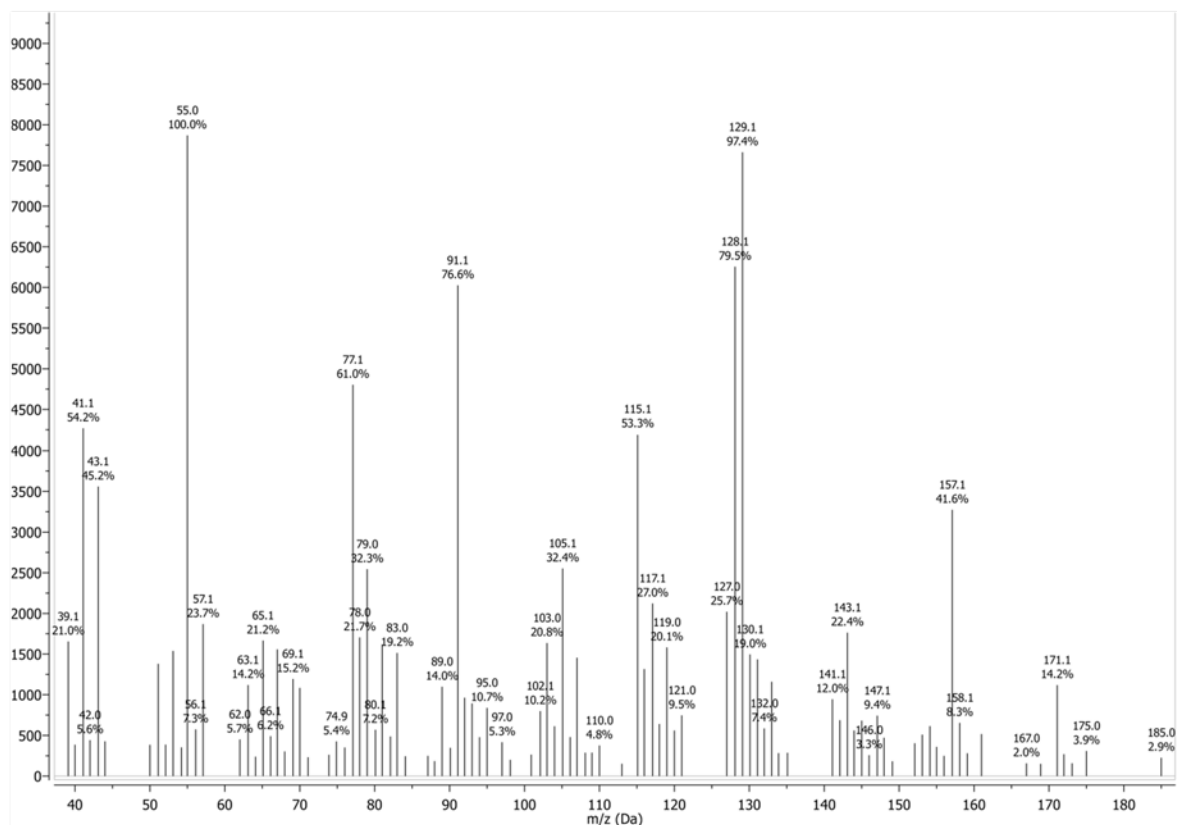
$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY ( $\text{CDCl}_3$ ) spektar 2-pentilpiperidina

### 9.3. Maseni spektri steroida, alkaloida i neidentifikovanih jedinjenja prisutnih u uzorcima vrste *C. maculatum*

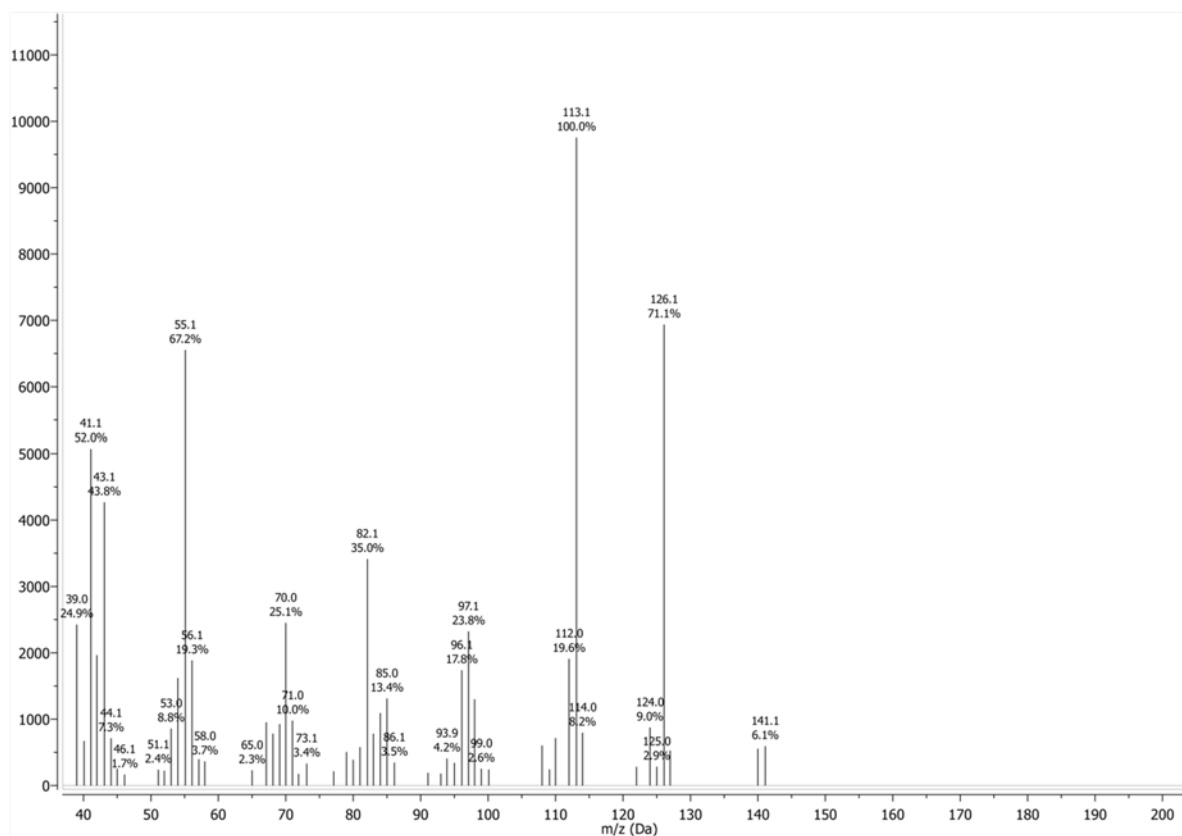
#### Maseni spektri 2-Propionil- 3,4,5,6- tetrahidropiridina i 2-Propionil- 1,4,5,6- tetrahidropiridina



## Maseni spektar neidentifikovanog jedinjenja 10

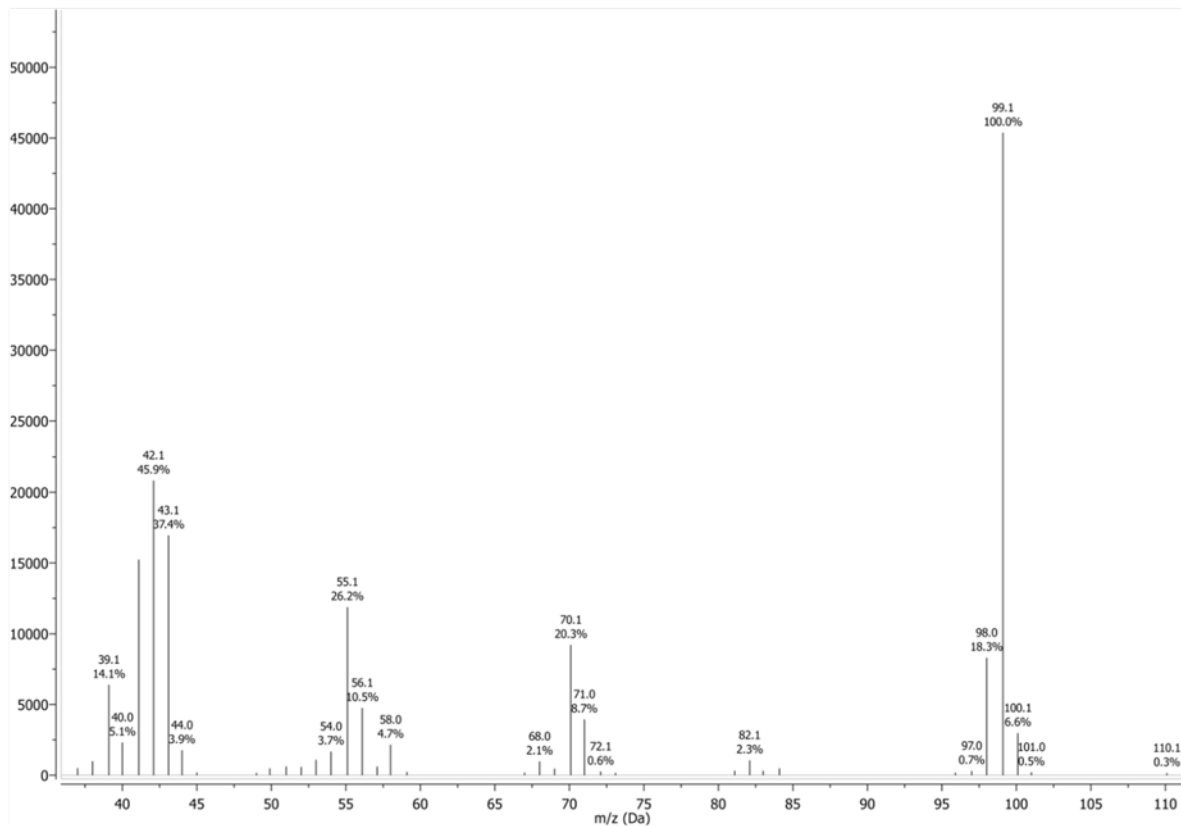


## Maseni spektar neidentifikovanog jedinjenja 11

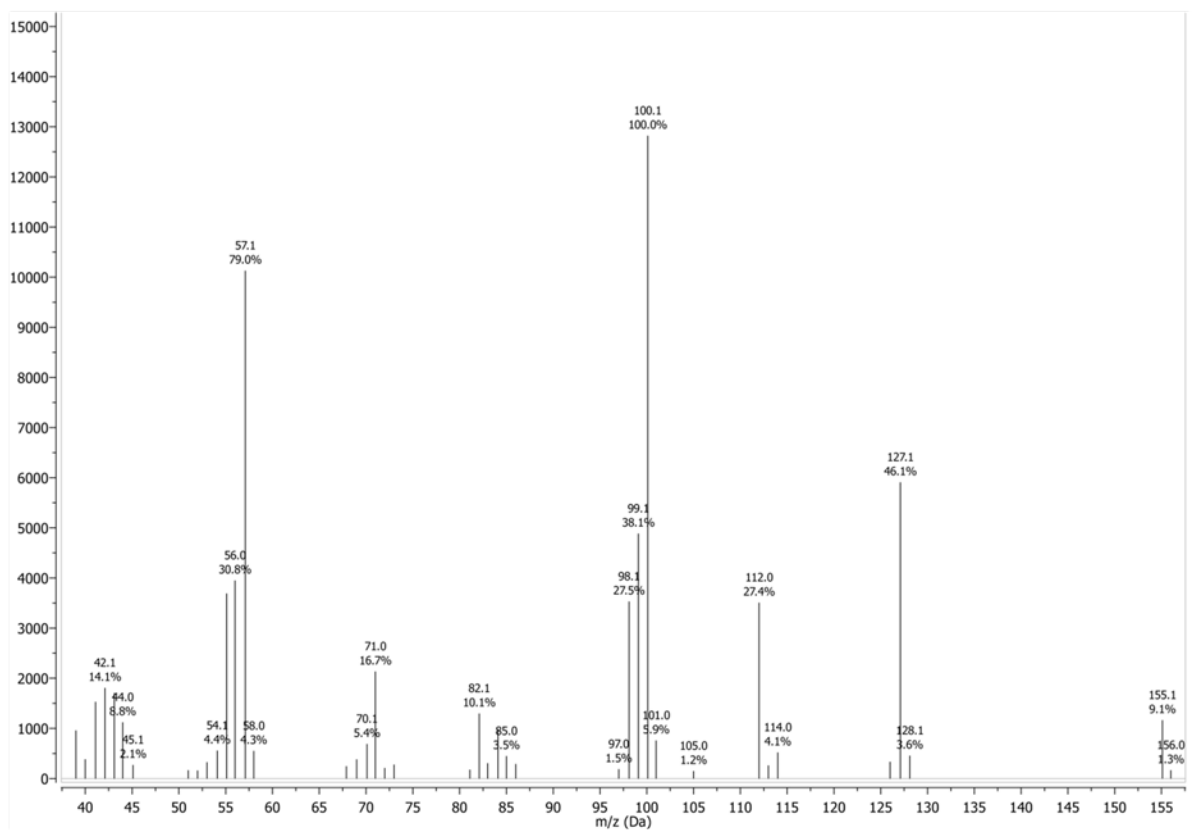




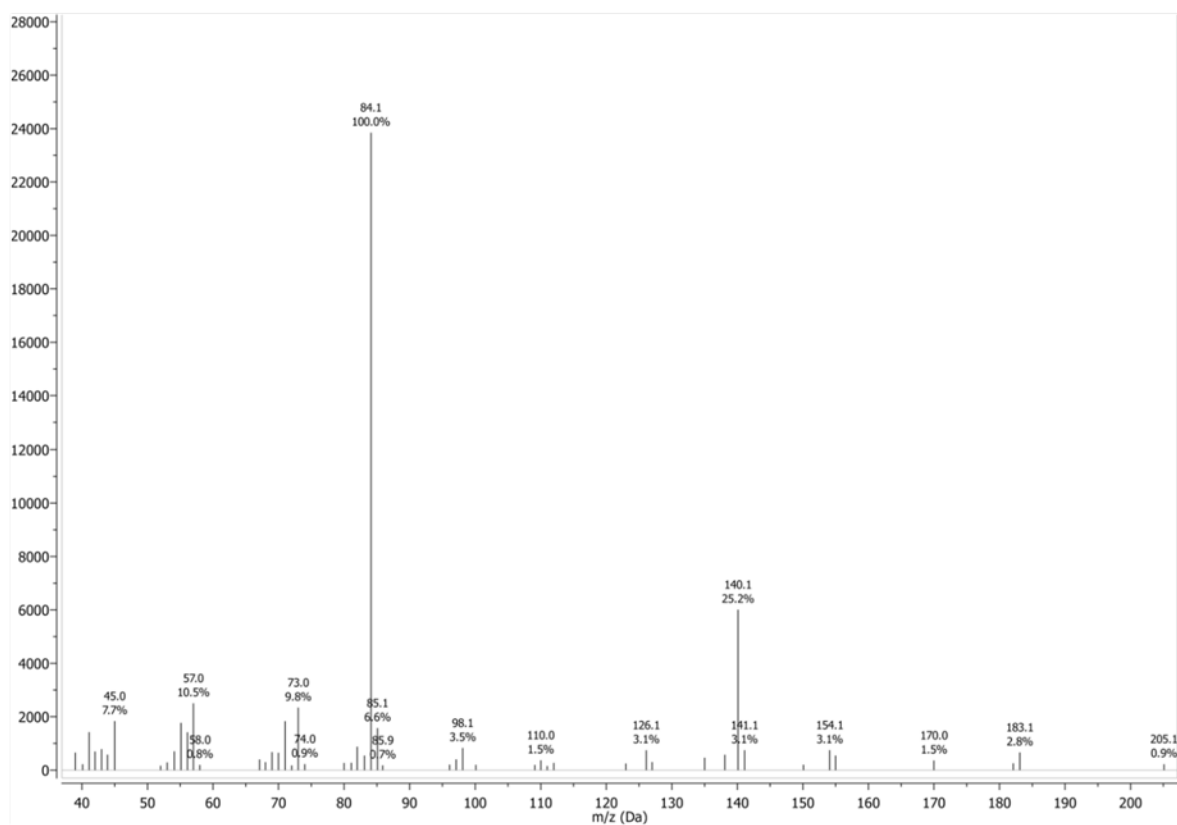
## Maseni spektar neidentifikovanog jedinjenja 12



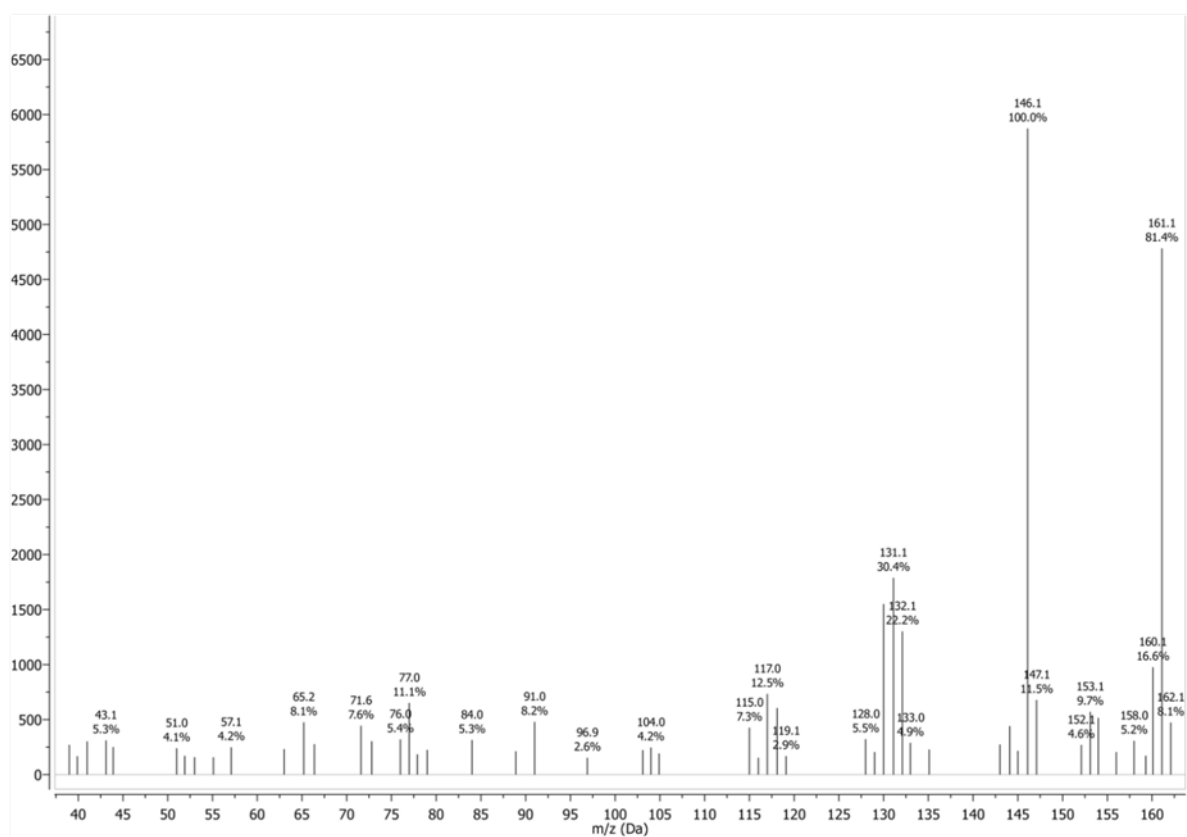
## Maseni spektar neidentifikovanog jedinjenja 13



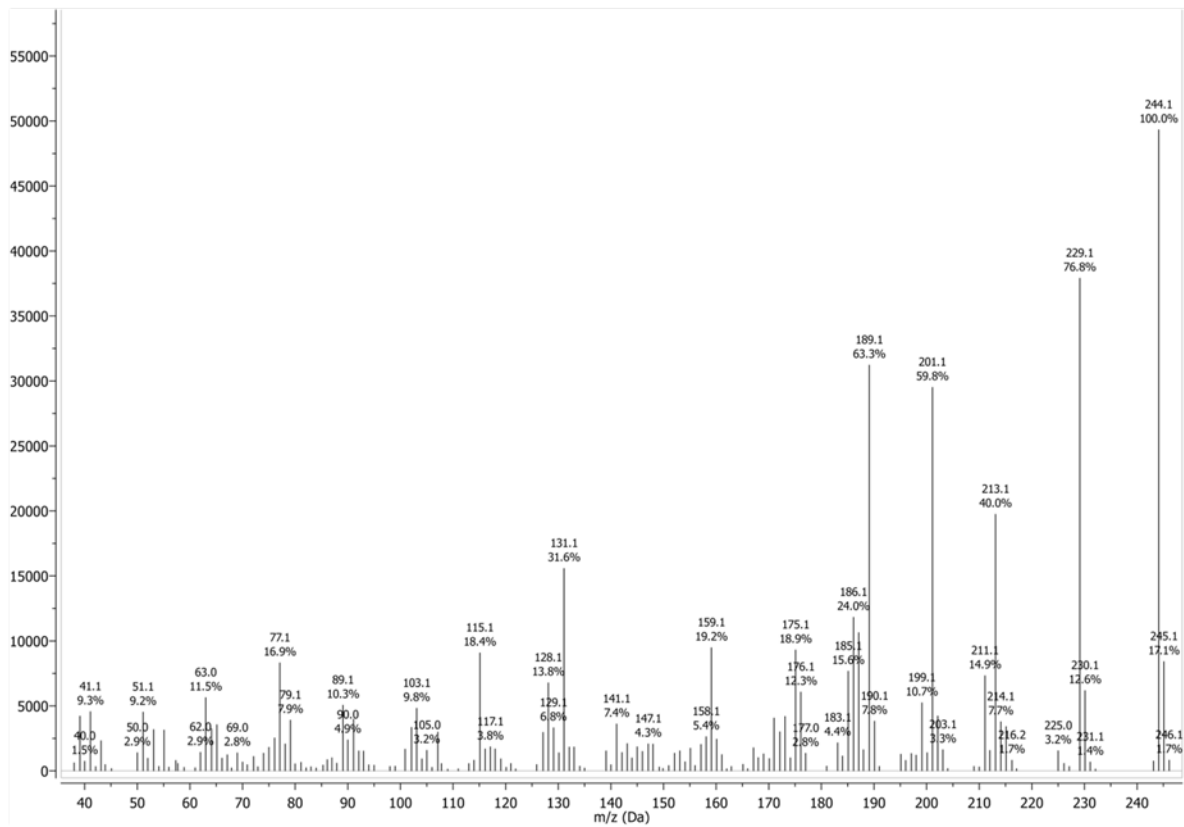
## Maseni spektar neidentifikovanog jedinjenja 14



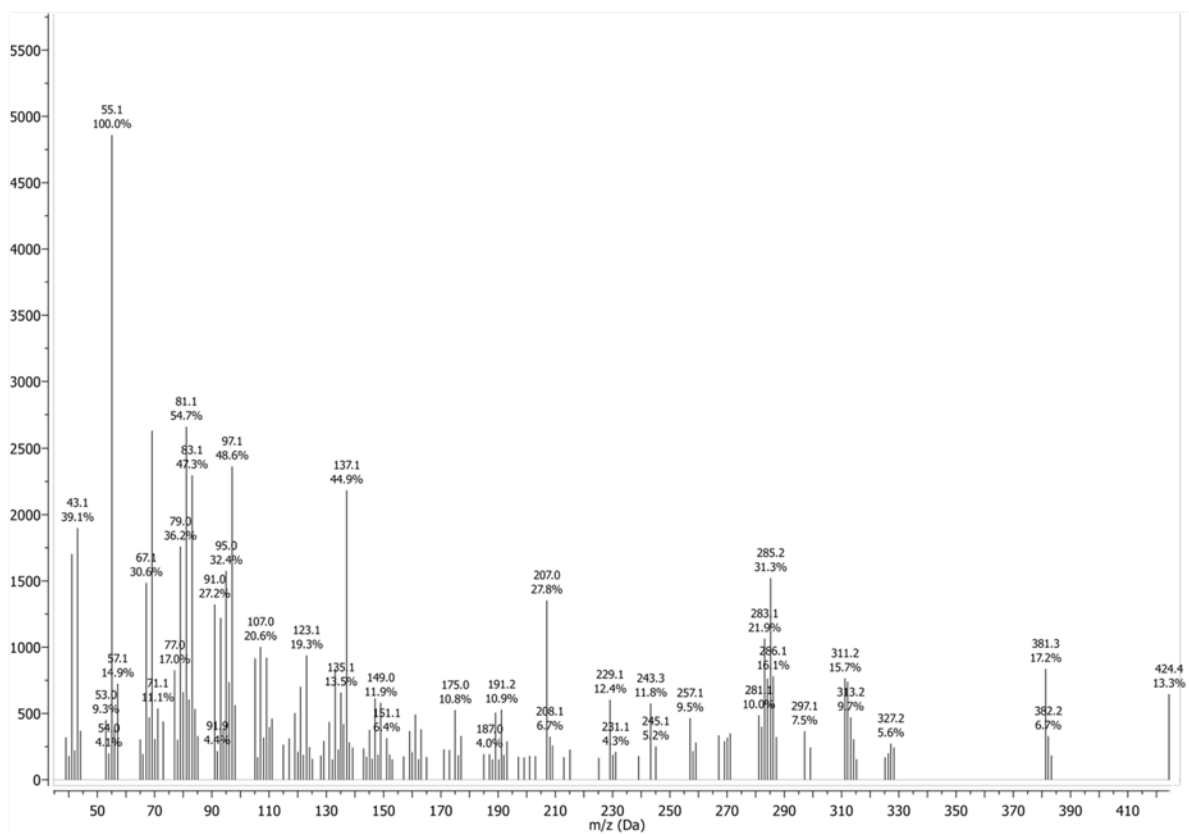
## Maseni spektar neidentifikovanog jedinjenja 15



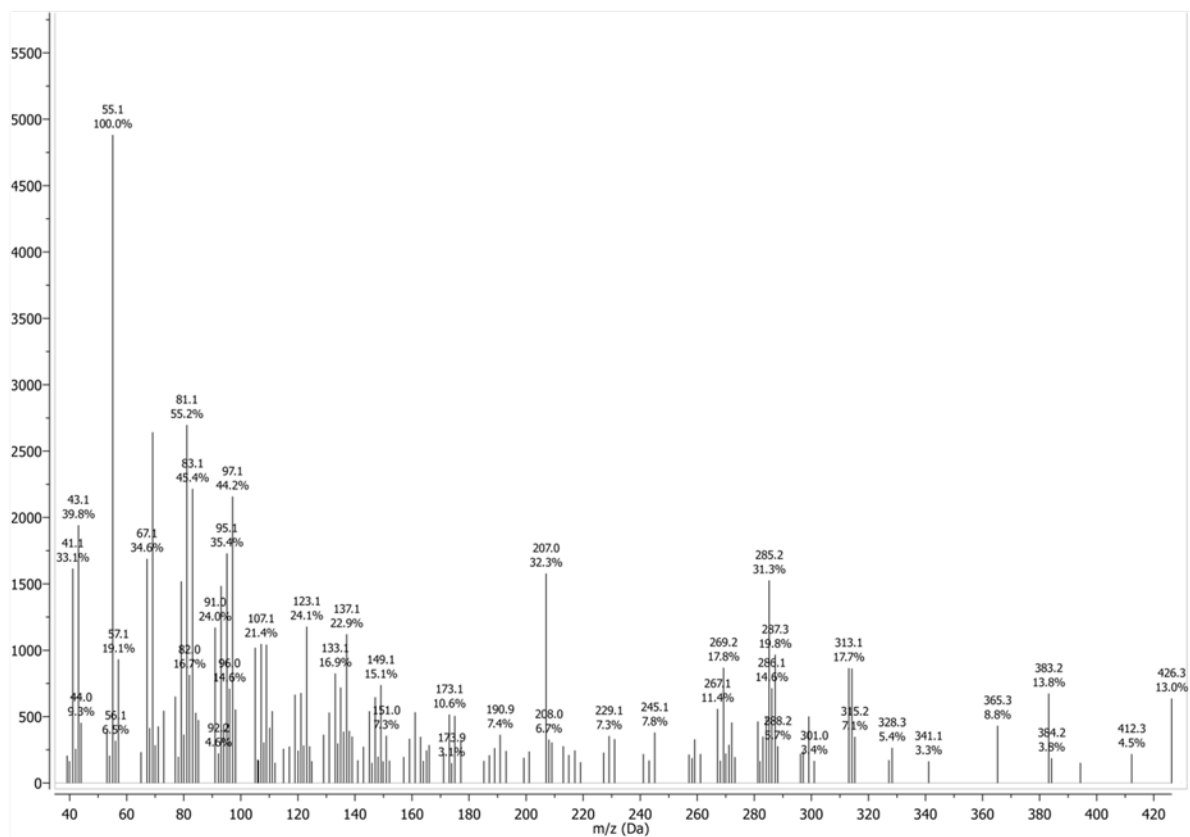
## Maseni spektar neidentifikovanog jedinjenja 16



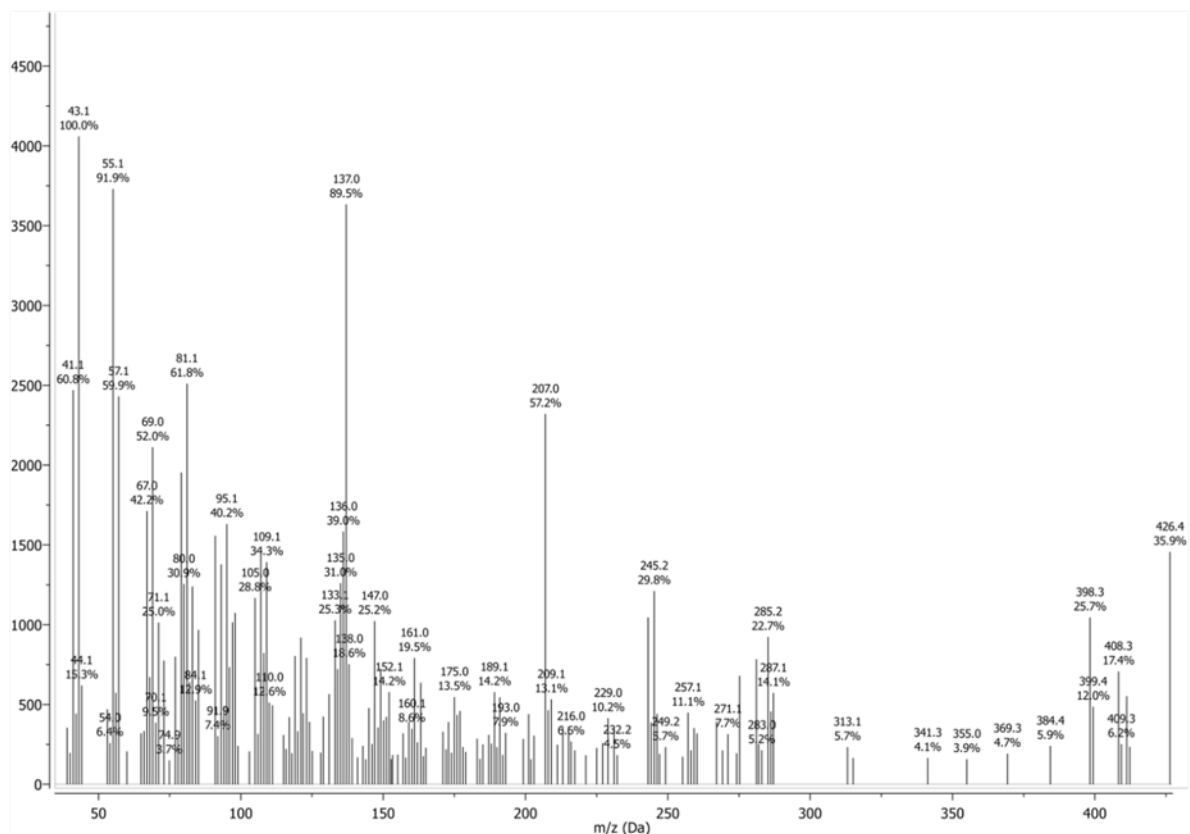
## Maseni spektar Stigmasta-4,22-dien-3,6-diona

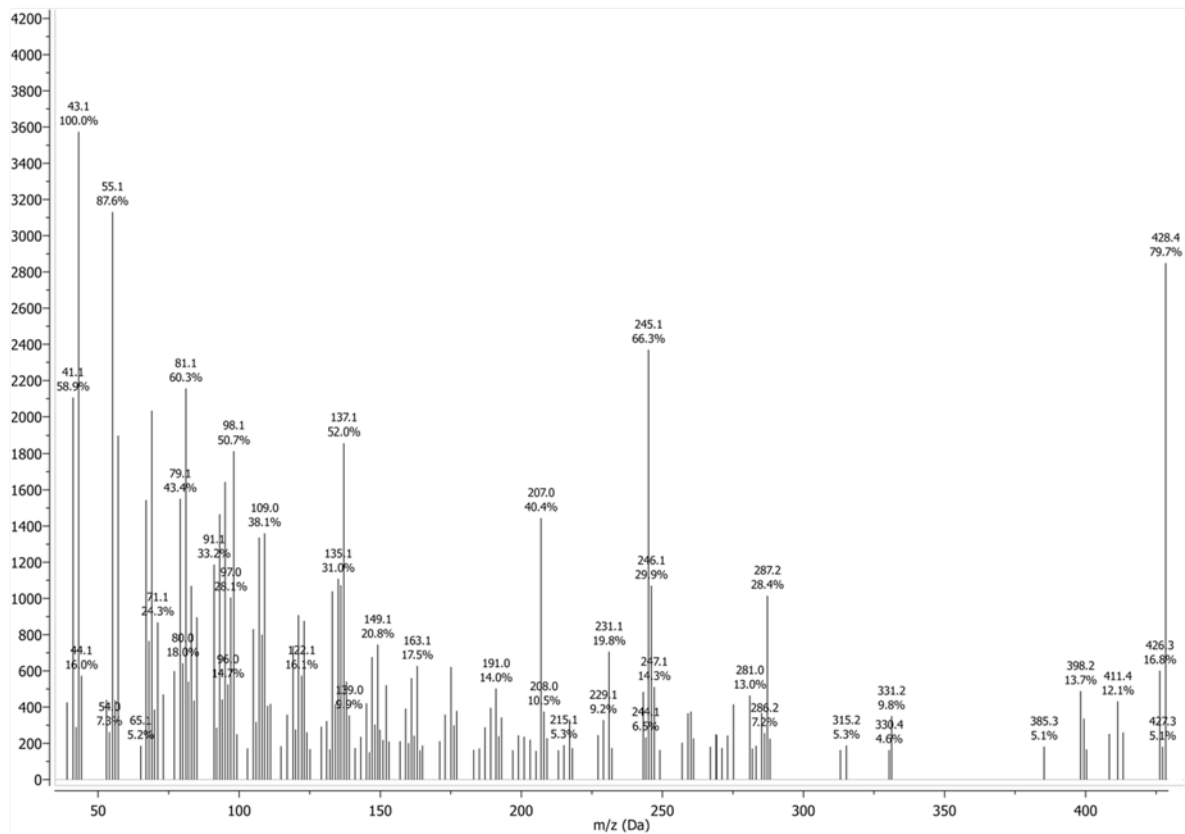


## Maseni spektar Stigmasta-4-en-3,6-diona

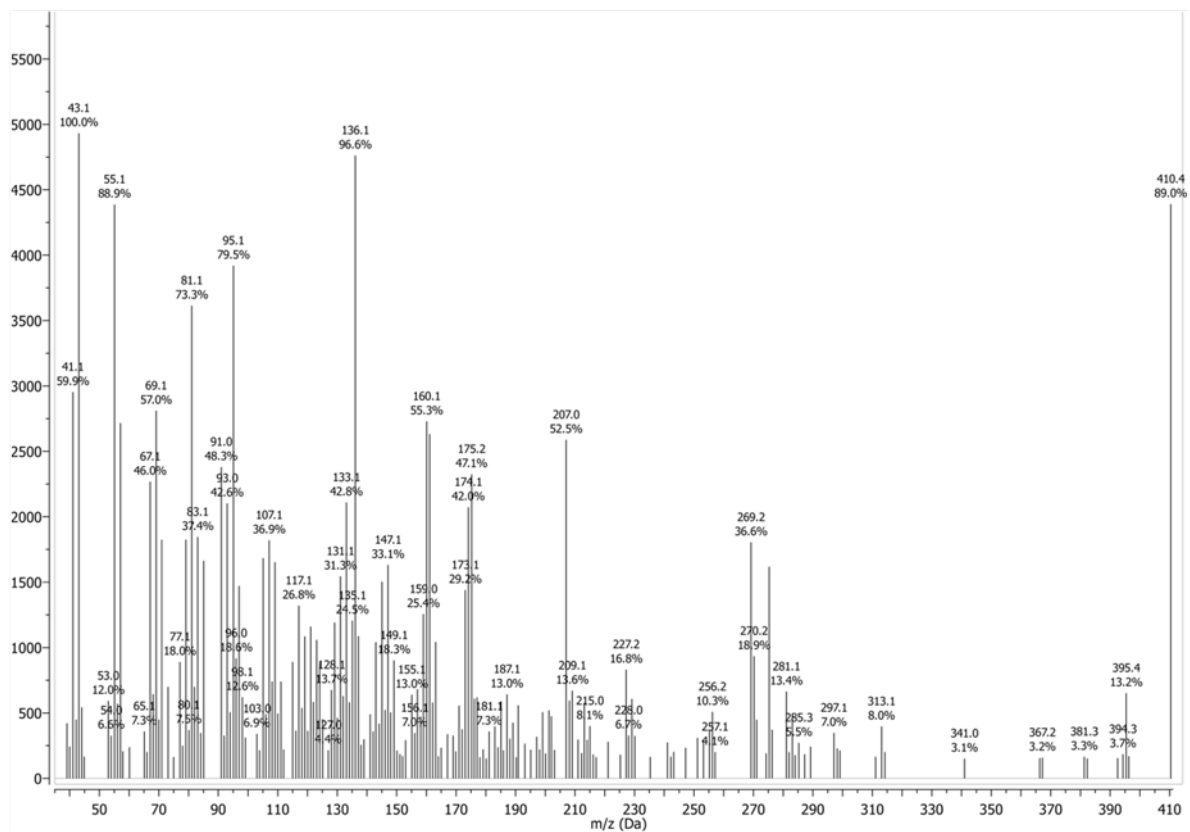


## Maseni spektar Stigmasta-22-en-3,6-diona



Maseni spektar 5 $\alpha$ -Stigmasta-3,6-diona

## Maseni spektar Stigmasta-4,6-dien-3-ona



Maseni spektar  $5\alpha$ -Stigmasta-22-en- $3\beta$ -ola