

Sinteze i mehanizmi solvolize benzilnih bromida u trifluoetanolu

Drinovac, Tomislav

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:869921>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-24**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Tomislav Drinovac

**Sinteze i mehanizmi solvolize benzilnih bromida
u trifluoretanolu**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2021.

Ovaj je diplomski rad prijavljen na kolegiju Organska kemija Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te izrađen pod stručnim mentorstvom doc. dr. sc. Mirele Matić uz komentorstvo izv. prof. dr. sc. Bernarda Denegrija.

Zahvala

Posebna zahvala doc. dr. sc. Mireli Matić na odličnom mentorstvu te velikoj pomoći pri izradi ovoga rada.

Zahvalio bih se i izv. prof. dr. sc. Bernardu Denegriju na davanju teorijske podloge neophodne za shvaćanje kemijskih procesa tijekom eksperimenata.

Dodatno, zahvalio bih se svojoj obitelji na relativno slabo uplitanje u moje obrazovanje, davajući mi potrebnu samostalnost i vjeru u svoje sposobnosti i mogućnosti.

Za kraj, zahvalio bih se i svojoj faksovske ekipe na odličnoj poticajnoj atmosferi.

Sadržaj

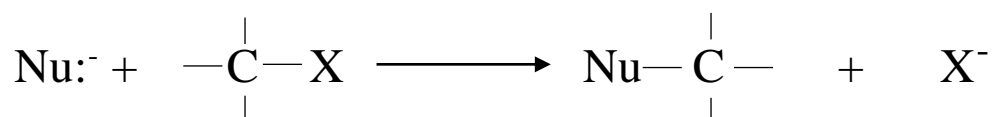
1. UVOD.....	1
1.1. Nukleofilna supstitucija na zasićenom ugljikovom atomu.....	1
1.1.1. S _N 1 mehanizam.....	2
1.1.2. S _N 2 mehanizam.....	3
1.2. Brownova modifikacija Hammettove korelacijske jednadžbe.....	5
1.3. Bromiranje.....	6
2. OBRAZLOŽENJE TEME.....	9
3. MATERIJALI I METODE.....	10
3.1. Reagensi i otapala.....	10
3.2. Priprava spojeva.....	10
3.2.1. Priprava 4-metilbenzil-bromida.....	11
3.2.2. Priprava 4-metoksibenzil-bromida.....	12
3.2.3. Priprava 4-(metiltio)benzil-bromida.....	12
3.2.4. Priprava 4- <i>tert</i> -butilbenzil-bromida.....	13
3.2.5. Priprava 4-fenoksibenzil-bromida.....	13
3.2.6. Priprava 3,4-dimetilbenzil-bromida.....	14
3.2.7. Priprava 4-fenilbenzil-bromida.....	14
3.2.8. Priprava nesupstituiranog benzil-bromida.....	15
3.3. Pročišćavanje trifluoretanola.....	15
3.4. Identifikacija spojeva.....	15
3.5. Kinetička mjerenja.....	16

4. REZULTATI I RASPRAVA.....	18
4.1. Rezultati.....	18
4.2. Rasprava.....	20
5. ZAKLJUČAK.....	23
6. LITERATURA.....	24
7. SAŽETAK / SUMMARY.....	26
8. PRILOZI.....	28
8.1. ¹ H NMR 4-metilbenzil-bromida.....	28
8.2. ¹³ C NMR 4-metilbenzil-bromida.....	29
8.3. ¹ H NMR 4-metoksibenzil-bromida.....	30
8.4. ¹³ C NMR 4-metoksibenzil-bromida.....	31
8.5. ¹ H NMR 4-(metiltio)benzil-bromida.....	32
8.6. ¹³ C NMR 4-(metiltio)benzil-bromida.....	33
8.7. ¹ H NMR 4- <i>tert</i> -butilbenzil-bromida.....	34
8.8. ¹³ C NMR 4- <i>tert</i> -butilbenzil-bromida.....	35
8.9. ¹ H NMR 4-fenoksibenzil-bromida.....	36
8.10. ¹³ C NMR 4-fenoksibenzil-bromida.....	37
8.11. ¹ H NMR 3,4-dimetilbenzil-bromida.....	38
8.12. ¹³ C NMR 3,4-dimetilbenzil-bromida.....	39
8.13. ¹ H NMR 4-fenilbenzil-bromida.....	40
8.14. ¹³ C NMR 4-fenilbenzil-bromida.....	41
8.15. ¹ H NMR nesupstituiranog benzil-bromida.....	42
8.16. ¹³ C NMR nesupstituiranog benzil-bromida.....	43
9. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA / BASIC DOCUMENT CARD	

1. UVOD

1.1. Nukleofilna supstitucija na zasićenom ugljikovom atomu

Iako razni spojevi mogu sudjelovati u nukleofilnoj supstituciji na zasićenom ugljikovom atomu kao supstrati, oni imaju jednu zajedničku karakteristiku: ugljikov atom je gotovo uvijek vezan za heteroatom, atom koji nije ni ugljik ni vodik. Taj heteroatom obično je elektronegativniji od ugljika zbog čega je uvijek izlazna skupina u supstitucijskoj reakciji. Veza ugljika i izlazne skupine je polarna, a ugljik ima djelomično pozitivan karakter (Pine, 1994). Nukleofili, s druge strane, imaju slobodan elektronski par (Lewisove baze) kojeg privlači takav ugljik (Slika 1.).



Slika 1. Opća reakcija nukleofilne supstitucije na zasićenom ugljikovom atomu

Iako je indikativno na prvu pomisliti kako su za nukleofilnu supstituciju potrebna dva reaktanta i medij, ona je moguća i bez prisustva posebnog nukleofilnog reaktanta. Naime, najčešće korištena otapala (voda, etanol i sl.) također posjeduju nukleofilna svojstva. Takva vrsta supstitucije naziva se solvoliza. Uobičajena otapala većinom su slabi nukleofili.

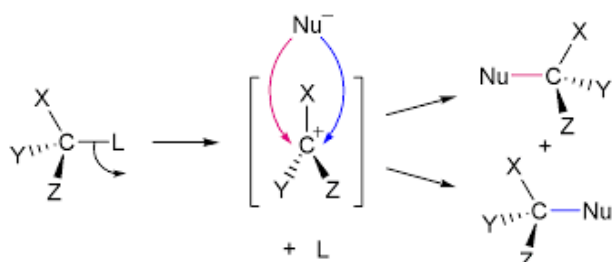
Nukleofilna se supstitucija može odvijati dvama različitim mehanizmima: S_N1 i S_N2 mehanizmom, ali više o njima u narednim poglavljima. Gruba podjela reakcija prema mehanizmu kojim se odvijaju te njihova svojstva navedena su u tablici 1 (Wade, 2017).

Tablica 1. Pogodujući faktori S_N1 i S_N2 reakcija te svojstva pojedinih mehanizama

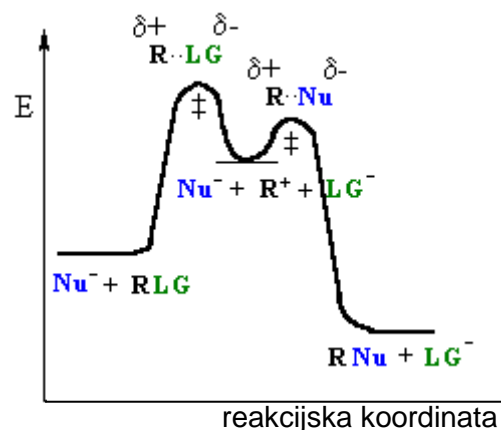
	S _N 1	S _N 2
nukleofil	slabi	jaki
supstrat (RX)	tercijarni > sekundarni	metil > primarni > sekundarni
otapalo	dobro ionizirajuće	široki raspon otapala
izlazna skupina	dobra	dobra
kinetika	prvog reda	drugog reda
stereokemija	racemat	potpuna inverzija
pregrađivanje	moguće	nije moguće

1.1.1. S_N1 mehanizam

Kratica S_N1 stoji za *supstitucija, nukleofilna i monomolekulska*. Termin *monomolekulska* označuje da je samo jedna molekula prisutna u prijelaznome stanju stupnja koji određuje brzinu reakcije (Slike 2. i 3.; Wade, 2017).



Slika 2. Mehanizam S_N1 reakcije



Slika 3. Energijski dijagram S_N1 reakcije

Drugim riječima, brzinu reakcije određuje napuštanje izlazne skupine iz reakcijskog centra prije vezanja nukleofila pri čemu nastaje karbokation. Karbokation se ne može stvoriti tek tako, potrebna je elektronska stabilizacija prazne *p*-orbitale, a stabilizacija se može postići na dva različita načina: induktivnim i rezonancijskim efektom. Induktivni efekt zavisi o elektronegativnosti atoma i polarizaciji naboja, dok rezonantni efekt ovisi o prijenosu elektronske gustoće duž molekule. Ponekad je teško razlikovati koji efekt je dominantniji u kojem slučaju, no bitno je znati osnovnu razliku – induktivni efekt je doniranje ili prijenos elektrona kroz σ -veze, dok je rezonantni efekt prijenos elektrona kroz π -vezu (Humski, 1974). Valja spomenuti i hiperkonjugaciju – prekrivanje prazne *p*-orbitale popunjenim orbitalama susjednih alkila. Naime, obzirom na konstantnu rotaciju molekule, alkili u svakom trenutku mogu djelomično prekriti praznu orbitalu karbokationa (Wade, 2017). Hiperkonjugacijom se ujedno i objašnjava zašto će tercijarni supstrati favorizirati S_N1 reakciju.

Brzina S_N1 reakcije ne ovisi o koncentraciji nukleofila, već samo o koncentraciji supstrata (Wade, 2017). To znači da reakcija slijedi kinetiku prvoga reda.

$$\text{Brzina S}_{N1} = k[\text{supstrat}]$$

Ionizacija (prvi stupanj) izrazito je endotermna reakcija i njezina velika energija aktivacije određuje ukupnu brzinu reakcije. Napad nukleofila (drugi stupanj) izrazito je

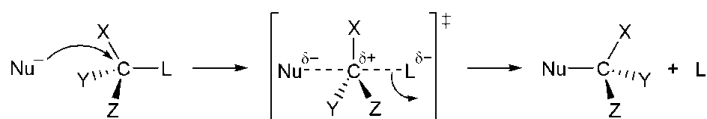
egzoterman i ima manju energiju prijelaznog stanja – nukleofil odmah reagira s nastalim karbokationom (Wade, 2017). Poželjno je da nukleofil koji sudjeluje u S_N1 reakciji bude slab kako ne bi napao ugljik prije nego što se odvoji izlazna skupina. Tada reakcija neće teći S_N1 mehanizmom. Više o tome u sljedećem poglavlju.

S_N1 reakcijama također pogoduju otapala s velikom dielektričnom konstantom - polarna i protična otapala. Takva otapala ne samo da stabiliziraju nastali karbokation stvaranjem parcijalne veze s potonjim, već ulaze i u nekovalentne interakcije s nukleofilom, usporavajući njegov prodor do reakcijskog mjesta. (Wade, 2017).

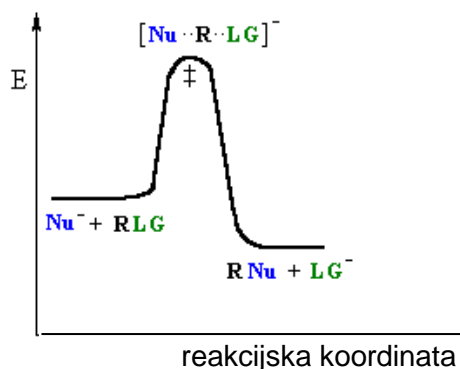
Karbokation je sp²-hibridiziran pa je planaran, zbog čega ga nukleofili mogu napasti s obje strane. Dakle, racemizacija produkta je neminovna. Isto tako, moguće je i pregrađivanje upravo zbog tog dvostupanjskog mehanizma supstitucije. Pomaci su najčešće hidridni ili metilni. Valja naglasiti da se pregrađivanje neće dogoditi ako nije energetski „opravdano“ (Wade, 2017).

1.1.2. S_N2 mehanizam

Nakon što je u prošlom poglavlju objašnjeno što predstavlja akronim S_N1, jasno je koliko je reaktanata prisutnih u prijelaznom stanju S_N2 reakcije (Slike 4. i 5.).



Slika 4. Mehanizam S_N2 reakcije



Slika 5. Energijski dijagram S_N2 reakcije

Dakle, brzinu reakcije određuje nukleofilni napad na zasićeni ugljikov atom pri čemu nastaje nestabilni pentakoordinirani ugljikov atom. Reakcija je egzotermna (Wade, 2017).

Prema teoriji prijelaznog stanja, reaktanti su u termodinamičkoj ravnoteži s nastalim kompleksom. Zato je definirana konstanta ravnoteže te slobodna energija aktivacije jednadžbom: $-\Delta G^\ddagger = RT \ln K^\ddagger$, a konstanta brzine za navedenu ravnotežnu reakciju (reaktanata i prijelaznog stanja) Eyringovom jednadžbom (Maskill, 1984):

$$k = (k_B \times T) / h \times e^{(-\Delta G^\ddagger / RT)},$$

gdje je:

k - konstanta brzine reakcije (s^{-1})

k_B - Boltzmannova konstanta

T - temperatura (K)

h - Planckova konstanta

ΔG^\ddagger - slobodna energija aktivacije ($G_{ts} - G_{supstrat}$) (kcal/mol)

R - opća plinska konstanta

Obzirom da je eksperimentalno pokazano da se brzina reakcije udvostruči udvostručenjem koncentracije bilo kojeg reaktanta, potvrdila se početna hipoteza da se reakcija odvija kinetikom drugog reda. Razlog zašto je to bila hipoteza leži u bimolekulskoj prirodi reakcije (Wade, 2017). Kod solvolize, nukleofil je u velikom suvišku zbog čega se reakcija ne odvija kinetikom drugog, već pseudoprvog reda (Pine, 1994):

$$\text{brzina } S_N2 = k[\text{supstrat}][\text{nukleofil}] = k'[\text{supstrat}]$$

Kako bi se S_N2 reakcija uopće odvila, potreban je gore spomenuti nukleofil. Za razliku od S_N1 reakcija, nukleofil dolazi do supstrata prije odvajanja izlazne skupine i upravo je nukleofil taj koji istiskuje izlaznu skupinu: bilo zbog svoje „jakosti“, bilo zbog nemoći supstrata da stabilizira naboj na reaktivnom centru nakon odvajanja izlazne skupine. Općenito vrijedi da su čestice s negativnim nabojem bolji nukleofili od sličnih neutralnih čestica. Iako je indikativno pomisliti da je nukleofilnost uvjetovana bazičnošću, to je greška jer bazičnost i nukleofilnost nisu ista svojstva. Bazičnost označava brzinu disocijacije protona dok nukleofilnost označava brzinu napada na elektrofilni ugljikov atom (Wade, 2017). Gruba podjela nukleofila po jačini bi išla ovako: baza je jači nukleofil od konjugirane kiseline, elektronegativniji elementi jače privlače nevezne elektrone pa su slabiji nukleofili te povećanjem polumjera atoma smanjuje se privlačenje neveznih elektrona zbog čega su veći atomi s neveznim elektronima dijelovi jačih nukleofila (drugim riječima, atom je polarizabilniji). Osim toga, jači nukleofil je onaj bez steričkih

smetnji u blizini slobodnog elektronskog para (Wade, 2017).

Uobičajena otapala većinom su slabi nukleofili, tako da je solvoliza najčešće S_N1 reakcija. Ipak, otapalo je prisutno u velikom suvišku u odnosu na supstrat, tako da i slaba nukleofilnost uzrokuje S_N2 reakciju na primarnom ugljikovom atomu (Pine, 1994). Poželjna otapala za ovakav tip reakcije su aprotična otapala jer ne stvaraju vodikove veze s nukleofilima. Naime, vodikove veze smetaju nukleofilu na putu do supstrata. Uz vodikove veze, valja spomenuti i sterički efekt samoga supstrata. Poželjno je da je supstrat primaran kako bi se olakšao napad nukleofila. S_N2 reakcije na tercijskom ugljikovom atomu su gotovo nemoguće.

Nukleofilni napad se uvijek događa sa stražnje strane supstrata tako da je inverzija konfiguracije kiralnih molekula neminovna (Wade, 2017).

1.2. Brownova modifikacija Hammettove korelacijske jednadžbe

Konjugirani spojevi su oduvijek plijenili posebnu pažnju u organskoj kemiji, ali još zanimljiviji od njih su aromatski spojevi. Na benzenskom prstenu mogu se nalaziti razni supstituenti koji svojim rezonantnim ili induktivnim efektom dodatno mogu utjecati na cijelu molekulu. Svaki supstituent drugačijim intenzitetom utječe na ostatak molekule, što je kasnije i kvantificirano – uvedena je konstanta σ . Ovisno o položaju supstituenta na prstenu benzojeve kiseline (*meta*- ili *para*- položaj; *orto*- položaj zbog potencijalnih steričkih efekata nije uziman u obzir), disocijacija na 25 °C je išla različitim brzinama. Naime, pozitivne σ -vrijednosti govore da supstituent povećava kiselost benzojeve kiseline privlačeći elektrone, i obrnuto (Maskill, 1999).

Hammett je u svome radu iz 1937. godine opisao linearnu ovisnost logaritma konstante ravnoteže arilnog supstrata o σ -vrijednosti pripadajućeg supstituenta. Još bitnija jednadžba je ona koja umjesto konstanti ravnoteže uključuje konstante brzine istih tih spojeva, a koja glasi ovako:

$$\log(k^X) = \rho \times \sigma_X + \log(k^H),$$

gdje je:

k^X - konstanta brzine za X-supstituirani član srodnih aromatskih struktura

k^H – konstanta brzine nesupstituiranog člana srodnih aromatskih struktura

σ_X - parametar supstituenta X ($\sigma_X = pK_a(C_6H_5CO_2H) - pK_a(XC_6H_4CO_2H)$)

ρ - reakcijska konstanta specifična za srodne aromatske strukture, nagib pravca

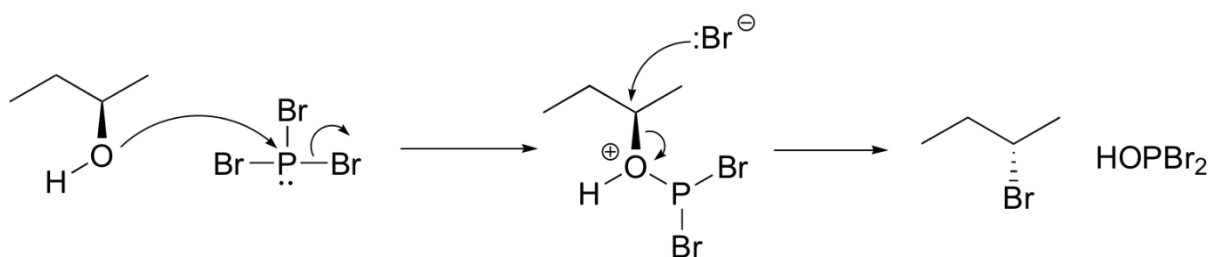
Reakcijska konstanta može biti i pozitivna i negativna. Ako je pravac $\log k / \sigma$ ravan (nagib, tj. reakcijska konstanta iznosi 0), supstituenti nemaju utjecaj na konstantu ravnoteže reakcije. Tako nešto je moguće, primjerice, u slučajevima kada rezonantni ili induktivni efekt supstituenta zbog velike udaljenosti ne utječe na (ne)stabilnost reakcijskog centra. Reakcijska konstanta je negativna u slučajevima kada dolazi do smanjenja elektronske gustoće na reakcijskom centru supstrata (Maskill, 1999), dok je kod rastućeg pravca situacija obrnuta. Ako je vrijednost reakcijske konstante $\rho=1$, tada je riječ o referentnoj disocijaciji supstituirane benzojeve kiseline u vodi na 25 °C.

Hammettovi σ parametri, određeni prema referentnoj reakciji ionizacije benzojeve kiseline, kvantitativno opisuju samo induktivne efekte supstituenata u *meta* i *para* položaju, a to onda dovodi do lošijih korelacija ($\log k / \sigma$) u slučajevima kada supstituenti u *para*-položaju pridonose i rezonantnim efektom. Problem je riješen promjenom referentne reakcije – solvolizom α -kumil-klorida u 90%-tnom acetonu (Brown i Okamoto 1957; 1958; Okamoto i Brown., 1957). Uvedena je nova konstanta (σ^+) koja se koristi u reakcijama kada na reakcijskom centru nastaje pozitivan naboj. Kasnije je uvedena i konstanta σ^- koja se koristi za reakcije kod kojih se na reakcijskom centru razvije negativan naboj. Te su vrijednosti određene reakcijom ionizacije *para*- supstituiranih fenola. Valja naglasiti da supstituenti u *meta*- položaju ne utječu rezonancijskim efektom na molekulu, već samo induktivno, stoga su te vrijednosti dobro opisane σ -vrijednošću (Hansch i sur., 1991).

1.3. Bromiranje

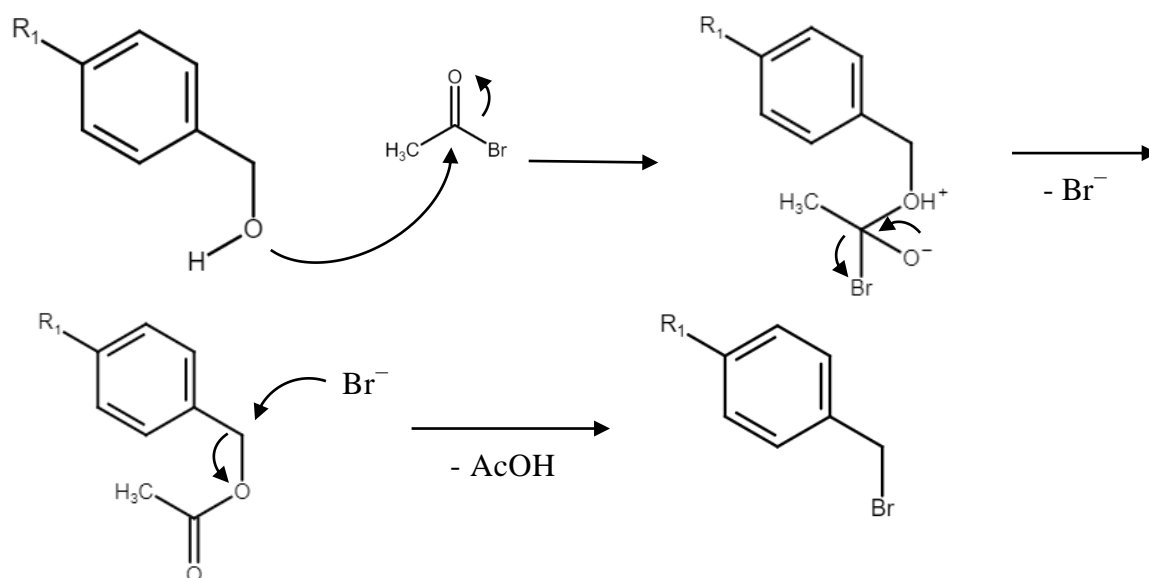
Brom se nalazi u 17. skupini periodnog sustava elemenata, također znanj kao halogenoj skupini. Elementi ove skupine imaju 7 elektrona u valentnoj ljusci, što ih čini izrazito elektronegativnima. Elektronegativnost broma konkretno iznosi -2,96, čineći ga šestim najelektronegativnijim elementom. To znači da, kako u anorganskoj, tako i u organskoj kemiji, lako reagira s drugim reaktantima. Zbog toga reakcije bromiranja spojeva nisu rijetke, a spojeva kojih se koriste za potonje ne manjka.

U ovom diplomskom radu korišten je fosforov tribromid u sintezi benzilnih bromida (više o samome postupku u poglavljima 3.2.1 te poglavljima 3.2.3. - 3.2.8.; Nolte i Mayr, 2010). Tijekom bromiranja fosforovim tribromidom dolazi do nukleofilne supstitucije na hidroksilnom ugljikovom atomu (Slika 6.). Kako tijekom izrade ovog diplomskog rada, tako je i u praksi bromiranje fosforovim tribromidom jedna od najčešćih metoda bromiranja.



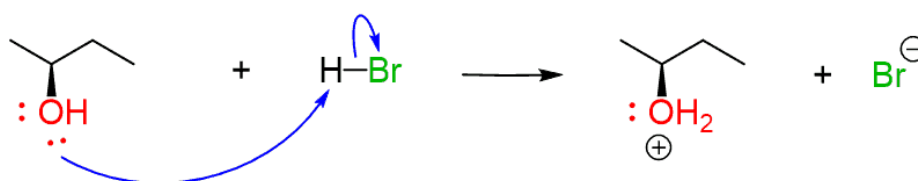
Slika 6. Bromiranje alkohola fosforovim tribromidom

Za bromiranje je u ovome diplomskom radu korišten i acetyl-bromid (postupak u poglavlju 3.2.2.; Nolte i sur., 2012). Mehanizam reakcije nešto je kompleksniji od onoga s fosforovim tribromidom. Naime, benzilni alkohol napada acetyl-bromid pri čemu nastaje ester, no zbog postavljenih uvjeta reakcije (refluks i suvišak reagensa), ona ovdje ne završava, već bromidni ion kao jaki nukleofil napada elektrofilni ugljikov atom pri čemu kao produkt nastaje bromid.



Slika 7. Bromiranje benzilnog alkohola acetyl-bromidom

Bromiranje je moguće i u struji plinovitog HBr tako da se u diklormetanu otopljeni benzilni alkohol provede kroz struju suhog HBr-a uz prisutnost bezvodnog natrijeva sulfata. Nakon završetka reakcije (koja se prati plinskom ili tankoslojnom kromatografijom) ostatak se HBr-a i diklormetana ukloni uparavanjem u vakuumu (Denegri i sur., 2006). Prvi korak (Slika 8.) je protoniranje hidroksilne skupine na alkoholu, nakon čega dolazi, ili do oslobađanja vode i vezanja iona broma na nastali karbokation (prije čega može doći do alkilnog pomaka), ili do napada iona broma na reakcijsko mjesto dok se voda još nije odvojila - ovisno o mehanizmu supstitucije.



Slika 8. Prvi korak bromiranja alkohola u struji suhog bromovodika

Od ostalih metoda bromiranja valjalo bi spomenuti Appelovu reakciju (reagensi su trifenilfosfin i $\text{CCl}_4/\text{CBr}_4$; WO 2014/152144), bromiranje (također moguće kloriranje i jodiranje) primarnih alkohola koristeći kombinaciju tetraetilamonijevog halida i $[\text{Et}_2\text{NSF}_2]\text{BF}_4$ (Pouliot i sur., 2012) te bromiranje (i jodiranje) tiola i alkohola molekularnim bromom (odnosno jodom) pomoću silikafosfina (Silphos; Iranpoor i sur., 2005).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Dva su cilja ovoga rada. Prvi je sinteza različito supstituiranih benzilnih bromida sa što većim iskorištenjem reakcije. Sintetizirani su sljedeći spojevi: 4-metilbenzil-bromid, 4-metoksibenzil-bromid, 4-(metiltio)benzil-bromid, 4-*tert*-butilbenzil-bromid, 4-fenoksibenzil-bromid, 3,4-dimetilbenzil-bromid, 4-fenilbenzil-bromid i benzil-bromid (nesupstituirani).

Drugi je cilj eksperimenta istražiti utjecaj supstituenata na benzilnom prstenu i otapala trifluoetanolu na brzinu i mehanizam solvolize benzilnih bromida. Nakon sinteze, gore navedeni spojevi se podvrgnu reakciji solvolize u trifluoetanolu, pazeći pritom da se reakcije odvijaju u jednakim eksperimentalnim uvjetima. Konduktometrijskom metodom dobije se konstanta brzine solvolize pojedinog benzilnog bromida. Vrijednost te konstante koristi se za utvrđivanje mehanizma solvolize tog spoja.

Korištenjem Hammett-Brownove korelacijske jednadžbe dobije se linearni graf koji, ovisno o nagibu, prikazuje odvija li se solvoliza sintetiziranih spojeva S_N1 ili S_N2 mehanizmom ili, ukoliko se dobiju dva pravca različitih nagiba, obama mehanizmima.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Reagensi i otapala

Reaktanti koji se koriste za dobivanje benzilnog bromida su benzilni alkoholi i reaktivne kemikalije koje mogu donirati atom broma. Od benzilnih alkohola korišteni su: 4-metilbenzilni alkohol (Acros Organics), 4-metoksibenzilni alkohol (Acros Organics), 4-(metiltio)benzilni alkohol (TCI), 4-*tert*-butilbenzilni alkohol (Alfa Aesar), 4-fenoksibenzilni alkohol (Alfa Aesar), 3,4-dimetilbenzilni alkohol (Alfa Aesar), 4-fenilbenzilni alkohol (Sigma Aldrich) i benzilni alkohol (Merck). Kao bromirajuće tvari korišteni su acetil-bromid (Sigma Aldrich) i fosforov tribromid (Alfa Aesar).

U postupku pročišćavanja spojeva još su korišteni i destilirana voda, argon (Messer), dietil-eter (J. T. Baker), diklormetan (Fischer Analytics), natrijev karbonat dekahidrat (T. T. T.), bezvodni natrijev sulfat (Gram-Mol) i natrijev hidrogenkarbonat (Merck).

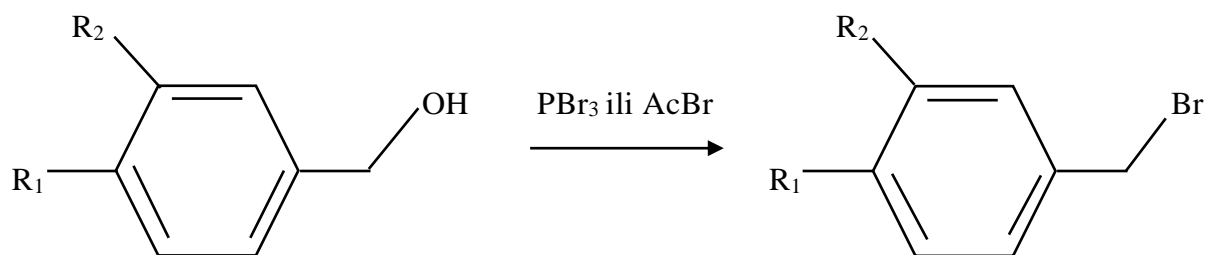
Otapalo u kojemu su izmjerene brzine reakcija solvolize je trifluoretanol (acdr). Kalijev karbonat (Fluka) je korišten za uklanjanje vode iz otapala prije destilacije, dok se u aparaturi za destilaciju (u klor-kalcijevoj cjevčici) nalazio bezvodni kalcijev klorid (Kemika).

U TLC analizi korišten je Silikagel 60 F₂₅₄ (Merck), jod (Riedel-de Haën), heksan (Carlo Erba) te etil-acetat (Panreac), dok je u NMR analizi korišten deuterirani kloroform (Cambridge).

Osim trifluoretanola, navedeni reagensi nisu pročišćavani.

3.2. Priprava spojeva

Postupak (Slika 9.) dobivanja benzilnih bromida razlikuje se ovisno o bromirajućoj tvari tako da će se sve sinteze, osim one *p*-metoksibenzil-bromida (jedini spoj pri čijoj se sintezi nije koristio fosforov tribromid, već acetil-bromid), razlikovati isključivo u vrsti benzilnog alkohola.



Slika 9. Sintaza nesupstituiranog, R_1 -monosupstituiranog ili R_1, R_2 -disupstituiranog benzilnog bromida iz odgovarajućeg benzilnog alkohola uz bromirajuću tvar

3.2.1 Priprava 4-metilbenzil-bromida

4-metilbenzilni alkohol se izvaže (0,50 g; 4,09 mmol) i prenese u dvogrlu tikvicu. Odmah se nakon toga u tikvicu dodaje diklormetan (cca 20 ml) te se smjesa ostavi hladiti 10 minuta na ledu. Za to se vrijeme izvaže fosforov tribromid (1,33 g; 4,91 mmol, blagi suvišak) koji se nakon isteka 10 minuta dodaje u tikvicu. U tikvicu se još ubaci magnet za miješanje smjese, dok se na središnje grlo spoji nastavak za balon punjen argonom koji će propuhivati inertni plin kroz tikvicu. Taj bi plin trebao polako protjecati kroz tikvicu, sprečavajući kontaminaciju smjese vlagom iz zraka, te izlaziti kroz drugo grlo tikvice, tako da valja pripaziti na moguće stvaranje previsokog tlaka u tikvici (čep na drugom grlu tikvice treba malo 'dihtati'). Vrijeme reakcije je procijenjeno na 3 sata: prvih sat vremena reakcija se odvija na ledu, a kasnije na sobnoj temperaturi. Nakon toga slijedi ekstrakcija (3 puta vodenom otopinom natrijeva karbonata, zatim 3 puta destiliranom vodom), uklanjanje preostale vode u organskom sloju (dodatkom bezvodnog natrijeva sulfata), filtracija te uparavanje otapala. Konačan spoj bili su kristali svijetlo-smeđe (kremaste) boje (0,39 g; 51,32%).

^1H NMR (300 MHz; CDCl_3 ; 20 °C): $\delta/\text{ppm} = 2,43$ (s; 3H; Ar- CH_3); 4,55 (s; 2H; Ar CH_2Br); 7,22 (d; 2H; $J = 8,1$ Hz; ArH); 7,36 (d; 2H; $J = 8,1$ Hz; ArH).

^{13}C NMR (75 MHz; CDCl_3 ; 20 °C): $\delta/\text{ppm} = 21,3$ (Ar- CH_3); 33,8 (Ar CH_2Br); 129,0; 129,5; 135,6; 140,1 (Ar).

3.2.2. Priprava 4-metoksibenzil-bromida

4-metoksibenzilni alkohol se izvaže (0,50 g; 3,62 mmol) te prenese u dvogrlu tikvicu. Zatim se u tikvicu dokapava prethodno izvagani acetil-bromid (4,45 g; 36,20 mmol). Acetil-bromid se uzima u deseterostruko većoj količini nego što bi se u teoriji trebalo zbog kompleksnog mehanizma reakcije (pogl. 1.3.) i hlapljivosti potonjeg, a zbog burne egzotermne reakcije, njegovo dokapavanje u tikvicu mora teći polako i s povećanim oprezom. Za potrebe eksperimenta, sastavljena je aparatura s povratnim hladilom, balon s argonom, magnetna miješalica te uljna kupelj temperirana na 80 °C. Nakon 20 minuta, tikvica se makne s kupelji te se, nakon ohlađenja, u tikvicu doda dietil-eter. Budući da bi ekstrakcija s natrijevim hidrogenkarbonatom tekla burno, prvo se ekstrahiralo destiliranom vodom, potom 3 puta natrijevim hidrogenkarbonatom te još 2 puta destiliranom vodom. Zatim se uklanjala zaostala voda iz organskog sloja bezvodnim natrijevim sulfatom i uparavalo otapalo. Konačan spoj bilo je svijetlo-žuto ulje (0,45 g; 61,64%).

^1H NMR (300 MHz; CDCl_3 ; 20 °C): $\delta/\text{ppm} = 3,81$ (s; 3H; Ar-OCH₃); 4.53 (s; 2H; ArCH₂Br); 6,90 (d; 2H; $J = 7,4$ Hz; ArH); 7,35 (d; 2H; $J = 7,4$ Hz; ArH).

^{13}C NMR (75 MHz; CDCl_3 ; 20 °C): $\delta/\text{ppm} = 34,1$ (ArCH₂Br); 55,4 (Ar-OCH₃); 114,2; 130,0; 130,5; 159,7 (Ar).

3.2.3. Priprava 4-(metiltio)benzil-bromida

Postupak dobivanja 4-(metiltio)benzil-bromida identičan je postupku dobivanja 4-metilbenzil-bromida (pogl. 3.2.1.). Masa 4-(metiltio)benzilnog alkohola korištenog za sintezu je iznosila 0,50 g (3,24 mmol), dok je masa fosforova tribromida iznosila 1,15 g (4,25 mmol; blagi suvišak). Konačan spoj dobiven je u obliku žutih kristala (0,38 g; 54,29%).

^1H NMR (300 MHz; CDCl_3 ; 20 °C): $\delta/\text{ppm} = 2,45$ (s; 3H; Ar-SCH₃); 4.45 (s; 2H; ArCH₂Br); 7,19 (d; 2H; $J = 8,4$ Hz; ArH); 7,28 (d; 2H; $J = 8,5$ Hz; ArH).

^{13}C NMR (75 MHz; CDCl_3 ; 20 °C): $\delta/\text{ppm} = 15,6$ (Ar-SCH₃); 33,5 (ArCH₂Br); 126,5; 129,5; 134,3; 139,2 (Ar).

3.2.4. Priprava 4-*tert*-butilbenzil-bromida

Postupak dobivanja 4-*tert*-butilbenzil-bromida identičan je postupku dobivanja benzilnih bromida iz poglavlja 3.2.1. i 3.2.3. Masa 4-*tert*-butilbenzilnog alkohola korištenog za sintezu je iznosila 0,50 g (3,04 mmol), dok je masa fosforova tribromida iznosila 0,99 g (3,66 mmol; blagi suvišak). Konačan spoj bila je prozirna tekućina (0,47 g; 68,12%).

Čistoća spoja utvrđena je tankoslojnom uzlaznom kromatografijom. Stacionarna faza bila je silikagel, dok je mobilnu fazu činila smjesa heksana i etil-acetata (u omjeru 9:1). Na startnu liniju nanoseni su 4-*tert*-butilbenzil-bromid (dobiveni spoj) i 4-*tert*-butilbenzilni alkohol (reaktant), nakon čega je TLC-pločica nanosena u komoru zasićenu parama mobilne faze. Detekcija se vršila jodom. Oba su spoja pokazala samo jednu mrlju, čije se R_f vrijednosti nisu poklapale. Time je utvrđena čistoća analiziranih spojeva.

^1H NMR (300 MHz; CDCl_3 ; 20 °C): $\delta/\text{ppm} = 1,39$ (s; 9H; Ar-(CH_3)₃); 4,55 (s; 2H; Ar CH_2Br); 7,39 (d; 2H; $J = 8,5$ Hz; ArH); 7,34 (d; 2H; $J = 8,3$ Hz; ArH).

^{13}C NMR (75 MHz; CDCl_3 ; 20 °C): $\delta/\text{ppm} = 31,3$ (Ar-C($\underline{\text{C}}\text{H}_3$)); 33,7 (Ar CH_2Cl); 34,7 (Ar-C($\underline{\text{C}}\text{H}_3$)); 125,8; 128,8; 134,8; 151,6 (Ar).

3.2.5. Priprava 4-fenoksibenzil-bromida

Postupak dobivanja 4-fenoksibenzil-bromida identičan je postupku dobivanja benzilnih bromida iz poglavlja 3.2.1., 3.2.3. i 3.2.4. Masa 4-fenoksibenzilnog alkohola korištenog za sintezu je iznosila 0,30 g (1,50 mmol), dok je masa fosforova tribromida iznosila 0,49 g (1,82 mmol; blagi suvišak). Konačan spoj bilo je ulje žućkaste boje (0,23 g; 58,97%).

^1H NMR (300 MHz; CDCl_3 ; 20 °C): $\delta/\text{ppm} = 4,47$ (s; 2H; Ar CH_2Br); 6,94 (d; 2H; $J = 8,6$ Hz; ArH); 7,01 (d; 2H; $J = 8,9$ Hz; ArH); 7,11 (t; 1H; $J = 7,3$ Hz); 7,31–7,35 (m; 4H; ArH).

^{13}C NMR (75 MHz; CDCl_3 ; 20 °C): $\delta/\text{ppm} = 33,4$ (Ar CH_2Br); 118,7; 119,4; 123,8; 129,9; 130,7; 132,4; 156,6; 157,6 (Ar).

3.2.6. Priprava 3,4-dimetilbenzil-bromida

Postupak dobivanja 3,4-dimetilbenzil-bromida identičan je postupku dobivanja 4-metilbenzil-bromida (pogl. 3.2.1.), gdje je taj postupak opisan. Masa 3,4-dimetilbenzalnog alkohola korištenog za sintezu je iznosila 0,30 g (2,20 mmol), dok je masa fosforova tribromida iznosila 0,72 g (2,66 mmol; blagi suvišak). Konačan spoj bili su svijetložuti kristali (0,21 g; 47,70 %).

Čistoća spoja utvrđena je tankoslojnom uzlaznom kromatografijom na način opisan kod 4-*tert*-butilbenzalnog bromida (pogl. 3.2.4.).

^1H NMR (300 MHz; CDCl_3 ; 20 °C): $\delta/\text{ppm} = 2,24$ (s; 6H; Ar- CH_3); 4,45 (s; 2H; Ar CH_2Br); 7,09-7,15 (m; 3H; ArH).

^{13}C NMR (75 MHz; CDCl_3 ; 20 °C): $\delta/\text{ppm} = 19,6$ (Ar- CH_3); 19,8 (Ar- CH_3); 34,0 (Ar CH_2Br); 126,5; 130,1; 130,3; 135,3; 137,1; 137,1 (Ar).

3.2.7. Priprava 4-fenilbenzil-bromida

Postupak dobivanja 4-fenilbenzil-bromida identičan je postupku dobivanja 4-metilbenzalnog bromida (pogl. 3.2.1.). Masa 4-fenilbenzalnog alkohola korištenog za sintezu je iznosila 0,50 g (2,71 mmol), dok je masa fosforova tribromida iznosila 0,88 g (3,25 mmol; blagi suvišak). Nakon uparavanja mogli su se vidjeti bijeli kristali (0,54 g; 80,60%).

^1H NMR (300 MHz; CDCl_3 ; 20 °C): $\delta/\text{ppm} = 4,51$ (s; 2H; Ar CH_2Br); 7,31–7,44 (m; 5H; ArH); 7,53–7,57 (m; 4H; ArH).

^{13}C NMR (75 MHz; CDCl_3 ; 20 °C): $\delta/\text{ppm} = 33,5$ (Ar CH_2Br); 127,1; 127,6; 127,6; 128,9; 129,5; 136,8; 140,4; 141,4 (Ar).

3.2.8. Priprava nesupstituiranog benzil-bromida

Benzilni bromid dobiven je na način opisan kod 4-metilbenzil-bromida (pogl. 3.2.1.). Masa benzilnog alkohola korištenog za sintezu je iznosila 0,50 g (4,62 mmol), dok je masa fosforova tribromida iznosila 1,50 g (5,54 mmol; blagi suvišak). Konačan spoj bilo je svijetložuto ulje (0,26 g; 32,90%).

^1H NMR (300 MHz; CDCl_3 ; 20 °C): δ/ppm = 4.47 (s; 2H; ArCH_2Br); 7,26-7,38 (m; 5H; ArH).

^{13}C NMR (75 MHz; CDCl_3 ; 20 °C): δ/ppm = 33,6 (ArCH_2Br); 128,4; 128,8; 129,1; 137,8.

3.3. Pročišćavanje trifluoetanolu (TFE)

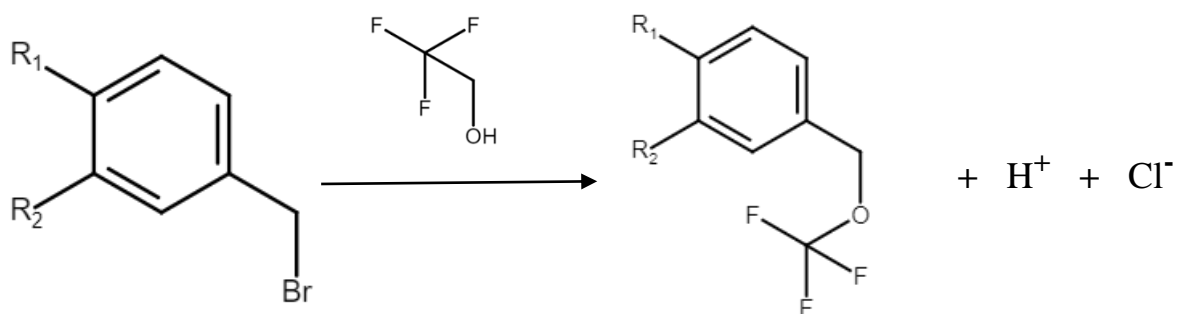
Iako proizvođač jamči čistoću otapala, ono bi se za svaki slučaj trebalo dodatno pročititi. U bocu s trifluoetanolom doda se sredstvo za sušenje (kalijev karbonat) te se tako ostavi jedan dan. Zatim se pripremi aparatura za frakcijsku destilaciju i otapalo se profiltrira u destilirku. Aparatura mora sadržavati klor-kalcijevu cjevčicu koja će spriječiti ulazak vlage u aparaturu. Mali dio početnog destilata treba odvojiti zbog mogućih hlapljivih onečišćenja. Destilacija se zaustavlja prije nego što u destilirci potpuno nestane otapala, dok se filtrat skuplja direktno u prethodno opranu i osušenu bocu. Taj filtrat se koristi u budućim eksperimentima.

3.4. Identifikacija spojeva

Nuklearna magnetna rezonanca (NMR) najtočnija je metoda za identifikaciju organskih spojeva te se usto koristi za provjeru čistoće sintetiziranih spojeva. U svrhu identifikacije produkata korišten je uređaj *Varian INOVA400* te program za obradu podataka *MestReNova*. ^1H i ^{13}C spektri potvrdili su čistoću sintetiziranih spojeva.

3.5. Kinetička mjerenja

Kao kod sinteze, i kod određivanja konstante brzine solvolize (slika 10.) potrebno je minimalizirati doticaj supstanci sa zrakom (vlagom). Trifluoretanol se injektira u posebnu tikvicu za konduktometrijsko mjerenje koja se zatim termostatira na 25,0 °C. Na gornje grlo tikvice pričvršćena je elektroda, dok su bočna grla tikvice okupirana termometrom (koji se nakon postizanja ciljane temperature zamijeni čepom) i čepom kroz koji se injektira otapalo. Između njih nalazi se i malo grlo začepljeno gumenim čepom. Kroz taj čep se nakon postizanja ciljane temperature injektira 5,0 mg sintetiziranog benzilnog bromida otopljenog u 0,1 ml diklormetana. Netom prije injektiranja benzilnog bromida pokrene se program konduktometra. Kraj reakcije se smatra istekom četiri poluvremena reakcije solvolize. Promjenu vodljivosti uzrokuju ioni koji nastaju tijekom reakcije što upućuje na povećanje koncentracije produkta. Graf ovisnosti koncentracije produkta o vremenu je parabola, što znači da reakcija teče kinetikom prvoga reda. Budući da injektiranjem benzilnog bromida dolazi do promjene temperature i miješanja tvari, vrijednosti vodljivosti/koncentracije produkta u prvih 10-15 sekundi reakcije se izuzimaju iz grafa/računa.



Slika 10. Opća reakcija solvolize sintetiziranih benzilnih bromida u trifluoretanolu, uz oslobađanje kloridnih i vodikovih iona

U svrhu kinetičkih mjerenja korišten je konduktometar *WTW LF 530* s elektrodama *WTW LTA1* i *Pt LNA 1/NS* te kartica *MeilhausElectronix 2600 PCI* kojom je računalo povezano s konduktometrom. Termostat je marke *Julabo FP40*. Podaci su obrađeni u programu *Conductivity* koji je podatke predočio u funkciju ovisnosti vodljivosti o vremenu, dok je *Origin* programski paket korišten u računanju konstanti brzina solvolize.

Konstanta brzine solvolize pojedinog benzilnog bromida dobije se metodom najmanjih kvadrata pomoću jednadžbe (4) koja vrijedi za kinetiku prvoga reda:

$$G = a \times (1 - e^{-k \times t}) + b,$$

gdje je:

G - vodljivost

a - ukupna promjena vodljivosti otopine od početka reakcije do kompletne solvolize

k - konstanta brzine solvolize

t - vrijeme

b - vodljivost otopine (tj. samog otapala) bez ispitivanog supstrata

Budući da bi kinetika solvolize nekih benzilnih bromida trajala danima, one se ne mjere na 25 °C, već na 50 °C, 60 °C i 70 °C. Mjerenje na 25 °C ponovljeno je za svaki benzilni bromid tri puta. Time se dobiju 3 konstante čija srednja vrijednost predstavlja konačnu konstantu brzine solvolize. Ostalim se benzilnim bromidima konstanta mjeri po dva puta na trima različitim temperaturama (gore navedene), čime se dobiju 3 različite srednje vrijednosti. Na kraju se ekstrapolacijom srednjih vrijednost na 25 °C pomoću Eyringove jednadžbe (1) dobije konačna konstanta brzine solvolize tih benzilnih bromida.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Rezultati

Iako je sinteza svih benzilnih bromida bila uspješna, konstante brzine solvolize mogle su se izmjeriti samo sljedećim spojevima: 4-fenoksibenzil-bromid, 3,4-dimetilbenzil-bromid, 4-metilbenzil-bromid, 4-*tert*-butilbenzil-bromid te 4-fenilbenzil-bromid.

Kako bi se odredio mehanizam solvolize navedenih spojeva u trifluoretanolu (TFE), bilo je potrebno prethodno izmjeriti konstantu brzine solvolize svakog spoja konduktometrijskom metodom. Drugim riječima, mjerila se promjena vodljivosti otopine u vremenu pri konstantnoj temperaturi. Temperatura sustava pri mjerenju kinetike 4-metilbenzil-bromida, 3,4-dimetilbenzil-bromida te 4-fenoksibenzil-bromida je bila 25 °C (Tablica 2.), dok se zbog niske reaktivnosti drugih dvaju spojeva (4-*tert*-butilbenzil-bromid i 4-fenilbenzil-bromid) temperatura sustava morala povisiti (50 °C, 60°C i 70 °C; Tablica 3). Naknadno su se vrijednosti konstanti ekstrapolirale na 25 °C (Tablica 4.). Time su dobivene sve vrijednosti potrebne za izradu Hammett-Brownova grafa (Slika 10.).

Tablica 2. Izmjerene konstante brzine solvolize različito supstituiranih benzilnih bromida u čistom trifluoretanolu na 25 °C te izračunate srednje vrijednosti konstanti brzine sa standardnim devijacijama

Supstrat	Otapalo	k / s^{-1}	$(\bar{k} \pm sd) / s^{-1}$
4-metilbenzil-bromid	100% TFE	2,43 x 10 ⁻⁵ 2,28 x 10 ⁻⁵ 2,31 x 10 ⁻⁵	$(2,34 \pm 0,07) \times 10^{-5}$
3,4-dimetilbenzil-bromid	100% TFE	1,00 x 10 ⁻⁴ 1,01 x 10 ⁻⁴ 9,62 x 10 ⁻⁵	$(9,91 \pm 0,21) \times 10^{-5}$
4-fenoksibenzil-bromid	100% TFE	1,22 x 10 ⁻² 1,24 x 10 ⁻² 1,21 x 10 ⁻²	$(1,22 \pm 0,01) \times 10^{-2}$

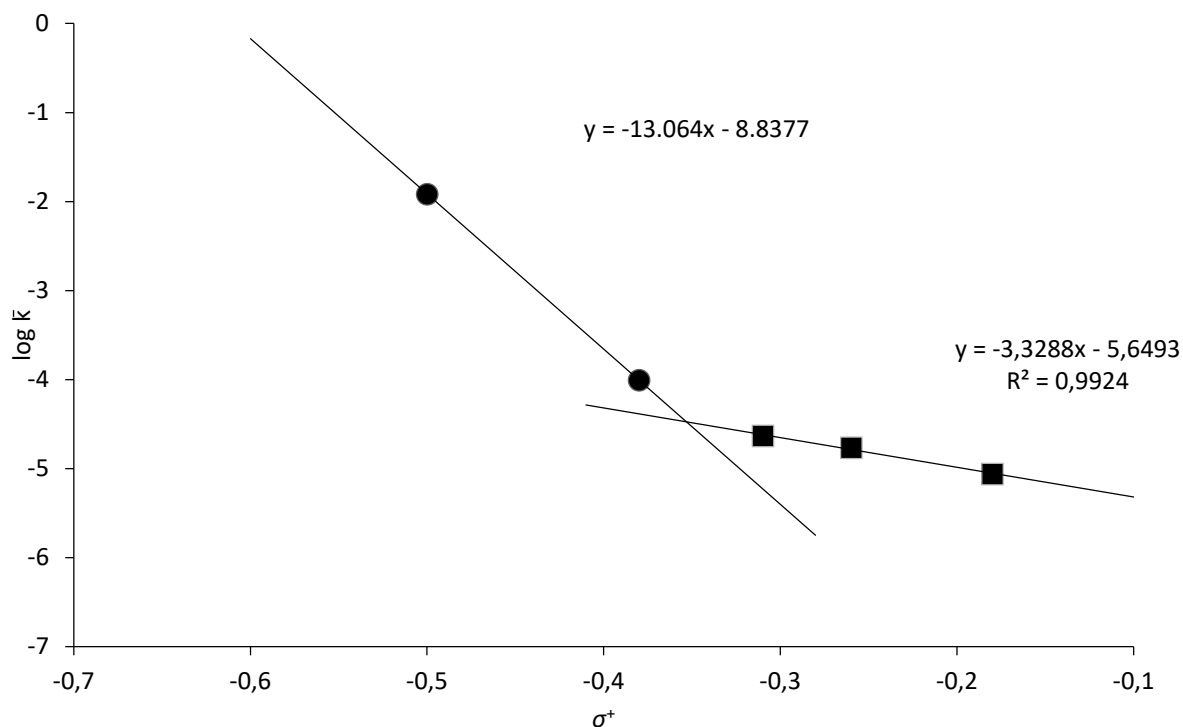
Tablica 3. Izmjerene konstante brzine solvolize različito supstituiranih benzilnih bromida u trifluoretanolu na povišenim temperaturama te izračunate srednje vrijednosti konstanti brzine sa standardnim devijacijama

Supstrat	Otapalo	$t / ^\circ\text{C}$	k / s^{-1}	$(\bar{k} \pm \text{sd}) / \text{s}^{-1}$
4- <i>tert</i> -butilbenzil-bromid	100% TFE	70	$2,82 \times 10^{-3}$ $2,72 \times 10^{-3}$	$(2,77 \pm 0,05) \times 10^{-3}$
		60	$1,01 \times 10^{-3}$ $9,42 \times 10^{-4}$	$(9,76 \pm 0,34) \times 10^{-4}$
		50	$3,46 \times 10^{-4}$ $3,46 \times 10^{-4}$	$(3,46 \pm 0,00) \times 10^{-4}$
4-fenilbenzil-bromid	100% TFE	70	$1,83 \times 10^{-3}$ $1,68 \times 10^{-3}$	$(1,76 \pm 0,08) \times 10^{-3}$
		60	$6,07 \times 10^{-4}$ $5,89 \times 10^{-4}$	$(5,98 \pm 0,09) \times 10^{-4}$
		50	$2,06 \times 10^{-4}$ $1,93 \times 10^{-4}$	$(2,00 \pm 0,07) \times 10^{-4}$

Tablica 4. Vrijednosti konstanti brzine solvolize sintetiziranih benzilnih bromida mjerenih na 25 °C u čistom trifluoretanolu te ekstrapolirane vrijednosti konstanti brzine 4-*tert*-butilbenzil-bromida i 4-fenilbenzil-bromida, uz pripadajuće $\log \bar{k}$ i σ^+ -vrijednosti

Supstrat	Otapalo	\bar{k} / s^{-1}	$\log \bar{k}$	$\sigma^+{}^a$
4-metoksibenzil-bromid	100% TFE	/	/	-0,78
4-(metiltio)benzil-bromid	100% TFE	/	/	-0,60
4-fenoksibenzil-bromid [•]	100% TFE	$1,22 \times 10^{-2}$	-1,91	-0,50
3,4-dimetilbenzil-bromid [•]	100% TFE	$9,91 \times 10^{-5}$	-4,00	-0,38
4-metilbenzil-bromid [■]	100% TFE	$2,34 \times 10^{-5}$	-4,63	-0,31
4- <i>tert</i> -butilbenzil-bromid [■]	100% TFE	$1,73 \times 10^{-5}$	-4,76	-0,26
4-fenilbenzil-bromid [■]	100% TFE	$8,74 \times 10^{-6}$	-5,06	-0,18
benzil bromid (nesupst.)	100% TFE	/	/	0,00

^a σ^+ -vrijednosti za navedene supstrate preuzeti iz Okamoto i Brown, 1957



Slika 11. Hammett-Brownov graf ovisnosti $\log \bar{k}$ (logaritam srednje vrijednosti konstante brzine solvolize različito supstituiranih benzilnih bromida mjerenih na 25 °C u čistom trifluoretanolu) o pripadajućim σ^+ -vrijednostima (parametar koji ovisi o položaju supstituenta na benzenskom prstenu i njegovoj sposobnosti da delokalizira pozitivan naboj s reakcijskog centra u prstenu)

4.2. Rasprava

Iz osam različito supstituiranih benzilnih alkohola sintetizirano je osam različitih benzilnih bromida. Kao sredstva za bromiranje korišteni su acetil-bromid i fosforov tribromid. Čistoća sintetiziranih spojeva potvrđena je tankoslojnom kromatografijom i nuklearnom magnetskom rezonancijom. Benzilni bromidi su potom podvrgnuti kinetičkim mjerenjima kako bi se spoznalo „ponašanje“ tih spojeva u solvolizi. Kao otapalo korišten je čisti trifluoretanol koji ima manju nukleofilnost od etanola (Kevill i Kamil, 1982). Nezavisna varijabla u eksperimentu bila je supstituent na benzenskom prstenu u *para*- i *meta*- položaju. Konstante brzine nisu mogle biti izmjerene za solvolizu 4-metoksibenzil-bromida, 4-(metiltio)benzil-bromida i nesupstituiranog benzilnog bromida. Intuitivno se moglo pretpostaviti da reakcije solvolize različito supstituiranih

benzilnih bromida neće teći jednakom brzinom. Konduktometrijska mjerenja potvrdila su eksponencijalnu ovisnost vodljivosti reakcijske otopine o vremenu. Dakle, reakcije solvolize ovih spojeva prate kinetiku (pseudo)prvoga reda. Iako njihovi podatci nisu korišteni u daljnjoj analizi, spojevi s metoksi- i metiltio- skupinom su reagirali najbrže, dok je najsporije reagirao nesupstituirani benzilni bromid. Naime, supstituenti na benzenskom prstenu svojim induktivnim ili rezonantnim efektom mogu povisiti ili sniziti barijeru solvolize te na taj način utjecati na reaktivnost supstrata. Taj utjecaj supstituenata je kvantificiran i označen konstantom σ^+ . Obzirom da su u eksperimentu korišteni elektron-donirajući supstituenti, koji su preko π -sustava prstena u konjugaciji s reakcijskim centrom na kojem se razvija pozitivan naboj, umjesto σ korišten je σ^+ koji daje bolje korelacije sa supstituentima koji rezonantno delokaliziraju pozitivan naboj s reakcijskog centra tijekom reakcije (pogl. 1.2.). Vrijednosti σ^+ daju zbroj elektronskih utjecaja (Humski, 1974), zbog čega σ^+ vrijednost 3,4-dimetilbenzil-bromida (-0,375) odgovara zbroju σ^+ vrijednosti *p*-metilne (-0,306) i *m*-metilne grupe (-0,069). Elektron-donorske skupine preko benzilnog π -sustava rezonantno doniraju elektronsku gustoću prema reakcijskom centru, čime stabiliziraju solvolitičko prijelazno stanje, a u konačnici i produkt prvog stupnja S_N1 reakcije – karbokation. Upravo zato što imaju po dva slobodna elektronska para, 4-metoksi i 4-metiltio skupine imaju najnegativnije σ^+ vrijednosti u seriji. To ukazuje na vrlo visoku reaktivnost spojeva zbog kojih nije bilo moguće izmjeriti konstantu brzine solvolize. Ostali spojevi, počevši s 4-fenoksibenzil-bromidom (manje reaktivan od gornja dva spoja zbog utjecaja fenila na slobodne elektronske parove na kisiku), eksperimentalno potvrđuju pravilo da u solvolitičkim reakcijama spojevi s jačom elektron-donorskom skupinom reagiraju brže.

Ostali supstituenti imaju vrlo slabi rezonantni efekt, tako da stabilizaciju prijelaznog stanja uglavnom postižu induktivnim efektom. Zato su sve reakcije u odnosu na solvolizu 4-fenoksibenzil-bromida tekle vrlo sporo (Tablica 4.). Solvoliza spojeva s 4-*tert*-butil- i 4-fenil-skupinom je tekla toliko sporo da se konstanta brzine reakcije morala mjeriti pri povišenim temperaturama (Tablica 3.), dok je solvoliza nesupstituiranog benzilnog bromida čak i na povišenim temperaturama tekla vrlo sporo.

Nakon što su dobivene konstante brzine pojedinog benzilnog bromida, provedena je Hammett-Brownova korelacijska analiza (Slika 11.). Točke koje predstavljaju spojeve ne mogu se povezati u jedinstveni pravac, već se povezuju dvama pravcima. Postojanje dvaju pravaca različitih nagiba ukazuje na odstupanje od linearnosti Hammet-Brownove korelacijske jednadžbe (pogl. 1.2.). To znači da serija spojeva ne solvolizira istim mehanizmom u trifluoretanolu, tj. da spojevi povezani jednim pravcem solvoliziraju S_N1 , a

drugi S_N2 mehanizmom. Prvi pravac definiran je točkama koje predstavljaju spojeve 4-fenoksibenzil-bromid i 3,4-dimetilbenzil-bromid, dok je drugi pravac ($r = 0,9962$) definiran točkama koje predstavljaju 4-metilbenzil-bromid, 4-*tert*-butilbenzil-bromid i 4-fenilbenzil-bromid.

Nagib pravaca predstavlja reakcijsku konstantu ρ^+ (pogl. 1.2.). Njena negativna vrijednost odgovara smanjenju reaktivnosti u seriji uzrokovanom supstituentima s pozitivnim σ^+ vrijednostima (elektron-akceptorske skupine) ili povećanju reaktivnosti uzrokovanom elektron-donorskim skupinama. U oba slučaja formiranje aktiviranog kompleksa mora uključivati smanjenje elektronske gustoće na reakcijskom centru reaktanta koji sadrži supstituente (Maskill, 1999). Prvi pravac je znatno strmiji ($\rho_1^+ = -13,06$) od drugog ($\rho_2^+ = -3,33$), čime se dokazuje nastajanje karbokationa tijekom solvolize u trifluoretanolu dvaju najreaktivnijih benzilnih bromida u seriji. Različiti supstituenti na prstenu mogu imati ulogu u stabilizaciji prijelaznog stanja i kod S_N2 reakcija, ali ni približno tako značajnu kao što je to u S_N1 reakcijama (Pine, 1994). Dakle, negativna reakcijska konstanta drugog pravca ukazuje na to da, iako značajno manje nego kod tih dvaju najreaktivnijih spojeva, pri solvolizi ostalih spojeva na reakcijskom centru također nastaje pozitivan naboj. Drugim riječima, iako slabi, supstituenti spojeva koji solvoliziraju S_N2 mehanizmom također utječu na brzinu solvolize.

5. ZAKLJUČAK

Sinteza različito supstituiranih benzilnih bromida uspješno je provedena korištenjem dviju različitih metoda bromiranja: ona fosforovim tribromidom te druga acetil-bromidom. Uspješnost sinteze potvrđena je TLC i NMR analizom.

Početna hipoteza bila je da supstituenti na benzenskom prstenu utječu na brzinu i mehanizam solvolize supstituiranih benzilnih bromida u trifluoretanolu. Konduktometrijskim mjerenjima u čistom trifluoretanolu dobivene su konstante brzine solvolize benzilnih bromida na 25 °C. Koristeći Hammett-Brownovu korelacijsku analizu hipoteza se i potvrdila. Naime, dobivena su dva padajuća pravca različitih nagiba, a odstupanje od linearnosti (tj. nepostojanje jedinstvenog pravca) dokaz je promjene mehanizma nukleofilne supstitucije u seriji bromida. Budući da se tijekom eksperimenta u seriji supstrata mijenjao samo supstituent na benzenskom prstenu, može se zaključiti da je hipoteza potvrđena.

Nagib pravca označava reakcijsku konstantu ρ^+ , čiji iznos i predznak upućuju na promjenu naboja na reakcijskom centru tijekom solvolize. Drugim riječima, tijekom reakcije na reakcijskom centru nastaje naboj suprotan od onoga u referentnoj reakciji (u kojoj nastaje negativni benzoatni anion). To znači da je u provedenim solvolizama nastajao pozitivan naboj.

Konkretno, reakcijska konstanta prvoga pravca iznosi -13,06 (4-fenoksibenzil-bromid i 3,4-dimetilbenzil-bromid), a drugoga -3,33 (4-metilbenzil-bromid, 4-*tert*-butilbenzil-bromid i 4-fenilbenzil-bromid). Očito je da se na reakcijskom centru prvih dvaju spojeva tijekom solvolize generira puno jači pozitivan naboj nego kod onih povezanih drugim pravcem. To znači da supstituenti benzilnih bromida prvog pravca bolje delokaliziraju pozitivan naboj s reakcijskog centra tijekom solvolize (rezonantni i induktivni efekt), pritom olakšavajući stvaranje relativno stabilnog karbokationskog međuprodukta. Dakle, solvoliza 4-fenoksibenzil-bromida i 3,4-dimetilbenzil-bromida se odvija S_N1 mehanizmom, dok se solvolize 4-metilbenzil-bromida, 4-*tert*-butilbenzil-bromida i 4-fenilbenzil-bromida odvijaju S_N2 mehanizmom.

6. LITERATURA

Brown HC, Okamoto Y. Electrophilic Substituent Constants. *J Am Chem Soc*, 1958, 80, 4979-4987.

Brown HC, Okamoto Y. Substituent Constants for Aromatic Substitution. *J Am Chem Soc*, 1957, 79, 1913-1917.

Okamoto Y, Brown HC. A Quantitative Treatment for Electrophilic Reactions of Aromatic Derivatives. *J Org Chem*, 1957, 22, 485-494.

Denegri B, Streiter A, Jurić S, Ofial A, Kronja O, Mayr H. Kinetics of the Solvolyses of Benzhydryl Derivatives: Basis for the Construction of a Comprehensive Nucleofugality Scale. *Chem Eur J*, 2006, 12, 1648-1656.

Hammett LP. The Effect of Structure upon the Reactions of Organic Compounds. Benzene Derivatives. *J Am Chem Soc*, 1937, 59, 96-103.

Hansch C, Leo A, Taft WR. A Survey of Hammett Substituent Constants and Resonance and Field Parameters. *Chem Rev*, 1991, 97, 165-195.

Humski K. Nukleofilna supstitucija na zasićenom ugljikovu atomu. U: Reakcijski mehanizmi u organskoj kemiji. Ivaniček L, urednik, Zagreb, Školska knjiga, 1974, str. 20-28.

Humski K. Utjecaj strukture na reaktivnost. U: Reakcijski mehanizmi u organskoj kemiji. Ivaniček L, urednik, Zagreb, Školska knjiga, 1974, str. 16-20.

Maskill H. Molecular mechanism and reaction rates. U: Structure and reactivity in organic chemistry. Davies SG, urednik, New York, USA, Oxford University Press, 1984, str. 15-18.

Maskill H. Correlation analysis: quantitative relationships between molecular structure and chemical reactivity. U: Structure and reactivity in organic chemistry. Davies SG, urednik, New York, USA, Oxford University Press, 1999, str. 27–45.

Pouliot MF, Mahé O, Hamel JD, Desroches J, Paquin JF. *Org Lett*, 2012, 14, 5428–5431.

Iranpoor N, Firouzabadi H, Jamalian A, Kazemi F. *Tetrahedron*, 2005, 61, 5699–5704.

Nolte C, Ammer J, Mayr H. Nucleofugality and Nucleophilicity of Fluoride in Protic Solvents. *J Org Chem*, 2012, 3325–3335.

Nolte C, Mayr H. Kinetics of the Solvolyses of Fluoro-Substituted Benzhydryl Derivatives: Reference Electrofuges for the Development of a Comprehensive Nucleofugality Scale. *Eur J Org Chem*, 2010, volume 2010, 1435–1439.

Pine SH. Organska kemija. Zagreb, Školska knjiga, 1994, str. 316–342.

Kevill DN, Kamil WA. Solvent nucleophilicity of 2,2,2-trifluoroethanol-ethanol mixtures. *J Org Chem*, 1982, 47, 3785-3787.

Wade L. G., ml. Organska kemija 7 (1. hrvatsko izdanje), Školska knjiga, 2017, str. 157–158; 228-260.

WO 2014/152144, str. 56.

7. SAŽETAK / SUMMARY

Iz odgovarajućih benzilnih alkohola bromiranjem su sintetizirani različito supstituirani benzilni bromidi. Spojevi 4-(metiltio)benzil-bromid, 4-fenoksibenzil-bromid, 4-*tert*-butilbenzil-bromid, 4-metilbenzil-bromid, 3,4-dimetilbenzil-bromid, 4-fenilbenzil-bromid te nesupstituirani benzil-bromid dobiveni su bromiranjem fosforovim tribromidom, dok se u sintezi 4-metoksibenzil-bromida kao sredstvo za bromiranje koristio acetyl-bromid.

Provjera čistoće i identifikacija produkata izvršena je nuklearnom magnetskom rezonancijom i tankoslojnom tekućinskom kromatografijom. Brzine solvolize sintetiziranih spojeva određene su konduktometrijskom metodom u čistoj otopini trifluoetanolu (prethodno pročišćen destilacijom) na 25 °C. Konstante brzine manje reaktivnih supstrata određene su na višim temperaturama, nakon čega su vrijednosti ekstrapolirane na 25 °C. Logaritmi konstanti brzina solvolize pojedinih supstrata korelirani su sa σ^+ vrijednostima njihovih supstituenata. Nekonzistentne rezultate davali su spojevi s metoksi i metiltio supstituentima te nesuspstituirani benzilni bromid, tako da oni nisu korišteni u daljnjoj analizi. Hammett-Brownovom korelacijskom analizom dobivena su dva pravca. Prvi pravac definiran je točkama koje pripadaju 4-fenoksibenzil-bromidu i 3,4-dimetilbenzil-bromidu, dok je drugi pravac visokog koeficijenta korelacije definiran točkama koje pripadaju preostalim spojevima (redom 4-metilbenzil-bromid, 4-*tert*-butilbenzil-bromid i 4-fenilbenzil-bromid). Postojanje dvaju pravaca ukazuje na činjenicu da solvoliza jedne grupe spojeva teče S_N1 , a druge S_N2 mehanizmom. U apsolutnom iznosu, nagib (koji predstavlja reakcijsku konstantu ρ^+) prvog pravca je veći od drugog i oba su padajuća (negativni predznak). To znači da se tijekom solvolize u oba slučaja smanjuje elektronska gustoća na reakcijskom centru prijelaznog stanja, no kod pravca s negativnijom reakcijskom konstantom očito dolazi do značajne promjene naboja svojstvene S_N1 reakcijama – stvara se relativno stabilni karbokationski međuprodukt.

Eksperimentom je, dakle, dokazano da 4-fenoksibenzil-bromid i 3,4-dimetilbenzil-bromid solvoliziraju u trifluoroetanolu S_N1 mehanizmom, dok 4-metilbenzil-bromid, 4-*tert*-butilbenzil-bromid i 4-fenilbenzil-bromid solvoliziraju S_N2 mehanizmom. Budući da se upravo tim redoslijedom smanjuje apsolutan iznos σ^+ vrijednosti supstituenata, dokazana je i početna hipoteza da reakcija solvolize benzilnih bromida s jačim elektronskim supstituentima teče brže.

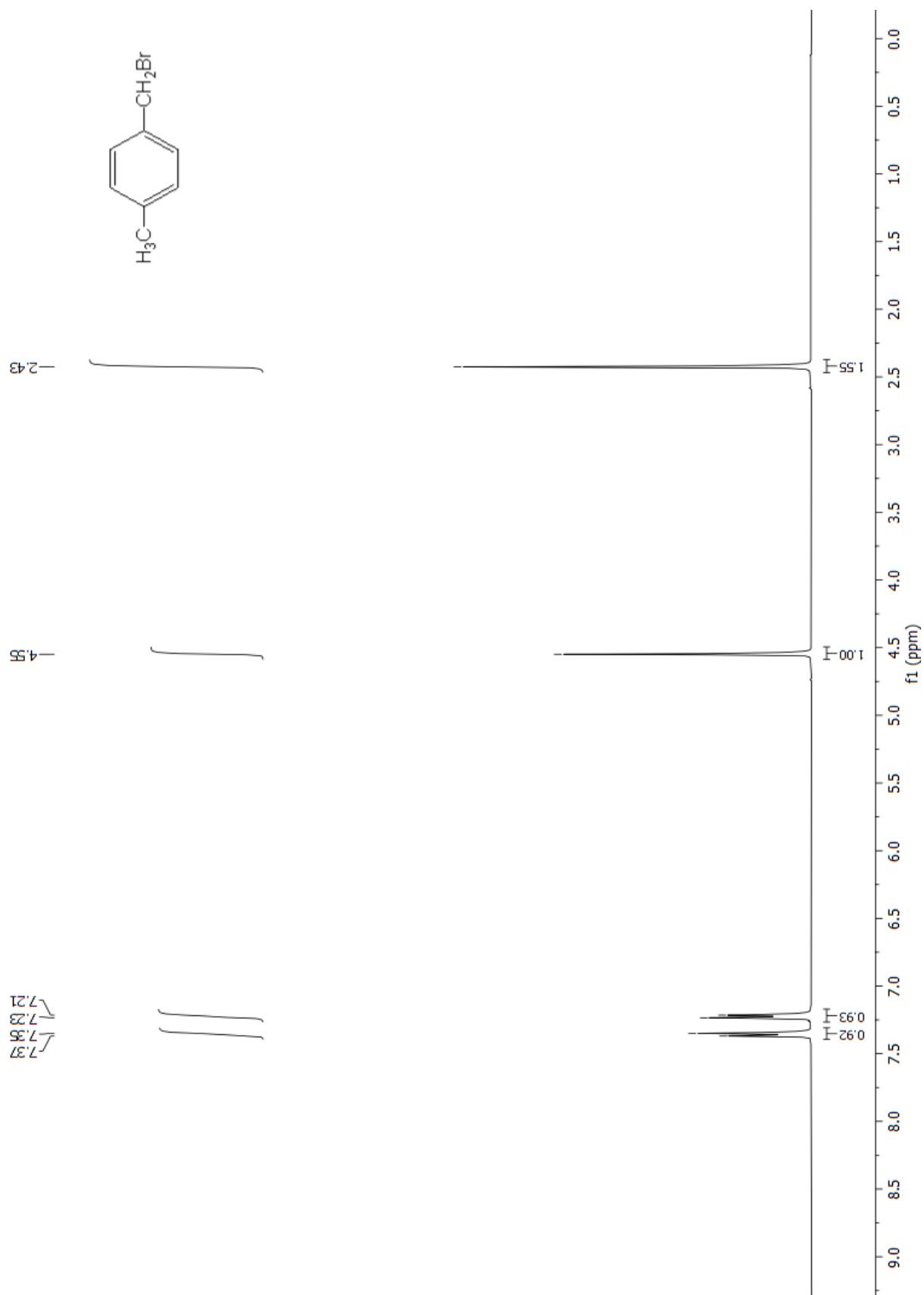
Adequate benzyl alcohols were brominated in order to synthesize differently substituted benzyl bromides. 4-(Methylthio)benzyl bromide, 4-phenoxybenzyl bromide, 4-methylbenzyl bromide, 3,4-dimethylbenzyl bromide, 4-*tert*-butylbenzyl bromide, 4-phenylbenzyl bromide and unsubstituted benzyl bromide were synthesized using phosphorus tribromide, while bromating agent used for synthesizing 4-methoxybenzyl bromide was acetyl bromide.

Identification of products and their purity were confirmed by NMR (Nuclear Magnetic Resonance) and TLC (Thin Layer Chromatography). The solvolysis rate constants of synthesized compounds were determined conductometrically in pure 2,2,2-trifluoroethanol (distilled) at 25 °C. The rate constants for less reactive benzyl bromides were determined at higher temperatures and extrapolated to 25 °C. Logarithms of solvolysis rate constants were correlated against σ^+ values of their substituents. 4-Methoxybenzyl bromide, 4-(methylthio)benzyl bromide and unsubstituted benzyl bromide weren't used in further analysis due to their high reactivity (the first two compounds in the series) or inactivity (the third one). Hammett-Brown correlation analysis was used in order to construct a graph. The graph showed two intersecting lines, both with negative slopes. The first line includes data for 4-phenoxybenzyl bromide and 3,4-dimethylbenzyl bromide, while the second line (with a high correlation coefficient) includes data for (in that order) 4-methylbenzyl bromide, 4-*tert*-butylbenzyl bromide and 4-phenylbenzyl bromide. The existence of the two lines indicates that there are two groups of compounds, one solvolysing by the S_N1 mechanism and the other solvolysing by the S_N2 mechanism. The slope (i.e. the reaction constant ρ^+) of the first line is higher than the slope of the other line, however, both are negative. Thus, the both lines indicate a decrease in electron density on the benzyl reaction site during solvolysis. Additionally, in the first case, the increase of the positive charge on the reaction centre of the transition state is significant, which is characteristic for S_N1 reactions, i.e. formation of relatively stable carbocations.

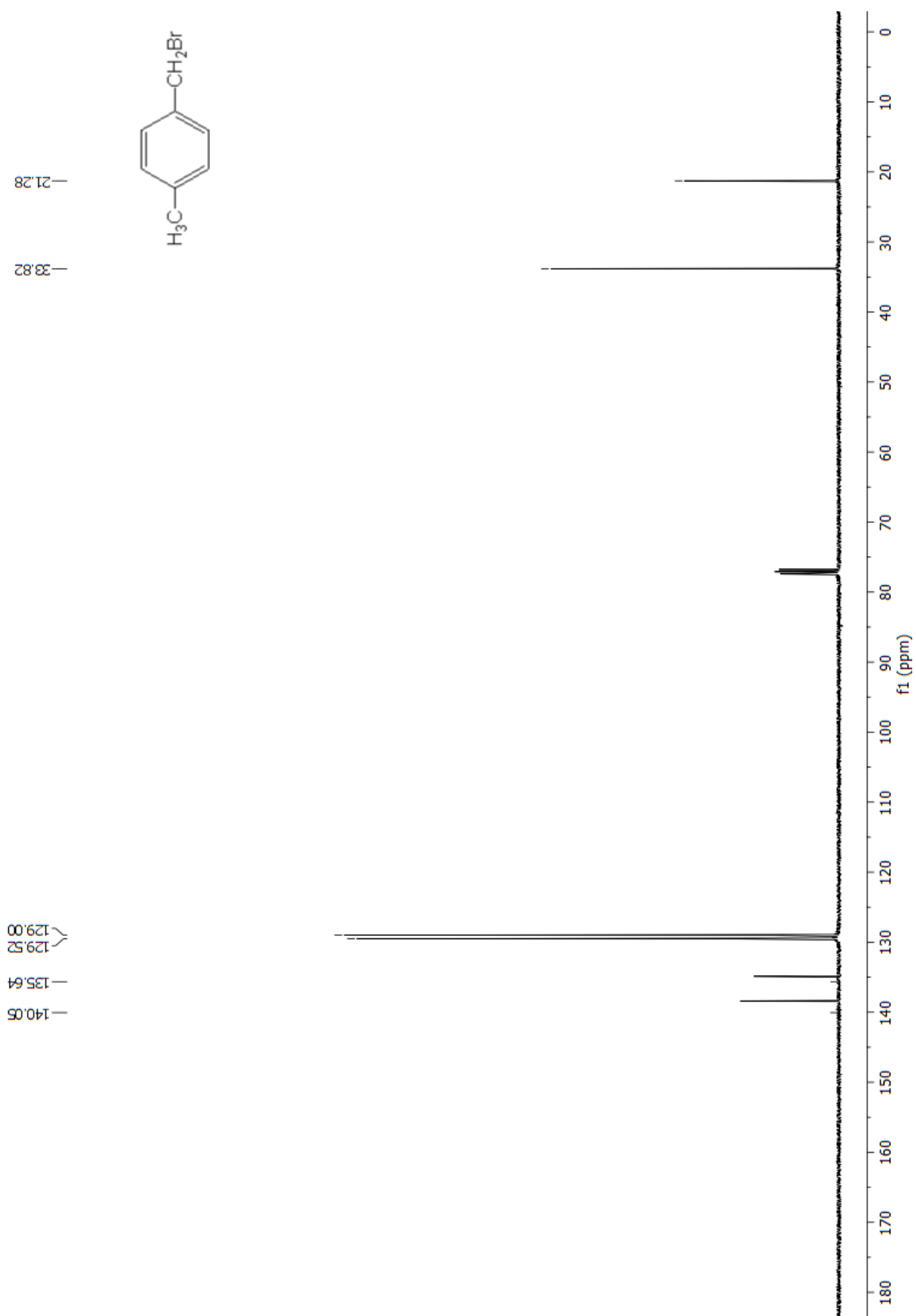
The experiment has proved that 4-phenoxybenzyl bromide and 3,4-dimethylbenzyl bromide solvolyze in 2,2,2-trifluoroethanol by the S_N1 mechanism, while 4-methylbenzyl bromide, 4-*tert*-butylbenzyl bromide and 4-phenylbenzyl bromide solvolyze in the same solvent by the S_N2 mechanism. The experiment has also proved the initial hypothesis saying that benzyl bromides with stronger electron-donating substituents (quantitatively speaking, substituents with more negative σ^+ values) solvolyze faster.

8. PRILOZI

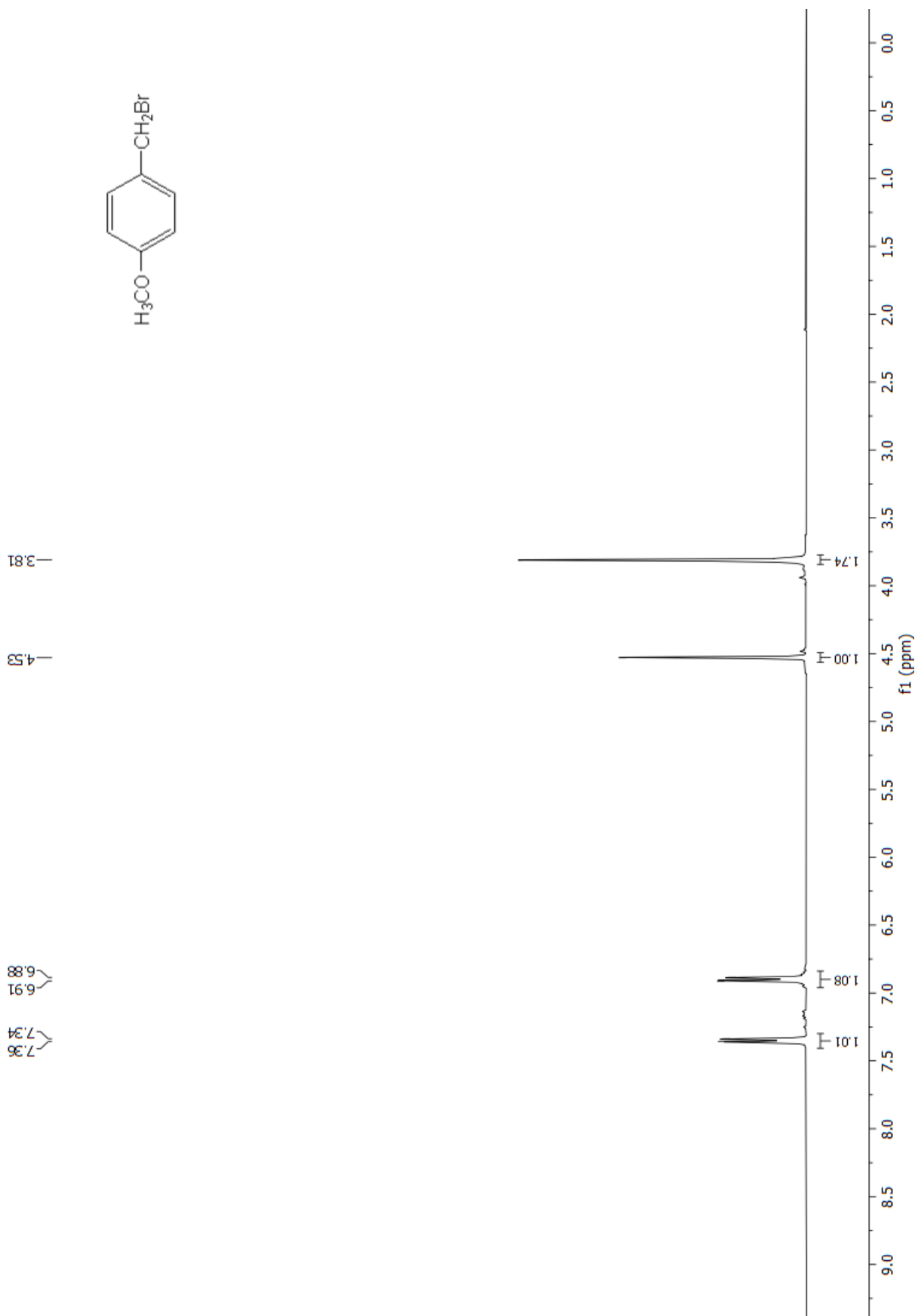
8.1. ^1H NMR 4-metilbenzil-bromida



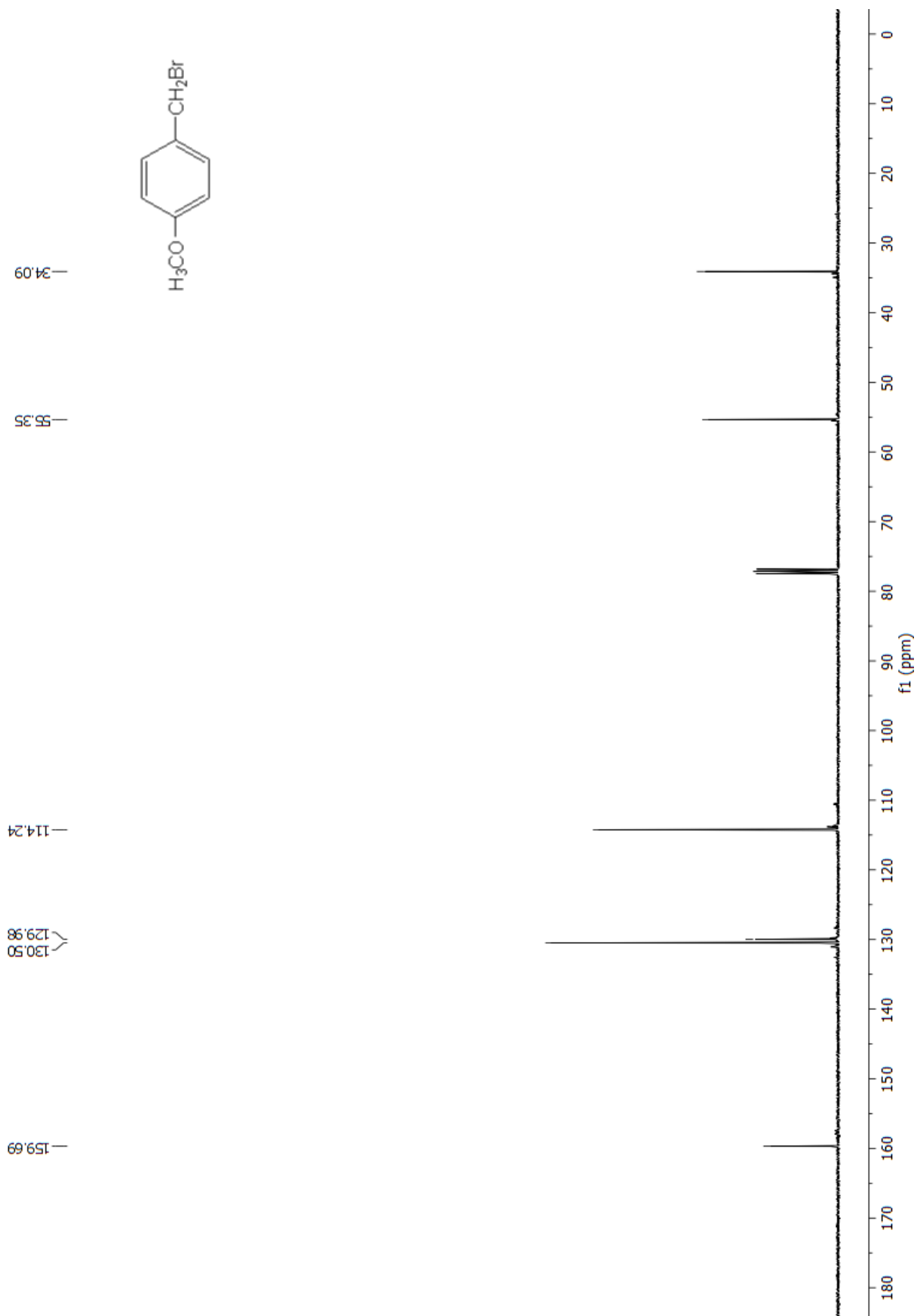
8.2. ^{13}C NMR 4-metilbenzil-bromida



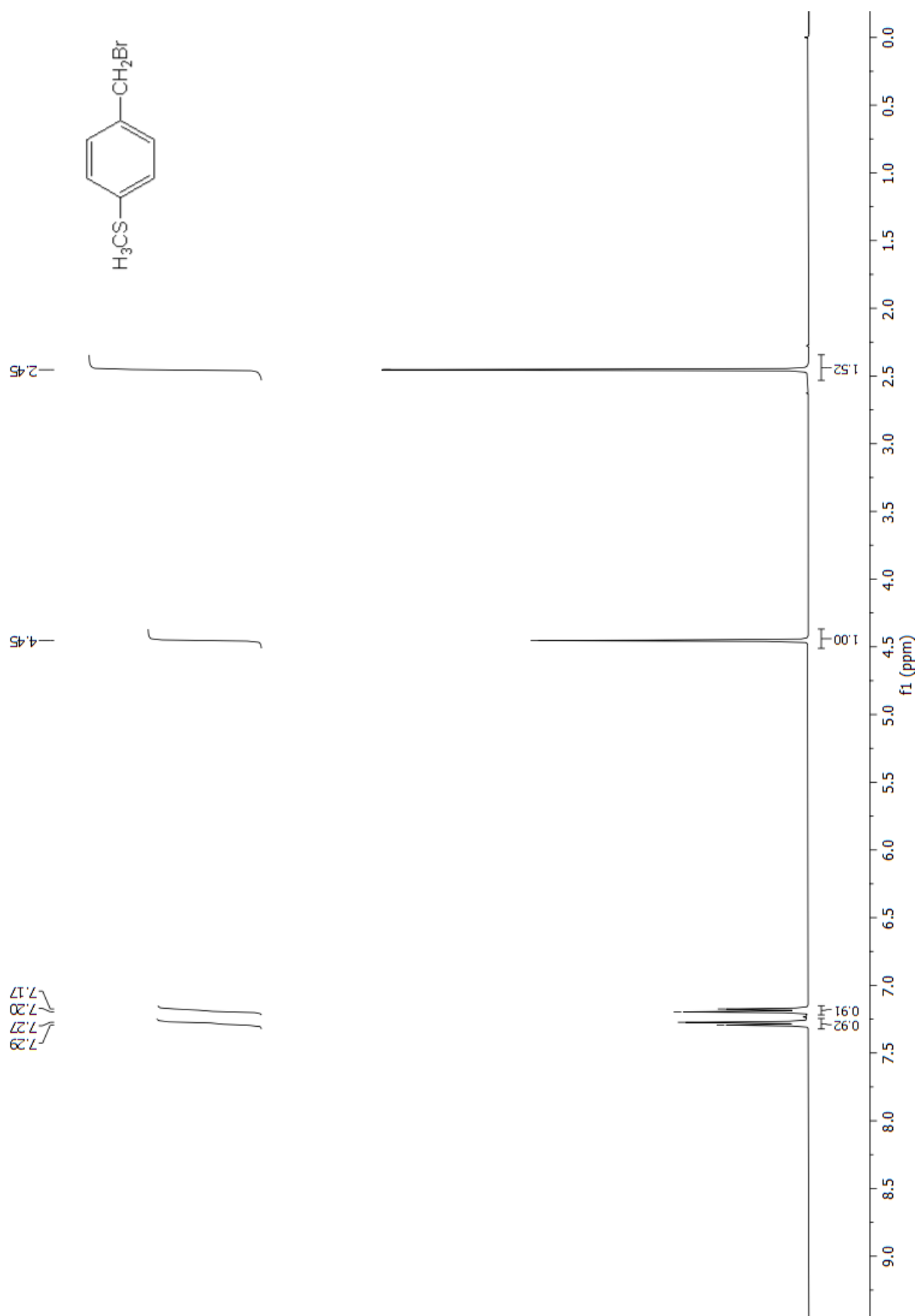
8.3. ^1H NMR 4-metoksibenzil-bromida



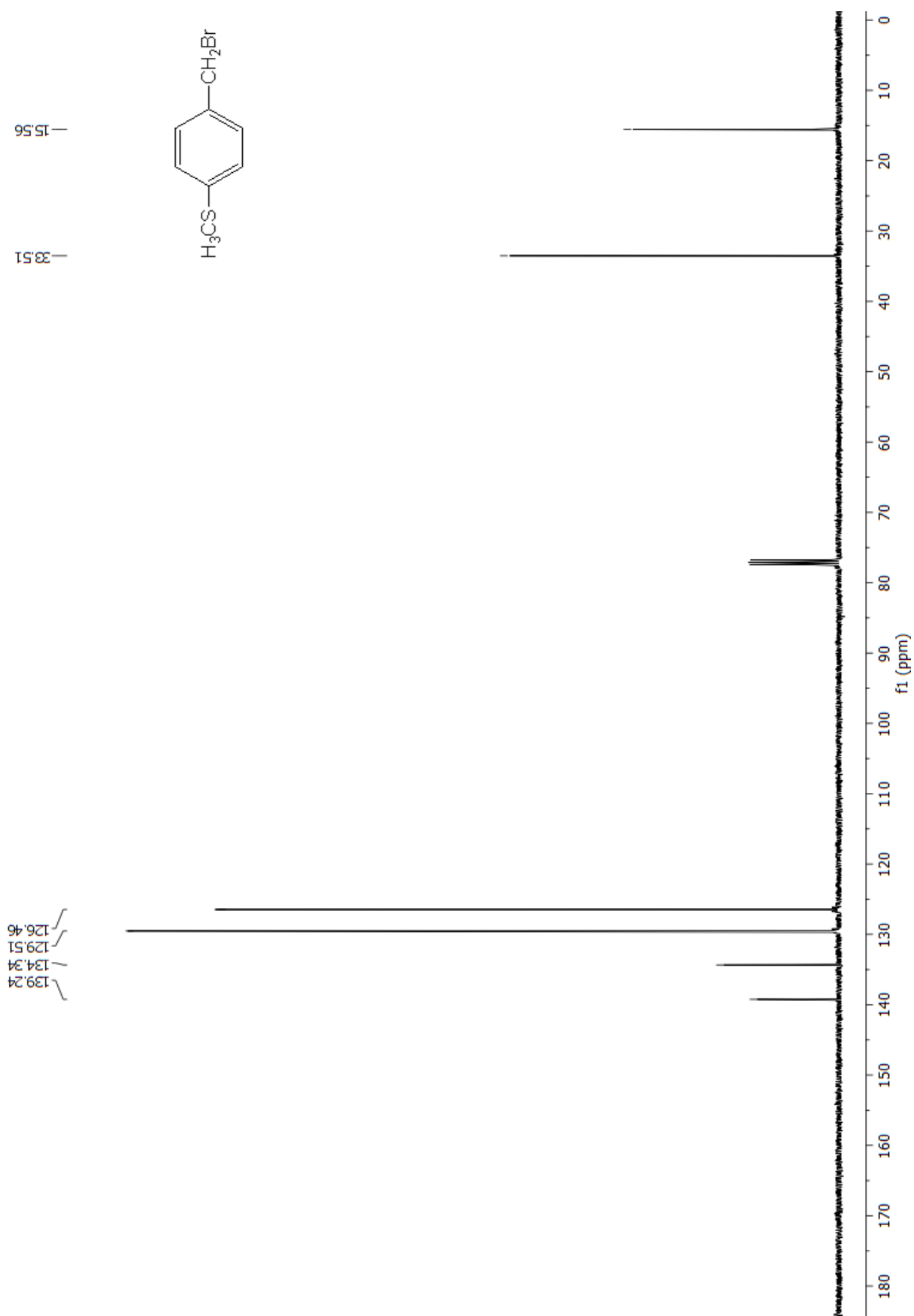
8.4. ^{13}C NMR 4-metoksibenzil-bromida



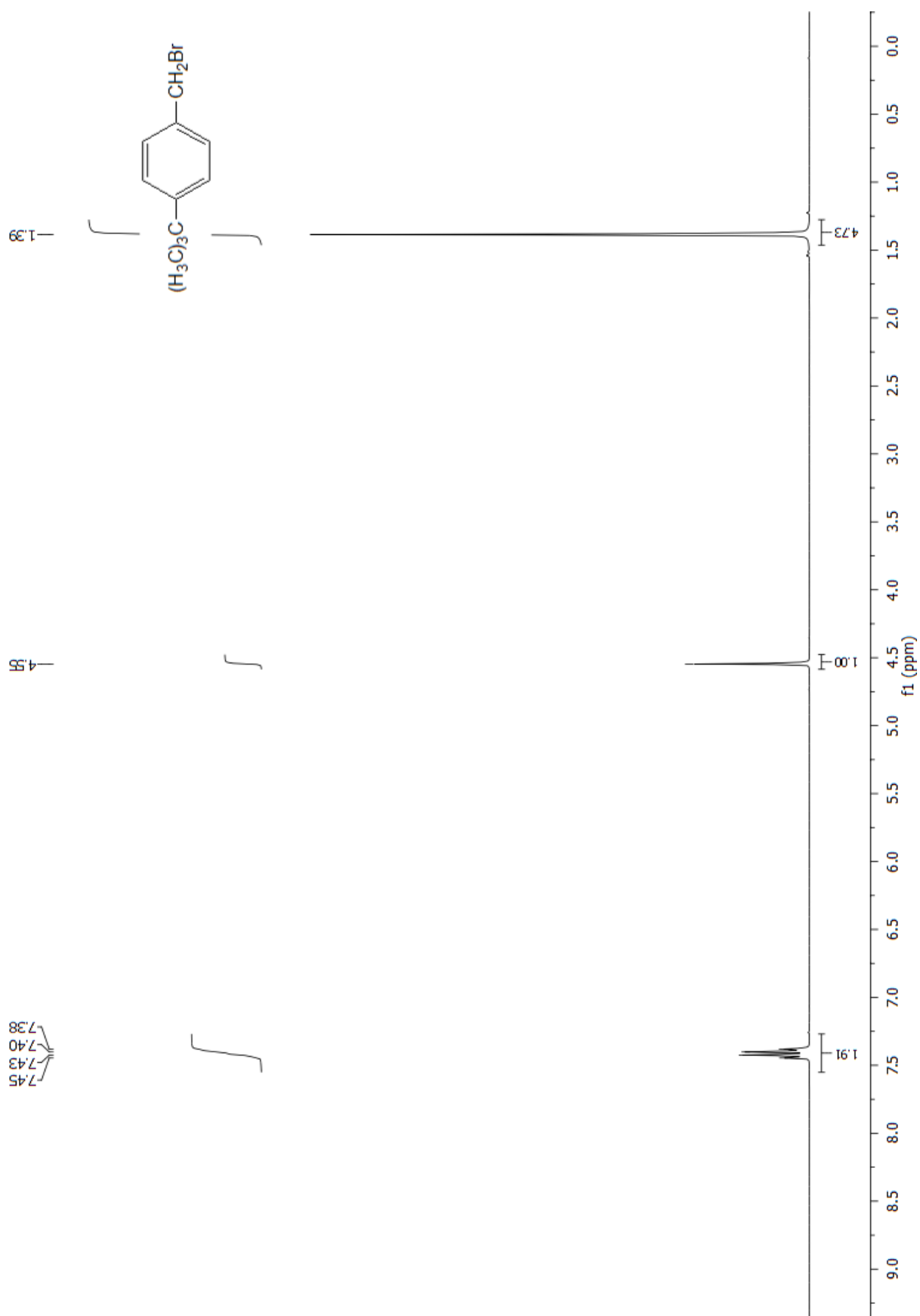
8.5. ^1H NMR 4-(metiltio)benzil-bromida



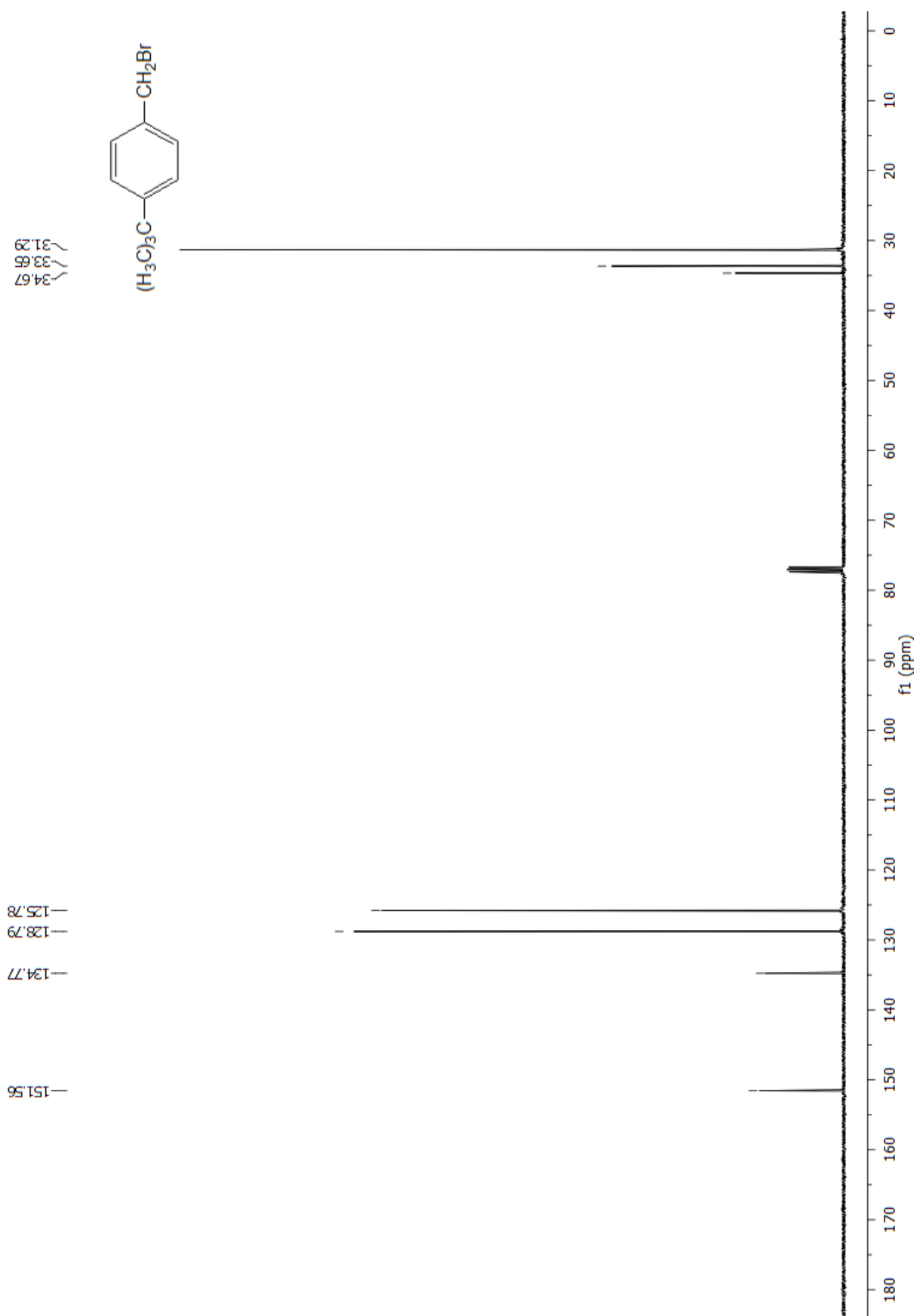
8.6. ^{13}C NMR 4-(metilto)benzil-bromida



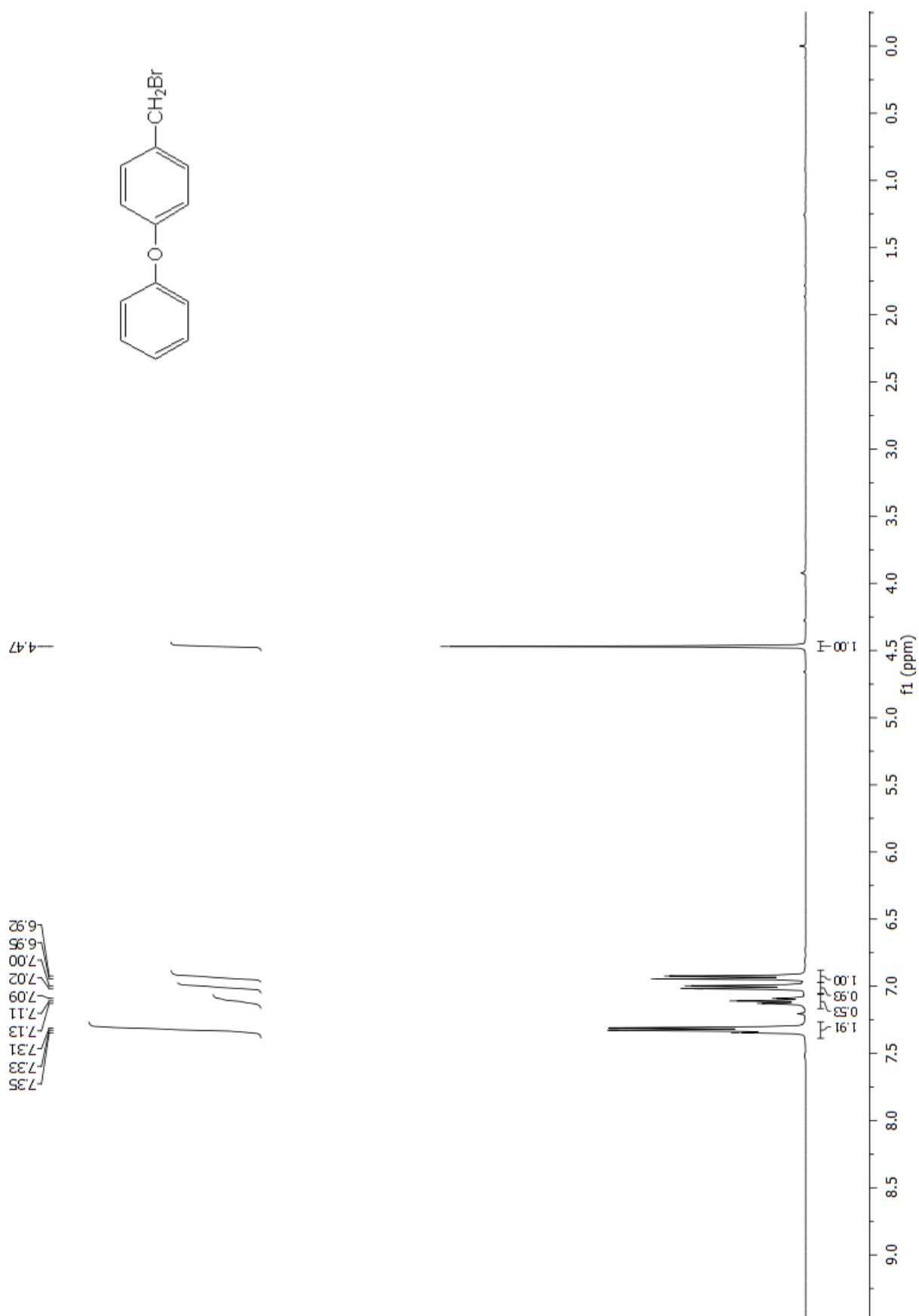
8.7. ^1H NMR 4-*tert*-butilbenzil-bromida



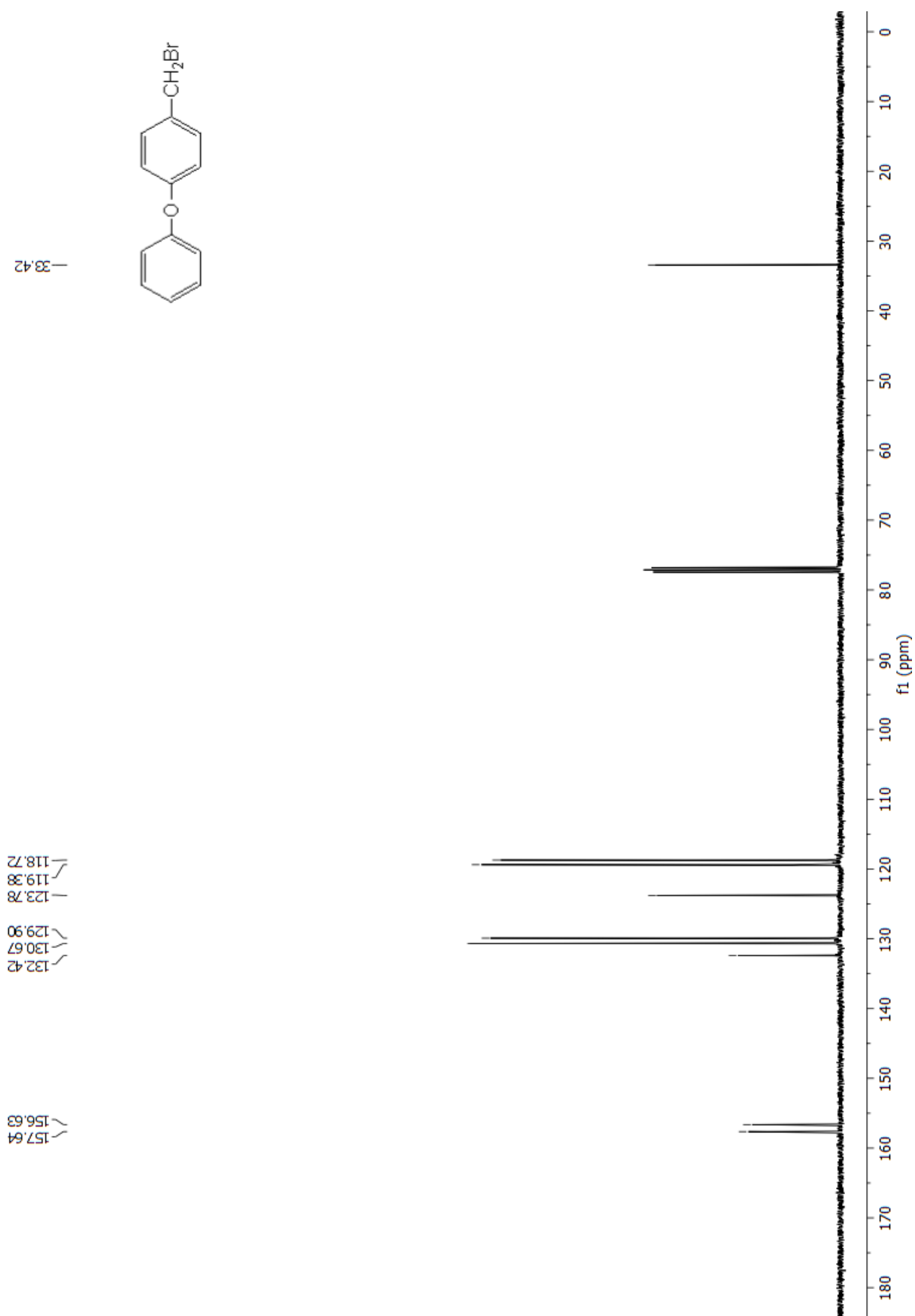
8.8. ^{13}C NMR 4-*tert*-butilbenzil-bromida



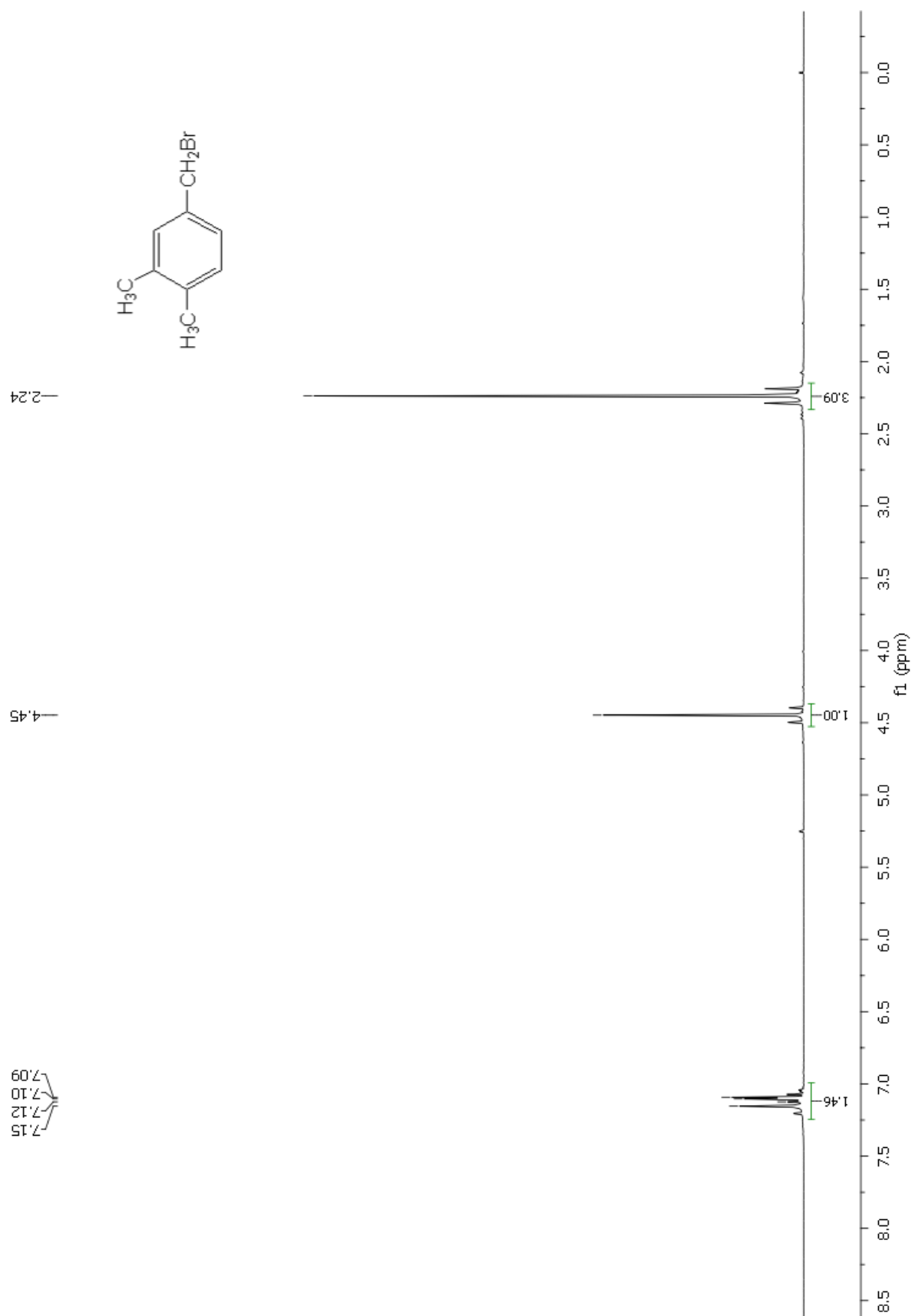
8.9. ^1H NMR 4-fenoksibenzil-bromida



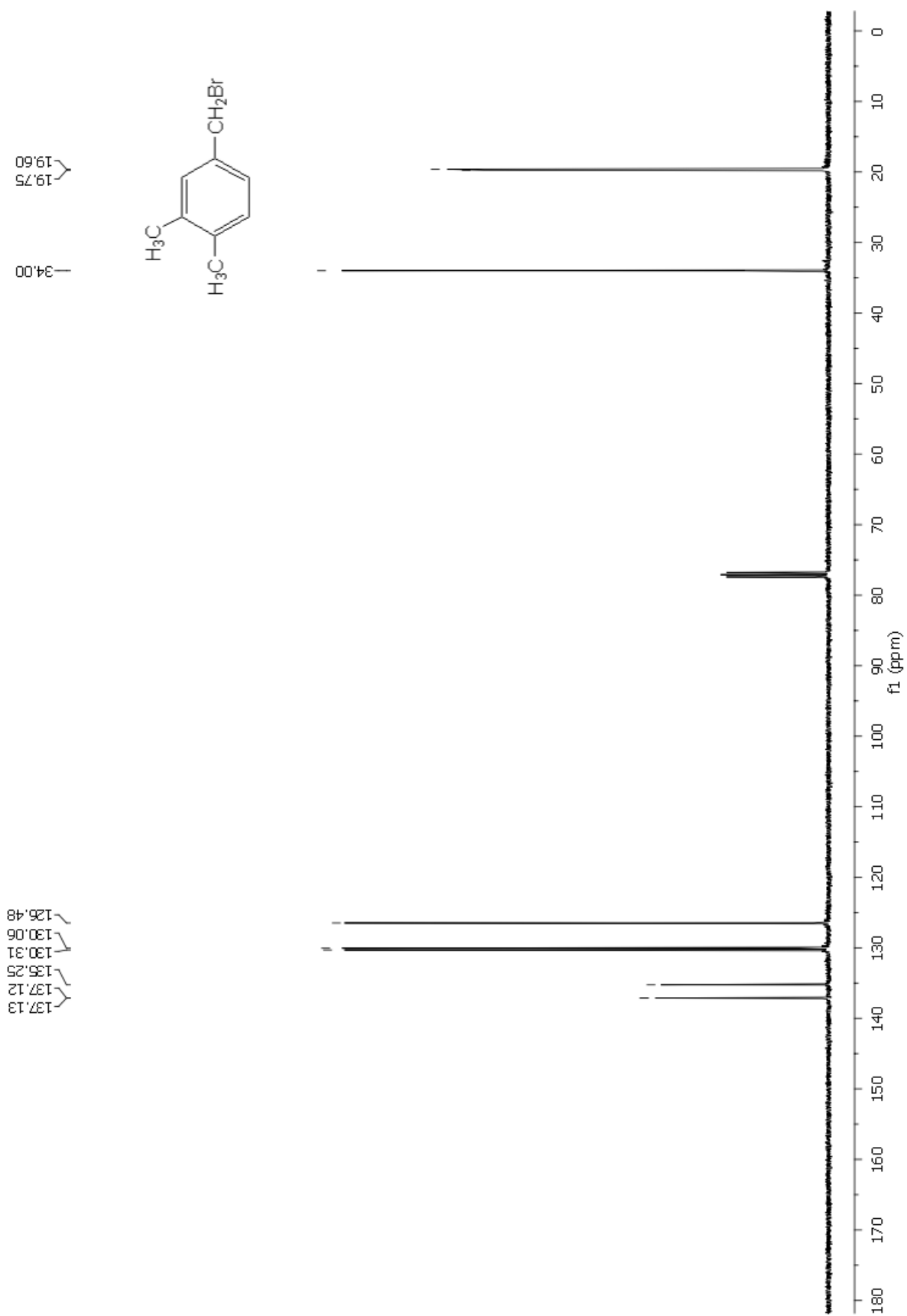
8.10. ^{13}C NMR 4-fenoksibenzil-bromida



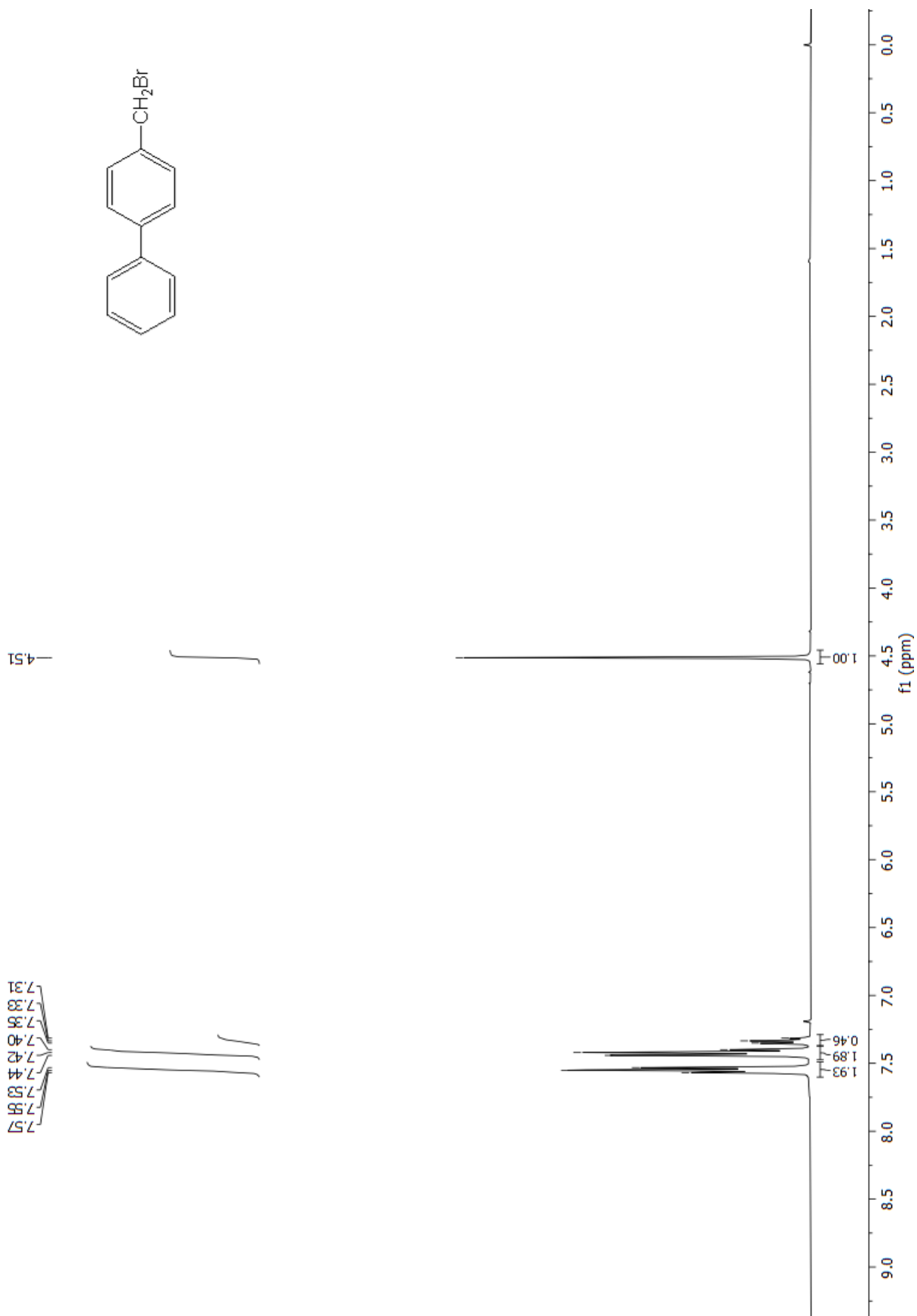
8.11. ^1H NMR 3,4-dimetilbenzil-bromida



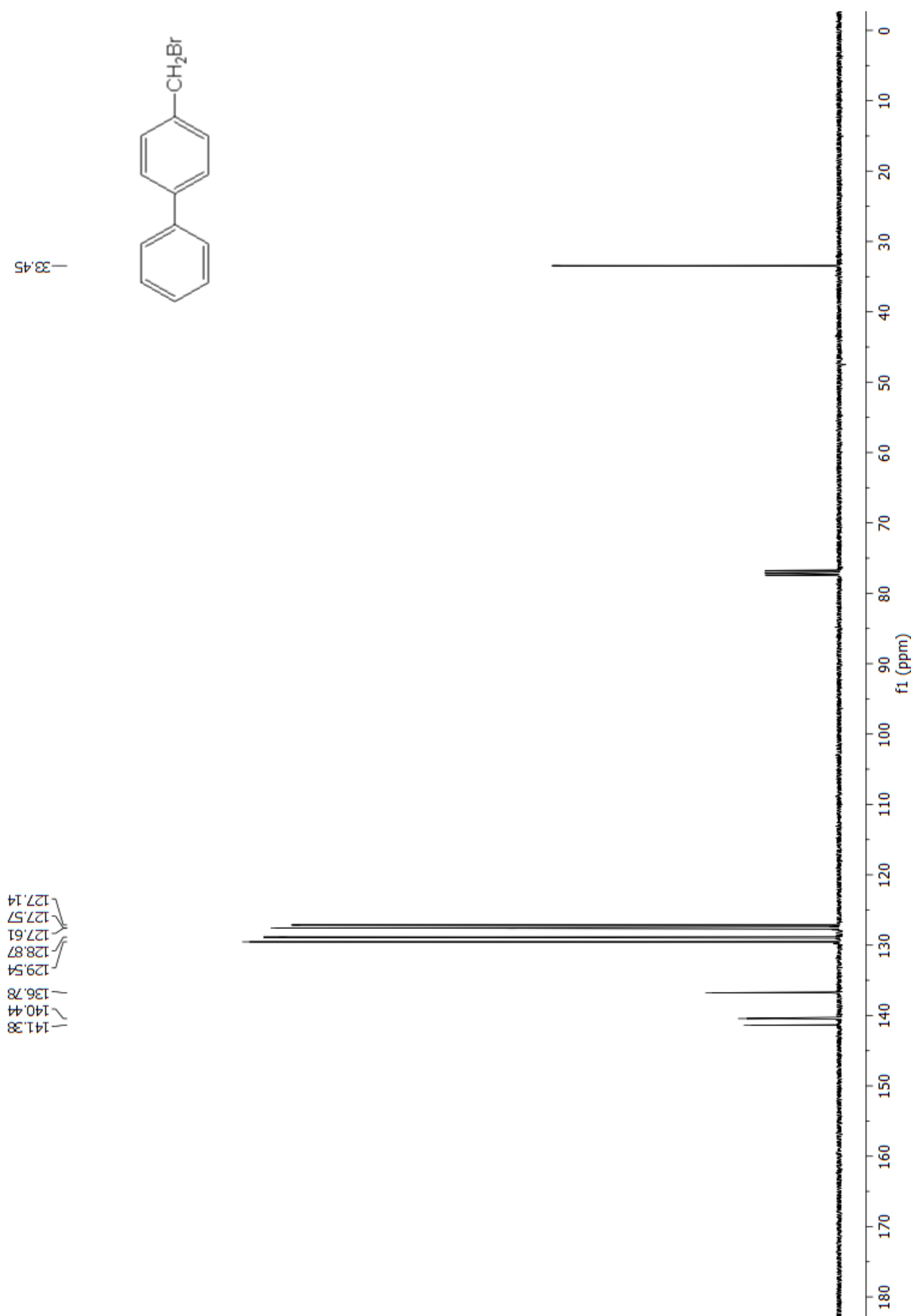
8.12. ^{13}C NMR 3,4-dimetilbenzil-bromida



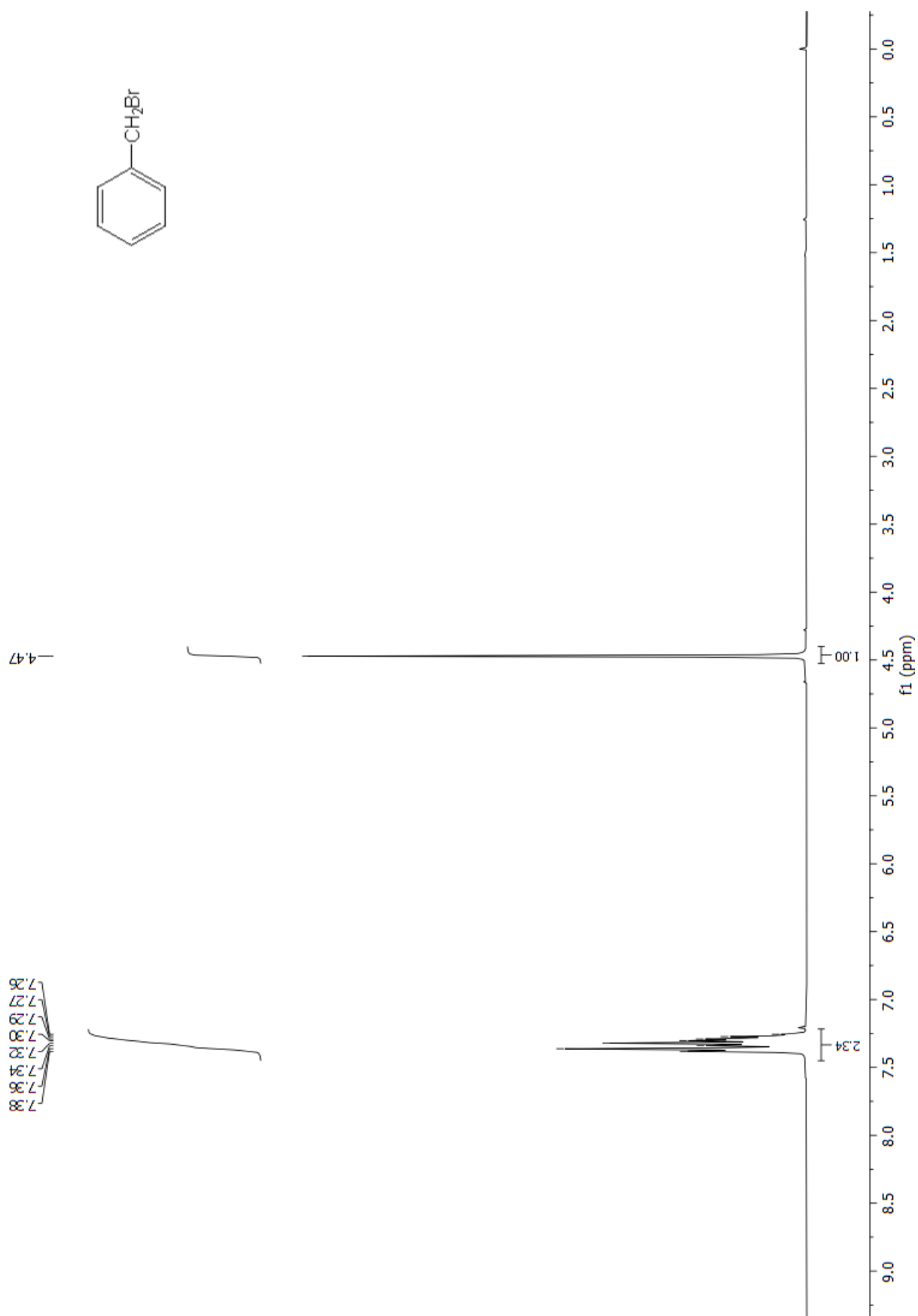
8.13. ^1H NMR 4-fenilbenzil-bromida



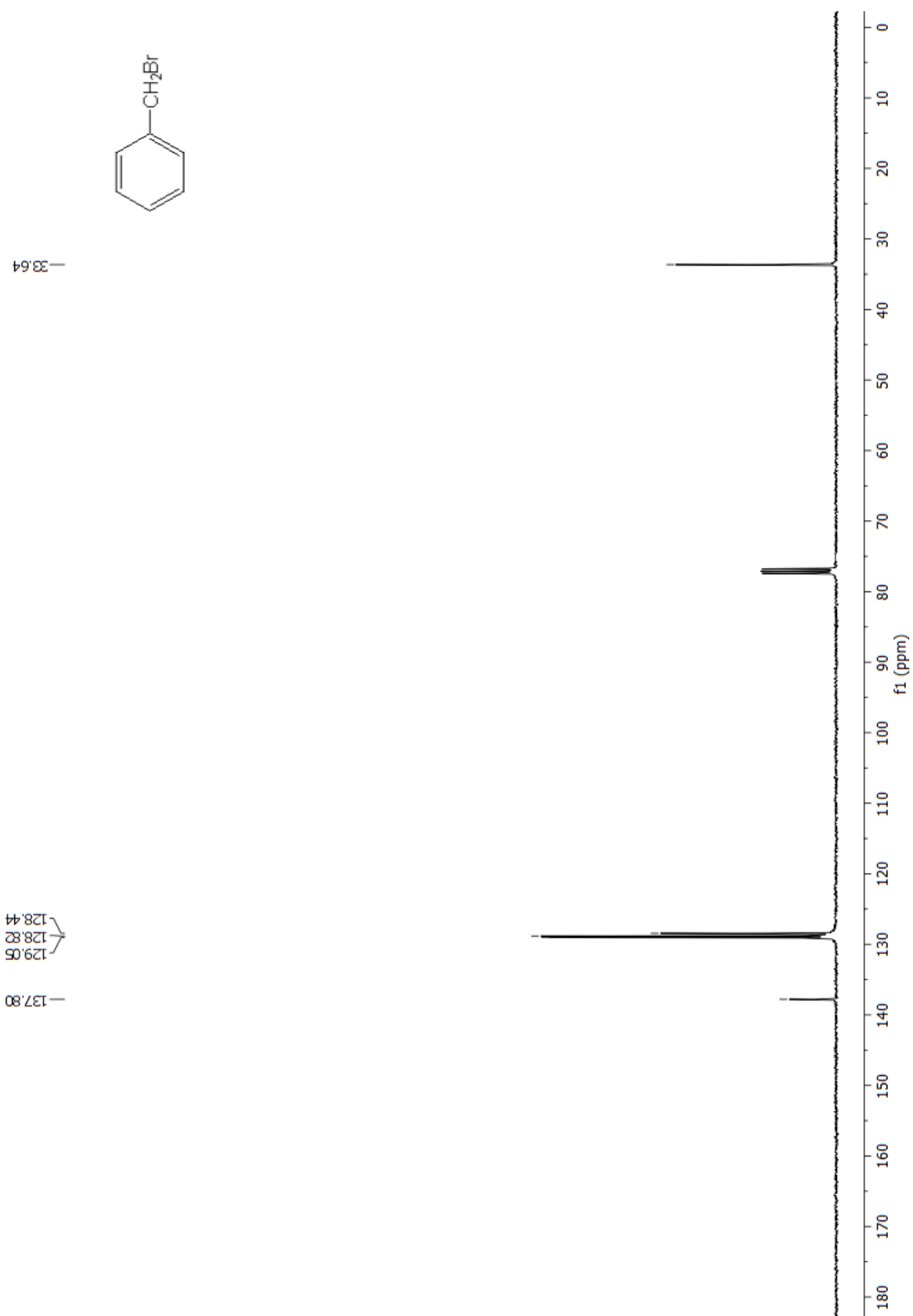
8.14. ^{13}C NMR 4-fenilbenzil-bromida



8.15. ^1H NMR nesupstituiranog benzil-bromida



8.16. ^{13}C NMR nesupstituiranog benzil-bromida



Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za organsku kemiju
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

SINTEZE I MEHANIZMI SOLVOLIZE BENZILNIH BROMIDA U TRIFLUORETANOLU

Tomislav Drinovac

SAŽETAK

Iz odgovarajućih benzilnih alkohola bromiranjem su sintetizirani različito supstituirani benzilni bromidi. Spojevi 4-(metiltio)benzil-bromid, 4-fenoksibenzil-bromid, 4-tert-butilbenzil-bromid, 4-metilbenzil-bromid, 3,4-dimetilbenzil-bromid, 4-fenilbenzil-bromid te nesupstituirani benzil-bromid dobiveni su bromiranjem fosforovim tribromidom, dok se u sintezi 4-metoksibenzil-bromida kao sredstvo za bromiranje koristio acetyl-bromid. Provjera čistoće i identifikacija produkata izvršena je nuklearnom magnetskom rezonancijom i tankoslojnom tekućinskom kromatografijom. Brzine solvolize sintetiziranih spojeva određene su konduktometrijskom metodom u čistoj otopini trifluoretanola (prethodno pročišćen destilacijom) na 25 °C. Konstante brzine manje reaktivnih supstrata određene su na višim temperaturama, nakon čega su vrijednosti ekstrapolirane na 25 °C. Logaritmi konstanti brzina solvolize pojedinih supstrata korelirani su sa σ^+ vrijednostima njihovih supstituenata. Nekonzistentne rezultate davali su spojevi s metoksi i metiltio supstituentima te nesupstituirani benzilni bromid, tako da oni nisu korišteni u daljnjoj analizi. Hammett-Brownovom korelacijskom analizom dobivena su dva pravca. Prvi pravac definiran je točkama koje pripadaju 4-fenoksibenzil-bromidu i 3,4-dimetilbenzil-bromidu, dok je drugi pravac visokog koeficijenta korelacije definiran točkama koje pripadaju preostalim spojevima (redom 4-metilbenzil-bromid, 4-tert-butilbenzil-bromid i 4-fenilbenzil-bromid). Postojanje dvaju pravaca ukazuje na činjenicu da solvoliza jedne grupe spojeva teče SN1, a druge SN2 mehanizmom. U apsolutnom iznosu, nagib (koji predstavlja reakcijsku konstantu ρ^+) prvog pravca je veći od drugog i oba su padajuća (negativni predznak). To znači da se tijekom solvolize u oba slučaja smanjuje elektronska gustoća na reakcijskom centru prijelaznog stanja, no kod pravca s negativnijom reakcijskom konstantom očito dolazi do značajne promjene naboja svojstvene SN1 reakcijama – stvara se relativno stabilni karbokationski međuprodukt. Eksperimentom je, dakle, dokazano da 4-fenoksibenzil-bromid i 3,4-dimetilbenzil-bromid solvoliziraju u trifluoretanolu SN1 mehanizmom, dok 4-metilbenzil-bromid, 4-tert-butilbenzil-bromid i 4-fenilbenzil-bromid solvoliziraju SN2 mehanizmom. Budući da se upravo tim redosljedom smanjuje apsolutan iznos σ^+ vrijednosti supstituenata, dokazana je i početna hipoteza da reakcija solvolize benzilnih bromida s jačim elektron-donorskim supstituentima teče brže.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 43 stranice, 11 grafičkih prikaza, 4 tablice i 18 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Nukleofilna supstitucija, benzil-bromidi, solvoliza, Hammett-Brownova jednačba

Mentor: **Dr. sc. Mirela Matić**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Komentor: **Dr. sc. Bernard Denegri**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Mirela Matić**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Bernard Denegri, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Jasna Jablan, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: lipanj, 2021.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of organic chemistry
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

SYNTHESES AND MECHANISMS OF SOLVOLYSIS OF BENZYL BROMIDES IN TRIFLUOROETHANOL

Tomislav Drinovac

SUMMARY

Adequate benzyl alcohols were brominated in order to synthesize differently substituted benzyl bromides. 4-(methylthio)benzyl bromide, 4-phenoxybenzyl bromide, 4-methylbenzyl bromide, 3,4-dimethylbenzyl bromide, 4-tert-butylbenzyl bromide, 4-phenylbenzyl bromide and unsubstituted benzyl bromide were synthesized using phosphorus tribromide, while bromating agent used for synthesizing 4-methoxybenzyl bromide was acetyl bromide. Identification of products and their purity were confirmed by NMR (Nuclear Magnetic Resonance) and TLC (Thin Layer Chromatography). The solvolysis rate constants of synthesized compounds were determined conductometrically in pure 2,2,2-trifluoroethanol (distilled) at 25 °C. The rate constants for less reactive benzyl bromides were determined at higher temperatures and extrapolated to 25 °C. Logarithms of solvolysis rate constants were correlated against σ^+ values of their substituents. 4-Methoxybenzyl bromide, 4-(methylthio)benzyl bromide and unsubstituted benzyl bromide weren't used in further analysis due to their high reactivity (the first two compounds in the series) or inactivity (the third one). Hammett-Brown correlation analysis was used in order to construct a graph. The graph showed two intersecting lines, both with negative slopes. The first line includes data for 4-phenoxybenzyl bromide and 3,4-dimethylbenzyl bromide, while the second line (with a high correlation coefficient) includes data for (in that order) 4-methylbenzyl bromide, 4-tert-butylbenzyl bromide and 4-phenylbenzyl bromide. The existence of the two lines indicates that there are two groups of compounds, one solvolysing by the SN1 mechanism and the other solvolysing by the SN2 mechanism. The slope (i.e. the reaction constant ρ^+) of the first line is higher than the slope of the other line, however, both are negative. Thus, the both lines indicate a decrease in electron density on the benzyl reaction site during solvolysis. Additionally, in the first case, the increase of the positive charge on the reaction centre of the transition state is significant, which is characteristic for SN1 reactions, i.e. formation of relatively stable carbocations. The experiment has proved that 4-phenoxybenzyl bromide and 3,4-dimethylbenzyl bromide solvolyze in 2,2,2-trifluoroethanol by the SN1 mechanism, while 4-methylbenzyl bromide, 4-tert-butylbenzyl bromide and 4-phenylbenzyl bromide solvolyze in the same solvent by the SN2 mechanism. The experiment has also proved the initial hypothesis saying that benzyl bromides with stronger electron-donating substituents (quantitatively speaking, substituents with more negative σ^+ values) solvolyze faster.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 43 pages, 11 figures, 4 tables and 18 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Nucleophilic substitution, benzyl bromides, solvolysis, Hammett-Brown equation

Mentor: **Mirela Matić**, Ph.D. *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Comentor: **Bernard Denegri**, Ph.D. *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Mirela Matić**, Ph.D. *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Bernard Denegri, Ph.D. *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Jasna Jablan, Ph.D. *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: June 2021.