



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

Адријана З. Бурмуџија

**СИНТЕЗА АНАЛОГА ХАЛКОНА
СА ВАНИЛИНОМ И ФЕРОЦЕНОМ
И ЦИКЛИЗАЦИОНЕ РЕАКЦИЈЕ ЊИХОВИХ
ЕНОНСКИХ СИСТЕМА**

докторска дисертација

Крагујевац, 2024



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC FACULTY OF SCIENCE

Adrijana Z. Burmudzija

**SYNTHESIS OF CHALCONE ANALOGUES
WITH VANILLINE AND FERROCENE
AND CYCLIZATION REACTIONS
OF THEIR ENONES SYSTEMS**

Doctoral Dissertation

Крагујевац, 2024

Идентификациона страница докторске дисертације

Аутор
Име и презиме: <i>Адријана З. Бурмуџија</i>
Датум и место рођења: <i>19.09.1984. Крагујевац</i>
Садашње запослење: <i>Експерт координатор за пројекте у НТЦ-у, Научно-технолошки центар НИС Нафтагас, Нови Сад, Србија</i>
Докторска дисертација
Наслов: <i>Синтеза аналога халкона са ванилином и фeroценом и циклизационе реакције њихових енонских система</i>
Број страница: 120
Број слика: 13
Број библиографских података: 220
Установа и место где је рад израђен: <i>Природно-математички факултет, Крагујевац</i>
Научна област (УДК): <i>547.831(043.3)</i>
Ментор: <i>др Зоран Ратковић, ванредни професор у пензији, Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу и др Јована Мушкиња, виши научни сарадник, Институт за информационе технологије, Универзитет у Крагујевцу</i>
Број и датум одлуке Већа универзитета о прихватању теме докторске дисертације: <i>IV-01-655/11, 14.09.2022. год.</i>

Мами Нени и тати Здравку

Захвалница

Ова докторска дисертација је рађена у Институту за хемију Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу под менторством професора др Зорана Ратковића и др Јоване Мушкиће. Неизмерну захвалност дугујем својим менторима на предложеној теми докторске дисертације, указаном поверењу, преданости и помоћи на основу које је ова дисертација успешно реализована.

Члановима комисије, др Виолети Марковић, доценту Природно-математичког факултета у Крагујевцу, Вери Дивац, доценту Природно-математичког факултета у Крагујевцу и Веселину Маслак, ванредном професору Хемијског факултета у Београду, дугујем захвалност за све корисне сугестије и савете који су допринели бољем квалитету докторске дисертације.

Својим пријатељицама Сузани, Марији, Виолети, Јовани, Анђелини, Маји и Биљани се захваљујем на огромној подршци и љубави коју су ми пружиле током докторских студија.

Александру Јевремовићу посебно захваљујем на безусловној љубави, подршци и вери у мене.

Велику захвалност дугујем колегиницама Драгани Берић, Бранислави Клапаревић, Мирослави Биљић, Валерији Цингели и Милицы Малић Мисити на подршци.

Посебну захвалност дугујем својим родитељима и брату на пруженој подршци и безусловној љубави током свих ових година.


Адријана З. Бурмуџија

Апстракт

У оквиру ове докторске дисертације описане су синтезе неких ванилинских и фуроценских енонских једињења (халкони и аналози халкона) која су искоришћена као интермедијери за даље реакције циклизације, при чему су добијене серије циклопропилских и пиразолинских деривата. Сви добијени производи су окарактерисани одговарајућим структурним инструменталним методама, а за једињења добијена у кристалном облику урађена је и рендгенска структурна анализа, чиме је њихова структура недвосмислено потврђена. За поједине серије једињења испитана је антимикуробна активност према одабраним сојевима бактерија и гљива. Нарочито су се добро показали циклопропилски деривати, међу којима је једно једињење имало бољу активност и у односу на стандардни антибиотик стрептомицин. Пиразолински деривати су били погоднији за испитивање антитуморске активности, па је стога испитана њихова активност према одабраним ћелијским линијама, HeLa, LS174, A549 и MRC5. Показано је да једињења нису токсична за здраву ћелију и као таква погодна су за детаљнија биолошка испитивања. Резултати испитивања интеракција најактивнијих једињења пиразолинске серије са биомолекулима указују на висок афинитет и ефикасност ових једињења у замени EB из EB-DNA комплекса, као и могућност формирања стабилних комплекса са BSA.

Кључне речи

- Ванилин
- Фуроцен
- Енонска једињења
- Халкони
- Пиразолини
- Циклопропилски деривати
- Структурна карактеризација
- Антимикуробна активност
- Цитотоксичност
- Интеракција са биомолекулима

Abstract

In this doctoral thesis, the synthesis of some vanillin and ferrocene enone compounds (chalcones and their analogues) is described. The obtained products were further used as intermediates for cyclization reactions, giving corresponding cyclopropyl and pyrazoline derivatives. All synthesized derivatives were characterized using spectroscopic methods, and for the compounds obtained in the form of crystals, X-ray diffraction analysis was performed. For a certain series of compounds, antimicrobial activity against selected strains of bacteria and fungi was tested. Among them, cyclopropyl derivatives expressed the highest antimicrobial potential, with one compound showing better activity compared to that of the standard antibiotic streptomycin. Pyrazoline derivatives were more suitable for the evaluation of antitumor activity, so their cytotoxicity against selected cell lines, HeLa, LS174, A549, and MRC5, was tested. The tested compounds were determined to not express toxicity against the healthy cell line and, as such, are suitable for further biological evaluation. The interaction of the most active pyrazoline compounds with biomolecules was evaluated, and the results indicated high affinity and efficacy of these compounds in substituting EB from the corresponding EB-DNA complex, as well as the ability to form stable complexes with BSA.

Keywords

- Vanillin
- Ferrocene
- Enone compounds
- Chalcones
- Pyrazolines
- Cyclopropyl derivatives
- Structural characterization
- Antimicrobial activity
- Cytotoxicity
- Interaction with biomolecules

Садржај

1. ОПШТИ ДЕО	1
1.1. α,β -Незасићена карбонилна једињења	2
1.2. Синтеза енонских једињења	4
1.2.1. Claisen-Schmidt-ова кондензација	4
1.2.2. Knoevenagel-ова кондензација	6
1.2.3. Meyer-Schuster-ово премештање	8
1.2.4. Pauson-Khand-ова реакција	9
1.2.5. Новије методе за синтезу енонских једињења	10
1.3. Трансформација енонског система	13
1.3.1. Добијање петочланих прстенова	13
1.3.2. Добијање шесточланих прстенова	15
1.4. Синтеза биолошки активних једињења из енона	17
2. НАШИ РАДОВИ	29
2.1. Увод	30
2.2. Добијање циклопропилских аналога халкона	31
2.3. Циклизација ванилинских аналога халкона	35
2.3.1. Кристалографска анализа	38
2.3.2. Антимикробна активност	39
2.3.3. Цитотоксична активност	41
2.4. Синтеза фероценил пиразолинских деривата	43
2.4.1. Кристалографска анализа	45

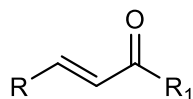
2.4.2. Антимикробна активност	49
2.5. Синтеза <i>N</i> -формил и <i>N</i> -ацетил фeroценил пиразолина	51
2.5.1. Антимикробна активност	59
2.5.2. Интеракција са биомолекулима	60
2.5.2.1. Интеракције са DNA	60
2.5.2.2. Интеракције са BSA	63
3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО	65
3.1. Опште напомене	66
3.2. Синтеза <i>O</i> -алкил деривата ванилина и метил-циклопропил-кетона	67
3.2.1. Синтеза (<i>E</i>)-1-циклопропил-3-(4-алкокси-3-метоксифенил)проп-2-ен-1-она 2a-ћ	67
3.3. Синтеза 1-ацетил деривата циклопропана	69
3.3.1. Синтеза 4-(4-алкокси-3-метоксифенил)-бут-3-ен-2-она 3a-и	69
3.3.2. Синтеза 1-ацетил-2-(4-алкокси-3-метоксифенил)циклопропана 4a-и	70
3.4. Синтеза пиразолинских деривата акрил-супституисаних фeroценил-кетона	73
3.4.1. Синтеза пиразолинских деривата 6a-ћ	73
3.5. Синтеза пиразолинских деривата са ванилинским фрагментом и фeroценом	75
3.5.1. Синтеза халкона 7a-ћ и 8a-ћ	75
3.5.2. Синтеза <i>N</i> -формил и <i>N</i> -ацетил пиразолинских деривата 9a-ћ , 10a-ћ , 11a-ћ и 12a-ћ	75
3.6. Рендгенска структурна анализа	84
3.7. Одређивање антимикробне активности	85

3.8. Одређивање цитотоксичне активности	86
3.9. Снимање флуоресцентних емисионих спектра	87
4. ЗАКЉУЧАК	88
5. ЛИТЕРАТУРА	91
6. ПРИЛОГ	99
6.1. ^1H и ^{13}C NMR спектри за 2д, 4б, 6а, 9б, 10б, 11б и 12б	100
6.2. Публиковани научни радови у којима су презентовани резултати докторске дисертације	114
6.3. Листа термина и скраћеница коришћених у тексту	119
6.4. Биографија са подацима о досадашњем раду	120

1. ОПШТИ ДЕО

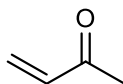
1.1. α,β -НЕЗАСИЋЕНА КАРБОНИЛНА ЈЕДИЊЕЊА

Једињења која садрже угљеник-угљеник двоструку везу (C=C) у коњугацији са угљеник-кисеоник двоструком везом (C=O) називају се α,β -незасићена карбонилна једињења (Слика 1).¹ Ова једињења поседују особине карактеристичне за обе ове функционалне групе, као и особине специфичне за коњуговани систем.² Други назив за ове молекуле је **енони**.



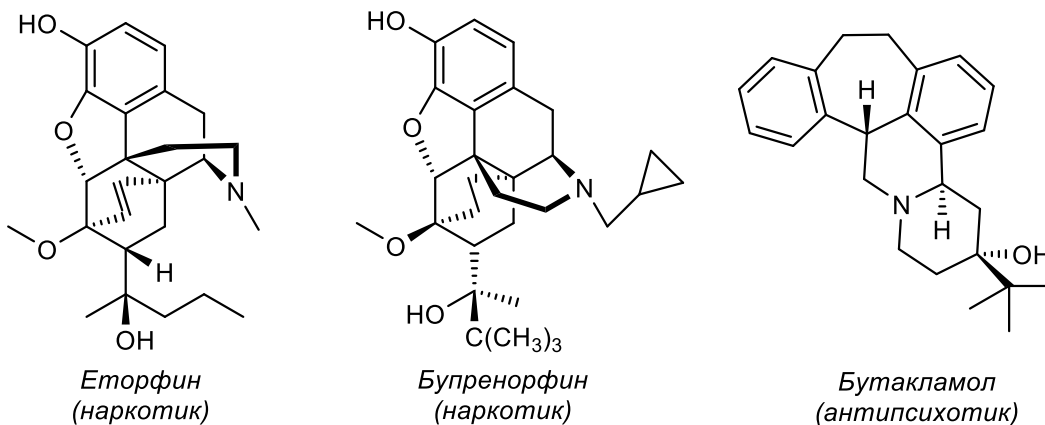
Слика 1. Општа структура α,β -незасићеног карбонилног једињења

Најједноставнији представник ове групе једињења је метил-винил-кетон (бутенон, Слика 2).



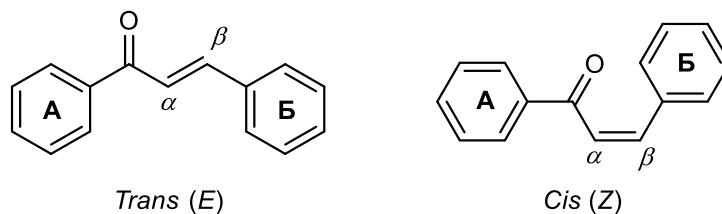
Слика 2. Структурна формула метил-винил-кетона

Метил-винил-кетон се јавља као интермедијер приликом синтезе многих познатих лекова, као што су: еторфин, бупренорфин и бутакламол (Слика 3).³⁻⁵



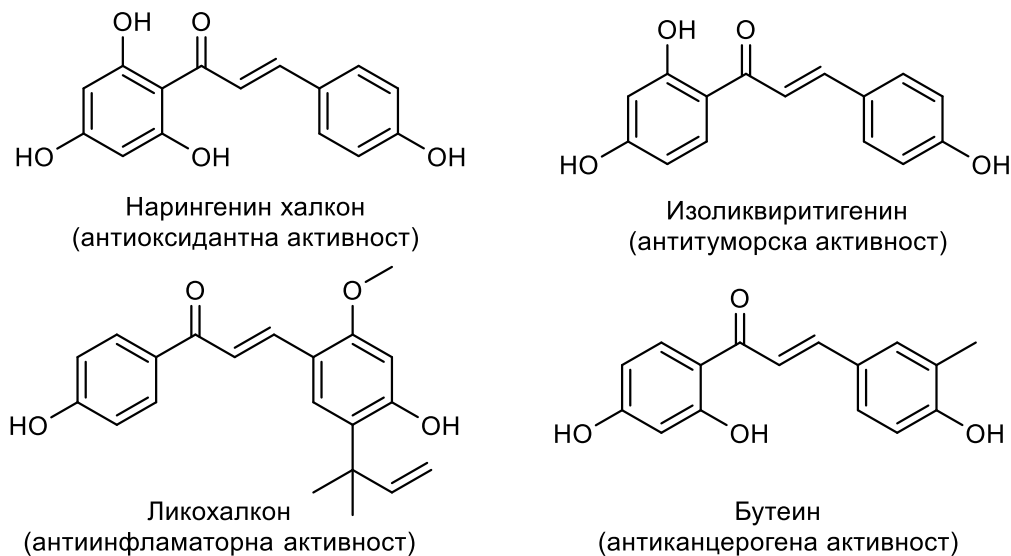
Слика 3. Структурне формуле неких лекова изведених из метил-винил-кетона

Једна од најзначајнијих класа енонских једињења јесу халкони, односно 1,3-дифенил-2-пропенони, који садрже два ароматична прстена (А и Б) повезана преко енонског система (Слика 4).⁶ Они се могу наћи у облику *trans* (E) или *cis* (Z) изомера, при чему је *trans* облик најчешће термодинамички стабилнији и представља доминантну конфигурациону форму халкона.⁷



Слика 4. Конфигурационе форме халкона

Халкон и његови деривати чине важну класу органских једињења која представљају основни део структуре различитих природних и фармацеутских производа и показују широк спектар разноврсних биолошких активности, као што су антифунгална,^{8,9} антимикробна,¹⁰ антипротозоална,¹¹ антиинфламаторна,^{12,13} антиконвулзивна¹⁴ и антитуморска.¹⁵⁻¹⁷ Многи опште познати лекови имају халконску структуру у свом саставу (Слика 5).



Слика 5. Структурне формуле неких биолошки активних деривата халкона

1.2. СИНТЕЗА ЕНОНСКИХ ЈЕДИЊЕЊА

Синтеза енонских једињења може се извршити помоћу великог броја различитих метода, а неке од најпознатијих су:

- Claisen-Schmidt-ова кондензација
- Knoevenagel-ова кондензација
- Meyer-Schuster-ово премештање
- Pauson-Khand-ова реакција

1.2.1. Claisen-Schmidt-ова кондензација

Claisen-Schmidt-ова кондензација представља реакцију алдолне кондензације која се одиграва између алдехида и кетона или између два алдехида (укрштена алдолна кондензација). У оба случаја једна компонента је ароматично карбонилно једињење, најчешће је то бензалдехид. Ова реакција може бити кисело или базно катализована, а сам механизам реакције приказан је на Схеми 1.

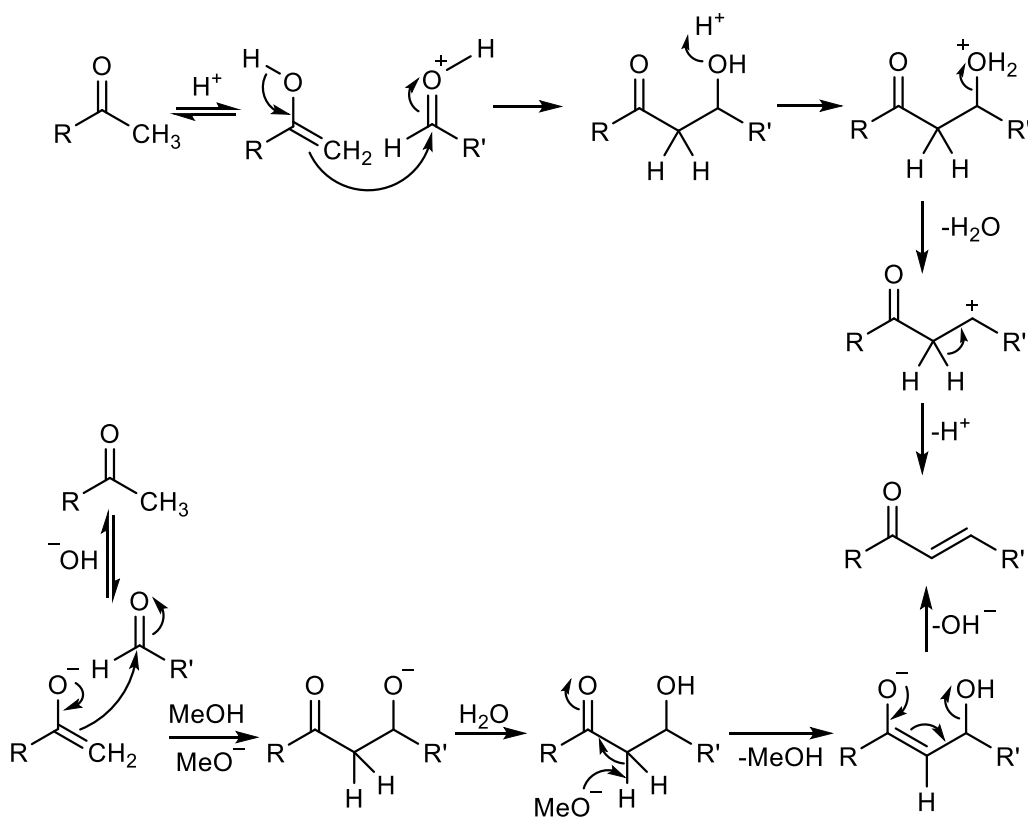


Схема 1. Кисело и базно-катализована Claisen-Schmidt-ова кондензација

Реакција кондензације између ацетофенона (1) и бензалдехида (2) може да доведе до стварања различитих производа као што је приказано на Схеми 2. На овај начин могу настати *trans*-халкон (3) и *cis*-халкон (4), Michael-ов адициони производ (1,3,5-трифенилпентан-1,5-дион, 5) и производ адиције, алдол (6).¹⁸ Иако се и кисели и базни

катализатори могу користити у овој реакцији, базни катализатори воде добијању производа у већем приносу у односу на катализаторе попут HCl и H₂SO₄.¹⁹ Базно катализована реакција може се изводити у присуству NaOH у етанолу уз рефлуктовање,²⁰ или на собној температури.²¹ Уместо NaOH, као катализатор може да се користи и KOH на собној температури,²² на 0°C,²³ или на температури од 5-10°C у атмосфери азота или аргона.²⁴

У циљу побољшања приноса развијене су нове методе, при чему се као катализатори Claisen-Schmidt-ове кондензације могу употребити и минерали глине, а најбољи приноси су добијени применом Монтморилонита KSF.²⁵

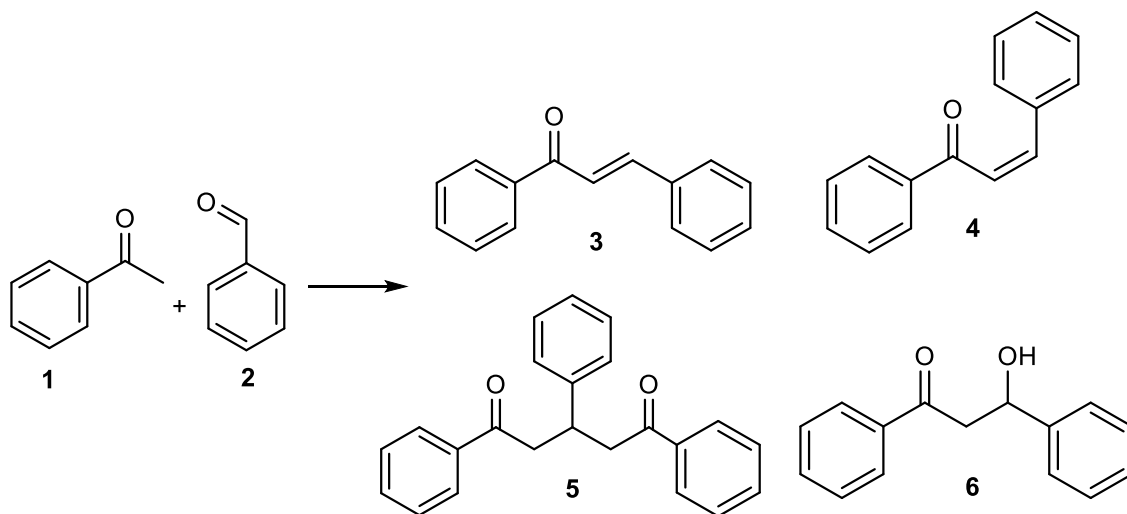


Схема 2. Различити производи Claisen-Schmidt-ове кондензације

Claisen-Schmidt-ова кондензација највећу примену има у синтези халкона и флавоноида. Синтеза деривата 2'-хидроксиалкона (9) заснована је на Claisen-Schmidt-овој кондензацији између супституисаног 2-хидроксиацетофенона (7) и супституисаног бензалдехида (8) (Схема 3).²⁶ Реакција се изводи на 50°C у присуству 10-60%-ног алкалног хидроксида или EtONa у трајању од 12-15h.

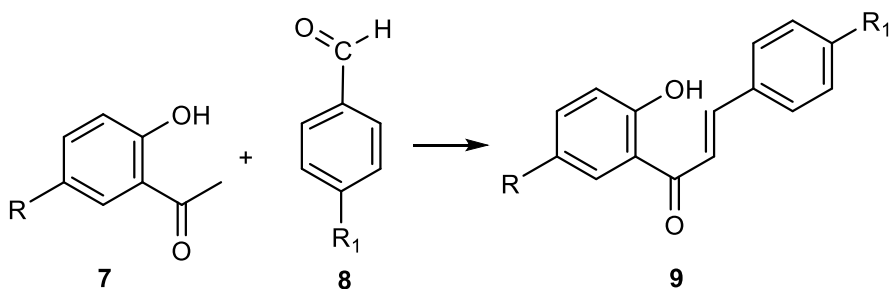


Схема 3. Синтеза деривата 2-хидроксиалкона

Једна од новијих модификација реакционих услова Claisen-Schmidt-ове кондензације јесте употреба микроталасног зрачења као ефикасне методе која се примењује у органској синтези.^{27,28} Ова метода пружа једноставнији, чистији, бржи, ефикаснији и

економичнији начин за синтезу бројних органских молекула. Микроталасно зрачење је искоришћено за синтезу различитих деривата халкона уз коришћење растварача,²⁹ као и у условима без присуства растварача.³⁰ На Схеми 4 приказана је синтеза аналога халкона **10** у одличном приносу применом микроталасног зрачења у трајању од 42 секунде.³¹

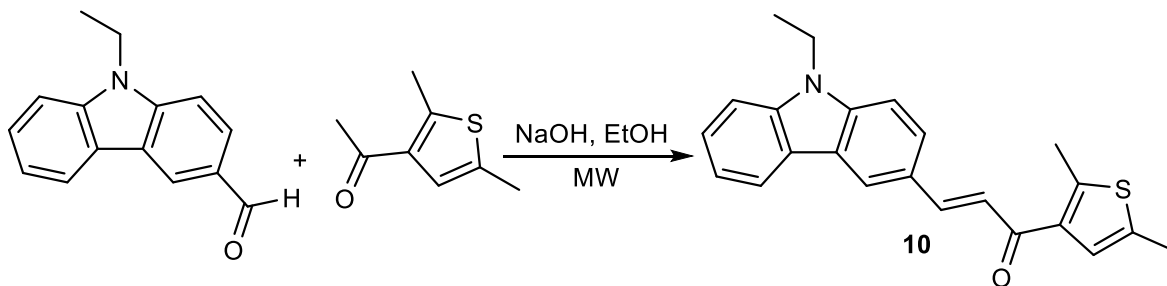


Схема 4. Синтеза халкона употребом микроталасног зрачења

Још један алтернативни начин за синтезу халкона јесте реакција праћена ултразвучним озрачивањем, које се сматра еколошки прихватљивом методом.³² На овај начин извршена је синтеза бројних деривата халкона, при чему је реакционо време скраћено са 3 до 72h, на свега неколико минута.³³ Овај приступ је искоришћен за синтезу дихидробензофуранских халконских аналога **11** на собној температури (Схема 5).³⁴

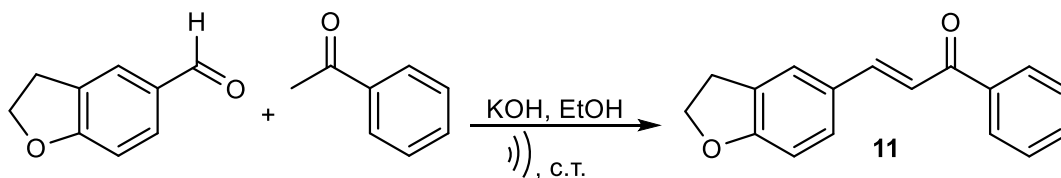
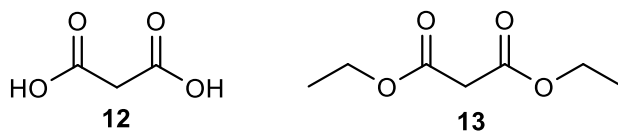


Схема 5. Синтеза халкона употребом ултразвучног озрачивања

1.2.2. Кноевенегел-ова кондензација

Кноевенегел-ова кондензација је модификована реакција алдолне кондензације.^{35,36} Ова реакција представља базно катализовану кондензацију алдехида или кетона са активним метиленским једињењима (различитим од алдехида и кетона). Као главни производи ове реакције добијају се α,β -незасићена карбонилна једињења. Уколико се у овој реакцији користи јака база може доћи до самокондензације алдехида или кетона. Активна метиленска једињења која се најчешће употребљавају у Кноевенегел-овој кондензацији су приказана на Слици 6 (једињења **12** и **13**).



Слика 6. Структурна формула малонске киселине (**12**) и диетил-малоната (**13**)

Механизам Knoevenagel-ове кондензације се може објаснити на примеру реакције са диетил-малонатом. У првој фази реакције долази до иницијалног формирања енолатног интермедијера (Схема 6):

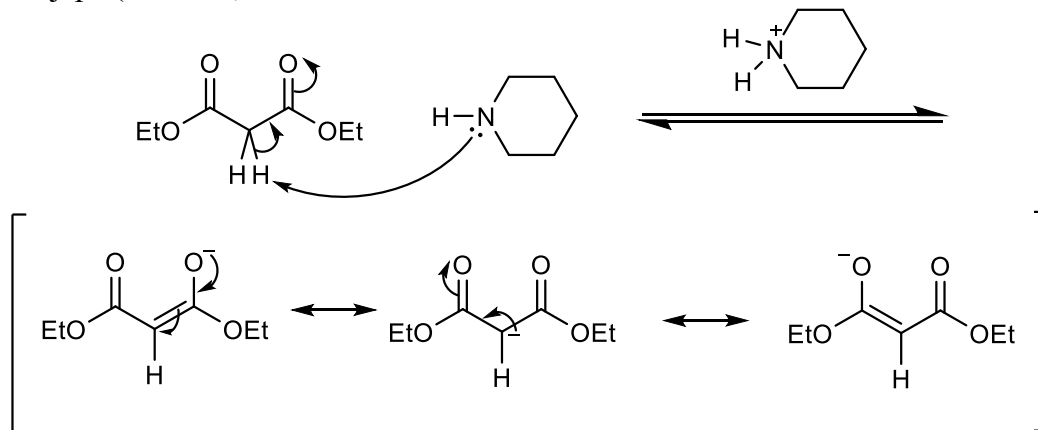


Схема 6. Формирање иницијалног енолатног интермедијера

У другој фази формиран енолатни јон реагује са алдехидом при чему настаје алдол који даље подлеже реакцији елиминације (Схема 7):

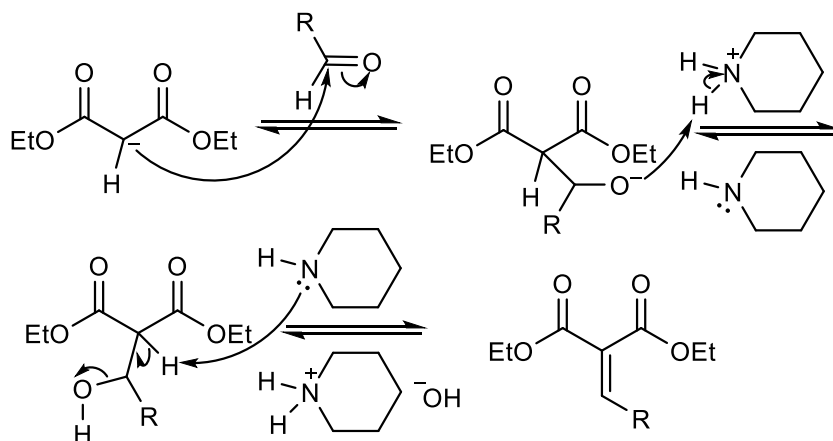


Схема 7. Механизам Knoevenagel-ове кондензације

На Схеми 8 приказана је кондензација диетил-малоната (**13**) са алдехидима у бензену у присуству пиперидина као базе. Настали енон (**14**) може даље да реагује и подлеже Доебнер-овој модификацији, при којој у киселој средини уз загревање долази до хидролизе, а потом и декарбоксилације при чему настаје α,β -незасићена карбоксилна киселина (**15**).²¹ Ова киселина се може добити и директном реакцијом малонске киселине (**12**) са одговарајућим алдехидом у присуству пиридина.

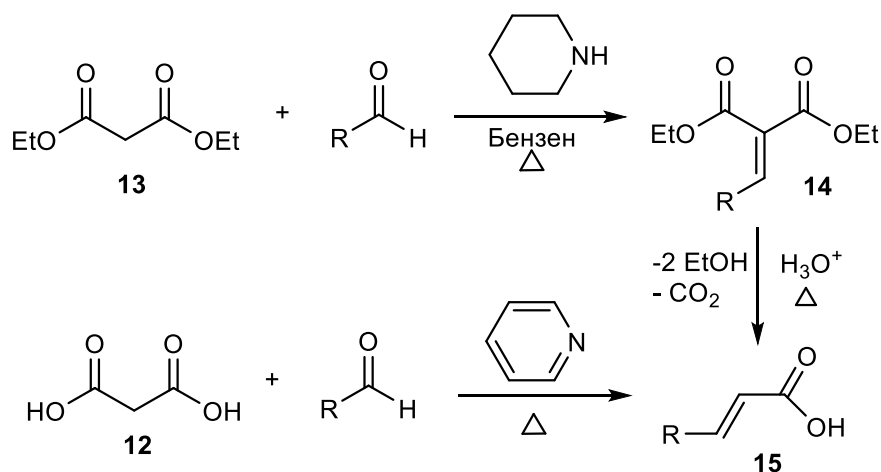
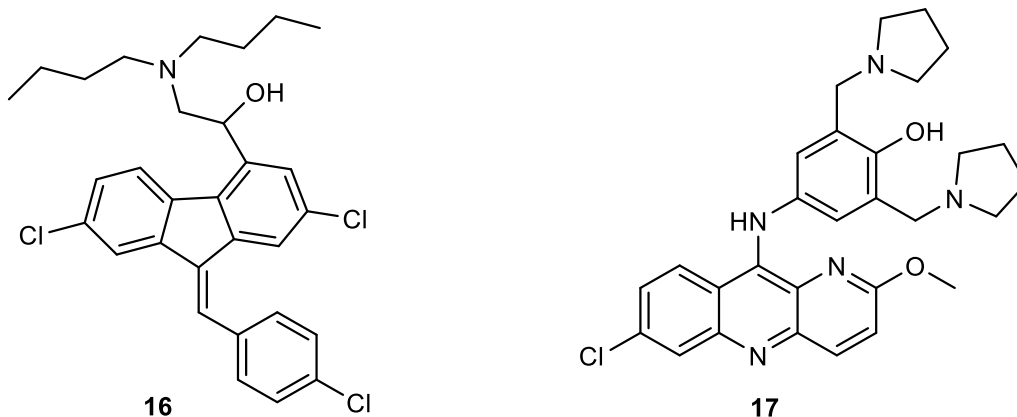


Схема 8. *Кноевенгел-ова кондензација и њена модификација*

Кноевенгел-ова кондензација представља кључни корак у комерцијалној производњи лека лумефантрина (**16**, Слика 7).³⁷ Лумефантрин је антималяријски лек који се користи најчешће у комбинацији са артеметером (**17**, Слика 7). Лумефантрин има дужи полу-живот у поређењу са артеметером и због тога има способност да уклони остатке паразита након комбинованог третмана.³⁸



Слика 7. *Структурне формуле лумефантрина и артеметере*

1.2.3. Meyer-Schuster-ово премештање

Meyer-Schuster-ова реакција премештања представља кисело-катализовану конверзију секундарних и терцијарних α -ацетиленских алкохола (**18**) до α,β -незасићених кетона (**19**) (Схема 9).³⁹

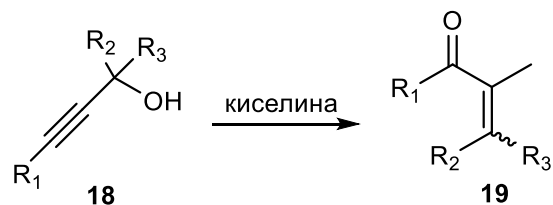


Схема 9. Реакција Meyer-Schuster-овог премештања

Реакциони механизам приказан је на Схеми 10 и започиње протоновањем α -ацетиленског алкохола, који након одласка молекула воде даје ацетиленски карбокатион. Овај карбокатион је у резонанцији са аленским карбокатионом, који подлеже даљим реакцијама и даје одговарајући α,β -незасићени кетон.³⁹

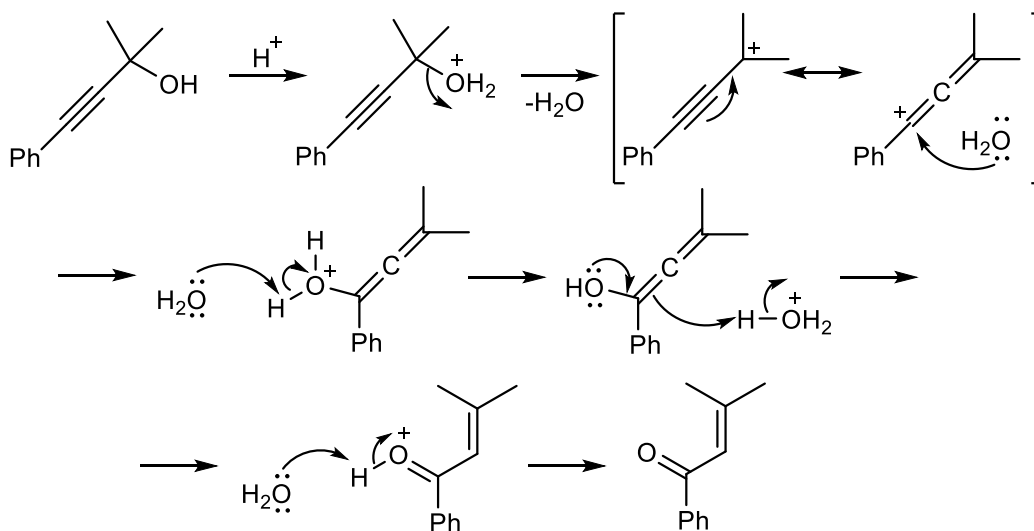


Схема 10. Механизам Meyer-Schuster-овог премештања

1.2.4. Pauson-Khand-ова реакција

Један од првих примера реакција које се одигравају у присуству металних комплекса јесте Pauson-Khand-ова реакција из 1971. године. Ова реакција представља 2+2+1 циклоадицију алкена (**20**) и октакарбонилдикобалт комплекса алкина (**21**) уз загревање при чему настају одговарајући циклопентенони (**22**) (Схема 11).⁴⁰

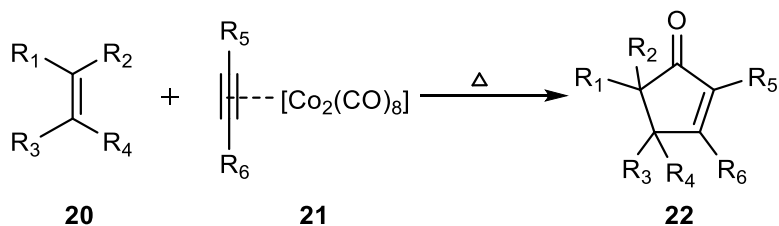


Схема 11. Pauson-Khand-ова реакција

Детаљно проучавање услова Pauson-Khand-ове реакције показало је да додаток силика-гела,⁴¹ терцијарних амино-оксида,⁴² фосфинских оксида⁴³ и DMSO-а⁴⁴ убрзава реакцију, побољшава селективност, уз постизање виших приноса уз блаже реакционе услове у односу на стандардну реакцију. Функција ових адитива у реакционом механизму није у потпуности разјашњена, али се сматра да се силика-гел понаша као електрон-донорска површина, олакшавајући измену карбонилног лиганда као кључног интермедијера, док амино-оксиди и фосфински оксиди делују као оксиданти.

Krafft је показао да промена реакционих услова у случају интрамолекуларне Pauson-Khand-ове реакције води до формирања различитих производа (Схема 12).⁴⁵ Коришћењем редуктивне атмосфере (у присуству гасовитог водоника или азота) добијају се циклопентанонски производи. Термолизом дикобалтхексакарбонил-алкинског комплекса у атмосфери водоника или кисеоника у толуену, долази до стварања моноциклических алкена у умереним приносима. Ови услови су примери такозване прекинуте Pauson-Khand-ове реакције.

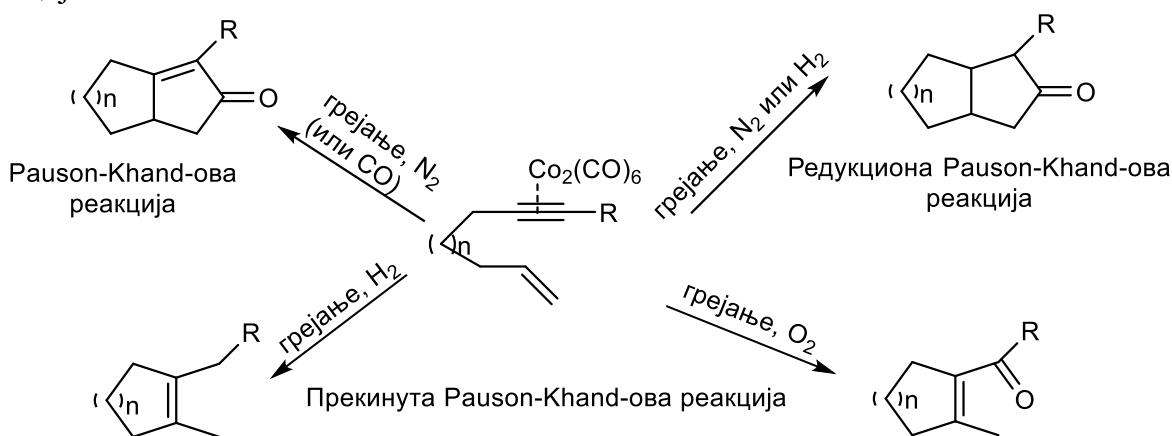


Схема 12. Интрамолекуларна Pauson-Khand-ова реакција

1.2.5. Новије методе за синтезу енонских једињења

Неке од новијих метода које се користе у синтези енона су:

а) Синтеза α,β -незасићених алдехида

Овај поступак представља једноставну и ефикасну методу за синтезу α,β -незасићених алдехида (Схема 13). Реакција започиње хидроборовањем етоксиацетилена (**23**) помоћу $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$, при чему настаје *tris*(винил)боран. Овај интермедијер даље реагује са диетил-цинком на -78°C , а затим са одговарајућим алдехидом даје цинкалкоксиенол-стар, који у киселој средини води до стварања α,β -незасићеног алдехида (**24**).⁴⁶

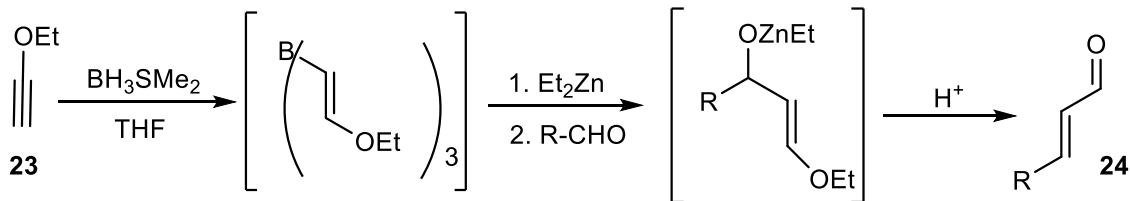


Схема 13. Синтеза α,β -незасићених алдехида

б) Синтеза α -метенил кетона

Директна трансформација β -кето сулфона (**25**) до α -метенил кетона (**26**) може се извести помоћу диетил-цинка у CH_2Cl_2 , у присуству CH_2I_2 (Схема 14).⁴⁷ Ова реакција се може успешно применити на све ароматичне, хетероароматичне и алифатичне β -кето сулфоне, при чему се одговарајући производи добијају у добрим до одличним приносима (59-92%).

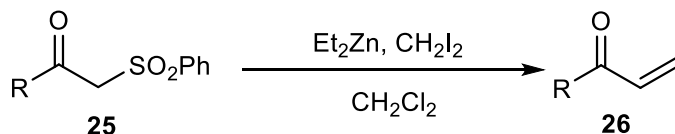


Схема 14. Синтеза α,β -незасићених једињења

в) Синтеза α,β -незасићених кетона

Реакција се најпре одиграва између одговарајућих фосфорних илида стабилизованих кето групом (**27**) и примарних алил-аминa (**28**) у присуству 5 mol % $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ и 10 mol % $\text{V}(\text{OH})_3$. Затим, Wittig-овом реакцијом добијеног интермедијера са формалдехидом, долази до формирања α,β -незасићених кетона (**29**) у високим приносима (Схема 15).⁴⁸ На овај начин могу се добити и α,β -незасићени естри или нитрили у зависности од тога који се фосфорни илид употребљава као супстрат, уз коришћење TsOH уместо $\text{V}(\text{OH})_3$.

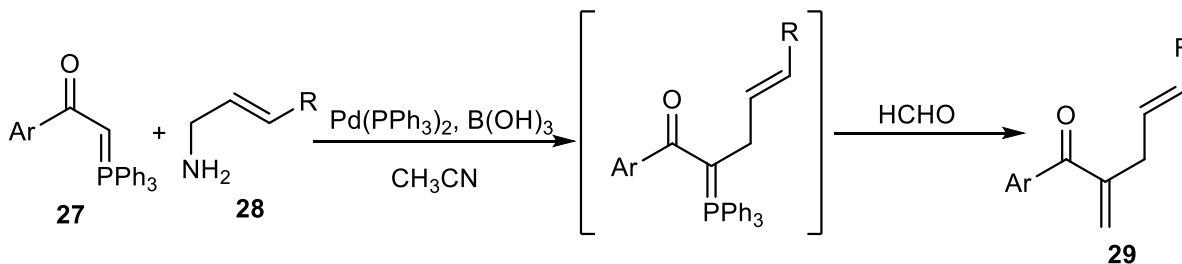


Схема 15. Синтеза α,β -незасићених кетона

г) Синтеза α,β -незасићених метил-кетона

Добијање β -супституисаних и β,β -дисупституисаних α,β -незасићених метил-кетона (**30**) из хомоалил алкохола (**31**) могуће је извести помоћу Wacker-ове реакције (Схема 16).

Реакција започиње оксидацијом хомоалил алкохола у присуству $\text{PdCl}_2/\text{CrO}_3$,⁴⁹ након чега добијени производ у присуству киселине подлеже дехидратацији.

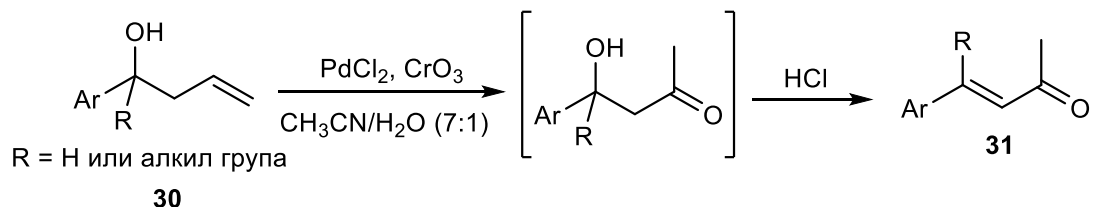


Схема 16. Синтеза α,β -незасићених једињења Wacker-овим поступком

д) Трансформација кетона до α,β -незасићених кетона

Познато је да се *o*-јодоксибензоева киселина користи као средство за оксидацију алкохола,⁵⁰ при чему се у случају реакције дехидрогенизације карбонилних једињења показала као ефикасан реагенс.⁵¹ Полазећи од засићених кетона (**32**), селективном оксидацијом у присуству *o*-јодоксибензоеве киселине (IBX) у DMSO-у као растварачу могу се добити α,β -незасићени кетони (**33**) (Схема 17).

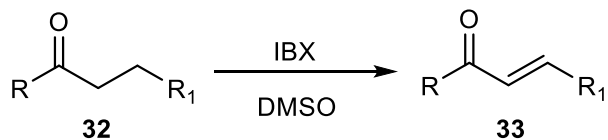


Схема 17. Трансформација кетона до α,β -незасићених кетона

1.3. ТРАНСФОРМАЦИЈА ЕНОНСКОГ СИСТЕМА

Једињења која садрже енонски систем могу послужити као супстрати за синтезу различитих хетероцикличних производа, трансформацијом α,β -незасићеног карбонилног фрагмента. Обзиром да халконски систем представља биоактивну структуру са кључном улогом у медицинској хемији, често се може искористити и као прекурсор за добијање различитих хетероцикличних једињења. Из тог разлога трансформације енонског система биће приказане на примеру халкона и његових аналога. Нека од хетероцикличних једињења изведених из халкона припадају групи петочланих (пиразолини, изоксазоли, пироли, пиразоли), односно шесточланих прстенова (пиридин, пиримидин, флавоноиди).^{52,53}

1.3.1. Добијање петочланих прстенова

Пиразолински деривати показују различите биолошке активности, као што су антиинфламаторна,⁵⁴ антивирусна,⁵⁵ антидепресантна,⁵⁶ антибактеријска⁵⁷ и антифунгална.⁵⁸ Велики број пиразолинских једињења може се добити из халкона у реакцији са хидразином, фенилхидразином, хидразидом, семикарбазидом и тиосемикарбазидом у етанолу, у неким случајевима уз присуство катализатора као што су NaOH или глацијална сирћетна киселина (Схема 18).⁵⁹

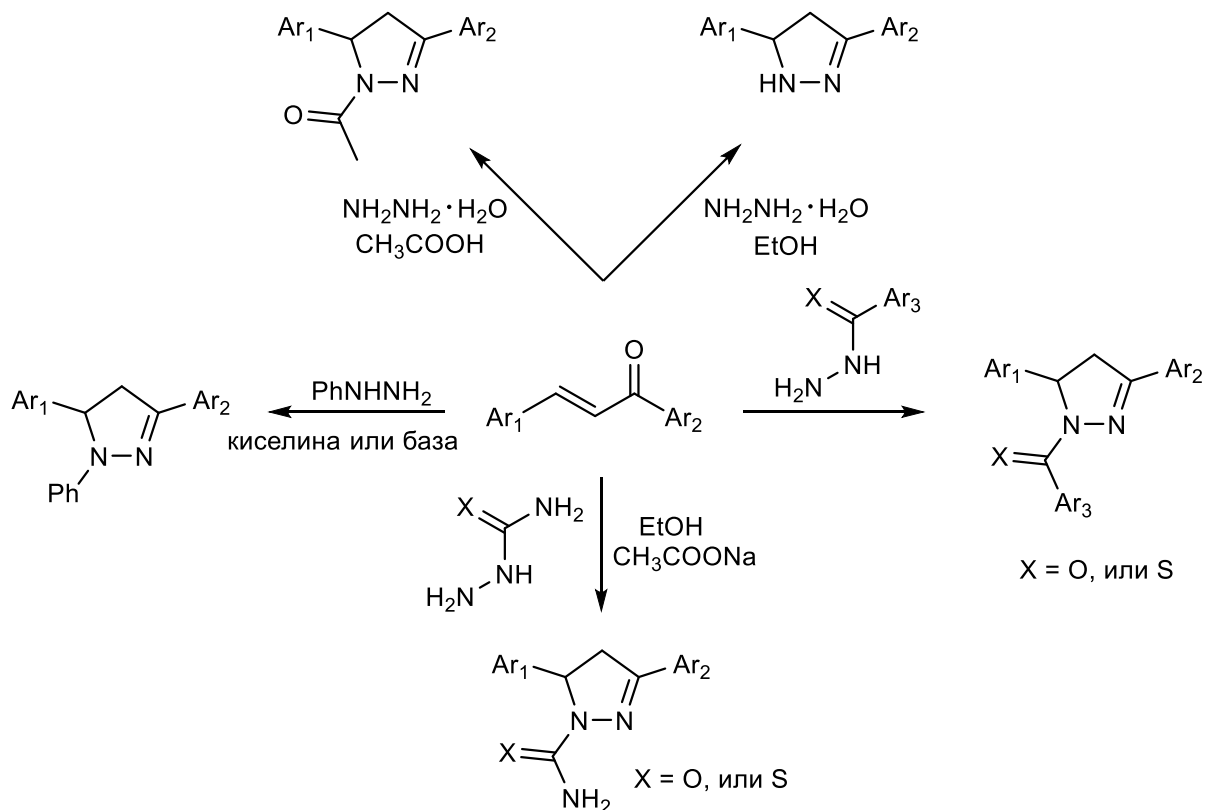


Схема 18. Синтеза различитих пиразолинских деривата

Изоксазолски прстен присутан је у великом броју природних производа и фармаколошких једињења.⁶⁰ Његови деривати показују широк спектар различитих биолошких активности, попут антивирусне,⁶¹ антимикробне,⁶² антиинфламаторне⁶³ и антитуморске активности.⁶⁴ Слично пиразолиним, изоксазолски деривати изведени из халкона (**34**) се могу добити реакцијом кондензације са хидроксиламин хидрохлоридом у етанолу у присуству CH_3COONa или уз коришћење тозилхидроксиламина у метанолу и воденог раствора K_2CO_3 (Схема 19).

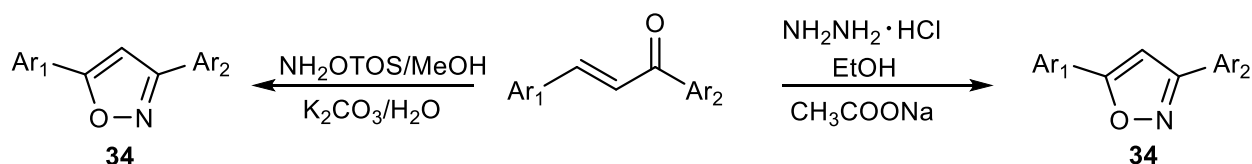


Схема 19. Синтеза изоксазолских деривата

Многи природни производи у својој структури садрже пиролску јединицу.⁶⁵ Посебну пажњу привукли су вишеструко супституисани деривати пирила (**35**), који чине саставни део различитих фармаколошки активних једињења, као што су порфирина (хем и хлорофили)⁶⁶ и алкалоиди (хигрин, никотин, тропин и кокаин).⁶⁷ Неки деривати пирила се могу добити реакцијом 2-изоцијаноацетата са (*E*)-2-алкинилхалконима, без присуства растварача (Схема 20).⁶⁸

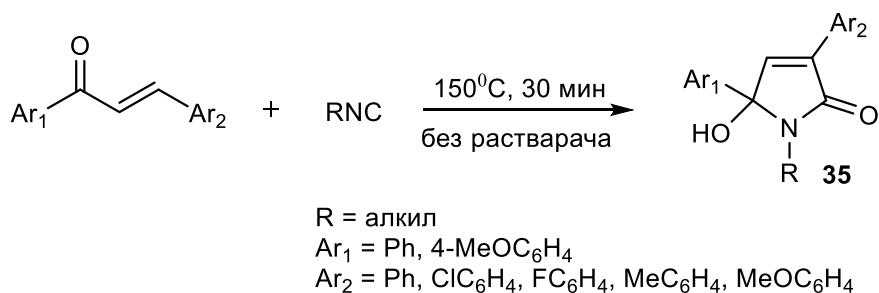


Схема 20. Синтеза 5-хидрокси-2H-пирол-2-она

Пиразолски прстен је присутан у многим биоактивним једињењима која показују јако изражен хемотерапеутски потенцијал. Познато је да пиразолски деривати поседују антилеукемијску,⁶⁹ антитуморску⁷⁰ и антипролиферативну активност,⁷¹ при чему многи од њих инхибирају ензиме укључене у процес ћелијске деобе.⁷² Увођење пиразолског прстена трансформацијом халконског система доводи до значајног пораста цитотоксичне активности према многим врстама малигних ћелијских линија.⁷³ Пиразоли се могу добити на различите начине, а један од њих приказан је на Схеми 21. Бромовањем халкона добијају се одговарајући дибромиди халкона (**36**), који даље могу да реагују са различитим хидразинима (бензоилхидразин, фенилхидразин, хидразин), у сувом пиридину^{74,75} или триетаноламину,⁷⁶ дајући деривате пиразола (**37**).

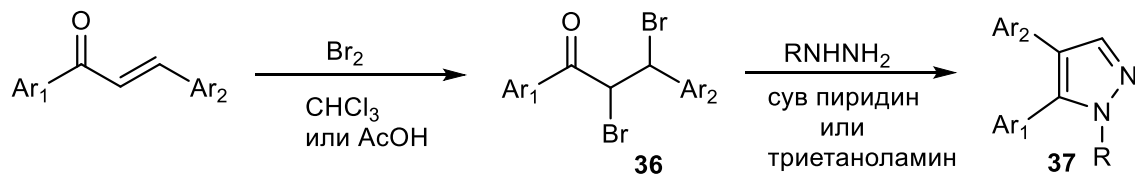


Схема 21. Синтеза пиразола из дибромида халкона

1.3.2. Добијање шесточланих прстенова

Пиримидински деривати имају велику примену у медицинској хемији, захваљујући њиховој разноврсној биолошкој активности, попут антимикробне,⁷⁷ антитуморске и антифунгалне.⁷⁸ Нека од пиримидинских једињења су од изузетног значаја за агрохемију.^{79,80} Бројни халконски деривати могу се превести у одговарајућа пиримидинска једињења у присуству јаких база као што су KOH или NaOH. Кондензацијом халкона са гуанидином настаје амино пиримидин (**38**),⁸¹ док се реакцијом са уреом и тиоуреом могу добити пиримидинони (**39**) или тиопиримидини (**40**) (Схема 22).^{82,83}

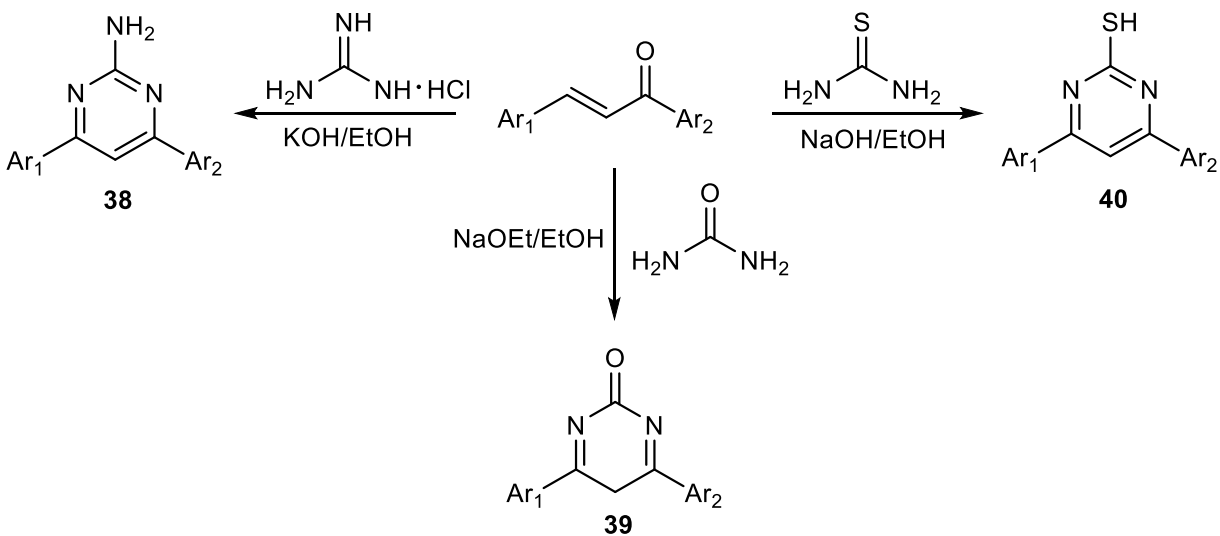


Схема 22. Синтеза пиримидинских деривата

Последњих година, многи супституисани пиридици су привукли велику пажњу захваљујући њиховом јако израженом биолошком и фармаколошком потенцијалу.⁸⁴ Они показују бројне активности као што су антимикробна,⁸⁵ антитуморска,⁸⁶ антивирусна⁸⁷ и многе друге. Пиридински деривати се могу лако добити из халкона у реакцији са 1,3-бинуклеофилима који садрже активну метиленску групу, мада се у последње време они углавном синтетишу само у реакцијама са малонитрилом (Схема 23).⁸⁸⁻⁹⁰

Реакцијом халкона са малононитрилом у етанолу у присуству базе као катализатора настају цијанопиридини (**41**).⁹¹ Слично овој реакцији халкони могу реаговати са малононитрилима на собној температури у присуству пиперидина као базе при чему настају аминокупституисани цијанопирански деривати (**42**).⁹²

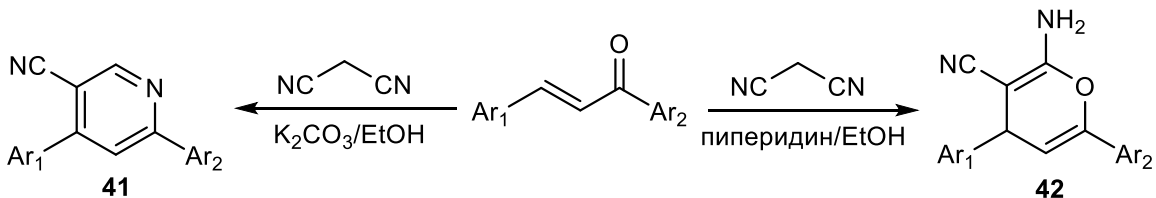


Схема 23. Синтеза цијанопиридинских деривата

Халкони представљају природне прекурсоре флавоноида, биосинтетичких молекула, који су због своје нетоксичности нашли велику примену у развоју нових лекова за третирање различитих болести.^{93,94} Како је много пажње посвећено биосинтези флавоноида,⁹⁵ прихваћено је да су халкони и флаванони⁹⁶ кључни интермедијери за њихову синтезу. Један од примера синтезе дат је на Схеми 24, где полазећи од халкона можемо добити флавор. 2-Хидроксихалкон **43**, у присуству јода као катализатора, подлеже реакцији циклизације дајући као производ флавор **44**, док се коришћењем базног раствора водоник-пероксида добија 3-хидроксифлавор **45** (Схема 24).^{97,98}

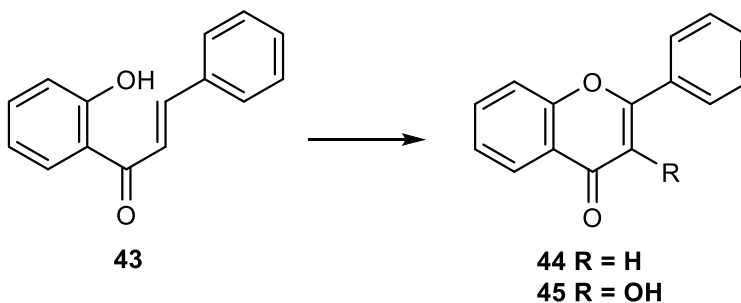


Схема 24. Синтеза флаворна из деривата халкона

1.4. СИНТЕЗА БИОЛОШКИ АКТИВНИХ ЈЕДИЊЕЊА ИЗ ЕНОНА

Енонска једињења учествују у великом броју реакција и дају производе који имају значајну примену у медицини и фармацеутској индустрији. Полазећи од енона, различитим трансформацијама, можемо синтетисати велики број лекова који се данас употребљавају за третирање различитих болести. Синтеза ових лекова се изводи у више корака и једна од главних фаза јесте реакција интрамолекулске циклизације при којој се формирају циклични и хетероциклични фрагменти у молекулу. Нека од њих су: Кортизон, Кленон, Еналаприл, Ондансетрон, Ципрофлоксацин, Лефлуномид, Мускимол, Римонабант, Левофлоксацин, Клевидипин, Иматиниб, Хлорохин, Хидрохлорохин и Глекапревир.

• Синтеза Кортизона

Једна од најзначајнијих примена Michael-ове реакције је синтеза Кортизона.^{99,100} Ова реакција представља адицију одговарајућих нуклеофила на електрон дефицитарне алкене (Схема 25),¹⁰¹ при чему долази до формирања нове C-C везе.¹⁰²

Кортизол (**49**) је кортикостероидни хормон који настаје у кори надбубрежне жлезде. То је веома важан хормон, који је често познат и под називом „*хормон стреса*“, јер учествује у одговору организма на стрес. Одговоран је за повећање крвног притиска, нивоа шећера у крви, а има и имunosупресивно дејство. У фармакологији, синтетички облик кортизола назива се хидрокортизон и користи се као антагонист у контролисању симптома алергија, као антиинфламатор и у терапији дефицијенције кортизола. Кортизон (**49**) се хидрогенизацијом активира и прелази у Кортизол.

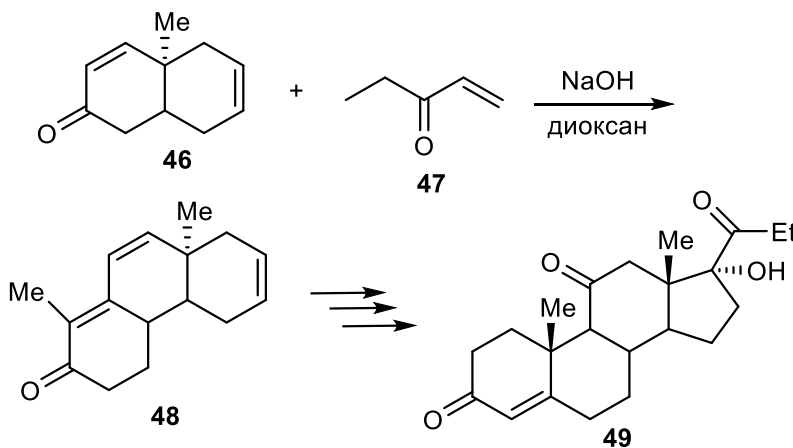


Схема 25. Синтеза Кортизона

- Синтеза Кленона

Током свог истраживачког рада Yamada је са сарадницима, користећи две секвенцијалне Michael-ове адиције (Схема 26), успео да добије Кленон (**51**), једињење које показује антимикуробна својства. Реакција започиње нападом енолатног јона на α,β -незасићени естар (**50**) (добијен из D-манитола).¹⁰³ Други корак ове синтезе представља интрамолекулску адицију при којој се формира комплексан систем прстенова.

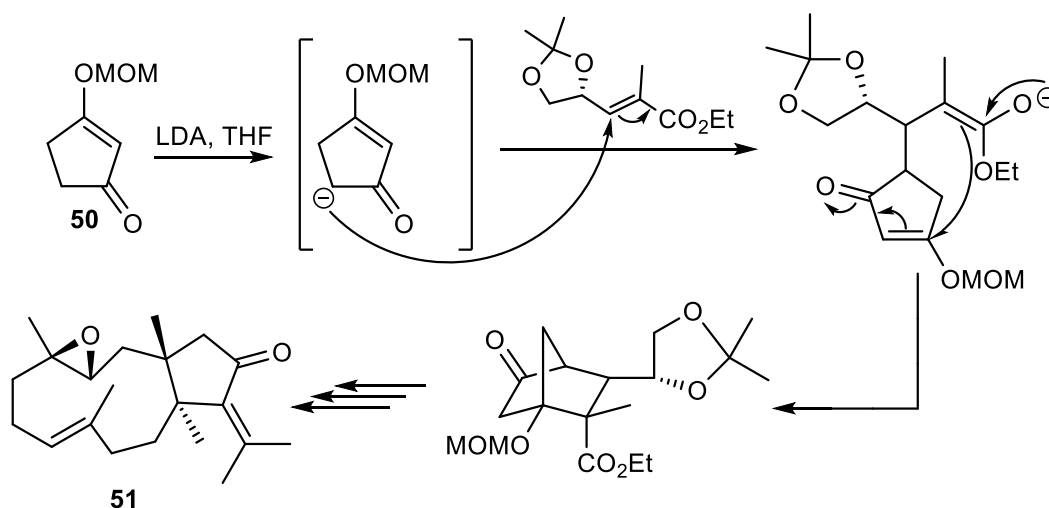


Схема 26. Синтеза Кленона

- Синтеза Еналаприла

(S)-1-[N-[1-(етоксикарбонил)-3-фенилпропил]-L-аланил]-L-пролин (Еналаприл) (**54**) је лек који се користи за лечење високог крвног притиска, болести бубрега узроковане дијабетесом и проблема са срцем.¹⁰⁴ Он је патентиран и одобрен још 1978. године, а његова масовна употреба је почела од 1984. године. Постоји неколико начина за добијање Еналаприла, а једна од синтеза дата је на Схеми 27.¹⁰⁵⁻¹⁰⁷

При овој синтези у првој фази реагује етил естар 3-бензоилакрилне киселине (**52**) са бензил естром L-аланил-L-пролина (**53**). Добијени производ даље подлеже редукцији у присуству Рени-никла као катализатора и том приликом се елиминише заштитна бензил група формирајући очекивани производ (**54**).¹⁰⁸

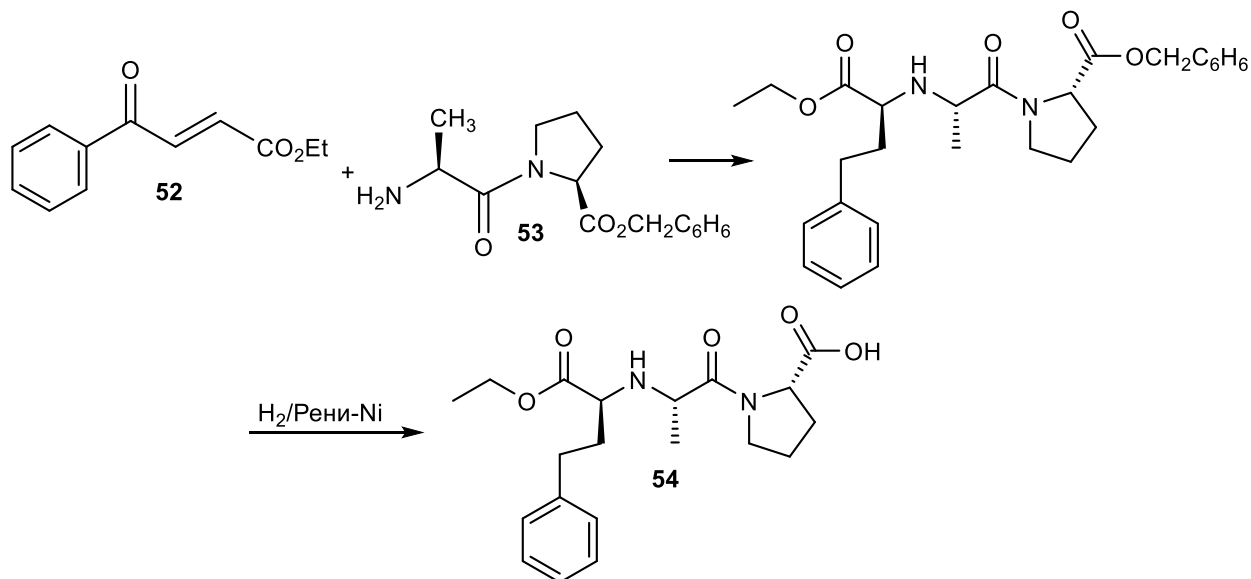


Схема 27. Синтеза Еналаприла

- Синтеза Ондансетрона

Једињење Ондансетрон (**59**, Схема 28) (1,2,3,9-тетрахидро-9-метил-3-((2-метил-1*H*-имидазол-1-ил)метил)-4*H*-карбазол-4-он хидрохлорид дихидрат), познатије је под комерцијалним називом Зофран. Ондансетрон је патентиран 1984. године, а дозволу за коришћење добио је 1990. године.¹⁰⁹ То је лек који се користи за спречавање мучнине и повраћања узроковане приликом лечења рака хемотерапијом, зрачењем или операцијом.^{110,111} Фармаколошка и терапијска примена Ондансетрона била је у великој мери преиспитивана.¹¹²⁻¹¹⁴

Синтетисан је у четири корака почевши од 3-метоксициклохекс-2-ен-1-она (**55**). Он се прво третира са CH₂N⁺(CH₃)₂I⁻ у присуству *n*-BuLi у THF-у како би се добио 6-((диметиламино)метил)-3-метоксициклохексен-2-он (**56**) у приносу од 54% (Схема 28). Затим следи реакција са MeI у DMF-у, која је праћена реакцијом са 2-метилимидазолом. Том приликом настаје 3-метокси-6-((2-метил-1*H*-имидазол-1-ил)метил)циклохексен-2-он (**57**) у приносу од 83%. Добијени производ третиран је са HCl/H₂O, а потом и фенол-метилхидразином дајући 6-((2-метил-1*H*-имидазол-1-ил)метил)-3-(2-метил-2-фенилхидразинил)-циклохексен-2-он (**58**). На крају је извршена Fischer-ова синтеза индола у присуству ZnCl₂/HOAc, при којој долази до интрамолекулске циклизације и настајања очекиваног Ондансетрона (**59**).¹¹⁵

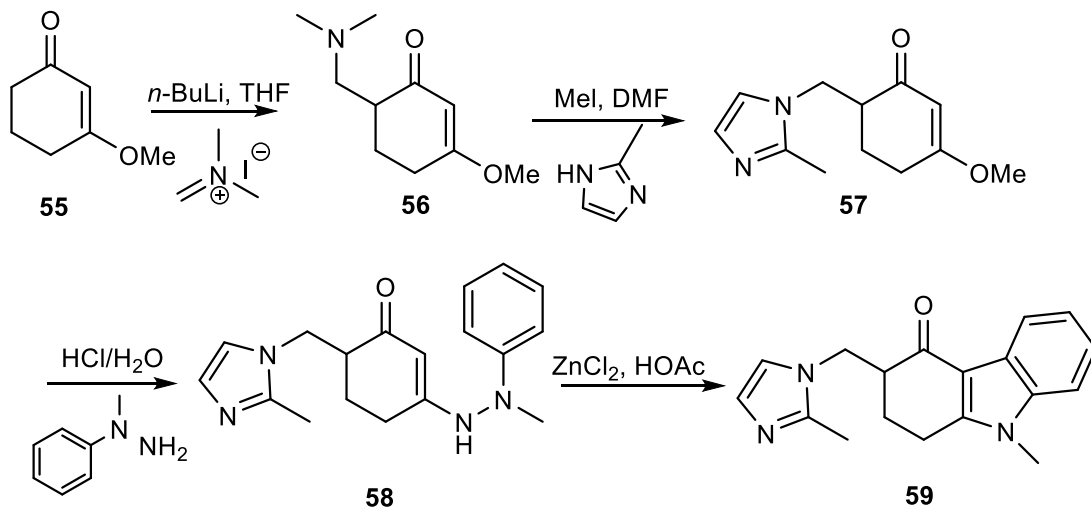


Схема 28. Синтеза Ондансетрона

• Синтеза Ципрофлоксацина

Ципрофлоксацин (**65**) се употребљава као вишенаменски антибиотик за лечење широког спектра бактеријских инфекција, посебно за јаке инфекције уринарног, респираторног и гастроинтестиналног тракта.¹¹⁶ Патентиран је 1980. године, а одобрен за ширу производњу од 1987. године.¹¹⁷ Ципрофлоксацин (**65**) је по структури 1-циклопропил-6-флуоро-1,4-дихидро-4-оксо-7-(1-пиперазинил)-3-хинолинкарбоксилна киселина.

Овај лек је синтетисао Klaus Grohe радећи за компанију Bayer,¹¹⁸ која га и данас производи. Синтеза се заснива на реакцији 2,4,5-трифлуоро бензоил хлорида (**60**) и аминокрлата (**61**) у присуству триетиламина (TEA) у хлороформу, при чему настаје кондензациони производ (**62**) (Схема 29). Добијени производ затим реагује са циклопропиламином и настаје једињење **63** које се циклизује у присуству K_2CO_3 у DMF-у у флуорохинолинон (**64**). У последњем кораку долази до реакције са пиперазином у присуству HCl и добија се ципрофлоксацин хидрохлорид (**65**).

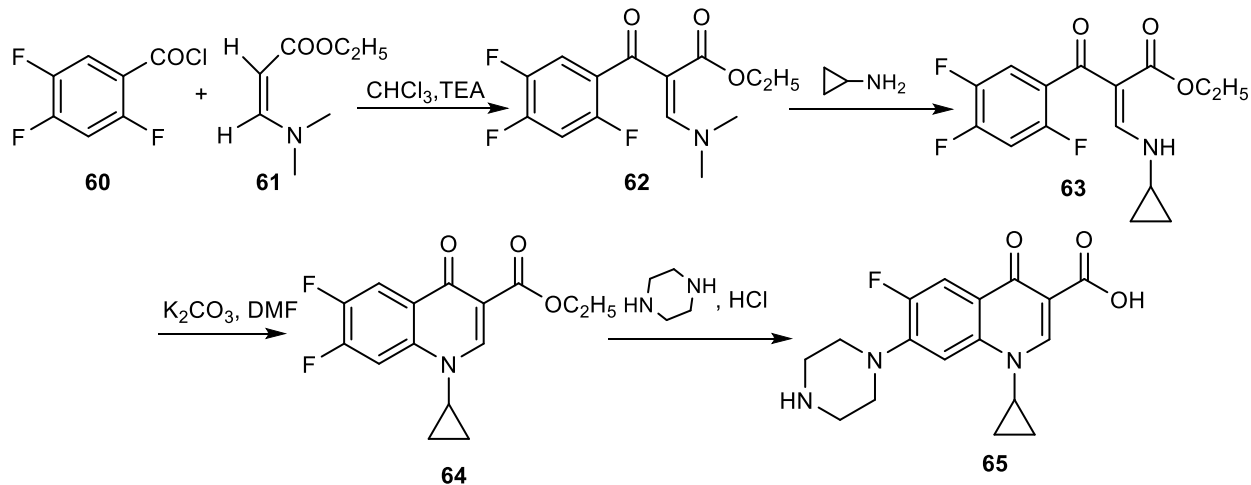


Схема 29. Синтеза Ципрофлоксацина

• Синтеза Лефлуномида

Из кетона (**66**) се добија одговарајући енон (**67**), који у реакцији са хидроксиламин хидрохлоридом и калијум хидроксидом у присуству метанола и сирћетне киселине даје дериват изоксазолина (**68**), који се у наредној фази преводи у Лефлуномид (**69**, Схема 30).¹¹⁹

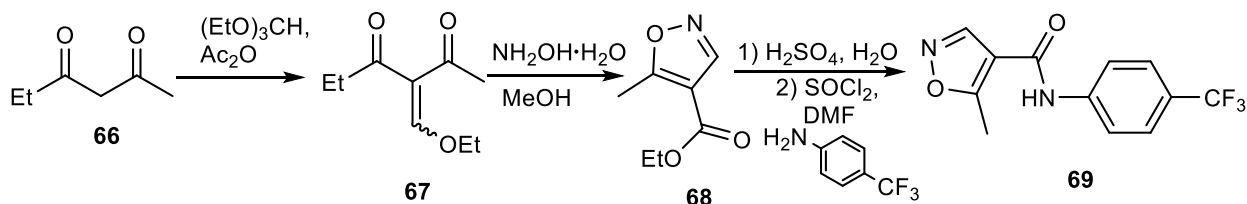


Схема 30. Синтеза Лефлуномида

Лефлуномид је имуномодулаторни лек који инхибира митохондријски ензим дихидрооротат дехидрогеназу, која има кључну улогу у синтези пиримидинског рибонуклеотида уридин монофосфата.¹²⁰ Лефлуномид спречава интензивни развој активираних и аутоимуних лимфоцита путем ометања ћелијског циклуса нелимфоидних ћелија.¹²¹ Дејство Лефлуномида успорава развој болести и узрокује ремисију симптома реуматоидног артритиса и псоријатичког артритиса, као што су бол и умањена покретљивост зглобова.

• Синтеза Мускимола

Један од главних психоактивних састојака гљиве *Amanita muscaria* и сродних врста печурака је Мускимол (**74**). Он је снажан, селективни агонист за GABA рецепторе и показује седативно-хипнотичку, депресивну и халуциногену психоактивност. Мускимол је 1965. године синтетисао Gagneux, полазећи од бром-изоксазола.¹²² Данас се он може добити на различите начине, а један од њих је приказан на Схеми 31.

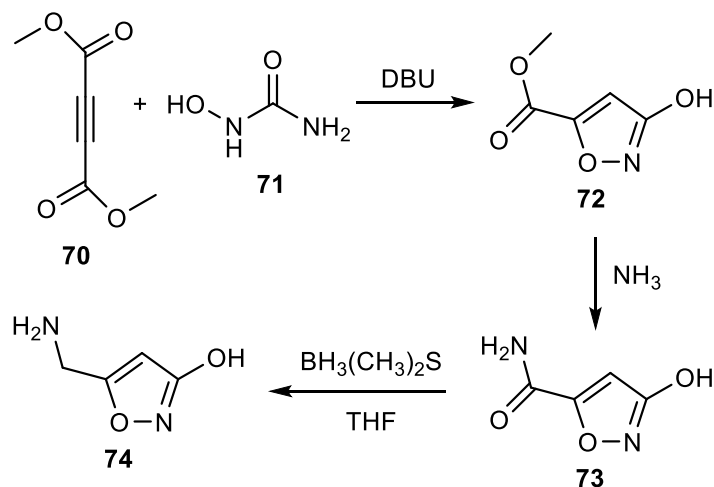


Схема 31. Синтеза Мускимола, **74**

У реакцији између диметил ацетилендикарбоксилата (**70**) и *N*-хидрокси урее (**71**) у присуству 1,8-диазабициклоундек-7-ена (DBU), добија се метил-3-хидрокси изоксазол-5-карбоксилат (**72**). Овај енон се даље преводи у 3-хидроксиизоксазол-5-карбоксамид (**73**) посредством амонијум-хидроксида као базе. Добијени производ подлеже редукцији помоћу боран диметилсулфидног комплекса у тетрахидрофурану дајући Мускимол (**74**).

• Синтеза Римонабанта

Римонабант (**78**) је снажан и селективан агонист канабиноидног рецептора 1 (CB1R). Поред својих антагонистичких својстава, бројне студије су показале да се при микроларним концентрацијама Римонабант понаша као инверзни агонист на CB1 рецепторима. Коришћен је и у клиничким студијама приликом лечења дијабетеса, артериосклерозе и против никотинске зависности.^{123,124}

Римонабант је лек који се раније употребљавао против гојазности (анорексик), али је 2009. године повучен са тржишта због штетних ефеката везаних за централни нервни систем, као што су депресија и суицидне мисли. Његово главно дејство је било у редукцији апетита.¹²⁵

Реакцијом одговарајућег литијум енолата (**76**) са 2,4-дихлорофенилхидразином (**77**) настаје естарски интермедијер (Схема 32). Он даље реагује са аминок групом 1-аминопиперидина дајући као коначан производ Римонабант (**78**).

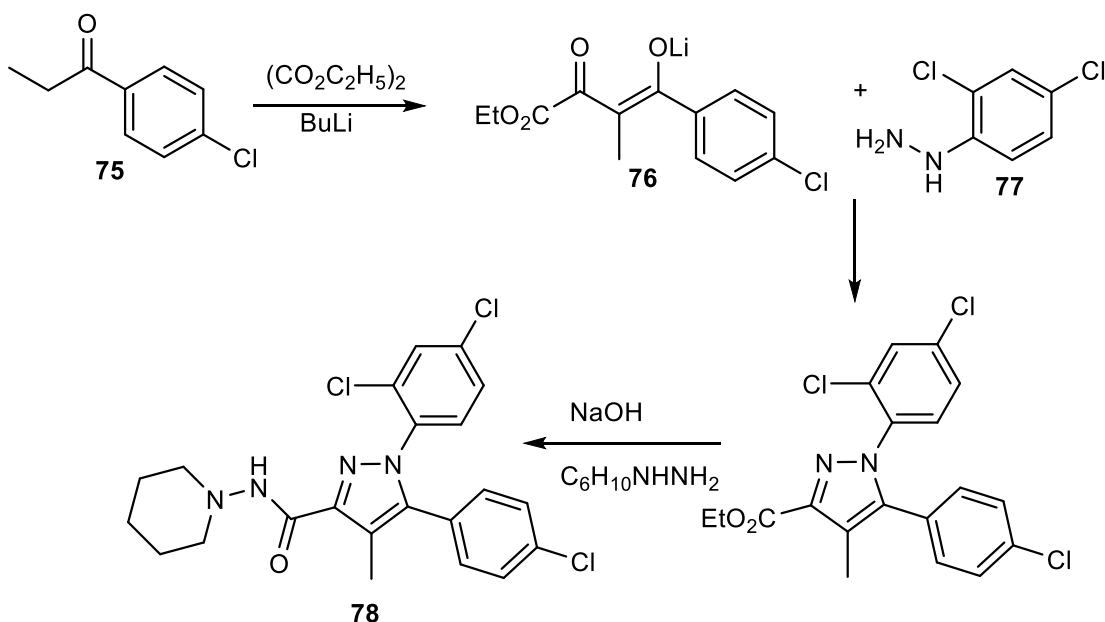


Схема 32. Синтеза Римонабанта

• Синтеза Левофлоксацина

Левофлоксацин (**81**) је оптички активан антибиотик који се користи за лечење бројних бактеријских инфекција, а нарочито за акутни бактеријски синуситис.¹²⁶⁻¹²⁹ Лек је патентиран 1985. године, а одобрен је за ширу употребу од 1996. године под називом Левакуин.¹³⁰

Његова синтеза је дата на Схеми 33. У овој реакцији тетрафлуороарен (**79**) се интрамолекуларном реакцијом преводи у трициклични флуорохинолон (**80**). У крајњој фази реакције овај производ реагује са метил-пиперазином и настаје очекивани Левофлоксацин (**81**)¹³¹ који припада трећој генерацији антибиотика.¹³²

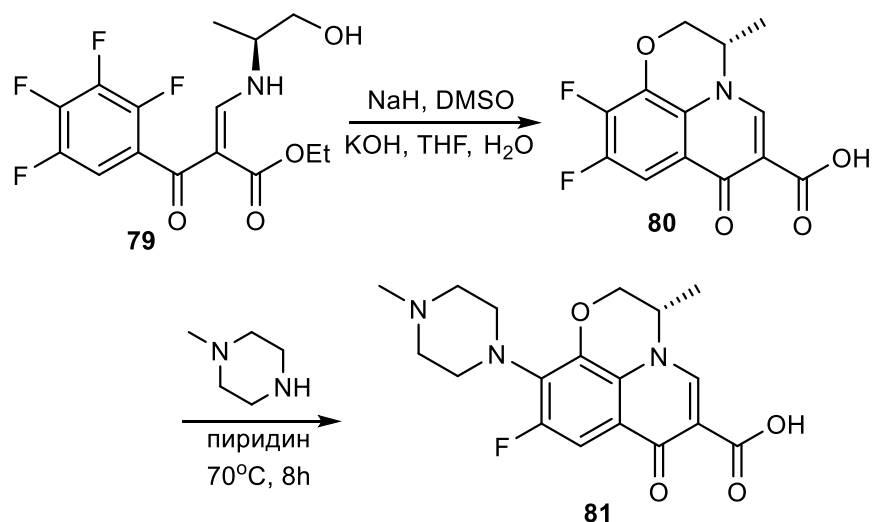


Схема 33. Синтеза Левофлоксацина

• Синтеза Клевидипина

Један од лекова који се користи у кардиохирургији за стабилизацију крвног притиска је препарат на бази дихидропиридина (**84**, Клевидипин), који је познат под комерцијалним називом Клевипрекс. Он у себи садржи лако хидролизабилни ацилоксиметил естар који делује као вазодилататор брзог дејства. Клевидипин се може примењивати у облику рацемата због присуства енантиомера који поседују сличне медицинске и физиолошке особине.¹³³

Постоји више начина за добијање Клевидипина, али због хидролизе која се селективно одвија, прихваћена је Hantzsch-ова реакција која је дата на Схеми 34.^{134,135}

У овој реакцији реагује одговарајуће енонско једињење (2-(2',3'-дихлоробензилиден)-3-оксо-бутерна киселина, **82**) са хлорметилбутиратом и настаје бутирилоксиметил естар 2-(2',3'-дихлоробензилиден)-3-оксо-бутерне киселине (**83**). Овај естар у крајњој фази подлеже реакцији са метил-3-аминокротоном и даје Клевидипин (**84**).

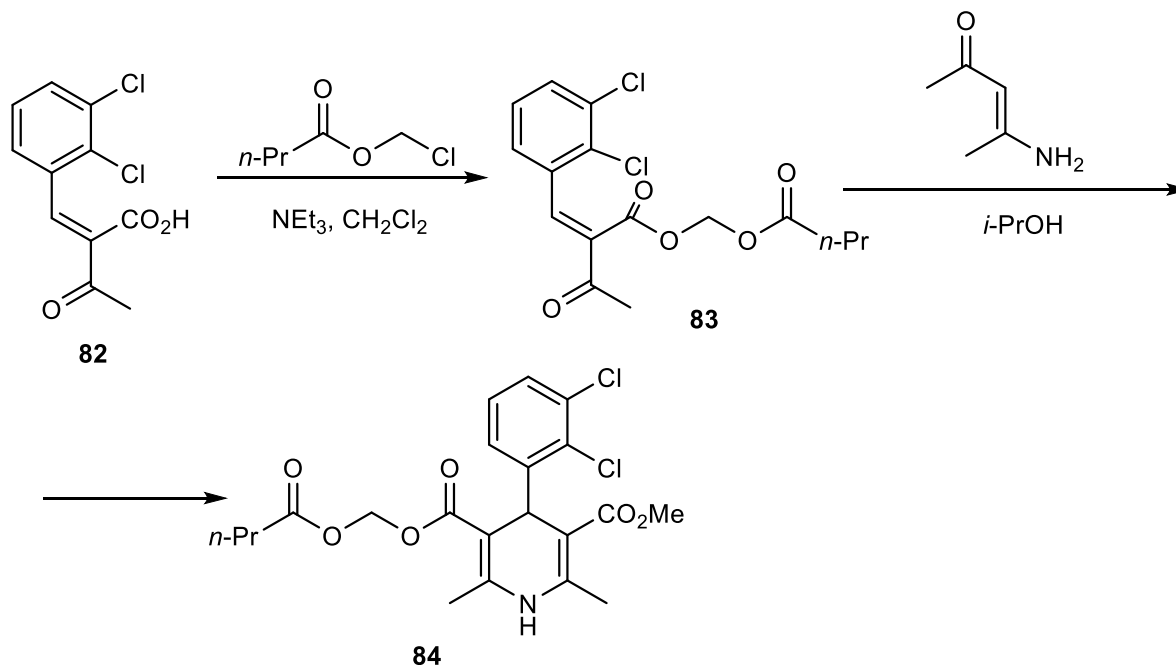


Схема 34. Синтеза Клевидипина

• Синтеза Иматиניба

Иматиниб (**89**) се клинички користи за лечење хроничне и акутне леукемије.^{136,137} Он може за себе да веже циљане протеине у ћелијама изазивајући и нежељене ефекте.¹³⁸

Синтеза тече тако што енон (**85**) подлеже реакцији циклизације са дериватом гванидина при чему настаје 2-аминопиримидински производ (**86**) (Схема 35).¹³⁹ Настали дериват се редукује у присуству хидразина. Добијени анилински дериват (**87**) реагује са 4-хлорметилбензоил хлоридом градећи интермедијерни амид (**88**) који потом ступа у реакцију са *N*-метилпиперазином дајући Иматиниб (**89**) у високом приносу.¹³⁸

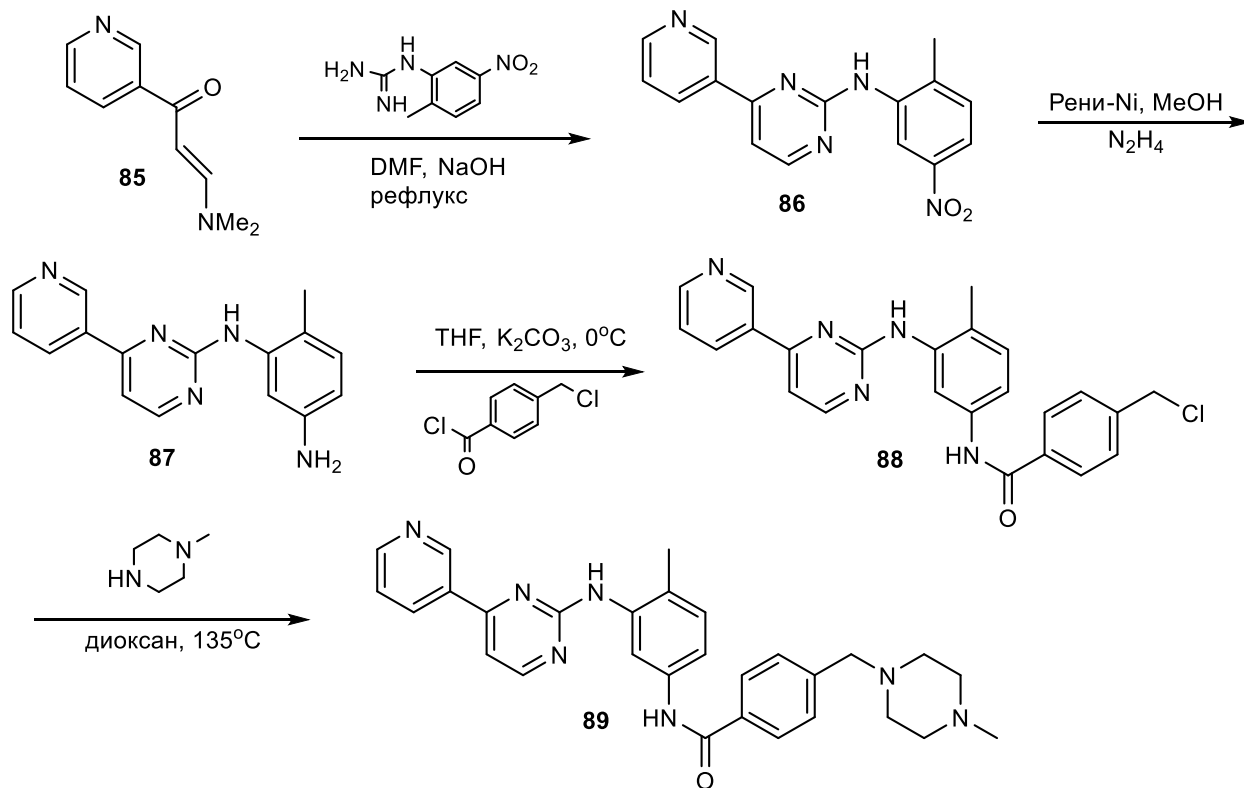


Схема 35. Синтеза Иматиноба

• Синтеза Хлорохина и Хидрохлорохина

Хлорохин се први пут користио 1940. године за лечење маларије. У поређењу са другим лековима имао је већу ефикасност, мању токсичност и био је јефтинији за синтетисање.¹⁴⁰ Хидрохлорохин је развијен 1950. године као дериват Хлорохина али са мањом ефикасношћу. У каснијим студијама доказано је да ова једињења имају позитивне резултате на аутоимуне болести и од тада се користе за лечење реуматоидног артритиса, системског лупуса и антифосфолипидног синдрома.^{141,142}

Испитана је и антивирусна активност код HIV-а и корона вируса.^{143,144} Нађено је да дериват хлорохина, хлорохин фосфат, показује *in vitro* активност против различитих врста вируса, укључујући корона вирусе, SARS-CoV-2 и MERS-CoV.^{145,146}

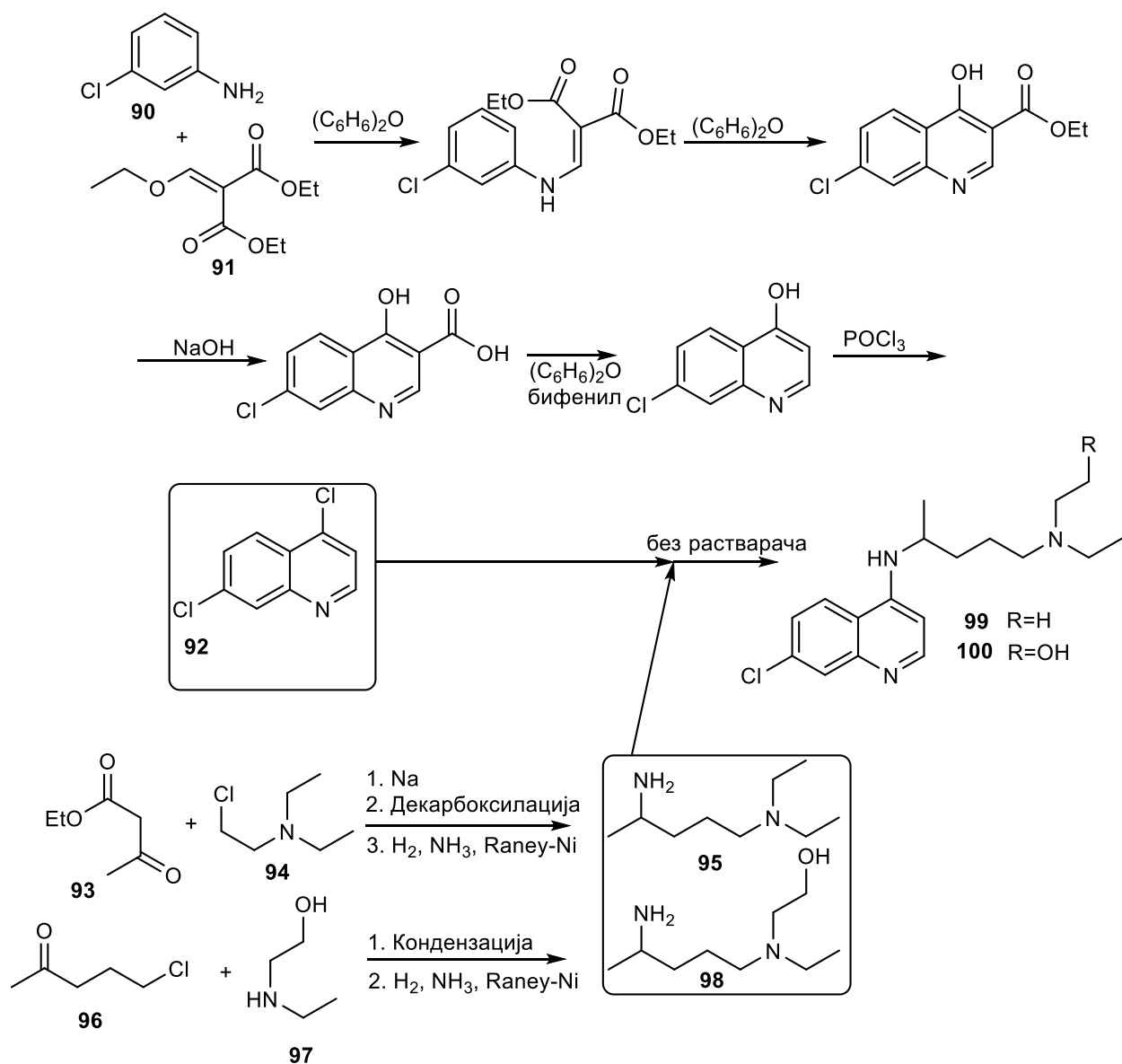


Схема 36. Синтеза Хлорохина и Хидрохлорохина

Хлорохин и Хидрохлорохин (**99**, **100**) се добијају у реакцији између 4,7-дихлорохинолина (**92**) и пентан 1,4-диамино деривата (**95/98**) у условима без присуства растварача (Схема 36).

4,7-Дихлорохинолин (**92**) је уобичајени интермеђер за синтезу оба лека и у приказаној синтези добија се из *m*-хлоранилина (**90**) и етоксиметиленмалонског естра (**91**) у реакцијама које се састоје из пет корака и то су редом реакције кондензације, циклизације, карбоксилације, деестерификације и хлоровања.^{147,148}

Пентан-1,4-диамино деривати (**95** и **98**) се синтетишу полазећи од одговарајућих аминских деривата и карбонилних једињења. У реакцији кондензације 3-оксобутаноата (**93**) са 2-хлоро-*N,N*-диетилетанамином (**94**), која је праћена декарбосилацијом и редуктивном

аминацијом, добија се једињење **95**. Из њега се добија хлорохин (**99**), у реакцији са претходно поменути дихлорохинолином (**92**). За синтезу диамин **100**, прво се врши кондензација 5-хлоропентан-2-она (**96**) са 2-(етиламино)етанолом (**97**), а потом као и у претходном случају, реакција редуктивне аминације. Добијени диамин (**98**) у даљој фази реагује са једињењем **92** и даје хидрохлорохин (**100**), на исти начин као и при синтези хлорохина (**99**).¹⁴⁹

- Синтеза Глекапревира

Глекапревир (**107**) делује као инхибитор NS3/4A протеазе и захваљујући таквој особини користи се за лечење хроничног хепатитиса Ц. Ово је макроциклично једињење које садржи хирални циклопентан, хирални пиролидин и хиноксалински фрагмент у молекулу, а поред тога има и егзоциклични бочни ланац који је везан за пиролидински део.^{150,151}

Синтеза Глекапревира се одвија у више фаза, као што је приказано на Схеми 37.¹⁵² Прва фаза започиње реакцијом метил-2-[(бензилоксикарбонил)амино]-4,4-дифлуоробут-2-еноата (**101**) са Woc_2O и диметиламино пиридином (DMAPI) у THF-у дајући једињење **102**. У следећем кораку долази до формирања циклопропанског прстена у присуству триметилсулфоксонијум јодида и натријумхидрида при чему се ствара одговарајући циклопропил дериват (**103**). Овај производ подлеже хидролизи естарске групе у присуству натријум хидроксида у метанолу и даје естарски дериват (**104**). Он даље реагује са 1-метилциклопропан-1-сулфонамидом и доводи до стварања сулфонамидног деривата (**105**).

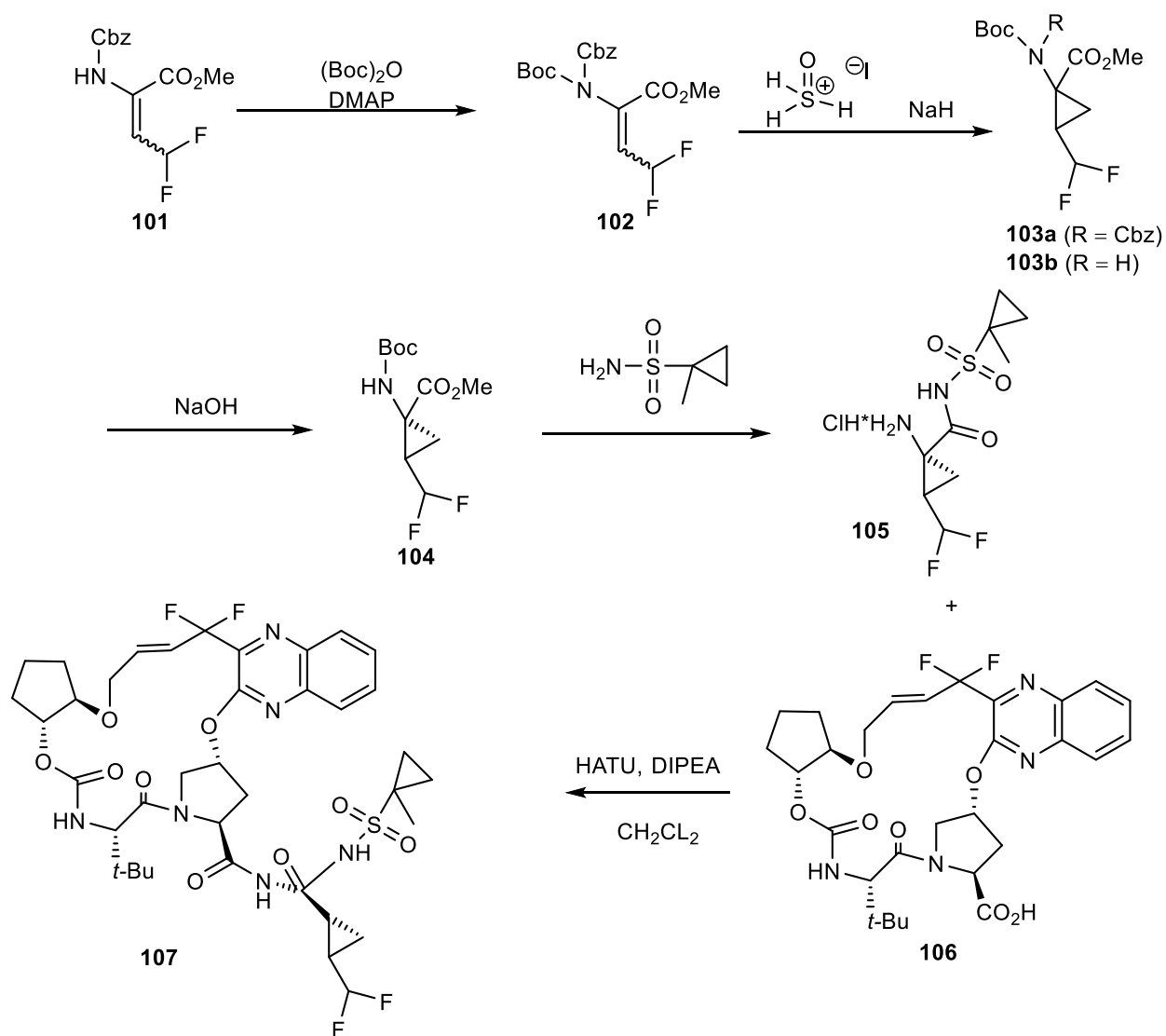


Схема 37. Синтеза Глекапревира

У крајњој фази добија се Глекапревир (**107**) приликом реакције сулфонамидног деривата (**105**) и одговарајуће карбоксилне киселине (**106**). Карбоксилна киселина (**106**) добијена је у реакцији из више фаза полазећи од 3-бромо-3,3-дифлуоропропена и етил-глиоксалата.^{153,154}

2. НАШИ РАДОВИ

2.1. УВОД

Као што је већ поменуто у претходном делу, велики број енона представља биолошки активна једињења и врло су погодни као супстрати за даље трансформације. Двострука веза енонског система реактивна је у Michael-овим реакцијама затварања прстена (MIRC), као и реакцијама са сулфоксонијум солима (Corei-Chaikovski-јева реакција),¹⁵⁵ дајући деривате циклопропана. Из оваквих система могу се добити и различита хетероциклична једињења^{75,156}

Употреба фeroцена у органској синтези је постала интересантна обзиром да његовим увођењем у структуре многих познатих једињења, долази до побољшања њихових биолошких активности, као што су антибиотска,¹⁵⁷ антитуморска¹⁵⁸ и антималаријска.¹⁵⁹ У неким случајевима, новосинтетисана фeroценска једињења су изразито ефикаснија од полазних аналога. Овај позитивни ефекат може се уочити и код једињења која садрже фармаколошки активни *N*-хетероциклични фрагмент и фeroценски остатак.¹⁶⁰

У оквиру ове докторске дисертације изведена је синтеза различитих типова енонских једињења, полазећи од алдехида и кетона и извршена је њихова трансформација у циљу добијања разноврсних циклизационих производа.

Ванилин и његови *O*-алкил деривати су најпре коришћени у реакцији са ацетоном и метил-циклопропил-кетоним и направљена је серија (*E*)-1-циклопропил-3-(4-алкокси-3-метоксифенил)проп-2-ен-1-она. Имајући у виду раније синтетисане деривате дехидрозингерона¹⁶¹ и његова добра својства извршена је модификација двоструке везе и добијена је серија циклопропилских деривата дехидрозингерона. Једињења која су добијена у облику кристала искоришћена су за рендгенску структурну анализу. Новосинтетисани циклопропилски деривати били су погодни за евалуацију антимикуробне активности. Ово испитивање дало је добре резултате, а једно од тестираних једињења било је активније од стандардног антибиотика стрептомицина. Поред овога, одређена је и цитотоксичност према одговарајућим ћелијским линијама (HeLa, LS 174, A549 и MRC5) и добијени резултати су показали да ова једињења нису токсична према здравој ћелији, али имају изражену активност према ћелијским линијама тумора.

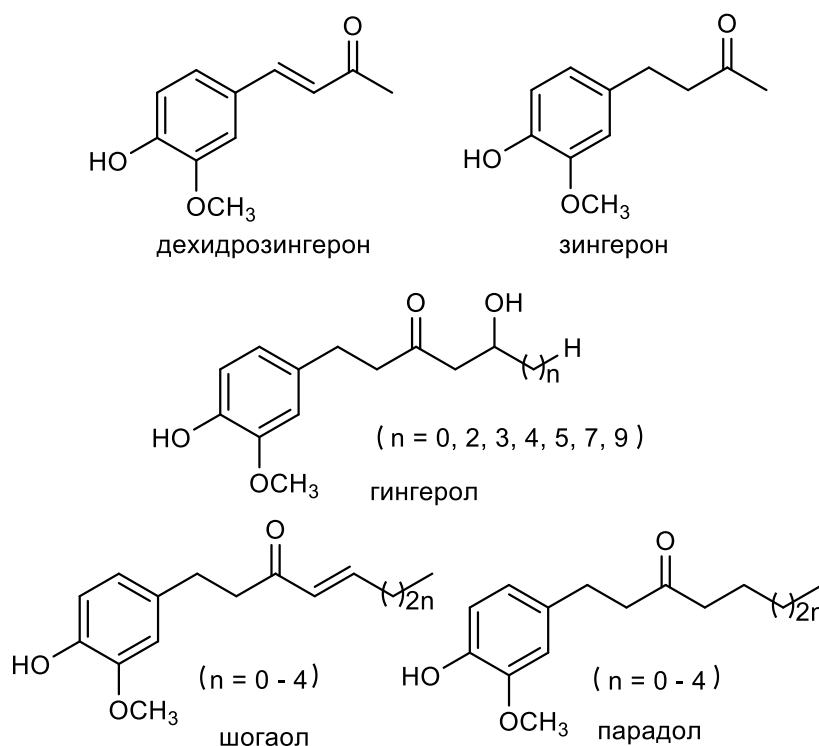
Извршена је синтеза нове серије фeroценских аналога халкона, који су послужили као супстрати у циљу добијања нових пиразолинских деривата. Већина синтетисаних производа је добијена у облику кристала, тако да је њихова структура додатно потврђена применом рендгенске структурне анализе. Испитана је и антимикуробна активност ових једињења према одговарајућим сојевима бактерија и гљива, при чему су добијени задовољавајући резултати.

Обзиром на добре резултате који су постигнути коришћењем ванилинских и фeroценских аналога халкона¹⁶²⁻¹⁶⁴ синтетисана је и серија нових халкона који у себи истовремено садрже и ванилински и фeroценски фрагмент. На овај начин синтетисане су две серије ових халкона, које су послужиле као супстрати у синтези нових пиразолинских деривата. Извршено је одређивање антимикуробног потенцијала ових производа, који су показали добру активност. Испитане су и интеракције најактивнијих једињења са биомолекулима (DNA и BSA).

Структуре свих новосинтетисаних једињења су потврђене спектроскопском анализом (IR, ¹H NMR и ¹³C NMR) и приказана су детаљна тумачења добијених података. Урађена је и масена анализа за поједине серије производа.

2.2. ДОБИЈАЊЕ ЦИКЛОПРОПИЛСКИХ АНАЛОГА ХАЛКОНА

Халкон и његови аналози показују широк спектар биолошких активности,⁸⁻¹⁷ при чему је познато да слободна фенолна група у ароматичном прстену представља кључни фактор за изражену антибактеријску активност многих природних производа.¹⁶⁵ Један од извора ове врсте једињења је корен ђумбира који у себи може садржати дехидрозингерон, зингерон, гингероле, шогаоле и парадоле (Слика 8). Ова једињења и њихови деривати имају изражене биоактивности као што су антитуморска, антиоксидативна, антимикробна, антиинфламаторна, антидијабетичка, антиалергијска.¹⁶⁶⁻¹⁶⁸ Заједничко за сва ова једињења је да у својој структури садрже фрагмент ванилина.¹⁶⁵⁻¹⁶⁸

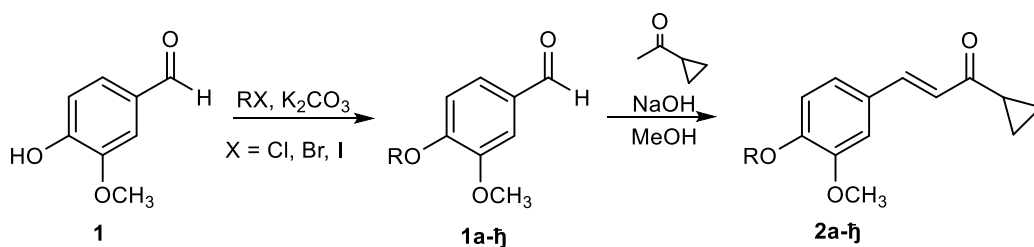


Слика 8. Структурне формуле неких једињења изолованих из ђумбира.

Једињења приказана на Слици 8 су јако реактивна и лако се могу трансформисати у различите хетероцикличне деривате. Знајући да је циклопропански прстен присутан у огромном броју молекула изолованих из природних производа (терпени, масне киселине, алкалоиди и стероиди) очекивано је да многи од њих показују различите биолошке активности, попут хербицидне, антитуморске и антивирусне, као и инхибицију ензима протеаза.¹⁶⁹⁻¹⁷¹

Узимајући у обзир раније резултате добијене трансформацијом дехидрозингерона,¹⁵ припремљена је нова серија његових аналога, који у себи садрже и циклопропански прстен. Први корак ове реакције је било алкиловање слободне ванилинска фенолне групе коришћењем одговарајућег алкил халогенида у присуству K_2CO_3 , рефлуктовањем у ацетону као растварачу (Схема 38). Добијени *O*-алкил деривати ванилина, **1a-h**, даљом реакцијом

Claisen-Schmidt-ове кондензације са метил-циклопропил кетоном, у присуству NaOH, дају жељене (*E*)-1-циклопропил-3-(4-алкокси-3-метоксифенил)проп-2-ен-1-оне, **2a-ђ** (Схема 38). Одговарајући приноси за серију нових једињења дати су у Табели 1.

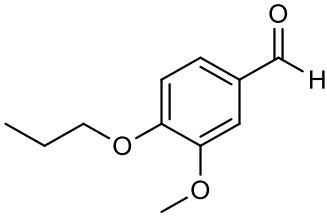
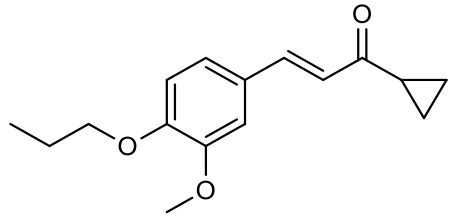
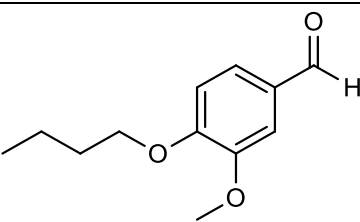
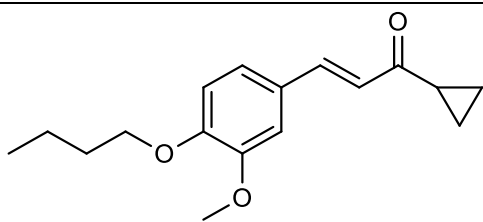
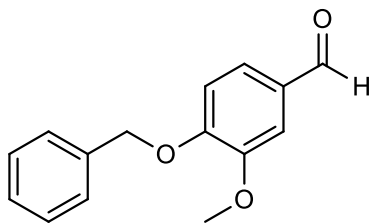
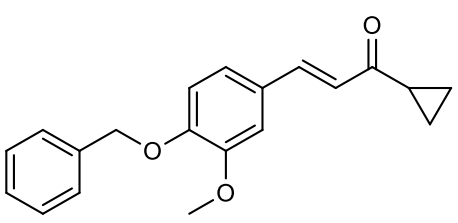


a) R=CH₃, б) R=C₂H₅, в) R=*i*-C₃H₇, г) R=C₃H₇, д) R=C₄H₉, њ) R=C₆H₅CH₂

Схема 38. Синтеза (*E*)-1-циклопропил-3-(3-алкокси-4-метоксифенил)проп-2-ен-1-она, **2a-ђ**

Табела 1. Преглед структура полазних, **1a-ђ**, и добијених, **2a-ђ**, једињења са приносима

Редни број	Полазно једињење	Производ	Принос
1.			78%
2.			77%
3.			75%

4.	 <p style="text-align: center;">1g</p>	 <p style="text-align: center;">2g</p>	58%
5.	 <p style="text-align: center;">1d</p>	 <p style="text-align: center;">2d</p>	58%
6.	 <p style="text-align: center;">1h</p>	 <p style="text-align: center;">2h</p>	80%

Структуре свих једињења потврђене су спектроскопском (IR, ^1H NMR и ^{13}C NMR) анализом.

У IR спектрима највише изражене јесу валенционе вибрације $\text{C}=\text{O}$ које се налазе у опсегу од 1636 до 1671 cm^{-1} . Сигнали који потичу од двоструке везе коњугованог система ($\text{C}\alpha=\text{C}\beta$) су у области од 1595 до 1597 cm^{-1} . Примећено је присуство валенционих вибрација CH_2 групе која потиче од циклопропанског прстена и налази се у области од 1461 до 1471 cm^{-1} .

У ^1H NMR спектрима видљиви су сигнали у облику два дублета у областима око $6,87$ и $7,57$ ppm који потичу од протона везаних за C -атома двоструке везе и који су карактеристични за α,β -незасићене карбонилне системе. Њихова константа купловања износи $J = 16,2\text{ Hz}$, што указује на то да се ради о *trans* конфигурацији $\text{C}=\text{C}$ везе.¹⁷² Примећују се и сигнали протона, најчешће у облику дублета или мултиплета, који су везани за C -атома бензеновог прстена и налазе се у очекиваној области од 6 до 7 ppm. Хемијско померање ових протона у великој мери зависи од супституената везаних за бензенов прстен. Код свих једињења у спектру су присутни и сигнали који потичу од протона из метокси групе која је директно везана за бензенов прстен. Они се налазе у области од $3,89$ до $3,92$ ppm у облику синглета, осим у случају метил деривата, кад се ради о дублету. Протони који потичу од циклопропилског прстена налазе се у виду сигнала у облику три мултиплета који

садрже два протона из CH_2 групе (у областима од 0,89-1,07 ppm и од 1,11-1,28 ppm) и једног протона из CH групе (у области од 2,17-2,31 ppm).

У ^{13}C NMR спектру сигнали који су карактеристични за α,β -незасићен карбонилни систем налазе се у областима од приближно 142 и 123 ppm. Сигнал за карбонилну групу се налази на 199,8 ppm. Код незасићене везе приметно је да се сигнал који потиче од β -угљениковог атома налази на много већем хемијском померању у односу на сигнал од α -угљениковог атома. Ово се дешава зато што услед резонанције са карбонилном групом долази до смањења електронске густине на β -угљениковом атому.^{173,174} У овим спектрима присутни су и сигнали који потичу од протона из циклопропанског прстена, а налазе се на хемијском померању око 11 ppm (вредности за два C-атома који потичу из метиленских група) и око 19,3 ppm (вредности једног C-атома који потиче из CH -групе).

2.3. ЦИКЛИЗАЦИЈА ВАНИЛИНСКИХ АНАЛОГА ХАЛКОНА

Имајући у виду поменуте биолошке активности циклопропилских једињења, извршена је модификација претходно синтетисаног дехидрозингерона¹⁶¹ у циљу синтезе циклопропилских деривата. У првој фази ове синтезе је добијена серија 4-(4-алкокси-3-метоксифенил)-3-бутен-2-она, **3а-и**, алкиловањем слободне фенолне групе дехидрозингерона у присуству одговарајућег алкил халогенида и анхидрованог K_2CO_3 , рефлуктовањем у ацетону. Тако добијени производи су у следећем кораку третирани $NaNH$ и триметилсулфоксонијум јодидом у $DMSO$ -у (Corey-Chaykovsky-јева реакција) при чему долази до реакције на двострукој вези коњугованог система. На овај начин је добијена серија једињења 1-ацетил-2-(4-алкокси-3-метоксифенил)циклопропана, **4а-и** (Схема 39). Структуре и приноси свих новосинтетисаних једињења дати су у Табели 2 у наставку.

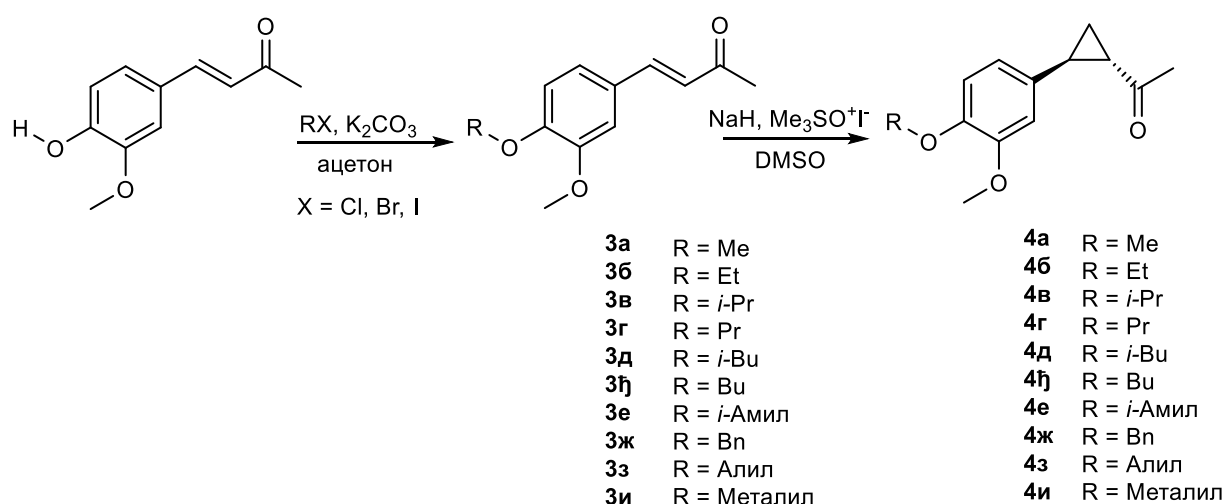
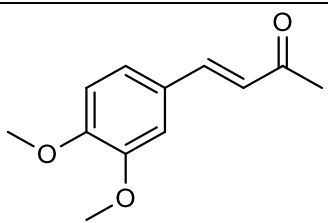
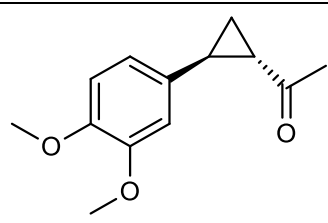
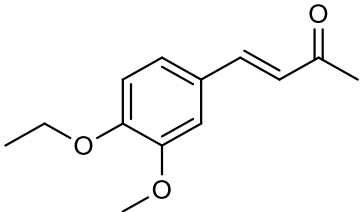
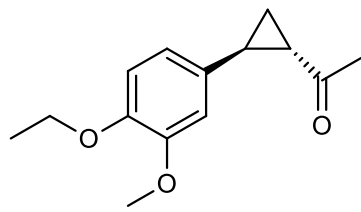
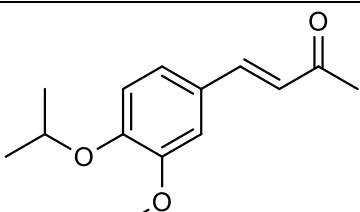
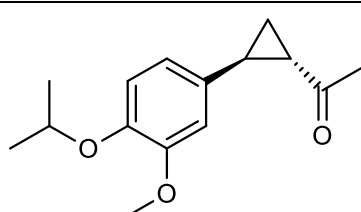
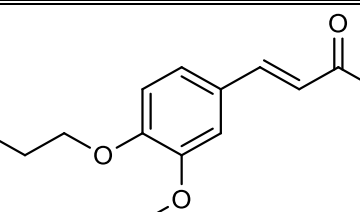
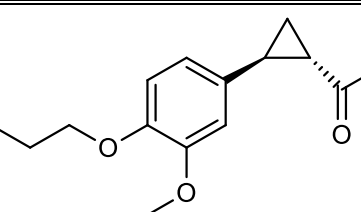
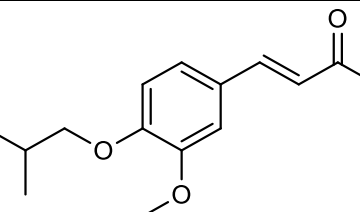
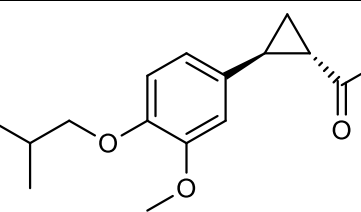
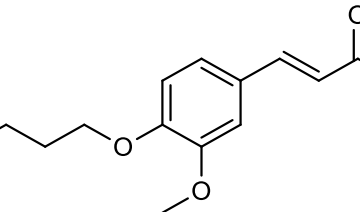
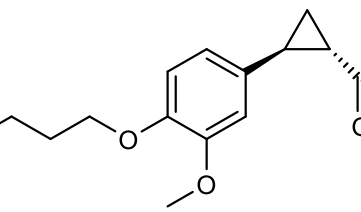
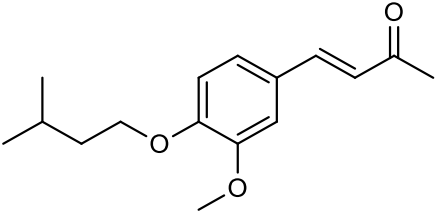
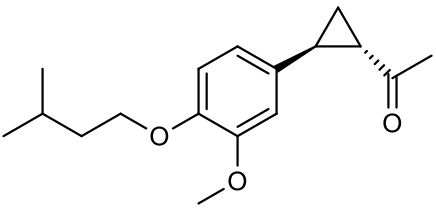
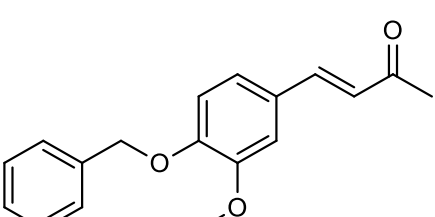
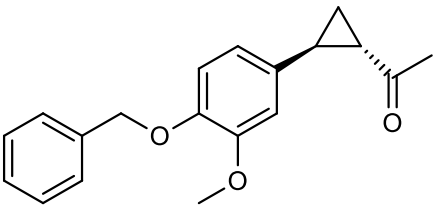
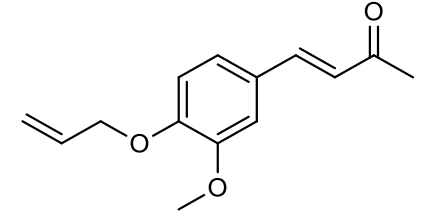
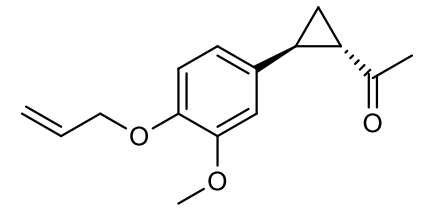
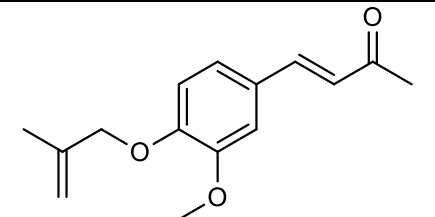
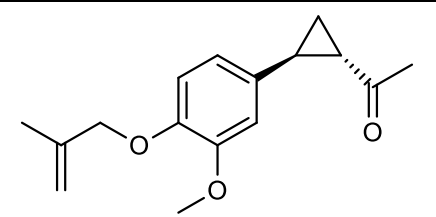


Схема 39. Синтеза циклопропилских деривата **4а-и**

Табела 2. Преглед структура полазних, **3а-и** и добијених, **4а-и**, једињења са приносима

Редни број	Полазно једињење	Производ	Принос
1.	 3а	 4а	68%

2.	 <p style="text-align: center;">36</p>	 <p style="text-align: center;">46</p>	69%
3.	 <p style="text-align: center;">3B</p>	 <p style="text-align: center;">4B</p>	70%
4.	 <p style="text-align: center;">3Г</p>	 <p style="text-align: center;">4Г</p>	79%
5.	 <p style="text-align: center;">3Д</p>	 <p style="text-align: center;">4Д</p>	53%
6.	 <p style="text-align: center;">3И</p>	 <p style="text-align: center;">4И</p>	52%

7.	 <p style="text-align: center;">3e</p>	 <p style="text-align: center;">4e</p>	78%
8.	 <p style="text-align: center;">3ж</p>	 <p style="text-align: center;">4ж</p>	82%
9.	 <p style="text-align: center;">3з</p>	 <p style="text-align: center;">4з</p>	69%
10.	 <p style="text-align: center;">3и</p>	 <p style="text-align: center;">4и</p>	72%

Припремљена једињења окарактерисана су IR, ^1H и ^{13}C NMR спектрима, као и MS анализом, којом је структура ових деривата додатно потврђена.

У IR спектрима највише су изражене валенционе вибрације C=O које се налазе у областима од $1682\text{-}1697\text{ cm}^{-1}$. Приметно је губљење сигнала које потиче од двоструке везе.

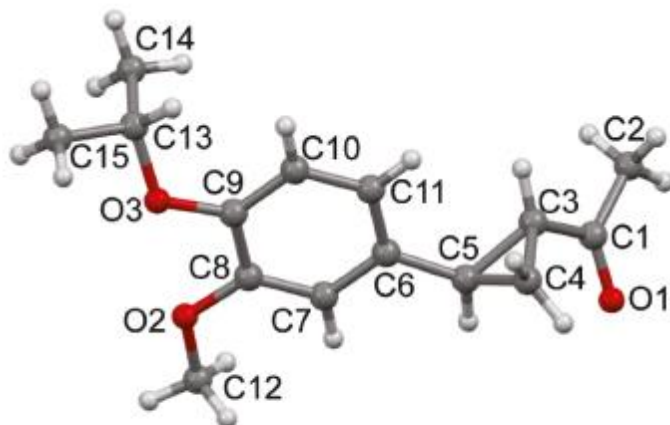
У ^1H NMR спектрима видљиви су сигнали протона, као у претходном случају, најчешће у облику дублета или мултиплета, који су везани за C-атоме бензеновог прстена и налазе се у очекиваној области од 6 до 7 ppm. Код свих производа у спектру су присутни

и сигнали који потичу од протона из метокси групе која је директно везана за бензенев прстен. Они се налазе у области од 3,84 до 3,87 ppm у облику синглета, осим у случају метил деривата, кад се ради о дублету. Протони који потичу од циклопропилског прстена се примећују у спектру у виду сигнала у облику четири мултиплета који потичу од протона из једне CH₂ групе и две CH групе који су распоређени у области од 1,31-2,49 ppm.

У ¹³C NMR спектру уочава се сигнал који је карактеристичан за карбонилну групу и налази се на хемијском померању око 207 ppm. У спектру се може видети и изостанак сигнала који потичу од двоструке везе а налазили су се на хемијском померању око 123 и 142 ppm што указује да је извршена реакција на двострукој вези. Приметни су и сигнали који потичу од C-атома из циклопропил групе а јављају се на хемијском померању око 18,8 ppm (метиленска група), 28,8 ppm (CH група везана за ароматични систем) и 30,7 ppm (CH група везана за карбонилну групу).

2.3.1. Кристалографска анализа

Једињење **4в** добијено је у кристалном облику који је био погодан за рендгенску структурну анализу, чиме је његова структура додатно потврђена. На Слици 9 приказана је структура овог једињења, а одговарајући геометријски параметри дати су у Табели 3.



Слика 9. Кристална структура једињења **4в**

Табела 3. Одабране дужине веза [\AA] и углова [$^\circ$] за једињење **4в**

	Дужина везе		Угао
C(1)-O(1)	1,212(2)	C(2)-C(1)-O(1)	121,5(2)
C(8)-O(2)	1,369(2)	C(3)-C(1)-O(1)	121,2(2)
C(9)-O(3)	1,372(2)	C(8)-O(2)-C(12)	117,6(1)
C(3)-O(4)	1,493(3)	C(9)-O(3)-C(13)	119,0(1)
C(4)-O(5)	1,485(2)	C(3)-C(4)-C(5)	61,6(1)
C(3)-O(5)	1,524(2)	C(4)-C(5)-C(3)	59,5(1)
		C(5)-C(3)-C(4)	59,0(1)

Из Табеле 3 се може видети да је веза C(3)-O(5) средишњег циклопропанског фрагмента (Cp) најдужа у структури. Благо издужење ове везе у односу на друге две C-C везе деформисаног Cp прстена може се приписати присуству ацетил и арил-супституената на C(3), односно C(5) атому. Такође, угао наспрам C(3)-C(5) везе благо је проширен на рачун преостала два угла. Слична асиметрија у дисупституисаном Cp прстену примећена је и у кристалним структурама сличних једињења, као што су то фенилциклопропанкарбоксилне киселине.¹⁷⁵⁻¹⁷⁷ Углови ван Cp прстена зависе од величине везаних супституената, па тако углови између C-C веза Cp прстена и веза које спајају прстен са одговарајућим арил и ацетил фрагментима имају просечне вредности 121,3°, односно 117,6°.

Диедарски угао између фенил и Cp прстена од 87,8(1)° одговара приближно перпендикуларном уређењу ова два система, као што је уочено и у случају слободног фенилциклопропана (88,6°).¹⁷⁸ Поред тога, најповољнија раван фенолног прстена у једињењу **4в** дели на две једнака дела наспрамну Cp C(3)-C(4) везу, тако да торзиони угао C(11)-C(6)-C(5)-Ct (где је Ct средишња тачка C(3)-C(4) везе) износи 6,1°. Ацетил фрагмент показује сличан положај под углом од 90° у односу на средиште Cp прстена, са диедарским углом између равни C(2)/C(1)/O(1) и C(3)/C(4)/C(5) од 88,9 (1)° и торзионим углом O(1)-C(1)-C(3)-Ct2 од 1,52° (где је Ct2 средина C(4)-C(5) везе). Међусобни положај ацетил и фенил групе описан је помоћу торзионог угла C(1)-C(3)-C(5)-C(6) који износи -143,5(1)°. Метокси група везана за фенилни прстен је мало померена у односу на средњу раван прстена (O(2):-0,019 (2); C(12):-0,077 (3) Å), што је у супротности са изопропокси дериватом где је одступање одговарајућих атома израженије (O(3): 0,078 (2); C(13): -0,308 (3) Å).

У кристалној структури може се видети да центросиметрично повезани молекули формирају димере помоћу неколико слабих C(7)-H...O (1) интеракција (C...O 3,290(2), H...O 2,40 Å, C-H...O 160°) (Слика 9). Даљи распоред суседних интеракција заснива се на слабој C(4)-H(4b)...π интеракцији (C...Cg1 3,464(2), H...π 2,78 Å, C-H...Cg1 129°, где је Cg1 тежиште фенолног прстена).

2.3.2. Антимикробна активност

За добијену серију једињења **4а-и** испитана је антимикробна активност према одговарајућим сојевима бактерија и гљива. Добијени резултати су дати у Табелама 4 и 5. Испитана једињења показала су релативно јаку антимикробну активност на свим испитиваним микроорганизмима. Методом микроразблажења медијума коришћењем плоча са 96 бунарчића одређена је минимална инхибиторна концентрација (MIC).¹⁷⁹ Редокс индикатор који је коришћен за процену раста микроба јесте ресазурин. Као позитивна контрола инхибиције раста бактерија и гљива коришћени су стрептомицин и кетоконазол.

Резултати испитивања антимикробне активности једињења **4а-и** су дати у Табелама 4 и 5.

Табела 4. Антибактеријска активност тестираних једињења 4а-и

Микроорганизми	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia Coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
4а	0,312	0,019	0,078	0,312	0,312
4б	0,078	0,009	0,019	0,312	0,156
4в	0,312	0,019	0,078	1,25	0,625
4г	0,156	0,019	0,039	0,625	0,312
4д	0,156	0,078	0,078	0,625	0,312
4ђ	0,312	0,019	0,019	1,25	0,312
4е	0,156	0,078	0,078	0,312	0,156
4ж	0,625	0,039	0,078	1,25	1,25
4з	0,156	0,039	0,078	0,312	0,156
4и	0,156	0,078	0,078	0,625	0,312
Стрептомицин	0,031	0,016	0,016	0,062	0,062

Минимална инхибиторна концентрација приказана је у mg/ml. Вредности су средња вредност три репликације. У свим случајевима стандардна девијација је $\pm 0,002$.

Табела 5. Антифунгална активност тестираних једињења 4а-и

Микроорганизми	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Penicillium Purpyrescens</i>	<i>Penicillium verucosum</i>
4а	1,25	0,312	0,625	0,625	0,625
4б	0,625	0,312	0,312	0,312	0,625
4в	1,25	1,25	0,625	2,5	2,5
4г	0,625	0,312	0,625	0,312	0,625
4д	5	1,25	0,156	2,5	2,5
4ђ	1,25	0,625	0,625	1,25	2,5
4е	2,5	0,625	0,312	1,25	2,5
4ж	2,5	1,25	1,25	2,5	2,5
4з	2,5	0,625	0,312	1,25	2,5
4и	2,5	1,25	0,156	2,5	1,25
Кетоконазол	0,156	0,078	0,039	0,156	0,156

Минимална инхибиторна концентрација приказана је у mg/ml. Вредности су средња вредност три репликације. У свим случајевима стандардна девијација је $\pm 0,001$.

Из Табеле 4 може се видети да се минимална инхибиторна концентрација (MIC) за ова једињења креће од 0,009 до 1,25 mg/ml. Утврђено је да је најјача антибактеријска активност примећена код једињења **4б** које инхибира све врсте бактерија у ниској концентрацији, посебно *Bacillus subtilis* где је измерена вредност MIC била 0,009 mg/ml (јаче од стрептомицина).

Међу бактеријама, *E. Coli* је показала највећи отпор док је бактерија *B. Subtilis* била најосетљивија. Тестирана једињења инхибирају раст свих испитиваних гљива (Табела 5),

али при нешто већим концентрацијама (вредности MIC су биле од 0,156 до 5 mg/ml). Међу гљивама најосетљивија је *C. Albicans*.

2.3.3. Цитотоксична активност

Испитана је цитотоксичност синтетисаних једињења **4а-и** према ћелијским линијама хуманог карцинома грлића материце (HeLa), хуманог карцинома плућа (A549) и хуманог аденокарцинома (LS174). MRC5 ћелије су коришћене као контролне (нормална неканцерогена ћелијска линија). Ефективност ових једињења је процењена на основу резултата МТТ теста. Цитотоксична активност испитиваних једињења дата је у Табели 6, а изражена је преко IC₅₀ вредности.

Табела 6. Цитотоксична активност (IC₅₀ вредности) једињења **4а-и** у односу на канцерогене ћелијске линије HeLa, LS174, A549 и ћелијска линија фибропласта плућа хуманог фетуса (MRC5)

Једињења	IC ₅₀ [μM]			
	HeLa	LS174	A549	MRC5
4а	38,34 ± 1,95	40,91 ± 1,22	24,05 ± 2,43	> 200
4б	24,14 ± 0,76	29,76 ± 0,57	32,98 ± 0,72	> 200
4в	16,22 ± 1,48	36,36 ± 2,72	28,77 ± 3,41	> 200
4г	38,86 ± 2,59	41,57 ± 0,79	36,37 ± 2,55	> 200
4д	17,61 ± 1,87	18,73 ± 0,55	16,85 ± 1,32	> 200
4ђ	34,63 ± 2,81	10,17 ± 1,23	12,15 ± 0,49	> 200
4е	12,16 ± 1,84	31,11 ± 2,59	30,85 ± 1,20	> 200
4ж	8,63 ± 0,49	17,53 ± 2,45	26,89 ± 0,77	> 200
4з	19,18 ± 0,62	23,74 ± 1,36	26,63 ± 3,48	> 200
4и	24,52 ± 1,14	32,52 ± 1,81	32,11 ± 0,31	> 200
<i>cis</i> -DDP	2,45 ± 0,21	5,03 ± 0,47	9,48 ± 0,73	15,22 ± 0,68

Најактивнија једињења су истакнута у табели

Као што се може видети из Табеле 6, сви узорци показују цитотоксичну активност према тестираним канцерогеним ћелијским линијама. Једињење **4ж** показало је најјачи ефекат код HeLa ћелија (IC₅₀=8,63 μm), док је **4ђ** показало највећу активност код A549 и LS174 ћелијских линија (IC₅₀=10,17 и 12,15 μm). Такође, поређењем са *cis*-DDP сви узорци су показали одсуство цитотоксичности према неканцерогеној ћелијској линији (MRC5)(IC₅₀>200).

Индекс селективности дефинисан као IC₅₀(MRC5)/IC₅₀(ћелијска линија) дат је у Табели 7.

Табела 7. Индекс селективности

Једињења	HeLa	LS174	A549
	$IC_{50}(MRC5)/IC_{50}$ (ћелијска линија)		
4а	5,2	4,9	8,3
4б	8,3	6,7	6,1
4в	12,3	5,5	7,0
4г	5,1	4,8	5,5
4д	11,4	10,7	11,9
4ђ	5,8	19,7	16,5
4е	16,4	6,4	6,5
4ж	23,2	11,4	7,4
4з	10,4	8,4	7,5
4и	8,2	6,2	6,2
<i>cis</i> -DDP	6,2	3,0	1,6

Добијене вредности указују да сва тестирана једињења поседују велику селективност у поређењу са *cis*-DDP (чак 10 пута), што доводи до закључка да новосинтетисана једињења нису токсична за здраву ћелијску линију. Резултати показују да је најбоља селективност испољена код једињења **4д**, **4ђ** и **4ж** према испитаним ћелијским линијама.

2.4. СИНТЕЗА ФЕРОЦЕНИЛ ПИРАЗОЛИНСКИХ ДЕРИВАТА

Фероценска једињења су од значаја због одличне стабилности, способности транспорта кроз ћелијску мембрану и ефикасног реаговања са великим бројем деривата. Поред тога поседују изражене електрохемијске особине¹⁸⁰ и имају велику примену у фармацеутској индустрији.¹⁸¹ Неки од најзаступљенијих деривата фероцена су фероценски халкони и њихови аналози који су показали широк спектар активности.¹⁸²⁻¹⁸⁴ Захваљујући свом енонском систему лако се могу користити као супстрати у синтезама различитих хетероцикличних деривата.^{75,156}

Имајући у виду ове карактеристике фероценских једињења, припремљена је серија фероценил пиразолинских деривата **6a-h** полазећи од коњугованих фероценил-кетона **5a-h**, према познатој процедури.¹⁸⁵ У првој фази извршено је Friedel-Crafts-ово ациловање фероцена у присуству одговарајућих ацилхлорида и добијена је серија фероценских аналога халкона **5a-d** у високом приносу. Једињења **5a-g** раније су описана¹⁸⁶⁻¹⁹⁰ док је **5d** новосинтетисани производ, Схема 40. Једињење **5h** синтетисано је реакцијом кондензације моноацетилфероцена са фурфуралом по раније описаној методи.¹⁹¹

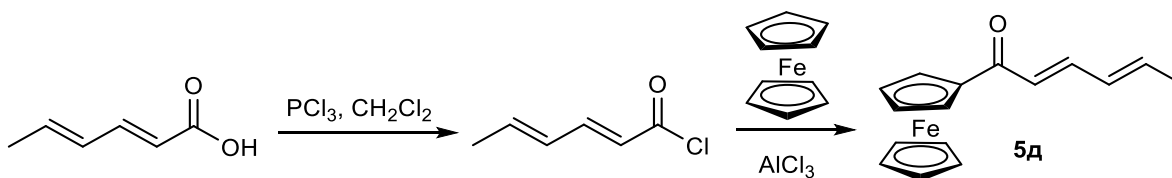


Схема 40. Синтеза кетона **5d**

Синтетисана енонска једињења **5a-h** (ацилфероцени) реагују са хидразином у присуству кључале сирћетне киселине,¹⁸⁵ формирајући нове деривате пиразолина **6a-h**, Схема 41. Структуре и приноси свих једињења дати су у Табели 8, у наставку.

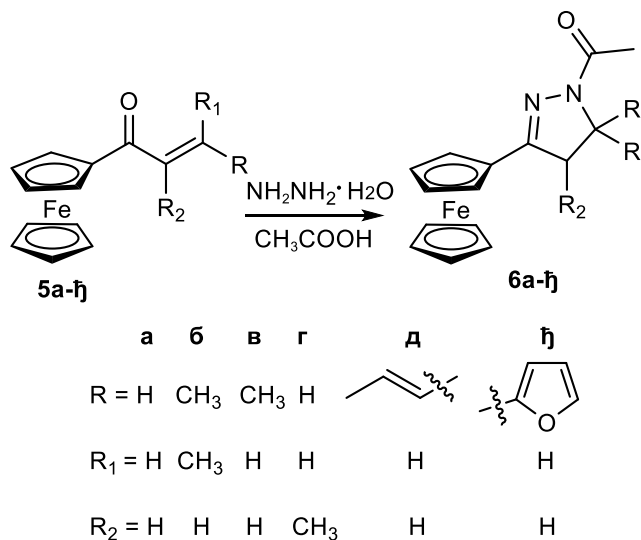
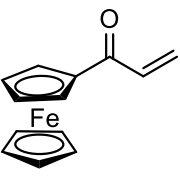
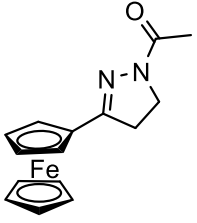
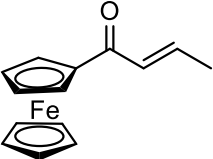
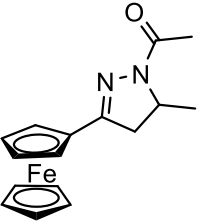
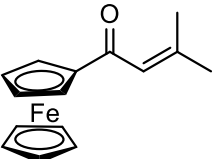
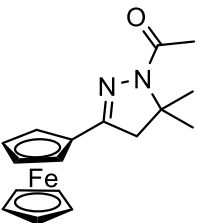
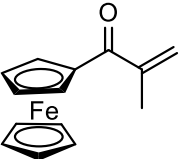
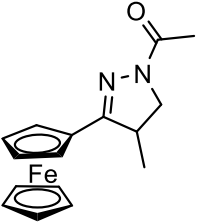
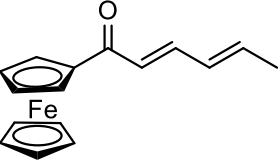
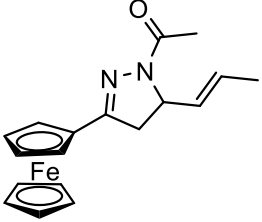
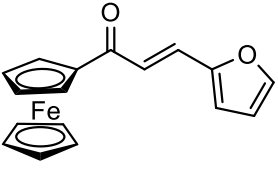
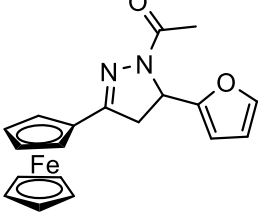


Схема 41. Реакције фероценил-кетона са хидразином у сирћетној киселини

Табела 8. Преглед структура полазних, 5а-ђ и добијених, 6а-ђ, једињења са приносима

Редни Број	Полазно једињење	Производ	Принос
1.	 <p>5a</p>	 <p>6a</p>	85%
2.	 <p>5b</p>	 <p>6b</p>	81%
3.	 <p>5c</p>	 <p>6c</p>	61%
4.	 <p>5d</p>	 <p>6d</p>	81%
5.	 <p>5e</p>	 <p>6e</p>	78%

6.	 <p style="text-align: center;">5h</p>	 <p style="text-align: center;">6h</p>	59%
----	--	---	------------

Сва синтетисана једињења окарактерисана су са IR, ^1H и ^{13}C NMR спектралним методама.

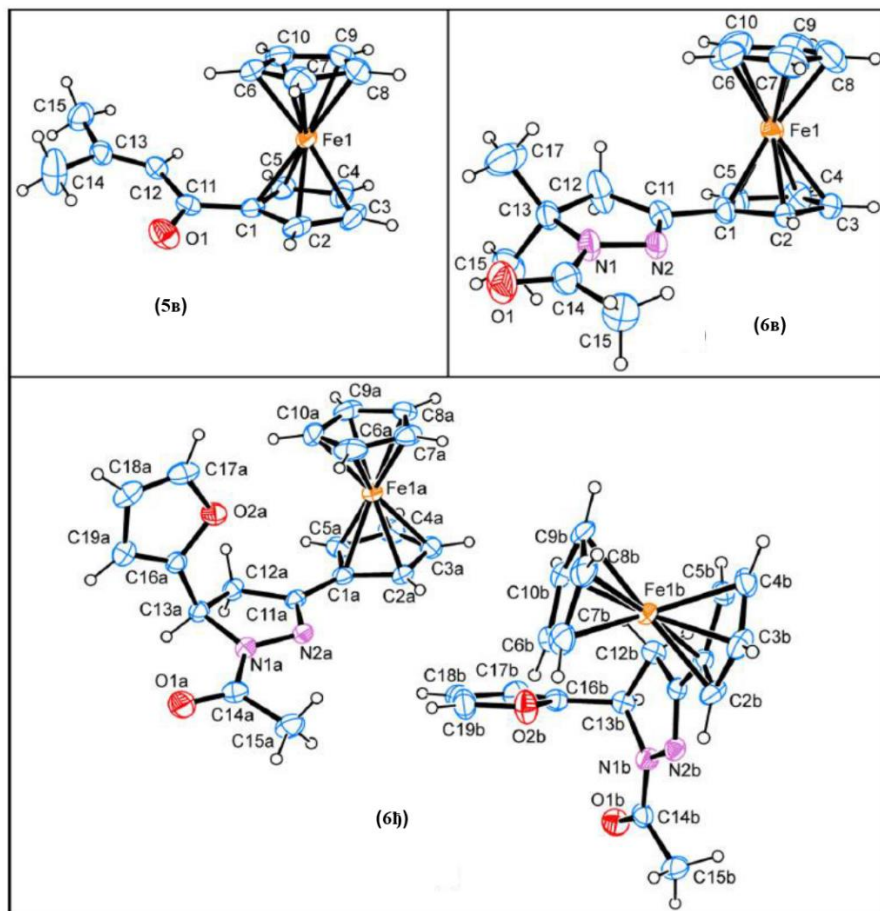
У IR спектрима синтетисаних једињења најважније је присуство оштрог сигнала који је карактеристичан за карбонилну групу и налази се у области око $1648\text{--}1655\text{ cm}^{-1}$ (CH_3CO).

У ^1H NMR спектрима значајан је сигнал у облику интензивног оштрог синглета, који потиче од протона несупституисаног циклопентадиенског прстена код молекула фероцена и у овом случају налази се у области од 4,12 до 4,21 ppm. Поред тога, присутни су сигнали који потичу од протона супституисаног фероценског прстена који се углавном налазе у облику два псеудо триплета или синглета и дублета у областима од 4,37 до 4,75 ppm. Протони који су везани за C-атоме пиразолинског прстена дају сигнале у облику синглета, дублет-дублета, триплета или мултиплета. Они се могу наћи у области од 2,70 до 4 ppm.

У ^{13}C NMR спектру уочава се сигнал који је карактеристичан за карбонилну групу и налази се на хемијском померању око 169 ppm. Приметан је и губитак сигнала који потичу од двоструке везе а налазили су се на хемијском померању око 123 и 142 ppm што указује да је извршена реакција на двострукој вези. Значајни су и сигнали који потичу од C-атома из пиразолинског прстена око 157, 60 и 50 ppm. Код ових деривата видљиво је и присуство сигнала у областима око 76, 70, 69 и 67 ppm који припадају C-атомима из моносупституисаног циклопентадиенског прстена код молекула фероцена.

2.4.1. Кристалографска анализа

Једињења **5в**, **6в** и **6h** добијена су у кристалном облику који је био погодан за рендгенску структурну анализу. Кристалне структуре једињења, укључујући шеме обележавања атома, приказане су на Слици 10, док су дужине углова и веза и изабрани геометријски параметри приказани у Табелама 9 и 10.



Слика 10. Кристалне структуре једињења **5в**, **6в** и **6ђ**

У једињењу **5в** (фероцил диметилакрилни дериват) циклопентандиенски (Ср) прстенови из фероцена имају готово еклипсну конформацију (Слика 10), са C1–Cg1–Cg2–C6 торзионим углом од $3,2^\circ$ (Cg1 и Cg2 су „центроиди“ супституисаног, односно несупституисаног Ср прстена, Табела 9 и 10). Ср прстенови показују благо међусобно нагињање, што је потврђено величином деидерског угла између њихових равни од $2,5(2)^\circ$. Растојања између Fe . . Cg су типична за моносупституисани фероцен, где је растојање Fe атома према центриду супституисаног Ср прстена краће од растојања ка центриду несупституисаног прстена (1,639 и 1,652 Å). Енонски систем везан за фероцен је у основи планаран, са стандардном девијацијом не-Н-атома од 0,027Å и највећом девијацијом код C11 атома [0,044 (2)Å]. Поред карбонилне групе C-11-O1 [1,227(2)Å], најкраћа веза која укључује не-Н-атоме у **5в** молекулу је C12-C13 веза у алифатичном фрагменту [1,331(3)Å]. Везе које укључују карбонилни C11 атом имају сличне вредности дужине [C1-C11 1,468(3) и C11-C12 1,476(3) Å] и обе су краће од дужине једноструке C-C везе (1,54 Å).

Табела 9. Одабране дужине веза (\AA) и углови веза ($^\circ$) у кристалним структурама **6в** и **6ђ**

	6в	6ђ	
		A	B
N1-N2	1,386(2)	1,400(3)	1,392(3)
N1-C13	1,492(3)	1,484(3)	1,481(3)
N1-C14	1,346(3)	1,352(3)	1,347(3)
N2-C11	1,286(3)	1,286(3)	1,285(3)
O1-C14	1,232(3)	1,222(3)	1,222(3)
C11-C12	1,485(3)	1,505(3)	1,505(3)
C12-C13	1,532(3)	1,529(3)	1,543(3)
C14-C15	1,494(3)	1,498(4)	1,499(4)
N1-N2-C11	108,1(2)	107,4(2)	107,8(2)
N1-C13-C12	100,8(2)	100,5(2)	100,6(2)
N1-C14-O1	120,7(2)	120,2(2)	120,8(2)
N2-N1-C13	112,8(2)	112,3(2)	112,9(2)
N2-C11-C12	114,4(2)	114,0(2)	114,1(2)
C11-C12-C13	103,5(2)	102,2(2)	102,3(2)

Табела 10. Геометријски параметри за интрамолекуларну C-H...O и C-H... π интеракцију у кристалним структурама **5в**, **6в** и **6ђ** (Cg1, Cg2, CG3 и Cg4 су центроиди од C1-C5, C6-C10, C16a-O2a и C16b-O2b прстена)

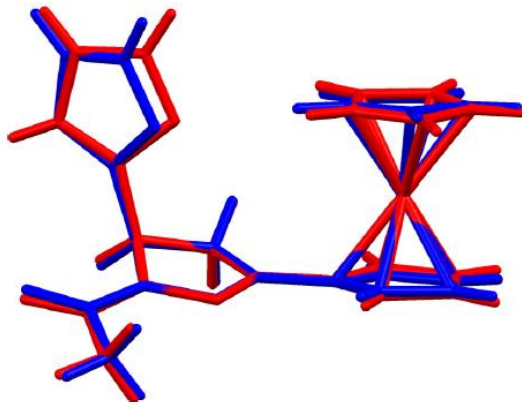
D-H...A	D-H()	H...A()	D-H...A()	Кодови симетрије
5в				
C5-H5...O1	0,93	2,45	158	x, -y + 0,5, z - 0,5
C12-H12...O1	0,93	2,49	174	x, -y + 0,5, z - 0,5
C15-H15b...Cg1	0,96	3,20	151	x + 1, y, z
C14-H14b...Cg2	0,96	3,25	131	x, y + 0,5, -z + 0,5
6в				
C3-H3...O1	0,93	2,51	128	x, y, z + 1
C16-H16c...Cg1	0,96	3,15	121	-x, -y, -z + 1
6ђ				
C18a-H18a...O1a	0,93	2,50	166	-x, -y, -z + 1
C7b-H7b...O1b	0,93	2,51	163	-x + 1, y, z
C13a-H13a...O1b	0,98	2,55	133	-x + 1, -y + 1, -z + 1
C7a-H7a...Cg3	0,93	2,73	158	-x + 1, -y + 2, -z + 1
C10b-H10b...Cg3	0,93	2,72	157	x, y - 1, z
C19a-H10a...Cg4	0,93	2,83	144	x, y + 1, z
C12a-H12a...Cg4	0,98	3,21	134	-x + 1, -y + 1, -z + 1
C15a-H15b...Cg1a	0,96	3,10	144	-x + 1, -y, -z + 1

Са Сlike 10 се може видети да код једињења **5в** готово планаран алифатични фрагмент формира са одговарајућим Ср прстеном диедарски угао који износи $23,0(2)^\circ$. Карбонилни О1 атом, као и терминалне метил групе алифатичног фрагмента, имају важну улогу у интрамолекулским интеракцијама стабилизујући кристалну структуру једињења **5в**. Због одсуства поларног донора за формирање водоничних веза, кристална паковање једињења **5в** је углавном стабилизовано slabим С-Н...О и С-Н...л интеракцијама. Циклопентадиенски прстенови фероцена из суседних молекула су скоро ортогонални и диедарски угао између њих износи $87,2^\circ$.

Једињење **6в**, Слика 10, садржи пиразолински прстен везан за један циклопентадиенски прстен фероценске јединице. Одговарајуће величине дужина веза и углова веза дате су у Табели 9. Геометрија пиразолинског прстена овог једињења је у сагласности са раније објављеним резултатима везаним за фероценил пиразолинска једињења.¹⁹²⁻¹⁹⁴

Једнострука С12-С13 веза [$1,532(3) \text{ \AA}$] је најдужа веза пиразолинског прстена, док су остале везе средње дужине, што указује на постојање делокализације π -електрона у прстену (Табела 9). Одступање не-Н атома који чине пиразолински прстен је $0,026 \text{ \AA}$, при чему је највеће одступање од средње равни примећено за С13 атом [$0,035(2) \text{ \AA}$], што доводи до формирања конформације налик коверти. Као што је и очекивано, ацетил група везана за атом N1 лежи у равни пиразолинског прстена (диедарски угао између равни износи $1,5(3)^\circ$), док атом кисеоника заузима *транс* положај у односу на пиразолински N2 атом (торзиони угао N2-N1-C14-O1 $176,4(2)^\circ$). Раван С13/С16/С17 која садржи не-Н атоме метил супституента је у ортогоналном положају у односу на пиразолински прстен ($89,5(1)^\circ$). У кристалном паковању једињења **6в** ацетил О1 атом представља најважнији акцептор Н-везе. Најкраћа С3-Н3...О1 интеракција укључује С-Н донор деформисаног Ср прстена, тако да се геометрија ове интеракције разликује за обе компоненте Ср прстена: Н3...О1 $2.51/2.33 \text{ \AA}$ и С3-Н3...О1 $126/155^\circ$. Иако показује повољније параметре, споредна компонента такође поседује и појачану стерну интеракцију између Н-атома.

Са слике 10 се види да једињење **6ђ** кристалише у облику два различита асиметрична молекула. Вредности С-С и С-Н растојања у пиразолинским прстеновима два различита облика молекула **6ђ** (А и Б, Табела 9) слажу се са вредностима које су добијене за једињење **6в**. У поређењу са једињењем **6в** пиразолински прстенови у молекулима А и Б показују нешто веће одступање саставних атома од одговарајуће средње равни (девијација од $0,083$ и $0,067$ у А и Б), са највећим одступањем уоченим код С13 атома за који је везан фурански прстен ($0,112(2)$ за С13а и $0,090(2)$ за С13б). Торзиони угао С2-С1-С11-Н2 од $-12,3(3)$ и $-18,3(3)^\circ$ у молекулима А и Б, показује да у оба случаја пиразолински прстен остаје близу нивоа супституисаног Ср прстена. Преклапање различитих облика молекула које је представљено на Слици 11 открива разлику у молекулској конформацији која углавном потиче од различите оријентације фуранских прстенова. Ово се огледа у величини торзионог угла N1-С13-С16-О2, који има вредности од $74,6(2)$ и $54,2(3)^\circ$, у молекулима А и Б. Угао између равни фуранског и супституисаног Ср прстена износи $85,1(1)$ и $75,2(1)^\circ$, док је угао између равни фуранског и пиразолинског прстена $85,1(1)$ и $87,2(1)^\circ$ у молекулу А, односно Б.



Слика 11. Преклапање кристалографски различитих молекула А (црвено обојен) и Б (плаво обојен) једињења **6h**

Конформација **6h** молекула је значајно другачија од конформације претходно описаног деривата, 3-(2-фурил)-5-фероценил-2-пиразолина,¹⁹⁴ где су фероценска група и фурански прстен везани за sp^3 и sp^2 C-атоми пиразолинског прстена. За разлику од једињења **6h**, такав распоред молекулских компоненти доводи до копланарности између пиразолинског и фуранског прстена (добијен диедарски угао од 5,7(1), док је у просеку 80,2° за **6h**) и ортогонални распоред пиразолинског и Ср прстена (добијен диедарски угао 81,4(1), док је у просеку 17° за **6h**). Кристално паковање једињења **6h** је стабилизовано сложенем мрежом C-H...O и C-H... π интеракција, Табела 10. За разлику од карбонилног акцептора O1a, акцептор O1b је укључен у C13-N13a...O1b интеракцију (Табела 10), која повезује А и Б димер у одговарајући ланац димера. Фурански прстенови из оба молекула, А и Б, служе као π акцептори у четири различите C-H... π интеракције (Табела 10) које међусобно повезују ланце димера ка 3D кристалној структури.

2.4.2. Антимикробна активност

Антимикробна активност тестираних једињења одређена је у односу на пет сојева бактерија: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Bacillus cereus* (ATCC 10987), *Escherichia coli* (ATCC 25922) и *Proteus mirabilis* (ATCC 29906) и седам врста гљива: *Aspergillus flavus* (ATCC 9170), *Aspergillus Fumigatus* (ATCC 1022), *Candida albicans* (ATCC 10259), *Penicillium italicum* (ATCC 10454) и *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533), *Geotrichum candidum* (ATCC 34614) и *Mucor mucedo* (ATCC 20094) набављених од American Type Culture Collection (ATCC).

Изолати бактерија узети су из култура гајених преко ноћи у Mueller-Hinton агару и припремљене су суспензије у стерилној дестилованој води. Замућеност суспензија дефинисана је поређењем са 0,5 McFarland-овим стандардом на око 108 CFU/mL.

Суспензије гљивица припремане су од култура старих три до седам дана које су расле на кромпировом декстрозном агару осим *C. Albicans* који је одржаван на Sabourad декстроза (SD) агару. Споре су испране стерилном дестилованом водом која се користи за одређивање замућености спектрофотометријски на 530 nm NCCLS.¹⁹⁵ Добијене суспензије биле су приближно 10⁶ CFU/ml. Микротитрациони тест за 96 места са ресазурином као индикатором за раст хелија,^{15,196} коришћен је за одређивање минималне концентрације

инхибитора (MIC) активних компоненти. Почетни раствори испитиваних једињења добијени су растварањем у 5 % DMSO. Стрептомицин и кетоконазол су коришћени за позитивну контролу. Контролни тест растварача изведен је да би се проучавао ефекат 5 % DMSO на растућим микроорганизмима. Резултати *in vitro* антибактеријских и антифунгалних активности тестираних једињења приказани су у Табелама 11 и 12.

Табела 11. Антибактеријска активност једињења **ба-ђ**, минимална инхибиторна концентрација (MIC) је изражена у mg/ml.

Једињења	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
ба	0,312	0,156	0,078	0,625	0,312
бб	0,156	0,039	0,039	0,156	0,156
бв	0,312	0,078	0,078	0,312	0,312
бг	0,312	0,078	0,078	0,312	0,312
бд	0,078	0,039	0,039	0,156	0,156
бђ	0,625	0,156	0,156	1,25	1,25
Стрептомицин	0,031	0,016	0,016	0,062	0,062

Табела 12. Антифунгална активност једињења **ба-ђ**, минимална инхибиторна концентрација (MIC) је изражена у mg/ml.

	<i>A. flavus</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>P. italicum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>G. candidum</i>	<i>M. mucedo</i>
ба	2,5	2,5	1,25	2,5	1,25	1,25	2,5
бб	0,312	0,312	0,312	0,312	0,312	0,156	0,312
бв	2,5	0,625	0,625	1,25	0,625	0,625	0,625
бг	1,25	0,625	0,625	0,625	0,312	0,625	1,25
бд	0,312	0,312	0,156	0,312	0,156	0,312	0,156
бђ	2,5	1,25	0,625	1,25	1,25	0,625	1,25
Кетоконазол	0,156	0,156	0,039	0,156	0,078	0,078	0,156

На основу тестираних бактерија из Табеле 11 може се видети да је MIC вредност за испитивана једињења у рангу од 0,039 до 2,5 mg/ml. Најосетљивије бактерије су *B. Subtilis* и *B. Cereus* где је MIC вредност од 0,039 до 0,312 mg/ml. Умерена активност примећена је код *S. Aureus* где је MIC вредност од 0,078 до 0,625 mg/ml, а највећа резистенција је била код *P. Mirabilis* и *E. Coli*. Најбоље резултате је показало једињење **бд** (сорбински дериват) који инхибира бактерије при јако ниским концентрацијама и то 0,039 mg/ml према бактеријама из реда *Bacillus* и 0,078 mg/ml према бактерији *Staphylococcus aureus*.

Антифунгално дејство је мало слабије од антибактеријског (Табела 12). MIC вредности за тестирана једињења у односу на гљиве се креће у распону од 0,156 до 5 mg/ml. Може се приметити да су *C. Albicans* и *T. Mentagrophytes* најосетљивије гљиве (MIC вредности од 0,156-1,25 mg/ml). Друге гљиве показале су осетљивост на вишим концентрацијама (MIC вредности од 0,312-5,000 mg/ml). Контрола растварача показала је да 5 % DMSO нема инхибиторски ефекат на тестиране микроорганизме.

2.5. СИНТЕЗА *N*-ФОРМИЛ И *N*-АЦЕТИЛ ФЕРОЦЕНИЛ ПИРАЗОЛИНА

Претходно је поменуто да замена ароматичног језгра код органских једињења фeroценским фрагментом може довести до добијања производа који имају јако изражене терапеутске особине.¹⁵⁷⁻¹⁵⁹ Полазећи од чињенице да неки природни производи који садрже фрагмент ванилина (куркумин, дехидрозингерон и зингерон) показују бројне биолошке активности,^{197,198} претпостављено је да ванилин може бити погодан супстрат за синтезу халкона, као и њихову даљу трансформацију.

Имајући у виду карактеристике ванилинских деривата, синтетисане су две серије деривата халкона које садрже језгро фeroцена и *O*-алкиловани ванилински фрагмент, као што је приказано на Схеми 42.

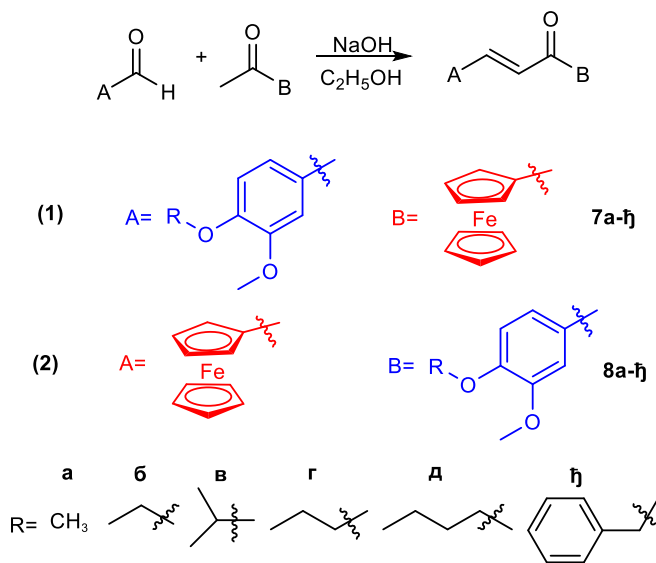


Схема 42. Синтеза халкона 7a-ђ и 8a-ђ

Прва серија халкона (1) на бази фeroцена **7a-ђ** припремљена је полазећи од моноацетилфeroцена и *O*-алкилованих деривата ванилина, док друга (2) серија **8a-ђ** има обрнути редослед фрагмената и добијена је од фeroценил карбалдехида и *O*-алкилованих деривата ацетованилона. Овако добијени халкони даље подлежу реакцији са хидразин хидратом у присуству мравље или сирћетне киселине дајући серије нових производа пиразолина, Схема 43. На овај начин настају *N*-формил и *N*-ацетил деривати 5-(4-алкокси-3-метоксифенил)-3-фeroценил-4,5-дихидро-1*H*-пиразола (**9** и **10**) и 3-(4-алкокси-3-метоксифенил)-5-фeroценил-4,5-дихидро-1*H*-пиразола (**11** и **12**), у приносу од 51-88%. Структуре синтетисаних једињења приказане су у Табели 13.

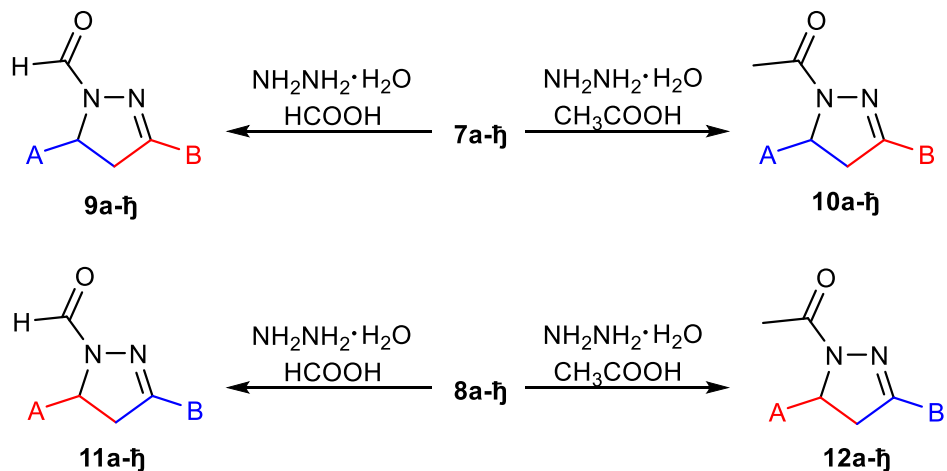
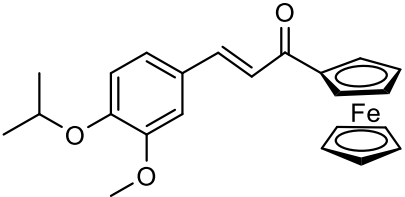
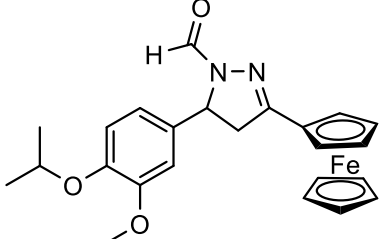
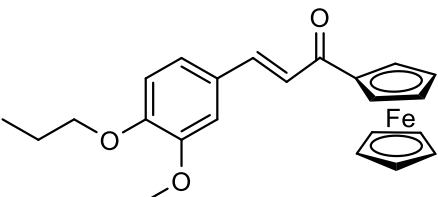
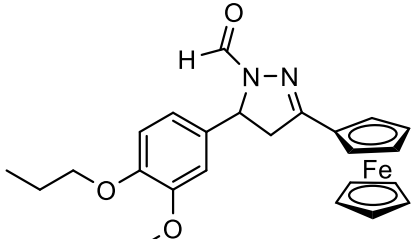
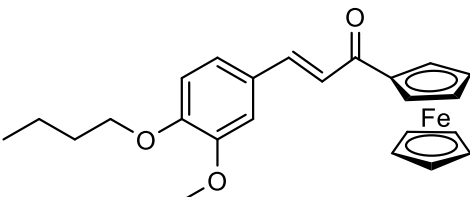
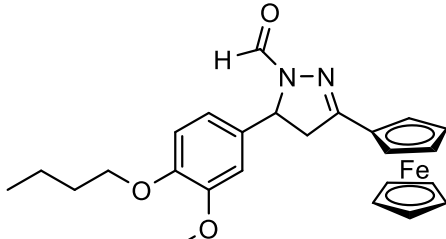
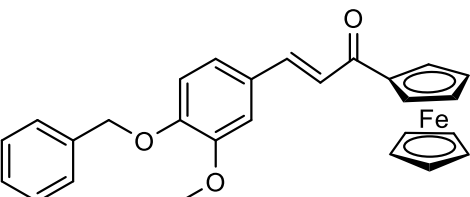
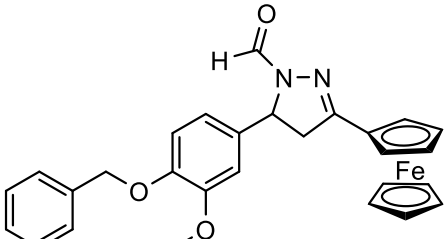
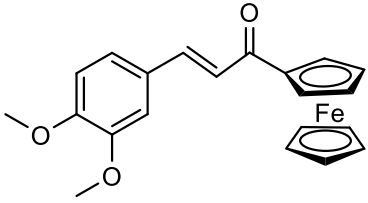
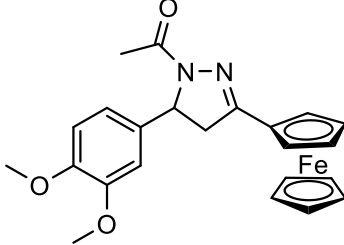
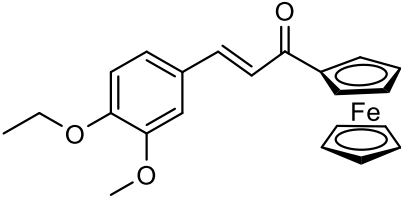
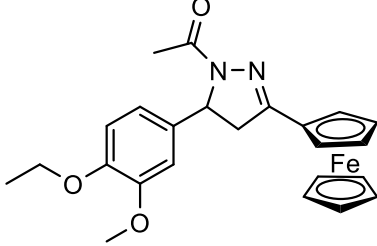
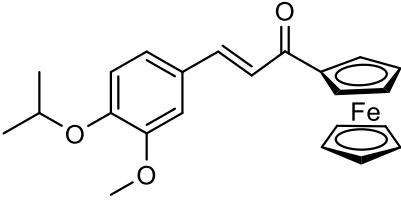
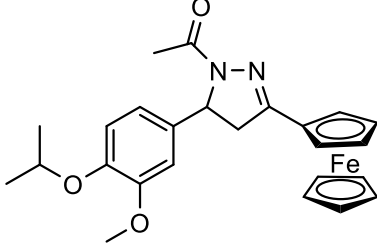
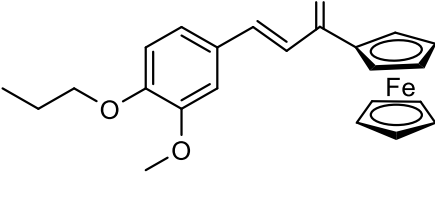
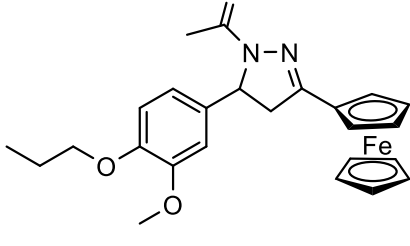


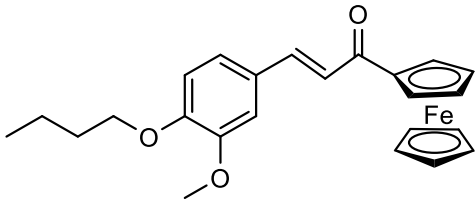
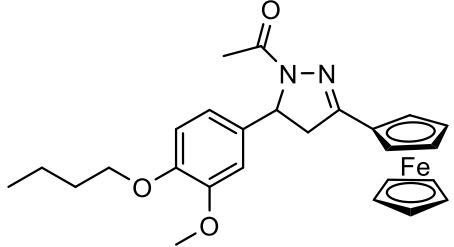
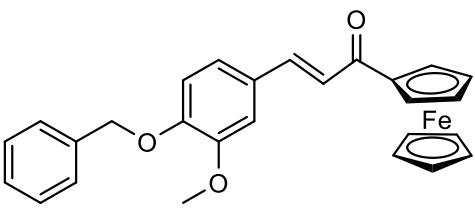
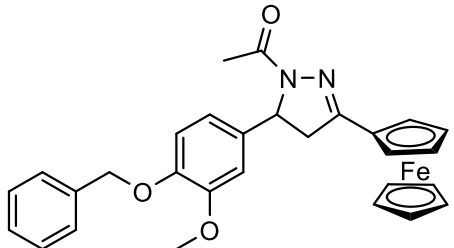
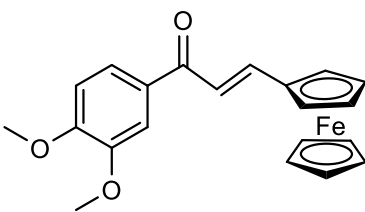
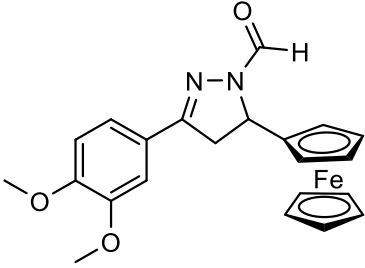
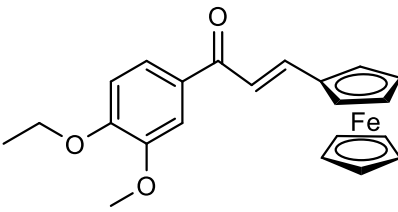
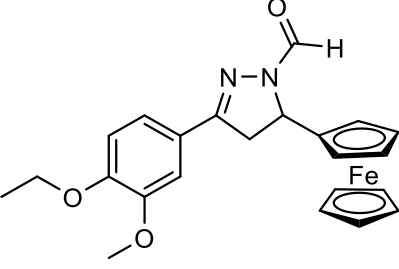
Схема 43. Синтеза пиразолинских деривата **9a-h**, **10a-h**, **11a-h** и **12a-h**

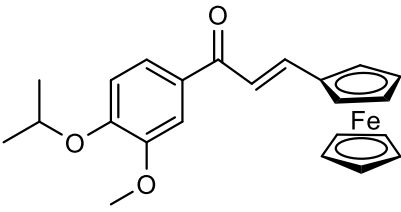
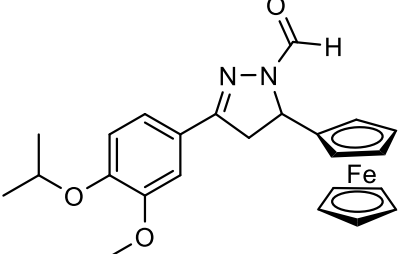
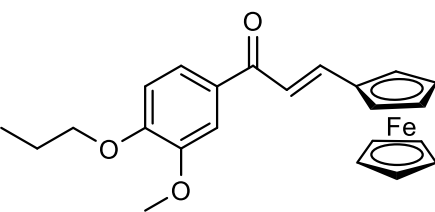
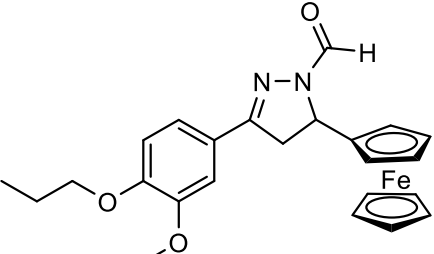
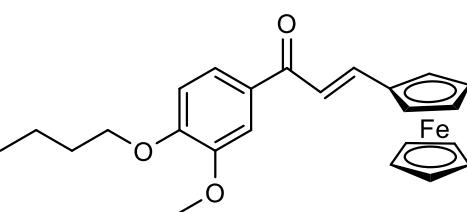
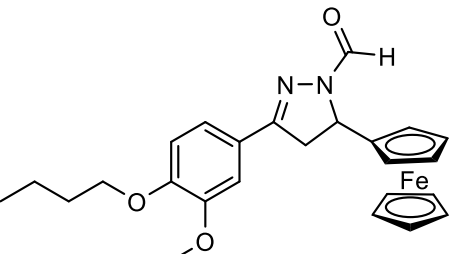
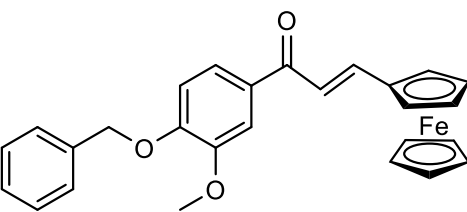
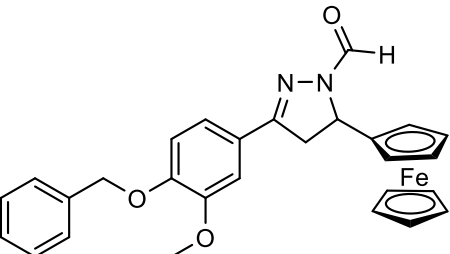
Табела 13. Преглед структура полазних, **9a-h** и **10a-h** и добијених, **11a-h** и **12a-h**, једињења са приносима

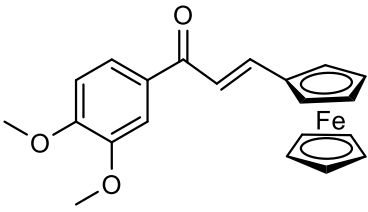
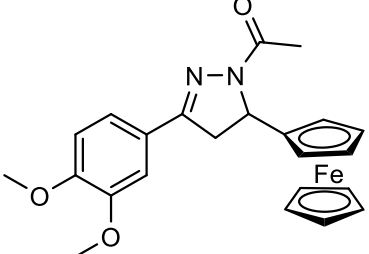
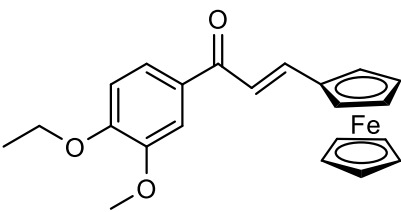
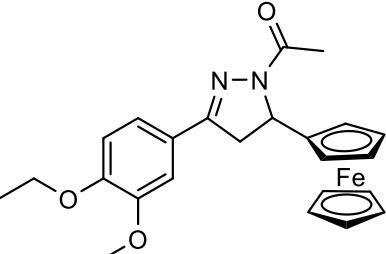
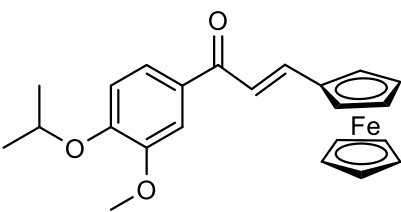
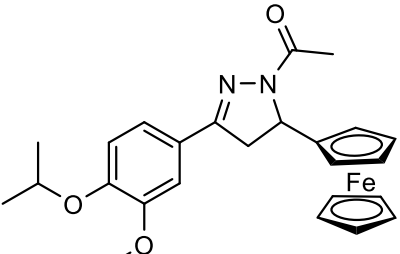
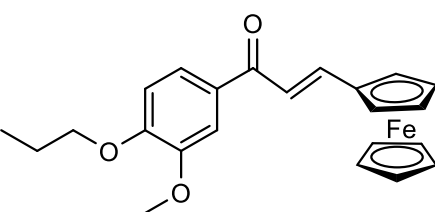
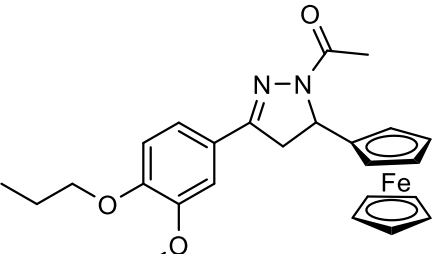
Редни број	Полазно једињење	Производ	Принос
1.	<p style="text-align: center;">7a</p>	<p style="text-align: center;">9a</p>	57%
2.	<p style="text-align: center;">76</p>	<p style="text-align: center;">96</p>	63%

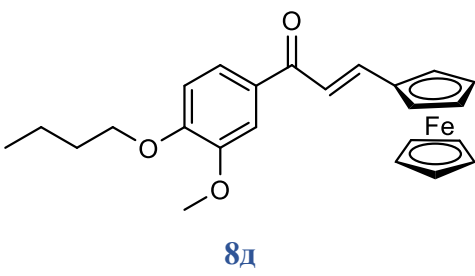
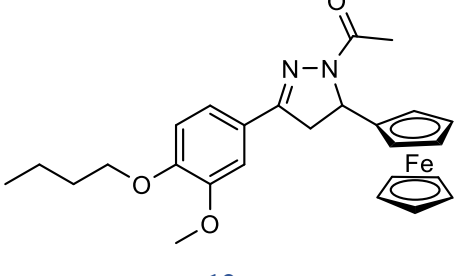
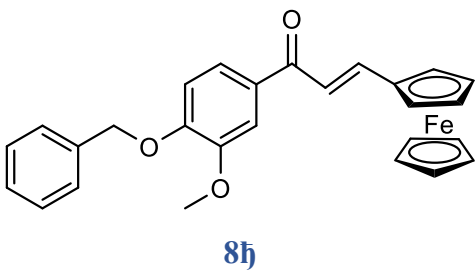
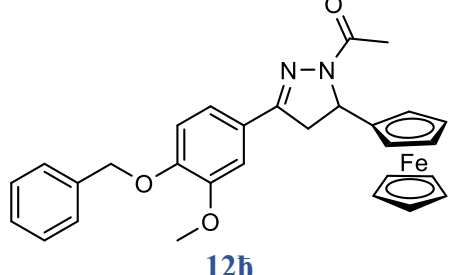
3.	 <p style="text-align: center;">7B</p>	 <p style="text-align: center;">9B</p>	54%
4.	 <p style="text-align: center;">7Г</p>	 <p style="text-align: center;">9Г</p>	64%
5.	 <p style="text-align: center;">7Д</p>	 <p style="text-align: center;">9Д</p>	77%
6.	 <p style="text-align: center;">7ђ</p>	 <p style="text-align: center;">9ђ</p>	81%

7.	 <p style="text-align: center;">7a</p>	 <p style="text-align: center;">10a</p>	56%
8.	 <p style="text-align: center;">7b</p>	 <p style="text-align: center;">10b</p>	64%
9.	 <p style="text-align: center;">7c</p>	 <p style="text-align: center;">10c</p>	51%
10.	 <p style="text-align: center;">7d</p>	 <p style="text-align: center;">10d</p>	68%

11.	 <p style="text-align: center;">7d</p>	 <p style="text-align: center;">10d</p>	67%
12.	 <p style="text-align: center;">7h</p>	 <p style="text-align: center;">10h</p>	81%
13.	 <p style="text-align: center;">8a</p>	 <p style="text-align: center;">11a</p>	60%
14.	 <p style="text-align: center;">8b</p>	 <p style="text-align: center;">11b</p>	51%

15.	 <p style="text-align: center;">8B</p>	 <p style="text-align: center;">11B</p>	70%
16.	 <p style="text-align: center;">8r</p>	 <p style="text-align: center;">11r</p>	55%
17.	 <p style="text-align: center;">8д</p>	 <p style="text-align: center;">11д</p>	57%
18.	 <p style="text-align: center;">8ђ</p>	 <p style="text-align: center;">11ђ</p>	78%

19.	 <p style="text-align: center;">8a</p>	 <p style="text-align: center;">12a</p>	57%
20.	 <p style="text-align: center;">8b</p>	 <p style="text-align: center;">12b</p>	56%
21.	 <p style="text-align: center;">8B</p>	 <p style="text-align: center;">12B</p>	60%
22.	 <p style="text-align: center;">8r</p>	 <p style="text-align: center;">12r</p>	68%

23.	 <p style="text-align: center;">8д</p>	 <p style="text-align: center;">12д</p>	79%
24.	 <p style="text-align: center;">8ђ</p>	 <p style="text-align: center;">12ђ</p>	88%

Структуре нових једињења су потврђене са IR, ^1H , ^{13}C NMR и MS спектроскопијом. У IR спектрима синтетисаних једињења најважније је присуство оштрог сигнала који је карактеристичан за карбонилну групу и налази се у области око $1645\text{--}1662\text{ cm}^{-1}$.

У ^1H NMR спектрима значајан је сигнал у облику интензивног оштрог синглета, који потиче од протона несупституисаног циклопентадиенског прстена код молекула фероцена и у овом случају се налази у области од 4,12 до 4,15 ppm. Поред тога, присутни су сигнали који потичу од протона из супституисаног фероценског прстена који се углавном налазе у облику три групе сигнала, два дублет-триплета и једног мултиплета у области од 4,17 до 4,68 ppm. Сигнали протона из метиленске групе код пиразолинског прстена јављају се у облику два дублет-дублета у области од 2,96 до 3,69 ppm.

У ^{13}C NMR спектру уочава се сигнал који је карактеристичан за карбонилну групу код ацетилованих деривата пиразолинских једињења и налази се на хемијском померању од око 159 ppm. У спектру се уочава и губитак сигнала који потичу од C-атома из двоструке везе, а налазили су се на хемијском померању око 122 и 141 ppm што указује да је извршена реакција на двострукој вези. Видљиви су и сигнали који потичу од пиразолинског прстена који се налазе на различитом хемијском померању у зависности од места везивања ванилина и фероцена за пиразолинску јединицу. Ове вредности су веће када је фероценски фрагмент везан за C=N везу пиразолинског прстена. Углавном се ови сигнали налазе у областима око 157, 60 и 40 ppm.

2.5.1. Антимикробна активност

За добијене серије једињења (**9а-ђ**, **10а-ђ**, **11а-ђ** и **12а-ђ**) испитана је антимикробна активност према одговарајућим сојевима бактерија и гљива. Антимикробна активност тестираних једињења одређена је у односу на пет сојева бактерија: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Bacillus cereus* (ATCC 10987), *Escherichia coli* (ATCC 25922) и *Proteus mirabilis* (ATCC 29906) и пет врста гљива: *Mucor mucedo* (ATCC 20094), *Aspergillus niger* (ATCC 9170), *Candida albicans* (ATCC 10259), *Penicillium italicum* (ATCC 10454) набављених од American Type Culture Collection (ATCC). Антимикробне активности једињења (**9а-ђ**, **10а-ђ**, **11а-ђ** и **12а-ђ**) према поменутиим микроорганизмима приказане су у Табелама 14 и 15.

Из Табеле 14 се може видети да испитивана једињења инхибирају све тестиране бактерије. Најбољу антибактеријску активност су показала једињења **10а** и **10ђ** према бактеријама из реда *Bacillus* (*B. Subtilis* и *B. Cereus*) чије МИС вредности износе 0,156 mg/ml.

Табела 14. Антибактеријска активност једињења **9а-ђ**, **10а-ђ**, **11а-ђ** и **12а-ђ**, вредности за МИС дате су у mg ml^{-1} . Вредност представља три репликације \pm стандардна девијација. У свим случајевима стандардна девијација је $\pm 0,001$

Тестирана једињења	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
9а	1,25	0,312	0,625	2,5	2,5
9б	1,25	0,312	0,312	1,25	2,5
9в	1,25	0,312	0,625	2,5	2,5
9г	2,5	0,625	1,25	2,5	5
9д	2,5	1,25	1,25	5	2,5
9ђ	1,25	0,625	0,312	1,25	2,5
10а	0,625	0,156	0,312	1,25	1,25
10б	2,5	0,625	1,25	2,5	5
10в	2,5	0,625	0,312	1,25	1,25
10г	1,25	0,625	0,312	2,5	2,5
10д	0,625	0,312	0,312	1,25	1,25
10ђ	0,625	0,156	0,156	0,625	1,25
11а	1,62	0,81	0,81	3,25	1,62
11б	7,5	3,25	1,62	15	7,5
11в	1,62	0,81	0,81	3,25	1,62
11г	3,25	1,62	1,62	7,5	3,25
11д	3,25	1,62	0,81	7,5	3,25
11ђ	15	3,25	3,25	15	15
12а	3,25	1,62	0,81	3,25	3,25
12б	3,25	1,62	1,62	7,5	7,5
12в	3,25	1,62	1,62	7,5	3,25
12г	7,5	3,25	3,25	15	7,5
12д	3,25	0,81	0,81	7,5	3,25
12ђ	3,25	1,62	0,81	7,5	7,5
Стрептомицин	0,031	0,016	0,016	0,062	0,062

Ова једињења инхибирају раст и тестираних гљива али при нешто вишим концентрацијама. Испитивана једињења **12б, 12г, 11б, 11г, 11д** и **11ђ** су показала активност само према појединим сојевима гљива (Табела 15), док су остала једињења инхибирала раст свих тестираних гљива. Најјача антифунгална активност примећена је код једињења **10а, 10г, 10в** и **10ђ** према гљиви *Candida albicans* (MIC вредности износе 0,625 mg/ml).

Најосетљивије бактерије су *Bacillus subtilis* и *Bacillus cereus*, а међу гљивама најосетљивија је била *Candida albicans*.

Табела 15. Антифунгална активност једињења **9а-ђ, 10а-ђ, 11а-ђ** и **12а-ђ**; вредности MIC дате су у $mg\ ml^{-1}$. Вредност представља три репликацији \pm стандардна девијација. У свим случајевима стандардна мартудевијација је $\pm 0,002$

Тестирана једињења	<i>Mucor mucedo</i>	<i>Trichoderma viride</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Penicillium italicum</i>
9а	2,5	2,5	5	1,25	5
9б	2,5	5	10	2,5	5
9в	1,25	5	5	1,25	10
9г	2,5	5	10	1,25	5
9д	5	5	5	2,5	10
9ђ	1,25	2,5	5	1,25	5
10а	1,25	2,5	5	0,625	2,5
10б	5	2,5	5	1,25	5
10в	2,5	2,5	5	0,625	2,5
10г	1,25	5	10	0,625	2,5
10д	1,25	2,5	2,5	1,25	2,5
10ђ	1,25	2,5	5	0,625	2,5
11а	7,5	3,25	15	1,62	15
11б	15	15	/	7,5	/
11в	7,5	3,25	7,5	1,62	93
11г	15	7,5	/	3,25	/
11д	15	7,5	/	3,25	/
11ђ	/	15	/	7,5	/
12а	15	7,5	15	1,62	15
12б	/	15	/	3,25	/
12в	15	7,5	/	3,25	/
12г	/	15	/	3,25	/
12д	7,5	7,5	/	1,62	/
12ђ	15	7,5	/	3,25	/
Кетоконазол	0,156	0,078	0,078	0,039	0,156

2.5.2. Интеракције са биомолекулима

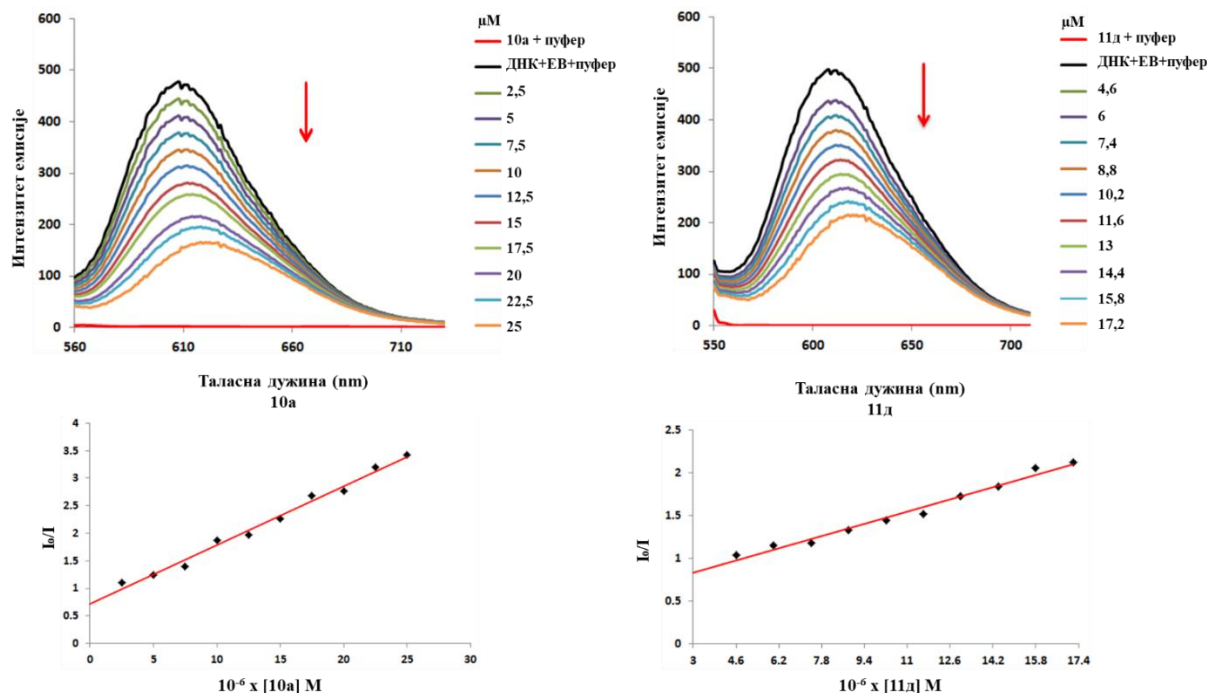
2.5.2.1. Интеракције са DNA

У научним истраживањима је велика пажња усмерена ка испитивању интеракција различитих врста молекула са DNA, услед њиховог утицаја на репликацију и транскрипцију DNA *in vivo* и мутацију гена. Деценијама уназад је анализа DNA интеракција са малим

молекулима попут лекова, органских боја и метала веома значајна тема, јер пружа врло значајне податке за дизајн и развој нових и ефикаснијих лекова који циљају DNA, тиме убрзавајући откриће и развој иновативних лекова. ¹⁹⁹ Имајући то у виду, најактивнија једињења из серије пиразолина одабрана су за детаљнија одређивања механизма њиховог биолошког деловања. У ту сврху испитана је интермолекулска деактивација комплекса формираног између етидијум бромида (ЕВ) и DNA (ЕВ-DNA) у присуству тестираних једињења **10а**, **10ђ**, **11а** и **11д**. Коришћени ЕВ поседује способност интеракције између суседних парова база које чине DNA, што за последицу има повећање посматраног интензитета флуоресценције. Ова интеракција праћена је ексцитацијом на око 260 и 280 nm и снимањем емисионих спектра у опсегу од 550 до 740 nm на 25°C (Слика 12). Примећено је да додавањем одговарајућих испитиваних једињења **10а**, **10ђ**, **11а** и **11д** долази до значајног смањења интензитета флуоресценције на 614 nm за **10а**, 610 nm за **10ђ**, 611 nm за **11а** и 613 nm за **11д**. Ово смањење интензитета се најбоље описује помоћу Stern-Volmer-ове једначине (**1**):²⁰⁰

$$I_0/I = 1 + K_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{SV} [Q] \quad (1)$$

У овој једначини I_0 и I представљају интензитет емисије у одсуству, односно присуству испитиваних једињења, $[Q]$ је укупна концентрација ових једињења, K_q је бимолекуларна константа брзине гашења, а τ_0 је просечно време постојања DNA у одсуству испитиваних једињења (10^{-8} s). K_{SV} је Stern-Volmer-ова константа гашења чије су вредности добијене са нагиба праве из графика зависности I_0/I_{vs} од $[Q]$. Емисиони спектри за сва испитивана једињења јасно показују да се интензитет флуоресценције ЕВ-DNA непрекидно смањује са повећањем концентрације испитиваних једињења, што је у случају једињења **10а** и **11д** приказано на Слици 12.



Слика 12. Горње слике: емисиони спектри *EB* везаног за *DNA* у одсуству (црне линије) и присуству растућих концентрација једињења **10a** и **11d**. Црвене линије означавају растворе: пуфер + испитивано једињење. $[EB]=25\mu M$, $[DNA]=25\mu M$; $[10a]=0-25\mu M$ и $[11d]=0-17,2\mu M$; $pH=7,4$; $\lambda_{ex}=520\text{ nm}$. Доње слике: Stern-Volmer-ови графици зависности I_0/I од $[Q]$.

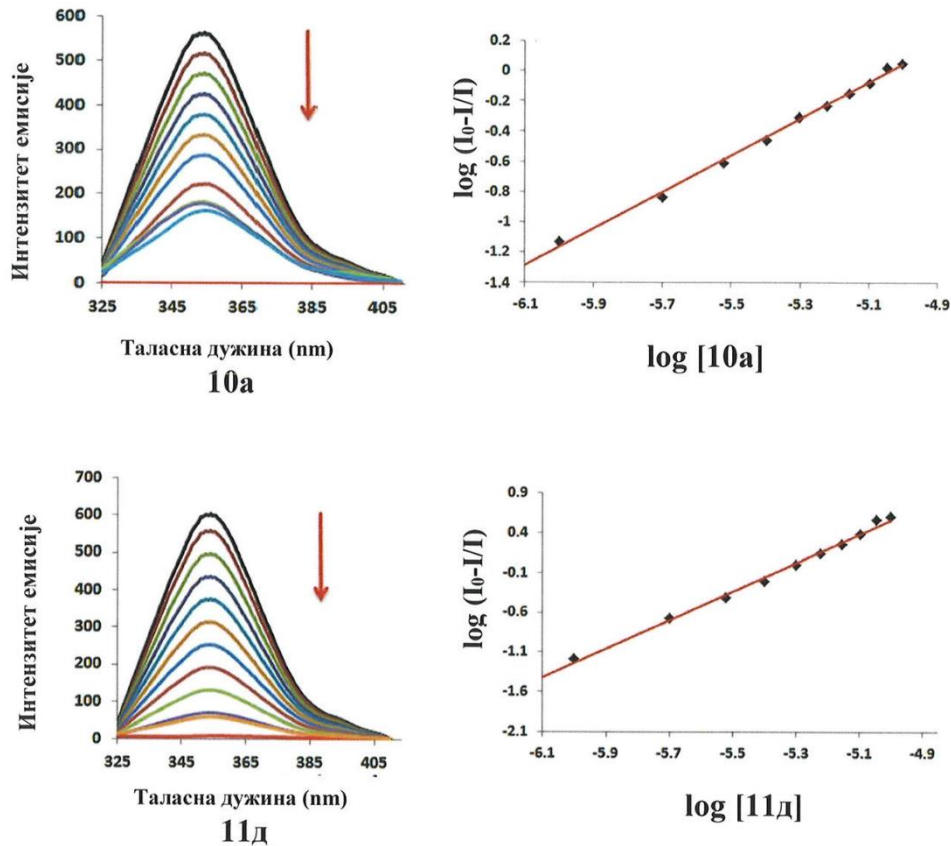
Одговарајући параметри чије вредности указују да је дошло до гашења флуоресценције приликом додатка испитиваних једињења, приказани су у Табели 16. Као што се може видети, **10a** и **11d** показују више K_{SV} вредности $(2,5 \pm 0,1) \times 10^4$ и $(2,9 \pm 0,2) \times 10^4 M^{-1}$ него **10b** и **11a**. Ово говори о њиховом високом афинитету и ефикасности у замени *EB* из *EB-DNA* комплекса.

Табела 16. Stern-Volmer-ове константе (K_{SV}) и корелациони коефицијенти (R) за испитивана једињења **10a**, **10b**, **11a** и **11d**

Тестирана једињења	$K_{SV} [M^{-1}]$	R
10a	$(2,5 \pm 0,1) \times 10^4$	0,992
10b	$(1,2 \pm 0,1) \times 10^3$	0,989
11a	$(2,1 \pm 0,1) \times 10^3$	0,990
11d	$(2,9 \pm 0,2) \times 10^4$	0,994

2.5.2.2. Интеракције са BSA

Серум албумин је један од главних протеина који чине крвну плазму и има улогу у распоређивању и транспорту различитих екзогенних и ендогенних молекула до специфичних мета.²⁰¹ Лекови и биоактивни мали молекули се везују реверзибилно за албумин и друге компоненте серума, који затим служе као носачи. Имајући у виду да ефикасност многих лекова зависи од њихове способности везивања за протеин, испитана је и могућност тестираних једињења (**10a**, **10ђ**, **11a** и **11д**) да се вежу за говеђи серум албумин (BSA). Ово испитивање је извршено снимањем емисионих флуоресцентних спектра у опсегу од 325 до 415 nm са временом инкубације од 2 h на 37°C. Праћен је интензитет флуоресценције на таласној дужини од 355 nm при различитим концентрацијама испитиваних једињења (Слика 13). Емисиони спектри показују да се интензитет флуоресценције смањује са порастом концентрације тестираних једињења, што је за једињења **10a** и **11д** приказано на Слици 13, а такође долази и до хипсохромног померања апсорпционог максимума за ~ 5 nm. Ово померање указује на то да су формирани **10a**-BSA, **10ђ**-BSA, **11a**-BSA и **11д**-BSA комплекси променили поларност околине у близини Trp-214.^{202,203}



Слика 13. Емисиони спектар BSA у одсуству (црне линије) и присуству испитиваних једињења **10a** и **11д**. Црвене линије означавају растворе: пуфер + испитивано једињење. $[BSA]=1,2 \mu M$; $[10a]$ и $[11d]=0,0, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0, 8,0, 9,0$ и $10,0 \mu M$; $pH=7,4$; $\lambda_{ex}=295 nm$. На слици десно: Stern-Volmer-ови графици зависности $\log[(I_0 - I/I)]$ од $\log[Q]$

Као што се може видети на приказаним примерима (Слика 13), интензитет флуоресценције BSA непрекидно опада са растућим концентрацијама испитиваних једињења. Линеарност графика указује на предоминантан допринос једне врсте гашења флуоресценције (динамичке или статичке) интеракцијом тестираних једињења са BSA.²⁰⁴

Смањење интензитета флуоресценције је анализирано помоћу једначине (2)²⁰⁵

$$\log(I_0-I/I) = \log K_a + n \log[Q] \quad (2)$$

где су I_0 и I интензитети емисије у одсуству, односно присуству испитиваних једињења, K_a је константа везивања за интеракцију једињења **10a**, **10ђ**, **11a** или **11д** са BSA, n је број места везивања по једном BSA молекулу, а $[Q]$ је концентрација испитиваног једињења. Дијаграм зависности $\log(I_0-I/I)$ од $\log[Q]$ приказан је на Слици 12, док су одговарајући параметри дати у Табели 17.

Табела 17. Везујући параметри (K_a и n) и корелациони коефицијент (R) за интеракцију тестираних једињења са BSA

Тестирана једињења	K_a [M]	n	R
10a	$(1,3 \pm 0,1) \times 10^4$	1,2	0,995
10ђ	$(1,9 \pm 0,1) \times 10^4$	1,1	0,989
11a	$(2,3 \pm 0,2) \times 10^6$	2,1	0,991
11д	$(3,3 \pm 0,2) \times 10^6$	1,9	0,993

Узимајући у обзир вредности добијене за n , можемо да закључимо да се испитивана једињења која садрже ванилински фрагмент и N -ацетил групу (**10a** и **10ђ**), као и једињења са ацетованилонским фрагментом и N -формил групом (**11a** и **11д**), могу везати са BSA у молском односу 1:1, односно 2:1. Вредности константе K_a опадају у редоследу **11д**, **11a**, **10ђ** и **10a**. Више вредности за одговарајуће константе K_a указују на већу стабилност комплекса **11a**-BSA и **11д**-BSA у поређењу са **10a**-BSA и **10ђ**-BSA комплексима.

3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

3.1. ОПШТЕ НАПОМЕНЕ

Реакције су извођене уз употребу хемикалија које су комерцијално доступне (фероцен, ванилин, ацетованилон, BSA, EB и PBS) и коришћени су комерцијално доступни растварачи (метилен-хлорид, толуен, етил-ацетат, хексан, етар и ацетон). Хемикалије су употребљаване без додатног пречишћавања, док су растварачи, коришћени током овог рада, дестиловани.

Танкослојна хроматографија (TLC) је извођена на алуминијумским плочама превученим слојем силика-гела дебљине 0,2 mm (Silica gel 60, Merck и Silica gel 40, F254, Merck) и на алуминијумским плочама са слојем силика-гела дебљине 0,25 mm (Silica gel 60, F-254, Sigma Aldrich), уз визуелизацију UV лампом (254 nm) или изазивањем мрља етанолским раствором анизалдехида (0,5 ml анизалдехида, 20 ml C₂H₅OH, 0,5 ml 97% H₂SO₄ и 1 ml CH₃COOH).

За пречишћавање и одвајање производа који су синтетисани у овом раду употребљена је хроматографија на стубу (колони). Колона је пуњена силика-гелом (Silica gel 60, 0,063-0,200 mm, Merck или Silica gel 60, 230-400 mesh ASTM).

Тачке топљења синтетисаних једињења одређене су на апарату *MelTemp*, модел 1001 и нису кориговане.

Инфрацрвени спектри снимани су на Perkin Elmer Spectrum One FT-IR спектрофотометру са KBr диском. Сви ¹H и ¹³C NMR спектри снимани су у CDCl₃ у односу на тетраметилсилан (TMS, δ = 0) као интерни стандард, на VarianGemini 200 MHz NMR спектрометру (200 MHz за ¹H и 50 MHz за ¹³C), а хемијска померања (δ) дата су у ppm (parts per million). Скраћенице коришћене за ¹H NMR сигнале су: s (синглет), d (дублет), t (триплет), q (квартет), m (мултиплет), dd (дублет-дублета), ddd (дублет-дублета-дублета). Константе купловања (*J*) су изражене у херцима (Hz).

Масена анализа изведена је на Waters Micromass ZQ масеном спектрометру док је за контролу и обраду података коришћен MassLynx софтвер. За анализу једињења коришћена је метода електронспреј јонизације у позитивном моду.

Промене у интензитету флуоресценције мерене су коришћењем RF-1501 PC спектрофлуорометра (Shimadzu, Japan).

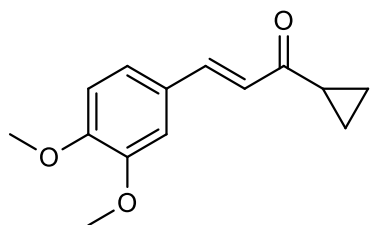
3.2. Синтеза *O*-алкил деривата ванилина и метил-циклопропил-кетона

3.2.1. Синтеза (*E*)-1-циклопропил-3-(4-алкокси-3-метоксифенил)-проп-2-ен-1-она, 2а-ђ

NaOH (3 g) се раствори у дејонизованој води (20 ml), добијени раствор охлади на 15°C, а затим се дода 96%-ни етанол (15 ml). У хладан раствор се, уз снажно мешање, додаје раствор метил-циклопропил-кетона (10 mmol у 5 ml етанола) у периоду од 30 минута, при чему се температура реакционе смеше све време одржава на испод 20°C. Одговарајући *O*-алкил ванилин (10 mmol) раствори се у 96%-ном етанолу (10 ml), а затим се уз константно мешање укапава у реакциону смешу током 6 сати. Смеша се након тога оставља у замрзивач (-20°C) преко ноћи, при чему долази до издвајања жељеног производа из 60%-ног етанола у облику талога. Формирани талог се затим процеди, испира дејонизованом водом, суши и рекристалише из 96%-ног етанола.

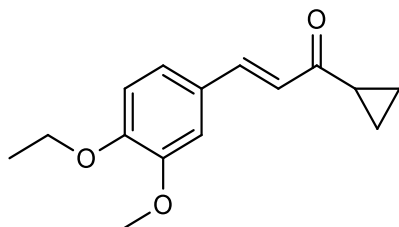
Код синтезе једињења **2а** и **2в** производи се нису могли добити у чврстом агрегатном стању. У том случају, етанол је упарен из реакционе смеше, а добијеном уљаном остатку додата је дејонизована вода (70 ml) и производ је екстрахован помоћу CH₂Cl₂ (3x50 ml). Добијени органски слој је испран дејонизованом водом и осушен изнад анхидрованог Na₂SO₄. Затим је растварач уклоњен дестилацијом на сниженом притиску, при чему жељени производ заостаје у облику чврсте прашкасте супстанце задовољавајуће чистоће.

(*E*)-1-Циклопропил-3-(3,4-диметоксифенил)-проп-2-ен-1-он (2а)



Принос: 78,2%; бела чврста супстанца; Т.Т. 89-90°C; IR (KBr): 3435, 2969, 2938, 2838, 1639, 1621, 1597, 1513, 1467, 1439, 1425, 1394, 1269, 1203, 1164, 1141, 1020, 985, 910, 875, 812, 802 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 0,91-0,99 (m, 2H), 1,12-1,19 (m, 2H), 2,19-2,31 (m, 1H), 3,92 (s, 3H), 3,93 (s, 3H), 6,77 (d, *J* = 16 Hz, 1H), 6,88 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,09-7,18 (m, 2H), 7,58 (d, *J* = 16 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 11, 19,4, 55,9, 56,0, 109,8, 111,1, 122,9, 124,6, 127,7, 142, 149,3, 151,2, 199,8.

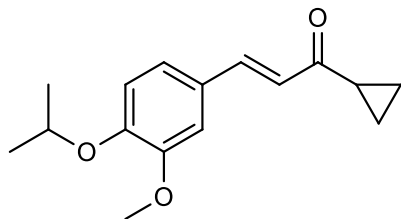
(*E*)-1-Циклопропил-3-(4-етокси-3-метоксифенил)-проп-2-ен-1-он (2б)



Принос: 76,8%; бела чврста супстанца; Т.Т. 77-78°C, IR (KBr): 3435, 3011, 2981, 2923, 2874, 1645, 1620, 1596, 1512, 1471, 1425, 1392, 1314, 1265, 1231, 1204, 1177, 1165, 1149, 1034, 983, 904, 869, 800 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 0,91-0,99 (m, 2H), 1,11-1,19 (m, 2H), 1,49 (t, *J* = 7 Hz, 3H), 2,19-2,31 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 4,14 (q, *J* = 7 Hz, 2H), 6,76 (d, *J* = 16 Hz, 1H), 6,87 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7,10-7,15 (m, 2H), 7,57 (d, *J* = 16 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 10,9, 14,6, 19,3, 55,9, 64,3, 110,1, 112,2, 122,8, 124,4, 127,4, 142, 149,4, 150,6, 199,7.

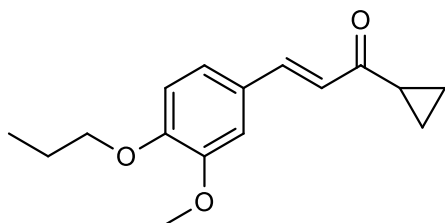
(E)-1-Циклопропил-3-(3-метокси-4-изопропоксифенил)-проп-2-ен-1-он (2в)

Принос: 74,6%; бела чврста супстанца; Т.Т. 56-57°C, IR (KBr): 3435, 3004, 2983, 2938, 1645, 1595, 1509, 1461, 1424, 1395, 1385, 1315, 1265, 1232, 1207, 1165, 1152, 1112, 1087, 1034, 985, 946, 906, 874, 820 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 0,91-1,00 (m, 2H), 1,12-1,19 (m, 2H), 1,40 (d, *J* = 6 Hz, 6H), 2,17-2,31 (m, 1H), 3,89 (s, 3H), 4,53-4,67 (m, 1H), 6,76 (d, *J* = 16 Hz, 1H), 6,89 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,10-7,15 (m, 2H), 7,57 (d, *J* = 16 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 11, 19,4, 22, 56, 71,3, 110,7, 114,6, 122,7, 124,5, 127,6, 142,1, 149,8, 150,4, 199,8.



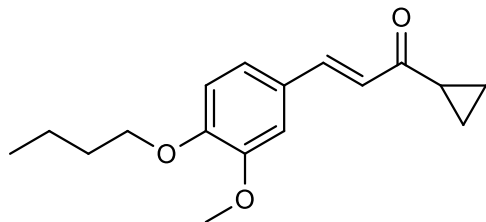
(E)-1-Циклопропил-3-(3-метокси-4-пропоксифенил)-проп-2-ен-1-он (2г)

Принос: 58,5%; бела чврста супстанца; Т.Т. 61°C; IR (KBr): 3436, 2961, 2946, 2932, 2871, 1671, 1606, 1595, 1510, 1466, 1424, 1390, 1261, 1233, 1196, 1165, 1143, 1100, 1090, 1006, 806 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 0,91-1,00 (m, 2H), 1,05 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H), 1,12-1,19 (m, 2H), 1,79-1,89 (m, 2H), 2,19-2,31 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 4,02 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 6,76 (d, *J* = 16 Hz, 1H), 6,87 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,10-7,16 (m, 2H), 7,57 (d, *J* = 16,2 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 10,3, 11, 11,1, 19,3, 56, 110,3, 112,4, 122,9, 124,4, 127,4, 142,1, 149,6, 150,9, 199,8.



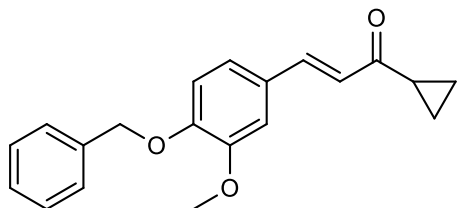
(E)-1-Циклопропил-3-(3-метокси-4-бутоксифенил)-проп-2-ен-1-он (2д)

Принос: 58,5%; бела чврста супстанца; Т.Т. 57-59°C, IR (KBr): 2961, 2937, 2872, 1647, 1620, 1596, 1512, 1464, 1425, 1393, 1261, 1230, 1178, 1165, 1143, 1032, 984, 903, 799 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 0,91-1,07 (m, 2H), 0,98 (t, 3H, *J* = 7,2 Hz), 1,13-1,28 (m, 2H), 1,41-1,59 (m, 2H), 1,77-1,92 (m, 2H), 2,19-2,31 (m, 1H), 3,90 (s, 3H), 4,06 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 6,76 (d, *J* = 16 Hz, 1H), 6,87 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7,10-7,15 (m, 2H), 7,57 (d, *J* = 16,2 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 10,9, 13,8, 19,1, 19,3, 31, 55,9, 68,7, 110,3, 112,4, 122,9, 124,4, 127,4, 142,1, 149,5, 150,9, 199,8.



(E)-1-Циклопропил-3-(4-бензилокси-3-метоксифенил)проп-2-ен-1-он (2ж)

Принос: 80,2%; бела чврста супстанца; Т.Т. 110-111°C, IR (KBr): 3436, 3064, 3038, 3000, 2906, 2864, 1636, 1596, 1511, 1468, 1450, 1398, 1349, 1315, 1269, 1230, 1204, 1167, 1141, 1085, 1022, 971, 908, 807, 744, 732, 697, 565 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 0,89-0,99 (m, 2H), 1,11-1,18 (m, 2H), 2,17-2,29 (m, 1H), 3,92 (s, 3H), 5,18 (s, 2H), 6,75 (d, *J* = 16 Hz, 1H), 6,87 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,04-7,11 (m, 2H), 7,29-7,46 (m, 5H), 7,55 (d, *J* = 16 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 11, 19,4, 56, 70,8, 110,4, 113,5, 122,7, 124,7, 127,2, 128, 128,6, 136,5, 141,9, 149,8, 150,3, 199,8.



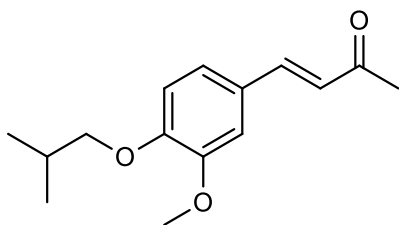
3.3. Синтеза 1-ацетил деривата циклопропана

3.3.1. Синтеза 4-(4-алкокси-3-метоксифенил)-бут-3-ен-2-они, 3а-и

Смеша дехидрозингерона (1,92 g, 10 mmol), одговарајућег алкил-халогенида (30 mmol) и K_2CO_3 (7 g, анхидровани) у 60 ml ацетона рефлуктује се током ноћи на пешчаном купатилу. Упари се ацетон на вакуум упаривачу и добро извакуира. Добијеном чврстом остатку се дода вода и дестилацијом воденом паром уклони вишак неизреагованог алкил халогенида. Након хлађења водена смеша се екстрахује са CH_2Cl_2 (3 x 50ml), органски слој се испере са водом и суши анхидрованим Na_2SO_4 . Након упаравања растварача добијају се беле кристалне супстанце осим у случају једињења **3д** и **3и** који су изоловани као жуте уљасте супстанце.

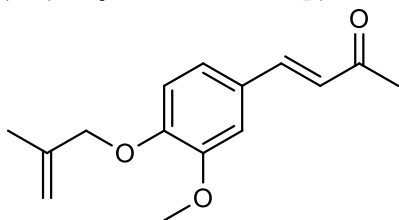
Спектрални подаци за поменута једињења су познати од раније док су изобутил дериват (**3д**) и металил дериват (**3и**) новосинтетисана једињења.

(3E)-4-[3-Метокси-4-(2-метилпропокси)фенил]-бут-3-ен-2-он (3д)



Принос: 66%; жута уљаста супстанца; IR (KBr): 2956, 1665, 1583, 1518, 1422, 1255, 1138, 1022 cm^{-1} . 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$): δ 1,06 (d, $J = 6,6$ Hz, 6H), 2,05-2,25 (m, 1H), 2,37 (s, 3H), 3,81 (d, $J = 6,8$ Hz, 2H), 3,89 (s, 3H), 6,59 (d, $J = 16,2$ Hz, 1H), 6,84-7,12 (m, 3H), 7,46 (d, $J = 16,2$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$): δ 19,2, 27,2, 28,1, 56,1, 75,4, 110,6, 112,7, 122,9, 125,1, 127,1, 143,6, 149,7, 151,3, 198,3 (CO).

(3E)-4-{3-Метокси-4-[(2-метилпроп-2-ен-1-ил)окси]фенил}-бут-3-ен-2-он (3и)



Принос: 62%; жута уљаста супстанца; IR (KBr): 2979, 1665, 1641, 1593, 1517, 1424, 1263, 1168, 1144, 1032, 980 cm^{-1} . 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$): δ 1,83 (s, 3H), 2,37 (s, 3H), 3,91 (s, 3H), 4,56 (s, 2H), 5,00-5,09 (m, 2H), 6,59 (d, $J = 16,2$ Hz, 1H), 6,86 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,05-7,11 (m, 2H), 7,45 (d, $J = 16,4$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$): δ 19,2, 27,2, 55,9, 72,5, 110,3, 112,9, 113,1, 122,7, 125,2, 127,5, 140,2, 143,4, 149,7, 150,6,

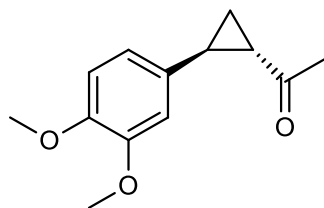
198,1 (CO).

3.3.2. Синтеза 1-ацетил-2-(4-алкокси-3-метоксифенил)циклопропана, 4а-и

Припрема илида: Суспензији NaH (3 mmol, 0,15 g, 50 % уљаста суспензија) се дода DMSO (3 ml), а потом и триметилхлосулфоксонијум јодид (3,3 mmol, 0,726 g) уз мешање на собној температури у атмосфери азота.

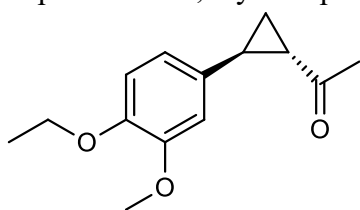
У раствор одговарајућег енона (3 mmol, **3а-и**) у DMSO-у (5 ml) додаје се раствор илида (претходно свеже припремљен) уз константно мешање и уз хлађење у воденом купатилу. Након тога раствор се остави да се меша на собној температури 2 сата, а потом се благо загрева (око 50°C) 1 сат на пешчаном купатилу. Добијеном раствору дода се око 20 ml раставарача (смеша толуен:EtOAc = 95:5), а затим се добијена смеша изручи у хладну воду и екстрахује органски слој. По упаравању растварача заостаје жута уљаста супстанца. Производи се одвајају на колони, користећи смешу хексан:EtOAc = 7:3, као елуент.

1-[2-(3,4-Диметоксифенил)циклопропил]-етанон (**4а**)



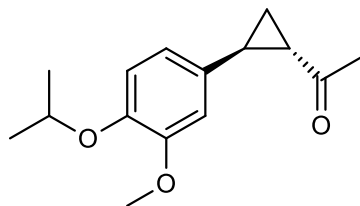
Принос: 68%; жута чврста супстанца; Т.Т. 63-64°C; IR (KBr): 3001, 2835, 1695, 1608, 1590, 1519, 1397, 1258, 1236, 1141, 1028, 968 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1,35 (ddd, *J* = 4,2, 6,8, 8,2 Hz, 1H), 1,64 (ddd, *J* = 4,2, 5,2, 9,2 Hz, 1H), 2,17 (ddd, *J* = 4,0, 5,2, 8,2 Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,49 (ddd, *J* = 4,0, 6,8, 9,0 Hz, 1H), 3,85 (s, 3H), 3,87 (s, 3H), 6,62-6,66 (m, 2H), 6,79 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 18,7, 28,7, 30,6, 32,6, 55,8, 55,9, 109,9, 111,3, 117,8, 132,7, 147,8, 148,9, 206,6 (CO). ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) 220 (14%), 177 (42%), 164 (10%), 151 (15,5%), 138 (8%), 91 (61%).

1-[2-(4-Етокси-3-метоксифенил)циклопропил]-етанон (**4б**)



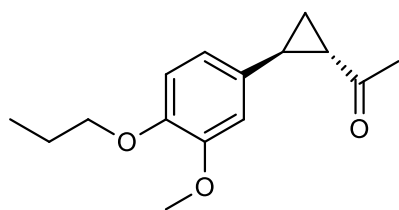
Принос: 69%; жута чврста супстанца; Т.Т. 65-6 °C; IR (KBr): 3004, 2933, 1689, 1609, 1589, 1520, 1399, 1266, 1231, 1140, 1037, 965, 846 cm⁻¹. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1,35 (ddd, *J* = 4,0, 6,8, 8,2 Hz, 1H), 1,44 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H), 1,63 (ddd, *J* = 4,0, 5,0, 9,0 Hz, 1H), 2,16 (ddd, *J* = 4,0, 5,0, 8,2 Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,48 (ddd, *J* = 4,0, 6,8, 9,0 Hz, 1H), 3,86 (s, 3H), 4,07 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 6,58-6,63 (m, 2H), 6,79 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 14,7, 18,8, 28,8, 30,7, 32,7, 55,8, 64,3, 110,1, 112,8, 117,8, 132,7, 147, 149,2, 206,8 (CO). ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) 234 (17%), 191 (33%), 189 (26%), 165 (28%).

1-[2-[3-Метокси-4-(пропан-2-илокси)фенил]циклопропил]-етанон (**4в**)



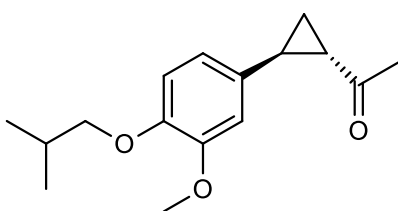
Принос: 70%; жута уљаста супстанца; IR (KBr): 2976, 2935, 1697, 1607, 1586, 1515, 1397, 1385, 1259, 1230, 1139, 1112, 1038, 48 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1,35 (ddd, *J* = 4,2, 6,8, 8,4 Hz, 1H), 1,33 (d, *J* = 6,2, 6H), 1,64 (ddd, *J* = 4,4, 5,4, 9,4, 1H), 2,18, (ddd, *J* = 4,2, 5,2, 8,2 Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,48 (ddd, *J* = 4,2, 6,8, 9,0 Hz, 1H), 3,84 (s, 3H), 4,41-4,53 (m, 1H), 6,57-6,65 (m, 2H), 6,81 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 18,8, 22, 28,8, 30,6, 32,7, 55,9, 71,6, 110,6, 116,4, 117,8, 133,3, 146, 150,5, 206,7 (CO). ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) 248 (17%), 206 (81%), 189 (100%), 163 (68%), 157 (26%), 137 (24%).

1-[2-(3-Метокси-4-пропоксифенил)циклопропил]-етанон (4г)



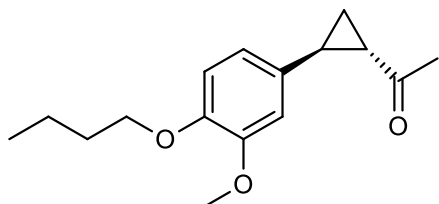
Принос: 79%; жута чврста супстанца; Т.Т. 48-49°C, IR (KBr): 2967, 2940, 1683, 1610, 1588, 1521, 1389, 1260, 1237, 1136, 1017, 975, 843 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1,03 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H), 1,33 (ddd, *J* = 4,4, 6,6, 8,2 Hz, 1H), 1,64 (ddd, *J* = 4,0, 5,2, 9,2 Hz, 1H), 1,76-1,92 (m, 2H), 2,17 (ddd, *J* = 4,0, 5,2, 8,2 Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,48 (ddd, *J* = 4,0, 6,6, 9,2 Hz, 1H), 3,85 (s, 3H), 3,95 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 6,58-6,64 (m, 2H), 6,79 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 10,3, 18,7, 22,4, 28,8, 30,6, 32,7, 55,9, 70,6, 110,4, 113,2, 117,9, 132,7, 147,3, 149,4, 206,7 (CO). ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) 248 (13%), 205 (53%), 189 (48%), 163 (33%).

1-[2-[3-Метокси-4-(2-метилпропокси)фенил]циклопропил]-етанон (4д)



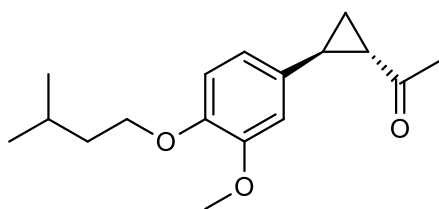
Принос: 53%; жута чврста супстанца; Т.Т. 50-51°C, IR (KBr): 2959, 2906, 1684, 1588, 1522, 1389, 1258, 1234, 1025, 976, 844 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1,02 (d, *J* = 6,6 Hz, 6H), 1,34 (ddd, *J* = 4,4, 6,8, 8,2 Hz, 1H), 1,64 (ddd, *J* = 4,4, 5,2, 9,2 Hz, 1H), 2,14 (ddd, *J* = 4,0, 5,2, 8,2 Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,48 (ddd, *J* = 4,0, 6,8, 9,2 Hz, 1H), 3,74 (d, *J* = 7,0 Hz, 2H), 3,85 (s, 3H), 6,59-6,63 (m, 2H), 6,79 (d, *J* = 8,0, 1H), ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 18,8, 19,2, 28,1, 28,8, 30,7, 32,7, 56,2, 75,8, 110,9, 113,6, 118, 132,8, 147,8, 149,6, 206,7 (CO). ESI-MS (10 eV): *m/z* (%) 263 (100%, [M + 1]⁺).

1-[2-(4-Бутокси-3-метоксифенил)циклопропил]-етанон (4ђ)



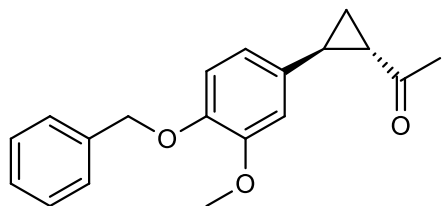
Принос: 52%; жута чврста супстанца; Т.Т. 55-56°C, IR (KBr): 2961, 2872, 1685, 1609, 1589, 1523, 1390, 1259, 1236, 1134, 1033, 1025, 979, 843 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 0,97 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H), 1,32 (ddd, *J* = 4,0, 6,8, 8,2 Hz, 1H), 1,39-1,54 (m, 2H), 1,63 (ddd, *J* = 4,2, 5,2, 9,2 Hz, 1H), 1,74-1,88 (m, 2H), 2,16 (ddd, *J* = 4,2, 5,4, 8,4 Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,48 (ddd, *J* = 4,0, 6,6, 9,2 Hz, 1H), 3,85 (s, 3H), 3,99 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 6,58-6,63 (m, 2H), 6,79 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 13,8, 18,7, 19,1, 28,8, 30,7, 31,2, 32,7, 56, 68,9, 110,5, 113,2, 117,9, 132,7, 147,4, 148,4, 206,7 (CO). ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) 263 (11%, [M + 1]⁺), 219 (16%), 207 (19%), 89 (72%), 157 (24,5%).

1-[2-[3-Метокси-4-(3-метилбутокси)фенил]циклопропил]-етанон (4е)



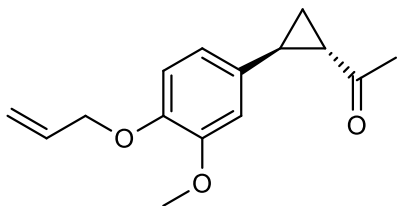
Принос: 78%, жута чврста супстанца; Т.Т. 74-75°C. IR (KBr): 2954, 2868, 1682, 1587, 1521, 1387, 1255, 1237, 1136, 1025, 979, 850 cm⁻¹. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 0,96 (d, *J* = 6,4 Hz, 6H), 1,34 (ddd, *J* = 4,2, 6,8, 8,2 Hz, 1H), 1,59-1,86 (m, 4H), 2,16 (ddd, *J* = 4,0, 5,2, 8,2 Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,48 (ddd, *J* = 4,0, 6,6, 9,0 Hz, 1H), 3,85 (s, 3H); 4,01 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 6,59-6,63 (m, 2H), 6,80 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H). ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 18,8, 22,6, 25,1, 28,8, 30,7, 32,7, 37,9, 56,1, 67,7, 110,5, 113,3, 117,9, 132,8, 147,5, 149,5, 206,8 (CO). ESI-MS (10 eV): *m/z* (%) 277 (100%, [M + 1]⁺).

1-{2-[4-(Бензилокси)-3-метоксифенил]циклопропил}-етанон (4ж)



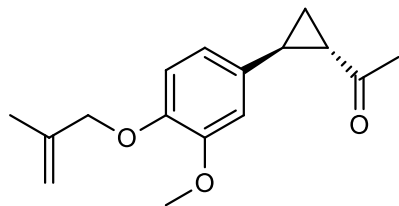
Принос: 82%; жута чврста супстанца; Т.Т. 101-102°C: IR (KBr): 2935, 2860, 1689, 1605, 1588, 1518, 1388, 1378, 1254, 1230, 1003, 927, 846 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,31 (ddd, $J = 4,2, 6,8, 8,2$ Hz, 1H), 1,63 (ddd, $J = 4,4, 5,2, 9,4$ Hz, 1H), 2,15 (ddd, $J = 4,2, 5,2, 8,2$ Hz, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,49 (ddd, $J = 4,0, 6,6, 9,0$ Hz, 1H), 3,87 (s, 3H), 5,12 (s, 2H), 6,52-6,66 (m, 2 H), 6,78 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,25-7,44 (m, 5H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 18,9, 28,8, 30,7, 32, 56, 71,2, 110,6, 114,4, 117,8, 127,2, 127,7, 128,4, 133,5, 137,2, 146,9, 149,7, 206,7 (CO). ESI-MS (40 eV): m/z (%) 297 (7%, $[\text{M} + 1]^+$), 253 (20,5%), 219 (23,5%), 205 (44,5%), 189 (37%), 158 (16,5%), 91 (53%).

1-{2-[3-Метокси-4-(проп-2-ен-1-илокси)фенил]циклопропил}-етанон (4з)



Принос: 69%; жута уљаста супстанца; IR (KBr): 2923, 1695, 1590, 1517, 1396, 1257, 1230, 1141, 1023, 929 cm^{-1} . ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,34 (ddd, $J = 4,2, 6,6, 8,2$ Hz, 1H), 1,64 (ddd, $J = 4,2, 5,2, 9,2$, 1H), 2,16 (ddd, $J = 4,0, 5,2, 8,2$, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,48 (ddd, $J = 4,0, 6,6, 9,2$ Hz, 1 H), 3,86 (s, 3H), 4,56-4,60 (m, 2H), 5,24-5,44 (m, 2H), 5,97-6,14 (m, 1H), 6,58-6,65 (m, 2H), 6,79 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 18,8, 28,7, 30,7, 32,7, 55,9, 70, 110,4, 113,7, 117,8, 133,2, 133,3, 146,8, 149,5, 206,7 (CO). ESI-MS (10 eV): m/z (%) 247 (100%, $[\text{M} + 1]^+$).

1-(2-{3-Метокси-4-[(2-метилпроп-2-ен-1-ил)окси]фенил}циклопропил)-етанон (4и)



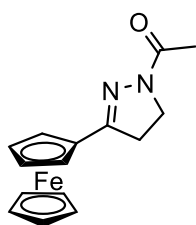
Принос: 72%; жута уљаста супстанца; IR (KBr): 2922, 1694, 1591, 1516, 1393, 1264, 1229, 1139, 1035, 903 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,34 (ddd, $J = 4,2, 6,8, 8,2$ Hz, 1H), 1,62 (ddd, $J = 4,2, 5,0, 9,6$ Hz, 1H), 1,81 (s, 3H), 2,16 (ddd, $J = 4,0, 5,2, 8,2$ Hz, 1H), 2,30 (s, 3H); 2,48 (ddd, $J = 4,0, 6,6, 9,2$ Hz, 1H), 3,86 (s, 3H), 4,48 (s, 2H), 5,02 (d, $J = 20,0$ Hz, 2H), 6,56-6,65 (m, 2H), 6,79 (d, $J = 8,2$ Hz, 1 H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 18,7, 19,2, 28,7, 30,6, 32,6, 55,9, 72,8, 110,5, 112,5, 113,9, 117,8, 133,1, 140,8, 147, 149,5, 206,6 (CO). ESI-MS (10 eV): m/z (%) 261 (100%, $[\text{M} + 1]^+$).

3.4. Синтеза пиразолинских деривата акрил супституисаних фeroценил кетона

3.4.1. Синтеза пиразолинских деривата (6a-6j).

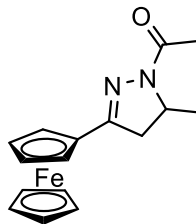
У раствор халкона **5a-h** (10 mmol) и сирћетне киселине (10 ml) дода се хидразин монохидрат (1,25 ml, 25 mmol) и реакциона смеша се загрева уз рефлукс око 3 сата. Растварач се затим упари на вакуум упаривачу. Обојеном остатку у балону дода се хладна вода (50 ml). Производи се екстрахују из реакционе смеше са толуеном или смешом толуен:ЕтОAc = 95:5. Након упаравања растварача, заостаје уљаста остатак, који се потом раствори у метилен-хлориду и пропусти кроз колону (напуњену силикагелом) ради пречишћавања. По поновном упаравању растварача заостаје уљаста супстанца. Од добијеног уља може се добити чврста супстанца кристализацијом из етра. Том приликом добијају се и кристали који су били погодни за рендгенско-структурну анализу. Једино једињења **6b** и **6d** остају у облику уљасте супстанце и након додавања етра.

1-(3-Фероценил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-ил)-етанон (6a)



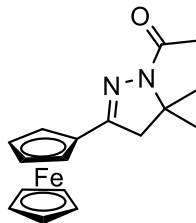
Принос 85%; наранџаста кристална супстанца; Т.Т. 184-185°C; IR (KBr): 3085, 1650, 1502, 1418, 1311, 1104, 1029, 1011 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 2,33 (s, 3H), 3,10 (t, $J = 9,8$ Hz, 2H), 3,96 (t, $J = 10,4$ Hz, 2H), 4,18 (s, 5H), 4,39 (t, $J = 1,8$ Hz, 2H), 4,61 (t, $J = 2,0$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 21,4, 33, 43,3, 67,3, 69,4, 70,2, 75,4, 157,3, 168,5 (CO). ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 296 (100%) $[\text{M}]^+$, 254 (35%), 185 (12%), 121 (39%), 43 (7%).

1-(5-Метил-3-фероценил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-ил)-етанон (6b)



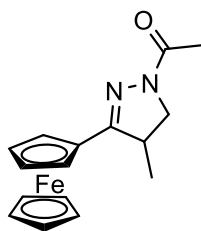
Принос 81,2%; црвено-наранџаста уљаста супстанца; IR: 3086, 1648, 1498, 1413, 1314, 1106, 1027, 1006 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,38 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H), 2,31 (s, 3H), 2,65 (dd, $J = 17,2, 3,8$ Hz, 1H), 3,32 (dd, $J = 16,8, 10,6$ Hz, 1H), 4,19 (s, 5H), 4,39 (s, 2H), 4,57-4,63 (m, 1H), 4,63 (s, 2H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 20,3, 21,9, 41,6, 51,8, 67,2, 67,5, 69,4, 70,2, 75,7, 156, 168,3 (CO). ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 310 (100%) $[\text{M}]^+$, 268 (31%), 185 (10%), 121 (27%), 43 (8%).

1-(5,5-Диметил-3-фероценил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-ил)-етанон (6b)



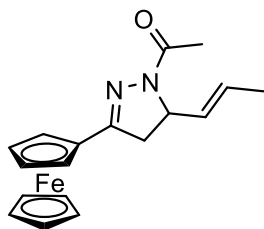
Принос 61,2%; црвена кристална супстанца; Т.Т. 142°C; IR: 3086, 2929, 1651, 1498, 1405, 1314, 1105, 1012 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,65 (s, 6H), 2,29 (s, 3H), 2,99 (s, 2H), 4,18 (s, 5H), 4,37 (t, $J = 1,8$ Hz, 2H), 4,57 (t, $J = 2,0$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 23,3, 26,3, 50,6, 62,8, 67,1, 69,3, 70,1, 72,3, 76, 153,6, 169 (CO). ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 324 (100%) $[\text{M}]^+$, 283 (27%), 267 (63%), 185 (9%), 121 (27%), 43 (9%).

1-(4-Метил-3-фероценил-4,5-дихидро-1Н-пиразол-1-ил)-етанон (6г)



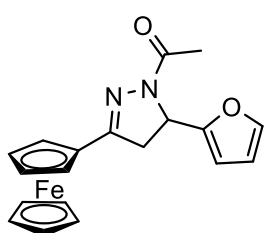
Принос 81.2%; црвена кристална супстанца; Т.Т. 78-79°C; IR: 3099, 2974, 1655, 1496, 1449, 1308, 1160, 1106, 1028, 997 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,32 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H), 2,29 (s, 3H), 3,16-3,46 (m, 1H), 3,61-3,67 (m, 1H), 3,89-4,01 (m, 1H), 4,13 (s, 5H), 4,35 (s, 2H), 4,59 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 19,8, 21,3, 40,5, 51,9, 67,4, 67,5, 69,6, 69,9, 70,2, 75,7, 161,4, 168,9 (CO). ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 310 (100%) $[\text{M}]^+$, 268 (32%), 185 (19%), 121 (33%), 44 (30%).

(E)-1-(3-Фероценил-5-пропенил-4,5-дихидро-1Н-пиразол-1-ил)-етанон (6д)



Принос 78.4%; црвено-наранџаста уљаста супстанца; IR: 3086, 1654, 1497, 1412, 1378, 1106, 1007 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,71 (dt, $J = 6,4, 1,3$ Hz, 3H), 2,33 (s, 3H), 2,82 (dd, $J = 17,2, 3,8$ Hz, 1H), 3,32 (dd, $J = 17,0, 11,0$ Hz, 1H), 4,18 (s, 5H), 4,38-4,40 (m, 2H), 4,54 (dt, $J = 3,8, 1,6$ Hz, 1H), 4,66 (dt, $J = 3,8, 1,8$ Hz, 1H), 5,01 (ddd, $J = 10,3, 5,6, 4,0$ Hz, 1H), 5,48 (ddq, $J = 15,2, 6,0, 1,0$ Hz, 1H), 5,69 (ddd, $J = 15,2, 6,1, 1,0$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 17,5 21,9, 40,5, 56,8, 67, 67,7, 69,4, 70,2, 70,3, 75,4, 126,7, 128,9, 156,1, 168,2 (CO). ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 336 (100%) $[\text{M}]^+$, 294 (17%), 185 (6%), 121 (21%), 43 (7%).

1-(5-(Фуран-2-ил)-3-фероценил-4,5-дихидро-1Н-пиразол-1-ил)-етанон (6ђ)



Принос 59.5%; црвена кристална супстанца; Т.Т. 153°C; IR: 3101, 1651, 1498, 1416, 1376, 1309, 1149, 1156, 1018, 1006 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 2,32 (s, 3H), 3,39 (m, $J = 17,2, 11$ Hz, 2H), 4,21 (s, 5H), 4,41 (m, 2H), 4,51 (m, 1H), 4,75 (m, 1H), 5,63 (m, $J = 11, 0,23$ Hz, 1H), 6,35 (s, 2H), 7,34 (s, 1H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 21,8, 39,3, 52,6, 66,8, 67,9, 69,5, 70,2, 70,5, 75,2, 107,5, 110,6, 141,7, 156,1, 168,2 (CO). ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 362 (100%) $[\text{M}-16]^+$, 320 (29%), 185 (4%), 121 (21%), 43 (10%).

3.5. Синтеза пиразолинских деривата са ванилинским фрагментом и фероценом

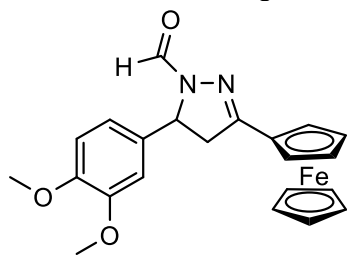
3.5.1. Синтеза халкона, 7а-ђ и 8а-ђ

Одговарајући алдехид и метил-кетон растворени су у врућем етанолу (50 ml) и мешани 10 минута уз постепено додавање раствора NaOH (2 ml, 40 %). Реакциона смеша се благо загрева на 50°C. Уситњени лед (100 g) се стави у чашу и у то се изручи реакциона смеша уз непрестано мешање. У неким случајевима издваја се талог који се може филтрирати; а уколико то није могуће, врши се екстракција са толуеном или CH₂Cl₂ (3 x 50 ml). Органски слој се испира водом (2 x 50 ml) и суши изнад анхидрованог Na₂SO₄. Растварач се упари под сниженим притиском. Сирови остатак се раствори у малој количини CH₂Cl₂ и пропусти кроз кратку колону, напуњену силикагелом. Растварач се затим упари под сниженим притиском. Остатак у балону се, уколико је то потребно, одваја на хроматографској колони коришћењем смеше толуен:етил-ацетат = 8:2, као елуент. Добијају се чврсте кристалне супстанце у добрим приносима.

3.5.2. Синтеза N-формил и N-ацетил пиразолинских деривата, 9а-ђ, 10а-ђ, 11а-ђ и 12а-ђ

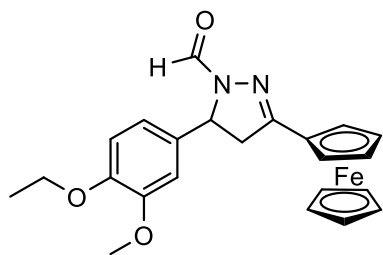
У раствор халкона (7а-ђ или 8а-ђ) у одговарајућој киселини (мравља или сирћетна киселина, 15 ml) дода се хидразин монохидрат (2 ml) и смеша се загрева уз рефлукс око 5h. Растварач се затим упари на вакуум упаривачу, а остатку у балону се дода хладна вода (50 ml). Производи се екстрахују са толуеном или смешом толуен:етил ацетат = 95:5. Након упаравања растварача заостаје уљаста остатак. Добијени производи углавном кристалишу на хладном из уља, или кристализацијом из етра. Једино производи 9а, 9б, 9д и 10в остају у облику уљасте супстанце.

5-(3,4-Диметоксифенил)-3-фероценил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-карбалдехид (9а)



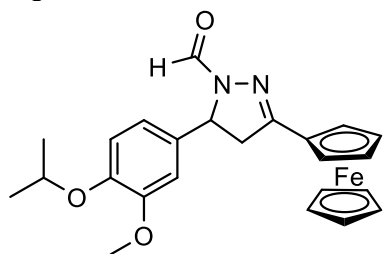
Принос 57%; наранџаста уљаста супстанца; IR (KBr): 2931, 1668, 1594, 1517, 1411, 1359, 1309, 1259, 1235, 1139, 1025, 819 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 3,04 (dd, *J* = 17,6, 4,6 Hz, 1H), 3,69 (dd, *J* = 17,4, 11,4 Hz, 1H), 3,87 (d, *J* = 6,4 Hz, 6H), 4,15 (s, 5H), 4,42-4,45 (m, 2H), 4,57 (dt, *J* = 2,4, 1,4 Hz, 1H), 4,68 (dt, *J* = 2,6, 1,2 Hz, 1H), 5,44 (dd, *J* = 11,4, 4,4 Hz, 1H), 6,77-6,84 (m, 3H), 8,89 (d, *J* = 1,0 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 30,8, 43,9, 55,9, 58, 67,3, 67,8, 69,2, 69,4, 70,6, 70,7, 74,5, 108,9, 111,6, 117,5, 133,4, 148,7, 149,4, 157,9, 159,5 (CO). ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 418,07 (100%) [M]⁺.

5-(4-Етоксифенил)-3-метоксифенил)-3-фероценил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-карбалдехид (9б)



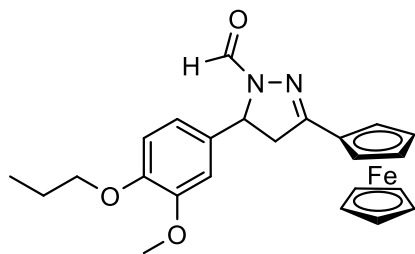
Принос 63%; наранџаста уљаста супстанца; IR (KBr): 2929, 1671, 1594, 1516, 1415, 1360, 1308, 1259, 1233, 1140, 1121, 1034, 825 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,43 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H), 3,03 (dd, $J = 17,4, 4,4$ Hz, 1H), 3,68 (dd, $J = 17,4, 11,6$ Hz, 1H), 3,87 (s, 3H), 4,06 (q, $J = 7,0$ Hz, 2H), 4,15 (s, 5H), 4,42-4,44 (m, 2H), 4,56 (dt, $J = 2,6, 1,4$ Hz, 1H), 4,68 (dt, $J = 2,6, 1,2$ Hz, 1H), 5,44 (dd, $J = 11,4, 4,4$ Hz, 1H), 6,77-6,83 (m, 3H), 8,89 (d, $J = 1,0$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 14,7, 43,9, 56, 58, 64,4, 67,3, 67,8, 69,4, 70,5, 70,7, 74,5, 84,1, 109,1, 113,1, 117,5, 133,3, 148, 149,8, 157,9, 159,5 (CO). ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 432,27 (100%) $[\text{M}]^+$.

5-(4-Изопропокси-3-метоксифенил)-3-фероценил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-карбалдехид (9в)



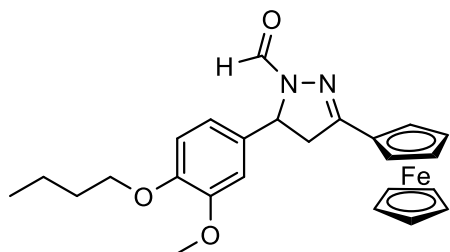
Принос 54%; наранџаста чврста супстанца, Т.Т. = 55-57°C; IR (KBr): 3086, 2973, 2926, 1671, 1591, 1512, 1412, 1359, 1307, 1258, 1231, 1138, 1106, 1032, 821 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,34 (d, $J = 6,2$ Hz, 6H), 3,03 (dd, $J = 17,4, 4,4$ Hz, 1H), 3,68 (dd, $J = 17,4, 11,6$ Hz, 1H), 3,85 (s, 3H), 4,14 (s, 5H), 4,41-4,43 (m, 2H), 4,44-4,51 (m, 1H), 4,56 (dt, $J = 2,6, 1,4$ Hz, 1H), 4,69 (dt, $J = 2,6, 1,2$ Hz, 1H), 5,44 (dd, $J = 11,2, 4,2$ Hz, 1H), 6,79-6,89 (m, 3H), 8,93 (d, $J = 0,8$ Hz, 1H); ^{13}C NMR 50 MHz, CDCl_3): δ 22, 43,9, 56, 58, 67,3, 67,8, 69,4, 70,5, 70,7, 71,5, 74,5, 109,5, 116,1, 117,4, 133,7, 147,1, 150,8, 158, 159,5 (CO), ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 446,14 (100%) $[\text{M}]^+$.

5-(3-Метокси-4-пропоксифенил)-3-фероценил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-карбалдехид (9г)



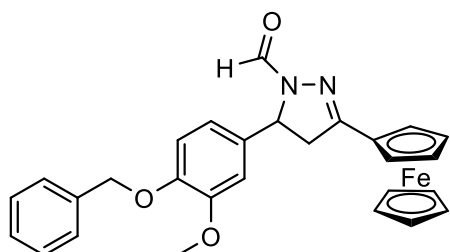
Принос 64%; наранџаста чврста супстанца, Т.Т. = 52-54°C; IR (KBr): 2935, 2874, 1671, 1515, 1410, 1358, 1308, 1259, 1139, 1034, 818 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,01 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H), 1,78-1,89 (m, 2H), 3,03 (dd, $J = 17,4, 4,4$ Hz, 1H), 3,68 (dd, $J = 17,6, 11,6$ Hz, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,94 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 4,15 (s, 5H), 4,42-4,44 (m, 2H), 4,56 (dt, $J = 2,4, 1,4$ Hz, 1H), 4,68 (dt, $J = 2,4, 1,2$ Hz, 1H), 5,44 (dd, $J = 11,4, 4,6$ Hz, 1H), 6,77-6,87 (m, 3H), 8,89 (d, $J = 0,8$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 10,4, 22,4, 30,8, 43,9, 56,1, 58, 67,3, 67,8, 69,4, 70,5, 70,6, 70,7, 74,5, 109,3, 113,3, 117,5, 133,3, 148,3, 149,9, 157,9, 159,5 (CO). ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 446,14 (100%) $[\text{M}]^+$.

5-(4-Бутоксиги-3-метоксифенил)-3-фероценил-4,5-дихидро-1Н-пиазол-1-карбалдехид (9д)



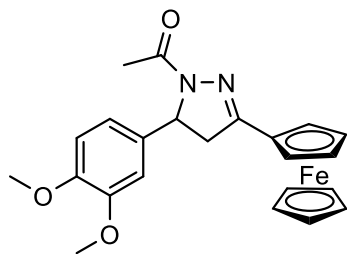
Принос 77%; наранџаста уљаста супстанца; IR (KBr): 2930, 2873, 1672, 1516, 1411, 1358, 1308, 1259, 1234, 1139, 1029, 824 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 0,95 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H), 1,41-1,52 (m, 2H), 1,72-1,83 (m, 2H), 3,03 (dd, $J = 17,6, 4,6$ Hz, 1H), 3,68 (dd, $J = 17,6, 11,6$ Hz, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,98 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 4,15 (s, 5H), 4,42-4,44 (m, 2H), 4,56 (dt, $J = 2,4, 1,4$ Hz, 1H), 4,68 (dt, $J = 2,6, 1,4$ Hz, 1H), 5,44 (dd, $J = 11,2, 4,4$ Hz, 1H), 6,77-6,83 (m, 3H), 8,89 (d, $J = 1,0$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 13,8, 19,2, 31,2, 44, 56,2, 58,1, 67,3, 67,8, 68,8, 69,4, 70,6, 70,7, 74,6, 84,1, 109,4, 113,4, 117,6, 133,3, 148,4, 149,9, 157,9, 159,5 (CO). ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 460,23 (100%) $[\text{M}]^+$.

5-(4-Бензилокси-3-метоксифенил)-3-фероценил-4,5-дихидро-1Н-пиазол-1-карбалдехид (9ђ)



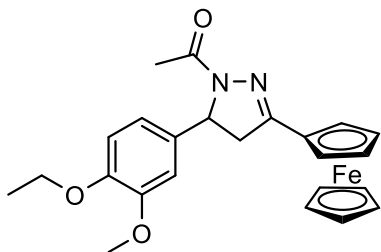
Принос 81%; светло наранџаста чврста супстанца; Т.Т. = 149-150 $^\circ\text{C}$; IR (KBr): 3089, 2924, 2858, 1664, 1601, 1514, 1416, 1358, 1310, 1256, 1229, 1169, 1137, 1014 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 3,01 (dd, $J = 17,6, 4,6$ Hz, 1H), 3,66 (dd, $J = 17,6, 11,6$ Hz, 1H), 3,88 (s, 3H), 4,13 (s, 5H), 4,41-4,43 (m, 2H), 4,55 (dt, $J = 2,4, 1,4$ Hz, 1H), 4,66 (dt, $J = 2,4, 1,2$ Hz, 1H), 5,11 (s, 2H), 5,43 (dd, $J = 11,6, 4,8$ Hz, 1H), 6,77-6,87 (m, 3H), 7,26-7,39 (m, 5H), 8,88 (d, $J = 1,0$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 43,9, 56,1, 57,9, 67,3, 67,8, 69,4, 70,5, 70,7, 71,1, 74,5, 109,4, 114,5, 117,5, 127,2, 127,7, 128,4, 133,9, 136,9, 147,9, 150,1, 157,9, 159,4 (CO). ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 494,15 (100%) $[\text{M}]^+$.

1-[5-(3,4-Диметоксифенил)-3-фероценил-4,5-дихидро-1Н-пиазол-1-ил]етанон (10а)



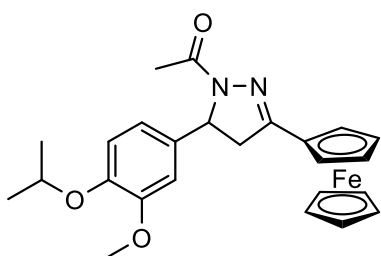
Принос 56%; светло наранџаста чврста супстанца; Т.Т. = 78-79 $^\circ\text{C}$; IR (KBr): 2926, 1653, 1596, 1516, 1413, 1308, 1259, 1235, 1138, 1020, 822 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 2,36 (s, 3H), 2,96 (dd, $J = 17,4, 4,2$ Hz, 1H), 3,62 (dd, $J = 17,4, 11,6$ Hz, 1H), 3,85 (d, $J = 9,2$ Hz, 6H), 4,12 (s, 5H), 4,38-4,41 (m, 2H), 4,53 (dt, $J = 2,4, 1,4$ Hz, 1H), 4,67 (dt, $J = 2,6, 1,2$ Hz, 1H), 5,48 (dd, $J = 11,4, 4,0$ Hz, 1H), 6,75-6,80 (m, 3H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 21,8, 43,7, 55,9, 58,9, 67,1, 67,6, 69,3, 70,2, 70,4, 75,4, 108,9, 111,6, 117,2, 134,7, 148,4, 149,3, 155,8, 168,2 (CO). ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 432,14 (100%) $[\text{M}]^+$.

1-[5-(4-Етокси-3-метоксифенил)-3-фероценил-4,5-дихидро-1Н-пиразол-1-ил]етанон (10б)



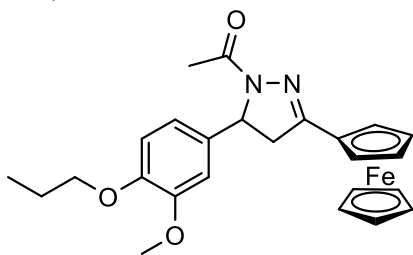
Принос 64%; светло наранџаста чврста супстанца; Т.Т. = 125-126 °С; IR (KBr): 2931, 1662, 1600, 1591, 1520, 1409, 1311, 1260, 1236, 1139, 1036, 824 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1,42 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H), 2,37 (s, 3H), 2,96 (dd, *J* = 17,2, 4,0 Hz, 1H), 3,61 (dd, *J* = 17,4, 11,6 Hz, 1H), 3,87 (s, 3H), 4,05 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 4,12 (s, 5H), 4,37-4,41 (m, 2H), 4,53 (dt, *J* = 2,4, 1,4 Hz, 1H), 4,68 (dt, *J* = 2,6, 1,4 Hz, 1H), 5,49 (dd, *J* = 11,4, 4,0 Hz, 1H), 6,73-6,85 (m, 3H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 14,7, 21,8, 43,7, 55,9, 58,9, 64,3, 67,1, 67,7, 69,3, 70,2, 70,4, 75,3, 109,3, 113,1, 117,2, 134,6, 147,7, 149,6, 155,9, 168,2 (CO). ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 446,14 (100%) [M]⁺.

1-[5-(4-Изопропокси-3-метоксифенил)-3-фероценил-4,5-дихидро-1Н-пиразол-1-ил]етанон (10в)



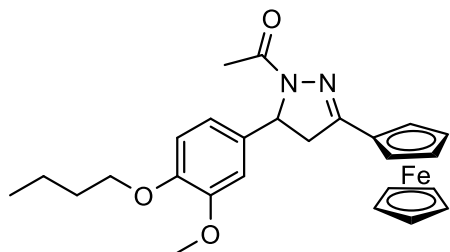
Принос 51%; наранџаста уљаста супстанца; IR (KBr): 2975, 2930, 1655, 1508, 1412, 1308, 1259, 1230, 1137, 1106, 1030, 824 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1,33 (d, *J* = 6,0 Hz, 6H), 2,38 (s, 3H), 2,97 (dd, *J* = 17,2, 4,0 Hz, 1H), 3,62 (dd, *J* = 17,2, 11,4 Hz, 1H), 3,85 (s, 3H), 4,12 (s, 5H), 4,39-4,41 (m, 2H), 4,43-4,49 (m, 1H), 4,53 (dt, *J* = 2,6, 1,2 Hz, 1H), 4,68 (dt, *J* = 2,6, 1,2 Hz, 1H), 5,49 (dd, *J* = 11,6, 4,2 Hz, 1H), 6,72-6,87 (m, 3H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 21,9, 22,1, 43,8, 56,1, 58,9, 67,1, 67,7, 69,3, 70,3, 70,4, 71,5, 75,4, 109,8, 116,2, 117,3, 135,1, 146,8, 150,7, 155,9, 168,3 (CO). ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 460,22 (100%) [M]⁺.

1-[5-(3-Метокси-4-пропоксифенил)-3-фероценил-4,5-дихидро-1Н-пиразол-1-ил]етанон (10г)



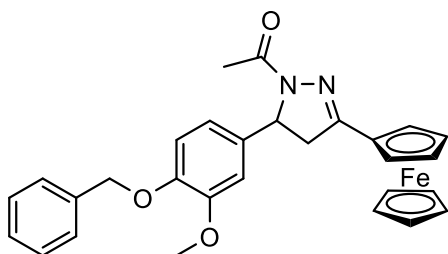
Принос 68%; светло наранџаста чврста супстанца; Т.Т. = 87-89 °С; IR (KBr): 2973, 2931, 1662, 1600, 1591, 1520, 1410, 1311, 1260, 1236, 1139, 1036, 824 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1,00 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H), 1,82 (s, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,37 (s, 3H), 2,97 (dd, *J* = 17,4, 4,2 Hz, 1H), 3,61 (dd, *J* = 17,4, 11,6 Hz, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,93 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 4,12 (s, 5H), 4,38-4,41 (m, 2H), 4,53 (dt, *J* = 2,4, 1,4 Hz, 1H), 4,68 dt, *J* = 2,6, 1,2 Hz, 1H), 5,49 (dd, *J* = 11,4, 4,0 Hz, 1H), 6,73-6,85 (m, 3H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 10,3, 21,8, 22,4, 43,7, 56,1, 58,9, 67,1, 67,6, 69,3, 70,2, 70,4, 70,6, 75,4, 109,6, 113,4, 117,3, 134,6, 148,1, 149,7, 155,8, 168,2 (CO). ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 460,11 (100%) [M]⁺.

1-[5-(4-Бутокси-3-метоксифенил)-3-фероценил-4,5-дихидро-1Н-пиразол-1-ил]-етанон (10d)



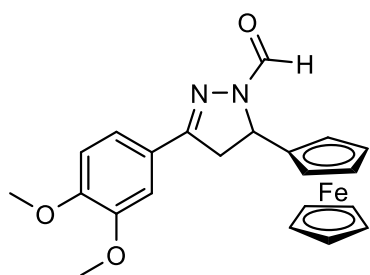
Принос 67%; црвено-наранџаста чврста супстанца; Т.Т. = 50-51°C; IR (KBr): 3087, 2956, 2933, 1658, 1593, 1515, 1411, 1310, 1258, 1234, 1138, 1028, 820 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 0,94 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H), 1,40-1,48 (m, 2H), 1,75-1,82 (m, 2H), 2,37 (s, 3H), 2,97 (dd, *J* = 17,4, 4,2 Hz, 1H), 3,62 (dd, *J* = 17,4, 11,4 Hz, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,97 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 4,13 (s, 5H), 4,38-4,41 (m, 2H), 4,54 (dt, *J* = 2,4, 1,4 Hz, 1H), 4,68 (dt, *J* = 2,6, 1,4 Hz, 1H), 5,49 (dd, *J* = 11,4, 4,0 Hz, 1H), 6,73-6,85 (m, 3H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 13,8, 19,1, 21,9, 31,2, 43,8, 56,1, 58,9, 67,1, 67,7, 68,8, 69,3, 70,2, 70,4, 75,4, 109,6, 113,4, 117,3, 134,7, 148,1, 149,8, 155,8, 168,2 (CO). ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 475,01 (100%) [M + 1]⁺.

1-[5-(4-Бензилокси-3-метоксифенил)-3-фероценил-4,5-дихидро-1Н-пиразол-1-ил]-етанон (10h)



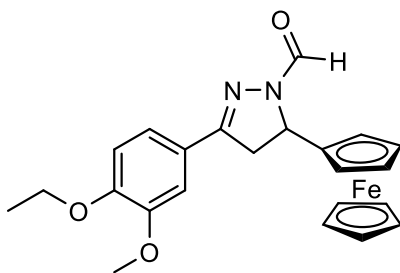
Принос 81%; светло наранџаста чврста супстанца; Т.Т. = 132-133°C; IR (KBr): 3031, 2927, 1651, 1594, 1508, 1497, 1415, 1310, 1259, 1172, 1137, 1011, 819 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 2,36 (s, 3H), 2,95 (dd, *J* = 17,4, 4,2 Hz, 1H), 3,60 (dd, *J* = 17,4, 11,6 Hz, 1H), 3,88 (s, 3H), 4,11 (s, 5H), 4,38-4,40 (m, 2H), 4,53 (dt, *J* = 2,4, 1,4 Hz, 1H), 4,66 (dt, *J* = 2,6, 1,4 Hz, 1H), 5,10 (s, 2H), 5,48 (dd, *J* = 11,6, 4,2 Hz, 1H), 6,68-6,85 (m, 3H), 7,25-7,41 (m, 5H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 21,8, 43,7, 56,1, 58,9, 67,1, 67,6, 69,3, 70,2, 70,4, 71,1, 75,4, 109,6, 114,5, 117,2, 127,2, 127,7, 128,4, 135,3, 137,1, 147,7, 149,9, 155,8, 168,2 (CO). ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 508,12 (100%) [M]⁺.

3-(3,4-Диметоксифенил)-5-фероценил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-карбалдегид (11a)



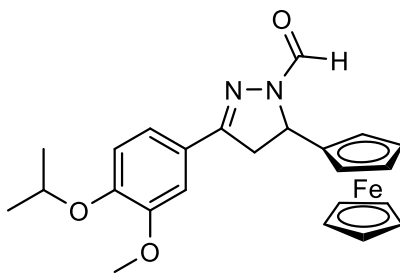
Принос 60%; тамно жута чврста супстанца; Т.Т. = 214-216°C; IR (KBr): 3084, 2924, 1655, 1603, 1519, 1435, 1362, 1269, 1245, 1143, 1024, 818 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 3,52 (dd, J = 17,2, 4,4 Hz, 1H), 3,70 (dd, J = 17,2, 10,6 Hz, 1H), 3,96 (d, J = 3,0 Hz, 6H), 4,05-4,07 (m, 1H), 4,13-4,15 (m, 1H), 4,15 (s, 5H), 4,17- 4,20 (m, 1H), 4,43-4,46 (m, 1H), 5,42 (dd, J = 11,0, 4,2 Hz, 1H), 6,92 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,19-7,27 (m, 1H), 7,48 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 8,81 (d, J = 0,8 Hz, 1H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 39,9, 54,5, 56, 65,6, 68,3, 68,4, 68,6, 69,7, 86,8, 108,6, 110,7, 120,5, 124, 149,4, 151,4, 155,7, 160 (CO). ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 418,12 (100%) $[\text{M}]^+$.

3-(4-Етокси-3-метоксифенил)-5-фероценил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-карбалдегид (11b)



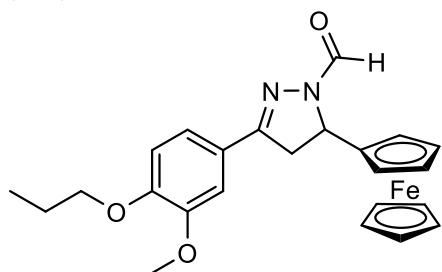
Принос 51%; тамно жута чврста супстанца; Т.Т. = 144-146°C; IR (KBr): 3084, 2935, 1665, 1600, 1515, 1428, 1355, 1258, 1240, 1150, 1029, 827 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,51 (t, J = 7,0 Hz, 3H), 3,52 (dd, J = 17,2, 4,2 Hz, 1H), 3,69 (dd, J = 17,4, 10,8 Hz, 1H), 3,95 (s, 3H), 4,05-4,07 (m, 1H), 4,11-4,15 (m, 2H), 4,15 (s, 5H), 4,17-4,19 (m, 2H), 4,43-4,45 (m, 1H), 5,41 (dd, J = 10,6, 4,2 Hz, 1H), 6,91 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,17-7,27 (m, 1H), 7,47 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 8,80 (d, J = 0,8 Hz, 1H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 14,6, 39,9, 54,5, 56,1, 64,4, 65,6, 68,4, 68,6, 69,7, 86,8, 108,8, 111,8, 120,5, 123,8, 149,6, 150,8, 155,7, 159,9 (CO). ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 432,00 (100%) $[\text{M}]^+$.

3-(4-Изопропокси-3-метоксифенил)-5-фероценил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-карбалдегид (11в)



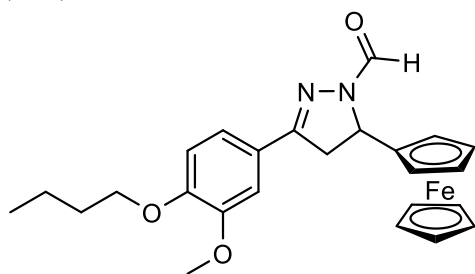
Принос 70%; тамно жута чврста супстанца; Т.Т. = 127-128°C; IR (KBr): 3086, 2931, 1675, 1662, 1598, 1513, 1430, 1362, 1261, 1242, 1139, 1028, 828 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,42 (d, J = 6,0 Hz, 6H), 3,51 (dd, J = 17,4, 4,6 Hz, 1H), 3,69 (dd, J = 17,4, 10,8 Hz, 1H), 3,93 (s, 3H), 4,05-4,07 (m, 1H), 4,12-4,15 (m, 1H), 4,15 (s, 5H), 4,17-4,19 (m, 1H), 4,43-4,46 (m, 1H), 4,57-4,69 (m, 1H), 5,41 (dd, J = 9,8, 4,4 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,16-7,26 (m, 1H), 7,46 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 8,80 (d, J = 1,0 Hz, 1H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 21,9, 39,9, 54,5, 56,1, 65,6, 68,4, 68,6, 69,7, 71,4, 86,8, 109,3, 114,4, 120,4, 123,9, 149,9, 150,5, 155,7, 159,9. ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 446,01 (100%) $[\text{M}]^+$.

3-(3-Метокси-4-пропоксифенил)-5-фероценил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-карбалдехид (11г)



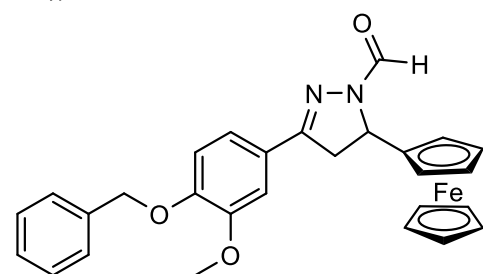
Принос 55%; тамно жута чврста супстанца; Т.Т. = 162°C; IR (KBr): 3080, 2936, 1660, 1600, 1516, 1428, 1354, 1258, 1241, 1147, 1028, 832 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1,07 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H), 1,86-1,97 (m, 2H), 3,52 (dd, *J* = 17,2, 4,2 Hz, 1H), 3,69 (dd, *J* = 17,4, 10,8 Hz, 1H), 3,95 (s, 3H), 4,01-4,07 (m, 3H), 4,12-4,15 (m, 1H), 4,15 (s, 5H), 4,17-4,19 (m, 1H), 4,43-4,45 (m, 1H), 5,41 (dd, *J* = 9,8, 4,0 Hz, 1H), 6,92 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,17-7,26 (m, 1H), 7,47 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 8,80 (d, *J* = 1,0 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 10,4, 22,4, 39,9, 54,5, 56,1, 65,6, 68,4, 68,6, 69,7, 70,5, 86,9, 109,1, 112,1, 120,5, 123,8, 149,7, 151,1, 155,8, 160. ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 446,01 (100%) [M]⁺.

3-(4-Бутокси-3-метоксифенил)-5-фероценил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-карбалдехид (11д)



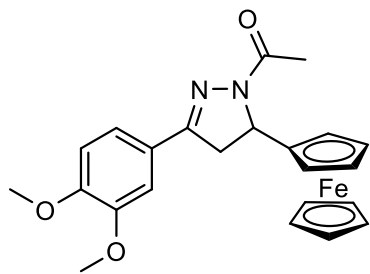
Принос 57%; тамно жута чврста супстанца; Т.Т. = 154-155°C; IR (KBr): 2927, 1663, 1601, 1517, 1429, 1362, 1260, 1243, 1148, 1031, 837 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, DMSO-d₆): δ 0,94 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H), 1,39-1,49 (m, 2H), 1,66-1,76 (m, 2H), 3,48-3,62 (m, 1H), 3,70-3,91 (m, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,95-4,06 (m, 3H), 4,12-4,15 (m, 1H), 4,16-4,24 (m, 1H), 4,19 (s, 5H), 5,33 (dd, *J* = 10,2, 4,2 Hz, 1H), 7,07 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,36-7,40 (m, 2H), 8,73 (d, *J* = 0,4 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 13,8, 18,9, 30,9, 54,3, 55,8, 65,8, 67,9, 68, 68,1, 68,7, 69,7, 87, 121, 123,6, 149,2, 150,6, 156,6, 159,6 (CO). ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 460,11 (100%) [M]⁺.

3-(4-Бензилокси-3-метоксифенил)-5-фероценил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-карбалдехид (11ђ)



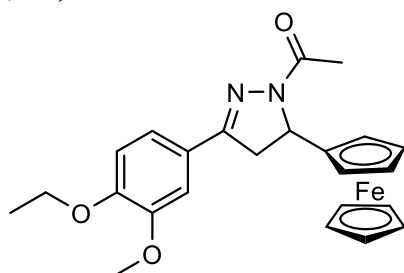
Принос 78%; тамно жута чврста супстанца; Т.Т. = 172-174°C; IR (KBr): 3088, 2933, 1655, 1599, 1515, 1429, 1312, 1264, 1240, 1150, 1030, 835 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 3,49 (dd, *J* = 17,4, 4,6 Hz, 1H), 3,67 (dd, *J* = 17,2, 10,6 Hz, 1H), 3,97 (s, 3H), 4,03-4,05 (m, 1H), 4,12-4,14 (m, 1H), 4,14 (s, 5H), 4,16-4,19 (m, 1H), 4,42-4,45 (m, 1H), 5,23 (s, 2H), 5,40 (dd, *J* = 10,6, 4,4 Hz, 1H), 6,92 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,13 (dd, *J* = 8,2, 2,0 Hz, 1H), 7,31-7,49 (m, 6H), 8,79 (d, *J* = 0,8 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 39,9, 54,5, 56,1, 65,6, 68,4, 68,6, 69,7, 70,9, 86,8, 109,1, 113,2, 120,4, 124,4, 127,2, 128, 128,6, 136,5, 149,9, 150,5, 155,6, 159,9. ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 494,03 (100%) [M]⁺.

1-[3-(3,4-Диметоксифенил)-5-фероцил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-ил]-етанон (12a)



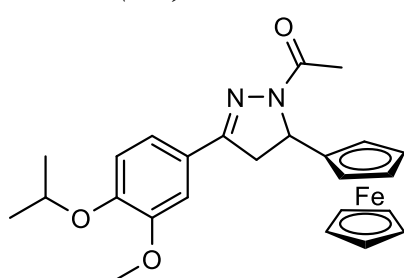
Принос 57%; тамно жута чврста супстанца; Т.Т. = 198-199°C; IR (KBr): 3091, 2930, 1645, 1601, 1517, 1435, 1407, 1358, 1320, 1263, 1245, 1143, 1026, 838 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 2,32 (s, 3H), 3,48 (dd, *J* = 17,2, 4,2 Hz, 1H), 3,64 (dd, *J* = 17,2, 10,6 Hz, 1H), 3,96 (d, *J* = 3,0 Hz, 6H), 4,00-4,03 (m, 1H), 4,09-4,12 (m, 1H), 4,14 (s, 5H), 4,15-4,17 (m, 1H), 4,48-4,49 (m, 1H), 5,48 (dd, *J* = 10,6, 4,2 Hz, 1H), 6,92 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,23 (dd, *J* = 8,4, 2,0 Hz, 1H), 7,46 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 21,9, 39,6, 55,4, 56, 65,6, 68,1, 68,3, 68,5, 87,5, 108,6, 110,7, 120,4, 124,5, 149,3, 151,2, 153,8, 168,6, (CO). ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 432,00 (100%) [M]⁺.

1-[3-(4-Етокси-3-метоксифенил)-5-фероцил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-ил]-етанон (12б)



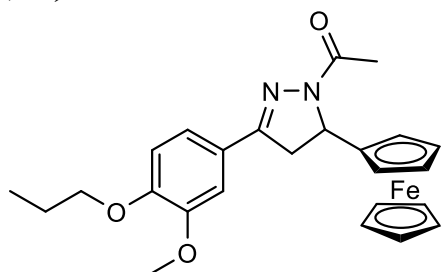
Принос 56%; тамно жута чврста супстанца; Т.Т. = 220-222°C; IR (KBr): 3085, 2979, 1646, 1600, 1517, 1465, 1407, 1319, 1265, 1244, 1149, 1028, 839 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1,51 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H), 1,74 (s, 3H), 3,48 (dd, *J* = 17,2, 4,4 Hz, 1H), 3,64 (dd, *J* = 17,2, 10,4 Hz, 1H), 3,95 (s, 3H), 4,00-4,02 (m, 1H), 4,10-4,12 (m, 1H), 4,14 (s, 5H), 4,14-4,18 (m, 3H), 4,48-4,49 (m, 1H), 5,48 (dd, *J* = 10,4, 4,0 Hz, 1H), 6,92 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,23 (dd, *J* = 8,4, 2,0 Hz, 1H), 7,46 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 14,7, 21,9, 39,6, 55,3, 56,1, 64,4, 65,6, 68,1, 68,3, 68,5, 70,2, 87,5, 108,9, 111,9, 120,4, 124,4, 149,6, 150,6, 153,9, 168,6, (CO). ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 446,14 (100%) [M]⁺.

1-[3-(4-Изопропокси-3-метоксифенил)-5-фероцил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-ил]-етанон (12в)



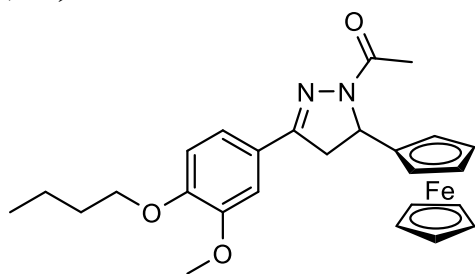
Принос 60%; жута чврста супстанца; Т.Т. = 184-185°C; IR (KBr): 3081, 2937, 1650, 1598, 1513, 1467, 1431, 1404, 1317, 1264, 1243, 1149, 1028, 953, 820 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1,42 (d, *J* = 6,0 Hz, 6H), 2,32 (s, 3H), 3,48 (dd, *J* = 17,4, 4,4 Hz, 1H), 3,64 (dd, *J* = 17,4, 10,6 Hz, 1H), 3,94 (s, 3H), 4,01-4,02 (m, 1H), 4,10-4,12 (m, 1H), 4,15 (s, 5H), 4,15-4,17 (m, 1H), 4,48-4,49 (m, 1H), 4,57-4,69 (m, 1H), 5,48 (dd, *J* = 10,6, 4,4 Hz, 1H), 6,94 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,21 (dd, *J* = 8,2, 2,0 Hz, 1H), 7,45 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 21,9, 39,6, 55,3, 56,1, 65,6, 68,1, 68,3, 68,5, 70,2, 71,4, 87,6, 109,5, 114,6, 120,3, 124,5, 149,7, 150,5, 153,9, 168,6, (CO). ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 460,36 (100%) [M]⁺.

1-[3-(3-Метокси-4-пропоксифенил)-5-фероценил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-ил]-етанон (12z)



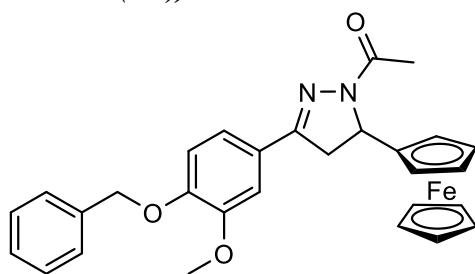
Принос 68%; тамно жута чврста супстанца; Т.Т. = 200-202°C; IR (KBr): 3075, 2938, 1645, 1599, 1516, 1466, 1435, 1407, 1320, 1265, 1245, 1151, 1027, 1016, 841 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1,07 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H), 1,75-1,96 (m, 2H), 2,32 (s, 3H), 3,48 (dd, *J* = 17,2, 4,2 Hz, 1H), 3,64 (dd, *J* = 17,2, 10,6 Hz, 1H), 3,95 (s, 3H), 4,04 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 4,08-4,11 (m, 2H), 4,15(s, 5H), 4,16-4,17 (m, 1H), 4,48-4,49 (m, 1H), 5,47 (dd, *J* = 10,6, 4,2 Hz, 1H), 6,92 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,21 (dd, *J* = 8,2, 2,0 Hz, 1H), 7,45 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 10,4, 21,9, 22,4, 39,6, 55,2, 56,2, 65,6, 68,1, 68,3, 68,6, 70,1, 70,5, 87,6, 109,2, 112,2, 120,4, 124,3, 149,7, 150,9, 153,9, 168,6, (CO). ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 460,11 (100%) [M]⁺.

1-[3-(4-Бутокси-3-метоксифенил)-5-фероценил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-ил]-етанон (12d)



Принос 79%; тамно жута чврста супстанца; Т.Т. = 158°C; IR (KBr): 3084, 2958, 2933, 1661, 1601, 1516, 1460, 1423, 1318, 1258, 1242, 1147, 1027, 827 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1,00 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H), 1,47-1,58 (m, 2H), 1,83-1,91 (m, 2H), 2,32 (s, 3H), 3,48 (dd, *J* = 17,2, 4,2 Hz, 1H), 3,64 (dd, *J* = 17,2, 10,6 Hz, 1H), 3,94 (s, 3H), 4,00-4,01 (m, 1H), 4,08 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 4,08-4,12 (m, 1H), 4,14 (s, 5H), 4,14-4,17 (m, 1H), 4,48-4,49 (m, 1H), 5,48 (dd, *J* = 10,8, 4,2 Hz, 1H), 6,92 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,21 (dd, *J* = 8,2, 2,0 Hz, 1H), 7,45 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 13,8, 19,2, 21,9, 31,1, 39,6, 55,2, 56,2, 65,6, 68,1, 68,3, 68,5, 68,8, 70,1, 87,6, 109,2, 112,1, 120,4, 124,3, 149,7, 150,9, 153,9, 168,6, (CO). ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 474,11 (100%) [M]⁺.

1-[3-(4-Бензилокси-3-метоксифенил)-5-фероценил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-ил]-етанон (12h)



Принос 88%; тамно жута чврста супстанца; Т.Т. = 165°C; IR (KBr): 3078, 2879, 1655, 1600, 1517, 1457, 1428, 1316, 1242, 1146, 1026, 838 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 2,31 (s, 3H), 3,46 (dd, *J* = 17,2, 4,2 Hz, 1H), 3,62 (dd, *J* = 17,2, 10,6 Hz, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,97-3,99 (m, 1H), 4,09-4,11 (m, 1H), 4,13 (s, 5H), 4,13-4,16 (m, 1H), 4,47-4,49 (m, 1H), 5,22 (s, 2H), 5,46 (dd, *J* = 10,6, 4,4 Hz, 1H), 6,92 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,15 (dd, *J* = 8,4, 2,0 Hz, 1H), 7,31-7,47 (m, 6H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 21,9, 31,5, 55,3, 56,1, 65,6, 68,1, 68,3, 68,5, 70,2, 70,9, 87,5, 109,2, 113,3, 120,2, 124,9, 127,2, 127,9, 128,6, 136,6, 149,9, 150,3, 153,8, 168,6. ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 508,12 (100%) [M]⁺.

3.6. Рендгенска структурна анализа

Подаци о дифракцији на монокристалу за једињење **4в** сакупљени су на собној температури помоћу *Agilent Gemini S* дифрактометра користећи $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54184 \text{ \AA}$) зрачење. За једињења **5в**, **6в** и **6ђ** подаци су прикупљени на собној температури, користећи апарат *Oxford Diffraction Xcalibur Sapphire3 Gemini* дифрактометар, опремљен $\text{MoK}\alpha$ ($\lambda=0,71073 \text{ \AA}$) извором монохроматизованог зрачења и CCD детектором. За анализу података коришћен је *CrysAlisPro* софтвер.²⁰⁶ Структуре једињења су решене директним методама (*Sir2002*)¹⁹⁵ (за **4в**) и *SHELXS* (за **5в**, **6в** и **6ђ**) и побољшане коришћењем *SHELXL* софтвера.²⁰⁷ За обраду резултата коришћени су програми *WinGX*,²⁰⁸ *PLATON*²⁰⁹ и *PARST*,²¹⁰ док су за графичку презентацију кристалних структура примењени софтвери *ORTEP-3*²¹¹ и *MERCURY*.²¹² Основни кристалографски подаци за поменута једињења дати су у табелама 18 и 19.

Табела 18. Основни кристалографски подаци и подаци везани за прикупљање и решавање структуре једињења **4в**

Емпиријска формула	$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3$
Молекулска маса	248,31
Боја, облик кристала	безбојни, призма
Величина кристала (mm^3)	0,26 x 0,18 x 0,12
Температура (К)	293(2)
Таласна дужина (\AA)	1,5418
Кристални систем	Моноклинични
Просторна група	$P2_1/c$
Јединствене димензије ћелије	
a (\AA)	11,4779(5)
b (\AA)	8,7079(4)
c (\AA)	13,9451(5)
α ($^\circ$)	90
β ($^\circ$)	92,814(3)
γ ($^\circ$)	90
V (\AA^3)	1392,1(2)
D_{calc} (Mg/m^3)	1,185
μ (mm^{-1})	0,653
θ опсег за прикупљање података ($^\circ$)	3,86 – 72,42
Број измерених рефлексија	5210
Број независних рефлексија, R_{int}	2691, 0,0171
Потпуност (%) то $\theta = 67^\circ$	100
Метода за побољшање структуре	Метода најмањих квадрата на F^2 бази пуне матрице
Подаци / ограничења / параметри	2691 / 0 / 168
Добро уклапање на F^2	1,066
Коначни R_1/wR_2 индекси [$I > 2\sigma(I)$]	0,0436 / 0,0516
$\Delta\rho_{\text{min}} / \Delta\rho_{\text{max}}$ (e/\AA^3)	0,180 / -0,148

Табела 19. Основни кристалографски подаци и подаци везани за прикупљање и решавање структуре једињења **5в**, **6в** и **6ђ**

Емпиријска формула	C ₁₅ H ₁₆ FeO	C ₁₇ H ₂₀ FeN ₂ O	C ₁₉ H ₁₈ FeN ₂ O ₂
Молекулска маса	268,13	324,20	362,20
Боја, облик кристала	наранџаста, призма	наранџаста, призма	наранџаста, призма
Величина кристала (mm ³)	0,19 x 0,20 x 0,41	0,45 x 0,54 x 0,61	0,20 x 0,28 x 0,45
Температура (К)	293(2)	293(2)	293(2)
Таласна дужина (Å)	0,71073	0,71073	0,71073
Кристални систем	Моноклинични	Моноклинични	Триклинични
Просторна група	P2 ₁ /c	P2 ₁ /c	P2 ₁ /c
Димензије јединичне ћелије			
a (Å)	7,4494(3)	10,1531(5)	10,6668(4)
b (Å)	16,2301(7)	15,5466(7)	10,9147(4)
c (Å)	10,6694(5)	10,8705(5)	15,2710(6)
α (°)	90	90	109,838(4)
β (°)	96,858(3)	112,631(6)	100,165(3)
γ (°)	90	90	94,941(3)
V (Å ³)	1280,7(1)	1583,8(2)	1625,6(1)
Z	4	4	4
D _{calc} (Mg/m ³)	1,391	1,360	1,480
μ (mm ⁻¹)	1,157	0,952	0,941
θ опсег за прикупљање података (°)	2,51 – 29,06	2,62 – 29,06	2,58 – 29,07
Број измерених рефлексија	7073	14,032	28,480
Број независних рефлексија, R _{int}	2654, 0,0215	3773, 0,0214	7740, 0,0281
Подаци / ограничења / параметри	2954/0/ 160	3773/36/221	7740/36/463
Добро уклапање	1,115	1,014	1,047
Коначни R ₁ /wR ₂ индекси [I > 2σ(I)]	0,0382/0,0861	0,0365/0,0865	0,0390/0,0948
Коначни R ₁ /wR ₂ индекси (сви подаци)	0,0530/0,0938	0,0505/0,0940	0,0519/0,1020
Δρ _{min} / Δρ _{max} (e/Å ³)	0,223 / -0,453	0,269 / -0,215	0,440 / -0,320

3.7. Одређивање антимицробне активности

Антимицробна активност је испитана за следеће серије једињења: **4а-и**, **6а-ђ**, **9а-ђ**, **10а-ђ**, **11а-ђ** и **12а-ђ**. За одређивање антибактеријске активности коришћени су следећи сојеви бактерија: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Bacillus*

cereus (ATCC 10987), *Escherichia coli* (ATCC 25922) и *Proteus mirabilis* (ATCC 29906). Све наведене бактерије су набављене од компаније ATCC (енг. *American Type Culture Collection*, Manassas, VA, Сједињене Америчке Државе). Бактеријске културе су гајене на *Mueller-Hinton* агару (Торлак, Београд).

Антифунгална активност одређена је коришћењем следећих сојева гљива: *Aspergillus niger* (ATCC16888), *Candida albicans* (ATCC 10259), *Penicillium italicum* (ATCC 10454), *Mucor mucedo* (ATCC 20094), *Trichoderma viride* (ATCC 13233), *Aspergillus flavus* (ATCC 9170), *Aspergillus fumigatus* (ATCC 1022), *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533) и *Geotrichum candidum* (ATCC 34614). Сви наведени сојеви гљива набављени су од компаније ATCC. Културе гљива су одржаване на кромпировом декстрозном агару (PD), изузев гљиве *Candida albicans* која је одржавана на *Sabourad* декстрозном агару (SD) (Торлак, Београд).

Основни раствори тестираних једињења су добијени растварањем испитиваних супстанци у 5% воденом раствору DMSO-а, одакле су затим вршена разблажења и направљени раствори у опсегу различитих концентрација за различите серије једињења (за тестирану серију **4а-и**, концентрације од 20 до 0,004 mg/ml, за једињења серије **6а-ђ**, концентрације од 10 до 0,004 mg/ml и за пиразолинске деривате два опсега концентрације од 20 до 0,0195 mg/ml за серије **9а-ђ** и **10а-ђ** и 30 до 0,0125 mg/ml за серије **11а-ђ** и **12а-ђ**). Методом микроразблажења медијума коришћењем плоча са 96 бунарчића одређена је минимална инхибиторна концентрација (МИС). Редокс индикатор који је коришћен за процену раста микроба јесте ресазурин. МИС вредност се уочава визуелно и дефинише се као најмања концентрација тестираних једињења која спречава промену боје ресазурина из плаве у ружичасту. Као позитивна контрола инхибиције раста бактерија и гљива коришћени су стрептомицин и кетоконазол, док је 5% водени раствор DMSO-а коришћен као негативна контрола.

3.8. Одређивање цитотоксичне активности

Испитана је цитотоксичност једињења **4а-и** према три хумане ћелијске линије рака: HeLa (карцином грлића материце), A549 (карцинома плућа) и LS174 (колоректални аденокарцином), као и према нормалној неканцерогеној ћелијској линији фибробласта плућа (MRC5). Све тестиране ћелијске линије су поручене из компаније ATCC. Све ћелијске линије рака узгајане су у RPMI 1640 хранљивом медијуму (Sigma Aldrich, Минхен, Немачка), са 10% говеђим феталним серумом (FBS, Sigma), 3mM α -глутамином и антибиотицима, на 37°C у атмосфери која је обогаћена са 5% CO₂. HeLa (5000 ћелија по бунарчићу), A549 (5000 ћелија по бунарчићу), LS174 (5000 ћелија по бунарчићу), као и MRC-5 ћелије (5000 ћелија по бунарчићу) засејане су у бунарчиће микротитарских плоча са 96 бунарчића којима је након 24 сата додато пет различитих концентрација једињења (у опсегу од 12,5-200 μ M), изузев контролних бунарчића где је додат само хранљиви медијум. Након тога узорци су инкубирани 72h. Ефекат преживљавања канцерогених ћелија је одређен након 72 сата после додавања тестираних једињења, МТТ методом.²¹³ Она обухвата следећи поступак: 20 μ l МТТ раствора (5 mg/ml PBS) се дода у сваки бунарчић и инкубира још 4 сата на 37°C у атмосфери која је обогаћена са 5% CO₂ и влажним ваздухом. Затим је додато 100 μ l 10% SDS да би се растворили кристали формазана формиран из МТТ-а након конверзије митохондријалним дехидрогеназама живих ћелија. Апсорбанце које су пропорционалне броју живих ћелија мерене су коришћењем читача микроплоча (Multiskan

EX, Thermo Scientific, Финска) на 570 nm. Сваки експеримент је изведен у трипликату и независно поновљен најмање четири пута. Као позитивна контрола у свим експериментима коришћена је *cis*-DDP.

3.9. Снимање флуоресцентних емисионих спектра

Интеракција са биомолекулима испитана је за једињења која су показала најбољу цитотоксичну активност из серија **9a-ђ**, **10a-ђ**, **11a-ђ** и **12a-ђ**, снимањем флуоресцентних емисионих спектра. Свеж раствор CT-DNA и EB у двоструко дестилованој води припремљен је у 10 mM Tris-HCl/100 mM NaCl пуферу, на pH = 7,4. Однос интензитета UV апсорпције раствора DNA на таласним дужинама од 260 и 280 nm износио је приближно 1,8–1,9, што указује да је овај раствор у довољној мери ослобођен присуства протеина. Концентрација CT-DNA је измерена преко интензитета UV апсорпције на 260 nm ($\epsilon = 6600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$).²¹⁴ BSA раствор (12 mM) је припремљен у 10 mM PBS пуферу на pH = 7,4 и чуван у мраку на 4°C највише 3 дана.

Комплекси испитиваних једињења **10a**, **10ђ**, **11a** и **11д** са BSA су припремљени независно, инкубирањем раствора BSA чија је количина била константна са растућим количинама испитиваних једињења. Серије раствора у DMSO-у (за BSA 0,1-1 mM или за DNA 0,46-17,2 и 0,25-2,5 mM) су припремљене, а затим је 0,03 ml сваког од ових раствора разблажено са 3 mL пуфера, дајући финалне концентрације испитиваних једињења од 1-10 μM за BSA и 4,6-17,2 и 2,5-25 μM за DNA. Додавањем константне запремине раствора испитиваних једињења избегнути су могући проблеми услед ефекта разблажења. Снимљени су и емисиони спектри раствора који садрже само испитивана једињења при највишој концентрацији. Одговарајуће слепе пробе (0,03 ml DMSO + 2,97 ml пуфера) су коришћене за корекцију позадинског сигнала. Све вредности апсорбанције мерене у опсегу од 220-600 nm за растворе који садрже само **10a**, **10ђ**, **11a** или **11д** су довољно ниске (<0.05)²¹⁵ и због тога корекције нису биле потребне. Да би се проценио ефекат квенчовања од стране DMSO-а, процењен је ефекат разблажења BSA (или DNA) пуфером и упоређен је са ефектом разблажења са DMSO-ом. Утврђено је да DMSO има сличан ефекат на BSA (или DNA) флуоресценцију као и разблаживање пуфером. Нативна структура BSA и DNA је очувана у присуству ниских концентрација DMSO ($< 5\%$).²¹⁶⁻²¹⁸ Дакле, ефекат DMSO-а на интеракцији једињења **10a**, **10ђ**, **11a** и **11д** са BSA (или DNA) је занемарљив.

4. ЗАКЉУЧАК

На основу резултата приказаних у Поглављу Наши радови могу се извести следећи закључци:

▪ Приказани су оригинални поступци за синтезу ванилинских аналога халкона кондензацијом ванилина и одговарајућих метил-кетона. На тај начин синтетисане су две серије ових производа: (*E*)-1-циклопропил-3-(4-алкокси-3-метоксифенил)-проп-2-ен-1-они, (**2а-ђ**) и 4-(4-алкокси-3-метоксифенил)-бут-3-ен-2-они (**3а-и**).^{15,163} Једињења **3а-и** су подвргнута даљој реакцији циклизације (Corey-Chaykovsky реакција) и синтетисани су 1-ацетил-2-(4-алкокси-3-метоксифенил)циклопропански деривати (**4а-и**). Такође, направљена је серија фeroценских аналога халкона у реакцији Friedel-Crafts-овог ациловања фeroцена (**5а-д**) и кондензацијом моноацетил фeroцена и одговарајућег алдехида (**5ђ**).¹⁶⁴ Овако синтетисани аналози су искоришћени као супстрати у реакцији циклизације до пиразолинских деривата, 1-(3-фeroценил-4,5-дихидро-1*H*-пиразол-1-ил)-етанона (**6а-ђ**). На крају, реакцијом кондензације одговарајућих алдехида и кетона синтетисане су и две серије халкона који у свом саставу имају ванилински и фeroценски фрагмент (**7а-ђ** и **8а-ђ**).^{219,220} Ова једињења су искоришћена у синтези нових *N*-формил и *N*-ацетил деривата пиразолина (серије **9а-ђ**, **10а-ђ**, **11а-ђ** и **12а-ђ**). Сви новосинтетисани производи су добијени у добром приносу који се кретао од 51% до 88% и њихове структуре су потврђене IR и NMR спектроскопским техникама и у неким случајевима масеном спектрометријом или елементалном анализом.

▪ Поједини производи су добијени у кристалном облику и самим тим су били погодни за рендгенску структурну анализу. Добијено је 4 кристалних једињења: **4в**, **5в**, **6в** и **6ђ** из три различите серије производа, чиме су њихове структуре додатно потврђене.

▪ Испитана је антимикуробна активност једињења према изабраним сојевима бактерија и гљива где су као референти узети стрептомицин (за бактерије) и кетоконазол (за гљиве). За ову врсту испитивања били су погодни циклопропилски деривати ванилинских аналога халкона (**4а-и**), фeroценски пиразолински деривати без (**6а-ђ**) и са ванилином (серије **9а-ђ**, **10а-ђ**, **11а-ђ** и **12а-ђ**). Сви испитивани производи инхибирају раст бактерија и гљива у некој мери. МИС вредности за бактерије се крећу од 0,009 до 1,25 mg/ml, а за гљиве 0,156 до 5 mg/ml, за серију **4а-и**. Нарочито добар резултат је примећен код етил деривата (**4б**) који је имао МИС вредност 0,009 mg/ml, што је боље и од самог антибиотика стрептомицина. Једињења **6а-ђ** су показала умерену активност са МИС вредностима за бактерије од 0,039 до 2,5 mg/ml и за гљиве од 0,156 до 5 mg/ml. Нешто мање активни су пиразолини, који садрже и ванилински и фeroценски фрагмент у молекулу (серије **9а-ђ**, **10а-ђ**, **11а-ђ** и **12а-ђ**), чије се МИС вредности крећу од 0,156 до 15 mg/ml за бактерије и од 0,625 до 15 mg/ml за гљиве. Из свих резултата се може видети да су све серије једињења најактивније према бактеријама из реда *Bacillus* (*B. Subtilis* и *B. Cereus*).

▪ Цитотоксична активност одређена је за циклопропилске деривате **4а-и** према три канцерогене ћелијске линије (хуманог карцинома грлића материце (HeLa), хуманог карцинома плућа (A549) и хуманог аденокарцинома (LS174)) и према нормалној неканцерогеној ћелијској линији (MRC5). Резултати су упоређени са цитотоксичном активношћу *cis*-DDP, а ефективност ових једињења је процењена на основу резултата МТТ теста. Најактивнији је бензил-дериват (**4ж**) према HeLa ћелији, чија IC₅₀ вредност износи 8,63 μM, што је у поређењу са *cis*-DDP јако добар резултат. Примећена је и добра активност код бутил деривата (**4ђ**) према ћелијским линијама A549 и LS174, са IC₅₀ вредностима 10,17

и 12,15 μm . На основу индекса селективности може се закључити да сви испитивани производи поседују велику селективност и нису токсични за здраву ћелију, па су као такви врло погодни за детаљнија биолошка испитивања.

▪ За најактивнија једињења из серије *N*-формилованих и *N*-ацетилованих деривата пиразолина (**10a**, **10ђ**, **11a** и **11д**) испитана је и њихова интеракција са DNA и BSA биомолекулима. На основу добијених резултата може се видети да сва испитивана једињења могу делимично да замене EB из EB-DNA комплекса и да доприносе смањењу интензитета флуоресценције. Ово је нарочито изражено код једињења **10a** и **11д**, што потврђују одговарајуће вредности израчунатих Stern-Volmer-ових константи, K_{sv} . С друге стране, испитивање интеракција са BSA је показало да сва тестирана једињења узрокују хипсохромно померање апсорпционог максимума емисионог флуоресцентног спектра за ~5 nm. Добијене вредности указују да се једињења **10a** и **10ђ** везују за BSA молекула у молском односу 1:1, а једињења **11a** и **11д** у односу 2:1. Израчунате вредности за K_a показују да су комплекси **11a**-BSA и **11д**-BSA знатно стабилнији у поређењу са **10a**-BSA и **10ђ**-BSA комплексима.

5. ЛИТЕРАТУРА

1. Siegel, H.; Eggersdorfer, M. Ketones. Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry, **2012**.
2. Morrison, T.; Boyd, R. Summary of Ch. 27, Organic Chemistry, 3rd ed., **1992**.
3. Bentley, K.; Hardy, D.; Meek, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *89*, 3293.
4. Parker, K.; Brunton, L.; Goodman and Gilman's, The pharmacological basis of therapeutics, 11th edition, **2006**.
5. Hall, D.; Strange, P. *British J. Pharm.* **1997**, *121*, 731.
6. Sahu, N.K.; Balbhadra, S.S.; Choudhary, J.; Kohli, D.V. *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 209.
7. Evranos Aksöz, B.; Ertan, R. *FABAD J. Pharm. Sci.* **2011**, *36*, 223.
8. Bag, S.; Ramar, S.; Degani, M.S. *Med. Chem. Res.* **2008**, *18*, 309.
9. Mostahar, S.; Katun, P.; Islam, A. *J. Biol. Sci.* **2017**, *7*, 514.
10. Trivedi, A.R.; Dodiya, D.K.; Ravat, N.R.; Shah, V.H. *Arkivoc* **2008**, *xi*, 131.
11. Lunardi, F.; Guzela, M.; Rodrigues, A.T.; Corre, R.; Eger- Mangrich, I.; Steindel, M.; Grisard, E.C.; Assreuy, J.; Calixto J.B.; Santos, A.R.S. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, *47*, 1449.
12. Yadav, H.L.; Gupta, P.; Pawar, P.S.; Singour, P.K.; Patil, U.K. *Med. Chem. Res.* **2010**, *19*, 1.
13. Nowakowska, Z. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, *42*, 125.
14. Kaushik, S.; Kumar, N.; Drabu, S. *Pharm. Res.* **2010**, *3*, 257.
15. Ratković, Z.; Muškinja, J.; Burmudžija, A.; Ranković, B.; Kosanić, M.; Bogdanović, G.A.; Simović-Marković, B.; Nikolić, A.; Arsenijević, N.; Đorđević, S.; Vukicević, R.D. *J. Mol. Struct.* **2016**, *1109*, 82.
16. Kumar, D.; Kumar, N. M.; Akamatsu, K.; Kusaka, E.; Harada, H.; Ito, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 3916.
17. Pedotti, S.; Patti, A.; Dedola, S.; Barberis, A.; Fabbri, D.; Dettori, M.A.; Serra, P.A.; Delogu, G. *Polyhedron* **2016**, *117*, 80.
18. Álvarez, M.G.; Crivoi, D.G.; Medina, F.; Tichit, D. *Chem. Eng.* **2019**, *3*, 29.
19. Saiyad, I.Z.; Nadkarni, D.R.; Wheeler, T.S. *J. Chem. Soc.* **1937**, 1737.
20. Nielsen, S.F.; Boesen, T.; Larsen, M.; Kristian Schonning, K.; Kromann, H. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 3047.
21. Cabrera, M.; Simoens, M.; Falchi, G.; Lavaggi, M.L.; Piro, O.E.; Castellano, E.E.; Vidal, A.; Azqueta, A.; Monge, A.; Lopez de Cerain, A.; Sagraera, G.; Seoane, G.; Cerecetto, H.; Gonzalez, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 3356.
22. Zhao, L.M.; Jin, H.S.; Sun, L.P.; Piao, H.R.; Quan, Z.S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 5027.
23. Bhat, B.A.; Dhar, K.L.; Puri, S.C.; Saxena, A.K.; Shanmugavel, M.; Qazi, G.N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 3177.
24. Jun, N.; Hong, G.; Jun, K. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 2396.
25. Ballini, R.; Bosica, G.; Maggi, R.; Ricciutelli, M.; Righi, P.; Sartori, G.; Sartorio, R. *Green Chem.* **2001**, *3*, 178.
26. Barton, D.; Ollis, D. Comprehensive Organic Chemistry, Vol. 5 950, Pergamon, New York, **1979**.
27. Gangrade, D.; Lad, S.; Mehta, A. *International J. Res. Pharm. Sci.* **2015**, *5*, 37.
28. Polshettiwar, V.; Varma, R.S. *Acc.Chem. Res.* **2008**, *41*, 629.
29. Uddin, M.N.; Knock, M.N.H.; Uzzaman, M.; Bhuiyan, M.M.H.; Sanauallah, A.; Shumi, W.; Amin, H.M.S. *J. Mol. Struct.* **2020**, *1206*, 127678.
30. Borade, R.M.; Somvanshi, S.B.; Kale, S.B.; Pawar, R.P.; Jadhav, K. *Materials Res. Express* **2020**, *7*, 016116.
31. Khan, S.A.; Asiri, A.M.; Al-Ghamdi, N.S.M.; Asad, M.; Zayed, M.E.; Elroby, S.A.; Aqlan, F.M.; Wani, M.Y.; Sharma, K. *J. Mol. Struct.* **2019**, *1190*, 77.
32. Cella, R.; Stefani, H.A. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 2619.

33. Polo, E.; Ibarra-Arellano, N.; Prent-Peñalosa, L.; Morales-Bayuelo, A.; Henao, J.; Galdámez, A.; Gutiérrez, M., *Bioorg. Chem.* **2019**, *90*, 103034.
34. Adole, V.A.; Jagdale, B.S.; Pawar, T.B.; Sagane, A.A. *South African J. Chem.* **2020**, *73*, 35.
35. He, T.; Shi, R.; Gong, Y.; Jlang, G.; Liu, M.; Qian, S.; Wang, Z. *Synlett* **2016**, *27*, 1864.
36. Van Beurdena, K.; de Koning, S.; Molendijk, D.; van Schijndel, J. *Green Chem. Lett. Rev.* **2020**, *13*, 349.
37. Kidwai, M.; Mishra, N.K. Green Chemistry - Environmentally Benign Approaches Green Chemistry Aspects for the Knoevenagel Reaction, **2012**
38. White, N.; van Vugt, M.; Ezzet, F. *Clin. Pharmacokinet.* **1999**, *37*, 105.
39. Meyer, K.H.; Schueter, K. Umlagerung tertiärer Äthynyl-carbinole in ungesättigte ketone. **1922**, *55*, 819.
40. Blanco-Urgoiti, J.; Añorbe, L.; Pérez-Serrano, L.; Domínguez, G.; Pérez-Castells, J. *Chem. Soc. Rev.* **2004**, *33*, 32.
41. Smit, W.A.; Simonyan, S.O.; Tarasov, V.A.; Mikaelian, G.S.; Gybin, A.S.; Ibragimov, I.I.; Caple, R.; Froen, D.; Kreager, A. *Synthesis* **1989**, *6*, 472.
42. Shambayati, S.; Crowe, W.E.; Schreiber, S.L. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 5289.
43. Billington, D.C.; Helps, I.M.; Pauson, P.L.; Thomson, W.; Willison, D. *J. Organomet. Chem.* **1988**, *354*, 233.
44. Chung, Y.K.; Lee, B.Y.; Jeong, N.; Hudecek, M.; Pauson, P.L. *Organometallics* **1993**, *12*, 220.
45. Krafft, M.E.; Boñaga, L.V.R.; Hirosawa, C. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 1233.
46. Valenta, P.; Drucker, N.; Bode, J.; Walsh, P. *Org. Lett.* **2011**, *11*, 2117.
47. Pandey, G.; Vaitla, J. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 4890.
48. Ma, X.; Wang, Y.; Dai, R.; Liu, C.; Tians, S. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 11071.
49. Venkati, B.; Rodney, F. *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 8577.
50. Frigerio, M.; Santagostino, M. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 8019.
51. Nicolaou, K.; Montagnon, T.; Baran, P.; Zhong, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2245.
52. Amin, M.M.; Shaykoon, M.S.A.; Marzouk, A.A.; Beshr, E.A.M.; El-Din A. Abuo-Rahma, G. *J. Adv. Biomed. Pharm. Sci.* **2023**, *6*, 124.
53. Bhatt, D.; Soni, R.; Sharma, G.K.; Dashora, A. *Indo Am. J. Pharm. Res.* **2016**, *6*, 4345.
54. Amir, M.; Kumar, H.; Khan, S.A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 918.
55. Hussain, M.I.; Shukla, S. *Indian J. Chem.* **1986**, *25B*, 983.
56. Bilgin, A.A.; Palaska, E.; Sunal, R.; Gunnesel, B. *Pharmazie* **1994**, *49*, 67.
57. Solankee, A.; Solankee, S.; Patel, G.; Patel, K.; Patel, R. *Der Pharma Chemica* **2011**, *3*, 300.
58. Shekarchi, M.; Hamedani, B.P.; Navidpour, L.; Adib, N.; Shafiee, A. *J. Iran. Chem. Soc.* **2008**, *5*, 150.
59. Tiwari, A.; Bendi, A.; Bhatihwal, A.S. *ChemistrySelect* **2021**, *6*, 12757.
60. Deng, J.; Sanchez, T.; Neamati, N.; Briggs, J.M. *J. Med Chem.* **2006**, *49*, 1684.
61. Binder, F.R.D.; Ferber, H.P. US Pat. 4841065, **1989**; *Chem Abstr.*, **1985**, *103*, 196028.
62. Padmaja, A.; Payani, T.; Reddy, G.D.; Padmavathi, V. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 4557.
63. Habeeb, A.G.; Rao, P.N.P.; Knaus, E.E. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2921.
64. Kumbhare, R.M.; Kosurkar, U.B.; Janaki Ramaiah, M.; Dadmal, T.L.; Pushpavalli, S.N.C.V.L.; Pal-Bhadra, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 5424.
65. Hanessian, S.; McNaughton-Smith, G.; Lombart, H.-G.; Lubell, W.D. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 12789.

66. Kadish, K.M.; Smith, K.M.; Guillard, R. Handbook of porphyrin science, with applications to chemistry, physics, materials science, engineering, biology and medicine, Ed. World scientific publishing, Singapore, **2010**.
67. O'Hagan, D. *Nat. Prod. Rep.* **2000**, *17*, 435.
68. Zheng, D.; Li, S.; Luo, Y.; Wu, J. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 6402.
69. Manetti, F.; Brullo, C.; Magnani, M.; Mosci, F.; Chelli, B.; Crespan, E.; Schenone, S.; Naldini, A.; Bruno, O.; Trincavelli, M.L.; Maga, G.; Carraro, F.; Martini, C.; Bondavalli, F.; Botta, M. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 1252.
70. Xia, Y.; Dong, Z.-W.; Zhao, B.-X.; Ge, X.; Meng, N.; Shin, D.-S.; Miao, J.-Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 6893.
71. Daidone, G.; Raffa, D.; Maggio, B.; Valeria Raimondi, M.; Plescia, F.; Schillaci, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, *39*, 219.
72. Warshakoon, N.C.; Wu, S.; Boyer, A.; Kawamoto, R.; Renock, S.; Xu, K.; Pokross, M.; Evdokimov, A.G.; Zhou, S.; Winter, C.; Walter, R.; Mekel, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 5687.
73. Bhat, B.A.; Dhar, K.L.; Puri, S.C.; Saxena, A.K.; Shanmugavel, M.; Qazi, G.N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 3177.
74. Hamada, N.M. *Heterocycl. Commun.* **2009**, *15*, 327.
75. Abdel-Rahman, A.A.H.; Abdel-Megied, A.E.S.; Hawata, M.A.M.; Kasem, E.R.; Shabaan, M.T. *Monatsh. Chem.* **2007**, *138*, 889.
76. Agrawal, N.N.; Soni, P.A. *Indian J. Chem. B.* **2007**, *46*, 532.
77. Karale, B.K.; Gill, C.H.; Khan, M.; Chavan, V.P.; Mane, A.S.; Shingare, M.S. *Indian. J. Chem.* **2002**, *41*, 1957.
78. El-Hashash, M.A.; Mahmoud, M.R.; Madboli, S.A. *Indian. J. Chem.* **1993**, *32*, 449.
79. Kidwai, M.; Mishra, M. *J. Serb. Chem. Soc.* **2004**, *69*, 247.
80. D. J. Brown, *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, Vol. 3, Boulton, A.J.; McKillop, A. Eds. Pergamon, Oxford, UK, **1984**, p. 150.
81. Ingarsal, N.; Saravanan, G.; Amutha, P.; Nagarajan, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, *42*, 517.
82. Sharshira, E.M.; Hamada, N.M.M. *Am. J. Org. Chem.* **2012**, *2*, 26.
83. Ramiz, M.M.; El-Sayed, W.A.; El-Tantawy, A.I.; Abdel-Rahman, A.A.-H., *Arch. Pharm. Res.* **2010**, *33*, 647.
84. Borgna, P.; Pregolato, M.; Invernizzi, A.G.; Mellerio, G. *J. Heterocycl. Chem.* **1993**, *30*, 1079.
85. Poreba, K.; Opolski, A.; Wietrzyk, J. *Acta Poloniae Pharm.* **2002**, *59*, 215.
86. Basnet, A.; Thapa, P.; Karki, R.; Choi, H.; Choi, J.H.; Yun, M.; Jeong, B.-S.; Jahng, Y.; Na, Y.; Cho, W.-J.; Kwon, Y.; Lee, C.-S.; Lee, E.-S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 42.
87. Johns, B.A.; Gudmundsson, K.S.; Allen, S.H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2858.
88. Moustafa, O.S. *J. Chin. Chem. Soc.* **2003**, *50*, 1205.
89. Drabu, S.; Kumar, N. *Asian J. Chem.*, **2007**, *19*, 4957.
90. Drabu, S.; Archana; Singh, S.; Munirajam, S.; Kumar, N. *Indian J. Heterocycl. Chem.*, **2007**, *16*, 411.
91. Hegde, H.; Sinha, R.K.; Kulkarni, S.D.; Shetty, N.S. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2020**, *389*, 112222.
92. Gaikwad, S.S.; Suryawanshi, V.S.; Kulkarni, D.R.; Jadhav, D.V.; Shinde, N.D. *Org. Chem. Indian J.* **2012**, *8*, 241.

93. Di Carlo, G.; Mascolo, N.; Izzo, A.A.; Capasso, F. *Life Sci.* **1999**, *65*, 337.
94. Nijveldt, R.J.; van Nood, E.; van Hoorn, D.E.C.; Boelens, P.G.; van Norren, K.; van Leeuwen, P.A.M. *Am. J. Clin. Nutr.* **2001**, *74*, 418.
95. Harborne, J.; Mabry, T.; Mabry, H. *The Flavonoids*. Academic Press, New York, **1976**.
96. Climent, M.J.; Corma, A.; Iborra, S.; Primo, J. *J. Catal.* **1995**, *151*, 60.
97. Algar, J.; Flynn, J.P. *Proc. R. Ir. Acad.* **1934**, *42B*, 1.
98. Oyamada, B. *J. Chem. Soc. Japan* **1934**, *55*, 1256.
99. Fischer, J.; Ganellin, C.R. *Analogue-based drug discovery*, John Wiley & Sons. **2006**, *442*, 19.2.1.
100. Tuba, Z.; Maho, S.; Santa C. *Corticosteroids, From natural products to useful analogues*, In *analogue-based Drug Discovery*, Fischer, J.; Ganellin, C.R. Wiley-VCH (Eds.), **2006**, p. 419.
101. Xiao-Hong, L.; Bi-Wen, X.; Zhi-Jian, W.; Li, J.; Yao-Guang, Z. *Comparative biochemistry and physiology part C: Toxicology and pharmacology*, **2016**, S1532045616300436.
102. Lightman, S.; Birnie, M.; Conway-Campbell, B. *Endocr. Rev.* **2020**, *41*, 470.
103. Fischer, J.; Ganellin, C.R. *Analogue-based drug discovery*, John Wiley and Sons, **2006**, p. 535.
104. Vardanyan, R.; Hruby, V. *Antihypertensive drugs, Synthesis of essential drugs*, Chapter 22, Elsevier, **2006**, p. 295.
105. Patchett, A.A.; Harris, E.; Tristram, E.W.; Wyvratt, M.J.; Wu, M.T.; Taub, D.; Peterson, E.R.; Ikeler, T.J.; Ten Broeke, J.; Payne, L.G.; Ondeyka, D.L. *Nature*, **1980**, *288*, 280.
106. Wyvratt, M.J.; Tristram, E.W.; Ikeler, T.J.; Lohr, N.S.; Joshua, H.; Springer, J.P.; Arison, B.H.; Patchett, A.A. *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 2816.
107. Harris, E.E. Patchett, A.A. Tristram, E.W.; Wyvratt; M.J. *Amino acid derivatives as antihypertensives*, US Pat.,4472380, **1984**.
108. Harris, E.E.; Patchett, A.A.; Tristram, E.W.; Wyvratt, M.J. *Eur. Pat. Appl.* **1979**, 12401.
109. Fischer, J.; Ganellin, C.R. *Analogue-based drug discovery*, John Wiley and Sons, **2006**, p. 448.
110. Schnadower, D.; Finkelstein, Y.; Freedman, S.B. *Curr. Opin. Gastroenterol.* **2015**, *31*, 1.
111. Freedman, S.B.; Ali, S.; Oleszczuk, M.; Gouin, S.; Hartling, L. *Evid. Based Child Health* **2013**, *8*, 1123.
112. Milne, R.J.; Heel, R.C. *Drugs* **1991**, *41*, 574.
113. Markham, A.; Sorkin, E.M. *Drugs* **1993**, *45*, 931.
114. Kohler, D.R.; Goldspiel, B.R. *DICP* **1991**, *25*, 367.
115. Oxford, A.W.; Eldred, C.D.; Coates, I.H.; Bell, J.A.; Humber, D.C.; Ewan, G.B. *Process for preparing tetrahydrocarbazolones*. US Pat. **1988**, 4739072.
116. Heidelbaugh, J.J. Holmstrom, H. *J. Fam. Pract.* **2013**, *62*, 191.
117. Fischer, J.; Ganellin, C.R. *Analogue-based Drug Discovery*; John Wiley and Sons. **2006**, p. 500.
118. Grohe, K.; Heitger, H. *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, *29*.
119. Bhagvat, A.; Khadke, A.; Patil, A.; Jadhav, B. *Eur. J. Biomed. Pharm. Sci.* **2017**, *4*, 128.
120. Fukushima, R.; Kanamori, S.; Hirashiba, M.; Hishikawa, A.; Muranaka, R.; Kaneto, M.; Nakamura, K.; Kato, I. *Reprod. Toxicol.* **2007**, *24*, 310.
121. Fox, R.I.; Herrmann, M.L.; Frangou, C.G.; Wahl, G.M.; Morris, R.E.; Strand, V.; Kirschbaum, B.J. *Clin Immunol.* **1999**, *93*, 198.
122. Tomlinson, I.; Gussin, H.; Little, D.; Warnement, M.; Qian, H.; Pepperberg, D.; Rosenthal, S. *J. Biomed. Biotechnol.* **2007**, *1*.
123. Francisco, E.Y.; Seltzman, H.H.; Gilliam, A.F.; Mitchell, R.A.; Rider, S.L.; Pertwee, R.G.; Stevenson, L.A.; Thomas, B. F. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2708.

124. Kotagiri, V.; Suthrapu, S.; Mukunda, R.; Jambula, P.; Chitneni, B.; Vijaybhaskar, B.; Apurba, B. *Org. Process Res. Dev.* **2010**, *11*, 910.
125. Moreira, F.; Crippa, J. *Rev. Bras. Psiquiatr.* **2009**, *31*, 145.
126. Davis, R.; Bryson, H.M. *Drugs*, **1994**, *47*, 677.
127. Norrby, S.R. *Expert Opin. Pharmacother.* **1999**, *1*, 109.
128. Anderson, V.R.; Perry, C.M. *Drugs* **2008**, *68*, 535.
129. Noreddin, A.M.; Elkhatib, W.F. *Expert Rev. Anti-Infect. Ther.* **2010**, *8*, 505.
130. Fischer, J.; Ganellin, C.R. *Analogue-based Drug Discovery*, John Wiley and Sons. **2006**, p. 501.
131. Andriole, V. *Formulary* **2002**, *37*, 13.
132. Chu, D.; Mitscher, L. Process for preparation of racemate and optically active Ofloxacin and related derivatives, U.S. Patent **1988**, 4,777, 253.
133. Rodriguez, G.; Varon, J. *Crit. Care Shock.* **2006**, *9*, 37.
134. Andersen, K.; Nordlander, M.; Westerlund, R. Short-acting dihydropyridines, U.S. Patent **1999**, 5,856,346.
135. Vishnu, N.; Puruschottam, J.; Kumar, S. Preparation of dihydropyridines, Eur. Patent EP **2011**, 2 386 544.
136. Capdeville, R.; Buchdunger, E.; Zimmermann, J.; Matter, A. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2002**, *1*, 493.
137. Arora, A.; Scholar, E.M. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2005**, *315*, 971.
138. Hopkin, M.; Baxendale, I.; Ley, S. *Chem. Commun* **2010**, *46*, 2450.
139. Szczepek, W.; Luniewski, W.; Kaczmarek, L.; Zagrodzki, B.; Samson-Lazinska, D.; Szelejewski, W.; Skarzynski, M. Process for preparation of Imatinib base. U.S. Patent **2010**, 7,674,901 B2.
140. Andrews, S.; Burgess, S.J.; Skaalrud, D.; Kelly, J.X.; Peyton, D.H. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 916.
141. Popert, A.J.; Meijers, K.A.; Sharp, J.; Bier, F. *Ann. Rheum. Dis.* **1961**, *20*, 18.
142. Schrezenmeier, E.; Dörner, T. *Nat. Rev. Rheumatol.* **2020**, *16*, 155.
143. Plantone, D.; Koudriavtseva, T. *Clin. Drug Invest.* **2018**, *38*, 653.
144. Perricone, C.; Triggianese, P.; Bartoloni, E.; Cafaro, G.; Bonifacio, A.F.; Bursi, R.; Perricone, R.; Gerli, R. *J. Autoimmun.* **2020**, *111*, 102468.
145. Savarino, A.; Boelaert, J.R.; Cassone, A.; Majori, G.; Cauda, R. *Lancet Infect. Dis.* **2003**, *3*, 722.
146. Vincent, M.J.; Bergeron, E.; Benjannet, S.; Erickson, B.R.; Rollin, P.E.; Ksiazek, T.G.; Seidah, N.G.; Nichol, S.T. *Virology* **2005**, *2*, 1.
147. Andersag, H.; Breitner, S., Wuppertal-Elberfeld, H.J. (Parke Davis and Co LLC). **1941**, US2233970A.
148. Price, C.C.; Roberts, R.M. *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, *68*, 1204.
149. Surrey, A.R.; Albany, N.Y. (STWB Inc). **1951**, US2546659A.
150. Lamb, N. *Drugs* **2017**, *77*, 1797.
151. Carrion, A.; Martin, P. *Expert Opin. Pharmacother.* **2018**, *19*, 413.
152. Wang, A.; Zheng, B.; D'Andrea, S.; Zhao, Q.; Scola, P. *Chem. Abstr.* **2008**, *149*, 10287.
153. Or, Y.; Ma, J.; Wang, G.; Long, J.; Wang, B. *Chem. Abstr.* **2012**, *156*, 421825.
154. Časar, Z. *Synthesis.* **2020**, *52*, 1315.
155. Corey, E.J.; Chaykovsky, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 1353.
156. Kalirajan, R.; Sivakumar, S.; Jubie, S.; Gowramma, B.; Suresh, B. *Int. J. Chemtech Res.* **2009**, *1*, 27.
157. Ludwig, B.; Joao, C.; Kuhn, F. *Coord. Chem. Rev.* **2019**, *3690*, 22.
158. Wang, R.; Chen, H.; Yan, W.; Zheng, M.; Zhang, T.; Zhang, Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *190*, 112109.

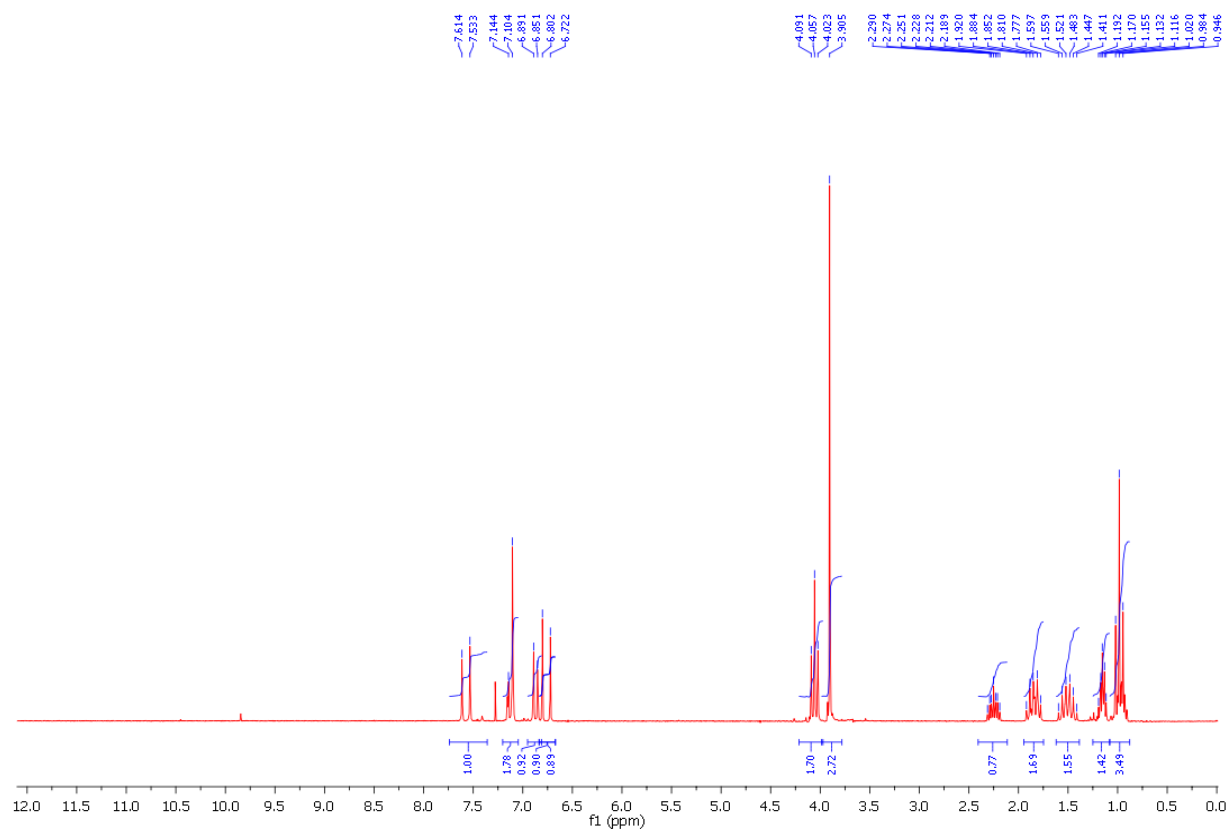
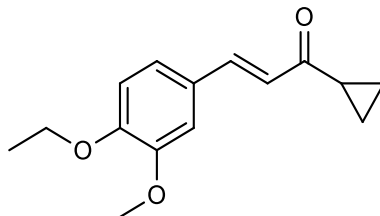
159. Peter, S.; Aderibigde, B.; Santini, C.; Pellei, M. *Molecules* **2019**, *24*, 3604.
160. Biot, C.; Glorian, G.; Maciejewski, L.A.; Brocard, J.S. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3715.
161. Muškinja, J. Ванилин као прекурсор у синтези неких биолошки активних једињења, докторска дисертација, **2016**.
162. Muškinja, J.; Ratković, Z.; Ranković, B.; Kosanić, M. *Kragujevac J. Sci.* **2016**, *38*, 97.
163. Burmudžija, A.; Muškinja, J.; Ratković, Z. *Kragujevac J. Sci.* **2017**, *39*, 123.
164. Burmudžija, A.; Muškinja, J.; Ratković, Z.; Kosanić, M.; Ranković, B.; Novaković, S.B.; Bogdanović, G.A. *Inorganica Chim. Acta*, **2018**, *471*, 570.
165. Tsukiyama, R.I.; Katsura, H.; Tokuriki, N.; Kobayashi, M. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46*, 1226.
166. Semwal, R.B.; Semwal, D.K.; Combrinck, S.; Viljoen, A.M. *Phytochemistry* **2015**, *117*, 554.
167. Nakamura, H.; Yamamoto, T. *Mutat. Res. Lett.* **1983**, *122*, 87.
168. Dugasani, S.; Pichika, M.R.; Nadarajah, V.D.; Balijepalli, M.K.; Tandra, S.; Korlakunta, J.N. *J. Ethnopharmacol.* **2010**, *127*, 515.
169. Boger, D.L.; Hughes, T.V.; Hedrick, M.P. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2207.
170. Faust, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2251.
171. Yoshida, S.; Rosen, T.C.; Meyer, O.G.J.; Sloan, M.J.; Ye, S.; Haufe, G.; Kirk, K.L. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 2645.
172. Siddiqui, Z.; Praveen, S.; Musthafa, T.; Ahmad, A.; Khan, A. *Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2012**, *27*, 84.
173. Nowakowska, Z. *Spectroscopy Lett.* **2005**, *38*, 477.
174. Dahr, D. The Chemistry of chalcones and related compounds. Wiley: New York, **1981**.
175. Gerkin, R. *Acta Crystallogr. Sect. C.* **1997**, *53*, 1280.
176. Gerkin, R. *Acta Crystallogr. Sect. C.* **1997**, *53*, 1989.
177. Zhang, M.; Eaton, P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2169.
178. De Boer, J.S.A.M.; Loopstra, B.O.; Stam, C.H. *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* **1987**, *106*, 537.
179. Ávila, H.; Smânia, E.; Monache, F.; Júnior, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 9790.
180. Sariga, Varghese, A. *Top. Curr. Chem.* **2023**, *381*, 32.
181. Patra, M.; Gasser, G. *Nat. Rev. Chem.* **2017**, *1*, 0066.
182. Motohashi, N.; Meyer, R.; Gollapudi, S.; Bhattiprolu, K. *J. Organomet. Chem.* **1990**, *398*, 205.
183. Runqiu, H.; Qingmin, W. *J. Organomet. Chem.* **2001**, *637*, 94.
184. Tirkey, V.; Mishra, S.; Dash, H. *J. Organomet. Chem.* **2013**, *732*, 122.
185. Levai, A.; Jekob, J. *ARKIVOC* **2005**, *X*, 199.
186. Tirouflet, J.; Boichard, J.C.R. *Acad. Sci.* **1960**, *250*, 1861.
187. Skubin, V.K.; Redko, V.P.; Kutepov, D.F.; Korshak, V.V. *Vysokomol. Soedin.* **1980**, *3*, 222.
188. Tirouflet, J.; Gautheron, B.; Dabard, R. *Bull. Soc. Chim. France.* **1965**, *1*, 96.
189. Horspool, W.M.; Sutherland, R.G.; Thomson, B.J. *J. Chem. Soc., Sect. C: Org.* **1971**, *8*, 1558.
190. El-Khawaga, A.M.; Hassan, K.M.; Khalaf, A.A. *Z. Naturforsch B* **1981**, *36*, 119.
191. Furdík, M.; Elečko, P.; Toma, Š.; Suchý, J. *Chem. Pap.* **1960**, *14*, 501.
192. Andrianov, V.G.; Struchkov, Y.T.; Postnov, V.N.; Klimova, E.I.; Sazonova, V.A. *J. Organomet. Chem.* **1984**, *272*, 81.
193. Cin, G.T.; Demirel, S.; Karadayi, N.; Buyukgungor, O. *Acta Crystallogr. Sect. E* **2008**, *64*, 514.
194. Cin, G.T.; Topel, S.D.; Cakici, A.; Yildirim, A.O.; Karadag, A. *J. Chem. Crystallogr.* **2012**, *42*, 372.
195. NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards)., Wayne, PA, USA, **1998**
196. Sarker, S.D.; Nahar, L.; Kumarasamy, Y. *Methods* **2007**, *42*, 321.

197. Scutaru, D.; Mazilu, I.; Tataru, L.; Vata, M. Lixandru, T. *J. Organomet. Chem.* **1991**, 406, 183.
198. hhhhh Scutaru, D.; Tataru, L.; Mazilu, I.; Diaconu, E.; Lixandru, T.; Simionescu, C. *J. Organomet. Chem.* **1991**, 401, 87.
199. Li, Y.Q.; Guo, Y.; J. Li, X.F.; Pan, J.H. *Talanta*, **2007**, 71, 123.
200. Olmsted, J.; Kearns III, D.R. *Biochem.* **1977**, 16, 3647.
201. Merlot, M.; Kalinowski, D.S.; Richardson, D.R. *Front. Physiol.* **2014**, 5, 299
202. Vivian, J.T.; Callis, P.R. *Biophys. J.* **2001**, 80, 2093.
203. Andrade, S.M.; Costa, S.M.B. *Biophys. J.* **2002**, 82, 1607.
204. Lakowicz, R. Principles of fluorescence spectroscopy, Kluwer Academic Publisher, New York, 3rd edn, **2006**
205. Gabler, W.L. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* **1991**, 72, 39.
206. Agilent, CrysAlis PRO. Agilent Technologies, Yarnton, Oxfordshire, England, **2013**
207. Sheldrick, G.M. *Acta Crystallogr.* **2008**, A64, 112.
208. Hartwig, A. *Chem.-Biol. Interact.* **2010**, 184, 269.
209. Kashanian, S.; Askari, S.; Ahmadi, F.; Omidfar, K.; Ghobadi, S., Tarighat, F.A. *DNA Cell Biol.* **2008**, 27, 581.
210. Ahmadi, F.; Bakhshandeh, F. *DNA Cell Biol.* **2009**, 28, 527.
211. Demchenko, A.P. *Anal. Biochem.* **2005**, 343, 1.
212. Li, Y.Q.; Guo, Y.J.; Li, X.F.; Pan, J.H. *Talanta* **2007**, 71, 123.
213. Mosmann, T. *J. Immunol. Methods* **1983**, 65, 55.
214. Meadows, K.A.; Liu, F.; Sou, J.; Hudson, B.P.; McMillin, D.R. *Inorg. Chem.* **1993**, 32, 2919.
215. Lakowicz, J.R. Principles of Fluorescence Spectroscopy, Kluwer Academic/Plenum, New York, **1999**.
216. Pabbathi, A.; Patra, S.; Samanta, A. *ChemPhysChem* **2013**, 14, 2441.
217. Herskovits, T.T. *Arch. Biochem. Biophys.* **1962**, 97, 474.
218. Escara, J.F.; Hutton, J.R. *Biopolymers* **1980**, 19, 1315.
219. Muškinja, J.; Burmudžija, A.; Ratković, Z.; Ranković, B.; Kosanić, M.; Bogdanović, G.A.; Novaković, S.B. *Med. Chem. Res.* **2016**, 25, 1744.
220. Burmudžija, A.; Ratković, Z.; Muškinja, J.; Janković, N.; Ranković, B.; Kosanić, M.; Đorđević, S. *RSC Advances*, **2016**, 6, 91420.

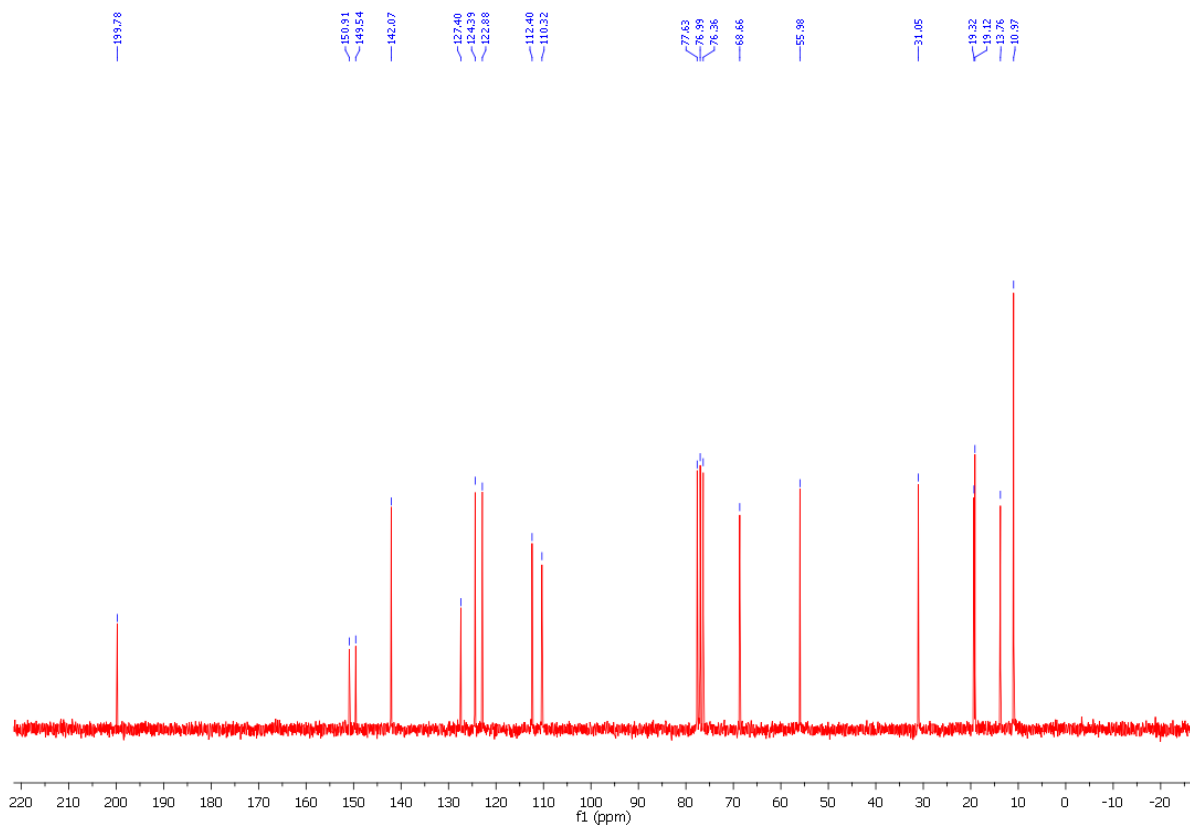
6. ПРИЛОГ

6.1. ^1H и ^{13}C NMR спектри за једињења 2д, 4б, 6а, 9б, 10б, 11б и 12б

(Е)-1-Циклопропил-3-(4-етокси-3-метоксифенил)-проп-2-ен-1-он, 2д

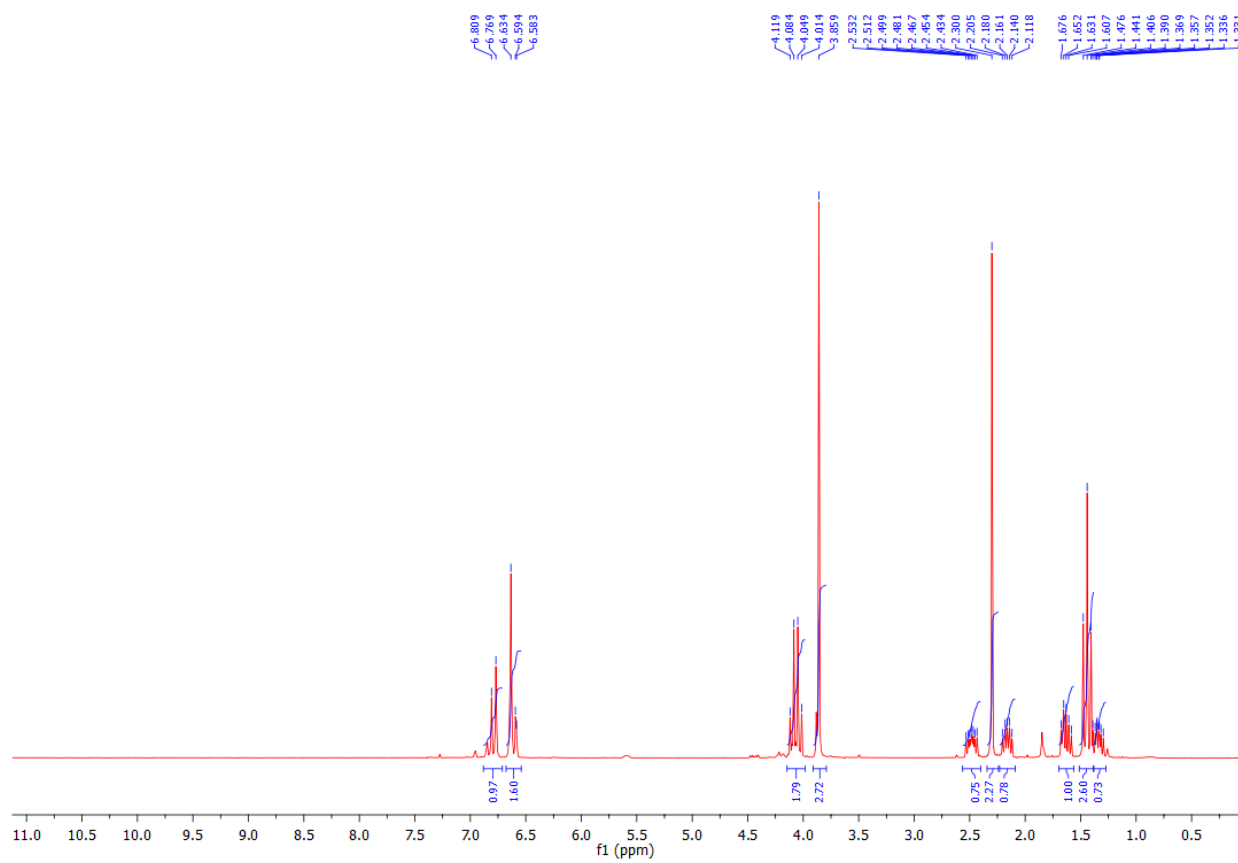
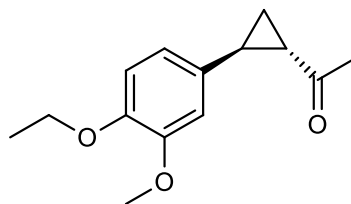


^1H NMR спектар за једињење 2д

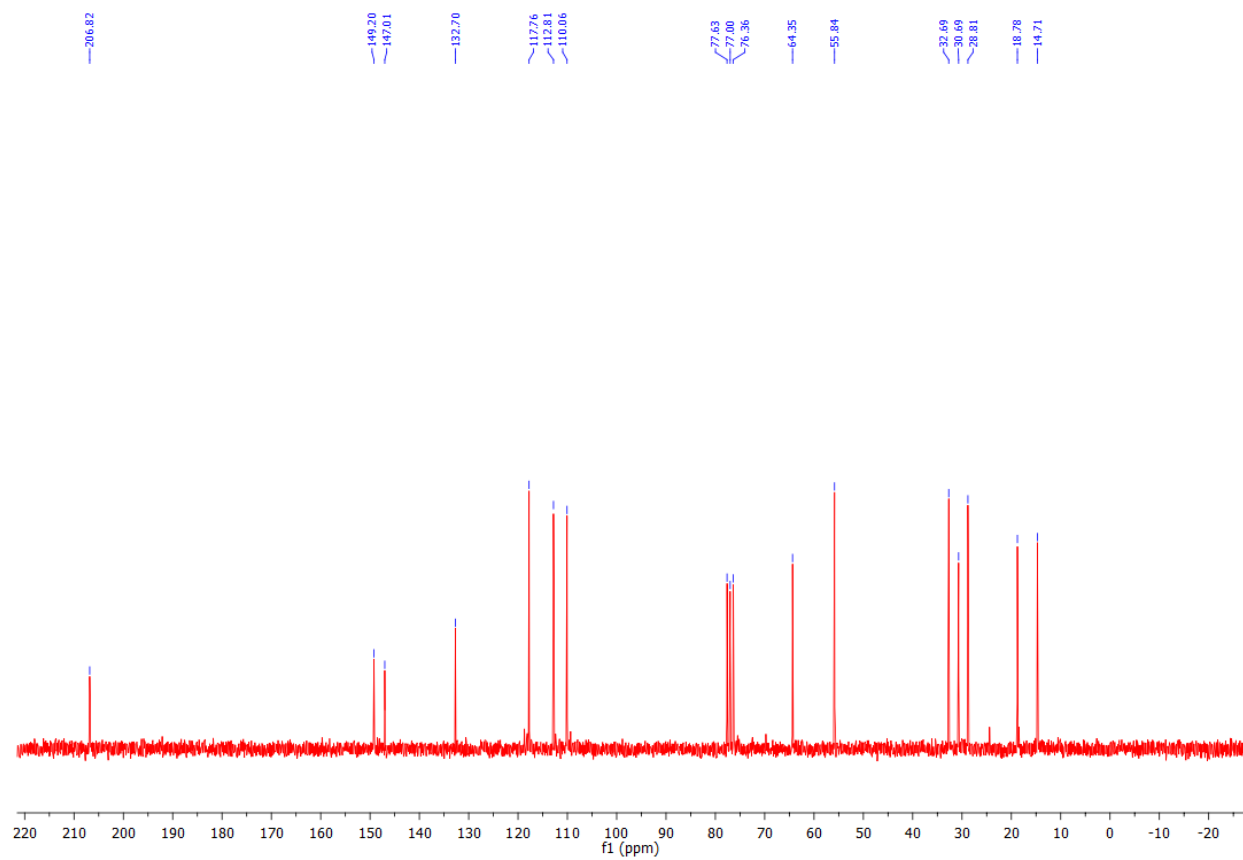


^{13}C NMR спектар једињења 2д

1-(2-(4-етокси-3-метоксифенил)циклопропил)етанон, 46

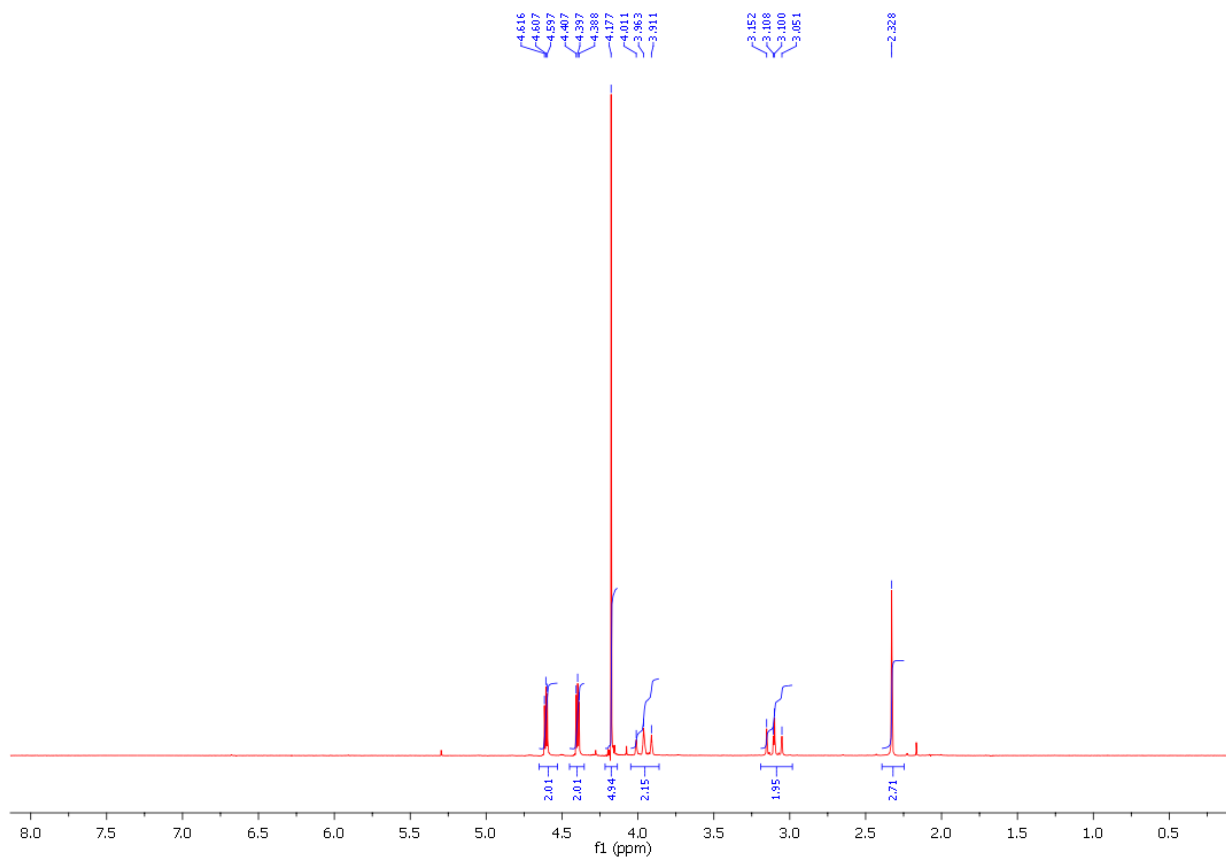
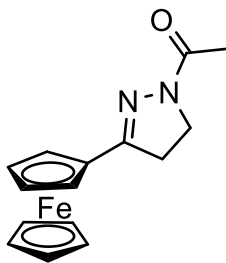


^1H NMR спектар за једињење 46

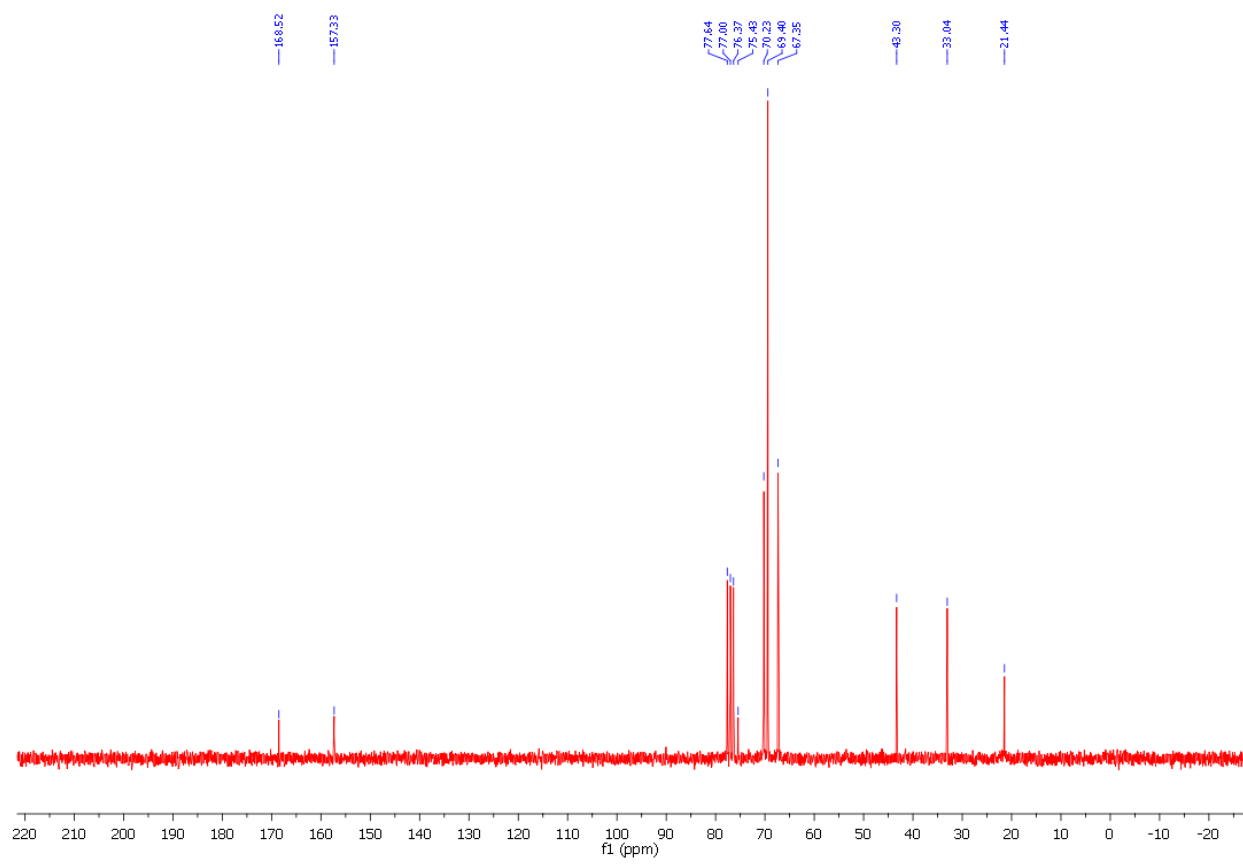


^{13}C NMR спектар једињења 46

1-(3-фероценил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-ил)етанон, ба

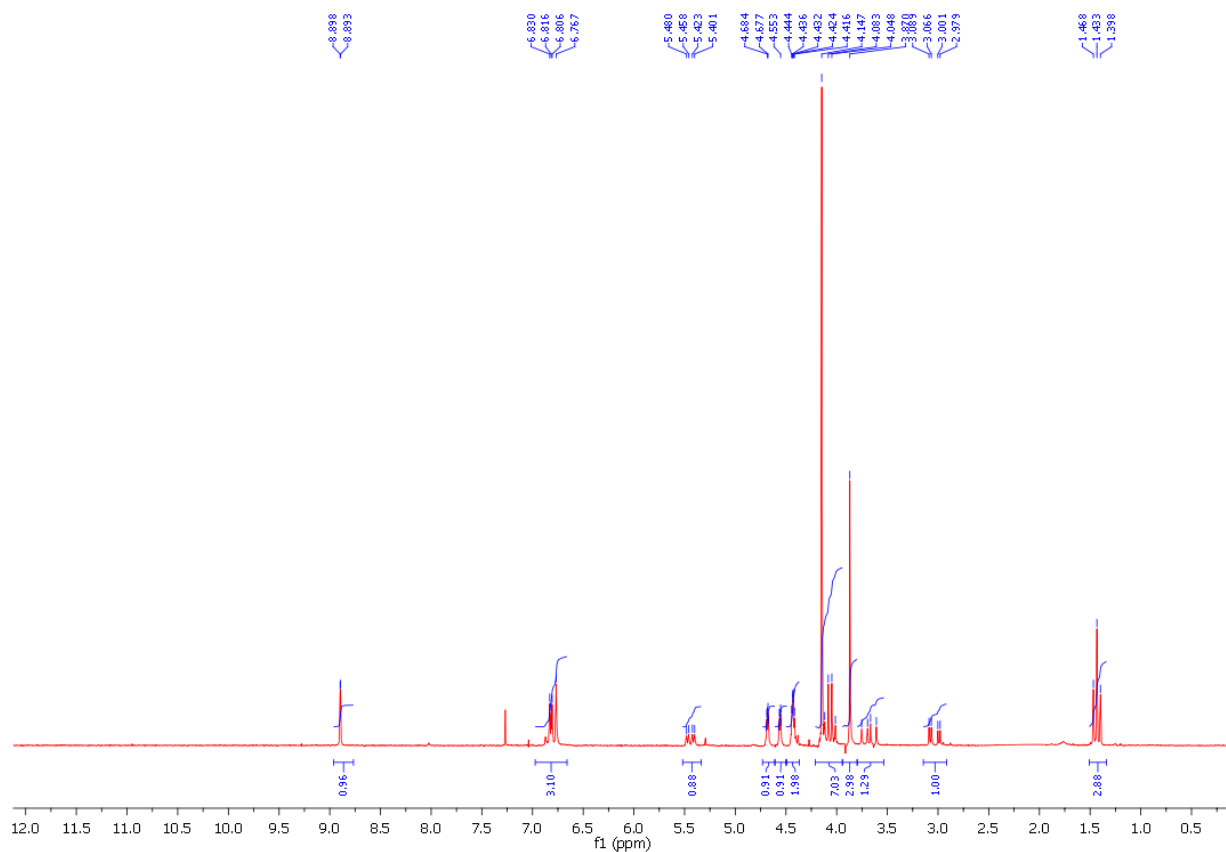
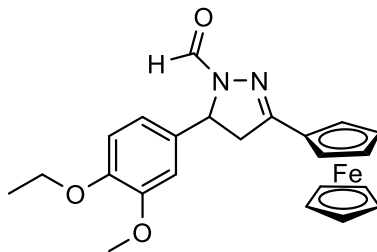


¹H NMR спектар за једињење ба

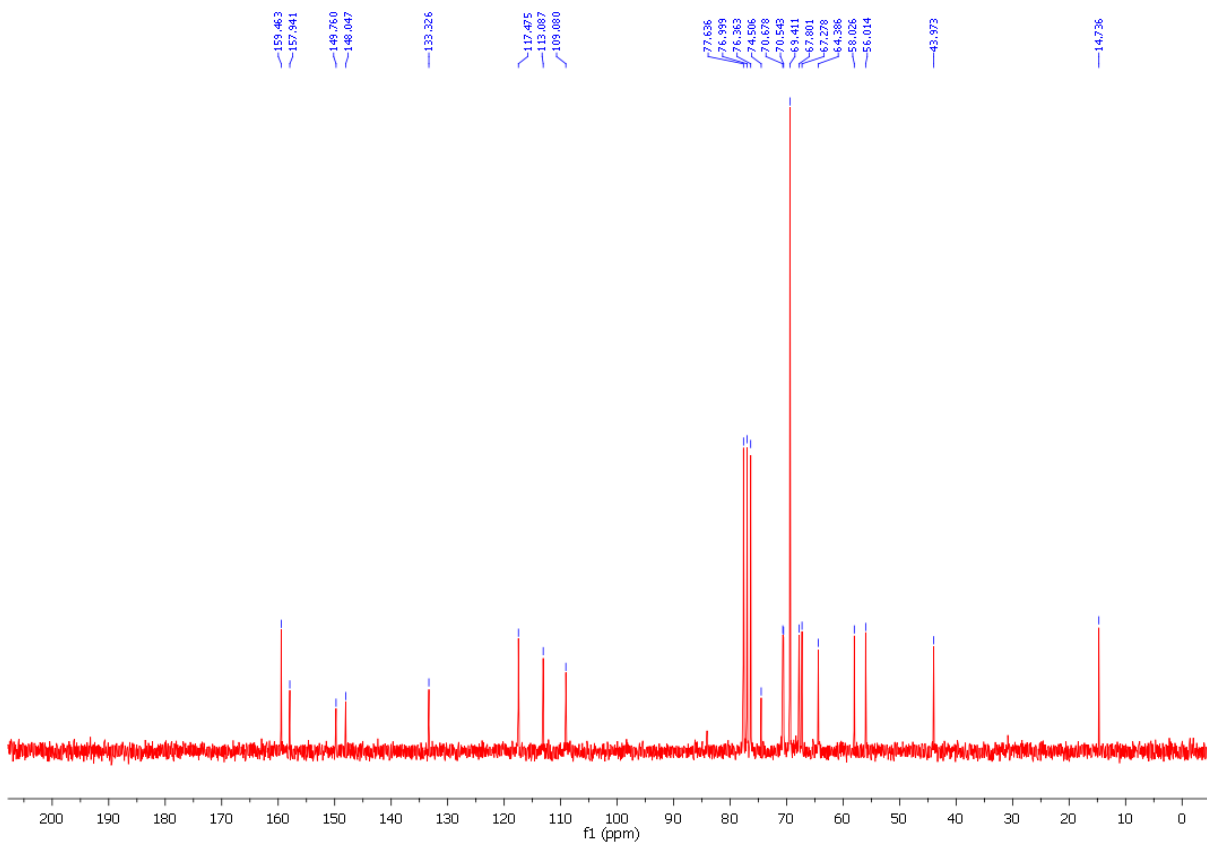


^{13}C NMR спектар једињења **6a**

5-(4-етокси-3-метоксифенил)-3-фероценил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-карбалдеhid, **96**

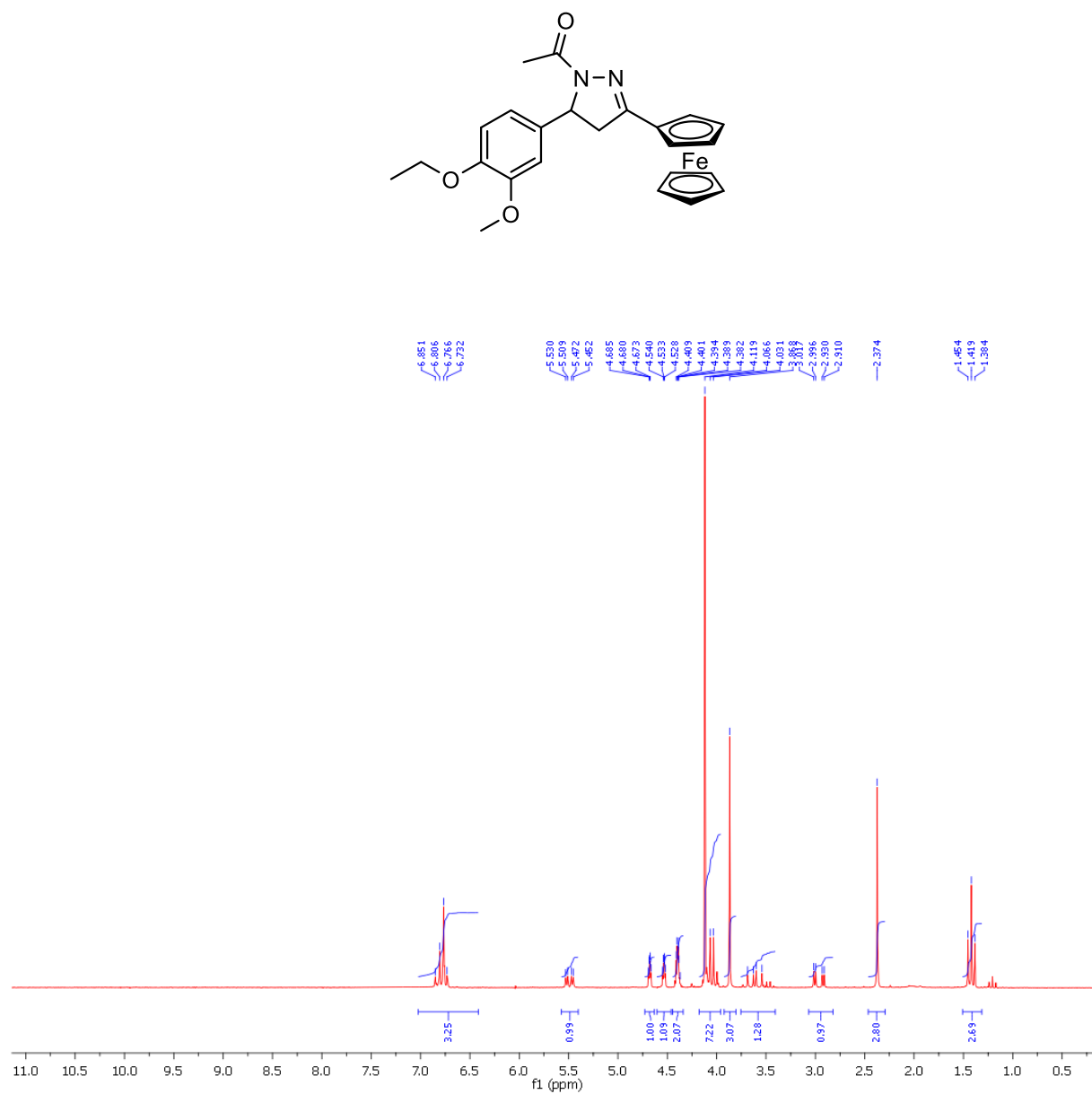


^1H NMR спектар за једињење **96**

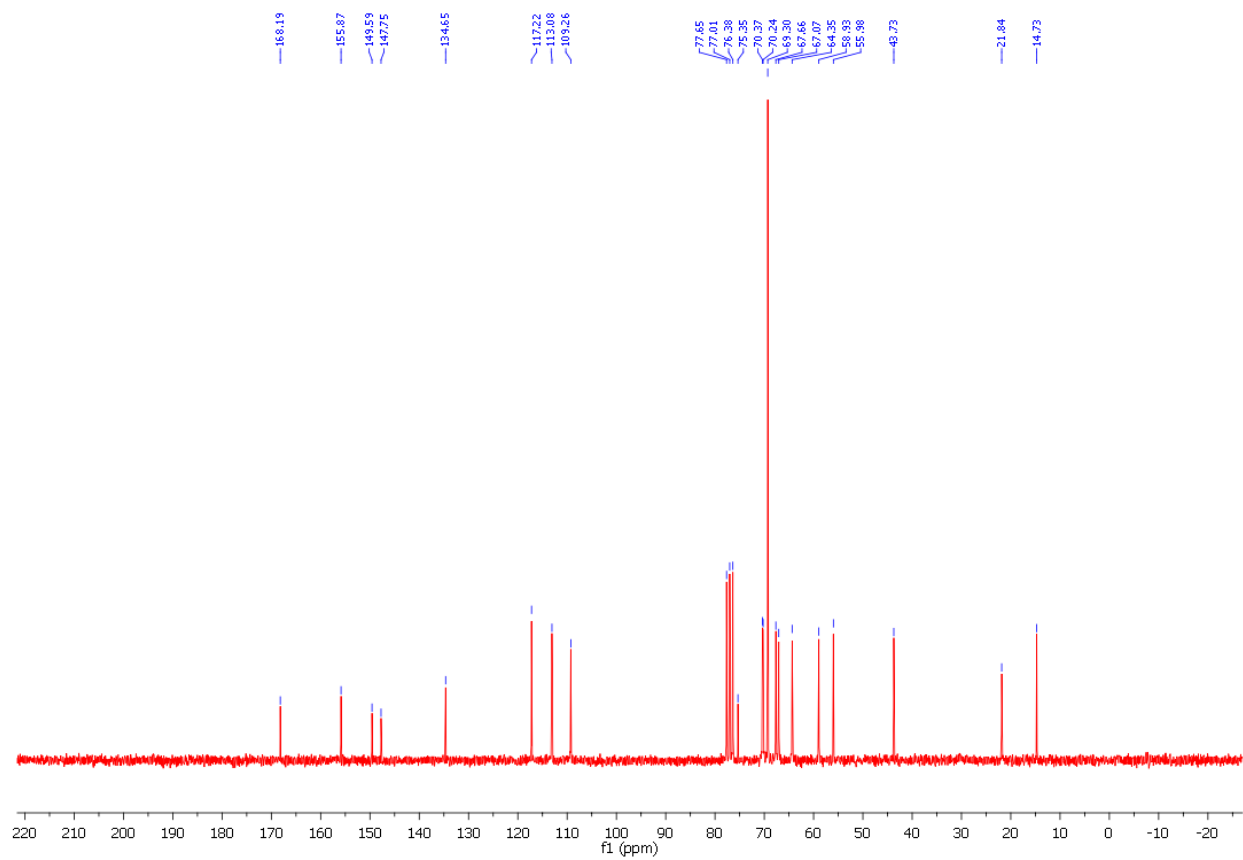


^{13}C NMR спектар једињења 9b

1-[5-(4-етокси-3-метоксифенил)-3-фероценил-4,5-дихидро-1Н-пиразол-1-ил]етанон, **106**

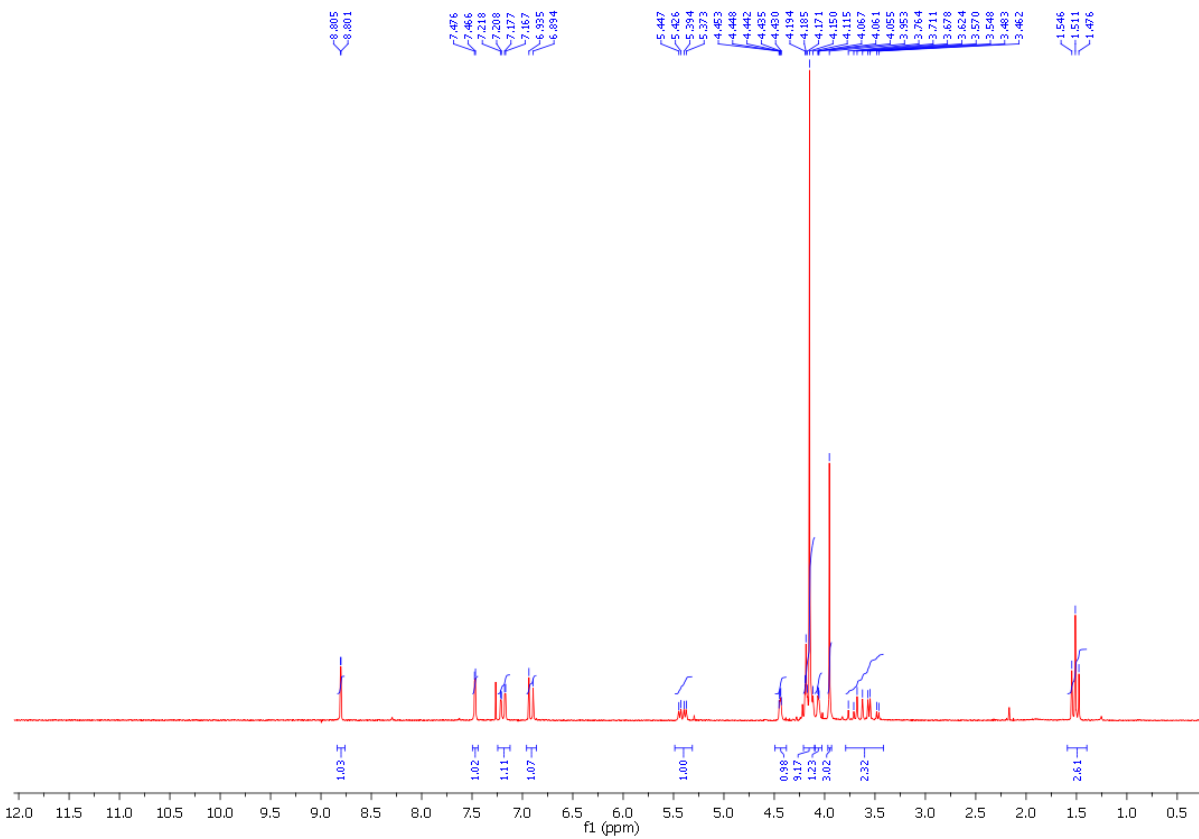
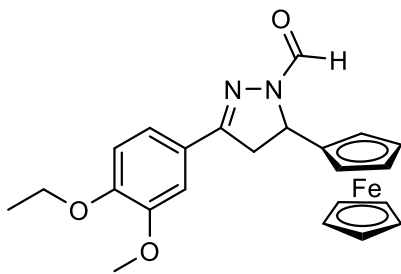


^1H NMR спектар за једињење **106**

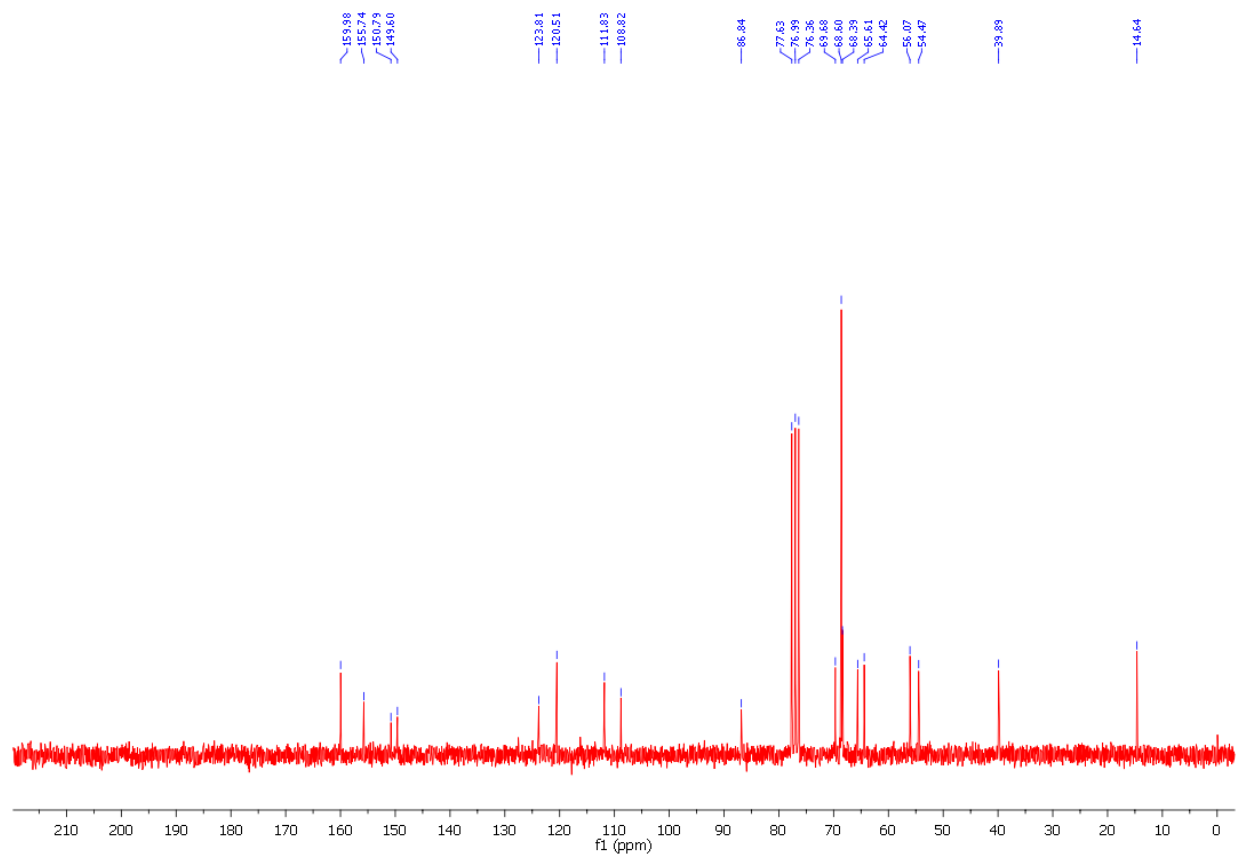


^{13}C NMR спектар једињења **106**

3-(4-етокси-3-метоксифенил)-5-фероценил-4,5-дихидро-1Н-пиразол-1-карбалдеhid, **116**

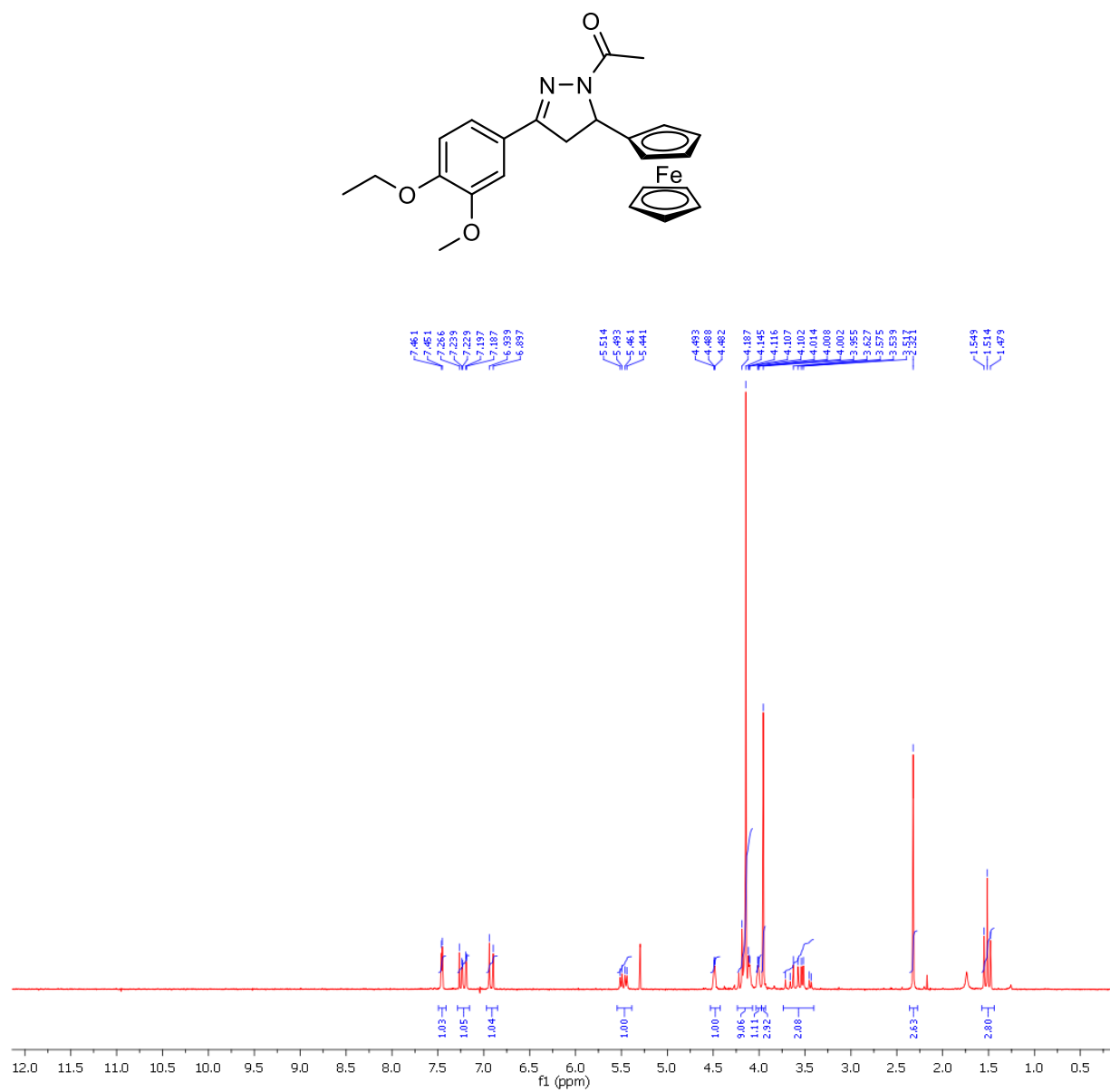


¹H NMR спектар за једињење **116**

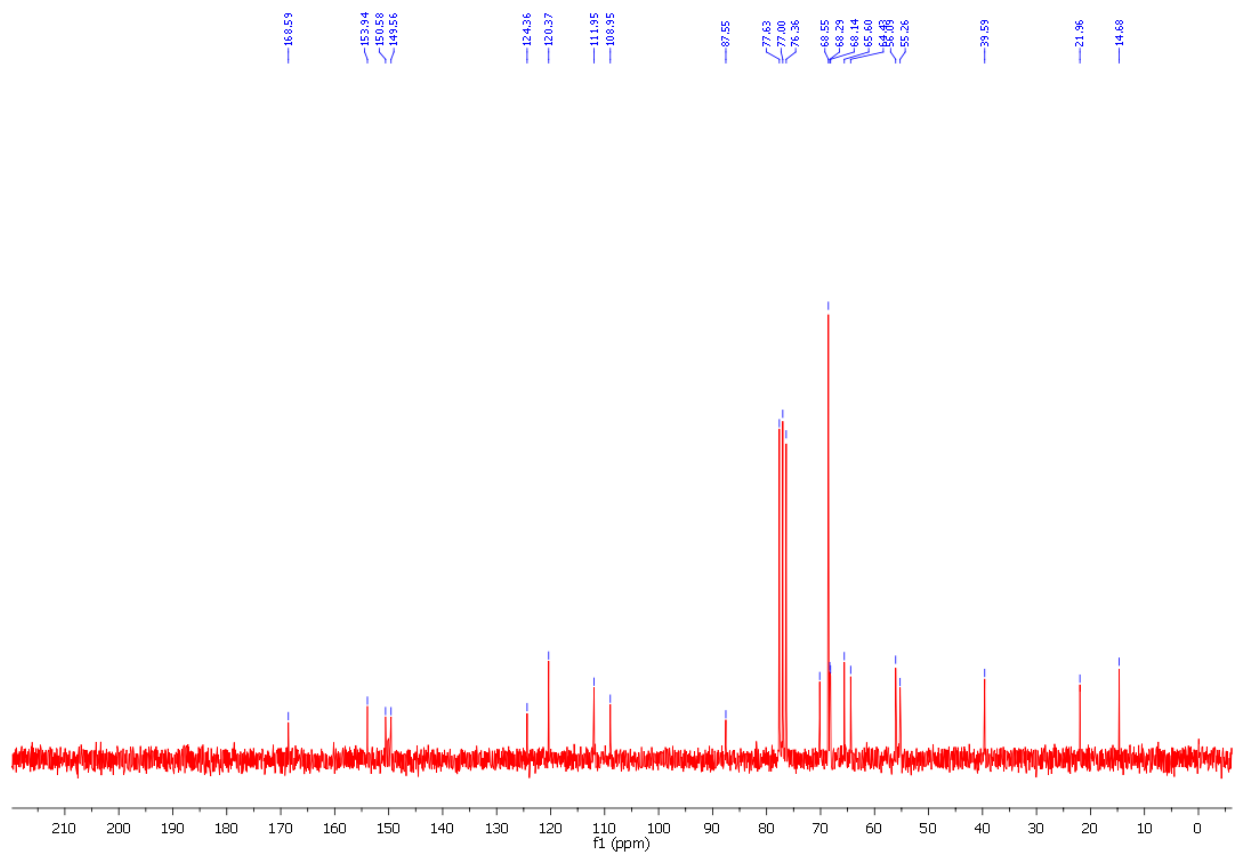


^{13}C NMR спектар једињења **116**

1-[3-(4-етокси-3-метоксифенил)-5-фероценил-4,5-дихидро-1Н-пиразол-1-ил]етанон, **126**



¹H NMR спектар за једињење **126**



^{13}C NMR спектар једињења **126**

6.2. Публиковани научни radovi u kojima su prezentovani rezultati doktorske disertacije

DEHYDROZINGERONE ANALOGUES: REACTION OF *O*-ALKYL DERIVATIVES OF VANILLIN AND METHYL CYCLOPROPYL KETONE

Adrijana Burmudžija, Jovana Muškinja, Zoran Ratković*

University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Chemistry,
Radoja Domanovića 12, 34 000 Kragujevac, Republic of Serbia

*Corresponding author; E-mail: wor@kg.ac.rs

(Received January 10, 2017; Accepted January 17, 2017)

ABSTRACT. *O*-Alkyl vanillines and methyl cyclopropyl ketone reacts under Claisen-Schmidt conditions yielding corresponding enone derivatives, dehydrozingerone analogues with cyclopropane ring fragment, (*E*)-1-cyclopropyl-3-(4-alkoxy-3-methoxyphenyl)prop-2-en-1-ones. All new compounds were well characterized by IR, ¹H and ¹³C NMR spectroscopy and physical data.

Keywords: vanillin, enone system, dehydrozingerone, cyclopropyl.

INTRODUCTION

Chalcones and its derivatives exhibit various pharmacological and biological activities.

They show good antimicrobial (OPLETALOVA, 2000; YAYLI *et al.*, 2006; TRIVEDI *et al.*, 2008), antifungal (MOSTAHAR *et al.*, 2007; LAHTCHEV *et al.*, 2008; BAG *et al.*, 2009), antioxidant (VOGEL *et al.*, 2008; SIVAKUMAR *et al.*, 2010; VASIL'EV *et al.*, 2010), antiprotozoal (LUNARDI *et al.*, 2003), antitrichomonal (OYEDAPO *et al.*, 2004), antimalarial (MOTTA *et al.*, 2006; LIM *et al.*, 2007; AWASTHI *et al.*, 2009), anti-inflammatory (HERENCIA *et al.*, 1998; ZHANG *et al.*, 2010) and anticancer activity (ROMAGNOLI *et al.*, 2008; ECHEVERRIA *et al.*, 2009; SZLISZKA *et al.*, 2009; ILANGO *et al.*, 2010). It is well known that free phenolic group in aromatic ring at position 4- was key factor important for strong antibacterial activity of numerous natural products (CHEN *et al.*, 1997; TSUKIYAMA *et al.*, 2002), beside of nature, position and number of substituent on aromatic rings.

Ginger root is excellent source for many kinds of active compounds. From ginger extracts have been isolated dehydrozingerone **1**, zingerone **2**, gingerols **3**, shogaols **4**, paradols **5** and their derivatives, with expressed bioactivity, such as anticancer, antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, antidiabetic, anti-allergic (NAKAMURA and YAMAMOTO, 1983; DUGASANI *et al.*, 2010; SEMWAL *et al.*, 2015). Those compounds, similar to the chalcones, in their structure contains vanillin fragment.

Cytotoxic and Antimicrobial Activity of Dehydrozingerone based Cyclopropyl Derivatives

Adrijana Z. Burmudžija,^a Jovana M. Muškinja,^a Marijana M. Kosanić,^b Branislav R. Ranković,^b Slađana B. Novaković,^c Snežana B. Đorđević,^d Tatjana P. Stanojković,^e Dejan D. Baskić,^{f,g} and Zoran R. Ratković^{*a}

^aDepartment of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, Radoja Domanovića 12, RS-34000 Kragujevac, e-mail: wor@kg.ac.rs

^bDepartment of Biology and Ecology, Faculty of Science, University of Kragujevac, Radoja Domanovića 12, RS-34000 Kragujevac

^cVinča Institute of Nuclear Sciences, University of Belgrade, P.O. Box 522, RS-11001 Belgrade

^dNational Poison Control Centre, Military Medical Academy, Crnotravska 17, RS-11000 Belgrade

^eInstitute of Oncology and Radiology of Serbia, Pasterova 14, RS-11000 Belgrade

^fCenter for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Svetozara Markovića 67, RS-34000 Kragujevac

^gPublic Health Institute Kragujevac, Nikole Pašića 1, RS-34000 Kragujevac

A small series of 1-acetyl-2-(4-alkoxy-3-methoxyphenyl)cyclopropanes was prepared, starting from dehydrozingerone (4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-buten-2-one) and its *O*-alkyl derivatives. Their microbiological activities toward some strains of bacteria and fungi were tested, as well as their *in vitro* cytotoxic activity against some cancer cell lines (HeLa, LS174 and A549). All synthesized compounds showed significant antimicrobial activity and expressed cytotoxic activity against tested carcinoma cell lines, but they showed no significant influence on normal cell line (MRC5). Butyl derivative is the most active on HeLa cells ($IC_{50} = 8.63 \mu\text{M}$), while benzyl one is active against LS174 and A549 cell lines ($IC_{50} = 10.17$ and $12.15 \mu\text{M}$, respectively).

Keywords: Cytotoxic activities, Antimicrobial activities, Dehydrozingerone, Cyclopropyl moiety, Crystal structure elucidation.

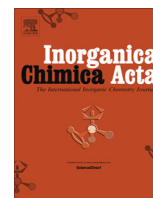
Introduction

Enone system of chalcones is almost planar with *trans*-double bond. This structure enables various transformations of enone system, which undergo cyclization reactions with urea, thiourea, hydroxylamine, hydrazine, guanidine,^{[1][2]} forming heterocyclic unit between aromates, and active methylenic compounds (malononitrile, esters of cyanoacetic and acetoacetic acid, acetylacetone, nitromethane.^{[3][4]} Sole double bond of enone system is reactive toward *Michael* initiated ring closure (MIRC) as well as the sulfoxonium salts (*Corey–Chaykovsky* reaction),^[5] yielding cyclopropane derivatives.

A pungent constituent of ginger rhizome dehydrozingerone (**1**; 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-buten-2-one), as a half analogue of curcumin, is present in different bioactive compounds, showing broad spectrum of biological activities, such as anti-inflammatory, antidepressant, antibacterial, antiviral,

anticancer^[6–12] and many others. Although conjugate enone system is presented in this phenolic compound, its structure differs from chalcones in possessing the methyl group connected to carbonyl instead of the aryl one. This unique chalcone-like structure, planar enone system and aromatic ring offer bifunctional site for various transformations.

As cyclopropane ring is present in a huge number of molecules isolated from nature,^[13] such as terpenes, fatty acids, alkaloids and steroids so it is no surprise that many of them show pronounced biological activities, from enzyme inhibition of herpes roteases^{[14][15]} to antibiotic, herbicidal, antitumor, and antiviral properties.^[16–18] Also, well-known are chrysanthermic acid, pyrethrin, and pyrethroid derivatives, as compounds related to natural and synthetic insecticides, with good insecticidal activities.^{[19][20]} This motif is attached to main frame of the molecules at different ways. Cyclopropyl group is connected to C-atom in heterocyclic fragment^[21] or nitrogen atom



Research paper

Pyrazoline derivatives of acryloyl substituted ferrocenyl ketones: Synthesis, antimicrobial activity and structural properties



Adrijana Burmudžija^a, Jovana Muškinja^a, Zoran Ratković^{a,*}, Marijana Kosanić^b, Branislav Ranković^b, Sladjana B. Novaković^c, Goran A. Bogdanović^c

^a Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia

^b Department of Biology and Ecology, Faculty of Science, University of Kragujevac, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia

^c Vinča Institute of Nuclear Sciences, Laboratory of Theoretical Physics and Condensed Matter Physics, University of Belgrade, P.O. Box 522, 11001 Belgrade, Serbia

ARTICLE INFO

Article history:

Received 15 September 2017

Received in revised form 27 November 2017

Accepted 28 November 2017

Available online 2 December 2017

Keywords:

Ferrocenyl ketones
Enone system
Pyrazoline derivatives
Crystal structure
Antimicrobial activity

ABSTRACT

A series of ferrocenyl ketones were synthesized in reaction with ferrocene and corresponding substituted acryloyl chlorides, following previously described procedure. Synthesized products have conjugated enone system, which is suitable for further transformations. In a reaction with hydrazine in acidic medium (acetic acid) new pyrazoline derivatives were obtained. Their antimicrobial properties have been tested. Synthesized pyrazoline derivatives demonstrated expressed *in vitro* antimicrobial activity towards 12 strains of microorganisms inhibiting all tested bacteria and fungi. The most potent compound in all cases was sorbyl derivative; for bacteria activity was very close to streptomycin, and for fungi in one case the same as ketoconazole. It is established that this compound can be a new, potential antimicrobial agent with minimum inhibitory concentrations from 0.039 to 0.312 mg/mL. One of the starting compounds and two products were crystal substances, suitable for the single crystal X-ray diffraction analysis, which confirmed undoubtedly their structures.

© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Chalcones (1,3-diaryl-2-propen-1-ones), and chalcone-like compounds (with similar enone system) are an important class of organic compounds, since they often represent core structure of many natural products and exhibit various pharmacological and biological activities. Antimicrobial [1–6], antioxidant [7–9], antifungal [5,6,10], antimalarial [11–13], anti-inflammatory [14,15] and anticancer activity [16–21] are well expressed and explored. Enone system presented in chalcones is the often a key part of substrates; it is almost planar and have *trans*-double bond. This structure enables various transformations of enone system, which could be easily converted into different heterocyclic derivatives, in reactions with urea, thiourea, hydroxylamine, hydrazine, guanidine [22,23], forming heterocyclic unit between aromates. Ferrocenyl derivatives are among the most promising organometallic compounds which can be used in microbiological research. In continuation of our interest in synthesis of ferrocene containing heterocycles exhibiting some biological activities [24–27], we expected that incorporation of pyrazoline fragment

and the ferrocene scaffold into the same molecule might have an attracting structural result for development of novel antimicrobial agents. Herein we wish to report on synthesis, spectral characterization and evaluation of antimicrobial activity on some strains of microorganisms a series of novel Fc-pyrazoline derivatives, prepared from chalcone-like ketones (**2a–e**) and heterocyclic chalcone **2f**. All new products were characterized by their spectral data (IR, MS, ¹H NMR and ¹³C NMR). Compounds **2c**, **3c** and **3f** gave crystals suitable for the X-ray analysis

2. Experimental

2.1. Chemistry

2.1.1. Materials and measurements

All starting chemicals were commercially available and used as received, except for the solvents being purified by distillation. Column chromatography were carried out using silica gel 60 (Merck, 230–400 mesh ASTM); for TLC was used Silica gel 60 F₂₅₄-pre-coated plates (Merck); layer thickness 0.2 mm. IR spectra: Perkin-Elmer Spectrum One FT-IR spectrometer with a KBr disc, ν in cm⁻¹. NMR spectra: Varian Gemini 200 MHz spectrometer (200 MHz for ¹H and 50 MHz for ¹³C), using CDCl₃ as the solvent and

* Corresponding author.

E-mail address: wor@kg.ac.rs (Z. Ratković).



CrossMark
click for updates

Cite this: *RSC Adv.*, 2016, 6, 91420

Ferrocenyl based pyrazoline derivatives with vanillic core: synthesis and investigation of their biological properties†

Adrijana Burmudžija,^a Zoran Ratković,^{*a} Jovana Muškinja,^a Nenad Janković,^a Branislav Ranković,^b Marijana Kosanić^b and Snežana Đorđević^c

Vanillin *O*-alkylated derivatives and acetylferrocene reacted under Claisen–Schmidt conditions yielding the corresponding ferrocene containing chalcones in good-to-high yields. Under similar conditions, *O*-alkylated derivatives of acetovanillone were reacted with ferrocenylcarbaldehyde. Two series of novel *N*-acetyl and *N*-formyl pyrazoline derivatives were prepared by cyclocondensation of previously described chalcones (containing ferrocene framework and vanillic fragment) with hydrazine hydrate in acidic solvent (formic acid or acetic acid). All synthesized compounds were fully characterized by spectral and physical data and were tested for their biological activity. The antimicrobial activity was estimated by determination of the minimal inhibitory concentration using the broth microdilution method. The activity of the synthesized compounds was compared with standard antibiotics. The most active antibacterial compounds were 1-[5-(3,4-dimethoxyphenyl)-3-ferrocenyl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl]ethanone (**4a**) and 1-[5-(4-benzyloxy-3-methoxyphenyl)-3-ferrocenyl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl]ethanone (**4f**); the best antifungal activity was shown by compounds of type **4**. The interaction of **4a**, **4f**, **5a** and **5e** with DNA and bovine serum albumin (BSA) were investigated by fluorescence spectroscopic method. The results achieved in competitive experiments with ethidium bromide (EB) indicated that **4a** and **5e** have larger affinity to displace EB from the EB–DNA complex than **4f** and **5a**, probably through intercalation. Fluorescence spectroscopy data show that the fluorescence quenching of BSA is a result of the formation of the **4a**, **4f**, **5a** and **5e**–BSA complex species. Measured values of K_a showed that compounds which contain the acetovanillone-formyl core (**5a** and **5e**) formed more stable complexes with BSA than compounds with the vanillin-acetyl core (**4a** and **4f**), suggesting that **4a**– and **4f**–BSA are less suitable for drug–cell interactions.

Received 26th July 2016
Accepted 16th September 2016

DOI: 10.1039/c6ra18977f

www.rsc.org/advances

Introduction

Chalcones are an important class of organic compounds, since they often represent core structures of various natural products and pharmaceuticals. Chalcones are easily accessible compounds and can be prepared by Claisen–Schmidt condensation. Two aromatic rings (rings A and B) enables great variability of products, due to the nature of various substituents and their positions in the ring(s) which have effects on the stereochemistry and the electronic structure.¹

This unique chalcone structure, containing a planar enone system and aromatic rings offers a bifunctional site for 1,3-dinucleophiles.² For this reason, chalcones exhibit a broad spectrum of various biological activities such as antifungal,^{3–5} antimicrobial,^{6,7} antiprotozoal,⁸ anti-inflammatory,^{9,10} anticonvulsant¹¹ or anti-cancer.^{12–16}

It is well known that substitution of an aromatic nucleus of tested organic compounds with a ferrocene unit can lead to products possessing unexpected therapeutic properties,^{17–19} which are absent or less manifested in the parent molecule. This fact was the main driving force in the synthesis of most known ferrocene derivatives that were designed to be derivatives of known compounds that already possess desired properties.^{20,21} Ferrocenyl derivatives are among the most promising compounds which can be used in microbiological research. Water-soluble ferrocenyl derivatives are more potent as drugs than water-insoluble ones. In our previous work we reported on the synthesis of different ferrocene derivatives with expressed biological activities.^{15,22–24} Ferrocene derivatives containing

^aFaculty of Science, University of Kragujevac, Department of Chemistry, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia. E-mail: wor@kg.ac.rs

^bFaculty of Science, University of Kragujevac, Department of Biology and Ecology, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia

^cNational Poison Control Centre, Military Medical Academy, Crnotravska 17, 11000 Belgrade, Republic of Serbia

† Electronic supplementary information (ESI) available: Characterization of compounds **3–6(a–f)**, copies of ¹H and ¹³C NMR spectra. See DOI: 10.1039/c6ra18977f

6.3. Листа термина и скраћеница коришћених у тексту

A549	Ћелијска линија хуманог карцинома плућа
BSA	Говеђи серум албумин
GABA	γ - Аминобутерна киселина
DMF	Диметилформаид
DNA	Дезоксирибонуклеинска киселина
DMSO	Диметилсулфоксид
DBU	1,8-Диазабициклоундек-7-ен
DMAP	Диметиламинопиридин
DHZ	Дехидрозингерон
<i>Cis</i> -DDP	<i>Cis</i> -платина
EB	Етидијумбромид
IBX	2-Јодоксибензоева киселина
LS174	Ћелијска линија хуманог аденокарцинома
MIRC	Michael-ова реакција затварања прстена
MIC	Минимална инхибиторна концентрација
MTT	3-(4,5-Диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолијум бромид
MRC5	Здрава неканцерогена ћелијска линија
PBS	Фосфатни пуфер
SARS CoV-2	Ковид вирус
TLC	Танкослојна хроматографија
TEA	Триетиламин
THF	Тетрахидрофуран
HIV	Вирус хумане имунодефицијенције
HeLa	Ћелијска линија хуманог карцинома грлића материце

6.4. Биографија са подацима о досадашњем раду



Адријана Бурмуџија је рођена у Крагујевцу 19.09.1984. године. Основну школу „Светозар Марковић“ завршила је 1999. године у Крагујевцу, а исте године уписала је и медицинску школу „Сестре Нинковић“ у Крагујевцу, смер фармацеутски техничар коју је завршила 2003. године. После завршене средње школе уписала је Природно-математички факултет у Крагујевцу, студијски програм Хемија, где је и дипломирала 2010. године. Дипломски рад под називом „Испитивање енергетских карактеристика изомерних флуорантена формуле $C_{28}H_{16}$ “ одбранила је 2010. године код професора др Ивана Гутмана са оценом 10.

Докторске академске студије, модул Органска хемија, уписала је на Природно-математичком факултету школске 2011/12 и положила је све планом и програмом предвиђене испите са просечном оценом 10. На докторским студијама, Адријана се бавила научно-истраживачким радом из области органске хемије. Предмет њених научних истраживања је синтеза енонских једињења, спектроскопска карактеризација синтетисаних једињења и испитивање њиховог биолошког потенцијала. Резултати њеног досадашњег научно-истраживачког рада публиковани су у часописима од међународног значаја са SCI листе (категорија M21, M22 и M23).

Од 2010. године до 2018. године била је запослена у Техничко-ремонтном заводу, Министарство одбране републике Србије, као инжењер у контроли квалитета.

Од 2018. године запослена је у Научно-технолошком центру НИС НАФТАГАС Нови Сад.

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:


Синтеза аналога халкона са ванилином и фeroценом и циклизационе реакције њихових енонских система

представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,

У Крагујевцу, 25.03.2024 године,



потпис аутора

**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Изјављујем да су штампана и електронска верзија докторске дисертације под насловом:

Синтеза аналога халкона са ванилином и фeroценом и циклизационе реакције
њихових енонских система

истоветне.

У Крагујевцу, 25.03.2024 године,



потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, _____ Адријана Бурмуџија _____,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

Синтеза аналога халкона са ванилином и фероценом и циклизационе реакције њихових енонских система

и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

не дозвољавам¹

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- ②) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу, 25. 03. 2024 године,


_____ потпис аутора

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>