



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

Јована Мушковића

**Ванилин као прекурсор у синтези
неких биолошки активних једињења**

-Докторска дисертација-

Ментор: др Зоран Ратковић

Крагујевац, 2016.

I. Аутор

Име и презиме: **Јована М. Мушкиња**

Датум и место рођења: **08.02.1986.** године, **Крагујевац**

Садашње запослење: **Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу**

II. Докторска дисертација

Наслов: **Ванилин као прекурсор у синтези неких биолошки активних једињења**

Број страница: **142**

Број слика: **26**, Број схема: **42**, Број табела: **11**

Број библиографских података: **210**

Установа и место где је рад израђен: **Природно-математички факултет, Крагујевац**

Научна област (УДК): **547, Хемија-Органска хемија**

Ментор: **др Зоран Р. Ратковић**

III. Оцена и одбрана

Број одлуке и датум прихватања теме докторске дисертације: **310/XIX-1, 23.03.2016; IV-01-219/8, 13.04.2016.**

Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата:

- 1. др Зоран Ратковић, доцент, Природно-математички факултет, Крагујевац, научна област: Органска хемија, ментор**
- 2. др Зорица Бугарчић, редовни професор, Природно-математички факултет, Крагујевац, научна област: Органска хемија**
- 3. др Снежана Ђорђевић, доцент, Медицински факултет ВМА, Универзитет одбране, Београд, научна област: Медицинска хемија**
- 4. др Мирјана Попсавин, редовни професор, Природно-математички факултет, Нови Сад, научна област: Органска хемија**

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације:

- 1. др Снежана Ђорђевић, доцент, Медицински факултет ВМА, Универзитет одбране, Београд, научна област: Медицинска хемија**
- 2. др Зорица Бугарчић, редовни професор, Природно-математички факултет, Крагујевац, научна област: Органска хемија**
- 3. др Иван Дамљановић, научни-сарадник, Природно-математички факултет, Крагујевац, научна област: Органска хемија**
- 4. др Виолета Марковић, научни-сарадник, Природно-математички факултет, Крагујевац, научна област: Органска хемија**
- 5. др Ненад Јанковић, научни-сарадник, Природно-математички факултет, Крагујевац, научна област: Органска хемија**

Датум одбране докторске дисертације:

Ова докторска дисертација је рађена у Институту за хемију Природно-математичког факултета, Универзитета у Крагујевцу, под менторским руководством доцента, др Зорана Ратковића. Захваљујем се свом ментору на предложеној теми докторске дисертације, као и на великој помоћи, подршци, пренетом знању, указаном поверењу, стрпљењу и залагању током свих ових година докторских студија.

Захваљујем се проф. др Зорици Бугарчић и доценту др Снежани Ђорђевић на учешћу у комисији за преглед, оцену и одбрану тезе, као и на помоћи и јако корисним сугестијама и саветима који су допринели бољем квалитету ове тезе. Такође се захваљујем млађим члановима комисије научним-сарадницима др Ивану Дамљановићу, др Виолети Марковић и др Ненаду Јанковићу на безрезервној подршци, сарадњи и великој помоћи, као и корисним саветима при писању ове дисертације. Др Виолети Марковић дугујем и велику захвалност за помоћ, бригу и подршку у сваком тренутку.

Захваљујем се др Горану А. Богдановићу, научно-саветнику на институту за нуклеарне науке „Винча“, на урађеним кристалографским анализама и тумачењу резултата који су описани у овом раду. Неизмерну захвалност дугујем и проф др Браниславу Ранковићу и његовој сарадници доценту др Маријани Косанић на урађеним и итерпретираним резултатима микробиолошких испитивања.

Сва истраживања која су урађена током докторских студија део су пројекта бр. ОИ 172034 (руководилац проф. др Растко Д. Вукићевић), који се финансира средствима Министарства, просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, на чему се Министарству срдечно захваљујем. Проф. др Растку Вукићевићу се такође захваљујем за велику помоћ и подршку током мојих докторских студија.

Највећу захвалност дугујем својој породици, мојим родитељима и брату, који су ми огромна подршка у животу и који су увек имали разумевања за све. Хвала им за несебичну љубав, бригу и поштовање које ми пружају и за све што сам ја успела да постигнем у животу. Хвала им што су увек ту да ми се нађу када је то потребно.

Они су мој осланац и моје све и зато им хвала на свему што су ми пружили и што су ме научили!!!

Садржај:

Списак слика, схема и табела	1
Списак скраћеница	6
ИЗВОД	8
SUMMARY	11
1. ОПШТИ ДЕО	14
1.1. Значај, примена и синтеза ванилина	15
1.2. Синтеза ванилина	23
1.2.1. Добијање ванилина из лигнина	23
1.2.2. Добијање ванилина из еугенола	24
1.2.3. Добијање ванилина из гвајакола	25
1.2.4. Добијање ванилина из 4-хидроксибензалдехида	27
1.2.5. Добијање ванилина из глукованилина и глюкозе	28
1.2.6. Нове методе за добијање ванилина	29
1.2.7. Добијање ванилина из бензена	31
1.3. Примена ванилина у синтези различитих медицинских препарата	33
1.3.1. Синтеза производа који се могу добити из ванилина у мањем броју корака	33
1.3.1.1. Добијање цикловалона	33
1.3.1.2. Добијање етамивана	34
1.3.1.3. Добијање леводопе (L-DOPA)	35
1.3.1.4. Добијање <i>N</i> -метил-допе	36
1.3.2. Добијање производа из ванилина у синтезама које се састоје из великог броја корака	37
1.3.2.1. Синтеза висколина	37
1.3.2.2. Синтеза варацина	39
1.3.2.3. Синтеза ламералина D и H	40
1.3.2.4. Синтеза хербертендиола	43
1.3.2.5. Синтеза неких неолигнана	46
1.3.2.5.1. Синтеза аилантоидола	47
1.3.2.5.2. Синтеза ХН-14	49
1.3.2.5.3. Синтеза обоватена	50
1.3.2.6. Синтеза винаксантона	51

2. НАШИ РАДОВИ	54
2.1. Увод	55
2.2. 4-(4-Алкокси-3-метоксифенил)-бут-3-ен-2-они	57
2.2.1. Кристалографска анализа	62
2.2.2. Биолошка активност једињења 2(а-е)	64
2.2.2.1. Микробиолошка активност једињења 2(а-е)	64
2.2.2.2. Антитуморска активност једињења 2(а-е)	66
2.3. (E)-1-(4-алкокси-3-метоксифенил)-5-метил-хекс-1-ен-3-они	72
2.3.1. Биолошка активност једињења 3(а-е)	75
2.4. 1-Фероценил-3-(4-алкокси-3-метоксифенил)-2-пропенони (фероценски халкони)	78
2.4.1. Кристалографска анализа	82
2.4.2. Биолошка активност једињења 5(а-ђ)	85
2.5. 2-Оксо-1,2,3,4-тетрахидропиримидини (Biginelli-јевии производи)	88
2.5.1. Кристалографска анализа	96
2.5.2 . Биолошка активност једињења 8	97
3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО	98
3.1. Опште напомене	99
3.2. Синтеза 1-ацетил-5-арил-4,5-дихидро-1 <i>H</i> -пиразола	101
3.3. Синтеза (E)-1-(4-алкокси-3-метоксифенил)-5-метил-хекс-1-ен-3-она	107
3.4. Синтеза 1-фероценил-3-(4-алкокси-3-метоксифенил)-2-пропенона	111
3.5. Синтеза 2-оксо-1,2,3,4-тетрахидропиримидина	114
4. ЗАКЉУЧАК	128
5. ЛИТЕРАТУРА	129
6. БИОГРАФИЈА	141
7. ПРИЛОГ	144
Спектри једињења 2в, 3в, 5б, 8г, 8б'	145
Научни радови	150

Списак слика, схема и табела:

Слика 1. Структура ванилина

Слика 2. *V. planifolia* Andrews; *V. pompona* Schiede и *V. tahitensis*

Слика 3. Једињења која улазе у састав ваниле

Слика 4. Структура капсаицина

Слика 5. Црни бибер, ђумбир и *Euphorbia resinifera*

Слика 6. Структуре пиперина, зингерона и резинифератоксина

Слика 7. Структура лигнина

Слика 8. *S*-аденозил метионин

Слика 9. Родијумов катализатор за селективну редукцију

Слика 10. Структура висколина

Слика 11. Структура ламералина *D* (76а, R=Me) и ламералина *H* (76б, R=H)

Слика 12. Структуре лигнана и неолигнана

Слика 13. Структура винаксантона

Слика 14. Структура куркумина

Слика 15. Кристалне структуре једињења 2б и 2ђ

Слика 16. Криве зависности цитотоксичности једињења 2(а-е) од њихове концентрације према НСТ-116 ћелији

Слика 17. Криве зависности цитотоксичности једињења 2(а-е) од њихове концентрације према А549 ћелији

Слика 18. Криве зависности цитотоксичности једињења 2(а-е) од њихове концентрације према МДА-МВ ћелији

Слика 19. Криве зависности цитотоксичности једињења 2(а-е) од њихове концентрације према МСЦс ћелији

Слика 20. Кристална структура 4-етокси-3-метоксибензалдехида

Слика 21. Кристалне структуре 1-фероценил-3-(4-етокси-3-метоксифенил)-2-пропенона, 5б и 1-фероценил-3-(4-бутокси-3-метоксифенил)-2-пропенона, 5д

Слика 22. Преклапање структура молекула 5б и 5д користећи Ср1 прстен као заједнички део тих структура

Слика 23. Кристално паковање молекула 5б приказано као једнодимензионално удруживање молекула путем интермолекулских интеракција између С1 супституената

Слика 24. Етил 6-метил-2-оксо-4-(4'-алкокси-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-тетра-
хидропиримидин-5-карбоксилати

Слика 25. Метил 6-метил-2-оксо-4-(4'-алкокси-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-тетра-
хидропиримидин-5-карбоксилати

Слика 26. Кристална структура етил 6-метил-2-оксо-4-(4'-изопропокси-3'-
-метоксифенил)-1,2,3,4-тетрахидропиримидин-5-карбоксилата, **8h**

- Схема 1.** Прва синтеза ванилина
- Схема 2.** Добијање ванилина из лигнина
- Схема 3.** Синтеза ванилина из еугенола
- Схема 4.** Синтеза ванилина из гвајакола помоћу глиоксалне киселине
- Схема 5.** Синтеза ванилина из гвајакола уз помоћ сирћетне и сумпорне киселине
- Схема 6.** Синтеза ванилина из гвајакола
- Схема 7.** Добијање ванилина из 4-хидроксибензалдехида
- Схема 8.** Биосинтетички пут добијања ванилина из кониферола
- Схема 9.** Добијање ванилина из глукозе
- Схема 10.** Ензимска реакција добијања ванилина
- Схема 11.** Добијање ванилина из ферулне киселине преко ванилинске киселине
- Схема 12.** Добијање ванилина из ферулне киселине помоћу CoA
- Схема 13.** Лабораторијско добијање ванилина из бензена
- Схема 14.** Добијање цикловалона помоћу циклохексанона
- Схема 15.** Синтеза етамивана помоћу диетил амина
- Схема 16.** Синтеза етамивана из ванилинске киселине
- Схема 17.** Синтеза L-DOPE
- Схема 18.** Добијање L-DOPE помоћу хидантоина
- Схема 19.** Синтеза N-метил допе
- Схема 20.** Синтеза висколина из ванилина
- Схема 21.** Синтеза варацина из ванилина
- Схема 22.** Синтеза алдехида **66** и амина **68**
- Схема 23.** Добијање интермедијерне киселине **71**
- Схема 24.** Синтеза ламералина D (**76a**, R=Me) и ламералина H (**76b**, R=H)
- Схема 25.** Синтеза кетона **84** као интермедијера у реакцији добијања хербертендиола
- Схема 26.** Синтеза естра **92** као интермедијера у реакцији добијања хербертендиола
- Схема 27.** Синтеза хербертендиола
- Схема 28.** Синтеза 1-бромо-2,3-диметокси-5-(5,5-диметил-1,3-диоксан-2-ил)-бензена
- Схема 29.** Добијање смеше производа реакцијом бензил-ванилина и производа **99**
- Схема 30.** Синтеза аилантоида
- Схема 31.** Синтеза ХН-14

Схема 32. Синтеза обоватена

Схема 33. Синтеза винаксантона

Схема 34. Трансформације ванилина

Схема 35. Синтеза једињења **1(a-e)**

Схема 36. Механизам синтезе *N*-ацетил деривата пиразола из халкона

Схема 37. Синтеза једињења **2(a-e)**

Схема 38. Синтеза (*E*)-1-(4-хидрокси-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-она

Схема 39. Синтеза (*E*)-1-(4-алкокси-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-она

Схема 40. Синтеза 1-фероценил-3-(4-алкокси-3-метоксифенил)-2-пропенона

Схема 41. Механизам *Viginelli*-јеве реакције

Схема 42. Синтеза 2-оксо-1,2,3,4-тетрахидропиримидина

Табела 1. *Инхибиторна својства ванилина према микроорганизмима који су присутни у неким сортама јабука*

Табела 2. *Оптимизација Lindgren-ове оксидације једињења 70*

Табела 3. *1-ацетил-5-арил-4,5-дихидро-1H-пиразоли*

Табела 4. *Растојања између појединих атома у кристалним структурама 2б и 2ђ*

Табела 5. *Микробиолошка активност једињења 2(а-е)*

Табела 6. *(E)-1-(4-алкокси-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-они*

Табела 7. *Минимална инхибиторна концентрација (MIC) једињења 3(а-е)*

Табела 8. *1-фероценил-3-(4-алкокси-3-метоксифенил)-2-пропенони*

Табела 9. *Растојања између појединих атома (Å) и углови веза у кристалним структурама једињења 5б и 5д*

Табела 10. *Минимална инхибиторна концентрација (MIC) једињења 5(а-ђ)*

Табела 11. *Оптимизација количине катализатора $(PhNH_3)_2CuCl_4$*

Скраћенице:

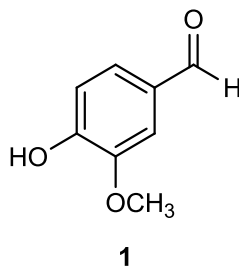
A549	-	хумани карцином плућа
BHT	-	бутиловани хидрокситолуен (2,6-ди- <i>tert</i> -бутил-4-метилфенол)
Bmim	-	бутил-метилимидазолијум
calA	-	кониферил алкохол-дехидрогеназа
calB	-	кониферил аллдеhid-дехидрогеназа
CoA	-	коензим А
<i>m</i> -CPBA	-	<i>m</i> -хлорпербензоева киселина
DBU	-	1,8-диазабицикло[5,4,0]ундец-7-ен
DHZ	-	дехидрозингерон
DNK	-	дезоксирибонуклеинска киселина
DHPMs	-	дихидропиримидин-2-(1H)-они
DDQ	-	дихлоро-дицијано хинон
DIBAL-H	-	диизобутилалуминијум хидрид
DMF	-	диметилформаид
DMSO	-	диметилсулфоксид
L-DOPA	-	леводопа
ehyA	-	еугенол хидроксилаза А
ehyB	-	еугенол хидроксилаза В
FBS	-	говеђи фетални серум
HCT-116	-	хумани карцином дебелог црева
IC50	-	концентрација испитиваног агенса која доводи до 50% инхибиције преживљавања ћелије у односу на контролу
MDA-MB	-	хумани канцер дојке
MIBK	-	метил-изобутил кетон
MIC	-	минимална инхибиторна концентрација
MSCs	-	мезенхимална матична ћелија (нормална неканцерогена ћелијска линија)
MTT	-	3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолијум бромид
MW	-	микроталасно зрачење
PCC	-	пиридинијум-хлорхромат
(Ph ₃ P) ₃ RhCl	-	<i>tris</i> -(трифенилфосфин)родијум(I) хлорид

PiFA	-	фенилјодо- <i>bis</i> (трифлуороацетат)
DiPAMP	-	1,2- <i>bis</i> -[(2-метоксифенил)фенилфосфино]етан
TEOS	-	триметилсилилетоксикарбонил
TFA	-	трифлуоро-сирћетна киселина
THF	-	тетрахидрофуран
TLC	-	танкослојна хроматографија
VMA	-	ванилинманделична киселина

1. ОПШТИ ДЕО

1.1. ЗНАЧАЈ, ПРИМЕНА И ОСОБИНЕ ВАНИЛИНА

Ванилин је дериват бензалдехида, 4-хидрокси-3-метоксибензалдехид (1) (Слика 1) карактеристичног мириса и слатког укуса. Овај природни производ у свом саставу садржи алдехидну, етарску и фенолну групу, па стога показује хемијске особине карактеристичне за ове класе једињења.



Слика 1. Структура ванилина

Најзначајнији извор ванилина представља широко коришћени зачин познат под именом ванила. Овај зачин се добија из вишегодишње биљне врсте која припада породици орхидеја и до данас је идентификовано је око 110 сорти ове биљке. Међутим, само три су важне у комерцијалном смислу (Слика 2): *Vanilla fragrans* (Salisbury) Ames, позната и као *Vanilla planifolia* Andrews, *Vanilla pompona* Schiede и *Vanilla tahitensis*.¹ *Vanilla pompona* Schiede је дивља врста која расте у областима југоисточног Мексика, Централне Америке, западне Индије и у северним деловима Јужне Америке. *Vanilla tahitensis* је месната, зељаста вишегодишња лоза која успева у топлој и влажној клими при чему може да достигне висину и до 15m и најзаступљенија је на Тахитију. За разлику од ове две врсте, *Vanilla planifolia* је највреднија по својим квалитетима и истовремено најузгајанија сорта која је нашла велику примену у производњи хране.²



Слика 2. *V. planifolia* Andrews; *V. pompona* Schiede и *V. tahitensis*

Ароматична својства плода ваниле први пут су примећена у Мексику и за европско тржиште све до средине XIX века ова држава је била једини произвођач ваниле. Иако су улагани велики напори да се производња прошири ван њених граница, успех је изостао будући да је процес опрашивања искључиво вршила посебна врста пчеле која живи у јужним регионима Мексика.³ Ипак, монопол Мексика у производњи је разбијен око 1819. године, када су Французи пренели ванилу у своју колонију, острво Реунион¹. Професор *Charles Morren* је развио вештачки метод опрашивања 1841. године и постао је први који је успео да произведе ванилу ван граница Мексика. Пет година касније, *Edmond Albins*, 12-годишњи роб који је био запослен на плантажама на овом острву, осмислио је практичан метод ручног опрашивања користећи штап бамбуса. Тек тада је комерцијална производња ваниле постала могућа. Користећи овај процес, Французи су убрзо започели производњу ваниле на многим острвима у Индијском океану, источној и западној Индији и Француској Океанији.⁴

Француска ванила је позната као „Bourbon“ ванила, а име је добила по старом називу за острво Реунион, које се раније звало Бурбон. До 1890. године ванила је успешно узгајана на Јави, Тахитију, Мадагаскару, Сејшелима, острвима Маурицијус, Цејлону (данашња Шри Ланка), Занзибару, Јамајци и неколико других региона у тропским крајевима.⁵

Удео Мексика у производњи ваниле данас је готово безначајан (0,41%), а примат су преузеле земље попут Индонезије (46% светске производње ваниле) и Мадагаскара (43,5%); а затим следе Комори (2,7%), Тонго (3%), Француска Полинезија (4,5%) и Костарика (0,3%).⁶

Процес прераде ваниле са циљем добијања ванилина подразумева сушење махуне ове биљке које је праћено спонтаним хемијским и ензимским реакцијама. Иако је свака земља развила сопствени процес сушења,⁷ сви они се углавном састоје из 4 фазе: шурење, сунчање/знојење, сушење и климатизација. У току поступка шурења, које се зове и убијање, долази до заустављања вегетативне фазе. Већина ових метода укључују потапање махуна у врућу воду у периоду од 1-2 мин. Друга фаза, сунчање, иницира активирање ензима – глукозидазе и оксидазе услед чега махуне добијају карактеристичну браон боју. Током ове фазе долази и до ширења махуна под утицајем топлоте и на њу се надовезује поступак

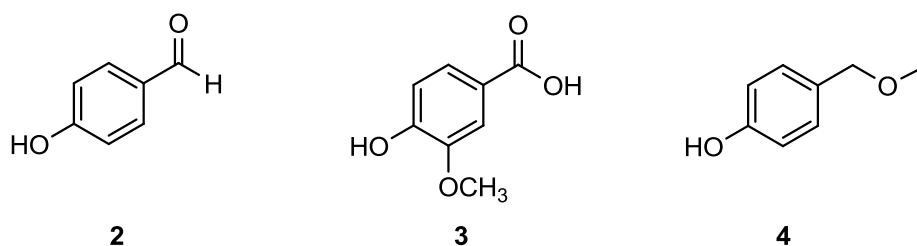
¹ фр. La Réunion-вулканско острво и прекоморски француски департман у Индијском океану, источно од Мадагаскара

познат под називом знојење који се изводи тако што се махуне умотају у листове папира премазане воском и потом ставе у херметички затворене посуде. Савремена прерада махуне ваниле углавном почива на употреби две методе: Мексичкој (методи сунца)⁸ и Мадагаскарској (тзв. Бурбон методи).⁹

Неопходно је напоменути да махуна ваниле, поред ванилина, садржи и протеине, шећере, лигноцелулозна влакна, целулозу, органске киселине, монохидроксилне феноле, масти, воскове, смоле, пигменте, минерале, испарљива ароматична и етарска уља. Главни састојци ваниле који су одговорни за мирис и укус (поред ванилина), су испарљиве супстанце попут карбонилних једињења, ароматичних алкохола, ароматичних киселина, ароматичних естара, фенола, алифатичних алкохола, лактона, ароматичних и алифатичних угљоводоника, терпеноида и хетероцикала.¹⁰ Међутим, важни конституенти су и неиспарљиве компоненте као што су танини, полифеноли, смоле и слободне аминокиселине који такође доприносе карактеристичном мирису ваниле.

Присуство ванилина у природи није ограничено само на ванилу, већ га има и у разноврсном воћу и воћним производима (мангу, зовиним бобицама, боровницама, поморанци, јагоди, личији – азијској трешњи која расте у областима југозападне Азије, јужне Кине, Индонезије и Филипина), сијамском бензоину¹¹ (природна смола из дрвета пореклом из Индокине), шећерној репи,¹² аспарагусу,¹³ далији¹⁴ (густа, зеласти вишегодишња биљка пореклом углавном из Мексика, али је има и у Централној Америци и Колумбији), смолама, балзамима и другим супстанцама. Интересантно је да се у мангу, јавља као „слободни“ ванилин и као ванилин глукозид. Ванилин се може срести у траговима и у другим биљкама¹⁵ као што су нарцис, зумбул, кромпир и дуван. Поред тога, присутан је у разним прехранбеним производима попут кокица, екструдираниог овсеног брашна, јабуковаче и печурки.¹⁶ Међутим, ванила представља и даље једини комерцијални извор природног ванилина.

Ванила добијена из чисто природног материјала садржи ванилин као главну компоненту (заступљеност, 86%) и поред ње још неколико сличних једињења као што су *p*-хидроксибензалдехид (**2**) (8,6%), ванилинска киселина (**3**) (4,3%) и *p*-хидроксибензил метил етар (**4**) (0,9%) (Слика 3).



Слика 3. Једињења која улазе у састав ваниле

Прво изоловање ванилина је извршио Nicolas-Theodore Gobley 1858. године који је упарио екстракт ваниле до сува и потом поступком рекристализације из вруће воде добио релативно чисту супстанцу.¹⁷ Очигледно је да овај начин добијања ванилина изискује доста времена и напора што се рефлектује на саму цену природног ванилина која се креће од 1200 – 4000 \$ по килограму.¹⁸ Стога је временом добијање ванилина из природног материјала преусмерено на синтетичке поступке који су далеко економичнији. Годишње се произведе више од 12 000 тона ванилина, од чега је мање од 1% природни, док се већи део добија хемијским процесима.

Први синтетички ванилин су добили немачки научници Ferdinand Tiemann и Wilhelm Haarmann 1874. године из кониферина (**5**) и овај поступак је искоришћен за прво покретање индустријске производње ванилина.¹⁹ Заправо, сам поступак је базиран на хидролизи кониферина (**5**), природног глукозида изолованог из свеже посеченог бора, до кониферил-алкохола (**6**) који се даље оксидује хромном киселином до ванилина (**1**) (Схема 1).

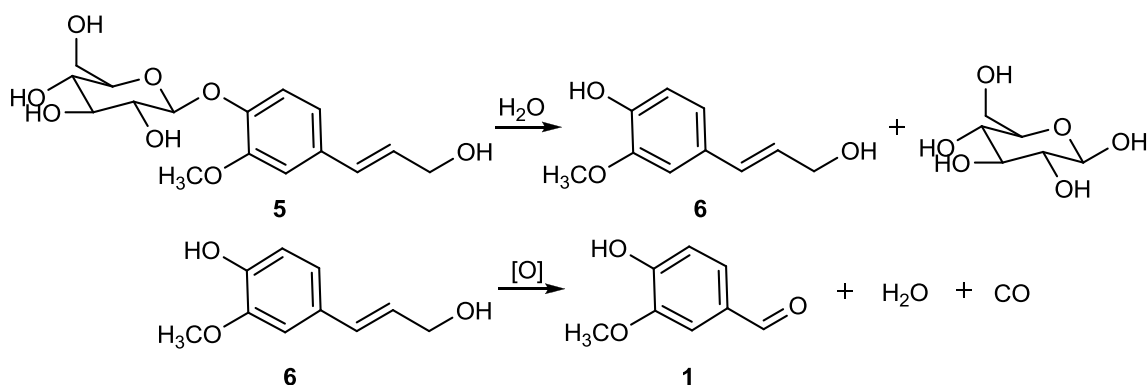


Схема 1. Прва синтеза ванилина

Овако добијен ванилин карактерише цена од 15\$ по килограму, па је зато овај молекул постао значајно употребљивија сировина у хемијској и

фармацеутској индустрији. Он се користи у прехранбеним и непрехранбеним производима, мирисима и као мирисна компонента у фармацеутским препаратима. Тренутно, око 50% произведеног синтетичког ванилина широм света се употребљава као интермедијер у производњи хербицида, антипенушаваца, лекова као што су папаверин, L-DOPA, L-метил-допа и антимикробног агенса триметоприма (улази у састав препарата *Bactrim*). Синтетички ванилин се употребљава и у производима који се користе у домаћинству, као што су освеживачи и средства за полирање подова. Доста се примењује и као ароматични додатак за свеће, тамјан, мирисе и мирисне освеживаче. Примену је нашао и у индустрији пластичних маса, козметичкој индустрији (због својих анти-UV особина улази у састав крема за сунчање), а користи се и за спречавање појаве пене у уљима за подмазивање, као додатак за сјај превлаке код галванизација у цинканим купатилима, као активатор у процесима електролитичког цинковања и као помоћно средство за оксидацију ланеног уља.²⁰

Највећа употреба ванилина као ароме је уобичајена у слатким намирницама. Чак 75% ванилина се употребљава у производњи сладоледа и чоколадној индустрији, док се мање количине користе у посластичарницама и пекарама.²¹

Одавно је познато да се мириси вина и других алкохолних пића (ракија, коњак, виски, рум, итд) мењају услед стајања у бурадима. Том приликом, лигнин из дрвета се испира у додиру са алкохолом и хидролизује, при чему се добија етанол-лигнински комплекс који се потом разлаже на ароматичне алдехиде. Међу њима је често доминантан ванилин који утиче на арому пића. Као интересантан пример се може навести алкохолно пиће кашаса.²² Ово веома популарно пиће у Бразилу се добија од сировог сока шећерне трске и слично је руму. Највећа разлика између ова два пића је управо у присуству ванилина, који је главна мирисна компонента рума (јавља се услед стајања у храстовим бурадима), док кашаса уопште не садржи овај алдехид.

Поред тога што представља важну ароматичну компоненту различитих производа и природног материјала, ванилин показује и широк спектар биолошких активности. Он делује као антиканцероген на неколико линија канцерогених ћелија, тако што смањује број интестиналних тумора, које изазивају различити

канцерогени.^{23,24} Поред тога, ванилин поседује и антимикуробна, антиоксидантна,²⁵ антимуутагена²⁶ и антигљивична својства.²⁷⁻²⁹

Антимикуробна активност ванилина се огледа у његовом деловању на следеће патогене микроорганизме: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes* и *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Newport* и 3 штетна организма: *Candida albicans*, *Lactobacillus casei* и *Penicillium expansum*. Испитивано је и његово антимикуробно дејство у неким сортама зелених јабука. Минимална концентрација ванилина која може да изазове инхибицију микроорганизма износи 6-18 mM. Нађено је да концентрација ванилина од само 12 mM инхибира раст микроорганизма између 37-66% у “Empire” и “Crispin” сортама јабука. Добијене вредности су приказане у табели 1.³⁰

Табела 1. Инхибиторна својства ванилина према микроорганизмима који су присутни у неким сортама јабука

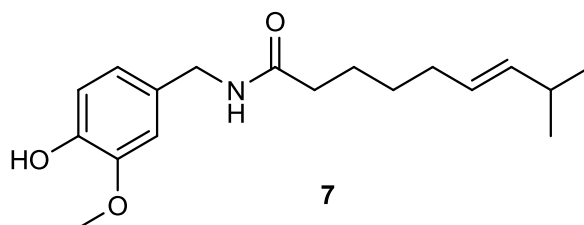
Микроорганизми	Параметри	Концентрација ванилина (mM)					
		0	1,5	3	6	12	18
Патогени/ Индикаторски							
<i>E. coli</i>	% инхибиције	-	3	60	73	99	99
<i>E. Aerogenes</i>	% инхибиције	-	0,3	13	18	73	99
<i>P. aeruginosa</i>	% инхибиције	-	-3	0,1	45	91	98
<i>S. newport</i>	% инхибиције	-	6	21	37	84	98
Штетни		-					
<i>C. albicans</i>	% инхибиције	-	41	69	98	100	100
<i>L. casei</i>	% инхибиције	-	0	0,5	0,8	74	98
<i>P. expansum</i>	% инхибиције	-	37	91	94	94	94

Сама ванила се сматра афродизијаком и стимулансом. Тако је у Венецуели пронашла примену за лечење грознице и грча, док се у Аргентини употребљава као афродизијак и за лечење дисменореје, грознице и хистерије. Будући да ванилу карактеришу лековита својства и да је уз то високо цењено средство за побољшање укуса, многи јој приписују и огроман потенцијал и важну улогу у конзервирању и производњи здраве хране. Данас се она употребљава у класичним медицинским производима-тинктурама и сирупима. Представља један од три најчешће коришћених додатака у разним сирупима којима даје подношљив укус маскирајући непријатне мирисе хемикалија које се налазе у њиховом саставу.

Како је ванилин њен главни састојак, сматра се да на већину горе наведених особина утиче баш његово присуство.

Са хемијског аспекта, ванилин је своју најважнију улогу пронашао у танкослојној хроматографији где се користи за изазивање мрља. Најчешће се примењује у виду ванилил-сулфата који даје читав спектар обојених адуката са различитим типовима једињења.³¹

Многа једињења која садрже ванилински фрагмент као део своје структуре, показују интересантне особине. Тако је познато да чили папричице изазивају осећај јаке топлоте у организму приликом конзумирања. Супстанца која је одговорна за овај ефекат јесте капсаицин (**7**, Слика 4).³²



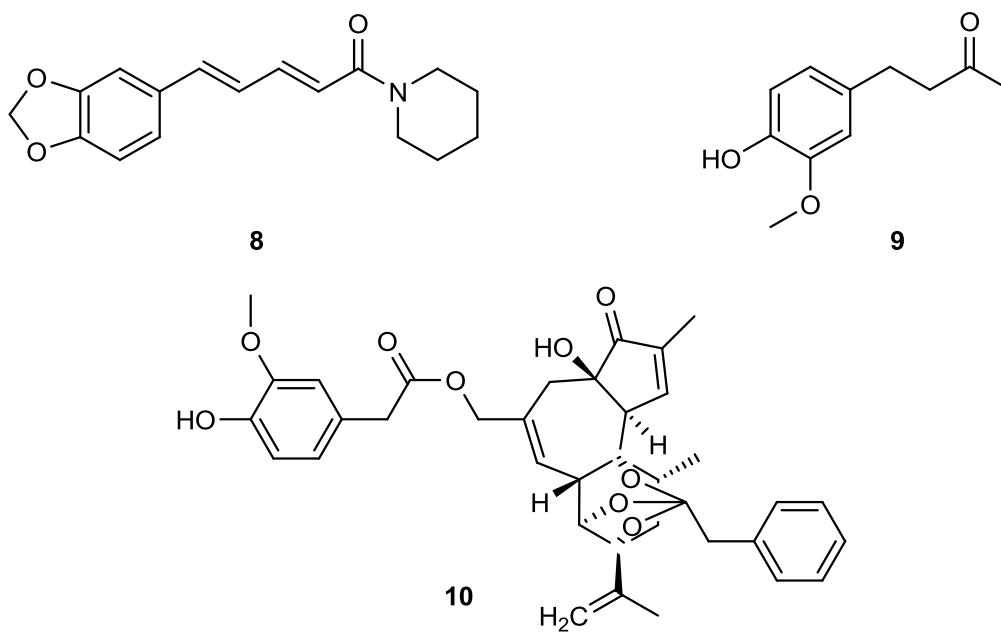
Слика 4. Структура капсаицина

Капсаицин је први пут изоловао Thresh³³ 1876. године екстракцијом из љуте паприке, да би након тога Nielsen³⁴ одредио његову структуру, а касније и представио различите путеве за његову синтезу.³⁵

Капсаицин није једина природна супстанца која је позната по „љутим“ особинама. Поред њега познати су и пиперин **8** (активни састојак црног бибера), зингерон **9** (из ђумбира) и резинифератоксин **10**, изолован из Северно Афричког кактуса, *Euphorbia resinifera*, за који је утврђено да изазива око 1000 пута јачи осећај љутине од капсаицина (Слике 5 и 6). Карактеристично за сва ова једињења је да садрже ароматични прстен са алкокси- и фенолним супституентима. Због сличности наведених структура са ванилином, ове супстанце су опште познате као **ванилоиди**.



Слика 5. Црни бибер, ђумбир и *Euphorbia resinifera*



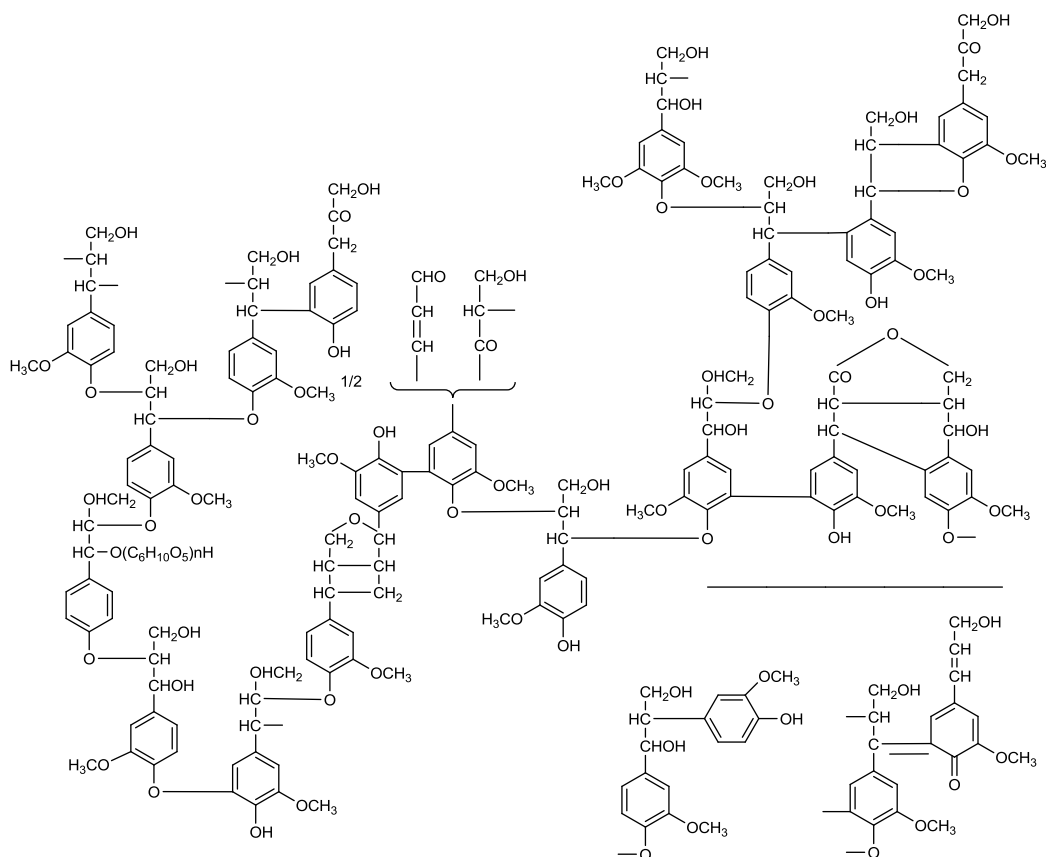
Слика 6. Структуре пиперина, зингерона и резинифератоксина

1.2. СИНТЕЗА ВАНИЛИНА

Имајући у виду да потребе за ванилином као интересантном и веома употребљаваном сировином свакодневно расту, пронађени су начини за његово добијање у већим количинама. Поред раније поменуте синтезе из кониферина (5) и изоловања из биљке ваниле, данас се ово једињење добија различитим хемијским поступцима полазећи од супстрата који су најчешће комерцијално доступни.

1.2.1. ДОБИЈАЊЕ ВАНИЛИНА ИЗ ЛИГНИНА

Лигнин (Слика 7) је други најзаступљенији полимер³⁶ (после целулозе) у дрвету, кога има око 30% и он представља један од значајнијих извора ароматичних једињења. Добија се у великим количинама као споредни производ у производњи целулозе и папира поступком екстракције из дрвета.



Слика 7. Структура лигнина

Овај индустријски процес подразумева добијање сулфитног луга који се потом третира базом на повишеној температури и притиску у присуству оксидационих средстава. Из добијене реакционе смесе ванилин се од других производа, одваја екстракцијом, дестилацијом и кристализацијом.

Сам поступак се изводи тако што се лигнин се разлаже у присуству NaOH или Ca(OH)₂ и истовремено оксидује на ваздуху у присуству катализатора (нитробензен или бакар-оксид). По завршеној реакцији уклони се чврсти остатак и смеша се закисели сумпорном киселином. Потом се ванилин екстрахује из закишељеног раствора помоћу одговарајућег растварача (бутанол или бензен) и испира раствором NaHSO₃. Након тога, врши се вакуум дестилација приликом које се добија сирови ванилин, који мора да се прекристалише неколико пута како би се изоловао чист производ **1** (Схема 2).^{37,38}

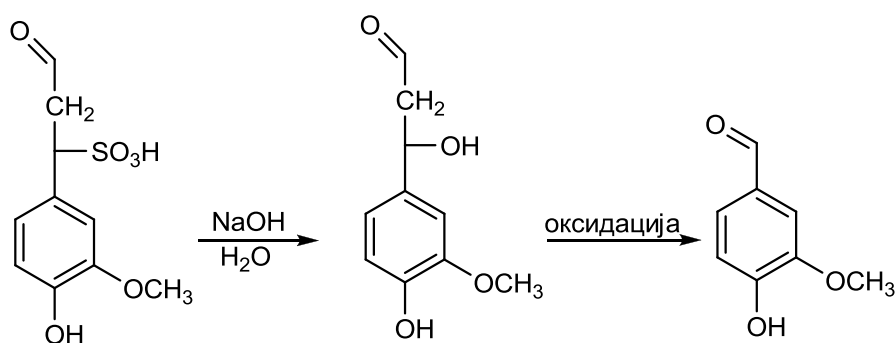


Схема 2. Добијање ванилина из лигнина

Прва већа фабрика папира која је производила ванилин на овај начин, била је отворена у Онтарију. До 1981. године она је имала удео од 60% светског тржишта у производњи синтетичког ванилина. Међутим, овом методом се добија само око 5% ванилина³⁹ што је условило развој других, бољих поступака заснованих на хемијским синтезама којима се полазећи од великог броја разноврсних супстрата могу добити знатно веће количине ванилина.

1.2.2. ДОБИЈАЊЕ ВАНИЛИНА ИЗ ЕУГЕНОЛА

Tiemann је 1876. године пронашао процес за производњу ванилина из еугенола (**12**), природног фенола који се може наћи у каранфилићу, мускатном орашчићу и цимету. Временом су развијене три методе за добијање ванилина на

овај начин (Схема 3),^{40,41} при чему је за све три карактеристично да се одигравају у две фазе.

Прва фаза је идентична у сва три поступка и она обухвата изомеризацију еугенола (**12**) до изоеугенола (**13**) помоћу КОН у диетиленгликолу. За разлику од прве фазе, друга се спроводи у тотално различитим условима и подразумева трансформацију изоеугенола (**13**) до ванилина (**1**) на три начина:

- i) превођење изоеугенола (**13**) у ацетат и оксидацију помоћу OsO₄ и NaIO₄.
- ii) директна оксидација изоеугенола (**13**) до ванилина (**1**) помоћу V₂O₅ у присуству кисеоника, у *t*-бутанолу као растварачу.
- iii) директна оксидација изоеугенола (**13**) до ванилина (**1**) помоћу нитробензена у присуству DMSO-а.

Све до краја XIX века синтетички ванилин⁴² се производио из еугенола, који је комерцијално доступан.⁴³

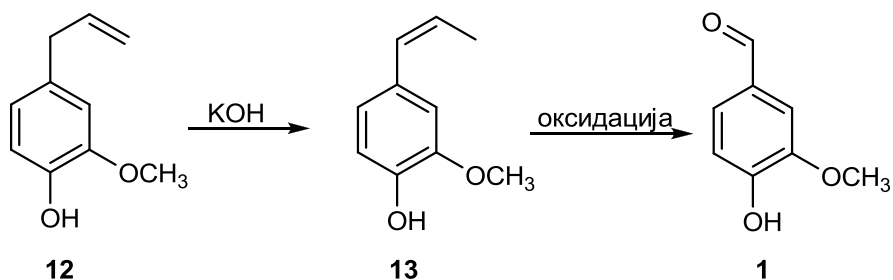


Схема 3. Синтеза ванилина из еугенола

1.2.3. ДОБИЈАЊЕ ВАНИЛИНА ИЗ ГВАЈАКОЛА

Савремене методе добијања ванилина су базиране на реакцијама гвајакола (**14**). Постоје три начина која су употреби:

- i) Поступак базиран на кондензацији са глиоксалном киселином који је и најзаступљенији;⁴⁴
- ii) Поступак заснован на реакцији са анхидридом сирћетне киселине и Fries-овом премештању; и
- iii) Поступак заснован на Reimer-Tiemann-овом формиловању.

Први метод подразумева третирање гвајакола (**14**) глиоксалном киселином који подлеже електрофилној ароматичној супституцији и при том даје ванилинманделичну киселину (**15**) (VMA-налази се у урину и представља

метаболит катехоламина). Добијена киселина **15** се затим преводи у 4-хидрокси-3-метоксифенилглиоксалну киселину (**16**, ванилоил-мрављу киселину), да би се у последњем кораку оксидативном декарбоксилацијом превела у ванилин (**1**) (Схема 4).⁴⁵

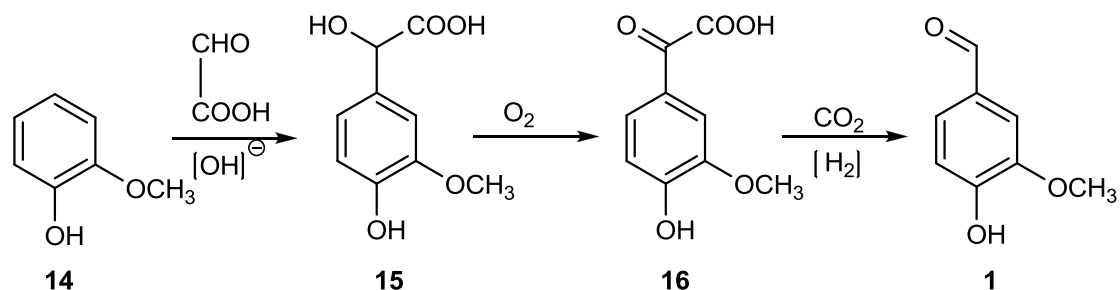


Схема 4. Синтеза ванилина из гваякола помоћу глиоксалне киселине

Гваякол се може и естерификовати анхидридом сирћетне киселине у присуству мале количине сумпорне киселине, дајући гваякол-ацетат (**17**). При третирању овог производа анхидрованим AlCl₃ на ниској температури долази до премештања⁴⁶ ацетил-групе у положај 4 (Fries-ово премештање) при чему настаје апоцинин (**18**). Важан фактор код овог поступка јесте брзина додавања AlCl₃, будући да исувише брзо извођење реакције доводи до повишења температуре, услед чега се формирају мање количине ацетил-хлорида које инхибирају ово премештање. Апоцинин (**18**) потом реагује са нитробензеном у јако базној средини, дајући ванилоил-мрављу киселину (**16**). Ова киселина и у киселим и у базним условима је знатно стабилнија од 4-окси-3-метоксифенилгликолне киселине, која подлеже дехидратацији и даје смоласте производе. Као што се може видети овај поступак је знатно бољи у односу на први метод јер се њиме избегава синтеза „проблематичне“ киселине **15**. Разлагање киселине⁴⁷ **16** је потребно изводити у растварачу како би се спречило формирање дехидрованилина и ванилинске киселине. Као најбоље решење се показао *N,N*-диметил-*p*-толуидин који сам врши разлагање при чему се киселина скоро квантитативно преводи у ванилин (Схема 5).

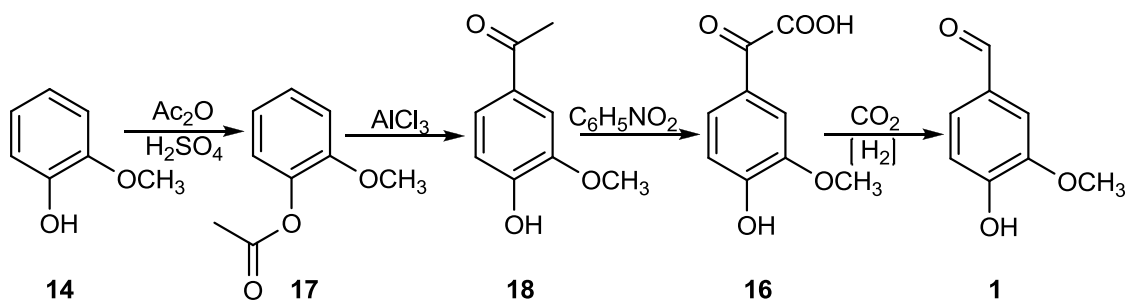


Схема 5. Синтеза ванилина из гвајакола уз помоћ сирћетне и сумпорне киселине

Трећи, уједно и најједноставнији поступак обухвата реакцију гвајакола (**14**) са хлороформом у алкохолу у присуству јаке базе (Схема 6).⁴⁸ Очигледно, у његовој основи је једна од најстаријих метода формиловања, па је зато овај поступак у употреби већ више од сто година.

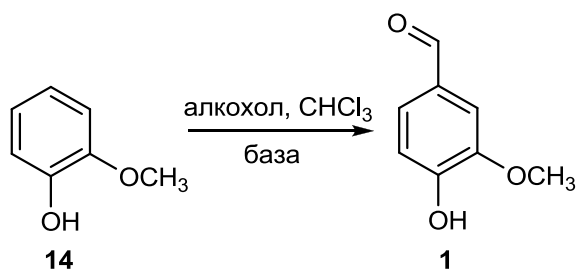


Схема 6. Синтеза ванилина из гвајакола

1.2.4. ДОБИЈАЊЕ ВАНИЛИНА ИЗ 4-ХИДРОКСИБЕНЗАЛДЕХИДА

Још један од zgodних супстрата у синтези ванилина је 4-хидроксибензалдехид (**19**) који подлеже региоселективном бромовању при чему настаје 3-бромо-4-хидроксибензалдехид (**20**). Његовим метоксиловањем помоћу натријум-метоксида у присуству бакарног катализатора уз загревање се добија ванилин⁴⁹ (Схема 7). Реакција се изводи у метанолу као растварачу а пречишћавање сировог ванилина је најлакше извести рекристализацијом из воде.

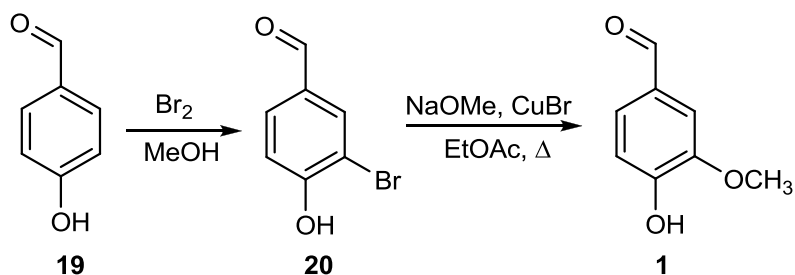


Схема 7. Добијање ванилина из 4-хидроксибензалдехида

1.2.5. ДОБИЈАЊЕ ВАНИЛИНА ИЗ ГЛУКОВАНИЛИНА И ГЛУКОЗЕ

Као што је раније поменуто, први синтетички ванилин је добијен из кониферина (**5**), гликозида кониферил алкохола (**6**). Међутим у литератури⁵⁰ се може пронаћи и обрнути пут у ком се ванилин добија из кониферола (**6**). Први корак овог каталитичког пута је превођење кониферола (**6**) у кониферин (**5**) које се врши посредством ензима гликозил-трансферазе. Овако добијени кониферин (**5**) се даље трансформише у глукованилин (**21**) који се у присуству α -гликозидазе хидролизује до ванилина (**1**) и глюкозе (**22**) (Схема 8). Ова реакција представља биосинтетички пут добијања ванилина.

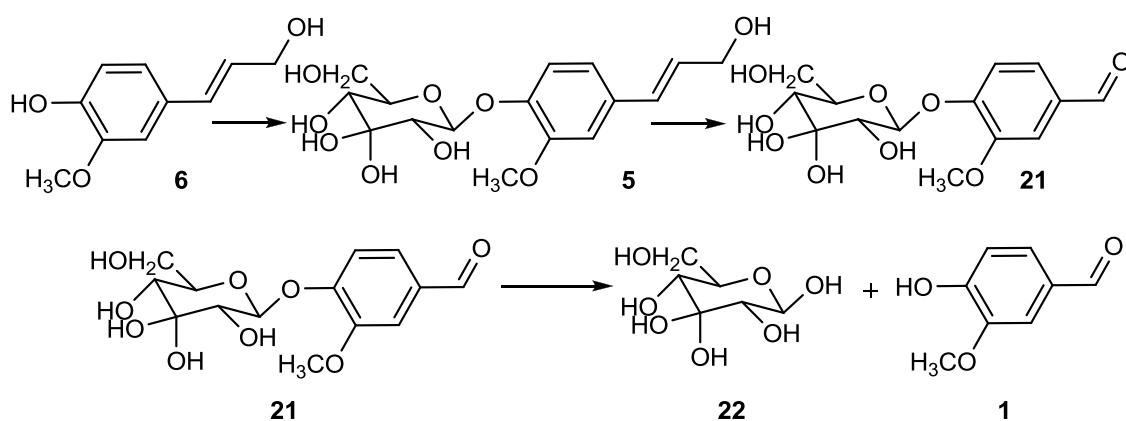


Схема 8. Биосинтетички пут добијања ванилина из кониферола

Пронађен је још један биосинтетички пут који се може користити за синтезу ванилина базиран на употреби глюкозе као супстрата (Схема 9). Њиме се заобилази фенилпропаноидна биосинтеза и реакције гликозилације и дегликозилације, што знатно смањује број потребних ензима.

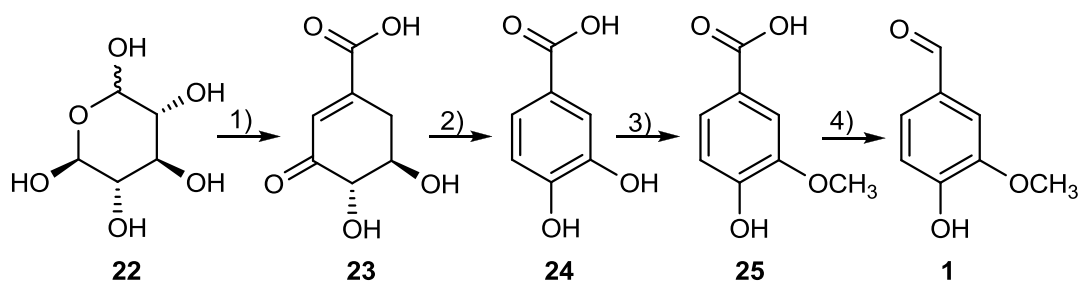
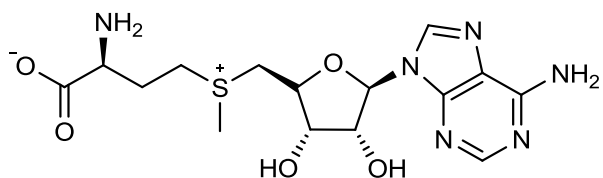


Схема 9. Добијање ванилина из глукозе. Реагенси и реакциони услови: 1) 3-дезоксиде-7-фосфохептулат синтаза; 3-дехидрохинатна синтаза; 3-дехидрохинатна дехидратаза 2) 3-дехидрошикимат дехидрогеназа, 3) катехол О-метил трансфераза, 4) арил алдехид дехидрогеназа.

У првом ступњу глукоза се ензимски преводи у 3-дехидрошикиминску киселину (23), важан биохемијски метаболит биљака и микроорганизама. Њено име потиче од јапанског назива за цвет звездастог аниса, шикими (シキミ). Овако настала киселина под дејством одговарајућег ензима дехидрогеназе даје протокатехуинску киселину (24), која се посредством трансферазе трансформише у ванилинску киселину (25). Крајњи ступањ биокаталитичког процеса јесте ензимска редукција киселине 25 до ванилина.

Овај поступак има много предности у односу на све пређашње начине добијања ванилина. Пре свега у потпуности је избегнута употреба токсичних фенола и гвајакола који се добијају из канцерогеног бензена.⁵¹ Наравно, овде се мора нагласити да су раније поменуте киселине изведене из глукозе апсолутно нетоксичне. Поред тога, диметил сулфат који се употребљава за метиловање фенолне групе је такође канцероген, док се протокатехуинска киселина метилује помоћу S-аденозил метионина (Слика 8) који се иначе биосинтезише у јетри (интрацелуларно).



Слика 8. S-аденозил метионин

1.2.6. НОВЕ МЕТОДЕ ЗА ДОБИЈАЊЕ ВАНИЛИНА

Новије методе добијања ванилина из еугенола подразумевају присуство одговарајућих ензима. Прво се еугенол у присуству еугенол-хидроксилазе (*ehuA* и *ehuB*) преводи у кониферил алкохол (6). Он се посредством кониферил-алкохол

дехидрогеназе (*calA*) претвара у кониферил алдехид (**26**), који под дејством кониферил-алдехид дехидрогеназе (*calB*) даје ферулну киселину (**27**).⁵²

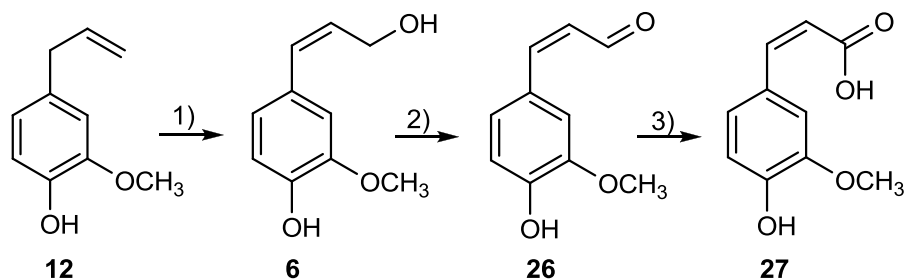


Схема 10. Ензимска реакција добијања ванилина. Реакциони услови: 1) еугенол-хидроксилаза (*ehyA*, *ehyB*), 2) кониферил алкохол-дехидрогеназа (*calA*), 3) кониферил алдехид-дехидрогеназа (*calB*)

Ферулна киселина (**27**) се затим може превести у ванилин на два начина. У првој реакцији посредством одговарајуће гљиве *Aspergillus Niger*, она прелази у ванилинску киселину (**25**), која потом реагујући са гљивом *Pyrenopeziza cinnabarinus* даје ванилин (**1**).⁵³

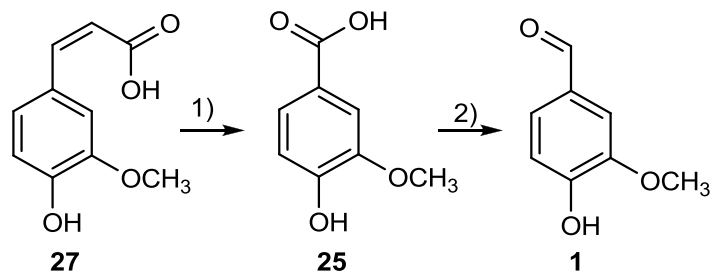


Схема 11. Добијање ванилина из ферулне киселине преко ванилинске киселине. Реакциони услови: 1) *Aspergillus Niger*, 2) *Pyrenopeziza cinnabarinus*

Другом реакцијом прво настаје ферулоил-СоА (**28**), који потом реакцијом са 4-хидроксицинамоил СоА-хидратазом даје 4-хидрокси-3-метоксифенил β -хидрокси-пропионил-СоА (**29**). У присуству 4-хидроксицинамоил-СоА-хидратазе даље настаје ванилин (**1**).

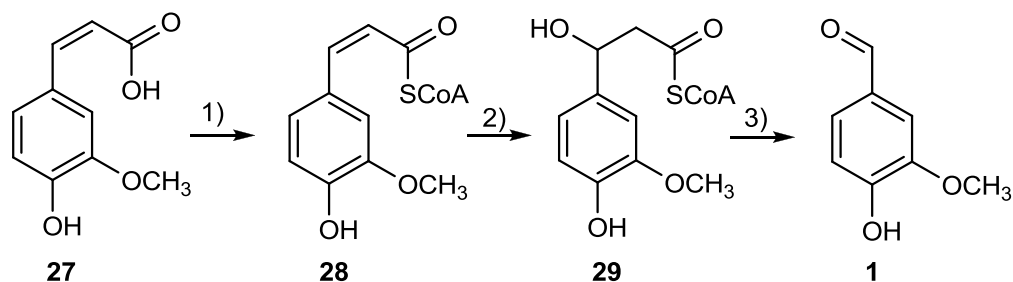


Схема 12. Добијање ванилина из ферулне киселине помоћу CoA. Реакциони услови: 1) 4-хидроксицинамат-CoA-лигаза, 2) 4-хидроксицинамоил CoA-хидратаза (ech), 3) 4-хидроксицинамоил CoA-хидратаза (ech)

1.2.7. ДОБИЈАЊЕ ВАНИЛИНА ИЗ БЕНЗЕНА (ЛАБОРАТОРИЈСКО ДОБИЈАЊЕ)

Поред тога што је ванилин комерцијално доступна супстанца, јер се добија у већим количинама на раније поменуте начине, може се синтетисати и у лабораторијским условима. Један од начина за његово добијање јесте синтеза из бензена која је представљена Схемом 13.⁵⁴

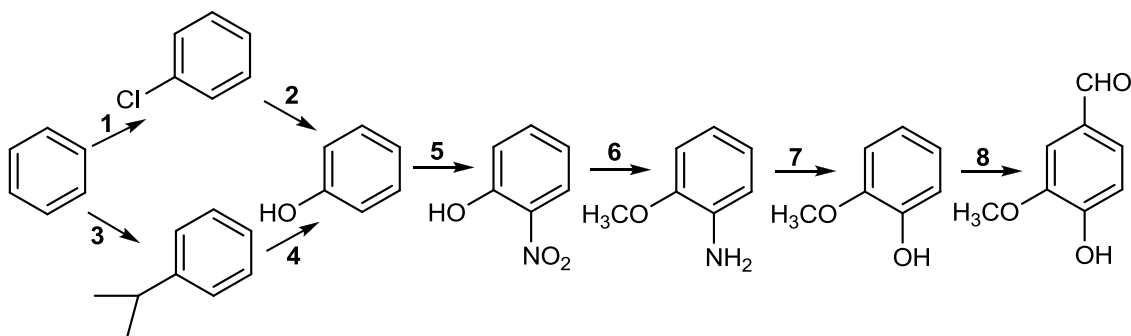


Схема 13. Лабораторијско добијање ванилина из бензена. Реакциони услови: 1) Cl_2 , $AlCl_3$; 2) $NaOH$, $350^\circ C$; H_2O , HCl ; 3) $CH_3CH(OH)CH_3$, $AlCl_3$; 4) O_2 , Δ ; 5) H_2SO_4 , HNO_3 , дестилација воденом паром; 6) $(CH_3)_2SO_4$, $NaOH$; H_2 , Pd/C , $EtOH$, $25^\circ C$; 7) а) $NaNO_2$, HCl , H_2O , $0-5^\circ C$, б) H_2O , Δ , 8) $CHCl_3$, $NaOH$.

Бензен се подвргне реакцији хлоровања (Схема 13, реакција 1) при чему се добија хлорбензен који даље подлеже нуклеофилној ароматичној супституцији у базној средини уз загревање (Dow-ова реакција) дајући фенол (Схема 13, реакција 2). Алтернативним путем бензен се може превести у фенол тако што се прво алкилује изопропил алкохолом у присуству Lewis-ових катализатора, а потом добијени кумен (Схема 13, реакција 3) хидролизује до жељеног интермеђијера (Схема 13, реакција 4). Добијени фенол се нитрује помоћу смеше азотне и сумпорне киселине и том приликом настаје смеша *o*- и *p*- нитрофенола (Схема 13, реакција 5). Раздвајање изомера се врши дестилацијом воденом паром. У

следећем кораку се издвојени *o*-нитрофенол алкилује диметил-сулфатом, а потом и редукује до *o*-метоксианилина (Схема 13, реакција 6). Анилин у реакцији са азотастом и хлороводоничном киселином гради арендиазонијум со која подлеже хидролизи уз загревање при чему се амино група преводи у хидроксилну (Схема 13, реакција 7). Добијени *o*-метокси фенол се у крајњој фази формилује Реимер-Теман-овим поступком дајући ванилин (Схема 13, реакција 8).

1.3. ПРИМЕНА ВАНИЛИНА У СИНТЕЗИ РАЗЛИЧИТИХ МЕДИЦИНСКИХ ПРЕПАРАТА

Ванилин, посматран из угла хемичара, најважнију улогу има у процесу производње лекова где се искључиво употребљава као супстрат. Разлог томе је релативно ниска цена у односу на вредност крајњих производа. Мада су познате синтезе лекова које се одигравају најчешће кроз једну или две фазе, у литератури су све присутнији описи поступака који се спроводе кроз знатно већи број корака (20-30).

1.3.1. СИНТЕЗА ПРОИЗВОДА КОЈИ СЕ МОГУ ДОБИТИ ИЗ ВАНИЛИНА У МАЊЕМ БРОЈУ КОРАКА

Употреба ванилина као прекурсора лекова у синтезама које се одигравају кроз мали број корака се углавном своди на припрему цикловалона (**30**),⁵⁵ етамивана (**32**),⁵⁶ леводопе (**39**)⁵⁷ и *N*-метил-допе (**46**).⁵⁸

1.3.1.1. Добијање цикловалона

Цикловалон (**30**) је молекул који се одликује израженом антиинфламаторном активношћу, а познато је да потпомаже варење и стимулише лучење жучи. Његова синтеза је базирана на кондензацији ванилина са циклохексаноном која се одвија у киселој средини на начин како је то приказано Схемом 14.

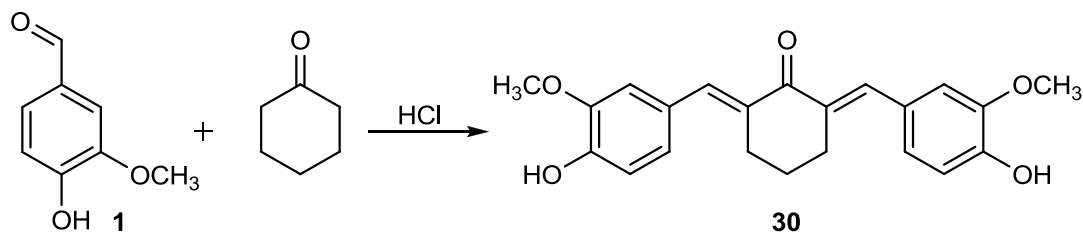


Схема 14. Добијање цикловалона помоћу циклохексанона

1.3.1.2. Добијање етамивана

Етамиван (**32**) који је респираторни стимуланс и аналептик, може се из ванилина добити користећи два синтетичка пута.

Први начин подразумева реакцију ванилина са диетил амином у присуству сумпора (Схема 15) којом се добија тиовандид (**31**, *N,N*-диетил-4-хидрокси-3-метокситиобензамид). Овај интермеђер се у другом кораку оксидује водоник-пероксидом до етамивана (**32**).

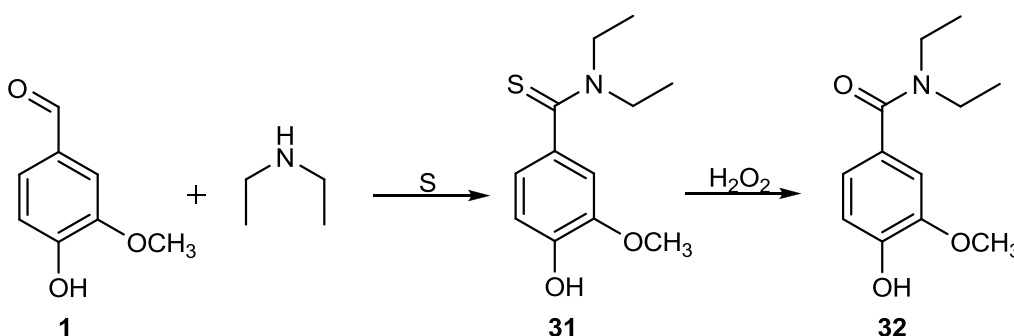


Схема 15. Синтеза етамивана помоћу диетил амина

Алтернативни начин је базиран на синтези ванилинске киселине (**25**) из ванилина (**1**), која даље реагује са диетил амином у присуству P₂O₅ дајући амид **32** (Схема 16). У литератури се могу пронаћи две процедуре за добијање ванилинске киселине: 1) оксидација ванилина натријум-хлоритом,⁵⁹ и 2) реакција са киселинама коју је описао *Pearl*.⁶⁰ Према овом поступку, ванилин се греје са КОН на високој температури, а затим се реакциона смеша „гаси“ водом у присуству киселине (HCl или H₂SO₄).

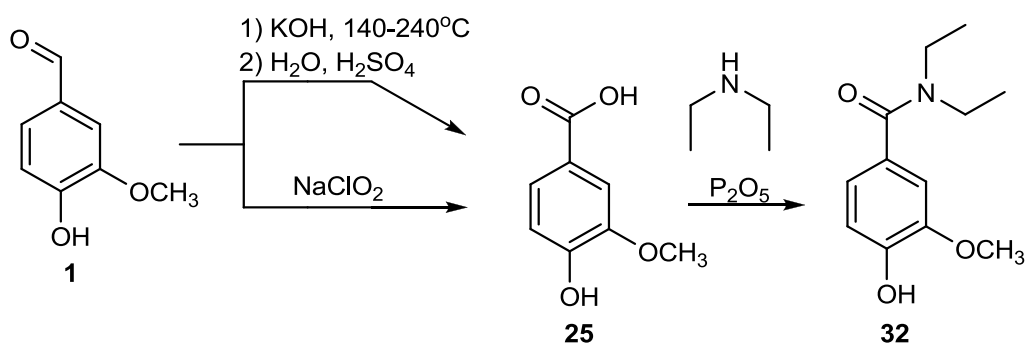


Схема 16. Синтеза етамивана из ванилинске киселине

1.3.1.3. Добијање леводопе (L-DOPA)

Леводопа (**39**, 3,4-дихидроксифенилаланин, L-DOPA) је психоактивни лек који се највише употребљава у лечењу Паркинсонове болести. Може се добити користећи велики број различитих синтетичких путева, а два од њих се ослањају на ванилин као супстрат.

Прву асиметричну синтезу леводопе је развио William S. Knowles, и данас је овај поступак познат као Монсанто процес.⁶¹⁻⁶⁷ (Схема 17). Овај вишефазни процес обухвата реакцију ванилина (**1**) са глицином (**33**) и анхидридом сирћетне киселине (**34**) у којој настаје 4-(2,5-диоксоимидазолидин-4-илиденметил)-2-метоксифенил естар сирћетне киселине (**35**). Даљим третирањем овог естра киселином долази до отварања прстена и настаје 2-ацетиламино-3-(4-хидрокси-3-метокси-фенил)акрилна киселина (**36**) која опет у реакцији са анхидридом сирћетне киселине (**34**) даје ацетат **37**. Ацетиловани производ се потом редукује до *N*-ацетил-3-(4-ацетокси-3-метоксифенил)-L-аланина (**38**) који деацетиловањем помоћу бромоводоничне киселине даје леводопу (**39**).

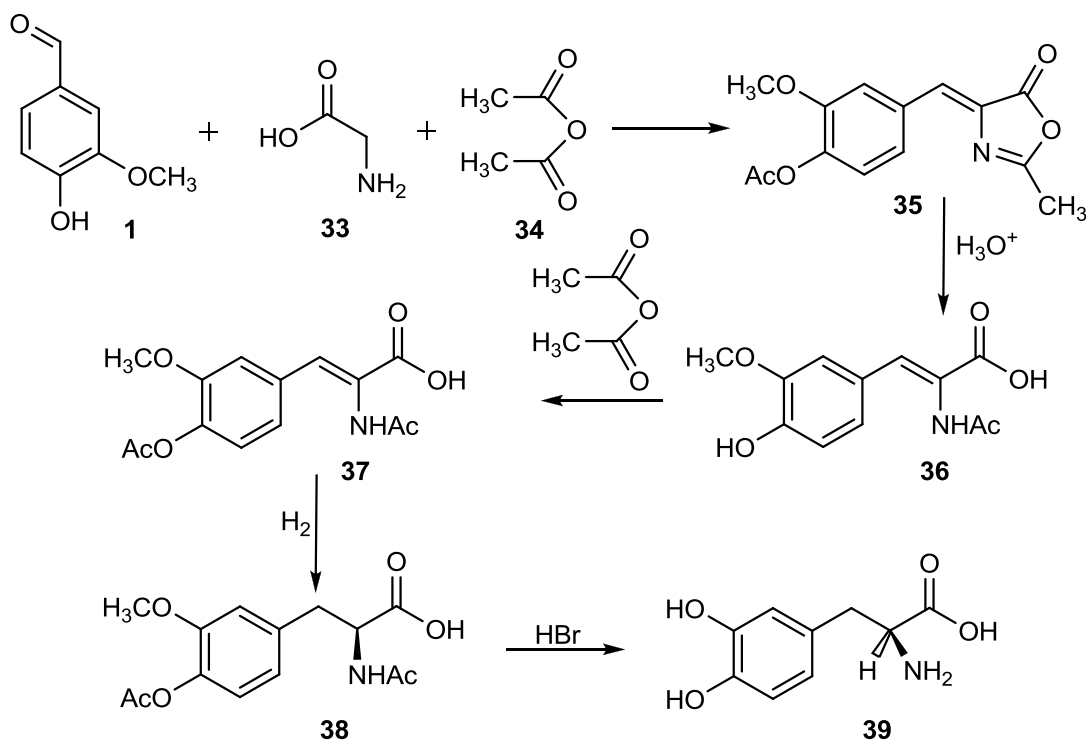
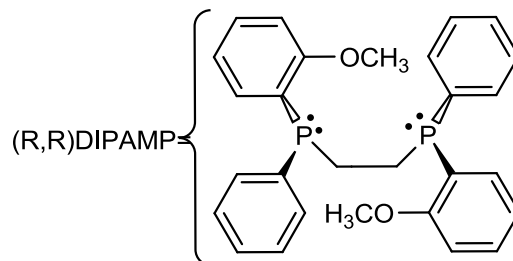


Схема 17. Синтеза L-DOPE

Кључни корак ове асиметричне синтезе је енантиоселективна хидрогенизација интермедијера **37** која се врши уз помоћ катализатора Rh(DiPAMP) чија је структура приказана на Слици 9.



Слика 9. Родијумов катализатор за селективну редукују

Други начин за добијање леводопе подразумева реакцију ванилина (**1**) са хидантоином (**40**) при чему настаје 5-(4-хидрокси-3-метоксибензилиден)-имидазолидин-2,4-дион (**41**), који се затим редукује са Pd/C и третира бромоводоничном киселином. Овим поступком се добија рацемска смеша D- и L-изомера из које се леводопа (**39**) издваја коришћењем неколико поступака раздвајања који су већ описани у литератури.⁶⁸⁻⁷⁰

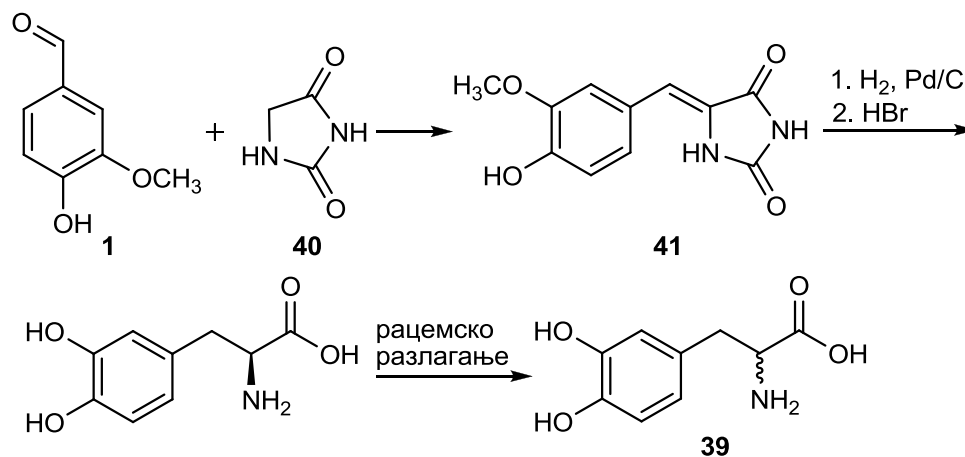


Схема 18. Добијање L-DOPE помоћу хидантоина

1.3.1.4. Добијање N-метил-допе

N-метил-допа (**46**, 3-(3,4-дихидроксифенил)-2-метилаланин) је препарат који је своју примену нашао у лечењу високог крвног притиска.

Синтеза овог комплексног молекула се остварује поступком који је увео Guertero са сарадницима, а који се спроводи преко азлактона као интермедијера

(Схема 19).⁷¹ Кључни интермедијер, азлактон **43**, се добија реакцијом кондензације ванилина (**1**) и креатинина (**42**) који се у наредном кораку ацилује анхидридом сирћетне киселине (**34**). У овом делу синтезе долази до ацетиловања ОН групе која потиче из ванилина, али и НН групе креатининског остатка. Добијени диацетилувани производ **43** се потом редукује Na-амалгамом при чему настаје једињење **44** чијом базном хидролизом долази до елиминације формамидне групе уз истовремено деацетиловање. Крајњи производ *N*-метил-допа (**46**), у облику рацемске смеше, се добија реакцијом интермедијера **45** са црвеним фосфором.

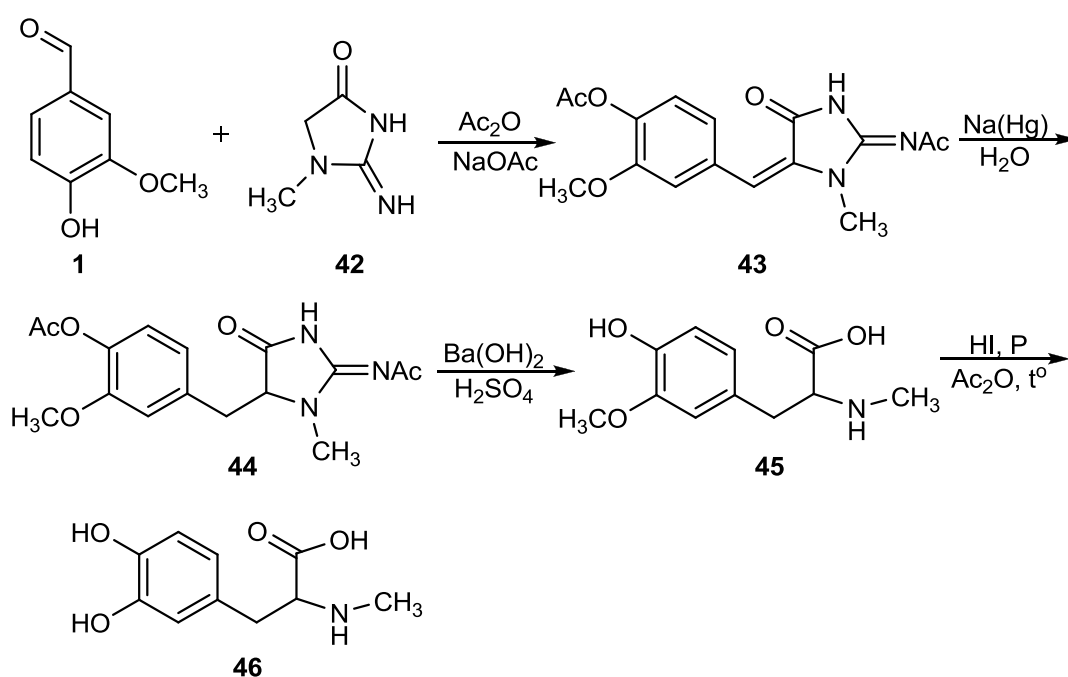
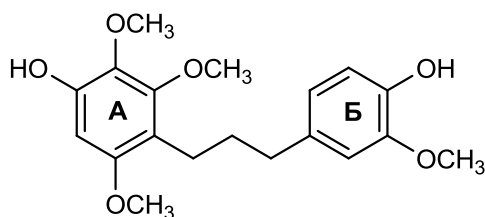


Схема 19. Синтеза *N*-метил-допе

1.3.2. ДОБИЈАЊЕ ПРОИЗВОДА ИЗ ВАНИЛИНА У СИНТЕЗАМА КОЈЕ СЕ САСТОЈЕ ИЗ ВЕЛИКОГ БРОЈА КОРАКА

1.3.2.1. Синтеза висколина

Висколин (**56**) представља природни 1,3-диарилпропан пронађен у биљци *Viscum coloratum* (фамилија дрвених скривеносеменица), која се обично користи као народни лек за лечење бројних обољења као што су крварења, гихт, болести срца, епилепсије, артритиса и хипертензије.^{72,73} Структура овог биоактивног молекула је приказана на слици 10.



Слика 10. Структура висколина

Висколин се добија из одговарајућег ацетофенона **52** и деривата ванилина **53** поступком који започиње реакцијом алдолне кондензације (Схема 20). Ова тростепена синтеза се изводи кроз неколико корака при чему се треба имати у виду да су оба реактанта добијена из ванилина.⁷⁴

Прва фаза реакције обухвата добијање деривата ацетофенона **52**. Полазни супстрат, ванилин (**1**), се прво региоселективно брмује при чему настаје 5-бромванилин (**47**) чијом базном хидролизом у присуству бакра као катализатора настаје 5-хидроксиванилин (**48**) у приносу од 80%. У наредном кораку врши се заштита хидроксилне групе у пара положају помоћу диметил-сулфата, да би се затим преостала фенолна група алкиловала изопропил-бромидом. Настали производ **49** се Baeyer-Villiger-овом оксидацијом са *m*-CPBA преводи у естар који по извршеној хидролизи у базној средини и метиловању даје полиетарски ароматични производ **50** у виду обојеног уља. Циљни интермедијер **52** се добија Friedel-Crafts-овим ациловањем при чему се као реагенс користи ацетил-хлорида, док улогу катализатора има SnCl₄.

У току друге фазе ванилин (**1**) се алкилује изопропил-бромидом у DMF-у као растварачу при чему настаје алдехид **53**.

Овако добијени производи **52** и **53** се кондензују у базној средини дајући халконски интермедијер **54** у јако високом приносу (97%). Да би се добио молекул **56** неопходно је извршити редукцију и олефинске и карбонилне групе до метиленских. Овај поступак се остварује реакцијом са триетилсиланом у присуству TFA и том приликом настаје производ (**55**). Последња фаза ове реакције јесте уклањање заштитних изопропил група помоћу BCl₃ при чему се добија висколин (**56**) у приносу од 88%.

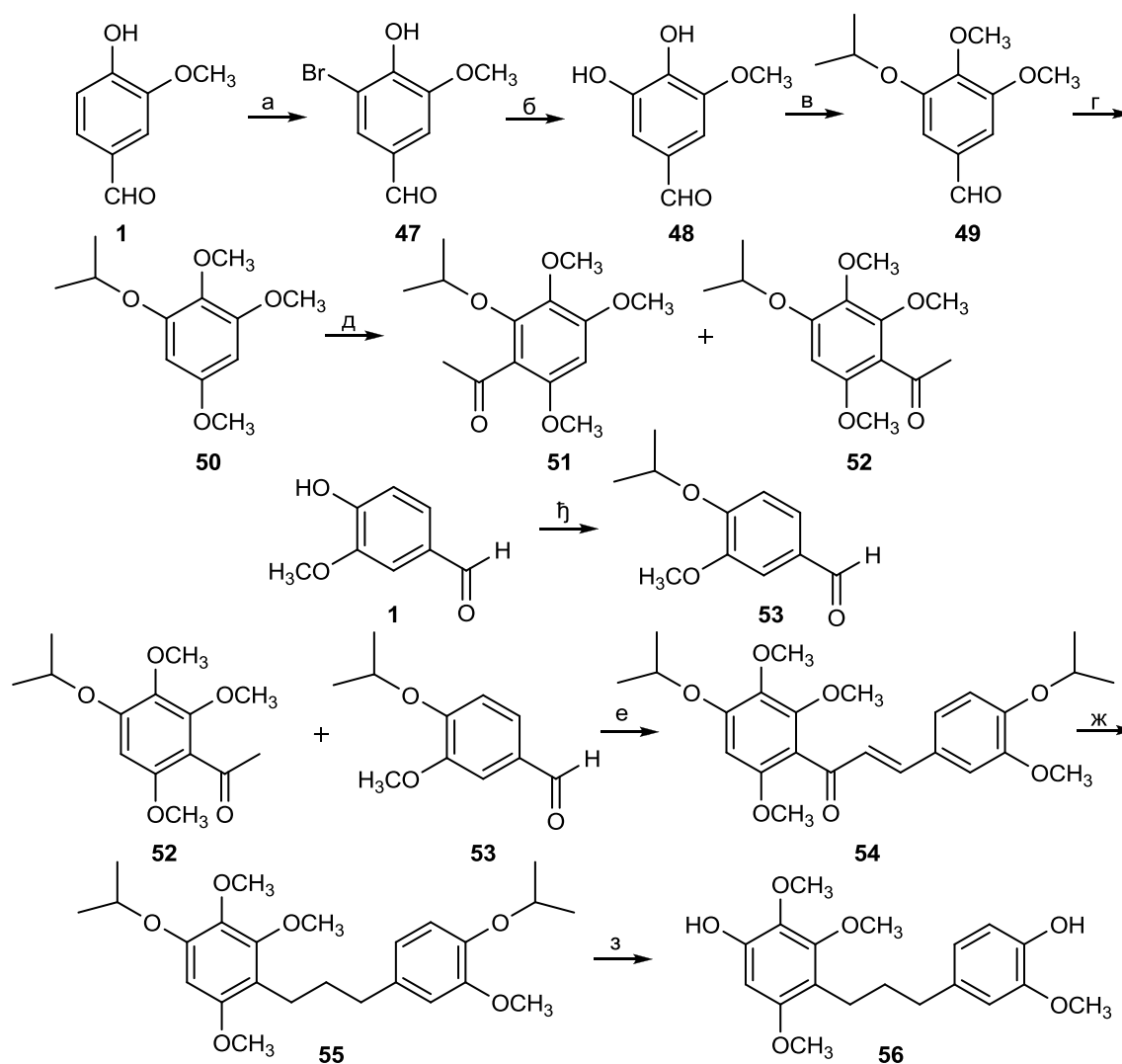


Схема 20. Синтеза висколина из ванилина. Реагенси и реакциони услови: а) Br_2 , MeOH, $0^\circ C$, H_2O б) NaOH (aq), Cu, рефлукс; в) (1) $(CH_3)_2SO_4$, Na_2CO_3 , ацетон, рефлукс; (2) $(CH_3)_2CHBr$, K_2CO_3 , DMF, рефлукс; г) (1) *m*-CPBA, CH_2Cl_2 , собна температура; (2) NaOH-MeOH, собна температура; (3) CH_3I , K_2CO_3 , MeOH, собна температура; д) AcCl, $SnCl_4$, CH_2Cl_2 , собна температура; ж) $(CH_3)_2CHBr$, K_2CO_3 , DMF, $60^\circ C$; е) NaOH, MeOH, собна температура; ж) Et_2SiH , TFA, собна температура; з) BCl_3 , CH_2Cl_2 , $0^\circ C$

1.3.2.2. Синтеза варацина

Органски полисулфиди су интересантни пре свега због својих физичких карактеристика и коришћења у синтезама, мада у последње време расте интересовање за њима и због јако изражене биолошке активности појединих класа. Нарочито је значајан допамински дериват цикличних полисулфида, варацин (**63**), који је изолован из врсте *Lissoclinum tunicates*. Он се одликује израженом антигљивичном и цитотоксичном активношћу.

Варацин (**63**) се добија из ванилина (**1**) поступком који се одиграва у неколико ступњева. У првом кораку се синтетише 5,6-дибромванилин (**57**) реакцијом брмовања у сирћетној киселини,⁷⁵ који реакцијом са бакар-*n*-бутилмеркаптидом у хиолину и пиридину даје једињење **58**. Потом се врши метиловање фенола и кондензација насталог интермедијера **59** са нитрометаном. У наредном кораку добијени нитро дериват **60** се редукује литијум-алуминијум-хидридом и настала amino група се штити превођењем у одговарајући триметилсилил етоксикарбонил дериват **61**. Бутил-групе се потом уклањају реакцијом са натријум-амидом, након чега добијени интермедијер реагује са S_2Cl_2 и даје циклични полисулфид **62**. У последњем кораку уклања се заштитна група помоћу TFA дајући варацин (**63**).

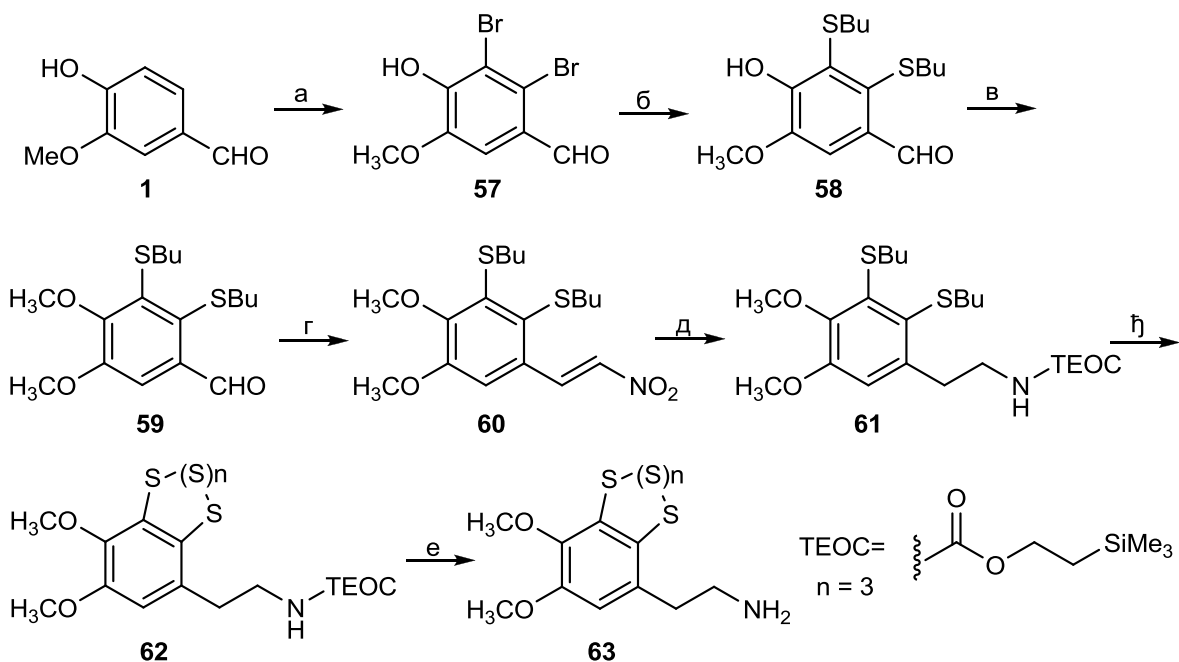
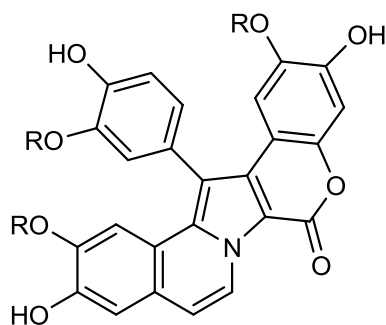


Схема 21. Синтеза варацина из ванилина. Реагенси и реакциони услови: а) Br_2 , $HOAc$; б) CuS_nBu , хиолин/пиридин, $160^\circ C$; в) $(MeO)_2SO_2$, K_2CO_3 , $n-Bu_4NI$, CH_2Cl_2/H_2O ; г) $MeNO_2/HOAc$; д) (1) $LiAlH_4$; (2) $p-O_2NC_6H_4OTEOS$; е) Na/NH_3 , S_2Cl_2 , THF ; ж) TFA;

1.3.2.3. Синтеза ламеларина D и H

Ламеларини D и H, (**76a** и **76b**), изоловани су из морских организама као што су: мекушци, асцидије и сунђери. Ова једињења представљају деривате пиролских алкалоида (Слика 11) који показују јако изражену антитуморску активност.⁷⁶



Слика 11. Структура ламералина D (76a, R=Me) и ламералина H (76b, R=H)

Недавно је развијена врло једноставна метода за синтезу ових биомолекула која је базирана на употреби ванилина (**1**) и изованилина (**67**). Ванилин се (**1**) најпре алкилује изопропил-бромидом, а затим Wittig-овом реакцијом са одговарајућим илидом преводи у енол етар **65**. Кисело катализованом хидролизом овог енол етра се добија алдехид **66** са једном метиленском групом више.

У другом, потпуно одвојеном кораку, комерцијално доступни изованилин (**67**) се поступцима етерификације, кондензације са нитрометаном и редукције трансформише у амин **68**.^{77,78}

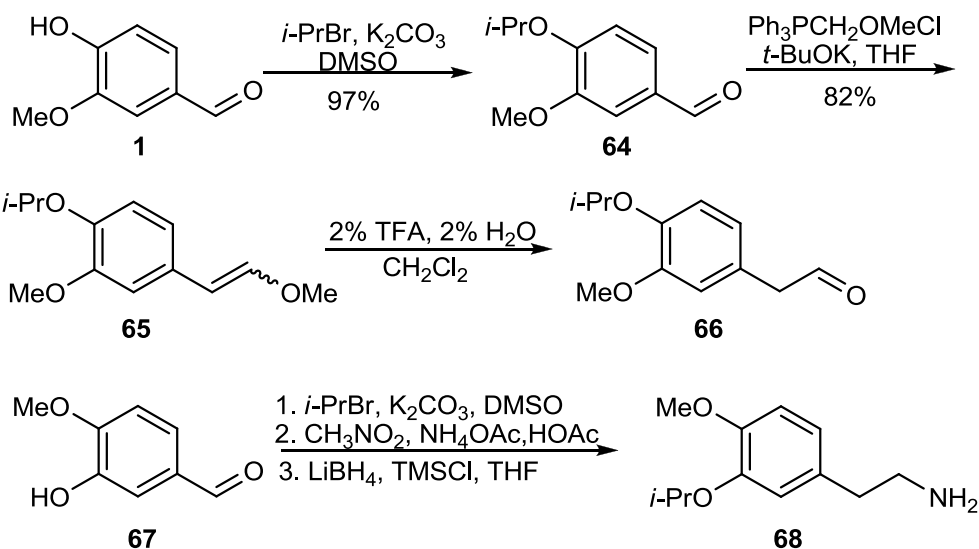


Схема 22. Синтеза алдехида **66** и амина **68**

Кључни интермедијер у синтези ламералина настаје оксидативним купловањем алдехида **66** и амина **68** (Схема 23). Овај *N*-супституисани пирол **69** се потом формилује коришћењем Vilsmeier-Нааск-овог поступка, при чему се формил група уводи у пиролски прстен. Добијени алдехид **70** се након тога оксидује до карбоксилне киселине помоћу натријум-хлорита.

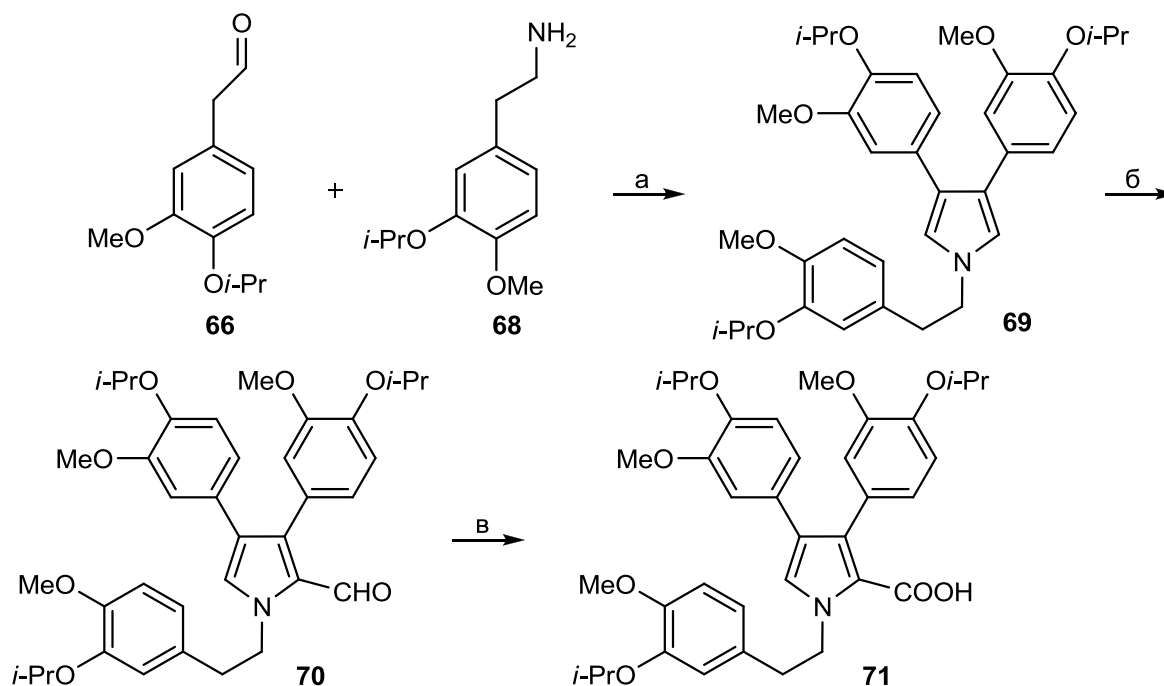
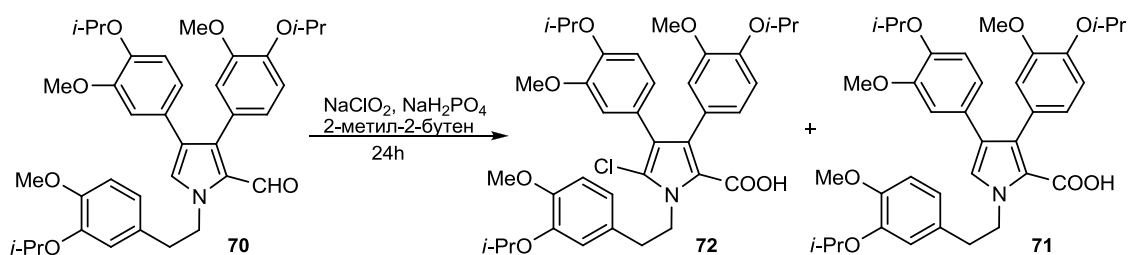


Схема 23. Добијање интермедијерне киселине **71**. Реagensи и реакциони услови:
 а) AgOAc , NaOAc , THF , 60°C ; б) POCl_3 , DMF , MW ; в) видети табелу 2

Табела 2. Оптимизација Lindgren-ове оксидације једињења **70**



	растварач	температура ($^\circ\text{C}$)	процент (%)	однос (60:61)	принос (60+61) (%)
1	DMSO/ H_2O	0-25	0	/	0
2	THF: <i>t</i> -BuOH: H_2O (4:1:4)	25	29	3:1	21
3	THF: <i>t</i> -BuOH: H_2O (4:1:4)	10-25	60	8:1	44
4	THF: <i>t</i> -BuOH: H_2O (4:1:4)	10	45	100:0	35
5	THF: <i>t</i> -BuOH: H_2O (3:3:1)	10	100	100:0	87

Растварач игра важну улогу у овој реакцији. Од односа THF/*t*-BuOH/ H_2O зависи принос производа, јер у овој реакцији може да настане и хлоровани производ **72** који омета ову реакцију (Табела 2).⁷⁹

Настала киселина **71** даље се третира $Pb(OAc)_4$ у кључалом $EtOAc$, при чему настаје лактон **73**. Интрамолекулским биарилним купловањем под условима које је описао Kita's⁸⁰ долази до формирања интермедијера **74** који при оксидацији са DDQ-ом даје **75**. Селективним уклањањем изопропил група помоћу BCl_3 настаје ламералин D (**76a**), док се превођењем свих етарских група у фенолне са BBr_3 добија ламералин H (**76b**).⁸¹

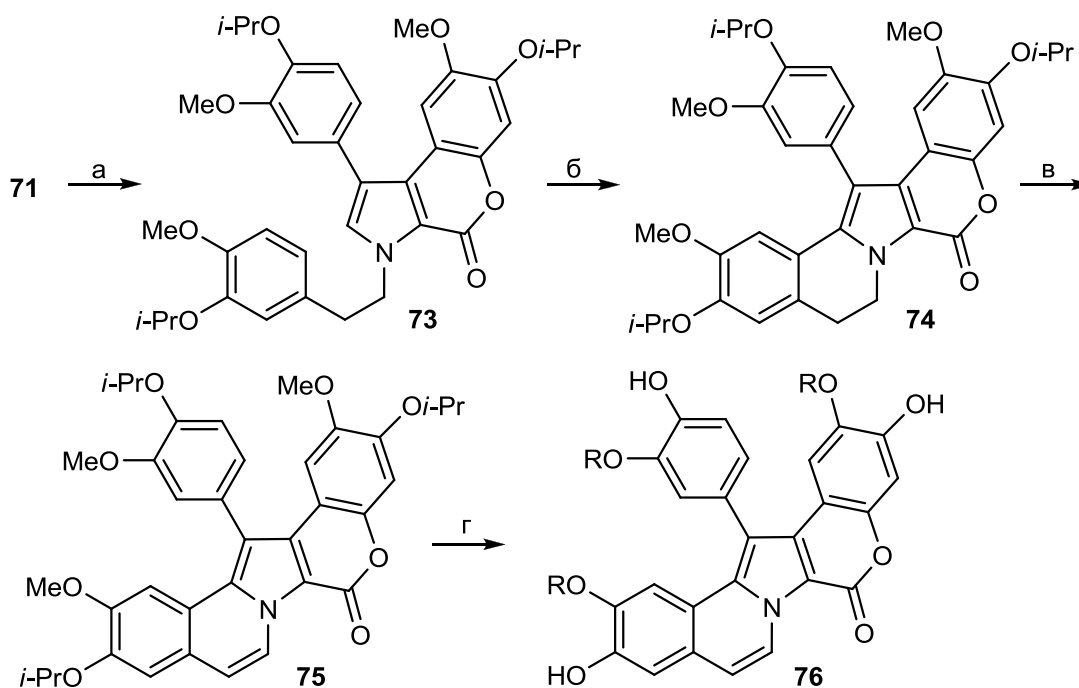


Схема 24. Синтеза ламералина D (**76a**, $R=Me$) и ламералина H (**76b**, $R=H$), Реакциони услови а) $Pb(OAc)_4$, $EtOAc$; б) $PIFA$, $BF_3 \cdot Et_2O$, CH_2Cl_2 ; в) DDQ , толуол, г) (1) за Ламералин D: BCl_3 , CH_2Cl_2 ; (2) за Ламералин H: BBr_3 , CH_2Cl_2

1.3.2.4. Синтеза хербертендиола

Хербертендиол (**96**) је дериват изолован из биљке *Herbertus* која припада породици *Liverworts*. За ову биљку је карактеристично да многа једињења изолована из ње показују широк спектар активности, као што су антимикуробна, антигљивична, антимикотичка, цитотоксична и антитуморска. Између осталих такав је и Хербертендиол, сесквитерпенски дериват, чију је синтезу извршио *Matsuo*⁸² са сарадницима полазећи од ванилина.

Сама синтеза је започета Clemensen-овом редукцијом ванилина (**1**) у присуству амалгама цинка (Схема 25), при чему настаје фенол **77** који је даље етерификован алил-бромидом како би дао етар **78**. Claisen-овим премештањем

алил групе, које је праћено изомеризацијом двоструке везе добија се фенол **80**. Овај дериват је даље алкилован помоћу диметил-сулфата и озонолизом преведен у алдехид **81**. Третирањем овог једињења Grignard-евим реагентом настаје алкохол **82** који је потом оксидован до кетона **83**. Кетон **83** је алкилован алил-бромидом при чему је настала смеша С-алкилованог кетона **84** и алил-енол етра **85** који на високој температури подлеже премештању дајући кетон **84** у јако високом приносу од 91%.

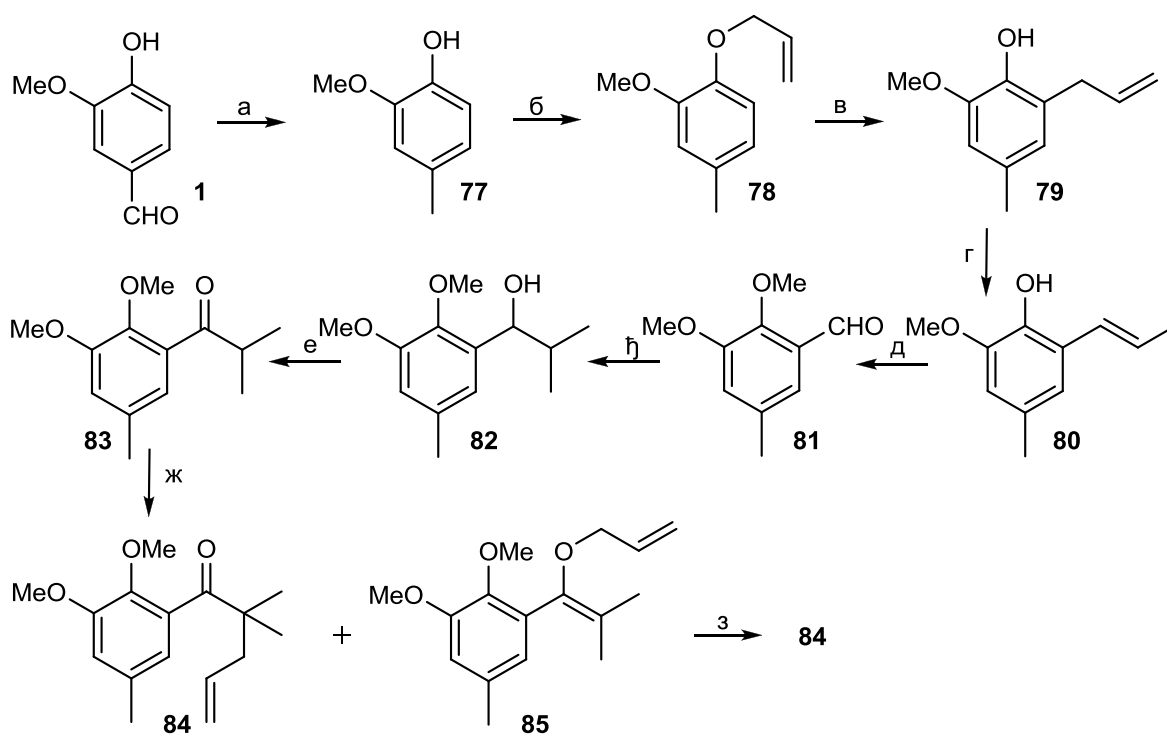


Схема 25. Синтеза кетона **84** као интермедијера у реакцији добијања хербертендиола. Реагенси и реакциони услови: а) Zn, конц. HCl, рефлукс 3h, 80%; б) K₂CO₃, CH₂=CHCH₂Br, ацетон, рефлукс 6h, 95%; в) затворена епрувета, 180°C, 24 h, 90%; г) KOH, MeOH, рефлукс 10h, 95%; д) (1) O₃/O₂, CH₂Cl₂, MeOH, -70°C; (2) Me₂S, собна температура, 6h, 80%; ђ) i-PrMgBr, Et₂O, 0°C → собна температура, 3h, 88%; е) PCC, силикагел, CH₂Cl₂, собна температура, 2h, 96%; ж) NaN, THF, рефлукс, CH₂=CHCH₂Br, 10h, 99%; з) затворена епрувета, 180°C, 0.5h, 92%.

Настали кетон **84** се третира органолитијумовим једињењем и даје алкохол **86**, а потом се редукцијом троструке везе помоћу Lindlar-овог катализатора добија интермедијер **87**. Овај енолски дериват реагује са PCC дајући алдехид **88** који је региоселективном редукцијом са NaBH₄ преведен у цинамоил алкохолни дериват **89**. Третирањем овог деривата са триетил-ортоацетатом у присуству каталитичке количине пропионске киселине добија се незасићени естар **90** који реагује са

Grubbs-овим катализатором прве генерације и даје циклопентенацетатни дериват

91. Редукцијом двоструке везе у циклопентену добија се естар **92** (Схема 26).

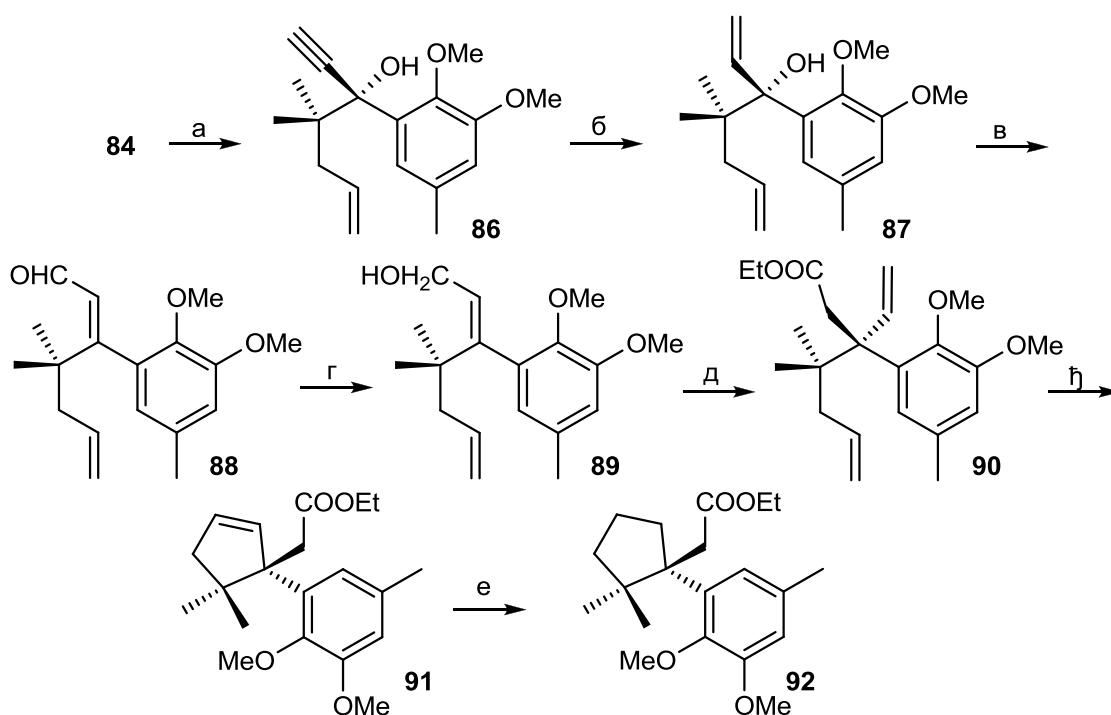


Схема 26. Синтеза естра **92** као интермедијера у реакцији добијања хербертендиола. Реагенси и реакциони услови: а) $\text{CH}\equiv\text{CLi}\cdot(\text{NH}_2\text{CH}_2)_2$, THF, 15-20°C, 2h, 90%; б) H_2 , Pd-CaCO₃, EtOH, 24h, 97%; в) PCC, силикагел, CH₂Cl₂, собна температура, 30h, 85%; г) NaBH₄, MeOH, 0°C → собна температура, 1.5h, 75%; д) CH₃C(OEt)₃, EtCOOH, 180°C, 48h, 28%; ж) Cl₂(PCy₃)₂Ru=CHPh, CH₂Cl₂, собна температура, 6h, 80%; е) H_2 (атм.), 10% Pd-C, EtOH, 3h, 99%.

Последњи део синтезе се изводи према схеми 27:

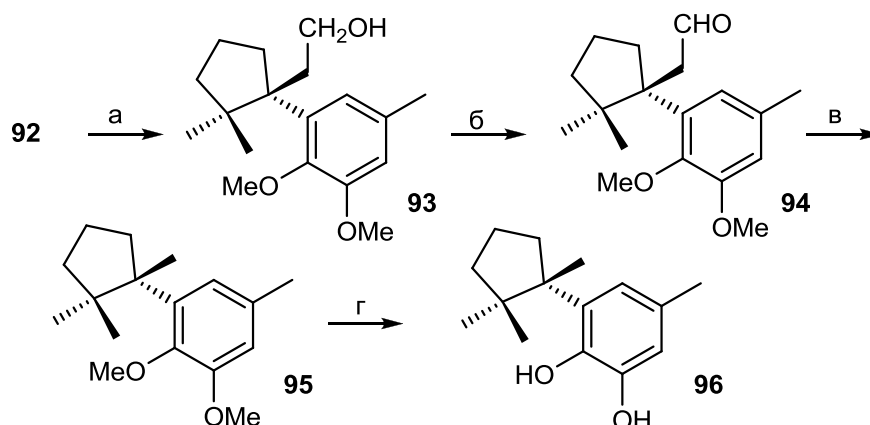
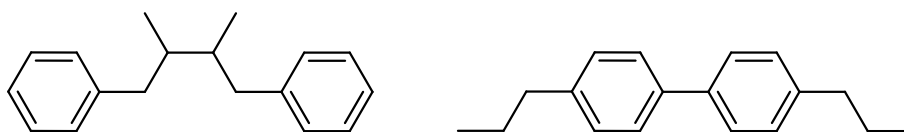


Схема 27. Синтеза хербертендиола. Реагенси и реакциони услови: а) LiAlH₄, Et₂O, 0°C, 1h, 98%; б) PCC, силикагел, CH₂Cl₂, собна температура, 0.5h, 89%; в) (Ph₃P)₃RhCl (20 mol%), C₆H₆, затворена епрувета, 120-130°C, 20h, 77%; г) BBr₃, CH₂Cl₂, -40°C → собна температура, 2h, 98%.

У овој фази врши се редукција добијеног естра **92** помоћу LiAlH_4 до алкохола **93**, оксидација до алдехида **94** у присуству PCC и елиминација карбонилне групе Wilkinson -овим катализатором. У крајњем кораку хербертендиол (**96**) се добија деметиловањем једињења **95** помоћу BBr_3 .

1.3.2.5. Синтеза неких неолигнана

Аилантоидол⁸³ (**110**), ХН-14⁸⁴ (**116**), и обоватен⁸⁵ (**126**) су природни производи који припадају породици неолигнана (Слика 12). Лигнани су иначе димери који садрже пропил-бензен јединице повезане преко пропил остатака. За разлику од њих везе у неолигнанима се остварују преко фенилпропаноидних јединица.⁸⁶ Обе ове врсте једињења имају јако изражене биолошке активности као што су: антиканцерогена,⁸⁷ антипролиферативна,⁸⁸ антивирусна,⁸⁹ имуносупресивна,⁹⁰ антитромбоцитна,⁹¹ антиоксидативна,⁹² инсектицидна,⁹³ антиинфламаторна⁹⁴ и антигљивична.⁹⁵ Поред тога она су и важни извори фитоестрогена.⁹⁶



Слика 12. Структуре лигнана и неолигнана

Заједничко за сва три једињења, аилантоидол, ХН-14 и обоватен, јесте да се синтетишу поступцима чији су полазни ступњеви веома слични све до изоловања кључног интермедијера 2-супституисаног фенил-3-хлоромеркури-бензофурана, након чега се реакције воде у различитим правцима са циљем добијања жељених производа.

Прва фаза реакције почиње грађењем бензофенонског деривата, 1-бромо-2,3-диметокси-5-(5,5-диметил-1,3-диоксан-2-ил)бензена (**99**) (Схема 28), који се добија из ванилина (**1**).⁹⁷ Бромовањем ванилина у иницијалном кораку настаје 3-бромванилин (**97**) који се потом метилује помоћу метил-јодида. Метиловани производ **98** реагује са диметилпропандиолом и даје производ **99**. Синтетисано једињење **99** представља тачку рачвања синтетичких путева одакле су реакције вођене у засебним правцима.

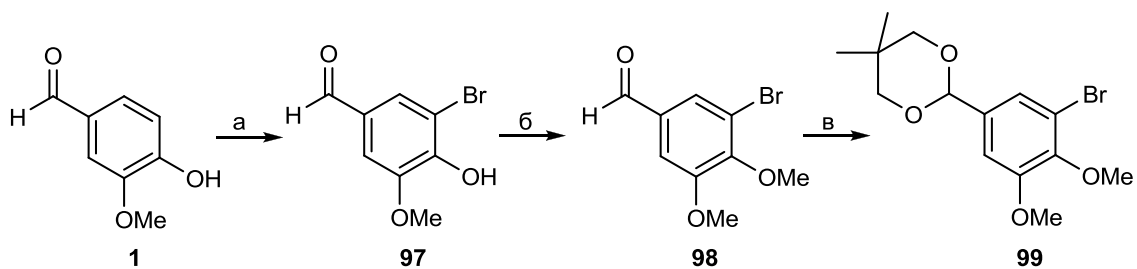


Схема 28. Синтеза 1-бромо-2,3-диметокси-5-(5,5-диметил-1,3-диоксан-2-ил)бензена. Реагенси и реакциони услови: а) Br_2 , AcOH , собна температура, 87%; б) TBNI , CH_2Cl_2 , NaOH , H_2O , MeI , собна температура, в) диметилпропандиол, $p\text{-TsOH}$, рефлукс, 71%.

1.3.2.5.1. Синтеза аилантоидола

Код синтезе аилантоидола (**110**), једињење **99** се адира на карбонилну групу 4-бензилокси-3-метоксибензалдехида (**100**) у присуству $n\text{-BuLi}$ при чему настаје производ **101**. Међутим, реакција је често праћена добијањем споредних производа **102** и **103** (Схема 29).

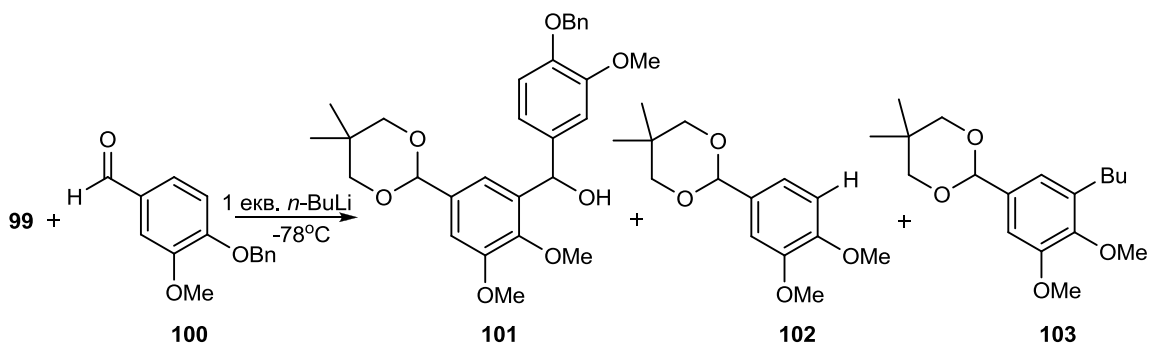


Схема 29. Добијање смеше производа реакцијом бензил-ванилина и производа **99**

Настали производ **101** се потом оксидује са MnO_2 до кетона **104**. Овако добијени кетон реагује са триметилсилилдиазометаном при чему долази до Colvin-овог премештања⁸⁴ и том приликом настаје једињење **105**. Током овог премештања карбонилна група која је присутна у једињењу **104** се преводи у троструку везу уз инсертовање угљеника из одговарајућег диазометана. Овај производ **105** се затим третира жива-ацетатом у сирћетној киселини и даје, раније поменути, кључни интермедијер 2-(4-бензилокси-3-метоксифенил)-3-хлороме-ркуро-5-(5,5-диметил-1,3-диоксан-2-ил)-7-метоксибензофуран (**106**). Синтетисани фурански дериват **106** даље подлеже уклањању меркури групе помоћу NaBH_4 у THF дајући **107**. Након тога врше се прво редуција, а потом и кисела хидролиза

производа **107**. У току ових реакција уклањају се бензил- и заштитна диметилпропандиолска група, а настаје алдехид **108**. Wittig-овом реакцијом са (карбетоксиметилен)трифенилфосфораном, алдехид **108** се преводи у 2-(4-бензилокси-3-метоксифенил)-7-метокси-5-(карбетокси-1-пропенил)бензофуран (**109**). Крајњи производ ове синтезе, аилантоидол (**109**), добија се редукцијом насталог коњугованог естра **109** у присуству DIBAL-H (Схема 30).

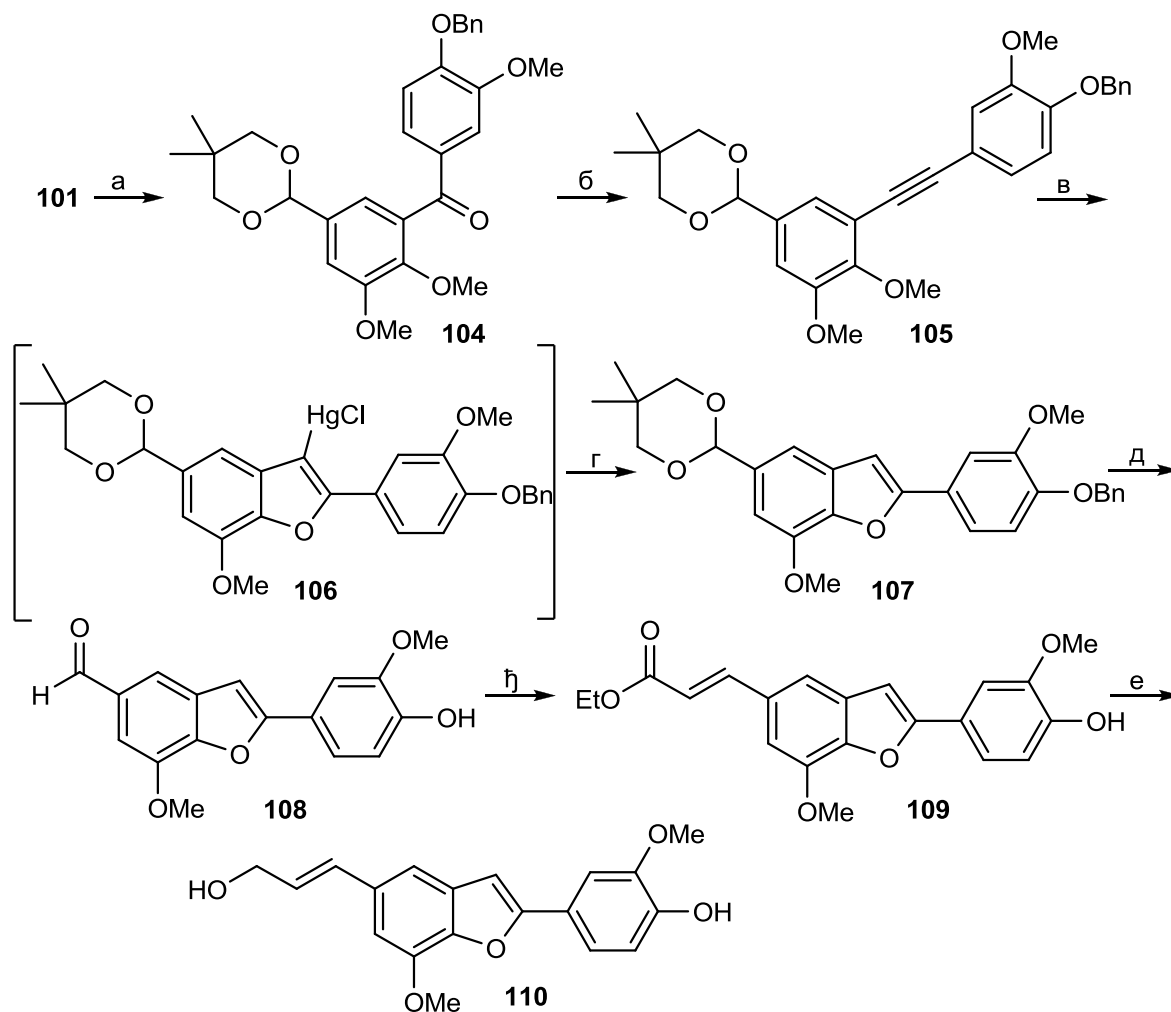


Схема 30. Синтеза аилантоида. Реагенси и реакциони услови: а) MnO_2 , CH_2Cl_2 , собна температура, 96%; б) $TMSC(Li)N_2$, $-78^\circ C$, 98%; в) (1) $Hg(OAc)_2/AcOH$; (2) зас. $NaCl$ (aq), собна температура; г) $NaBH_4$, KOH (aq), собна температура, 85%; д) (1) $Pd-C/H_2$, 4,14 бара, CH_2Cl_2 , собна температура, 88%; (2) 2.6 N HCl /ацетон, собна температура, 72%; е) $EtOCOCH=PPh_3$, THF , $-78^\circ C$, 97%; ф) $DIBAL-H/THF$, $-78^\circ C$, 97%.

1.3.2.5.2. Синтеза ХН-14

Ово једињење се такође може добити полазећи од једињења **99** (Схема 31). Први део синтезе је исти као код аилантоидола **110** до настајања интермедијера **106**. Након тога се врши увођење естарске групе у положај 3 третирањем са PdCl_2 , MgO и LiCl (1:2:1) у присуству CO у метанолу на собној температури. Том приликом настаје 2-(4-бензилокси-3-метоксифенил)-3-метоксикарбонил-5-(5,5-диметил-1,3-диоксан-2-ил)-7-метокси-бензофуран (**111**) и мале количине одговарајућег једињења (**107**) које не садржи естарску групу. Киселом хидролизом једињења **111** из диоксана се регенерише формил група која се Wittig-овом реакцијом преводи у естар **113**. Даље се на исти начин као и код аилантоидола (**110**), добија диол **114** (обе естарске групе реагују и дају алкохолну групу). Добијени диол подлеже редукцији двоструке везе помоћу Pd/C дајући инттермедијер **115** (истовремено се уклања и бензил група), да би се селективном оксидацијом помоћу MnO_2 синтетисао ХН-14 (**116**).

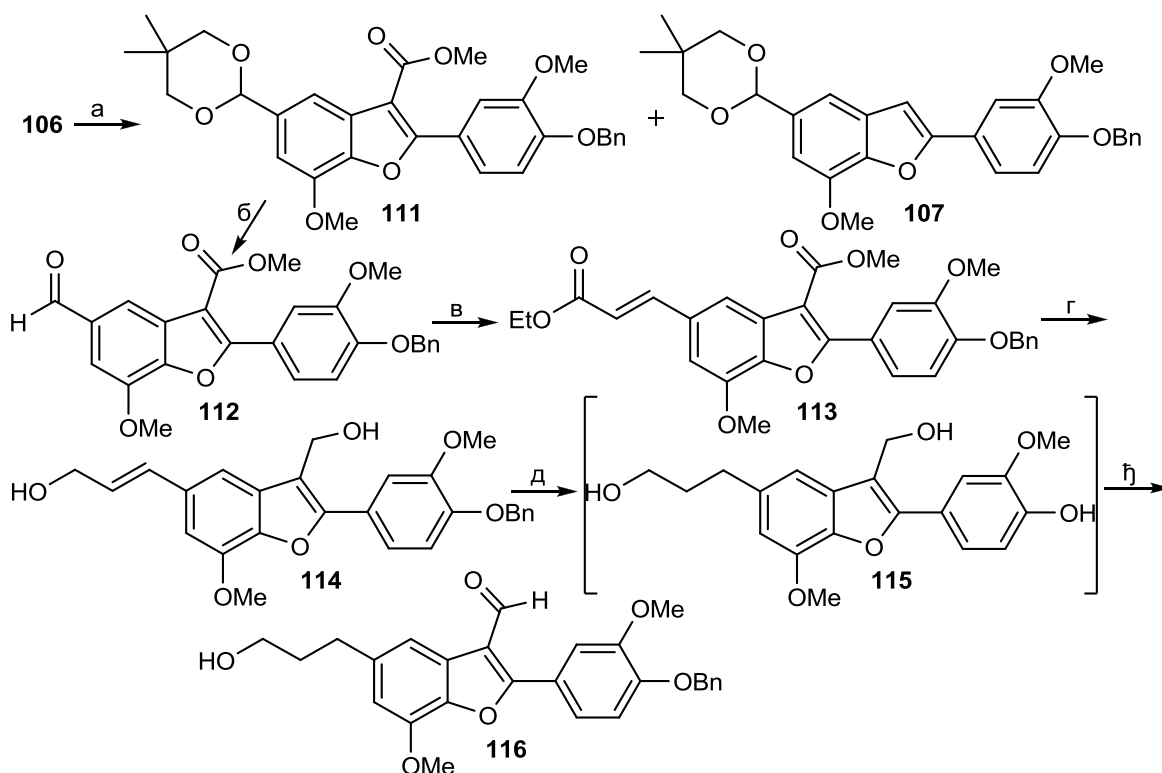


Схема 31. Синтеза ХН-14. Реагенси и реакциони услови: а) PdCl_2 , MgO , LiCl , CO , MeOH ; б) HCl /ацетон., 97%; в) $\text{EtOCOCH=PPh}_3\text{Br}$, 78%; г) DIBAL-H , 49%; д) Pd-C/H_2 ; е) MnO_2 , 24%.

1.3.2.5.3. Синтеза обоватена

Синтетички пут у првој фази за добијање овог производа је исти као код аилантоидола (**110**), са малом разликом у алдехиду који се користи за купловање у почетној фази (Схема 32). Уместо бензил-ванилина (**100**) употребљава се 3,4-добензилокси-5-метоксибензалдехид (**117**) који се добија алкиловањем 3,4-дихидрокси-5-метоксибензалдехида са бензил-бромидом и K_2CO_3 у диметилацетамиду.

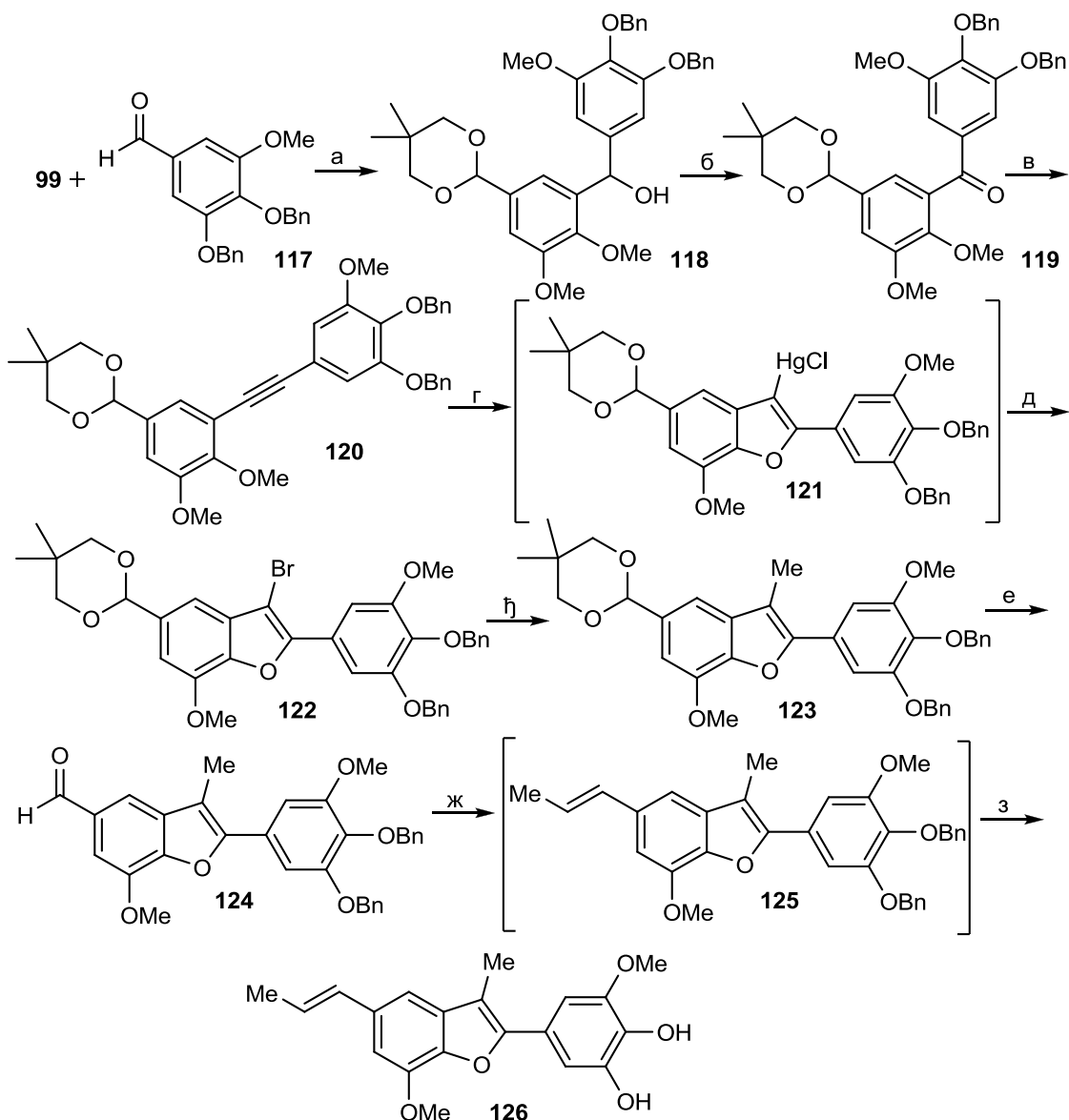


Схема 32. Синтеза обоватена. Реагенси и реакциони услови: а) 1 екв. $n\text{-BuLi}$, 77%; б) MnO_2 , CH_2Cl_2 , 96%; в) $TMSC(Li)N_2$, THF , 99%; г) (1) $Hg(OAc)_2/AcOH$; (2) зас. $NaCl$ (aq), собна температура; д) $Br_2/CHCl_3$, 64%; е) $n\text{-BuLi}$, MeI , 90%; ж) $HCl/ацетон$, 77%; з) $MeCH_2P^+Ph_3I^-$; з) BBr_3 , 31%.

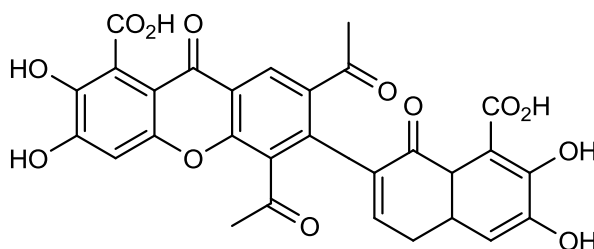
Као резултат ове реакције купловања настаје алкохолни дериват **118**. Овај производ се оксидује у присуству MnO_2 до кетона **119** који затим подлеже Colvin-овом премештању у присуству триметилсилилдиазометана, као код синтезе аилантоидола (**110**). Настало једињење **120** се подвргава реакцији са жива-ацетатом у сирћетној киселини и доводи до циклизације и настајања фуранског интермедијера **121**. Бромовањем овог једињења настаје 3-бром дериват **122** код кога се потом супституише бром метил групом у реакцији са метил-јодидом. Овако синтетисано једињење **123** се хидролизује у киселој средини при чему се регенерише карбонилна група и настаје алдехид **124**. Он даље реагује са одговарајућим фосфорним илидом Wittig-овом реакцијом и даје алкен **125**. На крају се врши уклањање бензил групе помоћу BBr_3 и добија се обоватен (**126**).

1.3.2.6. Синтеза винаксантона

Многе гљиве, лишајеви и бактерије садрже ксантоне (деривате 9H-ксантен-9-она, “xanthone” из грчког “xanthos” значи жуто) као секундарне метаболите. Ксантони су обично полисупституисани ароматични системи који могу бити дихидро-, тетраhydro-, или ређе хексахидро-деривати. Ова група једињења је нарочито интересантна због своје јако изражене биолошке активности.⁹⁸

Један од значајнијих ксантона јесте винаксантон (**136**) (Слика 13), који се може добити полазећи од ванилина.

Винаксантон је изолован из *Penicillium vinaceum* 1991. године.



Слика 13. Структура винаксантона

Још једна важна карактеристика овог природног производа јесте да показује значајне регенеративне ефекте комплетне кичмене мождине (рађено на животињским моделима), па данас представља један од најперспективнијих молекула за развој тзв. SCI-третмана (третман опоравка кичмене мождине).

Тоталну синтезу винаксантона је извршио *Tatsuta*⁹⁹ са сарадницима 2007. године. Синтеза обухвата 11 корака и кључна реакција јесте интермолекуларна Diels-Alder-ова циклоадиција (Схема 33).

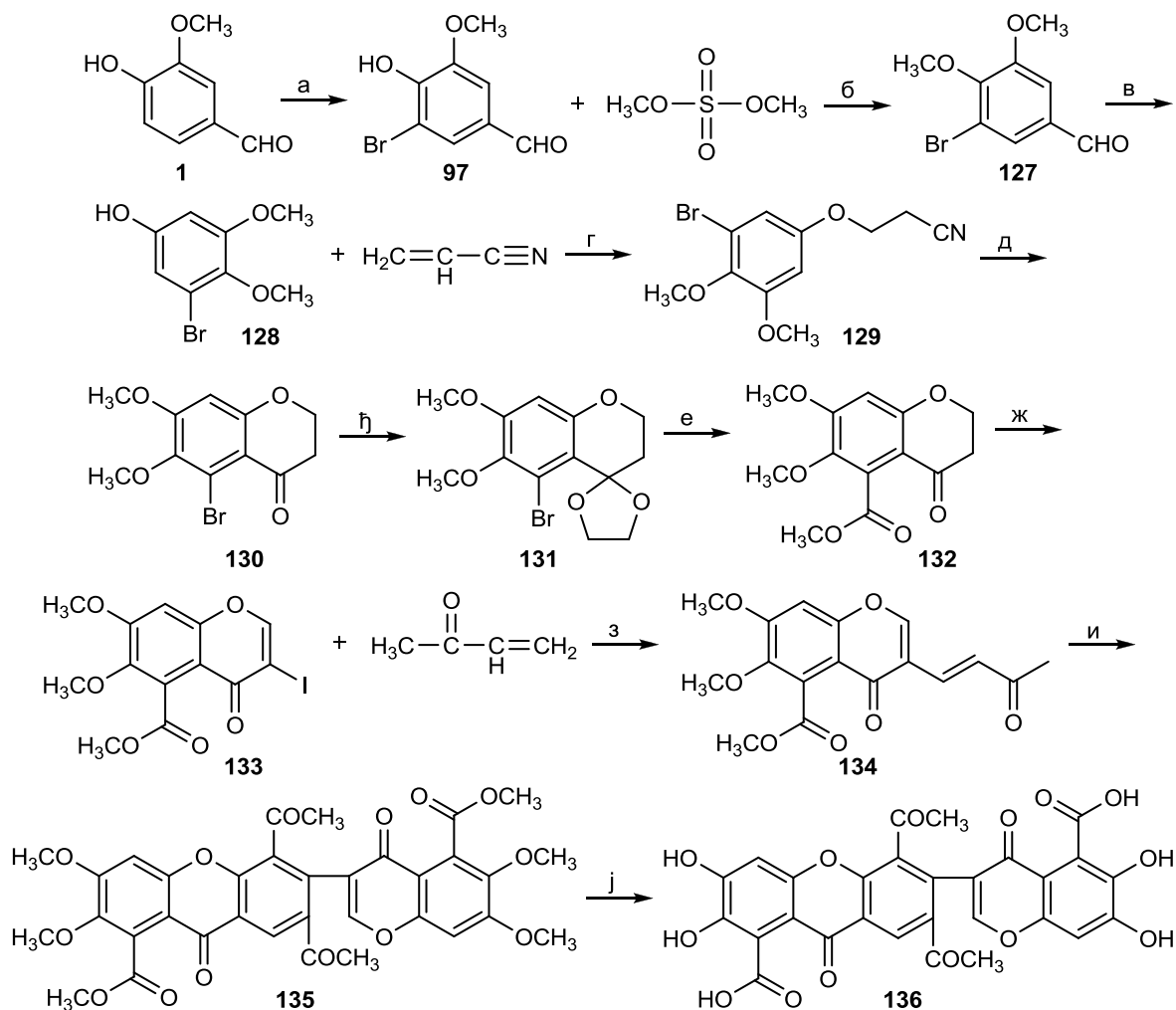


Схема 33. Синтеза винаксантона. Реагенси и реакциони услови: а) Br_2 , AcOH , 6h, собна температура; б) K_2CO_3 , Me_2CO , 9.5h, 50°C ; в) 1) *m*-CPBA, CH_2Cl_2 , 11h, рефлукс; 2) Et_3N , MeOH , 2h, собна температура; г) DBU, 72h, 75°C ; д) 1) хидролиза; 2) MeNO_2 , AlCl_3 , H_2O , 0.5h, 60°C ; е) етилен-гликол; $\text{CH}(\text{OMe})_3$, *p*- $\text{MeC}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{H}$, PhMe , 11h, 80°C ; ж) 1) BuLi , ClCO_2Me , THF , 1h, -78°C ; 2) HCl , MeOH , 2h, собна температура; з) I_2 , DMSO , 5h, 110°C ; и) Et_3N , $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, MeCN , 7.5h, 50°C ; у) BHT, O_2 , PhMe , 24h, 200°C ; j) AlCl_3 , PhMe , 2h, 110°C .

У првој фази ове синтезе врши се региоселективно бромање ванилина (**1**), а потом метиловање фенолне групе тако добијеног 3-бромванилина (**97**) помоћу диметил-сулфата. Настали бензалдехид **127** се Dakin-овом реакцијом директно преводи у фенол **128**, а након тога Michael-овом адицијом производа **128** са акрилонитрилом добија се нитрил **129**. После хидролизе нитрилне групе врши се циклизација путем интрамолекуларног Friedel-Crafts-овог ациловања у присуству AlCl_3 . Том приликом настаје хроманон **130** који у реакцији са етилен-гликолом даје циклични кетал **131**. Овај кетал у даљем току синтезе реагује са органолитијумовим једињењем при чему долази до супституције халогена литијумом. Настало једињење у присуству метил-хлорформијата, а потом и хидролизом, при којој се уклања заштита карбонилне групе, даје хроманон **132**. Третирањем хроманона **132** јодом на повишеној температури у DMSO-у као растварачу синтетиче се винил-јодид **133**. Услед Неск-овог купловања са метил винил кетоном производ **133** гради кључни прекурсор **134** који се димеризује у следећем кораку Diels-Alder-овом циклоадицијом у толуену на 200°C , дајући димер **135**. У крајњем кораку ове синтезе винаксантон **136** се добија уклањањем заштитних метил група са фенола насталог димера **135** у присуству AlCl_3 у толуену уз рефлукс.

2. НАШИ РАДОВИ

2.1. УВОД

Пошто је ванилин нашао огромну примену у различитим научним областима, данас је он предмет многих истраживања. Поред својих добрих особина и активности које поседује, он се показао и као добар супстрат за добијање разних лекова. Захваљујући присутној алдехидној и фенолној групи и ароматичном систему, он пружа могућност за огроман број синтеза.

Алдехидна група ванилина свакако представља најреактивнији центар. Она се може подвргнути читавом низу трансформација које обезбеђују приступ широком спектру различитих једињења која могу бити од интереса за фармацију и медицину. Тако се ова група, између осталог, може превести и у енонски систем који је био од круцијалног значаја за овај рад.

Сами енони су често биоактивна једињења, мада могу бити и добра полазна супстрата у синтези других биолошки интересантних молекула. Познате су реакције добијања различитих хетероцикличних једињења¹⁰⁰⁻¹⁰¹ из оваквих система у којима се као реактанти најчешће користе азотни деривати попут хидроксиламина, хидразина, гуанидина, урее и тиоурее. Овакви хетероцикли у највећем броју случајева показују извесну биолошку активност.

У оквиру ове тезе синтетисане су три врсте енона, полазећи од ванилина, у високим приносима. Ови деривати су се показали као јако захвална једињења за синтезу и испитивање. Направљена је серија ових производа и испитан је утицај појединих група у овим молекулима на њихово биолошко понашање.^{102,103} Неки од енона (деривати дехидрозингерона) су били и јако погодни супстрати за синтезу одговарајућих *N*-ацетилпиразола¹⁰⁴ у реакцији са хидразином у сирћетној киселини.

Урађена је и синтеза различитих деривата дихидропиримидинона и разрађена је ефикасна синтетичка методологија за ову реакцију кондензације *O*-алкилованих ванилина са β -кето-естрима и уреом.¹⁰⁵ Ова трокомпонентна реакција позната је још и под називом Biginelli-јева реакција.

Све претходно поменуте синтезе се заснивају на употреби ванилина као главног супстрата, па се синтетички путеви његове трансформације могу приказати и следећом Схемом 34.

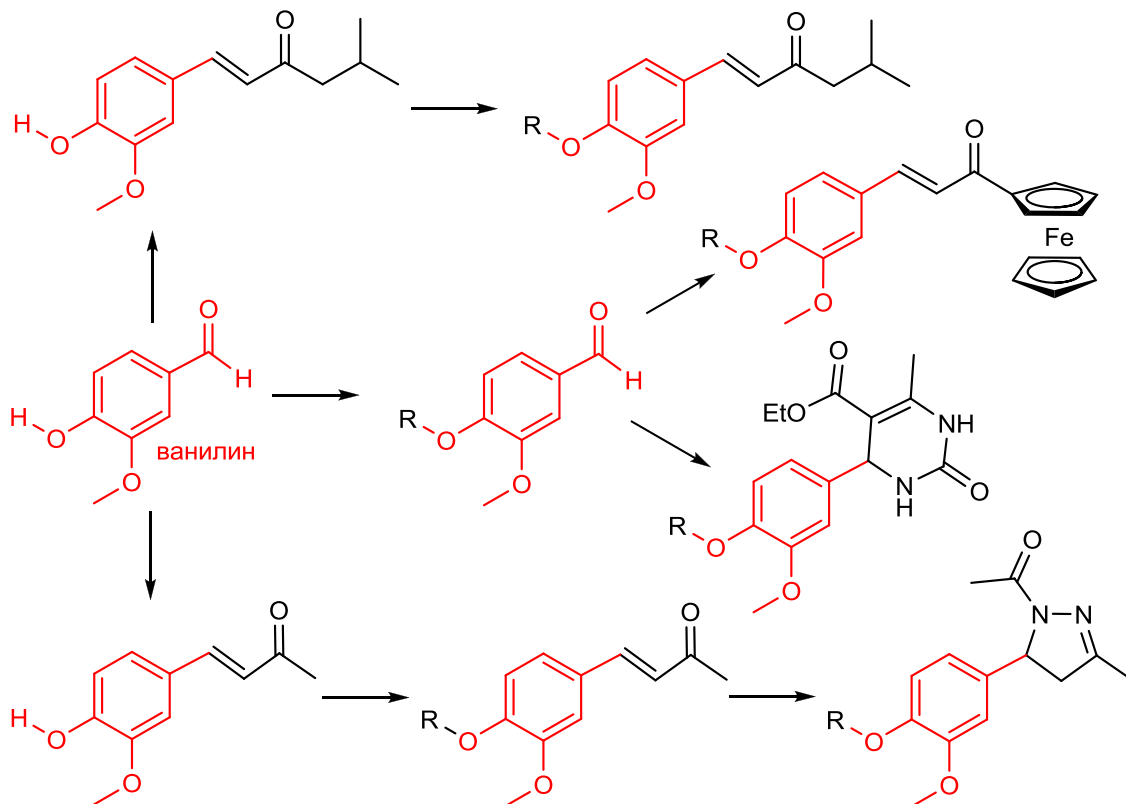


Схема 34. Трансформације ванилина

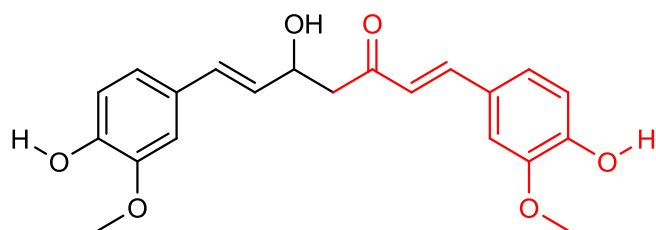
Ради потврде структура новосинтетисаних једињења урађена су спектроскопска испитивања (IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR) и детаљна тумачења добијених података. Урађене су и масена и елементарна анализа, а у случајевима где је то било могуће извршена је и рендгенска структурна анализа.

Будући да деривати који садрже ванилински фрагмент поседују огроман биолошки потенцијал, један од задатака је био и да се испита биолошка активност новосинтетисаних производа. Том приликом испитана је антимикуробна активност свих нових једињења, као и цитотоксичност пиразолских деривата.

2.2 4-(4-АЛКОКСИ-3-МЕТОКСИФЕНИЛ)БУТ-3-ЕН-2-ОНИ

Кондензацијом ванилина са ацетоном добија се 4-(4-хидрокси-3-метоксифенил)-3-бутен-2-он (**1a**), једињење које је познатије под тривијалним називом **дехидрозингерон (DHZ)**. Он се заједно са својим редукованим производом (4-(4-хидрокси-3-метоксифенил)-2-бутаноном), тзв. **зингероном** може наћи у ризому биљке **ђумбир**. Познато је да се ова биљка користи као зачин и веома је важна у медицини. Она се употребљава као антисептичко средство и смирује кашаљ због чега се користи и као додатак топлим напицима током зиме. Стимулише функцију јетре и делује као јак антиоксидант. Са друге стране, доказано је да DHZ поседује антиинфламаторне, антиоксидативне и антиканцерогене особине,^{106,107} па се сходно томе може претпоставити да ово једињење значајно доприноси карактеристикама ове биљке.

Многи природни производи који садрже фрагмент DHZ-а показују различите биолошке активности. Једно од њих је и куркумин (Слика 14). Он се налази у биљци куркуми која је као и ђумбир врло познат зачин.¹⁰⁸⁻¹¹⁰ Поред тога саставни део зачина кари је такође куркумин од кога потиче карактеристична жута боја. У Индији га чак зову „свети прах“, јер делује на читав организам и користи се у лечењу и превенцији многих болести као што су: малигне болести, алергија, артритис и дијабетес.



Слика 14. Структура куркумина

Захваљујући огромном значају и активности коју поседује DHZ, управо ова описана метода Claisen-Schmidt-ове кондензације са ацетоном искоришћена је и у овом раду. Иако је синтеза много раније објављена,¹¹¹ овде је DHZ добијен у вишем приносу (90%) и пронађен је најједноставнији начин за његову кристализацију. По овом поступку, сирови дехидрозингерон (**1a**), који је зелене боје, раствори се у врућој води и прокува неко време. Док је још врућ раствор, процеди се преко вате (да се отклоне нечистоће) у одговарајућу чашу. Хлађењем

до собне температуре јављају се лепо игличасти лимун жути кристали, који се процеде преко Бихнеровог левка и осуше на ваздуху. Овакав поступак је уједно и економичнији, јер је у раније објављеним радовима о DHZ-у кристализација углавном вршена из етанола или смеше етанола и воде.

Синтетисани производ **1a** је даље подвргнут алкиловању фенолне групе помоћу различитих алкил-халогенида у присуству K_2CO_3 као базе, у ацетону. На овај начин је добијена серија (4-алкокси-3-метоксифенил)-3-бутен-2-она, **1(b-e)** (Схема 35).

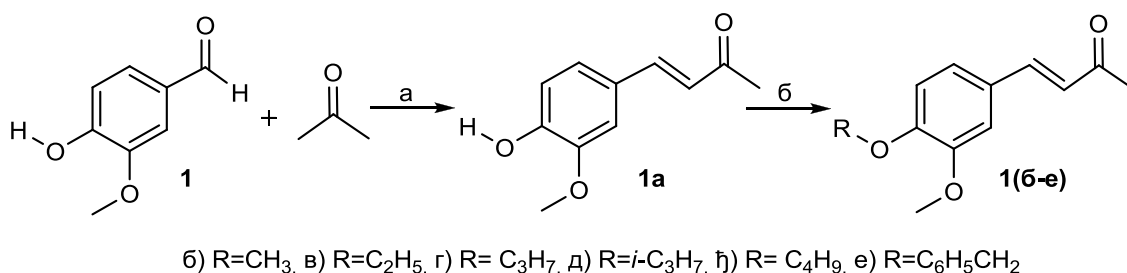


Схема 35. Синтеза једињења **1(a-e)**. Реагенси и реакциони услови: а) NaOH; б. RX, K_2CO_3 , ацетон, рефлукс преко ноћи

Алкиловани деривати дехидрозингерона су такође добијени у високом приносу (81-97%), али само је бутил- дериват ново једињење. Остали производи су синтетисани раније овом или неком другом описаном методом.¹¹²⁻¹¹⁴ Познате су и микробиолошке особине DHZ-а и неких његових алкилованих деривата¹¹⁵ и показано је да су они нарочито активни према бактеријама из реда *Bacillus*. Ова активност је посебно изражена код самог DHZ-а, па се сматра да је хидроксилна група та која је у овом случају одговорна за активност. Пошто DHZ показује и добру антиканцерогену активност, ове особине су послужиле као подстицај за даљу синтезу нових потенцијално биолошки активних једињења.

Јако занимљива за синтезу јесу и пиразолска једињења која показују широк спектар биолошких активности као што су антиинфламаторна, антидепресивна, антибактеријска, антивирусна, антиканцерогена и антидијабетска.¹¹⁶⁻¹¹⁹ Најчешће коришћена метода за добијање пиразола је реакција циклокондензације хидразина са енонима као електрофилима. Прву синтезу пиразола на овај начин објавили су Fischer и Knövenagel у XIX веку у реакцији акролеина са фенил-хидразином.¹²⁰ После ове синтезе реакције α,β -незасићених алдехида и кетона са хидразинима постале су најзначајније методе за синтезу различитих деривата пиразола.¹²¹⁻¹³²

Пиразоли могу бити синтетисани третирањем α,β -незасићених карбонилних једињења са хидразином у базној или киселој средини.¹³³⁻¹³⁵ Познате су реакције добијања *N*-ацетил пиразола у присуству реагенса као што су сирћетна киселина или њен анхидрид.^{136,137} Механизам овакве једне реакције дат је на схеми 36.¹³⁸

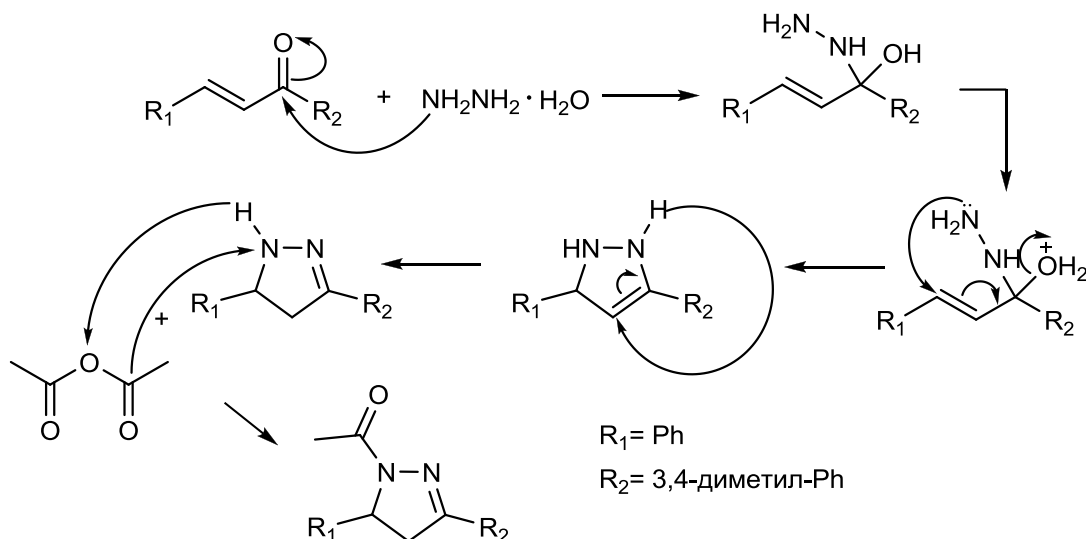
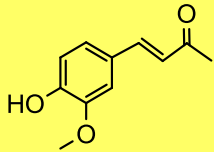
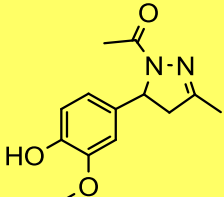
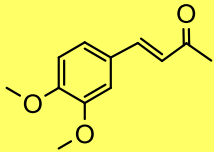
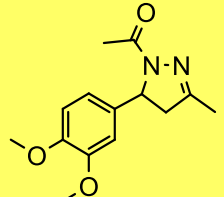
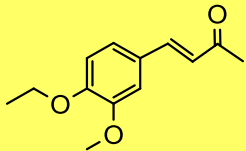
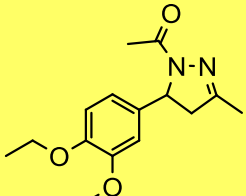
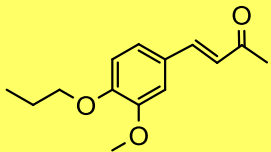
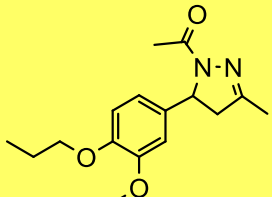
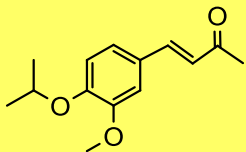
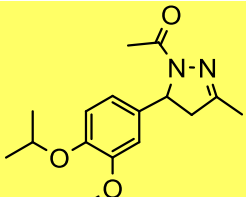
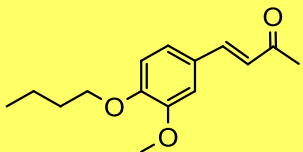
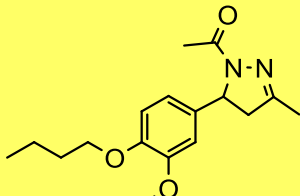
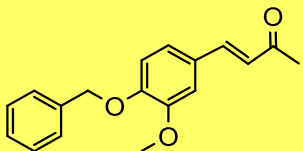
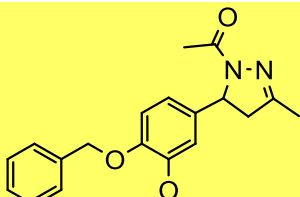
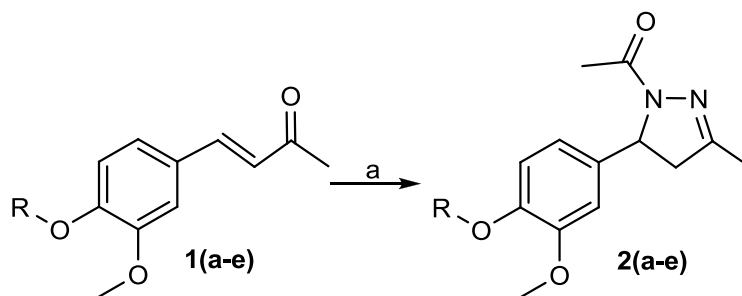


Схема 36. Механизам синтезе *N*-ацетил деривата пиразола из халкона

У последње време све се више пажње посвећује синтези пиразола који садрже различито супституисане ароматичне системе. Пошто сам DHZ и његови деривати садрже енонски систем, самим тим они представљају одличне полазне молекуле за различите трансформације. Тако су добијени деривати DHZ-а **1(б-е)** искоришћени за синтезу пиразола према претходно описаној методи. Ови производи **1(б-е)**, као и сам DHZ (**1а**), третирају се хидразином у присуству сирћетне киселине (Схема 37). Том приликом настају *N*-ацетил деривати пиразола, тј. 1-(5-(4-алкокси-3-метоксифенил)-3-метил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-ил)етанони, **2(б-е)** (Табела 3). Иако је производ **2а** синтетисан раније, позната је само његова кристална структура, док је у овој дисертацији он детаљније дефинисан.¹⁰⁴

Табела 3. 1-Ацетил-5-арил-4,5-дихидро-1H-пиразоли

Бр.	Полазно једињење	Производ	Принос
1			61%
2			75%
3			78%
4			72%
5			88%
6			81%
7			97%



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

Схема 37. Синтеза једињења **2(a-e)**. Реагенси и реакциони услови: а) NH₂NH₂·H₂O, CH₃COOH, рефлукс 5h.

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

IR спектрима потврђено је присуство валенционих вибрација ОН-групе код једињења **2a** у области око 3323 cm⁻¹ у облику широког сигнала. Валенционе вибрације карбонилне групе свих производа су мало померене ка нижим вредностима у односу на DHZ. Ове вредности се крећу од 1627-1661 cm⁻¹. Приметно је да је најмање смањење хемијског померања код бутил деривата **2ђ**, што говори о томе да са порастом липофилног карактера молекула, мањи је утицај супституента на електронску густину карбонилне групе, а тиме и на хемијско померање. У овом спектру видљиво је и постојање сигнала у области обично од 1483-1687 cm⁻¹ који потичу од C=N вибрација. Ове вибрације могу бити тешко идентификоване услед великих варијација у интензитету и блискости C=C и C=O вибрација.¹⁴⁰

У ¹H NMR спектрима запажа се изостанак два дублета у области од 6,59 и 7,46 ppm, који су потицали од протона везаних за C-атоме двоструке везе код деривата DHZ-а. Још један карактеристични сигнал налази се на 2,30 ppm и потиче од протона из метил групе (метил-кетон), који је померен ка нешто нижим вредностима у односу на тај сигнал код почетног једињења. Исто померање је примећено и код сигнала на 3,85 ppm, који потиче од протона из метокси групе везане за ароматично језгро. Сигнали који припадају протонима везаним за C-атоме пиразолског прстена јављају се у облику два дублет-дублета и једног мултиплета. На 2,68 ppm и у области од 3,26-3,42 ppm налазе се један дублет-дублета и један мултиплет који потичу од протона из метиленске групе пиразолског прстена, док се на 5,36 ppm налази други дублет-дублета који потиче

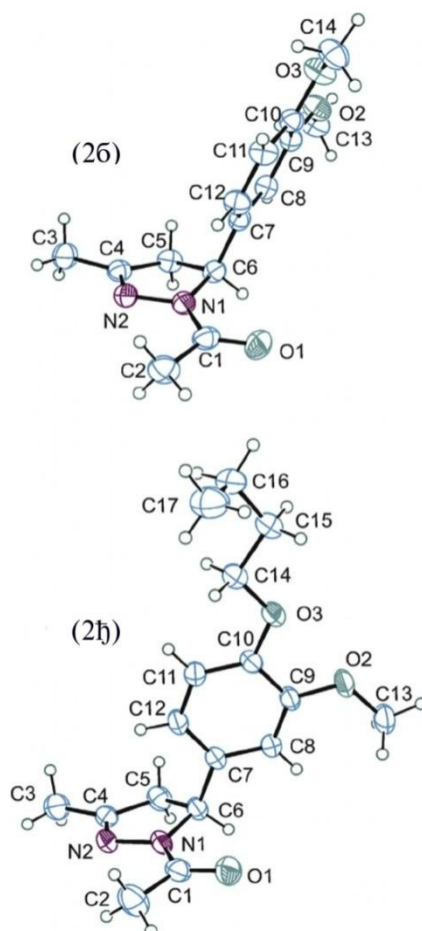
од протона везаног за угљеник суседан метиленској групи и уједно везан за ароматични систем.

У ^{13}C NMR спектру уочава се сигнал на око 168 ppm који потиче од C=O групе. Значајни су и сигнали који потичу од пиразолског прстена на 59,2, 46,3, и 155,9 ppm. Први сигнал потиче од C-атома који је везан за ароматични систем, други од метиленске групе, а трећи припада C-атому везаним двоструком везом за азот. Сигнали који потичу од бензена налазе се у области од око 109 до 150 ppm.

Елементарном анализом потврђено је да је заступљеност појединих атома у производима у процентима који се поклапају са теоријски израчунатим вредностима.

2.2.1. Кристалографска анализа

Једињења **2б**, **2г** и **2ђ** су добијена у кристалном облику, који је био погодан за рендгенску структурну анализу. На овај начин је додатно потврђена њихова структура, а самим тим и структуре осталих деривата који се од њих разликују само по одговарајућој алкил- групи. Детаљнија анализа у овом раду је извршена само за једињења **2б** и **2ђ**. Њихове структуре су приказане на слици 15.



Слика 15. Кристалне структуре једињења **2b** и **2h**

Са слике се види, да иако оба једињења имају врло сличну структуру, ипак показују неке конформационе разлике, што се уочава посматрањем међусобне оријентације два ароматична прстена. Тако је израчунато да торзиони углови $N1-C6-C7-C12$ износе $2,9 (2)^\circ$ за **2b** и $-54,9 (2)^\circ$ за **2h** једињење. Диедарски угао између два прстена је у првом случају $73,01 (5)^\circ$, а у другом $87,05 (5)^\circ$. Ове разлике се и примећују обзиром колико је бензенев прстен некако ротиран у односу на пиразол у првој структури. Претпоставља се да узрок овоме могу да буду одређене интермолекулске интеракције које се јављају у самим једињењима. Код једињења **2b** вероватно је у питању интеракција $C12-H\dots N1$, док код **2h** имамо интеракцију $C12-H\dots \pi$.

Ако посматрамо пиразолски прстен видећемо да и у једној и у другој структури он има исту конформацију коверте. Атоми пиразоловог прстена $N1$, $N2$, $C4$ и $C5$ су скоро идеално копланарни у оба молекула, само је атом $C6$ мало измештен изван равни осталог дела прстена. Разлика у померању је много већа у првом молекулу, у односу на други $0,0312 \text{ \AA}$ наспрам $0,0215 \text{ \AA}$.

Табела 4. Растојања између појединих атома (Å) у кристалним структурама **2б** и **2ђ**.

	2б	2ђ
O1–C1	1,2260(18)	1,2250(16)
O2–C9	1,3620(16)	1,3653(13)
O2–C13	1,4178(18)	1,4143(16)
O3–C10	1,3706(16)	1,3667(14)
O3–C14	1,4216(18)	1,4258(15)
N1–C1	1,3487(17)	1,3422(17)
N1–N2	1,4080(15)	1,4036(14)
N1–C6	1,4706(16)	1,4846(15)
N2–C4	1,2785(17)	1,2769(17)
C4–C5	1,4965(19)	1,4930(18)
C6–C5	1,5375(18)	1,5387(18)
C6–C7	1,5227(18)	1,5129(16)

Из табеле 4 се може видети да су дужине појединих веза у оба молекула веома сличне. Чак су и дужине двоструке везе N2–C4 приближне. Једино се доста разликују дужине C6–C7, јер је много дужа веза у другом молекулу. Може се уочити и да атом C6 гради две најдуже везе у оба молекула, C6–C5 и C6–C7.

Интересантно је и то да су у оба случаја супституенти O2–R и O3–R скоро копланарни са бензеновим прстеном, једини изузетак је C17, метил група из алкил супституента који се налази мало изван равни.

2.2.2. Биолошка активност једињења 2(а-е)

2.2.2.1. Микробиолошка активност једињења 2(а-е)

Испитана је микробиолошка активност једињења **2(а-е)**. Као тест организми коришћени су следећи сојеви бактерија: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* и гљива: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigates*, *Candida albicans*, *Penicillium purpurescens* и *Penicillium verucosum*.

Минимална инхибиторна концентрација (МИС) је одређена методом микроразређења медијума коришћењем плоча са 96 бунарчића.¹⁴¹ Полазни раствори су добијени растварањем испитиваних супстанци у 5% DMSO, одакле су

вршена двострука разблажења. Ресазурин је редокс индикатор који је коришћен за процену раста микроба. Као позитивна контрола инхибиције раста бактерија коришћен је стрептомицин, а за гљиве, кетоконазол.

Резултати су дати у табели 5.

Табела 5. Минимална инхибиторна концентрација (МИС) једињења **2(a-e)**

Микроорганизми	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Penicillium purpureescens</i>	<i>Penicillium verucosum</i>
Тестирана										
Једињења										
2a	0,625	0,039	0,078	1,25	0,625	5	2,5	2,5	10	10
2б	0,625	0,078	0,156	1,25	1,25	5	2,5	1,25	10	10
2в	1,25	0,156	0,312	2,5	1,25	10	5	2,5	10	10
2г	1,25	0,156	0,312	2,5	2,5	10	5	2,5	10	10
2д	0,312	0,039	0,078	2,5	0,625	2,5	2,5	1,25	10	10
2ђ	0,312	0,078	0,156	2,5	0,625	2,5	2,5	1,25	10	10
2е	1,25	0,156	0,625	5	2,5	10	5	2,5	10	10
антибиотици	0,031	0,016	0,016	0,062	0,062	0,078	0,078	0,039	0,156	0,156

Вредности су дате у mg/mL

Из табеле се види да сва једињења показују извесну активност и код бактерија и код гљива. Ипак, она је код гљива веома слабо изражена. МИС вредности се крећу од 0,039 до 10 mg/mL. Најосетљивије су бактерије из реда *Bacillus*, и то нарочито *Bacillus subtilis*. Најјачу активност према овим бактеријама показују једињења **2a** и **2д**, тј. хидрокси и изопропил деривати ацетилованих пиразола. Ранија истраживања су показала да су најактивнија једињења која садрже ОН групу, а да са порастом липофилног карактера групе, активност опада код халкона.¹⁴² У овом случају види се да код пиразолских деривата постоје неке мање разлике у активности једињења у поређењу са халконима из којих су добијени. Како су ОН и ОСН₃ групе електрон донорске групе, оне имају много утицаја на активност једињења. Са порастом алкил остатка повећава се липофилност молекула и активност опада, што се и уочава код једињења **2в** и **2г**. Међутим, видљив је мањи пораст активности код једињења **2д** и **2ђ**, који садрже изопропил и бутил групу. Овде вероватно преовлађује и неки други утицај, а не

само липофилност групе. Како је једињење **2h** и кристално, посматрајући његову структуру на слици 16, можемо закључити да просторни распоред група има утицаја на активност, а вероватно у овом случају и копланарност молекула, која је овде јако изражена. Бензилни дериват показује најслабију активност према свим микроорганизмима, на шта вероватно утиче и волуминозност прстена.

Најрезистентнија бактерија према овим производима **2(a-e)** јесте *Escherichia coli*, као и код одговарајућих антибиотика, док је најосетљивија гљива *Candida albicans*.

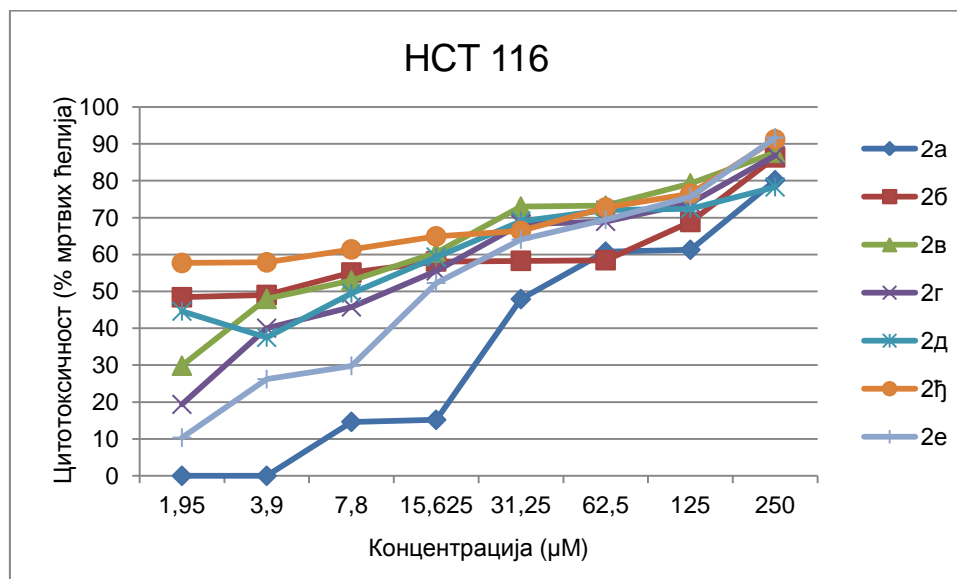
2.2.2.2. Антитуморска активност једињења **2(a-e)**

Испитана је и цитотоксичност једињења **2(a-e)** према ћелијским линијама хуманог карцинома дојке (MDA-MB), хуманог карцинома плућа (A549) и хуманог карцинома дебелог црева (HCT-116). MSCs ћелије су коришћене као контролне (нормална некарциногена ћелијска линија). Ова испитивања су вршена у циљу одређивања ефекта новосинтетисаних једињења на виталност поменутих ћелијских линија.¹⁴³⁻¹⁴⁵

Ефекти ових једињења на развој поменутих ћелијских линија су одређени коришћењем МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолијум бромид) теста. Добијени резултати приказани су на сликама 16, 17, 18 и 19. На њима је помоћу различитих крива представљена зависност процената цитотоксичности одговарајућих једињења од њихове концентрације. Ове криве показују у ком се проценту инхибира раст одговарајућих ћелија током периода од 72h, коришћењем различитих концентрација раствора испитиваних једињења.

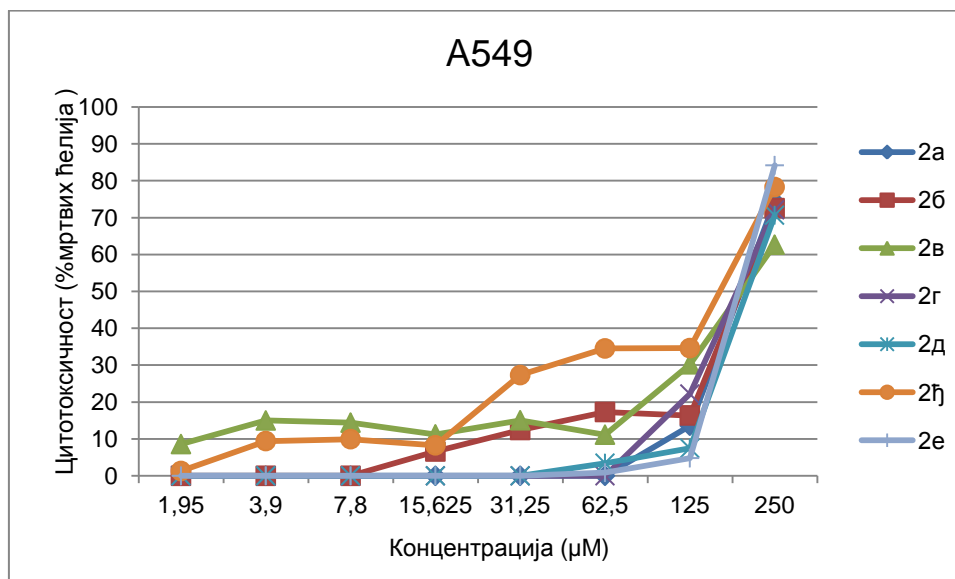
Са слика се може уочити и вредност IC_{50} , која се дефинише као концентрација испитиваног агенса која доводи до 50% инхибиције преживљавања ћелије у односу на контролу.

Анализа је показала да сва тестирана једињења показују умерену активност према MDA-MB, A549 ћелијским линијама, јаку активност према HCT-116 ћелијској линији и нецитотоксичност према MSCs ћелији, што је јако добар резултат.



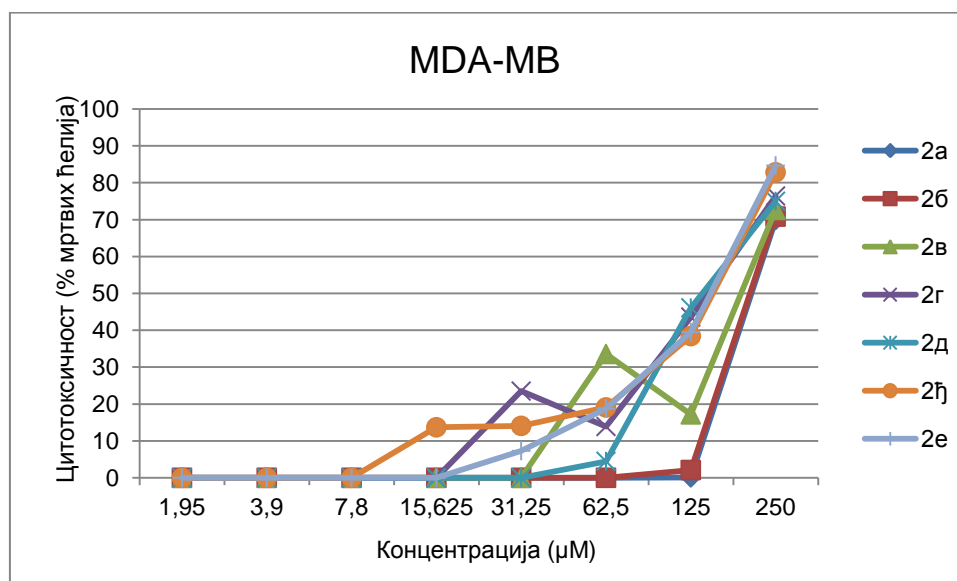
Слика 16. Криве зависности цитотоксичности једињења **2(a-e)** од њихове концентрације према HCT-116 ћелији

Најјачи ефекат на HCT-116 ћелијској линији је показало једињење **2h** (Слика 16). Оно показује чак 90% инхибиције раста код ове ћелијске линије, при концентрацији од 250 µM, а при јако ниским концентрацијама од 1,95 µM има чак преко 50% инхибиције. То значи да је IC₅₀ вредност много испод ове концентрације. Остала једињења показују доста високу цитотоксичност према овој ћелији при јако ниским концентрацијама. Једињење **2b** има IC₅₀ вредност при концентрацији од око 3,9 µM. Сва једињења која показују цитотоксичност код којих је IC₅₀ вредност мања од 10 µM, сматрају се изузетно активним једињењима. У овој серији, једино једињења **2a**, **2g** и **2e** немају изражену активност, јер инхибирају раст ћелије тек при нешто већим концентрацијама у поређењу са осталим производима.



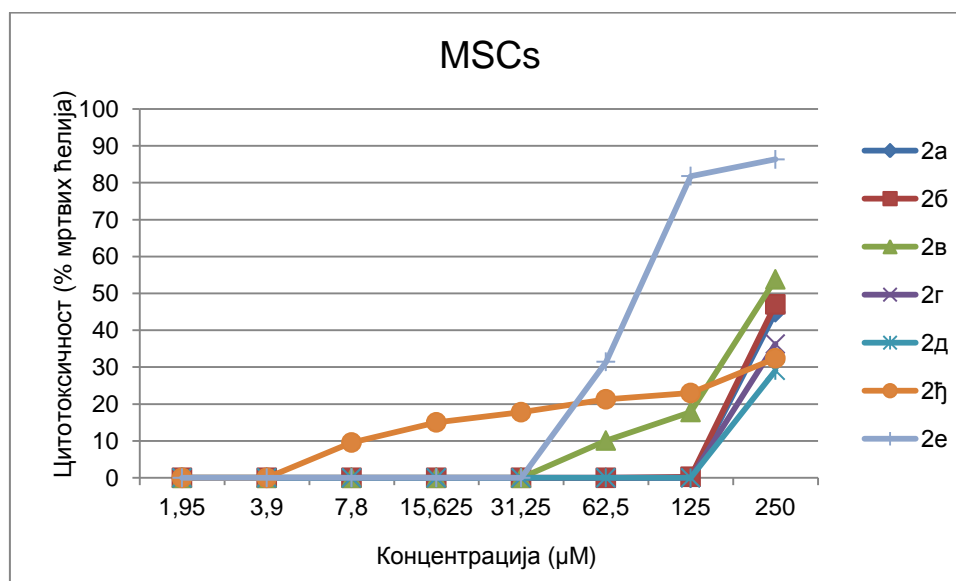
Слика 17. Криве зависности цитотоксичности једињења 2(a-e) од њихове концентрације према A549 ћелији

Испитивана једињења **2(a-e)** показују значајно слабију цитотоксичну активност према A549 ћелијама, у поређењу са НСТ-116 ћелијама. Најјачу активност овде показује једињење **2в** при ниским концентрацијама, али је тада проценат инхибиције врло мали и износи око 10%. При већим концентрацијама најбоље су се показала једињења **2ђ** и **2е**, али се овде ради о концентрацији од 250 μM . IC_{50} вредности за сва једињења се крећу у областима преко 100 μM , што доводи до закључка да је њихова активност према овој ћелији јако мала.



Слика 18. Криве зависности цитотоксичности једињења 2(a-e) од њихове концентрације према MDA-MB ћелији

У поређењу са осталим ћелијама, MDA-MB ћелија је најрезистентнија. Проенти инхибиције су јако ниски при нижим концентрацијама и износе око 10% при најмањој концентрацији од приближно 15 μM , док се IC_{50} вредности налазе у области око 125 μM за испитивана једињења. Ово говори о веома слабој активности испитиваних производа према овој ћелији.



Слика 19. Криве зависности цитотоксичности једињења 2(a-e) од њихове концентрације према MSCs

На не-малигним хуманим ћелијама MSCs, степен активности испитиваних једињења је доста слабији него на малигним ћелијама. IC_{50} вредности износе отприлике преко 200 μM . Ово указује на то да ове супстанце *in vivo* могу бити мање токсичне за нормална ткива, него за малигно промењена ткива, тј. представљају јако добре супstrate за антитуморска испитивања, јер немају штетни утицај на нормалну ћелију.

За разлику од микробиолошког испитивања, код кога најбољу активност показује ОН-дериват (**2а**), овде је то једињење најмање активно. Ранија антитуморска испитивања која су рађена на неким пиразолским дериватима,¹⁴⁶ показала су да ОН-група која се налази у положају 4 везана за ароматични систем има минималну или никакву улогу у активности, што се и овде показало као тачно. Супституција ОН-групе повећава активност производа, што је и овде потврђено, јер најбољу активност показује једињење **2ђ**, које садржи бутил групу везану за ароматично језгро уместо ОН-групе. Јако слабу активност показује и једињење **2е** према свим хелијским линијама, па вероватно волуминозност прстена утиче на активност. Оно што се примећује код овог једињења јесте да показује и извесну токсичност према MSCs хелији при концентрацијама око 70 μM , па није најбоље једињење за даља испитивања, у поређењу са осталим производима.

Узимајући све резултате у обзир, може се претоставити да на активност једињења утичу положај и величина супституената везаних за ароматични систем, крутост система, растворљивост једињења, као и конформација ароматичног прстена у одговарајућим производима.

2.3 (E)-1-(4-АЛКОКСИ-3-МЕТОКСИФЕНИЛ)-5-МЕТИЛ-ХЕКС-1-ЕН-3-ОНИ

Халкони, односно 1,3-диарил-2-пропен-1-они, су важна класа органских једињења, која углавном представљају структурне целине многих природних производа и лекова.

Ова група једињења често показује различите биолошке активности као што су антиинфламаторна, антимикробна, антифунгална, антиоксидативна, цитотоксична, антитуморска и антиканцерогена.¹⁴⁷⁻¹⁴⁸

Tsukiyama је изучавао потенцијалну антибактеријску активност ликохалкона А и ликохалкона В.¹⁴⁹ Он је испитивао утицај појединих супституената у ароматичном прстену на активност одговарајућих аналога ова два халкона. Дошао је до закључка да слободна фенолна група у положају 4, представља кључни фактор за антибактеријску активност.

Имајући у виду све добре особине халкона, направљена је серија (E)-1-(4-алкокси-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-она, као аналога халкона. Идеја је била да се испита како алкиловање фенолне групе утиче на активност одговарајућег аналога халкона и има ли утицаја промена групе (различите од ароматичне) везане за карбонилну групу на активност.

Прва фаза синтезе обухвата Claisen-Schmidt-ову реакцију ванилина са метил-изобутил кетоном (МИБК), при чему се добија одговарајући аналог халкона (E)-1-(4-хидрокси-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-он, **3a** (Схема 38).

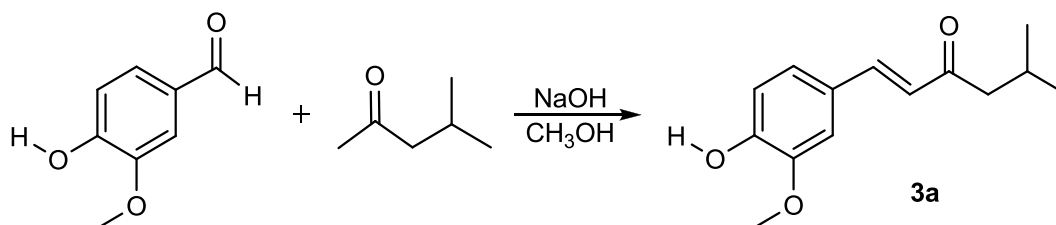
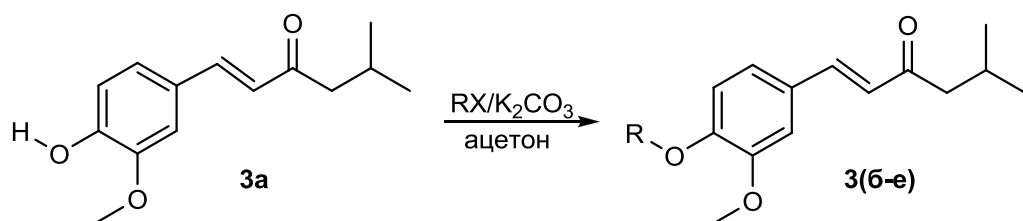


Схема 38. Синтеза (E)-1-(4-хидрокси-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-она

Покушали смо да нађемо најповољније услове за синтезу овог производа, у коме неће бити вишка неизреагованог ванилина, због његовог тешког уклањања из сирове смеше. Када смо изводили реакцију у којој реагују еквивалентне

количине оба супстрата, онда производ практично нисмо успели да добијемо, јер реакција није била могућа. Са малим вишком МВК-а, формира се очекивани производ, али само око 20%, док остали део чини неизреаговани ванилин. Ако се узме 10 пута већа количина, повећава се принос производа, али он и даље није чист. Једино решење је било искористити кетон у веома великом вишку, где ће он да се понаша и као супстрат и као растварач. На овај начин је добијен производ **3a**, без трагова ванилина, али са вишком кетона. Због вишка кетона, онемогућена је кристализација производа, а и непријатан мирис кетона је остао у производу. Вишак кетона је уклоњен дестилацијом воденом паром. На овај начин добијен је јако чист производ који кристалише у виду беличастих кристала у приносу од чак 90%.

Овако добијени производ је даље подвргнут алкиловању фенолне групе помоћу различитих алкил-халогенида у присуству K_2CO_3 као базе, у ацетону, као у претходној синтези деривата DHZ-а. Добијена је серија (*E*)-1-(4-алкокси-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-она, **3(б-е)**, Схема 39.

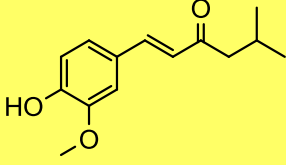
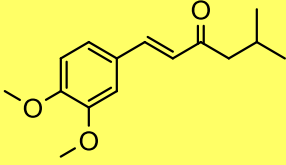
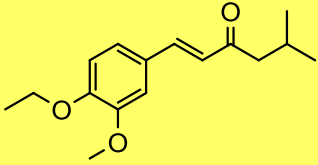
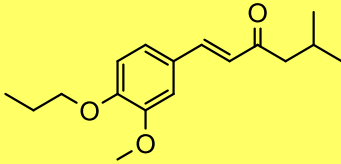
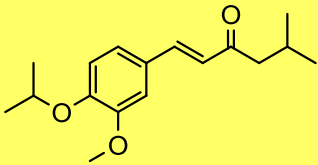
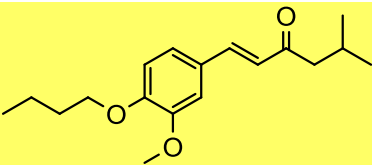
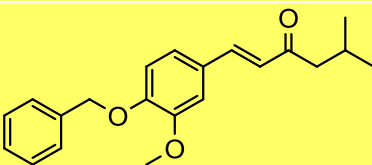


а) R=H, б) R=CH₃, в) R=C₂H₅, г) R= C₃H₇, д) R=*i*-C₃H₇, њ) R= C₄H₉, е) R=C₆H₅CH₂

Схема 39. Синтеза (*E*)-1-(4-алкокси-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-она

У следећој табели су приказане структуре и приноси добијених производа.

Табела 6. (E)-1-(4-алкокси-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-они, 3(а-е)

Бр.	Производ	Принос
1	 3а	90%
2	 3б	99%
3	 3в	81%
4	 3г	92%
5	 3д	78%
6	 3ђ	96%
7	 3е	81%

Сва једињења су окарактерисана одговарајућим спектралним подацима (IR, ^1H NMR и ^{13}C NMR), чиме је потврђена њихова структура.

IR спектрима показано је присуство ОН-групе код једињења 3а, у виду широког сигнала у области око 3344 cm^{-1} који потиче од валенционих вибрација ОН групе. Код осталих производа уочава се изостанак широког сигнала од ОН

групе, што говори да је дошло до реакције на том месту. Уочљиви су и сигнали за карбонилну групу на вредностима око 1680 cm^{-1} , једино се код бутил- деривата овај сигнал налази на нешто нижим вредностима (1651 cm^{-1}). Сигнали који потичу од $C_{\alpha}=C_{\beta}$ налазе се у области око 1595 cm^{-1} , а сигнали на око 1466 cm^{-1} , говоре о присутној $C=C$ вези у ароматичном систему.

У ^1H NMR спектрима присутни су сигнали који потичу од протона везаних за угљеникове атоме двоструке везе код α,β -незасићених карбонилних система, као два дублета у областима око 6,61 и 7,49 ppm. На најнижим вредностима налазе се и сигнали који потичу од уведеног МВК-а, који такође потврђују да је настало очекивано једињење. Они се налазе у облику дублета на 0,98 ppm који потиче од две метил групе присутне у молекулу. Ту је и мултиплет у области од 2,16-2,31 ppm који потиче од СН-групе за коју су везане две претходно поменуте метил групе и још један дублет од метиленске групе везане за карбонил на 2,53 ppm. Код једињења **2a** присутан је и синглет од ОН-групе на 6,25 ppm. Код алкилованих деривата, поред ових поменутих сигнала постоје и сигнали који потичу од протона везаних за угљеникове атоме одговарајућих алкил група, који су и дати у експерименталном делу овог рада, чиме је доказана њихова структура.

У ^{13}C NMR спектру сигнали на 200, 142 и 124 ppm потврђују присуство α,β -незасићених карбонилних система. Код једињења **2a** на 146 и 148 ppm се налазе сигнали угљеникових атома за које су везане ОН и OCH_3 групе, док су код алкилованих деривата ови сигнали мало померени, на 149 и 150 ppm. Остали сигнали потичу од ароматичног система (109, 111 (или 112, или 114), 122, 127 ppm). Сигнали од одговарајућих алкил група се налазе на јако ниским вредностима хемијских померања и приказани су детаљније у експерименталном делу.

2.3.1. Биолошка активност једињења **3(a-e)**

Испитана је микробиолошка активност једињења **3(a-e)**. Као тест организми коришћени су следећи сојеви бактерија: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и гљива: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigates*, *Candida albicans*, *Penicillium purpurescens* и *Penicillium verucosum*.

Минимална инхибиторна концентрација (МИС) је одређена методом микроразређења медијума коришћењем плоча са 96 бунарчића. Полазни раствори

су добијени растварањем испитиваних супстанци у 5% DMSO, одакле су затим вршена двострука разблажења. Ресазурин је редокс индикатор који је коришћен за процену раста микроба, а као позитивна контрола инхибиције раста коришћени су стрептомицин, за бактерије и кетоконазол за гљиве.

Резултати су дати у табели 7.

Табела 7. Минимална инхибиторна концентрација (МИС) једињења, **3(a-e)**

Микроорганизми										
Тестирана једињења	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Penicillium purpurescens</i>	<i>Penicillium verucosum</i>
3a	0,156	0,009	0,019	0,312	0,156	0,625	0,312	0,312	0,312	0,625
3б	0,625	0,078	0,156	2,5	1,25	5	2,5	1,25	5	5
3в	1,25	0,156	0,312	2,5	1,25	5	5	1,25	5	5
3г	-	0,625	1,25	-	-	-	-	-	-	-
3д	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3ђ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3е	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
антибиотици	0,031	0,016	0,016	0,062	0,062	0,078	0,078	0,039	0,156	0,156

Вредности су дате у mg/mL

Једињења **3(a-в)** показују релативно јаку антимикуробну активност према свим тестираним микроорганизмима (МИС вредности ових једињења у односу на тестиране микроорганизме крећу се од 0,009 до 5 mg/mL), док једињења **3(д-е)** не показују никакву активност. Најјача активност запажена је код једињења **3a**, тј. хидроксилног деривата, који инхибира раст свих микроорганизама, а нарочито бактерија. Код њега је уочена јако ниска МИС вредност за бактерију *Bacillus subtilis* и она износи 0,009 mg/mL, мања и од вредности одговарајућег антибиотика стрептомицина, што говори о веома јакој активности према овој бактерији. Код гљива, вредност је нешто већа, али и даље задовољавајућа. Пропил дериват, **3г** показује активност само према двама врстама бактерија из реда *Bacillus* и концентрације су нешто веће у поређењу са концентрацијама осталих једињења за исте бактерије. Највећу активност једињења **3(a-г)** показују према

бактерији *Bacillus subtilis*, а најмању према *Escherichia coli*, док је код гљива активност свих производа слабо изражена.

Из ових резултата се види да су бактерије знатно осетљивије од гљива према одговарајућим антибиотицима,¹⁵⁰ али и према тестираним једињењима.

Резултати испитивања антимицробне активности показују да је најактивније једињење које садржи поларну ОН-групу везану за бензенов прстен. Са повећањем низа код алкил групе, активност се све више смањује, док потпуно не изостане, као што је случај са једињењем **3ђ**. Показано је и да код исте алкил групе у молекулу, рачвање утиче на смањење активности (једињење **3д**). Бензил дериват **3е** не показује никакву активност, што је у овом случају вероватно резултат волуминозности и конформације коју заузима.

Одавде се види и потврда ранијих испитивања која је вршио Tsukiyama на неким аналозима халкона, којима је показао да је присуство слободне ОН групе у *p*-положају код бензеновог прстена одговорно за антибактеријску активност, као и да са порастом липофилног карактера опада активност.

2.4 1-ФЕРОЦЕНИЛ-3-(4-АЛКОКСИ-3-МЕТОКСИФЕНИЛ)-2-ПРОПЕНОНИ (ФЕРОЦЕНСКИ ХАЛКОНИ)

Биоорганометална хемија је доживела процват када су почели да се синтетишу аналози одговарајућих органских молекула који садрже фeroценски фрагмент као део своје структуре. Данас је хемија фeroцена доста истражена, као и коришћење различитих фeroценских деривата у синтези бројних лекова. Јако важни су фeroценски халкони који припадају групи халкона у којој једна или обе ароматичне групе потичу од фeroценског система. Добре особине ових деривата фeroцена су одлична стабилност у воденим и аеробним срединама,¹⁵¹ лака доступност великог броја различитих деривата и карактеристична електрохемијска својства.¹⁵²

Фeroценил халконски деривати су интересантна једињења због њихове велике примене. Користе се код оптичких уређаја,¹⁵³ као редокс медијатори за ензимске сензоре,¹⁵⁴ биогорива ћелије,¹⁵⁵ за синтезу фeroценил аминокиселина¹⁵⁶ и као антитуморска средства.¹⁵⁷ Неки деривати фeroцена показују биолошку активност као ларвициди¹⁵⁸ и антибактерициди.¹⁵⁹

Различити супституенти у фeroценил халконском језгру могу да повећају потенцијалне примене и прошире синтетичку способност¹⁶⁰ ових деривата.

Синтеза фeroценил халкона може да се изведе различитим методама, али хомогена реакција у алкохолу је уобичајена реакција за њихово добијање.^{161,162} Friedel–Crafts-ово ациловање фeroцена ацетил-хлоридом у присуству $AlCl_3$ је једна од најважнијих метода за добијање ацетил-фeroцена (кетона који ће у реакцији са одговарајућим ароматичним алдехидом дати халкон). Овај кетон се врло лако синтетише, зато што је доказано да је фeroцен много реактивнији од бензена.^{163,164}

К. Schlögl¹⁶⁵ и М. Rausch¹⁶⁶ су 1957. године синтетисали први фeroценил халкон из ацетил-фeroцена и бензалдехида користећи Claisen-Schmidt-ову кондензацију, а тек 1969.¹⁶⁷ и 1980.¹⁶⁸ године је урађена и његова спектроскопска анализа, чиме је потврђена структура.

Већ годинама главни предмет истраживања многих научника који се баве синтезом халкона и њихових аналога, јесте утицај појединих група којима је супституисан ароматични систем, на активност.

Знајући да на активност халкона доста утицаја имају и особине и структура супституената везаних за ароматично језгро, припремљена је серија фероценил халкона у реакцији са различитим дериватима ванилина (Схема 40). Добијени су 1-фероценил-3-(4-алкокси-3-метоксифенил)-2-пропенони **5(a-ђ)**.

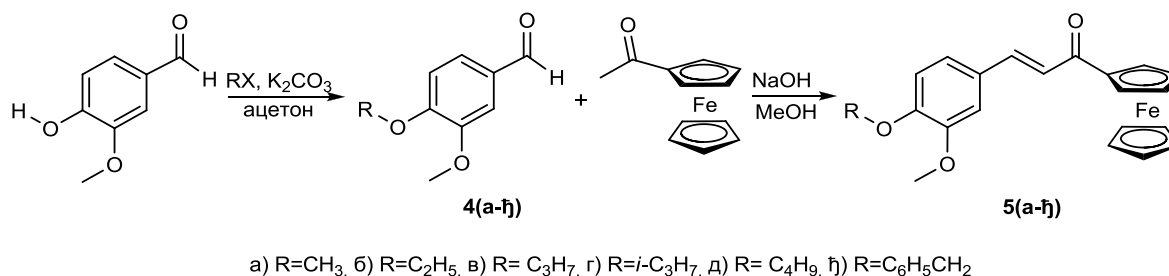
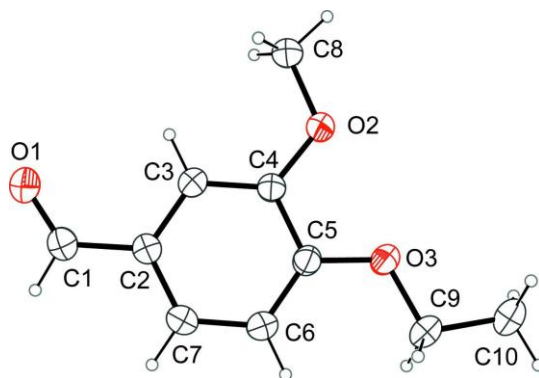


Схема 40. Синтеза 1-фероценил-3-(4-алкокси-3-метоксифенил)-2-пропенона.

У првој фази реакције извршено је алкиловање ванилина са различитим алкил-халогенидима у присуству K₂CO₃ и ацетона.¹¹²⁻¹¹⁴ Овако добијени ванилини су искоришћени као супстрати за добијање халкона. Нека од ових једињења су новосинтетисана, док су синтезе других описане много раније. Иако је етил-ванилин (**46**) познато једињење, у овом раду ми смо успели да га искристалишемо¹⁶⁹ и његова кристална структура је приказана на слици 20. Ово једињење је добијено другачијом методом, у поређењу са осталим алкилованим дериватима ванилина. Овде је алкиловање вршено помоћу диетил-сулфата ((C₂H₅)₂SO₄) у присуству NaOH у воденом раствору и производ **46** је кристалисан из вруће воде.

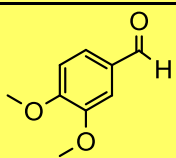
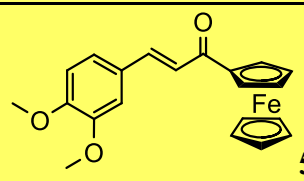
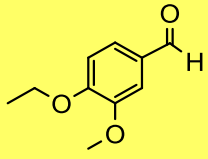
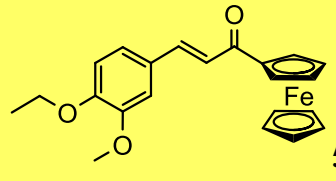
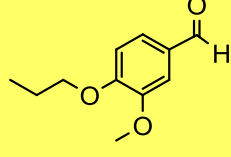
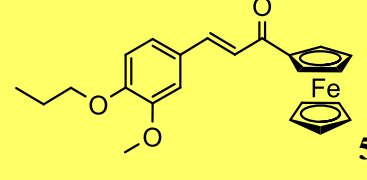
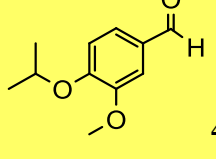
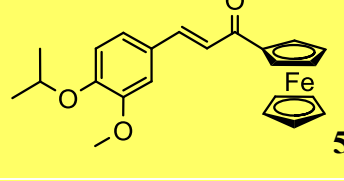
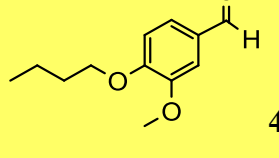
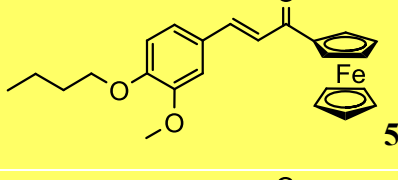
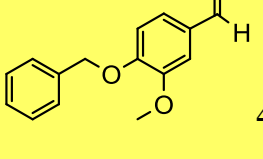
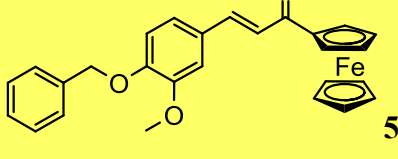


Слика 20. Кристална структура 4-етокси-3-метоксибензалдехида.

Алкиловани ванилини су третирани са моноацетил-фероценом у Claisen–Schmidt-овој реакцији дајући 1-фероценил-3-(4-алкокси-3-метоксифенил)-2-пропеноне, **5(a-h)**.

Нови производи настали у овој реакцији приказани су у следећој табели:

Табела 8. 1-фероценил-3-(4-алкокси-3-метоксифенил)-2-пропенони, **5(a-h)**

Бр.	Полазно једињење	Производ	Принос
1	 4a	 5a	78%
2	 4б	 5б	85%
3	 4в	 5в	79%
4	 4г	 5г	59%
5	 4д	 5д	68%
6	 4ђ	 5ђ	67%

Сва синтетисана једињења из ове серије су окарактерисана спектралним подацима (IR, ^1H и ^{13}C NMR), чиме је потврђена њихова структура.

У IR спектрима валенционе вибрације C=O групе налазе се у областима од око $1647\text{-}1653\text{ cm}^{-1}$. Карактеристични сигнали за $\text{C}_\alpha=\text{C}_\beta$ су у области око 1586 до

1592 cm^{-1} . Примећено је да изопропил дериват карактерише највећа вредност фреквенције за карбонилну групу, па може да се претпостави да већи утицај на ово померање има рачвање супституената везаних за ароматични систем, а не електронски или резонанциони ефекти.

У ^1H NMR спектрима присутни су сигнали који потичу од протона везаних за угљеникове атоме двоструке везе код α,β -незасићених карбонилних система као два дублета у областима око 6,99 и 7,75 ppm, са константама купловања $J = 15,6\text{ Hz}$, што указује на *trans* конформацију двоструке везе.¹⁷⁰ Значајни су сигнали који су карактеристични за моносупституисани фeroцен и то интензиван, оштар синглет на 4,21 ppm, који садржи 5H и потиче од несупституисаног циклопентадиенског прстена код молекула фeroцена; два псеудо триплета на око 4,58 и 4,92 ppm, по 2H, који потичу од остала четири протона супституисаног прстена код фeroцена. Присутан је и сигнал на 3,94-3,98 ppm који припада протонима из метокси групе ванилинског прстена. Остали сигнали се односе на протоне одговарајућих алкил група, који су дати детаљније у експерименталном делу.

Сигнали који одговарају протонима везаним за C-атоме двоструке везе, налазе се на знатно вишем померању него код једињења из претходне серије **3(a-e)**, што значи да увођење фeroцена има доста утицаја на померање електронске густине коњугованог система, а самим тим и на хемијско померање. Велики утицај имају и супституенти везани за ароматични систем. Ово потврђује ранија испитивања која су вршена 1980. године¹⁶⁶ на неким фeroценским халконима, од стране Solcániová, где се наводи да код фeroценских халкона највећи утицај имају особине супституената везаних за ароматични систем.

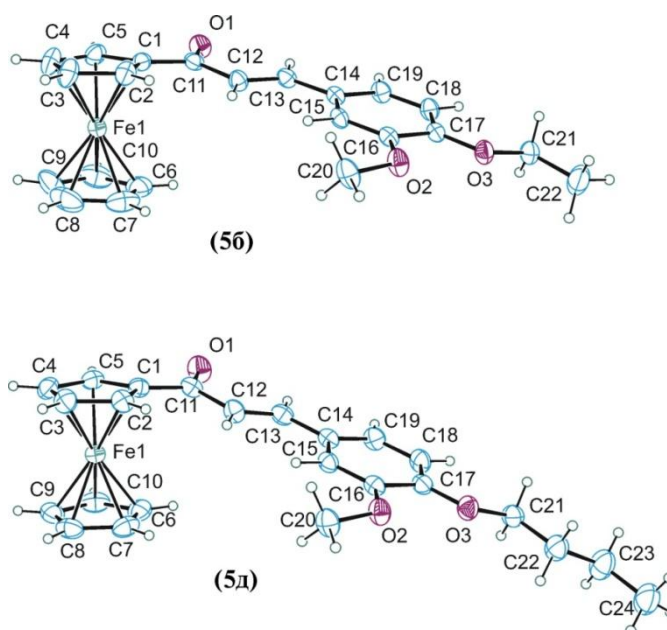
У ^{13}C NMR спектру вредности сигнала на око 193, 141 и 122 ppm потврђују присуство α,β -незасићених карбонилних система. Сигнал за карбонилну групу је мало померен у односу на исти сигнал код DHZ-а и налази се на нижој вредности хемијског померања. Разлика је око 6 ppm. На ово померање очигледно нема утицај природа супституената везана за ароматични систем (сви производи имају сличне вредности), већ услед увођења фeroцена, повећава се електронска густина карбонилне групе, што доводи до померања ка нижим вредностима. Што се тиче сигнала који се односе на протоне везане за угљеникове атоме двоструке везе, види се да је много веће померање код β -угљениковог атома него код α -угљениковог атома, јер се смањује електронска густина на β -угљениковом

атому услед резонанције са карбонилном групом.¹⁷¹ Пошто нису присутни супституенти са израженим електрон-донорским или електрон-акцепторским особинама, нема много утицаја ни на двоструку везу α,β -незасићеног карбонилног система (електрон-привлачни супституенти смањују електронску густину на бензену који ове електроне надокнађује привлачењем електрона двоструке везе. Услед такве резонанције смањује се електронска густина на α -угљениковом атому, а самим тим и способност резонанције карбонилне групе, док електрон донорски супституенти делују обрнуто), тако да нема много великих разлика у хемијском померању у односу на DHZ. Вредности за сигнале угљеникових атома за које су везане алкокси групе износе 149 и 151 ppm. Код ових деривата карактеристично је и присуство сигнала који потичу од моносупституисаног фероцена, а налазе се у областима око 69, 70, 72 и 80 ppm.

2.4.1. Кристалографска анализа

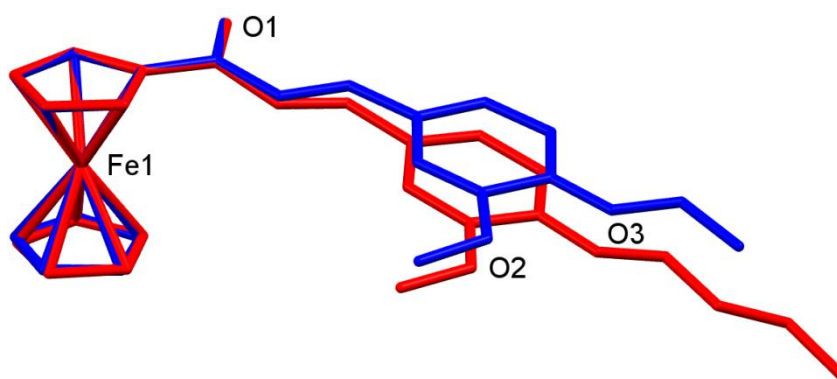
За једињења **5б** и **5д** урађена је кристалографска анализа и њихове структуре су дате на слици 21.

Рендгенска структурна анализа показује да ове две кристалне структуре имају врло сличне геометрије молекула. Циклопентадиенски прстенови молекула фероцена имају скоро идеалну еклипсну конформацију.



Слика 21. Кристалне структуре 1-фероценил-3-(4-етокси-3-метоксифенил)-2-пропенона, **5б** и 1-фероценил-3-(4-бутокси-3-метоксифенил)-2-пропенона, **5д**

Са слике се види да су сви атоми различити од водоника међусобно копланарни код оба молекула, али се значајно разликују диедарски углови између фенил групе и супституисаног циклопентадиенског прстена код фероцена (Cr1). Они износе $12,4(2)^\circ$ за једињење **5b** и $15,4(2)^\circ$ за **5d**. Види се и да је угљенични низ алкил групе везане за C21 знатно извијен (слике 21 и 22) у правцу несупституисаног циклопентадиенског прстена (Cr2). Оваква оријентација се добија као последица ротације око C1–C11 везе, што доводи и до тога да торзиони угао C5–C1–C11–C12 износи $-167,3(2)^\circ$ и $-162,1(2)^\circ$ за једињења **5b** и **5d**.



Слика 22. Преклапање структура молекула **5b** (платво) и **5d** (црвено) користећи Cr1 прстен као заједнички део тих структура

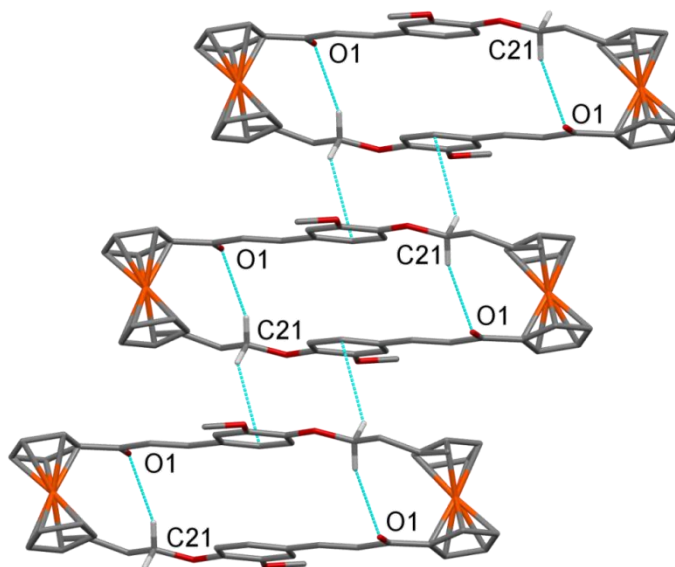
Cr1 и Cr2 прстенови показују само малу промену углова у односу на одговарајуће Cr1/Cr2 диедарске углове. Са слике се види да је код оба молекула (**5b** и **5d**) идеално поклапање Cr1 прстенова, што вероватно узрокује и јако сличне просторне оријентације C1-супституената. Једина разлика се уочава у положају бензеновог прстена, који је у структури **5d** нешто више савијен у правцу несупституисаног циклопентадиенског прстена.

Дужине свих C–H веза одговарају теоријски израчунатим вредностима и оне су фиксиране на $0,93$ за C_{sp^2} и $0,96$ и $0,97 \text{ \AA}$ за метил и метиленске групе. Обе молекулске структуре имају веома сличне вредности за дужине веза и углове веза (Табела 9). Двострука веза C12–C13 је најкраћа проста веза у оба молекула. Интересантно је видети у табели да се јако разликују углови O2–C16–C15 и O2–C16–C17, као и O3–C17–C16 и O3–C17–C18. Ово нам говори о томе да су O2 и O3 атоми јако близу један другом, тако да су и одговарајуће O-алкил групе јако приближене. Овај део молекула игра посебну улогу у стабилизацији самог молекула а самим тим и у његовој активности.

Табела 9. Растојања између појединих атома (Å) и углови веза у кристалним структурама једињења **5б** и **5д**.

Једињења	5б	5д
Дужине веза (Å)		
O1–C11	1,224(2)	1,222(2)
O2–C16	1,367(2)	1,362(2)
O2–C20	1,426(2)	1,432(2)
O3–C17	1,355(2)	1,362(2)
O3–C21	1,439(2)	1,435(2)
C1–C11	1,466(3)	1,467(3)
C11–C12	1,472(3)	1,474(3)
C12–C13	1,320(3)	1,324(3)
C13–C14	1,451(3)	1,459(3)
Углови веза (°)		
C2–C1–C11	128,01(19)	127,51(19)
C5–C1–C11	124,8(2)	125,10(19)
O2–C16–C15	125,40(17)	125,51(17)
O2–C16–C17	114,46(18)	114,99(18)
O3–C17–C18	125,58(18)	125,60(18)
O3–C17–C16	115,78(17)	115,24(18)
Торзиони углови (°)		
C20–O2–C16–C17	–174,48(19)	–170,25(18)
C21–O3–C17–C16	174,15(18)	169,16(17)

Код оба једињења приметно је постојање интермолекуларних водоничних веза C21–Н...O1 и C21–Н...π (Слика 23). Занимљиво је напоменути да у обе међумолекулске интеракције, које се јављају, метиленска група C21 игра важну улогу Н-донора.



Слика 23. Кристално паковање молекула 5b приказано као једнодимензионално удруживање молекула путем интермолекулских интеракција између C1 супституената

2.4.2. Биолошка активност једињења 5(a-ћ).

Раније испитиване активности DHZ-a и његових деривата указују на то да карбонил радикал игра главну улогу у антимикумној активности. Присуство поларизоване C-O везе и двоструке везе је највероватније одговорно за активност, јер утиче на формирање ковалентне везе са ДНК микроорганизама и омета њихов метаболизам.¹⁷² Разна испитивања која су рађена на халконима довела су до закључка да групе као што су OH и OCH₃ везане за ароматични систем, утичу на биолошку активност халкона на тај начин што је знатно увећавају него кад имамо неке друге супституенте.¹⁷³ То је потврђено и приликом испитивања микробиолошке активности наших аналога халкона **3(a-e)**.

У овом раду је испитана микробиолошка активност серије 1-фероценил-3-(4-алкокси-3-метоксифенил)-2-пропена, да би се утврдило има ли утицаја присуство фероцена на раније поменути активност једињења.

Као тест организми за ова испитивања коришћени су следећи сојеви бактерија: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* и гљива: *Mucor mucedo*, *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Penicillium italicum*. Резултати су дати у табели 10.

Минимална инхибиторна концентрација (МИС) је одређена методом микроразређења медијума, где је вршено засејавање испитиваних ћелија у плоче са 96 бунарчића. За сваку испитивану супстанцу експерименти су постављани три пута. Полазни раствори су добијени растварањем испитиваних супстанци у 5% DMSO, одакле су вршена двострука разблажења. Ресазурин је редокс индикатор који је коришћен за процену раста микроба, а као позитивна контрола инхибиције раста коришћени су стрептомицин, за бактерије и кетоконазол за гљиве.

Тестирана једињења показују врло сличну антимикуробну активност. Из табеле 10 се види да они инхибирају и бактерије и гљиве, али много мање него стандардни антибиотици.

Табела 10. Минимална инхибиторна концентрација (МИС) једињења **5(a-h)**

Микроорганизми										
Тестирана једињења	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Mucor mucedo</i>	<i>Trichoderma viride</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Penicillium italicum</i>
5a	1,25	0,625	0,312	1,25	2,5	1,25	2,5	2,5	0,625	2,5
5б	0,625	0,312	0,625	1,25	1,25	5	1,25	5	0,625	2,5
5в	0,625	0,312	0,312	2,5	1,25	2,5	2,5	2,5	1,25	1,25
5г	2,5	0,625	0,312	1,25	1,25	2,5	1,25	5	0,312	1,25
5д	2,5	1,25	0,625	2,5	1,25	5	2,5	5	1,25	5
5ђ	5	1,25	1,25	5	2,5	10	5	10	2,5	5
антибиотици	0,031	0,016	0,016	0,062	0,062	0,156	0,078	0,078	0,039	0,156

Вредности су дате у mg/mL

МИС вредности за бактерије се крећу од 0,312 до 5 mg/mL, а за гљиве од 0,312 до 10 mg/mL. У поређењу са обичним халконима и DHZ-ом, њихова активност је нешто мања. У односу на претходну серију **3(a-e)**, овде нема једињења које не поседује никакву активност. Најактивније је једињење **5в** и та активност је највише изражена према бактеријама из реда *Bacillus*, што потврђује и ранија испитивања на халконским дериватима¹⁷⁴ код којих је ова ћелијска врста била најосетљивија, а *Escherichia coli* најмање осетљива. Примећена је и велика резистентност према бактерији *Staphylococcus aureus*. Ова резистентност је више

изражена код метил деривата **5a**, него код најактивнијег једињења из ове серије **5b** (пропил- деривата). Ово нам говори и о томе да код фeroценских халкона поред индуктивног и резонанционог ефекта супституената везаних за ароматични систем, на антибактеријску активност доста утицаја има и просторни распоред тих супституената. Антигљивична активност је слабо изражена, а *Aspergillus niger* је најрезистентнија гљива, што је у супротности са активношћу деривата DHZ,¹¹⁵ који су најактивнији према овој гљиви.

Резултати показују да увођење фeroцена доводи до смањења активности одговарајућих халкона и да активност умногоме зависи од конформације испитиваног једињења, тј. од положаја супституената везаних за ароматични систем у односу на сам фeroцен.

2.5. 2-ОКСО-1,2,3,4-ТЕТРАГИДРОПИРИМИДИНИ (BIGINELLI-ЈЕВИ ПРОИЗВОДИ)

У последњих неколико година 2-оксо-1,2,3,4-тетрахиdropириимидини (или 3,4-дихидропириимидин-2-(1H)-они (DHPMs) и њихови деривати привлаче велику пажњу због јако изражених терапеутских и фармаколошких особина.¹⁷⁵ Неки од њих испољавају различите биолошке активности, укључујући антивирусне, антитуморске, антибактеријске и антиинфламаторне.¹⁷⁶ Најједноставнију директну методу за синтезу дихидропириимидинона први је објавио Pietro Biginelli 1893. године.¹⁷⁷ Ова реакција је позната под називом “Biginelli-јева реакција”, “Biginelli-јева кондензација”, или као “Biginelli-јева дихидропириимидинска синтеза”. То је вишекомпонентна реакција кондензације алдехида, β -кето естра и урее под јако киселим условима. Четрдесет година касније Folkers и Johnson су објавили и први механизам за ову реакцију¹⁷⁸ (Схема 41).

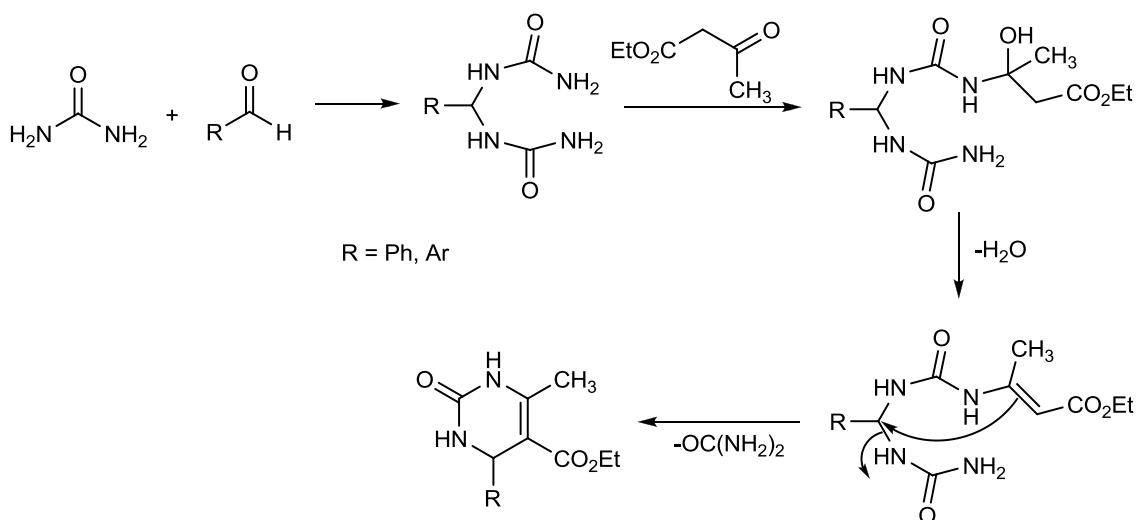


Схема 41. Механизам Biginelli-јеве реакције

Главни недостатак ове реакције су јако ниски приноси и то нарочито у случајевима супституисаних ароматичних алдехида.

Циљ модерне органске синтезе је извршити што ефикасније хемијске трансформације које укључују реакцију три или више компонената у једној фази користећи одговарајуће катализаторе уз избегавање употребе токсичних реагенаса, велике количине растварача, скувих реагенаса, дуга времена извођења реакције и компликоване технике пречишћавања. Тако у случају претходно

поменуте реакције потребно је наћи што једноставније, благе и ефикасне услове за добијање деривата дихидропиримидинона.

У последњим деценијама знатно су побољшани услови за Biginelli-јеву реакцију уз употребу различитих катализатора.^{179,180} Многе Lewis-ове киселине као што су бакарне соли показале су се као веома добри катализатори за синтезу дихидропиримидинона.

Базни бакарни катализатори као што су $\text{Cu}(\text{OTf})_2$,¹⁸¹ CMS ,¹⁸² CuCl_2 ,¹⁸³ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$,¹⁸⁴ Cu -сулфат,¹⁸⁵ $\text{Cu}(\text{NTf}_2)_2$,¹⁸⁶ $[\text{Gmim}]\text{Cl}-\text{Cu}(\text{II})$,¹⁸⁷ Cu -наночестице,¹⁸⁸ $\text{Cu}(\text{acac})_2[\text{bmim}]\text{BF}_4$,¹⁸⁹ $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$,¹⁹⁰ $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$,¹⁹¹ $\text{Cu}(\text{BF}_4)_2$,¹⁹² CuI ¹⁹³ и $\text{SiO}_2-\text{CuCl}_2$ ¹⁹⁴ недавно су искоришћени у синтези различитих дихидропиримидинона. Поред тога, неке неорганске и органске амонијумове соли, као што су амонијум-карбонат,¹⁹⁵ алкиламонијумове соли¹⁹⁶ и бензил триетиламонијум хлорид¹⁹⁷ су такође употребљене у овој реакцији. Ипак, оно што је јако неповољно у свим овим реакцијама јесте тешко изоловање производа и ниски приноси.

Имајући у виду сва ова открића као и њихове негативне стране, синтетисана је серија нових дихидропиримидинона, полазећи од ванилина и његових деривата као ароматичних алдехида. Као катализатор је искоришћена бакарна со, тетрахлоридо(*bis*)фениламо-нијум-бакар(II) $(\text{PhNH}_3)_2\text{CuCl}_4$, која је припремљена према раније описаној процедури.¹⁹⁸

У првом кораку планирана је синтеза алкилованих деривата ванилина, који су главни супстрати у овој реакцији. Они су синтетисани према раније описаној методи¹¹²⁻¹¹⁴ код добијања 1-фероценил-3-(4-алкокси-3-метоксифенил)-2-пропенона.

Било је неопходно синтетисати халогениде који нису били комерцијално доступни. Они су коришћени за алкиловање фенолне групе ванилина и добијена је серија (4-алкокси-3-метоксифенил)-бензалдехида, **6**. Ови алдехиди су послужили као јако добри супстрати за Biginelli-јеву реакцију.

Прво је извршена оптимизација услова за ову реакцију. У почетку су употребљени растварачи различите поларности у присуству 1 mol% раније поменутог катализатора. Реакције су извођене на собној температури у периоду од 24h. Као растварачи употребљени су: метилен-хлорид (CH_2Cl_2), метанол MeOH , етанол (EtOH), тетрахидрофуран (THF) и ацетонитрил (MeCN). EtOH се

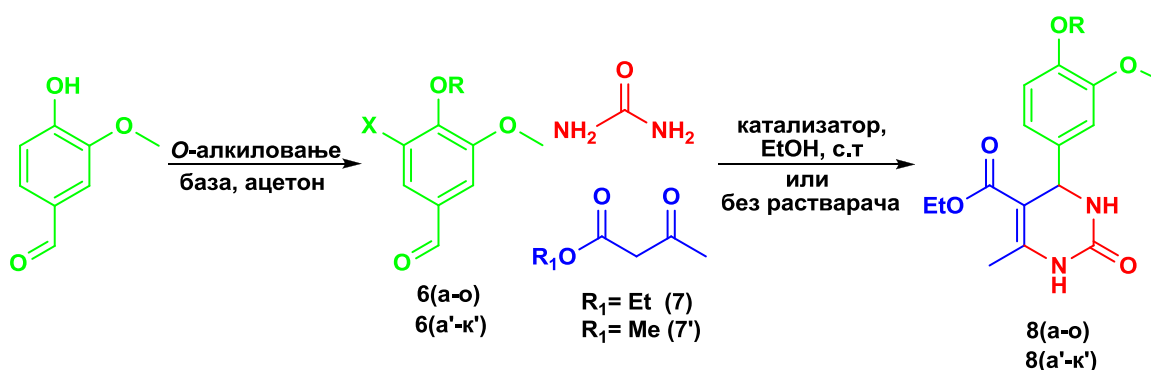
показао као најбољи и са њим су приноси били највиши. Следеће што је требало урадити, јесте наћи најповољнији однос у коме ће реаговати деривати ванилина, одговарајући β -кето-естар и уреа. Праћени су приноси једињења **8a** уз коришћење различитих односа реактаната. Односи су варирани на следећи начин: (1:1:1,5, 1:1,1:1,5, и 1:1,2:1,5) током 24h. Највиши принос је био када је узет следећи однос 1:1,2:1,5. На крају је било потребно наћи и оптималну количину катализатора за ову реакцију, при различитим временима одигравања реакције (Табела 11). Урађено је 8 проба користећи 5 и 10 mol% катализатора. Употребљено је исто једињење за испитивања, **8a**.

Табела 11. Оптимизација количине катализатора $(\text{PhNH}_3)_2\text{CuCl}_4$

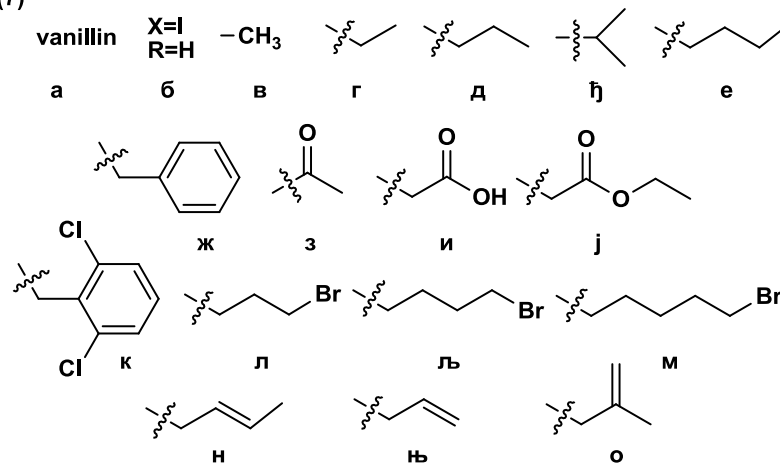
Број	Време (h)	Количина катализатора (mol%)	Принос једињења 8a (%)
1	2	5	трагови
2	5	5	15
3	10	5	34
4	15	5	50
5	20	5	56
6	20	10	87
7	25	10	90
8	29	10	94

Из табеле се види да најбоље резултате показује употреба 10 mol% катализатора у периоду од 29h (принос 94%). Овај принос је много виши од раније добијених приноса истог производа, који је познат из литературе.¹⁹⁹⁻²⁰³ Он износи 94%, док је у литератури 91% или 84% и 72% када се реакција одвија под термичким условима и микроталасним зрачењем.

Пошто су нађени најповољнији услови за реакцију, направљена је серија нових 2-оксо-1,2,3,4-тетрахидропиримидина **8(a-o)** и **8(a'-k')**, Схема 42.



$\text{R}_1 = \text{Et}$ (7)



$\text{R}_1 = \text{Me}$ (7')

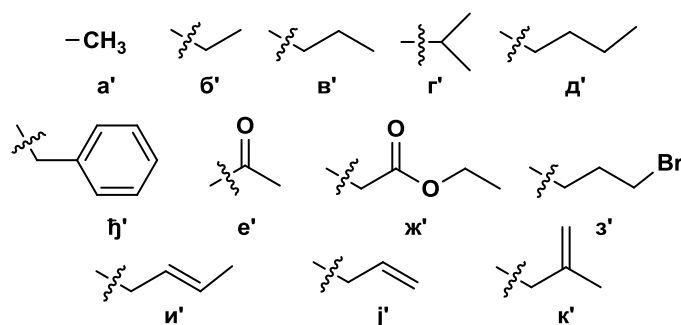


Схема 42. Синтеза 2-оксо-1,2,3,4-тетрахидропиридина

Производи **8a**, **8б** и **8в** су од раније познати у литератури (описани у свега 2-3 рада), док је у овом раду остварен много виши принос и извршена је комплетна карактеризација, што није случај и у претходно поменутих радовима.²⁰⁴⁻²⁰⁵

Урађене су и реакције без присуства растварача које са становишта „зелене хемије“ у данашње време имају велики значај. Као катализатор је коришћена иста бакарна со, а вршена је хомогенизација реагујућих супстанци у авану у “solvent free” условима. На овај начин се добијају производи у приносима који су слични са претходно добијеним вредностима када се реакција одвијала у присуству

растварача, али се знатно скраћује време извођења. Мало је другачији и моларни однос реагујућих супстанци (1:1,3:1).

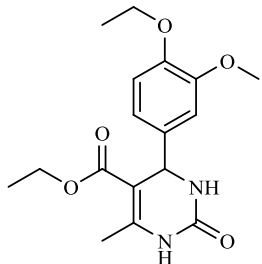
Најбољи приноси остварени су приликом добијања производа који садрже фрагменте CH_2COOH , CH_2COOEt , $(\text{CH}_2)_3\text{Br}$ и $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_2)\text{CH}_3$ (**8и**, **8ј**, **8ж'**, **8з'** и **8к'**). Принос производа **8ј** и **8ж'** у реакцијама без присуства растварача је исти и он износи 95% и то после само 1,5 и 2,5h.

На сликама 24 и 25 дате су структуре добијених производа. Са доње леве стране у сваком пољу дато је време одигравања одговарајућих реакција у сатима, а десно приноси добијених производа. У заградама се налазе вредности које се односе на реакцију без присуства растварача.

Направљена је серија од 30 једињења, користећи и хомогену и хетерогену катализу (са и без присуства растварача), од којих су 27 потпуно нова једињења. Сви производи су окарактерисани спектроскопским подацима (IR, ^1H NMR и ^{13}C NMR), чиме је потврђена њихова структура. Урађене су и масена и елементарна анализа, а неки од производа су били погодни за рендгенску структурну анализу.

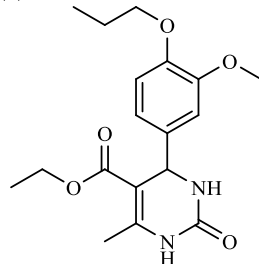
Слика 24. Етил 6-метил-2-оксо-4-(4'-алкокси-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-тетрахиdropириmidин-5-карбоксилати

8г



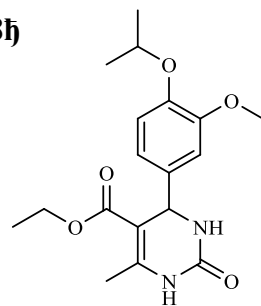
21(2)h 86(89)%

8д



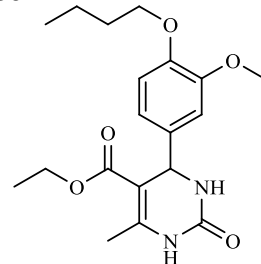
20(0,1)h 89(93)%

8ђ



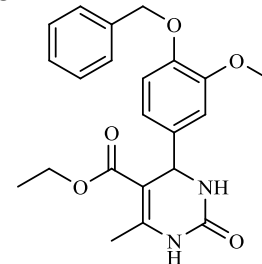
34(0,5)h 84(90)%

8е



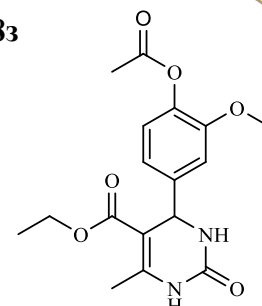
26(2)h 73(91)%

8ж



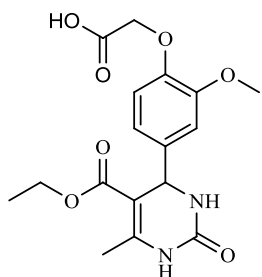
16(0,3)h 86(89)%

8з



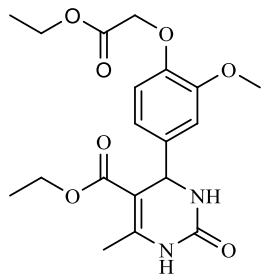
31(3)h 81(86)%

8и



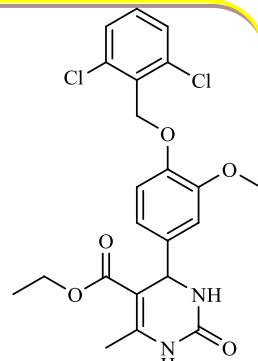
54(3)h 94(93)%

8ј



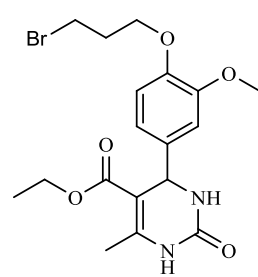
19(2,5)h 90(95)%

8к



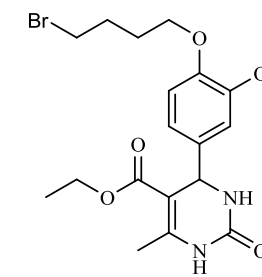
15(2)h 82(77)%

8л



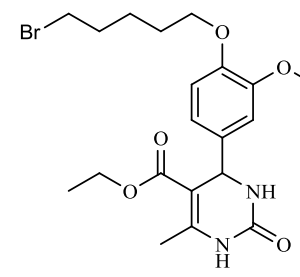
18(2,5)h 87(82)%

8љ



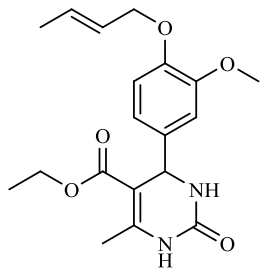
24(1)h 76(88)%

8м



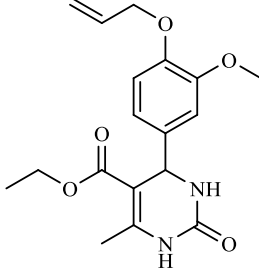
30(2,5)h 80(83)%

8н



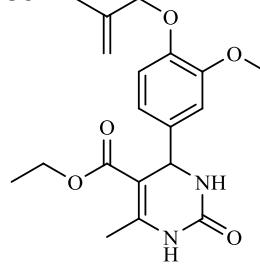
38(3,5)h 89(86)%

8њ



24(3)h 71(76)%

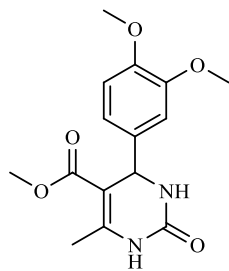
8о



50(5)h 80(89)%

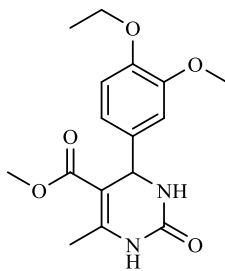
Слика 25. Метил 6-метил-2-оксо-4-(4'-алкокси-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-тетрагидропиримидин-5-карбоксилати

8a'



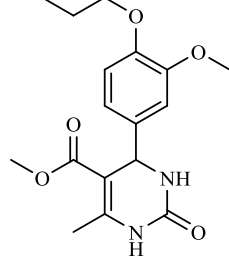
41(1,2)h 90(78)%

8б'



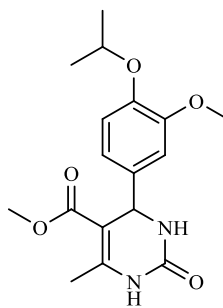
24(3)h 88(93)%

8в'



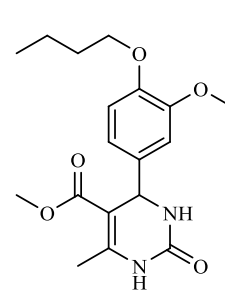
14(0,5)h 81(85)%

8г'



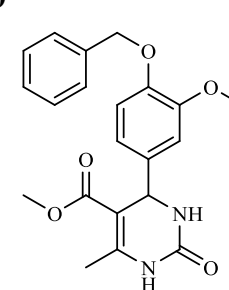
28(1,2)h 73(90)%

8д'



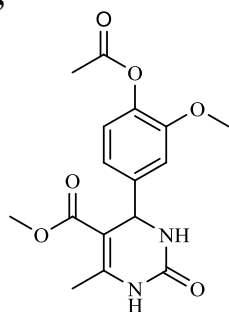
30(3)h 76(85)%

8ђ'



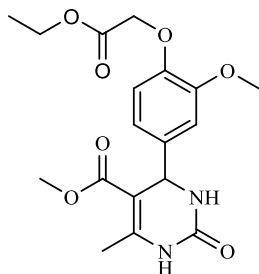
23(1)h 87(90)%

8e'



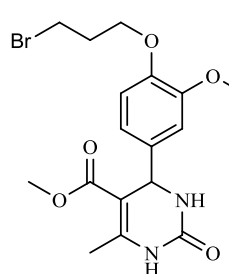
24(1,5)h 91(92)%

8ж'



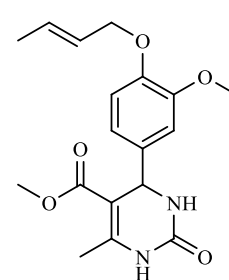
12(1,5)h 92(95)%

8з'



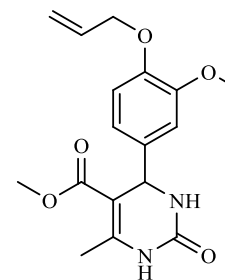
31(1,5)h 96(67)%

8и'



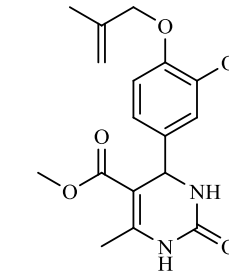
52(4)h 83(71)%

8j'



37(4,5)h 80(91)%

8к'



41(3,5)h 94(77)%

У IR пектрима ових једињења присутни су сигнали у области од 3214-3252 cm^{-1} који потичу од N-H вибрација код пиримидиноноског прстена. У области од 1700-1710 cm^{-1} и 1640-1664 cm^{-1} налазе се валенционе вибрације једне естарске и једне амидне групе.

У ^1H NMR спектрима приметна су два широка синглета у области од 7,68-7,79 ppm и 9,15-9,26 ppm који потичу од два NH (NH-3 и NH-1) протона из пиримидиноноског прстена. У суседству једне NH групе налази се C-атом за који је везана метил група (H-6) и одговара јој хемијско померање у области од 2,24-2,26 ppm. Протон везан за угљеник пиримидиноноског прстена за који је везан и ароматични систем налази се у области од око 5,04-5,17 ppm и то као дублет. Метокси група је присутна код свих производа и њени протони се налазе на померању од око 3,69-3,75 ppm и она је директно везана за ароматични систем. Уочљиви су и протони који су везани за C-атоме бензеновог прстена и који се налазе у очекиваној области ароматичних једињења отприлике око 6-7 ppm. Вредности се мало разликују од производа до производа, јер доста утицаја на ово хемијско померање имају супституенти везани за бензенов прстен (фрагменти алкилованих деривата ванилина).

Упоредивањем вредности хемијског померања у протонском спектру, приметно је веома изражено померање ка вишим вредностима код производа **8z** и **8e'**, који се односе на протоне ароматичног система и два широка синглета од N-H. То је и очекивано обзиром да присутна ацетил група везана за бензенов прстен има изражене електрон-привлачне особине. Она смањује електронску густину на ароматичном систему и на тај начин утиче да се хемијско померање протона из ароматичног система повећава, а услед резонанције то смањење електронске густине се преноси и на N-H код пиримидиноноског прстена.

У ^{13}C NMR спектрима на највишем хемијском померању налазе се сигнали две C=O групе. Једна је естарска у области око 166 ppm, а друга је из пиримидиноноског прстена (C-2) на померању око 152 ppm. На вредности сигнала око 148,3 ppm налази се сигнал од C-атома који повезује пиримидинонски прстен и бензен (C-4). Угљеников атом из пиримидиноноског прстена за који је везана одговарајућа метил или етил- естарска група (C-5) има сигнал у области око 100 ppm. На најмањим вредностима померања налазе се сигнали који потичу од метил групе директно везане за пиримидинонски прстен и C-6 атома за који је она везана. Они се налазе у области око 18 ppm и 49,6 ppm. Сви ови подаци потврђују

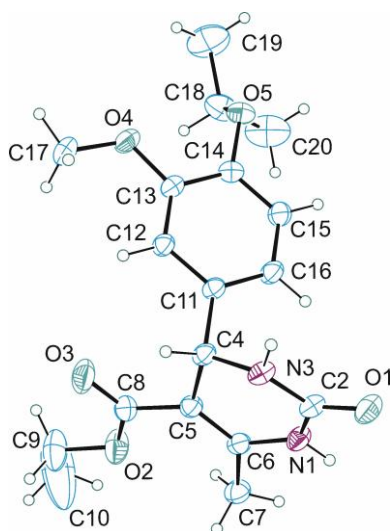
настајање одговарајућег пиримидиноноског прстена у процесу циклизације. Сигнали за ароматичан систем се налазе у областима које одговарају и померањима код почетних алдехида. То су групе сигнала у области од око 109-150 ppm.

Хемијска померања која одговарају алкил групама из ванилина и производа су детаљније описана у експерименталном раду овог доктората.

Сви ови подаци показују да је добијена нова серија једињења и да је њена структура недвосмислено потврђена.

2.5.1. Кристалографска анализа

Добијена су три кристална једињења из ове серије, чиме је додатно потврђена њихова структура (**8ђ**, **8ж** и **8њ**). Детаљније је обрађено само једињење **8ђ** (Слика 26).²⁰⁶



Слика 26. Кристална структура етил 6-метил-2-оксо-4-(4'-изопророкси-3'-метокси-фенил)-1,2,3,4-тетрахидропиримидин-5-карбоксилата, **8ђ**

Сви атоми у хетероцикличном систему (осим атома водоника) N1-C2-N3-C4-C5-C6, су приближно копланарни изузев C4 атома који је мало измештен у односу на раван осталог дела прстена. Фенил прстен C11-C16 је скоро ортогоналан у односу на хетероциклични прстен. Израчунато је да је C5-C6 веза најкраћа веза у молекулу **8ђ**, али је њена дужина нешто већа од дужине обичне двоструке везе. Овде се врши делокализација π -везе кроз фрагмент C5-C6-N1-C2-N3. Пронађено је да дужине N-C веза редом износе: 1,380 Å (C6-N1), 1,370 Å (N1-

C2) и 1,339 Å (C2-N3), што је краће од дужине обичне N-C. Ово потврђује и претходно изнете чињенице да долази до делокализације преко овог фрагмента, због чега ове везе попримају парцијални карактер двоструке везе. Услед њиховог скраћивања оне повлаче ка себи и N4-атом, па није чудно да је N3-C4 знатно дужа од обичне вредности за ту везу, а уједно и најдужа веза у молекулу **8h**. Она износи 1.459 Å.

2.5.2. Биолошка активност једињења 8

Урађена су и микробиолошка испитивања ових једињења, али су њихове активности биле врло слабе.

Као тест организми коришћени су следећи сојеви бактерија: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* и гљива: *Mucor mucedo*, *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Penicillium italicum*.

Ранија испитивања која су вршена на неким Biginelli-јевим производима која су садржала моносупституисани бензен прстен²⁰⁷ показала су да је најактивније једињење које садржи NO₂ групу као супституент. Испитивања су вршена на следећим бактеријама и гљивама: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Candida albicans* и *Aspergillus flavus*. Одавде се може закључити да активност Biginelli-јевих производа искључиво зависи од електронских ефеката супституената и да електрон-привлачне групе повећавају активност ових производа.

3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

3.1. Опште напомене

За извођење реакција коришћени су комерцијално доступан ванилин и комерцијално доступни растварачи: метилен-хлорид, толуен, етил-ацетат, хексан, етар и ацетон. Растварачи коришћени током овог рада су дестиловани и сушени по потреби.

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

Производи који су синтетисани у овом раду пречишћавани су хроматографијом на стубу (колони). Колона је пуњена силика-гелом (Silica gel 60, 0,063-0,200 mm, Merck).

Тачке топљења одређиване 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 и DMSO-d₆ у односу на тетраметилсилан (TMS, δ=0) на Varian Gemini 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), br. s. (широки синглет). Константе купловања (*J*) су изражене у херцима (Hz).

Гасно-масене анализе рађене су на инструменту Agilent Technologies модел 6890N са HP-5N колоном (5% фенил-, 95% метилполисилоксан). Као носећи гас коришћен је хелијум, док је енергија јонизације 70 eV. Однос масе и наелектрисања за јоне у масеним спектрима дат је као *m/z*. Масена спектрометрија је изведена на Waters Micromass ZQ масеном спектрометру, MassLynx софтвер је коришћен за контролу и обраду података.

Микроанализе су рађене на следећим инструментима: Carlo Erba EA1108 микроанализатору и Vario III CHNS Elemental Analyzer, Elemental Analysensysteme GmbH и Microanalyses of C, H and N.

Подаци о дифракцији X-зрака на монокристалима одговарајућих једињења прикупљени су на собној температури, користећи апарат *Oxford Diffraction Xcalibur Sapphire3 Gemini diffractometer*, опремљен извором зрачења Мо Ка ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$). За анализу података коришћени су софтвери *CrysAlisPro*²⁰⁸. Кристална структура је решена директном методом користећи *SIR2002*²⁰⁹ и програм *SHELXL*²¹⁰ из пакета *WinGX*.

Ћелијске линије MDA-MB и A549 су набављене од *American Type Culture Collection* (ATCC, Манасас, Сједињене Америчке Државе). Ћелијска линија НСТ-116 је поклон од др Данијеле Вигњевих (Institute Curie, Париз, Француска). Мезенхималне матичне ћелије (MSC) су набављене од *Invitrogen* (Карлсбад, СА, Сједињене Америчке Државе). MDA-MB и НСТ-116 ћелије се одржавају и гаје у инкубатору на температури од 37°C у атмосфери која је обогачена са 5% CO₂ и засићена воденом паром. Ове културе се одржавају у виду монослоја у хранљивом медијуму RPMI 1640 (Sigma Aldrich, Минхен, Немачка). У ове хранљиве подлоге се пре употребе додаје 10% говеђег феталног серума, FBS (Sigma), пеницилина G (100 IU/mL) и стрептомицина (100 µg/mL). A549 ћелије и MSC су одржаване у *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) коме се додаје 10% FBS, 100 IU/mL пеницилина G и 100 µg/mL стрептомицина (Sigma).

Бактеријски сојеви који су коришћени за тестирање су: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Bacillus cereus* (ATCC 10987), *Escherichia coli* (ATCC 25922) и *Proteus mirabilis* (ATCC 12453). Све бактерије које су коришћене су набављене од *American Type Culture Collection* (ATCC). Бактеријске културе су гајене на *Mueller-Hinton* агару (Торлак, Београд).

Сојеви гљива који су коришћени за тестирање су: *Aspergillus niger* (ATCC 16888), *Candida albicans* (ATCC 10259), *Penicillium italicum* (ATCC 10454), *Mucor mucedo* (ATCC 20094) и *Trichoderma viride* (ATCC 13233). Сви сојеви гљива који су коришћени су набављени од *American Type Culture Collection* (ATCC).

Културе гљива су одржаване на кромпировом декстрозном агару (PD), изузев гљиве *Candida albicans* која је одржавана на *Sabourad* декстрозном агару (SD) (Торлак, Београд).

3.2. Синтеза 1-ацетил-5-арил-4,5-дихидро-1H-пиразола

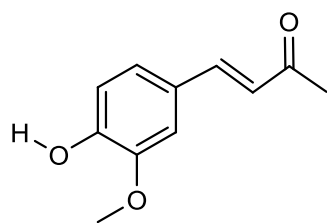
Добијање 4-(4-алкокси-3-метоксифенил)-бут-3-ен-2-она, 1(а-е)

Смеша дехидрозингерона, **1a** (1,92 g, 10 mmol), одговарајућег алкил-халогенида (30 mmol) и K_2CO_3 (7 g, анхидрованог) у ацетону (40 mL) загрева се уз рефлукс на пешчаном купатилу преко ноћи у атмосфери аргона. Ацетон и алкил-халогенид се упаре на вакуум упаривачу, а остатак у балону се раствори у води и екстрахује са CH_2Cl_2 (3×50 mL). Органски слој се испере водом и засићеним раствором NaCl и суши преко анхидрованог Na_2SO_4 . После уклањања растварача упаравањем, остатак се пропусти кроз кратку колону са силикагелом користећи CH_2Cl_2 као елуент. Добијени производи су или уља или кристалишу стајањем у виду жутих кристала.

Добијање 1-[5-(4-алкокси-3-метоксифенил)-3-метил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-ил]етанона, 2(а-е)

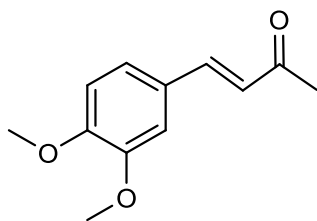
Измери се одговарајућа количина 4-(4-алкокси-3-метоксифенил)-бут-3-ен-2-она, **1(а-е)** (10 mmol) у балон од 50 mL. Дода се CH_3COOH (10 mL) и уз мешање се додаје $NH_2NH_2 \cdot H_2O$ (1,25 mL, 25 mmol). Остави се да се загрева на пешчаном купатилу уз рефлуктовање 5 h. Растварач се упари на вакуум упаривачу, а остатак се изручи у хладну воду (50 mL) и меша неко време на собној температури. Пошто нема талога, екстрахује се са реакционом смешом толуен/етил-ацетат (95:5). После уклањања растварача, уљани остатак се раствори у етру и остави у замрзивачу. Након одређеног временског периода јављају се кристали производа **2(а-е)**.

4-(4-Хидрокси-3-метоксифенил)-бут-3-ен-2-он (1а). Принос: 90%; Т.Т. 127-



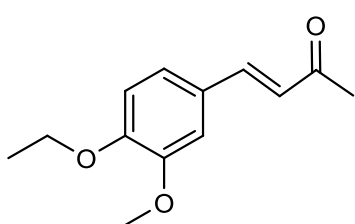
128°C; IR (KBr): 3290, 1637, 1619, 1582, 1519, 1452, 1296, 1266, 1187, 1123, 1026 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 37 (s, 3H, CH_3CO), 3,92 (s, 3H, OCH_3), 6,26 (s, 1H, OH), 6,59 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, CH), 6,91-7,11 (m, 3H, Ar-H), 7,46 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, CH); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 27,2, 55,9, 109,3, 114,8, 123,5, 124,8, 126,7, 143,9, 146,9, 148,3, 198,6.

4-(3,4-Диметоксифенил)-бут-3-ен-2-он (1б). Принос: 97%; Т.Т. 84-85°C; IR



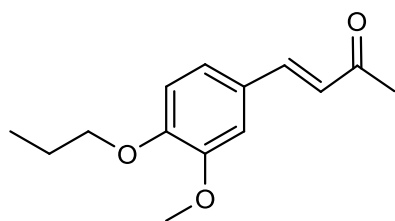
(KBr): 3467, 1668, 1643, 1620, 1595, 1517, 1459, 1363, 1272, 1225, 1161, 1138, 1019 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 2,37 (s, 3H, CH_3CO), 3,92 (s, 6H, $2 \times \text{OCH}_3$), 6,60 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, CH), 6,86-7,14 (m, 3H, Ar-H), 7,47 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, CH); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 27,2, 55,7, 109,4, 110,9, 122,8, 125, 127,1, 143,4, 149,1, 151,1, 198,2.

4-(4-Етокси-3-метоксифенил)-бут-3-ен-2-он (1в). Принос: 87%; Т.Т. 105-106°C;



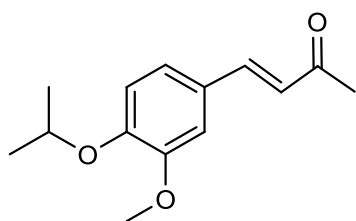
IR (KBr): 3436, 1659, 1634, 1622, 1595, 1514, 1423, 1396, 1253, 1227, 1166, 1142, 1033 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,49 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz, CH_3), 2,37 (s, 3H, CH_3CO), 3,91 (s, 3H, OCH_3), 4,14 (q, 2H, $J = 7,0$ Hz, CH_2), 6,60 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, CH), 6,85-7,13 (m, 3H, Ar-H), 7,46 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, CH); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 14,6, 27,2, 55,8, 64,3, 109,8, 112, 122,9, 125, 126,9, 143,5, 149,3, 150,6, 198,3.

4-(3-Метокси-4-пропоксифенил)-бут-3-ен-2-он (1г). Принос: 93%; Т.Т. 93-94°C;



IR (KBr): 3434, 1664, 1639, 1623, 1596, 1514, 1422, 1355, 1268, 1253, 1224, 1169, 1143, 1036 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,05 (t, 3H, $J = 7,4$ Hz, CH_3), 1,79-1,98 (m, 2H, CH_2), 2,37 (s, 3H, CH_3CO), 3,90 (s, 3H, OCH_3), 4,02 (t, 2H, $J = 6,8$ Hz, CH_2), 6,60 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, CH), 6,85-7,13 (m, 3H, Ar-H), 7,46 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, CH); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 10,3, 22,2, 27,2, 55,9, 70,3, 109,9, 112,2, 122,9, 124,9, 126,9, 143,5, 149,4, 150,9, 198,3.

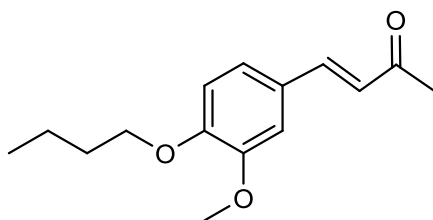
4-(3-Метокси-4-изопропоксифенил)-бут-3-ен-2-он (1д). Принос: 81%; Т.Т. 56-



57°C; IR (KBr): 3434, 2976, 1664, 1638, 1618, 1594, 1511, 1422, 1359, 1255, 1226, 1166, 1137, 1028 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,40 (d, 6H, $J = 6,0$ Hz, 2x CH_3), 2,37 (s, 3H, CH_3CO), 3,89 (s, 3H, OCH_3), 4,55-4,67 (m, 1H, CH), 6,60 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, CH), 6,87-

7,13 (m, 3H, Ar-H), 7,46 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, CH); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 21,9, 27,2, 55,9, 71,2, 110,5, 114,5, 122,7, 125, 127,2, 143,5, 149,8, 150,3, 198,2.

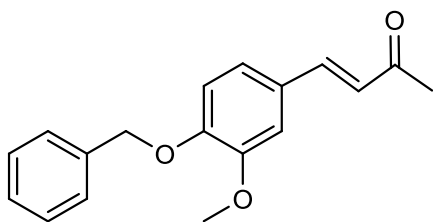
4-(4-Бутокси-3-метоксифенил)-бут-3-ен-2-он (1ђ). Принос: 96%; Т.Т. 79°C; IR



(KBr): 3435, 2931, 1667, 1641, 1622, 1598, 1517, 1421, 1387, 1270, 1254, 1227, 1167, 1139, 1032 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 0,98 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, CH_3), 1,45-1,56 (m, 2H, CH_2), 1,77-1,88 (m, 2H, CH_2), 2,37 (s, 3H, CH_3CO), 3,89 (s, 3H,

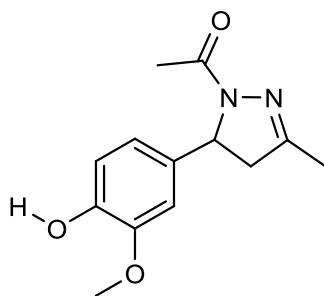
OCH_3), 4,05 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz, CH_2), 6,59 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, CH), 6,85-7,13 (m, 3H, Ar-H), 7,46 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, CH); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 13,7 (CH_3), 19,1 (CH_2), 27,2 (CH_3), 30,9 (CH_2), 55,9 (OCH_3), 68,6 (CH_2), 110 (C-6, Ar), 112,2 (C-9, Ar), 122,9 (C-10, Ar), 124,9 (CH), 126,9 (C-5, Ar), 143,5 (CH), 149,5 (C-8, Ar), 150,9 (C-7, Ar), 198,2 (CO).

4-(4-(Бензилокси)-3-метоксифенил)-бут-3-ен-2-он (1е). Принос: 91%; Т.Т. 95-



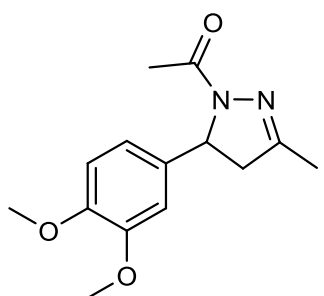
96°C; IR (KBr): 3435, 1662, 1635, 1621, 1593, 1513, 1423, 1385, 1272, 1248, 1222, 1167, 1139, 1036 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 2,35 (s, 3H, CH_3CO), 3,91 (s, 3H, OCH_3), 5,18 (s, 2H, CH_2), 6,59 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, CH), 6,85-7,08 (m,

3H, Ar-H), 7,29-7,48 (m, 6H, CH, Ar-H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 27,2, 55,9, 70,8, 110,3, 113,4, 122,6, 125,3, 127,1, 127,6, 127,9, 128,5, 136,4, 143,3, 149,8, 150,4, 198,1.

1-[5-(4-Хидрокси-3-метоксифенил)-3-метил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-ил]-

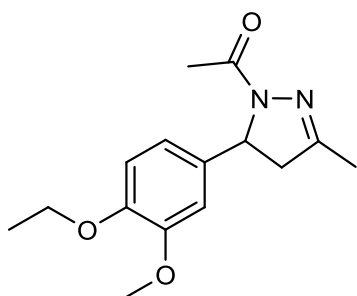
етанон (2a). Принос: 61%; Т.Т. 181-182°C; IR (KBr): 3323, 2962, 1627, 1528, 1374, 1125, 1037 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 2,07 (s, 3H, CH_3), 2,30 (s, 3H, CH_3CO), 2,68 (dd, 1H, $J = 18,2, 4,6$ Hz, H-8), 3,25-3,41 (m, 1H, H-8), 3,85 (s, 3H, OCH_3), 5,36 (dd, 1H, $J = 11,4, 4,6$ Hz, H-7), 5,81 (s, 1H, OH), 6,62-6,83 (m, 3H, Ar-H);

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 16 (CH_3), 21,8 (CH_3), 46,4 (C-8, Pz), 55,9 (OCH_3), 59,3 (C-7, Pz), 108,6 (C-2, Ar), 114,8 (C-6, Ar), 117,9 (C-5, Ar), 134 (C-1, Ar), 145,1 (C-4, Ar), 146,6 (C-3, Ar), 155,5 (C-9, Pz), 168,3 (CO). ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 249 (17%) $[\text{M}+1]^+$; 207 (69%), 190 (21,5%), 175 (70,5%), 83 (100%).

1-[5-(3,4-Диметоксифенил)-3-метил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-ил]етанон (2б).

Принос: 75%; Т.Т. 92-93°C; IR (KBr): 3002, 1659, 1516, 1375, 1139, 1020 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 2,07 (s, 3H, CH_3), 2,31 (s, 3H, CH_3CO), 2,68 (dd, 1H, $J = 18,2, 4,6$ Hz, H-8), 3,26-3,42 (m, 1H, H-8), 3,85 (d, 6H, $J = 3,8$ Hz, 2x OCH_3), 5,38 (dd, 1H, $J = 11,6, 4,6$ Hz, H-7), 6,69-6,83 (m, 3H, Ar-H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 15,9

(CH_3), 21,8 (CH_3), 46,3 (C-8, Pz), 55,8 (OCH_3), 55,9 (OCH_3), 59,2 (C-7, Pz), 109,1 (C-2, Ar), 111,6 (C-6, Ar), 117,4 (C-5, Ar), 134,7 (C-1, Ar), 148,4 (C-4, Ar), 149,2 (C-3, Ar), 155,4 (C-9, Pz), 168,3 (CO). Израчунато за $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$: C, 64,10, H, 6,91, N, 10,68%; нађено: C, 64,48, H, 6,94, N, 10,62%. ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 263 (72%) $[\text{M}+1]^+$; 221 (98%), 206 (74%), 189 (93%), 82 (100%).

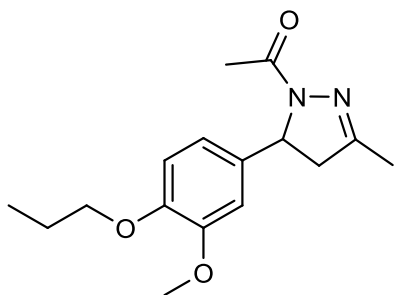
1-[5-(4-Етокси-3-метоксифенил)-3-метил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-ил]-

етанон (2в). Принос: 78%; Т.Т. 87-88°C; IR (KBr): 2980, 1657, 1519, 1378, 1139, 1031 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,43 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz, CH_3), 2,07 (s, 3H, CH_3), 2,30 (s, 3H, CH_3CO), 2,68 (dd, 1H, $J = 18,2, 4,6$ Hz, H-8), 3,26-3,42 (m, 1H, H-8), 3,85 (s, 3H, OCH_3), 4,06 (q, 2H, $J = 7,0$ Hz, CH_2), 5,38 (dd, 1H, $J = 11,6, 4,6$

Hz, H-7), 6,67-6,83 (m, 3H, Ar-H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 14,7 (CH_3), 15,9 (CH_3), 21,8 (CH_3), 46,3 (C-8, Pz), 55,9 (OCH_3), 59,2 (C-7, Pz), 64,3 (CH_2), 109,3 (C-2, Ar), 113,1 (C-6, Ar), 117,3 (C-5, Ar), 134,6 (C-1, Ar), 147,7 (C-4, Ar), 149,5 (C-3, Ar),

155,4 (C-9, Pz), 168,2 (CO). Израчунато за $C_{15}H_{20}N_2O_3$: C, 65,19, H, 7,29, N, 10,13%; нађено: C, 65,84, H, 7,27, N, 10,17%. ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 277 (65%) $[M+1]^+$; 235 (78%), 220 (69%), 203 (92%), 82 (100%).

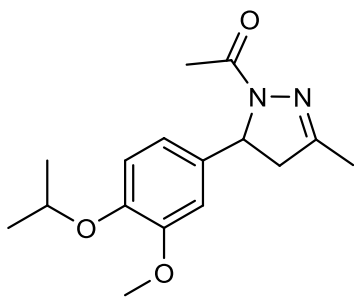
1-[5-(3-Метокси-4-пропоксифенил)-3-метил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-ил]-



етанон (2г). Принос: 72%; Т.Т. 103-104°C; IR (KBr): 2963, 1645, 1513, 1379, 1143, 1039, 1019 cm^{-1} ; 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$): δ 1,01 (t, 3H, $J = 7,6$ Hz, CH_3), 1,78-1,92 (m, 2H, CH_2), 2,07 (s, 3H, CH_3), 2,31 (s, 3H, CH_3CO), 2,68 (dd, 1H, $J = 18,2, 4,4$ Hz, H-8), 3,26-3,41 (m, 1H, H-8), 3,84 (s, 3H, OCH_3),

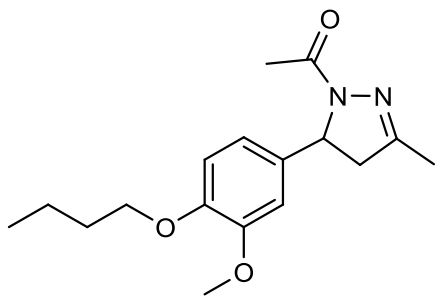
3,94 (t, 2H, $J = 6,8$ Hz, CH_2), 5,38 (dd, 1H, $J = 11,6, 4,6$ Hz, H-7), 6,67-6,82 (m, 3H, Ar-H), ^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$): δ 10,3 (CH_3), 15,5 (CH_3), 21,8 (CH_2), 22,4 (CH_3), 46,3 (C-8, Pz), 56,1 (OCH_3), 59,2 (C-7, Pz), 70,6 (CH_2), 109,6 (C-2, Ar), 113,3 (C-6, Ar), 117,4 (C-5, Ar), 134,6 (C-1, Ar), 147,9 (C-4, Ar), 149,7 (C-3, Ar), 155,4 (C-9, Pz), 168,2 (CO). Израчунато за $C_{16}H_{22}N_2O_3$: C, 66,18, H, 7,64, N, 9,65%; нађено: C, 65,55, H, 7,66, N, 9,76%. ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 291 (19,5%) $[M+1]^+$; 249 (14%), 217 (16%), 165 (21,5%), 125 (42%), 83 (100%).

1-[5-(3-Метокси-4-изопропоксифенил)-3-метил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-ил]-



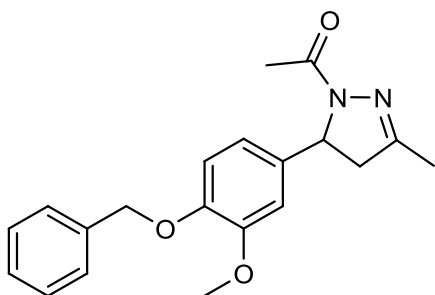
етанон (2д). Принос: 88%; Т.Т. 101-102°C; IR (KBr): 2981, 1643, 1514, 1378, 1141, 1038 cm^{-1} ; 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$): δ 1,34 (d, 6H, $J = 6,0$ Hz, $2 \times CH_3$), 2,06 (s, 3H, CH_3), 2,31 (s, 3H, CH_3), 2,68 (dd, 1H, $J = 18,0, 4,4$ Hz, H-8), 3,26-3,41 (m, 1H, H-8), 3,83 (s, 3H, OCH_3), 4,40-4,52 (m, 1H, CH), 5,39 (dd, 1H, $J = 11,6, 4,4$ Hz, H-

7), 6,64-6,83 (m, 3H, Ar-H); ^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$): δ 15,9 (CH_3), 21,8 ($2 \times CH_3$), 22,1 (CH_3), 46,3 (C-8, Pz), 55,9 (OCH_3), 59,2 (C-7, Pz), 71,5 (CH), 109,8 (C-2, Ar), 116,1 (C-6, Ar), 117,3 (C-5, Ar), 135 (C-1, Ar), 146,7 (C-4, Ar), 150,6 (C-3, Ar), 155,4 (C-9, Pz), 168,3 (CO). Израчунато за $C_{16}H_{22}N_2O_3$: C, 66,18, H, 7,64, N, 9,65%; нађено: C, 65,78, H, 7,67, N, 9,62%. ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 291 (12%) $[M+1]^+$; 249 (9%), 207 (21%), 192 (28%), 165 (42%), 125 (39%), 82 (100%).

1-[5-(4-Бутокси-3-метоксифенил)-3-метил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-ил]-

етанон (2h). Принос: 81%; Т.Т. 59-60°C; IR (KBr): 2958, 1661, 1515, 1378, 1140, 1034 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 0,96 (t, 3H, $J = 7,4$ Hz, CH_3), 1,41-1,56 (m, 2H, CH_2), 1,72-1,86 (m, 2H, CH_2), 2,07 (s, 3H, CH_3), 2,31 (s, 3H, CH_3), 2,68 (dd, 1H, $J = 18,2, 4,4$ Hz, H-8), 3,26-3,41 (m,

1H, H-8), 3,84 (s, 3H, OCH_3), 3,97 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz, CH_2), 5,39 (dd, 1H, $J = 11,6, 4,4$ Hz, H-7), 6,65-6,82 (m, 3H, Ar-H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 15,9 (CH_3), 19,1 (CH_2), 21,8 (CH_3), 31,2 (CH_2), 46,3 (C-8, Pz), 56,1 (OCH_3), 59,2 (C-7, Pz), 68,8 (CH_2), 109,6 (C-2, Ar), 113,3 (C-6, Ar), 117,4 (C-5, Ar), 134,6 (C-1, Ar), 148 (C-4, Ar), 149,6 (C-3, Ar), 155,5 (C-9, Pz), 168,3 (CO). Израчунато за $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$: C, 67,08, H, 7,94, N, 9,20%; нађено: C, 66,95, H, 7,99, N, 9,15 %. ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 305 (23%) $[\text{M}+1]^+$; 263 (13%), 231 (11%), 206 (9%), 192 (12%), 175 (15%), 124 (49%), 82 (100%).

1-[5-(4-Бензилокси)-3-метоксифенил)-3-метил-4,5-дихидро-1H-пиразол-1-ил]-

етанон (2e). Принос: 97%; Т.Т. 99-100°C; IR (KBr): 2932, 1656, 1516, 1228, 1379, 1133, 1015 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 2,07 (s, 3H, CH_3), 2,32 (s, 3H, CH_3), 2,68 (dd, 1H, $J = 18,2, 4,6$ Hz, H-8), 3,26-3,42 (m, 1H, H-8), 3,89 (s, 3H, OCH_3), 5,13 (s, 2H, CH_2), 5,37 (dd, 1H, $J = 11,4,$

4,4 Hz, H-7), 6,62-6,84 (m, 3H, Ar-H), 7,28-7,46 (m, 5H, Ar-H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 15,9 (CH_3), 21,8 (CH_3), 46,3 (C-8, Pz), 56,1 (OCH_3), 59,2 (C-7, Pz), 71,1 (CH_2), 109,7 (C-2, Ar), 114,3 (C-6, Ar), 117,3 (C-5, Ar), 127,2 (C-18, Ar), 127,7 (C-16, 20, Ar), 128,5 (C-17, 19, Ar), 137,2 (C-15, Ar), 135,2 (C-1, Ar), 147,6 (C-4, Ar), 149,9 (C-3, Ar), 155,4 (C-9, Pz), 168,3 (CO). Израчунато за $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$: C, 70,98, H, 6,55, N, 8,28%; нађено: C, 71,65, H, 6,52, N, 8,19%. ESI-MS (40 eV): m/z (%) = 339 (39%) $[\text{M}+1]^+$; 297 (25%), 270 (21%), 124 (54%), 91 (70%), 82 (100%).

3.3. Синтеза (E)-1-(4-алкокси-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-она, 3(б-е)

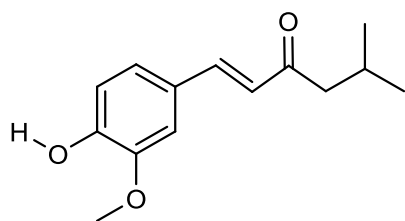
Добијање (E)-1-(4-хидрокси-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-она, 3а

Ванилин (4,56 g, 30 mmol) се раствори у 50 mL CH₃OH и у то се дода 100 mL метил-изобутил кетона (MIBK). Када се смеша добро хомогенизује, третира се 10% NaOH (25 mL) и настави са мешањем 48h на температури од 60°C. Метанол и неизреаговани кетон (један део) се упаре на вакуум упаривачу. Уљаном остатку се дода 100 mL воде и закисели се са 2M HCl (pH=2). Производ се екстрахује са CH₂Cl₂ (3×50 mL) и органски слој се испере водом и засићеним раствором NaCl, а потом суши са анхидрованим Na₂SO₄. Када се растварач упари, остатак у балону се дестилује воденом паром, све док не престане да се осећа непријатан мирис од вишка MIBK-а, који је присутан у дестилату. Водено/уљани остатак се екстрахује са толуеном (3×50 mL). Након екстракције, органски део се испира и суши као и у претходној фази. Поновним упаравањем растварача на вакуум упаривачу, заостаје жућкасти уљани производ који стајањем кристалише у виду жутих кристала, дајући (E)-1-(4-хидрокси-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-он, 3а.

Генерална процедура за добијање (E)-1-(4-алкокси-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-она, 3(б--е)

Смеша производа 3а (0,47 g, 2 mmol), одговарајућег алкил-халогенида (вишак, 10 mmol) и K₂CO₃ (1,94 g, анхидровани, 14 mmol) у ацетону (50 mL) се загрева уз рефлукс преко ноћи на пешчаном купатилу у атмосфери аргона. Након уклањања ацетона и вишка алкил-халогенида упаравањем на вакуум упаривачу, чврсти остатак се раствори у води и екстрахује са CH₂Cl₂ (3×50 mL). Органски слој се испере водом и засићеним раствором NaCl и суши преко анхидрованог Na₂SO₄. После уклањања главног дела растварача, остатак се пропусти кроз кратку колону испуњену силика-гелом ради пречишћавања супстанце. Након тога иде дестилација воденом паром, уколико је то потребно (код неких производа је потребно уклонити вишак алкил-халогенида на овај начин). Даља екстракција и обрада иду као код производа 3а. Добијени производи могу бити уља (етил и изопропил) или могу искристалисати стајањем на собној температури (остали производи).

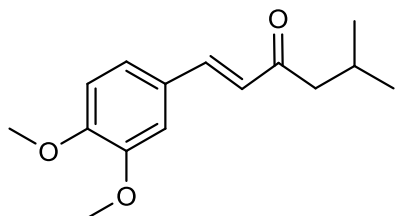
(E)-1-(4-хидрокси-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-она (3а). Принос:



89,6%; Т.Т. 82°C; IR (KBr): 3344, 2970, 2952, 2870, 1678, 1601, 1584, 1517, 1286, 1268, 1146, 1065, 988 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): 0,98 (d, 6H, $J = 6,6$ Hz, $2 \times \text{CH}_3$), 2,16-2,30 (m, 1H, CH), 2,53 (d, 2H, $J = 7,0$ Hz, CH_2), 3,92 (s, 3H, OCH_3),

6,25 (s, 1H, OH), 6,61 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, CH), 6,93 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, Ar-H), 7,05-7,11 (m, 2H, Ar-H), 7,48 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, CH); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): 22,6, 25,3, 49,6, 55,9, 109,5, 114,8, 123,3, 124,4, 127, 142,7, 146,9, 148,2, 200,4 (CO).

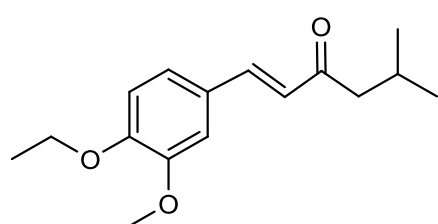
(E)-1-(3,4-диметоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-он (3б). CH_3I , 1,45 g (вишак, 10



mmol); Принос: 99,4%; Т.Т. 67°C; IR (KBr): 2957, 2926, 2869, 1683, 1648, 1595, 1582, 1517, 1464, 1366, 1273, 1253, 1190, 1141, 1017, 975 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 0,98 (d, 6H, $J = 6,6$ Hz, $2 \times \text{CH}_3$), 2,17-2,31 (m, 1H, CH), 2,53 (d, 2H, $J = 6,8$

Hz, CH_2), 3,92 (d, 6H, $J = 1,2$ Hz, $2 \times \text{OCH}_3$), 6,63 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, CH), 6,88 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, Ar-H), 7,08-7,16 (m, 2H, Ar-H), 7,49 (d, 1H, $J = 16,0$ Hz, CH); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 22,6, 25,2, 49,6, 55,9, 109,7, 111,1, 122,8, 124,7, 127,5, 142,3, 149,2, 151,2, 200,1 (CO).

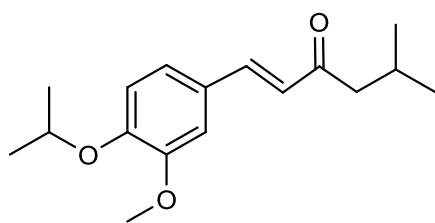
(E)-1-(4-етокси -3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-он (3в). $\text{C}_2\text{H}_5\text{I}$, 1,56 g



(вишак, 10 mmol); уљаста супстанца; Принос: 80,9%. IR (KBr): 2957, 2871, 1683, 1649, 1596, 1513, 1466, 1266, 1232, 1141, 1035, 983 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 0,98 (d, 6H, $J = 6,6$ Hz, $2 \times \text{CH}_3$), 1,49 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz, CH_3), 2,17-

2,30 (m, 1H, CH), 2,53 (d, 2H, $J = 7,0$ Hz, CH_2), 3,91 (s, 3H, OCH_3), 4,14 (q, 2H, $J = 7,0$ Hz, CH_2), 6,62 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, CH), 6,86 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, Ar-H), 7,07-7,14 (m, 2H, Ar-H), 7,49 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, CH); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 14,6, 22,7, 25,3, 49,7, 55,9, 64,4, 110,1, 112,3, 122,8, 124,6, 127,3, 142,5, 149,5, 150,7, 200,2 (CO).

(E)-1-(3-метокси-4-изопропоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-он (3г). $i\text{-C}_3\text{H}_7\text{I}$,



1,70 g (вишак, 10 mmol); уљаста супстанца;

Принос: 77,7%. IR (KBr): 2960, 2871, 1682,

1652, 1595, 1509, 1466, 1420, 1268, 1230, 1138,

1110, 983 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ

0,98 (d, 6H, $J = 6,8$ Hz, $2 \times \text{CH}_3$), 1,39 (d, 6H, $J =$

6,0 Hz, $2 \times \text{CH}_3$), 2,17-2,30 (m, 1H, CH), 2,53 (d, 2H, $J = 7,0$ Hz, CH_2), 3,89 (s, 3H,

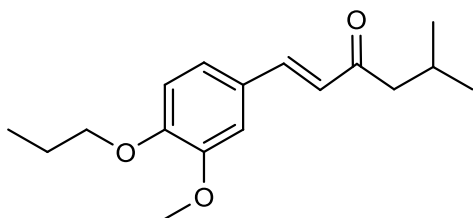
OCH_3), 4,55-4,67 (m, 1H, CH), 6,62 (d, 1H, $J = 16,0$ Hz, CH), 6,88 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz,

Ar-H), 7,09-7,14 (m, 2H, Ar-H), 7,49 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, CH); $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz,

CDCl_3): δ 21,9, 22,7, 25,3, 49,7, 55,9, 71,3, 110,7, 114,6, 122,7, 124,6, 127,5, 142,5,

149,8, 150,3, 200,2 (CO).

(E)-1-(3-метокси-4-пропоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-он (3д). $n\text{-C}_3\text{H}_7\text{Br}$, 1,23



g (вишак, 10 mmol); Т.Т. 49-50°C; Принос:

91,7%. IR (KBr): 2960, 2939, 2874, 1689, 1645,

1619, 1595, 1515, 1466, 1423, 1271, 1226, 1140,

1033, 973 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ

0,98 (d, 6H, $J = 6,6$ Hz, $2 \times \text{CH}_3$), 1,05 (t, 3H, $J =$

7,6 Hz, CH_3), 1,79-1,98 (m, 2H, CH_2), 2,17-2,30 (m, 1H, CH), 2,53 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz,

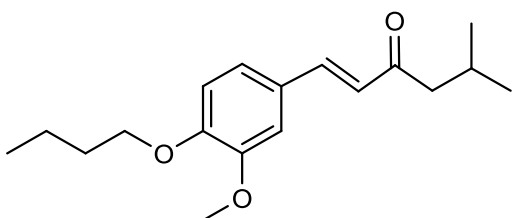
CH_2), 3,91 (s, 3H, OCH_3), 4,02 (t, 2H, $J = 6,8$ Hz, CH_2), 6,62 (d, 1H, $J = 16,0$ Hz, CH),

6,87 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, Ar-H), 7,07-7,14 (m, 2H, Ar-H), 7,49 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, CH);

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): δ 10,3, 22,3, 22,7, 25,3, 49,7, 56, 70,5, 110,3, 112,5,

122,9, 124,6, 127,3, 142,5, 149,6, 150,9, 200,2 (CO).

(E)-1-(4-бutoкси-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-он (3ђ). $n\text{-C}_4\text{H}_9\text{Br}$, 1,37 g



(вишак, 10 mmol); Т.Т. 54°C; Принос:

96,5%. IR (KBr): 2954, 2871, 1651, 1622,

1598, 1514, 1466, 1425, 1273, 1169, 1140,

1042, 981 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3):

δ 0,98 (d, 6H, $J = 6,6$ Hz, $2 \times \text{CH}_3$), 1,41-1,59

(m, 2H, CH_2), 1,77-1,92 (m, 2H, CH_2), 2,18-2,30 (m, 1H, CH), 2,53 (d, 2H, $J = 7,0$ Hz,

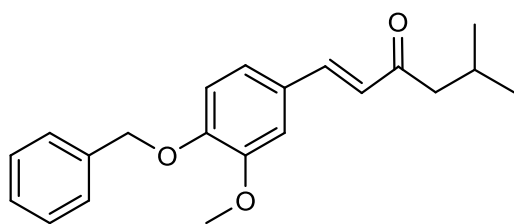
CH_2), 3,90 (s, 3H, OCH_3), 4,05 (t, 2H, $J = 6,8$ Hz, CH_2), 6,62 (d, 1H, $J = 16,0$ Hz, CH),

6,87 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, Ar-H), 7,07-7,14 (m, 2H, Ar-H), 7,49 (d, 1H, $J = 16,0$ Hz, CH);

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): δ 13,8, 19,1, 22,7, 25,3, 31, 49,7, 55,9, 68,7, 110,3, 112,4,

122,9, 124,6, 127,3, 142,5, 149,6, 150,9, 200,2 (CO).

(E)-1-(4-бензилокси-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-он (3e). C₆H₅CH₂Cl,



1,27 g (excess, 10 mmol); Т.Т. 71-72°C;

Принос: 81,3%. IR (KBr): 2956, 2930, 2862,

1679, 1646, 1624, 1595, 1512, 1465, 1455,

1256, 1163, 1138, 1030, 981 cm⁻¹; ¹H NMR

(200 MHz, CDCl₃): δ 0,97 (d, 6H, J = 6,6 Hz,

2xCH₃), 2,16-2,29 (m, 1H, CH), 2,52 (d, 2H, J = 6,8 Hz, CH₂), 3,92 (s, 3H, OCH₃),

5,18 (s, 2H, CH₂), 6,61 (d, 1H, J = 16,2 Hz, CH), 6,87 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Ar-H), 7,03-

7,09 (m, 2H, Ar-H), 7,26-7,51 (m, 6H, CH, Ar-H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 22,7,

25,3, 49,7, 55,9, 70,8, 110,4, 113,5, 122,6, 124,8, 127,1, 127,8, 127,9, 128,5, 136,5,

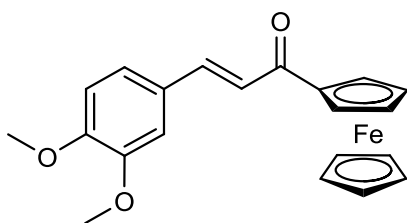
142,3, 149,8, 150,4, 200,2 (CO).

3.4. Синтеза 1-фероценил-3-(4-алкокси-3-метоксифенил)-2-пропенона

Одговарајући ванилински алдехид **4(a-h)** (10 mmol) се раствори у 20 mL врућег етанола и у то се дода моноацетил-фероцен (10 mmol). Смеша се меша 10 минута и лагано се у то додаје 1 mL 40% NaOH. Реакциона смеша се меша преко ноћи на температури од 50°C.

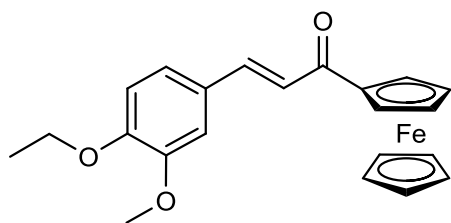
У чашу од 250 mL се сипа иситњени лед (100 g) и у то изручи претходна смеша уз мешање. Том приликом неки производи кристалишу у виду црвеног талога и одвајају се цеђењем преко филтер папира и сушењем на ваздуху, док је код других неопходна екстракција са толуеном или CH₂Cl₂ (3×50 mL). Органски слој добијен екстракцијом се испира водом и засићеним раствором NaCl и суши преко анхидрованог Na₂SO₄. Растварач се упари на 1/3 запремине, а остатак се пропусти кроз кратку колону испуњену силикагелом и Al₂O₃. После поновног упаравања растварача до краја на вакуум упаривачу, чврсти остатак у балону се хроматографише кроз колону испуњену силикагелом користећи смешу толуен-етил-ацетат (8:2) као елуент за одвајање реакционих производа **5(a-h)** од вишка неизреагованог моноацетил-фероцена. По упаравању ове смеше, добијају се црвено обојене кристалне супстанце.

1-Фероценил-3-(3,4-диметоксифенил)-2-пропенон (5a). Цинобер обојени



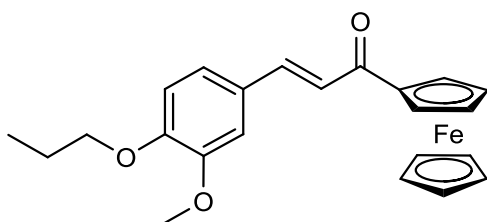
кристали; Т.Т. 148-149°C; Принос: 78%; IR (KBr): 1648, 1586, 1517, 1263, 1081 cm⁻¹; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 3,95 (d, *J* = 6,8 Hz, 6H), 4,22 (s, 5H), 4,58 (t, *J* = 2 Hz, 2H), 4,92 (t, *J* = 2,0 Hz, 2H), 6,91 (d, *J* = 8,4 Hz 1H), 6,99 (d, *J* = 15,6 Hz, 1H),

7,14-7,27 (m, 2H), 7,76 (d, *J* = 15,6 Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 55,9, 69,7, 70, 72,5, 80,7, 110,6, 111,3, 121, 122,4, 128,2, 140,9, 149,2, 151,1, 192,8 (CO). Израчунато за C₂₁H₂₀FeO₃ (376,227): C, 67,04; H, 5,36; Fe, 14,84; O, 12,76%; нађено; C, 66,10; H, 5,30%.

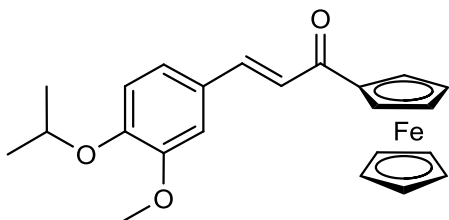
1-Фероцил-3-(4-етокси-3-метоксифенил)-2-пропенон (5б). Цинобер обојени

кристали; Т.Т. 155-156°C; Принос: 85%; IR (KBr): 1650, 1588, 1513, 1267, 1076 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,49 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H), 3,96 (s, 3H), 4,16 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H), 4,21 (s, 5H), 4,57 (t, $J = 1,8$ Hz, 2H), 4,92 (t, $J = 1,8$

Hz, 2H), 6,90 (d, $J = 8,4$ Hz 1H), 6,99 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 7,14-7,27 (m, 2H), 7,75 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 14,7, 56,1, 64,4, 69,6, 70, 72,5, 80,8, 110,9, 112,5, 120,9, 122,4, 128, 141, 149,5, 150,5, 192,9 (CO). Израчунато за $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{FeO}_3$ (390,253): C, 67,71; H, 5,68; Fe, 14,31; O, 12,30%, нађено: C, 66,61; H, 5,61%.

1-Фероцил-3-(3-метокси-4-пропоксифенил)-2-пропенон (5в). Цинобер

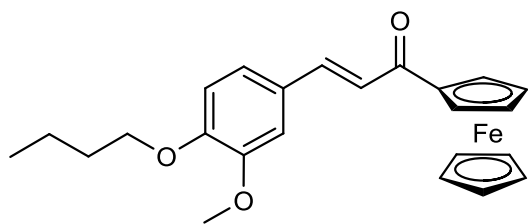
обојени кристали; Т.Т. 104-105°C; Принос: 79%; IR (KBr): 1647, 1586, 1515, 1258, 1079 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,06 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H), 1,80-1,98 (m, 2H), 3,95 (s, 3H), 4,03 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 4,21 (s, 5H), 4,57 (t, $J = 1,6$ Hz, 2H), 4,92 (t, $J = 2,0$ Hz, 2H), 6,90 (d, $J = 8,4$ Hz 1H), 6,99 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 7,14-7,27 (m, 2H), 7,75 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 10,3, 22,3, 56,2, 69,6, 70, 70,5, 72,5, 80,8, 111,2, 112,7, 120,8, 122,4, 127,9, 141, 149,6, 150,8, 192,8 (CO). Anal.: Израчунато за $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{FeO}_3$ (404,280): C, 68,33; H, 5,98; Fe, 13,81; O, 11,87%; нађено: C, 67,51; H, 5,93%.

1-Фероцил-3-(4-изопропокси-3-метоксифенил)-2-пропенон (5г). Цинобер

обојени кристали; Т.Т. 114°C; Принос: 59%; IR (KBr): 1653, 1590, 1508, 1264, 1074 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1,41 (d, $J = 6,2$ Hz, 6H), 3,94 (s, 3H), 4,21 (s, 5H), 4,57 (t, $J = 1,6$ Hz, 2H), 4,92 (t, $J = 2,0$ Hz, 2H), 6,92 (d, $J = 8,4$ Hz

1H), 6,99 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 7,15-7,26 (m, 2H), 7,75 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ 22, 56,2, 69,7, 70, 71,4, 72,5, 80,8, 111,6, 120,9, 122,2, 128,2, 129, 141, 149,6, 150,4, 192,9 (CO). Израчунато за $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{FeO}_3$ (404,280): C, 68,33; H, 5,98; Fe, 13,81; O, 11,87%; нађено: C, 67,31; H, 5,95%.

1-Фероцил-3-(4-бутоксифенил)-2-пропенон (5д). Цинобер обојени



кристали; Т.Т. 128°C; Принос: 68%; IR

(KBr): 1651, 1592, 1511, 1264, 1077 cm^{-1} ;

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 0,99 (t, J =

7,4 Hz, 3H), 1,45-1,57 (m, 2H), 1,76-1,89

(m, 2H), 3,95 (s, 3H), 4,08 (t, J = 6,8 Hz,

2H), 4,21 (s, 5H), 4,57 (t, J = 2,0 Hz, 2H), 4,92 (t, J = 2,0 Hz, 2H), 6,91 (d, J = 8,2 Hz

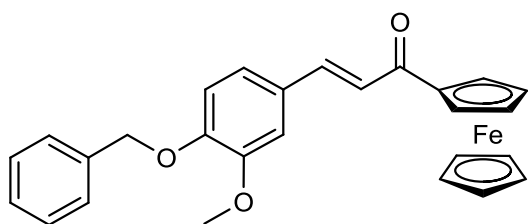
1H), 6,99 (d, J = 15,6 Hz, 1H), 7,14-7,26 (m, 2H), 7,75 (d, J = 15,6 Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$

(50 MHz, CDCl_3): δ 13,8, 31,1, 56,2, 68,7, 69,7, 70, 72,5, 80,8, 111,2, 112,7, 120,8,

122,4, 127,9, 141, 149,6, 150,8, 192,9 (CO). Израчунато за $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{FeO}_3$ (418,306): C,

68,91; H, 6,26; Fe, 13,35; O, 11,47%; нађено: C, 68,16; H, 6,23%.

1-Фероцил-3-(4-бензилокси-3-метоксифенил)-2-пропенон (5ђ). Цинобер



обојени кристали; Т.Т. 135-136°C;

Принос: 67%; IR (KBr): 1650, 1591, 1515,

1262, 1084 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (200 MHz,

CDCl_3): δ 3,97 (s, 3H), 4,20 (s, 5H), 4,57 (t,

J = 2,0 Hz, 2H), 4,91 (t, J = 2,0 Hz, 2H),

5,21 (s, 2H), 6,91 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,98 (d, J = 15,6 Hz, 1H), 7,15-7,43 (m, 7H), 7,74

(d, J = 15,6 Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): δ 56,1, 69,6, 70, 70,9, 72,5, 80,7,

111,3, 113,7, 121,1, 122,1, 127,2, 127,9, 128,5, 128,6, 136,6, 140,9, 149,8, 150,2, 192,8

(CO). Израчунато за $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{FeO}_3$ (452,323): C, 71,69; H, 5,35; Fe, 12,35; O, 10,61%;

нађено: C, 70,61; H, 5,32%.

3.5. Синтеза 2-оксо-1,2,3,4-тетрахидропиримидина

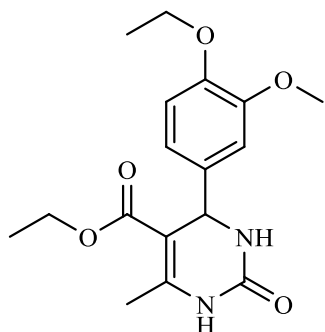
Метода 1 (хомогена катализа):

Одговарајући ванилински алдехид (1 mmol) се раствори у 5 mL етанола (за добијање производа **8б**, **8в**, и **8и** користи се 15 mL због слабе растворљивости) уз мешање. У смешу се додају уреа (0,09 g, 1,5 mmol) и етил- или метил-ацетоацетат (0,156 g или 0,139 g, 1,2 mmol), и на крају 10 mol% $(\text{PhNH}_3)_2\text{CuCl}_4$ (израчунато у односу на количину алдехида). Остави се да се меша на собној температури. Реакција се прати помоћу танкослојне хроматографије уз елуент етил-ацетат:метанол (8:2). Јавља се бели прашкасти талог, који се процеди и испере са малим порцијама хладног етанола и метилен-хлорида и суши на 100°C. Том приликом се добија јако чист жељени производ без накнадне рекристализације.

Метода 2 (хетерогена катализа-без растварача):

Одговарајући ванилински алдехид (1 mmol), уреа (0,09 g, 1,5 mmol), етил- или метил-ацетоацетат (0,169 g или 0,151 g, 1,3 mmol), и 10 mol% катализатора се добро хомогенизују у авану. Смеша се остави да одстоји на собној температури 1-5h. Реакција се прати помоћу танкослојне хроматографије уз елуент етил-ацетат:метанол (8:2). Када се реакција заврши, смеша у авану постаје прашкаста и светло-жуте боје. Добијена прашкаста супстанца се испере са малим порцијама етанола, метилен-хлорида и на крају са водом и суши на 100°C. Том приликом се добија јако чист жељени производ без накнадне рекристализације.

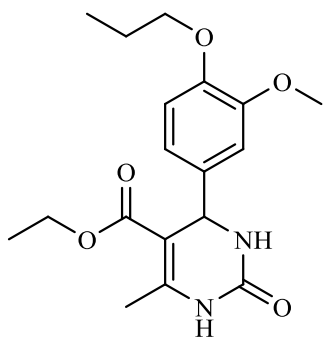
Етил 6-метил-2-оксо-4-(4'-етокси-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-тетрахидропиримидин-5-карбоксилат (8г). Бела игличаста



супстанца; Принос: 86 (без растварача = 89)%. Т.Т. 207-208°C. IR (KBr): 3248, 3117, 2976, 2934, 1724, 1706, 1658, 1607, 1519, 1477, 1464, 1242, 1227 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 1,11 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz, CH_3), 1,29 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz, CH_3), 2,25 (s, 3H, CH_3), 3,72 (s, 3H, OCH_3), 3,90-4,05 (m, 4H, $2 \times \text{CH}_2$), 5,10 (d, 1H, $J = 3,2$ Hz, H-4), 6,68-6,89 (m, 3H, Ar-H), 7,69 (br. s, 1H, NH), 9,16 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 14,3, 14,9, 17,9, 53,7, 55,6, 59,4, 63,9, 99,6, 110,9, 113,1,

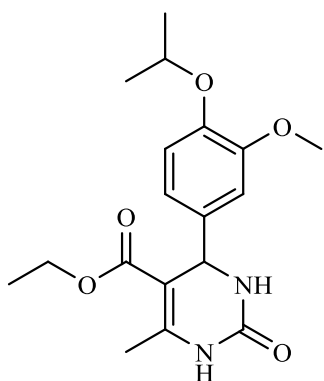
118,1, 137,6, 147,4, 148,3, 148,9, 152,4, 165,6; MS (70 eV) m/z 334 ($[M]^+$, 50%). Израчунато за $C_{17}H_{22}N_2O_5$: C, 61,06; H, 6,63; N, 8,37%; нађено: C, 60,94; H, 6,53; N, 8,45%.

Етил 6-метил-2-оксо-4-(3'-метокси-4'-пропоксифенил)-1,2,3,4-тетрахидропиримидин-5-карбоксилат (8д). Бела прашкаста супстанца; Принос: 89 (без растварача = 93)%. Т.Т. 185-186°C. IR (KBr): 3252, 3122, 2967, 2937, 2904, 1720, 1706, 1653, 1607, 1592, 1517, 1259, 1224 cm^{-1} ; 1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 0,94 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, CH₃), 1,11 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz, CH₃), 1,64-1,74 (m, 2H, CH₂), 2,24 (s, 3H, CH₃), 3,72 (s, 3H, OCH₃), 3,85 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz, CH₂),

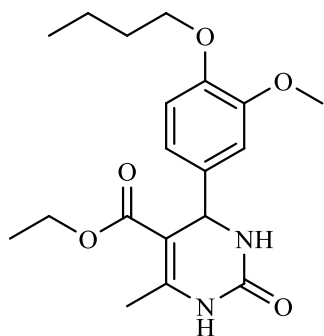


3,94-4,04 (q, 2H, CH₂), 5,10 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz, H-4), 6,68-6,89 (m, 3H, Ar-H), 7,69 (br. s, 1H, NH), 9,16 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 10,6, 14,3, 17,9, 22,3, 53,7, 55,8, 59,4, 70, 99,7, 111, 113,3, 118,2, 137,6, 147,7, 148,3, 148,9, 152,5, 165,7; MS (70 eV) m/z 348 ($[M]^+$, 60%). Израчунато за $C_{18}H_{24}N_2O_5$: C, 62,05; H, 6,94; N, 8,4%; нађено: C, 61,91; H, 6,97; N, 8,14%.

Етил 6-метил-2-оксо-4-(4'-изопропокси-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-тетрахидропиримидин-5-карбоксилат (8ђ). Бела игличаста супстанца; Принос: 84 (без растварача = 90)%. Т.Т. 201-202°C. IR (KBr): 3345, 3209, 3102, 2973, 2987, 1702, 1673, 1647, 1589, 1504, 1328, 1236, 1090 cm^{-1} ; 1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 1,11 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz, CH₃), 1,21 (d, 6H, $J = 6,0$ Hz, 2xCH₃), 2,24 (s, 3H, CH₃), 3,71 (s, 3H, OCH₃), 3,94-4,05 (q, 2H, CH₂), 4,44-4,49 (m, 1H, CH), 5,09 (d, 1H, $J = 3,2$ Hz, H-4), 6,68-6,91 (m, 3H, Ar-H), 7,69 (br. s, 1H, NH), 9,18 (br. d, 1H, $J = 1,6$ Hz, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 14,3, 17,9, 22,1, 53,7, 55,7, 59,3, 70,6, 99,6, 111,3, 115,8, 118,2, 137,9, 146,2, 148,3, 149,9, 152,5, 165,6; MS (70 eV) m/z 348 ($[M]^+$, 36%). Израчунато за $C_{18}H_{24}N_2O_5$: C, 62,05; H, 6,4; N, 8,04%; нађено: C, 62,10; H, 6,98; N, 8,10%.

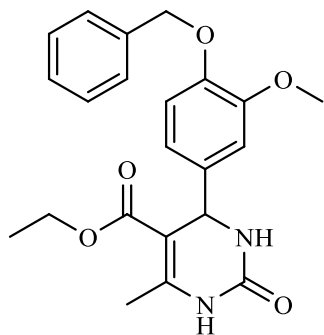


**Етил 6-метил-2-оксо-4-(4'-бутокси-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-тетрахидро-
пиримидин-5-карбоксилат (8е).**

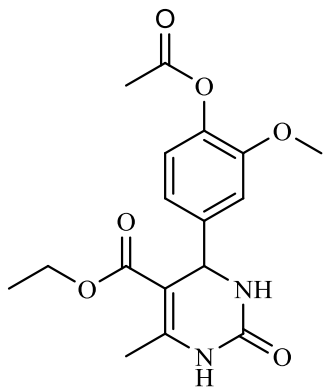


Бела прашкаста супстанца; Принос: 73 (без растварача = 91)%. Т.Т. 154-155°C. IR (KBr): 3251, 3121, 2961, 2936, 1725, 1708, 1658, 1518, 1258, 1239, 1097, 1089 cm^{-1} . ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 0,91 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, CH_3), 1,11 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz, CH_3), 1,35-1,46 (m, 2H, CH_2), 1,62-1,69 (m, 2H, CH_2), 2,24 (s, 3H, CH_3), 3,72 (s, 3H, OCH_3), 3,87-4,05 (m, 4H, 2x CH_2), 5,09 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz, H-4), 6,68-6,90 (m, 3H, Ar-H), 7,68 (br. s, 1H, NH), 9,16 (br.s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 13,8, 14,3, 17,9, 18,9, 31, 53,7, 55,7, 59,3, 68,1, 99,6, 111, 113,3, 118,2, 137,6, 147,7, 148,2, 148,9, 152,4, 165,6; MS (70 eV) m/z 362 ($[\text{M}]^+$, 60%). Израчунато за $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 62,96; H, 7,23; N, 7,72%; нађено: C, 62,98; H, 7,29; N, 7,76%.

**Етил-6-метил-2-оксо-4-(4'-бензилокси-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-тетрахидро-
пиримидин-5-карбоксилат (8ж).**

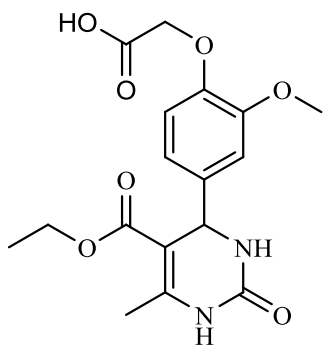


Бела прашкаста супстанца; Принос: 88 (без растварача = 90)%. Т.Т. 191-192°C. IR (KBr): 3358, 3244, 3117, 3020, 2982, 2937, 1702, 1654, 1513, 1280, 1227, 1095 cm^{-1} . ^1H NMR (200MHz, DMSO- d_6): δ 1,11 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, CH_3), 2,25 (s, 3H, CH_3), 3,74 (s, 3H, OCH_3), 3,94-4,05 (q, 2H, CH_2), 5,04 (s, 2H, CH_2), 5,11 (d, 1H, $J = 3,2$ Hz, H-4), 6,69-6,99 (m, 3H, Ar-H), 7,31-7,44 (m, 5H, Ar-H), 7,69 (br. s, 1H, NH), 9,17 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 14,3, 17,9, 53,7, 55,7, 59,3, 70,2, 99,6, 111, 113,8, 118,1, 127,8, 127,9, 128,6, 137,4, 138, 147,2, 148,3, 149,1, 152,4, 165,6; MS (70 eV) m/z 396 ($[\text{M}]^+$, 14%). Израчунато за $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 66,65; H, 6,10; N, 7,06%; нађено: C, 66,69; H, 6,18; N, 7,16%.

Етил 6-метил-2-оксо-4-(4'-ацетокси-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-тетрахидро-

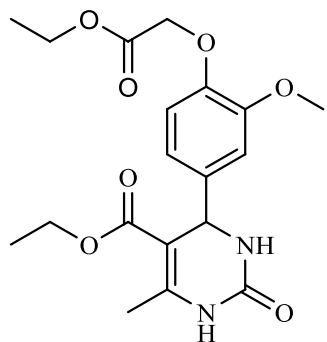
пиримидин-5-карбоксилат (83). Бела прашкаста супстанца; Принос: 81 (без растварача = 86)%. Т.Т. 185-187°C. IR (KBr): 3243, 3109, 2984, 2938, 1772, 1701, 1654, 1511, 1283, 1229, 1095, 1034 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 1,12 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz, CH_3), 2,25 (d, 6H, $J = 5,0$ Hz, CH_3 , COCH_3), 3,74 (s, 3H, OCH_3), 3,96-4,07 (q, 2H, CH_2), 5,17 (d, 1H, $J = 3,2$ Hz, H-4), 6,76-7,05 (m, 3H, Ar-H), 7,79 (br. s, 1H, NH), 9,24 (br. s, 1H, NH),

^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 14,3, 18,0, 20,5, 53,9, 55,8, 59,5, 99,2, 111,2, 117,9, 122,9, 138,6, 143,9, 148,8, 150,7, 152,4, 165,6, 168,8; MS (70 eV) m/z 348 ($[\text{M}]^+$, 10%). Израчунато за $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_6$: C, 58,61; H, 5,78; N, 8,04%; нађено: C, 58,67; H, 5,84; N, 8,10%.

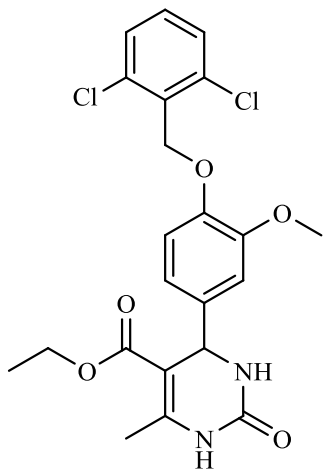
Етил 6-метил-2-оксо-4-(4'-карбоксиметилокси-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-

-тетрахидропиримидин-5-карбоксилат (8ii). Бела прашкаста супстанца; Принос: 94 (без растварача = 93)%. Т.Т. 191-192°C. IR (KBr): 3277, 3115, 2980, 2940, 2727, 2548, 1755, 1702, 1640, 1517, 1454, 1261, 1224, 1145, 1085 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 1,12 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz, CH_3), 2,24 (s, 3H, CH_3), 3,74 (s, 3H, OCH_3), 3,95-4,05 (q, 2H, CH_2), 4,62 (s, 2H, CH_2), 5,10 (d,

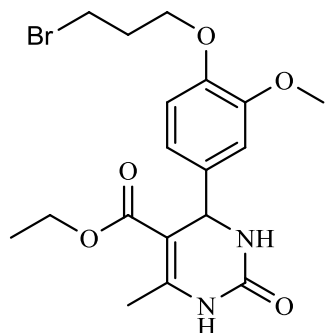
1H, $J = 3,2$ Hz, H-4), 6,66-6,87 (m, 3H, Ar-H), 7,69 (br. s, 1H, NH), 9,16 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 14,4, 17,9, 53,7, 55,8, 59,5, 65,3, 99,6, 111,2, 113,5, 118,1, 138,4, 146,7, 148,4, 148,8, 152,5, 165,7, 170,4; MS (70 eV) m/z 363 ($[\text{M}]^+$, 44%). Израчунато за $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_7$: C, 56,04; H, 5,53; N, 7,69%; нађено: C, 56,08; H, 5,61; N, 7,75%.

Етил 6-метил-2-оксо-4-(4'-етоксикарбонил-метилокси-3'-метоксифенил)-**-1,2,3,4-тетрахиdropиридин-5-карбоксилат (8j).**

Бела прашкаста супстанца; Принос: 90 (без растварача = 95)%. Т.Т. 177-179°C. IR (KBr): 3247, 3120, 2981, 2963, 2935, 1761, 1744, 1704, 1654, 1518, 1284, 1225, 1094 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 1,02-1,23 (m, 6H, 2xCH₃), 2,24 (s, 3H, CH₃), 3,74 (s, 3H, OCH₃), 3,94-4,05 (q, 2H, CH₂), 4,09-4,19 (q, 2H, CH₂), 4,72 (s, 2H, OCH₂CO), 5,10 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz, H-4), 6,65-6,88 (m, 3H, Ar-H), 7,72 (br. s, 1H, NH), 9,19 (br. s, 1H, NH), ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 14,2, 14,3, 17,9, 53,7, 55,8, 59,4, 60,8, 65,6, 99,5, 111,2, 113,8, 118, 138,7, 146,5, 148,4, 148,9, 152,4, 165,6, 168,9; MS (70 eV) m/z 392 ($[\text{M}]^+$, 35%). Израчунато за C₁₉H₂₄N₂O₇: C, 58,15; H, 6,16; N, 7,14%; нађено: C, 58,20; H, 6,18; N, 7,16%.

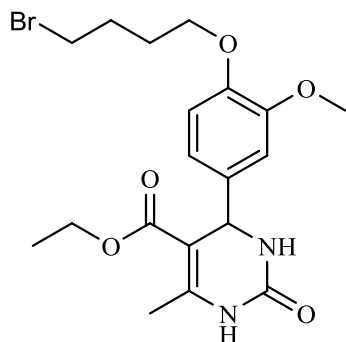
Етил 6-метил-2-оксо-4-(4'-(2'',6''-дихлоробензилокси)-3'-метоксифенил)-**-1,2,3,4-тетрахиdropиридин-5-карбоксилат (8к).**

Бела прашкаста супстанца; Принос: 82 (без растварача = 77)%. Т.Т. 231-233°C. IR (KBr): 3243, 3127, 2939, 2937, 1723, 1707, 1659, 1515, 1259, 1227 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 1,11 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, CH₃), 2,25 (s, 3H, CH₃), 3,69 (s, 3H, OCH₃), 3,95-4,06 (q, 2H, CH₂), 5,12 (d, 1H, $J = 3,2$ Hz, H-4), 5,17 (s, 2H, CH₂), 6,72-7,11 (m, 3H, Ar-H), 7,46-7,56 (m, 3H, Ar-H), 7,71 (br. s, 1H, NH), 9,18 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 14,4, 17,9, 53,7, 55,7, 59,4, 65,8, 99,6, 111,1, 113,9, 118,2, 128,9, 131,8, 132,1, 136,4, 138,6, 147,3, 148,4, 149,1, 152,4, 165,7; MS (70 eV): m/z 488 ($[\text{M}^+ + \text{Na}]$, 44%). Израчунато за C₂₂H₂₂Cl₂N₂O₅: C, 56,78; H, 4,77; N, 6,02%; нађено: C, 56,73; H, 4,73; N, 6,01%.

Етил 6-метил-2-оксо-4-(4'-(3''-бромопропокси)-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-

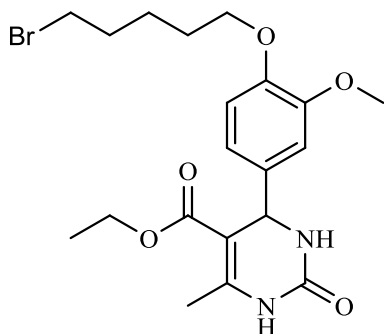
-тетрахидропиримидин-5-карбоксилат (8л). Бела

прашката супстанца; Принос: 87 (без растварача = 82)%. Т.Т. 155-157°C. IR (KBr): 3240, 3112, 2942, 1726, 1701, 1651, 1519, 1465, 1259, 1221 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 1,11 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz, CH_3), 2,18-2,24 (m, 5H, $\text{CH}_3\text{C}-6$, CH_2), 3,64 (t, 2H, $J = 6,4$ Hz, CH_2), 3,73 (s, 3H, OCH_3), 3,94-4,05 (m, 4H, $2 \times \text{CH}_2$), 5,10 (d, 1H, $J = 3,2$ Hz, H-4), 6,69-6,94 (m, 3H, Ar-H), 7,68 (br. s, 1H, NH), 9,17 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 14,3, 17,9, 31,4, 32,2, 53,7, 55,8, 59,4, 66,5, 99,6, 111,1, 113,8, 118,2, 138,1, 147,2, 148,3, 149,1, 152,4, 165,6; MS (70 eV): m/z 450 ($[\text{M}^+ + \text{Na}]$; 21%). Израчунато за $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{BrN}_2\text{O}_5$: C, 50,60; H, 5,43; N, 6,56%; нађено: C, 50,56; H, 5,34; N, 6,51%.

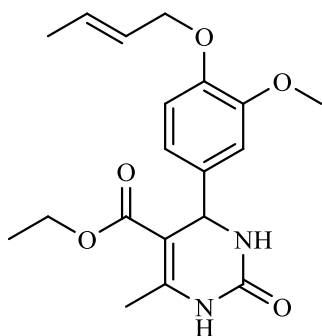
Етил 6-метил-2-оксо-4-(4'-(4''-бромобутокси)-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-

-тетрахидропиримидин-5-карбоксилат (8љ). Бела

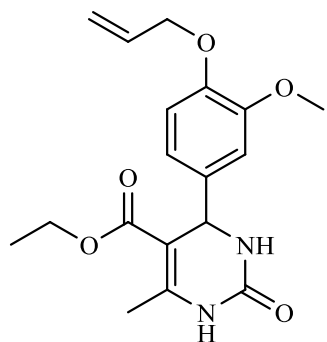
прашката супстанца; Принос: 76 (без растварача = 88)%. Т.Т. 137-139°C. IR (KBr): 3240, 3114, 2951, 1702, 1651, 1513, 1473, 1250, 1223 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 1,11 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, CH_3), 1,79-1,98 (m, 4H, $2 \times \text{CH}_2$), 2,24 (s, 3H, CH_3), 3,59 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz, CH_2), 3,72 (s, 3H, OCH_3), 3,91-4,04 (m, 4H, $2 \times \text{CH}_2$), 5,09 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz, H-4), 6,68-6,91 (m, 3H, Ar-H), 7,68 (br. s, 1H, NH), 9,15 (br.s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 14,3, 17,9, 27,6, 29,3, 34,9, 53,6, 55,7, 59,3, 67,7, 99,6, 111, 113,5, 118,2, 137,8, 147,4, 148,3, 148,9, 152,4, 165,6; MS (70 eV): m/z 464 ($[\text{M}^+ + \text{Na}]$, 14%). Израчунато за $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{BrN}_2\text{O}_5$: C, 51,71; H, 5,71; N, 6,35%; нађено: C, 51,63; H, 5,70; N, 6,29%.

Етил 6-метил-2-оксо-4-(4'-(4''-бромопентилокси)-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-**-тетрахиdropириимидин-5-карбоксилат (8м).**

Бела прашкаста супстанца; Принос: 80 (без растварача = 83)%. Т.Т. 126-128°C. IR (KBr): 3248, 3105, 2939, 1702, 1654, 1515, 1465, 1257, 1225 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz DMSO- d_6): δ 1,11 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz, CH_3), 1,46-1,58 (m, 2H, CH_2), 1,65-1,89 (m, 4H, CH_2), 2,24 (s, 3H, CH_3), 3,54 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz, CH_2), 3,72 (s, 3H, OCH_3), 3,87-4,05 (m, 4H, $2 \times \text{CH}_2$), 5,09 (d, 1H, $J = 3,4$ Hz, H-4), 6,68-6,91 (m, 3H, Ar-H), 7,69 (br. s, 1H, NH), 9,16 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz DMSO- d_6): δ 14,3, 17,9, 24,5, 28,1, 32,1, 32,2, 35,2, 53,7, 55,8, 59,4, 68,4, 99,6, 111,1, 113,4, 118,2, 137,7, 147,6, 148,3, 148,9, 152,4, 165,6; MS (70 eV): m/z 478 ($[\text{M}^+ + \text{Na}]$, 10%). Израчунато за $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{BrN}_2\text{O}_5$: C, 52,75; H, 5,98; N, 6,15%; нађено C, 52,67; H, 5,89; N, 6,05%.

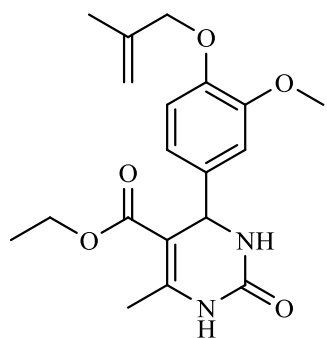
Етил 6-метил-2-оксо-4-(4'-(бут-2''-енилокси)-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-**-тетрахиdropириимидин-5-карбоксилат (8н).**

Бела прашкаста супстанца; Принос: 89 (без растварача = 86)%. Т.Т. 172-173°C. IR (KBr): 3248, 3113, 2935, 1723, 1707, 1515, 1463, 1259, 1227, 1094 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 1,11 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz, CH_3), 1,68 (d, 3H, $J = 6,0$ Hz, CH_3), 2,24 (s, 3H, CH_3), 3,71 (s, 3H, OCH_3), 3,94-4,05 (q, 4H, $2 \times \text{CH}_2$), 4,41 (d, 1H, $J = 5,4$ Hz, CH), 4,55 (d, 1H, $J = 4,0$ Hz, CH), 5,09 (d, 1H, $J = 3,2$ Hz, H-4), 5,69-5,79 (m, 2H, CH_2), 6,67-6,91 (m, 3H, Ar-H), 7,68 (br. s, 1H, NH), 9,16 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 14,3, 17,7, 17,9, 53,7, 55,7, 59,4, 68,9, 99,6, 110,9, 113,5, 118,1, 126,8, 129,8, 137,7, 147,2, 148,3, 148,9, 152,4, 165,6; MS (70 eV): m/z 383 ($[\text{M}^+ + \text{Na}]$, 21%). Израчунато за $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 63,32; H, 6,71; N, 7,77%; нађено: C, 63,25; H, 6,64; N, 7,75%.

Етил 6-метил-2-оксо-4-(4'(алилокси)-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-тетрахидро-

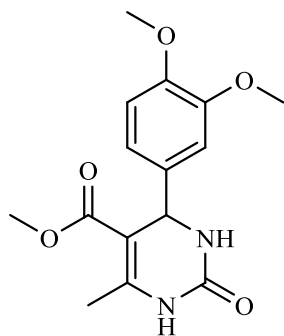
пиридин-5-карбоксилат (8н). Бела прашкаста

супстанца; Принос: 71 (без растварања = 76)%. Т.Т. 171-173°C. IR (KBr): 3241, 3107, 2936, 1702, 1654, 1516, 1282, 1224, 1136, 1094 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 1,11 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz, CH_3), 2,24 (s, 3H, CH_3), 3,73 (s, 3H, OCH_3), 3,94-4,05 (q, 4H, $2 \times \text{CH}_2$), 4,51 (d, 2H, $J = 5,2$ Hz, CH_2), 5,09 (d, 1H, $J = 3,2$ Hz, H-4), 5,20-5,41 (m, 2H, CH_2), 5,94-6,09 (m, 1H, CH), 6,68-6,92 (m, 3H, Ar-H), 7,69 (br. s, 1H, NH), 9,17 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 14,3, 17,9, 53,7, 55,7, 59,3, 69,2, 99,6, 111, 113,8, 117,6, 118,1, 134,1, 137,9, 147, 148,3, 148,9, 152,4, 165,6; MS (70 eV): m/z 369 ($[\text{M}^+ + \text{Na}]$, 12%). Израчунато за $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 62,42; H, 6,40; N, 8,09%; нађено: C, 62,36; H, 6,38; N, 8,01%.

Етил 6-метил-2-оксо-4-(3'-метокси-4'-(2''-металилокси)фенил)-1,2,3,4-

-тетрахидропиридин-5-карбоксилат (8о). Бела

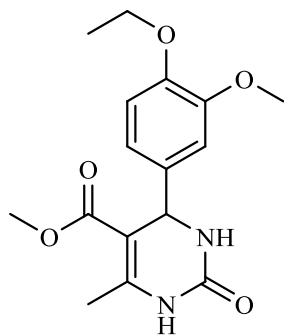
прашкаста супстанца; Принос: 80 (без растварања = 89)%. Т.Т. 195-197°C. IR (KBr): 3242, 3107, 2935, 1702, 1654, 1516, 1282, 1226, 1134, 1094 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 1,11 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz, CH_3), 1,74 (s, 3H, CH_3), 2,24 (s, 3H, CH_3), 3,73 (s, 3H, OCH_3), 3,94-4,05 (q, 2H, CH_2), 4,41 (s, 2H, CH_2), 4,92-5,03 (m, 2H, CH_2), 5,09 (d, 1H, $J = 3,2$ Hz, H-4), 6,67-6,91 (m, 3H, Ar-H), 7,69 (br. s, 1H, NH), 9,17 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 14,3, 17,9, 19,4, 53,7, 55,8, 59,4, 71,9, 99,6, 111,2, 112,5, 113,9, 118,1, 137,9, 141,2, 147,2, 148,3, 149, 152,4, 165,6; MS (70 eV): m/z 383 ($[\text{M}^+ + \text{Na}]$, 15%). Израчунато за $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 63,32; H, 6,71; N, 7,77%; нађено: C, 63,25; H, 6,65; N, 7,75%.

Метил 6-метил-2-оксо-4-(3',4'-диметоксифенил)-1,2,3,4-тетрахидропири-

мидин-5-карбоксилат (8a'). Бела прашкаста супстанца;

Принос: 90 (без растварача = 78)%. Т.Т. 180-182°C. IR (KBr): 3250, 3112, 2954, 1710, 1698, 1647, 1608, 1520, 1463, 1424, 1241, 1223, 1092 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 2,25 (s, 3H, CH_3), 3,54 (s, 3H, OCH_3), 3,72 (d, 6H, $J = 1,6$ Hz, 2x OCH_3), 5,10 (d, 1H, $J = 3,4$ Hz, H-4), 6,68–6,90 (m, 3H, Ar-H), 7,70 (br. s, 1H, NH), 9,19 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR

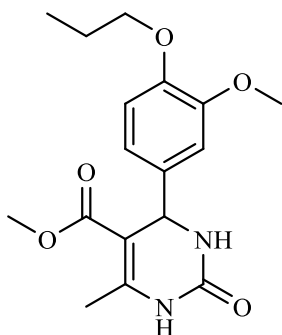
(50 MHz, DMSO- d_6): δ 17,9, 50,9, 53,6, 55,6, 55,8, 99,3, 110,7, 112, 118, 137,3, 148,3, 148,6, 148,8, 152,4, 166,1; MS (70 eV): m/z 306 ($[\text{M}]^+$, 34%). Израчунато за $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 58,82; H, 5,92; N, 9,15%; нађено: C, 58,74; H, 5,85; N, 9,05%.

Метил 6-метил-2-оксо-4-(4'-етокси-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-тетрахидро-

пиридин-5-карбоксилат (8b'). Бела прашкаста

супстанца; Принос: 88 (без растварача = 93)%. Т.Т. 202-204°C. IR (KBr): 3247, 3117, 2962, 1720, 1702, 1652, 1518, 1462, 1260, 1225, 1094 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 1,29 (t, 3H, $J = 6,8$ Hz, CH_3), 2,25 (s, 3H, CH_3), 3,54 (s, 3H, OCH_3), 3,72 (s, 3H, OCH_3), 3,90-4,01 (q, 2H, CH_2), 5,09 (d, 1H, $J = 3,2$ Hz, H-4), 6,66–6,89 (m, 3H, Ar-H), 7,70 (br. s, 1H,

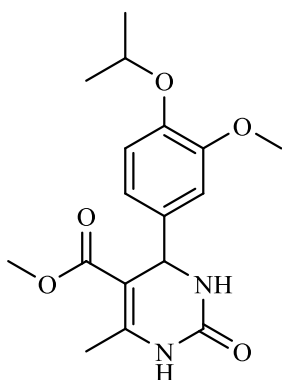
NH), 9,19 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 14,9, 17,9, 50,9, 53,5, 55,6, 63,9, 99,3, 110,8, 113,1, 117,9, 137,3, 147,4, 148,6, 148,9, 152,4, 166,1; MS (70 eV): m/z 320 ($[\text{M}^+ + 23]$, 22%). Израчунато за $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 59,99; H, 6,29; N, 8,74%; нађено: C, 59,97; H, 6,24; N, 8,70%.

Метил 6-метил-2-оксо-4-(3'-метокси-4'-пропоксифенил)-1,2,3,4-тетрахидро-

пириимидин-5-карбоксилат (8в'). Бела прашкаста

супстанца; Принос: 81 (без растварача = 85)%. Т.Т. 198-199°C. IR (KBr): 3242, 3112, 2950, 1702, 1650, 1609, 1513, 1454, 1250, 1226, 1088 cm^{-1} , ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 0,95 (t, 3H, $J = 7,4$ Hz, CH_3), 1,64-1,75 (m, 2H, CH_2), 2,25 (s, 3H, CH_3), 3,54 (s, 3H, OCH_3), 3,72 (s, 3H, OCH_3), 3,86 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz, CH_2), 5,09 (d, 1H, $J = 3,4$ Hz, H-4), 6,66–6,89

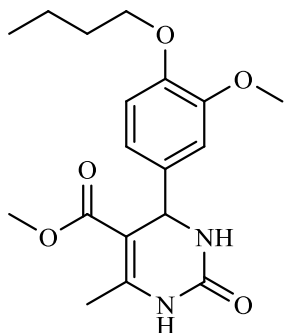
(m, 3H, Ar-H), 7,69 (br. s, 1H, NH), 9,18 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 10,6, 17,9, 22,3, 50,9, 53,6, 55,8, 69,9, 99,3, 111, 113,3, 118,1, 137,3, 147,7, 148,6, 149, 152,4, 166,1; MS (70 eV): m/z 334 ($[\text{M}]^+$, 41%). Израчунато за $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 61,07; H, 6,63; N, 8,38%; нађено: C, 60,97; H, 6,56; N, 8,33%.

Метил 6-метил-2-оксо-4-(4'-изопропокси-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-тетра-

хидропириимидин-5-карбоксилат (8г'). Бела прашкаста

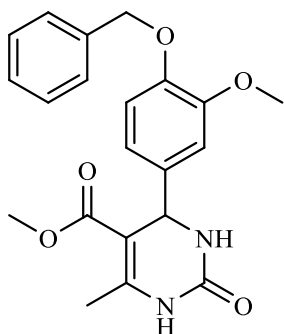
супстанца; Принос: 73 (без растварача = 90)%. Т.Т. 188-189°C. IR (KBr): 3248, 3114, 2949, 1723, 1652, 1611, 1511, 1448, 1263, 1225, 1100 cm^{-1} ; ^1H NMR (DMSO- d_6): δ 1,22 (d, 6H, $J = 6,0$ Hz, 2x CH_3), 2,25 (s, 3H, CH_3), 3,55 (s, 3H, OCH_3), 3,72 (s, 3H, OCH_3), 4,41-4,53 (m, 1H, CH), 5,09 (d, 1H, $J = 3,4$ Hz, H-4), 6,66–6,89 (m, 3H, Ar-H), 7,69 (br. s, 1H, NH), 9,19 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (DMSO- d_6): δ 17,9, 22,1, 50,9,

53,5, 55,7, 70,6, 99,3, 111,2, 115,7, 118, 137,7, 146,2, 148,6, 149,9, 152,4, 166,1; MS (70 eV): m/z 357 ($[\text{M}^+ + \text{Na}]$, 32%). Израчунато за $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 61,07; H, 6,63; N, 8,38%; нађено: C, 60,97; H, 6,60; N, 8,37%.

Метил 6-метил-2-оксо-4-(4'-бутоксо-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-тетраhydro-

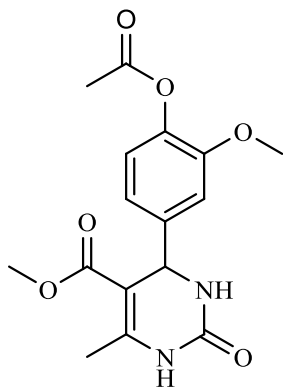
пиримидин-5-карбоксилат (8д'). Бела прашкаста

супстанца; Принос: 76 (без растварача = 85)%. Т.Т. 153-154°C. IR (KBr): 3252, 3118, 2961, 1720, 1658, 1610, 1519, 1437, 1255, 1227, 1085 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 0,91 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, CH_3), 1,35-1,46 (m, 2H, CH_2), 1,63-1,69 (m, 2H, CH_2), 2,25 (s, 3H, CH_3), 3,54 (s, 3H, OCH_3), 3,72 (s, 3H, OCH_3), 3,89 (t, 2H, $J = 6,4$ Hz, CH_2), 5,09 (d, 1H, $J = 3,4$ Hz, H-4), 6,66-6,89 (m, 3H, Ar-H), 7,69 (br. s, 1H, NH), 9,19 (br.s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 13,8, 17,9, 18,9, 31, 50,9, 53,5, 55,8, 68,1, 99,3, 111, 113,3, 118,1, 137,3, 147,7, 148,6, 149, 152,4, 166,1; MS (70 eV): m/z 371 ($[\text{M}^+ + \text{Na}]$, 28%). Израчунато за $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 62,05; H, 6,94; N, 8,04%; нађено: C, 61,96; H, 6,88; N, 8,02%.

Метил 6-метил-2-оксо-4-(4'-бензилокси-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-тетра-

хидропиримидин-5-карбоксилат (8ђ'). Бела прашкаста

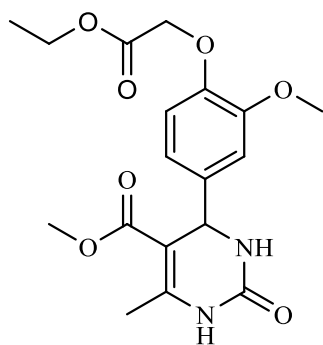
супстанца; Принос: 87 (без растварача = 90)%. Т.Т. 199-200°C. IR (KBr): 3300, 3010, 2950, 1701, 1664, 1647, 1512, 1437, 1350, 1224, 1081 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 2,26 (s, 3H, CH_3), 3,54 (s, 3H, OCH_3), 3,74 (s, 3H, OCH_3), 5,04 (s, 2H, CH_2), 5,11 (d, 1H, $J = 3,4$ Hz, H-4), 6,67-6,98 (m, 3H, Ar-H), 7,38-7,41 (m, 5H, Ar-H), 7,69 (br. s, 1H, NH), 9,20 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 17,9, 50,9, 53,6, 55,7, 70,2, 99,2, 111, 113,8, 117,9, 127,8, 127,9, 128,6, 137,4, 137,8, 137,9, 147,3, 148,6, 149,1, 152,4, 166,1; MS (70 eV): m/z 382 ($[\text{M}]^+$, 24%). Израчунато за $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 65,96; H, 5,80; N, 7,33%; нађено: C, 65,95; H, 5,71; N 7,28%.

Метил 6-метил-2-оксо-4-(4'-ацетокси-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-тетрахидро-

пиримидин-5-карбоксилат (8e'). Бела прашкаста супстанца;

Принос: 91 (без растварача = 92)%. Т.Т. 208-210°C. IR (KBr): 3225, 3100, 2961, 1765, 1700, 1647, 1509, 1453, 1264, 1218, 1083, cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 2,25 (d, 6H, $J = 6,0$ Hz, CH_3 , COCH_3), 3,56 (s, 3H, OCH_3), 3,74 (s, 3H, OCH_3), 5,17 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz, H-4), 6,75–7,05 (m, 3H, Ar-H), 7,79 (br. s, 1H, NH), 9,26 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 18, 20,5, 51, 53,7, 55,8, 98,9, 111,2, 117,8, 122,9, 138,6,

143,6, 149,1, 150,8, 152,3, 166, 168,7; MS (70 eV): m/z 357 ($[\text{M}^+ + \text{Na}]$, 14%). Израчунато за $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$: C, 57,48; H, 5,43; N, 8,38%; нађено: C, 57,39; H, 5,41; N, 8,33%.

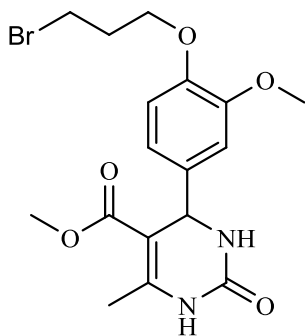
Метил 6-метил-2-оксо-4-(4'-етоксикарбонил-метилокси-3'-метоксифенил)-

-1,2,3,4-тетрахидропиримидин-5-карбоксилат (8z').

Бела прашкаста супстанца; Принос: 92 (без растварача = 95)%. Т.Т. 194-195°C. IR (KBr): 3320, 3210, 3100, 2952, 1761, 1700, 1664, 1512, 1354, 1247, 1093 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 1,19 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, CH_3), 2,25 (s, 3H, CH_3), 3,54 (s, 3H, OCH_3), 3,75 (s, 3H, OCH_3), 4,09-4,20 (q, 2H, CH_2), 4,71 (s, 2H, CH_2), 5,10 (d, 1H, $J = 3,4$

Hz, H-4), 6,65-6,89 (m, 3H, Ar-H), 7,70 (br. s, 1H, NH), 9,20 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 14,2, 17,9, 50,9, 53,5, 55,8, 60,7, 65,6, 99,2, 111,2, 113,9, 117,9, 138,4, 146,5, 148,7, 148,9, 152,4, 166, 168,9; MS (70 eV): m/z 378 ($[\text{M}]^+$, 20%). Израчунато за $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_7$: C, 57,14; H, 5,86; N, 7,40%; нађено: C, 57,08; H, 5,80; N, 7,35%.

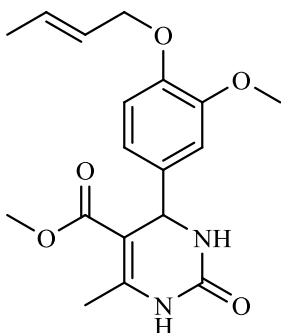
Метил 6-метил-2-оксо-4-(4'-(3''-бромпропокси)-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-



-тетрахидропиридин-5-карбоксилат (83'). Бела прашкаста супстанца; Принос: 96 (без растварача = 67)%. Т.Т. 157-158°C. IR (KBr): 3227, 3100, 2948, 1704, 1650, 1519, 1447, 1225, 1098 cm^{-1} , ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 2,18-2,25 (m, 5H, $\text{CH}_3\text{C}-6$, CH_2), 3,54 (s, 3H, OCH_3), 3,65 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz, CH_2), 3,73 (s, 3H, OCH_3), 4,03 (t, 2H, $J = 6,0$ Hz, CH_2), 5,10 (d, 1H, $J = 3,2$ Hz, H-4), 6,67–

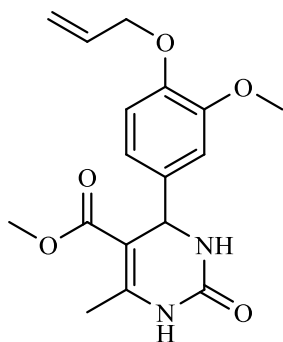
6,94 (m, 3H, Ar-H), 7,69 (br. s, 1H, NH), 9,19 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 17,9, 31,4, 32,2, 50,9, 53,5, 55,8, 66,5, 99,2, 111, 113,8, 118, 137,9, 147,2, 148,6, 149,1, 152,4, 166, MS (70 eV): m/z 414 ($[\text{M}]^+$, 17%). Израчунато за $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{BrN}_2\text{O}_5$: C, 49,41; H, 5,12; N, 6,78%; нађено: C, 49,34; H, 5,05; N, 6,75%.

Метил 6-метил-2-оксо-4-(4'-(бут-2''-енилокси)-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-

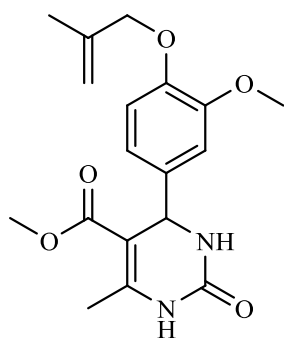


-тетрахидропиридин-5-карбоксилат (8и'). Бела прашкаста супстанца; Принос: 83 (без растварача = 71)%. Т.Т. 195-196°C. IR (KBr): 3225, 3110, 2960, 1702, 1663, 1512, 1462, 1253, 1225, 1087 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 1,68 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz, CH_3), 2,25 (s, 3H, CH_3), 3,54 (s, 3H, OCH_3), 3,72 (s, 3H, OCH_3), 4,41 (d, 1H, $J = 5,6$ Hz, CH), 4,55 (d, 1H, $J = 5,8$ Hz, CH), 5,09 (d, 1H, $J = 3,2$ Hz,

H-4), 5,65–5,79 (m, 2H, CH_2), 6,65-6,92 (m, 3H, Ar-H), 7,69 (br. s, 1H, NH), 9,18 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 17,6, 17,9, 50,9, 53,5, 55,6, 68,9, 99,3, 110,9, 113,5, 117,9, 126,2, 126,8, 128,3, 129,7, 137,4, 147,2, 148,6, 149, 152,4, 166,1; MS (70 eV): m/z 369 ($[\text{M}^+ + \text{Na}]$, 49%). Израчунато за $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 62,42; H, 6,40; N, 8,09%; нађено: C, 62,33; H, 6,35; N, 8,01%.

Метил 6-метил-2-оксо-4-(4'-(алилокси)-3'-метоксифенил)-1,2,3,4-тетра-

хидропириимидин-5-карбоксилат (8j'). Бела прашкаста супстанца; Принос: 80 (без растварача = 91)%. Т.Т. 180-181°C. IR (KBr): 3248, 3102, 2946, 1725, 1700, 1654, 1511, 1425, 1287, 1226, 1085 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 2,25 (s, 3H, CH₃), 3,54 (s, 3H, OCH₃), 3,73 (s, 3H, OCH₃), 4,48-4,53 (dt, 2H, CH₂), 5,10 (d, 1H, $J = 3,2$ Hz, H-4), 5,25-5,41 (m, 2H, CH₂), 5,95-6,09 (m, 1H, CH), 6,66-6,91 (m, 3H, Ar-H), 7,69 (br. s, 1H, NH), 9,19 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 17,9, 50,9, 53,5, 55,7, 69,2, 99,3, 111, 113,8, 117,6, 117,9, 134,1, 137,7, 147,1, 148,6, 149,1, 152,4, 166,1; MS (70 eV): m/z 332 ($[\text{M}]^+$, 45%). Израчунато за C₁₇H₂₀N₂O₅: C, 61,44; H, 6,07; N, 8,43%; нађено: C, 61,39; H, 5,98; N, 8,36%.

Метил 6-метил-2-оксо-4-(3'-метокси-4'-(2''-металилокси)фенил)-1,2,3,4-

-тетрахириимидин-5-карбоксилат (8k'). Бела прашкаста супстанца; Принос: 94 (без растварача = 77)%. Т.Т. 203-204°C. IR (KBr): 3250, 3112, 2954, 1710, 1698, 1649, 1435, 1283, 1226, 1094 cm^{-1} ; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 1,75 (s, 3H, CH₃), 2,25 (s, 3H, CH₃), 3,54 (s, 3H, OCH₃), 3,74 (s, 3H, OCH₃), 4,41 (s, 2H, CH₂), 4,92-5,04 (m, 2H, CH₂), 5,09 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz, H-4), 6,65-6,90 (m, 3H,

Ar-H), 7,69 (br. s, 1H, NH), 9,19 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ 17,9, 19,3, 50,9, 53,5, 55,8, 71,9, 99,2, 111,1, 112,4, 113,8, 117,9, 137,7, 141,2, 147,2, 148,6, 149,1, 152,4, 166,1; MS (70 eV): m/z 346 ($[\text{M}]^+$, 37%). Израчунато за C₁₈H₂₂N₂O₅: C, 62,42; H, 6,40; N, 8,09%; нађено: C, 62,36; H, 6,35; N, 8,08%.

4. ЗАКЉУЧАК

На основу резултата приказаних у Поглављу „**Наши радови**“, могу се извести следећи закључци:

- Представљени су оригинални поступци за синтезу пет класа нових једињења који садрже ванилински фрагмент: 4-(4-алкокси-3-метоксифенил)бут-3-ен-2-они, **1(a-e)**, 1-(4-алкокси-3-метокси-фенил)-5-метил-хекс-1-ен-3-они, **3(a-e)**, 3-(4-алкокси-3-метокси-фенил)-1-фероценилпроп-2-ен-1-они, **5(a-h)**, 1-[5-(4-алкокси-3-мет-оксифенил)-3-метил-4,5-дихидро-1*H*-пиразол-1-ил]етанони, **2(a-e)** и 3,4-дихидропиримидин-2-(1*H*)-они, **8**.
- Код добијених енонских деривата (производи **1**, **3** и **5**) испитан је утицај увођења различитих група на неке биолошке карактеристике једињења. Све три групе производа имају јако изражену микробиолошку активност, док поједини производи показују бољу активност према бактеријама и у поређењу са одговарајућим антибиотицима.
- Производи **2(a-e)**, који припадају групи *N*-ацетилованих пиразола насталих у реакцији циклизације енонског система једињења **1(a-e)**, показују добру микробиолошку и антитуморску активност. Антитуморска активност је нарочито изражена према ћелијским линијама хуманог карцинома дебелог црева (HCT-116).
- Код фероценских халкона, **5(a-h)**, који се добијају кондензацијом алкилованих деривата ванилина и моноацетил фероцена, микробиолошка активност је нешто мање изражена.
- Серија производа **8** синтетисана је Viginelli-јевом реакцијом уз употребу алкилованих деривата ванилина, урее и етил- или метилацетоацетата. Сва једињења су синтетисана у јако високом приносу и употребом врло једноставне методе. Добијено је 27 нових једињења.
- Структуре свих нових производа су потврђене помоћу спектралних података, елементарне и масене анализе, а неки од њих су додатно окарактерисани методом рендгенске структурне анализе.

5. ЛИТЕРАТУРА

1. Reineccius, G. *Flavor-Chemistry-and-Technology*, Taylor and Francis group, **2006**, 2nd ed.
2. Purseglove, J. W.; Brown, E. G.; Green, C. L.; Robbins, S. R. J. *In Spices*, Longman **1981**, 2, 644.
3. Ramachandra, S. R.; Ravishankar, G. A. *J. Sci. Food Agric.* **2000**, 80, 289.
4. Hrazdina, G. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, 54, 1116.
5. Dean, J. R.; Schlotterbec, J. O. *J. Ind. Eng. Chem.* **1916**, 8, 607.
6. Havkin-Frenkel, D.; Dorn, R. *Flavor Chemistry and Antioxidant Properties*; ACS Symposium Series 660; **1997**, .Chapter 4, pp 29–40.
7. Dignum, M. J. W.; Kerler, J.; Verpoorte, R. *Food reviews international*, **2001**, 17, 199.
8. Merory, J. *Food Flavourings*, **1968**, pp 163.
9. Rosegarten, *The Book of Spices*, Livingston Publishing, Pennsylvania, **1969**, pp 453.
10. Cowley E, *Vanilla and its uses*. In *Proceedings of the Conference on Spices*, Tropical Products Institute, London, **1973**, p 79.
11. Ber., **1878**, 11, 1635.
12. Ber, **1880**, 13, 335.
13. Ber., **1883**, 16, 44.
14. Ber., **1906**, 39, 4147.
15. Havkin-Frenkel, D.; Podstolski, A.; Witkowska, E.; Molecki, P.; Mikołajczyk, M. In *Plant Cell and Tissue Culture for the Production of Food Ingredients*; Fu, T. J.; Singh, G.; Curtis, W. R., Eds.; Kluwer Academic/Plenum Publishers: New York, **1999**; 35.
16. Goodner, K. L.; Prashanthi, J.; Russell, L. R. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, 48, 2882.
17. Brenes, M.; García, A.; García, P.; Rios, J. J.; Garrido, A. *J. Food Chem.* **1999**, 47(9), 3535.
18. Clark, G. S. *Perfum. Flavor.* **1990**, 15, 45.
19. Hopp, R. *Flavour and Fragrance Chemistry*, **1993**, pp 14.
20. Kroschwitz, J.; Howe-Grant, M., Eds. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 4th ed.; John Wiley & Sons: New York, **1997**, Vol. 24, p 812.
21. Guth, H.; Grosch, W. *Odorants of Extrusion Products of Oat Meal: Changes During Storage*. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung* **1995**, 196(1).
22. Scanavini, H. F. A.; Ceriani, R.; Meirelles, A. J. A. *Braz. J. Chem. Eng.* **2012**, 29, 2.

23. Akagi, K.; Hirose, M.; Hoshiya, T.; Mizoguchi, Y.; Ito, N.; Shrai, T. *Cancer Lett.* **1995**, *94*, 113.
24. Tsuda, H.; Uehara, N.; Iwahori, Y.; Asamoto, M.; Iiogo, M.; Nagao, M.; Matsumoto, K.; Ito, M.; Hirono, J. *Jpn. J. Cancer Res.* **1994**, *85*, 1214.
25. Burri, J.; Graf, M.; Lambelet, P.; Loliger, J. J. *Sci. Food Agric.* **1989**, *48*, 49.
26. Keshava, C.; Keshava, N.; Whong, W.-Z.; Nath, J.; Ong, T.-M. *Teratog. Carcinog. Mutagen.* **1998**, *17*, 313.
27. Lopez-Malo, A.; Alzamora, S. M.; Argai, A. *Food Microbiol.* **1995**, *12*, 213.
28. Cerrutti, P.; Alzamora, S. M. *Int. J. Food Microbiol.* **1996**, *29*, 379.
29. Fitzgerald, D. J.; Stratford, M.; Gasson, M. J.; Narbad, A. *J. Food Prot.* **2004**, *67*, 391.
30. Rupasinghe, H. P. V.; Bitzer, J. B.; Taehyun, A.; Odumeru, J. A. *Food Res. Int.* **2006**, *39*, 575.
31. Childs, S. L.; Zaworotko, M. J. *Cryst. Growth Des.* **2009**, *9*, 4208.
32. Szallasi, A.; Blumberg, P. M. *Neuroscience* **1989**, *30*, 515.
33. Thresh, M. *Pharm. J. Trans.* **1876**, *7*, 21, 259, 473.
34. Nelson, E. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1919**, *41*, 1115.
35. (a) Crombie, L.; Dandegaonker, S. H.; Simpson, K. B. *J. Chem. Soc.* **1955**, 1025. (b) Gannet, P. M.; Nagel, D. L.; Reilly, P. J.; Lawson, T.; Sharpe, J.; Toth, B. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 1064. (c) Kaga, H.; Miura, M.; Orito, K. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 3477.
36. Sainsbury, P. D.; Hardiman, E. M.; Ahmad, M.; Otani, H.; Seghezzi, N.; Eltis, L. D.; Bugg, T. D. H. *ACS Chem. Biol.* **2013**, *8*, 2151.
37. Mathias, A. L.; Lopretti, M. I.; Rodrigues, A. E. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **1995**, *64*, 225.
38. (a) Anon. *Dinglers Polytech. J.* **1875**, *216*, 372. (b) Grafe, V. *Monatsh. Chem. Wissen.* **1904**, *25*, 987.
39. Gruter, G.-J.; de Jong, E. *Biofuels Technol.* **2009**, *1*, 11.
40. Hopp, R.; Mori, K. *Flavour and Fragrance Chemistry*, **1993**, pp 14.
41. Bauer, K.; Garbe, D.; Surburg, H. *Common Fragrance and Flavour Materials*, VCH, Weinheim (**1990**), *Process. Biochem.* **1999**, *35*, 341.
42. Diddams, D. G.; Krum, J. K. *Kirk–Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 2nd ed.; **1970**, *Vol. 21*, pp 183.

43. Esposito, L. J.; Formanek, K.; Kientz, G.; Mauger, F.; Maureaux, V.; Robert, G.; Truchet, F. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 4th ed.; Kroschwitz, J. I.; Howe-Grant, M.; Eds. Wiley: New York, **1997**, Vol. 24, p 812.
44. (a) Ranadive, A. S. *Spices, Herbs, and Edible Fungi*; Charalambous, G., Ed.; Elsevier: Amsterdam, **1994**; p 517. (b) Clark, G. S. *Perfum. Flavor*. **1990**, 15, 45.
45. Mackie, D. M.; Smith, D.; Aitkin, R. A. *Guidebook to Organic Synthesis*, Longman, **1990**, 12, 103.
46. (a) Fries and Pfaffendorf, *Ber.*, **1910**, 43, 214; (b) Auwers and Risse, *ibid.*, **1931**, 64, 2216.
47. Guyotand G. *Compl. rend.* **1909**, 149, 930; *Bull. soc. chim. Fr.* **1910**, [4] 7, 912.
48. (a) Traube, M. C. *Ber.* **1895**, 28R, 524; (b) German patent **1884**, 80,195.
49. (a) Nobel, D. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1993**, 419. (b) Capdevielle, P.; Maumy, M. *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 1007.
50. Hocking, M. B. *J. Chem. Educ.* **1997**, 74, 1055.
51. Lewis, R. J., Sr. *Hazardous Chemicals Desk Reference*, 3rd ed.; Van Nostrand Reinhold: New York, **1993**.
52. Clifford, M. N. *J. Sci. Food. Agric.* **1999**, 79, 362.
53. Lesage-Meessen, L.; Delattre, M.; Haon, M.; Thibault, J. F. *J. Biotechnol.* **1996**, 50, 107.
54. Shreve, R. N. *The Chemical Process Industries*; McGraw-Hill: New York, **1945**, pp 567.
55. Rumpel, W. (A. V. Waldheim Chemisch-Pharmazeutische Fabrik). **1954**, AT 180258.
56. Kratzl, K.; Kvasnicka, E. (Osterreichische Stickstoffwerke AG). U.S. Patent **1953**, 2,641,612.
57. Britton, E. C.; White, H. C. (Dow Chemical Company). U.S. Patent 2, **1952**, 605 282.
58. Guerrero, T. H.; Deulofeu, V. *Chem. Ber.* **1937**, 70, 947.
59. Lindgren, B. O.; Nilsson, T. *Acta Chem. Scand.* **1973**, 27, 888.
60. Pearl, I. A. *J. Am. Chem Soc.* **1946**, 68, 2180.
61. Losse, G.; Barth, A.; Jasche, K. *J. Prakt. Chem.* **1963**, 21, 32.
62. Knowles, W. S.; Sabacky, M. J.; Vineyard, B. D. (Monsanto Company). U.S. Patent, **1977**, 4 005 127.

63. Knowles, W. S.; Sabaky, M. J. (Monsanto Company). **1971**, DE 2, 123 063.
64. Knowles, W. S.; Sabaky, M. J.; Vineyard, B. D. (Monsanto Company). **1972**, DE 2 210 938.
65. Knowles, W. S.; Sabacky, M. J. (Monsanto Company). U.S. Patent **1978**, 4124 533.
66. Knowles, W. S.; Sabacky, M. J.; Vineyard, B. D.; Weinkauff, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 2567.
67. Vineyard, B. D.; Knowles, W. S.; Sabacky, M. J.; Bachman, G. L.; Weinkauff, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 5946.
68. Kaiser, A.; Scheer, M.; Hausermann, W.; Marti, L. (F. Hoffmann-La Roche & Co AG). DE 1, **1970**, 964, 420.
69. Berenyi-Poldermann, E.; Budai, Z.; Pallos, L.; Benko, P.; Magdanyi, L. (E.GY.T Gyogyszervegyeszeti Gyar). **1971**, DE 2 952 953.
70. Berenyi Poldermann, E.; Budai, Z.; Pallos, L.; Magdanyi, L.; Benko, P. (E.GY.T Gyogyszervegyeszeti Gyar). **1971**, DE 2 052 995.
71. Aurelio, L.; Brownlee, R. T. C.; Hughes A. B. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 5823.
72. Chiu, S. T., "Flora of Taiwan," 2nd ed., Vol. 2, Editorial Committee of the Flora of Taiwan, Taipei, **1996**, pp. 282.
73. Chiu, S. T., Proceedings of International Symposium on Plant Biodiversity and Development of Bioactive Natural Products, Taichung, Taiwan, **2001**, pp. 103.
74. Kuo, P.-C.; Chen, Y.-H.; Leu, Y.-L.; Huang, C.-H.; Liao, Y.-R.; Lee, E.-J.; Yang, M.-L.; Wu, T.-S. *Chem. Pharm. Bull.* **2012**, *60*, 557.
75. Ford, P. W.; Narbut, M. R.; Belli, J.; Davidson, B. S. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 5955.
76. (a) Fan, H.; Peng, J.; Hamann, M. T.; Hu, J. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 264. (b) Pla, D.; Albericio, F.; A´lvarez, M. *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* **2008**, *8*, 746. (c) Handy, S. T.; Zhang, Y. *Org. Prep. Proced. Int.* **2005**, *37*, 411. (d) Bailly, C. *Curr. Med. Chem.: Anti-Cancer Agents* **2004**, *4*, 363.
77. Peschko, C.; Winklhofer, C.; Steglich, W. *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 1147.
78. Fujikawa, N.; Ohta, T.; Yamaguchi, T.; Fukuda, T.; Ishibashi, F.; Iwao, M. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 594.
79. Qingjiang, L.; Jingqian, J.; Aili, F.; Yuxin, C.; Yanxing, J. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 312.
80. (a) Takada, T.; Arisawa, M.; Gyoten, M.; Hamada, R.; Tohma, H.; Kita, Y. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 7698. (b) Tohma, H.; Morioka, H.; Takizawa, S.; Arisawa, M.; Kita, Y. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 345. (c) Hamamoto, H.; Anilkumar, G.; Tohma, H.;

- Kita, Y. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 5377.
81. Ridley, C. P.; Reddy, M. V. R.; Rocha, G.; Bushman, F. D.; Faulkner, D. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 3285.
82. (a) Matsuo, A.; Yuki, S.; Nakayama, M.; Hayashi, S. *Chem. Lett.* **1982**, 463. (b) Matsuo, A.; Nakayama, N.; Nakayama, M. *Phytochemistry* **1985**, *24*, 777. (c) Matsuo, A.; Yuki, S.; Nakayama, M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1986**, *1*, 701. (d) Matsuo, A.; Yuki, S.; Nakayama, M. *Chem. Lett.* **1983**, *12*, 1041. (e) Asakawa, Y.; Matsuda, R.; Schofield, W. B.; Gradstein, S. R. *Phytochemistry* **1982**, *21*, 2471.
83. Sheen, W.-S.; Tsai, I.-L.; Teng, C.-M.; Chen, I.-S. *Phytochemistry* **1994**, *36*, 213.
84. (a) Chang, H. M.; Cheng, K. P.; Choang, T. F.; Chow, H. F.; Chui, K. Y.; Hon, P. M.; Tan, F. W. L.; Yang, Y.; Zhong, Z. P.; Lee, C. M.; Sham, H. L.; Chan, C. F.; Cui, Y. X.; Wong, H. N. C. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3537. (b) Bang, H.; Han, S. Y.; Choi, D. H.; Hwang, J. W.; Jun, J.-G. *Arkivoc* **2009**, *ii*, 112-125.
85. Tsai, I.-L.; Hsieh, C.-F.; Duh, C.-Y. *Phytochemistry* **1998**, *48*, 1371.
86. (a) Moss, G. P. *Pure Appl. Chem.* **2000**, *72*, 1493. (b) Ayres, D. C.; Loike, J. D. *Lignans. Chemical, biological and clinical properties. Chemical and pharmacology of natural products*; Phillipson, J. D., Ed.; Cambridge University: Cambridge, UK, **1981**. (c) Ward, R. S. *Nat. Prod. Rep.* **1999**, *16*, 75-96.
87. (a) Navarro, E.; Alonso, S. J.; Trujillo, J.; Jorge, E.; Perez, C. *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 134. (b) Lambert, J. D.; Meyers, R. O.; Timmermann, B. N.; Dorr, R. T. *Cancer Lett.* **2001**, *171*, 47. (c) Takasaki, M. K. T.; Komatsu, K.; Tokuda, H.; Nishino, H. *Cancer Lett.* **2000**, *158*, 53. (d) Banskota, A.; Tezuka, Y.; Midorikawa, K.; Matsushige, K.; Kadota, S. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 1277. (e) Lee, S. K.; Cui, B.; Mehta, R. R.; Kinghorn, A. D.; Pezzuto, J. M. *Chem. Bio. Interact.* **1998**, *115*, 215. (f) Thompson, L. U.; Rickard, S. E.; Orcheson, L. J.; Seidl, M. M. *Carcinogenesis* **1996**, *17*, 1373. (g) Thompson, L. U.; Seidl, M. M.; Rickard, S. E.; Orcheson, L. J.; Fong, H. H. S. *Nutr. Cancer* **1996**, *26*, 159.
88. Ikeda, R. N.; Nagao, T.; Okabe, H.; Nakano, Y.; Matsunaga, H.; Katano, M.; Mori, M. *Chem. Pharm. Bull.* **1998**, *46*, 871.
89. (a) Craigo, J.; Callahan, M.; Huang, R. C. C.; De Lucia, A. L. *Antiviral Res.* **2000**, *47*, 19. (b) Leung, C.; Charlton, J. L. *Can. J. Chem.* **2000**, *78*, 553. (c) Charlton, J. L. *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 1447.
90. (a) Gordaliza, M.; Castro, M.; del Corral, J. M.; Lopez-Vazquez, M.; Feliciano, A.

- S.; Faircloth, G. T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 2781. (b) Cho, J. Y.; Kim, A. R.; Yoo, E. S.; Baik, K. U.; Park, M. H. *J. Pharm. Pharmacol.* **1999**, 51, 1267.
91. Chen, C. C.; Hsin, W. C.; Ko, F. N.; Huang, Y. L.; Ou, J. C.; Teng, C. M. *J. Nat. Prod.* **1996**, 59, 1149.
92. (a) Maeda, S.; Hasuda, H.; Tokoroyama, T. *Chem. Pharm. Bull.* **1994**, 42, 2500. (b) Lu, H.; Liu, G.-T. *Planta. Med.* **1992**, 58, 311. (c) Silva, D. H. S.; Pereira, F. C.; Zanoni, M. V. B.; Yoshida, M. *Phytochemistry* **2001**, 57, 437.
93. (a) Findlay, J. A.; Buthelezi, S.; Li, G.; Seveck, M. *J. Nat. Prod.* **1997**, 60, 1214. (b) Brader, G. V. S.; Greger, H.; Bacher, M.; Kalchhauser, H.; Hofer, O. *J. Nat. Prod.* **1998**, 61, 1482.
94. (a) Day, S. H.; Chiu, N. Y.; Tsao, L. T.; Wang, J. P.; Lin, C. N. *J. Nat. Prod.* **2000**, 63, 1560 (b) Borsato, M. L. C.; Graef, C. F. F.; Souza, G. E. P.; Lopes, N. P. *Phytochemistry* **2000**, 55, 809.
95. Zacchino, S.; Rodriguez, G.; Pezzenati, G.; Orellana, G. *J. Nat. Prod.* **1997**, 60, 659.
96. Pietinen, P.; Stumpf, K.; Mannisto, S.; Kataja, V.; Uusitupa, M.; Adlercreutz, H. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* **2001**, 10, 339.
97. Shriner, R. L.; Mc Cutcham, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1929**, 51, 2193.
98. Lesch, B.; Brase, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 115.
99. Tatsuta, K.; Kasai, S.; Amano, Y.; Yamaguchi, T.; Seki, M.; Hosokawa, S. *Chem. Lett.* **2007**, 36, 10.
100. 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.
101. Kalirajan, R.; Sivakumar, S. U.; Jubie, S.; Gowramma, B.; Suresh, B. *Int. J. ChemTech. Res.* **2009**, 1, 27.
102. Muškinja, J.; Ratković, Z.; Ranković, B.; Kosanić, M. *Kragujevac J. Sci.* **2016**, 38, 97.
103. Muškinja, J.; Burmudžija, A.; Ratković, Z.; Ranković, B.; Kosanić, M.; Bogdanović, A. G.; Novaković, S. B.; *Med. Chem. Res.* **2016**, 25, 1744.
104. Ratković, Z.; Muškinja, J.; Burmudžija, A.; Ranković, B.; Kosanić, M.; Bogdanović, A. G.; Simović, M.-B.; Nikolić, A.; Arsenijević, N.; Đorđević, S.; Vukićević, R. D. *J. Mol. Struct.* **2016**, 1109, 82.
105. Muškinja, J.; Janković, N.; Ratković, Z.; Bogdanović, G.; Bugarčić, Z. *Mol Divers* **2016**, 20, 591.

106. Motohashi, N.; Yamagami, C.; Tokuda, H.; Konoshima, T.; Okuda, Y.; Okuda, M.; Mukainaka, T.; Nishino, H.; Saito, Y. *Cancer Lett.* **1998**, *134*, 37.
107. Adams, B. K.; Ferstl, E. M.; Davis, M. C.; Herold, M.; Kurtkaya, S.; Camalier, R. F.; Hollingshead, M. G.; Kaur, G.; Sausville, E. A.; Rickles, F. R.; Snyder, J. P.; Liotta, D. C.; Shoji, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *123*, 871.
108. Chan, M. M. *Biochem. Pharmacol.* **1995**, *49*, 1551.
109. Dubey, S. K.; Sharma, A. K.; Narain, U.; Misra, K.; Pati, U. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 1837.
110. Mishra, S.; Narain, U.; Mishra, R.; Mishra, K. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 1477.
111. Smith, L. R. *Chem. Educ.* **1996**, *1*, 1.
112. Loev, B.; Dawson, C. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 6095.
113. Tatsuzaki, J.; Bastow, K. F.; Nakagawa-Goto, K.; Nakamura, S.; Itokawa, H.; Lee, K. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 1445.
114. Katritzky, A. R.; Long, Q.; He, H.; Qiua, G.; Wilcox, A. L. *Arkivoc* **2000**, *vi*, 868.
115. Kubra, I. R.; Bettadaiah, B. K.; Murthy, P. S.; Mohan Rao, L. J. *J. Food Sci. Technol.* **2014**, *51*, 245.
116. Levai, A. J. *Heterocycl. Chem.* **2002**, *39*, 1.
117. Kissane, M.; Maguire, A. R. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 845.
118. Ali, M. A.; Shaharyar, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 1896.
119. Sahoo, A.; Yabanoglu, S.; Sinha, B. N.; Ucar, G.; Basu, A.; Jayaprakash, V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 132.
120. Fischer, E.; Knövenagel, O. *Ann. Chem.* **1887**, *239*, 194.
121. Raiford, L. C.; Peterson, W. J. *J. Org. Chem.* **1936**, *1*, 544.
122. Raiford, L. C.; Gundy, G. V. *J. Org. Chem.* **1938**, *3*, 265.
123. Ried, W.; Dankert, G. *Chem. Ber.* **1957**, *57*, 2707.
124. Wiley, R. H.; Jarboe, C. H.; Hayes, F. N.; Hansbury, E.; Nielsen, J. T.; Callahan, P. X.; Sellars, M. C. *J. Org. Chem.* **1958**, *23*, 732.
125. Sammour, A. E. A. *Tetrahedron* **1964**, *20*, 1067.
126. Aubagnac, J. L.; Elguero, J.; Jacquier, R. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1969**, 3292.
127. Al-Farkh, Y. A.; Al-Hajjar, F. H.; Al-Shamali, F. S.; Hamoud, H. S.; *Chem. Pharm. Bull.* **1979**, *27*, 257.
128. Sharma, T. C.; Pawar, S. P.; Reddy, N. J. *Acta Chim. Hung.* **1983**, *112*, 159.
129. Sachchar, S. P.; Singh, A. K. *J. Indian Chem. Soc.* **1985**, *62*, 142.

130. Gao, C.; Hay, A. S. *Synth. Commun.* **1995**, *25*, 1877.
131. Anjaneyulu, A. S. R.; Rani, G. S.; Annapurna, K. G.; Mallavadhani, U. V.; Murthy, Y. L. N. *Indian J. Chem.* **1995**, *34B*, 933.
132. Mishriky, N.; Asaad, F. M.; Ibrahim, Y. A.; Girgis, A. S. *Pharmazie* **1996**, *51*, 544.
133. Tomilovi, Yu. V.; Okonnishnikova, G. P.; Shulishov, E. V.; Nefedov, O. M. *Russ. Chem. Bt.* **1995**, *44*, 2114.
134. Knorr, L.; *Ber. Dt. Chem. Ges.* **1893**, *26*, 100.
135. Thakare, V. G.; Wadodkar, K. N. *Ind. J. Chem. Sect. B* **1986**, *25*, 610.
136. Auwers, K.; Muller, K. *Ber. Dt. Chem. Ges.* **1908**, *41*, 4230.
137. Baker, W.; Butt, V. S. *J. Chem. Soc.* **1949**, 2142.
138. Thirunarayanan, G.; Sekar, K. G. *J. Saudi Chem. Soc.* **2014**, DOI: 10.1016/j.jscs.2013.12.002.
139. Wang, S. F.; Zhu, W.; Yang, X.; Zhou, L. J. *Acta Cryst.* **2005**, *E61*, o3985.
140. Azarifar, D.; Shaebanzadeh, M. *Molecules* **2002**, *7*, 885.
141. Sarker, S. D.; Nahar, L.; Kumarasamy, Y. *Methods* **2007**, *42*, 321.
142. Ávila, H. P.; Smânia, E. F. A.; Monache, F. D.; Júnior, A. S. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 9790.
143. Reiner, G. C.; Katzenellenbogen, B. S. *Cancer Res.* **1986**, *46*, 1124.
144. Kuribayashi, K.; Finnberg, N.; Jeffers, J. R.; Zambetti, G. P.; El-Deiry, W. S. *Cell Cycle.* **2011**, *10*, 2380.
145. Arsenijević, M.; Milovanović, M.; Volarević, V.; Đeković, A.; Kanjevac, T.; Arsenijević, N.; Dukić, S.; Bugarčić, Ž. *D. Med. Chem.* **2012**, *1*, 2.
146. Bhat, B. A.; Dhar, K. L.; Puri, S. C.; Saxena, A. K.; Shanmugavel, M.; Qazi, G. N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 3177.
147. Dimmock, J. R.; Elias, D. W.; Beazely, M. A.; Kandepu, N. M. *Curr. Med. Chem.* **1999**, *6*, 1125.
148. Go, M. L.; Wu, X.; Liu, X. L. *Curr. Med. Chem.* **2005**, *12*, 483.
149. Tsukiyama, R. I.; Katsura, H.; Tokuriki, N.; Kobayashi, M. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46*, 1226.
150. Hugo, W. B.; Russell, A. D. *Pharmaceutical microbiology*, **1983**, 3rd edition, (Blackwell Scientific Publications).
151. Shettigar, S.; Chandrasekharan, K.; Umesh, G.; Sarojini, B. K.; Narayana, B. *Polymer* **2006**, *47*, 3565.

152. Top, S.; Vessières, A.; Leclercq, G.; Quivy, J.; Tang, J.; Vaissermann, J.; Huche, M.; Jaouen, G. *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 5223.
153. Delavaux-Nicot, B.; Maynadie, J.; Lavabre, D.; Lepetit, C.; Donnadiou, B. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2005**, *12*, 2493.
154. Delavaux-Nicot, B.; Fery-Forgues, S. *Eur. J. Inorg. Chem.* **1999**, *10*, 1821.
155. Koepf-Maier, P. Z.; Naturforsch, C. Human Tumour Xenografts in Anticancer Drug Development, **1985**, *40c*, 843.
156. Heinz-Bernhard, K.; Lusztyk, J.; Enright, G. D. *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 2400.
157. Motohashi, N.; Meyer, R.; Gollapudi, S. R.; Bhattiprolu, K. R. J. *Organomet. Chem.* **1990**, *398*, 205.
158. Runqiu, H.; Qingmin, W. J. *Organomet. Chem.* **2001**, *637*, 94.
159. Tirkey, V.; Mishra, S.; Dash, H. J. *Organomet. Chem.* **2013**, *732*, 122.
160. Aranciba, R.; Biot, C.; Delaney, G. J. *Organomet. Chem.* **2013**, *723*, 143.
161. Top, S.; Tang, J.; Vessieres, A.; Carrez, C.; Provot, C.; Jaouen, G. *Chem. Commun.* **1996**, 955.
162. Liu, W.; Xu, Q.; Ma, Y.; Liang, Y.; Dong, N.; Guan, D. J. *Organomet. Chem.* **2001**, *625*, 128.
163. (a) Vukicevic, M.; Ratkovic, Z.; Teodorovic, A.; Stojanovic, G.; Vukicevic, R. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 9001. (b) Hall, D.; Richards, J. J. *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 1549.
164. Olah, G. A.; *Friedel–Crafts Chemistry*. Wiley: New York, **1973**, pp 219–220.
165. Schlögl, K. *Monatsh. Chem.* **1957**, *88*, 601.
166. Rausch, M. D.; Coleman, L. E. *J. Org. Chem.* **1957**, *23*, 107.
167. Toma, Š. *Collect Czech Chem. Commun.* **1969**, *34*, 2771.
168. (a) Solcániová, E.; Toma, Š.; Fiedlerova. A *Org. Magn. Resonance* **1980**, *14*, 181. (b) Molina, P.; Tárraga, A.; López, J. L.; Martínez, J. C. J. *Organomet. Chem.* **1999**, *584*, 147.
169. Leka, Z.; Novaković, S. B.; Bogdanović, G. A.; Muškinja, J.; Vukićević, R. D. *Acta Cryst.* **2013**, *E69*, o1728.
170. Siddiqui, Z. N.; Praveen, S.; Musthafa, T. N. M.; Ahmad, A.; Khan, A. U. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2012**, *27*, 84.
171. (a) Nowakowska, Z. *Spectroscopy Lett.* **2005**, *38*, 477. (b) Dahr, D. N. *The Chemistry of Chalcones and Related Compounds*, Wiley: New York, **1981**. (c)

- Noack, K.; Jones, N. *Can. J. Chem.* **1961**, *39*, 2225.
172. Feron, V. J.; Til, H. P.; de Vrijer, F.; Woutersen, R. A.; Cassee, F. R.; van Bladeren, P. J. *Mutat. Res.* **1991**, *259*, 363.
173. Patil, C. B.; Mahajan, S. K.; Katti, S. A. *J. Pharm. Sci. Res.* **2009**, *Vol.1(3)*, 11.
174. Hugo, W. B.; Russell, A. D. *Pharmaceutical microbiology*, **1998**, 6th edition, (Blackwell Scientific Publications).
175. Kappe, C. O. *Tetrahedron*, **1993**, *49*, 6937.
176. Kappe, C. O.; Kumar, D.; Varma, R. S. *Synthesis*, **1999**, *10*, 1799.
177. (a) Biginelli, P. *Chem. Ber.* **1891**, *24*, 1317. (b) Biginelli, P. *Chem. Ber.* **1891**, *24*, 2962. (c) Biginelli, P. *Gazz. Chim. Ital.* **1889**, *19*, 212. (d) Biginelli, P. *Gazz. Chim. Ital.* **1893**, *23*, 360.
178. Folkers, K.; Johnson, T. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1933**, *55*, 3784.
179. Suresh; Sandhu, J. S. *Arkivoc* **2012**, *i*, 66.
180. Quan, Z.; Zhang, Z.; Da, Y.; Wang, X.; *Chin. J. Org. Chem.* **2009**, *29*, 876.
181. Pasunooti, K. K.; Chai, H.; Jensen, C. N.; Gorityala, B. K.; Wang, S.; Liu, X. W. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 80.
182. Wang, M.; Song, Z.; Jiang, H.; Gong, H. *Prep. Biochem. Biotechnol.* **2010**, *40*, 101.
183. Aghayan, M. M.; Moradi, A.; Bolourtchian, M. *J. Iran. Chem. Soc.* **2010**, *7*, 269
184. Wang, D. C.; Guo, H. M.; Qu, G. R. *Synth. Commun.* **2010**, *40*, 1115.
185. Liu, C. J.; Wang, J. D. *Molecules* **2009**, *14*, 763.
186. Suzuki, I.; Suzumura, Y.; Takeda, K. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 7861.
187. Parasuraman, K.; Sachin, A. A.; Prashant, N. M.; Pundlik, R. B.; Kumar, S. S. *J. Organomet. Chem.* **2013**, *723*, 154.
188. Dewan, M.; Kumar, A.; Saxena, A.; De, A.; Mozumdar, S. *PLoS One* **2012**, *7*, 43078.
189. Suman, J. L.; Joseph, J. K.; Sain, B. *Catal. Lett.* **2007**, *115*, 52.
190. Mukut, G.; Dipak, P.; Sandhu, J. S. *Synlett* **2004**, *2*, 235.
191. Lei, M.; Ma, L.; Hu, L. *Synth. Commun.* **2011**, *41*, 3071.
192. Kamal, A.; Krishnaji, T.; Azhar, M. A. *Catal. Commun.* **2007**, *8*, 1929.
193. Kalita, H. R.; Phukan, P. *Catal. Commun.* **2007**, *8*, 179.
194. Kour, G.; Gupta, M.; Paul, S.; Rajnikant; Gupta, V. K. *J. Mol. Cat. A: Chem.* **2014**, *392*, 260.
195. Tamaddon, F.; Razmi, Z.; Jafari, A. A. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 1187.

196. Putilova, E. S.; Kryshchal', G. V.; Zhdankina, G. M.; Troitskii, N. A.; Zlotin, S. G. *Russ. J. Org. Chem.* **2005**, *41*, 512.
197. Bose, D. S.; Sudharshan, M.; Chahvan, S. W. *Arkivoc* **2005**, *iii*, 228.
198. Larsen, P. K. *Acta Chem. Scand.* **1974**, *28A*, 194.
199. Srinivas, K. V. N. S.; Das, B. *Synthesis* **2004**, *13*, 2091.
200. Maiti, G.; Kundu, P.; Guin, C. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2757.
201. Lu, J.; Ma, H. *Synlett* **2000**, *1*, 63.
202. Lu, J.; Bai, Y. *Synthesis* **2002**, *4*, 466.
203. Paraskar, A. S.; Dewkar, G. K.; Sudalai, A. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 3305.
204. Kappe, C. O.; Stadler, A.; Overman, L. E. (Ed.) *John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, US* **2004**, *63*, 1.
205. Jani, M. K.; Undavia, N. K.; Trivedi, P. B. *J. Indian Chem. Soc.* **1990**, *67*, 847.
206. Crystallographic data for the structural analysis have been deposited with the Cambridge Crystallographic Data Centre, CCDC No. 1012697 for compound **8h**. These data can be obtained free of charge via www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif
207. Chitra, S.; Devanathan, D. *Int. Res. J. Pharm. App Sci.* **2012**, *2*, 56.
208. Agilent, **2013**, CrysAlis PRO. Agilent Technologies, Yarnton, Oxfordshire, England
209. Burla, M. C.; Camalli, M.; Carrozzini, B.; Cascarano, G. L.; Giacovazzo, C.; Polidori, G.; Spagna, R. *J. Appl. Crystallogr.* **2003**, *36*, 1103.
210. Sheldrick, G. M. *Acta Crystallogr.* **2008**, *A64*, 112.

6. БИОГРАФИЈА

Јована Мушкиња је рођена 08.02.1986. године у Крагујевцу. Основну школу „Станислав Сремчевић” и Прву техничку школу завршила је у Крагујевцу. На Природно-математички факултет у Крагујевцу, група Хемија, уписала се 2005. године и дипломирала јула 2010. године са просечном оценом 9,37, чиме је стекла стручно звање – дипломирани хемичар. У току основних студија, школске 2008/09 године, била је стипендиста Фонда за младе таленте Владе Републике Србије, а током 2011. године уручено јој је специјално признање и годишња награда Српског хемијског друштва намењена најбољим дипломираним студентима.

Докторске академске студије на Природно-математичком факултету у Крагујевцу, смер Органска хемија, под менторством доцента др Зорана Ратковића, уписала је школске 2010/11. Јануара 2011. године запослила се као истраживач-приправник на истраживачком пројекту бр. 172034 Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије – „Нове електрохемијске и хемијске методе у синтези органских једињења од интереса за медицину и хемију материјала”, под руководством проф. др Растка Д. Вукићевића. У звање истраживач-сарадник изабрана је 30. 01. 2014. године на Природно-математичком факултету у Крагујевцу, где и сада ради. До сада је водила вежбе из предмета Индустијска хемија 2, Школски огледи у настави хемије и повремено Школска пракса, где се бавила обучавањем студената четврте године хемије, за рад у школама. На мастеру држи предмет Органометална хемија. Учествовала је на различитим фестивалима науке и пројектима „Ноћ Истраживача“ где је изводила разне огледе из хемије и тако промовисала науку ван института за хемију.

Јована Мушкиња се бави научно-истраживачким радом у области органске хемије. Предмет њеног истраживања јесте синтеза различитих производа који у свом саставу садрже ванилински фрагмент, а који би могли бити и добра биолошки активна једињења. До сада је објавила девет научних радова у познатим часописима међународног значаја и два саопштења на националним научним конференцијама штампаним у изводу.

Списак радова и саопштења Јоване Мушкиње

1.1. Научни радови у међународним научним часописима

- 1.1.1. S. B. Novaković, Z. B. Leka, D. D. Stevanović, J. M. Muškinja, G. A. Bogdanović, “4-[(4-Methylphenyl)sulfanyl]butan-2-one”, *Acta Crystallogr. E*, **2013**, *69*, o1625.
M23; DOI: 10.1107/S1600536813026895; ISSN 1600-5368
- 1.1.2. Z. B. Leka, S. B. Novaković, G. A. Bogdanović, J. M. Muškinja, R. D. Vukićević, “4-Ethoxy-3-methoxybenzaldehyde”, *Acta Crystallogr. E*, **2013**, *69*, o1728.
M23; DOI: 10.1107/S160053681302761X; ISSN 1600-5368
- 1.1.3. Z. Ratković, J. Muškinja, S. B. Novaković, G. A. Bogdanović, K. Micskei, R. D. Vukićević, “4-[(Dimethylamino)methylene]-2-ferrocenyl-5-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxaldehyde: Synthesis, spectral characterization and single crystal X-ray analysis”, *Polyhedron* **2014**, *80*, 193-197.
M22; DOI: 10.1016/j.poly.2014.03.038; ISSN 0277-5387
- 1.1.4. Z. Ratković, J. Muškinja, A. Burmudžija, B. Ranković, M. Kosanić, G. A. Bogdanović, B. S. Marković, A. Nikolić, N. Arsenijević, S. Đorđević, R. D. Vukićević, “Dehydrozingerone based 1-acetyl-5-aryl-4,5-dihydro-1H-pyrazoles: Synthesis, characterization and anticancer activity”, *J. Mol. Struct.* **2016**, *1109*, 82-88.
M23; DOI: 10.1016/j.molstruc.2015.12.079; ISSN 0022-2860
- 1.1.5. J. Muškinja, N. Janković, Z. Ratković, G. Bogdanović, Z. Bugarčić, “Vanillic aldehydes for the one-pot synthesis of novel 2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines”, *Mol. Diver.* **2016**, *20*, 591-604.
M22; DOI: 10.1007/s11030-016-9658-y; ISSN 1381-1991
- 1.1.6. Nenad Janković, Jovana Muškinja, Zoran Ratković, Zorica Bugarčić, Branislav Ranković, Marijana Kosanić and Srđan Stefanović, “Solvent-free synthesis of novel vanillidene derivatives of Meldrum’s acid: biological evaluation, DNA and BSA binding study”, *RSC Advances*, **2016**, *6*, 39452-39459
M21; DOI: 10.1039/C6RA07711K ISSN 2046-2069

1.1.7. J. Muškinja, Z. Ratković, B. Ranković, M. Kosanić, “Synthesis of *O*-alkyl derivatives of dehydrozingerone analogues”, *Kragujevac J. Sci.* **2016**, *38*, 97-106.

M51; UDC: 547.576:543.4:579.26 ISSN 1450-9636

1.1.8. J. Muškinja, A. Burmudžija, Z. Ratković, B. Ranković, M. Kosanić, G. A. Bogdanović and S. B. Novaković, “Ferrocenyl chalcones with *O*-alkylated vanillins: synthesis, spectral characterization, microbiological evaluation and single crystal X-ray analysis, *Med. Chem. Res.* **2016**, *25*, 1744-1753.

M23; DOI: 10.1007/s00044-016-1609-8 ISSN 1054-2523

1.1.9. A. Burmudžija, Z. Ratković, J. Muškinja, N. Z. Janković, B. Ranković, M. Kosanić, S. Đorđević, “Ferrocenyl based pyrazolines derivatives with vanillic core: synthesis and investigation of its biological properties”, *RSC Advances* **2016**, *6*, 91420-91430.

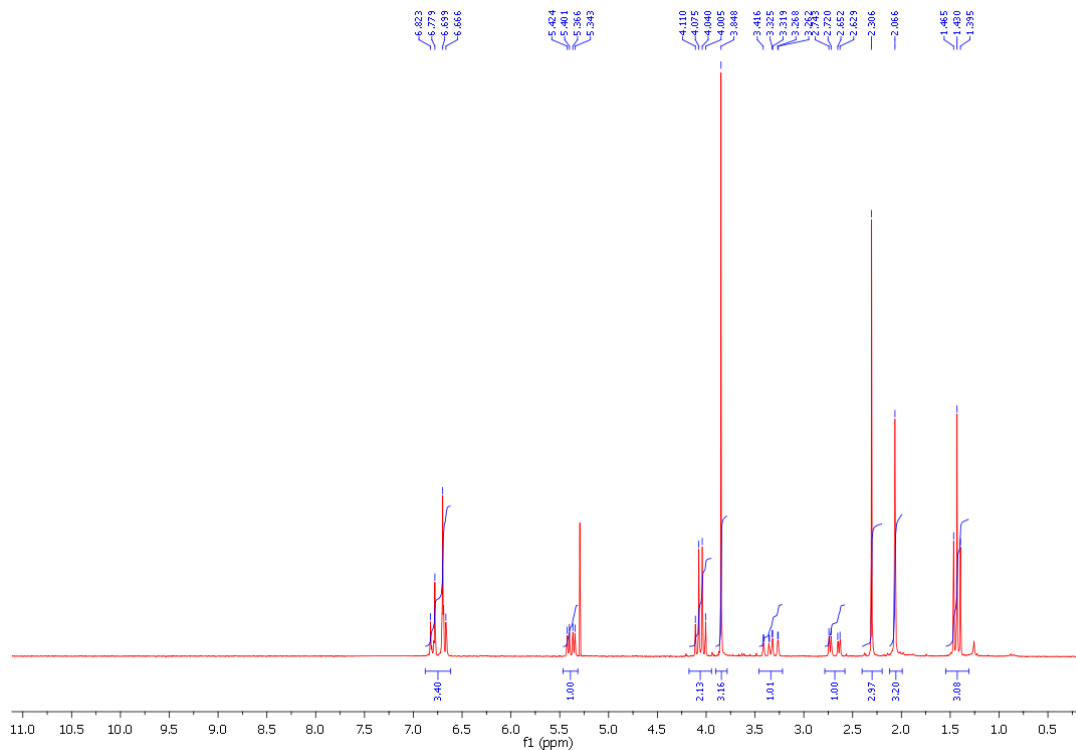
M21; DOI: 10.1039/C6RA18977F ISSN 2046-2069

1.2. Саопштења на националним научним конференцијама

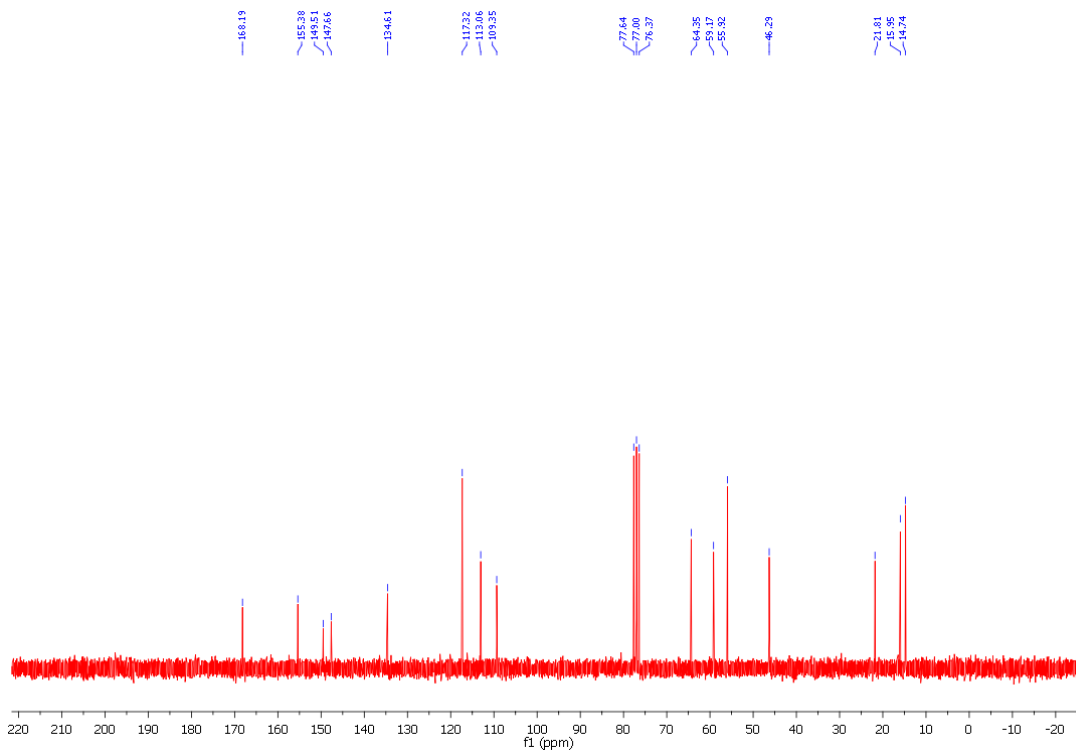
1.2.1. J. Muškinja, Z. Ratković, R. D. Vukićević, Cyclopropyl derivatives of *O*-alkylated dehydrozingerones; *Golden Jubilee 50th Meeting of the Serbian Chemical Society, Belgrade, Serbia, 14-15 june 2012 Book of Abstracts OH P22 p. 165.* M64

1.2.2. J. Muškinja, Z. Ratković, R. D. Vukićević, Reaction at enone systems of *O*-alkylated dehydrozingerones with hydrazine; *51st Meeting of the Serbian Chemical Society, Belgrade, Serbia, 5-7 june 2014 Book of Abstracts OH P23 p. 113.* M64

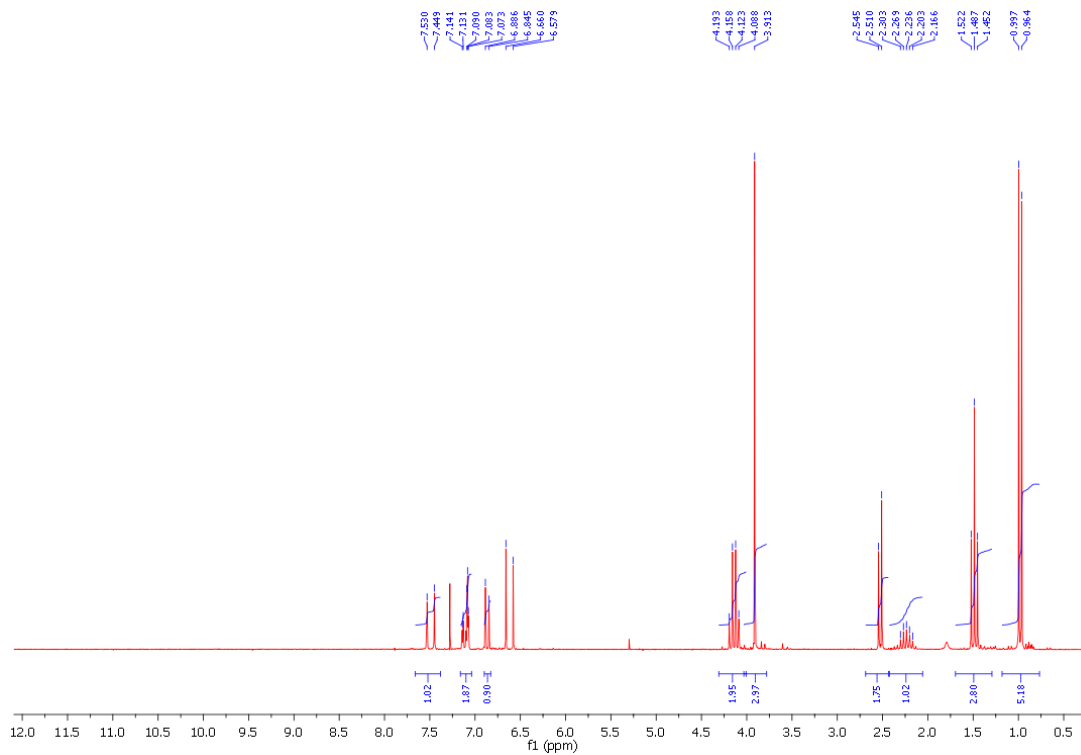
7. ПРИЛОГ



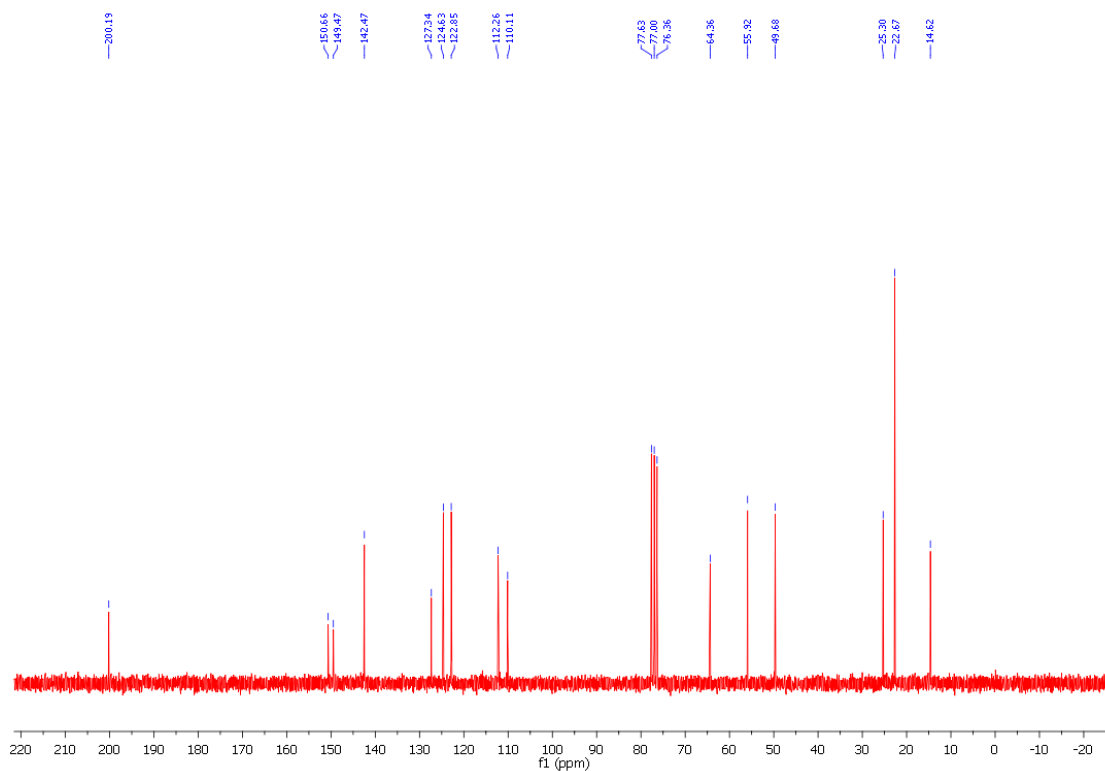
^1H NMR спектар једињења 2v



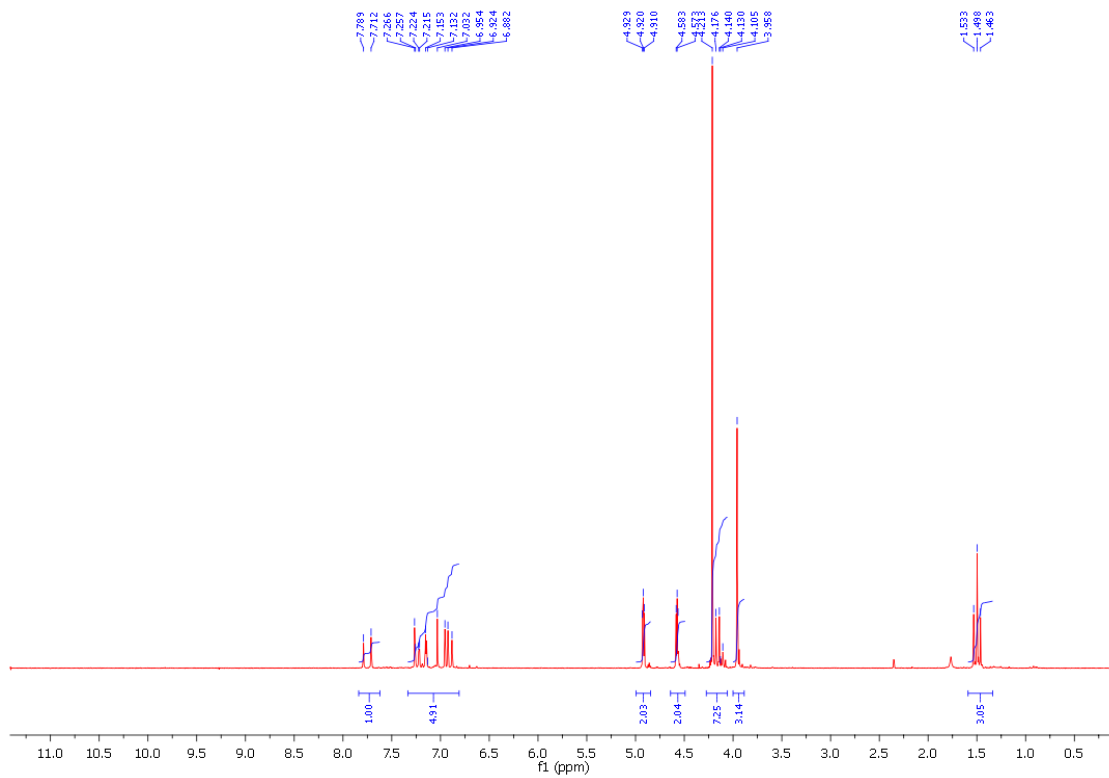
^{13}C NMR спектар једињења 2v



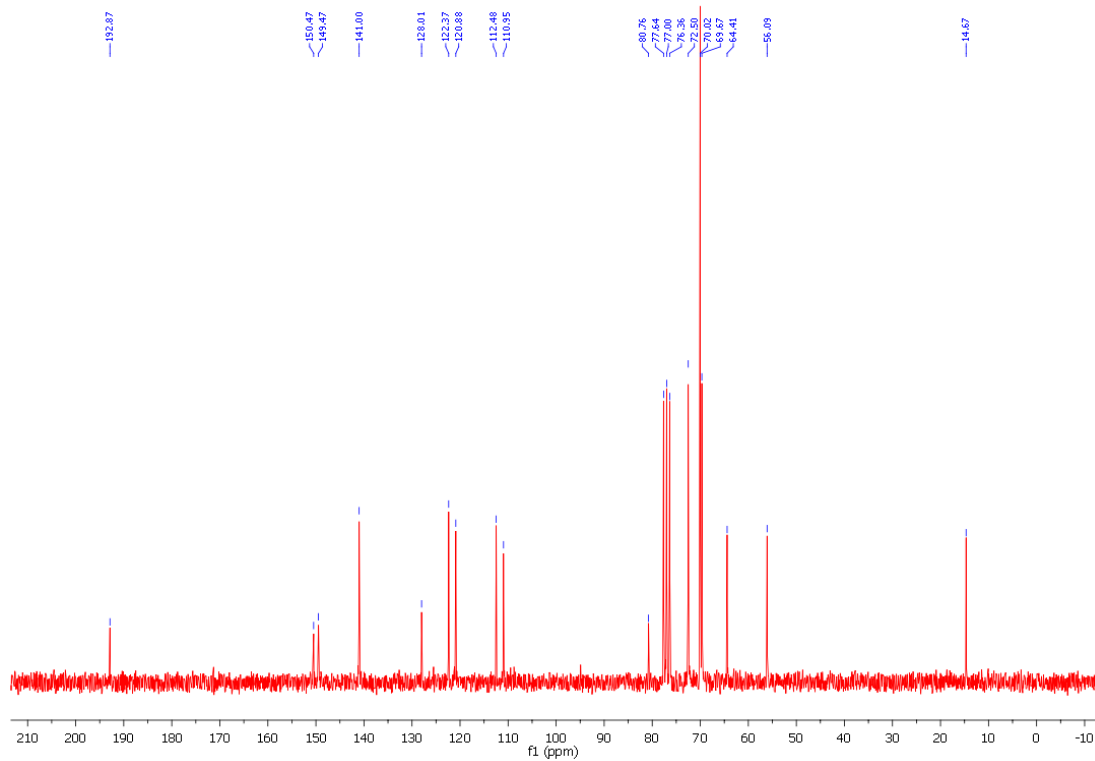
¹H NMR спектар једињења 3b



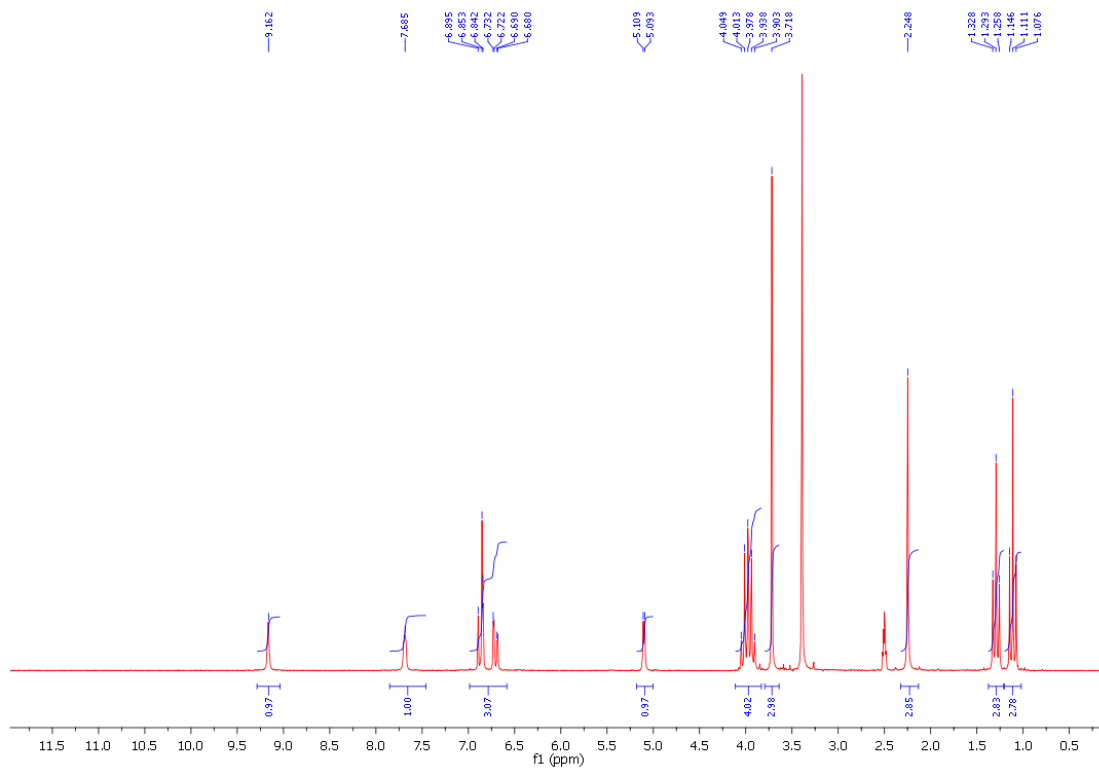
¹³C NMR спектар једињења 3b



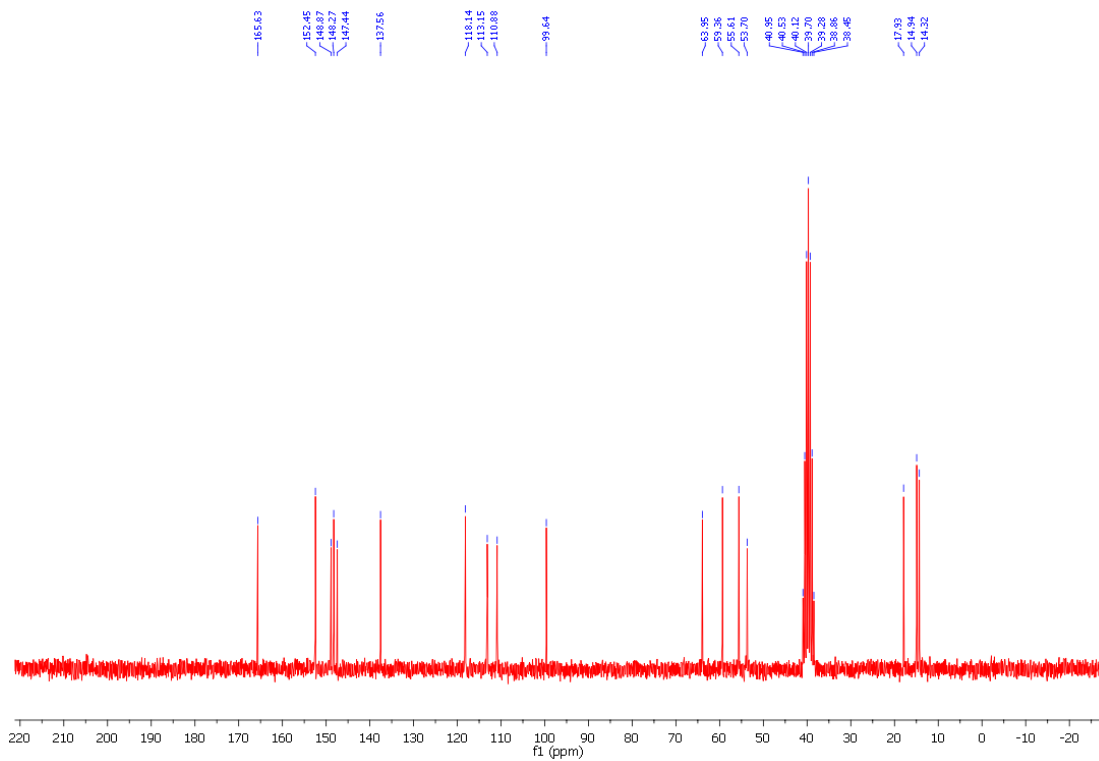
¹H NMR спектар једињења 5b



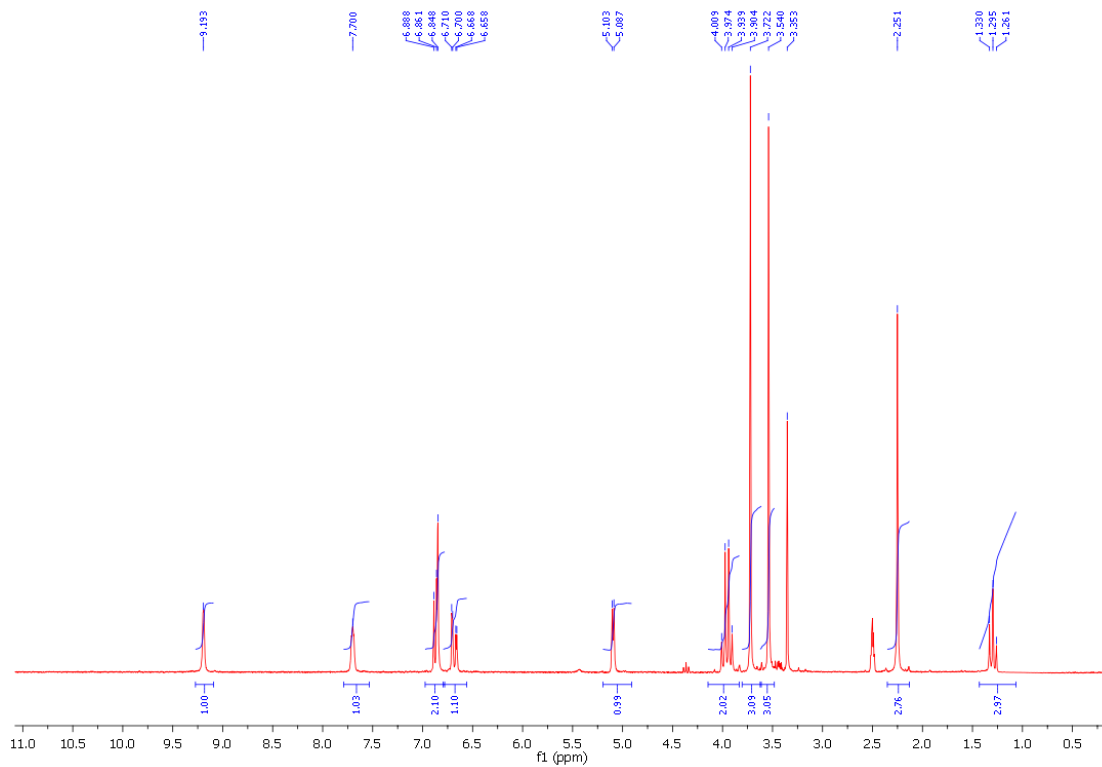
¹³C NMR спектар једињења 5b



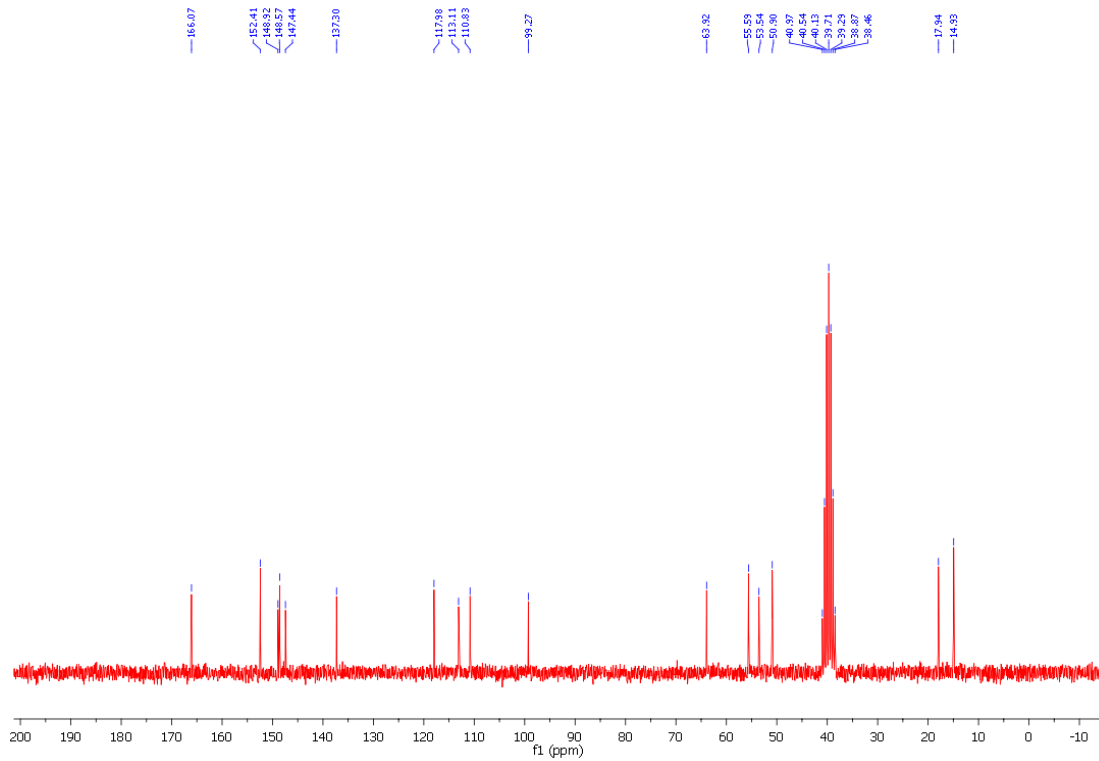
^1H NMR спектар једињења 8g



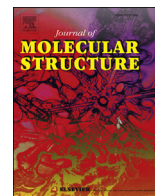
^{13}C NMR спектар једињења 8g



¹H NMR спектар једињења 86'



¹³C NMR спектар једињења 86'



Dehydrozingerone based 1-acetyl-5-aryl-4,5-dihydro-1H-pyrazoles: Synthesis, characterization and anticancer activity

Zoran Ratković^{a,*}, Jovana Muškinja^a, Adrijana Burmudžija^a, Branislav Ranković^b, Marijana Kosanić^b, Goran A. Bogdanović^c, Bojana Simović Marković^d, Aleksandar Nikolić^d, Nebojša Arsenijević^d, Snežana Đorđević^e, Rastko D. Vukićević^a

^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, R. Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia

^c Vinča Institute of Nuclear Sciences, University of Beograd, P.O. Box 522, 11001 Belgrade, Serbia

^d Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Svetozara Markovića 67, 34000 Kragujevac, Serbia

^e National Poison Control Center, Military Medical Academy, Crnotravska 17, 11000 Belgrade, Serbia

ARTICLE INFO

Article history:

Received 2 September 2015

Received in revised form

24 December 2015

Accepted 28 December 2015

Available online 30 December 2015

Keywords:

Dehydrozingerone

Anticancer

Cytotoxicity

Crystal structure

ABSTRACT

A small series of 1-acetyl-5-aryl-4,5-dihydro-1H-pyrazoles (aryl = 4-hydroxy-3-methoxyphenyl and 4-alkoxy-3-methoxyphenyl) was prepared, starting from 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-buten-2-one, dehydrozingerone, and its alkyl derivatives. Their *in vitro* cytotoxic activity against some cancer cell lines was tested, showing significant anticancer activity. All the new compounds were well characterized by IR, ¹H, ¹³C NMR and ESI-MS spectroscopy and physical data, whereas structures of two of them were determined by single crystal X-ray analysis.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Many natural products, such as vanillin, were used as starting materials in the new drug design, and consequently a plethora of newly introduced medicinals were originated from known natural sources. Sometimes, these starting materials undergo only to small chemical changes allowing them to remain certain biological activity, but improving certain feature, like hydrophilicity, lipophilicity, etc.

Chalcones, 1,3-diaryl-2-propen-1-ones, are an important class of natural occurring compounds, since they often represent core structure of many natural products and pharmaceuticals. Chalcones and its derivatives exhibit different pharmacological and biological activities such as antifungal [1,2], antimicrobial [3–5], anticonvulsant [6], antioxidant [7–10], anti-malarial [11–14], antiprotozoal

[15], anti-inflammatory [16–19], anticancer [20–28].

Starting from vanillin, a pungent constituent of ginger rhizome 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-buten-2-one, dehydrozingerone **1a**, was prepared [29]. In this phenolic compound, the enone function is conjugated, its structure is however different from standard chalcones, as the methyl group is linked to the carbonyl and not to the aryl group. This compound, as a half analogue of curcumin, also exhibits a wide range of biological activities, among which antitumor features were found to be well expressed [30–32].

On the other hand, dihydropyrazoles are important five-membered heterocycles which are present in different bioactive compounds, showing broad spectrum of biological activities, such as anti-inflammatory, anti-depressant, anti-bacterial, anti-viral, anti-cancer activities [33–35] and antidiabetic activities [36]. Moreover, functionalized dihydropyrazoles are also of significance for the preparation of compounds similar to natural products and extensive efforts have been directed toward the synthesis of these scaffolds.

* Corresponding author.

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

In continuation of our interest in synthesis of heterocycles exhibiting some biological activity [37–40], herein we described the synthesis and characterization of several 1-acetyl-5-aryl-4,5-dihydro-1H-pyrazoles, characterize all the new products by their spectral data (IR, MS, ^1H NMR and ^{13}C NMR). The crystal structure of 1-[5-(3,4-dimethoxyphenyl)-3-methyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl]ethanone (**2b**) and 1-[5-(4-butoxy-3-methoxyphenyl)-3-methyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl]ethanone (**2f**) were also reported. In addition, *in vitro* antitumor activities of compounds **2** were tested.

2. Experimental

2.1. Materials and methods

All starting chemicals were commercially available and used as received, except that the solvents were purified by distillation. (*E*)-4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-but-3-en-2-one, dehydrozingerone **1a** was prepared according to procedure [29]. *O*-alkyl dehydrozingerones were synthesized according to described procedures [41–43]. Compounds **1b–e** and **1g** are known compounds and were synthesized according to published methods, Scheme 1, [44,45]. *n*-Buthyl derivative **1f** is new compound and their structure and spectral data are given.

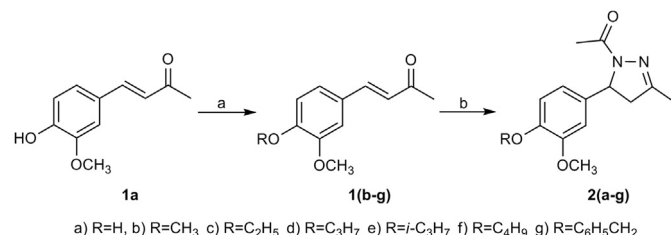
From products of type **2**, compound **2a** is earlier described [46] whereas **2b–g** are new compounds, prepared according procedure [47], Scheme 1.

Column chromatography: silica gel 60 (Merck, 230–400 mesh ASTM); TLC: Silica gel 60 F₂₅₄-precoated plates (Merck); 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 ^{13}C), using CDCl_3 as the solvent and TMS as the internal standard. ^1H and ^{13}C NMR chemical shifts were reported in parts per million (ppm) and were referenced to the solvent peak; CDCl_3 (7.26 ppm for ^1H and 76.90 ppm for ^{13}C). Multiplicities are represented by s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quartet) and m (multiplet). Coupling constants (*J*) are in Hertz (Hz). Assignment of carbon atoms for compounds **1a–g** and **2a–g** are given in Supplementary data file.

Elemental microanalyses for C, H and N were performed by standard methods on a Vario III CHNS Elemental Analyzer, Elementar Analysensysteme GmbH.

Mass spectrometry was performed by Waters Micromass ZQ mass spectrometer and MassLynx software for control and data processing. Electro spray ionization in the positive mode was used. The electro spray capillary was set at 4.3 kV and the cone at 40 V. The ion source temperature was set at 125 °C and the nitrogen flow rates were 400 l/h and 50 l/h, for desolvation and cone gas flow respectively. The collision energy was 40 eV.

Melting point of products was determined by using Mel-Temp1000 apparatus.



Scheme 1. Synthesis of compounds **1b–g** and **2a–g**.

2.2. Chemical synthesis

2.2.1. Synthesis of 4-(4-butoxy-3-methoxyphenyl)-but-3-en-2-one (**1f**)

A mixture of dehydrozingerone **1a** (1.92 g, 10 mmol), *n*-buthyl bromide (excess, 30 mmol) and K_2CO_3 (7 g, anhydrous) in acetone (40 mL) was heated to reflux overnight under argon. Acetone and excess of alkyl halide was evaporated under reduced pressure and solid residue was dissolved in water and extracted with CH_2Cl_2 (3 × 50 mL). The combined extracts were washed with water and dried over anhydrous Na_2SO_4 . After removal of the main part of solvent the residue was filtered over SiO_2 . Product, compound **1f** were isolated as oil, and crystallize on standing. Yield: 96%; m.p. 79 °C; IR (KBr): 3435, 2931, 1667, 1641, 1622, 1598, 1517, 1421, 1387, 1270, 1254, 1227, 1167, 1139, 1032 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3): 0.98 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz, CH₃), 1.45–1.56 (m, 2H, CH₂), 1.77–1.88 (m, 2H, CH₂), 2.37 (s, 3H, CH₃CO), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 4.05 (t, 2H, *J* = 6.6 Hz, CH₂), 6.59 (d, 1H, *J* = 16.2 Hz, CH), 6.85–7.13 (m, 3H, Ar–H), 7.46 (d, 1H, *J* = 16.2 Hz, CH); ^{13}C NMR (CDCl_3): 13.7 (CH₃), 19.1 (CH₂), 27.2 (CH₃), 30.9 (CH₂), 55.9 (OCH₃), 68.6 (CH₂), 110 (C-6, Ar), 112.2 (C-9, Ar), 122.9 (C-10, Ar), 124.9 (CH), 126.9 (C-5, Ar), 143.5 (CH), 149.5 (C-8, Ar), 150.9 (C-7, Ar), 198.2 (CO).

2.2.2. General procedure for synthesis of 1-[5-(4-alkoxy-3-methoxyphenyl)-3-methyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl]ethanone (**2a–g**)

To a stirred solution of **1a–g** (10 mmol), in acetic acid (10 mL) was added hydrazine monohydrate (1.25 mL, 25 mmol) and reaction mixture was heated to reflux for 5 h. The solvent was evaporated under reduced pressure and cold water (50 mL) was added to the yellow residue. Products were extracted from the reaction mixture with toluene or toluene/EtOAc (95:5) mixture. After solvent evaporation oily residue was dissolved in ether from which products **1a–g** crystallize on standing in deepfreeze.

2.2.2.1. 1-[5-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-methyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl]ethanone (**2a**). Yield: 61%; m.p. 181–182 °C; IR (KBr): 3323, 2962, 1627, 1528, 1374, 1125, 1037 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3): 2.07 (s, 3H, CH₃), 2.30 (s, 3H, CH₃CO), 2.68 (dd, 1H, *J* = 18.2, 4.6 Hz, H-8), 3.25–3.41 (m, 1H, H-8), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 5.36 (dd, 1H, *J* = 11.4, 4.6 Hz, H-7), 5.81 (s, 1H, OH), 6.62–6.83 (m, 3H, Ar–H); ^{13}C NMR (CDCl_3): 16 (CH₃), 21.8 (CH₃), 46.4 (C-8, Pz), 55.9 (OCH₃), 59.3 (C-7, Pz), 108.6 (C-2, Ar), 114.8 (C-5, Ar), 117.9 (C-6, Ar), 134 (C-1, Ar), 145.1 (C-4, Ar), 146.6 (C-3, Ar), 155.5 (C-9, Pz), 168.3 (CO). ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 249 (17%) [*M*+1]⁺; 207 (69%), 190 (21.5%), 175 (70.5%), 83 (100%).

2.2.2.2. 1-[5-(3,4-dimethoxyphenyl)-3-methyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl]ethanone (**2b**). Yield: 75%; m.p. 92–93 °C; IR (KBr): 3002, 1659, 1516, 1375, 1139, 1020 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3): 2.07 (s, 3H, CH₃), 2.31 (s, 3H, CH₃CO), 2.68 (dd, 1H, *J* = 18.2, 4.6 Hz, H-8), 3.26–3.42 (m, 1H, H-8), 3.85 (d, 6H, *J* = 3.8 Hz, 2 × OCH₃), 5.38 (dd, 1H, *J* = 11.6, 4.6 Hz, H-7), 6.69–6.83 (m, 3H, Ar–H); ^{13}C NMR (CDCl_3): 15.9 (CH₃), 21.8 (CH₃), 46.3 (C-8, Pz), 55.8 (OCH₃), 55.9 (OCH₃), 59.2 (C-7, Pz), 109.1 (C-2, Ar), 111.6 (C-5, Ar), 117.4 (C-6, Ar), 134.7 (C-1, Ar), 148.4 (C-4, Ar), 149.2 (C-3, Ar), 155.4 (C-9, Pz), 168.3 (CO). Calc. for $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$: C 64.10, H 6.91, N 10.68%; found: C 64.48, H 6.94, N 10.62%. ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 263 (72%) [*M*+1]⁺; 221 (98%), 206 (74%), 189 (93%), 82 (100%).

2.2.2.3. 1-[5-(4-ethoxy-3-methoxyphenyl)-3-methyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl]ethanone (**2c**). Yield: 78%; m.p. 87–88 °C; IR (KBr): 2980, 1657, 1519, 1378, 1139, 1031 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3): 1.43 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz, CH₃), 2.07 (s, 3H, CH₃), 2.30 (s, 3H, CH₃CO), 2.68 (dd, 1H, *J* = 18.2, 4.6 Hz, H-8), 3.26–3.42 (m, 1H, H-8), 3.85 (s, 3H, OCH₃),

4.06 (*q*, 2H, *J* = 7.0 Hz, CH₂), 5.38 (*dd*, 1H, *J* = 11.6, 4.6 Hz, H-7), 6.67–6.83 (*m*, 3H, Ar–H); ¹³C NMR (CDCl₃): 14.7 (CH₃), 15.9 (CH₃), 21.8 (CH₃), 46.3 (C-8, Pz), 55.9 (OCH₃), 59.2 (C-7, Pz), 64.3 (CH₂), 109.3 (C-2, Ar), 113.1 (C-5, Ar), 117.3 (C-6, Ar), 134.6 (C-1, Ar), 147.7 (C-4, Ar), 149.5 (C-3, Ar), 155.4 (C-9, Pz), 168.2 (CO). Calc. for C₁₅H₂₀N₂O₃: C 65.19, H 7.29, N 10.13%; found: C 65.84, H 7.27, N 10.17%. ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 277 (65%) [M+1]⁺; 235 (78%), 220 (69%), 203 (92%), 82 (100%).

2.2.2.4. 1-[5-(3-methoxy-4-propoxyphenyl)-3-methyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl]ethanone (**2d**). Yield: 72%; m.p. 103–104 °C; IR (KBr): 2963, 1645, 1513, 1379, 1143, 1039, 1019 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃): 1.01 (*t*, 3H, *J* = 7.6 Hz, CH₃), 1.78–1.92 (*m*, 2H, CH₂), 2.07 (*s*, 3H, CH₃), 2.31 (*s*, 3H, CH₃CO), 2.68 (*dd*, 1H, *J* = 18.2, 4.4 Hz, H-8), 3.26–3.41 (*m*, 1H, H-8), 3.84 (*s*, 3H, OCH₃), 3.94 (*t*, 2H, *J* = 6.8 Hz, CH₂), 5.38 (*dd*, 1H, *J* = 11.6, 4.6 Hz, H-7), 6.67–6.82 (*m*, 3H, Ar–H), ¹³C NMR (CDCl₃): 10.3 (CH₃), 15.5 (CH₃), 21.8 (CH₂), 22.4 (CH₃), 46.3 (C-8, Pz), 56.1 (OCH₃), 59.2 (C-7, Pz), 70.6 (CH₂), 109.6 (C-2, Ar), 113.3 (C-5, Ar), 117.4 (C-6, Ar), 134.6 (C-1, Ar), 147.9 (C-4, Ar), 149.7 (C-3, Ar), 155.4 (C-9, Pz), 168.2 (CO). Calc. for C₁₆H₂₂N₂O₃: C 66.18, H 7.64, N 9.65%; found: C 65.55, H 7.66, N 9.76%. ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 291 (19.5%) [M+1]⁺; 249 (14%), 217 (16%), 165 (21.5%), 125 (42%), 83 (100%).

2.2.2.5. 1-[5-(3-methoxy-4-iso-propoxyphenyl)-3-methyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl]ethanone (**2e**). Yield: 88%; m.p. 101–102 °C; IR (KBr): 2981, 1643, 1514, 1378, 1141, 1038 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃): 1.34 (*d*, 6H, *J* = 6.0 Hz, 2×CH₃), 2.06 (*s*, 3H, CH₃), 2.31 (*s*, 3H, CH₃), 2.68 (*dd*, 1H, *J* = 18.0, 4.4 Hz, H-8), 3.26–3.41 (*m*, 1H, H-8), 3.83 (*s*, 3H, OCH₃), 4.40–4.52 (*m*, 1H, CH), 5.39 (*dd*, 1H, *J* = 11.6, 4.4 Hz, H-7), 6.64–6.83 (*m*, 3H, Ar–H); ¹³C NMR (CDCl₃): 15.9 (CH₃), 21.8 (2×CH₃), 22.1 (CH₃), 46.3 (C-8, Pz), 55.9 (OCH₃), 59.2 (C-7, Pz), 71.5 (CH), 109.8 (C-2, Ar), 116.1 (C-5, Ar), 117.3 (C-6, Ar), 135 (C-1, Ar), 146.7 (C-4, Ar), 150.6 (C-3, Ar), 155.4 (C-9, Pz), 168.3 (CO). Calc. for C₁₆H₂₂N₂O₃: C 66.18, H 7.64, N 9.65%; found: C 65.78, H 7.67, N 9.62%. ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 291 (12%) [M+1]⁺; 249 (9%), 207 (21%), 192 (28%), 165 (42%), 125 (39%), 82 (100%).

2.2.2.6. 1-[5-(4-butoxy-3-methoxyphenyl)-3-methyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl]ethanone (**2f**). Yield: 81%; m.p. 59–60 °C; IR (KBr): 2958, 1661, 1515, 1378, 1140, 1034 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃): 0.96 (*t*, 3H, *J* = 7.4 Hz, CH₃), 1.41–1.56 (*m*, 2H, CH₂), 1.72–1.86 (*m*, 2H, CH₂), 2.07 (*s*, 3H, CH₃), 2.31 (*s*, 3H, CH₃), 2.68 (*dd*, 1H, *J* = 18.2, 4.4 Hz, H-8), 3.26–3.41 (*m*, 1H, H-8), 3.84 (*s*, 3H, OCH₃), 3.97 (*t*, 2H, *J* = 6.6 Hz, CH₂), 5.39 (*dd*, 1H, *J* = 11.6, 4.4 Hz, H-7), 6.65–6.82 (*m*, 3H, Ar–H); ¹³C NMR (CDCl₃): 15.9 (CH₃), 19.1 (CH₂), 21.8 (CH₃), 31.2 (CH₂), 46.3 (C-8, Pz), 56.1 (OCH₃), 59.2 (C-7, Pz), 68.8 (CH₂), 109.6 (C-2, Ar), 113.3 (C-5, Ar), 117.4 (C-6, Ar), 134.6 (C-1, Ar), 148 (C-4, Ar), 149.6 (C-3, Ar), 155.5 (C-9, Pz), 168.3 (CO). Calc. for C₁₇H₂₄N₂O₃: C 67.08, H 7.94, N 9.20%; found: C 66.95, H 7.99, N 9.15%. ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 305 (23%) [M+1]⁺; 263 (13%), 231 (11%), 206 (9%), 192 (12%), 175 (15%), 124 (49%), 82 (100%).

2.2.2.7. 1-(5-(4-(benzyloxy)-3-methoxyphenyl)-3-methyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl)ethanone (**2g**). Yield: 97%; m.p. 99–100 °C; IR (KBr): 2932, 1656, 1516, 1228, 1379, 1133, 1015 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃): 2.07 (*s*, 3H, CH₃), 2.32 (*s*, 3H, CH₃), 2.68 (*dd*, 1H, *J* = 18.2, 4.6 Hz, H-8), 3.26–3.42 (*m*, 1H, H-8), 3.89 (*s*, 3H, OCH₃), 5.13 (*s*, 2H, CH₂), 5.37 (*dd*, 1H, *J* = 11.4, 4.4 Hz, H-7), 6.62–6.84 (*m*, 3H, Ar–H), 7.28–7.46 (*m*, 5H, Ar–H); ¹³C NMR (CDCl₃): 15.9 (CH₃), 21.8 (CH₃), 46.3 (C-8, Pz), 56.1 (OCH₃), 59.2 (C-7, Pz), 71.1 (CH₂), 109.7 (C-2, Ar), 114.3 (C-5, Ar), 117.3 (C-6, Ar), 127.2 (C-18, Ar), 127.7 (C-16, 20, Ar), 128.5 (C-17, 19, Ar), 137.2 (C-15, Ar), 135.2 (C-1, Ar), 147.6 (C-4, Ar), 149.9 (C-3, Ar), 155.4 (C-9, Pz), 168.3 (CO). Calc. for C₂₀H₂₂N₂O₃: C 70.98, H 6.55, N 8.28%; found: C 71.65, H 6.52, N

8.19%. ESI-MS (40 eV): *m/z* (%) = 339 (39%) [M+1]⁺; 297 (25%), 270 (21%), 124 (54%), 91 (70%), 82 (100%).

2.3. X-ray structure determination

Single-crystal X-ray diffraction data were collected at room temperature on an Agilent Gemini S diffractometer using Cu K α and Mo K α radiation for compounds **2b** and **2f** respectively. Data reduction and empirical absorption corrections were performed with CrysAlisPro [48]. Crystal structure was solved by direct methods, using SIR2002 [49] and refined using SHELXL program [50] by full-matrix least-squares on F².

In both crystal structures all non-H atoms were refined anisotropically to convergence. The contribution of the hydrogen atoms, in their calculated positions, was included in the refinement using a riding model. Crystallographic data and refinement parameters are listed in Table 1. The software used for the preparation of the materials for publication: WinGX [51], ORTEP-3 [52], PLATON [53], PARST [54]. Selected bond lengths are given in Table 2.

2.4. Cytotoxicity

2.4.1. Cells and cell culture

Human breast cancer cell line MDA-MB and human lung carcinoma epithelial cell line A549 were purchased from American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, USA). Human cancer colon cell line HCT-116 was kindly provided by Dr Danijela Vignjević (Institute Curie, Paris, France). Mesenchymal stem cells (MSCs) were purchased from Invitrogen (Carlsbad, CA, USA).

2.4.2. Cytotoxicity assay

Cytotoxicity assay experiments were conducted to determine effects of newly synthesized **2b-g** compounds as well as previously synthesized compound **2a** on cell viability of MDA-MB cell line (a human breast cancer cell line) [55], HCT-116 cell line (an adherent

Table 1
Crystallographic data and structure refinement for crystal structures of **2b** and **2f**.

	2b	2f
Empirical formula	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₃	C ₁₇ H ₂₄ N ₂ O ₃
Formula weight	262.30	304.38
Color, crystal shape	Colorless, prism	Colorless, prism
Crystal size (mm ³)	0.44 × 0.27 × 0.21	0.52 × 0.20 × 0.15
Temperature (K)	293 (2)	293 (2)
Wavelength (Å)	1.5418	0.71073
Crystal system	Triclinic	Monoclinic
Space group	<i>P1</i> –	<i>P2</i> ₁ / <i>c</i>
Unit cell dimensions		
<i>a</i> (Å)	8.6539 (9)	12.4607 (3)
<i>b</i> (Å)	8.8770 (6)	13.2079 (3)
<i>c</i> (Å)	10.5595 (10)	10.2512 (3)
α (°)	114.167 (8)	90
β (°)	101.623 (8)	97.743 (2)
γ (°)	103.347 (7)	90
<i>V</i> (Å ³)	678.90 (11)	1671.76 (7)
<i>Z</i>	2	4
<i>D</i> _{calc} (Mg/m ³)	1.283	1.209
μ (mm ⁻¹)	0.745	0.083
θ range for data collection (°)	4.87–72.60°	3.08 to 29.02
Reflections collected	4376	27,458
Independent reflections, <i>R</i> _{int}	2598, 0.0154	4134, 0.0196
Data/restraints/parameters	2598/0/177	4134/0/203
Goodness-of-fit on <i>F</i> ²	1.049	1.037
Final <i>R</i> ₁ / <i>wR</i> ₂ indices (<i>I</i> > 2 σ _{<i>i</i>})	0.0397, 0.1089	0.0448, 0.1139
Final <i>R</i> ₁ / <i>wR</i> ₂ indices (all data)	0.0433, 0.1129	0.0586, 0.1234
Largest diff. peak and hole (e Å ⁻³)	0.171 and –0.132	0.153 and –0.218

Table 2
Selected bond distances (Å) in the crystal structures of **2b** and **2f**.

	2b	2f
O1–C1	1.2260 (18)	1.2250 (16)
O2–C9	1.3620 (16)	1.3653 (13)
O2–C13	1.4178 (18)	1.4143 (16)
O3–C10	1.3706 (16)	1.3667 (14)
O3–C14	1.4216 (18)	1.4258 (15)
N1–C1	1.3487 (17)	1.3422 (17)
N1–N2	1.4080 (15)	1.4036 (14)
N1–C6	1.4706 (16)	1.4846 (15)
N2–C4	1.2785 (17)	1.2769 (17)
C4–C5	1.4965 (19)	1.4930 (18)
C6–C5	1.5375 (18)	1.5387 (18)
C6–C7	1.5227 (18)	1.5129 (16)

epithelial cell line) originating from human colorectal carcinoma [56], while human lung carcinoma epithelial cell line A549 is *in vitro* most usually used cancer cell line for research in the field of testing cytotoxicity and metabolism of new synthesized compounds towards human lung carcinoma epithelial cells [57]. MSCs were used for control. Synthesized compounds **2** are stable in H₂O/DMSO working medium. Spectra of compound **2c** are recorded in D₂O/DMSO-*d*₆, then after 12, 24 h and after one week. No changes in spectra were observed.

MDA-MB and HCT-116 cells were maintained in RPMI 1640 (Sigma Aldrich, Munich, Germany) supplemented with 10% fetal bovine serum, FBS (Sigma), penicillin G (100 IU/mL), streptomycin (100 µg/mL), and in a humidified atmosphere of 95% air/5% CO₂ at 37 °C. The A549 cells and MSCs were cultured in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) containing 10% FBS, 100 IU/mL penicillin G and 100 µg/mL streptomycin (Sigma). Cell number and viability were determined by trypan blue staining. MDA-MB, HCT-116, A549 cells and MSCs in passage 3 were used throughout these experiments.

2.4.3. Assessment of cytotoxicity

The effects of the compounds **2** on viability of MDA-MB, HCT-116, A549 cancer cells and MSCs were determined by using MTT 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-(2,5-diphenyltetrazolium bromide) test.

MDA-MB, HCT-116, A549 cells and MSCs were diluted with medium to 5 × 10⁴ cells/mL and aliquots (5 × 10³ cells/100 µL) were placed in individual wells in 96-multiplates. After 24 h, cells were treated with selected concentrations of compounds for 3 days: medium was exchanged with 100 µL of different compounds, which had been serially diluted 2-fold in the medium to concentrations ranging from 250 µM to 3.9 µM. Control wells were prepared by the addition of culture medium. Wells containing culture medium without cells were used as blanks. After incubation drug containing medium was discarded and replaced with serum free medium containing 15% of MTT (5 mg/ml) dye. After additional 4 h of incubation 37 °C in a 5% CO₂ incubator, medium with MTT was removed and DMSO (150 µL) with glycine buffer (20 µL) was added to dissolve the blue formazan crystals. The plates were shaken for 10 min. The optical density of each well was determined at 595 nm. The percentage of cytotoxicity was calculated using the formula:

$$\% \text{ cytotoxicity} = 100 - ((TS - BG_0) - E) / (TS - BG_0) \times 100$$

where BG₀ is for background of medium alone, TS is for total viability/spontaneous death of untreated target cells and E is for experimental well.

3. Results and discussion

3.1. The crystal structure of **2b** and **2f** compounds

The molecular structures of **2b** and **2f** (Fig. 1) were confirmed by single crystal X-ray diffraction analysis. Although very similar in composition two molecules exhibit some conformational differences. The main dissimilarity between **2b** and **2f** is in the mutual orientation of two rings (Fig. 1a and b). Thus the N1–C6–C7–C12 torsion angle is 2.9 (2) and –54.9 (2)° in crystal structures of **2b** and **2f** respectively while the dihedral angle between two rings is 73.01 (5) and 87.05 (5)° for **2b** and **2f**. It seems that this structural

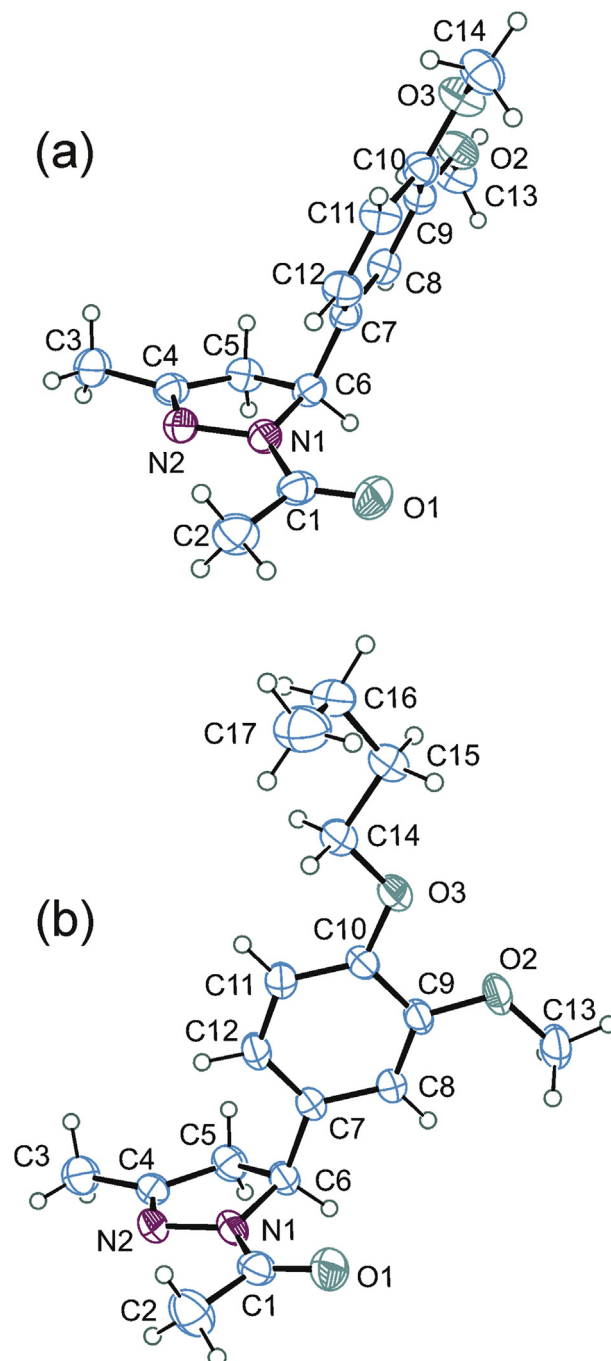


Fig. 1. The molecular structures of the compounds **2b** and **2f**.

difference is under the influence of an intramolecular interaction with participation of the C12–H group (the C12–H ... N1 interaction in the case of **2b** and the C12–H ... π in the case of **2f**).

In both compounds the N1–N2–C4–C5–C6 five-membered ring adopts the same envelope conformation. The N1, N2, C4 and C5 atoms are almost ideally coplanar in both molecules but the C6 atom is more displaced from the N1–N2–C4–C5 mean plane in structure **2b** [displacement of 0.0312(2) Å] than in **2f** [0.0215(2) Å]. It is interesting to note that the O2–R and O3–R substituents are nearly coplanar with phenyl ring in both crystal structures (with only exception for the C17 methyl group in **2f**). Corresponding bond lengths are very similar in compounds **2b** and **2f** but the C6–C7 bond which interconnects two rings is significantly dissimilar (Table 2). The N2–C4 bond [1.278 (2) and 1.277 (2) in **2b** and **2f** respectively] is only localized double bond in both molecules (besides the C1–O1) while the C6 atom forms two the longest C–C bonds (The C6–C5 and C6–C7, see Table 2).

3.2. In vitro activity of compounds 2a-g

The analysis of cancer cell viability showed that all tested compounds were cytotoxic on human colon carcinoma cell (HCT-116) (Fig. 2), human breast carcinoma cell (MDA-MB) (Fig. 3) and on human lung carcinoma epithelial cells (A549) (Fig. 4). Cytotoxic effect was dose dependent: concentration decrease of all tested compounds was followed by markedly increase of tumor cell viability.

IC50 values for compound **2a-g** are given in Table 3.

The tested compounds showed moderate and high cytotoxicity against cancer cells (Figs. 2–4) and low cytotoxicity against MSCs (Fig. 5).

At the highest tested concentration (250 μM) all compounds demonstrated high cytotoxicity against MDA-MB, HCT 116 and A549 cells. In comparison with other compounds, at all concentrations and against all tested cancer cell lines, compound **2f** showed the highest cytotoxicity (Figs. 2–4). Importantly, at the highest tested concentration (250 μM) cytotoxicity of **2f** compound was above 80% for all cancer cell lines. Additionally, the percentage of dead HCT-116, MDA-MB and A549 cells were above 10% after 72 h treatment with the lowest tested concentration (1.95 μM) of **2f** suggesting that this compound has potent anti-tumor activity. Compounds **2a-e** and **2g** showed low cytotoxicity against MDA-MB and A549 cells at concentration below 15.625 μM . However, at the lowest tested concentrations (1.95 μM), compounds **2b-g** have demonstrated high cytotoxicity against HCT 116 cells. From the investigated compounds, the lowest activity, against all tested cancer cell lines, was observed for the compounds **2a**.

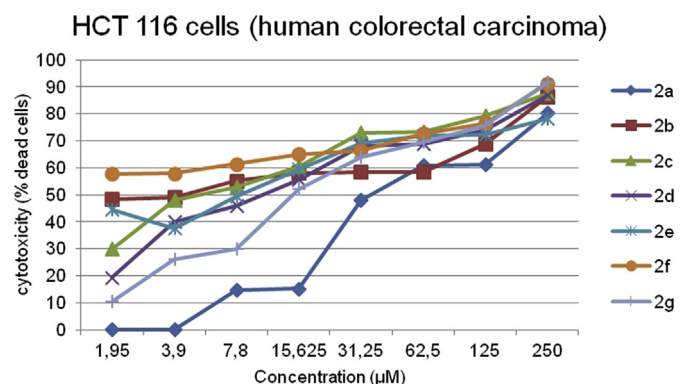


Fig. 2. The effects of the compounds **2** on viability of MDA-MB cancer cells.

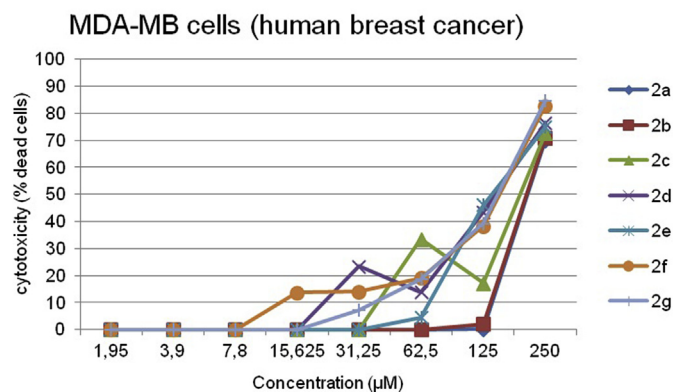


Fig. 3. The effects of the compounds **2** on viability of HCT-116 cancer cells.

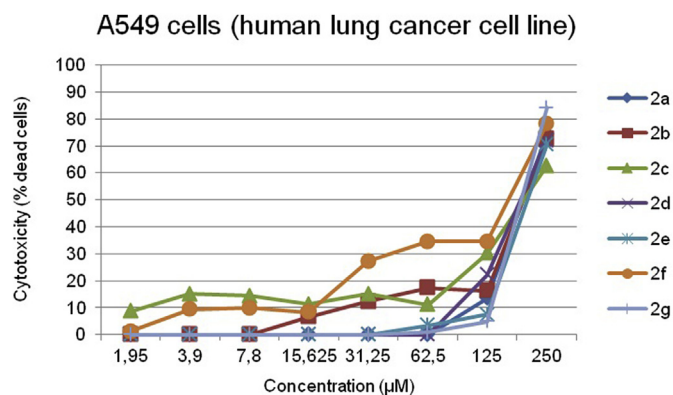


Fig. 4. The effects of the compounds **2** on viability of A549 cancer cells.

It is important to note that all tested compounds showed low cytotoxicity against MSCs. At the highest tested concentration (250 μM) the percentage of dead MSCs was below 50% for all tested compounds and at the lowest tested concentration (1.95 μM) neither of tested compounds was cytotoxic against MSCs.

4. Conclusion

Many chalcones and its derivatives exhibit different anti-cancer activities and their cytotoxic properties get enhanced by the incorporation of pyrazole ring on enone system. Pyrazole derivatives of chalcones have been studied earlier [58].

It is well known that dehydrozingerone **1a** show expressed anticancer activity [29–31], and from this point of view we decide to prepare their pyrazole derivatives (chalcone analogues without phenyl group at position C(3)) and investigate their potential *in vitro* cytotoxic activity against some cancer cell lines (MDA-MB, HCT 116 and A549).

In conclusion, we described herein the synthesis of a small library of 1-acetyl-5-aryl-4,5-dihydro-1H-pyrazoles **2b-g** starting from vanillin *via* derivatives **1b-g**, and their anticancer activity. Synthesized compounds, although simple by structure show moderate to high *in vitro* cytotoxicity on human colon carcinoma cells, human breast carcinoma cells and on human lung carcinoma epithelial cells. At the same time, the most important low cytotoxicity against Mesenchymal stem cells is observed.

From this point, the results of this study suggest that dehydrozingerone based derivatives are promising candidates for treatment of different cancer cell lines due its easy modification of enone system, alkyl chain connected to carbonyl group, or

Table 3
IC50 values for compound 2a-g.

Name of compound	HCT 116		MDA-MB		A549		MSCs	
	Mean IC50 concentration of compounds in μM	$\pm\text{SD}$	Mean IC50 concentration of compounds in μM	$\pm\text{SD}$	Mean IC50 concentration of compounds in μM	$\pm\text{SD}$	Mean IC50 concentration of compounds in μM	$\pm\text{SD}$
2a	27.50	3.36	187.39	31.04	173.56	41.43	187.50	20.35
2b	116.24	11.65	185.59	19.84	169.30	9.58	187.12	20.43
2c	13.81	9.69	132.74	9.57	145.83	20.24	156.49	19.96
2d	13.69	13.09	100.91	11.39	159.71	25.71	187.50	14.57
2e	14.51	12.89	112.08	24.54	187.50	22.77	187.50	11.89
2f	90.96	19.70	133.42	28.70	41.49	14.05	22.24	5.09
2g	15.19	8.27	132.91	23.54	183.72	4.35	77.02	4.25

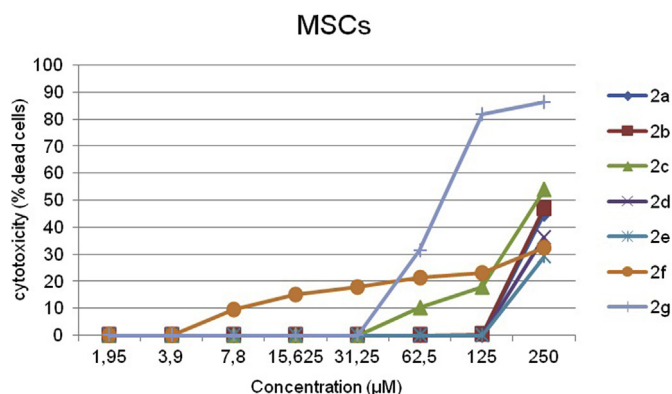


Fig. 5. The effects of the compounds 2 on viability of MSCs cells.

substituent on phenolic group.

Acknowledgment

The authors are grateful to the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (Projects No. OI172034, OI172014 and 175103) for financial support.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data related to this article can be found at <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2015.12.079>.

References

- [1] S. Bag, S. Ramar, M.S. Degani, *Med. Chem. Res.* 18 (2009) 309–316.
- [2] K.L. Lahtchev, D.I. Batovska, S.P. Parushev, V.M. Ubiyovk, A.A. Sibirny, *Eur. J. Med. Chem.* 43 (2008) 2220–2228.
- [3] N. Yayli, O. Ucuncu, A. Yasar, M. Kucuk, E. Akyuz, S.A. Karaoglu, *Tur. J. Chem.* 30 (2006) 505–514.
- [4] A.R. Trivedi, D.K. Dodiya, N.R. Ravat, V.H. Shah, *Arkivoc XI* (2008) 131–141.
- [5] P.M. Sivakumar, S. Ganesan, P. Veluchamy, M. Doble, *Chem. Biol. Drug. Des.* 76 (2010) 407–411.
- [6] S. Kaushik, N. Kumar, S. Drabu, *Pharm. Res.* 3 (2010) 257–262.
- [7] R.F. Vasilev, V.D. Kancheva, G.F. Fedorova, D.I. Batovska, A.V. Trofimov, *Med. Chem. Res.* 51 (2010) 507–515.
- [8] P.M. Sivakumar, P.K. Prabhakar, M. Doble, *Med. Chem. Res.* 19 (2010) 1–17.
- [9] S. Vogel, S. Ohmayer, G. Brunner, J. Heilmann, *Bioorg. Med. Chem.* 16 (2008) 4286–4293.
- [10] J.H. Cheng, C.F. Hung, S.C. Yang, J.P. Wang, S.J. Won, C.H. Lin, *Bioorg. Med. Chem.* 16 (2008) 7270–7276.
- [11] L.F. Motta, A.C. Gaudio, Y. Takahata, *Internet Electron. J. Mol. Des.* 5 (2006) 555–569.
- [12] S.K. Awasthi, N. Mishra, B. Kumar, M. Sharma, A. Bhattacharya, L.C. Mishra, V.K. Bhasin, *Med. Chem. Res.* 18 (2009) 407–420.
- [13] S.S. Lim, H.S. Kim, D.U. Lee, *Bull. Korean Chem. Soc.* 28 (2007) 2495–2497.
- [14] X. Wu, P. Wilairat, M.N. Go, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 12 (2002) 2299–2302.
- [15] F. Lunardi, M. Guzela, A.T. Rodrigues, R. Corre, I. Eger-Mangrich, M. Steindel, E.C. Grisard, J. Assrey, J.B. Calixto, A.R.S. Santos, *Antimicrob. Agents Chemother.* 47 (2003) 1449–1451.
- [16] H.L. Yadav, P. Gupta, P.S. Pawar, P.K. Singour, U.K. Patil, *Med. Chem. Res.* 19 (2010) 1–8.
- [17] X.W. Zhang, D.H. Zhao, Y.C. Quan, L.P. Sun, X.M. Yin, L.P. Guan, *Med. Chem. Res.* 19 (2010) 403–412.
- [18] F. Herencia, M.L. Ferrandiz, A. Ubeda, J.N. Dominguez, J.E. Charris, G.A. Lobo, M.J. Alcaraz, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 8 (1998) 1169–1174.
- [19] Z. Nowakowska, *Eur. J. Med. Chem.* 42 (2007) 125–137.
- [20] G. Achanta, A. Modzelewska, L. Feng, S.R. Khan, P. Huang, *Mol. Pharmacol.* 70 (2006) 426–433.
- [21] R. Romagnoli, P.G. Baraldi, M.D. Carrion, C.L. Cara, O. Cruz-Lopez, D. Preti, *Bioorg. Med. Chem.* 16 (2008) 5367–5376.
- [22] C. Echeverria, J.F. Santibanez, O. Donoso-Tauda, C.A. Escobar, R.R. Tagle, *Int. J. Mol. Sci.* 10 (2009) 221–231.
- [23] E. Szliszka, Z.P. Czuba, B. Mazur, L. Sedek, A. Paradysz, W. Krol, *Int. J. Mol. Sci.* 11 (2010) 1–13.
- [24] K. Ilango, P. Valentina, G. Saluja, *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.* 1 (2010) 354–359.
- [25] L.W. Wattenberg, J.B. Coccia, A.R. Galhath, *Cancer Lett.* 83 (1994) 165–169.
- [26] M. L. Edwards, D. M. Stermerick, S. P. Sunkara, *Eur. Pat. Appl. EP 288,794* (1988, November 2); *Chem. Abstr.* 111, 17706t.
- [27] D. Kumar, N.M. Kumar, K. Akamatsu, E. Kusaka, H. Harada, T. Ito, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 20 (2011) 3916–3919.
- [28] W.D. Seo, Y.B. Ryu, M.J. Curtis-Long, C.W. Lee, H.W. Ryu, K.C. Jang, *Eur. J. Med. Chem.* 45 (2010) 2010–2017.
- [29] L.R. Smith, *Chem. Educ.* 1 (1996) 1–18.
- [30] N. Motohashi, C. Yamagami, H. Tokuda, T. Konoshima, Y. Okuda, M. Okuda, T. Mukainaka, H. Nishino, Y. Saito, *Cancer Lett.* 134 (1998) 37–42.
- [31] B.K. Adams, E.M. Ferstl, M.C. Davis, M. Herold, S. Kurtkaya, R.F. Camalier, M.G. Hollingshead, G. Kaur, E.A. Sausville, F.R. Rickles, J.P. Snyder, D.C. Liotta, M. Shoji, *Bioorg. Med. Chem.* 12 (2004) 3871–3883.
- [32] J. Ishida, H. Ohtsu, Y. Tachibana, Y. Nakanishi, K.F. Bastow, M. Nagi, H.K. Wang, H. Itokawa, K.H. Lee, *Bioorg. Med. Chem.* 10 (2002) 3481–3487.
- [33] A.J. Levai, *Heterocycl. Chem.* 39 (2002) 1–13.
- [34] M. Kissane, A.R. Maguire, *Chem. Soc. Rev.* 39 (2010) 845–883.
- [35] M.A. Ali, M. Shaharyar, *Bioorg. Med. Chem.* 15 (2007) 1896–1902.
- [36] A. Sahoo, S. Yabanoglu, B.N. Sinha, G. Ucar, A. Basu, V. Jayaprakash, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 20 (2010) 132–136.
- [37] M. Joksović, Z. Ratković, M. Vukićević, R.D. Vukićević, *Synlet* 16 (2006) 2581–2584.
- [38] I. Damljanović, M. Vukićević, N. Radulović, R. Palić, E. Ellmerer, Z. Ratković, M. Joksović, R.D. Vukićević, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19 (2009) 1093–1096.
- [39] I. Damljanović, M. Colović, M. Vukićević, D. Manojlović, N. Radulović, K. Wurst, G. Laus, Z. Ratković, M. Joksović, R.D. Vukićević, *J. Organomet. Chem.* 694 (2009) 1575–1580.
- [40] Z. Ratković, Z.D. Juranić, T. Stanojković, D. Manojlović, R.D. Vukićević, N. Radulović, M.D. Joksović, *Bioorg. Chem.* 38 (2010) 26–32.
- [41] B. Loev, C.R. Dawson, *J. Am. Chem. Soc.* 78 (1956) 6095–6098.
- [42] J. Tatsuzaki, K.F. Bastow, K. Nakagawa-Goto, S. Nakamura, H. Itokawa, K. Lee, *J. Nat. Prod.* 69 (2006) 1445–1449.
- [43] A.R. Katritzky, Q. Long, H. He, G. Qiu, A.L. Wilcox, *Arkivoc vi* (2000) 868–875.
- [44] J. Tatsuzaki, K. Nakagawa-Goto, H. Tokuda, K. Lee, *J. Asian Nat. Prod. Res.* 12 (2010) 227–232.
- [45] R. Dickinson, I. M. Heilbron, F. Irving, *xxx* (1927) 1888–1897.
- [46] S.-F. Wang, W. Zhu, X. Yang, L.-J. Zhou, *Acta Cryst. E61* (2005) 03985–03986.
- [47] A. Levai, J. Jakob, *Arkivoc x* (2005) 199–205.
- [48] Agilent, CrysAlis PRO, Agilent Technologies, Yarnton, Oxfordshire, England, 2013.
- [49] C.M. Burla, M. Camalli, B. Carrozzini, G.L. Cascarano, C. Giacovazzo, G. Polidori, R. Spagna, *J. Appl. Crystallogr.* 36 (2003), 1103–1103.
- [50] G.M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. A64* (2008) 112–122.
- [51] L.J. Farrugia, *J. Appl. Crystallogr.* 32 (1999) 837–838.
- [52] L.J. Farrugia, *J. Appl. Crystallogr.* 30 (1997) 565–566.
- [53] A.L. Spek, *J. Appl. Crystallogr.* 36 (2003) 7–13.
- [54] M. Nardelli, *J. Appl. Crystallogr.* 29 (1995), 659–659.

- [55] G.C. Reiner, B.S. Katzenellenbogen, *Cancer Res.* 46 (1986) 1124–1131.
- [56] K. Kuribayashi, N. Finnberg, J.R. Jeffers, G.P. Zambetti, W.S. El-Deiry, *Cell Cycle* 10 (2011) 2380–2389.
- [57] M. Arsenijević, M. Milovanović, V. Volarević, A. Đeković, T. Kanjevac, N. Arsenijević, S. Dukić, Ž.D. Bugarčić, *Med. Chem.* 1 (2012) 2–8.
- [58] K. Nepali, K. Kadian, R. Ojha, R. Dhiman, A. Garg, G. Singh, A. Buddhiraja, P.M.S. Bedi, K. Lal Dhar, *Med. Chem. Res.* 21 (2012) 2990–2997.

SYNTHESIS OF *O*-ALKYL DERIVATIVES OF DEHYDROZINGERONE ANALOGUES

Jovana Muškinja¹, Zoran Ratković^{1*}, Branislav Ranković², Marijana Kosanić²

¹Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac,

²Department of Biology and Ecology, Faculty of Science, University of Kragujevac,
Radoja Domanovića 12, 34 000 Kragujevac, Republic of Serbia

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

(Received April 11, 2016)

ABSTRACT. Vanillin and isobutyl methyl ketone (4-methylpentan-2-one) reacts under Claisen–Schmidt conditions yielding corresponding dehydrozingerone analogue, (*E*)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-methylhex-1-en-3-one. A small series of its *O*-alkyl derivatives was prepared by alkylation of free phenolic group with corresponding alkyl halides. Products had been tested for their biological activity and demonstrated relatively strong *in vitro* antimicrobial activity towards different strains of bacteria and fungi. All new compounds were well characterized by IR, ¹H and ¹³C NMR spectroscopy and physical data.

Keywords: vanillin, dehydrozingerone, enone system, microbiological activity.

INTRODUCTION

Chalcones, 1,3-diaryl-2-propen-1-ones, are one of the important classes of organic compounds, which have a unique chemical structure with conjugated double bonds and a completely delocalized π -electron system on both aromatic rings.

Chalcones and its derivatives exhibit different pharmacological and biological activities. They show good antifungal [1-3], antimicrobial [4-6], anticonvulsant [7], antioxidant [8-10], antiprotozoal [11], antitrichomonal [12] antimalarial [13-15], anti-inflammatory [16-18], trypsin inhibitors [19] and anti-cancer activity [20-23]. At this kind of molecules is important to identify the fragment of their structure responsible for previously described activities. It has been reported that free phenolic group in ring at position 4- was key factor important for potent antibacterial activity of licochalcone A and licochalcone B [24-25]. Activity is dependant on the nature, position and number of substituent on aromatic rings.

From ginger root, fresh or dried, many different kinds of compounds, such as dehydrozingerone, zingerone, gingerol, shogaol, paradol and their derivatives have been isolated. Vanillin fragment is presented in all kinds of those compounds. Those compounds also have well expressed bioactivity, such as anticancer, anti-oxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, antidiabetic, anti-allergic [26-28].

Starting from this fact we supposed that vanillin is suitable substrate for further transformation, due its easy modification, by *O*-alkylation [29-30], by coupling reactions and forming of divanillin [31], formylations in position 5- [32].

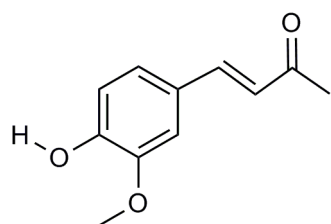


Figure 1. Structure of dehydrozingerone

Dehydrozingerone, 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-buten-2-one, Fig. 1, one of pungent constituents of ginger rhizome, also exhibits a wide range of biological activities [33-35]. Although conjugate enone system is presented in this phenolic compound, its structure differs from chalcones; instead of the aryl group to the carbonyl is connected the methyl one. Enone system could be easily transformed into some usable heterocyclic derivatives [36-38].

In continuation of our interest in synthesis of vanillin derivatives we synthesized, starting from vanillin, dehydrozingerone analogue (*E*)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-methylhex-1-en-3-one **2a**. Starting from this enone compound several *O*-alkyl derivatives were synthesized, and all new products were characterized by their spectral data (IR, ¹H NMR and ¹³C NMR). Their biological activity toward some strains of microorganisms have been tested.

MATERIALS AND METHODS

General remarks

All starting chemicals were commercially available and used as received, except that the solvents were purified by distillation. Chromatographic separations were carried out using silica gel 60 (Merck, 230-400 mesh ASTM) whereas silica gel on Al plates, layer thickness 0.2 mm (Merck), was used for TLC. IR spectra were recorded on a Perkin-Elmer One FT-IR spectrometer with a KBr disc, ν in cm^{-1} ; NMR spectra were recorded on a Varian Gemini 200 MHz spectrometer (200 MHz for ¹H and 50 MHz for ¹³C), using CDCl₃ as solvent and TMS as the internal standard. ¹H and ¹³C NMR chemical shifts were reported in parts per million (ppm) and were referenced to the solvent peak; CDCl₃ (7.26 ppm for ¹H and 76.90 ppm for ¹³C). Multiplicities are represented by s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quartet) and m (multiplet). Coupling constants (*J*) are in Hertz (Hz).

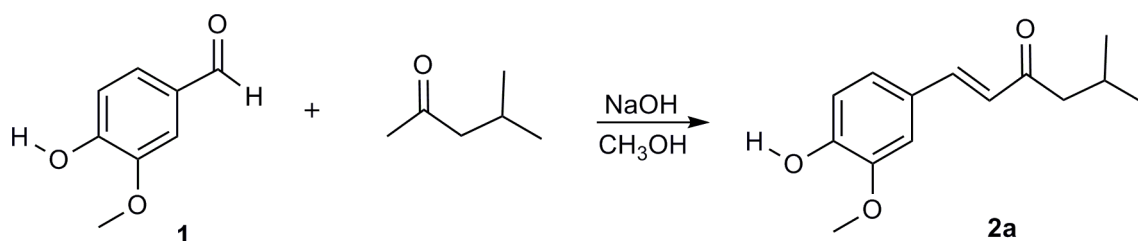
The antimicrobial activity was estimated by determination of the minimal inhibitory concentration (MIC) using the broth microdilution method against five species of bacteria and five species of fungi.

Experimental procedure

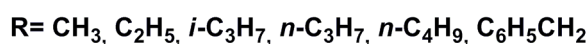
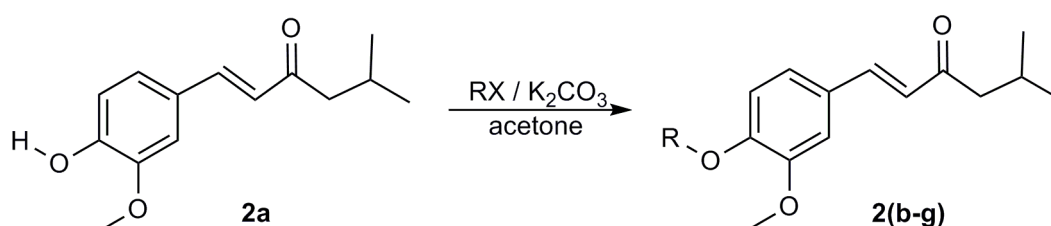
1. Chemistry

Vanillin and 4-methylpentan-2-one reacts under Claisen-Schmidt conditions yielding corresponding enone compound (*E*)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-methylhex-1-en-3-one, **2a** in good yield, Scheme 1. Compound **2a** was prepared according to slightly modified procedure [39]. A set of its *O*-alkyl derivatives, compounds **2b-g**, was prepared by alkylation of free phenolic group in **2a** with corresponding alkyl halides, according to the described literature procedures, [29,30,40], Scheme 2.

Compounds **2a** and **2b** are known compounds and their chemical synthesis was published earlier [41,42]. Compounds **2c-g** are new compound and their structure and spectral data are given.



Scheme 1. Synthesis of (*E*)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-methylhex-1-en-3-one, **2a**



Scheme 2. Synthesis of (*E*)-1-(4-alkoxy-3-methoxyphenyl)-5-methylhex-1-en-3-one, **2b-g**

2. Chemical synthesis

2.1. Synthesis of (*E*)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-methylhex-1-en-3-one, **2a**

Vanillin, 4.56 g (30 mmol) was dissolved in 50 mL of methanol and 100 mL of 4-methylpentan-2-one was added. In to a well stirred homogenous mixture 10% NaOH (25 mL) was added and mixture was stirred for 48 hours at 60°C. Solvents, methanol and methyl-*i*-butyl ketone, was removed under reduced pressure and to oily residue 100 mL of water was added, then acidified with 2M HCl (pH=2). Product was extracted with CH₂Cl₂, 3×50 mL, and organic layer was washed with water and dried with anhydrous Na₂SO₄. Solvent was distilled off and residue was distilled with steam until no more methyl-*i*-butyl ketone odour was presented in distillate. Water/oil residue were extracted with toluene, 3×50 mL, organic phase was dried and solvent was evaporated under reduced pressure, yielding a yellow oily product (*E*)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-methylhex-1-en-3-one, **2a** which crystalize on standing.

Yield: 89.6%; m.p. 82°C; **IR (KBr)**: 2970, 2952, 2870, 1678, 1601, 1584, 1517, 1286, 1268, 1146, 1065, 988 cm⁻¹; **¹H NMR** (CDCl₃): 0.98 (d, 6H, *J*=6.6Hz, 2xCH₃), 2.16-2.30 (m, 1H, CH), 2.53 (d, 2H, *J*=7.0Hz, CH₂), 3.92 (s, 3H, OCH₃), 6.25 (s, 1H, OH), 6.61 (d, 1H, *J*=16.2Hz, CH), 6.93 (d, 1H, *J*=8.2Hz, Ar-H), 7.05-7.11 (m, 2H, Ar-H), 7.48 (d, 1H, *J*=16.2Hz, CH); **¹³C NMR** (CDCl₃): 22.6, 25.3, 49.6, 55.9, 109.5, 114.8, 123.3, 124.4, 127, 142.7, 146.9, 148.2, 200.4 (CO).

2.2. General procedure for synthesis of (*E*)-1-(4-alkoxy-3-methoxyphenyl)-5-methylhex-1-en-3-one, **2b-g**

A mixture of (*E*)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-methylhex-1-en-3-one, **2a** (0.470 g, 2 mmol), corresponding alkyl halide (excess, 10 mmol) and K₂CO₃ (1.94 g, anhydrous, 14 mmol) in acetone (50 mL) was heated to reflux overnight under argon. Acetone and excess of alkyl halide was evaporated under reduced pressure, solid residue was dissolved in water and extracted with CH₂Cl₂ (3×50 mL). The combined extracts were washed with water and dried over anhydrous Na₂SO₄. After removal of the main part of solvent the residue was filtered over short SiO₂ column and then distilled with steam, if necessary. Products, compounds **2c** and **2d** were isolated as oils, and others crystallize on standing.

2.2.1. Synthesis of (*E*)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)-5-methylhex-1-en-3-one, **2b**

CH₃I, 1.45 g (excess, 10 mmol); m.p. 67°C; Yield: 99.4%.

IR (KBr): 2957, 2926, 2869, 1683, 1648, 1595, 1582, 1517, 1464, 1366, 1273, 1253, 1190, 1141, 1017, 975 cm⁻¹; **¹H NMR (CDCl₃):** 0.98 (d, 6H, *J*=6.6Hz, 2xCH₃), 2.17-2.31 (m, 1H, CH), 2.53 (d, 2H, *J*=6.8Hz, CH₂), 3.92 (d, 6H, *J*=1.2Hz, 2xOCH₃), 6.63 (d, 1H, *J*=16.2Hz, CH), 6.88 (d, 1H, *J*=8.2Hz, Ar-H), 7.08-7.16 (m, 2H, Ar-H), 7.49 (d, 1H, *J*=16.0Hz, CH); **¹³C NMR (CDCl₃):** 22.6, 25.2, 49.6, 55.9, 109.7, 111.1, 122.8, 124.7, 127.5, 142.3, 149.2, 151.2, 200.1 (CO).

2.2.3. Synthesis of (*E*)-1-(4-ethoxy-3-methoxyphenyl)-5-methylhex-1-en-3-one, **2c**

C₂H₅I, 1.56 g (excess, 10 mmol); oil; Yield: 80.9%.

IR (KBr): 2957, 2871, 1683, 1649, 1596, 1513, 1466, 1266, 1232, 1141, 1035, 983 cm⁻¹; **¹H NMR (CDCl₃):** 0.98 (d, 6H, *J*=6.6Hz, 2xCH₃), 1.49 (t, 3H, *J*=7.0Hz, CH₃), 2.17-2.30 (m, 1H, CH), 2.53 (d, 2H, *J*=7.0Hz, CH₂), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 4.14 (q, 2H, *J*=7.0Hz, CH₂), 6.62 (d, 1H, *J*=16.2Hz, CH), 6.86 (d, 1H, *J*=8.2Hz, Ar-H), 7.07-7.14 (m, 2H, Ar-H), 7.49 (d, 1H, *J*=16.2Hz, CH); **¹³C NMR (CDCl₃):** 14.6, 22.7, 25.3, 49.7, 55.9, 64.4, 110.1, 112.3, 122.8, 124.6, 127.3, 142.5, 149.5, 150.7, 200.2 (CO).

2.2.4. Synthesis of (*E*)-1-(3-methoxy-4-isopropoxyphenyl)-5-methylhex-1-en-3-one, **2d**

i-C₃H₇I, 1.70 g (excess, 10 mmol); oil; Yield: 77.7%.

IR (KBr): 2960, 2871, 1682, 1652, 1595, 1509, 1466, 1420, 1268, 1230, 1138, 1110, 983 cm⁻¹; **¹H NMR (CDCl₃):** 0.98 (d, 6H, *J*=6.8Hz, 2xCH₃), 1.39 (d, 6H, *J*=6.0Hz, 2xCH₃), 2.17-2.30 (m, 1H, CH), 2.53 (d, 2H, *J*=7.0Hz, CH₂), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 4.55-4.67 (m, 1H, CH), 6.62 (d, 1H, *J*=16.0Hz, CH), 6.88 (d, 1H, *J*=8.0Hz, Ar-H), 7.09-7.14 (m, 2H, Ar-H), 7.49 (d, 1H, *J*=16.2Hz, CH); **¹³C NMR (CDCl₃):** 21.9, 22.7, 25.3, 49.7, 55.9, 71.3, 110.7, 114.6, 122.7, 124.6, 127.5, 142.5, 149.8, 150.3, 200.2 (CO).

2.2.5. Synthesis of (*E*)-1-(3-methoxy-4-propoxyphenyl)-5-methylhex-1-en-3-one, **2e**

n-C₃H₇Br, 1.23 g (excess, 10 mmol); m.p. 49-50°C; Yield: 91.7%.

IR (KBr): 2960, 2939, 2874, 1689, 1645, 1619, 1595, 1515, 1466, 1423, 1271, 1226, 1140, 1033, 973 cm⁻¹; **¹H NMR (CDCl₃):** 0.98 (d, 6H, *J*=6.6Hz, 2xCH₃), 1.05 (t, 3H, *J*=7.6Hz, CH₃), 1.79-1.98 (m, 2H, CH₂), 2.17-2.30 (m, 1H, CH), 2.53 (d, 2H, *J*=6.8Hz, CH₂), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 4.02 (t, 2H, *J*=6.8Hz, CH₂), 6.62 (d, 1H, *J*=16.0Hz, CH), 6.87 (d, 1H, *J*=8.2Hz, Ar-H), 7.07-7.14 (m, 2H, Ar-H), 7.49 (d, 1H, *J*=16.2Hz, CH); **¹³C NMR (CDCl₃):** 10.3, 22.3, 22.7, 25.3, 49.7, 56, 70.5, 110.3, 112.5, 122.9, 124.6, 127.3, 142.5, 149.6, 150.9, 200.2 (CO).

2.2.6. Synthesis of (E)-1-(4-butoxy-3-methoxyphenyl)-5-methylhex-1-en-3-one, **2f**

$n\text{-C}_4\text{H}_9\text{Br}$, 1.37 g (excess, 10 mmol); m.p. 54°C; Yield: 96.5%.

IR (KBr): 2954, 2871, 1651, 1622, 1598, 1514, 1466, 1425, 1273, 1169, 1140, 1042, 981 cm^{-1} ; **$^1\text{H NMR}$** (CDCl_3): 0.98 (dt, 9H, $J=6.6\text{Hz}$, $2\times\text{CH}_3$), 1.41-1.59 (m, 2H, CH_2), 1.77-1.92 (m, 2H, CH_2), 2.18-2.30 (m, 1H, CH), 2.53 (d, 2H, $J=7.0\text{Hz}$, CH_2), 3.90 (s, 3H, OCH_3), 4.05 (t, 2H, $J=6.8\text{Hz}$, CH_2), 6.62 (d, 1H, $J=16.0\text{Hz}$, CH), 6.87 (d, 1H, $J=8.0\text{Hz}$, Ar-H), 7.07-7.14 (m, 2H, Ar-H), 7.49 (d, 1H, $J=16.0\text{Hz}$, CH); **$^{13}\text{C NMR}$** (CDCl_3): 13.8, 19.1, 22.7, 25.3, 31, 49.7, 55.9, 68.7, 110.3, 112.4, 122.9, 124.6, 127.3, 142.5, 149.6, 150.9, 200.2 (CO).

2.2.7. Synthesis of (E)-1-(4-benzyloxy-3-methoxyphenyl)-5-methylhex-1-en-3-one, **2g**

$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{Cl}$, 1.27 g (excess, 10 mmol); m.p. 71-72°C; Yield: 81.3%.

IR (KBr): 2956, 2930, 2862, 1679, 1646, 1624, 1595, 1512, 1465, 1455, 1256, 1163, 1138, 1030, 981 cm^{-1} ; **$^1\text{H NMR}$** (CDCl_3): 0.97 (d, 6H, $J=6.6\text{Hz}$, $2\times\text{CH}_3$), 2.16-2.29 (m, 1H, CH), 2.52 (d, 2H, $J=6.8\text{Hz}$, CH_2), 3.92 (s, 3H, OCH_3), 5.18 (s, 2H, CH_2), 6.61 (d, 1H, $J=16.2\text{Hz}$, CH), 6.87 (d, 1H, $J=8.0\text{Hz}$, Ar-H), 7.03-7.09 (m, 2H, Ar-H), 7.26-7.51 (m, 6H, CH, Ar-H); **$^{13}\text{C NMR}$** (CDCl_3): 22.7, 25.3, 49.7, 55.9, 70.8, 110.4, 113.5, 122.6, 124.8, 127.1, 127.8, 127.9, 128.5, 136.5, 142.3, 149.8, 150.4, 200.2 (CO).

3. Antimicrobial activity

Microorganisms and media

The following bacteria were used as test organisms in this study: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *B. cereus* (ATCC 10987), *Escherichia coli* (ATCC 25922) and *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). All of the bacteria used were obtained from the American Type Culture Collection (ATCC). The bacterial cultures were maintained on Müller-Hinton agar substrates (Torlak, Belgrade). The fungi used as test organisms were: *Aspergillus flavus* (ATCC 9170), *A. fumigatus* (ATCC 1022), *Candida albicans* (ATCC 10259), *Penicillium purpurescens* (ATCC 48987), *P. verucosum* (ATCC 48959). All of the fungi were from the American Type Culture Collection (ATCC). The fungal cultures were maintained on potato dextrose (PD) agar, except for *C. albicans* that was maintained on Sabourad dextrose (SD) agar (Torlak, Belgrade). All of the cultures were stored at 4°C and subcultured every 15 days.

Bacterial inoculi were obtained from bacterial cultures incubated for 24 h at 37°C on Müller-Hinton agar substrates and brought up by dilution according to the 0.5 McFarland standard to approximately 10^8 CFU/mL. Suspensions of fungal spores were prepared from freshly mature (3- to 7-day-old) cultures that grew at 30°C on a PD agar substrate. The spores were rinsed with sterile distilled water, used to determine turbidity spectrophotometrically at 530 nm, and were then further diluted to approximately 10^6 CFU/mL according to the procedure recommended by NCCLS (1998).

Minimal inhibitory concentration (MIC)

The minimal inhibitory concentration (MIC) was determined by the broth microdilution method using 96-well micro-titer plates [43]. A series of dilutions with

concentrations ranging from 20 to 0.004 mg/mL of the tested compounds was used in the experiment against every microorganism tested. The starting solutions of tested compounds was obtained by measuring off a certain quantity of the compounds and dissolving it in 5% dimethyl sulphoxide (DMSO). Two-fold dilutions of the compounds were prepared in a Müller-Hinton broth for bacterial cultures and a SD broth for fungal cultures. The MIC was determined with resazurin. Resazurin is a redox indicator used for the evaluation of microbial growth. It is a blue non-fluorescent dye that becomes pink and fluorescent when reduced to resorufin by oxidoreductases within viable cells. The boundary dilution without any changing color of resazurin was defined as the MIC for the tested microorganism at a given concentration. As a positive control of growth inhibition, streptomycin and ketoconazole was used. A 5% DMSO solution was used as a negative control for the influence of the solvents.

RESULTS AND DISCUSSION

Dehydrozingerone analogues **2a**, with *i*-butyl group attached to carbonyl, were synthesized under Claisen–Schmidt conditions yielding corresponding enone compound (*E*)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-methylhex-1-en-3-one, **2a** in good yield. This compound reacts with various alkyl halides yielding corresponding *O*-alkyl derivatives **2b-g**.

Synthesized compounds **2a-g** was well characterized by spectral data and microbiological activity. The tested compounds **2a-c** demonstrated relatively strong antimicrobial activity inhibiting all tested microorganisms. The MIC for these compounds relative to the tested microorganisms ranged from 0.009 to 5 mg/mL. The strongest antibacterial activity was found in **2a** component, which inhibited all the species of bacteria, especially *B. subtilis* where measured MIC value was extremely low (0.009 mg/mL). This compound also inhibited the growth of the tested fungi but in slightly higher concentrations (MIC values were from 0.312 to 0.625 mg/mL). Compound **2d** inhibited only *B. subtilis* and *B. cereus*. Other tested components (**2e-g**) did not inhibit any of the test microorganisms. Among the bacteria, the highest resistance was shown in *E. coli*, while the most sensitive was *B. subtilis*. Among the fungi, the most sensitive appeared to be *C. albicans*.

The antimicrobial activity was compared with the standard antibiotics, streptomycin (for bacteria) and ketoconazole (for fungi). The results showed that standard antibiotics had stronger activity than tested samples as shown in Table 1. In these experiments, the compounds examined at the same concentrations showed a slightly stronger antibacterial than antifungal activity. These results could be expected due to the fact that numerous tests proved that bacteria are more sensitive to the antibiotic compared to fungi [44]. The reason for different sensitivities between fungi and bacteria can be found in different permeabilities of the cell wall. The cell wall of the gram-positive bacteria consists of peptidoglycans (murein) and teichoic acids, while the cell wall of gram-negative bacteria consists of lipopolysaccharides and lipopoliproteins [45], whereas, the cell wall of fungi consists of polysaccharides such as chitin and glucan [46].

Compounds **2b-c** have substituent with short carbon chain on oxygen (Me and Et), whereas compounds **2d-g** have longer carbon chain on oxygen (*i*-Pr, *n*-Pr, *n*-Bu and Bz). We suppose that structure of alkyl group is responsible for the lack of their activity.

From this point, the results of this study suggest that dehydrozingerone analogue derivatives **2a-g** are promising candidates, after some modification, for testing of some other activities.

References:

- [1] BAG, S., RAMAR, S., DEGANI, M.S. (2009): Synthesis and biological evaluation of α,β -unsaturated ketone as potential antifungal agents, *Med. Chem. Res.* **18**: 309-316.
- [2] LAHTCHEV, K.L., BATOVSKA, D.I., PARUSHEV, S.P., UBIYVOVK, V.M., SIBIRNY, A.A. (2008): Antifungal activity of chalcones: a mechanistic study using various yeast strains, *Eur. J. Med. Chem.* **43**: 2220-2228.
- [3] MOSTAHAR, S., KATUN, P., ISLAM, A. (2007): Synthesis of two vanillin ring containing flavones by different methods and studies of their antibacterial and antifungal activities, *J. Biol. Sci.* **7**: 514-519.
- [4] YAYLI, N., UCUNCU, O., YASAR, A., KUCUK, M., AKYUZ, E., KARAOGLU, S.A. (2006): Synthesis and biological activities of *N*-alkyl derivatives of *o*-, *m*-, and *p*-nitro (*E*)-4-azachalcones and stereoselective photochemistry in solution with theoretical calculations, *Turk. J. Chem.* **30**: 505-514.
- [5] TRIVEDI, A.R., DODIYA, D.K., RAVAT, N.R., SHAH, V.H. (2008): Synthesis and biological evaluation of some new pyrimidines via a novel chalcone series, *Arxivoc (xi)*: 131-141.
- [6] OPLETALOVA, V. (2000): Chalcones and their heterocyclic analogs as potential therapeutic agents in bacterial diseases, *Cesk. Slov. Farm.* **49**: 278-284.
- [7] KAUSHIK, S., KUMAR, N., DRABU, S. (2010): Synthesis and anticonvulsant activities of phenoxychalcones, *Pharm. Res.* **3**: 257-262.
- [8] VASIL'EV, R.F., KANCHEVA, V.D., FEDOROVA, G.F., BATOVSKA, D.I., TROFIMOV, A.V. (2010): Antioxidant activity of chalcones: The chemiluminescence determination of the reactivity and the quantum chemical calculation of the energies and structures of reagents and intermediates, *Kinet. Katal.* **51**: 507-515.
- [9] SIVAKUMAR, P.M., PRABHAKAR, P.K., DOBLE, M. (2010): Synthesis, antioxidant evaluation and quantitative structure activity relationship studies of chalcones, *Med. Chem. Res.* **19**: 1-17.
- [10] VOGEL, S., OHMAYER, S., BRUNNER, G., HEILMANN, J. (2008): Natural and non-natural prenylated chalcones: Synthesis, cytotoxicity and antioxidative activity, *Bioorg. Med. Chem.* **16**: 4286-4293.
- [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. (2003): Trypanocidal and leishmanicidal properties of substitution-containing chalcones, *Antimicrob. Agents Chemother.* **47**: 1449-1451.
- [12] OYEDAPO, A.O., MANKANJU, V.O., ADEWUNMI, C.O., IWALEWA, E.O., ADENOWO, T.K., (2004): Antitrichomonal activity of 1,3-diaryl-2-propen-1-ones on *Trichomonas gallinae*, *Afr. J. Trad. CAM* **1**: 55-62
- [13] MOTTA, L.F., GAUDIO, A.C., TAKAHATA, Y. (2006): Quantitative structure–activity relationships of a series of chalcone derivatives (1,3-diphenyl-2-propen-1-one) as anti plasmodium falciparum agents (anti malaria agents), internet electron. *J. Mol. Des.* **5**: 555-569.
- [14] AWASTHI, S.K., MISHRA, N., KUMAR, B., SHARMA, M., BHATTACHARYA, A., MISHRA, L.C., BHASIN, V.K. (2009): Potent antimalarial activity of newly synthesized substituted chalcone analogs *in vitro*, *Med. Chem. Res.* **18**: 407-420.
- [15] LIM, S.S., KIM, H.S., LEE, D.U. (2007): In vitro antimalarial activity of flavonoids and chalcones, *Bull. Korean Chem. Soc.* **28**: 2495-2497.

- [16] ZHANG, X.W., ZHAO, D.H., QUAN, Y.C., SUN, L.P., YIN, X.M., GUAN, L.P. (2010): Synthesis and evaluation of anti-inflammatory activity of substituted chalcone derivatives, *Med. Chem. Res.* **19**: 403-412.
- [17] HERENCIA, F., FERRANDIZ, M.L., UBEDA, A., DOMINGUEZ, J.N., CHARRIS, E.J., LOBO, G.M., ALCARAZ, M.J. (1998): Synthesis and anti-inflammatory activity of chalcone derivatives, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **8**: 1169-1174.
- [18] NOWAKOWSKA, Z. (2007): A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones *Eur. J. Med. Chem.* **42**: 125-137.
- [19] MALIAR, T., JEDINAK, A., KADRABOVA, J., STURDIK, E. (2004): Structural aspects of flavonoids as trypsin inhibitors, *Eur. J. Med. Chem.* **39**: 241-248.
- [20] ROMAGNOLI, R., BARALDI, P.G., CARRION, M.D., CARA, C.L., CRUZ-LOPEZ, O., PRETI, D. (2008): Design, synthesis, and biological evaluation of thiophene analogues of chalcones, *Bioorg. Med. Chem.* **16**: 5367-5376.
- [21] ECHEVERRIA, C., SANTIBANEZ, J.F., DONOSO-TAUDA, O., ESCOBAR, C.A., TAGLE, R.R. (2009): Structural antitumoral activity relationships of synthetic chalcones, *Int. J. Mole. Sci.* **10**: 221-231.
- [22] SZLISZKA, E., CZUBA, Z.P., MAZUR, B., SEDEK, L., PARADYSZ, A., KROL, W. (2009): Chalcones enhance TRAIL-induced apoptosis in prostate cancer cells, *Int. J. Mol. Sci.* **11**: 1-13
- [23] ILANGO, K., VALENTINA, P., SALUJA, G. (2010): Synthesis and *in vitro* anticancer activity of some substituted chalcones derivatives, *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.* **1**: 354-359.
- [24] TSUKIYAMA, R.I., KATSURA, H., TOKURIKI, N., KOBAYASHI, M. (2002): Antibacterial activity of licochalcone A against spore-forming bacteria, *Antimicrob. Agents Chemother.* **46**: 1226-1230.
- [25] CHEN, M., CHRISTENSEN, S.B., ZHAI, L., RASMUSSEN, M.H., THEANDER, T., FROKJAER, S., STEFFANSEN, B., DAVIDSEN, J., KHARAZMI, A. (1997): The novel oxygenated chalcone, 2,4-dimethoxy-4'-butoxychalcone, exhibits potent activity against human malaria parasite *Plasmodium falciparum* *in vitro* and rodent parasites *Plasmodium berghei* and *Plasmodium yoelii* *in vivo*, *J. Infect. Dis.* **176**: 1327-1333.
- [26] SEMWAL, R.B., SEMWAL, D.K., COMBRINCK, S., VILJOEN, A.M. (2015): Gingerols and shogaols: Important nutraceutical principles from ginger, *Phytochemistry* **117**: 554-568.
- [27] NAKAMURA, H., YAMAMOTO, T. (1983): The active part of the [6]-gingerol molecule in mutagenesis, *Mutat. Res. Lett.* **122**: 87-94.
- [28] DUGASANI, S., PICHKA, M.R., NADARAJAH, V.D., BALIJEPALLI, M.K., TANDRA, S., KORLAKUNTA, J.N. (2010): Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of [6]-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol and [6]-shogaol, *J. Ethnopharmacol.* **127**: 515-520.
- [29] KATRITZKY, A.R., LONG, Q., HE, H., QUA, G., WILCOX, A.L. (2006): Preparation of 2-alkoxy-5-methoxybenzaldehydes and 2-ethoxy-5-alkoxybenzaldehydes, *Arkivoc* (**vi**): 868-875.
- [30] TATSUZAKI, J., BASTOW, K.F., NAKAGAWA-GOTO, K., NAKAMURA, S., ITOKAWA, H., LEE, K. (2006): Dehydrozingerone, chalcone, and isoeugenol analogues as *in vitro* anticancer agents, *J. Nat. Prod.* **69**: 1445-1449.
- [31] NISHIMURA, R.T., GIAMMANCO, C.H., VOSBURG, D.A. (2010): Green, enzymatic syntheses of divanillin and diapocynin for the organic, biochemistry, or advanced general chemistry laboratory, *J. Chem. Ed.* **87**: 526-527.
- [32] BLAŽEVIĆ, N., KOLBAH, D., BELIN, B., ŠUNJIĆ, V., KAJFEŽ, F. (1979): Hexamethylenetetraamine, a versatile reagent in organic syntheses, *Synthesis* **3**: 161-176.

- [33] MOTOHASHI, N., YAMAGAMI, C., TOKUDA, H., KONOSHIMA, T., OKUDA, Y., OKUDA, M., MUKAINAKA, T., NISHINO, H., SAITO, Y. (1998): Inhibitory effects of dehydrozingerone and related compounds on 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate induced Epstein-Barr virus early antigen activation, *Cancer Lett.* **134**: 37-42.
- [34] ADAMS, B.K., FERSTL, E.M., DAVIS, M.C., HEROLD, M., KURTKAYA, S., CAMALIER, R.F., HOLLINGSHEAD, M.G., KAUR, G., SAUSVILLE, E.A., RICKLES, F.R., SNYDER, J.P., LIOTTA, D.C., SHOJI, M. (2004): Synthesis and biological evaluation of novel curcumin analogs as anti-cancer and anti-angiogenesis agents, *Bioorg. Med. Chem.* **12**: 3871-3883.
- [35] ISHIDA, J., OHTSU, H., TACHIBANA, Y., NAKANISHI, Y., BASTOW, K.F., NAGAI, M., WANG, H.K., ITOKAWA, H., LEE, K.H. (2002): Antitumor agents. Part 214: synthesis and evaluation of curcumin analogues as cytotoxic agents, *Bioorg. Med. Chem.* **10**: 3481-3487.
- [36] ABDEL-RAHMAN, A.A.H., ABDEL-MEGIED, A.E.S., HAWATA, M.A.M., KASEM, E.R., SHABAAN, M.T. (2007): Synthesis and antimicrobial evaluation of some chalcones and their derived pyrazoles, pyrazolines, isoxazolines, and 5,6-dihydropyrimidine-2-(1H)-thiones, *Monatshefte* **138**: 889-897.
- [37] KALIRAJAN, R., SIVAKUMAR, S.U., JUBIE, S., GOWRAMMA, B., SURESH, B. (2009): Synthesis and biological evaluation of some heterocyclic derivatives of chalcones, *Int. J. ChemTech. Res.* **1**: 27-34.
- [38] RATKOVIĆ, Z., MUŠKINJA, J., BURMUDŽIJA, A., RANKOVIĆ, B., KOSANIĆ, M., BOGDANOVIĆ, G.A., SIMOVIĆ MARKOVIĆ, B., NIKOLIĆ, A., ARSENIJEVIĆ, N., ĐORĐEVIĆ, S., VUKIĆEVIĆ, R.D. (2016): Dehydrozingerone based 1-acetyl-5-aryl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazoles: synthesis, characterization and anticancer activity, *J. Mol. Struct.* **1109**: 82-88.
- [39] SMITH, L.R., (1996): Rheosmin ("Raspberry Ketone") and Zingerone, and their preparation by crossed aldol-catalytic hydrogenation sequences, *Chem. Educator* **1**: 1-18.
- [40] LOEV, B., DAWSON, C.R. (1956): Alkylphenols related to the poison ivy principle. An improved method of synthesis involving the Na-Butanol cleavage of benzyl ethers, *J. Am. Chem. Soc.* **78**: 6095-6101.
- [41] SURI, K.A., SOOD, R.P., SURI, O.P., ATAL, C.K., SINGH, G.B. (1981): Synthesis of potential anti-inflammatory compounds, *Indian J. Pharm. Sci.* **43**: 226-228.
- [42] NOMURA, H., HOTTA, S. (1925): Synthesis of the homologs of zingerone, *Sci. Reports Tohoku Imperial University, Series 4: Biology*, **14**: 131-142
- [43] SARKER, S.D., NAHAR, L., KUMARASAMY, Y. (2007): Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the *in vitro* antibacterial screening of phytochemicals, *Methods* **42**: 321-324.
- [44] HUGO, W.B., RUSSELL, A.D. (1983): *Pharmaceutical microbiology*, 3rd edition, (Blackwell Scientific Publications).
- [45] HEIJENOORT, J. (2001): Formation of the glycan chains in the synthesis of bacterial peptidoglycan, *Glycobiology* **11**: 25-36.
- [46] FARKAŠ, V. (2003): Structure and biosynthesis of fungal cell walls: methodological approaches, *Folia Microbiologica* **48**: 469-478.

Table 1. Minimum inhibitory concentration (MIC) of tested compounds **2a-g**

Microorganisms	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Penicillium purpureescens</i>	<i>Penicillium verucosum</i>
Tested compounds										
2a	0.156	0.009	0.019	0.312	0.156	0.625	0.312	0.312	0.312	0.625
2b	0.625	0.078	0.156	2.5	1.25	5	2.5	1.25	5	5
2c	1.25	0.156	0.312	2.5	1.25	5	5	1.25	5	5
2d	-	0.625	1.25	-	-	-	-	-	-	-
2e	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2f	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2g	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Antibiotics	0.031	0.016	0.016	0.062	0.062	0.078	0.078	0.039	0.156	0.156

Values given as mg/mL

Antibiotics: Streptomycin (for bacteria) and Ketoconazole (for fungi),

Acta Crystallographica Section E

Structure Reports

Online

ISSN 1600-5368

4-Ethoxy-3-methoxybenzaldehyde

Zorica Leka,^{a*} Sladjana B. Novaković,^b Goran A. Bogdanović,^b Jovana Muškinja^c and Rastko D. Vukićević^c

^aFaculty of Metallurgy and Technology, University of Montenegro, Cetinjski put bb, 81000 Podgorica, Montenegro, ^bVinča Institute of Nuclear Sciences, Laboratory of Theoretical Physics and Condensed Matter Physics, PO Box 522, University of Belgrade, 11001 Belgrade, Serbia, and ^cFaculty of Sciences, Department of Chemistry, University of Kragujevac, R. Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia
Correspondence e-mail: zorica@ac.me

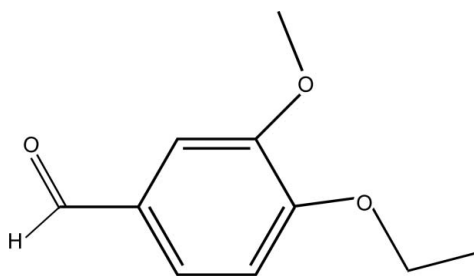
Received 4 October 2013; accepted 9 October 2013

Key indicators: single-crystal X-ray study; $T = 293$ K; mean $\sigma(\text{C}-\text{C}) = 0.003$ Å; R factor = 0.047; wR factor = 0.148; data-to-parameter ratio = 15.4.

In the title compound, $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3$, all non-H atoms are approximately coplanar, with an r.m.s. deviation of 0.046 Å. In the crystal, very weak $\text{C}-\text{H}\cdots\text{O}$ interactions link the molecules into sheets parallel to (101).

Related literature

For the bioactivity of dehydrozingerone derivatives and their role in the synthesis of heterocycles, see: Tatsuzaki *et al.* (2006); Kubra *et al.* (2013); Panda & Chowdary (2008); Mostahar *et al.* (2007). For related crystal structures, see: Matos Beja *et al.* (1997); Velavan *et al.* (1995).



Experimental

Crystal data

$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3$
 $M_r = 180.20$
Monoclinic, $P2_1/c$
 $a = 11.5314$ (16) Å

$b = 8.7905$ (11) Å
 $c = 9.3363$ (13) Å
 $\beta = 97.339$ (14)°
 $V = 938.6$ (2) Å³

$Z = 4$
Cu $K\alpha$ radiation
 $\mu = 0.78$ mm⁻¹

$T = 293$ K
 $0.39 \times 0.17 \times 0.14$ mm

Data collection

Agilent Gemini S diffractometer
Absorption correction: multi-scan
(*CrysAlis PRO*; Agilent, 2013)
 $T_{\min} = 0.933$, $T_{\max} = 1.000$

6035 measured reflections
1848 independent reflections
1299 reflections with $I > 2\sigma(I)$
 $R_{\text{int}} = 0.021$

Refinement

$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.047$
 $wR(F^2) = 0.148$
 $S = 1.04$
1848 reflections

120 parameters
H-atom parameters constrained
 $\Delta\rho_{\max} = 0.12$ e Å⁻³
 $\Delta\rho_{\min} = -0.17$ e Å⁻³

Table 1

Hydrogen-bond geometry (Å, °).

$D-H\cdots A$	$D-H$	$H\cdots A$	$D\cdots A$	$D-H\cdots A$
$\text{C1}-\text{H1}\cdots\text{O1}^{\text{i}}$	0.93	2.67	3.547 (3)	157
$\text{C10}-\text{H10B}\cdots\text{O2}^{\text{ii}}$	0.96	2.62	3.525 (2)	156

Symmetry codes: (i) $-x, y - \frac{1}{2}, -z + \frac{3}{2}$; (ii) $-x + 1, y - \frac{1}{2}, -z + \frac{1}{2}$.

Data collection: *CrysAlis PRO* (Agilent, 2013); cell refinement: *CrysAlis PRO*; data reduction: *CrysAlis PRO*; program(s) used to solve structure: *SHELXS97* (Sheldrick, 2008); program(s) used to refine structure: *SHELXL97* (Sheldrick, 2008); molecular graphics: *ORTEP-3 for Windows* (Farrugia, 2012) and *Mercury* (Macrae *et al.*, 2006); software used to prepare material for publication: *WinGX* (Farrugia, 2012), *PLATON* (Spek, 2009) and *PARST* (Nardelli, 1995).

This work was supported by the Ministry of Education, Science and Technological development of the Republic of Serbia (projects No. 172014, 172035 and 172034).

Supplementary data and figures for this paper are available from the IUCr electronic archives (Reference: ZQ2209).

References

- Agilent (2013). *CrysAlis PRO*. Agilent Technologies, Yarnton, England.
Farrugia, L. J. (2012). *J. Appl. Cryst.* **45**, 849–854.
Kubra, R., Murthy, P. & Mohan Rao, J. (2013). *J. Food Sci.* **78**, M64–M69.
Macrae, C. F., Edgington, P. R., McCabe, P., Pidcock, E., Shields, G. P., Taylor, R., Towler, M. & van de Streek, J. (2006). *J. Appl. Cryst.* **39**, 453–457.
Matos Beja, A., Paixão, J. A., Ramos Silva, M., Alte da Veiga, L., Rocha Gonsalves, A. M. d'A., Pereira, M. M. & Serra, A. C. (1997). *Acta Cryst.* **C53**, 494–496.
Mostahar, S., Katun, P. & Islam, A. (2007). *J. Biol. Sci.* **7**, 514–519.
Nardelli, M. (1995). *J. Appl. Cryst.* **28**, 659.
Panda, S. S. & Chowdary, P. V. R. (2008). *Indian J. Pharm. Sci.* **70**, 208–215.
Sheldrick, G. M. (2008). *Acta Cryst.* **A64**, 112–122.
Spek, A. L. (2009). *Acta Cryst.* **D65**, 148–155.
Tatsuzaki, J., Bastow, K. F., Nakagawa-Goto, K., Nakamura, S., Itokawa, H. & Lee, K.-H. (2006). *J. Nat. Prod.* **69**, 1445–1449.
Velavan, R., Sureshkumar, P., Sivakumar, K. & Natarajan, S. (1995). *Acta Cryst.* **C51**, 1131–1133.

supplementary materials

Acta Cryst. (2013). E69, o1728 [doi:10.1107/S160053681302761X]

4-Ethoxy-3-methoxybenzaldehyde

Zorica Leka, Sladjana B. Novaković, Goran A. Bogdanović, Jovana Muškinja and Rastko D. Vukićević

1. Comment

Dehydrozingerone derivatives belong to an important class of compounds, not only due to their different bioactivities (Tatsuzaki *et al.*, 2006; Kubra *et al.*, 2013), but also as the key substrates in synthesis of some heterocycles (Panda *et al.*, 2008), particularly flavones (Mostahar *et al.*, 2007). They can be synthesized by condensation of the corresponding aromatic aldehyde with acetone. Thus, starting substrate in synthesis of ethyl derivative of dehydrozingerone is 4-ethoxy-3-methoxybenzaldehyde (I), compound obtained by simple methylation of vanillin.

In the title structure, all non-hydrogen atoms are approximately coplanar with a mean deviation of 0.046 Å (Fig. 1). A somewhat higher displacement of 0.102 (2) Å has been observed for atom C9 belonging to ethoxy moiety. The dihedral angle between the best planes through the phenyl ring and the non-H atoms of ethoxy moiety is 8.1 (1)°. The aromatic C—C bond lengths are in the expected range of 1.368 (2)–1.411 (2) Å (Table 2). The five C—O bonds have various lengths. The shortest length is found for the carbonyl C1—O1 = 1.204 (2) bond in accordance with the prevailing double bond character.

The crystal structure exhibits no conventional hydrogen bonding. The molecules are held together by weak C—H⋯O and van der Waals interactions. The two C—H⋯O intermolecular contacts shorter than the sum of the van der Waals radii [C1—H1 = 0.93; H1⋯O1 = 2.67 Å; C1—H1⋯O1ⁱ = 157.3° and C10—H10B = 0.96, H10B⋯O2 = 2.62 Å, C10—H10B⋯O2ⁱⁱ = 156.4° (symmetry codes: i = -x, +y - 1/2, -z + 3/2; ii = -x + 1, +y - 1/2, -z + 1/2)] connect the molecules into a sheet parallel to (101). These sheets further connect into three-dimensional structure by C—H⋯ π interaction [C10—H10c = 0.96, H10c⋯Cg1 = 3.00 Å C10—H10c⋯Cg1ⁱⁱⁱ = 147° [(symmetry code: iii = -x + 1, -y, -z + 1)] (Fig. 2). The approximate distance between the adjacent parallel sheets is 3.5 Å. For related crystal structures, see Matos Beja *et al.* (1997) and Velavan *et al.* (1995).

2. Experimental

Diethyl sulfate was dropped into a water solution of sodium hydroxide and vanillin. The reaction mixture was stirred overnight at 50°C and cooled at room temperature resulting firstly an oily product, which on standing gave crude crystal 4-ethoxy-3-methoxybenzaldehyde.

One gram of crude 4-ethoxy-3-methoxybenzaldehyde was stirred vigorously in 150 ml of boiling water, the hot mixture filtered of through a cotton pad. The obtained milky-white emulsion upon overnight cooling at room temperature gave crystal needles of 4-ethoxy-3-methoxybenzaldehyde.

3. Refinement

All H atoms were included in calculated positions and treated as riding with $d(\text{C—H})$ equal to: 0.96 Å (CH₃), 0.97 Å (CH₂) or 0.93 Å (aromatic CH) and $U_{\text{iso}}(\text{H})$ equal to: 1.5 $U_{\text{eq}}(\text{C})$ for CH₃ or 1.2 $U_{\text{eq}}(\text{C})$ for CH₂ and CH.

Computing details

Data collection: *CrysAlis PRO* (Agilent, 2013); cell refinement: *CrysAlis PRO* (Agilent, 2013); data reduction: *CrysAlis PRO* (Agilent, 2013); program(s) used to solve structure: *SHELXS97* (Sheldrick, 2008); program(s) used to refine structure: *SHELXL97* (Sheldrick, 2008); molecular graphics: *ORTEP-3 for Windows* (Farrugia, 2012) and *Mercury* (Macrae *et al.*, 2006); software used to prepare material for publication: *WinGX* (Farrugia, 2012), *PLATON* (Spek, 2009) and *PARST* (Nardelli, 1995).

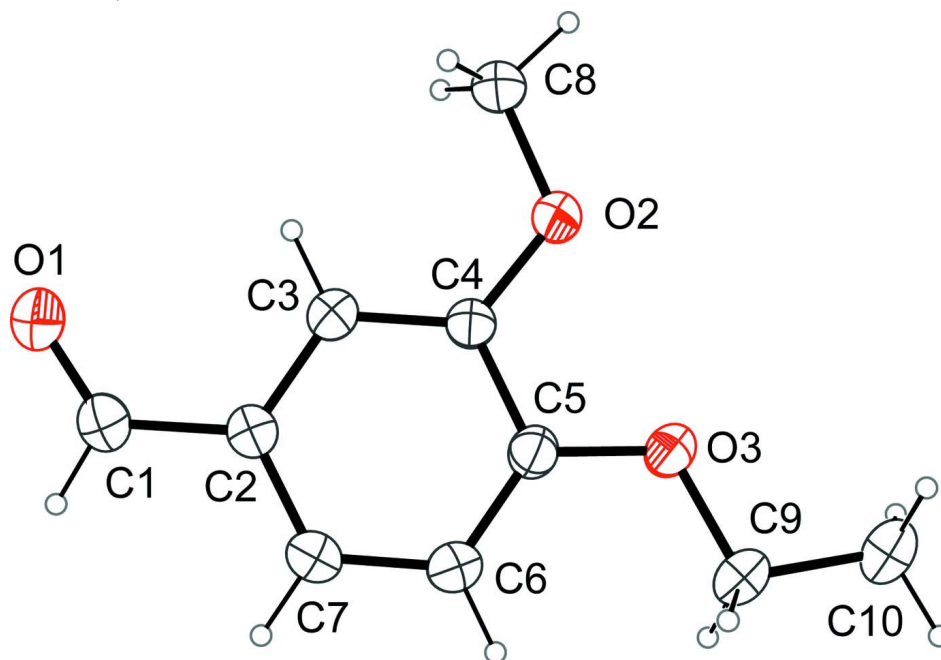


Figure 1

The molecular structure of the title compound, with atom labels and 30% probability displacement ellipsoids for non-H atoms.

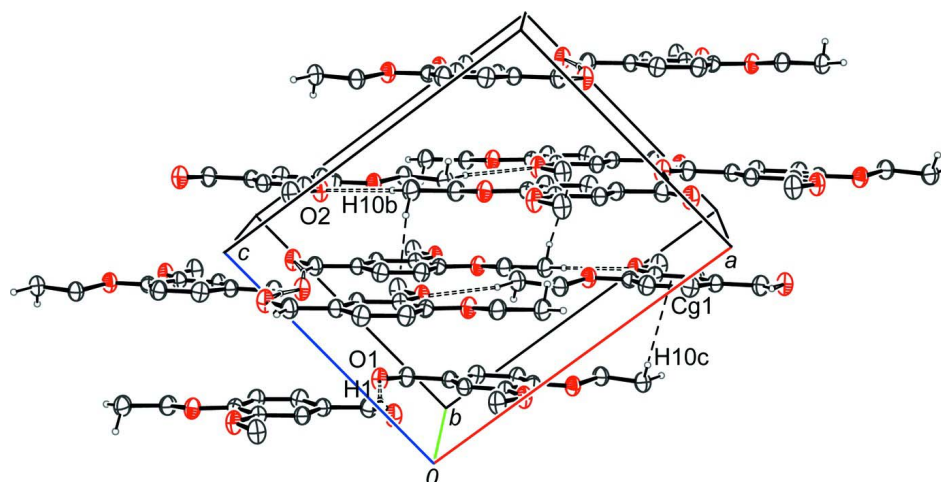


Figure 2

Three-dimensional layered structure of the title compound. All H atoms which are not involved in intermolecular interactions are omitted for clarity.

4-Ethoxy-3-methoxybenzaldehyde

Crystal data

$C_{10}H_{12}O_3$	$F(000) = 384$
$M_r = 180.20$	$D_x = 1.275 \text{ Mg m}^{-3}$
Monoclinic, $P2_1/c$	Cu $K\alpha$ radiation, $\lambda = 1.54180 \text{ \AA}$
Hall symbol: -P 2ybc	Cell parameters from 1676 reflections
$a = 11.5314 (16) \text{ \AA}$	$\theta = 3.9\text{--}71.1^\circ$
$b = 8.7905 (11) \text{ \AA}$	$\mu = 0.78 \text{ mm}^{-1}$
$c = 9.3363 (13) \text{ \AA}$	$T = 293 \text{ K}$
$\beta = 97.339 (14)^\circ$	Needle, white
$V = 938.6 (2) \text{ \AA}^3$	$0.39 \times 0.17 \times 0.14 \text{ mm}$
$Z = 4$	

Data collection

Agilent Gemini S diffractometer	6035 measured reflections
Radiation source: Enhance (Cu) X-ray Source	1848 independent reflections
Graphite monochromator	1299 reflections with $I > 2\sigma(I)$
Detector resolution: $16.3280 \text{ pixels mm}^{-1}$	$R_{\text{int}} = 0.021$
ω scans	$\theta_{\text{max}} = 73.2^\circ$, $\theta_{\text{min}} = 3.9^\circ$
Absorption correction: multi-scan (CrysAlis PRO; Agilent, 2013)	$h = -14 \rightarrow 14$
$T_{\text{min}} = 0.933$, $T_{\text{max}} = 1.000$	$k = -10 \rightarrow 8$
	$l = -11 \rightarrow 9$

Refinement

Refinement on F^2	Secondary atom site location: difference Fourier map
Least-squares matrix: full	Hydrogen site location: inferred from neighbouring sites
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.047$	H-atom parameters constrained
$wR(F^2) = 0.148$	$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0746P)^2 + 0.0716P]$
$S = 1.04$	where $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
1848 reflections	$(\Delta/\sigma)_{\text{max}} < 0.001$
120 parameters	$\Delta\rho_{\text{max}} = 0.12 \text{ e \AA}^{-3}$
0 restraints	$\Delta\rho_{\text{min}} = -0.17 \text{ e \AA}^{-3}$
Primary atom site location: structure-invariant direct methods	

Special details

Experimental. Absorption correction: empirical absorption correction using spherical harmonics, implemented in SCALE3 ABSPACK scaling algorithm (CrysAlis PRO; Agilent, 2013)

Fractional atomic coordinates and isotropic or equivalent isotropic displacement parameters (\AA^2)

	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	$U_{\text{iso}}^*/U_{\text{eq}}$
O1	-0.01326 (13)	-0.00997 (18)	0.78722 (16)	0.0954 (5)
O2	0.27667 (11)	0.22381 (13)	0.46226 (14)	0.0818 (4)
O3	0.37383 (11)	-0.00811 (13)	0.35924 (13)	0.0780 (4)
C1	0.03443 (17)	-0.1075 (2)	0.7257 (2)	0.0824 (5)
H1	0.0130	-0.2076	0.7411	0.099*
C2	0.12260 (15)	-0.0833 (2)	0.62934 (18)	0.0683 (5)
C3	0.15663 (15)	0.0635 (2)	0.59500 (18)	0.0675 (5)
H3	0.1230	0.1470	0.6348	0.081*
C4	0.23881 (14)	0.08576 (18)	0.50352 (17)	0.0642 (4)

C5	0.29161 (15)	-0.0414 (2)	0.44602 (18)	0.0665 (5)
C6	0.25783 (15)	-0.1856 (2)	0.47925 (19)	0.0768 (5)
H6	0.2918	-0.2696	0.4406	0.092*
C7	0.17310 (17)	-0.2063 (2)	0.5703 (2)	0.0793 (6)
H7	0.1502	-0.3043	0.5917	0.095*
C8	0.22711 (16)	0.3550 (2)	0.5194 (2)	0.0889 (6)
H8A	0.1438	0.3535	0.4938	0.133*
H8B	0.2588	0.4447	0.4804	0.133*
H8C	0.2453	0.3554	0.6227	0.133*
C9	0.43966 (16)	-0.1315 (2)	0.3099 (2)	0.0812 (6)
H9A	0.3872	-0.2051	0.2583	0.097*
H9B	0.4838	-0.1823	0.3916	0.097*
C10	0.52047 (17)	-0.0694 (3)	0.2129 (2)	0.0930 (7)
H10A	0.4761	-0.0211	0.1314	0.140*
H10B	0.5659	-0.1507	0.1799	0.140*
H10C	0.5717	0.0037	0.2645	0.140*

Atomic displacement parameters (\AA^2)

	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{12}	U^{13}	U^{23}
O1	0.0975 (10)	0.0929 (10)	0.1040 (11)	-0.0069 (8)	0.0448 (9)	-0.0036 (8)
O2	0.0900 (8)	0.0605 (7)	0.1034 (9)	0.0055 (6)	0.0452 (7)	0.0059 (6)
O3	0.0846 (8)	0.0715 (8)	0.0838 (8)	0.0123 (6)	0.0332 (7)	0.0019 (6)
C1	0.0844 (12)	0.0782 (12)	0.0887 (13)	-0.0103 (10)	0.0265 (10)	0.0006 (10)
C2	0.0694 (10)	0.0658 (11)	0.0714 (10)	-0.0022 (8)	0.0152 (8)	0.0024 (8)
C3	0.0679 (10)	0.0652 (10)	0.0715 (10)	0.0047 (8)	0.0170 (8)	-0.0022 (8)
C4	0.0661 (9)	0.0578 (10)	0.0706 (10)	0.0041 (7)	0.0162 (8)	0.0045 (7)
C5	0.0675 (9)	0.0694 (11)	0.0643 (9)	0.0050 (8)	0.0153 (8)	0.0017 (8)
C6	0.0872 (12)	0.0633 (11)	0.0834 (12)	0.0063 (9)	0.0239 (10)	-0.0036 (9)
C7	0.0920 (13)	0.0600 (11)	0.0887 (12)	-0.0049 (9)	0.0224 (10)	0.0028 (9)
C8	0.0965 (14)	0.0606 (11)	0.1171 (16)	0.0027 (9)	0.0431 (12)	-0.0010 (10)
C9	0.0803 (12)	0.0827 (12)	0.0839 (12)	0.0139 (10)	0.0235 (10)	-0.0118 (10)
C10	0.0837 (13)	0.1090 (17)	0.0911 (14)	0.0149 (11)	0.0294 (11)	-0.0087 (12)

Geometric parameters (\AA , $^\circ$)

O1—C1	1.204 (2)	C6—C7	1.387 (2)
O2—C4	1.3618 (18)	C6—H6	0.9300
O2—C8	1.421 (2)	C7—H7	0.9300
O3—C5	1.355 (2)	C8—H8A	0.9600
O3—C9	1.433 (2)	C8—H8B	0.9600
C1—C2	1.457 (2)	C8—H8C	0.9600
C1—H1	0.9300	C9—C10	1.484 (3)
C2—C7	1.376 (2)	C9—H9A	0.9700
C2—C3	1.398 (2)	C9—H9B	0.9700
C3—C4	1.368 (2)	C10—H10A	0.9600
C3—H3	0.9300	C10—H10B	0.9600
C4—C5	1.411 (2)	C10—H10C	0.9600
C5—C6	1.374 (2)		

C4—O2—C8	117.27 (13)	C2—C7—H7	119.7
C5—O3—C9	117.93 (14)	C6—C7—H7	119.7
O1—C1—C2	126.0 (2)	O2—C8—H8A	109.5
O1—C1—H1	117.0	O2—C8—H8B	109.5
C2—C1—H1	117.0	H8A—C8—H8B	109.5
C7—C2—C3	119.20 (16)	O2—C8—H8C	109.5
C7—C2—C1	119.78 (17)	H8A—C8—H8C	109.5
C3—C2—C1	121.02 (17)	H8B—C8—H8C	109.5
C4—C3—C2	120.83 (16)	O3—C9—C10	108.51 (16)
C4—C3—H3	119.6	O3—C9—H9A	110.0
C2—C3—H3	119.6	C10—C9—H9A	110.0
O2—C4—C3	125.22 (15)	O3—C9—H9B	110.0
O2—C4—C5	115.38 (14)	C10—C9—H9B	110.0
C3—C4—C5	119.40 (15)	H9A—C9—H9B	108.4
O3—C5—C6	125.06 (16)	C9—C10—H10A	109.5
O3—C5—C4	115.17 (15)	C9—C10—H10B	109.5
C6—C5—C4	119.77 (16)	H10A—C10—H10B	109.5
C5—C6—C7	120.13 (17)	C9—C10—H10C	109.5
C5—C6—H6	119.9	H10A—C10—H10C	109.5
C7—C6—H6	119.9	H10B—C10—H10C	109.5
C2—C7—C6	120.65 (17)		
O1—C1—C2—C7	177.57 (19)	O2—C4—C5—O3	0.8 (2)
O1—C1—C2—C3	-2.7 (3)	C3—C4—C5—O3	-178.53 (14)
C7—C2—C3—C4	0.2 (3)	O2—C4—C5—C6	-178.87 (16)
C1—C2—C3—C4	-179.46 (15)	C3—C4—C5—C6	1.7 (3)
C8—O2—C4—C3	0.3 (3)	O3—C5—C6—C7	179.56 (16)
C8—O2—C4—C5	-179.05 (16)	C4—C5—C6—C7	-0.8 (3)
C2—C3—C4—O2	179.20 (15)	C3—C2—C7—C6	0.8 (3)
C2—C3—C4—C5	-1.5 (3)	C1—C2—C7—C6	-179.51 (17)
C9—O3—C5—C6	-6.9 (3)	C5—C6—C7—C2	-0.5 (3)
C9—O3—C5—C4	173.41 (14)	C5—O3—C9—C10	177.85 (15)

Hydrogen-bond geometry (Å, °)

<i>D</i> —H... <i>A</i>	<i>D</i> —H	H... <i>A</i>	<i>D</i> ... <i>A</i>	<i>D</i> —H... <i>A</i>
C1—H1...O1 ⁱ	0.93	2.67	3.547 (3)	157
C10—H10B...O2 ⁱⁱ	0.96	2.62	3.525 (2)	156

Symmetry codes: (i) $-x, y-1/2, -z+3/2$; (ii) $-x+1, y-1/2, -z+1/2$.

Ferrocenyl chalcones with O-alkylated vanillins: synthesis, spectral characterization, microbiological evaluation, and single-crystal X-ray analysis

**Jovana Muškinja, Adrijana Burmudžija,
Zoran Ratković, Branislav Ranković,
Marijana Kosanić, Goran A. Bogdanović
& Slađana B. Novaković**

Medicinal Chemistry Research

ISSN 1054-2523

Volume 25

Number 9

Med Chem Res (2016) 25:1744-1753

DOI 10.1007/s00044-016-1609-8



Your article is protected by copyright and all rights are held exclusively by Springer Science +Business Media New York. This e-offprint is for personal use only and shall not be self-archived in electronic repositories. If you wish to self-archive your article, please use the accepted manuscript version for posting on your own website. You may further deposit the accepted manuscript version in any repository, provided it is only made publicly available 12 months after official publication or later and provided acknowledgement is given to the original source of publication and a link is inserted to the published article on Springer's website. The link must be accompanied by the following text: "The final publication is available at link.springer.com".



Ferrocenyl chalcones with *O*-alkylated vanillins: synthesis, spectral characterization, microbiological evaluation, and single-crystal X-ray analysis

Jovana Muškinja¹ · Adrijana Burmudžija¹ · Zoran Ratković¹ · Branislav Ranković² · Marijana Kosanić² · Goran A. Bogdanović³ · Slađana B. Novaković³

Received: 16 October 2015 / Accepted: 3 June 2016 / Published online: 30 June 2016
© Springer Science+Business Media New York 2016

Abstract *O*-alkylated vanillin derivatives **2a–f** and acetyl ferrocene react under Claisen–Schmidt conditions, resulting in good-to-high yields of the corresponding ferrocene chalcones **3a–f**. None of the resultant compounds **3b–f** has been previously described in the literature. All synthesized compounds were characterized by spectral and physical data, whereas two of them, 1-ferrocenyl-3-(4-ethoxy-3-methoxyphenyl)-prop-2-en-1-one (**3b**) and 1-ferrocenyl-3-(4-butoxy-3-methoxy-phenyl)-prop-2-en-1-one (**3e**), were crystalline substances, suitable for single-crystal X-ray analysis, which confirmed undoubtedly their structures. Chalcones **3a–f** were tested for their biological activity and demonstrated relatively good in vitro antimicrobial activity towards different strains of bacteria and fungi. The best antibacterial activity is expressed by compounds **3b** and **3c**, while compound **3d** shows the best antifungal activity.

Keywords Vanillin · Ferrocene · Ferrocenyl chalcones · Microbial activity · Crystal structure

Electronic supplementary material The online version of this article (doi: 10.1007/s00044-016-1609-8) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Zoran Ratković
wor@kg.ac.rs

¹ Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

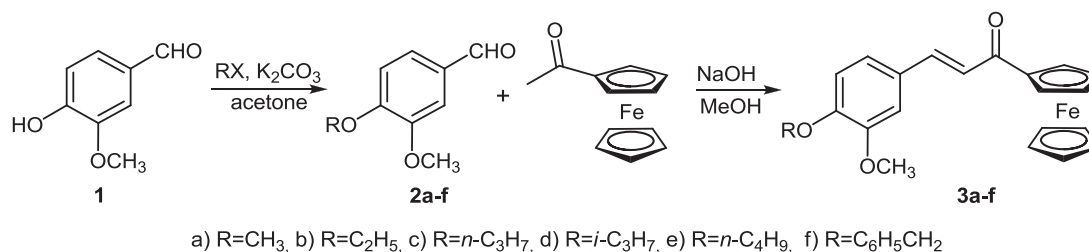
² Department of Biology, Faculty of Science, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

³ Vinča Institute of Nuclear Sciences, Laboratory of Theoretical Physics and Condensed Matter Physics, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

Introduction

Chalcones are an important class of organic compounds since they often represent the core structure of many natural products and pharmaceuticals. Chalcones (1,3-diaryl-2-propen-1-ones) and their derivatives exhibit different pharmacological and biological activities, the major ones being antifungal (Bag et al., 2009; Lahtchev et al., 2008; Mostahar et al., 2007), antimicrobial (Yayli et al., 2006; Trivedi et al., 2008; Sivakumar et al., 2010; Opletalova, 2000; Katade et al., 2008), anticonvulsant (Kaushik et al., 2010), antioxidant (Vasilev et al., 2010; Sivakumar et al., 2010; Vogel et al., 2008; Cheng et al., 2008), antiprotozoal (Lunardi et al., 2003), antitrichomonal (Oyedapo et al., 2004), anti-malarial (Motta et al., 2006; Awasthi et al., 2009; Lim et al., 2007; Wu et al., 2002; Liu et al., 2001), anti-inflammatory (Yadav et al., 2010; Zhang et al., 2010; Herencia et al., 1998; Nowakowska 2007), trypsin inhibition (Maliar et al., 2004) and anti-cancer activity (Achanta et al., 2006; Romagnoli et al., 2008; Echeverria et al., 2009; Szliszka et al., 2009; Ilango et al., 2010; Wattenberg et al., 1994; Edwards et al., 1988; Kumar et al., 2011; Seo et al., 2010).

Different research groups are involved with the aim to identify the fragment in chalcones molecules, synthesized or modified natural ones, responsible for previously described activities. Tsukiyama et al. (2002) reported the potent antibacterial activity of licochalcone A and licochalcone B. Following these results, it was estimated that free phenolic group in the ring at position 4 was the key factor responsible for their antibacterial activity (Chen et al., 1997). Starting from the fact that natural products, such as curcumines, show various bioactivities (Chan, 1995; Mishra et al., 2005; Dubey et al., 2008), and vanillin fragment is present in these molecules, we supposed that vanillin is a suitable aldehyde for chalcone formation due to its easy



Scheme 1 Synthesis of ferrocenyl chalcones

modification by *O*-alkylation (Loev et al., 1956, Tatsuzaki et al., 2006, Katritzky et al., 2006), by coupling reactions and forming of divanillin (Nishimura et al., 2010), formylations in position 5 (Blažević et al., 1979), and halogenation in position 5 (Pepper and MacDonald, 1953). On the other hand, enone system is the key part of substrates and could be easily converted into various heterocyclic derivatives (Abdel-Rahman et al., 2007, Kalirajan et al., 2009).

Ferrocenyl derivatives are among the most promising compounds, which can be used in microbiological research. The water-soluble ferrocenyl derivatives are more potent as drugs than the water-insoluble ones. In our previous work we had reported on the synthesis of different ferrocene derivatives with expressed biological activities (Damljanović et al., 2009; Damljanović et al., 2009; Ratković et al., 2010) and we expected that incorporation of vanillin pharmacophore and the ferrocene scaffold into the same molecule might have an attractive structural result for the development of novel antimicrobial agents, expecting the interesting features due to the coexistence of two kinds of promising pharmacophores.

In the present paper we wish to report on synthesis, spectral characterization and evaluation of antimicrobial activity of a series of novel chalcone derivatives containing ferrocene unit, prepared from *O*-alkylated vanillines and acetylferrocene, as well as single-crystal X-ray analysis for two of them.

Experimental

Material and methods

All the chemicals used were commercially available and used as received, except that the solvents were purified by distillation. Chromatographic separations were carried out using silica gel 60 (Merck, 230–400 mesh ASTM), whereas silica gel on Al plates, layer thickness 0.2 mm (Merck), was used for TLC. IR spectra were recorded on a Perkin-Elmer Spectrum One FT-IR spectrometer with a KBr disc. NMR spectra were recorded on a Varian Gemini (200 MHz) spectrometer using CDCl₃ as the solvent and TMS as the internal standard.

Elemental microanalyses for C, H, and N were performed by standard methods on a Vario III CHNS Elemental Analyzer, Elementar Analysensysteme GmbH.

Synthesis

Keeping in mind the reactivity of aldehyde functional group, the synthesis of ferrocene containing chalcones was carried out as a simple Claisen–Schmidt condensation of *O*-alkylated vanilline derivatives and acetylferrocene. A set of *O*-alkyl derivatives **2a–f** (Scheme 1) was prepared by alkylation free phenolic group of vanillin **1** with corresponding alkyl halides, according to the described literature procedures (Loev and Dawson, 1956; Tatsuzaki et al., 2006; Katritzky et al., 2006). Their spectral data were listed in another paper (Ratković et al., 2016), describing synthesis and biological activity of vanillin-based 1-acetyl-5-aryl-4,5-dihydro-1H-pyrazoles.

In the next step, aldehydes **2a–f** were subjected to the reaction with acetylferrocene following the literature procedure (Cheng et al., 2008), and the desired ferrocene containing chalcone products were isolated in 59–85 % yields (Table 1). The detailed analysis of ¹H and ¹³C NMR spectra (see below) revealed the structures of compounds **3a–f** (Scheme 1), whereas the structures of **3b** and **3e** were unambiguously confirmed by the single-crystal X-ray analysis.

General procedure for synthesis of chalcones

The corresponding vanillin aldehyde **2a–f** (10 mmol) and acetylferrocene (10 mmol) were dissolved in 20 mL of warm ethanol, and the mixture was stirred for 10 min and 1 mL of 40 % NaOH was added slowly. The reaction mixture was stirred overnight at 50 °C. Crushed ice, 100 g, was placed in a beaker and the reaction mixture was poured onto it with stirring. The product in some cases could be isolated by filtration, if not it was necessary to extract with toluene or dichloromethane (3 × 50 mL). The organic layer was washed with water (2 × 50 mL), brine (2 × 50 mL), and dried over anhydrous Na₂SO₄. The main part of the solvent was evaporated at reduced pressure and crude concentrated solution was filtered through a short column of silica gel. The solvent was evaporated under reduced pressure and the

Table 1 Synthesis of ferrocene derivatives **3a–f**

Entry	Vanillines	Products	Yield (%) ^a
1			78
2			85
3			79
4			59
5			68
6			67
	2f	3f	

^a Yields of isolated products based on acetylferrocene

residue was chromatographed on silica gel column using toluene-ethyl acetate (8:2) mixture as eluent for separation of reaction products **3a–f**.

1-Ferrocenyl-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-one (3a)

Cinnabar red crystals; m.p. 148–149 °C; yield 78 %; IR (cm⁻¹): 1648, 1586, 1517, 1263, 1081; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 3.95 (d, *J* = 6.8 Hz, 6H), 4.22 (s, 5H), 4.58 (t, *J* = 2Hz, 2H), 4.92 (t, *J* = 2Hz, 2H), 6.91 (d, *J* = 8.4Hz 1H), 6.99 (d, *J* = 15.6Hz, 1H), 7.14–7.27 (m, 2H), 7.76 (d, *J* = 15.6Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 55.9, 69.7, 70, 72.5, 80.7, 110.6, 111.3, 121, 122.4, 128.2, 140.9, 149.2, 151.1, 192.8 (CO). Anal.: calcd. for C₂₁H₂₀FeO₃ (376.227): C, 67.04; H, 5.36; Fe, 14.84; O, 12.76. Found: C, 66.10; H, 5.30.

1-Ferrocenyl-3-(4-ethoxy-3-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one (3b)

Cinnabar red crystals; m.p. 155–156 °C; yield 85 %; IR (cm⁻¹): 1650, 1588, 1513, 1267, 1076; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1.49 (t, *J* = 7Hz, 3H), 3.96 (s, 3H), 4.16 (q, *J* = 7.2Hz, 2H), 4.21 (s, 5H), 4.57 (t, *J* = 1.8Hz, 2H), 4.92 (t, *J* = 1.8Hz, 2H), 6.90 (d, *J* = 8.4Hz 1H), 6.99 (d, *J* = 15.6Hz, 1H), 7.14–7.27 (m, 2H), 7.75 (d, *J* = 15.6Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 14.7, 56.1, 64.4, 69.6, 70, 72.5, 80.8, 110.9, 112.5, 120.9, 122.4, 128, 141, 149.5, 150.5, 192.9 (CO). Anal.: calcd. for C₂₂H₂₂FeO₃ (390.253): C, 67.71; H, 5.68; Fe, 14.31; O, 12.30. Found: C, 66.61; H, 5.61.

1-Ferrocenyl-3-(3-methoxy-4-propoxyphenyl)prop-2-en-1-one (3c)

Cinnabar red crystals; m.p. 104–105 °C; yield 79 %; IR (cm⁻¹): 1647, 1586, 1515, 1258, 1079; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1.06 (t, *J* = 7.6Hz, 3H), 1.80–1.98 (m, 2H), 3.95 (s, 3H), 4.03 (t, *J* = 6.8Hz, 2H), 4.21 (s, 5H), 4.57 (t, *J* = 1.6Hz, 2H), 4.92 (t, *J* = 2Hz, 2H), 6.90 (d, *J* = 8.4Hz 1H), 6.99 (d, *J* = 15.6Hz, 1H), 7.14–7.27 (m, 2H), 7.75 (d, *J* = 15.6Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 10.3, 22.3, 56.2, 69.6, 70, 70.5, 72.5, 80.8, 111.2, 112.7, 120.8, 122.4, 127.9, 141, 149.6, 150.8, 192.8 (CO). Anal.: calcd. for C₂₃H₂₄FeO₃ (404.280): C, 68.33; H, 5.98; Fe, 13.81; O, 11.87. Found: C, 67.51; H, 5.93.

1-Ferrocenyl-3-(4-isopropoxy-3-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one (3d)

Cinnabar red crystals; m.p. 114 °C; yield 59 %; IR (cm⁻¹): 1653, 1590, 1508, 1264, 1074; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1.41 (d, *J* = 6.2Hz, 6H), 3.94 (s, 3H), 4.21

(s, 5H), 4.57 (t, *J* = 1.6Hz, 2H), 4.92 (t, *J* = 2Hz, 2H), 6.92 (d, *J* = 8.4Hz 1H), 6.99 (d, *J* = 15.6Hz, 1H), 7.15–7.26 (m, 2H), 7.75 (d, *J* = 15.6Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 22, 56.2, 69.7, 70, 71.4, 72.5, 80.8, 111.6, 120.9, 122.2, 128.2, 129, 141, 149.6, 150.4, 192.9 (CO). Anal.: calcd. for C₂₃H₂₄FeO₃ (404.280): C, 68.33; H, 5.98; Fe, 13.81; O, 11.87. Found: C, 67.31; H, 5.95.

1-Ferrocenyl-3-(4-butoxy-3-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one (3e)

Cinnabar red crystals; m.p. 128 °C; yield 68 %; IR (cm⁻¹): 1651, 1592, 1511, 1264, 1077; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 0.99 (t, *J* = 7.4Hz, 3H), 1.45–1.57 (m, 2H), 1.76–1.89 (m, 2H), 3.95 (s, 3H), 4.08 (t, *J* = 6.8Hz, 2H), 4.21 (s, 5H), 4.57 (t, *J* = 2Hz, 2H), 4.92 (t, *J* = 2Hz, 2H), 6.91 (d, *J* = 8.2Hz 1H), 6.99 (d, *J* = 15.6Hz, 1H), 7.14–7.26 (m, 2H), 7.75 (d, *J* = 15.6Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 13.8, 31.1, 56.2, 68.7, 69.7, 70, 72.5, 80.8, 111.2, 112.7, 120.8, 122.4, 127.9, 141, 149.6, 150.8, 192.9 (CO). Anal.: calcd. for C₂₄H₂₆FeO₃ (418.306): C, 68.91; H, 6.26; Fe, 13.35; O, 11.47. Found: C, 68.16; H, 6.23.

1-Ferrocenyl-3-(4-benzyloxy-3-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one (3f)

Cinnabar red crystals; m.p. 135–136 °C; yield 67 %; IR (cm⁻¹): 1650, 1591, 1515, 1262, 1084; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): 3.97 (s, 3H), 4.20 (s, 5H), 4.57 (t, *J* = 2Hz, 2H), 4.91 (t, *J* = 2Hz, 2H), 5.21 (s, 2H), 6.91 (d, *J* = 8.2Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 15.6Hz, 1H), 7.15–7.43 (m, 7H), 7.74 (d, *J* = 15.6Hz, 1H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ 56.1, 69.6, 70, 70.9, 72.5, 80.7, 111.3, 113.7, 121.1, 122.1, 127.2, 127.9, 128.5, 128.6, 136.6, 140.9, 149.8, 150.2, 192.8 (CO). Anal.: calcd. for C₂₇H₂₄FeO₃ (452.323): C, 71.69; H, 5.35; Fe, 12.35; O, 10.61. Found: C, 70.61; H, 5.32.

X-ray crystallography and structural comparisons of 3b and 3e

Crystal data and experimental details for **3b** and **3e** compounds are summarized in Table 2. Single-crystal diffraction data were collected at room temperature on an Agilent Gemini S diffractometer equipped with Mo K α radiation (λ = 0.71073 Å). Data integration and scaling of the reflections were performed using the CRYSTALIS software (Agilent Technologies, 2013) with multi-scan absorption corrections applied using SCALE3 ABSPACK (Agilent Technologies, 2013). Crystal structure was solved by direct methods, using SIR2002 (Burla et al., 2003) and refined using SHELXL97 (Sheldrick, 2008) program both incorporated in WinGX (Farrugia, 1999) program package.

Table 2 Crystallographic data for **3b** and **3e**

Compound	3b	3e
Empirical formula	C ₂₂ H ₂₂ FeO ₃	C ₂₄ H ₂₆ FeO ₃
Formula weight	390.25	418.30
Temperature (K)	293(2)	293(2)
Wavelength (Å)	0.71073	0.71073
Crystal system	Monoclinic	Monoclinic
Space group	<i>P2₁/c</i>	<i>P2₁/c</i>
Unit cell dimensions		
<i>a</i> (Å)	14.6500(6)	16.1310(6)
<i>b</i> (Å)	7.9537(2)	7.9881(2)
<i>c</i> (Å)	16.7216(5)	17.3283(6)
β (°)	106.086(3)	113.533(4)
<i>V</i> (Å ³)	1872.14(11)	2047.15(12)
<i>Z</i>	4	4
<i>D</i> _{calc} (Mg/m ³)	1.385	1.357
μ (mm ⁻¹)	0.823	0.758
Crystal size (mm ³)	0.50 × 0.37 × 0.12	0.48 × 0.24 × 0.17
θ range for data collection (°)	3.04–28.93	2.94–29.02
Reflections collected	11443	10841
Independent reflections, <i>R</i> _{int}	4333, 0.0244	4731, 0.0280
Completeness to $\theta = 26^\circ$ (%)	99.8 %	99.8 %
Data/restraints/parameters	4333/0/237	4731/0/255
Goodness-of-fit on <i>F</i> ²	1.076	1.041
Final <i>R</i> ₁ / <i>wR</i> ₂ indices (<i>I</i> > 2 σ _{<i>I</i>})	0.0437, 0.0905	0.0397, 0.0827
Final <i>R</i> ₁ / <i>wR</i> ₂ indices (all data)	0.0633, 0.0975	0.0622, 0.0929
Largest differential density peak and hole (e Å ⁻³)	0.285 and -0.218	0.285 and -0.306

All non-H atoms were refined anisotropically to convergence. All H atoms were placed at geometrically calculated positions with the C-H distances fixed to 0.93 from *Csp*², and 0.96 and 0.97 Å from methyl and methylene *Csp*³, respectively. The corresponding isotropic displacement parameters of the hydrogen atoms were equal to 1.2*U*_{eq} and 1.5*U*_{eq} of the parent *Csp*² and *Csp*³, respectively. Figures were produced using ORTEP-3 (Farrugia, 1997) and MERCURY, Version 2.4 (Macrae et al., 2006). The software used for the preparation of the materials for publication are WinGX (Farrugia, 1999), PLATON (Spek, 2003) and PARST (Nardelli, 1995).

Antimicrobial activity

The antimicrobial activity was estimated by determining the minimal inhibitory concentration (MIC) using the broth micro dilution method against five species of bacteria and five species of fungi. As a result of the study, the measured MIC values for tested compounds varied from 0.0352 to 0.8873 mg/ml.

The following bacteria were used as test organisms in this study: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Bacillus cereus* (ATCC 10987), *Escherichia coli* (ATCC 25922), and *Proteus mirabilis*

(ATCC 12453). All of the bacteria used were obtained from the American Type Culture Collection (ATCC). The bacterial cultures were maintained on Mueller-Hinton agar substrates (Torlak, Belgrade). The fungi used as test organisms were: *Aspergillus niger* (ATCC 16888), *Candida albicans* (ATCC 10259), *Penicillium italicum* (ATCC 10454), *Mucor mucedo* (ATCC 20094), *Trichoderma viride* (ATCC 13233). All of the fungi were from ATCC. The fungal cultures were maintained on potato dextrose (PD) agar, except for *Candida albicans* that was maintained on Sabourad dextrose (SD) agar (Torlak, Belgrade). All of the cultures were stored at 4 °C and subcultured every 15 days.

Bacterial inoculum were obtained from bacterial cultures incubated for 24 h at 37 °C on Mueller-Hinton agar substrates and brought up to approximately 10⁸ CFU/ml by dilution according to the 0.5 McFarland standard. Suspensions of fungal spores were prepared from freshly mature (3- to 7-day-old) cultures that grew at 30 °C on a PD agar substrate. The spores were rinsed with sterile distilled water, used to determine turbidity spectrophotometrically at 530 nm, and were then further diluted to approximately 10⁶ CFU/ml according to the procedure recommended by NCCLS (1998).

The MIC was determined by the broth microdilution method using 96-well micro-titer plates (Sarker et al., 2007). A series of dilutions with concentrations ranging from 20 to 0.0195 mg/ml of the tested compounds were used in the experiment against every microorganism tested. The starting solutions with tested compounds were obtained by measuring a certain quantity of the compounds and dissolving it in 5 % DMSO. Two-fold dilutions of the compounds were prepared in a Mueller-Hinton broth for bacterial cultures and a SD broth for fungal cultures. The MIC was determined with resazurin. Resazurin is an oxidation-reduction indicator used for the evaluation of microbial growth. It is a blue non-fluorescent dye that becomes pink and fluorescent when reduced to resorufin by oxidoreductases within viable cells. The boundary dilution without any change in the color of resazurin was defined as the MIC for the tested microorganism at a given concentration. As a positive control of growth inhibition, streptomycin was used in the case of bacteria and ketocanazole in the case of fungi. A 5 % DMSO solution was used as a negative control for the influence of the solvents. Experiment was carried out in triplicate.

Results and Discussion

Spectral characterization

All synthesized compounds were characterized by IR, ¹H, and ¹³C NMR spectral data. In IR spectra of the synthesized

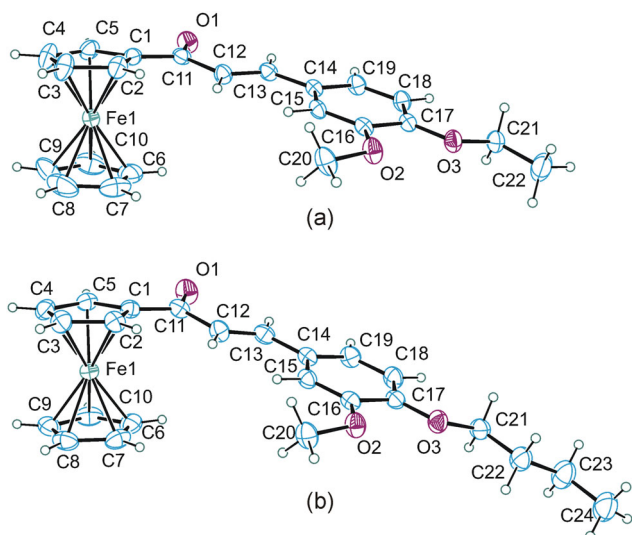


Fig. 1 Molecular structures of **3b** (a) and **3e** (b) with atom numbering scheme

compounds the most recognizable band appears in the carbonyl group region 1680 cm^{-1} and alkoxy group region $1261\text{--}1269\text{ cm}^{-1}$.

^1H NMR spectra of compounds **2a–f** could be recognized as sharp signals, corresponding to the aldehyde proton, $\delta = 9.83\text{--}9.86\text{ ppm}$, and strong sharp signals corresponding to three protons, approximately $\delta = 3.94\text{ ppm}$, belongs to methyl protons of methoxy group [--OCH_3] from vanillin.

^1H NMR spectra of compounds **3a–f** could be recognized as the most important signals, such as doublet signals, appear at $\delta = 7.75$ and $\delta = 6.99\text{ ppm}$, corresponding to protons of chalcone double bond with characteristic $J = 15.6\text{ Hz}$, ferrocene unsubstituted ring at 4.22 area, and strong sharp signal corresponding to three protons, approximately $\delta = 3.94\text{--}3.98\text{ ppm}$, belongs to methyl protons of 3-methoxy group from vanillin ring.

X-ray structure determination

Single-crystal X-ray crystallographic studies of **3b** and **3e** show that two compounds have very similar molecular geometries (Fig. 1; displacement ellipsoids are drawn at the 30% probability level; additional projections are shown in the Supplementary Material file, Fig. S1). The cyclopentadienyl rings (Cp) of both molecules have an almost ideal eclipsed conformation. The C1–Cg1–Cg2–C6 torsion angle is $1.8(2)^\circ$ in **3b** and $-0.8(2)^\circ$ in **3e** (Cg1 and Cg2 are centroids of the corresponding Cp rings, the C1–C5 and C6–C10). The Cp1 and Cp2 rings show only small mutual tilting as evidenced from the corresponding Cp1/Cp2 dihedral angles which are $1.7(2)$ and $1.0(2)^\circ$ in **3b** and **3e**, respectively. Most importantly, two molecules are very similar in spatial orientation of the

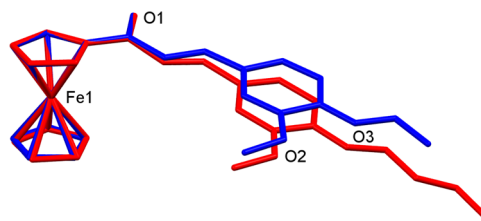


Fig. 2 The molecules of **3b** (blue) and **3e** (red) are overlapped using the C1–C5 ring as a common structural part

Table 3 Selected geometrical parameters in the crystal structures of **3b** and **3e** compounds

Compound	3b	3e
Selected bond lengths (Å)		
O1–C11	1.224(2)	1.222(2)
O2–C16	1.367(2)	1.362(2)
O2–C20	1.426(2)	1.432(2)
O3–C17	1.355(2)	1.362(2)
O3–C21	1.439(2)	1.435(2)
C1–C11	1.466(3)	1.467(3)
C11–C12	1.472(3)	1.474(3)
C12–C13	1.320(3)	1.324(3)
C13–C14	1.451(3)	1.459(3)
Selected bond angles ($^\circ$)		
C2–C1–C11	128.01(19)	127.51(19)
C5–C1–C11	124.8(2)	125.10(19)
O2–C16–C15	125.40(17)	125.51(17)
O2–C16–C17	114.46(18)	114.99(18)
O3–C17–C18	125.58(18)	125.60(18)
O3–C17–C16	115.78(17)	115.24(18)
Selected torsion angles ($^\circ$)		
C20–O2–C16–C17	$-174.48(19)$	$-170.25(18)$
C21–O3–C17–C16	$174.15(18)$	$169.16(17)$

C1-substituent regarding the ferrocene unit. Structure **3e** is somewhat larger deformed than **3b** and this is well illustrated in Fig. 2, where two molecules are overlapped by Cp1 rings. This perspective view illustrates similarity in spatial orientation of the C1-substituent in the two molecules.

All non-H atoms in the C1-substituent are approximately coplanar in both the molecules (Fig. 1). However, the substituent is significantly displaced from the C1–C5 (Cp1) ring plane. For example, dihedral angle between phenyl and Cp1 rings is $12.4(2)$ and $15.4(2)^\circ$ for **3b** and **3e**, respectively, while the C21 alkyl group is bent in the direction of Cp2 ring plane. Such an orientation of the substituent is attained by rotation around the C1–C11 bond and as a consequence the C5–C1–C11–C12 torsion angle has values of $-167.3(2)$ and $-162.1(2)^\circ$ for **3b** and **3e**, respectively. In the two compounds, the corresponding bond lengths and bond angles are very similar (Table 3). The C12–C13 bond

with bond distance of 1.32 Å is the shortest C–C bond in both the molecules and it could be accepted as the only localized double C–C bond.

It is interesting to analyze positions of O2 and O3 atoms. The O2–C16–C15 and O2–C16–C17 angles (which directly reflect directionality of the O2 atom regarding the phenyl ring) are extremely different (Table 3). The same could be found for the O3 atom (Table 3) and in this way two oxygen atoms are shifted close to each other. As a result, the O2 and O3 atoms attain a relatively short O...O distance (2.574(2) and 2.571(3) Å for **3b** and **3e**, respectively) with lone pair of electrons directed to each other. The present nearly coplanar orientation of O-alkyl groups (see the corresponding torsion angles in Table 3) with a short O2...O3 interatomic contact is also noticed in majority of the crystal structures (possessing similar structural fragment) that are found by searching the Cambridge Structural Database (Allen, 2002). Obviously this structural feature is not coincidental and probably it plays specific role in the stabilization of molecular conformation.

Both the compounds do not possess any significant hydrogen bond donor and as a consequence the C21–H...O1

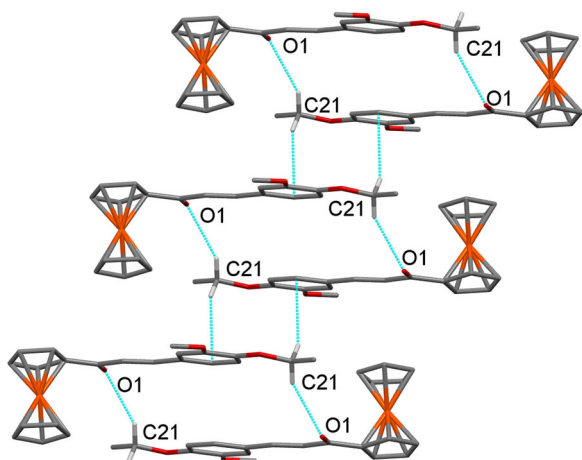


Fig. 3 The crystal packing fragment of **3b** illustrating one-dimensional association of the molecules via intermolecular interactions between C1-substituents

is only the noteworthy intermolecular H-bond. The C21–H...O1 together with C21–H... π (the C14–C19 phenyl ring) interaction interconnect the molecules of **3b** and **3e** into infinite tapes where all C1-substituents are parallel to each other as illustrated in Fig. 3. It is interesting to note that in both intermolecular interactions the C21 methylene group plays the role of a C–H donor (C21–H...O1 and C21–H... π interactions are shown with dotted blue lines; H atoms not involved in intermolecular interactions have been omitted for clarity; corresponding diagram for **3e** is shown in the Supplementary Material file, Fig. S2).

Antimicrobial activity

The antimicrobial activity of the investigated compounds against the test bacteria is shown in Table 4 and fungi in Table 5. The tested compounds exhibited a similar antimicrobial activity. They inhibited all the tested bacteria and antifungal activities. The MIC for bacteria ranged from 0.312 to 5 mg/ml, while MIC for fungi varied from 0.312 to 10 mg/ml. The most sensitive, among the bacteria, were *B. subtilis* and *B. cereus*, whereas the highest resistance was shown by the Gram-negative bacteria (*E. coli* and *P. mirabilis*). Among the fungi, the most sensitive appeared to be *C. albicans*, while *A. niger* was the most resistant. The antimicrobial activity was compared with the standard antibiotics, streptomycin (for bacteria) and ketoconazole (for fungi). The results showed that standard antibiotics had stronger activity than the tested samples as shown in Tables 4 and 5.

In these experiments, the compounds examined at the same concentrations showed a slightly stronger antibacterial than antifungal activity. These results could be expected due to the fact that numerous tests proved that bacteria are more sensitive to the antibiotic compared to fungi (Hugo and Russel, 1983). The reason for different sensitivities between fungi and bacteria can be found in different permeabilities of the cell wall. The cell wall of the Gram-positive bacteria consists of peptidoglycans (murein) and teichoic acids, while the cell wall of Gram-negative bacteria consists of

Table 4 Antibacterial activity of tested compounds

Bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
Test compounds	MIC (mg/ml)				
3a	1.25	0.625	0.312	1.25	2.5
3b	0.625	0.312	0.625	1.25	1.25
3c	0.625	0.312	0.312	2.5	1.25
3d	2.5	0.625	0.312	1.25	1.25
3e	2.5	1.25	0.625	2.5	1.25
3f	5	1.25	1.25	5	2.5
Streptomycin	0.031	0.016	0.016	0.062	0.062

Table 5 Antifungal activity of tested compounds

Fungi	<i>Mucor mucedo</i>	<i>Trichoderma viride</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Penicillium italicum</i>
Test compounds	MIC (mg/ml)				
3a	1.25	2.5	2.5	0.625	2.5
3b	5	1.25	5	0.625	2.5
3c	2.5	2.5	2.5	1.25	1.25
3d	2.5	1.25	5	0.312	1.25
3e	5	2.5	5	1.25	5
3f	10	5	10	2.5	5
Ketoconazole	0.156	0.078	0.078	0.039	0.156

lipopolysaccharides and lipopoliproteins (Heijenoort, 2001), whereas the cell wall of fungi consists of polysaccharides such as chitin and glucan (Farkaš, 2003).

Conclusion

We described herein synthesis, spectral, analytical, single-crystal X-ray characterization, and in vitro microbiological activity of a series of ferrocenyl chalcones (**3a–f**). Chalcones were prepared in high yields from *O*-alkylated vanillines and acetylferrocene.

Single-crystal X-ray analysis of **3b** and **3e** compounds show that they have very similar conformation and intermolecular association via the C21–H...O1 and C21–H... π interactions. In both molecules the terminal alkyl groups attain an approximately coplanar position with phenyl ring while the methoxy O2 and alkoxy O3 atoms are mutually located at a surprisingly short interatomic distance of 2.57 Å. This structural feature could be a significant supplementary factor for antimicrobial activity of this class of molecules.

We found out that these organometallic derivatives show noticeable activity toward different strains of bacteria and fungi. Compared with our compounds, standard antibiotics, streptomycin (for bacteria) and ketoconazole (for fungi) showed stronger activity.

Acknowledgments This work was supported by the Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia, Projects No. 172034 and 172014.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interests.

References

Abdel-Rahman AAH, Abdel-Megied AES, Hawata MAM, Kasem ER, Shabaan MT (2007) Synthesis and antimicrobial evaluation of

some halcones and their derived pyrazoles, pyrazolines, isoxazolines, and 5,6-dihydropyrimidine-2-(1H)-thiones. *Monatshefte* 138:889–897

- Achanta G, Modzelewska A, Feng L, Khan SR, Huang P (2006) A boronic-chalcone derivative exhibits potent anticancer activity through inhibition of the proteasome. *Mol Pharmacol* 70:426–433
- Agilent Technologies (2013) CrysAlis PRO. Yarnton, Oxfordshire, UK
- Allen FH (2002) The Cambridge Structural Database: a quarter of a million crystal structures and rising. *Acta Crystallogr B* 58:380–388
- Awasthi SK, Mishra N, Kumar B, Sharma M, Bhattacharya A, Mishra LC, Bhasin VK (2009) Potent antimalarial activity of newly synthesized substituted chalcone analogs *in vitro*. *Med Chem Res* 18:407–420
- Bag S, Ramar S, Degani MS (2009) Synthesis and biological evaluation of α,β -unsaturated ketone as potential antifungal agents. *Med Chem Res* 18:309–316
- Blažević N, Kolbah D, Belin B, Šunjić V, Kajfež F (1979) Hexamethylenetetramine, a versatile reagent in organic syntheses. *Synthesis* 3:161–176
- Burla MC, Camalli M, Carrozzini B, Cascarano GL, Giacovazzo C, Polidori G, Spagna R (2003) *SIR2002*: the program. *J Appl Crystallogr* 36:1103
- Chan MM (1995) Inhibition of tumor necrosis factor by curcumin, a phytochemical. *Biochem Pharmacol* 49:1551–1556
- Chen M, Christensen SB, Zhai L, Rasmussen MH, Theander T, Frokjaer S, Steffansen B, Davidsen J, Kharazmi A (1997) The novel oxygenated chalcone, 2,4-dimethoxy-4'-butoxy-chalcone, exhibits potent activity against human malaria parasite *Plasmodium falciparum* in vitro and rodent parasites *Plasmodium berghei* and *Plasmodium yoelii* in vivo. *J Infect Dis* 176:1327–1333
- Cheng JH, Hung CF, Yang SC, Wang JP, Won SJ, Lin CH (2008) Synthesis and cytotoxic, anti-inflammatory, and anti-oxidant activities of 2',5'-dialkoxylchalcones as cancer chemopreventive agents. *Bioorg Med Chem* 16:7270–7276
- Damljanović I, Čolović M, Vukićević M, Manojlović D, Radulović N, Wurst K, Laus G, Ratković Z, Joksović M, Vukićević RD (2009) Synthesis, spectral characterization and electrochemical properties of 1H-3-(*o*-, *m*- and *p*-ferrocenylphenyl)-1-phenylpyrazole-4-carboxaldehydes. *J Organomet Chem* 694:1575–1580
- Damljanović I, Vukićević M, Radulović N, Ellmerer E, Ratković Z, Joksović M, Vukićević RD (2009) Synthesis and antimicrobial activity of some new pyrazole derivatives containing a ferrocene unit. *Bioorg Med Chem Lett* 19:1093–1096
- Dubey SK, Sharma AK, Narain U, Misra K, Pati U (2008) Design, synthesis and characterization of some bioactive conjugates of curcumin with glycine, glutamic acid, valine and demethylated

- piperic acid and study of their antimicrobial and antiproliferative properties. *Eur J Med Chem* 43:1837–1846
- Echeverria C, Santibanez JF, Donoso-Tauda O, Escobar CA, Tagle RR (2009) Structural antitumor activity relationships of synthetic chalcones. *Int J Mol Sci* 10:221–231
- Edwards ML, Stemerick DM, Sunkara SP (1988) Chalcone derivatives useful in controlling growth of tumor tissue and their preparation. European Patent Application EP 288,794
- Farkaš V (2003) Structure and biosynthesis of fungal cell walls: methodological approaches. *Folia Microbiol* 48:469–478
- Farrugia LJ (1997) ORTEP-3 for Windows - a version of ORTEP-III with a Graphical User Interface (GUI). *J Appl Crystallogr* 30:565
- Farrugia LJ (1999) WinGX suite for small-molecule single-crystal crystallography. *J Appl Crystallogr* 32:837–838
- Heijenoort J (2001) Formation of the glycan chains in the synthesis of bacterial peptidoglycan. *Glycobiology* 11:25–36
- Herencia F, Ferrandiz ML, Ubeda A, Dominguez JN, Charris EJ, Lobo GM, Alcaraz MJ (1998) Synthesis and anti-inflammatory activity of chalcone derivatives. *Bioorg Med Chem Lett* 8:1169–1174
- Hugo WB, Russell AD (1983), *Pharmaceutical microbiology*, 3rd edn. Blackwell Scientific Publications: Oxford, UK
- Ilango K, Valentina P, Saluja G (2010) Synthesis and *in vitro* anticancer activity of some substituted chalcones derivatives. *Res J Pharm Biol Chem Sci* 1:354–359
- Kalirajan R, Sivakumar SU, Jubie S, Gowramma B, Suresh B (2009) Synthesis and biological evaluation of some heterocyclic derivatives of chalcones. *Int J ChemTech Res* 1:27–34
- Katade S, Phalgune U, Biswas S, Wakharkar R, Deshpande N (2008) Microwave studies on synthesis of biologically active chalcones derivatives. *Indian J Chem* 47B:927–931
- Katritzky AR, Long Q, He H, Qiu G, Wilcox AL (2006) Preparation of 2-alkoxy-5-methoxybenzaldehyde and 2-methoxy-5-alkoxy benzaldehydes. *Arxivoc* vi: 868–875
- Kaushik S, Kumar N, Drabu S (2010) Synthesis and anticonvulsant activities of phenoxy chalcones. *Pharm Res* 3:257–262
- Kumar D, Kumar NM, Akamatsu K, Kusaka E, Harada H, Ito T (2011) Synthesis and biological evaluation of indolyl chalcones as antitumor agents. *Bioorg Med Chem Lett* 20:3916–3919
- Lahtchev KL, Batovska DI, Parushev SP, Ubiyovok VM, Sibirny AA (2008) Antifungal activity of chalcones: a mechanistic study using various yeast strains. *Eur J Med Chem* 43:2220–2228
- Lim SS, Kim HS, Lee DU (2007) In vitro antimalarial activity of flavonoids and chalcones. *Bull Korean Chem Soc* 28:2495–2497
- Loev B, Dawson CR (1956) Alkylphenols related to the poison ivy principle. An improved method of synthesis involving the Na-Butanol cleavage of benzyl ethers. *J Am Chem Soc* 78: 6095–6101
- Liu M, Wilairat P, Go ML (2001) Antimalarial alkoxylated and hydroxylated chalcones: structure-activity relationship analysis. *J Med Chem* 44:4443–4452
- Lunardi F, Guzela M, Rodrigues AT, Corre R, Eger-Mangrich I, Steindel M, Grisard EC, Assrey J, Calixto JB, Santos ARS (2003) Trypanocidal and leishmanicidal properties of substitution-containing chalcones. *Antimicrob Agents Chemother* 47:1449–1451
- Macrae CF, Edgington PR, McCabe P, Pidcock E, Shields GP, Taylor R, Towler M, van de Streek J (2006) Mercury: visualization and analysis of crystal structures. *J Appl Crystallogr* 39:453–457
- Maliar T, Jedinak A, Kadrabova J, Sturdik E (2004) Structural aspects of flavonoids as trypsin inhibitors. *Eur J Med Chem* 39:241–248
- Mishra S, Narain U, Mishra R, Mishra K (2005) Design, development and synthesis of mixed bioconjugates of piperic acid-glycine, curcumin-glycine/alanine and curcumin-glycine-piperic acid and their antibacterial and antifungal properties. *Bioorg Med Chem* 13:1477–1486
- Mostahar S, Katun P, Islam A (2007) Synthesis of two vanillin ring containing flavones by different methods and studies of their antibacterial and antifungal activities. *J Biol Sci* 7:514–519
- Motta LF, Gaudio AC, Takahata Y (2006) Quantitative structure–activity relationships of a series of chalcone derivatives (1,3-diphenyl-2-propen-1-one) as anti *Plasmodium falciparum* agents (anti malaria agents). *Internet Electron J Mol Des* 5:555–569
- Nardelli M (1995) PARST95 – an update to PARST: a system of Fortran routines for calculating molecular structure parameters from the results of crystal structure analyses. *J Appl Crystallogr* 28:659
- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (1998) Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium-forming filamentous fungi: proposed Standard M38-P. NCCLS, Wayne, PA, USA
- Nishimura RT, Giammanco CH, Vosburg DA (2010) Green, enzymatic syntheses of divanillin and diapocynin for the organic, biochemistry, or advanced general chemistry laboratory. *J Chem Ed* 87:526–527
- Nowakowska Z (2007) A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. *Eur J Med Chem* 42:125–137
- Opletalova V (2000) Chalcones and their heterocyclic analogs as potential therapeutic agents in bacterial diseases. *Cesk Slov Farm* 49:278–284
- Oyedapo AO, Mankanju VO, Adewunmi CO, Iwalewa EO, Adenowo TK (2004) Antitrichomonal activity of 1,3-diaryl-2-propen-1-ones on *Trichomonas gallinae*. *Afr J Trad CAM* 1:55–62
- Pepper JM, MacDonald JA (1953) The synthesis of syringaldehyde from vanillin. *Can J Chem* 31:476–483
- Ratković Z, Juranić ZD, Stanojković T, Manojlović D, Vukićević RD, Radulović N, Joksović M (2010) Synthesis, characterization, electrochemical studies and antitumor activity of some new chalcone analogues containing ferrocenyl pyrazole moiety. *Bioorg Chem* 38:26–32
- Ratković Z, Muškinja J, Burmuđžija A, Ranković B, Kosanić M, Bogdanović GA, Simović Marković B, Nikolić A, Arsenijević N, Đorđević S, Vukićević RD (2016) Dehydrozingerone based 1-acetyl-5-aryl-4,5-dihydro-1H-pyrazoles: synthesis, characterization and anticancer activity. *J Mol Struct* 1109:82–88
- Romagnoli R, Baraldi PG, Carrion MD, Cara CL, Cruz-Lopez O, Preti D (2008) Design, synthesis, and biological evaluation of thiophene analogues of chalcones. *Bioorg Med Chem* 16:5367–5376
- Sarker SD, Nahar L, Kumarasamy Y (2007) Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. *Methods* 42:321–324
- Seo WD, Ryu YB, Curtis-Long MJ, Lee CW, Ryu HW, Jang KC (2010) Evaluation of anti-pigmentary effect of synthetic sulfonylamino chalcone. *Eur J Med Chem* 45:2010–2017
- Sheldrick GM (2008) A short history of SHELX. *Acta Crystallogr Sect A* 64:112–122
- Sivakumar PM, Ganesan S, Veluchamy P, Doble M (2010) Novel chalcones and 1,3,5-triphenyl-2-pyrazoline derivatives as antibacterial agents. *Chem Biol Drug Des* 76:407–411
- Sivakumar PM, Prabhakar PK, Doble M (2010) Synthesis, antioxidant evaluation and quantitative structure activity relationship studies of chalcones. *Med Chem Res* 19:1–17
- Spek AL (2003) Single-crystal structure validation with the program PLATON. *J Appl Crystallogr* 36:7–13
- Szliszka E, Czuba ZP, Mazur B, Sedek L, Paradysz A, Krol W (2009) Chalcones enhance TRAIL-induced apoptosis in prostate cancer cells. *Int J Mol Sci* 11:1–13
- Tatsuzaki J, Bastow KF, Nakagawa-Goto K, Nakamura S, Itokawa H, Lee K (2006) Dehydrozingerone, chalcone, and isoeugenol analogues as in vitro anticancer agents. *J Nat Prod* 69:1445–1449

- Trivedi AR, Dodiya DK, Ravat NR, Shah VH (2008) Synthesis and biological evaluation of some new pyrimidines via a novel chalcone series. *Arkivoc* (xi): 131–141
- Tsukiyama RI, Katsura H, Tokuriki N, Kobayashi M (2002) Antibacterial activity of licochalcone A against spore-forming bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 46:1226–1230
- Vasilev RF, Kancheva VD, Fedorova GF, Batovska DI, Trofimov AV (2010) Antioxidant activity of chalcones: the chemiluminescence determination of the reactivity and the quantum chemical calculation of the energies and structures of reagents and intermediates. *Kinet Katal* 51:507–515
- Vogel S, Ohmayer S, Brunner G, Heilmann J (2008) Natural and non-natural prenylated chalcones: synthesis, cytotoxicity and antioxidative activity. *Bioorg Med Chem* 16:4286–4293
- Wattenberg LW, Coccia JB, Galhaith AR (1994) Inhibition of carcinogen-induced pulmonary and mammary carcinogenesis by chalcone administered after carcinogen exposure. *Cancer Lett* 83:165–169
- Wu X, Wilairat P, Go MN (2002) Antimalarial activity of ferrocenyl chalcones. *Bioorg Med Chem Lett* 12:2299–2302
- Yadav HL, Gupta P, Pawar PS, Singour PK, Patil UK (2010) Synthesis and biological evaluation of anti-inflammatory activity of 1,3-diphenyl propenone derivatives. *Med Chem Res* 19:1–8
- Yayli N, Ucuncu O, Yasar A, Kucuk M, Akyuz E, Karaoglu SA (2006) Synthesis and biological activities of *N*-alkyl derivatives of *o*-, *m*-, and *p*-nitro (*E*)-4-azachalcones and stereoselective photochemistry in solution with theoretical calculations. *Turk J Chem* 30:505–514
- Zhang XW, Zhao DH, Quan YC, Sun LP, Yin XM, Guan LP (2010) Synthesis and evaluation of anti-inflammatory activity of substituted chalcone derivatives. *Med Chem Res* 19:403–412

Vanillic aldehydes for the one-pot synthesis of novel 2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines

Jovana Muškinja¹ · Nenad Janković¹ · Zoran Ratković¹ · Goran Bogdanović² · Zorica Bugarčić¹

Received: 24 July 2015 / Accepted: 12 January 2016 / Published online: 30 January 2016
© Springer International Publishing Switzerland 2016

Abstract A small library of novel 2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines was synthesized via a one-pot multicomponent Biginelli reaction. Copper complex $(\text{PhNH}_3)_2\text{CuCl}_4$, which was used for the first time as a homogeneous and heterogeneous catalyst, makes this a facile and efficient reaction at room temperature. All the obtained products fall out of the solution in pure form and are easily isolated via filtration in good-to-excellent yields. The molecular structure of one of the products, ethyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-isopropoxy-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate, has been determined by X-ray crystallography. All non-hydrogen atoms in the heterocyclic, six-membered ring are determined to be approximately coplanar.

Keywords Homogeneous catalysis · Heterogeneous catalysis · Multicomponent reactions (MCRs) · Heterocycles

Introduction

Reactions that use three or more reactants to furnish a single product in one step are known as multicomponent

reactions (MCRs) [1]. This multicomponent methodology provides easy and rapid access to various libraries of organic compounds with diverse substitution patterns via a one-pot conversion, which allows for the formation of several new carbon–carbon and carbon–heteroatom bonds in a single operation. MCRs are characterized with experimental simplicity, a simple work-up, and the possibility for diversity-oriented synthesis. It can be said that these advantages are the primary reason for using multicomponent strategies in organic synthesis and pharmacology. One of the most important multicomponent reactions is the Biginelli reaction, which was published in 1891 by Pietro Biginelli as a novel approach for the direct preparation of 2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine (also called 3,4-dihydropyrimidin-2(1*H*)-one) core in a one-step procedure [2–6]. Tetrahydropyrimidines usually display a broad spectrum of biological activities, namely, the compounds presented in Fig. 1: (S)-enastron [7], (R)-fluorastrol [7], (S)-monastrol and its oxygenated analog (S)-oxomonastrol [8], (R)-piperastrol [9], and other tetrahydropyrimidine derivatives. They exhibit different biopotentials, such as antimetabolic [7], antiproliferative [8], and cytotoxic activities [9]. Compounds with a tetrahydropyrimidine core can be used successfully as antivirals and antibacterials, adrenergic receptor antagonists, calcium channel modulators, and mitotic kinesin inhibitors [10]. Compounds that contain the pyrimidine nucleus, i.e., the conjugated π -system, display fluorescent properties and are successfully used as electronic and photonic materials [11–13].

Taking into account the importance of compounds presented in Fig. 1, there is a reasonable tendency to synthesize new compounds with the tetrahydropyrimidine nucleus. In the last decades, numerous improved procedures with new catalysts for the Biginelli reaction have been reported [14, 15]. Many Lewis acids, such as copper salts, have proven

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s11030-016-9658-y) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Nenad Janković
nenad.jankovic@kg.ac.rs

¹ Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, Radoja Domanovića 12, P.O. Box 60, Kragujevac 34 000, Serbia

² Laboratory of Theoretical Physics and Condensed Matter Physics, Faculty of Science, Vinča Institute of Nuclear Science, University of Belgrade, P.O. Box 522, Belgrade 11001, Serbia

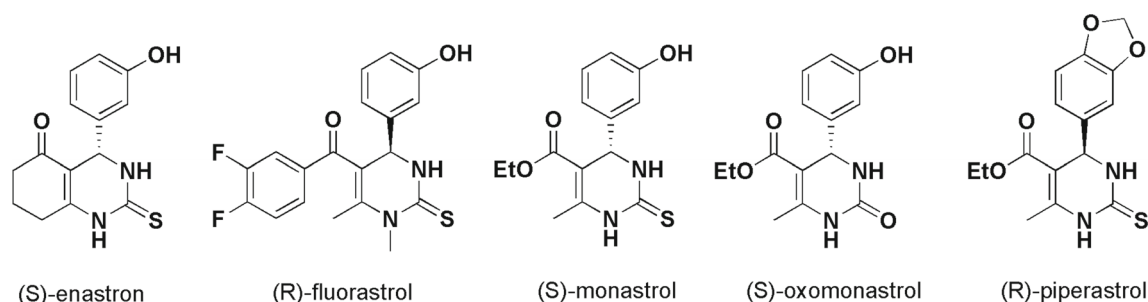


Fig. 1 Examples of several biologically active tetrahydropyrimidines

to be very good catalysts for the preparation of tetrahydropyrimidines.

Copper-based catalysts, such as $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ [16], CMS [17], CuCl_2 [18], $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ [19], Cu sulfamate [20], $\text{Cu}(\text{NTf}_2)_2$ [21], $[\text{Gmim}]\text{Cl}-\text{Cu}(\text{II})$ [22], Cu-nanoparticles [23], $\text{Cu}(\text{acac})_2$ [bmim] BF_4 [24], $\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ [25], $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ [26], $\text{Cu}(\text{BF}_4)_2$ [27], poly(4-vinylpyridine-co-divinylbenzene)- $\text{Cu}(\text{II})$ complex [28], CuI [29], and $\text{SiO}_2-\text{CuCl}_2$ [30], etc., have recently been employed in the synthesis of different tetrahydropyrimidines. In addition, some inorganic and organic ammonium salts, such as ammonium carbonate [31], alkylammonium salts [32], and benzyltriethylammonium chloride [33], were also used as catalysts in the Biginelli reaction. However, all of these catalysts come with drawbacks, such as difficulty to isolate, tedious work-up, and low yields.

In our previous study [34], we achieved excellent yields from the Biginelli reaction using $(\text{PhNH}_3)_2\text{CuCl}_4$ as a homogeneous catalyst. It was shown that the yields are independent of substituents (electron-withdrawing or electron-donating) on the aldehyde aromatic ring. For example, *p*-nitro benzaldehyde (strong electron-withdrawing group) and vanillin (strong electron-donating groups) gave excellent isolated yields (96 and 94%, respectively). Based on these results, we decided to use a copper-complex salt, tetrachlorido(*bis*)phenylammonium-copper(II) as a homogeneous and heterogeneous catalyst (solvent-free) for synthesis of the novel 2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine core containing an *O*-alkyl vanillic fragment (Scheme 1).

Results and discussion

For purposes of our investigation, the reaction of vanillin, ethyl acetoacetate, and urea was selected as a model reaction (Scheme 1). For synthesis of the complex salt, $(\text{PhNH}_3)_2\text{CuCl}_4$, we applied the procedure described earlier [35]. We first optimized the Biginelli reaction conditions for our catalytic system under different solvents. Initially, the reaction was carried out in the presence of 1 mol% of the catalyst using solvents of different polarities (see Table 1).

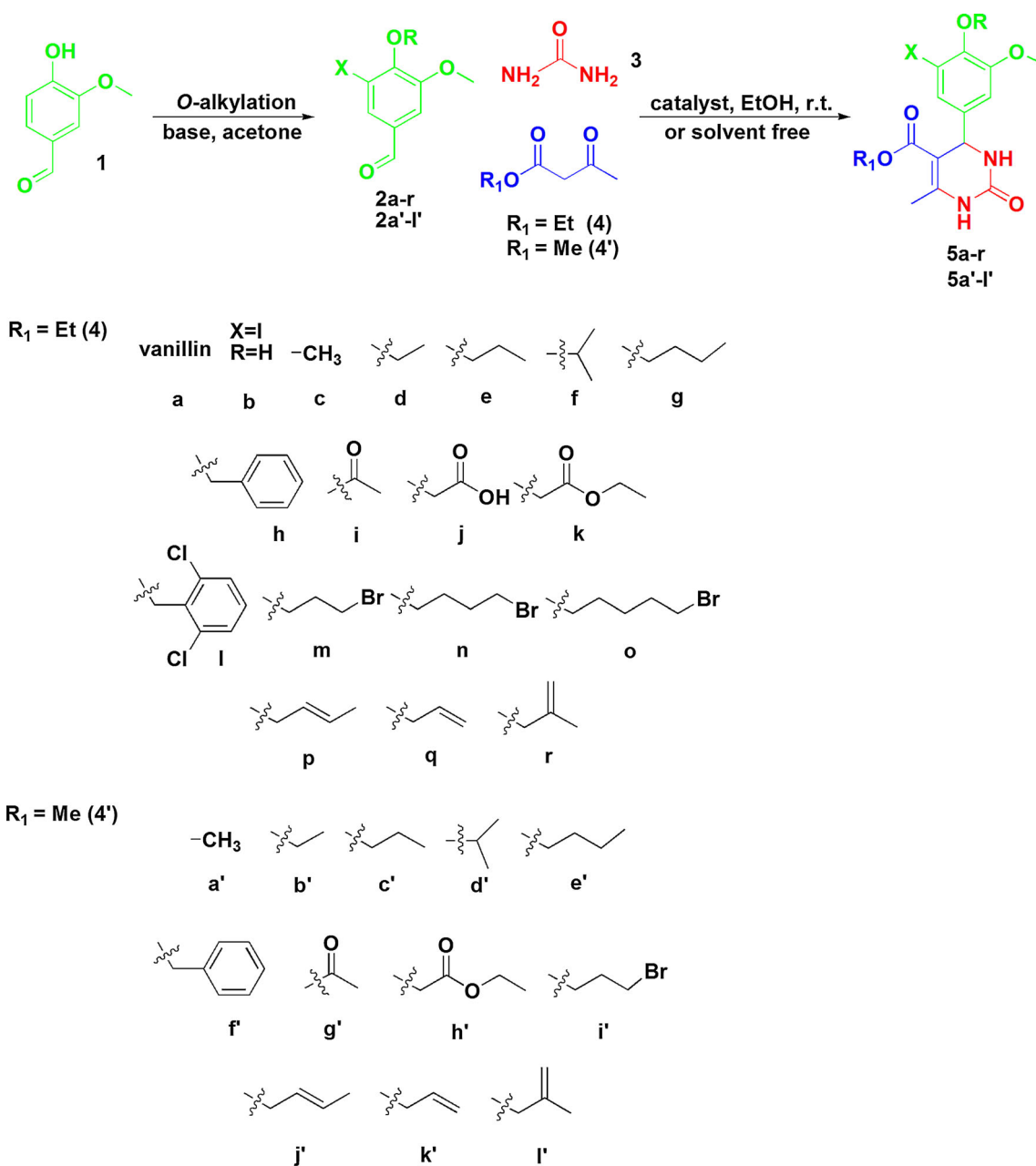
These reactions were implemented out at room temperature over the duration of 24 h. Based on the isolated yields of **5a**, the best result was achieved using ethanol as a solvent (entry 3). As a measure of the nucleophilic properties of the solvents used, we applied their donor numbers [36,37]. Table 1 shows ethanol as having the greatest DN value, and thus, the most pronounced nucleophilicity, namely, the oxygen atom in EtOH is an excellent electron-pair donor. One can derive that this solvent coordinates hydrogen atoms bonded on the α -C atom of the ethyl acetoacetate, and, in this way, facilitates the carbanion generation.

After the solvent has been optimized, the molar ratio of vanillin, ethyl acetoacetate, and urea was varied (1:1:1.5, 1:1.1:1.5, and 1:1.2:1.5). Over a duration of 24 h, the following yields of **5a** were achieved: 26, 28, and 34%. Thus, the molar ratio of 1:1.2:1.5 was applied in all other reactions carried out in ethanol.

The effects of the catalyst amounts (5 and 10 mol%) on the yields were then investigated (Table 2). For this purpose, we carried out eight independent reactions (entries 1–8). According to the **5a** yields obtained, the best results were achieved with 10 mol% of the catalyst (94% after 29 h). This yield is greater than those reported in the literature [30,39–43]. In these studies, the product **5a** was obtained at different yields (up to 91% [39–43]), or 84 and 72% under thermal and microwave irradiation heating conditions, respectively [30].

Taking into account the fact that $(\text{PhNH}_3)_2\text{CuCl}_4$ proved to be an excellent alternative to the synthesis of 2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines [34] and the high yield in our model reaction (94% of **5a**), we focused on the catalyzed synthesis of the vanillin core containing derivatives of 2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines.

We prepared a series of novel 2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines reacting *O*-alkyl vanillic aldehydes (1 mmol), ethyl- or methyl acetoacetate (1.2 mmol), and urea (1.5 mmol) in ethanol with 10 mol% of the catalyst (Scheme 1). The used *O*-alkyl vanillic aldehydes were synthesized according to the previously described methodology [44,45]. The yields and reaction times for synthesis of the compounds **5a–r** and **5a'–l'** are illustrated in Table 3. These results show the best yields of 2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines



Scheme 1 One-pot synthesis of 2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines **5a–r** and **5a'–l'**

were obtained with vanillin, and vanillic aldehydes containing the fragments CH_2COOH , CH_2COOEt , $(\text{CH}_2)_3\text{Br}$, and $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_2)\text{CH}_3$ (**2j**, **2h'**, **2i'**, and **2l'**, respectively). Also, in the reaction of iodovanillin (**2b**), ethyl acetoacetate, and urea, our catalyst produced **5b** in a high yield (90%). This same reaction has been described in only two articles [46, 47], where the reported yield was slightly lower (85% [46]).

Solvent-free conditions in the one-pot Biginelli reaction present an excellent green strategy for the construction of tetrahydropyrimidines [48–55]. Inspired by this fact, we applied $(\text{PhNH}_3)_2\text{CuCl}_4$ as a heterogeneous catalyst under

solvent-free conditions. Aldehyde **2j**, ethyl- or methyl acetoacetate, and urea (molar ratio 1:1.3:1) with 10 mol% of the catalyst were homogenized in the mortar with pestle. The reaction was monitored by TLC, and **5j** was isolated at a 93% yield after only 3 h (Table 3). Compared to the results under homogeneous catalysis, the yields are similar, but the reaction times for heterogeneous catalysis are significantly shorter.

Finally, after achieving similar yields for both the homogeneous and heterogeneous procedures, we evaluated the preparative value for the solvent-free procedure. We carried

Table 1 Solvent optimization for our model reaction

	Solvent	ϵ [38]	DN (kJ mol ⁻¹)	Isolated yield (%)
1	DCM	8.9	–	Trace
2	MeOH	32.7	79.5	28
3	EtOH	24.6	131.8	34
4	THF	7.6	83.7	24
5	MeCN	36.6	59.0	15

ϵ and DN represent the dielectric constant and donor number,* respectively

* Donor number is defined as the negative enthalpy value for 1:1 adduct formation between the antimony pentachloride and electron-pair donor solvent in dilute solution of the non-coordinating solvent 1,2-dichloroethane

Table 2 Optimization of the catalytic amount

Entry	Time (h)	Catalyst (mol%)	Isolated yield of 5a (%)
1	2	5	Trace
2	5	5	15
3	10	5	34
4	15	5	50
5	20	5	56
6	20	10	87
7	25	10	90
8	29	10	94

out this reaction at a multigram-scale with the goal to synthesize several selected 2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines (**5a**, **5b**, and **5d**). Aldehydes **2a** (7.6 g, 50 mmol), **2b** (13.9

g, 50 mmol), and **2d** (9 g, 50 mmol) with ethyl acetoacetate (8.45 g, 65 mmol) and urea (3 g, 50 mmol) in the presence of the catalyst (10 mol%), gave **5a**, **5b**, and **5d** in isolated yields of 85, 80, and 92 %, respectively.

For the first time, we fully characterized the 27 newly synthesized Biginelli compounds **5d–r** and **5a'–l'** with IR, NMR, MS, elemental analysis, and melting point. The NMR (¹H and ¹³C) spectra of the new compounds are given in Electronic supplementary material. The known compounds **5a–c** were characterized by comparing our experimental data to the NMR spectral data reported in the literature [47,56]. In addition, the melting points for products **5a**, **5b**, and **5c** are 233–234 °C (lit. 233–235 °C [20]), 159–161 °C (no lit. data), and 176–178 °C (lit. 175–177 °C [20]), respectively.

The molecular structure of **5f** [57] was confirmed by X-ray crystallography (Fig. 2).

Conclusions

In this paper, we presented a one-pot synthesis of 2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines linked with *O*-alkyl vanillic aldehydes. The copper-complex salt (PhNH₃)₂CuCl₄ was proven to be very useful in the Biginelli reaction, as both the homogeneous and heterogeneous catalysts. This catalyst is non-hygroscopic, stable, easy-to-synthesize, efficient, and eco-friendly. The solvent-free synthetic protocol was shown to enable a gram-scale preparation of the desired products. Considering the mild reaction conditions and simple work-

Table 3 Yields of the 2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines

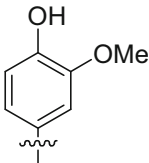
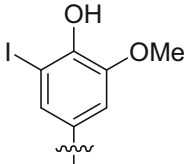
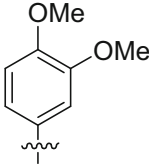
Aldehyde	Yield (%) ^a and reaction time (h)			
	R ₁ = Et (4)	R ₁ = Me(4')	R ₁ = Et (4)	R ₁ = Me(4')
	29 (1) ^a	/**	94 (89) ^b	/
	42 (0.5)	/	90 (84)	/
	53 (2)	41 (1.2)	76 (83)	90 (78)

Table 3 continued

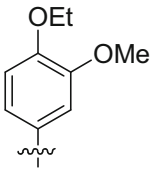
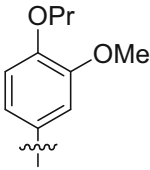
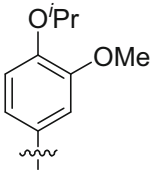
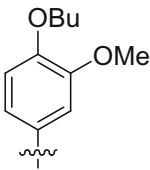
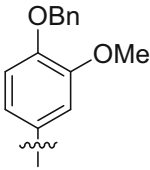
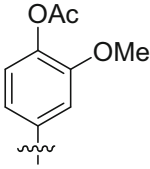
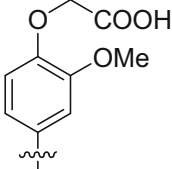
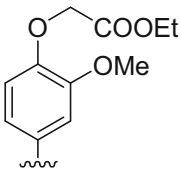
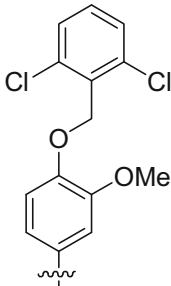
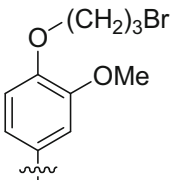
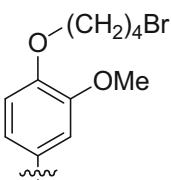
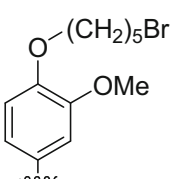
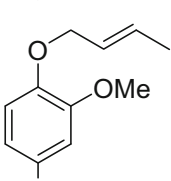
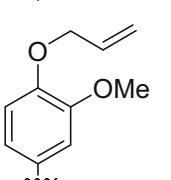
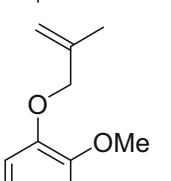
Aldehyde	Yield (%) [*] and reaction time (h)			
	R ₁ = Et (4)	R ₁ = Me(4')	R ₁ = Et (4)	R ₁ = Me(4')
	21 (2)	24 (3)	86 (89)	88 (93)
	20 (0.1)	14 (0.5)	89 (93)	81 (85)
	34 (0.5)	28 (1.2)	84 (90)	73 (90)
	26 (2)	30 (3)	73 (91)	76 (85)
	16 (0.3)	23 (1)	88 (90)	87 (90)
	31 (3)	24 (1.5)	81 (86)	91 (92)
	54 (3)	/	94 (93)	/
	19 (2.5)	12 (1.5)	90 (95)	92(95)

Table 3 continued

Aldehyde	Yield (%) ^a and reaction time (h)			
	R ₁ = Et (4)	R ₁ = Me(4')	R ₁ = Et (4)	R ₁ = Me(4')
	15 (2)	/	82 (77)	/
	18 (2.5)	31 (1.5)	87 (82)	96 (67)
	24 (1)	/	76 (88)	/
	30 (2.5)	/	80 (83)	/
	38 (3.5)	52 (4)	89 (86)	83 (71)
	24 (3)	37 (4.5)	71 (76)	80 (91)
	50 (5)	41 (3.5)	80 (89)	94 (77)

^a Isolated yields, in parentheses, are the given reaction time^a and yields^b in solvent-free reaction

** No reaction

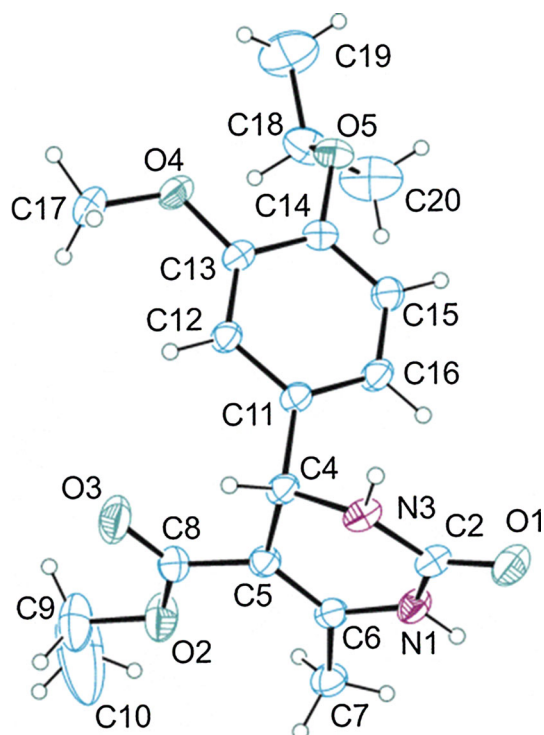


Fig. 2 ORTEP representation of compound **5f** with atom-numbering scheme

ups, and, at the same time, the good-to-excellent yields in short-reaction times, our procedure can be very favorable for one-pot conversion of similar reactants into corresponding products.

Experimental

General information

The NMR spectra of compounds **5a–r** and **5a'–l'** were performed in DMSO-*d*₆ with 0.02% water and TMS as the internal standard on a Varian Gemini 200 MHz NMR spectrometer (¹H at 200 and ¹³C at 50 MHz). Abbreviations for the NMR signal that were used are: s = singlet, d = doublet, t = triplet, m = multiplet, and br.s. = broad singlet. The IR spectra were recorded by a Perkin–Elmer Spectrum One FT-IR spectrometer on a KBr pellet. The GC/MS analyses were performed on an Agilent 6890N/5975B gas chromatograph. Microanalyses of C, H, and N were obtained on a Carlo Erba EA1108. The melting points (mps) were determined on a Mel-Temp apparatus and are uncorrected. Thin-layer chromatography (TLC) was carried out on 0.25-mm Sigma-Aldrich coated silica gel plates (60F-254) using an ethyl acetate-methanol (8:2) mixture as a mobile phase and UV light for visualization. All solvents (EtOH and DCM) and substrates (ethyl acetoacetate, methyl acetoacetate, urea, ani-

line, and vanillin) were purchased from Sigma. All NMR (¹H and ¹³C) spectral data are furnished in Electronic Supplementary Material (see Figs. S1–S54).

Single-crystal X-ray diffraction data for **5f** were collected at room temperature on an Agilent Gemini S diffractometer equipped with Mo *K*α radiation ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). Data reduction and empirical absorption corrections were performed using CrysAlisPro [58]. The crystal structure was solved by direct methods, using SIR2002 [59], and they were refined using the SHELXL-97 program [60] by full-matrix least-squares on F^2 .

All H-atoms attached to the aromatic C-atoms were placed geometrically and refined using a riding model with C–H = 0.93 Å and $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1.2 U_{\text{eq}}(\text{C})$. The hydrogen atoms from methine, methylene, and the methyl groups were placed at geometrically idealized positions with C–H distances fixed to 0.98, 0.97, and 0.96 Å, respectively. Their isotropic displacement parameters were set equal to $1.2U_{\text{eq}}$ and $1.5U_{\text{eq}}$ of the parent C atoms. Two hydrogen atoms attached to the N1 and N3 nitrogen atoms were located in different Fourier maps and refined isotropically. Selected crystallographic data for **5f** are as follows: C₁₈H₂₄N₂O₅, $M = 348.39$, colorless prismatic crystals, $D_{\text{calc}} = 1.264 \text{ Mg/m}^3$, triclinic crystal system, space group P-1, $Z = 2$, final R indicates $R_1/wR_2 (I \geq 2\sigma_I) = 0.0561/0.1578$ (239 parameters and 4435 independent reflections), and $\text{GOF} = 1.047$. Unit cell dimensions were as follows: $a = 7.5727(3)$, $b = 9.8383(4)$, $c = 12.8276(5) \text{ \AA}$; $\alpha = 84.202(3)$, $\beta = 74.397(4)$, $\gamma = 89.035(3)^\circ$; and $V = 915.71(6) \text{ \AA}^3$.

General experimental procedures for synthesis

2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines (homogeneous catalysis)

To a stirred solution of 0.09 g, 1.5 mmol of urea in a 50-mL round-bottom flask in 5 mL of ethanol (for product preparation **5b**, **5c**, and **5j**, we used 15 mL), vanillic aldehyde (1 mmol) and ethyl- or methyl acetoacetate (0.156 or 0.139 g, 1.2 mmol) were added followed by 10 mol% of the catalyst (calculated with respect to aldehyde) at room temperature. The reaction was followed by TLC (eluent EtOAc:MeOH 8:2). The white powder formed was filtered, washed with small portions of cold ethanol and DCM, and then dried at 100 °C to afford the desired product with a good purity grade (without recrystallization).

Solvent-free procedures for synthesis of 2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines (heterogeneous catalysis-solvent free)

Urea (0.09 g, 1 mmol), vanillic aldehyde (1 mmol), ethyl- or methyl acetoacetate (0.169 or 0.151 g, 1.3 mmol), and 10 mol% of catalyst were taken into a mortar, then grind at

room temperature for appropriate time duration (1–5 h). The reaction was followed by TLC (eluent EtOAc:MeOH 8:2). Upon completion of the reaction, the resultant light-yellow mixture was washed with DCM, ethanol, and then water.

Spectral data of novel 2-oxo -1,2,3,4-tetrahydropyrimidines (5d-r and 5a'–l')

Ethyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-ethoxy-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydro-pyrimidine-5-carboxylate (5d)

White needles; Yields: 86 (solvent-free = 89)%. mp 207–208 °C. IR (KBr) 3248, 3117, 2976, 2934, 1724, 1706, 1658, 1607, 1519, 1477, 1464, 1242, 1227 cm^{-1} . ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 1.11 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH₃), 1.29 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH₃), 2.25 (s, 3H, CH₃), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.90–4.05 (m, 4H, 2 × CH₂), 5.10 (d, 1H, $J = 3.2$ Hz, H-4), 6.68–6.89 (m, 3H, Ar-H), 7.69 (br. s, 1H, NH), 9.16 (br. s, 1H, NH). ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ 14.3, 14.9, 17.9, 53.7, 55.6, 59.4, 63.9, 99.6, 110.9, 113.1, 118.1, 137.6, 147.4, 148.3, 148.9, 152.4, 165.6. MS (70 eV) m/z 334 ([M]⁺, 50%). Calcd. for C₁₇H₂₂N₂O₅: C, 61.06; H, 6.63; N, 8.37; found: C, 60.94; H, 6.53; N, 8.45 (%).

Ethyl 6-methyl-2-oxo-4-(3'-methoxy-4'-propoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydro-pyrimidine-5-carboxylate (5e)

White powder; Yields: 89 (solvent-free = 93)%. mp 185–186 °C. IR (KBr): 3252, 3122, 2967, 2937, 2904, 1720, 1706, 1653, 1607, 1592, 1517, 1259, 1224 cm^{-1} . ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 0.94 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz, CH₃), 1.11 (t, 2H, $J = 7.0$ Hz, CH₃), 1.64–1.74 (m, 2H, CH₂), 2.24 (s, 3H, CH₃), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.85 (t, 2H, $J = 6.6$ Hz, CH₂), 3.94–4.04 (q, 2H, CH₂), 5.10 (d, 1H, $J = 3.0$ Hz, H-4), 6.68–6.89 (m, 3H, Ar-H), 7.69 (br. s, 1H, NH), 9.16 (br. s, 1H, NH). ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ 10.6, 14.3, 17.9, 22.3, 53.7, 55.8, 59.4, 70, 99.7, 111, 113.3, 118.2, 137.6, 147.7, 148.3, 148.9, 152.5, 165.7. MS (70 eV) m/z 348 ([M]⁺, 60%). Calcd. for C₁₈H₂₄N₂O₅: C, 62.05; H, 6.94; N, 8.04; found: C, 61.91; H, 6.97; N, 8.14 (%).

Ethyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-isopropoxy-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5f)

White needles; Yields: 84 (solvent-free = 90)%. mp 201–202 °C. IR (KBr) 3345, 3209, 3102, 2973, 2987, 1702, 1673, 1647, 1589, 1504, 1328, 1236, 1090 cm^{-1} . ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 1.11 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH₃), 1.21 (d, 6H, $J = 6.0$ Hz, 2 × CH₃), 2.24 (s, 3H, CH₃), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 3.94–4.05 (q, 2H, CH₂), 4.44–4.49 (m, 1H, CH), 5.09 (d, 1H, $J = 3.2$ Hz, H-4), 6.68–6.91 (m, 3H, Ar-H), 7.69 (br. s, 1H, NH), 9.18 (br. d, 1H, $J = 1.6$ Hz, NH). ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ 14.3, 17.9, 22.1, 53.7, 55.7,

59.3, 70.6, 99.6, 111.3, 115.8, 118.2, 137.9, 146.2, 148.3, 149.9, 152.5, 165.6. MS (70 eV) m/z 348 ([M]⁺, 36%). Calcd. for C₁₈H₂₄N₂O₅: C, 62.05; H, 6.94; N, 8.04; found: C, 62.10; H, 6.98; N, 8.10 (%).

Ethyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-butoxy-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5g)

White powder; Yields: 73 (solvent-free = 91)%. mp 154–155 °C. IR (KBr) 3251, 3121, 2961, 2936, 1725, 1708, 1658, 1518, 1258, 1239, 1097, 1089 cm^{-1} . ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 0.91 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz, CH₃), 1.11 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH₃), 1.35–1.46 (m, 2H, CH₂), 1.62–1.69 (m, 2H, CH₂), 2.24 (s, 3H, CH₃), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.87–4.05 (m, 4H, 2 × CH₂), 5.09 (d, 1H, $J = 3.0$ Hz, H-4), 6.68–6.90 (m, 3H, Ar-H), 7.68 (br. s, 1H, NH), 9.16 (br. s, 1H, NH). ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ 13.8, 14.3, 17.9, 18.9, 31, 53.7, 55.7, 59.3, 68.1, 99.6, 111, 113.3, 118.2, 137.6, 147.7, 148.2, 148.9, 152.4, 165.6. MS (70 eV) m/z 362 ([M]⁺, 60%). Calcd. for C₁₉H₂₆N₂O₅: C, 62.96; H, 7.23; N, 7.72; found: C, 62.98; H, 7.29; N, 7.76 (%).

Ethyl 6-methyl-2-oxo-4-(benzyloxy-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5h)

White powder; Yields: 88 (solvent-free = 90)%. mp 191–192 °C. IR (KBr) 3358, 3244, 3117, 3020, 2982, 2937, 1702, 1654, 1513, 1280, 1227, 1095 cm^{-1} . ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 1.11 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz, CH₃), 2.25 (s, 3H, CH₃), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 3.94–4.05 (q, 2H, CH₂), 5.04 (s, 2H, CH₂), 5.11 (d, 1H, $J = 3.2$ Hz, H-4), 6.69–6.99 (m, 3H, Ar-H), 7.31–7.44 (m, 5H, Ar-H), 7.69 (br. s, 1H, NH), 9.17 (br. s, 1H, NH). ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ 14.3, 17.9, 53.7, 55.7, 59.3, 70.2, 99.6, 111, 113.8, 118.1, 127.8, 127.9, 128.6, 137.4, 138, 147.2, 148.3, 149.1, 152.4, 165.6. MS (70 eV) m/z 396 ([M]⁺, 14%). Calcd. for C₂₂H₂₄N₂O₅: C, 66.65; H, 6.10; N, 7.06; found: C, 66.69; H, 6.18; N, 7.16 (%).

Ethyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-acetoxy-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5i)

White powder; Yields: 81 (solvent-free = 86)%. mp 185–187 °C. IR (KBr) 3243, 3109, 2984, 2938, 1772, 1701, 1654, 1511, 1283, 1229, 1095, 1034 cm^{-1} . ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 1.12 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH₃), 2.25 (d, 6H, $J = 5.0$ Hz, CH₃, COCH₃), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 3.96–4.07 (q, 2H, CH₂), 5.17 (d, 1H, $J = 3.2$ Hz, H-4), 6.76–7.05 (m, 3H, Ar-H), 7.79 (br. s, 1H, NH), 9.24 (br. s, 1H, NH). ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ 14.3, 18.0, 20.5, 53.9, 55.8, 59.5, 99.2, 111.2, 117.9, 122.9, 138.6, 143.9, 148.8, 150.7, 152.4, 165.6, 168.8. MS (70 eV) m/z 348 ([M]⁺, 10%). Calcd. for C₁₇H₂₀N₂O₆: C, 58.61; H, 5.78; N, 8.04; found: C, 58.67; H, 5.84; N, 8.10 (%).

Ethyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-carboxymethoxy-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5j)

White powder; Yields: 94 (solvent-free = 93)%. mp 191–192 °C. IR (KBr) 3277, 3115, 2980, 2940, 2727, 2548, 1755, 1702, 1640, 1517, 1454, 1261, 1224, 1145, 1085 cm^{-1} . ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 1.12 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3), 2.24 (s, 3H, CH_3), 3.74 (s, 3H, OCH_3), 3.95–4.05 (q, 2H, CH_2), 4.62 (s, 2H, CH_2), 5.10 (d, 1H, $J = 3.2$ Hz, H-4), 6.66–6.87 (m, 3H, Ar-H), 7.69 (br. s, 1H, NH), 9.16 (br. s, 1H, NH). ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ 14.4, 17.9, 53.7, 55.8, 59.5, 65.3, 99.6, 111.2, 113.5, 118.1, 138.4, 146.7, 148.4, 148.8, 152.5, 165.7, 170.4. MS (70 eV) m/z 363 ($[\text{M}]^+$, 44%). Calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_7$: C, 56.04; H, 5.53; N, 7.69; found: C, 56.08; H, 5.61; N, 7.75(%)

Ethyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-ethoxycarbonyl-methoxy-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5k)

White powder; Yields: 90 (solvent-free = 95)%. mp 177–179 °C. IR (KBr) 3247, 3120, 2981, 2963, 2935, 1761, 1744, 1704, 1654, 1518, 1284, 1225, 1094 cm^{-1} . ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6) δ 1.02–1.23 (m, 6H, $2\times\text{CH}_3$), 2.24 (s, 3H, CH_3), 3.74 (s, 3H, OCH_3), 3.94–4.05 (q, 2H, CH_2), 4.09–4.19 (q, 2H, CH_2), 4.72 (s, 2H, OCH_2CO), 5.10 (d, 1H, $J = 3.0$ Hz, H-4), 6.65–6.88 (m, 3H, Ar-H), 7.72 (br. s, 1H, NH), 9.19 (br. s, 1H, NH). ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ 14.2, 14.3, 17.9, 53.7, 55.8, 59.4, 60.8, 65.6, 99.5, 111.2, 113.8, 118, 138.7, 146.5, 148.4, 148.9, 152.4, 165.6, 168.9. MS (70 eV) m/z 392 ($[\text{M}]^+$, 35%). Calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_7$: C, 58.15; H, 6.16; N, 7.14; found: C, 58.20; H, 6.18; N, 7.16(%)

Ethyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-(2'',6''-dichlorobenzoyloxy)-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5l)

White powder; Yields: 82 (solvent-free = 77)%. mp 231–233 °C. IR (KBr): 3243, 3127, 2939, 2937, 1723, 1707, 1659, 1515, 1259, 1227 cm^{-1} . ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 1.11 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz, CH_3), 2.25 (s, 3H, CH_3), 3.69 (s, 3H, OCH_3), 3.95–4.06 (q, 2H, CH_2), 5.12 (d, 1H, $J = 3.2$ Hz, H-4), 5.17 (s, 2H, CH_2), 6.72–7.11 (m, 3H, Ar-H), 7.46–7.56 (m, 3H, Ar-H), 7.71 (br. s, 1H, NH), 9.18 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): 14.4, 17.9, 53.7, 55.7, 59.4, 65.8, 99.6, 111.1, 113.9, 118.2, 128.9, 131.8, 132.1, 136.4, 138.6, 147.3, 148.4, 149.1, 152.4, 165.7; MS (70 eV): m/z 488 ($[\text{M}]^+ + \text{Na}$), 44%). Calcd. for $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_5$: C, 56.78; H, 4.77; N, 6.02; found: C, 56.73; H, 4.73; N, 6.01(%)

Ethyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-(3''-bromopropoxy)-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5m)

White powder; Yields: 87 (solvent-free = 82)%. mp 155–157 °C. IR (KBr): 3240, 3112, 2942, 1726, 1701, 1651, 1519, 1465, 1259, 1221 cm^{-1} . ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ = 1.11 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3), 2.18–2.24 (m, 5H, $\text{CH}_3\text{C-6}$, CH_2), 3.64 (t, 2H, $J = 6.4$ Hz, CH_2), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 3.94–4.05 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$), 5.10 (d, 1H, $J = 3.2$ Hz, H-4), 6.69–6.94 (m, 3H, Ar-H), 7.68 (br. s, 1H, NH), 9.17 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ = 14.3, 17.9, 31.4, 32.2, 53.7, 55.8, 59.4, 66.5, 99.6, 111.1, 113.8, 118.2, 138.1, 147.2, 148.3, 149.1, 152.4, 165.6; MS (70 eV): m/z 450 ($[\text{M}]^+ + \text{Na}$); 21%). Calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{BrN}_2\text{O}_5$: C, 50.60; H, 5.43; N, 6.56; found: C, 50.56; H, 5.34; N, 6.51(%)

Ethyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-(4''-bromobutoxy)-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5n)

White powder; Yields: 76 (solvent-free = 88)%. mp 137–139 °C. IR (KBr): 3240, 3114, 2951, 1702, 1651, 1513, 1473, 1250, 1223 cm^{-1} . ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 1.11 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz, CH_3), 1.79–1.98 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$), 2.24 (s, 3H, CH_3), 3.59 (t, 2H, $J = 6.6$ Hz, CH_2), 3.72 (s, 3H, OCH_3), 3.91–4.04 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$), 5.09 (d, 1H, $J = 3.0$ Hz, H-4), 6.68–6.91 (m, 3H, Ar-H), 7.68 (br. s, 1H, NH), 9.15 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): 14.3, 17.9, 27.6, 29.3, 34.9, 53.6, 55.7, 59.3, 67.7, 99.6, 111, 113.5, 118.2, 137.8, 147.4, 148.3, 148.9, 152.4, 165.6; MS (70 eV): m/z 464 ($[\text{M}]^+ + \text{Na}$), 14%). Calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{BrN}_2\text{O}_5$: C, 51.71; H, 5.71; N, 6.35; found: C, 51.63; H, 5.70; N, 6.29(%)

Ethyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-(4''-bromopentyloxy)-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5o)

White powder; Yields: 80 (solvent-free = 83)%. mp 126–128 °C. IR (KBr): 3248, 3105, 2939, 1702, 1654, 1515, 1465, 1257, 1225 cm^{-1} . ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 1.11 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3), 1.46–1.58 (m, 2H, CH_2), 1.65–1.89 (m, 4H, CH_2), 2.24 (s, 3H, CH_3), 3.54 (t, 2H, $J = 6.6$ Hz, CH_2), 3.72 (s, 3H, OCH_3), 3.87–4.05 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$), 5.09 (d, 1H, $J = 3.4$ Hz, H-4), 6.68–6.91 (m, 3H, Ar-H), 7.69 (br. s, 1H, NH), 9.16 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): 14.3, 17.9, 24.5, 28.1, 32.1, 32.2, 35.2, 53.7, 55.8, 59.4, 68.4, 99.6, 111.1, 113.4, 118.2, 137.7, 147.6, 148.3, 148.9, 152.4, 165.6; MS (70 eV): m/z 478 ($[\text{M}]^+ + \text{Na}$), 10%). Calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{BrN}_2\text{O}_5$: C, 52.75; H, 5.98; N, 6.15; found: C, 52.67; H, 5.89; N, 6.05(%)

Ethyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-(but-2''-enyloxy)-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5p)

White powder; Yields: 89 (solvent-free = 86)%. mp 172–173 °C. IR (KBr): 3248, 3113, 2935, 1723, 1707, 1515, 1463, 1259, 1227, 1094 cm⁻¹. ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 1.11 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz, CH₃), 1.68 (d, 3H, *J* = 6.0 Hz, CH₃), 2.24 (s, 3H, CH₃), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 3.94–4.05 (q, 4H, 2xCH₂), 4.41 (d, 1H, *J* = 5.4 Hz, CH), 4.55 (d, 1H, *J* = 4.0 Hz, CH), 5.09 (d, 1H, *J* = 3.2 Hz, H-4), 5.69–5.79 (m, 2H, CH₂), 6.67–6.91 (m, 3H, Ar-H), 7.68 (br. s, 1H, NH), 9.16 (br. s, 1H, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 14.3, 17.7, 17.9, 53.7, 55.7, 59.4, 68.9, 99.6, 110.9, 113.5, 118.1, 126.8, 129.8, 137.7, 147.2, 148.3, 148.9, 152.4, 165.6; MS (70 eV): *m/z* 383 ([M⁺ + Na], 21%). Calcd. C₁₉H₂₄N₂O₅: C, 63.32; H, 6.71; N, 7.77; found: C, 63.25; H, 6.64; N, 7.75 (%).

Ethyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-(allyloxy)-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5q)

White powder; Yields: 71 (solvent-free = 76)%. mp 171–173 °C. IR (KBr): 3241, 3107, 2936, 1702, 1654, 1516, 1282, 1224, 1136, 1094 cm⁻¹. ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 1.11 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz, CH₃), 2.24 (s, 3H, CH₃), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.94–4.05 (q, 4H, 2xCH₂), 4.51 (d, 2H, *J* = 5.2 Hz, CH₂), 5.09 (d, 1H, *J* = 3.2 Hz, H-4), 5.20–5.41 (m, 2H, CH₂), 5.94–6.09 (m, 1H, CH), 6.68–6.92 (m, 3H, Ar-H), 7.69 (br. s, 1H, NH), 9.17 (br. s, 1H, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 14.3, 17.9, 53.7, 55.7, 59.3, 69.2, 99.6, 111, 113.8, 117.6, 118.1, 134.1, 137.9, 147, 148.3, 148.9, 152.4, 165.6. MS (70 eV): *m/z* 369 ([M⁺ + Na], 12%). Calcd. C₁₈H₂₂N₂O₅: C, 62.42; H, 6.40; N, 8.09; found: C, 62.36; H, 6.38; N, 8.01(%).

Ethyl 6-methyl-2-oxo-4-(3'-methoxy-4'-(2''-methallyloxy)phenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5r)

White powder; Yields: 80 (solvent-free = 89)%. mp 195–197 °C. IR (KBr): 3242, 3107, 2935, 1702, 1654, 1516, 1282, 1226, 1134, 1094 cm⁻¹. ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 1.11 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz, CH₃), 1.74 (s, 3H, CH₃), 2.24 (s, 3H, CH₃), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.94–4.05 (q, 2H, CH₂), 4.41 (s, 2H, CH₂), 4.92–5.03 (m, 2H, CH₂), 5.09 (d, 1H, *J* = 3.2 Hz, H-4), 6.67–6.91 (m, 3H, Ar-H), 7.69 (br. s, 1H, NH), 9.17 (br. s, 1H, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 14.3, 17.9, 19.4, 53.7, 55.8, 59.4, 71.9, 99.6, 111.2, 112.5, 113.9, 118.1, 137.9, 141.2, 147.2, 148.3, 149, 152.4, 165.6. MS (70 eV): *m/z* 383 ([M⁺ + Na], 15%). Calcd. C₁₉H₂₄N₂O₅: C, 63.32; H, 6.71; N, 7.77; Found: C, 63.25; H, 6.65; N, 7.75 (%).

Methyl 6-methyl-2-oxo-4-(3',4'-dimethoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5a')

White powder; Yields: 90 (solvent-free = 78)%. mp 180–182 °C. IR (KBr): 3250, 3112, 2954, 1710, 1698, 1647, 1608, 1520, 1463, 1424, 1241, 1223, 1092 cm⁻¹. ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 2.25 (s, 3H, CH₃), 3.54 (s, 3H, OCH₃), 3.72 (d, 6H, *J* = 1.6 Hz, 2xOCH₃), 5.10 (d, 1H, *J* = 3.4 Hz, H-4), 6.68–6.90 (m, 3H, Ar-H), 7.70 (br. s, 1H, NH), 9.19 (br. s, 1H, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 17.9, 50.9, 53.6, 55.6, 55.8, 99.3, 110.7, 112, 118, 137.3, 148.3, 148.6, 148.8, 152.4, 166.1. MS (70 eV): *m/z* 306 ([M]⁺, 34%). Calcd. for C₁₅H₁₈N₂O₅: C, 58.82; H, 5.92; N, 9.15; found: C, 58.74; H, 5.85; N, 9.05 (%).

Methyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-ethoxy-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5b')

White powder; Yields: 88 (solvent-free = 93)%. mp 202–204 °C. IR (KBr): 3247, 3117, 2962, 1720, 1702, 1652, 1518, 1462, 1260, 1225, 1094 cm⁻¹. ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 1.29 (t, 3H, *J* = 6.8 Hz, CH₃), 2.25 (s, 3H, CH₃), 3.54 (s, 3H, OCH₃), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.90–4.01 (q, 2H, CH₂), 5.09 (d, 1H, *J* = 3.2 Hz, H-4), 6.66–6.89 (m, 3H, Ar-H), 7.70 (br. s, 1H, NH), 9.19 (br. s, 1H, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 14.9, 17.9, 50.9, 53.5, 55.6, 63.9, 99.3, 110.8, 113.1, 117.9, 137.3, 147.4, 148.6, 148.9, 152.4, 166.1. MS (70 eV): *m/z* 320 ([M⁺ + 23], 22%). Calcd. for C₁₆H₂₀N₂O₅: C, 59.99; H, 6.29; N, 8.74; found: C, 59.97; H, 6.24; N, 8.70 (%).

Methyl 6-methyl-2-oxo-4-(3'-methoxy-4'-propoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5c')

White powder; Yields: 81 (solvent-free = 85)%. mp 198–199 °C. IR (KBr): 3242, 3112, 2950, 1702, 1650, 1609, 1513, 1454, 1250, 1226, 1088 cm⁻¹. ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 0.95 (t, 3H, *J* = 7.4 Hz, CH₃), 1.64–1.75 (m, 2H, CH₂), 2.25 (s, 3H, CH₃), 3.54 (s, 3H, OCH₃), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.86 (t, 2H, *J* = 6.6 Hz, CH₂), 5.09 (d, 1H, *J* = 3.4 Hz, H-4), 6.66–6.89 (m, 3H, Ar-H), 7.69 (br. s, 1H, NH), 9.18 (br. s, 1H, NH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10.6, 17.9, 22.3, 50.9, 53.6, 55.8, 69.9, 99.3, 111, 113.3, 118.1, 137.3, 147.7, 148.6, 149, 152.4, 166.1. MS (70 eV): *m/z* 334 ([M]⁺, 41%). Calcd. for C₁₇H₂₂N₂O₅: C, 61.07; H, 6.63; N, 8.38; found: C, 60.97; H, 6.56; N, 8.33 (%).

Methyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-isopropoxy-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5d')

White powder; Yields: 73 (solvent-free = 90)%. mp 188–189 °C. IR (KBr): 3248, 3114, 2949, 1723, 1652, 1611, 1511,

1448, 1263, 1225, 1100 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ = 1.22 (d, 6H, J = 6.0 Hz, $2 \times \text{CH}_3$), 2.25 (s, 3H, CH_3), 3.55 (s, 3H, OCH_3), 3.72 (s, 3H, OCH_3), 4.41–4.53 (m, 1H, CH), 5.09 (d, 1H, J = 3.4 Hz, H-4), 6.66–6.89 (m, 3H, Ar-H), 7.69 (br. s, 1H, NH), 9.19 (br. s, 1H, NH); $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6): 17.9, 22.1, 50.9, 53.5, 55.7, 70.6, 99.3, 111.2, 115.7, 118, 137.7, 146.2, 148.6, 149.9, 152.4, 166.1. MS (70 eV): m/z 357 ($[\text{M}^+ + \text{Na}]$, 32 %). Calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 61.07; H, 6.63; N, 8.38; found: C, 60.97; H, 6.60; N, 8.37 (%).

Methyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-butoxy-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5e')

White powder; Yields: 76 (solvent-free = 85) %. mp 153–154 °C. IR (KBr): 3252, 3118, 2961, 1720, 1658, 1610, 1519, 1437, 1255, 1227, 1085 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, DMSO- d_6): δ = 0.91 (t, 3H, J = 7.2 Hz, CH_3), 1.35–1.46 (m, 2H, CH_2), 1.63–1.69 (m, 2H, CH_2), 2.25 (s, 3H, CH_3), 3.54 (s, 3H, OCH_3), 3.72 (s, 3H, OCH_3), 3.89 (t, 2H, J = 6.4 Hz, CH_2), 5.09 (d, 1H, J = 3.4 Hz, H-4), 6.66–6.89 (m, 3H, Ar-H), 7.69 (br. s, 1H, NH), 9.19 (br. s, 1H, NH); $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, DMSO- d_6): 13.8, 17.9, 18.9, 31, 50.9, 53.5, 55.8, 68.1, 99.3, 111, 113.3, 118.1, 137.3, 147.7, 148.6, 149, 152.4, 166.1. MS (70 eV): m/z 371 ($[\text{M}^+ + \text{Na}]$, 28 %). Calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 62.05; H, 6.94; N, 8.04; found: C, 61.96; H, 6.88; N, 8.02 (%).

Methyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-benzyloxy-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5f')

White powder; Yields: 87 (solvent-free = 90) %. mp 199–200 °C. IR (KBr): 3300, 3010, 2950, 1701, 1664, 1647, 1512, 1437, 1350, 1224, 1081 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, DMSO- d_6): δ = 2.26 (s, 3H, CH_3), 3.54 (s, 3H, OCH_3), 3.74 (s, 3H, OCH_3), 5.04 (s, 2H, CH_2), 5.11 (d, 1H, J = 3.4 Hz, H-4), 6.67–6.98 (m, 3H, Ar-H), 7.38–7.41 (m, 5H, Ar-H), 7.69 (br. s, 1H, NH), 9.20 (br. s, 1H, NH); $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, DMSO- d_6): 17.9, 50.9, 53.6, 55.7, 70.2, 99.2, 111, 113.8, 117.9, 127.8, 127.9, 128.6, 137.4, 137.8, 137.9, 147.3, 148.6, 149.1, 152.4, 166.1. MS (70 eV): m/z 382 ($[\text{M}]^+$, 24 %). Calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 65.96; H, 5.80; N, 7.33; found: C, 65.95; H, 5.71; N 7.28 (%).

Methyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-acetoxy-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5g')

White powder; Yields: 91 (solvent-free = 92) %. mp 208–210 °C. IR (KBr): 3225, 3100, 2961, 1765, 1700, 1647, 1509, 1453, 1264, 1218, 1083, cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, DMSO- d_6): δ = 2.25 (d, 6H, J = 6.0 Hz, CH_3 , COCH_3), 3.56 (s, 3H, OCH_3), 3.74 (s, 3H, OCH_3), 5.17 (d, 1H, J = 3.0 Hz, H-4), 6.75–7.05 (m, 3H, Ar-H), 7.79 (br. s, 1H, NH), 9.26 (br. s, 1H, NH); $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, DMSO- d_6): 18, 20.5,

51, 53.7, 55.8, 98.9, 111.2, 117.8, 122.9, 138.6, 143.6, 149.1, 150.8, 152.3, 166, 168.7. MS (70 eV): m/z 357 ($[\text{M}^+ + \text{Na}]$, 14 %). Calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$: C, 57.48; H, 5.43; N, 8.38; found: C, 57.39; H, 5.41; N, 8.33 (%).

Methyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-ethoxycarbonyl-methoxy-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5h')

White powder; Yields: 92 (solvent-free = 95) %. mp 194–195 °C. IR (KBr): 3320, 3210, 3100, 2952, 1761, 1700, 1664, 1512, 1354, 1247, 1093 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, DMSO- d_6): δ = 1.19 (t, 3H, J = 7.2 Hz, CH_3), 2.25 (s, 3H, CH_3), 3.54 (s, 3H, OCH_3), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 4.09–4.20 (q, 2H, CH_2), 4.71 (s, 2H, CH_2), 5.10 (d, 1H, J = 3.4 Hz, H-4), 6.65–6.89 (m, 3H, Ar-H), 7.70 (br. s, 1H, NH), 9.20 (br. s, 1H, NH); $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, DMSO- d_6): 14.2, 17.9, 50.9, 53.5, 55.8, 60.7, 65.6, 99.2, 111.2, 113.9, 117.9, 138.4, 146.5, 148.7, 148.9, 152.4, 166, 168.9. MS (70 eV): m/z 378 ($[\text{M}]^+$, 20 %). Calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_7$: C, 57.14; H, 5.86; N, 7.40; found: C, 57.08; H, 5.80; N, 7.35 (%).

Methyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-(3''-bromopropoxy)-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5i')

White powder; Yields: 96 (solvent-free = 67) %. mp 157–158 °C. IR (KBr): 3227, 3100, 2948, 1704, 1650, 1519, 1447, 1225, 1098 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, DMSO- d_6): δ = 2.18–2.25 (m, 5H, CH_3 -C-6, CH_2), 3.54 (s, 3H, OCH_3), 3.65 (t, 2H, J = 6.6 Hz, CH_2), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 4.03 (t, 2H, J = 6.0 Hz, CH_2), 5.10 (d, 1H, J = 3.2 Hz, H-4), 6.67–6.94 (m, 3H, Ar-H), 7.69 (br. s, 1H, NH), 9.19 (br. s, 1H, NH); $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, DMSO- d_6): δ = 17.9, 31.4, 32.2, 50.9, 53.5, 55.8, 66.5, 99.2, 111, 113.8, 118, 137.9, 147.2, 148.6, 149.1, 152.4, 166. MS (70 eV): m/z 414 ($[\text{M}]^+$, 17 %). Calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{BrN}_2\text{O}_5$: C, 49.41; H, 5.12; N, 6.78; found: C, 49.34; H, 5.05; N, 6.75 (%).

Methyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-(but-2''-enyloxy)-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5j')

White powder; Yields: 83 (solvent-free = 71) %. mp 195–196 °C. IR (KBr): 3225, 3110, 2960, 1702, 1663, 1512, 1462, 1253, 1225, 1087 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, DMSO- d_6): δ = 1.68 (d, 3H, J = 6.2 Hz, CH_3), 2.25 (s, 3H, CH_3), 3.54 (s, 3H, OCH_3), 3.72 (s, 3H, OCH_3), 4.41 (d, 1H, J = 5.6 Hz, CH), 4.55 (d, 1H, J = 5.8 Hz, CH), 5.09 (d, 1H, J = 3.2 Hz, H-4), 5.65–5.79 (m, 2H, CH_2), 6.65–6.92 (m, 3H, Ar-H), 7.69 (br. s, 1H, NH), 9.18 (br. s, 1H, NH); $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, DMSO- d_6): δ = 17.6, 17.9, 50.9, 53.5, 55.6, 68.9, 99.3, 110.9, 113.5, 117.9, 126.2, 126.8, 128.3, 129.7, 137.4, 147.2, 148.6,

149, 152.4, 166.1. MS (70 eV): m/z 369 ($[M]^+ + Na$), 49 %). Calcd. $C_{18}H_{22}N_2O_5$: C, 62.42; H, 6.40; N, 8.09; found: C, 62.33; H, 6.35; N, 8.01(%).

Methyl 6-methyl-2-oxo-4-(4'-(allyloxy)-3'-methoxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5k')

White powder; Yields: 80 (solvent-free = 91) %. mp 180–181 °C. IR (KBr): 3248, 3102, 2946, 1725, 1700, 1654, 1511, 1425, 1287, 1226, 1085 cm^{-1} . 1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ = 2.25 (s, 3H, CH_3), 3.54 (s, 3H, OCH_3), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 4.48–4.53 (dt, 2H, CH_2), 5.10 (d, 1H, J = 3.2 Hz, H-4), 5.25–5.41 (m, 2H, CH_2), 5.95–6.09 (m, 1H, CH), 6.66–6.91 (m, 3H, Ar-H), 7.69 (br. s, 1H, NH), 9.19 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ = 17.9, 50.9, 53.5, 55.7, 69.2, 99.3, 111, 113.8, 117.6, 117.9, 134.1, 137.7, 147.1, 148.6, 149.1, 152.4, 166.1. MS (70 eV): m/z 332 ($[M]^+$), 45 %. Calcd. $C_{17}H_{20}N_2O_5$: C, 61.44; H, 6.07; N, 8.43; found: C, 61.39; H, 5.98; N, 8.36 (%).

Methyl 6-methyl-2-oxo-4-(3'-methoxy-4'-(2''-methallyloxy)phenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (5l')

White powder; Yields: 94 (solvent-free = 77) %. mp 203–204 °C. IR (KBr): 3250, 3112, 2954, 1710, 1698, 1649, 1435, 1283, 1226, 1094 cm^{-1} . 1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ = 1.75 (s, 3H, CH_3), 2.25 (s, 3H, CH_3), 3.54 (s, 3H, OCH_3), 3.74 (s, 3H, OCH_3), 4.41 (s, 2H, CH_2), 4.92–5.04 (m, 2H, CH_2), 5.09 (d, 1H, J = 3.0 Hz, H-4), 6.65–6.90 (m, 3H, Ar-H), 7.69 (br. s, 1H, NH), 9.19 (br. s, 1H, NH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): δ = 17.9, 19.3, 50.9, 53.5, 55.8, 71.9, 99.2, 111.1, 112.4, 113.8, 117.9, 137.7, 141.2, 147.2, 148.6, 149.1, 152.4, 166.1. MS (70 eV): m/z 346 ($[M]^+$), 37 %. Calcd. $C_{18}H_{22}N_2O_5$: C, 62.42; H, 6.40; N, 8.09; found: C, 62.36; H, 6.35; N, 8.08 (%).

Acknowledgments The authors are grateful to the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia for financial support (Grants 172011 and 172034).

References

- Zhu J, Bienaymé H (eds) (2005) Multicomponent reactions. Wiley, Weinheim
- Biginelli P (1893) Aldureides of ethylic acetoacetate and ethylic oxaloacetate. Gazz Chim Ital 23i:360–416
- Biginelli P (1891) Ethyl acetoacetate aldehydeuramide. Ber Dtsch Chem Ges 24:1317–1319. doi:10.1002/cber.189102401228
- Biginelli P (1891) Ethyl acetoacetate aldehydeuramides. Ber Dtsch Chem Ges 24:2962–2967. doi:10.1002/cber.189102402126
- Kappe CO (2000) Recent advances in the Biginelli dihydropyrimidine synthesis. New tricks from an old dog. Acc Chem Res 33:879–888. doi:10.1021/ar000048h
- Tron GC, Minassi A, Appendino G (2011) Pietro Biginelli: the man behind the reaction. Eur J Org Chem 28:5541–5550. doi:10.1002/ejoc.201100661
- Kaan HYK, Ulaganathan V, Rath O, Prokopcová H, Dallinger D, Kappe CO, Ozielski F (2010) Structural basis for inhibition of Eg5 by dihydropyrimidines: stereoselectivity of antimetabolic inhibitors enastron, dimethylenastron and fluorastrol. J Med Chem 53:5676–5683. doi:10.1021/jm100421n
- Russowsky D, Canto RFS, Sanches SAA, D'Oca MGM, de Fátima A, Pilli RA, Kohn LK, Antônio MA, de Carvalho JE (2006) Synthesis and differential antiproliferative activity of Biginelli compounds against cancer cell lines: monastrol, oxo-monastrol and oxygenated analogues. Bioorg Chem 34:173–182. doi:10.1016/j.bioorg.2006.04.003
- Canto RFS, Bernardi A, Battastini AMO, Russowsky D, Eifler-Lima VL (2011) Synthesis of dihydropyrimidin-2-one/thione library and cytotoxic activity against the human U138-MG and rat C6 glioma cell lines. J Braz Chem Soc 22:1379–1388. doi:10.1590/S0103-50532011000700025
- Kappe CO (2000) Biologically active dihydropyrimidones of the Biginelli-type: a literature survey. Eur J Med Chem 35:1043–1052. doi:10.1016/S0223-5234(00)01189-2
- Chen C, Wilcoxon KM, Huang CQ, Xie YF, McCarthy JR, Webb TR, Zhu YF, Saunders J, Liu XJ, Chen XTK, Bozigian H, Grigoriadis DE (2004) Design of 2,5-dimethyl-3-(6-dimethyl-4-methylpyridin-3-yl)-7-dipropylaminopyrazolo[1,5-a]pyrimidine (NBI 30775/R121919) and structure-activity relationships of a series of potent and orally active corticotropin-releasing factor receptor antagonists. J Med Chem 47:4787–4798. doi:10.1021/jm040058e
- Itami K, Yamazaki D, Yoshida J (2004) Pyrimidine-core extended π -systems: general synthesis and interesting fluorescent properties. J Am Chem Soc 126:15396–15397. doi:10.1021/ja044923w
- Kang FA, Kodah J, Guan OLX, Murray WV (2005) Efficient conversion of Biginelli 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-one to pyrimidines via PyBroP-mediated coupling. J Org Chem 70:1957–1960. doi:10.1021/jo040281j
- Sandhu S, Sandhu JS (2012) Past, present and future of the Biginelli reaction: a critical perspective ARKIVOC i, pp 66–133. doi:10.3998/ark.5550190.0013.103
- Quan Z, Zhang Z, Da Y, Wang X (2009) New advances in the synthesis of Biginelli 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-one derivatives. Chin J Org Chem 29:876–883
- Pasunooti KK, Chai H, Jensen CN, Gorityala BK, Wang S, Liu XW (2011) A microwave-assisted, copper-catalyzed three-component synthesis of dihydropyrimidinones under mild conditions. Tetrahedron Lett 52:80–84. doi:10.1016/j.tetlet.2010.10.150
- Wang M, Song Z, Jiang H, Gong H (2010) Water-tolerant and reusable Lewis acid catalyst for the one-pot synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones under solvent-free conditions. Prep Biochem Biotechnol 40:101–106. doi:10.1080/10826060903558562
- Aghayan MM, Moradi A, Bolourtchian M (2010) A novel and efficient one-pot method to Biginelli-like scaffolds. J Iran Chem Soc 7:269–274. doi:10.1007/BF03245888
- Wang DC, Guo HM, Qu GR (2010) Efficient, green, solvent-free synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones via Biginelli reaction catalyzed by $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$. Synth Commun 40:1115–1122. doi:10.1080/00397910903043009
- Liu CJ, Wang JD (2009) Copper(II) sulfamate: an efficient catalyst for the one-pot synthesis of 3,4-dihydropyrimidine-2(1H)-ones and thiones. Molecules 14:763–770. doi:10.3390/molecules14020763
- Suzuki I, Suzumura Y, Takeda K (2006) Metal triflimide as a Lewis acid catalyst for Biginelli reactions in water. Tetrahedron Lett 47:7861–7864. doi:10.1016/j.tetlet.2006.09.019

22. Parasuraman K, Sachin AA, Prashant NM, Pundlik RB, Kumar SS (2013) Development and efficient 1-glycyl-3-methyl imidazolium chloride-copper(II) complex catalyzed highly enantioselective synthesis of 3, 4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones. *J Organomet Chem* 723:154–162. doi:10.1016/j.jorganchem.2012.06.022
23. Dewan M, Kumar A, Saxena A, De A, Mozumdar S (2012) Biginelli reaction catalyzed by copper nanoparticles. *PLoS One* 7:43078–43086. doi:10.1371/journal.pone.0043078
24. Suman JL, Joseph JK, Sain B (2007) Ionic liquid promoted an improved synthesis of 3,4-dihydropyrimidinones using [bmim]BF₄ immobilized Cu(II) acetylacetonate as recyclable catalytic system. *Catal Lett* 115–2:52–55. doi:10.1007/s10562-007-9070-4
25. Mukut G, Dipak P, Sandhu JS (2004) A novel Cu-catalysed three-component one-pot synthesis of dihydropyrimidin-2(1H)-ones using microwaves under solvent-free conditions. *Synlett* 2:235–238. doi:10.1055/s-2003-43374
26. Lei M, Ma L, Hu L (2011) Cu(ClO₄)₂ · 6H₂O as an efficient catalyst for the synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones under solvent-free conditions. *Synth Commun* 41:3071–3077. doi:10.1080/00397911.2010.517364
27. Kamal A, Krishnaji T, Azhar MA (2007) Copper(II) tetrafluoroborate as a mild and efficient catalyst for the one-pot synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones under solvent-free conditions. *Catal Commun* 8:1929–1933. doi:10.1016/j.catcom.2007.03.009
28. Yarapathi RV, Kurva S, Tammishetti S (2004) Synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones using reusable poly(4-vinylpyridine-co-divinylbenzene)-Cu(II) complex. *Catal Commun* 5:511–513. doi:10.1016/j.catcom.2004.06.007
29. Kalita HR, Phukan P (2007) CuI as reusable catalyst for the Biginelli reaction. *Catal Commun* 8:179–182. doi:10.1016/j.catcom.2006.06.004
30. Kour G, Gupta M, Paul S, Gupta VK (2014) SiO₂–CuCl₂: an efficient and recyclable heterogeneous catalyst for one-pot synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones. *J Mol Cat A* 392:260–269. doi:10.1016/j.molcata.2014.05.022
31. Tamaddon F, Razmi Z, Jafari AA (2010) Synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones and 1,4-dihydropyridines using ammonium carbonate in water. *Tetrahedron Lett* 51:1187–1189. doi:10.1016/j.tetlet.2009.12.098
32. Putilova ES, Kryshthal' GV, Zhdankina GM, Troitskii NA, Zlotin SG (2005) Alkylammonium and alkylimidazolium perchlorates, phosphates, and aluminates as catalysts in the Biginelli reaction. *Russ J Org Chem* 41–4:512–516. doi:10.1007/s11178-005-0196-9
33. Bose DS, Sudharshan M, Chahvan SW (2005) New protocol for Biginelli reaction—a practical synthesis of monastrol. *ARKIVOC* iii:228–236
34. Janković N, Bugarčić Z, Marković S (2015) Double catalytic effect of (PhNH₃)₂CuCl₄ in a novel, highly efficient synthesis of 2-oxo- and thioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines. *J Serb Chem Soc* 80:595–604. doi:10.2298/JSC141028011J
35. Larsen PK (1974) The crystal structure of anilinium tetrachlorocuprate(II). *Acta Chem Scand* 28A:194–200. doi:10.3891/acta.chem.scand.28a-0194
36. Reichardt C (2004) Solvents and solvent effects in organic chemistry, 3rd edn. Wiley, Weinheim
37. Arnaud-neu F, Delgado R, Chaves S (2003) Critical evaluation of stability constants and thermodynamic functions of metal complexes of crown ethers. *Pure Appl Chem* 75:71–102. doi:10.1351/pac200375010071
38. Furniss BS, Hannaford AJ, Smith PWG, Tatchell AR (1989) Vogel's text book of practical organic chemistry, 5th edn. Addison Wesley Longman, London
39. Srinivas KVNS, Das B (2004) Iodine catalyzed one-pot synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones and thiones: a simple and efficient procedure for the Biginelli reaction. *Synthesis* 13:2091–2093. doi:10.1055/s-2004-829170
40. Maiti G, Kundu P, Guin C (2003) One-pot synthesis of dihydropyrimidinones catalysed by lithium bromide: an improved procedure for the Biginelli reaction. *Tetrahedron Lett* 44:2757–2758. doi:10.1016/S0040-4039(02)02859-9
41. Lu J, Ma H (2000) Iron(III)-catalyzed synthesis of dihydropyrimidinones. Improved conditions for the Biginelli reaction. *Synlett* 1:63–64. doi:10.1055/s-2000-6469
42. Lu J, Bai Y (2002) Catalysis of the Biginelli reaction by ferric and nickel chloride hexahydrates. One-pot synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones. *Synthesis* 4:466–470. doi:10.1055/s-2002-20956
43. Paraskar AS, Dewkar GK, Sudalai A (2003) Cu(OTf)₂: a reusable catalyst for high-yield synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones. *Tetrahedron Lett* 44:3305–3308. doi:10.1016/S0040-4039(03)00619-1
44. Spurg A, Waldvogel SR (2008) High-yielding cleavage of (aryloxy)acetates. *Eur J Org Chem* 2:337–342. doi:10.1002/ejoc.200700769
45. He H-Y, Qiua G, Wilcox AL (2000) Preparation of 2-alkoxy-5-methoxybenzaldehydes and 2-ethoxy-5-alkoxybenzaldehydes. *ARKIVOC* vi:868–875
46. Kappe CO, Stadler A, Overman LE (eds) (2004) The Biginelli dihydropyrimidine synthesis. *Organic reactions*. Wiley, New Jersey, pp 1–116. doi:10.1002/0471264180.or063.01
47. Jani MK, Undavia NK, Trivedi PB (1990) Synthesis of some tetrahydropyrimidines. *J Indian Chem Soc* 67:847–848
48. Chen WY, Qin SD, Jin JR (2007) HBF₄-catalyzed Biginelli reaction: one-pot synthesis of dihydropyrimidin-2(1H)-ones under solvent-free conditions. *Catal Commun* 8:123–126. doi:10.1016/j.catcom.2006.05.026
49. Joseph JK, Jain SL, Singhal S, Sain B (2011) Efficient synthesis of 3,4-dihydropyrimidinones in 1-n-Butyl-3-methylimidazolium tetrachloroindate (BMI · InCl₄). *Ind Eng Chem Res* 50:11463–11466. doi:10.1021/ie200522t
50. Tayebbe R, Amini MM, Ghadamgahi M, Armaghan M (2013) H₅PW₁₀V₂O₄₀/Pip-SBA-15: a novel reusable organic-inorganic hybrid material as potent Lewis acid catalyst for one-pot solvent-free synthesis of 3,4-dihydropyrimidinones. *J Mol Catal A* 366:266–274. doi:10.1016/j.molcata.2012.10.004
51. Peng JJ, Deng YQ (2001) Ionic liquids catalyzed Biginelli reaction under solvent-free conditions. *Tetrahedron Lett* 42:5917–5919. doi:10.1016/S0040-4039(01)01139-X
52. Chen XF, Peng YQ (2008) Chloroferrate(III) ionic liquid: efficient and recyclable catalyst for solvent-free synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones. *Catal Lett* 122:310–313. doi:10.1007/s10562-007-9377-1
53. Sehout I, Boulcina R, Boumoud B, Berree F, Carboni B, Debache A (2013) Ascorbic acid-catalyzed one-pot three-component Biginelli reaction: a practical and green approach towards synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones/thiones. *Lett Org Chem* 10:463–467. doi:10.2174/15701786113109990014
54. Liberto NA, De Paiva Silva S, De Fatima A, Fernandes SA (2013) β-Cyclodextrin-assisted synthesis of Biginelli adducts under solvent-free conditions. *Tetrahedron* 69:8245–8249. doi:10.1016/j.tet.2013.07.024
55. Pramanik M, Bhaumik A (2014) Phosphonic acid functionalized ordered mesoporous material: a new and ecofriendly catalyst for one-pot multicomponent Biginelli reaction under solvent-free conditions. *ACS Appl Mater Interfaces* 6:933–941. doi:10.1021/am404298a
56. Kolvari E, Koukabi N, Armandpour O (2014) A simple and efficient synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2-(1H)-ones via Biginelli reaction catalyzed by nanomagnetic-supported sulfonic acid. *Tetrahedron* 70:1383–1386. doi:10.1016/j.tet.2013.10.085
57. Crystallographic data for the structural analysis have been deposited with the Cambridge Crystallographic Data Centre,

- CCDC No. 1012697 for compound 5f. These data can be obtained free of charge via www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif
58. Agilent, CrysAlis PRO (2013) Agilent Technologies. Yarnton, Oxfordshire
 59. Burla MC, Camalli M, Carrozzini B, Cascarano GL, Giacovazzo C, Polidori G, Spagna R (2003) SIR2002: the program. *J Appl Crystallogr* 36:1103. doi:[10.1107/S0021889803012585](https://doi.org/10.1107/S0021889803012585)
 60. Sheldrick GM (2008) A short history of SHELX. *Acta Crystallogr A* 64:112–122. doi:[10.1107/S0108767307043930](https://doi.org/10.1107/S0108767307043930)

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, **Јована Мушкиња**, изјављујем да докторска дисертација под насловом:

„Ванилин као прекурсор у синтези неких биолошки активних једињења“

која је одбрањена на **Природно-математичком факултету**, Универзитета у Крагујевцу 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,
- да умножени примерак докторске дисертације у штампаној и електронској форми у чијем се прилогу налази ова Изјава садржи докторску дисертацију истоветну одбрањеној докторској дисертацији.

У Крагујевцу, 20.10.2016. године,

Јована Мушкиња
потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, **Јована Мушкиња,**

дозвољавам

не дозвољавам

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

„Ванилин као прекурсор у синтези неких биолошки активних једињења“

која је одбрањена на **Природно-математичком факултету** Универзитета у Крагујевцу, 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:

¹Уколико 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.

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- ⑥ Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу, 20.10.2016. године

Јована Мушкица
потпис аутора

²Молимо 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/>