



УНИВЕРЗИТЕТ У НИШУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ У НИШУ



Јелена М. Денић

**НОВИ ХИБРИДИ ФЕРОЦЕНА СА РАЗЛИЧИТИМ ТИЈА-АЗА
ХЕТЕРОЦИКЛУСИМА: СИНТЕЗА, СПЕКТРАЛНА
КАРАКТЕРИЗАЦИЈА И БИОЛОШКА АКТИВНОСТ**

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

Ниш, 2025.



UNIVERSITY OF NIŠ
FACULTY OF SCIENCES AND MATHEMATICS



Jelena M. Denić

**NEW FERROCENYL-THIAZA HETEROCYCLE-CONTAINING
HYBRIDS: SYNTHESIS, SPECTRAL CHARACTERIZATION
AND BIOLOGICAL ACTIVITY**

DOCTORAL DISSERTATION

Niš, 2025

МЕНТОР:

др Марија Генчић, ванредни професор

Универзитет у Нишу

Природно-математички факултет у Нишу

Департман за хемију

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

др Нико Радуловић, редовни професор

Универзитет у Нишу

Природно-математички факултет у Нишу

Департман за хемију

др Зорица Стојановић Радић, редовни професор

Универзитет у Нишу

Природно-математички факултет у Нишу

Департман за биологију и екологију

др Татјана Илић Томић, научни саветник

Универзитет у Београду

Институт за молекуларну генетику и генетичко инжињерство

др Александар Окљеша, ванредни професор

Универзитет у Новом Саду

Природно-математички факултет

Департман за хемију, биохемију и заштиту животне средине



ПРИРОДНО - МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

НИШ

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА

Редни број, РБР:											
Идентификациони број, ИБР:											
Тип документације, ТД:	монографска										
Тип записа, ТЗ:	текстуални / графички										
Врста рада, ВР:	докторска дисертација										
Аутор, АУ:	Јелена Денић										
Ментор, МН:	Марија Генчић										
Наслов рада, НР:	Нови хибриди фероцена са различитим тија-аза хетероциклусима: синтеза, спектрална карактеризација и биолошка активност										
Језик публикације, ЈП:	српски										
Језик извода, ЈИ:	српски										
Земља публикавања, ЗП:	Србија										
Уже географско подручје, УГП:	Србија										
Година, ГО:	2025.										
Издавач, ИЗ:	ауторски репринт										
Место и адреса, МА:	Ниш, Вишеградска 33										
Физички опис рада, ФО: (поглавља/страна/цитата/табела/слика/графика/прилога)	10 поглавља, 293 страна, 248 цитата, 12 табела, 54 слика, 10 шема, 107 прилога										
Научна област, НО:	хемија										
Научна дисциплина, НД:	органска хемија, хемија органометалних једињења, медицинска хемија										
Предметна одредница/Кључне речи, ПО:	фероценил-аналози, <i>multitarget</i> лекови, хлорохин, 1,3-тијазолидин-4-он, 1,3-тијазинан-4-он, метил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилат, тетрахидро-3H-тијазоло[3,4-a]пиразин-5,8-дион, антиплазмодијална активност, антимикуробна активност, антиинфламаторна активност, цитотоксичност, однос структура-активност										
УДК	54.057 : [547.5 + 547.7 543.42 : [547.5 + 547.7										
Чува се, ЧУ:	библиотека										
Важна напомена, ВН:	експериментални део је урађен у Лабораторији за органску анализу и синтезу, Департман за хемију, Природно-математички факултет у Нишу, Универзитет у Нишу.										
Извод, ИЗ:	У овом раду је извршена синтеза и спектрална карактеризација укупно 36 нових хибрида фероцена (Fc) и одабраних тија-аза хетероциклуса дизајнираних тако да истовремено могу да делују на више молекулских мета, а који су разврстани у 3 комбинаторне библиотеке (КБ). КБ-1 укључује деривате хлорохина (1) обогаћене Fc-јединицом и 1,3-тијазолидин-4-оном/1,3-тијазинан-4-оном. КБ-2 обухвата једињења добијена заменом пропионоил-бочног ланца у водећем једињењу ALC67 (6) другим ацил-групама различитих електрофилности и биозостерном заменом фенил-групе Fc-јединицом. КБ-3 чине 3-фероценилтетрахидро-3H-тијазоло[3,4-a]пиразин-5,8-диони код којих су у положају N-7 уведене различите алкил- и алкил-арил-групе. За два одабрана представника (98-cis и 101) извршена је и кристалографска анализа. Синтетисана једињења су тестирана на <i>in vitro</i> антимикуробну активност. За једињења КБ-1 и једињења КБ-3 која су добијена у довољној количини је извршена процена и <i>in vitro</i> антиинфламаторне активности, док су деривати КБ-1 тестирани на <i>in vitro</i> антиплазмодијалну активност. За хибриде КБ-2 је процењен и <i>in vitro</i> антипролиферативни ефекат према MRC-5, HepG2 и MDA-MB-231 хелијским линијама. Једињење 83 је било активније од хлорохина (1) према Dd2 <i>Plasmodium falciparum</i> соју, док је неколико других хибрида (79, 80, 81 и 107) показало значајно побољшане имуномодулаторне и/или антимикуробне особине. Хибриди 93-cis и 94 су деловали цитотоксично према MRC-5 и HepG2 хелијама у ниском микромоларном опсегу концентрација, слично као референтна цисплатина и ALC67 (6). Добијени SAR-подаци могу бити врло корисни у развоју нових <i>multitarget</i> лекова за третман болести попут маларије или канцера, а које укључују више патофизиолошких процеса или чији је третман отежан услед појаве резистенције на лекове.										
Датум прихватања теме, ДП:	30.08.2021.										
Датум одбране, ДО:	}										
Чланови комисије, КО:	<table border="0"> <tr> <td>Председник:</td> <td>др Нико Радловић, редовни професор</td> </tr> <tr> <td>Члан:</td> <td>др Зорица Стојановић Радић, редовни професор</td> </tr> <tr> <td>Члан:</td> <td>др Татјана Илић Томић, научни саветник</td> </tr> <tr> <td>Члан:</td> <td>др Александар Окљеша, ванредни професор</td> </tr> <tr> <td>Члан, ментор:</td> <td>др Марија Генчић, ванредни професор</td> </tr> </table>	Председник:	др Нико Радловић, редовни професор	Члан:	др Зорица Стојановић Радић, редовни професор	Члан:	др Татјана Илић Томић, научни саветник	Члан:	др Александар Окљеша, ванредни професор	Члан, ментор:	др Марија Генчић, ванредни професор
Председник:	др Нико Радловић, редовни професор										
Члан:	др Зорица Стојановић Радић, редовни професор										
Члан:	др Татјана Илић Томић, научни саветник										
Члан:	др Александар Окљеша, ванредни професор										
Члан, ментор:	др Марија Генчић, ванредни професор										



ПРИРОДНО - МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ НИШ

KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number, ANO :			
Identification number, INO :			
Document type, DT :	monograph		
Type of record, TR :	textual / graphic		
Contents code, CC :	doctoral dissertation		
Author, AU :	Jelena Denić		
Mentor, MN :	Marija Genčić		
Title, TI :	New ferrocenyl-thiaza heterocycle-containing hybrids: synthesis, spectral characterization and biological activity		
Language of text, LT :	Serbian		
Language of abstract, LA :	English		
Country of publication, CP :	Serbia		
Locality of publication, LP :	Serbia		
Publication year, PY :	2025		
Publisher, PB :	author's reprint		
Publication place, PP :	Niš, 33 Višegradska St.		
Physical description, PD : (chapters/pages/ref./tables/pictures/graphs/appendices)	10 chapters, 293 pages, 248 references, 54 figures, 12 tables, 10 schemes, 107 appendices		
Scientific field, SF :	Chemistry		
Scientific discipline, SD :	organic chemistry, organometallic chemistry, medicinal chemistry		
Subject/Key words, S/KW :	Ferrocenyl analogs, Multitarget drugs, Chloroquine, 1,3-Thiazolidin-4-one, 1,3-Thiazinan-4-one, Methyl 1,3-thiazolidine-4-carboxylate, Tetrahydro-3H-thiazolo[3,4-a]pyrazine-5,8-dione, Antiplasmodial activity, Antimicrobial activity, Anti-inflammatory activity, Cytotoxicity, Structure-activity relationship (SAR).		
UC	54.057 : [547.5 + 547.7 543.42 : [547.5 + 547.7		
Holding data, HD :	Library		
Note, N :	The experimental part of this dissertation was done in the Laboratory for Organic Analysis and Synthesis, Department of Chemistry, Faculty of Sciences and Mathematics, University of Niš		
Abstract, AB :	Herein, 36 new multitarget ferrocene (Fc) hybrids tethered with a small azathia heterocycle were synthesized and fully characterized. These compounds are grouped in 3 combinatorial libraries (CL). CL-1 consists of chloroquine (1) derivatives upgraded with an Fc moiety and privileged 1,3-thiazolidin-4-one/1,3-thiazinan-4-one scaffolds. Hybrids in CL-2 were obtained by substituting the propiolamide side chain in the lead compound ACL67 (6) with various acyl groups and by bioisosterically replacing the phenyl ring with an Fc unit. CL-3 includes 3-ferrocenyltetrahydro-3H-thiazolo[3,4-a]pyrazine-5,8-diones with different alkyl and alkyl aryl substituents on N-7. Two selected representatives (98-cis and 101) were also crystallographically characterized. The synthesized compounds were evaluated for their <i>in vitro</i> antimicrobial activity. For the compounds from CL-1 and those CL-3 members obtained in sufficient quantities, <i>in vitro</i> anti-inflammatory activity was assessed, while CL-1 derivatives were also tested for <i>in vitro</i> antiplasmodial activity. For CL-2 hybrids, the <i>in vitro</i> antiproliferative effect was evaluated against MRC-5, HepG2, and MDA-MB-231 cell lines. Notably, hybrid 83 demonstrated greater potency than the parent chloroquine (1) toward Dd2 <i>Plasmodium falciparum</i> strain, while several other hybrids (79, 80, 81, and 107) manifested substantially improved immunomodulatory and/or antimicrobial properties. Compounds 93-cis and 94 were cytotoxic toward MRC-5 and HepG2 cell lines in the low micromolar concentration range, similar to the cisplatin and ALC67 (6). The study provides valuable structure-activity relationship (SAR) data, offering insights that could guide future research in developing new multitarget drugs for the treatment of diseases such as malaria or cancer, complicated by drug resistance, bacterial co-infection, and immune-driven pathologies.		
Accepted by the Scientific Board on, ASB :	30.08.2021.		
Defended on, DE :			
Defended Board, DB :	President:	PhD Niko Radulović, Full Professor	
	Member:	PhD Zorica Stojanović Radić, Full Professor	
	Member:	PhD Tatjana Ilić Tomić, Principal Research Fellow	
	Member:	PhD Aleksandar Oklješa, Associate Professor	
	Member, Mentor:	PhD Marija Genčić, Associate Professor	

Подаци о докторској дисертацији

Ментор: др Марија Генчић, ванредни професор, Универзитет у Нишу, Природно-математички факултет у Нишу, Департман за хемију

Наслов: Нови хибриди фероцена са различитим тија-аза хетероциклусима: синтеза, спектрална карактеризација и биолошка активност

Резиме: У овом раду је извршена синтеза и спектрална карактеризација укупно 36 нових хибрида фероцена (Fc) и одабраних тија-аза хетероциклуса дизајнираних тако да истовремено могу да делују на више молекулских мета, а који су разврстани у 3 комбинаторне библиотеке (КБ). КБ-1 укључује деривате хлорохина (**1**) обogaћене Fc-јединицом и 1,3-тијазолидин-4-оном/1,3-тијазинан-4-оном. КБ-2 обухвата једињења добијена заменом пропиноил-бочног ланца у водећем једињењу ALC67 (**6**) другим ацил-групама различитих електрофилности и биоизостерном заменом фенил-групе Fc-јединицом. КБ-3 чине 3-фероценилтетрахидро-3H-тијазоло[3,4-a]пиразин-5,8-диони код којих су у положају N-7 уведене различите алкил- и алкил-арил-групе. За два одабрана представника (**98-cis** и **101**) извршена је и кристалографска анализа. Синтетисана једињења су тестирана на *in vitro* антимикробну активност. За једињења КБ-1 и једињења КБ-3 која су добијена у довољној количини је извршена процена и *in vitro* антиинфламаторне активности, док су деривати КБ-1 тестирани на *in vitro* антиплазмодијалну активност. За хибриде КБ-2 је процењен и *in vitro* антипролиферативни ефекат према MRC-5, HepG2 и MDA-MB-231 ћелијским линијама. Једињење **83** је било активније од хлорохина (**1**) према Dd2 *Plasmodium falciparum* соју, док је неколико других хибрида (**79**, **80**, **81** и **107**) показало значајно побољшане имуномодулаторне и/или антимикробне особине. Хибриди **93-cis** и **94** су деловали цитотоксично према MRC-5 и HepG2 ћелијама у ниском микромоларном опсегу концентрација, слично као референтна цисплатина и ALC67 (**6**). Добијени SAR-подаци могу бити врло корисни у развоју нових *multitarget* лекова за третман болести попут маларије или канцера, а које укључују више патофизиолошких процеса или чији је третман отежан услед појаве резистенције на лекове.

Научна област: хемија
 Научна дисциплина: органска хемија, хемија органометалних једињења, медицинска хемија

Кључне речи: фероценил-аналози, *multitarget* лекови, хлорохин, 1,3-тијазолидин-4-он, 1,3-тијазинан-4-он, метил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилат, тетрахиidro-3H-тијазоло[3,4-a]пиразин-5,8-дион, антиплазмодијална активност, антимикробна активност,

антиинфламаторна активност, цитотоксичност, однос структура-активност

УДК: 54.057 : [547.5 + 547.7 543.42 : [547.5 + 547.7
--

CERIF класификација:	Р 003 Хемија, Р 390 Органска хемија, Р 395 Органометална хемија, Р 004 Биохемија
-------------------------	---

Тип лиценце Креативне заједнице:	CC BY-NC-ND
--	--------------------

Data on Doctoral Dissertation

Doctoral Supervisor:	PhD, Marija Genčić, University of Niš, Faculty of Sciences and Mathematics, Department of Chemistry
Title:	New ferrocenyl-thiaza heterocycle-containing hybrids: synthesis, spectral characterization and biological activity
Abstract:	Herein, 36 new multitarget ferrocene (Fc) hybrids tethered with a small azathia heterocycle were synthesized and fully characterized. These compounds are grouped in 3 combinatorial libraries (CL). CL-1 consists of chloroquine (1) derivatives upgraded with an Fc moiety and privileged 1,3-thiazolidin-4-one/1,3-thiazinan-4-one scaffolds. Hybrids in CL-2 were obtained by substituting the propiolamide side chain in the lead compound ACL67 (6) with various acyl groups and by bioisosterically replacing the phenyl ring with an Fc unit. CL-3 includes 3-ferrocenyltetrahydro-3<i>H</i>-thiazolo[3,4-<i>a</i>]pyrazine-5,8-diones with different alkyl and alkyl aryl substituents on N-7. Two selected representatives (98-cis and 101) were also crystallographically characterized. The synthesized compounds were evaluated for their <i>in vitro</i> antimicrobial activity. For the compounds from CL-1 and those CL-3 members obtained in sufficient quantities, <i>in vitro</i> anti-inflammatory activity was assessed, while CL-1 derivatives were also tested for <i>in vitro</i> antiparasmodial activity. For CL-2 hybrids, the <i>in vitro</i> antiproliferative effect was evaluated against MRC-5, HepG2, and MDA-MB-231 cell lines. Notably, hybrid 83 demonstrated greater potency than the parent chloroquine (1) toward Dd2 <i>Plasmodium falciparum</i> strain, while several other hybrids (79, 80, 81, and 107) manifested substantially improved immunomodulatory and/or antimicrobial properties. Compounds 93-cis and 94 were cytotoxic toward MRC-5 and HepG2 cell lines in the low micromolar concentration range, similar to the cisplatin and ALC67 (6). The study provides valuable structure-activity relationship (SAR) data, offering insights that could guide future research in developing new multitarget drugs for the treatment of diseases such as malaria or cancer, complicated by drug resistance, bacterial co-infection, and immune-driven pathologies.
Scientific Field:	Chemistry
Scientific Discipline	Organic chemistry, Organometallic chemistry, Medicinal chemistry
Key Words:	Ferrocenyl analogs, Multitarget drugs, Chloroquine, 1,3-Thiazolidin-4-one, 1,3-Thiazinan-4-one, Methyl 1,3-thiazolidine-4-carboxylate, Tetrahydro-3 <i>H</i> -thiazolo[3,4- <i>a</i>]pyrazine-5,8-dione, Antiplasmodial activity, Antimicrobial activity, Anti-inflammatory activity, Cytotoxicity, Structure-activity relationship (SAR).

UDC: 54.057 : [547.5 + 547.7
543.42 : [547.5 + 547.7

CERIF P 003 Chemistry, P 390 Organic Chemistry, P 395 Organometallic
Classification: Chemistry, P 004 Biochemistry

Creative Commons
License Type: **CC BY-NC-ND**

Експериментални део (синтеза, хроматографско пречишћавање и спектрална карактеризација) у оквиру ове докторске дисертације је рађен у Лабораторији за хемијску анализу и синтезу Департмана за хемију (Природно-математички факултет у Нишу, Универзитет у Нишу). Електрохемијско испитивање и кристалографска анализа је извршена у лабораторијама Департмана за хемију, биохемију и заштиту животне средине (Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду). Антимикробна активност синтетисаних једињења је тестирана у Микробиолошкој лабораторији Департмана за биологију и екологију (Природно-математички факултет у Нишу, Универзитет у Нишу), а антиинфламаторни потенцијал је испитан у Научно-истраживачком центру за биомедицину (Медицински факултет, Универзитет у Нишу). Антиплазмодијална активност је одређена у лабораторијама Института за медицинска истраживања (Универзитет у Београду), док је процена цитотоксичности извршена на Институту за молекуларну генетику и генетичко инжењерство (Универзитет у Београду).

Овом приликом најсрдачније се захваљујем свом ментору др Марији Генчић на огромној посвећености и несебичној помоћи током израде ове дисертације.

Такође се захваљујем и др Љиљани Јовановић и др Марку Родићу на помоћи при електрохемијској и рендгенској структурној анализи; др Зорици Стојановић Радић и Марини Димитријевић, Николи Стојановићу, др Јелени Србљановић и др Татјани Илић Томић на сарадњи приликом испитивања антимикробне, антиинфламаторне, антиплазмодијалне и антипролиферативне активности; као и др Драгану Златковићу на помоћи при синтези и хроматографском пречишћавању.

Велику захвалност дугујем и др Нику Радуловићу на огромној помоћи и саветима током израде ове докторске дисертације, као и осталим члановима комисије, др Зорици Стојановић Радић, др Татјани Илић Томић и др Александру Окљеши, на корисним сугестијама и саветима који су значајно допринели квалитету дисертације.

Захваљујем се и колегама из групе на предусретљивости и сарадњи током израде ове докторске дисертације.

На крају, неизмерно се захваљујем својој породици на безграничној подршци.

ОЗНАКЕ И СКРАЋЕНИЦЕ

НОМЕНКЛАТУРА

Ac ili CH ₃ CO–	ацетил
Ar	арил
Cr	циклопентадиенилни лиганд
D	<i>Dexter</i>
<i>E</i>	<i>Entgegen</i> (стереодескриптор)
Et или C ₂ H ₅ –	етил
FcCHO	фероценкарбалдехид
ⁱ Bu	изобутил
ⁱ Pr	изопропил
L	<i>Laevus</i>
Me или CH ₃ –	метил
<i>n</i>	нормални низ
ⁿ Bu или C ₄ H ₉ –	бутил
ⁿ Hex или C ₆ H ₁₃ –	хексил
ⁿ Pr или C ₃ H ₇ –	пропил
R	алкил
^t Bu	терц-бутил
<i>Z</i>	<i>Zusammen</i> (стереодескриптор)
α	алфа (1,2-положај у односу на функционалну групу)

РЕАГЕНСИ И РАСТВОРАЧИ

AMG	аминогуанидин
CDCl ₃	деутерохлороформ
CD ₃ OD	деутерисани метанол
DCC	<i>N,N'</i> -дициклохексилкарбодиимид
DMAP	4-(диметиламино)пиридин
DMF	<i>N,N</i> -диметилформамид
DMSO	диметилсулфоксид
DMSO- <i>d</i> ₆	деутеродиметилсулфоксид
Et ₃ N	триетиламин
EtOAc	етил-ацетат
EtOH	етанол
Et ₂ O	диетил-етар
5-FU	5-флуороурацил
MeCN	ацетонитрил
MeOH	метанол
MTT	3-(4,5-диметилтијазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолијум-бромид
SRB	сулфородамин Б
THF	тетрахидрофуран
TMS	тетраметилсилан
Tris	трис(хидроксиметил)аминометан
TTC	2,3,5-трифенилтетразолијум-хлорид

ХРОМАТОГРАФИЈА И МАСЕНА СПЕКТРОМЕТРИЈА

AMDIS	<i>Automated Mass spectral Deconvolution and Identification System</i> (аутоматизовани систем за идентификацију и деконволуцију масених спектра)
EI	<i>Electron Ionization</i> (електронска јонизација)
ESI	<i>ElectroSpray Ionization</i> (електроспреј јонизација)
GC	<i>Gas Chromatography</i> (гасна хроматографија)
GC-MS	<i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i> (гасна хроматографија масена спектрометрија)
HP	<i>Hewlett-Packard</i>
HRMS	<i>High Resolution Mass Spectrometry</i> (масена спектрометрија високе резолуције)
[M] ⁺	молекулски јон
<i>m/z</i>	<i>Mass-to-charge-ratio</i> (однос масе и наелектрисања)
RI	<i>Retention Index</i> (ретенциони индекс)
TIC	<i>Total Ion Chromatogram</i> (укупни јонски хроматограм)
TLC	<i>Thin-Layer Chromatography</i> (танкослојна хроматографија)

ИНФРАЦРВЕНА СПЕКТРОСКОПИЈА И УЛТРАЉУБИЧАСТА И ВИДИЉИВА СПЕКТРОСКОПИЈА

ATR	<i>Attenuated Total Reflectance</i>
br	широка трака
FT	<i>Fourier Transform</i> (Фуријеова трансформација)
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i> (Фурије трансформисана инфрацрвена спектроскопија)
IR	<i>InfraRed</i> (инфрацрвена)
m	<i>medium</i> (средња трака, тј. интензитет траке је отприлике на половини у-осе)
s	<i>strong</i> (јака трака, тј. интензитет траке је већи од половине у-осе)
UV	<i>UltraViolet</i> (ултраљубичаста)
UV-Vis	<i>UltraViolet-Visible spectroscopy</i> (спектроскопија у ултраљубичастој и видљивој области)
w	<i>weak</i> (слаба трака, тј. интензитет је $\leq 1/3$ у-осе)
γ	фреквенција деформационе вибрације ван равни
δ	фреквенција деформационе вибрације у равни
$\delta(\text{CH}_3)_s$	фреквенција симетричне вибрације метил групе
$\delta(\text{CH}_2)_{sc}$	фреквенција маказастог савијања метиленске групе
λ_{max}	таласна дужина максимума апсорпције
ν	фреквенција валенционе вибрације
$\nu(\text{CH}_2)_{as}$	фреквенција асиметричне вибрације метиленске групе
$\nu(\text{CH}_2)_s$	фреквенција симетричне вибрације метиленске групе
Φ	фреквенција скелетне деформационе вибрације

НУКЛЕАРНА МАГНЕТНА РЕЗОНАНТНА СПЕКТРОСКОПИЈА

1D	једнодимензионални
----	--------------------

2D	дводимензионални
br s	<i>broad singlet</i> (широки синглет)
br t	<i>broad triplet</i> (широки триплет)
¹³ C NMR	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy (нуклеарномагнетна резонантна спектроскопија угљеника-13)
d	дублет
dd	дублет дублета
ddd	дублет дублета дублета
dddd	дублет дублета дублета дублета
ddddd	дублет дублета дублета дублета дублета
dddt	дублет дублета дублета триплета
ddtd	дублет дублета триплета дублета
dt	дублет триплета
dtd	дублет триплета дублета
dtdd	дублет триплета дублета дублета
dttd	дублет триплета триплета
dqd	дублет квартета дублета
dqt	дублет квартета триплета
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
grHMBC	gradient Heteronuclear Multiple-Bond Correlation spectroscopy
grHSQC	gradient Heteronuclear Single Quantum Coherence spectroscopy
gr ¹ H - ¹ H COSY	gradient ¹H - ¹H COrrrelation SpectroscopY
¹ H NMR	Hydrogen-1 Nuclear Magnetic Resonance (протонска нуклеарно-магнетна резонантна спектроскопија)
J	константа купловања
m	мултиплет
NMR	Nuclear Magnetic Resonance (нуклеарно-магнетна резонантна спектроскопија)
NOESY	Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY
NRMSD	Normalized Root Mean Square Deviation
p	пентет
ppm	parts per million
pseudo p	псеудо пентет
ROESY	Rotating-frame nuclear Overhauser Effect SpectroscopY
s	синглет
t	триплет
td	триплет дублета
qd	квартет дублета
δ	хемијско померање у NMR спектру
Δδ	разлика у хемијским померањима
δ _C	хемијско померање у ¹³ C NMR спектру
δ _H	хемијско померање у ¹ H NMR спектру

БИОЛОШКЕ АКТИВНОСТИ

ATCC	American Type Culture Collection
BHIA	β-Hematin Inhibitory Activity assay
CC ₅₀	Cytotoxic concentration 50 (средња цитотоксична концентрација)
CFU	Colony-Forming Unit

COX-1	<i>Cyclooxygenase, isoform COX-1</i> (Ензим циклооксигеназа, изоформа COX-1)
COX-2	<i>Cyclooxygenase, isoform COX-2</i> (Ензим циклооксигеназа, изоформа COX-2)
Era	<i>Estrogen receptor α</i> (естрогени рецептор α)
FICI	<i>Fractional Inhibitory Concentration Index</i> (фракциони инхибиторни концентрациони индекс)
IC ₅₀	<i>Half maximal inhibitory concentration</i> (полумаксимална инхибиторна концентрација)
iNOS	<i>inducible NO Synthase</i> (индуцибилна NO синтаза)
LC ₅₀	<i>Lethal concentration 50</i> (средња летална концентрација)
LDH	<i>Lactate Dehydrogenase</i> (лактат-дехидрогеназа)
LOX	<i>Lipoxygenase</i> (Ензим липооксигеназа)
5-LOX	<i>5-Lipoxygenase, isoform 5-LOX</i> (Ензим липооксигеназа, изоформа 5-LOX)
15-LOX	<i>15-Lipoxygenase, isoform 15-LOX</i> (Ензим липооксигеназа, изоформа 15-LOX)
LPS	<i>LipoPolySaccharide</i> (липополисахарид)
MHA	<i>Mueller Hinton Agar</i>
MIC	<i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (минимална инхибиторна концентрација)
PBS	<i>Phosphate-Buffered Saline</i> (фосфатно пуферисани физиолошки раствор)
ResI	<i>Resistance Index</i> (индекс резистенције)
RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institute</i>
SAR	<i>Structure–Activity Relationship</i> (повезаност структуре и активности)
SDA	<i>Sabouraud Dextrose Agar</i>
SERM	<i>Selective Estrogen Receptor Modulators</i> (селективни модулатори рецептора естрогена)
SI	<i>Selectivity Index</i> (индекс селективности)

МЕРНЕ ЈЕДИНИЦЕ

Å	ангстрем
A	Ампер
amu	<i>atomic mass unit</i> (атомска јединица масе)
°C	Целзијусов степен
cm	центиметар
dm	дециметар
eV	<i>electron Volt</i>
g	грам
h	сат
Hz	херц
K	Келвинов степен
kcal	<i>kilocalorie</i> (килокалорија)
kHz	килохерц
l	литар
M	mol/dm ³
m	метар

mg	милиграм
MHz	мегахерц
min	минут
ml	милилитар
mm	милиметар
mmol	милимол
nm	нанометар
nM	nmol/dm ³
OD	Optical Density (оптичка густина)
rpm	revolutions per minute (број окретања у минути)
s	секунда
μl	микролитар
μM	μmol/dm ³

ОСТАЛО

ANOVA	ANalysis Of VAriance (анализа варијансе)
GC	Glass Carbon (стакласти угљеник)
ORTEP	Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot
SCE	Saturated Calomel Electrode (засићена каломелова електрода)
$[\alpha]_D^{20}$	специфична ротација на 20 °C

САДРЖАЈ

1. УВОД И ЦИЉЕВИ РАДА	1
2. ОПШТИ ДЕО	7
2.1. АМИНОХИНОЛИНИ У ТЕРАПИЈИ МАЛАРИЈЕ	8
2.2. СТИЛБЕНОИДИ У ТЕРАПИЈИ РАКА ДОЈКЕ	10
2.3. ФЕРОЦЕН И ЊЕГОВИ ДЕРИВАТИ У МЕДИЦИНИ	11
2.4. ДЕРИВАТИ ФЕРОЦЕНА СА АНТИМАЛАРИЈСКОМ АКТИВНОШЋУ	16
2.4.1. ХИБРИДИ ФЕРОЦЕНА СА ХИНОЛИНОМ.....	17
2.4.2. ХИБРИДИ ФЕРОЦЕНА СА АРТЕМИСЕНИНОМ	19
2.4.3. ХИБРИДИ ФЕРОЦЕНА СА ПЕТО- И ШЕСТОЧЛАНИМ ХЕТЕРОЦИКЛУСИМА.....	22
2.4.4. ОСТАЛИ ХИБРИДИ ФЕРОЦЕНА	23
2.5. ДЕРИВАТИ ФЕРОЦЕНА СА АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОМ АКТИВНОШЋУ	25
2.5.1. ХИБРИДИ ФЕРОЦЕНА СА СТИЛБЕНОИДИМА.....	25
2.5.2. ХИБРИДИ ФЕРОЦЕНА СА ХИНОЛИНОМ.....	27
2.5.3. ХИБРИДИ ФЕРОЦЕНА СА АРТЕМИСЕНИНОМ	28
2.5.4. ОСТАЛИ ХИБРИДИ ФЕРОЦЕНА	29
2.6. ДЕРИВАТИ ФЕРОЦЕНА СА АНТИМИКРОБНОМ АКТИВНОШЋУ	31
3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО	35
3.1. ХЕМИКАЛИЈЕ И РАСТВОРАЧИ.....	36
3.2. МЕТОДЕ АНАЛИЗЕ И РАЗДВАЈАЊА	36
3.2.1. ГАСНА ХРОМАТОГРАФИЈА СА МАСЕНОМ СПЕКТРОМЕТРИЈОМ (GC-MS)	36
3.2.2. НУКЛЕАРНО-МАГНЕТНА РЕЗОНАНТНА (NMR) СПЕКТРОСКОПИЈА	37
3.2.3. ¹ H NMR ПОТПУНА СПИНСКА АНАЛИЗА.....	38
3.2.4. ИНФРАЦРВЕНА СПЕКТРОСКОПИЈА СА ФУРИЈЕОВОМ ТРАНСФОРМАЦИЈОМ (FTIR)	38
3.2.5. УЛТРАЉУБИЧАСТА СПЕКТРОСКОПИЈА (UV)	38
3.2.6. МАСЕНА СПЕКТРОМЕТРИЈА ВИСОКОГ РАЗЛАГАЊА (HRMS).....	38
3.2.7. РЕНДГЕНСКА СТРУКТУРНА АНАЛИЗА.....	39
3.2.8. ОПТИЧКА РОТАЦИЈА.....	39
3.2.9. ЦИКЛИЧНА ВОЛТАМЕТРИЈА.....	39
3.2.10. ЕЛЕМЕНТНА МИКРОАНАЛИЗА	40
3.2.11. ТАНКООСЛОЈНА ХРОМАТОГРАФИЈА (TLC).....	40
3.2.12. ХРОМАТОГРАФИЈА НА КОЛОНИ	40

3.2.13. DRY-FLASH ХРОМАТОГРАФИЈА	40
3.3. СИНТЕЗА И ПРЕЧИШЋАВАЊЕ.....	40
3.3.1. СИНТЕЗА БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-1	40
3.3.1.1. СИНТЕЗА FC-CHO (67).....	40
3.3.1.2. ОПШТА ПРОЦЕДУРА ЗА ДОБИЈАЊЕ N-(7-ХЛОРХИНОЛИН-4-ИЛ)ДИАМИНОАЛКАНА	41
3.3.1.3. ОПШТА ПРОЦЕДУРА ЗА ДОБИЈАЊЕ ХИБРИДА 73-81 У ТРОКОМПОНЕНТНОЈ РЕАКЦИЈИ (ЕНГ. ONE-POT THREE-COMPONENT REACTION).....	44
3.3.1.4. СИНТЕЗА (E)-N-(2-(ФЕРОЦЕНИЛИДЕНАМИНО)ЕТИЛ)-7-ХЛОРХИНОЛИН-4-АМИНА (82).....	53
3.3.1.5. ОПШТА ПРОЦЕДУРА ЗА СИНТЕЗУ ХИБРИДА 83-85	54
3.3.2. СИНТЕЗА БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-2	57
3.3.2.1. СИНТЕЗА 2-ФЕРОЦЕНИЛ-1,3-ТИАЗОЛИДИН-4-КАРБОКСИЛНЕ КИСЕЛИНЕ (87).....	57
3.3.2.2. СИНТЕЗА ЕТИЛ-2-ФЕРОЦЕНИЛ-1,3-ТИАЗОЛИДИН-4-КАРБОКСИЛАТА (88)	58
3.3.2.3. СИНТЕЗА МЕТИЛ-2-ФЕРОЦЕНИЛ-1,3-ТИАЗОЛИДИН-4-КАРБОКСИЛАТА (90).....	59
3.3.2.4. ОПШТА ПРОЦЕДУРА ЗА СИНТЕЗУ МЕТИЛ-N-АЦИЛ-2-ФЕРОЦЕНИЛ-1,3-ТИАЗОЛИДИН-4-КАРБОКСИЛАТА (91-100)	60
3.3.3. СИНТЕЗА БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-3	72
3.4. ИСПИТИВАЊЕ БИОЛОШКЕ АКТИВНОСТИ СИНТЕТИСАНИХ ЈЕДИЊЕЊА.....	84
3.4.1. ИСПИТИВАЊЕ АНТИМИКРОБНЕ АКТИВНОСТИ.....	84
3.4.1.1. КОРИШЋЕНИ МИКРООРГАНИЗМИ	84
3.4.1.2. ОДРЕЂИВАЊЕ МИНИМАЛНЕ ИНХИБИТОРНЕ КОНЦЕНТРАЦИЈЕ (MIC).....	84
3.4.1.3. ОДРЕЂИВАЊЕ КРИВЕ РАСТА	85
3.4.1.4. АНТИБИОФИЛМ АКТИВНОСТ	85
3.4.1.5. СИНЕРГИСТИЧКО ДЕЈСТВО ОДАБРАНИХ СИНТЕТИСАНИХ ЈЕДИЊЕЊА СА АНТИБИОТИКОМ/АНТИМИКОТИКОМ.....	86
3.4.2. ИСПИТИВАЊЕ АНТИИНФЛАМАТОРНЕ АКТИВНОСТИ	87
3.4.2.1. ЛАБОРАТОРИЈСКЕ ЖИВОТИЊЕ.....	87
3.4.2.2. ИЗОЛОВАЊЕ И КУЛТИВИСАЊЕ МАКРОФАГА	87
3.4.2.3. ОДРЕЂИВАЊЕ ВИЈАБИЛНОСТИ МАКРОФАГА МТТ ТЕСТОМ	87
3.4.2.4. SRB ТЕСТ	88
3.4.2.5. ОДРЕЂИВАЊЕ АДХЕРЕНТНОСТИ МАКРОФАГА	88
3.4.2.6. ОДРЕЂИВАЊЕ NO-ИНХИБИТОРНЕ АКТИВНОСТИ.....	89
3.4.2.7. ОДРЕЂИВАЊЕ ИНХИБИЦИЈЕ ЕКСПРЕСИЈЕ iNOS ЕНЗИМА	89
3.4.2.8. ОДРЕЂИВАЊЕ СПОСОБНОСТИ ХВАТАЊА NO РАДИКАЛА	90
3.4.2.9. ОДРЕЂИВАЊЕ ИНХИБИТОРНОГ ДЕЈСТВА НА ЕНЗИМ ЛИПООКСИГЕНАЗУ	90

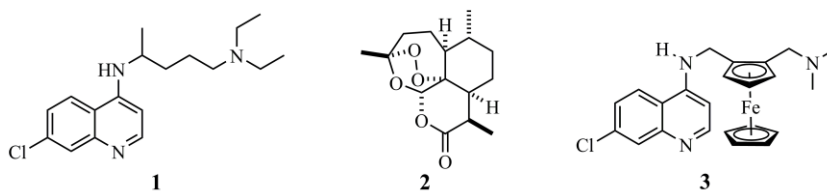
3.4.3. ОДРЕЂИВАЊЕ АНТИПЛАЗМОДИЈАЛНЕ АКТИВНОСТИ	91
3.4.3.1. ОДРЕЂИВАЊЕ ВИЈАБИЛНОСТИ <i>P. FALCIPARUM</i> СОЈЕВА LDH ЕСЕЈОМ	91
3.4.3.2. ОДРЕЂИВАЊЕ СПОСОБНОСТИ ИНХИБИЦИЈЕ β -ХЕМАТИНА.....	91
3.4.4. ОДРЕЂИВАЊЕ АНТИПРОЛИФЕРАТИВНЕ АКТИВНОСТИ	92
3.4.5. СТАТИСТИЧКА АНАЛИЗА	93
4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА	95
4.1. КОМБИНАТОРНА БИБЛИОТЕКА ХИБРИДА КБ-1.....	96
4.1.1. КРЕИРАЊЕ КОМБИНАТОРНЕ БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-1	97
4.1.2. СПЕКТРАЛНА КАРАКТЕРИЗАЦИЈА БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-1	99
4.1.3. КОНФОРМАЦИОНА АНАЛИЗА БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-1	103
4.1.4. ЕЛЕКТРОХЕМИЈСКО ИСПИТИВАЊЕ ОДАБРАНИХ ПРЕДСТАВНИКА БИБЛИОТЕКЕ КБ-1.....	104
4.1.5. БИОЛОШКА АКТИВНОСТ КОМБИНАТОРНЕ БИБЛИОТЕКЕ КБ-1	107
4.1.5.1. АНТИПЛАЗМОДИЈАЛНА АКТИВНОСТ	107
4.1.5.1.1. ОДРЕЂИВАЊЕ ВИЈАБИЛНОСТИ <i>P. FALCIPARUM</i> СОЈЕВА LDH ЕСЕЈОМ.....	107
4.1.5.1.2. ОДРЕЂИВАЊЕ СПОСОБНОСТИ ИНХИБИЦИЈЕ β -ХЕМАТИНА	110
4.1.5.1.3. SAR АНАЛИЗА	111
4.1.5.2. АНТИМИКРОБНА АКТИВНОСТ.....	115
4.1.5.2.1. ОДРЕЂИВАЊЕ МИНИМАЛНЕ ИНХИБИТОРНЕ КОНЦЕНТРАЦИЈЕ (MIC)	115
4.1.5.2.2. ОДРЕЂИВАЊЕ КРИВЕ РАСТА.....	116
4.1.5.2.3. АНТИБИОФИЛМ АКТИВНОСТ.....	121
4.1.5.2.4. СИНЕРГИСТИЧКО ДЕЈСТВО ЈЕДИЊЕЊА СА АНТИБИОТИКОМ/ АНТИМИКОТИКОМ.....	123
4.1.5.3. АНТИИНФЛАМАТОРНА АКТИВНОСТ.....	125
4.1.5.3.1. ОДРЕЂИВАЊЕ ВИЈАБИЛНОСТИ МАКРОФАГА МТТ ТЕСТОМ	125
4.1.5.3.2. ОДРЕЂИВАЊЕ АДХЕРЕНТНОСТИ МАКРОФАГА.....	126
4.1.5.3.3. ОДРЕЂИВАЊЕ NO-ИНХИБИТОРНЕ АКТИВНОСТИ.....	127
4.1.5.3.4. ОДРЕЂИВАЊЕ СПОСОБНОСТИ ХВАТАЊА NO РАДИКАЛА	130
4.1.5.3.5. ОДРЕЂИВАЊЕ ИНХИБИЦИЈЕ ЕКСПРЕСИЈЕ iNOS ЕНЗИМА.....	131
4.2. КОМБИНАТОРНА БИБЛИОТЕКА ХИБРИДА КБ-2.....	132
4.2.1. КРЕИРАЊЕ КОМБИНАТОРНЕ БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-2	133
4.2.2. СПЕКТРАЛНА КАРАКТЕРИЗАЦИЈА БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-2	139
4.2.3. КРИСТАЛОГРАФСКА АНАЛИЗА ОДАБРАНОГ ПРЕДСТАВНИКА БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-2.....	143

4.2.4. Биолошка активност комбинаторне библиотеке КБ-2	145
4.2.4.1. Антипролиферативна активност	145
4.2.4.2. Антимикробна активност	151
4.2.4.2.1. Одређивање минималне инхибиторне концентрације (MIC)	151
4.3. Комбинаторна библиотека хибрида КБ-3	153
4.3.1. Креирање комбинаторне библиотеке хибрида КБ-3	154
4.3.2. Спектрална карактеризација библиотеке хибрида КБ-3	159
4.3.3. Кристалографска анализа одабраног представника библиотеке хибрида КБ-3	163
4.3.4. Биолошка активност комбинаторне библиотеке КБ-3	167
4.3.4.1. Антимикробна активност	167
4.3.4.1.1. Одређивање минималне инхибиторне концентрације (MIC)	167
4.3.4.2. Антиинфламаторна активност	169
4.3.4.2.1. Одређивање инхибиторног дејства на LOX	169
 5. Извод	173
 6. SUMMARY	179
 7. Литература	185
 8. Прилози	201
 9. Биографија и библиографија аутора	265
 10. Изјаве аутора	271

1. УВОД И ЦИЉЕВИ РАДА

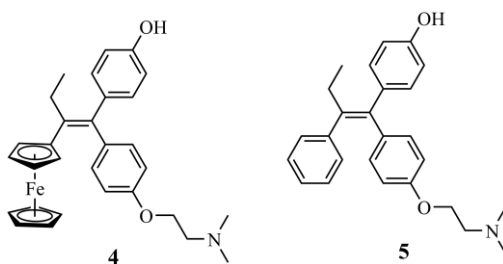
Дизајн нових лекова заснован на структурним модификацијама тзв. привилегованих структура (енг. *privileged structures*), у циљу добијања деривата који могу селективно и снажно да интерагују са међусобно различитим молекулским метама, сматра се тренутно једним од најефикаснијих стратегија у медицинској хемији. Скоро четвртина лекова тренутно доступних на тржишту развијена је применом управо ове стратегије [1]. Пето- и шесточлани хетероциклуси, и то најчешће они који садрже азот, сумпор и/или кисеоник, сматрају се привилегованим структурама и према неким проценама чак 85% органских једињења која испољавају неку биолошку активност поседују неки хетероциклус као фармакофору [2]. Један такав хетероциклус, који показује широк спектар биолошких активности (попут антиинфламаторне, антимикробне, антивирусне и антиканцер активности), па је заступљен у значајном броју лекова који су се нашли у клиничкој употреби, је 1,3-тијазолидин [3-6]. И други сродни хетероциклуси, попут 1,3-тијазинана, се, такође, могу наћи у значајном броју биолошки активних једињења, па се стога све чешће бирају као привилеговане структуре при дизајну лекова [7].

Традиционални приступ у дизајну лекова у коме један лек треба да делује селективно на само једну молекулску мету (тзв. *single target* лекови) бива полако, у последње 2 деценије, напуштен и замењен тзв. *multitarget* приступом који подразумева дизајн лекова који могу да истовремено делују на више молекулских мета, због чега се сматра да могу бити изузетно делотворни у третману комплексних обољења попут маларије, туберкулозе и различитих врста канцера [8]. Верује се да *multitarget* лекови могу имати низ предности у односу на *single target* лекове, као што су побољшана активност и повећана биодоступност, мањи ризик од нежељених интеракција између лекова и нижа цена производње. Један од начина да се добију *multitarget* лекови је да се више фармакофора, које делују на различите или исте молекулске мете (али различитим механизмом), међусобно повежу (тзв. молекулска хибридизација), директно или преко одговарајућег линкера, у један молекул (тзв. хибрид). До сада се примена молекулске хибридизације показала најсврхисходнијом у третману паразитских болести, попут маларије, где због наглог развоја резистентних форми *Plasmodium* паразита на постојеће антималярике (хлорохин (1) и артемисинин (2); **Слика 1**), постоји потреба за новом ефективнијом хемиотерапијом [9].



Слика 1. Структуре хлорохина (1), артемисинина (2) и форохина (3).

Молекулском хибридизацијом 4-аминохинолинског језга (који представља фармакофору у хлорохину (1)) са фeroценом добијен је 1994. године форохин (3; Слика 1) један од најперспективнијих антималярика новије генерације (посебно према хлорохин-резистентним сојевима врсте *P. falciparum*) који је тренутно у другој фази клиничких испитивања. Откриће форохина (3) подстакло је даља истраживања у овом смеру, тако да је синтетисано и тестирано на антималяријску активност на хиљаде органометалних једињења. Најуспешнији резултати су добијени за антималярике код којих је део структуре (нпр. ароматично језгро) замењен фeroценом, што је довело не само до повећања антималяријске активности у односу на полазни молекул, већ је у неким случајевима омогућило и заобилажење резистенције паразита. Верује се да се ово постиже или захваљујућу променама у особинама и структури полазног молекула (нпр. конформације, липофилности, базности и оксидо-редукционих својстава) до којих доводи присуство фeroценске јединице или услед постојања неког додатног, јединственог механизма деловања овог металоцена [10]. Поред форохина (3), тренутно се само још једно органометално једињење налази у фази преклиничких испитивања. Реч је о хидроксифороцифену (4), фeroценил-аналогу 4-хидрокситамоксифена (5; Слика 2), активног метаболита тамоксифена лека који се најчешће прописује за лечење хормон-зависног канцера дојке [11].

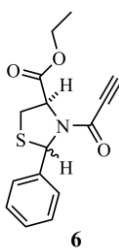


Слика 2. Структуре хидроксифороцифена (4) и 4-хидрокситамоксифена (5).

Додатни проблем при лечењу маларије представља чињеница да ова инфекција доводи до тренутног, неспецифичног имуног одговора чија је улога да ограничи даље напредовање болести. Међутим, уколико се са терапијом не крене благовремено може доћи до тешких компликација, па и смртог исхода, услед појачаног и продуженог

имуног одговора [12]. Смртност од маларије је највећа код деце млађе од 5 година у супсахарској Африци, а утврђено је да је ризик од смртности посебно повећан у случају када се код деце као компликација маларије јави секундарна инвазивна бактеријска инфекција [13]. Стога се чини пожељним да се у терапији маларије користе лекови који поред антималаријског дејства, показују способност да сузбију прејаки имуни одговор (тј. да имају антиинфламаторно дејство) и секундарну бактеријску инфекцију (тј. да показују антимикробну активност). Занимљиво је да се данас хлорохин (**1**) све чешће користи у третману неких аутоимуних болести (нпр. лупуса и реуматоидног артритиса), а утврђено је да своје антиинфламаторно дејство испољава, између осталог, путем инхибиције производње азот-моноксида од стране макрофага [14].

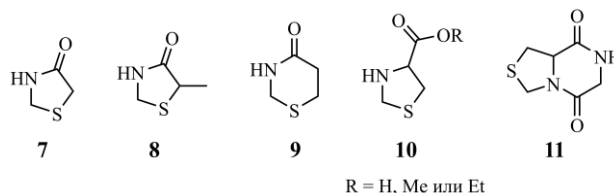
Од средине прошлог века синтетисани су и бројни мали молекули у циљу испитивања њихове антипролиферативне активности, а неки од њих су се показали делотворним. Један од најистакнутијих представника је ALC67 (**6**; дијастереомерна смеша етил-2-фенил-3-пропионил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата; **Слика 3**) који *in vitro* испољава значајну цитотоксичност према ћелијским линијама канцера јетре, дебелог црева, дојке и ендометријума [15]. Секундарне бактеријске инфекције су, такође, једна од најчешћих компликација које се јављају и код пацијената који болују од карцинома, а последица су самог малигнитета и/или примењене хемотерапије која доводи до слабљења имунитета [16]. Стога је у новије време све више истраживања усмерена ка дизајну нових цитостатика који показују дуалну, антиканцер и антимикробну активност [17].



Слика 3. Структура ALC67 (**6**).

Имајући у виду све горе наведено као предмет истраживања ове докторске дисертације постављена је синтеза и спектрална карактеризација нових хибрида фероцена и различитих тијаза хетероциклуса (конкретно 1,3-тијазолидин-4-она (**7**), 5-метил-1,3-тијазолидин-4-она (**8**), 1,3-тијазинан-4-она (**9**), 1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**10**) и тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**11**); **Слика 4**) при чему би у

одређеном броју хибрида додатно била уведена и 4-аминохинолинска фармакофора. За хибриде, који су добијени у довољној количини, биће испитан и њихов *in vitro* потенцијал као *multitarget* агенаса у третману комплексних обољења, маларије или канцера.



Слика 4. Структуре 1,3-тијазолидин-4-она (7), 5-метил-1,3-тијазолидин-4-она (8), 1,3-тијазинан-4-она (9), 1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (10) и тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (11).

У литератури су доступни подаци да поједини хибриди, добијени повезивањем 4-аминохинолинске фармакофоре са 2-арил-1,3-тијазолидин-4-оном или 2-арил-1,3-тијазинан-4-оном преко алкил линкера одговарајуће дужине, показују јачу *in vitro* антиплазмодијалну активност према NF-54 (хлорохин-сензитивном) соју *P. falciparum* у односу на хлорохин (1) [18]. Такође, као што је већ наведено, недавно је откривено да су етил-(2-арил-3-пропионил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилати) цитотоксични према више ћелијских линија канцера плућа, дебелог црева, дојке и ендометријума, и то, у појединим случајевима у нижим концентрацијама у односу на стандардне цитостатике - камтотецин и/или 5-флуорурацил [6, 15]. Поред тога, *Pinho e Melo* и сарадници су развили једноставну и ефикасну методу за трансформацију метил-(2-фенил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата) у одговарајуће хиралне тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-дионе [19]. У овом новодобијеном хетероциклусу 1,3-тијазолидин је спојен (кондензован) са дикетопиперазином, још једним хетероциклусом који се може сматрати повлашћеном структуром (нпр. испољава, између осталог, антиканцер, антимикробна и антиинфламаторна својства) [20]. Постоје оскудни подаци у литератури о биолошкој активност једињења које садрже тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-дион у својој структури и нађено је да могу имати хипертензивна, неуроседативна или антидепресантна својства [21, 22].

На основу претходних сазнања постављени су следећи циљеви докторске дисертације:

1. Синтеза, хроматографско пречишћавање и спектрална карактеризација комбинаторне библиотеке хибрида (КБ-1) који повезују 4-аминохинолинску

фармакофору и фeroценску јединицу са следећим тијаза хетероциклусима: 1,3-тијазолидин-4-оном, 5-метил-1,3-тијазолидин-4-оном и 1,3-тијазинан-4-оном. Поред врсте хетероциклуса, при синтези поменуте комбинаторне библиотеке била би варирана и дужина алкил линкера која повезује 4-аминохинолин са датим хетероциклусима;

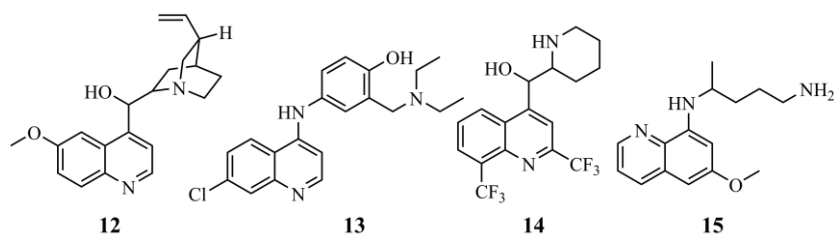
2. Сви хибриди из комбинаторне библиотеке КБ-1 били би тестирани на *in vitro* антиплазмодијалну, антимикуробну и антиинфламаторну активност;
3. Синтеза, хроматографско пречишћавање и спектрална карактеризација комбинаторне библиотеке (КБ-2) *N*-ацилованих метил-(2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата). У плану је да се у њиховој структури уведу различити *N*-ацил фрагменти који могу или да испоље алкилујућа својства (нпр. -C(O)CH₂Cl, -C(O)CH₂OPh, -C(O)CH₂OCH₃) или да утичу на промену липофилности молекула (нпр. -C(O)CH₃, -C(O)CF₃, -C(O)Ph);
4. За хибриде из серије КБ-2, који буду добијени у довољној количини, било би испитано њихово *in vitro* антипролиферативно и антимикуробно дејство;
5. Синтеза, хроматографско пречишћавање и спектрална карактеризација комбинаторне библиотеке (КБ-3) 3-фероценилтетрахидро-3*H*-тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона код којих би у положају *N*-7 биле уведене различите алкил и алкил-арил групе;
6. За хибриде из серије КБ-3, који буду добијени у довољној количини, била би испитана њихова *in vitro* антимикуробна и антиинфламаторна активност.

2. Општи ДЕО

2.1. АМИНОХИНОЛИНИ У ТЕРАПИЈИ МАЛАРИЈЕ

Маларија је инфективно обољење које изазива тренутни, неспецифичан имуни одговор са циљем да успори напредовање болести. Њега преносе женке комараца из рода *Anopheles* заражене *Plasmodium* паразитом [12]. Скоро половина светске популације је у константној опасности од маларије, при чему су најугроженији сиромашни и деца до 5 година старости. Од преко 300 познатих врста рода *Plasmodium*, само пет инфицирају људе и изазивају јасне симптоме болести. *Plasmodium falciparum* је најлеталнији међу њима и сматра се одговорним за око 90% пријављених случајева маларије. *Plasmodium vivax* није ни близу смртоносан као *P. falciparum*, али опстаје годинама скривен у јетри домаћина. Инфекције врстама *P. malariae*, *P. ovale* и *P. knowlesi* нису тако честе [23].

Током прве половине 19. века француски фармацеути су из коре *Cinchona* дрвећа екстраховали кинин (12; слика 5) који представља један од првих познатих антималярика. На основу структуре кинина (12) је 1934. године у немачкој компанији *Bayer A.G.* дизајниран и синтетисан хлорохин (1) [24]. Хлорохин (1) је деценијама представљао ефективну антималяријску терапију. Овај антималярик се користи орално, лако се дистрибуира до различитих ткива, може прећи крв-мозак, као и плаценталну баријеру, и готово да није токсичан ни за мајку ни за фетус [25]. Хинолински лекови се нагомилавају у дигестивној вакуоли паразита (услед градијента рН), где повећавају њен рН и блокирају полимеризацију токсичног хема у нерастворан и нетоксичан (за паразит) пигмент (хемозоин), што доводи до лизе и аутодигестије ћелије паразита [26]. Међутим, са појавом и распрострањењем резистентних *Plasmodium* сојева на хлорохин (1) и артемисинин (2) смртност од маларије је повећана последњих година, па је хитно потребно развити ефективније и приступачне антималярике. Велики број хинолинских деривата који је синтетисан показао је антималяријску активност. Међу њима су се највише истакли 4-аминохинолини (нпр. амодиакин (13)), аминоалкохоли (нпр. мефлокин (14)) и 8-аминохинолини (нпр. примакин (15)); слика 5) [27]. Отпорност на лек је уско повезана са полиморфизмом једног нуклеотида у *P. falciparum* хлорохин-резистентном транспортном (*Pfcr*) и *P. falciparum multidrug* резистентом 1 (*Pfmdr1*) гену што узрокује смањено акумулирање лека у дигестивној вакуоли [23].



Слика 5. Структуре хинолинских деривата који поседују антималяријску активност.

Примена хлорохина (1) је у скорије време проширена и на лечење инфламаторних обољења код људи, поготово за контролисање реуматоидног артритиса, системског еритемског лупуса и мултипле склерозе. Ово је покренуло бројна истраживања о његовом механизму деловања на урођени и стечени имуни систем која су показала да, између осталог, хлорохин (1) инхибира продукцију цитокина и њихово ослобађање од стране Т ћелија, инхибира стварање NO радикала од стране макрофага и индукује стварање реактивних кисеоничних врста у астроцитима [7].

Ризик од развоја секундарне бактеријске инфекције током епизода маларије наметнуо је примену антибиотика у комбинацији са антималярицима, а такође подстакао и тестирање познатих антибиотика на антималяријску активност [28,29]. Најчешће бактеријске коинфекције код деце са тешком клиничком сликом маларије изазване су Грам-позитивном бактеријом *Staphylococcus aureus*, Грам-негативном *Escherichia coli* и другим Грам-негативним бактеријама [30]. Имајући све ово у виду било би пожељно дизајнирати “triple-target” лек који би, осим антималяријске активности, уколико је неопходно, могао да потисне појачан имуни одговор и/или умањи повезане симптоме (повећану телесну температуру, бол, и итд.), а такође би могао да утиче и на развој маларијом изазване бактеријемije.

Упале плућа изазване новим корона вирусом (COVID-19) који се појавио у Кини у децембру 2019. године поново су ставиле хлорохин (1) у фокус глобалне научне заједнице. Овај лек је показао обећавајуће резултате у неким *in vitro* студијама, као и у клиничким испитивањима. Медијска популаризација хлорохина (1) изазвала је велике nestaшице и повећање тржишне цене што је угрозило лечење пацијената оболелих од маларије [31].

Претходна истраживања о повезаности структуре и активности (енг. *structure–activity relationship (SAR)*) аналога хлорохина (1) указују да се значајним и одговарајућим изменама у бочном низу молекула хлорохина (1), као што су промена дужине или увођење нових структурних јединица, може заобићи резистентност код

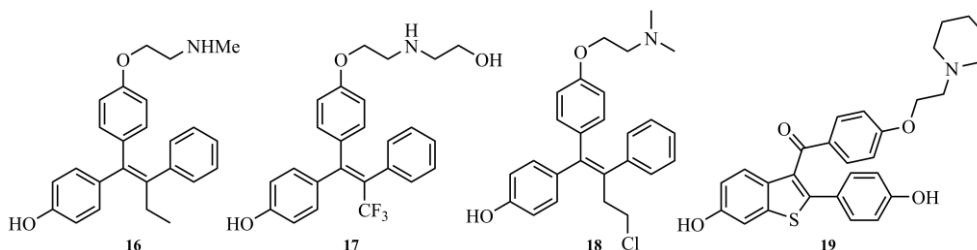
Plasmodium паразита [10,23,32]. Неки од најефикаснијих аналога, попут фeroхина (3), добијени су хибридизацијом хлорохина (1) са фармакофором која делује другачијим механизмом, као што је на пример фeroценска јединица (Fc) у фeroхину (3) [23,33].

2.2. СТИЛБЕНОИДИ У ТЕРАПИЈИ РАКА ДОЈКЕ

Канцер представља једну од највећих претњи људском здрављу у модерном добу. Карактерише га неконтролисана деоба ћелије која се може раширити на различите органе у људском телу. Главни изазови у контроли и искорењивању карцинома су континуирани развој канцера отпорних на доступне лекове и њихова ниска специфичност, што ствара хитну потребу за развојем нових хемотерапеутика [34].

(Хидрокси)тамоксифен (на тржишту познат као *Nolvadex*) је данас један од најпродаванијих хормонских лекова за канцер дојке. Ово једињење је синтетисано 1962. године од стране хемичарке *Dora Richardson*, која је била задужена за синтезу деривата трифенилетилена у оквиру пројекта који је за циљ имао развој контрацептивне пилуле у лабораторијама британске хемијске групе *ICI* (данашњи део компаније *AstraZeneca*). Иако је примарни циљ био да делује као анти-естроген, нађено је да ово једињење не потискује, већ стимулише овулацију код жена. Ипак, на срећу, један од чланова тима је увидео потенцијал 4-хидрокситамоксифена (5) за третман канцера дојке. Важна прекретница на путу 4-хидрокситамоксифена (5) од нежељеног до најпродаванијег лека догодила се 1980-их година, када су резултати клиничких испитивања показали да је такође био врло користан као додатак другим облицима терапије у раним фазама болести. Многобројна истраживања су показала да би могао спречити појаву или поновну појаву канцера код жена са високим ризиком од развоја рака дојке. Тако је тамоксифен постао први лек за превенцију било ког канцера, помажући да се успоставе принципи хемопревенције и прошири тржиште за тамоксифен и сличне лекове. Због своје способности да продужи живот код жена оболелих од рака дојке, касније је нађено да тамоксифен потенцијално може имати озбиљне дугорочне нежељене ефекте, од пулмоналне тромбозе до канцера ендометријума. Упркос томе, овај лек се и даље налази на листи основних лекова Светске здравствене организације због његове корисности у лечењу и превенцији главног узрока смрти код жена [35]. Неколико аналога 4-хидрокситамоксифена (5), као што су ендоксифен (16; активни метаболит тамоксифена), паномифен (17;

трифлуорметил аналог), торемифен (**18**; хлоретилен аналог), ралоксифен (**19**; бензотиофенски аналог; **слика 6**) и други, се тренутно налази у различитим фазама клиничких испитивања [36].



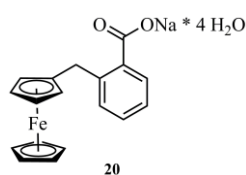
Слика 6. Структуре аналога 4-хидрокситамоксифена (**5**) који поседују антиканцер активност.

У телу, тамоксифен подлеже оксидацији до метаболичког производа 4-хидрокситамоксифена (**5**) који се такмичи са молекулима из тела за везивање са естрогеним рецептором α ($ER\alpha$). На овај начин, хидрокситамоксифен потискује транскрипцију ДНК посредоване естрадиолом у туморском ткиву, што води ка смрти ћелије. И у овом случају, претпостављено је да би заменом фенил групе у тамоксифену са фeroценском јединицом могао да се добије бољи антиканцер агенс. И заиста, фeroценил-аналог тамоксифена, 4-хидроксифeroцифен (**4**) показао се врло цитотоксичним и према хормон зависним ($ER\alpha^+$) и према хормон независним ($ER\alpha^-$) ћелијским линијама канцера, док је 4-хидрокситамоксифен (**5**) био активан само према $ER\alpha^+$ ћелијама. Ово је представљало изузетно важно откриће зато што око једна трећина свих канцера дојке припада $ER\alpha^-$ типу који се не може третирати хормонском терапијом са селективним модулаторима рецептора естрогена (SERM) какав је тамоксифен [37].

2.3. ФЕРОЦЕН И ЊЕГОВИ ДЕРИВАТИ У МЕДИЦИНИ

Фероцен је откривен случајно почетком 50-их година прошлог века од стране два истраживача, *Kealy* и *Pauson*, на Дукејн Универзитету (*Duquesne University*, САД) у реакцији Грињаровог (*Grignard*) реагенса C_5H_5MgBr са $FeCl_3$ [38]. Иако замена фенил-групе фeroценил-групом у молекулу може довести до изразитих промена у типу и интензитету одговора биолошких система на његово дејство у односу на полазно једињење, најважније физичкохемијске особине новодобијеног молекула, поготово оне које се доводе у везу са фармаколошком ефикасношћу, значајно се не мењају, те се фeroценил-група може сматрати биоизостером фенил-групе, и других арил група [39].

Сам фeroцен није значајно токсичан, а када су у питању његови деривати, фeroцерон (20; слика 7) је био одобрен као лек у бившем СССР-у и користио се за лечење анемије 1970-их година [40]. То је први и вероватно једини фeroценски лек који је био одобрен за медицинску употребу, али је његова производња обустављена. Прави пробој у модерној медицинској органометалној хемији се десио 1996. и 1997. године када су, независно један од другог, откривени кандидат за антиканцер лек-фeroцифен (4) [41] и кандидат за антималярик-фeroхин (3) [42]. С обзиром на то да су фeroцифени у фази студија развоја формулације [43], а фeroхин (3) у другој фази клиничких студија [44] тренутно на тржишту нема лекова чије активне супстанце садрже Fc-јединицу.

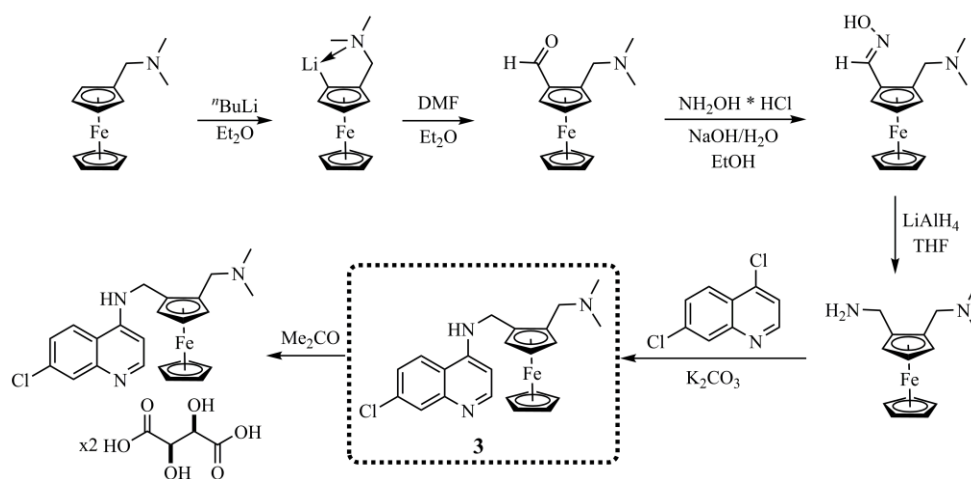


Слика 7. Структура фeroцерона (20).

Органометална једињења су постала веома значајна у биологији и медицини у последњих неколико деценија [45]. До сада је синтетисано и тестирано на биолошку активност хиљаде структурно различитих органометалних једињења. Најуспешнији резултати су добијени за антималярике код којих је део структуре (нпр. ароматично језгро) замењен фeroценом. Увођењем Fc-јединице је повећана антиплазмодијална активност у односу на полазни молекул, а у неким случајевима је чак омогућено и заобилажење резистенције код паразита. Претпоставља се да металоцен може утицати на особине и структуру полазног молекула на различите начине (нпр. мењањем конформације, липофилности, базности и оксидо-редукционих својства) чиме може доћи и до промене његове фармакодинамике. Такође, могуће је да фeroцен делује и на јединствен начин који није повезан са осталим структурним ентитетима, јер га одлукују специфичне особине као што су: стабилност у воденим и аеробним условима, нетоксичност, погодан редокс потенцијал, висока липофилност, мала величина, а и релативно лако се може дериватизовати што га чини врло атрактивним за примену у биолошким испитивањима [10].

Фeroхин (3; слика 1) представља фeroценил-аналог хлорохина (1) код кога је фeroцен уметнут у бочни алкил-низ хлорохина (1) између два егзоциклична атома азота, при чему су два sp^3 хибридована угљеника замењена са два sp^2 хибридована угљеникова атома фeroцена. Овај молекул је први пут синтетисан 1994. године од

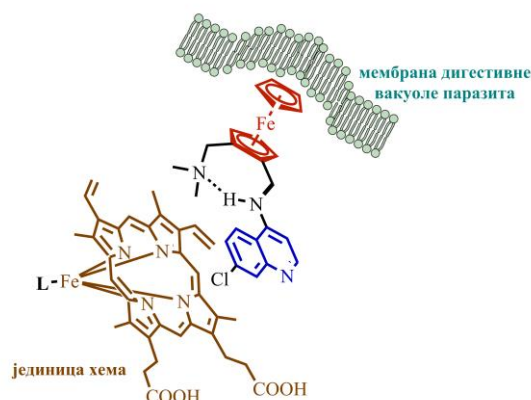
стране *Christophe Biot* и сарадника (**шема 1**), а недуго затим је препознат као водеће (енг. *lead*) једињење које би могло испунити строге захтеве за примену у лечењу маларије, па је већ крајем 2000. године укључен у клиничка испитивања [42,46]. Ферохин (**3**) је 2015. године ушао у II фазу клиничких испитивања за лечење „неkomplиковане“ маларије. Одређени нежељени ефекти су уочени током истраживања на испитаницима са асимптоматском инфекцијом *P. falciparum*, углавном гастроинтестиналне природе, као што су бол у стомаку, дијареја, мучнине и повраћања, а такође и главобоља и вртоглавица. Код неких пацијената су били незнатно повећани параметри за болести јетре, а за сада нису уочени нежељени ефекти на кардиоваскуларни систем [47].



Шема 1. Прва синтеза ферохина (**3**) [42].

Механизам деловања ферохина (**3**) је опширно проучаван, али је и даље само делимично разјашњен. Ферохин (**3**) је јак инхибитор формирања β -хематина, моћнији од хлорохина (**1**), па ефикасније спречава детоксификацију паразита. Његова ефикасност се приписује томе што се акумулира у дигестивној вакуоли паразита за фактор који је 50 пута већи у поређењу са хлорохином (**1**) [48]. Сматра се да његове базније особине, већа липофилност и јединствена конформација коју заузима услед постојања интрамолекулске водоничне везе (**слика 8**) понајвише утичу на повећану акумулацију у вакуоли [49]. Претходне студије су показале да ферохин (**3**) може да формира водоничну везу између N-11 и N-24 што чини молекул ригиднијим и омогућава да фeroценско језгро интерагује са хидрофобним макромолекулима (мембране и липиди) присутним у дигестивној вакуоли (**слика 8**) [48]. Постојање ове водоничне везе смањује базност ферохина (**3**; $pK_{a1} = 8,19$, $pK_{a2} = 6,99$) у односу на хлорохин (**1**; $pK_{a1} = 10,03$, $pK_{a2} = 7,94$). При цитосолном pH 7,4, ферохин (**3**) је у

највећем проценту у неутралном или монопротонованом облику, док је хлорохин (1) у двопротонованом облику. Неутрални и монопротоновани облици оба једињења су хидрофобнији у односу на двоструко протоновани облик, па стога фeroхин (3) брже пенетрира кроз липофилну мембрану [50]. Штавише, већа липофилност фeroхина (3; $\log D_{7,4} = 2,95$) у односу на хлорохин (1; $\log D_{7,4} = 0,85$) такође доприноси већој акумулацији фeroхина (3) у дигестивној вакуоли *Plasmodium* паразита [51].

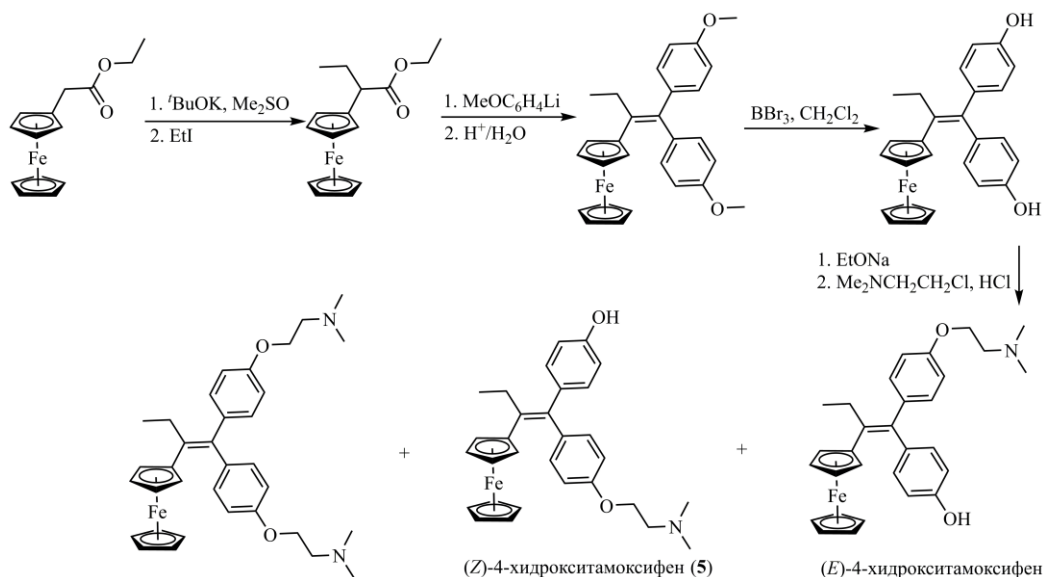


Слика 8. Предложена места интеракције фeroхина (3) у дигестивној вакуоли паразита. L означава молекул воде или други молекул феропротопорфирина.

Уз инхибицију формирања хемозоина, један од битнијих механизма деловања фeroхина (3) је онај који се заснива на могућности генерисања хидроксилних радикала, (реактивне кисеоничне врсте) од стране фero јона у Fc-јединици на начин сличан *Fenton* реакцији $[Fe(II) + H_2O_2 \rightarrow Fe(III) + HO^- + HO^*]$. Настали радикали изазивају липидну пероксидацију и оштећење мембране дигестивне вакуоле што вероватно неповратно оштећује паразит [46]. Такође, претпоставља се да фeroхин (3) може да инхибира кључни корак у пропагацији паразита, формирање мерозоиота, инвазивног облика који улази у нове еритроците. Претпостављено је да оваква активност, која би омогућила да ћелије избегну поновну инвазију, настаје, такође, као резултат генерисања OH радикала од стране овог металоцена [52]. Поред тога, постоји хипотеза да фeroценски прстен утиче на то да фeroхин (3), за разлику од хлорохина (1), не интерагује са PfCRT (*Plasmodium falciparum* Chloroquine Resistance Transporter) или другим протеинима укљученим у резистенцију на хлорохин. На овај начин, фeroхин (3) избегава избацивање из дигестивне вакуоле и може испољити своје дејство [49]. За сада ниједан аналог фeroхина (3) није успео да надмаши његову активност, нити су бројна истраживања успела да у потпуности разјасне улогу гвожђа и како овај

метал доприноси заобилажењу резистенције када се фeroцен веже за хлорохин (1). Све ово указује на то да одређене структурне карактеристике фeroхина (3) чине овај молекул специфичним на начин да може да заобиђе механизме који су укључени у хлорохин-резистенцију.

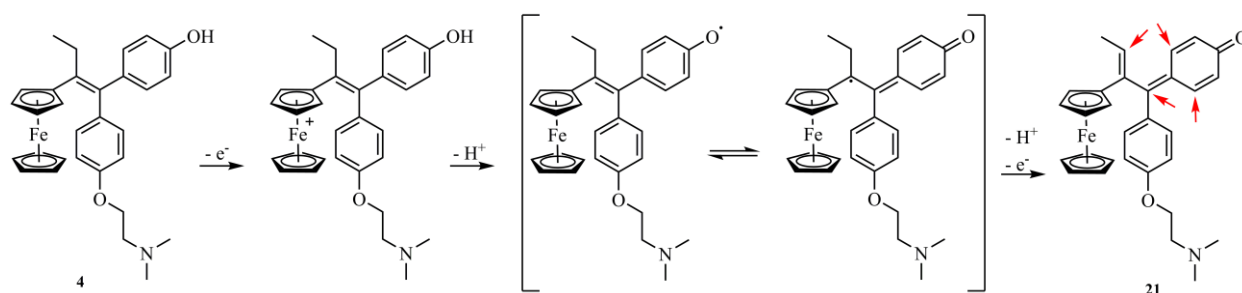
Истовремено са открићем фeroхина (3), 1996. године је објављено истраживање о употреби фeroценил-аналога 4-хидрокситамоксифена (5), хидроксифeroцифена (4), као антиканцер агенса. Прва синтеза овог молекула је представљена на **шеми 2** [41]. Интензивна истраживања о повезаности структуре и активности (SAR) су врло допринела разумевању механизма деловања фeroцифена [53,54]. *In vitro* студије су показале да се *Z* изомери значајно јаче везују за ER α у односу на *E* изомере, али се при физиолошким условима изомеризација довољно брзо дешава. Нађено је да је рутеноценил аналог 4-хидрокситамоксифена (5) активан према ER α ⁺ ћелијским линијама, а не и према ER α ⁻, указујући да је сличнији полазном неорганометалном молекулу [55]. Органоманганови и органоренијумови деривати тамоксифена нису показали никакву антипролиферативну активност, што јасно указало на важност присуства Fc-јединице у 4-хидроксифeroцифену (4) [54].



Шема 2. Прва синтеза 4-хидроксифeroцифена (4) [41].

Утврђено је да 4-хидроксифeroцифен (4) испољава антипролиферативни ефекат према шест ћелијских линија канцера дојке независно од ER статуса, три ER α ⁺ (MCF-7, T-47D, ZR-75-1) и три ER α ⁻ (MDA-MB-231, SKBR-3, Hs578-T). Ипак, чини се да се механизам активности овог фeroценил-деривата разликује у зависности од ER α статуса. Према ER α ⁺ MCF-7 ћелијама, 4-хидроксифeroцифен (4) се понаша слично 4-

хидрокситамоксифену (**5**), испољавајући антихормонски ефекат, иако може деловати и цитотоксично. Следи да се уочена антипролиферативна активност једињења **4** може сматрати резултатом двоструког мода деловања: као антихормонски агенс према $E\alpha^+$ ћелијама и као цитотоксични агенс и према $E\alpha^+$ и према $E\alpha^-$ ћелијским линијама [56]. Предложени механизам цитотоксичног деловања 4-хидроксифероцифена (**4**) заснива се на могућности овог молекула да подлегне губитку $2e^-$ и $2H^+$ јона чиме настаје интермедијерни хинон (**21**) који је стабилан сатима при физиолошким условима (шема 3). Ова реактивна електрофилна врста као Мајклов акцептор подложна је нападима од стране ендогених нуклеофила, попут глутатиона или нуклеобаза, што може довести до смрти ћелије [57]. Ова хипотеза је недавно поткрепљена запажањем да се 4-хидроксифероцифен (**4**) метаболише до поменутог хинона (**21**) од стране микrozома јетре пацова [53].



Шема 3. Приказ две узастопне реакције једноелектронске оксидације и депротоновања једињења **4** при чему настаје хинон (**21**) који је подложен нападу ендогених нуклеофила у положајима обележеним стрелицама [57].

2.4. ДЕРИВАТИ ФЕРОЦЕНА СА АНТИМАЛАРИЈСКОМ АКТИВНОШЋУ

Недавна појава отпорности *Plasmodium* паразита на тренутно доступну терапију утицала је на то да развој нових антималарика поново постане императив научној заједници. Једна од најперспективнијих стратегија у дизајну нових антималарика представља молекулска хибридизација металоцена, посебно фероцена, са конвенционалним антималарицима. Применом оваквог приступа је добијен и већ поменути молекул ферохин (**3**). Сматра се да се на овај начин могу не само побољшати особине полазног молекула, већ новодобијени хибриди могу испољити и неке нове механизме деловања [10].

2.4.1. ХИБРИДИ ФЕРОЦЕНА СА ХИНОЛИНОМ

Хинолински антималярици као што су кинин (**12**), хлорохин (**1**), амодиакин (**13**), мефлокин (**14**) и други поседују способност да убију *P. falciparum* паразит блокирањем формирања хемозоина или спречавањем даљег раста његових кристала и имају битну улогу у контроли и истребљењу маларије [58]. Ипак, услед развоја резистенције паразита на ову врсту антималярика, научници су прибегли хибридизацији ових органских једињења са фероценом не би ли се потенцијално добила једињења која могу заобићи постојеће механизме резистенције [10]. Водећи се овом стратегијом синтетисан је велики број хибрида фероцена са хинолинима који су испољили активност у наномолараној концентрацији, при чему су неки од њих били или једнако или више активни од референтних антималярика: хлорохина (**1**), артемисинина (**2**) и/или ферохина (**3**).

На пример, хибриди **22а** и **22б** (слика 9; $IC_{50}^1 = 13,2\text{--}54,2 \text{ nM}$), који представљају моно- и ди- деметиловане метаболите ферохина (**3**), и њихови деривати **22в** и **22г** (слика 9; $IC_{50} = 16,1\text{--}38,5 \text{ nM}$) су испољили обећавајућу активност према хлорохин-сензитивном (ХС) НВ3 и хлорохин-резистентном (ХР) Dd2 соју *P. falciparum*. Њихова активност према НВ3 соју била је упоредива са хлорохином (**1**; $IC_{50} = 25,8 \text{ nM}$), док је активност према Dd2 соју била боља у односу на хлорохин (**1**; $IC_{50} = 136,5 \text{ nM}$) [59]. SAR анализом дошло се до закључка да је присуство секундарног амина у структури пресудније за испољавање антиплазмодијалног ефекта у односу на примарни амин. Такође, утврђено је да допринос активности супституената на азоту опада у следећем низу $Me \approx Et > tBu > водоник$. Најистакнутији представници у овој серији, хибриди **22б** и **22в** ($IC_{50} = 13,2$ и $18,8 \text{ nM}$ према НВ3 соју; $23,2$ и $16,1 \text{ nM}$ према Dd2 соју, редом) били су активнији чак и од ферохина (**3**; $IC_{50} = 23,6$ и $27,2 \text{ nM}$) према поменутиим сојевима. У наставку овог истраживања нађено је да је антиплазмодијална активност хибрида **22д** и **22ђ** (слика 9; $IC_{50} = 4,9\text{--}16,5 \text{ nM}$) слична активности ферохина (**3**; $IC_{50} = 1,6\text{--}20,0 \text{ nM}$) према ХС (NF54) и ХР (K1 и Dd2) сојевима *P. falciparum* и $19,1\text{--}107,5$ пута већа у односу на активност хлорохина (**1**; $IC_{50} = 316,3$ и $527,0 \text{ nM}$) према ХР сојевима [60]. Терцијарни амини **23а** и **23б** (слика 9; $IC_{50} = 12,4\text{--}23,6 \text{ nM}$) били су мање ефикасни од раније синтетисаног секундарног амина **22в**

¹ Полумаксимална инхибиторна концентрација (IC_{50} ; енг. *Half maximal inhibitory concentration*) је квантитативна мера ефективности супстанце у инхибирању неке специфичне биолошке или биохемијске функције. Представља концентрацију супстанце која је неопходна за 50% инхибиције *in vitro*.

(слика 9; IC_{50} = 16,1–18,8 nM) према HB3, Dd2 и W2 сојевима *P. falciparum*. Потенцијал инхибиције формирања β -хематина већине поменутих хибрида (IC_{50} = 9,3–59,9 μ M) био је у нивоу хлорохина (1; IC_{50} = 46,3 μ M) и ферохина (3; IC_{50} = 23,0 μ M) [61].

Инкорпорирање ригидних структура, попут пиперидинског и циклохексанског прстена, у линкер је такође допринело побољшању активности, па су хибриди **24а-г** (слика 9; IC_{50} = 25–319 nM) и **25а-б** (слика 9; IC_{50} = 32–292 nM) испољили јак антиплазмодијални ефекат према F32, FcB1 и K1 сојевима *P. falciparum*. Нажалост, већина ових деривата се, за разлику од хлорохина (1; LC_{50}^2 = 50,000 nM), показала цитотоксичним према хуманој ћелијској линији MRC-5, фибробластима плућа, са LC_{50} вредностима у опсегу 17 до 683 nM. SAR анализом уочено је да се продужетком линкера код хибрида **24а-г** и **25а-б** активност смањује и да за хибриде **24а-г** присуство додатних метил група у линкеру има мали утицај на активност. Посебно су се истакли хибриди **24а** и **24б** (IC_{50} = 25–32 nM) и хибрид **25а** (IC_{50} = 32–33 nM) чије је деловање било упоредиво са деловањем референтних једињења артемисинина (2), хлорохина (1) и ферохина (3; IC_{50} = 31, 19 и 29 nM, редом) према XC (F32) соју, а једнако са артемисинином (2) и ферохином (3) према XP (FcB1 и K1) сојевима. Поред тога, ова три хибрида била су 3 до 6 пута ефективнија од хлорохина (1; IC_{50} = 111 и 160 nM) према FcB1 и K1 сојевима [62].

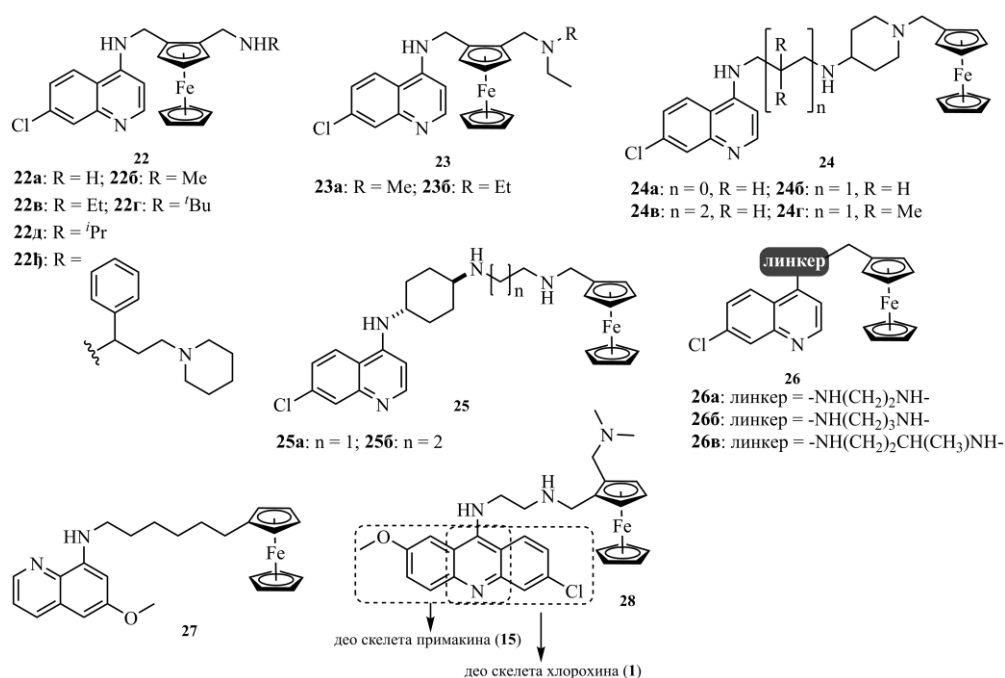
Хибриди **26а-в** са различитим дужинама и гранањем диаминоалкил линкера (слика 9; IC_{50} = 10–130 nM) су, такође, испољили већи антиплазмодијални потенцијал од хлорохина (1; IC_{50} = 50 и 150 nM) према XC (D10 и Dd2) сојевима. Најактивнији међу њима, молекула **26г** (IC_{50} = 40 и 10 nM), био је и цитотоксичан према ћелијској линији јајника кинеског хрчка (*Chinese Hamster Ovarian*, CHO; IC_{50} = 59,26 μ M) при чему је вредност SI^3 била 1,378 [63].

Поред хибрида фероцена са хлорохином (1), испитана је и антиплазмодијална активност одређеног броја његових хибрида са примаквином (15). Тако је, на пример,

² Средња летална концентрација (LC_{50} ; енг. *Lethal concentration 50*) представља концентрацију супстанце која изазива смрт 50% коришћених ћелија.

³ Индекс селективности (SI; енг. *Selectivity Index*) одговара односу између IC_{50} вредности за цитотоксичност (према некој хуманој ћелијској линији) и IC_{50} вредности за антиплазмодијално деловање и користи се за процену потенцијала супстанце да инхибира раст *Plasmodium* паразита без токсичности. Ниска SI вредност указује на то да је антиплазмодијална активност вероватније последица цитотоксичности него активности према паразиту, док висока SI вредност указује да супстанца потенцијално може бити безбедна за терапију. Генерално, када је $SI < 2,0$ може се сматрати да је супстанца токсична и не треба је узимати у обзир као кандидата за лек, иако је моћан антималярик.

заменом хлорохинског (4-амино-8-хлорхинолинског) језгра примакинским (8-амино-6-метоксихинолинским) језгром добијен хибрид **27** (слика 9; $IC_{50} = 170 \text{ nM}$) са око 45 пута већом *in vitro* антиплазмодијалном активношћу према *P. berghei* паразиту у пре еритроцитном стадијуму (стадијуму јетре) у односу на примакин (**15**) [64,65]. Хибрид **28** (слика 9) занимљиве структуре, у коме су међусобно преклопљени делови скелета хлорохина (**1**) и примакина (**15**) дајући акридинско језгро, такође је испољио значајну антиплазмодијалну активност ($IC_{50} = 1$ и 8 nM према ХС 3D7 и К1 сојевима, редом). Уочена активност се може приписати вишеструким механизмима деловања повезаним са насталом акридинском групом, укључујући и интеркалацију (уметање) у паразитски ДНК, инхибицију ензима топоизомеразе II, као и инхибицију формирања β -хематина [66,67].



Слика 9. Структуре одабраних хибрида хинолина са фeroценом (22-28).

2.4.2. ХИБРИДИ ФЕРОЦЕНА СА АРТЕМИСИНИНОМ (2)

Артемисинин (**2**) и његови полусинтетски деривати (артесунат, артеметер, артемимол (дихидроартемисинин) и други) који садрже сесквитерпенски лактон са пероксидним мостом показују изразиту клиничку ефикасност према инфекцијама изазваним *Plasmodium* паразитима, а такође су и безбедни за употребу. Третнутно је артемисинин комбинована терапија кључна у третману „некомпликоване“ *P. falciparum* маларије, укључујући и инфекције изазване хлорохин резистентним сојевима, са укупном ефикасношћу од преко 95%. Недавна појава случајева резистенције на

артемисинин (2) и њему сродне лекове угрожава ефикасност ове терапије, а самим тим и контролу маларије [68].

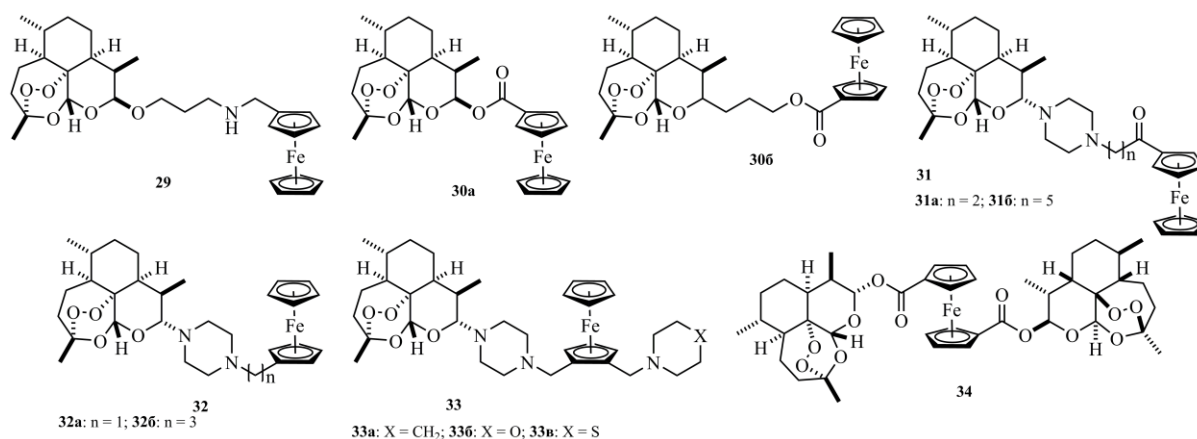
Ендопероксидни мост у артемисинину (2) може се раскинути у присуству Fe(II) из хема при чему настају веома реактивни слободни радикали који могу алкиловати и оксидовати важне протеине паразита изазивајући тиме неповратно оштећење мембранског система паразита [69,70]. Синтетски 1,2,4-триоксани и 1,2,4,5-тетраоксани такође поседују ендопероксидне мостове, а неки од њих, као што су артеролан и артефеномел су већ у употреби или су у току клиничка испитивања за њихову употребу у лечењу маларије [27, 71]. Стога, чини се да хибридизација фeroцена са артемисинином (2) може изнедрити нове ефективне кандидате за антималярике са вишеструким механизмима деловања како би се превазишла резистенција на постојећу терапију. Заиста, повезивањем Fc-јединице за артемисинин (2) добијено је на десетине молекула који су активни у ниском наномоларном опсегу.

На пример, хибрид **29 (слика 10)** је испољио антиплазмодијалну активност која је упоредива са активношћу артемисинина (2; $IC_{50} = 7\text{--}13\text{ nM}$) и дихидроартемисинина ($IC_{50} = 5\text{--}9\text{ nM}$) према XC (HB3 и SGE2) и XR (Dd2) сојевима *P. falciparum*, као и способност да се веже за фeroпротопорфин IX [72]. Стога се овај молекул може сматрати водећом (енг. *lead*) структуром за развој нових, ефективнијих антималярика. Из даљих истраживања произашли су и хибриди **30a**, без алкил линкера између артемисинина (2) и фeroцена, и **30b**, са естарском функцијом у линкеру близу Fc-јединице, са изразитом активношћу према 3D7 соју *P. falciparum* (**слика 10**; $IC_{50} = 13,4$ и $8,6\text{ nM}$, редом) која је била упоредива са активношћу хлорохина (**1**; $IC_{50} = 9,8\text{ nM}$) [73].

Када се као линкер између ове две фармакофоре нашао пиперазин добијени су хибриди **31a-b** и **32a-b (слика 10)** са IC_{50} вредностима у опсегу од $2,7$ до $24,1\text{ nM}$, према NF54, K1 и W2 сојевима *P. falciparum* [74]. Међутим, у овом случају, активност полазног молекула није повећана увођењем Fc-јединице, чак је у неким случајевима и смањена, с обзиром на то да су IC_{50} вредности аналога без фeroцена према овим сојевима била у опсегу од $2,1$ до $3,0\text{ nM}$. Иста група истраживача је синтетисала и аналоге који су садржали прстен пиперидина (**33a, слика 10**; $IC_{50} = 1,1\text{--}3,8\text{ nM}$), морфолина (**33b; слика 10**; $IC_{50} = 0,8\text{--}3,3\text{ nM}$) или тиоморфолина (**33в; слика 9**; $IC_{50} = 2,9\text{--}7,5\text{ nM}$) као додатног супституента на фeroцену. Антиплазмодијални потенцијал ове серије према истим сојевима био је већи, а релативни допринос хетероцикла

активности опадао је у низу морфолин > пиперидин > тиоморфолин [75]. Хибриди **33a-в** били су активни према NF54 соју и у раној и у касној фази гаметоцита при чему су могли испољити >86% инхибиције при концентрацији од 1 μM према паразитима у обе фазе, за разлику од метилен плавог који је успео да изазове 57% инхибиције при истој концентрацији али само у касној фази гаметоцита. Сви ови аналози **31-33** били су прихватљиво цитотоксични ($\text{LC}_{50} = 1,0\text{--}266,0 \mu\text{M}$) према ћелијама бубрега хумане ћелијске линије Hek293 при чему су SI вредности за NF54 сој биле високе, од 300 до 34456. Битно је такође истаћи да су ResI^4 вредности за ове хибриде биле у опсегу од 0,2 до 0,8 сугеришући да ова једињења могу превазићи резистенцију према хлорохину (**1**). Најактивнији дериват **33b** (IC_{50} у опсегу од 0,8 до 3,3 nM према NF54, K1 и W2 сојевима *P. falciparum*) испољио је упоредив или бољи инхибиторни ефекат на раст *Plasmodium* паразита у односу на референтне деривате артемисинина: артеметер, артесунат и дихидроартемисинин ($\text{IC}_{50} = 1,5\text{--}7,0 \text{ nM}$), док је у поређењу са хлорохином (**1**; $\text{IC}_{50} = 10,0\text{--}233,0 \text{ nM}$) његова активност била више од три пута већа.

С обзиром на то да је нађено да димери артемисинина (**2**) испољавају бољу активност од одговарајућих мономера [70], синтетисан је и значајан број оваквих хибрида. Посебно се истакло једињење **34** (слика 10; $\text{IC}_{50} = 7,2 \text{ nM}$) са дисупституисаним фероценом у склопу линкера и већом антиплазмодијалном активношћу од хлорохина (**1**; $\text{IC}_{50} = 9,8 \text{ nM}$) према XC (3D7) соју [73].



Слика 10. Структуре одабраних металоантималарика - хибрида артемисинина (**2**) са фероценом (**29-34**).

⁴ Индекс резистенције (ResI ; енгл. *Resistance Index*) представља однос између IC_{50} вредности за антималяријску активност према неком ХР и ХС соју. Мале ResI вредности указују на то да је супстанца активна без обзира на осетљивост *Plasmodium* соја, док велике вредности сугеришу губитак активности услед развоја резистенције или вероватноће развоја резистенције.

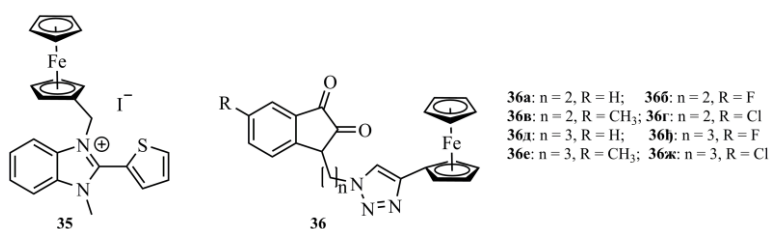
2.4.3. ХИБРИДИ ФЕРОЦЕНА СА ПЕТО- И ШЕСТОЧЛАНИМ ХЕТЕРОЦИКЛУСИМА

Присуство хетероатома, као што су азот, кисеоник и/или сумпор даје хетероцикличним једињењима посебне хемијске особине и омогућава им да на различите начине интерагују са различитим биолошким метама (нпр. путем водоничних веза, нековалентних, ван дер Валсовових и/или дипол-дипол интеракција), услед чега она могу да испоље биолошку активност. Неке од особина лека које се могу изменити стратешким укључивањем специфичног хетероцикличног прстена у молекул су јачина активности, селективност, липофилност, поларност и/или растворљивост у воденој средини. На пример, хетероциклична једињења могу да формирају водоничну везу са молекулом ДНК, што појачава стабилност насталог комплекса, тако да јачина ових интеракција може корелирати са њиховом цитотоксичношћу. Такође, азотни хетероциклуси могу прихватити или донирати протон, што повећава растворљивост и пермеабилност молекула омогућавајући му да лакше дођу до молекулске мете и/или лакше се вежу за њу [76,77]. Неки хетероциклуси могу, такође, да се понашају као лиганди са различитим металним јонима који се налазе у активним местима великог броја биолошки значајних ензима, при чему је стабилност формираног комплекса и његова геометрија умногоме одређена електронским карактером хетероаренског прстена који углавном зависи од врсте и распореда хетероатома [78].

До сада су структурно разнолики пето- и шесточлани хетероциклуси (попут тијазола, 1*H*-1,2,3-триазола, пиримидина, пиридина, имидазола, пиперазина, пиразина и других) били инкорпорирани у структуре неких познатих антималярика не би ли се побољшала њихова активност. Нађено је да су на тај начин добијени хибриди били боље растворни и орално биодоступнији у односу на полазни молекул, а да притом није дошло до смањења у антималяријском деловању. Ово указује на велики потенцијал хетероциклуса, посебно оних са пето- или шесточланим прстеном, јер могу интераговати са разним молекулским метама у *Plasmodium* паразиту [79,80].

До сада, хибридизацијом Fc-јединице са различитим малим аза хетероциклусима нису добијени деривати који би могли превазићи ефикасност конвенционалних антималярика, али, с друге стране, ова истраживања пружају бројне информације о повезаности структуре и активности које могу бити важне у дизајнирању нових, делотворнијих антималярика. На пример, једињење **35** (слика 11; IC₅₀ = 40 nM) испољило је активност упоредиву са хлорохином (**1**; IC₅₀ = 20 nM) и

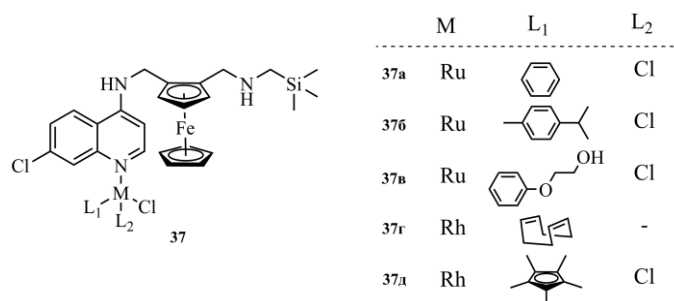
артемисинином (**2**; $IC_{50} = 25 \text{ nM}$) према ХС NF54 *Plasmodium* соју, па може представљати обећавајућу полазну тачку за развој још ефективнијих антималярија [81]. Поред тога, спајањем Fc-јединице са 1*H*-1,2,3-триазолом добијени су деривати **36а-ж** (слика 11) од којих су најактивнији (и нецитотоксични) били **36ђ** ($IC_{50} = 3,8$ и $6 \text{ }\mu\text{M}$) и **36ж** ($IC_{50} = 8,5$ и $4,6 \text{ }\mu\text{M}$) према ХС (3D7) и ХР (W2) *Plasmodium* сојевима. Заједничко за ова два хибрида је да поседују електрон акцепторски халогени супституент (F, односно Cl) на C-5 изатинског прстена, као и да су два присутна циклуса међусобно повезана пропил низом као линкером [82].



Слика 11. Структуре одабраних металоантималарика - хибрида малих аза хетероциклуса са фероценом (**35** и **36**).

2.4.4. ОСТАЛИ ХИБРИДИ ФЕРОЦЕНА

Последњих година је спроведен велики број истраживања о ефекту комплексирања другог метала за различите металоантималарике на њихову антиплазмодијалну активност. Иако би се увођењем другог металног јона (Ru(II), Rh(III), Ag(I), Ir(III) or Pd(II)) добијао комплекс који би у неким случајевима био активнији од полазног молекула, активност ових комплекса је углавном била у μM опсегу. Један од изузетака су Ru(II) комплекси **37б** и **37в** (слика 12) који су били активни на нивоу хлорохина (**1**) према ХС NF54 соју са IC_{50} вредностима мањим од 10 nM [33].



Слика 12. Структуре одабраних хетеробиметалних комплекса (**37а-д**).

Халкони (1,3-диарил-2-пропен-1-они) су једна од привилегованих фармакофора и њихови деривати могу да се вежу на место везивања колхицина, па деривати халкона

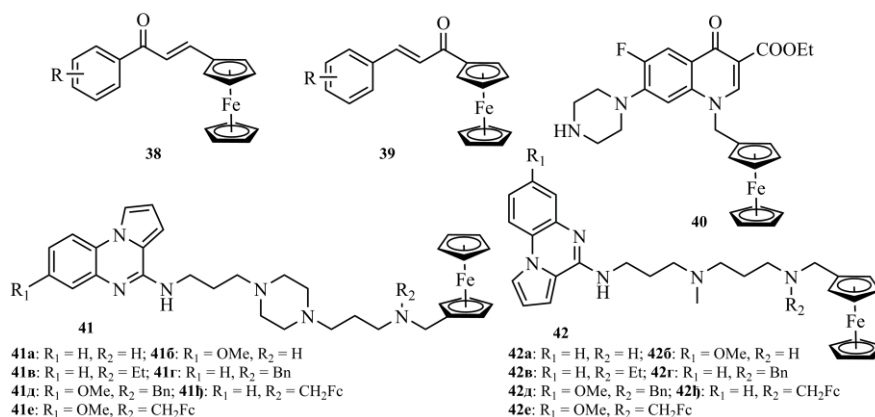
могу бити ефективни и нетоксични лекови [83]. Фероценил-деривати халкона **38** (слика 13; $IC_{50} = 4,6\text{--}410\ \mu\text{M}$) и **39** (слика 13; $IC_{50} = 5,1\text{--}147\ \mu\text{M}$) су показали осредњу антиплазмодијалну активност према ХР К1 соју *P. falciparum* и сви су били мање активни од хлорохина (**1**; $IC_{50} = 0,25\ \mu\text{M}$) [84].

Осим њихове типичне антибактеријске активности флуорохинолони су такође показали значајну активност према ХС и ХР *P. falciparum* сојевима, чинећи их обећавајућим кандидатима за третман маларије. На пример, фероцен-ципрофлоксацин хибрид **40** (слика 13; $IC_{50} = 0,44\text{--}2,36\ \mu\text{M}$) показао је широки спектар активности према панелу *P. falciparum* сојева (IMT 10500, IMT L1, IMT Vol, PA, FCR3, FCM29 и IMTK2), а притом је испољио ниску цитотоксичност ($CC_{50}^5 = 12,9\ \mu\text{M}$) према ћелијама слезине мишева. Иако је поменути хибрид био значајно активнији од почетног цiproфлораксацина ($IC_{50} = 45,9$ и $119,3\ \mu\text{M}$), није успео да превазиђе активност ни хлорохина (**1**) нити кинина (**12**) према ХС (3D7) и ХР (W2) сојевима [85].

Интересантно је и откриће фероценил-пироло[1,2-*a*]хиноксалин хибрида **41a-e** (слика 13; $IC_{50} = 9,1\text{--}78,4\ \text{nM}$) и **42a-e** (слика 13; $IC_{50} = 63,0\text{--}240,8\ \text{nM}$) који су били активни и према ХС и ХР сојевима (F32, FcB1 и PFB), при чему су сви испољили упоредиви или бољи потенцијал од хлорохина (**1**; $IC_{50} = 19,5, 105,3$ и $225,7\ \text{nM}$, редом). Штавише, једињење **41b** ($IC_{50} = 9,1, 16,6$ и $22,2\ \text{nM}$, редом) је било 2,1 до 10,1 пута активније од хлорохина (**1**) према ова три соја, указујући да ови хибриди потенцијало могу наћи примену у третману маларије изазване и ХС и ХР *Plasmodium* сојевима. Утврђено је и да су једињења са пиперазином у линкеру била активнија од аналога са метиламинским фрагментом [86].

Спајањем фероцена са шећерима добијени су деривати који су такође показали одређену антиплазмодијалну активност према ХС и ХР сојевима, али су IC_{50} вредности већине њих у микроларном нивоу и знатно веће од референтних антimalарика [87,88]. Слични резултати су добијени и за хибриде фероцена са хинонима [89,90], кумаринима [91], β -лактамима [92], индолом [93], бензодиазепинима [94] и другима.

⁵ Средња цитотоксична концентрација (CC_{50} ; енгл. *Cytotoxic concentration 50*) представља концентрацију анализираних супстанци која изазива смрт 50% ћелија у култури.



Слика 13. Структуре одабраних металоантималарика – хибрида различитих јединица са фероценом (38-42).

2.5. ДЕРИВАТИ ФЕРОЦЕНА СА АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОМ АКТИВНОШЋУ

Канцер је болест коју карактерише неконтролисана ћелијска деоба. То је хронично и компликовано обољење и узрок је високе смртности у целом свету. Најсмртоноснији и најчешћи су канцер плућа, дојки, дебелог црева, стомака и јетре и они чине узрок више од 90% смртних случајева [95]. Главни изазови у контроли и искорењивању канцера су стицање резистенције на тренутно доступну терапију, незанемарљиве нуспојаве, као и ниска специфичност антиканцер агенаса, па се континуирано ради на развоју алтернативних лекова. Узимајући у обзир велики успех 4-хидроксифероцифена (4), уметање Fc-јединице у већ позната органска антиканцер једињења представља користан шаблон за развој нових ефективних хемотерапеутика. У бројним досадашњим истраживањима нађено је да велики број деривата фероцена показује антипролиферативну активност према различитим ћелијским линијама са малом токсичношћу, у поређењу са познатим антиканцер агенсима [34]. Деривати овог металоцена испољавају изразита оксидо-редукциона својства при чему се лако превode у фериценијум јон, радикал катјон велике стабилности. Ова трансформација је реверзибилног карактера и заједно са слободнорадикалским реакцијама врло је корисна за антипролиферативно деловање [96].

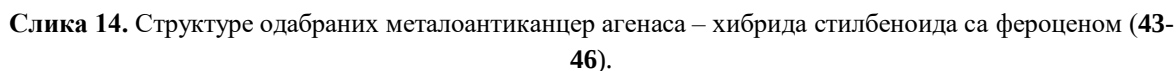
2.5.1. ХИБРИДИ ФЕРОЦЕНА СА СТИЛБЕНОИДИМА

Главни представник ове групе је 4-хидроксифероцифен (4) који може интераговати са молекулом ДНК, као и са различитим протеинима и ензимима, а испољава активност и према ћелијским линијама сензитивним и резистентним на неке лекове што наглашава потенцијал фероценил-стилбеноида као антиканцер агенаса [34].

Сматра се да је антипролиферативно дејство ових деривата уско повезано са фeroценил-двострука веза-фенол делом структуре [56].

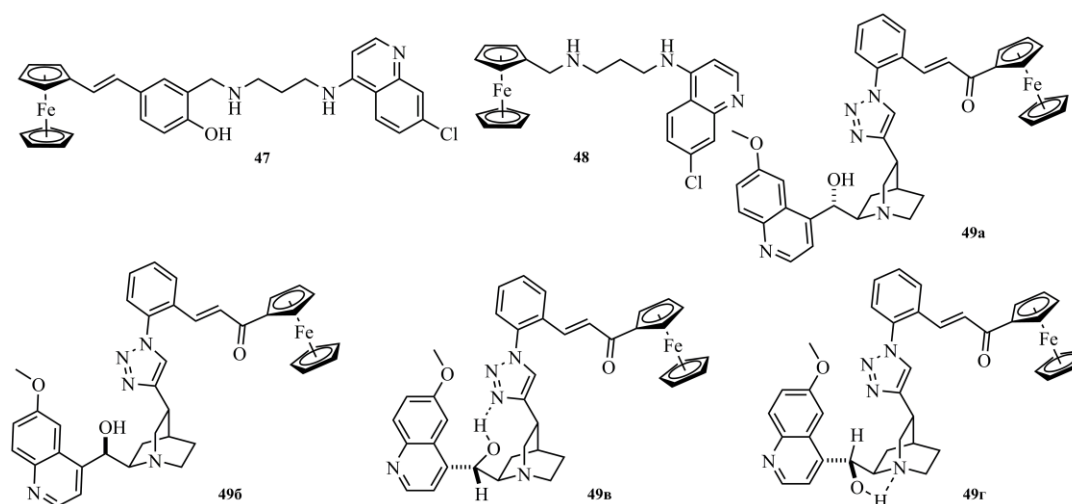
Хибриди **43а-г** (слика 14; $IC_{50} = 0,02-0,14 \mu M$), **44а-г** (слика 14; $IC_{50} = 0,42-1,54 \mu M$) и **45а-б** (слика 14; $IC_{50} = 1,23-2,7 \mu M$) испољили су високу цитотоксичност према ћелијским линијама рака дојке (MDA-MB-231) и простате (PC-3). Занимљиво је да су деривати код којих је гвожђе замењено осмијумом или рутенијумом показали значајно мању активност. Током испитивања механизма деловања уочено је да ова једињења могу деловати као ДНК алкилујући агенси и/или ДНК антимаболити. Хибрид **43а**, који садржи ригидни премошћени фeroценски систем (тзв. [3]фeroценофан), показао је широк спектар *in vitro* антипролиферативног дејства према панелу од 60 хуманих ћелијских линија пореклом из девет различитих типова канцера: леукемија, плућа, дебело црево, ЦНС, меланом, јајници, бубрези, дојке и простата, и то у наномоларним концентрацијама ($IC_{50} = 48-580 \text{ nM}$) [97,98]. Уз то је и акутна токсичност овог органометалног једињења код мишева била прихватљива, при чему је максимална толерантна доза била 100 mg/kg . Стога се овај хибрид може сматрати потенцијалном водећом (енг. *lead*) структуром у развоју нових цитостатика за третман широког спектра малигних оболења.

Додатком имидног фрагмента у структуру **44а** добијени су хибриди **46а-з** (слика 14; $IC_{50} = 0,035-12,9 \mu M$) који су испољили значајну цитотоксичност према ћелијским линијама јајника (SK-OV3, A2780 и цисплатина резистеној A2780-*cis*), а већина њих је била активнија према цисплатина резистентној линији (A2780-*cis*) у односу на нерезистентну ћелијску линију (A2780). Најистакнутији међу њима, молекул **46г** ($IC_{50} = 35-300 \text{ nM}$) је био 34,2, односно 234,6, пута активнији од цисплатине према A2780 и A2780-*cis* ћелијским линијама канцера. У додатним тестирањима нађено је да овај дериват врло ефикасно инхибира ($IC_{50} \leq 0,14 \mu M$) и раст ћелија канцера дојке (MDAMB-231), дебелог црева (HCT 116), панкреаса (Mia-PaCa-2) и крви (K562) [99].



ДНК топоизомеразе су ензими који катализују промену топологије молекула ДНК пролазним изазивањем ломљења ДНК ланца па стога ови ензими представљају потенцијалну молекулску мету при развоју нове хемотерапије за канцер [100]. Неки деривати хинолина, као што су кабозантиниб и кварфлуксин, су у употреби као антиканцер лекови и могу затровати топоизомеразе [34], па хибридизација фероцена са хинолином може бити корисна стратегија не само у дизајну ефикасних антималярија, већ и цитостатика.

27

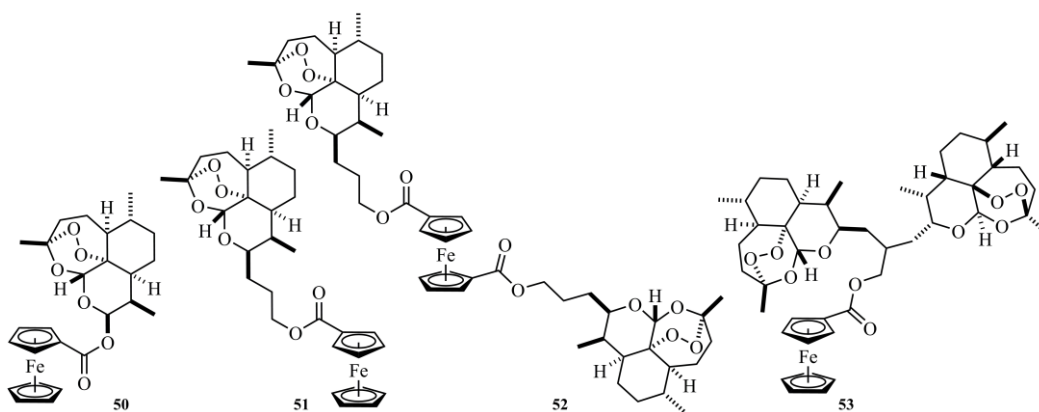


Слика 15. Структуре одабраних металоантиканцер агенаса – деривата хинолина са фероценом (47-49).

2.5.3. ХИБРИДИ ФЕРОЦЕНА СА АРТЕМИСИНИНОМ (2)

Деривати артемисинина (2) могу стварати високо реактивне слободне радикале у присуству Fe(II) јона и отуда имају антиканцер потенцијал [69]. Сходно томе, хибридизација фероцена са артемисинином (2) може изнедрити и нове антиканцер кандидате са вишеструким механизмима деловања. Велики број синтетисаних хибрида из ове групе се показао врло активним према широком спектру ћелијских линија рака са IC_{50} вредностима у наномоларном нивоу.

Примера ради, хибрид **50** (слика 16), који је добијен естерификацијом дихидроартемисинина фероценкарбоксилном киселином, показао се ефикасним у спречавању пролиферације ћелија леукемије које су сензитивне на лекове (CCRF-CEM), као и ћелија леукемије са прекомерно израженом резистентношћу на вишеструке лекове (CEM/ADR5000), при чему су његове IC_{50} вредности биле нешто ниже од 0,6 μM . Ова активност је била 3,6 и 1,2 пута већа у односу на активност полазног дихидроартемисинина ($IC_{50} = 480$ и 680 nM) према овим ћелијским линијама, као и 43,9 пута боља од доксорубицина ($IC_{50} = 23,3 \mu M$) према резистентном типу ћелија. Такође, утврђено је да су хибриди (**50** и **51**; слика 16) са једним триоксанским прстеном цитотоксичнији према CEM/ADR5000 ћелијама, док су хибриди **34** (слика 10), **52** и **53** (слика 16) са два триоксанска прстена цитотоксичнији према CCRF-CEM ћелијама. Дакле, фероцен-бис-артемисинин хибрид **34** (слика 10; $IC_{50} = 70$ и 1800 nM) са дисупститисаним фероценом у склопу линкера осим јаког антиплазмодијалног ефекта (поглавље 2.3.2.), испољава и изразиту способност инхибиције раста ћелија канцера крви [73].



Слика 16. Структуре одабраних металоантиканцер агенаса – хибрида артемисинина (2) са фероценом (50-53).

2.5.4. ОСТАЛИ ХИБРИДИ ФЕРОЦЕНА

Неколико једињења која у својој структури садрже прстен пиразола, имидазола или сродних хетероцикуса, као што су декарбазин, золедронска киселина, нилотиниб, меркаптопурин и типифарниб, тренутно се користе у клиничким условима за лечење различитих врста канцера [103]. Сходно томе, сматра се да хибридизација фероцена са имидазолом може отворити врата ка развоју нових ефективнијих антиканцер агенаса. Хибрид пиразола са фероценом (54; слика 17) је испољио обећавајућу активност (IC_{50} у интервалу од 0,09 до 8,48 nM) према различитим типовима канцера (цервикалном (KB, HeLa), канцеру јајника (SK OV-3), ЦНС-а (SF-268), плућа (NCI H460), аденокарциному црева (RKO27), крви (HL60, U937 и K562), меланому (SK-MEL-28), неуробласту (GOTO, NB-1), фибросаркому (HT1080) и ћелијама канцера јетре (HepG2)), при чему је најподложнија његовом деловању била ћелијска линија HepG2 ($IC_{50} = 0,09$ nM). Активност овог хибрида је била упоредива са референтним доксорубицином ($IC_{50} = 1,13-6,66$ nM) и тамоксифеном ($IC_{50} = 0,11-1,31$ nM) [104]. Соли 55а-г (слика 17; $IC_{50} = 16-40$ nM), добијене алкиловањем одговарајућих бензимидазола, биле су врло активне према MCF-7 ћелијама канцера дојке при чему је њихова активност била 3,6 до 9,1 пута већа од активности позитивне контроле, доксорубицина ($IC_{50} = 147$ nM). Поред тога, цитотоксичност ових хибрида према HEK293 немалигним ћелијама фибробласта је била врло ниска ($SI > 38$). Испитивањем механизма деловања нађено је да ова једињења могу инхибирати ензиме тиоредоксини глутатион редуктазу, као и повећати продукцију реактивних кисеоничних врста у ћелијама, а нађено је и да индукују апоптозу ћелија рака. Претпостављено је да генерисање реактивних кисеоничних врста услед присуства Fe-језгра један од

потенцијалних механизма којим долази до инхибирања поменутих ензима од стране тестираних хибрида. Поред тога, комплекси злата (I) и лиганада који садрже фироцен премешћен имидазолом, **56a** и **56b** (слика 17; $IC_{50} = 0,06-1,6 \mu M$), показали су широк спектар антипролиферативне активности према ћелијама меланома, дукталног аденокарцинома панкреаса, карцинома дојке, цервикса, дебелог црева и колоректалног аденокарцинома [105,106].

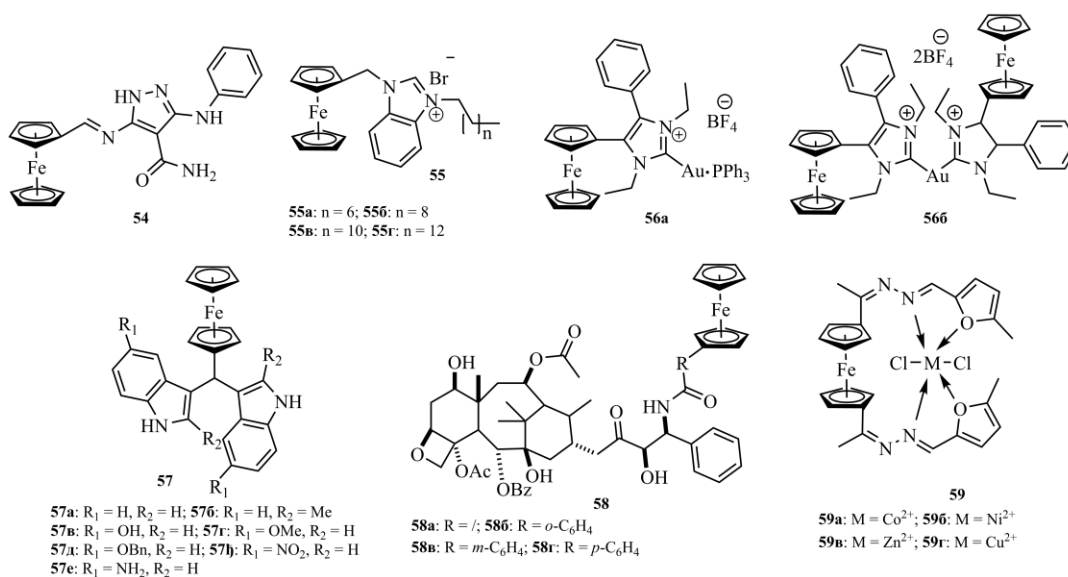
Индол је чест избор за фармакофору при дизајну нових антиканцер агенаса с обзиром на то да његови деривати могу испољити активност на различитим местима, као што су хистонска деацетилаза, сиртуини, карбонатне анхидразе, тирозин киназе, тубулини, ДНК топоизомеразе, П-гликопротеин, S-рецептори, и итд [107]. Многи лекови који садрже индол, као што су семаксаниб и сунитиниб се већ користе у клиничким условима за лечење различитих врста канцера, па стога и хибридизација Fc-јединице са индолском фармакофором може бити успешна стратегија у развоју антиканцер агенаса. На пример, већина фироцен-бис-индол хибрида **57** (слика 17; $IC_{50} = 1,0-57,9 \mu M$) испољила је значајну цитотоксичност према 3,3'-дииндолилметан ($IC_{50} = >100 \mu M$) резистентним ћелијским линијама меланома (518 A2), канцера цервикса (KB-V1/Vbl) и дебелог црева (HT-29). Најактивнији међу њима, хибрид **57a** ($IC_{50} = 1,0-6,3 \mu M$) показао је одлично инхибиторно дејство и на раст ћелија линија канцера панкреаса (BxPC-3) и дојке (MDA-MB-231) [108].

Синтетисана је и серија хибрида фироцена са паклитакселом (на тржишту познатом и под именом *Taxol*) који се користи у хемотерапији више типова канцера (**58a-г**; слика 17; $IC_{50} = <0,005-4,663 \mu M$). Утврђено је да ови деривати инхибирају пролиферацију више типова ћелија канцера укључујући колоректални канцер (SW620, Colo 205 и HCT116), канцер дојке (MCF-7), плућа (A549) и јетре (HepG2). Нађено је да су ови хибриди у истој мери цитотоксични и према вишеструко резистентним ћелијским линијама канцера дебелог црева (SW620C, SW620D, SW620E, SW620 M и SW620V). Сви хибриди, сем **58b**, били су активнији од референтног лека, 2',3'-епис-паклитаксела ($IC_{50} = 0,379-40,36 \mu M$) [109].

Хетеробинуклеарни комплекси **59a-г** (слика 17; $IC_{50} = 0,0101-50,5 \mu M$), такође, имају врло широк спектар *in vitro* антипролиферативне активности и то према: цервикалном карциному (KB), карциному јаника (SKOV-3), ЦНС карциному (SF-268), раку плућа (NCI H460), аденокарциному дебелог црева (RKOР 27), леукемији (HL60,

U937, K562), меланому (G361, SKMEL- 28), неуробласту (GOTO, NB-1), канцеру дојке (MCF-7), фибросаркому плућа (HT1080) и хепатоцелуларном карциному јетре (HepG2). Утврђено је да су метални комплекси били далеко ефикаснији од полазног фироцен-бисхидразонског лигананда. Штавише, антипролиферативна активност ових комплекса у неким случајевима је била и боља у односу на активност референтног лека доксорубицина ($IC_{50} = 1,13\text{--}6,66 \mu\text{M}$) [110].

Поред свих претходно описаних хибрида, велики број других хибрида фироцена са, на пример, аминокиселинама/пептидима [111,112], боратним естрима [113,114], халконима [115,116], хидроксамичним киселинама [117,118], стероидима [119], шећерима [120,121], биотином [122], ретиноичном киселином [123], (тио)семикарбазонима [124]) су такође испољили одређену *in vitro* антипролиферативну активност, али већина није могла да премаши активност референтних лекова.



Слика 17. Структуре одабраних металоантиканцер агенаса (54-59).

2.6. ДЕРИВАТИ ФЕРОЦЕНА СА АНТИМИКРОБНОМ АКТИВНОШЋУ

Током дугог раздобља своје историје човек је био ловац-сакупљач, а тек у последњих десет хиљада година почео је да обрађује земљу и да се бави сточарством. Иако је као последица те промене дошло до брзог пораста броја становништва, целокупне популације су периодично десетковане епидемијама заразних болести. Са развојем бактериологије крајем 19. века и случајним открићем пеницилина 1928. године постало је могуће сузбити патогене бактерије на релативно лак начин.

Инфективна обољења изазвана бактеријама стога више нису представљала егзистенцијалну претњу читавом човечанству, већ су постала решив проблем. Ипак, прекомерна употреба антибиотика у данашње време, посебно у превентивне сврхе, може бити врло опасна с обзиром на то да се бактерије размножавају веома брзо, па лако може доћи до спонтаних генетских мутација. Неке од ових мутација могу водити развоју резистенције на постојеће антибиотике. С обзиром на све поменуто, континуирани развој нових антибиотика, као и превазилажење резистенције на постојеће антибиотике су од есенцијалног значаја [125].

Као што је раније поменуто, ризик од истовремене бактеријемije приликом лечења маларије је наметнуо потребу за применом антибиотика [28,29]. Атрактивније решење би можда представљао лек који би, осим антimalаријске активности, потенцијално могао да утиче и на раст микроба. Такође, познато је да имуносупресија изазвана иницијалним карциномом или пратећом терапијом и распад мукозних баријера чине пацијенте са раком посебно осетљивим на бактеријске и гљивичне инфекције. Стога је последњих година начињен велики напор у развоју ефективних агенаса који би могли да контролишу раст канцера и размножавање микроба симултано [17,126].

Хибриди фeroцена, као и рутеноцена или кобалтоцена, са природним производима или синтетички добијеним молекулима привукли су велику пажњу у дизајну потенцијалних нових антибиотика током последње две деценије [127,128]. На пример, синтетисани су различити антимикуробни коњугати фeroцена са β -лактамима, платенсимицином, триазолом и другима [125], али су ови деривати најчешће показали слаб или умерени антимикуробни потенцијал.

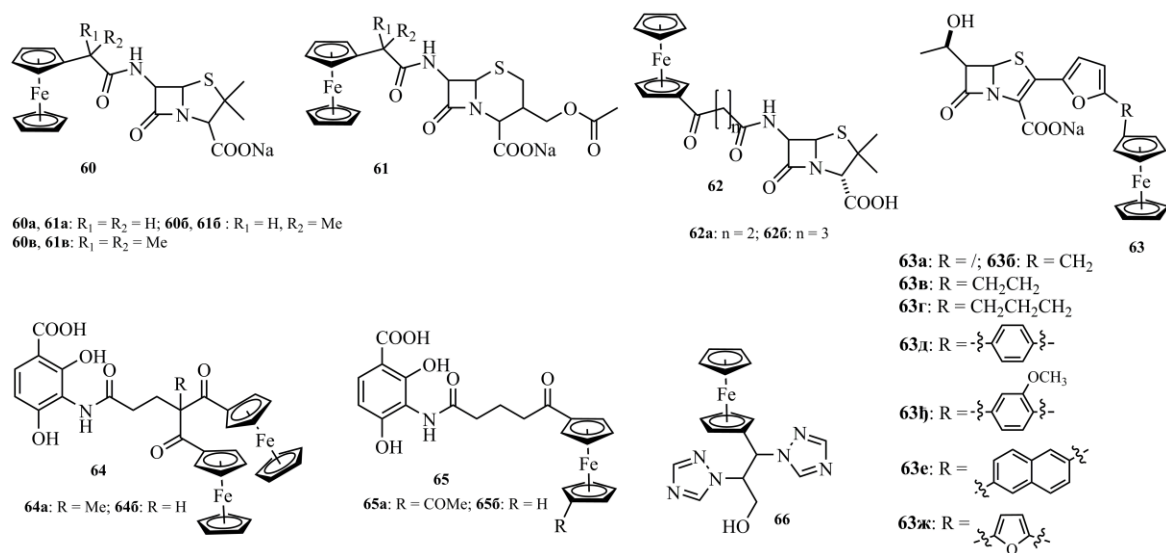
Први органометални деривати антибиотика су синтетисани још 1975. године и представљали су деривате пеницилина и цефалоспорина где су фенил или хетероароматичне групе замењене фeroценом тако да је метални јон био у непосредној близини β -лактамског прстена. Синтетисано је укупно шест хибрида, и то по три деривата пеницилина (**60a-в**; слика 18) и цефалоспорина (**61a-в**; слика 18). Занимљиво је да су ова органометална једињења поред умереног антимикуробног дејства према различитим сојевима *S. aureus*, испољила и потенцијал да инхибирају ензим β -лактамазу (који се сматра главним узрочником појаве резистенције на β -лактамске антибиотике), а међу њима као најјачи инхибитор показало се једињење **60b** [129].

Биокоњугати фероцена и 6-аминопеницилинске киселине, **62а** (слика 18; MIC⁶ = 10 и 10 µg/ml) и **62б** (слика 18; MIC = 40 и 40 µg/ml), спречавали су раст стафилокока, *S. aureus* ATCC 29213 (осетљиву на метицилин (MSSA)) и *S. epidermidis* ATCC 12228, при MIC вредностима до 40 пута мањим од полазне киселине (MIC = 200 и 400 µg/ml, редом) [130]. Повезивањем Fc-јединице и антибиотика пенема преко различитих линкера добијена је серија хибрида **63а-ж** (слика 18) [131]. Сви припадници ове серије, осим **63г** (MIC > 100 µg/ml), су ефикасније инхибирали раст Грам-позитивних бактерија *S. aureus* (резистентне на метицилин (MRSA); MIC = 28,8 до 62,1 µg/ml) и *Pseudomonas aeruginosa* (MIC = 49 to 83,2 µg/ml) у односу на референтни лек фаронепем (MIC > 100 µg/ml), док је њихова активност (MIC = 0,082 to 0,34 µg/ml) према Грам-негативној бактерији *E. coli* била на нивоу фаропенема (MIC = 0,1 µg/ml). Хибрид **63ж**, са хетероциклом фураном као линкером, испољио је јако антимикробно дејство на свих седам тестираних сојева Грам-позитивних и Грам-негативних бактерија.

Након открића природног производа платенсимицина као нове водеће (енг. *lead*) структуре са антибиотским дејством синтетисани су и његови фeroценил-хидриди не би ли им се потенцијално повећала *in vivo* ефикасност. На жалост, од четири деривата која су синтетисана (**64а-б** и **65а-б**; слика 18) само је за **65а** нађено да селективно инхибира раст *S. aureus* Mu50 соја (резистентног на ванкомицин (VISA)) са MIC вредношћу од 128 µg/ml, док је водеће једињење инхибирало раст истог соја при MIC вредности од 0,5 µg/ml [132].

Флуконазол је антимикотик који је у употреби за третман системских микоза, посебно оних изазваних гљивама из рода *Candida*. Пре скоро четврт века је синтетисан његов фeroценил-дериват (**66**; слика 18) и тестиран на 10 различитих сојева 4 врсте гљива овог рода. У поређењу са флуконазолом, који дозно зависно инхибира раст ових гљива, његов фeroценил-аналог уопште није утицао на раст гљива, а примећен је и тренд стимулације раста при већим концентрацијама. Занимљиво је да је овај тренд био најизраженији код три *C. krusei* соја који су веома резистенти на полазни молекул [133].

⁶ Минимална инхибиторна концентрација (MIC; енгл. *Minimal inhibitory concentration*) представља најнижу концентрацију испитиваног узорка која спречава видљив раст микроорганизма.



Слика 18. Структуре металоантимикробних агенаса – хибрида фероцена са антибиотицима/антимикотиком (60-66).

3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

3.1. ХЕМИКАЛИЈЕ И РАСТВАРАЧИ

Све хемикалије које су коришћене у раду (р.а. чистоће): феровен, триетилортоформијат ($\text{CH}(\text{OEt})_3$), 4,7-дихлорхинолин, 1,2-диаминоетан, 1,3-диаминопропан, 1,4-диаминобутан, 1,6-диаминохексан, N,N' -дициклохексилкарбодиимид (DCC), тиогликолна киселина, 2-тиопропанска киселина, 3-тиопропанска киселина, (R)-цистеин, (R)-цистеин метил естар хидрохлорид, триетиламин (Et_3N), ацетил-хлорид, анхидрид трифлуорсирћетне киселине, трихлорсирћетна киселина, 2-хлорацетил-хлорид, 2-бромацетил-хлорид, 2,2-дихлорацетил-хлорид, 2-метоксиацетил-хлорид, 2-ацетоксиацетил-хлорид, 2-феноксиацетил-хлорид, бензоил-хлорид, 3,5-динитробензоил-хлорид, аминметан, аминоетан, 1-аминопропан, 1-аминобутан, 1-аминохексан, N -(1-нафтил)етилendiамин, примакин-бифосфат, хлорохин-дифосфат, 3-(4,5-диметилтијазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолијум-бромид (МТТ), 2,3,5-трифенилтетразолијум-хлорид (ТТС), хемин, сорбитол, аминогуанидин (AMG), 5-флуорурацил (5-FU), метилен плаво, сулфородамин Б (SRB), трис(хидроксиметил)аминметан (Tris), кристал виолет, натријум-нитропрусид, цисплатина, AlCl_3 , $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, Na_2SO_4 , NaHCO_3 , Na_2CO_3 , NaCl , NaI , KHCO_3 , MgSO_4 , HCl , H_2SO_4 , NaOH , NH_3 , тионил-хлорид, као и растварачи: ацетонитрил (MeCN), диетил-етар (Et_2O), диметилсулфоксид (DMSO), изопропанол ($i\text{PrOH}$), хексан, дихлорметан (CH_2Cl_2), хлороформ (CHCl_3), етанол (EtOH), метанол (MeOH), тетрахидрофуран (THF), етил-ацетат (EtOAc), диметилформаид (DMF), деутерисани хлороформ (CDCl_3), деутерисани диметил-сулфоксид ($\text{DMSO-}d_6$), деутерисани метанол (CD_3OD) набављени су од следећих компанија: *Sigma Aldrich* (САД), *Alfa Aesar* (САД), *Carl Roth* (Немачка), *Acros Organics* (САД), *Merck* (Немачка), *Centrom* (Србија), *Fluka* (Немачка), *Tokyo Chemical Industry Co.* (Јапан) и *Zorka* (Србија). Растварачи су непосредно пре коришћења предестиловани (DMF који је коришћен у експериментима цикличне волтаметрије је двоструко дестилован), док су остале хемикалије употребљаване без претходног пречишћавања.

3.2. МЕТОДЕ АНАЛИЗЕ И РАЗДВАЈАЊА

3.2.1. ГАСНА ХРОМАТОГРАФИЈА СА МАСЕНОМ СПЕКТРОМЕТРИЈОМ (GC-MS)

За праћење тока реакција и хроматографских раздвајања, као и за анализу састава реакционих смеша и хроматографских фракција испарљивих једињења

коришћена је гасна хроматографија куплована са масено-спектрометријском детекцијом (GC-MS). Ова анализа (3 инјектовања) изведена је коришћењем *Hewlett-Packard* 6890N гасног хроматографа који је опремљен капиларном колоном SLB-5MS (фенилметилполисилоксан (5%) и диметилполисилоксан (95%), димензија 30 mm × 0,25 mm, дебљина филма 0,25 μm, *Agilent Technologies*, САД), а који је директно куплован са 5975В масеним детектором исте компаније. Јонизација је вршена електронима енергије 70 eV. Масени скен је бележен у интервалу m/z 35-600 (брзина скенирања 5 скенова у секунди), а време скенирања је било 0,32 секунде. Режим рада инструмента: температура ињектора и трансфер линије су одржаване на 250° и 320 °C (редом); температура пећи је програмирана линеарно од 70° до 315 °C брзином од 5 °C/min, након тога је температура одржавана 10 или 30 минута на 315 °C. Као носећи гас је коришћен хелијум са константним протоком од 1,0 ml/min; пулсно је инјектирана запремина од 1 μl раствора испитиване реакционе смеше или хроматографске фракције.

Састав реакционих смеша и хроматографских фракција је одређен на основу анализе фрагментације и/или поређења њихових масених скенова, након деконволуције програмом *AMDIS* (енгл. *Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System*, ver. 2,68; DTRA/NIST) са масеним спектром стандарда и/или масеним спектрима из *Wiley 7* и *NIST11* библиотека. Процентуални састав је добијен интеграљењем хроматограма без коришћења корекционих фактора. Линеарни ретенциони индекси анализата одређени су коинјекцијом са хомологом серијом *n*-алкана од C₈-C₄₀ [134].

3.2.2. НУКЛЕАРНО-МАГНЕТНА РЕЗОНАНТНА (NMR) СПЕКТРОСКОПИЈА

Сви једнодимензионални (¹H и ¹³C) и дводимензионални (grHSQC, grHMBC, gr¹H-¹H COSY, ROESY и NOESY) NMR спектри су снимљени на спектрометру *Bruker Avance III* (*Bruker Corporation*, Швајцарска, на 400 MHz за ¹H и 100,6 MHz за ¹³C). Сви спектри снимљени су на 25 °C у деутерисаном хлороформу (CDCl₃), деутерисаном диметил-сулфоксиду (DMSO-*d*₆) и деутерисаном метанолу (CD₃OD). Изузетак је једињење **91-cis** чији је ¹H спектар снимљен и на повишеним температурама (до 60 °C). Хемијска померања (δ) су дата у ppm јединицама у односу на тетраметилсилан (TMS, Me₄Si) и/или у односу на (резидуалне) пикове недеутерисаних/деутерисаних растварача као унутрашњих стандарда. Вредности δ_H су заокружене на две децимале,

осим када су додатне цифре биле неопходне како би се приказала разлика између сигнала, а δ_C вредности су заокружене на једну децималу, сем када је разлика између два померања била на другој децимали. Константе купловања (J) изражене су у херцима (Hz). Добијени спектрални подаци, обрађени су *MestreNova* софтвером (14.1.2-25024, *Mestrelab Research S.L.*, Шпанија).

3.2.3. ^1H NMR ПОТПУНА СПИНСКА АНАЛИЗА

^1H NMR потпуна спинска анализа синтетисаних једињења вршена је итеративним подешавањем вредности хемијских померања и константи спрезања, како би се уклопиле са експериментално добијеним вредностима такође помоћу *MestreNova* 14.1.2 софтверског пакета. Ово је резултирало систематским утанчавањем свих израчунатих NMR параметара све док се резултат симулације није одлично слагао ($\text{NRMSD} < 0,05\%$) са експериментално добијеним спектрима синтетисаних једињења. ^1H -NMR спектри дијастереомера (које није било могуће раздвојити) и ротамера су симулирани независно, а затим спојени у збирни спектар узимајући у обзир њихову заступљеност у смешама. У симулационим експериментима као значајне су узете четири и две децимале за вредности δ_H и J , редом. Дате вредности δ_H заокружене су на две децимале, осим у случајевима када је било потребно приказати разлику између сигнала са више цифара.

3.2.4. ИНФРАЦРВЕНА СПЕКТРОСКОПИЈА СА ФУРИЈЕОВОМ ТРАНСФОРМАЦИЈОМ (FTIR)

FTIR инфрацрвени спектри чистих синтетисаних једињења снимани су у танком слоју (*neat*) на инструменту *Thermo Nicolet*, модел 6700 (*Waltham*, САД). Фреквенције вибрација су изражене у таласним бројевима (cm^{-1}).

3.2.5. УЛТРАЉУБИЧАСТА СПЕКТРОСКОПИЈА (UV)

UV-vis спектри чистих синтетисаних једињења снимљени су на UV-1800 UV-Vis спектрофотометру (*Shimadzu*, Јапан), а као растварач је коришћен MeCN.

3.2.6. МАСЕНА СПЕКТРОМЕТРИЈА ВИСОКОГ РАЗЛАГАЊА (HRMS)

Масена спектрометрија високог разлагања (резолуције) синтетисаних једињења је извршена на *JEOL Mstation JMS-700* масеном спектрометру (*JEOL Ltd.*, Јапан) при

енергији јонизације од 70 eV, јонској замци (енг. *ion trap*) од 300 μ A и температури јонског извора од 230 °C. Грешка добијеног елементног састава израчуната је *MStation* софтвером и дата је у атом јединицама.

3.2.7. РЕНДГЕНСКА СТРУКТУРНА АНАЛИЗА

Дифракциони подаци су прикупљени на *Gemini S* дифрактометру (*Oxford Diffraction*, Пољска), опремљеног *Sapphire 3* детектором. Подаци су прикупљани на собној температури користећи Мо $K\alpha$ зрачење. Сирове дифракционе слике су обрађене програмом *CrysAlisPro* [135]. Структурна анализа је извршена употребом програма *SHELXT* [136] за иницијално решавање структуре, док је утачњавање модела урађено у програму *SHELXL* [137] користећи графички интерфејс *ShelXle* [138]. Позиције атома водоника су постављене на израчуната места идеално у односу на њихове матичне атоме. Валидација добијеног структурног модела обављена је интерно помоћу програма *PLATON* [139], док је екстерна валидација извршена поређењем са подацима из Кембричке банке структурних података (*Cambridge Structural Database*) [140] користећи програме *Mercury CSD* и *Mogul* [141,142].

3.2.8. ОПТИЧКА РОТАЦИЈА

Оптичка ротација је мерена у CH_2Cl_2 помоћу полариметра *Autopol IV* (*Rudolph Research Analytical*, САД) који је опремљен натријумовом лампом (589 nm) и ћелијом запремине 1 ml и дужине пута 1 dm.

3.2.9. ЦИКЛИЧНА ВОЛТАМЕТРИЈА

Волтаметријски експерименти су спроведени на *VoltaLab PST 050* инструменту (*Radiometer Analytical*, Француска) коришћењем диск електроде од стаклог угљеника (GC) која је куплована са бројачем од платинасте жице као радне електроде и zasiћене каломеле електроде (SCE) као референтне. Сви потенцијали су изражени у односу на ову электроду. Брзине примењених скенова су биле од 0,02 до 2 V/s. Мерења су вршена у раствору двоструко дестилованог DMF растварача који је претходно сушен изнад молекулских сита и анхидрованог Na_2SO_4 у присуству електролита тетрабутиламонијум-перхлората (0,1 M). Из раствора су пажљиво уклоњени заробљени гасови межурићима азота пре експеримента, а током мерења је одржавана јака струја гаса.

3.2.10. ЕЛЕМЕНТНА МИКРОАНАЛИЗА

Елементна микроанализа је вршена у *Vario EL III Elemental* анализатору (*Elementar Analysensysteme GmbH*, Немачка) како би се одредио садржај С, Н, N и S.

3.2.11. ТАНКΟΣЛОЈНА ХРОМАТОГРАФИЈА (TLC)

Танкослојна хроматографија (енг. *Thin-Layer Chromatography*, TLC) вршена је на алуминијумским плочама са претходно нанесеним слојем силика-гела 60 F₂₅₄ (*MachereyNagel GmbH & Co. KG*, Немачка). Као елуент су коришћене смеше *n*-хексана и Et₂O, CH₂Cl₂ и MeOH (са или без додатка NH₃) различитих поларности. Мрље на TLC-плочама су визуализоване помоћу UV-лампе (254 и 365 nm) и/или воденим раствором H₂SO₄ (50%, v/v) након чега су плоче кратко загреване до појаве мрља.

3.2.12. ХРОМАТОГРАФИЈА НА КОЛОНИ

За пречишћавање синтетисаних хибрида помоћу гравитационе колонске хроматографије коришћене су колоне (од 20 до 70 cm, пречника од 1 до 3 cm) напаковане силика гелом (>230 меша; *Merck*, Немачка). Смеше *n*-хексана и Et₂O, CH₂Cl₂ и MeOH (са или без додатка NH₃) различитих поларности су коришћене као елуент.

3.2.13. DRY-FLASH ХРОМАТОГРАФИЈА

За препаративно пречишћавање фeroценилкарбалдехида (**67**; Fc-CHO) коришћена је апаратура за *dry-flash* хроматографију, која се састојала од колоне силика-гела (>230 меша; *Merck*, Немачка) напаковане на синтерованом стакленом левку средње порозности и стандардне боце за вакуум филтрацију. Смеша *n*-хексана и Et₂O је коришћена као елуент.

3.3. СИНТЕЗА И ПРЕЧИШЋАВАЊЕ

3.3.1. СИНТЕЗА БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-1

3.3.1.1. СИНТЕЗА Fc-CHO (**67**)

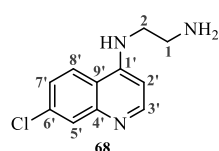
Фероценкарбалдехид (Fc-CHO; **67**) је добијен формиловањем фероцена по раније објављеној процедури [143]. Смеша фероцена (1,86 g, 10 mmol) и CH(OEt)₃ (10 ml, 60

mmol) у анхидрованом CH_2Cl_2 (30 ml) је, уз мешање, охлађена на леденом купатилу. Анхидровани AlCl_3 (11,75 g, 88 mmol) је затим полако додат у раствор уз интензивно мешање. По завршетку додавања ледено купатило је уклоњено и смеша је мешана још 90 минута на собној температури у атмосфери N_2 , након чега је пажљиво изливена у ледено хладни раствор $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Производ је екстрахован Et_2O (3×50 ml), спојени органски слојеви су сушени анхидрованим MgSO_4 , а растварач је упарен при сниженом притиску. Сирови Fc-CHO (**67**) је пречишћен *dry-flash* хроматографијом на силика-гелу коришћењем смеше *n*-хексан/ Et_2O (од 0 до 20% Et_2O , v/v). Добијено је 1,48 g чистог Fc-CHO (**67**; принос 69,2%). Чистоћа алдехида **67** потврђена је TLC и GC-MS анализом.

3.3.1.2. ОПШТА ПРОЦЕДУРА ЗА ДОБИЈАЊЕ *N*-(7-ХЛОРХИНОЛИН-4-ИЛ)ДИАМИНОАЛКАНА

Смеша 4,7-дихлорхинолина (1,0 еквивалент) и одговарајућег амина (5 еквивалената) је загревана на 110 °C током 6 h у атмосфери N_2 , а затим охлађена до собне температуре. У охлађену смешу додат је водени раствор NaOH (1 M, 5 ml), издвојени талог је одвојен помоћу вакуум-филтрације и сушен у ексикатору преко ноћи. Добијени су бледо-жути кристали (принос 88-94%) за које је након NMR анализе утврђено да су довољно чисти и да се могу даље користити без додатног пречишћавања [144].

***N*-(7-хлорхинолин-4-ил)-1,2-диаминоетан (**68**)**. Бледо-жута кристална супстанца;

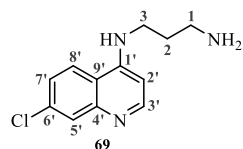


принос 90,3% (1,02 g, 4,6 mmol). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 8,52 (d, 3J = 5,37 Hz, 1H, H-3'), 7,94 (d, 4J = 2,15 Hz, 1H, H-5'), 7,74 (d, 3J = 8,90 Hz, 1H, H-8'), 7,34 (dd, 3J = 8,90, 4J = 2,15 Hz, 1H, H-7'), 6,39 (d, 3J = 5,37 Hz, 1H, H-2'), 5,86 (br t, 3J = 6,60 Hz, 1H, N-H), 3,31 (dt, 3J = 6,60, 4,90 Hz, 2H, H-2), 3,11 (m, 2H, H-1), 1,46 ppm (br s, 2H, NH_2). ^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3): δ = 152,2 (C-3'), 150,0 (C-1'), 149,3 (C-4'), 134,9 (C-6'), 128,8 (C-5'), 125,3 (C-7'), 121,4 (C-7'), 117,5 (C-9'), 99,3 (C-2'), 44,8 (C-2), 40,3 ppm (C-1).

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 8,39 (d, 3J = 5,5 Hz, 1H, H-3'), 8,30 (d, 3J = 9,0 Hz, 1H, H-8'), 7,78 (d, 4J = 2,2 Hz, 1H, H-5'), 7,44 (dd, 3J = 9,0, 4J = 2,2 Hz, 1H, H-7'), 7,35 (br t, 3J = 5,0 Hz, 1H, N-H), 6,50 (d, 3J = 5,5 Hz, 1H, H-2'), 3,24-3,32 (m, 2H, H-2), 2,85 ppm (t, 3J = 6,4 Hz, 2H, H-1). ^{13}C NMR (100,6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 151,9 (C-3'), 150,3 (C-1'), 149,1 (C-4'), 133,4 (C-6'), 127,5 (C-5'), 124,2 (C-8'), 124,0 (C-7'), 117,5 (C-9'), 98,7 (C-2'), 45,6 (C-2), 39,8 ppm (C-1).

FTIR-ATR (cm^{-1}): $\tilde{\nu} = 3247$ (br; $\nu(\text{N-H})$), 3055 (br; $\nu(\text{arC-H})$), 2931 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{as}}$), 2850 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{s}}$), 1579 (s; $\nu(\text{C=C})$), 1542 (m), 1328 (m), 1141 (w; $\nu(\text{C-N})$), 950 (m), 870 (s), 800 (s).

N-(7-хлорхинолин-4-ил)-1,3-диаминопропан (69). Бледо-жута кристална супстанца;



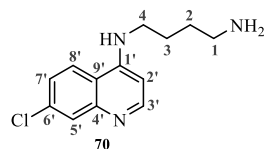
принос 93,7% (1,12 g, 4,7 mmol). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 8,49$ (d, $^3J = 5,37$ Hz, 1H, H-3'), 7,91 (d, $^4J = 2,10$ Hz, 1H, H-5'), 7,71 (d, $^3J = 8,90$ Hz, 1H, H-8'), 7,55 (br t, $^3J = 4,25$ Hz, 1H, N-H), 7,29 (dd, $^3J = 8,90$, $^4J = 2,10$ Hz, 1H, H-7'), 6,31 (d, $^3J = 5,37$ Hz, 1H, H-2'), 3,39 (td, $^3J = 6,00$, 4,25 Hz, 2H, H-3), 3,04 (m, 2H, H-1), 1,88 (m, 2H, H-2), 1,60 ppm (br s, 2H, NH_2).

^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3): $\delta = 152,2$ (C-3'), 150,5 (C-1'), 149,2 (C-4'), 134,7 (C-6'), 128,6 (C-5'), 125,0 (C-7'), 122,2 (C-8'), 117,6 (C-9'), 98,3 (C-2'), 43,8 (C-3), 41,6 (C-1), 30,0 ppm (C-2).

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): $\delta = 8,39$ (d, $^3J = 5,40$ Hz, 1H, H-3'), 8,24 (d, $^3J = 8,90$ Hz, 1H, H-8'), 7,78 (d, $^4J = 2,30$ Hz, 1H, H-5'), 7,56 (br s, 1H, N-H), 7,44 (dd, $^3J = 8,90$, $^4J = 2,30$ Hz, 1H, H-7'), 6,48 (d, $^3J = 5,40$ Hz, 1H, H-2'), 3,45-3,25 (m, преклопљен са сигналом који потиче од присутне H_2O , 2H, H-3), 2,70 (t, $^3J = 6,70$ Hz, 2H, H-1), 1,75 ppm (p, $^3J = 6,70$ Hz, 2H, H-2). ^{13}C NMR (100,6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): $\delta = 152,0$ (C-3'), 150,2 (C-1'), 149,1 (C-4'), 133,4 (C-6'), 127,5 (C-5'), 124,0 (C-8'), 124,0 (C-7'), 117,5 (C-9'), 98,6 (C-2'), 40,6 (C-3), 39,4 (C-1), 31,0 ppm (C-2).

FTIR-ATR (cm^{-1}): $\tilde{\nu} = 3238$ (br; $\nu(\text{N-H})$), 3059 (br; $\nu(\text{arC-H})$), 2933 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{as}}$), 2868 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{s}}$), 1575 (s; $\nu(\text{C=C})$), 1540 (m), 1330 (m), 1137 (w; $\nu(\text{C-N})$), 850 (m), 800 (s).

N-(7-хлорхинолин-4-ил)-1,4-диаминобутан (70). Бледо-жута кристална супстанца;



принос 88,8% (1,13 g, 4,5 mmol). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 8,49$ (d, $^3J = 5,35$ Hz, 1H, H-3'), 7,93 (d, $^4J = 2,1$ Hz, 1H, H-5'), 7,75 (d, $^3J = 8,9$ Hz, 1H, H-8'), 7,30 (dd, $^3J = 8,9$, $^4J = 2,1$ Hz, 1H, H-7'), 6,35 (d, $^3J = 5,35$ Hz, 1H, H-2'), 6,16 (br t, $^3J = 4,6$ Hz, 1H, N-H), 3,28 (td, $^3J = 6,6$, 4,6 Hz, 2H, H-4), 2,80 (t, $^3J = 6,6$, 2H, H-1), 1,84 (m, 2H, H-3), 1,71 (br s, 2H, NH_2), 1,63 ppm (m, 2H, H-2).

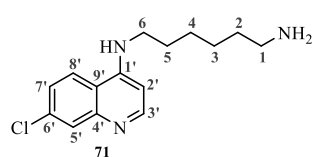
^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3): $\delta = 152,1$ (C-3'), 150,2 (C-1'), 149,2 (C-4'), 134,7 (C-6'), 128,6 (C-5'), 125,1 (C-7'), 121,7 (C-8'), 117,5 (C-9'), 98,9 (C-2'), 43,3 (C-4), 41,6 (C-1), 30,9 (C-2), 26,1 ppm (C-3).

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): $\delta = 8,38$ (d, $^3J = 5,40$ Hz, 1H, H-3'), 8,28 (d, $^3J = 9,00$ Hz, 1H, H-8'), 7,78 (d, $^4J = 2,20$ Hz, 1H, H-5'), 7,44 (dd, $^3J = 9,00$, $^4J = 2,20$ Hz, 1H, H-7'), 7,40

(br s, 1H, N-H), 6,46 (d, $^3J = 5,40$ Hz, 1H, H-2'), 3,25 (br t, $^3J = 7,00$ Hz, 2H, H-4), 2,59 (t, $^3J = 7,00$ Hz, 2H, H-1), 1,68 (p, $^3J = 7,00, 7,00$ Hz, 2H, H-3), 1,46 ppm (p, $^3J = 7,00, 7,00$ Hz, 2H, H-2). ^{13}C NMR (100,6 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 151,9$ (C-3'), 150,1 (C-1'), 149,1 (C-4'), 133,3 (C-6'), 127,5 (C-5'), 124,0 (C-8'), 124,0 (C-7'), 117,5 (C-9'), 98,6 (C-2'), 42,4 (C-4), 41,4 (C-1), 30,7 (C-2), 25,3 ppm (C-3).

FTIR-ATR (ATR, cm^{-1}): $\tilde{\nu} = 3205$ (br; $\nu(\text{N-H})$), 3052 (br; $\nu(\text{arC-H})$), 2926 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{as}}$), 2855 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{s}}$), 1578 (s; $\nu(\text{C=C})$), 1544 (m), 1327 (m), 1154 (w; $\nu(\text{C-N})$), 846 (m), 798 (s).

***N*-(7-хлорхинолин-4-ил)-1,6-диаминохексан (71).** Бледо-жута кристална супстанца;



принос 91,8% (1,3 g, 4,7 mmol). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 8,54$ (d, $^3J = 5,4$ Hz, 1H, H-3'), 7,96 (d, $^4J = 2,2$ Hz, 1H, H-5'), 7,66 (d, $^3J = 8,9$ Hz, 1H, H-8'), 7,37 (dd, $^3J = 8,9, ^4J = 2,2$ Hz, 1H, H-7'), 6,42 (d, $^3J = 5,4$ Hz, 1H, H-2'), 4,97 (br t, $^3J = 5,0$ Hz, 1H, N-H), 3,32 (td, $^3J = 7,2, 5,0$ Hz, 2H, H-6), 2,72 (t, $^3J = 6,7$, 2H, H-1), 1,78 (pseudo p, $^3J = 7,2$, 2H, H-5), 1,55-1,40 (m, 6H, H-2, H-3 и H-4), 1,59 ppm (br s, 2H, NH_2). ^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3): $\delta = 152,2$ (C-3'), 149,8 (C-1'), 149,3 (C-4'), 135,0 (C-6'), 129,1 (C-5'), 125,4 (C-7'), 120,9 (C-8'), 117,2 (C-9'), 99,2 (C-2'), 43,4 (C-6), 42,2 (C-1), 33,7 (C-2), 29,0 (C-5), 27,2 (C-4) 26,8 ppm (C-3).

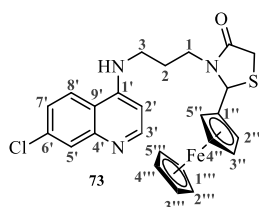
^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,38$ (d, $^3J = 5,4$ Hz, 1H, H-3'), 8,29 (d, $^3J = 9,0$ Hz, 1H, H-8'), 7,78 (d, $^4J = 2,2$ Hz, 1H, H-5'), 7,44 (dd, $^3J = 9,0, ^4J = 2,2$ Hz, 1H, H-7'), 7,31 (br t, $^3J = 5,0$ Hz, 1H, N-H), 6,45 (d, $^3J = 5,4$ Hz, 1H, H-2'), 3,25 (td, $^3J = 7,0, 5,0$ Hz, 2H, H-6), 2,53 (m, преклопљен са сигналом DMSO- d_5 , 2H, H-1), 1,65 (pseudo p, $^3J = 7,0$ Hz, 2H, H-5), 1,42-1,28 ppm (m, 6H, H-2, H-3 и H-4). ^{13}C NMR (100,6 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 151,9$ (C-3'), 150,1 (C-1'), 149,1 (C-4'), 133,3 (C-6'), 127,5 (C-5'), 124,1 (C-8'), 124,0 (C-7'), 117,5 (C-9'), 98,6 (C-2'), 42,4 (C-6), 41,5 (C-1), 33,1 (C-2), 27,8 (C-5), 26,6 (C-4), 26,2 ppm (C-3).

FTIR-ATR (cm^{-1}): $\tilde{\nu} = 3261$ (br; $\nu(\text{N-H})$), 3055 (br; $\nu(\text{arC-H})$), 2930 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{as}}$), 2854 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{s}}$), 1575 (s; $\nu(\text{C=C})$), 1540 (m), 1368 (m), 1133 (w; $\nu(\text{C-N})$), 850 (m), 799 (m).

3.3.1.3. ОПШТА ПРОЦЕДУРА ЗА ДОБИЈАЊЕ ХИБРИДА **73-81** У ТРОКОМПОНЕНТНОЈ РЕАКЦИЈИ (ЕНГ. ONE-POT THREE-COMPONENT REACTION)

Одговарајући диамин (**68-71**, 1,0 еквивалент) и Fc-CHO (**67**; 1,0 еквивалент) су мешани помоћу ултразвука у MeCN (30 ml) током 20 минута на собној температури. Затим је додат DCC (2,0 еквивалента) и одговарајућа меркапто киселина (**72a-c**; 2,0 еквивалента), па је добијена смеша мешана још 3 h на собној температури. Настала N,N' -дициклохексилуреа је уклоњена филтрацијом, филтрат је уконцентрован при сниженом притиску, а остатак растворен у CH_2Cl_2 (20 ml). Органски слој је редом испран са по 5 ml воденог раствора Na_2CO_3 (10%, w/v), воденог раствора $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (5%, w/v) и засићеног воденог раствора NaCl . Након испирања, органски слој је сушен анхидрованим MgSO_4 , а растварач је упарен при сниженом притиску. Добијени производ је пречишћен хроматографијом на колони на силика-гелу при градијентним условима употребом $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ смеше (од 0 до 10% MeOH , v/v) засићене амонијаком као елуентом. Структуре добијених хибрида **73-81** су потврђене NMR, IR, UV-vis, HRMS и елементном анализом. ^1H и ^{13}C NMR спектри ових хибрида су дати у прилогу (прилог 1-24).

2-Фероценил-3-(3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил)-1,3-тијазолидин-4-он (**73**).



Жута уљаста супстанца; принос 30,6% (35,9 mg, 0,07 mmol). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 8,44 (d, 3J = 5,40 Hz, 1H, H-3'), 7,91 (d, 4J = 2,10 Hz, 1H, H-5'), 7,87 (d, 3J = 8,95 Hz, 1H, H-8'), 7,36 (dd, 3J = 8,95, 4J = 2,10 Hz, 1H, H-7'), 6,40 (br dd, 3J = 5,50, 5,00 Hz, 1H, N-H), 6,26 (d, 3J = 5,40 Hz, 1H, H-2'), 5,51 (br dddd, 4J = 1,80, 1,60, 0,40, 5J = 0,55 Hz, 1H, N-CH-S), 4,43 (dddd, 3J = 2,50, 4J = 1,45, 1,30, 0,40 Hz, 1H, H-2''), 4,31 (tdd, 3J = 2,50, 2,50, 4J = 1,30, 5J = 0,55 Hz, 1H, H-3''), 4,25 (s, 5H, H-1''', H-2''', H-3''', H-4''' и H-5'''), 4,24 (ddd, 3J = 2,60, 2,50, 4J = 1,45 Hz, 1H, H-4''), 4,23 (dt, 3J = 2,60, 4J = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-5''), 3,72 (dd, 2J = -15,70, 4J = 1,60 Hz, 1H, S-CH_AH_B-C=O), 3,69 (dd, 2J = -15,70, 4J = 1,80 Hz, 1H, S-CH_AH_B-C=O), 3,36 (ddd, 2J = -14,30, 3J = 7,70, 5,20 Hz, 1H, H-1_A), 3,20 (ddd, 2J = -14,30, 3J = 7,00, 5,00 Hz, 1H, H-1_B), 3,192 (dddd, 2J = -12,00, 3J = 6,70, 5,50, 5,00 Hz, 1H, H-3_A), 3,187 (dddd, 2J = -12,00, 3J = 6,60, 6,50, 5,50 Hz, 1H, H-3_B), 1,61-1,51 (m, 1H, H-2_A), 1,35-1,26 ppm (m, 1H, H-2_B). ^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3): δ = 172,2 (C=O), 151,9 (C-3'), 149,9 (C-1'), 149,3 (C-4'), 135,0 (C-6'), 128,5 (C-5'), 125,4 (C-7'), 121,9 (C-8'), 117,7 (C-9'), 98,5 (C-2'), 84,6 (C-1''), 70,4 (C-3''), 70,3 (C-5''), 69,3 (C-1''',

C-2''', C-3''', C-4''' и C-5'''), 69,1 (C-4''), 67,8 (C-2''), 62,7 (N-CH-S), 40,3 (C-1), 38,9 (C-3), 33,6 (S-CH_AH_B-C=O), 25,7 ppm (C-2).

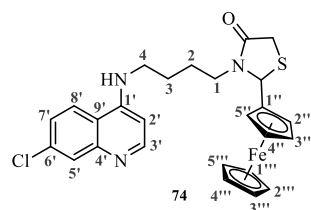
FTIR-ATR (cm⁻¹): $\tilde{\nu}$ = 3333 (br; ν (N-H)), 3090 (br; ν (arC-H)), 2924 (w; ν (CH₂)_{as}), 2849 (w; ν (CH₂)_s), 1657 (m; ν (C=O)), 1607 (w; ν (C=N)), 1575 (s; ν (C=C)), 1534 (w; δ (C-H) или ν (C-C)), 1147 (w; ν (C-N)), 891, 803.

UV-vis (MeCN) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 432,0 (2,17), 330,0 (3,97), 254,5 (4,27), 211,0 (4,74).

HRMS (EI): m/z [M]⁺ израчунато за C₂₅H₂₄ClFeN₃OS⁺: 505,0678, нађено: 505,0671.

Елементна анализа: израчунато за C₂₅H₂₄ClFeN₃OS: C - 59,36, H - 4,78, N - 8,31, S - 6,34; нађено: C - 59,70, H - 4,82, N - 8,21, S - 6,11.

2-Фероценил-3-(4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил)-1,3-тијазолидин-4-он (74).



Жута уљаста супстанца; принос 43,2% (48,7 mg, 0,09 mmol). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8,50 (d, ³J = 5,40 Hz, 1H, H-3'), 7,94 (d, ⁴J = 2,05 Hz, 1H, H-5'), 7,79 (d, ³J = 9,00 Hz, 1H, H-8'), 7,36 (dd, ³J = 9,00, ⁴J = 2,05 Hz, 1H, H-7'), 6,33 (d, ³J = 5,40 Hz, 1H, H-2'), 5,51 (dd, ⁴J = 2,00, 1,50 Hz, 1H, N-CH-S), 5,49 (br dd, ³J = 5,50, 3,00 Hz, 1H, N-H), 4,45 (dt, ³J = 2,45, ⁴J = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-2''), 4,25 (ddd, ³J = 2,45, 2,40, ⁴J = 1,40 Hz, 1H, H-3''), 4,24 (s, 5H, H-1''', H-2''', H-3''', H-4''' и H-5'''), 4,20 (ddd, ³J = 2,45, ⁴J = 1,40, 1,30 Hz, 1H, H-5''), 4,18 (ddd, ³J = 2,45, 2,40, ⁴J = 1,30 Hz, 1H, H-4''), 3,67 (dd, ²J = -15,50, ⁴J = 1,50 Hz, 1H, S-CH_AH_B-C=O), 3,66 (dd, ²J = -15,50, ⁴J = 2,00 Hz, 1H, S-CH_AH_B-C=O), 3,28 (ddd, ²J = -13,70, ³J = 7,50, 6,50 Hz, 1H, H-1_A), 3,26 (dddd, ²J = -12,50, ³J = 7,00, 5,00, 3,00 Hz, 1H, H-4_A), 3,24 (dddd, ²J = -12,50, ³J = 6,50, 6,00, 5,50 Hz, 1H, H-4_B), 3,18 (ddd, ²J = -13,70, ³J = 8,00, 6,30 Hz, 1H, H-1_B), 1,63 (dddd, ²J = -13,50, ³J = 7,50, 6,50, 6,00, 5,00 Hz, 1H, H-3_A), 1,59 (dq, ²J = -13,50, ³J = 7,00, 6,50 Hz, 1H, H-3_B), 1,42 (dddd, ²J = -14,20, ³J = 7,50, 7,00, 6,50, 6,30 Hz, 1H, H-2_A), 1,36 ppm (dddd, ²J = -14,20, ³J = 8,00, 7,50, 7,00, 6,50 Hz, 1H, H-2_B). ¹³C NMR (100,6 MHz, CDCl₃): δ = 171,1 (C=O), 152,0 (C-3'), 150,0 (C-1'), 149,1 (C-4'), 135,0 (C-6'), 128,7 (C-5'), 125,4 (C-7'), 121,6 (C-8'), 117,4 (C-9'), 99,1 (C-2'), 84,9 (C-1''), 70,2 (C-4''), 70,1 (C-5''), 69,3 (C-1''', C-2''', C-3''', C-4''' и C-5'''), 68,8 (C-3''), 67,9 (C-2''), 62,1 (N-CH-S), 43,1 (C-4), 42,3 (C-1), 33,6 (S-CH_AH_B-C=O), 25,4 (C-2), 25,1 ppm (C-3).

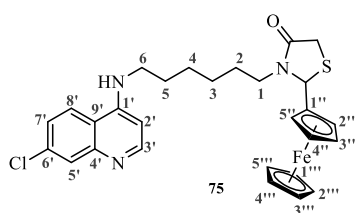
FTIR-ATR (cm^{-1}): $\tilde{\nu}$ = 3362 (br; $\nu(\text{N-H})$), 3068 (br; $\nu(\text{arC-H})$), 2933 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{as}}$), 2849 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{s}}$), 1662 (s; $\nu(\text{C=O})$), 1611 (w; $\nu(\text{C=N})$), 1572 (s; $\nu(\text{C=C})$), 1535 (w; $\delta(\text{C-H})$ или $\nu(\text{C-C})$), 1133 (w; $\nu(\text{C-N})$), 808.

UV-vis (MeCN) λ_{max} (log ϵ) 413,0 (2,28), 330,0 (3,90), 255,5 (4,22), 210,5 (4,70).

HRMS (EI): m/z $[\text{M}]^+$ израчунато за $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{ClFeN}_3\text{OS}^+$: 519,0835, нађено: 519,0841.

Елементна анализа: израчунато за $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{ClFeN}_3\text{OS}$: C - 60,07, H - 5,04, N - 8,08, S - 6,17; нађено: C - 60,20, H - 5,28, N - 7,95, S - 6,35.

2-Фероценил-3-(6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил)-1,3-тијазолидин-4-он (75).



Жута уљаста супстанца; принос 39,5% (50,3 mg, 0,09 mmol).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 8,50 (d, 3J = 5,45 Hz, 1H, H-3'), 7,96 (d, 4J = 2,00 Hz, 1H, H-5'), 7,81 (d, 3J = 8,90 Hz, 1H, H-8'), 7,36 (dd, 3J = 8,90, 4J = 2,00 Hz, 1H, H-7'), 6,38 (d, 3J = 5,45 Hz, 1H, H-2'), 5,52 (br t, 4J = 1,58 Hz, 1H, N-CH-S), 5,49 (br t, 3J = 5,00 Hz 1H, N-H), 4,44 (dt, 3J = 2,50, 4J = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-2''), 4,29 (ddd, 3J = 2,50, 2,40, 4J = 1,30 Hz, 1H, H-3''), 4,25 (s, 5H, H-1''', H-2''', H-3''', H-4''' и H-5'''), 4,22 (dt, 3J = 2,50, 4J = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-5''), 4,21 (ddd, 3J = 2,50, 2,40, 4J = 1,30 Hz, 1H, H-4''), 3,64 (d, 4J = 1,58 Hz, 2H, S-CH₂-C=O), 3,36 (ddd, 2J = -13,80, 3J = 7,50, 7,30 Hz, 1H, H-1_A), 3,29 (dtd, 2J = -14,00, 3J = 7,00, 7,00, 5,00 Hz, 1H, H-6_A), 3,27 (dtd, 2J = -14,00, 3J = 7,00, 7,00, 5,00 Hz, 1H, H-6_B), 2,94 (ddd, 2J = -13,80, 3J = 9,00, 4,50 Hz, 1H, H-1_B), 1,71 (ddtd, 2J = -14,00, 3J = 8,00, 7,00, 7,00, 6,50 Hz, 1H, H-5_A), 1,66 (ddtd, 2J = -14,00, 3J = 8,00, 7,00, 7,00, 6,50 Hz, 1H, H-5_B), 1,50–1,17 ppm (m, 6H, H-2, H-3 и H-4). ^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3): δ = 170,7 (C=O), 151,5 (C-3'), 150,3 (C-1'), 148,7 (C-4'), 135,2 (C-6'), 128,3 (C-5'), 125,5 (C-7'), 121,6 (C-8'), 117,2 (C-9'), 99,0 (C-2'), 85,1 (C-1''), 70,2 (C-5'''), 70,1 (C-3'''), 69,3 (C-1''', C-2''', C-3''', C-4''' и C-5'''), 68,7 (C-4''), 67,9 (C-2''), 61,7 (N-CH-S), 42,8 (C-6), 41,9 (C-1), 33,7 (S-CH₂-C=O), 28,4 (C-5), 26,8 (C-2), 26,1 (C-4), 26,0 ppm (C-3).

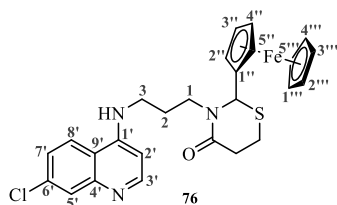
FTIR-ATR (cm^{-1}): $\tilde{\nu}$ = 3322 (br; $\nu(\text{N-H})$), 2928 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{as}}$), 2850 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{s}}$), 1655 (m; $\nu(\text{C=O})$), 1625 (m; $\nu(\text{C=N})$), 1576 (s; $\nu(\text{C=C})$), 1536 (w; $\delta(\text{C-H})$ или $\nu(\text{C-C})$), 1135 (w; $\nu(\text{C-N})$), 806.

UV-vis (MeCN) λ_{max} (log ϵ) 418,0 (2,25), 329,5 (3,91), 256,0 (4,23), 210,5 (4,73).

HRMS (EI): m/z $[\text{M}]^+$ израчунато за $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{ClFeN}_3\text{OS}^+$: 547,1148, нађено: 547,1144.

Елементна анализа: израчунато за $C_{28}H_{30}ClFeN_3OS$: C - 61,38, H - 5,52, N - 7,67, S - 5,85; нађено: C - 61,40, H - 5,65, N - 7,45, S - 5,55.

2-Фероценил-3-(3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил)-1,3-тијазинан-4-он (76).



Жута уљаста супстанца; принос 50,4% (90 mg, 0,17 mmol). 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 8,46 (d, 3J = 5,45 Hz, 1H, H-3'), 7,94 (d, 3J = 8,90 Hz, 1H, H-8'), 7,92 (d, 4J = 2,15 Hz, 1H, H-5'), 7,37 (dd, 3J = 8,90, 4J = 2,15 Hz, 1H, H-7'), 6,55 (br dd, 3J = 6,40, 5,00 Hz, 1H, N-H), 6,32 (d, 3J = 5,45 Hz, 1H, H-2'), 5,59 (br d, 4J = 0,60 Hz 1H, N-CH-S), 4,41 (dt, 3J = 2,50, 4J = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-2''), 4,25 (td, 3J = 2,50, 2,50, 4J = 1,30 Hz, 1H, H-3''), 4,20 (ddd, 3J = 2,50, 2,45, 4J = 1,30 Hz, 1H, H-4''), 4,19 (s, 5H, H-1''', H-2''', H-3''', H-4''' и H-5'''), 4,16 (dt, 3J = 2,45, 4J = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-5''), 3,74 (ddd, 2J = -14,20, 3J = 8,50, 5,60 Hz, 1H, H-1_A), 3,48 (ddd, 2J = -14,20, 3J = 6,00, 5,50 Hz, 1H, H-1_B), 3,32 (dtd, 2J = -13,70, 3J = 6,40, 6,40, 4,20 Hz, 1H, H-3_A), 3,19 (dddd, 2J = -13,70, 3J = 9,20, 5,00, 4,00 Hz, 1H, H-3_B), 2,96 (dtd, 2J = -13,00, 3J = 6,00, 6,00, 4J = 0,60 Hz, 1H, S-CH_AH_B-CH_CH_D-C=O), 2,86 (ddd, 2J = -13,00, 3J = 9,20, 5,20 Hz, 1H, S-CH_AH_B-CH_CH_D-C=O), 2,84 (ddd, 2J = -16,40, 3J = 9,20, 6,00 Hz, 1H, S-CH_AH_B-CH_CH_D-C=O), 2,82 (ddd, 2J = -16,40, 3J = 6,00, 5,20 Hz, 1H, S-CH_AH_B-CH_CH_D-C=O), 1,74 (dddd, 2J = -14,00, 3J = 8,50, 6,40, 5,50, 4,00 Hz, 1H, H-2_A), 1,69 ppm (dddd, 2J = -14,00, 3J = 9,20, 6,00, 5,60, 4,20 Hz, 1H, H-2_B). ^{13}C NMR (100,6 MHz, $CDCl_3$): δ = 171,5 (C=O), 151,9 (C-3'), 150,1 (C-1'), 149,3 (C-4'), 134,9 (C-6'), 128,5 (C-5'), 125,3 (C-7'), 122,1 (C-8'), 117,7 (C-9'), 98,5 (C-2'), 85,2 (C-1''), 69,7 (C-1''', C-2''', C-3''', C-4''' и C-5'''), 69,4 (C-3''), 69,2 (C-5''), 68,1 (C-4''), 68,0 (C-2''), 59,9 (N-CH-S), 42,7 (C-3), 39,4 (C-1), 34,0 (S-CH_AH_B-CH_CH_D-C=O), 26,8 (C-2), 24,1 ppm (S-CH_AH_B-CH_CH_D-C=O).

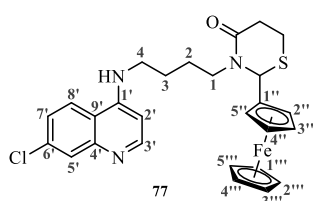
FTIR-ATR (cm^{-1}): $\tilde{\nu}$ = 3293 (br; $\nu(N-H)$), 3100 (br; $\nu(arC-H)$), 2937 (w; $\nu(CH_2)_{as}$), 2850 (w; $\nu(CH_2)_s$), 1650 (w; $\nu(C=O)$), 1609 (w; $\nu(C=N)$), 1577 (s; $\nu(C=C)$), 1538 (w; $\delta(C-H)$ или $\nu(C-C)$), 1143 (w; $\nu(C-N)$), 808, 731.

UV-vis (MeCN) λ_{max} (log ϵ) 435,0 (2,21), 330,0 (3,96), 255,5 (4,27), 210,5 (4,80).

HRMS (EI): m/z [M] $^+$ израчунато за $C_{26}H_{26}ClFeN_3OS^+$: 519,0835, нађено: 519,0843.

Елементна анализа: израчунато за $C_{26}H_{26}ClFeN_3OS$: C - 60,07, H - 5,04, N - 8,08, S - 6,17; нађено: C - 60,40, H - 5,01, N - 8,02, S - 5,99.

2-Фероценил-3-(4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил)-1,3-тијазинан-4-он (77).



Жута уљаста супстанца; принос 20,8% (31,1 mg, 0,06 mmol). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 8,50 (d, 3J = 5,40 Hz, 1H, H-3'), 7,95 (d, 4J = 2,10 Hz, 1H, H-5'), 7,86 (d, 3J = 8,90 Hz, 1H, H-8'), 7,37 (dd, 3J = 8,90, 4J = 2,10 Hz, 1H, H-7'), 6,36 (d, 3J = 5,40 Hz, 1H, H-2'), 5,70 (br t, 3J = 5,40 Hz, 1H, N-H), 5,58 (br d, 4J = 0,80 Hz, 1H, N-CH-S), 4,39 (dt, 3J = 2,60, 4J = 1,25, 1,25 Hz, 1H, H-2''), 4,23 (ddd, 3J = 2,60, 2,40, 4J = 1,30 Hz, 1H, H-3''), 4,19 (s, 5H, H-1''', H-2''', H-3''', H-4''' и H-5'''), 4,18 (ddd, 3J = 2,50, 2,40, 4J = 1,25 Hz, 1H, H-4''), 4,15 (ddd, 3J = 2,50, 4J = 1,30, 1,25 Hz, 1H, H-5''), 3,77 (ddd, 2J = -13,50, 3J = 8,00, 7,10 Hz, 1H, H-1_A), 3,36 (ddd, 2J = -13,50, 3J = 8,20, 5,40 Hz, 1H, H-1_B), 3,31 (ddd, 3J = 7,00, 6,00, 5,40 Hz, 2H, H-4), 2,93 (dddd, 2J = -12,60, 3J = 6,70, 5,20, 4J = 0,80 Hz, 1H, S-CH_AH_B-CHC_HD-C=O), 2,86 (ddd, 2J = -12,60, 3J = 9,40, 5,20 Hz, 1H, S-CH_AH_B-CHC_HD-C=O), 2,78 (ddd, 2J = -16,50, 3J = 9,40, 6,70 Hz, 1H, S-CH_AH_B-CHC_HD-C=O), 2,77 (dt, 2J = -16,50, 3J = 5,20, 5,20 Hz, 1H, S-CH_AH_B-CHC_HD-C=O), 1,691 (dq, 2J = -13,00, 3J = 7,00, 6,50 Hz, 1H, H-3_A), 1,690 (dddt, 2J = -13,00, 3J = 8,00, 7,00, 6,00 Hz, 1H, H-3_B), 1,65 (dddt, 2J = -14,50, 3J = 8,20, 7,10, 7,00 Hz, 1H, H-2_B), 1,62 ppm (dtdd, 2J = -14,50, 3J = 8,00, 8,00, 6,50, 5,40 Hz, 1H, H-2_A). ^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3): δ = 170,7 (C=O), 152,0 (C-3'), 150,1 (C-1'), 149,2 (C-4'), 135,0 (C-6'), 128,6 (C-5'), 125,4 (C-7'), 121,8 (C-8'), 117,5 (C-9'), 99,1 (C-2'), 85,9 (C-1''), 69,7 (C-1''', C-2''', C-3''', C-4''' и C-5'''), 69,2 (C-3''), 69,0 (C-5''), 68,0 (C-2''), 67,9 (C-4''), 59,7 (N-CH-S), 45,3 (C-1), 43,1 (C-4), 34,1 (S-CH_AH_B-CHC_HD-C=O), 26,2 (C-2), 25,3 (C-3), 24,1 ppm (S-CH_AH_B-CHC_HD-C=O).

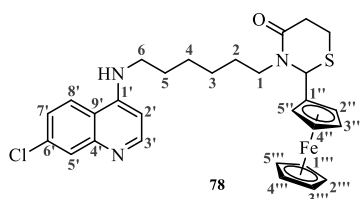
FTIR-ATR (cm^{-1}): $\tilde{\nu}$ = 3367 (br; $\nu(\text{N-H})$), 3100 (br; $\nu(\text{arC-H})$), 2926 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{as}}$), 2857 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{s}}$), 1646 (m; $\nu(\text{C=O})$), 1620 (m; $\nu(\text{C=N})$), 1567 (s; $\nu(\text{C=C})$), 1531 (w; $\delta(\text{C-H})$ или $\nu(\text{C-C})$), 1363, 1124 (w; $\nu(\text{C-N})$), 810.

UV-vis (MeCN) λ_{max} (log ϵ) 435,0 (2,30), 329,5 (3,87), 256,0 (4,21), 210,5 (4,71).

HRMS (EI): m/z [M] $^+$ израчунато за $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{ClFeN}_3\text{OS}^+$: 533,0991, нађено: 533,0983.

Елементна анализа: израчунато за $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{ClFeN}_3\text{OS}$: C - 60,74, H - 5,29, N - 7,87, S - 6,00; нађено: C - 60,96, H - 5,05, N - 7,98, S - 5,97.

2-Фероценил-3-(6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил)-1,3-тијазинан-4-он (78).



Жута уљаста супстанца; принос 42,5% (73,1 mg, 0,13 mmol). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 8,52 (d, 3J = 5,40 Hz, 1H, H-3'), 7,95 (d, 4J = 2,10 Hz, 1H, H-5'), 7,78 (d, 3J = 8,90 Hz, 1H, H-8'), 7,35 (dd, 3J = 8,90, 4J = 2,10 Hz, 1H, H-7'), 6,40 (d, 3J = 5,40 Hz, 1H, H-2'), 5,56 (br t, 4J = 0,50 Hz, 1H, N-CH-S), 5,31 (br t, 3J = 5,00 Hz, 1H, N-H), 4,38 (dt, 3J = 2,55, 4J = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-2''), 4,24 (ddd, 3J = 2,55, 2,50, 4J = 1,30 Hz, 1H, H-3''), 4,19 (ddd, 3J = 2,55, 2,50, 4J = 1,30 Hz, 1H, H-4''), 4,18 (s, 5H, H-1''', H-2''', H-3''', H-4''' и H-5'''), 4,15 (dt, 3J = 2,55, 4J = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-5''), 3,90 (dt, 2J = -13,70, 3J = 7,60, 7,60 Hz, 1H, H-1_A), 3,30 (dddd, 2J = -12,00, 3J = 7,00, 6,50, 5,00 Hz, 1H, H-6_A), 3,29 (dddd, 2J = -12,00, 3J = 7,00, 6,50, 5,00 Hz, 1H, H-6_B), 3,23 (dt, 2J = -13,70, 3J = 7,00, 7,00 Hz, 1H, H-1_B), 2,8368 (ddd, 2J = -14,00, 3J = 8,30, 6,20 Hz, 1H, S-CH_AH_B-CH_CH_D-C=O), 2,8367 (ddd, 2J = -14,00, 3J = 6,50, 5,30 Hz, 1H, S-CH_AH_B-CH_CH_D-C=O), 2,73 (dddd, 2J = -16,80, 3J = 8,30, 6,50, 4J = 0,50 Hz, 1H, S-CH_AH_B-CH_CH_D-C=O), 2,71 (dddd, 2J = -16,80, 3J = 6,20, 5,30, 4J = 0,50 Hz, 1H, S-CH_AH_B-CH_CH_D-C=O), 1,84-1,67 (m, 2H, H-5), 1,58 (ddtd, 2J = -12,00, 3J = 7,60, 7,00, 7,00, 6,50 Hz, 1H, H-2_A), 1,57 (ddtd, 2J = -12,00, 3J = 7,60, 7,50, 7,00, 7,00 Hz, 1H, H-2_B), 1,63-1,29 ppm (m, 4H, H-3 и H-4). ^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3): δ = 170,2 (C=O), 151,8 (C-3'), 150,1 (C-1'), 149,0 (C-4'), 135,0 (C-6'), 128,6 (C-5'), 125,3 (C-7'), 121,5 (C-8'), 117,3 (C-9'), 99,0 (C-2'), 86,8 (C-1''), 69,6 (C-1''', C-2''', C-3''', C-4''' и C-5'''), 69,2 (C-3''), 68,8 (C-5''), 67,8 (C-2''), 67,7 (C-4''), 59,4 (N-CH-S), 45,9 (C-1), 42,9 (C-6), 34,1 (S-CH_AH_B-CH_CH_D-C=O), 28,5 (C-5), 27,7 (C-2), 26,3 (C-4), 26,2 (C-3), 23,9 ppm (S-CH_AH_B-CH_CH_D-C=O).

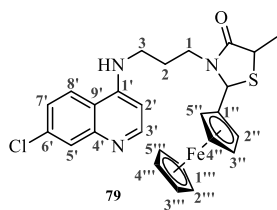
FTIR-ATR (cm^{-1}): $\tilde{\nu}$ = 3337 (br; $\nu(\text{N-H})$), 3090 (br; $\nu(\text{arC-H})$), 2927 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{as}}$), 2853 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{s}}$), 1660 (w; $\nu(\text{C=O})$), 1611 (w; $\nu(\text{C=N})$), 1577 (s; $\nu(\text{C=C})$), 1539 (w; $\delta(\text{C-H})$ или $\nu(\text{C-C})$), 1366, 1134 (w; $\nu(\text{C-N})$), 906, 807, 725.

UV-vis (MeCN) λ_{max} (log ϵ) 430,0 (2,09), 329,5 (3,84), 255,5 (4,18), 210,5 (4,69).

HRMS (EI): m/z $[\text{M}]^+$ израчунато за $\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{ClFeN}_3\text{OS}^+$: 561,1304, нађено: 561,1311.

Елементна анализа: израчунато за $\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{ClFeN}_3\text{OS}$: C - 61,98, H - 5,74, N - 7,48, S - 5,71; нађено: C - 61,65, H - 5,90, N - 7,62, S - 5,60.

5-Метил-2-фероценил-3-(3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил)-1,3-тијазолидин-4-он (79а и 79б). Жута уљаста супстанца; принос 32,0% (34,8 mg,



0,07 mmol), смеша дијастереомера (**79а** : **79б** = 70 : 30). ^1H NMR

(400 MHz, CDCl_3) **79а**: δ = 8,43 (d, 3J = 5,35 Hz, 1H, H-3'), 7,920

(d, 4J = 2,00 Hz, 1H, H-5'), 7,910 (d, 3J = 8,90 Hz, 1H, H-8'), 7,37

(dd, 3J = 8,90, 4J = 2,00 Hz, 1H, H-7'), 6,53 (br t, 3J = 5,00 Hz, 1H, N-H), 6,26 (d, 3J = 5,35

Hz, 1H, H-2'), 5,51 (d, 4J = 1,90 Hz, 1H, N-CH-S), 4,40 (ddd, 3J = 2,40, 4J = 1,50, 1,30 Hz,

1H, H-2''), 4,29 (ddd, 3J = 2,50, 2,40, 4J = 1,50 Hz, 1H, H-3''), 4,24 (s, 5H, H-1''', H-2''',

H-3''', H-4''' и H-5'''), 4,22 (ddd, 3J = 2,50, 2,40, 4J = 1,50 Hz, 1H, H-4''), 4,21 (ddd, 3J =

2,40, 4J = 1,50, 1,30 Hz, 1H, H-5''), 3,95 (qd, 3J = 7,10, 4J = 1,90 Hz, 1H, S-CH(CH₃)-C=O),

3,37-3,09 (m, 4H, H-1 и H-3), 1,63 (d, 3J = 7,10 Hz, 3H, S-CH(CH₃)-C=O), 1,60-1,49 (m,

1H, H-2_A), 1,43-1,28 ppm (m, 1H, H-2_B). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) **79б**: δ = 8,42 (d, 3J =

5,30 Hz, 1H, H-3'), 7,914 (d, 4J = 2,00 Hz, 1H, H-5'), 7,910 (d, 3J = 9,0 Hz, 1H, H-8'), 7,37

(dd, 3J = 9,00, 4J = 2,00 Hz, 1H, H-7'), 6,55 (br dd, 3J = 5,00, 3,00 Hz, 1H, N-H), 6,24 (d, 3J =

5,30 Hz, 1H, H-2'), 5,42 (d, 4J = 1,30 Hz, 1H, N-CH-S), 4,44 (dt, 3J = 2,60, 4J = 1,35, 1,35

Hz, 1H, H-2''), 4,29 (ddd, 3J = 2,60, 2,40, 4J = 1,35 Hz, 1H, H-4''), 4,25 (s, 5H, H-1''', H-

2''', H-3''', H-4''' и H-5'''), 4,22 (td, 3J = 2,60, 2,60, 4J = 1,30 Hz, 1H, H-3''), 4,21 (ddd, 3J =

2,40, 4J = 1,35, 1,30 Hz, 1H, H-5''), 3,90 (qd, 3J = 7,00, 4J = 1,30 Hz, 1H, S-CH(CH₃)-

C=O), 3,37-3,09 (m, 4H, H-1 и H-3), 1,64 (d, 3J = 7,0 Hz, 3H, S-CH(CH₃)-C=O), 1,60-1,49

(m, 1H, H-2_A), 1,43-1,28 ppm (m, 1H, H-2_B). ^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3) **79а**: δ = 175,3

(C=O), 151,9 (C-3'), 149,9 (C-1'), 149,4 (C-4'), 135,0 (C-6'), 128,6 (C-5'), 125,5 (C-7'),

122,01 (C-8'), 117,7 (C-9'), 98,5 (C-2'), 84,9 (C-1''), 70,31 (C-3'' или C-4''), 70,30 (C-3''

или C-4''), 69,3 (C-1''', C-2''', C-3''', C-4''' и C-5'''), 69,0 (C-5''), 67,7 (C-2''), 60,7 (N-

CH-S), 42,7 (S-CH(CH₃)-C=O), 40,1 (C-1), 38,76 (C-3), 25,6 (C-2), 21,1 ppm (S-CH(CH₃)-

C=O). ^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3) **79б**: δ = 175,0 (C=O), 151,9 (C-3'), 149,9 (C-1'),

149,4 (C-4'), 135,0 (C-6'), 128,6 (C-5'), 125,5 (C-7'), 122,02 (C-8'), 117,7 (C-9'), 98,5 (C-

2'), 84,5 (C-1''), 70,4 (C-3'' или C-4''), 70,31 (C-3'' или C-4''), 69,3 (C-1''', C-2''', C-

3''', C-4''' и C-5'''), 69,1 (C-5''), 68,0 (C-2''), 60,5 (N-CH-S), 42,2 (S-CH(CH₃)-C=O),

40,4 (C-1), 38,80 (C-3), 25,8 (C-2), 19,6 ppm (S-CH(CH₃)-C=O).

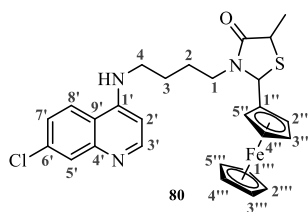
FTIR-ATR (cm^{-1}): $\tilde{\nu}$ = 3342 (br; $\nu(\text{N-H})$), 3082 (br; $\nu(\text{arC-H})$), 2928 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{as}}$), 2850 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{s}}$), 1653 (m; $\nu(\text{C=O})$), 1608 (w; $\nu(\text{C=N})$), 1579 (s; $\nu(\text{C=C})$), 1541 (w; $\delta(\text{C-H})$ или $\nu(\text{C-C})$), 1449, 1421, 1213, 1149 (w; $\nu(\text{C-N})$), 880, 814, 771.

UV-vis (MeCN) λ_{max} (log ϵ) 420,0 (2,27), 330,0 (3,95), 254,0 (4,25), 211,0 (4,73).

HRMS (EI): m/z $[M]^+$ израчунато за $C_{26}H_{26}ClFeN_3OS^+$: 519,0835, нађено: 519,0829.

Елементна анализа: израчунато за $C_{26}H_{26}ClFeN_3OS$: C - 60,07, H - 5,04, N - 8,08, S - 6,17; нађено: C - 60,42, H - 4,97, N - 7,89, S - 6,01.

5-Метил-2-фероценил-3-(4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил)-1,3-тијазолидин-4-



он (**80a** и **80b**). Жута уљаста супстанца; принос 35,8 % (33,5 mg, 0,06 mmol), смеша дијастереомера (**80a** : **80b** = 60 : 40). 1H

NMR (400 MHz, $CDCl_3$) **80a**: δ = 8,492 (d, 3J = 5,40 Hz, 1H, H-3'), 7,94 (d, 4J = 2,10 Hz, 1H, H-5'), 7,82 (d, 3J = 8,90 Hz, 1H, H-8'), 7,35 (dd, 3J = 8,90, 4J = 2,10 Hz, 1H, H-7'), 6,33 (d, 3J = 5,40 Hz, 1H, H-2'), 5,60 (br t, 3J = 5,00 Hz, 1H, N-H), 5,50 (d, 4J = 1,80 Hz, 1H, N-CH-S), 4,42 (dt, 3J = 2,40, 4J = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-2''), 4,24 (td, 3J = 2,40, 2,40, 4J = 1,30 Hz, 1H, H-3''), 4,23 (s, 5H, H-1''', H-2''', H-3''' и H-5'''), 4,19 (dt, 3J = 2,55, 4J = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-5''), 4,17 (ddd, 3J = 2,55, 2,40, 4J = 1,30 Hz, 1H, H-4''), 3,92 (qd, 3J = 7,10, 4J = 1,80 Hz, 1H, S-CH(CH₃)-C=O), 3,33 (ddd, 2J = -14,00, 3J = 7,50, 7,00 Hz, 1H, H-1_A), 3,268 (dddd, 2J = -12,50, 3J = 8,00, 5,00, 5,00 Hz, 1H, H-4_A), 3,228 (dddd, 2J = -12,50, 3J = 8,00, 5,00, 4,00 Hz, 1H, H-4_B), 3,13 (ddd, 2J = -14,00, 3J = 7,70, 6,00 Hz, 1H, H-1_B), 1,65 (dddd, 2J = -12,00, 3J = 8,00, 7,50, 5,50, 4,00 Hz, 1H, H-3_A), 1,60 (d, 3J = 7,10 Hz, 3H, SCH(CH₃)C=O), 1,59 (dddd, 2J = -12,00, 3J = 8,00, 7,50, 5,50, 5,00 Hz, 1H, H-3_B), 1,53-1,25 ppm (m, 2H, H-2). 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) **80b**: δ = 8,487 (d, 3J = 5,40 Hz, 1H, H-3'), 7,94 (d, 4J = 2,10 Hz, 1H, H-5'), 7,81 (d, 3J = 8,90 Hz, 1H, H-8'), 7,35 (dd, 3J = 8,90, 4J = 2,10 Hz, 1H, H-7'), 6,32 (d, 3J = 5,40 Hz, 1H, H-2'), 5,58 (br dd, 3J = 5,50, 5,00 Hz, 1H, N-H), 5,43 (d, 4J = 1,15 Hz, 1H, N-CH-S), 4,44 (dt, 3J = 2,50, 4J = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-2''), 4,24 (s, 5H, H-1''', H-2''', H-3''' и H-5'''), 4,20 (ddd, 3J = 2,55, 2,50, 4J = 1,20 Hz, 1H, H-3''), 4,18 (ddd, 3J = 2,40, 4J = 1,30, 1,20 Hz, 1H, H-5''), 4,17 (ddd, 3J = 2,55, 2,40, 4J = 1,30 Hz, 1H, H-4''), 3,86 (qd, 3J = 7,00, 4J = 1,15 Hz, 1H, S-CH(CH₃)-C=O), 3,271 (dddd, 2J = -12,50, 3J = 8,00, 5,50, 5,00 Hz, 1H, H-4_A), 3,25 (ddd, 2J = -14,20, 3J = 8,50, 7,30 Hz, 1H, H-1_A), 3,230 (dddd, 2J = -12,50, 3J = 8,50, 6,00, 5,00 Hz, 1H, H-4_B), 3,17 (ddd, 2J = -14,20, 3J = 7,00, 6,00 Hz, 1H, H-1_B), 1,61 (d, 3J = 7,00 Hz, 3H, SCH(CH₃)C=O), 1,58 (dddt, 2J = -12,00, 3J = 8,50, 7,00, 5,00 Hz, 1H, H-3_A), 1,57 (dddd, 2J = -12,00, 3J = 8,00, 7,00, 6,00, 5,50 Hz, 1H, H-3_B), 1,53-1,25 ppm (m, 2H, H-2). ^{13}C NMR (100,6 MHz, $CDCl_3$) **80a**: δ = 174,2 (C=O), 152,0 (C-3'), 150,0 (C-1'), 149,2 (C-4'), 135,0 (C-6'), 128,6 (C-5'), 125,32 (C-7'), 121,7 (C-8'), 117,4 (C-9'), 99,0 (C-2'), 85,4 (C-1''), 70,1 (C-4'' или C-5''), 70,02 (C-4'' или C-5''), 69,3 (C-1''', C-2''', C-3''', C-4''' и C-5'''), 68,7 (C-3''), 67,7 (C-2''), 60,1 (N-CH-S), 42,98 (C-4), 42,53

(S-CH(CH₃)-C=O), 42,24 (C-1), 25,3 (C-2), 25,0 (C-3), 20,9 ppm (S-CH(CH₃)-C=O). ¹³C NMR (100,6 MHz, CDCl₃) **80b**: δ = 173,9 (C=O), 152,0 (C-3'), 150,0 (C-1'), 149,2 (C-4'), 135,0 (C-6'), 128,6 (C-5'), 125,30 (C-7'), 121,7 (C-8'), 117,4 (C-9'), 99,0 (C-2'), 84,7 (C-1''), 70,3 (C-3'' или C-5''), 70,04 (C-3'' или C-5''), 69,3 (C-1''', C-2''', C-3''', C-4''' и C-5'''), 68,8 (C-4''), 68,1 (C-2''), 59,9 (N-CH-S), 42,91 (C-4), 42,47 (S-CH(CH₃)-C=O), 42,16 (C-1), 25,5 (C-2), 25,1 (C-3), 19,5 ppm (S-CH(CH₃)-C=O).

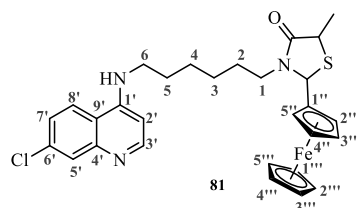
FTIR-ATR (cm⁻¹): $\tilde{\nu}$ = 3321 (br; ν(N-H)), 3092 (br; ν(arC-H)), 2929 (w; ν(CH₂)_{as}), 2853 (w; ν(CH₂)_s), 1655 (m; ν(C=O)), 1610 (w; ν(C=N)), 1577 (s; ν(C=C)), 1536 (w; δ(C-H) или ν(C-C)), 1449, 1422, 1367, 1135 (w; ν(C-N)), 807, 733.

UV-vis (MeCN) λ_{max} (log ε) 414,0 (2,34), 327,5 (4,86), 253,0 (4,94).

HRMS (EI): *m/z* [M]⁺ израчунато за C₂₇H₂₈ClFeN₃OS⁺: 533,0991, нађено: 533,0999.

Елементна анализа: израчунато за C₂₇H₂₈ClFeN₃OS: C - 60,74, H - 5,29, N - 7,87, S - 6,00; нађено: C - 60,68, H - 5,18, N - 7,89, S - 6,08.

5-Метил-2-фероценил-3-(6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил)-1,3-тијазолидин-4-он (**81a** и **81b**).



4-он (81a** и **81b**).** Жута уљаста супстанца; принос 40,4%

(61,6 mg, 0,11 mmol), смеша дијастереомера (**81a** : **81b** = 60 :

40). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) **81a**: δ = 8,51 (d, ³J = 5,40 Hz,

1H, H-3'), 7,95 (d, ⁴J = 2,15 Hz, 1H, H-5'), 7,834 (d, ³J = 9,00

Hz, 1H, H-8'), 7,357 (dd, ³J = 9,00, ⁴J = 2,15 Hz, 1H, H-7'), 6,383 (d, ³J = 5,40 Hz, 1H, H-

2'), 5,51 (d, ⁴J = 1,90 Hz, 1H, N-CH-S), 5,38 (br t, ³J = 5,50 Hz, 1H, N-H), 4,42 (dt, ³J =

2,55, ⁴J = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-2''), 4,2755 (dddd, ³J = 2,55, 2,50 ⁴J = 1,30 Hz, 1H, H-3''),

4,24 (s, 5H, H-1''', H-2''', H-3''', H-4''' и H-5'''), 4,23 (dt, ³J = 2,50, ⁴J = 1,30, 1,30 Hz,

1H, H-5''), 4,21 (td, ³J = 2,50, 2,50, ⁴J = 1,30 Hz, 1H, H-4''), 3,91 (qd, ³J = 7,10, ⁴J = 1,90

Hz, 1H, S-CH(CH₃)-C=O), 3,40 (ddd, ²J = -13,60, ³J = 8,70, 6,50 Hz, 1H, H-1_A), 3,273

(dddd, ²J = -12,00, ³J = 7,50, 7,00, 5,50 Hz, 1H, H-6_A), 3,270 (dddd, ²J = -12,00, ³J = 7,00,

6,50, 5,50 Hz, 1H, H-6_B), 2,93 (ddd, ²J = -13,60, ³J = 6,80, 6,00 Hz, 1H, H-1_B), 1,80-1,56

(m, 2H, H-5), 1,59 (d, ³J = 7,10, Hz, 3H, S-CH(CH₃)-C=O), 1,54-1,17 ppm (m, 6H,

преклопљени H-2, H-3 и H-4). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) **81b**: δ = 8,51 (d, ³J = 5,40 Hz,

1H, H-3'), 7,95 (d, ⁴J = 2,15 Hz, 1H, H-5'), 7,827 (d, ³J = 9,00 Hz, 1H, H-8'), 7,356 (dd, ³J =

9,00, ⁴J = 2,15 Hz, 1H, H-7'), 6,379 (d, ³J = 5,40 Hz, 1H, H-2'), 5,45 (d, ⁴J = 1,30 Hz, 1H, N-

CH-S), 5,44 (br t, ³J = 5,50 Hz, 1H, N-H), 4,44 (dt, ³J = 2,55, ⁴J = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-2''),

4,2805 (ddd, $^3J = 2,55$, $2,50$, $^4J = 1,30$ Hz, 1H, H-3''), 4,25 (s, 5H, H-1''', H-2''', H-3''', H-4''' и H-5'''), 4,22 (dt, $^3J = 2,50$, $^4J = 1,30$, 1,30 Hz, 1H, H-5''), 4,20 (td, $^3J = 2,50$, $2,50$, $^4J = 1,30$ Hz, 1H, H-4''), 3,84 (qd, $^3J = 6,90$, $^4J = 1,30$ Hz, 1H, S-CH(CH₃)-C=O), 3,47 (ddd, $^2J = -13,70$, $^3J = 7,60$, $6,50$ Hz, 1H, H-1_A), 3,33 (dddd, $^2J = -12,00$, $^3J = 8,30$, $7,00$, $5,50$ Hz, 1H, H-6_A), 3,30 (dddd, $^2J = -12,00$, $^3J = 8,00$, $7,50$, $5,50$ Hz, 1H, H-6_B), 2,94 (ddd, $^2J = -13,70$, $^3J = 7,80$, $5,60$ Hz, 1H, H-1_B), 1,80-1,56 (m, 2H, H-5), 1,60 (d, $^3J = 6,90$, Hz, 3H, S-CH(CH₃)-C=O), 1,54-1,17 ppm (m, 6H, преклопљени H-2, H-3 и H-4). ¹³C NMR (100,6 MHz, CDCl₃) **81a**: $\delta = 173,8$ (C=O), 152,0 (C-3'), 150,0 (C-1'), 149,2 (C-4'), 134,9 (C-6'), 128,7 (C-5'), 125,3 (C-7'), 121,6 (C-8'), 117,39 (C-9'), 98,98 (C-2'), 85,5 (C-1''), 70,1 (C-4'' или C-5''), 69,9 (C-3''), 69,2 (C-1''', C-2''', C-3''', C-4''' и C-5'''), 68,6 (C-4'' или C-5''), 67,7 (C-2''), 59,6 (N-CH-S), 42,6 (C-6), 42,5 (S-CH(CH₃)-C=O), 41,7 (C-1), 28,40 (C-5), 26,7 (C-2), 25,9 (C-4 или C-3), 25,7 (C-3 или C-4), 21,0 ppm (S-CH(CH₃)-C=O). ¹³C NMR (100,6 MHz, CDCl₃) **81b**: $\delta = 173,4$ (C=O), 152,0 (C-3'), 150,0 (C-1'), 149,2 (C-4'), 134,9 (C-6'), 128,7 (C-5'), 125,3 (C-7'), 121,5 (C-8'), 117,36 (C-9'), 98,99 (C-2'), 84,8 (C-1''), 70,3 (C-4'' или C-5''), 70,0 (C-3''), 69,2 (C-1''', C-2''', C-3''', C-4''' и C-5'''), 68,7 (C-4'' или C-5''), 68,1 (C-2''), 59,5 (N-CH-S), 42,7 (C-6), 42,2 (S-CH(CH₃)-C=O), 42,0 (C-1), 28,44 (C-5), 26,8 (C-2), 26,0 (C-4 или C-3), 25,8 (C-3 или C-4), 19,6 (S-CH(CH₃)-C=O). FTIR-ATR (cm⁻¹): $\tilde{\nu} = 3345$ (br; ν (N-H)), 3082 (br; ν (arC-H)), 2926 (w; ν (CH₂)_{as}), 2855 (w; ν (CH₂)_s), 1654 (m; ν (C=O)), 1610 (w; ν (C=N)), 1576 (s; ν (C=C)), 1537 (w; δ (C-H) или ν (C-C)), 1449, 1422, 1366, 1134 (w; ν (C-N)), 805, 731.

UV-vis (MeCN) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 437,0 (2,02), 330,0 (3,92), 254,0 (4,22), 210,5 (4,72).

HRMS (EI): m/z [M]⁺ израчунато за C₂₉H₃₂ClFeN₃OS⁺: 561,1304, нађено: 561,1299.

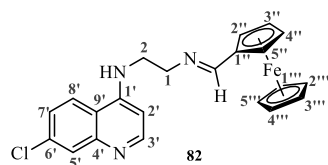
Елементна анализа: израчунато за C₂₉H₃₂ClFeN₃OS: C - 61,98, H - 5,74, N - 7,48, S - 5,71; нађено: C - 61,69, H - 5,51, N - 7,71, S - 5,88.

3.3.1.4. СИНТЕЗА (E)-N-(2-(фероценилиденамино)етил)-7-хлорхинолин-4-амина (**82**)

Имин **82** је синтетисан по већ објављеном протоколу, уз мале измене [145]. Алдехид **67** (1,0 еквивалент) и амин **68** (1,0 еквивалент) су растворени у минималној запремини MeOH и добијена смеша је рефлугована 5 h, охлађена на собну температуру и остављена да се меша преко ноћи. MeOH је упарен, а остатак је растворен у CH₂Cl₂ (20 ml). Раствор је сушен анхидрованим MgSO₄, а затим је растварач упарен при сниженом притиску. Добијено је 588 mg наранџасте аморфне

супстанце која је на основу NMR анализе садржала 85% имиона, па је даље коришћена без пречишћавања.

(E)-N-(2-(фероценилиденамино)етил)-7-хлорхинолин-4-амин (82). Наранџаста

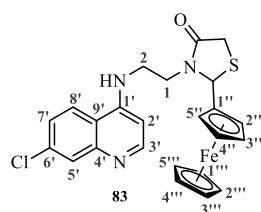


аморфна супстанца; принос 62,4% (588 mg, 1,41 mmol). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,56 (d, $^3J = 5,40$ Hz, 1H, H-3'), 8,20 (d, $^4J = 1,30$ Hz, 1H, $\text{NH}=\text{CH}-\text{Fc}$), 7,96 (d, $^3J = 2,10$ Hz, 1H, H-5'), 7,70 (d, $^4J = 8,90$ Hz, 1H, H-8'), 7,35 (dd, $^3J = 8,90$, $^4J = 2,10$ Hz, 1H, H-7'), 6,49 (d, $^3J = 5,40$ Hz, 1H, H-2'), 5,61 (t, $^3J = 5,40$ Hz, 1H, Ar-NH), 4,63 (AA'BB', $^3J = 2,60$, $^4J = 1,40$, 1,25 Hz, 2H, H-2'' и H-5''), 4,40 (AA'BB', $^3J = 2,60$, 2,40, $^4J = 1,25$ Hz, 2H, H-3'' и H-4''), 4,14 (br s, 5H, H-1''', H-2''', H-3''', H-4''' и H-5'''), 3,79 (td, $^3J = 5,80$, $^4J = 1,30$ Hz, 2H, H-1), 3,59 ppm (td, $^3J = 5,80$, 5,40 Hz, 2H, H-2). ^1H NMR спектар имиона **82** је дат у прилогу (прилог 25).

3.3.1.5. ОПШТА ПРОЦЕДУРА ЗА СИНТЕЗУ ХИБРИДА 83-85

Имин **82** (1,0 еквивалент), DCC (2,0 еквивалента) и одговарајућа меркапто киселина (**72a-ц**; 2,0 еквивалента) су растворени у MeCN (15 ml), а након тога мешани током 3 h на собној температури. По завршетку је реакциона смеша обрађена на исти начин као што је описано за хибриде добијене у трокомпонентној реакцији (поглавље 3.3.1.3). Структуре добијених производа **83-85** су потврђене NMR, IR, UV-vis, HRMS и елементном анализом. ^1H и ^{13}C NMR спектри ових једињења су дати у прилогу (прилог 26-33).

2-Фероценил-3-(2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил)-1,3-тијазолидин-4-он (83).



Жута уљаста супстанца; принос 19,3% (20 mg, 0,04 mmol). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 8,46 (d, $^3J = 5,40$ Hz, 1H, H-3'), 7,94 (d, $^4J = 2,00$ Hz, 1H, H-5'), 7,70 (d, $^3J = 8,95$ Hz, 1H, H-8'), 7,38 (dd, $^3J = 8,95$, $^4J = 2,00$ Hz, 1H, H-7'), 6,47 (br dd, $^3J = 3,60$, 3,20 Hz 1H, N-H), 6,08 (d, $^3J = 5,40$ Hz, 1H, H-2'), 5,58 (br dd, $^4J = 1,90$, 1,50 Hz, 1H, N-CH-S), 4,45 (ddd, $^3J = 2,50$, $^4J = 1,35$, 1,20 Hz, 1H, H-2''), 4,320 (ddd, $^3J = 2,50$, $^4J = 1,20$, 1,10 Hz, 1H, H-3''), 4,317 (dt, $^3J = 2,55$, $^4J = 1,20$, 1,20 Hz, 1H, H-5''), 4,28 (ddd, $^3J = 2,55$, $^4J = 1,35$, 1,10 Hz, 1H, H-4''), 4,26 (s, 5H, H-1''', H-2''', H-3''', H-4''' и H-5'''), 3,73 (ddd, $^2J = -14,40$, $^3J = 6,80$, 4,30 Hz, 1H, H-1A), 3,73 (dd, $^2J = -15,80$, $^4J = 1,50$ Hz, 1H, S-CH_AH_B-C=O), 3,68 (dd, $^2J = -15,80$, $^4J = 1,90$ Hz, 1H, S-CH_AH_B-C=O), 3,50 (ddd, $^2J = -14,40$, $^3J = 6,80$, 3,50 Hz, 1H, H-1B), 3,17 (dddd, $^2J = -12,00$, $^3J = 6,80$, 3,50, 3,20 Hz, 1H,

H-2_A), 2,87 ppm (dddd, $^2J = -12,00$, $^3J = 6,80$, 4,30, 3,60 Hz, 1H, H-2_B). ^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3): $\delta = 173,7$ (C=O), 151,5 (C-3'), 150,2 (C-1'), 148,5 (C-4'), 135,3 (C-6'), 128,1 (C-5'), 125,8 (C-7'), 122,0 (C-8'), 117,1 (C-9'), 98,2 (C-2'), 84,3 (C-1''), 70,7 (C-3''), 70,4 (C-4''), 69,4 (C-1''', C-2''', C-3''', C-4''' и C-5'''), 69,2 (C-5''), 68,0 (C-2''), 62,9 (N-CH-S), 43,6 (C-2), 42,3 (C-1), 33,5 ppm (S-CH_AH_B-C=O).

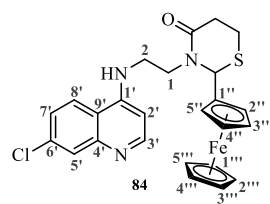
FTIR-ATR (cm^{-1}): $\tilde{\nu} = 3250$ (br; $\nu(\text{N-H})$), 3100 (br; $\nu(\text{arC-H})$), 2928 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{as}}$), 2852 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{s}}$), 1657 (m; $\nu(\text{C=O})$), 1607 (w; $\nu(\text{C=N})$), 1577 (m; $\nu(\text{C=C})$), 1164 (w; $\nu(\text{C-N})$), 903, 815, 726.

UV-vis (MeCN) λ_{max} (log ϵ) 433,0 (2,26), 327,5 (3,88), 254,0 (4,19), 210,0 (4,66).

HRMS (EI): m/z [M]⁺ израчунато за $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{ClFeN}_3\text{OS}^+$: 491,0522, нађено: 491,0518.

Елементна анализа: израчунато за $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{ClFeN}_3\text{OS}$: C - 58,61, H - 4,51, N - 8,54, S - 6,52; нађено: C - 58,31, H - 4,68, N - 8,68, S - 6,55.

2-Фероценил-3-(2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил)-1,3-тијазинан-4-он (84). Жута



уљаста супстанца; принос 26,0%, (36,7 mg, 0,07 mmol). ^1H NMR

(400 MHz, CDCl_3): $\delta = 8,45$ (d, $^3J = 5,40$ Hz, 1H, H-3'), 7,91 (d, $^4J = 2,10$ Hz, 1H, H-5'), 7,73 (d, $^3J = 8,90$ Hz, 1H, H-8'), 7,36 (dd, $^3J = 8,90$, $^4J = 2,10$ Hz, 1H, H-7'), 6,77 (br t, $^3J = 4,00$ Hz, 1H, N-H), 6,14

(d, $^3J = 5,40$ Hz, 1H, H-2'), 5,64 (d, $^4J = 0,50$ Hz, 1H, N-CH-S), 4,43 (dt, $^3J = 2,50$, $^4J = 1,30$, 1,30 Hz, 1H, H-2''), 4,31 (td, $^3J = 2,50$, 2,50, $^4J = 1,30$ Hz, 1H, H-3''), 4,29 (ddd, $^3J = 2,50$, 2,45, $^4J = 1,30$ Hz, 1H, H-4''), 4,23 (s, 5H, H-1''', H-2''', H-3''', H-4''' и H-5'''), 4,21 (dt, $^3J = 2,45$, $^4J = 1,30$, 1,30 Hz, 1H, H-5''), 3,82 (ddd, $^2J = -13,00$, $^3J = 6,00$, 5,00 Hz, 1H, H-1_A), 3,80 (ddd, $^2J = -13,00$, $^3J = 6,00$, 4,00 Hz, 1H, H-1_B), 3,17 (dddd, $^2J = -12,50$, $^3J = 6,00$, 5,00, 4,00 Hz, 1H, H-2_A), 3,06 (ddt, $^2J = -12,50$, $^3J = 6,00$, 4,00, 4,00 Hz, 1H, H-2_B), 3,03 (dddd, $^2J = -12,50$, $^3J = 7,00$, 5,00, $^4J = 0,50$ Hz, 1H, S-CH_AH_BCH_CH_D-C=O), 2,8684 (ddd, $^2J = -12,00$, $^3J = 9,00$, 5,00 Hz, 1H, S-CH_AH_BCH_CH_D-C=O), 2,8678 (ddd, $^2J = -12,00$, $^3J = 7,00$, 4,50 Hz, 1H, S-CH_AH_BCH_CH_D-C=O), 2,83 ppm (ddd, $^2J = -12,50$, $^3J = 9,00$, 4,50 Hz, 1H, S-CH_AH_BCH_CH_D-C=O). ^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3): $\delta = 173,4$ (C=O), 152,0 (C-3'), 150,1 (C-1'), 149,1 (C-4'), 134,9 (C-6'), 128,5 (C-5'), 125,5 (C-7'), 122,1 (C-8'), 117,3 (C-9'), 98,2 (C-2'), 84,0 (C-1''), 69,9 (C-1''', C-2''', C-3''', C-4''' и C-5'''), 69,7 (C-5''), 69,6 (C-3''), 68,5 (C-4''), 68,3 (C-2''), 60,8 (N-CH-S), 44,4 (C-2), 44,3 (C-1), 34,2 (S-CH_AH_BCH_CH_D-C=O), 24,4 ppm (S-CH_AH_BCH_CH_D-C=O).

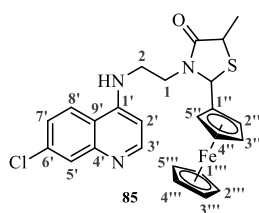
FTIR-ATR (cm^{-1}): $\tilde{\nu} = 3380$ (br; $\nu(\text{N-H})$), 3100 (br; $\nu(\text{arC-H})$), 2930 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{as}}$), 1637 (w; $\nu(\text{C=O})$), 1610 (w; $\nu(\text{C=N})$), 1571 (s; $\nu(\text{C=C})$), 1536 (w; $\delta(\text{C-H})$ или $\nu(\text{C-C})$), 1135 (w; $\nu(\text{C-N})$), 1001 , 814 .

UV-vis (MeCN) λ_{max} ($\log \epsilon$) $439,0$ (2,20), $328,0$ (3,98), $255,0$ (4,30), $210,0$ (4,81).

HRMS (EI): m/z $[\text{M}]^+$ израчунато за $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{ClFeN}_3\text{OS}^+$: $505,0678$, нађено: $505,0685$.

Елементна анализа: израчунато за $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{ClFeN}_3\text{OS}$: C - $59,36$, H - $4,78$, N - $8,31$, S - $6,34$; нађено: C - $59,03$, H - $4,90$, N - $8,05$, S - $6,55$.

5-Метил-2-фероценил-3-(2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил)-1,3-тијазолидин-4-



он (**85a** и **85b**). Жута уљаста супстанца; принос $25,3\%$ ($34,8$ mg,

$0,07$ mmol), смеша дијастереомера (**85a**: **85b** = $90 : 10$). ^1H NMR

(400 MHz, CDCl_3) **85a**: $\delta = 8,45$ (d, $^3J = 5,40$ Hz, 1H , H-3'), $7,92$ (d, $^4J = 2,10$ Hz, 1H , H-5'), $7,68$ (d, $^3J = 9,00$ Hz, 1H , H-8'), $7,37$ (dd, $^3J = 9,00$, $^4J = 2,10$ Hz, 1H , H-7'), $6,33$ (br dd, $^3J = 4,20$, $4,00$ Hz, 1H , N-

H), $6,10$ (d, $^3J = 5,40$ Hz, 1H , H-2'), $5,57$ (d, $^4J = 1,90$ Hz, 1H , N-CH-S), $4,43$ (dt, $^3J = 2,60$, $^4J = 1,30$, $1,30$ Hz, 1H , H-2''), $4,30$ (ddd, $^3J = 2,60$, $2,40$, $^4J = 1,30$ Hz, 1H , H-3''), $4,29$ (td, $^3J = 2,40$, $2,40$, $^4J = 1,30$ Hz, 1H , H-4''), $4,27$ (dt, $^3J = 2,40$, $^4J = 1,30$, $1,30$ Hz, 1H , H-5''), $4,250$ (s, 5H , H-1''', H-2''', H-3''', H-4''' и H-5'''), $3,94$ (qd, $^3J = 7,10$, $^4J = 1,90$ Hz, 1H , S-CH(CH₃)C=O), $3,66$ (ddd, $^2J = -14,50$, $^3J = 7,50$, $3,70$ Hz, 1H , H-1_A), $3,56$ (ddd, $^2J = -14,50$, $^3J = 7,20$, $3,30$ Hz, 1H , H-1_B), $3,19$ (dddd, $^2J = -12,40$, $^3J = 7,20$, $4,20$, $3,70$ Hz, 1H , H-2_A), $2,90$ (dddd, $^2J = -12,40$, $^3J = 7,50$, $4,00$, $3,30$ Hz, 1H , H-2_B), $1,60$ ppm (d, $^3J = 7,10$ Hz, 3H , S-CH(CH₃)-C=O). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) **85b**: $\delta = 8,44$ (d, $^3J = 5,40$ Hz, 1H , H-3'), $7,92$ (d, $^4J = 2,10$ Hz, 1H , H-5'), $7,68$ (d, $^3J = 9,00$ Hz, 1H , H-8'), $7,37$ (dd, $^3J = 9,00$, $^4J = 2,10$ Hz, 1H , H-7'), $6,33$ (br t, $^3J = 4,00$ Hz, 1H , N-H), $6,06$ (d, $^3J = 5,40$ Hz, 1H , H-2'), $5,48$ (d, $^4J = 1,30$ Hz, 1H , N-CH-S), $4,41$ (ddd, $^3J = 2,50$, $^4J = 1,30$, $1,25$ Hz, 1H , H-2''), $4,31$ (td, $^3J = 2,40$, $2,40$, $^4J = 1,25$ Hz, 1H , H-4''), $4,30$ (dt, $^3J = 2,40$, $^4J = 1,30$, $1,30$ Hz, 1H , H-5''), $4,254$ (s, 5H , H-1''', H-2''', H-3''', H-4''' и H-5'''), $4,250$ (ddd, $^3J = 2,50$, $2,40$, $^4J = 1,30$ Hz, 1H , H-3''), $3,91$ (qd, $^3J = 6,90$, $^4J = 1,30$ Hz, 1H , S-CH(CH₃)-C=O), $3,74$ (ddd, $^2J = -14,50$, $^3J = 8,50$, $3,50$ Hz, 1H , H-1_A), $3,45$ (ddd, $^2J = -14,50$, $^3J = 6,50$, $3,70$ Hz, 1H , H-1_B), $3,14$ (dddd, $^2J = -12,80$, $^3J = 6,50$, $4,00$, $3,50$ Hz, 1H , H-2_A), $2,82$ (dddd, $^2J = -12,80$, $^3J = 8,50$, $4,00$, $3,70$ Hz, 1H , H-2_B), $1,61$ ppm (d, $^3J = 6,90$ Hz, 3H , S-CH(CH₃)-C=O). ^{13}C NMR ($100,6$ MHz, CDCl_3) **85a**: $\delta = 176,7$ (C=O), $151,9$ (C-3'), $149,95$ (C-1'), $149,1$ (C-4'), $135,0$ (C-6'), $128,6$ (C-5'), $125,6$ (C-7'), $121,9$ (C-8'), $117,2$ (C-9'), $98,3$ (C-2'), $84,6$ (C-1''), $70,5$ (C-3''), $70,3$ (C-5''), $69,4$ (C-1''', C-2''', C-3''', C-4''' и C-5'''), $69,1$ (C-4'''), $67,8$ (C-2''),

60,9 (N-CH-S), 43,4 (C-2), 42,5 (S-CH(CH₃)-C=O), 42,2 (C-1), 21,0 ppm (S-CH(CH₃)-C=O). ¹³C NMR (100,6 MHz, CDCl₃) **85b**: δ = 176,4 (C=O), 151,9 (C-3'), 149,98 (C-1'), 149,1 (C-4'), 135,0 (C-6'), 128,5 (C-5'), 125,6 (C-7'), 122,0 (C-8'), 117,2 (C-9'), 98,3 (C-2'), 84,3 (C-1''), 70,5 (C-3''), 70,4 (C-5''), 69,4 (C-1''', C-2''', C-3''', C-4''' и C-5'''), 69,2 (C-4''), 68,1 (C-2''), 60,6 (N-CH-S), 43,5 (C-2), 42,4 (S-CH(CH₃)-C=O), 42,0 (C-1), 19,3 ppm (S-CH(CH₃)-C=O).

FTIR-ATR (cm⁻¹): $\tilde{\nu}$ = 3356 (br; ν(N-H)), 3093 (br; ν(arC-H)), 2927 (br; ν(CH₂)_{as}), 2853 (br; ν(CH₂)_s), 1655 (m; ν(C=O)), 1610 (w; ν(C=N)), 1578 (s; ν(C=C)), 1536 (w; δ(C-H) или ν(C-C)), 1302, 1140 (w; ν(C-N)), 849, 815, 768.

UV-vis (MeCN) λ_{max} (log ε) 432,0 (2,11), 328,0 (4,01), 254,0 (4,33), 211,0 (4,79).

HRMS (EI): *m/z* [M]⁺ израчунато за C₂₅H₂₄ClFeN₃OS⁺: 505,0678, нађено: 505,0687.

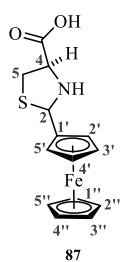
Елементна анализа: израчунато за C₂₅H₂₄ClFeN₃OS: C - 59,36, H - 4,78, N - 8,31, S - 6,34; нађено: C - 59,11, H - 4,89, N - 8,50, S - 6,46.

3.3.2. СИНТЕЗА БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-2

3.3.2.1. СИНТЕЗА 2-ФЕРОЦЕНИЛ-1,3-ТИЈАЗОЛИДИН-4-КАРБОКСИЛНЕ КИСЕЛИНЕ (**87**)

Fc-CHO (**67**; 107,0 mg, 0,5 mmol) и (R)-цистеин (**86**; 61,0 mg, 0,5 mmol) су растворени у минималној запремини MeOH. Реакциона смеша је рефлугована 5 h, охлађена до собне температуре и остављена да се меша преко ноћи. Затим је растварач упарен при сниженом притиску, а чврст остатак растворен у CH₂Cl₂ (10 ml) и сушен анхидрованим MgSO₄. Након уклањања CH₂Cl₂ на ротационом вакуум упаривачу добијено је 71,5 mg киселине **87** (смеша дијастереомера **87-cis** : **87-trans** = 58 : 42) довољне чистоће на основу NMR анализе па је на даље коришћена без додатног пречишћавања.

(2ξ,4R)-2-Фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилна киселина (87). Наранџаста



супстанца; принос: 45,1%. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) **87-cis**: δ 9,74-5,90 (br s, 1H, COOH), 5,25 (s, 1H, H-2), 4,39 (br s, 1H, H-2'), 4,27-4,08 (m, 3H, преклопљени H-3', H-4' и H-5'), 4,21 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 3,82 (dd, ³J = 8,40, 7,30 Hz, 1H, H-4), 3,29 (dd, ²J = -9,70, ³J = 7,30 Hz, 1H, H-5_A), 2,92 ppm (dd, ²J = -9,70, ³J = 8,40 Hz, 1H, H-5_B). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) **87-trans**: δ 9,74-5,90 (br s, 1H, COOH), 5,48 (s, 1H, H-2), 4,33-4,29 (m, 2H), 4,27-4,08 (m, 2H), 4,18 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,20 (dd, ³J = 7,10, 3,70

Hz, 1H, H-4), 3,21 (dd, $^2J = -9,60$, $^3J = 7,10$ Hz, 1H, H-5_A), 3,04 ppm (dd, $^2J = -9,60$, $^3J = 3,70$ Hz, 1H, H-5_B). ^{13}C NMR (100,6 MHz, DMSO-*d*₆) **87-cis**: δ 173,0 (COOH), 86,7 (C-1'), 69,1 (C-2), 68,8 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 68,0 (C-3', C-4' или C-5'), 67,9 (C-3', C-4' или C-5'), 67,8 (C-3', C-4' или C-5'), 67,2 (C-2'), 65,0 (C-4), 38,3 ppm (C-5). ^{13}C NMR (100,6 MHz, DMSO-*d*₆) **87-trans**: δ 172,6 (COOH), 88,3 (C-1'), 68,72 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 68,7 (C-2), 67,70 (C-3', C-4' или C-5'), 67,69 (C-3', C-4' или C-5'), 67,5 (C-3', C-4' или C-5'), 67,3 (C-2'), 66,0 (C-4), 37,8 ppm (C-5).

FTIR-ATR (cm⁻¹): 3300-2300 (br; $\nu(\text{O-H})$), 1613 (s, $\nu(\text{C=O})$), 1400 (s; $\delta(\text{CH}_2)_{\text{sc}}$), 1346 (s), 1244 (s; $\nu(\text{C-O})$), 1104 (m), 815 (s).

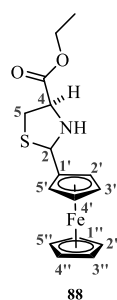
UV-vis (MeCN, $1,5 \times 10^{-3}$ M) λ_{max} nm (log ϵ): 440,5 (2,43) и (MeCN, $1,5 \times 10^{-5}$ M) λ_{max} nm (log ϵ): 202,0 (4,47).

HRMS (EI): m/z [M]⁺ израчунао за C₁₄H₁₅FeNO₂S⁺: 317,0173, нађено: 317,0170.

3.3.2.2. СИНТЕЗА ЕТИЛ-2-ФЕРОЦЕНИЛ-1,3-ТИЈАЗОЛИДИН-4-КАРБОКСИЛАТА (**88**)

Раствор тионил-хлорида (0,12 ml, 1,63 mmol) у EtOH (5 ml) је охлађен на 0 °C на леденом купатилу. Тако охлађеном раствору додата је киселина **87** (250,0 mg, 0,79 mmol), након чега је смеша загрејана до собне температуре и мешана преко ноћи. Растварач је упарен при сниженом притиску, а остатак растворен у CH₂Cl₂ (20 ml), испран засићеним воденим раствором NaHCO₃ (3 × 5 ml) и дестилованом водом (3 × 5 ml). Органски слој је одвојен и сушен анхидрованим MgSO₄, CH₂Cl₂ је упарен при сниженом притиску, а остатак је пречишћен хроматографијом на колони силика-гела под изократским условима (елуент: смеша *n*-хексан/Et₂O = 3 : 1). Добијено је 15,5 mg једињења **88** (смеша дијастереомера **88-cis** : **88-trans** = 67 : 33).

Етил-(2ξ,4R)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилат (88**).** Жута уљаста



супстанца; принос: 5,5%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl₃) **88-cis**: δ 5,36 (s, 1H, H-2), 4,47 (dt, $^3J = 2,40$, $^4J = 1,30$, 1,30 Hz, 1H, H-2'), 4,31 (dt, $^3J = 2,40$, $^4J = 1,30$, 1,30 Hz, 1H, H-5'), 4,25 (q, $^3J = 7,10$ Hz, 2H, COOCH₂CH₃), 4,23 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,20 (td, $^3J = 2,40$, $^4J = 1,30$ Hz, 1H, H-4'), 4,18 (td, $^3J = 2,40$, $^4J = 1,30$ Hz, 1H, H-3'), 3,96 (dd, $^3J = 9,00$, $^7J = 7,10$ Hz, 1H, H-4), 3,38 (dd, $^2J = -10,30$, $^3J = 7,10$ Hz, 1H, H-5_A), 2,99 (dd, $^2J = -10,30$, $^3J = 9,00$ Hz, 1H, H-5_B), 1,31 ppm (t, $^3J = 7,10$ Hz, 3H, COOCH₂CH₃). ^1H NMR (400 MHz, CDCl₃) **88-trans**: δ 5,61 (s, 1H, H-2), 4,38 (ddd, $^3J = 2,40$, $^4J = 1,40$, 1,30 Hz, 1H, H-2'),

4,29 (ddd, $^3J = 2,50$, $^4J = 1,40$, $1,30$ Hz, 1H, H-5'), 4,25 (q, $^3J = 7,10$ Hz, 2H, COOCH₂CH₃), 4,21 (dd, $^3J = 7,00$, $5,70$ Hz, 1H, H-4), 4,19 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,17 (ddd, $^3J = 2,50$, $2,40$, $^4J = 1,40$ Hz, 1H, H-3'), 4,15 (td, $^3J = 2,50$, $2,50$, $^4J = 1,40$ Hz, 1H, H-4'), 3,35 (dd, $^2J = -10,50$, $^3J = 7,00$ Hz, 1H, H-5_A), 3,14 (dd, $^2J = -10,50$, $^3J = 5,70$ Hz, 1H, H-5_B), 1,30 ppm (t, $^3J = 7,10$ Hz, 3H, COOCH₂CH₃). ¹³C NMR (100,6 MHz, CDCl₃) **88-cis**: δ 171,4 (COOCH₂CH₃), 86,2 (C-1'), 69,7 (C-2), 69,2 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 68,9 (C-5'), 68,53 (C-3' или C-4'), 68,48 (C-3' или C-4'), 67,4 (C-2'), 66,3 (C-4), 61,8 (COOCH₂CH₃), 38,9 (C-5), 14,3 ppm (COOCH₂CH₃). ¹³C NMR (100,6 MHz, CDCl₃) **88-trans**: δ 171,8 (COOCH₂CH₃), 88,5 (C-1'), 69,1 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 68,7 (C-3', C-4' или C-5'), 68,6 (C-3', C-4' или C-5'), 68,5 (C-2), 68,4 (C-3', C-4' или C-5'), 67,6 (C-2'), 64,7 (C-4), 61,6 (COOCH₂CH₃), 38,2 (C-5), 14,3 ppm (COOCH₂CH₃).

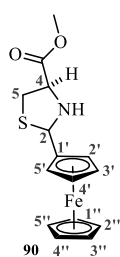
RI (SLB-5MS) = 2514; MS (EI), m/z (%) 346 (23,1), 345 (100) [M⁺], 311 (15,5), 225 (41), 212 (11,7), 186 (31,9), 179 (14,2), 121 (44,5), 118 (10,2), 56 (19,6).

HRMS (EI): m/z [M]⁺ израчунато за C₁₆H₁₉FeNO₂S⁺: 345,0486, нађено: 345,0481.

3.3.2.3. СИНТЕЗА МЕТИЛ-2-ФЕРОЦЕНИЛ-1,3-ТИЈАЗОЛИДИН-4-КАРБОКСИЛАТА (**90**)

У раствор добијен мешањем (*R*)-цистеин метил естра хидрохлорида (**89**; 275,0 mg, 1,6 mmol) и 4 ml дестиловане воде, додати су чврсти KHCO₃ (160,0 mg, 1,6 mmol) и 4 ml раствора алдехида **67** (503 mg, 2.35 mmol) у EtOH. Добијена смеша је мешана преко ноћи на собној температури у атмосфери N₂, а након тога је у њу додата дестилована вода (10 ml) и извршена је екстракција Et₂O (3 × 20 ml). Спoјени органски слојеви су испрани засићеним раствором NaCl (20 ml), сушени анхидрованим MgSO₄, а затим је растварач упарен при сниженом притиску. Добијени производ је пречишћен хроматографијом на колони силика-гела под изократским условима (елуент: смеша *n*-хексан/Et₂O = 3 : 1). Добијено је 350,0 mg једињења **90** (смеша дијастереомера **90-cis** : **90-trans** = 66 : 34).

Метил-(2ξ,4*R*)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилат (90**).** Уљаста супстанца



жуће боје; принос: 70,0 %. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) **90-cis**: δ 5,36 (s, 1H, H-2), 4,47 (dt, $^3J = 2,40$, $^4J = 1,30$, $1,30$ Hz, 1H, H-2'), 4,31 (dt, $^3J = 2,40$, $^4J = 1,30$, $1,30$ Hz, 1H, H-5'), 4,23 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,20 (ddd, $^3J = 2,50$, $2,40$, $^4J = 1,30$ Hz, 1H, H-4'), 4,19 (ddd, $^3J = 2,50$, $2,40$, $^4J = 1,30$ Hz, 1H, H-3'), 3,98 (dd, $^3J = 9,00$, $7,00$ Hz, 1H, H-4), 3,79 (s, 3H, COOCH₃), 3,37 (dd, 2J

= -10,30, $^3J = 7,00$ Hz, 1H, H-5_A), 2,99 ppm (dd, $^2J = -10,30$, $^2J = 9,00$ Hz, 1H, H-5_B). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) **90-trans**: δ 5,60 (s, 1H, H-2), 4,38 (dt, $^3J = 2,40$, $^4J = 1,30$, 1,30 Hz, 1H, H-2'), 4,30 (dt, $^3J = 2,40$, $^4J = 1,30$, 1,30 Hz, 1H, H-5'), 4,20 (dd, $^3J = 7,00$, 5,50 Hz, 1H, H-4), 4,19 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,17 (td, $^3J = 2,40$, 2,40, $^4J = 1,30$ Hz, 1H, H-3'), 4,15 (td, $^3J = 2,40$, 2,40, $^4J = 1,30$ Hz, 1H, H-4'), 3,78 (s, 3H, COOCH_3), 3,34 (dd, $^2J = -10,50$, $^3J = 7,00$ Hz, 1H, H-5_A), 3,17 ppm (dd, $^2J = -10,50$, $^3J = 5,50$ Hz, 1H, H-5_B). ^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3) **90-cis**: δ 171,8 (COOCH_3), 86,1 (C-1'), 69,7 (C-2), 69,2 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 68,9 (C-5'), 68,6 (C-3' или C-4'), 68,5 (C-3' или C-4'), 67,4 (C-2'), 66,1 (C-4), 52,7 (COOCH_3), 38,8 ppm (C-5). ^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3) **90-trans**: δ 172,3 (COOCH_3), 88,2 (C-1'), 69,8 (C-3', C-4' или C-5'), 69,1 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 68,7 (C-2), 68,6 (C-3', C-4' или C-5'), 68,5 (C-3', C-4' или C-5'), 67,5 (C-2'), 64,7 (C-4), 52,6 (COOCH_3), 38,0 ppm (C-5).

90-cis и **90-trans**: RI (SLB-5MS) = 2247; MS (EI), $m/z(\%)$ 332 (21,1), 331 (100) [M^+], 225 (44,3), 186 (30), 121 (40,5), 56 (19,8).

FTIR-ATR (cm^{-1}): 3300 (br; $\nu(\text{N-H})$), 3100 (br; $\nu(\text{arC-H})$), 2949 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{as}}$), 2850 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{s}}$), 2359 (w), 2341 (w), 1736 (s; $\nu(\text{C=O})$), 1633 (m), 1433 (s; $\delta(\text{CH}_2)_{\text{sc}}$), 1342 (m; $\delta(\text{CH}_3)_{\text{s}}$), 1244 (m; $\nu(\text{C-O})$), 1199 (m), 1157 (m), 1000 (m), 817 (s).

UV-vis (MeCN, $1,50 \times 10^{-3}$ M) λ_{max} nm (log ϵ): 445,5 (2,24) и (MeCN, $1,50 \times 10^{-5}$ M) λ_{max} nm (log ϵ): 327,5 (2,49), 202,5 (4,60).

HRMS (EI): m/z [M^+] израчунато за $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{FeNO}_2\text{S}^+$: 331,2110, нађено: 331,2114.

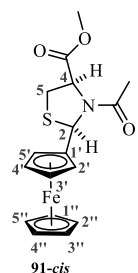
3.3.2.4. ОПШТА ПРОЦЕДУРА ЗА СИНТЕЗУ МЕТИЛ-*N*-АЦИЛ-2-ФЕРОЦЕНИЛ-1,3-ТИАЗОЛИДИН-4-КАРБОКСИЛАТА (**91-100**)

Раствор дијастереомерне смеше једињења **90** (100,0 mg, 0,302 mmol) у сувом THF (10 ml) је охлађен на -10 °C. У тако охлађен раствор је додат Et_3N (46 μl , 0,363 mmol) у капима уз мешање. Реакциона смеша је мешана још током 5 min, а затим је у њу укапан и раствор одговарајућег ацил-хлорида или анхидрида (0,332 mmol) у сувом THF. Након тридесетоминутног мешања, реакциона смеша је загрејана до собне температуре и мешање је настављено додатна 4 сата. Растварач је уклоњен на ротационом вакуум упаривачу, остатак је суспендован у дестилованој води (10 ml), закишељен 1 M HCl (до pH 5-6), а затим екстрахован EtOAc (3×20 ml). Органски слојеви су спојени, сушени анхидрованим MgSO_4 , а растварач је уклоњен при сниженом притиску. Добијени производ је пречишћаван хроматографијом на колони

силика-гела под изократским условима. Састав коришћеног елуента је наведен код сваког синтетисаног једињења.

^1H и ^{13}C NMR спектри једињења **91-100** са означеним сигналимa за *syn*- и *anti*-ротамере (са изузетком **92**, **99** и **100**) су дати у прилогу (прилог 34-79).

Метил-(2R,4R)-3-ацетил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилат (91-cis). Жута



уљаста супстанца; елуент: смеша $\text{MeOH/Et}_2\text{O}$ = 1 : 20; R_f (n -хексан/ Et_2O = 1 : 3) = 0,19; принос: 48,4%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) смеша ротамера (*syn* : *anti* = 55 : 45) *syn*: δ 6,43 (s, 1H, H-2), 4,78 (dd, 3J = 6,70, 2,10 Hz, 1H, H-4), 4,60 (dt, 3J = 2,50, 4J = 1,20, 1,20 Hz, 1H, H-2'), 4,26 (ddd, 3J = 2,40, 4J = 1,30, 1,20 Hz, 1H, H-5'), 4,16 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,13 (td, 3J = 2,40, 2,40, 4J = 1,20 Hz, 1H, H-4'), 4,12 (ddd, 3J = 2,50, 2,40, 4J = 1,30 Hz, 1H, H-3'), 3,61 (s, 3H, COOCH_3), 3,56 (dd, 2J = -11,20, 3J = 2,10 Hz, 1H, H-5_A), 3,22 (dd, 2J = -11,20, 3J = 6,70 Hz, 1H, H-5_B), 2,07 ppm (s, 3H, NC(O)CH_3). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) *anti*: δ 5,98 (s, 1H, H-2), 5,42 (dd, 3J = 6,90, 3,00 Hz, 1H, H-4), 4,43 (ddd, 3J = 2,40, 4J = 1,25, 1,20 Hz, 1H, H-2'), 4,31 (dt, 3J = 2,40, 4J = 1,20, 1,20 Hz, 1H, H-5'), 4,25 (ddd, 3J = 2,40, 2,30, 4J = 1,20 Hz, 1H, H-3'), 4,20 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,17 (ddd, 3J = 2,40, 2,30, 4J = 1,25 Hz, 1H, H-4'), 3,64 (s, 3H, COOCH_3), 3,42 (dd, 2J = -11,40, 3J = 3,00 Hz, 1H, H-5_A), 3,14 (dd, 2J = -11,40, 3J = 6,90 Hz, 1H, H-5_B), 2,18 ppm (s, 3H, NC(O)CH_3). ^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3) *syn*: δ 170,3 (COOCH_3), 168,4 (NC(O)CH_3), 86,4 (C-1'), 71,2 (C-2'), 69,13 (C-5'), 69,06 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 68,1 (преклопљени C-3' и C-4'), 63,2 (C-4), 61,9 (C-2), 52,9 (COOCH_3), 33,4 (C-5), 23,5 ppm (NC(O)CH_3). ^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3) *anti*: δ 170,8 (COOCH_3), 169,0 (NC(O)CH_3), 87,5 (C-1'), 69,7 (C-3'), 69,4 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 69,2 (C-2' или C-5'), 68,9 (C-2' или C-5'), 68,1 (C-4'), 63,7 (C-2), 62,0 (C-4), 52,6 (COOCH_3), 32,6 (C-5), 23,0 ppm (NC(O)CH_3).

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) смеша ротамера (*syn* : *anti* = 66 : 34) *syn*: δ 6,24 (s, 1H, H-2), 5,23 (dd, 3J = 6,6, 1,9 Hz, 1H, H-4), 4,41 (dt, 3J = 2,5, 4J = 1,3, 1,3 Hz, 1H, H-2'), 4,15 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,14-4,12 (m, 2H), 4,11 (td, 3J = 2,5, 2,5, 4J = 1,3 Hz, 1H), 3,53 (s, 3H, COOCH_3), 3,42 (dd, 2J = -11,3, 3J = 1,9 Hz, 1H, H-5_A), 3,24 (dd, 2J = -11,3, 3J = 6,6 Hz, 1H, H-5_B), 1,98 ppm (s, 3H, NC(O)CH_3). ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) *anti*: δ 6,22 (s, 1H, H-2), 5,14 (dd, 3J = 6,5, 5,0 Hz, 1H, H-4), 4,46 (dt, 3J = 2,7, 4J = 1,4, 1,4 Hz, 1H, H-2'), 4,34 (dt, 3J = 2,7, 4J = 1,4, 1,4 Hz, 1H, H-5'), 4,24-4,21 (m, 2H, H-3' и H-4'),

4,21 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 3,55 (s, 3H, COOCH₃), 3,26-3,20 (m, 2H, H-5_A и H-5_B), 2,11 ppm (s, 3H, NC(O)CH₃). ¹³C NMR (100,6 MHz, DMSO-*d*₆) **syn**: δ 170,4 (COOCH₃), 168,1 (NC(O)CH₃), 86,5 (C-1'), 70,7 (C-2'), 68,6 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 68,0 (C-3', C-4' или C-5'), 67,8 (C-3', C-4' или C-5'), 67,5 (C-3', C-4' или C-5'), 62,7 (C-4), 60,9 (C-2), 52,4 (COOCH₃), 32,7 (C-5), 23,0 ppm (NC(O)CH₃). ¹³C NMR (100,6 MHz, DMSO-*d*₆) **anti**: δ 170,4 (COOCH₃), 168,2 (NC(O)CH₃), 88,1 (C-1'), 69,9 (C-2'), 69,0 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 68,4 (C-5'), 68,3 (C-3' или C-4'), 67,5 (C-3' или C-4'), 62,7 (C-2), 61,9 (C-4), 52,1 (COOCH₃), 32,1 (C-5), 22,6 ppm (NC(O)CH₃).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) смеша ротамера (**syn** : **anti** = 66 : 34) **syn**: δ 6,34 (s, 1H, H-2), 5,13 (dd, ³J = 6,5, 1,8 Hz, 1H, H-4), 4,50 (dt, ³J = 2,5, ⁴J = 1,3, 1,3 Hz, 1H, H-2'), 4,25 (dt, ³J = 2,5, ⁴J = 1,3, 1,3 Hz, 1H, H-5'), 4,15 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,14-4,11 (m, 2H, H-3' и H-4'), 3,59 (s, 3H, COOCH₃), 3,53 (dd, ²J = -11,3, ³J = 1,8 Hz, 1H, H-5_A), 3,26 (dd, ²J = -11,3, ³J = 6,5 Hz, 1H, H-5_B), 2,07 ppm (s, 3H, NC(O)CH₃). ¹H NMR (400 MHz, MeOH-*d*₄) **anti**: δ 6,17 (s, 1H, H-2), 5,25 (dd, ³J = 7,0, 3,7 Hz, 1H, H-4), 4,46-4,44 (m, 2H), 4,27 (m, 1H), 4,22 (s, 5H, H-4', H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,21 (m, 1H), 3,65 (s, 3H, COOCH₃), 3,34 (dd, ²J = -11,6, ³J = 3,7 Hz, 1H, H-5_A), 3,25 (dd, ²J = -11,6, ³J = 7,0 Hz, 1H, H-5_B), 2,14 ppm (s, 3H, NC(O)CH₃). ¹³C NMR (100,6 MHz, MeOH-*d*₄) **syn**: δ 171,7 (COOCH₃), 171,4 (NC(O)CH₃), 87,4 (C-1'), 72,3 (C-2'), 69,9 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 69,5 (C-3', C-4' и C-5'), 69,4 (C-3', C-4' или C-5'), 69,0 (C-3', C-4' или C-5'), 64,5 (C-4), 62,9 (C-2), 53,2 (COOCH₃), 33,5 (C-5), 23,2 ppm (NC(O)CH₃). ¹³C NMR (100,6 MHz, MeOH-*d*₄) **anti**: δ 172,0 (COOCH₃), 171,8 (NC(O)CH₃), 88,7 (C-1'), 71,2 (C-2'), 70,3 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 70,1 (C-3', C-4' или C-5'), 69,0 (C-3', C-4' или C-5'), 70,0 (C-3', C-4' или C-5'), 65,0 (C-2), 64,0 (C-4), 52,9 (COOCH₃), 33,2 (C-5), 23,0 ppm (NC(O)CH₃).

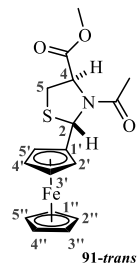
RI (SLB-5MS) = 2722; MS (EI), *m/z* (%) 374 (21,1), 373 (100) [M⁺], 264 (22,4), 211 (50,1), 186 (17,7), 121 (42,8), 56 (15), 43 (20).

FTIR-ATR (cm⁻¹): 3100 (br; ν(arC-H)), 2949 (w; ν(CH₂)_{as}), 2850 (w; ν(CH₂)_s), 2362 (w), 2336 (w), 1736 (s; ν(C=O)_{естар}), 1650 (s; ν(C=O)_{амид}), 1434 (m; δ(CH₂)_{sc}), 1390 (s; δ(CH₃)_s), 1208 (m; ν(C-O)), 1026 (m), 817 (m).

UV-vis (MeCN, 1,5 × 10⁻³ M) λ_{max} nm (log ε): 439,0 (2,03) и (1,50 × 10⁻⁵ M) λ_{max} nm (log ε): 322,5 (1,95), 203,0 (4,62). [α]_D²⁰ +113.18 (0,02 M у CH₂Cl₂).

HRMS (EI): *m/z* [M]⁺ израчунато за C₁₇H₁₉FeNO₃S⁺: 373,2480, нађено: 373,2477.

Метил-(2*S*,4*R*)-3-ацетил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилат (91-*trans*).



Жута уљаста супстанца; елуент: смеша *n*-хексан/Et₂O = 1 : 3; R_f (*n*-хексан/Et₂O = 1 : 3) = 0,27; принос 7,8%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) смеша ротамера (*syn* : *anti* = 60 : 40) *syn*: δ 6,39 (s, 1H, H-2), 4,7298 (dd, ³J = 6,20, 1,00 Hz, 1H, H-4), 4,7295 (dt, ³J = 2,50, ⁴J = 1,40, 1,40 Hz, 1H, H-2'), 4,36 (dt, ³J = 2,50, ⁴J = 1,40, 1,40 Hz, 1H, H-5'), 4,27 (td, ³J = 2,50, 2,50, ⁴J = 1,40 Hz, 1H, H-3'), 4,16 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,12 (td, ³J = 2,50, 2,50, ⁴J = 1,40 Hz, 1H, H-4'), 3,82 (s, 3H, COOCH₃), 3,65 (dd, ²J = -12,10, ³J = 6,20 Hz, 1H, H-5_A), 3,37 (dd, ²J = -12,10, ³J = 1,00 Hz, 1H, H-5_B), 1,95 ppm (s, 3H, NC(O)CH₃). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) *anti*: δ 5,98 (s, 1H, H-2), 4,89 (dd, ³J = 7,20, 2,50 Hz, 1H, H-4), 4,36 (dt, ³J = 2,50, ⁴J = 1,40, 1,40 Hz, 1H, H-2'), 4,26 (td, ³J = 2,50, 2,50, ⁴J = 1,40 Hz, 1H, H-3'), 4,212 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,210 (td, ³J = 2,50, 2,50, ⁴J = 1,40 Hz, 1H, H-4'), 4,14 (dt, ³J = 2,50, ⁴J = 1,40, 1,40 Hz, 1H, H-5'), 3,76 (s, 3H, COOCH₃), 3,48 (dd, ²J = -12,20, ³J = 7,20 Hz, 1H, H-5_A), 3,14 (dd, ²J = -12,20, ³J = 2,50 Hz, 1H, H-5_B), 2,13 ppm (s, 3H, NC(O)CH₃). ¹³C NMR (100,6 MHz, CDCl₃) *syn*: δ 170,9 (COOCH₃), 169,6 (NC(O)CH₃), 89,0 (C-1'), 71,5 (C-2'), 69,3 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 68,6 (C-3' или C-4'), 67,8 (C-3' или C-4'), 66,9 (C-5'), 64,7 (C-4), 63,0 (C-2), 53,3 (COOCH₃), 35,9 (C-5), 24,0 ppm (NC(O)CH₃). ¹³C NMR (100,6 MHz, CDCl₃) *anti*: δ 170,6 (COOCH₃), 169,6 (NC(O)CH₃), 90,1 (C-1'), 69,6 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 67,8 (C-3', C-4' и C-5'), 67,7 (C-2'), 63,9 (C-2), 63,5 (C-4), 52,7 (COOCH₃), 33,2 (C-5), 23,6 ppm (NC(O)CH₃).

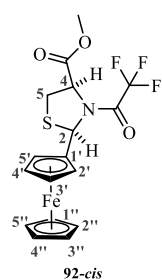
RI (SLB-5MS) = 2766; MS (EI), *m/z* (%) 374 (23,8), 373 (100) [M⁺], 264 (14,2), 211 (40,9), 186 (15), 121 (32,6), 56 (15,2), 43 (25,9).

FTIR-ATR (cm⁻¹): 3100 (br; ν(arC-H)), 2951 (w; ν(CH₂)_{as}), 2850 (w; ν(CH₂)_s), 2359 (w), 2336 (w), 1739 (s; ν(C=O)_{естар}), 1650 (s; ν(C=O)_{амид}), 1434 (m; δ(CH₂)_{sc}), 1379 (s; δ(CH₃)_s), 1340 (m), 1208 (m; ν(C-O)), 1026 (m), 817 (m).

[α]_D²⁰ -164,69 (0,01 M у CH₂Cl₂).

HRMS (EI): *m/z* [M]⁺ израчунато за C₁₇H₁₉FeNO₃S⁺: 373,2480, нађено: 373,2475.

Метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2,2,2-трифлуорацетил)-1,3-тијазолидин-4-



карбоксилат (92-*cis*). Жута уљаста супстанца; елуент: смеша *n*-хексан/ Et_2O = 15 : 1; принос: 43,8%; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6,36 (s, 1H, H-2), 5,05 (dd, 3J = 6,25, 1,10 Hz, 1H, H-4), 4,65 (ddd, 3J = 2,50, 4J = 1,35, 1,20 Hz, 1H, H-2'), 4,35 (ddd, 3J = 2,40, 4J = 1,40, 1,35 Hz, 1H, H-5'), 4,195 (ddd, 3J = 2,60, 2,50, 4J = 1,40 Hz, 1H, H-3'), 4,193 (ddd, 3J = 2,60, 2,40, 4J = 1,20 Hz, 1H, H-4'), 4,18 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 3,65 (s, 3H, COOCH_3), 3,55 (dd, 2J = -11,60, 3J = 1,10 Hz, 1H, H-5_A), 3,23 ppm (dd, 2J = -11,60, 3J = 6,25 Hz, 1H, H-5_B). ^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3): δ 168,9 ($\underline{\text{C}}\text{OOCH}_3$), 155,1 ($\text{NC}(\text{O})\underline{\text{C}}\text{F}_3$), 115,9 ($\text{NC}(\text{O})\underline{\text{C}}\text{F}_3$), 83,1 (C-1'), 72,1 (C-2'), 69,3 (C-4'), 69,2 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 68,8 (C-5'), 68,6 (C-3'), 64,4 (C-2), 62,5 (C-4), 53,1 (COOCH_3), 34,0 ppm (C-5).

RI (SLB-5MS) = 2402; MS (EI), m/z (%) 428 (22,7), 427 (100) [M^+], 316 (9,3), 211 (20,3), 186 (9,3), 121 (23,4), 69 (10,6), 56 (9,1).

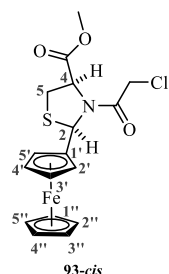
FTIR-ATR (cm^{-1}): 3100 (br; $\nu(\text{arC-H})$), 2954 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{as}}$), 2850 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{s}}$), 2358 (w), 2336 (w), 1742 (s; $\nu(\text{C=O})_{\text{естар}}$), 1691 (s; $\nu(\text{C=O})_{\text{амид}}$), 1431 (m; $\delta(\text{CH}_2)_{\text{sc}}$), 1198 (s; $\nu(\text{C-O})$), 1140 (s), 817 (m).

UV-vis (MeCN , $1,50 \times 10^{-3}$ M) λ_{max} nm (log ϵ): 435,5 (2,05) и (MeCN , $1,50 \times 10^{-5}$ M) λ_{max} nm (log ϵ): 203,0 (4,59).

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 87,6$ (0,02 M у CH_2Cl_2).

HRMS (EI): m/z [M] $^+$ израчунато за $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{FeNO}_3\text{S}^+$: 427,0152, нађено: 427,0148.

Метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-хлорацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилат (93-



***cis*).** Жута уљаста супстанца; елуент: смеша *n*-хексан/ Et_2O = 2 : 1; принос: 50,0%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) смеша ротамера (*syn* : *anti* = 60 : 40) *syn*: δ 6,35 (s, 1H, H-2), 5,01 (m, 1H, H-4), 4,61 (m, 1H, H-2'), 4,33-4,11 (m, 3H, H-3', H-4' и H-5'), 4,17 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,05 (d, 2J = -11,4 Hz, 1H, $\text{NC}(\text{O})\underline{\text{C}}\text{H}_\text{A}\underline{\text{H}}_\text{B}\text{Cl}$), 3,95 (d, 2J = -11,4 Hz, 1H, $\text{NC}(\text{O})\underline{\text{C}}\text{H}_\text{A}\underline{\text{H}}_\text{B}\text{Cl}$), 3,63 (s, 3H, COOCH_3), 3,58 (m, 1H, H-5_A), 3,22 ppm (m, 1H, H-5_B). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) *anti*: δ 6,11 (s, 1H, H-2), 5,32 (br s, 1H, H-4), 4,52 (m, 1H), 4,40 (m, 1H), 4,33-4,11 (m, 2H), 4,23 (s, 5H, H-1', H-2', H-3', H-4' и H-5'), 4,23*

(d, $^2J = -10,5$ Hz, 1H, NC(O)CH_AH_BCl) 3,94 (d, $^2J = -10,5$ Hz, 1H, NC(O)CH_AH_BCl), 3,72 (s, 3H, COOCH₃), 3,34 (m, 1H, H-5_A), 3,22 ppm (m, 1H, H-5_B). ¹³C NMR (100,6 MHz, CDCl₃) **syn**: δ 169,7 (COOCH₃), 164,2 (NC(O)CH_AH_BCl), 85,2 (C-1'), 69,6 (C-3', C-4' или C-5'), 69,2 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 71,6 (C-2'), 68,4 (C-3', C-4' или C-5'), 68,2 (C-3', C-4' или C-5'), 62,8 (C-2), 62,3 (C-4), 53,1 (COOCH₃), 42,7 (NC(O)CH_AH_BCl), 33,0 ppm (C-5). ¹³C NMR (100,6 MHz, CDCl₃) **anti**: δ 170,1 (COOCH₃), 165,1 (NC(O)CH_AH_BCl), 86,2 (C-1'), 69,9, 69,7, 69,6 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 69,2, 68,1, 63,9 (C-4), 63,1 (C-2), 52,8 (COOCH₃), 42,2 (NC(O)CH_AH_BCl), 32,5 ppm (C-5).

RI (SLB-5MS) = 2888; MS (EI), m/z (%) 407 (100) [M⁺], 371 (39,9), 300 (49,8), 230 (22,2), 211 (41,2), 186 (18,4), 121 (59), 56 (22,2).

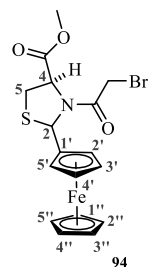
FTIR-ATR (cm⁻¹): 3089 (br; ν(arC-H)), 2950 (w; ν(CH₂)_{as}), 2850 (w; ν(CH₂)_s), 2360 (w), 2335 (w), 1739 (s; ν(C=O)_{естар}), 1658 (s; ν(C=O)_{амид}), 1435 (m; δ(CH₂)_{sc}), 1396 (s; δ(CH₃)_s), 1238 (m; ν(C-O)), 819 (m), 728 (s).

UV-vis (MeCN, $1,5 \times 10^{-3}$ M) λ_{max} nm (log ε): 439,5 (2,07) и (MeCN, $1,50 \times 10^{-5}$ M) λ_{max} nm (log ε): 324,0 (2,21), 203,5 (4,58).

[α]_D²⁰ +104,8 (0,01 M у CH₂Cl₂).

HRMS (EI): m/z [M]⁺ израчунато за C₁₇H₁₈ClFeNO₃S⁺: 407,0045, нађено: 407,0049. Услед ширења сигнала, хемијска померања обележена симболом * су процењена на основу HSQC интеракција.

Метил-3-(2-бромацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилат (94).

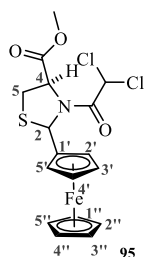


Жута уљаста супстанца; елуент: смеша *n*-хексан/Et₂O = 3 : 1; принос: 18,3%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) смеша ротамера (**syn** : **anti** = 65 : 35) **syn**: δ 6,34 (s, 1H, H-2), 5,04 (br d, $^3J = 6,2$ Hz, 1H, H-4), 4,60 (m, 1H), 4,30 (m, 1H), 4,16 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,15-4,12 (m, 2H), 3,81-3,79 (m, 2H), 3,63 (s, 3H, COOCH₃), 3,59 (m, 1H, H-5_A), 3,23 ppm (m, 1H, H-5_B). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) **anti**: δ 6,15 (s, 1H, H-2), 5,30 (br d, $^3J = 6,2$ Hz, 1H, H-4), 4,52 (m, 1H), 4,42 (m, 1H), 4,31 (m, 1H), 4,26 (m, 1H), 4,24 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 3,74-3,72 (m, 2H), 3,73 (s, 3H, COOCH₃), 3,33 (m, 1H, H-5_A), 3,23 ppm (m, 1H, H-5_B). ¹³C NMR (100,6 MHz, CDCl₃) **syn**: δ 169,6 (COOCH₃), 164,4 (NC(O)CH_AH_BBr), 85,2 (C-1'), 71,5, 69,78, 69,1 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 68,4,

68,2, 63,0 (C-4), 62,7 (C-2), 53,11 (COOCH₃), 52,8 (NC(O)CH₂CH₂Br), 32,7 ppm (C-5). ¹³C NMR (100,6 MHz, CDCl₃) **anti**: δ 170,2 (COOCH₃), 164,4 (NC(O)CH₂CH₂Br), 87,0 (C-1'), 69,84, 69,5 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 69,3, 69,0, 68,0, 63,9 (C-4), 63,5 (C-2), 53,06 (COOCH₃), 52,8 (NC(O)CH₂CH₂Br), 32,5 ppm (C-5).

HRMS (EI): *m/z* [M]⁺ израчунато за C₁₇H₁₈BrFeNO₃S⁺: 450,9540, нађено: 450,9537.

Метил-2-фероценил-3-(2,2-дихлорацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилат (95).



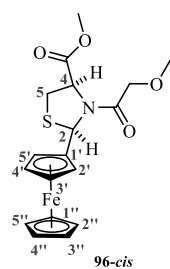
Жута уљаста супстанца; елуент: *n*-хексан/Et₂O = 4 : 1; принос: 17,1%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) смеша ротамера (**главни** : **минорни** = 67 : 33) **главни**: δ 6,32 (s, 1H, H-2), 6,07 (s, 1H, NC(O)CHCl₂), 5,21 (br d, ³J = 7,0 Hz 1H, H-4), 4,70 (m, 1H, H-2'), 4,35 (m, 1H), 4,24-4,16 (m, 2H), 4,22 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 3,67 (s, 3H, COOCH₃), 3,58 (d, ²J = -11,5 Hz, 1H, H-5_A), 3,22 ppm (dd, ²J = -11,5, 7,0 Hz, 1H, H-5_B). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) **минорни**: δ 6,51 (s, 1H, NC(O)CHCl₂), 6,13 (s, 1H, H-2), 5,22 (m, 1H, H-4), 4,54 (m, 1H), 4,45 (m, 1H, H-2'), 4,37 (m, 1H), 4,27 (m, 1H), 4,26 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 3,75 (s, 3H, COOCH₃), 3,28-3,24 ppm (m, 2H, H-5_A и H-5_B). ¹³C NMR (100,6 MHz, CDCl₃) **главни**: δ 169,2 (COOCH₃), 161,4 (NC(O)CHCl₂), 86,3 (C-1'), 72,2 (C-2'), 70,1, 69,7 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 69,6*, 68,4*, 66,3 (NC(O)CHCl₂), 64,0 (C-2), 62,6 (C-4), 53,2 (COOCH₃), 33,2 ppm (C-5). ¹³C NMR (100,6 MHz, CDCl₃) **минорни**: δ 169,3 (COOCH₃), 162,3 (NC(O)CHCl₂), 84,7 (C-1'), 69,6 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 69,2 (C-2'), 69,1 (C-3', C-4' или C-5'), 68,9 (C-3', C-4' или C-5'), 68,7* (C-3', C-4' или C-5'), 64,9 (NC(O)CHCl₂), 64,8 (C-4), 63,7 (C-2), 52,9 (COOCH₃), 32,4 ppm (C-5).

FTIR-ATR (cm⁻¹): 3095 (br; ν(arC-H)), 2951 (w; ν(CH₂)_{as}), 2915 (w; ν(CH₂)_s), 1740 (s; ν(C=O)_{естар}), 1674 (s; ν(C=O)_{амид}), 1435 (m; δ(CH₂)_{sc}), 1397 (m; δ(CH₃)_s), 1232 (m; ν(C-O)), 801 (s).

UV-vis (MeCN, 1,5 × 10⁻³ M) λ_{max} nm (log ε): 439,0 (2,22) и (MeCN, 1,50 × 10⁻⁵ M) λ_{max} nm (log ε): 201,0 (4,71).

HRMS (EI): *m/z* [M]⁺ израчунато за C₁₇H₁₇Cl₂FeNO₃S⁺: 440,9656, нађено: 440,9661. Услед ширења сигнала, хемијска померања обележена симболом * су процењена на основу HSQC интеракција.

Метил-(2R,4R)-2-фероценил-3-(2-метоксиацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилат



(96-cis). Жута уљаста супстанца; елуент: смеша *n*-хексан/ Et_2O = 1 : 3; Rf (*n*-хексан : Et_2O = 1 : 3) = 0,23; принос: 49,0%; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) смеша ротамера (*syn* : *anti* = 70 : 30) *syn*: δ 6,44 (s, 1H, H-2), 5,11 (br d, 3J = 5,0 Hz, 1H, H-4), 4,62 (br s, 1H, H-2'), 4,30 (br s, 1H), 4,27-4,11 (m, 2H), 4,17 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,07 (d, 2J = -10,5 Hz, 1H, $\text{NC}(\text{O})\text{CH}_A\text{H}_B\text{OCH}_3$), 3,96 (d, 2J = -10,5 Hz, 1H, $\text{NC}(\text{O})\text{CH}_A\text{H}_B\text{OCH}_3$), 3,61 (s, 3H, COOCH_3), 3,53 (br d, 2J = -10,8 Hz, 1H, H-5_A), 3,33 (s, 3H, $\text{NC}(\text{O})\text{CH}_A\text{H}_B\text{OCH}_3$), 3,18 ppm (br dd, 2J = -10,8, 3J = 5,0 Hz 1H, H-5_B). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) *anti*: δ 6,13 (s, 1H, H-2), 5,39 (br s, 1H, H-4), 4,45 (br s, 1H), 4,35 (br s, 1H), 4,27-4,11 (m, 2H), 4,14 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,07 (d, 2J = -11,5 Hz, 1H, $\text{NC}(\text{O})\text{CH}_A\text{H}_B\text{OCH}_3$), 3,96 (d, 2J = -11,5 Hz, 1H, $\text{NC}(\text{O})\text{CH}_A\text{H}_B\text{OCH}_3$), 3,64 (s, 3H, COOCH_3), 3,43 (m, 4H, H-5_A и $\text{NC}(\text{O})\text{CH}_A\text{H}_B\text{OCH}_3$), 3,18 ppm (m, 1H, H-5_B). ^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3) *syn*: δ 170,3 (COOCH_3), 167,3 ($\text{NC}(\text{O})\text{CH}_A\text{H}_B\text{OCH}_3$), 85,7 (C-1'), 73,2 ($\text{NC}(\text{O})\text{CH}_A\text{H}_B\text{OCH}_3$), 71,5 (C-2'), 69,1 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 68,9 (C-3', C-4' или C-5'), 68,3 (C-3', C-4' или C-5'), 68,1 (C-3', C-4' или C-5'), 62,6 (C-2), 61,5 (C-4), 59,3 ($\text{NC}(\text{O})\text{CH}_A\text{H}_B\text{OCH}_3$), 52,7 (COOCH_3), 33,7 ppm (C-5). ^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3) *anti*: δ 170,3 (COOCH_3), 167,9 ($\text{NC}(\text{O})\text{CH}_A\text{H}_B\text{OCH}_3$), 86,7 (C-1'), 71,9 ($\text{NC}(\text{O})\text{CH}_A\text{H}_B\text{OCH}_3$), 69,9, 69,3*, 69,1*, 68,1*, 62,6 (C-4), 62,1 (C-2), 59,3 ($\text{NC}(\text{O})\text{CH}_A\text{H}_B\text{OCH}_3$), 52,7 (COOCH_3), 32,4 ppm (C-5).

RI (SLB-5MS) = 2819; MS (EI), m/z (%) 403 (100) [M^+], 330 (12,7), 264 (23), 211 (34,3), 186 (14), 121 (33,1), 56 (12,0), 45 (36,1).

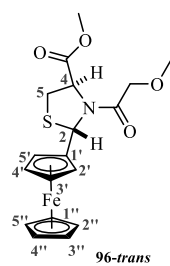
FTIR-ATR (cm^{-1}): 3100 (br; $\nu(\text{arC-H})$), 2949 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{as}}$), 2823 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{s}}$), 1737 (s; $\nu(\text{C=O})_{\text{естер}}$), 1655 (s; $\nu(\text{C=O})_{\text{амид}}$), 1450 (m; $\delta(\text{CH}_2)_{\text{sc}}$), 1347 (m; $\delta(\text{CH}_3)_{\text{s}}$), 1199 (s; $\nu(\text{C-O})$), 1105 (s), 1000 (m), 818 (m), 750 (s).

UV-vis (MeCN, $1,5 \times 10^{-3}$ M) λ_{max} nm (log ϵ): 438,0 (2,01) и (MeCN, $1,50 \times 10^{-5}$ M) λ_{max} nm (log ϵ): 323,0 (1,96), 203,0 (4,56).

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ +90,43 (0,02 M у CH_2Cl_2).

HRMS (EI): m/z [M^+] израчунато за $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{FeNO}_4\text{S}^+$: 403,0541, нађено: 403,0537. Услед ширења сигнала, хемијска померања обележена симболом * су процењена на основу HSQC интеракција.

Метил-(2*S*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-метоксиацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилат

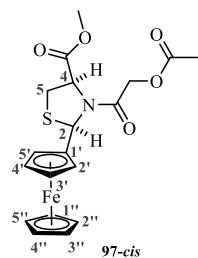


(**96-trans**). Жута уљаста супстанца; елуент: смеша *n*-хексан/Et₂O = 1 : 3; Rf (*n*-хексан : Et₂O = 1 : 3) = 0,33; принос: 0.5%. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) смеша ротамера (**главни** : **минорни** = 73 : 27) **главни**: δ 6,09 (s, 1H, H-2), 5,75 (br d, *J* = 6,4 Hz, 1H, H-4), 4,34 (m, 1H), 4,21-4,08 (m, 2H), 4,11 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,07 (td, ³*J* = 2,4, 2,4, ⁴*J* = 1,3 Hz, 1H), 3,53 (d, ²*J* = -14,9 Hz, 1H, NC(O)CH_AH_BOCH₃), 3,45 (s, 3H, COOCH₃), 3,35 (s, 3H, NC(O)CH_AH_BOCH₃), 3,22-3,17 (m, 1H), 3,12-3,06 (m, 1H), 2,94 ppm (d, ²*J* = -14,9 Hz, 1H, NC(O)CH_AH_BOCH₃). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) **минорни**: δ 6,15 (s, 1H, H-2), 5,82 (br d, ³*J* = 6,4 Hz, 1H, H-4), 4,31 (s, 1H), 4,21-4,08 (m, 3H), 4,14 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 3,52 (d, ²*J* = -10,5 Hz, 1H, NC(O)CH_AH_BOCH₃), 3,48 (s, 3H, COOCH₃), 3,38 (s, 3H, NC(O)CH_AH_BOCH₃), 3,22-3,17 (m, 2H), 3,12-3,06 ppm (m, 1H).

RI (SLB-5MS) = 2857; MS (EI), *m/z*(%) 403 (100) [M⁺], 330 (11,1), 264 (18,2), 211 (28,7), 186 (11,6), 121 (25,3), 56 (9,2), 45 (29,7).

HRMS (EI): *m/z* [M]⁺ израчунато за C₁₈H₂₁FeNO₄S⁺: 403,0541, нађено: 403,0546.

Метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-ацетоксиацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилат



(**97-cis**). Жута уљаста супстанца; елуент: смеша *n*-хексан/Et₂O = 1 : 2; принос: 63,0%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) смеша ротамера (**syn** : **anti** = 55 : 45) **syn**: δ 6,41 (s, 1H, H-2), 4,81 (br s, 1H, H-4), 4,79 (d, ²*J* = -10,4 Hz, 1H, NC(O)CH_AH_BOC(O)CH₃), 4,59 (m, 1H, H-2'), 4,37 (d, ²*J* = -10,4 Hz, 1H, NC(O)CH_AH_BOC(O)CH₃), 4,31-4,23 (m, 3H), 4,16 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 3,64 (s, 3H, COOCH₃), 3,58 (m, 1H, H-5_A), 3,22 (m, 1H, H-5_B), 2,15 ppm (s, 3H, NC(O)CH_AH_BOC(O)CH₃). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) **anti**: δ 5,97 (s, 1H, H-2), 5,37 (br s, 1H, H-4), 4,88 (m, 1H, NC(O)CH_AH_BOC(O)CH₃), 4,50 (m, 1H), 4,43-4,31 (m, 1H), 4,35 (m, 1H, NC(O)CH_AH_BOC(O)CH₃), 4,31-4,23 (m, 2H), 4,21 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 3,68 (s, 3H, COOCH₃), 3,37 (m, 1H, H-5_A), 3,22 (m, 1H, H-5_B), 2,15 ppm (s, 3H, NC(O)CH_AH_BOC(O)CH₃). ¹³C NMR (100,6 MHz, CDCl₃) **syn**: δ 170,7 (NC(O)CH_AH_BOC(O)CH₃), 169,7 (COOCH₃), 164,9 (NC(O)CH_AH_BOC(O)CH₃), 85,4 (C-1'), 71,5, 69,1, 68,3, 68,1, 62,8 (C-2), 62,0 (NC(O)CH_AH_BOC(O)CH₃), 61,5 (C-4), 53,1 (COOCH₃), 33,4 (C-5), 20,7 ppm (NC(O)CH_AH_BOC(O)CH₃). ¹³C NMR (100,6 MHz, CDCl₃) **anti**: δ 170,7 (NC(O)CH_AH_BOC(O)CH₃), 170,3 (COOCH₃), 165,6 (NC(O)CH_AH_BOC(O)CH₃), 86,2 (C-1'), 70,0, 69,7, 69,5 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''),

69,0, 68,1, 63,1 (C-4), 62,8 (C-2), 62,0 (NC(O)CH_AH_BOC(O)CH₃), 52,8 (COOCH₃), 32,6 (C-5), 20,7 ppm (NC(O)CH_AH_BOC(O)CH₃).

RI (SLB-5MS) = 3008; MS (EI), m/z (%) 432 (26), 431 (100) [M⁺], 329 (26,4), 256 (14,1), 211 (34,6), 186 (22,8), 121 (44,7), 109 (21,1), 56 (15), 43 (43,9).

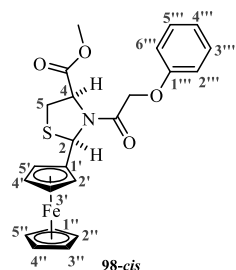
FTIR-ATR (cm⁻¹): 3100 (br; ν (arC-H)), 2951 (w; ν (CH₂)_{as}), 2835 (w; ν (CH₂)_s), 2360 (w), 2335 (w), 1740 (s; ν (C=O)_{естар}), 1669 (s; ν (C=O)_{амид}), 1433 (m; δ (CH₂)_{sc}), 1370 (m; δ (CH₃)_s), 1225 (s; ν (C-O)), 1081 (m), 819 (m), 728 (m).

UV-vis (MeCN, 1,50 × 10⁻³ M) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ): 439,0 (1,95) и (MeCN, 1,50 × 10⁻⁵ M) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ): 325,0 (1,92), 203,0 (4,49).

$[\alpha]_D^{20} +87,26$ (0,03 M у CH₂Cl₂).

HRMS (EI): m/z [M]⁺ израчунато за C₁₉H₂₁FeNO₅S⁺: 431,0490, нађено: 431,0488.

Метил-(2R,4R)-3-(2-феноксиацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилат



(**98-cis**). Жута кристална супстанца; елуент: *n*-хексан/Et₂O = 2 : 1; Rf (*n*-хексан/Et₂O = 2 : 1) = 0,08; принос: 66,5%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) смеша ротамера (*syn* : *anti* = 67 : 33) *syn*: δ 7,26 (dd, ³J = 7,9, 7,4 Hz, 2H, H-3''' и H-5'''), преклопљени са сигналом који потиче од CHCl₃, 6,98 (t, ³J = 7,4 Hz, 1H, H-4'''), 6,86 (d, ³J = 7,9 Hz, 2H, H-2''' и H-6'''), 6,44 (s, 1H, H-2), 5,21 (br d, ³J = 4,0 Hz 1H, H-4), 4,70-4,48

(m, 3H), 4,28 (m, 1H), 4,23-4,11 (m, 2H), 4,16 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 3,54 (s, 3H, COOCH₃), 3,54 (m, 1H, H-5_A), 3,16 ppm (m, 1H, H-5_B). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) *anti*: δ 7,26 (dd, ³J = 7,9, 7,4 Hz, 2H, H-3''' и H-5'''), преклопљен са сигналом који потиче од CHCl₃, 6,98 (t, ³J = 7,4 Hz, 1H, H-4'''), 6,86 (d, ³J = 7,9 Hz, 2H, H-2''' и H-6'''), 6,20 (s, 1H, H-2), 5,34 (br s, 1H, H-4), 4,70-4,48 (m, 3H), 4,32 (m, 1H), 4,23-4,11 (m, 2H), 4,19 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 3,70 (s, 3H, COOCH₃), 3,35 (m, 1H, H-5_A), 3,16 ppm (m, 1H, H-5_B). ¹³C NMR (100,6 MHz, CDCl₃) *syn*: δ 170,1 (COOCH₃), 166,1 (NC(O)CH_AH_BOPh), 157,7 (C-1'''), 129,8 (C-3''' и C-5'''), 122,0 (C-4'''), 114,7 (C-2''' и C-6'''), 85,5 (C-1'), 71,5, 69,1 (C-1', C-2', C-3', C-4' и C-5'), 69,0, 68,7 (NC(O)CH_AH_BOPh), 68,3, 68,2, 62,9 (C-2), 61,5 (C-4), 52,8 (COOCH₃), 33,6 ppm (C-5). ¹³C NMR (100,6 MHz, CDCl₃) *anti*: δ 170,4 (COOCH₃), 166,7 (NC(O)CH_AH_BOPh), 157,8 (C-1'''), 129,8 (C-3''' и C-5'''), 122,0 (C-4'''), 114,7 (C-2''' и C-6'''), 86,1 (C-1'), 70,2,

69,7, 69,5 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 69,1 (NC(O)CH₂CH₂OPh), 68,0, 67,7, 63,5 (C-4), 62,6 (C-2), 52,8 (COOCH₃), 32,5 ppm (C-5).

RI (SLB-5MS) = 3442; MS (EI), m/z (%) 465 (100) [M⁺], 330 (14,7), 211 (23,2), 207 (48,1), 186 (15,7), 121 (26,2), 77 (33,9), 56 (9,8).

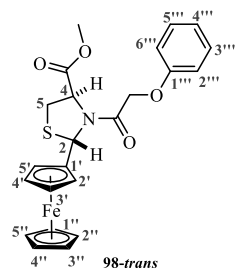
FTIR-ATR (cm⁻¹): 3100 (br; ν (arC-H)), 2938 (w; ν (CH₂)_{as}), 2835 (w; ν (CH₂)_s), 1752 (s; ν (C=O)_{естер}), 1656 (s; ν (C=O)_{амид}), 1598 (m), 1418 (m; δ (CH₂)_{sc}), 1223 (s; ν (C-O)), 1070 (m), 746 (s; γ (arC-H)), 691 (s; Φ (C=C)).

UV-vis (MeCN, $1,50 \times 10^{-3}$ M) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ): 438,0 (2,06) и (MeCN, $1,50 \times 10^{-5}$ M) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ): 324,0 (1,96), 195,5 (4,73).

$[\alpha]_D^{20} +43,64$ (0,02 M у CH₂Cl₂).

HRMS (EI): m/z [M]⁺ израчунато за C₂₃H₂₃FeNO₄S⁺: 465,0697, нађено: 465,0701.

Метил-(2S,4R)-3-(2-феноксиацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилат



(**98-trans**). Жута уљаста супстанца; елуент: смеша *n*-хексан/Et₂O = 2 :

1; R_f (*n*-хексан/Et₂O = 2 : 1) = 0,15; принос: 1,2%. ¹H NMR (400 MHz,

CDCl₃) смеша ротамера (*syn* : *anti* = 67 : 33) *syn*: δ 7,26 (dd, ³J = 7,9,

7,3 Hz, 2H, H-3''' и H-5''', преклопљен са сигналом који потиче од

CHCl₃), 6,98 (tt, ³J = 7,3, ⁴J = 1,1 Hz, 1H, H-4'''), 6,83 (dd, ³J = 7,9, ⁴J =

1,1 Hz, 2H, H-2''' и H-6'''), 6,56 (s, 1H, H-2), 5,11 (s, 1H, H-4), 4,64-4,48 (m, 2H), 4,48-

4,26 (m, 2H), 4,17 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,14-4,07 (m, 2H), 3,72 (s, 4H,

COOCH₃ и H-5_A), 3,41 ppm (m, 1H, H-5_B). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) *anti*: δ 7,26 (dd, ³J

= 7,9, 7,3 Hz, 2H, H-3''' и H-5''', преклопљен са сигналом који потиче од CHCl₃), 6,98

(tt, ³J = 7,3, ⁴J = 1,1 Hz, 1H, H-4'''), 6,83 (dd, ³J = 7,9, ⁴J = 1,1 Hz, 2H, H-2''' и H-6'''),

6,17 (s, 1H, H-2), 5,11 (br d, ³J = 5,0 Hz, 1H, H-4), 4,64-4,48 (m, 3H), 4,48-4,26 (m, 3H),

4,22 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 3,72 (s, 3H, COOCH₃), 3,57 (m, 1H, H-5_A),

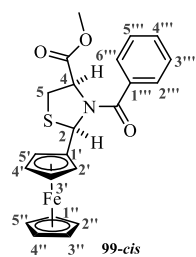
3,41 ppm (m, 1H, H-5_B).

RI (SLB-5MS) = 3447; MS (EI), m/z (%) 465 (100) [M⁺], 330 (15,1), 211 (24,4), 207 (70,3),

186 (15,1), 121 (27,6), 77 (34,5), 56 (10,4).

HRMS (EI): m/z [M]⁺ израчунато за C₂₃H₂₃FeNO₄S⁺: 465,0697, нађено: 465,0694.

Метил-(2*R*,4*R*)-3-бензоил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилат (99-*cis*).



Жута уљаста супстанца; елуент: смеша *n*-хексан/ Et_2O = 3 : 1; принос: 54,0%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,45-7,40 (m, 3H, H-2''', H-4''' и H-6'''), 7,40-7,34 (m, 2H, H-3''' и H-5'''), 6,59 (br s, 1H, H-2), 4,80 (br s, 1H, H-4), 4,44 (br s, 1H), 4,20 (br s, 8H), 3,67 (s, 3H, COOCH_3), 3,45 (br d, $^2J = -11,0$ Hz, 1H, H-5_A), 3,10 ppm (br d, $^2J = -11,0$ Hz, 1H, H-5_B). ^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3): δ 170,4 (COOCH_3), 170,0 (NC(O)Ph), 136,3 (C-1'''), 130,5 (C-4'''), 128,7 (C-3''' и C-5'''), 127,1 (C-2''' и C-6'''), 86,2 (C-1'), 69,5 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 69,0, 68,7, 65,2 (C-4), 62,2 (C-2), 52,9 (COOCH_3), 33,8 ppm (C-5).

RI (SLB-5MS) = 3225; MS (EI), m/z (%) 436 (29,1), 435 (100) [M^+], 330 (10,3), 281 (16,5), 255 (25,5), 212 (19,1), 211 (72,5), 186 (7), 121 (23,2), 105 (61), 77 (49,5), 56 (9,4).

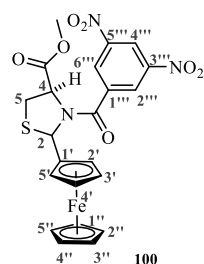
FTIR-ATR (cm^{-1}): 3100 (br; $\nu(\text{arC-H})$), 2949 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{as}}$), 2852 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{s}}$), 1737 (s; $\nu(\text{C=O})_{\text{естар}}$), 1643 (s; $\nu(\text{C=O})_{\text{амид}}$), 1445 (m, $\delta(\text{CH}_2)_{\text{sc}}$), 1375 (s; $\delta(\text{CH}_3)_{\text{s}}$), 1207 (m; $\nu(\text{C-O})$), 1105 (m), 999 (m), 818 (m), 715 (m; $\gamma(\text{ar}(\text{CH}))$), 700 (s; $\Phi(\text{C=C})$).

UV-vis (MeCN, $1,50 \times 10^{-3}$ M) λ_{max} nm ($\log \epsilon$): 436,50 (2,02) и (MeCN, $1,50 \times 10^{-5}$ M) λ_{max} nm ($\log \epsilon$): 200,0 (4,70).

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} +21,27$ (0,02 M у CH_2Cl_2).

HRMS (EI): m/z [M] $^+$ израчунато за $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{FeNO}_3\text{S}^+$: 435,0592, нађено: 435,0596.

Метил-(2*ξ*,4*R*)-2-фероценил-3-(3,5-динитробензоил)-1,3-тијазолидин-4-



карбоксилат (100). Жута уљаста супстанца; елуент: смеша *n*-хексан/ Et_2O = 3 : 1; принос: 32,5%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 9,03 (s, 1H, H-4'''), 8,66 (br s, 2H, H-2''' и H-6'''), 4,50 (m, 3H), 4,23 (m, 2H), 4,17 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 3,82 (s, 3H, COOCH_3), 3,47 (m, 1H, H-5_A), 3,24 ppm (br s, 1H, H-5_B). ^{13}C NMR (100,6 MHz, CDCl_3): δ 169,4 (COOCH_3), 165,0 (NC(O)Ph), 148,4 (C-3''' и C-5'''), 139,6 (C-1'''), 127,5 (C-2''' и C-6'''), 120,0 (C-4'''), 84,7 (C-1'), 69,4 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 68,8, 64,9 (C-4), 53,4 (COOCH_3), 33,7 ppm (C-5).

FTIR-ATR (cm^{-1}): 3107 (br; $\nu(\text{arC-H})$), 2952 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{as}}$), 2850 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{s}}$), 2365 (w), 2355 (w), 1734 (s; $\nu(\text{C=O})_{\text{естар}}$), 1636 (s; $\nu(\text{C=O})_{\text{амид}}$), 1460 (m; $\delta(\text{CH}_2)_{\text{sc}}$), 1341 (s; $\delta(\text{CH}_3)_{\text{s}}$), 1240 (m; $\nu(\text{C-O})$), 906 (m), 728 (s), 683 (s).

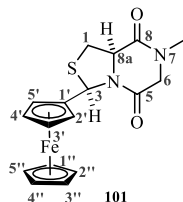
UV-vis (MeCN, $1,50 \times 10^{-3}$ M) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ): 432,0 (2,21) и (MeCN, $1,30 \times 10^{-5}$ M) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ): 203,0 (4,70).

HRMS (EI): m/z [M]⁺ израчунато за C₂₂H₁₉FeN₃O₇S⁺: 525,0293, нађено: 525,0297.

3.3.3. СИНТЕЗА БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-3

Раствору чистог једињења **93-cis** (1,0 еквивалент) у MeCN (5 ml) је уз мешање додата каталитичка количина NaI (0,4 еквивалента), раствор одговарајућег амина (1,1 еквивалента) у MeCN (5 ml) и чврсти Na₂CO₃ (1,0 еквивалент). Реакциона смеша је мешана на собној температури у атмосфери N₂ преко ноћи за алифатичне амина. У случају ароматичних амина смеша је уз интензивно мешање рефлугована 3 сата. Након тога, смеша је процеђена, растварач је упарен под сниженим притиском, а добијени сирови производ пречишћаван хроматографијом на колони силика-гела под изократским или градијентним условима. Састав елуента је дат код сваког синтетисаног једињења. Структуре добијених хибрида су потврђене NMR, IR, UV-vis и HRMS анализама. ¹H и ¹³C NMR спектри ових хибрида су дати у прилогу (**прилог 80-105**).

(3*R*,8*aR*)-3-Фероценил-7-метилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-дион



(101). Жута кристална супстанца; елуент: смеша 0,75% MeOH у Et₂O (v/v); принос: 38,2%. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 6,09 (s, 1H, H-3), 4,61 (ddd, ³J = 11,20, 5,50, ⁵J = 1,30 Hz, 1H, H-8a), 4,42 (dt, ³J = 2,50, ⁴J = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,38 (dt, ³J = 2,50, ⁴J = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,21 (dd, ²J = -17,00, ⁵J = 1,30 Hz, 1H, H-6_A), 4,18 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,15 (td, ³J = 2,50, 2,50, ⁴J = 1,30 Hz, 1H, H-3' или H-4'), 4,10 (td, ³J = 2,50, 2,50, ⁴J = 1,30 Hz, 1H, H-3' или H-4'), 3,79 (d, ²J = -17,00 Hz, 1H, H-6_B), 3,36 (dd, ²J = -11,90, ³J = 5,50 Hz, 1H, H-1_A), 3,25 (dd, ²J = -11,90, ³J = 11,20 Hz, 1H, H-1_B), 2,80 ppm (s, 3H, N-CH₃). ¹³C NMR (100,6 MHz, DMSO-*d*₆): δ 166,4 (C-8), 164,5 (C-5), 88,5 (C-1'), 70,2 (C-2' или C-5'), 68,9 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 67,83 (C-3' или C-4'), 67,75 (C-3' или C-4'), 66,5 (C-2' или C-5'), 62,9 (C-8a), 61,2 (C-3), 53,0 (C-6), 32,4 (N-CH₃), 31,9 ppm (C-1).

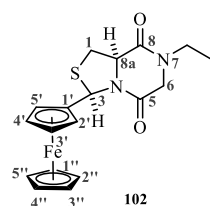
RI (SLB-5MS) = 3074; MS (EI), m/z (%) 371 (23,5), 370 (100) [M⁺], 305 (16,9), 227 (22,3), 207 (19,7), 186 (8,8), 165 (10,8), 121 (22,5), 56 (8,2).

FTIR-ATR (cm^{-1}): 3090 (br; $\nu(\text{arC-H})$), 2919 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{as}}$), 2850 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{s}}$), 1667 и 1630 (s; $\nu(\text{C=O})$), 1489 (m; $\delta(\text{CH}_2)_{\text{sc}}$), 1395 (s; $\delta(\text{CH}_3)_{\text{s}}$), 1253 (m), 823 (m), 794 (m), 730 (m).

UV-vis (MeCN, $1,50 \times 10^{-3}$ M) λ_{max} nm (log ϵ): 438,5 (1,67) и (MeCN, $1,50 \times 10^{-5}$ M) λ_{max} nm (log ϵ): 200,0 (4,38).

HRMS (EI): m/z $[\text{M}]^+$ израчунато за $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{FeN}_2\text{O}_2\text{S}$: 370,0438, нађено: 370,0436.

(3R,8aR)-7-Етил-3-фероценилтетрахидро-3H-тијазол[3,4-a]пиразин-5,8-дион (102).



Жута аморфна супстанца; елуент: смеша *n*-хексан/ Et_2O од 1 : 4 до 1 : 10 (v/v); принос: 97,4%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 6,09 (s, 1H, H-3), 4,61 (ddd, $^3J = 11,20$, 5,80, $^5J = 1,10$ Hz, 1H, H-8a), 4,366 (ddd, $^3J = 2,50$, $^4J = 1,40$, 1,30 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,365 (dt, $^3J = 2,40$, $^4J = 1,30$, 1,30 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,22 (dd, $^2J = -17,00$, $^5J = 1,10$ Hz, 1H, H-6A), 4,17 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,15 (ddd, $^3J = 2,50$, 2,40, $^4J = 1,40$ Hz, 1H, H-3' или H-4'), 4,11 (td, $^3J = 2,50$, 2,50, $^4J = 1,30$ Hz, 1H, H-3' или H-4'), 3,80 (d, $^2J = -17,00$ Hz, 1H, H-6B), 3,45 (dq, $^2J = -13,20$, $^3J = 7,20$ Hz, 1H, N-CH_AH_BCH₃), 3,34 (dd, $^2J = -11,90$, $^3J = 5,80$ Hz, 1H, H-1A), 3,24 (dd, $^2J = -11,90$, $^3J = 11,20$ Hz, 1H, H-1B), 3,15 (dq, $^2J = -13,20$, $^3J = 7,20$ Hz, 1H, N-CH_AH_BCH₃), 0,98 ppm (t, 3H, $^3J = 7,20$ Hz, N-CH_AH_BCH₃). ^{13}C NMR (100,6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 166,0 (C-8), 164,8 (C-5), 88,8 (C-1'), 69,7 (C-2' или C-5'), 68,9 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 67,8 (C-3' или C-4'), 67,7 (C-3' или C-4'), 66,5 (C-2' или C-5'), 63,0 (C-8a), 61,0 (C-3), 50,9 (C-6), 39,7 (N-CH_AH_BCH₃), 31,6 (C-1), 12,3 ppm (N-CH_AH_BCH₃).

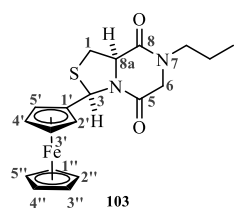
RI (SLB-5MS) = 3099; MS (EI), m/z (%) 386 (8,2), 385 (24,7), 384 (100) $[\text{M}^+]$, 319 (23,7), 290 (11,3), 241 (23,2), 207 (29,4), 186 (11,4), 165 (18,3), 121 (36,2), 56 (22,5).

FTIR-ATR (cm^{-1}): 3078 (br; $\nu(\text{arC-H})$), 2956 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{as}}$), 2870 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{s}}$), 1736 (m), 1660 и 1651 (s; $\nu(\text{C=O})$), 1471 (m; $\delta(\text{CH}_2)_{\text{sc}}$), 1401 (s; $\delta(\text{CH}_3)_{\text{s}}$), 1261 (m), 814 (m), 796 (m), 733 (m).

UV-vis (MeCN, $1,50 \times 10^{-3}$ M) λ_{max} nm (log ϵ): 436,0 (2,06) и (MeCN, $1,50 \times 10^{-5}$ M) λ_{max} nm (log ϵ): 200,5 (4,69).

HRMS (EI): m/z $[\text{M}]^+$ израчунато за $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{FeN}_2\text{O}_2\text{S}$: 384,0595, нађено: 384,0592.

(3R,8aR)-3-Фероценил-7-пропилтетрахидро-3H-тијазол[3,4-a]пиразин-5,8-дион



(103). Жута аморфна супстанца; елуент: смеша *n*-хексан/ Et_2O = 1 : 5; принос: 70,1%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 6,09 (s, 1H, H-3), 4,65 (ddd, $^3J = 11,00$, 6,10, $^5J = 1,10$ Hz, 1H, H-8a), 4,357 (dt, $^3J = 2,40$, $^4J = 1,40$, 1,40 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,355 (dt, $^3J = 2,40$, $^4J = 1,40$, 1,40 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,23 (dd, $^2J = -17,00$, $^5J = 1,10$ Hz, 1H, H-6_A), 4,17 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,15 (td, $^3J = 2,40$, 2,40, $^4J = 1,40$ Hz, 1H, H-3' или H-4'), 4,11 (td, $^3J = 2,40$, 2,40, $^4J = 1,40$ Hz, 1H, H-3' или H-4'), 3,78 (d, $^2J = -17,00$ Hz, 1H, H-6_B), 3,36 (dt, $^2J = -13,50$, $^3J = 7,00$ Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH₃), 3,35 (dd, $^2J = -12,00$, $^3J = 6,10$ Hz, 1H, H-1_A), 3,25 (dd, $^2J = -12,00$, $^3J = 11,00$ Hz, 1H, H-1_B), 3,11 (dt, $^2J = -13,50$, $^2J = 7,00$ Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH₃), 1,42 (dqt, $^2J = -13,50$, $^3J = 7,30$, 7,00 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH₃), 1,41 (dqt, $^2J = -13,50$, $^3J = 7,30$, 7,00 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH₃), 0,75 ppm (t, $^3J = 7,30$ Hz, 3H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH₃). ^{13}C NMR (100,6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 166,5 (C-8), 164,7 (C-5), 88,9 (C-1'), 69,6 (C-2' или C-5'), 68,9 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 67,9 (C-3' или C-4'), 67,7 (C-3' или C-4'), 66,4 (C-2' или C-5'), 62,9 (C-8a), 61,0 (C-3), 51,4 (C-6), 46,3 (N-CH_AH_BCH_AH_BCH₃), 31,6 (C-1), 20,1 (N-CH_AH_BCH_AH_BCH₃), 10,9 ppm (N-CH_AH_BCH_AH_BCH₃).

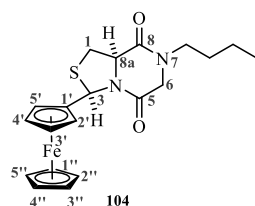
RI (SLB-5MS) = 3201; MS (EI), m/z (%) 398 (100) [M^+], 333 (14,6), 255 (19), 230 (10,6), 205 (14,6), 186 (9,3), 165 (15,7), 121 (25,2), 56 (5).

FTIR-ATR (cm^{-1}): 3084 (br; $\nu(\text{arC-H})$), 2935 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{as}}$), 2850 (w; $\nu(\text{CH}_2)_{\text{s}}$), 1663 и 1651 (s; $\nu(\text{C=O})$), 1473 (m; $\delta(\text{CH}_2)_{\text{sc}}$), 1403 (s; $\delta(\text{CH}_3)_{\text{s}}$), 1260 (m), 808 (m), 799 (m), 733 (m).

UV-vis (MeCN, $1,50 \times 10^{-3}$ M) λ_{max} nm (log ϵ): 438,5 (2,06) и (MeCN, $1,50 \times 10^{-5}$ M) λ_{max} nm (log ϵ): 200,5 (4,66).

HRMS (EI): m/z [M] $^+$ израчунато за $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{FeN}_2\text{O}_2\text{S}$: 398,0751, нађено: 398,0747.

(3R,8aR)-7-Бутил-3-фероценилтетрахидро-3H-тијазол[3,4-a]пиразин-5,8-дион (104).



Жута аморфна супстанца; елуент: смеша *n*-хексан/ Et_2O = 1 : 5; принос: 33,0%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 6,09 (s, 1H, H-3), 4,63 (ddd, $^3J = 11,00$, 5,90, $^5J = 1,05$ Hz, 1H, H-8a), 4,35 (dt, $^3J = 2,45$, $^4J = 1,30$, 1,30 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,33 (dt, $^3J = 2,45$, $^4J = 1,30$, 1,30 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,23 (dd, $^2J = -16,90$, $^5J = 1,05$ Hz, 1H, H-6_A), 4,17 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,15 (td, $^3J = 2,45$, 2,45, $^4J = 1,30$ Hz, 1H, H-3' или H-4'), 4,11 (td, $^3J = 2,45$, 2,45, $^4J = 1,30$ Hz, 1H, H-3' или H-4'), 3,78 (d, $^2J = -16,90$ Hz, 1H, H-

6_B), 3,39 (dt, $^2J = -13,50$, $^3J = 7,00$, 7,00 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH₃), 3,35 (dd, $^2J = -12,00$, $^3J = 5,90$ Hz, 1H, H-1_A), 3,24 (dd, $^2J = -12,00$, $^3J = 11,00$ Hz, 1H, H-1_B), 3,16 (ddd, $^2J = -13,50$, $^3J = 7,50$, 6,50 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH₃), 1,38 (dddt, $^2J = -14,00$, $^3J = 8,00$, 7,50, 7,00, 7,00 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH₃), 1,37 (ddtd, $^2J = -14,00$, $^3J = 8,00$, 7,00, 7,00, 6,50 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH₃), 1,18 (dq_t, $^2J = -14,00$, $^3J = 7,20$, 7,00, 7,00 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH₃), 1,16 (ddqd, $^2J = -14,00$, $^3J = 8,00$, 7,70, 7,00 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH₃), 0,83 ppm (dd, $^3J = 7,70$, 7,20 Hz, 3H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH₃). ¹³C NMR (100,6 MHz, DMSO-*d*₆): δ 166,4 (C-8), 164,7 (C-5), 88,9 (C-1'), 69,5 (C-2' или C-5'), 68,9 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 67,8 (C-3' или C-4'), 67,7 (C-3' или C-4'), 66,4 (C-2' или C-5'), 62,8 (C-8a), 61,0 (C-3), 51,3 (C-6), 44,4 (N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH₃), 31,5 (C-1), 28,8 (N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH₃), 19,2 (N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH₃), 13,6 ppm (N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH₃).

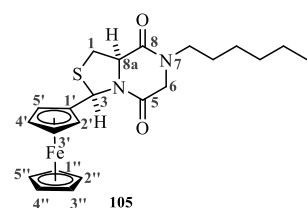
RI (SLB-5MS) = 3283; MS (EI), *m/z*(%) 413 (24,6), 412 (100) [M⁺], 347 (13,8), 269 (15,5), 230 (8,8), 207 (29,4), 165 (11,9), 121 (18,5), 56 (7,9).

FTIR-ATR (cm⁻¹): 3092 (br; ν(arC-H)), 2929 (w; ν(CH₂)_{as}), 2870 (w; ν(CH₂)_s), 1660 и 1650 (s; ν(C=O)), 1477 (m; δ(CH₂)_{sc}), 1397 (s; δ(CH₃)_s), 1258 (m), 808 (m), 795 (m), 732 (m).

UV-vis (MeCN, 1,50×10⁻³ M) λ_{max} nm (log ε): 437,0 (2,06) и (MeCN, 1,50×10⁻⁵ M) λ_{max} nm (log ε): 200,5 (4,70).

HRMS (EI): *m/z* [M]⁺ израчунато за C₂₀H₂₄FeN₂O₂S: 412,0908, нађено: 412,0903.

(3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-хексилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-дион



(105). Жута аморфна супстанца; елуент: смеша *n*-хексан/Et₂O = 1 : 5; принос: 43,2%. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 6,09 (s, 1H, H-3), 4,63 (ddd, $^3J = 11,10$, 6,00, $^5J = 1,10$ Hz, 1H, H-8a), 4,35 (dt, $^3J = 2,50$, $^4J = 1,30$, 1,30 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,33 (dt, $^3J = 2,50$, $^4J = 1,30$, 1,30 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,23 (dd, $^2J = -16,90$, $^5J = 1,10$ Hz, 1H, H-6_A), 4,17 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,14 (td, $^3J = 2,50$, 2,50, $^4J = 1,30$ Hz, 1H, H-3' или H-4'), 4,10 (td, $^3J = 2,50$, 2,50, $^4J = 1,30$ Hz, 1H, H-3' или H-4'), 3,78 (d, $^2J = -16,90$ Hz, 1H, H-6_B), 3,349 (dt, $^2J = -13,50$, $^3J = 7,00$, 7,00 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₃), 3,348 (dd, $^2J = -12,00$, $^3J = 6,00$ Hz, 1H, H-1_A), 3,23 (dd, $^2J = -12,00$, $^3J = 11,10$ Hz, 1H, H-1_B), 3,18 (dt, $^2J = -13,50$, $^3J = 7,00$, 7,00 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₃), 1,40 (dtt, $^2J = -14,00$, $^3J = 7,30$, 7,00, 7,00 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₃), 1,38 (dtt, $^2J = -14,00$, $^3J = 7,30$, 7,00, 7,00 Hz, 1H, N-

CH_AH_BCH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₃), 1,27-1,09 (m, 6H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₃), 0,82 ppm (t, ³J = 7,00 Hz, 3H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₃). ¹³C NMR (100,6 MHz, DMSO-*d*₆): δ 166,4 (C-8), 164,7 (C-5), 88,9 (C-1'), 69,5 (C-2' или C-5'), 68,9 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 67,8 (C-3' или C-4'), 67,6 (C-3' или C-4'), 66,4 (C-2' или C-5'), 62,9 (C-8a), 61,0 (C-3), 51,3 (C-6), 44,6 (N-CH_AH_BCH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₃), 31,5 (C-1), 30,9 (N-CH_AH_BCH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₃), 26,7 (N-CH_AH_BCH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₃), 25,6 (N-CH_AH_BCH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₃), 22,0 (N-CH_AH_BCH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₃) 13,9 ppm (N-CH_AH_BCH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₃).

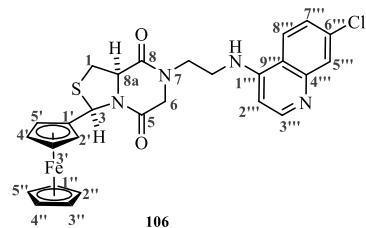
RI (SLB-5MS) = 3499; MS (EI), *m/z*(%) 442 (9,2), 441 (28,5), 440 (100) [M⁺], 375 (9,8), 297 (9,3), 230 (8,1), 207 (17,8), 186 (6,8), 121 (13,5), 56 (6,2).

FTIR-ATR (cm⁻¹): 3084 (br; ν(arC-H)), 2926 (w; ν(CH₂)_{as}), 2857 (w; ν(CH₂)_s), 1662 и 1651 (s; ν(C=O)), 1440 (m; δ(CH₂)_{sc}), 1402 (s; δ(CH₃)_s), 1257 (m), 808 (m), 795 (m), 729 (m).

UV-vis (MeCN, 1,50×10⁻³ M) λ_{max} nm (log ε): 437,0 (2,03) и (MeCN, 1,50×10⁻⁵ M) λ_{max} nm (log ε): 200,5 (4,68).

HRMS (EI): *m/z* [M]⁺ израчунато за C₂₂H₂₈FeN₂O₂S: 440,1221, нађено: 440,1219.

(3R,8aR)-3-Фероценил-7-[2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил]тетрахидро-3H-



тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-дион (106). Жута аморфна супстанца; елуент: смеша 2% MeOH у CH₂Cl₂ (засићена са NH₃); принос: 23,4%. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,41 (d, ³J = 5,40 Hz, 1H, H-3'''), 8,14 (d, ³J = 9,00 Hz, 1H, H-8'''), 7,81 (d, ⁴J = 2,25 Hz, 1H, H-5'''), 7,47 (dd, ³J = 9,00, ⁴J = 2,25 Hz, 1H, H-7'''), 7,31 (br t, ³J = 5,40 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_B-NHAr), 6,60 (d, ³J = 5,40 Hz, 1H, H-2'''), 6,09 (s, 1H, H-3), 4,63 (ddd, ³J = 11,30, 5,90, ⁵J = 0,90 Hz, 1H, H-8a), 4,34 (dd, ²J = -16,90, ⁵J = 0,90 Hz, 1H, H-6_A), 4,32 (dt, ³J = 2,40, ⁴J = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-2'), 4,25 (dt, ³J = 2,40, ⁴J = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-5'), 4,11 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,09 (ddd, ³J = 2,45, 2,40, ⁴J = 1,30 Hz, 1H, H-3'), 3,99 (d, ²J = -16,90 Hz, 1H, H-6_B), 3,93 (ddd, ³J = 2,45, 2,40, ⁴J = 1,30 Hz, 1H, H-4'), 3,75 (ddd, ²J = -13,00, ³J = 6,50, 5,50 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_B-NHAr), 3,44 (ddd, ²J = -13,00, ³J = 7,00, 6,50 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_B-NHAr), 3,43 (dtd, ²J = -13,00, ³J = 6,50, 6,50, 5,40 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_B-NHAr), 3,41 (dddd, ²J = -13,00, ³J = 7,00, 5,50, 5,40 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_B-NHAr), 3,36 (dd, ²J = -11,80, ³J = 5,90 Hz, 1H, H-1_A), 3,22 ppm (dd, ²J = -11,80, ³J = 11,30 Hz, 1H, H-1_B). ¹³C NMR (100,6 MHz, DMSO-*d*₆): δ 167,1 (C-8), 164,5

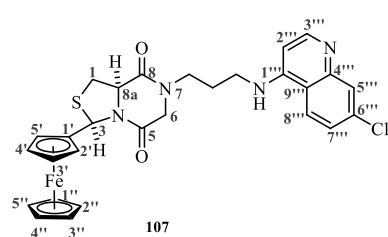
(C-5), 152,0 (C-3'''), 149,9 (C-1'''), 149,0 (C-4'''), 133,4 (C-6'''), 127,6 (C-5'''), 124,3 (C-7'''), 123,8 (C-8'''), 117,5 (C-9'''), 98,8 (C-2''') 88,8 (C-1'), 69,5 (C-5'), 68,9 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 67,8 (C-3'), 67,5 (C-4'), 66,5 (C-2'), 62,9 (C-8a), 61,1 (C-3), 52,3 (C-6), 43,9 (N-CH_AH_BCH_AH_B-NHAr), 40,1 (N-CH_AH_BCH_AH_B-NHAr), 31,4 ppm (C-1).

FTIR-ATR (cm⁻¹): 3349 (br; ν(N-H)), 3083 (br; ν(arC-H)), 3006 (w; ν(CH₂)_{as}), 2850 (w; ν(CH₂)_s), 1659 (s; ν(C=O)), 1610 (w; ν(C=N)), 1573 (s; ν(C=C)), 1536 (m; δ(C-H) или ν(C-C)), 1483 (m; δ(CH₂)_{sc}), 1407 (s; δ(CH₃)_s), 807 (m), 744 (s; γ(CH)).

UV-vis (MeCN, 1,50×10⁻³ M) λ_{max} nm (log ε): 439,0 (2,03) и (MeCN, 1,50×10⁻⁵ M) λ_{max} nm (log ε): 327,0 (3,96), 254,0 (4,30), 211,0 (4,76).

HRMS (EI): *m/z* [M]⁺ израчунато за C₂₇H₂₅ClFeN₄O₂S: 560,0736, нађено: 560,0733.

(3R,8aR)-3-Фероценил-7-[3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил]тетрахидро-3H-



тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-дион (107). Жута аморфна

супстанца; елуент смеша 2% MeOH у CH₂Cl₂ (засићена са

NH₃); принос: 66,8%. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ

8,39 (d, ³*J* = 5,40 Hz, 1H, H-3'''), 8,24 (d, ³*J* = 9,00 Hz, 1H,

H-8'''), 7,79 (d, ⁴*J* = 2,20 Hz, 1H, H-5'''), 7,46 (dd, ³*J* =

9,00, ⁴*J* = 2,20 Hz, 1H, H-7'''), 7,21 (br t, ³*J* = 5,30 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_B-

NHAr), 6,40 (d, ³*J* = 5,40 Hz, 1H, H-2'''), 6,11 (s, 1H, H-3), 4,67 (ddd, ³*J* = 11,00, 5,90, ⁵*J* =

1,00 Hz, 1H, H-8a), 4,36 (dt, ³*J* = 2,40, ⁴*J* = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,35 (dt, ³*J* =

2,40, ⁴*J* = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,30 (dd, ²*J* = -16,90, ⁵*J* = 1,00 Hz, 1H, H-6_A),

4,15 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,12 (td, ³*J* = 2,40, 2,40, ⁴*J* = 1,30 Hz, 1H, H-

3' или H-4'), 4,07 (td, ³*J* = 2,40, 2,40, ⁴*J* = 1,30 Hz, 1H, H-3' или H-4'), 3,90 (d, ²*J* = -16,90

Hz, 1H, H-6_B), 3,54 (dt, ²*J* = -13,90, ³*J* = 7,00 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_B-NHAr),

3,36 (dd, ²*J* = -11,80, ³*J* = 5,90 Hz, 1H, H-1_A), 3,33 (dt, ²*J* = -13,90, ³*J* = 7,00 Hz, 1H, N-

CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_B-NHAr), 3,26 (dd, ²*J* = -11,80, ³*J* = 11,00 Hz, 1H, H-1_B), 3,20 (dddd,

²*J* = -13,50, ³*J* = 8,50, 6,00, 5,30 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_B-NHAr), 3,18 (dddd, ²*J* =

-13,50, ³*J* = 8,50, 6,00, 5,30 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_B-NHAr), 1,835 (ddtd, ²*J* =

-12,00, ³*J* = 8,50, 7,00, 7,00, 6,00 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_B-NHAr), 1,833 ppm

(ddtd, ²*J* = -12,00, ³*J* = 8,50, 7,00, 7,00, 6,00 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_B-NHAr). ¹³C

NMR (100,6 MHz, DMSO-*d*₆): δ 166,7 (C-8), 164,7 (C-5), 151,9 (C-3'''), 149,9 (C-1'''),

149,0 (C-4'''), 133,4 (C-6'''), 127,5 (C-5'''), 124,1 (C-7'''), 124,0 (C-8'''), 117,5 (C-9'''),

98,7 (C-2''') 88,8 (C-1'), 69,6 (C-2' или C-5'), 68,9 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 67,9

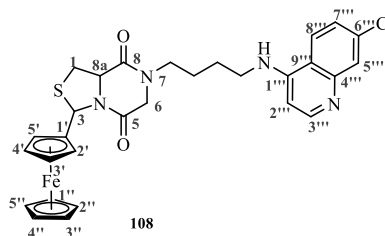
(C-3' или C-4'), 67,7 (C-3' или C-4'), 66,4 (C-2' или C-5'), 62,9 (C-8a), 61,0 (C-3), 51,5 (C-6), 42,9 (N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_B-NHAr), 39,7 (N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_B-NHAr), 31,6 (C-1), 25,7 ppm (N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_B-NHAr).

FTIR-ATR (cm⁻¹): 3347 (br; ν(N-H)), 3080 (w; ν(arC-H)), 2923 (w; ν(CH₂)_{as}), 2850 (w; ν(CH₂)_s), 1660 (s; ν(C=O)), 1610 (w; ν(C=N)), 1576 (s; ν(C=C)), 1536 (m; δ(C-H) или ν(C-C)), 1483 (m; δ(CH₂)_{sc}), 1407 (s; δ(CH₃)_s), 807 (m), 746 (s; γ(CH)).

UV-vis (MeCN, 1,50×10⁻³ M) λ_{max} nm (log ε): 438,5 (1,51) и (MeCN, 1,50×10⁻⁵ M) λ_{max} nm (log ε): 330,0 (3,61), 255,0 (3,94), 211,0 (4,41).

HRMS (EI): *m/z* [M]⁺ израчунато за C₂₈H₂₇ClFeN₄O₂S: 574,0893, нађено: 574,0888.

(3ξ,8аξ)-3-Фероценил-7-[4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил]тетрахидро-3H-



тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-дион (108). Жута аморфна супстанца; елуент: CH₂Cl₂ засићен са NH₃; принос: 40,2%. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) смеша дијастереомера (**108-cis**: **108-trans** = 62,5 : 37,5) **108-cis**: δ 8,38 (d, ³*J* = 5,50 Hz, 1H, H-3'''), 8,27 (d, ³*J* = 9,00 Hz, 1H, H-8'''), 7,78 (d, ⁴*J* = 2,30 Hz, 1H, H-5'''), 7,45 (dd, ³*J* = 9,00, ⁴*J* = 2,30 Hz, 1H, H-7'''), 7,32 (br t, ³*J* = 5,60 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂-NHAr), 6,45 (d, ³*J* = 5,50 Hz, 1H, H-2'''), 6,09 (s, 1H, H-3), 4,64 (ddd, ³*J* = 11,30, 5,90, ⁵*J* = 1,10 Hz, 1H, H-8a), 4,344 (dt, ³*J* = 2,40, ⁴*J* = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,336 (dt, ³*J* = 2,50, ⁴*J* = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,24 (dd, ²*J* = -17,00, ⁵*J* = 1,10 Hz, 1H, H-6_A), 4,15 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,10 (ddd, ³*J* = 2,50, 2,40, ⁴*J* = 1,30 Hz, 1H, H-3' или H-4'), 4,06 (td, ³*J* = 2,50, 2,50, ⁴*J* = 1,30 Hz, 1H, H-3' или H-4'), 3,83 (d, ²*J* = -17,00 Hz, 1H, H-6_B), 3,46* (m, 1H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂-NHAr), 3,35 (dd, ²*J* = -12,00, ³*J* = 5,90 Hz, 1H, H-1_A), 3,25 (dd, ²*J* = -12,00, ³*J* = 11,30 Hz, 1H, H-1_B), 3,23* (m, 2H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂-NHAr), 3,22* (m, 1H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂-NHAr), 1,55 ppm (m, 4H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂-NHAr). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) **108-trans**: δ 8,42 (d, ³*J* = 5,40 Hz, 1H, H-3'''), 8,29 (d, ³*J* = 9,00 Hz, 1H, H-8'''), 7,79 (d, ⁴*J* = 2,30 Hz, 1H, H-5'''), 7,46 (dd, ³*J* = 9,00, ⁴*J* = 2,30 Hz, 1H, H-7'''), 7,30 (br t, ³*J* = 5,60 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂-NHAr), 6,46 (d, ³*J* = 5,40 Hz, 1H, H-2'''), 6,19 (s, 1H, H-3), 4,45 (m, 1H, H-8a), 4,44 (m, 1H), 4,37 (dt, ³*J* = 2,40, ⁴*J* = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,32* (m, 1H), 4,18-4,05 (m, 1H), 4,13 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 3,55* (m, 1H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂-NHAr), 3,47* (m, 1H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂-NHAr), 3,46 (dd, ²*J* = -14,80, ⁵*J* = 1,10 Hz, 1H, H-6_A), 3,42* (m, 1H,

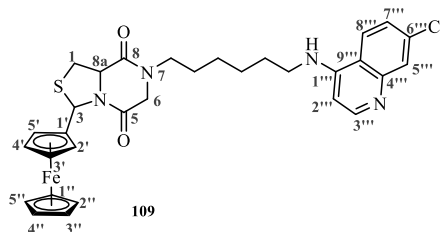
H-1_A), 3,18* (m, 2H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂-NHAr), 3,15 (m, 1H, H-1_B), 2,92 (d, ²J = -14,80 Hz, 1H, H-6_B), 1,60 (m, 2H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂-NHAr), 1,45 ppm (m, 2H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂-NHAr). ¹³C NMR (100,6 MHz, DMSO-*d*₆) **108-cis**: δ 166,5 (C-8), 164,7 (C-5), 151,8 (C-3'''), 150,1 (C-1'''), 148,90 (C-4'''), 133,4 (C-6'''), 127,3 (C-5'''), 124,1 (C-8'''), 124,0 (C-7'''), 117,4 (C-9'''), 98,7 (C-2'''), 88,8 (C-1'), 69,6 (C-2' или C-5'), 68,9 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 67,8 (C-3' или C-4'), 67,7 (C-3' или C-4'), 66,4 (C-2' или C-5'), 62,9 (C-8a), 61,0 (C-3), 51,2 (C-6), 44,4 (N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂-NHAr), 42,0 (N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂-NHAr), 31,6 (C-1), 24,7 (N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂-NHAr), 24,4 ppm (N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂-NHAr). ¹³C NMR (100,6 MHz, DMSO-*d*₆) **108-trans**: δ 170,3 (C-8), 167,9 (C-5), 151,8 (C-3'''), 150,2 (C-1'''), 148,93 (C-4'''), 133,4 (C-6'''), 127,3 (C-5'''), 124,2 (C-8'''), 124,0 (C-7'''), 117,5 (C-9'''), 98,7 (C-2'''), 86,0 (C-1'), 70,8 (C-2' или C-5'), 68,7 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 68,1, 68,0, 61,5 (C-3), 59,6 (C-8a), 57,5 (C-6), 52,3 (N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂-NHAr), 42,2 (N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂-NHAr), 32,7 (C-1), 25,4 (N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂-NHAr), 23,9 ppm (N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂-NHAr).

FTIR-ATR (cm⁻¹): 3349 (br; ν(N-H)), 3094 (br; ν(arC-H)), 2935 (w; ν(CH₂)_{as}), 2870 (w; ν(CH₂)_s), 1738 (m), 1657 (s; ν(C=O)), 1610 (w; ν(C=N)), 1577 (s; ν(C=C)), 1535 (m; δ(C-H) или ν(C-C)), 1470 (m; δ(CH₂)_{sc}), 1407 (s; δ(CH₃)_s), 809 (m), 730 (s; γ(CH)).

UV-vis (MeCN, 1,50×10⁻³ M) λ_{max} nm (log ε): 438,0 (2,05) и (MeCN, 1,50×10⁻⁵ M) λ_{max} nm (log ε): 329,0 (3,92), 254,0 (4,29), 205,5 (4,81).

HRMS (EI): *m/z* [M]⁺ израчунато за C₂₉H₂₉ClFeN₄O₂S: 588,1049, нађено: 588,1045. Услед ширења сигнала, хемијска померања обележена симболом * су процењена на основу HSQC интеракција.

(3ξ,8aξ)-3-Фероценил-7-[6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил]тетрахидро-3H-



тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-дион (109). Жута

аморфна супстанца; елуент: CH₂Cl₂ засићен са NH₃;

принос: 44,2%. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) смеша

дијастереомера (**109-cis**: **109-trans** = 83,3 : 16,7) **109-**

cis: δ 8,38 (d, ³J = 5,50 Hz, 1H, H-3'''), 8,27 (d, ³J =

9,00 Hz, 1H, H-8'''), 7,78 (d, ⁴J = 2,20 Hz, 1H, H-5'''), 7,44 (dd, ³J = 9,00, ⁴J = 2,20 Hz,

1H, H-7'''), 7,30 (br t, ³J = 5,40 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr), 6,44 (d, ³J

= 5,50 Hz, 1H, H-2'''), 6,09 (s, 1H, H-3), 4,63 (ddd, ³J = 11,00, 6,00, ⁵J = 1,00 Hz, 1H, H-

8a), 4,329 (dt, $^3J = 2,50$, $^4J = 1,30$, 1,30 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,327 (dt, $^3J = 2,50$, $^4J = 1,30$, 1,30 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,23 (dd, $^2J = -16,90$, $^5J = 1,00$ Hz, 1H, H-6_A), 4,15 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,10 (td, $^3J = 2,50$, 2,50, $^4J = 1,30$ Hz, 1H, H-3' или H-4'), 4,06 (td, $^3J = 2,50$, 2,50, $^4J = 1,30$ Hz, 1H, H-3' или H-4'), 3,79 (d, $^2J = -16,90$ Hz, 1H, H-6_B), 3,37 (dt, $^2J = -14,00$, $^3J = 7,30$ Hz, 1H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr), 3,34 (dd, $^2J = -12,00$, $^3J = 6,00$ Hz, 1H, H-1_A), 3,24 (dd, $^2J = -12,00$, $^3J = 11,00$ Hz, 1H, H-1_B), 3,22 (td, $^3J = 7,30$, 5,40 Hz, 2H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr), 3,21 (dt, $^2J = -14,00$, $^3J = 7,30$ Hz, 1H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr), 1,60 (p, $^3J = 7,30$ Hz, 2H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr), 1,42 (p, $^3J = 7,30$ Hz, 2H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr), 1,34 (p, $^3J = 7,30$ Hz, 2H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr), 1,20 ppm (p, $^3J = 7,30$ Hz, 2H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) **109-trans**: δ 8,40 (d, $^3J = 5,50$ Hz, 1H, H-3'''), 8,29 (d, $^3J = 9,00$ Hz, 1H, H-8'''), 7,77 (d, $^4J = 2,20$ Hz, 1H, H-5'''), 7,44 (dd, $^3J = 9,00$, $^4J = 2,20$ Hz, 1H, H-7'''), 7,30 (br t, $^3J = 5,40$ Hz, 1H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr), 6,46 (d, $^3J = 5,50$ Hz, 1H, H-2'''), 6,36 (s, 1H, H-3), 4,45 (m, 1H, H-8a), 4,43 (dt, $^3J = 2,60$, $^4J = 1,40$, 1,40 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,38 (ddd, $^3J = 2,60$, $^4J = 1,40$, 1,30 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,37 (ddd, $^3J = 2,60$, 2,50, $^4J = 1,40$ Hz, 1H, H-3' или H-4'), 4,14 (dd, $^2J = -16,90$, $^5J = 1,00$ Hz, 1H, H-6_A), 4,13 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,09 (ddd, $^3J = 2,60$, 2,50, $^4J = 1,30$ Hz, 1H, H-3' или H-4'), 3,85 (d, $^2J = -16,90$ Hz, 1H, H-6_B), 3,41 (dd, $^2J = -12,00$, $^3J = 6,00$ Hz, 1H, H-1_A), 3,35 (dt, $^2J = -14,00$, $^3J = 7,00$ Hz, 1H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr), 3,22 (m, 2H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr), 3,18 (dt, $^2J = -14,00$, $^3J = 7,00$ Hz, 1H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr), 3,16 (dd, $^2J = -12,00$, $^3J = 11,00$ Hz, 1H, H-1_B), 1,64 (p, $^3J = 7,00$ Hz, 2H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr), 1,48 (p, $^3J = 7,00$ Hz, 2H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr), 1,68–1,14 ppm (m, 4H, N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr). ¹³C NMR (100,6 MHz, DMSO-*d*₆) **109-cis**: δ 166,5 (C-8), 164,7 (C-5), 151,9 (C-3'''), 150,06 (C-1'''), 149,1 (C-4'''), 133,4 (C-6'''), 127,5 (C-5'''), 124,1 (C-8'''), 124,0 (C-7'''), 117,5 (C-9'''), 98,6 (C-2'''), 88,9 (C-1'), 69,5 (C-2' или C-5'), 68,9 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 67,8 (C-3' или C-4'), 67,64 (C-3' или C-4'), 66,4 (C-2' или C-5'), 62,8 (C-8a), 61,0 (C-3), 51,4 (C-6), 44,6 (N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr), 42,3 (N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr), 31,6 (C-1), 27,7 (N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr), 26,7 (N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr), 26,3 (N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr), 25,7 ppm (N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr). ¹³C NMR (100,6 MHz, DMSO-*d*₆) **109-trans**: δ 163,7

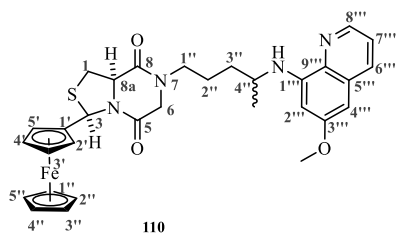
(C-8), 161,0 (C-5), 151,9 (C-3'''), 150,10 (C-1'''), 149,1 (C-4'''), 133,4 (C-6'''), 127,5 (C-5'''), 124,1 (C-8'''), 124,0 (C-7'''), 117,5 (C-9'''), 98,6 (C-2'''), 87,3 (C-1'), 70,7 (C-2' или C-3'), 69,3 (C-2' или C-3'), 68,7 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 67,60 (C-5'), 60,6 (C-3), 59,6 (C-8a), 50,3 (C-6), 45,0 (N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr), 42,4 (N-CH_AH_BCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-NHAr), 32,7 (C-1), 27,8, 26,6, 26,0, 25,9 ppm.

FTIR-ATR (cm⁻¹): 3360 (br; ν(N-H)), 3094 (br; ν(arC-H)), 2928 (w; ν(CH₂)_{as}), 2855 (w; ν(CH₂)_s), 1739 (m), 1659 (s; ν(C=O)), 1610 (w; ν(C=N)), 1576 (s; ν(C=C)), 1535 (m; δ(C-H) или ν(C-C)), 1470 (m; δ(CH₂)_{sc}), 1407 (s; δ(CH₃)_s), 807 (m), 730 (s; γ(CH)).

UV-vis (MeCN, 1,50×10⁻³ M) λ_{max} nm (log ε): 435,0 (2,01) и (MeCN, 1,50×10⁻⁵ M) λ_{max} nm (log ε): 329,5 (3,91), 256,0 (4,25), 209,5 (4,74).

HRMS (EI): *m/z* [M]⁺ израчунато за C₃₁H₃₃ClFeN₄O₂S: 616,1362, нађено: 616,1358.

(3R,8aR,4''ξ)-3-Фероценил-7-[4-((6-метоксифинолин-8-



ил)амино)пентил]тетрахидро-3H-тијазол[3,4-

а]пиразин-5,8-дион (110). Жута аморфна супстанца;

елуент: CH₂Cl₂ засићен са NH₃; принос: 24,6%. ¹H NMR

(400 MHz, DMSO-*d*₆) смеша дијастереомера (**110a**: **110b**

= 59,0 : 41,0) **110a**: δ 8,53 (dd, ³*J* = 4,20, ⁴*J* = 1,60 Hz, 1H,

H-8'''), 8,08 (dd, ³*J* = 8,30, ⁴*J* = 1,60 Hz, 1H, H-6'''), 7,43 (dd, ³*J* = 8,30, 4,20 Hz, 1H, H-7'''), 6,47 (d, ⁴*J* = 2,50 Hz, 1H, H-4'''), 6,25 (d, ⁴*J* = 2,50 Hz, 1H, 2'''), 6,083 (s, 1H, H-3), 6,081 (br d, ³*J* = 3,0 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr), 4,60 (ddd, ³*J* = 11,00, 5,90, ⁵*J* = 1,00 Hz, 1H, H-8a), 4,334 (dt, ³*J* = 2,40, ⁴*J* = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,326 (dt, ³*J* = 2,40, ⁴*J* = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,19 (dd, ²*J* = -17,00, ⁵*J* = 1,00 Hz, 1H, H-6_A), 4,15 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,11 (td, ³*J* = 2,40, 2,40, ⁴*J* = 1,30 Hz, 1H, H-3' или H-4'), 4,05 (td, ³*J* = 2,40, 2,40, ⁴*J* = 1,30 Hz, 1H, H-3' или H-4'), 3,82 (d, ²*J* = -17,00 Hz, 1H, H-6_B), 3,82 (s, 3H, Ar-O-CH₃), 3,61 (m, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr), 3,46 (dt, ²*J* = -14,00, ³*J* = 7,00 Hz, 1H 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr), 3,34 (dd, ²*J* = -12,00, ³*J* = 5,90 Hz, 1H, H-1_A), 3,24 (dd, ²*J* = -12,00, ³*J* = 11,00 Hz, 1H, H-1_B), 3,17 (dt, ²*J* = -14,00, ³*J* = 7,00 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr), 1,55 (m, 3H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr), 1,40 (m, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr), 1,15 ppm (d, ³*J* = 6,20 Hz, 3H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) **110b**: δ 8,53 (dd, ³*J* = 4,20, ⁴*J* = 1,70 Hz, 1H, H-8'''), 8,08 (dd, ³*J* = 8,30, ⁴*J* = 1,70 Hz, 1H, H-6'''), 7,43

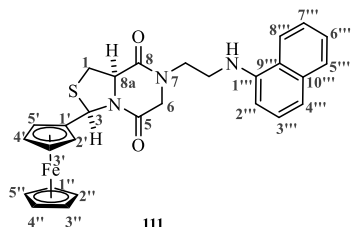
(dd, $^3J = 8,30, 4,20$ Hz, 1H, H-7'''), 6,47 (d, $^4J = 2,50$ Hz, 1H, H-4'''), 6,25 (d, $^4J = 2,50$ Hz, 1H, 2'''), 6,10 (br d, $^3J = 3,5$ Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr), 6,09 (s, 1H, H-3), 4,65 (ddd, $^3J = 10,90, 5,90, ^5J = 1,00$ Hz, 1H, H-8a), 4,334 (dt, $^3J = 2,40, ^4J = 1,30, 1,30$ Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,326 (dt, $^3J = 2,40, ^4J = 1,30, 1,30$ Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,24 (dd, $^2J = -17,00, ^5J = 1,00$ Hz, 1H, H-6_A), 4,16 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,12 (td, $^3J = 2,40, 2,40, ^4J = 1,30$ Hz, 1H, H-3' или H-4'), 4,06 (td, $^3J = 2,40, 2,40, ^4J = 1,30$ Hz, 1H, H-3' или H-4'), 3,82 (s, 3H, Ar-O-CH₃), 3,80 (d, $^2J = -17,00$ Hz, 1H, H-6_B), 3,60 (m, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr), 3,44 (dt, $^2J = -13,00, ^3J = 7,00$ Hz, 1H, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr), 3,34 (dd, $^2J = -12,00, ^3J = 5,90$ Hz, 1H, H-1_A), 3,24 (dd, $^2J = -12,00, ^3J = 10,90$ Hz, 1H, H-1_B), 3,17 (dt, $^2J = -13,00, ^3J = 7,00$ Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr), 1,55 (m, 3H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr), 1,40 (m, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr), 1,15 ppm (d, $^3J = 6,20$ Hz, 3H, N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr). ¹³C NMR (100,6 MHz, DMSO-*d*₆) **110a**: δ 166,45 (C-8), 164,65 (C-5), 158,98 (C-3'''), 144,55 (C-1'''), 144,3 (C-8'''), 134,8 (C-6'''), 134,5 (C-9'''), 129,57 (C-5'''), 122,1 (C-7'''), 96,2 (C-2'''), 91,64 (C-4'''), 88,86 (C-1'), 69,48 (C-2' или C-5'), 68,9 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 67,81 (C-3' или C-4'), 67,64 (C-3' или C-4'), 66,39 (C-2' или C-5'), 62,8 (C-8a), 61,0 (C-3), 55,0 (Ar-O-CH₃), 51,2 (C-6), 46,8 (N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr), 44,5 (N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr), 32,6 (N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr), 31,5 (C-1), 23,4 (N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr), 20,0 ppm (N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr). ¹³C NMR (100,6 MHz, DMSO-*d*₆) **110b**: δ 166,49 (C-8), 164,68 (C-5), 158,99 (C-3'''), 144,64 (C-1'''), 144,2 (C-8'''), 134,8 (C-6'''), 134,5 (C-9'''), 129,59 (C-5'''), 122,1 (C-7'''), 96,1 (C-2'''), 91,62 (C-4'''), 88,90 (C-1'), 69,49 (C-2' или C-5'), 68,9 (C-1'', C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 67,84 (C-3' или C-4'), 67,61 (C-3' или C-4'), 66,37 (C-2' или C-5'), 62,8 (C-8a), 61,0 (C-3), 55,0 (Ar-O-CH₃), 51,2 (C-6), 47,0 (N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr), 44,5 (N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr), 32,8 (N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr), 31,5 (C-1), 23,6 (N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr), 20,2 ppm (N-CH_AH_BCH_AH_BCH_AH_BCH(CH₃)-NHAr).

FTIR-ATR (cm⁻¹): 3360 (br; ν(N-H)), 3079 (br; ν(arC-H)), 2932 (w; ν(CH₂)_{as}), 2850 (w; ν(CH₂)_s), 1665 (s; ν(C=O)), 1613 (w; ν(C=N)), 1574 (m; ν(C=C)), 1517 (s), 1453 (m; δ(CH₂)_{sc}), 1386 (s; δ(CH₃)_s), 1158 (s, ν(C-O)), 1027 (m), 817 (s), 790 (s), 730 (s; γ(CH)).

UV-vis (MeCN, $1,50 \times 10^{-3}$ M) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ): 460,0 (2,00) и (MeCN, $1,50 \times 10^{-5}$ M) $\lambda_{\max}$ nm (log ϵ): 358,0 (3,54), 265,0 (4,38), 204, (4,80).

HRMS (EI): m/z [M]⁺ израчунато за C₃₁H₃₄FeN₄O₃S: 598,1701, нађено: 598,1698.

(3R,8aR)-3-Фероценил-7-[2-((нафтаген-1-ил)амино)етил]тетрахидро-3H-



тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-дион (111). Жута аморфна

супстанца; елуент: смеша MeOH/Et₂O (од 0 до 10% MeOH

(v/v)); принос: 6,9%. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,02

(dd, ³*J* = 8,70, ⁴*J* = 1,00 Hz, 1H, H-8'''), 7,77 (dd, ³*J* = 8,50, ⁴*J*

= 1,00 Hz, 1H, H-5'''), 7,44 (ddd, ³*J* = 8,50, 6,80, ⁴*J* = 1,00 Hz,

1H, H-6'''), 7,41 (ddd, ³*J* = 8,70, 6,80, ⁴*J* = 1,00 Hz, 1H, H-7'''), 7,28 (dd, ³*J* = 8,20, 7,60

Hz, 1H, H-3'''), 7,13 (dd, ³*J* = 8,20, ⁴*J* = 0,80 Hz, 1H, H-4'''), 6,59 (dd, ³*J* = 7,60, ⁴*J* = 0,80

Hz, 1H, H-2'''), 6,14 (br t, ³*J* = 5,40 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_B-NHAr), 6,09 (s, 1H, H-3),

4,66 (ddd, ³*J* = 11,20, 5,80, ⁵*J* = 1,10 Hz, 1H, H-8a), 4,38 (dd, ²*J* = -16,90, ⁵*J* = 1,10 Hz, 1H,

H-6_A), 4,30 (dt, ³*J* = 2,40, ⁴*J* = 1,30, 1,30 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,22 (dt, ³*J* = 2,40, ⁴*J* =

1,30, 1,30 Hz, 1H, H-2' или H-5'), 4,08 (s, 5H, H-1'', H-2'', H-3'', H-4'' и H-5''), 4,05 (td,

³*J* = 2,40, 2,40, ⁴*J* = 1,30 Hz, 1H, H-3' или H-4'), 4,00 (d, ²*J* = -16,90 Hz, 1H, H-6_B), 3,83

(td, ³*J* = 2,40, 2,40, ⁴*J* = 1,30 Hz, 1H, H-3' или H-4'), 3,77 (ddd, ²*J* = -13,50, ³*J* = 7,00, 6,00

Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_B-NHAr), 3,55 (ddd, ²*J* = -13,50, ²*J* = 7,00, 6,70 Hz, 1H, N-

CH_AH_BCH_AH_B-NHAr), 3,37 (dd, ²*J* = -11,90, ³*J* = 5,80 Hz, 1H, H-1_A), 3,35 (dddd, ²*J* =

-14,00, ³*J* = 6,70, 6,00, 5,40 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_B-NHAr), 3,34 (dtd, ²*J* = -14,00, ³*J* =

7,00, 7,00, 5,40 Hz, 1H, N-CH_AH_BCH_AH_B-NHAr), 3,24 ppm (dd, ²*J* = -11,90, ³*J* = 11,20 Hz,

1H, H-1_B). ¹³C NMR (100,6 MHz, DMSO-*d*₆): δ 167,2 (C-8), 164,6 (C-5), 143,6 (C-1'''),

134,0 (C-10'''), 128,0 (C-5'''), 126,8 (C-3'''), 125,6 (C-6'''), 124,1 (C-7'''), 123,0 (C-9'''),

121,3 (C-8'''), 115,8 (C-4'''), 102,9 (C-2'''), 89,0 (C-1'), 69,2 (C-2' или C-5'), 68,9 (C-1'',

C-2'', C-3'', C-4'' и C-5''), 67,8 (C-3' или C-4'), 67,4 (C-3' или C-4'), 66,3 (C-2' или C-

5'), 62,9 (C-8a), 60,9 (C-3), 52,5 (C-6), 44,4 (N-CH_AH_BCH_AH_B-NHAr), 41,3 (N-

CH_AH_BCH_AH_B-NHAr), 31,3 ppm (C-1).

HRMS (EI): m/z [M]⁺ израчунато за C₂₈H₂₇FeN₃O₂S: 525,1173, нађено: 525,1169.

3.4. ИСПИТИВАЊЕ БИОЛОШКЕ АКТИВНОСТИ СИНТЕТИСАНИХ ЈЕДИЊЕЊА

3.4.1. ИСПИТИВАЊЕ АНТИМИКРОБНЕ АКТИВНОСТИ

3.4.1.1. КОРИШЋЕНИ МИКРООРГАНИЗМИ

Антимикробна активност одабраних синтетисаних једињења тестирана је на референтним сојевима бактерија и гљива које припадају *American Type Culture Collection* (ATCC). У ову сврху коришћена су два соја Грам-позитивних бактерија (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538 и *Bacillus cereus* ATCC 11778), пет соја Грам-негативних (*Escherichia coli* ATCC 8739 или ATCC 25922, *Salmonella enterica* ATCC 13076, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027) и два соја квасца (*Candida albicans* ATCC 24433). Поред тога, антимикробна активност једињења из библиотеке КБ-1 је тестирана и на одговарајућим сојевима изолованим из столице, урина, хране или бриса носа.

3.4.1.2. ОДРЕЂИВАЊЕ МИНИМАЛНЕ ИНХИБИТОРНЕ КОНЦЕНТРАЦИЈЕ (MIC)

Испитивање *in vitro* антимикробне активности синтетисаних једињења вршено је методом серије разблажења на микротитарским плочама са 96 бунарића [146]. Бактерије су култивисане на Милер Хинтон (*Mueller Hinton*) агару (МНА; *Merck*, Немачка), на 37 °C, а квасци на Сабуро (*Sabouraud*) декстрозном агару (SDA; *Difco Laboratories*, САД), на 30 °C. После 18 часова култивисања, направљена је бактеријска суспензија у Милер Хинтон бујону при чему је број микроорганизама стандардизован на 0,5 јединица на Мекфарландовој (енг. *McFarland*) скали што је праћено турбидиметријском методом. Суспензије гљива су направљене у Сабуро декстрозном агару. Коначна концентрација инокулума износила је 5×10^5 CFU/ml.

Узорци за тестирање концентрације 15 mg/ml су припремљени растварањем једињења у воденом раствору DMSO (10%, v/v). За сваки узорак је, разблаживањем у односу 1:1, направљена серија од 10 разблажења основног раствора, тако да тестиране концентрације (у бунарићу микроплејта) након додавања осталих реагенаса буду у опсегу од 1,5 до 1500 µg/ml. Укључене су такође и једна контрола раста (МНА + DMSO са инокулумом или SDA + DMSO са инокулумом) и једна контрола стерилности (МНА + DMSO + тестирано једињење или SDA + DMSO + тестирано једињење). Микротитарске плоче су, након додавања инокулума у бунариће плоче, инкубиране на 37 °C у току 24 часа (бактерије) или на 35 °C у току 48 часа (гљиве). Раст бактерија је

визуализован додавањем 20 μ l 0,5%-тног воденог раствора 2,3,5-трифенилтетразолијум-хлорида (ТТС; Merck, Немачка). Стрептомицин и нистатин (Галеника, Србија) су коришћени као позитивне, а DMSO као негативна контрола. Минимална инхибиторна концентрација (MIC) је дефинисана као најнижа концентрација испитиваног једињења која спречава видљив раст микроорганизма. Тестови су рађени у трипликату и поновљани два пута.

3.4.1.3. ОДРЕЂИВАЊЕ КРИВЕ РАСТА

Експеримент је вршен у микротитарским плочама са 96 бунарића који су садржали одговарајућу подлогу инокулисану сојем *S. aureus* или *C. albicans* (коначна концентрација била је 5×10^6 CFU/ml) у присуству одабраних хибрида и хлорокина (**1**) у три различите концентрације (MIC/2, MIC или 2MIC). Негативну контролу су представљали бунарићи са инокулисаном подлогом без испитиваних једињења, а позитивну са антибиотиком/антимикотиком [147,148]. Број живих ћелија је мерен на 595 nm на Multiskan Ascent ELISA читачу (Labsystems, Финска) након 0, 1, 3, 4, 20, 22, 24, 45 и 48 сати инкубације на оптималним температурама. Криве раста су добијене изражавањем вредности оптичке густине (OD_{595nm}) у функцији времена. Експерименти су рађени у трипликату и понављани два пута.

3.4.1.4. АНТИБИОФИЛМ АКТИВНОСТ

Одређивање утицаја одабраних хибрида и хлорокина (**1**) на способност формирања биофилма сојева *S. aureus* и *C. albicans* је вршено при статичким условима у микротитарским плочама са 96 бунарића методом бојења кристал виолетом [149]. Двострука разблажења тестираних једињења вршена су у стандардној подлози, а сваки бунарић је инокулисан одговарајућим сојем (коначна концентрација је била 5×10^6 CFU/ml). Експерименти су рађени у трипликату, а након одређеног периода инкубације (24-72 сата) на оптималној температури (35 или 37 °C) садржај бунарића је уклоњен, бунарићи су испрани два пута стерилним фосфатним пуфером (PBS, pH 7,4), осушени и бојени 20 минута воденим раствором кристал виолета (0,5%, w/w). Након тога, микротитарске плоче су поново испране PBS пуфером, а бунарићи су испуњени са 250 μ l EtOH (96%, v/v). Након четрдесетопетоминутног обезбојавања добијени раствор је пребачен у нову микротитарску плочу и мерена је оптичка густина на 595 nm коришћењем претходно поменутог ELISA читача. Резултати су изражени као %

стварања биофилма у односу на нетретирану контролу која је представљала 100% формираног биофилма.

3.4.1.5. СИНЕРГИСТИЧКО ДЕЈСТВО ОДАБРАНИХ СИНТЕТИСАНИХ ЈЕДИЊЕЊА СА АНТИБИОТИКОМ/АНТИМИКОТИКОМ

Метода шаховске табле (енг. *Checkerboard assay*) је примењена за одређивање МИС вредности бинарних комбинација одабраних синтетисаних хибрида/хлорокина (1) са стандардним антибиотиком/антимикотиком према одабраним сојевима у циљу одређивање типа интеракције између њих [150,151]. Свако од тестираних једињења је двоструко серијски разблажено у одговарајућој подлози и на овај начин добијена разблажења хибрида/хлорокина постављена су хоризонтално, а аналогна разблажења стандардног антибиотика/антимикотика вертикално на микротитарску плочу. Потом су сви бунарићи инокулисани суспензијом микроорганизама (*S. aureus* или *C. albicans*) при чему је финална концентрација износила 5×10^6 CFU/ml у сваком бунарићу. Микротитарске плоче су инкубирани на 35 °C у току 48 сати (*C. albicans*) и на 37 °C у току 24–72 сата (*S. aureus*). Ефекат комбинације тестираних једињења и стрептомицина или нистатина је израчунат и изражен у виду фракционог инхибиторног концентрационог индекса (енг. *Fractional Inhibitory Concentration Index*; FICI). FICI за сваку комбинацију антимикробних агенаса је израчунат према следећим формулама:

$$FIC_a = MIC_{a-b} / MIC_a$$

$$FIC_b = MIC_{b-a} / MIC_b$$

$$FICI = FIC_a + FIC_b$$

FIC_a представља фракциону инхибиторну концентрацију једињења 1, MIC_a је МИС једињења 1, а MIC_{a-b} је МИС једињења 1 у комбинацији са једињењем 2. Аналогно, FIC_b је фракциона инхибиторна концентрација једњења 2, MIC_b је МИС једињења 2, а MIC_{b-a} је МИС једињења 2 у комбинацији са једињењем 1. Добијене FICI вредности су интерпретиране као синергистички ефекат када је ова вредност износила $\leq 0,5$, као адитиван или индиферентан када је FICI износио $\geq 0,5$ и $\leq 0,2$, или као антагонистички када је његова вредност била > 2 . Сви експерименти су рађени у трипликату и поновљени два пута.

3.4.2. ИСПИТИВАЊЕ АНТИИНФЛАМАТОРНЕ АКТИВНОСТИ

3.4.2.1. ЛАБОРАТОРИЈСКЕ ЖИВОТИЊЕ

За експерименте су коришћени мужјаци пацова соја *Wistar*, телесне масе од 200 до 250 g, који су узгајани у Виваријуму Научно-истраживачког центра за биомедицину при Медицинском факултету Универзитета у Нишу. Животиње су чуване у стандардним лабораторијским условима (температура просторије је одржавана на 22 ± 2 °C, влажност ваздуха на 60%, док је ритам дана и ноћи био подешен (12/12 h). Храна и вода биле су доступне 24 h дневно свим животињама. Сви експерименти су претходно одобрени од стране локалног Етичког комитета (No. 323-07-06862/2016-05/2) и спроведени су у складу са Хелсиншком декларацијом и Директивама Европске заједнице о употреби лабораторијских животиња у експериментима (*EU Directive of 2010; 2010/63/EU*).

3.4.2.2. ИЗОЛОВАЊЕ И КУЛТИВИСАЊЕ МАКРОФАГА

Изоловање елицитираних перитонеалних макрофага извршено је стандардном процедуром [152]. Седам дана након интраперитонеалне инјекције раствора тиогликолне киселине (0,05%, v/v) у физиолошком раствору (0,9% NaCl), када велику већину ћелија у перитонеумском егзудату чине макрофаги, перитонеум жртвованих животиња је испран са 10 ml PBS-a, а перитонеумске ћелије су сакупљане аспирацијом уз помоћ шприца. Ћелијска суспензија је затим центрифугирана (1200 rpm, 10 минута на 4 °C), а добијени ћелијски талог је ресуспендован у 1 ml култивационог медијума RPMI 1640 (*Sigma-Aldrich*, САД) у који је додат HEPES (20 mM), L-глутамин, стрептомицин (200 mg/ml) и пеницилин (200 IU/ml), а био је обогаћен и феталним говеђим серумом у финалној концентрацији од 10%. Након ресуспензије извршено је бројање изолованих ћелија коришћењем методе која укључује бојење ћелија трипан плавим. Финална концентрација ћелија подешена је на $2,5 \times 10^6$ живих ћелија по ml, при чему је вијабилност у читавој суспензији ћелија била већа од 95%.

3.4.2.3. ОДРЕЂИВАЊЕ ВИЈАБИЛНОСТИ МАКРОФАГА МТТ ТЕСТОМ

Почетни раствор тестираних једињења је направљен у DMSO, а даље је разблажен RPMI медијумом при чему је финална концентрација DMSO по бунарићу била мања од 0,5% (v/v), а концентрације тестираних једињења биле су у опсегу од 0,01 до 100 μ M. У бунариће микротитарске плоче је најпре додато по 100 μ l подешене

суспензије макрофага како би се ћелије адхерирале на површину бунарића током 1,5 сата. Након периода адхеренције у бунариће је додат свеже припремљени RPMI медијум који је садржао различите концентрације тестираних једињења (од 0,01 до 100 μM). Ћелије су затим гајене при стандардним условима на 37 °C у атмосфери CO₂ (5%, v/v) током 24 сата. По истеку периода инкубације, супернатант је одбачен, у сваки бунарић је додат раствор 3-(4,5-диметилтијазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолијум-бромида (МТТ; 5 mg/ml) у PBS и плоче су инкубиране додатна 4 сата. Формирани кристали формазана растворени су у закишељеном изопропанолу (0,04 M HCl у iPrOH) и одређена је апсорбанца раствора у сваком бунарићу на таласној дужини од 540 nm (*Multiscan Ascent, Labsystems*, Финска). Као негативна контрола коришћен је медијум, а као позитивна 5-флуорурацил (5-FU; $4 \times 10^{-8} - 7 \times 10^{-6}$ mol/l). Цитотоксичност је исказана као % преживелих ћелија при одређеној концентрацији тестираних једињења у односу на негативну контролу [153]. Концентрација хибрида која доводи до смањења вијабилности макрофага од 50% (LC₅₀) одређена је помоћу *ED50plus v1.0* софтвера [*Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER)*, Мексико]. Сви експерименти су рађени у трипликату и поновљени два пута.

3.4.2.4. SRB TEST

Након двадесетчасовног инкубационог периода са 5-FU и тестираним хибридима/хлорокином (**1**) (у пет различитих концентрација у опсегу од 0,01 до 100 μM), макрофаги су испрани и фиксирани воденим раствором трихлорсирћетне киселине (10%, w/w) на 4 °C у току 1,5 сата. Затим су макрофаги поново испрани и бојени раствором сулфородамина Б (SRB; 0,4%) у разблаженој сирћетној киселини (1%, v/v) током 30 минута. Вишак боје је испран и плејтови су сушени на ваздуху 30 минута. Заостала боја, она која се везала за протеине, је растворена у раствору Tris (10 mM) и апсорбанца свих бунарића је мерена на 540 nm [154]. Промена у густини ћелија је изражена као % смањења/повећања у односу на ћелије у контролним бунарићима којима је додељена вредност од 100%. Концентрација хибрида која доводи до смањења вијабилности макрофага од 50% (LC₅₀) одређена је помоћу *ED50plus v1.0* софтвера. Сви експерименти су рађени у трипликату и поновљени два пута.

3.4.2.5. ОДРЕЂИВАЊЕ АДХЕРЕНТНОСТИ МАКРОФАГА

Способност макрофага да се адхерирају у присуству 5-FU и тестираних хибрида/хлорокина (**1**) (0,01–100 μM) је вршена у микроплејтовима по протоколу

бојења метилен плавим [152]. Иницијално су макрофаги заједно са тестираним једињењима инкубирани 1,5 сат, након чега су ћелије биле фиксиране MeOH и бојене 30 минута раствором метилен плавог (1%, w/v). Вишак боје је уклоњен испирањем дестилованом водом, а задржана боја је екстрахована смешом EtOH и 0,1 М HCl (1:1, v/v). Оптичка густина екстракта сваког бунарића је снимљена на 620 nm на *Multiskan Ascent ELISA* читачу. Резултати су изражени као % адхерираних ћелија у односу на абсорбанцу измерену за контролне бунариће (само ћелије у RPMI медијуму). Сви експерименти су рађени у трипликату и поновљени два пута.

3.4.2.6. ОДРЕЂИВАЊЕ NO-ИНХИБИТОРНЕ АКТИВНОСТИ

Макрофаги (1×10^6 ћелија/ml) су инкубирани са тестираним хибридима/хлорокином (**1**) (0,01–100 μM) у присуству 1 $\mu\text{g/ml}$ LPS (липополисахарид изолован из *E. coli*) или без присуства LPS током 24 сата. По завршетку је концентрација NO радикала у супернатанту одређена Griess-овом реакцијом [153]. Абсорбанца је мерена на 540 nm (*Multiskan Ascent, Labsystems*, Финска), а концентрација NO радикала је израчуната методом калибрационе криве добијене на основу узорака познатих концентрација NaNO_2 . Као негативна контрола коришћен је RPMI медијум, а као позитивна 5-FU (0,1 μM). Резултати су изражени као % инхибиције стварања NO радикала у односу на нетретиране, контролне ћелије. Концентрација хибрида која доводи до смањења продукције NO од стране макрофага за 50% (IC_{50}) одређена је, такође, помоћу *ED50plus v1.0* софтвера. Сви експерименти су рађени у трипликату и поновљени два пута.

3.4.2.7. ОДРЕЂИВАЊЕ ИНХИБИЦИЈЕ ЕКСПРЕСИЈЕ iNOS ЕНЗИМА

Макрофаги (1×10^6 ћелија/ml) инкубирани са LPS (1 $\mu\text{g/ml}$) у присуству одабраних једињења при концентрацијама од 0,5 и 1 μM су коришћени за одређивање количине индуцибилне азот-моноксид синтазе (iNOS, енг. *inducible nitric oxide synthase*). Као позитивна контрола је коришћен аминогуанидин (AMG), за који је познато да делује као инхибитор овог ензима [155]. Након двадесетчетворочасовне инкубације медијум је уклоњен, ћелије су лизирани, лизат је центрифугиран и коришћен за одређивање количине iNOS. Експеримент је спроведен употребом iNOS *ELISA* кита (NBP2-80257; *Novus Biologicals*, САД) праћењем упутстава датих од стране произвођача.

3.4.2.8. ОДРЕЂИВАЊЕ СПОСОБНОСТИ ХВАТАЊА NO РАДИКАЛА

Ова метода се заснива на мерењу количине NO радикала насталих из натријум-нитропрусида и прилагођена је за употребу на микроплејтовима са 96 бунарића [156]. Реакциона смеша (укупно 200 μ l) која је садржала натријум-нитропрусид [100 μ l; 10 mM у PBS (pH 7,4)] и тестирана једињења (100 μ l) у шест различитих концентрација (0,5 – 10 μ M) инкубирана је на 25 °C у трајању од 180 минута испод извора полихроматске светлости (волфрамова сијалица од 25 W). Том приликом, NO радикали који настају из натријум-нитропрусида се при интеракцији са кисеоником оксидују до NO₂⁻ јона. Након инкубационог периода, 50 μ l реакционе смеше је пребачено у нови бунарић и додата је једнака запремина Griess-овог реагенса. Након 15 минута мерена је апсорбанца настале диазо-боје на 540 nm на Halo Led 96 микроплејт читачу (Dynamica, Велика Британија). Концентрација генерисаних NO₂⁻ јона је израчуната методом калибрационе криве добијене на основу узорак познатих концентрација NaNO₂. Као негативна и позитивна контрола су коришћени MeOH, односно кверцетин. Почетни раствор (2 mM) анализираних једињења је припремљен у MeOH, а даља разблажења су вршена у PBS (pH 7,4). Сви експерименти су рађени у трипликату и поновљени два пута.

3.4.2.9. ОДРЕЂИВАЊЕ ИНХИБИТОРНОГ ДЕЈСТВА НА ЕНЗИМ ЛИПООКСИГЕНАЗУ

У 30 μ l раствора испитиване супстанце додато је 2,27 ml боратног пуфера (0,2 M, pH 9) и 300 μ l раствора липооксигеназе из соје (2000 U/ml) у боратном пуферу (0,2 M, pH 9), редом. Након петоминутне инкубације на собној температури реакција је иницирана додатком 200 μ l раствора линолне киселине (0,5 mM) у боратном пуферу, који је такође садржавао и исту масу Tween 20, и смеша је промешана пар секунди. Праћено је повећање апсорбанце раствора током 2 минута на 234 nm у временским интервалима од по 15 секунди на UV-1800 UV-Vis спектрофотометру (Shimadzu, Јапан). Узорци за тестирање су припремљени растварањем одабраних једињења (**103**, **107** и хлорохина (**1**)) у MeOH или боратном пуферу, при чему је крајња тестирана концентрација износила 100 μ M. Као позитивна контрола је коришћен индометацин (100 μ M), а као негативна MeOH или боратни пуфер.

3.4.3. ОДРЕЂИВАЊЕ АНТИПЛАЗМОДИЈАЛНЕ АКТИВНОСТИ

3.4.3.1. ОДРЕЂИВАЊЕ ВИЈАБИЛНОСТИ *P. FALCIPARUM* СОЈЕВА LDH ЕСЕЈОМ

Културе хлорокин-сензитивних (3D7) и хлорокин-резистентних (Dd2) сојева *P. falciparum* паразита су култивисане у хуманим еритроцитима [157]. За потребе извођења експеримента била је неопходна синхронизована култура инфицираних еритроцита која садржи само паразите у раној фази развоја, односно стадијуму прстена. Синхронизација је постигнута применом стерилног раствора сорбитола (5%, w/v). Експеримент је вршен у микротитарским плочама са 96 места и равним дном и то када је култура *P. falciparum* синхронизована, паразитемија подешена на 2%, а хематокрит на 0,7%. Тестирана једињења су најпре растворена у DMSO у концентрацији 50 mM, а за даље разблажење коришћен је RPMI 1640 медијум тако да је коначна концентрација DMSO у бунарићима била $\leq 0,2\%$ (v/v).

Одређивање *in vitro* антиплазмодијалне активности је извршено коришћењем лактат дехидрогеназе (LDH) теста [158]. LDH тестом се присуство и вијабилност *P. falciparum* у узорку одређује индиректно, мерењем активности високостабилног ензима паразитске лактат-дехидрогеназе (pLDH) која је пропорционална степену раста паразита. Иницијално испитивање активности свих тестираних хибрида вршено је у концентрацији од 1 μ M, а она једињења која су показала $\geq 50\%$ инхибиције раста паразита за било који сој су даље титрована како би се одредила њихова IC₅₀ вредност (тј. концентрација при којој долази до смањења раста паразита од 50%). За свако једињење су изведена по три независна експеримента за сваки сој. Као позитивна контрола је коришћен хлорокин (1). Једињења су тестирана у осам концентрација добијених двоструким разблаживањем почев од концентрације 1 μ M. Вредност IC₅₀ за свако једињење и хлорокин (1) је израчуната као средња IC₅₀ вредност појединачних експеримената за одређени сој. Ове вредности су добијене употребом сигмоидалног модела доза-одговор са променљивим нагибом који је прилагођен резултатима. Сви статистички прорачуни су вршени уз помоћ *GraphPad Prism* софтвера (*GraphPad Software Inc.*, САД).

3.4.3.2. ОДРЕЂИВАЊЕ СПОСОБНОСТИ ИНХИБИЦИЈЕ В-ХЕМАТИНА

За овај експеримент је коришћена незнатно измењена процедура *Parapini* и сарадника [159]. У епендорфима је одмерено 25 μ l раствора хемина у DMSO (16 mM). По 25 μ l раствора тестираних једињења у DMSO је додато раствору хемина у

различитим односима, од 0,5 до 3 mol еквивалената. Потом је по 50 μ l дејонизоване воде додато у сваки епендорф, а стварање β -хематина је иницирано додатком 100 μ l ацетатног пуфера (8 M, pH 5,0). Као позитивна контрола је коришћен раствор хлорокин-дифосфата у дејонизованој води (1 до 4 mol еквивалената). Као негативна контрола су коришћени DMSO или дејонизована вода. Коначна концентрација DMSO по епендорфу је одржавана константном на 25% (v/v). Добијене смеше су инкубиране на 37 °C током 18 сати, а потом центрифугиране 15 минута на 13000 g. Фракција растворна у DMSO је уклоњена, а остатак је ресуспендован у 200 μ l DMSO како би се уклонио неизреаговани хематин. Ово испирање је поновљено још два пута. Остатак који је садржавао чист β -хематин је растворен у 1 ml раствора NaOH (1 M). Аликвоти од 50 μ l су пребачени у нови микроплејт са 96 места и разблажени са још 150 μ l раствора NaOH (1 M). Количина насталог β -хематина је одређена мерењем апсорбанце на 405 nm на *Halo Led 96* микроплејт читачу. Експерименти су рађени у трипликату и поновљени два пута. Инхибиција стварања β -хематина је изражена као моларни еквивалент једињења у односу на хемин који је смањио формирање β -хематина за 50% ($BHIA_{50}$). $BHIA_{50}$ вредности су израчунате употребом *ED50plus v1.0* софтвера.

3.4.4. ОДРЕЂИВАЊЕ АНТИПРОЛИФЕРАТИВНЕ АКТИВНОСТИ

Процена цитотоксичности одабраних синтетисаних једињења је вршена *in vitro* на три различите хумане ћелијске линије које припадају ATCC колекцији: MRC-5 (хумани фибробласт плућа), HepG2 (хумани карцином јетре) и MDA-MB-231 (хумани рак дојке). Све три ћелијске линије су узгајане у атмосфери 95% ваздуха и 5% CO₂ (v/v, засићен влагом) на 37 °C и одржаване као монослојске културе у RPMI-1640 медијуму који је садржавао 100 μ g/ml стрептомицина, 100 U/ml пеницилина и 10% (v/v) серума фетуса говечета. Ћелије су третиране са три различите концентрације за свако тестирано једињење (10, 50, and 100 μ M) током 48 сати, а цитотоксични ефекат је квантификован на основу смањења количине MTT [160]. Апсорбанца је мерена на 540 и 670 nm на читачу микротитарских плоча *Epoch 2000* (BioTek, САД). Овај експеримент је изведен два пута у четири понављања, а резултати су представљени као проценат вијабилности у односу на контролу (нетретиране ћелије) за које је узето да је вијабилност 100%. Поред тога, IC₅₀ вредности (концентрација једињења која смањује вијабилност ћелија за 50%) су одређене за једињења која су показала $\geq 50\%$ инхибиције према било којој ћелијској линији при највишој тестираној концентрацији.

Експеримент је изведен у концентрацијама од 0,62 до 100 μM након четрдесетосмочасовне ћелијске инкубације. Као позитивина контрола је коришћена цисплатина, а DMSO и медијум су биле негативне контроле. IC_{50} вредности су израчунате употребом сигмоидалног модела доза-одговор са променљивим нагибом који је прилагођен резултатима. Сви статистички прорачуни су вршени уз помоћ *GraphPad Prism* софтвера (*GraphPad Software Inc.*, САД).

3.4.5. СТАТИСТИЧКА АНАЛИЗА

Једнострана анализа варијансе (ANOVA) коришћена је за статистичку обраду добијених података и утврђивања значајности разлика између средњих вредности. У свим статистичким анализама, интервал поверења био је 95%.

4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

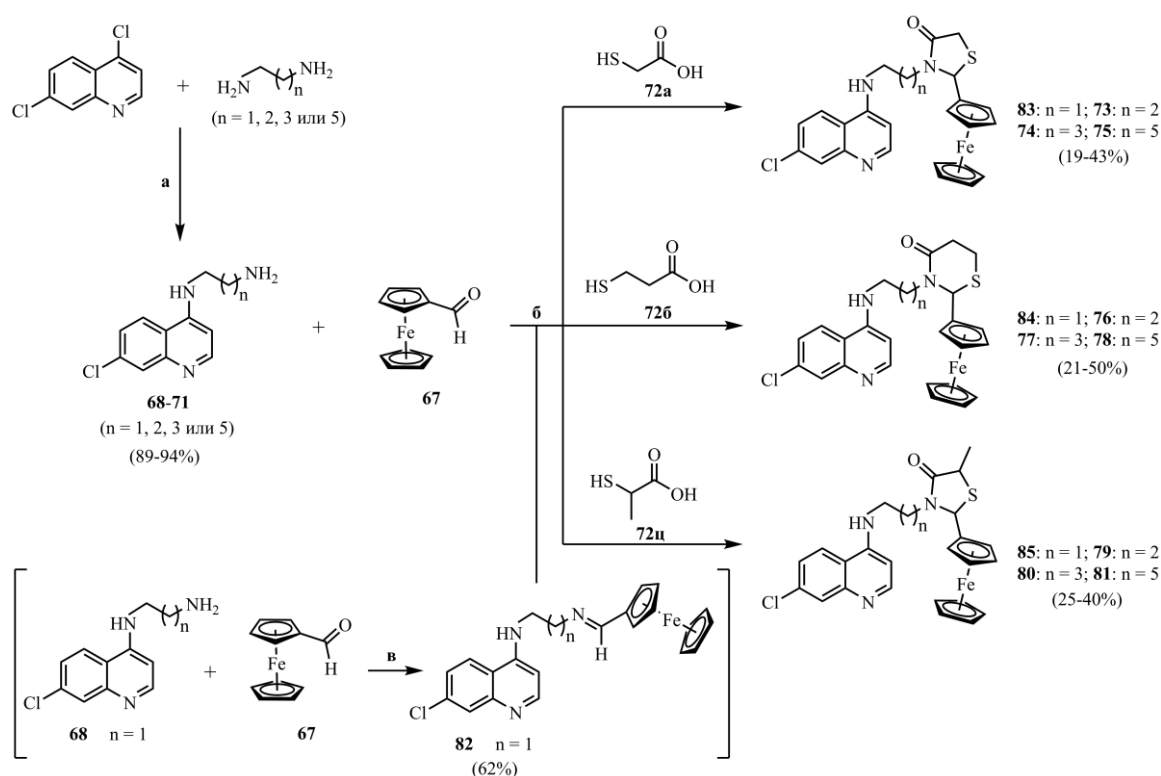
4.1. КОМБИНАТОРНА БИБЛИОТЕКА ХИБРИДА КБ-1

Полазна тачка при дизајну ове библиотеке хибрида (укупно њих 12) било је претходно запажање да је селективном модификацијом терминалне аминок групе у хлорохину (1) малим тија-аза хетероциклусима (као што су 1,3-тијазолидин-4-он и 1,3-тијазинан-4-он) добијено неколико ефикаснијих деривата. Наиме, они су или испојили јачи *in vitro* потенцијал према ХС *P. falciparum* NF-54 соју у односу на сам хлорохин (1) [18] или су били мање активни од хлорохина (1) према ХС 3D7 соју, а активнији према ХР D2d соју. Поред тога, утврђено је да увођење хидрофобног ароматичног супституента (нпр. фенил, 4-хлорфенил или 2,6-дихлорфенил групе) у С-2 положају тија-аза хетероциклуса може довести до испољавања јачег *in vitro* антиплазмодијалног ефекта [161]. Стога је одлучено да се, у оквиру ове дисертације, арил група заменим биоизостерном *Fc*-групом [162] не би ли се потенцијално побољшала активност, редуковала цитотоксичност и изменила растворљивост и/или липофилност [163]. Такође, чест је случај да молекули који садрже 1,3-тијазолидин-4-он или 1,3-тијазинан-4-он поседују и антибактеријска, антиинфламаторна, антивирална, антидијабетична и антиплазмодијална својства [3,164]. Чињеница да се ове две фармакофоре могу лако добити из доступних материјала, показују различите биолошке активности и заступљене су у многим лековима [3,7], подстакла нас је да проучавамо антимикробне и имуномодулаторне особине хибрида библиотеке КБ-1. Штавише, ова врста модификације бочног ланца би спречила штетно *in vivo* *N*-терминало деалкиловање ензимом Р450 без негативног утицаја на липофилност и унакрсну резистенцију молекула као што је описано у литератури [18,165].

Поред разлике у величини тија-аза хетероциклуса и врсте супституције на њима, мењано је и растојање између хинолинског прстена и хетероциклуса како би се потенцијално установио ефекат међусобног распореда три повезане фармакофоре на активност добијених хибрида. За добијену библиотеку једињења је иницијално извршена процена *in vitro* антиплазмодијалне активности према ХР и ХС *Plasmodium* сојевима, антимикробне активности према панелу релевантних микроба (клинички изолати и АТСС сојеви) и антиинфламаторног дејства. Механизам деловања за једињења са најбољим учинком даље је испитан у тестовима: инхибиције формирања хематина и биофилма, криве раста и синергизма, као и способности за хватање NO радикала и утицаја на експресију iNOS ензима.

4.1.1. КРЕИРАЊЕ КОМБИНАТОРНЕ БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-1

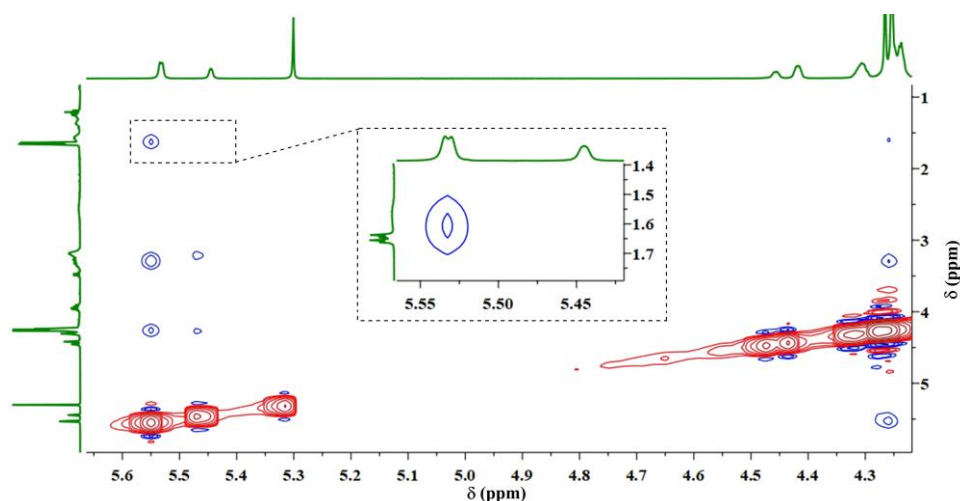
Циљна једињења **73-81** су синтетисана као што је приказано на **шеми 4**. Прекурсори **68-71** добијени су нуклеофилном ароматичном супституцијом у реакцији комерцијално доступног 4,7-дихлорхинолина са вишком диаминоалкана [144]. Fc-CHO (**67**) је добијен формиловањем фeroцена етил-ортоформатом у присуству AlCl₃ [143]. Крајња једињења **73-81** су добијена у трокомпонентној реакцији између амина **68-71** и меркапто киселина **72a-ц** у присуству DCC. Као и у претходно објављеним процедурама, DCC је имао улогу дехидратационог средства, односно средства за купловање [18]. Међутим, како би се постигли задовољавајући приноси жељених једињења било је неопходно начинити мале измене. Тако је уместо THF као растварач коришћен MeCN, употребљен је ултразвук, а реакционо време је продужено. Ипак, чак ни ови оптимизовани услови реакције нису повећали принос за хибриде са две метиленске групе у линкеру (**83-85**).



Шема 4. Синтетска шема за синтезу једињења **73-81** и **83-85**. **а)** 110 °C, 5 h, N₂; **б)** DCC, MeCN, собна температура, 3 h; **в)** MeOH, рефлукс, 5 h → собна температура, мешање преко ноћи.

Иницијални корак трокомпонентне реакције је формирање интермедијерног имиона, који затим трпи напад сумпорног нуклеофила из тиокиселина **72a-ц**, након кога следи и интрамолекулски напад азота на активiranу карбоксилну групу при чему настаје финални циклизовани производ. Раније је уочено да стерно заклоњени (и

ароматични) амини могу реаговати споро при овим реакционим условима [166]. Имајући ово у виду, претпостављено је да у случају хибрида са најкраћим линкером (**83-85**) формирање интермедијерног ими́на може бити ограничавајући корак. Стога је одговарајући ими́н **82** добијен у засебном реакционом кораку рефлуктовањем еквимоларне смеше Fc-CHO (**67**) и амина **68** у MeOH [145]. Након што је ^1H NMR анализом потврђено да је настао жељени ими́н **82** (смеша је садржала отприлике 85% ими́на, а остатак је био Fc-CHO (**67**)), исти је подвргнут, без пречишћавања, DCC посредованој реакцији кондензације са меркапто киселинама **72a-c** при чему су добијени хибриди **83-85** у умереном приносу (19–26%), али у довољној количини за извођење биолошких тестирања.



Слика 19. Увећани делови NOESY спектра хибрида **79** са обележеном интеракцијом између S-CH-N протона и метил-групе главног, *trans*-дијастереомера.

Током последњег корака циклизације формира се нови хирални центар. Како су полазне меркапто киселине (**72a** и **72b**) биле ахиралне, добијене су рацемске смеше производа ($\pm$)-**73-78** и ($\pm$)-**83-84**. У случају 2-меркаптопропанске киселине (**72c**) са већ присутним хиралним центром, ова циклизација је била стереодивергентна, па су добијене дијастереомерне смеше производа ($\pm$)-**79-81** и ($\pm$)-**85**. Нажалост, није било могуће међусобно раздвојити ове дијастереомере. Сигнали S-CH-N протона ових дијастереомера у ^1H NMR спектрима су били добро раздвојени што нам је омогућило да одредимо дијастереомерни вишак поређењем њихових интеграла. Дијастереомерни вишак се значајно смањивао са повећањем дужине линкера, нпр. у случају две метиленске групе у линкеру дијастереомерни вишак је био **85a** : **85b** = 90 : 10, док се је са додатном метиленском групом тај однос спао на **79a** : **79b** = 70 : 30. Ова реакција је такође била стереоселективна према *trans*-дијастереомерима (**79a-81a** и **85a**), што је

потврђено детаљном анализом NOESY спектра у којима је интеракција између S-CH₃-N протона и метил групе уочена само у случају главног (заступљенијег) дијастереомера (слика 19).

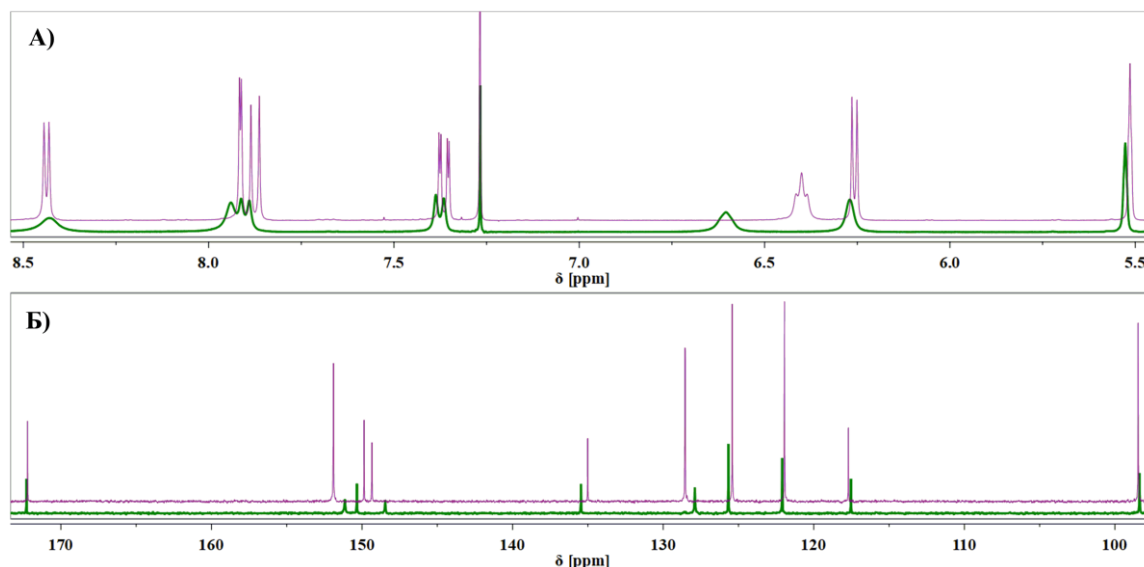
4.1.2. СПЕКТРАЛНА КАРАКТЕРИЗАЦИЈА БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-1

Једињења **73-81** и **83-85** су у потпуности спектрално окарактерисана IR, UV-Vis, ¹H и ¹³C NMR спектроскопијом (видети експериментални део). Добијени спектрални подаци били су у складу са очекиваним структурама за сва једињења.

У покушају да се пречисти хибрид **73** хроматографијом на колони силика гела при градијентним условима коришћењем смеше MeOH/CH₂Cl₂ примећено је значајно развлачење зоне супстанце. Штавише, уочено је и знатно ширење сигнала у ¹H NMR спектру изолованог једињења (слика 20). Узимајући у обзир базност 4-аминохинолина претпостављено је да ово једињење у извесној мери бива протонено на силика-гелу и да је брзина протонског трансфера слична брзини NMR релаксационих процеса изазивајући ширење сигнала, посебно у непосредној близини азотовог атома у хинолинском прстену. Стога је овај узорак поново растворен у CH₂Cl₂ и испран воденим раствором Na₂CO₃ не би ли се добила слободна база. Такође, како је познато да су једињења која садрже фeroцен при киселим условима склона оксидацији ваздухом чиме настају одговарајући фeroценијум (Fe(III)) јони [167], слободна база испрана је и воденим раствором Na₂S₂O₃, како би сви јони гвожђа остали у нижем, Fe(II), оксидационом стању. Додатно, NMR спектри су снимљени у неутралисаном⁷ деутерисаном растварачу (CDCl₃) добијеном пропуштањем растварача кроз колону анхидрованог K₂CO₃. Испирање једињења растворима базе (Na₂CO₃) и тиосулфата (Na₂S₂O₃) изазвало је не само сужавање сигнала чиме је омогућено одређивање константи купловања, већ и приметно померање сигнала 4-амино-7-хлорхинолинског прстена у ¹H и ¹³C NMR спектрима (слика 20). За све касније хроматографије мобилна фаза је била засићеном амонијаком како би се спречила кисело-базна реакција хибрида са стационарном фазом и евентуално убрзало пречишћавање. Ипак, чак и када су NMR спектри снимљени одмах након хроматографског пречишћавања сигнали су били нешто шири и донекле померени у поређењу са одговарајућим сигнаlima у NMR спектрима снимљеним након испирања узорка воденим растворима Na₂CO₃/Na₂S₂O₃.

⁷ Уклоњена је HCl која је настала аутооксидацијом CDCl₃.

Стога, третман воденим раствором Na_2CO_3 за узорке који садрже 4-амино-7-хлорхинолинско језгро, а који су претходно пречишћени на колони силика-гела, би требало бити обавезан пре NMR анализе како би се одредиле праве вредности хемијских померања и константи купловања.



Слика 20. ^1H и ^{13}C NMR спектри (А и Б, редом) једињења **73** пре (зелена линија) и након (љубичаста линија) третирања растворима $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

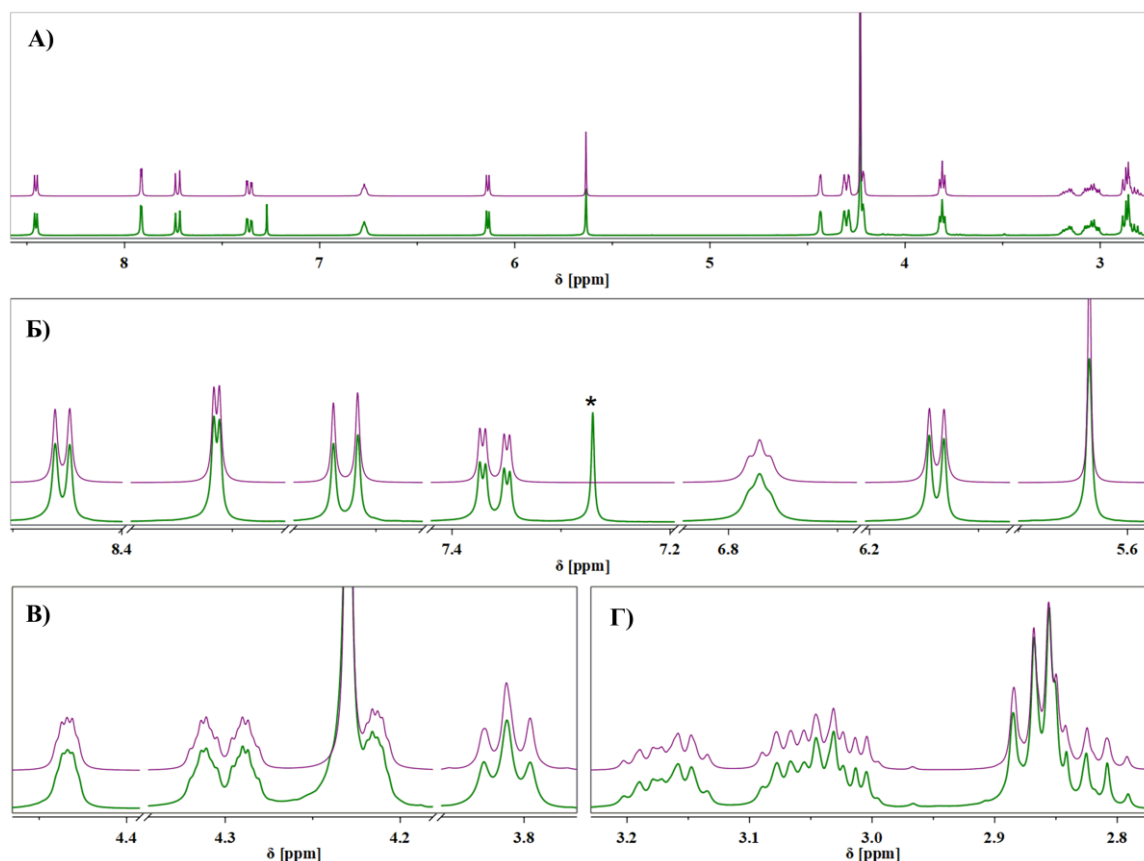
^1H NMR спектри свих синтетисаних једињења садржавали су сигнале типичне за моносупституисани фeroцен – br s на 4,2–4,3 ppm који одговара несупституисаном циклопентадиенилском (Ср) прстену и спински систем који се састоји од четири раздвојена ddd(d), а који одговара моносупституисаном Ср прстену. Услед близине хиралног центра и вероватно услед различитих анизотропних и електронских ефеката хинолинског прстена, један од 2'' или 5'' протона је углавном био на већем померању (~ 4,4–4,5 ppm) у поређењу с другим (~ 4,1–4,3 ppm). Група од шест сигнала карактеристичних за 4-амино-7-хлорхинолинско језгро (четири d и један dd у ароматичном делу спектра на ~ 6,0–8,5 ppm и триплет од протона секундарног амина на ~ 5,4–6,8 ppm) је уочен у свим протонским спектрима [18].

Протонски спектри за **73-75** и **83** одликовали су се присуством АВХ спинског система насталог од метинског (br dd на ~ 5,5–5,6 ppm) и метилених протона (два dd на ~ 2,9–3,7 ppm) у прстену 1,3-тијазолидин-4-она. ^1H NMR спектри **76-78** и **84** су били у складу са присуством ABCDE спинског система формираног од метинског (br dd на ~ 5,6 ppm) и два пара вициналних метилених протона типичних за прстен 1,3-тијазинан-4-она. И у овом случају, пар дијастереотопних ($\text{S}-\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}-\text{CH}_2-\text{C}=\text{O}$) протона

који су ближи хиралном центру дали су два добро раздвојена ddd (на $\sim 5,5$ и $\sim 5,4$ ppm), док су сигнали друге CH_2 групе били преклопљени и њихова хемијска померања и константе купловања су одређене NMR симулацијом. У протонским спектрима **79-81** и **85** који су добијени као смеше дијастереомера, парови препознатљивих сигнала који одговарају S-CH-N (d на $\sim 5,4\text{--}5,6$ ppm), $\text{S-CH(CH}_3\text{)-C=O}$ (qd на $\sim 3,9$ ppm) и $\text{S-CH(CH}_3\text{)-C=O}$ (d на $\sim 1,6$ ppm) су били лако уочљиви. Са изузетком сигнала протона из метил група, сигнали осталих протона су били на незнатно вишим померањима код *trans*- у поређењу са *cis*-дијастереомерима.

У зависности од дужине линкера (2 до 6 C-атома) одговарајући број сигнала је био присутан у ^1H NMR спектрима. Услед постојања једног или два хирална центра у молекулу, већина CH_2 протона су били дијастереотопни што је уз екстензивно вицинално купловање значајно отежало њихову асигнацију. Стога су хемијска померања и константе купловања ових протона одређена симулацијом у оквиру *MestReNova* софтверског пакета. Иницијални уноси за ова израчунавања су садржавали процењена хемијска померања протона из алкил низа (из HSQC спектра) и вредности геминалних и вициналних константи купловања доступних у литератури или оних које су добијене из декуплованих спектра. Ови почетни подаци су потом фино подешени како би се постигла што већа сличност између експерименталног и симулираног NMR спектра (слика 21). На овај начин су успешно асигнирани сви метиленски протони код хибрида **73-78** и **83-84** са изузетком оних у средини код најдужег линкера од 6 C-атома (видети експериментални део).

Слично, група од шест сигнала у опсегу од 69 до 85 ppm у ^{13}C NMR спектрима једињења **73-78** и **83-84** могао се приписати моносупституисаној Fc-јединици [168]. Додатних девет сигнала (на ~ 98 до 152 ppm) потицали су од 4-амино-7-хлорхинолинског прстена [18]. Неки од ових сигнала су били различити за два дијастереомера једињења **79-81** и **85**. Остали карактеристични сигнали на 172, 63 и 33 ppm одговарали су карбонилној групи, метинским и метиленским C-атомима прстена 1,3-тијазолидин-4-она за хибриде **73-75** и **83**. Поред поменутих резонанција, додатни сигнал који одговара другој метиленској групи уочен је на ~ 24 ppm у угљеничном спектру серије једињења **76-78** и **84** са прстеном 1,3-тијазинан-4-она. У случају хибрида **79-81** и **85**, две групе међусобно блиских сигнала који одговарају карбонилној групи, двома метинским групама и метил групи налазили су се на 175, 61, 42 и 20 ppm, редом [18].



Слика 21. Поређење експерименталног (зелено) и симулираног (љубичаста) ^1H NMR спектра једињења **84** (А) са увећаним сигнаlima у деловима између 8,5 и 5,5 ppm (Б), 4,5 и 3,7 ppm (В) и 3,2 и 2,8 ppm (Г). Резидуални сигнал CHCl_3 је обележен *.

У UV-vis спектрима свих једињења главна хромофора је била фeroценска хромофора. Наиме, најинтензивнија трака, на око 210 nm, могла се приписати $\pi \rightarrow \pi^*$ прелазима у оквиру Fc-јединице [168]. Нешто слабија је била трака на око 255 nm која одговара аналогним прелазима у 4-амино-7-хлорхинолинском прстену [169]. Остале две траке на отприлике 330 и 435 nm које су биле 10 и 100 пута слабије од трака на 210 nm највероватније одговарају $d \rightarrow \pi^*$ и $d \rightarrow d$ прелазима у Fc-језгру, редом [168].

IR спектри свих једињења су садржавали траке које потичу од вибрација истезања N–H, C=N и C=C веза на ~ 3330 , 1610 и 1570 cm^{-1} , редом, што је типично за 4-аминoсупституисан хинолински прстен [161,162]. За сва једињења уочене су и додатне две, добро раздвојене, IR траке које потичу од истезања arC–H и C=O веза на ~ 3100 , односно 1660 cm^{-1} [18].

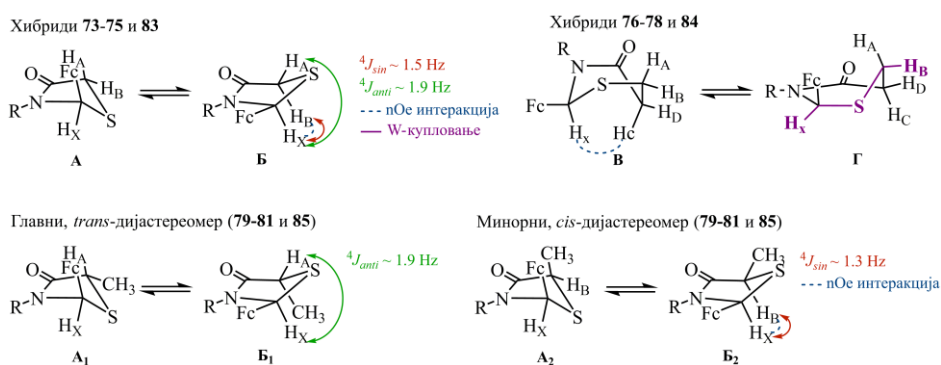
4.1.3. КОНФОРМАЦИОНА АНАЛИЗА БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-1

Претходна NMR и X-гау истраживања 3-арил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-она и 2,3-диарил-1,3-тијазолидин-4-она показала су да најповољнија конформација ових хетероциклуса одговара конформацији коверте са атомом сумпора изван равни осталих атома прстена [166,170,171]. Претпоставља се да таква геометрија минимализује напон у прстену и омогућава планарност O=C–N-арил дела у молекулу. Такође је утврђено да је конформер **A**, са псеудо-аксијалним C-2 супституентом, главни облик у чврстом стању, док је конформер **B**, са псеудо-екваторијалним C-2 супституентом, доминантан у раствору. Чини се да су, у раствору, хибриди **73**, **74** и **83** са прстеном 1,3-тијазолидин-4-она, такође, преферирали геометрију са псеудо-аксијалним H_X протоном (слика 22). Ово је закључено на основу: а) веће константе купловање метинског H_X протона са H_A протоном у поређењу са H_B (што је указало на то да би H_A и H_X требало бити орјентисани *anti*) и б) постојања nOe интеракције између H_X и H_B [166]. У случају једињења **75** метилени протони H_A и H_B су постали изохрони. Познавање најзаступљеније конформације молекула у раствору може бити врло важно јер се може повезати са активношћу коју испољава (јер нпр. може одражавати конформацију коју молекул заузима у самом активном месту његове биолошке мете).

Као што је већ напоменуто, код серије хибрида **79-81** и **85** добијене из 2-меркаптопропанске киселине (**72ц**), *trans*-дијастереомер је настајао у вишку. И у овом случају могло се закључити да оба дијастереомера, у раствору, претежно заузимају одговарајуће конформације коверте са псеудо-аксијалним S-CH–N протоном (слике B₁ и B₂, слика 22). Ово је поново претпостављено упоређивањем вредности константи куловања између S-CH–N и S-CH(CH₃)-C=O протона код *trans*- и *cis*-дијастереомера (⁴J ≈ 1,9 и 1,3 Hz, редом), а било је подржано и чињеницом да је уочена nOe интеракције S-CH–N протона са протонима метил групе само код главног дијастереомера.

У претходно објављеној кристалној структури за 2,3-дифенил-1,3-тијазинан-4-он шесточлани прстен заузима конформацију полустолице при чему атом сумпора чини наклон столице, док S-CH–N протон заузима псеудо-екваторијални положај [172]. Релевантне ³J вредности за хибриде **76-78** и **84** одређене су из декуплованих експеримената и NMR симулација, а њихове вредности (³J(H_A,H_C) ≈ 8,3–9,4 Hz, ³J(H_B,H_D) ≈ 5,2–7,0 Hz, ³J(H_B,H_C) ≈ 5,0–6,7 Hz и ³J(H_A,H_D) ≈ 4,5–6,5 Hz) су се слагале са

онима нађеним за сличан спински систем у сродним 1,4-тијазиан-3-онима [173]. Управо поменуто NMR истраживање је открило да је, у раствору, прстен 1,4-тијазиан-3-она конформационо покретан, а да се увођењем супституента у положај С-2 енергија конформације чамца довољно снижава, тако да ови деривати могу делимично заузети конформацију полустолице, а делимично конформацију чамца на собној температури. Детаљном анализом NMR спектра једињења **76** установљено је да овај молекул такође заузима обе претходно поменуте конформације у раствору. Интеракција између H_X и H_C протона у NOESY спектру указивала је на присуство конформације чамца **B** (слика 22). Такође, примећено је да је купловање преко четири везе између H_X и H_B ($^4J = 0,6 \text{ Hz}$) ширило сигнал S-CH-N протона. Ово даљинско спрежање (тзв. „W“ купловање) захтева планарни распоред одговарајућих атома (укључујући и атом сумпора), а поменута геометрија би највероватније могла бити постигнута у конформацији полустолице **Г** са псеудо-екваторијалним H_X протоном.

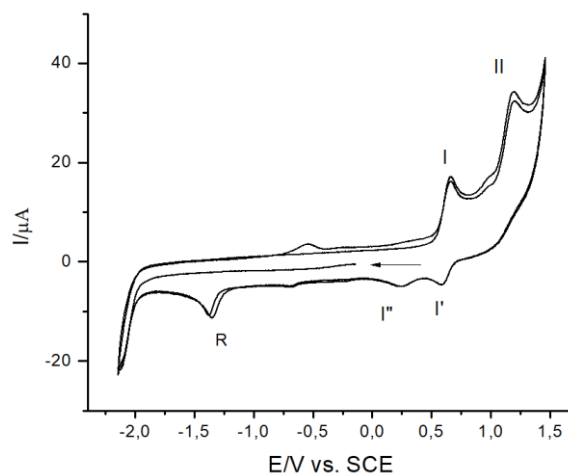


Слика 22. Преферирана конформација малих тија-аза хетероцикла за **73-81** и **83-85**. За идентификацију R погледати **шему 4**.

4.1.4. ЕЛЕКТРОХЕМИЈСКО ИСПИТИВАЊЕ ОДАБРАНИХ ПРЕДСТАВНИКА БИБЛИОТЕКЕ КБ-1

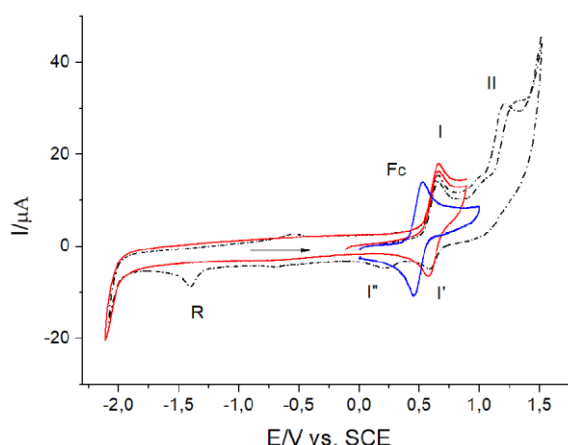
Познато је да присуство фeroценског језгра у молекулу, кроз Fe(II)/Fe(III) редокс процесе, може побољшати његове већ постојеће биолошке активности [169]. Како бисмо добили увид у редокс особине ове библиотеке хибрида испитано је волтаметријско понашање одабраних представника (**73**, **78** и **79**) и упоређено са хлорохином (**1**) у облику слободне базе. Испитивање је изведено у DMF коришћењем диск електроде од стакластог угљеника у доступном опсегу потенцијала, од +1,6 до -2,1 V. Сви испитивани хибриди су показали 2 до 3 оксидациона пика при потенцијалима $> +0,5 \text{ V}$, а њихов облик, потенцијал и струја, као и број одговарајућих редукционих пикова, сугерисали су на постојање одређених кинетичких компликација

(слика 23). Резултати добијени у случају када је волтаметријско снимање покренуто најпре у правцу катодe, а потом настављено ка позитивним потенцијалима, указали су на то да се никакви редукциони процеси не могу приписати полазном једињењу.



Слика 23. Цикловолтамограм једињења **76** снимљен у смеру катодe. GC, $v = 100$ mV/s. (засићена каломелова електрода (SCE; енгл. *saturated calomel electrode*)).

Током оксидације, први пар пикова I/I' одговарао је електронском трансферу у Fc-језгру. Као што је и очекивано, овај процес је имао карактеристике $1e^-$ квази-реверзибилног електронског трансфера чији се потенцијал померао ка позитивнијим вредностима услед хибридизације (ради поређења, дата је и волтаметријска крива фeroцена при истим условима (слика 24)). Преостали пикови, углавном неправилног облика, настали су услед оксидације хлорохинског (**1**) језгра. Ови процеси су се дешавали при позитивнијим потенцијалима од +1,0 V кроз два лоше раздвојена $1-2e^-$ електронска трансфера (II) у пратњи још једног електронског трансфера позиционираног на позитивној граници основне линије. Стога није било могуће у потпуности окарактерисати ове процесе. Ипак, уколико је оксидација спроведена тако да укључује макар процес II појавио се и други редукциони пик I''. При овој амплитуди, тренутни однос I' и I'' зависио је од брзине скенирања указујући на утицај кинетичког ефекта, односно да долази до реакције распадања након оксидације. Механизам ових процеса који се одигравају на азоту у прстену 1,3-тијазолидин-4-она/1,3-тијазинан-4-она био је сличан оном који је претходно описан за фeroценил-алканолe који садрже пиразолов прстен при еквивалентним условима [174].



Слика 24. Цикловолтамограм једињења **76** ($c = 0,87 \text{ mM}$) и фироцена ($c = 0,66 \text{ mM}$) снимљен у смеру аноде. GC, $v = 100 \text{ mV/s}$. (засићена каломелова електрода (SCE; енг. *saturated calomel electrode*)).

Уколико би се упоредили вредности потенцијала $E^{0'}(I/I')$ за сва три представника (**табела 1**) види се да су оне биле практично исте за **73** и **79**, док је за **78** ова вредност била око 40 mV негативнија. Ово је указало на већу стабилност према оксидацији једињења **73** и **79** које у својој структури садржи прстен 1,3-тијазолидин-4-она. Исто важи и за процес II: оксидација **78** је била лакша и израженија, тако да се и пик III могао уочити при примењеном опсегу понтецијалу ($< 1,6 \text{ V}$). Међутим, поређењем волтаметријских података за сва три представника закључено је да структурне различитости немају велики утицај на редокс процесе било на фироцену или атому азота у малим аза-тија хетероциклусима (1,3-тијазолидин-4-ону, односно 1,3-тијазинан-4-ону).

Вишеструко циклирање потенцијала у опсегу амплитуда од $0,0$ до $1,6 \text{ V}$ није допринело пуном опоравку почетног струјног пика I. Једноставно израчунавање је показало да да би се ово постигло могло би бити неопходно да се укључи и редукциони процес на $-1,4 \text{ V}$ (пик R). Стога, могло се претпоставити да овде реагују и врсте које садрже Fc-језгро.

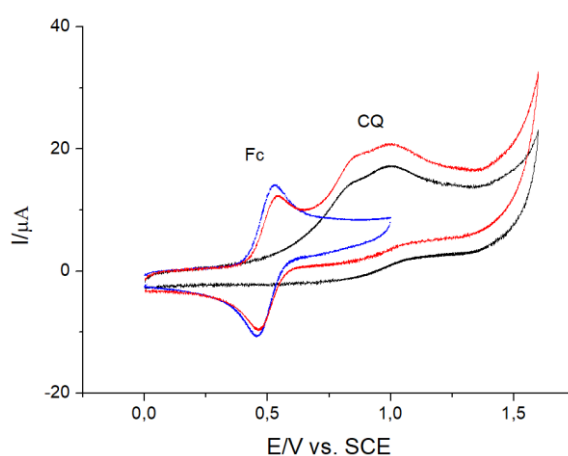
Табела 1. Волтаметријски подаци за хибриде **73**, **78** и **79** у DMF растварачу на GC електроди ($v = 100 \text{ mV/s}$).

Једињење	$E^{0'}(I/I')^{[a]}$	$E_p(II)^{[b]}$	$E_p(R)$	$I_p(I)/cv^{1/2[в]}$	$I_p(I)/cv^{1/2[г]}$
73	0,62	1,28	-1,38	52,7	73,1
78	0,58	1,23 ^[a]	-1,39	36,0	40,1
79	0,62	1,30	-1,41	49,2	78,0

^a $(E_p^a + E_p^b)/2$ у [V]. ^бУ [V]. ^вУ $\mu\text{A}(\text{mM})^{-1}(\text{V/s})^{-1/2}$. ^гСа пре пиком. ^д $E_p(III)$ је $1,46 \text{ V}$.

Снимљени су и цикловолтаграми слободне базе хлорохина (**1**; **слика 25**) како би се упоредили његове оксидационе карактеристике са фироценским хибридима (**73**, **78** и

79). Као што је и очекивано, волтаграми су се разликовали у оксидационом делу што је наметнуло закључак да су представници библиотеке КБ-1 (73, 78 и 79) подложнији оксидацији од самог хлорохина (1) и да се могу трансформисати у фериценијум интермедијере који потом могу испољити биолошки потенцијал кроз стварање реактивних кисеоничних врста. Фериценски пикови, додати како би се илустровали $1e^-$ процеси, истичу слабо развијену нискострујну неповратну оксидацију хлорохина (1) која се дешавала на око 0,4 V негативније у поређењу са синтетисаним хибридима (73, 78 и 79). Волтаметријске карактеристике и механизам ових процеса је детаљније представљен на сликама 24 и 25 и табели 1.



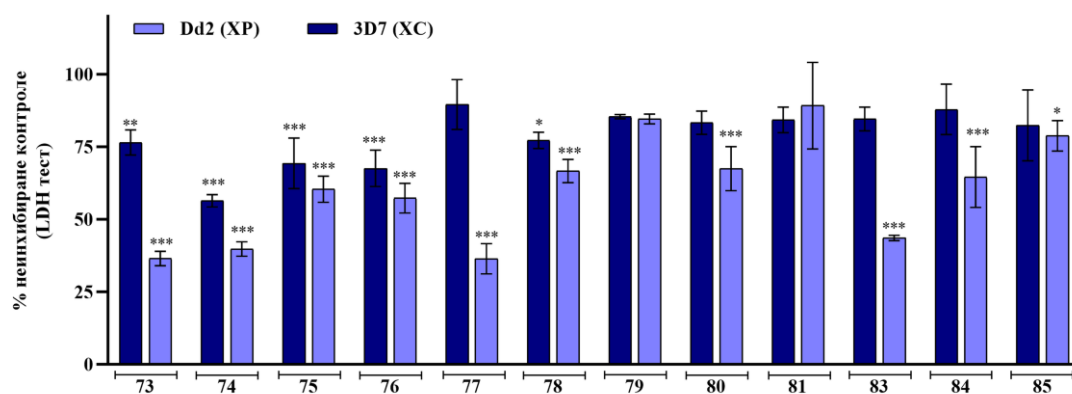
Слика 25. Цикловолтамограм хлорохина (1; црна линија $c = 1,05 \text{ mM}$), хлорохина (1) + ферицена (црвена линија; $c = 0,58 \text{ mM}$) и ферицена (плава линија; $c = 0,66 \text{ mM}$). GC, $v = 100 \text{ mV/s}$. (засићена каломелова електрода (SCE; енгл. *saturated calomel electrode*)).

4.1.5. БИОЛОШКА АКТИВНОСТ КОМБИНАТОРНЕ БИБЛИОТЕКЕ КБ-1

4.1.5.1. АНТИПЛАЗМОДИЈАЛНА АКТИВНОСТ

4.1.5.1.1. ОДРЕЂИВАЊЕ ВИЈАБИЛНОСТИ *P. FALCIPARUM* СОЈЕВА LDH ЕСЕЈОМ

За синтетисане хибриде 73-81 и 83-85, као и референтни лек хлорохин (1), одређена је *in vitro* антиплазмодијална активност према XC 3D7 и XP Dd2 *P. falciparum* сојевима употребом колориметријског LDH теста [158]. Активност свих једињења према оба *Plasmodium* соја је најпре испитана при концентрацији од $1 \mu\text{M}$, а она која су показала минимум 50% инхибиције раста паразита при овој концентрацији су затим титрирана у циљу одређивања њихове IC_{50} вредности. Чак четири хибрида 73, 74, 77 и 83 су инхибирала раст XP соја више од 50% при концентрацији од $1 \mu\text{M}$, док ниједно од тестираних једињења није испољило овакав ефекат према XC соју (слика 26).



Слика 26. *In vitro* антиплазмодијална активност једињења **73-81** и **83-85** према два *P. falciparum* соја, XC 3D7 и XP Dd2, при концентрацији од 1 μM . За сваки сој изведена су по три независна експеримента за свако једињење. Резултати су представљени као средња вредност $\pm$ СД. Статистичка значајност је израчуната једносмерном ANOVA статистичком методом праћеном Тукијевим (енг. *Tukey*) тестом вишеструког поређења, *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$ у поређењу са контролом.

Хибрид **74** је изазвао највеће смањење вијабилности ($\sim 40\%$) у случају XC соја. Хибрид **83** ($\text{IC}_{50} = 0,18 \mu\text{M}$) се показао активнијим од хлорохина (**1**; $\text{IC}_{50} = 0,21 \mu\text{M}$) према XP соју, док остала три хибрида **73** ($\text{IC}_{50} = 0,5 \mu\text{M}$), **74** ($\text{IC}_{50} = 0,26 \mu\text{M}$) и **77** ($\text{IC}_{50} = 0,3 \mu\text{M}$) нису успела да превазиђу хлорохин по активности (**1**; **табела 2**). У поређењу са подацима за фeroхин (**3**) доступним у литератури, хибрид **83** је био око шест пута мање активан (**слика 27**) [33].

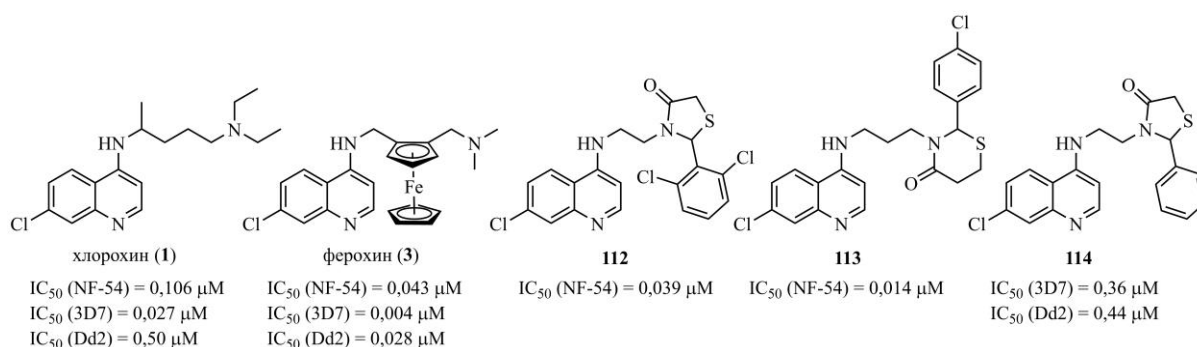
Анализом резултата антиплазмодијалног скрининга мале библиотеке аналога хлорохина (**1**) који поред фeroценске фармакофоре садрже и мале тија-аза хетероциклусе дошло се до неких занимљивих SAR закључака. Најпре, метил супституција на петочланом прстену [1,3-тијазолидин-4-он (**73-75** и **83**) у поређењу са 5-метил-1,3-тијазолидин-4-оном (**79-81** и **85**)] значајно је смањила антиплазмодијалну активност и према XC и XP сојевима при концентрацији од 1 μM (**слика 26**). Поред тога, чини се да и дужина линкера може имати значајан утицај на уочену активност према XP соју с обзиром на то да су хибриди **75**, **78** и **81** са најдужим линкерима, од шест C-атома, деловали најслабије на тестирани *Plasmodium* сој. На крају, чини се и да се увођењем Fc-јединице постигло повећање активности, јер је за фенил аналог једињења **83** ($\text{IC}_{50} = 0,44 \mu\text{M}$; **слика 27**) претходно нађена значајно већа IC_{50} вредност према Dd2 соју [161]. Иако је хибрид **83** био најефикаснији, његов аналог **74** можда може наћи већу применљивост с обзиром на то да је испољио сличне активност и према XC и према XP *P. falciparum* сојевима при концентрацији од 1 μM . Ово је битна

особина у развоју нових антималярија и сматра се индикатором за превазилажење резистенције код паразита [175].

Табела 2. *In vitro* антиплазмодијална активност према Dd2 *P. falciparum* соју, β -хематин инхибиторна активност, цитотоксичност према перитонеалним макрофагима пацова, NO инхибиторна активност и индекси селективности за хлорохин (1), 73-81 и 83-85.

Једињење	IC ₅₀ [Dd2] ^[a]	BHIA ₅₀ ^[6]	LC ₅₀ [M ϕ S] _{SRB} ^[u]	LC ₅₀ [M ϕ S] _{MTT} ^[r]	IC ₅₀ [NO] ^[a]	SI _{SRB} ^[b]	SI _{MTT} ^[b]
73	0,5 $\pm$ 0,1	1,24 $\pm$ 0,07	8,0 $\pm$ 0,8	17 $\pm$ 4	3 $\pm$ 1	2,5	5,4
74	0,26 $\pm$ 0,04	0,84 $\pm$ 0,08	5 $\pm$ 1	14 $\pm$ 2	1,6 $\pm$ 0,1	3,0	8,6
75	НТ ^[c]	0,8 $\pm$ 0,1	7 $\pm$ 4	14 $\pm$ 3,	1,5 $\pm$ 0,1	4,9	9,4
76	НТ	НТ	8 $\pm$ 2	13 $\pm$ 1	1,3 $\pm$ 0,3	6,2	10,0
77	0,3 $\pm$ 0,1	НТ	15 $\pm$ 6	13 $\pm$ 2	1,2 $\pm$ 0,3	12,1	10,8
78	НТ	1,05 $\pm$ 0,04	3,3 $\pm$ 0,7	26 $\pm$ 12	2,1 $\pm$ 0,05	1,6	12,2
79	НТ	НТ	16 $\pm$ 7	23 $\pm$ 2	1,1 $\pm$ 0,4	14,0	20,2
80	НТ	НТ	11 $\pm$ 1	17 $\pm$ 3	0,47 $\pm$ 0,05	22,8	35,0
81	НТ	1,4 $\pm$ 0,1	11 $\pm$ 2	22 $\pm$ 4	0,42 $\pm$ 0,05	25,0	52,8
83	0,18 $\pm$ 0,01	НТ	23 $\pm$ 10	13,4 $\pm$ 0,3	3,4 $\pm$ 0,7	6,8	4,0
84	НТ	НТ	9,0 $\pm$ 0,7	14 $\pm$ 2	1,8 $\pm$ 0,6	5,1	7,8
85	НТ	НТ	18 $\pm$ 5	51 $\pm$ 10	1,1 $\pm$ 0,01	17,4	47,7
1 ^[ж]	0,21 $\pm$ 0,08	2,7 $\pm$ 0,3	83 $\pm$ 11	53 $\pm$ 3	13 $\pm$ 2	6,4	4,1

^a50% инхибиторна концентрација (у μ M) за хибриде према XP Dd2 *P. falciparum* соју одређена LDH тестом. Средња вредност $\pm$ стандардна девијација (СД) из три независна експеримента. ^b β -Хематин инхибиторна активност у моларним еквивалентима хибрида у односу на хематин која узрокује 50% инхибиције. Средња вредност $\pm$ СД из два независна одређивања урађена у дупликату. ^c50% летална концентрација (у μ M) хибрида према перитонеалним макрофагима пацова (M ϕ) одређена SRB методом. Средња вредност $\pm$ СД из три независна мерења урађена у дупликату. ^d50% летална концентрација (у μ M) хибрида према перитонеалним макрофагима пацова (M ϕ) одређена MTT методом. Средња вредност $\pm$ СД из три независна мерења урађена у дупликату. ^eКонцентрација (у μ M) хибрида која узрокује 50% инхибиције производње NO у стимулираним макрофагима измерена Грисовом реакцијом. Средња вредност $\pm$ СД из три независна мерења урађена у дупликату. ^fИндекс селективности израчунат као однос LC₅₀ вредности за цитотоксичност и IC₅₀ вредности за инхибицију продукције NO. ^gНије тестирано. ^жКоришћен је хлорохин-дифосфат ради поређења.



Слика 27. Структуре хлорохина (1), ферохина (3) и претходно синтетисаних хибрида хлорохина (1) и малих тија-аза хетероцикла (112-114) са назначеним IC₅₀ вредностима према различитим *P. falciparum* сојевима [18,33,161].

4.1.5.1.2. ОДРЕЂИВАЊЕ СПОСОБНОСТИ ИНХИБИЦИЈЕ β -ХЕМАТИНА

Боравећи у еритроцитима домаћина, паразити маларије катаболизују хемоглобин и отпуштање Fe(II)-хема који брзо оксидује до токсичног (за паразите) Fe(III)-хематина. Кристализација хематина у нерастворни пигмент хемозоин је примарни механизам детоксификације *Plasmodium* паразита и главна мета 4-аминохинолинских антималярија [176]. Отуда су и одабрани хибриди (**73-75**, **78**, **81** и **83**) и хлорохин (**1**) тестирани на *in vitro* инхибицију формирања β -хематина (синтетичког хемозоина) применом ВНИА теста (енг. *β -hematin inhibitory activity assay*) [159]. Прво је испитана активност једињења при 1,5 молских еквивалената у односу на хемин. Сви тестирани хибриди, са изузетком **83** (17,8%), су испољили инхибицију формирања β -хематина већу од 50% и даље су титрирани како би се одредиле њихове ВНИА₅₀ вредности. Ови хибриди (**73-75**, **78** и **81**) су дозно зависно инхибирали формирање β -хематина и били су учинковитији од хлорохина (**1**; **табела 1**), што је имплицирало да неки од хибрида из библиотеке КБ-1 могу интераговати са слободним хематином можда и са већим афинитетом од самог хлорохина (**1**). Ипак, с обзиром на то да је једино једињење **83** надмашило хлорохин (**1**) у *in vitro* антиплазмодијалном деловању, а с друге стране изазвало незнатно смањење формирања β -хематина у поређењу са осталим хибридима, могло се закључити да осим интеракције са ферипротопорфирином IX и неки други фактори, као што су дифузија слободне базе кроз мембране и задржавање у вакуоли паразита услед ниске рН, могу бити пресудни за испољавање антиплазмодијалног ефекта ових аналога хлорохина (**1**). Међутим, могле су се запазити и неке корелације између антиплазмодијалног ефекта хибрида према ХР соју при концентрацији од 1 μ M и њихове способности да инхибирају формирање β -хематина. На пример, између хибрида **75**, **78** и **81** са различитим хетероциклусима, а истим дужинама линкера, **75** је понајвише утицао на раст *Plasmodium* паразита (~ 40% смањења; **слика 26**) и за њега је нађено да најјаче инхибира формирање β -хематина (ВНИА₅₀ = 0,8), док је **81** испољио занемарљив антиплазмодијални ефекат (~ 10%) и био је потребан значајно већи број молских еквивалената овог једињења, у односу на хемин, како би се настајање β -хематина смањило за 50% (ВНИА₅₀ = 1,4). Штавише, делује да се ефикасност интеракције у оквиру серије хибрида **73-75** и **83** повећала са повећањем растојања између хинолина и прстена 1,3-тијазолидин-4-она. Могло би се претпоставити да је близина 1,3-тијазолидин-4-она и хинолина, као код хибрида **83** (само два С-атома у линкеру),

отежавала формирање π - π комплекса са ферипротопорфирином IX, највероватније услед стерних сметњи. Ипак, резултати ВНІА теста за **73-75** и **83** нису били у потпуности у слагању са њиховим *in vitro* антиплазмодијалним активностима, истичући да друге физичкохемијске особине или неки алтернативни механизми деловања могу бити пресудни за уочени степен смањења раста *Plasmodium* паразита.

4.1.5.1.3. SAR АНАЛИЗА

Разлике у хемијским померањима које су уочене за водонике 4-аминохинолинолинског прстена након увођења Fc-јединице у структуру хибрида указале су на промену у локалном окружењу ових молекула сродних хлорохину (**1**) и самим тим и на потенцијалне промене у интеракцији (нпр. афинитету за везивање) између ових једињења и хематина. У претходном истраживању је за фeroцефанске аналоге фeroхина (**3**) са 1,1'-дисупституисаним фeroценом највеће одступање у NMR померањима, у поређењу са аналозима без фeroцена, уочено за водоник секундарног амина на ароматичном хетероциклусу (Ar-NH). Ова одступања су приписана ефекту смањења заштите услед постојања интрамолекулске водоничне везе између Ar-NH и атома азота из алкил низа. Наиме, деривати код којих је била присутна поменута интрамолекулска водонична веза испољили су већу антиплазмодијалну активност. Уочено је, такође, да поменуто одступање у NMR померањима зависи од растојања између атома азота и оно је углавном било мање код аналога са дужим алкил линкерима, вероватно зато што превелико растојање не дозвољава ефикасно водонично везивање или услед неких других конформационих ограничења [175]. Ови резултати су у сагласности са хипотезом да је повећана ефикасност фeroхина (**3**) у односу на хлорохин (**1**) последица постојања аналогне интрамолекулске водоничне везе која стабилизује јединствену конформацију омогућавајући његово ефикасније пенетрирање кроз мембрану паразита [44,48]. Насупрот томе може се претпоставити да код хибрида из библиотеке КБ-1 не може доћи до грађења интрамолекулске водоничне везе између Ar-NH и атома азота из алкил низа услед делокализације слободног електронског пара са азота из алкил низа у амидну везу карбонилне групе или пак да, уколико би се и наградила, ова веза би била прилично слаба. Такође, могло се уочити да је увођењем 2-фeroценил-супституисаног тија-аза хетероциклуса дошло до приметне промене у хемијском померању ($\Delta\delta$) Ar-NH протона у поређењу са померањем аналогног протона у одговарајућим прекурсорима **68-71**. Уочене разлике у положају Ar-NH сигнала у CDCl₃ за диамине **68-71** могле су бити приписане формирању интрамолекулске

водоничне везе код диамина **69** с обзиром на то да се тако образује стабилан шесточлани прстен [175]. Значајно померање ка вишим фреквенцијама (тзв. парамагнетни помак; $\Delta\delta = 0,61\text{--}0,91$ ppm) је примећено у случају хибрида са најкраћим линкером **83**, **84** и **85** (табела 3), док је супротан тренд (тзв. дијамагнетни помак) уочен за хибриде са дужим линкерима. Најнижа померања су имали Ag-NH протони код молекула **73**, **76** и **79** ($\Delta\delta$ од $-1,15$ до $-1,00$ ppm) са три C-атома у линкеру што потврђује губитак интрамолекулског водоничног везивања које је присутно у диамину **69**. С друге стране, није било значајних разлика у положају Ag-NH сигнала за све полазне диамина **68-71** када је снимање вршено у DMSO- d_6 , који је веома поларан растварач па може интераговати са Ag-NH и на тај начин ометати грађење интрамолекулске водоничне везе, а самим тим спречити повећање померања Ag-NH протона [177]. Приде, H-2' сигнали код **83**, **84** и **85** су били значајно померени ка нижим фреквенцијама ($\Delta\delta$ од $-0,33$ до $-0,25$ ppm), док се овај ефекат смањивао са порастом дужине линкера. Стога, чини се да је промена у хемијском померању Ag-NH и H-2' сигнала у ^1H NMR спектрима хибрида из библиотеке КБ-1 пре последица близине дијамагнетног фироценског језгра него интрамолекулске водоничне везе. Познато је да се код молекула који садрже фироцен јавља магнетна анизотропија јер у самом фироцену постоји област у којој је повећана заштита, а налази се директно изнад Ср прстена, док се област у којој је смањена заштита, налази између Ср прстенова [178]. Имајући у виду да је дошло до инкременталног помака Ag-NH и H-2' сигнала са повећањем растојања од Fc-јединице (тј. са повећањем дужине линкера) може се претпоставити да су H-2' протони смештени директно изнад Ср прстена, док су Ag-NH позиционирани у суседству гвожђа. Поред тога, уочене разлике у хемијском померању Ag-NH протона могу одражавати разлику у кисело-базним особинама хибрида из ове библиотеке, при чему би онда хиолински азот требало бити најбазнији у једињењима са два C-атома у линкеру. Ова повећана базност хиолинског азота испољава се кроз израженију делокализацију слободног пара са Ag-NH азота у хиолински ароматични систем што доводи до повећања позитивне шарже на овом атому и смањује заштиту протона који је за њега директно везан. Ово фино штимовање базности могло би значајно утицати на антиплазмодијалну активност кроз повећање акумулирања једињења у дигестивној вакуоли паразита.

Ag-NH сигнал се јављао као широки триплет или широки дублет дублета у ^1H NMR спектрима свих хибрида, при чему је 3J потицала од купловања са вициналним

дијастереотопним CH₂ протонима, што је недвосмислено потврђено експериментима декупловања. Тачна вредност 3J је одређена из симулационих експеримената и нађено је да је њена вредност између 3,0 и 6,4 Hz. Поменуто купловање је занимљива особина изменљивих протона у растварачу ниске диелектричне константе као што је CDCl₃. У склопу претходних истраживања која су се бавила арил-аналозима хибрида из ове библиотеке објављено је да су одговарајући Ar-NH сигнали (у CDCl₃ на 200 MHz) широки синглети [18]. Исти арил деривати (*p*-хлорфенил аналози **76** и **84**) су синтетисани и у овом истраживању, а сигнали Ar-NH протона су се поново јављали у облику широких триплета ($^3J = 4,0$ Hz). Штавише, овакво купловање кроз три везе је уочено и у 1H NMR спектру (CDCl₃, 400 MHz) хлорохина (**1**; Ar-NH је дао дублет на 5,20 ppm са 3J од 7,4 Hz [179]) док је у аналозима хлорохина (**1**) са различитим дужинама алкил-линкера (од 2 до 6 C-атома) повезаних са два азота, Ar-NH сигнал асигниран или као широки синглет или као широки триплет (без одређивања вредности 3J ; [144]). Један од разлога за поменуту промену у мултиплетности и положају Ar-NH сигнала може бити делимично протоновање током пречишћавања хроматографијом на силика-гелу или употреба CDCl₃ без претходног уклањања киселине. Други разлог може бити различит степен или начин самоасоцијације анализираних једињења у раствору. На пример, претходно је нађено да хлорохин-дифосфат у концентрованом раствору у D₂O формира димере услед повољних π - π интеракција између два паралелна хиолинска прстена [180,181]. Ова самоасоцијација може изменити липофилност једињења и потенцијално утицати на пролазак кроз ћелијску мембрану.

Табела 3. Поређење ^1H NMR хемијских померања (у ppm) протона на хиолинском прстену и **N-CH-S** и **Ar-NH** протона.

Н-атом	73	74	75	76	77	78	79 ₁ / 79 ₂ ^[a]	80 ₁ / 80 ₂	81 ₁ / 81 ₂	83	84	85 ₁ / 85 ₂	68	69	70	71
2'	6,26	6,33	6,38	6,32	6,36	6,40	6,26/6,24	6,33/6,32	6,383/6,379	6,08	6,14	6,10/ 6,06	6,39 ^[6] / 6,50 ^[a]	6,31 ^[6] / 6,48 ^[a]	6,35 ^[6] / 6,46 ^[a]	6,42 ^[6] / 6,45 ^[a]
3'	8,44	8,50	8,50	8,46	8,50	8,52	8,43/8,42	8,492/8,487	8,51/8,51	8,46	8,45	8,45/ 8,44	8,53/ 8,39	8,49/ 8,39	8,49/ 8,38	8,54/ 8,38
5'	7,91	7,94	7,96	7,92	7,95	7,95	7,92/7,914	7,94/7,94	7,95/7,95	7,94	7,91	7,92/ 7,92	7,94/ 7,78	7,91/ 7,78	7,93/ 7,78	7,96/ 7,78
7'	7,36	7,36	7,36	7,37	7,37	7,35	7,37/7,37	7,35/7,35	7,357/7,356	7,38	7,36	7,37/ 7,37	7,34/ 7,44	7,29/ 7,44	7,30/ 7,44	7,37/ 7,44
8'	7,87	7,79	7,81	7,94	7,86	7,78	7,910/7,910	7,82/7,81	7,834/7,827	7,70	7,73	7,68/ 7,68	7,74/ 8,30	7,71/ 8,24	7,75/ 8,28	7,66/ 8,29
N-CH-S	5,51	5,51	5,52	5,59	5,58	5,56	5,51/5,42	5,50/5,43	5,51/5,45	5,58	5,64	5,57/5,48	/	/	/	/
Ar-NH	6,40	5,49	5,49	6,55	5,70	5,31	6,53/6,55	5,60/5,50	5,38/5,44	6,47	6,77	6,33/6,33	5,86/7,35	7,55/7,56	6,16/7,41	4,97/7,31

^aХемијска померања главног/минорног дијастереомера. ^bХемијска померања на 400 MHz у CDCl₃. ^cХемијска померања на 400 MHz у DMSO-*d*₆.

4.1.5.2. АНТИМИКРОБНА АКТИВНОСТ

4.1.5.2.1. ОДРЕЂИВАЊЕ МИНИМАЛНЕ ИНХИБИТОРНЕ КОНЦЕНТРАЦИЈЕ (MIC)

За хибриде **73-81** и **83-85**, као и за хлорохин (**1**) је одређена антимикуробна активност микродилуционим тестом према 12 сојева микроорганизама укључујући референтне сојеве који припадају АТСС колекцији и изолате из столице, урина, бриса носа или узорака хране [146]. Добијени резултати су сумирани у табелама **2** и **4**. Седам хибрида (**74-80**) је испољило јак антимикуробни ефекат, MIC < 16 µg/ml [182], према референтним сојевима и/или изолатима две Грам-позитивне бактерије, *S. aureus* и *B. cereus*. Једињење **80** се посебно издвојило са MIC вредношћу од 3 µg/ml (5,4 µM) према соју *S. aureus* АТСС 6583 што је, ако се масе узму у обзир, скоро еквивалентно активности конвенционалног антибиотика стрептомицина (MIC = 1,6 µg/ml).

Табела 4. Минималне инхибиторне концентрације (MIC, у µM)^[a] хлорохина (**1**) и хибрида **73-81** и **83-85**.

Једињење	<i>Candida albicans</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Bacillus cereus</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Salmonella enterica</i>		<i>Escherichia coli</i>	
	1ca ^[6]	2ca	1sa	2sa	1bc	2bc	1pa	2pa	1se	2se	1ec	2ec
73	0,091	0,046	2,970	2,970	2,970	0,743	2,970	2,970	2,970	2,970	2,970	2,970
74	0,044	0,044	1,445	0,023	0,723	0,023	0,179	2,890	2,890	2,890	2,890	2,890
75	0,084	0,042	2,742	0,011	2,742	0,042	0,342	2,742	2,742	2,742	2,742	2,742
76	0,089	0,044	0,012	0,011	0,023	0,023	1,445	2,890	>2,890	2,890	2,890	1,445
77	0,174	0,043	2,814	2,814	2,814	0,704	2,814	1,407	2,814	2,814	2,814	2,814
78	0,166	0,041	0,668	0,021	2,674	0,021	2,674	2,674	1,361	2,674	2,674	2,674
79	0,044	0,044	0,012	0,011	0,023	0,011	0,723	2,890	2,890	2,890	2,890	2,890
80	0,043	0,043	0,006	0,022	0,023	0,011	0,704	2,814	2,814	2,814	2,814	2,814
81	0,041	0,041	0,160	0,083	2,674	>2,674	1,337	2,674	2,674	2,674	1,337	2,674
83	0,381	0,047	3,055	1,527	3,055	1,527	3,055	3,055	3,055	3,055	3,055	3,055
84	0,184	0,046	0,012	0,023	0,024	0,023	1,485	2,970	2,970	2,970	2,970	1,485
85	0,091	0,046	0,743	2,970	2,970	2,970	>2970	2,970	2,970	2,970	2,970	2,970
1	1,454	1,454	0,728	2,908	2,908	2,908	0,023	2,908	2,908	2,908	0,023	1,454
Стр/Нис ^[b]	0,004	0,004	0,003	0,001	0,003	0,0004	0,003	0,003	0,003	0,011	0,005	0,003

^aМикродилуциона метода. Експерименти су рађени у трипликату и поновљени два пута. ⁶1ca – *Candida albicans* (АТСС 24433); 2ca – *C. albicans* (изолат из столице); 1sa – *Staphylococcus aureus* (АТСС 6583); 2sa – *S. aureus* (изолат из бриса носа); 1bc – *Bacillus cereus* (АТСС 11778); 2bc – *B. cereus* (изолат из хране); 1pa – *Pseudomonas aeruginosa* (АТСС 9027); 2pa – *P. aeruginosa* (изолат из урина); 1se – *Salmonella enterica* (АТСС 13076); 2se – *S. enterica* 7225 (изолат из столице); 1ec – *Escherichia coli* (АТСС 8739); 2ec – *E. coli* (изолат из бриса грла). ^b Стрептомицин/нистатин.

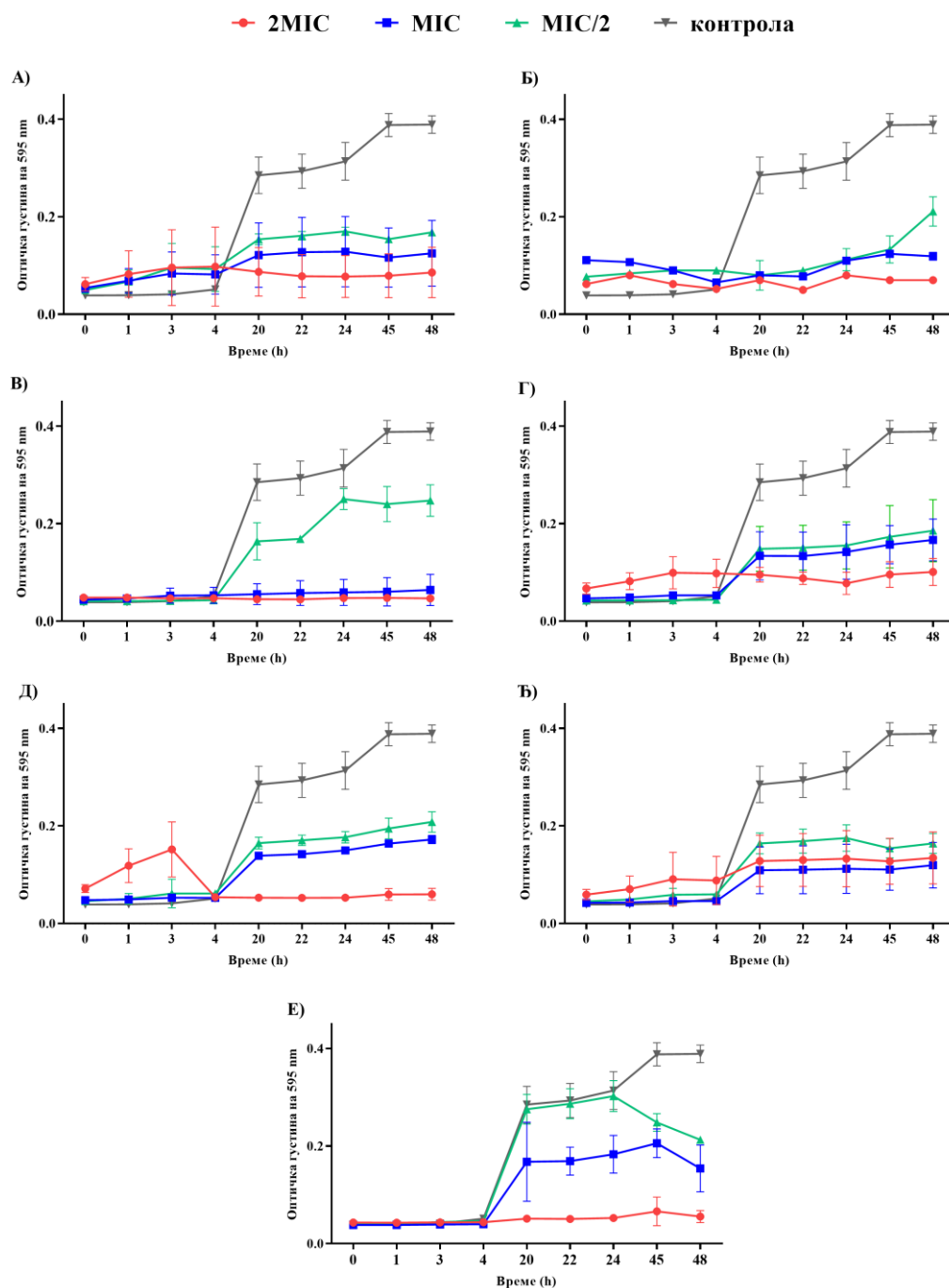
Занимљиво је да су у случају једињења **74**, **75** и **78** нађене 30 до 250 пута мање MIC вредности према одговарајућим изолатима који су обично резистентнији у односу на АТСС сојеве. Поменутих седам хибрида (**74-80**) су селективно деловали на Грам-позитивне бактерије, с обзиром на то да су занемарљиво инхибирали раст Грам-негативних сојева (MIC ≥ 375 µg/ml; са изузетком **74** и **75** према *P. aeruginosa* АТСС 9027). Сви тестирани хибриди, осим **83** према референтном соју, су, такође, значајно

инхибирали раст и сојева гљиве *C. albicans* (MIC < 100 µg/ml). Коришћени *C. albicans* изолат је био једнако или подложнији деловању хибрида из библиотеке КБ-1 у поређењу са АТСС сојем. Стога, чини се да су модификације у структури хлорохина (**1**) извршене у оквиру ове дисертације значајно утицале на повећање активности према Грам-позитивним бактеријама и гљиви *C. albicans*. Међутим то није био случај код Грам-негативних бактерија, с обзиром на то да је и сам хлорохин (**1**) показао јако антимикробно дејство (MIC = 12 µg/ml) према АТТС сојевима *P. aeruginosa* и *E. coli*. Нажалост, из добијених резултата нису могли да се извуку било какви коначни SAR закључци, изузев да би увођење прстена 1,3-тијазинан-4-она и 5-метил-1,3-тијазолидин-4-она у структуру хлорохина (**1**) могло имати израженији позитивни утицај на активност у односу на присуство 1,3-тијазолидин-4-она у овим молекулима.

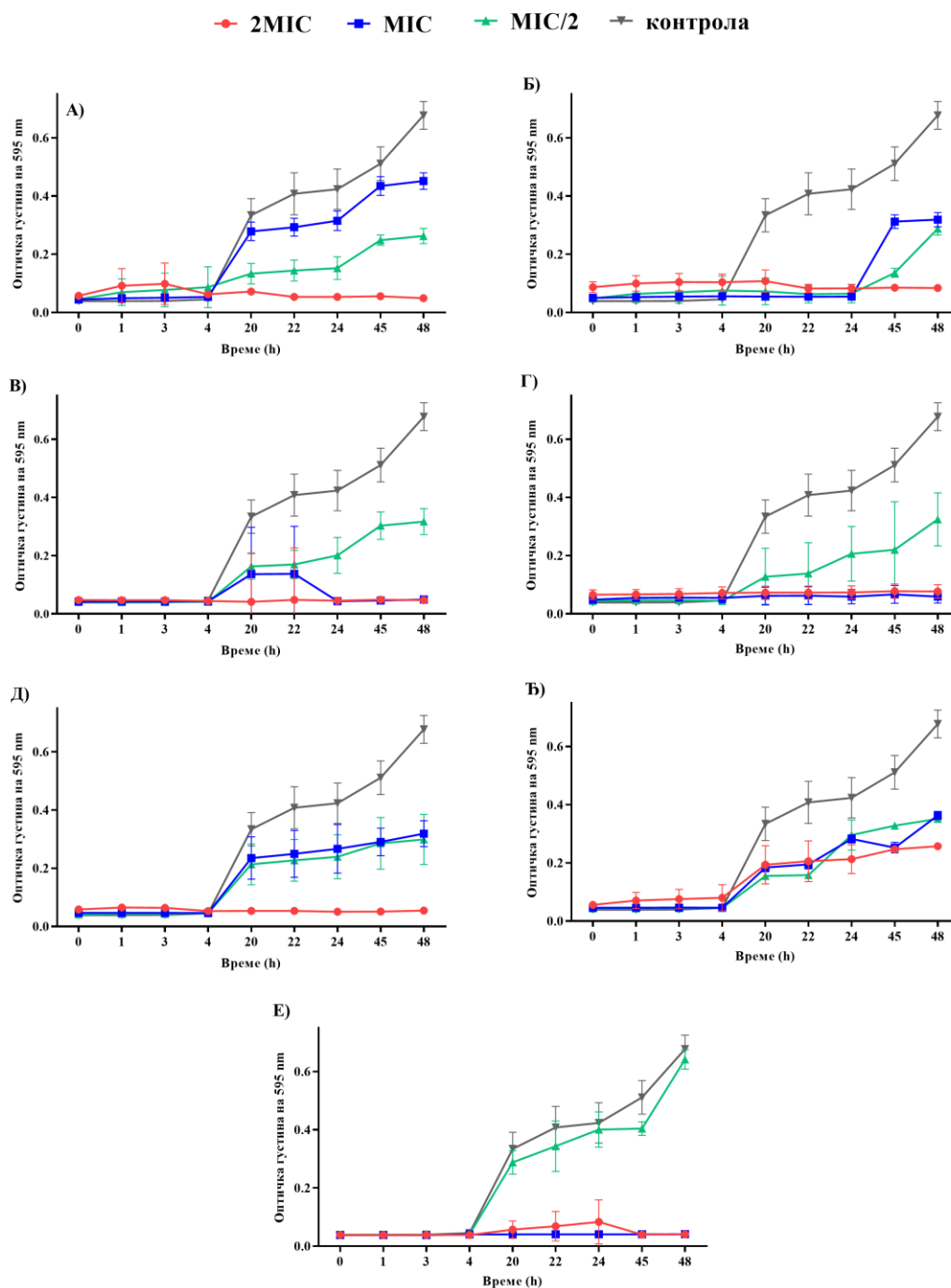
4.1.5.2.2. ОДРЕЂИВАЊЕ КРИВЕ РАСТА

Како бисмо утврдили да ли су **76, 78, 79, 80, 84** и хлорохин (**1**) бактерицидни према бактерији *S. aureus*, спроведен је експеримент одређивања криве раста у којем је праћен њихов утицај на раст/смрт АТСС соја и изолата из бриса носа у току 48 сати у три различите концентрације (MIC/2, MIC и 2MIC). Овај тест омогућава утврђивање укупног трајања инхибиторног ефекта при концентрацијама испод и изнад MIC и/или тачно време потребно да тестирано једињење убије целу популацију ћелија у медијуму [147,148]. Сва тестирана једињења су дозно зависно инхибирала раст оба соја, али је њихова брзина којом убијају ћелије бактерија варијала (Слике **28** и **29**). Са изузетком хлорохина (**1**), сва тестирана једињења су у потпуности спречила раст изолата при концентрацији 2MIC, при чему су **79** и **84** испољили бактерицидни ефекат. Хибриди **76, 78** и **80** су се понашали као бактериостатички агенси према референтном соју при овој концентрацији. Иако је за најефикаснији хибрид **80** нађена четири пута мања MIC вредност према АТСС соју, он је показао значајно бољу кинетику убијања према изолату из бриса носа (54,8% у поређењу са 86,1% инхибиције након 24 сата) при MIC концентрацији. Занимљиво је да је једињење **76** показало знатно већу брзину убијања сојева *S. aureus* при MIC/2 у поређењу са оном при MIC. Такође, сви тестирани хибриди, као и хлорохин (**1**), испољили су бољу кинетику убијања при MIC/2 у поређењу са позитивном контролом, стрептомицином. Приметан поновни раст микроорганизама је уочен једино при MIC и MIC/2 за **78** код оба соја, као и за хлорохин (**1**) у случају *S. aureus* изолата (слике **28** и **29**). Антифунгална активност **74-80, 75, 76, 78, 79, 80, 84** и хлорохина (**1**) је, такође, додатно процењена одређивањем кинетике

убијања гљиве *C. albicans* (сој ATCC 24433 и изолат из столице) при концентрацијама од MIC/2, MIC и 2MIC. При највишој концентрацији, сва једињења су довела до значајног смањења раста референтног соја и изолата (> 80% и > 90%, редом) након 24 сата. Једино је у присуству **74** примећен поновни раст изолата након 24 сата при овој концентрацији.

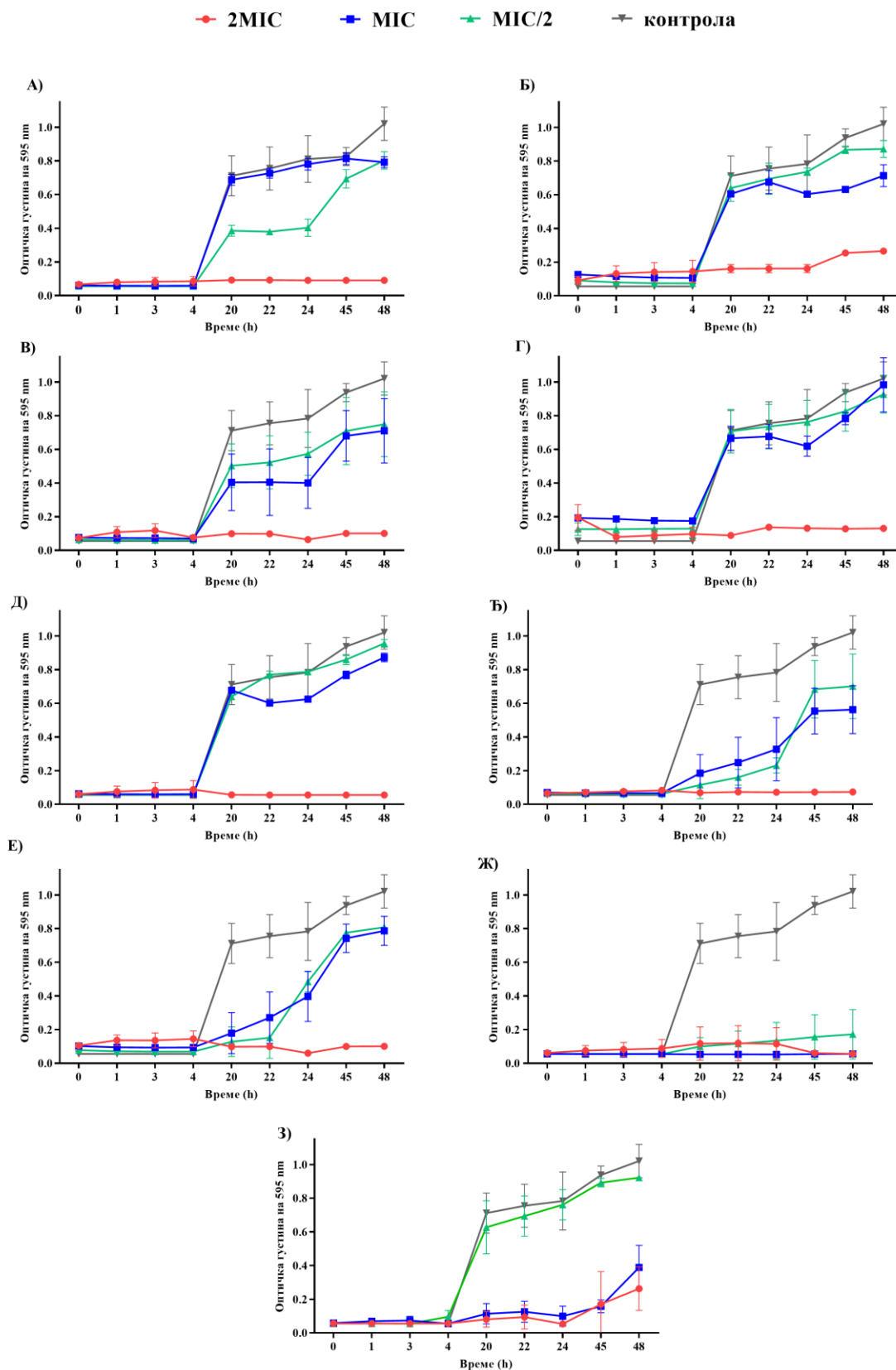


Слика 28. Криве раста *S. aureus* ATCC 6583 у присуству хибрида **76** (А), **77** (Б), **79** (В), **80** (Г), **84** (Д), хлорохина (**1**; Ђ) и стрептомицина (Е). Резултати су дати као средње вредности $\pm$ СД.

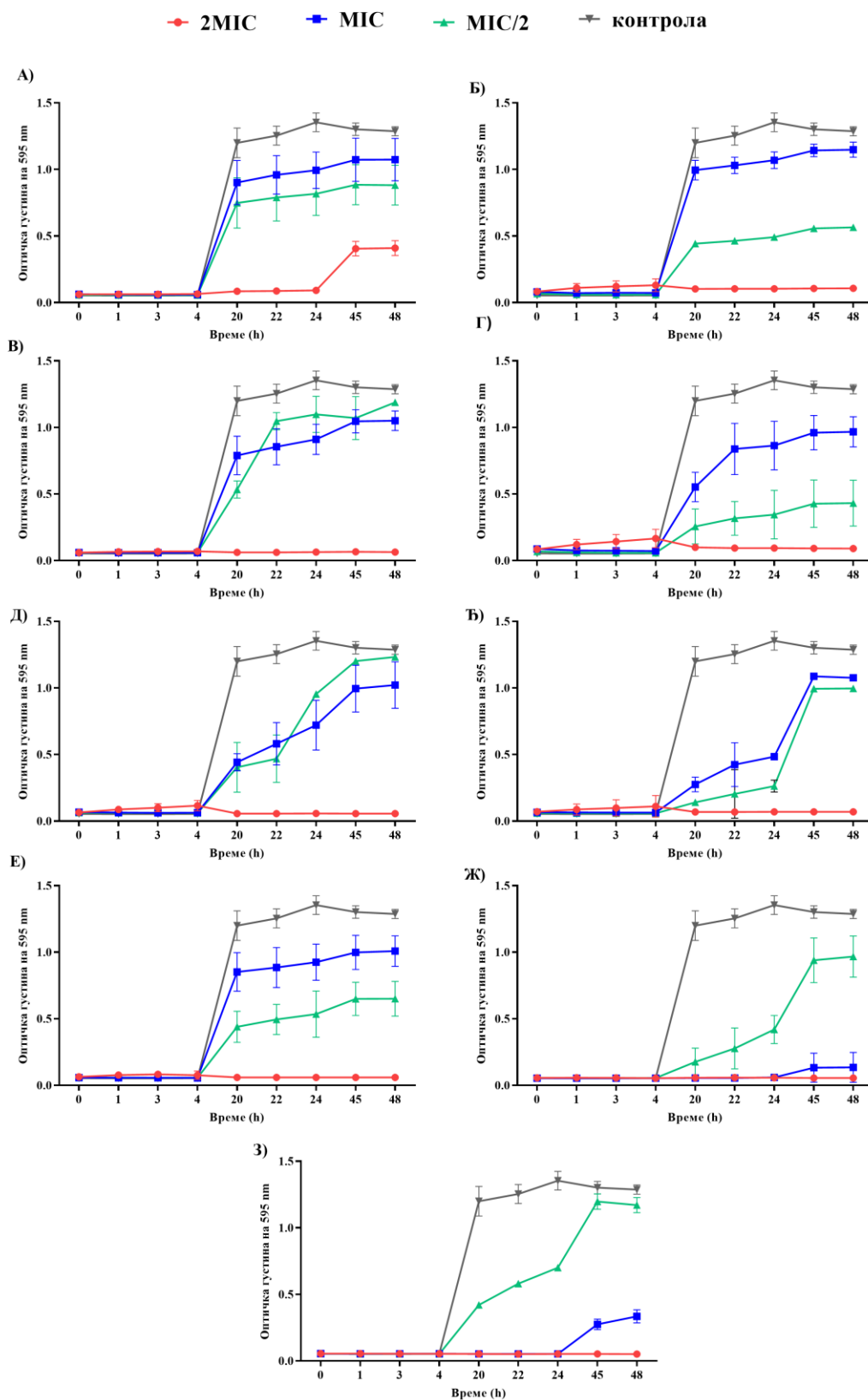


Слика 29. Криве раста изолата *S. aureus* из бриса носа у присуству хибрида 76 (А), 77 (Б), 79 (В), 80 (Г), 84 (Д), хлорохина (1; Ђ) и стрептомицина (Е). Резултати су дати као средње вредности $\pm$ СД.

Антикандидални ефекат већине хибрида је при MIC и MIC/2 готово потпуно нестао (слике 30 и 31). Изузеци су били хибриди 80 и 84 који су показали кинетику убијања упоредиву са позитивном контролом нистатином при MIC концентрацији. При MIC/2 ова два хибрида су изазвала веће смањење раста гљива у односу на нистатин, али је након 24 сата примећен поновни раст оба *C. albicans* соја у случају оба хибрида.



Слика 30. Криве раста *S. albicans* ATCC 24433 у присуству хибрида 74 (А), 75 (Б), 76 (В), 78 (Г), 79 (Д), 80 (Ђ) и 84 (Е), хлорохина (1; Ж) и нистатина (З). Резултати су дати као средње вредности $\pm$ СД.

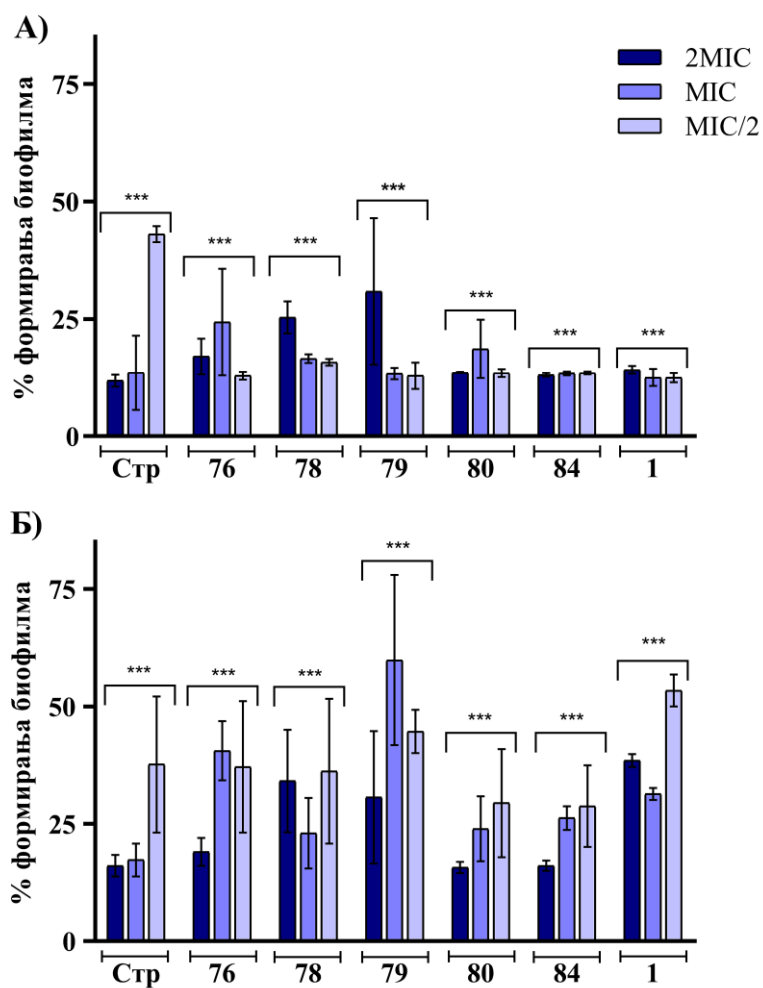


Слика 31. Криве раста *C. albicans* изолата из столице у присуству хибрида 74 (А), 75 (Б), 76 (В), 78 (Г), 79 (Д), 80 (Б) и 84 (Е), хлорохина (1; Ж) и нистатина (З). Резултати су дати као средње вредности $\pm$ СД.

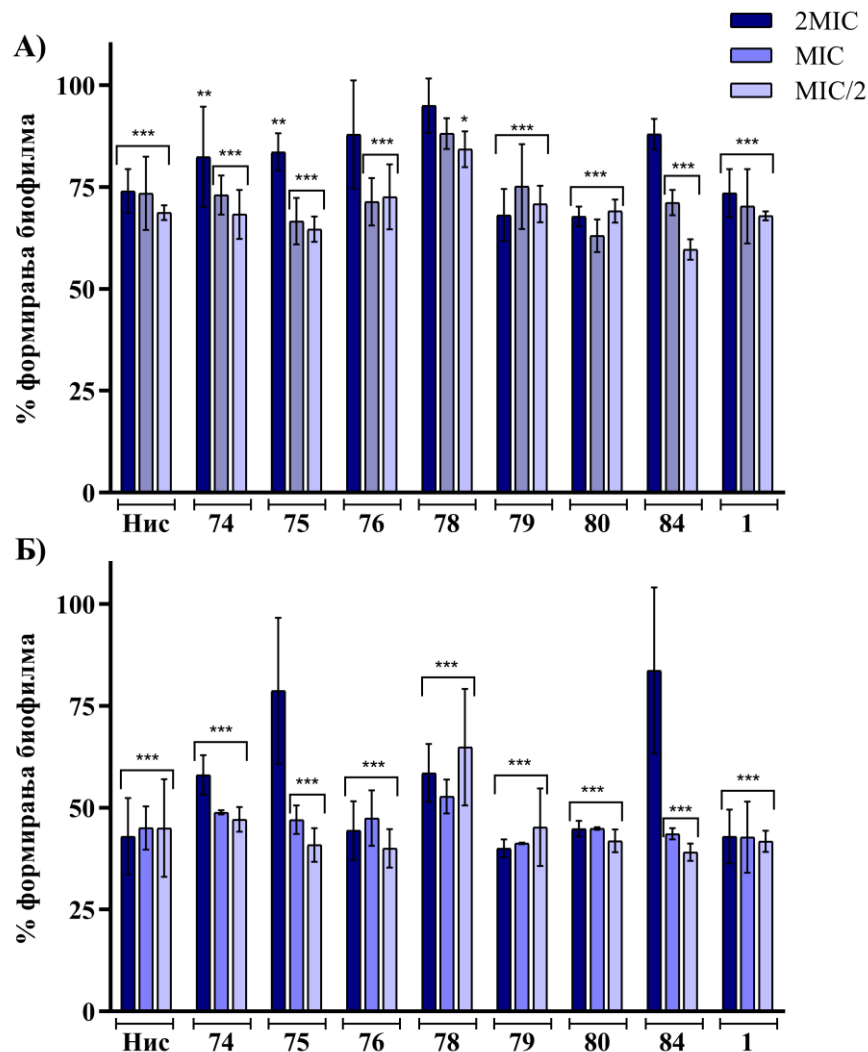
4.1.5.2.3. АНТИБИОФИЛМ АКТИВНОСТ

Способност формирања биофилма код микроорганизама се често повезује са њиховом резистенцијом на лекове и за сузбијање формирања биофилма најчешће су потребне значајно веће концентрације лекова како би се постигао жељени терапеутски ефекат [183]. Стога је битно проценити и ефекат сваког новог потенцијалног антимикробног агенса на раст микроорганизама како у планктонској тако и у биофилмској форми. Најпре је испитан утицај једињења **76**, **78**, **79**, **80**, **84** и хлорохина (**1**) на способност формирања биофилма АТСС соја бактерије *S. aureus* и њеног изолата из бриса носа у три концентрације (MIC/2, MIC и 2MIC) методом бојења кристал виолетом [149]. Сва тестирана једињења су значајно утицала на формирање биофилма оба соја, чак и при субинхибиторним концентрацијама (MIC/2, концентрације у опсегу 0,003–1,454 μM ; проценат инхибиције је био у опсегу 43–87%). Њихов утицај на АТСС сој при MIC и 2MIC био је упоредив са ефектом позитивне контроле, док су сви хибриди, а и хлорохин (**1**), превазишли стрептомицин при MIC/2 (>84% смањења формирања биофилма у поређењу са 57%; слика 32А). Са изузетком **80** и **84**, биофилм изолата *S. aureus* је показао већу толеранцију на тестирана једињења (слика 32Б). У поређењу са стрептомицином, ова два хибрида су испољила супериорнију антибиофилм активност према изолату при MIC/2.

Потом је испитан и ефекат седам хибрида (**74**, **75**, **76**, **78**, **79**, **80** и **84**) и хлорохина (**1**) на способност продукције биофилма квасца *C. albicans* (АТСС соја и изолата из столице). За сва тестирана једињења, као и за нистатин, нађено је да при све три тестиране концентрације (MIC/2, MIC и 2MIC) значајно више утичу на способност формирања биофилма код изолата у поређењу са АТСС сојем (Слика 33). Са изузетком **75** и **84**, сва једињења су испољила сличну способност инхибиције формирања биофилма соја изолата при све три тестиране концентрације (MIC/2, MIC и 2MIC, концентрације у опсегу 0,021–0,088 μM ; проценат инхибиције је био у опсегу 42–60%). Највећи степен инхибиције је уочен приликом третмана једињењима **76**, **79**, **80** и хлорохином (**1**; од 52,5 до 60%) и био је упоредив са вредностима добијеним за нистатин. Интересантно је да је код АТСС соја, највеће смањење формирања биофилма (за 40,3%) нађено у случају хибрида **84** при субинхибиторној концентрацији.



Слика 32. Ефекат одабраних хибрида, хлорохина (1) и стрептомицина (Стр) на смањење формирања биофилма *S. aureus* ATCC 6583 (А) и *S. aureus* изолата из бриза носа (Б). Резултати су изражени као средња вредност $\pm$ СД. Међусобно поређење података је извршено једносмерном ANOVA статистичком методом праћеном Тукијевим (енг. Tukey) тестом вишеструког поређења, *** $p < 0,001$ у поређењу са контролом.



Слика 33. Ефекат одабраних хибрида, хлорохина (**1**) и нистатина (**Нис**) на смањење формирања биофилма *C. albicans* ATCC 24433 (**А**) и *C. albicans* изолата из столице (**Б**). Резултати су изражени као средња вредност $\pm$ СД. Међусобно поређење података је извршено једносмерном ANOVA статистичком методом праћеном Тукијевим (енг. Tukey) тестом вишеструког поређења, *** $p < 0,001$; ** $p < 0,005$ * $p < 0,05$ у поређењу са контролом.

4.1.5.2.4. СИНЕРГИСТИЧКО ДЕЈСТВО ЈЕДИЊЕЊА СА АНТИБИОТИКОМ/АНТИМИКОТИКОМ

Претходна истраживања су показала да хлорохин (**1**) испољава осредњу антистафилококну и антикандидалну активност [184,185]. Међутим, утврђено је да хлорохин (**1**) показује синергистичко деловање са већим бројем конвенционалних антимикотика (нпр. флуконазол и каспофунгин) према различитим врстама рода *Candida* [184,186], као и са антибиотиком ампицилином према сојевима *S. aureus* [187]. Као што је већ напоменуто, код деце са тешким обликом маларије, уобичајена је профилактичка примена антибиотика широког спектра. Насупрот томе, познато је да су једино имунокомпромитовани пацијенти са тешким симптомима маларије изазване

P. falciparum паразитом подложни опортунистичким гљивичним инфекцијама [188]. Стога је одлучено да се испита могућност синергистичке/антагонистичке интеракције одабраних хибрида и хлорохина (**1**) са стандардним антибиотцима и антимицотицима према *S. aureus* и *C. albicans* сојевима. Резултати добијени применом методе шаховске табле су дати у **табелама 5 и 6**.

Табела 5. Вредности минималне инхибиторне концентрације (MIC, у µg/ml) и фракционе инхибиторне концентрације (FIC) комбинација хлорохина (**1**) или одабраних хибрида са стрептомицином према *S. aureus* сојевима.

Комбинације	S. aureus ATCC 6583			S. aureus изолат из бриса из носа		
	MIC једињења	MIC комбинације	FIC	MIC једињења	MIC комбинације	FIC
76 + стрептомицин						
76	6	1,5	0,25	6	3	0,5
стрептомицин	1,6	0,5	0,31	0,4	0,5	1,25
FICI ^[a] интеракција	0,56 → Ад ^[b]			1,75 → Инд ^[b]		
78 + стрептомицин						
78	375	94	0,25	12	6	0,5
стрептомицин	1,6	0,03	0,02	0,4	0,24	0,61
FICI интеракција	0,27 → Син ^[c]			1,11 → Инд		
79 + стрептомицин						
79	6	1,5	0,25	6	3	0,5
стрептомицин	1,6	0,5	0,31	0,4	0,5	1,25
FICI интеракција	0,56 → Ад			1,75 → Инд		
80 + стрептомицин						
80	3	0,7	0,25	12	6	0,5
стрептомицин	1,6	0,5	0,31	0,4	0,24	0,61
FICI интеракција	0,56 → Ад			1,11 → Инд		
84 + стрептомицин						
84	6	1,5	0,25	12	6	0,5
Стрептомицин	1,6	0,5	0,31	0,4	0,5	1,25
FICI интеракција	0,56 → Ад			1,75 → Инд		
1 + стрептомицин						
1	375	94	0,25	1500	1500	1
стрептомицин	1,6	0,5	0,31	0,4	0,9	2,30
FICI интеракција	0,56 → Ад			3,30 → Ант ^[d]		

^aФракциони инхибиторни концентрациони индекс. ^bАдитивни ефекат. ^cИндиферентан. ^dСинергистички ефекат.

^eАнтатонистички ефекат.

Ниједно од пет тестираних једињења (**76, 78, 79, 80 и 84**) није показало значајну интеракцију са стрептомицином према *S. aureus* изолату (фракциони инхибиторни концентрациони индекс (FICI) је био у опсегу од 1,11 до 1,56), док је за хлорохин (**1**; FICI = 3,30) уочен антагонистички ефекат. На основу FICI вредности од 0,56, могло се закључити да четири хибрида (**76, 79, 80 и 84**) и хлорохин (**1**) испољавају адитивни ефекат са стрептомицином према *S. aureus* ATCC соју. Једино је комбинација хибрида **78** са стрептомицином показала синергистички ефекат (FICI = 0,27) према овом референтном соју. С друге стране, већина тестираних једињења (**75, 76, 78, 79 и 80**) и

хлорохин (1) су показала побољшану антикандидалну активност према оба соја у комбинацији са нистатином (FICI = 0,375 до 0,5). Адитивни ефекат је уочен само у случају хибрида 74 за изолат и хибрида 84 за ATCC сој.

Табела 6. Вредности минималне инхибиторне концентрације (MIC, у $\mu\text{g/ml}$) и фракционе инхибиторне концентрације (FIC) комбинација хлорохина (1) или одабраних хибрида са нистатином према *C. albicans* сојевима.

Комбинације	<i>C. albicans</i> ATCC 24433			<i>C. albicans</i> изолат из столице		
	MIC једињења	MIC комбинације	FIC	MIC једињења	MIC комбинације	FIC
74 + нистатин						
74	24	6	0.25	24	6	0.25
Нистатин	4	1	0.25	4	2	0.5
FICI ^[a] интеракција	0,5 → Син ^[b]			0,75 → Ад ^[b]		
75 + nystatin						
75	47	12	0.25	24	6	0.25
Нистатин	4	1	0.25	4	1	0.25
FICI интеракција	0,5 → Син			0,5 → Син		
76 + нистатин						
76	47	12	0.255	24	6	0.25
Нистатин	4	0,5	0.125	4	0.5	0.125
FICI интеракција	0,38 → Син			0,375 → Син		
78 + нистатин						
78	94	24	0.255	24	6	0.25
Нистатин	4	0,5	0.125	4	0.5	0.125
FICI интеракција	0,38 → Син			0,375 → Син		
79 + нистатин						
79	24	6	0.25	24	6	0.25
Нистатин	4	0,5	0.125	4	1	0.25
FICI интеракција	0,375 → Син			0,5 → Син		
80 + нистатин						
80	24	6	0.25	24	6	0.25
Нистатин	4	0,5	0.125	4	1	0.25
FICI интеракција	0,375 → Син			0,5 → Син		
84 + нистатин						
84	94	47	0.5	24	6	0.25
Нистатин	4	0,5	0.125	4	0.5	0.125
FICI интеракција	0,625 → Ад			0,375 → Син		
1 + нистатин						
1	750	188	0.25	750	375	0.5
Нистатин	4	0,5	0.125	4	0.5	0.125
FICI интеракција	0,375 → Син			0,625 → Ад		

^aФракциони инхибиторни концентрациони индекс. ^bСинергистички ефекат. ^cАдитивни ефекат.

4.1.5.3. АНТИИНФЛАМАТОРНА АКТИВНОСТ

4.1.5.3.1. ОДРЕЂИВАЊЕ ВИЈАБИЛНОСТИ МАКРОФАГА МТТ ТЕСТОМ

Сматра се да је процес регрутовања и активирања макрофага (*Mφs*) и моноцита неопходан за уклањање маларијске инфекције. С друге стране, макрофаги и моноцити су такође повезани и са нежељеним клиничким исходима код особа инфицираним *Plasmodium* паразитом, јер услед њихове интеракције са паразитом долази до промене у равнотежи између њихове заштитне улоге и улоге у патогенези. Сходно томе, сматра се да је разумевање способности терапеутика да утичу на функционисање макрофага

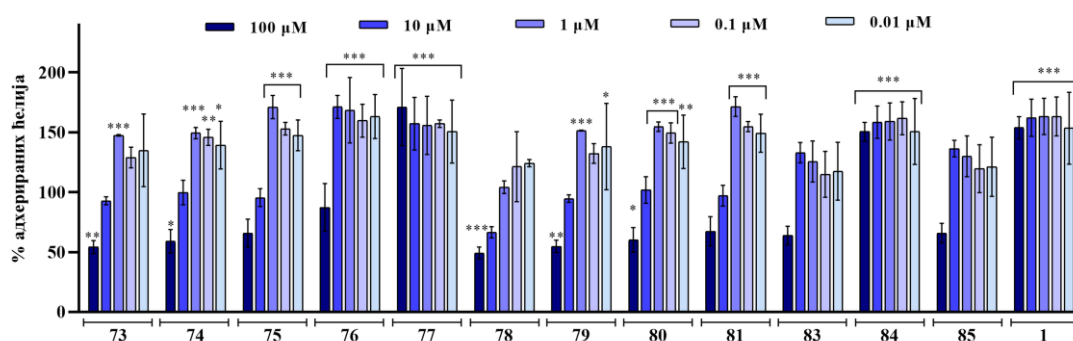
кључно у дизајну нових ефективних антималярија [189]. Имајући све ово у виду испитано је и антиинфламаторно деловање хлорохина (**1**) и свих хибрида библиотеке КБ-1 (**73-81** и **83-85**) у неколико *in vitro* тестова на макрофагима са циљем да се одреди њихов утицај на функцију ћелија имуног система.

На самом почетку је одређена цитотоксичност хлорохина (**1**) и хибрида према перитонеалним макрофагима пацова. Ћелије су третиране поменутих једињењима током 24 сата, а њихова вијабилност је одређена МТТ методом [153], док је густина ћелија мерена SRB методом [154]. Оба ова теста за одређивање цитотоксичности имају своје предности, при чему први захтева метаболичку активност за преводње безбојне тетразолијум соли до љубичасте формазанске боје, док се други заснива на способности сулфородамина Б да се веже за протеине адхерираних ћелија (а познато је да већина мртвих ћелија не остаје адхерирана). Међутим, с обзиром на то да се SRB метода не ослања на ћелијски метаболизам, за разлику од МТТ методе, она потенцијално може разликовати лажне позитивне/негативне резултате цитотоксичности који би могли настати услед утицаја различитих једињења на ћелијски метаболизам/митохондријалну активност [190]. Добијене LC_{50} вредности су дате у **табели 2**. Сви хибриди, осим **80** ($LC_{50} = 51 \mu M$), су испољили међусобно упоредиву и статистички значајно већу цитотоксичност према макрофагима (LC_{50} у опсегу од 13 до 26 μM) у односу на хлорохин (**1**; 53 μM) мерено МТТ тестом, али се већина њих може сматрати нецитотоксичним у концентрацијама испод 10 μM . LC_{50} вредности одређене SRB методом за већину анализираних једињења су биле нешто ниже, постављајући граничну (критичну) концентрацију на 5 μM .

4.1.5.3.2. ОДРЕЂИВАЊЕ АДХЕРЕНТНОСТИ МАКРОФАГА

Адхерентност се сматра кључном функционалном карактеристиком макрофага која олакшава њихову миграцију кроз ткива омогућавајући им да дођу до места инфламације или инфекције [191]. Због тога се способност анализираних једињења да побољшају ову функцију макрофага може сматрати корисним у њиховом укупном капацитету за управљање инфламаторним одговором. Стога је процењен ефекат хибрида и хлорохина (**1**) у пет различитих концентрација на адхерентност макрофага методом бојења метилен плавим [152]. Са изузетком **78**, **83** и **85**, сва остала једињења су у три најниже нецитотоксичне концентрације (0,01, 0,1 и 1 μM ; **слика 34**) значајно

повећала (30 до 70%) способност макрофага да се адхерирају на површину плоче у поређењу са ћелијама третираним само RPMI медијумом.



Слика 34. Ефекат хлорохина (**1**) и хибрида (**73-81** и **83-85**) на адхерентност макрофага одређена методом бојења метилен плавим. Резултати су изражени као средње вредности $\pm$ СД. Статистичка знајачност је израчуната једносмерном ANOVA статистичком методом праћеном Тукијевим (енг. *Tukey*) тестом вишеструког поређења, *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$ у поређењу са контролом.

Највећи ефекат је примећен за **75** и **81** при концентрацији од 1 μM (повећање од 71,1, односно 71,5%). Већина анализираних једињења (нпр. **78**, **83** и **85**) је испољила супротан ефекат при највећој тестираној концентрацији (100 μM), а узрок смањења адхерентности може бити њихова цитотоксичност с обзиром на то да су нека од њих у датој концентрацији била врло цитотоксична према макрофагима.

4.1.5.3.3. ОДРЕЂИВАЊЕ NO-ИНХИБИТОРНЕ АКТИВНОСТИ

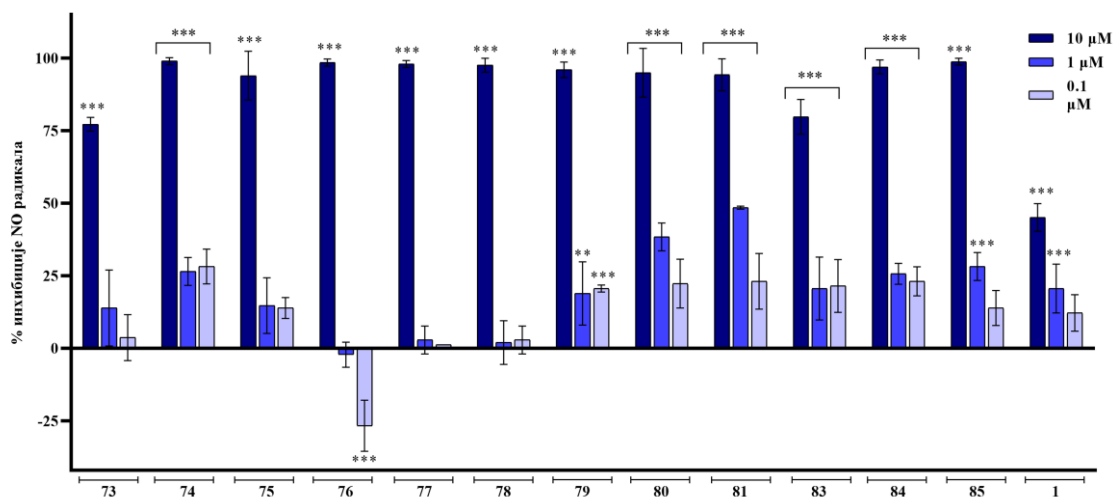
Добро је познато да хлорохин (**1**) инхибира неколико виталних функција макрофага, а у литератури се може наћи и информација да хлорохин (**1**) утиче на смањење продукције NO радикала у перитонеалним макрофагима мишева третираним интерфероном- γ при концентрацији од само 1 μM ($\text{IC}_{50} \approx 10 \mu\text{M}$) [192]. Азот-моноксид је медијатор урођеног имуног система кратког века који се ствара у M1 фенотипу макрофага (тзв. проинфламаторни тип), оксидацијом L-аргинина до L-цитрулина која је катализована ензимом индуцибилне NO синтазе (iNOS), одакле се отпушта у околно ткиво и ћелије [193]. Улога овог радикала у развоју маларије се проучава у последње две деценије. Најпре је било претпостављено да се NO производи у великим количинама како би се побољшала секвестрација паразитираних еритроцита, па се примарно повезивао са заштитом од маларије. Међутим, у неколико истраживања која су уследила је откривено да NO такође може допринети патогенези с обзиром на то да повишени нивои овог радикала могу ометати неуронску сигнализацију, изазивати нитрозативно/оксидативно оштећење ћелија и оштећење црвених крвних зрнаца

водећи ка анемији. У овом случају, инхибитори продукције или хватачи NO радикала могу бити корисна додатна терапија. Недавно су постулиране и друге, алтернативне, хипотезе по којима је (а) стварање NO радикала значајно смањено током маларије и б) мало вероватно да ће NO посредовати у *in vivo* убијању паразита у стадијуму крви [194-197].

Како би се одредило да ли хибриди из библиотеке КБ-1 утичу на продукцију NO од стране макрофага, мерено је ослобађање овог радикала Грисовом (енг. *Griess*) реакцијом у нестимулисаним ћелијама и ћелијама стимулираним LPS [153]. Инкубирање перитонеалних макрофага пацова са хибридима **73-81** и **83-85** и хлорохином (**1**) довело је до дозно зависне инхибиције LPS индуковане продукције NO радикала. Сви хибриди су испољили значајно побољшани инхибиторни ефекат у поређењу са хлорохином (**1**). Два најактивнија хибрида, **80** и **81** сузбијала су стварање NO радикала при субмикромоларним концентрацијама ($IC_{50} = 0,47$ и $0,42 \mu M$, редом). Добијени резултати имплицирају да се повећањем прстена, од петочланог (1,3-тијазолидин-4-он) до шесточланог (1,3-тијазинан-4-он) и увођењем метил групе на петочлани прстен молекула се може учинити потентнијим. Такође, чини се да и дужина линкера има утицај на активност у оквиру серија са петочланим прстеном (1,3-тијазолидин-4-он и 5-метил-1,3-тијазолидин-4-он) с обзиром на то да се активност повећала са повећањем броја C-атома у линкеру.

Активирање макрофага липополисахаридом представља погодан модел проинфламаторних ћелија. Наиме, у нестимулисаним перитонеалним макрофагима се ослобађа мала количина NO радикала, а која се значајно повећава након третирања липополисахаридом. У експериментима спроведеним у оквиру ове докторске дисертације, нестимулисани макрофаги, након 24 сата култивације, генерисали су само $7 \pm 1 \mu M$ NO, док су стимулисане ћелије током истог времена произвеле чак шест пута већу концентрацију ових радикала ($43 \pm 2 \mu M$). Да би се увидело да ли хибриди из библиотеке КБ-1 могу деловати брговремено током развоја инфламације, њихов ефекат је осим на стимулисане макрофаге одређен и на нестимулисане макрофаге. Изложеност макрофага липополисахариду води поларизацији ових ћелија ка M1 фенотипу, за који је познато да је повезан са продукцијом NO и цитокина. Ова врста стимулације подсећа на ону која се може видети у различитим инфламаторним стањима где макрофаги на самом почетку реагују са страним честицама и сигнализирају другим ћелијама имуног система о постојању инфламације.

Макрофаги у стању мировања су били инкубирани са хибридами из библиотеке КБ-1 и хлорохином (**1**) у три нецитотоксичне концентрације (0,1, 1 и 10 μM). Сви хибриди (осим **73** и **83**) и хлорохин (**1**) у потпуности су инхибирали спонтано стварање NO радикала при највећој тестираној концентрацији (слика 35). При концентрацији од 1 μM , само је третман једињењима **80**, **81** и **85** водио ка приметном смањењу у базалном ослобађању овог радикала (28, 38, и 49%, редом), док је у случају **76** дошло до супротног, имуностимулативног ефекта (27% повећања концентрације нитрита) при 0,1 μM . Стога се чини да **80** и **81** могу имати значајан имуносупресивни ефекат на макрофаге с обзиром на то да могу мењати њихову функцију и у базалним и у условима имуног одговора.



Слика 35. Ефекат хлорохина (**1**) и хибрида (**73-81** и **83-85**) на продукцију NO радикала од стране нестимулисаних перитонеалних макрофага пацова. Резултати су изражени као средње вредности $\pm$ СД. Статистичка значајност је израчуната једносмерном ANOVA статистичком методом праћеном Тукијевим (енг. *Tukey*) тестом вишеструког поређења, *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$ у поређењу са контролом.

У претходном истраживању није уочено значајно смањење активности iNOS ензима након третмана LPS активираних перитонеалних макрофага пацова хлорохином (**1**; 50-100 μM), док је након двадесетчетворочасовне инкубације са хлорохином (**1**; 50-100 μM) била потпуно блокирана синтеза овог ензим [192]. Услед изражене цитотоксичности хлорохина (**1**) према макрофагима у концентрацијама вишим од 80 μM , која се може уочити тек након дужег инкубационог периода, испитан је и ефекат хлорохина (**1**) на активност и синтезу iNOS ензима после двочасовног предtretмана ћелија, након чега је уследила стимулација интерфероном- γ и липополисахаридом. Том приликом је уочено да хлорохин (**1**) доводи до смањења активности iNOS ензима при концентрацијама од 150 и 200 μM (41 и 85%, редом), као и до смањења индукције iNOS

ензима при 200 μM [198]. Недавно је спроведено слично истраживање на два различита типа макрофага и нађено је да хлорохин (**1**) инхибира NO продукцију од стране ћелија линије макрофага RAW 264.7 ($\text{IC}_{50} = 23,4 \mu\text{M}$) и макрофага изолованих из коштане сржи миша ($\text{IC}_{50} = 30,2 \mu\text{M}$). Међутим, додатни експерименти су открили да је уочено смањење NO продукције углавном последица цитотоксичности хлорохина (**1**) према макрофагима ($\text{LC}_{50} = 24,8 \mu\text{M}$, SI вредност је била блиска 1). Ово је доказано у експериментима који су показали да хлорохин (**1**) не испољава способност за хватање NO радикала при концентрацији од 100 μM , нити изазива смањење iNOS експресије након двадесеточасовног третмана у концентрацијама испод LC_{50} (1 и 10 μM) [199]. Стога се чини да начин, јачина и кинетика регулације нивоа NO радикала од стране хлорохина (**1**), као и његова цитотоксичност, зависи од порекла макрофага као и од дужине третмана.

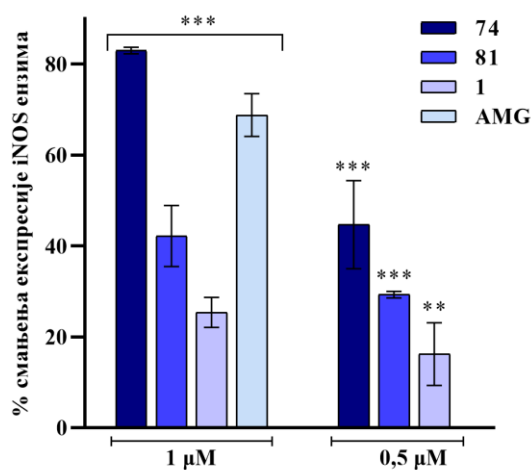
Резултати добијени у оквиру ове докторске дисертације указују на то да уочена инхибиција продукције NO радикала хибридама из библиотеке КБ-1 и хлорохином (**1**), након продужног периода инкубације, није последица цитотоксичности ових једињења према перитонеалним макрофагима. Ово је закључено на темељу одговарајућих SI вредности које представљају однос нађених LC_{50} и IC_{50} вредности. На основу резултата два теста цитотоксичности израчунато је да је SI за пет хибрида (**77**, **79-81** и **85**) у опсегу од 10,8 до 52,8, па ова једињења заслужују да буду додатно испитана као потенцијални NO инхибитори.

4.1.5.3.4. ОДРЕЂИВАЊЕ СПОСОБНОСТИ ХВАТАЊА NO РАДИКАЛА

Како би се добио дубљи увид у њихов механизам деловања, одређена је и *in vitro* способност једињења **74**, **78** и **80** да хватају NO радикале при нецитотоксичним концентрацијама (0,5–10 μM). У овом тесту NO је генерисан из натријум-нитропрусида и поново квантификован Грисовом реакцијом [156]. Нађено је да су ова три хибрида (**74**, **78** и **80**), слично хлорохину (**1**), слаби хватачи NO радикала с обзиром на то да је при највећој тестираној концентрацији (10 μM) количина NO отпуштена од стране натријум-нитропрусида смањена за само 13, 2 и 5%, редом, док при субмикромоларним концентрацијама ова једињења уопште нису показала активност.

4.1.5.3.5. ОДРЕЂИВАЊЕ ИНХИБИЦИЈЕ ЕКСПРЕСИЈЕ iNOS ЕНЗИМА

На крају, одређен је и *in vitro* ефекат хибрида **74** и **81**, као и хлорохина (**1**) на експресију iNOS ензима у LPS стимулираним перитонеалним макрофагима. Аминогуанидин (AMG), познати iNOS инхибитор, је коришћен као позитивна контрола [155]. Нађено је да предтретман једињењима **74** и **81**, као и хлорохином (**1**) при концентрацијама од 0,5 и 1 μM дозно зависно смањује ниво iNOS ензима (слика 36). Као што је и очекивано, хлорохин (**1**) је испољио скроман инхибиторни ефекат на експресију овог ензима (25 и 16%, редом). С друге стране, хибрид **74** је изазвао приметну инхибицију овог ензима и чак превазишао AMG при 1 μM (83 у поређењу са 69%). Занимљиво је да најефикаснији NO инхибитор из тестиране библиотеке, **81** ($\text{IC}_{50} = 0,42 \mu\text{M}$), није изазвао 50% смањења количине iNOS ензима при 1 μM . Стога се може закључити да и неки други механизми, осим оних који су истражени у оквиру ове докторске дисертације, могу допринети уоченој инхибицији продукције NO радикала у макрофагима од стране хибрида из библиотеке КБ-1. Неки од других потенцијалних механизма деловања могу укључивати и инхибицију различитих делова сигналног пута повезаног са стимулацијом макрофага липополисахаридом.



Слика 36. Ефекат аминогуанидина (AMG), хлорохина (**1**) и хибрида **74** и **81** на количину iNOS ензима у липополисахаридом стимулираним перитонеалним макрофагима пацова. Резултати су изражени као средње вредности $\pm$ СД. Статистичка знајачност је израчуната једносмерном ANOVA статистичком методом праћеном Тукијевим (енг. *Tukey*) тестом вишеструког поређења, *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$ у поређењу са контролом (липополисахаридом стимулисане ћелије).

4.2. КОМБИНАТОРНА БИБЛИОТЕКА ХИБРИДА КБ-2

Као део тежње ка развоју нових органометалних кандидата за лекове са јединственим механизмима деловања и минималним нежељеним ефектима, постоји стално интересовање за испитивање медицинских особина деривата фироцена [200]. Популаран приступ у дизајну нових органометалних једињења је замена арил/хетероарил групе фироценским језгром у већ познатим органским молекулима јер би, као што је дискутовано у општем делу ове дисертације, то могло значајно утицати не само на њихова молекулска својства (као што су растворљивост, хидро-/липофилност и редокс особине), већ би такође могло побољшати и њихов биолошки потенцијал [163].

Имајући у виду резултате претходних истраживања, овде је истражен утицај замене пропиноил бочног ланца у једињењу ALC67 (**6**) другим алкилујућим групама (као шт су хлор- и бромацетил група), као и ефекат увођења Fc-јединице, неполарне биоизостере фенил групе, на *in vitro* антипролиферативну активност према нормалној ћелијској линији фибробласта плућа и према ћелијским линијама канцера јетре и дојке. Када су у питању алкилујуће групе, битно је фино подесити реактивност како би се избегла прекомерна активност јер она може водити ка нежељеној токсичности, тј. деловању ван жељене мете (енг. *off-target*) [201]. Због тога је синтетисано и неколико деривата слабије реактивности/електрофилности са фенокси, ацетокси и метокси одлазећим групама и проучаван је и њихов антипролиферативни ефекат. Како би се проценило да ли и друге особине, као што су величина или хидрофилност, N-ацил бочног низа утичу на цитотоксичност, синтетисани су и деривати још мање електрофилности (N-ацетил, N-трифлуорацетил, N-(2,2-дихлорацетил), N-бензоил и N-(3,5-динитробензоил)).

Како је већ објашњено у општем делу, имуносупресија изазвана карциномом или пратећом терапијом, као и распад мукозних баријера, доводе до тога да су пацијенти са канцером посебно осетљиви на инфекције микроорганизмима. Управо из тог разлога, су у скорије време спроведена истраживања која су имала за циљ развој нових ефикасних агенаса који би се истовремено могли борити и против микроба и против канцера [17,126]. Поред тога, 1,3-тијазолидин-4-карбоксилна киселина представља део структуре пеницилина, где је повезана за β -лактамски прстен [202].

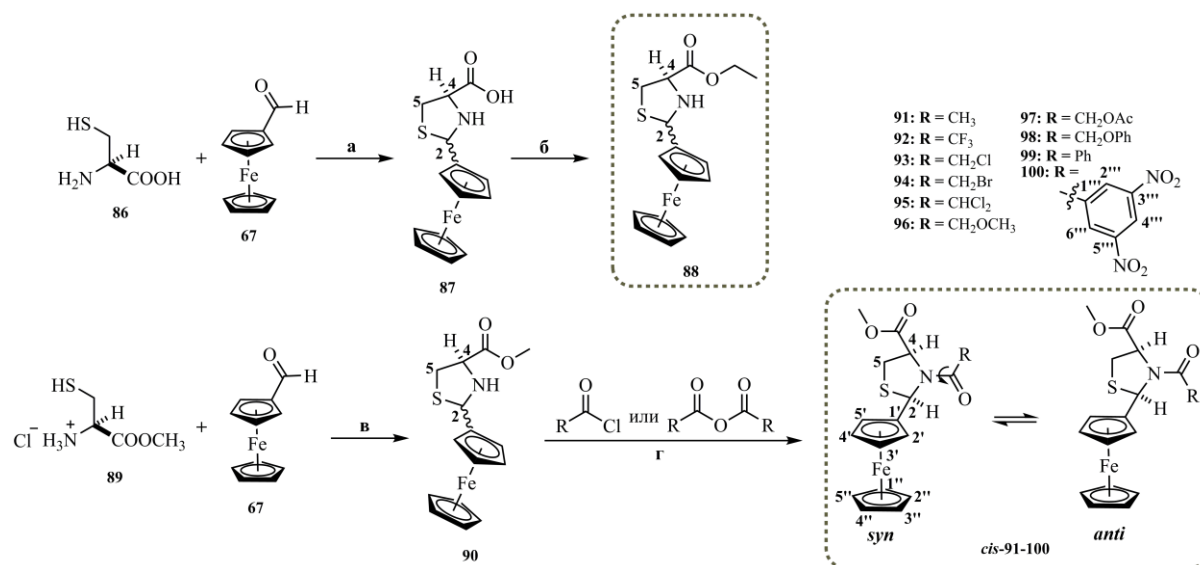
Због тога је испитана и антимикробна активност деривата из библиотеке КБ-2 према пет сојева бактерија и једном соју гљива.

4.2.1. КРЕИРАЊЕ КОМБИНАТОРНЕ БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-2

Органометална једињења из ове библиотеке (**87**, **88** и **90-100**) су синтетисана као што је приказано на **шеми 5**. Карбоксилна киселина **87** је добијена након петочасовног рефлуктовања еквимоларне смеше комерцијално доступног (*R*)-цистеина (**86**) и Fc-CHO (**67**) у MeOH [145]. Током ове реакције кондензације формиран је нови хирални центар у положају С-2 на прстену 1,3-тијазолидина, док је конфигурација положаја С-4 која је потицала од (*R*)-цистеина (**86**) остала непромењена (**слика 37**) [203]. Стога је производ **87** добијен у облику смеше два дијастереомера у отприлике 1:1 односу према ^1H NMR анализи. Релативна конфигурација новонасталог хиралног центра С-2 у односу на С-4 на прстену 1,3-тијазолидина у киселини **87** је такође утврђена NMR спектроскопијом. Наиме, њоме је било могуће разликовати два дијастереомера, тј. уочена су две групе резонанци различитих интензитета за Н-2, Н-4, Н-5_А и Н-5_Б и протоне моносупституисаног фироценског језгра. Поред тога, очекивано је да збир константи купловања између геминалних протона Н-5_А и Н-5_Б са вициналним Н-4 за *cis*-дијастереомер ($J = 15,7 \text{ Hz}$) буде знатно већи него за *trans*-дијастереомер ($J = 10,8 \text{ Hz}$) [204]. Тачне вредности хемијских померања и константи купловања одређене су ^1H NMR симулацијом. Такође, код *cis*-дијастереомера једињења **87** уочена је корелација између Н-2 (на 5,25 ppm у $\text{DMSO-}d_6$) и Н-4 (на 3,82 ppm) сигнала у NOESY спектру, што је додатно потврдило да су ова два протона позиционирана *cis* један у односу на други.

Првобитна стратегија за синтезу естара 2-фироценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата се заснивала на естерификацији добијене киселине **87**. Најпре је киселина **87** преведена у одговарајући ацил-хлорид помоћу тионил-хлорида који је потом третиран одговарајућим алкохолом [15]. У реакцији са EtOH добијено је једињење **88** као смеша *cis*- и *trans*-дијастереомера (у односу 3:1, према ^1H NMR анализи). Дијастереомерни однос је био различит у односу на одговарајућу киселину **87** и највероватније зависи од релативне стабилности ова два дијастереомера у раствору [203]. Иако се може претпоставити и да је **87-cis** радије реаговао, највероватније је другачији дијастереомерни однос последица интерконверзије два дијастереомера почетне киселине и/или добијеног естра с обзиром на то да је познато да се

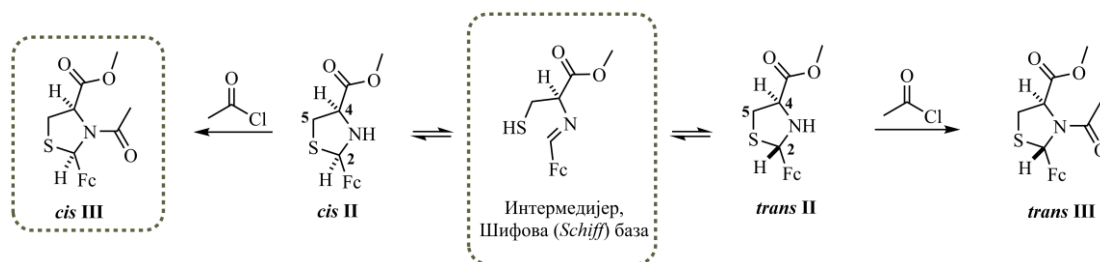
дијастереомери 1,3-тијазолидина у раствору уравнотежавају у положају C-2 отварањем и затварањем прстена [205]. С обзиром на то да је естар **88** добијен у ниском приносу (само 5,5% након хроматографског пречишћавања), овакав приступ синтези естара није на даље примењиван. Уместо тога је покушано да се генерише метил естар (*R*)-цистеин хидрохлорида (**89**) *in situ* и да се даље кондензује са Fc-CHO (**67**; 1 еквивалент) у смеши EtOH/H₂O (1:1, v/v) са додатком NaHCO₃ као базе [206]. Нажалост, услед лаке оксидације цистеина, након бројних покушаја при различитим реакционим условима, добијен је само диметил естар цистина.



Шема 5. Синтетска шема за синтезу једињења **87**, **88** и **90-100**. а) MeOH, рефлукс, 5 h; б) EtOH, SOCl₂, 0 °C → собна температура, 12 h; в) KHCO₃, EtOH/H₂O, N₂, собна температура, 12 h; г) THF, Et₃N, -10 °C → 0 °C, 30 минута → собна температура, 4 h.

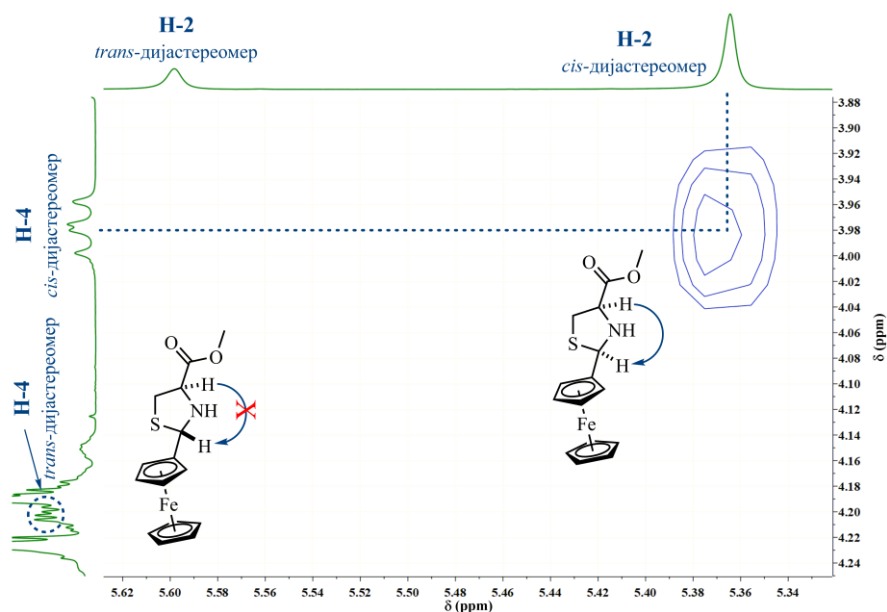
На крају, мешањем комерцијално доступног хидрохлорида метил естра (*R*)-цистеина (**89**) преко ноћи са еквимоларном количином KHCO₃ и малим вишком Fc-CHO (**67**; 1,5 еквивалената) у смеши EtOH/H₂O (1:1, v/v) је добијено једињење **90** у добром приносу (70%). Претпоставља се да ова стереодивергентна реакција почиње формирањем дијастереомерних (*E* и/или *Z*) имина које интрамолекулски, нуклеофилно напада тиолна група, при чему настаје дијастереомерна смеша одговарајућих *cis*- и *trans*-изомера са различитом конфигурацијом у положају C-2 [207,208]. Ови дијастереомери, и метил и етил естара (**90** и **88**, редом), могу се разликовати по различитим хемијским померањима за H-2 протон. Вредност овог померања за *trans*-дијастереомер је увек на вишем померању (5,60 ppm) у односу на *cis*-дијастереомер (5,36 ppm) [209]. H-2 протони дијастереомера метил естра **90** дали су добро раздвојене сигнале у ¹H NMR спектрима што је омогућило одређивање дијастереомерног вишка

поређењем њихових интеграла. Ова реакција је такође била стереоселективна према *cis*-дијастереомеру (66%) што је потврђено детаљном анализом NOESY спектра (у CDCl_3) где је примећена интеракција између сигнала H-2 на 5,36 ppm и H-4 на 3,98 ppm (слика 38). Нажалост, као и у случају киселине **87** и етил естра **88**, није било могуће раздвојити ове дијастереомере хроматографијом, највероватније услед претходно поменуте интерконверзије између (2*R*,4*R*) и (2*S*,4*R*) изомера која се одвија механизмом отварања/затварања прстена [203].



Слика 37. Вероватан механизам интерконверзије дијастереомера метил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата у раствору и настајање *N*-ацил деривата.

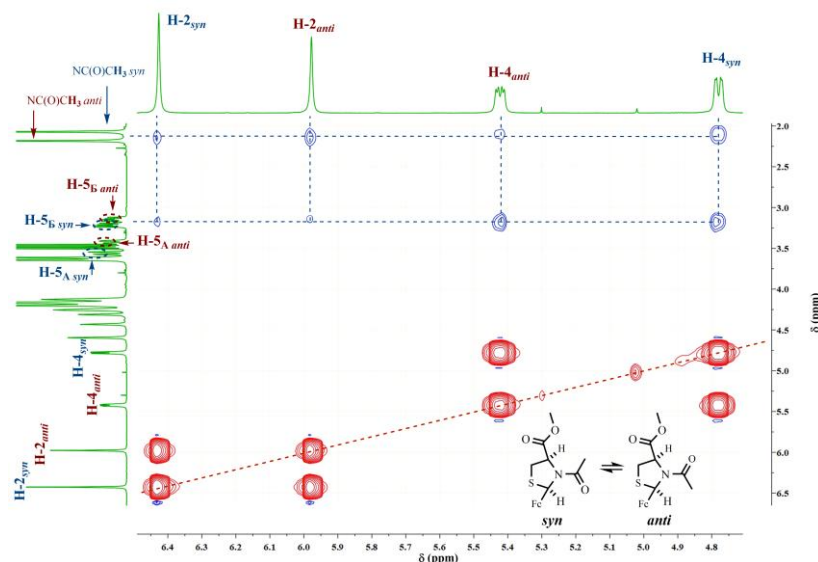
N-Ациловање дијастереомерне смеше једињења **90** (1 еквивалент) ацил-хлоридима (1,1 еквивалент) у сувом THF на собној температури (шема 5), или у случају једињења **92** са анхидридом трифлуорсирћетне киселине (1,1 еквивалент), водило је ка стереоселективном формирању одговарајућег *cis*-*N*-ацил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата. У скоро свим случајевима је поред *cis*-дијастереомера настајао и *trans*-дијастереомер, али само у траговима (према GC-MS (до 8,7%) и TLC анализама сирових реакционих смеша). Једини изузетак је био *N*-ацетил дериват где је *trans*-дијастереомер (**91-trans**) добијен у нешто већем приносу па је било могуће изоловати га у чистом облику и потпуно га спектрално окарактерисати. Деривати **96-trans** и **98-trans** су такође изоловани у чистом облику, али у веома малим количинама (1 mg или мање) па су окарактерисани једино ^1H NMR спектроскопијом. Интересантно је да је у сва три случаја *cis*-дијастереомер био испарљивији (ниже вредности за RI) и мање поларан (веће вредности за Rf) у односу на одговарајући *cis*-дијастереомер. На основу значајних разлика у вредностима оптичке ротације ($[\alpha]_D^{20} +113,18$ наспрам $-164,69$, за **91-cis** и **91-trans**, редом) иницијално је претпостављено да су ова једињења епимери у C-2 положају 1,3-тијазолидина. Наиме, позитивна вредност оптичке ротације 2-супституисаних *N*-ацил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата претходно је повезана са (2*R*,4*R*), а негативна вредност са (2*S*,4*R*) конфигурацијом [210].



Слика 38. Увећање NOESY спектра метил естра **90** са обележеном интеракцијом између протона H-2 и H-4 главног, *cis*-дијастереомера.

Најчешће се анализом NOESY спектра дијастереомера попут **91-*cis*** и **91-*trans*** може недвосмислено потврдити иницијална претпоставка о њиховој релативној стереохемији. Међутим, када је NOESY експеримент извршен за **91-*cis*** у CDCl_3 нису уочене значајне корелације између H-2 и H-4 протона како би се потврдила (2*R*,4*R*)-конфигурација. Потом су снимљени и 1D и 2D спектри **91-*cis*** у додатна два деутерисана растварача, $\text{DMSO-}d_6$ и CD_3OD . *n*Oe интеракција ниског интензитета (за оба ротамера) је примећена између H-2 сигнала (на 6,34 ppm за главни и 6,17 ppm за мање заступљен ротамер, редом) и H-4 (на 5,13 ppm за главни и 5,25 ppm за мање заступљен ротамер, редом) само у CD_3OD , наговештавајући да су ова два протона међусобно у *cis* односу. Уопштено говорећи, јачина *n*Oe интеракције даје информацију о томе колико су близу два протона. За мале молекуле, *n*Oe интеракција се може уочити између протона који су удаљени до 4 Å, док је горња граница за велике молекуле отприлике 5 Å [211]. Стога се чини да су H-2 и H-4 протони у **91-*cis*** деривату прилично удаљени један од другог па се само слаба међупросторна корелација јавила између њих. Ипак, за **91-*cis*** (у свим растварачима) уочена је друга индикативна *n*Oe интеракција између H-2 и H-5_Б, док између H-2 и H-5_А (за оба ротамера) није уочена *n*Oe корелација (слика 39). Ова интеракција би се могла објаснити уколико се претпостави да прстен 1,3-тијазолидина код једињења **91-*cis*** заузима конформацију коверте S-1 у раствору (ово је раније утврђено за неке сличне деривате у чврстом стању) [203,210]. Такође, сматра се да сродни петочлани пирролидински прстен у

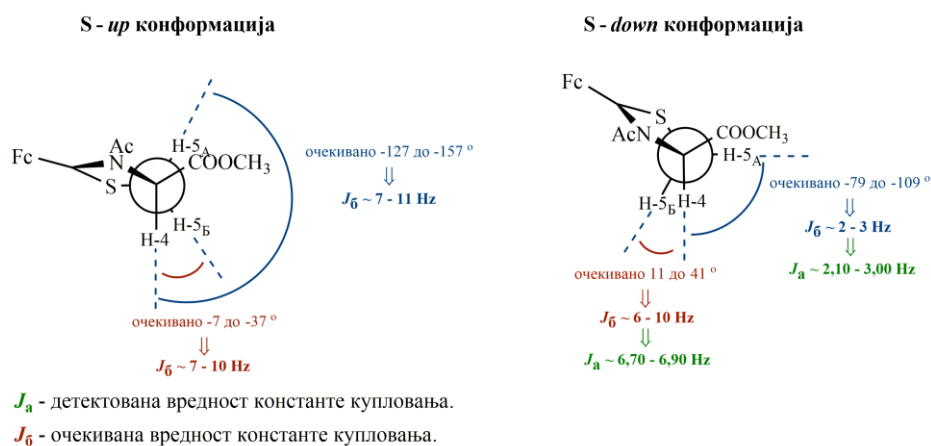
пролину и његовим супституисаним дериватима може да флипује између две конформације у раствору: а) оне у којој је С-4 измештен из главне равни у истом правцу као и карбоксилна група (тзв. С-4-*down* конформација) и б) оне где је С-4 измештен у супротном правцу (тзв. С-4-*up* конформација).



Слика 39. Измена између ротамера и корелација између Н-2 и Н-5_Б протона (обележена плавом испрекиданом линијом) уочена у NOESY спектру једињења **91-cis** (снимљено у CDCl₃).

Мултиплетност Н-4 протона у ¹H NMR спектрима може указати на то коју конформацију заузима пирролидински прстен с обзиром на то да се конформација С-4-*down* одликује двома вициналним константама купловања при чему је једна већа, а друга значајно мања по вредности, док су код конформације С-4-*up* обе константе купловања велике [212]. Слично се могло приметити и за геминалне протоне Н-5_А и Н-5_Б код једињења **91-cis**. Ови дијастереотопни протони дали два добро раздвојена пика у протонском NMR спектру (за оба ротамера) која су се могла лако разликовати по хемијским померањима. Наиме, сигнал протона Н-5_Б јавио се на мањем померању (3,22 ppm) од сигнала Н-5_А (3,56 ppm) при чему се Н-5_Б много јаче скаларно купловао са Н-4 од Н-5_А (6,7 наспрам 2,1 Hz за *syn* ротамер, редом; одређено ¹H NMR симулацијом), па се на основу аналогије са пирролидинским прстеном могло претпоставити да прстен 1,3-тијазолидина у **91-cis** преферира *S*-1-*down* или *E*₁ конформацију (према *Cremer–Pople* ротационом тачку). Релевантни торзиони углови између Н-4 и Н-5_А, као и између Н-4 и Н-5_Б могу одговарати и еквивалентним угловима код других конформација петочланог прстена, као што је ⁵T₄ (слика 40). Узимајући у обзир предложену (2*R*,4*R*) конфигурацију деривата **91-cis** у овој конформацији и Н-5_Б и Н-2 би требало бити у

псеудо-аксијалним позицијама, *cis* један у односу на други и у близини која омогућава детекцију њиховог спрезања кроз простор које је било видљиво у NOESY спектру. С друге стране, H-5_A и H-4 би требало бити псеудо-екваторијални. Дакле, H-5_A је *trans* у односу на H-2, па не би требало очекивати *nOe* интеракцију, док је H-5_B усмерен од H-2, па је из тог разлога њихово спрезање кроз простор слабо (тј. уочена је слаба *nOe* интеракција). И заиста, у случају **98-*cis*** нађено је да су H-2 и H-4 удаљени 4 Å у чврстом стању. За већину *N*-ацил деривата је изолован само *cis*-дијастереомер након хроматографских раздвајања. Где год је било могуће, релативна *cis* конфигурација је додељена на основу позитивног знака оптичке ротације (**91-*cis***, **92-*cis***, **93-*cis***, **96-*cis***, **97-*cis***, **98-*cis*** и **99-*cis***) и/или на основу одговарајућих *nOe* корелација (**91-*cis***, **92-*cis***, **96-*cis***, **97-*cis***, and **98-*cis***). Коначна потврда (*R*) конфигурације хиралног центра C-2 добијена је након одређивања кристалне структуре деривата **98-*cis*** (поглавље 4.2.3.).



Слика 40. Вероватна конформација прстена 1,3-тијазолидина у деривату **91-*cis*** са означеним одабраним вредностима торзионих углова и одговарајућим константама купловања.

Ациловање дијастереомерне смеше анхидридом или ацил-хлоридом може водити ка селективној синтези чистих дијастереомера *N*-ацил-2-супституисаних-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата са (2*R*,4*R*) или (2*S*,4*R*) конфигурацијом зависно од примењених реакционих услова. Као што је раније напоменуто, 2-супституисани-1,3-тијазолидин-4-карбоксилати могу подлећи селективној инверзији конфигурације у положају C-2, али увођењем *N*-ацил групе се ова епимеризација спречава што омогућава изоловање чистих дијастереомера [210]. Такође, претпостављено је да је при базно катализованом *N*-ациловању дијастереомерне смеше 2-супституисане-1,3-тијазолидин-4-карбоксилне киселине, корак *trans* II → *trans* III бржи у поређењу са кораком *cis* II → *cis* III, чиме се може објаснити зашто применом блажих реакционих

услова углавном настају *trans*-дијастереомери (**слика 37**) [204]. У неким случајевима се принос *cis*-дијастереомера може знатно повећати применом оштријих реакционих услова (нпр. As_2O , H_2O , 100 °C) [213,214]. Када је реакција ациловања која је предмет ове дисертације вршена у THF уз применом рефлуksа током 3h настајао је искључиво главни (2*R*,4*R*)-**91** дијастереомер, потврђујући да он представља производ термодинамичке контроле. С друге стране, када је током реакције реакциона смеша хлађена на –10 °C дошло је до само малог повећања количине кинетичког производа (2*S*,4*R*)-**91** у поређењу са количином која је добијена на собној температури (15 наспрам 9%, редом, према GC-MS анализи).

4.2.2. СПЕКТРАЛНА КАРАКТЕРИЗАЦИЈА БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-2

Једињења **87**, **88** и **90-100** су у потпуности спектрално окарактерисана ^1H и ^{13}C NMR спектроскопијом. Додатно, где год је било могуће, извршене су и GC-MS, IR, UV-vis анализе, као и мерење оптичке ротације (поглавље 3.3.2.4.). Добијени спектрални подаци су се слагали са очекиваним структурама за сва једињења.

Неколико добро раздвојених IR трака повезаних са карактеристичним вибрацијама *N*-ацил-2-фероценил супституисаних 1,3-тијазолидин-4-карбоксилата, као што су C=O истезања, $\text{Csp}^2\text{-H}$ истезања ($\sim 3100\text{ cm}^{-1}$) и симетричне деформације CH_2 групе 1,3-тијазолидина (маказе; $\sim 1430\text{ cm}^{-1}$) су уочене за сва једињења. Две најинтензивније траке у свим спектрима су представљале резултат истезања карбонила естра и амида на ~ 1740 и 1650 cm^{-1} , редом. Поред тога, асиметрична истезања и симетричне деформације метил групе у метокси фрагменту естра и C–O асиметричне вибрације су такође уочене као траке средњег до јаког интензитета на око 2960, 1390 и 1200 cm^{-1} , редом. Такође, у спектрима деривата **98-cis**, **99-cis** и **100** распореди трака које потичу од C–H савијања ван равни, у опсегу 680–900 cm^{-1} , одражавали су супституционе обрасце на бензену.

Уопштено, UV-vis спектри једињења **87**, **88** и **90-100** су били обележени присуством фероценског језгра. Најјача апсорпција повезана са фероценом на око 200 nm могла се приписати $\pi \rightarrow \pi^*$ прелазима. Отприлике 100 пута слабије су биле траке на око 320 и 435 nm које највероватније одговарају $d \rightarrow \pi^*$ и $d \rightarrow d$ прелазима фероценског језгра, редом [168].

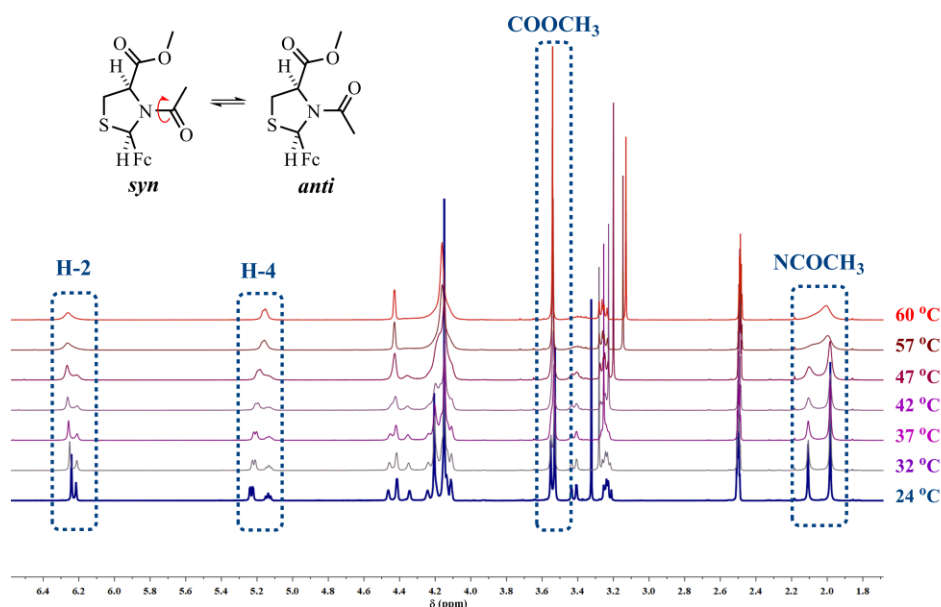
Основни јон у масеним спектрима једињења испарљивим при условима GC-MS анализе (**88**, **90**, **91-93** и **96-99**) је био молекулски јон, па би се могло претпоставити да се увођењем фироценског језгра на 1,3-тијазолидински прстен може повећати стабилност одговарајућег $[M]^+$ јона. Други карактеристични јони који су били видљиви у MS спектрима **91-93** и **96-99** на m/z 186 ($[(C_5H_5)_2Fe]^+$), 121 ($[C_5H_5Fe]^+$) и 56 ($[Fe]^+$) својствени су моносупституисаним дериватима фироцена [168]. Такође, сви масени спектри су били обележени присуством јона на m/z 211 који највероватније потиче од $[FcCN]^+$ [215]. Додатни високо заступљени јони у масеним спектрима једињења **98-cis** и **99-cis** су били $[C_6H_5]^+$ и $[C_6H_5CO]^+$ на m/z 77 и 105, редом, док је $[CH_3C\equiv O]^+$ на m/z 43 уочен у масеним спектрима **91-cis**, **91-trans** и **97-cis**.

1H NMR спектри *N*-ацил-2-фироценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата су садржали две групе сигнала типичних за моносупституисани фироцен – $br\ s$ на 4,2-4,3 ppm који потиче од несупституисаног Cr прстена и спински систем који је понекад давао четири добро раздвојена ddd , а одговара моносупституисаном Cr прстену. Поред тога, у протонским спектрима налазила су се две групе сигнала ABX спинског система који чине метински ($br\ dd$ на $\sim 3,8$ -5,4 ppm) и метиленски протони (два dd на $\sim 2,9$ -3,7 ppm) из прстена. Додатно, две групе широких синглета који потичу од $H-2$ протона 1,3-тијазолидина (на $\sim 5,3$ -6,6 ppm) и синглета који потичу од $COOCH_3$ (на $\sim 2,0$ -3,8 ppm) су уочени у сваком спектру.

Слично, две групе од по шест сигнала у опсегу од 67 до 88 ppm у ^{13}C NMR спектрима хибрида из библиотеке КБ-2 могу се приписати моносупституисаном фироцену. Код неких једињења неки од сигнала у овој области су се преклапали што је значајно отежавало њихово асигнирање. Угљеникови атоми из естарске карбонилне и метил групе су имали врло доследна хемијска померња, на 170-173 и ~ 33 ppm, редом, што показује да је ова карбоксиметил група била под врло малим утицајем *N*-ацил супституената и углавном је давала одвојене резонанције за два ротамера. Сигнали угљеника из амидне карбонилне групе су се јављали на 162-170 ppm и то махом као пар сигнала који одговара ротамерима. Друге две групе карактеристичних сигнала, на ~ 63 и ~ 53 ppm су потицале од метинских, односно метиленских угљеника 1,3-тијазолидина. Изузетак су били **92-cis**, **99-cis** и **100**, код којих је уочен само по једна група претходно поменутих сигнала у 1H NMR и ^{13}C NMR спектрима.

Зависно од природе супституената везаних за атом азота, уочени су и остали очекивани сигнали и у протонским и угљеничним спектрима. На пример, у спектрима **98-cis**, **99-cis** и **100** јављали су се сигнали типични за ароматични прстен, док су спектри **93-cis**, **94**, **96-cis**, **97-cis**, **98-cis** и **98-trans** садржали два широка дублета (AB систем) који одговарају метиленској групи бочног ланца. Стога се чини да када је у бочном ланцу био присутан супституент у α -положају (у односу на амид), одређена конформација око C(O)-CH₂ везе је била повољнија чинећи метиленске протоне магнетно неједнаким.

Познато је да изглед NMR спектра *N*-ацил-2-супституисаних-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата на собној температури може бити компликован услед постојања конформера (ротамера) због отежане ротације око амидне везе. На вишим температурама се спектар упрошћава услед усредњавања (коалесценције) сигнала ротамера [210]. У ¹H NMR спектру већине карбоксилата из ове библиотеке (**91**, **93-98**) јављале су се две групе сигнала за H-2, H-4, H-5_A и H-5_B протоне који се налазе у непосредној близини амидне карбонилне групе (као и за неколико других протона) на собној температури. Одговарајући парови сигнала коалесцирали су у једну резонанцу када је ¹H NMR спектар једињења **91-cis** снимљен на 60 °C у DMSO-*d*₆ (слика 41). Оригиналане две групе сигнала су поново била видљива у протонском спектру након хлађења и уравнотежавања. Поред тога, релативни интензитети одговарајућих парова резонанци зависили су од врсте растварача у коме је спектар сниман, па је тако у ¹H NMR спектру **91-cis** у CDCl₃ однос ротамера био 1,25 : 1, док је у DMSO-*d*₆ и CD₃OD тај однос био 2 : 1. Иако ове промене можда могу бити последица и различитих конформационих прелаза прстена 1,3-тијазолидина, ипак се као главни разлог уочене зависности изгледа NMR спектра од температуре и растварача може узети ротација око *N*-ацетил амидне везе у овим 2-супституисаним-1,3-тијазолидинима [204]. Такође, у 2D NOESY спектрима деривата **91-cis**, **91-trans** и **93-98** била је јасно видљива измена H-2 и H-4 сигнала између одговарајућих парова ротамера. Ови укрштени сигнали који су последица споро изменљивих ротамера су исте фазе као и дијагонални сигнали, док су *noe* укрштени сигнали, с друге стране, супротне фазе у односу на дијагоналне сигнале (слика 39) [216]. Стога, сви изложени докази иду у прилог постојању *syn*- и *anti*-конформера око амидне везе у спорој равнотежи на собној температури.



Слика 41. Температурно зависан ^1H NMR спектар једињења **91-cis** (растварач: $\text{DMSO-}d_6$).

С друге стране, у ^1H NMR спектрима **92-cis**, **99-cis** и **100** на 298 K јављала се само једна група сигнала. Недостатак раздвајања сигнала се може објаснити тиме да уопште не долази до промене између конформација услед неочекивано високе ротационе баријере па једињење заузима искључиво *syn*- или *anti*-конформацију. Алтернативно објашњење је веома брзи прелазак између ове две конформације и, у овом случају, може се уочити усредњена група сигнала у спектру. Деривати **99-cis** и **100** садрже фенил, односно 3,5-динитрофенил групу, и чини се да су њихови протонски спектри близу тачке коалесценције на собној температури. С друге стране, изгледа да CF_3 група не отежава поменути ротацију, па су у сигнали у протонском спектру једињења **92-cis** оштри. Слично је уочено и у протонском спектру *N*-трифлуорацетилиндола (на 500 MHz) [217].

Да ли је одређени ротамер *syn* или *anti* може се одредити на основу разлика у вредностима померања протона и угљеника између ротамера с обзиром на то да је добро познато да у амиду анизотропија карбонилне групе чини да су протони који се налазе са исте стране C-N везе као карбонилна група имају већа померања (тзв. *deshielding* ефекат), док се сигнали аналогних угљеника опажају на мањим померањима (енг. *shielding* ефекат) [216]. У ^1H NMR спектрима деривата **91-cis**, **91-trans**, **93-cis**, **94**, **96-cis**, **97-cis** и **98-cis**, H-2 протони главног ротамера су се јављали на вишим фреквенцијама ($\Delta\delta = 0,19 - 0,44$ ppm) у односу на мање заступљен ротамер, док је супротан ефекат уочен за H-4 и COOCH_3 протоне ($\Delta\delta = 0,16 - 0,64$ ppm), сугеришући

да поменути деривати показују незнатну преференцију ка заузимању *syn*-конформације (табела 7). Дериват **95** је пратио овај тренд за Н-2, али за Н-4 су хемијска померања оба ротамера била скоро иста. Такође, чини се да конфигурација хиралног центра С-4 не утиче на преферирану оријентацију око амидне везе, с обзиром на то да је *syn*-конформер био заступљенији и у равнотежи једињења **91-trans**.

Табела 7. Поређење вредности хемијских померања за Н-2, Н-4, С-2 и С-4 за *syn*- и *anti*-ротамере.

Једињење	Хемијска померања протона [ppm]				Хемијска померања угљеника [ppm]			
	Н-2		Н-4		С-2		С-4	
	<i>syn</i>	<i>anti</i>	<i>syn</i>	<i>anti</i>	<i>syn</i>	<i>anti</i>	<i>syn</i>	<i>anti</i>
91-cis	6,43	5,98	4,78	5,42	61,9	63,7	63,2	62,0
91-trans	6,39	5,98	4,73	4,89	63,0	63,9	64,7	63,5
93-cis	6,35	6,11	5,01	5,32	62,8	63,1	62,3	63,9
94	6,34	6,15	5,04	5,30	62,7	63,5	63,0	63,9
95*	6,32	6,13	5,21	5,22	64,0	63,7	62,6	64,8
96-cis	6,44	6,13	5,11	5,39	62,6	62,1	61,5	62,6
97-cis	6,41	5,97	4,81	5,37	62,8	62,8	61,5	63,1
98-cis	6,44	6,20	5,21	5,34	62,9	62,6	61,5	63,5

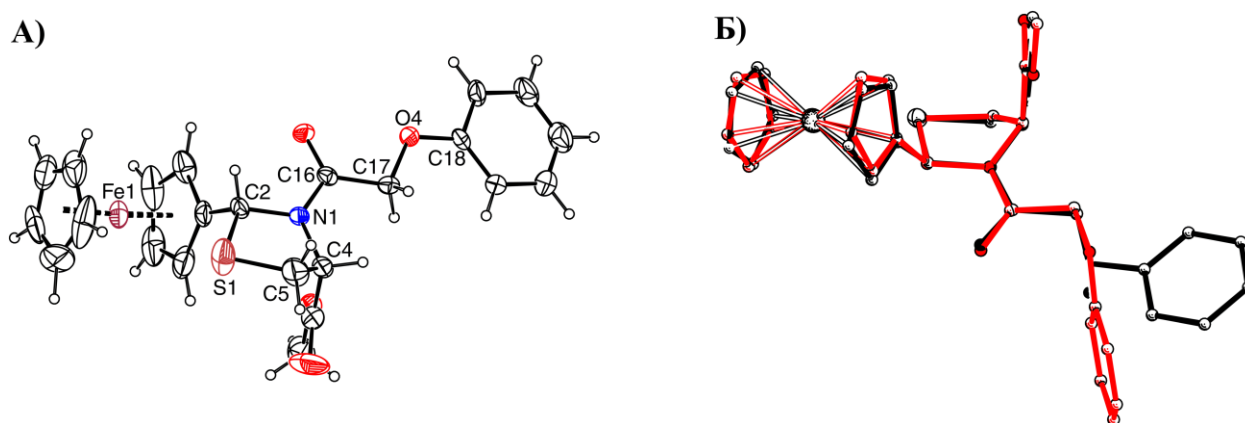
*С обзиром на то да су код оба ротамера хемијска померања за Н-4 била скоро иста, није било могуће одредити која хемијска померања одговарају ком ротамеру.

Вредности хемијских померања за С-2 и С-4 су углавном били у слагању са предложеном геометријом (табела 7). Две групе сигнала су уочена само за протоне и угљенике у непосредној близини амидне везе, док није било разлике у хемијским померањима протона и угљеника *N*-ацил бочног низа у γ -положају (или даљим положајима) у односу на амидни карбонил (нпр. за 2-ацетоксиацетил (**97-cis**) и 2-феноксиацетил деривате (**98-cis** и **98-trans**)). Ови NMR подаци сугеришу да се *syn*- и *anti*-конформације ових сродних *cis*-деривата могу разликовати на основу разлика у хемијским померањима за Н-2 и Н-4, при чему су за *syn*-конформацију карактеристичне вредности $\delta(\text{H-2}) \geq 6,32$ и $\delta(\text{H-4}) \leq 5,21$, а за *anti*-конформацију $\delta(\text{H-2}) \leq 6,20$ и $\delta(\text{H-4}) \geq 5,22$. На основу ове хипотезе, може се претпоставити да **92-cis** (са CF₃ групом) преферира *syn*-конформацију ($\delta(\text{H-2}) = 6,36$ и $\delta(\text{H-4}) = 5,05$). Ипак, није у потпуности јасно који је могући разлог ове јаке преференције једињења **92-cis** према *syn*-конформацији. Такође, није било могуће на овај начин одредити конформацију **95**, **99-cis** и **100** због постојања широких преклопљених сигнала.

4.2.3. КРИСТАЛОГРАФСКА АНАЛИЗА ОДАБРАНОГ ПРЕДСТАВНИКА БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-2

Асиметрична јединица деривата **98** састоји се из два хемијски идентична, али кристалографски различита молекула (означена са А и Б). Структура репрезентативног

молекула приказана је на **слици 42А**. Оба молекула (А и Б) представљају *cis*-дијастереомере деривата **98**, а уочена је *syn*-конформација око амидне везе C16–N1. Ова два молекула разликују се по својој конформацији, при чему је највећа варијација уочена за торзију дуж C17–O4 везе што се најбоље види кроз вредности торзионих углова: $\tau(\text{C16A–C17A–O4A–C18A}) = -166,4(6)^\circ$ и $\tau(\text{C16B–C17B–O4B–C18B}) = 76,0(7)^\circ$. Ово је лепо илустровано на **слици 42Б** на којој су приказана ова два молекула са међусобно преклопљеним 1,3-тијазолидинским прстеновима. Структуре фрагмената прстена су биле сличне, са средњим квадратним одступањем од 0,037 Å.



Слика 42. ORTEP приказ структуре **98-cis** (А) и преклапање два независна молекула (Б).

Конформације оба 1,3-тијазолидинска прстена су процењене анализом набирања прстена [118,119] где су атоми нумерисани следећим редоследом у смеру казаљке на сату S1→C2→N1→C4→C5. Утврђено је да прстенови заузимају веома сличне конформације које се могу описати 5T_4 дескриптором, тј. прстенови су били уврнути дуж C4–C5 везе. Пажљивији преглед параметара набирања открио је да су амплитуде набирања биле сличне, а одступања од идеалних уврнутих конформација су била суптилна и релативно мала, и усмерена ка супротним правцима дуж псеудоротационог точка. Прстен у молекулу А је био изврнут ка 5E коверти (отприлике 28%), док је прстен у молекулу Б одступао ка E_4 коверти за отприлике 17%. Узимајући у обзир *Cremer–Pople* средњу раван прстена, супституенти C6, C16 и C4 у оба молекула могла су се описати као инклинални, екваторијални и аксијални, редом [220]. Структуре Fe-јединица су биле упоредиве између два молекула. Растојања између атома гвожђа и центара фeroценских прстенова (Cg) су била у опсегу од 1,632(4) до 1,649(6) Å, док су углови Cg–Fe–Cg износили 175,1(3)° и 177,9(4)°.

Табела 8. Кристалографски подаци и параметри утацњавања за једињење **98-cis**.

Хемијска формула	C₂₃H₂₃FeNO₄S
Релативна молекулска маса	465,33
Температура [K]	273(2)
Кристалографски систем	орторомбни
Просторна група	<i>P</i> 2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
<i>A</i>	9,5609(5) Å
<i>B</i>	12,2535(6) Å
<i>C</i>	37,089(2) Å
<i>V</i>	4345,2(4) Å ³
<i>Z</i>	8
ρ_{calc}	1,423 g cm ⁻³
<i>M</i>	0,819 mm ⁻¹
<i>F</i> (000)	1936
Запремина елементарне решетке	0,87 × 0,10 × 0,06 mm ³
Боја кристала	жута
Облик кристала	игличаст
Врста зрачења	Mo <i>K</i> _α
<i>λ</i>	0,71073 Å
2θ опсег, °	4,4 – 58,7
Скупљене рефлексије	47475
Независне рефлексије	10672
<i>R</i> _{int}	0,099
<i>R</i> _{sigma}	0,107
Комплетност података за 2θ = 50°	99,9 %
Подаци	10672
Прерађени подаци	543
Доброта уклапања на <i>F</i> ²	1,063
<i>R</i> ₁ [<i>I</i> ≥ 2σ(<i>I</i>)]	0,083
<i>wR</i> ₂ [сви подаци]	0,154
Највећи и најмањи пик у Δ <i>F</i> мапи, e Å ⁻³	0,45 – 0,41
Пирсонов коефицијент корелације	–0,016(15)

4.2.4. БИОЛОШКА АКТИВНОСТ КОМБИНАТОРНЕ БИБЛИОТЕКЕ КБ-2

4.2.4.1. АНТИПРОЛИФЕРАТИВНА АКТИВНОСТ

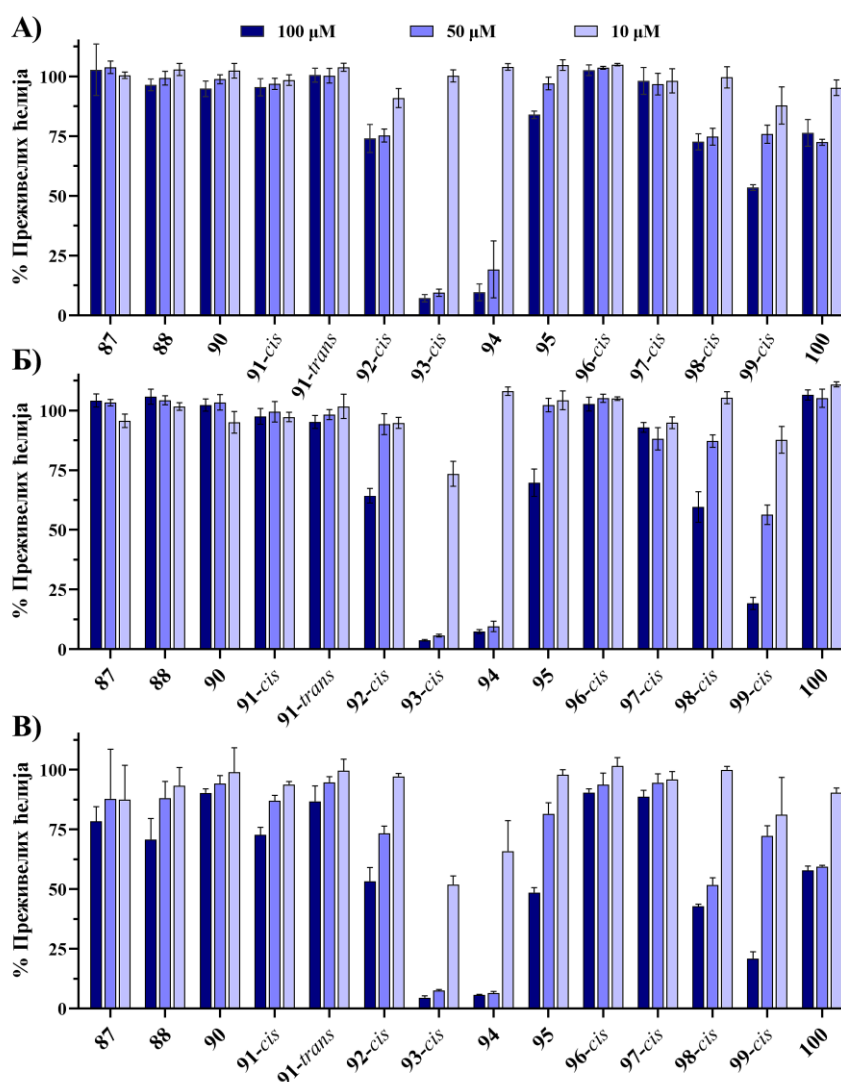
Одређена је *in vitro* антипролиферативна активност свих синтетисаних једињења из библиотеке КБ-2 према две трансформисане хумане ћелијске линије (MDA-MB-231 – ћелије канцера дојке и HepG2 – ћелије канцера јетре) и једној здравој ћелијској линији (MRC-5) хуманих фибробласта МТТ методом. С обзиром на то да је водеће (енг. *lead*) једињење, ALC67 (**6**) испољило обећавајућу *in vitro* цитотоксичност према различитим ћелијским линијама канцера јетре, дебелог црева, дојке и ендометријума [15], скрининг антипролиферативне активности ове библиотеке је извршен према истим или сродним типовима ћелијских линија канцера да би се евентуално установио ефекат структурних модификација које су извршене у оквиру ове дисертације на активност. Нормална ћелијска линија хуманих фибробласта плућа,

MRC-5, је коришћена како би се утврдило да ли су анализирана једињења селективно цитотоксична према ћелијама канцера. Активности деривата из ове библиотеке су упоређене са референтним леком, цисплатином.

За сва једињења је најпре одређена активност у три различите концентрације (10, 50 и 100 μM ; слика 43). Седам деривата (**87**, **88**, **90**, **91-cis**, **91-trans**, **96-cis** и **97-cis**) нису изазвала статистички значајно смањење вијабилности ћелија ни једне од тестираних ћелијских линија чак ни при највећој тестираној концентрацији. Два деривата **93-cis** и **94** (са хлор- и бромацетил супституентима у бочном низу, редом) су испољила снажан цитотоксични ефекат према обе малигне ћелијске линије при највећој тестираној концентрацији (100 μM ; $\geq 90\%$ инхибиције ћелијске пролиферације). Када је примењена дупло мања концентрација (50 μM), цитотоксичност је само незнатно опала, док је при 10 пута нижој концентрацији (10 μM) њихов антипролиферативни ефекат значајно смањио, потврђујући дозну зависност. Нажалост, **93-cis** и **94** нису били селективни према малигним ћелијским линијама, јер су и даље значајно инхибирали пролиферацију ($>30\%$) хуманих феталних ћелија фибробласта плућа када је примењена концентрација од 10 μM . Поред ова два деривата, *N*-бензоил дериват **99-cis** је такође испољио дозно зависну цитотоксичаност према све три ћелијске линије ($\sim 80\%$ инхибиције при 100 μM , 25 до 45% при 50 μM). Умерена антипролиферативна активност (30 до 40% инхибиције) при највишој тестираној концентрацији је уочена и за неколико других једињења (као што су **92-cis**, **95** и **98**) према једној или више тестираних ћелијских линија.

На основу овог почетног скрининга, **93-cis** и **94** су одабрани и даље титрирани како би се одредиле њихове IC_{50} вредности (слике 44 и 45). Утврђено је да су ћелије хепатоцелуларног карцинома биле два пута осетљивије на третман једињењима **93-cis** и **94** ($10,6 \pm 1,9$ и $18,4 \pm 3,2$ μM , редом) од ћелија хуманог аденокарцинома дојке ($21,3 \pm 2,3$ и $32,3 \pm 6,0$ μM , редом). Сличан тренд је уочен и за цисплатину, често коришћеном антиканцер леку, која је била незнатно потентнија од **93-cis** ($\text{IC}_{50}(\text{HepG2}) = 7,7 \pm 1,3$ μM и $\text{IC}_{50}(\text{MDA-MB-231}) = 16,0 \pm 2,1$ μM). Смањена цитотоксичност према фибробластима је уочена код третмана цисплатином, за разлику од **93-cis** и **94** који су били нешто токсичнији ка овом типу нормалних ћелија ($\text{IC}_{50} = 9,0 \pm 0,8$ и $11,8 \pm 1,3$ μM за **93-cis** и **94**, редом) у односу на малигне ћелије. Када је у питању HepG2 ћелијска линија, добијене IC_{50} вредности су биле прилично сличне као и за ALC67 (**6**; $10,0 \pm 1,5$ μM)

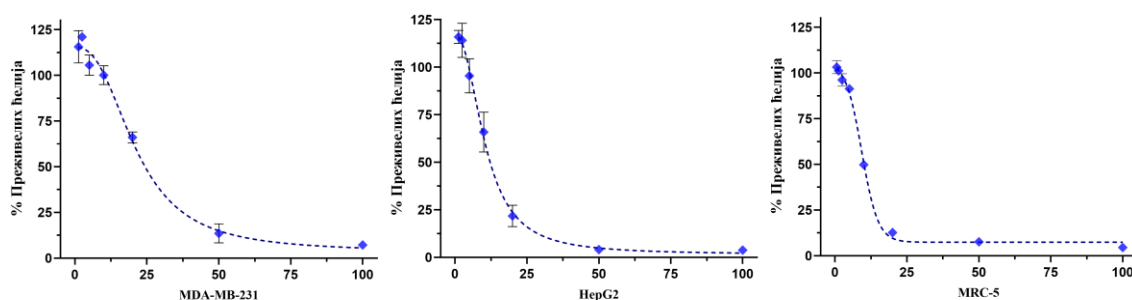
[15]. Интересантно је да *in vitro* антипролиферативни ефекат ALC67 (6) према нормалним ћелијским линијама није до сада испитан.



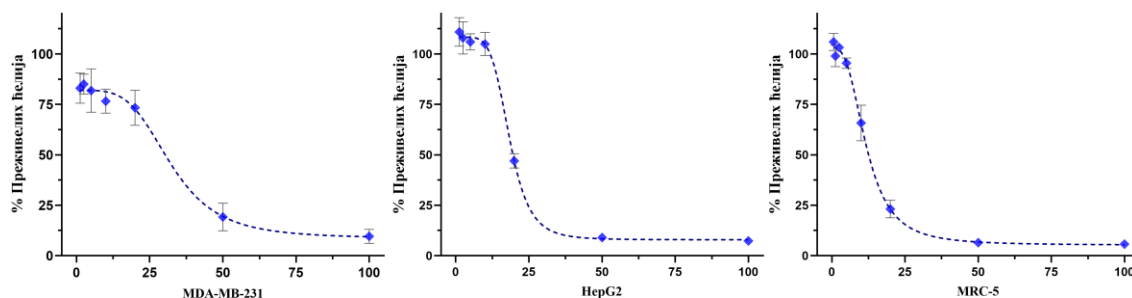
Слика 43. *In vitro* антипролиферативни ефекат једињења **87**, **88** и **90-100** према MDA-MB-231 (A), HepG2 (B) и MRC-5 (B) ћелијским линијама.

Алкилујући агенси су врло реактивни, па се углавном неповратно и неселективно везују за различите нуклеофилне биомолекуле као што су нуклеинске киселине, протеини, аминокиселине и нуклеотиди. Ова ковалентна интеракција може посредовати у смрти ћелија рака кроз интерферирање са структуром и функцијом ДНК, путем инаktivације ензима за поправку ДНК, и преко оштећења ћелијске мембране. Ипак, ове интеракције, одговорне за антипролиферативну активност, такође изазивају и друге ефекте ван жељеног места, као и идиосинкротичну токсичност, што може оштетити здраво, нормално ткиво. Ћелије тумора се често деле много брже од

нормалних па ремећење функције ДНК осетније утиче на раст ових ћелија него на раст нормалних ћелија [221,222]. Такође, предложено је да селективност алкилујућих агенаса зависи од деликатне кинетичке равнотеже између њихове специфичности и брзине и јачине везивања. Слаб алкилујући агенс је прихватљив све док се може везати снажно, али реверзибилно, преко другог (алтернативног) везивног места за своју молекулску мету, доводећи алкилујућу групу и нуклеофил на међусобну удаљеност и у оријентацију која је повољна за одвијање реакције. С друге стране, селективност се такође може постићи комбиновањем високе реактивности са добром пермеабилношћу што може убрзати доспевање лека на место деловања где се он брзо и иреверзибилно веже за своју мету, минимизирајући на тај начин друге ефекте ван жељеног места [221]. Дакле, како се деривати **93-cis** и **94** могу класификовати као јаки алкилујући агенси (јер садрже прилично добре одлазеће групе), њихова ниска селективност може бити повезана са проблемима пермеабилности.



Слика 44. Концентрационо-зависне криве за MDA-MB-231, HepG2 и MRC-5 ћелијске линије третиране дериватом **93-cis**.



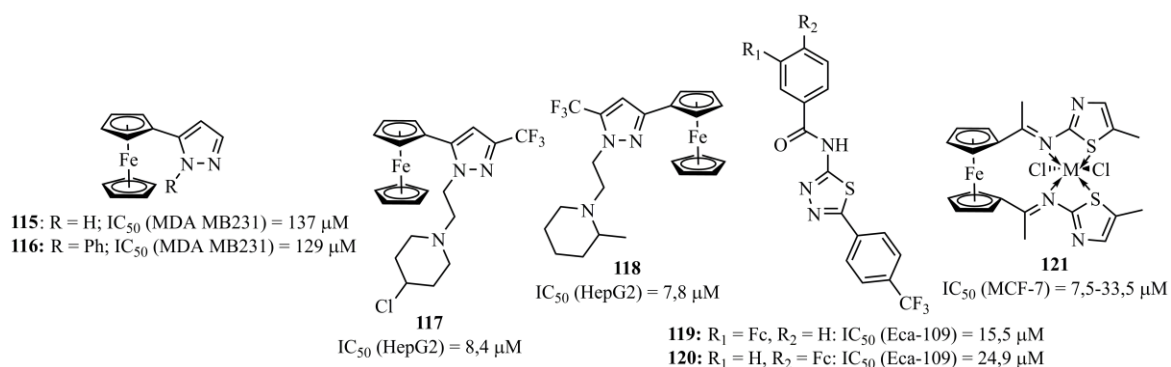
Слика 45. Концентрационо-зависне криве за MDA-MB-231, HepG2 и MRC-5 ћелијске линије третиране дериватом **94**.

Резултати скрининга антипролиферативне активности ове библиотеке указали су на неке занимљиве корелације између структуре и активности. Најпре, *N*-ациловање је било пресудно за појаву цитотоксичности, а слично је претходно објављено за

ALC67 (**6**) и етил естар из којег је добијен [15]. Генерално, следећи редослед активности је уочен: **93-cis** (хлорацетил) > **94** (бромацетил) > **99-cis** (бензоил) > **98-cis** (феноксиацетил) > **92-cis** (трифлуорацетил) > **95** (2,2-дихлорацетил) > **97-cis** (ацетоксиацетил) > **96-cis** (метоксиацетил). Стога се чини да врста одлазеће групе у оквиру *N*-ацил бочног ланца игра важну улогу у повећању цитотоксичности тестираних једињења. Иако би се, на основу величине/поларизабилности одлазеће групе, могло очекивати да дериват **94** са бромидом испољи већу активност од **93-cis** са хлоридом, то није био случај. Ово би могло бити последица хемијске нестабилност једињења **94** и/или учествовања у неким споредним реакцијама. На пример, може доћи до његовог везивања за друга једињења присутна у матриксу или пак до његове хемијске модификације од стране истих што би довело до смањења његове ефективне концентрације [223]. У прилог овоме иде чињеница да се хибрид **94** полако распадао чак и када је чуван на $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ током 4 дана што је уочено на основу промена у NMR спектру. Поред тога, антипролиферативни ефекти једињења **93-cis** и **94** у концентрацији од $10\text{ }\mu\text{M}$ према MRC-5 ћелијама су процењени употребом свеже припремљених раствора у диметилсулфоксиду и након једнонедељног складиштења на $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Овај експеримент је открио значајно смањење токсичности за **94** (од 34 до 18%), а само незнатну промену у активности за **93-cis** (4% смањења). На крају, како је хибрид **99-cis** са *N*-бензоил делом био трећи по активности, чини се да и друге карактеристике, као што је хидрофобност, могу бити важне за испољавање цитотоксичног ефекта.

Истраживања спроведена током последњих петнаест година су показала да је увођење *Fc*-језгра користан шаблон при развоју нових антиканцер агенаса. Међу хибридима фероцена са хетероциклусима, најбоље су проучени они са азотним хетероциклусима као што су имидазол, пиразол, триазол, пиримидин, индол и хинолин. Неколико претходно синтетисаних хибрида је показало широк спектар снажне антипролиферативне активности, чак и испод наномоларног опсега према одређеним ћелијским линијама канцера. Пример је једињење (*E*)-5-(фероценилметиленамино)-3-(фениламино)-1*H*-пиразол-4-карбоксамида (**54**; слика 17; поглавље 2.5.4.) за који је нађена IC_{50} вредност од само $0,09\text{ nM}$ према НерG2 ћелијској линији, па се ово једињење може сматрати водећим (енг. *lead*) у развоју нових антиканцер лекова [34,95]. Ипак, већина поменутих хибрида фероцена са хетероциклусима је испољила сличан или инфериорнији антипролиферативни потенцијал у односу на деривате из библиотеке КБ-2. На пример, два деривата (5-

фероценил-1*H*-пиразол (**115**) и 5-фероценил-1-фенил-1*H*-пиразол (**116**); слика 46) у којима је Fc-језгро директно везано за аза хетероциклус су слабо инхибирала раст MDA-MB-231 ћелија ($IC_{50} = 34,5 \mu\text{g/mL}$ (тј. $137 \mu\text{M}$) и $42,24 \mu\text{g/mL}$ (тј. $129 \mu\text{M}$), редом). С друге стране, две серије структурно комплекснијих региоизомерних деривата фероцена са пиразоловим прстеном су испољила обећавајућу активност према НерG2 ћелијској линији. Два најактивнија представника су била 1-(2-(5-фероценил-3-(трифлуорметил)-1*H*-пиразол-1-ил)етил)-4-хлорпиперидин (**117**) и 2-метил-1-(2-(3-фероценил-5-(трифлуорметил)-1*H*-пиразол-1-ил)етил)пиперидин (**118**) са IC_{50} вредностима од 8,4 и 7,8 μM , редом (слика 46). Мали је број података доступних у литератури о антипролиферативној активности хибрида фероцена са тија-аза хетероциклусима. Две региоизомерне серије хибрида фероцен-тијадиазола су биле умерено активне ка ћелијским линијама канцера. Међу њима, 3- и 4-фероценил-*N*-(5-(4-(трифлуорметил)фенил)-1,3,4-тијадиазол-2-ил)бензамиди (**119** и **120**, редом) су најнефективније инхибирали пролиферацију ($IC_{50} = 15,5$ и $24,9 \mu\text{M}$) ћелија хуманог карцинома једњака Еса-109 (слика 46). Одређена је такође и антиканцер активност фероценил лиганда (1,1'-бис(*Z*)-*N*-етилиден-5-метилтијазол-2-аминофероцена) (**121**) и његових Pb(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) и Zn(II) комплекса према ћелијској линији канцера дојке MCF-7 (IC_{50} у опсегу од 7,5 до 33,5 μM). Том приликом је нађено да комплексирање са металним јонима може донекле повећати активност и да ова органометална једињења испољавају своје антиканцер дејство регулисањем производње слободних радикала и то кроз повећање активности супероксидне дисмутазе и смањење активности каталазе и глутатион пероксидазе. Поред тога, доводе до повећане производње интрацелуларног редукованог глутатиона, као и H_2O_2 , NO и других слободних радикала који изазивају смрт туморских ћелија [34]. Уопштено говорећи, сматра се да се уградњом Fc-дела у молекула добија органометално једињење способно за изазивање оксидативног оштећења ДНК, липида и протеина у ћелијама рака путем механизма у коме учествују реактивне кисеоничне врсте [125].



Слика 46. Структуре претходно синтетисаних хибрида малих аза и тија-аза хетероцикла са Fc-јединицом и њихове IC₅₀ вредности за цитотоксичност према различитим ћелијским линијама [34].

4.2.4.2. АНТИМИКРОБНА АКТИВНОСТ

4.2.4.2.1. ОДРЕЂИВАЊЕ МИНИМАЛНЕ ИНХИБИТОРНЕ КОНЦЕНТРАЦИЈЕ (MIC)

Антимикробна активност 11 одабраних деривата из библиотеке КБ-2 испитана је микродилуционом методом према пет ATCC сојева бактерија и једном ATCC соју квасца. Добијени резултати су представљени у **табели 9**. Три деривата **98**, **99** и **100** нису деловала антимикробно ни према једном соју при тестираним концентрацијама, док су осталих осам једињења испољили широк опсег антимикробног деловања, од потпуне неактивности до умерене активности у поређењу са позитивном контролом (тј. стрептомицином или нистатином).

Само је једињење **91-cis** било активно према свих шест тестираних сојева у примењеним концентрацијама. Овај дериват са широким спектром антимикробног деловања нема алкилујући део, па се чини да анализирани *N*-ацил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилати могу такође нековалентно интераговати са неким метама у оквиру микроба и/или пак неке друге особине анализираних једињења, као што су повећана липофилност и/или мембранска пермеабилност могу бити пресудне за испољавање активности. *N*-Хлорацетил дериват **93-cis** (MIC = 0,44 μmol/ml) је показао најизраженији и селективни утицај на раст Грам-позитивног соја *Bacillus cereus* ATCC 1177. Међутим, ово једињење је инхибирало раст поменутог микроорганизма када је примењено у концентрацијама које су биле цитотоксичне за нормалне ћелије фибробласта. Антикандидална активност неацилованог једињења **90** је била 3-4 пута већа од активности *N*-ацилованих еквивалената. Занимљиво је да је овај метил естар показао бољи антимикробни потенцијал од аналогне киселине **87**. Раније је нађено да фенил аналог киселине **87** (2-фенил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилна киселина) није

испољио никакав антифунгални ефекат у концентрацији од 0,256 mg/ml (1,2 μ mol/ml) [224]. Може се рећи да је најрезистентнији тестирани сој био *Salmonella enterica* ATCC 13076 имајући у виду на то да су само четири једињења утицала на његов раст и то у највећој тестираној концентрацији (1,5 mg/ml), док су осталих седам били неактивни. Иако је највећа активност нађена према бактерији *B. cereus*, може се приметити да је сој *Acinetobacter baumannii* био подложен дејству највећег броја једињења из библиотеке КБ-2, што је врло значајан податак с обзиром на то да су сојеви ове Грам негативне бактерије добро познати по својој резистенцији на велики број антибиотика. Такође, *A. baumannii* је чест узрочник озбиљних болничких инфекција, посебно на одељењима интензивне неге, а самим тим и све већи медицински проблем [225]. Анализирана једињења су била активна према овој бактеријској врсти у концентрационом опсегу од 2,0 до 3,50 μ mol/ml, што је умерена активност коју би требало даље истражити кроз потенцијални синергизам са конвенционалним антибиотикима. Једињења **88**, **91-trans** и **94** нису добијена у довољним количинама или су била нестабилна, па њихово антимикумно дејство није процењено.

Табела 9. Минималне инхибиторне концентрације (MIC, у μ mol/ml) једињења **87** и **90-100**.

Једињење	<i>Candida albicans</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
87	2,4	4,73	> 4,7	> 4,7	> 4,7	> 4,7
90	1,1	1,1	> 4,5	> 4,5	> 4,5	2,3
91-cis	4,0	2,0	2,0	4,0	2,0	2,0
92-cis	> 3,5	> 3,5	> 3,5	> 3,5	> 3,5	> 3,5
93-cis	> 3,5	3,5	0,44	> 3,5	> 3,5	3,5
94	> 3,4	3,4	3,4	3,4	> 3,4	3,4
96-cis	2,7	> 2,7	1,9	2,7	2,7	2,7
97-cis	> 3,5	> 3,5	> 3,5	> 3,5	> 3,5	> 3,5
98-cis	> 3,2	> 3,2	> 3,2	> 3,2	> 3,2	> 3,2
99-cis	> 3,5	> 3,5	> 3,5	> 3,5	> 3,5	> 3,5
100	> 2,9	> 2,9	> 2,9	> 2,9	> 2,9	> 2,9
Стр/Нис^[a]	$4,32 \times 10^{-3}$	$2,68 \times 10^{-3}$	$2,68 \times 10^{-3}$	$2,68 \times 10^{-3}$	$2,68 \times 10^{-3}$	$2,68 \times 10^{-3}$

^aСтрептомицин/Нистатин.

4.3. КОМБИНАТОРНА БИБЛИОТЕКА ХИБРИДА КБ-3

2,5-Дикетопиперазини, односно циклични дипептиди, су најједноставнији деривати пептида у природи, а настају кондензацијом две α -аминокиселине. Не само да се 2,5-дикетопиперазини могу добити из различитих природних извора, укључујући гљиве, бактерије, биљке и животиње, већ они представљају структурни фрагмент присутан у многим природним производима комплексније структуре. 2,5-Дикетопиперазине краси неколико јединствених особина које их чине привилегованим структурама у медицинској хемији. Наиме, они су мали, ригидни и хирални молекули, који у својој структури имају групе које могу учествовати у формирању водоничних веза, и као Н-донори и као Н-акцептори, а поред тога могу се и лако даље функционализовати на стереоселективан/стереоспецифичан начин. Ове карактеристике им омогућавају да се са великим афинитетом везују за низ биолошких мета и да испоље различе биолошке активности, попут антибактеријске, антиканцер, аналгетичке и друге [226,227].

Дизајн нових потенцијално биоактивних хетероцикличних једињења је веома често инспирисан структурама природних производа. Синтеза хибридних једињења која садрже више од једног хетероциклуса (међусобно повезаних линкером и/или директно кондензованих) један је од најчешћих приступа при развоју нових ентитета са високим фармаколошким потенцијалом. Дobar пример је тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-дион, у коме су обједињена (кондензована) два хетероциклуса, 1,3-тијазолидин и 2,5-дикетопиперазин, која показују широк спектар биолошких активности. Међутим, биолошка активност тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона није довољно истражена, и до сада је само утврђено да деривати са овим хетероциклом могу испољити антипролиферативни, хипертензивни, неуроседативни или антидепресантни ефекат [21, 22].

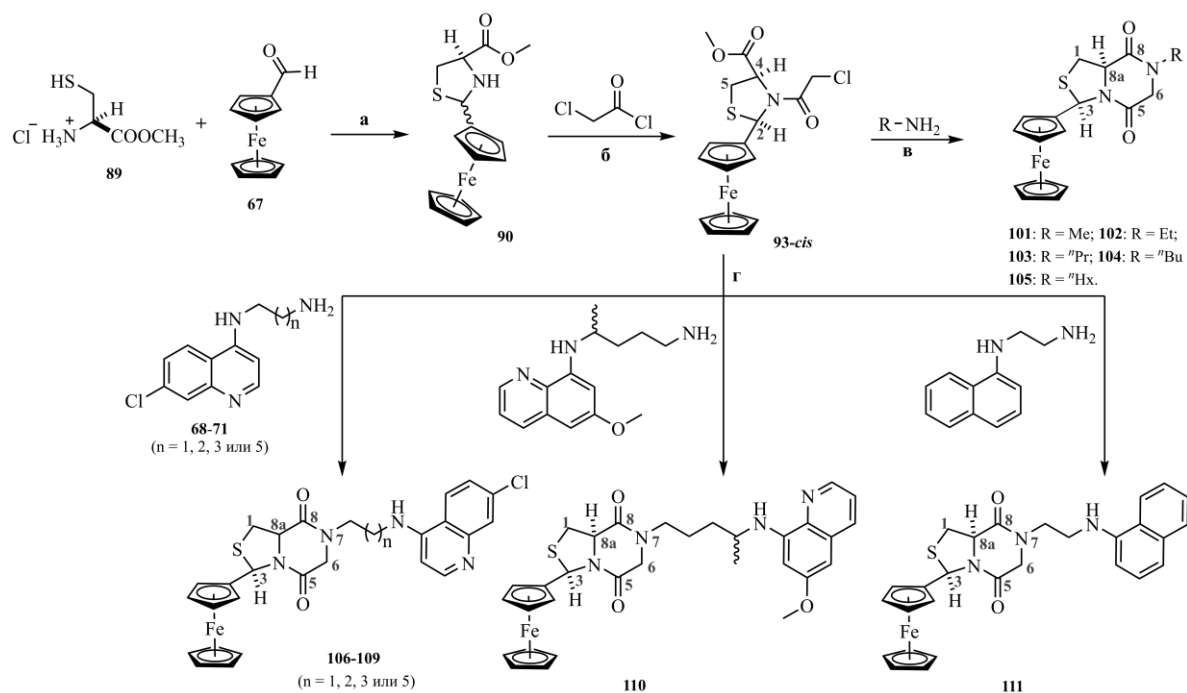
Имајући у виду ове додатне податке, као и све оно што је претходно речено у оквиру ове дисертације у вези хибрида хлорохина са фeroценом, за циљ је постављена синтеза комбинаторне библиотеке једињења КБ-3 у којима је 3-фeроценилтијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-дион повезан са 4-амино-7-хлорхинолином преко алкил линкера различите дужине. Да би се утврдио допринос 4-амино-7-хлорхинолина активности у ову библиотеку су укључени и деривати који у положају N-7 садрже само алкил низ или друго ароматично језгро уместо 4-амино-7-хлорхинолинског, тј. 8-амино-6-

метоксихинолиско (пореклом из примакина) или 1-аминонафталенско. Узимајући у обзир примену хлорохина (**1**) у лечењу инфламаторних обољења [7] и да су дикетопиперазини познати по својој антимикробној активности, као и да је претходно у оквиру ове дисертације утврђено да хибридизација хлорокина са 1,3-тијазолидин-4-оном/1,3-тијазинан-4-оном дала деривате са значајно побољшаним антимикробним и имуномодулаторним својствима, испитана је *in vitro* антимикробна активност библиотеке КБ-3 према панелу релевантних микроба и њен антиинфламаторни потенцијал.

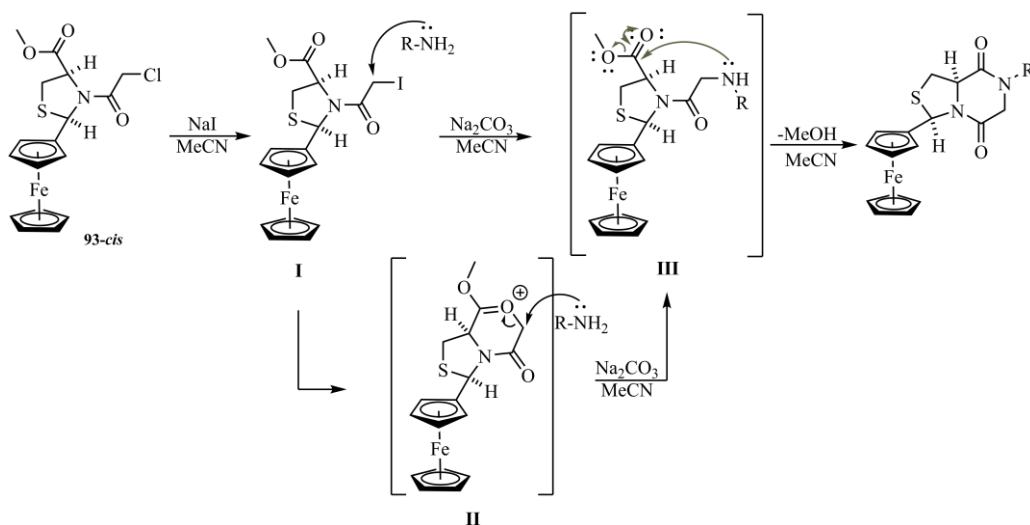
4.3.1. КРЕИРАЊЕ КОМБИНАТОРНЕ БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-3

Тијазоло[3,4-*a*]пирозин-5,8-диони (**101-111**) су синтетисани путем реакционе секвенце која је приказана на **шеми 8**. Диамини **68-71** су поново добијени нуклеофилном ароматичном супституцијом у реакцији комерцијално доступног 4,7-дихлорхинолина са вишком одговарајућег диаминоалкана [144], док је Fc-CHO (**67**) синтетисан формиловањем фероцена етил-ортоформатом у присуству AlCl₃ [143]. Дијастереомерно чист (2*R*,4*R*)-метил-*N*-хлорацетил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилат (**93-cis**) је добијен на начин описан у поглављу 3.3.2.4., а његова кондензација са вишком комерцијално доступних (метил-амин, етил-амин, бутил-амин, хексил-амин, примакин-бисфосфат и *N*-(1-нафтил)етилендиамин) и претходно синтетисаних (**68-71**) амина дала је жељена једињења **101-111** [19].

У последњем кораку синтезе, једињење **93-cis** је прво *in situ* конвертовано у јодов дериват **I** који је затим учествовао у S_N2 реакцији дајући интермедијер **II**. Након циклизације овог интермедијера добијен је финални производ (**шема 9**). Када су нуклеофили у овој реакцији били алифатични амини, производи (**101-105**) су добијени у добром приносу након дванаесточасовног мешања на собној температури (33,0–97,4%). Међутим, при истим условима, са хинолинилалкил- и нафтиналкил-диаминима није дошло до формирања жељених производа, па је стога примењено загревање до рефлукса. На овај начин су деривати **106-110** добијени у задовољавајућем приносу (23,4–66,8 %), а изузетак је једино било једињење **111** са нафтил групом које је добијено у приносу од само 6,9%, али у довољној количини за спектралну карактеризацију и процену антимикробне активности.



Шема 8. Синтетска шема за синтезу једињења **101-111**. **a)** K_2CO_3 , $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$, N_2 , собна температура, 12 h; **b)** THF , Et_3N , $-10\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow 0\text{ }^\circ\text{C}$, 30 минута $\rightarrow$ собна температура, 4 h; **c)** MeCN , NaI , Na_2CO_3 , N_2 , собна температура, 12 h; **d)** MeCN , NaI , Na_2CO_3 , N_2 , рефлукс, 3 h.



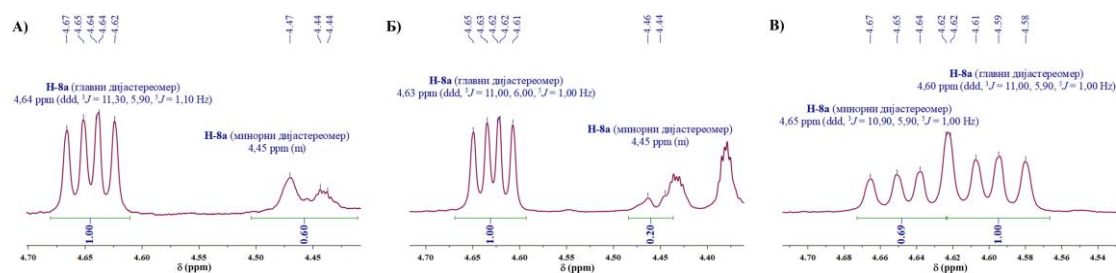
Шема 9. Приказ вероватног механизма настајања тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**101-111**) из (2*R*,4*R*)-метил-*N*-хлорацетил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**93-cis**).

Узимајући у обзир да је почетно једињење (**93-cis**) коришћено за синтезу представљало чист енантиомер са (2*R*,4*R*)-конфигурацијом хиралних центара (што је потврђено мерењем оптичке ротације; поглавље 4.2.1.), као и да се под примењеним реакционим условима не очекује учешће *C*-атома хиралних центара у реакцији, нити отварање 1,3-тијазолидинског прстена [19,120], очекивано је да и производ задржи исту стереохемију. И заиста, кристалографском анализом једињења **101** је потврђено да је код овог деривата конфигурација хиралних центара (3*R*,8*aR*) (поглавље 4.2.3.). ^1H и

^{13}C NMR спектри једињења **101-107** и **111** су садржали само једну групу сигнала указујући на то да је одговарајући производ дијастеремерно чист, док су спектри једињења **108-110** садржали по две групе сигнала. Детаљном анализом NOESY спектра крајњих производа снимљених у $\text{DMSO}-d_6$ уочена је корелација између H-3 и H-8a која би се, имајући у виду ригидност бицикличног прстена, могла једино очекивати уколико би ова два протона била међусобно у *cis*-односу, што додатно потврђује (3*R*,8*aR*) конфигурацију. Уопштено, јачина ове интеракције била је много јача у случају деривата без ароматичног језгра у N-7 бочном ланцу (**101-105**) у односу на оне са ароматичним језгром (**106-111**). За мање заступљене дијастереомере једињења **108** и **109** ова интеракција није уочена, сугеришући да су у овом случају протони H-3 и H-8a међусобно *trans*. Како је при синтези хибрида **110** коришћена комерцијално доступна рацемска смеша примакина (у облику примакин-бисфосфата), било је и за очекивати да настане смеша два дијастереомера који се међусобно разликују по конфигурацији хиралног центра који потиче из примакина [228], а да им је конфигурација хиралних центара на хетероциклусу иста, односно (3*R*,8*aR*). На жалост, овај пар дијастереомера није било могуће хроматографски раздвојити, па су снимљени NMR спектри смеше, у којима се могло уочити удупљавање појединих сигнала који потичу од атома водоника, односно угљеника. Иако су два хирална центра прилично удаљена, а један од хиралних центара се налази у конформационо слободном делу молекула, могуће је да услед интрамолекулске асоцијације електронски богатог Fc-језгра и електронски сиромашног хинолинског језгра нема много слободне ротације око N-7 алкил низа.

Уопштено говорећи, хемијска померања еквивалентних протона и угљеника у једињењима из библиотеке КБ-3 су се незнатно разликовала, а највећа одступања су нађена за мање заступљене дијастереомере једињења **108** и **109**. С обзиром на то да постоје два хирална центра у производима **108** и **109** поставља се питање који од ова два хирална центра је потенцијално епимеризовао при примењеним реакционим условима, па су добијена два дијастереомера. Детаљном анализом ^1H NMR спектра **108** и **109** уочено је и да се облик сигнала H-8a променио у случају мање заступљених дијастереомера. Нажалост, није било могуће одредити тачне константе купловања поменутог протона чак ни симулацијом услед сложености ових сигнала и њиховог преклапања са другим резонанцијама (слика 47А и 47Б). Насупрот томе, аналогни протон који потиче од главног дијастереомера је дао препознатљив

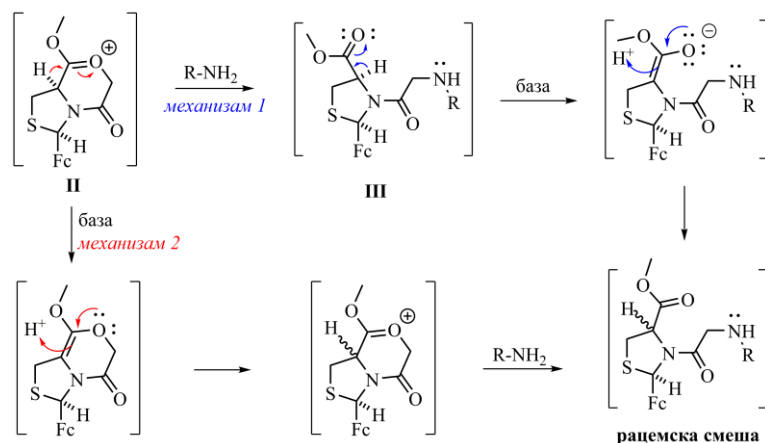
дублетдублетадублета ($^3J \approx 12$, $^5J = 1$ Hz). Такође, код једињења **110**, за које је претпостављено да представља пар дијастереомера који се разликује само по конфигурацији хиралног центра у N-7 бочном ланцу, било је лако уочљиво да су облици сигнала, односно константе купловања за H-8a за оба дијастереомера практично идентичне ($^3J \approx 11$, 6, $^5J = 1$ Hz; **слика 47B**). Услед преклапања са другим сигнаlima, није било могуће одредити константе купловања ни за H-6a протоне мање заступљених дијастереомера деривата **108** и **109**. Такође, може се уочити да су померања H-8a протона мање заступљених дијастереомера **108** и **109** нешто нижа у односу на главни дијастереомер, док је код једињења **110** обрнути редослед. Све ово наводи на закључак да је у случају мање заступљених дијастереомера **108** и **109** највероватније током реакције дошло до инверзије конфигурације једног од два хирална центра. Изомеризацијом било ког од њих би се добила једињења која су међусобно енантиомери, а њихови спектри би били идентични.



Слика 47. Поређење мултиплетности сигнала H-8a протона различитих дијастереомера у ^1H NMR спектрима једињења **108** (A), **109** (B) и **110** (C). Код једињења **108** и **109** сигнал који потиче од H-8a протона мање заступљеног дијастереомера преклопљен је са сигналом који потиче од H-2' или H-5' (4,44 и 4,43 ppm, редом).

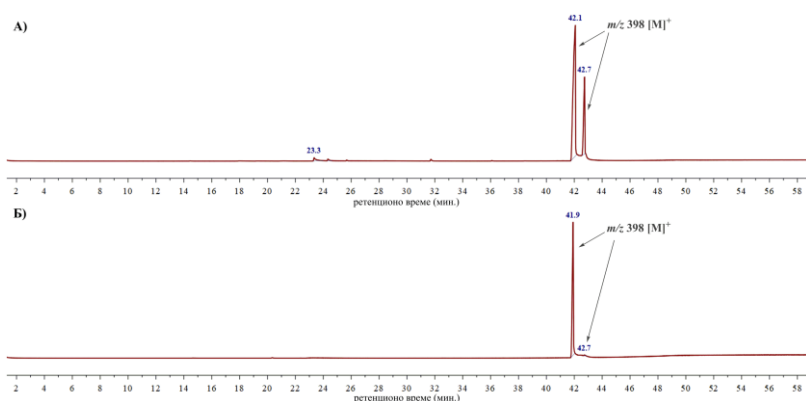
Познато је да дипептиди са слободном аминок групом на једном крају низа и естрификованом карбоксилном групом на другом крају низа могу спонтано да циклизују при повишеној температури, како у киселој, тако и у базној средини, формирајући одговарајуће 2,5-дикетопиперазине. Међутим, потребан је пажљив одабир реакционих услова да не би дошло до епимеризације хиралног центра α у односу на (естерификовану) карбоксилну групу како у полазном дипептиду тако и у крајњем дикетопиперазину [227,229,230]. Постоје два општеприхваћена механизма епимеризације при синтези пептида у базним условима. Први механизам укључује формирање оксазолонског интермедијера, а други механизам подразумева епимеризацију услед директне апстракције H- α у односу на (естерификовану) карбоксилну групу (**шема 10**). Први механизам је вероватнији што је карбоксилна група више активирана, односно преведена у реактивнији дериват, док је други

механизам вероватнији што је Н- α киселији [229]. Како је амидни азотов атом у полазном једињењу **93-cis**, односно у положају 4 деривата библиотеке КБ-3, терцијарни (шема 8), механизам епимеризације преко оксазолонског интермедијера се може искључити. Стога, могло би доћи до епимеризације директним депротонавањем α -угљеника у интермедијерима **II** и/или **III** (шема 10).



Шема 10. Потенцијални механизми базно катализоване рацемизације током синтезе једињења КБ-3.

Занимљиво је да је у случају испарљивих деривата из библиотеке КБ-3 (**101-105**), који су синтетисани при собној температури, GC-MS анализа је указивала на постојање два дијастереомера (слика 48), док је NMR анализом истих узорак детектовано присуство само једне групе сигнала који одговарају дијастереомерно чистом једињењу (прилог 80-89). Све ово указује на то да су наведени деривати највероватније изомеризовали при условима гасно-хроматографске анализе, односно да може доћи и до искључиво термалне епимеризације крајњих тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона и да је, за разлику од базне средине, повишена температура (изнад 200 °C) неопходна за овај процес епимеризације. У том случају би највероватније дошло до промене конфигурације С-3 хиралног центра.



Слика 48. Приказ гасног хроматограма реакционе смеше (А) и пречишћеног једињења (Б) **103**.

У недавном истраживању су *N*-арилметил-3-арилтијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-диони синтетисани при веома сличним реакционим условима, али су коришћене смеше дијастереомера полазног *N*-хлорацилованог деривата који су се разликовали у конфигурацији хиралног центра у положају C-4 [232]. Занимљиво је да и када је удео *trans*-дијастереомера у полазној смеси био значајан, као код метил-3-(2-хлорацетил)-(4-нитрофенил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (35%), након реакције кондензације са серијом бензиламина, са различитим супституентима у *para* положају, у већини случајева је добијена смеша тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона са значајно повећаним уделом *cis*-дијастереомера (од 90 до 99%). Ово указује на то да је из неког разлога отежано формирање (3*S*,8*aR*) тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона са *trans* релативном стереохемијом.

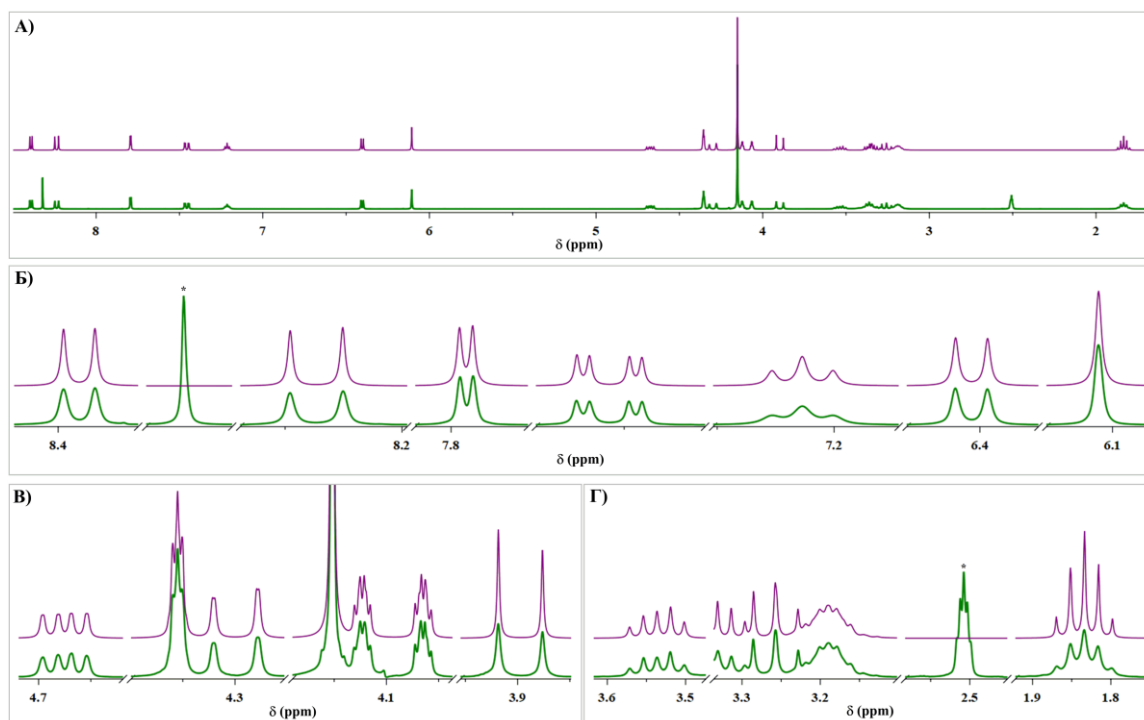
4.3.2. СПЕКТРАЛНА КАРАКТЕРИЗАЦИЈА БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-3

Једињења **101-111** су у потпуности спектрално окарактерисана ^1H и ^{13}C NMR спектроскопијом. Додатно, где год је било могуће, извршене су и GC-MS, IR, UV-vis анализе (поглавље 3.3.3.). Добијени спектрални подаци били су у складу са очекиваним структурама за сва једињења.

^1H NMR спектри свих синтетисаних једињења садржали су сигнале карактеристичне за моносупституисани фeroцен – br s на 4.1–4.2 ppm који потиче од несупституисаног Ср прстена и четири раздвојена ddd која чине спински систем из моносупституисаног Ср прстена. Један од 2' или 5' протона је углавном био на већем померању (~ 4,2–4,4 ppm) у поређењу с другим (~ 3,8–4,2 ppm). Протонски спектри дијастеремерно чистих деривата **101-107** и **111** из ове комбинаторне библиотеке одликовали су се и АВХ спинским системом насталог од метинског (br ddd на ~ 4,6–4,7 ppm) и метилених протона (два dd на ~ 3,2–3.4 ppm) у положајима 8*a* и 1, редом, на прстену тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона. Поред тога, у спектрима ових једињења били су лако уочљиви сингнали који потичу од дијастереомерних геминалних протона у положају 6 на прстену тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона. Протон на нижем померању (~ 3,8–4,0 ppm) се јављао у облику d ($^2J \sim -17$ Hz), а други, на нешто вишем померању (~ 4,2–4,4 ppm), у облику dd, јер се осим са својим геминалним протоном овај протон даљински спрезао (кроз 5 везе) и са метинским протоном Н-8*a* ($^5J \sim 1,1$ Hz). Протон Н-3 (S-CH-N) се јављао у облику синглета и код скоро свих деривата КБ-3 је био на померању од 6,1 ppm. Изузетак су били мање заступљени дијастереомери једињења

108-trans и **109-trans** где је овај сигнал био на нешто већим померањима (6,2 и 6,4 ppm, редом). У протонским спектрима **108-110**, добијених као смеше дијастереомера, могли су се такође распознати парови сигнала који одговарају H-3 (S-CH₂-N; s на ~ 6,1–6,2 ppm), H-8a (ddd на ~ 4,4–4,7 ppm), H-1_A и H-1_B (два dd на ~ 3,2–3,4 ppm), H-6_A и H-6_B (dd и d на ~ 2,9–4,6 ppm). Неки од поменутих сигнала у спектрима једињења **108-trans** и/или **109-trans** нису била у датом опсегу δ или није било могуће одредити њихову мултиплетност, али су тачна померања и мултиплетности ових сигнала дата у експерименталном делу (поглавље 3.3.3). С друге стране, код једињења **110** сигнали метил група из алкил низа и метокси групе везане директно за ароматично језгро су за оба дијастереомера били на истом померању.

У зависности од дужине линкера (2 до 6 C-атома), одговарајући број сигнала је био присутан у ¹H NMR спектрима. Услед постојања два хирална центра у молекулима хибрида **101-109** и **111** протони из метиленских група су углавном били дијастереотопни. Услед преклапања великог броја сигнала у случају деривата **105**, **108** и **109** само је за једну или две метиленске групе најближе хиралним центрима могло бити закључено да су дијастереотопне. Код једињења **110**, са три хирална центра, сви метиленски протони су били дијастереотопни. Хемијска померања и константе купловања метиленских протона су одређене симулацијом у оквиру *MestReNova* софтверског пакета. Иницијални уноси за ова израчунавања су садржавали процењена хемијска померања протона из алкил низа (из HSQC спектра) и вредности геминалних и вициналних константи купловања доступних у литератури или оних које су добијене из декуплованих спектра. Ови почетни подаци су потом фино подешени како би се постигла што већа сличност између експерименталног и симулираног NMR спектра (слика 49).



Слика 49. Поређење експерименталног (зелено) и симулираног (љубичаста) ^1H NMR спектра једињења **107** (А) са увећаним сигнаlima у деловима између 8,5 и 6,0 ppm (Б), 4,7 и 3,8 ppm (В) и 3,3 и 1,7 ppm (Г). Резидуални сигнали од CHCl_3 (8,32 ppm) и $\text{DMSO}-d_5$ (2,51 ppm) су обележени *.

Група од шест карактеристичних сигнала за 4-амино-7-хлорхинолинско језгро (четири d и један dd у ароматичном делу спектра на $\sim 6,4\text{--}8,4$ ppm и широки триплет за протон секундарног амина на $\sim 7,2\text{--}7,3$ ppm) је био присутан у протонским спектрима хибрида са овом фармакофором (**106-109**) [18]. У протонском спектру деривата примакина (**110**) могли су се уочити парови од пет сигнала у овом делу спектра (два d и три dd на $\sim 6,3\text{--}8,5$ ppm и широки дублет за протон секундарног амина на $\sim 6,1$ ppm). ^1H NMR спектар деривата 1-нафталена (**111**) садржао је осам сигнала у ароматичном делу спектра (пет dd и два ddd на $\sim 6,6\text{--}8,0$ ppm, као и широки триплет од протона секундарног амина на $\sim 6,1$ ppm).

Такође, група од шест сигнала за једињења **101-107** и **111**, односно шест парова сигнала за једињења **108-110**, у опсегу од 66 до 89 ppm у угљеничним спектрима одговарао је моносупституисаној Fc-јединици [168]. Сигнали C-атома из амидних карбонилних група за све хибриде из библиотеке КБ-3 налазили су се на врло сличним хемијским померањима (166-167 и ~ 165 ppm за C-8 и C-5, редом). Изузетак су једињења **108-trans** и **109-trans** код којих су сигнали ових угљеника били на 170 и 164 ppm за C-8, редом, и на 168 и 161 ppm за C-5, редом. Два метинска (C-8a и S-CH-N) и два метилenska (C-6 и C-1) угљеника из прстена тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона дали

су резонанције на ~ 63 , ~ 61 , ~ 52 и ~ 32 ppm, редом. У ^{13}C NMR спектрима деривата **106-109** могао се уочити и карактеристичан група од девет сигнала на ~ 99 до 152 ppm које дају угљеници из 4-амино-7-хлорхинолинског прстена [18]. Неки од угљеника из овог ароматичног прстена имали су различита хемијска померања код два дијастереомера једињења **108** и **109**. Слично, у ^{13}C NMR спектру једињења **110** могла су се уочити две групе од по девет сигнала у интервалу ~ 92 до 160 ppm који одговарају 8-амино-6-метоксихинолинском прстену [231]. На крају, у спектру једињења **111** су се могла уочити десет сигнала у интервалу од ~ 103 до 144 ppm који потичу моносупституисаног нафталена. У зависности од дужине алкил групе или линкера, одговарајући број сигнала је био присутан у ^{13}C NMR спектрима свих деривата КБ-3 у интервалу од 52 до 11 ppm, при чему су скоро сви угљеници у овом делу молекула имали различита хемијска померања за два дијастереомера једињења **108-110**.

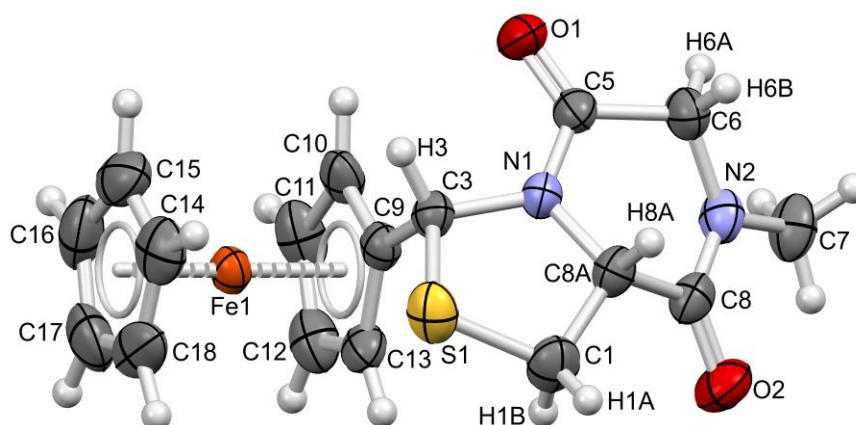
Више добро раздвојених IR трака, као што су $\text{C}=\text{O}$ истезања, $\text{Csp}^2\text{-H}$ истезања ($\sim 3080\text{ cm}^{-1}$) и симетричне деформације CH_2 групе (маказе; $\sim 1470\text{ cm}^{-1}$) су уочене за сва једињења. Две најинтензивније траке у спектрима хибрида **101-105** су представљале резултат истезања два карбонила из амидних група на ~ 1660 и 1650 cm^{-1} , док је у спектрима осталих деривата, највероватније услед преклапања поменутих вибрација веза, уочена само једна интензивна трака на $\sim 1660\text{ cm}^{-1}$. Поред тога, IR спектри деривата **106-110** су садржавали траке које потичу од вибрација истезања N-H , $\text{C}=\text{N}$ и $\text{C}=\text{C}$ веза на ~ 3350 , 1610 и 1575 cm^{-1} , редом, што је типично за хинолински прстен супституисан амино групом [161,162]. Такође, на $\sim 1400\text{ cm}^{-1}$ су се могле уочити и траке које потичу од симетричних деформација метил групе у *N*-алкил делу једињења **101-105** и **110**, као и метокси фрагменту деривата **110**. У IR спектару деривата примакина **110** је такође била видљива и асиметрична вибрација C-O везе на 1158 cm^{-1} .

Као и код хибрида из библиотека КБ-1 и КБ-2, UV-vis спектри једињења и из ове библиотеке (КБ-3) били су обележени присуством фeroценске хромофоре. Најинтензивнија трака, на око 200 nm за хибриде **101-105**, односно 210 nm за хибриде **106-110**, највероватније је резултат $\pi \rightarrow \pi^*$ прелаза у оквиру Fc-јединице [168]. Поред тога, у спектрима хинолинских деривата (**106-110**) се могла уочити и нешто слабија трака на око 250 nm која одговара аналогним прелазима у 4-амино-7-хлорхинолинском прстену [169]. Остале две траке на отприлике 330 и 440 nm које су биле слабијег

интензитета од трака на 200, односно 210 nm, највероватније настају услед $d \rightarrow \pi^*$ и $d \rightarrow d$ прелаза у Fc-језгру, редом [168].

4.3.3. КРИСТАЛОГРАФСКА АНАЛИЗА ОДАБРАНОГ ПРЕДСТАВНИКА БИБЛИОТЕКЕ ХИБРИДА КБ-3

Једињење **101** кристалише у моноклиничном кристалном систему, у $P2_1$ просторној групи. Молекулска структура једињења је приказана на **слици 50**. Апсолутна структура је утврђена на основу ефекта резонантног расејања рендгенског зрачења. Наиме, Парсонсов параметар апсолутне структуре [233] израчунат је на основу 1384 Бајфатових парова рефлексија и износи 0,000(6). На тај начин је недвосмислено установљена апсолутна структура кристала и апсолутна конфигурација молекула. Молекул једињења **101** садржи два стереоцентра, C3 и C8A, чија је апсолутна конфигурација (*R,R*), тако да су супституенти H8a и H3 са исте стране прстена.



Слика 50. ORTEP приказ структуре једињења **101**.

Молекул садржи два фузионисана хетероциклуса, оба значајно набрана – просечна апсолутна вредност ендоцикличних торзионих углова прстена износи 27° за тијазолски прстен, односно 32° за пиразински прстен. Детаљан увид у конформације хетероцикличних прстенова је добијен применом Кремер–Попл формализма [218] и теорије група [219].

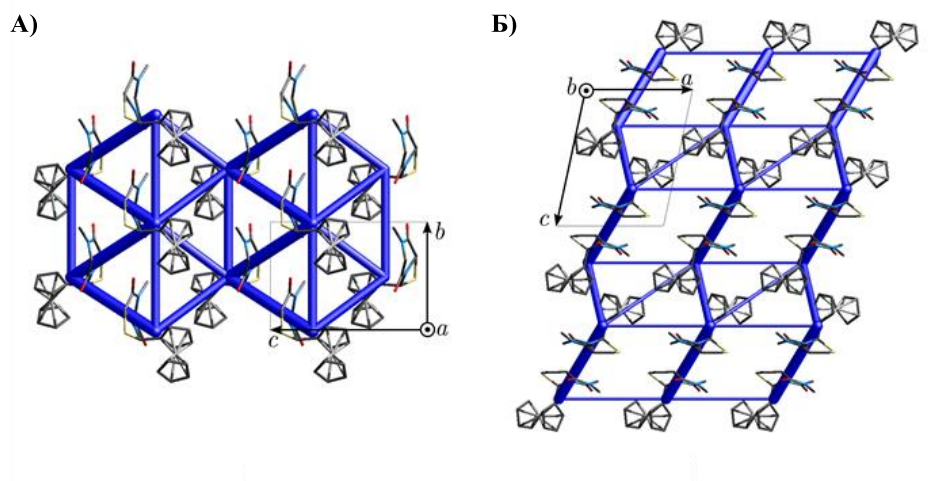
Петочлани тијазолски прстен (атоми се броје у смеру казаљке на сату у низу: $S1 \rightarrow C1 \rightarrow C8A \rightarrow N1 \rightarrow C3$) има амплитуду набирања $q_2 = 0,432(3) \text{ \AA}$ и фазни угао $\varphi_2 = 192,8(5)^\circ$, одакле следи да је најближа канонска конформација увијена форма дуж $S1-C1$ везе. Њој одговара дескриптор 2T_1 (други атом у низу C1 је изнад референтне

равни, а први атом у низу S1 је испод референтне равни прстена). Ипак, постоји значајно одступање од ове идеалне конформације, и то око 29% у смеру конформације коверте у којој је атом S1 испод референтне равни прстена (дескриптор E_1). Екваторијални супституенти су C5 и H1A, аксијални су C9, H1B и H8A, док су C8 и H3 инклинални/бисекциони.

Шесточлани пиразински прстен (атоми се броје у смеру казаљке на сату у низу: N1→C8A→C8→N2→C6→C5) има амплитуду набирања $Q = 0,569(4)\text{\AA}$, док поларни углови износе $\theta = 87,0(4)^\circ$ и $\varphi = 54,0(4)^\circ$. Овај прстен заузима конформацију деформисане лађе, при чему је удео $B_{2,5}$ конформера (атоми C8A и C6 су испод референтне равни прстена) 76%. Реална конформација је благо деформисана ка 4T_2 конформацији (атом N2 је изнад равни, а атом C8A испод референтне равни прстена) чији је удео 19% и 1C_4 конформацији (атом N1 је изнад равни, а атом N2 испод референтне равни прстена) чији је удео свега 5%. У овој конформацији су супституенти C3, C1, O2, C7, O1 и H6A екваторијални, док су H8A и H6B аксијални.

Фероценски фрагмент садржи два скоро идеално еклипсна циклопентадиенилна прстена, при чему је медијана за шест торзионих углова C(cp)⋯Cg⋯Cg'⋯C'(cp) износи $2,9^\circ$. Растојања Fe1⋯Cg(cp) износе $1.6384(18)$ и $1.646(2)\text{\AA}$, а Cg(cp)⋯Fe1⋯Cg'(cp) угао износи $179.15(11)^\circ$.

У кристалној структури је сваки молекул окружен са 16 суседа. Енергије међумолекулских интеракција су испитане хибридном *CrystalExplorer* методом [234,235] при чему је за сваки испитивани димер добијена укупна енергија интеракције (E_{tot}), као и доприноси појединачних компоненти – електростатике (E_{ele}), поларизације (E_{pol}), дисперзије (E_{dis}) и одбијања (E_{rep}). Шест молекула који су распоређени квази-хексагонално у кристалографској *bc* равни гради најјаче интеракције (три независна пара), те је овај слој основни структурни мотив кристалне структуре (слика 51A). У овим интеракцијама доминира дисперзиони тип привлачења. Остале интеракције су двоструко и више слабије и делују између слојева, што се уочава на слици 51B. Детаљи енергија интермолекулских интеракција су дати у табели 10, док су на слици 52 истакнути структурни и енергијски детаљи квази-хексагоналног слоја у кристалографској *bc* равни путем енергијске мреже [236].

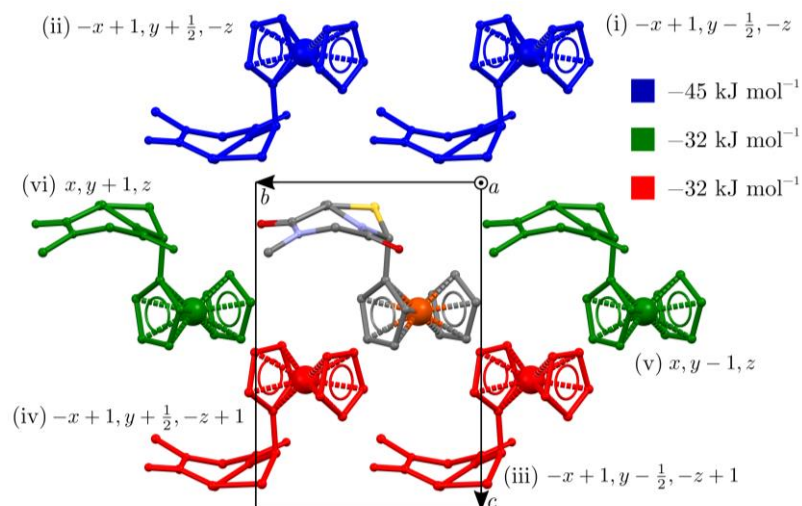


Слика 51. Енергијска мрежа кристалне структуре једињења **101**. Пројекција дуж осе *a* (А) и осе *b* (Б).

Табела 10. Детаљи енергија интермолекуларних интеракција.

Ознака	Симетријска операција	$R^{\text{[a]}}$ / Å	E / kJ mol ⁻¹			
			E_{ele}	E_{pol}	E_{dis}	E_{rep}
(i)	$-x+1, y-1/2, -z$	8,34	-24,31	-5,96	-42,08	34,46
(ii)	$-x+1, y+1/2, -z$					
(iii)	$-x+1, y-1/2, -z+1$	6,87	-7,22	-1,95	-44,32	24,86
(iv)	$-x+1, y+1/2, -z+1$					
(v)	$x, y-1, z$	7,85	-14,29	-4,95	-26,33	16,03
(vi)	$x, y+1, z$					
(vii)	$-x, y+1/2, -z+1$	9,84	-4,03	-0,69	-19,64	10,11
(viii)	$-x, y-1/2, -z+1$					
(ix)	$x-1, y, z$	9,00	-4,74	-2,47	-12,09	8,28
(x)	$x+1, y, z$					
(xi)	$x-1, y-1, z$	11,94	-4,58	-0,91	-12,51	9,31
(xii)	$x+1, y+1, z$					
(xiii)	$-x, y-1/2, -z$	8,68	-1,49	-0,25	-9,08	2,29
(xiv)	$-x+1, y+1/2, -z$					
(i)	$-x+1, y-1/2, -z$	8,34	-24,31	-5,96	-42,08	34,46
(ii)	$-x+1, y+1/2, -z$					
(iii)	$-x+1, y-1/2, -z+1$	6,87	-7,22	-1,95	-44,32	24,86
(iv)	$-x+1, y+1/2, -z+1$					
(v)	$x, y-1, z$	7,85	-14,29	-4,95	-26,33	16,03
(vi)	$x, y+1, z$					
(vii)	$-x, y+1/2, -z+1$	9,84	-4,03	-0,69	-19,64	10,11
(viii)	$-x, y-1/2, -z+1$					

^aРастојање између центара молекула.



Слика 52. Енергије интермолекуларних интеракција у квази-хексагоналном слоју у кристалографској *bc* равни.

Табела 11. Кристалографски подаци и параметри утањивања за једињење **101**.

Хемијска формула	C₁₇H₁₈FeN₂O₂S
Релативна молекулска маса	370,24
Температура [K]	295 K
Кристалографски систем	Моноклинични
Просторна група	<i>P</i> 2 ₁
<i>A</i>	8,9992(2) Å
<i>B</i>	7,8531(2) Å
<i>C</i>	11,6709(4) Å
<i>B</i>	102,070(3)°
<i>V</i>	806,57(4) Å ³
<i>Z</i>	2
Запремина елементарне решетке	806,57(4) Å ³
Врста зрачења	Mo <i>K</i> _α
Измерене рефлексије	16496
Независне рефлексије	3299
<i>R</i> _{int}	0,030
Рефлексије са <i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)	3148
sin(θ / λ) _{max}	0,625 Å ⁻¹
<i>R</i> [<i>F</i> ² > 2σ(<i>F</i> ²)]	0,026
<i>wR</i>	0,066
<i>S</i>	1,05 (за 209 утањаваних параметара)
Пирсонов коефицијент корелације	0,000(6), одређен на основу 1384 Бајфутових парова

4.3.4. БИОЛОШКА АКТИВНОСТ КОМБИНАТОРНЕ БИБЛИОТЕКЕ КБ-3

4.3.4.1. АНТИМИКРОБНА АКТИВНОСТ

4.3.4.1.1. ОДРЕЂИВАЊЕ МИНИМАЛНЕ ИНХИБИТОРНЕ КОНЦЕНТРАЦИЈЕ (MIC)

Антимикробна активност свих 11 хибрида библиотеке КБ-3 је испитана микродилуционом методом према четири ATCC соја бактерија и једном ATCC соју гљиве [146]. Добијени резултати су сумирани у **табели 12**.

Табела 12. Минималне инхибиторне концентрације (MIC, у $\mu\text{mol/ml}$) једињења **101-111**.

Једињење	<i>Candida albicans</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Escherichia coli</i>
101	>4,0	>4,0	4,0	4,0	4,0
102	>3,9	>3,9	3,9	>3,9	>3,9
103	>3,8	>3,8	3,8	3,8	3,8
104	3,6	>3,6	>3,6	>3,6	>3,6
105	3,4	>3,4	>3,4	>3,4	>3,4
106	1,3	0,04	0,04	0,33	0,04
107	0,65	0,02	0,04	2,6	2,6
108	1,6	0,6	2,6	>2,6	>2,6
109	1,2	0,15	2,4	>2,4	>2,4
110	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5
111	>2,9	>2,9	НТ ^[a]	2,9	1,4
1	1,46	0,73	2,91	2,91	0,023
Стр/Нис^[b]	$4,32 \times 10^{-3}$	$5,33 \times 10^{-3}$	$1,38 \times 10^{-3}$	$5,33 \times 10^{-3}$	$2,58 \times 10^{-3}$

^aНије тестирано. ^bСтрептомицин и нистатин.

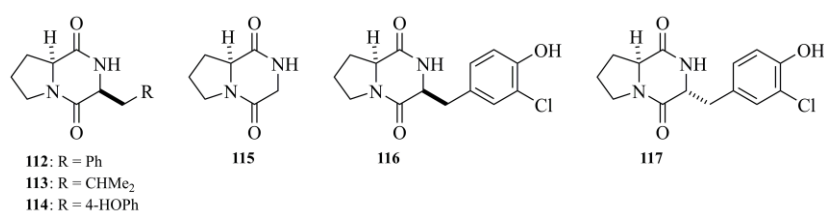
Хибриди **101-105**, добијени кондензацијом са алкил-аминима, или уопште нису утицали на раст микроорганизама или су били активни само при највишој тестираној концентрацији (1,5 mg/ml). С друге стране, деривати који садрже 4-амино-7-хлорхинолинску фармакофору (**106-109**) су се показали као добри антимикробни агенси према тестираном панелу микроорганизама са MIC вредностима у опсегу од 0,02 до 2,9 $\mu\text{mol/ml}$. Међу њима, посебно се издвојило једињење **107**, са три метиленске групе у линкеру, које је показало јак и селективан ефекат на раст два референта соја Грам-позитивних бактерија, *S. aureus* ATCC 6583 (MIC = 0,02 $\mu\text{mol/ml}$) и *B. cereus* 11778 (MIC = 0,04 $\mu\text{mol/ml}$). Ово селективно дејство је било веома слично оном које је уочено и за хибриде за библиотеке КБ-1 (поглавље 4.1.5.2.), с тим што су код најактивнијег деривата из ове библиотеке **80** (MIC = 0,006 и 0,023 $\mu\text{mol/ml}$, редом) две фармакофоре, тј. 5-метил-1,3-тијазолидин-4-он и 4-амино-7-хлорхинолин, биле међусобно повезане нешто дужим линкером од четири метиленске групе. Како су и хлорохин (**1**) и аналогни дериват без хинолинског језгра (**102**) инхибирали раст ова два соја при много вишим концентрацијама (MIC $\geq$ 0,375 $\mu\text{mol/ml}$ и MIC $\geq$ 3,9 $\mu\text{mol/ml}$,

редом), могло би се рећи да уочена активност вероватно представља резултат синтергистичког деловања три фармакофоре, фeroцена, 4-амино-7-хлорхинолина и тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона, које су обједињене у молекулу **107**.

Већ је истакнуто да је најактивније једињење из КБ-2 **93-cis**, а оно је уједно било и прекурсор у синтези молекула из КБ-3. Међутим, како је једињење **107** инхибирало раст *B. cereus* при 10 пута нижој МИС вредности у односу на поменути синтетски прекурсор, може се рећи да је надоградња прстена 1,3-тијазолидин-4-она до тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона, као и увођење 4-амино-7-хлорхинолина, били пресудни за побољшање антимикробног дејства. Вредно је истаћи да је хибрид **106**, са најкраћим линкером од 2 C-атома, испољио најшири спектар дејства, а на његово дејство (МИС = 0,04 $\mu\text{mol/ml}$) је поред две поменута соја Грам-позитивних бактерија, изузетно осетљив било и Грам-негативни сој *E. coli* ATCC 25922. Антимикробни ефекат овог хибрида према датом соју бактерије *E. coli* био је упоредив са ефектом хлорохина (**1**) према сродном референтном соју *E. coli* ATCC 8739 (МИС = 0,023 $\mu\text{mol/ml}$), па се може рећи да је у овом случају допринос 4-амино-7-хлорхинолина активности већи у односу на остале две фармакофоре. Занимљиво је да је сој *E. coli* био резистентан према свим осталим хибридима из библиотеке КБ-3, са изузетком деривата нафталена **111** који је испољио умерену активност са МИС вредношћу од 1,4 $\mu\text{mol/ml}$. На основу овога се може закључити да је за инхибицију раста ове Грам-негативне бактерије поред присуства азота у ароматичном прстену, битно и растојање од две метиленске групе између тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона и ароматичног прстена. Такође, чини се да је растојање између тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона и 4-амино-7-хлорхинолина има значај утицај и на антикандидалну активност, али је у овом случају оптимално растојање од три метиленске групе. Најнеактивнији је био дериват примакина **110** с обзиром на то да ни при највећој тестираној концентрацији од 1,5 mg/ml (2,50 $\mu\text{mol/ml}$) није дошло до смањења раста ниједног соја микроорганизма.

Већ је напоменуто да нема много литературних података о биолошкој активности једињења која у својој структури садрже тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-дион. Међутим, познато је да су структурно слични 2,5-дикетопиперазини међу најбројнијим пептидним антибиотцима који се могу наћи у природи. Њихова структура може варирати од врло једноставне, па све до врло комплексних коњугованих цикличних система. Познат је велики број деривата хексахидропироло[1,2-*a*]пиразин-1,4-диона који испољавају обећавајућу антимикробну активност (**112–117**; слика 53). Дobar

пример су једињења **112** и **113**, које производе бактерије из рода *Streptomyces*, а за које је нађено да су активна према анаеробним Грам-негативним и Грам-позитивним бактеријама (нпр. *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides ovatus*, *Clostridium perfringenes*, *Clostridium difficile* и *Peptostreptococci*). Утврђено је да смеша ова два једињења делује синергистички, односно да је активнија од појединачних дипептида, као и од конвенционалних антибиотика као што су еритромицин, цефокситин, имипенем, клиндамицин и метронидазол. На пример, имипенем је био најактивнији према сојевима *B. fragilis* и *B. ovatus* са MIC вредностима у опсегу од 0,032 до 1,0 mg/l, док су минималне инхибиторне концентрације смеше једињења **112** и **113** биле у опсегу од 0,032 до 0,5 mg/l и то према свим тестираним сојевима. Ова комбинација дикетопиперазина снажно је инхибирала и раст бактерије *Clostridium difficile* (MIC = 0,064 mg/l) [237]. Једињење **115**, изоловано из *Hormonema species*, ендифитске гљиве пронађене у листовима лековите биљке *Juniperus communis*, такође је испољило јако добру антимикуробну активност и то према бактерији *S. aureus* (MIC = 0,04 µg/ml = 0,26 µM), док је према гљиви *C. albicans* било неактивно [238]. Уочено антистафилококно дејство овог структурно најједноставнијег бициличног дикетопиперазина (*cyclo(Pro-Gly)*) је више од 100 пута јаче у односу на најактивније припаднике КБ-3, **106** и **107**. Међутим вреди истаћи да су за разлику од једињења **115**, деривати **106** и **107** показали шири спектар антимикуробне активности. Једињења **116** и **117**, добијена из различитих сојева бактерија су тестирана на антифунгалну активност према сојевима *C. albicans* и *Aspergillus niger*. Међутим, није уочена значајна активност [239].



Слика 53. Структуре претходно изолованих природних производа који у својој структури садрже хексахидропироло[1,2-а]пиазин-1,4-дионски фрагмент [237-239].

4.3.4.2. АНТИИНФЛАМАТОРНА АКТИВНОСТ

4.3.4.2.1. ОДРЕЂИВАЊЕ ИНХИБИТОРНОГ ДЕЈСТВА НА LOX

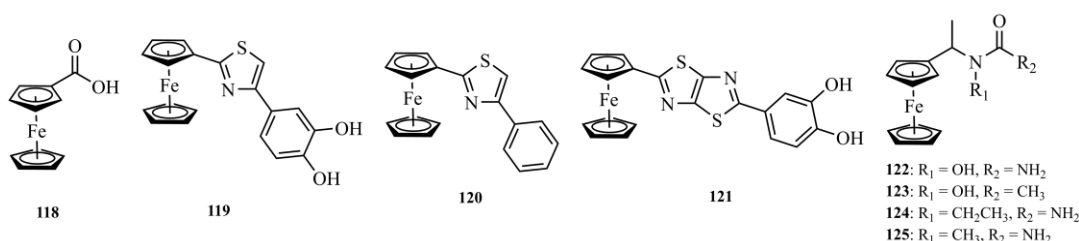
Липооксигеназа (LOX) је металоензим који у свом активном месту садржи Fe(II) јон, а катализује први корак у метаболизму арахидонске киселине до леукотријена, проинфламаторних медијатора који су повезани са патофизиологијом болести као што су тумор, астма, артритис, псоријаза и различите алергије.

Досадашња истраживања су показала да постоје три главна типа инхибитора липооксигеназе који се међусобно разликују по механизму деловања и то: а) редокс инхибитори који редукују гвожђе од активног Fe(III) до неактивног Fe(II) облика, б) инхибитори који могу да хелирају гвожђе и в) компетитивни инхибитори [240].

Већ је више пута истакнуто да се повезивање Fc-фрагмента са органским биоактивним молекулима сматра корисним приступом у дизајну нових металоорганских лекова за терапију различитих обољења. Водећи се истом идејом, у претходних неколико година започета су истраживања фироценских деривата као потенцијалних инхибитора LOX у којима је утврђено да су ова органометална једињења активнија од својих фенил/арил аналога и да постоји добра корелација између њихових електрохемијских својстава и уочене активности [241-244]. Електрохемијске, кинетичке и молекулско динамичке студије указале су на то да механизам компетитивне инхибиције може укључивати и редокс деактивацију Fe(III) јона у активном месту ензима. Стога се инкорпорација фироценске јединице сматра веома перспективном стратегијом у дизајну нових, ефективнијих инхибитора LOX [241-244].

На пример, фироценилкарбоксилна киселина (**118**; слика 54) је испољила одличну *in vitro* инхибиторну активност према хуманој 5-LOX ($IC_{50} = 2,5 \mu M$) у односу на свој фенил аналог (тј. бензоеву киселину) који је био готово неактиван (IC_{50} вредности од преко $250 \mu M$.) [242]. Такође, узимајући у обзир бројне предности укључивања хетероциклуса у структуру молекула, било као фармакофоре и/или у служби линкера, синтетисани су и анализирани на способност инхибиције липооксигеназе молекули код којих су Fc-јединица и катехол повезани тијазолом или тијазоло[5,4-*d*]тијазолом (**119-123**; слика 54). Једињења **119** и **120** су инхибирала активност хумане 5-LOX за 50% при концентрацијама од 0,9, односно $5,4 \mu M$, док је IC_{50} вредност нађена за једињење **121** била знатно виша ($50,8 \mu M$). Занимљиво је да је аналог једињења **121** код којег је Fc-јединица замењена катехолом био у потпуности неактиван. Стога се може закључити да уочени инхибиторни ефекат једињења **119** и **120** представља резултат синергистичког деловања Fc-јединице, тијазола и катехол/фенил фрагмената [243]. У последњем истраживању из ове области синтетисано је пет органометалних деривата зилеутона, јединог инхибитора 5-LOX одобреног од стране Америчке управе за храну и лекове, и испитано је њихово инхибиторно дејство на по две изоформе ензима липооксигеназе (5-LOX и 15-LOX) и циклооксигеназе (COX-1 и

СОХ-2). Њихове структуре су приказане на **слици 54 (122-125)**. Међу њима се издвојио фироценил-аналог **122** као изузетно јак и селективни инхибитор 5-LOX. Његов инхибиторни ефекат надмашио је и ефекат полазног зилеутона ($IC_{50} = 0,21 \mu M$ у односу на $IC_{50} = 0,67 \mu M$). Кинетичке студије су показале да **122** делује као мешовити инхибитор, а испитивање електрохемијског понашања и антиоксидативних својства и резултати молекулског моделовања су показали да и хелирајући фрагмент *N*-хидроксиуреа и редокс активна *Fc*-јединица играју кључну улогу при испољавању активности. Битно је нагласити да је за ово једињење нађена ниска цитотоксичност према нормалној хелијској линији фибробласта плућа (MRC-5; $IC_{50} = 116,4 \mu M$) [244].



Слика 54. Структуре претходно синтетисаних хибрида са *Fc*-јединицом за које је одређен инхибиторни ефекат према LOX [242-244].

И поред широке употребе хлорохина (**1**) као антиинфламаторног агенса (нпр. за контролисање реуматоидног артритиса и системског еритемског лупуса) још увек није у потпуности расветљен његов механизам деловања. До сада је спроведен велики број тестирања не би ли се стекао бољи увид у имуномодулаторно дејство овог лека, па је између осталог испитан и његов утицај на биосинтезу леукотриена [245-247]. Утврђено је да се након третмана хлорохином (**1**) код полиморфнонуклеарних леукоцита стимулираних јонофором A23187 смањује продукција појединих врста леукотриена [247], а овај ефекат би се могао макар делимично објаснити утицајем хлорохина (**1**) на ензим LOX. Наиме, нађено је да хлорохин (**1**) донекле инхибира деловање овог ензима присутног у хомогенату коже заморчића, тј. при концентрацијама хлорохина (**1**) од 10, 1 и 0,1 mM активност LOX била је смањена за 50,1, 16,0 и 18,3%, редом, док при нижим концентрацијама хлорохина (**1**) није уочен никакав ефекат [246].

Имајући све ово у виду, испитан је утицај хлорохина (**1**) и одабраних представника КБ-3, **103** и **107**, при концентрацији од 0,1 mM на трансформацију линолне киселине посредством липооксигеназе из соје. Коришћена је стандардна UV метода код које се прати пораст апсорбанце на 234 nm, а који одговара настанку производа оксидације који садржи коњуговани диенски систем [248]. На жалост, за

хибриде **103** и **107** је нађено да испољавају слабо инхибиторно дејство при тестираној концентрацији ($12 \pm 6\%$, односно $12 \pm 6\%$), док хлорохин (**1**) није био активан. Индометацин, који је коришћен као позитивна контрола, при истој концентрацији је смањио активност липооксигеназе за $68 \pm 4\%$. Дакле, иако у својој структури молекули **103** и **107** садрже редок активну Fe-јединицу, вероватно не успевају да се приближе довољно Fe^{3+} јону у активној форми ензима, што се манифестовало кроз слабију инхибицију од очекиване.

5. Извод

У оквиру ове докторске дисертације извршена је синтеза и спектрална карактеризација укупно 36 нових хибрида фероцена и тија-аза хетероциклуса распоређених у три библиотеке:

i) КБ-1 – коју чине дванаест деривата добијених повезивањем 4-аминохинолинске фармакофоре и фероценске јединице са 1,3-тијазолидин-4-оном, 5-метил-1,3-тијазолидин-4-оном и 1,3-тијазинан-4-оном;

ii) КБ-2 – која укључује тринаест *N*-ацилованих метил-(2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата); и

iii) КБ-3 – коју сачињавају једанаест 3-фероценилтетрахидро-3*H*-тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-диони код којих су у положају *N*-7 уведене различите алкил и алкиларил групе.

За два одабрана представника (**98-cis** и **101**) је извршена и кристалографска анализа. За скоро сва синтетисана једињења је извршена процена *in vitro* антимикробне активности према панелу бактерија и квасцу *C. albicans*. За сва једињења библиотеке КБ-1 и одабране деривате из библиотеке КБ-3 је процењен и *in vitro* антиинфламаторни потенцијал, док су сви деривати библиотеке КБ-1 тестирани на *in vitro* антиплазмодијалну активност према ХС (3D7) и ХР (Dd2) сојевима *P. falciparum*. За све хибриде из библиотеке КБ-2 је испитано и њихово *in vitro* антипролиферативно дејство на три различите хумане ћелијске линије које припадају АТСС колекцији: МРС-5 (хумани фибробласт плућа), НерG2 (хумани карцином јетре) и МДА-МВ-231 (хумани рак дојке).

Као што је већ напоменуто, једињења КБ-1 представљају деривате хлорохина (**1**) надограђене фероценском јединицом и одабраним тија-аза хетероциклусима, у којима је варирано и растојање између фармакофора, односно дужина линкера. Када је у питању њихов антimalаријски потенцијал, хибрид **83** је био активнији од хлорохина (**1**) према ХР Dd2 соју, док су још три хибрида (**73**, **74** и **77**) изазивала 50% инхибиције раста овог *Plasmodium* соја при субмикромоларним концентрацијама. Резултати ВНІА теста су указали на то да способност ових хибрида да инхибирају стварање хемозоина није била пресудна у испољавању антиплазмодијалне активности. Поред тога, применом МТТ и SRB метода је утврђено да су сви хибриди библиотеке КБ-1 били нецитотоксични према перитонеалним макрофагима пацова у концентрацијама нижим од 10, односно 5 μ М. Иако су структурним модификацијама извршеним у оквиру ове библиотеке добијени деривати са већом цитотоксичношћу у поређењу са хлорохином (**1**), ове модификације су, с друге стране, допринеле значајном повећању инхибиторног

деловања на продукцију NO радикала и у нестимулисаним и у макрофагима стимулираним LPS. Штавише, за једињења **77**, **79-81** и **85 SI** је био већи од 10, чиме је задовољен критеријум на основу кога се једињење може сматрати обећавајућим терапеутским агенсом. Иако хибриди КБ-1 нису деловали као хватачи NO радикала, инхибирали су њихову синтезу макар делимично смањењем експресије iNOS ензима. Такође, у нецитотоксичним концентрацијама, већина деривата КБ-1 је утицала на значајно повећање способности макрофага за адхерирање.

Када је у питању КБ-2, једињења су дизајнирана налик на водеће једињење ALC67 (**6**). Најпре је изршена биоизостерна замена фенил групе фироценском јединицом, а потом су додати различити супституенти у положају N-3 тако да или опонашају електрофилност пропиноиламидне групе бочног ланца ALC67 (**6**), или показују мању електрофилност или да не поседују електрофилна својства. Увођењем фироценске јединице повећала се стереоселективност N-ациловања према *cis*-дијастереомеру. Ово је омогућило одређивање биолошког потенцијала оптички чистих једињења, што није био случај за водеће једињење ALC67 (**6**). Наиме, оптички чиста једињења се сматрају погоднијим за употребу при одређивању биолошке активности јер увек постоји могућност да је само један стереоизомер активан, док остали стереоизомери могу бити неактивни, или у најгорем случају, да изазивају споредне или токсичне ефекте. Већина деривата је у раствору представљала смешу ротамера са незнатном преференцијом ка *syn*-C-N ротамеру. У чврстом стању је 1,3-тијазолидински прстен једињења **98-cis** заузео ⁵T₄ конформацију уврнуте коверте. Једињења КБ-2 су испољила обећавајућу *in vitro* цитотоксичност према коришћеним ћелијским линијама канцера. Посебно су се истакли деривати **93-cis** и **94** са N-хлорацетил и N-бромацетил групама, редом. Они су инхибирали пролиферацију хепатоцелуларних (Нер G2) ћелија канцера у ниском микромоларном опсегу, слично као и водеће једињење ALC67 (**6**) и позитивна контрола цисплатина. Нажалост, ова два једињења нису била селективна према ћелијама канцера.

Код четири хибрида из библиотеке КБ-3 3-фироценилтетрахидро-3H-тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-дион је у положају N-7 преко алкил линкера различите дужине повезан са 4-амино-7-хлорхинолинским језгром. Поред тога, да би се утврдио допринос 4-амино-7-хлорхинолина активности у ову библиотеку је укључено још седам деривата који у положају N-7 уместо 4-амино-7-хлорхинолинског дела садрже само алкил низ или неки сродни ароматични део, тј. 8-амино-6-метоксихинолин

(пореклом из примакина) или 1-аминонафтален. Једињења са алкил групама у N-7 бочном низу (**101-105**) и она са најкраћим линкерима између тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона и ароматичног прстена (од 2 и 3 C-атома, тј. **106**, **107**, **111**) су добијена у дијастеремерно чистом облику са релативном *cis* стереохемијом, док је у случају деривата са дужим линкерима (са 4 и 6 C-атома, тј. **108** и **109**) долазило до делимичне инверзије конфигурације хиралног центра α у односу на карбонилну групу, те су ови деривати добијени у облику нераздвојивих смеша дијастереомера. Кристалографском анализом једињења **101** је потврђено да је конфигурација хиралних центара код дијастеремерно чистих хибрида (3*R*,8*aR*). Антиинфламаторни потенцијал хибрида **103** и **107** и хлорохина (**1**) је процењен путем испитивања њиховог утицаја на ензим липооксигеназу. Том приликом је нађено да само хибриди, при концентрацији од 0,1 mM, испољавају слабо инхибиторно дејство (са. 10%).

Када је у питању антимикуробна активност деривати из библиотеке КБ-1 су се показали најефикаснијим у спречавању раста одабраних микроорганизама са MIC вредностима у интервалу од 0,006 до 2,97 $\mu\text{mol/ml}$, а следила су их једињења из библиотеке КБ-3 са нешто вишим MIC вредностима (од 0,02 до 4,0 $\mu\text{mol/ml}$). Најмање активним су се показала једињења из библиотеке КБ-2 (MIC = 0,44-4,73 $\mu\text{mol/ml}$) где је најактивнији био дериват **93-cis** и то према соју Грам-позитивне бактерије *B. cereus*.

Из библиотеке КБ-1 су се издвојили деривати **76**, **79**, **80** и **84** који су испољили јак и селективан антибактеријски ефекат и према референтним сојевима и изолатима две Грам позитивне бактерије, *S. aureus* и *B. cereus* (MIC = 0,006-0,023 $\mu\text{mol/ml}$). Сем у случају једног тестираног соја врсте *S. aureus*, хлорохин (**1**) је био прилично слабо инхибирао раст ове две бактерије (MIC = 2,91 $\mu\text{mol/ml}$). За скоро сва једињења ове библиотеке је нађена и јака антикандидална активност (MIC < 0,18 $\mu\text{mol/ml}$) и ова једињења су била 8 до 32 пута активнија према овој гљиви од полазног хлорохина (**1**). Стога је даље испитан механизам деловања за одабрана једињења у тестовима инхибиције формирања биофилма, одређивања криве раста и синергизма. При 2MIC концентрацији, **79** и **84** су деловали бактерицидно у експерименту одређивања криве раста, док су **80** и **84** значајно инхибирали формирање биофилма *S. aureus* сојева, чак и при субинхибиторној концентрацији. Хибриди **76**, **79**, **80** и **84** су испољили адитивни ефекат са стрептомицином у случају једног *S. aureus* соја, док је за комбинацију **78** са стрептомицином примећен синергистички ефекат при антистафилококалном деловању. Једињења **80** и **84** су испољила бољу кинетику убијања од нистатина при MIC/2

концентрацији у току прва 24 часа према *Candida* сојевима. Сва тестирана једињења из библиотеке КБ-1 су имала већи инхибиторни ефекат према формирању биофилма *S. albicans* изолата. Уочена антибиофилм активност **76**, **79** и **80** је била упоредива са нистатином у MIC/2, MIC и 2MIC концентрацијама. Већина тестираних хибрида из библиотеке КБ-1 (**75**, **76**, **78**, **79** и **80**), је, слично хлорохину (**1**), испољила побољшану антикандидалну активност у комбинацији са нистатином.

Када су у питању деривати из библиотеке КБ-3 посебно су се истакли хибриди са 4-амино-7-хлорхинолинском фармакофором (**106-109**; MIC = 0,02 до 2,90 $\mu\text{mol/ml}$), а као најактивније се издвојило једињење **107** које је, слично једињењима из библиотеке КБ-1, показало јак и селективан ефекат на раст два референта соја Грам-позитивних бактерија *S. aureus* (MIC = 0,02 $\mu\text{mol/ml}$) и *B. cereus* (MIC = 0,04 $\mu\text{mol/ml}$). Занимљиво је да су хлорохин (**1**) и аналогни дериват без хинолинског језгра (**102**) инхибирали раст ова два соја при много вишим концентрацијама (MIC $\geq$ 0,375 $\mu\text{mol/ml}$ и MIC $\geq$ 3,9 $\mu\text{mol/ml}$, редом). Ово наводи на закључак да уочена антимикуробна активност хибрида **107** представља резултат синергистичког деловања три фармакофоре: фeroцена, 4-амино-7-хлорхинолина и тијазоло[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона, које су обједињене у овом молекулу. Поред тога, антимикуробни ефекат једињења **106** (MIC = 0,04 $\mu\text{mol/ml}$) према соју Грам негативне бактерије *E. coli* био је упоредив са ефектом хлорохина (**1**) према сродном референтном соју *E. coli* (MIC = 0,023 $\mu\text{mol/ml}$).

Развој нових *multitarget* лекова је у фокусу научне заједнице у последњој деценији превасходно због њихове предности у третману болести које укључују више патофизиолошких процеса или код болести чији је третман отежан услед појаве резистенције на лекове, на пример попут маларије или канцера. Све у свему, резултати ове докторске дисертације су јасно показали да је могуће значајно побољшати имуномодулаторна и/или антимикуробна својства антимальарика хлорохина (**1**) његовим оплемењивањем са две додатне привилеговане структуре (фероценском јединицом и одабраним тија-аза хетероциклусом) јер је исто резултовало додатним механизмима деловања или променом у физичко-хемијским особинама полазног антимальарика. Поред тога, утврђено је да увођење фероценске јединице омогућава добијање оптички чистих аналога ALC67 (**6**), молекула са широким спектром антипролиферативног дејства, као и да се цитотоксичност добијених 2-фероценил-1,3-тиазолидин-4-карбоксилата може побољшати увођењем одговарајућег електрофила у положају N-3.

6. SUMMARY

In this doctoral dissertation, 36 new multitarget ferrocene (Fc) hybrids tethered with a small azathia heterocycle were synthesized and fully characterized. These compounds are grouped in 3 combinatorial libraries (CL).

i) CL-1 consists of twelve derivatives obtained by tethering 4-aminoquinoline pharmacophore with an Fc moiety and privileged 1,3-thiazolidin-4-one, 5-methyl 1,3-thiazolidin-4-one, and 1,3-thiazinan-4-one scaffolds;

ii) CL-2 contains thirteen *N*-acylated methyl (2-ferrocenyl-1,3-thiazolidine-4-carboxylate) hybrids; and

iii) CL-3 comprises eleven 3-ferrocenyltetrahydro-3*H*-thiazolo[3,4-*a*]pyrazine-5,8-diones with different alkyl and alkyl aryl substituents on N-7.

Two selected representatives (**98-cis** and **101**) were also crystallographically characterized. Most of the synthesized compounds were screened for their *in vitro* antimicrobial effect against a panel of bacteria and the fungus *C. albicans*. The *in vitro* anti-inflammatory potential was assessed for all compounds in CL-1 and selected representatives from CL-3. Additionally, hybrids belonging to CL-1 were tested for their *in vitro* antiparasmodial activity toward CQS (3D7) and CQR (Dd2) *P. falciparum* strains. The *in vitro* cytotoxicity of CL-2 hybrids was estimated as well using three different human cell lines obtained from ATCC: MRC-5 (human fetal lung fibroblasts), HepG2 (human liver carcinoma), and MDA-MB-231 (human breast cancer).

As previously mentioned, compounds from CL-1 represent chloroquine (**1**) derivatives upgraded with an Fc moiety and privileged azathia heterocyclic scaffolds. This small library was created by incorporating three different heterocycles and varying the distance between potential pharmacophores. Hybrid **83** was more potent than chloroquine (**1**) toward CQR Dd2 *P. falciparum* strain, while three additional hybrids (**73**, **74**, and **77**) caused a 50% inhibition of the growth of this *Plasmodium* strain at submicromolar concentrations. The BHIA assay results indicated that the inhibition of hemozoin formation was not critical to the antiparasmodial efficacy of these hybrids.

Both MTT and SRB assays showed that all CL-1 hybrids were non-cytotoxic toward rat peritoneal macrophages in concentrations lower than 10 and 5 μ M, respectively. Although structural modifications within CL-1 increased cytotoxicity compared to chloroquine (**1**), these modifications also substantially enhanced the inhibitory effect on NO production in both quiescent and LPS-stimulated macrophages. Moreover, **77**, **79-81**, and **85** met the criterion for $SI \geq 10$ recommended for compounds to be considered promising new therapeutic agents. In addition, hybrids from CL-1 did not act as NO scavengers but inhibited

NO synthesis, at least partially, by suppressing iNOS expression. Finally, most hybrids markedly increased macrophage adherence capacity at non-cytotoxic concentrations.

For CL-2, compounds were designed based on the lead compound ALC67 (**6**). The design process involved first replacing the phenyl group with an Fc unit and then introducing various substituents at N-3 to mimic, reduce, or eliminate the electrophilicity of the propiolamide side chain in ALC67 (**6**). The introduction of the Fc unit increased the stereoselectivity of the *N*-acylation step toward the *cis*-diastereoisomer. This enabled the determination of *in vitro* antiproliferative and antimicrobial activities of optically pure compounds, while this was not the case with the lead literature compound. Optically pure compounds are generally considered more convenient for use in biological activity assays, since only one stereoisomer may produce the desired therapeutic activity, while the other may be inactive or, in the worst case, produce side or toxic effects. Most of the derivatives existed in the solution as a mixture of two rotamers with a slight preference for the *syn*-C–N rotamer. In solid-state, 1,3-thiazolidine ring in **98-cis** tended to adopt 5T_4 twisted envelope conformation. Compounds from CL-2 manifested promising *in vitro* cytotoxicity toward used cancer cell lines. Specifically, derivatives **93-cis** and **94** (containing *N*-chloroacetyl and *N*-bromoacetyl groups, respectively) inhibited the proliferation of hepatocellular (Hep G2) cancer cells in the low micromolar range similar to the lead compound, ALC67 (**6**), and the positive control, cisplatin. Unfortunately, **93-cis** and **94** did not display the ability to selectively target cancer cells.

In four hybrids belonging to CL-3, the 4-amino-7-chloroquinoline pharmacophore was attached via alkyl linkers of varying length to the N-7 position of 3-ferrocenyltetrahydro-3*H*-thiazolo[3,4-*a*]pyrazine-5,8-dione. To assess the contribution of the 4-amino-7-chloroquinoline moiety to biological activity, seven additional derivatives were synthesized. These include compounds with only an alkyl side chain or another related aromatic moiety, i.e. 8-amino-6-methoxyquinoline (derived from primaquine (**15**)) or 1-aminonaphthalene, at N-7 position. Compounds with an alkyl side chain (**101-105**) and those with the shortest linkers between thiazolo[3,4-*a*]pyrazine-5,8-dione and aromatic ring (2 or 3 C-atoms, i.e. **106**, **107**, and **111**) were obtained as pure diastereomers with relative *cis* stereochemistry. On the other hand, derivatives with longer linkers (4 or 6 carbon atoms, e.g., **108** and **109**) exhibited partial inversion of the chiral center α to the carbonyl group, resulting in inseparable diastereomeric mixtures. Crystallographic analysis of compound **101** confirmed that the configuration of chiral atoms in pure hybrids is (3*R*,8*aR*). The anti-inflammatory potential of hybrids **103** and **107**, alongside chloroquine (**1**), was evaluated based on their

effects on the enzyme lipoxigenase. The results showed that only hybrids showed a mild inhibitory effect, approximately 10%, at a concentration of 0.1 mM.

Regarding antimicrobial activity, hybrids from CL-1 were the most effective, with MIC values in the range from 0.006 to 2.97 $\mu\text{mol/ml}$. These were followed by compounds from CL-3, which exhibited slightly higher MIC values (from 0.02 to 4.0 $\mu\text{mol/ml}$). The least active were compounds from CL-2 (MIC = 0.44-4.73 $\mu\text{mol/ml}$) among which only **93-cis** showed notable activity against Gram-positive bacteria *B. cereus*.

Four hybrids (**76**, **79**, **80**, and **84**) displayed strong and selective antibacterial activity against both reference strains and isolates of two Gram-positive bacteria, *S. aureus* and *B. cereus* (MIC = 0.006-0.023 $\mu\text{mol/ml}$). In contrast, chloroquine (**1**) showed negligible effects on these two Gram-positive bacteria (MIC = 2.91 $\mu\text{mol/ml}$). Almost all hybrids showed a noticeable anticandidal effect (MIC < 0.18 $\mu\text{mol/ml}$) and these compounds had an 8 to 32-fold increase in activity in comparison to chloroquine (**1**). To further explore their mechanisms of action, selected compounds were evaluated in biofilm-forming inhibitory activity, time-kill, and checkerboard assays. At double MIC, **79** and **84** showed a bactericidal effect in a time-kill assay, while **80** and **84** remarkably inhibited the biofilm formation of two *S. aureus* strains, even at subinhibitory concentrations. Hybrids **76**, **79**, **80**, and **84** displayed additive effects when combined with streptomycin against one *S. aureus* strain. Notably, a combination of **78** and streptomycin demonstrated synergy in their antistaphylococcal action. Compounds **80** and **84** showed faster-killing kinetics than nystatin at MIC/2 during the first 24 h against *Candida* strains. All tested compounds from CL-1 had a greater inhibitory effect on the biofilm formation of stool isolate *C. albicans*. The observed anti-biofilm activity of **76**, **79**, and **80** was comparable to nystatin at MIC/2, MIC, and 2MIC. Most of the tested hybrids from CL-1 (**75**, **76**, **78**, **79**, and **80**), similar to chloroquine (**1**), showed enhanced anticandidal activity in combination with nystatin.

In CL-3, the most efficient antimicrobial agents were hybrids with 4-amino-7-chloroquinoline pharmacophore (**106-109**; MIC = 0.02- 2.90 $\mu\text{mol/ml}$). Compound **107**, similar to compounds from CL-1, showed strong and selective antibacterial activity against reference strains of two Gram-positive bacteria, *S. aureus* (MIC = 0.02 $\mu\text{mol/ml}$) and *B. cereus* (MIC = 0.04 $\mu\text{mol/ml}$). In contrast, both chloroquine (**1**) and an analogous derivative lacking the quinoline scaffold (**102**) inhibited the growth of these two strains at considerably higher MIC values (MIC $\geq$ 0.375 $\mu\text{mol/ml}$ and MIC $\geq$ 3.9 $\mu\text{mol/ml}$, respectively). This

indicates that the enhanced antimicrobial activity of **107** may be due to the synergistic effects of its three pharmacophores: ferrocene, 4-amino-7-chloroquinoline, and thiazolo[3,4-*a*]pyrazine-5,8-dione. In addition, the antimicrobial activity of compound **106** (MIC = 0.04 $\mu\text{mol/ml}$) toward Gram-negative bacteria *E. coli* was comparable to the effect of chloroquine (**1**) against another related reference *E. coli* strain (MIC = 0.023 $\mu\text{mol/ml}$).

Multitarget drugs have garnered significant scientific interest over the past decade due to their potential advantages in treating diseases with complex pathophysiological processes and those associated with drug resistance, such as malaria and cancer. Overall, this doctoral dissertation demonstrates that the immunomodulatory and/or antimicrobial properties of the antimalarial drug chloroquine (**1**) can be significantly enhanced by conjugating it with two additional privileged scaffolds: the ferrocene (Fc) unit and various azathia heterocyclic scaffolds. These modifications imparted new mechanisms of action and/or altered the physicochemical properties of the original antimalarial compound. Furthermore, the introduction of the Fc unit enabled the synthesis of optically pure analogs of ALC67 (**6**), a molecule known for its broad antiproliferative effects. The study also revealed that the cytotoxicity of the 2-ferrocenyl-1,3-thiazolidine-4-carboxylate compounds could be optimized by incorporating suitable electrophiles into the *N*-acyl side chain.

7. ЛИТЕРАТУРА

- [1] L. Costantino, D. Barlocco. *Curr. Med. Chem.* 13 (2006) 65–85.
- [2] J. Jampilek. *Molecules* 24 (2019) 3839.
- [3] A.K. Jain, A. Vaidya, V. Ravichandran, S.K. Kashaw, R.K. Agrawal. *Bioorgan. Med. Chem.* 20 (2012) 3378–3395.
- [4] Y. Lu, Z. Wang, C-M. Li, J. Chen, J.T. Dalton, W. Li, D.D. Miller. *Bioorgan. Med. Chem.* 18 (2010) 477–495.
- [5] S.K. Manjal, R. Kaur, R. Bhatia, K. Kumar, V. Singh, R. Shankar, R. Kaur, R.K. Rawal. *Bioorg. Chem.* 75 (2017) 406–423.
- [6] F.E. Önen-Bayram, K. Buran, I. Durmaz, B. Berk, R. Cetin-Atalay. *MedChemComm* 6 (2015) 90–93.
- [7] A.A. Hassan, S. Bräse, A.A. Aly, H.N. *Molecules* 25 (2020) 5610.
- [8] A. Talevi. *Front. Pharmacol.* 6 (2015) 205.
- [9] F.W. Muregi, A. Ishih. *Drug Develop. Res.* 71 (2010) 20–32.
- [10] J.M. Aksić, M.S. Genčić, N.S. Radulović. *Facta Universitatis, Series: Physics, Chemistry and Technology* 18 (2020) 1–37.
- [11] M. Patra, G. Gasser. *Nat. Rev. Chem.* 1 (2017) 0066.
- [12] D.C. Gowda, X. Wu. *Front. Pharmacol.* 9 (2018) 3006.
- [13] J. Church, K. Maitland. *BMC Med.* 12 (2014) 31.
- [14] A.A. Al-Bari. *J. Antimicrob. Chemoth.* 10 (2015) 1608–1621.
- [15] F.E. Önen-Bayram, I. Durmaz, D. Scherman, J. Herscovici, R. Cetin-Atalay. *Bioorgan. Med. Chem.* 20 (2012) 5094–5102.
- [16] K.V.I. Rolston. *Infect. Dis. Ther.* 6 (2017) 69–83.
- [17] P. Borowiecki, P. Wińska, M. Bretner, M. Gizińska, M. Koronkiewicz, M. Staniszevska. *Eur. J. Med. Chem.* 150 (2018) 307–333.
- [18] V. Raja Solomon, W. Haq, K. Srivastava, S.K. Puri, S.B. Katti. *J. Med. Chem.* 50 (2007) 394–398.
- [19] T.M.V.D. Pinho e Melo, S.M.M. Lopes, A.M.d'A. Rocha Gonsalves, J.A.Paixão, A.M. Beja, M.R. Silva. *Heterocycles* 68 (2006) 679–686.
- [20] M.B. Martins, I. Carvalho. *Tetrahedron* 63 (2007) 9923–9932.

- [21] S.I. Grizik, E.S. Krichevsky, Y.F. Kuleshova, N.P. Solovjeva, N.B. Grigoryev, V.I. Levina, I.F. Kerbnikova, G.Y. Shvarts, V.G. Granik. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal* 27 (1993) 17–22.
- [22] N. Margoum, P. Tronche, P. Bastide, J. Bastide, C. Rubat. *Eur. J. Med. Chem.* 19 (1984) 415–419.
- [23] P.F. Salas, C. Herrmann, C. Orvig. *Chem. Rev.* 113 (2013) 3450.
- [24] M. Mushtaque, M. Shahjahan. *Eur. J. Med. Chem.* 90 (2015) 280–295.
- [25] I. Law, K.F. Ilett, L.P. Hackett, M. Page-Sharp, F. Baiwog, S. Gomorrai, I. Mueller, H.A. Karunajeewa, T.M.E Davis. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 65 (2008) 674–679.
- [26] P.A. Winstanley, A.M. Breckenridge. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 81 (1987) 619.
- [27] Y. Hu, C. Gao, S. Zhang, L. Xu, Z. Xu, L. Feng, X. Wu, F. Zhao. *Eur. J. Med. Chem.* 139 (2017) 22–47.
- [28] G.P. Gómez-Pérez, R. Van Bruggen, M.P. Grobusch, C. Dobaño. *Malaria J.* 13 (2014) 335.
- [29] J. Sandlund, P. Naucner, S. Dashti, A. Shokri, S. Eriksson, M. Hjertqvist, L. Karlsson, T. Capraru, A. Färnert. *J. Clin. Microbiol.* 51 (2013) 15–21.
- [30] M.S. Traoré, M.A. Baldé, A. Camara, E.S. Baldé, S. Diané, M.S. Diallo, A. Keita, P. Cos. L. Maes, L. Pieters, A.M. Baldé. *J. Ethnopharmacol.* 174 (2015) 576–581.
- [31] P.M. Abena, E.H. Decloedt, E. Bottieau, F. Suleman, P. Adejumo, N.A. Sam-Agudu, J.J.M. TamFum, M. Seydi, S.P. Eholie, E.J. Mills, O.K.A. Zumla, J.B. Nachegaet. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 102 (2020) 1184–1188.
- [32] A.C. Aguiar, E. Murce, W.A. Cortopassi, A.S. Pimentel, M.M. Al-meida, D.C. Barros, J.S. Guedes, M.R. Meneghetti, A.U. Kret-tli. *Int. J. Parasit. Drug* 8 (2018) 459–464.
- [33] Y. Li, C. de Kock, P.J. Smith, K. Chibale, G.S. Smith. *Organometallics* 33 (2014) 4345–4348.
- [34] R. Wang, H. Chen, W. Yan, M. Zheng, T. Zhang, Y. Zhang. *Eur. J. Med. Chem.* 190 (2020) 112109.
- [35] J.M. Quirke. *Front. Pharmacol.* 8 (2017) 620.
- [36] N. Tandon, V. Luxami, R. Tandon, K. Paul. *Asian J. Org. Chem.* 9 (2020) 1432–1465.
- [37] U. Schatzschneider, N. Metzler-Nolte. *Angew. Chem. Int. Ed.* 45 (2006) 1504–1507.

- [38] G. Wilkinson, M. Rosenblum, M.C. Whiting, R.B. Woodward. *J. Am. Chem. Soc.* 74 (1952) 1–10.
- [39] N. Metzler-Nolte, M. Salmain, in *Ferrocenes: Ligands, Materials and Biomolecules* (Ed.: P. Štěpnička), John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, England, 2008, pp. 499–639.
- [40] A.N. Nesmeyanov, L.G. Bogomolova, V. Viltcheskaya. *Ferrocene*. US Patent 3,563,119 (1971).
- [41] S. Top, J. Tang, A. Vessières, D. Carrez, C. Provot, G. Jaouen. *Chem. Commun.* 8 (1996) 955–956.
- [42] C. Biot, G. Glorian, L.A. Maciejewski, J. Brocard. *J. Med. Chem.* 40 (1997) 3715–3718.
- [43] G. Jaouen, A. Vessières, S. Top. *Chem. Soc. Rev.* 44 (2015) 8802–8817.
- [44] C. Biot, F. Nosten, L. Fraisse, D. Ter-Minassian, J. Khalife, D. Dive. *Parasite* 18 (2011) 207–214.
- [45] N. Chavain, C. Biot. *Curr. Med. Chem.* 17 (2010) 2729.
- [46] F. Dubar, C. Biot, in *Bioorganometallic Chemistry: Applications in DrugDiscovery, Biocatalysis, and Imaging* (Eds.: G. Jaouen, M. Salmain), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.KGaA., Weinheim, Germany, 2015, pp. 141–164.
- [47] G. Mombo-Ngoma, C. Supan, M.P. Dal-Bianco, M.A. Missinou, P. Matsiegui, C.L. Ospina Salazar, S. Issifou, D. Ter-Minassian, M. Ramharter, M. Kombila, P.G. Kremsner, B. Lell. *Malar. J.* 10 (2011) 53.
- [48] F. Dubar, J. Khalife, J. Brocard, D. Dive, C. Biot. *Molecules* 13 (2008) 2900.
- [49] F. Dubar, T.J. Egan, B. Pradines, D. Kuter, K.K. Ncokazi, D. Forge, J-F. Paul, C. Pierrot, H. Kalamou, J. Khalife, E. Buisine, C. Rogier, H. Vezin, I. Forfar, C. Slomianny, X. Trivelli, S. Kapishnikov, L. Leiserowitz, D. Dive, C. Biot. *ACS Chem. Biol.* 6 (2011) 275–287.
- [50] D. Dive, C. Biot. *Curr. Top. Med. Chem.* 14 (2014) 1684–1692.
- [51] C. Biot, D. Taramelli, I. Forfar-Bares, L.A. Maciejewski, M. Boyce, G. Nowogrocki, J.S. Brocard, N. Basilico, P. Oliaro, T.J. Egan. *Mol. Pharm.* 2 (2005) 185–193.
- [52] F. Dubar, C. Slomianny, J. Khalife, D. Dive, H. Kalamou, Y. Guérardel, P. Grellier, C. Biot. *Angew. Chem. Int. Ed.* 52 (2013) 7690–7693.
- [53] D. Hamels, P.M. Dansette, E.A. Hillard, S. Top, A. Vessières, P. Herson, G. Jaouen, D. Mansuy. *Angew. Chem. Int. Ed.* 48 (2009) 9124–9126.

- [54] E.A. Hillard, A. Vessières, S. Top, P. Pigeon, K. Kowalski, M. Huch , G. Jaouen. *J. Organomet. Chem.* 692 (2007) 1315–1326.
- [55] P. Pigeon, S. Top, A. Vessières, M. Huch , E.A. Hillard, E. Salomon, G. Jaouen. *J. Med. Chem.* 48 (2005) 2814–2821.
- [56] A. Vessières, C. Corbet, J.M. Heldt, N. Lories, N. Jouy, I. La os, G. Leclercq, G. Jaouen, R. Toillon. *J. Inorg. Biochem.* 104 (2010) 503–511.
- [57] E. Hillard, A. Vessieres, L. Thouin, G. Jaouen, C. Amatore. *Angew. Chem. Int. Ed.* 45 (2006) 285–290.
- [58] S. Vandekerckhoe, M. D’hooghe. *Bioorg. Med. Chem.* 23 (2015) 5098–5119.
- [59] C. Biot, L. Delhaes, C.M. N’Diaye, L.A. Maciejewski, D. Camus, D. Dive, J.S. Brocard. *Bioorg. Med. Chem.* 7 (1999) 2843–2847.
- [60] N.I. Wenzel, N. Chavain, Y. Wang, W. Friebolin, L. Maes, B. Pradines, M. Lanzer, V. Yardley, R. Brun, C. Herold-Mende, C. Biot, K. Toth, E. Davioud-Charvet. *J. Med. Chem.* 53 (2010) 3214–3226.
- [61] C. Biot, W. Daher, C. M. Ndiaye, P. Melnyk, B. Pradines, N. Chavain, A. Pellet, L. Fraisse, L. Pelinski, C. Jarry, J. Brocard, J. Khalife, I. Forfar-Bares, D. Dives. *J. Med. Chem.* 49 (2006) 4707–4714.
- [62] G. Mwande-Maguene, J.B. Lekana-Douki, E. Mouray, T. Bousquet, P. Grellier, S. Pellegrini, F.S.T. Ndouo, J. Lebibi, L. Pelinski. *Eur. J. Med. Chem.* 90 (2015) 519–525.
- [63] D.D. N’Da, P.J. Smith. *Med. Chem. Res.* 23 (2014) 1214–1224.
- [64] C. A. Molyneaux, M. Krugliak, H. Ginsburg, K. Chibale. *Biochem. Pharmacol.* 71 (2005) 61–68.
- [65] J. Matos, F.P. da Cruz, E. Cabrita, J. Gut, F. Nogueira, V.E. do Rosario, R. Moreira, P.J. Rosenthal, M. Prudencio, P. Gomes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 56 (2012) 1564–1570.
- [66] C. Biot, L. Velhaes, L.A. Maciejewski, M. Mortuaire, D. Camus, D. Dive, J.S. Brocard. *Eur. J. Med. Chem.* 35 (2000) 707–714.
- [67] M.A.L. Blackie, P. Beagley, S.L. Croft, H. Kendrick, J.R. Moss, K. Chibale. *Bioorg. Med. Chem.* 15 (2007) 6510–6516.
- [68] J. Xiao, Z. Sun, F. Kong, F. Gao. *Eur. J. Med. Chem.* 185 (2020) 111791.

- [69] Y.F. Dai, W.W. Zhou, J. Meng, X.L. Du, Y.P. Sui, L. Dai, P.Q. Wang, H.R. Huo, F. Sui. *Med. Chem. Res.* 26 (2017) 867–880.
- [70] T. Frohlich, A.C. Karagoz, C. Reiter, S.B. Tsogoeva. *J. Med. Chem.* 59 (2016) 7360–7388.
- [71] X.F. Wang, Y.X. Dong, S. Wittlin, S.A. Charman, F.C.K. Chiu, J. Chollet, K. Katneni, J. Mannila, J. Morizzi, E. Ryan, C. Scheurer, J. Steuten, J.S. Tomas, C. Snyder, J.L. Vennerstrom. *J. Med. Chem.* 56 (2013) 2547–2555.
- [72] L. Delhaes, C. Biot, L. Berry, L.A. Maciejewski, D. Camus, J.S. Brocard, D. Dive. *Bioorg. Med. Chem.* 8 (2000) 2739–2745.
- [73] C. Reiter, T. Frohlich, M. Zeino, M. Marschall, H. Bahsi, M. Leidenberger, O. Friedrich, B. Kappes, F. Hampel, T. Efferth, S.B. Tsogoeva. *Eur. J. Med. Chem.* 97 (2015) 164–172.
- [74] C. Lange, D. Coertzen, F.J. Smit, J.F. Wentzel, H.N. Wong, L.M. Birkholtz, R.K. Haynes, D.D. N'Da. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 28 (2018) 289–292.
- [75] C. Lange, D. Coertzen, F.J. Smit, J.F. Wentzel, H.N. Wong, L.M. Birkholtz, R.K. Haynes, D.D. N'Da. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 28 (2018) 3161–3163.
- [76] N. Kerru, L. Gummidi, S. Maddila, K.K. Gangu, S.B. Jonnalagadda. *Molecules* 25 (2020) 1909.
- [77] A. Gomtsyan. *Chem. Heterocycl. Com+* 48 (2012) 7–10.
- [78] B.L. Dick, A. Patel, S.M. Cohen. *Chem. Sci.* 11 (2020) 6907–6914.
- [79] R. Gupta, B. Gabrielsen, S.M. Ferguson. *Curr. Drug Discovery Technol.* 2 (2005) 203–219.
- [80] P.N. Kalaria, S.C. Karad, D.K. Raval. *Eur. J. Med. Chem.* 158 (2018) 917–936.
- [81] J. Howarth, K. Hanlon. *Tetrahedron Lett.* 42 (2001) 751–754.
- [82] K. Kumar, B. Pradines, M. Madamet, R. Amalvict, N. Benoit, V. Kumar. *Eur. J. Med. Chem.* 87 (2014) 801–804.
- [83] C.L. Zhuang, W. Zhang, C.Q. Sheng, W.N. Zhang, C.G. Xing, Z.Y. Miao. *Chem. Rev.* 117 (2017) 7762–7810.
- [84] X. Wu, P. Wilairat, M.L. Go. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 12 (2002) 2299–2302.
- [85] F. Dubar, G. Anquetin, B. Pradines, D. Dive, J. Khalife, C. Biot. *J. Med. Chem.* 52 (2009) 7954–7957.

- [86] J. Guillon, S. Moreau, E. Mouray, V. Sinou, I. Forfar, S. Belisle-Fabre, V. Desplat, P. Millet, D. Parzy, C. Jarry, P. Grellier. *Bioorg. Med. Chem.* 16 (2008) 9133–9144.
- [87] T. Itoh, S. Shirakami, N. Ishida, Y. Yamashita, T. Yoshida, H.S. Kim, Y. Wataya. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 10 (2000) 1657–1659.
- [88] C.L. Ferreira, C.B. Ewart, C.A. Barta, S. Little, V. Yardley, C. Martins, E. Polishchuk, P.J. Smith, J.R. Moss, M. Merkel, M.J. Adam, C. Orvig. *Inorg. Chem.* 45 (2006) 8414–8422.
- [89] A. Baramée, A. Coppin, M. Mortuaire, L. Pelinski, S. Tomavo, J. Brocard. *Bioorg. Med. Chem.* 14 (2006) 1294–1302.
- [90] P.M. Garcia-Barrantes, G.V. Lamoureux, A.L. Perez, R.N. Garcia-Sanchez, A.R. Martinez, A.S. Feliciano. *Eur. J. Med. Chem.* 70 (2013) 548–557.
- [91] M. Mbaba, A.N. Mabhula, N. Boel, A.L. Edkins, M. Isaacs, H.C. Hoppe, S.D. Khanye. *J. Inorg. Biochem.* 172 (2017) 88–93.
- [92] K. Kumar, B. Pradines, M. Madamet, R. Amalvict, V. Kumar. *Eur. J. Med. Chem.* 86 (2014) 113–121.
- [93] J. Quirante, F. Dubar, A. Gonzalez, C. Lopez, M. Cascante, R. Cortes, I. Forfar, B. Pradines, C. Biot. *J. Organomet. Chem.* 696 (2011) 1011–1017.
- [94] G. Mwande-Maguene, J. Jakhlal, J.B. Lakana-Douki, E. Mouray, T. Bousquet, S. Pellegrini, P. Grellier, F.S.T. Ndouo, J. Lebibi, L. Pelinski. *New J. Chem.* 35 (2011) 2412–2415.
- [95] P. Sijongesonke, B.A. Aderibigbe. *Molecules* 24 (2019) 3604.
- [96] B.A. Aderibigbe, H.E. Mukaya, in *Nano-and Microscale Drug Delivery Systems* (Ed.: A.M. Grumezescu), Elsevier, Johannesburg, South Africa, 2017; pp. 33–48.
- [97] M. Görmen, P. Pigeon, S. Top, E.A. Hillard, M. Huche, C.G. Hartinger, F. de Montigny, M.A. Plamont, A. Vessieres, G. Jaouen. *ChemMedChem* 5 (2010) 2039–2050.
- [98] D. Plazuk, S. Top, A. Vessieres, M. Plamont, M. Huche, J. Zakrzewski, A. Makal, K. Wozniak, G. Jaouen. *Dalton Trans.* 39 (2010) 7444–7450.
- [99] P. Pigeon, Y. Wang, S. Top, F. Najlaoui, M.C.G. Alvarez, J. Bignon, M.J. McGlinchey, G. Jaouen. *J. Med. Chem.* 60 (2017) 8358–8368.
- [100] J.L. Delgado, C.M. Hsieh, N.L. Chan, H. Hiasa. *Biochem. J.* 475 (2018) 373–398.

- [101] T. Stringer, C. De Kock, H. Guzgay, J. Okombo, J. Liu, S. Kanetake, J. Kim, C. Tam, L.W. Cheng, P.J. Smith, D.T. Hendricks, K.M. Land, T.J. Egan, G.S. Smith. *Dalton Trans.* 45 (2016) 13415–13426.
- [102] A. Podolski-Renic, S. Bosze, J. Dinic, L. Kocsis, F. Hudecz, A. Csampai, M. Pesic. *Metallomics* 9 (2017) 1132–1141.
- [103] I. Ali, N. Mohammad, H.Y. Aboul-Enein. *MedChemComm* 8 (2017) 1742–1773.
- [104] T.S. Hafez, S.A. Osman, H.A.A. Yosef, A.S.A. El-All, A.S. Hassan, A.A. El-Sawy, M.M. Abdallah, M. Youns. *Sci. Pharm.* 81 (2013) 339–357.
- [105] P. Bansode, P. Patil, P. Choudhari, M. Bhatia, A. Birajdar, I. Somasundaram, G. Rashinkar. *J. Mol. Liq.* 290 (2019) 111182.
- [106] J.K. Muenzner, B. Biersack, A. Albrecht, T. Rehm, U. Lacher, W. Milius, A. Casini, J.J. Zhang, I. Ott, V. Brabec, O. Stuchlikova, I.C. Andronache, L. Kaps, D. Schuppan, R. Schobert. *Chem. Eur J.* 22 (2016) 18953–18962.
- [107] Y. Wan, Y. Li, C. Yan, M. Yan, Z. Tang. *Eur. J. Med. Chem.* 183 (2019) 111691.
- [108] J.K. Muenzner, A. Ahmad, M. Rothmund, S. Schrufer, S. Padhye, F.H. Sarkar, R. Schobert, B. Biersack. *Appl. Organomet. Chem.* 30 (2016) 441445.
- [109] D. Plazuk, A. Wieczorek, W.M. Ciszewski, K. Kowalczyk, A. Blauz, S. Pawledzio, A. Makal, C. Eurtivong, H.J. Arabshahi, J. Reynisson, C.G. Hartinger, B. Rychlik. *ChemMedChem* 12 (2017) 1882–1892.
- [110] M.M. Abd-Elzaher, A.A. Labib, H.A. Mousa, S.A. Moistafa, M.M. Abdallah. *Res. Chem. Intermed.* 40 (2014) 1923–1936.
- [111] W.E. Butler, P.N. Kelly, A.G. Harry, R. Tiedt, B. White, R. Devery, P.T.M. Kenny. *Appl. Organomet. Chem.* 27 (2013) 361–365.
- [112] M. Kovacevic, I. Kodrin, M. Cetina, I. Kmetic, T. Murati, M.C. Semencic, S. Roca, L. Barisic. *Dalton Trans.* 44 (2015) 16405–16420.
- [113] P. Marzenell, H. Hagen, L. Sellner, T. Zenz, R. Grinyte, V. Pavlov, S. Daum, A. Mokhir. *J. Med. Chem.* 56 (2013) 6935–6944.
- [114] S. Daum, V.F. Chekun, I.N. Todor, N.Y. Lukianova, Y. Lukianova, Y.V. Shvets, L. Sellner, K. Putzker, J. Lewis, T. Zenz, I.A.M. de Graaf, G.M.M. Groothuis, Gasini, O. Zozulia, F. Hampel, A. Mokhir. *J. Med. Chem.* 58 (2015) 2015–2024.
- [115] B. Peres, R. Nasr, M. Zarioh, F. Lecerf-Schmidt, A.D. Pietro, H. Baubichon-Cortay, A. Boumendjel. *Eur. J. Med. Chem.* 130 (2017) 346–353.

- [116] Z. Ratković, Z.D. Juranić, T. Stanojković, D. Manojlović, R.D. Vukićević, N. Radulović, M.D. Joksović. *Bioorg. Chem.* 38 (2010) 26–32.
- [117] J. Spencer, J. Amin, M. Wang, G. Packham, S.S.S. Alwi, G.J. Tizzard, S.J. Coles, R.M. Paranal, J.E. Bradner, T.D. Heightman. *ACS Med. Chem. Lett.* 2 (2011) 358–362.
- [118] M. Librizzi, A. Longo, R. Chiarelli, J. Amin, J. Spencer, C. Luparello. *Chem. Res. Toxicol.* 25 (2012) 2608–2616.
- [119] V. Raičević, N. Radulović, M. Sakač. *Eur. J. Inorg. Chem.* 2022 (2022) 40–46.
- [120] A. Hottin, A. Scandolera, L. Duca, D.W. Wright, G.J. Davies. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 26 (2016) 1546–1549.
- [121] S. Panaka, R. Trivedi, K. Jaipal, L. Giribabu, P. Sujitha, C.G. Kumar, B. Sridhar. *J. Organomet. Chem.* 813 (2016) 125–130.
- [122] D. Plazuk, J. Zakrzewski, M. Salmain, A. Llauz, B. Rychilk, P. Strzelczyk, A. Bujacz, G. Bujacz. *Organomet.* 32 (2013) 5774–5783.
- [123] Y. Wang, B. Sun, B. Han, M. Hu. *RSC Adv.* 8 (2018) 27740–27745.
- [124] C.M. Sandra, K. Elena, F.A. Marcos, M.K. Elena, R.R. Arturo, R.A. Teresa, M.C. Marcos. *Anti Canc. Agents Med. Chem.* 14 (2014) 459–465.
- [125] B.S. Ludwig, J.D.G. Correia, F.E. Kühn. *Coordin. Chem. Rev.* 396 (2019) 22–48.
- [126] T. Holland, V.G. Fowler Jr, S.A. Shelburne III. *Clin. Infect. Dis.* 59 (2014) 331–334.
- [127] K. Kowalski. *Coord. Chem. Rev.* 366 (2018) 91–108.
- [128] M. Patra, G. Gasser, N. Metzler-Nolte. *Dalton Trans.* 41 (2012) 6350–6358.
- [129] E.I. Edwards, R. Epton, G. Marr. *J. Organomet. Chem.* 85 (1975) C23–C25.
- [130] J. Skiba, A. Rajnisz, K.N. de Oliveira, I. Ott, J. Solecka, K. Kowalski. *Eur. J. Med. Chem.* 57 (2012) 234–239.
- [131] B. Long, C. He, Y. Yang, J. Xiang. *Eur. J. Med. Chem.* 45 (2010) 1181–1188.
- [132] M. Patra, G. Gasser, M. Wenzel, K. Merz, J.E. Bandow, N. Metzler-Nolte. *Organometallics* 29 (2010) 4312–4319.
- [133] C. Biot, N. François, L. Maciejewski, J. Brocard, D. Poulain. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 10 (2000) 839–841.
- [134] H. Van Den Dool, P.D. Kratz. *J. Chromatogr. A.* 11 (1963) 463–471.
- [135] Rigaku Oxford Diffraction, *CrysAlisPro Software system*, Rigaku Corporation, Wroclaw, Poland, 2022.

- [136] G.M. Sheldrick. *Acta Crystallogr. A* 71 (2015) 3–8.
- [137] G.M. Sheldrick. *Acta Crystallogr. C* 71 (2015) 3–8.
- [138] C.B. Hübschle, G.M. Sheldrick, B. Dittrich. *J. Appl. Crystallogr.* 44 (2011) 1281–1284.
- [139] A.L. Spek. *Acta Crystallogr. D* 65 (2009) 148–155.
- [140] C.R. Groom, I.J. Bruno, M.P. Lightfoot, S.C. Ward. *Acta Crystallogr. B* 72 (2016) 171–179.
- [141] I.J. Bruno, J.C. Cole, M. Kessler, J. Luo, W.D. Sam Motherwell, L.H. Purkis, B.R. Smith, R. Taylor, R.I. Cooper, S.E. Harris, A. Guy Orpen. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 44 (2004) 2133–2144.
- [142] C.F. Macrae, I.J. Bruno, J.A. Chisholm, P.R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, L. Rodriguez-Monge, R. Taylor, J. van de Streek, P.A. Wood. *J. Appl. Crystallogr.* 41 (2008) 466–470.
- [143] J. Tang, X.F. Liu, L.Y. Zhang, X.L. Xu, P.R. Zhan. *Synth. Commun.* 30 (2000) 1657–1660.
- [144] J.K. Natarajan, J.N. Alumasa, K. Yearick, K.A. Ekoue-Kovi, L.B. Casabianca, A.C. de Dios, C. Roepe, P.D. Roepe. *J. Med. Chem.* 51 (2008) 3466–3479.
- [145] V. Kovač, A. Višnjevac, V. Rapić, B. Kojić-Prodić. *J. Mol. Struct.* 687 (2000) 107–110.
- [146] Z. Stojanović-Radić, M. Pejčić, N. Joković, M. Jokanović, M. Ivić, B. Šojić, S. Škaljac, P. Stojanović, T. Mihajilov-Krstev. *Food Control* 90 (2018) 332–343.
- [147] A. Bouyahya, J. Abrini, N. Dakka, Y. Bakri. *J. Pharm. Anal.* 9 (2019) 301–311.
- [148] L. Zhao, H. Zhang, T. Hao, S. Li. *Food Chem.* 187 (2015) 370–377.
- [149] Z. Stojanović-Radić, M. Pejčić, N. Stojanović, J. Sharifi-Rad, N. Stanković. *Cell Mol. Biol.* 62 (2016) 27–33.
- [150] F. Silva, S. Ferreira, A. Duarte, D.I. Mendona, F.C. Domingues. *Phytomedicine* 19 (2011) 42–47.
- [151] R.D. de Castro, T.M.P.A. de Souza, L.M.D. Bezerra, G.L.S. Ferreira, E.M.M. de Brito Costa, A.L. Cavalcanti. *BMC Complem. Altern. M.* 15 (2015) 417.
- [152] M.R. Đorđević, N.S. Radulović, N.M. Stojanović, P.I. Randelović. *Food Chem. Toxicol.* 125 (2019) 150–160.

- [153] M.S. Genčić, J.M. Aksić, M.Z. Živković Stošić, P.J. Randjelović, N.M. Stojanović, Z.Z. Stojanović-Radić, N.S. Radulović. *Food Chem. Toxicol.* 158 (2021) 112666.
- [154] W. Voigt. *Methods Mol. Med.* 110 (2005) 39–48.
- [155] H. Ruetten, C. Thiemermann. *Biochem. Bioph. Res. Co.* 225 (1996) 525–530.
- [156] F.M. Awah, A.W. Verla. *J. Med. Plants Res.* 4 (2010) 2479–2487.
- [157] W. Trager, J.B. Jensen. *Science* 193 (1976) 673–675.
- [158] M.T. Makler, J.M. Ries, J.A. Williams, J.E. Bancroft, R.C. Piper, B.L. Gibbins, D.J. Hinrichs. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 48 (1993) 739–741.
- [159] S. Parapini, N. Basilico, E. Pasini, T.J. Egan, P. Olliaro, D. Tara-melli, D. Monti. *Exp. Parasitol.* 96 (2000) 249–256.
- [160] M.B. Hansen, S.E. Nielsen, K. Berg K. *J. Immunol. Methods* 119 (1989) 203–210.
- [161] F.A. Ruiz, R.N. García-Sánchez, S.V. Estupiñan, A. Gómez-Barrio, D.F. Amado, B.M. Pérez-Solórzano, J.J. Nogal-Ruiz, A.R. Martínez-Fernández, V.V. Kouznetsov. *Bioorgan. Med. Chem.* 19 (2011) 4562–4573.
- [162] N. Baartzes, T. Stringer, R. Seldon, D.F. Warner, D. Taylor, S. Wittlin, K. Chibale, G.S. Smith. *Eur. J. Med. Chem.* 180 (2019) 121–133.
- [163] A. Singh, I. Lumb, V. Mehra, V. Kumar. *Dalton Trans.* 48 (2019) 2840–2860.
- [164] S. Begum, A. Begum, D. Sujatha. *Saudi J. Med. Pharm. Sci.* 2 (2016) 326–338.
- [165] P.A. Stocks, K.J. Raynes, P.G. Bray, B.K. Park, P.M. O'Neill, S.A. Ward. *J. Med. Chem.* 45 (2002) 4975–4983.
- [166] T. Srivastava, W. Haq, S.B. Katti. *Tetrahedron* 58 (2002) 7619–7624.
- [167] Y. Okada, M. Sasaki. *Org. Commun.* 6 (2013) 120–124.
- [168] A. Pejović, M.S. Denić, D. Stevanović, I. Damljanović, M. Vukićević, K. Kostova, M. Tavlinova-Kirilova, P. Randjelović, N.M. Stojanović, G. Bogdanović, P. Blagojević. *Eur. J. Med. Chem.* 83 (2014) 57–73.
- [169] Y. de J Parra, J.B. Colmenarez, M.E. Acosta, J. Charris, P.J. Rosenthal, J. Gut. *Excli. J.* 18 (2019) 962–987.
- [170] J. Tierney, D. Sheridan, K. Kovalesky, L.M. Mascavage, K. Schneider, C. Sheely. *Heterocycl. Comm.* 6 (2000) 105–111.
- [171] H.P. Yennawar, J. Tierney, L.J. *Acta Crystallogr. E* 70 (2014) o847.
- [172] H.P. Yennawar, L.J. Silverberg. *Acta Crystallogr. E* 70 (2014) o133.

- [173] J.K. Koskimies, A. Halonen. *Heteroatom Chem.* 3 (1992) 11–17.
- [174] N.S. Radulović, M.G. Nikolić, M.Z. Mladenović, R. Randelović, N.M. Stojanović, Z. Stojanović-Radić, Lj. Jovanović, Lj. *Appl. Organomet. Chem.* 36 (2022) e6514.
- [175] P.F. Salas, C. Herrmann, J.F. Cawthray, C. Nimphius, A. Kenkel, J. Chen, C. de Kock, P.J. Smith, B.O. Patrick, M.J. Adam, C. Orvig. *J. Med. Chem.* 56 (2013) 1596–1613.
- [176] K.N. Olafson, M.A. Ketchum, J.D. Rimer, P.G. Vekilov. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 112 (2015) 4946–4951.
- [177] A.K. Patel, S.K. Mishra, K. Krishnamurthy, N. Suryaprakash. *RSC Advances* 9 (2019) 32759–32770.
- [178] M.J. McGlinchey, K. Nikitin. *J. Organomet. Chem.* 751 (2014) 809–814.
- [179] B.J. Margolis, K.A. Long, D.L. Laird, J.C. Ruble, S.R. Pulley. *J. Org. Chem.* 72 (2007) 2232–2235.
- [180] L.B. Casabianca, A.C. de Dios. *J. Phys. Chem. A*, 108 (2004) 8505–8513.
- [181] N. Marchettini, G. Valensin, E. Gaggelli. *Biophys. Chem.* 36 (1990) 65–70.
- [182] J. Bueno. *Med. Aromat. Plants* 1 (2012) 1000113.
- [183] K.Y. Lum, S.T. Tay, C.F. Le, V.S. Lee, N.H. Sabri, R.D. Velayuthan, H. Hassan, S.D. Sekaran. *Sci. Rep.* 5 (2015) 9657.
- [184] Y. Li, Z. Wan, W. Liu, R. Li. *Antimicrob. Agents Ch.* 59 (2015) 1365–1369.
- [185] J.M. Rolain, P. Colson, D. Raoult. *Int. J. Antimicrob. Agents* 30 (2007) 297–308.
- [186] M.M. Azevedo, R. Teixeira-Santos, A.P. Silva, L. Cruz, E. Ricardo, C. Pina-Vaz, A.G. Rodrigues. *Front. Microbiol.* 6 (2015) 669.
- [187] O.A. Olateju, C.P. Babalola, O.O. Olubiyi, O.A. Kotila, D.A. Kwasi, A.O. Oaikhena, I.N. Okeke. *Front. Microbiol.* 12 (2021) 1245.
- [188] J. Däbritz, M. Schneider, G. Just-Nuebling, A.H. Groll. *Mycoses* 54 (2011) 311–317.
- [189] C.L.L. Chua, G. Brown, J.A. Hamilton, S. Rogerson, P. Boeuf. *Trends Parasitol.* 29 (2013) 26–34.
- [190] V. Vichai, K. Kirtikara. *Nat. Protoc.* 1 (2006) 1112–1116.
- [191] F.J. Pixley. *Int. J. Cell Biol.* 2012 (2012) 501962.
- [192] A. Hrabák, H. Sefrioui, V. Vercruysse, Á. Temesi, T. Bajor, B. Vray. *Eur. J. Pharmacol.* 354 (1998) 83–90.
- [193] M. Rath, I. Müller, P. Kropf, E.I. Closs, M. Munder. *Front. Microbiol.* 5 (2014) 532.

- [194] C.S. Boutlis, J.B. Weinberg, J. Baker, M.J. Bockarie, C.S. Mgone, Q. Cheng, N.M. Anstey. *Infect. Immun.* 72 (2004) 6932–6938.
- [195] D.J. Perkins, T. Were, G.C. Davenport, P. Kempaiah, J.B. Hittner, J.M. Ong'echa. *Int. J. Biol. Sci.* 7 (2011) 1427–1442.
- [196] H.J. Shikani, B.D. Freeman, M.P. Lisanti, L.M. Weiss, H.B. Tanowitz, M.S. Desruisseaux. *Am. J. Path.* 181 (2012) 1484–1492.
- [197] P. Sobolewski, I. Gramaglia, J. Frangos, M. Intaglietta, H.C. van der Heyde. *Trends Parasitol.* 21 (2005) 415–422.
- [198] Y.C. Park, H.O. Pae, J.C. Yoo, B.M. Choi, D.M. Jue, H.T. Chung. *Pharmacol. Toxicol.* 85 (1999) 188–191.
- [199] T. Perecko, R.B. Kassab, O. Vasicek, M. Pekarova, V. Jancinova, A. Lojek. *Folia Biol.* 60 (2014) 39–44.
- [200] M.K. Ismail, Z. Khan, M. Rana, S.L. Horswell, L. Male, H.V. Nguyen, A. Perotti, I. Romero-Canelón, E.A. Wilkinson, N.J. Hodges, J.H. Tucker. *ChemBioChem* 21 (2020) 2487–2494.
- [201] R. Ding, T. Zhang, D.J. Wilson, J. Xie, J. Williams, Y. Xu, Y. Ye, L. Chen. *J. Med. Chem.* 62 (2019) 2814–2829.
- [202] A.R. Mahdy, E.E. Elboray, R.F. Fandy, H.H. Abbas-Temirek, M.F. Aly. *Arkivoc* 6 (2016) 105–121.
- [203] N. Pellegrini, B. Refouvelet, G. Crini, O. Blacque, M.M. Kubicki, J.F. Robert. *Chem. Pharm. Bull.* 47 (1999) 950–955.
- [204] L. Szilágyi, Z. Györgydeák. *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 427–432.
- [205] B. Refouvelet, N. Pellegrini, J-F. Robert. *J. Hetericycl. Chem.* 37 (2000) 1425–1430.
- [206] V. Gududuru, E. Hurh, J.T. Dalton, D.D. Miller. *J. Med. Chem.* 48 (2005) 2584–2588.
- [207] Z-C. Song, G-Y. Mab, H-L. Zhu. *RSC Adv.* 5 (2015) 24824–24833.
- [208] R.M. Jagtap, M.A. Rizvi, Y.B. Dangat, S.K. Pardeshi. *J. Sulfur Chem.* 37 (2016) 401–425.
- [209] T.D. Panduwawala, S. Iqbal, R. Tifroin, M.G. Moloney. *Org. Biomol. Chem.* 14 (2016) 4464–4478.

- [210] T.M.V.D. Pinho e Melo, M.I.L. Soares, A.M.d'A. Rocha Gonsalves, J.A. Paixão, A.M. Beja, M. Ramos Silva, L. Alte da Veiga, J. Costa Pessoa. *J. Org. Chem.* 67 (2002) 4045–4054.
- [211] I. Gjuroski, J. Furrer, M. Vermathen. *Molecules* 26 (2021) 1942.
- [212] M. Cai, Y. Huang, J. Liu, R. Krishnamoorthi. *J. Biomol. NMR* 6 (1995) 123–128.
- [213] M.I.L. Soares, S.M.M. Lopes, D. Murtino, T.M.V.D. Pinho e Melo. *Quim. Nova* 43 (2020) 123–126.
- [214] Z. Györgydeák, M. Kajtár-Peredy, J. Kajtár, M. Kajtár. *Liebigs Ann. Chem.* 1987 (1987) 927–934.
- [215] V. Zsoldos-Mády, O. Ozohanics, A. Csámpai, V. Kudar, D. Frigyes, P. Sohár. *J. Organomet. Chem.* 694 (2009) 4185–4195.
- [216] A. González-de-Castro, H. Broughton, J.A. Martínez-Pérez, J.F. Espinosa. *J. Org. Chem.* 80 (2015) 3914–3920.
- [217] Z. Wang, W. Wan, H. Jiang, J. Hao. *J. Org. Chem.* 72 (2007) 9364–9367.
- [218] D. Cremer, J.A. Pople. *J. Am. Chem. Soc.* 97 (1975) 1354–1358.
- [219] D.G. Evans, J.C.A. Boeyens. *Acta Crystallogr. B* 45 (1989) 581–590.
- [220] D. Cremer. *Isr. J. Chem.* 20 (1980) 12–19.
- [221] B.T. Oronsky, T. Reid, S.J. Knox, J.J. Scicinski. *Transl. Oncol.* 5 (2012) 226–229.
- [222] G.L. Patrick. An introduction to medicinal chemistry, *Oxford University Press*, 2013.
- [223] K. Onizuka, M.E. Hazemi, N. Sato, G.I. Tsuji, S. Ishikawa, M. Ozawa, K. Tanno, K. Yamada, F. Nagatsugi. *Nucleic Acids Res.* 47 (2019) 6578–6589.
- [224] F.M.A. Abid, J. Jamalis, S. Chander, R. Abd Wahab, D.P. Bhagwat, M. Sankaranarayanan. *Chem. Data Collect.* 21 (2019) 100219.
- [225] D. Alrahmany, A.F. Omar, A. Alreesi, G. Harb, I.M. Ghazi. *Antibiotics* 11 (2022) 1086.
- [226] J. Jia, J. Yao, J. Kong, A. Yu, J. Wei, Y. Dong, R. Song, D. Shan, X. Zhong, F. Lv, Q. Fan, G. She. *Curr. Med. Chem.* 30 (2023) 1060–1085.
- [227] A.D. Borthwick. *Chem. Rev.* 112 (2012) 3641–3716.
- [228] P. Gomes, M. João Araújo, M. Rodrigues, N. Vale, Z. Azevedo, J. Iley, P. Chambel, J. Morais, R. Moreira. *Tetrahedron* 60 (2004) 5551–5562.

- [229] S. Duengo, M.I. Muhajir, A.T. Hidayat, W.J.A. Musa, R. Maharani. *Molecules* 28 (2023) 8017.
- [230] A. Domzalski, L. Margent, V. Vigo, F. Dewan, N.V. Kishore Pilarsetty, Y. Xu, A. Kawamura. *Molecules* 26 (2021) 5981.
- [231] D.M.M. Jaradat. *Amino Acids* 50 (2018) 39–68.
- [232] L.J. Cala, M.R. Álvarez Santos, S.C. Méndez-Sánchez, A.F. Yepes, A.R. Romero Bohórquez. *ChemistrySelect* 8 (2023) e202204489.
- [233] S. Parsons, H. Flack, T. Wagner. *Acta Cryst. B* 69 (2013) 249–259.
- [234] P.R. Spackman, M.J. Turner, J.J. McKinnon, S.K. Wolff, D.J. Grimwood, D. Jayatilaka, M.A. Spackman. *J. Appl. Cryst.* 54 (2021) 1006–1011.
- [235] C.F. Mackenzie, P.R. Spackman, D. Jayatilaka, M.A. Spackman. *IUCrJ* 4 (2017) 575–587.
- [236] M.J. Turner, S.P. Thomas, M.W. Shi, D. Jayatilaka, M.A. Spackman. *Chem. Commun.* 51 (2015) 3735–3738.
- [237] A.D. Borthwick. *Chem. Rev.* 112 (2012) 3641–3716.
- [238] M.J. Kim, Z. Cheng. *Nat. Prod. Res.* (2024) 1–6.
- [239] M. Harizani, E. Katsini, P. Georgantea, V. Roussis, E. Ioannou. *Molecules* 25 (2020) 1509.
- [240] R. Landberg, K. Sunnerheim, L.H. Dimberg. *Heliyon* 29 (2020) e04304.
- [241] E. Navarrete, P. Morales, M. Muñoz-Osses, Y. Vásquez-Martínez, F. Godoy, T. Maldonado, A.A. Martí, E. Flores, C. Mascayano. *J. Inorg. Biochem.* 245 (2023) 112233.
- [242] M. Muñoz-Osses, J. Quiroz, Y. Vásquez-Martínez, E. Flores, E. Navarrete, F. Godoy, C. Torrent, M. Cortez-San Martín, A. Gómez, C. Mascayano. *New J. Chem.* 45 (2021) 13360–13368.
- [243] E. Flores, M. Muñoz-Osses, C. Torrent, Y. Vásquez-Martínez, A. Gómez, M. Cortez-San Martín, A. Vega, A.A. Martí, F. Godoy, C. Mascayano. *Organometallics* 39 (2020) 2672–2681.
- [244] E. Navarrete, P. Morales, T. Caceres, A. Vega, P. Mesdom, K. Cariou, F. Godoy, G. Gasser, E. Flores, C. Mascayano. *Inorg. Chem.* 64 (2025) 3495–3505.
- [245] M.A.A. Al-Bari. *J. Antimicrob. Chemoth.* 70 (2015) 1608–1621.

- [246] T. Ruzicka, M.P. Printz. *Agents Actions* 12 (1982) 527–529.
- [247] P.E. Poubelle, S. Bourgoïn, F. Marceau, A.D. Beaulieu, P. Borgeat. *Int. J. Immunopharmac.* 10 (1988) 709–715.
- [248] M. Lončarić, I. Strelec, V. Pavić, D. Šubarić, V. Rastija, M. Molnar. *Pharmaceuticals* 13 (2020) 154.

8. Прилози

СПИСАК ПРИЛОГА:

Прилог 1. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил)-1,3-тијазолидин-4-она (**73**).

Прилог 2. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил)-1,3-тијазолидин-4-она (**73**).

Прилог 3. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил)-1,3-тијазолидин-4-она (**74**).

Прилог 4. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил)-1,3-тијазолидин-4-она (**74**).

Прилог 5. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил)-1,3-тијазолидин-4-она (**75**).

Прилог 6. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил)-1,3-тијазолидин-4-она (**75**).

Прилог 7. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил)-1,3-тијазинан-4-она (**76**).

Прилог 8. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил)-1,3-тијазинан-4-она (**76**).

Прилог 9. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил)-1,3-тијазинан-4-она (**77**).

Прилог 10. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил)-1,3-тијазинан-4-она (**77**).

Прилог 11. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил)-1,3-тијазинан-4-она (**78**).

Прилог 12. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил)-1,3-тијазинан-4-она (**78**).

Прилог 13. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил)-1,3-тијазолидин-4-она (**79**) са означеним сигнаlima који одговарају главном дијастереомеру. Сигнал који потиче од заосталог растварача CH_2Cl_2 је означен симболом *.

Прилог 14. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил)-1,3-тијазолидин-4-она (**79**) са означеним сигнаlima који одговарају главном дијастереомеру.

Прилог 15. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил)-1,3-тијазолидин-4-она (**79**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном дијастереомеру. Сигнал који потиче од заосталог растварача CH_2Cl_2 је означен симболом *.

Прилог 16. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил)-1,3-тијазолидин-4-она (**79**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном дијастереомеру.

Прилог 17. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил)-1,3-тијазолидин-4-она (**80**) са означеним сигнаlima који одговарају главном дијастереомеру.

Прилог 18. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил)-1,3-тијазолидин-4-она (**80**) са означеним сигнаlima који одговарају главном дијастереомеру.

Прилог 19. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил)-1,3-тијазолидин-4-она (**80**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном дијастереомеру.

Прилог 20. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил)-1,3-тијазолидин-4-она (**80**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном дијастереомеру.

Прилог 21. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил)-1,3-тијазолидин-4-она (**81**) са означеним сигнаlima који одговарају главном дијастереомеру.

Прилог 22. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил)-1,3-тијазолидин-4-она (**81**) са означеним сигнаlima који одговарају главном дијастереомеру.

Прилог 23. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил)-1,3-тијазолидин-4-она (**81**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном дијастереомеру.

Прилог 24. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил)-1,3-тијазолидин-4-она (**81**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном дијастереомеру.

Прилог 25. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) (*E*)-N-(2-(фероценилиденамино)етил)-7-хлорхинолин-4-аминa (**82**). Сигнал који потиче од заосталог растварача CH_2Cl_2 је означен симболом *.

Прилог 26. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил)-1,3-тијазолидин-4-она (**83**). Сигнал који потиче од заосталог растварача CH_2Cl_2 је означен симболом *.

Прилог 27. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил)-1,3-тијазолидин-4-она (**83**).

Прилог 28. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил)-1,3-тијазинан-4-она (**84**).

Прилог 29. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил)-1,3-тијазинан-4-она (**84**).

Прилог 30. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил)-1,3-тијазолидин-4-она (**85**) са означеним сигнаlima који одговарају главном дијастереомеру. Сигнал који потиче од заосталог растварача CH_2Cl_2 је означен симболом *.

Прилог 31. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил)-1,3-тијазолидин-4-она (**85**) са означеним сигнаlima који одговарају главном дијастереомеру.

Прилог 32. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил)-1,3-тијазолидин-4-она (**85**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном дијастереомеру. Сигнал који потиче од заосталог растварача CH_2Cl_2 је означен симболом *.

Прилог 33. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил)-1,3-тијазолидин-4-она (**85**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном дијастереомеру.

Прилог 34. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2 ξ ,4R)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**90**) са означеним сигнаlima који одговарају главном дијастереомеру.

Прилог 35. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2 ξ ,4R)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**90**) са означеним сигнаlima који одговарају главном дијастереомеру.

Прилог 36. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2 ξ ,4R)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**90**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном дијастереомеру.

Прилог 37. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-2-(2 ξ ,4R)-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**90**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном дијастереомеру.

Прилог 38. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-ацетил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**91-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn*-ротамеру.

Прилог 39. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-ацетил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**91-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn*-ротамеру.

Прилог 40. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-ацетил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**91-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti*-ротамеру.

Прилог 41. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-ацетил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**91-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti*-ротамеру.

Прилог 42. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*S*,4*R*)-3-ацетил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**91-trans**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn*-ротамеру.

Прилог 43. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*S*,4*R*)-3-ацетил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**91-trans**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn*-ротамеру.

Прилог 44. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*S*,4*R*)-3-ацетил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**91-trans**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti*-ротамеру.

Прилог 45. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*S*,4*R*)-3-ацетил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**91-trans**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti*-ротамеру.

Прилог 46. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2,2,2-трифлуороацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**92-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn*-ротамеру.

Прилог 47. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2,2,2-трифлуороацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**92-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn*-ротамеру.

Прилог 48. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-хлорацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**93-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn*-ротамеру.

Прилог 49. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-хлорацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**93-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn*-ротамеру.

Прилог 50. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-хлорацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**93-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti*-ротамеру.

Прилог 51. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-хлорацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**93-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti*-ротамеру.

Прилог 52. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*ξ*,4*R*)-3-(2-бромацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**94**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn*-ротамеру.

Прилог 53. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*ξ*,4*R*)-3-(2-бромацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**94**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn*-ротамеру.

Прилог 54. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*ξ*,4*R*)-3-(2-бромацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**94**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti*-ротамеру.

Прилог 55. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*ξ*,4*R*)-3-(2-бромацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**94**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti*-ротамеру.

Прилог 56. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*ξ*,4*R*)-2-фероценил-3-(2,2-дихлорацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**95**) са означеним сигнаlima који одговарају главном ротамеру.

Прилог 57. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*ξ*,4*R*)-2-фероценил-3-(2,2-дихлорацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**95**) са означеним сигнаlima који одговарају главном ротамеру.

Прилог 58. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*ξ*,4*R*)-2-фероценил-3-(2,2-дихлорацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**95**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном ротамеру.

Прилог 59. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*ξ*,4*R*)-2-фероценил-3-(2,2-дихлорацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**95**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном ротамеру.

Прилог 60. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-метоксиацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**96-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn* ротамеру.

Прилог 61. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-метоксиацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**96-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn* ротамеру.

Прилог 62. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-метоксиацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**96-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti* ротамеру.

Прилог 63. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-метоксиацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**96-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti* ротамеру.

Прилог 64. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*S*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-метоксиацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**96-trans**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn* ротамеру.

Прилог 65. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*S*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-метоксиацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**96-trans**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti* ротамеру.

Прилог 66. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-ацетоксиацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**97-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn* ротамеру.

Прилог 67. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-ацетоксиацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**97-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn* ротамеру.

Прилог 68. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-ацетоксиацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**97-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti* ротамеру.

Прилог 69. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-ацетоксиацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**97-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti* ротамеру.

Прилог 70. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-феноксиацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**98-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn* ротамеру.

Прилог 71. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-феноксиацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**98-cis**) са означеним сигналама који одговарају *syn* ротамеру.

Прилог 72. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-феноксиацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**98-cis**) са означеним сигналама који одговарају *anti* ротамеру.

Прилог 73. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-феноксиацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**98-cis**) са означеним сигналама који одговарају *anti* ротамеру.

Прилог 74. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-феноксиацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**98-trans**) са означеним сигналама који одговарају *syn* ротамеру.

Прилог 75. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-феноксиацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**98-trans**) са означеним сигналама који одговарају *anti* ротамеру.

Прилог 76. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-бензоил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**99-cis**).

Прилог 77. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-бензоил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**99-cis**).

Прилог 78. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*ξ*,4*R*)-2-фероценил-3-(3,5-динитробензоил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**100**).

Прилог 79. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*ξ*,4*R*)-2-фероценил-3-(3,5-динитробензоил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**100**).

Прилог 80. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-метилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**101**).

Прилог 81. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-метилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**101**).

Прилог 82. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*R*,8*aR*)-7-етил-3-фероценилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**102**).

Прилог 83. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*R*,8*aR*)-7-етил-3-фероценилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**102**).

Прилог 84. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-пропилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**103**).

Прилог 85. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, DMSO- d_6) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-пропилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**103**).

Прилог 86. ^1H NMR спектар (400 MHz, DMSO- d_6) (3*R*,8*aR*)-7-бутил-3-фероценилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**104**).

Прилог 87. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, DMSO- d_6) (3*R*,8*aR*)-7-бутил-3-фероценилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**104**).

Прилог 88. ^1H NMR спектар (400 MHz, DMSO- d_6) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-хексилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**105**).

Прилог 89. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, DMSO- d_6) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-хексилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**105**).

Прилог 90. ^1H NMR спектар (400 MHz, DMSO- d_6) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-[2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**106**).

Прилог 91. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, DMSO- d_6) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-[2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**106**).

Прилог 92. ^1H NMR спектар (400 MHz, DMSO- d_6) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-[3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**107**).

Прилог 93. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, DMSO- d_6) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-[3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**107**).

Прилог 94. ^1H NMR спектар (400 MHz, DMSO- d_6) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-[4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**108**) са означеним сигнаlima који одговарају *cis* дијастереомеру.

Прилог 95. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, DMSO- d_6) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-[4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**108**) са означеним сигнаlima који одговарају *cis* дијастереомеру.

Прилог 96. ^1H NMR спектар (400 MHz, DMSO- d_6) (3*ξ*,8*aξ*)-3-фероценил-7-[4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**108**) са означеним сигнаlima који одговарају *trans* дијастереомеру.

Прилог 97. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, DMSO- d_6) (3*ξ*,8*aξ*)-3-фероценил-7-[4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**108**) са означеним сигнаlima који одговарају *trans* дијастереомеру.

Прилог 98. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-[6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**109**) са означеним сигналама који одговарају *cis* дијастереомеру.

Прилог 99. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-[6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**109**) са означеним сигналама који одговарају *cis* дијастереомеру.

Прилог 100. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*ξ*,8*aξ*)-3-фероценил-7-[6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**109**) са означеним сигналама који одговарају *trans* дијастереомеру.

Прилог 101. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*ξ*,8*aξ*)-3-фероценил-7-[6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**109**) са означеним сигналама који одговарају *trans* дијастереомеру.

Прилог 102. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*R*,8*aR*,4“*ξ*)-3-фероценил-7-[4-((6-метоксихинолин-8-ил)амино)пентил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**110**) са означеним сигналама који одговарају главном дијастереомеру.

Прилог 103. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*R*,8*aR*,4“*ξ*)-3-фероценил-7-[4-((6-метоксихинолин-8-ил)амино)пентил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**110**) са означеним сигналама који одговарају главном дијастереомеру.

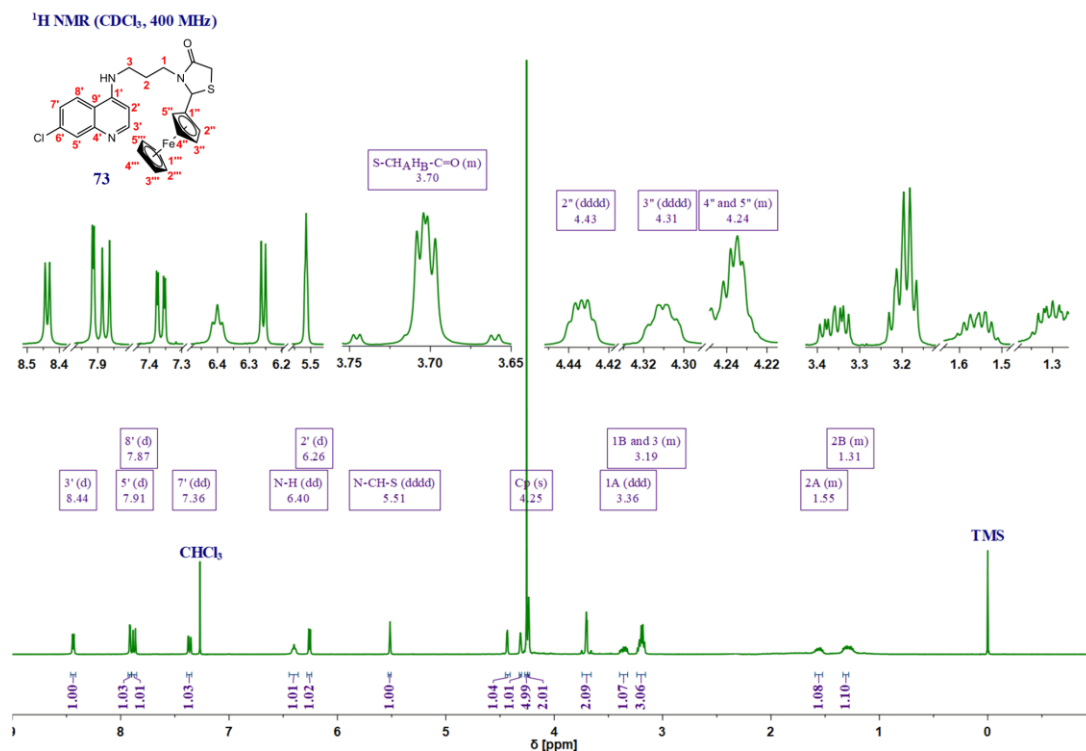
Прилог 104. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*R*,8*aR*,4“*ξ*)-3-фероценил-7-[4-((6-метоксихинолин-8-ил)амино)пентил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**110**) са означеним сигналама који одговарају минорном дијастереомеру.

Прилог 105. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*R*,8*aR*,4“*ξ*)-3-фероценил-7-[4-((6-метоксихинолин-8-ил)амино)пентил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**110**) са означеним сигналама који одговарају минорном дијастереомеру.

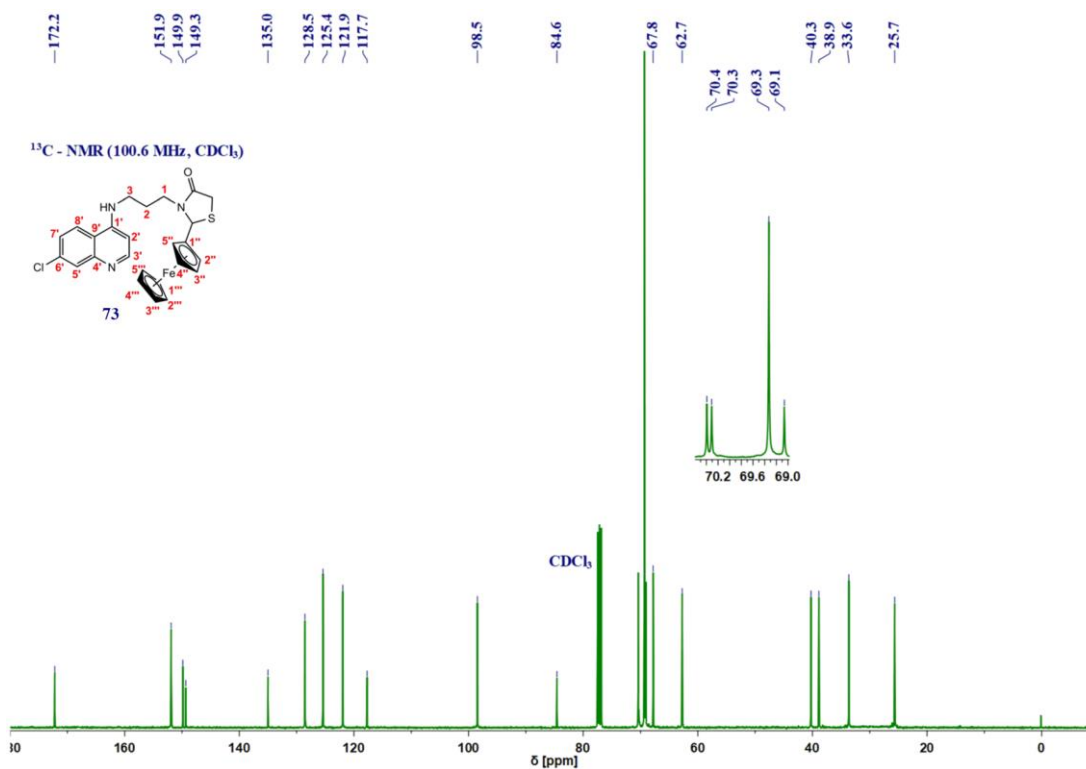
Прилог 106. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-[2-((нафтален-1-ил)амино)етил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**111**).

Прилог 107. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-[2-((нафтален-1-ил)амино)етил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**111**).

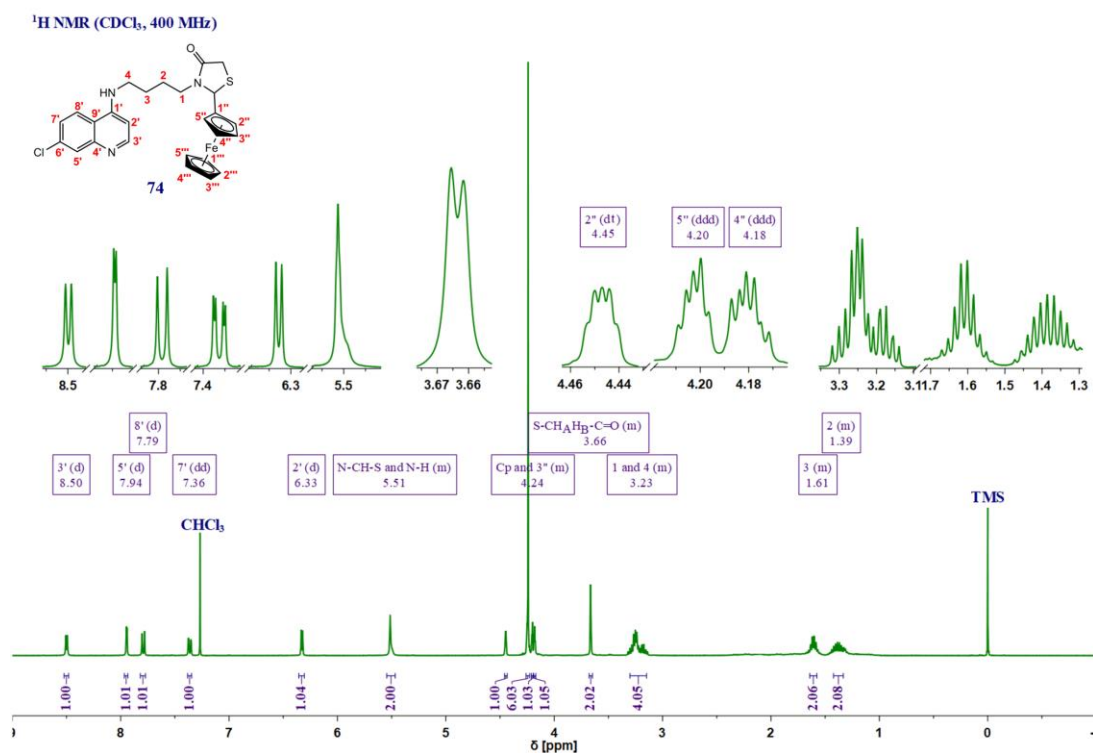
Прилог 1. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил)-1,3-тијазолидин-4-она (**73**).



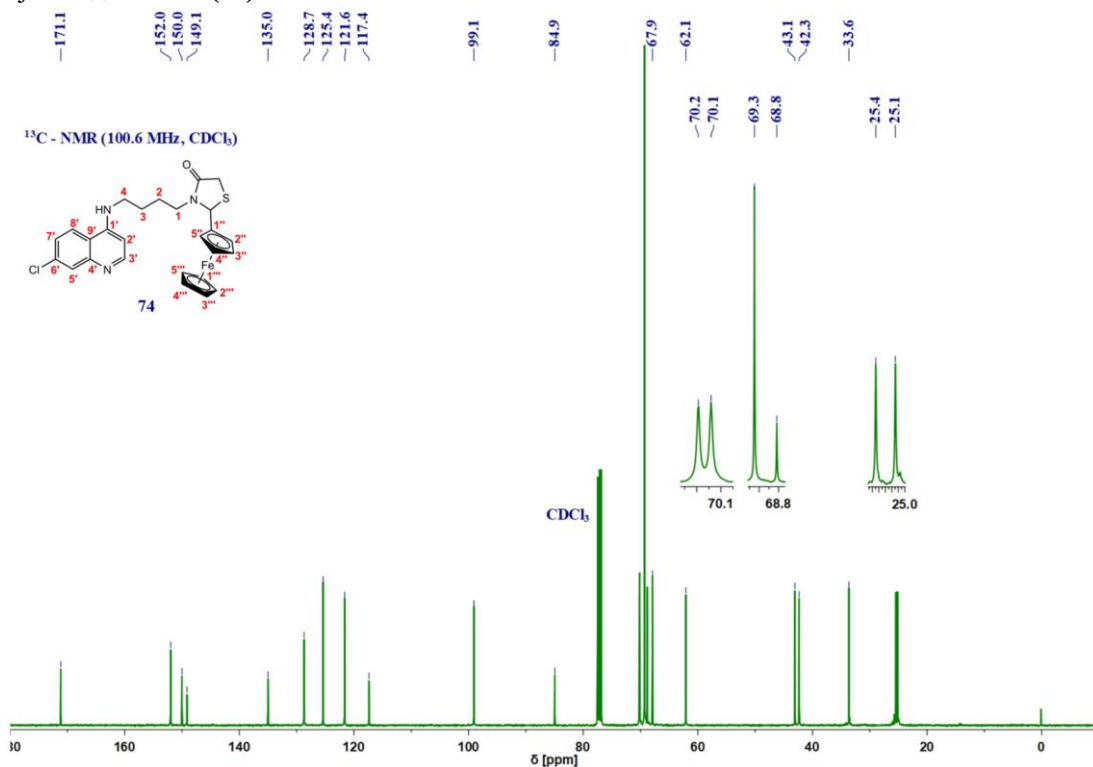
Прилог 2. ^{13}C NMR спектар (100.6 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил)-1,3-тијазолидин-4-она (**73**).



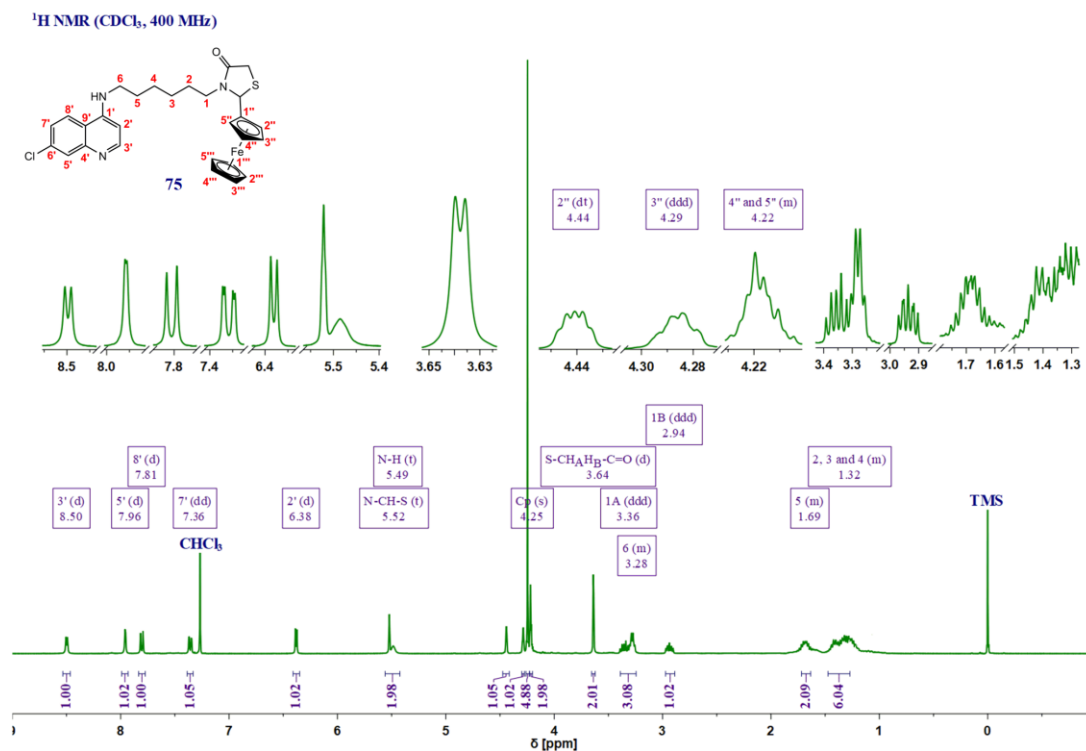
Прилог 3. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил)-1,3-тијазолидин-4-она (**74**).



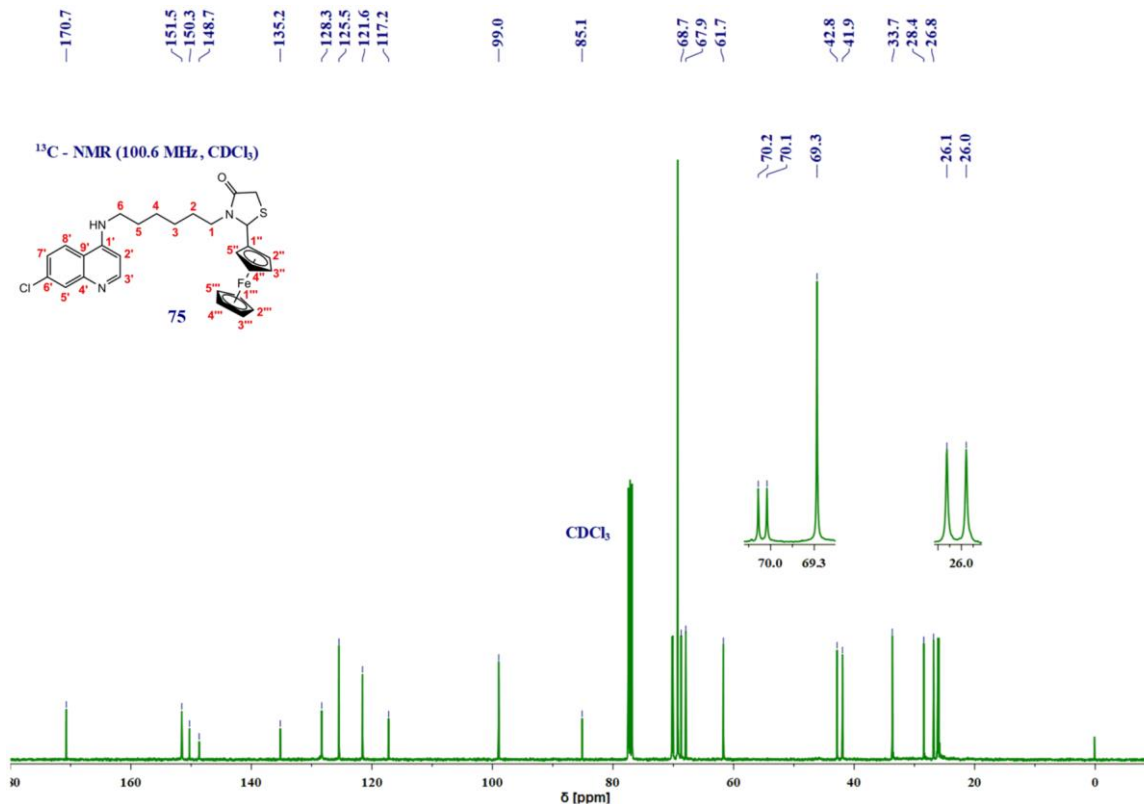
Прилог 4. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил)-1,3-тијазолидин-4-она (**74**).



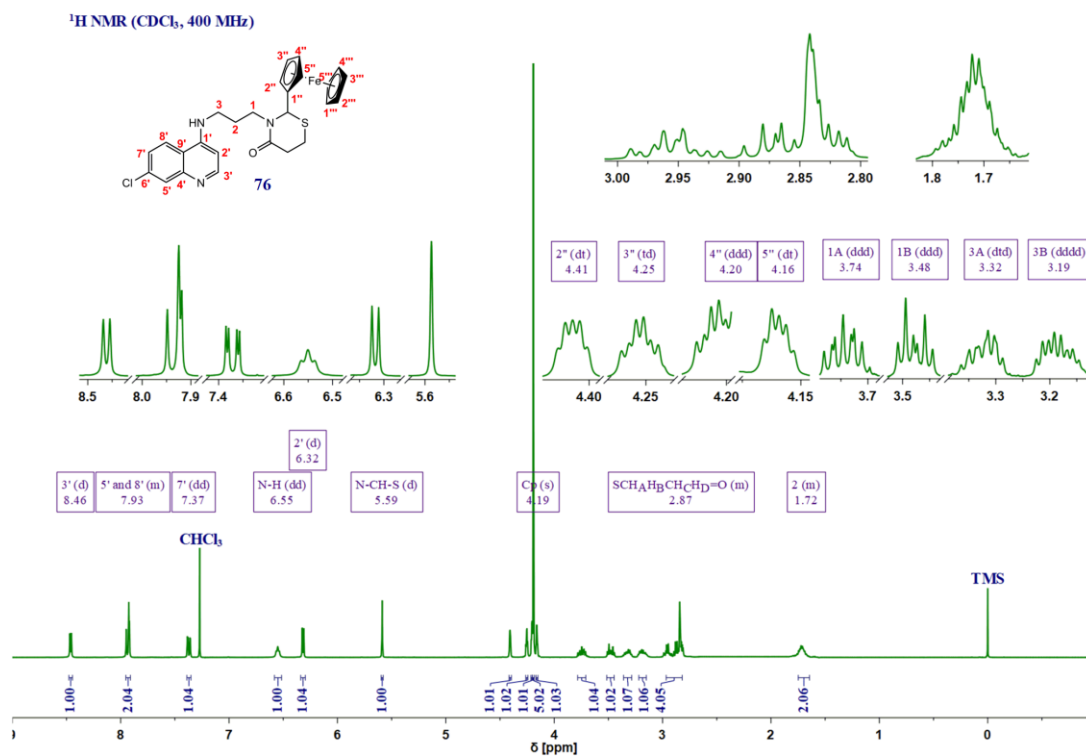
Прилог 5. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил)-1,3-тијазолидин-4-она (75).



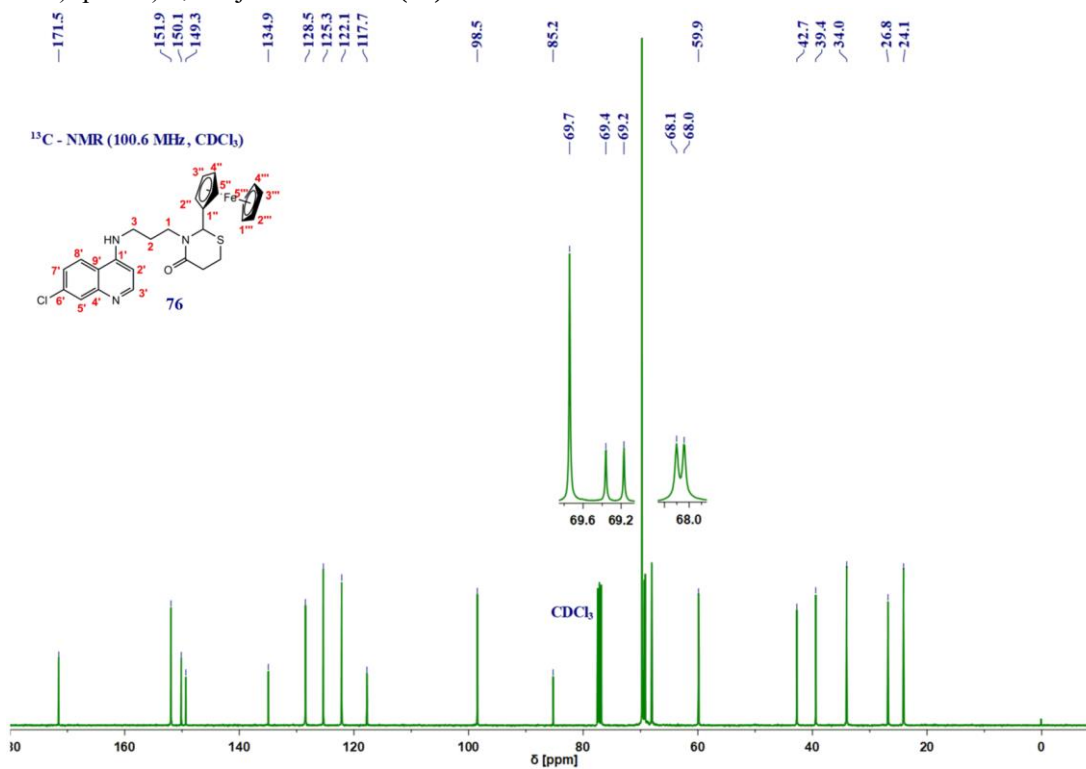
Прилог 6. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил)-1,3-тијазолидин-4-она (75).



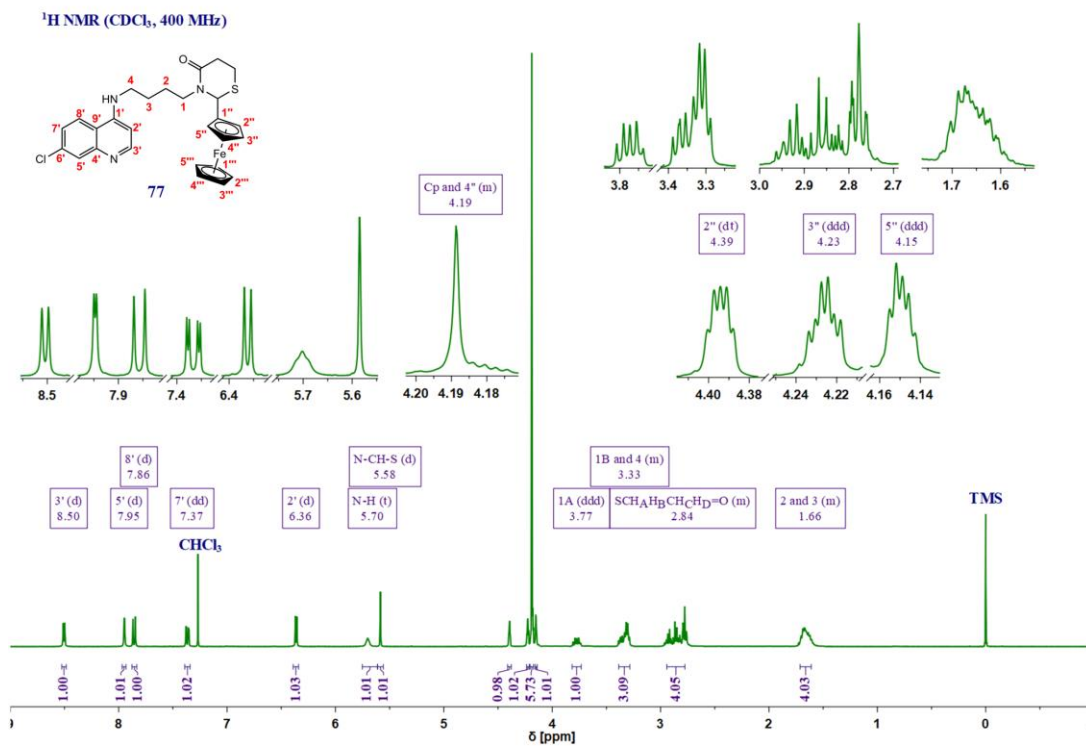
Прилог 7. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил)-1,3-тијазинан-4-она (**76**).



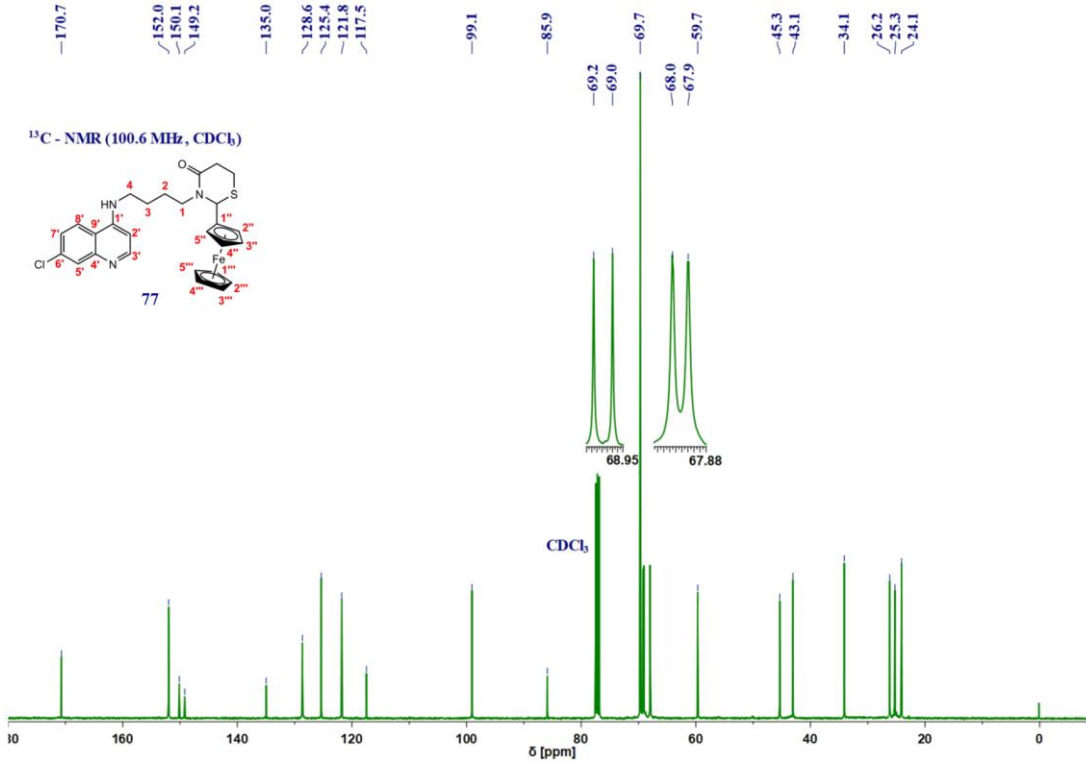
Прилог 8. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил)-1,3-тијазинан-4-она (**76**).



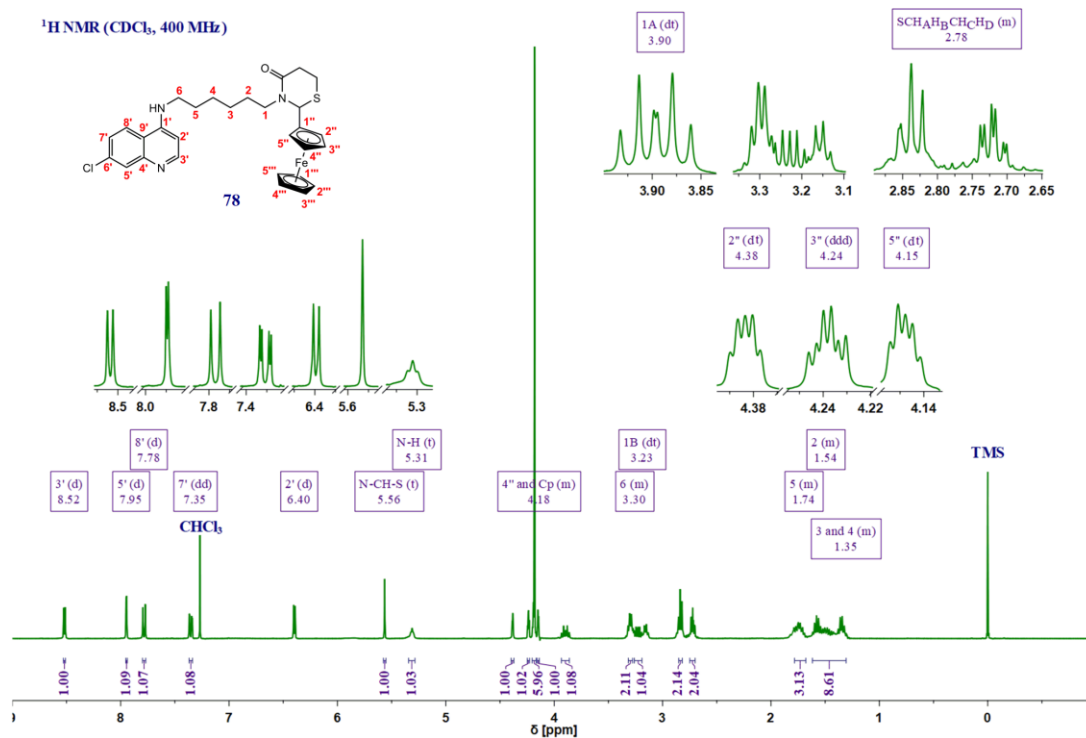
Прилог 9. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил)-1,3-тијазинан-4-она (77).



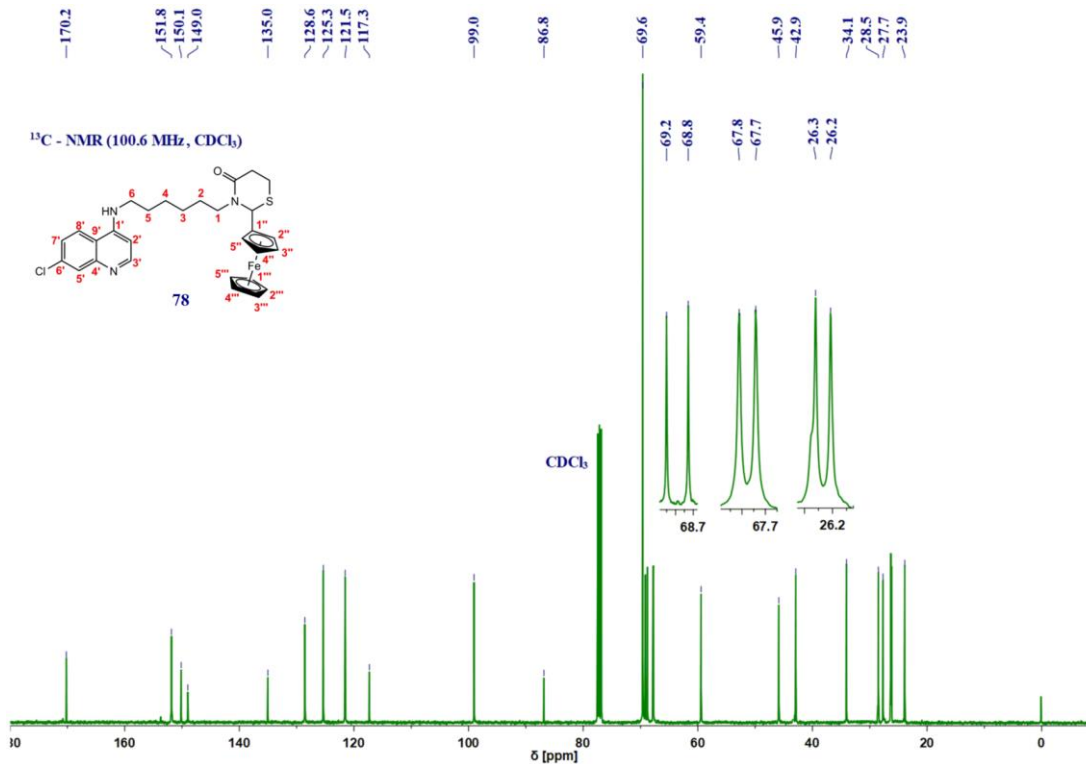
Прилог 10. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил)-1,3-тијазиан-4-она (77).



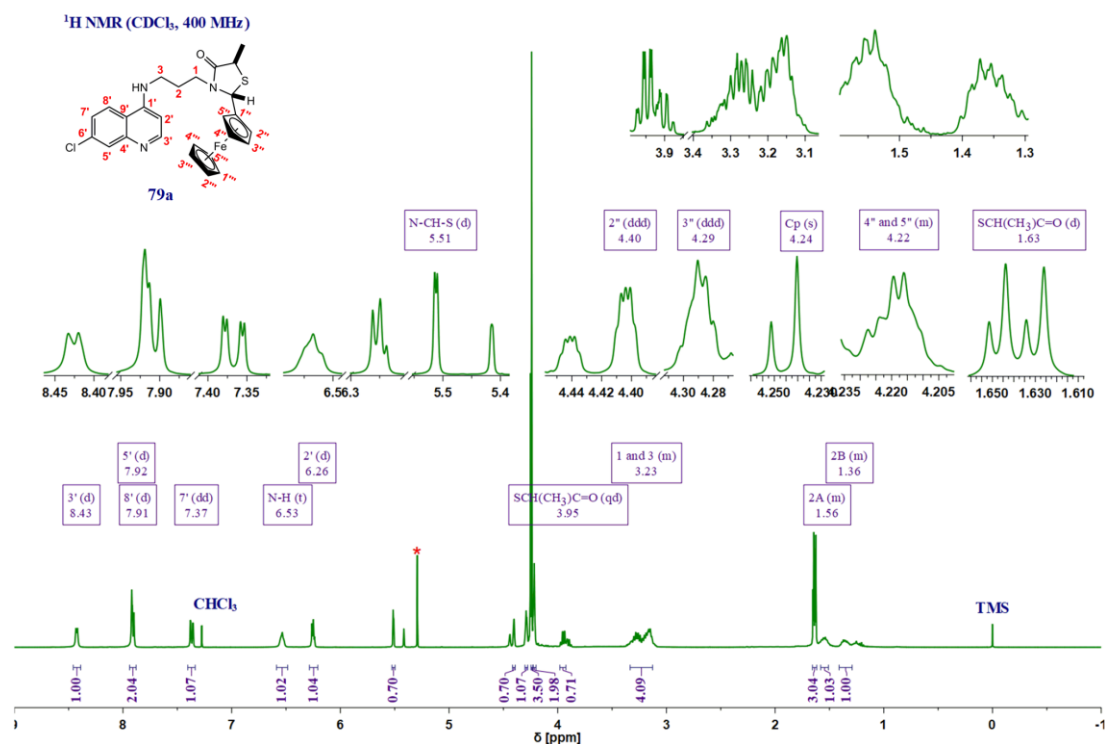
Прилог 11. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил)-1,3-тијазинач-4-она (**78**).



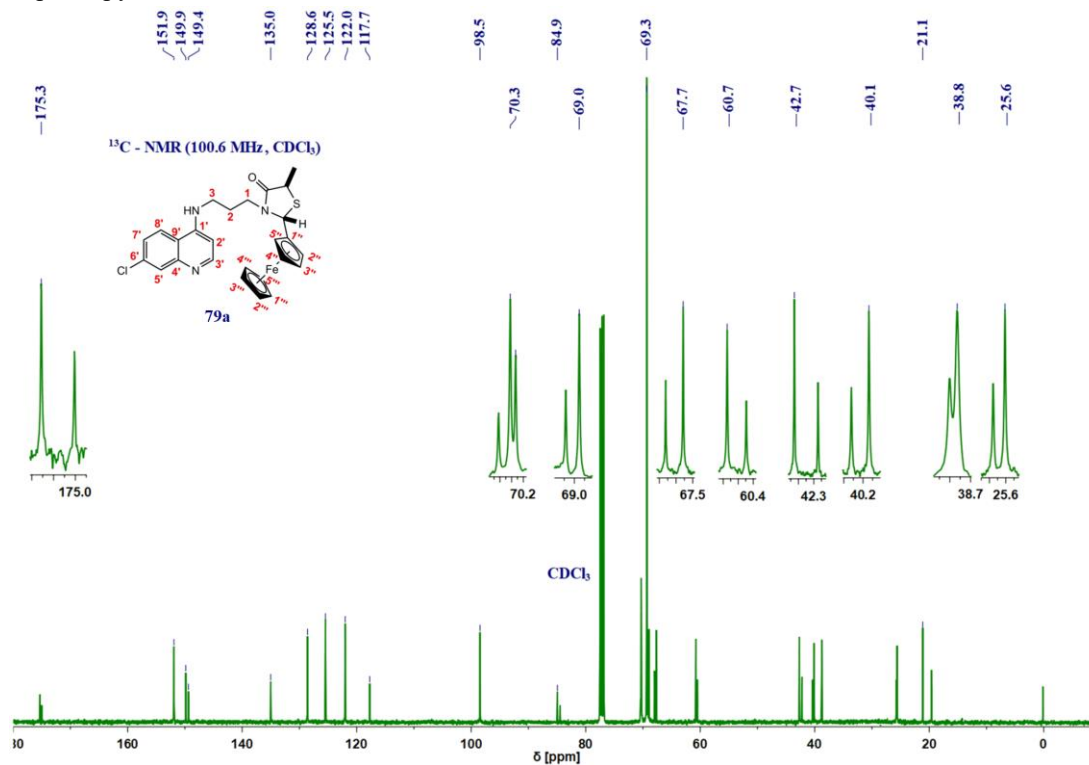
Прилог 12. ^{13}C NMR спектар (100,6 МНз, CDCl_3) 2-фероценил-3-(6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил)-1,3-тијазинан-4-она (**78**).



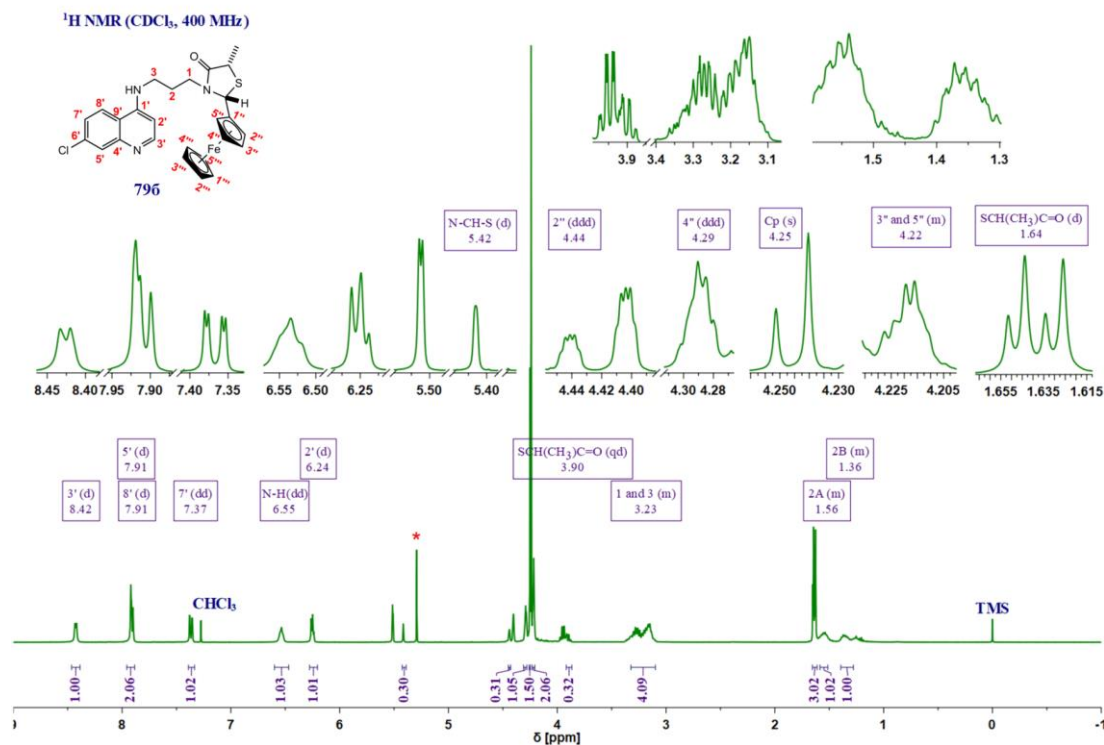
Прилог 13. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил)-1,3-тиазолидин-4-она (**79**) са означеним сигналимa који одговарају главном дијастереомеру. Сигнал који потиче од заосталог растварача CH_2Cl_2 је означен симболом *.



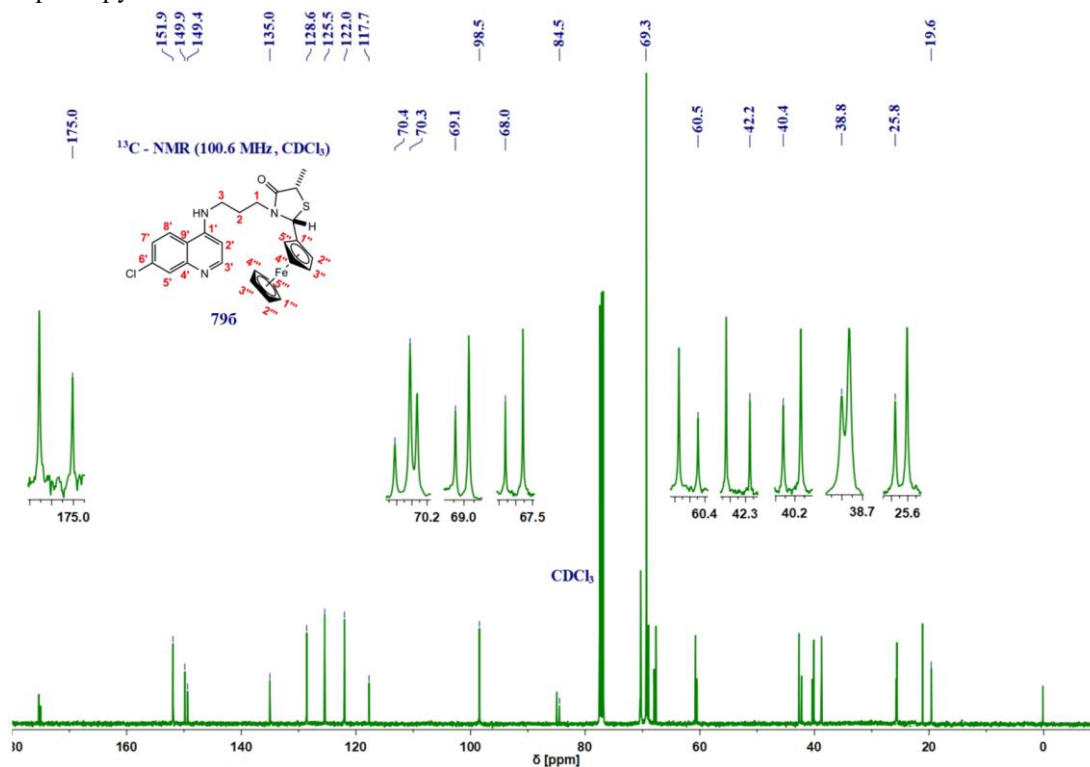
Прилог 14. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил)-1,3-тиазолидин-4-она (**79a**) са означеним сигналимa који одговарају главном дијастереомеру.



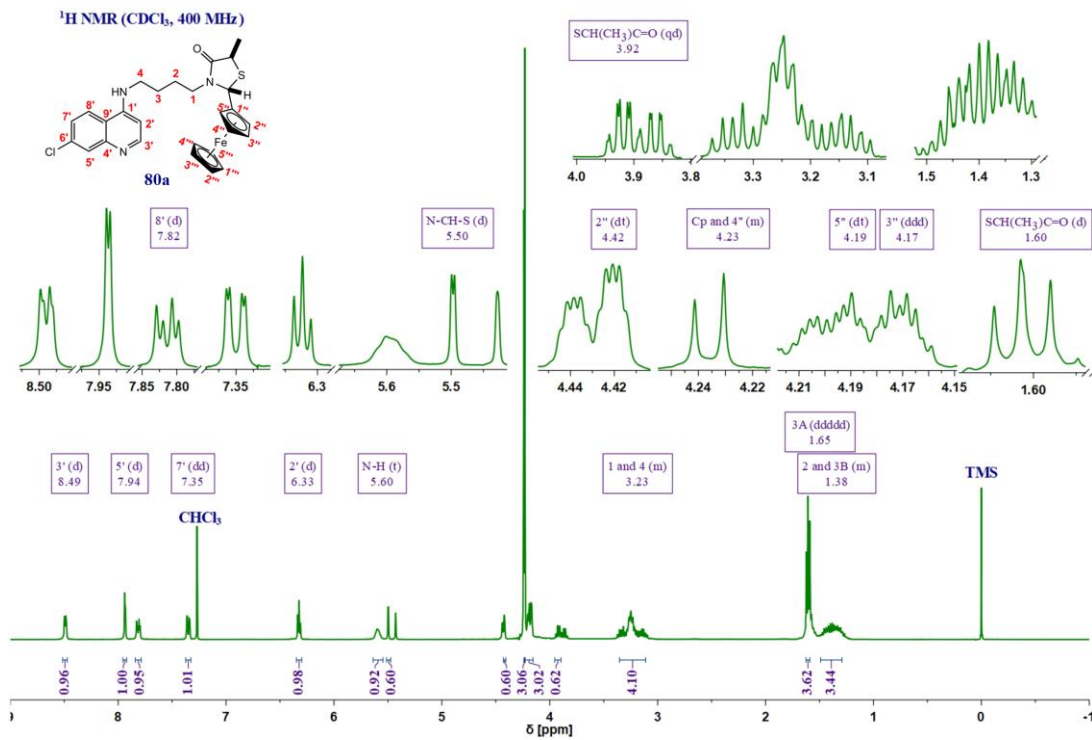
Прилог 15. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил)-1,3-тијазолидин-4-она (**79**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном дијастереомеру. Сигнал који потиче од заосталог растварача CH_2Cl_2 је означен симболом *.



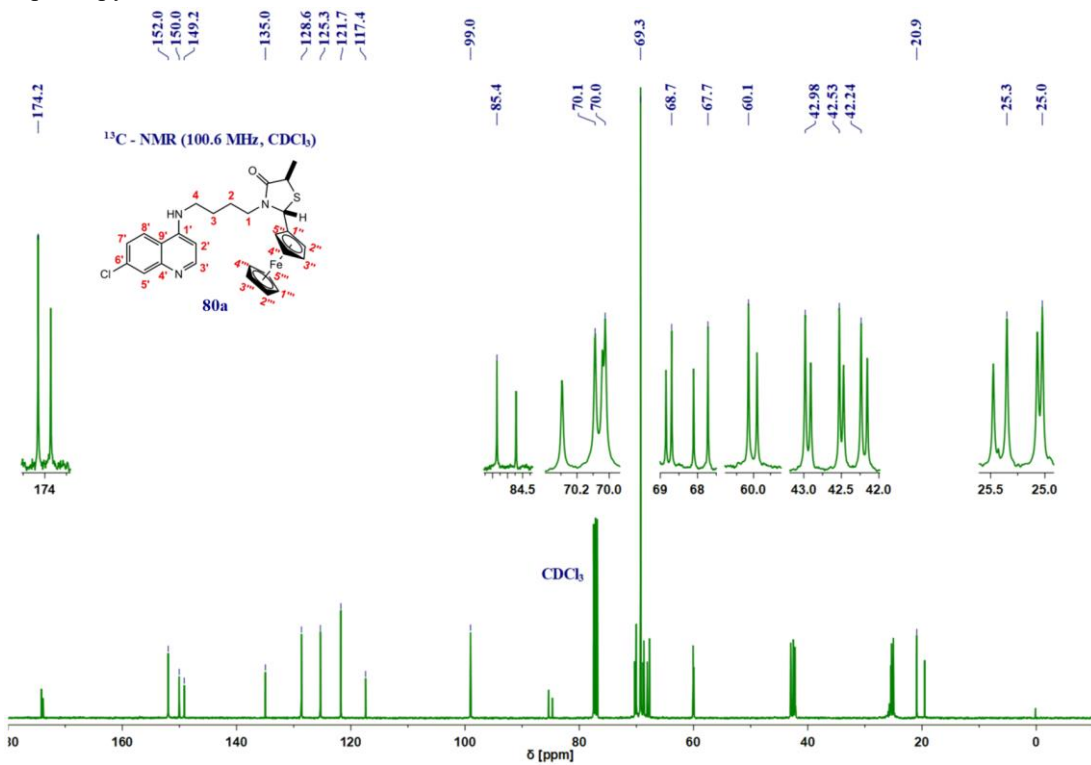
Прилог 16. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(3-((7-хлорхиолин-4-ил)амино)пропил)-1,3-тијазолидин-4-она (**79**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном дијастереомеру.



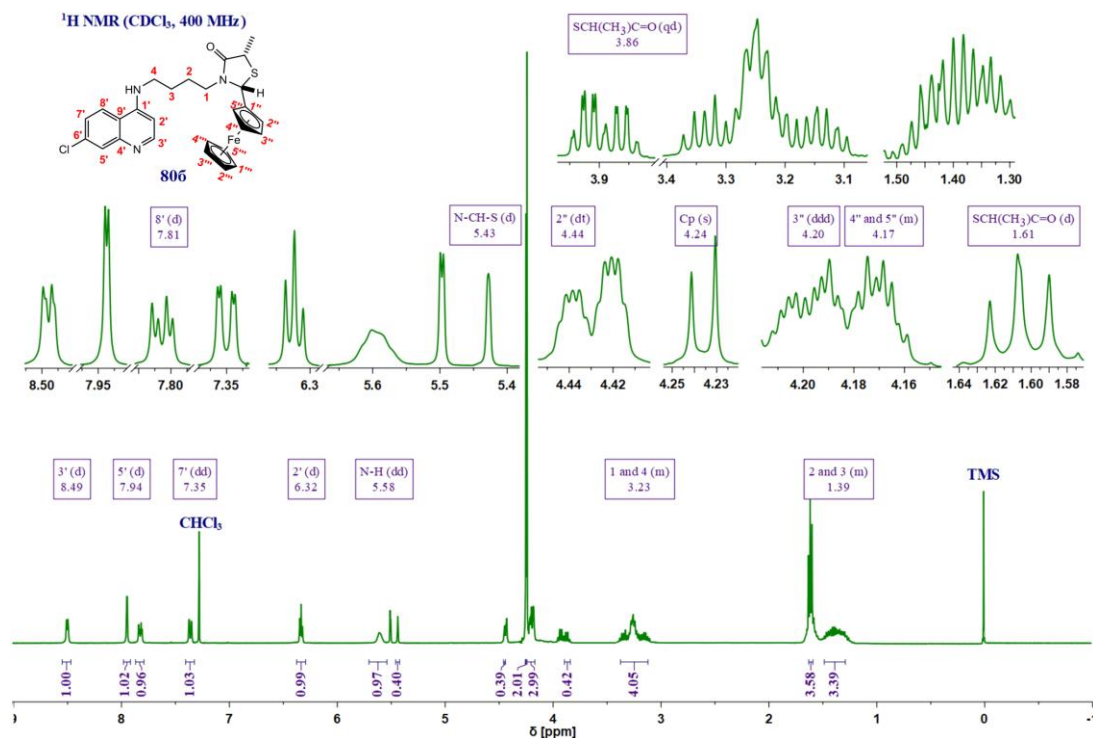
Прилог 17. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(4-(((7-хлорхиолин-4-ил)амино)бутил)-1,3-тијазолидин-4-она (**80**) са означеним сигнаlima који одговарају главном дијастереомеру.



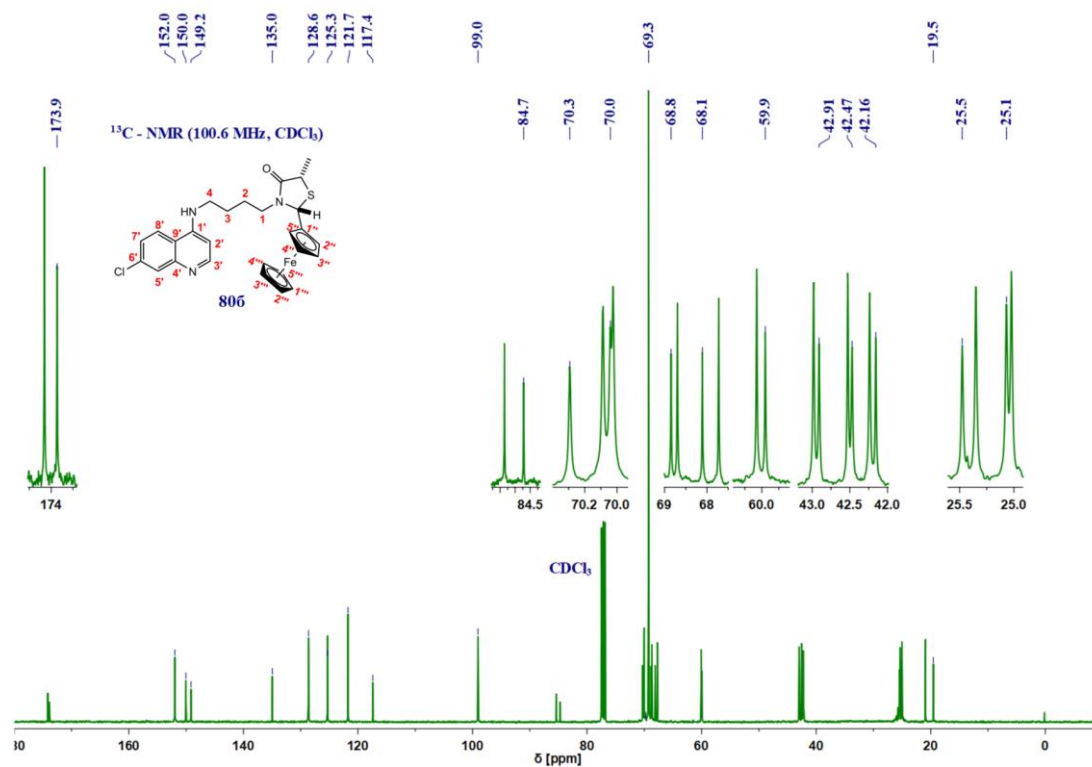
Прилог 18. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(4-((7-хлорхиолин-4-ил)амино)бутил)-1,3-тијазолидин-4-она (**80**) са означеним сигнаlima који одговарају главном дијастереомеру.



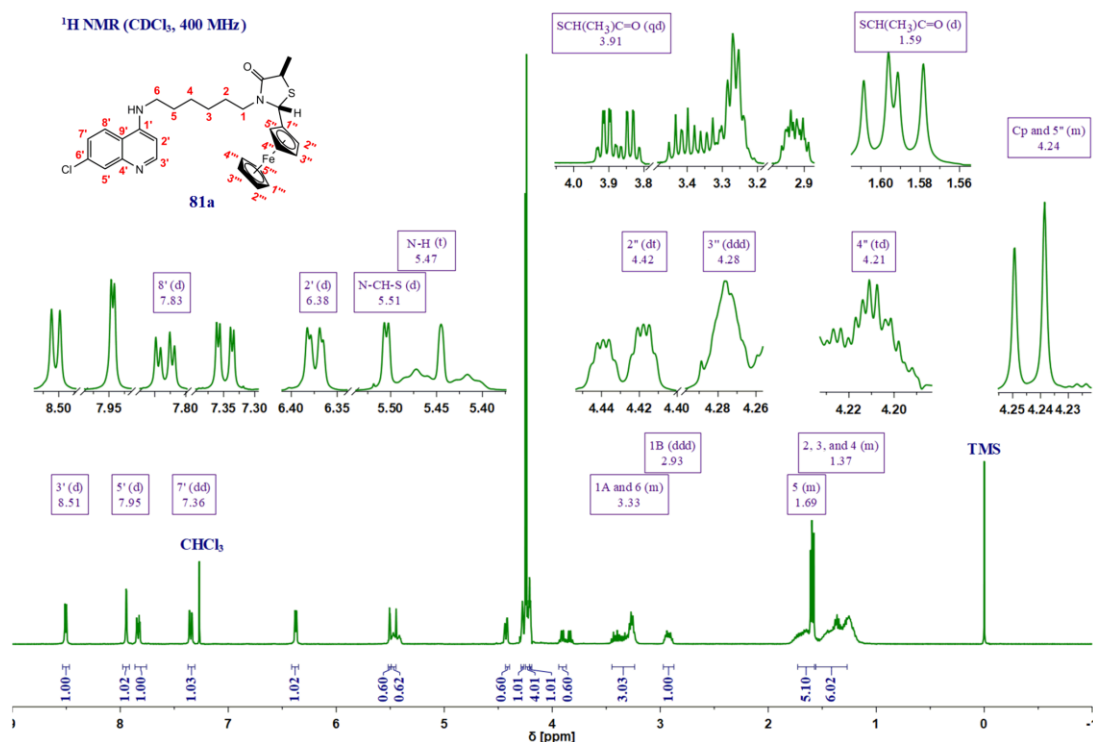
Прилог 19. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил)-1,3-тијазолидин-4-она (**80**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном дијастереомеру.



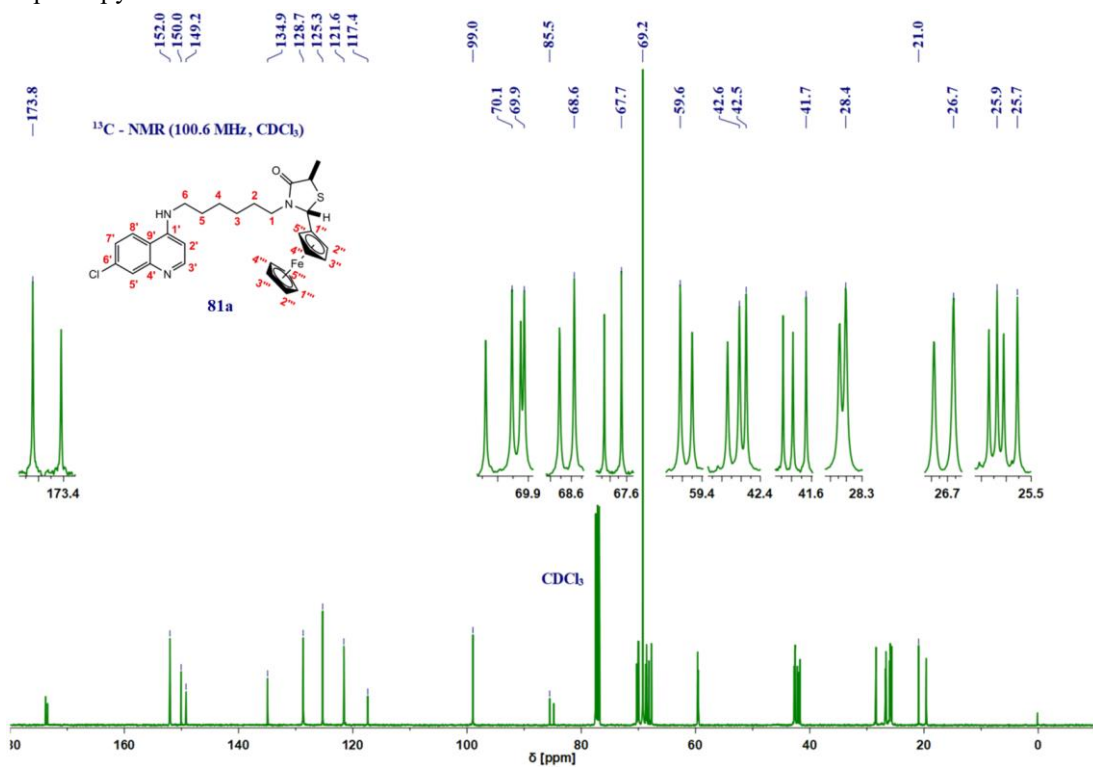
Прилог 20. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил)-1,3-тијазолидин-4-она (**80**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном дијастереомеру.



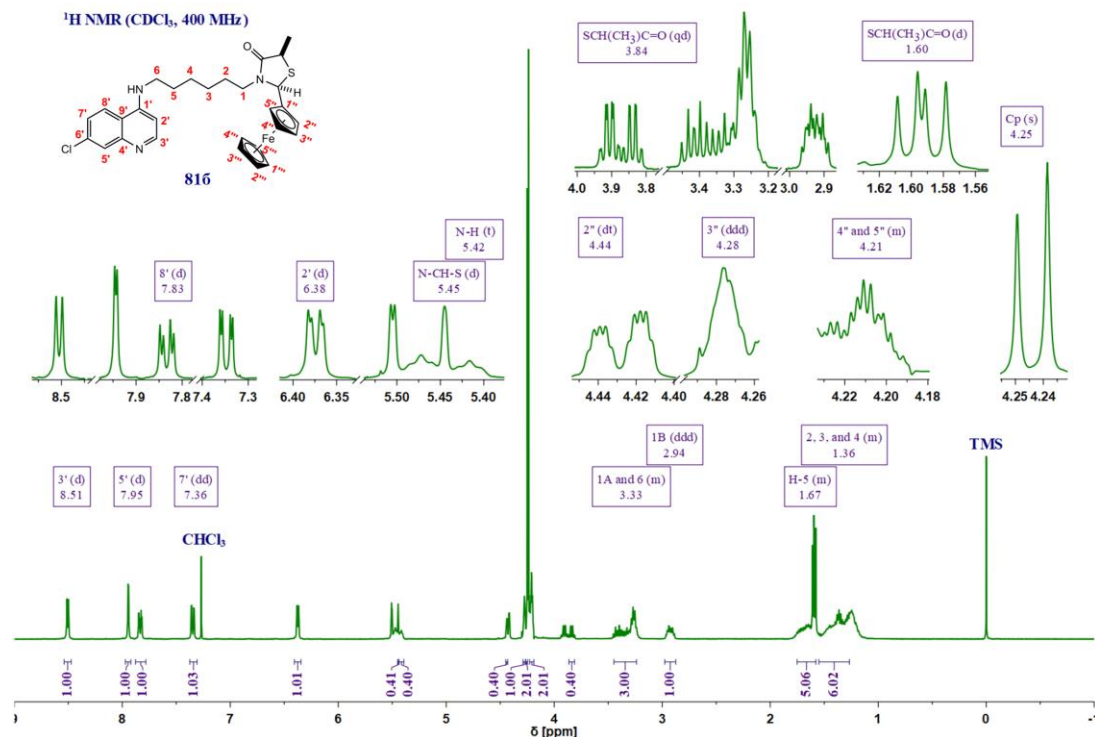
Прилог 21. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил)-1,3-тијазолидин-4-она (**81**) са означеним сигнаlima који одговарају главном дијастереомеру.



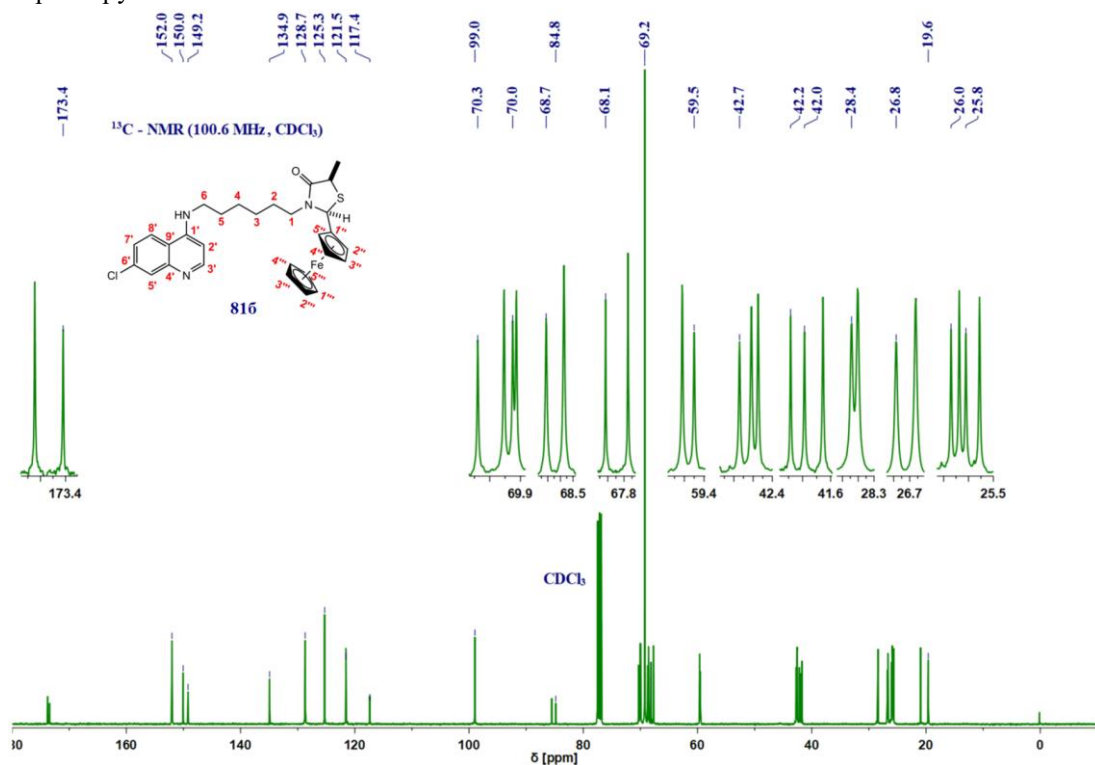
Прилог 22. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(6-((7-хлорхиолин-4-ил)амино)хексил)-1,3-тијазолидин-4-она (**81**) са означеним сигнаlima који одговарају главном дијастереомеру.



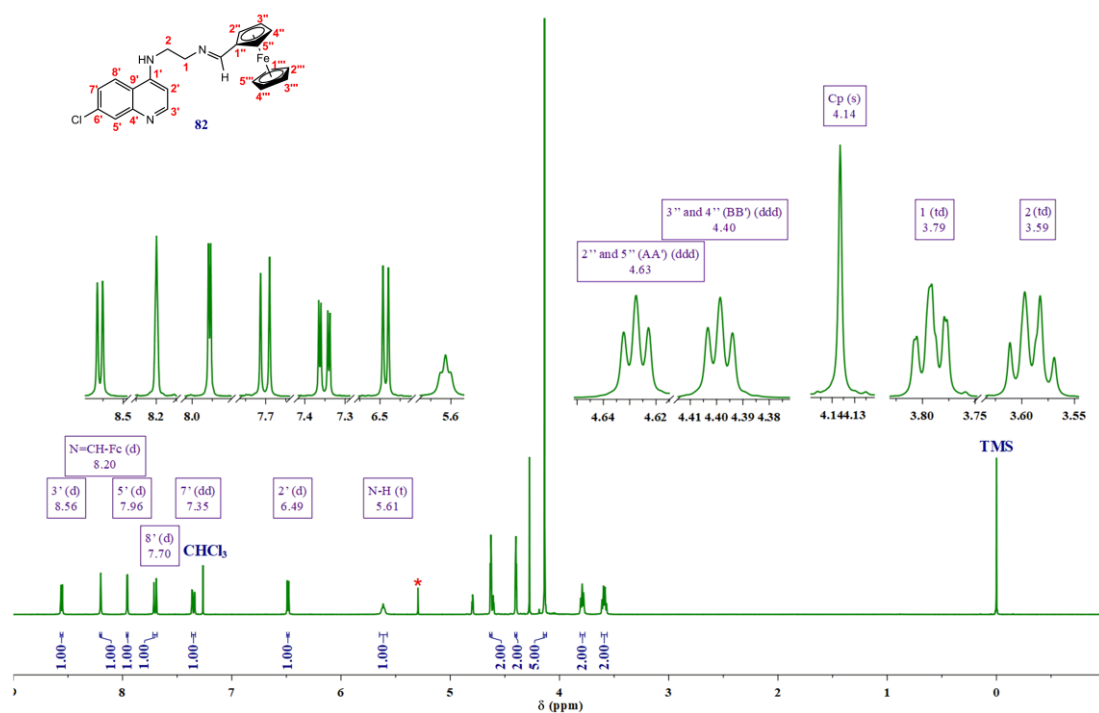
Прилог 23. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил)-1,3-тијазолидин-4-она (**81**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном дијастереомеру.



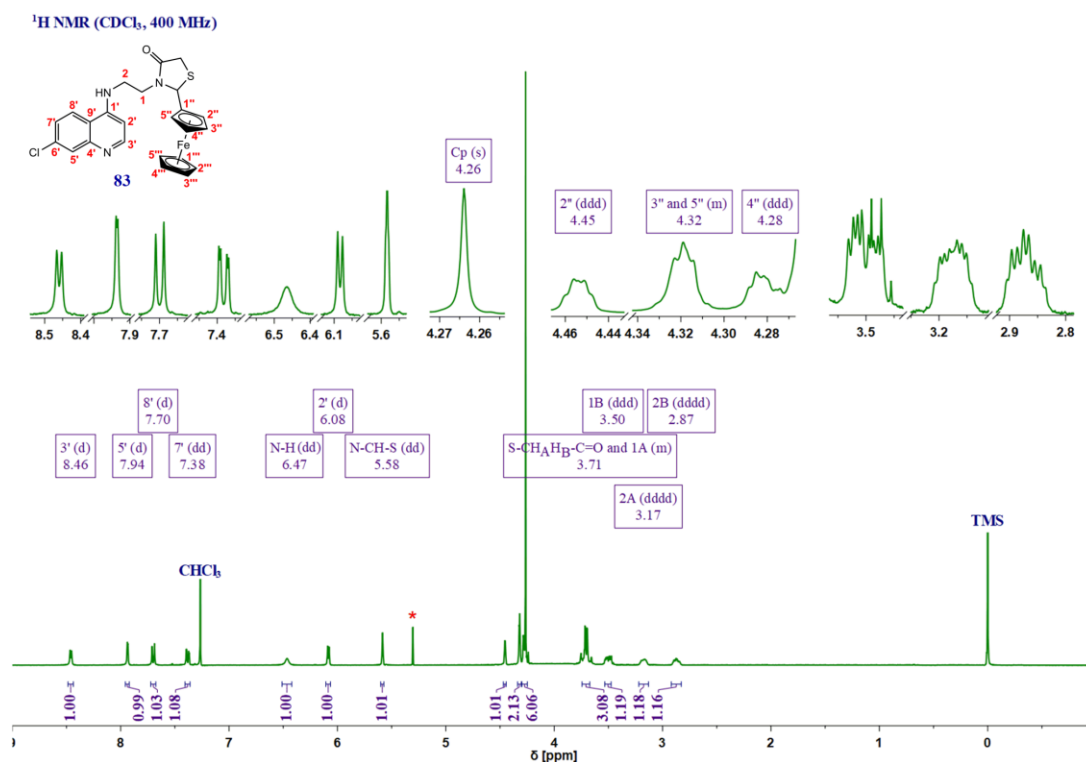
Прилог 24. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил)-1,3-тијазолидин-4-она (**81**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном дијастереомеру.



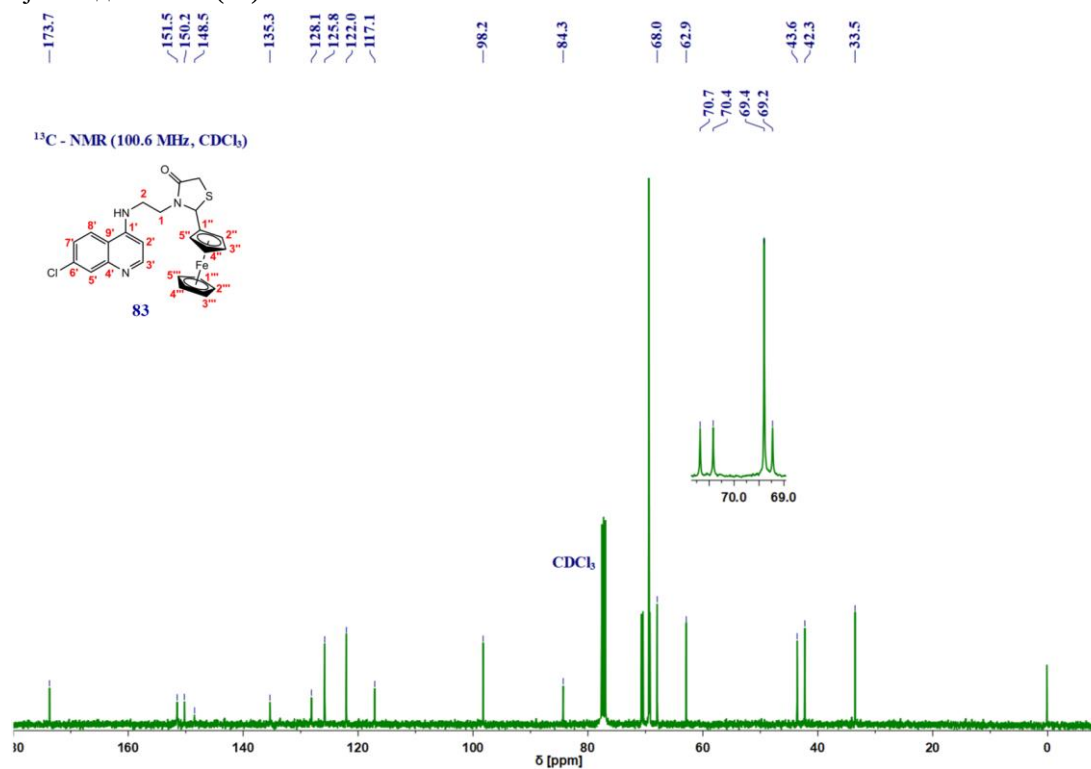
Прилог 25. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) (*E*)-N-(2-(фероценилиденамино)етил)-7-хлорхинолин-4-амина (**82**). Сигнал који потиче од заосталог растварача CH_2Cl_2 је означен симболом *.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz)

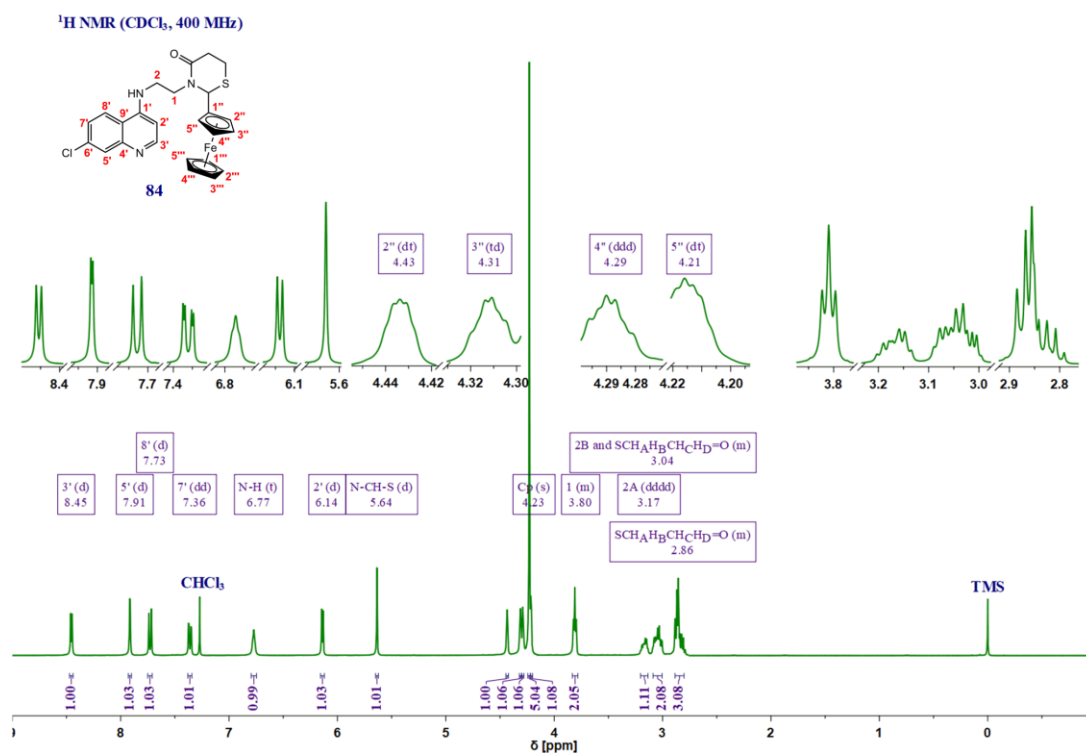
Прилог 26. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил)-1,3-тијазолидин-4-она (**83**). Сигнал који потиче од заосталог растварања CH_2Cl_2 је означен симболом *.



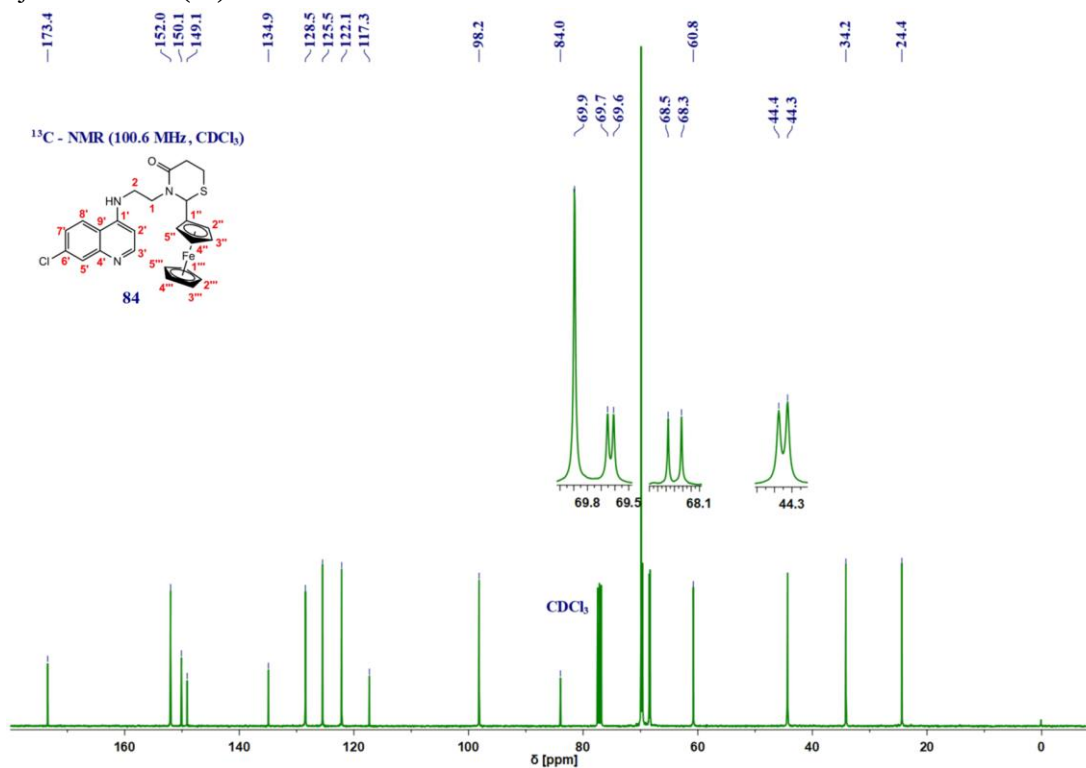
Прилог 27. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил)-1,3-тијазолидин-4-она (**83**).



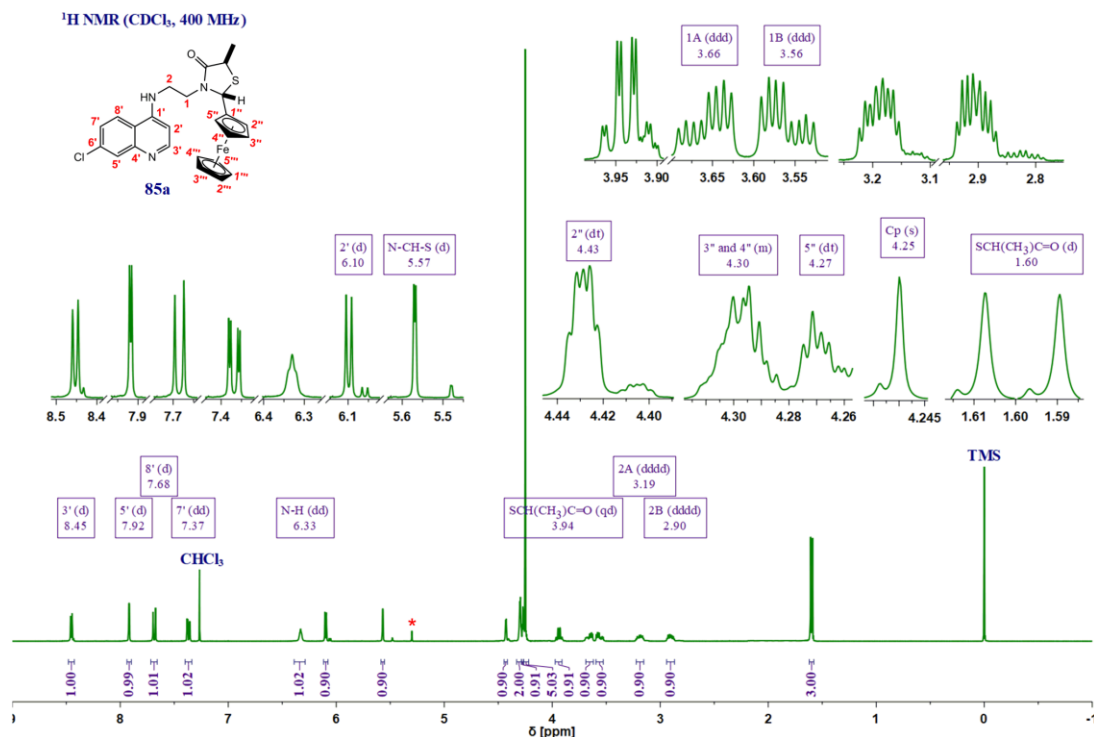
Прилог 28. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил)-1,3-тијазинан-4-она (**84**).



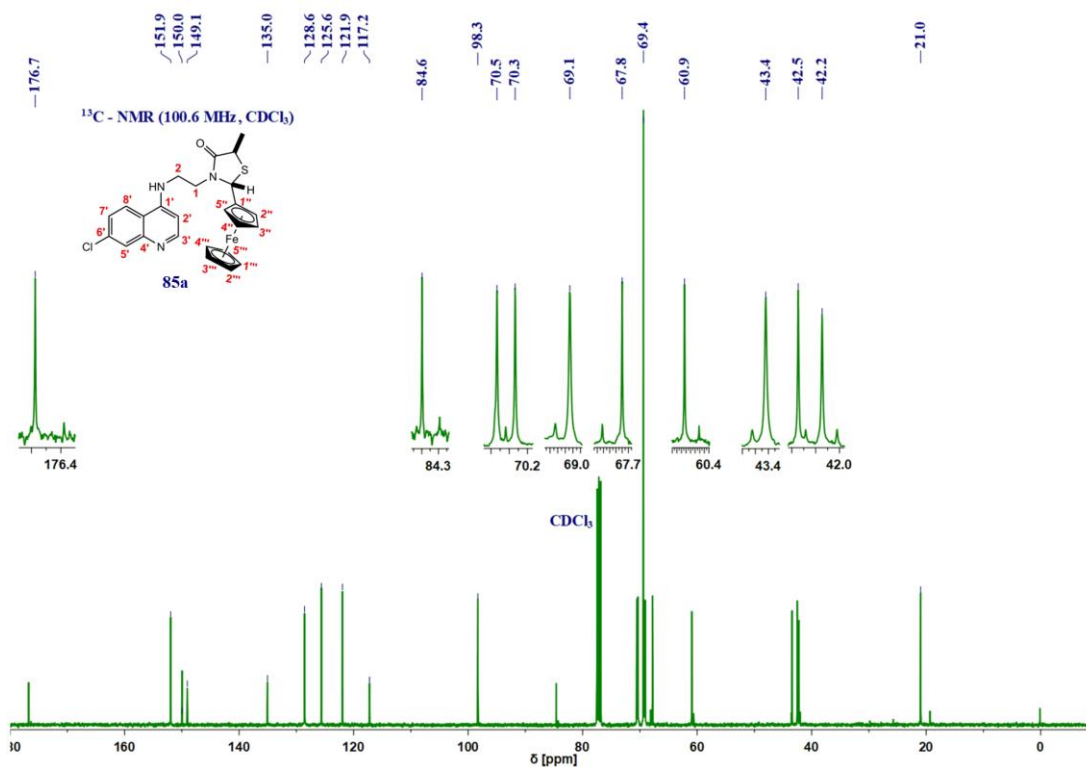
Прилог 29. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 2-фероценил-3-(2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил)-1,3-тијазинан-4-она (**84**).



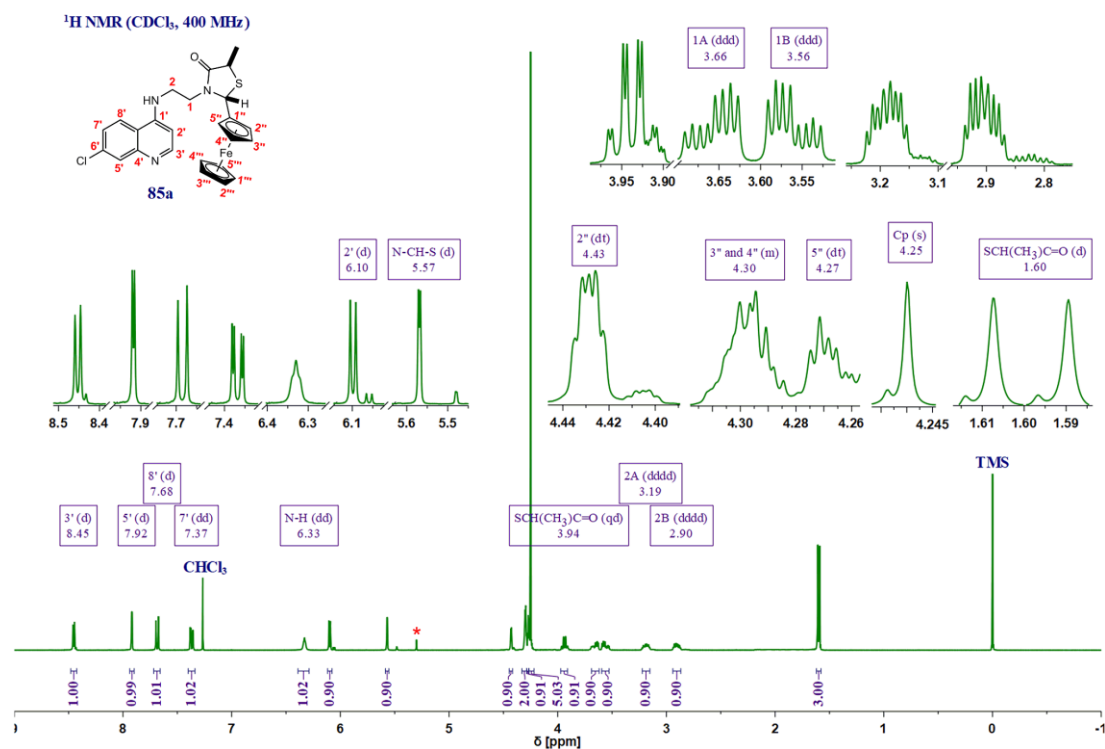
Прилог 30. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил)-1,3-тијазолидин-4-она (**85**) са означеним сигнаlima који одговарају главном дијастереомеру. Сигнал који потиче од заосталог растварача CH_2Cl_2 је означен симболом *.



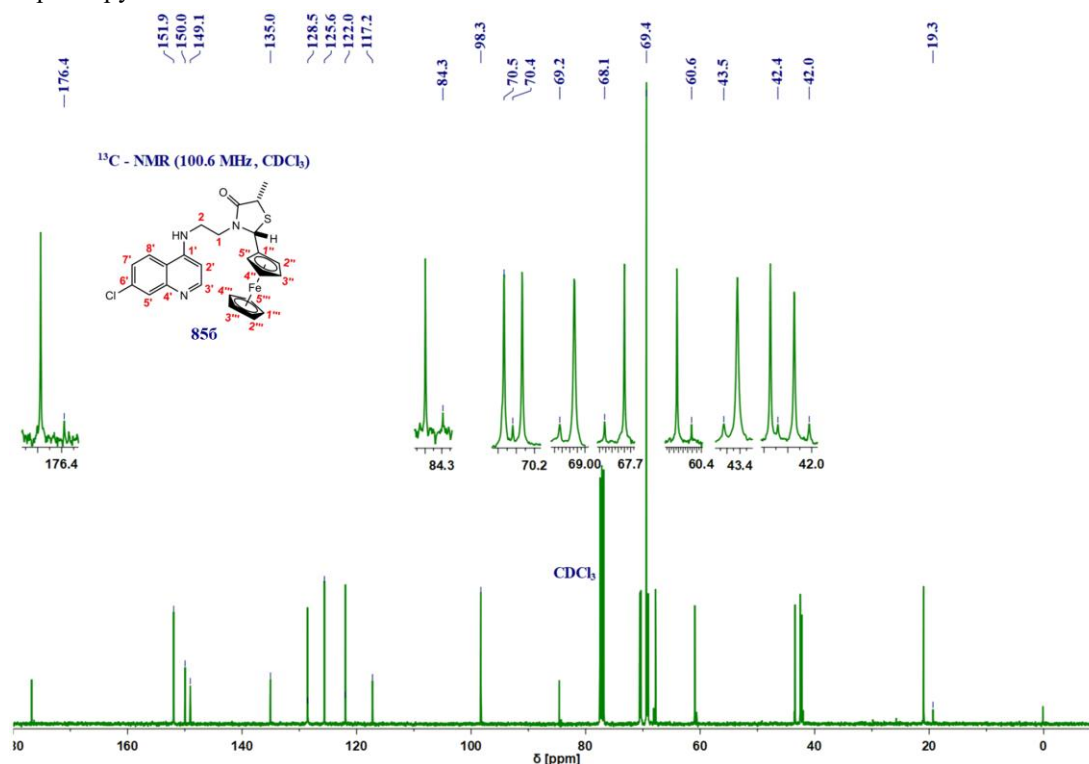
Прилог 31. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил)-1,3-тијазолидин-4-она (**85**) са означеним сигнаlima који одговарају главном дијастереомеру.



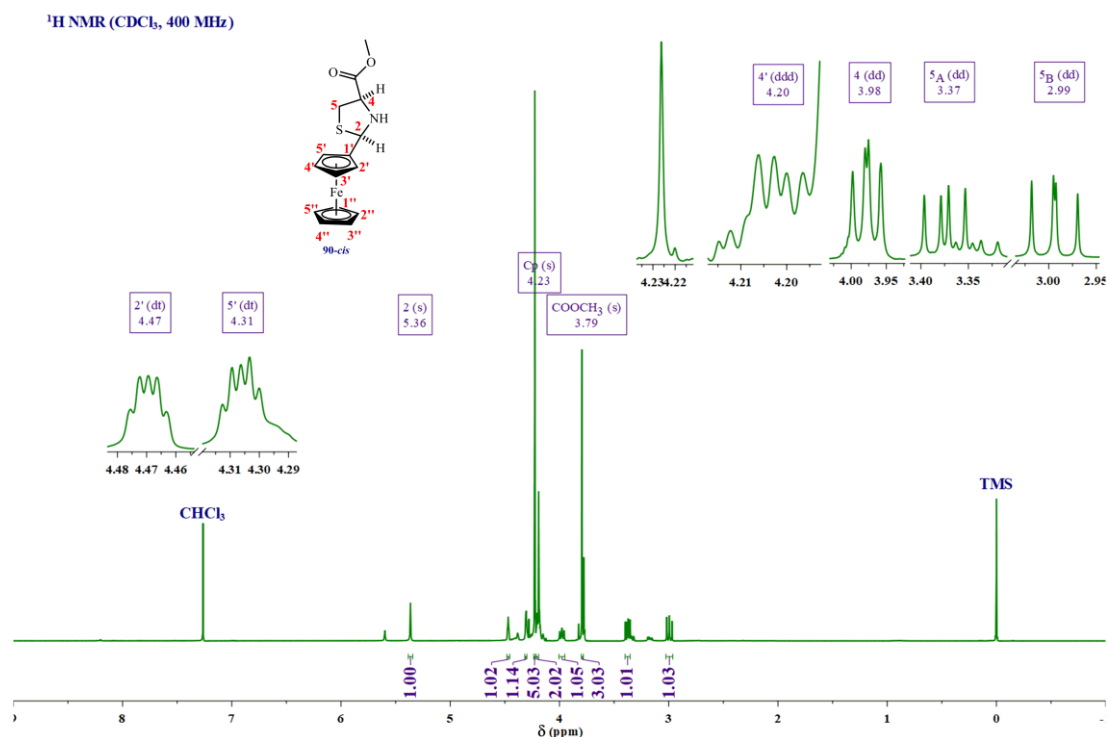
Прилог 32. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил)-1,3-тијазолидин-4-она (**85**) са означеним сигналимa који одговарају минорном дијастереомеру. Сигнал који потиче од заосталог растварача CH_2Cl_2 је означен симболом *.



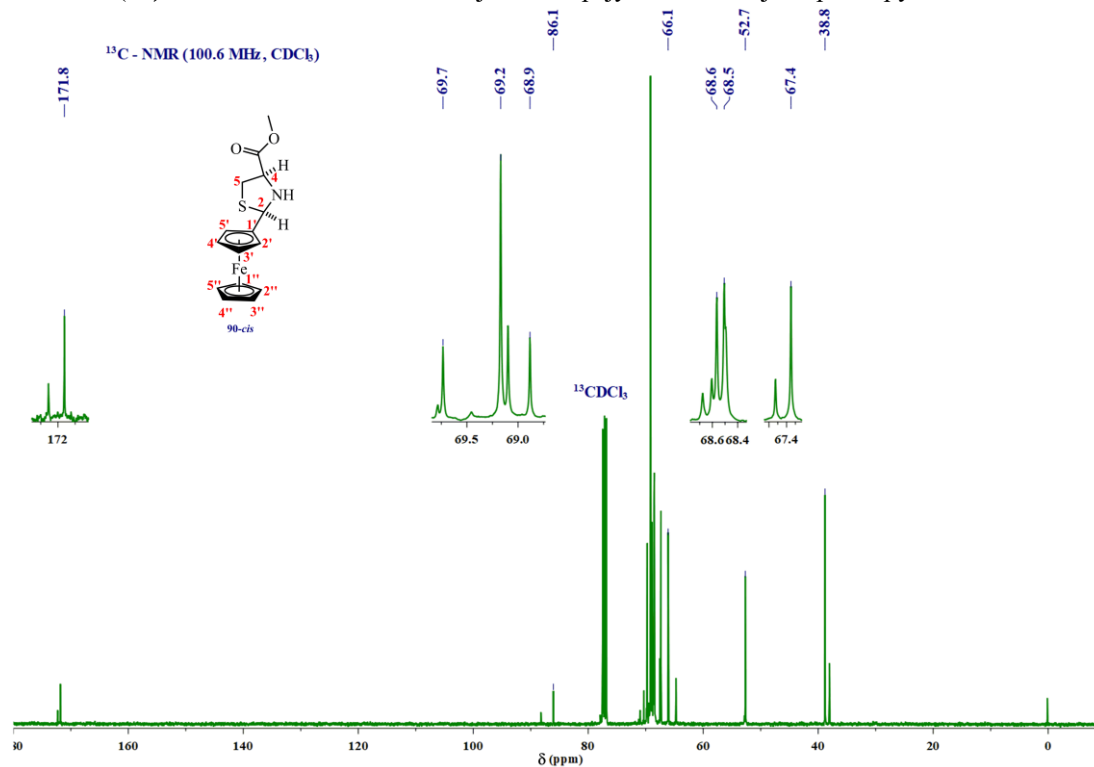
Прилог 33. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) 5-метил-2-фероценил-3-(2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил)-1,3-тијазолидин-4-она (**85**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном дијастереомеру.



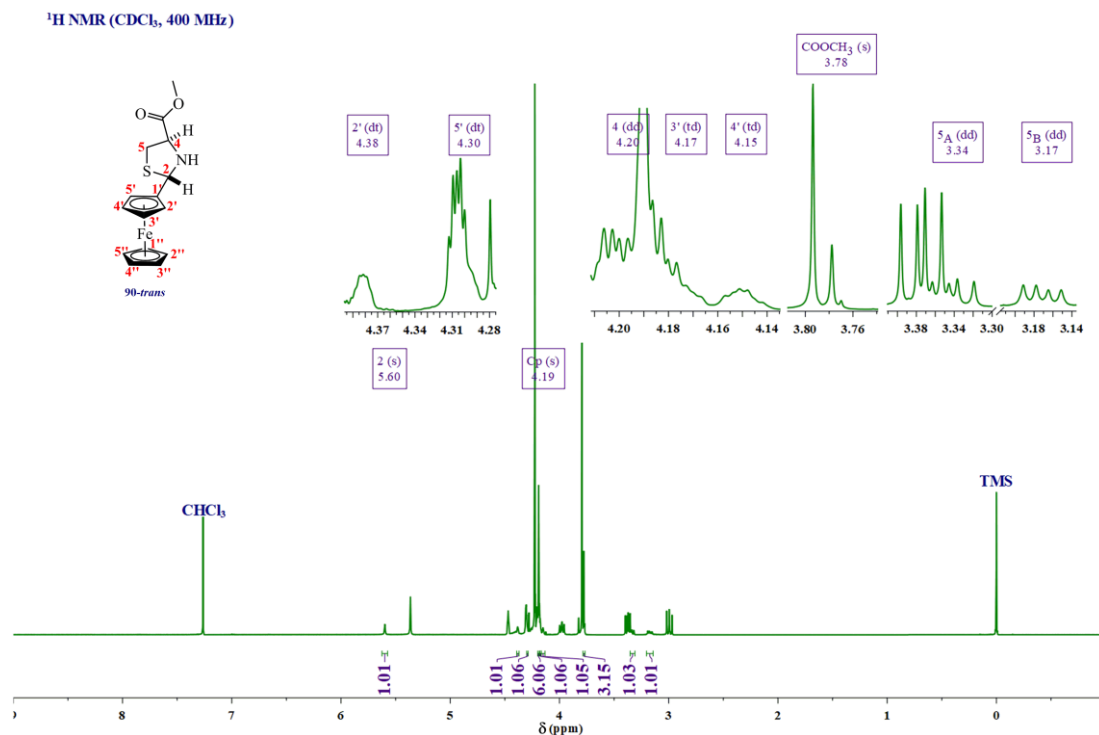
Прилог 34. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**90**) са означеним сигналимa који одговарају главном дијастереомеру.



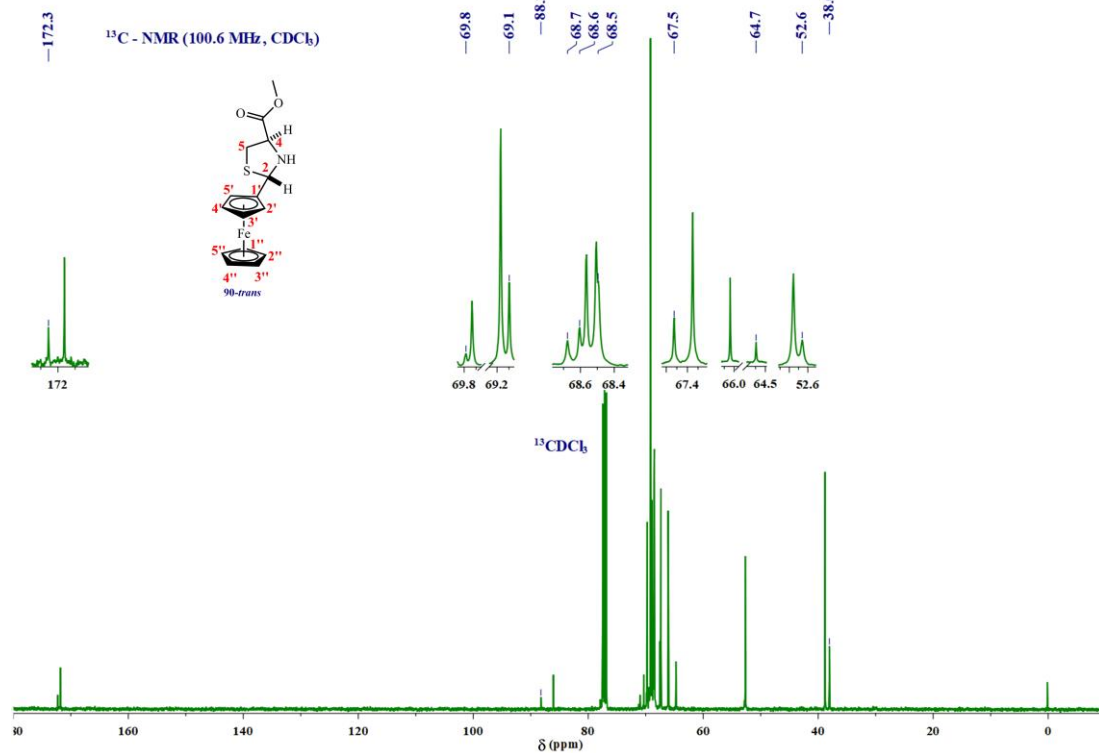
Прилог 35. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*ξ*,4*R*)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**90**) са означеним сигналимa који одговарају главном дијастереомеру.



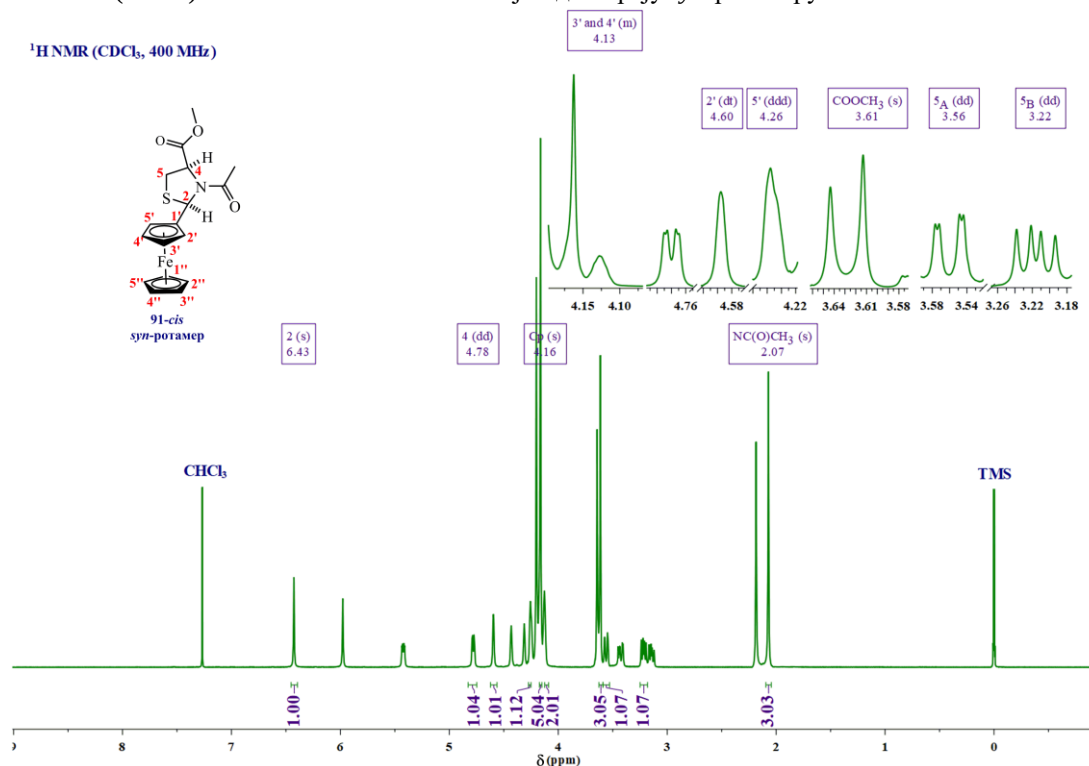
Прилог 36. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*ξ*,4*R*)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**90**) са означеним сигналимa који одговарају минорном дијастереомеру.



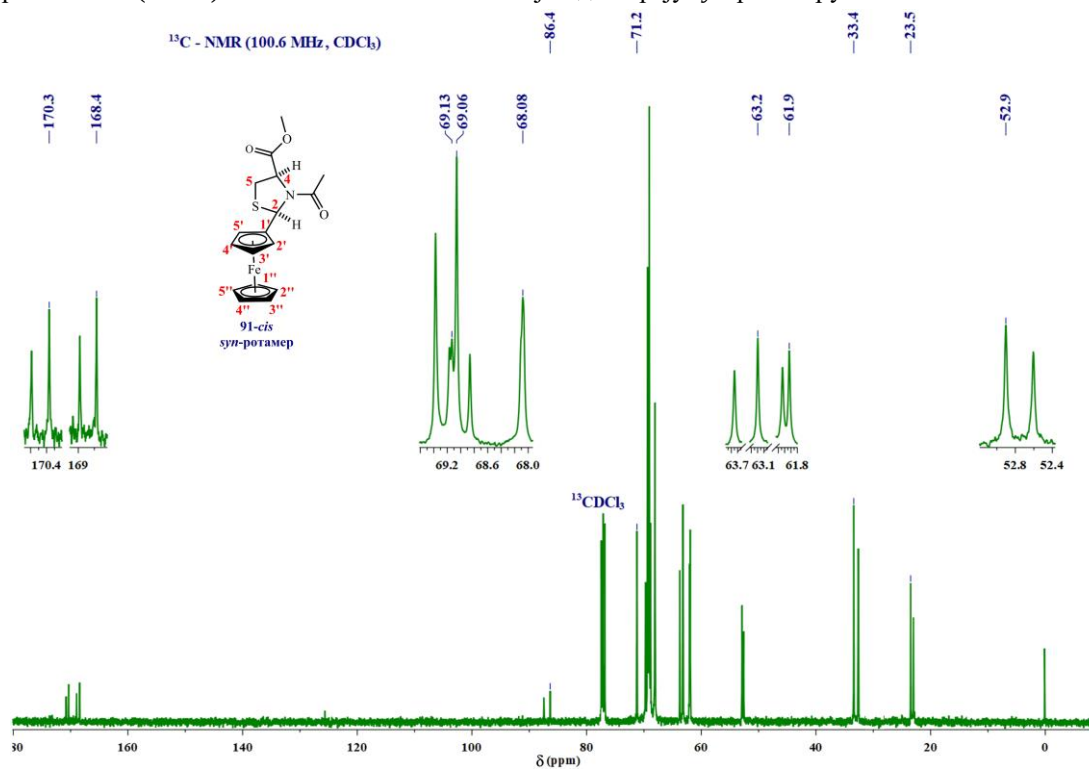
Прилог 37. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*ξ*,4*R*)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**90**) са означеним сигналимa који одговарају минорном дијастереомеру.



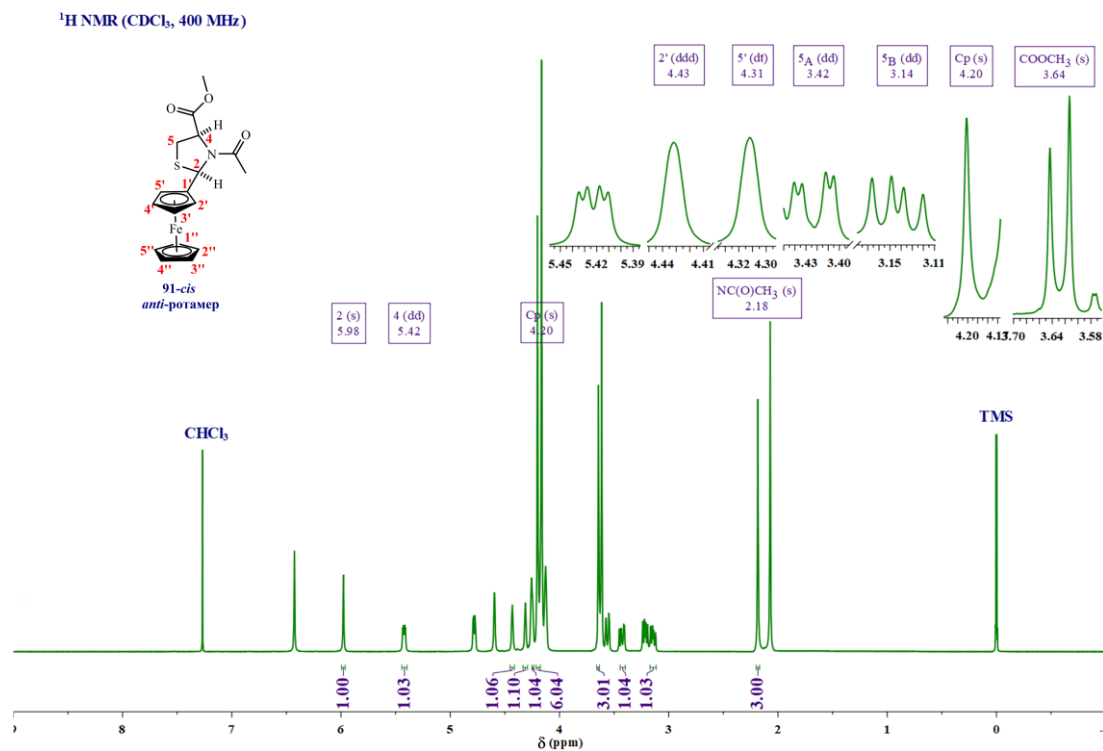
Прилог 38. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-ацетил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**91-cis**) са означеним сигналимa који одговарају *syn*-ротамеру.



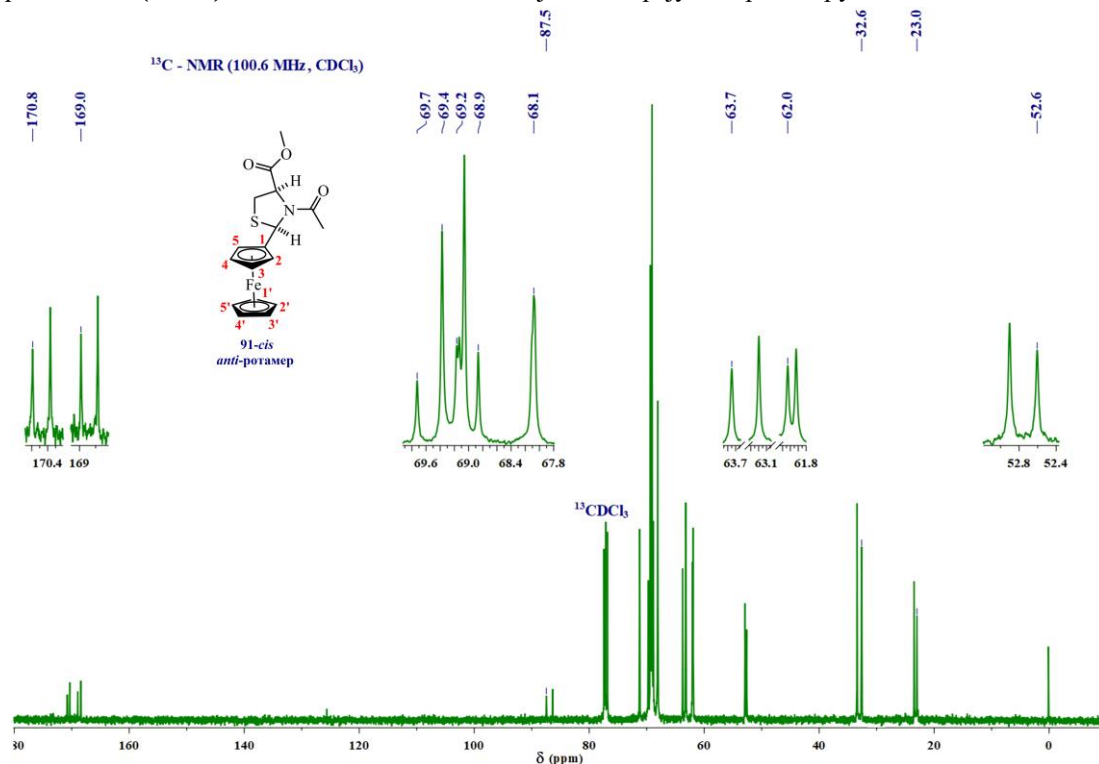
Прилог 39. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-ацетил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**91-cis**) са означеним сигналимa који одговарају *syn*-ротамеру.



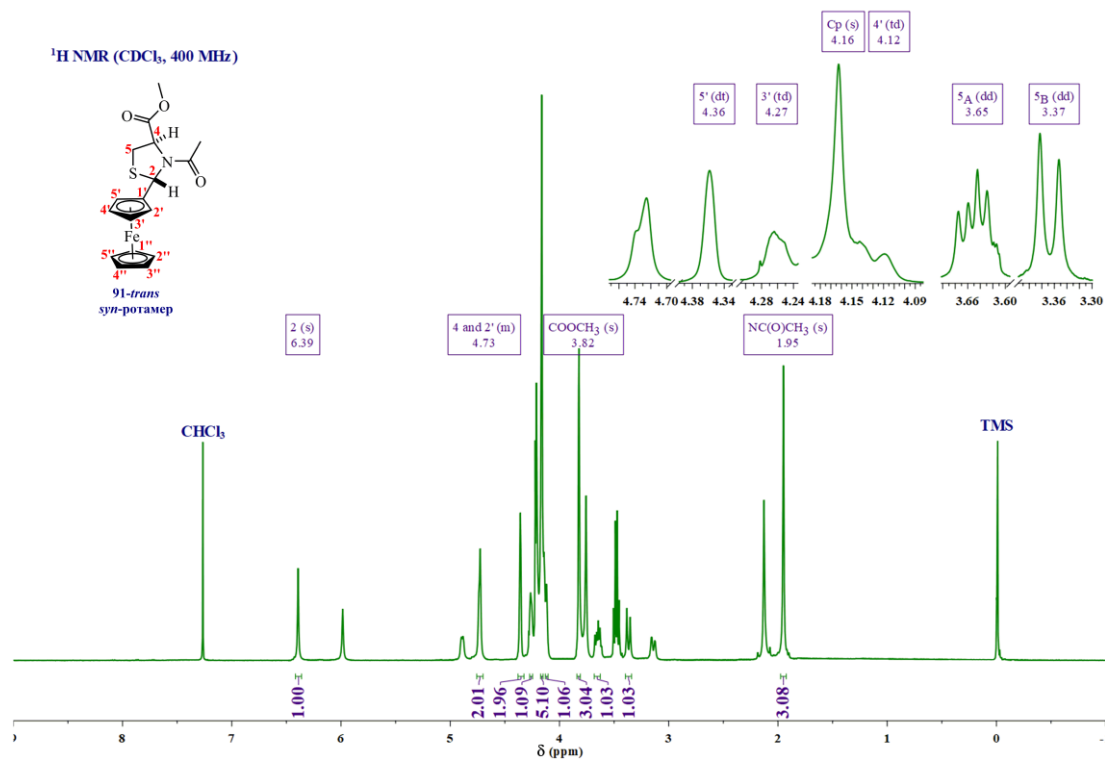
Прилог 40. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-ацетил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**91-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti*-ротамеру.



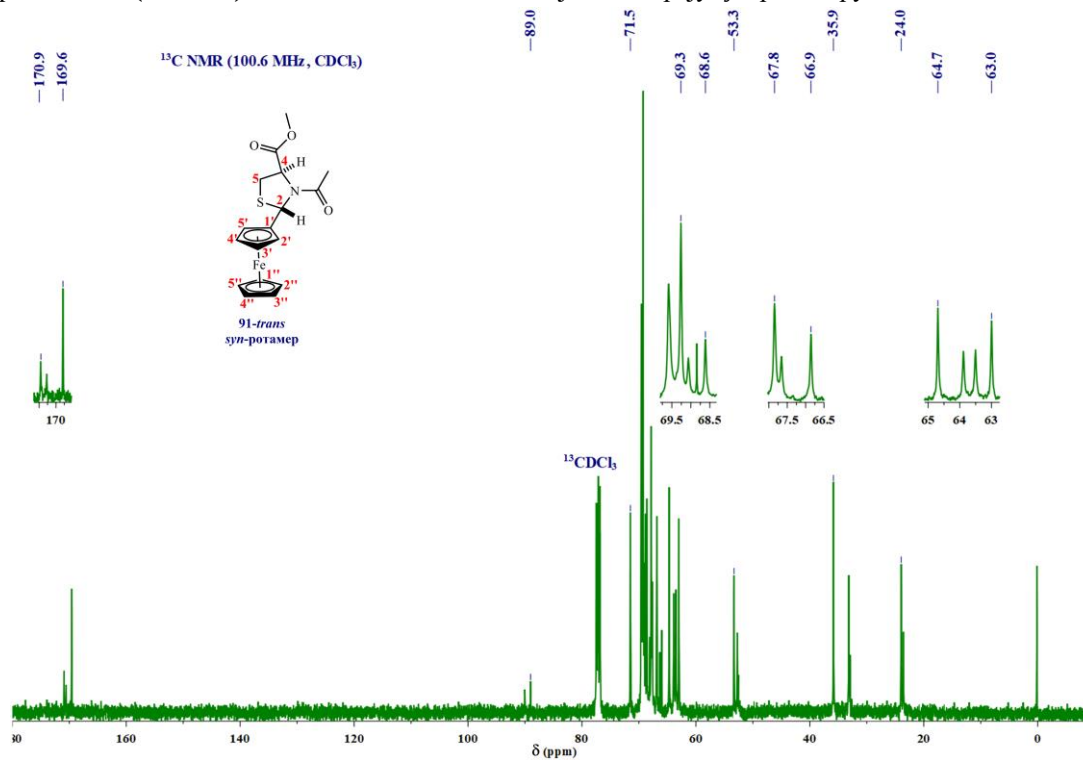
Прилог 41. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-ацетил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**91-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti*-ротамеру.



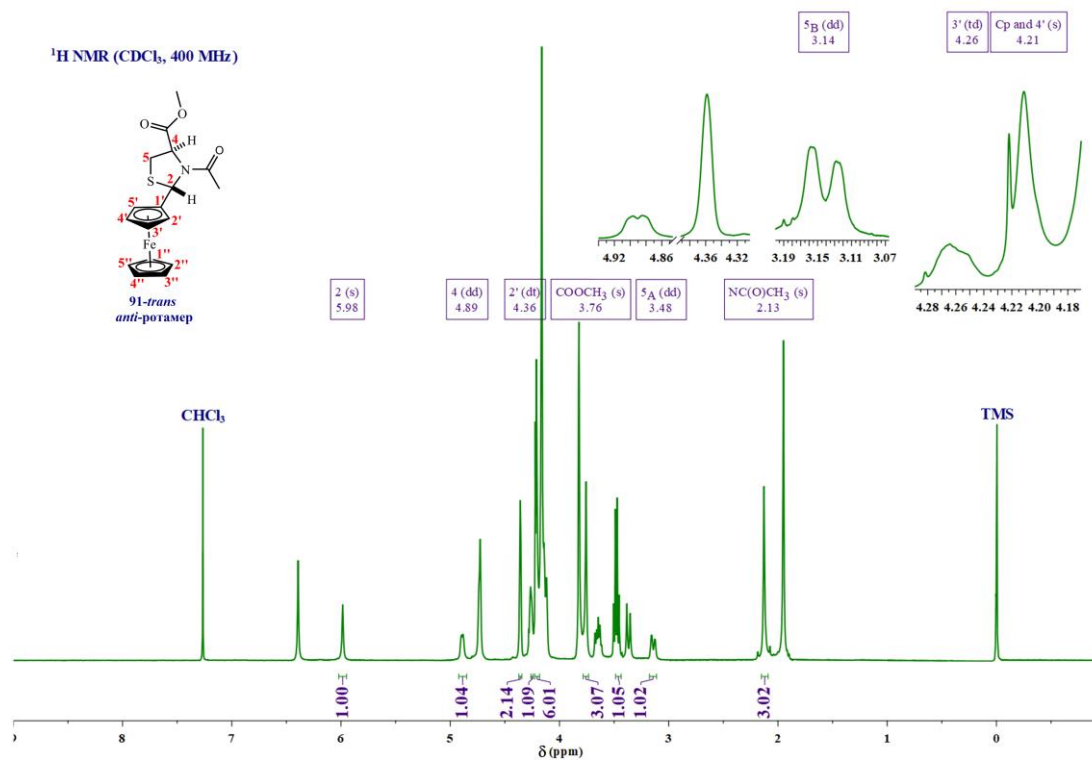
Прилог 42. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*S*,4*R*)-3-ацетил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**91-trans**) са означеним сигналимa који одговарају *syn*-ротамеру.



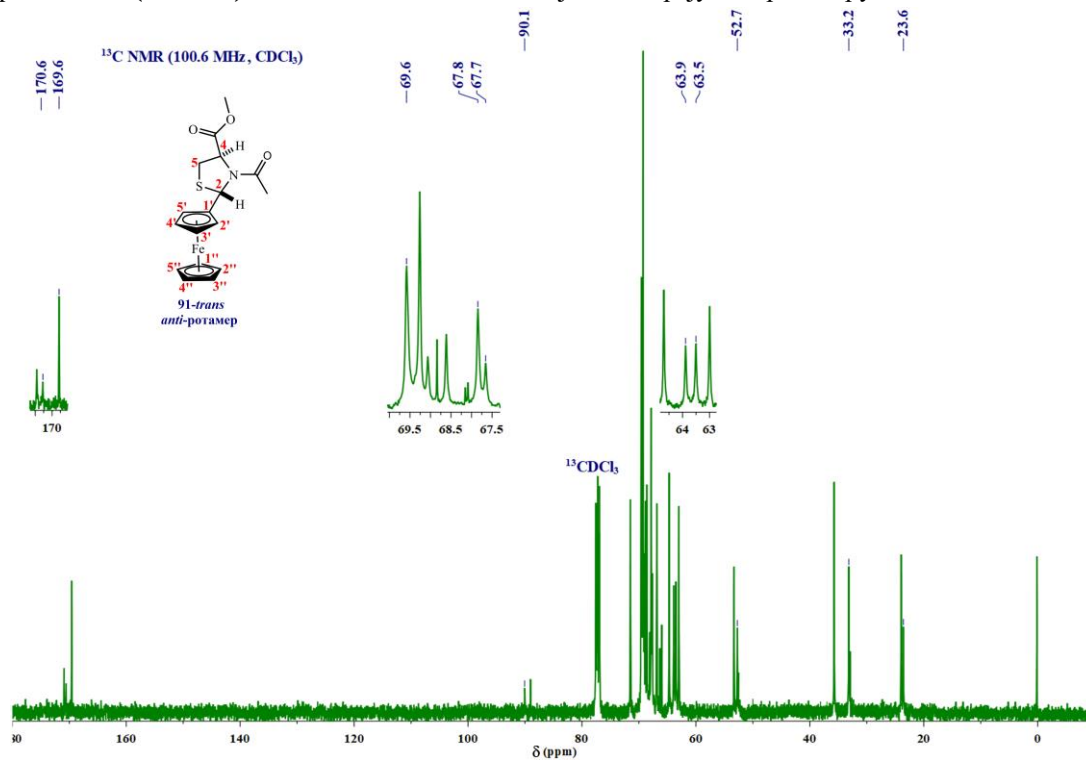
Прилог 43. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*S*,4*R*)-3-ацетил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**91-trans**) са означеним сигналимa који одговарају *syn*-ротамеру.



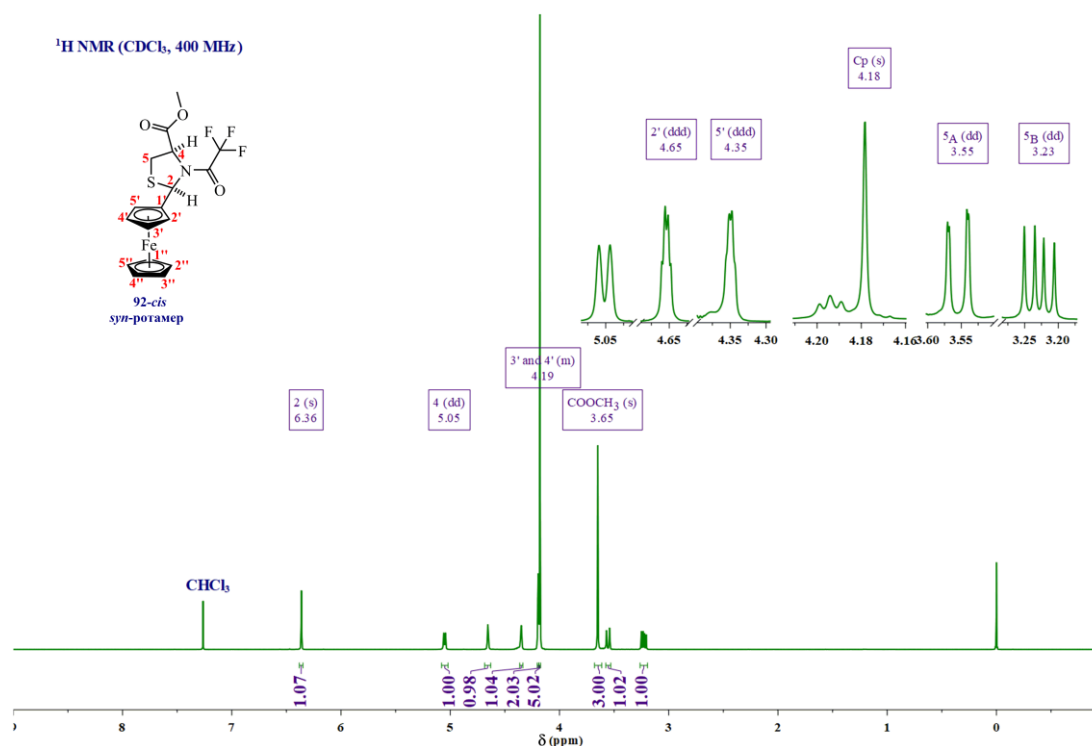
Прилог 44. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*S*,4*R*)-3-ацетил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**91-trans**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti*-ротамеру.



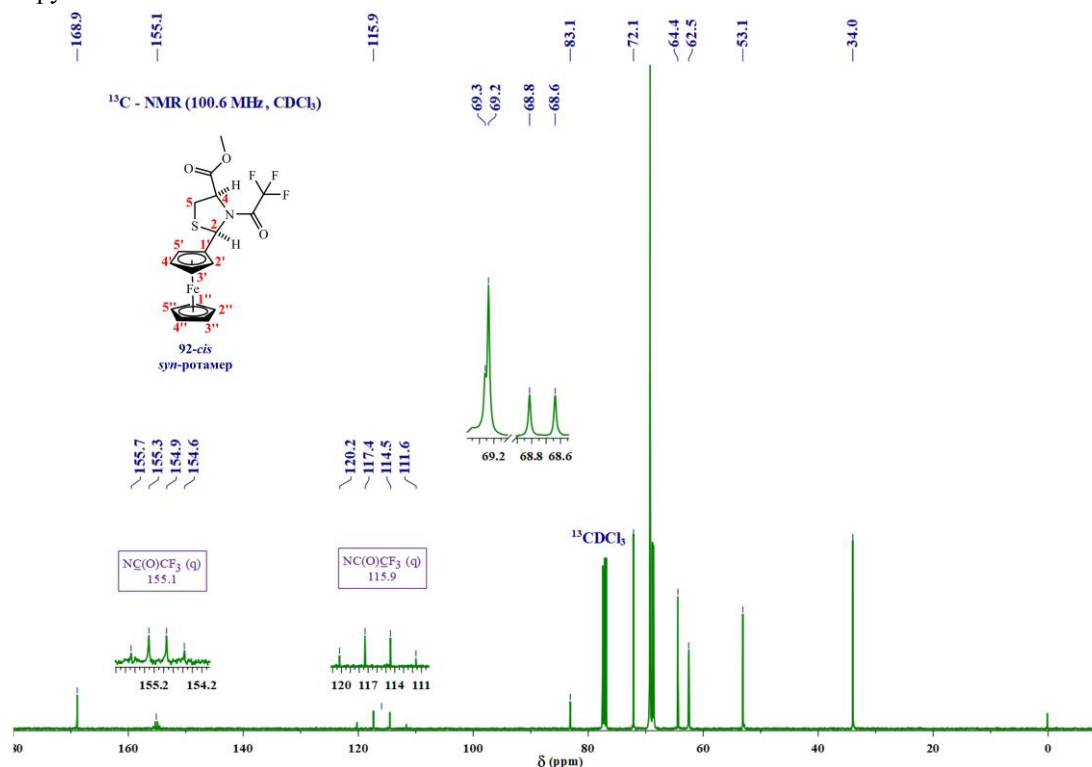
Прилог 45. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*S*,4*R*)-3-ацетил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**91-trans**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti*-ротамеру.



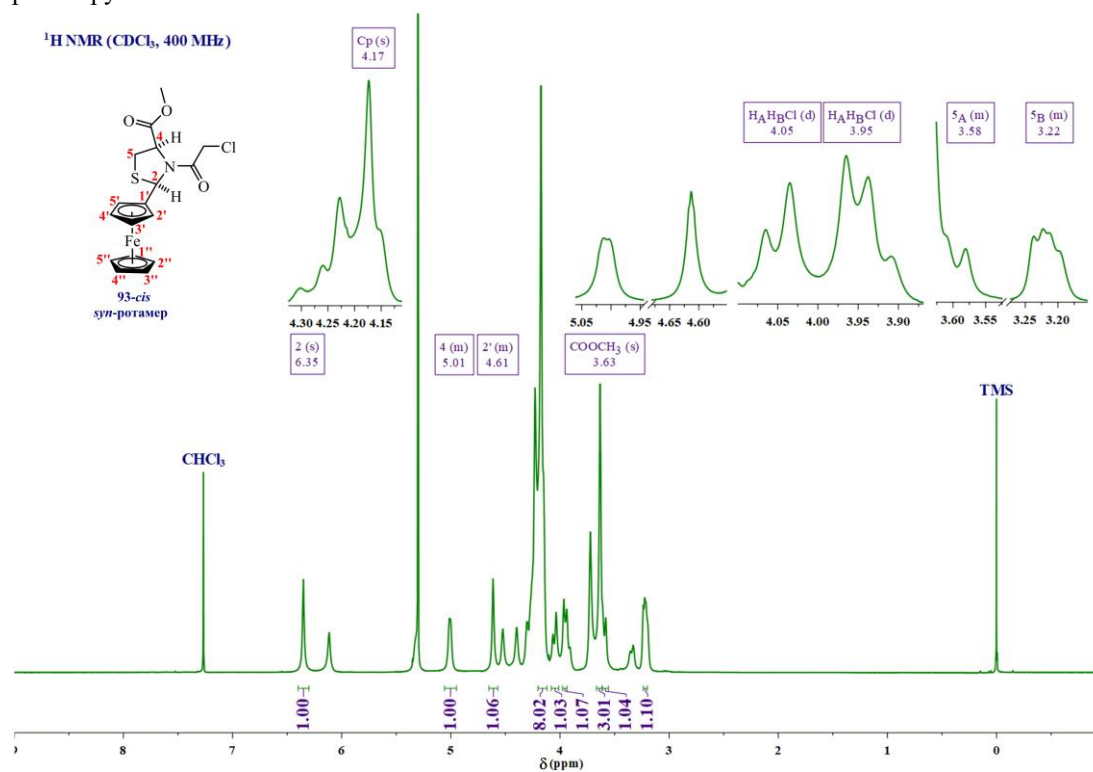
Прилог 46. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2,2,2-трифлуороацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**92-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn*-ротамеру.



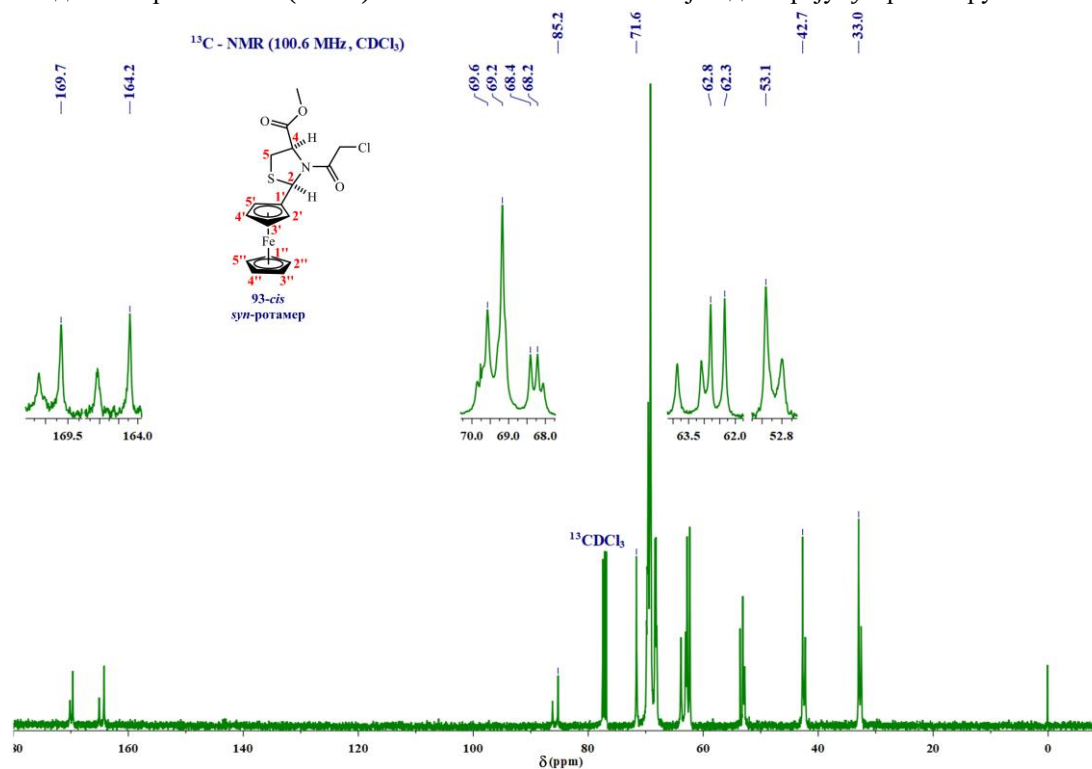
Прилог 47. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2,2,2-трифлуороацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**92-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn*-ротамеру.



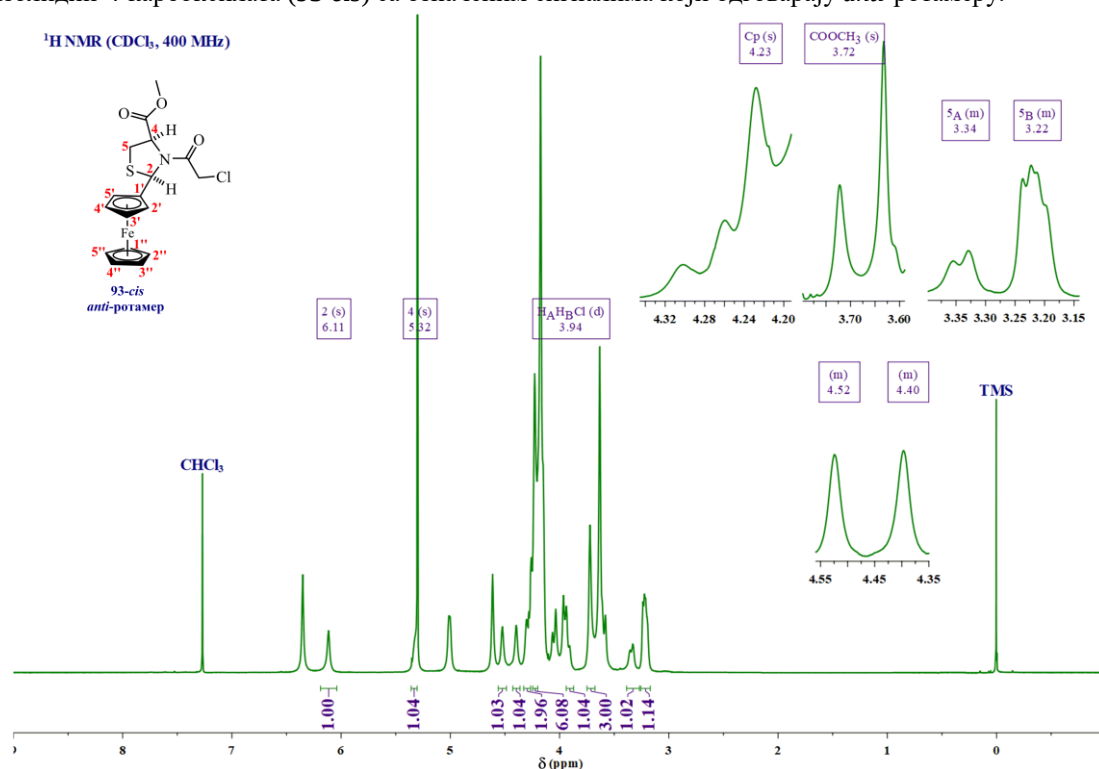
Прилог 48. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-хлорацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**93-cis**) са означеним сигналимa који одговарају *syn*-ротамеру.



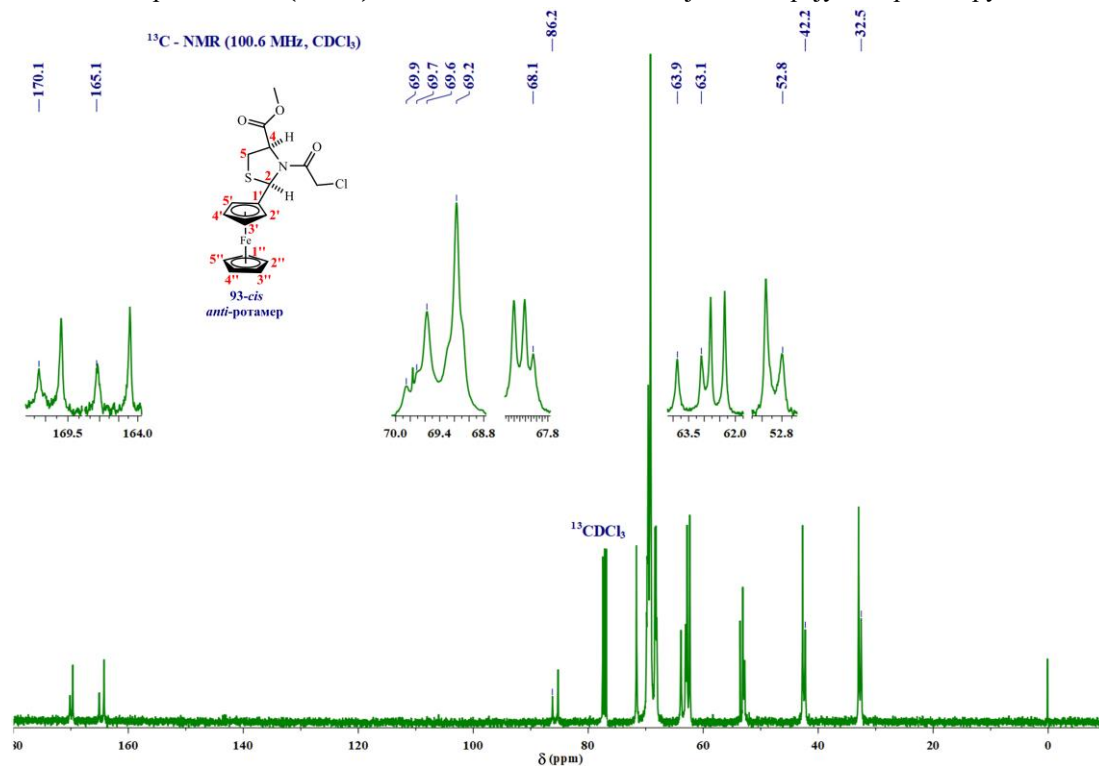
Прилог 49. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-хлорацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**93-cis**) са означеним сигналимa који одговарају *syn*-ротамеру.



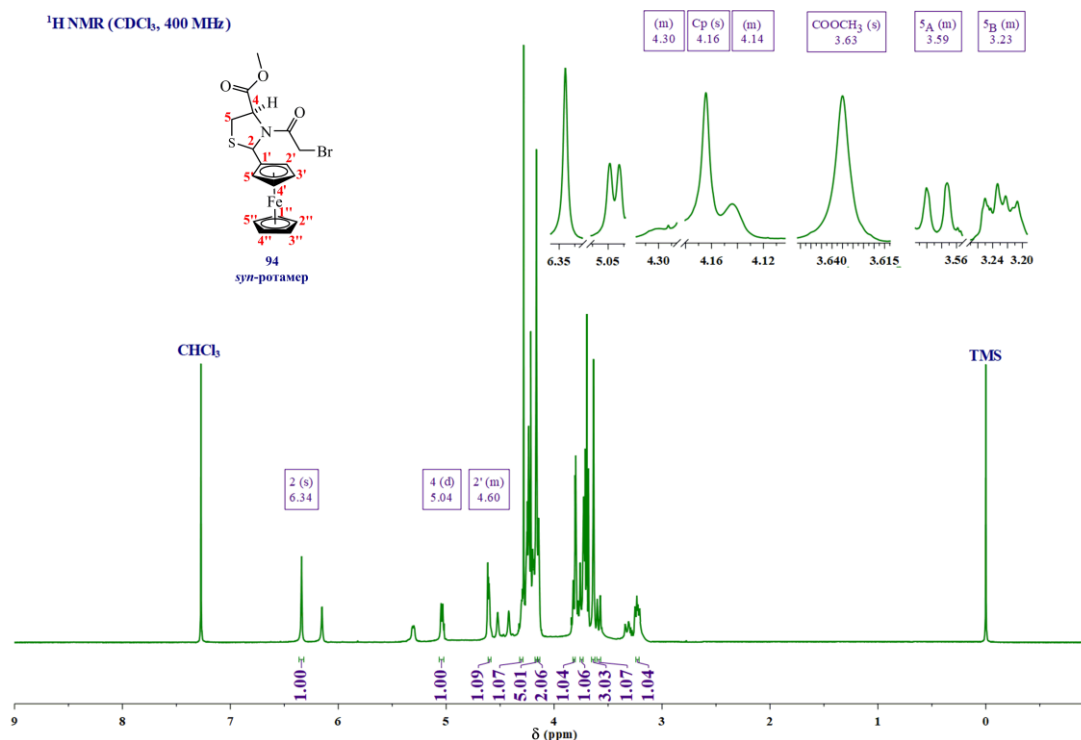
Прилог 50. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-хлорацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**93-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti*-ротамеру.



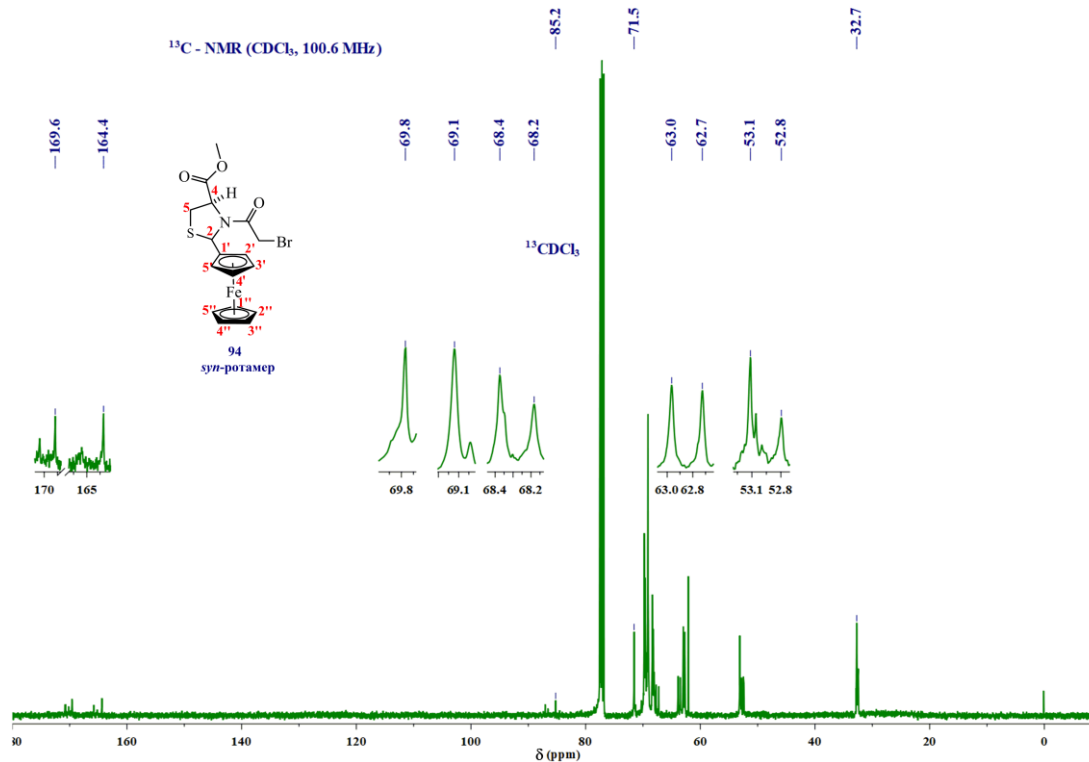
Прилог 51. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-хлорацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**93-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti*-ротамеру.



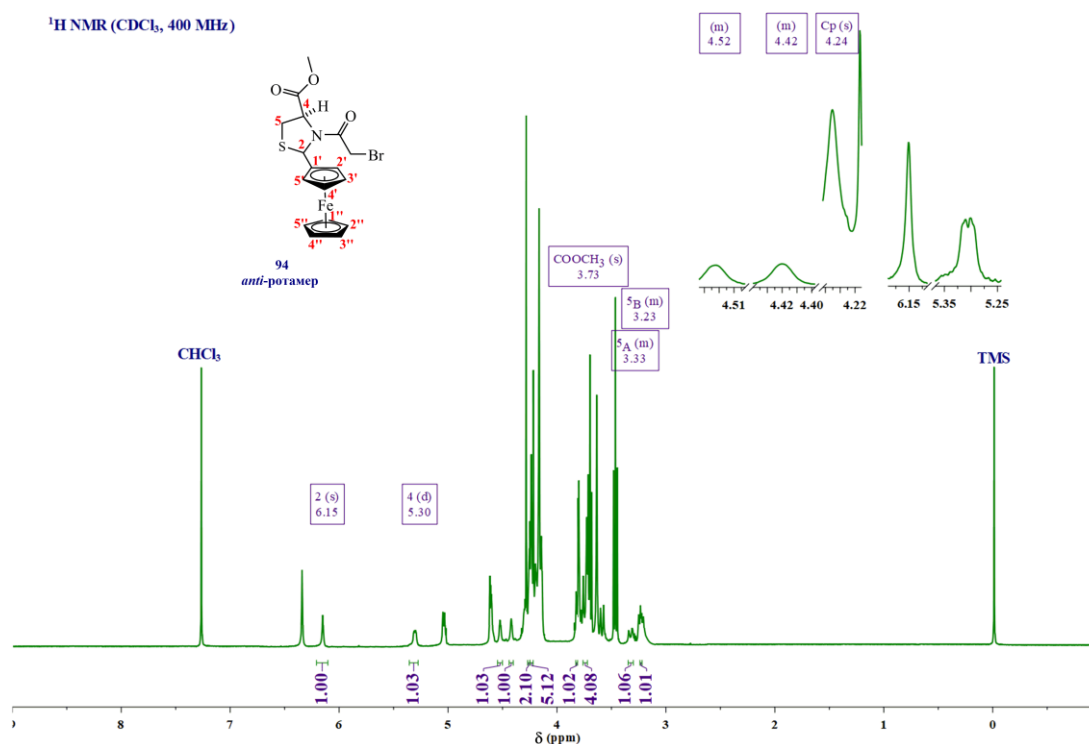
Прилог 52. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2 ξ ,4*R*)-3-(2-бромацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**94**) са означеним сигнаlima који одговарају суп-ротамеру.



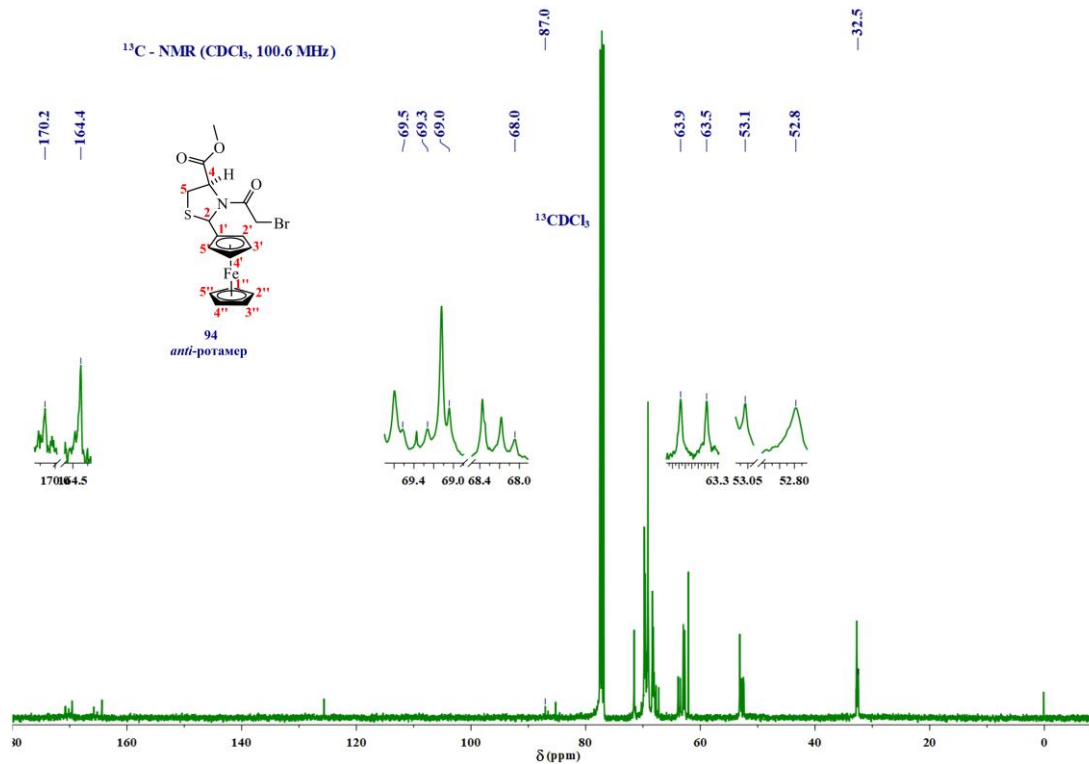
Прилог 53. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2 ξ ,4*R*)-3-(2-бромацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**94**) са означеним сигнаlima који одговарају суп-ротамеру.



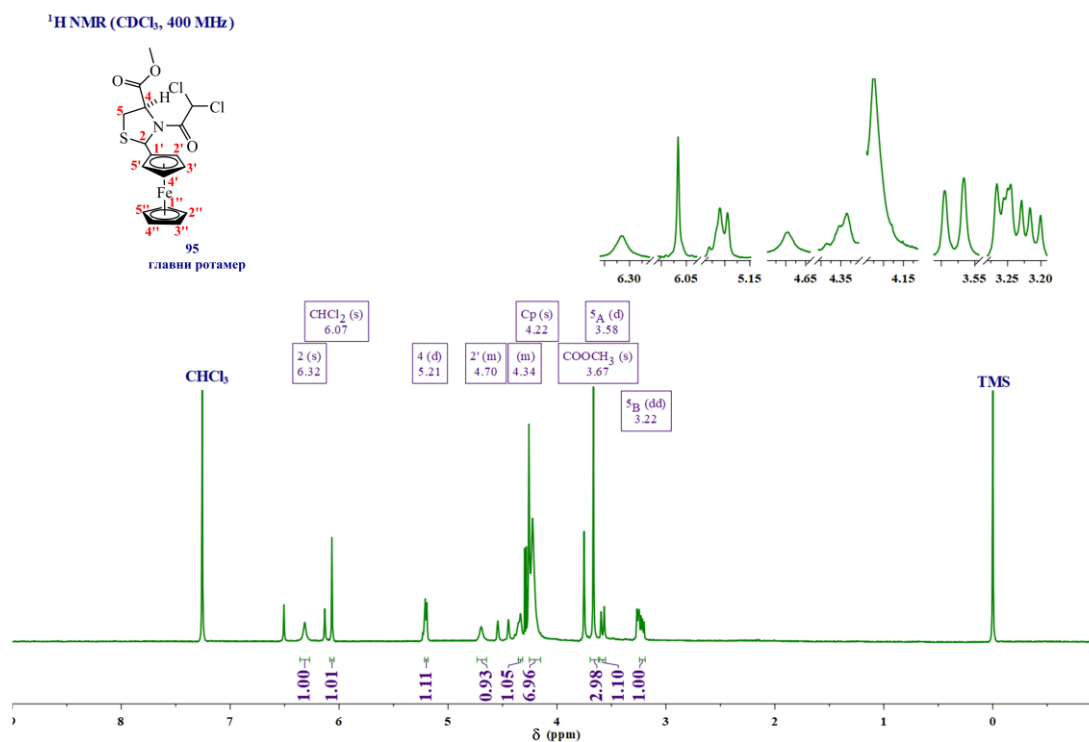
Прилог 54. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2 ξ ,4*R*)-3-(2-бромацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**94**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti*-ротамеру.



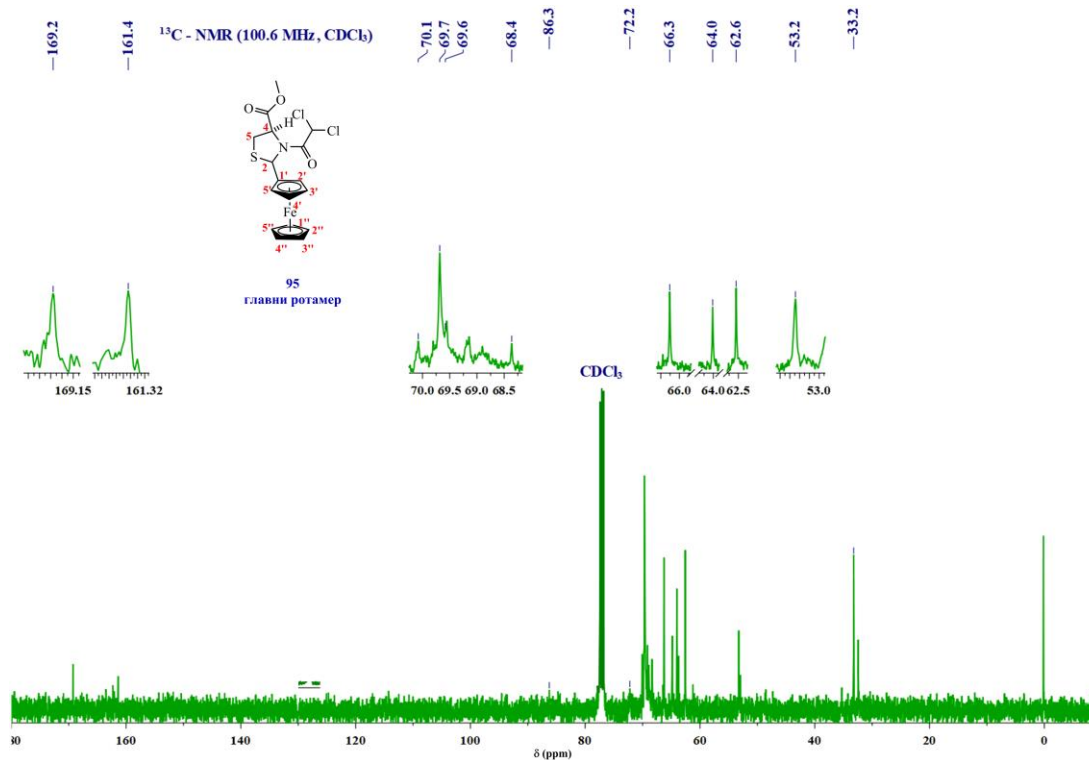
Прилог 55. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2 ξ ,4*R*)-3-(2-бромацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**94**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti*-ротамеру.



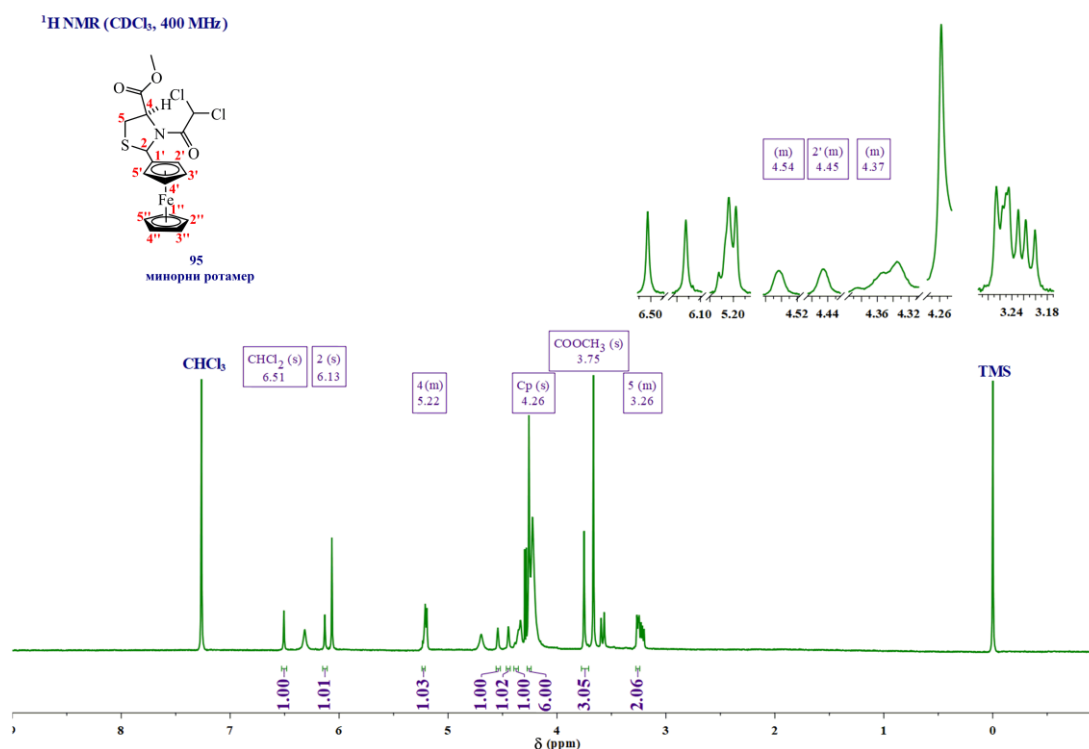
Прилог 56. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2 ξ ,4R)-2-фероценил-3-(2,2-дихлорацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**95**) са означеним сигнаlima који одговарају главном ротамеру.



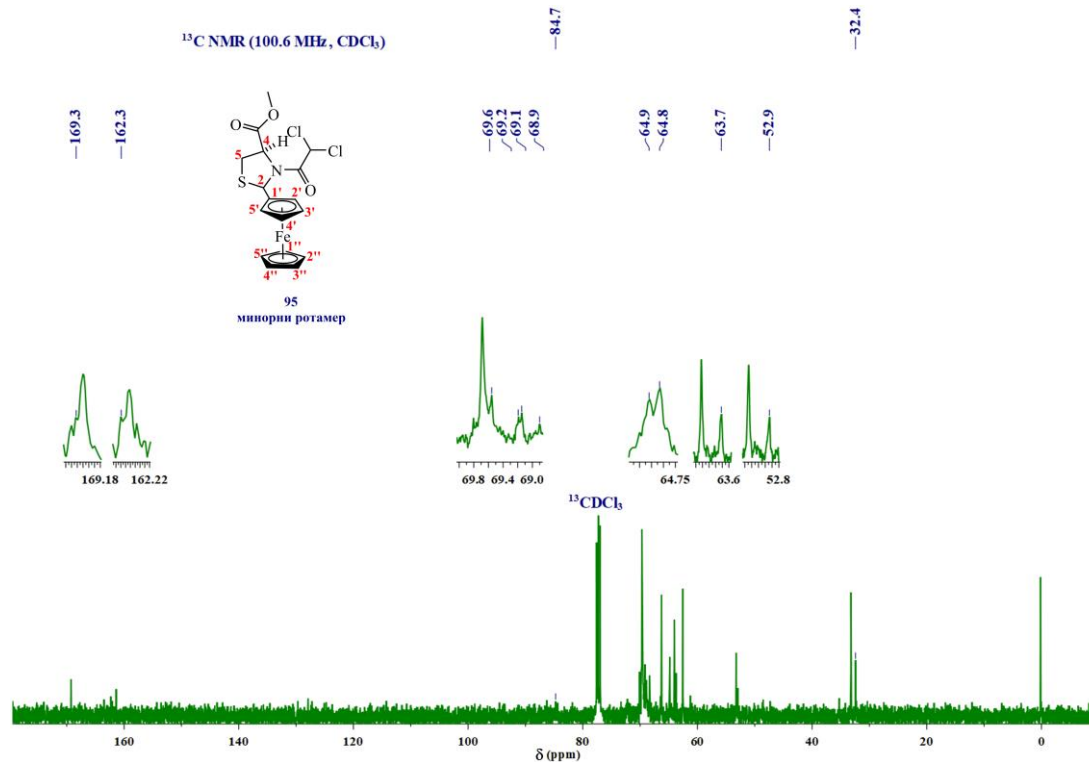
Прилог 57. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2 ξ ,4R)-2-фероценил-3-(2,2-дихлорацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**95**) са означеним сигнаlima који одговарају главном ротамеру.



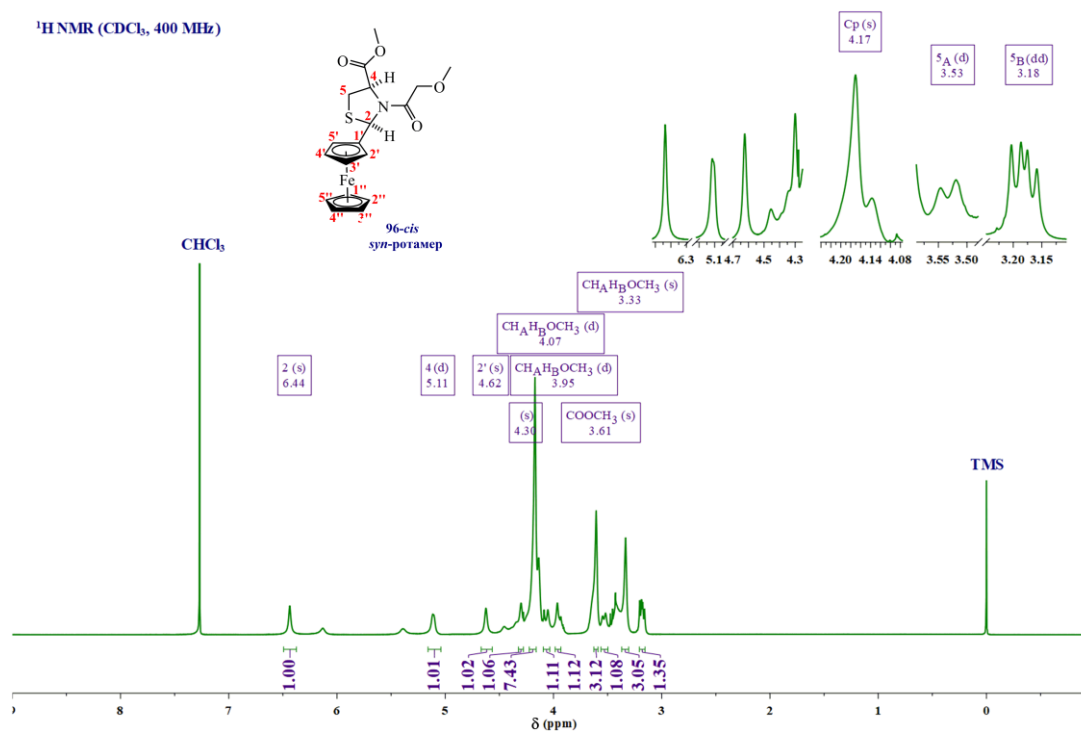
Прилог 58. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2 ξ ,4R)-2-фероценил-3-(2,2-дихлорацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**95**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном ротамеру.



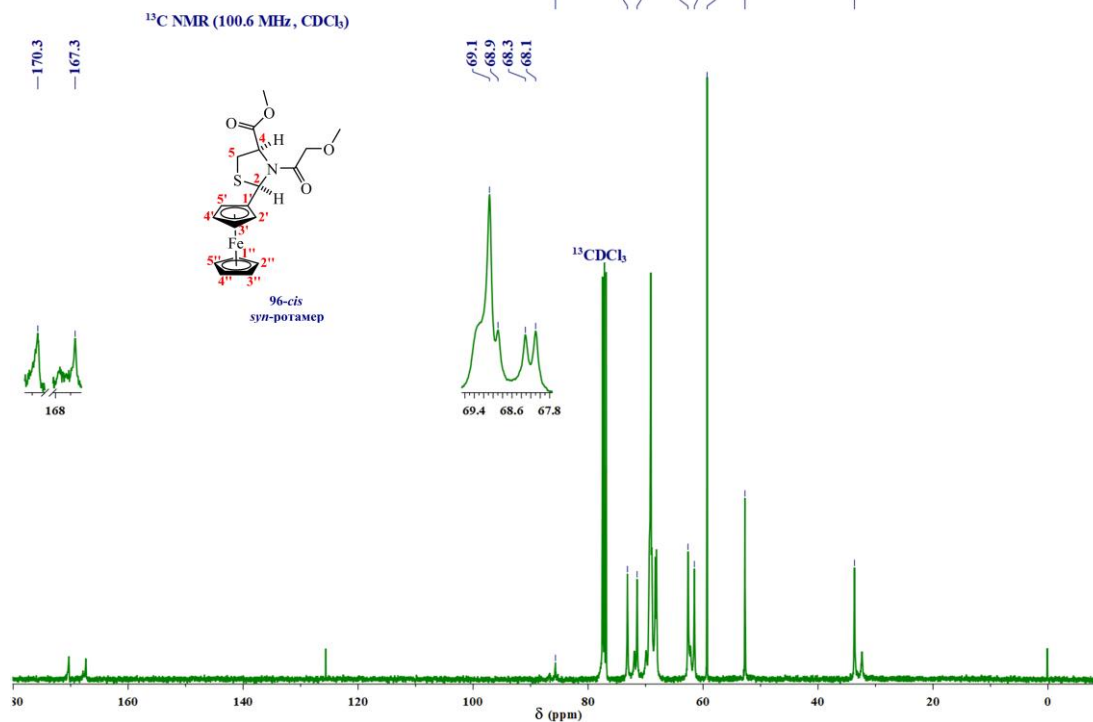
Прилог 59. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2 ξ ,4R)-2-фероценил-3-(2,2-дихлорацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**95**) са означеним сигнаlima који одговарају минорном ротамеру.



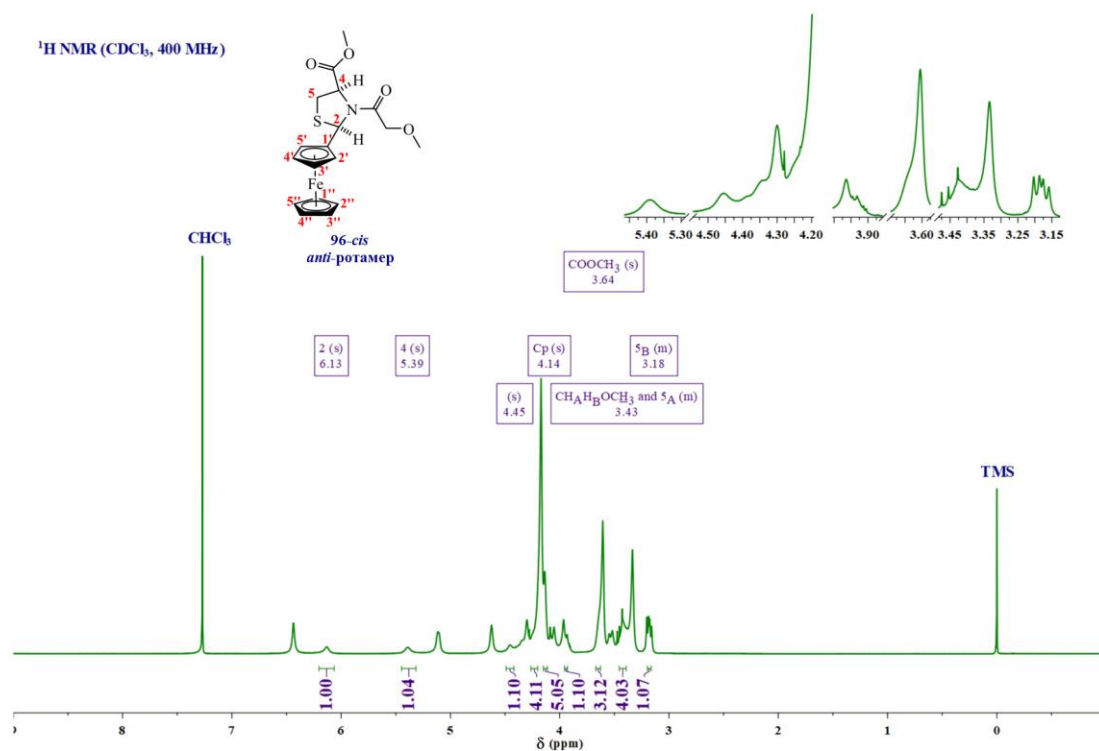
Прилог 60. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-метоксиацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**96-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn* ротамеру.



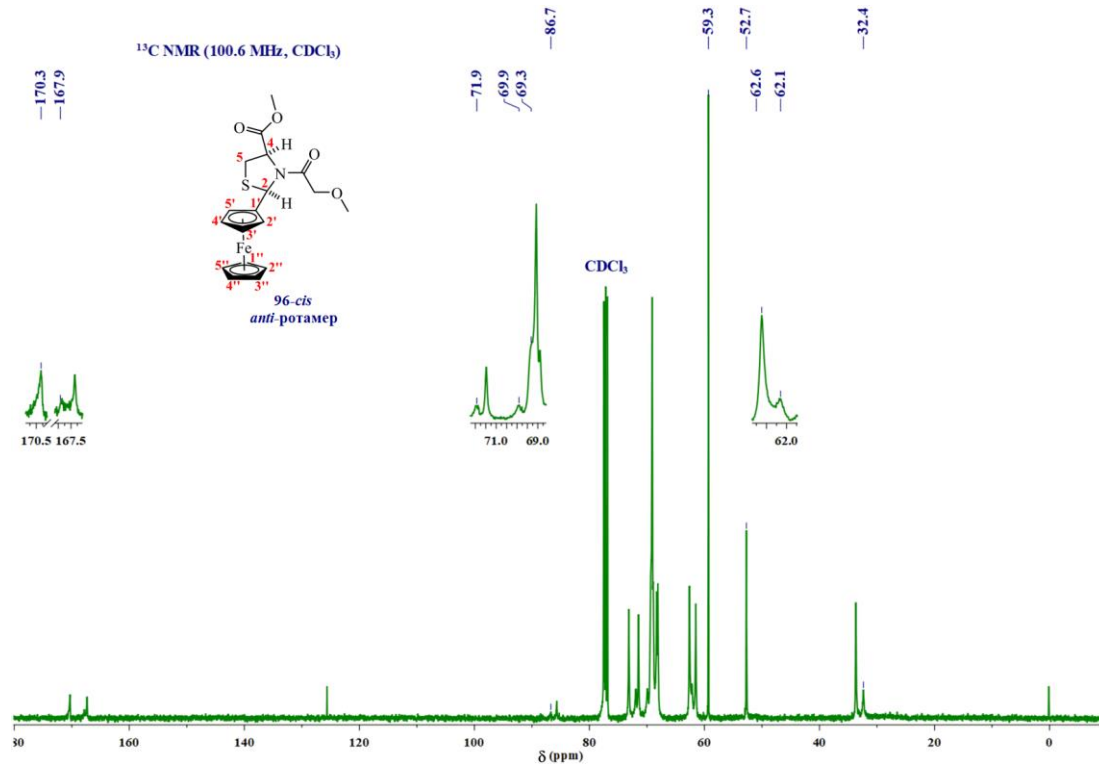
Прилог 61. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-метоксиацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**96-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn* ротамеру.



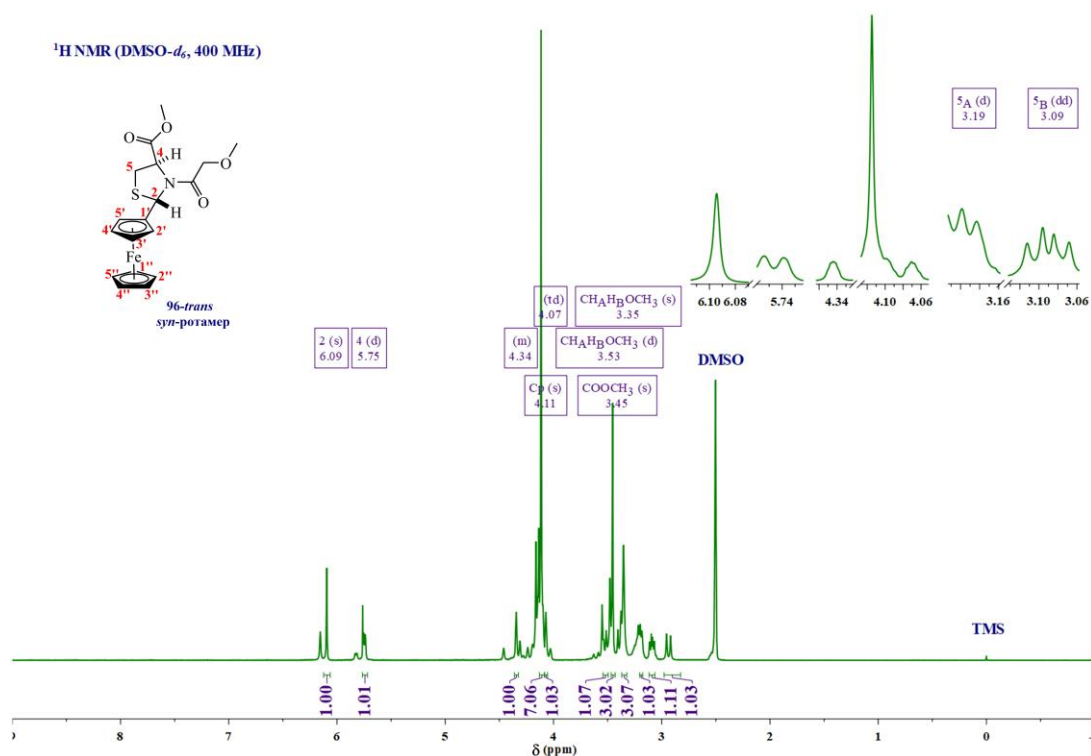
Прилог 62. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-метоксиацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**96-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti* ротaмеру.



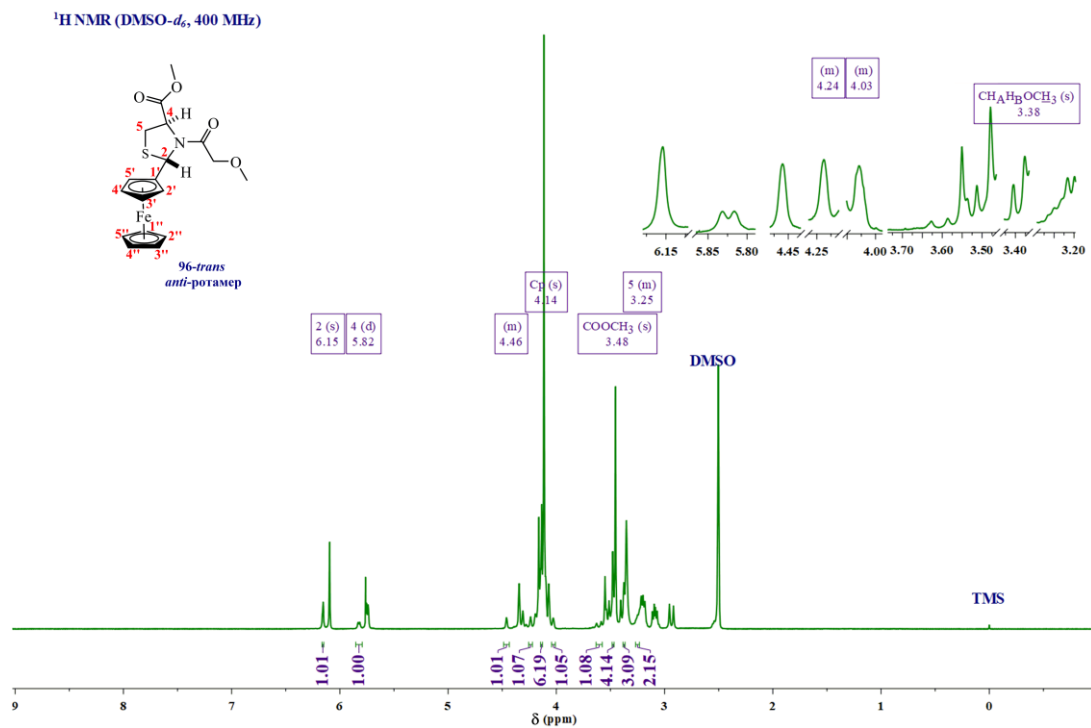
Прилог 63. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-метоксиацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**96-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti* ротaмеру.



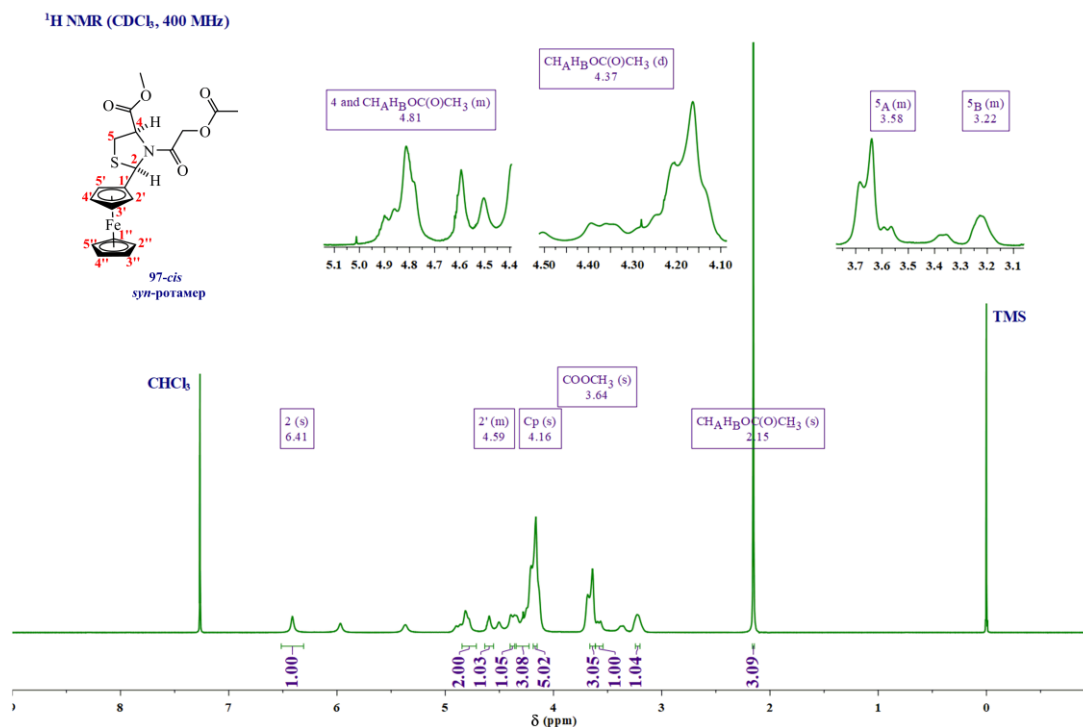
Прилог 64. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*S*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-метоксиацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**96-trans**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn* ротамеру.



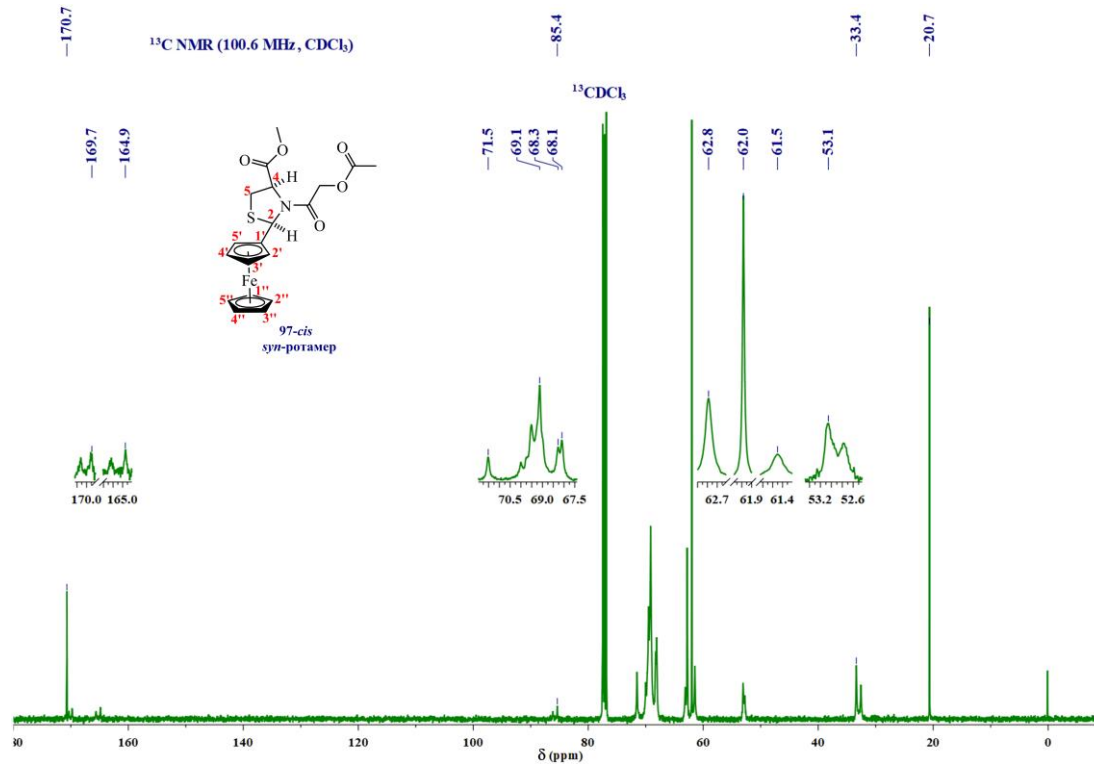
Прилог 65. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*S*,4*R*)-2-фероценил-3-(2-метоксиацетил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**96-trans**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti* ротамеру.



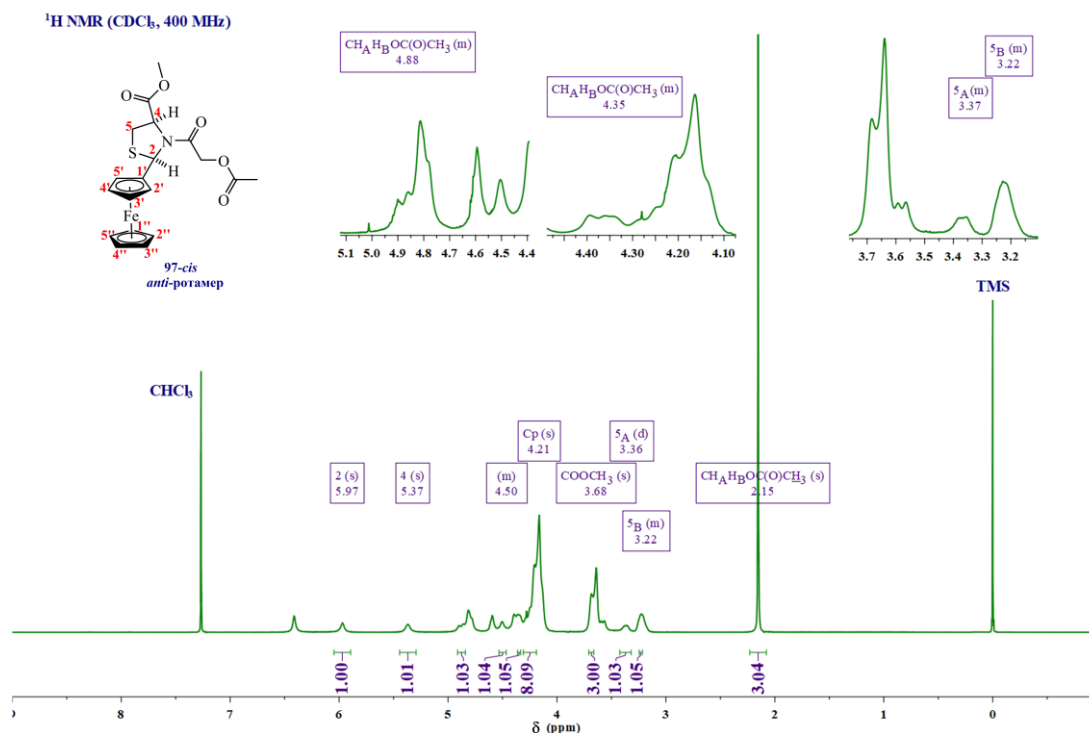
Прилог 66. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-ацетоксиацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**97-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn* ротамеру.



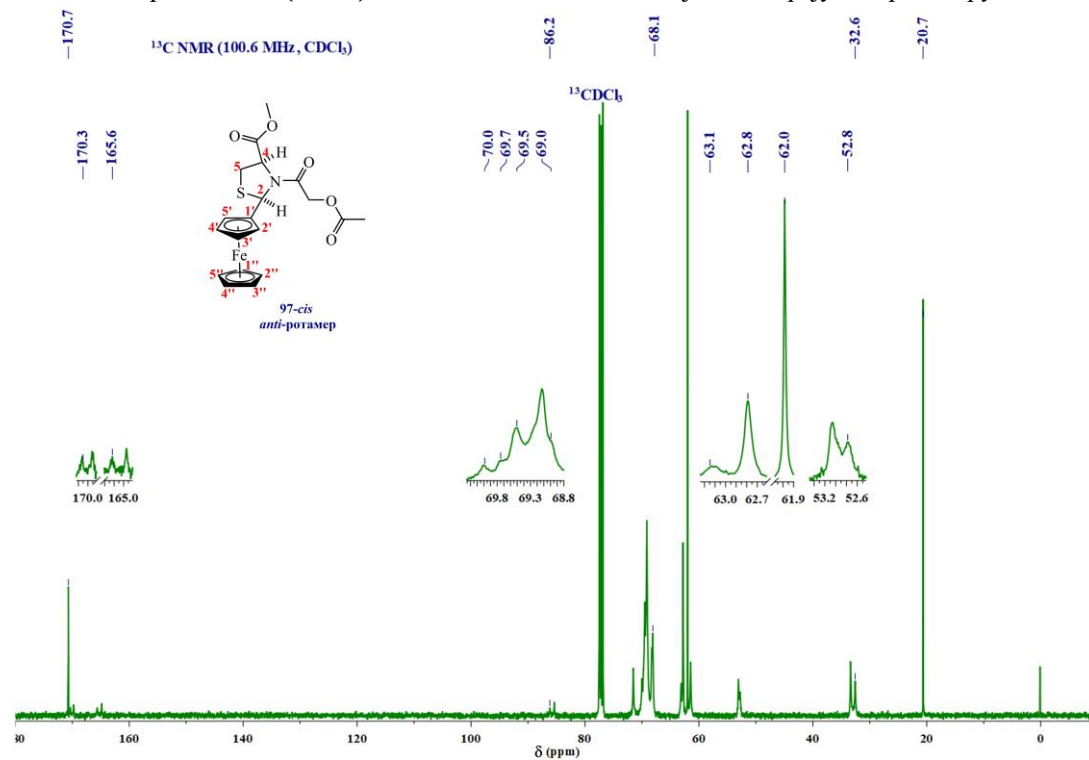
Прилог 67. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-ацетоксиацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**97-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn* ротамеру.



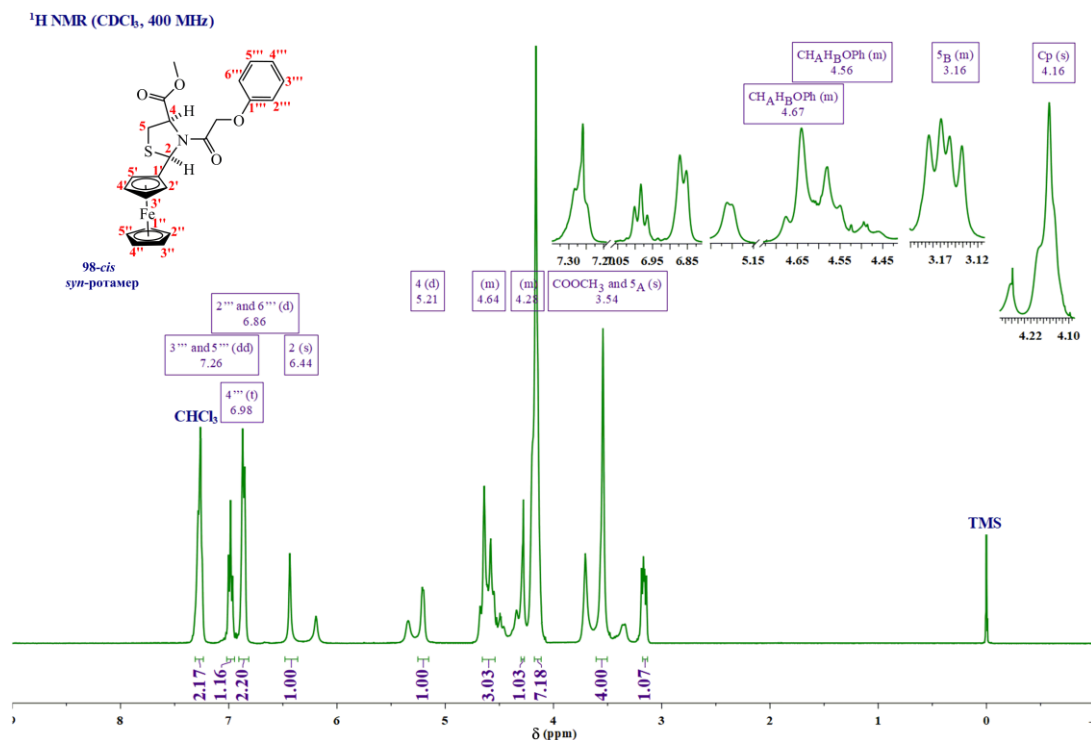
Прилог 68. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-ацетоксинацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**97-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti* ротамеру.



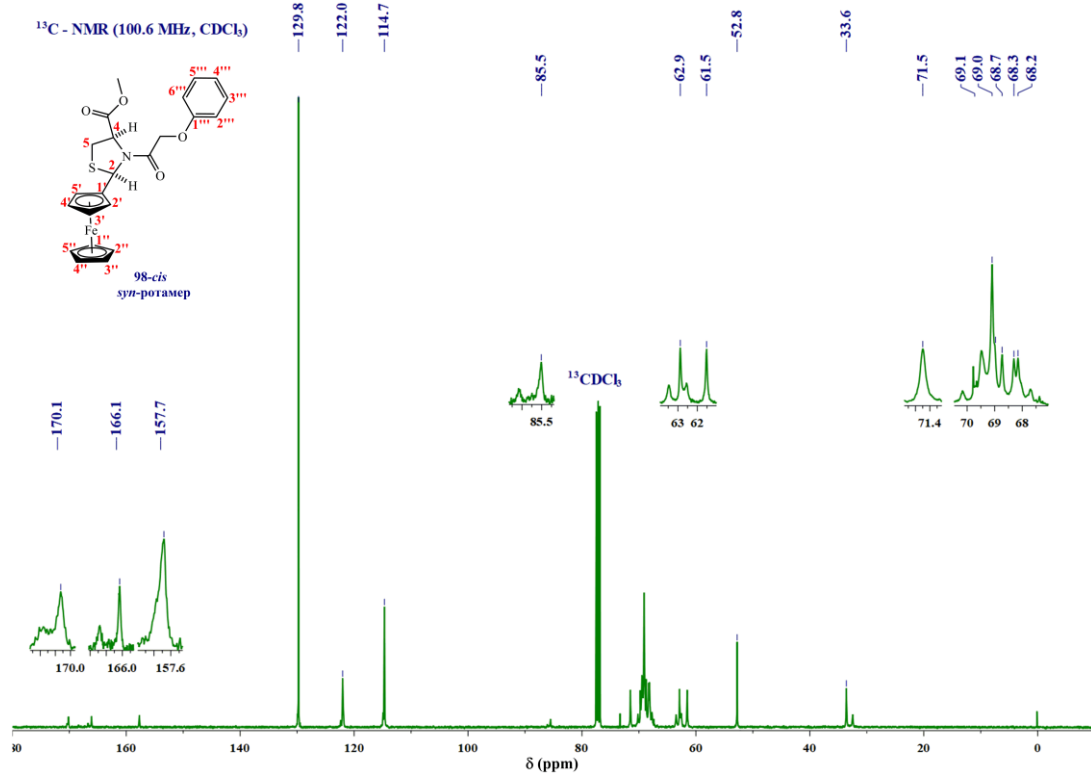
Прилог 69. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-ацетоксинацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**97-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti* ротамеру.



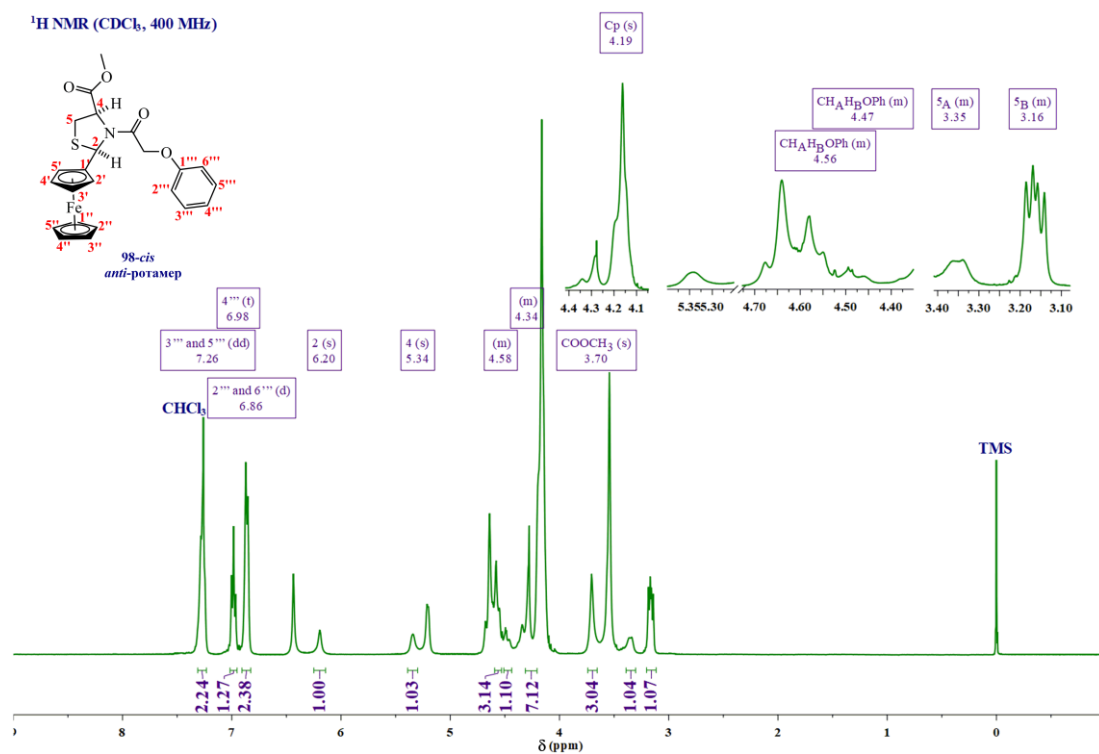
Прилог 70. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-феноксиацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**98-cis**) са означеним сигналимa који одговарају *syn* ротамеру.



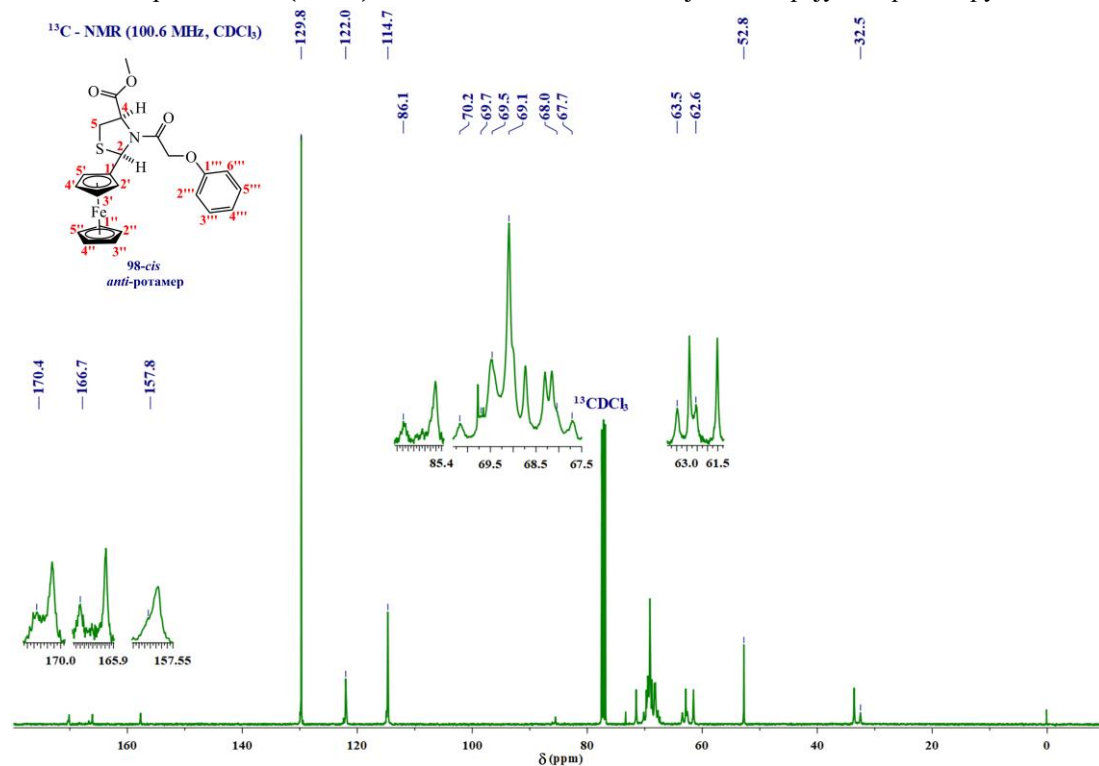
Прилог 71. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-феноксиацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**98-cis**) са означеним сигналимa који одговарају *syn* ротамеру.



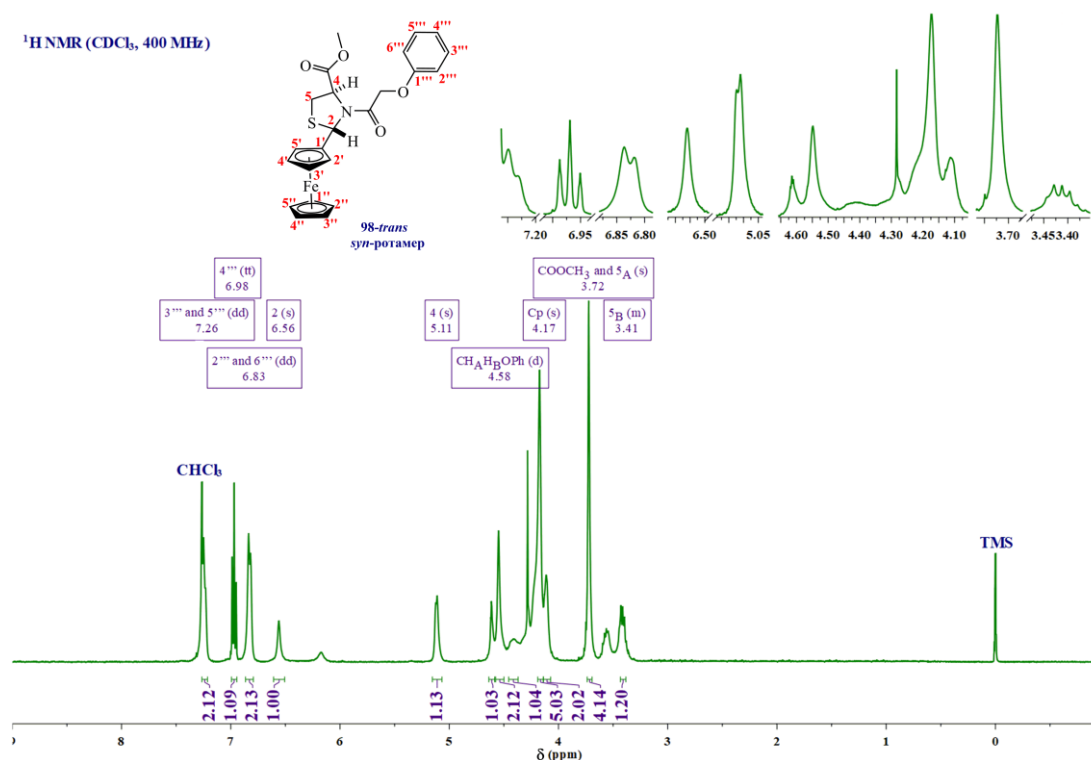
Прилог 72. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-феноксиацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**98-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti* ротамеру.



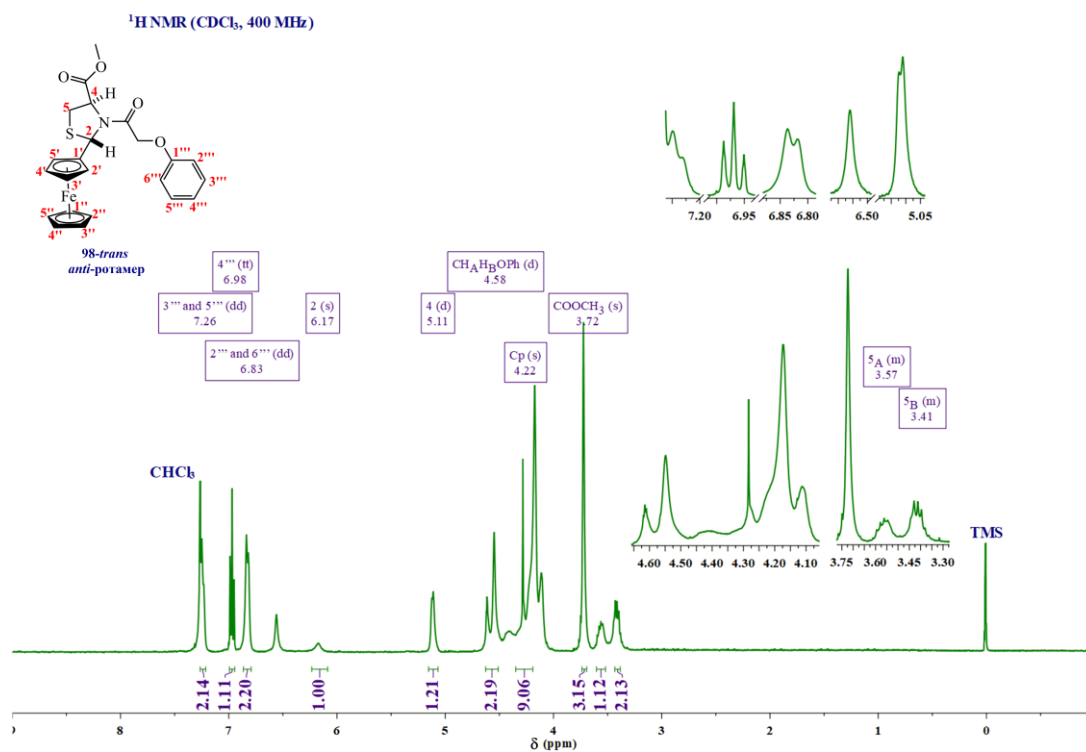
Прилог 73. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-феноксиацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**98-cis**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti* ротамеру.



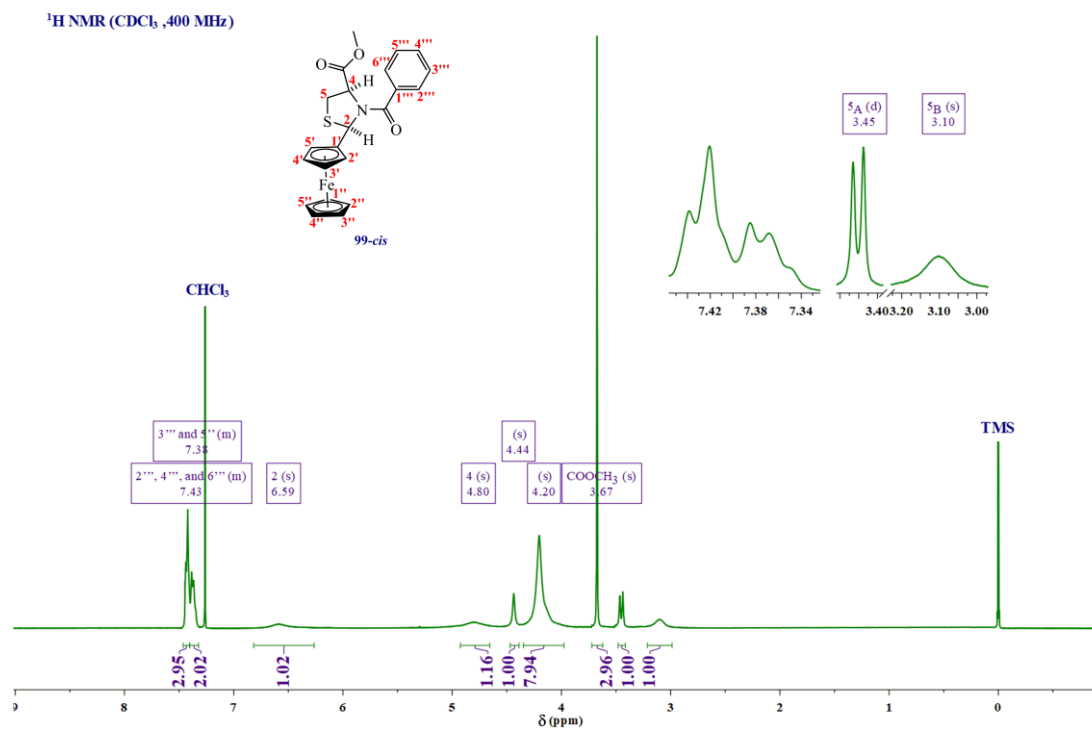
Прилог 74. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-феноксинацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**98-trans**) са означеним сигнаlima који одговарају *syn* ротамеру.



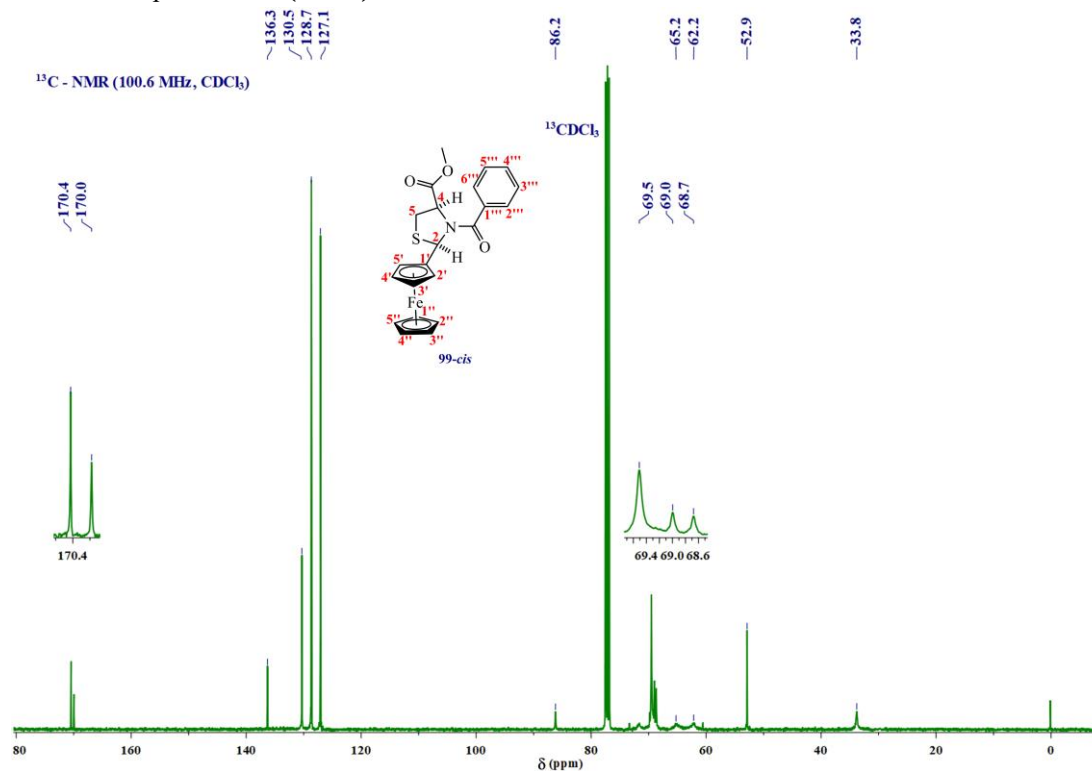
Прилог 75. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-(2-феноксинацетил)-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**98-trans**) са означеним сигнаlima који одговарају *anti* ротамеру.



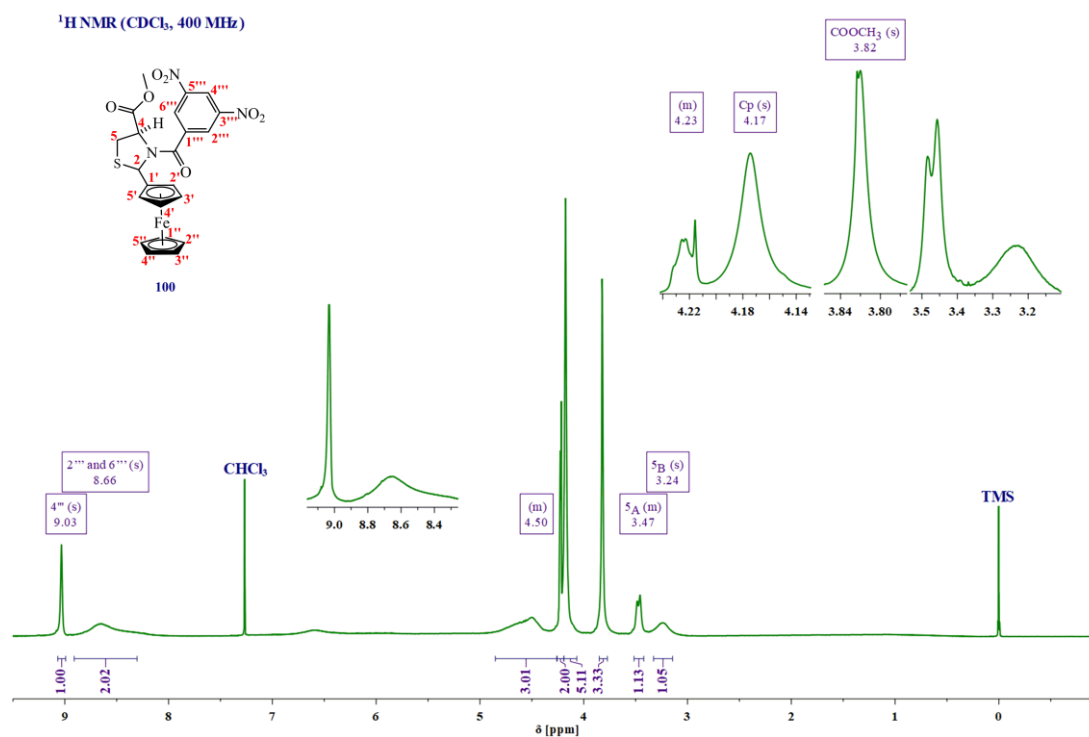
Прилог 76. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-бензоил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**99-cis**).



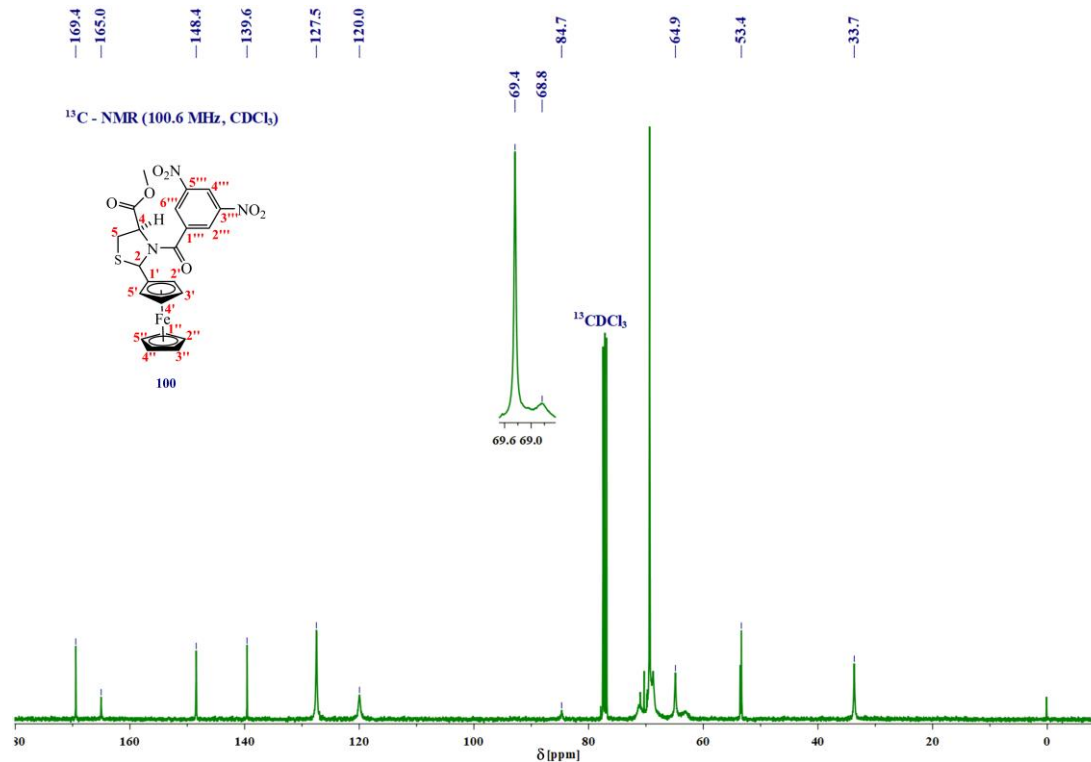
Прилог 77. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2*R*,4*R*)-3-бензоил-2-фероценил-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**99-cis**).



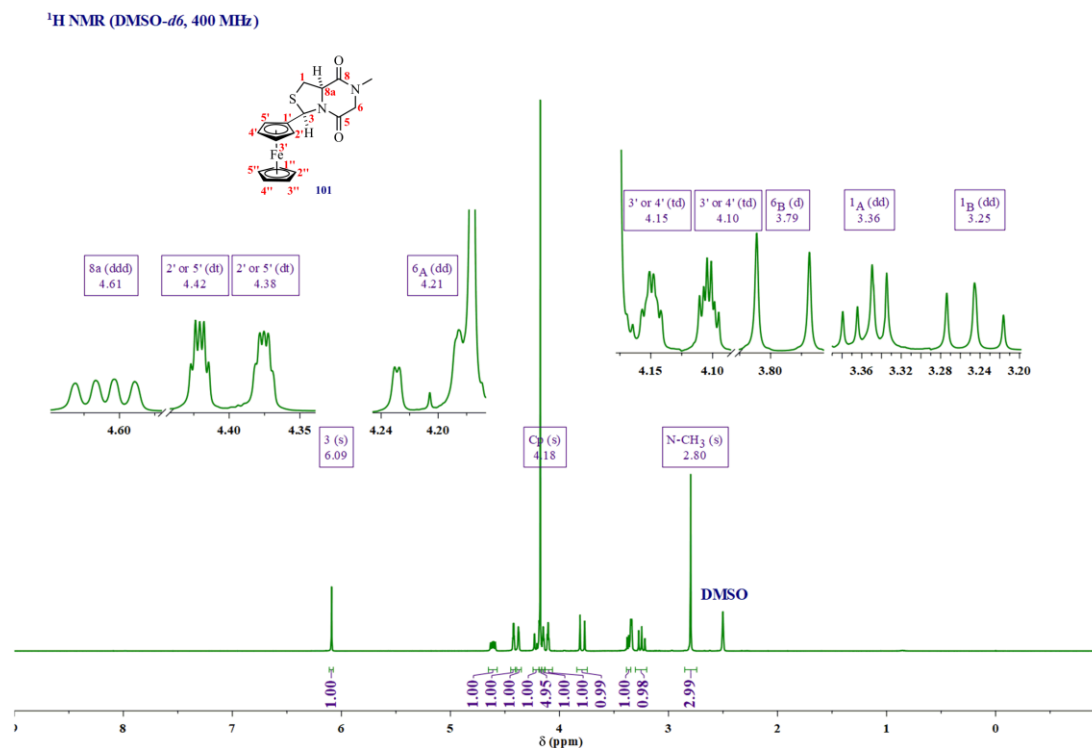
Прилог 78. ^1H NMR спектар (400 MHz, CDCl_3) метил-(2 ξ ,4R)-2-фероценил-3-(3,5-динитробензоил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**100**).



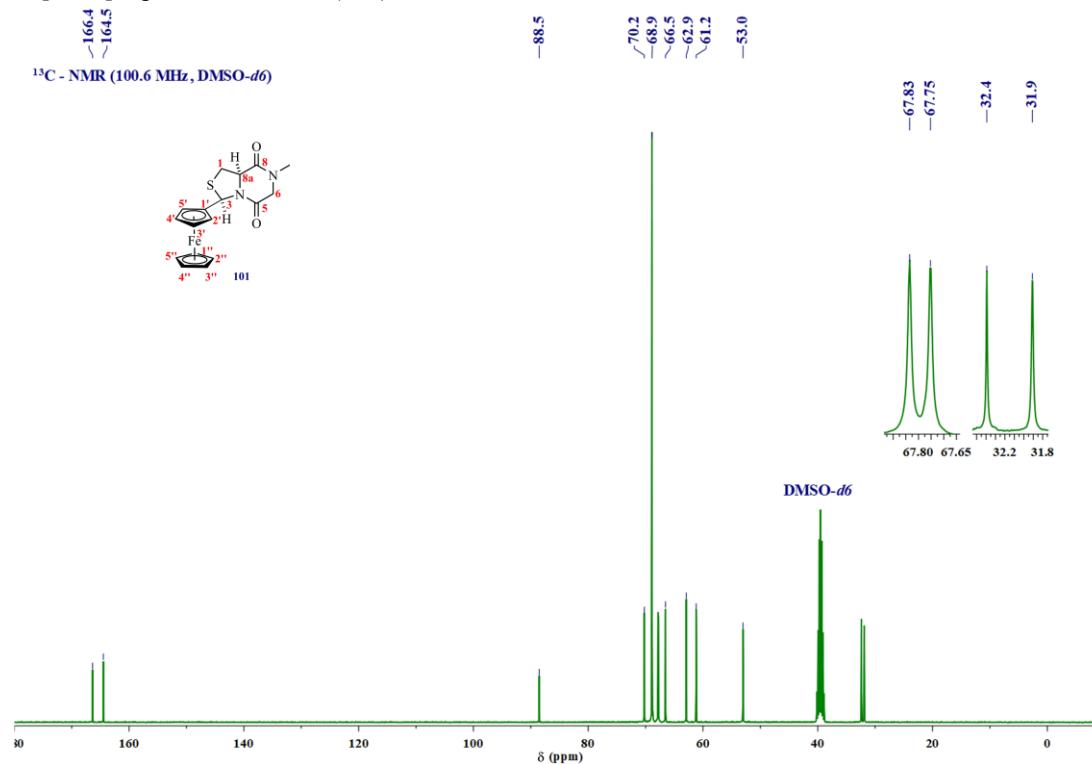
Прилог 79. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, CDCl_3) метил-(2 ξ ,4R)-2-фероценил-3-(3,5-динитробензоил)-1,3-тијазолидин-4-карбоксилата (**100**).



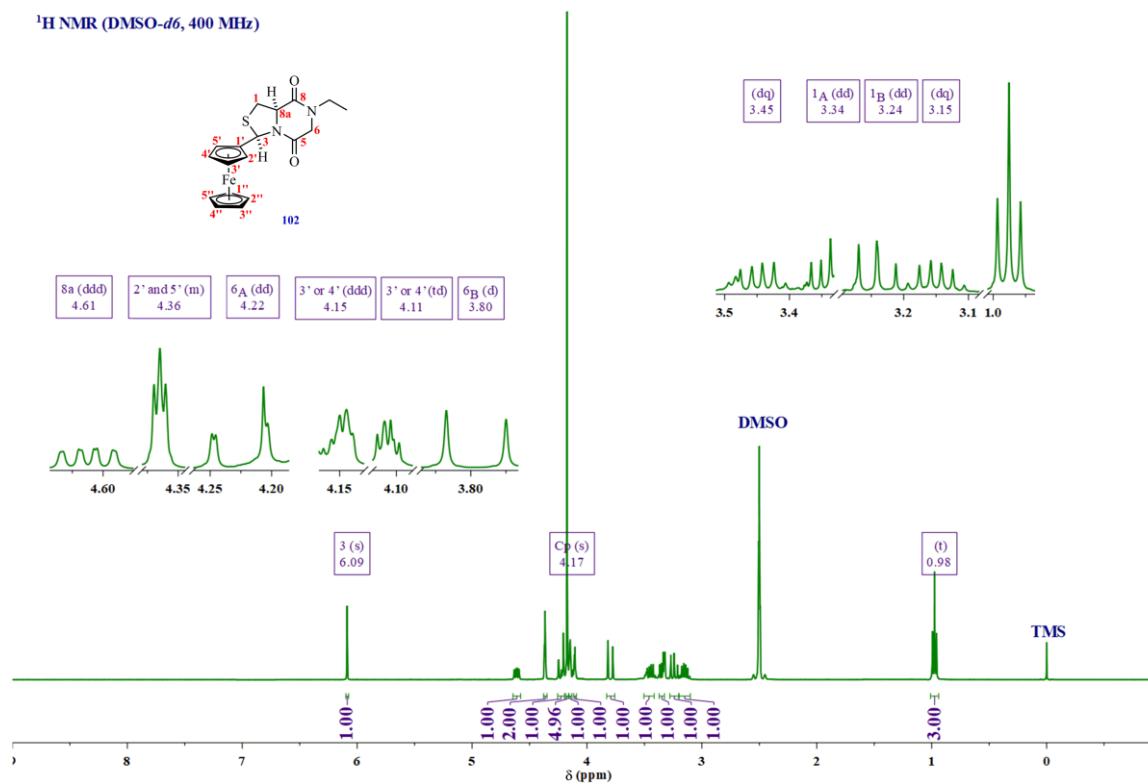
Прилог 80. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-метилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**101**).



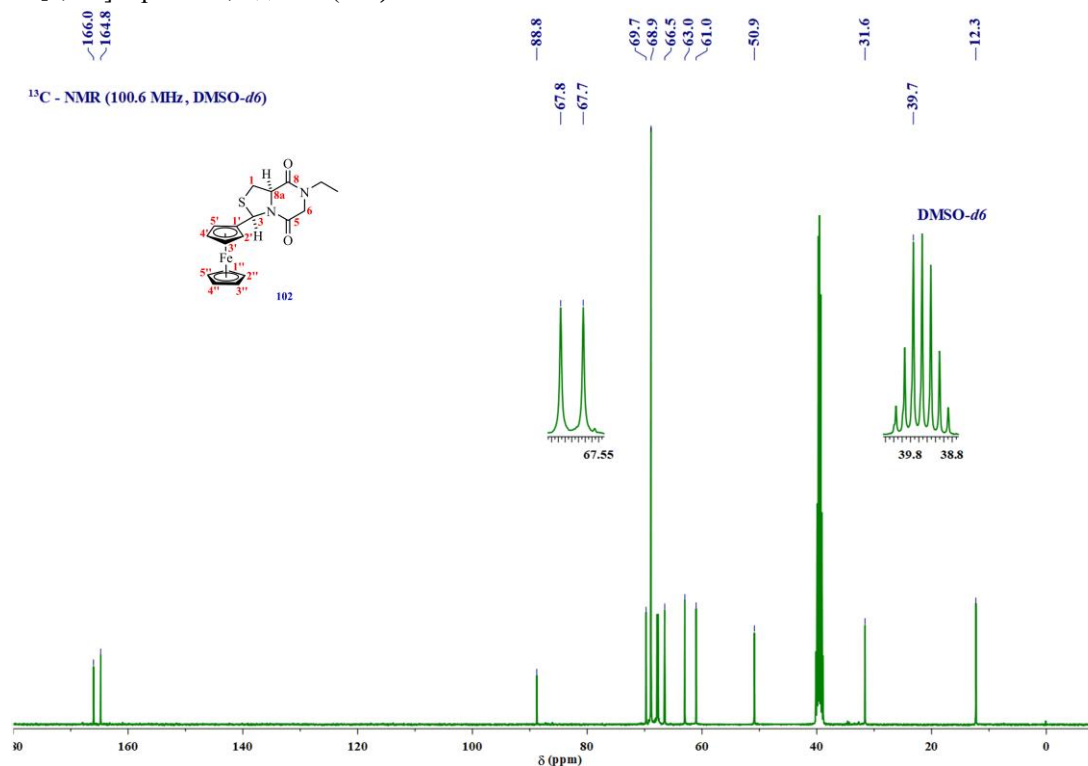
Прилог 81. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-метилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**101**).



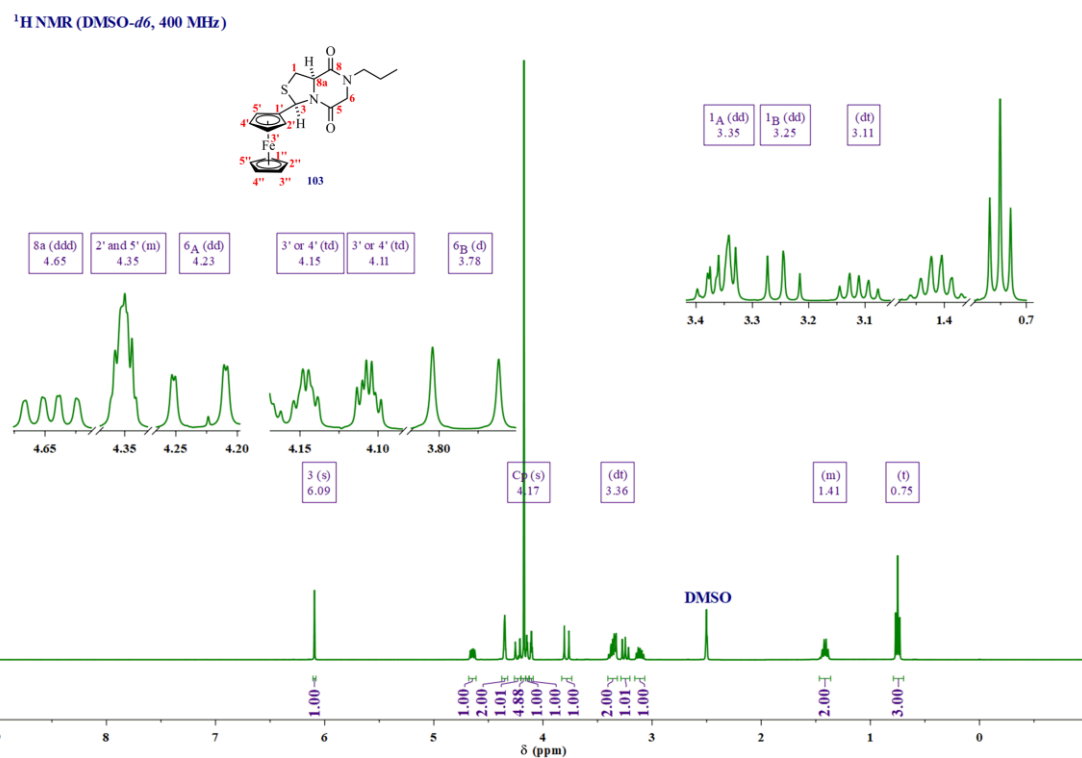
Прилог 82. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*R*,8*aR*)-7-етил-3-фероценилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**102**).



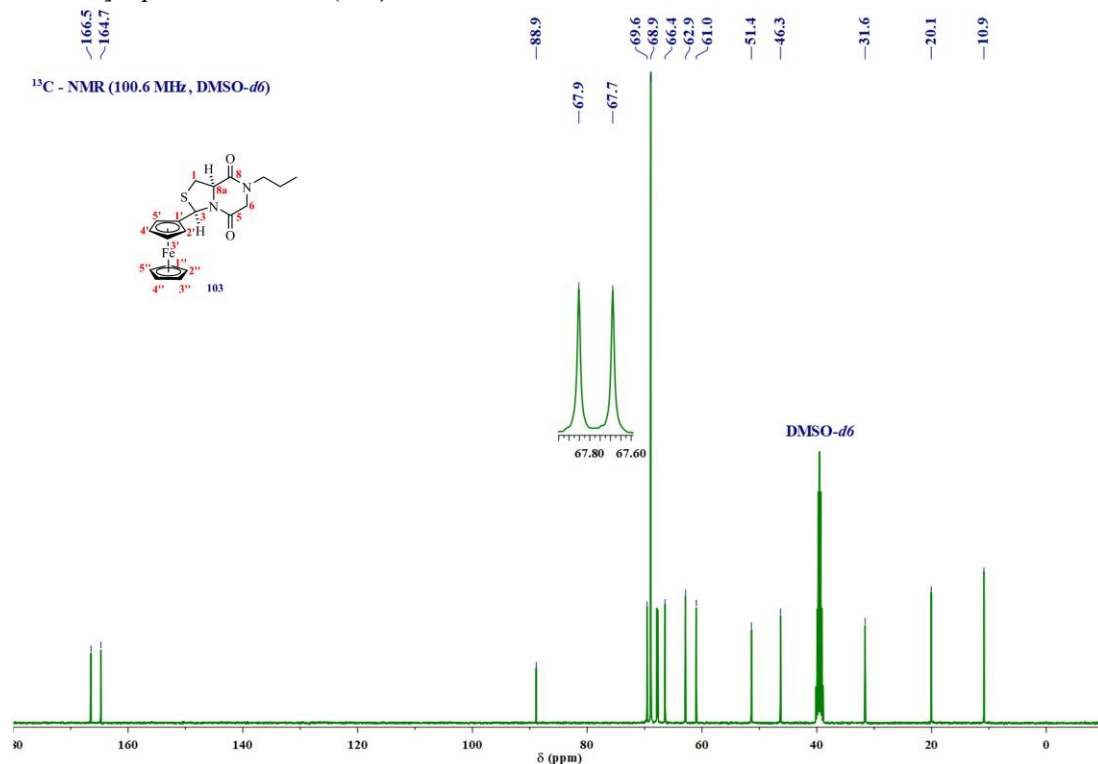
Прилог 83. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*R*,8*aR*)-7-етил-3-фероценилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**102**).



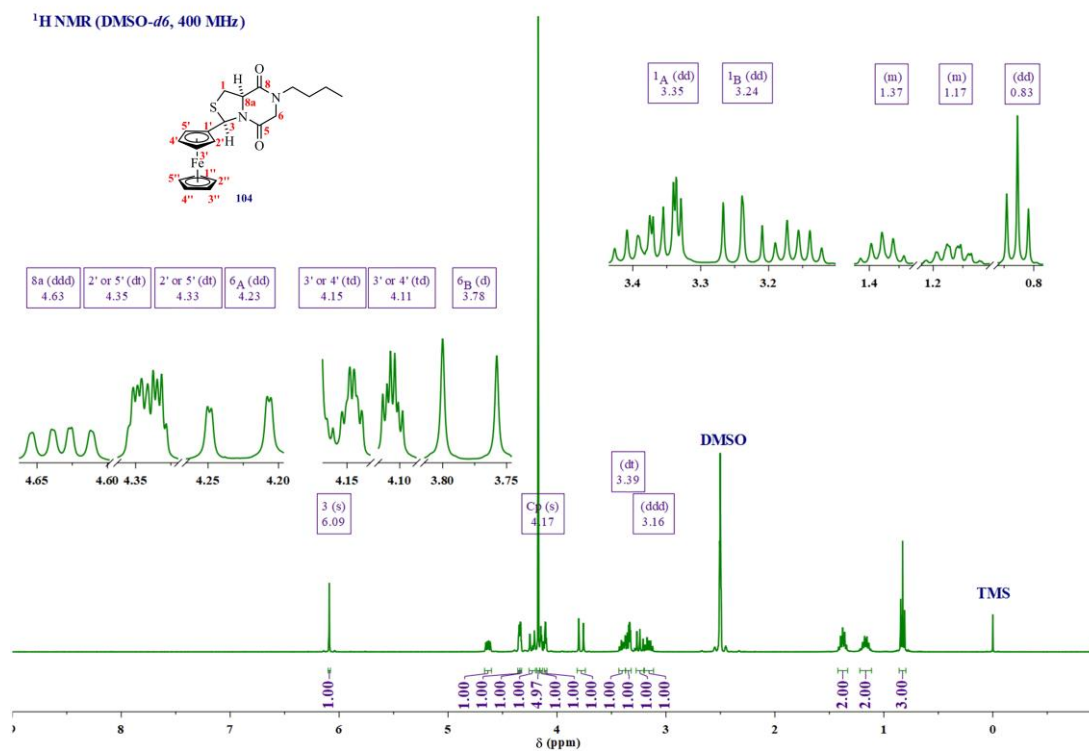
Прилог 84. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-пропилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пирозин-5,8-диона (**103**).



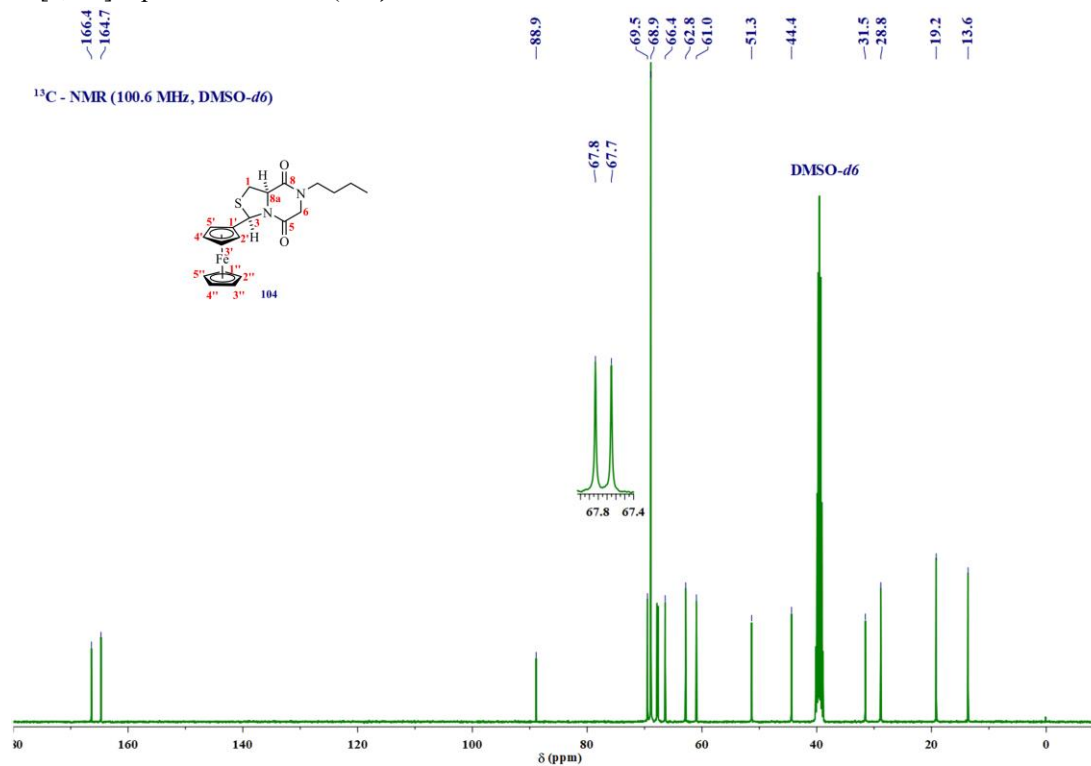
Прилог 85. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-пропилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пирозин-5,8-диона (**103**).



Прилог 86. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (3*R*,8*aR*)-7-бутил-3-фероценилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**104**).

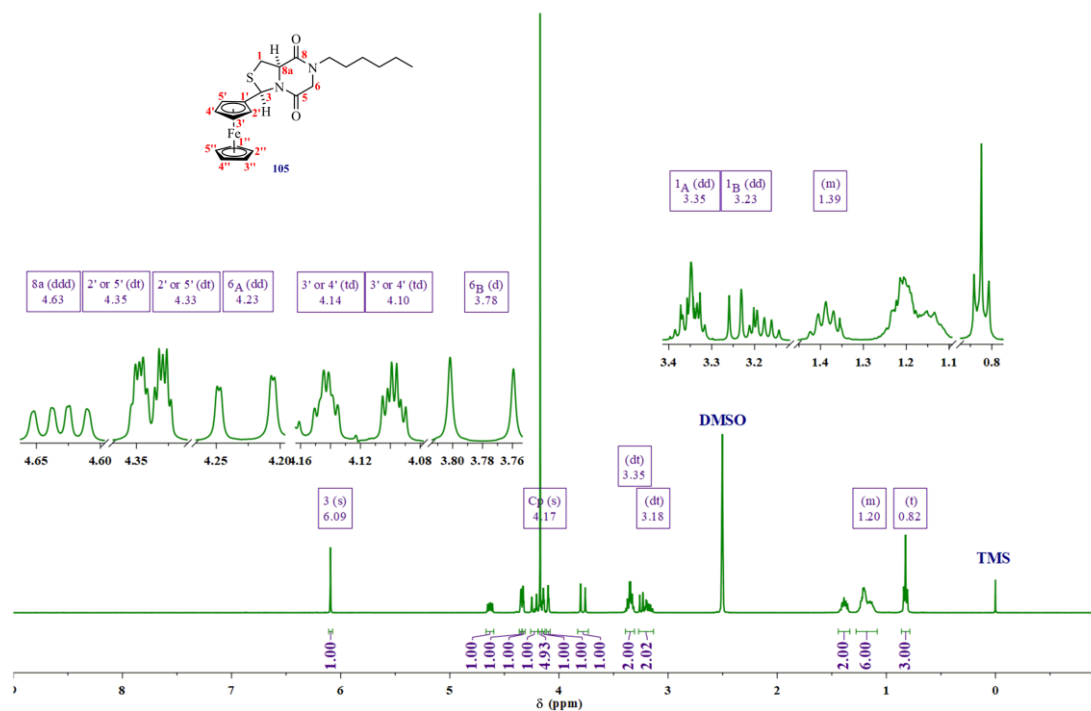


Прилог 87. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (3*R*,8*aR*)-7-бутил-3-фероценилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**104**).

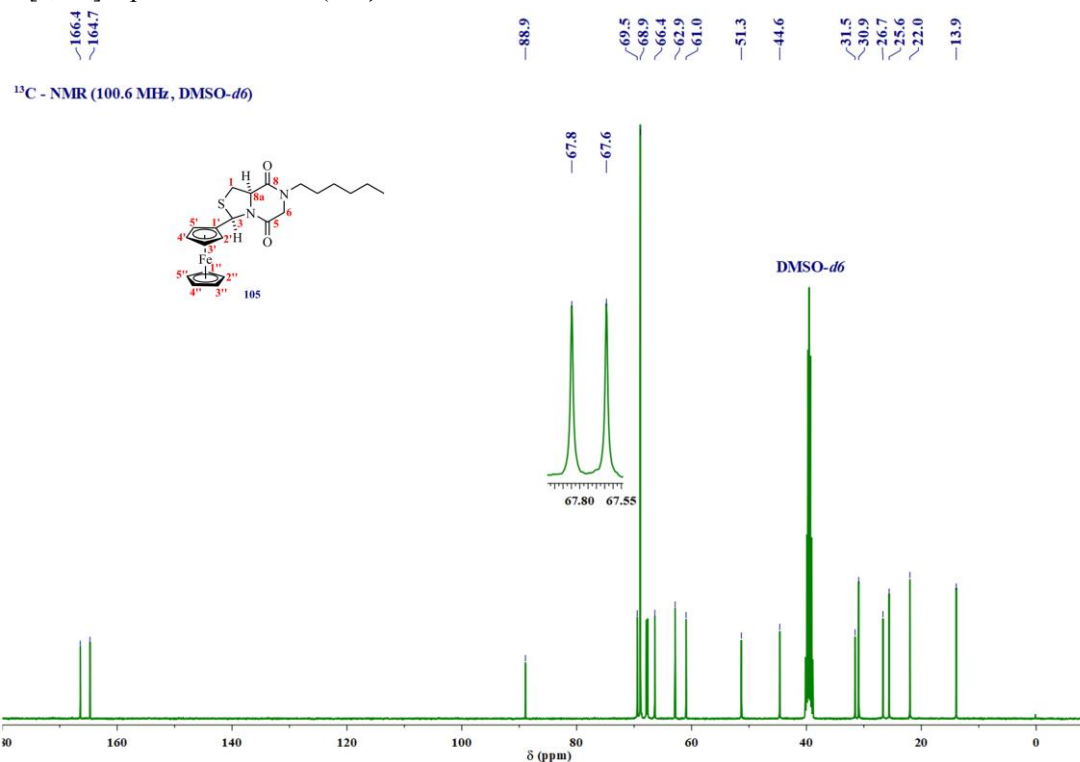


Прилог 88. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-хексилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**105**).

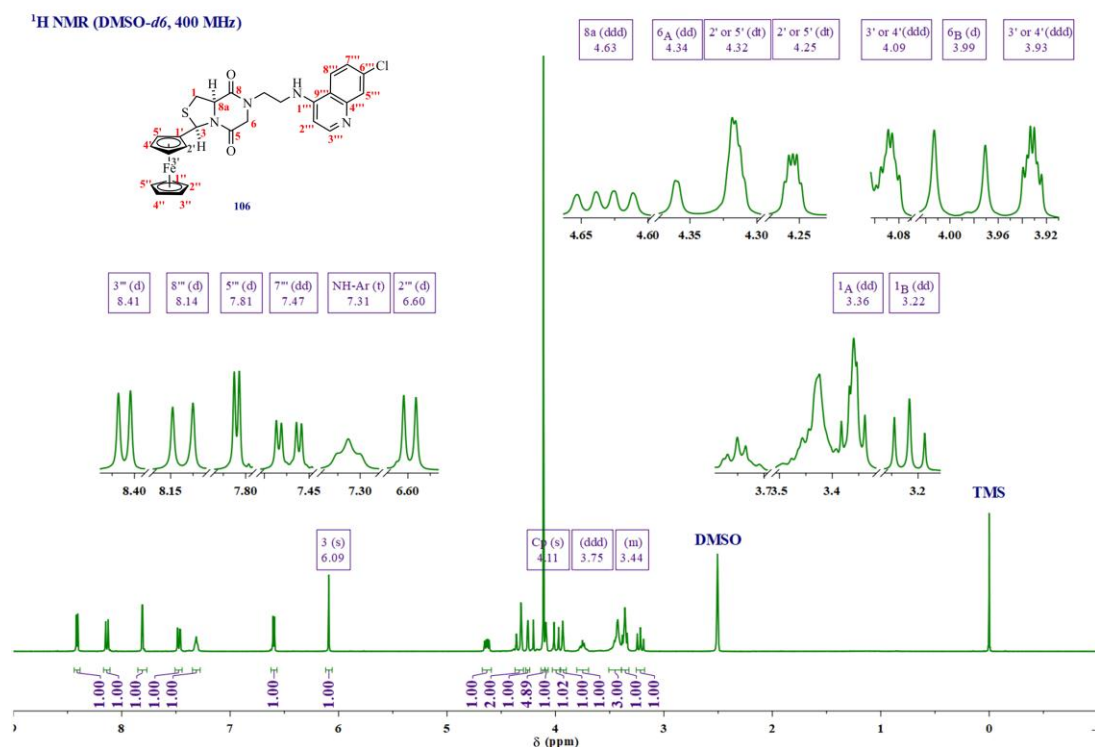
^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz)



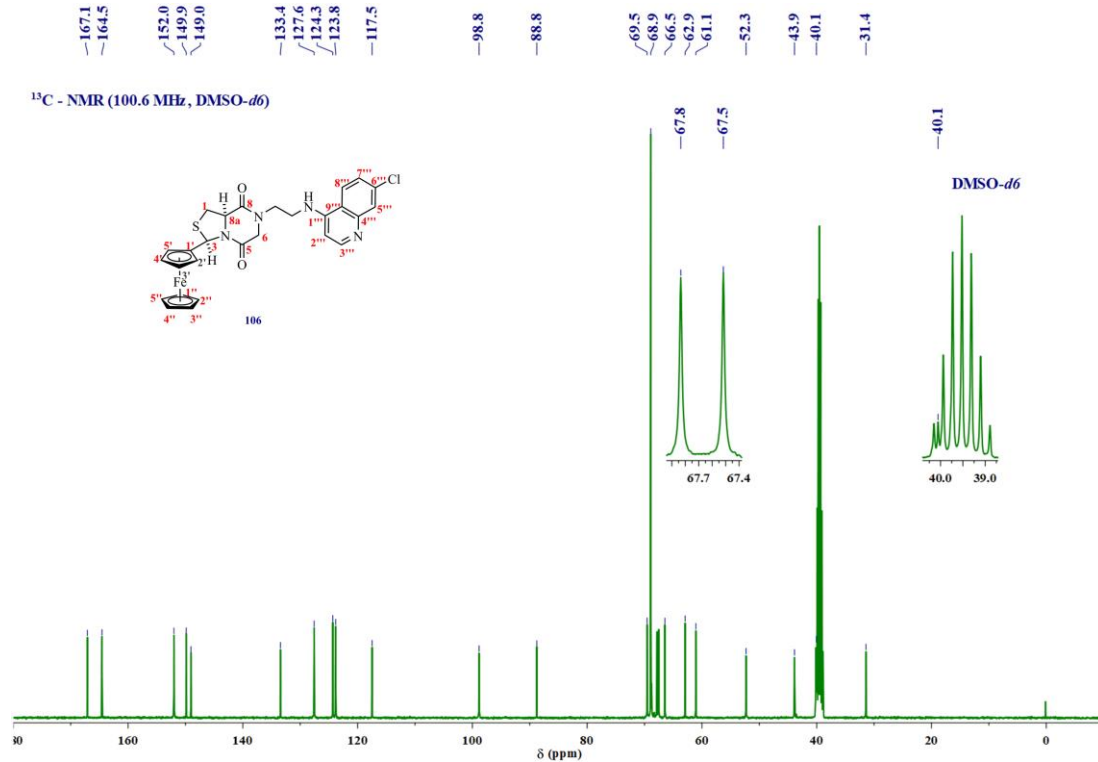
Прилог 89. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-хексилтетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**105**).



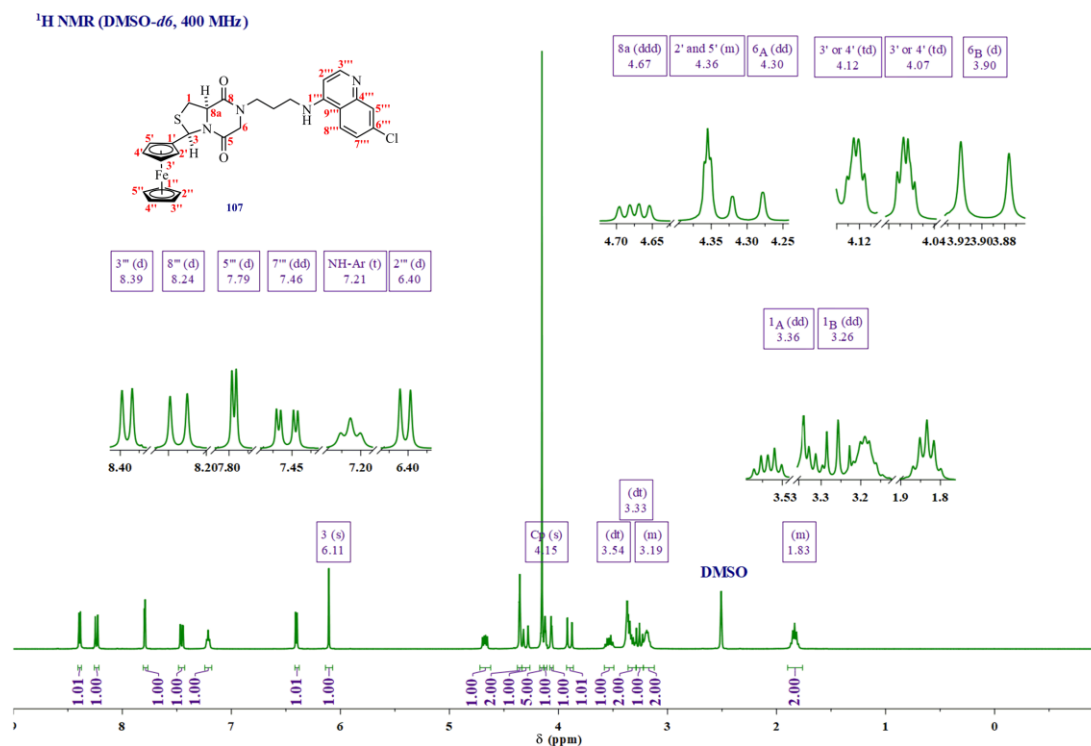
Прилог 90. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3R,8aR)-3-фероценил-7-[2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил]тетрахидро-3H-тиазол[3,4-a]пиразин-5,8-диона (**106**).



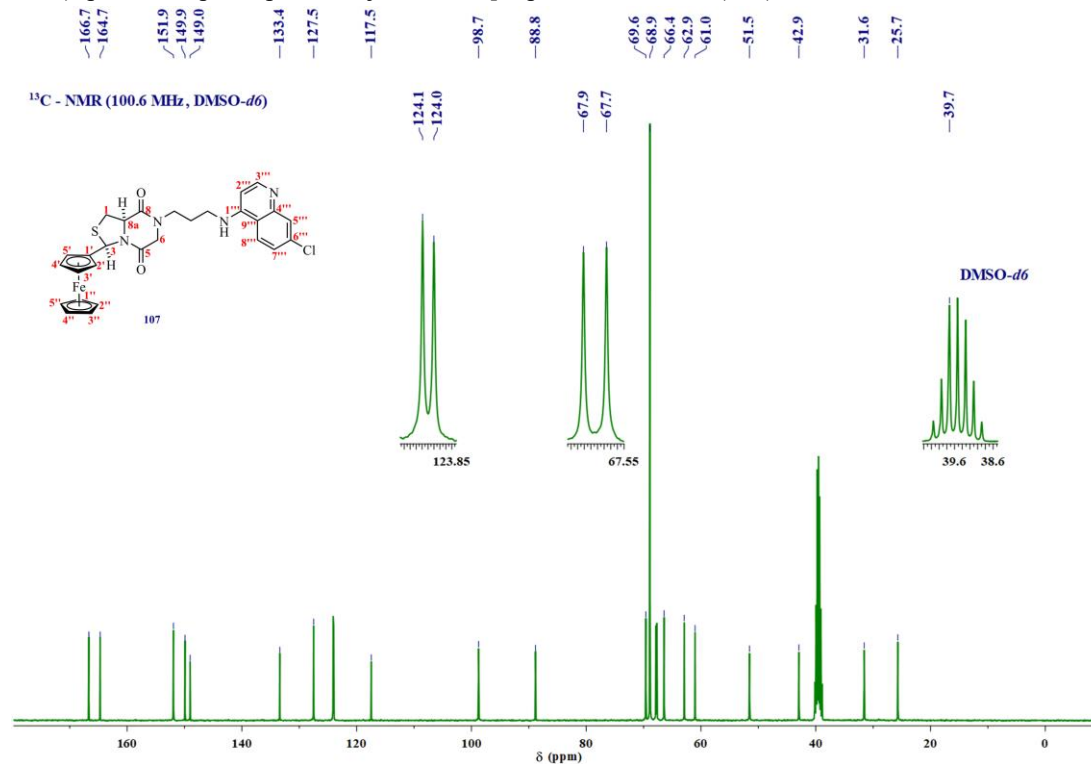
Прилог 91. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3R,8aR)-3-фероценил-7-[2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)етил]тетрахидро-3H-тиазол[3,4-a]пиразин-5,8-диона (**106**).



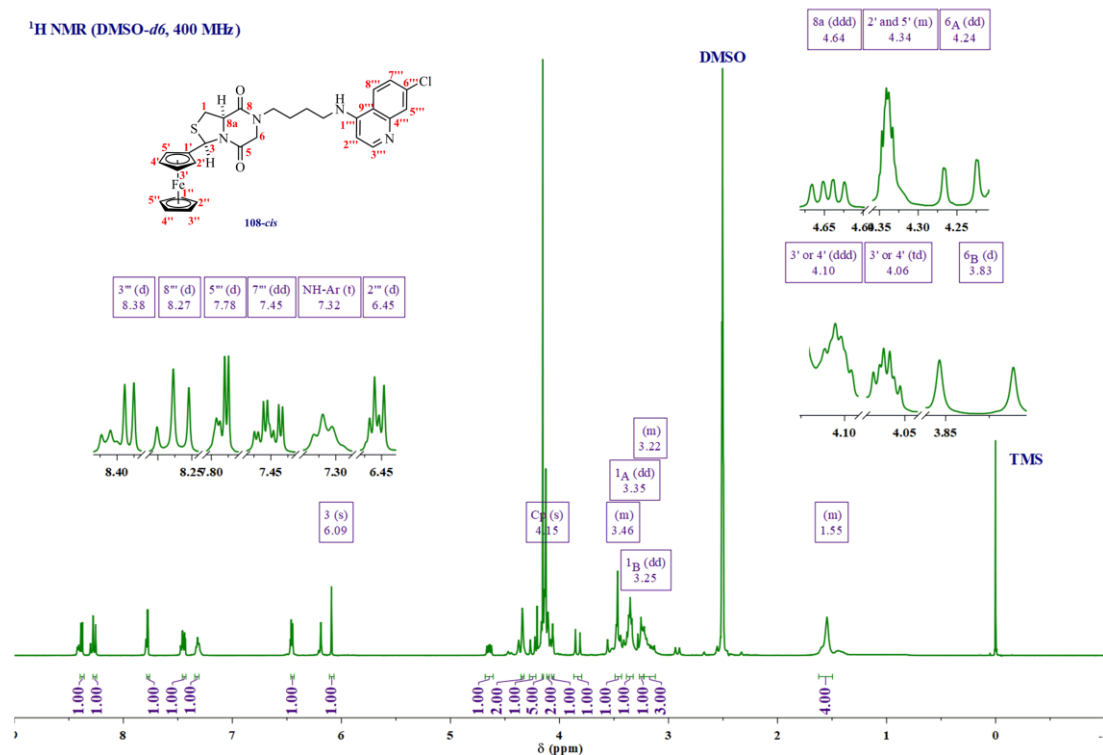
Прилог 92. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (3R,8aR)-3-фероценил-7-[3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил]тетрахидро-3H-тијазол[3,4-*a*]пирозин-5,8-диона (**107**).



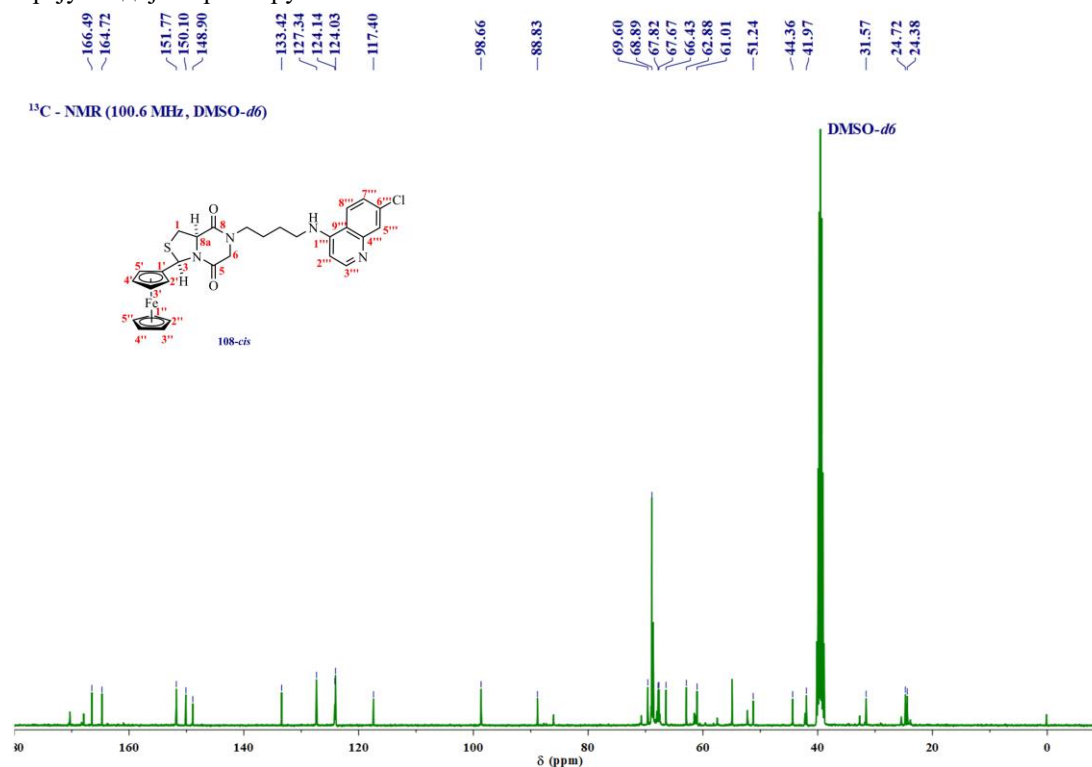
Прилог 93. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-[3-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)пропил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**107**).



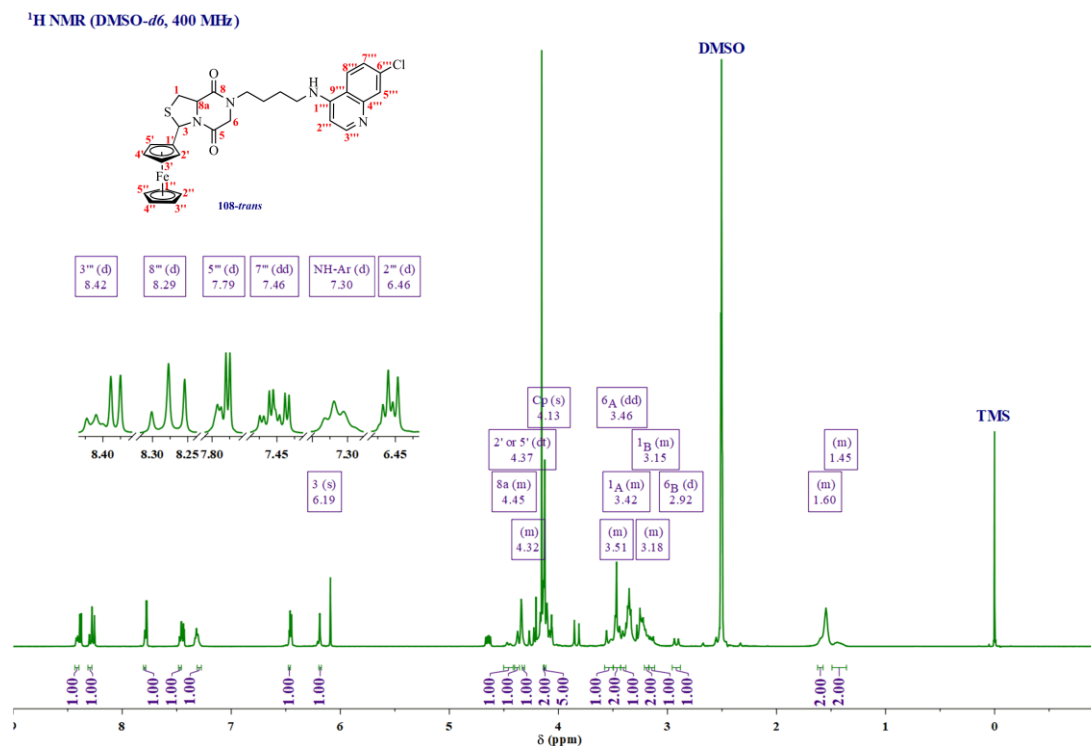
Прилог 94. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3R,8aR)-3-фероценил-7-[4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил]тетрахидро-3H-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**108**) са означеним сигнаlima који одговарају *cis* дијастереомеру.



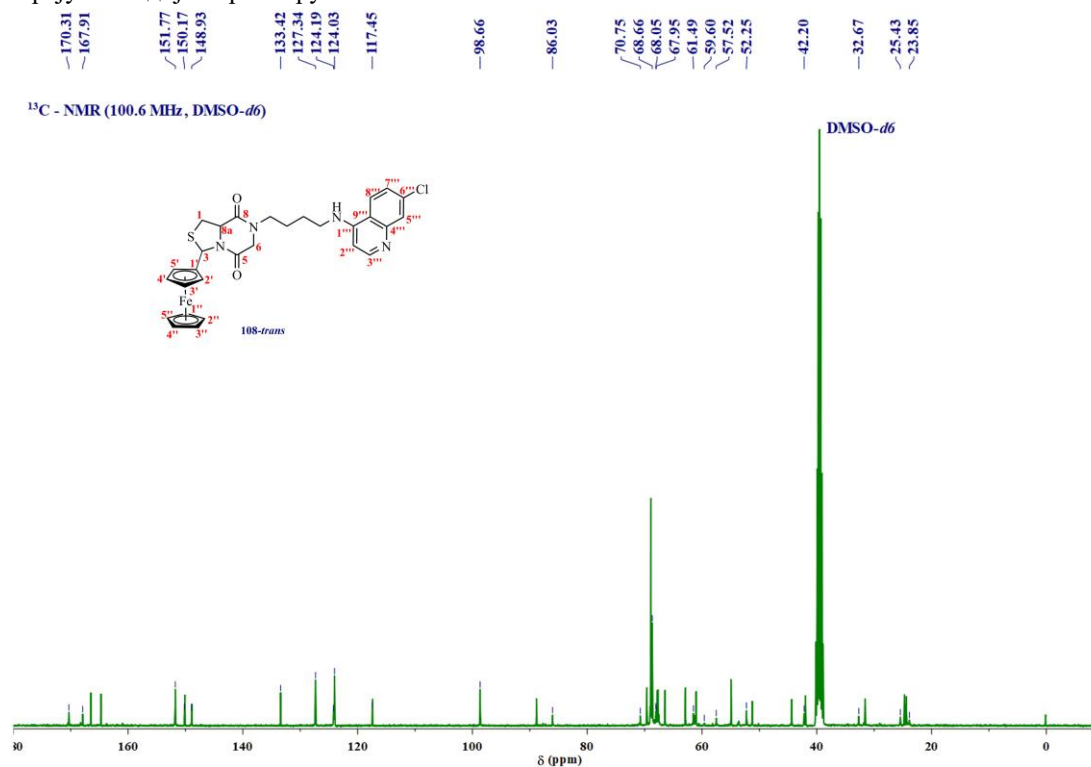
Прилог 95. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3R,8aR)-3-фероценил-7-[4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил]тетрахидро-3H-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**108**) са означеним сигнаlima који одговарају *cis* дијастереомеру.



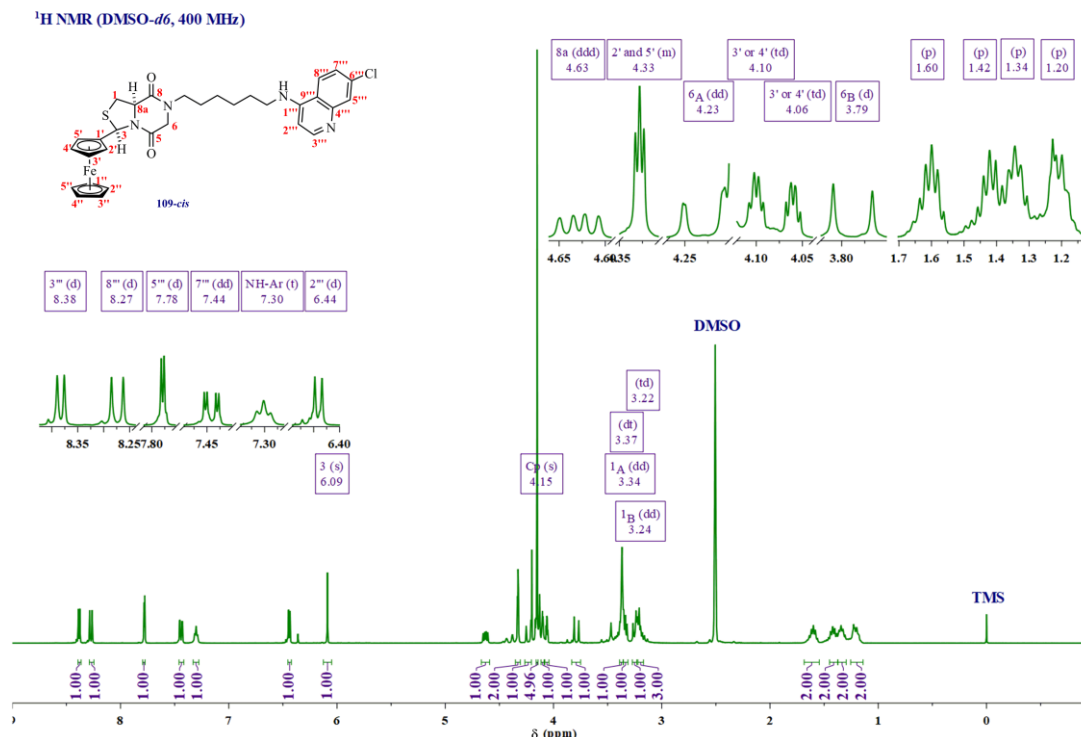
Прилог 96. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (3 ζ ,8a ζ)-3-фероценил-7-[4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**108**) са означеним сигнаlima који одговарају *trans* дијастереомеру.



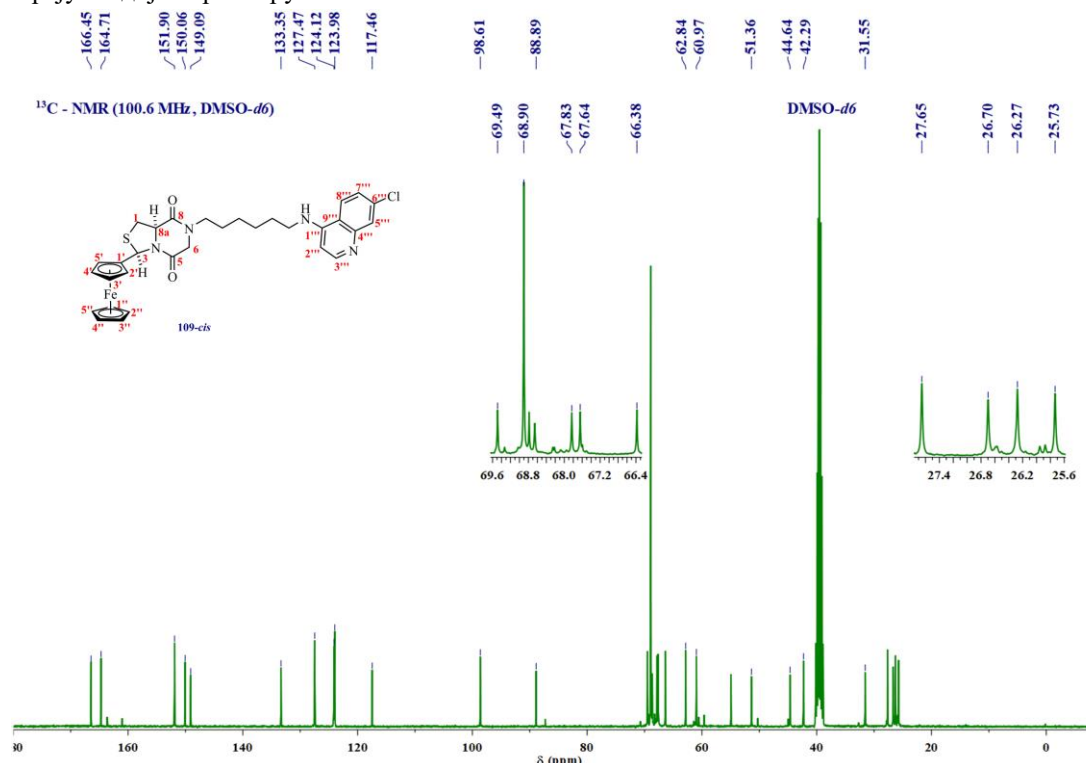
Прилог 97. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (3 ζ ,8a ζ)-3-фероценил-7-[4-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)бутил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**108**) са означеним сигнаlima који одговарају *trans* дијастереомеру.



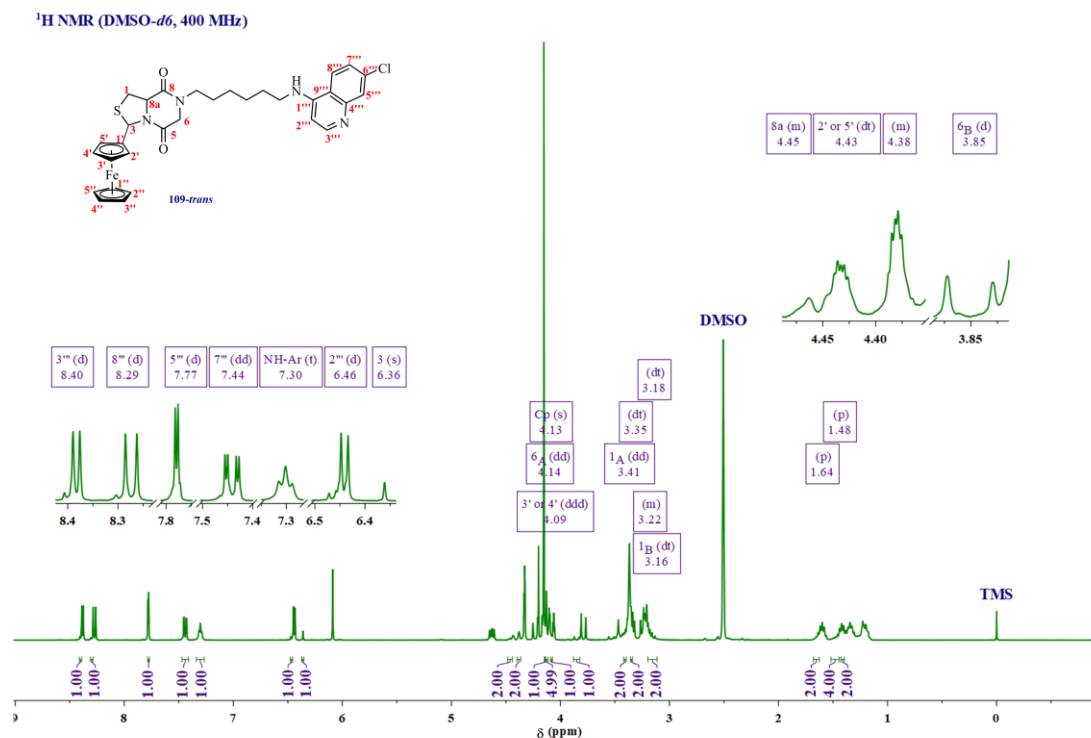
Прилог 98. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3R,8aR)-3-фероценил-7-[6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил]тетрахидро-3H-тијазол[3,4-*a*]пирозин-5,8-диона (**109**) са означеним сигнаlima који одговарају *cis* дијастереомеру.



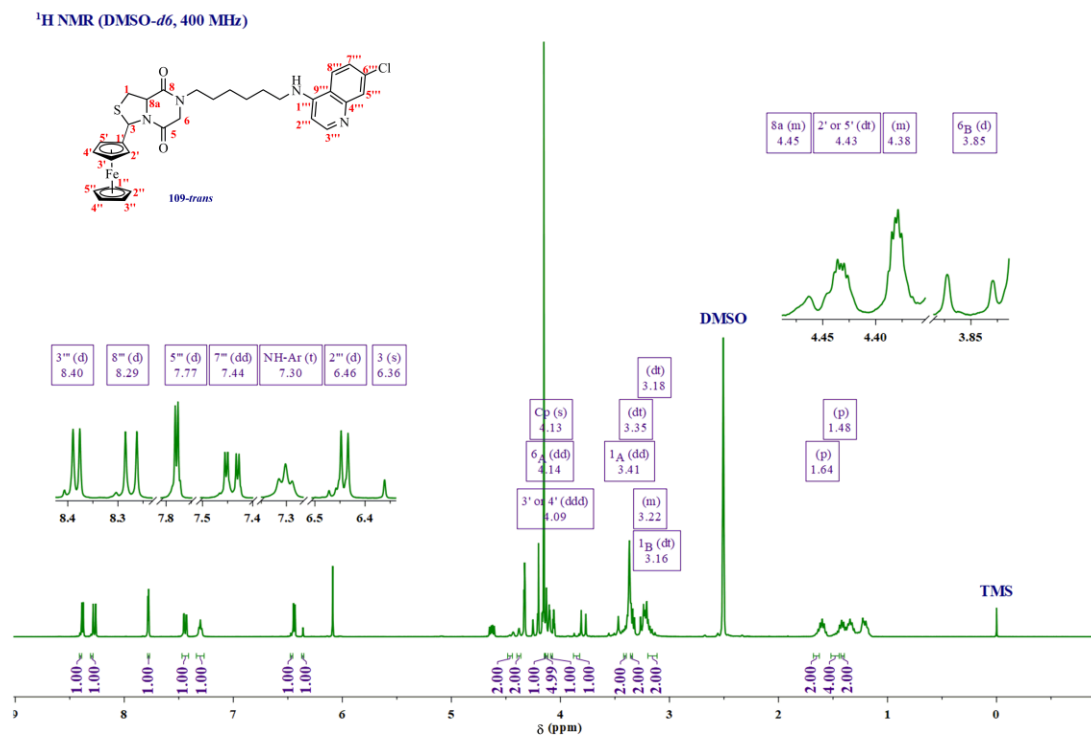
Прилог 99. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3R,8aR)-3-фероценил-7-[6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил]тетрахидро-3H-тијазол[3,4-*a*]пирозин-5,8-диона (**109**) са означеним сигнаlima који одговарају *cis* дијастереомеру.



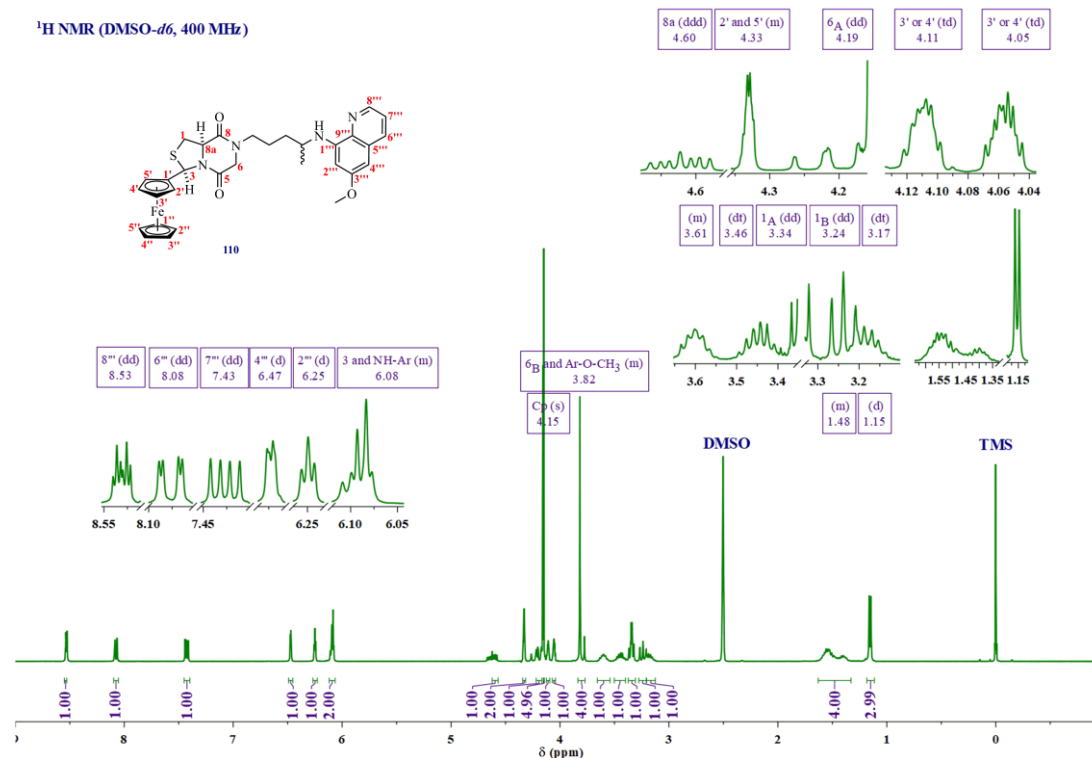
Прилог 100. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3 ζ ,8a ξ)-3-фероценил-7-[6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил]тетрахидро-3H-тиазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**109**) са означеним сигнаlima који одговарају *trans* дијастереомеру.



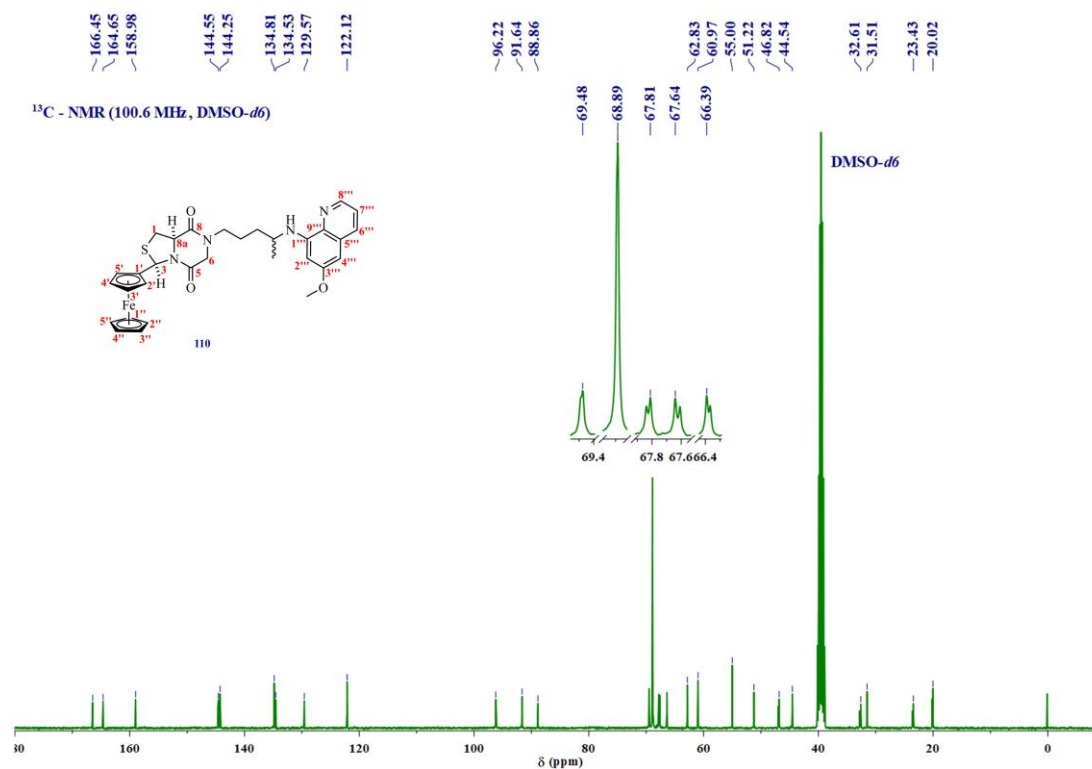
Прилог 101. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3 ζ ,8a ξ)-(3S,8aS)-3-фероценил-7-[6-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)хексил]тетрахидро-3H-тиазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**109**) са означеним сигнаlima који одговарају *trans* дијастереомеру.



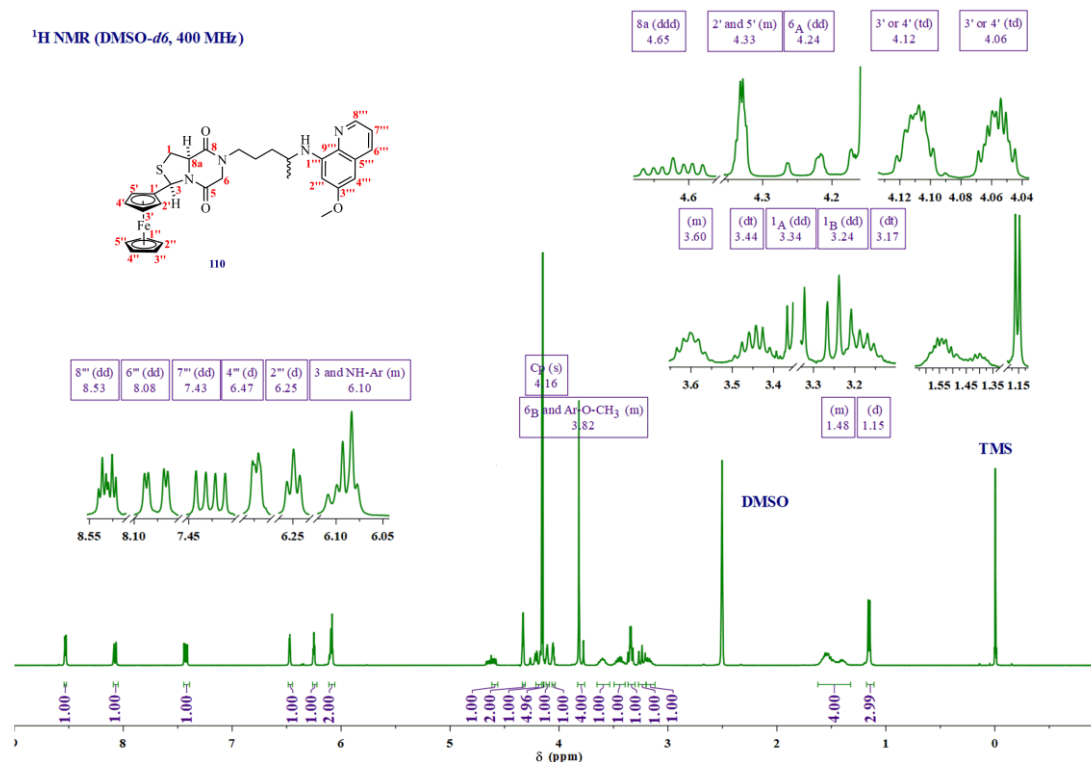
Прилог 102. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*R*,8*aR*,4'' ξ)-3-фероценил-7-[4-((6-метоксифинолин-8-ил)амино)пентил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**110**) са означеним сигнаlima који одговарају главном дијастереомеру.



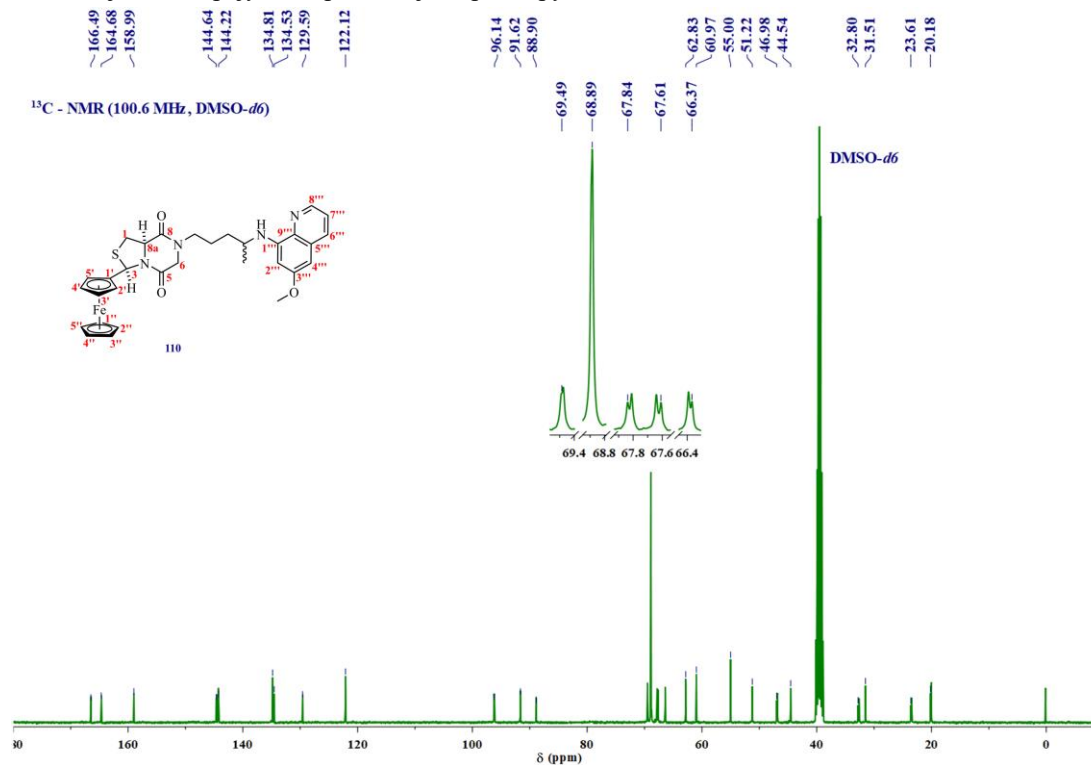
Прилог 103. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*R*,8*aR*,4'' ξ)-3-фероценил-7-[4-((6-метоксифинолин-8-ил)амино)пентил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**110**) са означеним сигнаlima који одговарају главном дијастереомеру.



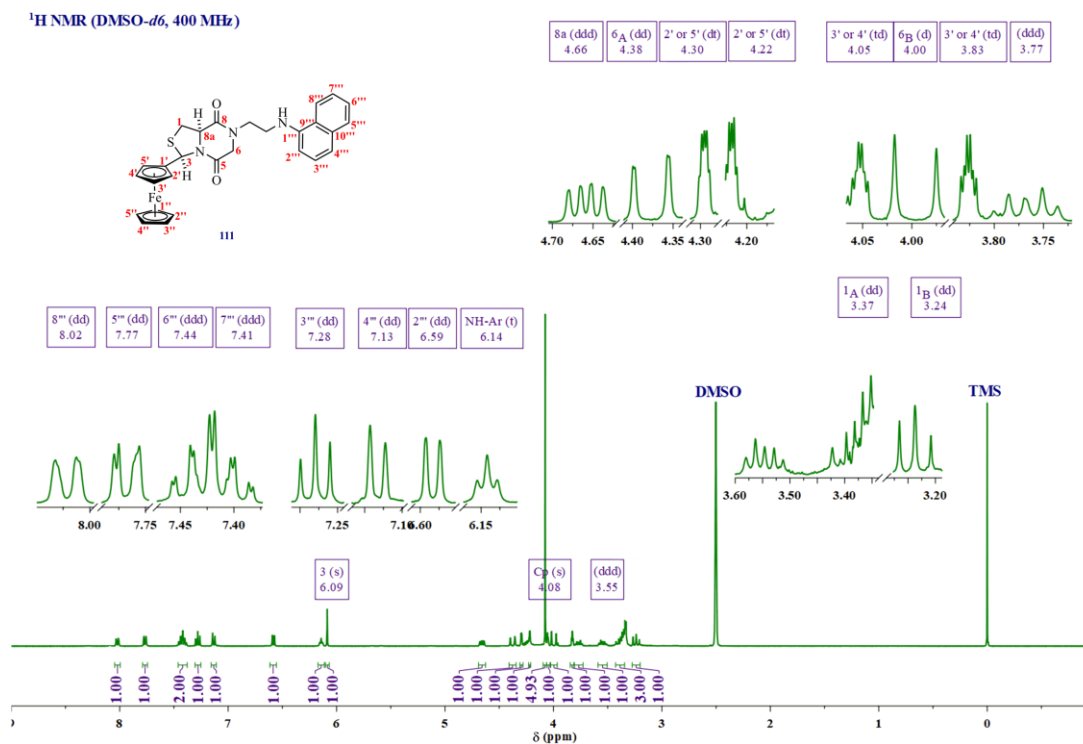
Прилог 104. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*R*,8*aR*,4'' ξ)-3-фероценил-7-[4-((6-метоксифинолин-8-ил)амино)пентил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиазин-5,8-диона (**110**) са означеним сигнализма који одговарају минорном дијастереомеру.



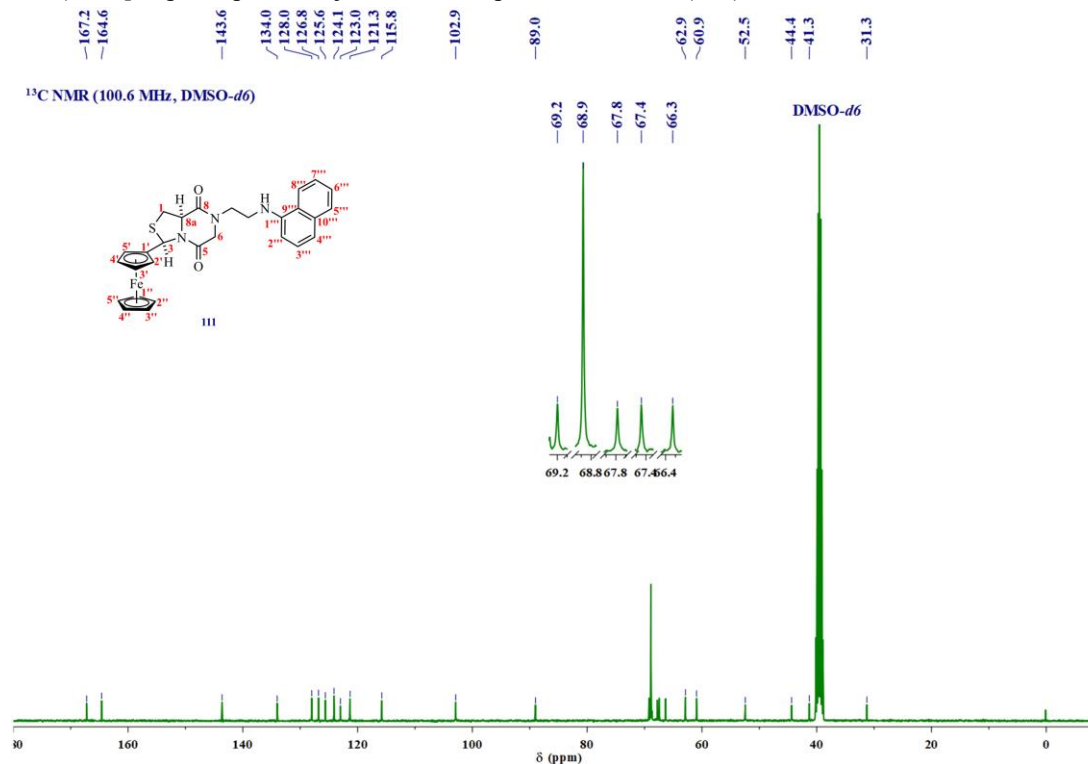
Прилог 105. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (3*R*,8*aR*,4'' ξ)-3-фероценил-7-[4-((6-метоксифинолин-8-ил)амино)пентил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиазин-5,8-диона (**110**) са означеним сигнализма који одговарају минорном дијастереомеру.



Прилог 106. ^1H NMR спектар (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-[2-((нафтален-1-ил)амино)етил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**111**).



Прилог 107. ^{13}C NMR спектар (100,6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (3*R*,8*aR*)-3-фероценил-7-[2-((нафтален-1-ил)амино)етил]тетрахидро-3*H*-тијазол[3,4-*a*]пиразин-5,8-диона (**111**).



БИОГРАФИЈА И БИБЛИОГРАФИЈА

Јелена Денић (рођено Аксић) је рођена у Гњилану 19.09.1994. године, где је завршила основну школу и гимназију. Основне академске студије на Департману за хемију Природно-математичког факултета у Нишу, уписала је 2013. године, а завршила 2016. са просечном оценом 9,57. Новембра 2016. године уписала је на истом факултету и мастер академске студије, које је завршила 2018. године са просечном оценом 9,50. Мастер рад под називом: „Хемијски састав и биолошка активност етарских уља биљне врсте *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don (Asteraceae)“ одбранила је 25.10.2018. године оценом 10. Докторске академске студије на Департману за хемију Природно-математичког факултета у Нишу уписује новембра 2018. године.

У току студија била је стипендиста Фонда за младе таленте (школске 2015/16.) и Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (школске 2014/15., 2016/17. и 2017/2018.), при чему је школске 2017/18. године стипендирана као изузетно надарени студент. За успех на студијама добила је: специјално признање Српског хемијског друштва за 2017. годину за изузетан успех у току студија, повељу Природно-математичког факултета у Нишу као најбољи студент који је завршио Мастер академске студије у школској 2017/18. години на студијском програму Хемија, награду Фонда Ана Бјелетић и Иван Марковић за најбољег студента на Департману за хемију Природно-математичког факултету у Нишу за школску 2017/18. годину и награду Фонда Ненада М. Костића за хемијске науке за најбољи мастер или дипломски рад из свих области чисте и примењене хемије на универзитетима у Србији у периоду од 01. априла 2018. до 31. марта 2019. године. Током студирања активно се бавила унапређењем студентског стандарда при чему је школске 2015/2016. била на позицији студента продекана Природно-математичког факултету у Нишу, а од 2015. до 2017. године била је члан интернационалне организације AIESEC за размену студената.

Јелена Денић је фебруара 2019. године изабрана у звање истраживач-приправник, а од марта, па све до 31.12.2019. године је у том својству била ангажована на пројекту Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије под називом "Комбинаторне библиотеке хетерогених катализатора, природних производа, модификованих природних производа и њихових аналога: пут ка новим биолошки активним агенсима" – евиденциони број пројекта ОИ 172061. Од 01.01.2020. године је ангажована на Природно-математичком факултету у Нишу као истраживач-приправник.

У периоду од 01.11.2021. до 31.12.2021. године боравила је у Лабораторији Универзитета примењених наука у Мерсебургу (*Hochschule Merseburg*) у Немачкој у оквиру програма размене студената преко студентске организације IAESTE и за тај боравак је била стипендирана од стране организације DAAD.

По пријави докторске дисертације, јануара 2022. године стиче звање истраживач-сарадник. У школској 2022/23. била је ангажована у својству сарадника из предмета Медицинска хемија, док је у школској 2021/22. била ангажована у истом својству из предмета Органска хемија у појавама око нас и Номенклатура у органској хемији.

Аутор је 2 научна рада објављена у међународним часописима и 2 научна рада објављена у националним часописима, а коаутор још 4 научна рада објављена у међународним часописима и 2 рада у националним часописима. Од 2016. године учествовала је на националним и међународним научним скуповима са 15 саопштења. Радови и саопштења под редним бројевима 1, 3, 9, 10, 14, 21 и 22 део су ове докторске дисертације.

Рад објављен у међународном часопису изузетних вредности (M21a+)

1. **J. Aksić**, M. Genčić, N. Stojanović, N. Radulović, D. Zlatković, M. Dimitrijević, Z. Stojanović Radić, J. Srbljanović, T. Štajner, Lj. Jovanović. New iron twist to chloroquine upgrading antimalarials with immunomodulatory and antimicrobial features. *J. Med. Chem.* 66 (2023) 2084–2101. ИФ₂₀₂₁ = 8,04. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c01851>.

Радови објављени у међународним часописима изузетних вредности (M21a)

2. M.S. Genčić, N.M. Stojanović, **J.M. Denić**, Z.Z. Stojanović-Radić, P. Stojanović, K. Van Hecke, Lj.S. Jovanović, M.V. Nikolić, T. Jevtović-Stoimenov, N.S. Radulović, M. D'hooghe. Repurposing of monocyclic β -lactams as anti-inflammatory agents – The case of new ferrocene-azetidin-2-one hybrids. *Eur. J. Med. Chem.* 280 (2024) 116910. ИФ₂₀₂₃: 6,00. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2024.116910>.
3. **J.M. Aksić**, M.S. Genčić, N.S. Radulović, M.V. Dimitrijević, Z.Z. Stojanović-Radić, T. Ilić Tomić, M.V. Rodić. Bioisosteric ferrocenyl 1,3-thiazolidine-4-carboxylic acid derivatives: *In vitro* antiproliferative and antimicrobial evaluations. *Bioorg. Chem.* 139 (2023) 106708. ИФ₂₀₂₂ = 5,30. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2023.106708>.

4. M.S. Genčić, **J.M. Aksić**, M.Z. Živković Stošić, P.J. Randelović, N.M. Stojanović, Z.Z. Stojanović Radić, N.S. Radulović. Linking the antimicrobial and anti-inflammatory effects of immortelle essential oil with its chemical composition. The interplay between the major and minor constituents. *Food Chem. Toxicol.* 158 (2021) 112666. ИФ₂₀₂₀ = 6,03. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112666>.

Рад објављен у истакнутом међународном часопису (M22)

5. M. Genčić, **J. Aksić**, M. Živković Stošić, M. Đorđević, M. Mladenović, N. Radulović. New neryl esters from *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don (Asteraceae) essential oil. *Nat. Prod. Res.* 36 (2022) 2002–2008. ИФ₂₀₂₁ = 2,51. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1839462>.

Рад објављен у међународном часопису (M23)

6. D. Nikolić, M. Genčić, **J. Aksić**, N. Radulović, D. Dimić, G. Kaludjerović. Diorganotin(IV) complexes with hydroxamic acids derivatives of some histone deacetylases inhibitors. *J. Serb. Chem. Soc.* 88 (2023) 1319–1334. ИФ₂₀₂₂ = 1,10. <https://doi.org/10.2298/JSC230630064N>.

Радови објављени у врхунском часопису националног значаја (M51)

7. M.S. Genčić, J.D. Živanović, **J.M. Denić**, D.N. Nikolić, N.S. Radulović. Ferrocene-containing cholinesterase inhibitors. *Facta Universitatis, Series: Physics, Chemistry and Technology* 22 (2024) 37–51. <https://doi.org/10.2298/FUPCT2401037G>.
8. M.S. Genčić, **J.M. Aksić**, M.Z. Mladenović, M.Z. Živković Stošić, N.S. Radulović. Phenethyl angelate - a new ester from Immortelle essential oil? *Facta Universitatis, Series: Physics, Chemistry and Technology* 19 (2021) 17–29. <https://doi.org/10.2298/FUPCT2101017G>.
9. **J.M. Aksić**, M.S. Genčić, S. Radulović. Recent updates in the development of metallocenes with antimalarial activity. *Facta Universitatis, Series: Physics, Chemistry and Technology* 18 (2020) 1–37. <https://doi.org/10.2298/FUPCT2001001A>.

Рад објављен у националном часопису (M53)

10. **J.M. Aksić**, M.S. Genčić, I.R. Palić. Ferrokin, jedinstveni organometalni antimalarik: od otkrića do kliničke upotrebe. *Hemijski pregled* 61 (2020) 102–110.

Радови саопштени на међународним научним скуповима објављени у изводу (М34)

11. D.N. Nikolić, M.S. Genčić, **J.M. Aksić**, N.S. Radulović. Synthesis and lipoxygenase inhibitory activity of new ferrocenyl short-chain hydroxamic acid. In: *Book of Abstracts of the 28th International Symposium on Medicinal Chemistry (EFMC-ISMIC 2024)*, Rome (Italy), Sept. 01-05, 2024, p362.
12. **J. Aksić**, D. Nikolić, M. Genčić, N. Radulović. Two new abietane diterpenes from *Lycopus euroapeus* L. fruits. In: *Book of Abstracts of the 14th Symposium on the Flora of Southeastern Serbia and Neighboring Regions (SFSES 2022)*, Kladovo (Serbia), June 26-29, 2022, p175.
13. **J. Aksić**, D. Nikolić, M. Genčić, N. Radulović, N. Baldovini. NO-scavenging capacity of *Helichrysum italicum* essential oils and two italidiones. In: *Book of Abstracts of the 14th Symposium on the Flora of Southeastern Serbia and Neighboring Regions (SFSES 2022)*, Kladovo (Serbia), June 26-29, 2022, p177.
14. J.D. Srbljanović, M. Genčić, **J. Aksić**, N. Radulović, D. Zlatković, N. Stojanović, N. Bauman, T.A. Tijana, B. Bobić. New chloroquine-ferrocene hybrids upgraded with azathia heterocycle as promising antiplasmodial agents. In: *Programme and Abstract Book of the 13th European Multicolloquium of Parasitology (EMOP 2021)*, Belgrade (Serbia), Oct. 12-16, 2021, p231.
15. **J. Aksić**, M. Genčić, M. Živković-Stošić, N. Radulović. New volatile free fatty acids from Balcan immortelle essential oil. In: *Book of Abstracts of the 50th International Symposium on Essential Oils (ISEO 2019)*, Vienna (Austria), Sept. 08-12, 2019, PP109.
16. **J. Aksić**, M. Genčić, M. Živković-Stošić, Nikola Stojanović, N. Radulović. Effects of immortelle essential oil on macrophage NO production. In: *Book of Abstracts of the 50th International Symposium on Essential Oils (ISEO 2019)*, Vienna (Austria), Sept. 08-12, 2019, YS PP07.
17. **J. Aksić**, M. Genčić, N. Radulović, N. Baldovini. Complete assignment of ¹H and ¹³C NMR spectra of italidione I. In: *Book of Abstract of the 21st Central European NMR Symposium & Bruker Users Meeting (CEUM 2019)*, Belgrade (Serbia), Sept. 04-05, 2019, p45.
18. M. Genčić, **J. Aksić**, M. Živković, N. Stojanović, Z. Stojanović-Radić, N. Radulović. Antimicrobial and anti-inflammatory potential of different immortelle essential-oil chemotypes. In: *Facta Universitatis, Series: Physics, Chemistry and Technology*, Vol.

16. No. 1 – *Special Issue* devoted to 49th *International Symposium on Essential Oils* (ISEO2018), Niš (Serbia), Sept. 13-16, 2018, PP9.
 19. M. Genčić, **J. Aksić**, M. Živković, M. Đorđević, M. Mladenović, N. Radulović. New neryl esters from *Helichrysum italicum* essential oil. In: *Facta Universitatis, Series: Physics, Chemistry and Technology*, Vol. 16. No. 1 – *Special Issue* devoted to 49th *International Symposium on Essential Oils* (ISEO2018), Niš (Serbia), Sept. 13-16, 2018, PP8.
- Рад саопштен на националном научном скупу објављен у целини (M63)
20. M. Ivanović, S. Tošić, S. Mitić, M. Petrović, **J. Aksić**. Mineral profile of some dried fruits. In: *Zbornik radova*, Vol. 21. No. 23 – *XXI Savetovanje o biotehnologiji*, Čačak (Serbia), Mar. 11-12, 2016, p277–282.
- Рад саопштен на националном научном скупу објављен у изводу (M64)
21. **J.M. Denić**, M.S. Genčić, N.S. Radulović, M.V. Dimitrijević, Z.Z. Stojanović-Radić. Thiazolo[3,4-*a*]pyrazine-5,8-diones tethered with ferrocene and quinoline motifs as promising antimicrobial agents. In: *Book of Abstracts of the 60th Meeting of the Serbian Chemical Society*, Niš (Serbia), June 08-09, 2024, p86 .
 22. M.V. Rodić, **J.M. Aksić**, M.S. Genčić, N.S. Radulović. Crystal structure the new ferrocene – thiazol[3,4-*a*]pyrazin-5,8-dione hybriide. In: *Book of Abstracts of the 60th Meeting of the Serbian Chemical Society*, Niš (Serbia), June 08-09, 2024, p32.
 23. **J. Aksić**, D. Nikolić, M. Genčić, N. Radulović. Nitric oxide scavenging effect of immortelle essential oils and two synthetic italdiones. In: *Book of Abstracts of the Eight Conference of the Young Chemists of Serbia*, Belgrade (Serbia), Oct. 29, 2022, OC PP 03.
 24. **J. Aksić**, M. Genčić, Nikola Stojanović, N. Radulović. Effects of immortelle essential oil on macrophage NO production. In: *Book of Abstracts of the Seventh Conference of the Young Chemists of Serbia*, Belgrade (Serbia), Nov. 02, 2019, BB PP 01.
 25. M. Genčić, **J. Aksić**, M. Živković, N. Radulović. New neryl esters from *Helichrysum italicum* essential oil. In: *Book of Abstracts of the Sixth Conference of the Young Chemists of Serbia*, Belgrade (Serbia), Oct. 27, 2018, HA03 P1.

10. ИЗЈАВЕ АУТОРА

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

**НОВИ ХИБРИДИ ФЕРОЦЕНА СА РАЗЛИЧИТИМ ТИЈА-АЗА
ХЕТЕРОЦИКЛУСИМА: СИНТЕЗА, СПЕКТРАЛНА КАРАКТЕРИЗАЦИЈА И
БИОЛОШКА АКТИВНОСТ**

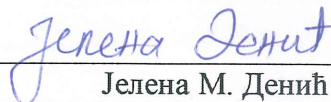
која је одбрањена на Природно-математичком факултету Универзитета у Нишу:

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да ову дисертацију, ни у целини, нити у деловима, нисам пријављивао/ла на другим факултетима, нити универзитетима;
- да нисам повредио/ла ауторска права, нити злоупотребио/ла интелектуалну својину других лица.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са ауторством и добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Нишу, 17.10.2025.

Потпис аутора дисертације:


Јелена М. Денић

**ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНОГ И ЕЛЕКТРОНСКОГ ОБЛИКА
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

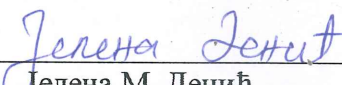
Наслов дисертације:

**НОВИ ХИБРИДИ ФЕРОЦЕНА СА РАЗЛИЧИТИМ ТИЈА-АЗА
ХЕТЕРОЦИКЛУСИМА: СИНТЕЗА, СПЕКТРАЛНА КАРАКТЕРИЗАЦИЈА И
БИОЛОШКА АКТИВНОСТ**

Изјављујем да је електронски облик моје докторске дисертације, коју сам предао/ла за уношење у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, истоветан штампаном облику.

У Нишу, 17.10.2025.

Потпис аутора дисертације:


Јелена М. Денић

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу унесе моју докторску дисертацију, под насловом:

НОВИ ХИБРИДИ ФЕРОЦЕНА СА РАЗЛИЧИТИМ ТИЈА-АЗА ХЕТЕРОЦИКЛУСИМА: СИНТЕЗА, СПЕКТРАЛНА КАРАКТЕРИЗАЦИЈА И БИОЛОШКА АКТИВНОСТ

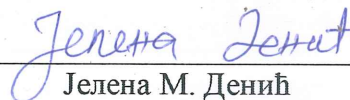
Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском облику, погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију, унету у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прераде (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

У Нишу, 17.10.2025.

Потпис аутора дисертације


Јелена М. Денић