

Sinteza, struktura i svojstva biološki aktivnih derivata spirohidantoina

Anita M. Lazić, Nataša V. Valentić, Nemanja P. Trišović, Slobodan D. Petrović, Gordana S. Ušćumlić

Katedra za organsku hemiju, Tehnološko–metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Izvod

Prvu sintezu cikloalkanspiro-5-hidantoina izveli su Bučerer i Lib (Bucherer, Lieb) 1934. godine, reakcijom cikličnog ketona sa kalijum-cijanidom i amonijum-karbonatom u smeši etanola i vode, zagrevanjem uz refluks. U ovom radu su prikazani različiti postupci sinteze derivata spirohidantoina, njihova fizičko–hemijska svojstva i biološka aktivnost. Posebno je istaknut značaj cikloalkanspiro-5-hidantoina sa antikonvulzivnim, antiproliferativnim, anti-psihotičkim, antimikrobnim, antiinflamatornim i analgetskim svojstvima kao i njihov značaj kao potencijalnih lekova u lečenju dijabetesa. Pored osnovnih svojstava molekula koja su značajna za aktivnost proučavanih spirohidantoina, navedeni su najznačajniji podaci QSAR (eng. Quantitative Structure–Activity Relationship) studija na osnovu kojih se dobija detaljniji uvid u mehanizam njihovog farmakološkog dejstva.

Ključne reči: Spirohidantoini; sinteza; fizičko–hemijska svojstva; biološka aktivnost.

Dostupno na Internetu sa adrese časopisa: <http://www.ache.org.rs/HI/>

Uvođenjem različitih supstituenata u N-3 i N-1 položaje hidantoinskog prstena (u strukturi spirohidantoina) nastaju farmakološki važni molekuli, interesantni kao potencijalni lekovi u tretmanu raznih bolesti. Spirohidantoina jedinica je gradivni element selektivnih agonista i antagonista serotoninskih 5-HT receptora te su stoga pomenuti derivati spirohidantoina od važnosti kao potencijalni psihoaktivni agensi [1,2]. Spiropiperidino-hidantoini derivati su modulatori aktivnosti hemokinskih receptora podvrste CCR5 i kao takvi su od značaja za prevenciju ili tretman infektivnih oboljenja (npr. infekcija izazvana HIV-om), imunoregulatornih i inflamatornih oboljenja, reakcije organizma na presađeni organ [3], itd. Molekuli koji pokazuju aktivnost kao aldoza reduktazi enzimu (ALR2) privlače pažnju kao potencijalni lekovi u prevenciji ili lečenju komplikacija koje su posledica dijabetesa [4,5]. Spirohidantoini su važni kao potencijalni lekovi u lečenju kancera [6,7], epilepsije i drugih konvulzivnih poremećaja [8,9] i čitavog niza drugih bolesti. Osim navedenih fizioloških aktivnosti, značajni su i kao polazni reaktanti za sintezu različitih aminokiselina [10].

STRUKTURA SPIROHIDANTOINA

Mnogi derivati spirohidantoina su biološki aktivni molekuli različitih svojstava, a strukture nekih aktivnijih jedinjenja kao i odgovarajuća dejstva data su u tabeli 1.

Prepiska: N.V. Valentić, Tehnološko–metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Karnegijeva 4, 11120 Beograd, Srbija.

E-pošta: naca@tmf.bg.ac.rs

Rad primljen: 5. februar, 2015

Rad prihvaćen: 14. april, 2015

PREGLEDNI RAD

UDK 547.783.057:615

Hem. Ind. 70 (2) 177–199 (2016)

doi: 10.2298/HEMIND150205025L

FIZIČKA SVOJSTVA SPIROHIDANTOINA

Spirohidantoini su bele kristalne supstance, različitih temperatura topljenja. Spirohidantoini sa supstituentima na atomima azota se tope na nižim temperaturama od nesupstituisanih analoga što je posledica manje polarnosti molekula i smanjene mogućnosti građenja intermolekulskih vodoničnih veza [12,13]. Usled velike koncentracije heteroatoma i karbonilnih grupa u prstenu, spirohidantoini su hidrofilni molekuli; dobro se rastvaraju u vodi, etanolu i etil-acetatu [13].

HEMIJSKA SVOJSTVA SPIROHIDANTOINA

Kiselost

Derivati spirohidantoina sadrže dve NH grupe u položajima 1 i 3 hidantoinskog prstena. N3-H grupa se nalazi između dve elektrofilne karbonilne grupe što znatno povećava njenu kiselost u odnosu na N1-H grupu koja je u susedstvu samo jedne karbonilne grupe. Primenom IR spektroskopije dokazano je da pomenute NH grupe nisu međusobno ekvivalentne, zbog čega derivati spirohidantoina ispoljavaju različita kiselobazna svojstva [14].

Hidroliza

Hidroliza hidantoina i spirohidantoina jedan je od najčešće korišćenih postupaka za sintezu neproteinskih aminokiselina. Najefikasniji metod hidrolize spirohidantoina derivata je bazna hidroliza upotrebom barijumhidroksida. Primer je reakcija alkalne hidrolize ciklopentanspiro-5-hidantoina (**1**) do 1-aminociklopentankarboksilne kiseline (**2**, šema 1) [10].

Spirohidantoini su važni intermedijeri za sintezu konformaciono ograničenih α -aminokiselina. Na primer, prva sinteza 1-aminociklopropankarboksilne kiseline izvršena je 1922. godine, alkalnom hidrolizom ciklo-

Tabela 1. Neki fiziološki aktivni derivati spirohidantoina
 Table 1. Some of physiological active derivatives of spirohydantoina

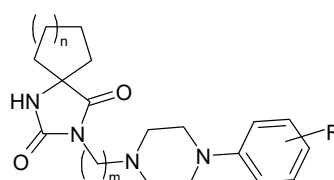
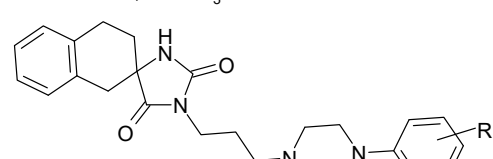
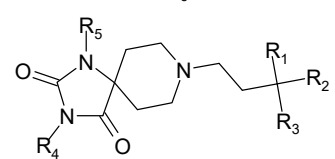
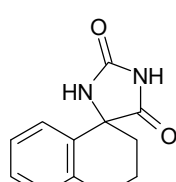
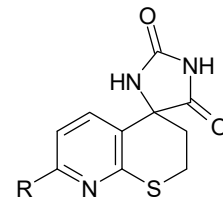
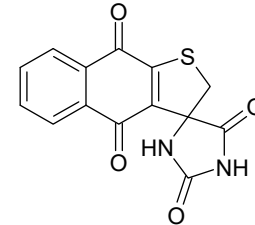
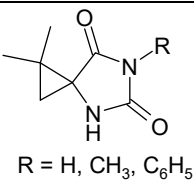
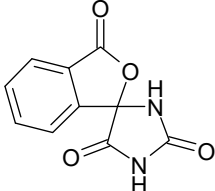
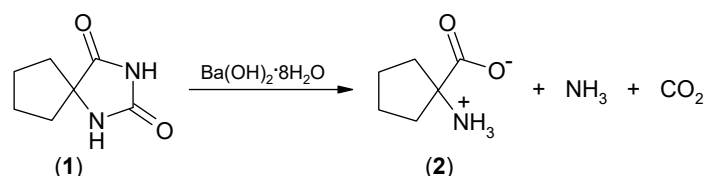
Redni broj	Formula	Dejstvo
1	 <p> $n = 1, 2$ $m = 3, 4$ $R = H, \sigma\text{-OCH}_3$ </p>	Antidepresiv, antipsihotik [1,11]
2	 <p> $R = H, \sigma\text{-OCH}_3, m\text{-Cl},$ $\sigma\text{-F}, p\text{-F}, m\text{-CF}_3$ </p>	Anksiolitičko [1,2]
3	 <p> nezavisno $R_1, R_4, R_5 = H$ nezavisno $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 = C_{1-10}$ alkil, C_{2-10} alkenil ili alkinil nezavisno $R_1, R_3, R_4, R_5 = C_{6-12}$ aril nezavisno $R_2, R_4, R_5 = 3-10$ člani heterocikl $R_1 = OH, OC_{1-6}$ alkil, OC_{6-12} aralkil $R_5 = C_{6-12}$ aralkil </p>	Antiinflamatorno [3]
4	 <p>$X = CH_2, O, S$</p>	Antidijabetik [4]
5	 <p>$R = H, CH_3$</p>	Antidijabetik [5]
6		Antikancerogeno [7]

Tabela 1. Nastavak
Table 1. Continued

Redni broj	Formula	Dejstvo
7	 R = H, CH ₃ , C ₆ H ₅	Antikonvulziv [8]
8		Antikonvulziv [9]



Šema 1. Alkalna hidroliza cikloalkanspiro-5-hidantoina.

Scheme 1. Hydrolysis of cycloalkanespiro-5-hydantoin under alkaline conditions.

propanspiro-5-hidantoina (**3**) [15]. Tretiranjem rezultujuće hidantoiniske kiseline (**4**) sa azotastom kiselinom, dobija se karbaminska kiselina (**5**), koja spontano dekarboksiluje dajući 1-aminociklopropankarboksilnu kiselinu (**6**, šema 2) [15].

Cikloalkanspiro-5-hidantoini (**7**) sa voluminoznijim cikloalkil-grupama se prevode u konformaciono ograničene aminokiseline preko intermedijarnog *N,N'*-zaštićenog spirohidantoina (**8**) koji se dobija uvođenjem *tert*-butiloksikarbonil (Boc) zaštitne grupe tretiranjem cikloalkanspiro-5-hidantoina sa di-*tert*-butil-dikarbonatom. Nastali intermedijer (**8**) relativno lako podleže baznoj hidrolizi nakon čega sledi zakišeljavanje (šema 3) [15].

N-3 i *N*-1 supstitucija

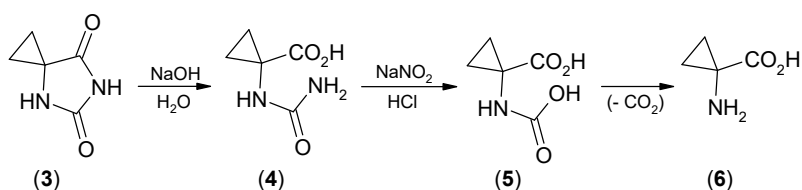
Piner (Pinner) je ustanovio da je moguće izvršiti direktno alkilovanje hidantoina u položaju 3, tretiranjem sa alkil-halogenidima u baznom rastvoru. Reakcijom ciklopentanspiro-5-hidantoina (**1**) sa benzil-bromidom u prisustvu kalijum-karbonata, dobija se 3-benzilciklopentanspiro-5-hidantoin (**10**, šema 4) [16].

Primenom istog postupka ne može se izvršiti direktno *N*-1 alkilovanje hidantoina osim ukoliko u položaju 5, pomenutog molekula, nije prisutna dvostruka veza ili fenil grupa. Prisustvo C-5 dvostruke veze aktivira azot u položaju 1, omogućavajući zamenu vodonikovog atoma odgovarajućom alkil-grupom [16].

Berend (Berend) i Nejmer (Niemeyer) prvi su dokazali da reakcija spirohidantoina (**1**) i formaldehida rezultira formiranjem 1,1'-metilendispirohiantoina (**11**) (šema 5), odnosno, *N*-1 supstitucijom [16].

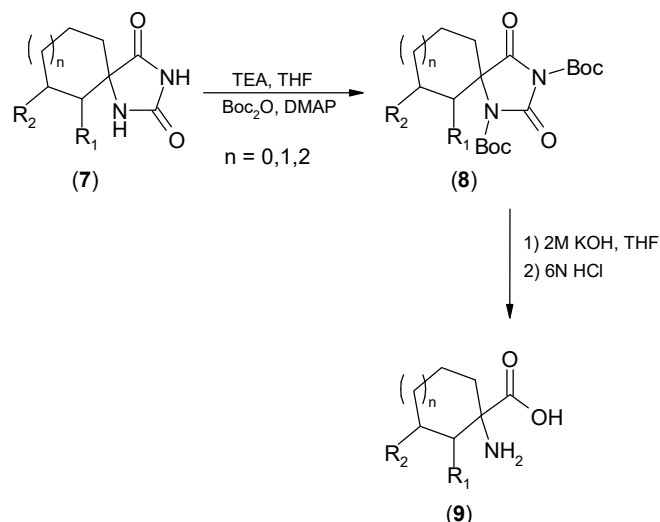
SINTEZA SPIROHIDANTOINA

Prvu sintezu cikloalkanspiro-5-hidantoina izveli su Bučerer i Lib 1934. godine, reakcijom cikličnog ketona, kalijum-cijanida i amonijum-karbonata, uz refluks, u smeši etanola i vode [15]. Opisana metoda sadrži jedan nedostatak. Naime, tokom reakcije izdvaja se cijanovodonična kiselina koja je izuzetno toksična. Potencijalno rešenje predstavlja primena mikrotalasnog zračenja koje obezbeđuje visoke prinose i čistije proizvode [15].

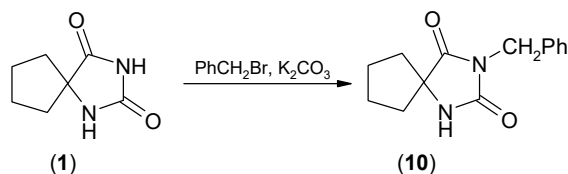


Šema 2. Sinteza 1-aminociklopropankarboksilne kiseline.

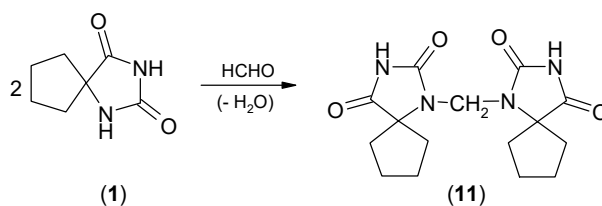
Scheme 2. Synthesis of 1-aminocyclopropanecarboxylic acid.



Šema 3. Sinteza konformaciono ograničenih aminokiselina.
Scheme 3. Synthesis of conformationally restricted amino acids.



Šema 4. Supstitucija u položaju N-3-hidantoinskog prstena.
Scheme 4. Substitutions at position N-3-hydantoin ring.



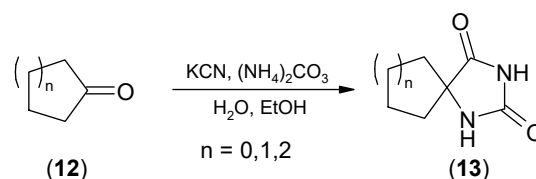
Šema 5. Reakcija spirohidantoina i formaldehida.
Scheme 5. Reaction of spirohydantoin and formaldehyde.

Bučerer–Libova metoda je modifikacija poznatog postupka sinteze hidantoina dejstvom kalijum-cijanida i amonijum-karbonata na aldehide i ketone, odnosno, takozvane Bučerer–Bergsove (Bucherer–Bergs) reakcije [16]. Modifikacija se sastoji u upotrebi 50% vodenog rastvora etanola kao reakcionog medijuma.

Sinteza cikloalkanspiro-5-hidantoina (**13**) Bučerer–Libovim postupkom, iz odgovarajućih cikličnih ketona (**12**), prikazana je na šemi 6 [12].

Ciklopentanspiro-, cikloheksanspiro- i cikloheptanspiro-5-hidantoin, sintetisani su Bučerer–Bergsovim postupkom uz dejstvo mikrotalasnog zračenja (šema 7). Optimalno vreme zračenja koje obezbeđuje visoke prinose je 2–5 min. Nasuprot tome, izlaganje reakcionih komponenata dužem zračenju ima za posledicu razgradnju proizvoda [17].

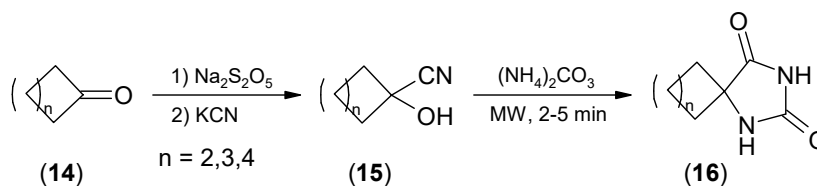
Na šemi 8, opisana je sinteza farmakološki aktivnog aminokiselinskog nitrogen-mustarda, derivata tetralin-



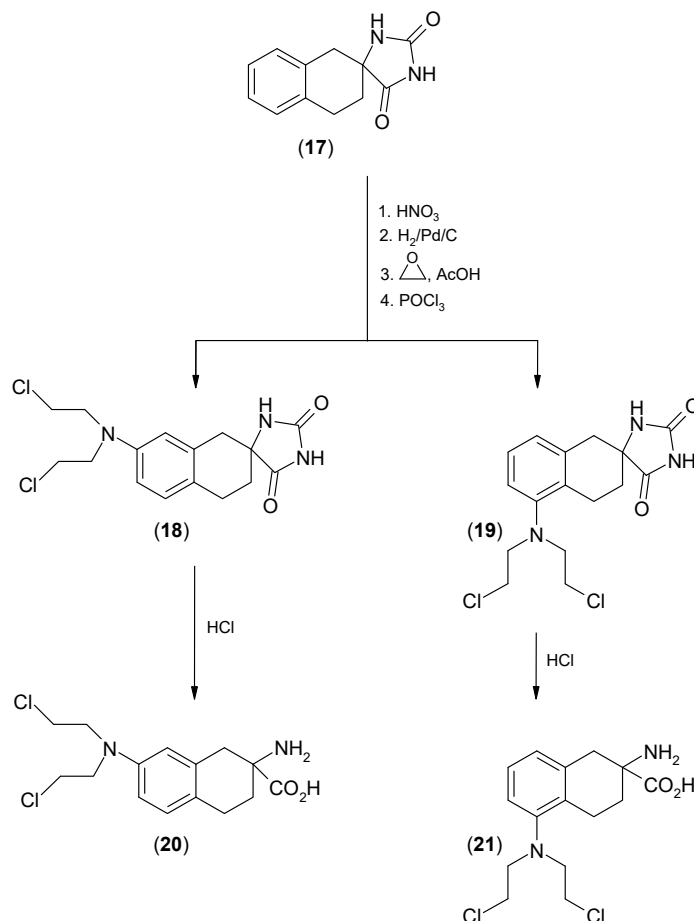
Šema 6. Bučerer–Libova sinteza cikloalkanspiro-5-hidantoina iz cikličnih ketona.

Scheme 6. Bucherer–Libe cycloalkanspiro-5-hydantoin synthesis from cyclic ketones.

spirohidantoin nitrogen-mustarda. Aminokiselinski nitrogen-mustardi su od važnosti kao potencijalni antitumorni agensi s obzirom na veliki značaj L-fenilalaninskih mustarda u terapiji kancerogenih oboljenja [6]. Polazna supstanca je β -tetralon hidantoin (**17**) iz koga nastaje smeša dva tetralin-spirohiantoin nitrogen-mustarda (**18** i **19**). Njihovom hidrolizom se dobijaju finalni produkti DL-2-amino-7-[bis(2-hloretil)amino]-1,2,3,4-tet-



Šema 7. Bučerer–Bergsova sinteza spirohidantoina pod dejstvom mikrotalasnog zračenja.
 Scheme 7. Bucherer–Bergs spirohydantoin synthesis under microwave irradiation.



Šema 8. Sinteza L-aminokiselinog nitrogen-mustarda.
 Scheme 8. Synthesis of L-amino acid nitrogen mustard.

rahidro-2-naftenska kiselina (**20**) i DL-2-amino-5-[bis(2-hloretil)amino]-1,2,3,4-tetrahidro-2-naftenska kiselina (**21**), u protonovanom amonijum-karboksilnom obliku [6].

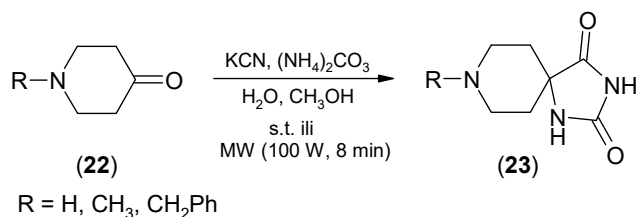
Postupak dobijanja piperidinspirohiantoina (**23**), polazeći iz odgovarajućeg piperidona (**22**), prikazan je na šemi 9 [15].

Analozi sorbinila (**25**) koji pokazuju aktivnost ka inhibiciji aldoza reduktaze enzima (ALR2) (šema 10), proizvod su reakcije 2,3-dihidrotiopirano-(2,3-*b*)-piridin-4(4H)-ona (**24**), kao i njegovog metil analoga, sa kalijum-cijanidom i amonijum-karbonatom u vodenom-alkoholnoj sredini [5].

3-Supstituisani ciklopropanspiro-5-hidantoini derivati koji imaju antikonvulzivnu aktivnost, dobijeni

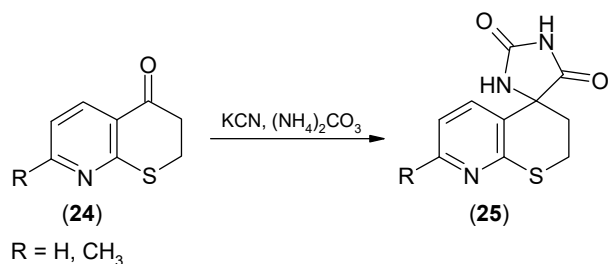
su prema postupku opisanom na šemi 11. Dietil-2,2-dimetilciklopropan-1,1-dikarboksilat (**26**), sintetizovan Majklovom (Michael) reakcijom ciklizacije, preveden je u monoestar (**27**) pomoću reakcije monosaponifikacije. Kurtiusovom (Curtius) reakcijom, formiran je *in situ* izocijanat (**28**) koji je zatim reagovao sa aminom gradeći α -karboetoksi ureu (**29**). Ciklizacijom *N,N*-asimetričnih molekula uree (**29**) dobijen je spirohidantoini derivat (**30**) [8].

Štrekerova (Strecker) reakcija predstavlja direktnu metodu za asimetričnu (enantioselektivnu) sintezu derivata cikloalkanspiro-5-hidantoina [18]. Tako se, na primer, klasičnom Štrekerovom reakcijom *N*-supstituisanog-4-piperidona (**31**) sa anilinom i kalijum-cijanidom, u vodenom rastvoru sirćetne kiseline, formira



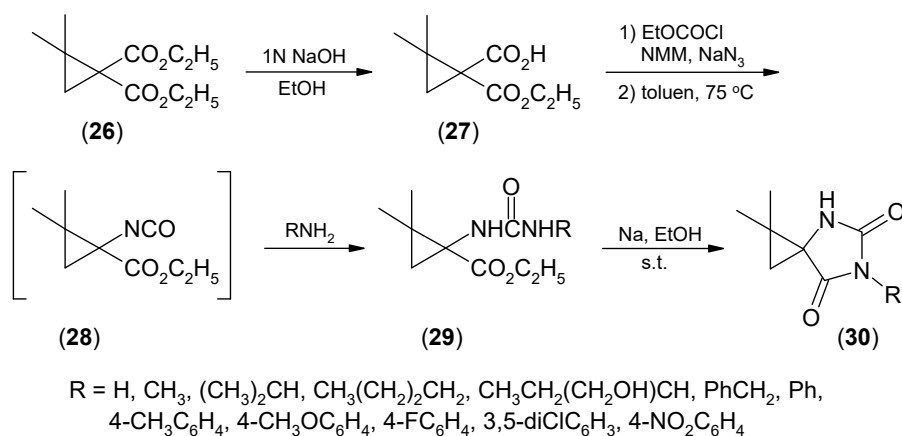
Šema 9. Sinteza piperidin spirohidantoina iz piperidona.

Scheme 9. Synthesis of piperidine spirohydantoin from piperidone.



Šema 10. Sinteza spirohidantoinskog derivata 2,3-dihidrotiopyrano-(2,3-b)-piridin-4-(4H)-ona.

Scheme 10. Synthesis of spirohydantoin derivative of 2,3-dihydrothiopyrano-(2,3-b)-pyridin-4-(4H)-one.



Šema 11. Sinteza 3-supstuisanog ciklopropanspiro-5-hidantoinskog derivata.

Scheme 11. Synthesis of 3-substituted cyclopropanespiro-5-hydantoin derivative.

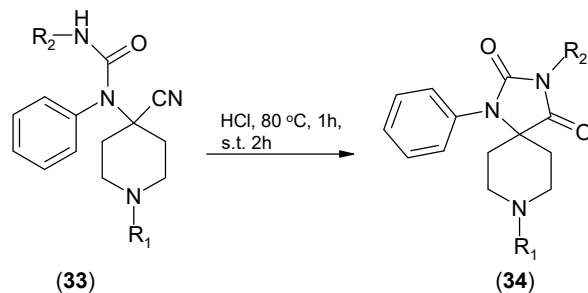
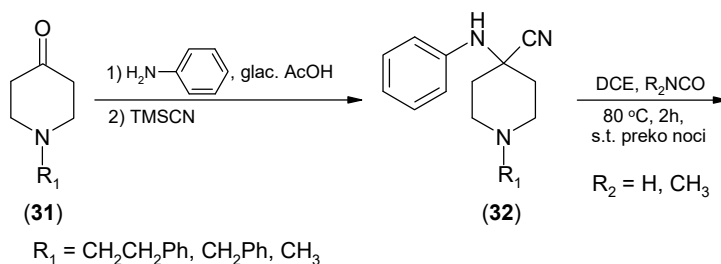
prekursor (32, šema 12). Modifikovana Štrekerova reakcija se izvodi u anhidrovanim uslovima, u glacijalnoj sirčetnoj kiselini, korišćenjem tetrametilsilil-cijanida (TMSCN) umesto kalijum-cijanida (šema 12). Luisove (Lewis) kiseline katališu modifikovanu Štrekerovu reakciju adicije TMSCN na imine. Nakon modifikovane Štrekerove sinteze, nastali α -aminonitril (32) se kondenzuje sa odabranim izocijanatom, a zatim sledi ciklizacija i nastaje spirohidantoin (34).

Postupak sinteze derivata cikloalkanspiro-5-hidantoina koji imaju antikonvulzivnu aktivnost (šema 13), započinje Bučerer–Bergsovom reakcijom β -tetralona (35) kojom se formira β -tetralon hidantoin (17). Njegovom daljom reakcijom sa 4-supstuisanim piperazinom i formaldehidom u 96% etanolu, dobijaju se *N*-[(4-(supstuisani fenil)-piperazin-1-il)-metil]-[7,8-*f*]benzo-1,3-diaza-spiro[4.5]dekan-2,4-dioni (36) [19].

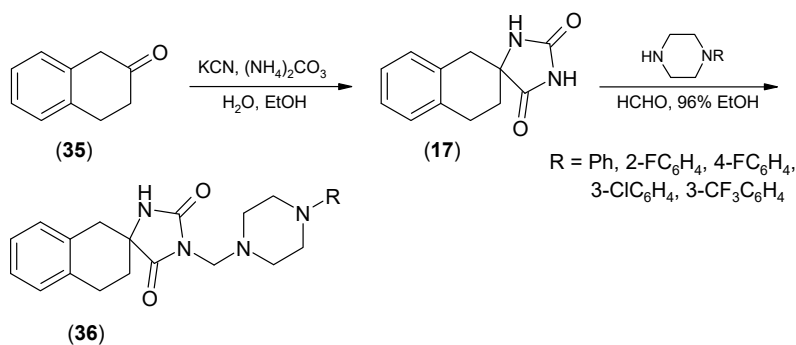
Prvi korak u sintezi spiromustina (40) (šema 14) predstavlja alkilovanje cikloheksanspiro-5-hidantoina (37) sa 1-brom-2-hloretanom. Formirani produkt, odnosno, 3-(2-hloretil)cikloheksanspiro-5-hidantoin (38) kondenzuje se sa dietanolaminom gradeći 3-[2-[bis(2-hidroksietil)-amino]-etil]cikloheksanspiro-5-hidantoin (39) koji u završnoj fazi reakcije reaguje sa POCl₃ [20].

Spirohidantoinski derivat sirčetne kiseline (43), koji pokazuje slabu aktivnost ka inhibiciji aldoza reduktaze (ALR2) i aldehyd reduktaze (ALR1), može se sintetizovati alkilovanjem sulfona (41) (šema 15) [5]. Alkilovanje se vrši sa etil-bromacetatom u acetonu, u prisustvu anhidrovanog kalijum-karbonata, zagrevanjem uz refluks. Alkalnom hidrolizom prekursora (42) dobija se ciljano jedinjenje.

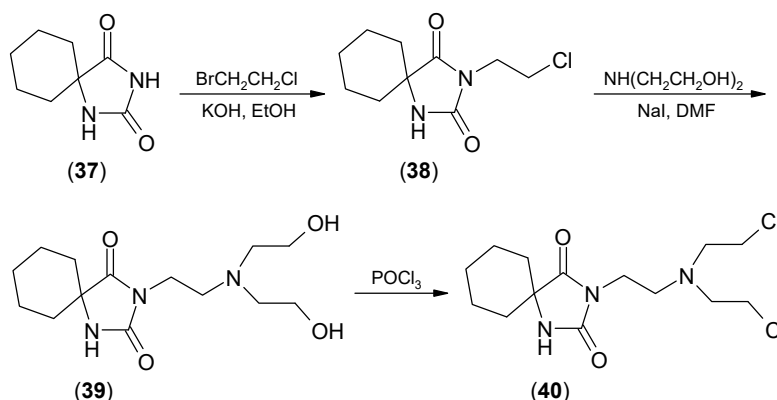
Široka mogućnost primene cikloalkanspiro-5-hidantoina dovela je, između ostalog, i do proučavanja *N*-supstuisanih derivata cikloheksanspiro-5-hidan-



Šema 12. Sintaza asimetričnih spirohidantoinskih derivata.
 Scheme 12. Synthesis of asymmetric spirohydantoin derivative.



Šema 13. Sintaza *N*-[(4-(supstituisanih fenil)-piperazin-1-il)-metil]-[7,8-f]benzo-1,3-diaza-spiro[4.5]dekan-2,4-diona.
 Scheme 13. Synthesis of *N*-[(4-(substituted phenyl)-piperazin-1-yl)-methyl]-[7,8-f]benzo-1,3-diaza-spiro[4.5]decane-2,4-diones.

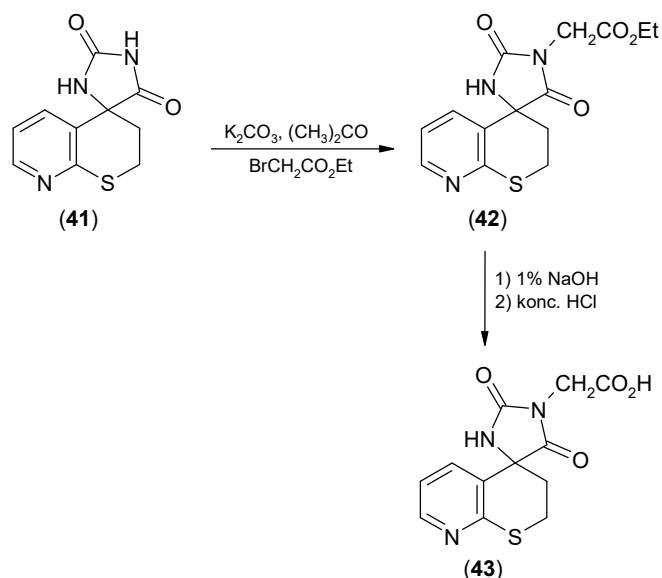


Šema 14. Sintaza spiromustina.
 Scheme 14. Synthesis of spiromustine.

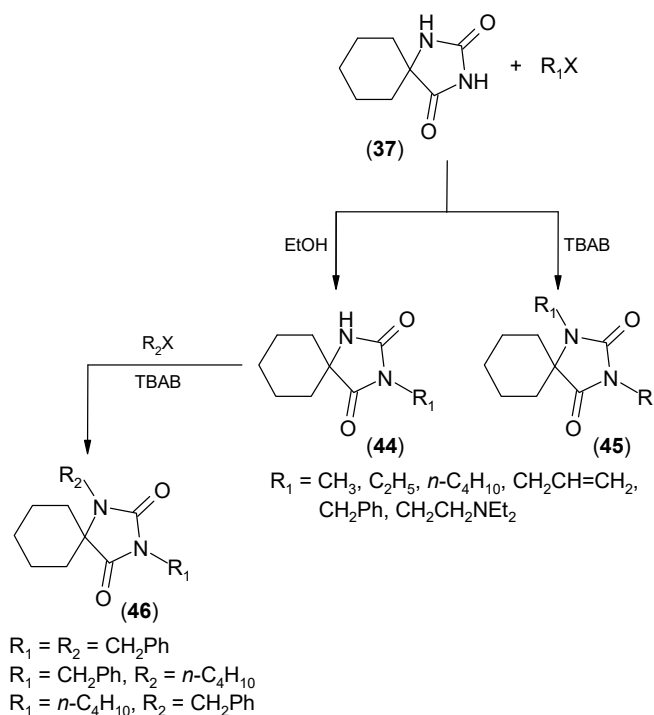
toina. Cikloheksanspiro-5-hidantoin (37) se može selektivno alkilovati u položaju *N*-3-dejstvom agensa za alkilovanje (agens za alkilovanje/spirohidantoin, 1:1) u prisustvu kalijum-hidroksida u etanolu, zagrevanjem uz refluks (šema 16) [21]. Kada se kao alkilujući agens

koristi 1,3-dibrompropan, on se uzima u višku (agens za alkilovanje/spirohidantoin 2:1) [21].

Do alkilovanja u položaju *N*-1 dolazi znatno teže, najčešće u prisustvu natrijum-hidrida u dimetilformamidu. Da bi se izvršilo selektivno alkilovanje u položaju



Šema 15. Sinteza acetatnog derivata spirohidantoin 2,3-dihidrotiopirano-(2,3-b)-piridin-4-(4H)-ona.
Scheme 15. Synthesis of spirohydantoin derivative of acetate of 2,3-dihydrotyopyrano-(2,3-b)-pyridine-4-(4H)-one.



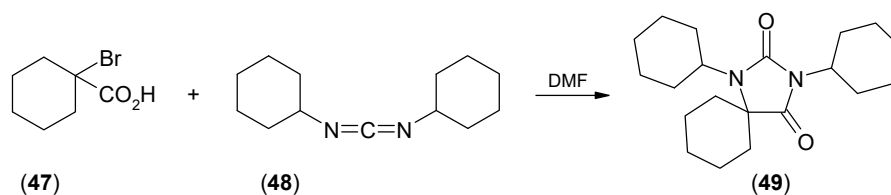
Šema 16. Sinteza disupstituisanih derivata cikloheksanspiro-5-hidantoina.
Scheme 16. Synthesis of disubstituted cyclohexanespiro-5-hydantoin derivatives.

N-1, položaj 3 se mora prethodno zaštititi. Kada se alkilovanje, vrši u sistemu toluen-vodeni alkalni rastvor uz tetrabutilamonijum-bromid (TBAB) kao međufazni katalizator, dobija se di-*N*-alkilovani derivat cikloheksanspiro-5-hidantoina (šema 16) [21].

Cikloheksanspiro-5-hidantoin (49) produkt je reakcije supstituisane α -halogensirćetne kiseline (47) i simetričnih *N,N'*-dialkilkarbodiimida poput *N,N'*-d cikloheksilkarbodiimida (48) (šema 17) [22].

Derivati spirohidantoina sa antikonvulzivnim svojstvima

Epilepsija je poremećaj funkcije mozga koga karakterišu epileptički napadi praćeni epizodnim (privremenim) visokofrekventnim pražnjenjem impulsa koje vrši grupa neurona u mozgu [23]. Napadi imaju različite oblike i različite ishode, u zavisnosti od epizoda neuronskih pražnjenja. Najčešće su praćeni konvulzijama, ali se mogu pojaviti i u mnogim drugim oblicima. Mesto



Šema 17. Sinteza cikloheksanspiro-5-hidantoina iz supstituisane α -halogensirćetne kiseline i N,N' -dialkylkarbodiimida.
Scheme 17. Synthesis of cyclohexanespiro-5-hydantoin from substituted α -halogenacetic acide and N,N' -dialcanecarbamide.

primarnog pražnjenja i opseg njegovog širenja određuju simptome koji nastaju prilikom napada.

Epilepsija je jedna od najčešćih hroničnih neuroloških bolesti. Klinička klasifikacija epilepsije definiše dve glavne kategorije napada: parcijalne i generalizovane [23]. Napadi u kojima pražnjenje počinje kao lokalno, i često ostaje lokalizovano, su parcijalni napadi. Generalizovani napadi zahvataju ceo mozak, i zato proizvode poremećenu električnu aktivnost u obe hemisfere. Dva važna klinička oblika generalizovanih epileptičkih napada su toničko-klonički (granda mal) i absansni napadi (petit mal).

Epilepsija se uglavnom leči lekovima, ali se u teškim slučajevima mogu obaviti hirurški zahvati na mozgu. Naziv antiepileptik koristi se istovremeno kao i naziv antikonvulziv, za opis lekova koji se koriste u terapiji epilepsije kao i neepileptičkih konvulzivnih poremećaja [23]. Postoje tri glavna mehanizma delovanja antiepileptika: pojačavanje delovanja γ -aminobuterne kiseline (GABA), inhibicija funkcije voltažno-zavisnih kanala Na⁺ i Ca²⁺ [23].

Uprkos velikom napretku koji je postignut u oblasti istraživanja vezanih za epilepsiju, i dalje se kod 25% pacijenata konvulzije neadekvatno kontrolišu primenom standardne terapije lekovima. U poslednje vreme se u lečenju epilepsije koriste novi lekovi (tzv. antikonvulzivi druge generacije) poput: felbamata (Felbatol®), lamotrigina (Lamictal®), gabapentina (Neurontin®) i topiramata (Topamax®) [9]. Njihovo mesto u terapiji epilepsije se još uvek određuje. Iako su efikasni u tretmanu epileptičkih sindroma, nisu pokazali superiornost u odnosu na tradicionalne antikonvulzive (antikonvulzivi prve generacije) [9]. Iz tog razloga postoji konstantna potreba za pronalaženjem novih antiepileptika sa većom efikasnošću i manjim nuspojavama.

Većina jedinjenja koja pokazuje antikonvulzivnu aktivnost, u svojoj strukturi sadrži cikličnu ureidnu jedinicu sa fenil ili alkil supstituentima [9,19]. Važan predstavnik antikonvulziva prve generacije je fenitoin (5,5-difenilhidantoin, Dilantin®). Iako je otkriven pre više od sedam decenija i dalje je u širokoj terapijskoj upotrebi, s obzirom da je efikasan u terapiji različitih formi parcijalnih i generalizovanih napada (ali ne absansnih) [23].

Odnos strukture i bioloških svojstava derivata hidantoina intenzivno se proučava sa ciljem da se identifikuju oni strukturni elementi koji su odgovorni za

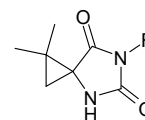
korisnu aktivnost, ali i neželjena dejstva. Uspostavljanje vodoničnih veza sa ciljnim mestima nalazi se u osnovi mehanizma njihovog antikonvulzivnog delovanja. Kristalografska analiza antikonvulziva je pokazala da međusobna orijentacija aromatične grupe i dela molekula koji gradi vodonične veze značajno utiče na efikasnost njihovog delovanja [13,24–26].

Od otkrića 5,5-difenilhidantoina do danas, sintetizovani su mnogi analozi hidantoina, uključujući spirohidantoina [8,9,19], koji pokazuju antikonvulzivnu aktivnost.

U slučaju N -3-supstituisanih ciklopropanspiro-5-hidantoina (tabela 2), kao farmakološki najaktivniji pokazali su se derivati koji sadrže nerazgranate alkil i hidroksialkil supstituente (npr. metil-, butil- i (1-hidroksimetil)propil-grupa) [8]. Takođe, uočeno je da prisustvo fluora u *para* položaju N -3-fenil-grupe pojačava aktivnost derivata cikloalkanspiro-5-hidantoina, dok disupstitucija hlorom u 3' i 5' položaju N -3-fenilnog jezgra, znatno smanjuje antikonvulzivnu aktivnost. Elektron-donorske grupe kao što je metoksi i snažne elektron-akceptorske grupe poput nitro grupe, koje se nalaze u *para* položaju N -3-fenilnog jezgra, smanjuju delotvornost derivata ciklopropanspiro-5-hidantoina [8].

Tabela 2. 3-Supstituisani ciklopropanspiro-5-hidantoini sa antikonvulzivnim svojstvima

Table 2. 3-Substituted cyclopropanspiro-5-hydantoin with anticonvulsant properties

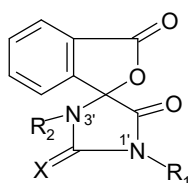


Redni broj	R
1	H
2	CH ₃
3	(CH ₃) ₂ CH
4	CH ₃ (CH ₂) ₃
5	CH ₃ CH ₂ (CH ₂ OH)CH
6	C ₆ H ₅ CH ₂
7	C ₆ H ₅
8	4-CH ₃ C ₆ H ₄
9	4-CH ₃ OC ₆ H ₄
10	4-FC ₆ H ₄
11	3,5-diClC ₆ H ₃
12	4-NO ₂ C ₆ H ₄

Proučavanje antikonvulzivne aktivnosti u okviru serije *N*-1',*N*-3'-disupstituisanih ftalidil spirohidantoina (tabela 3), ukazalo je da struktura supstituenta na azotu veoma utiče na antikonvulzivnu aktivnost i lipofilnost molekula [9]. Supstituenti na azotu su odabrani tako da pruže uvid u optimalnu dužinu alkil lanca i da povećaju lipofilnost molekula spirohidantoina i tako olakšaju njihov prolaz kroz krvno–moždanu barijeru. Rezultati su pokazali da je u homologoj seriji jedinjenja sa po dve metil-, etil- ili alil-grupe ($R_1, R_2 =$ metil, etil, alil), farmakološki najaktivniji dietil derivat, sa srednjom efektivnom dozom (ED_{50}) od 190 mg/kg u pentilentetrazolskom (scPTZ) testu [9].

Tabela 3. *N*-1',*N*-3'-disupstituisani ftalidil spirohidantoini sa antikonvulzivnim svojstvima

Table 3. *N*-1',*N*-3'-disubstituted phthalidyl spirohydantoin with anticonvulsant properties



Redni broj	R_1	R_2	X
1	CH ₃	CH ₃	O
2	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	O
3	Alil	Alil	O
4	CH ₃	C ₂ H ₅	O
5	<i>n</i> -C ₃ H ₇	<i>n</i> -C ₃ H ₇	O
6	<i>n</i> -C ₄ H ₉	<i>n</i> -C ₄ H ₉	O
7	<i>i</i> -C ₃ H ₇	<i>i</i> -C ₃ H ₇	O
8	Ciklo-C ₆ H ₁₁	Ciklo-C ₆ H ₁₁	O
9	C ₆ H ₅	CH ₃	O
10	C ₆ H ₅	CH ₃	S
11	<i>p</i> -F-C ₆ H ₄	CH ₃	O
12	<i>p</i> -CF ₃ -C ₆ H ₄	CH ₃	O
13	C ₆ H ₅	C ₂ H ₅	O
14	<i>p</i> -F-C ₆ H ₄	C ₂ H ₅	O
15	<i>p</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	C ₂ H ₅	O
16	<i>p</i> -OCH ₃ -C ₆ H ₄	C ₂ H ₅	O

N-1',*N*-3'-dipropil derivat (tabela 3) se pokazao dva i po puta aktivniji ($ED_{50} = 78,5$ mg/kg (scPTZ test)) u poređenju sa odgovarajućim dietil analogom. Povećanjem dužine zasićenog supstituentnog alkil lanca do tri ugljenikova atoma, kod oba supstituenta na azotu, znatno raste antikonvulzivna aktivnost, dok povećanje broja ugljenikovih atoma kod samo jednog supstituenta rezultira smanjenjem dejstvom. Uvođenjem razgranatih grupa (npr. izopropil-grupa) u prsten hidantoina znatno se umanjuje antikonvulzivna aktivnost jedinjenja. Položaj *N*-3' je kritičan za antikonvulzivnu aktivnost i u skladu sa tim može da sadrži supstituent sa najviše tri

ugljenikova atoma, dok *N*-1' može biti supstituisan i aril grupom [9].

Supstituenti na *N*-1'-fenilnom jezgru značajno utiču na aktivnost. Naime, mala lipofilna grupa u *para* položaju (atom fluora) povećava antikonvulzivna svojstva, dok glomaznija CF₃ grupa u *para* položaju smanjuje aktivnost. Elektron-donorske grupe, npr. metoksi u *para* položaju fenilnog jezgra, uzrokuju blago smanjenje aktivnosti, dok duži lanci u istom položaju dovode do velike toksičnosti. U grupi *N*-1'-aril-*N*-3'-alkil disupstituisanih jedinjenja, najaktivniji se pokazao *N*-1'-*p*-nitrofenil-*N*-3'-etil derivat ($ED_{50} = 41,8$ mg/kg (scPTZ test)). Lipofilnost proučavanih spirohidantoina (izražena preko izračunatog particionog koeficijenta log *P*) sa značajnom antikonvulzivnom aktivnošću kreće se u intervalu 2,4–3,0, dok je lipofilnost farmakološki slabije aktivnog dietil derivata znatno manja (log *P* = 1,457) [9].

Da postoji korelacija između antikonvulzivne aktivnosti derivata hidantoina i njihove lipofilnosti, pokazali su i rezultati proučavanja serija 3,5-disupstituisanih-5-fenilhidantoina [27] i 5-supstituisanih-5-fenilhidantoina [28,29]. U cilju razumevanja antikonvulzivne aktivnosti nekog molekula treba uzeti u obzir fenomen prenosa *in vivo* i interakciju sa receptorom.

Antiproliferativna aktivnost derivata spirohidantoina

Iako je malignitet poznat od nastanka čovečanstva, postao je vodeći uzročnik smrti tek u dvadesetom veku. Pomenuta bolest, može se pojaviti u bilo kom životnom dobu, mada su mnogo veće šanse za njen razvoj u srednjim godinama. Tako se karcinom debelog creva najčešće registruje kod osoba uzrasta 30–50 godina, dok se karcinom rektuma javlja kod osoba od 50–70 godina. Osim leukemije i limfoma koji se dijagnostikuju kod određenog broja maloletnih pacijenata, ostali oblici maligniteta retko se pojavljuju u ovom životnom periodu. Kod dece se takođe, uočavaju tumori na mozgu, nervnom sistemu, kostima, bubrezima, koji se inače retko sreću kod velikog broja odraslih ljudi [30].

Ne postoji univerzalna definicija za sve vrste raka. Karcinom (*gr. karkinos – rak*) je oboljenje koje karakteriše nekontrolisana ćelijska proliferacija [30]. Pripada velikoj porodici bolesti čija je najvažnija odlika formiranje grupe neoplazmi sa svojstvima maligniteta. Neoplazma (tumor) predstavlja skup ćelija koje su pretrpele neregulisan rast pa često formiraju čvorici ili se distribuiraju difuzijom [31].

Tretmani kancera podrazumevaju operacije, radijaterapije i hemoterapije [30]. Hiruška intervencija je primarni metod lečenja velikog broja čvrstih izolovanih kancera, njena uspešnost u velikoj meri doprinosi preživljavanju. Cilj je odjednom ukloniti celokupnu malignu masu koja u određenim slučajevima uključuje i limfne čvorove. Ponekad je to sve što je neophodno da bi se u potpunosti eliminisao rak [32].

Hemoterapija je pored hirurgije, od izuzetno velike koristi kod brojnih oblika kancera, kao što je karcinom dojke, kolorektalni karcinom, karcinom pankreasa, osteogeni sarkom, rak testisa, rak jajnika. Efikasnost je često ograničena zbog toksičnosti po preostale organe [32].

Radioterapija podrazumeva primenu jonizujućeg zračenja u pokušaju izlječenja ili poboljšanja simptoma raka. Koristi se kod 50% pacijenata, a najpoznatija je brahiterapija koja se odnosi na primenu inertnih izvora zračenja. Bitan je dodatak operaciji i hemoterapiji, dok se kod lečenja kancera glave i vrata može samostalno primenjivati [32].

Hinonska struktura predstavlja osnovu mnogih anti-tumorskih lekova, kao i antibiotika (doksorubicin (Adriamycin®) i mitoksantron (Mitoxantrone®)) koji se uveliko primenjuju u hemoterapijskoj kontroli brojnih kancera, a takođe su veoma efikasni kod tumora koji se postepeno razvijaju. Klinički značaj opisanih medikamentata, uticao je na razvoj novih antiproliferativnih agenasa kod kojih je zadržano hidantoinско jezgro. Neoplastična aktivnost hidantoinских derivata posledica je prisustva planarnog, policikličnog jezgra, sposobnog da se veže za molekul DNA i dva bočna lanca koji sadrže različite supstituente u odnosu na hromoforu [7].

U seriji 3-amino-3-etoksikarbonil-2,3-dihidrotieno-(2,3-*b*)-nafto-4,9-dion derivata supstituisanih u položaju 3 različitim aminokiselinama, najaktivnije jedinjenje je 3-(glicil)-amino-3-etoksikarbonil-2,3-dihidrotieno-(2,3-*b*)-nafto-4,9-dion sa izuzetnom citotoksičnom aktivnošću u submikromolarnim koncentracijama. Efikasan je kod nekoliko tipova leukemije kao i čvrstih tumora [7].

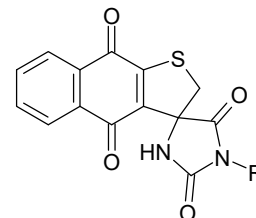
Razvijena je i serija derivata cikloalkanspiro-5-hidantoina, odnosno 3-(alkil)(supstituisani alkil)spiro[[dihidroimidazo-2,4-dion]-5,3'-(2',3'-dihidrotieno[2,3-*b*]nafto-4',9'-dion)] derivati, kod kojih je policiklična jedinica, preko hidantoinског prstena povezana sa bočnim alkil lancem (tabela 4) [7].

Derivat sa metil supstuentom (jedinjenje 1, tabela 4) deluje citotoksično na karcinom dojke (MCF-7) i debelog creva (SW 620) sa vrednostima IC_{50} (koncentracija koja izaziva 50% inhibicije) od 0,023 μ M prema ćelijskoj liniji MCF-7 i IC_{50} = 0,108 μ M prema ćelijskoj liniji SW 620, slično kao doksorubicin (IC_{50} = 0,022 μ M (MCF-7); IC_{50} = 0,178 μ M (SW 620)). Ostala jedinjenja poseduju smanjenu aktivnost zbog povećane lipofilnosti i sternih smetnji na bočnom lancu. Uvođenje krajnje amino ili dialkilamino grupe u ravan alkil bočni lanac, nema uticaja na citotoksičnost prema ćelijskoj liniji MCF-7, dok se citotoksičnost prema ćelijskoj liniji SW 620 povećava (posmatrano u odnosu na doksorubicin). Pomenuto ukazuje da dužina bočnog niza određena brojem metilenskih grupa koje razdvajaju

hromoforu i udaljene amino grupe (unutar lanca) ne utiče značajno na citotoksičnost [7].

Tabela 4. 3-(Alkil)(supstituisani alkil)spiro[[dihidroimidazo-2,4-dion]-5,3'-(2',3'-dihidrotieno[2,3-*b*]nafto-4',9'-dion)] derivati sa citotoksičnom aktivnošću

Table 4. 3-(Alkyl)(alkyl-substituted)spiro[[dihydroimidazo-2,4-dione]-5,3'-(2',3'-dihydrothieno[2,3-*b*]naphtho-4',9'-dione)] derivatives with cytotoxic activity



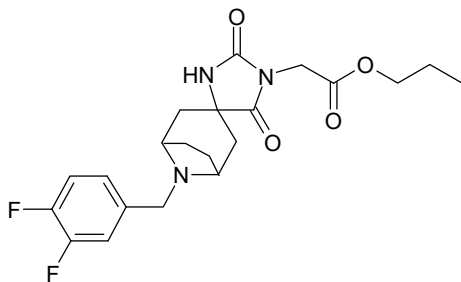
Redni broj	R
1	CH ₃
2	CH ₂ CH ₃
3	(CH ₂) ₂ CH ₃
4	(CH ₂) ₃ CH ₃
5	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃
6	C(CH ₃) ₃
7	(CH ₂) ₂ OH
8	(CH ₂) ₃ OH
9	(CH ₂) ₂ NH ₂
10	(CH ₂) ₃ NH ₂
11	(CH ₂) ₄ NH ₂
12	(CH ₂) ₂ N(CH ₃) ₂
13	(CH ₂) ₂ N(CH ₂ CH ₃) ₂
14	(CH ₂) ₃ N(CH ₂ CH ₃) ₂

Uprkos brojnim otkrićima i napredovanjima u terapiji, broj raspoloživih lekova, za tretman leukemije relativno je ograničen. Dejstvo većine antiproliferativnih medikamentata zasniva se na apoptozi (oblik programirane ćelijske smrti koja se javlja u fiziološkim i patološkim procesima u organizmu). Neuspešno odumiranje kancerogenih krvnih ćelija glavni je razlog neizlječenja. Dokazano je da se primenom ASHD-a (propil-2-(8-(3,4-difluorbenzil)-2',5'-diokso-8-azaspiro[biciklo-[3.2.1]oktan-3,4'-imidazolidin]-1'-il)-acetat) (slika 1), postiže visoka citotoksičnost kod B-ćelijske hronične limfatične leukemije i hronične mijeloidne leukemije [33].

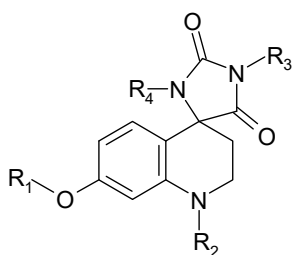
Posredovanje u replikaciji DNA i ćelijskoj deobi predstavlja jedan od načina indukovanja citotoksičnosti od strane ASHD. Takođe, utiče na translokaciju fosfatidilserina iz citoplazme na površinu ćelije, na izmenu potencijala mitohondrijalne membrane, što za posledicu ima povećanje koncentracije proteina koji izaziva apoptozu [33].

Analog somatostatina (slika 2) je modulator aktivnosti G-proteinskih kuplujućih receptora odgovornih za

razvoj maligniteta. Dejstvo se zasniva na inhibiciji ćelijske proliferacije [20].



Slika 1. Struktura ASHD-a.
Figure 1. Structure of ASHD.



Slika 2. Inhibitor G-proteinskih receptora.
Figure 2. Inhibitor of G-protein receptors.

Azaspirono biciklični derivati hidantoina (tabela 5) su značajni kao potencijalni lekovi u tretmanu karcinoma jajnika (SKOV-3 i OVSAHO), osteosarkoma (LM8 i LM8G7), koji najveći broj metastaza ostvaruju na plućima [34]. Najveću antiproliferativnu aktivnost pokazuje komponenta koja sadrži 3,4-difluorobenzil grupu i 4-(metilsulfonyl)benzil grupu, supstituente koji uveliko doprinose aktivnosti [34].

Pri dizajniranju antineoplastika koji bi se primenjivali u terapiji tumora centralnog nervnog sistema, poseban naglasak treba staviti na alkilujuće agense koji su sposobni da prodru kroz krvno-moždanu barijeru [35]. Lipofilnost 5,5-difenilhidantoina zahvaljujući kojoj dobro penetrira kroz krvno-moždanu barijeru i činjenica da ne pokazuje antitumornu aktivnost, bili su podsticaj za proučavanje hidantoina kao potencijalnih nosača nitrogen-mustard farmakofornih grupa u cilju sinteze novih lekova, kandidata za lečenje tumora centralnog nervnog sistema [35]. Tako su nastali anti-tumorni agensi poput spiromustina (**40**) i cipenhimustina.

Spiromustin (**40**) (spirohidantoin mustard, 3-{2-[bis-(2-hloretil)amino]etil}-1,3-diazaspiro-[4.5]dekan-2,4-dion), je bifunkcionalna alkilujuća supstanca iz grupe nitrogen-mustarda sa antineoplastičnom aktivnošću i lipofilnim svojstvima. U svojoj strukturi sadrži lipofilnu hidantoinu grupu koja je nosač farmakoforne bis- β -etilamino grupe pri prodiranju kroz krvno-moždanu barijeru. Zbog svoje lipofilnosti, lako prolazi kroz krvno-

moždanu barijeru, koncentrišući se u neoplastičnim tkivima. Zahvaljujući navedenoj činjenici, antitumorni je agens u terapiji tumora centralnog nervnog sistema. Veoma brzo uništava monoslojeve, sprečavajući opstanak tumorskih ćelija. Dokazano je da je delotvorniji prema cikličnim ćelijama nego prema ostalim formama. U veoma malim koncentracijama (μM) citotoksičan je prema monoslojevima, dok kod miševa na kojima je testiran ne izaziva smrt [36].

Tabela 5. Azaspirono biciklični derivati hidantoina sa antiproliferativnim svojstvima

Table 5. Azaspironobicyclic hydantoin derivatives with antiproliferative activity

Redni broj	R ₁	R ₂
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		

Cipenhimustin (3-{2-[bis-(2-hloretil)amino]etil}-1,3-diazaspiro-[4.4]nonan-2,4-dion), analog je spiromustina (40). Modifikacija strukture u odnosu na spiromustin (40) sastoji se u zameni spirocikloheksil-grupe spiroalkil-grupom sa jednim C-atomom manje pri čemu je imidazolov prsten molekula hidantoina ostavljen kao nosač *N,N*-bis-(2-hloretil)amino grupe, odnosno, nitrogen-mustard grupe koja je poznata po svojoj antitumornoj funkcionalnosti. Cipenhimustin poseduje značajnu antitumornu aktivnost prema leukemiji L1210, leukemiji P355, melanomu B16, Luisovom (Lewis) karcinomu pluća i intracerebralnom ependimoblastomu [37].

Petočlani prsten kod cipenhimustina je pod naponom u poređenju sa šestočlanim kod spiromustina (40), budući da zauzima konformaciju polustolice, dok šestočlani prsten kod spiromustina (40) ima stabilnu konformaciju stolice. Utvrđeno je da je cipenhimustin delotvorniji kada se primeni u više doza, nego kada se upotrebi odjednom. Prednost u odnosu na druge nitrogen-mustarde je što prouzrokuje samo blago smanjivanje gustine koštane srži [37].

Karmi (Carmi) je proučavajući antiproliferativnu aktivnost 5-benziliden derivata hidantoina, prema ćelijskoj liniji humanog epidermalnog karcinoma A431, utvrdio da je egzociklična dvostruka veza u položaju 5 hidantoinnog prstena esencijalna za inhibiciju ćelijskog rasta što ukazuje da je krut planaran sistem neophodan za interakciju na ciljnom mestu [38].

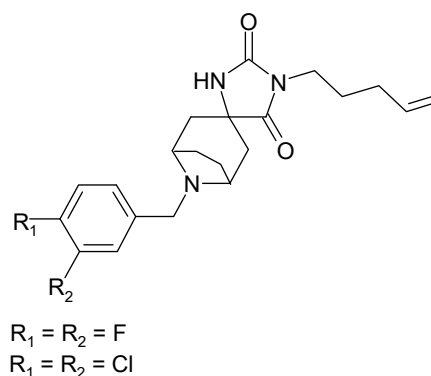
Proučavajući antiproliferativnu aktivnost 3-(4-supstituisanih benzil)-5,5-difenilhidantoina i 3-(4-supstituisanih benzil)-5-etil-5-fenilhidantoina, Uščumlić i saradnici su pokazali značajnu aktivnost ovih molekula prema ćelijskoj liniji humanog karcinoma dojke, MDA-MB-231 i ćelijskoj liniji humanog karcinoma kolona HCT-116. Aktivnost je naročito izražena kada se na fenilnom jezgru kao supstituenti nalaze metil-grupa i halogeni elementi [39–42].

Jedinstvena svojstva fluorovanih molekula dobro su poznata u medicinskoj hemiji [43]. Prisustvo fluora u strukturi biološki aktivnih molekula je od ključne važnosti za njihova farmakološka svojstva. Kod azaspiro bicikličnih sistema, 8-(3,4-difluorbenzil)- i 8-(3,4-dihlorobenzil)-1'-(pent-4-enil)-8-azaspiro[biciklo-[3.2.1]oktan-3,4'-imidazolidin-2,5-diona (DFH ($R_1 = R_2 = F$), DCH ($R_1 = R_2 = Cl$); slika 3), utvrđeno je da poseduju antitumornu aktivnost prema ćelijskim linijama humane leukemije K562, Reh, CEM i 8E5. Pretpostavka je da pomenuti derivati zaustavljaju rast kancerogenih ćelija preko izmena u DNA replikaciji koje se završavaju apoptozom [43].

Derivati spirohidantoina za lečenje dijabetesa

Dijabetes pripada grupi metaboličkih bolesti. Prati ga hiperglikemija koja je posledica defekta u sekreciji insulina, u delovanju insulina ili u oba procesa. Hro-

nična hiperglikemija stvara oštećenja na mnogim organima, a naročito očima, bubrezima, nervima i srcu. Dugotrajne komplikacije dovode do nastanka retinopatije i mogućnosti gubitka vida, nefropatije koja može završiti otkazivanjem bubrega, periferne nefropatije, gastrointestinalnih i kardiovaskularnih oštećenja. Utvrđeno je da je dijabetes tipa 1 posledica smanjene insulinske sekrecije. Dijabetes tipa 2 (insulinski nezavisni) rezultat je rezistencije na dejstvo insulina u β -ćelijama kao i neadekvatnog izlučivanja insulina. Pored dva najvažnija oblika, razlikuje se i dijabetes koji je posledica genetskog defekta β -ćelija, genetskog defekta u akciji insulina, bolesti pankreasa [44].



Slika 3. Struktura DFH ($R_1 = R_2 = F$) i DCH ($R_1 = R_2 = Cl$).
Figure 3. Structure of DFH ($R_1 = R_2 = F$) and DCH ($R_1 = R_2 = F$).

Postoji značajna korelacija između izmenjenog poliolnog puta odgovornog za metabolizam glukoze i dugotrajnog napredovanja komplikacija kao što su: neuropatije, retinopatije, nefropatije i katarakta. Aldoza reduktaza enzim (ARL2) iz familije aldo-keto reduktaza, prvi je enzim na poliolskom putu, koji katalizuje NADPH (nikotinamid adenin dinukleotid fosfat) zavisnu redukciju viška glukoze do sorbitola. Na ovaj način, znatno se povećava koncentracija sorbitola. Njegova akumulacija je spona ka ćelijskom uništenju koje se završava dijabetnim komplikacijama. Inhibitori ALR2 privukli su pažnju kao potencijalni lekovi, obzirom da mogu bezbedno da spreče ili zaustave napredovanje dugotrajnih komplikacija, bez rizika od pojave hipoglikemije jer ne utiču na promenu koncentracije glukoze u krvnoj plazmi [5].

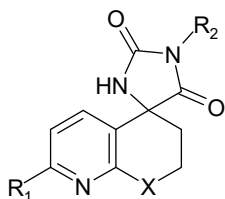
Poznat je veliki broj strukturno različitih komponenata koje inhibiraju aktivnost ALR2, ali su najdelotvorniji derivati spirohidantoina, naročito sorbinil. Dobru inhibitorsku aktivnost poseduju derivati sorbinila kod kojih je atom kiseonika unutar piranskog prstena zamenjen atomom sumpora. Takođe, utvrđeno je da je aktivnost 8-aza analoga sorbinila veća od one koju pokazuje sorbinil [5].

Nesupstituisani i metil supstituisani derivati 2,3-dihidrotiopirano-(2,3-*b*)-piridin-4(4*H*)-ona (jedinjenja 1 i 2, tabela 6) izuzetno su aktivni kao inhibitori ALR2 sa

vrednostima IC_{50} (1, $IC_{50} = 0,96 \mu\text{M}$; 2, $IC_{50} = 0,94 \mu\text{M}$) slično onoj kod sorbinila ($IC_{50} = 0,65 \mu\text{M}$), i za jedan red veličine većoj u odnosu na tolrestat (Tolrestat®) ($IC_{50} = 0,05 \mu\text{M}$) [5]. Uvođenjem karboksimetil supstituenta u hidantoinski prsten (jedinjenje 4, tabela 6) smanjuje se aktivnost odgovarajućeg analoga sorbinila. Nesupstituisani derivat (jedinjenje 1, tabela 6) pokazao je izuzetnu *in vivo* aktivnost u sprečavanju nuklearne katarakte kod galaktozemijских pacova, poput tolrestata [5].

Tabela 6. Spirohidantoini derivati 2,3-dihidrotiopirano-(2,3-b)-piridin-4-(4H)-ona

Table 6. Spirohydantoin derivatives of 2,3-dihydrothiopyrano-(2,3-b)-pyridine-4-(4H)-on



Redni broj	X	R ₁	R ₂
1	S	H	H
2	S	CH ₃	H
3	SO ₂	H	H
4	S	H	CH ₂ COOH

Aktivnost ka inhibiciji aldoza reduktaze pokazali su i derivati spirohidantoina koji su sintetisani iz petočlanih i šestočlanih cikličnih ketona kondenzovanih sa benzenovim prstenom (tabela 7). Nagli pad aktivnosti je uočen kod derivata spirohidantoina sa cikloheptanskom jedinicom [4].

Pravi međusobni odnos aromatičnog i spirohidantoinnog prstena su od ključne važnosti za dobru fiziološku aktivnost. Hidrogenizacija ili uklanjanje benzenovog prstena kao i pomeranje mesta spiro čvora u odnosu na čvorna mesta u kondenzovanom bicikličnom delu sistema, uzrokuje drastičan pad aktivnosti (tabela 7). Benzenov prsten aktivnog jedinjenja je moguće zameniti nekom drugom aromatičnom jedinicom poput: tiofena, furana, piridina. Zamena pirolom se pokazala kao štetna. Supstitucija halogenom u položaju 6 benzodihidropiranskog (hroman) i benzodihidrotiopiranskog (tiohroman) hidantoinnog derivata izuzetno povećava aktivnost [4].

Snažni inhibitori aldoza reduktaze na bazi spiroimidazolona (tabela 8) su od važnosti kao potencijalni agensi u lečenju ili prevenciji određenih komplikacija koje su posledica dijabetesa ili galaktozemije [20].

Derivati spirohidantoina sa antipsihotičkim svojstvima

Depresija je veoma često psihijatrijsko stanje o kojem postoji mnogo različitih neurohemijskih teorija, i za koju se u terapiji koristi veliki broj različitih vrsta lekova. Depresija je najčešći afektni poremećaj. Kreće

se od vrlo blagog stanja koje se graniči sa normalnim pa sve do psihotičkih depresija praćenih halucinacijama i deluzijama. Depresija ima dve vrste simptoma: emocionalne (ojađenost, apatija i pesimizam, nedostatak samopouzdanja, neodlučnost, gubitak motivacije) i biološke (usporenost misli i delovanja, gubitak libida, poremećaj sna i gubitak apetita). Postoje dva različita tipa depresivnog sindroma, a to su unipolarna depresija (promene raspoloženja se kreću uvek u istom smeru) i bipolarni afektni poremećaj (depresija se smenjuje sa manijom) [23].

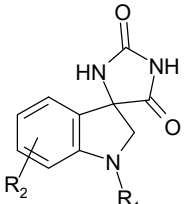
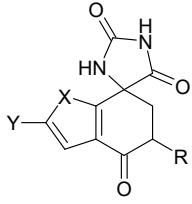
Tabela 7. Derivati spirohidantoina, inhibitori aktivnosti aldoza reduktaze

Table 7. Spirohydantoin derivatives aldose reductase inhibitors

Redni broj	Struktura
1	
2	
3	
4	
5	

Prema monoaminskoj hipotezi (najvažnija biohemijska teorija depresije), depresiju izaziva funkcionalni manjak monoaminskih transmitera (noradrenalina (NA) i/ili serotonina (5-hidroksitriptamina, 5-HT)) u određenim delovima mozga, dok je manija rezultat njihovog funkcionalnog viška [23]. U terapiji depresije koristi se nekoliko tipova antidepresiva, i to: inhibitori preuzimanja monoamina (triciklični antidepresivi (TCA), selektivni inhibitori preuzimanja 5-HT (SSRI i dr.), inhibitori monoaminooksidaze (MAOI) i atipični antidepresivi (uglavnom neselektivni antagonisti receptora) [23].

Tabela 8. Novi spiro-vezani hidantoini korisni u tretmanu komplikacija kao posledica dijabetesa (diabetes mellitus)
Table 8. A novel spiro-linked hydantoin useful in the treatment of complications arising from diabetes mellitus

Redni broj	Formula
1	
2	 <p>X = O, S Y = H, halogen, alkil-grupa R = H, CH₃, CH₃CH₂</p>

Nezavisno od mehanizma delovanja, zajedničko za sve antidepresive je da se njihovi antidepresivni efekti ispoljavaju tek nakon nekoliko sedmica. Pretpostavka je se da se ovo kašnjenje u delovanju može objasniti inicijalnim porastom ekstracelularnog (vanćelijskog) 5-HT-a rafe jedara (*raphe nuclei*) moždanog stabla (glavni serotonergični izvor) što smanjuje otpuštanje serotonergičnih neurona aktiviranjem somatodendritičkih 5-HT_{1A} autoreceptora (kontrolišu oslobađanje 5-HT) [45]. Nivo serotonina, 5-HT-a, u centralnom nervnom sistemu i regulisanje njegove neurotransmisije povezuje se sa serotoninskim transporterom (SERT), posrednikom u vanćelijskom preuzimanju serotonina iz sinaptičkih pukotina. Po hemijskoj strukturi, SERT je protein čije dejstvo veoma zavisi od koncentracije Na⁺. Serotonin, Na⁺, Cl⁻, formiraju kvaternerni kompleks sa SERT-om, pre nego što budu transportovani preko membrane, potom grade kompleks sa K⁺, za transport u suprotnom smeru [46].

Važni pomaci na polju razvoja antidepresiva vode ka uvođenju selektivnih inhibitora preuzimanja 5-HT-a

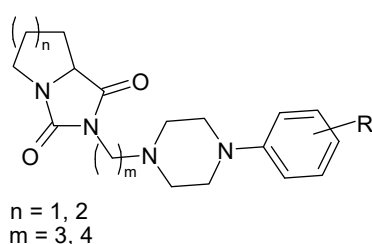
(grupa SSRI) zajedno sa razvojem novih agonista i antagonista sa pre- i post-sinaptičkim adrenergičkim, serotonergičkim i dopaminergičkim dejstvom [45]. Aktuelan pravac u procesu otkrivanja i dizajniranja antidepresiva je dizajniranje liganada sa više ciljeva. Rezultati prekliničkih ispitivanja ukazuju da bi npr. antidepresiv SSRI tipa koje je ujedno i 5-HT_{1A} antagonist imao poželjne terapijske efekte [46].

5,5-Disupstituisani hidantoini i njihovi N-3 modifikovani derivati, pokazuju širok spektar aktivnosti vezanih za centralni nervni sistem, posredstvom raznih receptora poput 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, dopaminskog D₂, α₁-adrenergičkog, itd. [1]. Rezultati proučavanja 3-(ω-aminoalkil)-5,5-dialkil- (ili 1',5-spirocikloalkil-) hidantoina koji sadrže 1-fenil- ili 1-(2-metoksifenil)piperazin fragment u položaju 3, ukazuju na veliki značaj terminalne hidantoinne jedinice u stabilizaciji 5-HT_{1A} i 5-HT_{2A} receptor/ligand kompleksa [1]. 1',5-ciklopentanspiro-[3-(4-fenil-1-piperazinil)propil]hidantoin (jedinjenje 1; n = 1, m = 3, R = H; tabela 1) i njegov 1',5-cikloheksanspiro analog (jedinjenje 1; n = 2, m = 3, R = H; tabela 1), pokazali su veliki afinitet za 5-HT_{2A} receptor (selektivni 5-HT_{2A} receptor ligandi). 1',5-Cikloheksanspiro-{3-[4-(2-metoksifenil)-1-piperazinil]butil}-hidantoin (jedinjenje 1; n = 2, m = 4, R = o-OCH₃; tabela 1) je pokazao veliku aktivnost za 5-HT_{1A} receptore (selektivni 5-HT_{1A} receptor ligand) [11].

Ranih osamdesetih godina dvadesetog veka, počela je terapijska upotreba nove generacije anksiolitičkih lekova. Prvi anksiolitik druge generacije je bio buspiron (Buspar®), arilpiperazinski derivat sa velikim afinitetom prema 5-HT_{1A} i D₂ receptorima. Funkcionalno deluje kao parcijalni antagonist 5-HT_{1A} receptora [2]. Derivati arilpiperazina spadaju u najvažniju grupu 5-HT_{1A} receptorskih liganada [46]. Osim pomenute grupe jedinjenja, treba pomenuti i derivate 2-aminotetralina i benzopiranska jedinjenja [47]. U slučaju arilpiperazinskih derivata kondenzovanih biciklohidantoina, veliki afinitet ka 5-HT_{1A} receptorima je uočen kod derivata sa o-OCH₃ i m-CF₃ supstituentima na arilpiperazinskom fragmentu (slika 4; R = o-OCH₃, m-CF₃) [47,48]. Važna strukturna karakteristika pomenutih sistema je prisustvo tri ili četiri metilenske grupe koje razdvajaju biciklohidantoinu jedinicu od arilpiperazinskog dela. Arilpiperazinski derivati 3-propil-β-tetalonohidantoina (jedinjenje 2, tabela 1) su pokazali umerenu do nisku aktivnost za 5-HT_{1A} receptore [1]. Naglo smanjenje aktivnosti je uočeno kod derivata sa fluor supstituisanom arilpiperazinskom jedinicom [1]. Derivat sa m-CF₃ supstituentom na fenilnom jezgru koji je pokazao zadovoljavajuću 5-HT_{1A}/5-HT_{2A} receptorski afinitet, je parcijalni 5-HT_{1A} agonist i antagonist 5-HT_{2A} receptora što ga čini interesantnom potencijalnom psihoaktivnom supstancom [1].

Spiropiperidini pripadaju dobro poznatoj klasi farmakološki važnih molekula koji pokazuju biološku aktiv-

nost prema različitim ciljnim grupama, od inhibitora enzima do blokatora jonskih kanala. Spiropiperidinski molekularni skelet je od posebnog značaja u oblasti G protein-spregnutih receptora (sedam-transmembranski domen receptori) [49]. Zbog toga se ove grupe hemijskih motiva često nazivaju „privilegovane strukture“. Jedna od reprezentativnih grupa spiropiperidina je spiropiperidino-hidantoin, dobro poznati motiv u oblasti serotoninskih receptora [49]. Među važnim analogima spiropiperidino-hidantoina, svakako, treba pomenuti antipsihotik spiperon (Spiroperidol®) koji se koristi u terapiji shizofrenije.



Slika 4. Biciklohidantoin-aryl piperazini sa afinitetom za 5-HT_{1A} receptore.

Figure 4. Bicyclohydantoin-aryl piperazines with affinity for 5-HT_{1A} receptors

Neurokininski receptori (NK-1, NK-2 i NK-3), poput serotoninskih, pripadaju ciljanoj grupi G protein-spregnutih receptora tako da nije iznenađujuće što neki NK-1 antagonisti sadrže spiropiperidino-hidantoini fragment kao gradivnu jedinicu [50]. NK-1 receptor je atraktivan cilj za razvoj novih lekova poput analgetika, antidepresiva i antiemetika, koji bi se koristili u terapijskim područjima u rasponu od bola, povraćanja i plućnih bolesti do depresije i anksioznosti [51]. 3,5-Bis(trifluorometil)fenil grupa je u funkciji bioizostera pomenuta u kontekstu nekoliko NK-1 receptorskih liganada. Njena kombinacija sa spiropiperidino-hidantoini fragmentom kao središnjim skeletom, bila je osnova za dizajniranje novih potencijalnih neurokininskih-1 receptorskih liganada (tabela 9) [49].

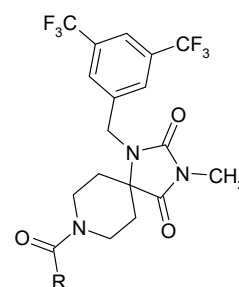
Melanin-koncentrirajući hormonski receptor 1 (MCH-R1) i melanin-koncentrirajući hormon (MCH) koji ga aktivira, su kod sisara uključeni u regulaciju načina ishrane, raspoloženja i energetskog bilansa [52]. S obzirom na to da su oralno aktivni MCH-R1 antagonisti efikasni u kontroli telesne težine kod glodara, za očekivanje je da bi selektivni antagonisti MCH-R1 mogli biti uspešni u tretmanu gojaznosti kod ljudi. U cilju pronalazjenja malih molekula koji bi bili pogodni kao selektivni antagonisti MCH-R1, proučavani su i derivati spirohidantoina (tabela 10), koji su pokazali visok afinitet vezivanja i funkcionalnu aktivnost za MCH-R1 [52].

Antimikrobna aktivnost derivata spirohidantoina

Termin antibiotik (antibakterijski lek) odnosi se na supstance koje su metaboliti mikroorganizama kao prirodni proizvodi ili su njihovi polusintetski i sintetski analozi. Deluju antimikrobno, inhibiraju rast (bakteriostatsko dejstvo) ili ubijaju mikroorganizme (baktericidno dejstvo) sa tolerantnom toksičnošću prema domaćinu [53]. Prema mehanizmu dejstva, antibiotike delimo na: antibiotike koji deluju na zid ćelije mikroorganizma, antibiotike koji deluju na membranu citoplazme i antibiotike koji inhibiraju sintezu proteina i nukleinskih kiselina [53].

Tabela 9. Neurokininski-1 receptorski ligandi sa spiropiperidini-hidantoini skeletom

Table 9. Neurokinin-1 receptor ligands with spiropiperidino-hidantoin scaffold

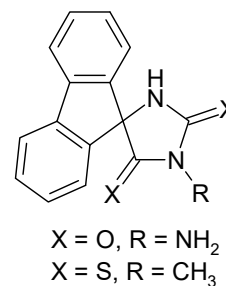


Redni broj	R
1	
2	
3	
4	
5	

Veoma značajan i složen problem u antimikrobnoj terapiji predstavlja rezistencija (otpornost) patogenih mikroorganizama na dejstvo široko primenjivanih antibiotika. Stoga se u hemijskoj strukturi antibiotika vrše

strukturne modifikacije u cilju povećanja hemijske stabilnosti, proširenja antimikrobnog spektra, povećanja aktivnosti, poboljšanja farmakokinetičkih svojstava i smanjenja toksičnosti [53]. Među sintetskim antimikrobnim lekovima koji su u terapijskoj upotrebi nalazi se i nitrofuranski derivat hidantoina, nitrofurantoin (Furadantin®), antibiotik koji se koristi u terapiji infekcija urinarnog trakta.

Spirofluorenil derivati hidantoina i tiohidantoina (slika 5) se nalaze među malobrojnim derivatima spirohidantoina čija je antimikrobna aktivnost proučavana. 3-Amino-9'-fluorenspiro-5-hidantoin (slika 5; X = O, R = NH₂) je pokazao izrazitu aktivnost prema Gram-negativnoj bakteriji *Escherichia coli*, dok prema Gram-pozitivnoj bakteriji *Staphylococcus aureus* i gljivici *Candida albicans* nije bio aktivan [54]. 3-Metil-9'-fluorenspiro-5-



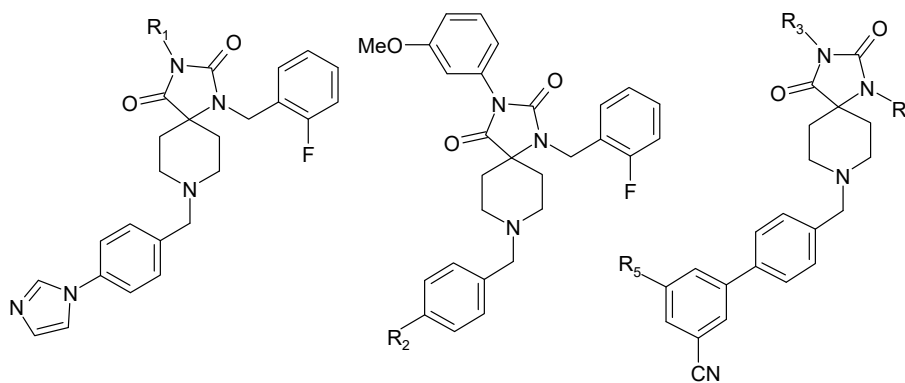
Slika 5. Derivati fluorenilspirohidantoina sa antimikrobnom aktivnošću.

Figure 5. Fluorenylspirohydantoin derivatives with antimicrobial activity.

-(2,4-ditio)hidantoin (slika 5; X = S, R = CH₃) je pokazao potencijal kao antimikrobni agens prema Gram-pozitivnoj bakteriji *Staphylococcus aureus* i gljivici *Candida albicans* [54].

Tabela 10. Derivati spirohidantoina kao antagonisti MCH-R₁ receptora

Table 10. Spirohydantoin derivatives as antagonist of MCH-R₁ receptors



Redni broj	(I) R ₁	(II) R ₂	(III) R ₃	R ₄	R ₅
1				H	H
2				CH ₃	H
3					H
4			H		H
5			H		Cl

tivnim bakterijama (*Staphylococcus aureus* i *Bacillus subtilis*), umerenu aktivnost prema gljivici *Candida albicans*, a malu ili nikakvu aktivnost prema Gram-negativnim bakterijama (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica subsp. enterica*, *Pseudomonas aeruginosa*) [55].

Derivati spirohidantoina sa antiinflamatornim svojstvima

Suočen sa napadom patogena, odnosno organizama koji prouzrokuju bolest (bakterije, virusi, gljivice, prioni, paraziti), organizam sisara može da angažuje odbrambene odgovore čiji razvoj stvara akutnu zapaljensku/imunu reakciju [23]. Kada odbrambene snage nedostaju (na primer u sindromu stečene imunodeficijencije, AIDS) ili su suzbijene lekovima, organizmi koji normalno nisu patogeni, mogu da prouzrokuju oboljenje (oportunističke infekcije) [23]. Osim patogenih agenasa, agensi koji izazivaju zapaljenje mogu biti fizičke (toplota, hladnoća, jonizujuća zračenja i mehanička oštećenja), hemijske (kisljine, baze, toksične supstance) ili traumatske (telesna rana ili povreda) prirode.

Štetni agensi izazivaju direktno oštećenje ćelija, a materije nastale usled poremećenog metabolizma ćelija izazivaju početak procesa zapaljenja [56]. Inflamacija je osnovni i najčešći patološki proces pri kome se lokalno javljaju promene na krvnim sudovima, poremećaji u razmeni tečnosti i izlazak belih krvnih ćelija iz krvi [56]. Ćelije tkiva u kome se odigrava proces inflamacije pokazuju promene od lakih degenerativnih do izumiranja. Ove promene su bitne za početak vaskularnih, eksudativnih (eksudacija – izlazak tečnosti iz ćelija, kapilara i sitnih vena kao i pojava veće količine sluzi na površinama sluznice) i reparativnih procesa koji slede. Oblik, težina i tok zapaljenjskog procesa zavise od vrste i intenziteta štetnog agensa, vrste tkiva i opšteg stanja organizma [56].

U kontekstu NK-1 receptorskih liganada, već je pomenut značaj spiroperidinskog molekulskog skeleta u oblasti G protein-spregnutih receptora [49]. Hemokinski receptori, takođe, spadaju u G protein-spregnute receptore. Uopšteno govoreći, supstance koje su modulatori hemokinskih receptora su od značaja za prevenciju ili tretman inflamatornih oboljenja, imunoregulatornih oboljenja, reakcije organizma na transplantirani organ, infektivnih oboljenja poput infekcije izazvane HIV-om (virus humane imunodesuficijencije) itd. [3]. Spiropiperidino-hidantoini fragment se pojavljuje kao središnja jedinica u strukturi molekula koji su modulatori aktivnosti hemokinskih receptora podvrste CCR5 (jedinjenje 3, tabela 1) [3]. Ti spirohidantoini derivati su od potencijalnog značaja za prevenciju ili tretman oboljenja koja su povezana sa modulacijom aktivnosti CCR5 hemokinskih receptora. CCR5 je glavni HIV-1 koreceptor koji kontroliše osetljivost prema HIV-1 infekciji i bolesti [57]. Interakcija CCR5 koreceptora i virusa HIV-a može da blokira ulaz HIV-a u ćeliju [3].

Derivati spirohidantoina sa analgetskim svojstvima

Bol je subjektivan osećaj koji je teško definisati. Jedan je od najčešćih simptoma uopšte, i predstavlja veliki zdravstveni problem. Prema Međunarodnoj asocijaciji za proučavanje bola (IASP), bol je neprijatno senzorno i emocionalno iskustvo povezano sa stvarnim ili potencijalnim oštećenjem tkiva [58]. Pomenuta definicija uzima u obzir i fizičku i psihičku komponentu bola. Bol je obično direktan odgovor na štetnu pojavu koja prati oštećenje tkiva poput povreda, upala ili karcinoma [23]. Takođe, nezavisno od bilo kog predisponirajućeg faktora može nastati jak bol (npr. trigeminalna neuralgija) ili može trajati dugo nakon izlečenja povrede (npr. fantomski bol u predelu ekstremiteta koji je amputiran). Bol može nastati i bez direktne povrede tkiva, a usled oštećenja mozga i nerava (npr. nakon šloga ili herpesne infekcije) [23]. Ovakav bol je neuropatski po prirodi i ima ga veliki procenat bolesnika. Prema IASP, neuropatski bol je izazvan primarnom lezijom ili disfunkcijom u nervnom sistemu [59]. U osnovi, kad se nerv ošteti, promene u nervnim putevima mogu rezultirati hroničnim bolom čak i u odsustvu daljih podražaja. U slučaju bola kao poremećaja neurološke funkcije malo pomažu standardni analgetici, za razliku od bola čiji je neposredni uzrok poznat [23].

Migrena je čest, hronični, veoma onesposobljavajući neurovaskularni poremećaj, okarakterisan napadima jake, pulsirajuće glavobolje u jednoj polovini glave, disfunkcijom autonomnog nervnog sistema, i (kod nekih pacijenata) pojavom neuroloških simptoma pre ili tokom glavobolje (tzv. aura) [60,61]. Napadi tipično traju od 4 do 72 sata. Ovo neurološko oboljenje pogađa više od 12% odraslih osoba. Kod migrene bez aure, napadi glavobolje su obično praćeni mučninom, povraćanjem, ili osetljivošću na svetlo, zvuk ili pokret [60].

Terapijski pristup u lečenju migrene je individualan. Terapija akutnog napada migrene uključuje nespecifične i specifične lekove. Od nespecifičnih lekova se koriste aspirin, analgetici, nesteroidni antiinflamatorni lekovi itd. Specifična terapija akutnog napada migrene uključuje triptane (derivati triptamina). To su selektivni serotonin receptor agonisti koji aktiviraju 5-HT_{1B} i 5-HT_{1D} receptore [60].

Mnoga istraživanja ukazuju da je ključni igrač u patologiji migrene peptid srodan kalcitoninu (CGRP) [61]. Klinička istraživanja su pokazala da u tretmanu akutne migrene intavenozno primenjeni CGRP receptor antagonist BIBN4096BS ima uporedivu efikasnost sa triptanima [61]. Dakle, dizajn malih molekula koji su oralno raspoloživi nepeptidni CGRP receptor antagonisti značio bi veliki napredak u terapiji akutne migrene.

Benzodiazepinon tetralin-spirohiantoin (slika 6) je prepoznat kao slabo aktivan CGRP receptor antagonist sa konstantom inhibicije CGRP $K_i = 4800$ nM [62]. Ovaj molekul je poslužio kao osnova za dizajniranje nove

grupe oralno raspoloživih nepeptidnih benzimidazolinon indan-spirohiantoinskih CGRP receptor antagonista (tabela 11) koji su sintetizovani i ispitivana je njihova aktivnost i oralna bioraspoloživost na eksperimentalnim životinjama (pacovi, psi, rezus majmuni) [61]. Osnovna ideja pri dizajniranju ovih molekula je bila da se uz retenciju hidantoinne farmakofore izvrši modifikacija u strukturi benzodiazepinon tetralin-spirohiantoina (slika 6), sa ciljem da se dobije moćan bioraspoloživi CGRP receptor antagonist za lečenje migrene [61].

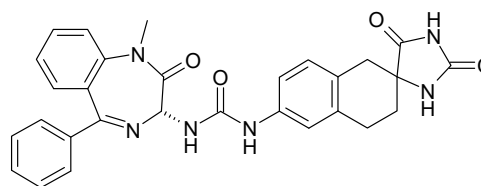
Svi proučavani derivati su pokazali znatno veću aktivnost u odnosu na benzodiazepinon. Posebno treba istaći 2-piridil supstituisani derivat (jedinjenje 3, tabela 11) koji se pokazao kao moćan CGRP receptor antagonist (CGRP $K_i = 21$ nM), jedinjenje sa dobrom kombinacijom aktivnosti i farmakokinetike [61]. Osim benzimidazolinon indan-spirohiantoinskih derivata, sintetizovani su i neki benzoksazolinon tetralin- i indan-spirohiantoini koji su imali znatno manju aktivnost u odnosu na benzimidazolinone [61].

Tabela 11. Komponente benzimidazolinona kao antagonisti CGRP receptora
Table 11. Components of benzimidazolinone as antagonists of CGRP receptors

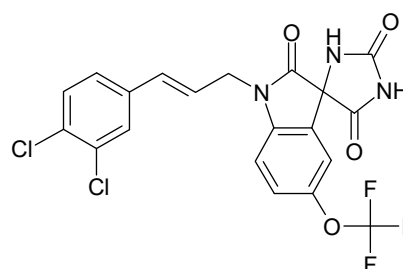
Redni broj	R	Redni broj	R
1	H	7	
2		8	
3		9	
4		10	
5		11	
6		-	-

Derivat indolilspirohidantoina (slika 7) kao inhibitor aktivnosti vaniloidnog receptora 1 (VR1 ili TRPV1), interesantan je u domenu lečenja stanja koja su povezana sa pomenutim receptorom (akutan i hroničan bol, akutan i

hroničan neuropatski bol, bol pri akutnoj i hroničnoj upali) [63].



Slika 6. Struktura benzodiazepinon tetralin-spirohiantoina.
Figure 6. Structure of benzodiazepinone tetralin-spirohiantoina.



Slika 7. Derivat indolilspirohidantoina, inhibitor aktivnosti vaniloidnog receptora 1 (VR1 ili TRPV1).
Figure 7. Indolylspirohydantoin derivative, compound with vanilloid receptor 1 (VR1 or TRPV1) inhibitor activity.

Zaključak

Spirohiantoin je u osnovi petočlani ciklični ureid koji je lako moguće funkcionalizovati velikim brojem farmakofornih grupa što doprinosi raznovrsnoj fiziološkoj aktivnosti derivata spirohidantoina i njegovih analoga. Zadovoljavajuća lipofilnost supstituisanih spirohidantoina zahvaljujući kojoj dobro prodiru kroz krvno-moždanu barijeru u ćelijske membrane, podstičaj je za proučavanje ovih molekula kao potencijalnih nosača različitih farmakofornih grupa u cilju sinteze novih, potencijalnih lekova u tretmanu različitih bolesti centralnog nervnog sistema. Spirohiantoini i njihovi analozi su važni kao potencijalni antibiotici, antipsihotici, antikonvulzivi, antidijabetici, antiinflamatorni i antikancerogeni lekovi. Od posebnog je značaja postavljanje opštih farmakoloških modela koji bi detaljno prikazali mehanizme farmakološkog delovanja derivata spirohidantoina. Danas se veoma intenzivno radi na dizajniranju postojećih lekova kao i uvođenju novih farmakološki aktivnih supstanci, postavljanjem QSAR modela, koji omogućuju kvantitativnu procenu fiziološke aktivnosti spirohidantoina na osnovu njihovih strukturnih karakteristika.

Zahvalnica

Autori se zahvaljuju Ministarstvu prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije na finansijskoj pomoći tokom izrade ovog rada (Projekat 172 013).

LITERATURA

- [1] H. Byrtus, M. Pawlowski, B. Duszyńska, A. Wesolowska, E. Chojnacka-Wójcik, A.J. Bojarski, Arylpiperazine derivatives of 3-propyl- β -tetralonohydantoin as new 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptor ligands, *Pol. J. Pharmacol.* **53** (2001) 396–401.
- [2] J. Kossakowski, T. Zawasowski, J. Turbo, J. Kleps, Synthesis of *N*-(4-aryl-1-piperazinylbutyl)-substituted 7,8-benzo-1,3-diazaspiro-(4,5)-decane 2,4-dione derivatives with potential anxiolytic activity, *Farmaco* **53** (1998) 169–171.
- [3] L.C.C. Kong, C. Moinet, L. Vaillancourt, M. Bubenik, Spirohydantoin compounds and methods for the modulation of chemokine receptor activity, US 2006/0014769 A1 (2006).
- [4] R. Sarges, R.C. Schnur, J.L. Belletire, M.J. Peterson, Spirohydantoin aldose reductase inhibitors, *J. Med. Chem.* **31** (1988) 230–243.
- [5] F. Da Settimo, G. Primofiore, C. La Motta, S. Salerno, E. Novellino, G. Greco, A. Lavecchia, S. Laneri, E. Boldrini, Spirohydantoin derivatives of thiopyrano (2,3-*b*)-pyridin-4-(4H)-one as potent *in vitro* and *in vivo* aldose reductase inhibitors, *Bioorg. Med. Chem.* **13** (2005) 491–499.
- [6] D.R. Haines, R.W. Fuller, S. Ahmad, D.T. Vistica, V.E. Marquez, Selective cytotoxicity of a system L specific amino acid nitrogen mustard, *J. Med. Chem.* **30** (1987) 542–547.
- [7] I.G. Monterrey, G. Santelli, P. Campiglia, D. Califano, F. Falasconi, C. Pisano, L. Vesce, T. Lama, P. Grieco, E. Novellino, Synthesis and cytotoxic evaluation of novel spirohydantoin derivatives of the dihydrothieno-(2,3-*b*)-naphtho-4,9-dione system, *J. Med. Chem.* **48** (2005) 1152–1157.
- [8] Q. Zhu, Y. Pan, Z. Hu, R. Li, G. Qiu, W. Xu, X. Ke, L. Wu, X. Hu, Synthesis and potential anticonvulsant activity of new *N*-3-substituted 5,5-cyclopropanespirohydantoin, *Eur. J. Med. Chem.* **44** (2009) 296–302.
- [9] H.J. Patel, J. Sarra, F. Caruso, M. Rossi, U. Doshi, R.A. Stephani, Synthesis and anticonvulsant activity of new *N*-1',*N*-3'-disubstituted-2'*H*,3'*H*,5'*H*-spiro-(2-benzofuran-1,4'-imidazolidine)-2',3,5'-triones, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **16** (2006) 4644–4647.
- [10] N. Stoyanov, M. Marinov, Two methods for spirothiohydantoin synthesis, *Acta Chim. Slov.* **59** (2012) 680–685.
- [11] H. Byrtus, M. Pawlowski, S. Charakchieva-Minol, B. Duszyńska, M.J. Mokrosz, J.L. Mokrosz, A. Zejc, 3-(ω -Aminoalkyl)-5,5-dialkyl(or spirocycloalkyl-1',5'-)hydantoin as New 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} Receptor Ligands, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **329** (1996) 283–290.
- [12] E. Naydenova, N. Pencheva, J. Popova, N. Stoyanov, M. Lazarova, B. Aleksiev, Aminoderivatives of cycloalkanespirohydantoin: synthesis and biological activity, *Farmaco* **57** (2002) 189–194.
- [13] N. Trišović, G. Ušćumlić, S. Petrović, Hydantoin: synthesis, properties and anticonvulsant activity, *Hem. Ind.* **63** (2009) 17–31.
- [14] T. Kimura, Y. Nagao, N-H Stretching vibrations of hydantoin (2,4-imidazolidinedione), its derivatives and related compounds, *Bull. Fac. Sci. Tech. Hirosaki Univ.* **5** (2003) 11–13.
- [15] I. Rivero, E.R. Soto, A.O. Teran, Microwave-assisted synthesis of cycloalkanespirohydantoin and piperidine-spirohydantoin as precursors of restricted α -amino acids, *ARKIVOC* (2011) 260–271.
- [16] E. Ware, The chemistry of the hydantoin, *Chem. Rev.* **46** (1950) 403–470.
- [17] K. Faghihi, K. Zamani, A. Mobinikhaledi, Facile synthesis of hydantoin derivatives under microwave irradiation, *Turk. J. Chem.* **28** (2004) 345–350.
- [18] M. Nieto, A. Philip, J. Poupaert, C. McCurdy, Solution-Phase parallel synthesis of spirohydantoin, *J. Comb. Chem.* **7** (2005) 258–263.
- [19] J. Obniska, H. Byrtus, K. Kaminski, M. Pawlowski, M. Szczesio, J.K. Wojciechowska, Design, synthesis, and anticonvulsant activity of new *N*-Mannich bases derived from spirosuccinimides and spirohydantoin, *Bioorg. Med. Chem.* **18** (2010) 6134–6142.
- [20] L.K. Abdulrahman, M.M. Al-Mously, M.L. Al-Mosuli, K.K. Al-Azzawii, The biological activity of 5,5'-imidazolidine-2,4-dione derivatives, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **5** (2013) 494–504.
- [21] C. Pedregal, G.G. Trigo, J. Eiguero, E.-J. Vincent, R. Faure, Etude de quelques derives *N*-3-substitues et *N*-1,*N*-3-disubstitues de la cyclohexanospirohydantoin, *J. Hetero. Chem.* **21** (1984) 477–480.
- [22] F. Olimpieri, M.C. Bellucci, T. Marcelli, A. Volonterio, Regioselective multicomponent sequential synthesis of hydantoin, *Org. Biomol. Chem.* **10** (2012) 9538–9555.
- [23] H.P. Rang, M.M. Dale, J.M. Ritter, P.K. Moore, *Farmakologija*, 5. izdanje (urednik srpskog izdanja Todorović, Z.), Data status, Beograd, 2005.
- [24] N. Trišović, N. Valentić, G. Ušćumlić, Solvent effects on the structure-property relationship of anticonvulsant hydantoin derivatives: A solvatochromic analysis, *Chem. Cent. J.* **5** (2011) 1–11.
- [25] N. Trišović, T. Timić, J. Divljaković, J. Rogan, D. Poleti, M. Savić, G. Ušćumlić, Synthesis, structural and biological characterization of 5-phenylhydantoin derivatives as potential anticonvulsant agents, *Monatsh. Chem.* **143** (2012) 1451–1457.
- [26] T. Đaković-Sekulić, A. Mandić, N. Trišović, G. Ušćumlić, Structure-Retention Relationship Study of HPLC Data of Antiepileptic Hydantoin Analogs, *Curr. Comput. Aided Drug Des.* **8** (2012) 3–9.
- [27] T. Đaković-Sekulić, A. Smolinski, N. Trišović, G. Ušćumlić, Multivariate evaluation of the correlation between retention data and molecular descriptions of antiepileptic hydantoin analogs, *J. Chemometr.* **26** (2012) 95–107.
- [28] T. Đaković-Sekulić, Z. Lozanov-Cvetković, A. Mandić, G. Ušćumlić, S. Keleman, Quantitative-Structure-Retention Relationship Study of Some 5-Substituted-5-Phenyl Hydantoin, *Chromatographia* **73** (2011) 51–57.
- [29] N. Trišović, N. Valentić, M. Erović, T. Đaković-Sekulić, G. Ušćumlić, I. Juranić, Synthesis, structure and solvato-

- chromic properties of pharmacologically active 5-substituted-5-phenylhydantoin, *Monatsh. Chem.* **142** (2011) 1227–1234.
- [30] G.M. Cooper, *Elements of human cancer*, Jones & Bartlett Learning, Boston, MA, 1992.
- [31] Online Cancer Glossary, Amer. Cancer Society, 2015, <http://www.cancer.org/cancer/cancerglossary/index> (pristupljeno 21/01/2015).
- [32] D.W. Kufe, R.E. Pollock, R.R. Weichselbaum R.C. Bast, T.S. Gansle, J.F. Holland, E. Frei (Eds.), *Holland-Frei Cancer Medicine*, 6th ed., BC Decker, Hamilton, 2003.
- [33] C.V. Kavitha, M. Nambiar, P.B. Narayanaswamy, E. Thomas, U. Rathore, C.S.A. Kumar, B. Choudhary, K.S. Rangappa, S.C. Raghavan, Propyl-2-(8-(3,4-difluorobenzyl)-2',5'-dioxo-8-azaspiro[bicyclo[3.2.1]octane-3,4'-imidazolidine]-1'-yl) acetate induces apoptosis in human leukemia cells through mitochondrial pathway following cells cycle arrest, *PLoS One* **8** (2013) 1–8.
- [34] Basappa, C.S. Ananda Kumar, S. Nanjunda Swamy, K. Sugahara, K.S. Rangappa, Anti-tumor and anti angiogenic activity of novel hydantoin derivatives: Inhibition of VEGF secretion in liver metastatic osteosarcoma cells, *Bioorg. Med. Chem.* **17** (2009) 4928–4934.
- [35] G.W. Peng, V.E. Marquez, J.S. Driscoll, Potential central nervous system antitumor agents. Hydantoin derivatives, *J. Med. Chem.* **18** (1975) 846–469.
- [36] Y. Sano, T. Hoshino, R. Bjerkvig, D. F. Deen, The relative resistance of non-cycling cells in 9L Multicellular spheroids to spirohydantoin mustard, *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* **19** (1983) 1451–1456.
- [37] U. Sanyal, S. Bhattacharya, U. Sadhu, S. Dutta, H. Das, M. Ghosh, Evaluation of cypenhydestine, a new anti-cancer compound, in murine tumour models, *Cancer Lett.* **70** (1993) 1–6.
- [38] C. Carmi, A. Cavazzoni, V. Zuliani, A. Lodola, F. Bordi, P.V. Plazzi, 5-Benzylidene hydantoin as new EGFR inhibitors with antiproliferative activity, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **16** (2006) 4021–4025.
- [39] S. Hmuda, N. Trišović, J. Rogan, D. Poleti, Ž. Vitnik, V. Vitnik, N. Valentić, B. Božić, G. Ušćumlić, New derivatives of hydantoin as potential antiproliferative agents: biological and structural characterization in combination with quantum chemical calculations, *Monatsh. Chem.* **145** (2014) 821–833.
- [40] N. Trišović, B. Božić, A. Obradović, O. Stefanović, S. Marković, Lj. Čomić, B. Božić, G. Ušćumlić, Structure-activity relationship of 3-substituted-5,5-diphenylhydantoin as potential antiproliferative and antimicrobial agents, *J. Serb. Chem. Soc.* **76** (2011) 1597–1606.
- [41] S. Hmuda, N. Trišović, V. Valentić, G. Ušćumlić, Solvent effects on the Structure-Property Relationship of Some Potentially Pharmacologically Active 3-(4-Substituted Benzyl)-5-Ethyl-5-Phenyl and 3-(4-Substituted Benzyl)-5,5-Dyphenylhydantoin, *J. Solution. Chem.* **40** (2011) 307–319.
- [42] A. Obradović, J. Žižić, N. Trišović, B. Božić, G. Ušćumlić, B. Božić, S. Marković, Evaluation of antioxidative effects twelve 3-substituted-5,5-diphenylhydantoin on human colon cancer cell line HCT-116, *Turk. J. Biol.* **37** (2013) 741–747.
- [43] C.V. Kavitha, M. Nambiar, C.S. Ananda Kumar, B. Choudhary, K. Muniyappa, K.S. Rangappa, S.C. Raghavan, Novel derivatives of spirohydantoin induce growth inhibition followed by apoptosis in leukemia cells, *Biochem. Pharmacol.* **77** (2009) 349–350.
- [44] Diagnosis and classification of diabetes mellitus, *Diabetes Care* **35** (2012) 64–71.
- [45] H. Pessoa-Mahana, R. Araya-Maturana, C.B. Saitz, D.C. Pessoa-Mahana, A synthetic overview of molecules with 5-HT_{1A} binding affinities, *Mini Rev. Med. Chem.* **3** (2003) 77–93.
- [46] A. Zagórska, A. Czopek, M. Pawlowski, M. Dybala, A. Siwek, G. Nowak, Serotonin transporter activity of imidazolidine-2,4-dione and imidazo[2,1-f]purine-2,4-dione derivatives in aspect of their acid-base properties, *Med. Chem. Res.* **11** (2012) 3455–3459.
- [47] S.J. Oh, H.J. Ha, D.Y. Chi, H.K. Lee, Serotonin receptor and transporter ligands – Current status, *Curr. Med. Chem.* **8** (2001) 999–1034.
- [48] M.L. Lopez-Rodriguez, M.L. Rosado, B. Benhamu, M.J. Morcillo, A.M. Sanz, L. Orensanz, M.E. Eneytez, J.A. Fuentes, J. Manzanares, Synthesis and structure-activity relationships of a new model of arylpiperazines. 1. 2-[[4-(*o*-Methoxyphenyl)piperazin-1-yl]methyl]-1,3-dioxoperhydroimidazo[1,5-*a*]pyridine: A selective 5-HT_{1A} receptor agonist, *J. Med. Chem.* **39** (1996) 4439–4450.
- [49] K. Bleicher, Y. Wutrich, M. De Boni, S. Kolczewski, T. Hoffmann, A. Sleight, Parallel solution- and solid-phase synthesis of spirohydantoin derivatives as neurokinin-1 receptor ligands, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **12** (2002) 2519–2522.
- [50] G. Galley, T. Godel, A. Goergler, T. Hoffmann, S. Kolczewski, S. Roever, 1,3,8-Triazaspiro[4.5]decan-4-one derivatives as neurokinin receptor antagonists, *WO 0194346* (2001).
- [51] J.M. Humphrey, Medicinal Chemistry of Selective Neurokinin-1 Antagonists, *Curr. Top. Med. Chem.* **3** (2003) 1423–1435.
- [52] M.W. Rowbottom, T.D. Vickers, J. Tamiya, M. Zhang, B. Dyck, J. Grey, D. Schwarz, C.E. Heise, M. Hederick, J. Wen, H. Tang, H. Wang, A. Fisher, A. Aparicio, J. Saunders, V.S. Goodfellow, Synthesis and structure-activity relationships of spirohydantoin-derived small-molecule antagonists of the melanin-concentrating hormone receptor-1 (MCH-R1), *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **17** (2007) 2171–2178.
- [53] S. Velimirov, S. Živanov-Stakić, *Farmaceutska hemija 2. deo*, Farmaceutski fakultet, Beograd, 2006.
- [54] P. Marinova, M. Marinov, Y. Feodorova, M. Kazakova, D. Georgiev, V. Lekova, P. Penchev, N. Stoyanov, Synthesis, cytotoxicity and antibacterial activity of 3-amino-9'-fluorenespiro-5-hydantoin, *Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci.* **67** (2014) 513–518.
- [55] P. Marinova, M. Marinov, Y. Feodorova, M. Kazakova, A. Slavchev, D. Blazheva, V. Sarafian, I. Nikolova, N. Stoyanov, Synthesis, characterization, *in vitro* antiproliferative and antimicrobial study of 3-methyl-(9'-fluorene)-

- spiro-5-(2,4 dithiohydantoin), *Sci. Technol.* **4** (2014) 112–117.
- [56] Medicinski leksikon (glavni urednik Kostić, A), 6. doštampano izdanje, Medicinska knjiga, Beograd – Zagreb, 1988.
- [57] P.M. Murphy, M. Baggolini, I.F. Charo, C.A. Hébert, R. Horuk, K. Matsushima, L.H. Miller, J.J. Oppenheim, C.A. Power, *International Union of Pharmacology. XXII. Nomenclature for Chemokine Receptors* **52** (2000) 145–176.
- [58] J. Ivanušić, A. Harangozo, *Psihološko-psihijatrijski aspekti liječenja boli*, *Medicus* **23** (2014) 15–22.
- [59] M. Cvijanović, S. Simić, S. Banić-Horvat, Z. Jovin, P. Slankamenac, M. Ilin, *Savremeni tretman neuropatskog bola*, *Med. Pregl.* **64** (2011) 443–447.
- [60] P.J. Goadsby, R.B. Lipton, M.D. Ferrari, *Migraine – Current understanding and treatment*, *N. Eng. J. Med.* **346** (2002) 257–270.
- [61] I.M. Bell, R.A. Bednar, J.F. Fay, S.N. Gallicchio, J.H. Hochman, D.R. McMasters, C. Miller-Stein, E.L. Moore, S.D. Mosser, N.T. Pudvah, A.G. Quigley, C.A. Salvatore, C.A. Stump, C.R. Theberge, B.K. Wong, C.B. Zartman, X.-F. Zhang, S.A. Kane, S.L. Graham, J.P. Vacca, T.M. Williams, *Identification of novel, orally bioavailable spirohydantoin CGRP receptor antagonists*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **16** (2006) 6165–6169.
- [62] T.M. Williams, C.A. Stump, D.N. Nguyen, A.G. Quigley, I.M. Bell, S.N. Gallicchio, C.B. Zartman, B.-L. Wan, K. Della Penna, P. Kunapuli, S.A. Kane, K.S. Koblan, S.D. Mosser, R.Z. Rutledge, C. Salvatore, J.F. Fay, J.P. Vacca, S.L. Graham, *Non-peptide calcitonin gene-related peptide receptor antagonists from a benzodiazepinone lead*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **16** (2006) 2595–2598.
- [63] L. Horoszok, C. Leung, M. Tomaszewski, C. Walpole, *Use of spiro [imidazolidine-4, 3'-indole] 2, 2', 5' (1H) triones for treatment of conditions associated with vanilloid receptor 1*, WO 2007/091946 A1 (2007).

SUMMARY

SYNTHESIS, STRUCTURE AND PROPERTIES OF BIOLOGICAL ACTIVE SPIROHYDANTOIN DERIVATIVES

Anita M. Lazić, Nataša V. Valentić, Nemanja P. Trišović, Slobodan D. Petrović, Gordana S. Uščumlić

Department of Organic Chemistry, Faculty of Technology and Metallurgy, University of Belgrade, Karnegijeva 4, 11120 Belgrade, Serbia

(Review paper)

Spirohydantoins represent an pharmacologically important class of heterocycles since many derivatives have been recognized that display interesting activities against a wide range of biological targets. First synthesis of cycloalkanespiro-5-hydantoins was performed by Bucherer and Lieb 1934 by the reaction of cycloalkanone, potassium cyanide and ammonium-carbonate at reflux in a mixture of ethanol and water. QSAR (Quantitative Structure–Activity Relationship) studies showed that a wide range of biological activities of spirohydantoin derivatives strongly depend upon their structure. This paper describes different methods of synthesis of spirohydantoin derivatives, their physico-chemical properties and biological activity. It emphasizes the importance of cycloalkanespiro-5-hydantoins with anticonvulsant, antiproliferative, antipsychotic, antimicrobial and antiinflammatory properties as well as their importance in the treatment of diabetes. Numerous spirohydantoin compounds exhibit physiological activity such as serotonin and fibrinogen antagonist, inhibitors of the glycine binding site of the NMDA receptor also, antagonist of leukocyte cell adhesion, acting as allosteric inhibitors of the protein-protein interactions. Some spirohydantoin derivatives have been identified as antitumor agents. Their activity depends on the substituent presented at position *N*-3 of the hydantoin ring and increases in order alkene > ester > ether. Besides that, compounds that contain two electron withdrawing groups (*e.g.*, fluorine or chlorine) on the third and fourth position of the phenyl ring are better antitumor agents than compounds with a single electron withdrawing group.

Keywords: Spirohydantoins • Synthesis • Physicochemical properties • Biological activity