

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ  
ТЕХНОЛОШКО-МЕТАЛУРШКИ ФАКУЛТЕТ

АНИТА М. ЛАЗИЋ

СИНТЕЗА, СТРУКТУРА И СВОЈСТВА  
ПОТЕНЦИЈАЛНО БИОЛОШКИ  
АКТИВНИХ ДЕРИВАТА  
ЦИКЛОАЛКАНСПИРО-5-ХИДАНТОИНА

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

БЕОГРАД, 2017.

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY

ANITA M. LAZIĆ

SYNTHESIS, STRUCTURE AND PROPERTIES  
OF POTENTIALLY BIOLOGICALLY ACTIVE  
DERIVATIVES OF CYCLOALKANESPIRO-5-  
-HYDANTOINE

DOCTORAL DISERTATION

BELGDRADE, 2017.

МЕНТОР:

---

Др Гордана Ушћумлић, редовни професор  
Универзитета у Београду  
Технолошко-металуршког факултета

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

---

Др Наташа Валентић, ванредни професор  
Универзитета у Београду  
Технолошко-металуршког факултета

---

Др Јелена Роган, ванредни професор  
Универзитета у Београду  
Технолошко-металуршког факултета

---

Др Весна Витник, научни саветник  
Универзитета у Београду  
Института за хемију, технологију и металургију

---

Др Бојан Божић, научни сарадник  
Универзитета у Београду  
Технолошко-металуршког факултета

---

Др Немања Тришовић, научни сарадник  
Универзитета у Београду  
Технолошко-металуршког факултета

ДАТУМ ОДБРАНЕ: \_\_\_\_\_

## **Захвалница**

*Идеја о истраживању потекла је од др Гордане Уићумлић, редовног професора Катедре за органаку хемију Технолошко-металуричког факултета у Београду. Драгој професорки, свом ментору, од срца се захваљујем за све стручне савете, безрезервну подршку и огромно разумевање које ми је несебично пружала током наше вишегодишње сарадње.*

*Професорки др Наташи Валентић, захваљујем се на свим корисним и правовременим саветима које ми је пружила током писања научних радова, као и на стручним примедбама које су утицале на побољшање свеукупног квалитета докторске дисертације.*

*Професорки др Јелени Роган, професору др Дејану Полетију и дипломираном инжењеру Лидији Радовановић, искрено се захваљујем на томе, што су ме увели у свет кристалографије и на тај начин омогућили да се истраживање издигне на виши ниво. Захвална сам им на свим корисним саветима које су ми упутили током израде и писања дисертације.*

*Др Весни Витник и др Жељку Витнику, искрено се захваљујем на томе, што су уложили велики напор да се изврше квантнохемијска израчунавања проучаваних једињења која су дала изузетан допринос овој дисертацији. Неизрециво сам им захвална на свим саветима и сугестијама у обради и тумачењу добијених резултата.*

*Др Бојану Божићу и др Немањи Тришовићу, од срца се захваљујем, на свим стручним сугестијама и пријатељским саветима које су ми несебично упућивали током свих ових година.*

*Професорки др Биљани Божић са Биолошког факултета, захваљујем се на залагању да се одреди антипролиферативна активност проучаваних једињења, као и на помоћи у интерпретацији добијених резултата.*

*Захваљујем се свим запосленима на Катедри за органску хемију који су дали немерљив допринос настанку ове дисертације.*

*Од срца се захваљујем мајци Зорици и сестри Николини које су ме својом безграничном љубављу и топлим речима несебично пратиле на овом путу.*

# СИНТЕЗА, СТРУКТУРА И СВОЈСТВА ПОТЕНЦИЈАЛНО БИОЛОШКИ АКТИВНИХ ДЕРИВАТА ЦИКЛОАЛКАНСПИРО-5-ХИДАНТОИНА

## РЕЗИМЕ

У оквиру проучавања односа структуре и биолошке активности деривата циклоалканспиро-5-хидантоина, у овом раду су синтетисане три нове серије једињења и то: 3-(4-супституисани бензил)циклопентанспиро-5-хидантоини, 3-(4-супституисани бензил)циклохексанспиро-5-хидантоини и 3-(4-супституисани бензил)циклохептанспиро-5-хидантоини. Сва једињења су први пут синтетисана према модификованим поступцима наведеним у литератури и потпуно структурно окарактерисана температурама топљења, елементарном анализом, FT-IR,  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR, UV-Vis спектроскопским методама и рендгенском структурном анализом.

Солватохромизам и електронска својства деривата циклоалканспиро-5-хидантоина, проучавани су применом електронских апсорпционих спектра који су снимљени у 20 растварача различитих поларности у опсегу таласних дужина 200–400 nm. Ефекти диполарности/поларизабилности растварача као и могућност водоничног везивања који утичу на померање апсорпционих максимума испитани су методом линеарне корелације енергије солватације (LSER) тј. Камлет-Тафтовом (Kamlet-Taft) једначином. Утицај супституената на солватохромизам једињења, анализиран је Хаметовом (Hammett) једначином. Структурни параметри добијени експерименталним путем, упоређени су са резултатима квантнохемијских прорачуна. Програмски пакет Gaussian 09 који у оквиру 6-311++G(d,p) основног сета орбитала садржи две методе (B3LYP и M06-2X) примењен је ради одређивања оптимизоване геометрије циклоалканспиро-5-хидантоина. Биолошка активност свих синтетисаних једињења, као потенцијалних антипролиферативних агенаса, одређена је МТТ тестом, на изолованим ћелијским линијама канцера K562 и HCT-116.

**Кључне речи:** Спирохидантоини · Солватохромизам · Кристална структура · DFT прорачун · Антипролиферативна активност

**Научна област:** Технолошко инжењерство

**Ужа научна област:** Хемијско инжењерство

**UDK број:** 537.7:615

# SYNTHESIS, STRUCTURE AND PROPERTIES OF POTENTIALLY BIOLOGICALLY ACTIVE DERIVATIVES OF CYCLOALKANESPIRO-5- -HYDANTOINE

## SUMMARY

In order to examine solvation effects on the pharmacological properties of hydantoin derivatives, three series of compounds have been synthesized: 3-(4-substituted benzyl)cyclopentanespiro-5-hydantoins, 3-(4-substituted benzyl)cyclohexanespiro-5-hydantoins, and 3-(4-substituted benzyl)cycloheptanespiro-5-hydantoins. All compounds have been synthesized for the first time according to procedures given in the literature or their modifications and characterized by melting points, elemental analysis, FT-IR,  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR, UV-Vis spectroscopy methods and X-ray analysis.

The absorption spectra of the investigated cycloalkanespiro-5-hydantoin derivatives, have been recorded in twenty solvents of different polarities in the range from 200 to 400 nm. The quantitative assessment of solvent effects on the absorption maxima shifts of the investigated molecules has been carried out by means of the linear solvation energy relationship (LSER) using the Kamlet-Taft equation. The influence of substituents on the solvatochromism of compounds is analyzed by Hammett equation. Structural parameters obtained experimentally were compared with the results of *ab initio* calculations. In order to determine the optimized geometry of the investigated molecules, the quantum chemical calculations have been performed using software package Gaussian 09 that in the framework of a basic set comprising two methods (B3LYP and M06-2X). The antiproliferative effects of the investigated compounds, have been evaluated against K562 and HCT-116 cell lines of human cancer, using MTT assay.

**Keywords:** Spirohydantoins · Solvatochromism · The crystal structure · DFT calculation · Antiproliferative activity

***Scientific area:*** Tehnology and Engineering

***Scientific sub-area:*** Chemical Engineering

***UDC number:*** 537.7:615



## САДРЖАЈ:

<b>1. УВОД.....</b>	<b>1</b>
<b>2. ТЕОРИЈСКИ ДЕО.....</b>	<b>3</b>
2. 1. Spiрохидантоини – структура, својства и синтеза .....	4
2.1.1. Структура Spiрохидантоина .....	4
2.1.2. Физичка својства .....	4
2.1.3. Хемијска својства хидантоина и њихових деривата.....	6
2.1.3.1. Киселост.....	6
2.1.3.2. Хидролиза .....	6
2.1.3.3. N1 и N3 супституција .....	9
2.1.4. Синтеза Spiрохидантоина .....	11
2.1.5. Биолошка активност деривата Spiрохидантоина .....	18
2.1.5.1. Деривати Spiрохидантоина са антиконвулзивним дејством.....	18
2.1.5.2. Деривати Spiрохидантоина са антипсихотичким дејством.....	21
2.1.5.3. Антипролиферативна активност деривата Spiрохидантоина .....	25
2.1.5.4. Деривати Spiрохидантоина за лечење дијабетеса .....	32
2.1.5.5. Антимикробна активност деривата Spiрохидантоина.....	34
2.1.5.6. Деривати Spiрохидантоина са антиинфламаторним дејством.....	36
2.1.5.7. Деривати Spiрохидантоина са аналгетским дејством.....	37
2.2. Квантитативна корелација структуре и активности органских молекула.....	40
2.2.1. Утицај електронских својстава на биолошку активност.....	41
2.2.2. Стерни утицаји на биолошку активност .....	43
2.2.3. Утицај хидрофобности/липофилности на биолошку активност .....	45
2.2.4. Вишепараметарски модели корелације структуре и активности .....	46
2.3. Утицај растварача на апсорпционе спектре органских молекула .....	48
2.3.1. Солватохромна једињења.....	49
2.4. Вишепараметарски приступ у оцени ефеката солватације .....	52
<b>3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО.....</b>	<b>56</b>
3.1. Општи поступак синтезе циклоалканспиро-5-хидантоина.....	57
3.2. Општи поступак синтезе 3-(4-супституисаних бензил)циклоалканспиро-5- -хидантоина .....	59

3.3. Методе карактеризације испитиваних једињења .....	66
3.4. Одређивање кристалне структуре .....	66
3.5. Методе квантохемијских израчунавања .....	67
3.6. Одређивање антипролиферативне активности .....	67
<b>4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА .....</b>	<b>69</b>
4.1. Структурна и спектрална анализа 3-(4-супституисаних бензил)циклоалкан- спиро-5-хидантоина .....	70
4.1.1. Рендгенска структурна анализа .....	70
4.1.2. UV-Vis спектрална анализа .....	104
4.1.2.1. Утицај супституената и растварача на UV-Vis апсорпционе спектре .....	104
4.1.3. Корелација UV-Vis апсорпционих фреквенци Камлет-Тафтовим солватохромним моделом .....	114
4.2. Квантохемијска проучавања структурних и спектралних својстава 3-(4- -супституисаних бензил)циклоалканспиро-5-хидантоина .....	122
4.2.1. Оптимизовање геометрије молекула .....	122
4.2.2. Израчунавање UV-Vis спектра .....	128
4.2.3. NBO анализа .....	135
4.2.4. Молекулски електростатички потенцијал .....	138
4.3. Биолошка активност 3-(4-супституисаних бензил)циклоалканспиро-5- -хидантоина .....	141
4.3.1. Предвиђање биолошке активности .....	141
4.3.2. Експериментално одређивање биолошке активности према различитим хелијским линијама канцера .....	145
<b>5. ЗАКЉУЧАК .....</b>	<b>157</b>
<b>6. ЛИТЕРАТУРА .....</b>	<b>172</b>
<b>7. БИОГРАФИЈА КАНДИДАТА .....</b>	<b>181</b>
<b>ПРИЛОЗИ</b>	

## СПИСАК СКРАЋЕНИЦА И СИМБОЛА

AIDS–Синдром стечене имунодефицијенције (енгл. Acquired Immune Deficiency Syndrome)

ALR1 –Ензим алдехид редуктаза

ALR2–Ензим алдоза редуктаза

ASHD–Пропил-2-(8-(3,4-дифлуорбензил)-2',5'-диоксо-8-азаспиро[бицикло[3.2.1]октан-3,4'-имидазоли-дин]-1'-ил)-ацетат)

VR1–Ванилоидни рецептор

GABA– $\gamma$ -аминобутерне киселине

DFH–8-(3,4-дифлуоробензил)-1'-(пент-4-енил)-8-аза спиро[бицикло-[3.2.1]-октан-3,4'-имидазолидин]-2,5-дион

DCH–8-(3,4-дихлоробензил)-1'-(пент-4-енил)-8-аза спиро[бицикло-[3.2.1]-октан-3,4'-имидазолидин]-2,5-дион

DFT–Теорија функционалне густине (енгл. Density Functional Theory)

ED<sub>50</sub>–Средња ефективна доза (лека)

IASP–Међународна асоцијација за проучавање бола (енгл. International Association for the Study of Pain)

IC<sub>50</sub>–Концентрација лека која изазива 50% инхибиције

ICT–Интрамолекулски трансфер наелектрисања (енгл. Intramolecular Charge Transfer)

lp–Слободни електронски пар (енгл. lone pair)

LSER–Линеарна корелација енергије солватације (енгл. Linear Solvation Energy Relationship)

LFER–Линеарна корелација слободне енергије (енгл. Linear Free Energy Relationship)

log *P*–Подеони коефицијент (параметар липофилности који описује расподелу супстанци у систему *n*-октанол/вода)

MAOI–Инхибитори моноаминооксидазе (енгл. Monoamine Oxidase Inhibitors)

MCH–Меланин-концентрирајући хормон (енгл. Melanin-Concentrating Hormone)

MCH-R1–Меланин-концентрирајући хормонски рецептор 1

MR–Моларна рефрактивност

МТТ–3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолијум-бромид (жута боја)  
МТТ тест–колориметријски тест за процену ћелијске метаболичке активности  
НА–Норадреналин  
NADPH–Никотинамид Аденин Динуклеотид Фосфат  
НК–Неурокинински рецептори  
NMR–Нуклеарна магнетна резонанца  
Ph–Фенил група  
5-HT–Хидрокситриптамин  
CCR5– С-С хемокински рецептор тип 5 (енгл. C-C Chemokine Receptor type 5)  
QSAR–Квантитативна корелација структуре и активности (енгл. Quantitative Structure Activity Relationship)  
QSPR–Квантитативна корелација својства и активности (енгл. Quantitative Structure Property Relationship)  
QSTR –Квантитативна корелација токсичности и активности (енгл. Quantitative Structure Toxicity Relationship)  
SERT–Серотонински транспортер  
SSRI – Селективни инхибитори преузимања хидрокситриптамина  
scPTZ тест–Пентилентетразолски тест  
TMS–Тетраметилсилан  
TMSCN–Тетраметилсилил-цијанид  
TCA–Трициклични антидепресиви  
UV–Ултраљубичаста област  
FT-IR–Инфрацрвена спектроскопија са Фуријеовом трансформацијом  
HBA–Атомска група која прима протон при успостављању водоничне везе (енгл. *Hydrogen-Bonding Acceptor*)  
HBD–Атомска група која даје протон при успостављању водоничне везе (енгл. *Hydrogen-Bonding Donor*)  
HIV–Вирус хумане имунодесуфицијенције

## СПИСАК СЛИКА

Слика 1. Бициклохидантоин-арилпиперазини са афинитетом за 5-HT <sub>1A</sub> рецепторе	24
Слика 2. Структура ASHD-a	28
Слика 3. Инхибитор G-протеинских рецептора	29
Слика 4. Структура DFH (R <sub>1</sub> = R <sub>2</sub> = F) и DCH (R <sub>1</sub> = R <sub>2</sub> = Cl)	32
Слика 5. Деривати флуоренилспирохидантоина са антимикуробним дејством.	35
Слика 6. Структура бензодиазепинон тетралин-спирохидантоина	38
Слика 7. 2-пиридил дериват бензимидазолинона као антагонист CGRP рецептора	39
Слика 8. Дериват индолилспирохидантоина, инхибитор активности ванилоидног рецептора (VR1 или TRPV1)	39
Слика 9. Реакција јонизације супституисаних бензоевих киселина у води	42
Слика 10: Структура винилне мероцијанинске боје	50
Слика 11: ICT код 2,6-дифенил-4-(2,4,6-трифенилпиридинијум-1-ил)фенолата	51
Слика 12. 3-(4-супституисани бензил)циклоалканспиро-5-хидантоини синтетизовани у овом раду, (X = H, CH <sub>3</sub> , OCH <sub>3</sub> , Cl, Br, CN, NO <sub>2</sub> ) (n = 1,2,3)	57
Слика 13. ORTEP приказ асиметричне јединице једињења <b>1.1</b> са ознакама атома. Елипсоиди су приказани са вероватноћом од 30%, а Н-атоми као сфере произвољног пречника	72
Слика 14. Кристално паковање једињења <b>1.1</b> у <i>bc</i> -равни које приказује центросиметричне димере. Водоничне везе и C–H···π интеракције представљене су редом као испрекидане линије и линије црта-тачка-црта	75
Слика 15. ORTEP приказ асиметричне јединице једињења <b>2.3</b> са ознакама атома. Елипсоиди су приказани са вероватноћом од 30%, а Н-атоми као сфере произвољног пречника	77
Слика 16. Полимерни псеудо-ланац једињења <b>2.3</b> који се формира дуж <i>b</i> -осе као последица водоничног везивања (испрекидана линија). Н-атоми су изостављени ради прегледности	79
Слика 17. C–H···π интеракције (испрекидана линија) које се остварују између суседних ланаца	79
Слика 18. Молекулска структура проучаваних халогених деривата циклоалканспиро-5-хидантоина	80

Слика 19. Молекулске структуре проучаваних једињења са ознакама атома. Елипсоиди су приказани са 50% вероватноће за једињења <b>1.4</b> , <b>1.5</b> , <b>2.4</b> , <b>2.5</b> , и 30% вероватноће за једињења <b>3.4</b> и <b>3.5</b> . Н-атоми су приказани у облику сфера произвољног пречника.....	84
Слика 20. Молекулски сегменти једињења <b>1.5</b> са опадајућим вредностима енергија интеракција (Табела 15) који приказују најважније међумолекулске интеракције. На сегментима I и VI представљена је Хиршфилдова површина једињења <b>1.5</b> .....	88
Слика 21. а) Део кристалне структуре једињења <b>1.5</b> која показује међусобно повезивање $R_2^2(8)$ димера путем C–H···Br и O···Br интеракција ради формирања супрамолекуларне псеудохексагоналне мреже; б) део кристалне структуре једињења <b>1.5</b> која приказује формирање „цик-цак“ ланаца састављених из $R_2^2(8)$ прстенова међусобно повезаних преко N–H···O и C–H···Br водоничних веза.....	95
Слика 22. Молекулски сегменти једињења <b>3.5</b> са опадајућим вредностима енергија интеракција (Табела 15) који приказују најважније интермолекуларне интеракције. На сегментима I, III, IV и VI представљена је Хиршфилдова површина једињења <b>3.5</b> . .....	99
Слика 23. Део кристалне структуре једињења <b>3.5</b> која показује повезивање $R_2^2(8)$ хомодимера преко C–H···Br и C–Br···π интеракција ради формирања двоструких ланаца (пројекција у односу на bc-раван). На слици је представљено повезивање суседних ланаца преко C–H···Br C–Br···O интеракција. ....	100
Слика 24. Графички прикази отисака једињења <b>1.5</b> , <b>2.5</b> и <b>3.5</b> , разложени на доприносе специфичних интермолекуларних атом-атом контаката. На сваком графику, сива површина означава укупни отисак.....	102
Слика 25. Релативни доприноси интермолекуларних атом-атом контаката на Хиршфилдовој површини једињења. ....	103
Слика 26. Апсорпциони спектар 3-(4-супституисаних бензил)циклопентанспиро-5-хидантоина у етанолу. ....	105
Слика 27. Корелација $\nu_{\max}$ и $\sigma_p$ за 3-(4-супституисане бензил)циклопентанспиро-5-хидантоине у свим растварачима. ....	107
Слика 28. Апсорпциони спектар 3-(4-супституисаних бензил)циклохексанспиро-5-хидантоина у: а) етанолу; б) ацетонитрилу. ....	109

Слика 29. Апсорпциони спектар 3-(4-супституисаних бензил)циклохептанспиро-5-хидантоина у: а) етанолу б) ацетонитрилу. ....	112
Слика 30. Корелација $\nu_{\max}$ и $\sigma_p$ за 3-(4-супституисане бензил)циклохексанспиро-5-хидантоине у свим растварачима. ....	113
Слика 31. Корелација $\nu_{\max}$ и $\sigma_p$ за 3-(4-супституисане бензил)циклохептанспиро-5-хидантоине у свим растварачима. ....	113
Слика 32. $\nu_{\text{израч}}$ у функцији $\nu_{\text{ехр}}$ за 3-(4-супституисане бензил)циклопентанспиро-5-хидантоине. ....	119
Слика 33. $\nu_{\text{израч}}$ у функцији $\nu_{\text{ехр}}$ за 3-(4-супституисане бензил)циклохексанспиро-5-хидантоине. ....	119
Слика 34. $\nu_{\text{израч}}$ у функцији $\nu_{\text{ехр}}$ за 3-(4-супституисане бензил)циклохептанспиро-5-хидантоине. ....	120
Слика 35. Оптимизована конформација 3-бензил-циклопентанспиро-5-хидантоина <b>1.1</b> . ....	124
Слика 36. Оптимизована конформација 3-бензилциклохексанспиро-5-хидантоина <b>2.1</b> . ....	125
Слика 37. Оптимизована конформација 3-бензилциклохептанспиро-5-хидантоина 3.1. ....	128
Слика 38. Експериментални (испрекидана линија) и израчунати (пуна линија) UV-Vis апсорпциони спектри 3-(4-метокси бензил)циклопентанспиро-5-хидантоина у етанолу. ....	129
Слика 39. Корелација израчунатих и експерименталних вредности таласних дужина 3-(4-супституисаних бензил)циклопентанспиро-5-хидантоина у етанолу. ....	129
Слика 40. НОМО и LUMO молекулске орбитале и енергетска разлика за једињења <b>1.1</b> , <b>1.3</b> и <b>1.7</b> у гасовитој фази. ....	131
Слика 41. Експериментални (испрекидана линија) и израчунати (пуна линија) UV-Vis апсорпциони спектри 3-(4-метокси бензил)циклохексанспиро-хидантоина у етанолу. ....	132
Слика 42. НОМО и LUMO молекулске орбитале и енергетска разлика за једињења <b>2.1</b> , <b>2.3</b> и <b>2.7</b> у гасовитој фази. ....	132

Слика 43. Експериментални (испрекидана линија) и израчунати (пуна линија) UV-Vis апсорпциони спектри 3-(4-метокси бензил)циклохептанспиро-5-хидантоина у етанолу.....	133
Слика 44. Експериментални (испрекидана линија) и израчунати (пуна линија) UV-Vis апсорпциони спектри 3-(4-нитро бензил)циклохептанспиро-5-хидантоина у етанолу.....	134
Слика 45. НОМО и LUMO молекулске орбитале и енергетска разлика за једињења <b>3.1</b> , <b>3.3</b> и <b>3.7</b> у гасовитој фази.....	134
Слика 46. Молекулски електростатички потенцијал: а) једињења <b>1.1</b> ; б) једињења <b>1.3</b> ; в) једињења <b>1.7</b> . .....	139
Слика 47. Молекулски електростатички потенцијал: а) једињења <b>2.3</b> ; б) једињења <b>2.5</b> . .....	140
Слика 48. Молекулски електростатички потенцијал: а) једињења <b>3.3</b> ; б) <b>3.5</b> .....	140
Слика 49. Структура 3-(4-супституисаних бензил)-5,5-дифенилхидантоина ( <b>4.1–4.7</b> ) (X = H, CH <sub>3</sub> , OCH <sub>3</sub> , Cl, Br, CN, NO <sub>2</sub> ) . .....	143
Слика 50. Ефекат једињења <b>2.1–2.7</b> , у концентрацији од 100 μmol dm <sup>-3</sup> , на инхибицију пролиферације K562 ћелијске линије. ....	150
Слика 51. Ефекат једињења <b>2.1–2.7</b> , у концентрацији од 100 μmol dm <sup>-3</sup> , на инхибицију пролиферације НСТ–116 ћелијске линије.....	152
Слика 52. Ефекат проучаваних деривата хидантоина <b>2.1–2.5</b> , <b>3.1–3.5</b> и <b>4.1–4.5</b> на инхибицију пролиферације K562 ћелијске линије за концентрацију од 100 μmol dm <sup>-3</sup> .....	155
Слика 53. Ефекат проучаваних деривата хидантоина <b>2.1–2.5</b> , <b>3.1–3.5</b> и <b>4.1–4.5</b> на инхибицију пролиферације НСТ-116 ћелијских линија за концентрацију од 100 μmol dm <sup>-3</sup> .....	156



## СПИСАК ШЕМА

Шема 1. Алкална хидролиза циклопентанспиро-5-хидантоина. ....	7
Шема 2. Синтеза 1-аминоциклопропанкарбоксилне киселине. ....	7
Шема 3. Општи поступак синтезе D,L- $\alpha$ -аминокиселина. ....	8
Шема 4. Индустриско добијање D- <i>p</i> -хидроксифенилглицина. ....	9
Шема 5. Супституција у положају N3 хидантоинског прстена. ....	10
Шема 6. N3 алкиловање бромхлоралканима. ....	10
Шема 7. Реакција спирохидантоина и формалдехида. ....	11
Шема 8. Бучерер-Либова синтеза циклоалканспиро-5-хидантоина из цикличних кетона. ....	12
Шема 9. Бучерер-Бергсова синтеза спирохидантоина под дејством микроталасног зрачења. ....	12
Шема 10. Синтеза пиперидин спирохидантоина из пиперидона. ....	12
Шема 11. Синтеза асиметричних спирохидантоинских деривата. ....	13
Шема 12. Синтеза 3-супституисаног циклопропанспиро-5-хидантоинског деривата. ....	14
Шема 13. Синтеза N-[(4-(супституисаних фенил)-пиперазин-1-ил)-метил]-[7,8- <i>f</i> ] бензо-спиро[4.5]декан-2,4-диона. ....	14
Шема 14. Синтеза спиромустина. ....	15
Шема 15. Синтеза L-аминокиселинског нитроген-мустарда. ....	16
Шема 16. Синтеза спирохидантоинског деривата 2,3-дихидротиопирано-(2,3- <i>b</i> )-пиридин-4(4H)-она. ....	17
Шема 17. Синтеза ацетатног деривата спирохидантоин 2,3-дихидротиопирано-(2,3- <i>b</i> )-пиридин-4-(4H)-она. ....	17
Шема 18. Синтеза циклоалканспиро-5-хидантоина према модификованом Бучерер-Либовом поступку. ....	58
Шема 19: Синтеза 3-(4-супституисаних бензил)циклоалканспиро-5-хидантоина. ..	59
Шема 20. Редуција МТТ-а. ....	68

## СПИСАК ТАБЕЛА

Табела 1. Примери фармаколошки активних деривата спирохидантоина .....	5
Табела 2. N1', N3'-дисупституисани фталидил спирохидантоини са антиконвулзивним дејством.....	21
Табела 3. 3-(Алкил)(супституисани алкил)спиро[(дихидроимидазо-2,4-дион)-5,3'(2',3'-дихидроотиено[2,3-b]нафто-4',9'-дион)] деривати са цитотоксичним дејством.	27
Табела 4. Азаспиробициклични деривати хидантоина са антипролиферативним дејством .....	30
Табела 5. Спирохидантоински деривати 2,3-дихидропирано-(2,3-b)-пиридин-4(4H)-она .....	33
Табела 6. Кристалографски подаци за једињење <b>1.1</b> . .....	71
Табела 7. Експерименталне и израчунате вредности одабраних дужина веза (Å), углова (°) и торзионих углова (°) за једињење <b>1.1</b> . .....	74
Табела 8. Геометрија интермолекулских водоничних веза у молекулу <b>1.1</b> .....	75
Табела 9. Кристалографски подаци за једињење <b>2.3</b> . .....	76
Табела 10. Експерименталне и израчунате вредности одабраних дужина веза (Å), углова (°) и торзионих углова (°) за једињење <b>2.3</b> . .....	77
Табела 11. Геометрија интермолекулских водоничних веза у молекулу <b>2.3</b> .....	78
Табела 12. Кристалографски подаци за једињења <b>1.4, 1.5, 2.4, 2.5, 3.4</b> и <b>3.5</b> . .....	82
Табела 13. Одабране дужине веза (Å) и вредности углова за проучаване халогене деривате циклоалканспиро-5-хидантоина.....	86
Табела 14. Вредности диедарских углова (°) између равни дефинисаних прстеновима проучаваних молекула. ....	87
Табела 15. PIXEL енергије интеракција (I.E., kJ mol <sup>-1</sup> ) (E <sub>coul</sub> – Кулоновска енергија, E <sub>pol</sub> – енергија поларизације, E <sub>disp</sub> – енергија дисперзије, E <sub>rep</sub> – енергија одбијања, E <sub>tot</sub> – укупна енергија) издвојених молекулских сегмената представљене помоћу симетријских кодова и одговарајућих међумолекулских интеракција.....	89
Табела 16. Геометрија водоничних веза (Å, °) халогених деривата циклоалкан-спиро-5-хидантоина. ....	94
Табела 17. Геометријски параметри халогених веза (Å, °) деривата циклоалкан-спиро-5-хидантоина. ....	96

Табела 18. Енергија кристалне решетке која је добијена применом PIXEL ( $\text{kJ mol}^{-1}$ ) методе подељена на Кулоновски, поларизациони, дисперзиони и репулзиони допринос.....	100
Табела 19. Апсорпциони максимуми 3-(4-супституисаних бензил)циклопентан-спиро-5-хидантоина у различитим растварачима.....	106
Табела 20. Апсорпциони максимуми 3-(4-супституисаних бензил) циклохексан-спиро-5-хидантоина у различитим растварачима.....	110
Табела 21. Апсорпциони максимуми 3-(4-супституисаних бензил)циклохептан-спиро-5-хидантоина у различитим растварачима.....	111
Табела 22. Камлет-Тафтови параметри растварача.....	115
Табела 23. Резултати корелације апсорпционих фреквенција 3-(4-супституисаних бензил)циклопентанспиро-5-хидантоина Камлет-Тафтовом једначином.....	116
Табела 24. Резултати корелације апсорпционих фреквенција 3-(4-супституисаних бензил)циклохексанспиро-5-хидантоина Камлет-Тафтовом једначином.....	117
Табела 25. Резултати корелације апсорпционих фреквенција 3-(4-супституисаних бензил)циклохептанспиро-5-хидантоина Камлет-Тафтовом једначином.....	118
Табела 26. Процентни удели солватохромних параметара 3-(4-супституисаних бензил)циклопентанспиро-5-хидантоина.....	120
Табела 27. Процентни удели солватохромних параметара 3-(4-супституисаних бензил)циклохексанспиро-5-хидантоина.....	121
Табела 28. Процентни удели солватохромних параметара 3-(4-супституисаних бензил)циклохептанспиро-5-хидантоина.....	121
Табела 29. Израчунате вредности одабраних дужина веза ( $\text{Å}$ ), углова ( $^\circ$ ) и торзионих углова ( $^\circ$ ) за једињења <b>1.2–1.7</b> .....	123
Табела 30. Израчунате вредности одабраних дужина веза ( $\text{Å}$ ), углова ( $^\circ$ ) и торзионих углова ( $^\circ$ ) за једињења <b>2.1–2.7</b> .....	126
Табела 31. Израчунате вредности одабраних дужина веза ( $\text{Å}$ ), углова ( $^\circ$ ) и торзионих углова ( $^\circ$ ) за једињења <b>3.1–3.7</b> .....	127
Табела 32. Израчунате вредности енергија за НОМО и LUMO молекулске орбитале и енергетска разлика за једињења <b>1.1–1.7</b> у гасовитој фази и етанолу. ..	131
Табела 33. Израчунате вредности енергија за НОМО и LUMO молекулске орбитале и енергетска разлика за једињења <b>2.1–2.7</b> у гасовитој фази и етанолу. ..	133

Табела 34. Израчунате вредности енергија за НОМО и LUMO молекулске орбитале и енергетска разлика за једињења <b>3.1–3.7</b> у гасовитој фази и етанолу. ..	135
Табела 35. Резултати NBO анализе за једињење <b>1.1</b> . (Ip означава слободан електронски пар. Одговарајуће ознаке атома дате су на слици 35).....	136
Табела 36. Атомска наелектрисања у молекулу 3-(4-супституисаних бензил) циклопентанспиро-5-хидантоина.....	137
Табела 37. Атомска наелектрисања у молекулу 3-(4-супституисаних бензил) циклохексанспиро-5-хидантоина.....	138
Табела 38. Атомска наелектрисања у молекулу 3-(4-супституисаних бензил) циклохептанспиро-5-хидантоина.....	138
Табела 39. Вредности молекулских дескриптора за једињења <b>1.1–1.7</b> .....	144
Табела 40. Вредности молекулских дескриптора за једињења <b>2.1–2.7, 3.1–3.5</b> и <b>4.1–4.7</b> . ..	146
Табела 41. Антипролиферативна активност једињења <b>2.1–2.7</b> према ћелијској линији леукемије K562.....	149
Табела 42. Антипролиферативна активност једињења <b>2.1–2.7</b> према ћелијској линији карцинома дебелог црева HCT-116.....	151
Табела 43. Антипролиферативна активност једињења <b>3.1–3.5</b> према ћелијској линији леукемије K562.....	153
Табела 44. Антипролиферативна активност једињења <b>3.1–3.5</b> према ћелијској линији карцинома дебелог црева HCT-116. ....	153
Табела 45. Антипролиферативна активност једињења <b>4.1–4.7</b> према ћелијској линији леукемије K562.....	154

## 1. УВОД

Циклоалканспиро-5-хидантоини су молекули који се састоје из две основне структурне јединице. Једна је прстен хидантоина (имидазолидин-2,4-диона) а друга је циклоалкан кондензован са хидантоинским прстеном у положају пет.

Спирохидантоине је могуће функционализовати увођењем различитих фармакофорних група, што доприноси разноврсној биолошкој активности деривата спирохидантоина и његових аналога. Увођењем одговарајућих супституената у N1 и N3 положаје хидантоинског прстена, настају фармаколошки важни модели, интересантни као потенцијални лекови у третману различитих болести. Задовољавајућа липофилност супституисаних спирохидантоина, представља важан фактор за пролазак лека кроз биолошке мембране као и природу интеракција са рецептором.

Експериментални резултати су показали да се деривати спирохидантоина могу примењивати у третману различитих поремећаја централног нервног система, као што су епилепсија и депресија. Антиконвулзивна активност заснива се на присуству цикличног уреидног језгра, за које су везане одговарајуће фенил-или алкил-групе неопходне за успостављање водоничних интеракција са активним местима протеинских рецептора. Спирохидантоинска јединица је градивни елемент селективних агониста и антагониста серотонинских 5-HT рецептора те су стога поменути деривати спирохидантоина од важности као потенцијални психоактивни агенси [1,2]. Спиропиперидино-хидантоински деривати су модулатори активности хемокинских рецептора подврсте CCR5 и као такви су од значаја за превенцију или третман инфективних обољења: инфекција изазваних HIV-ом, имунорегулаторних и инфламаторних обољења, реакције организма на пресађени орган [3]. Молекули који показују активност ка алдоза редуктази ензиму (ALR2) привлаче пажњу као потенцијални лекови у превенцији или лечењу компликација које су последица дијабетеса [4,5]. Халогени деривати спирохидантоина показују високу антитуморну активност и незаменљиви су у третману различитих облика карцинома крви [6]. Осим наведених фармаколошких активности, значајни су и као полазни реактанти за синтезу различитих аминокиселина [7].

У оквиру проучавања односа структуре и биолошке активности деривата циклоалканспиро-5-хидантоина у овом раду су синтетисане три серије једињења и то: 3-(4-супституисани бензил)циклопентанспиро-5-хидантоини, 3-(4-супституисани бензил)циклохексанспиро-5-хидантоини и 3-(4-супституисани бензил)циклохептанспиро-5-хидантоини. Сва наведена једињења су први пут синтетисана и потпуно структурно окарактерисана применом одговарајућих спектроскопских метода. Солватохромна својства циклоалканспиро-5-хидантоина су опсежно проучена, одређивањем UV-апсорпционих максимума у сету од двадесет растварача различите поларности. Ослањајући се на Абрахамов приступ у процени ефеката солватације (Abraham „преношење лека између две фазе може се објаснити на основу разлике у солватацији лека у тим фазама“) [8] приказана је и дискутована веза између фармаколошки релевантних својстава проучаваних једињења и различитих типова интеракција између молекула растварача и растворене супстанце.

Рендгенска структурна анализа одређених представника циклоалканспиро-5-хидантоина извршена је да би се испитала аналогија између међумолекулских интеракција у кристалном стању и интеракција са биолошким рецепторима које су одговорне за њихову антипролиферативну активност. Антипролиферативни потенцијал одређен је применом МТТ теста према различитим ћелијским линијама карцинома. Структурни параметри добијени експерименталним путем, упоређени су са резултатима квантохемијских прорачуна коришћењем програмског пакета Gaussian 09 применом DFT методе. Проучавање свих структурних и биолошких података, омогућиће боље разумевање односа структуре и активности проучаваних молекула што ће допринети моделовању нових деривата циклоалканспиро-5-хидантоина, бољем сагледавању њихове активности, као и бољем разумевању механизма њиховог деловања.

## **2. ТЕОРИЈСКИ ДЕО**

## **2.1. Spirohidantoini – структура, својства и синтеза**

### **2.1.1. Структура спирохидантоина**

Синтетски органски молекули који у основи садрже хетероциклични прстен од изузетног су значаја за медицину. У развоју нових фармацеутских препарата, незаменљиви градивни елементи су крута језгра, као што је хидантоинско (имидазолидин-2,4-дионско), која се лако могу функционализовати различитим групама [9]. Фармаколошка активност хетероцикличних органских молекула зависи како од карактеристика хетероцикла, тако и од природе бочног низа који је за њега везан [10]. Наиме, присуство супституената у положајима 3 и 5 хидантоинског прстена, један је од услова за његову биолошку активност [11]. Променом природе супституента, могуће је синтетисати велики број фармаколошки активних деривата хидантоина [10].

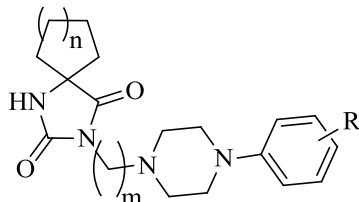
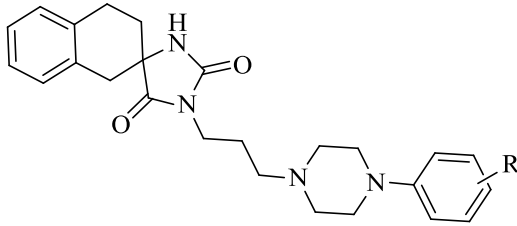
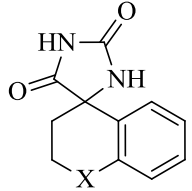
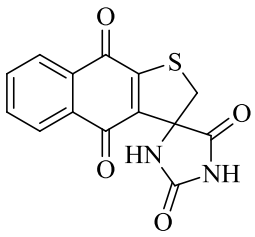
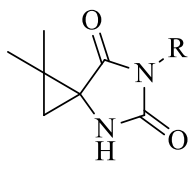
Последњих година интензивно се проучавају спирохидантоини, бициклична једињења код којих је хидантоински прстен преко C5-атома спојен са другим прстеном. Spiro хетероциклични системи поседују интересантна конформациона својства и структурне карактеристике. Захваљујући тетраедарској природи спиро C-атома који их повезује, равни прстенова су оријентисане под правим углом једна у односу на другу. Присуство круте спиро структуре у неколико природних производа, допринело је повећању интересовања за детаљније проучавање спиро једињења [12]. Многи деривати спирохидантоина биолошки су активни молекули различитих својстава, а структуре неких активнијих једињења као и одговарајућа дејства дата су у Табели 1.

### **2.1.2. Физичка својства**

Спирохидантоини су беле кристалне супстанце, различитих температура топљења. Spiрохидантоини са супституентима на атомима азота топе се на нижим температурама од несупституисаних аналога што је последица смањене поларности молекула и смањене могућности грађења интермолекулских водоничних веза [13,14]. Услед велике концентрације хетероатома и карбонилних група у прстену, спирохидантоини су хидрофилни молекули; добро се растварају у етанолу и етил-ацетату [14].



Табела 1. Примери фармаколошки активних деривата спирохидантоина

Редни број	Формула	Дејство
1.	 <p> <math>n = 1, 2</math>  <math>m = 3, 4</math>  <math>R = H, o\text{-CH}_3</math> </p>	<p>Антидепресив, антипсихотик [1,15]</p>
2.		<p>Анксиолитичко [1, 2]</p>
3.	 <p> <math>X = \text{CH}_2, \text{O}, \text{S}</math> </p>	<p>Антидијабетик [4]</p>
4.		<p>Антиканцерогено [16]</p>
5.	 <p> <math>R = H, \text{CH}_3, \text{C}_6\text{H}_5</math> </p>	<p>Антиконвулзив [17]</p>

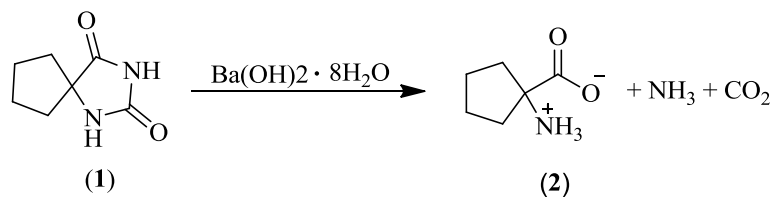
## 2.1.3. Хемијска својства хидантоина и њихових деривата

### 2.1.3.1. Киселост

Хидантоини су слабе киселине које дисосују на имидном N3–H-атому. Тако настаје стабилнија коњугована база (ефикаснија делокализација негативне шарже анјона) него у случају јонизације на N1 атому. Супституцијом у положају 3 се киселост хидантоина знатно смањује с обзиром да у том случају киселост потиче од амидног N1–H-атома. Аклил-супституција у положају 1 и 5 нема утицаја на јонизацију. Тако је на пример  $pK_a$  хидантоина 9,0, а 1-метил-хидантоина 9,1 [18]. Присуство арил-групе и других електрон-акцепторских група у положају 5, повећава киселост хидантоина;  $pK_a$  вредност 5,5-дифенил-хидантоина (фенитоин) износи 8,12, а 1-бензенсулфонил-5,5-дифенилхидантоина 4,89 [18]. Увођење арилметиленског бочног низа (арилиден-група) у положај 5, резултује повећањем киселости амидног N1–H-атома [18] с обзиром на ефикаснију делокализацију негативне шарже на N1-атому. Својства растварача веома утичу на киселост хидантоина и његових деривата. Велика разлика у  $pK_a$  вредностима хидантоина у води ( $pK_a = 9,0$ ) и диметилсулфоксиду ( $pK_a = 15,0$ ) указује да вода бољом стабилизацијом анјона доприноси киселости једињења у поређењу са диметилсулфоксидом [18].

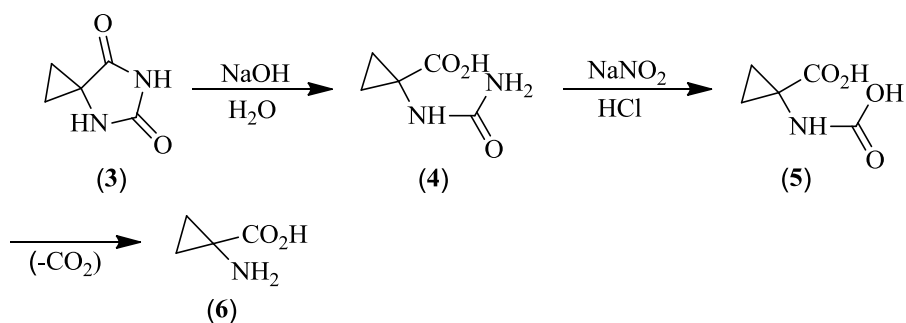
### 2.1.3.2. Хидролиза

Хидролиза хидантоина и њихових деривата може се извршити у киселој и базној средини [19]. Знатно је чешћи поступак алкалне хидролитичке деградације који се изводи загревањем хидантоина и воденог раствора агенса за хидролизу, на повишеном притиску. При овим условима се као интермедијер формира хидантоинска киселина која се постепено разлаже до  $\alpha$ -аминомонокарбоксилне киселине као крајњег производа [20]. За поступак синтезе непротеинских аминокиселина, од изузетног значаја су C5 супституисани деривати хидантоина, нарочито спирохидантоини. Најефикаснији метод хидролизе спирохидантоина је базна хидролиза употребом баријум-хидроксида. Пример је реакција алкалне хидролизе циклопентанспиро-5-хидантоина (**1**) до 1-аминоциклопентанкарбоксилне киселине (**2**) (Шема 1) [7].



*Шема 1. Алкална хидролиза циклопентанспиро-5-хидантоина*

Велики број конформационо ограничених  $\alpha$ -аминокиселина, добија се вишестепеном хидролизом одговарајућих спирохидантоина. Прва синтеза извршена је 1922. године, алкалном хидролизом циклопропанспиро-5-хидантоина (3). Третирањем резултујуће хидантоинске киселине (4) са азотастом киселином, добија се карбаминска киселина (5) која спонтано декарбоксилује дајући 1-аминоциклопропанкарбоксилну киселину (6) (Шема 2) [21].

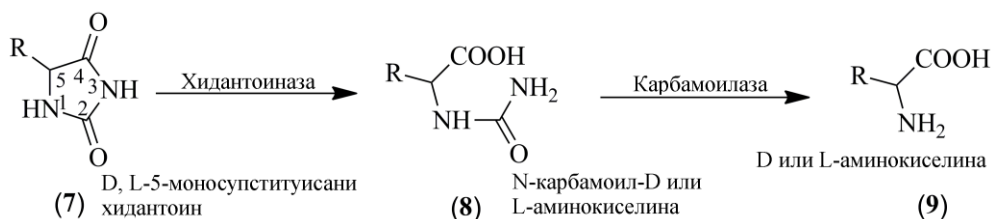


*Шема 2. Синтеза 1-аминоциклопропанкарбоксилне киселине*

Поред описаних поступака хидролитичке деградације, честа је и биокаталитичка конверзија (коришћењем ензима изолованих из биљака и животиња) 5-моносупституисаних хидантоина у оптички активне аминокиселине. Оптички активне D-, и L- $\alpha$ -аминокиселине од великог су индустријског значаја као прекурсори у полусинтези антибиотика, хербицида, инсектицида и физиолошки активних пептида [22]. D,L-5-моносупституисани хидантоини користе се као супстрати за ензимску асиметричну синтезу оптички активних аминокиселина због својства карактеристичног за хидантоинску структуру, а то је кето-енолна таутомерија [23]. При неутралним условима, доминира кето-облик, док у алканим растворима може доћи до енолизације између 4. и 5. положаја

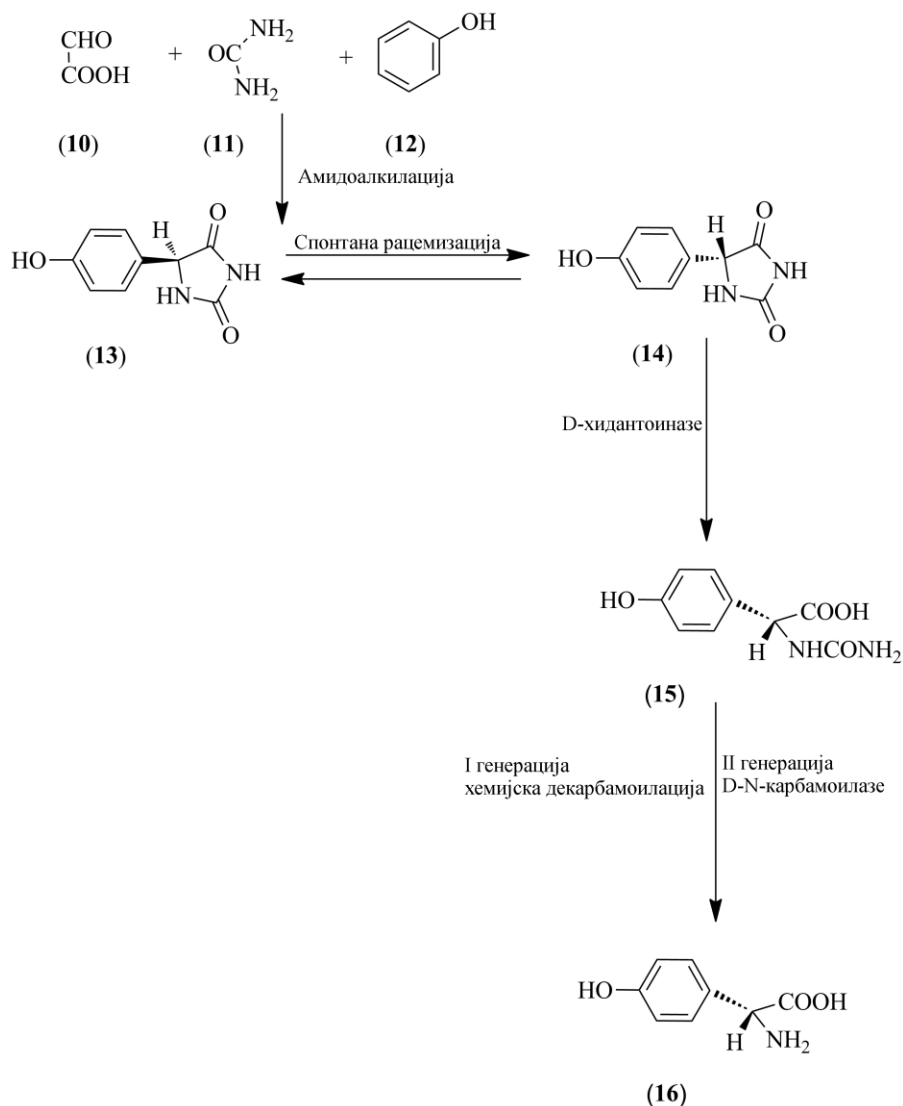
хидантоинског прстена, што потврђује брза рацемизација оптички чистих хидантоина [22].

Деривати хидантоина (7) преводе се у крајње производе (9), кроз двостепену хидролизу преко N-карбамоил- D- или L-аминокиселине (8) као интермедијера (Шема 3). Иницијална ензимска реакција је отварање хидантоинског прстена раскидањем цикличне амидне везе у положају 2 [22]. Ензим који катализује први корак, тј. хидролизу хидантоина до N-карбамоил аминокиселине, зове се хидантоиназа. Постоје три класе хидантоиназа са различитом стереоспецифичношћу према D-, L- и D,L-моносупституисаним хидантоинима, назване D-хидантоиназе, L-хидантоиназе и D,L-хидантоиназе. Поменути ензими најчешће се изолују из микроорганизама, заједно са високо стереоселективним N-карбамоил- $\alpha$ -аминокиселинским амидохидролазама које катализују иреверзибилну хидролизу N-карбамоил- $\alpha$ -аминокиселина до  $\alpha$ -аминокиселина [23].



Шема 3. Општи поступак синтезе D,L- $\alpha$ -аминокиселина

Практична примена хидантоин-метаболичких ензима, огледа се у производњи D-p-хидроксифенилглицина, градивног елемента полусинтетских антибиотика, као што су пеницилини и цефалоспорини. Процес који започиње синтезом рацемског 5-(p-хидроксифенил)хидантоина (Шема 4), полазећи од глиоксилне киселине (10), урее (11) и фенола (12), наставља се његовом биокаталитичком деградацијом уз употребу D-хидантоиназа и D-карбамилаза. Током овог процеса, одвија се и спонтана рацемизација L-изомера (13), преосталог 5-p-хидроксифенилхидантоина, у алкалној средини, која омогућава да се што већа количина полазног хидантоина преведе у D-p-хидроксифенил-глицин [23].



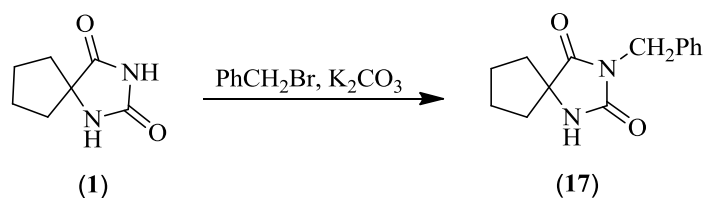
Шема 4. Индустриско добијање D-p-хидроксифенилглицина

### 2.1.3.3. N1 и N3 супституција

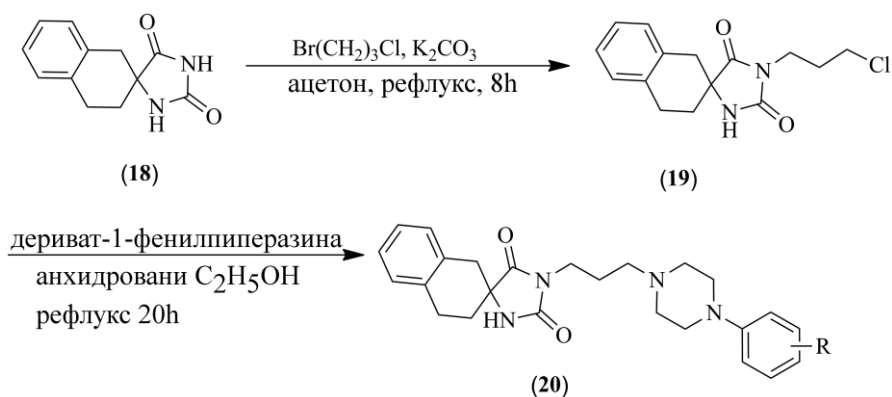
Пинер (Pinner) је установио да је могуће извршити директно алкиловање хидантоина у положају 3, третирањем са алкил-халогенидима у базном раствору. Такође се као средства за алкиловање, употребљавају диметилсулфат и диазометан. Реакцијом циклопентанспиро-5-хидантоина (1) са бензил-бромидом у присуству калијум-карбоната, добија се 3-бензил-циклопентанспиро-5-хидантоин (17) (Шема 5) [24].

Применом истог поступка не може се извршити директно N1 алкиловање хидантоина осим уколико у положају 5, поменутог молекула, није присутна двострука веза или фенил-група. Присуство C5 двоструке везе активира азот у положају 1, омогућавајући замену атома водоника одговарајућом алкил-групом [24].

Када се као средства за алкиловање користе дибромалкани или бромхлоралкани, у двофазном синтетском процесу је могуће добити деривате хидантоина са N3 бочним низом сложеније структуре. Интермедијерни алкиловани хидантоин (**19**) може да реагује са амином или калијум-тиоацетатом при чему настаје жељени производ (Шема 6) [19].



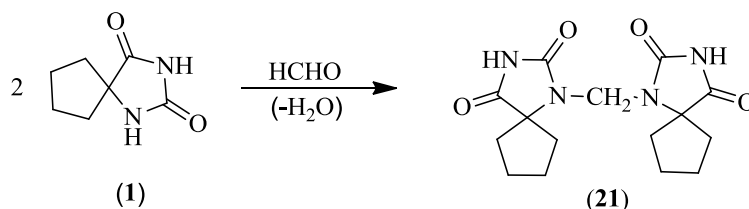
Шема 5. Супституција у положају N-3 хидантоинског прстена



Шема 6. N3 алкиловање бромхлоралканима

Код 3-супституисаних хидантоина могуће је извршити алкиловање амидног атома азота при знатно оштријим реакционим условима у поређењу са условима под којима се изводе N3-имидне супституције. Пре почетка N1 алкиловања, неопходно је заштитити имидни атом азота, увођењем аминометил-групе која се по завршетку реакције уклања, применом једноставне алкалне хидролизе [18].

Беренд (Berend) и Нејмер (Niemeуer) први су доказали да реакција спирохидантоина (**1**) и формалдехида резултира формирањем 1,1'-метиленди-спирохидантоина (**21**) (Шема7), односно N1-супституцијом [24].

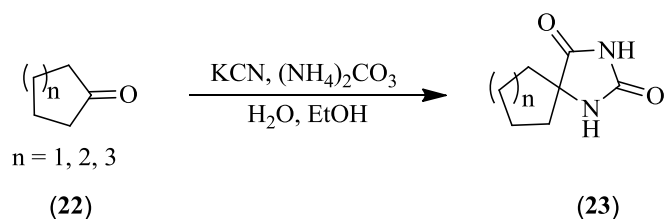


Шема 7. Реакција спирохидантоина и формалдехида

#### 2.1.4. Синтеза спирохидантоина

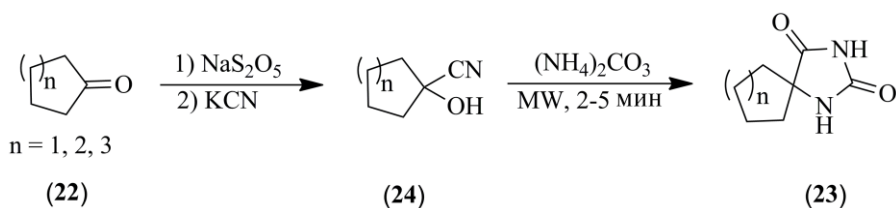
Прву синтезу циклоалканспиро-5-хидантоина извели су Бучерер (Bucherer) и Либ (Lieb) 1934. године, реакцијом цикличног кетона, калијум-цијанида и амонијум-карбоната, уз рефлукс, у смеши етанола и воде [21]. Описана метода садржи један недостатак. Наиме, током реакције издваја се цијановодонична киселина која је изузетно токсична. Потенцијално решење представља примена микроталасног зрачења које обезбеђује високе приносе и чистије производе.

Бучерер-Либова метода је модификација познатог поступка синтезе хидантоина дејством калијум-цијанида и амонијум-карбоната на алдехиде и кетоне, односно, такозване Бучерер-Бергсове (Bucherer-Bergs) реакције [24]. Модификација се састоји у употреби 50% воденог раствора етанола као реакционог медијума. Синтеза циклоалканспиро-5-хидантоина (**23**) Бучерер-Либовим поступком, из одговарајућих цикличних кетона (**22**) приказана је у Шеми 8 [13].



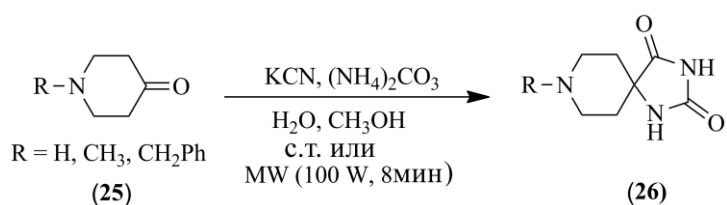
Шема 8. Бучерер-Либова синтеза циклоалканспиро-5-хидантоина из цикличних кетона

Циклопентанспиро-, циклохексанспиро- и циклохептанспиро-5-хидантоин, синтетисани су Бучерер-Бергсовим поступком уз дејство микроталасног зрачења (Шема 9). Оптимално време зрачења које обезбеђује високе приносе је 2–5 минута. Насупрот томе, излагање реакционих компонената дужем зрачењу има за последицу разградњу производа [25].



Шема 9. Бучерер-Бергсова синтеза спирохидантоина под дејством микроталасног зрачења

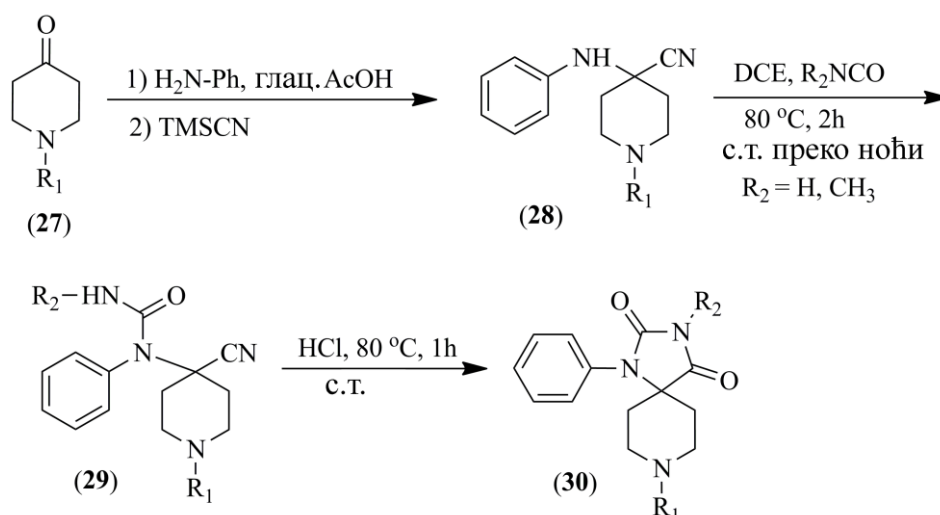
Поступак добијања пиперидинспирохидантоина (26), полазећи из одговарајућег пиперидона (25), приказан је у Шеми 10 [21].



Шема 10. Синтеза пиперидин спирохидантоина из пиперидона



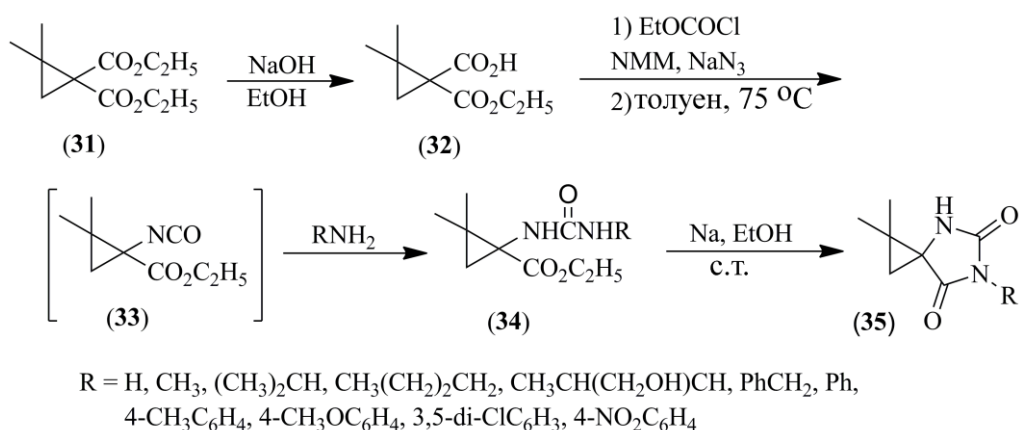
Штрекорова (Strecker) реакција представља директну методу за асиметричну (енантиоселективну) синтезу деривата циклоалканспиро-5-хидантоина [26]. Тако се, на пример, класичном Штрекером реакцијом *N*-супституисаног-4-пиперидона (**27**) са анилином и калијум-цијанидом, у воденом раствору сирћетне киселине, формира прекурсор (**28**) (Шема 11). Модификована Штрекорова реакција изводи се у анхидрованим условима, у глацијалној сирћетној киселини, коришћењем тетраметилсиллил-цијанида (TMSCN) уместо калијум-цијанида (Шема 14). Луисове киселине катализују модификовану Штрекерову реакцију адиције TMSCN на имине. Након модификоване Штрекерове синтезе, настали  $\alpha$ -аминонитрил (**29**) кондензује се са одабраним изоцијанатом, а затим следи циклизација и настаје спирохидантоин (**30**).



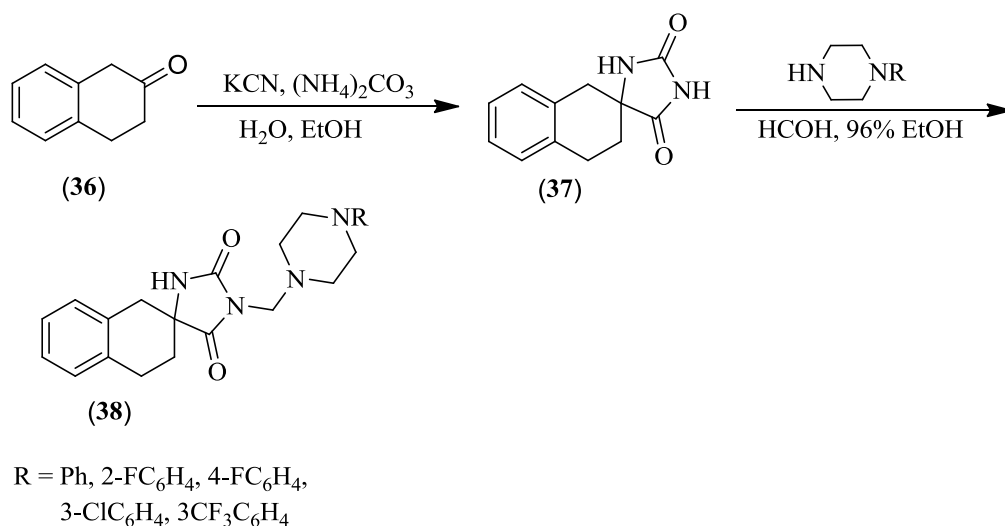
Шема 11. Синтеза асиметричних спирохидантоинских деривата

3-супституисани циклопропанспиро-5-хидантоински деривати који имају анти-конвулзивну активност, добијени су према поступку описаном у Шеми 12. Диетил -2,2-диметилциклопропан-1,1-дикарбоксилат (**31**), синтетизован Мајкловом (Michael) реакцијом циклизације, преведен је у моноестар (**32**) помоћу реакције моносапонификације. Куртиусовом (Curtius) реакцијом, формиран је *in situ* изоцијанат (**33**) који је затим реаговао са амином градећи  $\alpha$ -карбоетокси уреу (**34**). Циклизацијом *N,N*-асиметричних молекула урее (**34**) добијен је дериват спиро-

хидантоина (**35**) [17]. Поступак синтезе деривата циклоалканспиро-5-хидантоина који имају антиконвулзивну активност (Шема 13), започиње Бучерер-Бергсовом реакцијом  $\beta$ -тетралона (**36**) којом се формира  $\beta$ -тетралон хидантоин (**37**). Његовом даљом реакцијом са 4-супституисаним пиперазином и формалдехидом у 96% етанолу, добијају се N-[(4-(супституисанифенил)-пиперазин-1-ил)-метил]-[7,8-f] бензо-спиро[4.5]декан-2,4-диони (**38**) [27].

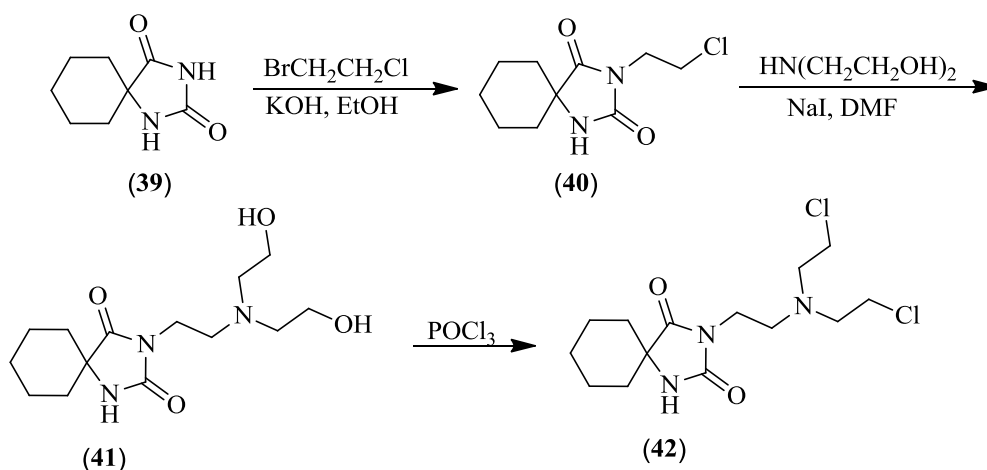


Шема 12. Синтеза 3-супституисаног циклопропанспиро-5-хидантоинског деривата



Шема 13. Синтеза N-[(4-(супституисаних фенил)-пиперазин-1-ил)-метил]-[7,8-f] бензо-спиро[4.5]декан-2,4-диона

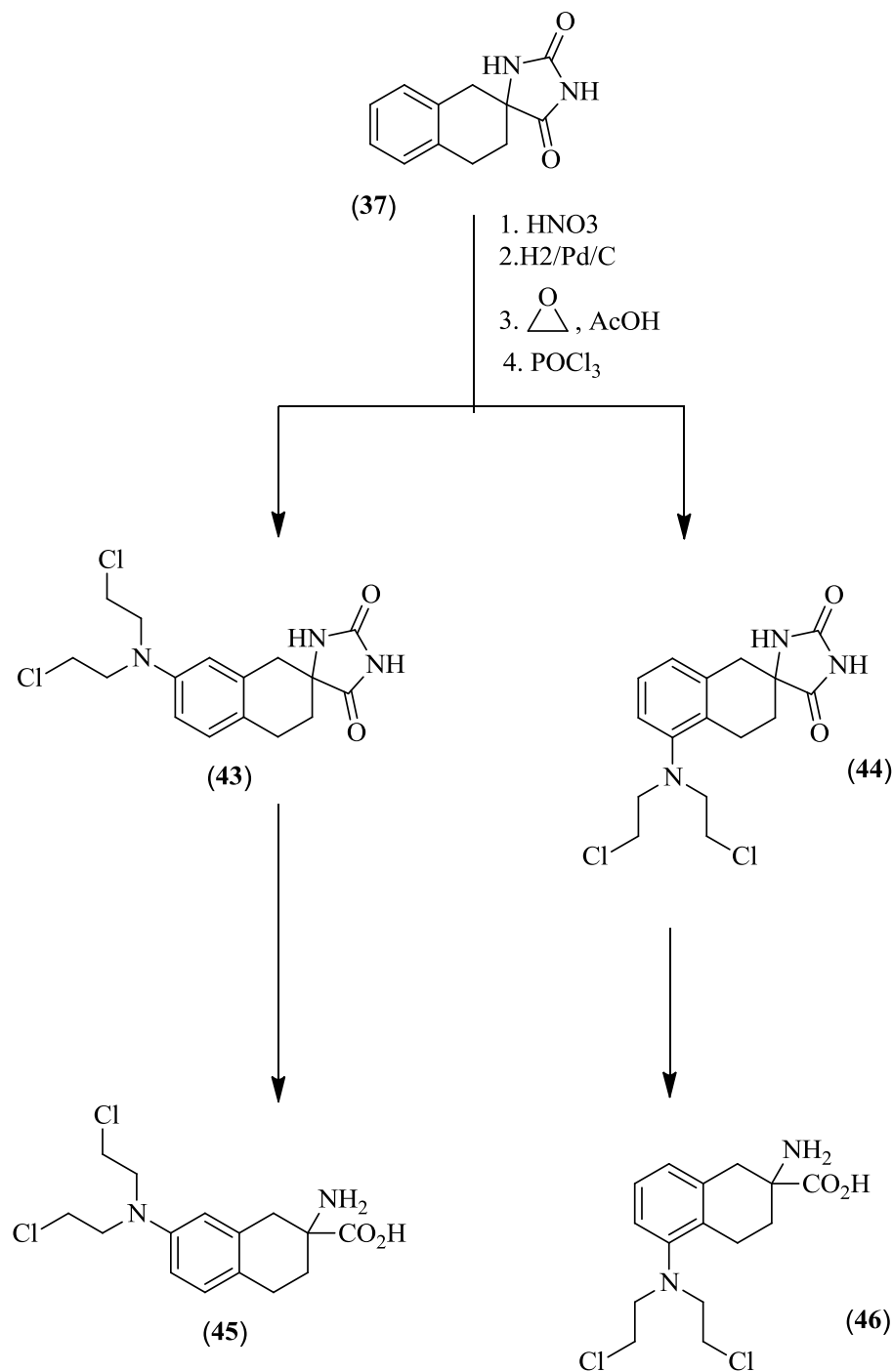
Први корак у синтези спиромустина (42) (Шема 14) представља алкиловање циклохексанспиро-5-хидантоина (39) са 1-бром-2-хлоретаном. Формирани продукт, тј. 3-(2-хлоретил)циклохексанспиро-5-хидантоин (40) кондензује се са диетаноламином градећи 3-[2-[бис(2-хидроксиетил) амино]етил]циклохексан-спиро-5-хидантоин (41) који у завршној фази реакције реагује са POCl<sub>3</sub> [28].



Шема 14. Синтеза спиромустина

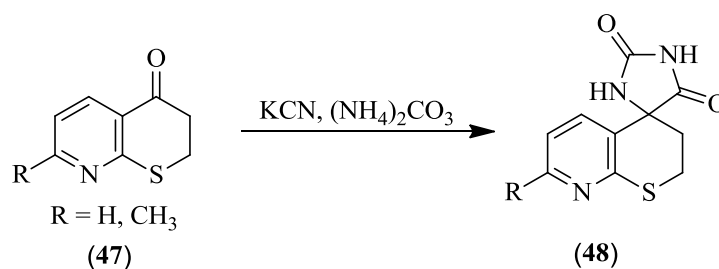
У Шеми 15, приказана је синтеза фармаколошки активног аминокиселинског нитроген-мустарда, деривата тетралин-спирохидантоин нитроген-мустарда. Аминокиселински нитроген-мустарди су од важности као потенцијални антитуморни агенси обзиром на велики значај L-фенилаланинских мустарда у терапији карцинома. Полазна супстанца је β-тетралон хидантоин (37) из кога настаје смеша два тетралин-спирохидантоин нитроген-мустарда (43) и (44). Њиховом хидролизом настају финални производи DL-2-амино-7-[бис(2-хлоретил)амино]-1,2,3,4-тетрахидро-2-нафтенска киселина (45) и DL-2-амино-5-[бис(2-хлоретил)амино]-1,2,3,4-тетрахидро-2-нафтенска киселина (46) у протонованом амонијум-карбоксилном облику [29].

Аналоги сорбинала (**48**) који показују активност ка инхибицији алдоза редуктазе ензима (ALR2) (Шема 16), производ су реакције 2,3-дихидротиопирано-(2,3-b)-пиридин-4(4H)-она (**47**), као и његовог метил аналога, са калијум-цијанидом и амонијум-карбонатом у водено-алкохолној средини [5].

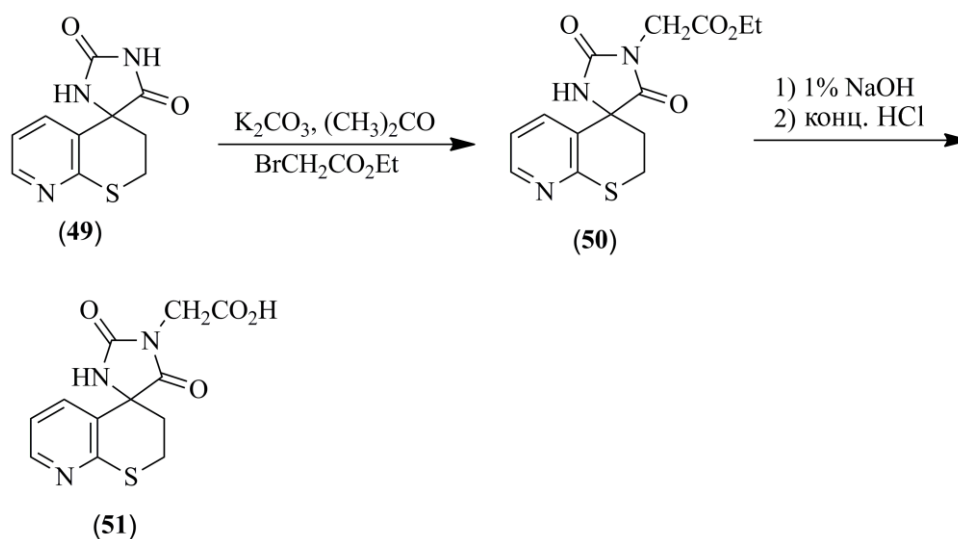


Шема 15. Синтеза L-аминокиселинског нитроген-мустарда

Спирохидантоински дериват сирћетне киселине (**51**), који показује слабу активност ка инхибицији алдоза редуктазе (ALR2) и алдехид редуктазе (ALR1), може се синтетизовати алкиловањем сулфона (**49**) (Шема 17). Алкиловање се врши етил-бромацетатом у ацетону, у присуству анхидрованог калијум-карбоната загревањем уз рефлукс. Алкалном хидролизом прекурсора (**50**) добија се циљано једињење [5].



Шема 16. Синтеза спирохидантоинског деривата 2,3-дихидротиопирано-(2,3-*b*)-пиридин-4(4H)-она



Шема 17. Синтеза ацетатног деривата спирохидантоин 2,3-дихидротиопирано-(2,3-*b*)-пиридин-4-(4H)-она

## **2.1.5. Биолошка активност деривата спирохидантоина**

### ***2.1.5.1. Деривати спирохидантоина са антиконвулзивним дејством***

Епилепсија је поремећај функције мозга кога карактеришу епилептички напади праћени епизодним (привременим) високофреквентним пражњењем импулса које врши група неурона у мозгу [30]. Напади имају различите облике и различите исходе, у зависности од епизода неуронских пражњења. Најчешће су праћени конвулзијама, али се могу појавити и у многим другим облицима. Место примарног пражњења и опсег његовог ширења одређују симптоме који настају приликом напада.

Епилепсија је једна од најчешћих хроничних неуролошких болести. Клиничка класификација епилепсије дефинише две главне категорије напада: парцијалне и генерализоване [30]. Напади у којима пражњење почиње као локално, и често остаје локализовано, су парцијални напади. Генерализовани напади захватају цео мозак, и зато производе поремећену електричну активност у обе хемисфере. Два важна клиничка облика генерализованих напада су тонично-клонички (*granda mal*) и абсансни напади (*petit mal*).

Епилепсија се углавном лечи лековима, али се у тешким случајевима могу обавити хирушки захвати на мозгу. Назив антиепилептик користи се истовремено као и назив антиконвулзив, за опис лекова који се користе у терапији епилепсије као и неепилептичких конвулзивних поремећаја. Постоје три главна механизма деловања антиепилептика: појачавање деловања  $\gamma$ -аминобутерне киселине (GABA), инхибиција функције волтажно-зависних канала  $\text{Na}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$  [30].

Упркос великом напретку који је постигнут у области истраживања везаних за епилепсију, и даље се код 25% пацијената конвулзије неадекватно контролишу применом стандардне терапије лековима. У последње време се у лечењу епилепсије користе нови лекови (тзв. антиконвулзиви друге генерације) попут: фелбамата (Felbatol<sup>®</sup>), ламотригина (Lamictal<sup>®</sup>), габапентина (Neurontin<sup>®</sup>), топирамата (Торатах<sup>®</sup>). Њихово место у терапији епилепсије се још увек одређује. Иако су ефикасни у третману епилептичких синдрома, нису показали супериорност у односу на традиционалне антиконвулзиве (антиконвулзиви прве генерације) [30]. Из тог разлога постоји константна потреба за проналажењем

нових антиепилептика са већом ефикасношћу и мањим нуспојавама. Већина једињења која показује антиконвулзивну активност, у својој структури садржи цикличну уреидну јединицу са фенил- или алкил- супституентима [31,32]. Важан представник антиконвулзива прве генерације је фенитоин (5,5-дифенил-хидантоин, Dilantin®). Иако је откривен пре више од седам деценија и даље је у широкој терапијској употреби, с обзиром да је ефикасан у терапији различитих форми парцијалних и генерализованих напада (али не и абсансних) [30].

Однос структуре и биолошких својстава деривата хидантоина интензивно се проучава са циљем да се идентификују они структурни елементи који су одговорни за корисну активност, али и нежељена дејства. Успостављање водоничних веза са циљним местима налази се у основи механизма њиховог антиконвулзивног деловања. Кристалографска анализа антиконвулзива је показала да међусобна оријентација ароматичне групе и дела молекула који водоничне везе значајно утиче на ефикасност њиховог деловања [14,34–36].

Од открића 5,5-дифенилхидантоина до данас, синтетизовани су многи аналози хидантоина, укључујући спирохидантоин [27,16,37]. У случају N3-супституисаних циклопропанспиро-5-хидантоина, као фармаколошки најактивнији показали су се деривати који садрже неразгранате алкил- и хидроксиалкил-супституенте (нпр. метил-, бутил-, (1-хидроксиметил)пропил-група) [17]. Такође, уочено је да присуство флуора у *para* положају N3-фенил-групе појачава активност деривата циклоалканспиро-5-хидантоина, док дисупституција хлором у 3' и 5' положају N3-фенилног језгра, знатно смањује антиконвулзивну активност. Електрон-донорске групе као што је метокси- и снажне електрон-акцепторске групе попут нитро-групе, које се налазе у *para* положају N3-фенилног језгра, смањују делотворност циклопропанспиро-5-хидантоина [17].

Проучавање антиконвулзивне активности у оквиру серије N1', N3'-дисупституисаних фталидил спирохидантоина (Табела 2), указало је да структура супституента на амоту азота веома утиче на антиконвулзивну активност и липофилност молекула [36]. Супституенти на атому азота су одабрани тако да пруже увид у оптималну дужину алкил ланца и да повећају липофилност молекула спирохидантоина и тако олакшају њихов пролаз кроз крвно-мождану баријеру. Резултати су показали да је у хомологој серији једињења са по две

метил-, етил- или алил-групе ( $R_1, R_2 =$  метил-, етил-, алил-), фармаколошки најактивнији диетил дериват, са средњом ефективном дозом ( $ED_{50}$ ) од 190 mg / kg у пентилен-тетразолском (scPTZ) тесту [36].

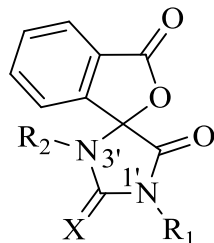
$N1'$ ,  $N3'$ -дипропил дериват (Табела 2) се показао два и по пута активнији ( $ED_{50} = 78,5$  mg / kg (scPTZ)) у поређењу са одговарајућим диетил аналогом. Повећањем дужине засићеног супституентског алкил ланца до три угљеникова атома, код оба супституента на атому азота, знатно расте антиконвулзивна активност, док повећање броја атома угљеника код само једног супституента резултира смањеним дејством. Увођењем разгранатих група (нпр. изопропил-група) у прстен хидантоина знатно се умањује антиконвулзивна активност једињења. Положај  $N3'$  је критичан за антиконвулзивну активност и у складу са тим може да садржи супституент са највише три атома угљеника, док  $N1'$  може бити супституисан и арил-групом [36].

Супституенти на  $N1'$ -фенилном језгру значајно утичу на активност. Наиме, мала липофилна група у *para* положају (атом флуора) повећава антиконвулзивна својства, док гломазнија  $CF_3$  група у *para* положају смањује активност. Електрон-донорске групе, нпр. метокси- у *para* положају фенилног језгра, узрокују благо смањење активности, док дужи ланци у истом положају доводе до велике токсичности. У групи  $N1'$ -арил- $N3'$ -алкил-дисупституисаних једињења, најактивнији се показао  $N1'$ -*p*-нитро- $N3'$ -етил дериват ( $ED_{50} = 41,8$  mg / kg (scPTZ тест)). Липофилност проучаваних спирохидантоина (изражена преко израчунатог партиционог коефицијента  $\log P$ ) са значајном антиконвулзивном активношћу креће се у интервалу 2,4–3,0, док је липофилност фармаколошки слабије активног диетил деривата знатно мања ( $\log P = 1,457$ ) [36].

Да постоји корелација између антиконвулзивне активности деривата хидантоина и њихове липофилности, показали су резултати проучавања серије 3,5-дисупституисаних-5-фенилхидантоина [31] и 5-супституисаних-5-фенил хидантоина [38,39]. У циљу разумевања антиконвулзивне активности неког молекула треба узети у обзир феномен преноса *in vivo* и интеракцију са рецептором.



Табела 2. N1', N3'-дисупституисани фталидил спирохидантоини са антиконвулзивним дејством



Редни број	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	X
1.	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	O
2.	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	O
3.	Алил	Алил	O
4.	CH <sub>3</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	O
5.	<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	O
6.	<i>n</i> -C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	<i>n</i> -C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	O
7.	<i>i</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	<i>i</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	O
8.	Цикло-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>	Цикло-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>	O
9.	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	O
10.	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	S
11.	<i>p</i> -F-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CH <sub>3</sub>	O
12.	<i>p</i> -CF <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CH <sub>3</sub>	O
13.	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	O
14.	<i>p</i> -F-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	O
15.	<i>p</i> -NO <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	O
16.	<i>p</i> -OCH <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	O

### 2.1.5.2. Деривати спирохидантоина са антипсихотичким дејством

Депресија је веома често психијатријско стање о којем постоји много различитих неурохемијских теорија, и за коју се у терапији користи велики број различитих врста лекова. Депресија је најчешћи афектни поремећај. Креће се од врло благог стања које се граничи са нормалним па све до психотичких депресија праћених халуцинацијама и делузијама. Депресија има две врсте симптома: емоционалне (ојађеност, апатија и песимизам, недостатак самопоуздања, неодлучност, губитак мотивације) и биолошке (успореност мисли и деловања,

губитак либида, поремећај сна и апетита). Постоје два различита типа депресивног синдрома, а то су *униполарна депресија* (промена расположења се креће увек у истом смеру) и *биполарни афектни поремећај* (депресија се смењује са манијом) [30].

Према моноаминској хипотези (најважнија биохемијска теорија депресије), депресију изазива функционални мањак моноаминских трансмитера (норадреналина (NA) и/или серотонина (5-хидрокситриптамина, 5-НТ)) у одређеним деловима мозга, док је манија резултат њиховог функционалног вишка. У терапији депресије користи се неколико типова антидепресива и то: инхибитори преузимања моноамина (трициклични антидепресиви (ТСА), селективни инхибитори преузимања 5-НТ (SSRI) и др.); инхибитори моноаминооксидазе (MAOI); атипични антидепресиви (углавном неселективни антагонисти рецептора) [30].

Независно од механизма деловања, заједничко за све антидепресиве је да се њихови антидепресивни ефекти испољавају тек након неколико седмица. Претпоставка је да се ово кашњење у деловању може објаснити иницијалним порастом, екстрацелуларног (ванћелијског) 5-НТ-а рафе једара (енгл. *raphe nuclei*) мозданог стабла (главни серотонергични извор) што смањује отпуштање серотонергичних неурона активирањем соматодендритичких 5-НТ<sub>1А</sub> ауторецептора (контролишу ослобађање 5-НТ) [39]. Ниво серотонина, 5-НТ-а, у централном нервном систему и регулисање његове неуротрансмисије повезује се са серотонинским транспортером (SERT), посредником у ванћелијском преузимању серотонина из синаптичких пукотина. По хемијској структури, SERT је протеин чије дејство веома зависи од концентрације Na<sup>+</sup>. Серотонин, Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, формирају кватернерни комплекс са SERT-ом, пре него што буду транспортовани преко мембране, потом граде комплекс са K<sup>+</sup>, за транспорт у супротном смеру [32].

Важни помаци на пољу развоја антидепресива воде ка увођењу селективних инхибитора преузимања 5-НТ-а (група SSRI) заједно са развојем нових агониста и антагониста са пре- и пост-синаптичким адренергичким, серотонергичким и допаминергичким дејством [39]. Актуелан правац у процесу откривања и дизајнирања антидепресива је дизајнирање лиганада са више циљева.

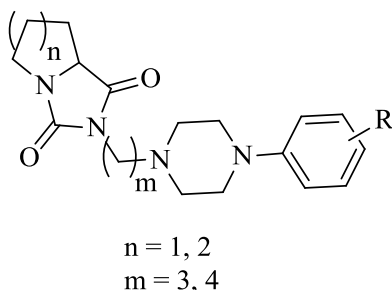
Резултати преклиничких испитивања указују да би нпр. антидепресив SSRI типа који је уједно и 5-HT<sub>1A</sub> антагонист имао пожељне терапијске ефекте [32].

5,5-Дисупституисани хидантоини и њихови N3 модификовани деривати, показују широк спектар активности везаних за централни нервни систем, посредством разних рецептора попут 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, допаминског D<sub>2</sub>, α<sub>1</sub>-адренергичког итд [1]. Резултати проучавања 3-(ω-аминоалкил)-5,5-диалкил- (или 1',5-спироциклоалкил) хидантоина који садрже 1-фенил- или 1-(2-метоксифенил) пиперазин фрагмент у положају 3, указују на велики значај терминалне хидантоинске јединице у стабилизацији 5-HT<sub>1A</sub> и 5-HT<sub>2A</sub> рецептор/лиганд комплекса [1]. 1',5-Циклопентанспиро-[3-(4-фенил-1-пиперазинил пропил)]хидантоин (једињење 1; n = 1, m = 3, R = H; Табела 1) и његов 1',5-циклохексанспиро аналог (једињење 1; n = 2, m = 3, R = H; Табела 1), показали су велики афинитет за 5-HT<sub>2A</sub> рецептор (селективни 5-HT<sub>2A</sub> рецептор лиганди). 1',5-Циклохексанспиро-{3-[4-(2-метоксифенил)-1-пиперазинил]бутил}хидантоин (једињење 1; n = 2, m = 4, R = *o*-OCH<sub>3</sub>; Табела 1) је показао велику активност за 5-HT<sub>1A</sub> рецепторе (селективан 5-HT<sub>1A</sub> рецептор-лиганд) [15].

Раних осамдесетих година двадесетог века, почела је терапијска употреба нове генерације анксиолитичких лекова. Први анксиолитик друге генерације је био буспирон (Buspar®), дериват арилпиперазина са великим афинитетом према 5-HT<sub>1A</sub> и D<sub>2</sub> рецепторима. Функционално делује као парцијални антагонист 5-HT<sub>1A</sub> рецептора [2]. Деривати арилпиперазина спадају у најважнију групу 5-HT<sub>1A</sub> рецепторских лиганата [32]. Осим поменуте групе једињења, треба поменути и деривате 2-аминотетралина и бензопиранска једињења [40]. У случају арилпиперазинских деривата кондензованих бициклохидантоина, велики афинитет ка 5-HT<sub>1A</sub> рецепторима је уочен код деривата са *o*-OCH<sub>3</sub> и *m*-CF<sub>3</sub> супституентима на арилпиперазинском фрагменту (Слика 1; R = *o*-OCH<sub>3</sub>, *m*-CF<sub>3</sub>) [41,42]. Важна структурна карактеристика поменутих система је присуство три или четири метиленске групе које раздвајају бициклохидантоинску јединицу од арилпиперазинског дела. Арилпиперазински деривати 3-пропил-β-тетралонохидантоина (једињење 2, Табела 1) су показали умерену до ниску активност за 5-HT<sub>1A</sub> рецепторе. Нагло смањење активности уочено је код деривата са флуор супституисаном арилпиперазинском групом [1]. Дериват са *m*-CF<sub>3</sub> супституентом

на фенилном језгру који је показао задовољавајућу 5-HT<sub>1A</sub>/5-HT<sub>2A</sub> рецепторски афинитет, је парцијални 5-HT<sub>1A</sub> агонист и антагонист 5-HT<sub>2A</sub> рецептора што га чини интересантном потенцијалном психоактивном супстанцом [1].

Спиропиперидини припадају добро познатој класи фармаколошки важних молекула који показују биолошку активност према различитим циљним групама, од инхибитора ензима до блокатора јонских канала. Спиропиперидински молекулски скелет од посебног је значаја у области G протеин-спрегнутих рецептора (седам-трансмембрански домен рецептори). Због тога се ове групе хемијских мотива често називају „привилеговане структуре“. Једна од репрезентативних група спиропиперидина је спиропиперидино-хидантоин, добро познати мотив у области серотонинских рецептора [42]. Међу важним аналозима спиропиперидинохидантоина, свакако, треба поменути антипсихотик спиперон (Spiperidol®) који се користи у терапији шизофреније. Неурокинински рецептори (NK-1, NK-2, NK-3), попут серотонинских, припадају циљној групи G протеин-спрегнутих рецептора тако да није изненађујуће што неки NK-1 антагонисти садрже спиропиперидинохидантоински фрагмент као градивну јединицу [43].



Слика 1. Бициклохидантоин-арилпиперазини са афинитетом за 5-HT<sub>1A</sub> рецепторе

NK-1 рецептор је атрактиван циљ за развој нових лекова попут аналгетика, антидепресива и антиеметика, који би се користили у терапијским подручјима у распону бола, повраћања и плућних болести до депресије и анксиозности [44]. 3,5-Бис(трифлуорметил)фенил група је у функцији биоизоестара поменута у контексту неколико NK-1 рецепторских лиганата. Њена комбинација са спиропиперидино-хидантоинским фрагментом као средишњим скелетом, била је

основа за дизајнирање нових потенцијалних неурокининских-1 рецепторских лиганда [42].

Меланин-концентрирајући хормонски рецептор 1 (MCH-R1) и меланин-концентрирајући хормон (MCH) који га активира, су код сисара укључени у регулацију начина исхране, расположења и енергетског биланса. С обзиром да су орално активни MCH-R1 антагонисти ефикасни у контроли телесне тежине код глодара, за очекивање је да би селективни антагонисти MCH-R1 могли бити успешни у третману гојазности код људи. У циљу проналажења малих молекула који би били погодни као селективни антагонисти MCH-R1, проучавани су и деривати спирохидантоина, који су показали висок афинитет везивања и функционалну активност за MCH-R1 рецепторе [45].

### ***2.1.5.3. Антипролиферативна активност деривата спирохидантоина***

Иако је малигнитет познат од настанка човечанства, постао је водећи узрочник смрти тек у двадесетом веку. Поменута болест, може се појавити у било ком животном добу, мада су много веће шансе за њен развој у средњим годинама. Тако се карцином дебелог црева најчешће региструје код особа узраста 30–50 година, док се карцином ректума јавља код особа од 50–70 година. Осим леукемије и лимфома који се дијагностикују код одређеног броја малолетних пацијената, остали облици малигнитета ретко се појављују у овом животном периоду. Код деце се такође, уочавају тумори на мозгу, нервном систему, костима, бубрезима, који се иначе ретко срећу код великог броја одраслих људи [46].

Не постоји универзална дефиниција за све врсте рака. Карцином (*гр. karkinos – рак*) је обољење које карактерише неконтролисана ћелијска пролиферација [46]. Припада великој породици болести чија је најважнија одлика формирање групе неоплазми са својствима малигнитета. Неоплазма (тумор) представља скуп ћелија које су претрпеле нерегулисани раст па често формирају чворовић или се дистрибуирају дифузијом [47].

Третмани карцинома подразумевају операције, радијације и хемотерапије [46]. Хирушка интервенција је примарни метод лечења великог броја чврстих

изолираних карцинома, њена успешност у великој мери доприноси преживљавању. Циљ је одједном уклонити целокупну малигну масу која у одређеним случајевима укључује и лимфне чворове. Понекад је то све што је неопходно да би се у потпуности елиминисао карцином [48].

Хемотерапија је поред хирургије, од изузетно велике користи код бројних облика карцинома, као што је карцином дојке, колоректални карцином, карцином панкреаса, остеогени сарком, карцином тестиса, карцином јајника. Ефикасност је често ограничена због токсичности по преостале органе [48].

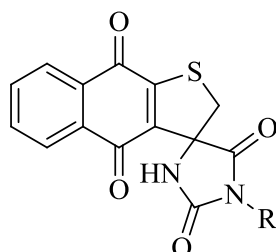
Хинонска структура представља основу многих антитуморских лекова, као и антибиотика (доксорубицин (Adriamycin®)) и митоксантрон (Mitoxantrone®) који се увелико примењују у хемотерапијској контроли бројних карцинома, а такође су веома ефикасни код карцинома који се постепено развијају. Клинички значај описаних лекова, утицао је на развој нових антипролиферативних агенаса код којих је задржано хидантоинско језгро. Неопластична активност деривата хидантоина последица је присуства планарног, полицикличног језгра, способног да се веже за молекуле ДНА и два бочна ланца који садрже различите супституенте у односу на хромофору.

У серији 3-амино-3-етоксикарбонил-2,3-дихидро-2,3-б-нафто-4,9-дион деривата супституисаних у положају 3 различитим аминокиселинама, најактивније једињење је 3-(глицил)-амино-3-етоксикарбонил-2,3-дихидро-2,3-б-нафто-4,9-дион са изузетном цитотоксичном активношћу у субмикромоларним концентрацијама. Ефикасан је код неколико типова леукемије као и чврстих карцинома [16].

Развијена је и серија деривата циклоалканспиро-5-хидантоина, односно 3-(алил)(супституисани алкил)спиро[(дихидроимидазо-2,4-дион)-5,3'-(2', 3'-дихидро-2,3-б-нафто-4',9'-дион)] деривати, код којих је полициклична јединица, преко хидантоинског прстена повезана са бочним алкил ланцем (Табела 3) [16].

Дериват са метил супституентом (једињење 1, Табела 3) делује цитотоксично на карцином дојке (MCF-7) и дебелог црева (SW 620) са вредностима  $IC_{50}$  (концентрација која изазива 50% инхибиције) од 0,023  $\mu\text{M}$  према ћелијској линији MCF-7 и  $IC_{50} = 0,108 \mu\text{M}$  према ћелијској линији SW 620, слично као доксорубицин ( $IC_{50} = 0,022 \mu\text{M}$  (MCF-7);  $IC_{50} = 0,178 \mu\text{M}$  (SW 620)).

Табела 3. 3-(Алкил)(супституисани алкил)спиро[(дихидроимидазо-2,4-дион)-5,3'-(2',3'-дихидротиено[2,3-*b*]нафто-4',9'-дион)] деривати са цитотоксичним дејством



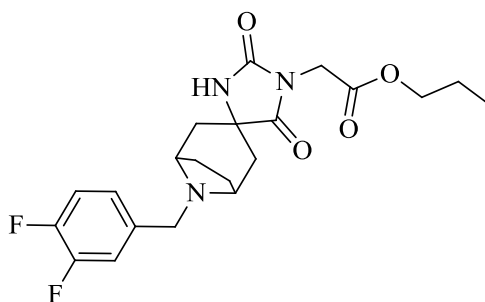
Редни број	R
1.	CH <sub>3</sub>
2.	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
3.	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
4.	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>
5.	CH(CH <sub>3</sub> )CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
6.	C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>
7.	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OH
8.	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> OH
9.	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>
10.	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NH <sub>2</sub>
11.	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>
12.	(CH <sub>2</sub> )N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
13.	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N(CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
14.	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N(CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>

Остала једињења поседују смањену активност због повећане липофилности и стерних сметњи на бочном ланцу. Увођење крајње амино или диалкиламино групе у алкил бочни ланац, нема утицаја на цитотоксичност према ћелијској линији MCF-7, док се цитотоксичност према ћелијској линији SW-620 повећава (посматрано у односу на доксорубицин). Поменуто указује да дужина бочног низа одређена бројем метиленских група које раздвајају хромофору и удаљене амино групе (унутар ланца) не утиче значајно на цитотоксичност [16].

Упркос бројним открићима и напредовањима у терапији, број расположивих лекова, за третман леукемије релативно је ограничен. Дејство

већине антипролиферативних медикамената заснива се на апоптози (облик програмиране ћелијске смрти која се јавља у физиолошким и патолошким процесима у организму). Неуспешно одумирање малигнух крвних ћелија главни је разлог неизлечења. Доказано је да се применом ASHD-(пропил-2-(8-(3,4-дифлуорбензил)-2',5'-диоксо-8-азаспиро[бицикло[3.2.1]октан-3,4'-имидазолидин]-1'-ил) ацетат) (Слика 2) постиже висока цитотоксичност код Б ћелијске хроничне лимфатичне леукемије и хроничне мијелоидне леукемије [49].

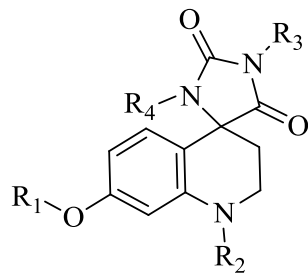
Посредовање у репликацији DNA и ћелијској деоби представља један од начина индуковања цитотоксичности од стране ASHD-а. Такође, утиче на транслокацију фосфатидилсерина из цитоплазме на површину ћелије, на измену потенцијала митохондријалне мембране, што за последицу има повећање концентрације протеина који изазива апоптозу [49].



Слика 2. Структура ASHD-а

Аналог соматостатина (Слика 3) је модулатор активности G-протеинских куплујућих рецептора одговорних за развој малигнитета. Дејство се заснива на инхибицији ћелијске пролиферације [28]. Азаспиро бициклични деривати хидантоина (Табела 4) значајни су као потенцијални лекови у третману карцинома јајника (SKOV-3 и OVSAHO), остеосаркома (LM8 и LM8G7), који највећи број метастаза остварују на плућима. Највећу антипролиферативну активност показује компонента која садржи 3,4-дифлуоробензил групу и 4-(метилсулфонил)бензил групу, супституенте који увелико доприносе активности [50].



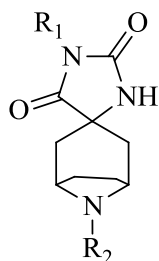


Слика 3. Инхибитор G-протеинских рецептора

При дизајнирању антинеопластика који би се примењивали у терапији карцинома централног нервног система, посебан нагласак треба ставити на алкилујуће агенсе који су способни да продру кроз крвно-мождану баријеру. Липофилност 5,5-дифенилхидантоина захваљујући којој добро пенетрира кроз крвно-мождану баријеру и чињеница да не показује антитуморну активност, били су подстицај за проучавање хидантоина као потенцијалних носача нитроген-мустард фармакофорних група у циљу синтезе нових лекова, кандидата за лечење карцинома централног нервног система [51]. Тако су настали антитуморни агенси попут спиromустина (**42**) и ципенхимустина.

Спиromустин (**42**) (спирохидантоин мустард, 3-{2-[бис-(2-хлоретил)амино]етил}-1,3-дiazаспиро-[4.5]декан-2,4-дион), је бифункционална алкилујућа супстанца из групе нитроген-мустарда са антинеопластичном активношћу и липофилним својствима. У својој структури садржи липофилну хидантоинску групу која је носач бис- $\beta$ -етиламино групе при продирању кроз крвно-мождану баријеру. Због своје липофилности, лако пролази кроз крвно-мождану баријеру, концентришући се у неопластичним ткивима. Захваљујући наведеној чињеници, антитуморни је лек у терапији карцинома централног нервног система. Веома брзо уништава монослојеве, спречавајући опстанак малигних ћелија. Доказано је да је делотворнији према цикличним ћелијама него према осталим формама. У веома малим концентрацијама ( $\mu\text{M}$ ) цитотоксичан је према монослојевима, док код мишева на којима је тестиран не изазива смрт [52].

Табела 4. Азаспиробциклични деривати хидантоина са антипролиферативним дејством



Редни број	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		
7.		
8.		
9.		

Ципенхимустин (3-{2-[бис-(2-хлоретил)амино]етил}-1,3-дiazаспиро-[4.4]нонан-2,4-дион), аналог је спиромустина (42). Модификација структуре у односу на спиромустин (42) састоји се у замени спироциклохексил-групе спироалкил-групом са једним С-атомом мање при чему је имидазолов прстен молекула хидантоина остављен као носач N,N-бис-(2-хлоретил)амино групе, односно, нитроген-мустард групе која је позната по својој антитуморној функционалности. Ципенхимустин поседује значајну антитуморну активност према леукемији L1210, леукемији P355, меланому B16, Луисовом (Lewis) карциному плућа и интрацеребралном епендимобластому [53].

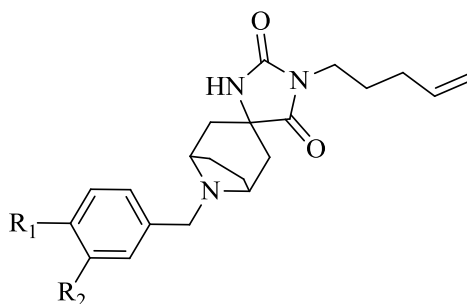
Петочлани прстен код ципенхимустина је под напоном у поређењу са шесточланим код спиромустина (42), будући да заузима конформацију полустолице, док шесточлани прстен код спиромустина (42) има стабилну конформацију столице. Утврђено је да је ципенхимустин делотворнији када се примени у више доза, него када се употреби одједном. Предност у односу на друге нитроген-мустарде је што проузрокује благо смањивање густине коштане сржи [53].

Карми (Carmi) је проучавајући антипролиферативну активност 5-бензилидендеривата хидантоина, према ћелијској линији хуманог епидермалног карцинома A431, утврдио да је егзоциклична двострука веза у положају 5 хидантоинског прстена есенцијална за инхибицију ћелијског раста што указује да је крут планаран систем неопходан за интеракцију на циљном месту [54].

Проучавајући антипролиферативну активност 3-(4-супституисаних бензил)-5,5-дифенилхидантоина и 3-(4-супституисаних бензил)-5-етил-5-фенил-хидантоина, Г. Ушћумлић и сарадници су показали значајну активност ових молекула према ћелијској линији хуманог карцинома дојке, MDA-MB-231 и ћелијској линији хуманог карцинома колоне HCT-116. Активност је нарочито изражена када се на фенилном језгру као супституенти налазе метил-група и халогени елементи [56–59].

Јединствена својства флуорованих молекула добро су позната у медицинској хемији [59]. Присуство флуора у структури биолошки активних молекула је од кључне важности за њихова фармаколошко дејство. Код азаспиро бицикличних система, 8-(3,4-дифлуоробензил)- и 8-(3,4-дихлоробензил)-1'-(пент-

-4-енил)-8-аза спиро[бицикло-[3.2.1]-октан-3,4'-имидазолидин]-2,5-диона (DFH( $R_1 = R_2 = F$ ), DCH ( $R_1 = R_2 = Cl$ ); Слика 4), утврђено је да поседују антитуморну активност према ћелијским линијама хумане леукемије K562, Reh, СЕМ и 8Е5. Претпоставка је да поменути деривати заустављају раст канцерогених ћелија преко измена у DNA репликацији које се завршавају апоптозом [59].



Слика 4. Структура DFH ( $R_1 = R_2 = F$ ) и DCH ( $R_1 = R_2 = Cl$ )

#### 2.1.5.4. Деривати спирохидантоина за лечење дијабетеса

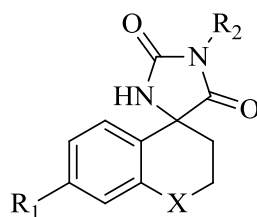
Дијабетес припада групи метаболичких болести. Прати га хипергликемија која је последица дефекта у секрецији инсулина, у деловању инсулина или у оба процеса. Хронична хипергликемија ствара оштећења на многим органима, а нарочито очима, бубрезима, нервима и срцу. Дуготрајне компликације доводе до настанка ретинопатије и могућности губитка вида, нефропатије која може завршити отказивањем бубрега, периферне нефропатије, гастроинтестиналних и кардиоваскуларних оштећења. Утврђено је да је дијабетес типа 1 последица смањене инсулинске секреције. Дијабетес типа 2 (инсулински независни), резултат је резистенције на дејство инсулина у  $\beta$ -ћелијама као и неадекватног излучивања инсулина. Поред два најважнија облика, разликује се и дијабетес који је последица генетског дефекта  $\beta$ -ћелија, генетског дефекта у акцији инсулина, болести панкреаса [60].

Постоји значајна корелација између измењеног полиолског пута одговорног за метаболизам глукозе и дуготрајног напредовања компликација као што су: неуропатије, ретинопатије, нефропатије и катаракта.

Алдоза редуктаза ензим (ARL2) из фамилије алдо-кето редуктаза, први је ензим на полиолском путу, који катализује NADPH (Никотинамид Аденин Динуклеотид Фосфат) зависну редукцију вишка глукозе до сорбитола. На овај начин, знатно се повећава концентрација сорбитола. Његова акумулација је спона ка ћелијском уништењу које се завршава дијабетним компликацијама. Инхибитори ARL2 привукли су пажњу као потенцијални лекови, с обзиром да могу безбедно да спрече или зауставе напредовање дуготрајних компликација, без ризика од појаве хипогликемије јер не утичу на промену концентрације глукозе у крвној плазми [5].

Познат је велики број структурно различитих компонената које инхибирају активност ARL2, али су најделотворнији деривати спирохидантоина, нарочито сорбинил. Добру инхибиторску активност поседују деривати сорбинила код којих је атом кисеоника унутар пиранског прстена замењен атомом сумпора. Такође, утврђено је да је активност 8-аза аналога сорбинила већа од оне коју показује сорбинил [5].

Табела 5. Spiroхидантоински деривати 2,3-дихидротиопирано-(2,3-*b*)-пиридин-4(4*H*)-она



Редни број	X	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
1.	S	H	H
2.	S	H	H
3.	SO <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	H
4.	S	H	CH <sub>2</sub> COOH

Несупституисани и метил супституисани деривати 2,3-дихидротиопирано (2,3-b)-пиридин-4(4H)-она (једињења 1 и 2, Табела 5) изузетно су активни као инхибитори ALR2 са вредностима  $IC_{50}$  (1,  $IC_{50} = 0,96 \mu M$ ; 2,  $IC_{50} = 0,94 \mu M$ ) слично оној код сорбинила ( $IC_{50} = 0,65 \mu M$ ), и за један ред величине већој у односу на толрестат (Tolrestat<sup>®</sup>) [5]. Увођењем карбоксиметил- супституента у хидантоински прстен (једињење 4, Табела 5), смањује се активност одговарајућег аналога сорбинила. Несупституисани дериват (једињење 1, Табела 5) показао је изузетну *in vivo* активност у спречавању нуклеарне катаракте код галактоземијских пацова, попут толрестата [5].

Активност ка инхибицији алдоза редуктазе показали су и деривати спирохидантоина који су синтетисани из петочланих и шесточланих цикличних кетона кондензованих са бензеновим прстеном. Нагли пад активности је уочен код деривата спирохидантоина са циклохептанском јединицом [4].

Прави међусобни однос ароматичног и спирохидантоинског прстена су од кључне важности за добру физиолошку активност. Хидрогенизација или уклањање бензеновог прстена као и померање места спиро чвора у односу на чворна места у кондензованом бицикличном делу система, узрокује драстичан пад активности. Бензенов прстен активног једињења је могуће заменити неком другом ароматичном јединицом попут: тиофена, фурана, пиридина. Замена пиролом се показала као штетна. Супституција халогеном у положају 6-бензодихидропиранског (хроман) и бензодихидротиопиранског (тиохроман) деривата хидантоина изузетно повећава активност [4]. Снажни инхибитори алдоза редуктазе на бази спироимидазолна су од важности као потенцијални агенси у лечењу или превенцији одређених компликација које су последица дијабетеса или галактоземије [28].

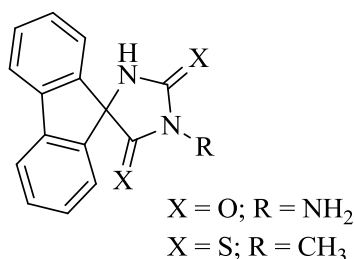
#### **2.1.5.5. Антимикробна активност деривата спирохидантоина**

Термин антибиотик (антибактеријски лек) односи се на супстанце које су метаболити микроорганизама као природни производи или су њихови полусинтетски аналози. Делују антимикробно, инхибирају раст (бактериостатко дејство) или убијају микроорганизме (бактерицидно дејство) са толерантном

токсичношћу према домаћину. Према механизму дејства, антибиотике делимо на: антибиотике који делују на зид ћелије микроорганизма, антибиотике који делују на мембрану цитоплазме и антибиотике који инхибирају синтезу протеина и нуклеинских киселина [61].

Веома значајан и сложен проблем у антимикумној терапији представља резистенција (отпорност) патогених микроорганизма на дејство примењиваних антибиотика. Стога се у хемијској структури антибиотика врше структурне модификације у циљу повећања хемијске стабилности, проширења антимикумног спектра, повећања активности, побољшања фармакокинетичких својстава и смањења токсичности [61]. Међу синтетским антимикумним лековима који су у терапијској употреби налази се и нитрофурански дериват хидантоина, нитрофурантоин (Furadantin®), антибиотик који се користи у терапији инфекција уринарног тракта.

Спирофлуоренил деривати хидантоина и тиохидантоина (Слика 5) налазе се међу малобројним дериватима спирохидантоина чија је антимикумна активност проучавана. 3-Амино-9'-флуоренспиро-5-хидантоин (Слика 5; X = O; R = NH<sub>2</sub>) показао је изразиту активност према Грам-негативној бактерији *Escherichia coli*, док према Грам-позитивној бактерији *Staphylococcus aureus* и гљивици *Candida albicans* није био активан [62]. 3-Метил-9'-флуоренспиро-5-(2,4-дителио)хидантоин (Слика 5; X = S; R = CH<sub>3</sub>) је показао потенцијал као антимикумног агенса према Грам-негативним бактеријама (*Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis*), умерену активност према гљивици *Candida albicans*, а малу или никакву активност према Грам-негативним бактеријама (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica subsp enterica*, *Pseudomonas aeruginosa*) [63].



Слика 5. Деривати флуоренилспирохидантоина са антимикумним дејством

### ***2.1.5.6. Деривати спирохидантоина са антиинфламаторним дејством***

Суочен са нападом патогена, односно, организама који проузрокују болест (бактерије, вируси, гљивице, приони, паразити), организам сисара може да ангажује одбрамбене одговоре чији развој ствара акутну запаљенску/имуноу реакцију. Када одбрамбене снаге недостају (на пример у синдрому стечене имунодефицијенције, AIDS) или су сузбијене лековима, организми који нормално нису патогени, могу да проузрокују обољење (опортунистичке инфекције) [30]. Осим патогених агенаса, агенси који изазивају запаљење могу бити физичке (топлота, хладноћа, јонизујућа зрачења и механичка оштећења), хемијске (киселине, базе, токсичне супстанце) или трауматске (телесна рана или повреда) природе.

Штетни агенси изазивају директно оштећење ћелија, а материје настале услед поремећеног метаболизма ћелија изазивају почетак процеса запаљења. Ћелије ткива у коме се одиграва процес инфламације показују промене од лаких дегенеративних до изумирања. Ове промене су битне за почетак васкуларних, ексудативних (ексудација–излазак течности из ћелија, капилара и ситних вена и појава веће количине слузи на површинама слузнице) и репаративних процеса који следе. Облик, тежина и ток запаљенског процеса зависе од врсте и интензитета штетног агенса, врсте ткива и општег стања организма [64].

У контексту NK-1 рецепторских лиганата, већ је поменут значај спиропиперидинског молекулског скелета у области G протеин-спрегнутих рецептора [42]. Уопштено говорећи, супстанце које су модулатори хемокинских рецептора (рецептори из групе G протеин-спрегнутих рецептора) од значаја су за превенцију или третман инфламаторних обољења, имунорегулаторних обољења, реакције организма на трансплантирани орган, инфективних обољења попут инфекције изазване HIV-ом (вирусом хумане имунодефицијенције) итд [3]. У структури модулатора активности C-C хемокинских рецептора типа 5 (CCR5), као средишња јединица се појављује спиропиперидино-хидантоински фрагмент [3]. Поменути деривати спирохидантоина су од потенцијалног значаја за превенцију или третман обољења која су повезана са модулацијом активности CCR5 хемокинских рецептора. CCR5 је главни HIV-1 корецептор који контролише



осетљивост према HIV-1 инфекцији или болести [65]. Интеракција CCR5 корецептора и вируса HIV-а може да блокира улаз HIV-а у ћелију [3].

#### ***2.1.5.7. Деривати спирохидантоина са аналгетским дејством***

Бол је осећај који је тешко дефинисати. Један је од најчешћих симптома уопште, и представља велики здравствени проблем. Према Међународној асоцијацији за проучавање бола (IASP), бол је непријатно сензорно и емоционално искуство повезано са стварним или потенцијалним оштећењем ткива [66]. Поменута дефиниција узима у обзир и физичку и психичку компоненту бола. Бол је обично директан одговор на штетну појаву која прати оштећења ткива попут повреда, упала или карцинома [30]. Такође, независно од било ког предиспонирајућег фактора може настати јак бол (нпр. тригеминална неуралгија) или може трајати дуго након излечења повреде (нпр. фантомски бол у пределу екстремитета који је ампутиран). Бол може настати без директне повреде ткива, а услед оштећења мозга и нерава (нпр. након шлога или херпесне инфекције) [30]. Овакав бол је неуропатски по природи и има га велики проценат болесника. Према IASP, неуропатски бол је изазван примарном лезијом или дисфункцијом у нервном систему [67]. У основи, кад се нерв оштети, промене у нервним путевима могу резултирати хроничним болом чак и у одсуству даљих подражаја. У случају бола као поремећаја неуролошке функције мало помажу стандардни аналгетици, за разлику од бола чији је непосредни узрок познат [30].

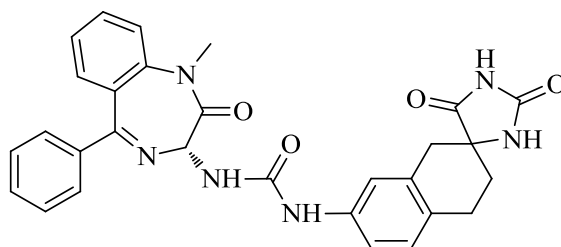
Мигрена је чест, хронични, веома онеспособљавајући неуроваскуларни [69,70] поремећај, окарактерисан нападима јаке, пулсирајуће главобоље у једној половини главе, дисфункцијом аутономног нервног система, и (код неких пацијената) појавом неуролошких симптома пре или током главобоље (тзв. аура). Ово неуролошко обољење погађа више од 12% одраслих особа. Код мигрене без ауре, напади главобоље су обично праћени мучнином, повраћањем, или осетљивошћу на светло, звук или покрет [68].

Терапијски приступ у лечењу мигрене је индивидуалан. Терапија акутног напада мигрене укључује неспецифичне и специфичне лекове. Од неспецифичних лекова се користе аспирин, аналгетици, нестероидни антиинфламаторни лекови итд.

Специфична терапија акутног напада мигрене укључује триптани (деривати триптамина). То су селективни серотонин рецептор агонисти који активирају 5-HT<sub>1B</sub> и 5-HT<sub>1D</sub> рецепторе [68].

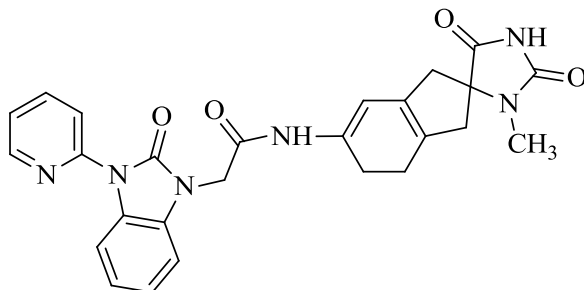
Многа истраживања указују да је кључни играч у патологији мигрене сродан калцитонину (CGRP). Клиничка истраживања су показала да у третману акутне мигрене интравенозно примењени CGRP рецептор антагонист BIBN4096-BS има упоредиву ефикасност са триптанима [68]. Дакле, дизајн молекула који су орално расположиви непептидни CGRP рецептор антагонисти значио би велики напредак у терапији акутне мигрене.

Бензодиазепинон тетралин-спирохидантоин (Слика 6) је препознат као слабо активан CGRP рецептор антагонист са константом ихибиције CGRP  $K_i = 4800$  nM [70]. Овај молекул је послужио као основа за дизајнирање нове групе орално расположивих непептидних бензимидазолинон индан-спирохидантоинских CGRP рецептор антагониста који су синтетизовани и испитивана је њихова активност и орална биорасположивост на експерименталним животињама (пацови, пси, резус мајмуни) [69]. Основна идеја при дизајнирању ових молекула је била да се уз задржавање хидантоинске фармакофоре изврши модификација у структури бензодиазепинонтетралинспиро- хидантоина (Слика 6), са циљем да се добије моћан биорасположиви CGRP рецептор антагонист за лечење мигрене [69].



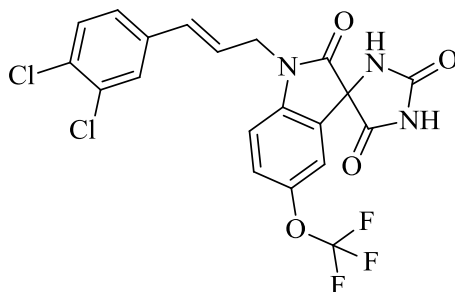
Слика 6. Структура бензодиазепинон тетралин-спирохидантоина

Сви проучавани деривати показали су знатно већу активност у односу на бензодиазепинон. Посебно треба истаћи 2-пиридил супституисани дериват (Слика 7) који се показао као моћан CGRP рецептор антагонист (CGRP  $K_i = 21$  nM), једињење са добром комбинацијом активности и фармакокинетице [69].



Слика 7. 2-пиридил дериват бензимидазолинона као антагонист CGRP рецептора

Осим бензимидазолинон индан-спирохидантоинских деривата, синтетисани су и неки бензоксазолинон тетралин- и индан-спирохидантоини који су имали знатно мању активност у односу на бензимидазолиноне [69]. Дериват индолилспирохидантоина (Слика 8) као инхибитор активности ванилоидног рецептора 1 (VR1 или TRPV1), интересантан је у домену лечења стања која су повезана са поменутиим рецептором (акутан и хроничан бол, акутан и хроничан неуропатски бол, бол при акутној и хроничној упали) [71].



Слика 8. Дериват индолилспирохидантоина, инхибитор активности ванилоидног рецептора (VR1 или TRPV1)

## 2.2. Квантитативна корелација структуре и активности органских молекула

Емпиријске методе за изградњу предиктивних модела којима се повезује структура молекула са њиховим својствима од изузетног су значаја приликом дизајнирања нових лекова. Постоји група метода које се међусобно разликују по својству које се моделује. QSAR (енгл. Quantitative Structure Activity Relationship) је уобичајен назив за методе којима се корелише структура молекула са одређеним *in vitro* или *in vivo* биолошким својством. Када се поменути концепт примени на моделовање токсиколошких података, говори се о QSTR-у (енгл. Quantitative Structure Toxicity Relationship), а када се моделују физичкохемијска својства, употребљава се акроним QSPR (енгл. Quantitative Structure Property Relationship) [72].

Циљ примене поменутих метода је добијање поузданих математичких и статистичких модела који омогућавају предикцију активности нових хемијских ентитета. Развијају се нове математичке релације које на квантитативан начин повезују хемијску структуру и фармаколошку активност серије једињења. Основни принцип који се налази у основи ових метода је да разлика у структурним карактеристикама узрокује варијације у биолошкој активности једињења [73].

1868. Крам-Браун (Crum-Brown) и Фрејзер (Fraser), објавили су једначину којом се први пут повезују структура и активност хемијског једињења. Истражујући различите алкалоиде, закључили су да алкиловање N-атома, доприноси развоју одређених биолошких ефеката код резултујућих кватернерних амонијум једињења у поређењу са базним аминима. Због тога су претпоставили да је физиолошка активност једињења  $\Phi$  функција његове хемијске структуре  $c$  [74]:

$$\Phi = f(c) \quad (1)$$

Ричет (Richet) је открио да је вредност токсичности органских молекула обрнуто зависна од њихове растворљивости у води. То је описано једначином (2) у којој  $\Delta\Phi$  означава промене вредности биолошке активности које су последица измењених физичкохемијских својстава  $\Delta c$ :

$$\Delta\Phi = f(\Delta c) \quad (2)$$

Сви QSAR модели по облику одговарају једначини (2), јер се само промене биолошке активности могу квантитативно корелисати са променама липофилности или другог физичкохемијског својства испитиваног једињења. QSAR анализе заснивају се на претпоставци о линеарном адитивном доприносу различитих структурних својстава његовој биолошкој активности. Логаритамске вредности моларних концентрација које изазивају одређене физиолошке ефекте могу се корелисати са молекулским или физичкохемијским параметрима заснованим на линеарној зависности слободне енергије. Да би се добиле веће вредности активности, употребљавају се логаритамске вредности инверзних концентрација  $\log 1/c$  [74].

Већина QSAR модела базира се на тродимензионој анализи молекула, односно његових електронских својстава (наелектрисање и електростатички потенцијал), стерних својстава (облик и запремина) и липофилних својстава (илуструју поларне и неполарне делове молекула помоћу подеоног коефицијента) [72].

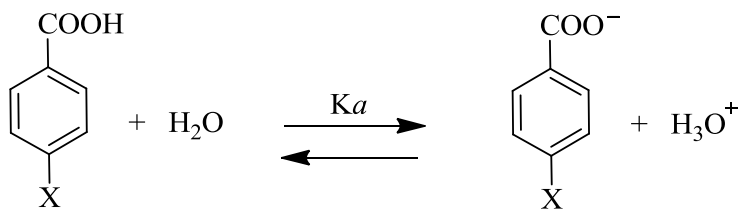
### 2.2.1. Утицај електронских својстава на биолошку активност

Електронска својства молекула могу се описати применом различитих параметара, као што су:

- Хаметове константе ( $\sigma$ ,  $\sigma^+$ ,  $\sigma^-$ ),
- Параметри поља и резонанције ( $F$ ,  $R$ ),
- $pK_a$  вредности,
- Параметри добијени применом молекулске спектроскопије,
- Диполни моменат ( $\mu$ ),
- Параметри водоничног везивања,
- Параметри који су резултат квантохемијских прорачуна (енергија молекулских орбитала и парцијална наелектрисања) [74].

Електронска својства молекула означавају степен осетљивости реакције на преношење електронске густине као и меру потражње реакције за електронима која је одређена њеним механизмом. Хамет (Hammett) је успоставио принцип линеарне корелације слободне енергије, LFER (енгл. Linear Free Energy

Relationship) користећи као модел реакцију јонизације супституисаних бензових киселина у води [73]:



Слика 9. Реакција јонизације супституисаних бензових киселина у води

$$\log (k/k_0) = \rho\sigma \quad (3)$$

$$\log (K/K_0) = \rho\sigma \quad (4)$$

Једначина (3) позната под именом Хаметова једначина, представља квантитативну процену ефеката супституената и може се применити на проучавање механизма великог броја хемијских реакција. Аналогна једначина за равнотежне реакције је једначина (4).

Симболи  $K$  и  $k$  представљају константу равнотеже и брзине за посматрани систем са супституентом  $X$ , а  $K_0$  и  $k_0$  одговарају константи равнотеже и брзине реакције за несупституисани систем ( $X = H$ )  $\rho$  је реакциона константа, а  $\sigma$  је константа супституената [75].

Хаметова константа супституента,  $\sigma$ , представља меру величине електронских ефеката, тј. указује да ли се супституент понаша као електрон-донор или електрон-акцептор и представља меру електронске расподеле у бензеновом језгру. Присуство електрон-донорског супституента на бензеновом језгру, резултира смањеном способношћу ароматичног прстена да стабилизује настали анјон. То фаворизује постојање молекула у облику катјона и у неутралном облику.

Електрон-донорски супституенти (нпр. хидроксилна група, алкил- и алкокси-групе) имају негативне  $\sigma$  вредности [73]. Ако је за бензеново језгро везан електрон-акцепторски супституент (нпр. нитро-група), ароматични прстен је у могућности да стабилизује настали анјон, вредност константе равнотеже  $K$  је већа него за несупституисани систем  $K_0$  те  $\sigma$  има позитивну вредност.  $\rho$  се дефинише

као константа пропорционалности или реакциона константа и представља меру осетљивости реакције на ефекте супституената. Њена позитивна вредност указује да је реакција убрзана електрон-акцепторским супституентима, док је негативна вредност показатељ већег утицаја електрон-донорских супституента на ток реакције [73].

Једначина (3) се примењује на реакције које садрже *m*- и *p*-супституисано бензеново језгро. У *m*-положају, електрон-акцепторско дејство последица је индуктивног ефекта супституента, док је у *p*-положају присутан резонанциони и индуктивни ефекат због чега је вредност константе  $\sigma_p$  већа у односу на константу  $\sigma_m$  [73].

Хаметова једначина није применљива на системе у којима се супституент налази у *o*-положају у односу на реакциони центар с обзиром да на реактивност оваквих система утичу стерни или директни поларни ефекти (ономогућено је разматрање квантитативног утицаја електронских ефеката супституената на реакциони центар). Сходно томе, Чартон (Charton) је раздвојио *o*-електронски ефекат на индуктивни, резонанциони и стерни допринос, тј. на  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $x$  параметре осетљивости реакције или реакционе константе. Развио је проширени облик Хаметове једначине:

$$\log k = \alpha\sigma_I + \beta\sigma_R + xr_v + h \quad (5)$$

где су  $\sigma_I$  и  $\sigma_R$  индуктивни и резонанциони допринос супституената,  $r_v$  је минимални Ван дер Валсов (Van der Waals) радијус, а  $h$  је одсечак. Фуџита (Fujita) и Нишиока (Nishioka) су применили интегрисани приступ на сет једињења која су садржала *o*-, *m*-, и *p*-супституенте формиравши једначину облика:

$$\log k = \rho\sigma + \delta E_s^{ortho} + fF^{ortho} + c \quad (6)$$

у којој су константе  $\sigma_p$  замењене Тафтовим (Taft) стерним параметром  $E_s$  и Свеин-Лаптоновим (Swain-Lupton) параметром поља  $F^{ortho}$  [73].

### 2.2.2. Стерни утицаји на биолошку активност

Иако су стерни параметри изузетно значајни при успостављању интеракција типа лиганд-рецептор као и приликом транспорта лека на нивоу ћелије [73], веома их је тешко квантификовати због непознавања 3D структуре лека и места његовог везивања [74].

Тафт је 1952. године установио једначину која раздваја поларне, стерне и резонанционе ефекте, увођењем стерног параметра  $E_s$  који се дефинише на следећи начин:

$$E_s = \log (k_X/k_H)_A \quad (7)$$

где су  $k_X$  и  $k_H$  брзине киселе хидролизе естара  $XCH_2COOR$  и метил естара  $CH_3COOR$ , редом. Ханкок (Hancock) је модификовао Тафтов стерни параметар укључивши допринос C–H хиперкоњугације и предложио следећу једначину:

$$E_s^c = E_s + 0,306 (n-3) \quad (8)$$

где је  $n$  број  $\alpha$ -водоникових атома; 0,306 је константа која потиче од молекуларно орбиталних прорачуна. Недоступност параметара  $E_s^c$  и  $E_s$  за све супституенте искључила је њихову примену из QSAR модела [73].

Чартон је установио постојање јаке корелације између Тафтове стерне константе и Ван дер Валсовог радијуса  $v_x$  (једначина 9):

$$E_s = -2,062 (\pm 0,86)v_x - 0,194 (\pm 0,10) \quad (9)$$

$$v_x = r_X - r_H = r_X - 1,20 \quad (10)$$

У једначини (10),  $r_X$  и  $r_H$  означавају минимални Ван дер Валсов радијус супституента и атома водоника [73].

Један од најчешће коришћених стерних параметара је моларна рефрактивност  $MR$  која се може дефинисати преко Лоренц-Лоренцове (Lorentz-Lorenz) једначине:

$$MR = [(n^2-1) / (n^2 + 2)]V \quad (11)$$

где је  $n$  индекс рефракције, а  $V$  је запремина молекула. Однос  $(n^2-1) / (n^2 + 2)$  означава корекциони фактор који показује лакоћу поларизације супституента. Од изузетног је значаја за супституенте који садрже  $\pi$ -електроне или слободне електронске парове. Иако је замишљена као груба мера волуминозности супституента, моларна рефрактивност укључује компоненту поларизабилности која је повезана са Лондоновим дисперзионим силама и не садржи податке о облику молекула [73].

Немогућност моларне рефрактивности да адекватно опише тродимензиони облик молекула, довела је до развоја Верлупових (Verloop) STERIMOL параметара који дефинишу стерна ограничења датог супституента дуж неколико фиксираних оса. За описивање облика који молекул заузима у простору,



употребљава се сет од пет параметара ( $L, B_1, B_2, B_3, B_4$ ).  $L$  означава дужину супституента која је одређена дуж осе која повезује супституент и остатак молекула [73], а  $B_1$ - $B_4$  су међусобно ортогонални параметри ширине. Распоређени су тако да је  $B_1$  најмањи а  $B_4$  највећи [74].

Верлуп је потом установио да је довољна употреба мањег броја параметара при формулисању QSAR модела. То су незнатно модификован параметар  $L$ , минимална ширина  $B_1$  и максимална ширина  $B_5$  која је ортогонална на  $L$  [73].

### 2.2.3. Утицај хидрофобности/липофилности на биолошку активност

Липофилност тј. хидрофобност привукла је доста пажње у QSAR моделима због своје директне повезаности са растворљивошћу молекула у води, мембранском пропустљивошћу и доприноса везивању лиганда за рецептор. Липофилност се дефинише преко расподеле једињења између водене и неводене (органске) фазе. Однос концентрација једињења у органској и воденој фази одређен у стању равнотеже представља подеони коефицијент (једначина 12).

$$P = C_{org} / C_{vod} \quad (12)$$

Због могућности асоцијације молекула раствора у органској фази (формирањем димера карбоксилне киселине), подеоне коефицијенте треба мерити при ниским концентрацијама једињења или добијене  $P$  вредности треба екстраполисати до бесконачно разблаженог раствора [74].

Након пионирског Ханшовог (Hansch) рада о одређивању подеоног коефицијента код супституисаних феноксиацетатних киселина, као референтни растварач за мерење овог коефицијента употребљава се *n*-октанол. Двофазни систем *n*-октанол/вода поседује бројне предности у поређењу са другим сличним системима:

- Модел одговара грађи липидног двослоја биолошких мембрана, због дугачког алкил- ланца и поларних хидроксилних група;
- ОН-група се понаша и као дозор протона и као акцептор протона интерагујући са великим бројем поларних група из различитих раствора;
- Упркос свом липофилном карактеру, раствара велики број органских једињења у поређењу са другим растварачима [74].

Коришћењем двофазног система *n*-октанол/вода измерена је вредност подеоних коефицијената за серију једињења што је резултирало успостављањем нове хидрофобне скале [73]. Ханш је дефинисао липофилни/хидрофобни параметар  $\pi$  по узору на Хаметове константе супституената:

$$\pi_X = \log P_{R-X} - \log P_{R-H} \quad (13)$$

где су  $P_{R-X}$  и  $P_{R-H}$  подеони коефицијенти супституисаног и несупституисаног једињења. Једина разлика у односу на Хаметову једначину је одсуство параметра еквивалентног реакционој константи, јер се  $\pi$  вредности односе само на ароматичне супституенте и подеоне коефицијенте одређене у систему октанол/вода [74].

Константа хидрофобности супституента  $\pi$ , мера је његове релативне хидрофобности у односу на водоник. Позитивне  $\pi$  вредности, указују да је супституент хидрофобнији од водоника, док негативне вредности показују мању хидрофобност у поређењу са водоником [73].

Рекер (Rekker) је закључио да је неоправдано примењивати  $\pi$  вредности за алифатична једињења, због чега је дефинисао фрагментну константу супституената:

$$\log P = \sum a_i f_i \quad (14)$$

где је  $a_i$  број појава фрагмента са липофилним доприносом  $f_i$ . Наведена константа је мера апсолутног липофилног доприноса одређеног супституента или групе и не зависи од замене водониковог атома другим атомом као што је то случај код  $\pi$  вредности [74].

#### 2.2.4. Вишепараметарски модели корелације структуре и активности

Ханшов модел представља једну од најчешћих метода које се примењују у области QSAR-а. Развијена је на основу следећих постулата:

- Током расподеле лека која се одвија процесом пасивне дифузије, лек се допрема до рецептора, прелазећи при томе преко неколико липидних баријера;
- Лек се везује за рецептор (критични реакциони центар) формирајући комплекс;

- Комплекс лек-рецептор може да се подвргне хемијским реакцијама или променама конформације да би се постигла жељена активност;
- Лекови који припадају једној серији показују исти механизам деловања [76].

Зависност биолошке активности од липофилности може бити линеарна и параболска што је условљено транспортом лека од места примене до активног места као и интеракцијама које остварује са рецептором. Ханш је предложио линеарну и нелинеарну зависност биолошке активности од различитих физичкохемијских параметара једињења [73].

Линеарна Ханшова једначина (15) представља проширење Хаметове једначине са органских на биолошке системе:

$$\log (1/C) = a \log P + b\sigma + cE_s + d \quad (15)$$

Искуство је показало да повећање  $\log P$  у односу на оптималну липофилност  $\log P_o$ , не узрокује линеарно увећање биолошке активности, него је понекад и смањује. Разлог је чињеница да мала хидрофобност молекула утиче на њихово задржавање у воденом раствору, док високо хидрофобни аналози остају унутар првог липидног слоја. Способност везивања лека за ензим или рецептор зависи од његових липофилних и електронских својстава. Ово су били разлози за стварање параболске једначине која повезује биолошку активност и хидрофобност у једном математичком моделу:

$$\log (1/C) = -a(\log P)^2 + b \log P + k \quad (16)$$

Током своје насумичне расподеле између водене и неводене фазе једињење учествује у неколико различитих процеса и реагује са великим бројем биолошких компонената. За њихов адекватан опис развијена је општа QSAR једначина:

$$\log (1/C) = -a(\log P)^2 + b \log P + \rho\sigma + \delta E_s + k \quad (17)$$

где је  $P$  подеони коефицијент,  $\sigma$  Хаметова електронска константа,  $E_s$  Тафтов стерни параметар,  $a$ ,  $b$ ,  $c$  регресиони коефицијенти одређени вишеструком регресијом,  $k$  константа,  $\rho$ ,  $\delta$  константе пропорционалности које описују осетљивост реакције на електронску густину [73].

### 2.3. Утицај растварача на апсорпционе спектре органских молекула

Када зрак електромагнетног зрачења пролази кроз неко једињење, може да дође до апсорпције или до пропуштања зрака што зависи од његове фреквенције и структуре једињења. Када молекул апсорбује електромагнетно зрачење, расте му енергија која доводи повећања вибрације или ротације атома или преводи електроне у више енергетско стање:

$$\Delta E = h\nu \quad (18)$$

где је  $\Delta E$  повећање енергије у J,  $h$  Планкова константа,  $6,4 \cdot 10^{-34}$  J/s,  $\nu$  фреквенција у Hz [75].

Показало се да се положај, интензитет и облик апсорпционих трака мења са променом поларности растварача у коме се налази једињење на које се делује електромагнетним зрачењем [75]. Ове промене су резултат физичких интермолекулских интеракција између растворене супстанце и растварача као што су: јон-дипол, дипол-дипол, дипол-индуковани дипол и водонично везивање које теже да смање енергетску разлику између основног и ексцитованог стања апсорбујућих једињења тј. њихових хромофора. Термин хромофора односи се на део органског молекула (понекад и цео молекул) који може да апсорбује светлост. На пример C=C група етена или 1-хексена, која је одговорна за  $\pi \rightarrow \pi^*$  прелазе унутар UV-апсорпционих спектра је хромофора ових алкена [77]. Свака хромофора има карактеристичне вредности  $\lambda_{max}$  и  $\epsilon_{max}$ . Ове вредности веома зависе од других група присутних у молекулу тј. од структуре молекула. Групе које изазивају батохромни ефекат односно померање апсорпционог максимума према већим таласним дужинама јесу електрон-донорски супституенти као што су: алкил-, хидрокси-, алкокси- и аминоксигрупа. Померај према краћим таласним дужинама назива се хипсохромни померај и изазивају га електрон-акцепторски супституенти [75].

При озрачивању једињења ултраљубичастим светлом електрон молекула прелази у орбиталу вишег електронског садржаја. То може бити  $\sigma$ -електрон,  $\pi$ -електрон или  $n$ -електрон. Могући су следећи електронски прелази:

- $n \rightarrow \pi^*$ , када електрон слободног електронског пара прелази у мање стабилну антивезивну  $\pi^*$  орбиталу,

- $\pi \rightarrow \pi^*$ , када електрон прелази из стабилне  $\pi$  орбитале у нестабилну  $\pi^*$  орбиталу,
- $\sigma \rightarrow \sigma^*$ , када везујући  $\sigma$ -електрони прелазе у мање стабилну  $\sigma^*$  орбиталу [75].

Електронски прелази који су изузетно значајни за органска једињења су  $\pi \rightarrow \pi^*$ ,  $n \rightarrow \pi^*$ , као и интрамолекулски трансфер наелектрисања (ИСТ) [77].

Термин солватохромизам описује веома изражену промену положаја и интензитета апсорпционе или емисионе траке раствореног једињења која је последица промене поларности растварача. Батохромно (црвено) померање апсорпционе траке са повећањем поларности растварача, познато је као позитиван солватохромизам. Насупрот томе, хипсохромно (плаво) померање, резултат је усмеравања апсорпционог максимума ка нижим таласним дужинама [77]. Батохромно померање указује да се  $\Delta E$  смањује, док хипсохромно померање значи да се  $\Delta E$  повећава са променом растварача. Постоје две могућности:

- Ако је диполни моменат основног стања већи у односу на диполни моменат ексцитованог стања ( $\mu_g > \mu_e$ ), мање диполарно ексцитовано стање је окружено солватационом љуском оријентисаном према поларном растварачу. Након промене медијума ка растварачу веће поларности, ексцитовано стање је више дестабилизовано у односу на основно,  $\Delta E$  расте и јавља се хипсохромно померање.

- Ако је диполни моменат основног стања мањи у односу на диполни моменат ексцитованог стања ( $\mu_g < \mu_e$ ), мање диполарно основно стање је окружено солватационом љуском оријентисаном према поларном растварачу. Повећање поларности растварача стабилизује ексцитовано стање у односу на основно доводећи до батохромног померања [77].

### 2.3.1. Солватохромна једињења

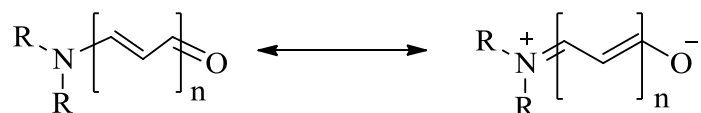
Солватохромна једињења показују значајну разлику између диполних момената основних и ексцитованих стања. Због своје осетљивости на промене окружења, пронашла су примену у проучавању интеракција растворене супстанце и растварача. Спектри солватохромних једињења имају веома изражена померања

апсорпционих трака у растварачима различите поларности. Према томе, солватохромизам представља меру осетљивости једињења на промене окружења, која је изражена преко промене његових спектра у одговарајућим растворима. Ове спектралне промене се могу приписати измени интеракција растворена супстанца-растварач услед варирања одговарајућих фактора [77].

Органска једињења са хромофорама које садрже  $\pi$ -електроне, могу се на основу своје идеалне електронске структуре, класификовати у три групе: ароматична једињења, полиени (и полиини) и полиметини. Насупрот ароматичним једињењима и полиенима, полиметини су класични коњуговани молекули са једнаким дужинама веза и распоредом наелектрисања дуж метинског ланца. Поседују заједничка структурна својства [77]:

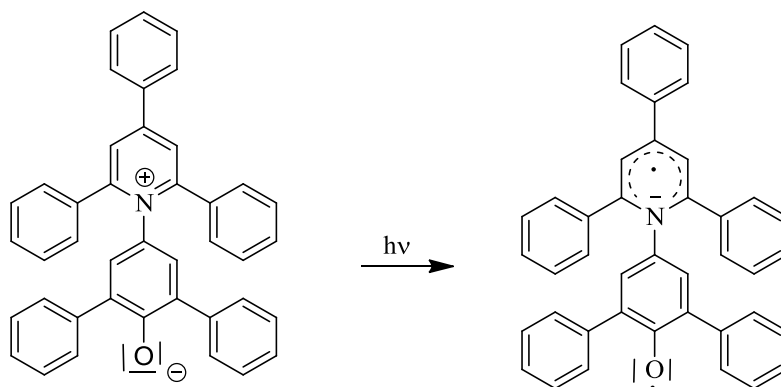
- $...(n + 3)\pi...$                        $n = 1, 3, 5, 7...$   
 $X-(CR)_n-X'$                        $R = H$  или супституенти  
     $X, X' =$  терминални атом (N, O, P, S) или атомска група  
 $X = X'$                                       полиметиленске боје ( $X = X' = N$ : цијанини,  $X = X' = O$ : оксоноли)  
 $X \neq X'$                                       мерополиметријске боје ( $X = N$ : и  $X' = O$ : мероцијанини)

Од посебног су значаја интрамолекулски јонизоване мерополиметинске боје (нарочито мероцијанинске) чије се електронске структуре налазе између полиенске и полиметинске зависно од природе X и X' као и поларности растварача. Ово су системи у којима је електрон-донорска група (D) повезана преко коњугованог система (R) са електрон-акцепторком групом (A). Њихова  $\pi$ -електронска структура се може описати преко две мезомерне структуре: D-R-A  $\leftrightarrow$  D<sup>+</sup>-R-A<sup>-</sup>. Пример је винилна мероцијанинска боја (n = 0,1...) (Слика 10) [77]:



Слика 10: Структура винилне мероцијанинске боје

Електронски прелаз је праћен интрамолекулским трансфером наелектрисања (ICT) између електрон-донорске и електрон-акцепторске групе, при чему се формира ексцитовано стање са диполним моментом ( $\mu_e$ ) који се знатно разликује од диполног момента основног стања ( $\mu_g$ ). Експериментално је утврђено да само они молекули са  $\pi$ -електронима код којих се расподела наелектрисања у основном стању знатно разликује од оне у ексцитованом стању поседују изражен солватохромизам. Код органских једињења као што су: ароматична једињења, полиени, полиини и симетричне полиметинске боје, уочен је слаб утицај растварача на апсорпционе спектре. За разлику од ових неполарних једињења, веома изражен утицај растварача, уочен је код диполарних мерополиметинских боја, нарочито мероцијанина, због промене диполних момената током прелаза електрона. Пример је негативан солватохромизам пиридинијум N-фенолата (Слика 11). Његова апсорпциона трака померена је за  $\Delta\nu = 9730 \text{ cm}^{-1}$  ( $\Delta\lambda = 357 \text{ nm}$ ) током промене растварача од дифенилтра до воде. Раствори ове бетаинске боје су црвени у метанолу, љубичасти у етанолу, плави у изоалилалкохолу, зелени у ацетону, жути у анизолу чиме је обухваћена цела видљива област [77].



Слика 11: ICT код 2,6-дифенил-4-(2,4,6-трифенилпиридинијум-1-ил)фенолата

Ово изузетно дугачко померање  $\pi \rightarrow \pi^*$  апсорпционе траке проузроковано растварачем, које се може окарактерисати као ICT, искоришћено је да се уведе хемијски параметар поларности растварача, назван  $E_t(30)$ . Може се употребити за UV-Vis спектроскопско одређивање воде или других поларних растварача у бинарној мешавини растварача различите поларности. Као што је приказано на

Слици 11, процес апсорпције ове бетаинске боје повезан је са ICT-ом из фенолата према пиридинијумском језгру. Различита солватација високо диполарног цвистерјонског основног стања и мање диполарног ексцитованог стања за последицу има веома изражен негативан солватохромизам [77].

Недостатак свеобухватног теоријског модела за рачунање или предикцију ефеката растварача на хемијску реактивност као и неадекватно дефинисање поларности растварача помоћу једноставних физичких параметара (диелектрична константа, диполни моменат, индекс рефракције), довели су до развоја емпиријских параметара поларности растварача. На основу претпоставки да се одговарајући апсорпциони спектри могу искористити као погодни модели за одређивање ефеката растварача, формирано је неколико емпиријских скала помоћу којих се процењује поларност растварача [78].

Први емпиријски параметар којим се описује јонизациона моћ растварача је *Y*-скала коју је поставио Винстајн (Winstein) на основу  $S_N1$  хетеролизе 2-хлор-2-метилпропана. Брукер (Brooker) је предложио да солватохромне боје могу да се употребе као визуелни индикатори поларности растварача, али је зато Косовер (Kosower) поставио прву скалу поларности растварача. Названа је *Z*-скала и формирана је на основу интрамолекуларног трансфера наелектрисања који се одвија у оквиру референтног молекула 1-етил-4-(метоксикарбонил) пиридинијум-јодида под утицајем одговарајућег растварача. Од тада је формиран велики број различитих скала којима се мери поларност растварача на основу позитивног и негативног солватохромизма који показују боје различите структуре. Обим скале зависи од хемијске структуре референтног једињења као и могућности препознавања одређених типова међумолекулских интеракција [78].

#### 2.4. Вишепараметарски приступ у оцени ефеката солватације

Ефекти растварача су често сложенији и специфичнији у односу на ефекте супституената. У циљу разматрања два или више аспеката солватације, формирана је вишепараметарска једначина:

$$A = A_0 + bB + cC + dD + \dots \quad (18)$$



где је  $A$  физичкохемијско својство које зависи од растварача ( $\log K, \log k, h\nu$ ),  $A_0$  је вредност одговарајућег својства у гасовитој фази или инертном растварачу,  $B, C, D$  представљају независне али међусобно комплементарне параметре растварача којима се описују различити интеракциони механизми,  $b, c, d$  су регресиони коефицијенти [79].

Веома успешан двопараметарски приступ за описивање ефеката растварача, предложили су Криговски (Krugowski) и Фавет (Faweett). При томе су пошли од чињенице да само треба разматрати специфичне интеракције растворене супстанце са растварачем. Закључили су да се утицај растварача на својство растворене супстанце може посматрати као линеарна функција два независна али међусобно комплементарна параметра којима се описује Луисова киселост и базност растварача.  $E_t(30)$  вредности су одабране као мера Луисове киселости, док је Гутманов (Gutmann) донорски број  $DN$  употребљен као мера базности растварача. На основу тога, утицај растварача на својство растворене супстанце се може представити помоћу једначине:

$$A = A_0 + \alpha E_t(30) + \beta DN \quad (19)$$

где су  $\alpha$  и  $\beta$  регресиони коефицијенти који описују осетљивост својства растворене супстанце  $A$  према електрофилним и нуклеофилним карактеристикама растварача. Да би се применила једначина (19), неопходно је претпоставити да су неспецифичне интеракције растворене супстанце са растварачем занемарљиве или константне, као и да се могу повезати са параметрима као што су Луисова базност и киселост [79].

Једначина (19) је у сагласности са открићима до којих је дошао Свейн (Swain) а односе се на чињеницу да се ефекти растварача могу рационализовати применом две комплементарне скале. Скалом  $A_j$  мери се базност растварача, тј. његова способност да солватише анјон, док се скала  $B_j$  употребљава за одређивање киселости растварача, односно његове способности да солватише катјон. Добијена је следећа једначина:

$$XYZ = (XYZ)_0 + a_i A_j + b_i B_j \quad (20)$$

Мултипараметарски приступ који се највише примењује у процени ефеката растварача поставили су Камлет и Тафт. Заснован је на линеарној корелацији

енергије солватације (LSER). Користећи три спектроскопски одређена солватохромна параметра,  $\pi^*$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ , формирана је једначина облика:

$$XYZ = (XYZ)_0 + s(\pi^* + d\delta) + a\alpha + b\beta + m\delta_H \quad (21)$$

где су регресиони коефицијенти  $(XYZ)_0$ ,  $s$ ,  $a$ ,  $b$ ,  $m$ , мера осетљивости реакције или својства на дејство растварача. Солватохромни параметар  $\pi^*$  је мера способности растварача да стабилизује суседно наелектрисање или дипол преко неспецифичних диелектричних интеракција. Због тога је у оквиру  $\pi^*$  вредности садржана и поларност и поларизабилност растварача. Назив параметра потиче од утицаја растварача на померање  $\pi \rightarrow \pi^*$  апсорпционих максимума нитроароматичних једињења која су узета као стандарди. Опсег наведене скале је од 0,00 за циклохексан до 1,00 за диметилсулфоксид.

Параметар  $d\delta$  којим се врши корекција поларизабилности, има вредност 0 за нехлороване алифатичне раствараче, 0,5 за полихлорсупституисане алифатичне раствараче и 1,00 за ароматична једињења. Солватохромни параметар  $\alpha$  је квантитативна емпиријска мера способности волуминознијег растварача да буде дозор протона (HBD), тј. да се понаша као акцептор електронског пара приликом формирања водоничне везе. Његове вредности износе 0 за алифатичне и ароматичне угљоводонике, 0,5–1 за метанол и преко 1 за хексафлуоризопропилалкохол. Солватохромни параметар  $\beta$  представља квантитативну емпиријску меру способности волуминозног растварача да се понаша као акцептор протона (HBA), тј. дозор електронског пара у водоничној или координативној вези.  $\beta$  скала се креће у опсегу од 0 за циклохексан од 1,0 за хексаметилфосфаттриамид. Четврти солватохромни параметар је  $\delta_H^2$ , тзв. шупљина растварача и односи се на кохезивни притисак, тј. кохезивну енергетску густину. Одговара ендоергичком процесу раздвајања молекула растварача како би се обезбедио одговарајући простор за смештање једног молекула растворене супстанце и такође се односи на рад који је потребно уложити да би се формирала одговарајућа шупљина у оквиру молекула растварача по јединици запремине. Одговарајућа асоцијација молекула растварача условљена је њиховом хемијском структуром и може се квантификовати одређивњем кохезионог притиска [78].

Увелико се примењују и алтернативне скале за одређивање поларности растварача које су поставили Каталани и сарадници. Предност поменутог приступа

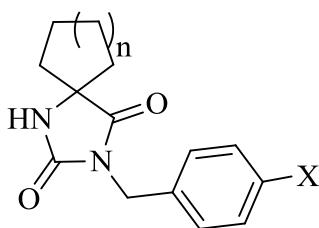
у односу на Камлет-Тафтову вишепараметарску једначину је да је сваки солватохромни параметар базиран на пару добро дефинисаних реферантних солватохромних проба као и да се поларизабилност постепено мери применом наведених параметара. Једначина коју је предложио Каталан (Catalan) садржи по два параметра за квантификовање специфичних и неспецифичних интеракција:

$$A = A_0 + aSA + bSB + sSP + tSdP \quad (22)$$

где је  $A$  физичкохемијско својство у функцији растварача,  $A_0$  је статистичка вредност својства која одговара вредности проучаваног својства у гасној фази,  $SA$ ,  $SB$ ,  $SP$ ,  $SdP$  представљају међусобно независне и комплементарне параметре растварача којима се описују различити типови интеракција између молекула растворене супстанце и растварача;  $a$ ,  $b$ ,  $s$ ,  $t$  су регресиони коефицијенти који описују осетљивост својства  $A$  према различитим типовима интеракција између молекула растворене супстанце и растварача [80].

### **3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО**

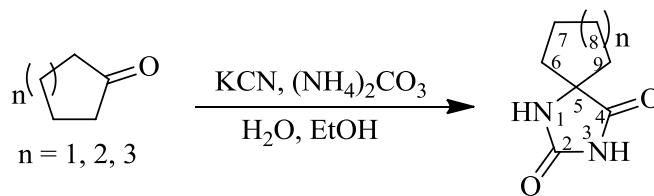
У оквиру проучавања односа структуре и биолошке активности деривата циклоалканспиро-5-хидантоина, у овом раду синтетисане су три нове серије једињења и то: 3-(4-супституисани бензил)циклопентанспиро-5-хидантоини, 3-(4-супституисани бензил)циклохексанспиро-5-хидантоини и 3-(4-супституисани бензил)циклохептанспиро-5-хидантоини (Слика 12). Сва једињења су први пут синтетисана у овом раду према модификованим поступцима из литературе и потпуно структурно окарактерисана температурама топљења, FT-IR,  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  NMR и UV-Vis спектроскопијом и рендгенском структурном анализом. Биолошка активност свих синтетизованих једињења као потенцијалних антипролиферативних агенаса одређена је применом МТТ теста.



Слика 12. 3-(4-супституисани бензил)циклоалканспиро-5-хидантоини синтетизовани у овом раду, ( $X = \text{H}, \text{CH}_3, \text{OCH}_3, \text{Cl}, \text{Br}, \text{CN}, \text{NO}_2$ ) ( $n = 1, 2, 3$ )

### 3.1. Општи поступак синтезе циклоалканспиро-5-хидантоина

За припрему циклоалканспиро-5-хидантоина (**1–3**), коришћен је модификован Бучерер-Либов поступак [13] (Шема 18). Одговарајући циклоалканон (0,072 mol) се раствори у смеши етанола (56,25 ml) и воде (50 ml), а потом се дода 7,12 g калијум-цијанида (0,109 mol) и 29,75 g амонијум-карбоната (0,310 mol). Реакциона смеша се загрева уз рефлукс током 7 дана, затим се охлади до собне температуре и закисели концентрованом хлороводоничном киселином (10 ml). Сирови циклоалканспиро-5-хидантоин таложи се током ноћи уз хлађење на 5 °C, потом се пречишћава рекристализацијом из 95% етанола. Добијена једињења су потпуно структурно окарактерисана одређивањем температуре топљења, FT-IR,  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  NMR спектроскопијом и елементарном анализом.



*Шема 18. Синтеза циклоалканспиро-5-хидантоина према модификованом Бучерер-Либовом поступку*

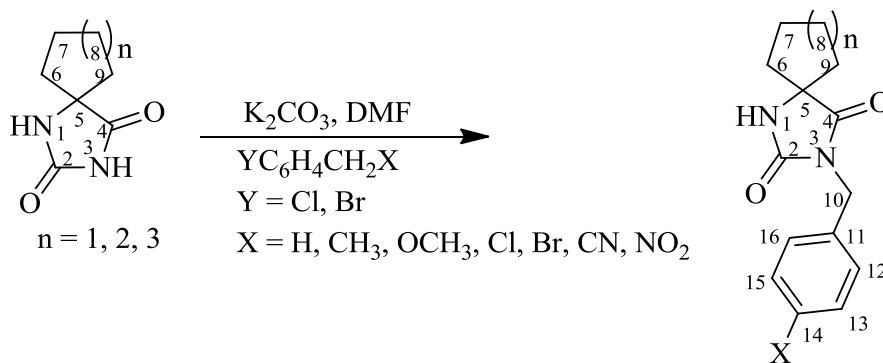
*Циклопентанспиро-5-хидантоин* ( $C_7H_{10}N_2O_2$ ) (**1**). Бела кристална супстанца; принос 60%; т.т.: 204–205 °C (205–205,5 °C [13]); IR (KBr,  $\nu/cm^{-1}$ ): 3216 (NH), 3073 (NH), 1777 (C=O), 1737 (C=O);  $^1H$  NMR (200 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta/ppm$ ): 10,55 (s, 1H, N(3)H), 8,16 (s, 1H, N(1)H), 1,94–1,63 (m, 8H,  $C_5H_8$ ) ppm;  $^{13}C$  NMR (50 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta/ppm$ ): 179,7 (C4), 156,6 (C2), 68,5 (C5), 37,4 (C6, C9), 24,9 (C7, C8). Елементарна анализа: Израчунато за  $C_7H_{10}N_2O_2$  (154,17): C, 54,54; H, 6,54; N, 18,17. Одређено (%): C, 54,50; H, 6,57; N, 18,14.

*Циклохексанспиро-5-хидантоин* ( $C_8H_{12}N_2O_2$ ) (**2**). Бела кристална супстанца; принос 65%; т.т.: 215–218 °C (219–220 °C [13]); IR (KBr,  $\nu/cm^{-1}$ ): 3281 (NH), 3161 (NH), 1774 (C=O), 1737 (C=O);  $^1H$  NMR (200 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta/ppm$ ): 10,53 (s, 1H, N(3)H), 8,38 (s, 1H, N(1)H), 1,59–1,17 (m, 10H,  $C_6H_{10}$ );  $^{13}C$  NMR (50 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta/ppm$ ): 178,8 (C4), 156,6 (C2), 62,3 (C5), 33,5 (C6, C10), 24,7 (C8), 21,1 (C7, C9). Елементарна анализа: Израчунато за  $C_8H_{12}N_2O_2$  (168,19): C, 57,13; H, 7,19; N, 16,66. Одређено (%): C, 57,10; H, 7,22; N, 16,64.

*Циклохептанспиро-5-хидантоин* ( $C_9H_{14}N_2O_2$ ) (**3**). Бела кристална супстанца; принос 62%; т.т.: 214–217 °C (213–215 °C [13]); IR (KBr,  $\nu/cm^{-1}$ ): 3215 (NH), 3125 (NH), 1765 (C=O), 1709 (C=O);  $^1H$  NMR (200 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta/ppm$ ): 10,46 (s, 1H, N(3)H), 8,22 (s, 1H, N(1)H), 1,81–1,55 (m, 12H,  $C_7H_{12}$ );  $^{13}C$  NMR (50 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta/ppm$ ): 180,0 (C4), 156,6 (C2), 64,8 (C5), 37,1 (C6, C11), 29,0 (C8, C10), 22,3 (C7, C9). Елементарна анализа: Израчунато за  $C_9H_{14}N_2O_2$  (188,22): C, 59,32; H, 7,74; N, 15,37. Одређено (%): C, 59,30; H, 7,77; N, 15,34.

### 3.2. Општи поступак синтезе 3-(4-супституисаних бензил) циклоалкан- -спиро-5-хидантоина

3-(4-супституисани бензил)-циклоалканспиро-5-хидантоини (**1.1–1.7**; **2.1–2.7** и **3.1–3.7**) припремљени су према модификованој методи из литературе [81] (Шема 19). 0,01 mol одговарајућег циклоалканспиро-5-хидантоина и 6 g (0,09 mol) калијум-карбоната, растворе се у 60 ml диметилформаида (DMF) и након пола сата у раствор се дода 0,011 mol алкил-халогенида (бензил-бромид, 4-метил-бензил-хлорид, 4-метоксибензил-хлорид, 4-хлорбензил-хлорид, 4-бром-бензил-бромид, 4-бромметил-бензонитрил, 4-нитробензил-бромид). Реакциона смеша се загрева на 80 °C током три дана. Затим се излива у троструко већу запремину воде и екстрахује са 60 ml етил-ацетата. Органски слој се испира са 20 ml 5% раствора натријум-хидроксида и 20 ml воде и суши уз додатак мале количине магнезијум-сулфата. Заостали растварач уклања се дестилацијом а сирови 3-(4-супституисани бензил)циклоалканспиро-5-хидантоин пречишћава се рекристализацијом из етанола. Добијена једињења су потпуно структурно окарактерисана одређивањем температуре топљења, FT-IR, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR и UV-Vis спектроскопијом и елементарном анализом.



Шема 19: Синтеза 3-(4-супституисаних бензил)циклоалканспиро-5-хидантоина

3-Бензилциклопентанспиро-5-хидантоин (C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (**1.1**) Бела кристална супстанца; принос 66%; т.т.: 87–90 °C; IR (KBr, ν/cm<sup>-1</sup>): 3238 (NH), 1768 (C=O), 1711 (C=O); <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ/ppm): 8,59 (s, 1H, N(1)H), 7,37–7,20

(m, 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 4,53 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-), 1,99–1,68 (m, 8H, C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ/ppm): 177,7 (C4), 155,8 (C2), 137,2 (C11), 128,8 (C13, C15), 127,6 (C14), 127,4 (C12, C16), 67,5 (C5), 41,6 (C10), 37,4 (C6, C9), 24,9 (C7, C8).  
Елементарна анализа: Израчунато за C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (244,30): C, 68,83; H, 6,60; N, 11,47. Одређено (%): C, 68,80; H, 6,62; N, 11,43.

*3-(4-Метилбензил)циклопентанспиро-5-хидантоин* (C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (**1.2**) Бела кристална супстанца; принос 57%; т.т.: 141–143 °C; IR (KBr, ν/cm<sup>-1</sup>): 3216 (NH), 1772 (C=O), 1706 (C=O); <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ/ppm): 8,56 (s, 1H, N(1)H), 7,13 (s, 4H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 4,48 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-), 2,12 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 1,91–1,67 (m, 8H, C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ/ppm): 177,6 (C4), 155,8 (C2), 136,8 (C14), 134,2 (C11), 129,3 (C13, C15), 127,5 (C12, C16), 67,5 (C5), 41,00 (C10), 37,4 (C6, C9), 24,9 (C7, C8), 20,9 (C17). Елементарна анализа: Израчунато за C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (258,32): C, 69,74; H, 7,02; N, 10,84. Одређено (%): C, 69,80; H, 7,03; N, 10,89.

*3-(4-Метоксибензил)циклопентанспиро-5-хидантоин* (C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) (**1.3**) Бела кристална супстанца; принос 56%; т.т.: 96–98 °C; IR (KBr, ν/cm<sup>-1</sup>): 3216 (NH), 1771 (C=O), 1706 (C=O); <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ/ppm): 8,55 (s, 1H, N(1)H), 7,17 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 6,89 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 4,45 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-), 3,72 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 1,94–1,65 (m, 8H, C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ/ppm): 177,7 (C4), 158,8 (C14), 155,9 (C2), 129,2 (C11), 129,0 (C12, C16), 114,2 (C13, C15), 67,5 (C5), 55,3 (C17), 40,7 (C10), 37,4 (C6, C9), 24,9 (C7, C8). Елементарна анализа: Израчунато за C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (274,32): C, 65,68; H, 6,61; N, 10,21. Одређено (%): C, 65,78; H, 6,65; N, 10,15.

*3-(4-Хлорбензил)-циклопентанспиро-5-хидантоин* (C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Cl) (**1.4**) Бела кристална супстанца; принос 62%; т.т.: 128–131 °C; IR (KBr, ν/cm<sup>-1</sup>): 3211 (NH), 1771 (C=O), 1711 (C=O); <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ/ppm): 8,61 (s, 1H, N(1)H), 7,40 (d, 2H, *J* = 8,4 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 7,24 (d, 2H, *J* = 8,4 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 4,53 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-), 1,92–1,74 (m, 8H, C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ/ppm): 177,7 (C4), 155,6 (C2), 136,1 (C11), 132,3 (C14), 129,4 (C12, C16), 128,8 (C13, C15), 67,6 (C5), 40,6 (C10), 37,4 (C6, C9), 24,8 (C7, C8). Елементарна анализа: Израчунато за C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (278,74): C, 60,33; H, 5,42; N, 10,05. Одређено (%): C, 60,40; H, 5,45; N, 10,00.



*3-(4-Бромбензил)циклопентанспиро-5-хидантоин* (C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Br) (**1.5**) Бела кристална супстанца; принос 68%; т.т.: 162–165 °C; IR (KBr, ν/cm<sup>-1</sup>): 3216 (NH), 1768 (C=O), 1709 (C=O); <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ/ppm): 8,61 (s, 1H, N(1)H), 7,54 (d, 2H, *J* = 8 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 7,20 (d, 2H, *J* = 8 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 4,51 (s, 2H, –CH<sub>2</sub>–), 1,92–1,75 (m, 8H, C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ/ppm): 177,6 (C4), 155,6 (C2), 136,6 (C11), 131,7 (C13, C15), 129,8 (C12, C16), 120,7 (C14), 67,6 (C5), 40,7 (C10), 37,4 (C6, C9), 24,8 (C7, C8). Елементарна анализа: Израчунато за C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (323,19): C, 52,03; H, 4,68; N, 8,67. Одређено: C, 52,10; H, 4,70; N, 8,70.

*3-(4-Цијанобензил)циклопентанспиро-5-хидантоин* (C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) (**1.6**) Бела кристална супстанца; принос 52%; т.т.: 154–157 °C; IR (KBr, ν/cm<sup>-1</sup>): 3310 (NH), 2232 (CN), 1758 (C=O), 1708 (C=O); <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ/ppm): 8,65 (s, 1H, N(1)H), 7,81 (d, 2H, *J* = 8 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 7,40 (d, 2H, *J* = 8 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 4,62 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,97–1,74 (m, 8H, C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ/ppm): 177,7 (C4), 155,5 (C2), 142,7 (C11), 132,8 (C13, C15), 128,2 (C12, C16), 118,9 (C17), 110,5 (C14), 67,7 (C5), 40,9 (C10), 37,4 (C6, C9), 24,8 (C7, C8). Елементарна анализа: Израчунато за C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> (269,31): C, 66,90; H, 5,61; N, 15,60. Одређено (%): C, 67,00; H, 5,65; N, 15,57.

*3-(4-Нитробензил)циклопентанспиро-5-хидантоин* (C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) (**1.7**) Жута кристална супстанца; принос 72%; т.т.: 139–142 °C; IR (KBr, ν/cm<sup>-1</sup>): 3111 (NH), 1768 (C=O), 1709 (C=O); <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ/ppm): 8,67 (s, 1H, N(1)H), 8,21 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 7,49 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 4,67 (s, 2H, –CH<sub>2</sub>–), 1,99–1,65 (m, 8H, C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ/ppm): 177,7 (C4), 155,5 (C2), 147,1 (C14), 144,7 (C11), 128,6 (C12, C16), 124,1 (C13, C15), 67,7 (C5), 40,8 (C10), 37,4 (C6, C9), 24,8 (C7, C8). Елементарна анализа: Израчунато за C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (289,29): C, 58,13; H, 5,23; N, 14,53. Одређено (%): C, 58,05; H, 5,20; N, 14,57.

*3-Бензилциклохексанспиро-5-хидантоин* (C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (**2.1**) Бела кристална супстанца; принос 73%; т.т.: 151–153 °C; (лит. 155–156 °C [82]); IR (KBr, ν/cm<sup>-1</sup>): 3323 (NH), 1771 (C=O), 1708 (C=O); <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ/ppm): 8,81 (s, 1H, N(1)H), 7,33–7,19 (m, 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 4,52 (s, 2H, –CH<sub>2</sub>–), 1,68–1,26 (m, 10H, C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>);

$^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta/\text{ppm}$ ): 176,9 (C4), 155,9 (C2), 137,2 (C12), 128,8 (C14, C16), 127,6 (C15), 127,2 (C13, C17), 61,3 (C5), 41,0 (C11), 38,5 (C6, C10), 24,6 (C8), 21,0 (C7, C9). Елементарна анализа: Израчунато за  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$  (258,32): C, 69,74; H, 7,02; N, 10,84. Одређено (%): C, 69,70; H, 7,05; N, 10,80.

*3-(4-Метилбензил)циклохексанспиро-5-хидантоин* ( $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$ ) (2.2) Бела кристална супстанца; принос 56%; т.т.: 211–213 °C; IR (KBr,  $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3220 (NH), 1771 (C=O), 1704 (C=O);  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta/\text{ppm}$ ): 8,79 (s, 1H, N(1)H), 7,13 (d, 2H,  $J = 10$  Hz,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 7,08 (d, 2H,  $J = 8$  Hz,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 4,46 (s, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ), 2,26 (s, 3H,  $-\text{CH}_3$ ), 1,66–1,25 (m, 10H,  $\text{C}_6\text{H}_{10}$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta/\text{ppm}$ ): 176,9 (C4), 155,9 (C2), 136,7 (C15), 134,2 (C12), 129,4 (C14, C16), 127,3 (C13, C17), 61,3 (C5), 40,8 (C11), 33,5 (C6, C10), 24,6 (C8), 21,9 (C18), 21,0 (C7, C9). Елементарна анализа: Израчунато за  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$  (272,34): C, 70,56; H, 7,40; N, 10,29. Одређено (%): C, 70,62; H, 7,42; N, 10,34.

*3-(4-Метоксибензил)циклохексанспиро-5-хидантоин* ( $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$ ) (2.3) Бела кристална супстанца; принос 58%; т.т.: 162–165 °C; IR (KBr,  $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3295 (NH), 1773 (C=O), 1696 (C=O);  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta/\text{ppm}$ ): 8,77 (s, 1H, N(1)H), 7,17 (d, 2H,  $J = 8$  Hz,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 6,89 (d, 2H,  $J = 8$  Hz,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 4,46 (s, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ), 3,73 (s, 3H,  $-\text{OCH}_3$ ), 1,62–1,26 (m, 10H,  $\text{C}_6\text{H}_{10}$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta/\text{ppm}$ ): 176,8 (C4), 158,8 (C15), 155,9 (C2), 129,2 (C13, C17), 128,8 (C12), 114,1 (C14, C16), 61,2 (C5), 55,2 (C18), 40,5 (C11), 33,5 (C6, C10), 24,6 (C8), 21,00 (C7, C9). Елементарна анализа: Израчунато за  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$  (288,34): C, 66,65; H, 6,99; N, 9,72. Одређено (%): C, 66,76; H, 7,04; N, 9,65.

*3-(4-Хлорбензил)циклохексанспиро-5-хидантоин* ( $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_2\text{Cl}$ ) (2.4) Бела кристална супстанца; принос 66%; т.т.: 185–186 °C; IR (KBr,  $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3232 (NH), 1773 (C=O), 1710 (C=O);  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta/\text{ppm}$ ): 8,83 (s, 1H, N(1)H), 7,40 (d, 2H,  $J = 8$  Hz,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 7,24 (d, 2H,  $J = 8$  Hz,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 4,52 (s, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ), 1,68–1,03 (m, 10H,  $\text{C}_6\text{H}_{10}$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta/\text{ppm}$ ): 176,8 (C4), 155,7 (C2), 136,1 (C12), 132,2 (C15), 129,3 (C13), 128,8 (C14, C16), 61,3 (C5), 40,4 (C11), 33,5 (C6, C10), 24,3 (C8), 21,0 (C7, C9). Елементарна анализа: Израчунато за  $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{ClN}_2\text{O}_2$  (292,76): C, 61,54; H, 5,85; N, 9,57. Одређено (%): C, 61,64; H, 5,91; N, 9,53.

*3-(4-Бромбензил)циклохексанспиро-5-хидантоин* (C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Br) (**2.5**) Бела кристална супстанца; принос 70%; т.т.: 193–194 °C; IR (KBr,  $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3229 (NH), 1772 (C=O), 1710 (C=O); <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta/\text{ppm}$ ): 8,83 (s, 1H, N(1)H), 7,53 (d, 2H, *J* = 8,4 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 7,18 (d, 2H, *J* = 8,2 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 4,50 (s, 2H, –CH<sub>2</sub>–), 1,67–1,03 (m, 10H, C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta/\text{ppm}$ ): 176,8 (C4), 155,7 (C2), 136,6 (C12), 131,7 (C14, C16), 129,7 (C13, C17), 120,7 (C15), 61,3 (C5), 40,5 (C11), 33,5 (C6, C10), 24,6 (C8), 21,0 (C7, C9). Елементарна анализа: Израчунато за C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (337,21): C, 53,43; H, 5,08; N, 8,31. Одређено (%): C, 53,50; H, 5,12; N, 8,30.

*3-(4-Цијанобензил)циклохексанспиро-5-хидантоин* (C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) (**2.6**) Бела кристална супстанца; принос 52%; т.т.: 179–182 °C; IR (KBr,  $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3243 (NH), 2231 (CN), 1771 (C=O), 1714 (C=O); <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta/\text{ppm}$ ): 8,88 (s, 1H, N(1)H), 7,81 (d, 2H, *J* = 8 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 7,40 (d, 2H, *J* = 8 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 4,62 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,70–1,03 (m, 10H, C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta/\text{ppm}$ ): 176,9 (C4), 155,6 (C2), 142,7 (C12), 132,8 (C14, C16), 128,1 (C13, C17), 118,9 (C18), 110,4 (C15), 61,5 (C5), 40,7 (C11), 33,5 (C6, C10), 24,5 (C8), 21,0 (C7, C9). Елементарна анализа: Израчунато за C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> (283,33): C, 67,83; H, 6,05; N, 14,83. Одређено (%): C, 67,90; H, 6,05; N, 14,83.

*3-(4-Нитробензил)циклохексанспиро-5-хидантоин* (C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) (**2.7**) Жута кристална супстанца; принос 74%; т.т.: 185–188 °C; IR (KBr,  $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3235 (NH), 1772 (C=O), 1708 (C=O); <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta/\text{ppm}$ ): 8,90 (s, 1H, N(1)H), 8,21 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 7,49 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 4,68 (s, 2H, –CH<sub>2</sub>–), 1,70–1,03 (m, 10H, C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta/\text{ppm}$ ): 176,9 (C4), 155,6 (C2), 147,0 (C15), 144,8 (C12), 128,4 (C13, C17), 124,0 (C14, C16), 61,5 (C5), 40,6 (C11), 33,4 (C6, C10), 24,5 (C8), 21,0 (C7, C9). Елементарна анализа: Израчунато за C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (303,31): C, 59,40; H, 5,65; N, 13,85. Одређено (%): C, 59,32; H, 5,60; N, 13,94.

*3-Бензилциклохептанспиро-5-хидантоин*(C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (**3.1**) Бела кристална супстанца; принос 63%; т.т.: 117–118 °C; IR (KBr,  $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3233 (NH), 1771 (C=O), 1703 (C=O); <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta/\text{ppm}$ ): 8,66 (s, 1H, N(1)H), 7,37–7,18 (m, 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 4,51 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,86–1,56 (m, 12H, C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz,

DMSO-d<sub>6</sub>, δ/ppm): 178,0 (C4), 155,7 (C2), 137,2 (C13), 128,8 (C15, C18), 127,6 (C16), 127,2 (C14, C18), 63,9 (C5), 41,0 (C12), 37,2 (C6, C11), 28,9 (C8, C9), 22,3 (C7, C10). Елементарна анализа: Израчунато за C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (272,34): C, 70,56; H, 7,40; N, 10,29. Пронађено (%): C, 70,52; H, 7,44; N, 10,26.

*3-(4-Метилбензил)циклохептанспиро-5-хидантоин*(C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (3.2) Бела кристална супстанца; принос 56%; т.т.: 172–175 °C; IR (KBr, ν/cm<sup>-1</sup>): 3238 (NH), 1769 (C=O), 1702 (C=O); <sup>1</sup>HNMR (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ/ppm): 8,64 (s, 1H, N(1)H), 7,16 (d, 2H, J = 8 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 7,10 (d, 2H, J = 8 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 4,46 (s, 2H, –CH<sub>2</sub>–), 2,27 (s, 3H, –CH<sub>3</sub>), 1,85–1,59 (m, 12H, C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>) ppm; <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ/ppm): 178,0 (C4), 155,7 (C2), 136,7 (C13), 134,2 (C19), 129,3 (C15, C17), 127,3 (C14, C18), 63,8 (C5), 40,8 (C12), 37,1 (C6, C11), 28,9 (C8, C9), 22,2 (C7, C10), 20,8 (C16). Елементарна анализа: Израчунато за C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (286,37): C, 71,30; H, 7,74; N, 9,78. Одређено (%): C, 70,28; H, 7,80; N, 9,75.

*3-(4-Метоксибензил)циклохептанспиро-5-хидантоин*(C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) (3.3) Бела кристална супстанца; принос 53%; т.т.: 132–134 °C; IR (KBr, ν/cm<sup>-1</sup>): 3259 (NH), 1767 (C=O), 1706 (C=O); <sup>1</sup>HNMR (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ/ppm): 8,61 (s, 1H, N(1)H), 7,15 (d, 2H, J = 8 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 6,88 (d, 2H, J = 8 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 4,42 (s, 2H, –CH<sub>2</sub>–), 3,73 (s, 3H, –OCH<sub>3</sub>), 1,84–1,57 (m, 12H, C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ/ppm): 178,0 (C4), 158,8 (C16), 155,8 (C2), 129,2 (C13), 128,9 (C14, C18), 114,2 (C15, C17), 63,8 (C5), 55,3 (C19), 40,5 (C12), 37,15 (C6, C11), 28,9 (C8, C9), 22,3 (C7, C10). Елементарна анализа: Израчунато за C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (302,37): C, 67,53; H, 7,33; N, 9,26. Одређено (%): C, 67,50; H, 7,37; N, 9,23.

*3-(4-Хлоробензил)циклохептанспиро-5-хидантоин*(C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Cl) (3.4) Бела кристална супстанца; принос 65%; т.т.: 170–173 °C; IR (KBr, ν/cm<sup>-1</sup>): 3231 (NH), 1769 (C=O), 1721 (C=O); <sup>1</sup>HNMR (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ/ppm): 8,68 (s, 1H, N(1)H), 7,39 (d, 2H, J = 8,4 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 7,23 (d, 2H, J = 8,6 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 4,49 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,85–1,55 (m, 12H, C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ/ppm): 178,0 (C4), 155,6 (C2), 136,2 (C13), 132,2 (C16), 129,3 (C15, C17), 128,8 (C14, C18), 63,9 (C5), 40,4 (C12), 37,1 (C6, C11), 28,9 (C8, C9), 22,3 (C7, C10). Елементарна анализа: Израчунато за C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Cl (306,79): C, 62,64; H, 6,24; N, 9,13. Одређено (%): C, 62,59; H, 6,27; N, 9,10.

*3-(4-Бромобензил)циклохептанспиро-5-хидантоин* (C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Br) (**3.5**) Бела кристална супстанца; принос 67%; т.т.: 178–180 °C; IR (KBr, ν/cm<sup>-1</sup>): 3232 (NH), 1770 (C=O), 1720 (C=O); <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ/ppm): 8,68 (s, 1H, N(1)H), 7,52 (d, 2H, J = 8,4 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 7,17 (d, 2H, J = 8,4 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 4,47 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-), 1,85–1,55 (m, 12H, C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ/ppm): 178,0 (C4), 155,6 (C2), 136,6 (C13), 131,7 (C15, C17), 129,7 (C14, C18), 120,7 (C16), 63,9 (C5), 40,5 (C12), 37,1 (C6, C11), 28,9 (C8, C9), 22,3 (C7, C10). Елементарна анализа: Израчунато за C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Br (306,79): C, 54,71; H, 5,45; N, 7,98. Одређено (%): C, 54,68; H, 5,48; N, 7,95.

*3-(4-Цијанобензил)циклохептанспиро-5-хидантоин*(C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) (**3.6**) Бела кристална супстанца; принос 53%; т.т.: 171–173 °C; IR (KBr, ν/cm<sup>-1</sup>): 3239 (NH), 1772 (C=O), 1720 (C=O); <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ/ppm): 8,73 (s, 1H, N (1)H), 7,81 (d, 2H, J = 8,2 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 7,40 (d, 2H, J = 8 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 4,59 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-), 1,85–1,56 (m, 12H, C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ/ppm): 178,0 (C4), 155,5 (C2), 142,8 (C13), 132,9 (C15, C17), 128,2 (C14, C18), 118,9 (C13'), 110,5 (C16), 64,1 (C5), 40,8 (C12), 37,1 (C6, C11), 28,9 (C8, C9), 22,3 (C7, C10). Елементарна анализа: Израчунато за C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> (297,35): C, 68,67; H, 6,44; N, 14,13. Одређено (%): C, 68,64; H, 6,49; N, 14,09.

*3-(4-Нитробензил)циклохептанспиро-5-хидантоин*(C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) (**3.7**) Жута кристална супстанца; принос 73%; т.т.: 166–169 °C; IR (KBr, ν/cm<sup>-1</sup>): 3229 (NH), 1772 (C=O), 1710 (C=O); <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ/ppm): 8,75 (s, 1H, N(1)H), 8,21 (d, 2H, J = 8,8 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 7,49 (d, 2H, J = 8,6 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 4,64 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-), 1,86–1,56 (m, 12H, C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ/ppm): 178,0 (C4), 155,5 (C2), 147,1 (C13), 144,8 (C16), 128,5 (C14, C18), 124,1 (C15, C17), 64,1 (C5), 40,6 (C12), 37,1 (C6, C11), 28,9 (C8, C9), 22,3 (C7, C10). Елементарна анализа: Израчунато за C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (297,35): C, 60,56; H, 6,03; N, 13,24. Одређено (%): C, 60,52; H, 6,08; N, 13,20.

### 3.3. Методе карактеризације испитиваних једињења

Сва синтетисана једињења окарактерисана су применом следећих експерименталних и компјутерских техника:

- FT-IR,  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  NMR спектроскопије за потврђивање хемијске структуре,
- Апсорпционе спектроскопије за испитивање солватохромизма.

FT-IR спектри свих синтетисаних једињења снимљени су у распону таласног броја  $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$  помоћу спектрофотометра Bomem MB 100. За анализу је коришћено 3 mg узорка који је помешан и спрашен са 147 mg калијум-бромида. Добијена смеша је затим компримована у пилуле под притиском од 11 t, у трајању од 2 минута.

NMR спектри синтетисаних једињења снимљени су на апарату Varian Gemini 200 на 200 MHz и 500 MHz. Као интерни стандард коришћен је тетраметилсилан (TMS). Хемијска померања  $\delta$  изражена су у ppm у односу на TMS ( $\delta_{\text{H}} = 0\text{ ppm}$ ) у  $^1\text{H}$  NMR спектрима, односно резидуални сигнал растварача DMSO ( $\delta_{\text{C}} = 39,5\text{ ppm}$ ) у  $^{13}\text{C}$  NMR спектрима.

Апсорпциони спектри су снимљени на спектрофотометру Shimadzu 1700 у растварачима спектроскопске чистоће (Fluka) при фиксној концентрацији од  $10^{-5}\text{ mol dm}^{-3}$ . Употребљено је 6 поларних (метанол, етанол, 1-пропанол, 2-пропанол, 1-бутанол, ацетонитрил) и 2 неполарна растварача (хексан и циклохексан). Поред тога за снимање апсорпционих спектра у опсегу таласних дужина  $200\text{--}400\text{ nm}$ , коришћене су и одговарајуће смеше растварача.

### 3.4. Одређивање кристалне структуре

Растварањем по неколико mg деривата **1.1**; **2.3** и **3.5** у 3 ml етанола и деривата **1.4**; **1.5**; **2.4**; **2.5** и **3.4** у 3 ml ацетонитрила и упаравањем добијених раствора током 24 сата на собној температури формиран су монокристали поменутих једињења.

Кристалнографски подаци су прикупљени на дифрактометру Oxford Gemini S опремљеним са CCD детектором на температури од 293 K. За снимање монокристала коришћено је зрачење  $\text{MoK}\alpha$  ( $\lambda = 0,71073\text{ \AA}$ ). Примењене корекције

за апсорпцију биле су различите и то: мулти-скен корекција (код **1.1**, **1.5**, **2.3**, **2.4** и **3.4**), аналитичка корекција (код **1.4** и **2.5**) и Гаусова корекција (код **3.5**). Структуре су решене директним методама (SIR92 [83]) и утачњаване методом најмањих квадрата примењеном на  $F^2$  (SHELXL97 [84], SHELXL-2014/7 [85] и WinGX [86]). Параметри померања свих атома, осим атома водоника, утачњени су анизотропно. Атоми водоника су смештени у геометријски израчунате положаје и утачњавани коришћењем модела „јашућег атома“ примењеном на  $F^2$  са утврђеним дужинама C–H и N–H веза.

### **3.5. Методе квантохемијских израчунавања**

Сви DFT прорачуни извршени су коришћењем програмског пакета Gaussian 09 [87] на B3LYP [88] и M06-2X [89] нивоу са 6-311++G(d,p) основним сетом орбитала. Геометрије проучаваних спирохидантоина оптимизоване су применом DFT B3LYP/6-311++G(d,p) методе. UV-Vis апсорпционе енергије израчунате су помоћу TD-DFT B3LYP и M06-2X метода у етанолу. Утицај растварача на израчунате електронске параметре проучаваних спирохидантоина, као и енергија граничних молекулских орбитала НОМО и LUMO разматрани су употребом CPCM модела [90]. Прорачуни NBO орбитала извршени су применом програма NBO 3.1 [91] који је део Gaussian-а 09. Да би се у потпуности разумела хемијска реактивност спирохидантоина, одређен је молекулски електростатички потенцијал (MEP), појединих молекула, помоћу B3LYP/6-311++G(d,p) методе.

Корелациона анализа извршена је помоћу Microsoft Office Excel 2003. Валидност корелационих једначина процењивана је на основу коефицијента корелације ( $R$ ), стандардне девијације ( $sd$ ) и Фишеровог теста ( $F$ ).

### **3.6. Одређивање антипролиферативне активности**

Антипролиферативни потенцијал проучаваних једињења одређен је МТТ тестом према ћелијским линијама карцинома крви и дебелог црева. МТТ тест се заснива на способности вијабилних ћелија да помоћу митохондријалне дехидрогеназе редукују 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолијум бромид (МТТ), жуту боју, растворену у води, у ружичасти производ формазана,

који је нерастворан у води. Укратко, 10 ml раствора МТТ ( $5 \text{ mg ml}^{-1}$ ) додаје се након 24 сата култивисања и културе се инкубирају још 3 сата на  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ . Настали формазан се раствара преко ноћи у SDS-Cl (10% SDS у 0,01 M HCl) и апсорпција је мерена на радној таласној дужини од 570 nm и референтној од 650 nm помоћу вишеканалног ELISA читача. Процент вијабилних ћелија је израчунат као однос апсорпције при свакој од концентрација проучаваних једињења и апсорпције контролног узорка помножен са 100.



Шема 20. Редуција МТТ-а



## **4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА**

У оквиру проучавања односа структуре и биолошке активности деривата циклоалканспиро-5-хидантоина, у овом раду су синтетисане три нове серије једињења и то: 3-(4-супституисани бензил)циклопентанспиро-5-хидантоини (1.1–1.7), 3-(4-супституисани бензил)циклохексанспиро-5-хидантоини (2.1–2.7) и 3-(4-супституисани бензил)циклохептанспиро-5-хидантоини (3.1–3.7). У оквиру сваке серије, једињења се међусобно разликују према природи супституента (H, CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>, Cl, Br, CN, NO<sub>2</sub>) присутног у бензил-групи у положају 3 хидантоинског прстена. Серије се међусобно разликују и према циклоалкил-групи присутној у положају 5 хидантоинског прстена.

#### **4.1. Структурна и спектрална анализа 3-(4-супституисаних бензил) циклоалканспиро-5-хидантоина**

##### **4.1.1. Рендгенска структурна анализа**

Стратегије које имају за циљ изградњу нових супрамолекулских структура усмерене су на рационалан дизајн нових градивних јединица и контролу интермолекулских интеракција које међу њима делују. У том погледу, хидантоин (имидазолидин-2,4-дион), као крут систем са два амидна фрагмента, представља атрактиван структурни мотив. Без обзира на чињеницу да су супрамолекулске структуре његових деривата одређене N–H···O водоничним везама, супституенти присутни у хетероцикличном прстену, значајно утичу на укупни распоред молекула. Детаљна анализа кристалних структура деривата хидантоина у оквиру Кембричке структурне базе података (енг. Cambridge Structural Database) [92], открила је четири основна мотива која се формирају преко водоничних веза:  $R_2^2(8)$ -1O-трака,  $R_2^2(8)$ -2O-трака,  $R_3^3(12)$ -2O-трака и  $R_2^2(8)$ -димер. Ахирални деривати хидантоина кристалишу преко мотива  $R_2^2(8)$ -2O-трака уз инверзију симетрије, док хирална једињења најчешће кристалишу преко мотива  $R_2^2(8)$ -1O-трака или  $R_3^3(12)$ -2O-трака.

У фармацеутској индустрији, проучавање кристалног паковања биолошки активних једињења значајно је за процену њихове биолошке расположивости као проблема њихове употребе. Познавање кристалног паковања деривата хидантоина

битно је и због чињенице да се могу успоставити одређене аналогije између интеракција у кристалном паковању и интеракција у биолошким системима. Антikonвулзивна активност деривата хидантоина остварује се преко интеракција инхибиције волтажнo-зависних натријумових канала у мозгу. Разматрајући начине на које се остварује активност молекула фенитоина, уочено је да се тенденција његових амидних група да формирају водоничне везе трансформише у интеракције са ароматичним прстеном аминокиселинског остатка фенитоина (Phe-1764) ради остваривања амино-ароматичних водоничних веза у унутрашњим порамa волтажнo-зависних натријумових канала [93].

Проучавање супрамолекулских структура деривата хидантоина повезано је са анализом њихових водоничних интеракција. С друге стране, формирање различитих кристалних полиморфних облика, последица је успостављања слабих интеракција које, када су присутне у већем броју, утичу једна на другу. У овом раду, синтетисане су три различите серије деривата циклоалканспиро-5-хидантоина и њихове кристалне структуре су детаљно анализиране. Конформациона флексибилност молекула у испитиваним серијама једињења мењана је повећањем циклоалканског прстена од циклопентанског до циклохептанског [93].

Кристалoграфски подаци и резултати утачњавања за једињење **1.1** дати су у Табели 6. Молекулска структура са одговарајућим ознакама атома представљена је на Слици 13.

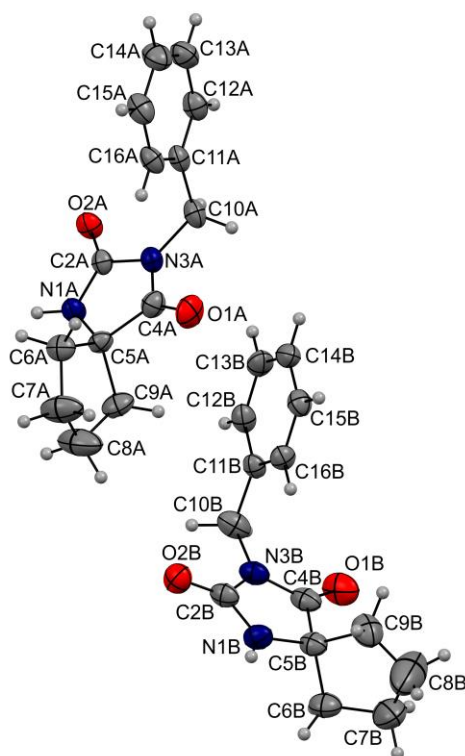
Табела 6. Кристалoграфски подаци за једињење **1.1**

Једињење	<b>1.1</b>
Формула	$C_{14}H_{16}N_2O_2$
Молекулска маса $M$ ( $g\ mol^{-1}$ )	244,29
Кристални систем	Триклинични
Просторна група	$P-1$
$a$ (Å)	5,976(1)
$b$ (Å)	12,801(3)
$c$ (Å)	17,604(4)
$\alpha$ (°)	106,51(3)
$\beta$ (°)	91,33(3)
$\gamma$ (°)	92,01(3)
$V$ (Å <sup>3</sup> )	1289,6(4)
$Z$	4

Табела 6 (наставак)

Примећене рефлексije	2252/0/333
/Ограничења/Утачњавани параметри	
$\mu$ (mm <sup>-1</sup> )	0,085
$F(000)$	520
$\rho_c$ (g cm <sup>-3</sup> )	1,258
Гранични Милерови индекси $h, k, l$	-6 → 7; -15 → 15; -21 → 12
Измерене рефлексije/Независне рефлексije/	8309/5073
$R_{int}$	0,0376
$R[I > 2\sigma(I)]^a$	$R_1 = 0,0569$ ; $wR_2 = 0,1234$
$R$ (сви подаци)	$R_1 = 0,1357$ ; $wR_2 = 0,1609$
GOOF	0,922
$\Delta\rho_{max}, \Delta\rho_{min}$ (e Å <sup>-3</sup> )	0,174; -0,208

<sup>a</sup> $w = 1 / [s^2(F_o^2) + (0,0520P)^2]$  где је  $P = (F_o^2 + 2F_c^2) / 3$ .



Слика 13. ORTEP приказ асиметричне јединице једињења **1.1** са ознакама атома. Елипсоиди су приказани са вероватноћом од 30%, а H-атоми као сфере произвољног пречника

Два хемијски идентична али кристалографски различита молекула А и В чине асиметричну јединицу. У оба молекула, циклопентански прстен заузима конформацију коверте са атомима С7А и С7В издигнутим за 0,153(5) и 0,163(5) Å од одговарајуће равни циклопентанског прстена [94].

Дужине веза и углова приказане су у Табели 7. Добијене вредности су очекиване за једињења која садрже хидантоински прстен и међусобно су веома сличне за молекуле А и В. Такође, потврђено је њихово добро слагање са вредностима које су израчунате применом DFT методе. Вредности одабраних торзионих углова сличне су као код одговарајућих деривата хидантоина [34,55].

У кристалном паковању, уочене су интермолекулске водоничне везе N–H···O и бројне C–H···O и C–H···N интеракције (Табела 8) између суседних молекула типа А као и између молекула типа В. Интермолекулске водоничне везе формирају центросиметричне  $R_2^2(8)$  димере дуж *a*-осе (Слика 14). Молекули А и В повезани су slabим C–H···π интеракцијама (H···C<sub>g</sub> растојање износи 2,960 Å) које се јављају између Н9А1 атома циклопентанског прстена молекула А и фенилног прстена молекула В (Слика 14). Такође уочене су и π–π („ивица-лице“ – енгл. edge-to-face) интеракције „Т-облика“ између фенилних прстенова молекула А и В. Одговарајућа растојања између центроида А и В износе 4,717 и 4,971 Å, док је вредност угла између равни прстенова 54,38°. Тродимензионо паковање остварује се путем бројних C–H···O/N интеракција (Табела 8) које додатно стабилизују кристалну решетку [94].

На основу резултата рендгенске структурне анализе приказаних у Табели 9, може се закључити да једињење **2.3**, кристалише у моноклиничној  $P2_1/c$  просторној групи. На Слици 15, представљена је асиметрична јединица једињења **2.3** са одговарајућим ознакама атома. Хидантоински и циклохексански прстенови су међусобно оријентисани скоро под правим углом (89,5(1)°). Циклохексански прстен заузима конформацију столице при чему су атоми С7 и С10 издигнути изнад равни за 0,680, односно 0,653 Å.

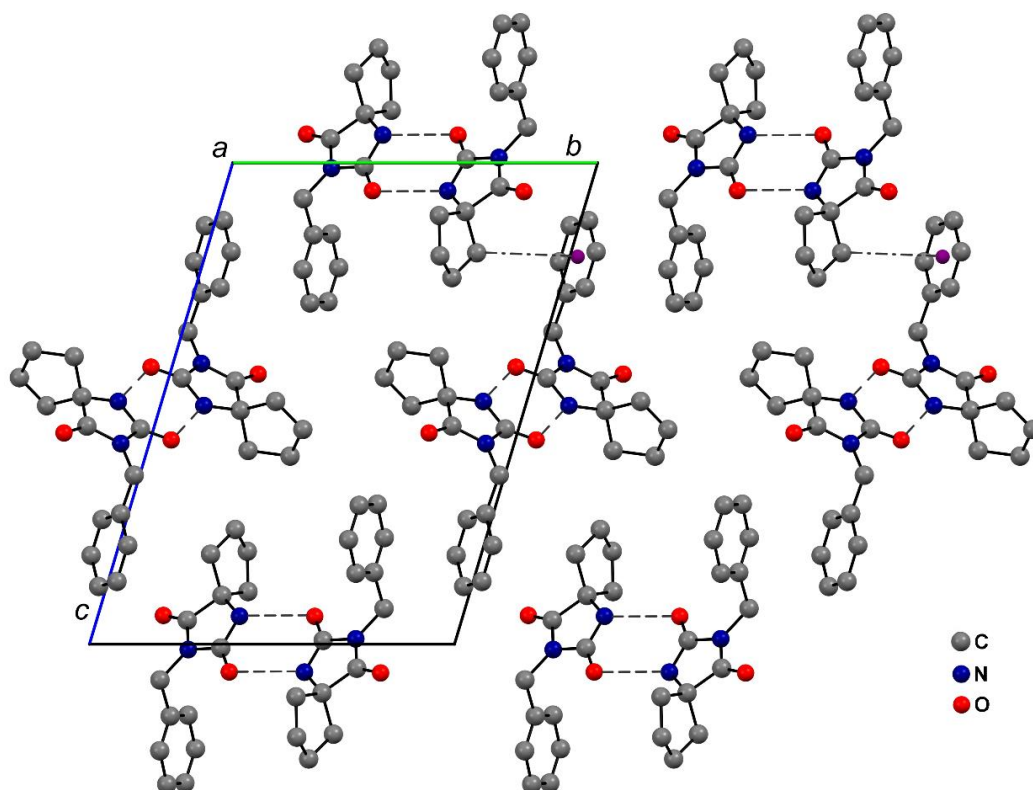
Табела 7. Експерименталне и израчунате вредности одабраних дужина веза (Å), углова (°) и торзионих углова (°) за једињење **1.1**

Параметри	Молекул А (експериментално)	Молекул В (експериментално)	1.1 (израчунато)
<i>Дужине веза</i>			
N1–C2	1,334(4)	1,335(5)	1,366
N1–C5	1,450(4)	1,451(5)	1,462
C2–O2	1,221(3)	1,208(5)	1,212
C2–N3	1,398(4)	1,396(4)	1,414
N3–C4	1,368(4)	1,348(5)	1,375
C4–O1	1,200(4)	1,215(4)	1,212
C4–C5	1,518(5)	1,518(5)	1,537
C5–C6	1,545(4)	1,533(5)	1,568
C5–C9	1,537(5)	1,543(5)	1,554
C6–C7	1,463(6)	1,493(7)	1,542
C7–C8	1,469(7)	1,439(9)	1,536
C8–C9	1,455(7)	1,395(8)	1,535
N3–C10	1,460(4)	1,445(4)	1,466
C10–C11	1,503(4)	1,505(5)	1,516
C11–C12	1,375(5)	1,375(4)	1,399
C11–C16	1,381(4)	1,386(4)	1,398
C12–C13	1,374(5)	1,376(5)	1,394
C13–C14	1,378(5)	1,369(5)	1,394
C14–C15	1,364(5)	1,374(5)	1,394
C15–C16	1,377(5)	1,370(5)	1,394
<i>Углови</i>			
N1–C5–C4	101,1(2)	99,1(3)	100,6
N1–C5–C9	114,5(2)	115,1(3)	113,9
C4–C5–C9	111,6(3)	111,4(3)	112,0
N1–C5–C6	113,4(2)	115,0(3)	113,4
C4–C5–C6	112,3(2)	112,6(3)	112,2
C6–C5–C9	104,3(2)	104,0(3)	104,9
<i>Торзиони углови</i>			
C4–N3–C10–C11	–96,3(4)	–84,4(4)	–90,2
N3–C10–C11–C12	–145,9(3)	171,6(3)	89,6
N1–C5–C6–C7	–130,8(3)	–145,9(3)	–127,1
C4–C5–C6–C7	115,4(3)	101,5(4)	119,6
N3–C4–C5–C9	–121,3(3)	–119,2(3)	–124,0
C11–C10–N3–C2	82,3(3)	90,9(4)	90,3

Табела 8. Геометрија интермолекулских водоничних веза у молекулу **1.1**

D-H...A	$d(\text{D-H}), \text{\AA}$	$d(\text{D}\cdots\text{A}), \text{\AA}$	$d(\text{H}\cdots\text{A}), \text{\AA}$	D-H...A, $^\circ$
N1A-H17A...O2A <sup>i</sup>	0,902	2,869(4)	1,970	174
N1B-H17B...O2B <sup>ii</sup>	0,780	2,913(4)	2,168	160
C6A-H6A1...O2A <sup>iii</sup>	0,970	3,809(4)	2,881	160
C6A-H6A1...N1A <sup>iii</sup>	0,970	3,758(4)	2,936	143
C9A-H9A1...O1A <sup>iv</sup>	0,970	3,077(5)	2,709	103
C13A-H13A...O1B <sup>v</sup>	0,930	3,453(5)	2,578	157
C15A-H15A...O2A <sup>iii</sup>	0,930	3,465(5)	2,948	117
C16A-H16A...O1A <sup>iv</sup>	0,930	3,602(4)	2,941	129
C16A-H16A...O2A <sup>iii</sup>	0,930	3,263(4)	2,539	135
C6B-H6B2...O2B <sup>vi</sup>	0,970	3,609(5)	2,862	135
C9B-H9B2...O1B <sup>iii</sup>	0,970	3,322(4)	2,413	156
C13B-H13B...O1A <sup>vii</sup>	0,930	3,250(4)	2,512	136
C16B-H16B...N3B <sup>iv</sup>	0,930	2,873(5)	2,537	102

Симетријски кодови (i):  $-x+1, -y-1, -z$ ; (ii):  $-x, -y, -z+1$ ; (iii):  $x-1, y, z$ ; (iv):  $x, y, z$ ; (v):  $-x+1, -y, -z$ ; (vi):  $-x+1, -y, -z+1$ ; (vii):  $x+1, y, z$ .



Слика 14. Кристално паковање једињења **1.1** у  $bc$ -равни које приказује центросиметричне димере. Водоничне везе и  $\text{C-H}\cdots\pi$  интеракције представљене су редом као испрекидане линије и линије црта-тачка-црта

Табела 9. Кристалографски подаци за једињење **2.3**

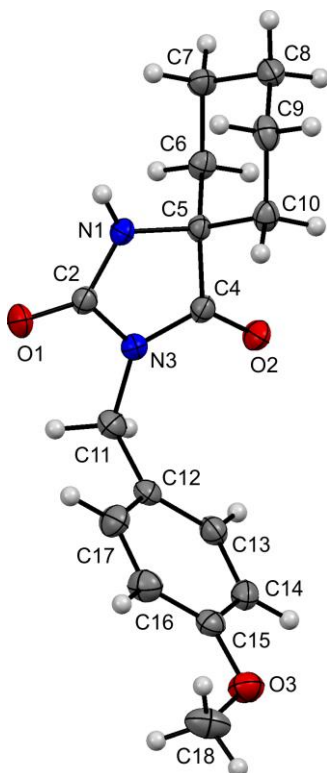
Једињење	<b>2.3</b>
Формула	C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
Молекулска маса $M$ (g mol <sup>-1</sup> )	288,34
Кристални систем	Моноклинични
Просторна група	$P2_1/c$
$a$ (Å)	13,681(3)
$b$ (Å)	11,474(2)
$c$ (Å)	10,089(2)
$\alpha$ (°)	90
$\beta$ (°)	110,76(3)
$\gamma$ (°)	90
$V$ (Å <sup>3</sup> )	1480,9(5)
$Z$	4
Примећене рефлексije	2063/0/194
/Ограничења/Утачњавани параметри	
$\mu$ (mm <sup>-1</sup> )	0,09
$F(000)$	616
$\rho_c$ (g cm <sup>-3</sup> )	1,293
Гранични Милерови индекси $h, k, l$	-14 → 16; -7 → 13; -11 → 12
Измерене рефлексije/Независне рефлексije	5347/2712
$R_{int}$	0,0221
$R[I > 2\sigma(I)]^a$	0,0496
$R$ (сви подаци)	0,0723
GOOF	1,068
$\Delta\rho_{max}, \Delta\rho_{min}$ (e Å <sup>-3</sup> )	0,133; -0,193

<sup>a</sup>  $w = 1 / [s^2(F_o^2) + (0.0392P)^2 + 0.1715P]$  где је  $P = (F_o^2 + 2F_c^2) / 3$ .

Вредности одабраних дужина веза, углова и торзионих углова приказане су у Табели 10. Уочено је њихово добро слагање са одговарајућим параметрима деривата хидантоиона који су познати у литератури [34,55].

Молекули једињења **2.3** међусобно су повезани јаким N–H···O водоничним везама (Табела 11) које се остварују између атома N1 из једног хидантоинског прстена и атома O2 из суседног хидантоинског прстена. На описани начин, формирају се бесконачни псеудо-ланци у правцу  $b$ -осе (Слика 16). Суседни ланци се потом додатно стабилизују slabим C–H···π интеракцијама (N–Cg растојање износи 2,860 Å) које се формирају између атома N18C метокси-групе и бензеновог прстена (Слика 17), као и путем бројних C–H···O интеракција (Табела 11), градећи тродимензиону мрежу.





Слика 15. ORTEP приказ асиметричне јединице једињења **2.3** са ознакама атома. Елипсоиди су приказани са вероватноћом од 30%, а H-атоми као сфере произвољног пречника

Табела 10. Експерименталне и израчунате вредности одабраних дужина веза ( $\text{\AA}$ ), углова ( $^\circ$ ) и торзионих углова ( $^\circ$ ) за једињење **2.3**

Параметри	<b>2.3</b> (ексериментално)	<b>2.3</b> (израчунато)
<i>Дужине веза</i>		
N1–C2	1,342(2)	1,367
N1–C5	1,460(2)	1,466
C2–O1	1,215(2)	1,212
C2–N3	1,405(2)	1,413
N3–C4	1,358(2)	1,375
C4–O2	1,220(2)	1,212
C4–C5	1,516(2)	1,539
C5–C6	1,531(2)	1,543
C5–C10	1,525(3)	1,546
C6–C7	1,519(3)	1,543
C7–C8	1,517(3)	1,535
C8–C9	1,515(2)	1,535

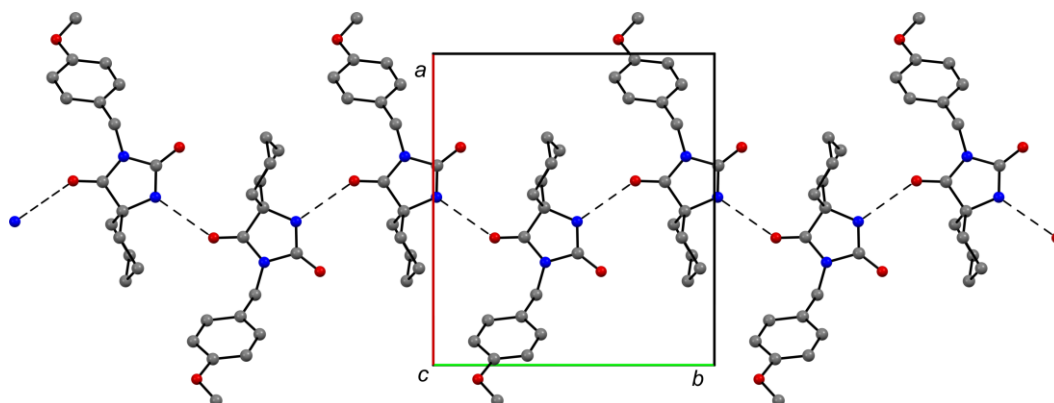
Табела 10 (наставак)

C9–C10	1,518(3)	1,535
N3–C11	1,464(2)	1,468
C11–C12	1,502(2)	1,513
C12–C13	1,376(3)	1,394
C12–C17	1,376(3)	1,402
C13–C14	1,375(2)	1,396
C14–C15	1,378(3)	1,397
C15–C16	1,373(3)	1,400
C16–C17	1,388(3)	1,387
<i>Углови</i>		
N1–C5–C4	100,6(1)	100,7
N1–C5–C10	112,5(1)	112,5
C4–C5–C10	111,7(2)	110,0
N1–C5–C6	112,1(1)	112,4
C4–C5–C6	109,1(1)	110,3
C6–C5–C10	110,4(1)	110,6
<i>Торзиони углови</i>		
C4–N3–C11–C12	–81,3(2)	–91,8
N3–C11–C12–C13	99,3(2)	88,1
N1–C5–C6–C7	–71,8(2)	72,8
C4–C5–C6–C7	177,6(2)	–175,7
N3–C4–C5–C10	–120,7(2)	116,1
C12–C11–N3–C2	102,3(2)	88,1

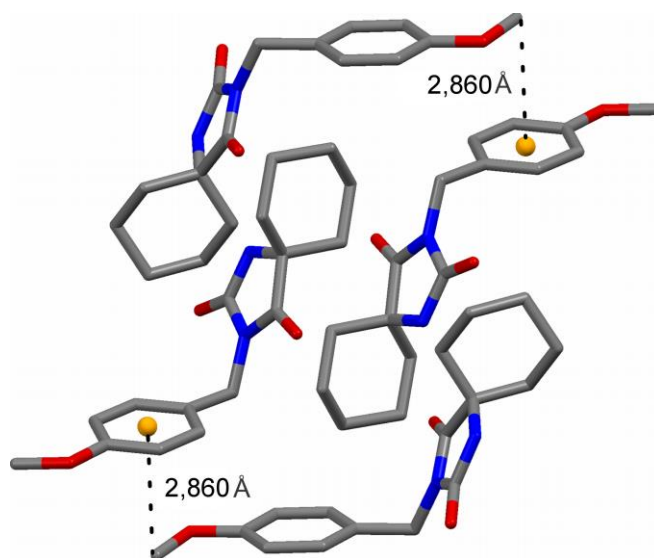
Табела 11. Геометрија интермолекулских водоничних веза у молекулу **2.3**

$D-H\cdots A$	$d(D-H), \text{Å}$	$d(D\cdots A), \text{Å}$	$d(H\cdots A), \text{Å}$	$D-H\cdots A, ^\circ$
N1–H19 $\cdots$ O2 <sup>i</sup>	0,846(1)	2,993(2)	2,149(1)	176(2)
C18–H18A $\cdots$ O1 <sup>ii</sup>	0,960	3,608(3)	2,678	163
C8–H8A $\cdots$ O1 <sup>iii</sup>	0,970	3,564(2)	2,682	151
C7–H7B $\cdots$ O2 <sup>i</sup>	0,970	3,636(2)	2,763	150
C9–H9A $\cdots$ O2 <sup>i</sup>	0,970	3,641(3)	2,772	149
C10–H10B $\cdots$ O1 <sup>iii</sup>	0,970	3,640(2)	2,793	146
C10–H10A $\cdots$ O2 <sup>iv</sup>	0,970	3,673(2)	2,842	144

Симетријски кодови: (i):  $-x+1, y-1/2, -z+3/2$ ; (ii):  $-x, y+1/2, -z+1/2$ ; (iii):  $-x+1, y+1/2, -z+3/2$ ; (iv):  $x, -y+1/2, z-1/2$ .



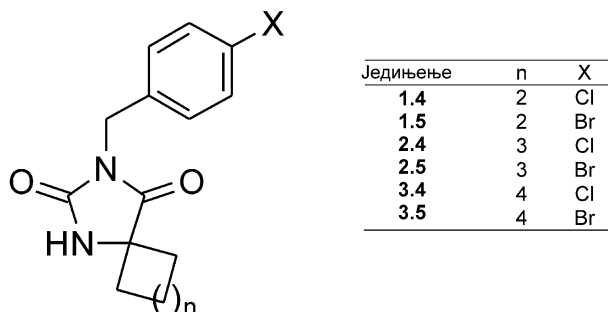
Слика 16. Полимерни псеудо-ланац једињења **2.3** који се формира дуж *b*-осе као последица водоничног везивања (испрекидана линија). *H*-атоми су изостављени ради прегледности



Слика 17. *C-H*... $\pi$  интеракције (испрекидана линија) које се остварују између суседних ланаца

Атом халогена ( $X = \text{Cl}, \text{Br}$ ) уведен је у *para* положај бензил-групе (Слика 18) како би се утврдило да ли њихове интеракције могу утицати на изградњу нових супрамолекулских структура. Планарност фенилног прстена олакшава

успостављање интермолекулских интеракција у којима учествују атоми халогена. У овом случају они су мање стерно заклоњени него у алифатичним системима.



Слика 18. Молекулска структура проучаваних халогених деривата  
циклоалканспиро-5-хидантоина

Атоми халогена могу ступати у разноврсне интермолекулске интеракције. На основу статистичке анализе Кембричке структурне базе података, утврђено је да су, у поређењу са аналогним C–H···O и C–H···N интеракцијама, C–H···X интеракције краће, као и да се јављају ређе или само повремено што зависи од природе атома халогена [95]. Иако су раније сматране контрадикторним, ове интеракције се данас дефинишу као слабе водоничне везе, код којих је слабија Кулоновска стабилизација компензована дисперзијом [96]. C–H···X интеракције благо одступају од линеарности и ове савијене везе су ентропијски фаворизоване [97]. С друге стране, у X···O халогеним везама, Луисова база поставља област концентрације позитивног електростатичког потенцијала на спољашњу страну атома халогена ( $\sigma$ -шупљине) [96,99]. Иако дисперзија има важну улогу у овој интеракцији, усмереност у простору халогене везе последица је Кулоновских интеракција између  $\sigma$ -шупљине атома халогена и Луисове базе [99].

Када се водоничне и халогене везе јављају истовремено, атом водоника из водоничне везе и атом халогена из халогене везе, такмиче се међусобно као акцептори електрона [100]. Природа и број ових интеракција отежавају предвиђање кристалне структуре. Истакли смо својства на основу којих се халогено везивање разликује од водоничног везивања, укључујући просторну усмереност, величину атома који ступа у интеракције и могућност модификовања

јачине интеракција променом халогеног супституента. Истраживање геометрије поменутих молекула и квантификовање њихових интермолекулских интеракција на основу анализе Хиршфилдове површине [101] и PIXEL методе [102], пружа детаљнији увид у однос између молекулских интеракција и кристалне структуре деривата хидантоина.

ORTEP дијаграми проучаваних једињења представљени су на Слици 19. Циклопентански прстен у једињењима **1.4** и **1.5** има конформацију коверте, док циклохексански прстен у једињењима **2.4** и **2.5** заузима стабилну конформацију столице. Једињења **3.4** и **3.5**, с друге стране, кристалишу са два молекула у асиметричној јединици (молекули А и В, Слика 19), која се међусобно разликују према конформацији циклохептанског прстена. Овај флексибилан прстен заузима конформацију столице у једном молекулу, док се у другом молекулу налази у облику уврнуте столице. N–H веза у хидантоинском прстену скоро увек заузима аксијалан положај [103], а исто важи и за проучавана једињења.

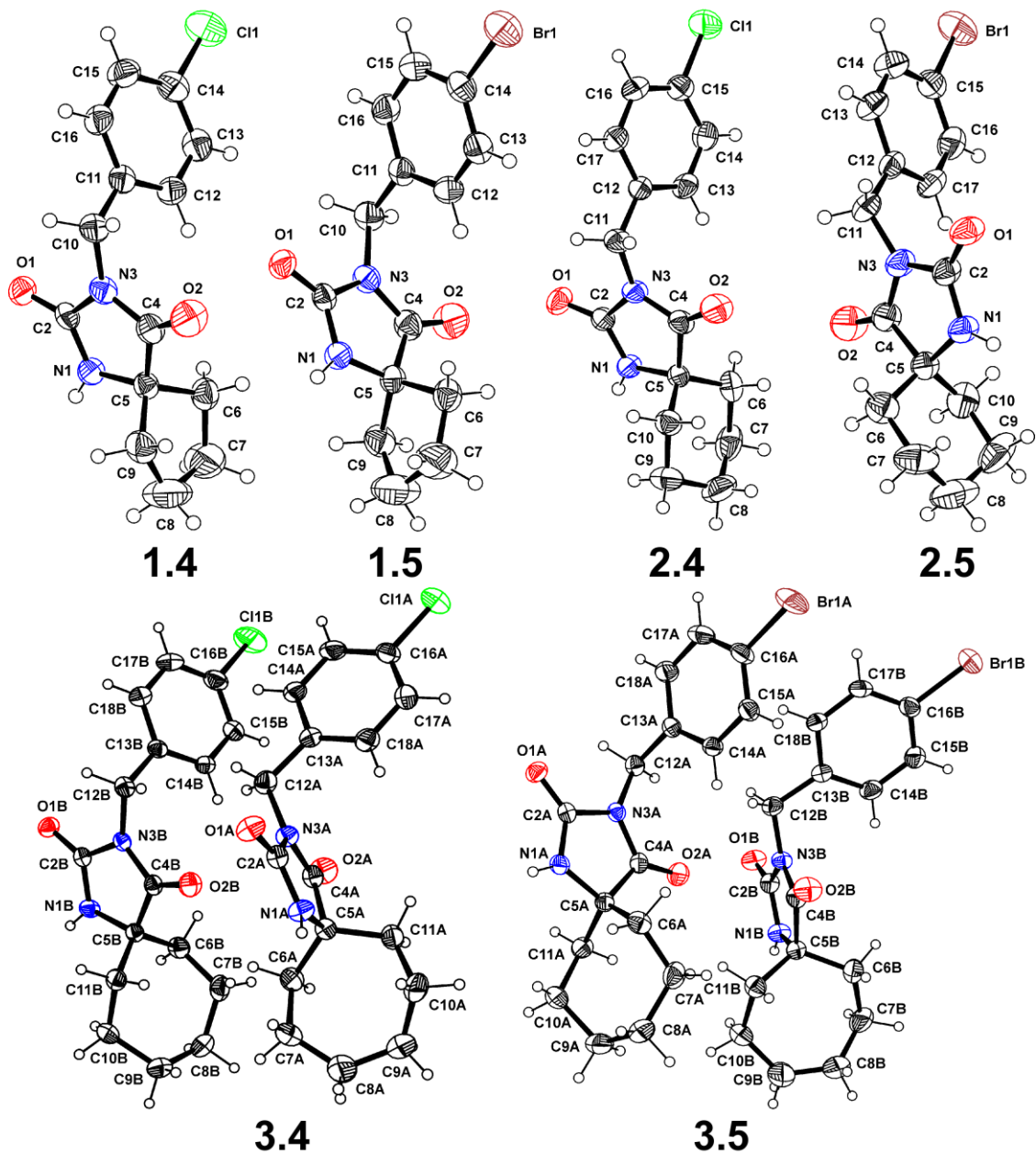
Одабрани геометријски параметри молекула проучаваних једињења приказани су у Табели 13. Дужине веза и углови хидантоинског прстена под утицајем су  $\pi$ -конјугације амидних фрагмената [103], док величина циклоалканског прстена слабије утиче на њих. Веза C2=O је незнатно дужа у односу на везу C4=O2 и ова разлика постаје мања када је бензил-група супституисана атомом брома у односу на хлорне деривате. Везе које обухватају спиро-С атом, C4–C5 (просечне дужине 1,52 Å) и N1–C5 (просечне дужине 1,46 Å), најдуже су у хидантоинском прстену, што је последица њиховог доминантног  $\sigma$ -карактера. Преостале C–N везе поседују  $\pi$ -карактер при чему је веза N1–C2 (просечне дужине 1,32 Å) најкраћа међу њима. Везе C<sub>m+5</sub>–C<sub>m+6</sub> (просечне дужине 1,51 Å) и N3–C<sub>m+5</sub> (просечне дужине 1,45 Å) које спајају хидантоински и фенилни прстен показују  $\sigma$  карактер [93]. Показано је да увођење електрон-акцепторског халогеног супституента у бензил-групу, доводи до скраћења C<sub>m+5</sub>–C<sub>m+6</sub> везе и продужења N3–C<sub>m+5</sub> везе у односу на једињење које садржи несупституисану бензил-групу [55]. Савијање C2=O везе према N3-атому својствено је свим дериватима хидантоина [103]. Угао O1–C2–N1 већи је у односу на угао O1–C2–N3 за 5°.

Табела 12. Кристалографски подаци за једињења 1.4, 1.5, 2.4, 2.5, 3.4 и 3.5

Подаци/Једињење	1.4	1.5	2.4	2.5	3.4	3.5
Формула	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> BrN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> BrN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	C <sub>16</sub> H <sub>19</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	C <sub>16</sub> H <sub>19</sub> BrN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Молекулска маса <i>M</i> (g mol <sup>-1</sup> )	278,73	323,19	292,76	337,21	306,78	351,23
Кристални систем	Моноклинични	Моноклинични	Моноклинични	Моноклинични	Триклинични	Триклинични
Просторна група	<i>P</i> 2 <sub>1</sub> / <i>n</i>	<i>P</i> 2 <sub>1</sub> / <i>n</i>	<i>P</i> 2 <sub>1</sub> / <i>n</i>	<i>P</i> 2 <sub>1</sub> / <i>n</i>	<i>P</i> -1	<i>P</i> -1
<i>a</i> (Å)	13,453(3)	13,622(3)	13,287(3)	13,505(3)	6,4340(13)	6,4576(13)
<i>b</i> (Å)	5,8751(12)	5,9260(12)	5,9132(12)	5,9344(12)	13,594(3)	13,713(3)
<i>c</i> (Å)	17,417(4)	17,379(4)	18,536(4)	18,587(4)	18,649(4)	18,624(4)
$\alpha$ (°)	90	90	90	90	72,12(3)	72,03(3)
$\beta$ (°)	101,50(3)	101,00(3)	99,09(3)	97,49(3)	84,92(3)	84,97(3)
$\gamma$ (°)	90	90	90	90	84,41(3)	84,93(3)
<i>V</i> (Å <sup>3</sup> )	1348,9(5)	1377,1(5)	1438,1(5)	1476,9(5)	1542,0(5)	1559,5(6)
<i>Z</i>	4	4	4	4	4	4
Примећене рефлексије /Ограничења/	2507/0/172	2152/0/172	2461/0/181	2557/0/182	4542/0/379	4135/0/379
Утачњавани параметри						
$\mu$ (mm <sup>-1</sup> )	0,282	2,984	0,269	2,790	0,254	2,642
<i>F</i> (000)	584	656	616	688	648	720
$\rho_c$ (g cm <sup>-3</sup> )	1,372	1,559	1,352	1,517	1,321	1,496
Гранични Милерови индекси <i>h, k, l</i>	-17→17; -7→7; -22→21	-14→16; -7→7; -18→21	-16→16; -7→7; -23→23	-16→16; -7→7; -23→23	-7→7; -16→16; -23→23	-7→7; -13→16; -22→22
Измерене рефлексије/ Независне рефлексије	11741/2861	6989/2715	15320/2941	15743/3025	16450/6044	11272/5709
<i>R</i> <sub>int</sub>	0,0245	0,0240	0,0281	0,0800	0,0233	0,0238
<i>R</i> [ <i>I</i> > 2σ( <i>I</i> )] <sup>a</sup>	<i>R</i> <sub>1</sub> = 0,0569 <i>wR</i> <sub>2</sub> = 0,1231	<i>R</i> <sub>1</sub> = 0,0389 <i>wR</i> <sub>2</sub> = 0,0833	<i>R</i> <sub>1</sub> = 0,0477 <i>wR</i> <sub>2</sub> = 0,1109	<i>R</i> <sub>1</sub> = 0,0686 <i>wR</i> <sub>2</sub> = 0,1540	<i>R</i> <sub>1</sub> = 0,0566 <i>wR</i> <sub>2</sub> = 0,1236	<i>R</i> <sub>1</sub> = 0,0452 <i>wR</i> <sub>2</sub> = 0,1222

$R$ (сви подаци)	$R_1 = 0,0657;$ $wR_2 = 0,1279$	$R_1 = 0,0553;$ $wR_2 = 0,0901$	$R_1 = 0,0597;$ $wR_2 = 0,1173$	$R_1 = 0,0768;$ $wR_2 = 0,1630$	$R_1 = 0,0807;$ $wR_2 = 0,1355$	$R_1 = 0,0690;$ $wR_2 = 0,1357$
GOOF	1,107	1,023	1,071	1,174	1,049	1,068
$\Delta\rho_{\max}, \Delta\rho_{\min}$ (e Å <sup>-3</sup> )	0,264; -0,311	0,475; -0,493	0,220; -0,363	0,635; -1,634	0,366; -0,256	0,528; -0,586

<sup>a</sup>  $w = R_1 = \Sigma||F_0|-|F_c||/\Sigma|F_0|$ ,  $wR_2 = |\Sigma|w(F_0^2 - F_c^2)^2/\Sigma[w(F_0^2)]^{1/2}$ .



Слика 19. Молекулске структуре проучаваних једињења са ознакама атома. Елипсоиди су приказани са 50% вероватноће за једињења **1.4**, **1.5**, **2.4**, **2.5**, и 30% вероватноће за једињења **3.4** и **3.5**. Н-атоми су приказани у облику сфера произвољног пречника

Ова разлика је последица одбијања слободних електронских парова карбонилног О1-атома и електронских парова N3–C2 везе. Одговарајући углови око атома C4 имају сличне вредности (Табела 13) [93].



Као што је и очекивано, хидантоински прстен је планаран у свим проучаваним молекулима. Са изузетком молекула **3.4B** и **3.5A**, равни хидантоинског и циклоалканског прстена међусобно су постављене под правим углом. Одговарајуће вредности углова су  $86,8^\circ$  за молекул **3.4A** и  $89,9^\circ$  за молекул **1.4** (Табела 14). Равни хидантоинског прстена и фенилног прстена налазе се у истом односу, док су равни фенилног и циклоалканског прстена међусобно паралелне. Ова запажања се слажу са оним која су карактеристична за циклоалканспиро-5-хидантоине и друга структурно слична једињења [103].

Једињења **1.4**, **1.5**, **2.4** и **2.5** кристалишу у моноклиничној просторној групи  $P2_1/n$  са  $Z = 4$ . Енергије интеракција (I.E.s) молекулских сегмената добијене из њихових кристалних структура приказане су у Табели 15. Критеријум дужине који је примењен на међумолекулске интеракције јесте збир Ван дер Валсовог радијуса  $+0,4\text{\AA}$  и усмереност већа од  $110^\circ$  [104]. Будући да сва четири једињења (**1.4**, **1.5**, **2.4**, **2.5**) поседују слична структурна својства, геометријски сегменти једињења **1.5**, изабрани су за репрезентативне и представљени су на Слици 20. У свим случајевима, молекули су повезани центросиметрично преко  $N - H \cdots O$  водоничних веза (Табела 16) и формирају  $R_2^2(8)$  прстен (сегмент I) при чему је енергија интеракција  $-74 \text{ kJ mol}^{-1}$ . У овом сегменту, допринос Кулоновских интеракција је значајнији у односу на допринос поларизације и дисперзије. Поменути димери који се формирају у једињењима **2.4** и **2.5**, стабилизовани су додатним рачвастим  $C-H \cdots O$  интеракцијама које воде њиховом даљем повезивању у двоструке ланце. Сваки ланац се формира путем  $C-H \cdots O$  интеракција између карбонилног O1-атома и водоникових атома који потичу из циклоалканског и фенилног прстена (сегмент II са вредношћу I.E.  $-34 \text{ kJ mol}^{-1}$  у коме доминира допринос дисперзије).

Велики број потенцијалних доносних група доприноси да се карбонилни O1-атом понаша као вишеструки акцептор водоничне везе. Растојање  $C-H \cdots O$  се налази у опсегу  $2,5-3,1 \text{ \AA}$ , при чему ове интеракције [105] одступају од линеарности са просечном вредношћу  $C-H \cdots O$  угла од  $130^\circ$ .

Табела 13. Одабране дужине веза ( $\text{\AA}$ ) и вредности углава за проучаване халогене деривате циклоалканспиро-5-хидантоина

	1.4	1.5	2.4	2.5	3.4		3.5	
					A	B	A	B
N1-C2	1,333(3)	1,336(4)	1,334(2)	1,334(5)	1,330(3)	1,336(3)	1,335(4)	1,335(4)
N1-C5	1,455(3)	1,456(3)	1,459(2)	1,469(5)	1,453(3)	1,458(3)	1,464(5)	1,458(4)
O1-C2	1,219(3)	1,217(3)	1,220(2)	1,224(5)	1,224(3)	1,222(3)	1,222(4)	1,218(4)
C2-N3	1,397(3)	1,401(4)	1,401(2)	1,403(5)	1,396(3)	1,392(3)	1,395(4)	1,392(4)
N3-C4	1,372(3)	1,370(4)	1,372(2)	1,375(5)	1,367(3)	1,365(3)	1,366(4)	1,373(4)
O2-C4	1,200(3)	1,210(4)	1,206(2)	1,214(5)	1,207(3)	1,207(3)	1,205(4)	1,203(4)
C4-C5	1,515(3)	1,516(4)	1,511(2)	1,512(5)	1,523(3)	1,523(3)	1,523(4)	1,575(5)
C <sub>m+5</sub> -C <sub>m+6</sub>	1,508(3)	1,510(4)	1,509(2)	1,512(5)	1,508(3)	1,507(3)	1,511(4)	1,504(4)
N3-C <sub>m+5</sub>	1,448(3)	1,455(4)	1,453(2)	1,447(5)	1,450(3)	1,457(3)	1,455(4)	1,448(5)
C2-N1-C5	113,2(2)	113,3(2)	113,1(2)	112,8(3)	113,6(2)	113,2(2)	113,1(3)	113,4(3)
O1-C2-N1	128,9(2)	129,0(3)	128,6(2)	128,4(4)	128,8(2)	128,6(2)	128,4(3)	128,7(3)
O1-C2-N3	123,9(2)	124,0(2)	124,0(2)	123,7(3)	123,8(2)	124,1(2)	123,9(3)	123,7(3)
N1-C2-N3	107,7(2)	107,0(2)	107,4(1)	107,8(3)	107,4(2)	107,4(2)	107,6(2)	107,6(3)
C2-N3-C4	111,5(2)	111,5(2)	110,9(1)	110,5(3)	111,2(2)	111,4(2)	111,2(2)	111,2(2)
O2-C4-N3	125,9(3)	125,3(3)	125,6(2)	125,9(3)	125,5(2)	125,7(2)	125,4(3)	125,8(3)
O2-C4-C5	127,2(2)	127,6(3)	126,9(3)	126,2(4)	127,2(2)	127,1(2)	127,1(3)	127,1(3)
N3-C4-C5	106,8(2)	107,1(2)	107,6(1)	107,9(3)	107,3(2)	107,2(2)	107,5(3)	107,2(3)
N1-C5-C4	101,2(2)	101,0(2)	100,8(1)	100,6(3)	100,5(2)	100,5(2)	100,4(2)	100,4(2)
C <sub>m+6</sub> -C <sub>m+5</sub> -N3	113,7(2)	113,0(2)	115,5(2)	115,4(3)	115,2(2)	113,1(2)	112,9(3)	115,1(3)

m-број C-атома у циклоалканском прстену.

Табела 14. Вредности диедарских углова ( $^{\circ}$ ) између равни дефинисаних прстеновима проучаваних молекула

Једињење	сусAlk-Нуд	Нуд-Ph	сусAlk- Ph
<b>1.4</b>	89,9(1)	88,4(1)	9,45(1)
<b>1.5</b>	89,8(1)	88,8(1)	14,4(1)
<b>2.4</b>	88,9(1)	77,4(1)	12,0(1)
<b>2.5</b>	88,1(1)	80,4(1)	11,8(1)
<b>3.4</b>	<b>A</b>	86,8(1)	81,8(1)
	<b>B</b>	75,3(1)	76,3(1)
<b>3.5</b>	<b>A</b>	75,4(1)	76,4(1)
	<b>B</b>	87,3(1)	81,3(1)

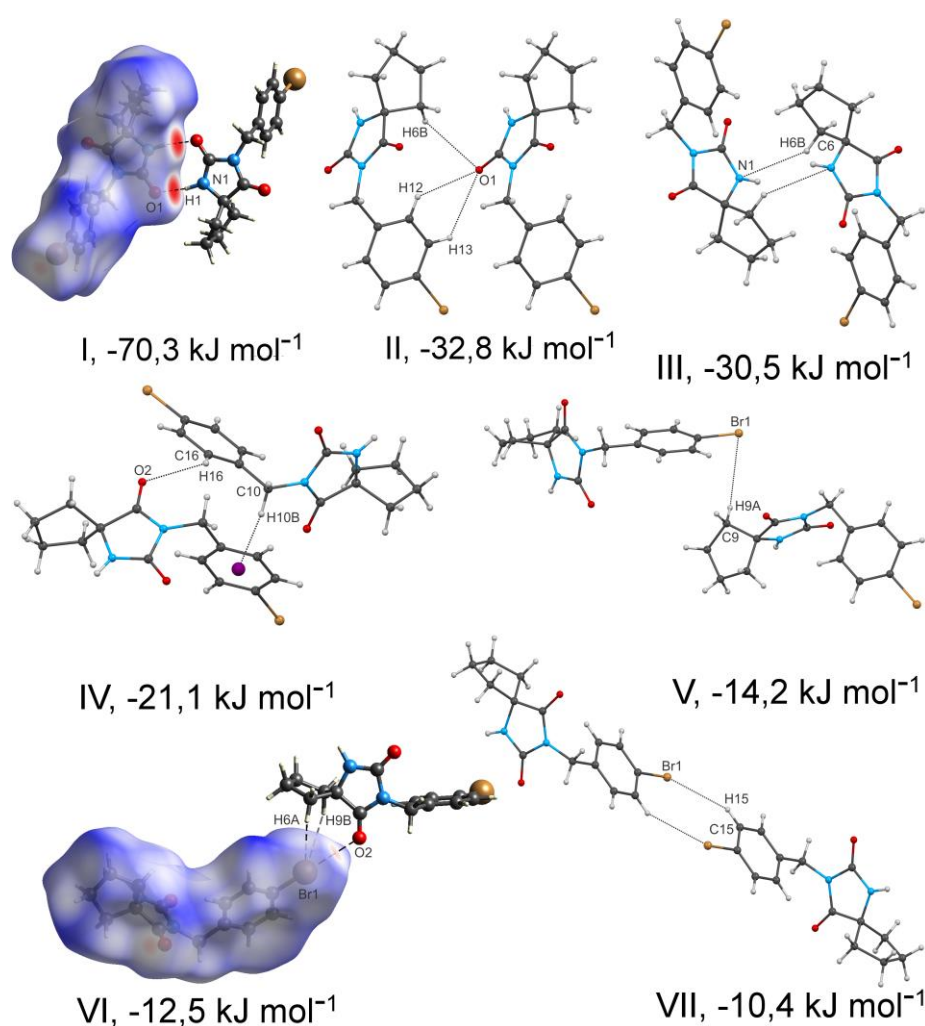
Нуд- раван хидантоинског прстена; сусAlk-раван циклоалканског прстена; Ph-раван фенилног прстена.

Молекули из супротних ланаца суседних димера међусобно су повезани паром C–H $\cdots$ N интеракција у центросиметричне  $R_2^2(8)$  псеудо-прстенове (сегмент III, са вредношћу I.E. од  $-30 \text{ kJ mol}^{-1}$  и израженим дисперзионим доприносом стабилизацији). Ове интеракције најчешће се дефинишу као слабе водоничне везе које су усмерене у простору [106]. Генерално, хидантоински прстенови који формирају димере налазе се на међусобној удаљености од  $5,5 \text{ \AA}$ , док је растојање између суседних прстенова  $6,0 \text{ \AA}$ .

Супрамолекулска сложеност проучаваних једињења потиче од укрштеног повезивања суседних димера путем интеракција које успостављају атоми халогена (X $\cdots$ O и C–H $\cdots$ X). На овај начин формира се комплексна псеудохексагонална мрежа (Слика 21 а). Проучавајући улогу супституената на циклохексанском прстену на изградњу кристалне структуре деривата циклохексанспиро-5-хидантоина, Граус (Graus) је уочила формирање 2D мреже код 4-карбоксил-циклохексанспиро-5-хидантоинске киселине састављене из  $R_6^6(46)$  прстенова [104c]. У овом случају, супрамолекулски правоугаоници састоје се из 4 копланарна  $R_2^2(8)$  прстена која повезују хидантоинске прстенове и два међусобно нормално оријентисана прстена које формирају карбоксилне групе.

Да би се анализирале и упоредиле одговарајуће енергије интеракција, разматрана су скраћења дужине халогених веза у односу на збир Ван дер Валсових радијуса интереагујућих атома. У случају Br $\cdots$ O интеракције, веће скраћење резултира не само већим Кулоновским доприносом него и већим

доприносом одбијања услед молекулског преклапања. Утицај замене атома хлора бромом, на разлагање енергије интеракција, више је изражен код циклопентан-спиро-5-хидантоина него циклохексанспиро-5-хидантоина. Значајан дисперзиони допринос неопходан је да би се постигла свеукупна стабилизација. У сегменту VI код једињења **1.4**, **1.5**, **2.4** и **2.5**, који изграђују две C–H···X интеракције, дисперзиони допринос превазилази укупну енергију интеракција и компензује репулзиони допринос.



Слика 20 . Молекулски сегменти једињења **1.5** са опадајућим вредностима енергија интеракција (Табела 15) који приказују најважније међумолекулске интеракције. На сегментима I и VI представљена је Хиршфилдова површина једињења **1.5**

Табела 15. PIXEL енергије интеракција (I.E., kJ mol<sup>-1</sup>) ( $E_{coul}$  – Кулоновска енергија,  $E_{pol}$  – енергија поларизације,  $E_{disp}$  – енергија дисперзије,  $E_{rep}$  – енергија одбијања,  $E_{tot}$  – укупна енергија) издвојених молекулских сегмената представљене помоћу симетријских кодова и одговарајућих међумолекулских интеракција

	Растојање <sup>a</sup> Å	$E_{coul}$	$E_{pol}$	$E_{disp}$	$E_{rep}$	$E_{tot}$	Симетријски кодови	Важније интеракције
<i>Једињење 1.4</i>								
I	7,567	-89,9	-34,9	-26,5	75,9	-75,5	-x + 1, -y + 1, -z + 1	N1-H1...O1
II	5,875	-10,2	-5,8	-36,1	18,6	-33,5	x, y - 1, z	C6-H6A...O1 C12-H12...O1 C13-H13...O1
III	6,305	-3,7	-5,8	-39,3	19,9	-28,9	-x + 1, -y + 1, -z + 1	C6-H6A...N1
IV	6,581	-6,9	-4,5	-28,4	17,5	-22,3	-x + 1/2, y + 1/2, -z + 3/2	C15-H15...O2 C16-H16...O2 C10-H10...π
V	9,997	-6,0	-1,3	-13,4	6,0	-14,7	x - 1/2, -y + 1/2, z - 1/2	C9-H9B...C11
VI	10,815	-4,3	-2,4	-14,0	8,6	-12,1	x - 1/2, -y - 1/2, z - 1/2	C6-H6B...C11 C9-H9A...C11 C11...O2
VII	12,667	-6,0	-3,0	-13,6	10,4	-12,1	-x + 1, -y, -z + 2	C15-H15...C11
<i>Једињење 1.5</i>								
I	8,484	-85,5	-30,9	-26,2	72,3	-70,3	-x + 1, -y, -z + 1	N1-H1...O1
II	5,926	-9,8	-5,5	-35,6	18,1	-32,8	x, y + 1, z	C6-H6B...O1 C12-H12...O1 C13-H13...O1
III	6,906	-5,2	-6,3	-40,9	21,7	-30,5	-x + 1, -y + 1, -z + 1	C6-H6B...N1
IV	6,251	-5,4	-4,1	-27,3	15,7	-21,1	x + 1/2, y - 1/2, -z + 3/2	C16-H16...O2

Табела 15 (наставак)

	Растојање <sup>a</sup> Å	E <sub>coul</sub>	E <sub>pol</sub>	E <sub>disp</sub>	E <sub>rep</sub>	E <sub>tot</sub>	Симетријски кодови	Важније интеракције
V	10,174	-5,6	-1,0	-12,2	4,7	-14,2	$x - 1/2, -y + 1/2, z - 1/2$	C10-H10B...π
VI	10,693	-8,0	-2,8	-14,2	12,4	-12,5	$x - 1/2, -y + 3/2, z - 1/2$	C9-H9A...Br1 C6-H6A...Br1 C9-H9B...Br1 Br1...O2
VII <i>Једињење 2.4</i>	11,358	-5,8	-2,3	-13,7	11,3	-10,4	$x + 1, -y + 1, -z + 2$	C15-H15...Br1
I	7,779	-81,1	-29,0	-28,5	65,3	-73,3	$-x + 1, -y + 1, -z + 1$	N1-H1...O1 C7-H7A...O1 C7-H7B...O1
II	5,913	-9,7	-5,5	-36,2	17,1	-34,4	$x, y - 1, z$	C13-H13...O1 C6-H6B...O1
III	6,350	-5,8	-5,3	-39,2	19,6	-30,7	$-x + 1, -y, -z + 1$	C6-H6B...N1 C7-H7B...O1
IV	6,689	-10,1	-6,0	-30,7	22,9	-23,8	$-x + 1/2, y + 1/2, -z + 3/2$	C11-H11...π C17-H17...O2 C16-H16...O2
V	10,653	-5,9	-1,6	-15,7	8,1	-15,1	$x - 1/2, -y + 1/2, z - 1/2$	C10-H10B...Cl1
VI	11,325	-4,7	-2,8	-15,7	9,6	-13,5	$x - 1/2, -y - 1/2, z - 1/2$	C6-H6A...Cl1 C10-H10A...Cl1 Cl1...O2
VII	13,745	-3,8	-1,7	-10,4	5,4	-10,4	$-x + 1, -y, -z + 2$	C16-H16...Cl1

Табела 15 (наставак)

	Растојање <sup>a</sup> Å	E <sub>coul</sub>	E <sub>pol</sub>	E <sub>disp</sub>	E <sub>геп</sub>	E <sub>tot</sub>	Симетријски кодови	Важније интеракције
<i>Једињење 2.5</i>								
I	8,843	-82,5	-30,1	-28,3	64,3	-76,6	-x + 1, -y, -z + 1	N1-H1...O1 C7-H7B...O1 C9-H9B...O1
II	5,934	-9,8	-5,1	-35,6	16,8	-33,7	x, y + 1, z	C17-H17...O1
III	7,126	-5,7	-4,9	-39,2	19,7	-30,2	-x + 1, -y + 1, -z + 1	C10-H10A...N1 C9-H9A...O1
IV	6,104	-9,3	-5,5	-30,3	21,7	-23,4	-x + 3/2, y - 1/2, -z + 1/2	C11-H11B...π C13-H13...O2 C14-H14...O2
VII	12,414	-3,4	-1,4	-10,3	6,4	-8,7	-x + 1, -y + 1, -z	C10-H10B...Br1 Br1...O2 C14-H14...Br1
<i>Једињење 3.4 (A...A)</i>								
I	7,902	-90,1	-34,3	-30,7	75,4	-79,9	-x, -y + 1, -z + 1	N1A-H1A...O1A C7A-H7A1...O1A C10A-H10B...O1
II	6,757	-5,6	-4,5	-35,9	15,6	-30,5	-x - 1, -y + 1, -z + 1	C10A-H10A...O1A
III	6,434	-4,6	-3,1	-26,5	8,9	-25,3	x - 1, y, z	C11A-H11B...O1
IV	9,781	-1,7	-1,2	-22,3	7,1	-14,7	-x - 1, -y + 2, -z + 1	C11A...π
V	13,594	-4,0	-2,7	-14,8	12,3	-9,4	x, y - 1, z	C9-H9A2...C11A

Табела 15 (наставак)

	Растојање <sup>a</sup> Å	E <sub>coul</sub>	E <sub>pol</sub>	E <sub>disp</sub>	E <sub>гер</sub>	E <sub>tot</sub>	Симетријски кодови	Важније интеракције
VI A...B/B...A	12,026	-2,1	-1,7	-11,6	6,1	-9,3	-x - 2, -y + 2, -z + 1	C17A-H17A...C11A
VII	5,488	-12,3	-7,2	-42,4	28,1	-33,8	x - 1, y, z	C11B-H11D...O2A SP(O2A)...π
VIII	5,616	-12,4	-6,9	-42,0	27,7	-35,5	x, y, z	C12-H12B...O2B C6A-H6A1...O2B SP(O2B)...π
IX B...B	13,438	-2,5	-1,5	-11,9	6,3	-9,5	x, y - 1, z	C8A-H8A2...C12B
X	7,574	-77,0	-24,8	-22,0	60,8	-63,0	-x + 1, -y + 1, -z + 2	N1B-H1B...O1B
XI	4,707	-15,7	-8,5	-69,6	37,4	-56,4	-x, -y + 1, -z + 2	C7B-H7B2...O1B C6B-H6B2...N1B C8-H8B1...π
XII	6,434	-12,7	-7,3	-37,3	25,7	-31,6	x - 1, y, z	C15B-H15B...O1B C14B-H14B...O1B C7B-H7B2...N1B
<b>Једињење 3.5</b>								
<b>(A...A)</b>								
I	8,455	-81,4	-27,8	-22,2	63,2	-68,3	-x + 1, -y, -z	N1A-H1A1...O1A C12B-H26A...O2A C11B-H22B...O2A SP(O2A)...π
V	5,576	-12,6	-7,0	-42,8	28,7	-33,7	x - 1, y, z	C11A-H6A...O2B SP(O2B)...π
VI	13,612	-3,1	-1,3	-12,2	5,9	-10,7	x, y - 1, z	C9B-H20A...Br1A



Табела 15 (наставак)

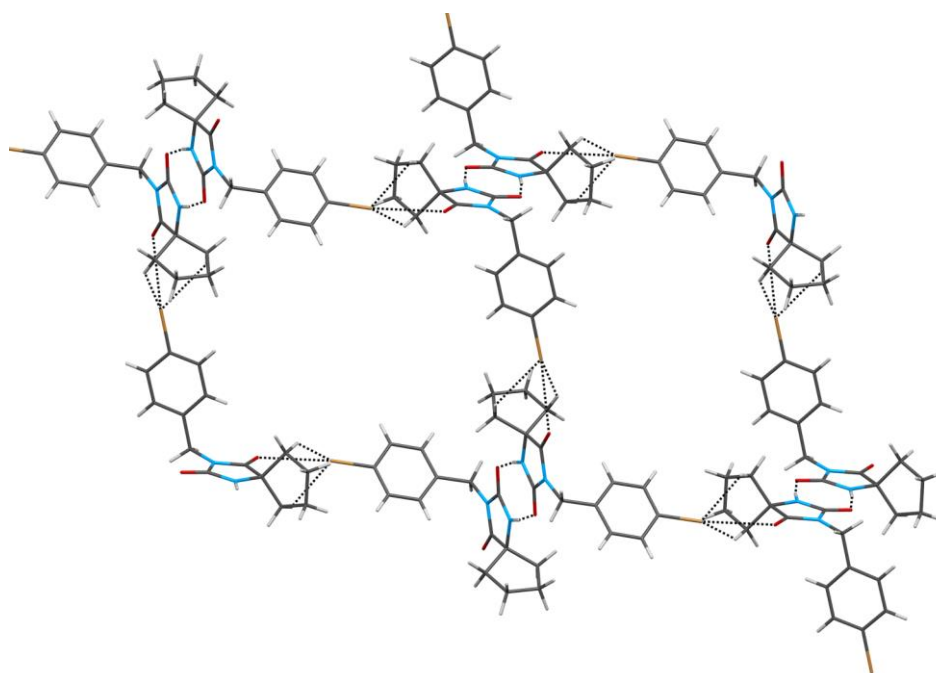
	Растојање <sup>a</sup> Å	E <sub>coul</sub>	E <sub>pol</sub>	E <sub>disp</sub>	E <sub>rep</sub>	E <sub>tot</sub>	Симетријски кодови	Важније интеракције
B...B								
VII	9,145	-85,8	-33,5	-30,8	73,6	-76,4	-x + 2, -y, -z + 1	N1B-H1B1...O1B C7B-H18A...O1B C10B-H21B...O2B
VIII	7,640	-5,2	-4,1	-35,3	14,6	-30,1	-x + 3, -y, -z + 1	C7B-H18B...O1B
IX	6,458	-4,2	-3,0	27,2	9,6	-24,7	x + 1, y, z	C6B-H17A...O1B
X	8,484	-0,4	-1,3	-22,9	8,8	-15,0	-x + 3, -y - 1, -z + 1	Br1B...π
XI	13,713	-4,2	-2,4	-16,2	11,9	-11,0	x, y + 1, z	C8B-H19A...Br1B

<sup>a</sup>Растојање између центара масе.

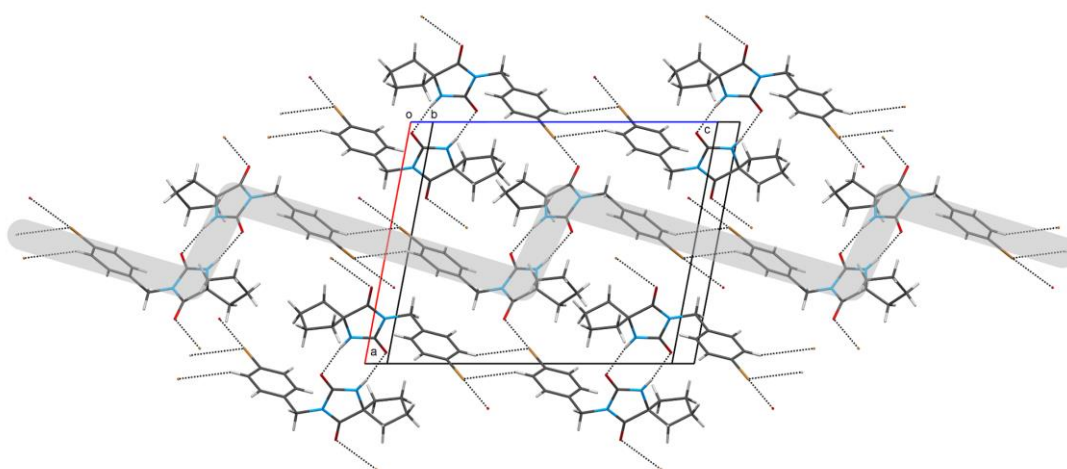
Табела 16. Геометрија водоничних веза ( $\text{\AA}$ ,  $^\circ$ ) халогених деривата циклоалканспиро-5-хидантоина

Једињење	D-H...A	$d(\text{D-H})$	$d(\text{D}\cdots\text{A})$	$d(\text{H}\cdots\text{A})$	D-H...A
<b>1.4</b>	N1-H1...O1 <sup>i</sup>	0,86	2,874(3)	2,02	173
<b>1.5</b>	N1-H1...O1 <sup>ii</sup>	0,86	2,883(3)	2,03	172
<b>2.4</b>	N1-H1...O1 <sup>i</sup>	0,86	2,927(2)	2,07	173
<b>2.5</b>	N1-H1...O1 <sup>ii</sup>	0,86	2,930(4)	2,07	174
<b>3.4</b>	N1A-H1A...O1A <sup>iii</sup>	0,86	2,886(3)	2,03	171
	N1B-H1B...O1B <sup>iv</sup>	0,86	2,892(3)	2,06	163
<b>3.5</b>	N1A-H1A1...O1A <sup>v</sup>	0,86	2,892(3)	2,06	163
	N1B-H1B1...O1B <sup>vi</sup>	0,86	2,894(4)	2,04	170

Симетријски кодови: (i)  $-x+1, -y+1; -z+1$ , (ii)  $-x+1, -y, -z+1$ ; (iii)  $-x, -y+1, -z+1$ ; (iv)  $-x+1, -y+1, -z+2$ ; (v)  $-x+1, -y, -z$ ; (vi)  $-x+2, -y, -z+1$ .



a)



b)

Слика 21. а) Део кристалне структуре једињења **1.5** која показује међусобно повезивање  $R_2^2(8)$  димера путем  $C-H\cdots Br$  и  $O\cdots Br$  интеракција ради формирања супрамолекуларне псеудохексагоналне мреже; б) део кристалне структуре једињења **1.5** која приказује формирање „цик-цак“ ланаца састављених из  $R_2^2(8)$  прстенова међусобно повезаних преко  $N-H\cdots O$  и  $C-H\cdots Br$  водоничних веза

Што се тиче геометрије  $X\cdots O$  халогених веза у сегменту VI (Табела 17), уочава се велика тежња карбонилног O2-атома да заузме линеарни положај у односу на атом халогена, што потврђује и вредност угла  $D-H\cdots A$  која износи  $170^\circ$ . Угао који заклапа атом халогена са карбонилним O2-атомом износи  $120^\circ$ , указујући да је, према моделу  $\sigma$ -шупљине [98],  $\sigma$ -шупљина атома халогена привучена невезујућим орбиталама атома кисеоника карбонилне групе. Ове вредности се слажу са вредностима добијеним за мале молекуле [107]. Разлике у геометријским параметрима халогених веза у молекулима циклопентанспиро-5-хидантоина (**1.4** и **1.5**) и циклохексанспиро-5-хидантоина (**2.4** и **2.5**) могу се приписати стерним интеракцијама између атома халогена и циклоалканског прстена (Табела 17).

Табела 17. Геометријски параметри халогених веза ( $\text{\AA}$ ,  $^\circ$ ) деривата циклоалканспиро-5-хидантоина

Једињење	$d(C-X\cdots O)$	$C-X\cdots O$	$X\cdots O-C$
<b>1.4</b>	3,284	174,7	122,6
<b>1.5</b>	3,220	173,8	124,9
<b>2.4</b>	3,673	165,0	115,9
<b>2.5</b>	3,684	165,0	117,6

Халогена веза и  $C-H\cdots O$  интеракција деле карбонилни O2-атом као заједнички акцептори (сегмент IV). Поменуте везе су међусобно оријентисане под правим углом. Ово се може објаснити чињеницом да су невезујуће орбитале карбонилног O2-атома заузеле овим slabим водоничним везама и да електронегативни потенцијал неопходан за халогено везивање потиче са карбонилних  $\pi$ -орбитала [108]. Сегмент IV (I.E.  $\sim 22,6 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) показује да узајамни положај бензил-групе омогућава успостављање  $C-H\cdots \pi$  интеракције. Формирање мреже потпомажу и  $C-H\cdots X$  интеракције чије су дужине између 2,9 и 3,1  $\text{\AA}$  и које благо одступају од линеарности ( $138^\circ < \text{угао } C-H\cdots X < 158^\circ$ ). Други молекулски пар гради  $R_2^2(8)$  псеудо-прстен преко  $C-H\cdots X$  интеракција типа "глава-глава" (енг. head-to-head) код којих  $H\cdots X$  растојање износи 3,0  $\text{\AA}$ , а угао  $C-H\cdots X$   $154,5^\circ$ . Код једињења **1.4** и **1.5**, интеракција није планарна, а прстен заузима приближно конформацију столице (сегмент VII, I.E.  $\sim 10,5 \text{ kJ mol}^{-1}$ ).

На описани начин,  $R_2^2(8)$  прстенови који су међусобно повезани N–H···O и C–H···X интеракцијама (Слика 21 б) формирају "цик-цак" ланце. Поређењем хлоро (**1.4** и **2.4**) и бромо (**1.5** и **2.5**) деривата, може се закључити да замена халогеног супституента утиче само на геометрију C–H···X веза јер су C–H···Br везе незнатно дуже у односу на C–H···Cl везе.

Једињења **3.4** и **3.5** кристалишу са два молекула у асиметричној јединици у оквиру триклиничне просторне групе са  $Z = 4$ . Будући да се у кристалним паковањима поменутих деривата, молекули међусобно удружују на више начина, као репрезентативне интеракције изабране су оне код којих је  $I.E. \geq 10 \text{ kJ mol}^{-1}$  (Табела 15). Пошто се уочава велика сличност између структурних својстава једињења **3.4** и **3.5**, на Слици 22, представљени су само геометријски сегменти добијени из кристалне структуре једињења **3.5**.

У погледу начина повезивања, постоји аналогија између молекула **3.4A** и **3.5B**, као и **3.4B** и **3.5A**. Молекули су повезани N–H···O водоничним везама и формирају  $R_2^2(8)$  хомодимере (сегменти I и VII са  $I.E. -68,3$  и  $-76,4 \text{ kJ mol}^{-1}$  за молекул **3.5A**, односно **3.5B**, главни допринос овим интеракцијама је Кулоновска стабилизација). У односу на молекул **3.5A**, повећање енергије интеракција код молекула **3.5B**, последица је додатних C–H···O интеракција (сегмент VII) услед другачије конформације циклохептанског прстена.

Карактеристична структурна својства једињења **3.4** и **3.5**, резултат су формирања два двострука ланца изграђена од  $R_2^2(8)$  прстенова дуж  $a$ -осе код којих основни начин међумолекулског повезивања представљају C–H···O водоничне везе између молекула из истог ланца, при чему се циклохептански и бензилни прстен понашају као слаби доноси протона, а карбонилни O1-атом као акцептор протона (сегменти II, III, VIII, IX). Аналогно једињењима **1.4**, **1.5**, **2.4** и **2.5**, C–H···N интеракције додатно стабилизују овакав размештај молекула A (сегменти II и III). Поред ових интеракција, сегмент II показује да су димери молекула **3.5A** повезани паром C–H··· $\pi$  интеракција које укључују  $\pi$  електронски систем бензил-групе.

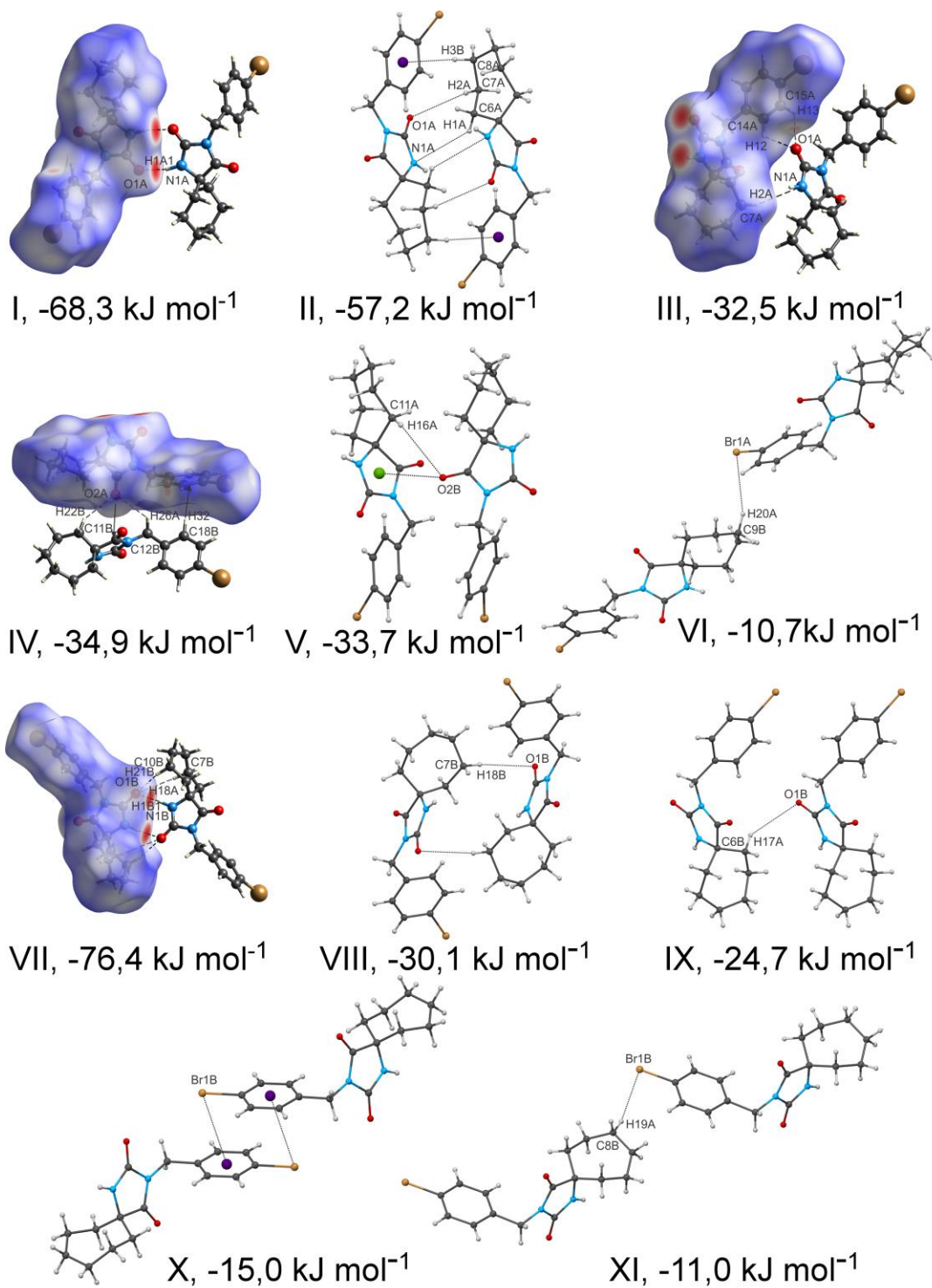
Кристална паковања једињења **3.4** и **3.5**, могу се посматрати алтернативно као два двострука ланца (Слика 23) изграђена од  $R_2^2(8)$  хомодимера повезаних

C–H $\cdots$ X интеракцијом (сегмент XI са I.E. мањом од  $-10,0 \text{ kJ mol}^{-1}$ ). За геометрију ових интеракција карактеристична је H $\cdots$ X дужина од  $3,1 \text{ \AA}$  и C–H $\cdots$ X угао од  $145^\circ$ . У случају молекула **3.5B**, димеризација ланаца последица је успостављања C–Br $\cdots$  $\pi$  интеракција типа "глава-глава" (сегмент X са I.E.  $-15 \text{ kJ mol}^{-1}$  и доминантним доприносом дисперзије). За ову интеракцију карактеристично је растојање Br $\cdots$ центроид које износи  $3,943 \text{ \AA}$  као и растојање између центроида два фенилна прстена од  $4,535 \text{ \AA}$ . Исти димерни сегмент уочава се код молекула **3.4A**. У овом случају, краће C–X $\cdots$  $\pi$  растојање доводи до повећања Кулоновског доприноса и благог смањења одбијања.

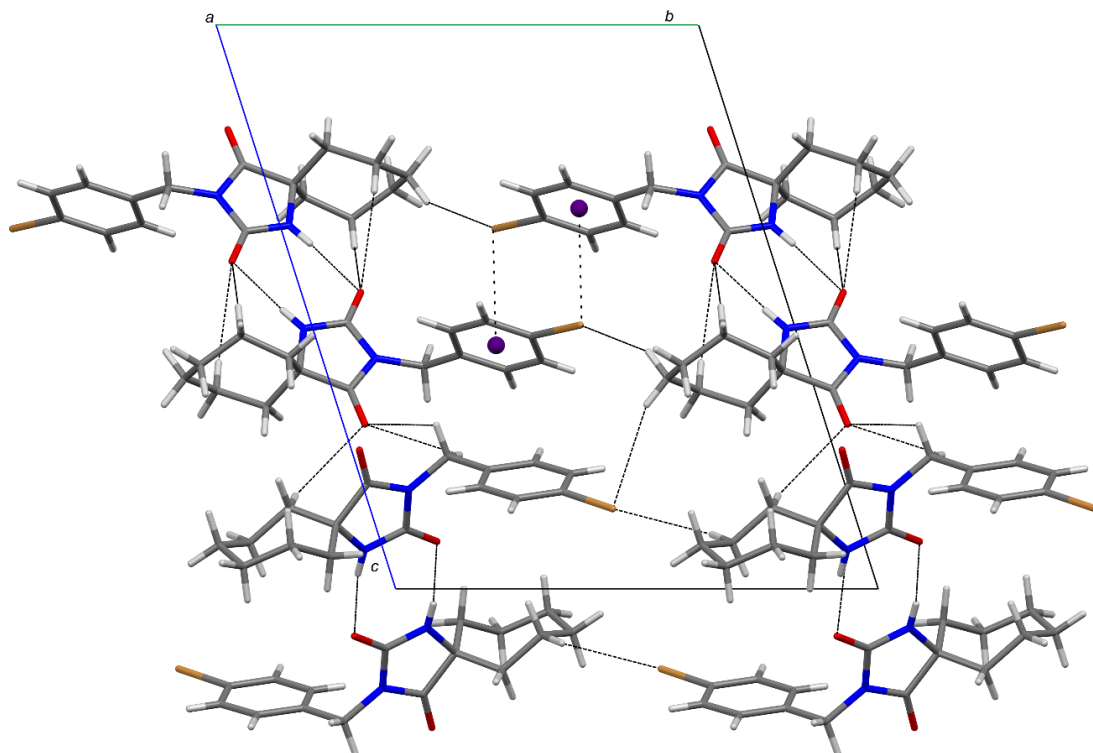
Без обзира на дужину интеракција, дисперзија највише доприноси укупној вредности енергије кристалне решетке. Суседни двоструки ланци који се састоје из различитих конформера се потом повезују у тродимензиону мрежу преко C–H $\cdots$ O и lp(O) $\cdots$  $\pi$  (lp – енгл. lone pair, слободни електронски пар) интеракција које укључују  $\pi$  електронски систем хидантоинског прстена (сегменти IV и V са просечном вредношћу I.E. од  $34 \text{ kJ mol}^{-1}$ ). Карбонилна група једног хидантоинског прстена оријентише се ка центроиду другог хидантоинског прстена при чему је растојање O $\cdots$ центроид у опсегу од  $3,2$  до  $3,5 \text{ \AA}$ . Сегмент IV показује да суседни молекули **3.5A** и **3.5B** заузимају "ивица-лице" (енг. edge-to-face) геометрију са диедарским углом између фенилних прстенова од  $51,1(1)^\circ$ . Овај размештај молекула, последица је успостављања C–H $\cdots$ O и C–H $\cdots$  $\pi$  интеракција. C–H $\cdots$ X интеракција са H $\cdots$ X дужином од  $3,152 \text{ \AA}$  и C–H $\cdots$ X углом од  $160^\circ$  такође доприноси повезивању молекула (сегмент VI, I.E. =  $-10 \text{ kJ mol}^{-1}$ ).

У случају молекула **3.5B**, суседни двоструки ланци међусобно су повезани паром слабих C–H $\cdots$ X интеракција (I.E.  $< 10 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) и формирају центрoсиметричне  $R_2^2(8)$  прстенове. Њихов енергетски допринос значајнији је у случају молекула **3.4A** (сегмент VI). За разлику од циклопентанских и циклохексанских деривата, у кристалним паковањима једињења **3.4** и **3.5**, не уочавају се X $\cdots$ O халогене везе.

У Табели 18, дате су вредности укупне енергије кристалне решетке за свако једињење које се налазе у опсегу  $-142$  до  $-154 \text{ kJ mol}^{-1}$ .



Слика 22. Молекулски сегменти једињења **3.5** са опадајућим вредностима енергија интеракција (Табела 15) који приказују најважније интермолекуларне интеракције. На сегментима I, III, IV и VI представљена је Хиришфилдова површина једињења **3.5**



Слика 23. Део кристалне структуре једињења **3.5** која показује повезивање  $R_2^2(8)$  хомодимера преко  $C-H\cdots Br$  и  $C-Br\cdots\pi$  интеракција ради формирања двоструких ланаца (пројекција у односу на  $bc$ -раван). На слици је представљено повезивање суседних ланаца преко  $C-H\cdots Br$  и  $C-Br\cdots O$  интеракција

Табела 18. Енергија кристалне решетке која је добијена применом PIXEL ( $kJ mol^{-1}$ ) методе подељена на Кулоновски, поларизациони, дисперзиони и репулзиони допринос

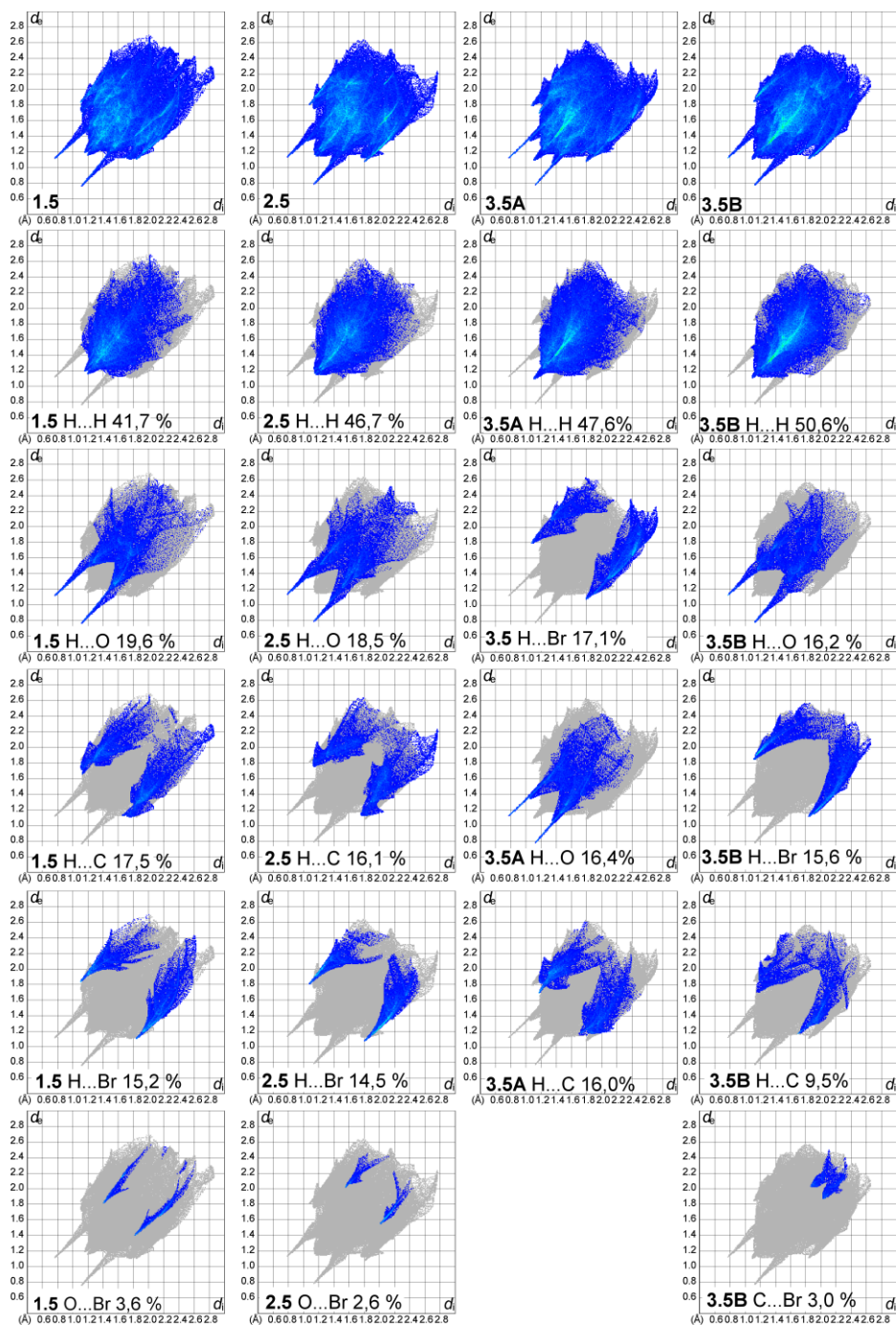
Једињење	$E_{coul}$	$E_{pol}$	$E_{disp}$	$E_{rep}$	$E_{tot}$
<b>1.4</b>	-76,8	-33,0	-146,5	109,6	-146,6
<b>1.5</b>	-76,4	-30,5	-144,8	109,6	-142,1
<b>2.4</b>	-76,9	-31,0	-153,9	110,0	-151,9
<b>2.5</b>	-77,1	-29,4	-149,1	107,7	-147,9
<b>3.4</b>	-74,9	-31,1	-155,2	110,7	-150,6
<b>3.5</b>	-77,5	-31,4	-159,0	114,3	-153,7

Описана структурна својства проучаваних једињења представљена су Хиршфилдовим графицима, који пружају појединачну мапу свих интермолекуларних атом-атом интеракција (Слика 24) [101]. Може се уочити да су начини

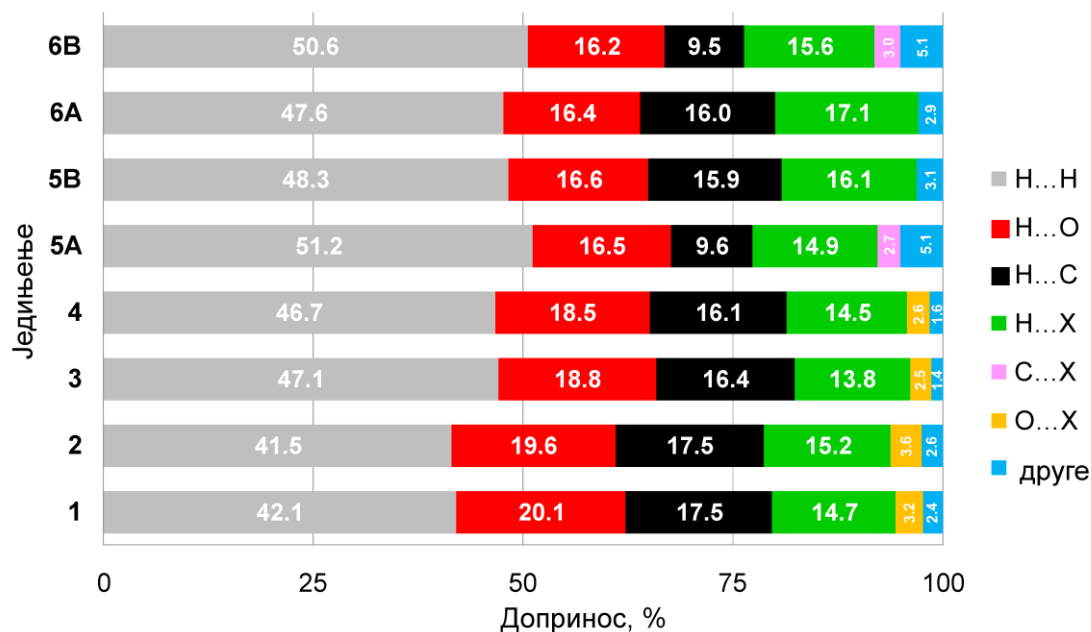


успостављања интеракција у проучаваним једињењима међусобно веома слични. Н··Н интеракције заузимају око 50% укупне површине (Слика 25). Њихов допринос расте са повећањем циклоалканског прстена, што указује да дисперзија највише утиче на укупну енергију кристалне решетке (Табела 18). Најкраће Н··Н интеракције приказане су као упадљиви благо раздвојени шиљци на растојању  $d_e + d_i \approx 2,2\text{--}2,4 \text{ \AA}$ . Поменуто раздвајање својствено је за међусобни контакт три атома, док се ређе уочава код директног контакта два атома [101]. Интеракција која обухвата 16–20% укупних контаката, резултат је Н··О водоничних веза. Н–Н··О интеракције, уочавају се као пар симетричних шиљака који се простиру ка доњем левом делу графика ( $d_e + d_i \approx 1,8 \text{ \AA}$ , горњи шиљак је донорски, а доњи шиљак је акцепторски) [101].

У проучаваним кристалним структурама се такође уочавају Н··С контакти (одговарају С–Н··π интеракцијама) који заузимају 9,5–17,5% укупне површине и представљени су као пар широких одвојених крила на растојању  $d_e + d_i \approx 2,8\text{--}2,9 \text{ \AA}$ . Карактеристичан приказ Н··Х водоничних веза представља пар пространих шиљака ( $d_e + d_i \approx 2,9 \text{ \AA}$ ) са великим раздвајањем преко дијагонале графика [102а]. Ове интеракције заузимају 13–18% укупне површине. Због већег Ван дер Валсовог радијуса атома брома, релативни допринос је израженији код бромних деривата у поређењу са хлорним дериватима са истим циклоалканским прстеном. Могуће је идентификовати тачкаста подручја релативно великог интензитета која одговарају интермолекулским интеракцијама халогених атома. Око 3% укупне површине обухватају Х··О везивања присутна код једињења **1.4**, **1.5**, **2.4** и **2.5**, док се код једињења **3.4** и **3.5** слабо уочавају. Отисци ових интеракција указују да су присутне водоничне везе [109]. Уочавају се као два спарена оштра шиљка ( $d_e + d_i \approx 3,2\text{--}3,6 \text{ \AA}$ ) која су најдужа у једињењу **1.5**. Као код водоничне везе, што је халогена веза јача, одговарајући Х··О шиљак је дужи. Код молекула **3.4А** и **3.5В**, 3% укупне површине заузимају Х··С контакти који се односе на С–Х··π интеракције. Уочавају се на дијагонали графика на растојању  $d_e = d_i \approx 3,8 \text{ \AA}$ . Кристалне структуре свих проучаваних једињења карактерише постојање Х··Х, Н··Н и С··О контаката који заузимају занемарљиво мали део укупне површине.



Слика 24. Графички прикази отисака једињења **1.5**, **2.5** и **3.5**, разложени на доприносе специфичних интермолекулских атом-атом контаката. На сваком графику, сива површина означава укупни отисак



Слика 25. Релативни доприноси интермолекуларних атом-атом контаката на Хиршфилдовој површини једињења

Слике 20 и 22 приказују Хиршфилдове површине једињења **1.5** и **3.5** представљене помоћу параметра  $d_{norm}$  који се налази у опсегу  $-0,5$  до  $1,5$  Å. Ова функција дефинише међусобну удаљеност контаката као суму Ван дер Валсових полупречника атома, при чему су најближи контакти представљени црвеном бојом (негативне вредности  $d_{norm}$ ) [101]. Пар црвених шиљака једнаке дужине одговара  $N-H\cdots O$  водоничним везама што је карактеристично за  $R_2^2(8)$  прстенове [110].

Додатни слаби црвени шиљци на Хиршфилдовој површини једињења **1.5**, потичу од интеракција које успостављају атоми халогена. Код једињења **3.5**, дужи  $H\cdots O$  контакти који се односе на  $C-H\cdots O$  интеракције између карбонилног  $O_2$ -атома и атома водоника из циклоалканског и бензеновог прстена, приказани су као два мала црвена шиљка на Хиршфилдовој површини (сегмент IV, Слика 22). Дужи  $H\cdots O$  контакти у сегменту III представљени су као нешто мањи црвени шиљци. Контакти који укључују атоме халогена тј.  $C-H\cdots Br$  контакти, представљени су као слаби црвени шиљци. Показано је да се помоћу параметра  $d_{norm}$ , не може утврдити постојање  $C-H\cdots \pi$  интеракција [111], које су

идентификоване у кристалном паковању испитиваних једињења. Запажања заснована на анализи Хиршфилдове површине слажу се са резултатима PIXEL анализе. На основу анализе Хиршфилдове површине, утврђено је да доминирају они блиски контакти атома који су повезани са релативно slabим интеракцијама. Узимајући у обзир разноврсну фармацеутску примену деривата хидантоина, наше истраживање о улози интермолекулских интеракција халогених атома омогућава да се поменута једињења укључе у стратегије за дизајнирање нових биолошки активних једињења и биоматеријала.

#### **4.1.2. UV-Vis спектрална анализа**

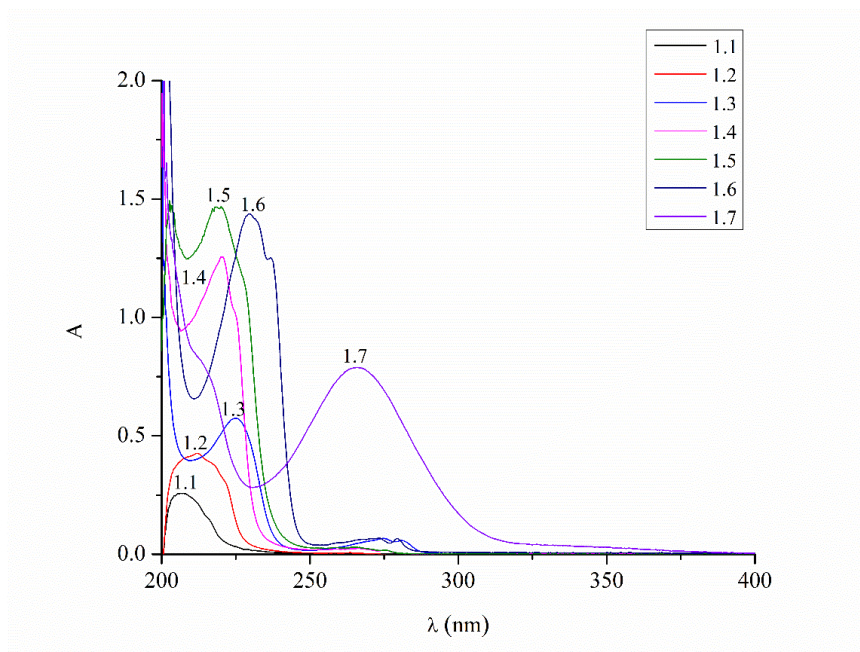
##### ***4.1.2.1. Утицај супституената и растварача на UV-Vis апсорпционе спектре***

Ултраљубичасти апсорпциони максимуми свих 3-(4-супституисаних бензил)циклопентанспиро-5-хидантоина одређени су у 20 растварача различитих својстава у интервалу таласних дужина од 200 до 400 nm. Вредности фреквенција које одговарају апсорпционом максимуму веће вредности енергије представљене су у Табели 19, а карактеристичан спектар у етанолу као растварачу приказан је на Слици 26.

Подаци представљени у Табели 19 потврђују да положаји UV-Vis апсорпционих максимума значајно зависе од природе супституената на фенилном језгру, док растварачи имају слабији утицај. Ово понашање је карактеристично за молекуле са slabим диполним моментом у основном стању, пошто су њихови електронски прелазни повезани са интрамолекулском разменом електрона [77]. Поменути молекули укључују хидантоине [34,55] и сукцинимиде [113,114] код којих се делокализација електрона остварује између атома азота и кисеоника преклапањем  $\pi$ -атомских орбитала карбонилне групе и атомских орбитала које садрже слободан електронски пар на атому азота.

Спектар приказан на Слици 27. у исто време показује да супституенти имају значајнији утицај од растварача на положај UV-Vis апсорпционих максимума. Увођење супституента на фенилно језгро резултира батохромним померањем апсорпционог максимума у односу на несупституисано једињење **1.1**

у свим растварачима. Овај ефекат је највише изражен код јаких електрон-акцепторских супституената као што су цијано- и нитро-група.



Слика 26. Апсорпциони спектар 3-(4-супституисаних бензил)циклопентанспиро-5-хидантоина у етанолу

Ефекти супституената на апсорпционе спектре проучаваних деривата спирохидантоина објашњени су корелисањем апсорпционих фреквенција ( $\nu = 1/\lambda$ ) за траке више енергије (Табела 19) са Хаметовим  $\sigma_p$  константама супституената. На дијаграму (Слика 27) који представља корелацију  $\nu_{max}$  у функцији  $\sigma_p$ , уочава се нелинеарна корелација Хаметовом једначином.

Добијене су различите зависности за електрон-донорске (-OCH<sub>3</sub>, -CH<sub>3</sub> и -H) и електрон-акцепторске супституенте (-Cl, -Br, -CN, -NO<sub>2</sub> и -H). Електрон-донорски супституенти повећавају електронску густину на N-атому у положају 3 хидантоинског прстена и фаворизују  $^-O-C=N^+$  резонанциону структуру. Резултати корелације за све употребљене раствараче за електрон-донорске супституенте укључујући и водоник, представљени су једначином:

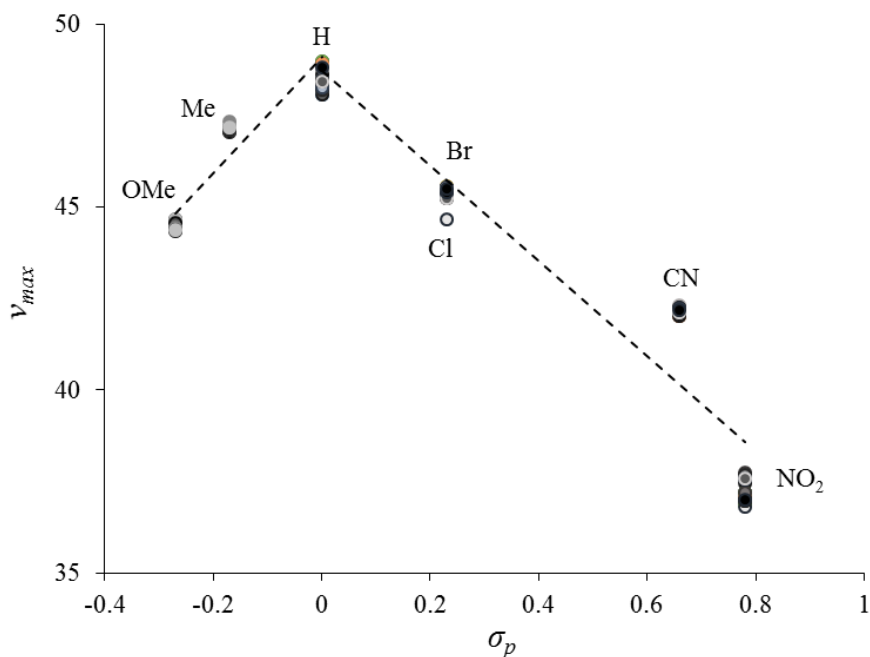
$$\nu_{max} = 48,88(\pm 0,120) + 14,62(\pm 0,651)\sigma_p \quad (23)$$

$$R = 0,9470, s = 0,562, F = 504, n = 60$$

Табела 19. Апсорпциони максимуми 3-(4-супституисаних бензил)циклопентанспиро-5-хидантоина у различитим растварачима

Растварач / Једињење	$\nu_{\max} \times 10^{-3} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$						
	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7
Метанол	48,08	47,17	44,44	45,41	45,33	42,23	37,45
Метанол/Н <sub>2</sub> О (80:20) <sup>а</sup>	48,78	47,17	44,56	45,37	45,50	42,09	37,20
Метанол/Н <sub>2</sub> О (60:40)	48,97	47,12	44,64	45,33	45,45	42,16	36,87
Метанол /Н <sub>2</sub> О (40:60)	48,88	47,04	44,68	45,45	44,68	42,02	36,79
Етанол	48,26	47,08	44,37	45,33	45,58	42,23	37,57
Етанол/Н <sub>2</sub> О (80:20)	48,88	47,08	44,48	45,29	45,54	42,09	37,20
Етанол/ Н <sub>2</sub> О (60:40)	48,92	47,08	44,56	45,37	45,45	42,02	37,06
Етанол/ Н <sub>2</sub> О (40:60)	48,73	47,17	44,68	45,37	45,41	42,02	37,04
2-Пропанол	48,36	47,08	44,44	45,25	45,50	42,27	37,74
2-Пропанол/ Н <sub>2</sub> О (80:20)	48,64	47,08	44,48	45,29	45,45	42,16	37,20
2-Пропанол/ Н <sub>2</sub> О (60:40)	48,73	47,35	44,44	45,29	45,54	42,09	36,98
2-Пропанол/ Н <sub>2</sub> О (40:60)	48,78	47,12	44,56	45,33	45,50	42,12	36,98
2-Пропанол/Метанол (80:20)	48,73	47,12	44,36	45,29	45,54	42,30	37,57
2-Пропанол/Метанол (60:40)	48,64	47,12	44,41	45,33	45,45	42,26	37,54
2-Пропанол/Метанол (40:60)	48,50	47,17	44,44	45,33	45,54	42,26	37,54
2-Пропанол/Етанол (80:20)	48,45	47,12	44,36	45,25	45,50	42,23	37,68
2-Пропанол/Етанол (60:40)	48,22	47,12	44,36	45,29	45,54	42,23	37,68
2-Пропанол/Етанол (40:60)	48,26	47,12	44,36	45,29	45,54	42,23	37,59
1-Бутанол	48,45	47,12	44,33	45,25	45,50	42,12	37,57
Ацетонитрил	48,83	47,17	44,37	45,41	45,50	42,19	37,01

<sup>а</sup> Запремински проценти смеше растварача.



Слика 27. Корелација  $\nu_{max}$  и  $\sigma_p$  за 3-(4-супституисане бензил)циклопентанспиро-5-хидантоине у свим растварачима

Ефекти електрон-акцепторских супституената су супротни ефекту локалне поларизације амидне групе у хидантоинском језгру, а стабилизују  $O=C-N$  – структуру. Резултати корелације представљени су једначином:

$$\nu_{max} = 48,53(\pm 0,182) - 12,52(\pm 0,380)\sigma_p \quad (24)$$

$$R = 0,9576, s = 1,113, F = 1083, n = 100$$

Ови резултати су у сагласности са нашим ранијим истраживањима о утицају супституената на електронске апсорпционе спектре молекула амидног типа [115, 116].

Да би се стекао увид у начин успостављања интеракција потенцијалних антиканцерогених лекова и њиховог окружења, снимљени су апсорпциони спектри 3-(4-супституисаних бензил)циклохексанспиро-5-хидантоина и 3-(4-супституисаних бензил)циклохептанспиро-5-хидантоина у одабраном сету растварача. Одговарајуће вредности апсорпционих максимума приказане су у

Табелама 20 и 21, а репрезентативни спектри снимљени у етанолу и ацетонитрилу, представљени су на Сликама 28 и 29.

Спектре свих проучаваних молекула карактерише присуство једне доминантне траке која потиче од  $\pi \rightarrow \pi^*$  прелаза у фенилној групи и хидантоинском прстену и мањег апсорпционог максимума ниже енергије, који потиче од померања електронске густине са супституисане бензил-групе према C=O групи амидног фрагмента, што је карактеристично за 5-супституисане деривате хидантоина [116]. Анализа овог хромофорног система показује да је апсорпција већим делом резултат интрамолекулског трансфера наелектрисања (ИСТ). Положаји апсорпционих максимума незнатно се мењају са променом поларности растварача. Значајнији утицај супституената на електронске спектре проучаваних молекула, представљен је дијаграмом  $\nu_{max}$  у функцији  $\sigma_p$  (Слике 30 и 31), као и одговарајућим једначинама за циклохексанспиро-5-хидантоинске (једначине 25 и 26) и циклохептанспиро-5-хидантоинске деривате (једначине 27 и 28) редом, посебно за електрон-донорске и електрон-акцепторске супституенте.

$$\nu_{max} = 48,70(\pm 0,128) + 13,96(\pm 0,697)\sigma_p \quad (25)$$

$$R = 0,9347, s = 0,602, F = 401, n = 60$$

$$\nu_{max} = 48,46(\pm 0,178) - 12,40(\pm 0,372)\sigma_p \quad (26)$$

$$R = 0,9587, s = 1,087, F = 1113, n = 100$$

$$\nu_{max} = 48,74(\pm 0,129) + 14,28(\pm 0,702)\sigma_p \quad (27)$$

$$R = 0,9365, s = 0,606, F = 413, n = 60$$

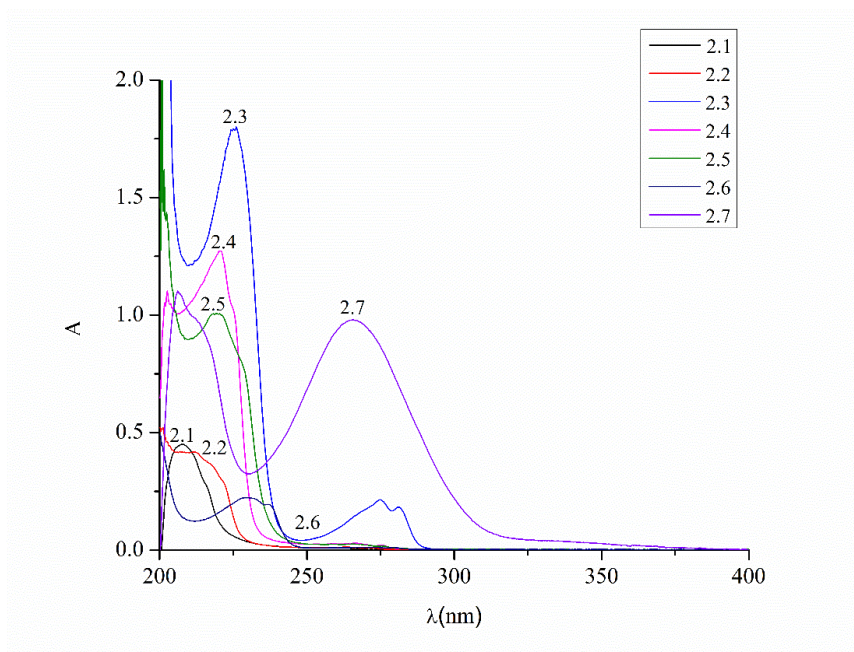
$$\nu_{max} = 48,44(\pm 0,179) - 12,37(\pm 0,373)\sigma_p \quad (28)$$

$$R = 0,9580, s = 1,093, F = 1094, n = 100$$

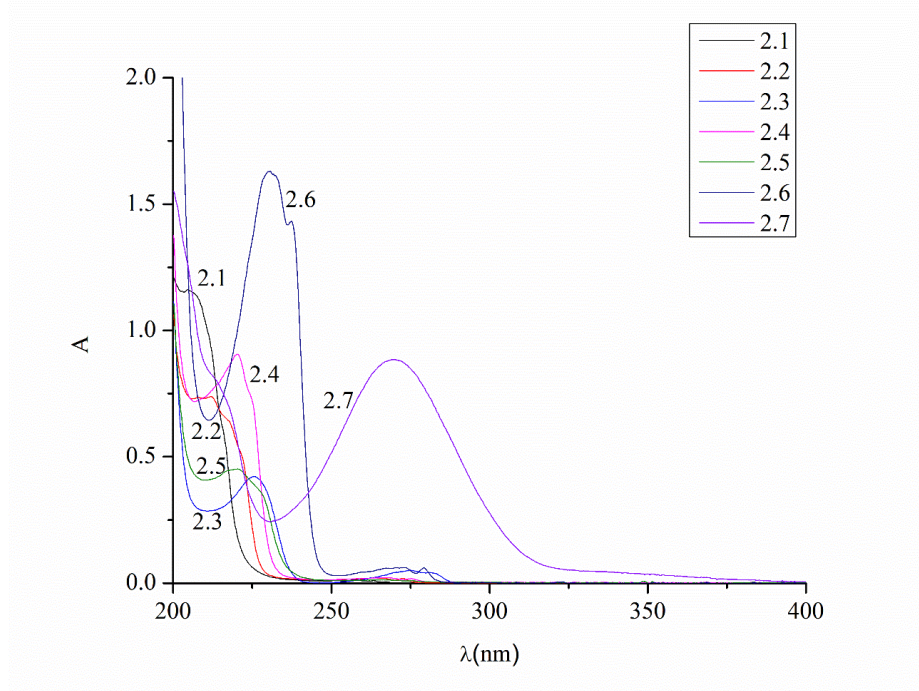
Проучавање ефекта солватације код деривата циклоалканспиро-5-хидантоина показало је да циклоалкил-група присутна у положају 5 хидантоинског прстена не утиче на ове ефекте. Они пре свега потичу од



супституената присутних у положају 3 хидантоинског прстена, као и од карбонилних и –NH група у самом прстену.



a)



б)

Слика 28. Апсорпциони спектар 3-(4-супституисаних бензил)циклохексанспиро-5-хидантоина у: а) етанолу; б) ацетонитрилу

Табела 20. Апсорпциони максимуми 3-(4-супституисаних бензил) циклохексанспиро-5-хидантоина у различитим растварачима

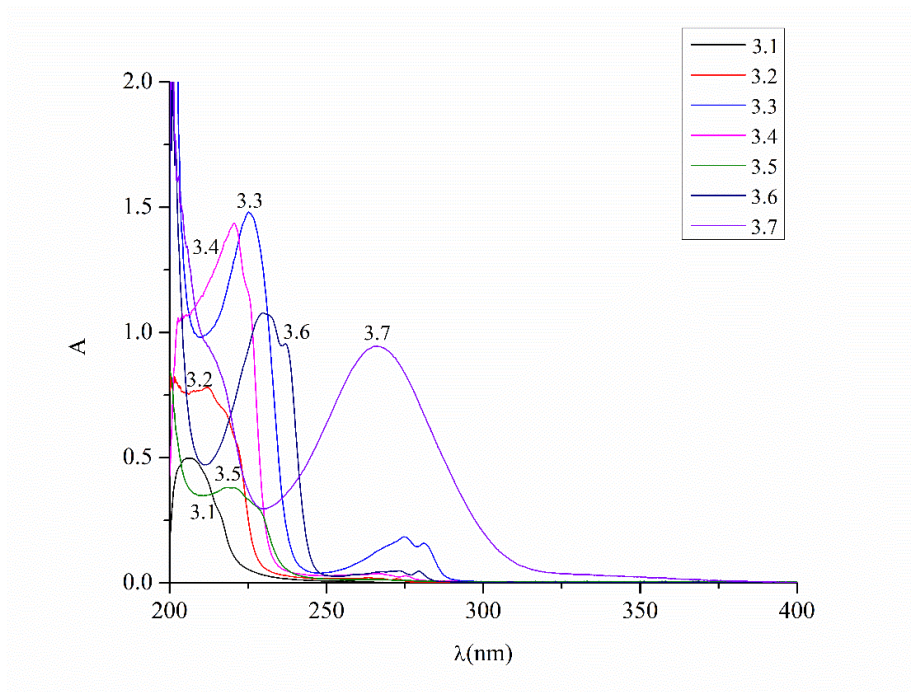
Растварач / Једињење	$\nu_{\max} \times 10^{-3} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$						
	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7
Метанол	48,36	47,08	44,37	45,41	45,45	42,19	37,40
Метанол/Н <sub>2</sub> О (80:20) <sup>а</sup>	48,54	47,28	44,44	45,45	45,45	42,02	37,17
Метанол/Н <sub>2</sub> О (60:40)	48,40	47,21	44,56	45,75	45,58	42,05	37,20
Метанол /Н <sub>2</sub> О (40:60)	48,17	47,21	44,72	45,54	45,50	42,09	36,68
Етанол	48,08	47,08	44,37	45,33	45,50	42,23	37,62
Етанол/Н <sub>2</sub> О (80:20)	48,54	47,08	44,44	45,41	45,58	42,12	37,04
Етанол/ Н <sub>2</sub> О (60:40)	48,45	47,12	44,48	45,41	45,70	41,88	36,95
Етанол/ Н <sub>2</sub> О (40:60)	48,68	47,08	44,68	45,41	45,58	42,09	36,85
2-Пропанол	48,08	47,17	44,37	45,33	45,50	42,41	37,68
2-Пропанол/ Н <sub>2</sub> О (80:20)	48,12	47,04	44,48	45,33	45,50	42,05	37,31
2-Пропанол/ Н <sub>2</sub> О (60:40)	48,54	47,17	44,36	45,29	45,58	41,95	37,20
2-Пропанол/ Н <sub>2</sub> О (40:60)	48,54	47,04	44,56	45,41	45,50	42,09	37,12
2-Пропанол/Метанол (80:20)	48,45	47,12	44,29	45,41	45,41	42,09	37,85
2-Пропанол/Метанол (60:40)	48,40	47,17	44,17	45,33	45,62	42,19	37,45
2-Пропанол/Метанол (40:60)	48,22	47,12	44,36	45,37	45,41	42,26	37,56
2-Пропанол/Етанол (80:20)	48,45	47,04	44,44	45,29	45,50	42,19	37,62
2-Пропанол/Етанол (60:40)	48,45	47,17	44,40	45,33	45,50	42,16	37,59
2-Пропанол/Етанол (40:60)	48,45	47,17	44,33	45,33	45,54	42,19	37,62
1-Бутанол	48,50	47,17	44,33	45,29	45,41	42,16	37,57
Ацетонитрил	48,73	47,17	44,29	45,41	45,62	42,16	37,01

<sup>а</sup>Запремински проценти смеше растварача.

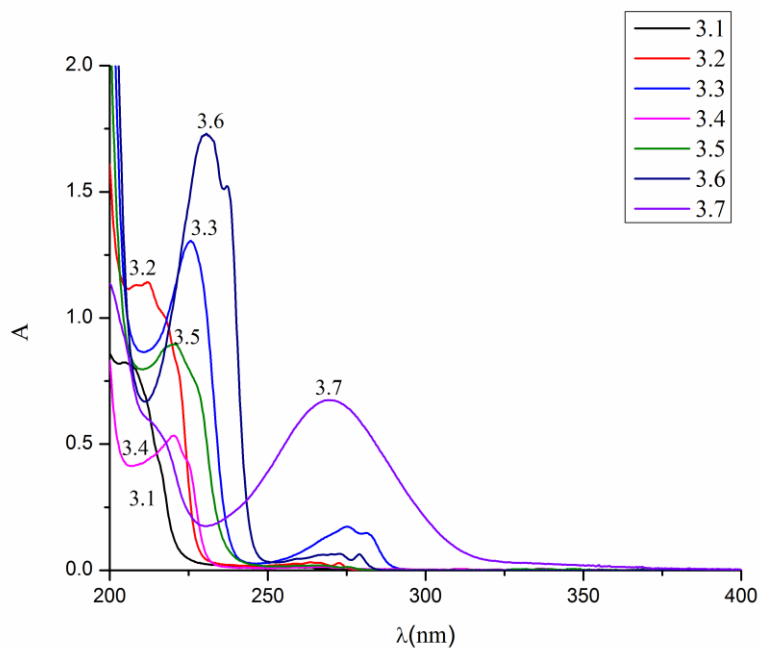
Табела 21. Апсорпциони максимуми 3-(4-супституисаних бензил)циклохептанспиро-5-хидантоина у различитим растварачима

Растварач / Једињење	$\nu_{\max} \times 10^{-3} (\text{cm}^{-1})$						
	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7
Метанол	47,98	47,17	44,37	45,41	45,50	42,30	37,40
Метанол/Н <sub>2</sub> О (80:20) <sup>а</sup>	48,59	47,17	44,44	45,45	45,33	42,12	37,51
Метанол/Н <sub>2</sub> О (60:40)	48,40	47,17	44,44	45,45	45,41	42,12	37,04
Метанол /Н <sub>2</sub> О (40:60)	48,54	47,12	44,29	45,66	45,29	42,05	36,79
Етанол	48,36	47,17	44,29	45,37	45,54	42,19	37,51
Етанол/Н <sub>2</sub> О (80:20)	48,54	47,08	44,40	45,37	45,41	42,05	37,20
Етанол/ Н <sub>2</sub> О (60:40)	48,45	47,04	44,56	45,37	45,45	42,05	37,23
Етанол/ Н <sub>2</sub> О (40:60)	48,61	47,21	44,60	45,45	45,37	42,05	36,76
2-Пропанол	48,17	47,08	44,29	45,37	45,50	42,26	37,68
2-Пропанол/ Н <sub>2</sub> О (80:20)	48,45	47,17	44,36	45,29	45,50	42,16	37,20
2-Пропанол/ Н <sub>2</sub> О (60:40)	48,22	47,12	44,44	45,33	45,41	42,05	37,04
2-Пропанол/ Н <sub>2</sub> О (40:60)	48,88	47,12	44,48	45,37	45,54	42,09	37,23
2-Пропанол/Метанол (80:20)	48,73	47,17	44,36	45,45	45,50	42,23	37,57
2-Пропанол/Метанол (60:40)	48,40	47,12	44,36	45,29	45,50	42,19	37,54
2-Пропанол/Метанол (40:60)	48,22	47,12	44,36	45,37	45,25	42,30	37,51
2-Пропанол/Етанол (80:20)	48,31	47,08	44,29	45,29	45,41	42,19	37,62
2-Пропанол/Етанол (60:40)	48,26	47,08	44,25	45,29	45,29	42,09	37,57
2-Пропанол/Етанол (40:60)	48,54	47,12	44,25	45,29	45,45	42,19	37,68
1-Бутанол	48,45	47,08	44,33	45,21	45,41	42,16	37,59
Ацетонитрил	48,64	47,08	44,27	45,41	45,41	42,16	37,01

<sup>а</sup>Запремински проценти смеше растварача.

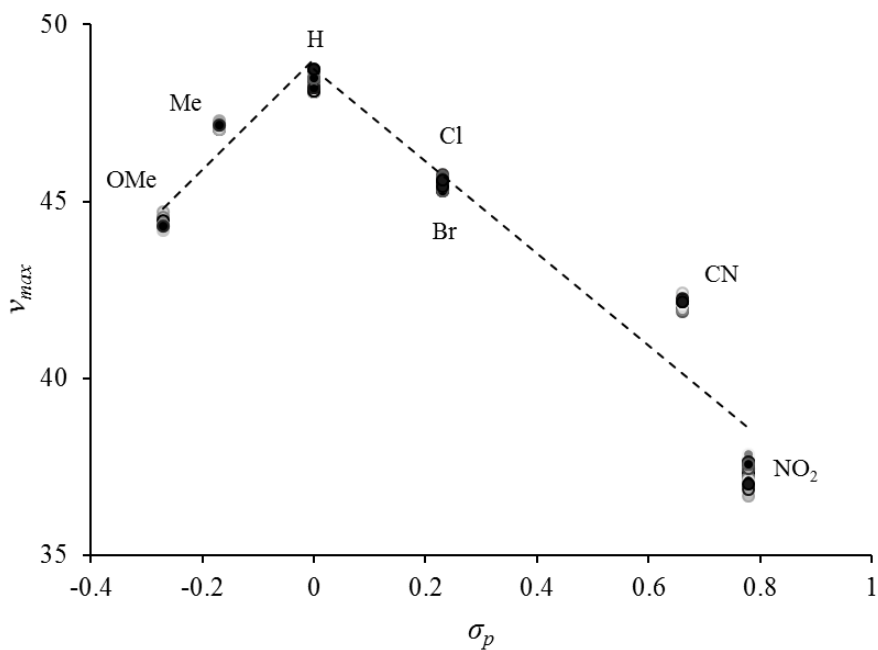


a)

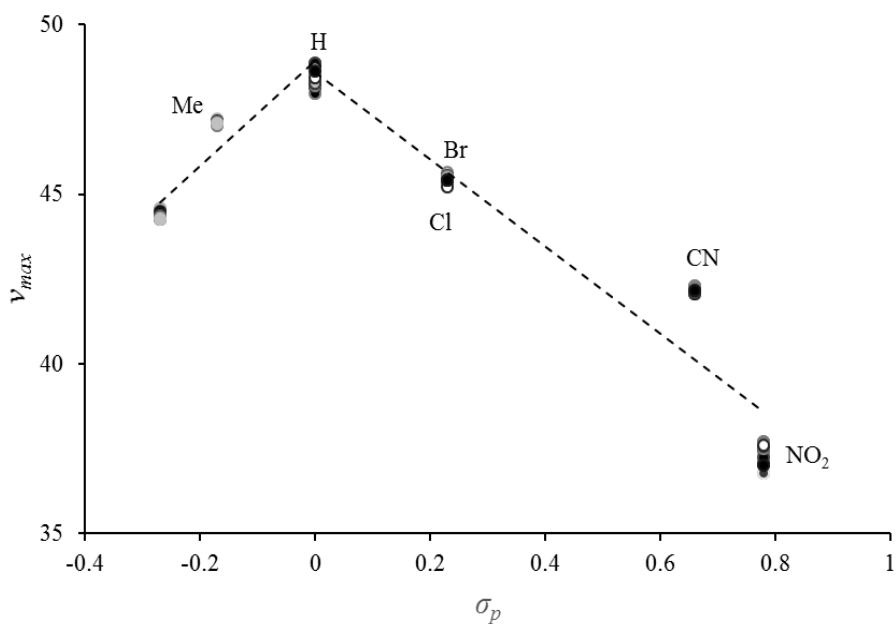


б)

Слика 29. Апсорпциони спектар 3-(4-супституисаних бензил)циклохептанспиро-5-хидантоина у: а) етанолу б) ацетонитрилу



Слика 30. Корелација  $v_{max}$  и  $\sigma_p$  за 3-(4-супституисане бензил)циклохексанспиро-5-хидантоине у свим растварачима



Слика 31. Корелација  $v_{max}$  и  $\sigma_p$  за 3-(4-супституисане бензил)циклохептанспиро-5-хидантоине у свим растварачима

#### 4.1.3. Корелација UV-Vis апсорпционих фреквенци Камлет-Тафтовим солватохромним моделом

Ефекти поларности растварача и водоничног везивања на померање апсорпционих максимума деривата циклоалканспиро-5-хидантоина, анализирани су применом модела линеарне корелације енергије солватације (LSER) тј. опште солватохромне једначине коју су поставили Камлет и Тафт:

$$\nu = \nu_0 + s\pi^* + b\beta + a\alpha \quad (29)$$

где је  $\pi^*$  мера диполарности/поларизабилности растварача,  $\beta$  је мера базности растварача тј. његове способности да прими протон приликом успостављања водоничне везе,  $\alpha$  је мера киселости растварача, односно описује његову способност да донира протон приликом успостављања водоничне везе,  $\nu_0$  је статистичка величина која одговара апсорпционој фреквенцији у циклохексану као референтном растварачу [55].

Поменути концепт разматра само привлачне интеракције које се јављају између растворене супстанце и њеног окружења и омогућава процену способности проучаваних молекула да формирају водоничне везе. Синтетисане су три нове серије једињења које су део истраживања доприноса водоничног везивања фармаколошкој активности деривата хидантона и њиховој потенцијалној примени у лечењу карцинома. Увид у интеракције испитиваних молекула и њиховог окружења може се постићи на основу солватохромне анализе у којој се посебно разматрају специфичне и неспецифичне интеракције.

Када су растварач и растворена супстанца истовремено донори и акцептори протона, изузетно је тешко квантитативно проценити и раздвојити ефекте растварача на доприносе специфичних и неспецифичних интеракција. Утицај растварача на померање апсорпционог максимума процењен је применом вишеструке регресионе анализе коришћењем параметара растварача које су предложили Камлет и Тафт (Табела 22). На основу високих вредности добијених регресионих коефицијената и Фишеровог параметра, резултати корелације апсорпционих фреквенција са параметрима растварача  $\pi^*$ ,  $\beta$ ,  $\alpha$  могу се сматрати задовољавајућим. Вредности регресионих коефицијената са вероватноћом од 95% приказани су у Табелама 23–25 са одговарајућим стандардним девијацијама.

Табела 22. Камлет-Гафтови параметри растварача [118–121]

Растварач	$\pi^*$	$\beta$	$\alpha$
Метанол	0,58	0,74	1,14
Метанол/Н <sub>2</sub> О (80:20) <sup>а</sup>	0,70	0,74	1,09
Метанол/Н <sub>2</sub> О (60:40)	0,82	0,72	1,04
Метанол /Н <sub>2</sub> О (40:60)	0,95	0,66	1,01
Етанол	0,51	0,83	0,98
Етанол/Н <sub>2</sub> О (80:20)	0,63	0,83	0,93
Етанол/ Н <sub>2</sub> О (60:40)	0,73	0,80	0,91
Етанол/ Н <sub>2</sub> О (40:60)	0,82	0,77	0,89
2-Пропанол	0,49	0,93	0,76
2-Пропанол/ Н <sub>2</sub> О (80:20)	0,60	0,88	0,77
2-Пропанол/ Н <sub>2</sub> О (60:40)	0,68	0,85	0,79
2-Пропанол/ Н <sub>2</sub> О (40:60)	0,75	0,81	0,81
2-Пропанол/Метанол (80:20)	0,53	0,82	0,82
2-Пропанол/Метанол (60:40)	0,55	0,74	0,91
2-Пропанол/Метанол (40:60)	0,58	0,69	0,95
2-Пропанол/Етанол (80:20)	0,50	0,86	0,72
2-Пропанол/Етанол (60:40)	0,52	0,82	0,78
2-Пропанол/Етанол (40:60)	0,53	0,79	0,81
1-Бутанол	0,47	0,88	0,79
Ацетонитрил	0,75	0,31	0,19

<sup>а</sup>Запремински проценти смеше растварача.

Табела 23. Резултати корелације апсорпционих фреквенција 3-(4-супституисаних бензил)циклопентанспиро-5-хидантоина Камлет-Тафтовом једначином

Број једињења	$\nu_0 \times 10^{-3}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$s \times 10^{-3}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$b \times 10^{-3}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$a \times 10^{-3}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$R^a$	$S^b$	$F^c$
<b>1.1</b>	47,17 ( $\pm 0,22$ )	2,01 ( $\pm 0,19$ )	0,95 ( $\pm 0,22$ )	-0,84 ( $\pm 0,13$ )	0,972	0,08	46
<b>1.2</b>	47,56 ( $\pm 0,03$ )	-0,38 ( $\pm 0,03$ )	-0,38 ( $\pm 0,03$ )	0,10 ( $\pm 0,02$ )	0,981	0,01	68
<b>1.3</b>	43,40 ( $\pm 0,04$ )	1,09 ( $\pm 0,04$ )	0,47 ( $\pm 0,05$ )	0,002 ( $\pm 0,03$ )	0,997	0,01	439
<b>1.4</b>	45,26 ( $\pm 0,02$ )	0,27 ( $\pm 0,02$ )	-0,22 ( $\pm 0,02$ )	0,07 ( $\pm 0,01$ )	0,996	0,01	304
<b>1.5</b>	47,29 ( $\pm 0,25$ )	-2,06 ( $\pm 0,24$ )	-0,66 ( $\pm 0,24$ )	-0,18 ( $\pm 0,13$ )	0,966	0,07	37
<b>1.6</b>	43,39 ( $\pm 0,17$ )	-0,77 ( $\pm 0,05$ )	-0,81 ( $\pm 0,14$ )	-0,11 ( $\pm 0,06$ )	0,981	0,02	68
<b>1.7</b>	42,83 ( $\pm 0,59$ )	-3,03 ( $\pm 0,16$ )	-3,60 ( $\pm 0,49$ )	-0,79 ( $\pm 0,16$ )	0,994	0,04	206

<sup>a</sup>Коефицијент корелације,

<sup>b</sup>Стандардна девијација,

<sup>c</sup>Фишеров тест.

Степен успешности опште солватохромне једначине представљен је на графику зависности израчунатих фреквенција ( $\nu_{\text{израч}}$ ) од експериментално одређених ( $\nu_{\text{exp}}$ ) у различитим растварачима (Слике 32–34) за поједине серије једињења. Негативне вредности коефицијента  $s$  у општој солватохромној једначини, указују на батохромно померање апсорпционог максимума са повећањем поларности растварача. Ово потврђује бољу стабилизацију побуђеног у односу на основно стање молекула. Хипсохромно померање апсорпционог максимума са повећањем киселости и базности растварача, резултат је успостављања водоничних веза између протона и слободних електронских парова атома кисеоника карбонилне групе које додатно отежава њихову ексцитацију. На описани начин, остварена је већа стабилизација основног у односу на побуђено стање молекула. Позитивне вредности коефицијената  $a$ ,  $b$  и  $s$ , указују да су одговарајући ефекти растварача више изражени у основном него у ексцитованом стању. Аналогно, негативне вредности коефицијената указују да су ефекти солватације више изражени у ексцитованом него у основном стању. На знак и



вредности наведених коефицијената утиче природа супституената присутних у бензил-групи везаној за хидантоински прстен у положају 3.

Табела 24. Резултати корелације апсорпционих фреквенција 3-(4-супституисаних бензил)циклохексанспиро-5-хидантоина Камлет-Тафтовом једначином

Број једињења	$\nu_0 \times 10^{-3}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$s \times 10^{-3}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$b \times 10^{-3}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$a \times 10^{-3}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$R^a$	$S^b$	$F^c$
2.1	48,13 ( $\pm 0,19$ )	0,75 ( $\pm 0,18$ )	0,56 ( $\pm 0,22$ )	-0,69 ( $\pm 0,15$ )	0,905	0,07	12
2.2	47,66 ( $\pm 0,08$ )	-0,40 ( $\pm 0,08$ )	-0,91 ( $\pm 0,09$ )	0,52 ( $\pm 0,06$ )	0,967	0,02	38
2.3	43,32 ( $\pm 0,07$ )	1,06 ( $\pm 0,06$ )	0,54 ( $\pm 0,07$ )	0,04 ( $\pm 0,04$ )	0,990	0,03	127
2.4	45,17 ( $\pm 0,02$ )	0,36 ( $\pm 0,02$ )	-0,20 ( $\pm 0,02$ )	0,15 ( $\pm 0,01$ )	0,997	0,01	392
2.5	44,63 ( $\pm 0,22$ )	1,17 ( $\pm 0,23$ )	0,48 ( $\pm 0,17$ )	-0,18 ( $\pm 0,09$ )	0,888	0,05	10
2.6	43,30 ( $\pm 0,35$ )	-1,31 ( $\pm 0,17$ )	-0,69 ( $\pm 0,30$ )	0,15 ( $\pm 0,15$ )	0,931	0,05	22
2.7	40,35 ( $\pm 0,46$ )	-2,54 ( $\pm 0,14$ )	-1,44 ( $\pm 0,38$ )	-0,33 ( $\pm 0,17$ )	0,989	0,05	141

<sup>a</sup>Коефицијент корелације,

<sup>b</sup>Стандардна девијација,

<sup>c</sup>Фишеров тест.

Резултати указују да су ефекти растварача веома комплексни и да јако зависе од природе супституента који се налази на бензилној групи. Ово такође показује да су електронска својства супституисаног атома азота амидне групе другачија за деривате који садрже електрон-донорске и електрон-акцепторске супституенте. Описани феномен последица је разлика у коњугацији слободног електронског пара на атому азота и потврђује присуство интрамолекуларног трансфера наелектрисуња.

На основу вредности процентних удела солватохромних параметара за деривате циклопентанспиро-5-хидантоина (Табела 26), може се закључити да је диполарност/поларизабилност растварача, доминантнија код несупституисаног молекула, као и једињења које садржи јаку електрон-донорску метокси-групу.

Насупрот томе, киселост и базност растварача преовлађују код молекула који садрже јаке електрон-акцепторске супституенте.

Табела 25. Резултати корелације апсорпционих фреквенција 3-(4-супституисаних бензил)циклохексанспиро-5-хидантоина Камлет-Тафтовом једначином

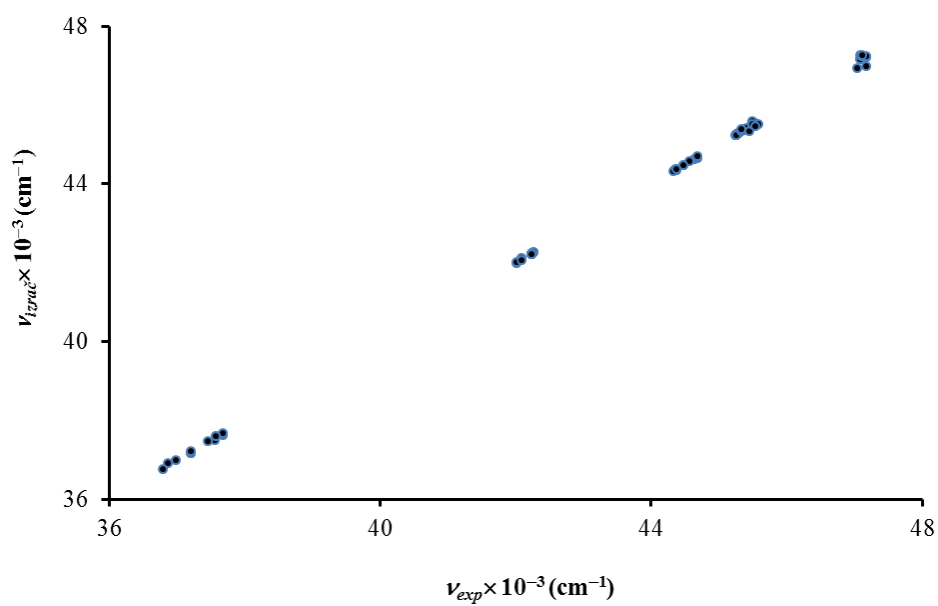
Број једињења	$\nu_0 \times 10^{-3}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$s \times 10^{-3}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$b \times 10^{-3}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$a \times 10^{-3}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$R^a$	$S^b$	$F^c$
<b>3.1</b>	47,46 ( $\pm 0,23$ )	1,19 ( $\pm 0,20$ )	1,72 ( $\pm 0,29$ )	-1,20 ( $\pm 0,17$ )	0,944	0,09	22
<b>3.2</b>	46,98 ( $\pm 0,03$ )	0,13 ( $\pm 0,03$ )	-0,08 ( $\pm 0,02$ )	0,14 ( $\pm 0,01$ )	0,977	0,01	56
<b>3.3</b>	43,44 ( $\pm 0,07$ )	0,96 ( $\pm 0,07$ )	0,25 ( $\pm 0,06$ )	0,17 ( $\pm 0,04$ )	0,980	0,02	65
<b>3.4</b>	45,13 ( $\pm 0,04$ )	0,45 ( $\pm 0,04$ )	-0,34 ( $\pm 0,04$ )	0,24 ( $\pm 0,02$ )	0,987	0,01	100
<b>3.5</b>	43,10 ( $\pm 0,28$ )	0,13 ( $\pm 0,08$ )	1,81 ( $\pm 0,21$ )	0,86 ( $\pm 0,11$ )	0,958	0,03	30
<b>3.6</b>	43,32 ( $\pm 0,25$ )	-0,75 ( $\pm 0,07$ )	-1,01 ( $\pm 0,20$ )	-0,12 ( $\pm 0,11$ )	0,969	0,03	41
<b>3.7</b>	40,58 ( $\pm 0,27$ )	-2,87 ( $\pm 0,10$ )	-1,53 ( $\pm 0,22$ )	-0,34 ( $\pm 0,11$ )	0,995	0,03	255

<sup>a</sup>Коефицијент корелације,

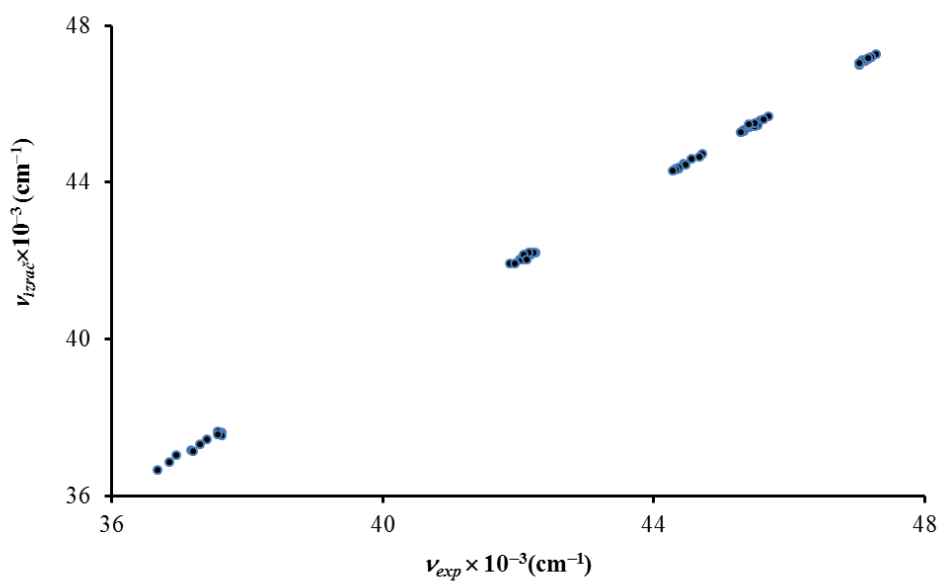
<sup>b</sup>Стандардна девијација,

<sup>c</sup>Фишеров тест.

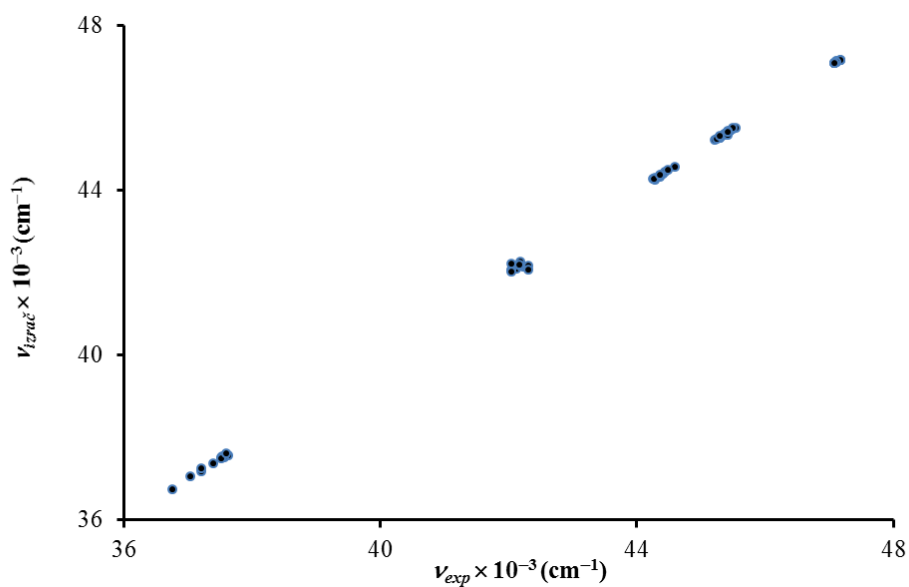
Процентни удели солватохромних параметара приказани у Табели 27, указују да су код већине супституисаних циклохексанспиро-5-хидантоина више изражене неспецифичне интеракције једињења са молекулима растварача у односу на специфичне интеракције. Овај тренд је израженији код молекула са електрон-акцепторским супституентима.



Слика 32.  $\nu_{vibra}$  у функцији  $\nu_{exp}$  за 3-(4-супституисане бензил)циклопентанспиро-5-хидантоине



Слика 33.  $\nu_{vibra}$  у функцији  $\nu_{exp}$  за 3-(4-супституисане бензил)циклохексанспиро-5-хидантоине



Слика 34.  $\nu_{izrač}$  у функцији  $\nu_{exp}$  за 3-(4-супституисане бензил)циклохептанспиро-5-хидантоине.

Табела 26. Процентни удели солватохромних параметара 3-(4-супституисаних бензил)циклопентанспиро-5-хидантоина

Број једињења	$R\pi^*$ / %	$R\beta$ / %	$R\alpha$ / %
<b>1.1</b>	53	25	22
<b>1.2</b>	44	44	12
<b>1.3</b>	70	30	0
<b>1.4</b>	48	39	13
<b>1.5</b>	71	23	6
<b>1.6</b>	46	48	6
<b>1.7</b>	41	48	11

Табела 27. Процентни удели солватохромних параметара 3-(4-супституисаних бензил)циклохексанспиро-5-хидантоина

Број једињења	$R\pi^*$ / %	$R\beta$ / %	$R\alpha$ / %
<b>2.1</b>	38	28	34
<b>2.2</b>	22	50	28
<b>2.3</b>	65	33	2
<b>2.4</b>	51	28	21
<b>2.5</b>	64	26	10
<b>2.6</b>	61	32	7
<b>2.7</b>	59	33	8

Процентни удели солватохромних параметара (Табела 28) показују да солватохромизам 3-(4-супституисаних бензил)циклохептанспиро-5-хидантоина који садрже јаку електрон-донорску метокси-групу као и јаку електрон-акцепторску нитро-групу, у већој мери потиче од неспецифичних интеракција ових једињења са молекулима растварача. Такође се може уочити да је ефекат водоничног везивања, као показатељ специфичних интеракција које се остварују између растварача и растворене супстанце, израженији код молекула који садрже јаку електрон-акцепторску цијано-групу као и супституенте умерене јачине.

Табела 28. Процентни удели солватохромних параметара 3-(4-супституисаних бензил)циклохептанспиро-5-хидантоина

Број једињења	$R\pi^*$ / %	$R\beta$ / %	$R\alpha$ / %
<b>3.1</b>	29	42	29
<b>3.2</b>	37	23	40
<b>3.3</b>	70	18	12
<b>3.4</b>	44	33	23
<b>3.5</b>	5	64	31
<b>3.6</b>	40	54	6
<b>3.7</b>	60	33	7

Задовољавајућа корелација UV-Vis апсорпционих фреквенција проучаваних деривата хидантоина која је добијена применом опште солватохромне једначине, показује да се одабраним моделом на адекватан начин могу анализирати интеракције које се остварују између молекула хидантоина и одређеног растварача. Ово такође потврђује да се тропараметарска солватохромна једначина може применити приликом процењивања утицаја водоничног везивања и поларности растварача на хемијско понашање потенцијално фармаколошки активних деривата хидантоина.

## **4.2. Квантнохемијска проучавања структурних и спектралних својстава 3-(4-супституисаних бензил)циклоалканспиро-5-хидантоина**

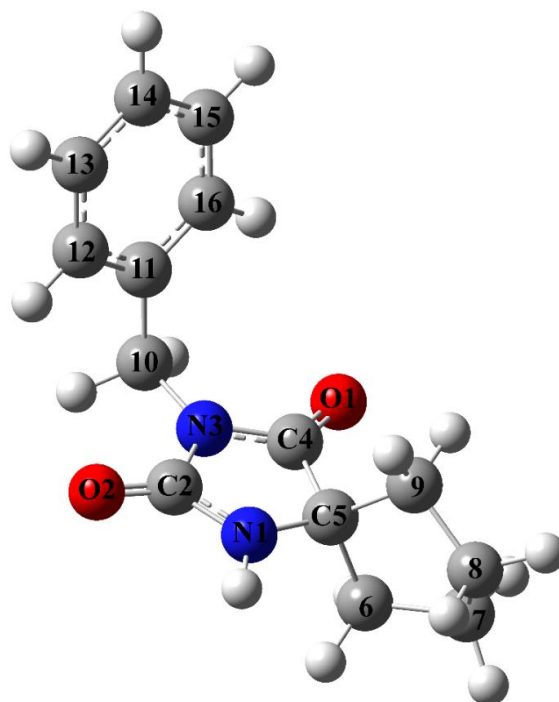
### **4.2.1. Оптимизовање геометрије молекула**

Параметри оптимизоване геометрије проучаваних спирохидантоина (**1.1–1.7**) израчунати су применом B3LYP методе са 6311++G(d,p) основним сетом орбитала и представљени су у Табелама 7 и 29. Одабрани структурни параметри експериментално одређених геометрија за молекуле **1.1A** и **1.1B** и прорачунатих структура за једињење **1.1**, приказани су у Табели 7. Наведени подаци су у сагласности са шемом атома представљеном на Слици 35 [94].

Резултати приказани у Табелама 7 и 29 показују да нема значајније разлике у дужини веза, углова и торзионих углова за проучавану серију једињења. Једино одступање уочено је код торзионог угла N3–C10–C11–C12 који има веће вредности у експериментално одређеној конформацији (у оба молекула) него у оптимизованој конформацији (Слика 35 и Табела 29). Главна разлика између експериментално утврђених структура и оних добијених применом DFT методе потиче од другачије просторне оријентације бензил-групе у односу на спирохидантоински прстен. Одступања се могу сасвим приписати чињеници да су теоријски прорачуни извођени на молекулу који је изолован у вакууму. Енергетска разлика између најстабилније оптимизоване конформације и експериментално одређене конформације за молекуле **1.1A** и **1.1B** износи 1,31 и 1,64 kcal/mol [94].

Табела 29. Израчунате вредности одабраних дужина веза (Å), углова (°) и торзионих углова (°) за једињења 1.2–1.7

Параметри	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7
<i>Дужине веза</i>						
N1–C2	1,366	1,366	1,364	1,364	1,362	1,362
N1–C5	1,461	1,461	1,462	1,462	1,462	1,462
C2–O2	1,212	1,212	1,212	1,212	1,212	1,212
C2–N3	1,413	1,413	1,415	1,415	1,416	1,416
N3–C4	1,375	1,375	1,376	1,376	1,377	1,377
C4–O1	1,212	1,212	1,212	1,212	1,212	1,212
C4–C5	1,537	1,537	1,536	1,536	1,536	1,536
C5–C6	1,567	1,568	1,567	1,566	1,567	1,566
C5–C9	1,557	1,555	1,552	1,549	1,552	1,556
C6–C7	1,539	1,541	1,545	1,549	1,545	1,542
C7–C8	1,535	1,535	1,536	1,538	1,536	1,536
C8–C9	1,536	1,535	1,534	1,534	1,534	1,535
N3–C10	1,467	1,468	1,465	1,465	1,463	1,462
C10–C11	1,515	1,514	1,515	1,515	1,516	1,517
C11–C12	1,397	1,402	1,398	1,398	1,399	1,399
C11–C16	1,398	1,394	1,398	1,398	1,399	1,400
C12–C13	1,393	1,387	1,393	1,394	1,390	1,391
C13–C14	1,399	1,400	1,391	1,391	1,402	1,391
C14–C15	1,399	1,397	1,391	1,391	1,402	1,391
C15–C16	1,392	1,396	1,393	1,393	1,389	1,390
<i>Углови</i>						
N1–C5–C4	100,6	100,6	100,6	100,7	100,6	100,6
N1–C5–C9	114,3	114,0	113,6	113,3	113,6	114,0
C4–C5–C9	111,7	111,8	112,1	112,3	112,0	111,6
N1–C5–C6	113,5	113,5	113,5	113,5	113,4	113,3
C6–C5–C9	104,9	104,9	104,7	104,5	104,7	104,9
<i>Торзиони углови</i>						
C4–N3–C10–C11	–90,4	–91,0	–91,1	–90,0	–91,0	–89,6
N3–C10–C11–C12	92,0	89,8	92,1	91,6	92,3	93,9
N1–C5–C6–C7	–131,7	–128,8	–121,6	–115,8	–121,6	–126,4
C4–C5–C6–C7	115,2	117,9	124,9	130,4	124,8	120,1
N3–C4–C5–C9	–124,2	–123,9	–122,5	–122,0	–121,9	–119,4
C11–C10–N3–C2	89,7	88,2	88,7	89,6	89,1	90,3



Слика 35. Оптимизована конформација 3-бензил-циклопентанспиро-5-хидантоина **1.1**

На основу параметара наведених у Табелама 7 и 29, може се закључити да су геометријска својства супституисаних деривата веома слична онима код несупституисаног једињења. Дужине веза у хидантоинском прстену мењају се незнатно са променом супституента X. Везе N1–C2 и N3–C4 дужине 1,36 и 1,37 Å поседују карактер двоструке везе што указује на јаку стабилизацију коњугацијом N1 и N3 атома са карбонилном групом. Веза N3–C10 постаје незнатно дужа (1,462–1,467 Å) са повећањем електрон-донорских својстава супституента X на бензеновом језгру, док за везу C10–C11 (1,517–1,514 Å) важи супротно [94].

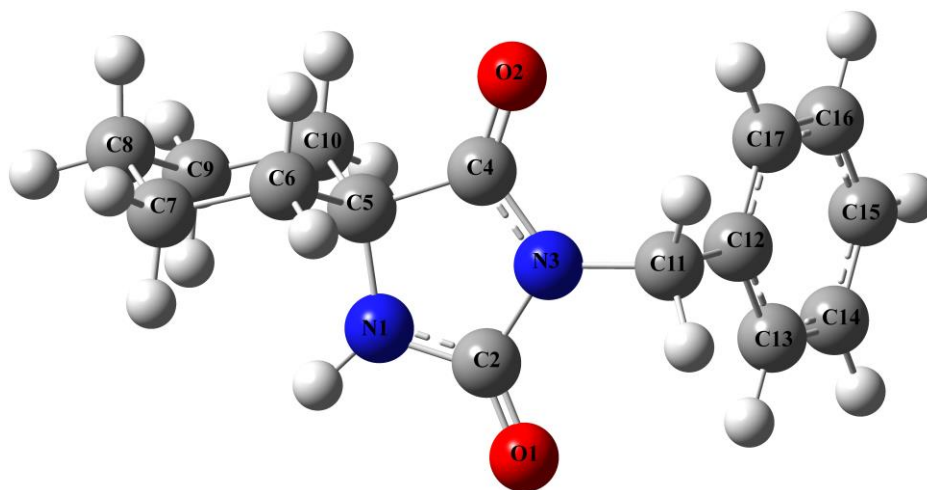
Као што је и очекивано, дужине веза у бензеновом прстену зависе од природе присутног супституента. Електрон-донорски супституент доприноси померању електронске густине са бензилне-групе на хидантоински прстен што за резултат има повећање дужине веза. Супротно важи за електрон-акцепторске супституенте [94].

Резултати квантнохемијских прорачуна извршених у вакууму за деривате циклохексанспиро-5-хидантоина (**2.1– 2.7**) и циклохептанспиро-5-хидантоина (**3.1 – 3.7**) приказани су у Табелама 30 и 31, док су оптимизоване структуре



најстабилнијих конформационих изомера представљене на Сликама 36 и 37. На основу датих вредности, може се закључити да природа *para* супституента незнатно утиче на промену геометријских параметара. Ово је у сагласности са резултатима добијеним за деривате циклопентанспиро-5-хидантоина (1.1–1.7).

Резултати квантнохемијских прорачуна, који се односе на оптимизацију геометрије проучаваних спирохидантоина, потпуно су у сагласности са резултатима рендгенске структурне анализе. Као што је приказано на Слици 35, циклопентански прстен у дериватима циклопентанспиро-5-хидантоина има конформацију коверте док циклохексански прстен у дериватима циклохексанспиро-5-хидантоина (Слика 36) заузима стабилну конформацију столице. На Слици 37, приказана је геометрија деривата циклохептанспиро-5-хидантоина у којој циклохептански прстен заузима конформацију столице. Прорачуни су показали да се деривати циклохептанспиро-5-хидантоина налазе у два геометријска облика у односу 60:40. Први је приказан на Слици 37, а код другог облика циклохептански прстен заузима конформацију уврнуте столице. Ово је такође у сагласности са структурама молекула одређеним рендгенском структурном анализом.



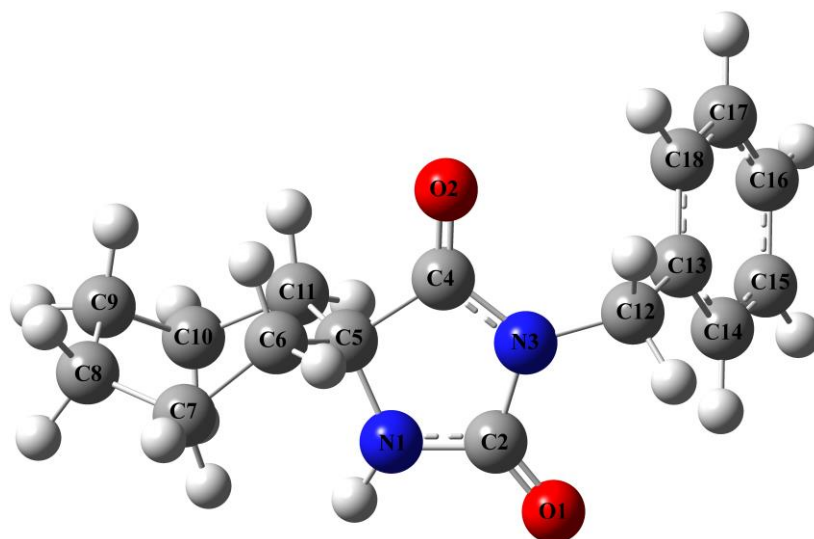
Слика 36. Оптимизована конформација 3-бензилциклохексанспиро-5-хидантоина

Табела 30. Израчунате вредности одабраних дужина веза (Å), углова (°) и торзионих углова (°) за једињења 2.1–2.7

Параметри	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7
<i>Дужине веза</i>							
N1–C2	1,366	1,366	1,367	1,364	1,364	1,363	1,363
N1–C5	1,465	1,465	1,466	1,466	1,465	1,466	1,466
C2–O1	1,212	1,212	1,212	1,212	1,212	1,212	1,212
C2–N3	1,414	1,414	1,413	1,414	1,415	1,416	1,416
N3–C4	1,376	1,375	1,375	1,376	1,376	1,377	1,377
C4–O2	1,212	1,212	1,212	1,212	1,212	1,212	1,211
C4–C5	1,538	1,539	1,539	1,538	1,538	1,538	1,538
C5–C6	1,544	1,544	1,543	1,546	1,544	1,546	1,545
C5–C10	1,545	1,545	1,546	1,544	1,545	1,544	1,544
C6–C7	1,535	1,534	1,534	1,535	1,535	1,535	1,535
C7–C8	1,535	1,534	1,535	1,535	1,535	1,534	1,535
C8–C9	1,535	1,535	1,535	1,535	1,535	1,535	1,535
C9–C10	1,535	1,535	1,535	1,535	1,535	1,535	1,535
N3–C11	1,466	1,467	1,468	1,465	1,465	1,463	1,462
C11–C12	1,516	1,515	1,513	1,515	1,516	1,516	1,517
C12–C13	1,399	1,397	1,394	1,398	1,398	1,399	1,400
C12–C17	1,399	1,398	1,402	1,397	1,398	1,398	1,399
C13–C14	1,394	1,393	1,396	1,393	1,393	1,389	1,390
C14–C15	1,394	1,398	1,397	1,391	1,391	1,402	1,391
C15–C16	1,394	1,399	1,400	1,391	1,391	1,402	1,391
C16–C17	1,394	1,392	1,387	1,393	1,394	1,390	1,391
<i>Углови</i>							
N1–C5–C4	100,6	100,6	100,7	100,6	100,6	100,6	100,6
N1–C5–C10	112,6	112,7	112,5	112,4	112,5	112,4	112,4
C4–C5–C10	110,0	110,0	110,0	110,2	110,1	110,1	110,2
N1–C5–C6	112,4	112,4	112,4	112,5	112,4	112,5	112,4
C4–C5–C6	110,1	110,0	110,3	110,1	110,1	110,2	110,1
C6–C5–C10	110,6	110,7	110,6	110,6	110,6	110,6	110,6
<i>Торзиони углови</i>							
C4–N3–C11–C12	–89,0	–89,7	–91,8	–87,6	–89,8	–88,1	–88,0
N3–C11–C12–C13	89,5	89,5	88,1	91,6	89,5	91,9	91,6
N1–C5–C6–C7	72,9	73,4	72,8	72,7	72,9	72,8	72,7
C4–C5–C6–C7	–175,8	–175,3	–175,7	–175,9	–175,8	–175,8	–176,0
N3–C4–C5–C10	117,1	117,2	116,1	121,0	117,2	120,3	120,4
C12–C11–N3–C2	90,7	89,5	88,1	91,6	89,5	91,9	91,6

Табела 31. Израчунате вредности одабраних дужина веза (Å), углава (°) и торзионих углава (°) за једињења 3.1–3.7

Параметри	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7
<i>Дужине веза</i>							
N1–C2	1,366	1,366	1,367	1,365	1,365	1,364	1,363
N1–C5	1,468	1,468	1,468	1,468	1,468	1,469	1,469
C2–O1	1,212	1,212	1,212	1,212	1,212	1,212	1,212
C2–N3	1,413	1,413	1,412	1,414	1,414	1,415	1,416
N3–C4	1,376	1,375	1,375	1,376	1,376	1,376	1,377
C4–O2	1,212	1,212	1,213	1,212	1,212	1,212	1,211
C4–C5	1,543	1,544	1,543	1,543	1,543	1,543	1,542
C5–C6	1,545	1,546	1,545	1,545	1,546	1,546	1,546
C5–C11	1,553	1,553	1,553	1,553	1,553	1,553	1,553
C6–C7	1,539	1,539	1,539	1,539	1,539	1,539	1,539
C7–C8	1,538	1,538	1,538	1,538	1,538	1,538	1,538
C8–C9	1,534	1,534	1,534	1,534	1,534	1,534	1,534
C9–C10	1,538	1,538	1,538	1,538	1,538	1,538	1,538
C10–C11	1,538	1,538	1,538	1,538	1,538	1,538	1,538
N3–C12	1,466	1,467	1,468	1,465	1,465	1,463	1,462
C12–C13	1,516	1,515	1,514	1,515	1,516	1,516	1,517
C12–C14	1,399	1,397	1,394	1,398	1,398	1,399	1,400
C13–C14	1,399	1,399	1,394	1,397	1,398	1,399	1,399
C13–C18	1,398	1,397	1,402	1,398	1,397	1,399	1,399
C14–C15	1,393	1,392	1,396	1,393	1,393	1,389	1,390
C15–C16	1,395	1,400	1,397	1,391	1,391	1,402	1,391
C16–C17	1,394	1,398	1,400	1,391	1,391	1,402	1,391
C17–C18	1,394	1,394	1,387	1,393	1,394	1,390	1,390
<i>Углови</i>							
N1–C5–C4	100,3	100,2	100,2	100,2	100,2	100,2	100,6
N1–C5–C11	109,7	109,7	109,7	109,7	109,7	109,7	109,7
C4–C5–C11	109,5	109,7	109,5	109,6	109,6	109,6	109,7
N1–C5–C6	112,3	112,3	112,4	112,3	112,4	112,4	112,3
C4–C5–C6	108,8	108,8	108,9	108,8	108,8	108,8	108,7
C6–C5–C11	115,1	115,0	115,0	115,0	115,0	115,0	115,0
<i>Торзиони углави</i>							
C4–N3–C12–C13	–88,0	–88,0	–88,0	–87,6	–87,2	–87,9	–89,0
N3–C12–C13–C14	–85,2	–86,0	–87,5	–87,4	–86,6	–86,4	–88,7
N1–C5–C6–C7	–86,9	–87,0	–86,9	–86,7	–87,1	–86,7	–86,4
C4–C5–C6–C7	163,0	163,0	162,9	163,2	162,8	163,2	163,6
N3–C4–C5–C11	–111,0	–110,9	–110,6	–111,2	–111,0	–111,4	–112,2
C12–C11–N3–C2	90,6	90,9	90,5	91,2	91,3	91,5	90,5



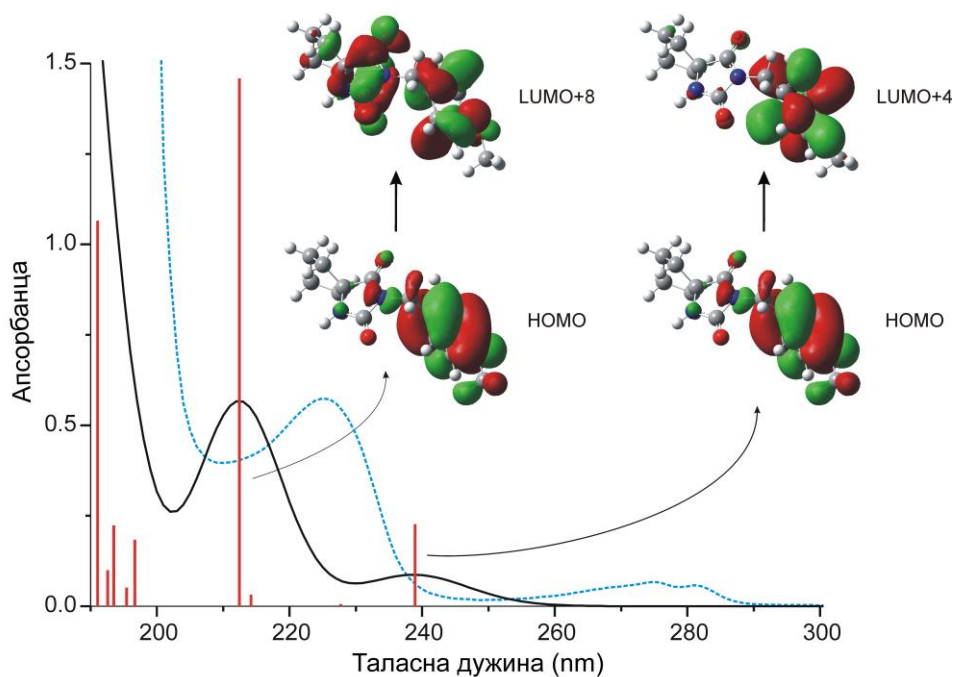
Слика 37. Оптимизована конформација 3-бензилциклохептанспиро-5-хидантоина

3.1

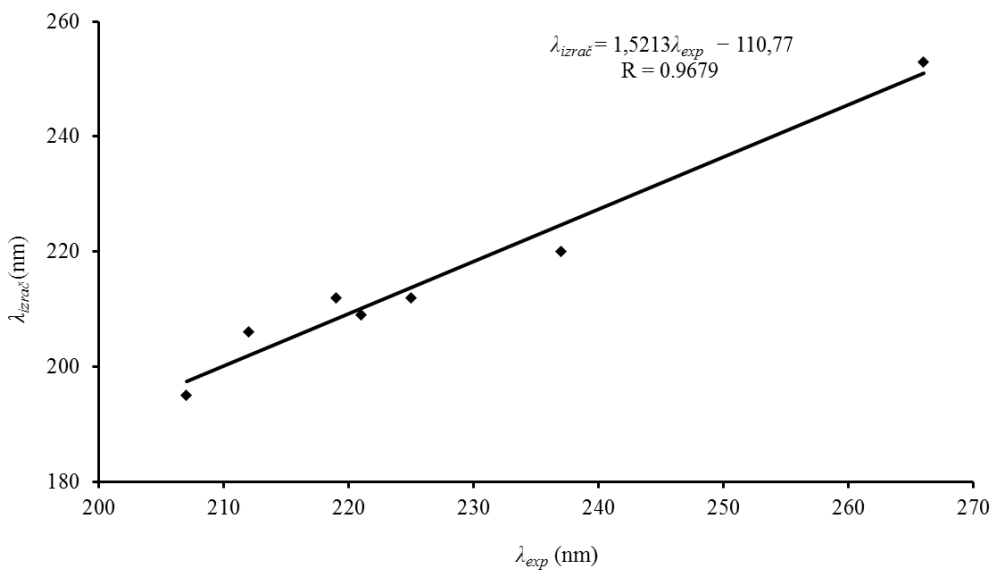
#### 4.2.2. Израчунавање UV-Vis спектра

UV-Vis апсорпционе енергије свих проучаваних спирохидантоина израчунате су помоћу B3LYP и M06-2X метода са 6-311++G(d,p) основним сетом орбитала. Ефекти растварача израчунати су применом TD-DFT методе. Теоријски одређени UV-Vis спектри за све молекуле израчунати су у односу на њихове оптимизоване геометрије. Електронски апсорпциони спектар једињења **1.3** у етанолу снимљен је у опсегу таласних дужина 200–400 nm, а поређење израчунатих и експериментално одређених прелаза, приказано је на Слици 38 [94].

Резултати приказани на Слици 38, указују на добро слагање експериментално одређеног и израчунатог UV-Vis спектра за једињење **1.3** у етанолу. То је такође потврђено корелацијом експерименталних и израчунатих вредности таласних дужина 3-(4-супституисаних бензил)циклопентанспиро-5-хидантоина у етанолу (Слика 39). Исти тренд важи и за деривате циклохексанспиро-5-хидантоина и циклохептанспиро-5-хидантоина.



Слика 38. Експериментални (испрекидана линија) и израчунати (пуна линија) UV-Vis апсорпциони спектри 3-(4-метокси бензил)циклопентанспиро-5-хидантоина у етанолу



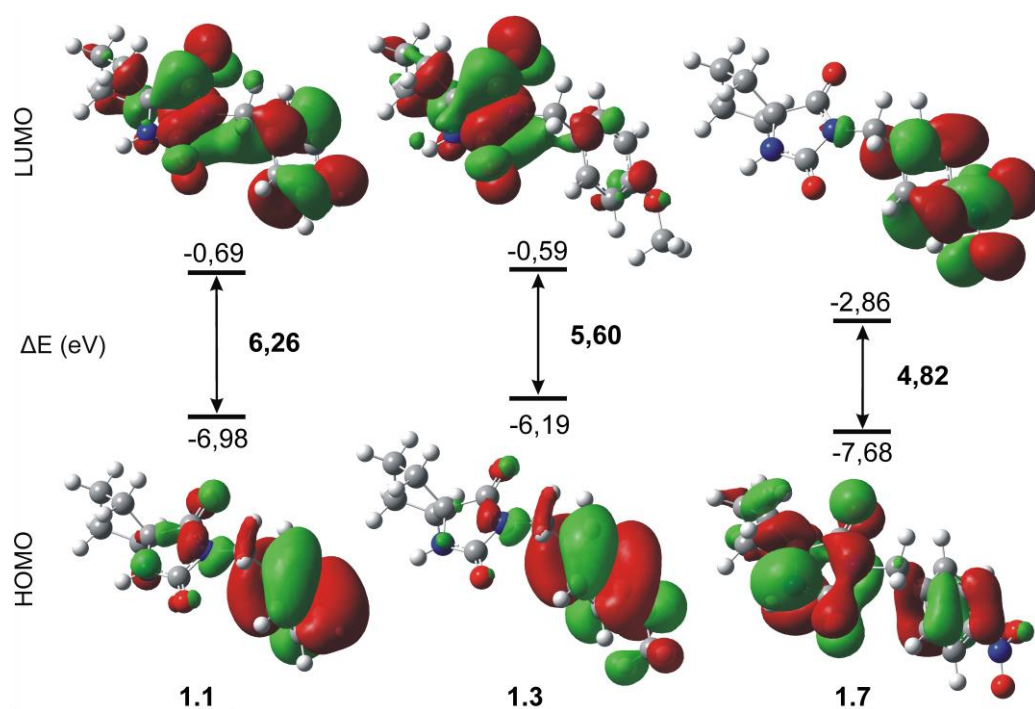
Слика 39. Корелација израчунатих и експерименталних вредности таласних дужина 3-(4-супституисаних бензил)циклопентанспиро-5-хидантоина у етанолу

Прорачун показује да НОМО-LUMO+8 прелаз одговара вредности таласне дужине максималне апсорпције ( $\lambda_{\max}$ ) у UV-Vis апсорпционом спектру. Поређењем експерименталних и израчунатих спектра може се закључити да у свим растварачима доминира мономерни облик деривата спирохидантоина.

Електронски прелази као и промене у укупној густини наелектрисања у основном и ексцитованом стању проучаваних хидантоина испитивани су израчунавањем енергетске разлике (енгл. Energy gaps) између молекулских орбитала (НОМО и LUMO). На Слици 40 и у Табели 32, приказане су НОМО и LUMO орбитале као и енергетске разлике за несупституисани дериват (**1.1**) као и деривате који садрже електрон-донорски супституент (**1.3**) и електрон-акцепторски супституент (**1.7**) присутан у бензил-групи [94].

Једињење **1.1** има највећу енергетску разлику од 6,26 eV, док је мања вредност од 5,60 и 4,82 eV, уочена код једињења **1.3** и **1.7** (Слика 40). Промена је у сагласности са црвеним померањем њихових апсорпционих максимума у односу на једињење **1.1**. На основу прорачуна, електронска густина НОМО молекулских орбитала за несупституисано једињење **1.1**, померена је према централном хидантоинском и бензеновом прстену, док је LUMO распоређена преко целог молекула.

Енергије НОМО и LUMO орбитала грубо представљају меру електрофилности и нуклеофилности молекулских орбитала, а разлика међу њима указује да положаји UV-Vis апсорпционих максимума зависе од природе супституента у бензил-групи. Када је супституент X електрон-донорска група, (нпр.:  $\text{OCH}_3$ ), електронска густина НОМО молекулске орбитале углавном је локализована на бензил-групи, а LUMO је у великом обиму делокализована преко хидантоинског и циклопентанског прстена. Насупрот томе, када је X јак електрон-акцепторски супституент (нпр.:  $\text{NO}_2$ ) електронска густина НОМО молекулске орбитале равномерно је распоређена преко целог молекула, док је LUMO углавном локализована на акцепторској бензил-групи. На основу великих вредности енергетског процепа за једињења **1.1**, **1.3** и **1.7** (Слика 40), може се закључити да проучавани молекули поседују велику стабилност и малу хемијску реактивност [94].



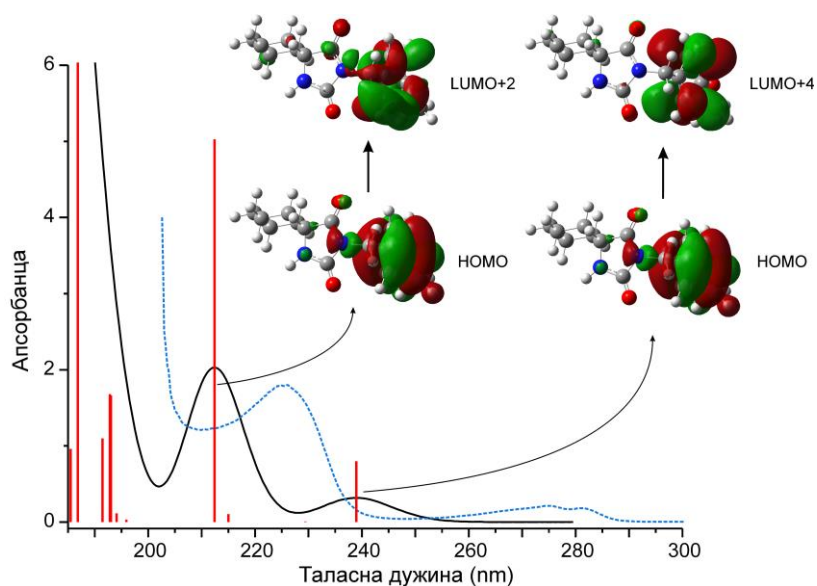
Слика 40. НОМО и LUMO молекулске орбитале и енергетска разлика за једињења **1.1**, **1.3** и **1.7** у гасовитој фази

Табела 32. Израчунате вредности енергија за НОМО и LUMO молекулске орбитале и енергетска разлика за једињења **1.1–1.7** у гасовитој фази и етанолу

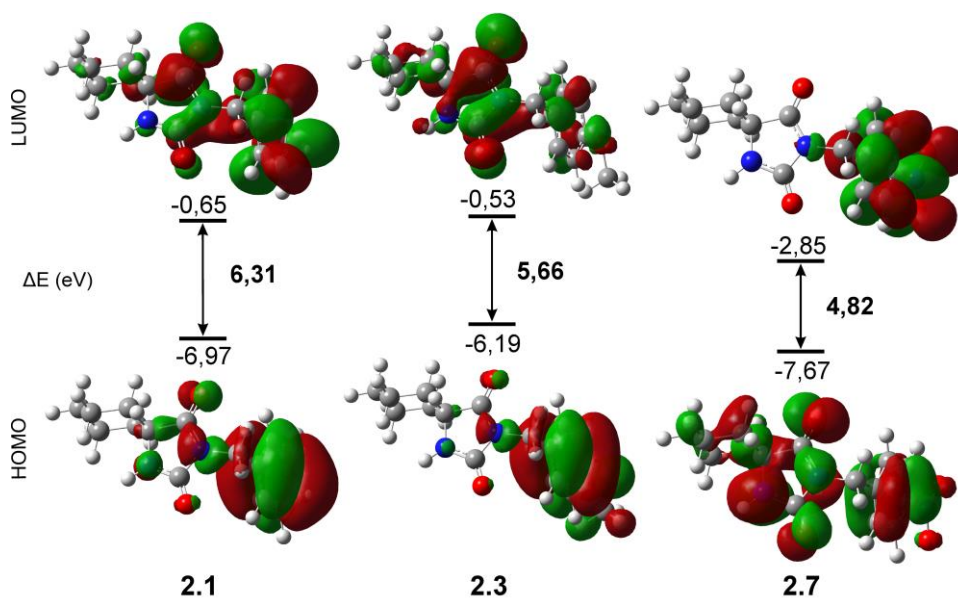
Једињење.	Гасовита фаза			Етанол		
	$E_{\text{НОМО}}$ (eV)	$E_{\text{LUMO}}$ (eV)	$E_{\text{gap}}$ (eV)	$E_{\text{НОМО}}$ (eV)	$E_{\text{LUMO}}$ (eV)	$E_{\text{gap}}$ (eV)
<b>1.1</b>	-6,98	-0,69	6,26	-7,13	-0,84	6,29
<b>1.2</b>	-6,67	-0,63	6,04	-6,81	-0,74	6,07
<b>1.3</b>	-6,19	-0,59	5,60	-6,37	-0,74	5,63
<b>1.4</b>	-6,90	-0,91	5,99	-7,03	-0,99	6,04
<b>1.5</b>	-6,83	-0,95	5,88	-6,95	-1,02	5,93
<b>1.6</b>	-7,45	-1,84	5,61	-7,41	-1,83	5,58
<b>1.7</b>	-7,68	-2,86	4,82	-7,49	-3,10	4,39

Аналогни закључци о утицају супституената на распоред електронске густине могу да се изведу и за 3-(4-супституисане бензил)циклохексанспиро-5-хидантоине (**2.1–2.7**) и 3-(4-супституисане бензил)циклохептанспиро-5-

-хидантоине (**3.1–3.7**). То потврђују и израчунате вредности енергија за НОМО и LUMO молекулске орбитале (Слике 41–45) као и вредности енергетске разлике у гасовитој фази и етанолу (Табеле 33 и 34).



Слика 41. Експериментални (испрекидана линија) и израчунати (пуна линија) UV-Vis апсорпциони спектри 3-(4-метокси бензил)циклохексанспиро-хидантоина у етанолу

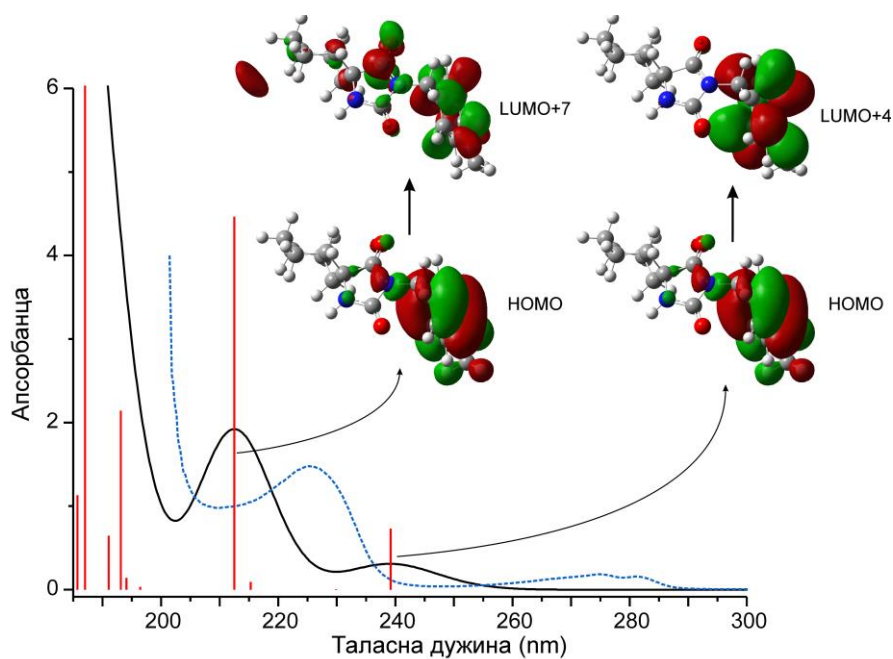


Слика 42. НОМО и LUMO молекулске орбитале и енергетска разлика за једињења **2.1**, **2.3** и **2.7** у гасовитој фази

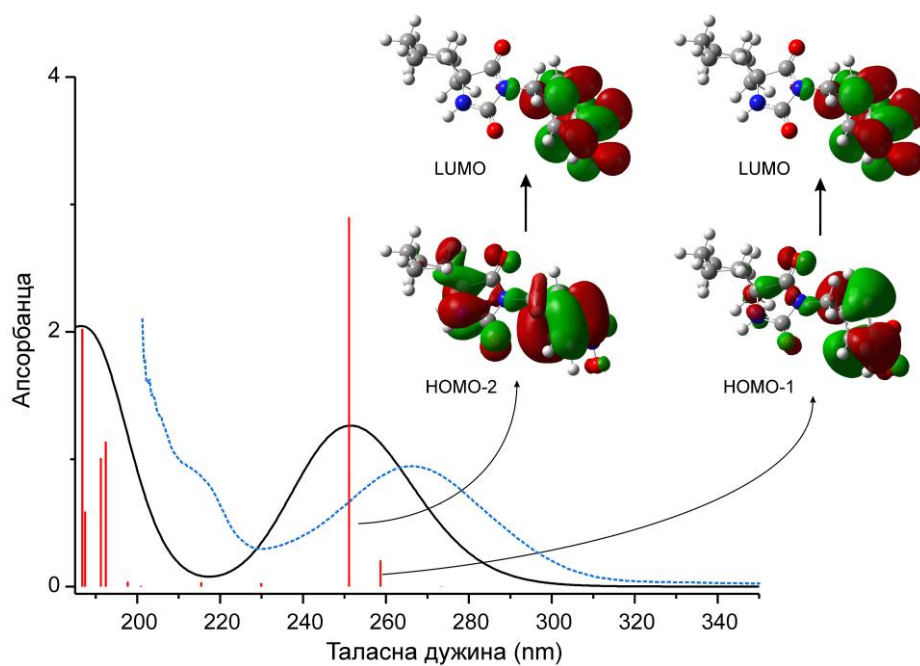


Табела 33. Израчунате вредности енергија за HOMO и LUMO молекулске орбитале и енергетска разлика за једињења **2.1–2.7** у гасовитој фази и етанолу

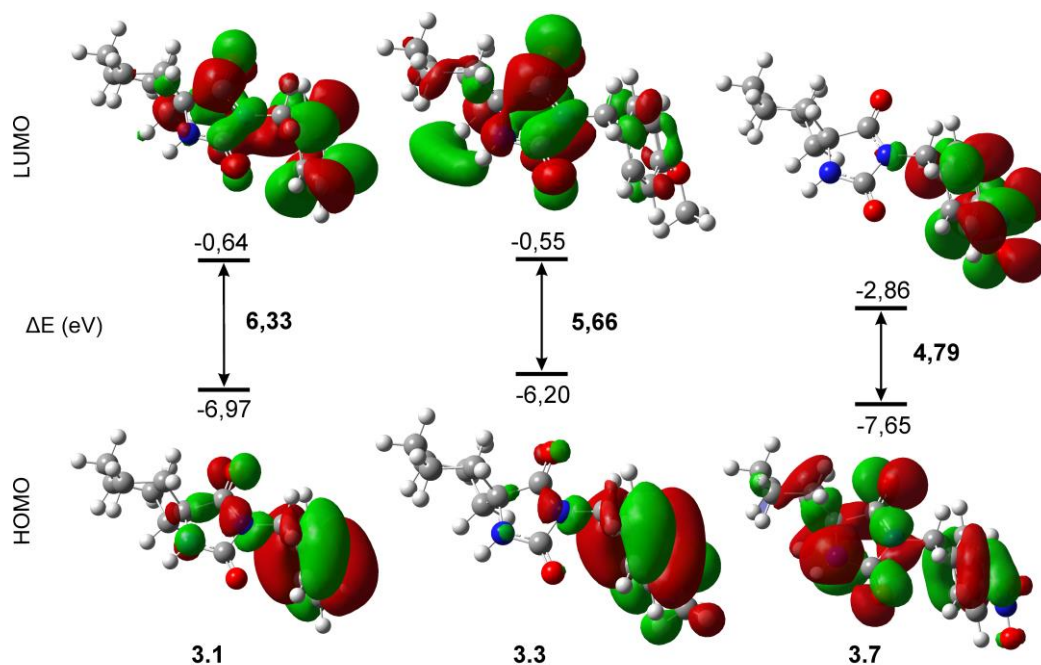
Једињење.	Гасовита фаза			Етанол		
	$E_{\text{HOMO}}$ (eV)	$E_{\text{LUMO}}$ (eV)	$E_{\text{gap}}$ (eV)	$E_{\text{HOMO}}$ (eV)	$E_{\text{LUMO}}$ (eV)	$E_{\text{gap}}$ (eV)
<b>2.1</b>	-6,97	-0,65	6,31	-7,13	-0,82	6,31
<b>2.2</b>	-6,67	-0,58	6,08	-6,83	-0,75	6,08
<b>2.3</b>	-6,19	-0,53	5,66	-6,38	-0,73	5,64
<b>2.4</b>	-6,90	-0,90	6,00	-7,03	-0,99	6,03
<b>2.5</b>	-6,82	-0,94	5,88	-6,97	-1,03	5,94
<b>2.6</b>	-7,44	-1,83	5,61	-7,44	-1,87	5,57
<b>2.7</b>	-7,67	-2,85	4,82	-7,52	-3,12	4,40



Слика 43. Експериментални (испрекидана линија) и израчунати (пуна линија) UV-Vis апсорпциони спектри 3-(4-метокси бензил)циклохептанспиро-5-хидантоина у етанолу



Слика 44. Експериментални (испрекидана линија) и израчунати (пуна линија) UV-Vis апсорпциони спектри 3-(4-нитро бензил)циклохептанспиро-5-хидантоина у етанолу



Слика 45. HOMO и LUMO молекулске орбитале и енергетска разлика за једињења 3.1, 3.3 и 3.7 у гасовитој фази

Табела 34. Израчунате вредности енергија за НОМО и LUMO молекулске орбитале и енергетска разлика за једињења **3.1–3.7** у гасовитој фази и етанолу

Једињење.	Гасовита фаза			Етанол		
	$E_{\text{НОМО}}$ (eV)	$E_{\text{LUMO}}$ (eV)	$E_{\text{gap}}$ (eV)	$E_{\text{НОМО}}$ (eV)	$E_{\text{LUMO}}$ (eV)	$E_{\text{gap}}$ (eV)
<b>3.1</b>	-6,97	-0,64	6,33	-7,09	-0,76	6,31
<b>3.2</b>	-6,68	-0,58	6,09	-6,81	-0,69	6,12
<b>3.3</b>	-6,20	-0,55	5,66	-6,37	-0,70	5,67
<b>3.4</b>	-6,91	-0,91	6,00	-7,02	-0,99	6,03
<b>3.5</b>	-6,83	-0,95	5,89	-6,96	-1,02	5,93
<b>3.6</b>	-7,44	-1,84	5,60	-7,42	-1,87	5,54
<b>3.7</b>	-7,65	-2,86	4,79	-7,48	-3,13	4,35

#### 4.2.3. NBO анализа

NBO анализа изведена је применом NBO 3.1 програма који је део пакета Gaussian 09, у циљу објашњења интрамолекулског трансфера наелектрисања (ICT) и делокализације електронске густине унутар молекула. Делокализација електронске густине између попуњене орбитале Луисовог типа (везивних или слободних електронских парова) и непопуњене (антивезивне или Ридбергове) орбитале одговара стабилизацији молекула преко донорско-акцепторских интеракција.

Већа вредност енергије хиперкоњугације  $E(2)$  указује на интензивне интеракције између електрон-донорских и електрон-акцепторских група. Важније интеракције између попуњених орбитала типа NBO-донора ( $i$ ) и непопуњених типа NBO-акцептора ( $j$ ) за једињење **1.1** дате су у Табели 35 [94].

У молекулима 3-(4-супституисаних бензил)циклопентанспиро-5-хидантоина интрамолекулске интеракције настају преклапањем везивних орбитала типа C–C, C–N и C=O са антивезивном C=O орбиталом што доприноси интрамолекулском трансферу наелектрисања које додатно стабилизује молекул. Наведене интеракције су резултат повећања електронске густине у C–C, C–N и C=O антивезивним орбиталама које слаби поменуте везе. Јака интрамолекулска интеракција услед хиперкоњугације  $\sigma$  и  $\pi$  електрона од C–C везивне ка C–C антивезивној орбитали хидантоинског и фенилног прстена стабилизује молекул као што је приказано у Табели 35. Такође, ове интеракције ширењем према циклопентанском прстену

доведе до стабилизације целог молекула. Нпр. интрамолекулска интеракција хиперкоњугације  $\sigma(\text{N3-C4})$  са које се електронска густина преноси на  $\sigma^*(\text{N3-C2}, \text{N3-C10}, \text{C5-C6}$  и  $\text{C5-C9})$  резултира стабилизацијом од 0,5 до 1,44 kcal/mol. На основу резултата приказаних у Табели 35, може се закључити да су поменуте интеракције хиперкоњугације усмерене од  $\sigma(\text{N3-C10})$  према  $\sigma^*(\text{N3-C4}$  и  $\text{N3-C2})$  као и од  $\sigma(\text{C4-C5})$  према  $\sigma^*(\text{N3-C10}$  и  $\text{C8-C9})$  вези, са  $E(2)$  вредностима у рангу 0,8–5,13 kcal/mol.

Табела 35. Резултати NBO анализе за једињење **1.1**. (*lp* означава слободан електронски пар. Одговарајуће ознаке атома дате су на Слици 35)

NBO- донор ( <i>i</i> )	Тип	EG ( <i>i</i> ) (e)	NBO- акцептор ( <i>j</i> )	Тип	EG ( <i>j</i> ) (e) <sup>a</sup>	$E(2)^b$ kcal/mol	$E(j)-E(i)^c$ a.u.	$F(i,j)^d$ a.u.
N3-C4	$\sigma$	1,985	N3-C2	$\sigma^*$	0,099	0,72	1,21	0,027
N3-C4	$\sigma$		N3-C10	$\sigma^*$	0,038	1,44	1,15	0,037
N3-C4	$\sigma$		C5-C6	$\sigma^*$	0,033	0,50	1,16	0,022
N3-C4	$\sigma$		C5-C9	$\sigma^*$	0,032	0,55	1,18	0,023
N3-C10	$\sigma$	1,982	N3-C4	$\sigma^*$	0,085	1,41	1,19	0,037
N3-C10	$\sigma$		N3-C2	$\sigma^*$	0,099	0,80	1,13	0,027
C4-C5	$\sigma$	1,962	N3-C10	$\sigma^*$	0,038	5,13	0,96	0,063
C4-C5	$\sigma$		C8-C9	$\sigma^*$	0,011	1,06	1,01	0,029
C11-C12	$\pi$	1,654	N3-C10	$\sigma^*$	0,038	5,47	0,57	0,054
C11-C12	$\pi$		C15-C16	$\pi^*$	0,323	20,63	0,28	0,068
C11-C12	$\pi$		C13-C14	$\pi^*$	0,332	20,24	0,28	0,067
N3	lp (1)	1,624	C4-O1	$\pi^*$	0,264	58,73	0,28	0,117
N3	lp (1)		C2-O2	$\pi^*$	0,353	49,07	0,28	0,105
N1	lp (1)	1,742	C2-O2	$\pi^*$	0,353	58,40	0,28	0,117
O2	lp (2)	1,837	N3-C2	$\sigma^*$	0,099	27,98	0,64	0,121
O2	lp (2)		N1-C2	$\sigma^*$	0,073	24,52	0,70	0,120

<sup>a</sup>EG – електронска густина.

<sup>b</sup> $E(2)$  – енергија интеракција хиперкоњугације.

<sup>c</sup>Разлика енергија између донора и акцептора *i* и *j* NBO орбитала.

<sup>d</sup> $F(i,j)$  – Фоков матрикс елемената између *i* и *j* NBO орбитала.

Ови резултати указују да је највећа делокализација  $\sigma$  електрона присутна око  $\sigma(\text{C-C})$  и  $\text{C-N}$  веза унутар хидантоинског прстена. NBO анализа једињења **1.1** такође указује на интрамолекулске интеракције услед преклапања  $\pi(\text{C-C})$  и

$\pi^*(C-C)$  орбитала у фенилном прстену бензил-групе са антивезивним  $\pi(C-C)$  орбиталама високе густине. Преклапање  $\pi(C-C)$  и  $\pi^*(C-C)$  орбитала у фенилном прстену резултирало је интрамолекулским трансфером наелектрисања које доприноси стабилизацији целог молекула.

Енергија интеракције електрон-донорског слободног електронског пара  $lp(2)O_2$  са хидантоинским прстеном,  $\sigma^*(N_3-C_2$  и  $N_1-C_2)$  води стабилизацији молекула резонанцијом са енергијом, 24–28 kcal/mol. Највеће енергије интеракције су између  $lp(1)N_3 \rightarrow \pi^*(C_4-O_1)$ ,  $lp(1)N_3 \rightarrow \pi^*(C_2-O_2)$ , као и  $lp(1)N_1 \rightarrow \pi^*(C_2-O_2)$  и износе редом 58,78; 49,07 и 58,04 kcal/mol. NBO анализа једињења **1.1** потврђује интрамолекулски трансфер наелектрисања кроз цео молекул што је у сагласности са анализом Фоковог матрикса.

Као резултат резонанционих интеракција са бензил-групом, електрон-донорски супституенти изазивају повећање електронске густине на атомима кисеоника у хидантоинском прстену (Табела 36), при чему је  $O_1$ -атом мање богат електронима у односу на  $O_2$ -атом, захваљујући близини електрон-донорског  $N_1$ -атома. Ово померање електронске густине према атомима кисеоника изазива поларизацију молекула због чега поменути атоми постају приоритетна места за HBD-напад. Утицај електрон-акцепторских супституената на  $N_3$ -атом је супротан (Табела 35). Услед присуства електрон-акцепторског супститента, поларизација молекула резултат је конкуренције бензил-групе са  $N_3$ -атомом и  $O_1$ -атомом из хидантоинског прстена [94].

Табела 36. Атомска наелектрисања у молекулу 3-(4-супституисаних бензил) циклопентанстиро-5-хидантоина

Једињење.	N1	N3	O1	O2	C2	C4	C5	C6	C10	C11
<b>1.1</b>	-0,654	-0,519	-0,605	-0,626	0,828	0,715	0,058	-0,378	-0,192	-0,056
<b>1.2</b>	-0,653	-0,519	-0,606	-0,627	0,828	0,715	0,057	-0,377	-0,191	-0,066
<b>1.3</b>	-0,655	-0,518	-0,606	-0,627	0,828	0,715	0,058	-0,380	-0,189	-0,089
<b>1.4</b>	-0,654	-0,520	-0,604	-0,628	0,828	0,715	0,058	-0,380	-0,192	-0,058
<b>1.5</b>	-0,655	-0,519	-0,604	-0,628	0,828	0,715	0,058	-0,382	-0,192	-0,056
<b>1.6</b>	-0,653	-0,521	-0,603	-0,627	0,827	0,715	0,059	-0,380	-0,195	-0,028
<b>1.7</b>	-0,652	-0,521	-0,602	-0,627	0,827	0,716	0,058	-0,379	-0,196	-0,019

Табела 37. Атомска наелектрисања у молекулу 3-(4-супституисаних бензил) циклохексанспиро-5-хидантоина

Једињење.	N1	N3	O1	O2	C2	C4	C5	C6	C11	C12
<b>2.1</b>	-0,663	-0,520	-0,603	-0,627	0,829	0,717	0,066	-0,382	-0,192	-0,056
<b>2.2</b>	-0,663	-0,519	-0,604	-0,627	0,829	0,716	0,066	-0,382	-0,191	-0,066
<b>2.3</b>	-0,663	-0,519	-0,604	-0,628	0,829	0,716	0,066	-0,382	-0,189	-0,089
<b>2.4</b>	-0,662	-0,521	-0,601	-0,628	0,828	0,717	0,066	-0,383	-0,192	-0,059
<b>2.5</b>	-0,662	-0,521	-0,602	-0,628	0,828	0,717	0,066	-0,382	-0,192	-0,056
<b>2.6</b>	-0,661	-0,522	-0,600	-0,628	0,828	0,717	0,067	-0,383	-0,195	-0,028
<b>2.7</b>	-0,660	-0,522	-0,599	-0,628	0,828	0,717	0,067	-0,383	-0,196	-0,019

Табела 38. Атомска наелектрисања у молекулу 3-(4-супституисаних бензил)циклохептанспиро-5-хидантоина.

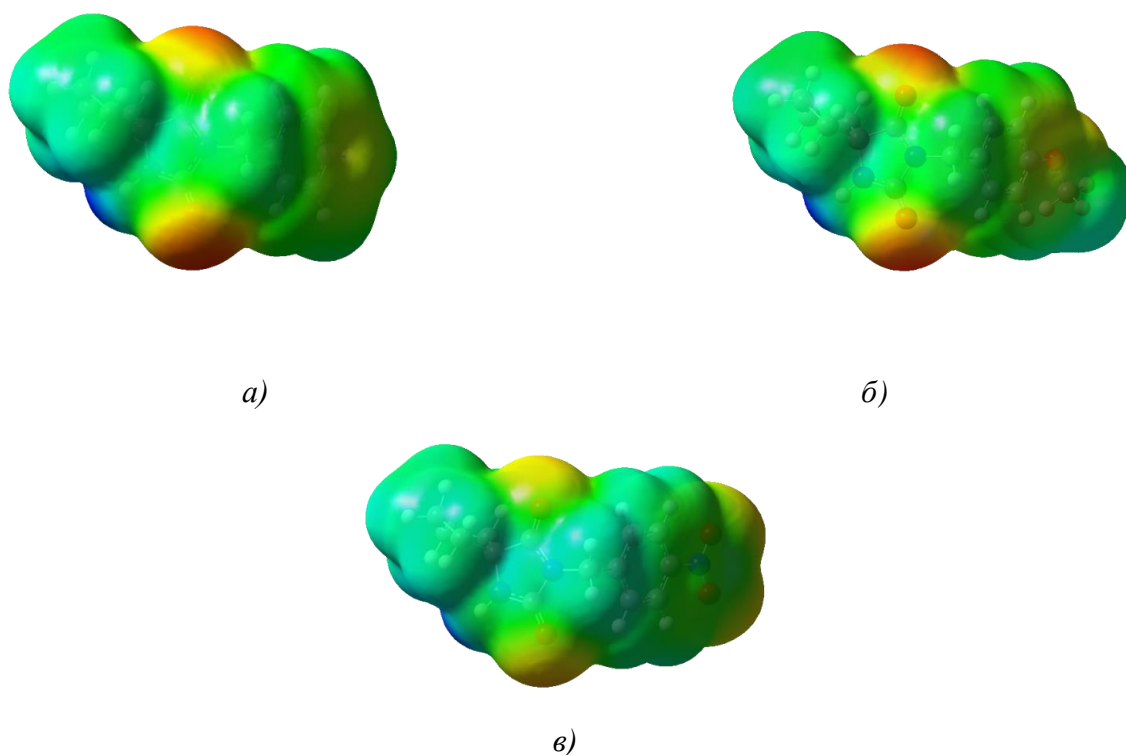
Једињење.	N1	N3	O1	O2	C2	C4	C5	C6	C12	C13
<b>3.1</b>	-0,655	-0,521	-0,605	-0,628	0,829	0,719	0,065	-0,379	-0,191	-0,057
<b>3.2</b>	-0,655	-0,521	-0,605	-0,628	0,828	0,718	0,065	-0,379	-0,191	-0,066
<b>3.3</b>	-0,655	-0,521	-0,606	-0,629	0,829	0,718	0,064	-0,379	-0,189	-0,090
<b>3.4</b>	-0,654	-0,522	-0,605	-0,627	0,828	0,719	0,065	-0,379	-0,192	-0,059
<b>3.5</b>	-0,654	-0,522	-0,604	-0,627	0,828	0,719	0,065	-0,379	-0,192	-0,056
<b>3.6</b>	-0,653	-0,523	-0,603	-0,627	0,828	0,719	0,066	-0,379	-0,195	-0,028
<b>3.7</b>	-0,653	-0,523	-0,603	-0,627	0,828	0,719	0,066	-0,379	-0,196	-0,018

Као што се може видети из Табела 37 и 38, идентичан тренд промене атомских наелектрисања у хидантоинском прстену под утицајем супституената је присутан у молекулима циклохексанспиро-5-хидантоина (**2.1– 2.7**) и циклохептанспиро-5-хидантоина (**3.1–3.7**).

#### 4.2.4. Молекулски електростатички потенцијал

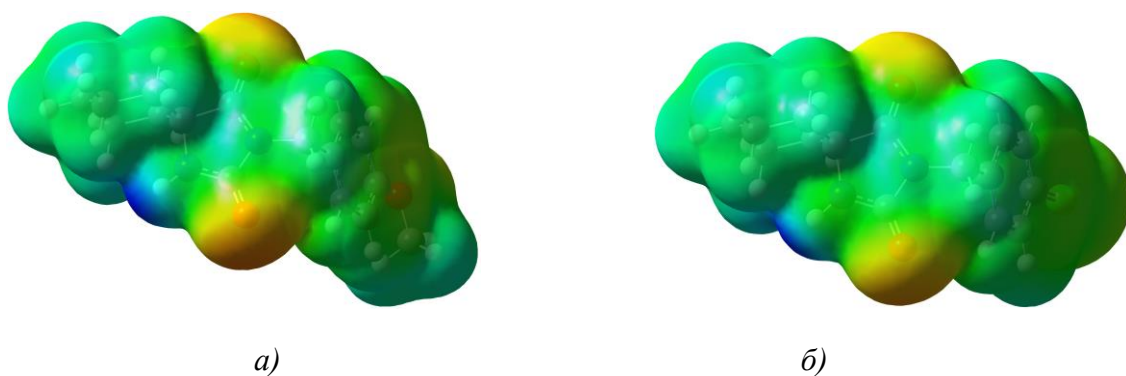
Електронски параметри молекула су фактори од којих веома зависи успостављање интеракције лек–рецептор. У том смислу, мапа молекулског електростатичког потенцијала (МЕР) представља алтернативан приступ који омогућава разумевање електронског доприноса успостављању ових интеракција. МЕР је сликовити приказ који се користи у великом броју истраживања која имају за циљ предвиђање величине молекула и распореда електростатичког потенцијала унутар њега [121].

Молекулски електростатички потенцијал пружа информације о (електростатичким) ефектима који су последица расподеле електронске густине у молекулу. Мапа МЕР-а представља визуелну методу која омогућава да се предвиди активност различитих биомолекула у електрофилним и нуклеофилним реакцијама. Такође пружа увид у релативну поларност молекула. Различите вредности електростатичког потенцијала означене су на мапи одговарајућим бојама. Црвена боја показује делове молекула са негативним вредностима електростатичког потенцијала, плава означава подручја са позитивним вредностима електростатичког потенцијала, док зелена боја указује на делове молекула код којих је вредност електростатичког потенцијала блиска нули. Вредност електростатичког потенцијала расте на следећи начин: црвена < наранџаста < жута < зелена < плава [113]. Применом DFT/B3LYP/6-311++G(d,p) методе, одређена је мапа молекуларског електростатичког потенцијала деривата циклоалканспиро-5-хидантоина (Слике 46–48), тј. предвиђена су потенцијална места за електрофилни и нуклеофилни напад.

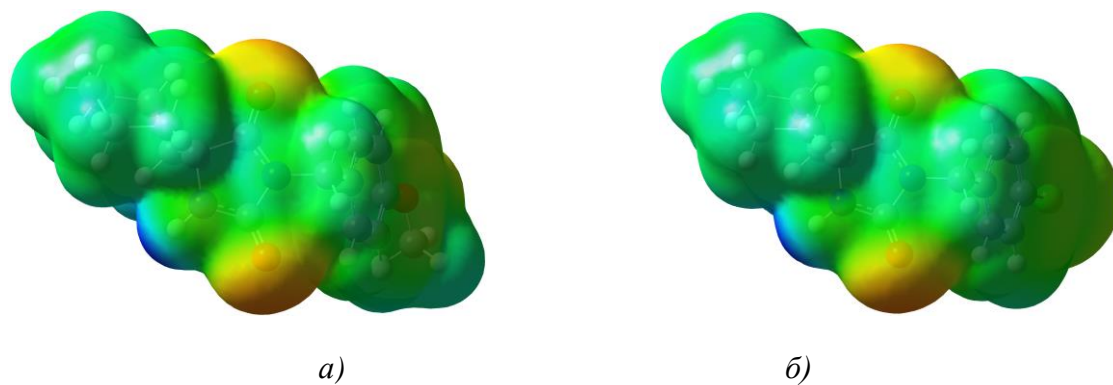


Слика 46. Молекулски електростатички потенцијал: а) једињења **1.1**; б) једињења **1.3**; в) једињења **1.7**.

Са Слика 46–48, може се закључити да су најпогоднија места за електрофилни напад атоми кисеоника карбонилне групе, док је најповољније место за нуклеофилне нападе N1–атом хидантоинског прстена. Атоми хлора са нижим вредностима негативног електростатичког потенцијала, представљени су на мапи црвено-жутом бојом.



Слика 47. Молекулски електростатички потенцијал: а) једињења **2.3**; б) једињења **2.5**



Слика 48. Молекулски електростатички потенцијал: а) једињења **3.3**; б) **3.5**



### 4.3. Биолошка активност 3-(4-супституисаних бензил)циклоалканспиро-5-хидантоина

#### 4.3.1. Предвиђање биолошке активности

Употреба фармаколошки активних једињења оралним путем је значајан фактор приликом дизајнирања нових молекула. У циљу одређивања који од проучаваних деривата спирохидантоина (1.1–1.7), поседује фармакокинетичку активност, поменута једињења су тестирана применом емпиријског „правила броја 5“ које је увео Липински (Lipinski) [122]. У складу са овим правилом, једињење поседује добру *in vivo* пропустљивост, ако молекула задовољава четири структурне карактеристике:

1. Молекулска маса је испод 500 g/mol,
2. Максималан број атома донора протона у водоничним везама (–O–H и –NH) је 5,
3. Максималан број атома акцептора водоника је 10,

Израчуната логаритамска вредност подеоног коефицијента ( $\log P$ ) мања је од 5 [123]. Друго емпиријско правило које треба применити приликом предикције биолошке активности заснива се на редуковању флексибилности молекула (број ротирајућих веза је мањи од осам, ниска поларна површина  $< 140 \text{ \AA}^2$  и моларна рефрактивност је у рангу 40–130  $\text{\AA}^3$ ) [124–126]. Пошто је  $\log P$  повезан са растворљивошћу и пропустљивошћу (пермеабилност молекула), овај физичко-хемијски параметар је важан за процену способности преношења молекула кроз ћелијске мембране. Ако је једињење хидрофилно, тј. има негативну  $\log P$  вредност, онемогућен му је пролазак кроз ћелијске мембране због хидрофобног карактера липидног двослоја. С друге стране, хидрофобна једињења (висока  $\log P$  вредност) нису одговарајућа због нерастворљивости и могућности задржавања у липидним мембранама.

Испитивани деривати спирохидантоина умерено су липофилни са  $\log P$  вредношћу у опсегу 2,09–3,20 (Табела 39) при чему сви супституенти осим јаке електрон-донорске метокси-групе доприносе повећању хидрофобног карактера једињења у односу на несупституисани молекула. Класификовање нових деривата спирохидантоина према липофилности и поларности супституента X од великог је значаја за активност, пошто литературни подаци наводе да присуство

електрон-донорске групе као што је метокси- у *para*-положају фенилног прстена и ниска  $\log P$  вредност (у опсегу 2,4–3,3) доприносе активности [126].

Такође, проучавани молекули садрже мали број ротирајућих веза (Табела 39) што условљава умерене промене конформације приликом везивања за рецептор. Сви испитивани спирохидантоини (осим једињења **1.7**) испуњавају наведене емпиријске критеријуме и потенцијални су кандидати за фармакодинамичку фазу испитивања, док се једињење **1.3** истиче као молекул који је по физичкохемијским особинама најсличнији 5,5-дифенилхидантоину [94], који спада у групу познатих, комерцијално доступних, лекова са антиконвулзивним својствима.

Развој нових, ефикаснијих, селективнијих и мање токсичних антиканцерогених лекова, представља веома важан задатак медицинске хемије [59]. Велики број истраживања усмерен је ка изградњи свеобухватне слике биолошки активних молекула и одређивању оних структурних својстава која се могу искористити за дизајнирање нових терапеутских агенаса. На основу анализе антипролиферативне активности деривата 5,5-дифенилхидантоина према ћелијским линијама хуманог меланома, карцинома бубрега и дојке, утврђено је да постоје одређена структурна својства која су од великог значаја за антиканцерогену активност поменутих једињења.

Деривати хидантоина са потенцијалном антипролиферативном активношћу треба да садрже:

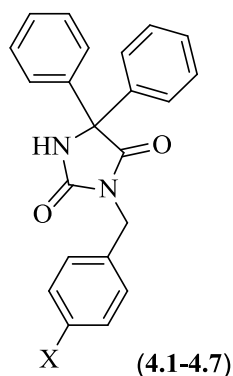
- Два међусобно удаљена ароматична прстена,
- Базни N-атом који се налази на одређеном растојању у односу на 2,4-имидазолидинско језгро,
- Хидрофобни остатак који је директно везан за базни центар,
- Акцептор протона (карбонилну групу) који је повезан са протон-донорским уреидним фрагментом.

Овај фармакофорни модел је у сагласности са резултатима који су остварени код великог броја антитуморских агенаса [128].

Пратећи литературне податке у покушају да дизајнирамо нове антитуморске лекове, упоредили смо две серије 3-(4-супституисаних бензил)циклоалканспиро-5-хидантоина са серијом 3-(4-супституисаних бензил)-

-5,5-дифенил-хидантоина (једињења **4.1–4.7**) (Слика 49). Претходна проучавања су показала да су ова једињења најактивнија према ћелијској линији хуманог карцинома дебелог црева НСТ-116 и хуманог карцинома дојке MDA-MB-231. Присуство различитих супституената на хидантоинском прстену и у бензил-групи доприноси промени њихове антипролиферативне активности. Утврђено је да је већина испитиваних једињења активнија према ћелијској линији карцинома дојке него према ћелијској линији карцинома дебелог црева. У погледу биолошке активности, деривати 5,5-дифенилхидантоина који као супституенте садрже метил-групу и атоме халогена (Cl и Br) представљају интересантне структурне мотиве који се могу употребити за развој нових антипролиферативних једињења [55]. Код поменутих једињења, 4-супституисани фенилни прстен представља липофилни део молекула, док NH-група присутна у имидазолидинском прстену омогућава успостављање водоничних интеракција [129].

Предикција биолошке активности извршена је применом програма Molinspiration, како би се утврдило да ли поменути молекули испуњавају правило Липинског. Такође, одређена је поларна површина једињења, која је уско повезана са биорасположивошћу лека у организму. Резултати приказани у Табели 40, показују да сва испитивана једињења задовољавају поменуте критеријуме. На основу наведених истраживања може се закључити да деривати циклоалканспиро-5-хидантоина, синтетисани у овом раду, испуњавају фармакокинетичке захтеве који их одређују као потенцијалне кандидате за фармакодинамичку фазу проучавања лекова.



Слика 49. Структура 3-(4-супституисаних бензил)-5,5-дифенилхидантоина (**4.1-4.7**), ( $X = H, CH_3, OCH_3, Cl, Br, CN, NO_2$ )

Табела 39. Вредности молекулских дескриптора за једињења 1.1–1.7

Једињење	Молекулска маса/g mol <sup>-1</sup>	log <i>P</i>	Водоничне везе		Ротирајуће везе	Поларна површина/Å <sup>2</sup>	Моларна рефрактивност/Å <sup>3</sup>
			Донори <sup>а</sup>	Акцептори <sup>б</sup>			
<b>1.1</b>	244,29	2,37	1	4	2	79,60	64,81
<b>1.2</b>	258,32	2,65	1	4	2	79,00	70,72
<b>1.3</b>	274,32	2,09	1	5	3	96,60	71,27
<b>1.4</b>	278,73	2,93	1	4	2	77,90	68,93
<b>1.5</b>	323,19	3,20	1	4	2	78,40	72,34
<b>1.6</b>	269,30	2,51	1	5	2	134,60	72,60
<b>1.7</b>	289,29	2,41	1	7	3	171,00	72,31
Фенитоин <sup>ц</sup>	252,27	2,18	2	4	2	58,20	70,28 <sup>д</sup>
Идеално једињење	< 500	< 5	< 5	< 10	< 8	< 140	40–130

<sup>а</sup>Донори који означавају –ОН или –NH групу.

<sup>б</sup>Акцептори који означавају О или N-атом укључујући и оне у донорским групама.

<sup>ц</sup>Вредности подеоног коефицијента израчунате помоћу програма Molinspiration.

<sup>д</sup>Податак преузет из референце [127].

#### 4.3.2. Експериментално одређивање биолошке активности према различитим ћелијским линијама канцера

Да би се утврдило како стерна и електронска својства бочног ланца и циклоалканског прстена утичу на биолошку одрживост малигнућ ћелија, анализирана је цитотоксичност деривта циклоалканспиро-5-хидантоина према различитим хуманим ћелијским линијама карцинома. Такође је проучаван утицај промене супституента присутног у положају 3 хидантоинског прстена и промена величине циклоалканског прстена на биолошку активност молекула.

Антипролиферативна активност одређена је *in vitro* према ћелијским линијама хумане леукемије (K562) и карцинома дебелог црева (HCT-116) применом МТТ теста.

Утврђено је да су сви испитивани спирохидантоини нетоксични према здравим ћелијама. Такође је доказано да сва проучавана једињења показују статистички значајну антипролиферативну активност према ћелијским линијама K562 и HCT-116 у проучаваном опсегу концентрација.

Резултати антипролиферативне активности 3-(4-супституисаних бензил) циклохексанспиро-5-хидантоина (**2.1–2.7**) који представљају инхибицију пролиферације K562 и HCT-116 ћелија изражену у процентима, приказани су у Табелама 41 и 42 и на Сликама 50 и 51.

На основу представљених резултата (Табеле 41 и 42, Сlike 50 и 51) може се закључити да несупституисани дериват (једињење **2.1**) и дериват који садржи метил-групу (једињење **2.2**) остварују нижу антипролиферативну активност у поређењу са осталим једињењима из серије.

Највећу активност према ћелијској линији K562, при концентрацији од  $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$ , испољава једињење **2.3**, док једињења **2.4–2.6** показују такође значајну активност која је већа од активности несупституисаног молекула. Ако се упореде вредности инхибиције пролиферације K562 ћелија добијене за остале концентрације једињења наведене у Табели 41, генерално се може закључити да највећу антипролиферативну активност остварују молекули који садрже халогене елементе (Cl, Br) у својој структури. Насупрот томе, једињења која садрже јаку електрон донорску метокси-групу или јаку електрон-акцепторску цијано-групу најактивнија су према ћелијској линији карцинома дебелог црева (Слика 50).

Табела 40. Вредности молекулских дескриптора за једињења 2.1–2.7, 3.1–3.5 и 4.1-4.7

Једињење	Молекулска маса/ g mol <sup>-1</sup> *	C log P *	Ротирајуће везе**	Поларна површина/Å <sup>2</sup> *	Одступања
2.1	258,32	2,79	2	74,50	0
2.2	272,34	3,07	2	73,70	0
2.3	288,34	2,51	3	94,40	0
2.4	292,76	3,35	2	77,80	0
2.5	337,21	3,62	2	76,90	0
2.6	283,32	2,93	3	135,90	0
2.7	303,31	2,82	3	167,70	0
3.1	272,34	3,21	2	74,60	0
3.2	286,37	3,49	2	77,70	0
3.3	302,37	2,93	3	93,10	0
3.4	306,79	3,77	2	75,30	0
3.5	351,24	4,04	2	77,10	0
4.1 <sup>а</sup>	342,39	4,41	4	69,26	0
4.2 <sup>а</sup>	356,42	4,69	4	68,17	0
4.3 <sup>а</sup>	372,42	4,13	5	85,08	0
4.4 <sup>а</sup>	376,84	4,97	4	68,61	0
4.5 <sup>а</sup>	421,29	5,24	4	68,97	1
4.6 <sup>а</sup>	367,40	4,55	4	124,9	0
4.7 <sup>а</sup>	387,39	4,45	5	161,9	0
Идеално једињење	< 500	< 5	< 8	< 140	≤ 1

<sup>а</sup>Донор који означава О–Н или Н–Н групу.

<sup>б</sup>Акцептор који означава О или N атоме који су део донорске групе.

\*Вредности молекулских дескриптора добијене применом DFT/B3LYP методе.

<sup>ц</sup>Подаци преузети из референце [55].

\*\* Вредности молекулских дескриптора израчунате помоћу програма Molinspiration.

Резултати антипролиферативне активности за деривате циклохептанспиро-5-хидантоина (3.1–3.5) и 5,5-дифенилхидантоина (4.1–4.7) према ћелијским линијама K562 и HCT–116, наведени су у Табелама 43–45.

На основу резултата приказаних у Табели 43, може се уочити да веома мали број молекула показује статистички значајну антипролиферативну активност и то преваходно за концентрацију од  $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$ . Такође се запажа значајно мања активност деривата циклохептанспиро-5-хидантоина у односу на деривате циклохексанспиро-5-хидантоина. Незнатна антипролиферативна активност деривата спирохидантоина са циклохептанским прстеном у положају 5 потиче пре свега услед присуства атома хлора и флуора у проучаваним молекулима.

Упоредне анализе антипролиферативне активности према ћелијским линијама K562 и HCT–116, за три серије проучаваних хидантоина приказане су на Сликама 52 и 53, за концентрацију супстанци од  $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$ . Може се закључити да је инхибиција пролиферације малигних ћелија, последица присуства заједничког структурног фрагмента (2,4-имидазолидинског прстена) у поменутих серијама једињења, док су варијације у селективности према ћелијским линијама проузроковане присуством различитих супституената [128].

Са Слика 52 и 53, јасно се уочава да супституција циклохексил-групе циклохептил-групом у молекулу циклоалканспиро-5-хидантоина значајно смањује њихову антипролиферативну активност. Разлог за овакве резултате може бити што увођење циклохептанског прстена у положај 5 хидантоина, утиче на повећање липофилности насталих молекула у односу на деривате циклохексанспиро-5-хидантоина.

Липофилност деривата циклохексанспиро-5-хидантоина израчуната програмом ACD (Advanced Chemistry Development) Software V<sub>11,01</sub> (1994–2013) налази се у опсегу од 2,95 до 3,82 (изражено као  $\log P$  за систем октанол/вода). За деривате циклохептанспиро-5-хидантоина ове вредности су нешто веће и налазе се у опсегу 3,48–4,34. Ово може бити само један од разлога смањене антипролиферативне активности деривата са циклохептанским прстеном. Други разлог смањене активности деривата циклохептанспиро-5-хидантоина може потицати од различите конформације у односу на циклохексанске деривате, односно услед повећаних стерних интеракција лека са рецептором смањује се

његова активност. Разлика у антиканцерогеној активности наведених једињења може бити узрок различитог кристалног паковања (показано у делу рендгенска структурна анализа, стране 86 и 97), које може утицати на биорасположивост молекула који се користе као лекови, што даље може имати утицаја на њихову биолошку активност.

Добијени резултати су упоређени са резултатима антипролиферативне активности 3-(4-супституисаних бензил)-5,5-дифенилхидантоина за које је утврђено да су активни према ћелијским линијама НСТ-116 (карцином дебелог црева) и MDA-MB-231 (карцином дојке) [55].

Као што се може видети са Слика 52 и 53, деривати 5,5-дифенилхидантоина који као супституент садрже метил-групу или атом хлора, активнији су према ћелијској линији хумане леукемије и канцера дебелог црева у поређењу са друге две серије једињења које садрже исте супституенте. Такође се уочава да је несупституисани 5,5-дифенилхидантоин знатно активнији према ћелијској линији хумане леукемије у односу на несупституисани циклохексанспиро-5-хидантоин и циклохептанспиро-5-хидантоин (Слика 52). Боља антипролиферативна активност коју остварују молекули 5,5-дифенил-хидантоина у односу на деривате циклоалканспиро-5-хидантоина, може се приписати увођењу додатне фенил-групе у положај 5 хидантоинског прстена, која доприноси формирању снажног липофилног штита око хидантоинске јединице [55].

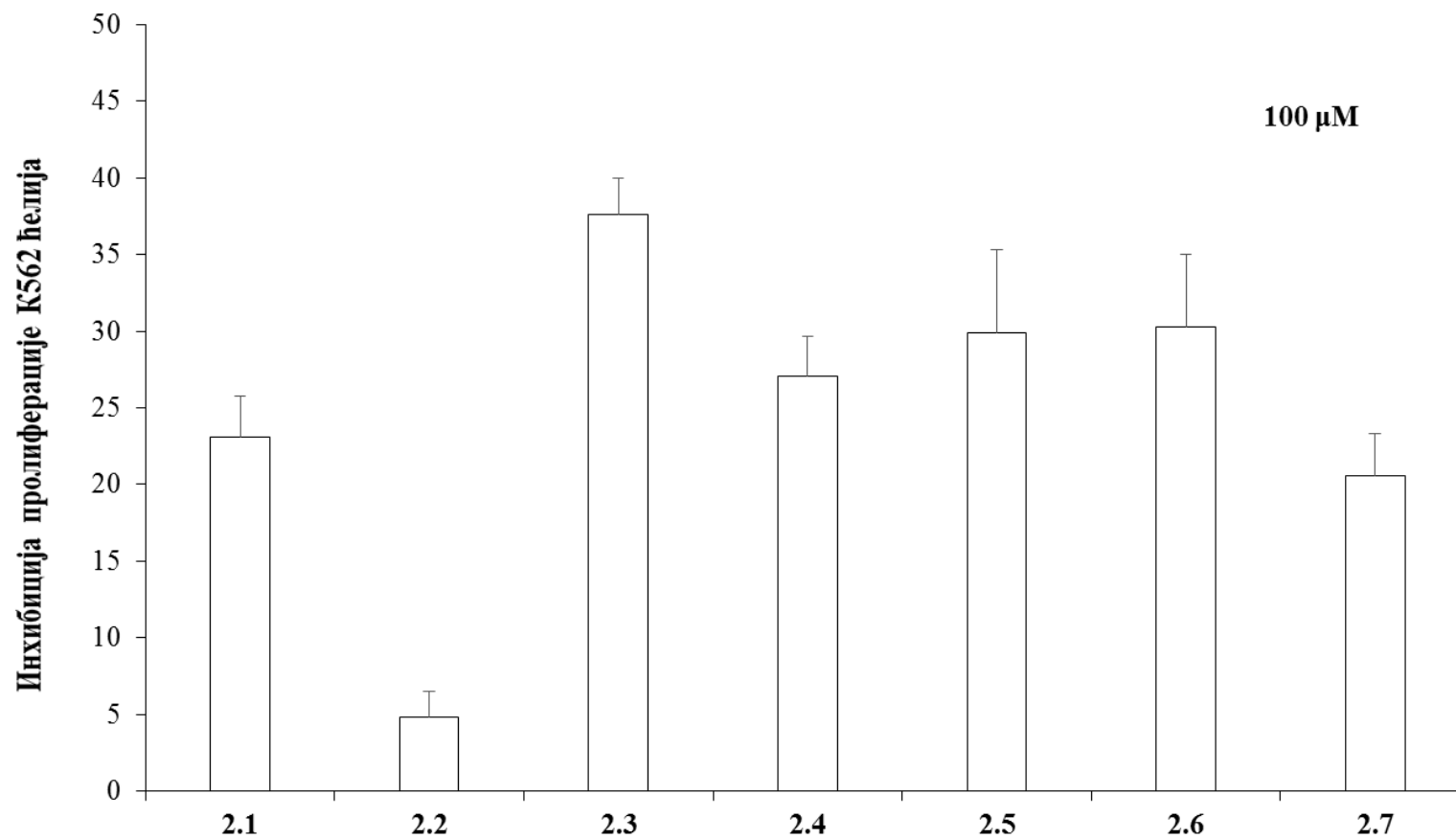
На основу приказаних резултата, може се закључити да молекули циклохексанспиро-5-хидантоина, супституисани у положају 3 хидантоинског прстена, представљају потенцијалне фармаколошки активне супстанце, које уз извесно структурно дизајнирање, могу бити значајни инхибитори ћелија леукемије K562.



Табела 41. Антипролиферативна активност једињења **2.1–2.7** према ћелијској линији леукемије K562

Инхибиција пролиферације K562 ћелија (%)						
Број једињења/ концентрација	100 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{M}$	1 $\mu\text{M}$	0,1 $\mu\text{M}$	0,01 $\mu\text{M}$	0,001 $\mu\text{M}$
<b>2.1</b>	23,1 $\pm$ 2,7 *	16,0 $\pm$ 0,1 *	10,5 $\pm$ 0,1 *	10,2 $\pm$ 1,0 *	15,2 $\pm$ 1,3 *	15,2 $\pm$ 1,1 *
<b>2.2</b>	4,80 $\pm$ 1,67	9,63 $\pm$ 1,47*	6,23 $\pm$ 1,30 *	9,10 $\pm$ 0,64 *	6,15 $\pm$ 0,49 *	7,5 $\pm$ 0,92 *
<b>2.3</b>	37,6 $\pm$ 2,4 *	17,9 $\pm$ 2,0 *	14,0 $\pm$ 0,5 *	21,5 $\pm$ 3,8 *	29,6 $\pm$ 1,4 *	22,8 $\pm$ 4,1 *
<b>2.4</b>	27,1 $\pm$ 2,6 *	16,3 $\pm$ 2,4 *	21,5 $\pm$ 1,1 *	31,1 $\pm$ 3,1 *	23,9 $\pm$ 2,6 *	31,5 $\pm$ 2,6 *
<b>2.5</b>	29,9 $\pm$ 5,4 *	25,9 $\pm$ 2,7 *	20,6 $\pm$ 3,9 *	36,1 $\pm$ 0,1 *	28,2 $\pm$ 1,8 *	24,3 $\pm$ 4,6 *
<b>2.6</b>	30,3 $\pm$ 4,7 *	18,6 $\pm$ 2,5 *	23,1 $\pm$ 1,0 *	29,1 $\pm$ 0,8 *	25,0 $\pm$ 5,4 *	23,7 $\pm$ 3,8 *
<b>2.7</b>	20,6 $\pm$ 2,7 *	22,6 $\pm$ 1,0 *	19,3 $\pm$ 1,7 *	16,3 $\pm$ 2,1 *	12,9 $\pm$ 1,5 *	25,3 $\pm$ 0,9 *

\*Статистички поуздани подаци ( $p < 0,05$  у односу на ћелије нетретиране спирохидантоинима).

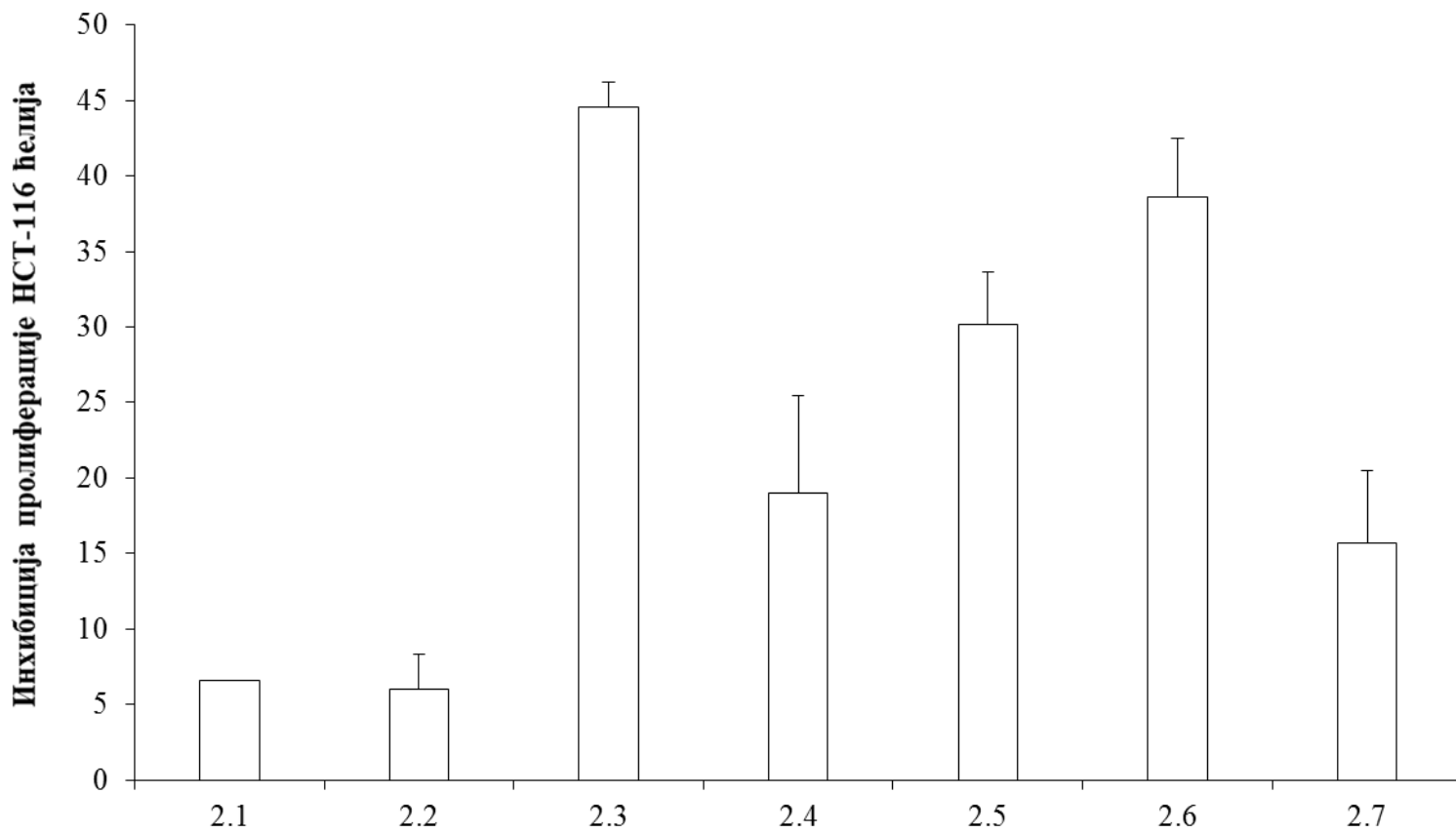


Слика 50. Ефекат једињења **2.1–2.7**, у концентрацији од  $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$ , на инхибицију пролиферације K562 ћелијске линије

Табела 42. Антипролиферативна активност једињења **2.1–2.7** према ћелијској линији карцинома дебелог црева HCT-116

Број једињења/ концентрација	Инхибиција пролиферације HCT-116 ћелија (%)					
	100 $\mu$ M	10 $\mu$ M	1 $\mu$ M	0,1 $\mu$ M	0,01 $\mu$ M	0,001 $\mu$ M
<b>2.1</b>	6,58 $\pm$ 0,00 *	8,72 $\pm$ 1,86 *	5,75 $\pm$ 1,96 *	9,43 $\pm$ 5,42 *	7,53 $\pm$ 4,90 *	6,35 $\pm$ 2,58 *
<b>2.2</b>	6,05 $\pm$ 2,31	6,60 $\pm$ 0,78	0,40 $\pm$ 5,83	0,62 $\pm$ 1,64	1,30 $\pm$ 0,73	0,90 $\pm$ 5,43
<b>2.3</b>	44,54 $\pm$ 1,65 *	5,46 $\pm$ 1,04 *	5,69 $\pm$ 1,81 *	5,46 $\pm$ 0,54 *	5,58 $\pm$ 3,98 *	5,46 $\pm$ 0,84 *
<b>2.4</b>	19,04 $\pm$ 6,45 *	14,77 $\pm$ 3,30 *	16,43 $\pm$ 8,73 *	6,88 $\pm$ 6,23	6,11 $\pm$ 6,06	1,96 $\pm$ 3,04 *
<b>2.5</b>	30,20 $\pm$ 3,44 *	24,21 $\pm$ 2,56 *	19,25 $\pm$ 4,28 *	7,25 $\pm$ 3,23 *	6,95 $\pm$ 3,11 *	3,54 $\pm$ 1,23 *
<b>2.6</b>	38,61 $\pm$ 3,85 *	25,56 $\pm$ 2,42 *	7,71 $\pm$ 1,34 *	8,60 $\pm$ 3,28 *	6,35 $\pm$ 6,27	6,82 $\pm$ 8,89
<b>2.7</b>	15,72 $\pm$ 4,80 *	11,03 $\pm$ 2,49 *	12,04 $\pm$ 2,37 *	9,73 $\pm$ 0,72 *	12,51 $\pm$ 0,21 *	10,91 $\pm$ 2,17 *

\*Статистички поуздани подаци ( $p < 0,05$  у односу на ћелије нетретиране спирохидантоинима).



Слика 51. Ефекат једињења **2.1–2.7**, у концентрацији од  $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$ , на инхибицију пролиферације НСТ–116 ћелијске линије

Табела 43. Антипролиферативна активност једињења **3.1–3.5** према ћелијској линији леукемије K562

Инхибиција пролиферације K562 ћелија (%)						
Број једињења/ концентрација	100 $\mu$ M	10 $\mu$ M	1 $\mu$ M	0,1 $\mu$ M	0,01 $\mu$ M	0,001 $\mu$ M
<b>3.1</b>	2,67 $\pm$ 0,95	2,63 $\pm$ 0,32	6,67 $\pm$ 1,13 *	6,40 $\pm$ 1,50 *	4,10 $\pm$ 1,91	5,87 $\pm$ 0,9 *
<b>3.2</b>	5,43 $\pm$ 0,61*	3,40 $\pm$ 0,17	4,03 $\pm$ 0,84	1,20 $\pm$ 2,71	3,00 $\pm$ 2,54	3,20 $\pm$ 0,23
<b>3.3</b>	7,60 $\pm$ 1,79 *	0,17 $\pm$ 1,65	2,07 $\pm$ 1,59	4,40 $\pm$ 2,77	2,57 $\pm$ 0,03	0,73 $\pm$ 4,07
<b>3.4</b>	8,23 $\pm$ 1,24 *	8,83 $\pm$ 2,05 *	7,50 $\pm$ 1,56 *	6,97 $\pm$ 1,42*	3,90 $\pm$ 0,52	4,90 $\pm$ 2,19
<b>3.5</b>	1,37 $\pm$ 0,72	4,47 $\pm$ 0,38	2,47 $\pm$ 0,84	1,20 $\pm$ 1,44	4,57 $\pm$ 0,43	2,47 $\pm$ 1,30

\*Статистички поуздани подаци ( $p < 0,05$  у односу на ћелије нетретиране спирохидантоинима).

Табела 44. Антипролиферативна активност једињења **3.1–3.5** према ћелијској линији карцинома дебелог црева HCT-116

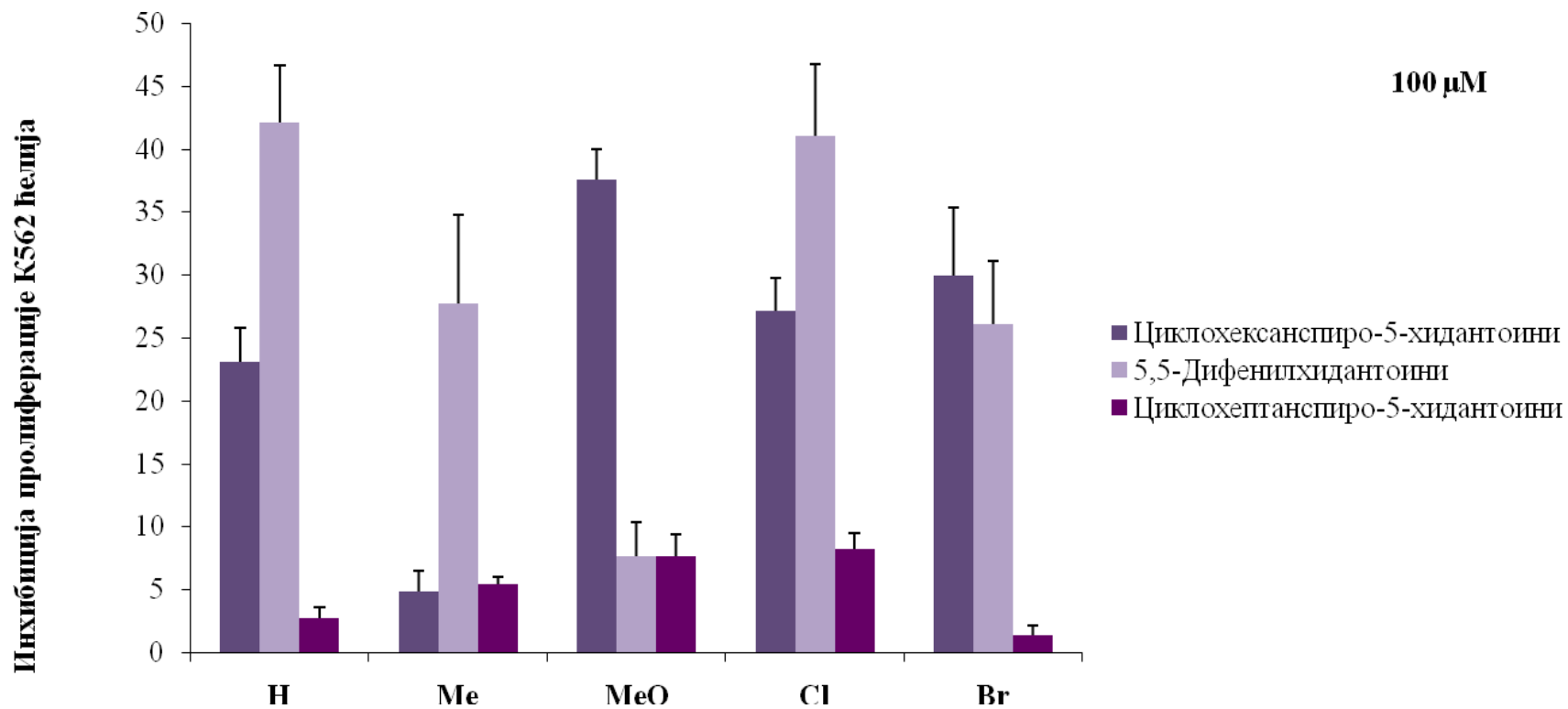
Инхибиција пролиферације HCT-116 ћелија (%)						
Број једињења/ концентрација	100 $\mu$ M	10 $\mu$ M	1 $\mu$ M	0,1 $\mu$ M	0,01 $\mu$ M	0,001 $\mu$ M
<b>3.1</b>	11,33 $\pm$ 1,33 *	6,22 $\pm$ 1,07 *	5,76 $\pm$ 0,62 *	1,14 $\pm$ 2,62	7,68 $\pm$ 1,70 *	6,01 $\pm$ 2,30
<b>3.2</b>	17,77 $\pm$ 1,77 *	15,15 $\pm$ 0,49 *	9,75 $\pm$ 1,65 *	8,14 $\pm$ 0,89 *	10,02 $\pm$ 2,56 *	9,58 $\pm$ 1,04 *
<b>3.3</b>	17,77 $\pm$ 1,77 *	15,15 $\pm$ 0,49 *	9,75 $\pm$ 1,65 *	8,14 $\pm$ 0,89 *	10,02 $\pm$ 2,56 *	9,58 $\pm$ 1,04 *
<b>3.4</b>	19,38 $\pm$ 2,03 *	9,99 $\pm$ 1,53 *	11,76 $\pm$ 2,53 *	7,78 $\pm$ 0,38 *	12,50 $\pm$ 3,58	9,00 $\pm$ 1,33 *
<b>3.5</b>	15,46 $\pm$ 0,46 *	8,61 $\pm$ 0,40 *	4,60 $\pm$ 0,65	8,14 $\pm$ 0,89 *	10,02 $\pm$ 2,56 *	9,58 $\pm$ 1,04

\*Статистички поуздани подаци ( $p < 0,05$  у односу на ћелије нетретиране спирохидантоинима).

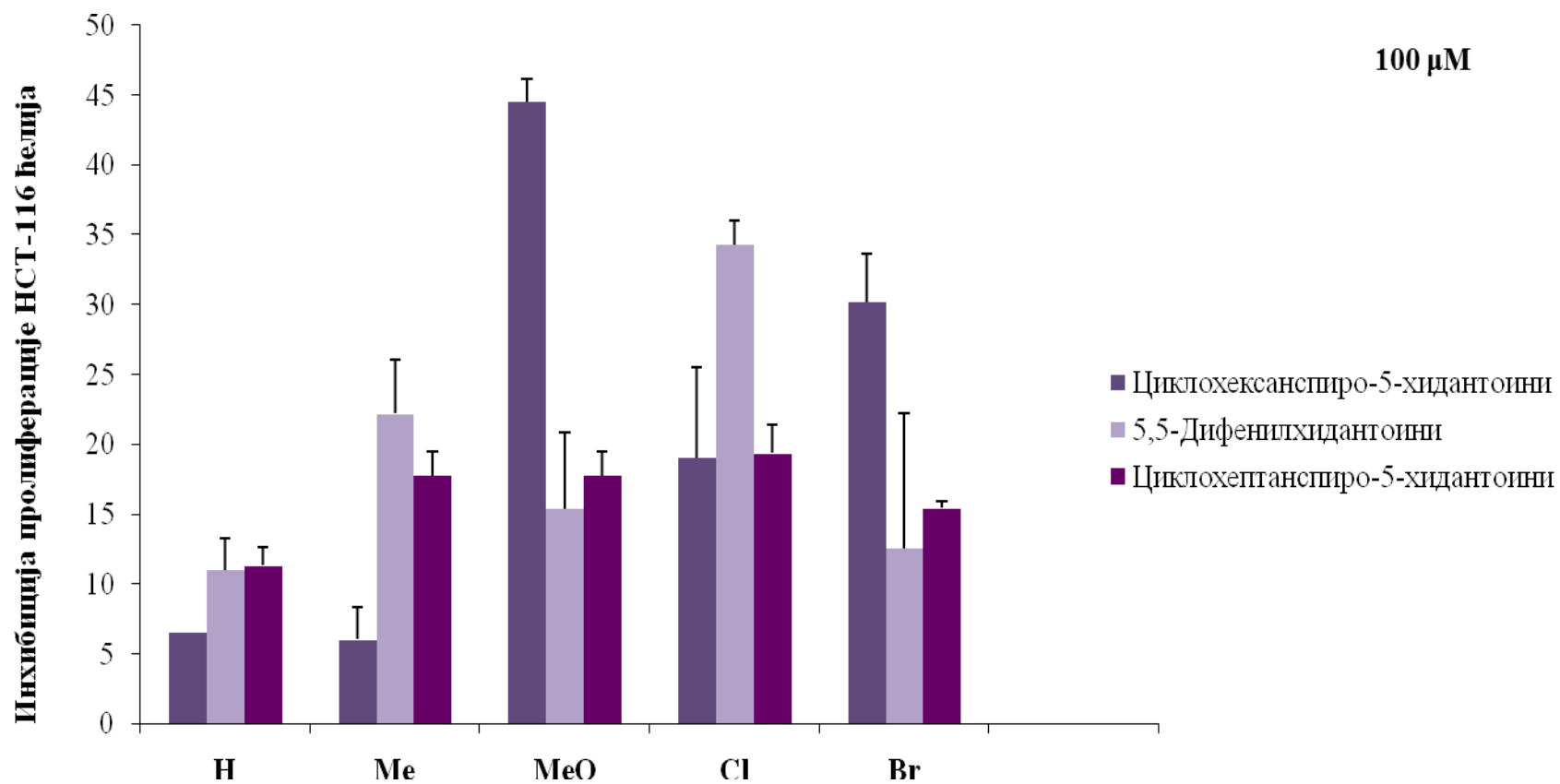
Табела 45. Антипролиферативна активност једињења **4.1–4.7** [55] према ћелијској линији леукемије K562

Инхибиција пролиферације K562 ћелија (%)						
Ознака једињења/ концентрација	100 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{M}$	1 $\mu\text{M}$	0,1 $\mu\text{M}$	0,01 $\mu\text{M}$	0,001 $\mu\text{M}$
<b>4.1</b>	42,13 $\pm$ 4,53 *	8,23 $\pm$ 0,09 *	10,00 $\pm$ 0,75 *	11,15 $\pm$ 0,26 *	10,40 $\pm$ 0,12 *	10,73 $\pm$ 0,84 *
<b>4.2</b>	27,73 $\pm$ 7,07 *	7,53 $\pm$ 0,95 *	8,83 $\pm$ 0,55 *	9,95 $\pm$ 0,66 *	11,25 $\pm$ 0,66 *	9,63 $\pm$ 0,61 *
<b>4.3</b>	7,60 $\pm$ 2,71	7,13 $\pm$ 1,30 *	6,60 $\pm$ 0,06 *	8,45 $\pm$ 0,61 *	10,25 $\pm$ 1,18 *	8,10 $\pm$ 0,29 *
<b>4.4</b>	41,00 $\pm$ 5,72 *	7,80 $\pm$ 0,23 *	9,63 $\pm$ 0,95 *	7,60 $\pm$ 0,69 *	1,30 $\pm$ 1,44	3,93 $\pm$ 1,07
<b>4.5</b>	26,03 $\pm$ 5,05 *	7,70 $\pm$ 2,71	7,19 $\pm$ 2,46	9,02 $\pm$ 2,83	9,84 $\pm$ 1,76 *	9,93 $\pm$ 1,10 *
<b>4.6</b>	21,17 $\pm$ 3,32 *	10,41 $\pm$ 2,61 *	10,10 $\pm$ 2,92	15,03 $\pm$ 2,46 *	14,27 $\pm$ 1,95 *	14,10 $\pm$ 1,82 *
<b>4.7</b>	12,97 $\pm$ 2,57 *	9,19 $\pm$ 3,35	12,21 $\pm$ 3,29	13,33 $\pm$ 2,77 *	11,74 $\pm$ 2,61 *	12,60 $\pm$ 2,67 *

\*Статистички поуздани подаци ( $p < 0,05$  у односу на ћелије нетретиране спирохидантоинима).



Слика 52. Ефекат проучаваних деривата хидантоина **2.1–2.5**, **3.1–3.5** и **4.1–4.5** на инхибицију пролиферације K562 ћелијске линије за концентрацију од  $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$



Слика 53. Ефекат проучаваних деривата хидантоина 2.1–2.5, 3.1–3.5 и 4.1–4.5 на инхибицију пролиферације НСТ-116 ћелијске линије за концентрацију од  $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$



## **5.ЗАКЉУЧАК**

У оквиру проучавања утицаја структуре на биолошку активност деривата циклоалканспиро-5-хидантоина, у овом раду су синтетисане три нове серије једињења и то: 3-(4-супституисани бензил)циклопентанспиро-5-хидантоини, 3-(4-супституисани бензил)циклохексанспиро-5-хидантоини и 3-(4-супституисани бензил)циклохептанспиро-5-хидантоини. У оквиру сваке серије, једињења се међусобно разликују према природи супституента (H, CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>, Cl, Br, CN, NO<sub>2</sub>) присутног у бензил-групи у положају 3 хидантоинског прстена. Серије се међусобно разликују и по величини циклоалкил-групе присутне у положају 5 хидантоинског прстена. На овакав избор једињења утицала је чињеница да структурно слични молекули, тј. деривати 5,5-дифенилхидантоина, показују антипролиферативну активност према два хелијска линија карцинома.

Сва једињења су први пут синтетисана према модификованим поступцима наведеним у литератури и потпуно структурно окарактерисана температурама топљења, елементарном анализом, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, UV-Vis спектроскопским методама и рендгенском структурном анализом. Чистоћа свих проучаваних једињења утврђена је применом HPLC-а.

1. Рендгенска структурна анализа и анализа Хиршфилдове површине пружиле су увид у повезаност молекулских интеракција и кристалне структуре деривата хидантоина. Халогени деривати циклоалканспиро-5-хидантоина садрже вишеструке функционалне групе које омогућавају веће надметање или сарадњу између различитих интермолекулских интеракција приликом формирања њихових кристалних паковања. Молекули су међусобно повезани паром N–H···O водоничних веза и формирају R<sub>2</sub><sup>2</sup>(8) прстенове док C–H···O интеракције доприносе њиховом даљем удруживању у двоструке ланце.

Допринос циклоалканског прстена зависи од његове конформационе флексибилности и вишеструких C–H интеракција. У случају једињења која садрже циклопентански и циклохексански прстен, интеракције халогеног везивања (X···O) омогућавају да се формира супрамолекулска псевдохексагонална мрежа. Такође, C–H···X интеракције са вишеструким гранањем на халогеном акцепторском атому имају значајну улогу у формирању кристалних паковања.

У случају једињења која садрже циклохептански прстен, не уочавају се халогене ( $X \cdots O$ ) интеракције. Она граде кристална паковања са доминантним  $C-H \cdots X$  интеракцијама. Енергија решетке свих кристалних паковања израчуната је применом PIXEL методе и даљом поделом на Кулоновске, дисперзионе, поларизационе и репулзивне доприносе. Анализа Хиршфилдове површине указује да око 75% блиских контаката атома одговара slabим међумолекулским интеракцијама. Узимајући у обзир разноврсну фармацеутску примену деривата хидантоина, наше истраживање о улози интермолекулских интеракција халогених атома омогућава да поменута једињења постану део стратегије за дизајнирање нових биолошки активних једињења и биоматеријала.

2. Солватохромизам и електронска својства деривата циклоалканспиро-5-хидантоина, проучавани су применом електронских апсорпционих спектра који су снимљени у 20 растварача различитих поларности у опсегу таласних дужина 200–400 nm. Спектре свих проучаваних молекула карактерише присуство једне доминантне траке која потиче од  $\pi \rightarrow \pi^*$  прелаза у фенилној групи и хидантоинском прстену и мањег апсорпционог максимума ниже енергије, који потиче од померања електронске густине са супституисане бензил-групе према  $C=O$  групи амидног фрагмента, што је карактеристично за 5-супституисане деривате хидантоина. Анализа овог хромофорног система показује да је апсорпција већим делом резултат интрамолекулског трансфера наелектрисања (ICT).

3. Ефекти поларности растварача и водоничног везивања на померање апсорпционих максимума деривата циклоалканспиро-5-хидантоина, анализирани су применом модела линеарне корелације енергије солватације (LSER), тј. опште солватохромне једначине коју су поставили Камлет и Тафт. На основу вредности процентних удела солватохромних параметара за деривате циклопентанспиро-5-хидантоина, може се закључити да су диполарност и поларизабилност растварача, доминантније код несупституисаног молекула, као и једињења које садржи јаку електрон-донорску метокси-групу. Насупрот томе, киселост и базност растварача преовлађују код молекула који садрже јаке електрон-акцепторске супституенте.

Код већине супституисаних циклохексанспиро-5-хидантоина више су изражене неспецифичне интеракције једињења са молекулима растварача у односу на специфичне интеракције. Овај тренд је израженији код молекула са електрон-акцепторским супституентима. Солватохромизам 3-(4-супституисаних бензил)циклохептанспиро-5-хидантоина који садрже јаку електрон-донорску метокси-групу као и јаку електрон-акцепторску нитро-групу, у већој мери потиче од неспецифичних интеракција ових једињења са молекулима растварача. Такође се може уочити да је ефекат водоничног везивања, као показатељ специфичних интеракција које се остварују између растварача и растворене супстанце, израженији код молекула који садрже јаку електрон-акцепторску цијано-групу као и супституенте умерене јачине. Резултати указују да су ефекти растварача веома комплексни и да јако зависе од природе супституента који се налази на бензилној групи.

4. B3LYP и M06-2X/6-311++G(d,p) методе (у оквиру програмског пакета Gaussian 09) примењене су за израчунавање оптимизоване геометрије деривата циклоалканспиро-5-хидантоина. Доказано је да главна разлика између експериментално утврђених структура 3-бензилциклопентанспиро-5-хидантоина и оних добијених применом DFT методе потиче од другачије просторне оријентације бензил-групе у односу на спирохидантоинску јединицу.

Такође је показано да су у оквиру сваке серије једињења, геометријска својства супституисаних деривата веома слична онима код несупституисаног аналога. Везе у хидантоинском прстену мењају се незнатно са променом супституента, док су дужине веза у бензеновом прстену веома условљене природом супституента. Електрон-донорски супституент доприноси померању електронске густине са бензил-групе на хидантоинску јединицу што за резултат има повећање дужине веза. Супротно важи за електрон-акцепторске супституенте.

5. Применом NBO анализе утврђено је да код проучаваних једињења интермолекулске интеракције настају преклапањем везивних орбитала типа C–C, C–N и C=O са антивезивном орбиталом C=O, што доприноси интрамолекулском трансферу наелектрисања које додатно стабилизује молекул. Наведене интеракције резултат су повећања електронске густине у C–C, C–N и C=O антивезивним орбиталама које слаби поменуте везе. Јака интрамолекулска

интеракција хиперкоњугације  $\sigma$  и  $\pi$  електрона од C–C везивне ка C–C антивезивним орбиталама хидантоинског и фенилног прстена која се затим шири ка циклопентанском прстену стабилизује цео молекул.

6. Употребом DFT/B3LYP/6-311++G(d,p) методе, одређена је мапа молекулског електростатичког потенцијала деривата циклоалканспиро-5-хидантоина. Добијени резултати показују да су најпогоднија места за електрофилни напад атоми кисеоника карбонилне групе, док је најповољније место за нуклеофилне нападе N1-атом хидантоинског прстена.

7. Предикција биолошке активности показује да сви испитивани деривати циклоалканспиро-5-хидантоина задовољавају неопходне емпиријске критеријуме и представљају потенцијалне кандидате за фармакодинамичку фазу испитивања. Такође је утврђено да је у серији 3-(4-супституисаних)бензилциклопентанспиро-5-хидантоина, дериват са метокси-групом по својим физичкохемијским својствима најсличнији фенитоину, комерцијално доступном познатом антиконвулзивном леку.

Биолошка активност 3-(4-супституисаних бензил)циклохексанспиро-5-хидантоина и 3-(4-супституисаних бензил)циклохептанспиро-5-хидантоина као потенцијалних антипролиферативних агенаса, одређена је МТТ тестом на различитим изолованим хуманим ћелијским линијама канцера. Добијени резултати су упоређени са резултатима антипролиферативне активности 3-(4-супституисаних бензил)-5,5-дифенилхидантоина за које је утврђено да су активни према ћелијским линијама НСТ-116 (карцином дебелог црева) и MDA-MB-231 (карцином дојке).

На основу добијених вредности инхибиције пролиферације, генерално се може закључити да највећу антипролиферативну активност према ћелијској линији хумане леукемије (K562), остварују деривати циклохексанспиро-5-хидантоина који у оквиру своје структуре садрже халогене супституенте (Cl, Br). Насупрот томе, једињења која садрже јаку електрон донорску метокси-групу или јаку електрон-акцепторску цијано-групу, најактивнији су према ћелијској линији карцинома дебелог црева (НСТ-116).

Поред тога, уочена је значајно мања активност деривата циклохептанспиро-5-хидантоина према ћелијским линијама K562 и НСТ-116 у односу на

деривате циклохексанспиро-5-хидантоина. Један од разлога смањене антипролиферативне активности деривата са циклохептанским прстеном су веће вредности липофилности које се налазе у опсегу 3,48–4,34. Други разлог може потицати од стерних сметњи приликом успостављања интеракција лек-рецептор које су последица различите конформације циклохептанског у односу на циклохексански прстен.

На основу приказаних резултата, може се закључити да молекули циклохексанспиро-5-хидантоина, супституисани у положају 3 хидантоинског прстена, представљају потенцијалне фармаколошки активне супстанце, које уз извесно структурно дизајнирање, могу бити значајни инхибитори ћелија леукемије K562.

## 6. ЛИТЕРАТУРА

- [1] H. Byrtus, M. Pawlowski, B. Duszyńska, A. Wesolowska, E. Chojnacka-Wójcik, A. J. Bojarski, *Pol. J. Pharmacol.* 53 (2001) 395.
- [2] J. Kossakowski, T. Zawadowski, J. Turbo, J. Kleps, *Farmaco* 53 (1998) 169.
- [3] L. C. C. Kong, C. Moinet, L. Vaillancourt, M. Bubenik, US 2006/0014769 A1 (2006).
- [4] R. Sarges, R. C. Schnur, J. L. Belletire, M. J. Peterson, *J. Med. Chem.* 31 (1998) 230.
- [5] F. Da Settimo, G. Primofiore, C. La Motta, S. Salerno, E. Novellino, G. Greco, A. Lavecchia, S. Laneri, E. Boldrini, *Bioorg. Med. Chem.* 13 (2005) 491.
- [6] C. S. Ananda Kumar, C. V. Kavitha, K. Vinaya, S. B. B. Prasad, N. R. Thimmegowda, S. Chandrappa, S. C. Raghavan, K. S. Rangappa, *Invest. New Drugs* 27 (2009) 327.
- [7] S. Neyko, M. Marinov, *Acta Chim. Slov.* 59 (2012) 680.
- [8] M. H. Abraham, A. Ibrahim, A. M. Zissimos, Y. H. Zhao, J. Comer, D. P. Reynolds, *Drug Discov. Today* 7 (2002) 1056.
- [9] T. Marcelli, F. Olimpieri, A. Volonterio, *Org. Biomol. Chem.* 9 (2011) 5156.
- [10] F. Olimpieri, M. C. Bellucci, T. Marcelli, A. Volonterio, *Org. Biomol. Chem.* 10 (2012) 9538.
- [11] A. Ahmedova, G. Pavlović, M. Marinov, N. Stoyanov, D. Šišak, M. Mitewa, J. *Mol. Struct.* 938 (2009) 165.
- [12] R. Pradhan, M. Patra, A. K. Behera, B. K. Mishra, R. K. Behera, *Tetrahedron* 62 (2006) 779.
- [13] E. Naydenova, N. Pencheva, J. Popova, N. Stoyanov, M. Lazarova, B. Aleksiev, *Farmaco* 57 (2002) 189.
- [14] N. Trisovic, G. Uscumlic, S. Petrovic, *Hem. Ind.* 63 (2009) 17.
- [15] H. Byrtus, M. Pawlowski, S. Charakchieva-Minol, B. Duszyńska, M. J. Mokrosz, J. L. Mokrosz, A. Zejc, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, 329 (1996) 283.
- [16] I. Gomez-Monterrey, G. Santelli, P. Campiglia, D. Califano, F. Falasconi, C. Pisano, L. Vesci, T. Lama, P. Grieco, E. Novellino, *J. Med. Chem.* 48 (2005) 1152.

- [17] Q. Zhu, Y. Pan, Z. Xu, R. Li, G. Qiu, W. Xu, X. Ke, L. Wu, X. Hu, *Eur. J. Med. Chem.* 44 (2009) 296.
- [18] J. Avendano, J. C. Menendez, Hydantoin and its derivatives, in *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 4<sup>th</sup> ed. Wiley-VCH Weinheim 1999, str. 1071.
- [19] M. Meusel, M. Gütschow, *Org. Prep. Proced. Int.* 36 (2004) 391.
- [20] H. C. White, US 2557920 (1951).
- [21] I. A. Rivero, E. A. Reynoso, A. Ochoa-Teran, *ARKIVOC* ii (2011) 260.
- [22] S. Shimizu, J. Ogawa, Stereoselective Synthesis Using Hydantoinases and Carbamoylases, in *Stereoselective Biocatalysis* (ed. R. N. Patel) CRC Press, New York, 2000, str. 1–21.
- [23] J. Ogawa, N. Horinouchi, S. Shimizu, Hydrolysis and Formation of Hydantoins, in *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis*, (eds. K. Drauz, H. Gröger, O. May) Wiley-VCH-Weinheim, 2012, str. 651–669.
- [24] E. Ware, *Chem. Rev.* (Washington, DC, United States), 46 (1950) 403.
- [25] A. Faghihi, K., Zamani, K., Mobinikhaledi, *Turkish J. Chem.* 28 (2003) 345.
- [26] M. J. Nieto, A. E. Philip, J. H. Poupaert, C. R. McCurdy, *J. Comb. Chem.* 7 (2005) 258.
- [27] J. Obniska, H. Byrtus, K. Kamiński, M. Pawłowski, M. Szczesio, J. Karolak-Wojciechowska, *Bioorg. Med. Chem.* 18 (2010) 6134.
- [28] L. K. Abdulrahman, M. M. Al-Mously, M. L. Al-Mosuli, K. K. Al-Azzawii, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 5 (2013) 494.
- [29] D. R. Haines, R. W. Fuller, S. Ahmad, D. T. Vistica, V. E. Marquez, *J. Med. Chem.* 30 (1987) 542.
- [30] H. P. Rang, M. M. Dale, J. M. Ritter, P. K. Moore, *Farmakologija*, 5. izdanje (urednik srpskog izdanja Todorović Z.) Data status, Beograd. 2005.
- [31] T. Djaković-Sekulić, A. Smoliński, N. Trišović, G. Ušćumlić, *J. Chemom.* 26 (2012) 95.
- [32] A. Zagórska, A. Czopek, M. Pawłowski, M. Dybala, A. Siwek, G. Nowak, *Med. Chem. Res.* 21 (2012) 3455.
- [33] N. Trišović, N. Valentić, G. Ušćumlić, *Chem. Cent. J.* 5 (2011) 1.
- [34] N. Trišović, T. Timić, J. Divljaković, J. Rogan, D. Poleti, M. Savić, G. Ušćumlić, *Monatsh. Chem.* 143 (2012) 1451.



- [35] T. Đaković-Sekulić, A. Mandić, N. Trišović, G. Uščumlić, *Curr. Comput. Aided Drug Des.* 8 (2012) 3.
- [36] H. J. Patel, J. Sarra, F. Caruso, M. Rossi, U. Doshi, R. A. Stephani, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16 (2006) 4644.
- [37] T. Đaković-Sekulić, Z. Lozanov-Cvetković, A. Mandić, G. Uščumlić, S. Keleman, *Chromatographia* 73 (2011) 51.
- [38] N. Trišović, N. Valentić, M. Erović, T. Đaković-Sekulić, G. Uščumlić, I. Juranić, *Monatsh. Chem.* 142 (2011) 1227.
- [39] H. Pessoa-Mahana, R. Araya-Maturana, C. B. Saitz, D. C. Pessoa-Mahana, *Mini Rev. Med. Chem.* 3 (2003) 77.
- [40] S. J. Oh, H. J. Ha, D. Y. Chi, H. K. Lee, *Curr. Med. Chem.* 8 (2001) 999.
- [41] M. L. López-Rodríguez, M. L. Rosado, B. Benhamú, M. J. Morcillo, A. M. Sanz, L. Orensanz, M. E. Beneitez, J. A. Fuentes, J. Manzanares, *J. Med. Chem.* 39 (1996) 4439.
- [42] K. Bleicher, Y. Wutrich, M. De Boni, S. Kolczewski, T. Hoffmann, A. Sleight, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 12 (2002) 2519.
- [43] G. Galley, T. Godel, A. Goergler, T. Hoffmann, S. Kolczewski, S. Roever, *WO* 0194346 (2001).
- [44] J. M. Humphrey *Curr. Top. Med. Chem.* 3 (2003) 1423.
- [45] M. W. Rowbottom, T. D. Vickers, J. Tamiya, M. Zhang, B. Dyck, J. Grey, D. Schwarz, C. E. Heise, M. Hedrick, J. Wen, H. Tang, H. Wang, A. Fisher, A. Aparicio, J. Saunders, V. S. Goodfellow, *Bioorganic Med. Chem. Lett.* 17 (2007) 2171.
- [46] G.M. Cooper, G. M. Cooper, G.M. Cooper, and G. M. Cooper, *Elements of human cancer*, Jones and Bartlett Learning, Boston 1992.
- [47] Online Cancer Glossary, Amer. Cancer Society, 2015. <http://www.cancer.org/cancer/cancerglossary/index>. Pristupljeno 21/01/2015.
- [48] D. W. Kufe, R. E. Pollock, R. R. Weichselbaum, R. C. Bast, T. S. Gansle, J.F. Holland, E. Frei (eds.) *Holland-Frei Cancer Med.* 6<sup>th</sup> ed. BC Decker, Hamilt. 2003.
- [49] C. V. Kavitha, M. Nambiar, P. B. Narayanaswamy, E. Thomas, U. Rathore, C. S. A. Kumar, B. Choudhary, K. S. Rangappa, S. C. Raghavan, *PLoS One* 8 (2013) 1.
- [50] Basappa, C. S. Ananda Kumar, S. N. Swamy, K. Sugahara, K. S. Rangappa, *Bioorg. Med. Chem.* 17 (2009) 4928.

- [51] G. W. Peng, V. E. Marquez, J. S. Driscoll, *J. Med. Chem.* 18 (1975) 846.
- [52] Y. Sano, T. Hoshino, R. Bjerkvig, D. F. Deen, *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* 19 (1983) 1451.
- [53] U. Sanyal, S. Bhattacharya, U. Sadhu, S. Dutta, H. Das, M. Ghosh, *Cancer Lett.* 70 (1993) 1.
- [54] C. Carmi, A. Cavazzoni, V. Zuliani, A. Lodola, F. Bordi, P. V. Plazzi, R. R. Alfieri, P. G. Petronini, M. Mor, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16 (2006) 4021.
- [55] S. Hmuda, N. Trišović, J. Rogan, D. Poleti, Ž. Vitnik, V. Vitnik, N. Valentić, B. Božić, G. Ušćumlić, *Monatsh. Chem.* 145 (2014) 821.
- [56] N. Trišović, B. Božić, A. Obradović, O. Stefanović, S. Marković, L. Čomić, B. Božić, G. Ušćumlić, *J. Serbian Chem. Soc.* 76 (2011) 1597.
- [57] S. Hmuda, N. Trišović, N. Valentić, G. Ušćumlić, *J. Solution Chem.* 40 (2011) 307.
- [58] A. Obradović, J. Žižić, N. Trišović, B. Božić, G. Ušćumlić, B. Božić, S. Marković, *Turk. J. Biol.* 37 (2013) 741.
- [59] C. V. Kavitha, M. Nambiar, C. S. Ananda Kumar, B. Choudhary, K. Muniyappa, K. S. Rangappa, S. C. Raghavan, *Biochem. Pharmacol.* 77 (2009) 348.
- [60] A. D. Association, *Diabetes Care* 35 (2012) 64.
- [61] S. Velimirov, S. Živanov-Stakić, *Farmaceutska hemija 2. deo*, Farmaceutski Fakultet, Beograd (n.d.). 2006.
- [62] P. Marinova, M. Marinov, Y. Feodorova, M. Kazakova, D. Georgiev, V. Lekova, P. Penchev, N. Stoyanov, *C. R. Acad. Bulg. Sci.* 67 (2014) 513.
- [63] P. Marinova, M. Marinov, Y. Feodorova, M. Kazakova, A. Slavchev, D. Blazheva, V. Sarafian, I. Nikolova, N. Stoyanov, *Sci. Technol.* 4 (2014) 112.
- [64] *Medicinski leksikon (glavni urednik Kostić A.)*, 6. doštampano izdanje, Medicinska knjiga, Beograd – Zagreb 1988.
- [65] P. M. Murphy, M. Baggiolini, I. F. Charo, C. A. Hébert, R. Horuk, K. Matsushima, L. H. Miller, J. J. Oppenheim, C. A. Power, *Pharmacol. Rev.* 52 (2000) 145–176.
- [66] J. Ivanušić, A. Harangozo, *Medicus*, 23 (2014) 15.
- [67] M. Cvijanovic, S. Simic, S. Banic Horvat, Z. Jovin, P. Slankamenac, M. Ilin, *Med. Pregl.* 64 (2011) 443.

- [68] P. J. Goadsby, R. B. Lipton, M. D. Ferrari, *N. Eng. J. Med.* 346 (2002) 257.
- [69] 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, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16 (2006) 6165.
- [70] 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, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16 (2006) 2595.
- [71] L. Horoszok, C. Leung, M. Tomaszewski, C. Walpole, WO 2007091946 A1 (2007).
- [72] D. A. Winkler, *Brief. Bioinform.* 3 (2002) 73–86.
- [73] B. Jhanwar, V. Sharma, R. K. Singla, B. Shrivastava, *Pharmacol. Online Newsl.* 1 (2011) 306.
- [74] H. Kubinyi, *QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches*, Wiley-VCH, Weinheim 1993.
- [75] G. Ušćumlić, V. Krstić, *Rastvarači i njihov značaj u organskoj hemiji*. TMF-Beograd 2000.
- [76] K. Roy, C. Sengupta, A. U. De, *J. Sci. Ind. Res.* 60 (2001) 699.
- [77] C. Reichardt, *Solvent Effects on the Absorption Spectra of Organic Compounds*, in *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry* 3<sup>rd</sup> ed. Wiley-VCH, Weinheim 2003.
- [78] C. Reichardt, *Chem. Rev.* 94 (1994) 2319.
- [79] C. Reichardt, T. Welton, *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*, 4<sup>th</sup> ed. Wiley-VCH, Weinheim 2011.
- [80] M. Homocianu, A. Airinei, D. Dorohoi, *J. Adv. Res. Phys.* 2 (2011) 1.
- [81] H. Suzuki, M. B. Kneller, D. A. Rock, J. P. Jones, W. F. Trager, A. E. Rettie, *Arch. Biochem. Biophys.* 429 (2004) 1.
- [82] L. Salazar, J. Rubido, M. Espada, C. Pedregal, G. Trigo, *J. Heterocycl. Chem.* 23 (1986) 481.
- [83] A. Altomare, G. Cascarano, C. Giacobuzzo, A. Guagliardi, M. C. Burla, G.

- Polidori, M. Camalli, *J. Appl. Crystallogr.* 27 (1994) 435.
- [84] G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. A Found. Crystallogr.* 64 (2007) 112.
- [85] G.M. Sheldrick, *Acta Crystallogr.* 45 (2012) 849.
- [86] L. J. Farrugia, *J. Appl. Crystallogr.* 32 (1999) 837.
- [87] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ö. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, and D. J. Fox, *Gaussian 09*, Revision D.01, Wallingford CT, 2009.
- [88] A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* 98 (1993) 5648.
- [89] Y. Zhao, D. G. Truhlar, *Acc. Chem. Res.* 41 (2008) 157.
- [90] M. Cossi, N. Rega, G. Scalmani, V. Barone, *J. Comput. Chem.* 24 (2003) 669.
- [91] E.D. Glendening, A. E. Reed, J. E. Carpenter, F. Weinhold, NBO 3.1, TCI, University of Wisconsin, Madison, 1998. .
- [92] C. R. Groom, I. J. Bruno, M. P. Lightfoot, S.C. Ward, *Acta Crystallogr. B* 72 (2016) 171.
- [93] A. Lazić, N. Trišović, L. Radovanović, J. Rogan, D. Poleti, Ž. Vitnik, V. Vitnik, G. Ušćumlić, *Cryst. Eng. Comm.* 19 (2017) 469.
- [94] A. Lazić, B. Božić, V. Vitnik, Ž. Vitnik, J. Rogan, L. Radovanović, N. Valentić, G. Ušćumlić, *J. Mol. Struct.* 1127 (2017) 88.
- [95] A. Gavezzotti, L.Lo Presti, *Cryst. Growth Des.* 16 (2016) 2952.
- [96] G.R. Desiraju, *Acc. Chem.Res.* 35 (2002) 565.
- [97] A. Kovasc, Z. Varga, *Coord. Chem. Rev.* 250 (2006) 710.
- [98] a) P. Politzer, J. S. Murray, T. Clark, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 12 (2010) 7748;  
b) X. Ding, M. Tuikka, M. Haukka, *Halogen Bonding in Crystal Engineering*, in

Recent Advances in Crystallography (ed. J. B. Benedict) In Tech, New York, 2012, str. 143.

[99] K. E. Riley, P. Hobza, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 15 (2013) 17742.

[100] P.-P. Zhou, W.-Y. Qiu, S. Luib, N.-Z. Jin, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 13 (2011) 7408.

[101] a) M. A. Spackman, D. Jayatilaka, *Cryst. Eng. Comm.* 11(2009) 19; b) M. A. Spackman, J. J. McKinnon, *Cryst. Eng. Comm.* 4 (2002) 378; c) J. J. McKinnon, M. A. Spackman, A. S. Mitchell, *Acta Crystallogr., Sec. B: Struct. Sci.* 60 (2004) 627; d) S. K. Seth, D. Sarkar, T. Kar, *Cryst. Eng. Comm.* 13 (2011) 4528; e) D. A. Safin, K. Robeyns, Y. Garcia, *Cryst. Eng. Comm.* 18 (2016) 7248.

[102] a) A. Gavezzoti, *Molecular Aggregation*, Oxford University Press, Oxford, 2005, ch. 12; b) A. Gavezzoti, *J. Phys. Chem. B*, 107 (2003) 2344; c) A. Gavezzoti, *Mol. Phys.* 106 (2008) 106 1473.

[103] a) B. Chattopadhyay, A. K. Mukherjee, N. Narendra, H. P. Hemantha, V. V. Sureshababu, M. Helliwell, M. Mukherjee, *Cryst. Growth Des.* 10 (2010) 4476; b) S. Graus, S. Uriel, J. L. Serrano, *Cryst. Eng. Comm.* 14 (2012) 3759; c) S. Graus, D. Casabona, S. Uriel, C. Cattivola, J. L. Serrano, *Cryst. Eng. Comm.* 12 (2010) 3132; d) P. T. Todorov, R. N. Petrova, E. D. Naydenova, B. L. Shivachev, *Cent. Eur. J. Chem.* 14 (2009) 7.

[104] a) I. Dance, *New J. Chem.*, 1 (2003) 22; b) D. Dey, C.S. Shripanavar, K. Banerjee, D. Chopra, *J. Crystallogr.*, 2014 (2014) 1.

[105] Y. Gu, T. Kar, S. Scheiner, *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999) 9411.

[106] a) H. Masu, Y. Sagara, F. Imabeppu, H. Takayanagi, K. Katagiri, M. Kawahata, M. Tominga, H. Kagechika, K. Yamaguchia, I. Azumaya, *Cryst. Eng. Comm.* 13 (2011) 406; b) A. J. Cruz Cabeza, G. M. Day, W. D. S. Motherwell, W. Jones, *Cryst. Growth Des.* 6 (2006) 1858; c) F. H. Allen, C. M. Bird, R. S. Rowland, S. E. Harris, C. H. Schwalbe, *Acta Crystallogr. Sect. B: Struct. Sci.* 51 (1995) 1068.

[107] C. Ouvrard, J.-Y. Le Questel, M. Berthelot, C. Laurence, *Acta Crystallogr. Sect. B: Struct. Sci.* 59 (2003) 512.

[108] a) A.R. Voth, P. Khuu, K. Oishi, P. S. Ho, *Nat. Chem.* 1 (2009) 74; b) M.R. Scholfield, C.M. Vander Zanden, M. Carter, P. S. Ho, *Protein Sci.* 22 (2013) 139.

[109] A. J. Rybarczyk-Pirek, L. Checinska, M. Malecka, S. Wojtulewski, *Cryst. Growth*

- Des. 13 (2013) 3913.
- [110] Y.-H. Luo, B.-W. Sun, *Cryst. Eng. Comm.* 15 (2013) 7490.
- [111] A. J. Rybarczyk-Pirek, M. Lukomska-Rogala, S. Wojtulewski, M. Palusiak, *Cryst. Growth Des.* 15 (2015) 5802.
- [112] N. Banjac, N. Trišović, Ž. Vitnik, V. Vitnik, N. Valentić, G. Ušćumlić, I. Juranić, *Monatsh. Chem.* 144 (2013) 1525.
- [113] V. Vitnik, Ž. Vitnik, N. Banjac, N. Valentić, G. Ušćumlić, I. Juranić, *Spectrochim. Acta - Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* 117 (2014) 42.
- [114] M. Rančić, N. Trišović, M. Milčić, G. Ušćumlić, A. Marinković, *Spectrochim. Acta - Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* 86 (2012) 500.
- [115] V. Arsovski, B. Božić, J. Mirković, V. Vitnik, Ž. Vitnik, W. Fabian, S. Petrović, D. Mijin, *J. Mol. Model.* 20 (2014) 1–16.
- [116] S. Hmuda, N. Banjac, N. Trisovic, B. Bozic, N. Valentic, G. Uscumlic, *J. Serbian Chem. Soc.* 78 (2013) 627.
- [117] E. Bosch, F. Rived, M. Rosés, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II* 10 (1996) 2177.
- [118] U. Buhvestov, F. Rived, C. Rafols, E. Bosch, M. Roses, M. Roses, *J. Phys. Org. Chem.* 11 (1998) 185.
- [119] M. Roses, U. Buhvestov, C. Rafols, F. Rived, E. Bosch, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* (1997) 1341.
- [120] M. J. Kamlet, J.-L. M. Abboud, M. H. Abraham, R.W. Taft, *J. Org. Chem.* 48 (1983) 2877.
- [121] E. J. Braga, B. T. Corpe, M. M. Marinho, E. S. Marinho, *Int. J. Sci. Eng. Res.* 7 (2016) 315.
- [122] C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 23 (1997) 3.
- [123] M. Remko, M. Swart, F. Bickelhaupt, *Bioorganic Med. Chem.* 14 (2006) 1715.
- [124] D. Veber, S. Johnson, H. Cheng, B. Smith, K. Ward, K. Kopple, *J. Med. Chem.* 45 (2002) 2615.
- [125] A. K. Ghoshe, V. N. Viswanadhan, J. J. Wendoloski, *J. Comb. Chem.* 1 (1999) 55.
- [126] H. Byrtus, M. Pawłowski, A. Czopek, A. J. Bojarski, B. Duszyńska, G. Nowak, A. Kłodzińska, E. Tatarczyńska, A. Wesołowska, E. Chojnacka-Wójcik, *Eur. J. Med.*

Chem. 40 (2005) 820.

[127] S. M. Tasso, L. E. Bruno-Blanch, S. C. Moon, G. L. Estiú, J. Mol. Struct. Theochem. 504 (2000) 229.

[128] A. M. Alanazi, A. S. El-Azab, I. A. Al-Swaidan, A. R. Maarouf, E. R. El-Bendary, M. A. A. El-Enin, A. A.-M. M. Abdel-Aziz, M. A. Abu El-Enin, A. A.-M. M. Abdel-Aziz, Med Chem Res. 22 (2013) 6129.

[129] A. A. Mostafa, A. N. Al-Rahmah, R. Surendra Kumar, A. Manilal, A. Idhayadhulla, Int. J. Pharmacol. 12 (2016) 290.

## 7. БИОГРАФИЈА КАНДИДАТА

Анита Лазић, рођена је 26. августа 1988. године у Глини, Хрватска. Основну и средњу Медицинску школу завршила је у Београду. Студије на Технолошко-металуршком факултету Универзитета у Београду уписала је школске 2007/2008. Основне академске студије завршила је 2011. године на студијском програму Хемијско инжењерство, студијско подручје: Фармацеутско инжењерство. Исте године на матичном факултету, уписује мастер академске студије, на студијском програму Хемијско инжењерство, које је завршила 2012. године одбраном завршног мастер рада са оценом 10.

Школске 2012/2013. године уписује докторске студије на Технолошко-металуршком факултету у Београду, на студијском програму Хемијско инжењерство на Катедри за органску хемију, код ментора проф. Др Гордане Ушћумлић. Упоредо са полагањем испита на докторским студијама, интензивно се бави научно-истраживачким радом. Ангажована је као сарадник у изради завршних и мастер радова великог броја студената на Катедри за органску хемију. 23.06.2016. године изабрана је у звање истраживач-приправник. Од 01. октобра 2016. године, запослена је у Иновационом центру Технолошко-металуршког факултета, у оквиру пројекта: „Проучавање синтезе, структуре и активности органских једињења природног и синтетског порекла“ (број ОI 172013).

Коаутор је једног рада објављеног у водећем међународном часопису (M21), три рада објављена у међународним часописима (M23), седам саопштења са скупова националног значаја штампана у изводу (M64), као и једне патентне пријаве.

Говори енглески језик. Члан је Српског хемијског друштва.



Прилог 1.

## Изјава о ауторству

Потписани-а Анита Лазич

број индекса 4036/2012

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Синтеза, структура и својства потенцијално биолошки активних деривата  
циклоалканспиро-5-хидантоина

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 01.06.2017.

Анита Лазич

Прилог 2.

**Изјава о истоветности штампане и електронске верзије  
докторског рада**

Име и презиме аутора Анита Лазић

Број индекса 4036/2012

Студијски програм Хемијско инжењерство

Наслов рада Синтеза, структура и својства потенцијално биолошки активних  
деривата циклоалканспиро-5-хидантоина

Ментор Проф. др Гордана Ушћумлић

Потписани/а Анита Лазић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 01.06.2017.

Анита Лазић

Прилог 3.

**Изјава о коришћењу**

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом

Синтеза, структура и својства потенцијално биолошки активних деривата циклоалканспиро-5-хидантоина

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 01.06.2017.

Анија Назик

1. Ауторство - Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.