

UNIVERZITET U BEOGRADU

HEMIJSKI FAKULTET

Ivana N. Stojiljković

**TEORIJSKO, SPEKTROSKOPSKO I HROMATOGRAFSKO
PROUČAVANJE STRUKTURE I SVOJSTAVA
para-SUPSTITUISANIH DERIVATA
5-BENZILIDENBARBITURNE KISELINE SA ELEKTRON-
DONORSKIM I ELEKTRON-AKCEPTORSKIM
SUPSTITUENTIMA**

doktorska disertacija

Beograd, 2021

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF CHEMISTRY

Ivana N. Stojiljković

**THEORETICAL, SPECTROSCOPIC, AND
CHROMATOGRAPHIC STUDY OF THE STRUCTURE
AND PROPERTIES OF *para*-SUBSTITUTED
5-BENZYLIDENE BARBITURIC ACID DERIVATIVES
WITH ELECTRON-DONOR AND ELECTRON-ACCEPTOR
SUBSTITUENTS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2021

MENTOR

dr Miloš Milčić, vanredni profesor
Hemijski fakultet Univerziteta u Beogradu

ČLANOVI KOMISIJE

dr Milica Rančić, vanredni profesor
Šumarski fakultet Univerziteta u Beogradu

dr Đendi Vaštag, redovni profesor
Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Novom Sadu

dr Dušan Veljković, docent
Hemijski fakultet Univerziteta u Beogradu

dr Ilija Cvijetić, naučni saradnik, asistent sa doktoratom
Hemijski fakultet Univerziteta u Beogradu

Datum odbrane:

Zahvalnica

Zahvaljujem se mom dragom mentoru dr Milošu Milčiću na pokazanom entuzijazmu i spremnosti da uvek podeli znanje koje je stekao, dragocenim savetima i pomoći prilikom izrade ove doktorske disertacije, stalnom podsticanju refleksivnosti i ukazanom poverenju.

Zahvaljujem se dr Milici Rančić na pomoći prilikom odabira teme, korisnim savetima i sugestijama, kao i što je prihvatila da bude deo komisije za ocenu i odbranu ove doktorske disertacije.

Zahvaljujem se dr Đendi Vaštag koja mi je učinila veliku čast i pristala da bude deo komisije za ocenu i odbranu ove doktorske disertacije i koja u komunikaciji uvek zrači optimizmom, nadom i verom u moje napredovanje.

Zahvaljujem se dragom kolegi i drugu dr Dušanu Veljkoviću što je pristao da bude deo komisije za ocenu i odbranu ove doktorske disertacije kao i podršci koju uvek pruža.

Zahvaljujem se dr Iliji Cvijetić, kolegi i velikom prijatelju, na podršci i pomoći prilikom izrade ove doktorske disertacije, kao i što je prihvatio da bude deo komisije.

Veliko hvala dr Aleksandru Marinkoviću na značajnoj pomoći i podršci prilikom izrade ove doktorske disertacije.

Ovom prilikom želim da se zahvalim dragim kolegama, dr Milanki Điporović-Momčilović, dr Ivani Gavrilović-Grmuši, dr Milici Rančić, dr Jasmini Popović, dr Mladanu Popoviću, Miri Nećak, mr Gordani Petrović i dipl. inž. Ljiljani Đurković sa Katedre hemijsko-mehaničke prerade drveta Šumarskog fakulteta, što mi je svako od njih na svoj jedinstven način pružao podršku. Želim da se zahvalim i svim kolegama sa Odseka za Tehnologije drveta kao i dekanu Šumarskog fakulteta dr Ratku Ristiću na ukazanom poverenju.

Veliku zahvalnost dugujem i dragoj dr Suzani Apostolov na konstantnom hrabrenju, dragocenim savetima, podršci i motivaciji.

Želim da se zahvalim dragim profesorima i kolegama iz Obrazovnog foruma, dr Ivanu Iviću, dr Ani Pešikan, dr Milošu Bajčetiću i dr Slobanki Antić koji su na svestan i nesvestan način doprineli mom rastu i sazrevanju tokom rada na doktorskoj tezi.

Zahvaljujem se mojoj dragoj Ceci Bobić-Vujakliji koja je na poseban način doprinela ovoj doktorskoj disertaciji.

Hvala mojim prijateljima koji su uvek tu kraj mene...

Ovaj rad posvećujem svojoj porodici, posebno mom Nikoli. Hvala vam.

Ivana

Teorijsko, spektroskopsko i hromatografsko proučavanje strukture i svojstava *para*-supstituisanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline sa elektron-donorskim i elektron-akceptorskim supstituentima

SAŽETAK

5-Benziliden barbiturati pokazuju različitu biološku aktivnost koja je znatno uslovljena fizičkim, hemijskim i strukturnim osobinama jedinjenja, kao i zanimljive optičke osobine koje su posledica donor-akceptorskih interakcija u molekulu. Sintetisana je serija *para*-supstituisanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline kao potencijalnih *push-pull* elektronskih sistema sa elektron-donorskim i elektron-akceptorskim supstituentima. Proučavane su donor-akceptorske interakcije, kao i potencijalna elektron-donorska sposobnost barbiturne kiseline u sintetisanim jedinjenjima koja do sada nije potvrđena u literaturi. Elektronske interakcije u jedinjenjima u osnovnom stanju proučavane su LFER analizom NMR podataka, zajedno sa analizom optimizovanih geometrija i izračunatih elektronskih gustina. LSER analizom i TD-DFT proračunima proučavane su ekscitacije i pobuđena stanja. Rezultati "*hole-electron*" analize i izračunatih ICT deskriptora tokom ekscitacije pokazuju da je *p*-N(CH₃)₂ derivat najbolji kandidat za *push-pull* sistem. Utvrđeno je da barbiturna kiselina može biti slab elektron-donor kada je kuplovana sa jakim elektron-akceptorom. Primenom RP TLC metode određeni su hromatografski parametri lipofilnosti sintetisanih jedinjenja u metanolu, *n*-propanolu, acetonu i tetrahidrofuranu. Ispitana je zavisnost između hromatografskih parametara lipofilnosti (R_M^0 i m), softverski dobijenih vrednosti $\log P$ kao standardne mere lipofilnosti, farmakokinetičkih i toksikoloških parametara primenom linearne regresije, klusterske analize i analize glavnih komponenata. Retenciono ponašanje ispitivanih jedinjenja znatno je uslovljeno prirodom supstituenata kao i njihovim elektronskim efektima. Rezultati potvrđuju da se hromatografski parametri, R_M^0 i m mogu koristiti za opisivanje lipofilnosti ispitivanih jedinjenja.

Ključne reči: Derivati barbiturne kiseline, *push-pull* sistemi, LFER analiza, ICT proces, "*hole-electron*" analiza, lipofilnost, RP TLC, $\log P$, multivarijantna analiza.

Naučna oblast: Hemija

Uža naučna oblast: Teorijska hemija

UDK broj:

Theoretical, spectroscopic, and chromatographic study of the structure and properties of *para*-substituted 5-benzylidenebarbituric acid derivatives with electron-donor and electron-acceptor substituents

ABSTRACT

5-Benzylidenebarbiturates show different biological activities that are significantly influenced by the physical, chemical, and structural properties of the compound, as well as interesting optical properties resulting from donor-acceptor interaction in the molecules. A series of *para*-substituted 5-benzylidenebarbituric acid derivatives as potential *push-pull* electronic systems with electron-donor and electron-acceptor substituents was synthesized. The potential electron-donor abilities of barbituric acid, which are still not established in the literature, and donor-acceptor interactions in the synthesized compounds were investigated. The electronic interactions in the ground state were investigated by LFER analysis on ^{13}C NMR data together with the analysis of optimized geometries and calculated electron densities. The electron excitations and the nature of excited state were studied by LSER analysis and TDDFT calculations. The results of the “*hole-electron*” analysis and calculated ICT descriptors during the excitation show that the *p*-N(CH₃)₂ derivative is the best candidate for the *push-pull* system. It has been found that barbituric acid can be a weak electron-donor when coupled with a strong electron-acceptor. The chromatographic lipophilicity parameters of the synthesized compounds were determined by the RP TLC in methanol, *n*-propanol, acetone, and tetrahydrofuran. The relationship between chromatographic lipophilicity parameters (R_M^0 and m), theoretically calculated $\log P$ values as a standard measure of lipophilicity, pharmacokinetic and toxicological parameters was examined using the linear regression, cluster analysis, and principal component analysis. The retention behavior of the investigated compounds is significantly conditioned by the nature of the substituents as well as their electronic effects. The results confirm that the chromatographic parameters (R_M^0 and m) can be used to describe the lipophilicity of the investigated compounds.

Keywords: Barbituric acid derivatives, *push-pull* systems, ICT process, LFER analysis, “*hole-electron*” analysis, RP TLC, $\log P$, lipophilicity, multivariate analysis

Scientific field: Chemistry

Scientific subfield: Theoretical chemistry

UDC number:

SPISAK SKRAĆENICA

ADMET	Apsorpcija, distribucija, metabolizam, izlučivanje i toksičnost (<i>Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion and Toxicity</i>)
BBB	Krvno-moždana barijera (<i>Blood Brain Barrier</i>)
BuOH	1-Butanol
CA	Klasterska analiza (<i>Cluster Analysis</i>)
CDCl₃	Deuterisani hloroform
¹³C NMR	Nuklearna magnetna rezonanca ugljenika-13
CSD	Kembrička banka strukturnih podataka (<i>Cambridge Structural Database</i>)
DEG	Dietilen-glikol
DFT	Teorija funkcionala gustine (<i>Density Functional Theory</i>)
DIPE	Diizopropil-etar
DMSO	Dimetil-sulfoksid
DMSO-<i>d</i>₆	Deuterisani dimetil-sulfoksid
DMA	<i>N,N</i> -Dimetilacetamid
DME	1,2-Dimetoksietan
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamid
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DSP	Dvoparametarska jednačina (<i>Dual Substituent Parameter Equation</i>)
DSSC	Solarne ćelije sa fotoosetljivim pigmentom (<i>Dye-sensitizing Solar Cells</i>)
EG	Etilen-glikol
EC₅₀	Srednja efektivna koncentracija (<i>Median Effective Concentration</i>)
EtOAc	Etil-acetat
EtOH	Etanol
HBA	Akceptori vodonične veze (<i>Hydrogen Bonding Acceptor</i>)
HBD	Donori vodonične veze (<i>Hydrogen Bonding Donors</i>)
HIA	Humana intestinalna apsorpcija (<i>Human Intestinal Absorption</i>)
¹H NMR	Protonska nuklearna magnetna rezonancija
HOMO	Najviša popunjena molekulska orbitala (<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i>)
HPLC	Tečna hromatografija visokih performansi (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
IC	Inhibiciona koncentracija (<i>Inhibition Concentration</i>)
ICT	Intramolekulski prenos naelektrisanja (<i>Intramolecular Charge Transfer</i>)
IFCT	Interfragmentski prenos naelektrisanja (<i>Interfragment Charge Transfer</i>)
IPA	2-Propanol
LD	Letalna doza (<i>Letal Dose</i>)
LFER	Linearne zavisnosti slobodnih energija (<i>Linear Free Energy Relationships</i>)
LOOCV	Tehnika unakrsne provere (<i>Leave-One-Out Cross-Validation</i>)
LSER	Linearna korelacija energije solvatacije (<i>Linear Solvation Energy Relationship Analysis</i>)
LUMO	Najniža nepopunjena molekulska orbitala (<i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i>)
FT-IR	Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom
MeCN	Acetonitril

MeOH	Metanol
MetAP-1	Metionin-aminopeptidaza 1
MP2	Møller-Plesset-ova perturbaciona teorija drugog reda
MSP	Jednoparametarska jednačina (<i>Mono Substituent Parameter Equation</i>)
MV	Molekulska zapremina jedinjenja (<i>Molecular Volume</i>)
NMP	<i>N</i> -Metil-2-pirolidinon
NLO	Nelinearna optika (<i>Nonlinear Optics</i>)
OLED	Organske svetleće diode (<i>Organic Light Emitting Diodes</i>)
PCA	Analiza glavnih komponentata (<i>Principal Component Analysis</i>)
PCM	Implicitni solvatacioni model za simulaciju uticaja rastvarača (<i>Polarizable Continuum Model</i>)
1,2-PDO	1,2-Propandiol
PPB	Vezivanje molekula za proteine plazme (<i>Plasma Protein Binding</i>)
PRESS	Predviđena rezidualna suma kvadrata (<i>Predicted Residual Error Sum Squares</i>)
PSA	Polarna površina (<i>Polar Surface Area</i>)
QSAR	Kvantitativna veza između strukture i aktivnosti jedinjenja (<i>Quantitative Structure-Activity Relationship</i>)
QSPR	Kvantitativna veza između strukture i fizičko-hemijskih karakteristika jedinjenja (<i>Quantitative Structure-Property Relationship</i>)
QSRR	Kvantitativna veza između strukture i retencije jedinjenja (<i>Quantitative Structure-Retention Relationship</i>)
RP TLC	Reverzno-fazna hromatografija na tankom sloju (<i>Thin Layer Chromatography</i>)
SHG	Generisanje drugog harmonika (<i>Second-order harmonic generation</i>)
SCS	Supstituentom indukovana hemijska pomeranja (<i>Substituent Chemical Shift</i>)
TD-DFT	Vremenski zavisna teorija funkcionala gustine (<i>Time-Dependent Density Functional Theory</i>)
TCM	Trihlorometan
THF	Tetrahidrofuran
TMS	Tetrametilsilan
TFE	2,2,2-Trifluoroetanol
UV-Vis	Ultravioletna/vidljiva spektroskopija

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPŠTI DEO	3
2.1. Barbiturna kiselina.....	3
2.1.1. Istorija otkrića barbiturne kiseline.....	3
2.1.2. Hemijska svojstva barbiturne kiseline i njenih derivata	3
2.1.3. Keto-enolna tautomerija barbiturne kiseline	3
2.1.4. Sintetička modifikacija barbiturne kiseline	6
2.2. Biološka aktivnost derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline	7
2.2.1. Antibakterijska aktivnost	7
2.2.2. Antioksidativna aktivnost.....	8
2.2.3. Inhibitori ureaze.....	9
2.2.4. Inhibitori tirozinaze.....	10
2.3. Osnovna svojstva <i>push-pull</i> sistema.....	11
2.3.1. <i>Push-pull</i> hromofore	11
2.3.2. Optičke osobine <i>push-pull</i> sistema.....	12
2.4. <i>Push-pull</i> osobine derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline.....	16
2.4.1. Boje i pigmenti.....	16
2.4.2. Hemosenzori i jonski detektori	17
2.4.3. Nelinearni optički materijali.....	20
2.5. Lipofilnost.....	21
2.5.1. Određivanje lipofilnosti indirektnim metodama	22
2.5.2. <i>In silico</i> određivanje lipofilnosti	23
2.5.3. Kvantitativni odnos strukture, retencije i aktivnosti molekula.....	23
2.6. Metodologija istraživanja	24
2.6.1. Uvod u elektronsku spektroskopiju.....	24
2.6.2. Uticaj rastvarača na položaj apsorpcionih maksimuma	24
2.6.2.1. Kamlet-Taft-ova empirijska skala polarnosti/LSER analiza	25
2.6.2.2. LFER analiza.....	26
2.6.3. Spektrofotometrijsko određivanje pK_a vrednosti	28
2.6.4. RP TLC hromatografija.....	28
2.6.5. Kvantno-hemijske metode	29
2.6.5.1. DFT metoda.....	29

3. EKSPERIMENTALNI DEO	31
3.1. Materijali.....	31
3.2. Opšti postupak sinteze derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline	32
3.3. Karakterizacija sintetisanih jedinjenja	33
3.4. Eksperimentalno određivanje p <i>K</i> _a vrednosti derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline.....	36
3.5. Korelaciona analiza	36
3.6. Reverzno-fazna tankoslojna hromatografija	36
3.7. Kvantno-hemijski proračuni.....	37
4. NAŠI RADOVI	39
4.1. Izomerizacija derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline	39
4.1.1. Eksperimentalno proučavanje ¹ H i ¹³ C NMR spektara	39
4.1.2. Spektrofotometrijsko određivanje p <i>K</i> _a vrednosti derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline	39
4.1.3. Kvantno-hemijsko proučavanje.....	43
4.2. Geometrijska optimizacija derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline	45
4.2.1. Korelacije diedralnih uglova sa Hammett-ovim i Swain-Lupton-ovim konstantama supstituenata	47
4.3. LFER analiza eksperimentalno dobijenih NMR podataka i Mayer-ova analiza prirode hemijske veze	48
4.3.1. Razlika ¹³ C NMR hemijskih pomeranja, Δδ, kao mera <i>push-pull</i> karaktera molekula	53
4.4. Apsorpcioni spektri derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline u rastvaračima različite polarnosti	54
4.5. Uticaj rastvarača na UV-Vis apsorpcione spektre ispitivanih jedinjenja - LSER analiza	57
4.6. Uticaj supstituenata na UV-Vis apsorpcione spektre ispitivanih jedinjenja - LFER analiza.....	60
4.7. ICT proces i procena <i>push-pull</i> karaktera ispitivanih hromofora	62
4.8. Hromatografsko proučavanje derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline	75
4.8.1. Određivanje parametara lipofilnosti ispitivanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline...	75
4.8.2. Određivanje <i>in silico</i> odabranih farmakokinetičkih prediktora i toksikoloških parametara	79
4.8.3. Ispitivanje međusobne zavisnosti proučavanih deskriptora biološke aktivnosti ispitivanih jedinjenja primenom multivarijantnih metoda.....	82
5. ZAKLJUČAK	90
6. LITERATURA	92
7. PRILOG	102

1. UVOD

Barbiturati - derivati barbiturne kiseline, predstavljaju prvu grupu psihodepresora koji su otkriveni početkom 20. veka¹ i široko korišćeni protiv nesаницe i anksioznosti. Do danas je sintetisano preko 2500 derivata barbiturne kiseline i oko njih 50 je u kliničkoj upotrebi. Zbog uskog terapijskog opsega i velike zloupotrebe mnogi barbiturati se često zamenjuju benzodiazepinima kao terapijskim paralelama sa mnogo manje neželjenih efekata.² Barbiturati su uglavnom korišćeni kao anestetici, antikonvulzanti^{3,4} i antiepileptici⁵, ali brojna istraživanja su pokazala da poseduju i antiinflamatorno⁶, antioksidativno⁷, antimikrobno⁸ i antitumorsko dejstvo.⁹ Danas je u upotrebi oko deset barbiturata u humanoj i veterinarskoj medicini.

Barbiturna kiselina i njeni sintetički derivati koji su dobijeni uvođenjem supstituenata u položaj C5 i N1/N3 barbiturne kiseline zbog svojih jedinstvenih strukturnih osobina i široke farmaceutske i tehnološke primene danas privlače veliku pažnju naučne i stručne javnosti u oblasti medicinske hemije, nauke o nanomaterijalima i nanotehnologije. Naime, veliki broj studija je posvećen proučavanju 5-benziliden barbiturata koji pokazuju biološku aktivnost poput antibakterijske i antioksidativne, koji mogu biti potencijalni inhibitori enzima tirozinaze¹⁰⁻¹², kao i selektivni oksidansi¹³ za sintezu nesimetričnih disulfida.^{14,15} Takođe, 5-etilidenpirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-trionski fragment predstavlja važnu strukturnu jedinicu mnogih derivata barbiturne kiseline koji imaju široku primenu u dizajnu boja¹⁶ i pigmentata¹⁷ sa multifunkcionalnim osobinama i nelinearnoj optici kao nelinearni optički materijali.^{18,19}

S obzirom da biološka aktivnost zavisi od same strukture jedinjenja, odnosno 2,4,6-pirimidintrionskog prstena i prirode supstituenata na C5 atomu potrebno je uspostaviti kvalitativnu i kvantitativnu zavisnost između strukture, svojstava i aktivnosti molekula.²⁰ QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationship*) model omogućuje pronalaženje kvantitativne relacije između strukture i aktivnosti određenog molekula odabirom odgovarajućih molekulskih deskriptora.²¹ Lipofilnost kao jedan od bitnih fizičko-hemijskih deskriptora ima najveći uticaj na ponašanje molekula u biološkom okruženju²², odnosno na njegovu apsorpciju, distribuciju, metabolizam, izlučivanje i toksičnost tzv. ADMET osobine (*Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion and Toxicity*).²³ Sa druge strane, QSRR (*Quantitative Structure-Retention Relationship*) model omogućuje pronalaženje kvantitativne zavisnosti između strukture i hromatografskog (retencionog) ponašanja molekula.²⁴⁻²⁹ Na osnovu hromatografskog ponašanja derivata barbiturne kiseline u različitim hromatografskim sistemima može se procentiti njihova lipofilnost.^{30,31}

Push-pull elektronski sistemi, opšte formule D- π -A, privukli su veliku pažnju naučnika u oblasti nauke o nanomaterijalima kao organski materijali sa potencijalnim elektronskim i optičkim svojstvima koji se mogu primeniti u nelinearnoj optici (*Nonlinear Optics*, NLO)³²⁻³⁵ zatim kao solarne ćelije sa fotoosetljivim pigmentom (*Dye-sensitizing Solar Cells*, DSSC)^{36,37}, organske svetleće diode (*Organic Light Emitting Diodes*, OLED)³⁸, kolorimetrijski pH senzori i jonski detektori.^{39,40} Tri ključna elementa ovih organskih π -sistema koji pokazuju zanimljive fizičke i hemijske osobine su elektron-donorski supstituent (D - *push*), π -konjugovani most (linker) i elektron-akceptorski supstituent (A - *pull*). Potencijalne optičke osobine derivata barbiturne kiseline i benzilidenskog fragmenta kao važne strukturne jedinice NLO hromofora prvi put su opisane u kratkom članku Ikeda-e i saradnika.⁴¹ Teorijski, pseudoaromatični 2,4,6-pirimidintrionski prsten kao strukturni motiv u derivatima barbiturne kiseline može se ponašati kao elektron-donor ili elektron-akceptor u potencijalnim *push-pull* sistemima. Elektron-akceptorske osobine barbiturne kiseline su detaljno opisane u literaturi^{16,42-45}, međutim, barbiturna kiselina kao elektron-donor u molekulima *push-pull* tipa još uvek nije

dokazana^{40,46-49}. Odabirom donorskih i akceptorskih grupa i odgovarajućeg π -konjugovanog mosta mogu se fino podešavati razlike u energiji između graničnih molekularskih orbitala (HOMO - *Highest Occupied Molecular Orbital*, popunjena molekulska orbitala najviše energije i LUMO - *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*, nepopunjena molekulska orbitala najniže energije) i modelovati odgovarajuće interakcije prenosa naelektrisanja kako bi se dobili molekuli sa odgovarajućim optoelektronskim osobinama.⁵⁰ Kvantno-hemijskim proračunima visokog nivoa mogu se predvideti razlike u energijama HOMO i LUMO graničnih orbitala osnovnog stanja molekula kao i ICT (*Intramolecular Charge Transfer*, intramolekulski prenos naelektrisanja) karakter pobuđenih stanja primenom vremenski zavisne teorije funkcionala gustine (*Time-Dependent Density Functional Theory*, TD-DFT). Na osnovu TD-DFT pristupa može se proceniti mogućnost intramolekulskog prenosa naelektrisanja u različitim organskim π -sistemima, kao i elektronske osobine *push-pull* sistema.⁵¹⁻⁵⁴

U okviru ove doktorske disertacije urađena je teorijska, spektroskopska i hromatografska analiza *para*-supstituisanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline. Ispitivana serija obuhvata dvanaest sintetisanih jedinjenja, jedanaest derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline sa različitim elektron-donorskim i elektron-akceptorskim supstituentima u *para*-položaju benzenovog prstena i jedan nesupstituisani derivat, 5-benzilidenbarbiturnu kiselinu.

U cilju eksperimentalnog i teorijskog proučavanja prirode jedinjenja i intermolekulskih interakcija, ispitivana jedinjenja su na osnovu Hammett-ovih parametara, σ_{p+} kao dobrim pokazateljima elektron-donorske i elektron-akceptorske sposobnosti supstituenata odnosno jačine rezonancionog i induktivnog efekta podeljena u četiri grupe. **Grupa I** obuhvata *p*-N(CH₃)₂, *p*-OH, *p*-OCH₃ i *p*-OCH₂CH₃ derivate, **grupa II** obuhvata *p*-CH₃ i *p*-CH(CH₃)₂ derivate, *p*-F, *p*-Cl i *p*-Br derivati čine halogenu **grupu III** i **grupa IV** sadrži *p*-CN i *p*-NO₂ derivate. Priroda osnovnog i pobuđenog stanja derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline okarakterisana je i proučavana pomoću spektrohemijskih i solvatohromnih metoda uključujući LSER i LFER analizu i kvantno-hemijskih proračuna koji uključuju optimizaciju geometrije molekula, TD-DFT proračune pobuđenih stanja i razlike u raspodeli elektronske gustine između osnovnog i pobuđenog stanja. Pored toga, *push-pull* karakter ispitivanih jedinjenja kvantifikovan je na osnovu razlike vrednosti hemijskih pomeranja pojedinih atoma ugljenika u ¹³C NMR spektrima, razlike u energijama HOMO i LUMO orbitala, Mayer-ovom analizom prirode hemijske veze, "*hole-electron*" analizom procesa pobuđivanja elektrona i analizom intramolekulskog prenosa naelektrisanja (ICT) prilikom pobuđivanja.

U nastavku istraživanja ispitano je hromatografsko (retenciono) ponašanje i lipofilnost *para*-supstituisanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline primenom reverzno-fazne tankoslojne hromatografije (*Reversed Phase Thin Layer Chromatography*, RP TLC) i odgovarajućih softverskih paketa. Kao stacionarna faza u reverzno-faznoj hromatografiji na tankom sloju korišćeni su komercijalno dostupni nosači RP-18W/UV254 (oktadecil-modifikovani silika gel, RP-18), dok su kao mobilna faza korišćene dvokomponentne smeše voda/metanol, voda/*n*-propanol, voda/acetone i voda/tetrahidrofuran. Ispitana je zavisnost između hromatografskih i izračunatih parametara lipofilnosti i određenih farmakokinetičkih prediktora i toksikoloških parametara ispitivanih jedinjenja primenom linearne regresije i multivarijantnih metoda, klusterske analize (*Cluster Analysis*, CA) i analize glavnih komponenata (*Principal Component Analysis*, PCA). Takođe, ispitan je uticaj prirode supstituenata u *para*-položaju benzenovog prstena i primenjenih organskih modifikatora na hromatografsko ponašanje analiziranih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline.

2. OPŠTI DEO

2.1. Barbiturna kiselina

2.1.1. Istorija otkrića barbiturne kiseline

1864. godine poznati nemački hemičar Adolf von Baeyer sintetisao je malonil-ureu poznatiju kao barbiturnu kiselinu kondenzacijom uree i dietil-malonata.⁵⁵ U to vreme hemičarima nisu bile dostupne instrumentalne tehnike kao savremenim naučnicima, već su rutinski, čulom ukusa analizirali jedinjenja za koja su smatrali da poseduju biološku aktivnost. Interesantno, nakon primenjene rutinske analize utvrđeno je da sama barbiturna kiselina ne poseduje terapeutsko dejstvo.⁵⁶ Međutim, otkriće barbiturne kiseline podstaklo je istraživanje i sintetisanje derivata barbiturne kiseline tzv. barbiturata sa širokim terapeutskim dejstvom što je ostavilo veliki trag u medicinskim i društvenim krugovima.⁵⁶ 5,5-dietil barbiturna kiselina, supstanca sa generičkim imenom *Barbiton*, prvi je sintetisan derivat barbiturne kiseline koji se koristio kao sredstvo za uspavljivanje pasa.⁵⁶

Ono što je zanimljivo jeste da Baeyer nikada nije želeo da ostavi pisani dokaz kako je barbiturnoj kiselini dao ime. Na osnovu onoga što je ostalo zabeleženo od Baeyer-ovog studenta i ličnog asistenta, Richard-a Willstitter-a kao i mnogih drugih kolega postoji nekoliko anegdota.⁵⁷ Jedna od njih je da je za sintezu koristio urin minhenske konobarice koja se zvala Barbara⁵⁸, dok druga govori da je otkriće proslavljao sa svojim kolegom hemičarem u taverni u kojoj se nalazio i gradski artiljerijski garnizon koji je proslavljao praznik Svete Barbare, zaštitnice vojnika.⁵⁹ Još jedna slična verzija priče govori o tome da je često ručao sa gomilom mladih artiljerijskih oficira kojima se pohvalio da je otkrio neobično jedinjenje i oni su zadivljeni time insistirali da ga imenuje po njihovoj zaštitnici Svetoj Barbari.⁶⁰ Sa druge strane, s obzirom da su anegdote vrlo sumnjive istinitosti Partington u svojoj knjizi zaključuje da je "poreklo imena nepoznato".⁶¹

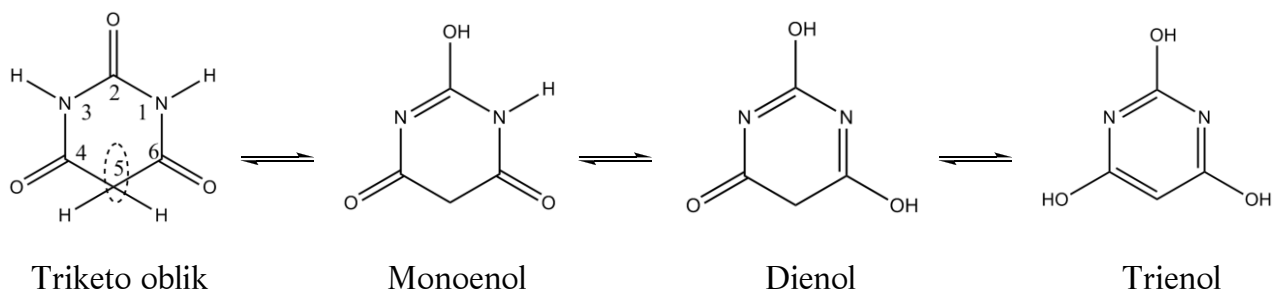
2.1.2. Hemijska svojstva barbiturne kiseline i njenih derivata

Barbiturati predstavljaju supstituisane derivate pirimidina u kojima je osnovna strukturna jedinica 2,4,6-pirimidintriionski prsten odnosno barbiturna kiselina. Sama barbiturna kiselina je prilično jaka kiselina ($pK_a=4,01$ u vodi) koja sadrži N-H vodonikove atome kao i α -ugljenikov atom koji ima reaktivne atome vodonika i shodno tome ona ne može da se koristi u ljudskom telu jer ima ograničen prolaz kroz krvno-moždanu barijeru. Sintezom derivata barbiturne kiseline uvođenjem alkil i aromatičnih supstituenata u položaj C5 supstitucijom dva vodonikova atoma i/ili u položaj N1/N3 barbiturne kiseline, kiselost celog molekula se smanjuje. Barbiturna kiselina se ne rastvara u potpunosti u polarnim rastvaračima poput vode i metanola ali i dalje ima veoma izražena kiselna svojstva. Kiselost barbiturata u najvećoj meri zavisi od prirode supstituenata kao i njihovog rezonancionog i induktivnog efekta na C5 atomu barbiturne kiseline, tako da su 5,5-disupstituisani derivati barbiturne kiseline generalno slabe kiseline ($pK_a \geq 8$).⁶²

2.1.3. Keto-enolna tautomerija barbiturne kiseline

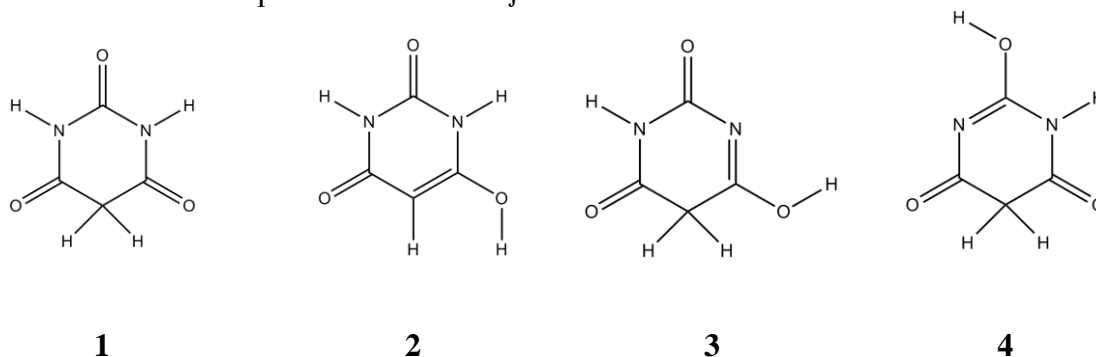
Tautomeri, u opštem smislu, predstavljaju izomere organskih jedinjenja koji se razlikuju po položaju protona i elektrona. Keto-enolna tautomerija koja je karakteristična za barbiturnu

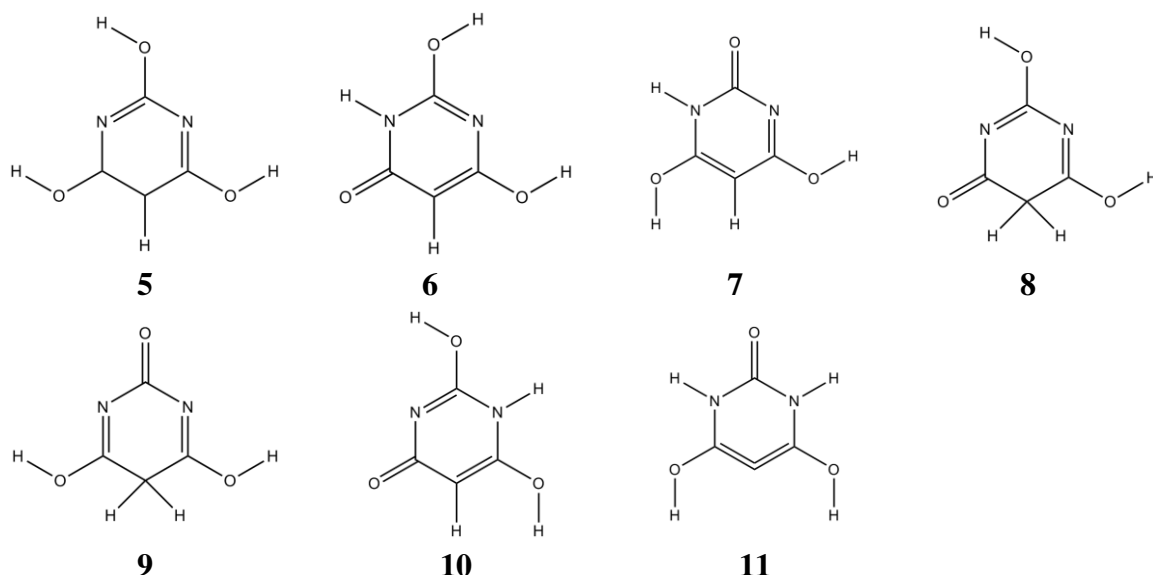
kiselinu i njene derivate vrlo je važna i interesantna kako sa naučnog tako i sa komercijalnog stanovišta, jer tautomeri mogu imati različito spektralno ponašanje, optička i fizička svojstva kao i biološku aktivnost. Barbiturna kiselina sadrži mobilne atome vodonika i može postojati u nekoliko tautomernih oblika (**Slika 1**). U čvrstom stanju barbiturna kiselina se nalazi u triketo obliku. NMR studije keto-enolne ravnoteže takođe ukazuju da se u anhidrovanom dimetil-sulfoksidu barbiturna kiselina nalazi u triketo obliku. Enolni oblik barbiturne kiseline detektovan je u čistim, bezvodnim kiselinama, ali je triketo oblik i dalje dominantan. Relativna zastupljenost triketo, mono-, di- ili trienol tautomera derivata barbiturne kiseline zavisi od elektron-donorskih i elektron-akceptorskih osobina supstituenata u položaj C5 barbiturne kiseline kao i prirode samih rastvarača.⁶⁵



Slika 1. Najstabilniji tautomeri barbiturne kiseline.

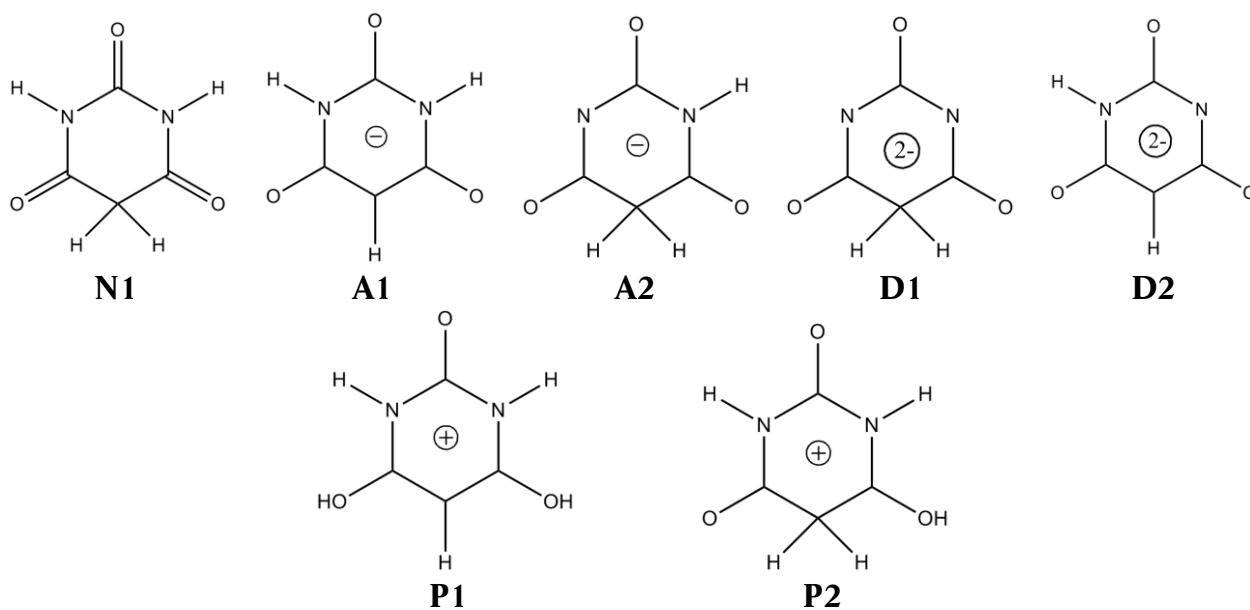
Ab initio i DFT proračuni tautomernih oblika barbiturne kiseline (**Slika 2**) u gasnoj fazi i polarnim rastvaračima takođe potvrđuju da je triketo oblik najstabilniji⁶⁴. Različiti nivoi teorije u gasnoj fazi (HF/6-31G*, MP2/6-31G*, B3LYP/6-31G*, B3PW91/6-31G*) predviđaju isti redosled stabilnosti tautomera barbiturne kiseline počev od najstabilnijeg triketo oblika (**1**) do najnestabilnijeg 2-keto-4,6-dienolnog oblika (**11**). Kvantno-hemijski proračuni pokazuju da su vrednosti relativnih energija svih tautomernih oblika u polarnim rastvaračima, izuzev trienolnog oblika, manje u odnosu na vrednosti relativnih energija u gasnoj fazi što ukazuje da mono- ili dienolni oblici mogu biti stabilizovani u polarnim rastvaračima. Redosled stabilnosti tautomera u polarnim rastvaračima je isti kao u gasnoj fazi osim za monoenolne tautomerne oblike (1 > 2 > 3 > 4 > 8 > 5 > 11 > 9 > 10 > 6 > 7). Mono-i dienolni tautomerni oblici u gasnoj fazi imaju veći dipolni moment u poređenju sa triketo i trienolnim oblikom na svim nivoima teorije i mogu biti stabilizovani u polarnom okruženju.





Slika 2. Tautomeri barbiturzne kiseline ispitivani u radu Senthilkumar-a i saradnika.⁶⁴

Takođe, konformacione studije neutralnog oblika barbiturzne kiseline na MP2/6-31G** nivou teorije u gasnoj fazi i vodenom rastvoru pokazuju da je triketo oblik (**N1**, **Slika 3**) najstabilniji, s tim što u vodenom rastvoru pored triketo oblika postoji i mali procenat monoenolnog oblika, što je potvrđeno i na osnovu eksperimentalnih UV-Vis spektara. U slučaju monoanjonskog oblika barbiturzne kiseline i u gasnoj fazi i u vodenom rastvoru najstabilniji tautomerni oblik **A1** (**Slika 3**) je dobijen eliminacijom protona u položaju C5 barbiturzne kiseline. Pored tautomernog oblika **A1** u nešto manjem procentu sledeći po stabilnosti asimetričan anjon **A2** prisutan je u gasnoj fazi i u rastvoru (**Slika 3**). Dianjonski oblik **D1** je najstabilniji u gasnoj fazi, dok su u rastvoru u ravnoteži dianjonski oblici **D1** i **D2**. **P1** je najstabilniji protonovani izomer u gasnoj fazi, dok se u vodenom rastvoru nalazi u ravnoteži sa keto oblikom **P2** protonovanim na jednoj karbonilnoj grupi (**Slika 3**).⁶⁵

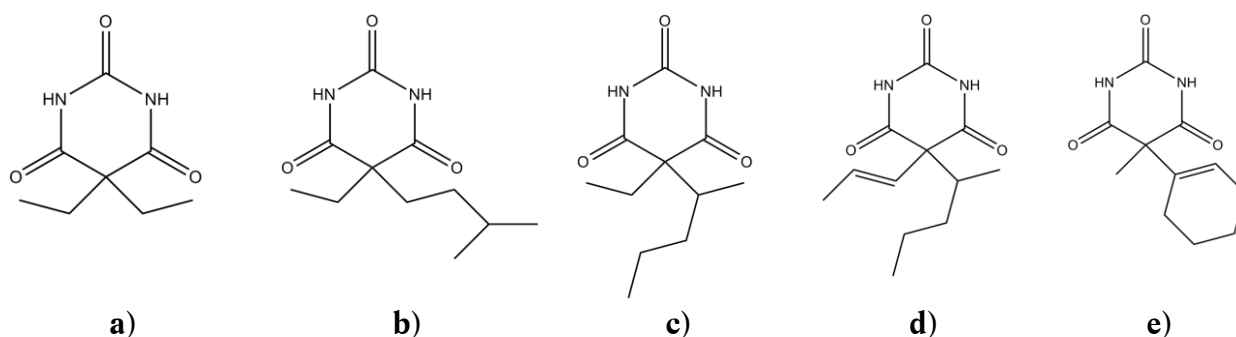


Slika 3. Najstabilniji tautomeri neutralnog, mono- i dianjonskog i protonovanog oblika barbiturzne kiseline.⁶⁵

2.1.4. Sintetička modifikacija barbiturne kiseline

Prvi sintetisani derivat barbiturne kiseline sa izrazitim hipnotičkim dejstvom - Barbiton (Barbital ili Veronal, 1903. godine) dobijen je supstitucijom vodonikovih atoma u C5 položaju barbiturne kiseline etil grupama (**Slika 4a**).⁵⁶ Međutim, još početkom 20. veka uočeno je da Barbiton polako ispoljava svoje hipnotičko dejstvo i da postoji veliki problem u njegovoj metaboličkoj razgradnji što se kod pacijenata ispoljavalo u vidu komatoznog stanja. Zbog toga, sintetisani su novi derivati barbiturne kiseline sa modifikovanim supstituentima u položaju C5 što je rezultiralo poznatom klasom lekova - psihodepresora sa izraženim terapijskim dejstvom, kao što su Aminobarbital, Fenobarbital, Sekobarbital i Heksobarbital (**Slika 4b-e**).⁵⁶

Strukturne modifikacije barbiturne kiseline u položaju C5 dovele su do povećane lipofilnosti dobijenih jedinjenja odnosno omogućile lakši prolaz molekula kroz gastrointestinalnu i krvno-moždanu barijeru kako bi ispoljili anestetičko, anksiolitičko ili sedativno dejstvo.



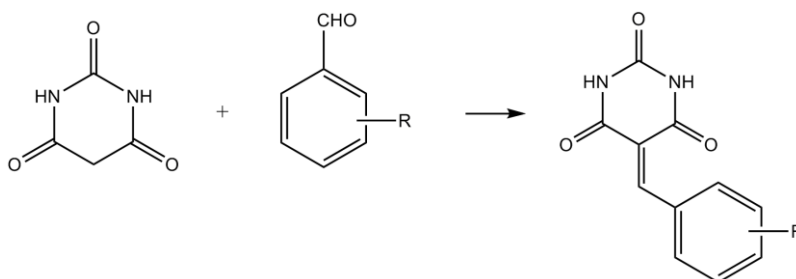
Slika 4. Strukture Veronala (**a**), Aminobarbitala (**b**), Fenobarbitala (**c**), Sekobarbitala (**d**) i Heksobarbitala (**e**).

Derivati barbiturne kiseline sadrže 2,4,6-pirimidintrionski prsten kao hidrofilni deo molekula i lipofilne supstituente u C5 položaju barbiturne kiseline, pri čemu ukupna lipofilnost molekula zavisi od prirode supstituenata.

Barbiturna kiselina sa "aktivnom" metilenskom grupom u položaju C5 lako stupa u reakcije kondenzacije sa aldehidima i ketonima koji ne sadrže α -H-atom koje se u literaturi često navode kao Knoevenagel-ove reakcije kondenzacije po nemačkom hemičaru Emil-u Knoevenagel-u.^{66,67} Reakcije barbiturne kiseline sa karbonilnim jedinjenjima u kojima su na uobičajen način iz uree i derivata malonske kiseline isključivo dobijali mono-C5 ili disupstituisane-C5,5' derivate u visokom prinosu proučavene su još 1864. godine.⁶⁸

Od tada do danas, objavljen je veliki broj naučnih radova o modifikacijama Knoevenagel-ove reakcije za dobijanje benziliden barbiturata (**Slika 5**). Modifikovana reakcija aldolne kondenzacije, odnosno Knoevenagel-ova reakcija kondenzacije aktivnog metilenskog jedinjenja sa aromatičnim aldehidima koja nije katalizovana bazama ili kiselinama predstavlja efikasan način sinteze benziliden barbiturata.⁶⁹ Zatim, opisana je reakcija kondenzacije po Knoevenagel-u pod dejstvom infracrvenog zračenja bez prisustva rastvarača pri čemu je reakciono vreme kraće u odnosu na sinteze benziliden barbiturata katalizovane kiselinama i bazama.⁷⁰ Velika pažnja je usmerena i na sinteze benziliden barbiturata po principima "zelene hemije" koje se izvode bez rastvarača (tzv. „*solvent-free*“ sinteze) u prisustvu natrijum-acetata⁷¹ ili nanočestičnog bakar(II)-oksida⁷² kao katalizatora. Sa druge strane, u Knoevenagel-ovoj

reakciji sinteze benziliden barbiturata koristi se voda kao rastvarač i aminokiselina L-tirozin kao efikasan i ekološki prihvatljiv katalizator.⁷³ Još jedan od efikasnih i jednostavnih načina sinteze benziliden barbiturata je reakcijom aromatičnog aldehida i barbiturne kiseline u onoj zapremeni alkohola (metanol ili etanol) koja je potrebna da oba reaktanta budu rastvorena, bez prisustva baznih i kiselih katalizatora ujedno isključujući autokatalizu same barbiturne kiseline.⁷⁴ Efikasnost ovog načina sinteze se ogleda u visokom prinosu kondenzacionih proizvoda čiji procenat zavisi od elektron-donorske i elektron-akceptorske prirode aldehida. Viši prinos derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline se dobija kada se koriste benzaldehidi sa proširenom konjugacijom odnosno elektron-donorskim supstituentima.



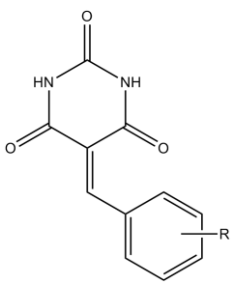
Slika 5. Sinteza derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline reakcijom Knoevenagel-ove kondenzacije.

2.2. Biološka aktivnost derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline

2.2.1. Antibakterijska aktivnost

Haldar i saradnici¹¹ su sintetisali i ispitivali *meta*- i *para*-supstituisane derivate 5-benzilidenbarbiturne, tiobarbiturne i *N,N*-disupstituisane barbiturne kiseline kao inhibitore humane i bakterijske (*Escherichia Coli*) metionin-aminopeptidaze 1 (MetAP-1). Metionin-aminopeptidaza je enzim koji je vezan za ćelijsku membranu prokariota i eukariota i ima ulogu u sintezi proteina u ćeliji. Tačnije, ovaj enzim katalizuje reakciju oslobađanja N-terminalne aminokiseline metionina kod eukariotskih ćelija i formilmetionina kod prokariotskih ćelija i na taj način započinje sinteza proteina. Dobijeni rezultati eksperimenata inhibicije ukazuju da u zavisnosti od prirode supstituenta na benzenovom prstenu derivati 5-benzilidenbarbiturne kiseline pokazuju dobru antibakterijsku aktivnost inhibiranjem *Escherichia Coli* MetAP-1 i antikancer aktivnost inhibiranjem humane metionin-aminopeptidaze 1 (konstanta inhibicije, $K_i < 100 \mu\text{M}$, **Tabela 1**). Derivati sa tiobarbiturnom i *N,N*-dimetil supstituisanom barbiturnom kiselinom ne pokazuju inhibitorsku aktivnost što potvrđuju njihove visoke K_i vrednosti ($>100 \mu\text{M}$), osim *p*-fluoro supstituisanog derivata 5-benzilidentioarbiturne kiseline koji ispoljava inhibitorski efekat u slučaju humane MetAP-1 ($K_i = 6 \pm 0,6 \mu\text{M}$).

Tabela 1. Vrednosti konstanti inhibicije, K_i za ispitivane derivate 5-benzilidenbarbiturne kiseline.¹¹

	Jed.	R	Prinos (%)	K _i (μM), MetAP-1	
				<i>E. Coli</i>	<i>Humana</i>
	1	H	85	517 ± 63	162 ± 13
	2	<i>p</i> -NO ₂	86	105 ± 18	8 ± 1
	3	<i>m</i> -NO ₂	61	29 ± 2	2 ± 0,3
	4	<i>p</i> -COOH	79	335 ± 47	5 ± 1
	5	<i>p</i> -OH	86	4 ± 1	10 ± 2
	6	<i>p</i> -F	89	89 ± 12	2 ± 0,2
	7	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂	96	13 ± 1	10 ± 2
	8	<i>p</i> -OCH ₃	94	25 ± 2	2 ± 0,4

Luzhnova i saradnici⁷⁵ su proučavali antibakterijsku aktivnost i dnevnu akutnu toksičnost 5-benzilidenbarbiturne kiseline i njenih derivata sa različitim elektron-donorskim (OH, N(CH₃)₂ i OCH₃) i elektron-akceptorskim supstituentima (Cl i NO₂) u *para*- položaju benzenovog prstena. Antibakterijska aktivnost ispitivana je na Gram pozitivnu bakteriju *Mycobacterium lufu*, a kao referentni lek korišćen je Dapson (Novartis, Švajcarska) koji se inače koristi u lečenju infekcija kože i sprečavanju upale pluća koje su izazvane Gram-pozitivnim mikobakterijama. Dnevna akutna toksičnost je izražena preko parametra LD₅₀ (*Lethal Dose*) kao doza toksičnog jedinjenja koja ubija 50% testiranih organizama. Rezultati ukazuju da sva ispitivana jedinjenja pokazuju nisku toksičnost. Nesupstituisano jedinjenje i *p*-hlor derivat 5-benzilidenbarbiturne kiseline ispoljavaju najveću aktivnost prema *Mycobacterium lufu*. Takođe, potvrđeno je da pokazuju aktivnost koja je slična dokazanoj antimikrobnoj aktivnosti referentnog Dapsona.

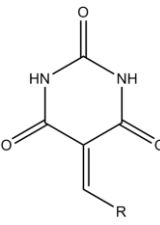
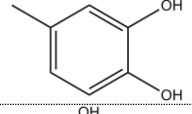
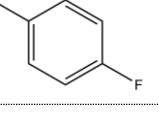
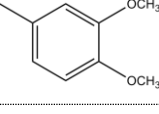
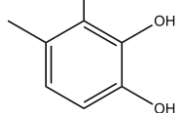
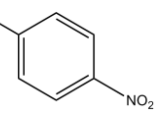
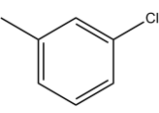
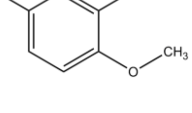
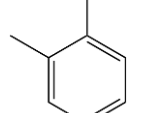
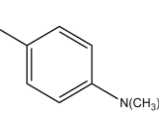
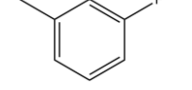
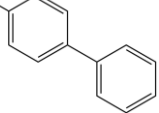
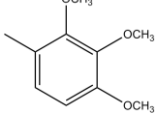
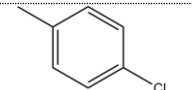
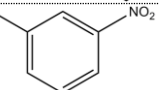
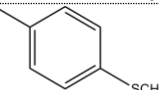
Sokmen i saradnici⁷⁶ su ispitivali antibakterijsku aktivnost *orto*- i *para*-hidroksi derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline prema 13 sojeva Gram pozitivnih (G+) i Gram negativnih (G-) bakterija primenom agar-difuzione tehnike gde je kao hranljiva podloga korišćen polisaharid agar. *Orto*-hidroksi derivat ima izraženu antibakterijsku aktivnost prema ispitanim G+ bakterijama (*E. faecalis* ATCC 29212, *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* ATCC6633, *L. monocytogenes* ATCC 7644 i *E. faecalis* ATCC 51299) i G-bakterijama (*E. cloaceae* ATCC 13047, *S. typhimurium* ATCC 14028, *P. vulgaris* ATCC 13315, *Y. pseudotuberculosis* ATCC 911, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* ATCC 13883 i *E. coli* ATCC 35218). Rezultati pokazuju da se njegova antibakterijska aktivnost prema istim sojevima bakterija može uporediti sa antibiotikom Ampicilinom. Takođe, dobijeni rezultati pokazuju da ispitivani *orto*- i *para*-hidroksi derivati 5-benzilidenbarbiturne kiseline ispoljavaju efikasnu antioksidativnu i antiureaznu aktivnost.

2.2.2 Antioksidativna aktivnost

Khan i saradnici¹² su ispitivali antioksidativnu aktivnost *orto*-, *meta*- i *para*-supstituisanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline primenom DPPH metode koja se zasniva na reakcijama u kojima dolazi do razmene vodonikovog atoma ili elektrona između ispitivanog jedinjenja kao potencijalnog antioksidanta i DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

radikala. Antioksidativna aktivnost ispitivanih jedinjenja izražena je preko IC_{50} (*Inhibition Concentration*) vrednosti kao koncentracija jedinjenja koja inhibira 50% početne količine DPPH radikala u odnosu na standard *t*-butil-4-hidroksianizol ($IC_{50} = 44,7 \mu M$). Rezultati pokazuju da 3,4-dihidroksi, 2,3,4-trihidroksi, 2-hidroksi-4-metoksi i 3-fluoro derivati 5-benzilidenbarbiturne kiseline imaju značajnu antioksidativnu aktivnost. 3,4-dihidroksi derivat 5-benzilidenbarbiturne kiseline ima najizraženiji antioksidativni potencijal i u poređenju sa standardom *t*-butil-4-hidroksianizolom ima sedam puta manju IC_{50} vrednost (**Tabela 2**).

Tabela 2. DPPH IC_{50} vrednosti za ispitivane derivate 5-benzilidenbarbiturne kiseline.¹²

	-R	IC_{50}	-R	IC_{50}	-R	IC_{50}
		6,20		186,40		347,00
		50,20		198,00		406,70
		69,97		291,10		25%
		92,90		305,30		47%
		135,90		318,00		neaktivan

2.2.3. Inhibitori ureaze

Khan i saradnici⁷⁷ su nakon ispitivanja *orto*-, *meta*- i *para*-supstituisanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline (**Tabela 2**) kao nove klase antioksidanata nastavili istraživanje ovih jedinjenja kao potencijalnih inhibitora enzima ureaze. Ureaza, odnosno urea amidohidrolaza katalizuje reakciju hidrolize uree do ugljen-dioksida i amonijaka. Ureaza pripada enzimima koji imaju ključnu ulogu u kruženju azota u prirodi i može se naći u bakterijama, gljivama i biljkama. Ona može biti indikator patogena u organizmu s obzirom da je proizvode mnogi patogeni organizmi gastrointestinalnog i urinarnog trakta. Dobijeni rezultati pokazuju da u poređenju sa tioureom kao standardom ($IC_{50} = 21,1 \pm 0,3 \mu M$), *p*-fluoro supstituisana 5-benzilidenbarbiturna kiselina ima najveću sposobnost da inhibira enzimsku aktivnost ureaze ($IC_{50} = 13,0 \pm 1,2 \mu M$), a zatim sledi *p*-dimetilamino derivat ($IC_{50} = 17,6 \pm 1,3 \mu M$). Kao potencijalni inhibitori ureaze mogu biti i *o*-F, *m*-F i *p*-Cl derivati ($IC_{50} = 23,5 \pm 1,0 \mu M$, $IC_{50} = 19,1 \pm 1,6 \mu M$ i $IC_{50} = 25,9 \pm 0,9 \mu M$, dok ostala ispitivana jedinjenja ne pokazuju aktivnost, osim *m*-Cl derivata koji je pokazao dva puta manju aktivnost od tiouree.

2.2.4. Inhibitori tirozinaze

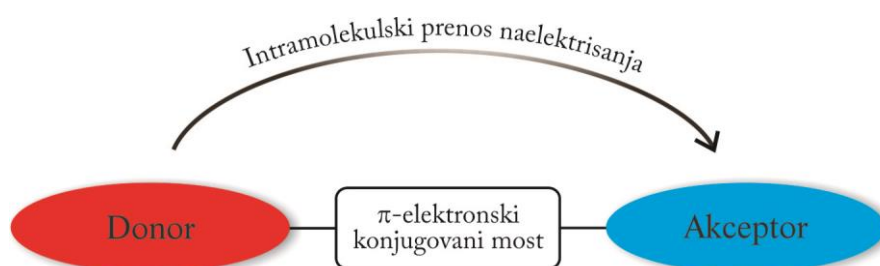
Enzim tirozinaza, u novijoj literaturi poznatija kao polifenoloksidaza, odgovoran je za pigmentaciju odnosno stvaranje melanina u ćelijama. U slučajevima kada je povećana aktivnost pigmentacionog enzima tirozinaze, odnosno kada stvaranje melanina nije inhibirano dolazi do hiperpigmentacije.⁷⁸ Chen i saradnici⁷⁹ su dizajnirali, sintetisali i ispitali inhibitoriska svojstva hidroksi i metoksi derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline na enzim tirozinazu iz gljiva. Dobijeni rezultati ukazuju da di- i trisupstituisani derivati 5-benzilidenbarbiturne kiseline pokazuju veća inhibitoriska svojstva od kojične kiseline (*kojic acid*) koja se koristi kao referentno jedinjenje. Najveću inhibitorisku aktivnost pokazuje 3,4-dihidroksi derivat 5-benzilidenbarbiturne kiseline sa oko 12 puta manjom IC₅₀ vrednošću od kojične kiseline. SAR (*Structure-Activity Relationship*, odnos između hemijske strukture i biološke aktivnosti jedinjenja) analize ukazuju da je za inhibitorisku aktivnost neophodno postojanje 5-benzilidenskog fragmenta sa *para*-hidroksi supstituisanim benzenovim prstenom. Takođe, na osnovu kristalne strukture i SAR analize pretpostavlja se da u inhibitorском mehanizmu učestvuje hidroksilna grupa na benzenovom prstenu koja je ključna za vodonično vezivanje koje se ostvaruje sa hidrofobnim delom proteina tirozinaze, dok barbiturna kiselina gradi kompleks sa bakrom koji se nalazi u aktivnom centru tirozinaze. Ova istraživanja ukazuju da su ispitivana jedinjenja dobri kandidati za inhibiciju humane tirozinaze i ćelijske linije humanog melanoma.

Yan i saradnici¹⁰ su *in vitro* i *in silico* ispitivali inhibiciju enzima tirozinaze iz gljiva od strane 5-benzilidenbarbiturne kiseline i *para*-supstituisanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline koji sadrže lipofilne i voluminozne supstituente (*p*-CH₂CH₂OH, *p*-CH₂CH₂OCH₃, *p*-CH₂CH₂OCH₂CH₂CH₂CH₃, *p*-CH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₃ i *p*-CH₂CH₂CH₂CH₂OCH₃). Preliminarne SAR analize ukazuju da uvođenjem voluminoznijeg supstituenta u *para*- položaj benzenovog prstena, odnosno produžavanjem alkil niza dolazi do sternih smetnji pri vezivanju inhibitora za aktivno mesto enzima. Rezultati *in vitro* istraživanja sugerišu da najveću inhibitorisku aktivnost pokazuje nesupstituisano jedinjenje.

Sawant i saradnici⁸⁰ su radili *in silico* ispitivanje zavisnosti između strukture *para*-supstituisanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline i stepena inhibitoriske aktivnosti enzima tirozinaze iz gljiva. Ispitivali su prethodno sintetisanu i *in vitro* ispitanu seriju jedinjenja od strane Yan-a i saradnika.¹⁰ QSAR analiza ukazuje da sterna i elektronski efekti utiču na inhibitoriska svojstva ispitivanih jedinjenja. Na osnovu simulacije načina vezivanja dva molekula primenom molekuskog dokinga došli su do zaključka da će se nesupstituisani derivat 5-benzilidenbarbiturne kiseline jače vezivati za aktivno mesto enzima tirozinaze od kojične kiseline. Generalno, njihovi rezultati ukazuju da uvođenje lipofilnog i voluminoznog supstituenta u *para*- položaj benzenovog prstena dovodi do smanjenog afiniteta vezivanja jedinjenja za enzim tirozinazu, dok polarniji supstituenti povećavaju afinitet vezivanja.

2.3. Osnovna svojstva *push-pull* sistema

U poslednjih nekoliko decenija vlada veliko interesovanje za dizajn, sintezu i primenu organskih molekula sa konjugovanim π -sistemima kao funkcionalnih materijala. Organski π -sistemi koji sadrže elektron-donorski supstituent (D) i elektron-akceptorski supstituent (A) na suprotnim krajevima π -elektronskog konjugovanog mosta spadaju u grupu tzv. *push-pull* molekula (Slika 6). Tačnije, elektron-donorski deo molekula predaje elektrone (gura - *push*) dok, drugi elektron-akceptorski deo molekula putem π -elektronskog mosta prima elektrone (*pull*). Optičke osobine *push-pull* molekula potiču od donorskih i akceptorskih grupa u D- π -A sistemima koje omogućavaju asimetriju naelektrisanja, dok prisutan π -elektronski konjugovani most određuje način raspodele elektronske gustine. D-A interakcije, odnosno stepen intramolekulskog prenosa naelektrisanja (ICT) kroz molekul utiče na optička svojstva molekula. Neke od glavnih osobina *push-pull* sistema su ICT trake koje se javljaju na većim talasnim dužinama tj. manjim energijama u apsorpcionim spektrima, mala energetska razlika između HOMO i LUMO orbitala, planarnost molekula kao jedna od osnovnih strukturnih karakteristika *push-pull* molekula, kao i visoka vrednost parametra koji opisuje nelinearna optička svojstva, odnosno hiperpolarizabilnost (β).⁵⁰



Slika 6. Shematski prikaz tipičnog *push-pull* sistema.

2.3.1. *Push-pull* hromofore

Tipični *push-pull* sistemi sadrže jake elektron-donorske grupe (D) sa pozitivnim rezonancionim efektom (+R) i pozitivnim induktivnim efektom (+I) povezane preko π -konjugovanog mosta sa jakim elektron-akceptorskim grupama (A) sa negativnim rezonancionim efektom (-R) i negativnim induktivnim efektom (-I). Na osnovu elektronskih efekata supstituenata koji se mogu sagledati i kroz Hammett-ove, σ_p supstituentske konstante tipične elektron-donorske grupe sa *push* efektom su NH_2 , NR_2 , OH i OR , supstituenti sa petočlanim heterocikličnim prstenom bogati elektronima kao što su tiofen⁸¹ i pirol^{82,85} i određeni proaromatični π -sistemi (piran-4-ilideni^{84,85} i ferocen⁸⁶), dok su NO_2 , CN , CHO i elektron-deficitarna heterociklična jedinjenja kao što su imidazol⁸⁷, benzotiazol^{88,89} i (di)azini⁹⁰⁻⁹² tipične elektron-akceptorske grupe sa *pull* efektom.

Elektron-akceptorske grupe koje privlače veliku pažnju su derivati malonske kiseline kao što su barbiturna i tiobarbiturna kiselina, cijanosirćetna kiselina i dicijano vinil grupa^{42,43,93,94} jer se često koriste kao akceptori u *push-pull* sistemima sa izraženim optoelektronskim osobinama. Teorijski, barbiturna kiselina kao jedinjenje sa karakterističnim šestočlanim prstenom, 2,4,6-trioksopirimidinom, u zavisnosti od načina vezivanja za π -elektronski sistem može se ponašati

kao elektron-donorski ili elektron-akceptorski supstituent. U nekim *push-pull* elektronskim sistemima kao što su boje (indikatori) - oksonol ili mureksid, direktno su kombinovana dva suprotna elektronska efekta barbiturne kiseline.^{95,96} Potvrđeno je da u D- π -A sistemima barbiturna kiselina ima ulogu jakog elektron-akceptorskog^{16,42-44} supstituenta dok *push-pull* hromofore sa barbiturnom kiselinom kao elektron-donorskim supstituentom još uvek nisu dokazane.^{40,46-49}

2.3.2. Optičke osobine *push-pull* sistema

Kawabe i saradnici³³ su ispitivali stepen intramolekulskog prenosa naelektrisanja i brzinu NLO odgovora nekoliko klasa organskih molekula sa delokalizovanim π -sistemima. Na osnovu položaja apsorpcionih maksimuma (CT traka) u UV-Vis spektrima i parametra nelinearne optičke aktivnosti $\mu_0\beta$ (μ_0 - permanentni dipolni moment i β - hiperpolarizabilnost) ispitivali su nelinearne optičke osobine nekoliko vrsta organskih π -sistema kao što su aldehidna i nitro jedinjenja, derivati barbiturne kiseline, derivati halkona, derivati fulvena, derivati retinala, Šifove baze i jedinjenja sa kondenzovanim aromatičnim prstenovima kao što su derivati antracena, pirena i fluorena.

U slučaju aldehidnih i nitro jedinjenja, ispitivane su *push-pull* osobine jedinjenja koja sadrže hidroksi ili metoksi grupu kao elektron-donore, nitro, dinitrofenil ili -CHO grupu kao elektron-akceptore i različite dužine linearnih konjugovanih mostova sačinjenih od alkil grupa. Rezultati pokazuju da jedinjenja sa hidroksi grupom (D), dužim π -konjugovanim mostom i nitro i dinitrofenil grupom (A) daju dva puta bolji NLO odgovor u odnosu na ostala ispitivana jedinjenja (**Tabela 3a**).

Kada su u pitanju jedinjenja sa petočlanim (rodanin i hidantoin) i šestočlanim (barbiturna i tiobarbiturna kiselina) heterocikličnim prstenom kao elektron-akceptorskim supstituentom i dimetilamino grupom kao elektron-donorskim supstituentom, rezultati pokazuju da jedinjenja sa barbiturnom i tiobarbiturnom kiselinom daju bolji NLO odgovor i apsorpcione maksimume na višim talasnim dužinama (**Tabela 3b**). Jedinjenje sa barbiturnom kiselinom i dužim konjugovanim alkil mostom (**10**) najbolji je kandidat za nelinearni optički materijal.

Kod fulvenskih derivata ispitivani su D- π -A sistemi sa dimetilamino ili metoksi grupama kao elektron-donorima i fulvenovim petočlanim prstenom kao elektron-akceptorskim delom. Dobijeni rezultati ukazuju da efekat konjugacije i prisustvo jake elektron-donorske dimetilamino grupe u jedinjenju **19** (**Tabela 3c**) dovodi do značajnog batohromnog pomeranja apsorpcionog maksimuma i najboljeg NLO odgovora.

Derivati halkona proučavani su kao *push-pull* sistemi koji sadrže karbonilnu grupu koja ima ulogu elektron-akceptora i nalazi se u centralnom delu molekula i dva elektron-donorska supstituenta na suprotnim krajevima molekula (**20**, **22** i **23**, **Tabela 3d**) osim jedinjenja **21** sa jednim elektron-donorskim supstituentom. Rezultati pokazuju da kada su prisutna dva ista elektron-donorska fragmenta u jedinjenjima **22** i **23** oni ne deluju nezavisno već su deo konjugovanog sistema što se može videti po položajima apsorpcionih maksimuma koji su na višim talasnim dužinama u odnosu na apsorpcione maksimume jedinjenja **8** i **21** koja sadrže samo jednu elektron-donorsku grupu.

Retinal kao prirodno jedinjenje iz grupe diterpenoida sa konjugovanim sistemom tipa poliena spada u grupu molekula sa izraženim *push-pull* osobinama. Rezultati pokazuju da uvođenje supstituenata na C-terminalnom kraju lanca molekula retinala dovodi do smanjenja

energije potrebne za pobuđivanje molekula za 0,4-0,6 eV i na taj način pojačava NLO odgovor (**Tabela 3e**).

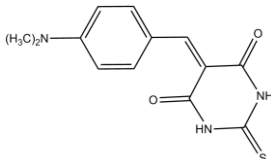
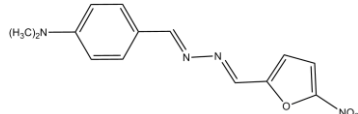
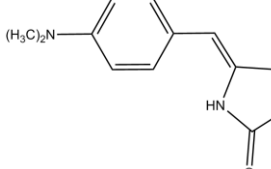
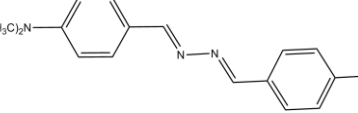
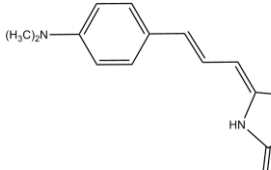
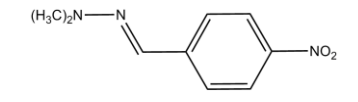
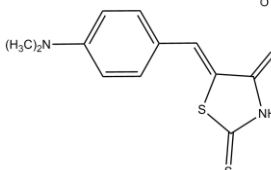
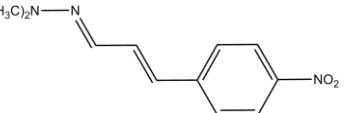
U okviru ovog opsežnog istraživanja, Kawabe i saradnici su ispitivali i *push-pull* sisteme u kojima se donor-akceptorske interakcije ostvaruju preko C=C i C=N dvostrukih veza (**Tabela 3f**). Ispitivane Šifove baze pored azo i dvostrukih veza sadrže 2-nitrofurane i/ili benzenove prstenove od kojih su neki *p*-nitro, *p*-metoksi ili *p*-dimetilamino supstituisani (jedinjenja **28-34**). Dobijeni rezultati ukazuju da Šifove baze koje sadrže furanski prsten i manji broj benzenovih prstenova daju bolji NLO odgovor i izazivaju veće batohromno pomeranje. Takođe, pokazano je da dvostruke veze Šifovih baza doprinose konjugaciji u molekulu koji sadrži samo elektron akceptorsku (**28**) ili samo elektron-donorsku grupu (**29**).

U slučaju Šifovih baza sa policikličnim aromatičnim jedinjenjima (**Tabela 3g**) koji su bogati elektronima, rezultati pokazuju da NLO odgovor zavisi od fragmenta (2-nitrofurana, *p*-supstituisan benzenov prsten ili malononitril) koji se kupluje sa kondenzovanim prstenom. Rezultati ukazuju da jedinjenja sa pirenom koji ima veći broj kondenzovanih prstenova daju bolji odgovor u odnosu na jedinjenja sa antracenom. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je najbolji kandidat za NLO materijal jedinjenje sa fluorenom, azo i dvostrukom vezom i *para*-dimetilamino supstituisanim benzenovim prstenom (**41**).

Tabela 3. ApSORPCIONI maksimumi i vrednosti parametra nelinearne optičke aktivnosti, $\mu_0\beta$ za ispitivana jedinjenja.³³

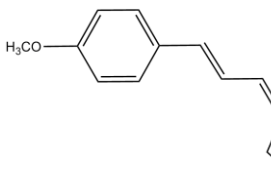
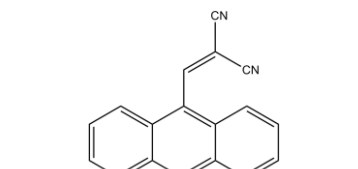
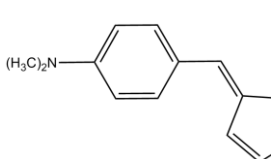
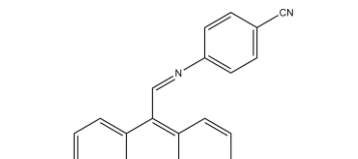
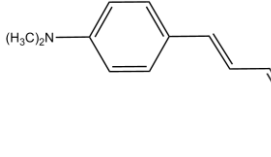
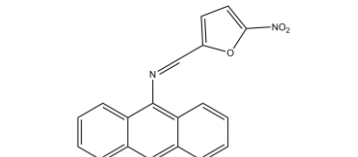
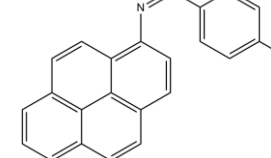
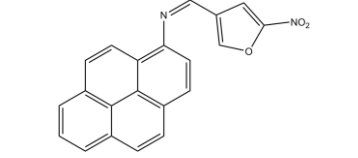
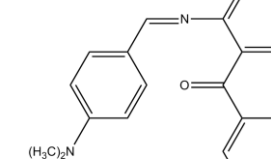
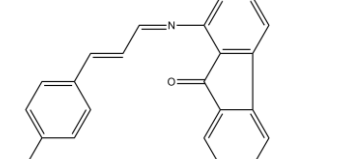
Jedinjenje		Energija (eV)	$\mu_0\beta/10^{-48}$ esu	Jedinjenje		Energija (eV)	$\mu_0\beta/10^{-48}$ esu
a) ALDEHIDNA I NITRO JEDINJENJA				d) DERIVATI HALKONA			
1		3,35	70	20		3,35	70
2		3,10	200	21		3,26	180
3		2,95	240	22		3,44	70
4		3,35	130	23		3,35	70
5		3,10	470	e) DERIVATI RETINALA			
6		3,10	300	24		3,25	230
7		3,02	470	25		2,88	1500
8		3,82	40	26		2,70	1300
9		3,54	110	27		2,58	1400
b) DERIVATI (TIO)BARBITURNE KISELINE				f) ŠIFOVE BAZE			
10		2,30	1330	28		3,26	230
11		2,67	630	29		3,02	450
12		2,16	140	30		2,88	640

Nastavak Tabele 3.

13		2,48	1150	31		2,73	1400
14		3,18	120	32		3,10	370
15		2,99	340	33		3,06	440
16		2,62	1050	34		2,95	1100

c) DERIVATI FULVENA

g) JEDINJENJA SA KONDENZOVANIM AROMATIČNIM PRSTENOVIMA

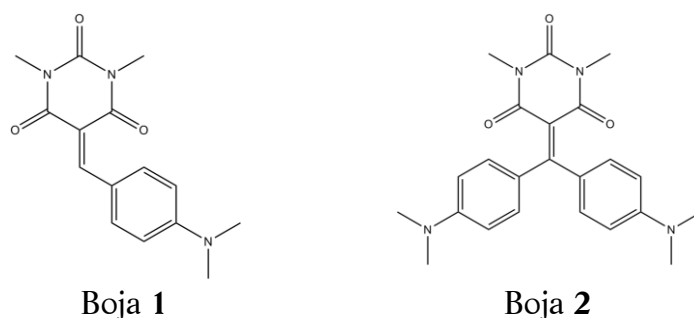
17		3,44	40	35		2,88	100
18		2,95	300	36		2,99	95
19		2,76	1300	37		2,79	260
38		2,82	740	39		2,64	370
40		3,26	470	41		3,02	820

2.4. Push-pull osobine derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline

D- π -A hromofore koje sadrže 5-etilidenpirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-trionski fragment imaju široku primenu u dizajnu boja i pigmenta sa multifunkcionalnim osobinama kao i organskih nelinearnih optičkih materijala (NLO).

2.4.1. Boje i pigmenti

Rezende i saradnici¹⁶ su dizajnirali D- π -A sistem merocijaninskog tipa boja na bazi *N,N*-dimetilbarbiturne kiseline. Sintetisali su dve nove boje kondenzacijom *N,N*-dimetilbarbiturne kiseline sa *p*-dimetilaminobenzaldehidom (boja 1) i 4,4'-bis(*N,N*-dimetilamino)benzofenomom (boja 2) (Slika 7) i ispitivali njihovo spektroskopsko ponašanje u 20 rastvarača različite polarnosti. Rezultati istraživanja potvrđuju da su izrazito solvatohromna jedinjenja i da zbog svoje karakteristične strukture pokazuju kompleksno ponašanje u rastvaračima različite polarnosti. Generalno, povećanje polarnosti rastvarača izaziva pozitivan solvatohromizam odnosno jako batohromno pomeranje apsorpcionih maksimuma koje je izraženije u slučaju boje 2. Izraženo solvatohromno ponašanje je posledica postojanja intramolekulskog prenosa naelektrisanja u molekulu boje od dimetilamino grupe kao jakog elektron-donora u *para*-položaju benzenovog prstena do pirimidintrionskog sistema *N,N*-dimetilbarbiturne kiseline kao elektron-akceptorskog fragmenta.



Slika 7. Strukture merocijaninskog tipa boja 1 i 2.¹⁶

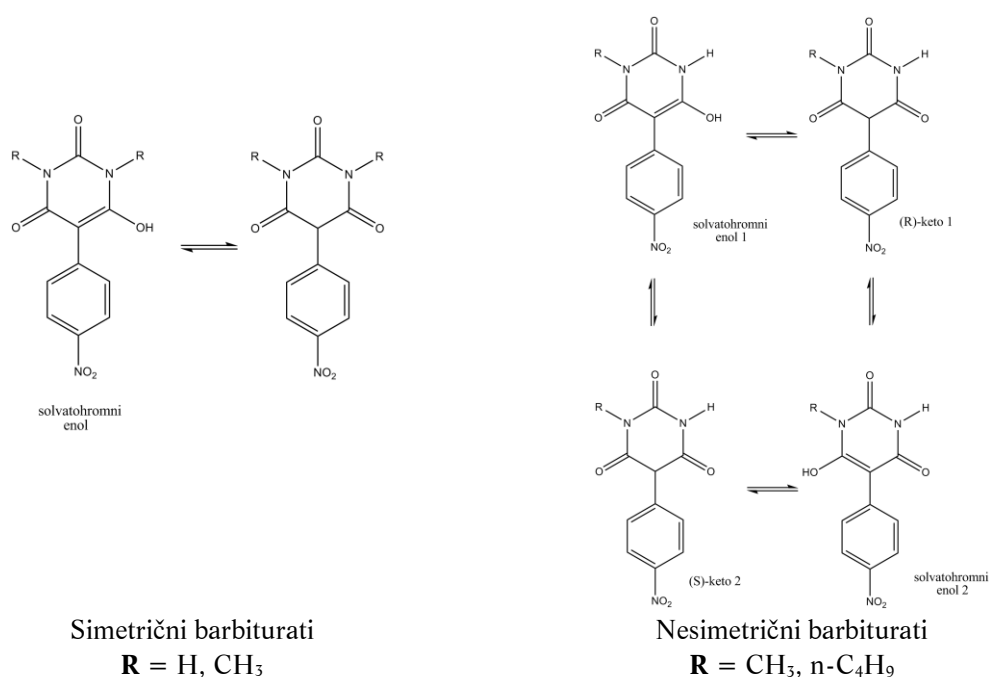
Barbiturna kiselina se koristi i u sintezi disperznih boja sa fluorescentnim i žutim organskim pigmentima. Elektron-akceptorski 2,4,6-pirimidintrionski prsten je deo strukture nekih izoindolinskih azopigmenata kao što su Pigment žuti 139, 150 i 185 koji se koriste u proizvodnji slikarskih boja, boja za plastiku i mastilo.⁹⁷ Thetford i saradnici¹⁷ su sintetisali i ispitivali svojstva policikličnih barbiturnih pigmenta koji sadrže 5-etilidenpirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-trionski fragment. U reakcijama Knoevenagel-ove kondenzacije korišćena je barbiturna kiselina i policiklični aromatični aldehidi pri čemu su nastajali žuti i zeleni pigmenti (Tabela 4). Sintetisani pigmenti su ispitivani kao potencijalna bojila za HDPE plastiku (polietilen visoke gustine). Rezultati ukazuju da barbiturni pigmenti koji sadrže supstituente sa većim aromatičnim sistemima (pirenil-1-il i fluoren-2-il) u C5 položaju pokazuju veću postojanost obojenja plastike i otpornost na svetlost. U ispitivanoj seriji pigmenta, 5-(piren-1-ilmetilen)pirimidin-2,4,6-trion (pigment 1) pokazuje najbolju otpornost na svetlost i postojanost boje. Spektroskopsko ispitivanje potvrđuje da se kod ovog jedinjenja javlja i najveće batohromno pomeranje apsorpcione trake na talasnoj dužini od oko 440 nm u polarnom aprotičnom rastvaraču, dimetilformamidu.

Tabela 4. Strukture i boje ispitivanih 5-benziliden barbiturnih pigmenata.¹⁷

Pigment	Ar	Obojenost plastike	
	1	pirenil-1-il	narandžasta nijansa crvene boje
	2	fluoren-2-il	bleda, zelenkastožuta
	3	Benzo[1,3]dioksol-5-il	bleda, zelena nijansa žute boje
	4	Fenantren-9-il	bledo žuta
	5	3,4-Dihlorofenil	bledo žuta
	6	4-Bifen-1-il	veoma blede žuta
	7	Benzofuran-2-il	jaka, zelena nijansa žute boje
	8	Indol-3-il	bleda, zelena nijansa žute boje
	9	10-Hloroantracen-9-il	mutna crveno-ljubičasta
	10	Naft-2-il	veoma blede žuta
	11	Naft-1-il	zelena nijansa žute boje

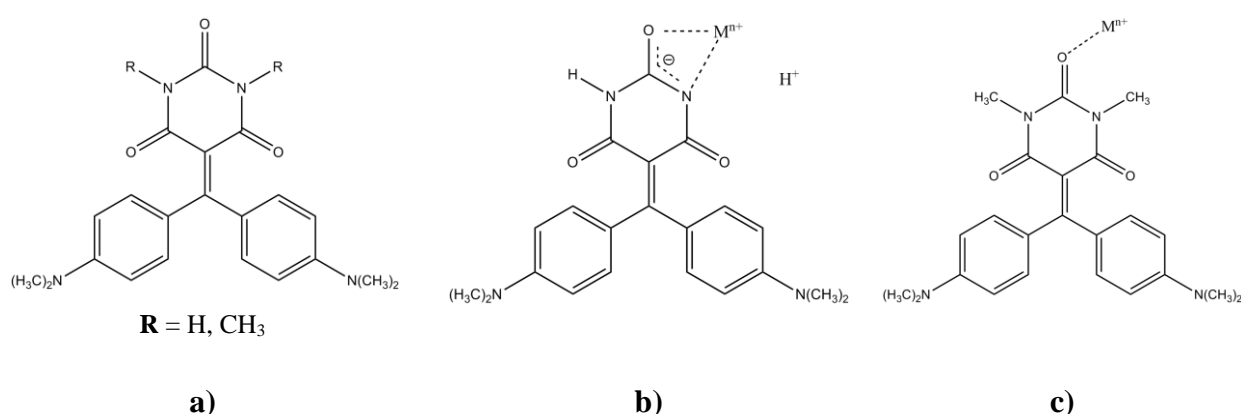
2.4.2. Hemosenzori i jonski detektori

Bolz i saradnici^{40,48} su ispitivali *push-pull* sisteme sa različitim multifunkcionalnim osobinama kao što su solvatohromizam i molekulske prepoznavanje putem vodoničnog vezivanja i koordinacije metalnih jona. Na osnovu solvatohromnog ponašanja *N*-alkil derivata 5-(4-nitrofenil)barbiturne kiseline i merocijaninskog tipa boja¹⁶ ispitivana su elektron-donorska i elektron-akceptorska svojstva barbiturne kiseline. Rezultati pokazuju da postojanje enolnog oblika *N*-alkil derivata 5-(4-nitrofenil)barbiturne kiseline izaziva jak solvatohromizam za razliku od keto oblika koji ne pokazuje solvatohromne karakteristike. Položaji apsorpcionih maksimuma keto i enolnih oblika u velikoj meri zavise od polarnosti rastvarača što je objašnjeno različitim stepenom π -konjugacije između dve tautomerne forme. Takođe, pokazano je da povećanjem baznosti rastvarača dolazi do jakog batohromnog pomeranja apsorpcionih maksimuma kao dokaz postojanja enolne forme koja je stabilizovana vodoničnim vezivanjem između vodonikovog atoma enolne OH grupe i rastvarača. Ova istraživanja ukazuju da se u ispitivanom *push-pull* sistemu enolni oblik *N*-supstituisane barbiturne kiseline ponaša kao elektron-donor koji je u *para*-konjugaciji sa elektron-akceptorskom -NO₂ grupom (**Slika 8**). Imajući u vidu da je barbiturna kiselina derivat pirimidina, enolizabilni derivati barbiturne kiseline mogu da se koriste za UV detekciju nukleinskih baza.⁹⁸



Slika 8. Tautomerna ravnoteža derivata 5-(4-nitrofenil)barbiturne kiseline.⁴⁰

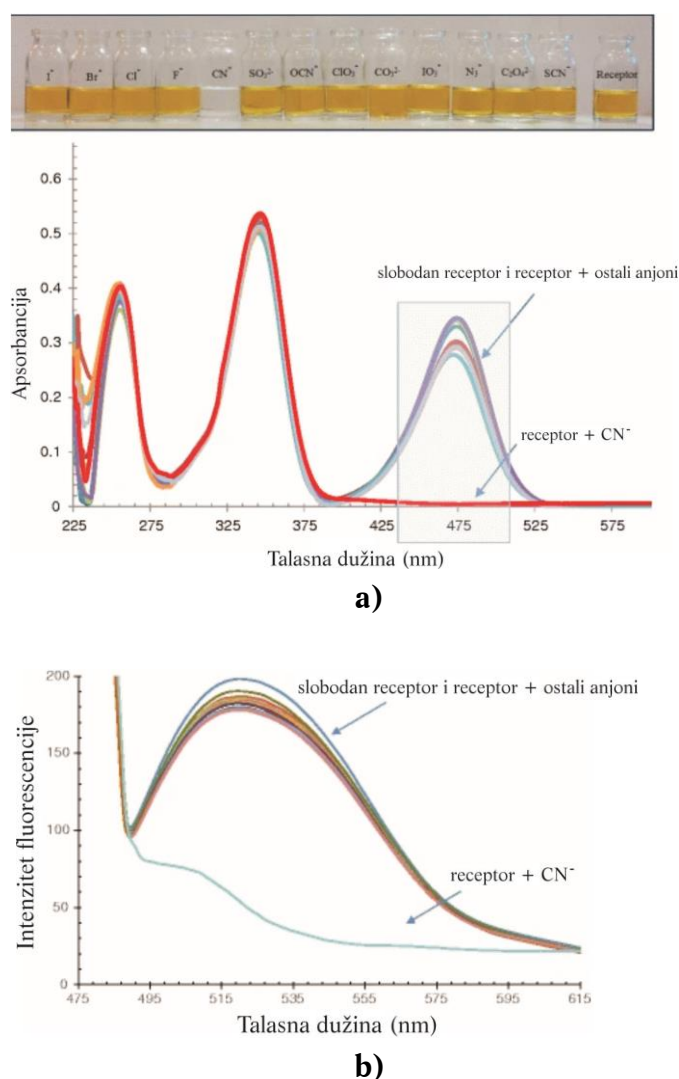
Sa druge strane, rezultati solvatohromnih ispitivanja pokazuju da se triketo oblik barbiturne kiseline u *push-pull* sistemu merocijaninskog tipa boja ponaša kao elektron-akceptorski supstituent (**Slika 9a**). Takođe je pokazano da solvatohromne osobine merocijaninskog tipa boja zavise od vrste supstituenata u položaju N1/N3 barbiturne kiseline, tačnije kod jedinjenja sa nesupstituisanom barbiturnom kiselinom primećen je jači batohromni efekat. Prilikom formiranja kompleksa sa različitim metalnim jonima (**Slika 9, b i c**), apsorpcioni maksimumi koji se javljaju na višim talasnim dužinama pripisuju se derivatu boje koji sadrži ADA (akceptor-donor-akceptor) sekvencu barbiturne kiseline prilikom koordinacije sa metalom, a na nižim talasnim dužinama derivatu boje sa *N,N*-disupstituisanom barbiturnom kiselinom.



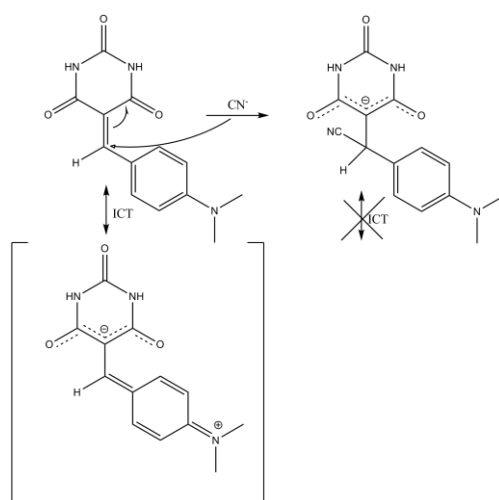
Slika 9. Strukture merocijaninskog tipa boja¹⁶ (a) i njihove moguće interakcije sa metalnim jonima⁴⁰ (b).

Alizadeh i saradnici⁹⁹ su pokazali da se *p*-dimetilaminobenzilidenbarbiturna kiselina kao organski molekul sa delokalizovanim π -sistemom, može koristiti kao efikasni hemosenzor za detekciju cijanidnog jona u vodenom rastvoru. Detekcija CN⁻ jona u smeši rastvarača

THF/H₂O (1:1) na pH = 7,15 vršena je primenom spektroskopskih metoda, kolorimetrijskom i fluorescentnom analizom. Rezultati pokazuju da kada se CN⁻ jon doda u rastvor koji sadrži *p*-dimetilamino derivat 5-benzilidenbarbiturne kiseline koji ima ulogu receptora dolazi do promene boje rastvora od žute do bezbojne, dok se žuta boja rastvora pri dodatku ostalih ispitivanih anjona kao što su SCN⁻, C₂O₄²⁻, N₃⁻, IO₃⁻, CO₃²⁻, ClO₃⁻, OCN⁻, SO₃²⁻, F⁻, Cl⁻, Br⁻, I⁻ ne menja. Nestanak apsorpcionog maksimuma na 473 nm u UV-Vis spektru (**Slika 10a**) i gašenje fluorescencije u slučaju cijanidnog anjona (**Slika 10b**) ukazuju da je ispitivano jedinjenje dalo selektivan odgovor samo na CN⁻ jon sa zadovoljavajućim detekcionim limitom. Mehanizam detekcije su zasnovali na nukleofilnoj adiciji CN⁻ jona na α,β -nezasićen akceptorski deo u *p*-dimetilaminobenzilidenbarbiturnoj kiselini, pri čemu dolazi do prekida π -konjugacije i blokiranja intramolekulskog prenosa naelektrisanja (ICT) (**Slika 11**).



Slika 10. Detekcija CN⁻ jona u smeši rastvarača THF/H₂O (1:1) UV-Vis spektralnom analizom (**a**) i fluorescentnom analizom (**b**).⁹⁹

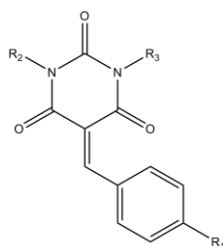


Slika 11. Predloženi mehanizam detekcije CN^- jona.⁹⁹

2.4.3. Nelinearni optički materijali

Generalno, nelinearna optika se bavi ispitivanjem odgovora nelinearnog materijala na promenu intenziteta električnog polja svetlosti. Nelinearna optička svojstva (λ_{max} i $\mu\phi$) *para*-dimetilamino derivata 5-benzilidenbarbiturine kiseline prvi put su ispitana od strane Ikeda-e i saradnika.⁴¹ Na osnovu dobijenih rezultata zaključeno je da barbiturna kiselina ima ulogu jakog elektron-akceptora, dok je dimetilamino grupa jak elektron-donor. Apsorpcioni pik ispitivanog jedinjenja javlja se na 470 nm i u poređenju sa referentnim nelinearnim optičkim medijumom, 2-metil-4-nitroanilinom ($\mu\phi = 180 \times 10^{-48}$ esu) daje dobar NLO odgovor ($\mu\phi = 630 \times 10^{-48}$ esu) što ukazuje da može biti potencijalni kandidat za primenu u nelinearnoj optici. Upoređujući *push-pull* osobine *para*-dimetilamino derivata 5-benzilidenbarbiturine kiseline i 5-benzilidentiobarbiturine kiseline, Ikeda i saradnici su zaključili da π -elektronski sistem sa tiobarbiturnom kiselinom zbog uticaja halkogenog efekta izaziva batohromnije pomeranje za 30 nm i daje dva puta bolji NLO odgovor.

Kondo i saradnici¹⁸ su ispitivali nelinearne optičke osobine derivata *N,N*-supstituisane i nesupstituisane 5-benzilidenbarbiturine kiseline sa različitim elektron-donorskim i elektron-akceptorskim supstituentima u *para*- položaju benzenovog prstena (**Slika 12**). Intenzitet generisanog drugog harmonika (*Second-order Harmonic Generation*, SHG) ispitivanih jedinjenja, kao jedan nelinearni optički proces, upoređivali su sa intenzitetom SHG uree (karbamida) kao referentnog nelinearnog optičkog materijala. Rezultati pokazuju da od svih ispitivanih derivata, *para*-acetamid i *para*-hidroksi derivati su najbolji kandidati za materijale sa nelinearnim optičkim osobinama pokazujući 11 i 12 puta jači NLO odgovor od uree.



Slika 12. Strukture ispitivanih jedinjenja gde je $\mathbf{R}_1 = \text{H}, \text{N}(\text{CH}_3)_2, \text{OH}, \text{OCH}_3, \text{NHCOCH}_3, \text{F}, \text{Cl}, \text{Br}, \text{CN}, \text{NO}_2$; $\mathbf{R}_2, \mathbf{R}_3 = \text{H}, \text{CH}_3, \text{C}_6\text{H}_5$.¹⁸

2.5. Lipofilnost

Biološka aktivnost nekog molekula uslovljena je njegovim strukturnim, fizičko-hemijskim, biohemijskim i farmakokinetičkim osobinama. Pod **strukturnim osobinama** se podrazumeva molekulska masa jedinjenja, MW (*Molecular Weight*), vodonično vezivanje, kiselost jedinjenja - p*K*_a i polarna površina, PSA (*Polar Surface Area*), dok lipofilnost, rastvorljivost, hemijska stabilnost i permeabilnost koje određuju bioraspoloživost molekula u organizmu spadaju u **fizičko-hemijske osobine** molekula. **Biohemijske osobine** molekula se odnose na vezivanje za ćeliju i protein, transport i metabolizam, a pod **farmakokinetičkim osobinama** molekula se podrazumeva izlučivanje, poluvreme života u organizmu i toksičnost koja se izražava preko parametra LD₅₀, odnosno smrtonosne doze jedinjenja.¹⁰⁰

Biološki aktivno jedinjenje mora imati zadovoljavajuće ADMET osobine, a to su apsorpcija, distribucija, metabolizam, izlučivanje i toksičnost. Najveći uticaj na ADMET osobine nekog jedinjenja od njegovog unosa u organizam do eliminacije jeste prolaz kroz ćelijske membrane (lipidni dvosloj) što direktno zavisi od njegove *lipofilnosti*.¹⁰¹ Lipofilnost nekog jedinjenja određena je polarnim i nepolarnim interakcijama u posmatranom medijumu. Nepolarne interakcije, odnosno hidrofobnost molekula može da se iskaže preko sternih parametara, odnosno zapremine molekula, polarizabilnosti i molarne refrakcije. Na osnovu dipolnog momenta i parametara koji se odnose na građenje vodonične veze mogu se opisati polarne interakcije. Lipofilnost jedinjenja u velikoj meri zavisi od intramolekulskih interakcija koje su određene strukturom molekula kao što su postojanje π -sistema, priroda supstituenata u aromatičnom ili heterocikličnom delu molekula kao i intramolekulsko vodonično vezivanje.¹⁰²

Lipinski i saradnici¹⁰³ su na osnovu dostupne baze podataka i analize lekova iz World Drug Index-a, WDI, definisali nekoliko kvalitativnih pravila tzv. mnemonička "*pravila broja pet*" koja ukazuju na stepen apsorpcije jedinjenja u organizmu u zavisnosti od sposobnosti građenja vodonične veze i veličine polarne površine molekula. Apsorpcija će biti smanjena ako su ispunjena bilo koja dva uslova:

- molekulska masa jedinjenja iznad 500
- u jedinjenju postoji više od 5 donora vodonične veze (uzimajući u obzir zbir svih NH i OH)
- u jedinjenju postoji više od 10 akceptora vodonične veze (uzimajući u obzir zbir svih N i O)
- $\log P$, odnosno $\text{Clog } P > 5$ ili $\text{Mlog } P > 4,15$.

Pravila Lipinskog ne mogu se primeniti u slučaju složenijih klasa jedinjenja kao što su supstrati za biološke transportere.

Molekulski deskriptor koji se najčešće koristi za izražavanje lipofilnosti jedinjenja je podeoni koeficijent, $\log P$, koji opisuje raspodelu jedinjenja između organske i vodene faze. Kao referentni sistem koristi se *n*-oktanol/voda.^{104,105} Nepolarni organski rastvarač, *n*-oktanol koji u svojoj strukturi ima nepolarni ugljovodonični niz i OH grupu simulira biološke membrane. Ovaj kvantitativni deskriptor se izražava u logaritamskom obliku kao oktanol-voda podeoni koeficijent:

$$\log P = \log C_o / C_w$$

gde C_o predstavlja koncentraciju jedinjenja u organskoj fazi, n -oktanolu, a C_w koncentraciju jedinjenja u vodenoj fazi.¹⁰⁴

Lemke i saradnici¹⁰⁶ su na osnovu vrednosti $\log P$ definisali afinitet molekula prema okruženju na sledeći način:

- lipofilan molekul, $\log P > 1$
- hidrofilan molekul, $\log P < -1$
- molekul u istom stepenu rastvorljiv u organskom rastvaraču i vodi, $\log P = 0$
- toksičan molekul, $\log P > 5$.

$\log P$ se eksperimentalno određuje tradicionalnom metodom mućkanja ("*shake flask*") koja ima određene nedostatke kao što su dužina trajanja eksperimenta, loša reproduktivnost kao i nemogućnost primene metode kod veoma lipofilnih jedinjenja gde je $\log P$ iznad 6 jer dolazi do formiranja emulzije sa n -oktanolom i vodom.^{107,108}

2.5.1. Određivanje lipofilnosti indirektnim metodama

Lipofilnost biološki aktivnih jedinjenja može se odrediti primenom hromatografskih metoda na mnogo jednostavniji način, određivanjem retencionih (hromatografskih) parametara lipofilnosti. Najčešće se primenjuju reverzno-fazne (*Reversed-Phase*, RP) hromatografske tehnike kao što su reverzno-fazna hromatografija na tankom sloju (*Thin Layer Chromatography*, TLC) i reverzno-fazna tečna hromatografija visokih performansi (*High Performance Liquid Chromatography*, HPLC). Indirektno određivanje lipofilnosti molekula najčešće se vrši primenom RP TLC metode. Upotrebom binarnih smeša vode i organskih rastvarača u kojima se menja udeo organske faze može se ispitati retenciono ponašanje jedinjenja. Na osnovu eksperimentalno dobijenog retencionog faktora, R_f može se izračunati retenciona konstanta, R_M koja predstavlja najčešće korišćeni retencioni parametar za izražavanje lipofilnosti¹⁰⁹:

$$R_M = \log(1/R_f - 1) \quad (1)$$

gde R_f vrednost predstavlja retencioni faktor, odnosno količnik između puta koji je prešla supstanca i puta koji je prešla mobilna faza za određeno vreme. Ona supstanca koja se najbolje rastvara u mobilnoj fazi, odnosno ona koja je prešla najduži put imaće najveću R_f vrednost. Nađeno je da između strukture i R_M vrednosti postoji bolja zavisnost i manja greška u odnosu na R_f vrednost.

Zavisnost izračunate retencione konstante, R_M od udela organskog rastvarača u mobilnoj fazi (φ) može se prikazati jednačinom prave¹¹⁰:

$$R_M = R_M^0 + m\varphi \quad (2)$$

Parametar R_M^0 predstavlja odsečak prikazane prave, i predstavlja vrednost retencije datog jedinjenja koja se odnosi na čistu vodu. Vrednost nagiba prave, m opisuje hidrofobnu površinu molekula.¹¹¹ S obzirom da na R_M vrednost u velikoj meri utiču primenjeni hromatografski

uslovi, u tankoslojnoj hromatografiji kvantitativni retencioni deskriptor R_M^0 se uglavom koristi za izražavanje lipofilnosti i predstavlja adekvatnu paralelu podeonom koeficijentu, $\log P$.

2.5.2. *In silico* određivanje lipofilnosti

Jedna od prvih fizičko-hemijskih karakteristika molekula za koju su razvijene *in silico* metode predviđanja bila je lipofilnost. Do sada je dizajnirano preko 20 softverskih paketa pomoću kojih se mogu izračunati parametri lipofilnosti i uporediti sa eksperimentalno dobijenim parametrima. Softverski paketi su dizajnirani na osnovu dva pristupa računanja:

- *In silico* metode koje se baziraju na podstrukturama molekula (*Substructure-Based Methods*)¹¹² i
- *In silico* metode koje se baziraju na određenim osobinama molekula (*Property-Based Methods*).¹¹³

Metode zasnovne na podstrukturama uključuju dva pristupa, a to je da molekul podele na odgovarajuće fragmente - fragmentaciona metoda ili svedu na nivo jednog atoma - atomska metoda, pri čemu se za izražavanje konačne vrednosti $\log P$ dodatno sabiraju doprinosi svake podstrukture. U slučaju metoda koje su zasnovane na osobinama molekula, za izračunavanje parametra lipofilnosti, $\log P$ neophodno je korišćenje molekulskih deskriptora na osnovu kojih se opisuje ceo molekul.

Svaka od ovih metoda, bez obzira na svoj pristup i raznolikost, jasno ukazuje da su veličina molekula i mogućnost građenja vodoničnih veza presudni za tačno definisanje lipofilnosti molekula.

2.5.3. Kvantitativni odnos strukture, retencije i aktivnosti molekula

Savremena metodologija naučnih istraživanja u oblasti medicinske hemije obuhvata *in silico* predikciju zavisnosti između hemijske strukture i aktivnosti jedinjenja tzv. SAR analizu. U zavisnosti od toga koje osobine jedinjenja se predviđaju razvijene su sledeće SAR analize:

- QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationship*) - veza između strukture i biološke aktivnosti jedinjenja,
- QSPR (*Quantitative Structure-Property Relationship*) - veza između strukture i fizičko-hemijskih karakteristika jedinjenja,
- QSRR (*Quantitative Structure-Retention Relationship*) - veza između strukture i hromatografskog ponašanja jedinjenja.

U SAR ispitivanjima koriste se komercijalni softverski paketi za izračunavanje molekulskih deskriptora kao i različite regresione i klasifikacione hemometrijske metode. Molekulski deskriptori predstavljaju numeričke vrednosti koje su izvedene iz odgovarajućih karakteristika nekog molekula. Na osnovu regresionih metoda može se ispitati zavisnost između zavisno promenljivih odnosno eksperimentalno određenih osobina molekula i nezavisno promenljivih kao što su npr. molekulski deskriptori. Sa druge strane, na osnovu klasifikacionih metoda odnosno multivarijantnih analiza mogu se ispitati sličnosti i razlike između određenih jedinjenja kao i postojanje trenda između analiziranih podataka.

2.6. Metodologija istraživanja

2.6.1. Uvod u elektronsku spektroskopiju

Ultravioletna/vidljiva (UV-Vis) spektroskopija proučava apsorpciju elektromagnetnog zračenja usled interakcije ultravioletnog (200-400 nm) i vidljivog (400-800 nm) zračenja sa molekulom. Molekul u svom osnovnom stanju ima najnižu energiju, dok u pobuđenom odnosno ekscitovanom stanju ima višu energiju. Prilikom apsorbovanja UV-Vis zračenja molekul prelazi iz osnovnog u pobuđeno stanje koje je okarakterisano određenim elektronskim prelazom. Tačnije, energija zračenja u oblasti od 200-800 nm je dovoljno visoka da može izazvati pobuđivanje elektrona i njihov prelazak sa niže na više energetske nivoe (stanje više energije). U UV-Vis spektrima karakterističnu apsorpciju pokazuju delovi molekula koji sadrže dvostruke ili trostruke veze kao i nezasićene grupe sa slobodnim elektronskim parovima tzv. *hromoforne grupe*. Promena položaja i intenzitet apsorpcionog maksimuma određene hromofore u UV-Vis spektru pod uticajem raznih efekata može se opisati na nekoliko načina:

- **Batohromni efekat** - "crveno pomeranje" (*red shift*) predstavlja pomeranje apsorpcionih traka ka većim talasnim dužinama (tj. manja frekvencija samim tim i energija),
- **Hipsohromni efekat** - "plavo pomeranje" (*blue shift*) predstavlja pomeranje apsorpcionih traka ka manjim talasnim dužinama (tj. veća frekvencija samim tim i energija),
- **Hiperhromni efekat** - povećanje intenziteta apsorpcione trake i
- **Hipohromni efekat** - smanjenje intenziteta apsorpcione trake.

Generalno, grupe koje sadrže slobodne elektronske parove (tzv. *auksohrome*) odnosno grupe vezane za hromofore koje deluju kao donori elektrona dovode do batohromnog pomeranja, dok grupe koje deluju kao akceptori elektrona (tzv. *antiauksokrome*) dovode do hipsohromnog pomeranja.¹¹⁴

2.6.2. Uticaj rastvarača na položaj apsorpcionih maksimuma

Pored prirode supstituenata, položaj i intenzitet apsorpcionih maksimuma u UV-Vis spektru ispitivanog rastvora u velikoj meri zavisi i od prirode rastvarača odnosno njegove polarnosti. Pri apsorpciji elektromagnetnog zračenja dolazi do različitog stepena solvatacije molekula u osnovnom i ekscitovanom stanju kao posledice međumolekulskih interakcija, odnosno nespecifičnih i specifičnih interakcija između rastvarača i rastvorene supstance. U nespecifične interakcije spadaju jon-dipol, dipol-dipol, jon-jon interakcije kao i jon-indukovani dipol, dipol-indukovani dipol, dok vodonične veze predstavljaju specifične i usmerene interakcije koje uključuju prisustvo donora ili akceptora (ili proton-donorskih i akceptorskih grupa). Uticaj rastvarača na položaj apsorpcionih maksimuma u UV-Vis spektru nazivamo solvatohromizmom.

Eksperimentalno je utvrđeno da se izraženiji solvatohromizam javlja kod molekula kod kojih se značajno razlikuje raspored elektronske gustine a samim tim i dipolni moment u osnovnom i pobuđenom stanju. U slučaju α,β -nezasićenih jedinjenja, ukoliko se prilikom ekscitacije u polarnim rastvaračima povećava dipolni moment molekula, pobuđeno stanje će biti stabilizovanije (bolje solvatisano) u odnosu na osnovno stanje ($\mu_g < \mu_e$). Tačnije, povećanjem polarnosti rastvarača dolazi do batohromnog pomeranja koje se javlja kao posledica

stabilizacije pobuđenog stanja. Veličina batohromnog pomeraja zavisi od samog dipolnog momenta rastvarača, zatim od veličine promene dipolnog momenta molekula pri ekscitaciji i jačine međumolekulskih interakcija. Suprotno, ukoliko se prilikom ekscitacije smanjuje dipolni moment molekula, osnovno stanje će biti bolje solvatisano a samim tim i dodatno stabilizovano u odnosu na pobuđeno stanje ($\mu_g > \mu_e$). Sa porastom polarnosti rastvarača povećava se razlika u energiji između osnovnog i pobuđenog stanja što dovodi do hipsohromnog pomaranja apsorpcionih maksimuma.¹¹⁵

2.6.2.1. Kamlet-Taft-ova empirijska skala polarnosti/LSER analiza

Dugo se smatralo da su glavne osobine rastvarača koje utiču na neku hemijsku reakciju dipolni moment i dielektrična konstanta rastvarača kao fizički parametri koji kvantitativno opisuju polarnost rastvarača. Međutim, pokazalo se da na sam proces solvatacije ne utiču samo polarnost rastvarača nego i u velikoj meri prisutne međumolekulske interakcije, pa samim tim ne postoji mogućnost da se pomoću jednog fizičkog parametra izraze sve interakcije između molekula rastvarača i rastvorene supstance. Razvijanjem empirijskih skala rastvarača prevazišao se problem izražavanja polarnosti rastvarača preko jedne fizičke konstante. Empirijske skale rastvarača su razvijene na osnovu poznatih referentnih reakcija koje su osetljive na rastvarače. Primenom ovih skala dobijene su jednoparametarske (*Mono Substituent Parameter Equation*, MSP) i višeparametarske (*Dual Substituent Parameter Equation*, DSP) korelacione jednačine, u kojima svaki parametar opisuje tačno određenu vrstu interakcija koja učestvuje u ukupnoj solvataciji molekula.

Kvalitativna procena uticaja rastvarača na UV-Vis spektre izvedena je na osnovu analize linearne korelacije energije solvatacije (*Linear Solvation Energy Relationship Analysis*, LSER) primenom višeparametarske solvatohromne jednačine koju su razvili Kamlet i Taft 1976. godine.¹¹⁶ Kamlet-Taft-ov model, predstavljen jednačinom (3), uspešno razdvaja nespecifične interakcije (elektrostatički efekat - dipolarnost/polarizabilnost) od specifičnih interakcija (vodnične veze) rastvora i rastvorene supstance:

$$v_{max} = v_o + s\pi^* + b\beta + a\alpha \quad (3)$$

Vrednost v_{max} predstavlja apsorpcioni maksimum jedinjenja u određenom rastvaraču, dok vrednost v_o predstavlja apsorpcioni maksimum jedinjenja u cikloheksanu kao referentnom rastvaraču. Parametar π^* ¹¹⁷ opisuje dipolarnost/polarizabilnost rastvarača i njegove vrednosti su normalizovane počev od $\pi^* = 0$ za cikloheksan do $\pi^* = 1$ za DMSO. Skala polarnosti π^* je postavljena u odnosu na referentno jedinjenje nitroanilin tako da opisuje nespecifične interakcije ne uzimajući u obzir vodonične veze. Parametar α opisuje meru kiselosti rastvarača, odnosno donora protona pri građenju vodonične veze (HBD osobina rastvarača, *Hydrogen-Bonding Donor*).¹¹⁸ Baznost rastvarača, odnosno akceptora protona pri građenju vodonične veze (HBA osobina rastvarača, *Hydrogen-Bonding Acceptor*) opisuje parametar β .¹¹⁹ U slučaju parametra α skala je određena tako da je za *n*-heksan, odnosno nepolarne aprotične rastvarače $\alpha = 0$, a za metanol $\alpha = 1$, dok je u slučaju parametra β za nepolarne aprotične rastvarače $\beta = 0$, a za triamid-heksametilfosfornu kiselinu $\beta = 1$. Regresioni koeficijenti s , b i a predstavljaju pojedinačne doprinose solvatohromnih efekata na UV-Vis apsorpcione maksimume.

Kamlet-Taftovi parametri rastvarača (KAT parametri)^{116,120} korišćeni u ovom radu dati su u **Tabeli 5**.

Tabela 5. Parametri rastvarača^{116,120} korišćeni u Kamlet-Taft-ovoj jednačini.

Rastvarač	π^*	β	α
2,2,2-Trifluoroetanol	0,73	0,00	1,51
Etilen-glikol	0,92	0,52	0,90
Metanol	0,60	0,66	0,98
2-Hloroetanol	0,46	0,53	1,28
1,2-Propandiol	0,76	0,78	0,83
Etanol	0,54	0,75	0,86
2-Propanol	0,48	0,84	0,76
2-Metil-1-propanol	0,40	0,84	0,79
1-Butanol	0,47	0,84	0,84
Dimetil-sulfoksid	1,00	0,76	0,00
<i>N,N</i> -Dimetilacetamid	0,88	0,76	0,00
Acetonitril	0,75	0,40	0,19
<i>N,N</i> -Dimetilformamid	0,88	0,69	0,00
<i>N</i> -Metil-2-pirolidinon	0,92	0,77	0,00
Tetrahidrofuran	0,58	0,55	0,00
Etil-acetat	0,55	0,45	0,00
1,2-Dimetoksietan	0,53	0,41	0,00
Anizol	0,73	0,32	0,00
Trihlorometan	0,58	0,10	0,20
Diizopropil-etar	0,27	0,49	0,00

*Podaci za Dietilen-glikol nisu pronađeni.

2.6.2.2. LFER analiza

Uticaoj supstituenata na raspodelu elektronske gustine u molekulu može se ispitati primenom različitih modela linearne zavisnosti slobodnih energija, odnosno LFER analizom (*Linear Free Energy Relationships*).^{121,122} Raspodela elektronske gustine u molekulu određena je induktivnim, rezonancionim i sternim efektom. Za korelisanje različitih spektroskopskih podataka kao što su UV-Vis i NMR podaci¹²³⁻¹²⁵ može se koristiti jednoparametarska Hammett-ova jednačina u opštem obliku (4):

$$s = \rho\sigma + s_0 \quad (4)$$

Primenom dvoparametarskih jednačina za korelisanje spektralnih podataka moguće je odvojeno posmatrati efekte koji utiču na raspodelu elektronske gustine u molekulu. Proširena Hammett-ova jednačina (5) koju su predložili Taft i Lewis omogućava da se induktivni i rezonancioni elektronski efekat analiziraju odvojeno.¹²⁶ Proširena Hammett-ova jednačina se može napisati u opštem obliku:

$$s = \rho\sigma_I + \rho_R\sigma_R + s_0 \quad (5)$$

Efekat polja i rezonancioni efekat mogu se analizirati odvojeno primenom dvoparametarske Swain–Lupton-ove jednačine koja se može predstaviti u opštem obliku na sledeći način^{127,128}:

$$s = fF + rR + s_0 \quad (6)$$

Vrednost s predstavlja korelisan spektralni podatak, kao što je hemijski pomeraj u NMR spektroskopiji ili UV-Vis apsorpcioni maksimum. Regresioni koeficijenti ρ , ρ_I , ρ_R , f , i r predstavljaju konstante proporcionalnosti koje reflektuju osetljivost spektralnih karakteristika na elektronske efekte supstituenata. Parametar σ , odnosno $\sigma_{m/p}$ predstavlja Hammett-ovu konstantu supstituenta koja je definisana na osnovu konstanti disocijacije *para*- i *meta*-supstituisane benzoewe kiseline i opisuje ukupan elektronski efekat supstituenata (rezonancioni efekat i induktivni/efekat polja). Konstanta σ za *orto*-supstituente nije definisana zbog postojanja sternog efekta. Negativne vrednosti Hammett-ove konstante supstituenata, σ ukazuju na elektron-donorsku grupu, dok pozitivne vrednosti ove konstante ukazuju da se radi o elektron-akceptorskoj grupi. Upotreba σ^+ i σ^- konstanti supstituenata umesto konstante σ ukazuje na postojanje proširene delokalizacije elektrona u molekulu. Proširena Hammett-ova jednačina koja posebno analizira rezonancioni i induktivni efekat uključuje induktivnu konstantu σ_I koja opisuje induktivni efekat supstituenta i rezonancionu konstantu σ_R koja opisuje efekat supstituenata u koji je uključena delokalizacija π -elektrona. Parametar F u Swain Lupton-ovom modelu predstavlja konstantu polja, dok R predstavlja rezonancionu konstantu. U svim primenjenim LFER modelima s_0 je odsečak. Vrednosti parametara supstituenata¹²⁹ korišćenih u LFER analizi dati su u **Tabeli 6**.

Tabela 6. Supstituentne konstante¹²⁹ korišćene u korelacionim analizama (jednačina 4-6).

Supstituent	σ_{p+}	σ_I	σ_{R+}	F	$R+$
N(CH₃)₂	-1,70	0,06	-1,22	0,15	-1,85
OH	-0,92	0,29	-0,64	0,33	-1,25
OCH₃	-0,78	0,27	-0,66	0,29	-1,07
OCH₂CH₃	-0,81	0,28	-0,65	0,26	-1,07
CH₃	-0,31	-0,04	-0,25	0,04	-0,32
CH(CH₃)₂	-0,28	0,01	-0,12	0,01	-0,32
H	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
F	-0,07	0,52	-0,37	0,45	-0,52
Cl	0,11	0,47	-0,21	0,42	-0,31
Br	0,15	0,44	-0,19	0,45	-0,30
CN	0,66	0,53	0,13	0,51	0,15
NO₂	0,79	0,64	0,15	0,65	0,14

2.6.3. Spektrofotometrijsko određivanje p*K*_a vrednosti

p*K*_a vrednost, odnosno stepen jonizacije molekula kao jedan od važnih fizičko-hemijskih deskriptora eksperimentalno se može odrediti primenom različitih tehnika kao što su UV-Vis spektrofotometrija, potenciometrija, ¹H NMR spektroskopija, hromatografija, kapilarna elektroforeza i druge metode pomoću kojih može da se detektuje razlika u osobinama molekulskog i jonskog oblika jedinjenja.^{130–132} S obzirom da p*K*_a vrednost utiče na zastupljenost keto-enolnih tautomera u rastvoru, primenom UV-Vis spektrofotometrijske metode može se proučavati tautomerno ponašanje jedinjenja u rastvoru. Stepen jonizacije određenog molekula, odnosno njegova p*K*_a vrednost u velikoj meri utiče na lipofilnost, rastvorljivost i permeabilnost jedinjenja i može se koristiti u ranim fazama ispitivanja ADMET osobina biološki aktivnog jedinjenja. UV-Vis spektrofotometrija je često korišćena metoda za određivanje p*K*_a vrednosti jer je vrlo pogodna za analizu teško rastvornih jedinjenja i za razliku od potenciometrijske metode mnogo je osetljivija i zahteva od 10 do 100 puta manju količinu uzorka. Prilikom spektrofotometrijskog određivanja konstanti kiselosti neophodno je da uzorak bude visokog stepena čistoće i da jedinjenje u svojoj strukturi sadrži hromofore, odnosno grupe koje apsorbuju u ultravioletnoj i/ili vidljivoj oblasti spektra. UV-Vis spektrofotometrijsko određivanje p*K*_a vrednosti se zasniva na merenju promena talasnih dužina maksimalne apsorpcije (λ_{max}) do kojih je došlo usled jonizacije molekula u rastvorima koji imaju različitu kiselost.

2.6.4. RP TLC hromatografija

Hromatografski sistem čine tri komponente, a to su stacionarna faza, mobilna faza i sorbend odnosno jedinjenje koje se odvaja. Reverzno-fazna hromatografija spada u tip planarne hromatografije u kojoj je mobilna faza polarnija od stacionarne faze. Ona predstavlja jednu od hromatografskih tehnika u kojoj se razdvajanje jedinjenja vrši na osnovu elucione moći mobilne faze i zadržavajućoj sposobnosti (retencije) stacionarne faze, zapravo dve sile koje deluju u suprotnom smeru. Specifične i nespecifične interakcije koje se ostvaraju kao i njihova jačina zavise od hemijske prirode stacionarne faze, mobilne faze i ispitivanog jedinjenja. Reverzno-fazna hromatografija može biti adsorpciona i podeona. Podeona se više primenjuje za određivanje retencionih svojstava nosintetisanih potencijalno biološki aktivnih organskih jedinjenja. Kod podeone hromatografije na obrnutim fazama, stacionarnu fazu čini organski rastvarač vezan za tanak sloj adsorbensa nanetog na nosač stacionarne faze, a mobilnu fazu čini polarniji rastvarač (modifikator). Retencija u reverzno-faznoj hromatografiji pre svega zavisi od prirode supstituenta u ispitivanom jedinjenju, odnosno njihovih hidrofobnih osobina. Najčešće primenjivani sorbenti u ove svrhe su jedinjenja sa različitim hemijskim karakteristikama kao što su silika-gel, celuloza, aluminijum-oksidi, poliamid koji imaju uniformne hemijske osobine ili modifikovani silika-gel sa kombinovanim hemijskim osobinama. U reverzno-faznoj hromatografiji najčešće se koriste komercijalno dostupni metil- (RP-2), oktil- (RP-8) i oktadecil- (RP-18) modifikovani silika-gelovi. Mobilnu fazu u RP TLC hromatografiji predstavlja polarniji rastvarač smeše voda organski rastvarač, odnosno modifikatora koji je mešljiv sa vodom. Eluciona moć mobilne faze zavisi od udela organskog modifikatora. Jedan od načina po kome se biraju rastvarači prema njihovoj polarnosti, proton-donorskoj i proton-akceptorskoj prirodi jeste Kamlet-Taft-ova skala polarnosti rastvarača.^{117–119} U reverzno-faznoj hromatografiji najčešće korišćeni organski rastvarači su metanol, acetonitril, etanol, izopropanol, dimetilformamid, propanol, dioksan i tetrahidrofur čija

polarnost opada odnosno njihova eluciona moć raste od metanola do tetrahidrofurana. Variranjem udela organskog rastvarača u binarnom sistemu rastvarača mogu se dobiti informacije o fizičko-hemijskim i biohemijskim osobinama jedinjenja. RP TLC je jedna od najčešće korišćenih metoda za indirektno određivanje lipofilnosti jedinjenja, kao jednog od važnih fizičko-hemijskih deskriptora.¹³³

2.6.5. Kvantno-hemijske metode

Kvantno-hemijski proračuni su postali sastavni deo mnogih hemijskih istraživanja u kojima se pomoću modernih računarskih metoda mogu proučavati različite osobine molekula. U zavisnosti od strukture molekula i hemijskog problema koji se treba rešiti postoji nekoliko modela, odnosno pristupa koji koriste različite nivoe teorije za razumevanje i proučavanje fizičko-hemijskih osobina molekula i to su:

- **Klasične metode**
 - Molekulska mehanika
- **Kvantno-hemijske metode**
 - Semi empirijske (koriste empirijske parametre),
 - *Ab initio* (metode zasnovane na talasnoj funkciji) i
 - DFT (teorija funkcionala gustine).

2.6.5.1. DFT metoda

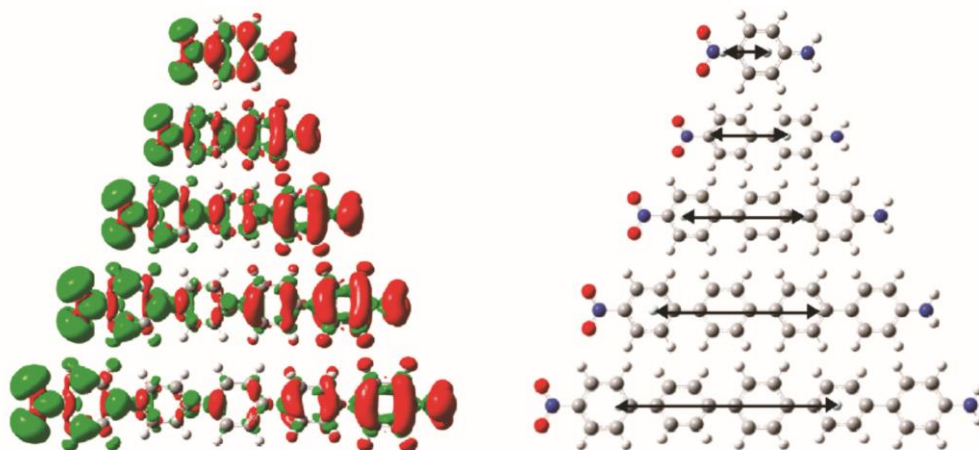
Teorija funkcionala gustine (*Density Functional Theory*, DFT) je često korišćen i veoma popularan pristup jer zahteva mnogo manje procesorskog vremena u poređenju sa metodama koje daju rezultate slične tačnosti i pruža najbolji odnos kvaliteta dobijenih rezultata i neophodnih računarskih kapaciteta. Funkcional zapravo predstavlja funkciju funkcije i u slučaju DFT pristupa to je funkcija elektronske gustine. Bazis set predstavlja minimalni skup funkcija, odnosno atomskih orbitala atoma čijom se linearnom kombinacijom definišu molekulske orbitale. Zapravo, fizički gledano, dobija se raspodela elektrona u molekulu koja dalje utiče na elektronsku gustinu. Generalno, kvalitet dobijenih rezultata zavisi od izabranog funkcionala i bazis seta. Jedan od najčešće korišćenih funkcionala je B3LYP hibridni funkcional. Na osnovu baze podataka (<https://www.basissetexchange.org/>) danas postoji preko 600 bazis setova i jedni od najpopularnijih su bazis setovi Pople-ovog tipa, poput 6-311G(d,p) (ili označeni kao 6-311G**) koji je i korišćen u okviru ove disertacije. Pored osnovnih funkcija (6-311G), d i p u zagradi označavaju dodatne polarizacione funkcije koje opisuju prazne d orbitale na težim atomima i p orbitale na atomima vodonika.¹³⁴

Jedna od velikih prednosti DFT metode jeste i mogućnost računanja pobuđenih elektronskih stanja i predviđanje spektroskopskih osobina ispitivanog molekula računanjem UV-Vis spektara primenom vremenski zavisne DFT metode (*Time-Dependent Density Functional Theory*, TD-DFT). U okviru TD-DFT pristupa mogu se proučavati ekscitacije i priroda pobuđenih stanja.

Gaussian je najčešće korišćen programski paket sa DFT pristupom u kvantno-hemijskim proračunima. Nobelovu nagradu za hemiju 1998. godine dobili su idejni tvorci ovog programa, John Popl za "razvoj računarskih metoda" i Walter Kohn za razvoj teorije funkcionala gustine.

DFT pristup i *Gaussian*-ski izlazni fajlovi mogu se iskoristiti za dalji rad u drugim besplatno i komercijalno dostupnim programima. Multiwfn je jedan od moćnih besplatnih programa koji može da se koristi, između ostalog, za ispitivanje raspodele π -elektronske gustine osnovnog stanja na osnovu analize prirode hemijske veze u molekulu kao i detaljnog rasporeda elektronske gustine u pobuđenim stanjima.⁵⁴

Primenom TD-DFT pristupa može se odrediti ICT karakter pobuđenih stanja i kvantifikovati *push-pull* osobine jedinjenja na osnovu razlike u raspodeli izračunate elektronske gustine u osnovnom i ekscitovanom stanju (**Slika 13**).¹⁵⁵ Izračunavanjem molekulskih deskriptora intramolekulskog prenosa naelektrisanja, D_{CT} i Q_{CT} , može se utvrditi da li postoji proces prenosa naelektrisanja pri prelasku molekula iz osnovnog u neko elektronski pobuđeno stanje. Naime, primenom ove metode mogu se izračunati baricentri, odnosno mesta u molekulu gde dolazi do smanjenja i povećanja elektronske gustine prilikom pobuđivanja kao i rastojanje između ta dva baricentra (D_{CT}). Takođe, ovom metodom može se izračunati i količina prenetog naelektrisanja (Q_{CT}), izražena u elektronima, između dva baricentra.



Slika 13. Izračunate razlike elektronskih gustina u osnovnom i pobuđenom stanju u seriji *push-pull* molekula izvedenoj iz 1-amino-4-nitrobenzena (levo) i grafički prikaz D_{CT} (desno).¹⁵⁵

3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1. Materijali

Hemikalije korišćene u sintezi analitičkog stepena čistoće:

- Barbiturna kiselina, $\geq 98\%$, Fisher Chemical
- *p*-Dimetilaminobenzaldehid, $\geq 98\%$ (GC), Sigma Aldrich
- *p*-Hidroksibenzaldehid, $\geq 98\%$ (HPLC), Sigma Aldrich
- *p*-Metoksibenzaldehid, $\geq 98\%$ (GC), Sigma Aldrich
- *p*-Etoksibenzaldehid, 99%, Sigma Aldrich
- *p*-Metilbenzaldehyd, $\geq 97\%$ (GC), Sigma Aldrich
- *p*-Izopropilbenzaldehyd, 98%, ACROS Organics™
- Benzaldehid, $\geq 99\%$ (GC), Sigma Aldrich
- *p*-Fluorobenzaldehid, $\geq 98\%$ (GC), Sigma Aldrich
- *p*-Hlorobenzaldehid, $\geq 98\%$ (GC), Sigma Aldrich
- *p*-Bromobenzaldehid, $\geq 97\%$ (GC), Sigma Aldrich
- *p*-Cijanobenzaldehid, $\geq 98\%$ (GC), Sigma Aldrich
- *p*-Nitrobenzaldehyd, $\geq 98\%$ (GC), Sigma Aldrich
- Etanol, $> 99,5\%$, Merck

Rastvarači korišćeni za snimanje UV-Vis spektara spektroskopske čistoće:

- 2,2,2-Trifluoroetanol, $> 99,5\%$, Sigma Aldrich
- Etilen-glikol, $> 99,0\%$, Sigma Aldrich
- Metanol, $> 99,99\%$, Acros
- 2-Hloroetanol, $\geq 99\%$, Sigma Aldrich
- 1,2-Propandiol, $> 99,5\%$, Sigma Aldrich
- Dietilen-glikol, 99%, Sigma Aldrich
- Etanol, $> 99,5\%$, J. T. Baker
- 2-Propanol, $> 99,5\%$, Sigma Aldrich
- 2-Metil-1-propanol, $> 99,5\%$, Sigma Aldrich
- 1-Butanol, $> 99,5\%$, Fluka
- Dimetil-sulfoksid, $> 99,5\%$, Merck
- *N,N*-Dimetilacetamid, $\geq 99,5\%$, J. T. Baker
- Acetonitril, $\geq 99,9\%$, J. T. Baker
- *N,N*-Dimetilformamid, $> 99,9\%$, Riedel-de Haën
- *N*-Metil-2-pirolidinon, $> 99,9\%$, Sigma Aldrich
- Tetrahidrofuran, $> 99,9\%$, Sigma Aldrich
- Etil-acetat, $\geq 99,5\%$, ACROS Organics™
- 1,2-Dimetoksietan, $\geq 99,5\%$, Sigma Aldrich
- Anizol, 99%, ACROS Organics™
- Hloroform, $> 99,5\%$, Fluka
- Diizopropil-etar, $\geq 98\%$, Fluka

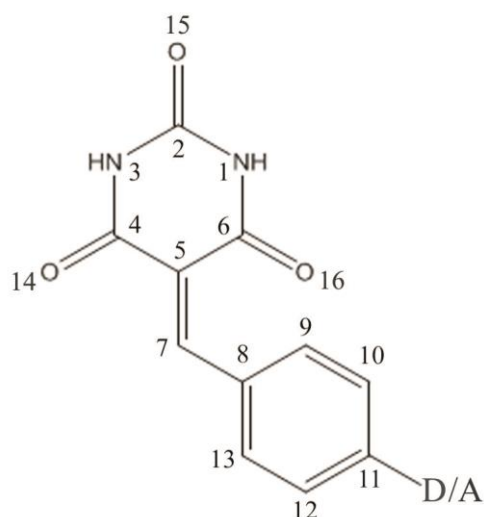
Rastvarači korišćeni u reverzno-faznoj hromatografiji na tankom sloju analitičkog stepena čistoće:

- Metanol, $\geq 99,8\%$, J. T. Baker, Deventer, Netherlands
- Etanol, $\geq 99,5\%$, J. T. Baker, Deventer, Netherlands
- 1-Propanol, $\geq 99\%$, J. T. Baker, Deventer, Netherlands
- Aceton, $\geq 99,8\%$, J. T. Baker, Deventer, Netherlands
- Tetrahidrofuran, $\geq 99,8\%$, J. T. Baker, Deventer, Netherlands
- Bidestilovana voda

3.2. Opšti postupak sinteze derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline

Derivati 5-benzilidenbarbiturne kiseline su sintetisani Knoevenagel-ovom kondenzacijom^{69,74} barbiturne kiseline sa odgovarajućim *para*-supstituisanim benzaldehidima prema postupcima iz literature (**Slika 5**). U balonu od 100 ml rastvori se 3 mmol barbiturne kiseline u 20 ml vruće destilovane vode, zatim se doda 10 ml 95% etanola. Nakon toga se lagano dodaje 3 mmol *p*-supstituisanog aromatičnog aldehida uz neprekidno mešanje pomoću magnetne mešalice. Reakciona smeša se meša u toku 30 minuta do 2 sata na sobnoj temperaturi u zavisnosti od prirode dodatog aromatičnog aldehida. Dobijeni talog se procedi na Büchner-ovom levku i suši. Proizvodi se prečišćavaju kristalizacijom iz hladnog 95% etanola.

Na osnovu elektron-akceptorskih osobina supstituenata, sintetisana jedinjenja se mogu grubo podeliti u četiri grupe: **grupa I** koja sadrži jedinjenja koja u svojoj strukturi imaju jake elektron-donore, odnosno supstituente sa jakim +R efektom i slabim -I efektom; zatim **grupa II** koja obuhvata jedinjenja koja u svojoj strukturi imaju slabe elektron-donorske supstituente (alkil grupe) sa slabim +R efektom i zanemarljivim induktivnim efektom; potom **grupa III**, odnosno halogena grupa jedinjenja koja sadrži u *para*- položaju benzenovog prstena slabe elektron-akceptorske supstituente sa jakim -I i slabo pozitivnim R i na kraju **grupa IV** koja obuhvata *para*-supstituisane derivate sa jakim elektron-akceptorima koji imaju -R i -I efekat (**Slika 14**). Radi poređenja, pored *para*-supstituisanih derivata dodata je i nesupstituisana 5-benzilidenbarbiturna kiselina (jedinjenje 7). Strukture sintetisanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline sa supstuentima u *para*- položaju benzenovog prstena i njihovim Hammett-ovim parametrima, σ_{p+} kao dobrim pokazateljima donorske/akceptorske sposobnosti supstituenata prikazane su na **Slici 14**.



Jedinjenje	D/A	σ_{p+}
Grupa I		
1	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂	-1,70
2	<i>p</i> -OH	-0,92
3	<i>p</i> -OCH ₃	-0,78
4	<i>p</i> -OCH ₂ CH ₃	-0,81
Grupa II		
5	<i>p</i> -CH ₃	-0,31
6	<i>p</i> -CH(CH ₃) ₂	-0,28
7	H	0,00
Grupa III		
8	<i>p</i> -F	-0,07
9	<i>p</i> -Cl	0,11
10	<i>p</i> -Br	0,15
Grupa IV		
11	<i>p</i> -CN	0,66
12	<i>p</i> -NO ₂	0,79

Slika 14. Strukture sintetisanih derivata 5-benzilidenbarbituricne kiseline sa označenim položajima atoma i vrednostima Hammett-ovih konstanti supstituenata, σ_{p+} .

3.3. Karakterizacija sintetisanih jedinjenja

Hemijska struktura i čistoća sintetisanih jedinjenja potvrđena je određivanjem temperature topljenja, ¹H NMR, ¹³C NMR i IR spektroskopijom i elementalnom analizom. Tačke topljenja su određene na Stuart SMP10 aparatu u cevčicama zatopljenim na jednom kraju, nisu korigovane i izražene su u stepenima Celzijusa. ¹H i ¹³C NMR spektri su snimani na sobnoj temperaturi u deuterisanom dimetil-sulfoksidu (DMSO-*d*₆) pomoću Varian 2000 spektrometra (200 MHz za ¹H i 50 MHz za ¹³C). Hemijska pomeranja (*chemical shifts*) odnosno položaji signala u ¹H i ¹³C NMR spektrima izraženi su u δ (ppm) jedinicama u odnosu na interni (unutrašnji) standard tetrametilsilan, TMS (δ_{H} , TMS = 0 ppm i δ_{C} , TMS = 0 ppm) ili u odnosu na rezidualne signale rastvarača DMSO-*d*₆ (δ_{H} = 2,5 ppm i δ_{C} = 39,5 ppm). IR spektri sintetisanih jedinjenja su snimani na spektrometru Perkin Elmer FTIR 1725X u obliku kalijum-bromidne pilule. Elementalna mikroanaliza ugljenika, vodonika i azota je izvršena na Elementar Vario EL III elementalnom analizatoru. UV-Vis spektri su snimljeni na spektrofotometru Shimadzu UV-1700 u 21 rastvaraču spektroskopske čistoće pri fiksnoj koncentraciji od $1 \cdot 10^{-5}$ mol/dm³.

5-(4-(Dimetilamino)benziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-trion (1)

Crvena čvrsta supstanca; Prinos 89%; t.t.: 270 °C; ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11,06 (s, 1H, NH), 10,92 (s, 1H, NH), 8,43-8,39 (d, 2H, ArH), 8,14 (1H, CH), 6,80-6,75 (d, 2H, ArH), 3,11 (s, 6H, CH₃N); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 165,03, 163,02, 155,80, 154,45, 150,63, 139,37, 120,26, 111,46, 109,75, 39,95, 39,86; IR (KBr, cm⁻¹): 3178, 3033, 2863, 1724, 1654, 1607, 1495, 1359, 1192, 828. Elementalna analiza za C₁₅H₁₅N₃O₃ (259,26); Izračunato (%): C, 60,22; H, 5,05; N, 16,21; Nađeno (%): C, 60,00; H, 4,94; N, 16,16.

5-(4-Hidroksibenziliden)pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-trion (2)

Žuta čvrsta supstanca; Prinos 99%; t.t. >300 °C; ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11,26 (s, 1H, NH), 11,12 (s, 1H, NH), 10,83 (s, 1H, OH), 8,34-8,30 (d, 2H, ArH), 8,21 (s, 1H, CH), 6,90-6,85 (d, 2H, ArH); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 164,49, 163,36, 162,65, 155,90, 150,58, 138,65, 124,13, 115,84, 114,49; IR (KBr, cm⁻¹): 3275, 3199, 2816, 1722, 1673, 1614, 1536, 1509, 1410, 1289, 834. Elementalna analiza za C₁₁H₈N₂O₄ (232,19); Izračunato (%): C, 56,90; H, 3,47; N, 12,06; Nađeno (%): C, 56,68; H, 3,31; N, 12,04.

5-(4-metoksibenziliden)pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-trion (3)

Žuta čvrsta supstanca; Prinos 89%; t.t.: 295-297 °C; ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11,31 (s, 1H, NH), 11,18 (s, 1H, NH), 8,38-8,34 (d, 2H, ArH), 8,24 (s, 1H, CH), 7,07-7,03 (d, 2H, ArH), 3,87 (s, 3H, OCH₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 164,23, 163,75, 162,48, 155,29, 150,52, 137,79, 125,43, 115,78, 114,23, 55,95; IR (KBr, cm⁻¹): 3203, 3066, 2840, 1730, 1671, 1600, 1549, 1508, 1438, 1270, 836. Elementalna analiza za C₁₂H₁₀N₂O₄ (246,22); Izračunato (%): C, 58,54; H, 4,09; N, 11,38; Nađeno (%): C, 58,29; H 3,88; N 11,41.

5-(4-etoksibenziliden)pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-trion (4)

Svetlo žuta čvrsta supstanca; Prinos 69%; t.t.: 294-296 °C; ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11,30 (s, 1H, NH), 11,17 (s, 1H, NH), 8,38-8,33 (d, 2H, ArH), 8,24 (s, 1H, CH), 7,06-7,01 (d, 2H, ArH), 4,17-4,14 (q, 2H, O-CH₂-), 1,39-1,32 (t, 3H, -CH₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 164,25, 163,12, 162,49, 155,31, 150,51, 137,87, 125,27, 115,64, 114,57, 64,02, 14,68; IR (KBr, cm⁻¹): 3185, 3035, 2864, 1730, 1663, 1599, 1522, 1502, 1451, 1266, 843. Elementalna analiza za C₁₃H₁₂N₂O₄ (260,25); Izračunato (%): C, 60,00; H, 4,65; N, 10,76; Nađeno (%): C, 59,65; H, 4,44; N, 10,71.

5-(4-metilbenziliden)pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-trion (5)

Bela kristalna supstanca; Prinos 56%; t.t.: 274-275 °C; ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11,36 (s, 1H, NH), 11,21 (s, 1H, NH), 8,24 (s, 1H, CH), 8,11-8,06 (d, 2H, ArH), 7,31-7,27 (d, 2H, ArH), 2,37 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 163,93, 162,11, 155,30, 150,53, 143,79, 134,27, 129,15, 118,12, 21,62; IR (KBr, cm⁻¹): 3207, 3086, 2851, 1750, 1702, 1668, 1575, 1509, 1442, 1220, 801. Elementalna analiza za C₁₂H₁₀N₂O₃ (230,22); Izračunato (%): C, 62,60; H, 4,38; N, 12,17; Nađeno (%): C, 62,35; H, 4,28; N, 12,25.

5-(4-izopropilbenziliden)pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-trion (6)

Svetlo žuta čvrsta supstanca; Prinos 70%; t.t.: 222-224 °C; ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11,38 (s, 1H, NH), 11,23 (s, 1H, NH), 8,26 (s, 1H, CH), 8,13-8,09 (d, 2H, ArH), 7,38-7,34 (d, 2H, ArH), 2,95 (m, 1H, -CH(CH₃)₂), 1,24-1,20 (d, 12H, -(CH₃)₂); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 163,93, 162,09, 155,26, 154,22, 150,53, 134,41, 130,53, 126,51, 118,19, 33,91, 23,64; IR (KBr, cm⁻¹): 3313, 3207, 3094, 2973, 2868, 1737, 1698, 1607, 1579, 1511, 1439, 1219, 792. Elementalna analiza za C₁₄H₁₄N₂O₃ (258,27); Izračunato (%): C, 65,11; H, 5,46; N, 10,85; Nađeno (%): C, 57,10; H, 4,96; N, 10,52.

5-benzilidenpirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-trion (7)

Bela kristalna supstanca; Prinos 47%; t.t.: 262-265 °C; ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11,40 (s, 1H, NH), 11,24 (s, 1H, NH), 8,28 (s, 1H, CH), 8,09-8,06 (d, *J*= Hz, 2H, ArH),

7,54-7,42 (t, 3H, ArH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 163,72, 161,90, 155,01, 150,53, 133,38, 132,95, 132,51, 128,34, 119,38$; IR (KBr, cm^{-1}): 3215, 3058, 2850, 1742, 1679, 1584, 1564, 1449, 1201, 803. Elementalna analiza za $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3$ (216,19); Izračunato (%): C, 61,11; H, 3,73; N, 12,96; Nađeno (%): C, 60,63; H, 3,80; N, 12,90.

5-(4-fluorobenziliden)pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-trion (8)

Bela čvrsta supstanca; Prinos 82%; t.t. > 300 °C; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 11,41$ (s, 1H, NH), 11,26 (s, 1H, NH), 8,26 (s, 1H, CH), 8,23-8,22 (m, 2H, ArH), 7,35-7,26 (m, 2H, ArH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 167,01, 163,72, 162,06, 153,78, 150,52, 136,77, 136,59, 129,56, 129,49, 118,98, 115,74, 115,30$; IR (KBr, cm^{-1}): 3204, 3087, 2853, 1750, 1700, 1671, 1565, 1506, 1442, 1300, 811. Elementalna analiza za $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{FN}_2\text{O}_3$ (234,18); Izračunato (%): C, 56,42; H, 3,01; N, 11,96; Nađeno (%): C, 56,18; H, 2,76; N, 11,92.

5-(4-hlorobenziliden)pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-trion (9)

Bela čvrsta supstanca; Prinos 82%; t.t.: 299-300 °C; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 11,43$ (s, 1H, NH), 11,27 (s, 1H, NH), 8,24 (s, 1H, CH), 8,09-8,05 (d, 2H, ArH), 7,54-7,50 (d, 2H, ArH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 163,55, 161,91, 153,32, 150,52, 137,04, 135,00, 131,87, 128,40, 119,97$; IR (KBr, cm^{-1}): 3211, 3084, 2849, 1754, 1703, 1675, 1574, 1443, 1289, 810. Elementalna analiza za $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{ClN}_2\text{O}_3$ (250,64); Izračunato (%): C, 52,71; H, 2,82; N, 11,18; Nađeno (%): C, 52,55; H, 2,66; N, 11,13.

5-(4-bromobenziliden)pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-trion (10)

Bela čvrsta supstanca; Prinos 74%; t.t.: 293-294 °C; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 11,43$ (s, 1H, NH), 11,28 (s, 1H, NH), 8,22 (s, 1H, CH), 8,00-7,96 (d, 2H, ArH), 7,69-7,64 (d, 2H, ArH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 163,53, 161,90, 153,39, 150,50, 135,00, 132,24, 131,34, 126,14, 120,07$; IR (KBr, cm^{-1}): 3207, 3088, 2854, 1753, 1701, 1672, 1572, 1441, 808. Elementalna analiza za $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{BrN}_2\text{O}_3$ (295,09); Izračunato (%): C, 44,77; H, 2,39; N, 9,49; Nađeno (%): C, 44,60; H, 2,17; N, 9,42.

5-(4-cijanobenziliden)pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-trion (11)

Bela čvrsta supstanca; Prinos 35%; t.t. > 300 °C; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 11,48$ (s, 1H, NH), 11,31 (s, 1H, NH), 8,29 (s, 1H, CH), 8,01-7,86 (m, 4H, ArH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 163,09, 161,52, 152,02, 150,53, 138,22, 132,23, 131,83, 122,16, 118,83, 112,96$; IR (KBr, cm^{-1}): 3218, 3058, 2846, 2233, 1745, 1696, 1579, 1444, 1201, 802. Elementalna analiza za $\text{C}_{12}\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_3$ (241,20); Izračunato (%): C, 59,75; H, 2,93; N, 17,42; Nađeno (%): C, 58,87; H, 2,75; N, 17,27.

5-(4-nitrobenziliden)pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-trion (12)

Bela čvrsta supstanca; Prinos 59%; t.t.: 283-286 °C; ^1H NMR (200 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 11,51$ (s, 1H, NH), 11,33 (s, 1H, NH), 8,32 (s, 1H, CH), 8,27-7,99 (m, 4H, ArH); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 162,99, 162,66, 151,45, 150,53, 148,33, 140,34, 132,55, 122,99, 122,64$; IR (KBr, cm^{-1}): 3194, 3089, 2965, 2857, 1741, 1692, 1645, 1515, 1344, 1323, 852. Elementalna analiza za $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_5$ (261,19); Izračunato (%): C, 50,58; H, 2,70; N, 16,09; Nađeno (%): C, 49,47; H, 4,36; N, 17,14.

3.4. Eksperimentalno određivanje pKa vrednosti derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline

Spektrofotometrijska određivanja pKa vrednosti su izvedena na Cintra 6 spektrofotometru (GBC Dandenong, Australia) sa kvarcnom kivetom debljine 1 cm u intervalu od 200-700 nm, koristeći fosfatni pufer kao slepu probu. Sva pH merenja izvršena su pomoću CRISON 50 29 kombinovane pH mikroelektrode (CRISON INSTRUMENTS, S.A. Spain). Elektroda je kalibrisana standardnim puferskim rastvorima (pH 4,01, 7,00 i 9,21). Korišćenjem MarvinSketch softvera¹⁵⁶ izvršena je predikcija pKa vrednosti svih tautomernih oblika jedinjenja **1**. Spektrofotometrijskom titracijom na temperaturi 25 ± 1 °C određene su konstante kiselosti *p*-dimetilamino derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline (**1**). 10 mmol/L osnovnom rastvoru jedinjenja **1** koji je pripremljen u DMSO dodat je 25 mmol/L rastvor fosfatnog pufera (Merck, pH 6,88) kako bi se napravilo 200 ml radnog rastvora koncentracije $5 \cdot 10^{-5}$ mol/L. Početna pH vrednost rastvora je podešena ispod 3 dodatkom koncentrovane fosforne kiseline. 2,5 mol/L KOH je dodavan u inkrementima dok se merena pH vrednost rastvora nije ustalila, a zatim su snimani UV-Vis apsorpcioni spektri pri svakoj promeni od oko 0,15 do 0,20 pH jedinica dok nije postignuta pH vrednost približno 13. Konstante kiselosti (K_{a1} , K_{a2} i K_{a3}) su izračunate iz potpunog (jednačina 7) ili transformisanog oblika (jednačina 8 i 9) klasične spektrofotometrijske jednačine¹⁵⁷:

$$\text{pH} = \text{p}K_{a2} - \log \frac{A - A_{\text{HA}^-}}{A_{\text{H}_2\text{A}} - A} \quad (7)$$

$$A = A_{\text{H}_3\text{A}^+} + \frac{A_{\text{H}_2\text{A}} - A}{[\text{H}_3\text{O}^+]} \times K_{a1} \quad (8)$$

$$A = A_{\text{A}^{2-}} + (A_{\text{HA}^-} - A) \times [\text{H}_3\text{O}^+] \times \frac{1}{K_{a3}} \quad (9)$$

Transformisani oblik jednačine se koristi kada nema primetne izobestične tačke za apsorpcione spektre kiselog ili baznog oblika (H_3A^+ i A^{2-}). Sva izračunavanja su izvedena iz apsorpcionih podataka na talasnoj dužini 250-260 nm s obzirom da se najveće promene kod pH-zavisnih UV-Vis spektara jedinjenja **1** dešavaju u ovom opsegu talasnih dužina.

3.5. Korelaciona analiza

Regresiona analiza UV-Vis spektralnih podataka i ¹³C NMR SCS vrednosti primenom LFER i LSER modela je izvršena korišćenjem softverskog paketa Microsoft Excel i intervala pouzdanosti od 95%. Statistička značajnost primenjenih modela procenjena je na osnovu vrednosti koeficijenta korelacije (*r*), standardne devijacije (*sd*), Fišerovog testa (*F*) i *t*-testa (*t*). Sve zavisno promenljive varijable koje su korišćene u korelacionim analizama su auto-skalirane između 0 i 1.

3.6. Reverzno-fazna tankoslojna hromatografija

Za hromatografska ispitivanja primenjena je tehnika reverzno-fazne hromatografije na tankom sloju (RP TLC). Kao nosači stacionarnih faza korišćene su komercijalno dostupne ploče RP-18W/UV254 (Macherey-Nagel GmbH and Co., Duren, Nemačka), u prisustvu

dvokomponentne smeše vode i organskog rastvarača - metanola, *n*-propanola, acetona i tetrahidrofurana analitičkog stepena čistoće. Pri razvijanju hromatograma zapreminski udeli organskih rastvarača varirali su u opsegu $\varphi_{(\text{modifikator})} = 0,36-0,52$, v/v; u inkrementima od 0,04. Rastvori svih ispitivanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline koncentracije 2 mg/ml pripremani su u etanolu p.a. čistoće. Oko 0,2 μl sveže pripremljenog rastvora svakog jedinjenja nanošeno je na komercijalne hromatografske ploče. Razvijanje hromatograma vršeno je jednodimenzionalnom uzlaznom tehnikom na sobnoj temperaturi (25 °C) u hromatografskoj kadi ispunjenoj smešom dva odabrana rastvarača određenog zapreminskog udela u kojoj atmosfera prethodno nije bila zasićena parama rastvarača. Posle razvijanja, hromatografske ploče su sušene na sobnoj temperaturi, zatim su ispitivani derivati 5-benzilidenbarbiturne kiseline detektovani pomoću UV lampe (na 254 nm talasne dužine). Za svako ispitivano jedinjenje razvijena su po tri hromatograma u svim primenjenim organskim modifikatorima u mobilnoj fazi i izračunate su srednje vrednosti dobijenih retencionih parametara, R_f . Dobijene R_f vrednosti su korišćene za izračunavanje retencionog parametra R_M primenom Bate-Smith-ove i Westall-ove jednačine¹⁰⁹ (1). Linearna zavisnost R_M vrednosti i udela primenjenog organskog modifikatora u mobilnoj fazi (φ) prikazana je Soczewinski-Wachtmeister-ovom jednačinom¹¹⁰ (2).

Na osnovu dobijenih eksperimentalnih podataka hromatografski parametri, R_M^0 i m , izračunati su korišćenjem Origin 6.1 softverskog paketa. Vrednosti podeonog koeficijenta, $\log P$, odabranih farmakokinetičkih i toksikoloških parametara dobijene su primenom Molinspiration, SimulationPlus i PreADMET programskih paketa.¹³⁸⁻¹⁴⁰ Kvalitet dobijenih statističkih modela poboljšan je tehnikom unakrsne provere (*Leave-One-Out Cross-Validation*, LOOCV). Ova analiza je izvršena primenom NCSS softverskog paketa.¹⁴¹ Razvijeni modeli su validirani izračunavanjem statističkih parametara kao što su predviđena rezidualna suma kvadrata (*Predicted Residual Error Sum Squares*, PRESS) i predviđeni i unakrsno validirani koeficijenti korelacije (r_{adj}^2 i r_{cv}^2). Zavisnost hromatografskih parametara i teorijski dobijenih parametara ispitana je primenom multivarijantnih metoda - klusterskom analizom (*Cluster Analysis*, CA) i analizom glavnih komponenata (*Principal Component Analysis*, PCA) primenom računskog programa Statistica v13 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).^{31,142-145}

3.7. Kvantno-hemijski proračuni

Potpuna optimizacija geometrije ispitivanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline izvedena je korišćenjem Møller-Plesset-ove perturbacione teorije drugog reda (MP2 metode)¹⁴⁶ i 6-311G(d,p) bazis seta. UV-Vis apsorpcione energije ekscitacije svih ispitivanih jedinjenja izračunate su pomoću vremenski zavisne DFT metode (TD-DFT) primenom B3LYP funkcionala gde se kao funkcional izmene koristi Becke-ov troparametarski funkcional (B3)¹⁴⁷ a kao korelacioni funkcional Lee-Yang-Parr-ov funkcional (LYP)¹⁴⁸ i 6-311G(d,p) bazis set. TD-DFT proračuni su rađeni na MP2/6-311G(d,p) optimizovanim geometrijama svih ispitivanih jedinjenja u acetonitrilu, primenom implicitnog solvacionog modela PCM (*Polarizable Continuum Model*) za simulaciju uticaja rastvarača. Karakter intramolekulskog prenosa naelektrisanja (ICT) procenjen je izračunavanjem D_{CT} i Q_{CT} indeksa, na osnovu razlike u raspodeli izračunate elektronske gustine između osnovnog i pobuđenog stanja.¹⁵⁵ CT indeksi su izračunati u acetonitrilu (rastvarač simuliran PCM modelom) primenom metode koju su predložili Jacquemin i saradnici.⁵² Svi teorijski proračuni u ovom radu izvršeni su korišćenjem kvantno-hemijskog programa *Gaussian09*.¹⁴⁹ Mayer-ova analiza prirode hemijske veze (*Mayer π bond order analysis*)¹⁵⁰, "hole-electron" analiza, konceptualizacija DFT deskriptora globalne

reaktivnosti i analiza interfragmentskog prenosa naelektrisanja (*Interfragment Charge Transfer*, IFCT)¹⁵¹ izvršene su na talasnim funkcijama dobijenim DFT metodom korišćenjem Multiwfn 3.6 softverskog paketa.⁵⁴ Primenom DFT metode izračunati su globalni deskriptori reaktivnosti za sva ispitivana jedinjenja, koji su korišćeni za predviđanje reaktivnosti i stabilnosti ispitivanih molekula. Globalni molekulski deskriptori kao što su elektronski hemijski potencijal, elektronegativnost, hemijska tvrdoća, elektrofilnost i nukleofilnost procenjeni su iz HOMO i LUMO energija primenom odgovarajućih jednačina (10-14).¹⁵²⁻¹⁶⁰ Energije HOMO i LUMO orbitala izračunate su korišćenjem B3LYP/6-311G(d,p) metode.

Elektronski hemijski potencijal

$$\mu = \frac{\varepsilon_H + \varepsilon_L}{2} \quad (10)$$

gde ε_H označava energiju najviše popunjene molekulske orbitale HOMO i ε_L označava energiju najniže nepopunjene molekulske orbitale LUMO.

Elektronegativnost

$$\chi = -\mu \quad (11)$$

Hemijska tvrdoća

$$\eta = \varepsilon_L - \varepsilon_H \quad (12)$$

Globalna elektrofilnost

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (13)$$

Nukleofilni indeks

$$N = \varepsilon_H - \varepsilon_{H(TCE)} \quad (14)$$

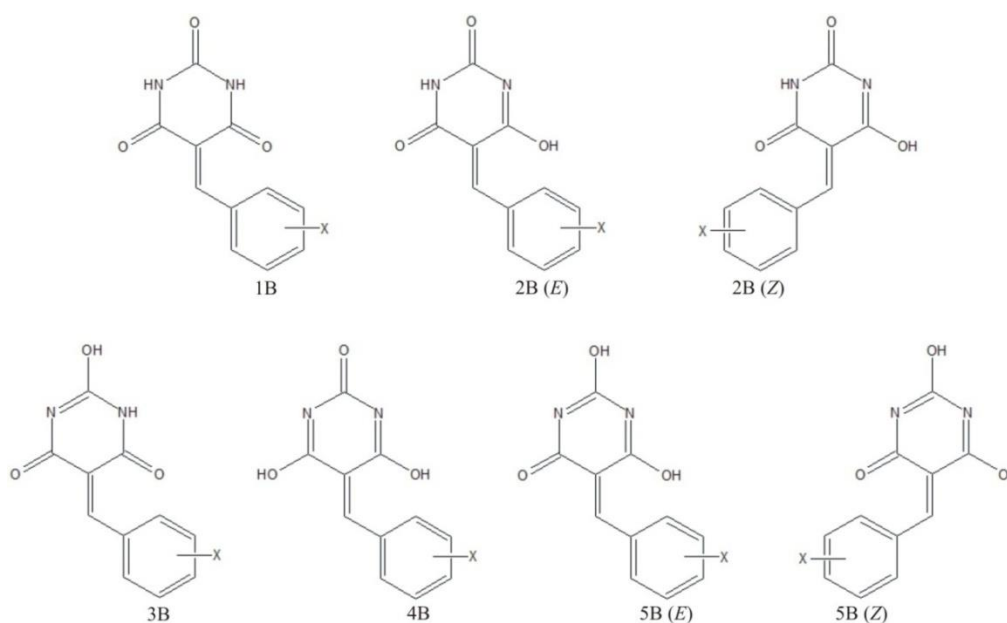
gde $\varepsilon_{H(TCE)}$ označava energiju najviše popunjene molekulske orbitale HOMO tetracijanoetilena (TCE).

4. NAŠI RADOVI

4.1. Izomerizacija derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline

4.1.1. Eksperimentalno proučavanje ^1H i ^{13}C NMR spektara

Derivati 5-benzilidenbarbiturne kiseline sadrže barbiturnu kiselinu kao strukturni motiv koji omogućava postojanje nekoliko izomernih/tautomernih formi u rastvoru (**Slika 15**). ^1H NMR spektri ispitivanih jedinjenja **1-12** jasno ukazuju da je u tautomernoj ravnoteži u rastvoru DMSO dominantan triketo tautomer, što se može potvrditi postojanjem dva -NH signala na $\sim 11,3$ ppm koji se odnose na N-H protone triketo oblika barbiturne kiseline i odsustvom signala enolskih O-H protona. Takođe, u ^{13}C NMR spektrima se može uočiti postojanje tri različita signala koji potiču od karbonilnih grupa triketo tautomera barbiturne kiseline u opsezima, 165-163 ppm, 162,7-161,5 ppm i 150,6-150,5 ppm u DMSO- d_6 . Dobijeni eksperimentalni rezultati iz NMR studije u skladu su sa rezultatima prethodnih studija koje su ispitivale izomerizaciju barbiturne kiseline^{65,161,162}, kao i sa pronađenim kristalnim strukturama benzilidenbarbiturne kiseline^{163,164} u Kembričkoj banci strukturnih podataka (*Cambridge Structural Database, CSD*).¹⁶⁵

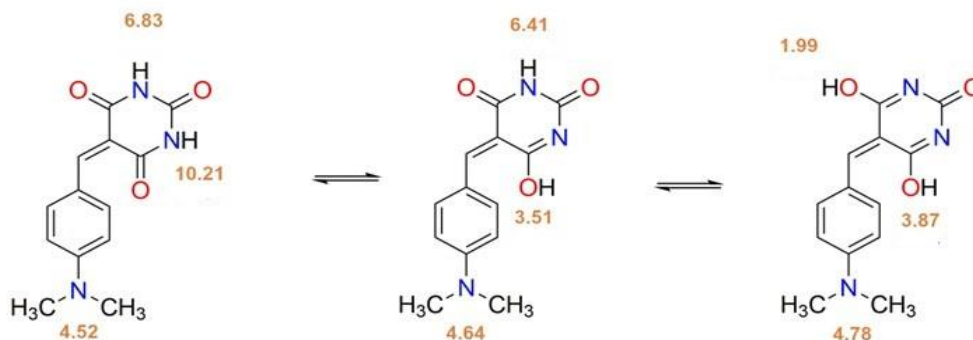


Slika 15. Strukture tautomernih oblika derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline; *E* i *Z* izomeri.

4.1.2. Spektrofotometrijsko određivanje pK_a vrednosti derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline

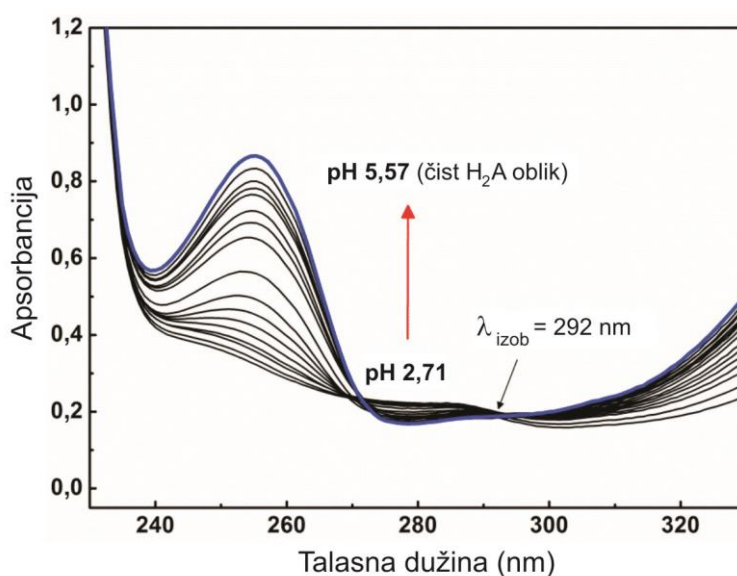
Da bismo utvrdili tautomerno ponašanje derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline odredili smo pK_a vrednosti *p*-dimetilamino derivata (**1**) koji u *para*- položaju benzenovog prstena sadrži supstituent sa najizraženijim elektron-donorskim osobinama u ispitivanoj seriji. S obzirom da u keto-enolnoj tautomeriji zastupljenost pojedinog oblika zavisi od pH sredine

očekuje se da makroskopske vrednosti pK_a zavise od tautomernog oblika ispitivanog jedinjenja. pK_a vrednosti mogućih tautomernih oblika derivata **1** dobijene na osnovu predviđanja pomoću MarvinSketch softvera (ChemAxon, Budapest, Hungary) prikazane su na **Slici 16**.

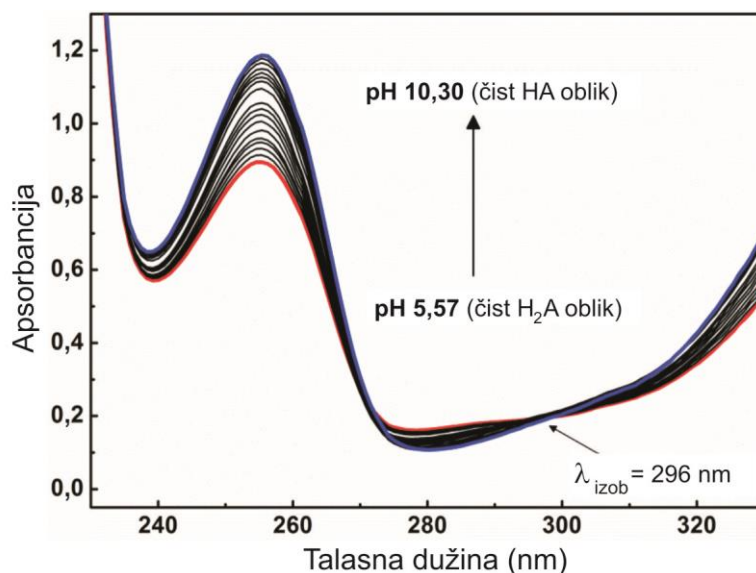


Slika 16. Tautomerna ravnoteža i predviđene jonizacione konstante za jedinjenje **1**. pK_a vrednosti su predviđene programom MarvinSketch.

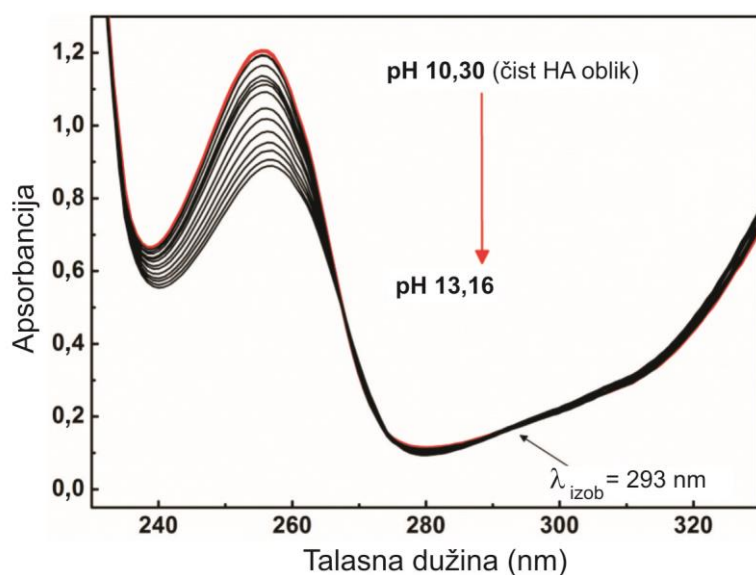
Promene u jonizaciji određenih funkcionalnih grupa u jedinjenju **1** praćene su spektrofotometrijskim merenjem promene apsorbance na 255 nm (**Slika 17, 18, 19**). U ispitivanoj pH oblasti, jonizacijom jedinjenja **1** u rastvoru mogu nastati tri ravnotežna oblika, dva koja potiču iz barbiturne kiseline i jedan iz protonovane *N,N*-dimetilamino grupe na nižim pH vrednostima. Deprotonovanjem protonovanog N atoma *N,N*-dimetilamino grupe povećava se elektronska gustina na benzenovom prstenu što se u snimljenom spektru odražava kao povećanje apsorpcionog maksimuma na 255 nm (**Slika 17**). Kao što se sa **Slike 18** može videti, kada se jonizacioni centri nalaze na barbiturnoj kiselini, daljim povećanjem pH rastvora nastavlja se isti trend povećanja intenziteta apsorpcije. Pri pH vrednostima većim od 10,3 dolazi do smanjenja apsorpcionog maksimuma na 255 nm deprotonovanog oblika trećeg jonizacionog centra jedinjenja **1** (**Slika 19**).



Slika 17. UV-Vis spektar jedinjenja **1** na različitim pH korišćen za određivanje K_{a1} . Na slici je obeležen apsorpcioni spektar čistog H_2A oblika (puna plava linija) i izobestična tačka (λ_{izob}).

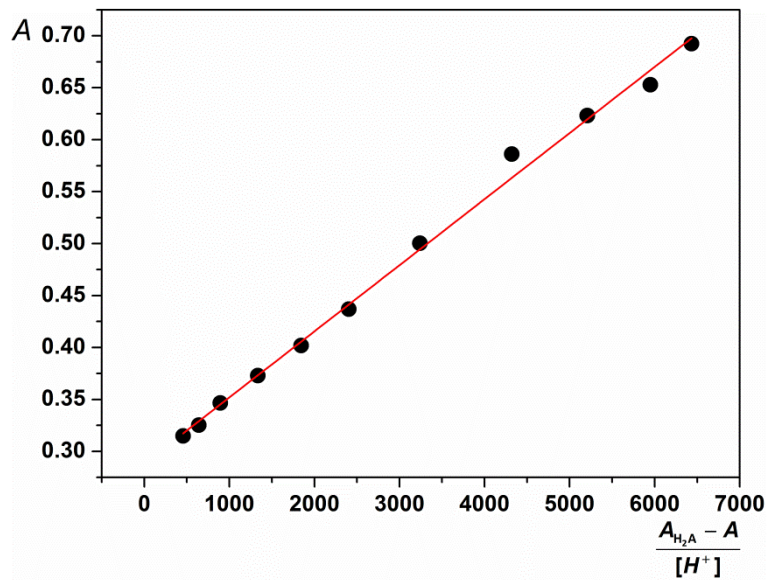


Slika 18. UV-Vis spektar jedinjenja **1** na različitim pH korišćen za određivanje K_{a2} . Na slici je obeležen apsorpcioni spektar čistih H_2A i HA^- oblika (puna crvena i plava linija) i izobestična tačka (λ_{izob}).

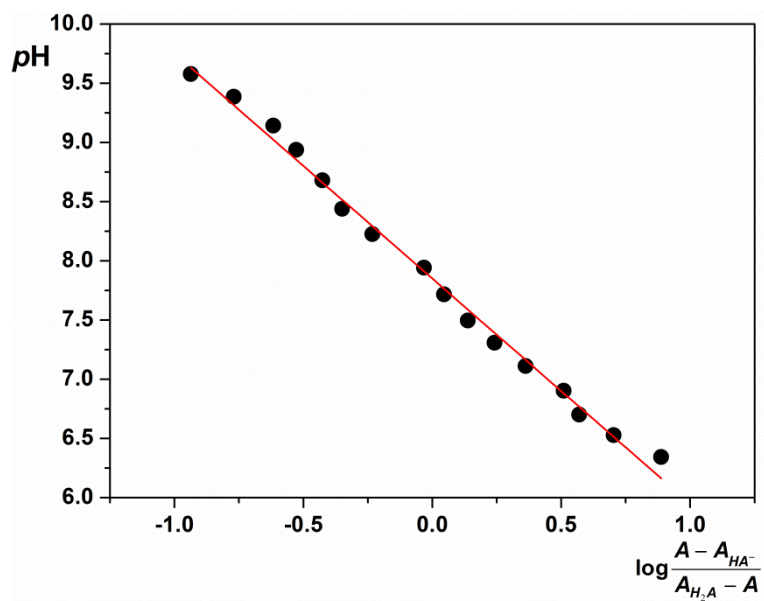


Slika 19. UV-Vis spektar jedinjenja **1** na različitim pH korišćen za određivanje K_{a5} . Na slici je obeležen apsorpcioni spektar čistog HA^- oblika (puna crvena linija) i izobestična tačka (λ_{izob}).

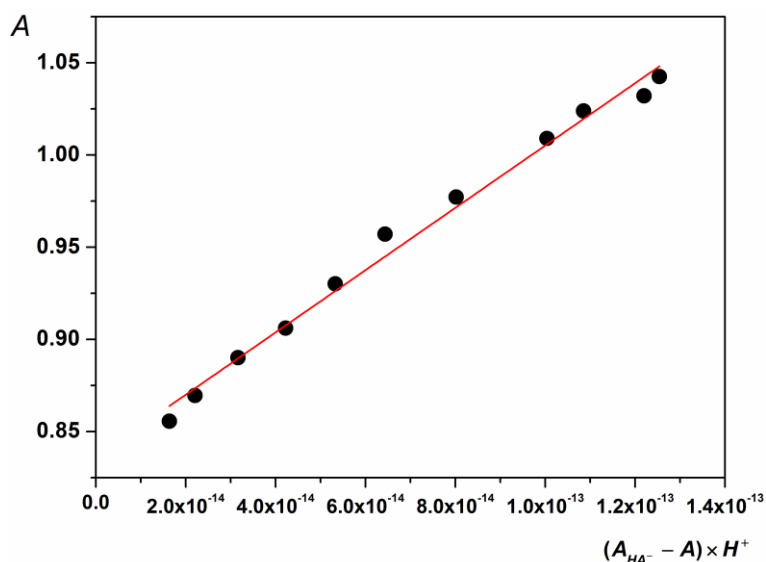
Apsorpcioni spektri čistog H_2A i HA^- oblika detektovani su u određenom opsegu pH pri čemu nije primećeno da dolazi do promene položaja apsorpcionog maksimuma sa povećanjem pH vrednosti rastvora. Konstante jonizacije jedinjenja **1**, kao i apsorbancije H_3A^+ i A^{2-} oblika dobijene su primenom linearne regresione analize spektralnih podataka prema jednačinama (7-9) (**Slika 20-22**).



Slika 20. Linearizacija spektralnih podataka korišćenih za dobijanje pK_{a1} jedinjenja 1 prema jednačini 8; $\lambda_{det} = 255,4$ nm; nagib = $K_{a1} = 6,29(\pm 0,16) \cdot 10^{-5}$, odsečak = $A_{H_3A^+} = 0,330 \pm 0,006$.



Slika 21. Linearizacija spektralnih podataka korišćenih za dobijanje pK_{a2} jedinjenja 1 prema jednačini 7; ; $\lambda_{det} = 255,4$ nm; nagib = -1 ; odečak = $pK_{a2} = 7,88 \pm 0,12$.



Slika 22. Linearizacija spektralnih podataka korišćenih za dobijanje pK_{a3} jedinjenja **1** prema jednačini 9; $\lambda_{det} = 255,4$ nm; nagib = $1/K_{a3} = 1,86(\pm 0,03) \cdot 10^{12}$,
odsečak = $A_{\lambda}^2 = 0,851 \pm 0,002$.

Eksperimentalno određene pK_a vrednosti jedinjenja **1** prikazane su u **Tabeli 7**. Predviđene pK_a vrednosti za tri tautomerna oblika (**Slika 16**) i eksperimentalno dobijene visoke vrednosti za pK_{a3} ($12,27 \pm 0,02$) ukazuju da je triketo oblik jedinjenja **1** dominantni tautomerni oblik u rastvoru. Na osnovu dobijenih rezultata razumno je pretpostaviti da je i kod ostalih članova kongenerne serije u vodenom rastvoru dominantan triketo oblik.

Tabela 7. Pregled eksperimentalno određenih pK_a vrednosti za jedinjenje **1**.

	Jedinjenje 1	Jonizacioni centar
pK_{a1}	$4,20 \pm 0,02$	<i>N,N</i> -dimetilamino grupa
pK_{a2}	$7,88 \pm 0,12$	Barbiturna kiselina - amidna (NH)
pK_{a3}	$12,27 \pm 0,02$	Barbiturna kiselina - amidna (NH)

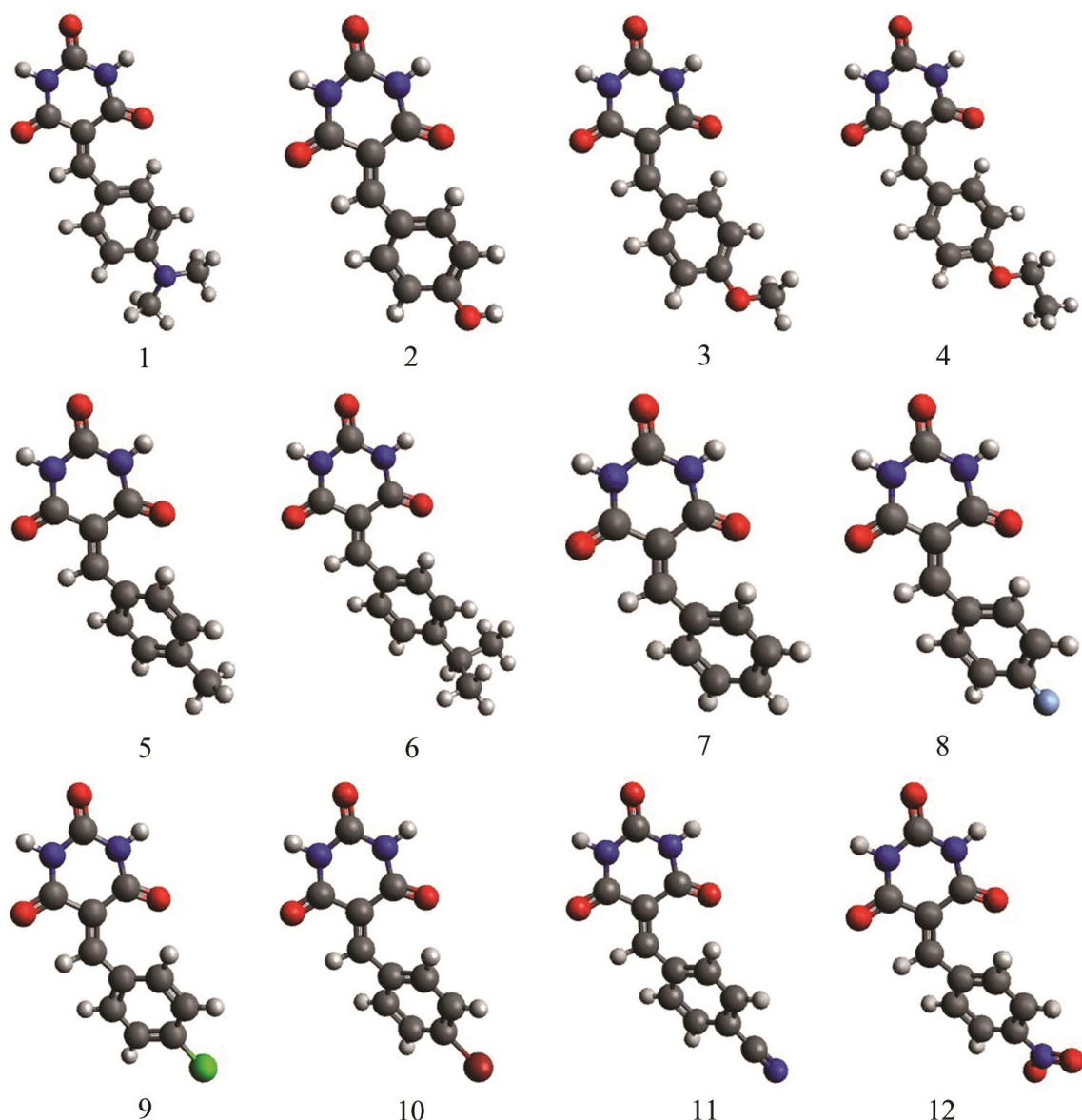
4.1.3. Kvantno-hemijsko proučavanje

Pored eksperimentalnog proučavanja dominantnog tautomernog oblika, relativna stabilnost tautomera proučavana je kvantno-hemijskim izračunavanjima. Geometrije svih tautomera derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline (**1-12**) optimizovane su u gasnoj fazi korišćenjem MP2/6-311G(d,p) metode i određena je njihova relativna stabilnost. Relativne energije svih tautomera ispitivanih jedinjenja **1-12** u odnosu na najstabilniji tautomer (1B, **Slika 15**) izražene u kcal/mol date su u **Tabeli 8**. Na osnovu **Table 8** može se uočiti da kvantno-hemijski proračuni potvrđuju da je triketo tautomerni oblik ispitivanih jedinjenja (izomer 1B) najstabilniji. Diketo (2B (*E*), 2B (*Z*) i 3B) i monoketo (4B, 5B (*E*) i 5B (*Z*)) tautomeri su za 15,4-20,6 kcal/mol i 32,5-35,8 kcal/mol nestabilniji od triketo tautomernog oblika. Optimizovane strukture najstabilnijeg izomera derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline dobijene iz *ab initio* proračuna prikazane su na **Slici 23**.

Tabela 8. Izračunate energije optimizovanih struktura svih izomera derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline izražene u kcal/mol.

Jedinjenje	Energija izomera	Energija izomera	Energija izomera	Energija izomera 2B*		Energija izomera 5B*	
	1B	3B*	4B*	E	Z	E	Z
1	0,0	19,9	33,7	16,2	15,4	34,9	33,4
2	0,0	19,8	33,0	16,0	15,7	34,7	33,8
3	0,0	20,6	32,9	16,0	15,4	34,8	33,3
4	0,0	19,7	33,8	16,9	15,4	35,8	33,3
5	0,0	19,6	32,5	15,6	15,5	34,4	33,6
6	0,0	19,6	32,5	15,6	15,5	34,4	33,6
7	0,0	19,6	32,5	15,5	15,5	34,3	34,2
8	0,0	19,5	32,8	15,8	15,5	34,5	33,6
9	0,0	19,5	32,7	15,7	15,5	34,5	33,6
10	0,0	19,5	32,7	15,7	15,5	34,5	33,6
11	0,0	19,3	32,8	15,8	15,6	34,6	34,2
12	0,0	19,4	32,9	15,8	15,6	34,6	34,3

* Energije izomera predstavljene u odnosu na najstabilniji izomer 1B.



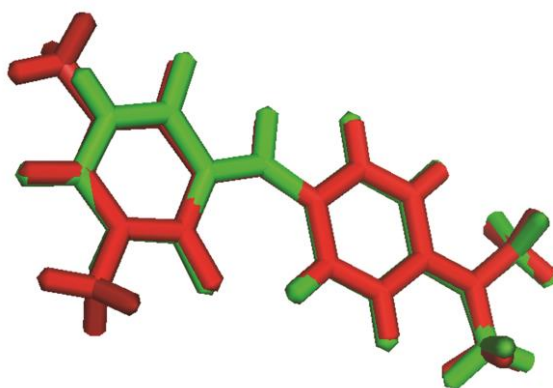
Slika 23. Optimizovane geometrije jedinjenja 1-12.

4.2. Geometrijska optimizacija derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline

Prethodne *ab initio* teorijske studije koje su ispitivale molekulsku strukturu i odgovarajuće torzione uglove stirena otkrile su da je geometrija stirena uglavnom određena π - π interakcijama vinilne i fenilne grupe i sternim interakcijama.¹⁶⁶ Poznato je da geometriju molekula sa nezasićenom vinilnom grupom vezanom za aromatični prsten određuju dva efekta koja deluju u suprotnim smerovima: delokalizacija π -elektrona (stabilizuje planarnu konformaciju) i sterno odbijanje između *orto*-protona i supstituenta na benzenovom prstenu i protona i supstituenta iz vinilne grupe (stabilizuje savijenu konformaciju). U slučaju stirena kao najmanjeg molekula u ispitivanoj seriji, eksperimentalnom metodom gasne elektronske difrakcije određeno je da je najstabilnija savijena geometrija sa diedralnim uglom između ravni

benzena i vinilne grupe od 28° .¹⁶⁶ Precenjivanje π -konjugacije u DFT proračunima dovodi do predviđanja planarne strukture molekula u globanom energetskom minimumu.¹⁶⁷ Tačnije, pokazano je da popularne DFT metode imaju tendenciju da precenjuju π -delokalizaciju i predviđaju planarnu strukturu stirena kao najstabilniju. Druge teorijske studije koje su proučavale ovaj sistem^{168,169}, takođe su pokazale da se rezultati proračuna rađeni metodom teorije funkcionala gustine ne slažu sa rezultatima proračuna MP2 metodom. Na osnovu dobijenih rezultata, zaključeno je da konvencionalnija MP2 teorija predviđa mnogo veće vrednosti torzionih uglova, uvijeni stiren (sa vrlo malom rotacionom barijerom za planarnu strukturu) i prilično dobro slaganje sa eksperimentalnim rezultatima.¹⁷⁰ Zbog svega navedenog, geometrije svih ispitivanih jedinjenja u potpunosti su optimizovane minimizacijom energije pomoću MP2 metode i J. Pople-ovog 6-311G(d,p) bazis seta. Priroda minimuma potvrđena je naknadnim izračunavanjem frekvencije i nisu dobijene negativne vrednosti frekvenci. Pokazali smo da ova metoda daje rezultate koji su u skladu sa eksperimentalnim podacima.^{171,172} Rezultati ovih proračuna prikazani su na **Slici 23** i sumirani u **Tabeli 9**.

Optimizovane geometrije ispitivanih derivata imaju neplanarnu konformaciju što je u saglasnosti sa geometrijom kristalnih struktura triketo tautomera derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline pronađenih u Kembričkoj banci kristalografskih podataka (CSD) (**Slika 24**).¹⁶⁵



Slika 24. Preklopljena kristalna struktura 5-(4-(Dimetilamino)benziliden)-1,3-dimetilpirimidin 2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (CSD Refcode: FOMJEX¹⁶⁴, označena crvenom bojom) sa MP2/6-311G(d,p) optimizovanom strukturom jedinjenja **1** (označena zelenom bojom).

Vrednosti diedralnog ugla, definisanog kao ugao između ravni koja sadrži benzenov prsten i ostatak barbiturne kiseline prikazane su u **Tabeli 9**. Velika vrednost ugla θ u nesupstituisanom jedinjenju **7** ($42,4^\circ$) ukazuje na jako sterno odbijanje između karbonilne grupe barbiturne kiseline i *orto*-vodonika iz benzenovog prstena i nizak stepen π -delokalizacije između dva π -sistema. S obzirom da uvođenje supstituenata u *para*- položaj benzenovog prstena ne dovodi do dodatnih odbijanja kao posledice sternih interakcija u molekulu, promene diedralnog ugla u ispitivanim jedinjenjima mogu biti dobar pokazatelj uticaja elektronskih efekata supstituenata na π -elektronsku delokalizaciju. Geometrija jedinjenja **1** bliska je planarnoj ($\theta=4,4^\circ$) što ukazuje na jaku π -delokalizaciju u benzilidenskom delu molekula. Ostala jedinjenja iz *grupe I* takođe imaju znatno niže vrednosti diedralnog ugla θ (oko 20°) od vrednosti ugla θ za nesupstituisano jedinjenje **7**, s tim što je odstupanje od planarnosti veće nego kod jedinjenja **1**. Sa druge strane, jedinjenja iz *grupe IV* imaju veće vrednosti diedralnog

ugla θ ($\sim 45^\circ$) u odnosu na nesupstituisano jedinjenje **7** ($42,4^\circ$) zbog jakog negativnog rezonancionog efekta elektron-akceptorskih supstituenata ($-\text{NO}_2$ i $-\text{CN}$) u *para*- položaju benzenovog prstena.

Tabela 9. Izračunate vrednosti diedralnih uglova u jedinjenjima **1-12** (izražene u stepenima) na MP2 nivou teorije.

Jedinjenje	Diedralni ugao, θ ($^\circ$)
1	4,4
2	19,6
3	20,7
4	20,0
5	39,1
6	39,0
7	42,4
8	38,3
9	39,6
10	40,2
11	44,8
12	44,4

4.2.1. Korelacije diedralnih uglova sa Hammett-ovim i Swain-Lupton-ovim konstantama supstituenata

U cilju razdvajanja uticaja elektronskih efekata supstituenata (induktivni/efekat polja i rezonancioni efekat) na vrednosti diedralnog ugla, θ u ispitivanim jedinjenjima **1-12** primenjena je regresiona analiza dvoparametarskog (DSP) Swain-Lupton-ovog modela (jednačina 15). Rezultati regresione analize pokazuju da postoji statistički značajna korelacija ($r = 0,98$). Dobijena mala vrednost konstante f ($-0,02$) ukazuje da je doprinos induktivnog/efekta polja veoma mali i neće uticati na vrednosti diedralnog ugla θ . Sa druge strane, velika i pozitivna vrednost dobijena za koeficijent korelacije r ($+1,59$) pokazuje da će rezonancioni efekat supstituenata biti dominantan efekat koji utiče na planarnu geometriju molekula. Elektron-donorski supstituenti (*grupa I*), svojim jakim pozitivnim rezonancionim efektom ($+R$) utiču na povećanu delokalizaciju elektrona između benzenovog prstena i dvostruke veze (u položaju C7=C8) benzilidenskog fragmenta što dovodi do planarne strukture i nižih vrednosti diedralnog ugla. Suprotno tome, kada su u jedinjenjima prisutni supstituenti sa negativnim rezonancionim efektom ($-R$) (*grupa IV*) dolazi do manjeg stepena delokalizacije π -elektrona između benzenovog prstena i dvostruke veze i povećanja diedralnog ugla u odnosu na nesupstituisano jedinjenje **7**.

$$\theta = -0,02(\pm 0,30)F + 1,59(\pm 0,10)R + 0,90(\pm 0,13) \quad (15)$$

$$(r = 0,98, sd = 0,20, F = 127,34, n = 11)$$

Rezultati regresione analize ispitivanih jedinjenja dobijene proširenom dvoparametarskom Hammett-ovom jednačinom (16) pokazuju isti trend kao rezultati dobijeni primenom Swain-Lupton-ovog modela.

$$\theta = -0,02(\pm 0,38)\sigma_I + 2,44(\pm 0,23)\sigma_{R+} + 0,82(\pm 0,17) \quad (16)$$

$$(r = 0,97, sd = 0,28, F = 65,34, n = 11)$$

4.3. LFER analiza eksperimentalno dobijenih NMR podataka i Mayer-ova analiza prirode hemijske veze

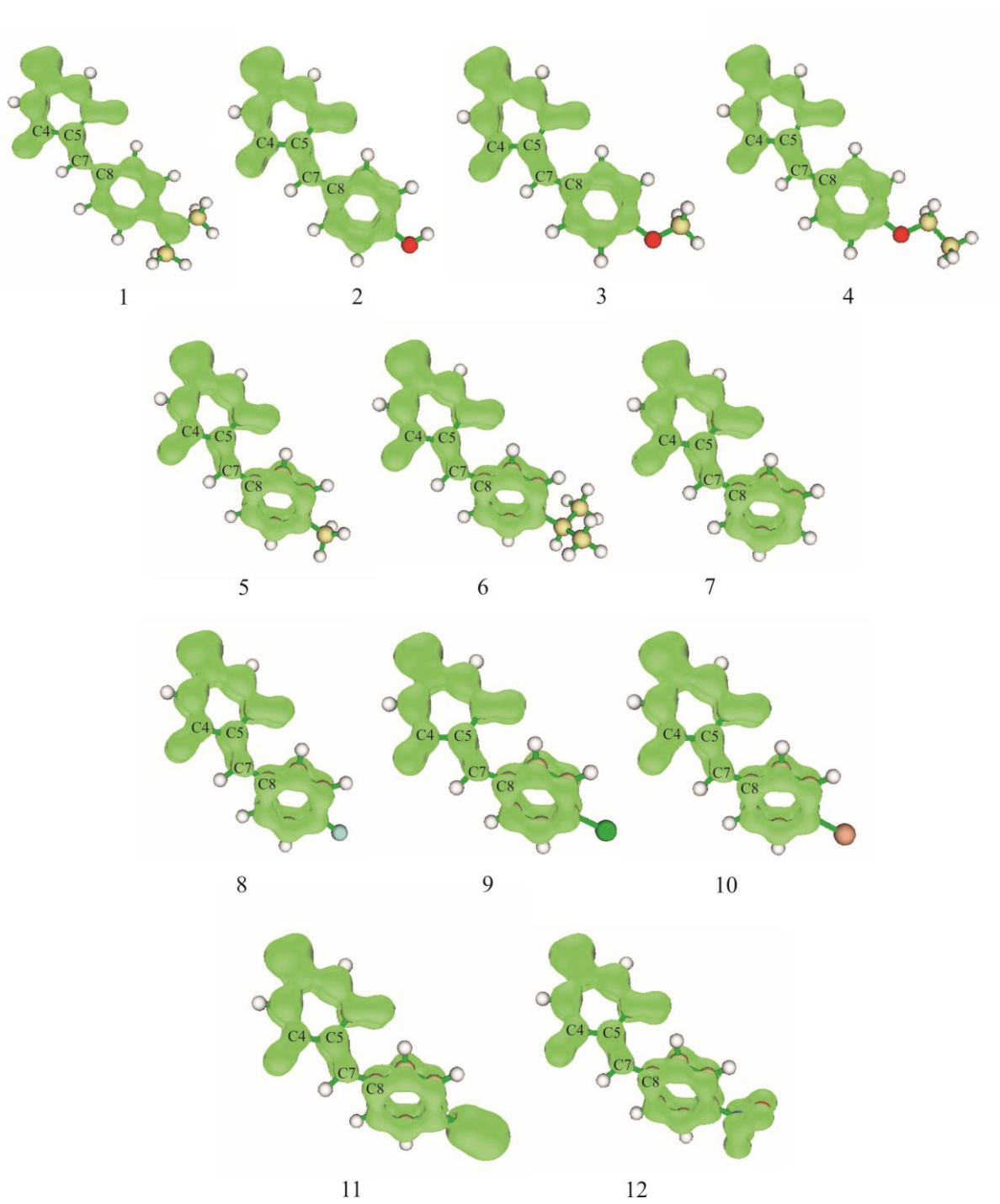
Da bi se analizirao prenos elektronskih efekata supstituenata kroz π -konjugovani sistem ispitivanih jedinjenja, ^{13}C NMR hemijski pomeraji su korelisani sa odgovarajućim parametrima supstituenata koji se koriste u jednoparametarskoj Hammett-ovoj i dvoparametarskoj proširenoj Hammett-ovoj i Swain-Lupton-ovoj jednačini (**Tabela 6**). Eksperimentalno dobijeni ^1H i ^{13}C NMR spektralni podaci jasno ukazuju da su hemijski pomeraji za jedinjenja **1-6** i **8-12** osetljivi na elektron-donorske i elektron-akceptorske karakteristike supstituenata u benzilidenskom delu molekula. Vrednosti supstituentom indukovanih hemijskih pomeraja (*Substituent Induced Chemical Shift, SCS*) različito supstituisanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline dati su u **Tabeli 10** kao razlika između hemijskog pomeraja nesupstituisanog jedinjenja **7** i odgovarajućeg supstituisanog derivata. Iz **Tabele 10** uočavamo veliku osetljivost ^{13}C NMR hemijskih pomeraja ugljenikovih atoma benzenovog prstena na lokalno okruženje.¹⁷⁵

Tabela 10. Razlika između ^{13}C NMR hemijskog pomeraja ($\Delta\delta$, date u ppm) nesupstituisanog jedinjenja (**7**) i odgovarajućeg jedinjenja **1-6** i **8-12**.

Supstituent	C2	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11
N(CH₃)₂	0,1	1,1	-7,9	1,3	0,8	-13,1	6,9	-23,2	26,1
OH	0,1	1,5	-3,5	0,8	0,9	-9,3	6,1	-18,5	34,3
OCH₃	0,0	1,8	-3,6	0,5	0,3	-7,9	5,3	-18,7	34,1
OCH₂CH₃	0,0	1,2	-3,7	0,5	0,3	-8,1	5,4	-18,4	34,2
CH(CH₃)₂	0,0	0,2	-1,2	0,2	0,3	-2,8	1,9	-6,4	25,9
CH₃	0,0	0,2	-1,3	0,2	0,3	-3,3	1,8	-3,8	15,5
H	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
F	0,0	0,2	-0,4	0,0	-1,2	-3,8	4,3	-17,7	38,7
Cl	0,0	0,0	0,6	-0,2	-1,7	-1,5	2,5	-4,5	8,7
Br	0,0	0,0	0,7	-0,2	-1,6	-1,0	2,5	-1,6	-2,2
CN	0,0	-0,4	2,8	-0,6	-3,0	4,8	-0,3	-1,1	-15,4
NO₂	0,0	0,8	3,3	-0,7	-3,6	7,0	0,0	-10,0	20,0

Supstituenti iz *grupe I-III* svojim pozitivnim rezonancionim efektom povećavaju π -elektronsku gustinu u okolini C8 i C10 atoma (prosečne SCS vrednosti od -7,4 ppm i -14,8 ppm) i smanjuju π -elektronsku gustinu u okolini C9 atoma (prosečne SCS vrednosti oko +4,6 ppm). U slučaju supstituenata sa negativnim rezonancionim efektom (jedinjenja iz *grupe IV*) dolazi do smanjenja π -elektronske gustine u okolini C8 pri čemu vrednosti hemijskih pomeraja rastu ("*downfield*" vrsta pomeraja, odnosno prema nižem magnetnom polju) i iznose 4,8 ppm za jedinjenje **11** i 7 ppm za jedinjenje **12**. Elektron-akceptorski supstituenti ne utiču na hemijski pomeraj C9 atoma, dok je kod jedinjenja **12** primećeno da se hemijski pomeraj C10 atoma pomera ka višem magnetom polju (manja δ vrednost). Takođe, iz **Tabele 10** može se primetiti mnogo značajniji uticaj supstituenata na SCS vrednosti C7 i C5 atoma ili često navođeni u literaturi kao C $_{\alpha}$ i C $_{\beta}$ atomi.^{170,171,174,175} Supstituenti iz *grupa I i II* gotovo ne utiču na položaje signala u NMR spektrima koji potiču od C7 atoma, dok supstituenti iz *grupa III i IV* povećavaju elektronsku gustinu na C7 atomu izazivajući "*upfield*" vrstu pomeraja. Suprotno tome, kod jedinjenja iz *grupa I i II* vrednosti hemijskih pomeraja pripisani C5 atomu rastu izazivajući jake "*upfield*" pomeraje (-7,9 ppm u slučaju supstituenta sa najizraženijim elektron-donorskim svojstvima u seriji) i smanjuju se u slučaju jedinjenja iz *grupa III i IV* izazivajući "*downfield*" pomeraje (veće δ vrednosti).

Da bismo detaljnije objasnili uticaje elektronskih efekata supstituenata, istraživali smo raspodelu π -elektronske gustine osnovnog stanja jedinjenja **1-12**. Raspodela elektronske gustine osnovnog stanja prikazana je na **Slici 25**. Dobijeni rezultati Mayer-ove analize prirode hemijske veze sumirani su u **Tabeli 11**.

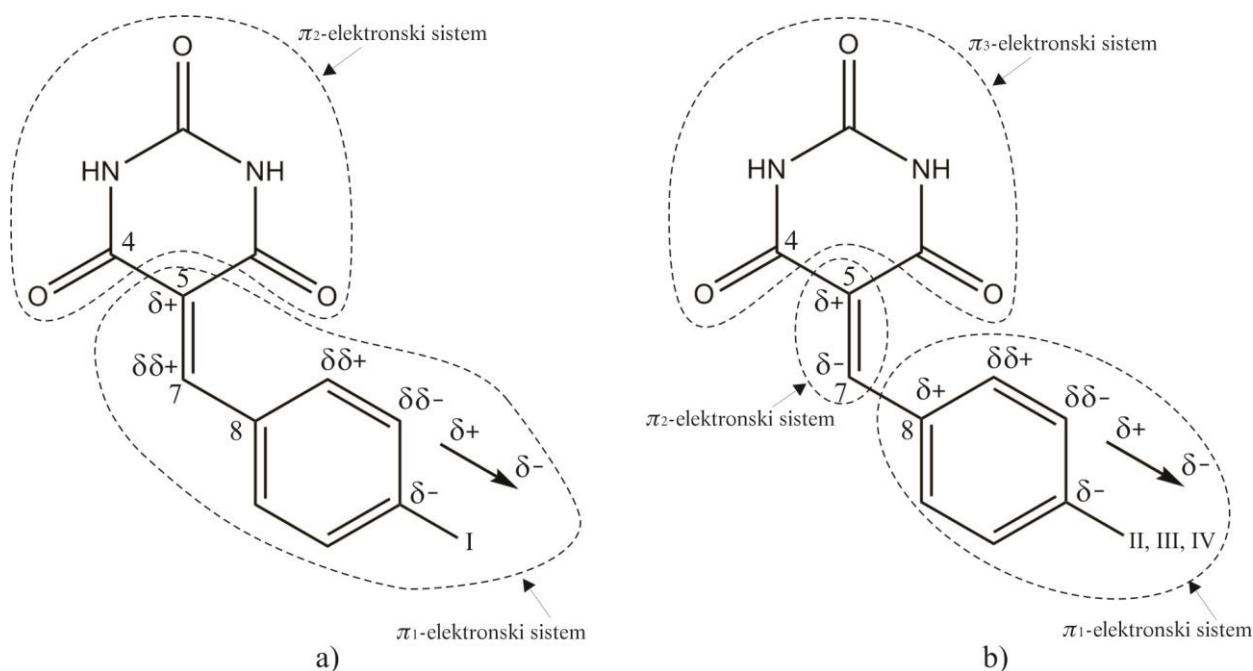


Slika 25. Prikaz raspodele π -elektronske gustine jedinjenja 1-12, grafički predstavljene isopovršinama od 0,027 a.u. elektronske gustine.

Tabela 11. Prikaz rezultata Mayer-ove analize prirode hemijske veze za jedinjenja 1-12.

Hemijska veza	Mayer-ov indeks veze											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
C4-C5	0,130	0,118	0,118	0,118	0,109	0,109	0,105	0,107	0,105	0,104	0,097	0,096
C5-C7	0,545	0,597	0,597	0,596	0,649	0,650	0,669	0,656	0,667	0,669	0,700	0,704
C7-C8	0,254	0,209	0,209	0,210	0,158	0,158	0,140	0,154	0,145	0,143	0,113	0,110

Kao što se iz **Tabele 11** može videti, sa povećanjem elektron-akceptorske sposobnosti supstituenta π -karakter veze između C7 i C8 atoma se smanjuje (od 0,254 do 0,110), a između C5 i C7 atoma se povećava (od 0,545 do 0,704). Ovo je u skladu sa teorijskim proračunima koji pokazuju da povećanjem elektron-akceptorske sposobnosti supstituenata na benzenovom prstenu dolazi do većeg odstupanja od planarne geometrije ispitivanih jedinjenja, odnosno smanjenjem π -karaktera (Mayer-ovog indeksa veze) C7-C8 veze dolazi do povećanja ugla između dve ravni. To praktično znači da povećanjem elektron-akceptorske sposobnosti supstituenata na benzenovom prstenu ima za posledicu smanjenu delokalizaciju π -elektrona u molekulu. U jedinjenjima iz *grupe I* (posebno u jedinjenju **1**) postoji značajna količina π -elektronske delokalizacije između benzenovog prstena i egzociklične dvostruke veze C5-C7 (**Slika 25**). Opisana delokalizacija dovodi do postojanja rezonantne strukture sa povećanom elektronskom gustinom oko C5 atoma a kao posledica toga javlja se jako "*upfield*" pomeranje u NMR spektrima, odnosno izraženo pomeranje NMR signala C5 atoma ka nižim ppm vrednostima. Sa druge strane, rezultati Mayer-ove analize ukazuju da u jedinjenjima iz *grupe IV* dolazi do manjeg stepena π -elektronske delokalizacije između benzenovog prstena i egzociklične dvostruke veze C5-C7 (50% manji Mayer-ov vezivni indeks u odnosu na jedinjenja iz *grupe I*, **Tabela 11**) tako da rezonancijski efekat ima mali uticaj na hemijski pomeraj C5 atoma. Snažni pomeraji ka nižem magnetnom polju (*downfield shift*) za C5 atom i pomeraji ka višem magnetnom polju (*upfield shift*) za C7 atom mogu se pripisati lokalizovanoj π -polarizaciji između dva π -sistema (**Slika 26**). Na isti način, slabi pomeraji ka nižem magnetnom polju za C7 atome u jedinjenjima iz *grupe I* mogu se objasniti postojanjem proširene π -polarizacije u π_1 -sistemu ovih jedinjenja (**Slika 26**).



Slika 26. Jedinjenja iz *grupe I* sa doprinosom lokalizovane π -polarizacije (a) i jedinjenja iz *grupe II-IV* sa doprinosom proširene π -polarizacije (b).

Takođe, rezultati Mayer-ove analize prirode hemijske veze ukazuju da postoji vrlo mali stepen delokalizacije π -elektrona između barbiturne kiseline i ostatka molekula što se ogleda u smanjenju vrednosti Mayer-ovog indeksa veze počev od *grupe I* do *grupe IV* (sa 0,130 u jedinjenju **1** na 0,096 u jedinjenju **12**, **Tabela 11**). Na osnovu eksperimentalno dobijenih ^{13}C SCS podataka i rezultata Mayer-ove analize prirode hemijske veze koji pokazuju jaku delokalizaciju π -elektrona između benzenovog prstena i vinilne grupe u jedinjenjima iz *grupe I* smatramo da će ova jedinjenja imati dva π -sistema (π_1 i π_2 , **Slika 26a**). U skladu sa prethodno pomenutim rezultatima, jedinjenja koja obuhvataju *grupe II-IV* imaće tri π -sistema (π_1 , π_2 i π_3 , **Slika 26b**). Navedene zaključke potvrđuju i male vrednosti SCS za C4 (osim jedinjenja iz *grupe I* koja imaju hemijski pomerač veći od 1 ppm) i zanemarljiv SCS za C2 (**Tabela 10**).

Da bi se dalje analizirao efekat supstituenata na ^{13}C NMR hemijska pomeranja relevantnih atoma ugljenika (C5, C7 i C8) usled njihove osetljivosti na raspodelu elektronske gustine korišćeni su dvoparametarski modeli Hammett-ovog i Swain-Lupton-ovog tipa. Rezultati korelacije dobijeni primenom regresionih LFER modela i literaturnih konstanti supstituenata (σ_p , σ_p^+ , σ_b , σ_{R+} , F i $R+$) dati su u **Tabeli 12-14**.

Bolja korelacija ^{13}C SCS vrednosti za C5 i C8 atome sa σ_p^+ elektrofilnim konstantama supstituenata (**Tabela 12**) ukazuje na značajan doprinos proširene rezonantne interakcije u ukupnom elektronskom efektu koji se prenosi kroz π -jedinice. Normalni efekat supstituenata ($\rho > 1$) je takođe primećen za atom C5 i C8. Sa druge strane, negativan predznak za ρ vrednosti i bolji rezultati korelacije za C7 atom sa σ_p elektrofilnim konstantama supstituenata ukazuju na reversni efekat supstituenata.

Primenom DSP modela (**Tabela 13 i 14**) dobijeni pozitivni korelacioni koeficijenti za C8 i C5 atom i $\lambda > 1$ (rezonancioni efekat preovladava nad induktivnim/efektom polja) odražavaju normalne elektronske efekte supstituenata dok negativne vrednosti korelacionih koeficijenata ρ_b , ρ_R , f , i r za C7 atom i $\lambda < 1$ ukazuju na suprotan efekat. Dobijeni rezultati potvrđuju postojanje različitog mehanizma prenosa elektronskih efekata supstituenata koji

uključuje lokalizovanu i proširenu π -polarizaciju koja je praćena proširenom π -rezonantnom interakcijom što rezultira promenom geometrije ispitivanih jedinjenja.

Tabela 12. Rezultati korelacija ^{13}C SCS vrednosti sa Hammett-ovim konstantama supstituenata σ_p i σ_p^+ .

Atom		ρ	h	r	sd	t	F
C5	σ_p	2,18±0,19	0,01±0,08	0,97	0,27	11,72	137,38
	σ_p^+	1,42±0,03	0,37±0,02	1,00	0,08	42,71	1824,16
C7	σ_p	-2,12±0,24	-0,01±0,10	0,94	0,36	-8,69	75,59
	σ_p^+	-1,24±0,22	-0,33±0,16	0,87	0,51	-5,64	31,80
C8	σ_p	2,16±0,21	0,01±0,09	0,96	0,31	10,37	107,60
	σ_p^+	1,39±0,09	0,37±0,07	0,98	0,22	14,64	214,44

$$t_{kr(\alpha=0,05, v=9)}=2,26; F_{kr(\alpha=0,05, v=1, v=9)}=4,96.$$

Tabela 13. Rezultati korelacija ^{13}C SCS vrednosti sa σ_I i σ_{R+} .

Atom	ρ_I	ρ_R	r	sd	$^I t$	$^R t$	$^d F$	ρ_R/ρ_I
C5	1,17±0,14	2,19±0,09	1,00	0,11	8,07	25,47	479,42	1,87
C7	-2,75±0,54	-1,23±0,32	0,93	0,40	-5,12	-3,83	30,44	0,45
C8	0,83±0,36	2,23±0,22	0,97	0,27	-2,27	10,34	71,93	2,69

$$^{I,R}t_{kr(\alpha=0,05, v=9)}=2,26; ^dF_{kr(\alpha=0,05, v=2, v=9)}=4,31.$$

Tabela 14. Rezultati korelacija ^{13}C SCS vrednosti sa F i R+.

Atom	f	r	r	sd	$^f t$	$^r t$	$^d F$	$\lambda(r/f)$
C5	1,36±0,12	1,43±0,04	1,00	0,08	11,47	35,25	845,19	1,05
C7	-3,12±0,45	-0,89±0,15	0,96	0,31	-6,89	-5,73	53,70	0,29
C8	1,10±0,33	1,44±0,11	0,98	0,22	3,34	12,88	106,36	1,31

$$^{f,r}t_{kr(\alpha=0,05, v=9)}=2,26; ^dF_{kr(\alpha=0,05, v=2, v=9)}=4,31.$$

4.3.1. Razlika ^{13}C NMR hemijskih pomeranja, $\Delta\delta$, kao mera *push-pull* karaktera molekula

Važna svojstva *push-pull* molekula povezana su sa razlikom ^{13}C NMR hemijskih pomeranja ($\Delta\delta_{\text{C=C}}$) dva sp^2 ugljenikova atoma koja grade egzocikličnu dvostruku vezu.¹⁷⁶ Indikatori *push-pull* efekta su visoke vrednosti $\Delta\delta_{\text{C=C}}$ i povećanje dužine C=C veze. U slučaju da je rezonancijski efekat dominantan u ukupnom elektronskom efektu supstituenata visoke vrednosti $\Delta\delta_{\text{C5=C7}}$ predstavljaju pouzdan parametar za kvantifikaciju *push-pull* efekta. Kao što se može videti u **Tabeli 15**, najveća vrednost $\Delta\delta_{\text{C5=C7}}$ (44,34 ppm) za jedinjenje **1** sa najjačim elektron-donorskim supstituentom na benzenovom prstenu ukazuje na visok stepen rezonancije. Suprotno tome, elektron-akceptorske grupe prouzrokuju smanjenje razlike hemijskih pomeranja $\Delta\delta_{\text{C5=C7}}$ i niži stepen π -elektronske delokalizacije što potvrđuje vrednost

$\Delta\delta_{C5=C7}$ za jedinjenje **12** (28,81 ppm). Na osnovu prethodno izloženog može se zaključiti da je jedinjenje **1** najbolji kandidat za *push-pull* sistem i dalje proučavanje i razotkrivanje procesa intramolekulskog prenosa naelektrisanja (ICT).

Table 15. ^{13}C NMR hemijska pomeranja atoma C5 i C7 (δ , ppm) i njihova razlika ($\Delta\delta_{C5=C7}$).

Jedinjenje	δ_{C5}	δ_{C7}	$\Delta\delta_{C5=C7}$
1	111,46	152,02	44,34
2	115,84	151,45	40,06
3	115,78	152,02	39,51
4	115,64	151,45	39,67
5	118,19	152,02	37,07
6	118,12	151,45	37,18
7	119,38	152,02	35,63
8	118,98	151,45	34,80
9	119,97	152,02	33,35
10	120,07	151,45	33,32
11	122,16	152,02	29,86
12	122,64	151,45	28,81

4.4. Apsorpcioni spektri derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline u rastvaračima različite polarnosti

Poznato je da položaj apsorpcionih maksimuma zavisi od hemijskih i fizičkih svojstava određenog rastvarača kao rezultat odgovarajućeg elektronskog prelaza koji direktno zavisi od hromofore i vrste elektronskog prelaza. Solvatohromizam je pojam koji se koristi za opisivanje promena položaja apsorpcionih traka u UV-Vis spektrima u zavisnosti od dipolarnosti/polarizabilnosti i prenosa protona ili elektrona između rastvorene supstance i rastvarača, omogućavajući procenu osnovnih svojstava molekula.¹¹⁵ Generalno, planarnost molekula i veličina delokalizovanog π -elektronskog sistema imaju dominantan uticaj na oblik i položaj apsorpcionih maksimuma u UV-Vis spektrima određenih molekula. Pozitivan solvatohromizam, odnosno batohromni (crveni) pomak se pojavljuje u slučaju povećane planarnosti molekula što olakšava delokalizaciju π -elektrona.

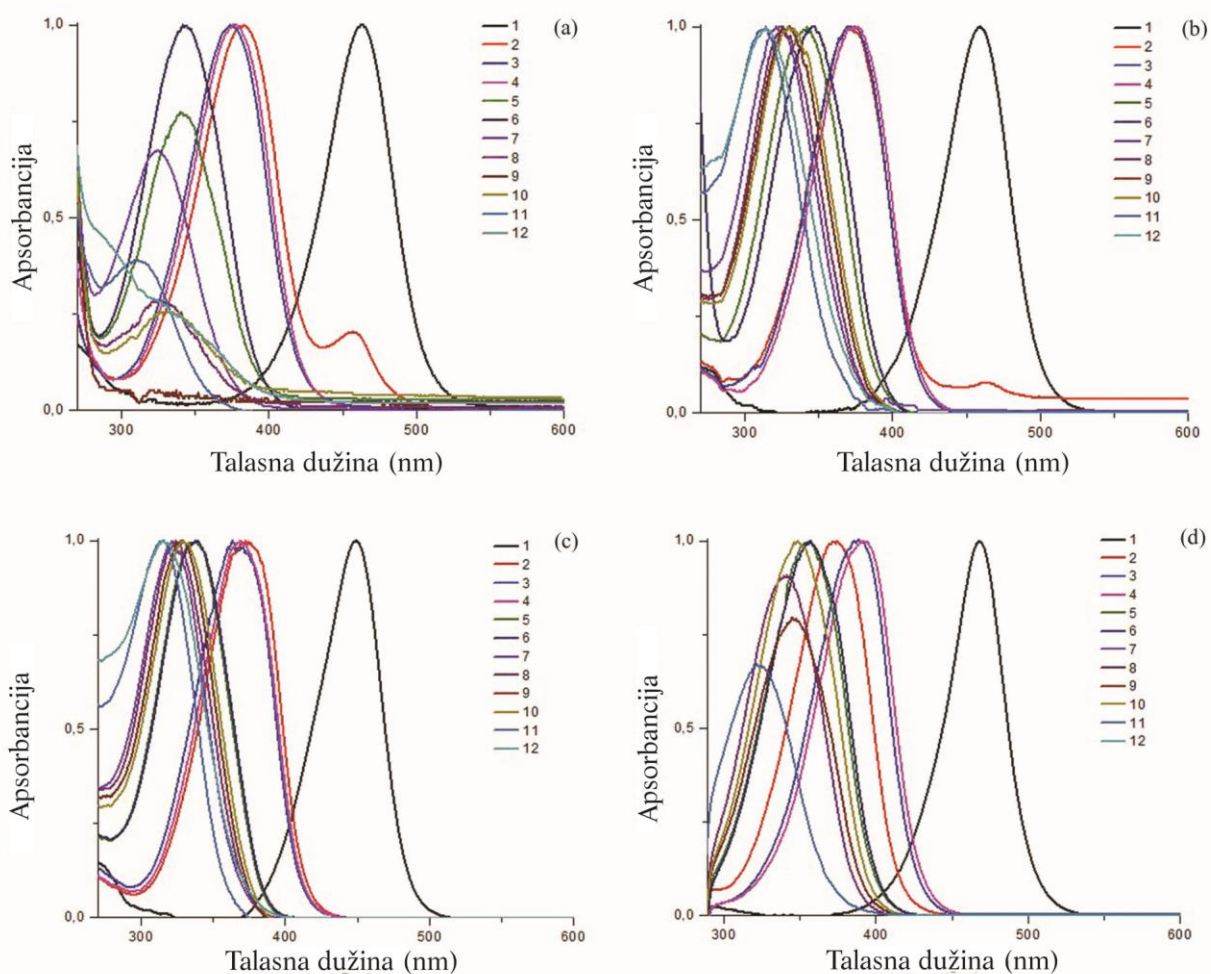
Kako bi se ispitaio solvatohromizam, apsorpcioni spektri derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline snimljeni su u 21 organskom rastvaraču različite polarnosti, proton-donorskih (HBD) i proton-akceptorskih (HBA) osobina, u opsegu talasnih dužina od 200 do 800 nm. Spektri ispitivanih jedinjenja se sastoje iz dva apsorpciona maksimuma u opsegu od 230-480 nm, prvi koji je pomeren ka većim talasnim dužinama (nižoj energiji) u oblasti 310-480 nm i drugi koji je pomeren ka manjim talasnim dužinama (višoj energiji) u oblasti 230-260 nm. S obzirom da određeni rastvarači apsorbuju zračenje u opsegu talasne dužine (230-260 nm) koja odgovara drugom apsorpcionom maksimumu (tzv. "cut-off" rastvarača), za dalju analizu spektara uzet je u obzir samo prvi apsorpcioni maksimum. **Tabela 16** sadrži apsorpcione frekvence za prvi apsorpcioni maksimum jedinjenja **1-12** u svim ispitivanim rastvaračima. Deo snimljenih UV-Vis spektara (290-600 nm) koji sadrže prvi apsorpcioni maksimum svih ispitivanih jedinjenja u metanolu, acetonitrilu, tetrahidrofuranu i hloroformu prikazan je na **Slici 27**.

Rezultati jasno ukazuju da UV-Vis apsorpcione frekvence, ν_{\max} , mnogo više zavise od prirode supstituenata u *para*- položaju benzenovog prstena nego od prirode rastvarača. Generalno, vrednosti apsorpcione frekvence, ν_{\max} , pokazuju da supstituenti u *para*- položaju benzenovog prstena derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline iz *grupe I-III* izazivaju batohromni ili crveni pomeraj u odnosu na nesupstituisano jedinjenje **7** u svim ispitivanim rastvaračima. Derivati iz *grupe IV* su hipsokromno pomereni (plavi pomeraj) u odnosu na nesupstituisano jedinjenje **7**. Različito ponašanje ispitivanih jedinjenja može se objasniti jakim negativnim rezonancionim elektron-akceptorskim karakterom cijano i nitro grupe za razliku od pozitivnog rezonancionog efekta supstituenata prisutnih u jedinjenjima iz drugih grupa. Supstituenti iz *grupe I* sa jakim rezonancionim (elektron-donorskim) efektom, +R indukuju najveći batohromni pomeraj. Crveni pomeraj je najizraženiji u jedinjenju **1**, s obzirom da se u *para*- položaju benzenovog prstena nalazi $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ grupa koja predstavlja najjači rezonantni elektron-donor (+R) među razmatranim supstituentima u seriji (**Tabela 16**). Supstituenti u jedinjenjima iz *grupe II* i *III* izazivaju blago batohromno pomeranje svojim slabijim pozitivnim rezonancionim efektom (+R), ali je kod jedinjenja iz *grupe III* zabeleženo najmanje batohromno pomeranje zbog izraženog negativnog induktivnog efekta njihovih supstituenata. Uticaj negativnog induktivnog efekta (-I) na položaj apsorpcionih traka najvidljiviji je kod jedinjenja iz *grupe III*, tačnije jedinjenje **10** je batohromnije pomeren u odnosu na jedinjenja **8** i **9** jer supstituent -Br ima slabiji negativni induktivni efekat od -F i -Cl. Jasno se može izvesti zaključak da supstituent -F (jedinjenje **8**) svojim najjačim negativnim induktivnim efektom izaziva manji batohromni pomeraj od jedinjenja **9** i **10**.

Tabela 16. Apsorpcione frekvence ispitivanih jedinjenja 1-12 u odabranim rastvaračima.

Rastvarač ^a / Jedinjenje	$\nu_{\max} \times 10^{-3} (\text{cm}^{-1})$											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2,2,2-Trifluoroetanol (TFE)	20,75	24,91	23,98	24,07	28,01	27,51	27,93	28,37	27,59	26,63	30,96	29,73
Etilen-glikol (EG)	20,94	25,64	26,08	25,84	28,61	27,55	31,25	29,90	29,54	29,46	31,17	31,23
Metanol (MeOH)	21,62	26,11	26,77	26,49	29,41	29,28	30,82	30,58	30,26	29,50	32,15	28,87
2-Hloroetanol	20,94	25,48	25,58	25,45	28,05	27,93	30,12	29,72	29,37	29,41	31,70	31,77
1,2-Propandiol (1,2-PDO)	21,14	24,94	25,67	25,87	27,51	30,03	29,28	30,17	28,74	28,65	30,71	28,23
Dietilen-glikol (DEG)	20,77	25,19	23,78	24,45	27,93	27,74	27,89	27,70	27,62	27,47	27,64	27,88
Etanol (EtOH)	21,74	26,04	26,74	26,42	29,24	29,03	30,86	30,35	30,21	30,12	32,21	30,15
2-Propanol (IPA)	21,79	25,61	27,03	26,60	29,41	29,33	30,53	30,40	29,76	29,72	31,70	31,95
2-Metil-1-propanol (Isobutanol)	21,62	25,61	26,39	26,25	28,94	28,82	30,63	30,30	29,94	29,54	31,75	31,77
1-Butanol (BuOH)	21,60	25,58	26,53	26,49	28,99	28,86	30,44	30,12	29,63	29,72	38,61	32,70
Dimetil-sulfoksid (DMSO)	21,60	26,28	26,81	26,88	29,46	29,11	30,77	30,67	30,63	30,30	32,00	31,30
N,N-Dimetilacetamid (DMA)	21,91	26,35	27,06	26,92	29,50	29,50	30,86	30,82	30,58	30,40	32,26	31,96
Acetonitril (MeCN)	21,79	27,10	26,88	26,56	29,24	29,46	30,72	30,67	30,30	30,35	31,85	31,80
N,N-Dimetilformamid (DMF)	21,79	26,28	26,92	26,88	29,46	29,11	31,10	30,72	30,30	29,50	31,07	31,59
N-Metil-2-pirolidinon (NMP)	21,76	21,37	27,06	26,88	29,33	29,33	30,91	30,86	30,49	30,40	31,95	31,99
Tetrahidrofuran (THF)	22,27	26,85	27,55	27,14	29,59	29,46	31,10	30,86	30,53	30,44	31,75	31,80
Etil-acetat (EtOAc)	22,25	26,77	27,17	27,17	29,28	29,28	31,15	30,91	30,91	31,01	31,40	31,40
1,2-Dimetoksietan (DME)	22,22	26,70	27,06	27,25	29,54	29,41	30,86	30,77	30,58	30,26	31,80	31,60
Anizol	21,69	26,42	26,49	26,35	28,65	28,65	30,40	29,90	29,67	29,41	31,20	32,36
Trihlorometan (TCM)	21,37	26,70	25,74	25,67	28,05	28,01	29,63	29,28	29,03	28,69	31,10	30,82
Diizopropil-etar (DIPE)	22,70	26,01	27,59	27,51	29,76	29,33	31,15	30,86	30,44	30,21	31,85	31,65

^aSkraćenice za rastvarače pruzete sa www.chemnetbase.com



Slika 27. Normalizovani eksperimentalno dobijeni apsorpcioni spektri jedinjenja 1-12 u MeOH (a), MeCN (b), THF (c) i TCM (d).

4.5. Uticaj rastvarača na UV-Vis apsorpcione spektre ispitivanih jedinjenja - LSER analiza

Kao što se može videti na **Slici 27**, rastvarači vrlo slabo utiču na položaj prvog apsorpcionog maksimuma ispitivanih jedinjenja, pa se može reći da su ispitivana jedinjenja slabo solvatohromna. Bez obzira na to, kvantitativna procena uticaja rastvarača na UV-Vis apsorpcione spektre ispitivanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline izvršena je primenom linearne korelacije energije solvatacije (LSER analiza) koristeći Kamlet-Taft-ov set parametara rastvarača. U okviru ovog istraživanja, odabrano je 10 alkoholnih rastvarača (fluorovani, mono- i polihidroksilni alkoholi) i 11 aprotičnih rastvarača za ispitivanje položaja apsorpcionog maksimuma jedinjenja 1-12 u UV-Vis spektru. Kada su u pitanju alkoholni rastvarači, pokazano je da je Kamlet-Taft-ov model, uključujući KAT (Kamlet-Taft) solvatohromne parametre rastvarača, najpogodnija solvatohromna metoda za interpretaciju uticaja polarosti rastvarača na položaj UV-Vis apsorpcionih maksimuma.¹⁷⁷ Vrednosti solvatohromnih koeficijenata, s , b i a dobijeni regresionom analizom dati su u **Tabeli 17**. Dobijeni rezultati potvrđuju da su uočeni solvatohromni efekti u UV-Vis spektrima jedinjenja 1-12 vrlo kompleksni zbog uzajamnog dejstva između efekta rastvarača i elektronskog efekta supstituenata u *para*- položaju benzenovog prstena.

Tabela 17. Rezultati korelacione analize ispitivanih jedinjenja 1-12 primenom Kamlet-Taft-ove jednačine.

Jed.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
$\nu \times 10^{-3}$ (cm^{-1})	2,06±0,42	1,00±0,31	0,35±0,40	0,57±0,38	0,53±0,30	-0,18±0,46	-0,04±0,38	-0,39±0,47	-0,27±0,44	-0,19±0,47	-0,07±0,02	0,55±0,54
$s \times 10^{-3}$ (cm^{-1})	-2,67±0,49	-0,25±0,35 ^f	-1,30±0,47	-1,41±0,44	-1,37±0,42	-1,92±0,58	-1,17±0,46	-0,60±0,55 ^f	-0,36±0,51 ^f	-0,54±0,56 ^f	-0,01±0,02 ^f	1,32±0,66 ^f
$b \times 10^{-3}$ (cm^{-1})	0,78±0,39 ^f	-0,27±0,24 ^f	2,09±0,38	1,91±0,35	2,24±0,37	3,41±0,61	2,41±0,54	2,45±0,43	2,09±0,41	2,24±0,44	0,12±0,02	-1,75±0,65
$a \times 10^{-3}$ (cm^{-1})	-1,68±0,19	-0,95±0,12	-1,55±0,19	-1,63±0,17	-1,55±0,20	-1,80±0,30	-1,51±0,17	-1,48±0,23	-1,51±0,20	-1,50±0,22	0,00±0,01 ^f	-1,84±0,25
r^c	0,93	0,91	0,93	0,94	0,92	0,90	0,94	0,91	0,92	0,91	0,91	0,92
sd^d	0,41	0,25	0,40	0,37	0,28	0,44	0,36	0,46	0,43	0,46	0,02	0,48
t^s	-5,50	-0,72	-2,75	-3,23	-3,29	-3,31	-2,55	-1,09	-0,71	-0,96	-0,62	2,01
t^b	1,99	-1,12	5,51	5,41	6,04	5,61	7,05	5,63	5,11	5,06	6,47	-2,68
t^a	-8,81	-7,71	-8,36	-9,46	-7,77	-6,05	-8,68	-6,57	-7,57	-6,89	-0,14	-7,33
F^e	31,69	21,23	34,01	40,37	23,49	16,20	41,47	24,97	28,59	24,28	15,37	19,23
Rastvarači isključeni iz korelacije	-	NMP i DIPE	-	-	TFE, 1,2-PDO i EG	2-Hloroetanol, Izobutanol, TFE i MeCN	EG	2-Hloroetanol	-	DMF	EG, 2-Hloroetanol, IPA, Izobutanol, BuOH i DMF	MeOH, 2-Propanol, Izobutanol, BuOH i TCM

^{s,b,a} $t_{kr}(\alpha=0,05, v=16)=2,12$; $t_{kr}(\alpha=0,05, v=15)=2,13$; $t_{kr}(\alpha=0,05, v=14)=2,14$; $t_{kr}(\alpha=0,05, v=13)=2,16$; $t_{kr}(\alpha=0,05, v=12)=2,18$; $t_{kr}(\alpha=0,05, v=11)=2,20$; $t_{kr}(\alpha=0,05, v=10)=2,23$;

^e $F_{kr}(\alpha=0,05, v=3, v=16)=3,24$; $F_{kr}(\alpha=0,05, v=3, v=15)=3,29$; $F_{kr}(\alpha=0,05, v=3, v=14)=3,34$; $F_{kr}(\alpha=0,05, v=3, v=13)=3,41$; $F_{kr}(\alpha=0,05, v=3, v=12)=3,49$;

$F_{kr}(\alpha=0,05, v=3, v=11)=3,59$; $F_{kr}(\alpha=0,05, v=3, v=10)=3,71$;

^{s,b,a} t test za individualne regresione koeficijente; ^c korelacioni koeficijent; ^d standardna devijacija; ^e Fisher-ov test značajnosti; ^f statistički beznačajan rezultat.

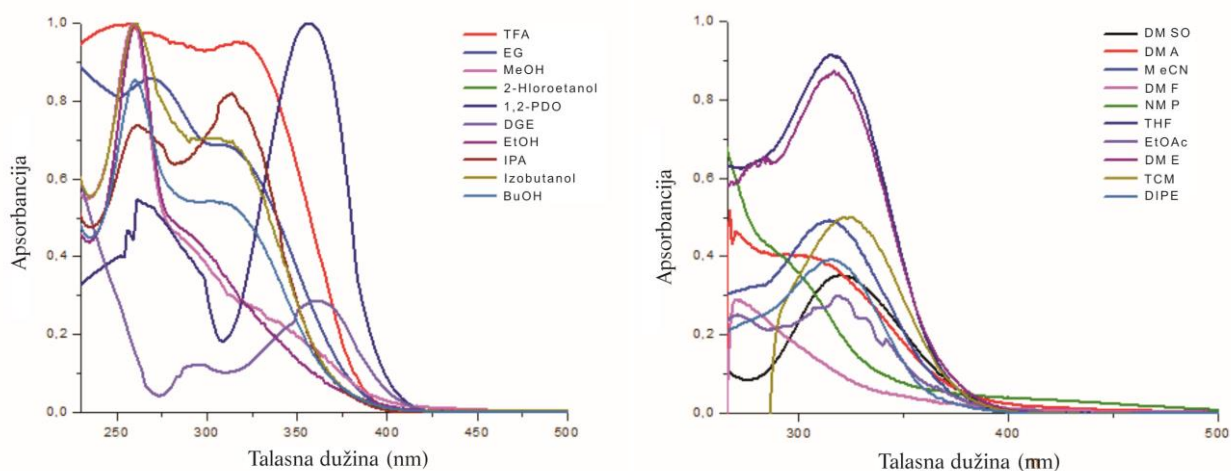
Rezultati Kamlet-Taft-ove analize pokazuju da jedinjenja koja sadrže supstituente sa pozitivnim rezonancionim efektom (jedinjenja iz *grupe I* i *II*) imaju negativnu vrednost korelacionog koeficijenta s što ukazuje da povećanjem dipolarnosti/polarizabilnosti rastvarača dolazi do batohromnog pomeranja prvog apsorpcionog maksimuma. Ovaj efekat je najizraženiji kod jedinjenja iz *grupe I*, posebno u slučaju jedinjenja **1** sa najjačim elektron-donorskim $-N(CH_3)_2$ supstituentom u *para*- položaju benzenovog prstena. Ovo bi se moglo objasniti boljom stabilizacijom ekscitovanog stanja solvatacijom u odnosu na osnovno stanje. U ovom slučaju, dobijeni rezultati ukazuju da je ekscitovano stanje polarnije i polarizabilnije u odnosu na osnovno stanje.⁵⁰ Dipolarnost/polarizabilnost rastvarača ima mnogo manji uticaj na položaj prvog apsorpcionog maksimuma jedinjenja iz *grupe III* i *IV* što potvrđuju zanemarljive vrednosti korelacionih koeficijenata regresije s sa visokom standardnom greškom.

Negativne vrednosti korelacionog koeficijenta a za sva ispitivana jedinjenja (**Tabela 17**), osim za jedinjenje **11**, ukazuju na batohromno pomeranje povećanjem sposobnosti rastvarača da donira proton pri građenju vodonične veze (HBD svojstvo rastvarača). Ovo ukazuje na bolju stabilizaciju ekscitovanog stanja u odnosu na osnovno stanje povećanjem kiselosti rastvarača. Jedinjenje **11** je isključeno iz analize zbog dobijenih rezultata koji su statistički beznačajni. Najveća apsolutna vrednost koeficijenta a dobijena je za jedinjenje **12**.

Pozitivna vrednost korelacionog koeficijenta b za većinu ispitivanih jedinjenja (**Tabela 17**), osim za jedinjenje **12**, ukazuje da dolazi do hipsohromnog pomeranja sa povećanjem sposobnosti rastvarača da prihvata proton pri građenju vodonične veze (HBA svojstvo rastvarača). Visoke pozitivne vrednosti koeficijenta b ukazuju da kiselost rastvarača više doprinosi stabilizaciji osnovnog stanja, osim u slučaju jedinjenja **1** i **2** koja su isključena iz analize zbog statistički beznačajnih rezultata. Rezultati dobijeni za jedinjenje **12** ukazuju na suprotan trend, tačnije negativna i visoka apsolutna vrednost koeficijenta b ukazuje na pojavu batohromnog efekta sa povećanjem baznosti rastvarača. Na osnovu rezultata koji su prikazani u **Tabeli 17**, može se uočiti da su λ_{max} (talasne dužine maksimalne apsorpcije) najosetljivije na HBA svojstvo rastvarača. Dobijeni rezultati za koeficijent b pokazuju da u slučaju *nitro*-supstituisanog derivata HBA svojstvo rastvarača više doprinosi stabilizaciji ekscitovanog stanja. Moglo bi se pretpostaviti da je različito ponašanje jedinjenja **12** u odnosu na ostala jedinjenja iz ispitivane serije, posledica postojanja π_3 -elektronskog sistema i različite konjugacione sposobnosti π -elektronske gustine kroz lokalizovane π -jedinice (π_1 -, π_2 - i π_3 -) u prisustvu $-NO_2$ grupe. Ova činjenica ukazuje da uvođenje jakih elektron-akceptorskih supstituenata u *para*- položaj benzenovog prstena dovodi do povećane proton-donorske sposobnosti NH grupe barbiturne kiseline.

Sa druge strane, solvatohromno ponašanje enolnog oblika *nitro*-supstituisanih barbiturata u rastvaračima različite polarnosti detaljno je opisano u literaturi.^{46,48,50} Enolni oblik *nitro*-supstituisanih derivata barbiturne kiseline pokazuje pozitivan solvatohromizam (batohromno pomeranje UV-Vis apsorpcionih traka) povećanjem HBA svojstva rastvarača.^{46,50} Rezultati istraživanja pokazuju da je enolni oblik stabilizovan vodoničnim vezama koje nastaju između rastvarača i OH grupe koja je prisutna u enolnom tautomeru barbiturne kiseline.^{46,48,50} Uzimajući u obzir prethodno navedene rezultate istraživanja, postoji mogućnost da se u rastvoru nalazi određen procenat monoenolnog tautomernog oblika *nitro*-supstituisanog derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline (jedinjenje **12**) koji izaziva batohromno pomeranje apsorpcionih traka (negativna vrednost korelacionog koeficijenta b) sa povećanjem baznosti rastvarača. Na osnovu toga, pretpostavljamo da širenje i cepanje prve apsorpcione trake *nitro*-supstituisanog derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline koje je primećeno u određenim rastvaračima (**Slika 28**) potiče od keto-enolne tautomerije barbiturne kiseline i specifičnih

interakcija između rastvarača i rastvorene supstance koje su posledica vodoničnog vezivanja. Generalno, uticaj rastvarača na UV-Vis apsorpcione spektre ispitivanih derivata je veoma složen i rezultati ukazuju da postoji korelacija između potencijalnih kandidata za *push-pull* ili *pull-push* strukture molekula i položaja apsorpcionih maksimuma u rastvaračima različite polarности.



Slika 28. Normalizovani eksperimentalno dobijeni apsorpcioni spektri jedinjenja **12** u izabranim rastvaračima.

4.6. Uticaj supstituenata na UV-Vis apsorpcione spektre ispitivanih jedinjenja - LFER analiza

Da bi se istražio efekat supstituenata na pomeranje apsorpcionih maksimuma primenjen je koncept linearne korelacije slobodne energije (LFER analiza) na vrednosti apsorpcione frekvencije ispitivanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline, korišćenjem proširene Hammett-ove jednačine (3) i konstanti supstituenata, σ_I (induktivna konstanta) i σ_R (rezonanciona konstanta). Rezultati regresione analize dobijeni primenom DSP modela prikazani su u **Tabeli 18**.

Na osnovu korelacije konstanti supstituenata, σ_I i σ_R , i vrednosti apsorpcionih frekvenci jedinjenja u odgovarajućem rastvaraču, ν_{\max} (**Tabela 16**) primećuje se da je u svim rastvaračima veći doprinos rezonacionog efekta supstituenata u odnosu na induktivni/efekat polja. Regresioni rezultati dobijeni primenom proširene Hammett-ove jednačine pokazuju da odnos rezonacioni efekat/induktivni efekat, efekat polja iznosi $\rho_R/\rho_I = 2,5 - 5,0$ a vrednosti korelacionih koeficijenata, r između 0,95 - 0,98. Generalno posmatrano, elektronski efekti se prenose kroz molekul na isti način u različitim rastvaračima što potvrđuju i dobijene pozitivne vrednosti konstante proporcionalnosti, ρ za sve ispitivane rastvarače.

Tabela 18. Rezultati regresione analize ispitivanih jedinjenja 1-12 dobijeni korišćenjem proširene Hammett-ove jednačine.

Rastvarač	ρ_I	ρ_R	r	sd	$^I t$	$^R t$	$^d F$	ρ_R/ρ_I	Jedinjenje ^e
2,2,2-Trifluoroetanol	0,47±0,44	2,30±0,26	0,96	0,33	1,05	8,70	46,70	4,89	-
Etilen-glikol	0,58±0,44	2,27±0,26	0,96	0,32	1,32	8,73	48,29	3,91	-
Metanol	0,81±0,38	2,53±0,22	0,98	0,26	2,14	11,71	78,35	3,12	12
2-Hloroetanol	0,90±0,27	2,25±0,16	0,98	0,20	3,29	13,86	131,37	2,50	-
1,2-Propandiol	0,75±0,53	2,47±0,30	0,95	0,36	1,41	8,18	38,04	3,29	12
Dietilen glikol	-0,63±0,49	2,47±0,28	0,96	0,34	-1,29	8,95	42,24	3,92	8
Etanol	0,90±0,32	2,49±0,18	0,98	0,22	2,79	13,60	107,46	2,77	12
2-Propanol	0,54±0,36	2,32±0,21	0,97	0,27	1,49	10,85	73,67	4,30	-
2-Metil-1-propanol	0,65±0,34	2,30±0,20	0,97	0,25	1,92	11,46	84,33	3,54	-
1-Butanol	0,62±0,21	1,71±0,13	0,98	0,15	2,89	13,26	108,00	2,76	-
Dimetil-sulfoksid	0,64±0,42	2,26±0,25	0,96	0,31	1,55	9,17	54,02	3,53	-
N,N-Dimetilacetamid	0,68±0,35	2,28±0,21	0,97	0,26	1,96	10,98	78,13	3,35	-
Acetonitril	0,70±0,35	2,28±0,21	0,97	0,26	2,00	10,98	78,51	3,26	-
N,N-Dimetilformamid	0,46±0,45	2,30±0,27	0,95	0,33	1,02	8,57	45,27	5,00	-
N-Metil-2-pirolidinon	0,61±0,31	1,81±0,19	0,97	0,23	1,98	9,59	61,85	2,97	-
Tetrahidrofuran	0,63±0,40	2,28±0,24	0,96	0,29	1,57	9,63	59,36	3,62	-
Etil-acetat	0,69±0,47	2,22±0,28	0,95	0,35	1,48	7,97	41,42	3,22	-
1,2-Dimetoksietan	0,63±0,39	2,28±0,23	0,97	0,29	1,62	9,82	61,75	3,62	-
Anizol	0,81±0,28	2,27±0,16	0,98	0,20	2,95	13,86	128,51	2,80	-
Trihlorometan	0,80±0,32	2,26±0,19	0,98	0,23	2,54	12,04	96,86	2,83	-
Diizopropil-etar	0,53±0,45	2,28±0,27	0,95	0,33	1,19	8,53	45,61	4,30	-

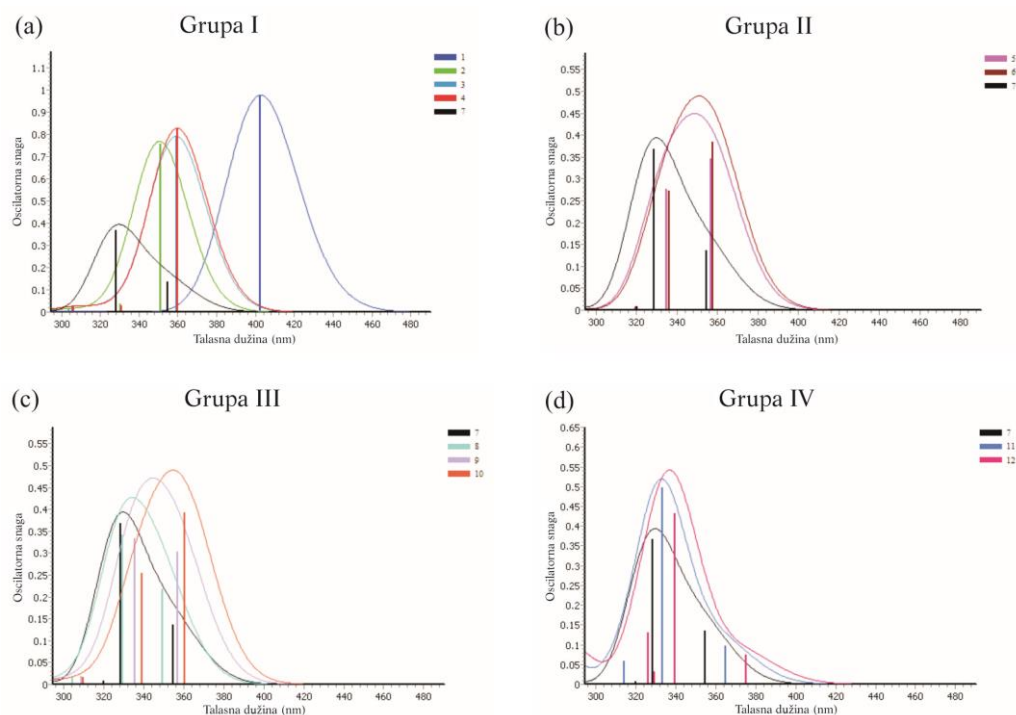
^{I,R}t_{kr(α=0,05, v=9)}=2,26; ^{I,R}t_{kr(α=0,05, v=8)}=2,31;

^dF_{kr(α=0,05, v=2, v=9)}=4,31; ^dF_{kr(α=0,05, v=2, v=8)}=4,46.

^eJedinjenje isključeno iz korelacije

4.7. ICT proces i procena *push-pull* karaktera ispitivanih hromofora

U cilju daljeg rasvetljavanja prirode pomeraja apsorpcionih traka u UV-Vis spektrima urađeni su TD-DFT proračuni za ispitivane derivate **1-12** u acetonitrilu kao rastvaraču koji je simuliran standardnim modelom polarizovanog kontinuuma (PCM). U **Tabeli 19** dati su rezultati proračuna sa prikazom svih prelaza odgovarajućih maksimuma ispitivanih jedinjenja u acetonitrilu. Budući da je naš cilj bio da se istraži priroda eksperimentalno pronađenih apsorpcionih maksimuma sa najnižom energijom (tj. između 310 i 480 nm, odnosno 4,00-2,58 eV), rezultati TD-DFT proračuna su prikazani i analizirani samo za ekscitacije vršene talasnim dužinama većim od 290 nm (4,28 eV) i sa oscilatornom snagom (f) većom od 0,05. Rezultati kvantno-hemijskih proračuna (**Slika 29**) kvalitativno se dobro slažu sa eksperimentalnim spektrima i pokazuju da jedinjenja iz *grupe I* imaju najveći batohromni pomeraaj, dok jedinjenja iz *grupa II* i *III* imaju mali batohromni pomeraaj apsorpcionih maksimuma u odnosu na nesupstituisano jedinjenje **7**. Kada su u pitanju jedinjenja iz *grupe IV*, rezultati TD-DFT proračuna pokazuju da se apsorpcioni maksimumi nalaze skoro na istoj talasnoj dužini kao kod nesupstituisanog jedinjenja **7** dok su u eksperimentalnom spektru malo hipsohromno pomereni u odnosu na maksimume nesupstituisanog jedinjenja. Korišćenjem TD-DFT nivoa teorije takođe mogu da se predvide i uticaji negativnog induktivnog efekta (-I) supstituenata iz *grupe III* (**Slika 29c**) na položaje apsorpcionih maksimuma. Tačnije, apsorpcioni maksimum jedinjenja **10** sa bromom u *para*- položaju benzenovog prstena, kao supstituentom sa slabim induktivnim efektom je batohromnije pomeren u odnosu na maksimume jedinjenja sa hlorom i fluorom u *para*- položaju odnosno supstituentima sa jačim negativnim induktivnim efektom.



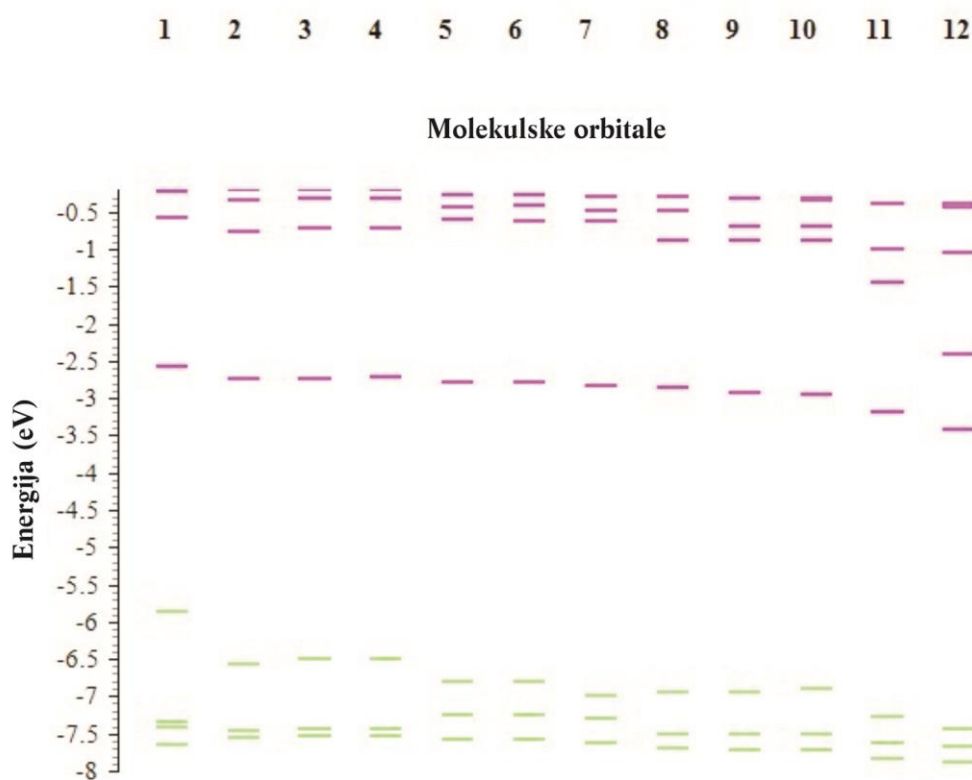
Slika 29. UV-Vis apsorpcioni spektri jedinjenja **1-12** u acetonitrilu dobijeni TD-DFT proračunima.

Za jedinjenja iz *grupe I* u izabranom opsegu talasnih dužina postoji samo jedna ekscitacija koja odgovara HOMO → LUMO prelazu sa više od 95% udela ovog elektronskog prelaza u ukupnom prelazu (**Tabela 19**). Apsorpcioni maksimumi jedinjenja iz *grupe II* i *III*, kao i nesupstituisano jedinjenje **7**, u izabranom energetskom opsegu, odgovaraju kombinaciji od dve elektronske ekscitacije sa sličnom oscilatornom snagom i energetskom razlikom od 21-26 nm tako da će apsorpcioni maksimum najniže energije u eksperimentalnim spektrima biti superpozicija ova dva pobuđena stanja (**Slika 29, b i c**). Tačnije, u prvom ekscitovanom stanju dominantan je HOMO → LUMO prelaz (55-75%) sa manjim doprinosom HOMO-1 → LUMO (13-34%) prelaza. Ovo se može objasniti manjom razlikom između energija HOMO i LUMO orbitala u jedinjenjima iz *grupe II* i *III* (0,30-0,60 eV) u poređenju sa HOMO → LUMO razlikom energija kod jedinjenja iz *grupe I* (0,90-1,47 eV) (**Slika 30**). Drugom ekscitovanom stanju odgovaraju isti orbitalni prelazi sa malim doprinosom trećeg HOMO-2 → LUMO prelaza (14-23%). U slučaju jedinjenja iz *grupe IV* posmatrani apsorpcioni maksimumi najniže energije sastoje se od tri ekscitacije pri čemu drugo ekscitovano stanje ima najveću oscilatornu snagu i predstavlja kombinaciju HOMO → LUMO, HOMO-1 → LUMO i HOMO-2 → LUMO prelaza (**Tabela 19, Slika 29d**). U slučaju jedinjenja **11**, dominantan prelaz odgovara prelazu iz HOMO-1 orbitale u LUMO orbitalu (49,03%), a zatim sledi prelaz iz HOMO u LUMO orbitalu (34,16%). Prelaz iz HOMO-1 orbitale u LUMO orbitalu (40,20%) dominantan je za jedinjenje **12** i praćen je prelazom iz HOMO u LUMO orbitalu (31,64%). Prelaz sa najmanjim doprinosom odgovara prelazu HOMO-2 → LUMO u iznosu od 12,10% i 12,14%, za jedinjenje **11** i **12**.

Tabela 19. Rezultati TD-DFT proračuna za prelaz iz osnovnog u prvo vertikalno pobuđeno stanje u acetonitrilu za jedinjenja 1-12.

Jed.	Ekscitovano stanje	Energija (eV)	Oscilatorna snaga	Prelaz	CI koeficijent ekspanzije	% udeo odgovarajućeg elektronskog prelaza	D _{CT} (Å)	Q _{CT} (e)
1	<i>es1</i>	3,0791	0,9751	HOMO → LUMO	0,70612	99,72	4,199	0,678
2	<i>es1</i>	3,5332	0,7564	HOMO → LUMO	0,69412	96,36	3,048	0,620
3	<i>es1</i>	3,4509	0,7875	HOMO → LUMO	0,69810	97,47	3,374	0,627
4	<i>es1</i>	3,4454	0,8242	HOMO → LUMO	0,69882	97,67	3,392	0,626
5	<i>es2</i>	3,7063	0,2770	HOMO → LUMO	0,60419	75,01	1,158	0,677
				HOMO-1 → LUMO	-0,26593	14,14		
				HOMO-1 → LUMO	0,49909	49,82		
6	<i>es1</i>	3,4667	0,3838	HOMO → LUMO	0,34996	24,49	1,957	0,658
				HOMO-2 → LUMO	0,34104	23,26		
				HOMO-1 → LUMO	0,60900	74,18		
7	<i>es2</i>	3,6896	0,2725	HOMO-1 → LUMO	-0,26252	13,78	1,331	0,679
				HOMO-1 → LUMO	0,51359	52,75		
				HOMO → LUMO	0,34177	23,36		
8	<i>es1</i>	3,4968	0,1355	HOMO → LUMO	0,32807	21,53	1,276	0,694
				HOMO-1 → LUMO	0,53018	56,22		
				HOMO-1 → LUMO	0,33541	22,50		
9	<i>es2</i>	3,7754	0,3676	HOMO-2 → LUMO	-0,30327	18,39	1,740	0,676
				HOMO-1 → LUMO	0,45714	41,80		
				HOMO → LUMO	-0,44381	39,39		
10	<i>es1</i>	3,5468	0,2172	HOMO → LUMO	-0,27835	15,50	1,057	0,672
				HOMO-1 → LUMO	0,52856	55,88		
				HOMO-1 → LUMO	-0,41001	33,62		
11	<i>es2</i>	3,7646	0,3414	HOMO-1 → LUMO	0,45749	41,86	0,478	0,667
				HOMO → LUMO	0,45217	40,89		
				HOMO-2 → LUMO	0,26792	14,36		
12	<i>es1</i>	3,4743	0,3024	HOMO → LUMO	0,56739	64,39	1,437	0,662
				HOMO-1 → LUMO	0,36470	26,60		
				HOMO-1 → LUMO	0,49217	48,45		
13	<i>es2</i>	3,6919	0,3334	HOMO → LUMO	-0,40611	32,99	0,392	0,678
				HOMO-2 → LUMO	0,28239	15,95		
				HOMO-2 → LUMO	0,61078	74,61		
14	<i>es1</i>	3,4367	0,3923	HOMO → LUMO	0,30383	18,46	2,197	0,661
				HOMO-1 → LUMO	0,52985	56,15		
				HOMO-1 → LUMO	0,52985	56,15		
15	<i>es2</i>	3,6574	0,2538	HOMO → LUMO	-0,34087	23,24	0,271	0,704
				HOMO-2 → LUMO	0,30094	18,11		
				HOMO-2 → LUMO	0,30094	18,11		
16	<i>es1</i>	3,3952	0,0963	HOMO → LUMO	0,47831	45,76	1,294	0,706
				HOMO-1 → LUMO	-0,46470	43,19		
				HOMO-1 → LUMO	0,49512	49,05		
17	<i>es2</i>	3,7208	0,4975	HOMO → LUMO	0,41330	34,16	1,077	0,620
				HOMO-1 → LUMO	0,41330	34,16		
				HOMO-2 → LUMO	0,24598	12,10		
18	<i>es3</i>	3,946	0,0574	HOMO-2 → LUMO	0,61494	75,63	2,693	0,731
				HOMO-1 → LUMO	-0,30924	19,13		
				HOMO-1 → LUMO	-0,30924	19,13		
19	<i>es1</i>	3,3044	0,0734	HOMO → LUMO	0,53904	58,11	2,132	0,719
				HOMO-1 → LUMO	0,38845	30,18		
				HOMO-1 → LUMO	0,38845	30,18		
20	<i>es2</i>	3,6505	0,4326	HOMO-1 → LUMO	0,44832	40,20	1,370	0,609
				HOMO → LUMO	-0,39777	31,64		
				HOMO-2 → LUMO	0,24639	12,14		
21	<i>es4</i>	3,7995	0,1300	HOMO-5 → LUMO	0,41120	33,82	1,414	0,646
				HOMO-6 → LUMO	0,31880	20,33		
				HOMO-5 → LUMO+2	-0,25375	12,88		
				HOMO-1 → LUMO	0,24754	12,26		

Na osnovu vrednosti energija molekularskih orbitala prikazanih na **Slici 30**, očigledno je da energija LUMO orbitale ostaje gotovo nepromenjena za jedinjenja iz *grupa I-III* u odnosu na nesupstituisano jedinjenje **7**. Kao što se i očekivalo, uvođenjem jakih elektron-akceptorskih grupa u *para*- položaj benzenovog prstena (jedinjenja iz *grupe IV*) energija LUMO orbitale se značajno smanjuje i to 0,33 eV za jedinjenje **11** i 0,57 eV za jedinjenje **12**. Sa druge strane, najjači donor elektrona u ispitivanoj seriji, *p*-N(CH₃)₂ supstituent u jedinjenju **1**, dovodi do povećanja energije HOMO orbitale za 1,1 eV. Ostali supstituenti iz *grupe I* sa nešto slabijim elektron-donorskim sposobnostima takođe povećavaju energiju HOMO orbitale ali u mnogo manjoj količini (0,44-0,51 eV). Kao posledica toga, razlike u energijama između HOMO i LUMO orbitala za jedinjenja iz *grupe I* biće znatno manje što će rezultirati batohromnim pomeranjem apsorpcionog spektra u odnosu na nesupstituisano jedinjenje^{43,178} i visokom vrednošću elektronskog hemijskog potencijala, μ (**Tabela 20**). Kao što se i očekivalo, jedinjenja iz *grupe IV* imaju najnižu vrednost elektronskog hemijskog potencijala (najveća elektronegativnost) i najviše vrednosti globalnog elektrofilnog indeksa, ω (**Tabela 20**) jer u svojoj strukturi imaju jake elektron-akceptorske grupe (-CN i -NO₂). Sa druge strane, jedinjenje **1**, sa jakim elektron-donorskim supstituentom u *para*- položaju benzenovog prstena, biće najjači nukleofil, odnosno ima najvišu vrednost indeksa nukleofilnosti, Nu u ispitivanoj seriji jedinjenja (**Tabela 20**).^{160,179}



Slika 30. Popunjene (prikazane zelenom bojom) i prazne/virtuelne (prikazane ljubičastom bojom) molekulske orbitale za jedinjenja **1-12**.

Tabela 20. Globalni indeksi reaktivnosti^a ispitivanih jedinjenja **1-12**.¹⁵²⁻¹⁵⁹

Jedinjenje	μ (eV)	χ (eV)	η (eV)	ω (eV)	N (eV) ^{b 160}
1	-4,158	4,158	3,416	2,531	3,503
2	-4,736	4,736	3,863	2,903	2,702
3	-4,649	4,649	3,798	2,845	2,821
4	-4,621	4,621	3,790	2,817	2,853
5	-4,915	4,915	4,036	2,993	2,436
6	-4,908	4,908	4,031	2,987	2,446
7	-5,080	5,080	4,157	3,103	2,211
8	-5,103	5,103	4,092	3,182	2,220
9	-5,173	5,173	3,995	3,349	2,199
10	-5,136	5,136	3,923	3,361	2,272
11	-5,573	5,573	3,998	3,884	1,797
12	-5,778	5,778	4,037	4,134	1,573

^a μ - elektronski hemijski potencijal;

χ - elektronegativnost;

η - hemijska tvrdoća;

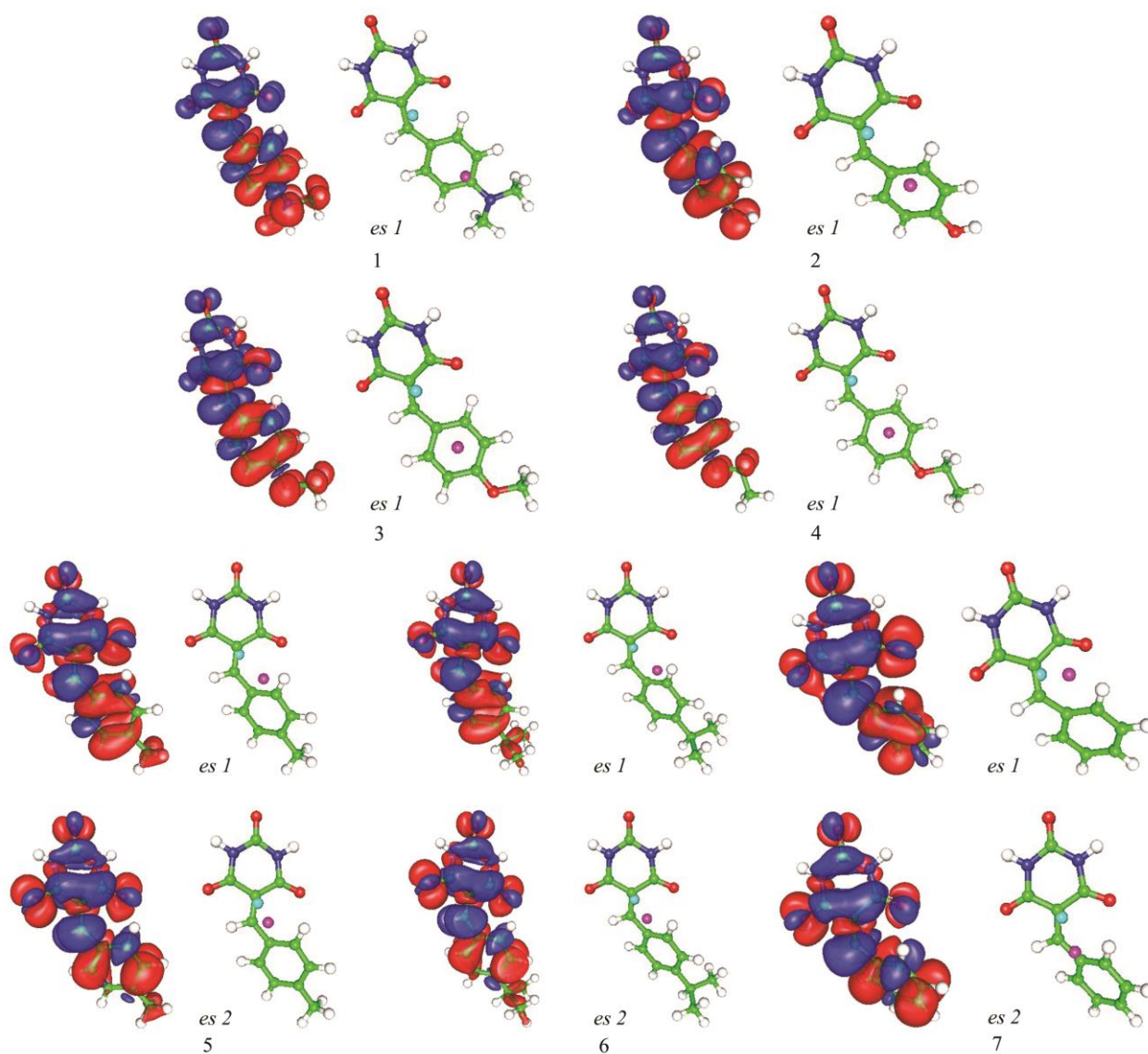
ω - globalni elektrofilni indeks;

N - nukleofilni indeks.

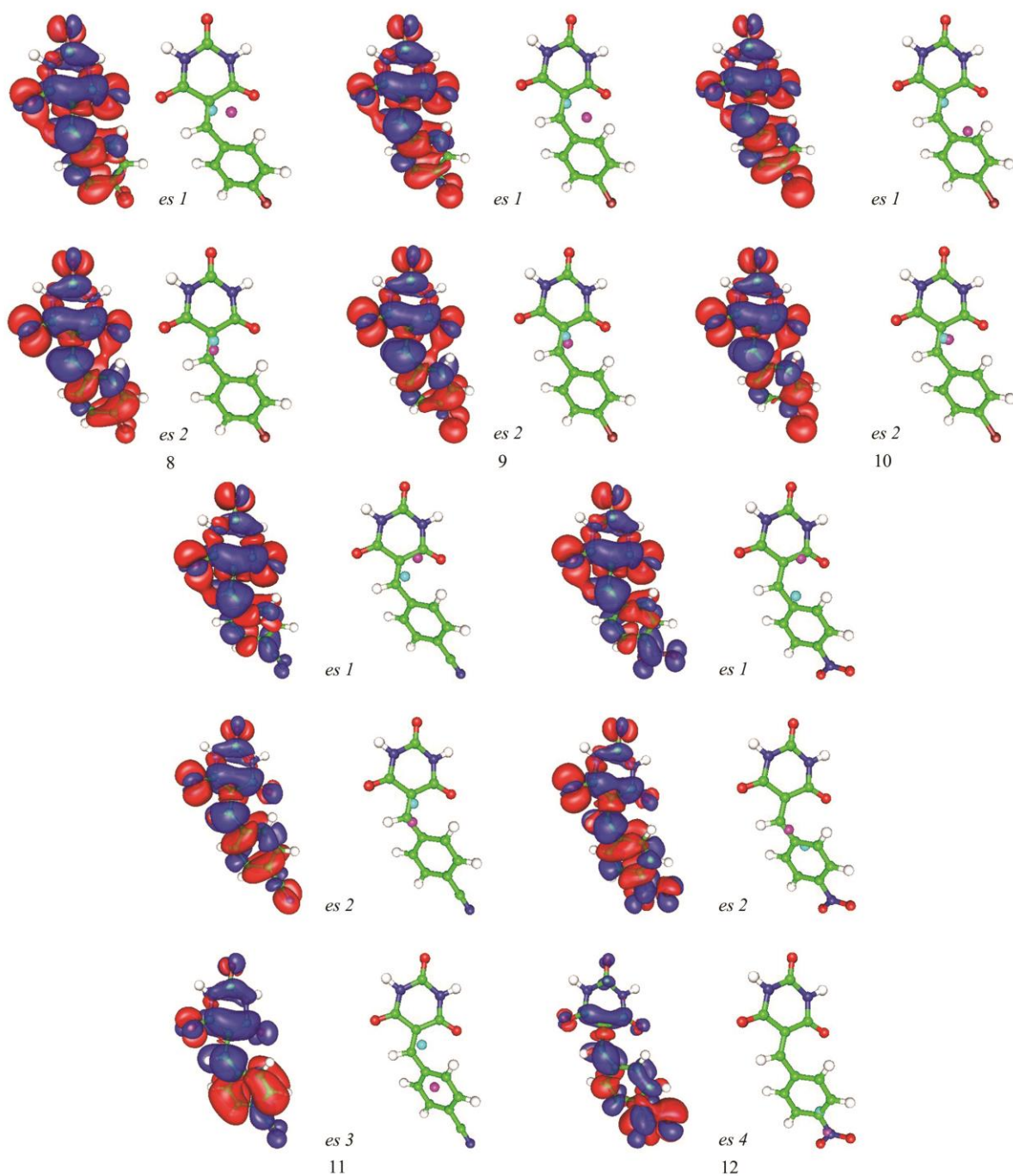
^bEnergija HOMO orbitale tetracijanoetilena (TCE)

izračunata B3LYP/6311G(d,p) metodom iznosi -0.34431 au (-9.369 eV).

Proces intramolekulskog prenosa naelektrisanja (ICT) javlja se tokom apsorpcije fotona kada se pri pobuđivanju molekula elektronska gustina pomera sa jednog dela molekula na drugi. Zapravo, razlika u raspodeli elektronske gustine između osnovnog i pobuđenog stanja korišćena je za određivanje ICT karaktera pobuđenih stanja i kvantifikaciju *push-pull* osobina ispitivanih jedinjenja **1-12**. Deskriptori intramolekulskog prenosa naelektrisanja tokom ekscitacije, odnosno rastojanje između dva baricentra to jest mesta odakle odlaze elektroni iz osnovnog stanja i mesta gde dolaze elektroni u pobuđenom stanju (D_{CT}) i količina prenetog naelektrisanja (Q_{CT}) izračunati su za sva jedinjenja i rezultati su prikazani u **Tabeli 19** (poslednje dve kolone) i na **Slici 31**. Rezultati dobijeni TD-DFT proračunima ukazuju da se najveći ICT dešava u jedinjenjima koja pripadaju *grupi I* ($D_{CT} = 4,2 - 3,05$ Å) i u svojoj strukturi sadrže supstituente sa jakim elektron-donorskim efektom u *para*- položaju benzenovog prstena.



Slika 31. ICT proces u jedinjenjima 1-7 u acetonitrilu; Leva slika - razlika elektronskih gustina u osnovnom i pobuđenom stanju (plava i crvena boja, povećanje i smanjenje elektronske gustine tokom ekscitacije); Desna slika - položaji baricentara koji opisuju gubitak naelektrisanja (ljubičasta kuglica) i porast naelektrisanja (plava kuglica) tokom pobuđivanja.



Nastavak Slike 31. ICT proces u jedinjenjima **8-12** u acetonitrilu.

Na primer, u jedinjenju **1**, prilikom pobuđivanja elektronska gustina se prenosi na rastojanju od 4,2 Å od elektron-donorske $-N(CH_3)_2$ grupe do C7 atoma vinilne grupe i ugljenikovih atoma pirimidinskog prstena barbiturne kiseline. Dobijeni rezultati potvrđeni su i detaljnijom analizom raspodele elektronske gustine (*"hole-electron"*) u prvom ekscitovanom stanju jedinjenja **1** (**Slika 32, Tabela P1**). U ovom ekscitovanom stanju, 28% "šupljine" (*hole*) nalazi se na atomu azota koji potiče iz dimetilamino grupe a 40% elektrona se nalazi u prstenu barbiturne kiseline. Ostatak elektrona (30%) nalazi se na C7 atomu, dok ugljenikovi atomi benzenovog prstena značajno doprinose formiranju šupljine (42%). Generalno je zapaženo, kao u $D-\pi-A$, *push-pull* sistemu, da se pobuđivanje u jedinjenju **1** može opisati kao transfer

elektrona iz $-N(CH_3)_2$ grupe i benzenovog prstena koji imaju ulogu elektron-donora na C7 atom vinilne grupe i ostatak barbiturne kiseline kao akceptore elektrona. Rezultati analize pokazuju da se i za ostala jedinjenja iz *grupe I* mogu izvesti slični zaključci. Za razliku od jedinjenja **1**, elektronska gustina se kod ostalih jedinjenja iz ove grupe prenosi na nešto manjem rastojanju (3,05 - 3,40 Å) prilikom pobuđivanja što potvrđuje i "*hole-electron*" analiza (**Slika 32**). Na osnovu detaljne analize raspodele elektronske gustine u prvom ekscitovanom stanju u jedinjenjima **2-4** (**Tabela P1**), u proseku se nalazi oko 14% "šupljine" na atomima kiseonika koji potiču iz *p*-OH, *p*-OCH₃ i *p*-OCH₂CH₃ grupe, dok se oko 42 % elektrona nalazi u prstenu barbiturne kiseline. Ugljenikovi atomi iz benzenovog prstena doprinose oko 55% formiranju "šupljine", dok se ostatak elektrona (oko 32%) u ovim jedinjenjima nalazi na C7 atomu. Dobijeni rezultati ukazuju da u jedinjenjima **2-4** postoji manji stepen intramolekulskog prenosa naelektrisanja.

Jedinjenjima iz *grupa II* i *III* odgovaraju dva pobuđena stanja i na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da nijedno od njih nema CT karakter (**Slika 32**). U ovim jedinjenjima se određena količina elektronske gustine prenosi sa ugljenikovih atoma iz benzenovog prstena na C7 atom vinilne grupe (**Tabela P2-4**). Generalno, kod jedinjenja iz *grupe II* i *III* i u prvom i u drugom ekscitovanom stanju 32-34% elektrona se nalazi na C7 atomu, dok ugljenikovi atomi iz benzenovog prstena doprinose oko 48% formiranju "šupljine" u jedinjenjima iz *grupe II*, a oko 35% u jedinjenjima iz *grupe III*. Takođe, može se uočiti da pri pobuđivanju dolazi do prenošenja elektronske gustine u okviru same barbiturne kiseline, zapravo elektronska gustina se prenosi sa atoma kiseonika na atome ugljenika unutar karbonilne grupe.

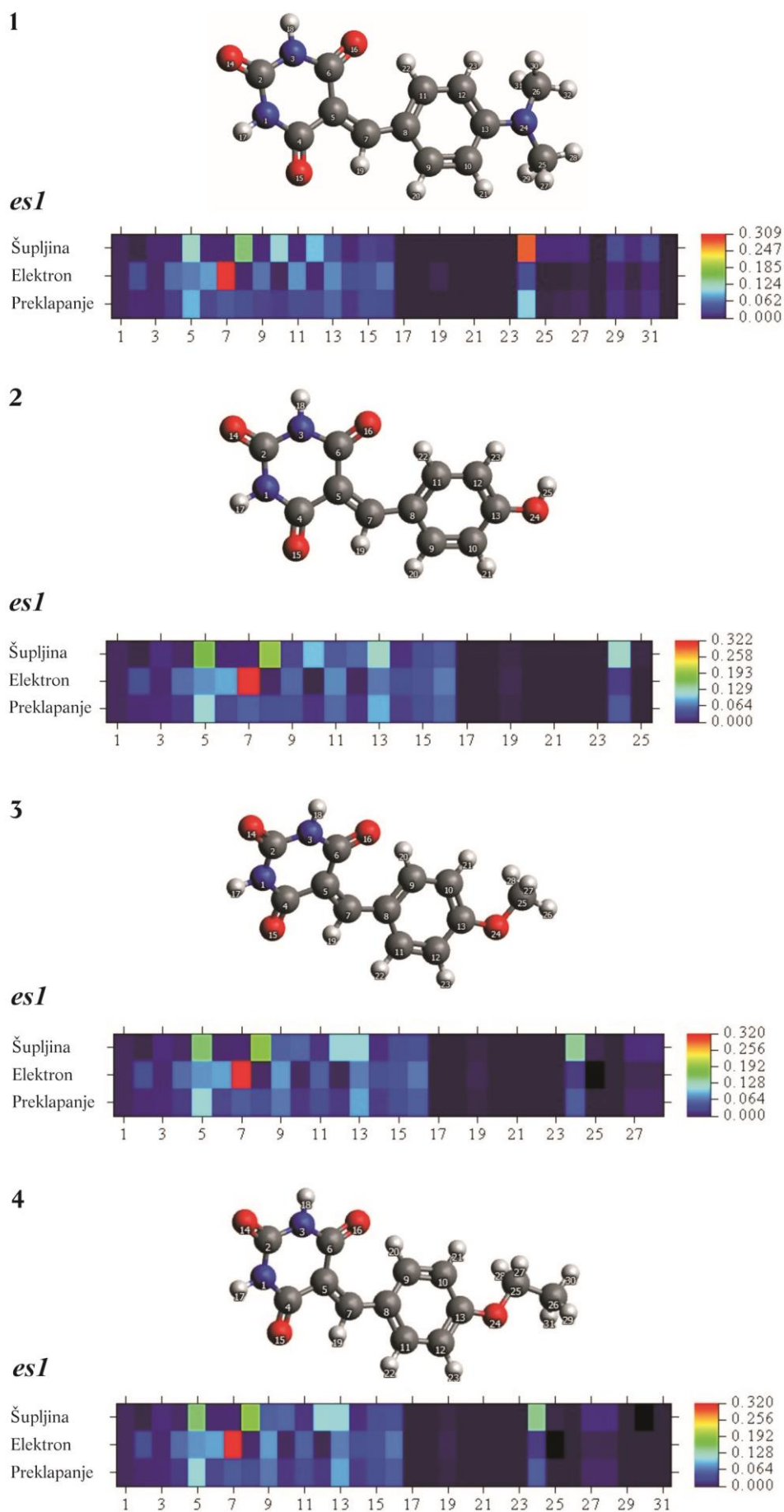
Za jedinjenje **11** (*grupa IV*) karakteristična su tri pobuđena stanja u kojima takođe CT karakter nije očištan (**Slika 32, Tabela P5**). Ono što je karakteristično, u prvom pobuđenom stanju se elektronska gustina prenosi sa barbiturne kiseline na C7 atom vinilne grupe. Međutim, pošto se na barbiturnoj kiselini nalazi oko 79% "šupljine" a na C7 atomu 31% elektrona i samo 4% elektrona na -CN grupi, može se zaključiti da se prenos naelektrisanja dešava isključivo u barbiturnom delu molekula. U drugom pobuđenom stanju 30% elektrona se nalazi na C7 atomu vinilne grupe, oko 40% na benzenovom prstenu i oko 8% na atomu azota koji potiče iz cijano grupe. Rezultati ukazuju i da se oko 46% "šupljine" formira na kiseonikovim atomima barbiturne kiseline što ukazuje da tokom pobuđivanja dolazi do prenošenja elektronske gustine sa kiseonikovih atoma na atome ugljenika u okviru karbonilne grupe. U trećem pobuđenom stanju elektronska gustina se prenosi sa ugljenikovih atoma iz benzenovog prstena, koji u velikoj meri doprinose formiranju "šupljine" sa 89% na C7 atom vinilne grupe (oko 30% elektrona).

Kod *p*-nitro supstituisanog derivata (jedinjenje **12** iz *grupe IV*) primećeno je da se u prvom i drugom pobuđenom stanju intramolekulski prenos naelektrisanja dešava u suprotnom smeru. Zapravo, pozitivan baricentar (centar koji predstavlja gubitak naelektrisanja) nalazi se blizu barbiturne kiseline, a negativan baricentar (centar gde dolazi do povećanja naelektrisanja) na *p*-nitro supstituisanom benzenovom prstenu. Ovi rezultati impliciraju da pri pobuđivanju dolazi do prenosa naelektrisanja sa barbiturne kiseline kao donora elektrona na *nitro* supstituent kao akceptor elektrona. To je dalje potvrđeno i "*hole-electron*" analizom (**Slika 32, Tabela P5**). U prvom pobuđenom stanju na atomima kiseonika u barbiturnoj kiselini se nalazi "šupljina" (60%), a elektron se nalazi na C7 atomu (25%) i u manjoj količini na -NO₂ grupi (14%). Što se tiče drugog pobuđenog stanja, može se uočiti da se ICT dešava u smeru od barbiturne kiseline ka -NO₂ grupi što potvrđuje i postojanje "šupljine" na ostatku barbiturne kiseline (45%) i elektrona na -NO₂ grupi (30%). U četvrtom pobuđenom stanju prenos

naelektrisanja se dešava u okviru $-\text{NO}_2$ grupe pri čemu kiseonikovi atomi doprinose 70% formiranju "šupljine" dok se ostatak elektrona (oko 23%) nalazi na atomu azota.

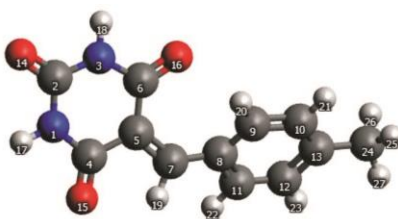
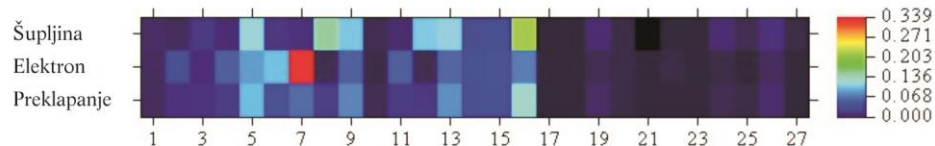
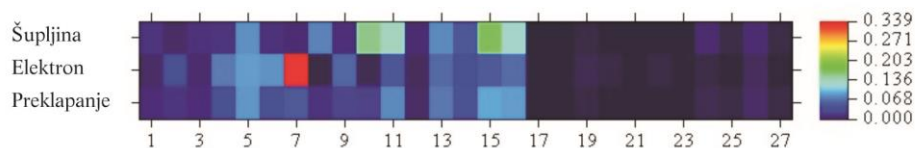
Analizom interfragmentskog prenosa naelektrisanja (*Interfragment charge transfer*, IFCT)⁵⁴ može se kvantitativno opisati redistribucija elektronske gustine između definisanih fragmenata u molekulu izračunata iz talasne funkcije pobuđenog stanja.¹⁸⁰ Rezultati IFCT analize pokazuju da se u prvom pobuđenom stanju ukupno 0,11 elektrona prebaci sa barbiturne kiseline na $-\text{NO}_2$ grupu, dok se u drugom pobuđenom stanju prebaci 0,08 elektrona u istim delovima molekula. Ovi rezultati jasno ukazuju da, kada je barbiturna kiselina kuplovana sa jakim elektron-akceptorskim hromoforama može pokazivati osobine veoma slabog donora elektrona.

Analiza postojećih zapažanja pokazuje da se u svim ispitivanim hromoforama, izuzev jedinjenja **1**, dešava određeni stepen prenosa naelektrisanja ali da ova jedinjenja nisu perspektivni kandidati za *push-pull* sisteme i ne mogu se korsistiti kao tipična CT jedinjenja.

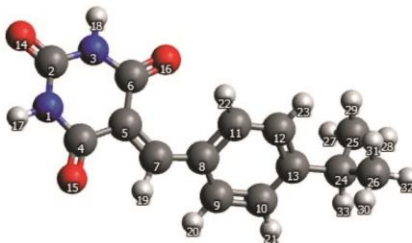
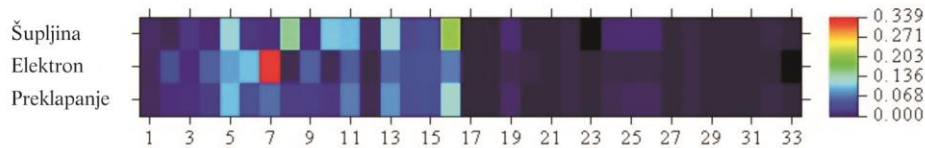
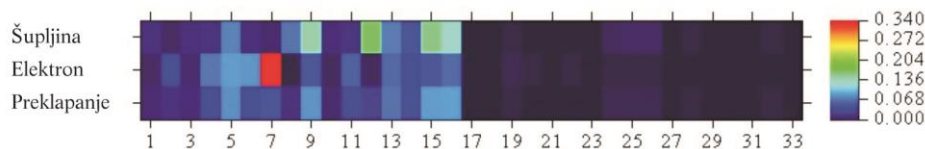


Slika 32. Hole-electron analiza raspodele elektronske gustine u jedinjenjima 1-4.

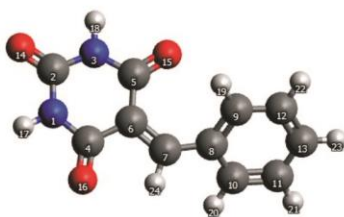
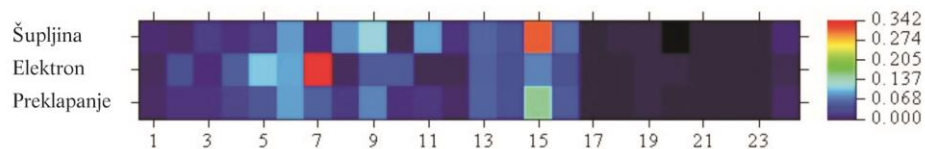
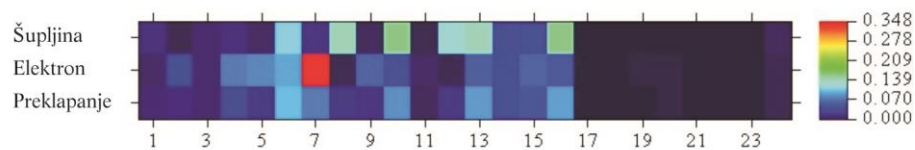
5

*es1**es2*

6

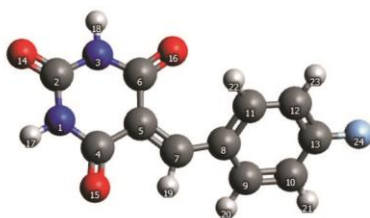
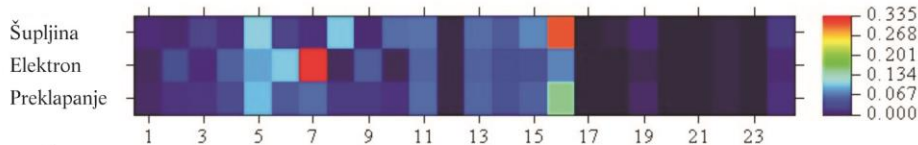
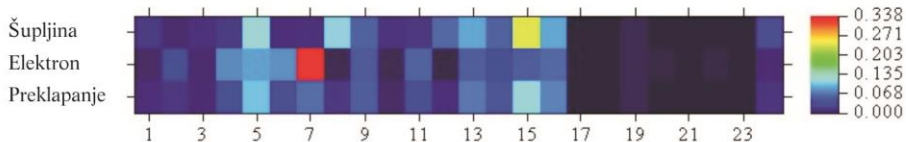
*es1**es2*

7

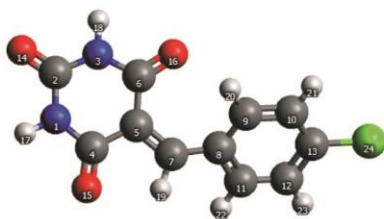
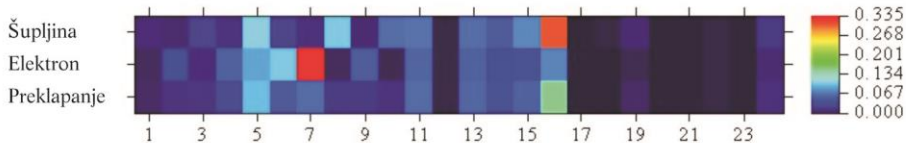
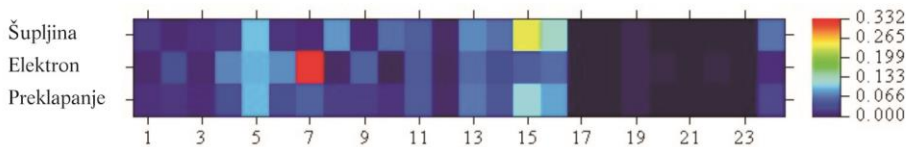
*es1**es2*

Nastavak Slike 32. *Hole-electron* analiza raspodele elektronske gustine u jedinjenjima 5-7.

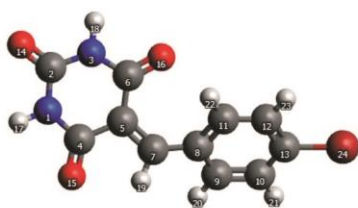
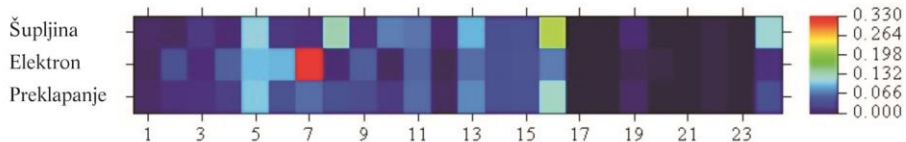
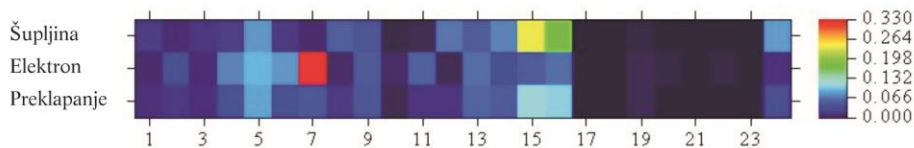
8

*es1**es2*

9

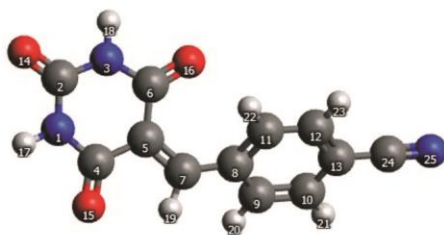
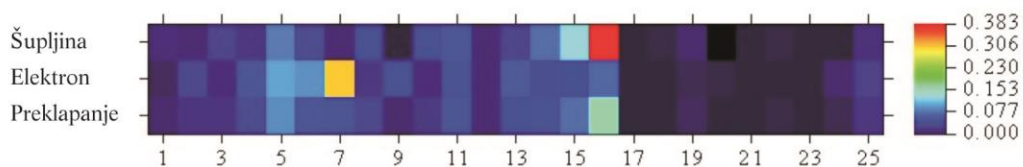
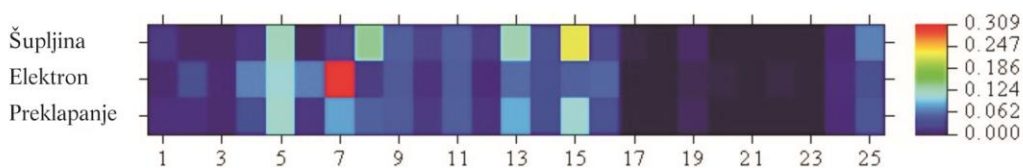
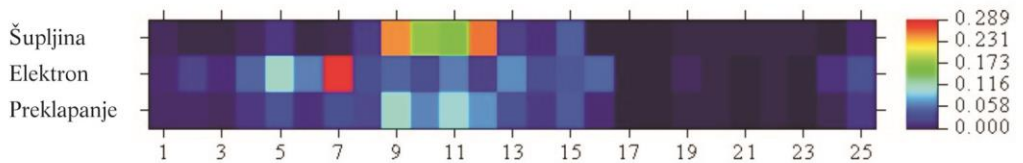
*es1**es2*

10

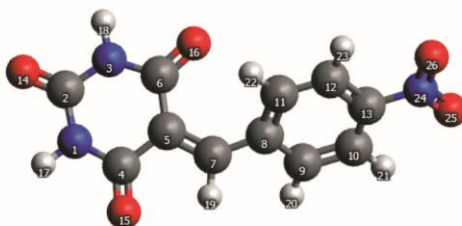
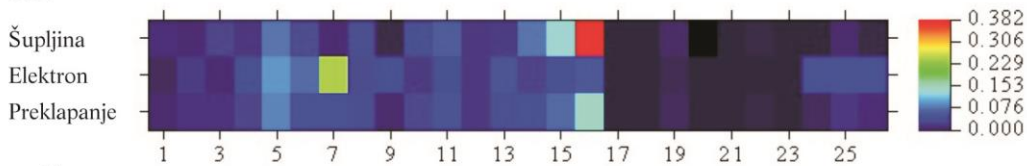
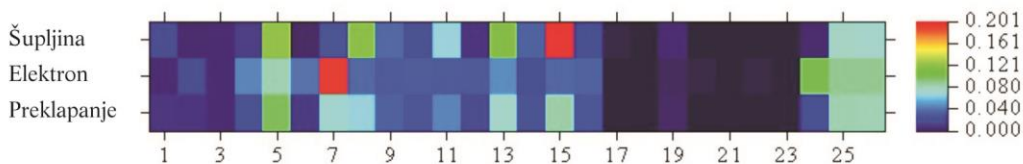
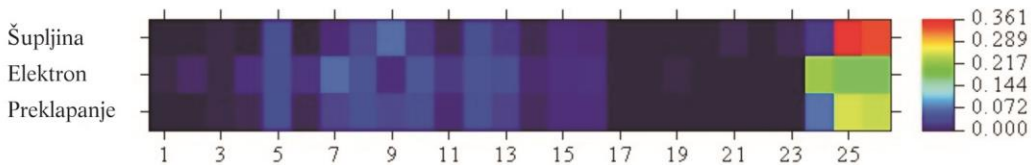
*es1**es2*

Nastavak Slike 32. *Hole-electron* analiza raspodele elektronske gustine u jedinjenjima 8-10.

11

*es1**es2**es3*

12

*es1**es2**es4*

Nastavak Slike 32. *Hole-electron* analiza raspodele elektronske gustine u jedinjenjima 11 i 12.

4.8. Hromatografsko proučavanje derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline

4.8.1. Određivanje parametara lipofilnosti ispitivanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline

Kao što je i pomenuto u uvodnom delu, hromatografski parametri R_M^0 i m dobijeni primenom RP TLC često se koriste za procenu lipofilnosti jedinjenja, posebno u ranoj fazi ispitivanja. Hromatografski rezultati dobijeni primenom opisanih hromatografskih sistema za ispitivane derivate 5-benzilidenbarbiturne kiseline prikazani su u **Tabeli 21**.

Tabela 21. Hromatografski parametri R_M^0 , m , r za ispitivana jedinjenja **2-12** dobijeni primenom različitih organskih modifikatora.

<i>R</i>	Metanol			<i>n</i> -Propanol		
	R_M^0	<i>m</i>	<i>r</i>	R_M^0	<i>m</i>	<i>r</i>
2	0,671	-0,936	0,994	0,115	-0,918	0,997
3	1,155	-1,465	0,996	0,451	-1,475	0,997
4	1,335	-1,739	0,996	0,565	-1,662	0,996
5	1,385	-1,815	0,997	0,658	-1,739	0,997
6	1,854	-2,348	0,998	0,951	-2,158	0,996
7	1,035	-1,331	0,997	0,390	-1,396	0,999
8	1,269	-1,635	0,994	0,532	-1,607	0,995
9	1,529	-1,955	0,999	0,735	-1,837	0,998
10	1,646	-2,080	0,998	0,833	-1,985	0,999
11	0,730	-1,107	0,998	0,185	-1,058	0,996
12	0,764	-1,148	0,998	0,222	-1,155	0,999
<i>R</i>	Aceton			Tetrahidrofur (THF)		
	R_M^0	<i>m</i>	<i>r</i>	R_M^0	<i>m</i>	<i>r</i>
2	0,858	-2,275	0,988	0,408	-2,085	0,994
3	1,304	-2,597	0,995	0,848	-2,439	0,996
4	1,514	-2,775	0,999	1,055	-2,579	0,998
5	1,556	-2,800	0,999	1,110	-2,605	0,998
6	1,839	-3,065	0,998	1,389	-2,860	0,999
7	1,269	-2,555	0,999	0,813	-2,385	0,994
8	1,471	-2,748	0,998	1,025	-2,555	0,998
9	1,652	-2,892	0,999	1,185	-2,648	0,997
10	1,781	-3,009	0,999	1,335	-2,755	0,998
11	0,955	-2,365	0,991	0,515	-2,163	0,996
12	1,069	-2,425	0,998	0,589	-2,233	0,998

Rezultati predstavljeni u **Tabeli 21** ukazuju da dobijeni hromatografski parametri za ispitivana jedinjenja zavise od prirode korišćenih modifikatora kao i od hemijskih osobina supstituenata u *para*- položaju benzenovog prstena. Posmatrajući primenjene organske modifikatore različite polarnosti, najduža retencija ispitivanih jedinjenja primećena je u

hromatografskom sistemu koji sadrži najpolarniji aprotični rastvarač - aceton. Ako posmatramo retenciono ponašanje ispitivanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline u odnosu na prirodu supstituenta na benzenovom prstenu, jedinjenje sa lipofilnom grupom $p\text{-CH}(\text{CH}_3)_2$ (**6**) i halogenim supstituentima (jedinjenja **8-10**) pokazuju najdužu retenciju, odnosno najviše se zadržavaju na stacionarnoj fazi. Na osnovu dobijenih hromatografskih rezultata (**Tabela 21**) evidentno je da vrednosti hromatografskog parametra m , prate isti trend promena kao i u slučaju hromatografske retencione konstante, R_M^0 . Iz tog razloga, ova dva hromatografska parametra su korelisana i jednačine dobijenih odnosa između R_M^0 i m prikazane su u **Tabeli 22**.

Tabela 22. Jednačine zavisnosti R_M^0 - m za ispitivana jedinjenja u primenjenim modifikatorima.

Modifikator	Jednačina	r	sd	p
Metanol	$R_M^0 = -0,178-0,873m$	0,995	0,046	< 0,0001
<i>n</i> -Propanol	$R_M^0 = -0,560-0,694m$	0,997	0,023	< 0,0001
Aceton	$R_M^0 = -1,968-1,251m$	0,997	0,024	< 0,0001
Tetrahidrofuran	$R_M^0 = -2,364-1,328m$	0,997	0,026	< 0,0001

Postojanje linearne zavisnosti između hromatografske retencione konstante, R_M^0 i hidrofobne specifične površine ispitivanog jedinjenja, m (**Tabela 22**) je fenomen koji ukazuje na mogućnost korišćenja parametra m za predikciju lipofilnosti ispitivanih jedinjenja. Iz tog razloga u daljem hromatografskom proučavanju, parametar m je korišćen kao alternativna mera lipofilnosti. Lipofilnost ispitivanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline predviđena je i matematički izračunavanjem podeonog koeficijenta, $\log P$ primenom određenih softverskih paketa. Izračunate $\log P$ vrednosti za ispitivane derivate 5-benzilidenbarbiturne kiseline date su u **Tabeli 23**.

Upoređivanjem podataka koji su prikazani u **Tabeli 23** uočava se da isto jedinjenje ima različite vrednosti podeonog koeficijenta, $\log P$. Ovo se može objasniti kao rezultat različitog matematičkog pristupa za izračunavanje ovih deskriptora lipofilnosti kao što su atomski, atomsko/fragmentacioni, fragmentacioni kao i pristup koji se zasniva na odgovarajućim osobinama molekula. Bez obzira na to koja računaska metoda je primenjena, rezultati pokazuju da se u svim slučajevima najveća vrednost podeonog koeficijenta dobija za jedinjenje **6** ($p\text{-CH}(\text{CH}_3)_2$ derivat), a najmanja vrednost za jedinjenje **2** ($p\text{-OH}$ derivat). Ovo je u skladu sa rezultatima dobijenim hromatografskim ispitivanjem derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline.

Tabela 23. Izračunate $\log P$ vrednosti, farmakokinetički prediktori, *HIA*, *PPB*, *BBB* i $\log Kp_{\text{permeabilnost kroz kožu}}$ i teorijski izračunate EC_{50} vrednosti za ispitivana jedinjenja **2-12**.

Jedinjenje	$\log P_{\text{cd}}$	$\text{Clog}P$	$\text{milog}P$	$\text{Mlog}P$	$\text{Mollog}P$	<i>HIA</i> (%)	<i>PPB</i> (%)	<i>BBB</i>	$\log Kp_{\text{permeabilnost}}$ kroz kožu (cm/h)	<i>Algae</i>	<i>Daphnia</i>	<i>Medaka</i>	<i>Minnow</i>
2	0,19	0,125	-0,19	0,320	1,12	76,44	68,05	0,252	-4,710	0,168	0,540	0,415	0,332
3	0,45	0,711	0,35	0,601	1,47	86,98	74,58	0,124	-4,068	0,163	0,501	0,356	0,367
4	0,79	1,240	0,73	0,873	1,94	88,54	76,79	0,016	-3,982	0,114	0,365	0,194	0,222
5	1,06	1,291	0,74	1,105	1,78	90,40	72,99	0,022	-3,867	0,127	0,321	0,148	0,177
6	1,81	2,219	1,80	1,641	2,49	92,32	83,33	0,031	-3,659	0,072	0,181	0,050	0,065
7	0,58	0,792	0,29	0,824	1,38	89,20	72,24	0,445	-3,982	0,207	0,497	0,344	0,325
8	0,73	0,935	0,46	1,234	1,65	89,28	78,38	0,492	-4,169	0,163	0,419	0,247	0,155
9	1,13	1,505	0,97	1,373	2,09	93,69	80,93	0,492	-3,986	0,127	0,321	0,148	0,177
10	1,40	1,655	1,10	1,510	2,23	94,93	84,93	0,464	-3,896	0,097	0,183	0,058	0,086
11	0,61	0,225	0,05	0,524	1,30	79,71	74,79	0,013	-4,012	0,200	0,420	0,267	0,244
12	0,76	0,535	0,25	0,911	1,05	51,77	84,29	0,009	-4,020	0,205	0,496	0,357	0,206

Dobijeni hromatografski parametri R_M^0 i m korelisani su sa matematički izračunatim vrednostima standardnog parametra lipofilnosti, $\log P$ kako bi se ispitala mogućnost korišćenja hromatografskih parametara R_M^0 i m kao alternativne i pouzdane mere lipofilnosti ispitivanih jedinjenja u primenjenim hromatografskim uslovima (**Tabela 24**). Dobijene visoke vrednosti korelacionog koeficijenta, r , niske vrednosti sume kvadrata odstupanja od predviđenih vrednosti (PRESS, *Predicted Residual Error Sum Squares*) i visoke vrednosti koeficijenata r^2_{adj} i r^2_{cv} (r^2_{adj} i $r^2_{cv} > 0,6$) ukazuju na visoku predikcionu sposobnost ovih modela (**Tabela 24**). Prethodno navedene činjenice ukazuju da dobijeni hromatografski parametri R_M^0 i m ispitivanih jedinjenja u svim primenjenim organskim modifikatorima mogu biti korišćeni kao alternativni prediktori lipofilnosti u datim uslovima.

Tabela 24. Korelacioni matriks za R_M^0 - $\log P$ i m - $\log P$.

	Metanol ^a	$\log P_{cd}$	ClogP	milogP	MlogP	MollogP
R_M^0	r	0,970	0,976	0,972	0,892	0,982
	sd	0,070	0,062	0,067	0,131	0,055
	P	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,003	< 0,0001
	r^2_{adj}	0,931	0,945	0,936	0,761	0,958
	r^2_{cv}	0,897	0,909	0,813	0,607	0,943
	PRESS	0,0515	0,0454	0,0932	0,196	0,0286
m	r	0,969	0,978	0,969	0,889	0,982
	sd	0,088	0,074	0,088	0,164	0,067
	P	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,003	< 0,0001
	r^2_{adj}	0,930	0,950	0,930	0,755	0,958
	r^2_{cv}	0,895	0,909	0,784	0,618	0,946
	PRESS	0,0805	0,0694	0,165	0,293	0,0413
<i>n</i>-Propanol^a						
R_M^0	r	0,980	0,973	0,961	0,904	0,968
	sd	0,042	0,048	0,057	0,089	0,052
	P	< 0,0001	< 0,0001	$1,43 \cdot 10^{-4}$	0,002	< 0,0001
	r^2_{adj}	0,953	0,939	0,911	0,786	0,927
	r^2_{cv}	0,916	0,891	0,740	0,669	0,914
	PRESS	0,0217	0,0281	0,0672	0,0857	0,0223
m	r	0,979	0,978	0,968	0,903	0,977
	sd	0,056	0,058	0,069	0,118	0,058
	P	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,002	< 0,0001
	r^2_{adj}	0,952	0,949	0,927	0,785	0,948
	r^2_{cv}	0,923	0,912	0,786	0,661	0,936
	PRESS	0,0351	0,0401	0,0978	0,154	0,0294

^aJedinjenja 2, 11 i 12 su isključena iz korelacije.

Nastavak Tabele 24. Korelacioni matiks za R_M^0 - $\log P$ i m - $\log P$.

Aceton ^a	$\log P_{cd}$	ClogP	milogP	MlogP	MollogP	
R_M^0	r	0,958	0,956	0,930	0,921	0,975
	sd	0,063	0,065	0,082	0,086	0,049
	P	$1,74 \cdot 10^{-4}$	$2,04 \cdot 10^{-4}$	$8,19 \cdot 10^{-4}$	0,001	< 0,0001
	r² adj.	0,905	0,900	0,842	0,822	0,943
	r² cv.	0,807	0,769	0,487	0,752	0,921
	PRESS	0,0568	0,0679	0,151	0,0730	0,0233
m	r	0,955	0,954	0,931	0,923	0,976
	sd	0,058	0,058	0,071	0,075	0,042
	P	$2,17 \cdot 10^{-4}$	$2,42 \cdot 10^{-4}$	$7,82 \cdot 10^{-4}$	0,001	< 0,0001
	r² adj.	0,898	0,894	0,844	0,826	0,946
	r² cv.	0,810	0,776	0,519	0,749	0,925
	PRESS	0,0432	0,0508	0,109	0,0569	0,0170
THF ^a						
R_M^0	r	0,960	0,953	0,926	0,923	0,970
	sd	0,063	0,068	0,084	0,085	0,055
	P	$1,61 \cdot 10^{-4}$	$2,56 \cdot 10^{-4}$	$9,42 \cdot 10^{-4}$	0,001	< 0,0001
	r² adj.	0,908	0,892	0,835	0,828	0,931
	r² cv.	0,810	0,764	0,491	0,758	0,905
	PRESS	0,0569	0,0707	0,152	0,0725	0,0284
m	r	0,966	0,967	0,957	0,904	0,976
	sd	0,043	0,043	0,048	0,071	0,037
	P	< 0,0001	< 0,0001	$1,89 \cdot 10^{-4}$	0,002	< 0,0001
	r² adj.	0,923	0,924	0,902	0,786	0,944
	r² cv.	0,886	0,877	0,755	0,664	0,927
	PRESS	0,0191	0,0207	0,0412	0,0567	0,0124

^aJedinjenja 2, 11 i 12 su isključena iz korelacije.

4.8.2. Određivanje *in silico* odabranih farmakokinetičkih prediktora i toksikoloških parametara

Imajući u vidu da su ispitivani derivati 5-benzilidenbarbiturne kiseline potencijalno biološki aktivna jedinjenja, za predviđanje njihove moguće aktivnosti pored lipofilnosti neophodno je poznavanje i razumevanje njihovih farmakokinetičkih osobina. Takođe, njihova dalja primena zavisi od delovanja na žive organizme i na ekosistem, što se može predvideti na osnovu parametara toksičnosti. U tu svrhu, izračunati su odabrani farmakokinetički prediktori i toksikološki parametri za ispitivane derivate 5-benzilidenbarbiturne kiseline korišćenjem odgovarajućih softverskih paketa. Dobijene vrednosti bioloških deskriptora apsorpcije u gastrointestinalnom traktu (*HIA, Human Intestinal Absorption*), sposobnosti vezivanja za proteine krvne plazme (*PPB, Plasma Protein Binding*), prolaska kroz krvno-moždanu barijeru (*BBB, Blood Brain Barrier*) kao i vrednosti koeficijenta propustljivosti kože, $\log K_p$ prikazane su u **Tabeli 23**. Dobijeni rezultati ukazuju da najbolju predispoziciju za jaku apsorpciju u

organizmu ima jedinjenje **10** (najveća *HIA* vrednost), dok najslabiju apsorpciju (najniža *HIA* vrednost) pokazuje jedinjenje **12**. Takođe, od svih ispitivanih jedinjenja najveći afinitet vezivanja za proteine plazme ima jedinjenje **10**. Dobijeni rezultati ukazuju da najveća neresorbovana količina jedinjenja **2** ostaje u okolnom tkivu ($PPB = 68,05\%$), što je u skladu sa očekivanjima. Na osnovu izračunatih vrednosti *BBB* deskriptora očigledno je da bi najveći uticaj na centralni nervni sistem imala jedinjenja **8-10**, kao i nesupstituisano jedinjenje ($BBB > 0,4$).¹⁸¹ Očekivane vrednosti koeficijenta propustljivosti, $\log K_p$ ukazuju da bi najbolji transdermalni prolaz imalo jedinjenje **6**, a najslabija propustljivost kože bi bila za jedinjenje **2**.

Sa idejom o postojanju zavisnosti između eksperimentalno određene lipofilnosti ispitivanih jedinjenja i odabranih farmakokinetičkih parametara, ispitana je korelacija između hromatografskih parametara R_M^0 i m i svakog ponaosob *in silico* prediktora primenom linearne regresije. Dobijene niske vrednosti koeficijenta korelacije za analizirane zavisnosti ukazuju na to da se hromatografski parametri R_M^0 i m dobijeni RP TLC metodom ne mogu koristiti za procenu farmakokinetičkog ponašanja ispitivanih jedinjenja.

Takođe, izračunate su vrednosti efektivne koncentracije, EC_{50} (mg/kg), kao mere akutne toksičnosti ispitivanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline za različite test organizme - *Algae*, *Daphnia*, *Medaka* i *Minnow* (**Tabela 23**). Na osnovu dobijenih vrednosti EC_{50} može se zaključiti da najveću toksičnost među ispitivanim jedinjenjima za sve primenjene test organizme pokazuje jedinjenje **6**. Generalno se može reći da su sva ispitivana jedinjenja najtoksičnija za jedinke vrste *Algae*. U cilju ispitivanja korelacije između eksperimentalno određene lipofilnosti ispitivanih jedinjenja i njihovih parametara toksičnosti za različite test organizme, hromatografski parametri R_M^0 i m su korelisani sa teorijski izračunatim vrednostima EC_{50} (**Tabela 25**). Dobijene visoke vrednosti svih statističkih parametara ukazuju da je uspostavljena zadovoljavajuća zavisnost između korelisanih podataka, što sugerise da se hromatografski parametri (R_M^0 i m) mogu pouzdano koristiti za predviđanje toksičnosti ispitivanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline.

Tabela 25. Korelacioni matriks za R_M^0 - EC_{50} i m - EC_{50} .

Metanol^a		<i>Algae at</i>	<i>Daphnia at</i>	<i>Medaka at</i>	<i>Minnow at</i>
R_M^0	r	0,933	0,958	0,944	0,881
	sd	0,103	0,082	0,095	0,136
	P	$7,05 \cdot 10^{-4}$	$1,72 \cdot 10^{-4}$	$4,09 \cdot 10^{-4}$	0,004
	$r^2_{adj.}$	0,850	0,905	0,874	0,740
	$r^2_{cv.}$	0,764	0,822	0,774	0,543
	PRESS	0,117	0,0889	0,112	0,228
m	r	0,942	0,963	0,957	0,892
	sd	0,119	0,096	0,103	0,162
	P	$4,55 \cdot 10^{-4}$	$1,25 \cdot 10^{-4}$	$1,90 \cdot 10^{-4}$	0,003
	$r^2_{adj.}$	0,870	0,914	0,902	0,762
	$r^2_{cv.}$	0,798	0,830	0,916	0,594
	PRESS	0,154	0,130	0,0642	0,311
<i>n</i>-Propanol^a		<i>Algae at</i>	<i>Daphnia at</i>	<i>Medaka at</i>	<i>Minnow at</i>
R_M^0	r	0,916	0,971	0,957	0,886
	sd	0,083	0,050	0,060	0,096
	P	0,001	< 0,0001	$1,90 \cdot 10^{-4}$	0,003
	$r^2_{adj.}$	0,813	0,933	0,902	0,751
	$r^2_{cv.}$	0,714	0,882	0,832	0,591
	PRESS	0,0740	0,0306	0,0436	0,106
m	r	0,929	0,973	0,959	0,898
	sd	0,102	0,063	0,078	0,121
	P	$8,54 \cdot 10^{-4}$	< 0,0001	$1,68 \cdot 10^{-4}$	0,002
	$r^2_{adj.}$	0,840	0,937	0,906	0,776
	$r^2_{cv.}$	0,742	0,879	0,833	0,618
	PRESS	0,118	0,0550	0,0763	0,174

Nastavak Tabele 25. Korelacioni matiks za R_M^0 - EC_{50} i m - EC_{50} .

Aceton ^a		<i>Algae at</i>	<i>Daphnia at</i>	<i>Medaka at</i>	<i>Minnow at</i>
R_M^0	r	0,921	0,984	0,982	0,931
	sd	0,086	0,039	0,042	0,081
	P	0,001	< 0,0001	< 0,0001	$7,79 \cdot 10^{-4}$
	r²_{adj}	0,826	0,963	0,958	0,846
	r²_{cv}	0,755	0,945	0,937	0,766
	PRESS	0,0722	0,0161	0,0185	0,0688
m	R	0,922	0,980	0,976	0,933
	Sd	0,075	0,039	0,042	0,070
	P	0,001	< 0,0001	< 0,0001	$7,11 \cdot 10^{-4}$
	r²_{adj}	0,828	0,953	0,944	0,850
	r²_{cv}	0,761	0,930	0,914	0,759
	PRESS	0,0542	0,0158	0,0194	0,0546
THF ^a		<i>Algae at</i>	<i>Daphnia at</i>	<i>Medaka at</i>	<i>Minnow at</i>
R_M^0	r	0,920	0,986	0,984	0,938
	sd	0,088	0,036	0,040	0,077
	P	0,001	< 0,0001	< 0,0001	$5,52 \cdot 10^{-4}$
	r²_{adj}	0,822	0,969	0,961	0,862
	r²_{cv}	0,749	0,953	0,941	0,783
	PRESS	0,0751	0,0140	0,0178	0,0648
m	r	0,939	0,971	0,962	0,924
	sd	0,058	0,040	0,046	0,064
	P	$5,45 \cdot 10^{-4}$	< 0,0001	$1,35 \cdot 10^{-4}$	0,001
	r²_{adj}	0,862	0,933	0,912	0,830
	r²_{cv}	0,787	0,872	0,844	0,687
	PRESS	0,0359	0,0216	0,0263	0,0527

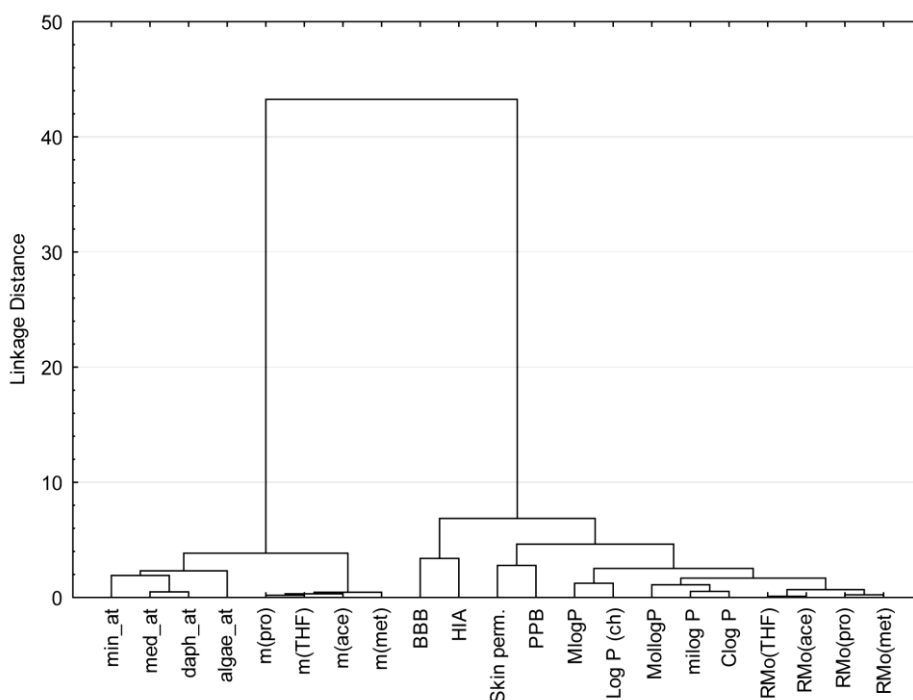
^aJedinjenja 2, 11 i 12 su isključena iz korelacije.

4.8.3. Ispitivanje međusobne zavisnosti proučavanih deskriptora biološke aktivnosti ispitivanih jedinjenja primenom multivarijantnih metoda

U savremenoj nauci, multivarijantne metode se sve više primenjuju za uspostavljanje zavisnosti koja definiše uticaj različitih faktora na biološku aktivnost jedinjenja u određenom medijumu. Multivarijantna analiza se do sada pokazala kao pogodna metoda za uspešnu klasifikaciju velikog broja podataka različitog porekla kao i identifikaciju i uklanjanje suvišnih informacija iz njih, odnosno rezultata koji su posledica grubih grešaka. Da bi se utvrdila zavisnost između analiziranih deskriptora biološke aktivnosti ispitivanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline primenjene su dve multivarijantne metode: klasteraska analiza (CA) i analiza glavnih komponentata (PCA).

CA i PCA su izvedene na matrici podataka koja se sastoji od varijabli kao što su eksperimentalno dobijene R_M^0 i m vrednosti, izračunate vrednosti parametra lipofilnosti, $\log P$ i odabrani farmakokinetički i toksikološki parametri ispitivanih jedinjenja (kolone) dok su ispitivani derivati 5-benzilidenbarbiturne kiseline predstavljali objekte/redove. Pre početka

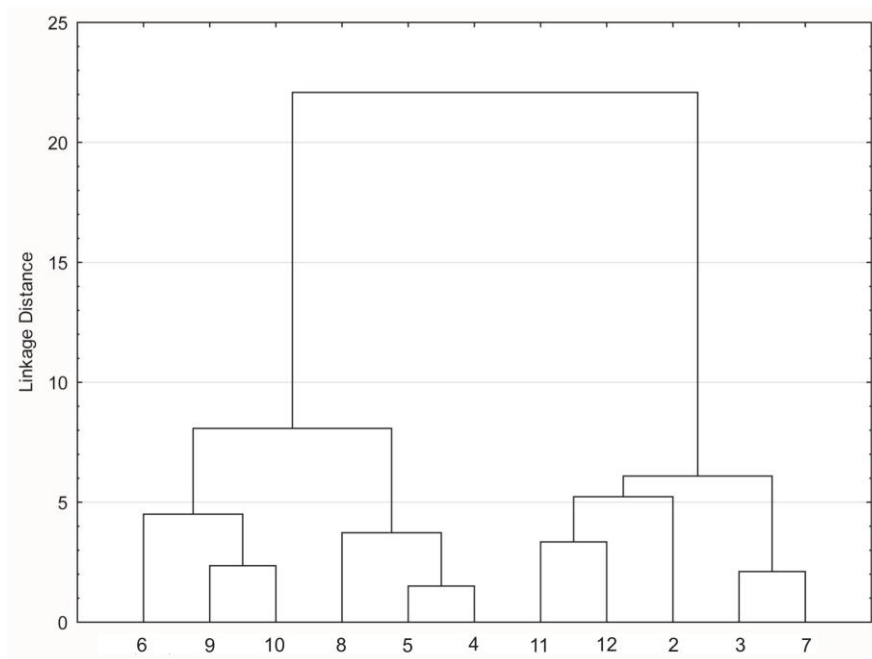
proračuna izvršeno je standardizovanje (autoskaliranje) početnog seta podataka matrice kako bi osigurali jednaku važnost svih analiziranih parametara. U klsterskoj analizi, Euclidean-ova razdaljina je primenjena kao mera udaljenosti između podataka, a klasteri su formirani korišćenjem Ward-ove metode. Dendrogram odabranih parametara biološke aktivnosti kao rezultat CA prikazan je na **Slici 33**, a dendrogram ispitivanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline na **Slici 34**. Na **Slici 33** može se uočiti grupisanje analiziranih parametara biološke aktivnosti ispitivanih jedinjenja u dva jasno definisana klastera. U prvom klasteru se nalaze eksperimentalno određeni hromatografski parametri m u svim primenjenim organskim modifikatorima kao i izračunati toksični parametri za sve test organizme. U drugom klasteru se nalaze farmakokinetički parametri, sve izračunate $\log P$ vrednosti i hromatografske retencione konstante dobijene u svim primenjenim organskim modifikatorima. Ovakva podela analiziranih parametara biološke aktivnosti je znak da vrednosti hromatografskog parametra m pokazuju mnogo veću sličnost sa parametrima toksičnosti nego retenciona hromatografska konstanta. Sa druge strane, kao i što se očekivalo, hromatografska retenciona konstanta R_M^0 pokazuje mnogo veće sličnosti sa standardnim parametrom lipofilnosti, $\log P$ i ispitivanim farmakokinetičkim prediktorima. U okviru oba klastera mogu se uočiti nekoliko manjih podgrupa što potvrđuje da primenjena metoda pored otkrivanja sličnosti između analiziranih podataka takođe može otkriti i njihovu raznovrsnost. Unutar prvog klastera formiraju se dve podgrupe, odnosno parametri toksičnosti su razdvojeni od eksperimentalno određenih m vrednosti. U okviru drugog klastera farmakokinetički prediktori formiraju dve manje podgrupe, dok izračunati standardni parametar lipofilnosti, $\log P$ i eksperimentalno dobijeni hromatografski parametri, R_M^0 formiraju treću podgrupu u okviru pomenutog klastera.



Slika 33. Dendrogram ispitivanih bioloških parametara.

Na dendrogramu dobijenom za ispitivane derivate 5-benzilidenbarbiturne kiseline (**Slika 34**) uočavaju se dva dobro definisana klastera. Jedan od klastera sadrži jedinjenja **4-6** i **8-10**

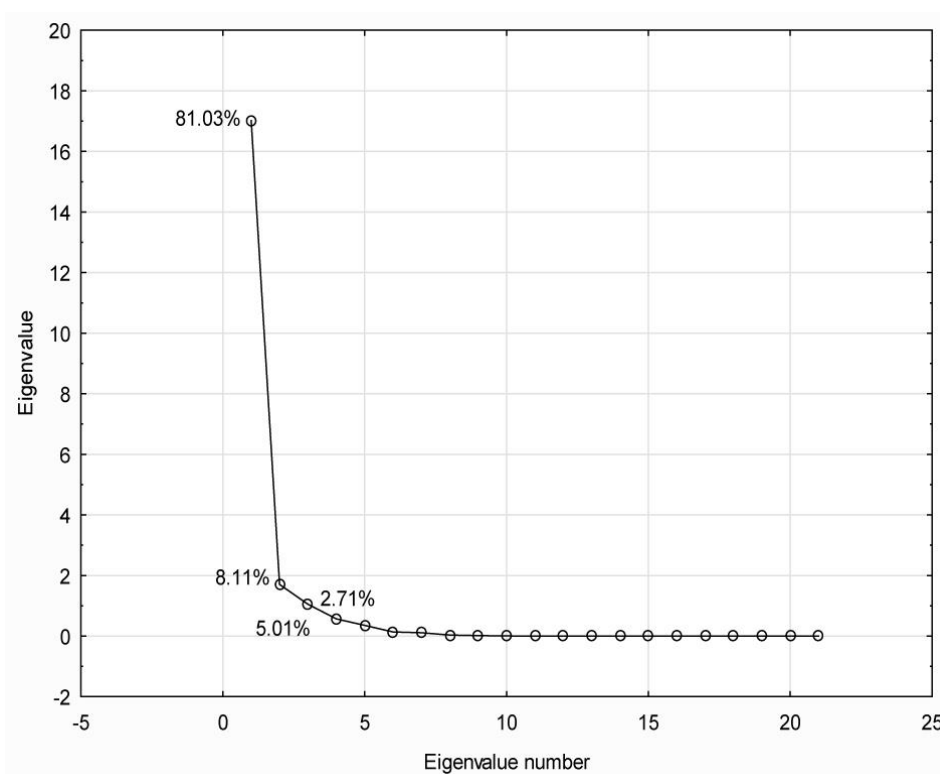
dok drugi klaster formiraju jedinjenja **2**, **3**, **11** i **12**. Ako uporedimo rezultate klusterske analize sa strukturnim osobinama ispitivanih jedinjenja možemo zaključiti da su jedinjenja grupisana na osnovu uticaja elektronskog efekta supstituenata na ukupnu lipofilnost molekula, koji je često opisan u literaturi Hansch-ovom supstituentskom konstantom, π .¹⁸² Tačnije, prvi klaster formiraju jedinjenja koja sadrže supstituente u *para*- položaju benzenovog prstena sa pozitivnom π vrednošću, a drugi klaster jedinjenja koja sadrže supstituente u *para*-položaju benzenovog prstena sa negativnom π vrednošću (**Tabela 26**).



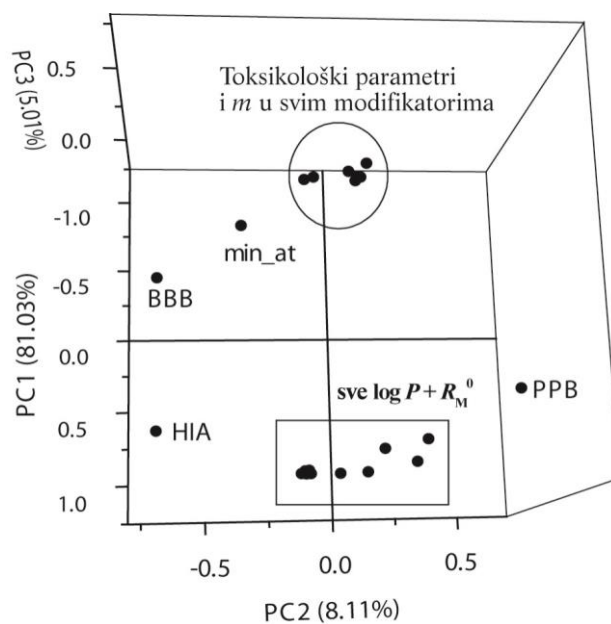
Slika 34. Dendrogram ispitivanih jedinjenja **2-12**.

PCA metoda razlaže originalnu matricu podataka na vektore koeficijenata latentnih varijabli (parametri lipofilnosti, farmakokinetički i toksikološki parametri) i skor vektore (ispitivana jedinjenja) pri čemu se dobijaju nove varijable, tzv. glavne komponente, PC. Na **Slici 35** se može videti da dve glavne komponente (PC1 i PC2) opisuju skoro 89% ukupnih varijabli. Sličnost analiziranih parametara biološke aktivnosti ispitivanih jedinjenja određena na različite načine (grafik koeficijenata latentnih varijabli) prikazana je na **Slici 36a**. Iz dobijenih rezultata PCA metodom jasno se vidi da prve tri glavne komponente razdvajaju analizirane parametre u dve grupe što je u saglasnosti sa rezultatima dobijenim CA metodom. Jedna grupa obuhvata *m* vrednosti i parametre toksičnosti (izuzev *Minnow at*), a druga grupa sadrži izračunate vrednosti $\log P$ i određene hromatografske parametre, R_M^0 u svim primenjenim organskim modifikatorima. Ako uporedimo rezultate dobijene CA i PCA metodom, razlika je u tome što farmakokinetički parametri (*HIA*, *PPB* i *BBB*) i parametri za test organizam *Minnow* ne pripadaju ni jednoj grupi već predstavljaju tzv. autlajere (*outlier*). Ovaj način grupisanja lipofilnih parametara potvrđuje činjenicu da je hromatografska retenciona konstanta, R_M^0 kompatibilnija sa particionim koeficijentom, $\log P$, dok hromatografski parametar *m* ima mnogo veću sličnost sa toksikološkim parametrima. Zavisnost između PC1 i PC2 za ispitivane derivate

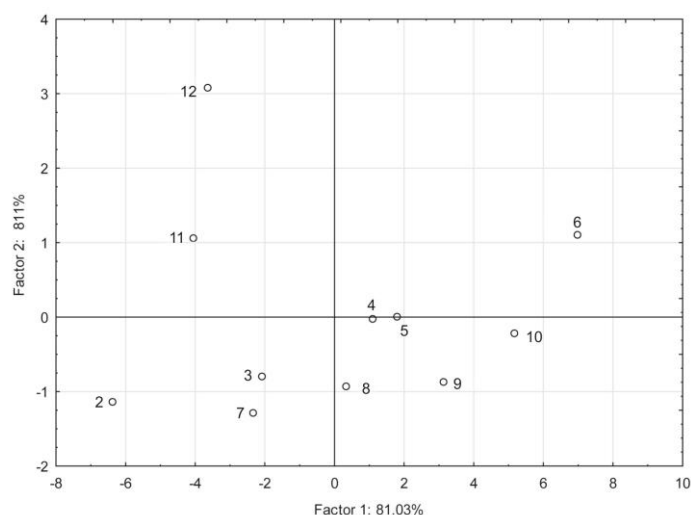
5-benzilidenbarbiturne kiseline (grafik zavisnosti skorova) prikazana je na **Slici 36b**. Sa **Slike 36b** može se videti da je sa prve dve glavne komponente grupisanje ispitivanih jedinjenja izvršeno na osnovu prirode supstituenata u *para*- položaju benzenovog prstena. Prva grupa čiji je PC1 negativan obuhvata jedinjenja **2, 3, 7, 11** i **12**, dok se u drugoj grupi čiji je PC2 pozitivan nalaze jedinjenja **4, 5, 6, 8, 9** i **10**. Jasno se može videti da su ispitivana jedinjenja u PCA kao i CA grupisana na osnovu Hansch-ovih supstituentских konstanti, π (**Tabela 26**).



Slika 35. *Eigen* vrednosti korelacionog matriksa za ispitivana jedinjenja **2-12**.



a)



b)

Slika 36. Grafik latentnih varijabli kao rezultat PC1 prema PC2 (a) i grafik skorova kao rezultat PC1 prema PC2 (b).

Korelacijom PC1 i Hansch-ovih supstituentskih konstanti, π dobijena je dobra linearna zavisnost između korelisanih parametara sa visokim koeficijentom korelacije (**Slika 37a**). Kvantitativna zavisnost između PC1 i Hansch-ovih supstituentskih konstanti može se predstaviti sledećom jednačinom (17):

$$PC1 = -1,484 + 6,184 \cdot \pi \quad r = 0,981 \quad (17)$$

Postojanje kvantitativnog odnosa između Hansch-ovih supstituentskih konstanti i prve glavne komponente (PC1) ukazuje da ispitivana svojstva (biološka aktivnost) derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline dominantno zavise od prirode supstituenta u *para*- položaju benzenovog prstena. Sa druge strane, postojanje linearne zavisnosti ukazuje na mogućnost upotrebe PC1 kao potencijalnog molekuskog deskriptora za procenjivanje lipofilnosti ispitivanih jedinjenja.

Kako bi se dodatno proverila mogućnost korišćenja PC1 za opisivanje potencijalne biološke aktivnosti ispitivanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline, vrednosti PC1 su korelisane sa molekulskom zapreminom jedinjenja (**Tabela 26**). Molekulska zapremina (*MV*, *Molecular Volume*) je jedna od glavnih strukturnih osobina jedinjenja koja je odgovorna za transport molekula kroz biološke membrane kao što je intestinalna apsorpcija i prolaz kroz krvno-moždanu barijeru (*BBB*). Ona je jedan od često korišćenih molekuskih deskriptora u QSAR studijama za modelovanje jedinjenja sa potencijalnom biološkom aktivnošću. Korelacija PC1 komponente i molekuskih zapremina ispitivanih jedinjenja prikazana je na **Slici 37b**. Kao što se može videti sa **Slike 37b**, molekulska zapremina ispitivanih jedinjenja formira dve odvojene linearne zavisnosti sa PC1 korelisanim vrednostima.

Kvantitativna zavisnost između PC1 i molarne zapremine derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline sa lipofilnim supstituentima u *para*- položaju benzenovog prstena (osim jedinjenja sa *p*-CH(CH₃)₂ grupom) može se predstaviti sledećom jednačinom (18):

$$PC1 = -72,759 + 0,387 \cdot MV \quad r = 0,979 \quad (18)$$

Druga kvantitativna zavisnost može se opisati između PC1 i molarne zapremine derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline sa polarnim supstituentima u *para*- položaju benzenovog prstena sledećom jednačinom (19):

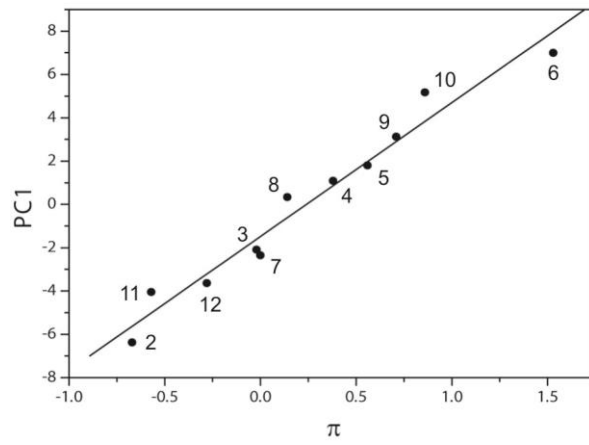
$$PC1 = -65,512 + 0,303 \cdot MV \quad r = 0,948 \quad (19).$$

Dobijena dobra linearna korelacija ukazuje da se PC1 dobijena multivarijantom analizom može koristiti kao alternativni molekulski deskriptor za opisivanje potencijalne biološke aktivnosti derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline.

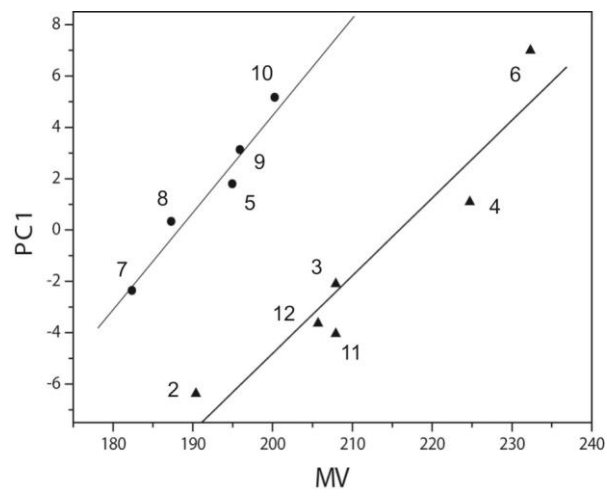
Posmatrajući distribuciju ispitivanih jedinjenja na osnovu PC2 vrednosti, na prvi pogled nije moguće uočiti prirodu njihove povezanosti. Međutim, PC2 vrednosti dobijene multivarijantnom analizom korelisane su sa Hammett-ovim supstituentским konstantama, σ^{183} (**Tabela 26**) koje opisuju elektronske efekte supstituenata (**Slika 37c**). Naime, jedinjenja koja sadrže u *para*- položaju benzenovog prstena elektron-donorske supstituentе, odnosno imaju negativne vrednosti Hammett-ovih supstituentских konstanti, σ (jedinjenje **2-6**) formiraju jednu linearnu zavisnost, dok jedinjenja koja sadrže supstituentе sa pozitivnim vrednostima Hammett-ovih supstituentских konstanti, σ odnosno elektron-akceptorske grupe u *para*- položaju benzenovog prstena (jedinjenja **8-12**) formiraju drugu linearnu zavisnost sa PC2. Dobijene kvantitativne zavisnosti između pozitivnih i negativnih Hammett-ovh supstituentских konstanti sa PC2 mogu se opisati jednačinama (20) i (21):

$$PC1 = -1,463 + 4,907 \cdot \sigma^+ \quad r = 0,947 \quad (20)$$

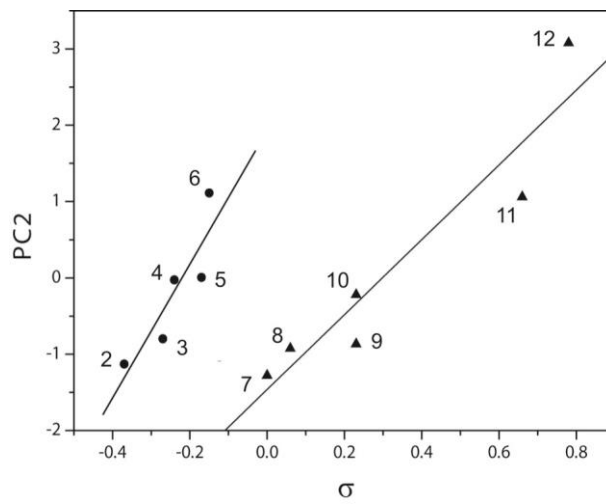
$$PC1 = 1,974 + 8,810 \cdot \sigma^- \quad r = 0,891 \quad (21).$$



a)



b)



c)

Slika 37. Zavisnost između PC1 i π (a), PC1 i MV (b) i PC2 i σ (c).

Tabela 26. Hansch-ova supstituentna konstanta, π , Hammett-ova supstituentna konstanta, σ i molekulska zapremina, MV za jedinjenja 2-12.

Jedinjenje	π	σ	MV
2	-0,67	-0,37	190,39
3	-0,02	-0,27	207,92
4	0,38	-0,24	224,72
5	0,56	-0,17	198,94
6	1,53	-0,15	232,32
7	0,00	0,00	182,37
8	0,14	0,06	187,31
9	0,71	0,23	195,91
10	0,86	0,23	200,26
11	-0,57	0,66	207,92
12	-0,28	0,78	205,71

Na osnovu dobijenih rezultata primenom hemometrijskih metoda, klusterske analize (CA) i analize glavnih komponentata (PCA), može se zaključiti da su analizirana svojstva ispitivanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline značajno uslovljena sposobnošću supstituenata u *para*- položaju benzenovog prstena da utiču na ukupnu lipofilnost molekula svojom prirodom (polarnost) i u nešto manjoj meri elektronskim efektima. Takođe, treba naglasiti prednosti primenjenih multivarijantnih metoda u odnosu na metodu linearne regresije. Dakle, primenom PCA i CA metode grupisanjem različitih molekulskih deskriptora i retencionih parametara ispitivanih jedinjenja otkrivena je zavisnost između velikog broja analiziranih podataka koja se nije mogla uočiti primenom linearne regresije. Takođe, dobijena je i informacija o faktorima koji najviše utiču na proučavane osobine ispitivanih jedinjenja.

5. ZAKLJUČAK

Imajući u vidu da je jedinstvena struktura šestočlanog pirimidinskog prstena barbiturne kiseline strukturalna jedinica mnogih derivata koji imaju široku tehnološku i farmaceutsku primenu, po prvi put su sistematično ispitane donor-akceptorske interakcije u *para*-supstituisanim derivatima 5-benzilidenbarbiturne kiseline sa elektron-donorskim i elektron-akceptorskim supstituentima kao potencijalnih *push-pull* sistema, a zatim njihovo hromatografsko ponašanje u cilju predikcije biološke aktivnosti. Jedan od glavnih motiva za proučavanje elektronskih interakcija u sintetisanim jedinjenjima jeste bila činjenica da elektron-donorska sposobnost barbiturne kiseline još uvek nije potvrđena u literaturi dok su njena elektron-akceptorska svojstva detaljno istražena i dokumentovana u velikom broju naučnih radova. Na osnovu dobijenih rezultata i detaljne diskusije koja je proistekla iz spektroskopskih i hromatografskih analiza zajedno sa QSAR i modernim kvantno-hemijskim proračunima izvedeni su zaključci koji doprinose daljem istraživanju derivata barbiturne kiseline posebno u oblasti organske elektronike i medicinske hemije.

Na osnovu ^{13}C NMR hemijskih pomeranja, spektrofotometrijski određenih pK_a vrednosti i MP2 energija svih tautomernih oblika ispitivanih jedinjenja utvrđeno je da je triketo oblik barbiturne kiseline najstabilniji. Nakon MP2/6-311G(d,p) geometrijske optimizacije najstabilnijeg triketo izomera derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline ustanovljeno je da su ispitivane strukture uglavnom neplanarne, osim u slučaju derivata koji u *para*- položaju benzenovog prstena sadrže elektron-donorske grupe što potvrđuju i kristalne strukture 5-benziliden barbiturata pronađene u Kembričkoj banci podataka. Skoro planarna geometrija ($\theta=4,4^\circ$) jedinjenja sa jakom elektron-donorskom grupom $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ukazuje na postojanje jake delokalizacije π -elektrona u benzilidenskom delu molekula.

Rezultati LSER analize koja uključuje korišćenje Kamlet-Taftove skale polarnosti rastvarača pokazuju da oblik i položaj apsorpcionih maksimuma ispitivanih jedinjenja u mnogo većoj meri zavisi od elektronskih efekata supstituenata nego od rastvarača. LFER analizom ^{13}C NMR spektralnih podataka, primenom Hammett-ovog SSP i Swain-Lupton-ovog DSP modela utvrđeno je da polarni i rezonancioni (normalni) efekat deluju na C8 i C5 atome, dok reversni (obrnuti) efekat na C7 atom što je dodatno potvrđeno primenom koncepta lokalizovane i proširene π -polarizacije.

Na osnovu kvantitativnog opisa hemijske veze, odnosno prirode C4-C5 i C7-C8 veze, može se zaključiti da povećanje elektron-akceptorske sposobnosti supstituenta u *para*- položaju benzenovog prstena smanjuje delokalizaciju π -elektrona u molekulu. Rezultati Mayer-ove analize prirode hemijske veze za C4-C5 atome ukazuju na nizak stepen delokalizacije π -elektrona između barbiturne kiseline i ostatka molekula. Prema dobijenim rezultatima, u jedinjenjima koja sadrže supstituente sa jakim pozitivnim rezonancionim efektom i slabim negativnim induktivnim efektom postoji značajan stepen delokalizacije π -elektrona između *para*-supstituisanog benzenovog prstena i egzociklične dvostruke veze C5-C7 i mnogo manji stepen delokalizacije u jedinjenjima koja sadrže supstituente sa -R i -I efektom. Na osnovu rezultata ^{13}C NMR hemijskih pomeranja indukovana supstituentom i Mayer-ove analize prirode hemijske veze uočeno je da jedinjenja **1-4** imaju dva π -sistema, dok jedinjenja **5 i 6 i 8-12** imaju tri π -sistema. Detaljnom analizom pobuđenih stanja došlo se do zaključka da barbiturna kiselina ima ulogu elektron-akceptora kada je kuplovana sa elektron-donorom, a kada je kuplovana sa jakim elektron-akceptorima može imati ulogu slabog donora elektrona. Rezultati istraživanja jasno ukazuju da se *para*-dimetilamino derivat može smatrati najboljim kandidatom za *push-pull* sistem, dok ostale ispitivane hromofore ne poseduju *push-pull* karakter i ne mogu

se koristiti kao tipični CT molekuli. Donor-akceptorske interakcije u *p*-N(CH₃)₂ derivatu 5-benzilidenbarbiturne kiseline mogu se opisati kao prenos elektrona iz -N(CH₃)₂ grupe i benzenovog prstena kao donore elektrona na C7 atom vinilne grupe i barbiturnu kiselinu kao akceptore elektrona.

Retenciono ponašanje (lipofilnost) ispitivanih jedinjenja određeno reverzno-faznom tankoslojnom hromatografijom (RP TLC) na modifikovanom RP-18 silika gelu u četiri sistema (voda/metanol, voda/*n*-propanol, voda/acetone i voda/tetrahidrofuran) rastvarača znatno je uslovljeno prirodom supstituenta u *para*- položaju benzenovog prstena i u maloj meri zavisi od primenjenog organskog modifikatora. Uspostvaljena je linearna zavisnost između hromatografski dobijenih parametara lipofilnosti, R_M^0 i m i teorijski izračunatih vrednosti podeonog koeficijenta $\log P$ kao standardne mere lipofilnosti i toksikoloških parametara ispitivanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline. Rezultati dobijeni primenom multivarijantnih metoda ukazuju da polarnost supstituenata ima najveći uticaj na ispitivana svojstva jedinjenja, a u nešto manjoj meri njihov elektronski efekat. Primenom klusterske analize i analize glavnih komponenata utvrđeno je da se ostvaruje bolje slaganje između hromatografske retencione konstante R_M^0 i izračunatih parametara lipofilnosti, dok hromatografski parametar, m pokazuje bolje slaganje sa toksikološkim parametrima. Visoki kvalitet dobijenih matematičkih modela, odnosno njihova validacija potvrđena je na osnovu dobijenih vrednosti osnovnih statističkih parametara kao i vrednosti parametara dobijenih unakrsnom validacijom. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da se hromatografski parametari lipofilnosti (R_M^0 i m) mogu pouzdano koristiti za opisivanje lipofilnosti ispitivanih derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline odnosno za predikciju njihove biološke aktivnosti.

6. LITERATURA

1. Vetulani, J. Drug addiction. Part I. Psychoactive substances in the past and presence. *Pol. J. Pharmacol.* **53**, 201—214 (2001).
2. Botello, I., Borrull, F., Calull, M. & Aguilar, C. Electrokinetic supercharging in CE for the separation and preconcentration of barbiturate drugs in urine samples. *J. Sep. Sci.* **36**, 524–531 (2013).
3. Muroi, Y., Theusch, C. M., Czajkowski, C. & Jackson, M. B. Distinct structural changes in the GABAA receptor elicited by pentobarbital and GABA. *Biophys. J.* **96**, 499–509 (2009).
4. Sonnay, S., Duarte, J. M. N., Just, N. & Gruetter, R. Energy metabolism in the rat cortex under thiopental anaesthesia measured In Vivo by ¹³C MRS. *J. Neurosci. Res.* **95**, 2297–2306 (2017).
5. N. Aboul-Enein, M., A. El-Azzouny, A., A. Saleh, O. & A. Maklad, Y. On Chemical Structures with Potent Antiepileptic/Anticonvulsant Profile. *Mini-Reviews Med. Chem.* **12**, 671–700 (2012).
6. Xu, C. *et al.* Anti-inflammatory effects of novel barbituric acid derivatives in T lymphocytes. *Int. Immunopharmacol.* **38**, 223—232 (2016).
7. Barakat, A. *et al.* Monoalkylated barbiturate derivatives: X-ray crystal structure, theoretical studies, and biological activities. *J. Mol. Struct.* **1141**, 624–633 (2017).
8. Giziroglu, E. *et al.* Barbiturate bearing aroylhydrazine derivatives: Synthesis, NMR investigations, single crystal X-ray studies and biological activity. *J. Mol. Struct.* **1108**, 325–333 (2016).
9. Penthala, N. R. *et al.* 1-Benzyl-2-methyl-3-indolylmethylene barbituric acid derivatives: Anti-cancer agents that target nucleophosmin 1 (NPM1). *Bioorganic Med. Chem.* **23**, 7226–7233 (2015).
10. Yan, Q. *et al.* Inhibitory effects of 5-benzylidene barbiturate derivatives on mushroom tyrosinase and their antibacterial activities. *Eur. J. Med. Chem.* **44**, 4235–4243 (2009).
11. Haldar, M. K., Scott, M. D., Sule, N., Srivastava, D. K. & Mallik, S. Synthesis of barbiturate-based methionine aminopeptidase-1 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **18**, 2373–2376 (2008).
12. Khalid, M. K. *et al.* Synthesis of 5-Arylidene Barbiturates: A Novel Class of DPPH Radical Scavengers. *Lett. Drug Des. Discov.* **5**, 286–291 (2008).
13. Tanaka, K., Cheng, X., Kimura, T. & Yoneda, F. MILD OXIDATION OF ALLYLIC AND BENZYLIC ALCOHOLS WITH 5-ARYLIDENE BARBITURIC ACID DERIVATIVES AS A MODEL OF REDOX COENZYMES. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. **34**, 3945–3948 (1986).
14. Tanaka, K., Chen, X., Kimura, T. & Yoneda, F. Oxidation of thiol by 5-arylidene 1,3-dimethylbarbituric acid and its application to synthesis of unsymmetrical disulfide. *Tetrahedron Lett.* **28**, 4173–4176 (1987).
15. Tanaka, K., Chen, X. & Yoneda, F. Oxidation of thiol with 5-arylidene-1,3-dimethylbarbituric acid: application to synthesis of unsymmetrical disulfide. *Tetrahedron* **44**, 3241–3249 (1988).
16. Rezende, M. C., Campodonico, P., Abuin, E. & Kossanyi, J. Merocyanine-type dyes from barbituric acid derivatives. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **57**, 1183–1190 (2001).

17. Thetford, D., Chorlton, A. P. & Hardman, J. Synthesis and properties of some polycyclic barbiturate pigments. *Dye. Pigment.* **59**, 185–191 (2003).
18. Kondo, K., Ochiai, S., Takemoto, K. & Irie, M. Nonlinear optical properties of p-substituted benzalbarbituric acids. *Appl. Phys. Lett.* **56**, 718 (1990).
19. Kajzar, F. *Organic thin films for waveguiding nonlinear optics.* **2**, (CRC Press, 1996).
20. Kier, L. B., Hall, L. H. & Frazer, J. W. Design of molecules from quantitative structure-activity relationship models. 1. Information transfer between path and vertex degree counts. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **33**, 143–147 (1993).
21. Hansch, C. Quantitative approach to biochemical structure-activity relationships. *Acc. Chem. Res.* **2**, 232–239 (1969).
22. Naşcu-Briciu, R. D. & Sârbu, C. A comparative study concerning the chromatographic behaviour and lipophilicity of certain natural toxins. *J. Sep. Sci.* **35**, 1059–1067 (2012).
23. Kerns, E. H. & Di, L. Pharmaceutical profiling in drug discovery. *Drug Discov. Today* **8**, 316–323 (2003).
24. Kalász, H., Benkő, B., Gulyás, Z. & Tekes, K. Lipophilicity Determination using Both TLC and Calculations. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **32**, 1342–1358 (2009).
25. Héberger, K. Quantitative structure-(chromatographic) retention relationships. *J. Chromatogr. A* **1158**, 273–305 (2007).
26. Vastag, G., Apostolov, S., Matijević, B. & Assaleh, F. QSRR approach in examining selected azo dyes. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **39**, 674–681 (2016).
27. Tamaian, R. *et al.* Study of the relationships between the structure, lipophilicity and biological activity of some thiazolyl-carbonyl-thiosemicarbazides and thiazolyl-azoles. *Molecules* **20**, 22188–22201 (2015).
28. Sobańska, A. W. Application of planar chromatographic descriptors to the prediction of physicochemical properties and biological activity of compounds. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **41**, 255–271 (2018).
29. Milojković-Opsenica, D., Andrić, F., Šegan, S., Trifković, J. & Tešić, Ž. Thin-layer chromatography in quantitative structure-activity relationship studies. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **41**, 272–281 (2018).
30. Kepczyńska, E., Bojarski, J. & Pyka, A. Lipophilicity of Barbiturates Determined by TLC. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **26**, 3277–3287 (2003).
31. Cuenca-Benito, M., Sagrado, S., Villanueva-Camañas, R. M. & Medina-Hernández, M. J. Quantitative retention–structure and retention–activity relationships of barbiturates by micellar liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* **814**, 121–132 (1998).
32. He, G. S., Tan, L. S., Zheng, Q. & Prasad, P. N. Multiphoton absorbing materials: Molecular designs, characterizations, and applications. *Chem. Rev.* **108**, 1245–1330 (2008).
33. Kawabe, Y., Ikeda, H., Sakai, T. & Kawasaki, K. Second-order non-linear optical properties of new organic conjugated molecules. *J. Mater. Chem.* **2**, 1025–1031 (1992).
34. Marder, S. R. & Perry, J. W. Molecular materials for second-order nonlinear optical applications. *Adv. Mater.* **5**, 804–815 (1993).
35. Podlesný, J. *et al.* Small isomeric push-pull chromophores based on thienothiophenes with tunable optical (non)linearities. *Org. Biomol. Chem.* **17**, 3623–3634 (2019).
36. Hagfeldt, A., Boschloo, G., Sun, L., Kloo, L. & Pettersson, H. Dye-Sensitized Solar Cells. *Chem. Rev.* **110**, 6595–6663 (2010).
37. Wu, Y. & Zhu, W. Organic sensitizers from D– π –A to D–A– π –A: effect of the internal

- electron-withdrawing units on molecular absorption{,} energy levels and photovoltaic performances. *Chem. Soc. Rev.* **42**, 2039–2058 (2013).
38. Ohmori, Y. Development of organic light-emitting diodes for electro-optical integrated devices. *Laser Photon. Rev.* **4**, 300–310 (2010).
 39. Kim, Y. H., Kim, H. & Kim, H. J. Synthesis and pH-sensing Properties of a Push–Pull Conjugated Fluorophore Based on Dicyanomethylene-1,4-dihydropyridine. *Bull. Korean Chem. Soc.* **37**, 494–499 (2016).
 40. Bolz, I., Bauer, M., Rollberg, A. & Spange, S. Chromophoric Barbituric Acid Derivatives with Adjustable Hydrogen-Bonding Patterns as Component for Supramolecular Structures. *Macromol. Symp.* **287**, 8–15 (2010).
 41. Ikeda, H., Kawabe, Y., Sakai, T. & Kawasaki, K. Second Order Hyperpolarizabilities of Barbituric Acid Derivatives. *Chem. Lett.* **18**, 1803–1806 (1989).
 42. Klikar, M. *et al.* Malonic Acid Derivatives on Duty as Electron-Withdrawing Units in Push–Pull Molecules. *European J. Org. Chem.* **2017**, 2764–2779 (2017).
 43. Klikar, M. *et al.* N,N'-Dibutylbarbituric acid as an acceptor moiety in push-pull chromophores. *New J. Chem.* **37**, 4230–4240 (2013).
 44. Benniston, A. C., Harriman, A. & Gulliya, K. S. Photophysical properties of merocyanine 540 derivatives. *J. Chem. Soc. {,} Faraday Trans.* **90**, 953–961 (1994).
 45. Kim, S.-H., Kim, Y.-S., Lee, D.-H. & Son, Y.-A. Synthesis and Optical Chromic Properties of New Barbituric Acid based Dye Molecules Having Push- π -Pull System. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **550**, 240–249 (2011).
 46. Bolz, I., May, C. & Spange, S. Solvatochromic properties of Schiff bases derived from 5-aminobarbituric acid: chromophores with hydrogen bonding patterns as components for coupled structures. *New J. Chem.* **31**, 1568–1571 (2007).
 47. Bolz, I., May, C. & Spange, S. Novel Schiff bases derived from 5-aminobarbituric acid: synthesis and solid state structure. *Arkivoc* **3**, 60–67 (2007).
 48. Bolz, I., Moon, C., Enkelmann, V., Brunklaus, G. & Spange, S. Probing Molecular Recognition in the Solid-State by Use of an Enolizable Chromophoric Barbituric Acid. *J. Org. Chem.* **73**, 4783–4793 (2008).
 49. Bauer, M., Rollberg, A., Barth, A. & Spange, S. Differentiating Between Dipolarity and Polarizability Effects of Solvents Using the Solvatochromism of Barbiturate Dyes. *European J. Org. Chem.* **2008**, 4475–4481 (2008).
 50. Bureš, F. Fundamental aspects of property tuning in push-pull molecules. *RSC Adv.* **4**, 58826–58851 (2014).
 51. Le Bahers, T., Adamo, C. & Ciofini, I. A qualitative index of spatial extent in charge-transfer excitations. *J. Chem. Theory Comput.* **7**, 2498–2506 (2011).
 52. Jacquemin, D., Bahers, T. Le, Adamo, C. & Ciofini, I. What is the “best” atomic charge model to describe through-space charge-transfer excitations? *Phys. Chem. Chem. Phys.* **14**, 5383 (2012).
 53. Ciofini, I., Le Bahers, T., Adamo, C., Odobel, F. & Jacquemin, D. Through-space charge transfer in rod-like molecules: Lessons from theory. *J. Phys. Chem. C* **116**, 11946–11955 (2012).
 54. Lu, T. & Chen, F. Multiwfn: A multifunctional wavefunction analyzer. *J. Comput. Chem.* **33**, 580–592 (2012).
 55. Baeyer, A. Mittheilungen aus dem organischen Laboratorium des Gewerbeinstitutes in Berlin: Untersuchungen über die Harnsäuregruppe. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **130**,

- 129–175 (1864).
56. López-Muñoz, F., Ucha-Udabe, R. & Álamo, C. The history of barbiturates a century after their clinical introduction. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* **1**, 329–343 (2005).
 57. Kauffman, G. B. Story behind the story: Adolf von Baeyer and the naming of barbituric acid. *J. Chem. Education* **57**, 222–223 (1980).
 58. Skinner, H. A. *'The Origin of Medical Terms' 2nd Ed.* (Hafner, New York, N.Y., 1970).
 59. Adams, E. Barbiturates. **198**, 60 (1958).
 60. Oesper, R. E. *The human side of scientists.* (University Publications, University of Cincinnati, 1975).
 61. Partington, J. R. *'A History of Chemistry.'* Vol. **4**, (Macmillan and Co., Ltd., London, 1964).
 62. Kraemer, T. & Maurer, H. H. *Chapter 6 Sedatives and hypnotics. Handbook of Analytical Separations* **6**, (Elsevier B.V., 2008).
 63. Bojarski, J. T., Mokrosz, J. L., Bartoń, H. J. & Paluchowska, M. H. Recent Progress in Barbituric Acid Chemistry. *Adv. Heterocycl. Chem.* **38**, 229–297 (1985).
 64. Senthilkumar, K. & Kolandaivel, P. Quantum chemical studies on tautomerism of barbituric acid in gas phase and in solution. *J. Comput. Aided. Mol. Des.* **16**, 263–272 (2002).
 65. Zuccarello, F., Buemi, G., Gandolfo, C. & Contino, A. Barbituric and thiobarbituric acids: a conformational and spectroscopic study. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **59**, 139–151 (2003).
 66. Jones, G. The Knoevenagel Condensation. *Org. React.* **15**, 204–599 (2004).
 67. Tietze, L. F. & Beifuss, U. The Knoevenagel Reaction. *Compr. Org. Synth.* 341–394 (1991). doi:10.1016/b978-0-08-052349-1.00033-0
 68. Baeyer, A. Mittheilungen aus dem organischen Laboratorium des Gewerbeinstitutes in Berlin: Untersuchungen über die Harnsäuregruppe. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **130**, 129–175 (1864).
 69. Deb, M. L. & Bhuyan, P. J. Uncatalysed Knoevenagel condensation in aqueous medium at room temperature. *Tetrahedron Lett.* **46**, 6453–6456 (2005).
 70. Alcerreca, G. *et al.* Preparation of Benzylidene Barbituric Acids Promoted by Infrared Irradiation in Absence of Solvent. *Synth. Commun.* **30**, 1295–1301 (2000).
 71. Free, S., Protocol, G., Barbituric, A. & Derivatives, A. Organic Chemistry : An Indian Journal A Solvent Free Green Protocol for Synthesis of 5-Arylidine Barbituric Acid. **12**, 1–6 (2016).
 72. Dighore, N. R., Anandgaonker, P. L., Gaikwad, S. T. & Rajbhoj, A. S. Solvent free green synthesis of 5-arylidine barbituric acid derivatives catalyzed by copper oxide nanoparticles. *Res. J. Chem. Sci.* **4**, 93–98 (2014).
 73. G. THIRUPATHI, G. T., NARAYANA, M. V., P. K. DUBEY, P. K. D. & KUMARI, Y. B. Facile and Green Syntheses of 5-Arylidene-pyrimidine-2,4,6-triones and 5-Arylidene-2-thioxo-dihydro-pyrimidine-4,6-diones Using L-Tyrosine as an Efficient and Eco-Friendly Catalyst in Aqueous Medium. *Chem. Sci. Trans.* **2**, 441–446 (2013).
 74. Jursic, B. S. A simple method for Knoevenagel condensation of α,β -conjugated and aromatic aldehydes with barbituric acid. *J. Heterocycl. Chem.* **38**, 655–657 (2001).
 75. Luzhnova, S. A., Tyrkov, A. G. & Gabitova, N. M. Synthesis and Antimycobacterial Activity of 5-(Arylmethylene)Hexahydropyrimidine-2,4,6-Triones. *Pharm. Chem. J.* **49**, 810–812 (2016).

76. Sokmen, B. B., Ugras, S., Sarikaya, H. Y., Ugras, H. I. & Yanardag, R. Antibacterial, antiurease, and antioxidant activities of some arylidene barbiturates. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **171**, 2030–2039 (2013).
77. Khan, K. M. *et al.* Molecular modeling-based antioxidant arylidene barbiturates as urease inhibitors. *J. Mol. Graph. Model.* **30**, 153–156 (2011).
78. Sánchez-Ferrer, Á., Neptuno Rodríguez-López, J., García-Cánovas, F. & García-Carmona, F. Tyrosinase: a comprehensive review of its mechanism. *Biochim. Biophys. Acta (BBA)/Protein Struct. Mol.* **1247**, 1–11 (1995).
79. Chen, Z. *et al.* Design, synthesis and biological evaluation of hydroxy- or methoxy-substituted 5-benzylidene(thio) barbiturates as novel tyrosinase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **22**, 3279–3284 (2014).
80. Sawant, R. L., Jadhav, G. D., Lanke, P. D. & Wadekar, J. B. QSAR and Docking Study for Rate of Mushroom Tyrosinase Inhibition by Some 5-Benzylidene Barbiturate Derivatives. *Int. J. Drug Des. Discov.* **4**, 1077–1082 (2013).
81. Perepichka, I. F., Perepichka, D. F. & Meng, H. Thiophene-Based Materials for Electroluminescent Applications. in *Handbook of Thiophene-Based Materials* 695–756 (John Wiley & Sons, Ltd, 2009). doi:<https://doi.org/10.1002/9780470745533.ch19>
82. Abbotto, A. *et al.* Push–Pull Organic Chromophores for Frequency-Upconverted Lasing. *Adv. Mater.* **12**, 1963–1967 (2000).
83. Varanasi, P. R., Jen, A. K. Y., Chandrasekhar, J., Namboothiri, I. N. N. & Rathna, A. The important role of heteroaromatics in the design of efficient second-order nonlinear optical molecules: Theoretical investigation on push-pull heteroaromatic stilbenes. *J. Am. Chem. Soc.* **118**, 12443–12448 (1996).
84. Andreu, R. *et al.* 4H-Pyran-4-ylidenes: Strong Proaromatic Donors for Organic Nonlinear Optical Chromophores. *J. Org. Chem.* **74**, 6647–6657 (2009).
85. Andreu, R. *et al.* Linear and v-shaped nonlinear optical chromophores with multiple 4H-pyran-4-ylidene moieties. *J. Org. Chem.* **75**, 1684–1692 (2010).
86. Liao, Y. *et al.* Systematic study of the structure-property relationship of a series of ferrocenyl nonlinear optical chromophores. *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 2758–2766 (2005).
87. Kulhánek, J. & Bureš, F. Imidazole as a parent Π -conjugated backbone in charge-transfer chromophores. *Beilstein J. Org. Chem.* **8**, 25–49 (2012).
88. Hrobárik, P. *et al.* Benzothiazoles with tunable electron-withdrawing strength and reverse polarity: A route to triphenylamine-based chromophores with enhanced two-photon absorption. *J. Org. Chem.* **76**, 8726–8736 (2011).
89. Hrobáriková, V. *et al.* Benzothiazole-based fluorophores of donor- π -acceptor- π -donor type displaying high two-photon absorption. *J. Org. Chem.* **75**, 3053–3068 (2010).
90. Achelle, S., Baudequin, C. & Plé, N. Luminescent materials incorporating pyrazine or quinoxaline moieties. *Dye. Pigment.* **98**, 575–600 (2013).
91. Achelle, S., Plé, N. & Turck, A. Incorporation of pyridazine rings in the structure of functionalized π -conjugated materials. *RSC Adv.* **1**, 364–388 (2011).
92. Sylvain Achelle & Nelly Ple. Pyrimidine Ring as Building Block for the Synthesis of Functionalized π -Conjugated Materials. *Curr. Org. Synth.* **9**, 163–187 (2012).
93. Moran, A. M., Blanchard-Desce, M. & Kelley, A. M. Aromatic versus polyenic linkers in push–pull chromophores: electron–phonon coupling effects. *Chem. Phys. Lett.* **358**, 320–327 (2002).
94. Garín, J. *et al.* Second-order nonlinear optical properties of tetrathiafulvalene- π -

- (thio)barbituric acid chromophores. *Tetrahedron Lett.* **39**, 3577–3580 (1998).
95. Klonis, N., Quazi, N. H., Deady, L. W., Hughes, A. B. & Tilley, L. Characterization of a series of far-red-absorbing thiobarbituric acid oxonol derivatives as fluorescent probes for biological applications. *Anal. Biochem.* **317**, 47–58 (2003).
 96. Gysling, H. & Schwarzenbach, G. Metallindikatoren II. Beziehungen zwischen Struktur und Komplexbildungsvermögen bei Verwandten des Murexids. *Helv. Chim. Acta* **32**, 1484–1504 (1949).
 97. Society of, D., Colourists, American Association of Textile, C. & Colorists. *Colour index*. (1971).
 98. Bolz, I. & Spange, S. An Enolisable Barbiturate with Adjustable Hydrogen-Bonding Structure for UV/Vis Detection of Nucleic Acid Bases and Related Compounds. *Chem. – A Eur. J.* **14**, 9338–9346 (2008).
 99. Alizadeh, A., Ghouzivand, S., Khodaei, M. M. & Ardalani, M. An interesting spectroscopic method for chromofluorogenic detection of cyanide ion in aqueous solution: Disruption of intramolecular charge transfer (ICT). *J. Chem. Sci.* **128**, 537–543 (2016).
 100. Kerns, E.H., Di, L. *Drug-like properties: Concepts, structure, design and methods: from ADME to toxicity optimization*. (Elsevier Inc., Amsterdam, 2008).
 101. Henchoz, Y. *et al.* Analytical tools for the physicochemical profiling of drug candidates to predict absorption/distribution. *Anal. Bioanal. Chem.* **394**, 707–729 (2009).
 102. Vrakas, D., Tsantili-Kakoulidou, A. & Hadjipavlou-Litina, D. Exploring the consistency of logP estimation for substituted coumarins. *QSAR Comb. Sci.* **22**, 622–629 (2003).
 103. Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W. & Feeney, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev* **46**, 3–26 (2001).
 104. Hansch, C. & Fujita, T. ρ - σ - π Analysis. A Method for the Correlation of Biological Activity and Chemical Structure. *J. Am. Chem. Soc.* **86**, 1616–1626 (1964).
 105. Leo, A., Hansch, C. & Elkins, D. Partition coefficients and their uses. *Chem. Rev.* **71**, 525–616 (1971).
 106. Lemke, T. L. *Review of organic functional groups: Introduction to medicinal organic chemistry*. (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2003).
 107. Danielsson, L.-G. & Zhang, Y.-H. Methods for determining n-octanol-water partition constants. *TrAC Trends Anal. Chem.* **15**, 188–196 (1996).
 108. Finizio, A., Vighi, M. & Sandroni, D. Determination of n-octanol/water partition coefficient (Kow) of pesticide critical review and comparison of methods. *Chemosphere* **34**, 131–161 (1997).
 109. Bate-Smith, E. C. & Westall, R. G. Chromatographic behaviour and chemical structure I. Some naturally occurring phenolic substances. *Biochim. Biophys. Acta* **4**, 427–440 (1950).
 110. Soczewiński, E. & Wachtmeister, C. A. The relation between the composition of certain ternary two-phase solvent systems and RM values. *J. Chromatogr. A* **7**, 311–320 (1962).
 111. Biagi, G. L., Barbaro, A. M., Sapone, A. & Recanatini, M. Determination of lipophilicity by means of reversed-phase thin-layer chromatography: I. Basic aspects and relationship between slope and intercept of TLC equations. *J. Chromatogr. A* **662**, 341–361 (1994).
 112. Mannhold, R. & Ostermann, C. Prediction of Log P with Substructure-Based Methods. in *Molecular Drug Properties* 357–379 (John Wiley & Sons, Ltd, 2007). doi:<https://doi.org/10.1002/9783527621286.ch14>

113. Tetko, I. V & Poda, G. I. Prediction of Log P with Property-Based Methods. in *Molecular Drug Properties* 381–406 (John Wiley & Sons, Ltd, 2007). doi:<https://doi.org/10.1002/9783527621286.ch15>
114. Milosavljević, S. M. *Strukturne instrumentalne metode*. (Univerzitet u Beogradu, Hemijski Fakultet, 2004).
115. Reichardt, C. *Solvents and solvent effects in organic chemistry*. (Wiley-VCH, 2003).
116. Kamlet, M. J., Abboud, J. L. M., Abraham, M. H. & Taft, R. W. Linear solvation energy relationships. 23. A comprehensive collection of the solvatochromic parameters, π^* , α , and β , and some methods for simplifying the generalized solvatochromic equation. *J. Org. Chem.* **48**, 2877–2887 (1983).
117. Kamlet, M. J., Abboud, J. L. & Taft, R. W. The solvatochromic comparison method. 6. The π^* scale of solvent polarities. *J. Am. Chem. Soc.* **99**, 6027–6038 (1977).
118. Taft, R. W. & Kamlet, M. J. The solvatochromic comparison method. 2. The α -scale of solvent hydrogen-bond donor (HBD) acidities. *J. Am. Chem. Soc.* **98**, 2886–2894 (1976).
119. Kamlet, M. J. & Taft, R. W. The solvatochromic comparison method. I. The β -scale of solvent hydrogen-bond acceptor (HBA) basicities. *J. Am. Chem. Soc.* **98**, 377–383 (1976).
120. Marcus, Y. The properties of organic liquids that are relevant to their use as solvating solvents. *Chem. Soc. Rev.* **22**, 409 (1993).
121. Shorter, J. *Correlation Analysis in Organic Chemistry: An Introduction to Linear Free-energy Relationships*. (Clarendon Press, 1973).
122. Williams, A. *Free Energy Relationships in Organic and Bio-Organic Chemistry*. (The Royal Society of Chemistry, 2003). doi:10.1039/9781847550927
123. Jaffé, H. H. A reëxamination of the hammett equation. *Chem. Rev.* **53**, 191–261 (1953).
124. Hansch, C., Leo, A. & Taft, R. W. A Survey of Hammett Substituent Constants and Resonance and Field Parameters. *Chem. Rev.* **91**, 165–195 (1991).
125. Hammett, L. P. *Physical Organic Chemistry. Journal of the American Chemical Society* **62**, (1940).
126. Taft, R. W. & Lewis, I. C. The General Applicability of a Fixed Scale of Inductive Effects. II. Inductive Effects of Dipolar Substituents in the Reactivities of m- and p-Substituted Derivatives of Benzene^{1,2}. *J. Am. Chem. Soc.* **80**, 2436–2443 (1958).
127. Swain, C. G., Unger, S. H., Rosenquist, N. R. & Swain, M. S. Substituent effects on chemical reactivity. Improved evaluation of field and resonance components. *J. Am. Chem. Soc.* **105**, 492–502 (1983).
128. Swain, C. G. & Lupton, E. C. Field and resonance components of substituent effects. *J. Am. Chem. Soc.* **90**, 4328–4337 (1968).
129. Hansch, C., Leo, A., Hoekman, D. & Hoekman, D. H. *Exploring QSAR: Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants. ACS Professional Reference Book* (American Chemical Society, 1995).
130. Reijenga, J., van Hoof, A., van Loon, A. & Teunissen, B. Development of Methods for the Determination of pKa Values. *Anal Chem Insights* **8**, 53–71
131. Subirats, X., Fuguet, E., Rosés, M., Bosch, E. & Ràfols, C. Methods for pKa Determination (I): Potentiometry, Spectrophotometry, and Capillary Electrophoresis. in *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering* (Elsevier, 2015). doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.11559-8>
132. Dardonville, C. Automated techniques in pK(a) determination: Low, medium and high-

- throughput screening methods. *Drug Discov Today Technol* **27**, 49–58 (1016).
133. J.M. Miller. *Chromatography – Concepts and contrasts*. (John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 2005).
 134. Lowe, J. P. & Peterson, K. *Quantum chemistry*. (Elsevier).
 135. Le Bahers, T., Adamo, C. & Ciofini, I. A Qualitative Index of Spatial Extent in Charge-Transfer Excitations. *J. Chem. Theory Comput.* **7**, 2498–2506
 136. <https://chemaxon.com/products/marvin>.
 137. Albert, A. & Serjeant, E. P. *The determination of ionization constants: a laboratory manual [by] Adrien Albert [and] E. P. Serjeant*. (Chapman and Hall, 1971).
 138. <http://www.molinspiration.com> (accessed October 2017).
 139. <http://www.simulation-plus.com> (accessed October 2016).
 140. <https://preadmet.bmdrc.kr> (accessed October 2017).
 141. <https://www.ncss.com/> (accessed February 2019).
 142. Vastag, G., Apostolov, S., Perišić-Janjić, N. & Matijević, B. Multivariate analysis of chromatographic retention data and lipophilicity of phenylacetamide derivatives. *Anal. Chim. Acta* **767**, 44–49 (2013).
 143. Stasiak, J., Koba, M., Baczek, T. & Bucinski, A. Chemometric Analysis of Some Biologically Active Groups of Drugs on the Basis Chromatographic and Molecular Modeling Data. *Med Chem* **11**, 432–452
 144. Karadžić, M. *et al.* Chemometrics approach based on chromatographic behavior, in silico characterization and molecular docking study of steroid analogs with biomedical importance. *Eur. J. Pharm. Sci.* **105**, 71–81 (2017).
 145. Samsonowicz, M., Regulska, E., Karpowicz, D. & Leśniewska, B. Antioxidant properties of coffee substitutes rich in polyphenols and minerals. *Food Chem.* **278**, 101–109 (2019).
 146. Cremer, D. Møller-Plesset perturbation theory: From small molecule methods to methods for thousands of atoms. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* **1**, 509–530 (2011).
 147. Becke, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J. Chem. Phys.* **98**, 5648–5652 (1993).
 148. Lee, C., Yang, W. & Parr, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys. Rev. B* **37**, 785–789 (1988).
 149. Frisch, M. J. *et al.* Gaussian, Inc., Wallingford CT. *Gaussian 09* (2009).
 150. Mayer, I. Charge, bond order and valence in the AB initio SCF theory. *Chem. Phys. Lett.* **97**, 270–274 (1983).
 151. Liu, Z., Lu, T. & Chen, Q. An sp-hybridized all-carboatomic ring, cyclo[18]carbon: Electronic structure, electronic spectrum, and optical nonlinearity. *Carbon N. Y.* **165**, 461–467 (2020).
 152. Parr, R. G. & Pearson, R. G. Absolute hardness: companion parameter to absolute electronegativity. *J. Am. Chem. Soc.* **105**, 7512–7516 (1983).
 153. Parr, R. G. & Yang, W. *Density-functional theory of atoms and molecules*. (Oxford University Press, 1989).
 154. Parr, R. G., Szentpály, L. v. & Liu, S. Electrophilicity Index. *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 1922–1924 (1999).
 155. Physical Hardness. in *Chemical Hardness* 175–195 (John Wiley & Sons, Ltd, 1997). doi:<https://doi.org/10.1002/3527606173.ch6>
 156. Geerlings, P., De Proft, F. & Langenaeker, W. Conceptual density functional theory.

- Chem. Rev.* **103**, 1793–1873 (2003).
157. Domingo, L. R., Aurell, M. J., Pérez, P. & Contreras, R. Quantitative characterization of the global electrophilicity power of common diene/dienophile pairs in Diels–Alder reactions. *Tetrahedron* **58**, 4417–4423 (2002).
 158. Domingo, L. R., Aurell, M. J., Pérez, P. & Contreras, R. Quantitative characterization of the local electrophilicity of organic molecules. Understanding the regioselectivity on Diels–Alder reactions. *J. Phys. Chem. A* **106**, 6871–6875 (2002).
 159. Pérez, P., Domingo, L. R., Duque-Noreña, M. & Chamorro, E. A condensed-to-atom nucleophilicity index. An application to the director effects on the electrophilic aromatic substitutions. *J. Mol. Struct. THEOCHEM* **895**, 86–91 (2009).
 160. Domingo, L. R., Chamorro, E. & Pérez, P. Understanding the reactivity of captodative ethylenes in polar cycloaddition reactions. A theoretical study. *J. Org. Chem.* **73**, 4615–4624 (2008).
 161. Bolton, W. The crystal structure of anhydrous barbituric acid. *Acta Crystallogr.* **16**, 166–173 (1963).
 162. Jeffrey, G. A., Ghose, S. & Warwicker, J. O. The crystal structure of barbituric acid dihydrate. *Acta Crystallogr.* **14**, 881–887 (1961).
 163. Barakat, A. *et al.* Synthesis, NMR, FT-IR, X-ray structural characterization, DFT analysis and isomerism aspects of 5-(2,6-dichlorobenzylidene)pyrimidine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **147**, 107–116 (2015).
 164. Rezende, M. C. *et al.* Supramolecular structures of five 5-(arylmethylene)-1,3-dimethylpyrimidine-2,4,6(1H,3H,5H)-triones: Isolated molecules, hydrogen-bonded chains and chains of fused hydrogen-bonded rings. *Acta Crystallogr. Sect. C Cryst. Struct. Commun.* **61**, 306–311 (2005).
 165. Groom, C. R., Bruno, I. J., Lightfoot, M. P. & Ward, S. C. The Cambridge Structural Database. *Acta Crystallogr. Sect. B* **72**, 171–179 (2016).
 166. Cochran, J. C. *et al.* On the planarity of styrene and its derivatives: the molecular structures of styrene and (Z)- \hat{I}^2 -bromostyrene as determined by ab initio calculations and gas-phase electron diffraction. *J. Mol. Struct.* **413–414**, 313–326 (1997).
 167. Sancho-García, J. C. & Pérez-Jiménez, A. J. A theoretical study of the molecular structure and torsional potential of styrene. *J. Phys. B At. Mol. Opt. Phys.* **35**, 1509–1523 (2002).
 168. Choi, C. H. & Kertesz, M. Conformational Information from Vibrational Spectra of Styrene, trans-Stilbene, and cis-Stilbene. *J. Phys. Chem. A* **101**, 3823–3831 (1997).
 169. Karpfen, A., Choi, C. H. & Kertesz, M. Single-bond torsional potentials in conjugated systems: A comparison of ab initio and density functional results. *J. Phys. Chem. A* **101**, 7426–7433 (1997).
 170. Ganina, T. A., Cheshkov, D. A. & Chertkov, V. A. Dynamic structure of organic compounds in solution according to NMR data and quantum chemical calculations: II. Styrene. *Russ. J. Org. Chem.* **53**, 12–23
 171. Rančić, M. P., Trišović, N. P., Milčić, M. K., Ajaj, I. A. & Marinković, A. D. Experimental and theoretical study of substituent effect on ^{13}C NMR chemical shifts of 5-arylidene-2,4-thiazolidinediones. *J. Mol. Struct.* **1049**, 59–68 (2013).
 172. Rančić, M. P. *et al.* Solvent and substituent effect on intramolecular charge transfer in 5-arylidene-3-substituted-2,4-thiazolidinediones: Experimental and theoretical study.

- Arab. J. Chem.* **12**, 5142–5161 (2019).
173. Robert W. Taft. *Progress in Physical Organic Chemistry, Volume 14*. (by John Wiley & Sons, Inc., 1983). doi:10.1002/9780470171936
 174. Reynolds, W. F. *et al.* Substituent-induced chemical shifts in 3- and 4-substituted styrenes: definition of substituent constants and determination of mechanisms of transmission of substituent effects by iterative multiple linear regression. *Can. J. Chem.* **61**, 2376–2384 (1983).
 175. Saleh, B. A., Al-Shawi, S. A. & Fadhil, G. F. Substituent effect study on $^{13}\text{C}_\beta$ SCS of styrene series. A Yukawa–Tsuno model and Reynolds dual substituent parameter model investigation. *J. Phys. Org. Chem.* **21**, 96–101 (2008).
 176. Kleinpeter, E., Klod, S. & Rudorf, W. D. Electronic state of push-pull alkenes: An experimental dynamic NMR and theoretical ab initio MO study. *J. Org. Chem.* **69**, 4317–4329 (2004).
 177. Spange, S., Weiß, N., Schmidt, C. H. & Schreiter, K. Reappraisal of Empirical Solvent Polarity Scales for Organic Solvents. *Chemistry–Methods* **1**, 42–60 (2021).
 178. Kulhánek, J. *et al.* Push-pull molecules with a systematically extended π -conjugated system featuring 4,5-dicyanoimidazole. *Dye. Pigment.* **85**, 57–65 (2010).
 179. Štefane, B., Perdih, A., Pevec, A., Šolmajer, T. & Kočevár, M. The participation of 2H-pyran-2-ones in [4+2] cycloadditions: An experimental and computational study. *European J. Org. Chem.* 5870–5883 (2010). doi:10.1002/ejoc.201000236
 180. Feng, S., Wang, Y.-C., Ke, Y., Liang, W. & Zhao, Y. Effect of charge-transfer states on the vibrationally resolved absorption spectra and exciton dynamics in ZnPc aggregates: Simulations from a non-Markovian stochastic Schrödinger equation. *J. Chem. Phys.* **153**, 34116 (2020).
 181. Lobell, M., Molnár, L. & Keserü, G. M. Recent advances in the prediction of blood-brain partitioning from molecular structure. *J. Pharm. Sci.* **92**, 360–370 (2003).
 182. Fujita, T., Iwasa, J. & Hansch, C. A New Substituent Constant, σ_r , Derived from Partition Coefficients. *J. Am. Chem. Soc.* **86**, 5175–5180 (1964).
 183. Hammett, L. P. The Effect of Structure upon the Reactions of Organic Compounds. Benzene Derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **59**, 96–103 (1937).

7. PRILOG

Tabela P1. Hole-electron analiza za jedinjenja 1-4.

Atom	<i>es1 (1)</i>		<i>es1 (2)</i>		<i>es1 (3)</i>		<i>es1 (4)</i>		Atom	Šupljina (%)	Elektron (%)
	Šupljina (%)	Elektron (%)	Atom	Šupljina (%)	Elektron (%)	Atom	Šupljina (%)	Elektron (%)			
C7	0,76	30,9	C7	0,99	32,20	C7	0,85	32,03	C7	0,83	31,96
C6	0,74	8,24	C6	0,80	9,11	C6	0,74	8,77	C6	0,73	8,71
C11	0,99	7,89	C4	0,62	6,40	C4	0,59	6,27	C4	0,58	6,23
C9	0,91	6,40	C9	2,55	6,07	C11	1,52	5,61	C11	1,53	5,68
C4	0,65	6,08	C2	0,18	3,57	C2	0,17	3,43	C2	0,16	3,43
O16	2,01	6,42	C11	4,97	7,74	C9	5,65	8,44	C9	5,56	8,49
C2	0,15	3,46	O14	1,34	3,52	O16	4,24	6,87	O16	4,04	6,84
C13	4,53	7,44	O16	5,21	7,05	O14	1,22	3,39	O14	1,2	3,39
O14	0,78	3,29	O15	3,38	4,49	O15	2,95	4,42	O15	2,99	4,4
O15	2,36	4,14	H19	0,22	0,29	H19	0,21	0,29	H19	0,20	0,29
H19	0,01	0,27	H20	0,02	0,07	H22	0,01	0,06	H22	0,01	0,06
H20	0,01	0,05	H22	0,07	0,10	H20	0,06	0,11	H20	0,06	0,11
H22	0,01	0,05	H17	0,01	0,01	N1	0,45	0,46	H17	0,01	0,01
H17	0,01	0,01	H18	0,03	0,02	H17	0,01	0,01	N1	0,45	0,45
H18	0,01	0,01	H23	0,04	0,01	H18	0,02	0,02	H18	0,02	0,02
N1	0,41	0,39	N1	0,50	0,45	H26	0,00	0,00	C26	0,02	0,02
H32	0,06	0,01	H21	0,06	0,00	H21	0,04	0,01	H30	0,00	0,00
H28	0,07	0,00	H25	0,15	0,03	H23	0,07	0,00	H21	0,05	0,01
H23	0,08	0,01	N3	1,25	0,72	C25	0,30	-0,03	H29	0,04	0,01
H21	0,09	0,01	C13	12,52	6,91	N3	1,12	0,71	H31	0,03	0,00
N3	0,67	0,58	C12	6,18	0,41	H27	1,10	0,30	H23	0,07	0,00
H30	1,04	0,19	C5	16,95	7,99	H28	1,15	0,29	C25	0,23	-0,05
H27	1,02	0,17	C10	9,93	0,22	C13	11,17	7,07	N3	1,11	0,70
C25	0,93	0,06	O24	12,19	2,03	C10	5,97	0,48	H27	1,14	0,30
C26	0,95	0,06	C8	19,85	0,57	C5	15,54	8,12	H28	1,20	0,28
H31	2,69	0,80				C12	11,22	0,29	C13	11,13	7,13
H29	2,69	0,78				O24	14,53	1,98	C10	5,99	0,49
C5	12,04	6,91				C8	19,09	0,59	C5	15,56	8,11
C12	9,53	0,75							C12	11,27	0,29
C10	10,90	0,38							O24	14,73	2,01
C8	14,76	0,62							C8	19,06	0,63
N24	28,12	3,64									

Tabela P2. Hole-electron analiza za jedinjenja 5 i 6.

<i>es1 (5)</i>			<i>es2(5)</i>			<i>es1 (6)</i>			<i>es2(6)</i>		
Atom	Šupljina (%)	Elektron (%)	Atom	Šupljina (%)	Elektron (%)	Atom	Šupljina (%)	Elektron (%)	Atom	Šupljina (%)	Elektron (%)
C7	1,29	33,90	C7	0,84	33,92	C7	1,32	33,89	C7	0,76	33,97
C6	1,81	10,34	C6	1,31	8,64	C6	1,74	10,28	C6	1,30	8,73
C11	0,74	5,74	C4	1,59	7,42	C9	0,95	5,96	C4	1,50	7,29
C4	0,88	5,81	C9	1,1	6,35	C4	0,84	5,84	C11	1,66	6,11
C2	0,43	3,57	C2	0,61	3,61	C2	0,4	3,52	C2	0,59	3,59
O14	2,96	3,63	C5	8,53	9,04	O14	2,69	3,59	C5	7,86	9,09
O15	3,89	4,34	H19	0,21	0,31	O15	3,71	4,35	H19	0,2	0,32
H22	0,00	0,14	H20	0,09	0,19	H20	0,00	0,14	H22	0,09	0,16
H21	0,00	0,03	H22	0,10	0,15	H22	0,19	0,21	H20	0,10	0,16
H20	0,20	0,21	H18	0,01	0,03	H23	0,00	0,02	H18	0,02	0,03
H17	0,01	0,01	H23	0,02	0,02	H17	0,00	0,01	H21	0,03	0,03
H23	0,07	0,02	H17	0,07	0,01	H29	0,01	0,00	H27	0,05	0,05
H27	0,16	0,10	H21	0,10	0,03	H31	0,01	0,00	H30	0,05	0,04
H18	0,13	0,03	H25	0,23	0,09	H33	0,01	0,00	H33	0,01	0,00
C10	0,35	0,24	H27	0,24	0,10	H27	0,10	0,06	H29	0,05	0,01
N1	0,60	0,41	C12	0,84	0,52	H30	0,11	0,07	H31	0,05	0,01
H25	0,37	0,09	H26	0,85	0,46	H21	0,07	0,02	H17	0,07	0,01
H19	0,93	0,33	N3	1,24	0,75	H32	0,19	0,1	H23	0,11	0,03
C24	0,82	0,14	C24	0,68	0,15	H18	0,13	0,03	H28	0,21	0,13
H26	1,21	0,44	N1	1,55	0,59	H28	0,25	0,14	H32	0,26	0,10
N3	1,89	0,94	O14	5,08	3,64	N1	0,59	0,42	C24	0,46	0,16
C5	11,66	9,05	C13	8,18	6,50	C12	0,43	0,24	C25	0,60	0,22
C9	10,57	5,88	O16	12,51	6,59	C24	0,67	0,17	N3	1,23	0,77
C13	11,34	6,38	C8	7,81	0,25	H19	0,93	0,33	C26	0,66	0,20
C12	10,75	0,30	C11	13,56	5,03	C26	0,87	0,19	C10	1,19	0,51
O16	21,86	7,57	O15	17,05	5,22	C25	0,91	0,22	N1	1,43	0,58
C8	15,07	0,37	C10	15,63	0,39	N3	1,83	0,94	C13	7,60	6,46
						C5	11,87	9,08	O14	4,83	3,62
						C11	10,16	5,68	O16	12,78	6,63
						C13	11,76	6,32	C8	7,16	0,26
						C10	10,58	0,31	C9	14,52	5,18
						O16	21,14	7,52	O15	15,85	5,15
						C8	15,55	0,33	C12	16,74	0,41

Tabela P3. Hole-electron analiza za jedinjenja 7 i 8.

<i>es1 (7)</i>			<i>es2(7)</i>			<i>es1 (8)</i>			<i>es2(8)</i>		
Atom	Šupljina (%)	Elektron (%)	Atom	Šupljina (%)	Elektron (%)	Atom	Šupljina (%)	Elektron (%)	Atom	Šupljina (%)	Elektron (%)
C7	1,05	34,24	C7	1,68	34,8	C7	1,27	33,48	C7	1,32	33,81
C5	2,54	10,82	C5	0,57	8,28	C6	2,56	10,66	C6	1,18	8,40
C10	0,29	5,50	C4	1,26	7,66	C9	0,80	5,48	C4	2,02	8,20
C4	1,25	5,78	C9	0,48	6,36	C4	1,42	5,88	C11	1,77	6,06
C2	0,66	3,50	C2	0,40	3,56	C2	0,69	3,60	C2	0,71	3,83
C6	8,95	9,47	O15	4,12	6,43	H20	0,00	0,12	H20	0,05	0,13
H20	0,00	0,15	O14	3,24	3,68	H23	0,00	0,02	H22	0,06	0,15
H22	0,01	0,03	C11	0,37	0,57	H17	0,01	0,01	H18	0,01	0,03
H17	0,01	0,01	H19	0,02	0,17	C12	0,26	0,23	H21	0,02	0,02
H23	0,06	0,06	H20	0,11	0,18	H21	0,05	0,01	H19	0,32	0,30
N1	0,83	0,44	H18	0,01	0,02	H22	0,22	0,2	H23	0,04	0,02
H19	0,24	0,19	H21	0,01	0,03	H18	0,15	0,03	H17	0,11	0,01
H21	0,07	0,03	N3	0,72	0,73	N1	0,96	0,43	N3	1,22	0,71
H18	0,16	0,03	H	0,10	0,06	H19	0,89	0,32	C9	6,11	5,27
C13	6,21	6,06	H22	0,08	0,03	C11	6,86	6,16	C10	1,33	0,28
H24	0,87	0,34	H17	0,08	0,01	C13	6,68	5,83	N1	2,08	0,66
O14	4,82	3,63	H24	0,47	0,33	F24	2,00	0,82	O14	6,04	3,83
C12	1,51	0,29	N1	1,41	0,64	N3	2,53	1,02	F24	3,00	0,80
N3	2,42	1,04	C6	11,41	9,71	O14	5,28	3,67	C5	11,86	9,13
O16	6,89	4,37	C13	14,12	5,96	C5	11,04	9,16	O16	9,45	6,52
C9	11,73	5,40	O16	16,24	5,47	O15	8,02	4,38	C13	9,32	5,62
C8	8,65	0,43	C10	16,17	4,64	C10	6,72	0,29	C12	6,42	0,21
C11	9,43	0,33	C12	12,55	0,32	C8	10,66	0,40	C8	11,3	0,29
O15	31,33	7,85	C8	14,38	0,33	O16	30,92	7,81	O15	24,26	5,71

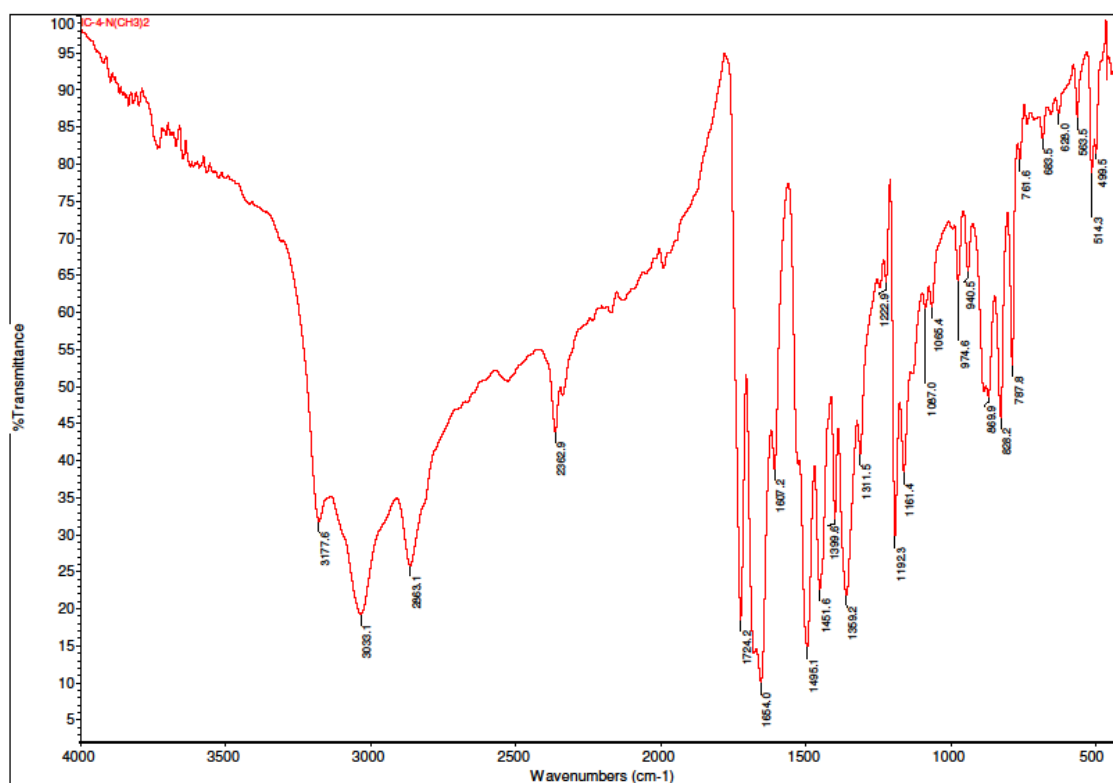
Tabela P4. Hole-electron analiza za jedinjenja 9 i 10.

<i>es1 (9)</i>			<i>es2(9)</i>			<i>es1(10)</i>			<i>es2(10)</i>		
Atom	Šupljina (%)	Elektron (%)	Atom	Šupljina (%)	Elektron (%)	Atom	Šupljina (%)	Elektron (%)	Atom	Šupljina (%)	Elektron (%)
C7	1,31	32,95	C7	1,02	33,15	C7	1,31	32,96	C7	0,75	32,98
C6	2,25	10,02	C6	1,45	8,19	C6	1,81	9,66	C6	1,87	8,44
C4	1,17	5,78	C4	2,14	7,73	C4	0,89	5,75	C11	0,38	5,81
C11	1,03	5,42	C9	0,89	5,92	C9	1,39	5,48	C4	2,31	7,53
C2	0,58	3,36	C2	0,79	3,57	C2	0,44	3,30	C2	0,89	3,52
H22	0,00	0,13	H22	0,04	0,14	O14	3,19	3,49	C13	5,44	6,56
H21	0,00	0,02	H20	0,07	0,15	O15	4,28	4,42	C5	8,55	9,63
H17	0,01	0,01	H19	0,26	0,32	H20	0,00	0,14	C9	4,70	5,09
H20	0,19	0,20	H18	0,01	0,03	H22	0,16	0,19	C10	0,23	0,55
H23	0,05	0,02	H23	0,01	0,02	H23	0,00	0,03	H20	0,04	0,14
C10	0,38	0,31	H21	0,04	0,02	H17	0,00	0,01	H19	0,22	0,32
H18	0,14	0,03	H17	0,10	0,01	H21	0,05	0,02	H22	0,09	0,14
N1	0,79	0,46	C12	0,63	0,51	H18	0,13	0,03	H18	0,02	0,03
H19	0,89	0,33	C11	5,54	5,13	N1	0,60	0,47	H21	0,01	0,02
O14	4,37	3,54	C5	10,08	9,65	C12	0,72	0,33	H23	0,04	0,02
C9	7,06	6,03	N3	1,36	0,74	H19	0,89	0,33	H17	0,10	0,01
C5	10,94	9,73	N1	2,10	0,66	C11	6,88	6,07	N3	1,64	0,78
N3	2,27	1,00	C13	7,96	6,45	N3	1,91	0,97	N1	2,13	0,65
C13	8,18	6,48	O14	6,69	3,67	C5	10,93	9,92	O14	7,59	3,64
O15	6,27	4,41	C24	6,80	1,10	C13	9,64	6,6	C8	5,60	0,65
C24	6,00	1,11	C10	6,62	0,30	C10	7,48	0,50	C12	6,89	0,34
C12	6,96	0,46	O16	12,76	6,42	Br24	11,62	1,19	Br24	8,58	1,20
C8	11,90	0,73	C8	8,59	0,61	C8	13,77	0,88	O16	17,76	6,55
O16	27,25	7,48	O15	24,05	5,52	O16	21,9	7,28	O15	24,18	5,41

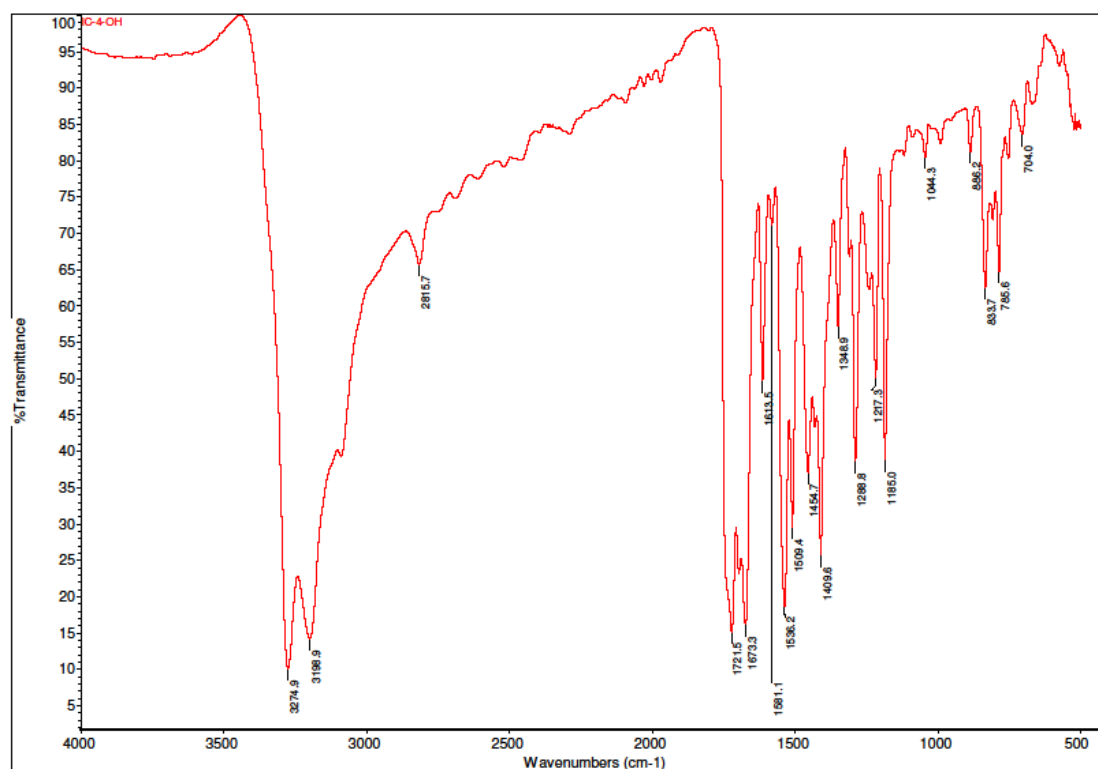
Tabela P5. Hole-electron analiza za jedinjenja 11 i 12.

Atom	<i>es1 (11)</i>		<i>es2(11)</i>		<i>es3(11)</i>		<i>es1(12)</i>		<i>es2(12)</i>		<i>e4(12)</i>						
	Šupljina (%)	Elektron (%)	Atom	Šupljina (%)	Elektron (%)	Atom	Šupljina (%)	Elektron (%)	Atom	Šupljina (%)	Elektron (%)	Atom	Šupljina (%)	Elektron (%)			
C7	0,92	30,58	C7	2,33	30,93	C7	0,29	28,90	C7	0,94	25,27	C7	2,78	19,42	N24	2,40	22,81
C6	3,23	9,53	C6	0,41	7,04	C5	1,48	11,24	N24	0,07	4,74	N24	0,43	10,36	C7	1,09	7,03
C9	0,13	4,81	C4	1,63	7,14	C6	0,18	6,52	O26	0,24	4,87	C6	0,33	4,20	C10	2,07	5,28
C4	1,91	5,57	O16	2,57	5,74	O16	0,09	5,36	C6	3,23	7,49	C4	1,43	4,71	C8	2,85	4,94
C13	2,97	5,98	C2	0,49	2,99	C13	2,15	7,17	O25	0,85	4,85	C12	0,94	3,15	C11	0,42	2,00
C2	0,96	3,02	C24	0,81	0,99	C4	0,45	5,35	C9	0,15	4,07	O26	7,50	9,2	C6	0,08	1,61
C5	8,4	10,45	N3	0,58	0,75	N25	0,79	3,55	C13	2,32	5,40	O25	7,81	9,19	C13	2,06	3,46
N25	1,49	2,73	H20	0,03	0,17	C2	0,13	2,17	C4	1,94	4,63	C2	0,44	1,79	C4	0,06	1,40
C24	0,15	0,84	H22	0,03	0,14	O14	1,05	2,64	C5	8,07	9,90	O16	2,37	3,64	C12	4,24	4,89
H20	-0,01	0,15	H23	0,01	0,04	C24	0,09	1,23	C2	0,99	2,39	C10	2,55	3,26	C2	0,03	0,60
H23	0,00	0,03	H21	0,02	0,03	C8	1,99	2,83	H20	0,00	0,12	H20	0,03	0,10	O16	0,93	1,46
C12	1,04	1,03	H18	0,02	0,02	N3	0,20	0,83	C12	1,99	2,03	H22	0,04	0,09	O14	0,39	0,75
H17	0,02	0,01	H17	0,13	0,02	H19	0,12	0,37	H23	0,01	0,03	N3	0,51	0,52	C5	4,00	4,16
H21	0,04	0,03	H19	0,54	0,34	N1	0,41	0,62	H17	0,02	0,01	H18	0,03	0,01	N1	0,06	0,23
H22	0,20	0,14	C11	5,47	5,21	H20	0,17	0,19	H21	0,04	0,03	H23	0,05	0,04	O15	1,16	1,32
H18	0,16	0,03	C9	5,34	4,81	H18	0,00	0,02	H22	0,22	0,13	H21	0,06	0,03	H19	0,08	0,19
H19	0,76	0,34	O14	3,95	3,32	H22	0,12	0,13	H18	0,15	0,02	H17	0,11	0,01	N3	0,20	0,25
C11	5,59	5,04	C10	2,43	1,28	H17	0,02	0,01	8C	3,50	3,25	H19	0,49	0,29	H22	0,02	0,03
N1	1,32	0,51	N1	1,93	0,73	H21	0,11	0,04	H19	0,68	0,33	C9	3,84	3,21	H17	0,00	0,00
N3	2,97	1,08	C12	2,19	0,95	H23	0,16	0,05	N1	1,35	0,48	N1	1,82	0,55	H18	0,01	0,00
C8	4,59	2,00	C5	12,5	10,9	O15	4,91	4,33	C11	6,19	4,32	O14	3,61	2,12	H20	0,07	0,04
C10	4,04	1,15	N25	7,08	2,98	C11	16,59	6,43	C10	4,17	2,22	C11	6,83	3,24	H21	0,31	0,06
O14	7,62	3,35	C13	12,85	6,02	C10	17,76	2,62	N3	2,95	0,93	C5	12,29	8,33	H23	0,33	0,06
O15	13,21	4,44	C8	14,16	2,05	C9	24,95	5,29	O14	8,04	2,76	C13	11,56	4,97	C9	7,19	1,22
O16	38,3	7,17	O15	22,49	5,42	C12	25,82	2,09	O15	13,68	3,87	C8	12,03	3,80	O26	33,84	18,13
									O16	38,21	5,86	O15	20,12	3,77	O25	36,11	18,10

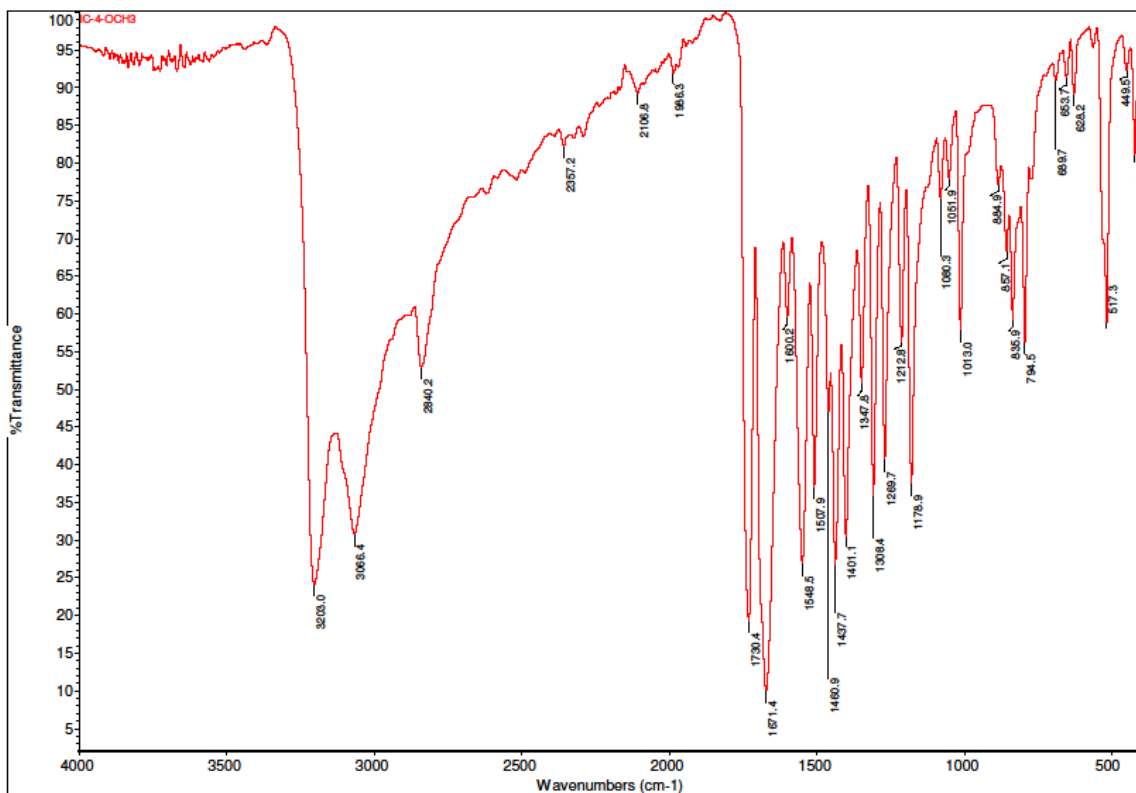
FT-IR spektri derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline



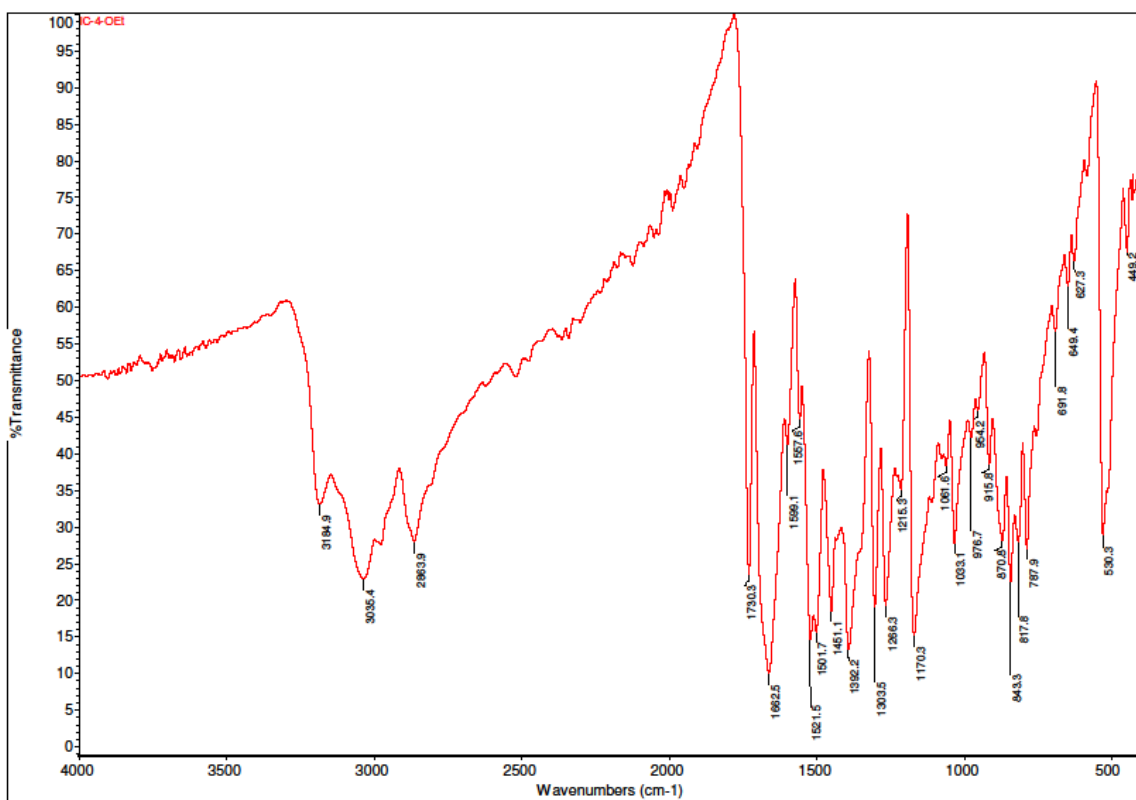
Slika P1. FT-IR spektar 5-(4-(Dimetilamino)benziliden)pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-triona (1)



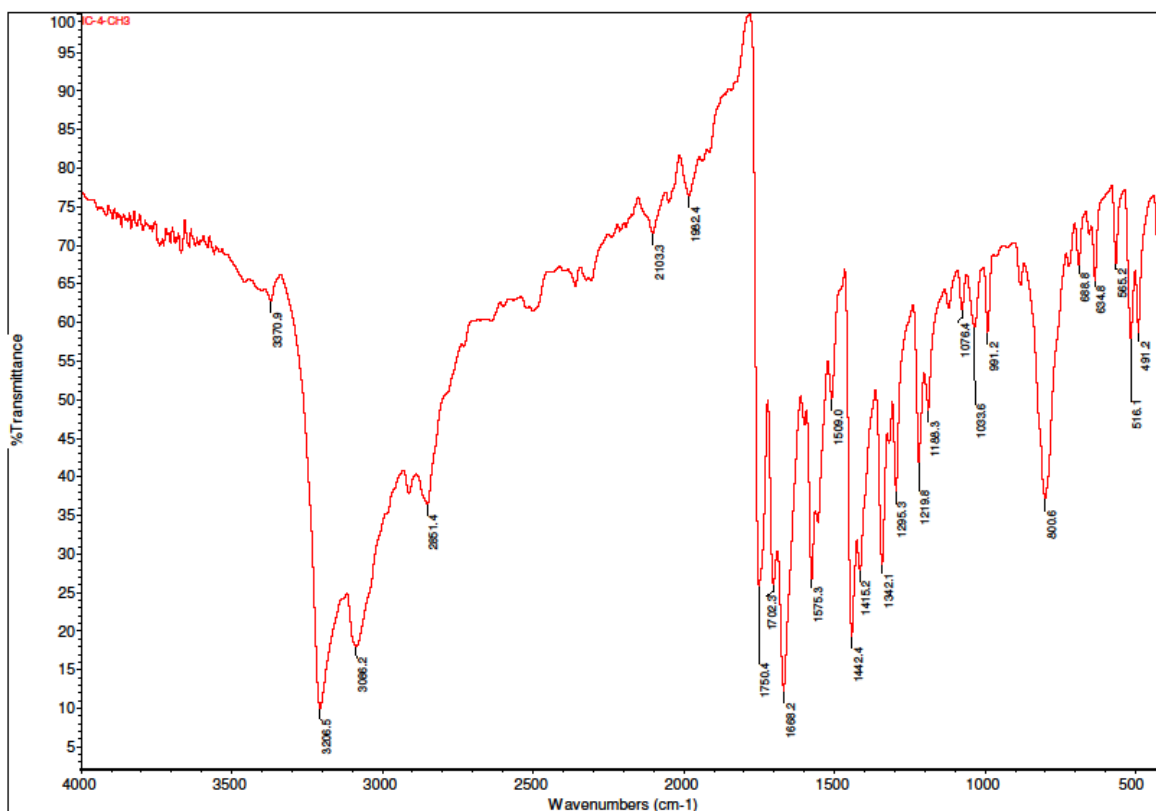
Slika P2. FT-IR spektar 5-(4-Hidroksibenziliden)pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-triona (2)



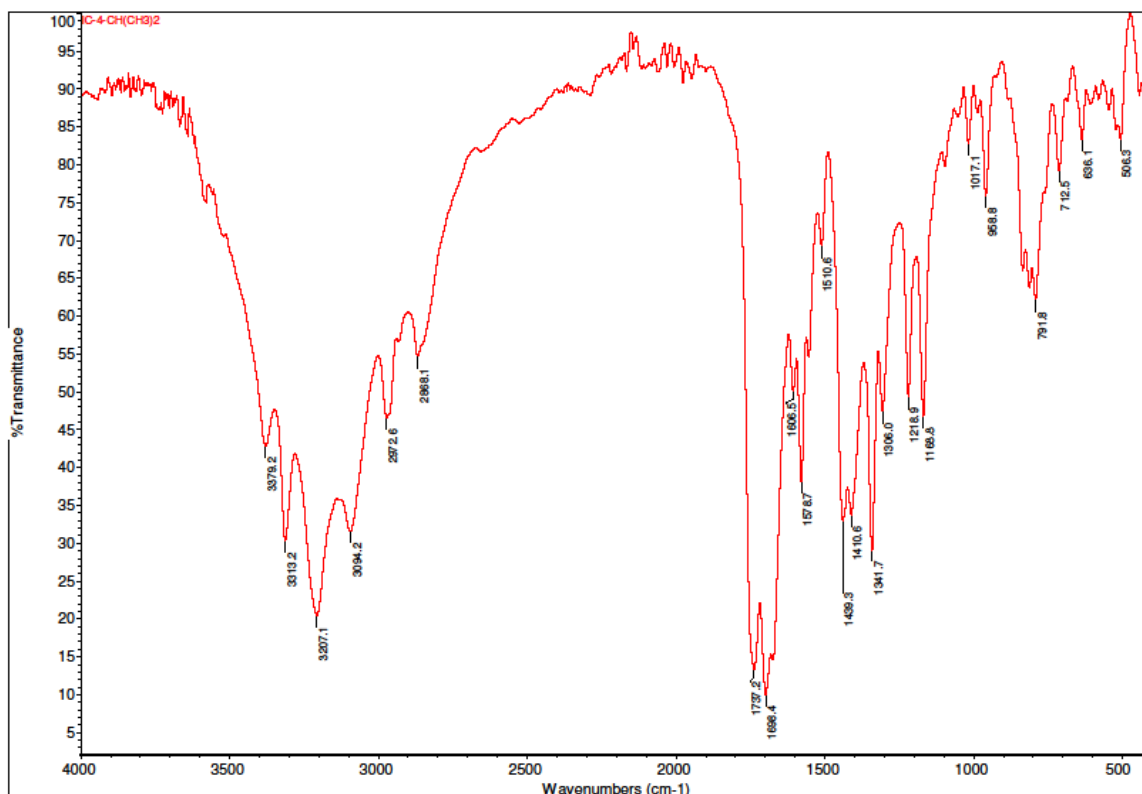
Slika P3. FT-IR spektar 5-(4-metoksibenziliden)pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-triona (3)



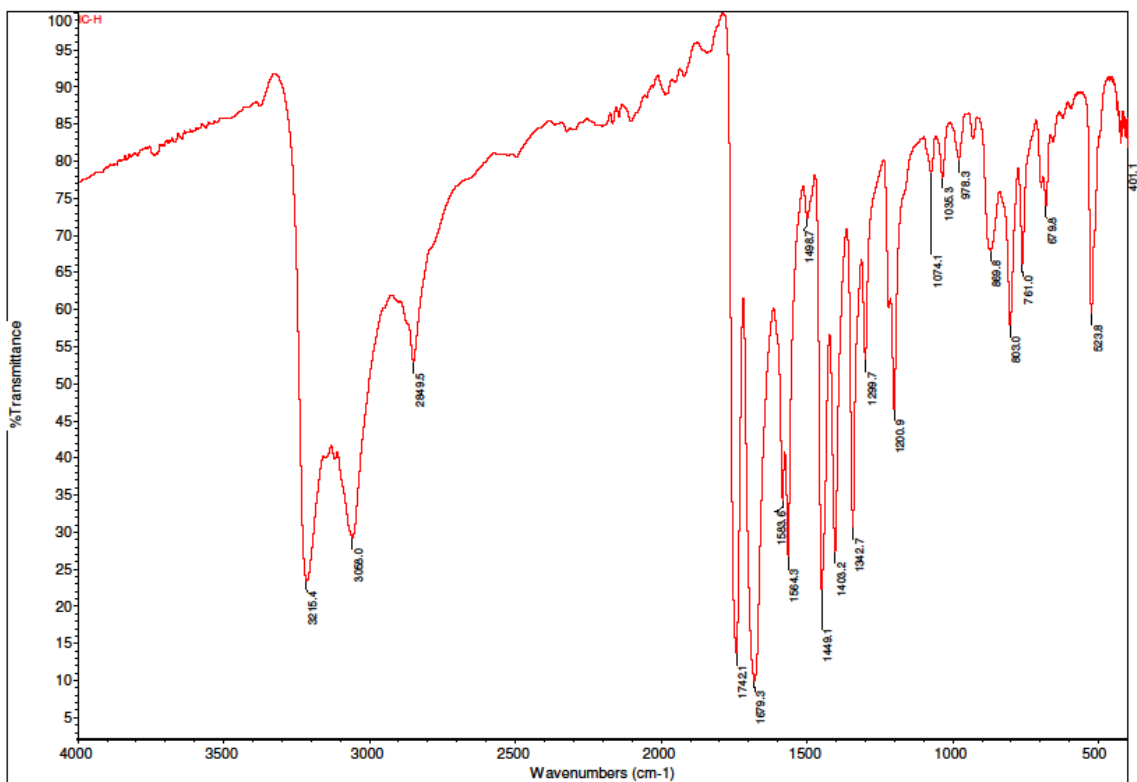
Slika P4. FT-IR spektar 5-(4-etoksibenziliden)pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-triona (4)



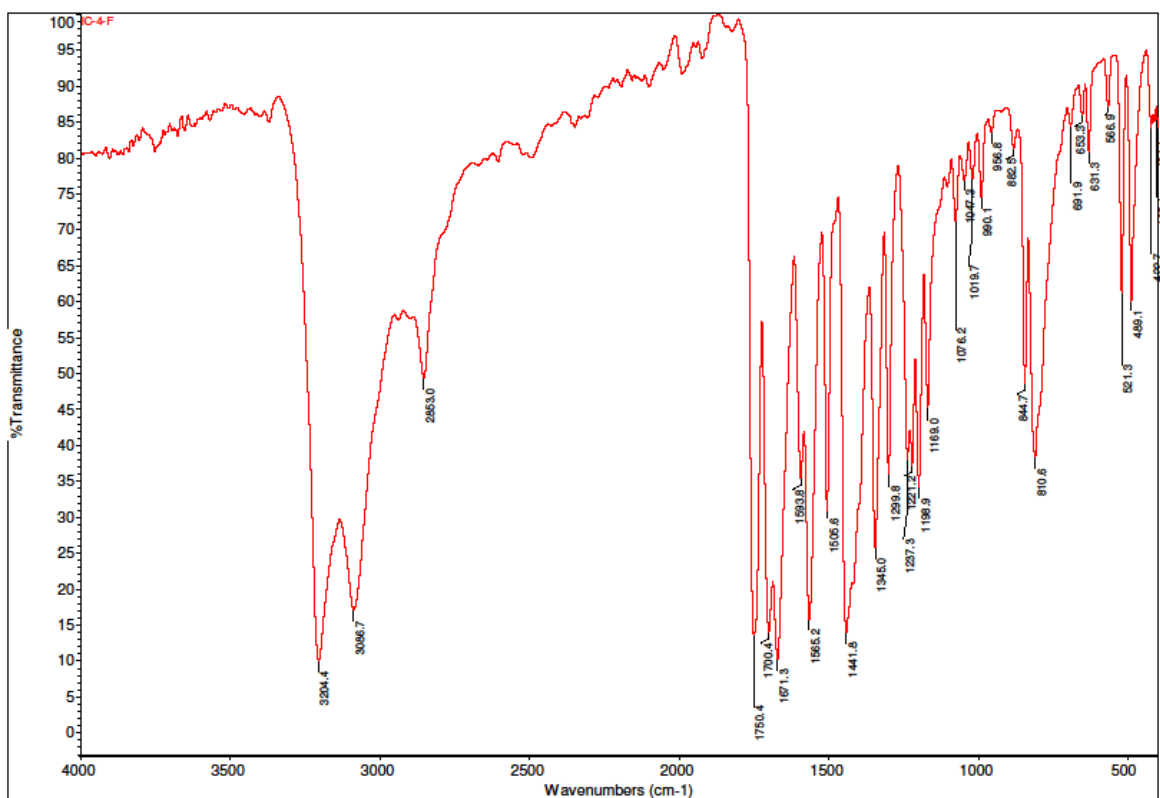
Slika P5. FT-IR spektar 5-(4-metilbenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (5)



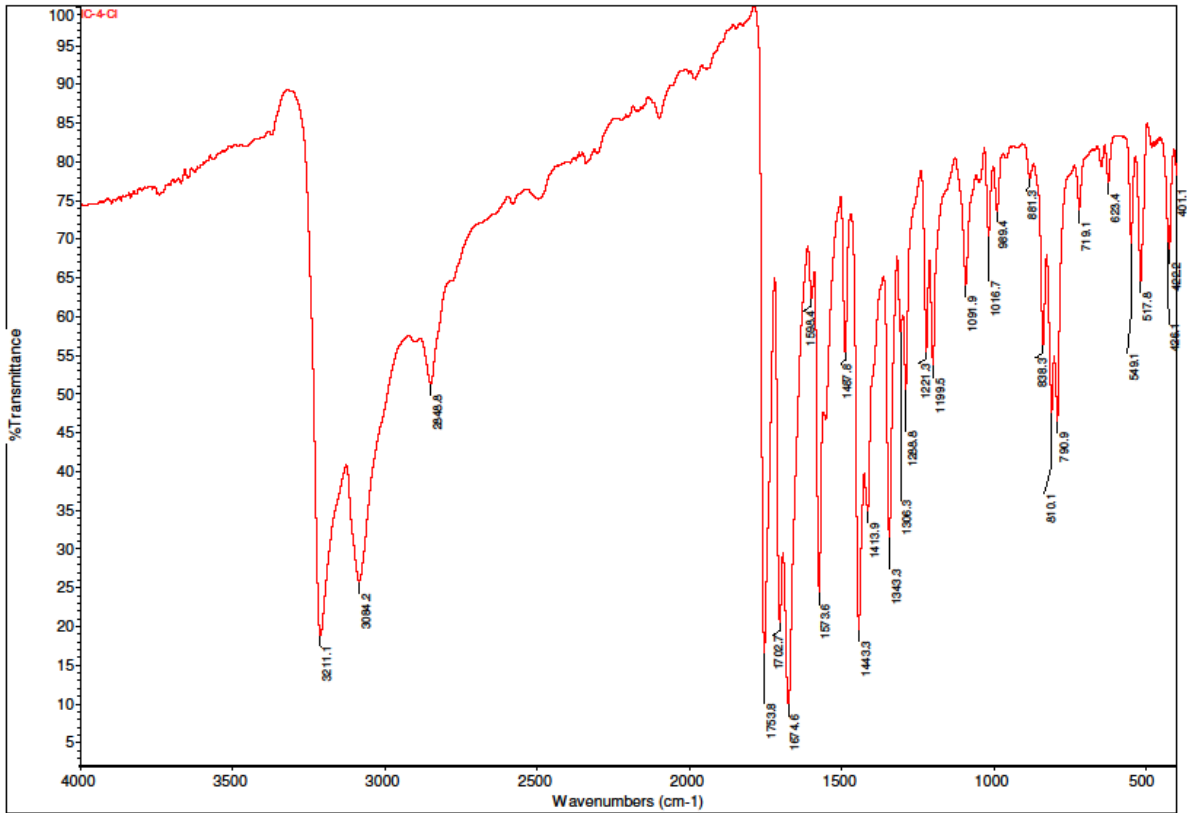
Slika P6. FT-IR spektar 5-(4-izopropilbenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (6)



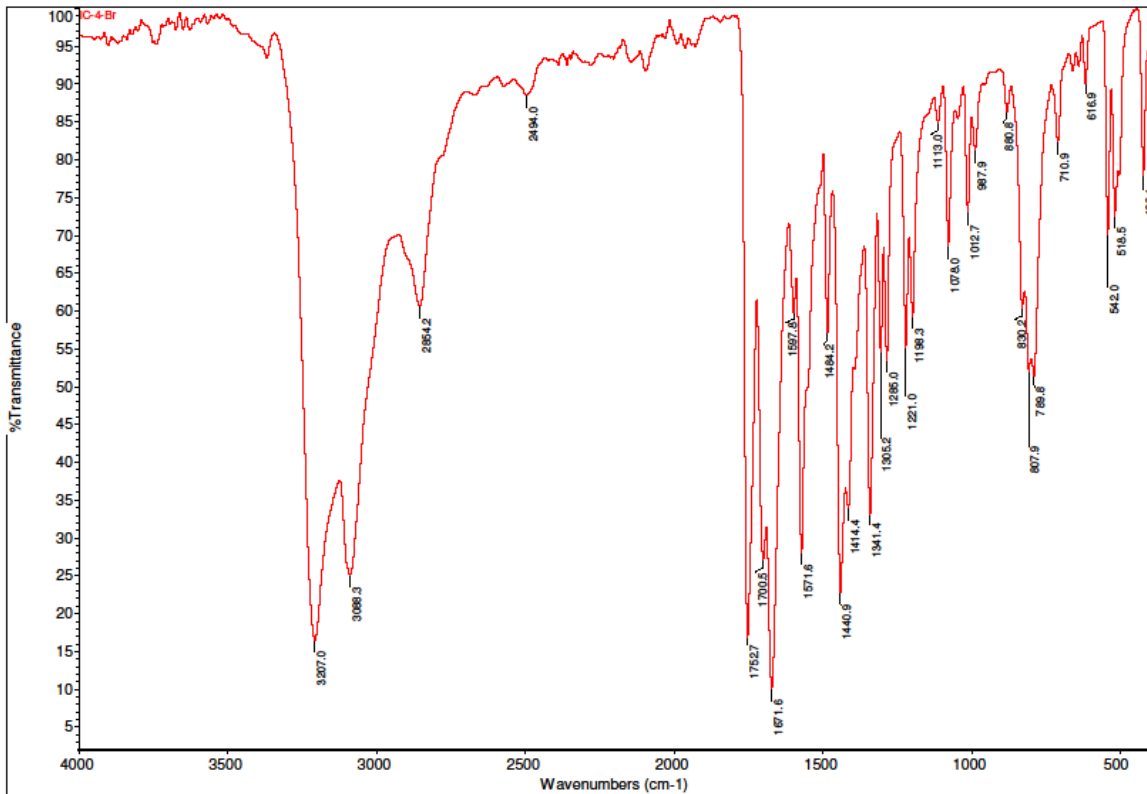
Slika P7. FT-IR spektar 5-benzilidenpirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-triona (7)



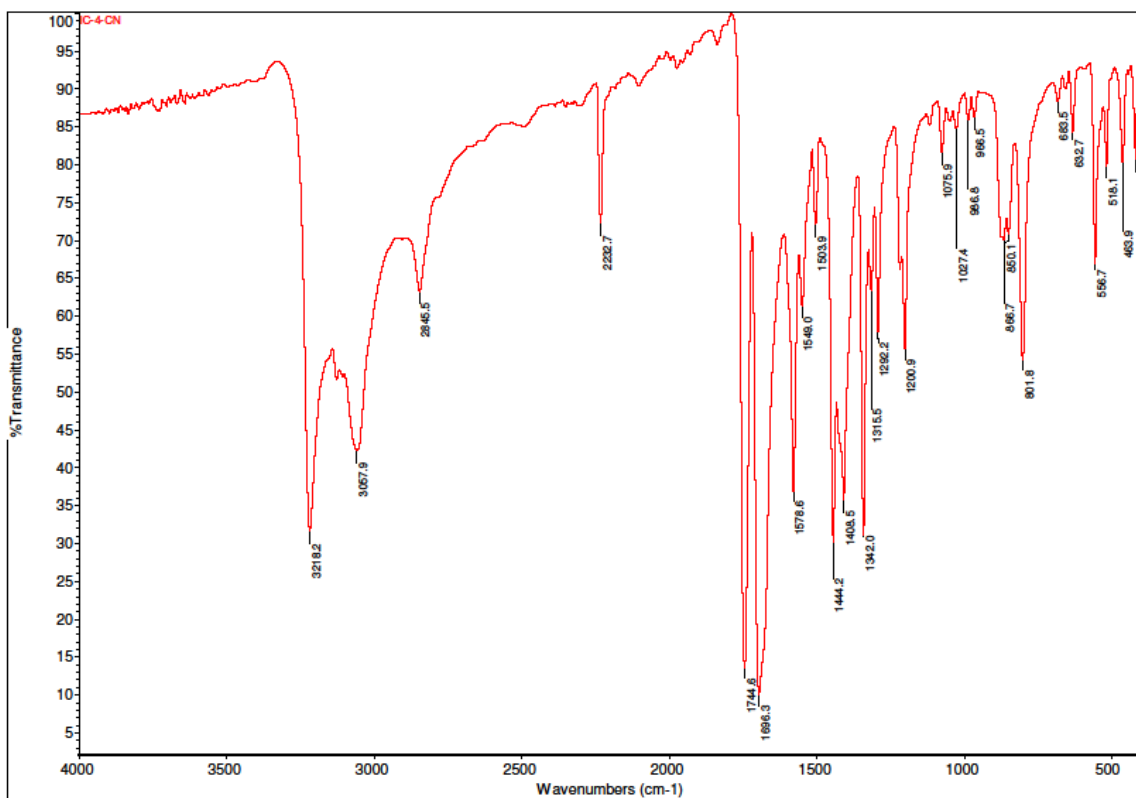
Slika P8. FT-IR spektar 5-(4-fluorobenziliden)pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-triona (8)



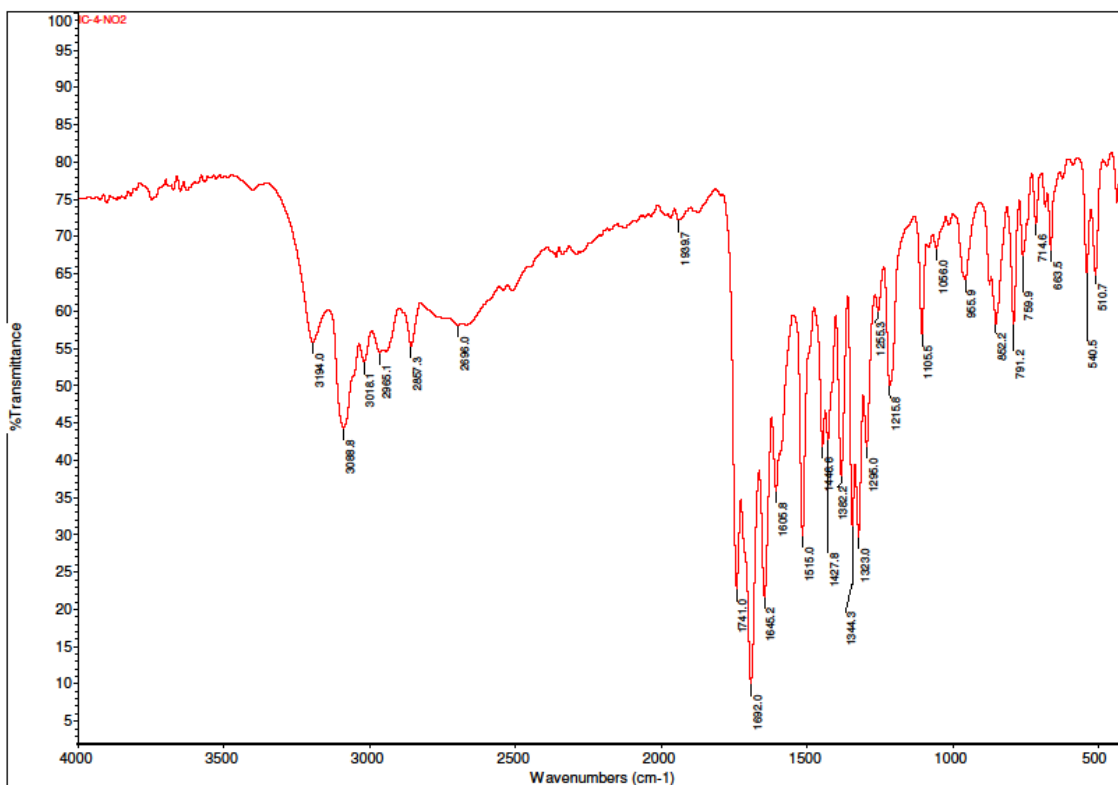
Slika P9. FT-IR spektar 5-(4-hlorobenziliden)pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-triona (9)



Slika P10. FT-IR spektar 5-(4-bromobenziliden)pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-triona (10)

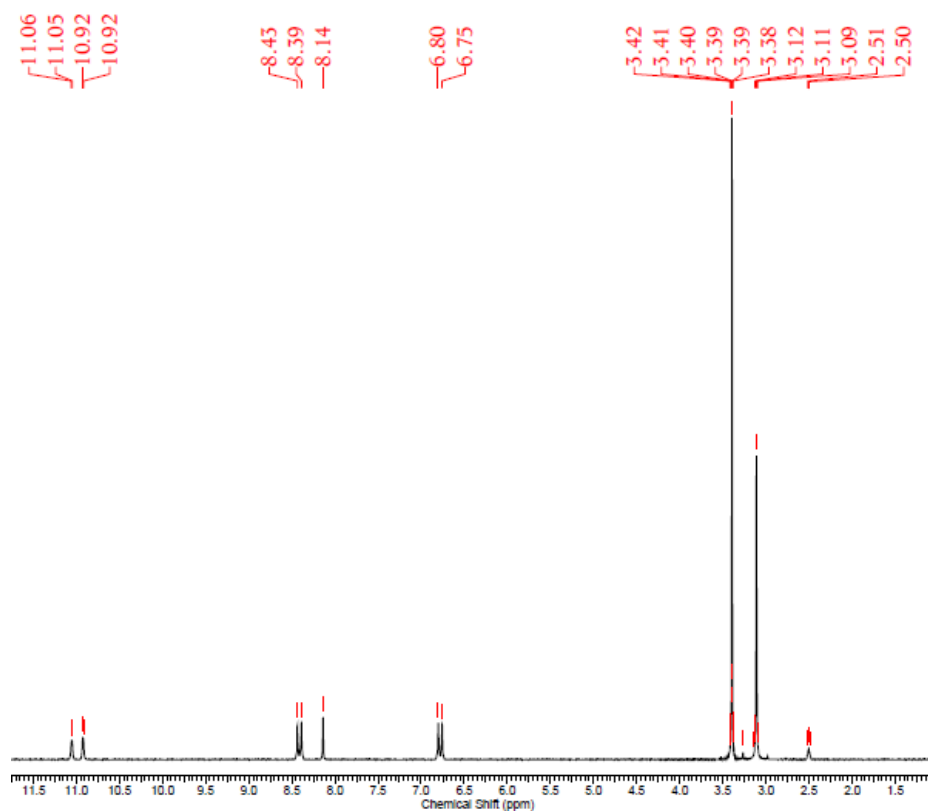


Slika P11. FT-IR spektar 5-(4-cijanobenziliden)pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-triona (11)

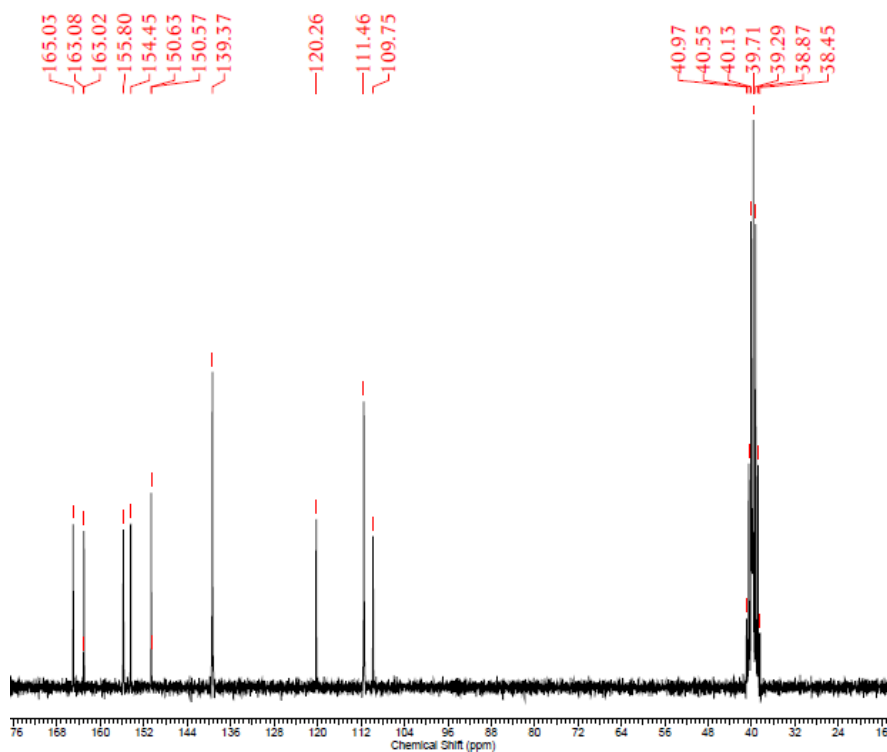


Slika P12. FT-IR spektar 5-(4-nitrobenziliden)pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-triona (12)

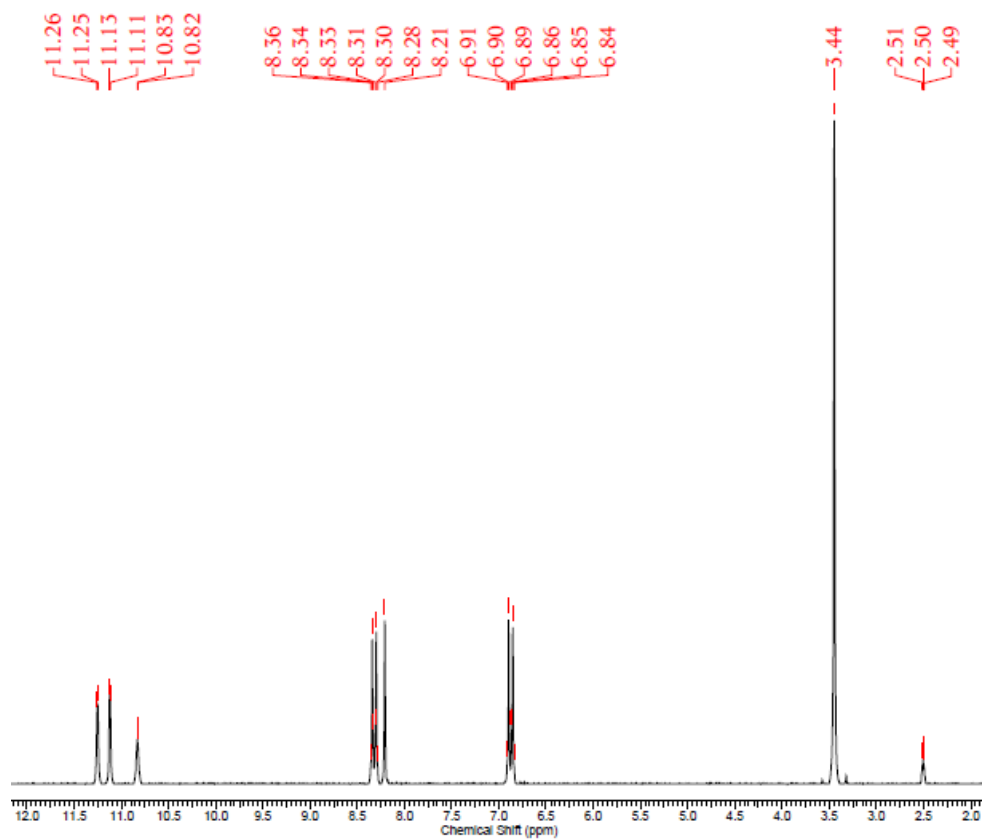
^1H i ^{13}C NMR spektri derivata 5-benzilidenbarbiturne kiseline



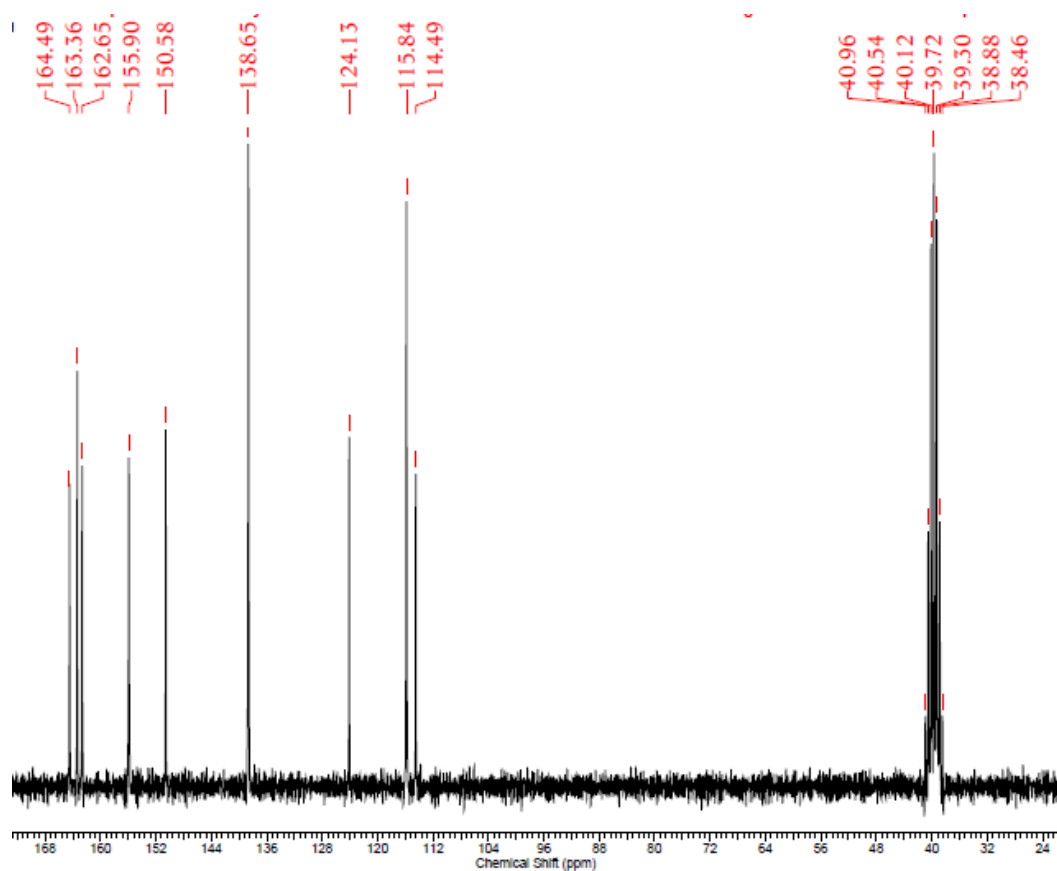
Slika P13. ^1H NMR spektar 5-(4-(Dimetilamino)benziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (1)



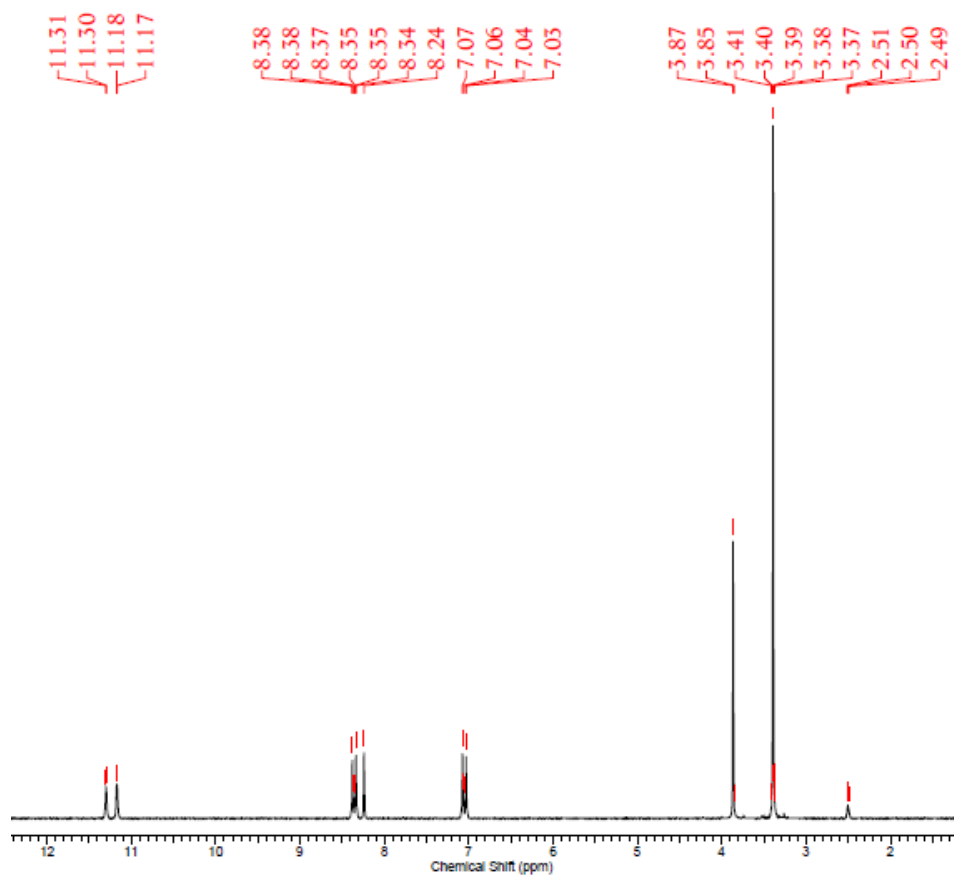
Slika P14. ^{13}C NMR spektar 5-(4-(Dimetilamino)benziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona(1)



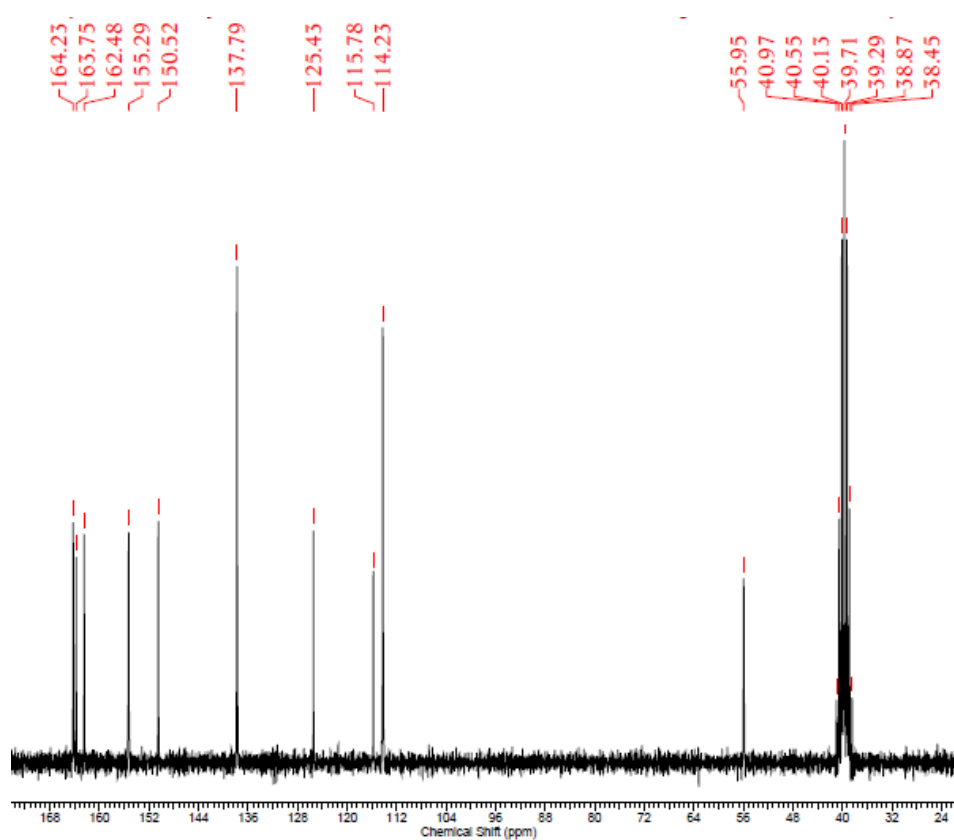
Slika P15. ^1H NMR spektar 5-(4-Hidroksibenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (2)



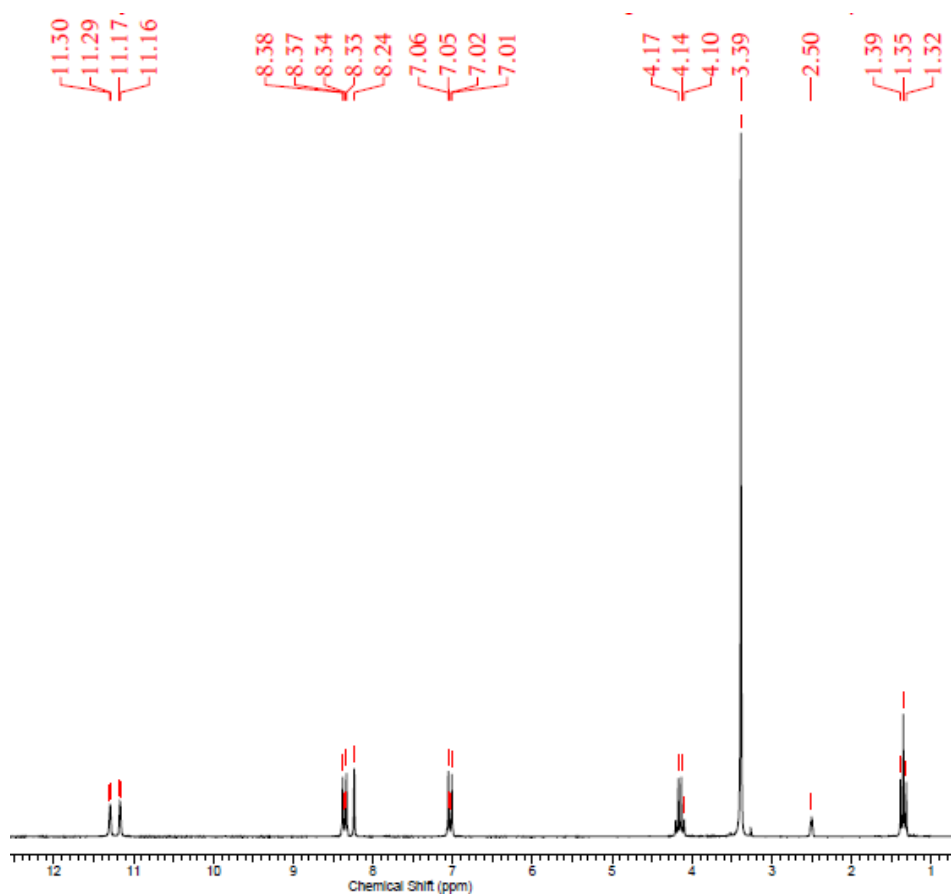
Slika P16. ^{13}C NMR spektar 5-(4-Hidroksibenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (2)



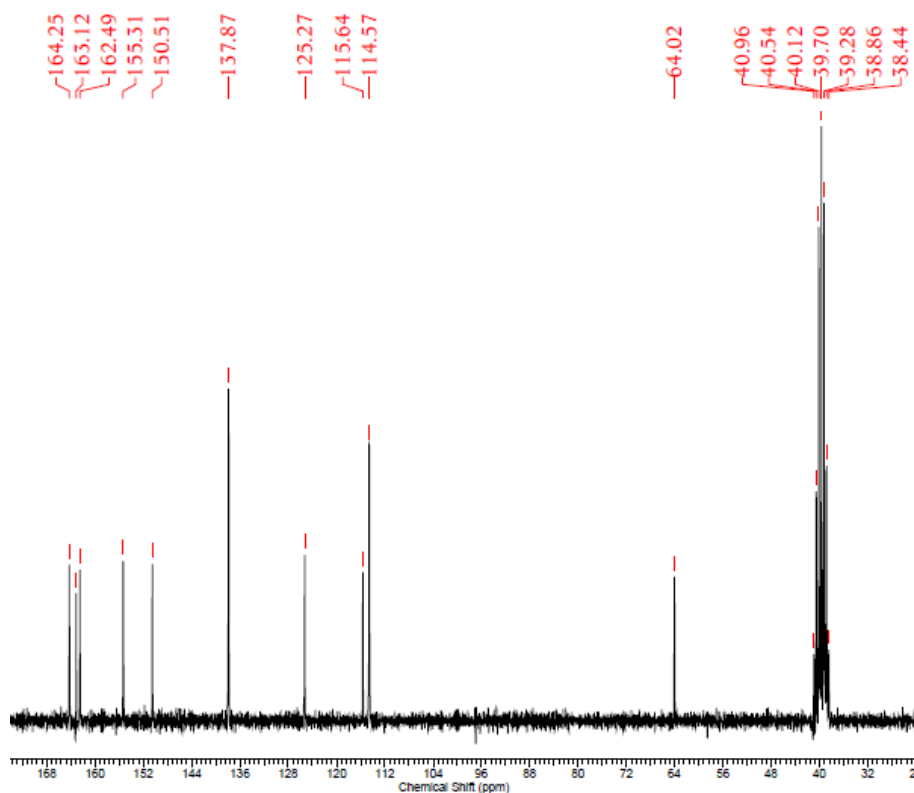
Slika P17. ^1H NMR spektar 5-(4-metoksibenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (**3**)



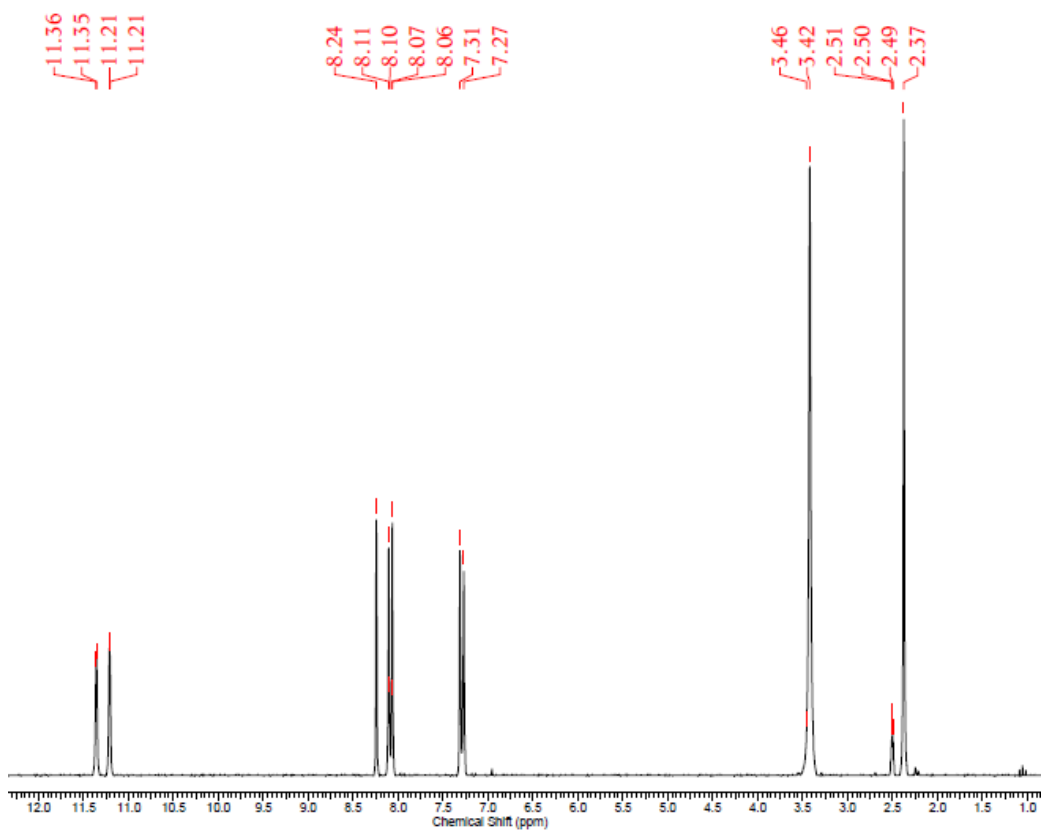
Slika P18. ^{13}C NMR spektar 5-(4-metoksibenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (**3**)



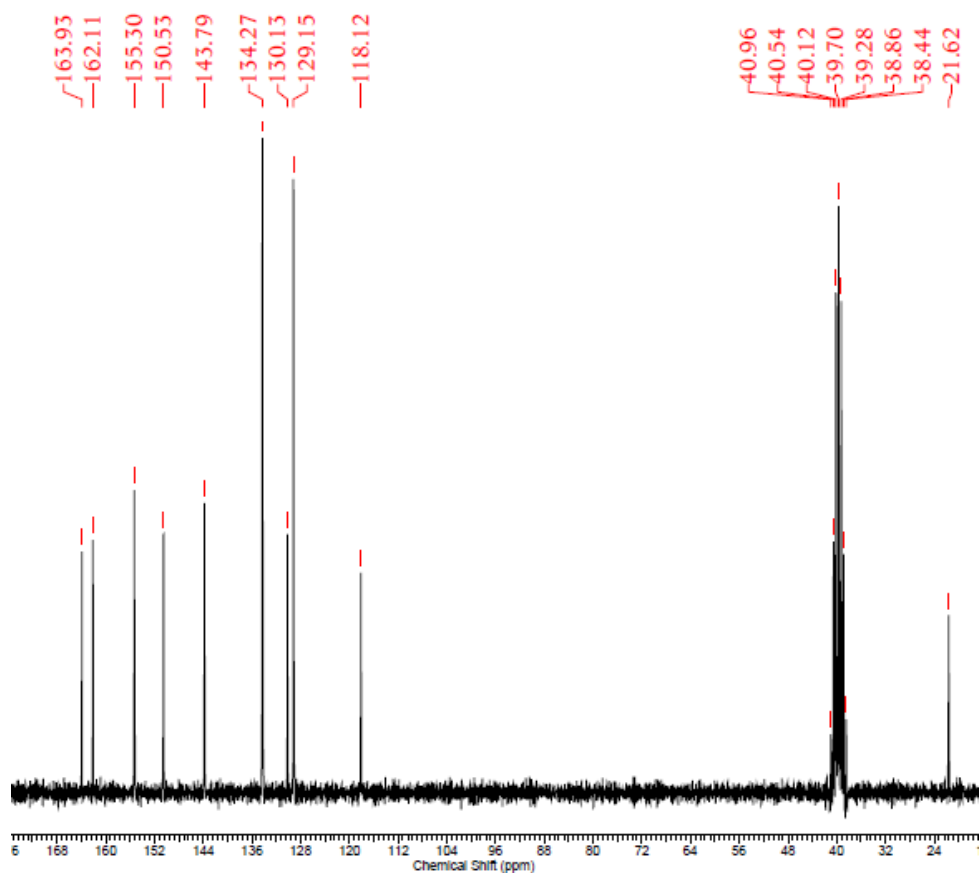
Slika P19. ^1H NMR spektar 5-(4-etoksibenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (**4**)



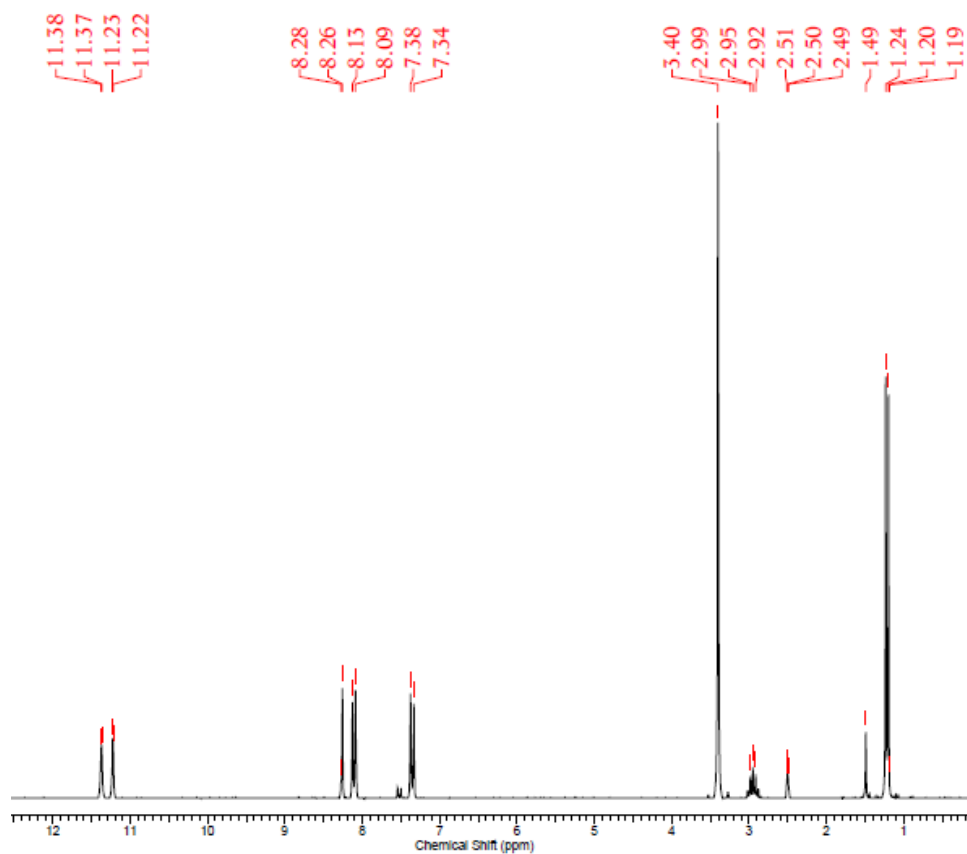
Slika P20. ^{13}C NMR spektar 5-(4-etoksibenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (**4**)



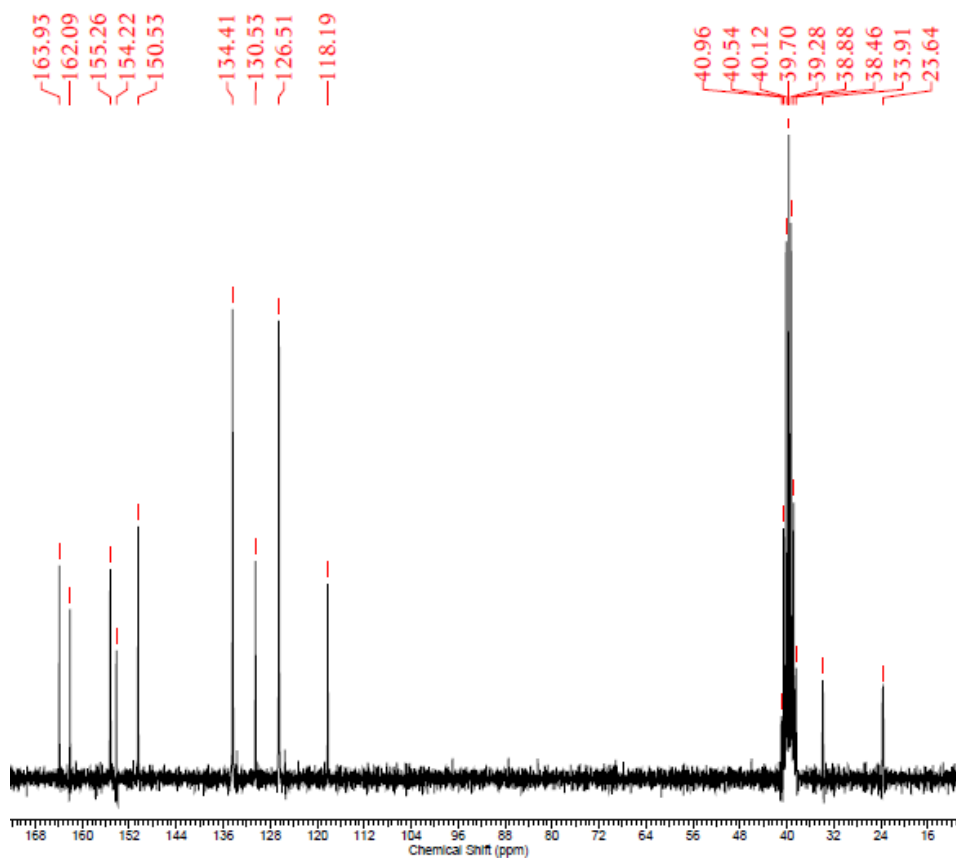
Slika P21. ^1H NMR spektar 5-(4-metilbenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (5)



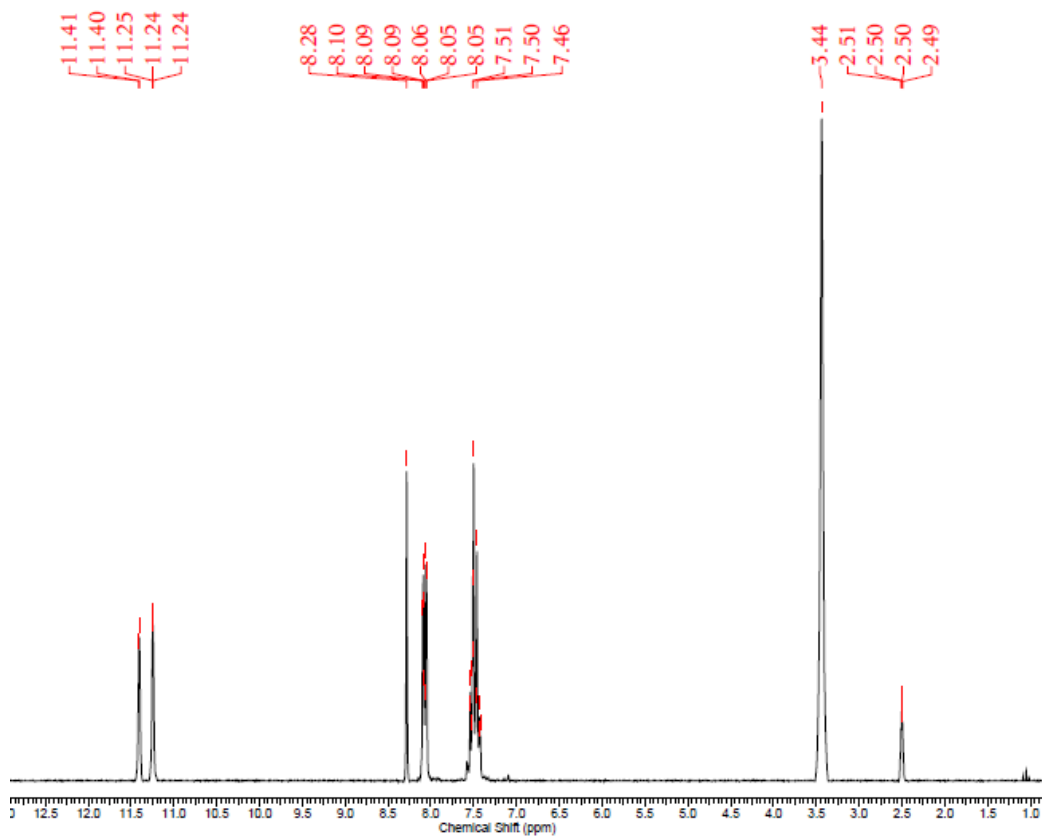
Slika P22. ^{13}C NMR spektar 5-(4-metilbenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (5)



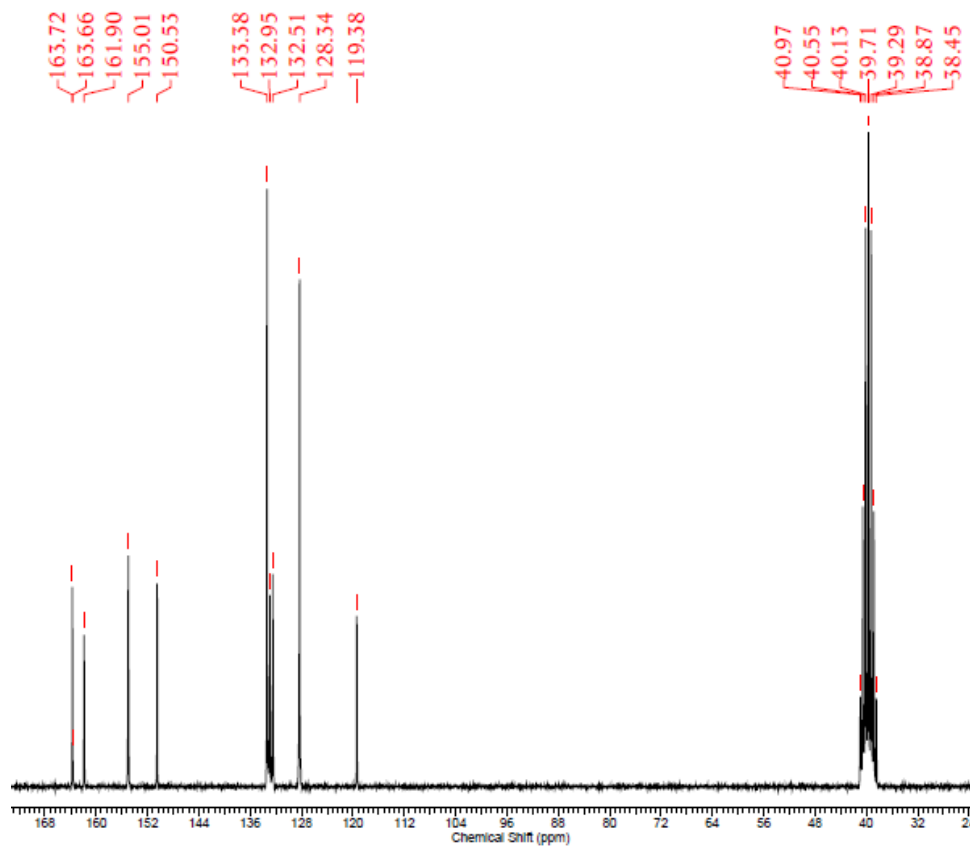
Slika P23. ^1H NMR spektar 5-(4-izopropilbenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (6)



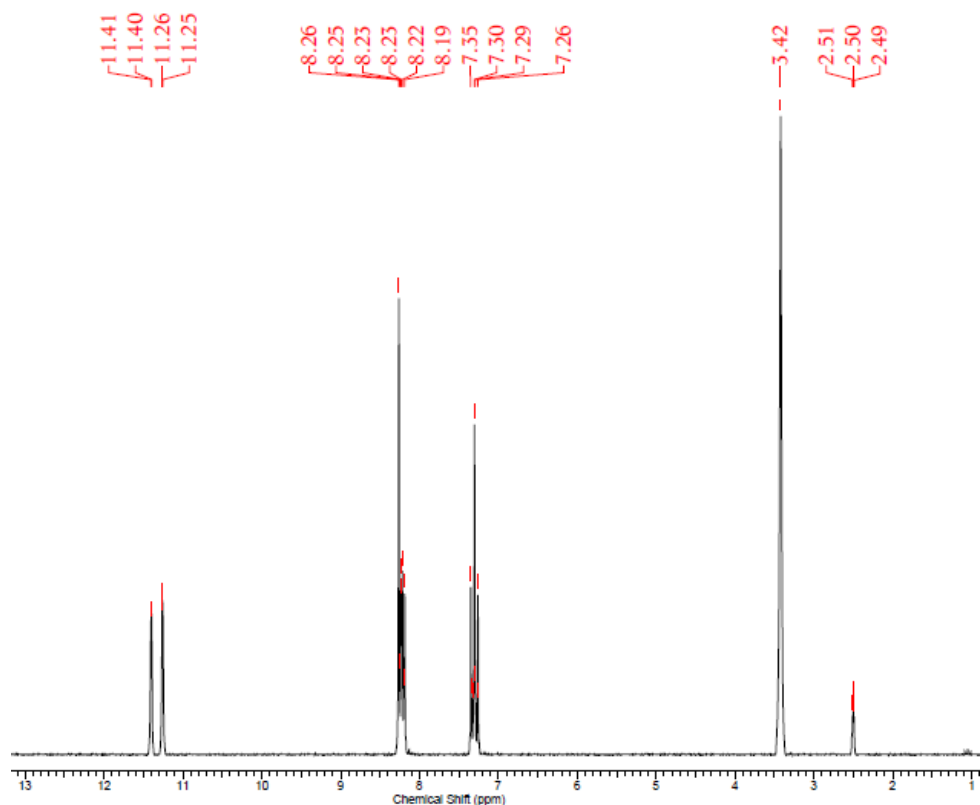
Slika P24. ^{13}C NMR spektar 5-(4-izopropilbenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (6)



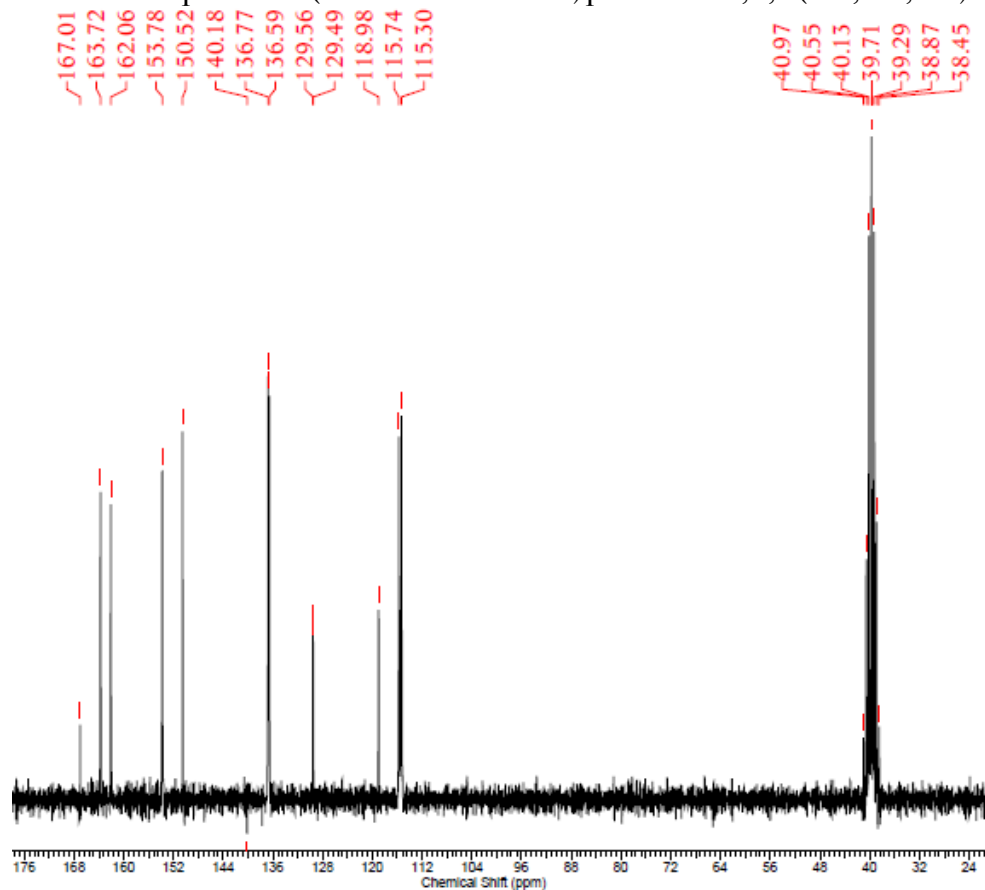
Slika P25. ^1H NMR spektar 5-benzilidenpirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (7)



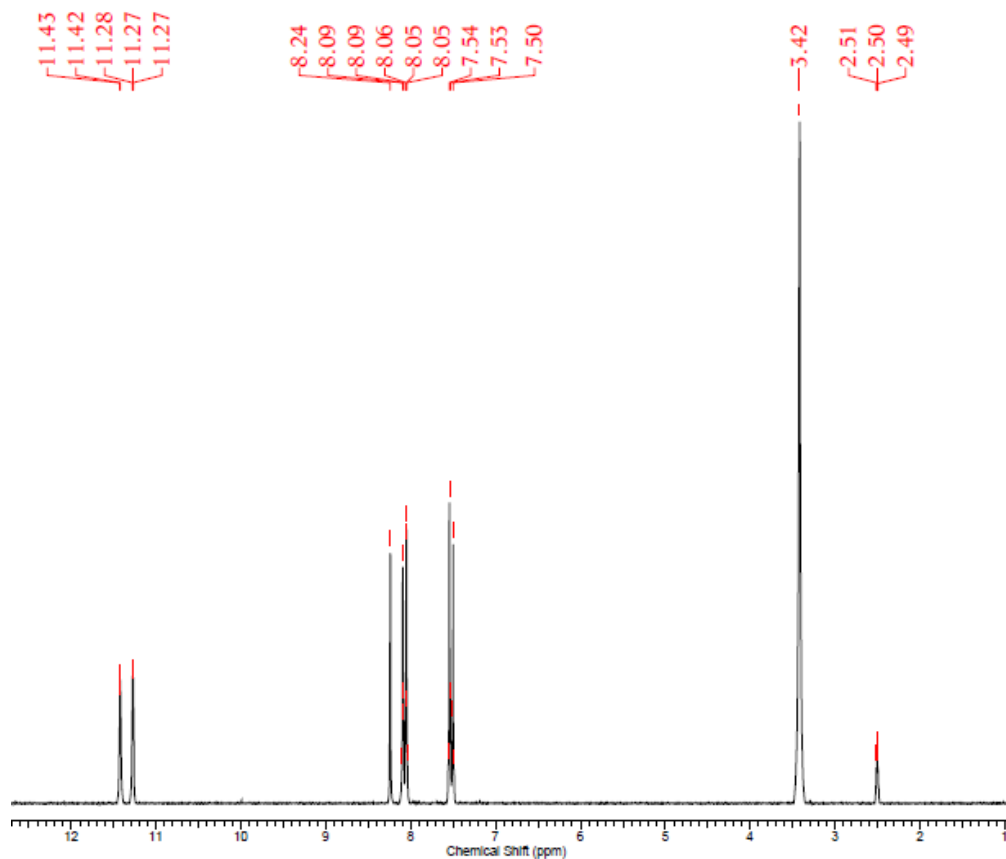
Slika P26. ^{13}C NMR spektar 5-benzilidenpirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (7)



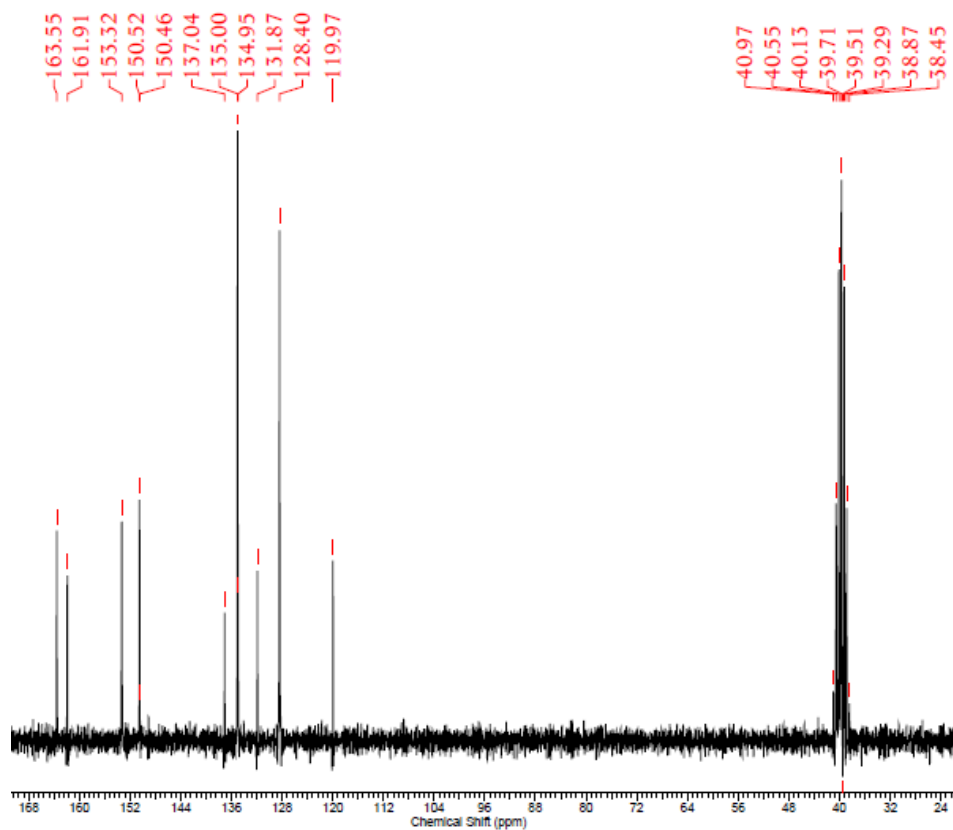
Slika P27. ^1H NMR spektar 5-(4-fluorobenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (**8**)



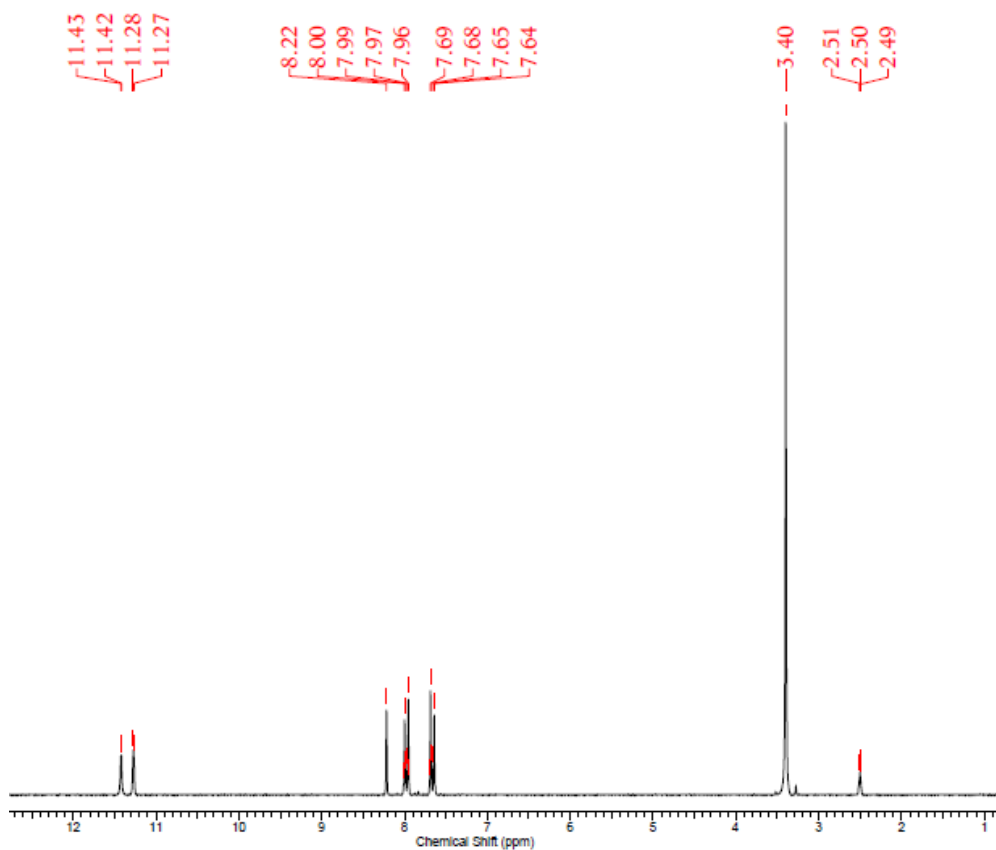
Slika P28. ^{13}C NMR spektar 5-(4-fluorobenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (**8**)



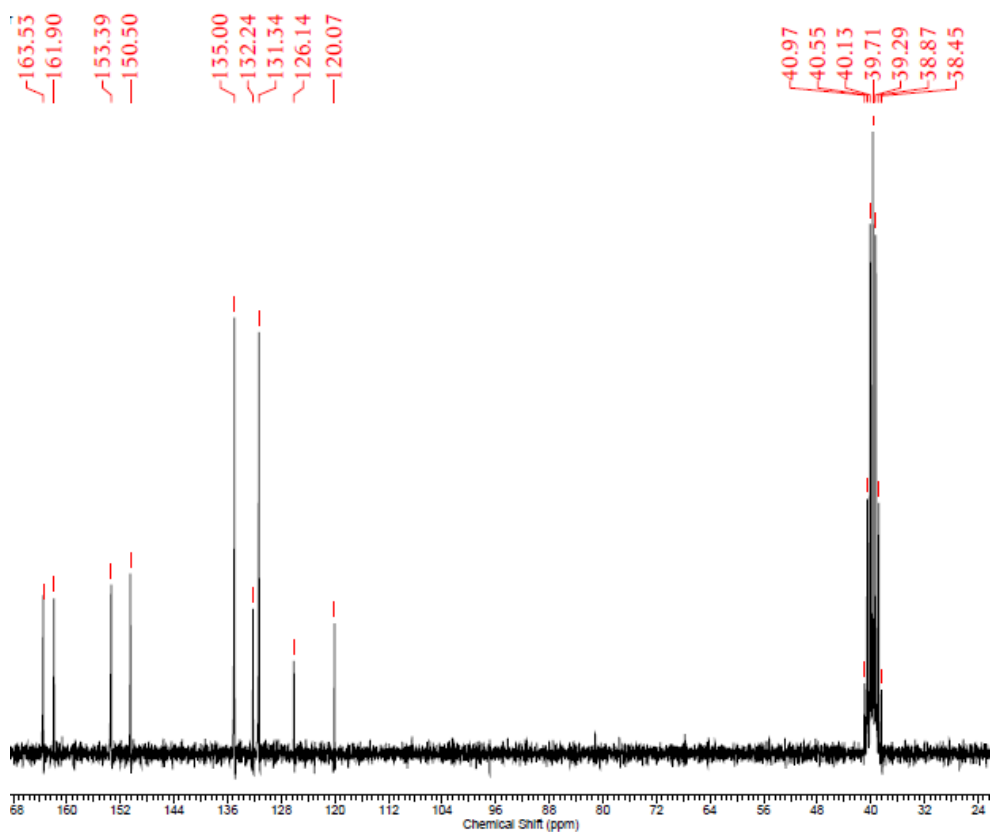
Slika P29. ^1H NMR spektar 5-(4-hlorobenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (**9**)



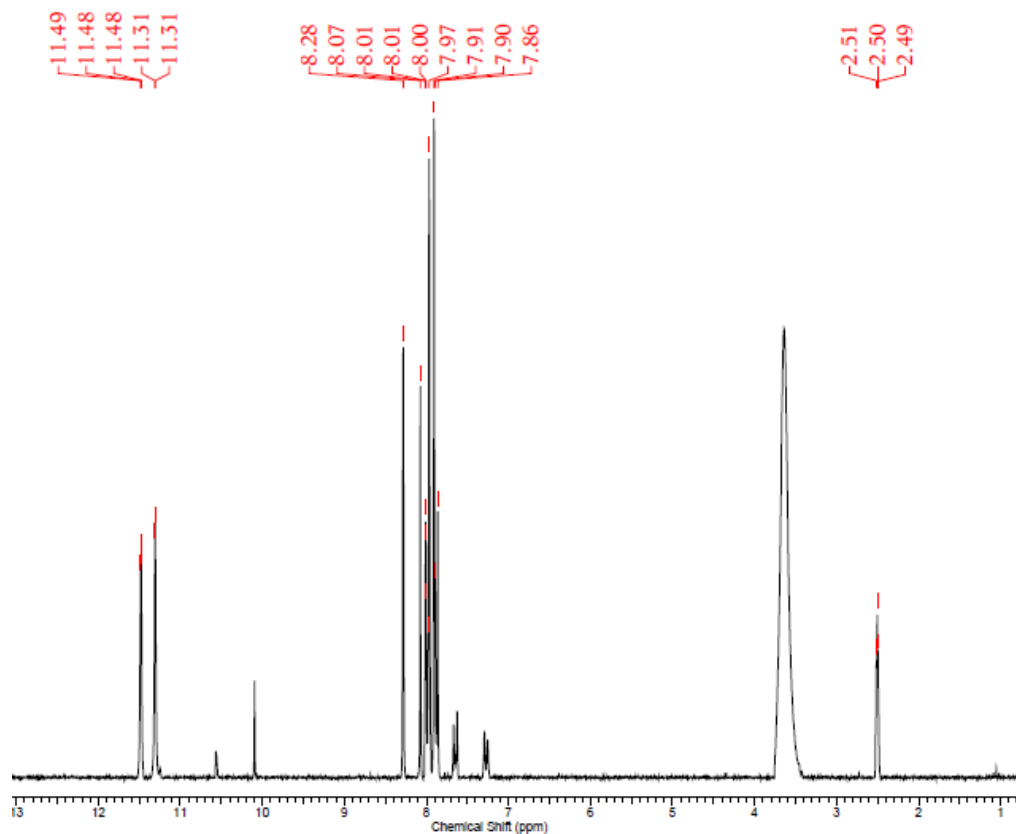
Slika P30. ^{13}C NMR spektar 5-(4-hlorobenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (**9**)



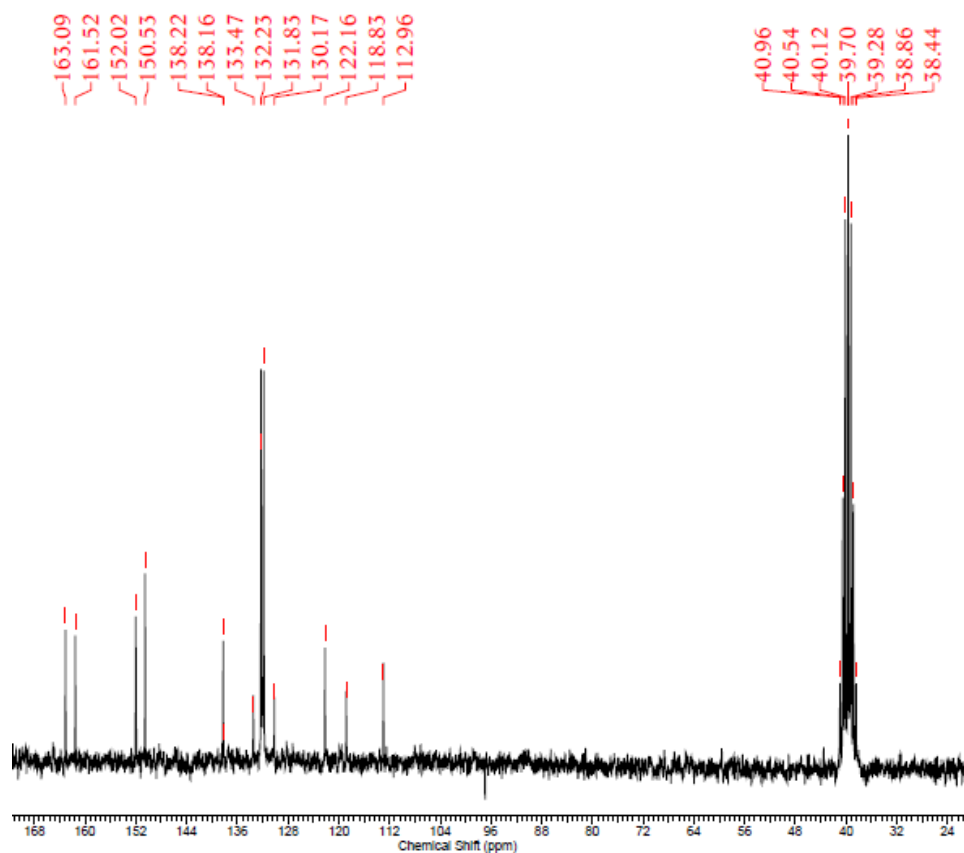
Slika P31. ^1H NMR spektar 5-(4-bromobenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (10)



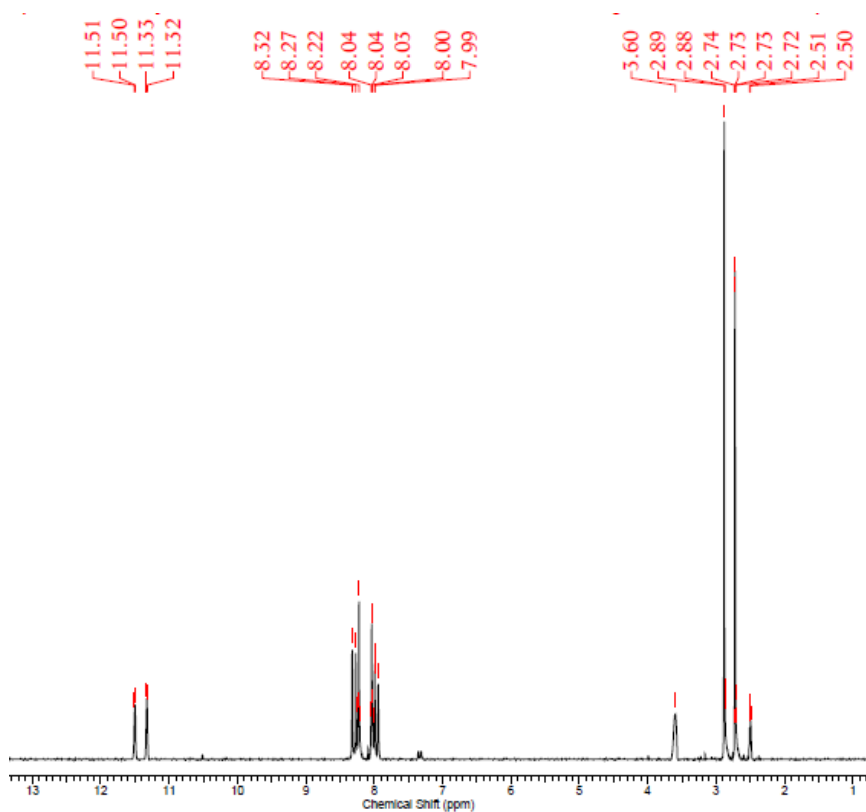
Slika P32. ^{13}C NMR spektar 5-(4-bromobenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (10)



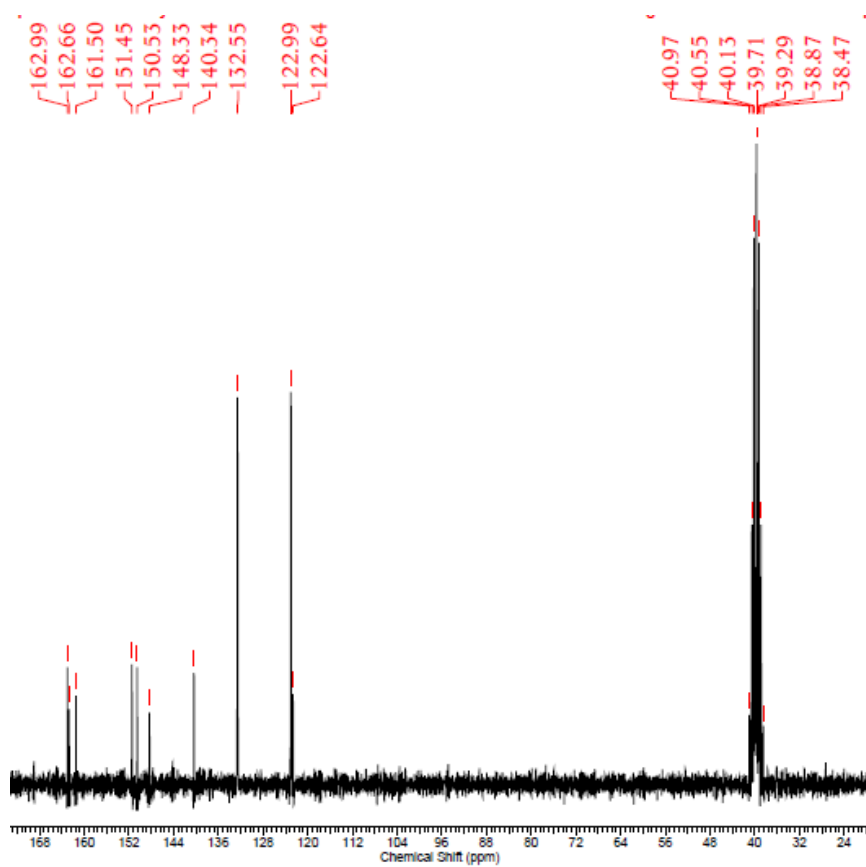
Slika P33. ^1H NMR spektar 5-(4-cijanobenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (11)



Slika P34. ^{13}C NMR spektar 5-(4-cijanobenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (11)



Slika P35. ^1H NMR spektar 5-(4-nitrobenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (12)



Slika P36. ^{13}C NMR spektar 5-(4-nitrobenziliden)pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona (12)

BIOGRAFIJA

Ivana (Novica) Stojiljković rođena je 16.07.1984. godine u Leskovcu, Srbija. Osnovnu i srednju Medicinsku školu - smer farmaceutski tehničar završila je u Leskovcu. Osnovne akademske studije završila je 2011. godine na Hemijskom fakultetu Univerziteta u Beogradu - studijski program "Hemija", smer diplomirani hemičar. Master akademske studije na istom fakultetu završila je 2013. godine i iste godine upisala je doktorske studije na Hemijskom fakultetu Univerziteta u Beogradu - studijski program "Hemija". Školske 2014/15. godine angažovana je kao rukovodilac vežbi na Šumarskom fakultetu Univerziteta u Beogradu na predmetu Hemija. Od 2015. godine do danas zaposlena je na Šumarskom fakultetu Univerziteta u Beogradu kao asistent na predmetu Hemija. Do sada je objavila deset naučnih radova, a takođe je autor i više saopštenja na međunarodnim i domaćim skupovima. Ivana N. Stojiljković jedna je od autora pomoćnog udžbenika - praktikuma, *"Praktikum iz Hemije sa radnom sveskom"*, Šumarski fakultet, Beograd, 2018; ISBN 978-86-7299-279-3.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Ивана Стојиљковић

Број индекса ДХ 34/2013

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

„Теоријско, спектроскопско и хроматографско проучавање структуре и својстава пара-супституисаних деривата 5-бензилиденбарбитурне киселине са електрон-донорским и електрон-акцепторским супституентима“

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

У Београду, _____

Потпис аутора

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора	Ивана Стојиљковић
Број индекса	ДХ 34/2013
Студијски програм	Хемија
Наслов рада	„Теоријско, спектроскопско и хроматографско проучавање структуре и својстава пара-супституисаних деривата 5-бензилиденбарбитурне киселине са електрон-донорским и електрон-акцепторским супституентима“
Ментор	др Милош Милчић, ванредни професор Хемијског факултета Универзитета у Београду

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива 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 аутора

У Београду, _____

Изјава о коришћењу

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

„Теоријско, спектроскопско и хроматографско проучавање структуре и својстава пара-супституисаних деривата 5-бензилиденбарбитурне киселине са електрон-донорским и електрон-акцепторским супституентима“

која је моје ауторско дело.

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

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

1. Ауторство (CC BY)

2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)

3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)

5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)

6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

Потпис аутора

У Београду, _____
