

UNIVERZITET U BEOGRADU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET

Dominik R. Brkić

**SINTEZA, STRUKTURA I SVOJSTVA
ŠIFOVIH BAZA IZATINA**

doktorska disertacija

Beograd, 2018

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY

Dominik R. Brkić

**SYNTHESIS, STRUCTURE AND
PROPERTIES OF ISATIN SCHIFF BASES**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2018

MENTOR:

dr Saša Drmanić, vanredni profesor Univerziteta u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

ČLANOVI KOMISIJE:

dr Aleksandar Marinković, vanredni profesor Univerziteta u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

dr Jasmina Nikolić, docent Univerziteta u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

dr Miloš Milčić, vanredni profesor Univerziteta u Beogradu, Hemijski fakultet

dr Dušan Antonović, redovni profesor Univerziteta u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

DATUM ODBRANE:

ZAHVALNICA

Ova disertacija je urađena na Katedri za organsku hemiju Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu, a deo proračuna na Hemijskom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Profesoru dr Saši Drmaniću, mentoru, neizmerno se zahvaljujem za sve stručne savete, razumevanje, znanje, trud, nesebičnu pomoć koje mi je pružio tokom izrade ove disertacije. Ogromnu zahvalnost dugujem profesoru dr Aleksandru Marinkoviću, koji me je pozvao da na Katedri za organsku hemiju uradim ovu doktorsku disertaciju i uveo u svet hemije izatina. Takođe mu zahvaljujem na dugogodišnjoj saradnji, svim savetima i sugestijama kao i bezrezervnoj pomoći i podršci koji su omogućili da se ovaj rad uradi i privede kraju. Posebno bih se zahvalila dr Jasmini Nikolić na dragocenom znanju i savetima koji su poboljšali ovu doktorsku disertaciju. Veliko hvala profesoru dr Milošu Milčiću na divnoj saradnji, urađenim kvantnohemijskim proračunima kao i na korisnim savetima pri tumačenju dobijenih rezultata koji su doprineli poboljšanju sveukupnog kvaliteta ove doktorske disertacije. dr Dušanu Antonoviću se zahvaljujem na nesebičnoj pomoći i stručnim savetima vezanim za instrumentalne metode, i optimizmu kojim stalno zrači. Takođe se zahvaljujem Predragu Petroviću na uloženom trudu za određivanje antimikrobne aktivnosti ispitivanih derivate izatina i pomoći u otklanjanju nedoumica koje se odnose na biološki aspekt istraživanja. dr Iliji Cvijetiću se zahvaljujem na prijatnoj saradnji i velikoj pomoći, čije je neprocenjivo iskustvo vezano za QSAR analizu omogućilo da se ovo istraživanje izdigne na viši nivo. dr Marini Stamenović se zahvaljujem na velikoj pomoći i nesebičnim stručnim savetima koje mi je uputila u toku izrade ove disertacije kao i optimizmu i podršci u toku čitavog rada. Bilo je zadovoljstvo sarađivati sa svim prethodno navedenim kolegama i iskreno se radujem nastavku saradnje.

Neizmerno se zahvaljujem svim kolegama sa katedre za Organsku hemiju i kolegama sa VŠSS Beogradska politehnika na prijateljskoj i profesionalnoj pomoći, podršci, razumevanju i u najtežim trenucima izrade ove doktorske disertacije.

Najveću zahvalnost dugujem svojoj porodici i prijateljima koji su uvek verovali u mene na bezrezervnoj podršci, razumevanju i strpljenju, i u trenucima kada to nije bilo lako, a najiskrenije bih se zahvalila Milanu koji je pored mene poneo najveći teret ove disertacije.

Sinteza, struktura i svojstva Šifovih baza izatina

IZVOD

U okviru ove disertacije, za proučavanje strukture i svojstava derivata izatina sintetisano je dvadeset i šest supstituisanih 1,3-dihidro-3-arilimino-2*H*-indol-2-ona. Ispitivani molekuli su sintetisani prema postupcima iz literature i okarakterisani su određivanjem temperature topljenja, UV, FTIR, ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom i elementalnom analizom. Apsorpcioni maksimumi proučavanih jedinjenja snimljeni su u 22 rastvarača različite polarnosti u opsegu talasnih dužina od 300 do 600 nm. Odnos *E/Z* izomera sintetisanih 1,3-dihidro-3-(supstituisanih fenilimino)-2*H*-indol-2-ona je ispitan primenom eksperimentalne i teorijske metodologije. Teorija funkcionalne gustine zavisna od vremena (TD-DFT, *eng.* Time Dependant - Density Functional Theory) proračuni su obezbedili teorijske UV spektre za *E* i *Z* izomere u dimetil sulfoksidu, etanolu i acetonitrilu, na osnovu kojih je određen položaj ν_{\max} *E* i *Z* izomera.

Analizom UV-Vis apsorpcionih spektara ispitan je uticaj različitih rastvarača na položaj apsorpcionih maksimuma. Osim toga, ispitan je uticaj prirode i položaja supstituenata u aril jezgru u položaju 3 jezgra indola na apsorpcione spektre. Za kvantitativnu ocenu uticaja rastvarača na apsorpcione maksimume svih jedinjenja, primenjeni su principi linearne korelacije energija solvatacije (LSER, *eng.* Linear Solvation Energy Relationship) analize, korišćenjem *Kamlet-Taft*-ovog (*Kamlet-Taft*ovog) modela. Kvantitativna analiza uticaja supstituenata na apsorpcione maksimume 1,3-dihidro-3-arilimino-2*H*-indol-2-ona urađena je pomoću modela linearne korelacije slobodnih energija (LFER, *eng.* Linear Free Energy Relationships) primenom *Hammett*-ove (*Hammett*ove) jednačine. LFER model u obliku jednoparametarske jednačine (SSP, *eng.* Single Substituent Parameter) je takođe primenjen za analizu efekata supstituenata na pK_a vrednosti. Prenos elektronskih efekata supstituenata na *N*-arilnom jezgru u položaju 3 indolnog prstena, analizirani su na osnovu ¹H i ¹³C NMR hemijskih pomeranja korišćenjem LFER principa primenom jednoparametarske *Hammett*ove jednačine. Dobijene korelacije zajedno sa teoretskim proračunima pružaju uvid na uticaj molekulske konformacije na prenos efekata supstituenta, kao i na interakcije između rastvarača i rastvorene supstance.

Teorijski proračuni su interpretirani uz pomoć, *ab initio* MP2 i time-dependent density functional (TD-DFT) kompjuterskih metoda primenom CAM-B3LYP funkcionala i 6-311G(d,p) bazis seta. Pomoću teorijskih proračuna određene su optimizovane geometrije kao i parametri optimizovanih geometrija, izračunati su teorijski apsorpcioni spektri oba tautomerna oblika, HOMO/LUMO energije ($E_{\text{HOMO}}/E_{\text{LUMO}}$) i E_{gap} vrednosti. MEP analiza je pružila vizuelizaciju raspodele elektronske gustine preko optimizovanih geometrija molekula i dodatno objašnjenje porekla interakcija između rastvarača i rastvorene supstance. Gustina elektronskog naelektrisanja je određena pomoću kvantne teorija Atoma u molekulu odnosno *Bader*-ovom (*Baderovom*) analizom. Mape različite elektronske gustine 1,3-dihidro-3-arilimino-2*H*-indol-2-ona su prikazane u vidu razlika između elektronske gustine na prvog pobuđenog stanja i osnovnog stanja u programu gOpenMol. Uticaj supstituenata na intramolekulski prelaz naelektrisanja (ICT, *eng.* Intramolecular Charge Transfer) je interpretiran pomoću TD-DFT metoda. Dodatno, rezultati TD-DFT proračuna su iskorišćeni za kvantifikaciju ICT-a na osnovu izračunatog rastojanja između dva baricentra (D_{CT} , *eng.* Charge-Transfer Distance) i količine prenetog naelektrisanja (Q_{CT} , *eng.* Amount of Transferred Charge.).

U nastavku istraživanja urađeno je ispitivanje antimikrobne aktivnosti sintetisanih jedinjenja primenom bujon-mikrodilucione metode. Ispitivanje je izvršeno u cilju utvrđivanja uticaja položaja i vrste supstituenta na fenil supstituisanom jezgru ispitivanih derivata izatina na biološku aktivnost.

Takođe je izvršena detaljna analiza odnosa između strukture i biološke aktivnosti primenom 3D-QSAR tehnike molekulskog modelovanja. 3D-QSAR zasnovan na GRIND (GRid nezavisni deskriptori) metodologiji je korišćen za ispitivanje uticaja efekata geometrije molekula i efekata supstituenata na antimikrobnu aktivnost.

Ključne reči: 1,3-dihidro-3-arilimino-2*H*-indol-2-on; *E/Z* izomeri; Efekat supstituenta; Uticaj rastvarača; Kvantnohemijska izračunavanja; *Baderova* analiza; Antimikrobna aktivnost; 3D-QSAR.

Naučna oblast: Hemijske nauke

Uža naučna oblast: Organska hemija

Synthesis, structure and properties of isatin schiff bases

ABSTRACT

In this thesis, twenty-six substituted 1,3-dihydro-3-arylimino-2H-indol-2-ones have been synthesized in order to study structure and properties of the isatin derivatives. The examined molecules have been synthesized according to literature procedures and characterized by melting point determination, UV, FTIR, ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy and elemental analysis. Absorption spectra of the studied compounds have been recorded in twenty-two solvents of different polarities in the range from 200 to 600 nm. The ratio of the *E/Z* isomers of synthesized 1,3-dihydro-3-(substituted phenylimino)-2*H*-indol-2-one was tested using the experimental and theoretical methodology. Time-dependent density functional (TD-DFT) calculations provided theoretical UV spectra for the *E* and *Z* isomers in dimethyl sulfoxide, ethanol and acetonitrile, on the basis of which the position of the ν_{max} for *E* and *Z* isomers was determined.

By the analysis of the UV-Vis absorption spectra, the influence of different solvents on the position of absorption maxima was investigated. In addition, the influence of the nature and position of the substituents in the aryl core at the 3-position of the indole nucleus on the absorption spectra was examined. For the quantitative assessment of the solvent impact on the absorption maximums of all compounds, the principles of Linear Solvation Energy Relationship analysis (LSER) were applied using the *Kamlet-Taft* model. A quantitative analysis of the influence of the substituents on the absorption maximums of 1,3-dihydro-3-arylamino-2*H*-indol-2-one was made by dint of the LFER model using the *Hammett* equation. The Linear Free Energy Relationships model (LFER) in the form of a Single Substituent Parameter equation (SSP) was also used to analyze the substituents effects on $\text{p}K_{\text{a}}$ values. The transfer of the electronic substituents effects on the *N*-aryl core at the position 3 of the indole ring were analyzed using ^1H and ^{13}C NMR chemical shifts by applying of the LFER principle using a SSP *Hammett* equation. The obtained correlations, along with theoretical calculations, provide an insight into the influence of molecular conformation on the transfer of the substituent effects, as well as on the interactions between the solvent and solute.

Theoretical calculations were interpreted with the use of *ab initio* MP2 and time-dependent density functional (TD-DFT) computer techniques using the CAM-B3LYP function and the 6-311G (d, p) basis set. Theoretical calculations determined optimized geometry and optimized geometry parameters, and the theoretical absorption spectra are calculated for both tautomeric forms, as well as HOMO/LUMO energies ($E_{\text{HOMO}}/E_{\text{LUMO}}$) and E_{gap} values. The MEP analysis provided visualization of electron density distribution through optimized molecular geometry and an additional explanation of the origin of the solvent—solute interactions. Electronic density distribution was determined by quantum theory of Atom in a molecule or *Bader* analysis. Density difference maps of 1,3-dihydro-3-arylamino-2*H*-indol-2-one are shown as the difference between electron densities of the first excited state and the ground state, in the gOpenMol program. The influence of the substituents on the intramolecular charge transfer (ICT) was interpreted using the TD-DFT method. Additionally, the results of the TD-DFT calculation were used to quantify the ICT based on the calculated Charge-Transfer Distance (D_{CT}) and the Amount of Transferred Charge (Q_{CT}).

In the continuation of the study, the antimicrobial activity of the synthesized compounds was studied using a broth microdilution method. The study was performed in order to determine the effect of the position and the type of substituent on the phenyl-substituted nucleus of the examined isatin derivatives on biological activity.

A detailed analysis of the relationship between the structure and the biological activity was also performed using 3D-QSAR molecular modeling techniques. 3D-QSAR based GRIND (GRid Independent Descriptor) methodology was used to demonstrate the influence of substituents effect as well as of molecular geometry on antimicrobial activity.

Keywords: 1,3-dihydro-3-arylamino-2*H*-indol-2-one; *E/Z* isomers; Substituent effect; Solvent effect; Quantum-chemical calculations; Bader's analysis; Antimicrobial activity; 3D-QSAR.

SKRAĆENICE

A – Apsorbanca

ADMET – Apsorpcija, raspodela, metabolizam, eliminacija i toksičnost (*eng.* Adsorption, Distribution, Metabolism, Excretion, and Toxicity)

AIM – Analiza raspodele elektronske gustine na atomima u molekulu (*eng.* Atoms in Molecules)

ATCC – Američka kolekcija ćelijskih kultura (*eng.* American Type Culture Collection)

CoMFA – komparativna analiza molekulskih polja (*eng.* Comparative Molecular Field Analysis).

COSY – Korelaciona spektroskopija

¹³C NMR – Nuklearna magnetna rezonanca ugljenika

CT – Prenos naelektrisanja (*eng.* Charge Transfer)

CV – metoda unakrsne validacije (*eng.* Cross-Validation)

D_{CT} – Rastojanja prenosa naelektrisanja (*eng.* Charge-Transfer Distance)

DFT – Teorija funkcionala gustine (*eng.* Density functional Theory)

DCM – Dihlormetan

DMSO – Dimetil-sulfoksid

DMSO-*d*₆ – Deuterisani dimetil-sulfoksid

DoM – direktna *ortho* metalacija (*eng.* Directed *ortho* Metalation)

*E*_{gap} – Energetska razlika između HOMO i LUMO (*eng.* Energy gap between *HOMO* and *LUMO*)

FFD – frakcionog dizajna faktora (*eng.* Fractional Factorial Design)

FT-IR – Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (*eng.* Fourier Transform Infrared Spectroscopy)

GGA – Uopštena gradijentna aproksimacija (*eng.* Generalized-Gradient Approximation)

GRIND – Deskriptori nezavisni od međusobnog prostornog svrstavanja molekula (*eng.* GRid Independent Descriptors)

GUI – Grafički korisnički *interfejs* (*eng.* Graphical User *Interface*).

HBA – Atom ili atomska grupa koja prima proton pri uspostavljanju vodonične veze (*eng.* Hydrogen-Bonding Acceptor)

HBD – atom ili atomska grupa koja daje proton pri uspostavljanju vodonične veze (*eng.* Hydrogen-Bond Donor)

¹H NMR – Protonska nuklearna magnetna rezonanca

HOMO – Najviša popunjena molekulska orbitala (*eng.* Highest Occupied Molecular Orbital)

ICT – Intramolekulski prelaz naelektrisanja (*eng.* Intramolecular Charge Transfer)

LDA – Aproksimacija lokalne gustine (*eng.* Local Density Approximation)

LFER – Linearna korelacija slobodne energije (*eng.* Linear Free Energy Relationships)

log P – logaritam particionog koeficijenta u sistemu 1-oktanol/voda

LOO – Unakrsna validacija sa izostavljenim jednim objektom u toku analize (*eng.* Leave One Out)

LSER – Linearna korelacija energija solvatacije (*eng.* Linear Solvation Energy Relationship)

LTO – Unakrsna validacija sa izostavljena dva objekta u toku analize (*eng.* Leave Two Out)

LUMO – Najniža nepopunjena molekulska orbitala (*eng.* Lowest Unoccupied Molecular Orbital)

LV – Latentne varijable

MACC2 – Maksimalna automatska i unakrsna kovarijansa (*eng.* Maximum Auto- and Cross Covariance)

MBC – minimalna baktericidna koncentracija (*eng.* Minimal Bactericidal Concentration).

MeOH – Metanol

MEP – mape molekulskog elektrostatičkog potencijala (*eng.* Maps of Molecular Electrostatic Potential)

MIC – minimalna inhibitorna koncentracija (*eng.* Minimal Inhibitory Concentration)

MIF – Polja molekulskih interakcija (*eng.* Molecular Interaction Fields)

MACC-2 – (*eng.* Maximum Auto- and Cross Covariance)

MMPA – Analize preklopljenih parova molekula (*eng.* Matched Molecular Pairs Analysis)

NBA – *N*-bromoacetamid

NBS-DMSO – *N*-bromosukcinimid-dimetilsulfoksid

NMR – Nuklearna magnetna rezonancija (*eng.* Nuclear Magnetic Resonance)

NOESY – Dvodimenzionalna spektroskopija Nuklearnog Overhauserovog efekta (*eng.* Nuclear Overhauser Spectroscopy)

PC – Glavne komponente (*eng.* Principal Components)

PCA – Analiza glavnih komponentata (*eng.* Principal Components Analysis)

PCM – Model polarizabilnog kontinuuma (*eng.* Polarizable Continuum Model)

PLS – Regresiona analiza delimičnih najmanjih kvadrata (*eng.* Partial Least Squares)

QSAR – Kvantitativna korelacija strukture i aktivnosti (*eng.* Quantitative Structure Activity Relationship)

QSPR – Kvantitativna korelacija strukture i svojstava (*eng.* Quantitative Structure Property Relationship)

Q_{CT} – Količina prenetog naelektrisanja (*eng.* Amount of Transferred Charge)

RG – Nasumične grupe (*eng.* Random groups)

SCS – Hemijska pomeranja uslovljena prisustvom supstituenta (*eng.* Substituent induced Chemical Shift)

SDEP – Predviđanja greške standardnom devijacijom (*eng.* Standard Deviation of Error of Calculation)

SSP – Jednoparametarska jednačina (*eng.* Single Substituent Parameter)

TD-DFT – Teorija funkcionala gustine u zavisnosti od vremena (*eng.* Time Dependant - Density Functional Theory)

UV-Vis – Ultravioletna-vidljiva spektroskopija (*eng.* Ultraviolet–Visible Spectroscopy)

VRS – virtuelno receptorsko mesto (*eng.* Virtual Receptor Site)

VV – numerička vrednost varijable (*eng.* variable vale)

WFT – teorija talasne funkcije (*eng.* Wave Function Theory)

SPISAK SLIKA

Slika 2.1 Reakcija nastajanja Šifovih baza.....	3
Slika 2.2 a) Struktura izatina, b) indola i c) indiga.....	4
Slika 2.3 Sinteza izatina oksidacijom indiga sa azotnom i hromnom kiselinom	4
Slika 2.4 Laktam-laktim tautomerija izatina sa numeracijom atoma	5
Slika 2.5 Karakteristična reaktivna mesta izatina.....	5
Slika 2.6 <i>N</i> -alkilovanje izatina	6
Slika 2.7 Reakcija <i>N</i> -arilovanja izatina	6
Slika 2.8 <i>N</i> -acilovanje izatina.....	6
Slika 2.9 Dobijanje <i>N</i> -acetil izatina.....	7
Slika 2.10 Nitrovanje izatina	7
Slika 2.11 Sulfonovanje izatina.....	8
Slika 2.12 Bromovanje izatina	8
Slika 2.13 Reakcija izatina sa alkalijama	9
Slika 2.14 Pfizingerova reakcija za dobijanje dialkilhinolin-4-karboksilne kiseline	9
Slika 2.15 Dobijanje 1,3-dihidro-3-(supstutuisani fenilimino)-2 <i>H</i> -indol-2-ona	10
Slika 2.16 Redukcija izatina.....	10
Slika 2.17 Oksidacija izatina hrom(VI)-oksidom.....	11
Slika 2.18 Sinteza izatina i njegovih derivate Sendmajerovom metodom	11
Slika 2.19 Sinteza korišćenjem nitroacetanilida.....	12
Slika 2.20 Martineova sinteza izatina.....	12
Slika 2.21 Štoleova sinteza izatina	13
Slika 2.22 Oksidacija indola sa NBS-DMSO reagensom	13
Slika 2.23 Gasmanova sinteza sa elektron-akceptorskim grupama na benzenu	14
Slika 2.24 Gasmanova sinteza u prisutvu elektron-donorskih grupa na aromatičnom jezgru 14	
Slika 2.25 Sinteza izatina metalacijom anilida.....	15
Slika 2.26 Sinteza derivata izatina reakcijom kondenzacije sa primarnim aminom	15

Slika 2.27 Mehanizam reakcije kondenzacije	16
Slika 2.28 Sinteza derivata izatina mikrotalasnom sintezom	16
Slika 2.29 Nastajanje <i>E</i> i <i>Z</i> izomera imina	17
Slika 2.30 Formiranje smeše <i>E</i> i <i>Z</i> izomera ispitivanih derivata izatina	17
Slika 2.31 Reakcija tiamina sa izatinom.....	18
Slika 2.32 Stabilizacija <i>Z</i> konformera uvođenjem metil grupe u izatinsko jezgro.....	19
Slika 2.33 Vrste aromatskih sistema koje je izučavao Hamet.....	23
Slika 2.34 Reakcija disocijacije <i>meta</i> - i <i>para</i> -supstituisanih benzoevih kiselina na 25 °C u vodi kao rastvaraču	24
Slika 2.35 Dijagram mogućih puteva za izračunavanje svojstava hemijskih molekula.....	44
Slika 2.36 a) Korelogrami varijabli proizvoljno izabranog jedinjenja izračunati u programu Pentacle, b) Hitmapa serije jedinjenja sortiranih prema rastućoj biološkoj aktivnosti (svaki red hitmape označava jedno jedinjenje, dok svaka kolona predstavlja jednu varijablu) ²²³	48
Slika 2.37 Grafik PCA rezultata za molekule iz dve strukturno različite grupe u prostoru PC modela ²²⁴	49
Slika 2.38 a) TU (PLS) grafik, b) Grafik PLS skorova	52
Slika 2.39 TU (PLS) grafik, b) Grafik PLS skorova	53
Slika 3.1 Opšti postupak dobijanja derivata izatina	55
Slika 4.1 UV-Vis spektar molekula 16 u <i>pH</i> opsegu 7,60 – 12,52 na 25 °C	63
Slika 4.2 Protolitička ravnoteža derivata izatina u vodenom rastvoru	64
Slika 4.3 Protolitička ravnoteža hidroksi supstituisanih derivata izatina u vodi kao rastvaraču (jedinjenja 2–4)	64
Slika 4.4 Dijagram raspodele derivata izatina bez hidroksilne grupe, prikazan primer za jedinjenje 16 za protolitičku ravnotežu na Slici 4.2.....	64
Slika 4.5 Dijagram raspodele hidroksi supstituisanih derivata izatina, predstavljen je primer za molekul 2 , čija je protolitička ravnoteža data na Slici 3.3	65
Slika 4.6 Određivanje K_a za jedinjenje 16 na 380 nm prema jednačini 3.4; nagib = $7,72 \cdot 10^{-13}$, odsečak = $-6,594 \cdot 10^{-13}$, $r = 0,972$	65
Slika 4.7 UV-Vis apsorpcioni spektri jedinjenja 1–11 serije 1 u a) acetonu, b) AcN, c) BzOH i d) DMF-u	68
Slika 4.8 Apsorpcioni spektri jedinjenja 1 - 16 serije 2 u a) DMSO-u, b) etanolu i c) THF..	70
Slika 4.9 MEP mape jedinjenja 1-16 serije 2 u <i>E</i> izomernom obliku (gasovita faza) izračunati pomoću B3LYP/6-311G(d,p) metode u osnovnom stanju	78

Slika 4.10 Korelacija v_{\max} vs parametri supstituenata za jedinjenja 1-16 (a) <i>E</i> izomeri, b) <i>Z</i> izomeri) u AcN	85
Slika 4.11 Optimizovane geometrije proučavanih jedinjenja serije 1	92
Slika 4.12 MEP potencijal ispitivanih molekula serije 1	93
Slika 4.13 ICT procesi iz osnovnog u pobuđeno stanje za jedinjenja 1-16 serije 2 u <i>E</i> izomernom obliku (crveno, elektronska gustina se povećava u toku prelaza; plava, elektronska gustina se smanjuje u toku prelaza).	99
Slika 4.14 ICT u molekulima 1-16 serije 2 za <i>E</i> izomere. Položaji baricentara za gubitak naelektrisanja (plavi krug) i porast naelektrisanja (ljubičasti krug) u toku prelaza.....	101
Slika 4.15 Grafik PLS koeficijenata za model sa 2 LV, dobijen sa LOO CV procedurom. Najinformativnije varijable su označene brojevima i dalje diskutovane u disertaciji.	106
Slika 4.16 Strukturni elementi koji doprinose povećanju aktivnosti jedinjenja 1-16 serije 2 , prikazane na jedinjenju 2 (crvene linije).....	108
Slika 4.17 Strukturni elementi koji doprinose smanjenju aktivnosti jedinjenja 1-16 serije 2 , predstavljene na jedinjenju 6 (plave linije).....	108
Slika 7.1 ^1H NMR spektar jedinjenja 10 u DMSO- d_6 (serija 2).....	156
Slika 7.2 ^{13}C NMR spektar jedinjenja 10 u DMSO- d_6 (serija 2).....	156
Slika 7.3 COSY spektar jedinjenja 10 u DMSO- d_6 (serija 2)	157
Slika 7.4 NOESY spektar jedinjenja 10 u DMSO- d_6 (serija 2).....	157
Slika 7.5 ^1H - ^{13}C HSQC spektar jedinjenja 10 u DMSO- d_6 (serija 2).....	158
Slika 7.6 ^1H - ^{13}C HMBC spektar jedinjenja 10 u DMSO- d_6 (serija 2).....	158
Slika 7.7 TD-DFT izračunati UV-Vis spektri <i>E</i> izomernog oblika u a) DMSO, b) EtOH, c) AcN (serija 2).....	159
Slika 7.8 TD-DFT izračunati UV-Vis spektri <i>Z</i> izomernog oblika u a) DMSO, b) EtOH, c) AcN (serija 2).....	159
Slika 7.9 Dekonvolucija preklapljenih traka za jedinjenja 7 i 12 u DMSO-u (serija 2)	160
Slika 7.10 MEP mape jedinjenja 1-16 serije 2 u <i>Z</i> obliku (gasovita faza) izračunati pomoću B3LYP/6-311G(d,p) metode u osnovnom stanju	161
Slika 7.11 Korelacija v_{\max} vs parametara supstituenata za jedinjenja 1-16 u 2-CE za <i>E</i> izomere serije 2	162
Slika 7.12 Korelacija v_{\max} vs parametara supstituenata za jedinjenja 1-16 u 2-CE za <i>Z</i> izomere serije 2	162
Slika 7.13 Korelacija v_{\max} vs parametara supstituenata za jedinjenja 1-16 u DMSO za <i>E</i> izomere serije 2	163

Slika 7.14 Korelacija v_{\max} vs parametara supstituenata za jedinjenja 1-16 u DMSO za <i>Z</i> izomere serije 2	163
Slika 7.15 Korelacioni rezultati <i>SCS</i> vrednosti izatinskih derivata (<i>E</i> izomeri) sa σ konstantama primenom Hametove jednačine 3.6. (2) na C2; variabla (σ^2) = -5,52, variabla (σ) = -0,48, odsečak = 164,18, $r = 0,964$ (serija 2)	164
Slika 7.16 Strukture 4-supstituisanih <i>N</i> -benzilidenanilina (Ar = fenil, serija 3), <i>N</i> -fenil supstituisani aldimini (Ar = 3-piridil serija 4 ; Ar = 2- piridil serija 5 ; Ar = 4- piridil serija 6).	164
Slika 7.17 Strukture 4-supstituisanih <i>N</i> -[1-(piridin-3-il)etiliden]anilina (serija 7) i 4-supstituisanih <i>N</i> -[1-(piridin-4-il)etiliden]anilina (serija 8).	164
Slika 7.18 Mezomerne strukture imino derivata sa elektron-donorskim i elektron-akceptorskim grupama.....	165
Slika 7.19 Numeracija atoma korišćena u Baderovoj analizi za proučavana jedinjenja (primeri dati za a) 3 (3-OH), b) 6 (4-OMe) i c) 15 (3-NO ₂) molekule serije 2	165
Slika 7.20 ICT procesi iz osnovnog (crveno) u pobuđeno stanje (plavo) za jedinjenja 1-16 serije 2 u <i>Z</i> izomernom obliku.....	166
Slika 7.21 ICT u molekulima 1-16 serije 2 za <i>Z</i> izomere. Položaji baricentara za gubitak naelektrisanja (cijan krug) i dobijanje naelektrisanja (ljubičasti krug) u toku prelaza	167

SPISAK TABELA

Tabela 4.1 Eksperimentalne pK_a vrednosti ispitivanih derivata izatina serije 2	66
Tabela 4.2 Korelacioni rezultati pK_a i $pK_{a,2}$ vrednosti sa σ konstantama primenom SSP jednačine	67
Tabela 4.3 Apsorpcione frekvencije izatinskih jedinjenja serije 1 u izabranim rastvaračima (pik na višim talasnim dužinama)	69
Tabela 4.4 Apsorpcione frekvencije izatinskih jedinjenja serije 2 u izabranim rastvaračima za <i>E</i> izomere	71
Tabela 4.5 Rezultati korelacione analize za derivate izatina serije 1 (pik na višim talasnim dužinama) prema jednačini 3.5	73
Tabela 4.6 Korelacioni rezultati izatinskih jedinjenja serije 2 za <i>E</i> izomere dobijene prema Kamlet-Taftovoj jednačini	76
Tabela 4.7 Korelacioni rezultati <i>SCS</i> sa σ konstantama prema Hametove (SSP) jednačini	79

Tabela 4.8 Rezultati korelacije v_{\max} vrednosti serije 1 sa σ konstantama supstituenta primenom Hametove (SSP) jednačine	81
Tabela 4.9 Korelacioni rezultati v_{\max} sa σ konstantama dobijeni za <i>E</i> i <i>Z</i> izomere serije 2 primenom Hametove (SSP) jednačine	83
Tabela 4.10 Korelacioni rezultati NMR podataka izatinskih derivata serije 2 u <i>E</i> izomernom obliku sa σ konstantama primenom Hametove jednačine (3.6).....	86
Tabela 4.11 Korelacioni rezultati NMR podataka izatinskih derivata serije 2 u <i>Z</i> izomernom obliku sa σ konstantama primenom Hametove jednačine (3.6).....	86
Tabela 4.12 Korelacija SCS vrednosti za azometinski ugljenik za serije 3-8 sa SSP jednačinom.	88
Tabela 4.13 Parametri optimizovanih geometrija serije 1 dobijeni DFT proračunima.....	90
Tabela 4.14 Optimizovane relativne energije izatinskih derivata serije 2	95
Tabela 4.15 Elementi optimizovanih geometrija ispitivanih jedinjenja serije 2 u <i>E</i> obliku, dobijeni primenom MP2/6-31G(d,p) metode	95
Tabela 4.16 Rastojanje između dva baricentra (D_{CT}) i količina prenetog naelektrisanja (Q_{CT}).	102
Tabela 4.17 MIC vrednosti izatinskih derivata serije 2 na ispitivane mikrobne sojeve ($\mu\text{g/mL}$).	104
Tabela 4.18 Statistički parametri PCA modela dobijenog nakon dva FFD ciklusa (od 560 varijabli, zadržano je 271 u modelu).....	105
Tabela 4.19 Statistički parametri 2LV PLS model nakon primene CV procedura. Podešavanja: FFD-LV = 2, 20 % veštačkih varijabli, 20 nasumičnih ciklusa, 3 nasumične grupe, 2 ciklusa FFD	106
Tabela 4.20 Pregled najznačajnijih varijabli i njima odgovarajućih strukturnih elemenata Skraćenica: numerička vrednost varijable (VV, <i>eng.</i> variable value)	107
Tabela 7.1 Prinos, tačka topljenja, FT-IR, ^1H i ^{13}C NMR podaci sintetisanih jedinjenja (serija 1)	130
Tabela 7.2 Lista sintetisanih derivata izatina sa rezultatima elementalne analize (serija 2)	133
Tabela 7.3 FT-IR Karakterizacija ispitivanih derivata izatina (serija 2).....	134
Tabela 7.4 Prinos, tačka topljenja, ^1H i ^{13}C NMR podaci sintetisanih jedinjenja (serija 2)	136
Tabela 7.5 Parametri rastvarača ^{271,272} korišćeni u Kamlet–Taftovoj jednačini.	139
Tabela 7.6 Vrednosti Hametovih sigma konstanti ^{273,274} za seriju 2	139

Tabela 7.7 Izračunate i eksperimentalne vrednosti apsorpcionih frekvencija jedinjenja 1 u izabranim rastvaračima (pik na višim talasnim dužinama) (serija 1)	140
Tabela 7.8 ¹ H i ¹³ C NMR podaci odgovarajućeg ugljenika i azota korišćeni u LFER korelaciji i odnos <i>E/Z</i> izomera (serija 2)	140
Tabela 7.9 Apsorpcione frekvencije izatinskih jedinjenja serije 1 u izabranim rastvaračima (pik na višim talasnim dužinama).....	141
Tabela 7.10 Apsorpcione frekvencije izatinskih jedinjenje serije 2 u izabranim rastvaračima za <i>Z</i> izomer.....	142
Tabela 7.11 Rezultati korelacione analize za izatinske derivate serije 1 (pik na nižim talasnim dužinama) prema Kamlet–Taftovoj jednačini	143
Tabela 7.12 Rezultati korelacione analize za <i>Z</i> izomere serije 2 prema Kamlet–Taftovoj jednačini.....	144
Tabela 7.13 Konstante supstituenata ²⁷⁴ serije 1	145
Tabela 7.14 ¹³ C NMR hemijska pomeranja azometinskih ugljenikovih atoma u supstituisanim <i>N</i> -benzilidenanilinima (serija 3), <i>N</i> -(fenil supstituisanim)piridin-3-aldehidima (serija 4), <i>N</i> -(fenil supstituisanim)piridin-2-aldehidima (serija 5), <i>N</i> -(fenil supstituisanim)piridin-4-aldehidima (serija 6), <i>N</i> -[1-(piridin-3-il)etiliden]anilinima (serija 7) i <i>N</i> -[1-(piridin-4-il)etiliden]anilinima (serija 8).	145
Tabela 7.15 Elementi optimizovanih geometrija ispitivanih jedinjenja u <i>Z</i> izomernom obliku, dobijeni primenom MP2/6-31G(d,p) metode (serija 2)	146
Tabela 7.16 Rezultati TD-DFT proračuna za prelaz iz osnovnog u prvo vertikalno pobuđeno stanje za <i>Z</i> izomere serije 2 u EtOH.....	147
Tabela 7.17 Rezultati TD-DFT proračuna za prelaz iz osnovnog u prvo vertikalno pobuđeno stanje za <i>E</i> izomere serije 2 u EtOH	149
Tabela 7.18 Izračunate energije HOMO i LUMO orbitala i E_{gap} za jedinjenja 1 - 16 u gasovitoj fazi (serija 2)	151
Tabela 7.19 Izračunate energije HOMO i LUMO orbitala i E_{gap} za jedinjenja 1 - 16 u DMSO, EtOH i AcN (serija 2)	152
Tabela 7.20 Razlika u atomskom naelektrisanju (Δ_{Charge}) između pobuđenog i osnovnog stanja za odgovarajuće atome u <i>Z</i> i <i>E</i> izomerima serije 2	153
Tabela 7.21 Razlika u atomskom naelektrisanju (Δ_{Charge}) između pobuđenog i osnovnog stanja za odgovarajuće atome u <i>Z</i> i <i>E</i> izomerima serije 2	154
Tabela 7.22 Razlika u atomskom naelektrisanju (Δ_{Charge}) između pobuđenog i osnovnog stanja za odgovarajuće atome u <i>Z</i> i <i>E</i> izomerima serije 2	155

SADRŽAJ

1.	UVOD.....	1
2.	TEORIJSKI DEO.....	3
2.1.	Izatin i njegovi derivati.....	3
2.1.1.	<i>Shiff</i> -ove (Šifove) baze.....	3
2.1.2.	Izatin i njegovi derivati.....	3
2.1.3.	Hemijska reaktivnost izatina.....	5
2.1.4.	Sinteza izatina.....	11
2.1.5.	Sinteza ispitivanih derivata izatina.....	15
2.1.6.	<i>E</i> i <i>Z</i> konformeri izatina.....	16
2.2.	Biološka aktivnost.....	19
2.2.1.	pK_a vrednost kao parametar biološke aktivnosti.....	19
2.2.2.	Antimikrobna aktivnost.....	20
2.3.	Korelaciona analiza u organskoj hemiji.....	21
2.3.1.	Efekti supstituenata i linearna korelacija slobodnih energija.....	22
2.3.2.	Hametova jednačina.....	23
2.4.	Linearna korelacija solvatacionih energija (LSER).....	28
2.4.1.	Solvatohromizam organskih molekula.....	28
2.4.2.	Efekat rastvarača-višeparametarski pristup.....	30
2.5.	Teorija funkcionala gustine (DFT).....	32
2.5.1.	Aproksimativni funkcionali.....	35
2.5.2.	Bazis setovi.....	37
2.5.3.	Molekulski deskriptori.....	38
2.5.4.	Mape molekuskog elektrostatičkog potencijala.....	38
2.5.5.	HOMO i LUMO.....	40
2.5.6.	Spektroskopija i spektroskopske veličine.....	41

2.6.	Topološka analiza gustina naelektrisanja, <i>Bader</i> -ova (<i>Baderova</i>) analiza .41	41
2.7.	Analiza odnosa između strukture i aktivnosti/svojstava organskih molekula (QSAR/QSPR)	43
2.7.1.	3D QSAR analiza	45
2.7.2.	GRIND deskriptori	46
2.7.3.	Trodimenzionalna analiza povezanosti strukture i aktivnosti (3D QSAR) zasnovana na poljima molekulskih interakcija	49
2.7.4.	Prikazivanje PLS modela	52
3.	EKSPERIMENTALNI DEO	54
3.1.	Sinteza derivata izatina	54
3.1.1.	Opšti postupak dobijanja	54
3.2.	Karakterizacija sintetisanih jedinjenja	54
3.3.	Određivanje konstanti kiselosti ispitivanih derivata izatina (serija 2).....	56
3.4.	LSER analiza	57
3.5.	LFER analiza	57
3.6.	Antimikrobna aktivnost (serija 2).....	58
3.7.	Optimizacija molekulske geometrije i teorijski proračuni apsorpcionih spektara.....	59
3.7.1.	DFT, TD-DFT i MEP (serija 1)	59
3.7.2.	Kvantnohemijski proračuni <i>E</i> i <i>Z</i> izomera, <i>Baderova</i> analiza (serija 2) .59	59
3.8.	3D QSAR model (serija 2)	60
4.	REZULTATI I DISKUSIJA	62
4.1.	Strukturalna i spektralna analiza derivata izatina (serija 2).....	62
4.2.	Određivanje konstanti kiselosti (serija 2)	63
4.3.	Uticaj rastvarača na UV spektre	67
4.3.1.	Solvatohromna svojstva (serija 1)	72
4.3.2.	LSER analiza UV podataka (serija 2)	74
4.3.3.	LFER analiza UV podataka (serija 1)	79

4.3.4.	LFER analiza UV podataka (serija 2)	82
4.3.5.	LFER analiza NMR podataka (serija 2)	85
4.3.6.	Komparativna LFER analiza NMR podataka za azometinski ugljenik izabranih serija imino jedinjenja (serija 2).....	87
4.4.	DFT, TD-DFT proračuni i Baderova analiza: priroda graničnih molekulskih orbitala.....	89
4.4.1.	Optimizovane geometrije i MEP analiza ispitivanih derivata izatina (serija 1).....	89
4.4.2.	Kvantnohemijski proračuni i Baderova analiza (serija 2).....	94
4.5.	Antimikrobna analiza (serija 2)	102
4.6.	Kvantitativna korelacija strukture i aktivnosti, QSAR (serija 2).....	105
4.6.1.	Model za antimikrobnu aktivnost jedinjenja na <i>C. neoformans</i> (serija 2).....	105
5.	ZAKLJUČAK.....	109
6.	LITERATURA	112
7.	PRILOG	130

1. UVOD

Izatin (1*H*-indol-2,3-dion) i njegovi derivati predstavljaju veoma značajne gradivne komponente mnogih prirodnih supstanci. Osim toga, izatin je integralni deo mnogih sintetičkih supstanci korišćenih u medicini i pokazuje širok spektar aktivnosti kao što su antiviralna, antikancer, antibakterijska, antituberkulozna, antifungalna i antikonvulzivna. Derivati izatina imaju posebnu raspodelu u mozgu, perifernim tkivima, telesnim tečnostima kao specifična mesta vezivanja. Najizrazitiji efekat izatina, koji se ogleda u blokiranju dejstva lekova i sličnih supstanci je razlog velikog broja istraživanja i eksperimentalnih dokazivanja. Razumevanje funkcije i mesta delovanja izatina dovodi do razvoja novih farmakoloških preparata koji simuliraju ili imaju funkciju sprečavanja aktivnosti. Postoji veliki broj istraživanja koji potvrđuju antimikrobnu, kao i antioksidativnu aktivnost Šifovih baza izatina.

Usled prisustva imino grupe, Šifove baze, derivati izatina mogu pokazivati *E/Z* izomerizaciju što je potvrđeno raznim istraživanjima. Kod pojedinih vrsta jedinjenja, odnos prisutnih *E* i *Z* izomera može biti termodinamički ili kinetički kontrolisan. Takođe, na vrstu dominantnog izomera utiče i polarnost rastvarača. Izomerizacija *E*- i *Z*-izomera u rastvaračima različite polarnosti se može inicirati fotohemijski ili termički.

Proučavanje strukture i svojstava heterocikličnih jedinjenja predstavlja osnovu mnogih naučnih i medicinskih istraživanja usled prisustva heterocikličnog prstena u mnogim značajnim biohemijским supstancama i lekovima. Struktura, stabilnost, stereohemija, pK_a vrednost, ponašanje u rastvoru, lipofilnost i permeabilnost su ključni fizičko-hemijski parametri koji utiču na farmakološku aktivnost molekula. Derivati izatina predstavljaju veoma važne strukture u dizajniranju i otkrivanju lekova. Uzimajući u obzir njihov farmaceutski značaj i činjenicu da je njihova aktivnost, pre svega, uslovljena sposobnošću vodoničnog vezivanja i elektronskim interakcijama, sintetisano je dvadeset i šest Šifovih baza 1,3-dihidro-3-arilimino-2*H*-indol-2-ona u cilju proučavanja uticaja supstituenata iz arilidenskog dela na strukturu, solvatomizam, prenošenje elektronskih efekata supstituenata i biološku aktivnost.

Apsorpcioni spektri u različitim rastvaračima se u velikom broju istraživanja koriste za ispitivanje solvatomnih svojstava organskih molekula. Snimanjem apsorpcionog spektra u rastvaračima različite polarnosti, ustanovljeno je da su položaj, intenzitet i oblik apsorpcionih traka najčešće definisani uticajem rastvarača. Ove promene su rezultat fizičkih sila intermolekulskih interakcija između rastvarača i rastvorene supstance koje prvenstveno

menjaju razliku energije između osnovnog i pobuđenog stanja apsorpcijske vrste koja sadrži hromoforu. Najčešće korišćeni spektri koji pružaju informacije o interakcijama između rastvarača i rastvorene supstance su UV-Vis, IR, ^1H i ^{13}C NMR spektri.

U okviru ove disertacije, spektralna svojstva, konstante kiselosti, solvatohromizam i izomerizacija ispitivani su UV-Vis spektrofotometrijom. Uticaj rastvarača na dipolarnost, polarizabilnost i sposobnost formiranja vodoničnih veza (HBD i HBA) sa proučavanjem derivatima izatina ispitan je LSER analizom korišćenjem Kamlet-Taftove jednačine. LFER analiza je primenjena na UV, SCS i $\text{p}K_a$ vrednosti sintetisanih Šifovih baza izatina za ispitivanje prenosa polarnih i rezonancionih efekata supstituenata primenom jednoparametarske, SSP Hametove jednačine.

Detaljna studija o relativnoj stabilnosti *E* i *Z* izomera je zasnovana na kvantnohemijskim proračunima koji predstavljaju veoma korisnu dopunu eksperimentalnim rezultatima. Geometrija ispitivanih molekula je optimizovana MP2 proračunima. TD-DFT proračuni su primenjeni za procenu prenosa energije, evaluaciju ICT procesa kao i dobijanje teorijskih UV spektara. Takođe, prenos efekata supstituenata je diskutovan u odnosu na optimizovane geometrije molekula.

U nastavku istraživanja ispitana je antimikrobna aktivnost testiranjem na 7 bakterijskih i 2 gljivična soja. Na osnovu dobijenih rezultata analiziran je uticaj položaja i vrste supstituenata na aktivnost proučavanih Šifovih baza.

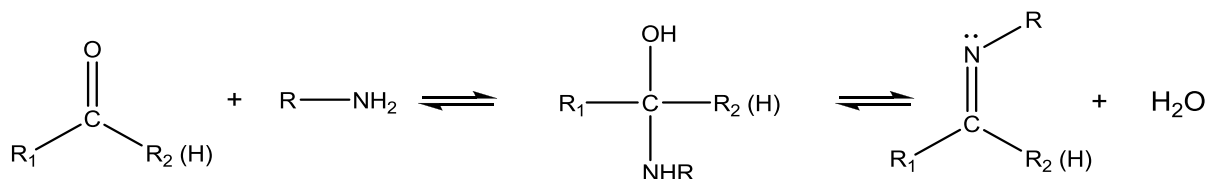
Mnoga hemijska i fizička svojstva, kao i biološka aktivnost direktno zavise od strukture jedinjenja. Osim toga, strukturno slična jedinjenja se slično ponašaju što omogućava da se na osnovu molekulske strukture mogu predvideti određena svojstva molekula pomoću molekulskih deskriptora i odgovarajućih matematičkih modela koji povezuju hemijsku strukturu i biološku aktivnost molekula, QSAR odnosno QSPR model koji povezuje hemijsku strukturu i fizičko-hemijska svojstva molekula. U daljem radu, za bolje razumevanje povezanosti između strukture proučavanih derivata izatina i njihove antimikrobne aktivnosti generisana su tri QSAR modela korišćenjem dobijenih eksperimentalnih rezultata uzimajući MIC vrednosti za *S. sonnei*, *Y. enterocolitica* i *C. neoformans*. U poslednjem delu doktorske disertacije istraženi su strukturni delovi značajni za antimikrobnu aktivnost.

2. TEORIJSKI DEO

2.1. Izatin i njegovi derivati

2.1.1. *Shiff*-ove (Šifove) baze

Šifove baze predstavljaju veoma značajnu vrstu organskih jedinjenja koja sadrže imino ili azometinsku grupu (-RC=N-). Hugo Schiff je 1864. godine otkrio Šifove baze¹ kondenzacijom primarnog amina sa aldehidima i ketonima pod određenim uslovima (Slika 2.1). Strukturno posmatrano Šifove baze su azotovi analozi aldehida ili ketona kod kojih je karbonilna grupa zamenjena imino ili azometinskom grupom.^{2,3} Najčešće se dobijaju mešanjem ekvimolarnih količina aldehida ili ketona i primarnog amina u prisustvu rastvarača. Reakcija dobijanja Šifovih baza pripada nukleofilnoj adiciji, reverzibilna je i može se odigravati uz zagrevanje u kiseloj ili baznoj sredini.^{4,5} Dehidratacija intermedijarnog hemiamina predstavlja korak koji određuje stepen i brzinu odigravanja reakcije dobijanja imina. Najčešće se odvija u slabo kiseljoj sredini kako bi se sprečilo protonovanje amina.⁶



Slika 2.1 Reakcija nastajanja Šifovih baza

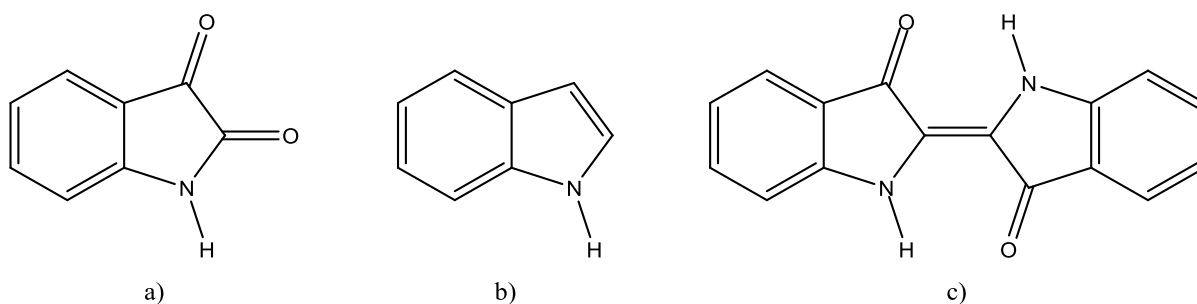
Šifove baze aromatičnih karbonilnih jedinjenja su značajno stabilnije i lakše se sintetišu od onih koje nastaju reakcijom alifatičnih aldehida i ketona. Uzrok tome je relativna nestabilnost kao i sposobnost polimerizacije Šifovih baza alifatičnih karbonilnih jedinjenja^{7,8} za razliku od aromatičnih koje su stabilnije usled konjugacije.⁹⁻¹¹

Prisustvo aromatičnog jezgra na atomima iz dvostruke veze ugljenik-azot u značajno meri doprinosi upotrebi Šifovih baza u oblasti farmakološke, organske, neorganske i analitičke hemije.¹²⁻¹⁵ Kompleksna jedinjenja imina pokazuju širok spektar bioloških svojstava: antitumorna, antivirusna, antifungalna i antibakterijska.¹⁶⁻¹⁹ Takođe se koriste za lečenje dijabetesa²⁰⁻²² i HIV-a.²³⁻²⁵

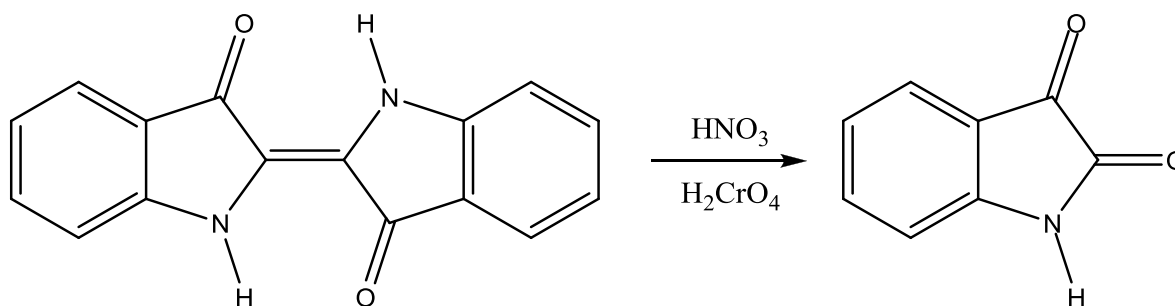
2.1.2. Izatin i njegovi derivati

Izatin (1*H*-indol-2,3-dion, Slika 2.2a)) je derivat indola (Slika 2.2b)) i predstavlja veoma važnu vrstu heterocikličnih jedinjenja. Erdmann i Laurent su 1840. godine otkrili izatin

kao proizvod oksidacije indiga (Slika 2.2c)) azotnom i hromnom kiselinom^{26,27} (Slika 2.3). Izatin se smatrao sintetičkim jedinjenjem skoro 140 godina dok nije utvrđeno da se nalazi u biljkama iz roda *Isatis genus*,²⁸ u plodovima voća *Couroupita guianensis Aubl*,²⁹ sekretima parotidne žlezde Bufo žabe,³⁰ i kod ljudi kao metabolički derivat adrenalina.^{31–33} Zbog prisustva hemijski reaktivnih grupa (karbonilne i amino) ima široku sintetsku primenu. Smatra se privilegovanim supstratom u organskoj i medicinskoj hemiji i u velikoj meri se koristi kao osnovna struktura mnogih biološki aktivnih supstanci.

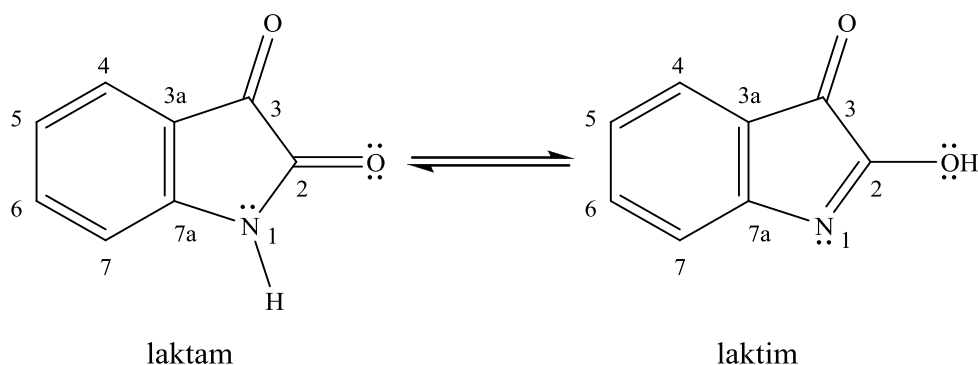


Slika 2.2 a) Struktura izatina, b) indola i c) indiga



Slika 2.3 Sinteza izatina oksidacijom indiga sa azotnom i hromnom kiselinom

Položaja karbonilne grupe na indolnom jezgru omogućava laktam-laktim tautomeriju³⁴ (Slika 2.4) i čini strukturu izatina biološki i farmakološki aktivnom. Uvođenjem jakih elektrondonorskih grupa kao što su halogeni u položaj 5 dobijaju se aktivnija jedinjenja.^{35–37} Di i trihalogen supstituisani izatini u položajima 5, 6 i 7 imaju veću citotoksičnost i pokazuju antiproliferativnu aktivnost pri veoma malim koncentracijama.³⁸ *N*-alkilovanjem izatina pospešuje se antimikrobna, antikacer, antiinflamatorna aktivnost.^{39–42}

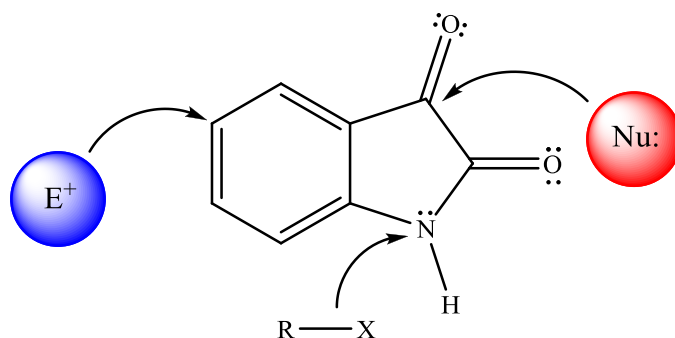


Slika 2.4 Laktam-laktim tautomerija izatina sa numeracijom atoma

2.1.3. Hemijska reaktivnost izatina

U strukturi izatina jasno se uočavaju reaktivna mesta koja pokazuju sposobnost primanja i otpuštanja protona. Karbonilne grupe predstavljaju proton-akceptorska mesta, dok se proton može odvojiti sa azota usled čega izatin reaguje sa kiselinama i baza gradeći soli. Osim toga, izatin lako podleže reakcijama alkilovanja, acilovanja, nitrovanja, halogenovanja i sulfonovanja.

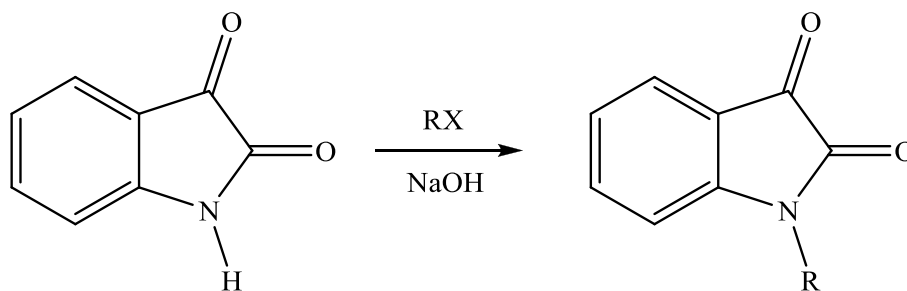
Za reaktivnost izatina su najznačajnije reakcije *N*-alkilovanja, elektrofilne aromatske supstitucije na C5 ugljeniku i nukleofilni napad karbonilnog ugljenika C3 (Slika 2.5). Ukoliko se na izatinu nalaze elektron-akceptorske grupe na benzenovom jezgru ili na azotu može se odigrati reakcija na karbonilnom ugljeniku C2.



Slika 2.5 Karakteristična reaktivna mesta izatina

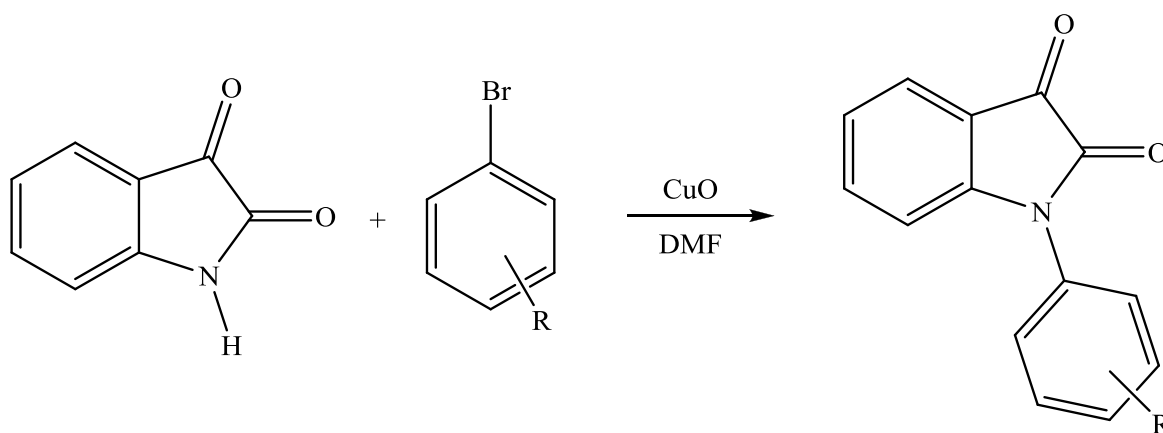
2.1.3.1. *N*-alkilovanje, arilovanje i acilovanje izatina

Postoji veliki broj metoda za *N*-alkilovanje izatina. Ovi derivati se najčešće sintetišu reakcijom natrijumove soli izatina sa alkil-halogenidima ili sulfatima (Slika 2.6).⁴³



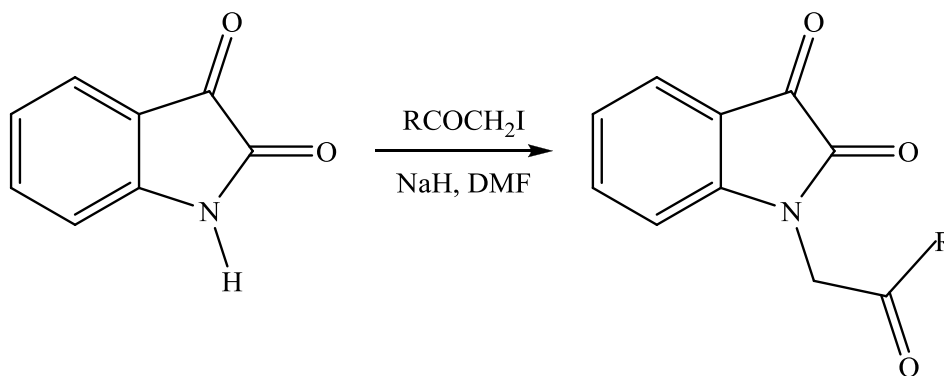
Slika 2.6 *N*-alkilovanje izatina

N-arilizatin se može formirati iz izatina dejstvom aril-bromida u prisustvu bakar(II)-oksida i DMF-a (Slika 2.7):⁴⁴



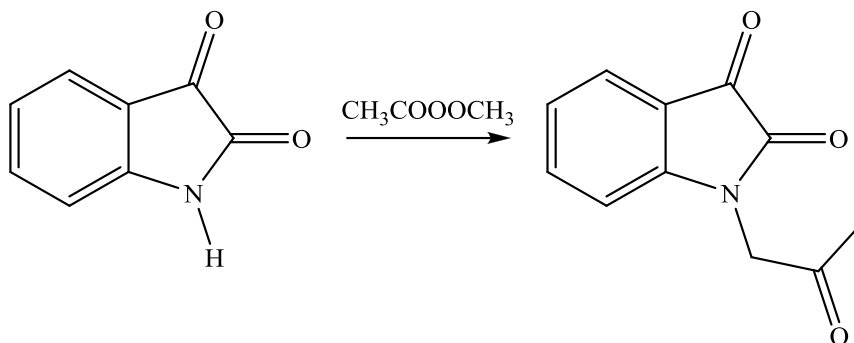
Slika 2.7 Reakcija *N*-arilovanja izatina

Natrijum-hidrid predstavlja veoma jaku bazu koja se često koristi za *N*-alkilovanje izatina alkil-halogenidima. Ukoliko se reakcija vrši delovanjem halogenmetil alifatičnim ili aromatičnim ketonima u prisustvu DMF-a ogidrava se reakcija *N*-acilovanja izatina (Slika 2.8).



Slika 2.8 *N*-acilovanje izatina

Dejstvom anhidrida sirćetne kiseline na izatin kao proizvod acilovanja formira se *N*-acetil izatin (Slika 2.9).⁴⁵

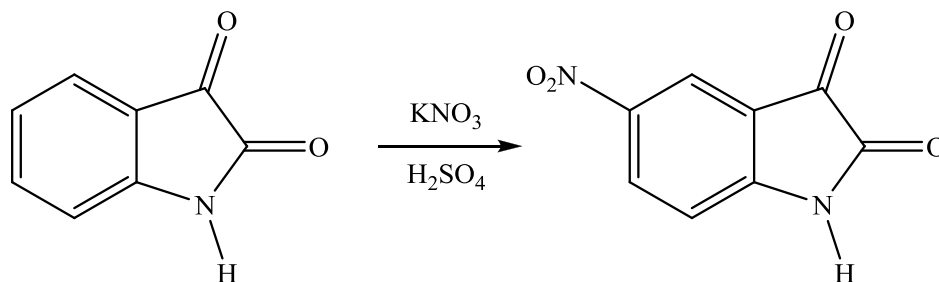


Slika 2.9 Dobijanje *N*-acetil izatina

2.1.3.2. Reakcije elektrofilne aromatske supstitucije izatina

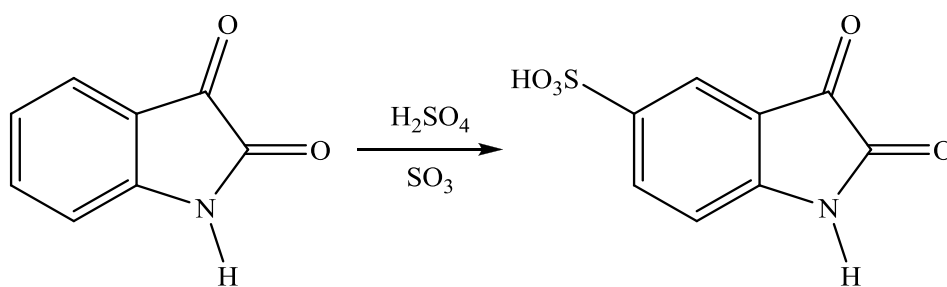
Za aromatično jezgro benzena u strukturi izatina karakteristične su reakcije elektrofilne aromatske supstitucije kao to su: nitrovanje, sulfonovanje i halogenovanje. U većini slučajeva odigrava se zamena vodonika u aromatičnom jezgru benzena u položaju 5.

Nitrovanjem izatina smešom kalijum-nitrata i sumporne kiseline dobija se 5-nitroizatin (Slika 2.10):⁴⁶



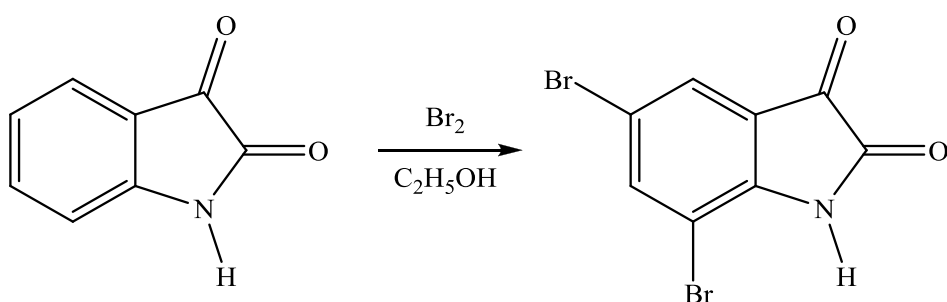
Slika 2.10 Nitrovanje izatina

Reakcija sulfonovanja izatina dejstvom pušljive sumporne kiseline se odigrava na isti način kao i nitrovanje uz nastajanje 5-izatinsulfonske kiseline (Slika 2.11).⁴⁶



Slika 2.11 Sulfonovanje izatina

Dejstvom *N*-bromoacetamida (NBA) takođe se vrši supstitucija vodonika u položaju 5 benzenovog jezgra izatina atomom broma uz formiranje 5-bromoizatina. Ukoliko se bromovanje izatina odigrava u prisustvu etanola ili sirćetne kiseline, reakcijom elektrofilne aromatske supstitucije u benzenovom jezgru dobija se 5,7-dibromizatin (Slika 2.12):⁴⁷



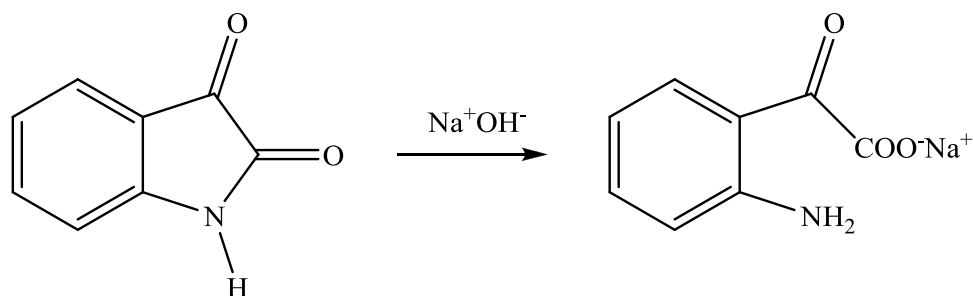
Slika 2.12 Bromovanje izatina

2.1.3.3. Nukleofilni napad na karbonilne grupe izatina

Nukleofilni napad na karbonilne grupe izatina se može izvršiti na položajima C2 i/ili C3. Stereoselektivnost ove reakcije zavisi od prirode nukleofila, supstituenata na izatinskom jezgru, posebno od supstituenta na azotu, kao i od korišćenog rastvarača i temperature. Dobijeni proizvodi mogu nastaviti reakciju u prisustvu drugog nukleofilnog agensa gradeći provode ciklizacije.

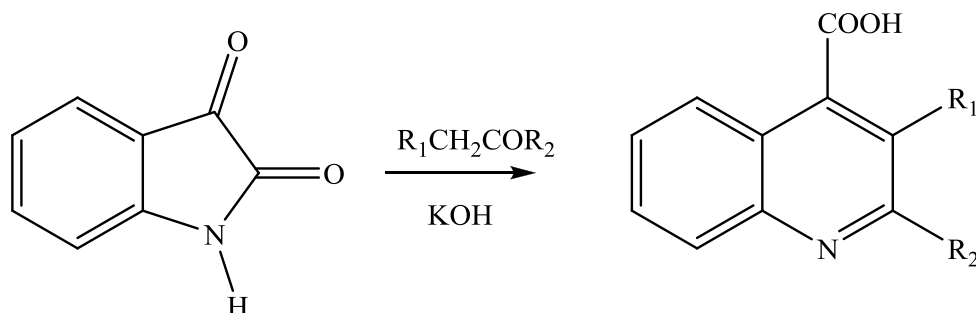
Aktivnost izatina potiče od reaktivnosti karbonilnih grupa prema nukleofilnim agensima. Zapaženo je da se izatin u laktam tautomernom obliku lako podvrgava raskidanju i otvaranju prstena pod uticajem nukleofilnih reagensa uz naknadnu ciklokondenzaciju kojom nastaju šestočlani ili sedmočlani heterociklusi. Prema *Pfitzinger*-ovoj (*Pfizinger*ovoj) reakciji izatin sa jedinjenjima koja sadrže COCH₂ grupu gradi međuproizvod iz kojeg se u nastavku

reakcije dobijaju indolin-2-on derivati.^{48,49} U prvom delu reakcije izatin pod dejstvom alkalija prelazi soli izatoiniske kiseline. Ukoliko se na izatin deluje natrijum-hidroksidom dobija se natrijum–izatat (Slika 2.13):



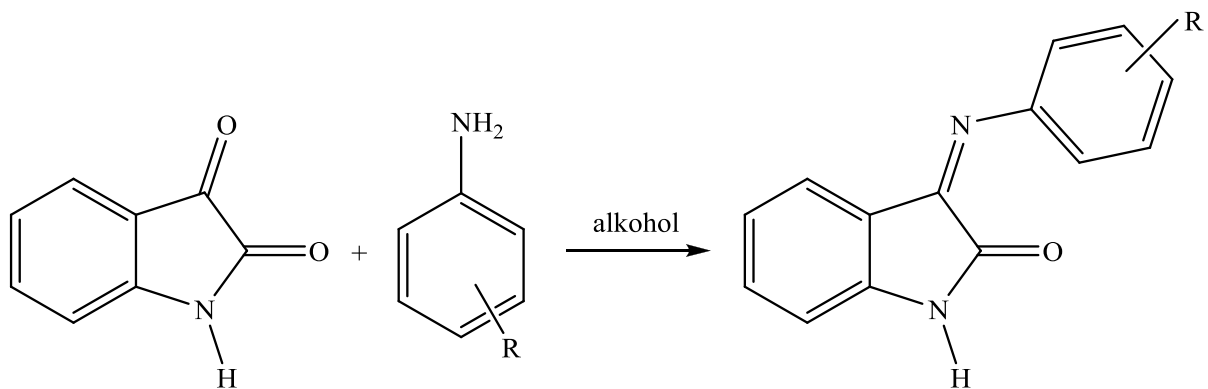
Slika 2.13 Reakcija izatina sa alkalijama

U nastavku Pfizingerove reakcije, dobijena so reaguje sa aldehidima i ketonima. U prisustvu karbonilnih jedinjenja vrši se ciklokondenzacija i formiranje hinolin 4-karboksilne kiseline. Dialkilhinolin-4-karboksilne kiseline se najčešće dobijaju Pfizingerovom reakcijom zagrevanjem smeše izatina sa odgovarajućim ketonom u prisustvu alkalnog KOH ili NaOH čija je celokupna jednačina hemijske reakcije predstavljena na Slici 2.14.⁴⁹



Slika 2.14 Pfizingerova reakcija za dobijanje dialkilhinolin-4-karboksilne kiseline

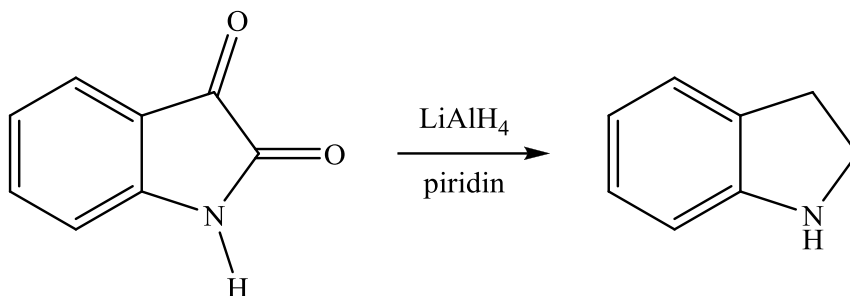
Kondenzacijom izatina sa aromatičnim aminima u prisustvu odgovarajućeg alkohola kao rastvarača, reaguje karbonilna grupa na C3 ugljenikovom atomu uz formiranje 1,3-dihidro-3-(supstituuisani fenilimino)-2*H*-indol-2-ona (Slika 2.15). Navedena reakcija predstavlja nukleofilnu adiciju i primenjena je za sintezu ispitivanih derivata izatina u okviru ove doktorske disertacije.⁵⁰



Slika 2.15 Dobijanje 1,3-dihidro-3-(supstituisani fenilimino)-2*H*-indol-2-ona

2.1.3.4. Redukcija izatina

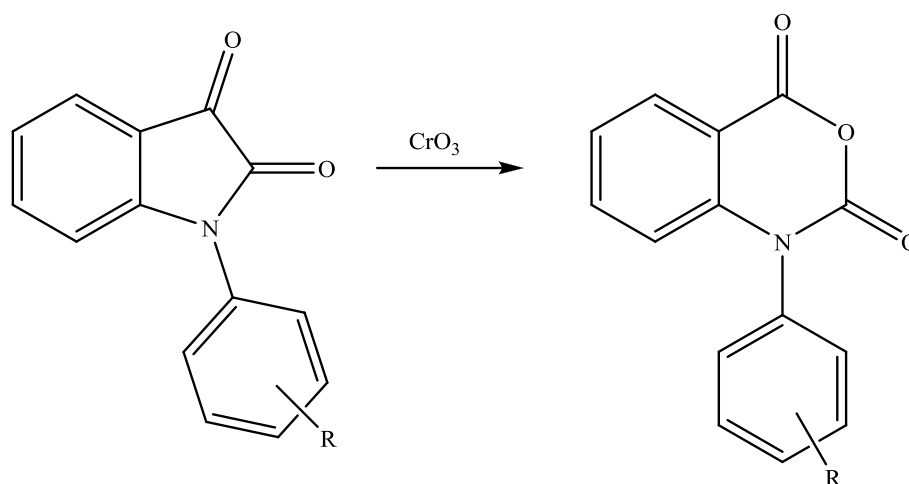
Redukcijom izatina sa litijumaluminijum-hidridom u prisustvu piridina nastaje indol (Slika 2.16).⁵¹



Slika 2.16 Redukcija izatina

2.1.3.5. Oksidacija izatina

Oksidacijom izatina uglavno se dobija anhidrid izatoinske kiseline. Reakcija se može odigrati i ukoliko se na izatinskom azotu nalazi fenil supstituisano jezgro, a kao oksidaciono sredstvo se koristi hrom(VI)-oksid ili perkiseline (Slika 2.17).⁵²

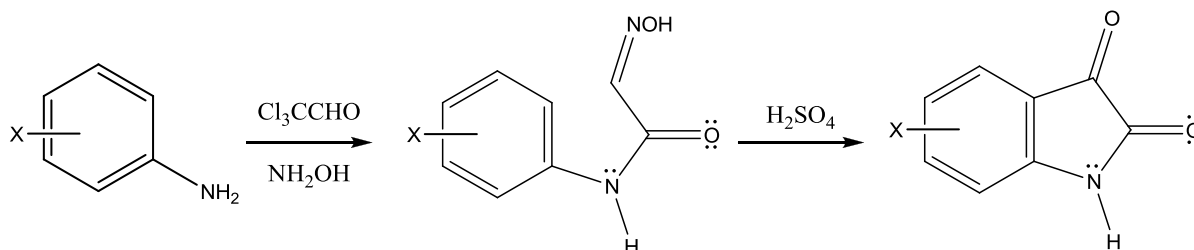


Slika 2.17 Oksidacija izatina hrom(VI)-oksidom

2.1.4. Sinteza izatina

2.1.4.1. Sandmeyer-ova (Sendmajerova) metoda

Najstariji i najčešće korišćeni postupak za sintezu izatina predstavlja metoda koju je 1919. godine razvio Sendmajer.^{53,54} Prvenstveno se vrši kondenzacijom hlorala, hidroksiamina i primarnog aril amina do 2-(hidroksiimino)-*N*-(fenil supstituisanog)acetamida koji naknadnom elektrofilnom ciklizacijom u prisustvu jake kiseline kao što je sumporna gradi izatin (Slika 2.18). Metoda se može uspešno koristiti za dobijanje aril supstituisanih derivata izatina.

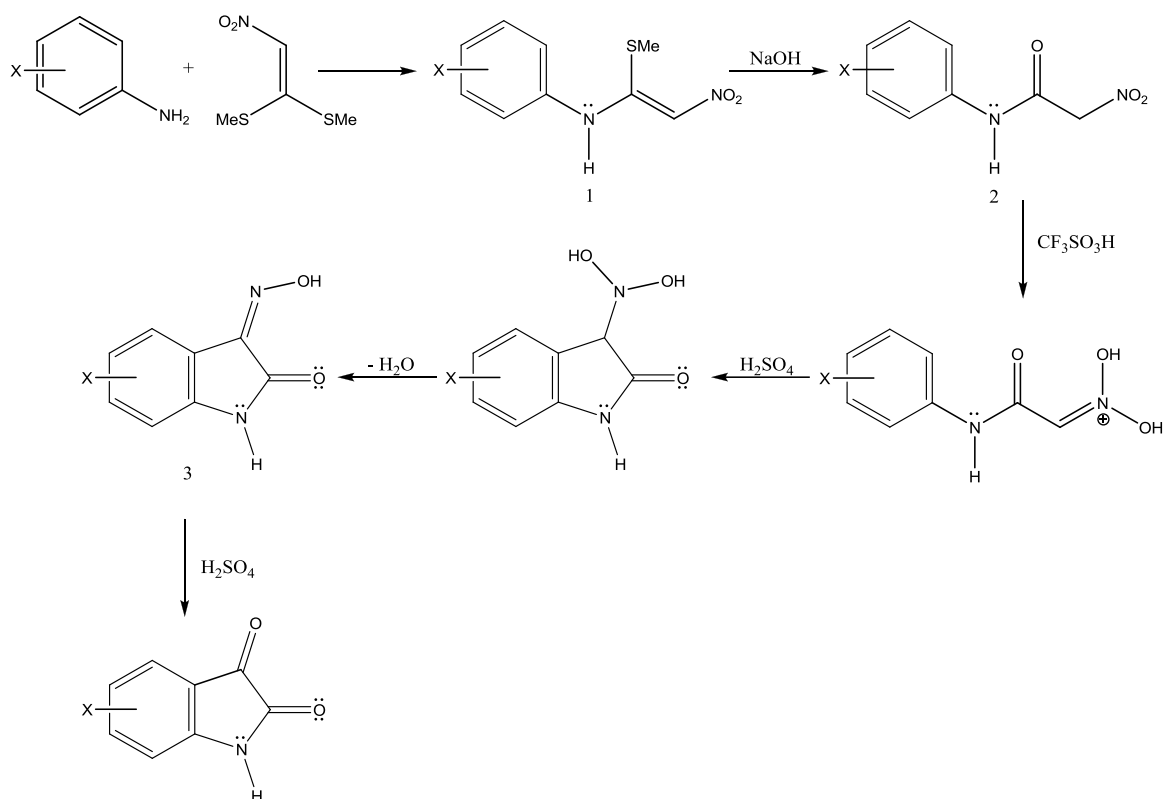


Slika 2.18 Sinteza izatina i njegovih derivate Sendmajerovom metodom

2.1.4.2. Korišćenjem nitroacetanilida

Kearney (Kerni) i autori⁵⁵ su 1991. godine sintetisali izatin pomoću nitroacetanilida. Reakcijom anilina sa 1,1-dimetiltio-2-nitroetenom nastaje 1-arilamino-1-metiltio-2-nitroeten (1) koji alkalnom hidrolizom gradi nitroacetanilid (2). Ciklizacija dobijenog nitroacetanilida

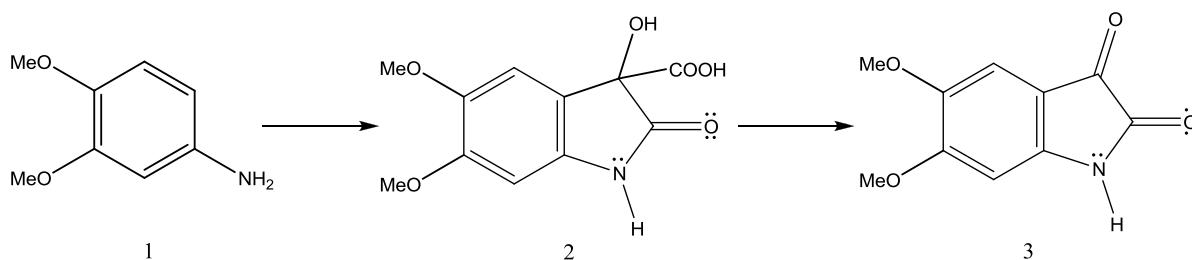
do izatin-3-oksima (3) vrši se pomoću koncentrovane sumporne kiseline ili trifluorometansulfonske kiseline na sobnoj temperaturi. Naknadnom dehidracijom izatin-3-oksima dobija se odgovarajući izatin (Slika 2.19).



Slika 2.19 Sinteza korišćenjem nitroacetanilida

2.1.4.3. *Martinet-ova (Martineova) sinteza izatina*

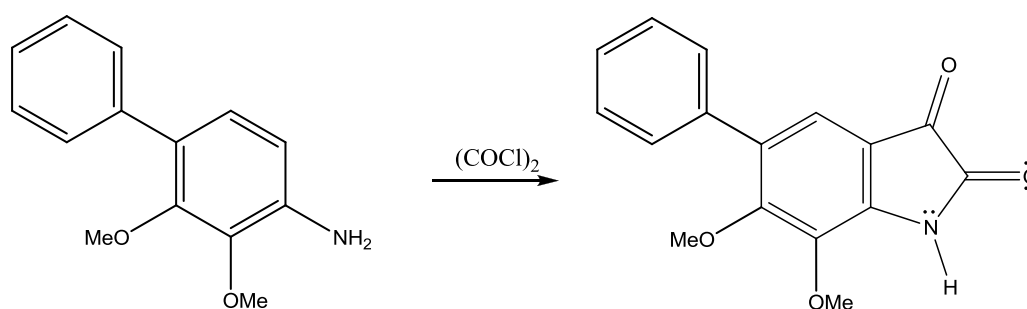
Sinteza izatina Martineovom metodom podrazumeva reakciju aromatičnog amino jedinjenja (1) sa oxo malonatnim estrom ili njegovim hidratom u prisustvu kiseline. Ovom reakcijom nastaje 3-(3-hidroksi-2-oksoindol) derivat karboksilne kiseline (2) koji oksidativnom dekarboksilacijom formira odgovarajući izatin (3).⁵⁶ Ova metoda je uspešno primenjena za sintezu 5,6-dimetoksiizatina iz 3,4-dimetoksianilina (Slika 2.20).⁵⁷



Slika 2.20 Martineova sinteza izatina

2.1.4.4. Stolle–ova (Štoleova) sinteza izatina

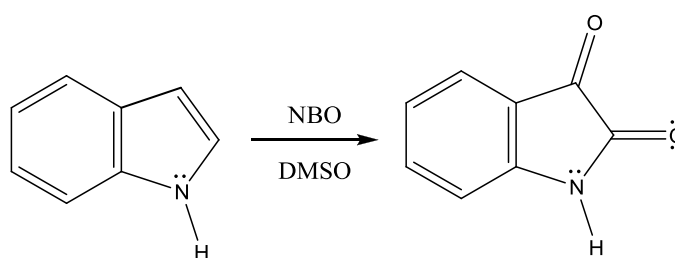
Štoleova sinteza⁵⁸ je najznačajnija zamena Sendmajerove metode. U ovom postupku anilin reaguje sa oksalil hloridom do formiranja intermedijarnog hlorooksalililanilida koji podleže reakciji ciklizacije u prisustvu Luisovih kiselina (najčešće AlCl_3 , BF_3 , Et_2O ⁵⁹ ili TiCl_4 ⁶⁰) do odgovarajućeg izatina. Ova sinteza je korišćena za sintezu 1-aril⁶¹ i policikličnih derivata izatina fenoksiazina, fenotiazin i dibenzoazepina⁶² kao i indola⁶³. Kod dimetoksianilina ciklizacija se spontano odigrava uz dobijanje dimetoksiizatina bez prisustva Luisovih kiselina (Slika 2.21).⁶⁴



Slika 2.21 Štoleova sinteza izatina

2.1.4.5. Oksidacija NBS-DMSO reagensom

Postupak podrazumeva sintezu izatina iz indola bromovanjem i oksidacijom pomoću *N*-bromosukcinimid-dimetilsulfoksid (NBS-DMSO) reagensom (Slika 2. 22).⁶⁵

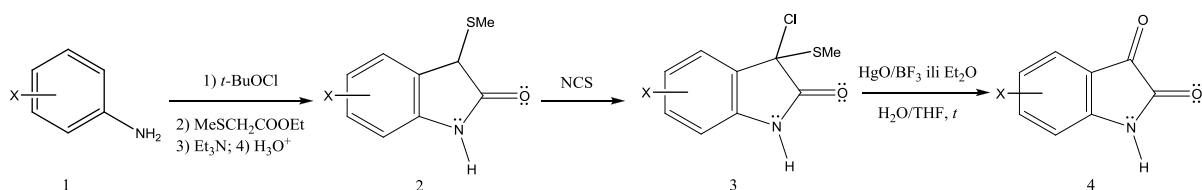


Slika 2.22 Oksidacija indola sa NBS-DMSO reagensom

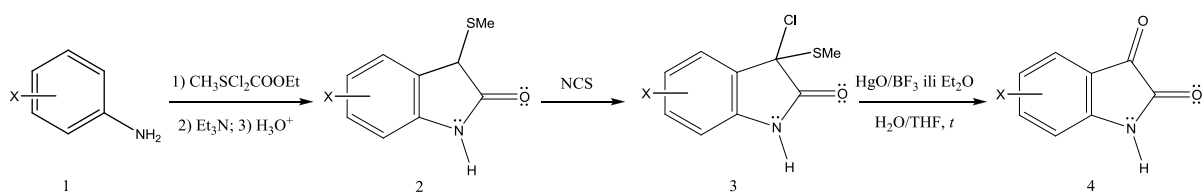
2.1.4.6. Gassman–ova (Gasman) sinteza izatina

Opšti postupak Gasmanove sinteze^{65,66} se fundamentalno razlikuje od prethodnih načina dobijanja jedinjenja na bazi izatina jer podrazumeva formiranje i naknadnu oksidaciju intermedijera 3-(metiltio)indol-2-ona uz nastajanje odgovarajućeg supstituisanog izatina.

Razvijene su dve komplementarne metode sinteze 3-(metiltio)indol-2-ona (2) čiji izbor zavisi od elektronskih efekata supstituenata na aromatičnom jezgru. U prisustvu elektron-akceptorskih grupa derivat oksoindola se može sintetisati reakcijom *N*-hloranilina (1) sa metiltioacetatnim estrom za dobijanje azasulfonijumove soli (Slika 2.23). Ukoliko su na benzenu prisutne elektron-donorske grupe koje destabilišu *N*-hloranilin i na taj način umanjuju prinos azasulfonijumovih soli, primenjuje se drugi postupak formiranja ove soli reakcijom hlorsulfonijumove soli sa odgovarajućim anilinom (Slika 2.24) uz dobijanje većeg prinosa 3-(metiltio)indol-2-ona (2).



Slika 2.23 Gasmanova sinteza sa elektron-akceptorskim grupama na benzenu

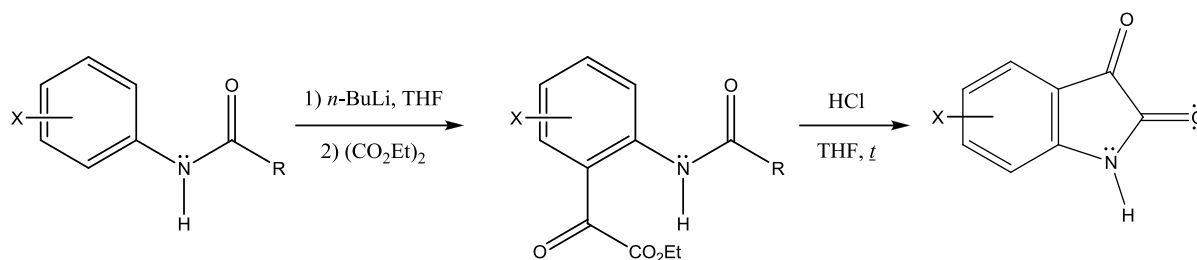


Slika 2.24 Gasmanova sinteza u prisutvu elektron-donorskih grupa na aromatičnom jezgru

U oba slučaja, daljom reakcijom sa *N*-hlorosukcinmidom (NCS) gradi se nestabilan 3-hlor-3-metiltio-2-oksoindol (3), koji hidrolizuje do izatina (4) u prisustvu crvenog živa(II)-oksida i BF₃ ili Et₂O u vodenom THF-u.

2.1.4.7. Metalacija anilidnih derivata

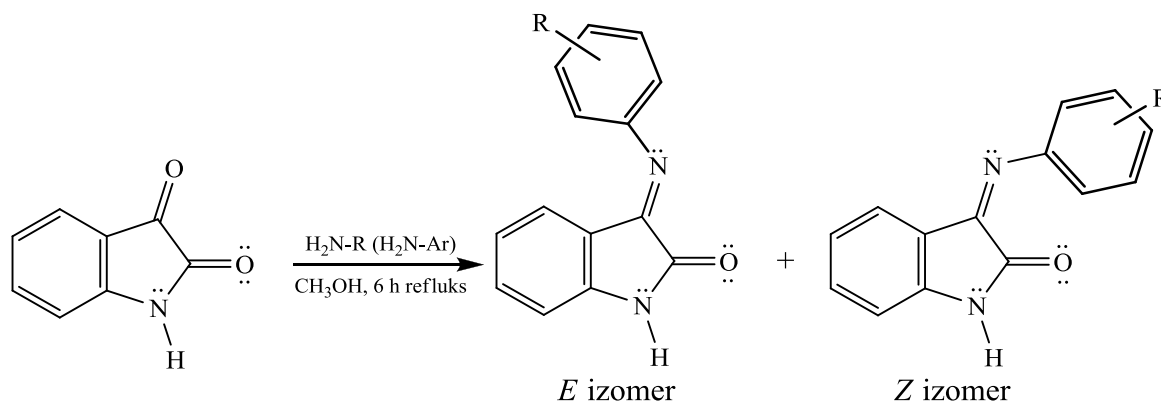
Najčešće korišćeni postupak sinteze izatina zasniva se na *orto*-metalaciji (DoM) *N*-pivavoil- i *N*-(*t*-butoksicarbonil)-anilina. Anjon se tretira sa dietil-oksalamatom, izatin se formira nakon uklanjanja zaštite sa amino grupe i ciklizacijom nastalog intermedijera α -ketoestra (Slika 2.25).⁶⁷ Prednost ovog postupka se ogleda u regioselektivnosti za sintezu 4-supstituisanih izatina iz *meta*-supstituisanih anilina.



Slika 2.25 Sinteza izatina metalacijom anilida

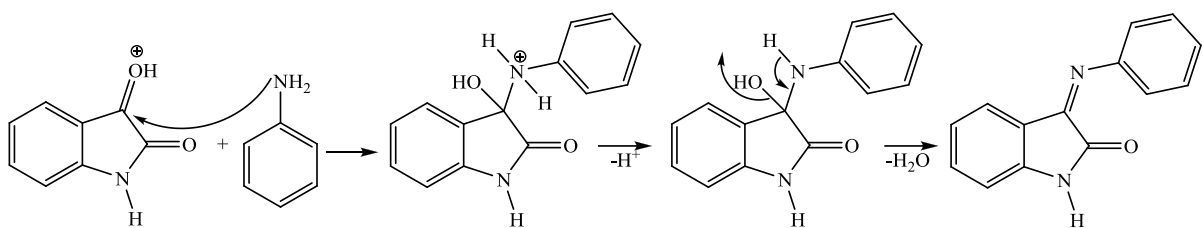
2.1.5. Sinteza ispitivanih derivata izatina

Ispitivani 1,3-dihidro-3-(supstutuisani fenilimino)-2*H*-indol-2-oni sintetisati su jednostavnom reakcijom kondenzacije izatina sa odgovarajućim primarnim aminom u ekvimolarnom odnosu 1 : 1.⁶⁸ Izatin je rastvoren u metanolu, dodaju mu se aril amin ili supstutuisani anilin i sirćetna kiselina. Reakciona smeša se zagreva na 70 °C 6 h uz mešanje (Slika 2.26). Sličan postupak je primenjen za sintezu derivata 5,7-dibromo-3-[(4-metilfenil)imino]-1,3-dihidro-2*H*-indol-2-ona i 3-(fenilimino)-1,3-dihidro-2*H*-indol-2-ona.⁶⁹ Reakcija kondenzacije se vrši u apsolutnom metanolu dodavanjem sirćetne kiseline do $pH = 4$ uz refluks 7-11 h. Umesto metanola kao rastvarač se može koristiti etanol uz dodatak nekoliko kapi glacijalne sirćetne kiseline.^{70,71}



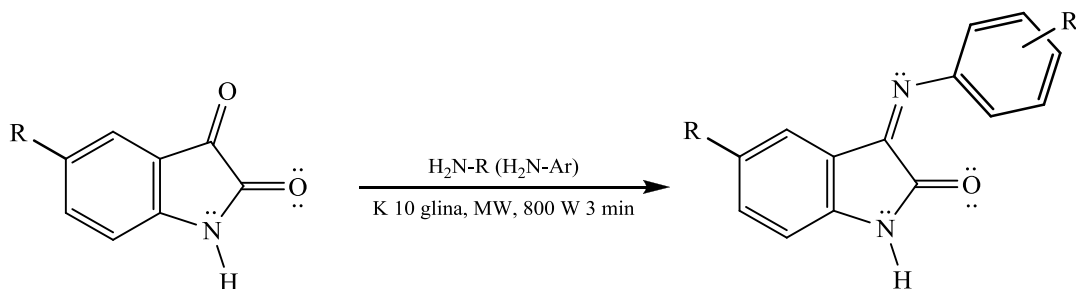
Slika 2.26 Sinteza derivata izatina reakcijom kondenzacije sa primarnim aminom

Reakcioni mehanizam podrazumeva nukleofilni napad amino azota aromatičnog amina na karbonilni ugljenik izatina (C3) praćen eliminacijom vode (Slika 2.27).⁷⁰



Slika 2.27 Mehanizam reakcije kondenzacije

Reakcija kondenzacije izatina sa odgovarajućim primarnim aminom može se odigrati pomoću mikrotalasa korišćenjem montmorilonitne K10 gline na 800 W.⁷² Na ovaj način vreme trajanja sinteze sirovog proizvoda se smanjuje sa 6 h na 3 min (Slika 2.28). Primenom mikrotalasnne sinteze ubrzava se dehidratacija neophodna za formiranje imina, smanjuje se vreme potrebno za sintezu i povećava se prinos proizvoda.⁷³



Slika 2.28 Sinteza derivata izatina mikrotalasn timerom sintezom

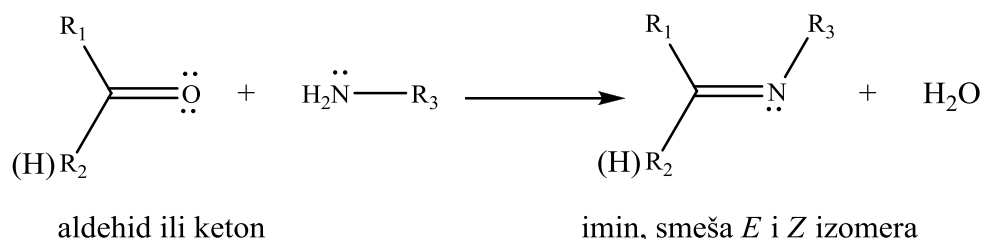
Sinteza 1,3-dihidro-3-(supstituisanih fenilimino)-2*H*-indol-2-ona se može izvršiti u apsolutnom metanolu bez prisustva sirćetne kiseline.⁷¹ Kao rastvarač umesto metanola može se upotrebiti etanol⁷⁴⁻⁷⁷ ili česmenska voda uz odigravanje kondenzacije na sobnoj temperaturi.⁷⁸

2.1.6. *E* i *Z* konformeri izatina

(*E*) – (*Z*) sistem označavanja se primenjuje za određivanje stereochemije jedinjenja koja u svom sastavu sadrže dvostruke veze. Zasniva se na određivanju prioriteta grupa prema *Cahn–Ingold–Prelog* (Kan-Ingold-Prelog) konvenciji.⁷⁹ Ukoliko se grupe sa najvećim prioritetoj nalaze sa različite strane dvostruke veze molekul ima *E* konfiguraciju (*E* od *entgegen*, na

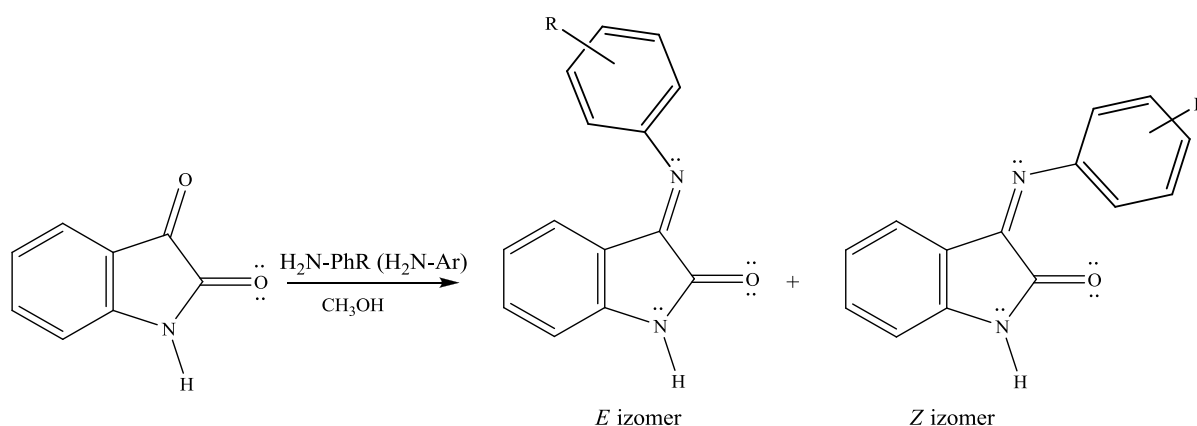
nemačkom: suprotno). Kod *Z* izomera (*Z* od *zusammen*, nemački: zajedno) grupe sa najvećim prioritetom su sa iste strane dvostruke veze.⁸⁰ *E* i *Z* izomeri predstavljaju diastereoizomere.

Sintezom imina iz primarnog amina i aldehid ili ketona dobija se smeša *E* i *Z* izomera (Slika 2.29).



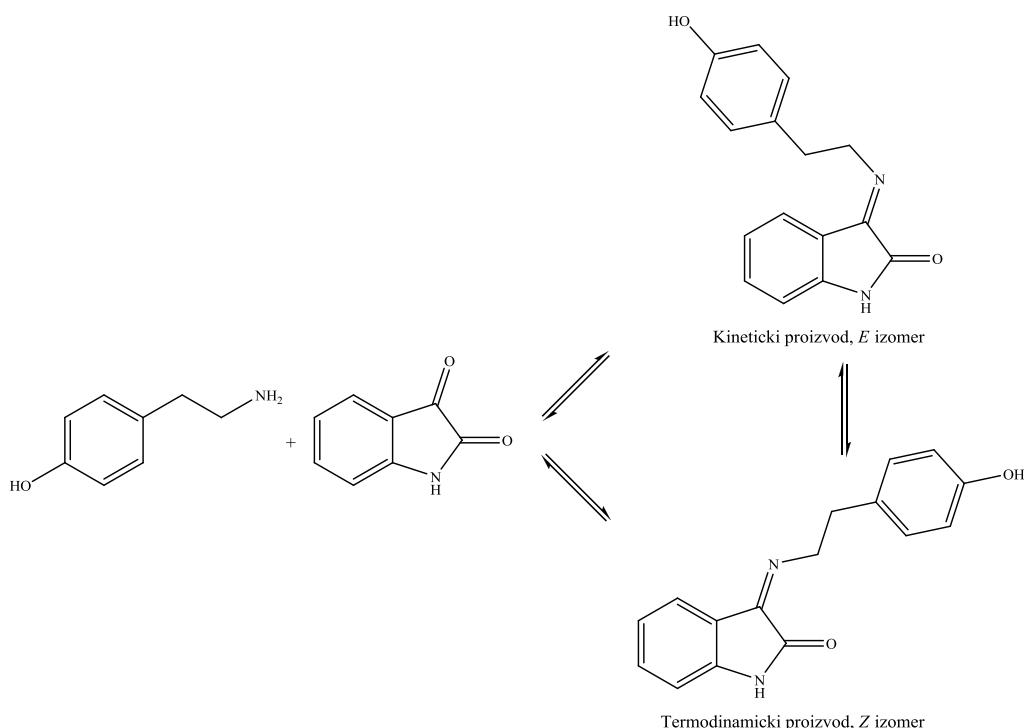
Slika 2.29 Nastajanje *E* i *Z* izomera imina

Na isti način delovanjem primarnog amina na izatin gradi se smeša *E* i *Z* izomera (Slika 2.30).



Slika 2.30 Formiranje smeše *E* i *Z* izomera ispitivanih derivata izatina

Poznato je da Šifove baze, derivati izatina pokazuju *E/Z* izomerizaciju usled prisustva imino grupe. β -Feniletilamini kao što je tiramin u reakciji sa izatinom formira smešu dva moguća stereoizomera (*E* i *Z*) koji mogu biti termodinamički ili kinetički kontrolisani (Slika 2.31). NMR asignacija pokazuje da glavni proizvod predstavlja *E* izomer. Veća količina dobijenog izomera sadrži najveću količinu energije a samim tim manju stabilnost. Odnos integrala u ¹H NMR spektru ukazuje da je dobijeni odnos izomera *E*:*Z* = 5:1. Na osnovu prethodno navedenih podataka koji se odnose na pojedinačne *E* i *Z* izomere može se zaključiti da *E* izomer predstavlja kinetički favorizovani proizvod dok je *Z* izomer termodinamički.⁸¹

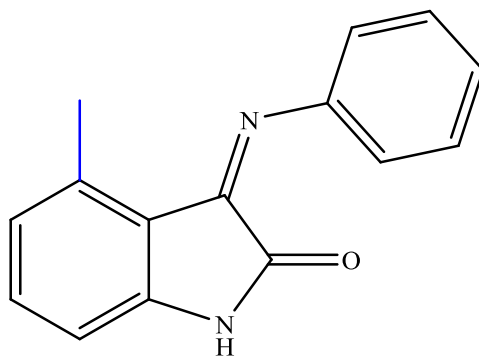


Slika 2.31 Reakcija tiamina sa izatinom

Pojedine studije odnosa *E* i *Z* izomera 3-arilimino-2-indolona (1-benzil-3-(4-metoksifenilimino)indol-2-ona ispitivale su uticaj korišćenog rastvarača. Ukoliko se kao rastvarača upotrebi DMSO *E* izomer je dominantniji ($E:Z = 79:21$) dok je u toluenu odnos *E* i *Z* izomer sličan ($E:Z = 58:42$).⁸² Rezultati NMR analize (*E*)-3-(3,4-dimetilfenil)imino-1-metilindol-2-ona pokazali su da je proces rastvaranja *E*-izomera praćen delimičnom izomerizacijom u *Z*-oblik. Kvantnohemijska izračunavanja ispitivanih jedinjenja ukazuju da je stabilniji oblik u vakuumu *Z*-izomer, dok promena na rastvarač veće polarosti vodi ka stabilizaciji *E*-oblika. U rastvaračima manje polarnosti, kao što je hloroform, *Z* izomer je stabilniji, za razliku od polarnijih rastvarača sa većom relativnom permitivnošću na pr.: dihloroetan, aceton, metanol, acetonitril, DMSO i voda, u kojima *E* izomer postaje stabilniji usled stabilizacije rastvaračem.⁸³

Takođe je ispitivan mehanizam fotohemijski i termički inicirane transformacije *E*- i *Z*-izomera u rastvaračima različite polarnosti na dva izatin *N*-fenilsemikarbazon kolorimetrijska senzora.⁸⁴ U drugim istraživanjima fotohemijski (iridacija) i termički tretman *E*-izomera izatin *N,N*-difenilhidrazona vodi ka transformaciji u *Z*-izomer u reverzibilnom procesu.⁸⁵

Uvođenje metil grupe u položaj 4 izatinskog jezgra primorava molekul da zauzme *Z* konformaciju usled sternih smetnji između supstituenta i benzenovog jezgra (Slika 2.32).⁸⁶



Slika 2.32 Stabilizacija Z konformera uvođenjem metil grupe u izatinsko jezgro

2.2. Biološka aktivnost

Izatin i njegovi metaboliti su sastavni deo mnogih prirodnih supstanci. Hemija izatina i njegovih derivata kao heterocikličnih jedinjenja je posebno interesantna zbog široke primene u medicinskoj hemiji. Izatin predstavlja sastavni deo mnogih sintetičkih jedinjenja koja se koriste u medicini i pokazuje širok spektar aktivnosti kao što su antiviralna,⁸⁷ antikancer,^{88–91} antimikrobna,^{92,93} antibakterijska,^{94,95} antituberkulozna,⁹⁶ antifungalna,^{97,98} antikonvuzalna^{99–101} i mnoge druge. Izatin je takođe ključna struktura za mnoge alkaloida^{102,103}, boje^{104–106}, insekticide^{107,108} i analitičke reagense.^{109–111}

2.2.1. pK_a vrednost kao parametar biološke aktivnosti

Konstanta kiselo-bazne disocijacije (pK_a) biološki aktivnih jedinjenja predstavlja ključni fizičko-hemijski parametar koji utiče na mnoga biofarmakološka svojstva. Njeno poznavanje je od izuzetnog značaja za razumevanje mnogih fundamentalnih reakcija u hemiji i biohemiji. pK_a vrednosti uključujući čistoću, stabilnost, rastvorljivost, lipofilnost i permeabilnost su najznačajniji za ADMET svojstva (Apsorpcija, raspodela, metabolizam, eliminacija i toksičnost, *eng.* Adsorption, Distribution, Metabolism, Excretion, and Toxicity) potencijalno biološki aktivnih supstanci. pK_a leka utiče na lipofilnost, rastvorljivost, vezivanje proteina i permeabilnost koji su direktno povezani sa farmakokinetičkim karakteristikama kao što su apsorpcija, raspodela, metabolizam i izlučivanje.¹¹² Primenom odgovarajućih softvera moguće je predvideti pK_a vrednost koje se u odnosu na eksperimentalno dobijene rezultate razlikuju za do 1 pK_a jedinice. Za predviđanje mogu se upotrebiti razni računarski pristupi.¹¹²

U okviru komercijalnih paketa (na pr. ACD / Labs44) koristi se više metoda, kao što je primena QSAR modela zasnovanih na Hametovim jednačinama.

Za eksperimentalno određivanje pK_a vrednosti mogu se primeniti sledeće metode: potenciometrija, konduktometrija, voltometrija, kalorimetrija, NMR spektrofotometrija, elektroforeza, podela i distribucija, rastvorljivost, UV-Vis spektrofotometrija, fluorometrija, polarimetrija i kinetička.¹¹³ Najčešće korišćenje metode su potenciometrija i UV-Vis spektrofotometrija.

U ovom radu primenjena je UV-Vis spektrofotometrija metoda za određivanje pK_a vrednosti. Alternativna metoda je potenciometrijskoj titraciji jer se mogu koristiti molekuli sa manjom rastvorljivošću i uzorci malih koncentracija (10^{-5} – 10^{-6} M) ukoliko ispitivano jedinjenje sadrži hromoforu u blizini jonizabilne grupe odnosno kiselinsko-baznog centra.¹¹⁴ UV-Vis spektrofotometrija je idealna zamena za potenciometriju titraciju ukoliko je pK_a vrednost mala ili velika (na pr. manja od 2 ili veća od 11).¹¹⁵ Metoda se zasniva na različitim spektrima molekulskog i jonizovanog oblika. Spektri ispitivanog uzorka se snimaju u toku titracije pri čemu dolazi do promene apsorpcionog spektra koji održava odnos između koncentracija molekulskog i jonskog oblika. Apsorbansa se najčešće meri na specifičnim talasnim dužinama. Pri pH koje odgovaraju pK_a vrednostima javlja se najveća promena apsorbanse. Određivanje pK_a vrednosti podrazumeva čist uzorak ili da prisutne nečistoće ne apsorbuju u UV-Vis opsegu jer se spektar nečistoća može preklopiti sa spektrom ispitivanog uzorka.¹¹⁶

Za određivanje pK_a vrednosti koriste se apsorbanse na apsorpcionom maksimumu (λ_{max}) ili talasnoj dužini na kojoj je razlika između protonovanog i deprotonovanog oblika veća u odnosu na talasnu dužinu apsorpcionog maksima (λ_{opt}) pri poznatoj pH vrednosti. Primenom linearne regresione analize odsečka i nagiba odgovarajuće prave i poznate apsorbanse samo jednog oblika, može se odrediti apsorbanse drugog oblika i pK_a vrednost.¹¹⁷

2.2.2. Antimikrobna aktivnost

Široka upotreba antibiotika u poslednjih nekoliko decenija izazvala je pojavu otpornosti mikroorganizama na različite vrste lekova. Mnogi patogeni mikroorganizmi koji su odgovorni za određene bolesti ljudi i životinja razvili su mehanizme otpornosti na klasične terapije što je uslovalo intenzivna istraživanja u oblasti prirodne i sintetičke organske hemije u cilju otkrivanja novih vrsta lekova sa boljim terapijskim svojstvima. Mnoge klase heterocikličnih organskih jedinjenja koja u svom sastavu sadrže azot i sumpor pokazuju antimikrobnu aktivnost.^{118–128} U

poslednje vreme, sintetišu se i primenjuju lekovi nove generacije sa hibridnim strukturama, koje kombinuju biološka svojstva dva ili više mala molekula. Očekuje se da će ove vrste molekulskih bioloških konjugovanih sistema imati uspeha u ciljanim terapijama infektivnih bolesti.¹²⁹

Za praćenje i određivanje antimikrobne aktivnosti molekula mogu se koristiti različite kvalitativne i kvantitativne standardizovane metode kao što su: difuzione,^{130,131} dilucione,¹³² i kombinovane metode.¹³³ Parametri aktivnosti kojima se određuje osetljivost bakterija i gljivica na postojeće antimikrobne lekove i antimikrobnost aktivnosti ispitivanih molekula su:

- a) minimalna inhibitorna koncentracija (MIC, *eng.* Minimal Inhibitory Concentration);
- b) minimalna baktericidna koncentracija (MBC, *eng.* Minimal Bactericidal Concentration).

MIC se definiše kao najmanja koncentraciju ispitivanog antimikrobnog agensa koja usporava vidljivi rast mikroorganizama, izražava se u mg/mL ili mg/L. MBC predstavlja najmanju koncentraciju antimikrobnog agensa koja sprečava rast $\geq 99,9$ % mikroorganizama nakon subkultivacije inicijalne infektivne doze u medijumu bez ispitivanog agensa. Ukoliko nakon inkubacije nema rasta upotrebljenih vrsta bakterija, supstanca pokazuje mikrobicidni efekat, dok porast ukazuje na mikrobiostatski uticaj. Na osnovu zamućenosti bujona nakon inkubacije, koji najčešće traje 24 h, može se odrediti antimikrobna aktivnost ispitivanog molekula. Ako je bujon nakon ispitivanja bistar, dejstvo supstance je mikrobicidno, a ukoliko je zamućen molekul pokazuje mikrobiostatsko dejstvo.

2.3. Korelaciona analiza u organskoj hemiji

Na osnovu kinetičkih rezultata ispitivanja mehanizma hemijskih reakcija dobijaju se podaci koji se odnose na molekule uključene u mehanizam pre i/ili za vreme koraka koji određuje brzinu hemijske reakcije. Pomoću dobijenih rezultata mogu se isključiti mehanizmi koji ne slede utvrđeni zakon brzine hemijske reakcije. Za podatke koji se odnose na prirodu intermedijera, veze koje se raskidaju ili nastaju za vreme hemijske reakcije ne mogu se koristiti kinetičke metode već je potrebno primeniti druge metode fizičke organske hemije kao što je *linearna korelacija slobodne energije (Linear Free Energy Relationship - LFER)*, koja pruža informacije o strukturi aktiviranog kompleksa. Proučavanjem uticaja različitih supstituenata na reaktivnost molekula (*efekat supstituenta*) dobija se dublja analiza strukture prelaznog stanja.

2.3.1. Efekti supstituenata i linearna korelacija slobodnih energija

Na osnovu preciznog proučavanja efekata supstituenata može se odrediti kako se reakciona slobodna energija i slobodna energija aktivacije menjaju u funkciji hemijske strukture.¹³⁴ Eksperimentalnim putem moguće je pratiti promenu naelektrisanja duž reakcione koordinate zamenom, na primer, elektron-donorske grupe elektron-akceptorskom. Ukoliko se u koraku koji određuje brzinu hemijske reakcije gradi pozitivno naelektrisanje, susedna elektron-donorska grupa će stabilizovati prelazno stanje i na taj način pospešiti reakciju, i obrnuto. Promena supstituenta reaktanta ili rastvarača može uticati i na solvataciju, nukleofilnost, kiselost ili baznost, sterno nagomilavanje, sposobnost odlazeće grupe i druga hemijska svojstva. Veoma bitne informacije koje se odnose na mehanizam reakcije dobijaju se iz proučavanja odnosa tj. povezanosti između strukture i reaktivnosti ispitivanih organskih molekula. One se zasnivaju na promeni slobodne energije reakcije i parametrima koji su prouzrokovani supstituentom, odnosno opisuju elektronske karakteristike supstituenta.

Povezanost između molekulske strukture i reaktivnosti u toku hemijske reakcije zavisi od uticaja strukture na raspodelu elektronske gustine u osnovnom i pobuđenom stanju predstavlja *efekte supstituenata*.¹³⁵ Na raspodelu elektronske gustine mogu uticati sledeća tri efekta: polarni (induktivni efekat i efekat polja), rezonancioni i sterni.

Induktivni efekat (I) pokazuje sposobnost atoma ili atomske grupe da privlači ili odbija elektrone kroz σ veze. Kao referentni atom za poređenje koristi se vodonik. Može biti pozitivan odnosno elektron-donorski (+I, povećava elektronsku gustinu) i negativan tj. elektron-akceptorski (-I, privlači elektrone jače od atoma vodonika). Sa udaljenjem supstituenta od reakcionog centra smanjuje se njegov uticaj. Klasični induktivni efekat predstavlja polarizaciju kroz sigma veze ugljenikovog niza i opada sa rastojanjem, dok efekat polja deluje kroz prostor, nezavisno od elektronskog sistema u molekulu. Međutim, eksperimentalno je veoma teško razlikovati ova dva efekta, usled čega su oba komponente induktivnog efekta.

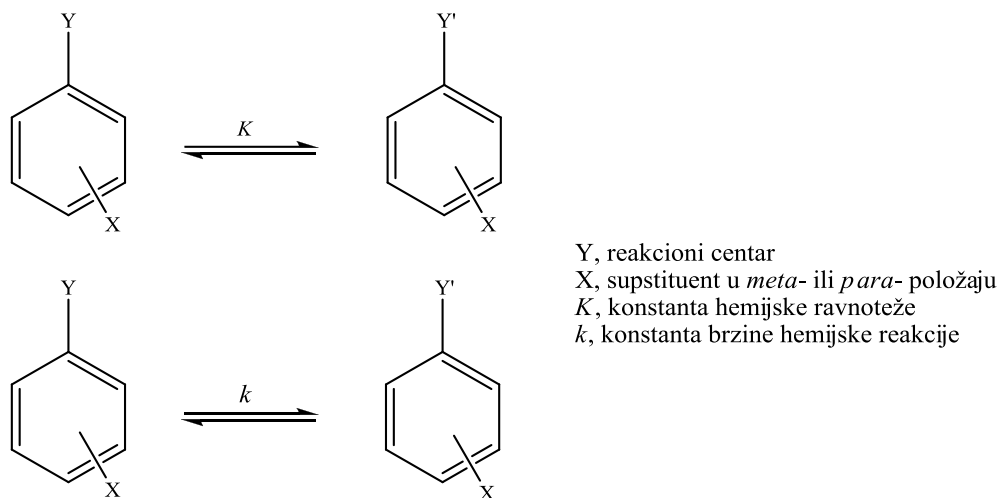
Rezonancioni efekat (R) predstavlja prenos elektronskih efekata supstituenata kroz sistem π -veza. Smanjenje ili povećanje elektronske gustine kroz sistem π -veza zasniva se na konjugaciji π -molekulskih orbitala sa p - ili π -orbitalama supstituenta. Ukoliko supstituent povećava elektronsku gustinu na reakcionom centru označava se kao „+R efekat“ i sadrži slobodni elektronski par ili π -elektrone na atomu koji je direktno vezan za aromatični prsten (-NH₂, -NR₂, -OH, -OR, -SR, -X, -CH=CH₂). -R efekat smanjuje elektronsku gustinu na

reakcionom centru i najčešće ne sadrži vezivne p -orbitale vezane za π -akceptorski centar (-NO₂, -COCH₃).

Sterni efekat može značajno uticati na brzinu hemijske reakcije, kao i na konformacije molekula. Veliki atomi ili grupe atoma utiču na sudare između molekula, često onemogućavajući efikasne sudare pri kojima dolazi do reakcije. Na primer, S_N2 reakcija se usporava usled sternih efekata sa povećanjem supstitucije na ugljeniku ili odlazećoj grupi.

2.3.2. Hametova jednačina

Hametova jednačina predstavlja osnovu za uspostavljanje kvantitativne veze (korelacije) između strukture i reaktivnosti organskih molekula, uključujući tu i njene modifikacije.¹³⁴ Primeri pojedinih metoda primene Hametove jednačine i njenih modifikovanih oblika odnose se pre svega na način na koji supstituenti utiču na brzinu reakcije ili položaj ravnoteže, elektronske ili sterne intramolekulske interakcije, kao i na proučavanje reakcionog mehanizma uz korišćenje drugih fizičko-hemijskih metoda.



Slika 2.33 Vrste aromatskih sistema koje je izučavao Hamet

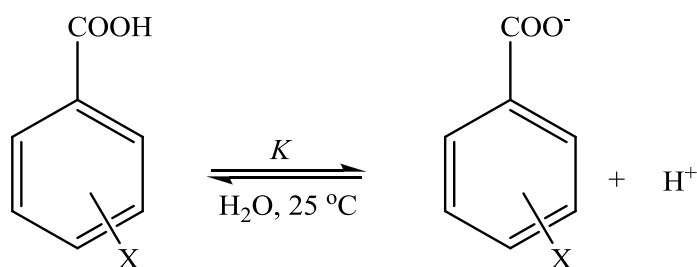
Tridesetih godina prošlog veka Hamet^{136,137} je otkrio da se termodinamička ili kinetička ponašanja mnogih aromatskih sistema (Slika 2.33) mogu korelisati jednačinama 2.1. ili 2.2.:

$$\log \frac{K}{K_0} = \rho\sigma \quad (2.1)$$

$$\log \frac{k}{k_0} = \rho\sigma \quad (2.2)$$

u kojima simboli K i k označavaju konstantu hemijske ravnoteže i konstantu brzine reakcije ispitivanih jedinjenja sa supstumentima; K_0 i k_0 odgovarajuće konstante hemijske ravnoteže i brzine reakcije za nesupstituisani sistem; ρ predstavlja reakciona konstanta; σ obeležava konstantu supstituenta. Reakciona konstanta ρ je merilo osetljivosti reakcije ili hemijske ravnoteže na efekte supstituenta, konstantna je za određenu reakciju i uslove u kojima se reakcija izvodi (temperatura, rastvarač) i ne zavisi od prirode supstituenta. Konstanta supstituenta σ isključivo zavisi od prirode supstituenta i njegovog položaja na jezgru, a ne zavisi je od vrste hemijske reakcije.

Hametova jednačina se može primeniti ukoliko se supstituent nalazi u *meta*- ili *para*-položaju u odnosu na reakcioni centar. Ako je supstituent pozicioniran na jezgru u *orto*-položaju u odnosu na reakcioni centar ne može se koristiti Hametova jednačina zbog blizine supstituenta i reakcionog centra i njenog uticaja na reaktivnost usled sternih ili direktnih polarnih efekta, koji mogu delimično ili potpuno onemogućiti razmatranje kvantitativnog dejstva elektronskih efekata supstituenata na reakcioni centar.



Slika 2.34 Reakcija disocijacije *meta*- i *para*-supstituisanih benzoevih kiselina na 25 °C u vodi kao rastvaraču

Kao model reakciju za izračunavanje konstante supstituenata σ Hamet je predložio disocijaciju benzoeve kiseline u vodi na 25 °C (Slika 2.34).¹³⁷ Za navedenu model reakciju usvojena je vrednost reakcione konstante $\rho = 1$. Konstanta supstituenata σ_x predstavlja razliku između pK_a vrednosti nesupstituisane benzoeve kiseline i pK_a vrednosti *m*- i *p*-supstituisanih benzoevih kiselina prikazana je uz pomoć jednačine 2.3 ($\sigma_x = 0$ za nesupstituisanu benzoevu kiselinu):

$$\sigma_x = \log K - \log K_0 = -pK_a + (pK_a)_0 \quad (2.3)$$

u kojoj je simbol K konstanta hemijske ravnoteže supstituisane benzoeve kiseline, a K_0 konstanta hemijske ravnoteže nesupstituisane kiseline. Dogovorom je uzeto da je referentna vrednost za konstantu supstituenta H iz jednačine 2.3 posmatrane disocijacije nesupstituisane benzoeve kiseline $\sigma_x = 0$.

Elektron-akceptorske grupe svojim elektronskim efektom povećavaju vrednost konstante ravnoteže K_a , usled stabilizacije karboksilatnog anjona, što će usloviti manju numeričku vrednost pK_a i veću kiselost, dok će vrednosti σ_x biti pozitivne. I obrnuto, elektron-donorski supstituenti će imati negativne vrednosti σ_x .

Reakciona konstanta ρ pokazuje osetljivost reakcije ili ravnoteže na elektronske efekte supstituenata u odnosu na disocijaciju nesupstituisane benzoeve kiseline u vodi na 25 °C ($\rho = 1$). Ukoliko je vrednost reakcione konstante velika, pozitivna ili negativna, odigrava se velika promena elektronske gustine na centralnom atomu funkcionalne grupe odnosno reakcionim centru. Ako se negativno naelektrisanje na reakcionom centru povećava, ρ će biti veće od nule a ove vrste reakcija će biti ubrzane elektron-akceptorskim supstituentima, odnosno usporene elektron-donorskim supstituentima. Vrednosti ρ su negativne za reakcije kod kojih se u prelaznom stanju javlja pozitivno naelektrisanje, njih ubrzavaju elektron-donorski odnosno usporavaju elektron-akceptorski supstituenti.¹³⁸

Reakciona konstanta ρ zavisi od prirode i dužine bočnog niza, prirode rastvarača i temperature. Sa porastom broja ugljenikovih atoma dodavanjem metilenske grupe u bočnom nizu, smanjuje se vrednost reakcione konstante. Ukoliko se u bočnim nizu nalazi konjugovani sistem kroz njega se bolje prenose efekti supstituenata u odnosu na zasićeni sistem ugljeničnih veza. Eksperimentalno je utvrđeno da sa porastom relativne permitivnosti rastvarača vrednost konstante ρ opada, što odgovara smanjenju značaja elektrostatičkih sila, odnosno polarnih efekata supstituenata u sredini velike relativne permitivnosti.

Osnovne konstante supstituenta σ_m i σ_p (Hametove σ konstante) predstavljaju ukupan elektronski efekat supstituenata, koji se manifestuje kao doprinos rezonacionog i polarnog efekta supstituenata. Reakcija disocijacije m - i p - supstituisanih benzoevih kiselina u vodi na 25 °C pri $\rho = 1$ se koristi za njihovo određivanje. Za pojedine sisteme u kojima je moguća direktna rezonaciona interakcija između supstituenata i reakcionog centra Hametova korelacija nije zadovoljavajuća ukoliko se primene osnovne konstante supstituenata σ_m i σ_p .

Usled toga se ukazala potreba za uvođenjem novih σ konstanti, σ^0 koje će prikazivati prenos efekata supstituenata kroz metilensku grupu, nukleofilne (σ^-) i elektrofilne (σ^+) konstante supstituenata.¹³⁹

Razlike u vrednostima σ i σ^0 se javljaju kao posledica rezonancionog efekta, što uslovljava da svi *meta*-supstituenti, kao i većina *para*-supstituenata, imaju identične vrednosti σ i σ^0 . Značajnija odstupanja u vrednosti se uočavaju u slučaju *para*-supstituenata sa izrazitim +R efektom (OCH₃, NH₂, N(CH₃)₂). Kao model reakcija za određivanje konstante σ^0 Taft¹⁴⁰ je upotrebio reakciju disocijacije supstituisanih fenilsirćetnih kiselina, odnosno saponifikacije etilestara supstituisanih fenilsirćetnih kiselina.

Kod reakcionih sistema u kojima zbog direktne konjugacije -R para supstituenta sa reakcionom centrom bogatim elektronima postoji odstupanje σ para elektron-akceptorskih supstituenata od Hametovih σ vrednosti. U ovim i sličnim slučajevima koristi se elektrofilna konstanta supstituenata (σ^-).¹⁴¹ Model reakcija za izračunavanje konstanti σ^- je disocijacije *meta*- i *para*-supstituisanih anilinium katjona.^{142,143} Konstante σ^- su izračunate na osnovu vrednosti ρ dobijenih za *meta*- ili *para*-supstituisane derivate sa elektron-donorskim supstituentima i eksperimentalno određenih pKa vrednosti za elektron-akceptorske supstituente u *para*-položaju.

U reakcionim sistemima u kojima je razlog odstupanja vrednosti σ prisustvo *p*-elektron-donorskih supstituenata (-NH₂, -OMe i dr.) od Hametovih σ vrednosti njihova direktna rezonanciona interakcija sa elektron-deficitarnim reakcionim centrom,¹⁴⁴ uvode se elektrofilne konstante supstituenata i označavaju se sa σ^+ . Ako se u *p*-položaju nalazi supstituent koji lako stupa u rezonancionu interakciju sa elektron-deficitarnim centrom, odnosno sa +R efektom, razlike između konstanti σ i σ^+ su velike. Razlike između σ i σ^+ su neznatne ili jednake nuli u slučaju prisustva grupe koja privlači elektrone -R efektom.¹⁴⁵

Upotreba σ^+ i σ^- konstanti proširuje primenu Hametove jednačine na osnovu čega se mogu dobiti informacije o prirodi prelaznog stanja. Ukoliko u molekulu postoji značajna delokalizacija naelektrisanja primena σ^+ i σ^- je neophodna.

2.3.2.1. Modifikovana i proširena Hametova jednačina

Pokušaj da se fenomen direktne rezonancione interakcije supstituenata i reakcionog centra koreliše pomoću izabranih konstanti σ , σ^+ ili σ^- često daje ograničene rezultate. Za svaki supstituent koji pokazuje izvestan rezonancioni efekat može se očekivati čitava skala konstanti supstituenata i to ne samo za parove izolovanih vrednosti σ^+ , σ za +R ili σ^- , σ za -R supstituente. Usled specifičnosti istraživanih sistema javila se potreba za modifikacijom jednostavne Hametove jednačine (2.4).

$$Q = \rho\sigma + h \quad (2.4)$$

Yukawa i *Tsuno*¹⁴⁶⁻¹⁴⁸ predložili su jednačinu (2.5) koja u sebi sadrži višestruku linearnu korelaciju $\log k$ sa vrednostima σ i $(\sigma^+ - \sigma)$:

$$\log \frac{k}{k_0} = \rho[\sigma + r(\sigma^+ - \sigma)] \quad (2.5)$$

u kojoj ρ označava reakcionu konstantu, vrednosti σ su Hametove konstante, vrednosti σ^+ su *Brown-ove* (Braunove) konstante. Kvalitativna mera rezonantne interakcije supstituenata i reakcionog centra predstavlja nova konstanta r . Ukoliko je $r = 0$ dobija se klasična Hametova zavisnost.

Jednačinu značajno šire primene predložili su Taft i Lewis (Taft i Luis) uz odgovarajući izbor konstanti supstituenata.¹⁴⁹ Ona predstavlja proširenu Hametovu jednačinu jednačinu (2.6) obuhvata složenost ukupnog električnog efekta supstituenta razdvajajući ga na lokalizovani i delokalizovani efekat:

$$Q = \alpha\sigma_I + \beta\sigma_R + h \quad (2.6)$$

U ovoj jednačini Q predstavlja korelisanu veličinu ($\log k$, $\log K$, i dr.), h je odsečak, α i β definišu relativan udeo induktivnog, odnosno rezonancionog efekta kroz konstante σ_m i σ_p uz pomoć izraza 2.7. i 2.8.¹⁵⁰

$$\sigma_m = \sigma_I + \alpha\sigma_R \quad (2.7)$$

$$\sigma_p = \sigma_I + \sigma_R \quad (2.8)$$

Pošto je električni efekat supstituenata složen iz lokalizovanih (induktivnih i/ili polja) i delokalizovanih (rezonancionih) faktora, na osnovu Taftove sugestije¹⁴⁰ može se napisati sledeća jednačina:

$$\sigma = \lambda\sigma + \delta\sigma_R \quad (2.9)$$

2.3.2.2. Primena Hametove jednačine

Najznačajnija praktična primena Hametove jednačine se ogleda u proučavanju reakcionog mehanizama tj. prirode prelaznih stanja, kao i određivanju nepoznatih konstanti supstituenta. Postoji veliki broj istraživanja koji pokazuju da uticaj *meta*- ili *para*-supstituenata u posmatranoj reakciji može potvrditi ili opovrgnuti pretpostavljeni reakcioni mehanizam. Na osnovu vrednosti reakcione konstante ρ , prirode σ vrednosti korišćenih u korelaciji, linearnosti ili nelinearnosti pojedinačnih Hametovih zavisnost mogu se izvesti značajni zaključci koji se odnose na objašnjenje elektronskih ili sternih intramolekulskih interakcija, uticaja supstituenata na brzinu reakcije i na položaj hemijske ravnoteže.¹⁴⁴ U ovu svrhu može se primeniti Hametove jednačina, modifikovana i proširena, na razne fizičko-hemijske metode.

Za proučavanje elektronskih efekata supstituenata u okviru ispitivanih serija jedinjenja mogu se korelisati spektroskopski podaci (FT-IR, UV-Vis, NMR)^{138,151} i pK_a ¹⁵² vrednosti sa različitim konstantama supstituenata. Za analiziranje uticaja supstituenata može se primeniti jednoparametarska ili dvoparametarska proširena Hametova jednačina. U ovoj doktorskoj disertaciji korišćena je jednoparametarska (SSP, *eng.* Single Substituent Parameter) Hametova jednačina za korelisanje sa pK_a , UV i NMR eksperimentalnim podacima.

2.4. Linearna korelacija solvatacionih energija (LSER)

2.4.1. Solvatohromizam organskih molekula

Propuštanjem snopa elektromagnetnih zraka kroz uzorak određene supstance u zavisnosti od njene strukture može doći do apsorpcije ili propuštanja zračenja. Molekul apsorbovanjem elektromagnetnog zračenja energije $\Delta E = h\nu$, prelazi iz osnovnog u eksitovano stanje što će uzrokovati pojačane vibracije ili rotacije atomskih jezgara, ili prelaz elektronskog sistema na viši energetske nivo. Vraćanjem sistema u osnovno stanje, emituje se energija koja je karakteristična za datu supstancu. Ultraljubičasta spektroskopija proučava apsorpciju elektromagnetnog zračenja u oblasti između 200 i 400 nm. Dobijeni apsorpcioni spektri višeatomskih molekula daju odgovor o prelazima elektrona lokalizovanih u vezama ili određenim funkcionalnim grupama. Mogući su sledeći elektronski prelazi:

– $\sigma \rightarrow \sigma^*$, u kojima elektroni vezivne σ orbitale prelaze u manje stabilnu antivezivnu σ^* orbitalu.

– $n \rightarrow \pi^*$, pri čemu elektroni slobodnog elektronskog para prelaze u manje stabilnu antivezivnu π^* orbitalu;

– $\pi \rightarrow \pi^*$, kada elektroni vezivne π orbitale prelaze u manje stabilnu antivezivnu π^* orbitalu.

U hromoforima ili hromofornim grupama odigravaju se mogući navedeni elektronski prelazi. Njihovo prisustvo u ispitivanom molekulu izazvaće apsorpciju energije u ultraljubičastoj i vidljivoj oblasti. Svaka hromofora ima karakterističnu vrednost talasne dužine koja odgovara maksimumu apsorpcije i određena je strukturom molekula. Preostali deo molekula ne apsorbuje zračenje, ali može uticati na položaj apsorpcionog maksimuma. Pomeranje apsorpcionog maksimuma ka većim talasnim dužinama naziva se batohromni efekat i njega izazivaju elektron-donorske grupe (alkil-, alkoksi-, hidroksi-, amino-, i dr.). Sa druge strane, hipsohromni efekat predstavlja pomeranje ka manjim talasnim dužinama usled prisustva elektron-akceptorskih grupa (nitro-, karboksilna-, sulfonska- i dr.).

Položaj, intenzitet i oblik apsorpcionih traka u UV-Vis spektrima zavise od izbora rastvarača, brzine hemijske reakcije i položaj hemijske ravnoteže.^{153–160} Proučavajući reakciju esterifikacije sirćetne kiseline etanolom *Berthelot* i *Pean de Saint-Gilles*¹⁶¹ (Bertelo i Pen de Sent-Žil) su prvi uočili uticaj rastvarača na brzine hemijskih reakcija primetivši da se reakcija usporava dodatkom neutralnih rastvarača.

Promene intenziteta i položaja traka su posledica različitih vrsta intermolekulskih interakcija kao što su: dipol-dipol, dipol-indukovani dipol, jon-dipol, vodonične veze i dr. između rastvarača i rastvorene supstance. Uticaj rastvarača na UV-Vis spektre odnosno na pomeranje i promenu intenziteta apsorpcionih traka naziva se solvatohromizam. *Hipsohromno* pomeranje se odnosi na pomeranje apsorpcionog maksimuma ka manjim talasnim dužinama usled povećanja polarnosti rastvarača i predstavlja negativni solvatohromizam. U suprotnom, odnosno pomeranje apsorpcionih maksimuma ka većim talasnim dužinama usled polarnosti rastvarača označava *barohromno* pomeranje ili pozitivni solvatohromizam.

Izražena solvatohromna svojstva pokazivaće molekuli koji sadrže π -elektrone usled kojih se značajno razlikuje raspodela naelektrisanja u osnovnom i pobuđenom stanju. Relativno mali uticaj rastvarača na UV-Vis spektre zapaža se kod sledećih jedinjenja: aromatična

jedinjenja (bez elektron-donorskih i/ili akceptorskih grupa, npr. benzen), polieni (npr. likopen, karotinoide), poliini (npr. poliacetileni) i simetrične polimetinske boje.

2.4.2. Efekat rastvarača-višeparametarski pristup

Svojstvo polarnosti rastvarača omogućava da se uticaj rastvarača na reaktivnost organskih molekula sagleda kvalitativno. Za kvantitativno sagledavanje uticaja rastvarača pomoću fizičkih konstanti neophodno je korišćenje skala polarnosti rastvarača koje se zasnivaju na poznatim reakcijama osetljivim na rastvarače. Na osnovu ovakvih reakcija izražava se empirijska mera polarnosti rastvarača, tj. empirijska mera njegove solvatacione moći u korišćenoj model reakciji. Empirijski parametri polarnosti dobijeni na osnovu jedne reakcije nisu univerzalni i ne mogu da se primene na sve ostale.

Uticaji rastvarača na reaktivnost organskih jedinjenja i njihove apsorpcione spektre su složeniji i često specifičniji u poređenju sa uticajima supstituenata. Svojstvo polarnosti rastvarača omogućava da se ti uticaji sagledaju samo kvalitativno. Međutim, nemogućnost da se uticaji rastvarača i kvantitativno izraze, preko fizičkih konstanti, podstakla je uvođenje empirijskih skala. Empirijske skale polarnosti rastvarača se zasnivaju na poznatim reakcijama, koje su osetljive na rastvarače. Njima se izražava empirijska mera polarnosti rastvarača, odnosno empirijska mera njegove solvatacione moći u datoj model reakciji. Empirijski parametri polarnosti koji su određeni na osnovu jedne reakcije nisu univerzalni i ne mogu se primetiti na sve ostale usled jer sposobnost solvatacije rastvarača ne zavisi samo od polarnosti rastvarača, već i od svih intermolekularnih interakcije.

Razdvajanjem efekata rastvarača na različite vrste interakcija između molekula rastvarača i rastvorene supstance, dobijeni parametri mogu objasniti njihove veličine. Ovakav aspekt razmatranja solvatacije predstavlja višeparametarski pristup u kojem se svaki parametar odnosi na određenu interakciju u ukupnoj solvataciji molekula. Na osnovu ovog pristupa moguće je predvideti vrednosti zavisno promenljive na osnovu vrednosti nezavisno promenljivih. On se može primetiti na set podataka dobijenih za veliki broj dobro odabranih rastvarača.

Uticaj pojedinačnih vrsta interakcija na efekte rastvarača nije moguće uvek razdvojiti usled čega se efekti rastvarača mogu na dve grupe doprinosa: specifične (donor-akceptor,

kiselo-bazne uz uključene vodonične veze) i nespecifične (potiču od delovanja rastvarača kao dielektričnog kontinuuma) interakcije.

2.4.2.1. Kamlet-Taftova skala polarnosti

Kamlet i Taft su razvili višeparametarsku solvatohromnu jednačinu¹⁶² koja predstavlja linearnu korelaciju energije solvatacije (LSER, engl. linear solvation energy relationship):

$$A = A_0 + s(\pi_1^* + d\delta) + a\alpha_1 + b\beta_1 \quad (2.11)$$

Veličina A označava fizičko–hemijско svojstvo rastvorene supstance čija se zavisnost od rastvarača ispituje; A_0 je ekstrapolisana vrednost svojstva u cikloheksanu kao referentnom rastvaraču.

Parametar π_1^* predstavlja meru polarnosti/polarizabilnosti rastvarača i funkcija je njegovog dipolnog momenta $\mu = -0,1 + 4,3\pi_1^*$. Može imati vrednosti od 0,00 (cikloheksan) do 1,00 (DMSO).

Parametar $d\delta$ se koristi za korekciju polarizabilnosti i iznosi 0 (nehlorovani alifatični rastvarači), 0,5 (polihlorosupstituisani alifatični rastvarači) i 1,00 (aromatični rastvarači) usled najveće razlike u polarizabilnosti između tri navedene grupe rastvarača.

Parametar α_1 opisuje sposobnost rastvarača da bude donor protona (odnosno akceptor elektronskog para) u vodoničnoj vezi. Njegove vrednosti se nalaze u rasponu od 0,00 (nepolarni aprotični rastvarači, npr. *n*-heksan) do 1,00 (metanol). Sa druge strane parametar β_1 objašnjava sposobnost rastvarača da primi proton (odnosno da preda elektronski par) u vodoničnoj vezi i ima vrednosti između 0,00 (nepolarni aprotični rastvarači, npr. *n*-heksan) i 1,00 (triamid heksametilfosforne kiseline).¹⁶³

Koeficijenti s , d , a i b predstavljaju kvantitativnu meru uticaja skale, odgovarajućih parametara rastvarača. Pošto su α , β i π_1^* normalizovane skale, uzima se da količnici a/s , b/s ili a/b ukazuju na kvantitativnu meru relativnog doprinosa jednog određenog parametra u odnosu na drugi.

Jedan od nedostataka Kamlet–Taftove skale je nemogućnost opisivanja solvatohromnih svojstva nepolarnih supstanci koje ne uspostavljaju vodonične veze sa rastvaračem, jer su dipolarnost i polarizabilnost rastvarača predstavljene samo jednim parametrom π^* . Određivanje Kamlet–Taftovih parametara se ne zasniva na definisanom referentnom procesu,

već se dobijaju usrednjavanjem rezultata merenja različitih referentnih jedinjenja što takođe predstavlja nedostatak.

Primenjena na UV-Vis apsorpcione frekvence Kamlet-Taftova jednačina ima oblik:

$$\nu_{max} = \nu_o + a\alpha + b\beta + s\pi^* \quad (2.12)$$

u kojoj parametar π^* označava polarnost/polarizabilnost i zasnovan je na pomeranjima apsorpcionih frekvenci $\pi \rightarrow \pi^*$ prelaza nekoliko referentnih jedinjenja,¹⁶⁴ ν_o predstavlja apsorpcionu frekvencu rastvorene supstance u referentnom sistemu, a ν_{max} je apsorpciona frekvencija jedinjenja u određenom rastvaraču.

2.5. Teorija funkcionala gustine (DFT)

Napredak u razvoju računarske tehnologije omogućio je transformaciju čiste teorije na računarske programe. Na taj način je olakšano rešavanje talasne jednačine za složeni atomski sistem prevođenjem u jednostavan zadatak, kao i u razumevanje hemijskih principa. Izračunavanje elektronske strukture molekula zasniva se na dva pristupa: teoriji talasne funkcije (WFT, *eng.* Wave Function Theory) i teoriji funkcionala gustine (DFT, *eng.* Density functional Theory). WFT se temelji na *Schrödinger*-ovoj (Šredingerovoj) jednačini,¹⁶⁵ a nakon toga je razvijen DFT na temelju broja aproksimacija.^{166,167} Napredak DFT-a učinio je kvantnu hemiju mostom koji povezuje hemiju, fiziku i matematiku.

Za predviđanje svojstava atoma, molekula i drugih sistema neophodno je temeljno poznavanje ravnotežne geometrije odnosno strukture, vibracionih frekvencija, elektronske gustine, raznih ukupnih energija kao i linearne i nelinearne zavisnosti na spoljašnja statička ispitivanja. Jedan od načina dobijanja potrebnih svojstava je rešavanje Šredingerove jednačine za N elektrona (N broj elektrona) u osnovnom stanju. Pomoću računarskih metoda može se postići velika efikasnost i za velike vrednosti N. Osnovni cilj DFT-a je da zameni mnoge složene i teško izračunljive talasne funkcije elektrona koje sadrže 3N varijable (N elektrona sa tri prostorne promenljive) sa funkcijom elektronske gustine koja ima samo tri varijable. DFT *Kohn-Sham*-a^{168,169} (Kon-Šama) je predvideo elektronsku gustinu osnovnog stanja, ukupnu energiju i druga povezana svojstva korišćenjem spina. Stoga, ovaj svestrani metod za proračun elektronske strukture kondenzuje fizičku materiju i kvantnu hemiju.

Upotreba DFT-a zauzima vodeće mesto u savremenim naučnim radovima čime njegov značaj konstantno raste. Izuzetnost DFT metode se zasniva na najboljem odnosu preciznosti rezultata i kompjuterskih resursa.^{167,170,171} Prve dve publikacije sa praktičnom primenom DFT-a objavljene su sredinom 60-tih godina XX veka od strane *Hohenberg-a* (Hohenberga), Kona i Šama, kada je zapažena kao najuspešniji pristup za izračunavanje elektronske strukture materije.^{172,173} Zbog svoje specifičnosti, DFT metoda se primenjuje u proučavanju različitih vrsta materije (atoma, molekula), kompleksnih materijala, pobuđenih i prelaznih stanja, međumolekulskih interakcija, mehanizama hemijskih reakcija, određivanju NMR spektara i drugih fizičko-hemijskih parametara ispitivanih jedinjenja.

U svojoj formulaciji, DFT metoda se zasniva na činjenici da se poznavanjem elektronske gustine osnovnog stanja sistema, mogu veoma precizno, odrediti različita svojstva molekula, kao što su: geometrija, električna i magnetna svojstva, jonizaciona energija, vibracione frekvencije i dr.

Glavni cilj svih kvantnohemjskih pristupa je rešenje nerelativističke, vremenski nezavisne Šredingerove jednačine:

$$\hat{H}\Psi(r_1, \dots, r_N) = E\Psi(r_1, \dots, r_N) \quad (2.13)$$

u kojoj je višeelektronska talasna funkcija $\Psi(r_1, \dots, r_N)$ funkcija od $3N$ promenljivih (N elektrona sa tri prostorne promenljive). Eksplicitnim rešavanjem Šredingerove jednačine moglo bi se predvideti ponašanje bilo kog elektronskog sistema što nažalost nije moguće usled postojanja velikog broja slobode. DFT metoda opisuje sistem elektrona koji međusobno interaguju preko njihove gustine a ne preko višeelektronske talasne funkcije. Na osnovu toga, za sistem od N elektrona koji se ponašaju u skladu sa Paulijevim principom i međusobno odbijaju elektrostatičkim interakcijama, osnovna promenljiva sistema tj. elektronska gustina zavisi samo od tri prostorne koordinate x , y i z .

DFT metoda se zasniva na dve teoreme koje su objavili Hohenberg i Kon,¹⁷² i seta jednačina koje su dobijene iz ovih teorema od strane Kona i Šama.¹⁷³ Prva teorema glasi:

„Energija osnovnog stanja iz Šredingerove jednačine je jedinstveni funkcional elektronske gustine“

Prema ovoj teoremi elektronska gustina određuje sva svojstva osnovnog stanja sistema, odnosno rešavanjem Šredingerove jednačine dobija se energija osnovnog stanja sistema. Ova

teorema ne objašnjava prirodu funkcionala pomoću kojeg se može odrediti energija osnovnog stanja, što je uslovalo da druga Hohenberg-Konova teorema glasi:

„Elektronska gustina koja minimizuje energiju ukupnog funkcionala je prava elektronska gustina koja odgovara potpunom rešenju Šredingerove jednačine“

Ova teorema dokazuje postojanje varijacionog principa u DFT metodama koji je ograničen samo na molekule u osnovnom stanju i ne može se primeniti na pobuđena stanja.

Ove dve teoreme su osnova DFT metode, ali ne pružaju informacije o načinu na koji se mogu izvoditi proračuni. Kon i Šam su pokazali da se problem pronalaženja prave elektronske gustine može rešiti uvođenjem seta jednoelektronskih jednačina.¹⁷³ Elektronska gustina ima isti izraz (2.14) kao da je izvedena iz Sletjerove determinante:

$$\rho(\mathbf{r}) = \sum_i |\Psi_i(\mathbf{r})|^2 \quad (2.14)$$

gde Ψ_i predstavlja popunjene atomske/molekulske orbitale, nazvane Kon-Šamove orbitale. Kon i Šam su predložili izračunavanje kinetičke energije neinteraktivnog sistema pomoću iste gustine kao kod realnog, interagujućeg sistema, gde se neinteragujućeg elektroni kreću u polju efektivnog potencija ostalih elektrona. Ukupna elektronska energija se može podeliti na “poznate” i “nepoznate” termove (2.15):

$$E[\mathbf{r}] = T_s[\mathbf{r}] + E_{ext}[\mathbf{r}] + E_{Coul}[\mathbf{r}] + E_{xc}[\mathbf{r}] \quad (2.15)$$

“Poznati” termovi su: kinetička energija elektrona T_s , elektron-jezgro privlačenje E_{ext} , elektron-elektron odbijanje E_{Coul} , i “nepoznati” term izmene-korelacije (exchange-correlation) E_{xc} . Jedini izraz za koji se ne može napisati eksplicitna forma funkcionala je E_{xc} .

Minimizacijom funkcionala energije se dobijaju Kon-Šamove jednačine:

$$\left[-\frac{\hbar^2}{2m} \nabla^2 + V_{eff}(\mathbf{r}) \right] \Psi_i(\mathbf{r}) = \varepsilon_i \Psi_i(\mathbf{r}) \quad (2.16)$$

$$V_{eff}(\mathbf{r}) = V_{ext}(\mathbf{r}) + V_H(\mathbf{r}) + V_{xc}(\mathbf{r}) \quad (2.17)$$

$$\rho(\mathbf{r}) = \sum_i |\Psi_i(\mathbf{r})|^2 \quad (2.18)$$

$$V_{xc} = \frac{\delta E_{xc}}{\delta \rho(\mathbf{r})} \quad (2.19)$$

Kon-Šamove jednačine se mogu rešavati isključivo iterativnim tehnikama pomoću metode samosaglasnog polja jer efektivni potencijal V_{eff} zavisi od $n(\mathbf{r})$, odnosno od $\Psi(\mathbf{r})$, što predstavlja rešenje jednačina. Na osnovu izračunatih energija i funkcija moguće je dobiti ostale karakteristike osnovnog stanja kao što su: ukupna energija osnovnog stanja, gustina naelektrisanja, vibraciona svojstva molekula i dr.

Potencijal izmene-korelacije (V_{xc}) opisuje efekte Paulijeve izmene i Kulonovih interakcija uključujući čisto elektrostatičko odbijanje između elektrona i njihovu kvantnu prirodu. Ovaj term je definisan kao funkcional izvoda energije izmene-korelacije (E_{xc}) u odnosu na elektronsku gustinu. Pronalaženje i matematičko opisivanje ovog funkcionala je veoma zahtevno, usled čega su razvijeni brojni aproksimativni funkcionali za uključivanje ovih efekata u DFT formalizam. Na osnovu teorijskih postavki na kojima se zasnivaju, aproksimativni funkcionali se mogu podeliti u tri velike grupe: aproksimacija lokalne gustine (LDA, *eng.* Local Density Approximation), aproksimacija generalizovanog gradijenta (GGA, *eng.* Generalized-Gradient Approximation) i hibridni funkcionali (Hybrid Functional).

2.5.1. Aproksimativni funkcionali

Prvi pokušaji da se proceni vrednost funkcionala izmene-korelacije su se zasnivali na aproksimaciji lokalne gustine. U LDA metodi E_{xc} se računa pod pretpostavkom da se sistem lokalno ponaša kao uniformni elektronski gas, odnosno:

$$E_{xc} = \int \rho(\mathbf{r}) \epsilon_{xc}^{LDA}(\rho(\mathbf{r})) \quad (2.20)$$

$\epsilon_{xc}^{LDA}(\rho)$ predstavlja gustinu izmenseko-korelacione energije elektrona u uniformnom gasu gustine ρ . Primenom aproksimacije lokalne gustine dobijeni su iznenađujuće dobri proračuni ukupne elektronske energije. Međutim, pošto ova metoda sistematski precenjuje vrednosti energije veza i loše reprodukuje termohemijska svojstva molekula, njihova upotreba u računarskoj hemiji je veoma mala.

Druga klasu funkcionala koji imaju znatno veću primenu u računarskoj hemiji i daju bolje rezultate u odnosu na LDA funkcional, čine funkcionali koji se zasnivaju na aproksimaciji generalizovanog gradijenta. U ovoj aproksimaciji funkcional izmene-korelacije zavisi i od vrednosti elektronske gustine i od njenog gradijenta (2.24):

$$E_{xc} = \int \rho(\mathbf{r}) \varepsilon_{xc}^{GGA}(\rho(\mathbf{r}), \nabla \rho(\mathbf{r})) d\mathbf{r} \quad (2.21)$$

Lokalne nehomogenosti elektronske gustine se mogu uzeti u obzir pomoću zavisnosti energija izmene-korelacije od gradijenta elektronske gustine. Za razliku od LDA funkcionala, izraz za određivanje ε_{xc}^{GGA} nije jedinstven, usled čega postoje brojni funkcionali koji se zasnivaju na aproksimaciji generalizovanog gradijenta (GGA). Ovi funkcionali se međusobno razlikuju po: broju ograničenja koja ispunjavaju, broju parametara koje poseduju kao i količini empirijskih podataka koji su korišćeni prilikom njihove konstrukcije. Najpoznatiji i najčešće korišćeni GGA funkcionali su PW91,¹⁷⁴ PBE¹⁷⁵ i BLYP.¹⁷⁶

Generalno posmatrano, GGA funkcionali daju znatno bolje rezultate u odnosu na LDA funkcionala ali se ne mogu koristiti pri računanju stanja daleko od minimuma, kao što su energije hemijskih reakcija. GGA funkcionali su veoma zastupljeni za proračunavanje molekula u čvrstom stanju jer daju precizne geometrije, elastična svojstva periodičnih čvrstih tela i kvalitativno ispravnu strukturu elektronskih traka. Ipak, ovi funkcionali sistematski potcenjuju razliku u energiji između elektronskih traka.

Meta-GGA funkcionali povećavaju fleksibilnost funkcionala izmene-odbijanja dodajući Kon-Šamovu gustinu kinetičke energije (τ_{KS}) elektronskoj gustini i njenom izvodu (2.22, 2.23):

$$E_{xc} = \int \rho(\mathbf{r}) \varepsilon_{xc}^{GGA}(\rho(\mathbf{r}), \nabla \rho(\mathbf{r}), \nabla^2 \rho(\mathbf{r}), \tau_{KS}(\mathbf{r})) d\mathbf{r} \quad (2.22)$$

$$\tau_{KS}(\mathbf{r}) = -\frac{1}{2} \sum_i |\nabla_i(\mathbf{r})| \quad (2.23)$$

Usled povećane fleksibilnosti meta-GGA funkcionali su tačniji prilikom izračunavanja svojstava molekula u odnosu na GGA i LDA funkcionala.

Pomenuti funkcionali (LDA, GGA i meta-GGA) su funkcionali semilokalnog tipa jer gustina energije izmene-korelacije u nekom delu prostora zavisi samo od svojstva tog dela prostora. Beke je pokazao da je moguće značajno poboljšati proračune termohemijskih svojstava molekula korišćenjem GGA funkcionala uz dodatak dela energije izmene izračunate *Hartree-Fock*-ovom (Hatre-Fokovom) metodom na Kon-Šamovim orbitalama.¹⁷⁷

Upotreba ove dodate Hatre-Fokovove izmene se može opravdati uvođenjem formule adijabatskog povezivanja:^{178,179}

$$E_{xc}[\rho] = \int_0^1 \left(\langle \sum_{i>j} r_{ij}^{-1} \rangle_\lambda - J[\rho^\lambda] \right) d\lambda = \int_0^1 U_{xc}^\lambda d\lambda \quad (2.24)$$

gde vrednost $\lambda = 0$ predstavlja neinteragujući Kon-Šam sistem, dok je $\lambda = 1$ potpuno realan sistem, tj. parametar λ pokreće korelacije elektrona. Pomoću parametra λ može se uključivati ili isključivati računanje elektronske korelacije. Potencijal izmenske-korelacije (U_{xc}) za vrednost $\lambda = 0$ predstavlja tačnu Hatre-Fokovovu energiju izmene računatu sa Kon-Šamovim orbitalama (2.25).

$$U_{xc}^0 = -\frac{1}{2} \sum_{ij}^{occ} \int \frac{\psi_i^*(\mathbf{r}_1)\psi_j^*(\mathbf{r}_2)\psi_j^*(\mathbf{r}_1)\psi_i^*(\mathbf{r}_2)}{r_{12}} d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2 \quad (2.25)$$

Funkcional izmene-korelacije se može aproksimirati interpolacijom između poznatog $\lambda = 0$ limita (Hatre-Fokovova izmena) i $\lambda = 1$ predstavljenog semilokalnim funkcionalom izmene-korelacije (2.26):

$$E_{xc}[\rho] = a_x U_{xc}^0 + (1 - a_x) E_{xc}^{semilocal}[\rho] \quad (2.26)$$

Funkcionalni koji koriste deo Hatre-Fokovove izmene nazivaju se hibridni funkcionali. Oni ne pripadaju semilokalnim funkcionalima jer računanje Hatre-Fokovove izmene zahteva dvostruko integraljenje celog realnog prostora usled čega njihova primena zahteva više računarskog vremena. Najpoznatiji hibridni funkcionali su B3LYP,¹⁸⁰ TPSSH,¹⁸¹ PBE1PBE¹⁸² i M06.¹⁸³

2.5.2. Bazis setovi

Značajan element za molekulske modelovanje su bazisni setovi ili kraće bazisi. U velikoj meri utiču na tačnost i dužinu proračuna. Predstavljaju skupove vektora koji definišu prostor u kome se posmatra i rešava neki problem, odnosno set talasnih funkcija koje opisuju oblik atomskih orbitala. To su matematičke funkcije (bazisne, osnovne funkcije) čije linearne kombinacije grade molekulske orbitale. Može se koristiti linearna kombinacija bilo kog skupa matematičkih funkcija koje su pogodne za manipulisanje ukoliko njihova linearna kombinacija daje dobar prikaz molekulske orbitale.

Za opisivanje raspodele elektrona oko atoma mogu se koristiti različite vrste funkcija pri čemu se Slejterove (semi-empirijski proračuni) i Gausove (*ab initio* i DFT pristup) funkcije

najviše primenjuju jer su najjednostavnije. Obe funkcije imaju određene nedostatke, usled čega se za poboljšanje efikasnosti vrši aproksimiranje Slejterovih funkcija Gausovim. Ova vrsta rešenja poboljšava efikasnost ali nije sasvim adekvatna jer Gausove funkcije neuporedivo lošije prikazuju raspodelu elektrona oko atoma u odnosu na Slejterove funkcije. Na taj način se došlo do odgovarajućeg rešenja u kojem se Slejterove funkcije aproksimiraju sa više Gausovih funkcija.

Za DFT metodu, u kombinaciji sa B3LYP funkcionalom, od posebnog je značaja 6-31G(d) bazis u kojem brojevi 6 i 3 označavaju aproksimacije Slejterovih orbitala sa Gausovim funkcijama i obrnuto. Broj 1 ukazuje da su sa po jednom Gausovom funkcijom zamenjene sve ostale Slejterove orbitale. Slovo d pokazuje da se orbitalama „dozvoljava“ da budu pomerenije u jednu stranu. Ovaj bazis se može poboljšati dodavanjem polarizacionih funkcija i na lake atome, tj. atome vodonika (proton), kada se pomenuti bazis označava kao 6-31G(d,p).

2.5.3. Molekulski deskriptori

Veličine čije numeričke vrednosti opisuju određeno fizičko-hemijsko svojstvo predstavljaju molekulske deskriptore. Broj potrebnih molekulskih deskriptora za izražavanje određenog svojstva zavisi od složenosti ispitivanog sistema. S obzirom da kvantitativna analiza povezanosti između strukture jedinjenja i njegove aktivnosti podrazumeva predviđanje fizičko-hemijskih svojsta na osnovu molekulske strukture, pravilan izbor i primena molekulskih deskriptora je od ključnog značaja. Postoji veliki broj molekulskih deskriptora a ovde će biti navedeni samo oni korišćeni tokom izrade ove disertacije.

2.5.4. Mape molekuskog elektrostatičkog potencijala

Elektronska gustina opisuje raspodelu elektrona u molekulu i veoma je značajna za njegova hemijska svojstva. Pošto molekuli predstavljaju dinamički sistem sastavljen od protona i elektrona procena elektronske gustine nije lak zadatak i ne može se rešiti metodama klasične mehanike. Savremene metode za određivanje elektronske gustine molekula se uglavnom zasnivaju na kvantnohemijskim proračunima.^{184,185}

Mape molekuskog elektrostatičkog potencijala (MEP; *eng.* molecular electrostatic potential) pokazuju potencijal koji će jedinica pozitivnog naelektrisanja osetiti u bilo kojoj tački oko molekula usled raspodele elektronske gustine i jezgara u molekulu. One se dobijaju kada se na izoelektronsku površinu oko molekula (zakrivljena površina oko molekula koja povezuje tačke iste elektronske gustine) mapira vrednost elektrostatičkog potencijala za svaku tačku. Regioni sa pozitivnom vrednostima elektrostatičkog potencijala se po dogovoru prikazuju plavom bojom, dok se regioni negativnog potencijala označavaju crvenom bojom.¹⁸⁶

Vrednost elektrostatičkog potencijal se smatra značajnom za predviđanje hemijske reaktivnosti molekula. Veće, pozitivne vrednosti elektrostatičkog potencijala ukazuju na relativno odsustvo negativnog naelektrisanja dok male, negativne vrednosti ukazuju na veću zastupljenost elektrona. U skladu sa time, očekuje se da će regioni negativnog potencijala biti mesta protonacije i elektrofilnog napada, dok regioni pozitivnog potencijala mogu ukazivati na elektrofilnost i mesta nukleofilnog napada.¹⁸⁴

Elektronski parametri jedan su od značajnijih faktora koji regulišu interakciju leka i receptora, usled čega mapa molekuskog elektrostatičkog potencijala (MEP) može biti alternativni pristup za razumevanje elektrostatičkih doprinosa biološkoj aktivnosti ispitivanih molekula.

Za konstrukciju mape molekuskog elektrostatičkog potencijala potrebna su tri koraka: konstrukcija površine jednake elektronske gustine oko molekula, računanje elektrostatičkog potencijala na svakoj tački izoelektronske površine i nanošenje boja za označavanje površine dobijenim vrednostima potencijala.

Molekulski elektrostatički potencijal $V(r)$ predstavlja fizičku veličinu koju generišu elektroni i jezgra i on se može odrediti eksperimentalno difrakcionim metodama kao i računarskim putem.¹⁸⁷ U određenoj tački (x, y, z) u blizini molekula molekulski elektrostatički potencijal je definisan u smislu energije interakcije između elektronskog naelektrisanja generisanog od elektrona i jezgra koje potiče iz molekula i pozitivnog ispitivanog (test) naelektrisanja (protona) lociranog na udaljenosti r . Za ispitivano jedinjenje vrednost $V(r)$ se izračunava pomoću jednačine (2.27):¹⁸⁷

$$V(r) = \sum_A \frac{Z_A}{|R_A - r|} - \int \frac{\rho(r')}{|r' - r|} dr' \quad (2.27)$$

u kojoj Z_A označava naelektrisanje jezgra A, koje se nalazi na R_A , $\rho(r')$ je funkcija elektronske gustine molekula a r' varijabla integraljenja.

2.5.5. HOMO i LUMO

HOMO i LUMO predstavljaju granične molekulske orbitale, odnosno najvišu popunjenu molekulsku orbitalu (HOMO *eng.* Highest Occupied Molecular Orbital) i najnižu praznu molekulsku orbitalu (LUMO *eng.* Lowest Unoccupied Molecular Orbital). Po jednostavnijim teorijama elektronskih prelaza, kada molekul apsorbuje svetlost, elektron postaje pobuđen i prelazi iz HOMO u LUMO. Razlika u energiji između ove dve granične orbitale određuje i talasnu dužinu apsorpcionog maksimuma. Ova razlika u energijama se označava kao HOMO-LUMO energija ili kao HOMO-LUMO rastojanje (GEP). Što je manja HOMO-LUMO energija veća je reaktivnost molekula.¹⁸⁸ Po pravilu, molekuli sa velikim vrednostima energije HOMO su elektron-donori dok su molekuli sa niskim vrednostima energije LUMO elektron-akceptori.

HOMO energija je direktno povezana sa jonizacionim potencijalom molekula i karakteriše njegovu sposobnost da izvrši nukleofilni napad. Sa druge strane, LUMO energija je direktno povezana sa afinitetom prema elektronu i predstavlja osetljivost jedinjenja u odnosu na nukleofilni napad.¹⁸⁹

HOMO i LUMO energije se već decenijama koriste kao indikatori hemijske reaktivnosti i često se korelišu sa drugim važnim parametrima kao što su afinitet prema elektronu, jonizacioni potencijal i dr.¹⁹⁰⁻¹⁹⁴

Na osnovu DFT proračuna mogu se generisati HOMO i LUMO deskriptori. Deskriptor HOMO energije suprotnog znaka se naziva jonizacionim potencijalom i predstavlja meru nukleofilnosti molekula, dok suprotna vrednost LUMO deskriptora označava njegovu elektrofilnost.

Za molekulsko modelovanje, veoma važan kvantno-molekulski deskriptor i indikator stabilnosti predstavlja HOMO-LUMO rastojanje. Što je veća vrednost ovog deskriptora veća je stabilnost molekula i obrnuto, manja vrednost ukazuje na manju stabilnost ispitivanog molekula.

$$GEP = E_{LUMO} - E_{HOMO}$$

2.5.6. Spektroskopija i spektroskopske veličine

Proveravanje primenljivost određenog nivoa teorije molekuskog modelovanja može se izvršiti izračunavanjem spektroskopskih veličina. Od izuzetnog značaja su predviđanje IR, NMR, Ramanovih i UV-Vis spektara.

Pomoću vremenski zavisne teorije funkcionala gustine (TD-DFT, *eng.* Time Dependant - Density Functional Theory) mogu se proračunati talasne funkcije molekulskih orbitala koje osciluju između osnovnog i pobuđenog stanja. Izračunati UV-Vis spektri se dobijaju na osnovu elektronskih prelaza iz osnovnog u pobuđeno stanje primenom TD-DFT metode.

U ovom radu primenjeni su TD-DFT proračuni za izračunavanje teoretskih apsorpcionih spektara u gasovitoj fazi i pojedinim rastvaračima.

2.6. Topološka analiza gustina naelektrisanja, Bader-ova (Baderova) analiza

Teorija funkcionala gustine (DFT) se najčešće koristi za izračunavanje mnogih elektronskih interakcija između atoma u molekulima kao i u čvrstom stanju. Tačno opisivanje ovih složenih interakcija je veoma složeno, ali takođe može biti izazovno izvršiti racionalizaciju izračunatih energija.¹⁹⁵ Jedna moćna i slikovita tehnika za to predstavlja razlaganje svojstva molekula ili materijala na doprinose pojedinačnih atoma. Bader je predložio elegantan način za tu podelu.¹⁹⁶ Njegova ideja se sastojala u primeni topološke analize gustine naelektrisanja za podelu prostora unutar molekulskih sistema na atomske (Baderove) zapremine. Svaka Baderova zapremina sadrži jedan maksimum elektronske gustine koji je odvojen od drugih zapremina površinama na kojima je gustina naelektrisanja minimum. Uobičajeno postoji jedan maksimum elektronske gustine na svakom atomskom centru i jedna Baderova zapremina za svaki atom, što nije uvek obavezno jer postoje slučajevi u kojima Baderova zapremina ne sadrži jezgro.¹⁹⁷ Deljene površine, odnosno površine nultog fluksa koje razdvajaju ove zapremine se nalaze na hemijskim vezama između atoma. Prednost Baderove raspodele u odnosu na druge šeme raspodele (npr. *Mulliken*-ova populaciona analiza) se ogleda u tome što se zasniva na ispitivanju elektronske gustine, i predstavlja opservablu koja se može eksperimentalno izmeriti ili teorijski izračunati. Osim toga izračunavanja elektronske gustine su veoma malo osetljiva na primenjeni bazis set. U tom pogledu, Baderova analiza je obimnija od ostalih metoda raspodele koje se temelje na talasnoj funkciji.^{198–200}

Postoji nekoliko različitih pristupa za izračunavanje Baderovih zapremina. Prvi algoritmi su primenjeni za kvantnohemijske proračune malih molekula, u kojima se može izračunati gradijent gustine naelektrisanja iz derivata analitičke talasne funkcije.^{196,201,202} Ove metode prvo pronalaze stacionarne tačke u gustini naelektrisanja, a zatim slede putanje duž gradijenta gustine iz ovih tačaka kako bi mapirali njihovu povezanost sa površinom nultog fluksa. Sa podeljenim površinama prikazanim na ovaj način, naelektrisanje u svakoj Baderovoj zapremini može se radijalno integraliti od maksimuma gustine naelektrisanja do površine nultog fluksa. Ova vrsta pristupa je primenljiva samo na male molekule jer zahteva značajne računarske resurse ukoliko se primeni na velike sisteme.^{198,203}

Predloženo je nekoliko poboljšanja izvornog pristupa. *Popelier* (Popelije) je razvio metod za preciznije integrisanje gustine naelektrisanja unutar svake Baderove zapremine primenom *Fourier-Chebyshev*-ovog (Furije-Šebiševog) fitovanja²⁰⁴ i metod bisekcije kako bi analitički predstavili deljene površine.²⁰⁵ Drugi pristupi koje je predložio Popelije uključuju korišćenje teoreme divergencije kao zamene trodimenzionalne integracije preko Baderovih zapremina u dvodimenzionalni integral preko deljenih površina,²⁰³ i primenu pretraživanja granjanja za složenije topologije vezivanja između kritičnih tačka.^{206,207} Interesantno je napomenuti da se početak i razvoj Baderove teorije vremenski poklapaju sa postavkom i razvojem osnova teorije funkcionala gustine (DFT).

Osnovu Baderove teorije atoma u molekulu (AIM, *eng.* Atoms in Molecules) predstavlja analiza raspodele elektronskog naelektrisanja, po čemu se suštinski razlikuje od orbitalnih metoda u kojima se do kvantitativnih svojstava dolazi na osnovu talasne funkcije. AIM teorija je utemeljena na proširivanju domena kvantne mehanike na podsistem odnosno atom u molekulu, pomoću koga se mogu predvideti svojstva atoma u okviru posmatranog sistema. Iz topološke analize naelektrisanja može se odrediti koncept atoma, veza, strukture i strukturne stabilnosti.

U ovoj doktorskoj disertaciji primenjena je Baderova analiza naelektrisanja za dobijanje podataka o raspodeli elektronske gustine pomoću Baderovih zapremina što predstavlja dobru aproksimaciju za ukupno elektronsko naelektrisanje atoma. Pomoću ove analize izračunate su razlike parcijalnih atomskih naelektrisanja između pobuđenog i osnovnog stanja kao i promene u ukupnoj elektronskoj gustini molekula.

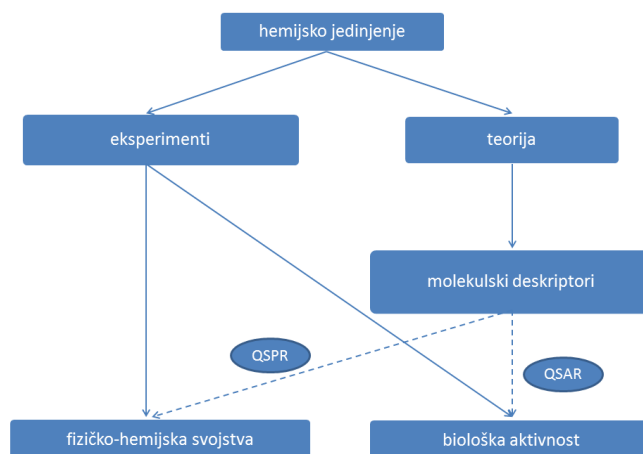
2.7. Analiza odnosa između strukture i aktivnosti/svojstava organskih molekula (QSAR/QSPR)

Broj mogućih organskih hemijskih jedinjenja je izuzetno veliki i nemoguće je potvrditi da će ikada sva biti sintetisana i ispitana. Na osnovu poznatih hemijskih zakona koji definišu hemijsku strukturu, odnosno udruživanje atoma u molekule, mogu se predvideti moguće strukture molekula. Mnoga hemijska svojstva, biološka aktivnost kao i fizička svojstva (boja, gustina, tačka topljenja i dr.) direktno zavise od strukture jedinjenja. Takođe je poznato da se strukturno slična jedinjenja slično ponašaju. Na osnovu molekulske strukture moguće je predvideti određena svojstva molekula pomoću molekulskih deskriptora i odgovarajućih matematičkih modela.

Molekulski deskriptori su parametri koji predstavljaju numeričke vrednosti određenih svojstava hemijskih jedinjenja. Prema definiciji, oni su konačni rezultat logičkog i matematičkog postupka koji pretvara hemijsku informaciju sadržanu u simboličkom predstavljanju molekula u numeričku vrednost ili su rezultat nekog standardizovanog eksperimenta. Računskim (primenom određenog matematičkog modela) ili eksperimentalnim putem se može doći do numeričke vrednosti molekuskog deskriptora. Sa povećanjem složenosti proučavanog sistema, raste i broj molekulskih deskriptora koji je potrebno upotrebiti za izražavanje posmatranog svojstva.

Izbor molekulskih deskriptora je veoma važan za dobijanje zadovoljavajućih i smislenih korelacija, i oni zapravo predstavljaju od najznačajnijih parametara u formiranju modela. U osnovi svakog matematičkog modela koji povezuje svojstva molekula sa molekulskim deskriptorima nalazi se empirijska matematička funkcija koja uz pomoć molekulskih deskriptora, u što je moguće većoj meri, precizira ispitivano svojstvo. Matematički model čiji je cilj da poveže hemijsku strukturu i biološku aktivnost molekula skraćeno se označava sa QSAR (eng. Quantitative Structure Activity Relationship), dok se model koji povezuje hemijsku strukturu i fizičko-hemijska svojstva molekula obeležava sa QSPR (eng. Quantitative Structure Property Relationship). Ova veza je prikazana na Slici 2.35.

Pomoću QSAR analize mogu se u velikoj meri izbeći složena i skupa istraživanja, sinteze, eksperimentalna merenja kao i uštedeti dragoceno vreme. Ova analiza ima izuzetan doprinos u farmaceutskoj industriji pri otkrivanju nove supstance kao potencijalnog leka jer obuhvata razumevanje odnosa između strukture, svojstava i dejstva lekova, osmišljavanje lekova sa poboljšanim svojstvima kao i predviđanje svojstava molekula pre sinteze.



Slika 2.35 Dijagram mogućih puteva za izračunavanje svojstava hemijskih molekula

U XIX-om veku objavljeni su prvi radovi u kojima je tumačena veza između strukture i biološke aktivnosti jedinjenja.²⁰⁸ Osnove QSAR-a koje i danas poznajemo postavljene su u periodu od 1962 do 1964. godine od strane *Hansch*-a a (Hanša).²⁰⁹ U klasičnoj QSAR analizi najčešće se koriste sledeći fizičko-hemijski parametri:

- Hametove σ vrednosti, koje kvantifikuju elektronske efekte supstituenta;
- $\log P$ i π konstante, koje odražavaju lipofilnost molekula ili supstituenata i
- Taftove E_s konstante za kvantifikaciju sternih uticaja supstituenata.

Sa napretkom računara razvijeni su i brojni drugi parametri koji se koriste u QSAR jednačinama Hanšovog tipa.

U procesu razvijanja novog leka, medicinski hemičari sintetišu seriju jedinjenja u kojoj se zadržava osnovno jezgro molekula uz promenu supstituenata. Ispitivanjem biološke aktivnosti sintetisane serije jedinjenja moguće je zaključiti koji supstituenti poboljšavaju biološko dejstvo molekula. Promenom supstituenata takođe se modifikuju i mnogi fizičko-hemijski parametri koji utiču na ADMET svojstva molekula. Proučavanjem odnosa strukture i aktivnosti sličan je LFER-u tj. analizira doprinos supstituenta određenom fizičkom svojstvu molekula (pK_a , $\log P$, i dr.) bez obzira na hemijsku prirodu osnovnog jezgra za koji je supstituent vezan.

Farmaceutske kompanije koriste obimne baze podataka o biološkoj aktivnosti i ADMET karakteristikama potencijalnih lekova u cilju pronalazjenja pravilnosti i sticanja novih

saznanja. U ovim pretragama primenjuju se različite metodologije, a jedna od njih je i analiza preklapljenih parova molekula (MMPA, *eng.* Matched Molecular Pairs Analysis, MMPA).²¹⁰ MMPA se zasniva na supstituciji jedne grupe u molekulu drugom i posmatranju efekta ove zamene na određeno svojstvo u čitavoj bazi podataka. Ova istraživanja pokazala su da pojedine, specifične strukturne promene imaju mnogo izraženiji uticaj nego što bi se očekivalo na osnovu klasične QSAR analize.

Dobijeni rezultati MMPA velikog broja parova mogu se kodirati i prevesti u program koji će, sa određenom dozom nesigurnosti, dati kvantitativni podatak o procentu promene pojedinog svojstva molekula uvođenjem izabranog supstituenta. Pomoću ovakvog programa moguće je predložiti potencijalne strukture sa povoljnijim svojstvima u odnosu na polaznu strukturu. Mane klasičnih QSAR modela se odnose na predvidivost i domen primenljivosti, usled čega MMPA sve više nalazi primenu u farmaceutskoj praksi.

2.7.1. 3D QSAR analiza

Razvijen je metod poznat kao 3D QSAR u kome se uzimaju u obzir ukupna svojstva molekula umesto individualnih, pojedinačnih doprinosa grupa ili delova molekula. Osnova 3D QSAR metode se zasniva na pretpostavci da su za biološko dejstvo molekula najvažniji veličina, oblik i elektrostatičko polje oko njega. Kompanija Tripos je razvila jedan od najčešće upotrebljivanih 3D QSAR metoda koji predstavlja uporednu analizu (CoMFA, *eng.* Comparative Molecular Field Analysis).²¹¹ Ona se primenjuje na seriju jedinjenja koja su poravnata i svrstana na osnovu određenih kriterijuma za izbor aktivne konformacije tj. konformacije identičnoj onoj koju zauzima u aktivnom mestu biološke mete. Ukoliko informacija o strukturi molekula u aktivnom mestu biološke mete nije eksperimentalno određena, uzimaju se energetske najpovoljnije konformacije ili konformacije dobijene uklapanjem fleksibilnih molekula u aktivno mesto (docking analiza). Glavni problemi CoMFA metode su izbor aktivne konformacije i odsustvo čvrsto utemeljenih pravila za poravnavanje struktura molekula.

Iz aktivne konformacije se generiše *farmakofora*, koja predstavlja skup tačaka molekula u prostoru koje određuju interakciju molekula sa biološkom metom, nakon čega se svi molekuli u prostoru pozicioniraju na način koji obezbeđuje maksimalno preklapanje farmakofornih tačaka. Zatim se postavlja 3D rešetka oko molekula u čijim se čvornim tačkama ispituju sterna i elektrostatička svojstva molekula postavljanjem određenih hemijskih proba.

Energija interakcije između molekula i probe se određuje u svakoj čvornoj tački. Dobijena matrica energija interakcija predstavlja skup deskriptora koji se mogu korelisati sa biološkom aktivnošću jedinjenja. Prostorna varijacija energije interakcije između molekula i odgovarajuće probe predstavlja polje molekulskih interakcija (MIF, *eng.* Molecular Interaction Fields). Iz MIF-ova se dobijaju informacije o energetski povoljnim i nepovoljnim pozicijama probe u prostoru oko molekula. Informacije iz MIF-ova mogu se prevesti i u deskriptore pogodne za klasični (2D) QSAR pomoću programa BIOCUBE.²¹²

Za razliku od klasičnih QSAR modela Hanšovog tipa gde broj jedinjenja mora biti bar četiri do pet puta veći od broja deskriptora, kod 3D QSAR modela broj varijabli značajno nadmašuje broj jedinjenja. Iz tog razloga, matematička relacija između biološke aktivnosti i nezavisnih varijabli u 3D QSAR-u je najčešće regresiona analiza delimičnih najmanjih kvadrata (PLS, *eng.* Partial Least Squares). PLS se koristi za kvantitativnu korelaciju deskriptora izvedenih iz molekulskih polja i jačine biološkog dejstva ispitivanih jedinjenja.

U cilju prevazilaženja problema prostornog poravnavanja struktura, *Pastor* (Pastor) i saradnici razvili su GRIND metod, u kom su deskriptori nezavisni od međusobnog prostornog svrstavanja molekula (*eng.* GRid Independent Descriptors) koji je zasnovan na MIF-ovima.²¹³ Pomoću ovog metoda generišu se varijable nezavisne od položaja molekula u 3D rešetki.

2.7.2. GRIND deskriptori

U istraživanju novih lekova koriste se MIF-ovi različitih hemijskih proba za identifikaciju pogodnih vezivnih mesta na strukturama bioloških meta. Oni se mogu izračunati i za seriju malih molekula čime se karakteriše njihov potencijal da deluju kao ligandi koji se vezuju za makromolekule. MIF-ovi nekoliko različitih proba oko strukture malog molekula oblikuju „virtuelno“ receptorsko mesto (VRS, *eng.* Virtual Receptor Site). Kada se koriste na ovaj način, MIF-ovi predstavljaju molekulske deskriptore datih struktura i mogu se primeniti u različitim QSAR modelima. Molekulski deskriptori zasnovani na MIF-ovima su korišćeni u različitim 3D QSAR modelima kao što su: CoMFA, CoMSIA,²¹⁴ GRID-GOLPE.²¹⁵

Za poređenje MIF-ova različitih molekula, molekuli moraju biti precizno preklapljeni na način koji omogućava da se fragmenti koji interaguju sa istim delovima biološke mete nalaze na približno istim položajima.

Osim problema sa preklapanjem molekula, postoji problem koji potiče i od same prirode MIF-ova. Pošto se MIF-ovi računaju za nekoliko različitih hemijskih proba u velikom broju čvornih tačaka rešetke oko molekula, broj deskriptora je ogroman i često prevazilazi nekoliko stotina hiljada, usled čega se za obradu podataka moraju koristiti multivarijantne metode kao što je analiza glavne komponente komponenata (PCA, *eng.* Principal Component Analysis).²¹⁶

U cilju prevazilaženja ovih problema, razvijen je novi tip molekulskih deskriptora koji kondenzuju informacije iz inicijalno izračunatih MIF-ova u mnogo manji broj informativnih varijabli. Kao rezultat dobijeni su Volsurf²¹⁷ i GRIND²¹³ deskriptori za opisivanje farmakokinetičkih i farmakodinamičkih svojstava tj. njegovu sposobnost vezivanja za biološke mete. Pomoću GRIND deskriptora vrši se ekstrakcija najrelevantnijih informacija iz MIF-ova i njihovo kondenzovanje u korisne varijable.

Osnovne prednosti GRIND deskriptora su:

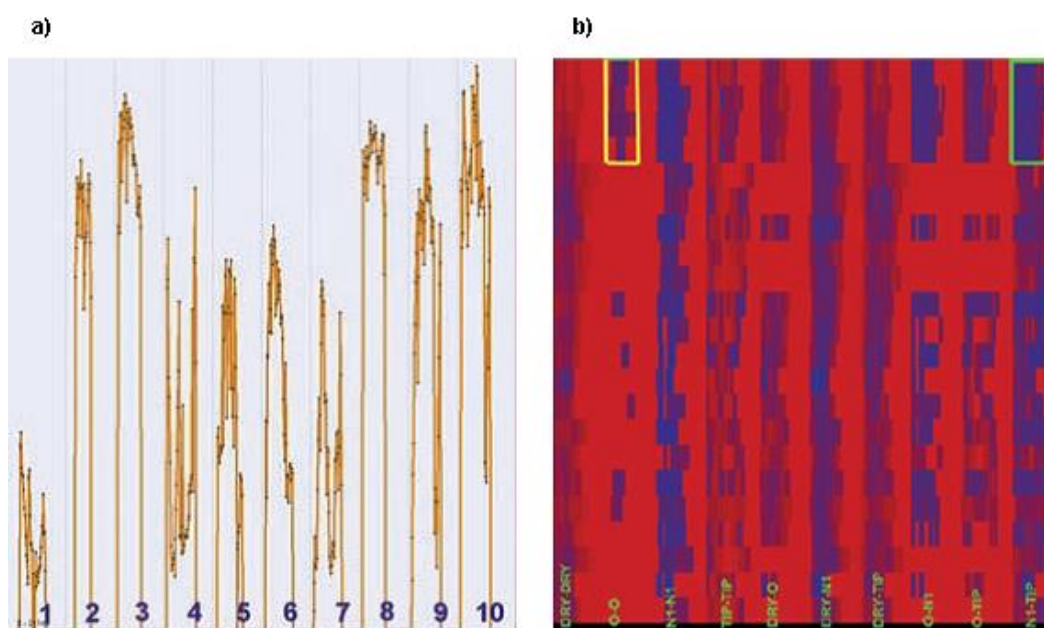
- Rezultujuće varijable su nezavisne od međusobne pozicije ili orijentacije molekula u prostoru;
- Varijable imaju hemijsko značenje i mogu se lako interpretirati;
- Mali broj varijabli treba da sadrži veliki procenat informacija;
- Dobijene varijable su pogodne za analizu standardnim hemometrijskim metodama kao što su PCA i PLS;
- Deskriptori se mogu izračunati brzo i automatski.

Izračunavanje GRIND deskriptora sastoji se iz sledeća tri koraka:

- 1) **izračunavanje MIF-ova**. Tri osnovne probe koje se koriste za izračunavanje MIF-ova su: **DRY**, koja karakteriše hidrofobne karakteristike molekula; **O** (sp^2 hibridizovani atom kiseonika) koji opisuje akceptore vodoničnih veza i **N1** proba (planarni atom azota amidne veze). Zbog značaja samog oblika molekula u prepoznavanju i uklapanju molekula u aktivno mesto mete, definisana je i **TIP** proba koja opisuje oblik na osnovu lokalne zakrivljenosti površine molekula.²¹⁸
- 2) **ekstrakcija najvažnijih regiona**. U ovoj fazi odbacuje se većina informacija iz inicijalno izračunatih MIF-ova i zadržavaju se samo oblasti MIF-ova u kojima ligand ostvaruje najpovoljnije interakcije. Odabrane oblasti MIF-ova moraju imati energetski najpovoljnije interakcije sa molekulom i određeno međusobno rastojanje zbog izbegavanja gomilanja

sličnih informacija. Za ekstrakciju najvažnijih regiona, program Pentacle pored prvobitno napravljenog ALMOND algoritma koristi i AMANDA²¹⁹ algoritam koji daje drugu generaciju GRIND deskriptora (GRIND-2);

3) *prevođenje informacije iz MIF u deskriptore („kodiranje“)*. U ovom koraku se bez upotrebe njihovih koordinata ili spoljašnjeg referentnog sistema opisuje prostorni raspored čvorova izabranih najznačajnijih regiona. Svaka GRIND varijabla sadrži informaciju o rastojanju između dva čvora i energiji MIF-ova u datim tačkama. Ovo se postiže primenom MACC2 kriterijuma (*eng.* Maximum Auto- and Cross Covariance) u programu Pentacle²²⁰.



Slika 2.36 a) Korelogrami varijabli proizvoljno izabranog jedinjenja izračunati u programu Pentacle, b) Hitmapa serije jedinjenja sortiranih prema rastućoj biološkoj aktivnosti (svaki red hitmape označava jedno jedinjenje, dok svaka kolona predstavlja jednu varijablu)²²¹

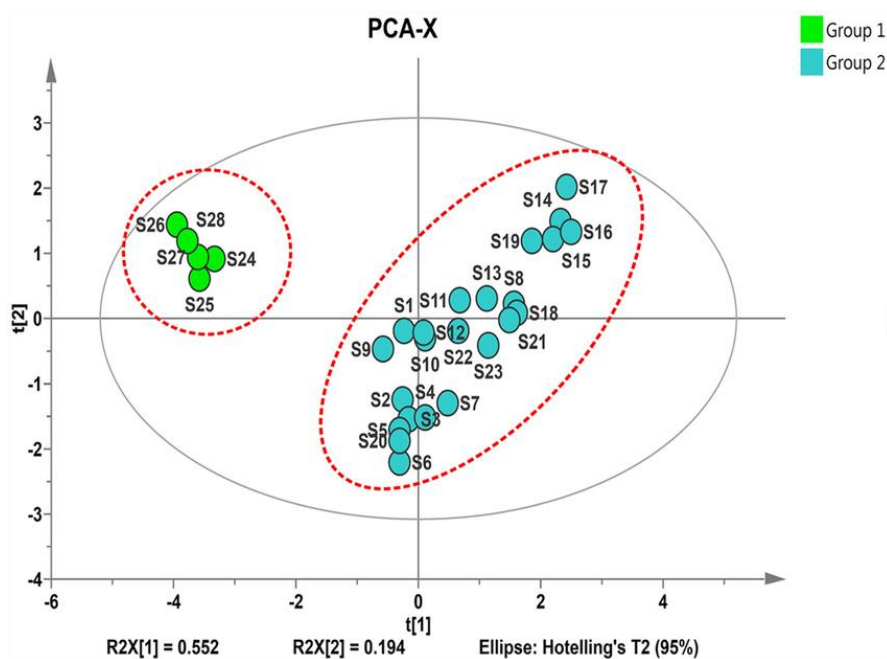
Dobijeni deskriptori mogu se predstaviti kao korelogrami ili kao kao „hitmape“. Korelogrami (Slika 2.36 a)) se koriste za poređenje inteziteta različitih varijabli koje opisuju jedno jedinjenje. U njima su rastojanja predstavljena na *x*-osi a normalizovani proizvodi energija interakcija na *y*-osi. „Hitmape“ (Slika 2.36 b)) daju pregledniji uvid varijabli za sva jedinjenja u seriji. One su vrste matrica u kojima svaki red označava jedno jedinjenje a svaka kolona odgovarajuću varijablu, pri čemu boja odgovara intenzitetu varijable. Za niske vrednosti koeficijenta varijable koristi se crvena boja, dok a plava boja ukazuje na visoku vrednost koeficijenta varijable.

2.7.3. Trodimenzionalna analiza povezanosti strukture i aktivnosti (3D QSAR) zasnovana na poljima molekulskih interakcija

Za klasifikaciju molekula i dobijanje QSAR modela mogu se koristiti izračunati GRIND-2 deskriptori. PCA pokazuje sličnosti i/ili razlike u okviru ispitivane grupe jedinjenja. Originalna X -matrica varijabli prevodi se pomoću nekoliko ortogonalnih projekcija u set novih, međusobno nezavisnih varijabli koje predstavljaju glavne komponente (PC *eng.* Principal Components). Dobijena PC sadrži što je moguće veći procenat informacija iz polaznog seta što se postiže odgovarajućim projekcijama. Najčešće se većina informacija nalazi u prve nekoliko PC. PCA razlaže matricu X varijabli na proizvod dve matrice:

$$X = TP + E$$

u kojoj se oznaka P odnosi na matricu doprinosa („loading matrix“) i sadrži informaciju o varijablama; T je matrica skorova („score matrix“) sa informacijama o objektima. U ovoj matrici je svaki objekat odnosno molekul opisan u prostoru glavnih komponenti, umesto u multidimenzionalnom prostoru originalnih varijabli. Simbol E označava matricu reziduala, koja predstavlja neobjašnjenu X varijansu.



Slika 2.37 Grafik PCA rezultata za molekule iz dve strukturno različite grupe u prostoru PC modela²²²

Za prikazivanje PCA modela najpogodniji je grafik PCA skorova (Slika 2.37). Ovaj grafik slikovito pokazuje relativni položaj objekata u konfiguracionom prostoru glavnih komponenti jer međusobno rastojanje između objekata odražava njihovu međusobnu sličnost. Grafik PCA skorova je veoma koristan u identifikaciji grupe objekata, kao i u uočavanju objekata čija svojstva odstupaju od ostatka seta („outliers“, spoljne vrednosti). Objekti koji se nalaze unutar elipsoidne linije mogu se smatrati sličnim na 95 % -nom intervalu pouzdanosti.

Predstavljanje PCA modela može se izvršiti i pomoću PCA grafika doprinosa. Analizom grafika PCA doprinosa moguće je utvrditi koji strukturni fragmenti jedinjenja najviše doprinose glavnim komponentama. Najčešće prva PC razdvaja molekule po veličini, druga po prisustvu/odsustvu HBD/HBA, treća po hidrofilnosti/hidrofobnosti i dr.

PLS analiza predstavlja regresionu tehniku koja objašnjava jednu ili više zavisnih varijabli (Y) od prediktora, odnosno nezavisnih varijabli (X). Ona je zapravo jedina odgovarajuća regresiona tehnika koja može dati validan rezultat iz **X** matrica koje se koriste u 3D QSAR-u. Pomoću PLS analize razlaže se matrica X na proizvod matrice doprinosa (**P**) i matrice skorova (**T**) i dobija se set latentnih varijabli (LV) koje su u određenoj meri analogne sa glavnim komponentama u PCA. LV moraju prikazivati strukturu kako X- tako i Y- matrice i obezbediti maksimalno fitovanje između X i Y vrednosti. Ekstrahovane LV su poređane prema opadajućem redosledu značaja i međusobno su ortogonalne. Prva LV uvek sadrži najveći procenat informacija.

Dva najznačajnija statistička parametra koja se dobijaju iz PLS modela su: r^2_{acc} , akumulativni koeficijent korelacije (r^2) modela koji pokazuje deo Y- varijanse objašnjen modelom i q^2_{acc} , indeks prediktivne sposobnosti modela dobijen unakrsnom validacijom. Što je vrednost akumulativnog koeficijenta korelacije bliža vrednosti 1, i što je indeks prediktivne sposobnosti modela sličnije vrednosti akumulativnom koeficijentu korelacije rezultat je bolji. Oba statistička parametra se dobijaju primenom programa ALMOND i Pentacle. Vrednosti r^2 i q^2 određuju da li je dobijeni model dobrog kvaliteta kao i optimalan broj LV modela. Po pravilu, prihvatljiv 3D QSAR bi trebao da ima r^2 iznad 0,8 i q^2 iznad 0,5. Po pitanju broja LV, bira se model sa višim q^2 ali se može odbaciti LV ukoliko je njen doprinos vrednostima r^2 i q^2 mali.

Procena prediktivne sposobnosti modela je značajna zbog broja LV koje treba zadržati u konačnom modelu i procene kvaliteta modela. Za procenjivanje prediktivne sposobnosti modela primenjuje se unakrsna validacija (CV, *eng.* Cros-Validation). U ovoj tehnici

prvenstveno se formiraju redukovani modeli u kojima su pojedini objekti uklonjeni na osnovu kojih se predviđaju Y vrednosti za objekte koji su uklonjeni iz početnog modela. Dobljene predviđene (Y') vrednosti se porede sa eksperimentalnim Y vrednostima i izračunava se standardna devijacija greške predviđanja (SDEP, *eng.* Standard Deviation of Error of Calculation) i q^2 (prediktivni korelacioni koeficijent). CV tehnikom se dobija unutrašnja validacija i procena prediktivne sposobnosti modela, bez upotrebe spoljnih setova podataka. Mane ove tehnike se ogledaju u nepostojanju opšte saglasnosti oko kriterijuma za formiranje redukovane grupe objekata i broja zadržanih objekata u redukovanom setu.

Unakrsna validacija se može izvršiti na nekoliko načina:

- LOO (*eng.* Leave One Out) u kojoj se redukovani modeli prave izostavljanjem jednog objekta u svakom ciklusu u toku analize, procedura se ponavlja dok svi objekti nisu po jednom izostavljeni;
- LTO (*eng.* Leave Two Out) u okviru koje se modeli grade izostavljanjem dva objekta uz ponavljanje procedura dok svi objekti, u grupama po dva, nisu po jednom izostavljeni;
- Nasumične grupe (*eng.* Random Groups) u kojoj se objekti grupišu na nasumičan način u N grupa od kojih svaka sadrži jednak, ili približno jednak broj objekata, nakon čega se u svakom ciklusu po jedna grupa izostavlja iz analize. Broj objekata u svakoj grupi određuje korisnik, sa povećanjem grupe izostavljenih objekata metod CV je statistički validniji.

Izbor najpogodnijeg CV metoda uvek zavisi od svojstava setova podataka koji se koriste u QSAR analizi, u kojima su objekti često „klasterizovani“, odnosno pripadaju određenom broju grupa sličnih molekula. Kod „klasterizovanih“ objekata statistički validnija CV će se dobiti ukoliko se grupe formiraju sa sličnim molekulima u okviru iste grupe. Osim toga, primenom LOO i LTO većina informacija koje sadrže uklonjeni objekti ili parovi objekata već se nalaze unutar modela, usled čega se sistematski dobijaju preterano optimistični rezultati, kao i SDEP. Za postizanje mnogo bolje procene realne prediktivne sposobnosti modela primenjuje se metoda nasumičnih grupa. Na ovaj način dobijene q^2_{acc} vrednosti su numerički niže, ali je sama prediktivnost pouzdanija. U ovom pristupu broj grupa je fiksiran uz realnu mogućnost uklanjanja kompletne grupe sličnih molekula iz analize u redukovanom modelu. Procedura se ponavlja veći broj puta za dobijanje stabilnih rezultata. Drugi način

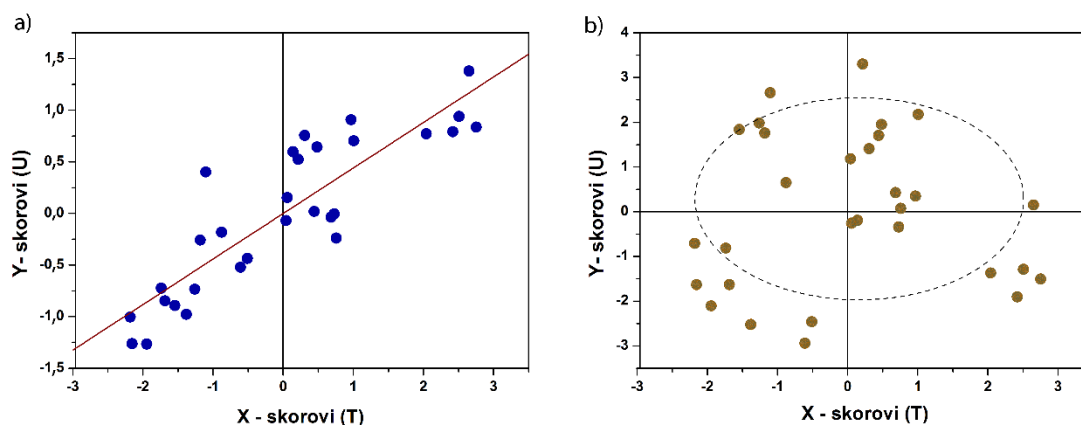
procene prediktivnosti modela predstavlja upotrebu eksternog seta jedinjenja koji se ne nalaze u setu iz kojeg je model izveden.

Nedostatak 3D QSAR metode se ogleda u malom broju od ukupnog broja X varijabli koje se korelišu sa Y vrednostima čime doprinose pojavi tzv. „šuma“. Za smanjenje „šuma“ i povećanje osetljivosti modela prema najinformativnijim varijablama, primenjuju se razne metode za uklanjanje varijabli koje stvaraju šum što se u programu Pentacle može izvršiti primenom frakcionog dizajna faktora (FFD *eng.* Fractional Factorial Design).

2.7.4. Prikazivanje PLS modela

Za identifikaciju objekta koji imaju uticaj na model kao i grupisani objekt može se koristiti TU grafik (Slika 2.38 a)). Iz grafika se može videti korelacija između X i Y za svaku LV koju daje model, takođe se mogu identifikovati objekti koji imaju veliki uticaj na model, kao i grupisani objekti.

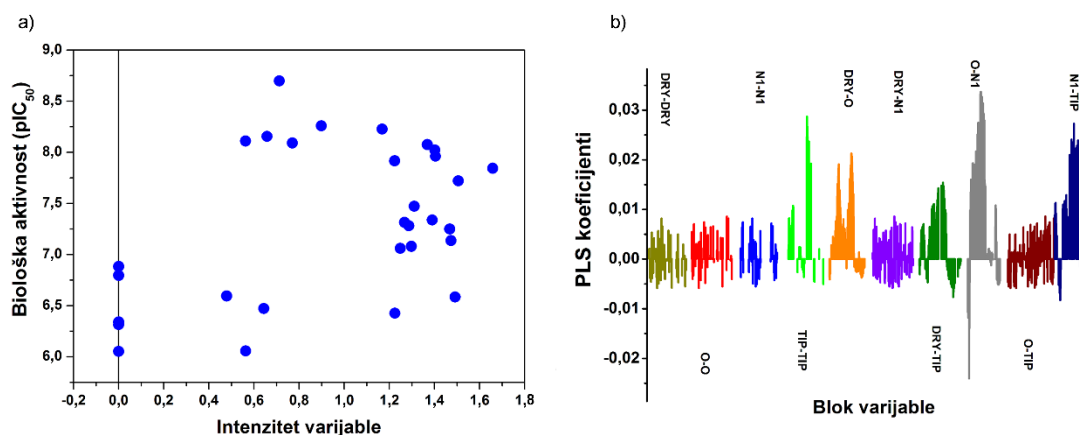
Grafik PLS skorova (Slika 2.38 b)) sličan je grafiku PCA skorova. U njemu su objekti raspoređeni u prostoru dve LV a udaljenost između dva objekta odražava njihovu sličnost. Objekti unutar elipse se mogu smatrati sličnim na 95 %-tnom intervalu pouzdanosti. Isto kao kod PCA, mogu se konstruisati grafici PLS doprinosa u obliku histograma za sagledavanje uticaj pojedinačnih varijabli na konkretnu LV.



Slika 2.38 a) TU (PLS) grafik, b) Grafik PLS skorova

Grafik izabrane varijable X u zavisnosti od Y („VarX selected - Y“, (Slika 2.39 a)) prikazuje korelaciju određene varijable sa biološkom aktivnošću jedinjenja. U modelu se uvek traže varijable koje jasno diskriminišu aktivna od neaktivnih jedinjenja.

Grafik PLS koeficijenata (Slika 2.39 b)) je najinformativniji u smislu interpretacije rezultata modela. Korisno je posmatrati istovremeno grafik „VarX selected - Y“ i grafik PLS koeficijenata. Varijable sa pozitivnim PLS koeficijentima odnosno pozitivnim vrednostima imaju povoljan uticaj na biološku aktivnost jedinjenja i obično su izražene kod najaktivnijih jedinjenja, dok varijable sa negativnim koeficijentima imaju negativan doprinos. Posmatranjem nekoliko varijabli sa najvećim koeficijentima dobijaju se informacije o funkcionalnim grupama i prostornom rasporedu koji imaju povoljan uticaj na biološku aktivnost jedinjenja. Ove informacije se dalje prevode u set hipoteza koje se koriste za racionalizaciju postojećih rezultata i osmišljavanje novih, aktivnijih jedinjenja.



Slika 2.39 TU (PLS) grafik, b) Grafik PLS skorova

3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1. Sinteza derivata izatina

U cilju proučavanja strukture i svojstava derivata izatina, u ovom radu su sintetisane dve serije jedinjenja:

a) prva serija (**serija 1**) koja sadrži 11 derivata 1,3-dihidro-3-arilimino-2*H*-indol-2-ona sa sledećim supstituentima: H (**1**); *o*-bromfenil (**2**); *m*-bromfenil (**3**); *p*-bromfenil (**4**); 3-metil-2-piridinil (**5**); 4-metil-2-piridinil (**6**); 5-metil-2-piridinil (**7**); 6-metil-2-piridinil (**8**); 3-hinolinil (**9**); 6-hinolinil (**10**) i 2-(8-hidroksi) hinolinil (**11**).

b) druga serija (**serija 2**) 1,3-dihidro-3-fenilimino-2*H*-indol-2-ona koja obuhvata 16 derivata sa supstituentima u različitim položajima fenilnog jezgra: H (**1**); 2-OH (**2**); 3-OH (**3**); 4-OH (**4**); 2-OCH₃ (**5**); 3-OCH₃ (**6**); 4-OCH₃ (**7**); 2-Cl (**8**); 3-Cl (**9**); 4-Cl (**10**); 2-I (**11**); 3-I (**12**); 4-I (**13**); 2-NO₂ (**14**); 3-NO₂ (**15**) i 4-NO₂ (**16**).

Ispitivani molekuli su sintetisani prema postupcima iz literature i okarakterisana su određivanjem temperature topljenja, UV, FTIR, ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom i elementalnom analizom. Apsorpcioni maksimumi proučavanih jedinjenja određeni su u 22 rastvarača različite polarnosti.

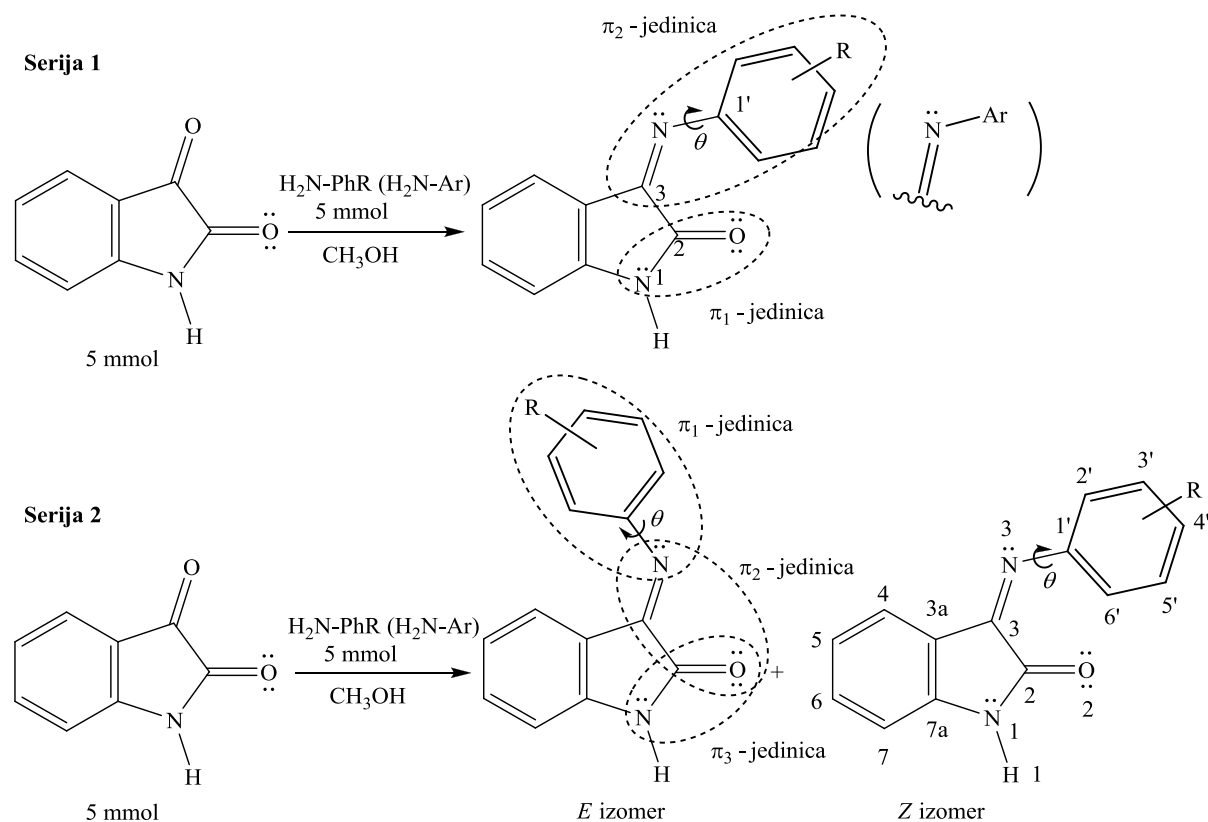
3.1.1. Opšti postupak dobijanja

Ispitivani derivati izatina nastaju reakcijom kondenzacije ekvimolarne količine izatina sa odgovarajućim primarnim aromatičnim aminom (Slika 3.1). Izatin (5 mmol) je rastvoren u metanolu (40 mL), uz dodatak odgovarajućeg amina ili anilina (5 mmol) i glacijalne sirćetne kiseline (10 mL). Reakciona smeša se refluktuje 6 h na 70 °C uz mešanje. Nakon toga, smeša je ostavljena da odstoji u smeši za hlađenje na sobnoj temperaturi bez mešanja. Dobijeni kristali su filtrirani, osušeni i prekrystalisani iz metanola ili odgovarajuće smeše rastvarača. Prosečan prinos je iznosio oko 70–79 %.

3.2. Karakterizacija sintetisanih jedinjenja

Za sintezu derivata izatina korišćene su komercijalne supstance čistoće *p.a.* (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA).

Karakterizacija ispitivanih derivata izatina uključujući i potvrdu sintetisanih struktura izvršena je određivanjem tačke topljenja, ^1H , ^{13}C NMR i FT-IR spektroskopskim analizama.



Serijs 1			Serijs 2	
Molekul	R	Ar	Molekul	R
1	H		1	H
2	2-Br		2	2-OH
3	3-Br		3	3-OH
4	4-Br		4	4-OH
5		3-metil-2-piridinil	5	2-OMe
6		4-metil-2-piridinil	6	3-OMe
7		5-metil-2-piridinil	7	4-OMe
8		6-metil-2-piridinil	8	2-Cl
9		3-hinolinil	9	3-Cl
10		6-hinolinil	10	4-Cl
11		2-(8-OH) hinolinil	11	2-I
			12	3-I
			13	4-I
			14	2-NO ₂
			15	3-NO ₂
			16	6-NO ₂

Slika 3.1 Opšti postupak dobijanja derivata izatina

Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FT-IR, *eng.* Fourier Transform Infrared Spectroscopy) ispitivanih jedinjenja snimljeni su na instrumentu BOMEM

(Hartmann & Braun), MB serije u obliku KBr Tabelata i korišćenjem ATR NICOLET iS10 u oblasti između 400 i 4000 cm^{-1} sa rezolucijom od 4 cm^{-1} . Čistoća dobijenih jedinjenja potvrđena je elementalnom analizom.

^1H i ^{13}C NMR karakterizacija je izvršena na instrumentu Varian Gemini 2000 (200/50 MHz) na 25 °C. Vrednosti hemijskih pomeranja (δ) izražene su u milionitim delovima (ppm) u odnosu na tetrametilsilan ($\delta_{\text{H}}=0$ ppm) za ^1H NMR, i DMSO ($\delta_{\text{C}}=39.5$ ppm) u ^{13}C NMR, korišćenjem pika rastvarača kao referentni standard. 2D spektri jedinjenja (COSY, NOESY, ^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBC) su snimljeni u DMSO-u na BrukerAvance 500 spektrometru (500/125 MHz). Za opisivanje multipliciteta signala korišćene su sledeće skraćenice: *s* - singlet; *d* - dublet; *t* - triplet; *dd* - dublet dubleta; *ddd* - dublet dubleta dubleta; *td* - triplet dubleta, *m* - multiplet, *spm* - široki preklopljeni multiplet.

UV apsorpcioni spektri ispitivanih molekula su snimljeni u opsegu od 200 do 600 nm korišćenjem UV-Vis Shimadzu 1700A spektrofotometra u 22 rastvarača spektroskopske čistoće (Fluka) a različite polarnosti. Spektri su snimljeni na 25 °C pri koncentraciji $1,00 \cdot 10^{-5}$ mol dm^{-3} . Dobijeni spektri su upotrebljeni za proučavanje uticaja supstituenata na solvatochromizam proučavanih derivata izatina.

Karakterizacija ispitivanih molekula prikazana je u Tabelama P7.1 – P7.4.

3.3. Određivanje konstanti kiselosti ispitivanih derivata izatina (serija 2)

Konstante kiselosti derivata izatina su određene spektrofotometrijskom titracijom na $T = 298 \pm 1$ K. Radni rastvor ($c = 9 \times 10^{-4}$ mol L^{-1}) je pripremljen rastvaranjem tačno odmerene suve supstance u 10,00 mL DMSO; 10 mmol^{-1} fosfatnog pufera ($\text{pH} = 1,77$, $I = 0,1$ M NaCl) je dodato do 100 mL. Male zapremine 1 M KOH su postepeno dodavane, dok nije postignut $\text{pH} 13,00 \pm 0,02$ pri čemu je promena ukupne zapremine rastvora na kraju titracije manja od 2 %. pH vrednost je kontinualno merena u toku titracije a UV-Vis spektri su snimani nakon uravnotežavanja pH vrednosti. UV-Vis spektri su snimljeni u odnosu na fosfatni pufer kao slepu probu. pH elektroda je kalibrisana standardnim puferskim rastvorima (pH 4,01, 7,00, i 9,21). Konstante kiselosti jedinjenja izatina su izračunate na osnovu transformisanih oblika klasičnih spektrofotometrijskih jednačina (3.1 ili 3.3)^{223,224} koje daju linearnu zavisnost (3.2 ili 3.4):

$$A = A_{\text{H}_2\text{A}^+} + \frac{A_{\text{HA}} - A}{[\text{H}_3\text{O}^+]} \cdot K_{\text{a1}} \quad (3.1)$$

ili:

$$(A - A_{\text{HA}}) \cdot 10^{\text{pH}} = \frac{A_{\text{H}_2\text{A}^+}}{K_{\text{a1}}} - \frac{1}{K_{\text{a1}}} A \quad (3.2)$$

$$A = A_{\text{A}^-} + (A_{\text{HA}} - A) \cdot [\text{H}_3\text{O}^+] \cdot \frac{1}{K_{\text{a2}}} \quad (3.3)$$

ili

$$(A - A_{\text{HA}}) \cdot 10^{\text{pH}} = K_{\text{a2}} \cdot A_{\text{A}^-} - K_{\text{a2}} \cdot A \quad (3.4)$$

u kojima A predstavlja apsorbansu pojedinih vrsta (H_2A^+ , HA ili A^-) označenih u subskriptu, a K_{a1} i K_{a2} označavaju prvu i drugu konstantu disocijacije ispitivanih derivata izatina, respektivno.

3.4. LSER analiza

Kvantifikacija uticaja nespecifičnih (kao što su dipolarnost/polarizabilnost) i specifičnih (sposobnost vodoničnog vezivanja) interakcija na ν_{max} su tumačeni primenom LSER principa pomoću Kamlet-Taftove jednačine (3.5):²²⁵

$$\nu_{\text{max}} = \nu_0 + s\pi^* + b\beta + a\alpha \quad (3.5)$$

u kojoj vrednost apsorpcione frekvencije ν_{max} zavisi od supstituenata, π^* predstavlja indeks dipolarnosti/polarizabilnosti rastvarača; β označava meru rastvarača da primi proton pri uspostavljanju vodonične veze (HBA, *eng.* Hydrogen-Bonding Acceptor) odnosno baznost; α je mera rastvarača da da proton pri uspostavljanju vodonične veze (HBD, *eng.* Hydrogen-Bond Donor) tj. kiselost i ν_0 je regresiona vrednost u cikloheksanu kao referentnom rastvaraču. Parametri rastvarača korišćeni u jednačini (3.5) su dati u Tabeli P7.5. Regresioni koeficijenti s , b i a u jednačini (3.5) mere relativnu osetljivost apsorpcionih frekvencija na različite parametre rastvarača. Ova metoda omogućava detaljnu analizu uticaja rastvarača na ν_{max} .

3.5. LFER analiza

LFER analiza koja se odnosi na prenošenje polarnih (polja/induktivnih) i rezonacionih efekata supstituenata je primenjena na $\text{p}K_{\text{a}}$, UV i NMR podatke ispitivanih jedinjenja obe serije

korišćenjem Hametove jednoparametarske jednačine (SSP, *eng.* single substituent parameter) analizu:

$$s = \rho\sigma + h \quad (3.6)$$

u kojoj je s vrednost koja zavisi od supstituenta: NMR hemijsko pomeranje uslovljeno supstituentom (SCS, *eng.* substituent induced chemical shift), pK_a , ili ν_{\max} ; ρ označava konstantu proporcionalnosti (reakciona konstanta) koja odražava osetljivost spektralnih podataka na efekte supstituenta; σ predstavlja konstantu supstituenta (Tabela P7.6), i h je odsečak (npr. opisuje nesupstituisane članove serija).^{226,227} SSP jednačina pripisuje sve efekte supstituenata aditivnom doprinosu polarnih i π -delokalizovanih odnosno rezonacionih efekata pomoću odgovarajućih vrednosti σ .

3.6. Antimikrobna aktivnost (serija 2)

Za ispitivanje antimikrobne aktivnosti proučavanih molekula određena je minimalna inhibitorna koncentracija (MIC, *eng.* Minimal Inhibitory Concentration) primenom bujon-mikrodilucione metode u skladu sa CLSI 2005.^{228,229} Antimikrobna aktivnost je testirana na 7 bakterijskih i 2 gljivična soja Američke kolekcije ćelijskih kultura (ATCC, *eng.* American Type Culture Collection): *Staphylococcus aureus* 6538, *Listeria monocytogenes* 19115, *Shigella sonnei* 29930, *Yersinia enterocolitica* 27729, *Escherichia coli* 25922, *Proteus hauseri* 13315, *Pseudomonas aeruginosa* 9027, *Cryptococcus neoformans* 76484 i *Candida albicans* 10231. Mikrobna gustina je podešena na 105 jedinica koje formiraju kolonije. Antimikrobno ispitivanje je izvedeno u 96-ćelijskim mikrotitar pločama (Sarstedt, Germany). Ispitivana jedinjenja su rastvorena u 5 % vodenom rastvoru DMSO-a, i serijski razblaživana u rasponu koncentracija od 0,6 do 1250 $\mu\text{g/mL}$. Trifeniltetrazolium-hlorid (TTC, 0,0075 %) je dodat bakterijskoj suspenziji kao indikator rasta. Za pozitivnu kontrolu rasta korišćen je 5 % DMSO u odgovarajućem medijumu. Sve bakterijske vrste su inkubirane 24 h na 37 °C, dok je kvasac inkubiran 48 h na 32 °C. Koncentracija jedinjenja na kojoj nije bilo vidljivog rasta mikroorganizama je uzeta kao MIC vrednost. Amoksicilin trihidrat i flukonazol su korišćeni kao za standard za bakterijske i gljivične sojeve, respektivno.

3.7. Optimizacija molekulske geometrije i teorijski proračuni apsorpcionih spektara

3.7.1. DFT, TD-DFT i MEP (serija 1)

Geometrije osnovnog stanja ispitivanih molekula **1 – 11 (serija 1)** su u potpunosti optimizovane DFT-i metodom, preciznije *Becke*-ovim (Bekeovim) troparametarskim funkcionalom izmene (B3) i *Lee–Yang–Parr*-ovim (Li-Jang-Parovim) korelacionim funkcionalom (LYP) sa 6-311G(d,p) bazis setom i sa striktnim kriterijumima konvergencije. Frekvencije harmonijskih vibracija su izračunate istom metodom kako bi se potvrdila priroda pronađenih stacionarnih tačaka. Za svako optimizovano jedinjenja pronađen je globalni minimum. Pomoću TD-DFT metode izračunati su teorijski apsorpcioni spektri jedinjenja **1** (Tabela P7.7) u acetonu, acetonitrilu, etanolu, tetrahidrofuranu, DMSO-u, formamidu i toluenu korišćenjem CAM-B3LYP funkcionala²³⁰ i 6-311G(d,p) bazis seta. U ovim TD-DFT proračunima rastvarač je simuliran standardnim modelom polarizovanog kontinuuma (PCM, *eng.* Polarizable Continuum Model).²³¹ Svi kvantnohemijski proračuni su rađeni u programskom paketu Gaussian09.²³² Mape molekuskog elektrostatičkog potencijala (MEP) su nacrtane u programu gOpenMol program.²³³

3.7.2. Kvantnohemijski proračuni *E* i *Z* izomera, Baderova analiza (serija 2)

Geometrije osnovnog stanja ispitivanih derivata izatina za oba izomera (*E* i *Z*) molekula **1-16 (serija 2)** su optimizovani MP2 metodom. Prvo je izvršena konformaciona pretraga svih izomera kako bi se pronašle optimalne vrednosti ugla θ (Slika 3.1). Za ovu pretragu primenjena je MP2 metoda sa 6-31G(d,p) bazis setom. Nakon toga, konformer sa najnižom energijom je ponovo optimizovan korišćenjem iste metode ali sa znatno većim 6-311G(d,p) bazis setom. Za atome joda (jedinjenja **11**, **12** and **13**) upotrebljen je posebno dizajniran bazis set 6-311G kvaliteta sa dodatnim funkcijama.²³⁴ Za svako optimizovano jedinjenje pronađen je globalni minimum koji je potvrđen proračunima frekvencija harmonijskih vibracija.

TD-DFT metodom su izračunati teorijski apsorpcioni spektri oba tautomerna oblika u gasnoj fazi, etanolu, tetrahidrofuranu i DMSO pomoću CAM-B3LYP funkcionala²³⁰ i 6-311G(d,p) bazis seta na MP2/6-311G(d,p) optimizovanim geometrijama. Rastvarač u TD-DFT proračunima je simuliran standardnim modelom polarizovanog kontinuuma (PCM).²³⁵

Indikatori kvalitativnog prenosa naelektrisanja: rastojanje prenosa naelektrisanja (D_{CT} , *eng.* Charge-Transfer Distance) i količina prenetog naelektrisanja (Q_{CT} , *eng.* Amount of

Transferred Charge) su izračunati prema metodama predloženih od *Baher*-a (Bahera) i saradnika.²³⁶ Sva kvatnohemijska proračunavanja su izvršena korišćenjem Gaussian09 programa.²³⁷ Baderova analiza i parcijalna atomska naelektrisanja su određena pomoću programa “Bader”.¹⁹⁵ Mape razlike gustine su iscrtane kao razlika između elektronske gustine prvog pobuđenog i osnovnog stanja u programu gOpenMol.²³³

3.8. 3D QSAR model (serija 2)

Kao nezavisne varijable primenjeni su GRIND-2 deskriptori dobijeni iz polja molekulskih interakcija (MIF, *eng.* Molecular Interaction Fields).²³⁸ Pomoću programa Pentacle v. 1.06²¹³ su izračunati GRIND-2 deskriptori, i izvršena je regresiona analiza delimičnih najmanjih kvadrata (PLS, *eng.* Partial Least Squares). MIF-ovi su izračunati korišćenjem četiri hemijske probe: **DRY**, koja mapira hidrofobne regije molekula; **O** predstavlja karbonilnu sp^2 probu za otkrivanje regiona molekula sa sposobnošću davanja protona pri formiranju vodonične veze (HBD); **N1** je planarna –NH ravan koja označava proton akceptore pri uspostavljanju vodonične veze (HBA) molekula; i **TIP** proba za opisivanje oblika molekula. Važna mesta oko molekula (hot spots) su ekstrahovana iz MIF-ova primenom AMANDA diskretizacionog algoritma.²¹⁹ Kodiranje filtriranih MIF-ova u GRIND varijable je izvršeno pomoću algoritma maksimalne automatske i unakrsne kovarijanse (MACC2, *eng.* Maximum Auto- and Cross Covariance). Dobijena važna mesta (hot spots) predstavljaju 3D položaj favorizovanih farmakofornih tačaka molekula i oblik „virtuelnog“ receptorskog mesta (VRS, *eng.* Virtual Receptor Site). Zbog bolje rezolucije, rastojanje između dve čvorne tačke je smanjeno sa 0,5 na 0,4 Å. Svi drugi parametri za MIF proračunavanja su bili podrazumevani (default vrednosti).

Izbor optimalne konformacije predstavlja kritičan korak u 3D QSAR modelovanju. Ukoliko je poznata tačna molekulska meta, doking jedinjenja u aktivno mesto može dati odgovarajuće „bioaktivne“ konformacije. Pošto nisu poznate tačne mete naših jedinjenja prema bilo kojem od ispitivanih mikrobioloških sojeva, u ovoj doktorskoj disertaciji kao bioaktivna konformacija uzeta je energetski najpovoljnija konformacija. Konformacije molekula su generisane sistemskim promenama torzionog ugla θ za 30° i izvršena je minimizacija energije svakog rotamera korišćenjem semiempirijskog PM6 metoda implementiranog u MOPAC 2016.²³⁹ Konformer najniže energije svakog jedinjenja je upotrebljivan za dalja izračunavanja

MIF-ova. VEGA ZZ 3.1.0 program je primenjen kao grafički *interfejs* (GUI, *eng.* Graphical User *Interface*).²⁴⁰

4. REZULTATI I DISKUSIJA

4.1. Strukturna i spektralna analiza derivata izatina (serija 2)

Za sticanje boljeg uvida u povezanost ispitivanih struktura, konformacije i položaja supstituenta sa dobijenim eksperimentalnim i izračunatim podacima izvršena je detaljna spektralna analiza.

U IR spektrima ispitivanih derivata izatina intenzivne trake u oblasti 1602-1661 cm^{-1} i 1740-1753 cm^{-1} su pripisane vibracijama istezanja $\nu(\text{C}=\text{N})$ imino i $\nu(\text{C}=\text{O})$ amidne grupe, respektivno, dok apsorpcija u oblasti 3048-3463 cm^{-1} potiče od $\nu(\text{NH}_2)$ vibracija.²⁴¹

U ^{13}C -NMR spektrima svih proučavanih molekula, broj signala odgovara broju ugljenikovih atoma. Rezultati elementalne analize su bili u opsegu $\pm 0,4\%$ u odnosu na teorijske vrednosti.

Poznato je da imino jedinjenja, usled rotacije oko dvostruke veze, mogu zauzimati *E*- ili *Z*-konfiguraciju oko $\text{C}=\text{N}$ dvostruke veze kao i da je hemijsko okruženje azometinskog ugljenika (C_3) različito za ispitivane izomere.^{242,243} Izatinski derivati **serije 2** pokazuju hemijsko pomeranje azometinskog ugljenika u opsegu 150,43 – 156,72 za *E* izomer, i 150,90 – 155,16 za *Z* izomer (Tabela 7.8). Za jedinjenja **3**, **6**²⁴³, **7** i **13**²⁴² uzeti su poznati literaturni podaci.

Stereohemija imina je nesumnjivo potvrđena pomoću 2D homonuklearnih (COSY i NOESY) i heteronuklearnih (HSQC i HMBC) NMR tehnika. Kao primer, hemijska pomeranja jedinjenje **10** iz **serije 2** su određena kombinovanom primenom jednodimenzionalne (^1H i ^{13}C proton razdvajanja, Slike 7.1 – 7.2) i dvodimenzionalne (COSY, NOESY, HSQC i HMBC, Slike 7.3 – 7.6) NMR spektroskopije. Za ispitivanje konformacije jedinjenja **10** iz **serije 2** u rastvoru upotrebljen je 2-D NOESY spektar (Slika 7.4). Glavni izomer u rastvoru DMSO- d_6 je *E* konformer što je potvrđeno prisustvom korelacije $\text{C}_4\text{-H}$ i $\text{C}_2'\text{-H}$ atoma (Slika 7.4) u NOESY spektru.

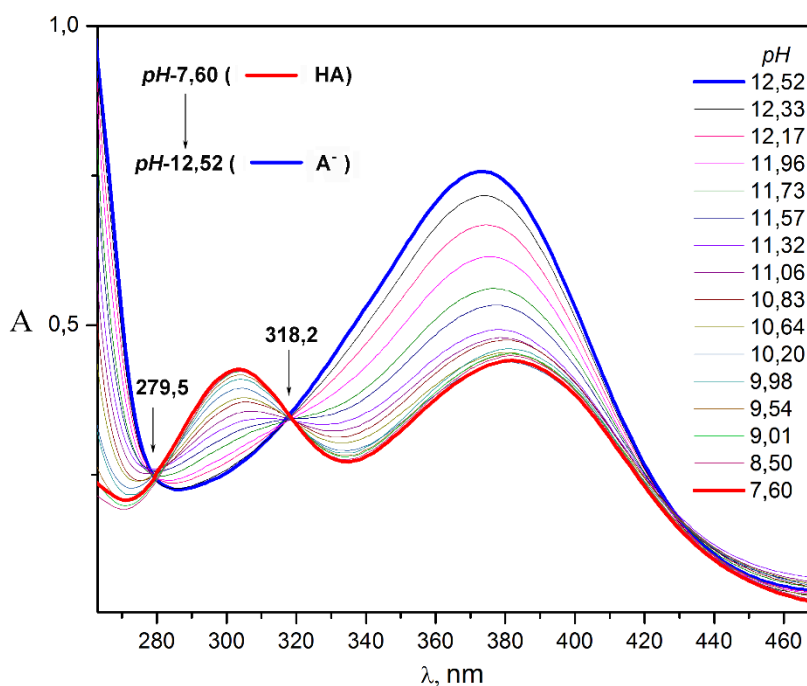
Pored toga, signal na H_1 *E*-izomera je značajno pomeren ka nižim hemijskim pomeranjima (*eng.* upfield, oko 1 ppm) u odnosu na H_1 signal nesupstituisanog izatina. Dodatno, hemijska pomeranja protona prisutnog u *Z* izomeru pokazuju malu razliku u poređenju sa signalom nesupstituisanog molekula. Odnos izomera 7,5:2,5 za jedinjenje **10** u DMSO- d_6 je dobijen iz ^1H NMR spektra (Slika 7.1). Analogno, analize ^1H NMR podataka za $\text{N}_1\text{-H}_1$ proton su korišćene za izračunavanje odnosa *E/Z* izomera ispitivanih molekula **serije 2**

(Tabele 7.4 i 7.8). Dobijeni rezultati pokazuju da je *E* izomer dominantniji u rastvoru DMSO-a bez obzira na uticaj supstituenata. Četiri jedinjenja sa 2- i 4-NO₂, i 3-OH i 3-OCH₃ grupama su pokazala isključivo prisustvo *E* izomera. Sa druge strane, elektron-donorske grupe svojim prisustvom prouzrokuju stabilizaciju *Z* izomera. Prethodno navedena svojstva mogu doprineti promeni fizičko-hemijskih karakteristika i razlikama u biološkoj aktivnosti između ispitivanih jedinjenja u funkciji različitog odnosa prisutnih izomera.

U nastavku ove disertacije određene su konstante kiselosti i izvršena je detaljna analiza uticaja rastvarača na ravnotežu izomernih derivata izatina primenom UV-Vis spektroskopije.

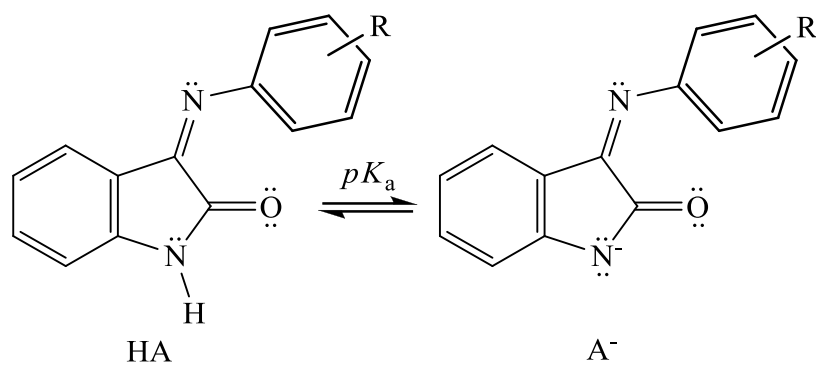
4.2. Određivanje konstanti kiselosti (serija 2)

Konstante kiselosti su određene pomoću spektrofotometrijske titracije ispitivanih jedinjenja **serije 2** na $T = 298 \pm 1$ K. Kao primer, prikazan je UV-Vis spektar molekula **16** (4-NO₂) u pH opsegu 7,60 – 12,52 na Slici 4.1.

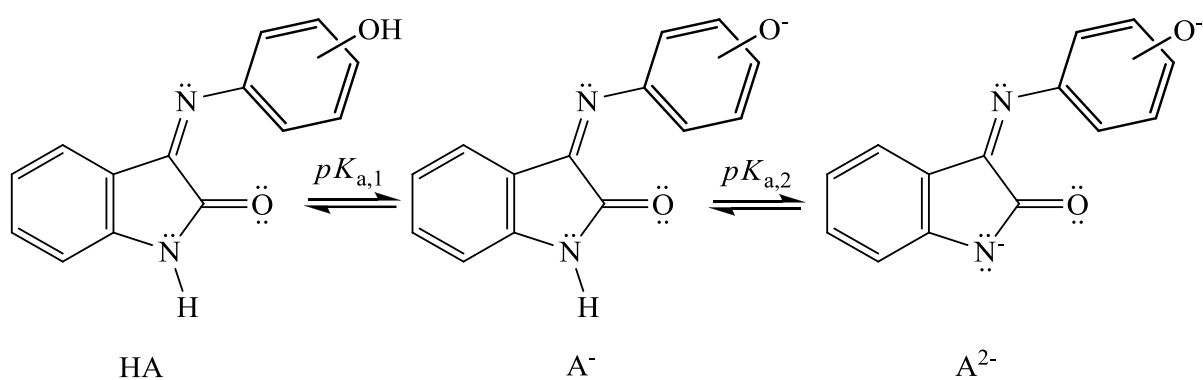


Slika 4.1 UV-Vis spektar molekula **16** u pH opsegu 7,60 – 12,52 na 25 °C

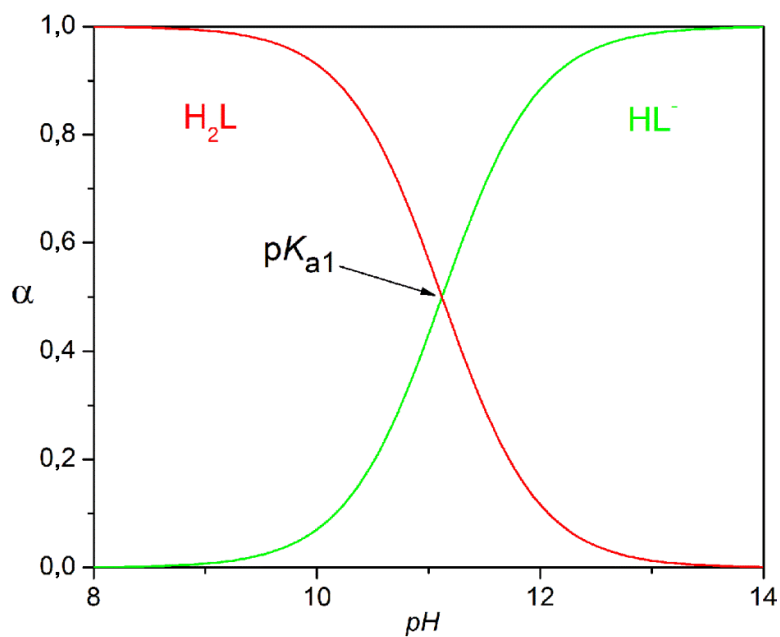
Unutar ispitivanog opsega pH vrednosti (6,02–12,92) predviđena protolitička ravnoteža derivata izatina u vodenom rastvoru je predstavljena na Slikama 4.2 i 4.3. Odgovarajući dijagrami raspodele prikazani su na Slikama 4.4 i 4.5.



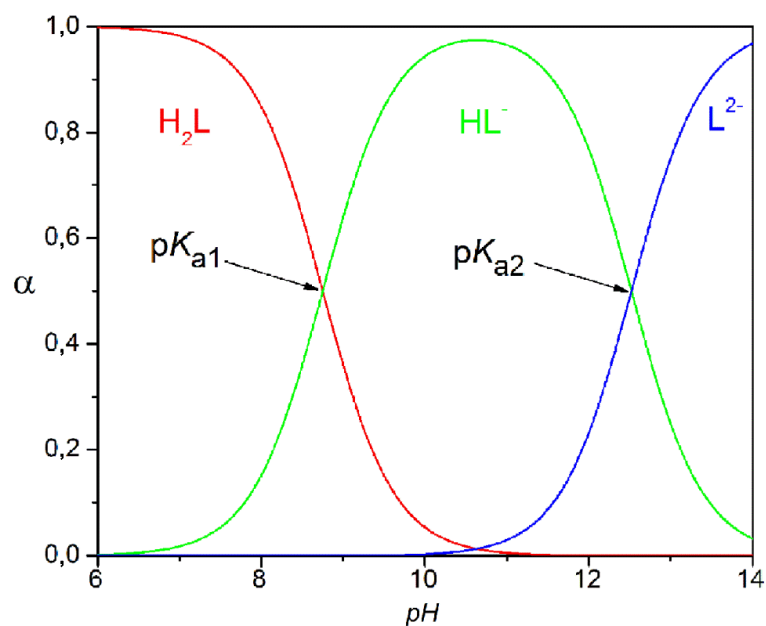
Slika 4.2 Protolitička ravnoteža derivata izatina u vodenom rastvoru



Slika 4.3 Protolitička ravnoteža hidroksi supstituisanih derivata izatina u vodi kao rastvaraču (jedinjenja 2–4)

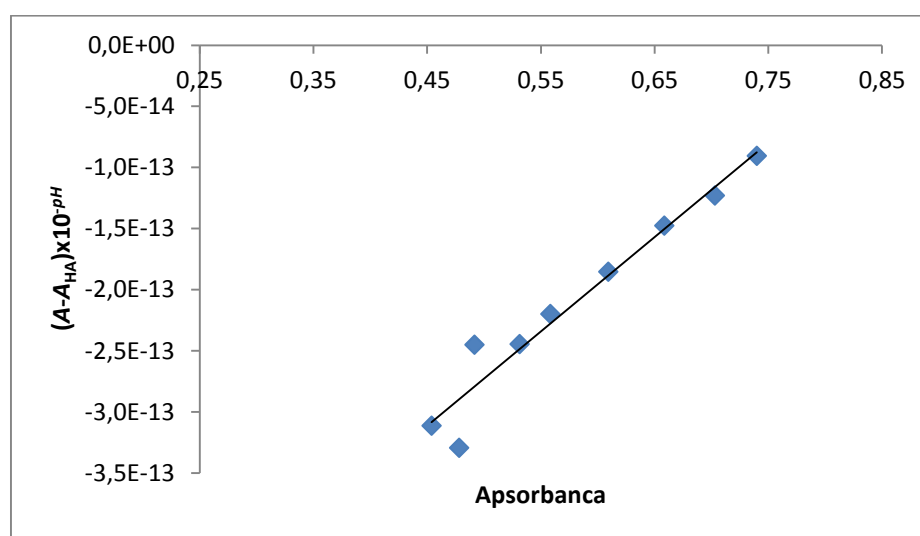


Slika 4.4 Dijagram raspodele derivata izatina bez hidroksilne grupe, prikazan primer za jedinjenje **16** za protolitičku ravnotežu na Slici 4.2



Slika 4.5 Dijagram raspodele hidrokso supstutuisanih derivata izatina, predstavljen je primer za molekul **2**, čija je protolitička ravnoteža data na Slici 3.3

U hidrokso supstutuisanim jedinjenjima dobijene su dve pK_a vrednosti koje odgovaraju disocijaciji protona na kiseoniku (pH 8,00–9,00) i izatinskog azota (pH 9,68–12,11). Konstante kiselosti, K_a , K_{a1} i K_{a2} vrednosti, su izračunate u skladu sa linearnim oblicima jednačina 3.2 i 3.4.²²³ Vrednosti za K_a i K_{a2} za hidrokso supstutuisana jedinjenja su određene kao nagib odgovarajuće linearne zavisnosti na dve talasne dužine (oko 300 i 370 nm), dok je K_{a1} dobijen kao nagib odgovarajuće linearne zavisnosti oko 500 nm. Primer proračuna K_a za jedinjenje **16** je predstavljeno na Slici 4.6.



Slika 4.6 Određivanje K_a za jedinjenje **16** na 380 nm prema jednačini 3.4; nagib = $7,72 \cdot 10^{-13}$, odsečak = $-6,594 \cdot 10^{-13}$, $r = 0,972$

Dobijene vrednosti pK_a , pK_{a1} i pK_{a2} su date u Tabeli 4.1. Kao što je prikazano na Slikama 4.2 i 4.3, K_a i K_{a2} predstavljaju disocijaciju amidnog N-H protona, dok K_{a1} odgovara disocijaciji hidroksi supstituisanih izatina (Slika 4.3).

Tabela 4.1 Eksperimentalne pK_a vrednosti ispitivanih derivata izatina **serije 2**

Molekul / supstituent	pK_a	$pK_{a,1}$	$pK_{a,2}$
1 / H	10,83		
2 / 2-OH		8,75	12,52
3 / 3-OH*		8,62	11,92
4 / 4-OH		8,54	12,31
5 / 2-OMe	10,95		
6 / 3-OMe*	10,03		
7 / 4-OMe	11,49		
8 / 2-Cl	10,99		
9 / 3-Cl	9,84		
10 / 4-Cl	9,68		
11 / 2-I	10,11		
12 / 3-I	10,85		
13 / 4-I	10,68		
14 / 2-NO₂*	11,09		
15 / 3-NO₂	11,37		
16 / 4-NO₂*	11,12		

* pK_a određen za *E* izomer, i za smešu izomera definisanih u Tabeli 7.8

Razlike u vrednostima jonizacionih konstanti pokazuju zavisnost od elektronskih efekata supstituenata, kao i odgovarajući doprinos sternih efekata u jedinjenjima **2**, **5**, **8** i **11**. Slične pK_a i pK_{a2} vrednosti molekula **15** i **16**, uključujući i jedinjenja **3** i **4**, ukazala su na neočekivano ponašanja navedenih molekula s obzirom na način prenosa efekata supstituenata kroz π_1 - i π_2 -jedinice (Slika 3.1). Hidroksilna grupa svojim elektron-donorskim svojstvima u jedinjenjima **2-4** doprinosi blagom smanjenju pK_a vrednosti. Neočekivano velike pK_a , odnosno smanjena kiselost za jedinjenja **14-16**, u odnosu na **2-4**, su rezultat određenog stepena slabljenja prenosa efekata supstituenata kroz azometinske veze i konkurentnih π -konjugacionih interakcija u π_1 - i π_2 -jedinicama (Slika 3.1).

Sa druge strane, vrednosti jonizacionih konstanti jedinjenja **5-13** se ponašaju uobičajeno ukazujući da položaj supstituenata daje najveći doprinos promenama pK_a vrednosti.

Efekat produžene konjugacije kroz azometinsku grupu može doprineti izmenjenom prenosu efekata supstituenata usled promene proton-donorskih/akceptorskih svojstava

odgovarajućih mesta podložnih za disocijaciju. Za razumevanje i kvantifikaciju uticaja strukturnih efekata i jonizacionih konstanti ispitivanih jedinjenja izvršena je LFER analiza korišćenjem SSP jednačine 3.6. Korelacioni rezultati izračunatih pK_a i $pK_{a,2}$ vrednosti (Tabela 4.1) sa izabranim konstantama supstituentima (Tabela 7.6) su date u Tabeli 4.2.

Tabela 4.2 Korelacioni rezultati pK_a i $pK_{a,2}$ vrednosti sa σ konstantama primenom SSP jednačine

	ρ	h	R	F	sd	n	uključena jedinjenja	
pK_a i $pK_{a,2}$	(-1,01 $\pm 0,26$) σ^2	(-2,56 $\pm 0,19$) σ	10,92 $\pm 0,07$	0,989	181,15	0,165	11	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 13
pK_a	(-2,84 $\pm 0,46$)		13,33 $\pm 0,38$	0,974	37,49	0,081	4	8, 14, 15, 16

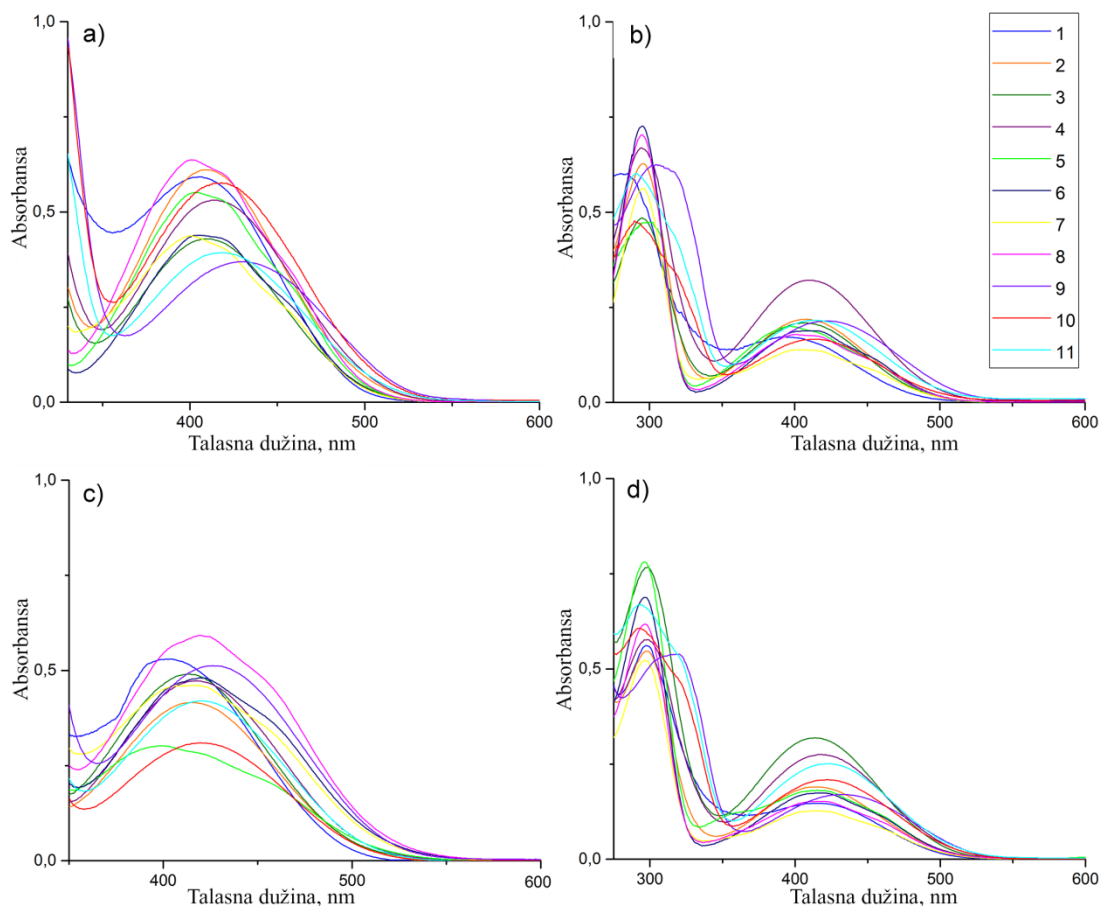
Dobijeni rezultati jasno pokazuju da odnos pK_a i σ u značajnoj meri zavisi od elektron-akceptorskih i elektron-donorskih efekata supstituenata, čime se menja kiselost N-H vodonika izatinskog prstena. Obrnuti efekat supstituenta na promenu pK_a vrednosti označava da povećanje elektron-akceptorskih sposobnosti supstituenta prouzrokuje porast pK_a vrednosti iako se σ povećava.

4.3. Uticaj rastvarača na UV spektre

Elektronska svojstva ispitivanih derivata **serije 1** i izomernih oblika **serije 2** su veoma osetljiva na svojstva rastvarača kao što su polarnost, stabilizacija naelektrisanja u solvacionoj sferi i promena elektronske strukture rastvorene supstance u osnovnom i pobuđenom stanju usled interakcija sa okolnim molekulima rastvarača.^{244,245} Osim toga, na obim i intenzitet interakcija između rastvarača i rastvorene supstance značajno utiču geometrija molekula i efekti supstituenata.

Za ispitivanje svojstava i stanja ravnoteže, interne konverzije geometrijskih izomera, mehanizma izomerizacija i interakcija između rastvarača i rastvorene supstance koje zavise od strukturnih svojstava ispitivanih izomera mogu se koristiti različite spektroskopske tehnike.^{93,246,247} UV-Vis tehnika predstavlja koristan metod za ispitivanje spektralnih svojstava geometrije izomera, njihovu osetljivost u odnosu na karakteristike rastvarača, efekte supstituenata, kiselost, temperaturu i dr. U cilju sprovođenja ispitivanja ove vrste, snimljeni su UV-Vis spektri **serije 1** i **serije 2** u 22 rastvarača različite polarnosti pri koncentraciji od $1 \cdot 10^{-5}$

mol L⁻¹. Karakteristični apsorpcioni spektri ispitivanih jedinjenja **serije 1** u acetonu, AcN, BzOH i DMF-u prikazani su na Slici 4.7, a za **seriju 2** u DMSO, THF i etanolu na Slici 4.8.

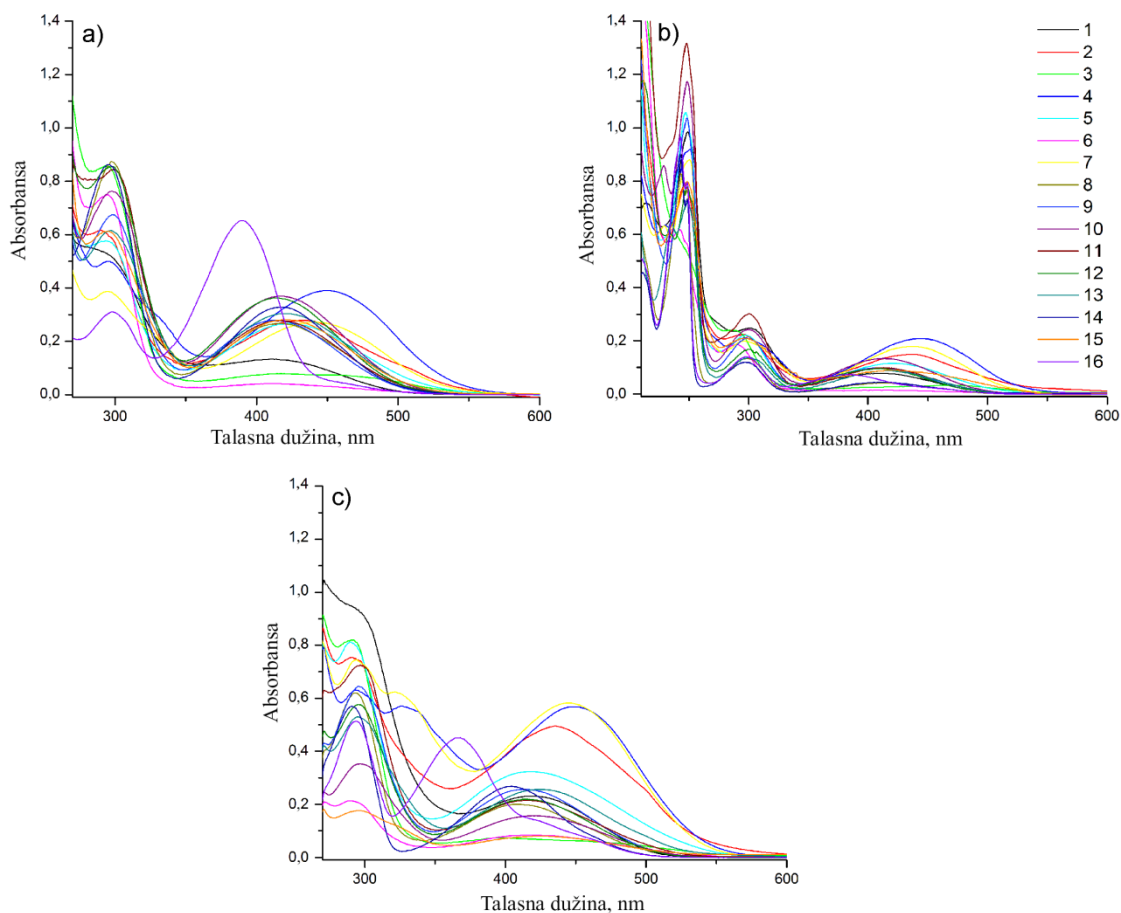


Slika 4.7 UV-Vis apsorpcioni spektri jedinjenja **1–11** **serije 1** u a) acetonu, b) AcN, c) BzOH i d) DMF-u

ν_{\max} pomeranja **serije 1** u UV apsorpcionim spektrima pokazuju relativno slabu zavisnost od efekata rastvarača i supstituenata (zapažene promene su u opsegu 10–20 nm) u odnosu na nesupstituisano jedinjenje **1**. Podaci iz Tabelama 4.3 i 7.9 ukazuju da vrednosti apsorpcionih frekvencija ispitivanih jedinjenja zavise od elektronskih efekata supstituenata na C3 položaju indol-2-on jezgra. Prisustvo Br kao supstituenta na C4 položaju fenilnog jezgra (molekul **4**) kao i svi hinolinski derivati (jedinjenja **9**, **10** i **11**) doprinose pozitivnom solvatohromizmu u odnosu na nesupstituisano jedinjenje. Druga jedinjenja pokazala su promenu ν_{\max} pomeranjem ka višim talasnim dužinama u 2-hloretanolu, 2-metoksietanolu, DMF-u, DMAc-u i AcN-u, dok za preostale korišćene rastvarače nije bilo moguće zapaziti pravilnost (nepravilno ponašanje u odnosu na supstituent i rastvarač). Najveće batohromno pomeranje je pronađeno kod molekula **9** u skoro svim upotrebljenim rastvaračima.

Tabela 4.3 Apsorpcione frekvencije izatinskih jedinjenja **serije1** u izabranim rastvaračima (pik na višim talasnim dužinama)

Rastvarač/ Jedinjenje	$\nu_{\max} \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Metanol (MeOH)	/	26,95	24,21	/	26,81	/	29,37	24,01	23,58	24,1	24,01
Etanol (EtOH)	24,48	24,18	24,27	24,1	26,67	26,39	21,57	24,15	23,39	24,04	24,18
2-propanol (iPrOH)	24,21	/	24,3	24,15	23,78	/	/	/	23,95	23,89	23,87
2-butanol (2-BuOH)	23,95	24,3	24,39	23,92	26,11	23,89	24,94	23,92	23,31	23,81	23,89
Cikloheksanol (ChOH)	24,63	24,15	24,24	23,92	25,71	23,87	23,81	23,81	23,12	23,67	23,78
Benzil-alkohol (BzOH)	24,91	24,13	24,21	23,95	25,13	23,84	24,07	23,75	23,47	23,84	23,84
2-Metoksietanol (2ME)	/	24,18	24,13	23,98	26,67	26,92	/	24,24	/	23,92	23,98
2-Hloretnol (2CE)	/	/	25,58	23,92	23,98	23,95	23,95	23,98	25,51	24,3	26,63
1,2-dimetoksietan (DME)	24,45	24,21	24,27	23,87	24,78	24,78	24,74	24,88	22,99	24,04	23,75
Toluen	24,04	24,51	24,21	23,58	24,88	24,81	24,88	24,91	22,91	/	23,42
Dihlorometan (DCM)	24,21	24,18	24,45	23,98	24,84	23,95	24,69	23,92	23,72	24,13	23,95
Aceton	24,66	24,48	24,48	24,13	24,84	24,64	25,06	24,94	23,23	23,92	23,95
Cikloheksanon (ChO)	24,51	24,07	24,3	23,84	25,71	24,45	24,81	24,78	22,91	23,75	23,67
Etil-acetat (EtAc)	24,54	24,57	24,24	23,98	25,06	24,94	24,97	24,84	23,12	23,81	23,78
Formamid (F)	24,84	24,18	24,54	24,3	25,48	23,92	24,21	24,18	23,78	23,92	24,07
Dimetilformamid (DMF)	24,15	24,13	24,12	23,98	24,07	23,98	24,10	24,04	23,12	23,7	23,81
Dimetilacetamid (DMAc)	23,98	23,92	23,96	23,87	23,89	23,78	23,87	23,81	23,04	23,81	23,56
N-Metil-2-pirolidon (NMP)	23,70	24,04	23,92	23,75	23,81	23,72	24,01	23,81	22,88	23,61	24,21
Acetonitril (AcN)	25,41	24,51	24,66	24,42	25,28	24,3	24,69	25,00	23,72	24,27	23,78
Dimetilsulfoksid (DMSO)	24,39	24,13	24,13	23,98	25,54	24,1	24,48	23,89	23,17	23,78	23,58
Tetrahidrofuran (THF)	23,95	24,3	24,15	23,89	25,13	24,69	24,75	24,81	22,96	23,58	23,64
2-Pirolidon (2-Py)	24,10	24,04	24,24	24,07	23,81	23,84	23,92	23,84	23,01	23,84	24,01



Slika 4.8 Apsorpcioni spektri jedinjenja **1 - 16 serije 2** u a) DMSO-u, b) etanolu i c) THF

Apsorpcioni spektri ispitivanih jedinjenja **serije 2**, snimljeni u 22 rastvarača, pokazali su da sadrže dve trake na $\nu_{\max} \sim 300$ i 425 nm (Slika 4.8). U okviru ove doktorske disertacije, za određivanje položaja ν_{\max} koji odgovaraju *E* i *Z* izomerima bilo je neophodno primeniti TD-DFT proračune. TD-DFT je uspešno iskorišćen za proučavanje solvatisanih molekula, elektronske prelaze i procenu transfera elektronske gustine.^{248,249} Rezultati TD-DFT proračuna obezbedili su teorijske spektre za oba *E* i *Z* izomera u DMSO-u, EtOH-u i AcN-u (Slike 7.7 i 7.8, respektivno). Apsorpcioni maksimum *Z* izomera se javlja na višim talasnim dužinama (traka sa manjom energijom) od *E* oblika u svim ispitivanim rastvaračima kao i u gasovitoj fazi. Na osnovu TD-DFT rezultata izvršena je dekonvolucija eksperimentalnih spektara. Primer primenjene procedure za molekule **7** (4-OMe) i **12** (3-I) je predstavljen na Slici 7.9. Potvrda primenjene metodologije je izvršena na osnovu uporedne studije NMR analize (Tabela 7.4), TD-DFT rezultata i protumačenih eksperimentalnih spektara u DMSO-u. Nakon potvrde metodologije, urađeno je određivanje apsorpcionih maksimuma, a dobijeni rezultati su sumirani u Tabelama 3.4 i 7.10, respektivno.

Tabela 4.4 Apsorpcione frekvencije izatinskih jedinjenja **serije 2** u izabranim rastvaračima za *E* izomere

Rastvarač/ Jedinjenje	$\nu_{\max} \times 10^{-3} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
MeOH	25,84	23,87	25,03	23,43	25,00	26,14	23,06	25,50	25,41	25,49	24,61	25,38	24,55	23,79	25,89	26,63
EtOH	26,31	23,24	25,01	23,03	24,57	26,38	22,36	25,30	25,11	25,11	24,98	25,67	25,13	23,99	25,14	26,17
iPrOH	25,60	23,53	27,91	22,92	24,14	23,18	22,53	24,77	25,05	24,58	24,99	25,13	24,85	23,83	24,57	25,81
2-BuOH	23,99	22,90	25,21	23,24	23,91	24,47	22,16	24,87	24,40	24,12	24,13	24,46	24,07	24,08	24,44	26,04
ChOH	24,79	22,89	22,85	23,58	24,68	24,97	22,36	24,79	24,79	24,76	23,97	24,71	24,31	24,89	25,63	26,06
BzOH	25,56	23,38	22,38	23,53	24,18	26,14	22,39	24,55	25,28	24,85	23,68	24,81	24,06	24,41	24,65	26,14
2ME	/	23,11	/	23,54	24,19	/	22,27	24,57	25,01	24,78	25,1	24,54	24,15	24,49	25,60	26,48
2CE	25,25	20,99	25,30	22,51	24,79	27,00	19,53	24,69	24,61	24,92	25,05	24,83	24,95	23,95	24,20	24,84
DME	24,47	24,10	25,14	22,99	25,61	27,60	22,81	24,81	25,05	24,46	25,26	24,93	23,87	25,02	24,80	27,32
Toluen	25,84	22,48	23,10	23,00	24,98	26,11	21,77	25,17	24,57	24,37	24,49	24,18	23,92	24,85	23,33	24,48
DCM	25,64	22,63	/	24,48	24,42	24,93	21,87	24,99	24,90	24,73	24,79	24,86	24,56	21,53	/	25,10
Aceton	24,70	23,75	26,20	23,43	25,33	25,39	22,65	24,74	24,96	24,64	24,48	24,49	24,05	24,81	23,63	27,05
ChO	24,40	23,70	25,67	23,58	24,78	26,29	22,47	24,61	25,24	24,93	24,15	24,3	24,35	24,59	24,86	26,91
EtAc	24,65	23,98	26,40	23,43	25,26	25,40	22,28	24,96	25,36	23,97	24,58	24,32	23,86	25,15	/	27,81
F	25,34	23,33	24,32	23,04	24,66	24,61	22,67	24,90	25,36	25,27	24,59	25,55	24,94	23,67	24,36	25,67
DMF	25,87	23,40	24,53	22,84	24,36	24,78	21,82	24,12	24,43	24,34	24,71	24,27	24,44	24,09	24,62	25,93
DMAc	24,32	23,43	25,23	23,12	23,64	24,13	22,10	23,94	24,81	24,53	24,57	24,12	24,56	23,75	24,48	25,80
NMP	24,08	23,25	24,91	21,96	24,21	24,55	21,95	23,98	24,86	24,59	24,46	24,61	24,74	23,88	24,67	25,81
AcN	26,17	24,00	24,80	23,57	25,04	25,32	22,76	25,41	25,99	25,26	25,35	25,37	25,33	25,10	24,36	27,17
DMSO	26,14	23,58	25,12	23,00	24,09	26,46	22,33	24,48	24,91	24,61	24,64	24,72	24,59	23,86	24,43	25,78
THF	24,16	23,05	25,42	22,95	24,84	24,26	21,76	25,00	24,58	24,15	24,65	24,25	23,89	24,28	24,28	27,51
2-Py	24,96	23,16	24,28	23,08	24,13	25,35	22,01	24,01	24,79	24,93	23,97	25,13	24,66	23,98	24,48	25,85

Podaci iz Tabela 4.4 i 7.10 potvrđuju da položaj UV-Vis apsorpcionih frekvencija **serije 2** zavisi od prirode prisutnog supstuenta. Postoji odgovarajuća pravilnost u promeni ν_{\max} , uvođenjem bilo elektron-donorskog ili elektron-akceptorskog supstuenta, koja doprinosi povećanju solvatohromizma u odnosu na nesupstituisano jedinjenje. Sa druge strane, pronađen je odgovarajući izuzetak za jedinjenja **6**, **15** i **16** u *E* izomernom obliku, kao i za jedinjenje **14** u *Z* obliku.

4.3.1. Solvatohromna svojstva (serija 1)

UV-Vis apsorpcioni spektri ispitivanih derivata izatina **serije 1 (1–11)** su mereni na 25 °C u dvadeset i dva rastvarača u opsegu 200–600 nm (Tabele 4.3 i 7.9). Dobijeni UV-Vis spektri sadrže dva pika koja odgovaraju različitim elektronskim prelazima.

Efekti rastvarača kao što su dipolarnost/polarizabilnost i sposobnost građenja vodoničnih veza na pomeranja apsorpcionih maksimuma su tumačeni primenom principa LSER i korišćenjem Kamlet–Taftove solvatohromne jednačine 3.5²²⁵. Rezultati korelacione analize prikazani su u Tabelama 4.5 i 7.11, a koeficijenti ν_0 , s , b i a su određeni sa nivoom pouzdanosti od 95 %.

Prema korelacionim rezultatima **serije 1** dobijenih primenom Kamlet-Taftove jednačine može se zapaziti kompleksna povezanost i izmena solvatohromnih koeficijenata u odnosu na postojeće efekte rastvarača i supstituenata (Tabela 4.5). Pozitivan znak koeficijenata s i a za izatinske derivate (jedinjenja **1**, **3-5**, i **9-11**) ukazuje na hipsohromno pomeranje sa porastom dipolarnosti i polarizabilnosti rastvarača i HBD. Najveće hipsohromno pomeranje apsorpcionog maksimuma u odnosu na koeficijente s i a , je pronađeno za molekule **5** i **9**, respektivno.

Pozitivne vrednosti koeficijenta s i a ukazuju na bolju stabilizaciju osnovnog u odnosu na elektronsko pobuđeno stanje sa povećanjem polarnosti rastvarača, tj. veća dipolarna svojstva molekula u osnovnom stanju sa izraženijim HBA svojstvima solvatisanih molekula. Za druge molekule, situacija je obrnuta. Uzimajući HBA efekte rastvarača, negativna vrednosti koeficijenta b , izuzev za jedinjenje **5**, ukazuje na bolju stabilizaciju pobuđenog stanja od strane rastvarača preko proton HBA interakcija.

Tabela 4.5 Rezultati korelacione analize za derivate izatina **serije 1** (pik na višim talasnim dužinama) prema jednačini 3.5

Jedinjenje	$\nu_0 \times 10^{-3}$ (cm^{-1})	$s \times 10^{-3}$ (cm^{-1})	$b \times 10^{-3}$ (cm^{-1})	$a \times 10^{-3}$ (cm^{-1})	R^a	Sd^b	F^c	P_π^d	P_β	P_α	Rastvarači isključeni iz korelacije
1	25,31 ±0,23	0,27 ±0,20	-2,15 ±0,26	0,62 ±0,12	0,95	0,14	25,17	8,88	70,72	20,39	2CE, 2ME, DCM, ChOH, Toluen, DMSO, AcN, THF
2	25,35 ±0,12	-0,64 ±0,10	-1,02 ±0,13	-0,05 ±0,06	0,96	0,07	31,47	37,43	59,65	2,92	iPrOH, 2CE, 2CE, 2ME, DME, DCM, DMSO, Toluen, ChO
3	24,62 ±0,10	0,77 ±0,13	-1,76 ±0,12	1,16 ±0,06	0,99	0,07	158,79	20,87	47,70	31,44	2CE, Etanol, BzOH, 2ME, F, Toluen, DCM
4	23,70 ±0,08	0,32 ±0,08	-0,06 ±0,08	0,40 ±0,05	0,94	0,05	21,81	41,03	7,69	51,28	2CE, AcN, Aceton, BzOH, 2CE, EtAc, NMP, 2ME, Toluen i ChOH
5	23,14 ±0,44	4,36 ±0,54	1,64 ±0,41	0,14 ±0,29	0,95	0,29	33,31	71,01	26,71	2,28	2CE, DMSO, BzOH, Toluen, F, ChO, 2ME
6	26,03 ±0,20	-1,01 ±0,19	-1,57 ±0,24	-0,62 ±0,10	0,95	0,15	34,00	31,56	49,06	19,38	2CE, iPrOH, Etanol, DCM, 2ME, 2CE
7	26,24 ±0,22	-0,64 ±0,23	-2,14 ±0,28	-0,62 ±0,11	0,96	0,15	34,68	18,82	62,94	18,24	iPrOH, 2ME, 2CE, Etanol, 2-BuOH, DMSO, Toluen, DCM
8	26,54 ±0,23	-0,97 ±0,22	-2,28 ±0,27	-0,61 ±0,11	0,95	0,16	43,10	25,13	59,07	15,80	iPrOH, 2ME, DCM, Toluen, Etanol
9	22,44 ±0,33	1,64 ±0,44	-1,22 ±0,29	2,10 ±0,23	0,94	0,25	31,55	33,06	24,60	42,34	2ME, 2CE, Etanol, BzOH, F i 2-Py
10	23,75 ±0,12	0,49 ±0,14	-0,65 ±0,10	0,53 ±0,06	0,94	0,07	32,38	29,34	38,92	31,74	Toluen, AcN, BzOH, F, 2ME
10	23,79 ±0,11	0,45 ±0,12	-0,69 ±0,09	0,54 ±0,06	0,96	0,07	42,18	26,79	41,07	32,14	Toluen, AcN, BzOH, F, 2ME, DME
11	23,00 ±0,41	1,62 ±0,63	-1,03 ±0,41	2,42 ±0,30	0,94	0,31	25,22	31,95	20,32	47,73	2CE, BzOH, F, DCM, Etanol, 2-Py, iPrOH i ChOH

^a Korelacioni koeficijent; ^b Standardna devijacija; ^c Fisher-ove (Fišerov) test; ^d Procenta doprinosa solvatohromih parametara dobijeni primenom Kamlet-Taftove jednačine (%);

Procenat doprinosa solvatohromnih parametara (Tabela 4.5) za sve izatinske derivate **serije 1** pokazuju da je najveća P_{π} vrednost za molekul **5** (71,01 %) sa najmanjom vrednosti P_{α} (2,28 %). Suprotno je primećeno za jedinjenje **1** sa najvećom vrednosti za P_{β} (70,72 %) i najmanjom vrednosti P_{π} (8,88 %). Najveća vrednost P_{α} je dobijena za molekul **4** (51,28 %).

Prema korelacionoj analizi dobijenom primenom Kamlet–Taftove jednačine ustanovljeno je da negativan znak koeficijenta s i a (Tabela 7.11), osim za molekul **9** (dobijene su pozitivne vrednosti od 1,57 i 1,42, respektivno), ukazuje na batohromno pomeranje sa porastom dipolarnosti i polarnosti rastvarača. Na osnovu prethodnog, može se zaključiti da je bolja stabilizacija pobuđenog elektronskog stanja u odnosu na osnovno, tj. veća dipolarnost i polarizabilnost i HBD svojstva solvatisanih molekula u pobuđenom stanju. Zamena znaka koeficijenta b , odnosno pozitivne vrednosti su pronađene za jedinjenja **3, 4, 8, 11** pokazuje bolju stabilizaciju izatinskih derivata u osnovnom stanje, tj. pronađene su veće HBA interakcije rastvarača sa rastvorenim molekulom.

Nespecifični efekti rastvarača su razlog većeg doprinosa UV-Vis spektralnih pomeranja svih proučavanih jedinjenja **serije 1** (Tabela 7.11), osim za jedinjenje **9** sa najvećim doprinosom HBA efekata rastvarača (45,04 %), i molekul **11** sa najvećim doprinosom P_{α} (44,15 %). Najveća vrednost za P_{π} je dobijena za jedinjenje **5** (65,41 %). Manji doprinos ima HBA efekat nastvarača, a najveća vrednost za ovaj efekat rastvarača je pronađena za jedinjenje **9** (-2,45), a izuzetno mala vrednost je dobijena za jedinjenja **6 – 8** (-0,05, -0,06 i 0,02, respektivno). Prikazani rezultati, dobijeni primenom Kamlet–Taftovog modela, ukazuju je uticaj rastvarača na promenu UV–Vis apsorpcione spektre proučavanih izatinskih derivata **serije 1** veoma složen odnosno kompleksan usled različitih doprinosa efekata rastvarača i supstituenta u ispitivanim jedinjenjima. Takođe se može zaključiti da je elektronsko ponašanje atoma azota u indol-2-on delu značajno različito između derivata sa velikim doprinosom lokalizovanih HBA efekata prouzrokovanog i poboljšanog od strane elektron-akceptorskih hinolinskih i metil supstituisanih piridil grupa.

4.3.2. LSER analiza UV podataka (serija 2)

Doprinos specifičnih i nespecifičnih interakcija između rastvarača i rastvorene supstance je kvantitativno je procenjen primenom LSER jednačine 3.5. LSER koncept koji su razvili Kamlet i Taft predstavlja uspešnu metodologiju najčešće korišćenu za kvantitativnu obradu solvatacionih efekata. Na ovaj način se obrađuju privlačne i odbojne

interakcije između rastvarača i rastvorene supstance a takođe je omogućena procena veličine interakcija između rastvarača i rastvorene supstance. Korelacioni rezultati dobijeni primenom Kamlet-Taftovog modela su prikazani u Tabeli 4.6 za *E* izomer, i Tabeli 7.12 za *Z* izomer. Procenti doprinosa nespecifičnih (P_{π}) i specifičnih interakcija između rastvarača i rastvorene supstance (P_{β} i P_{α}) su takođe predstavljeni u Tabelama 4.6 i 7.12.

Korelacioni rezultati za *E* i *Z* izomer (Tabele 4.6 i 7.12, respektivno) pokazuju značajan uticaj efekata rastvarača i supstituenata na promenu i variranje solvatohromnih koeficijenata. Negativan znak koeficijenta s i a , dobijeni u korelacijama za *E* izomer koji se odnose na nespecifične i HBD efekte rastvarača (Tabela 4.6) ukazuju na batohromno pomeranje apsorpcionih maksimuma sa povećanim doprinosom dipolarnosti/polarizabilnosti i HBD sposobnosti rastvarača. Suprotan znak je pronađen za jedinjenja **1**, **6-10**, **12** i **13** (koeficijent s) kao i molekule **1**, **6-10**, **12**, **13** i **15** (koeficijent a). Najveća vrednost koeficijenta s (-3,66) i a (-2,82) je zapažena za jedinjenje **3** (Tabela 4.6). Na osnovu navedenih vrednosti može se zaključiti da je najizraženiji prenos efekata supstituenata, tj. elektron-donorska sposobnost hidroksilne grupe (jedinjenje **3**) u *meta*-položaju ka izatinskom jezgru usled povećane osetljivosti elektronske gustine na dipolarnost/polarizabilnost i sposobnost vodoničnog vezivanja rastvarača. Nasuprot korelacijama *E* izomera, za *Z* izomere su uglavnom dobijene pozitivne vrednosti koeficijenata s i a , ukazujući na hipsohromno pomeranje apsorpcionog maksimuma. Negativan znak koeficijenata s i a za *Z* izomer, su zapaženi u molekulima **2-4** i **14-16** sa jakim elektron-donorskim (OH) i elektron-akceptorskim (NO₂) grupama (izuzetak su jedinjenja **14** i **15** za vrednosti koeficijenta a). Ovi rezultati ukazuju da direktna π -konjugacija u molekulu kao celini doprinosi stabilizaciji pobuđenog stanja. To može biti posledica prenosa efekata supstituenata na većem rastojanju koji pospešuju polarizaciju karbonilne grupe i na taj način povećavaju sposobnost vodoničnog vezivanja karbonilnog kiseonika i razdvajanje elektronskih naelektrisanja. Najveći doprinos HBD efekata solvatohromnim svojstvima je zapažen za molekul **4** (batohromno pomeranje, Tabela 4.6) dok je slična pozitivna vrednost pronađena za jedinjenja **6**, **7** i **10** (hipsohromna pomeranja, Tabela 7.12).

Tabela 4.6 Korelacioni rezultati izatinskih jedinjenja **serije 2** za *E* izomere dobijene prema Kamlet–Taftovoj jednačini

Molekul	$\nu_0 \times 10^{-3}$ (cm^{-1})	$s \times 10^{-3}$ (cm^{-1})	$b \times 10^{-3}$ (cm^{-1})	$a \times 10^{-3}$ (cm^{-1})	R^a	Sd^b	F^c	P_π^d	P_β	P_α	Rastvarači isključeni iz korelacije
1	24,99 ±0,32	0,45 ±0,35	-1,60 ±0,32	1,50 ±0,19	0,946	0,219	25,68	12,68	45,07	42,25	2ME, DMSO, DMF, EtOH, iPrOH, AcN, 2CE, 2-BuOH, Toluen
2	24,67 ±0,32	-2,09 ±0,41	1,05 ±0,25	-2,52 ±0,21	0,969	0,217	50,82	36,93	18,55	44,52	MeOH, F, BzOH, AcN, THF, Toluen, EtOH, iPrOH
3	26,96 ±0,73	-3,66 ±0,81	1,89 ±1,03	-2,82 ±0,60	0,903	0,488	11,72	43,73	22,58	33,69	2ME, DCM, Toluen, 2CE, iPrOH, ChOH, F, Aceton, MeOH, EtOH
4	22,58 ±0,19	-0,65 ±0,28	1,41 ±0,22	-0,41 ±0,13	0,914	0,132	13,47	26,32	57,09	16,60	DCM, 2ME, BzOH, NMP, MeOH, AcN, Aceton, F, EtAc, ChOH
5	27,01 ±0,25	-1,37 ±0,24	-2,07 ±0,29	-0,32 ±0,12	0,943	0,175	32,02	36,44	55,05	8,51	2-BuOH, 2ME, DCM, Toluen, MeOH, DMAc
6	24,07 ±0,90	1,03 ±1,03	-0,60 ±0,49	2,08 ±0,39	0,926	0,385	15,97	27,76	16,17	56,06	BzOH, 2ME, DME, Toluen, iPrOH, ChOH, F, DMSO, EtAc, 2-BuOH
7	21,84 ±0,24	0,32 ±0,27	-0,46 ±0,23	1,11 ±0,17	0,918	0,186	14,21	16,93	24,34	58,73	2CE, DME, Aceton, AcN, ChOH, EtAc, DMSO, DMAc, DCM, EtOH
8	24,83 ±0,50	0,32 ±0,55	-1,27 ±0,28	1,33 ±0,28	0,943	0,190	21,48	10,96	43,49	45,55	THF, 2-Py, BzOH, EtAc, Toluen, DME, AcN, 2CE, F, 2ME
9	24,31 ±0,14	0,76 ±0,16	-0,22 ±0,12	0,67 ±0,09	0,928	0,109	20,72	46,06	13,33	40,61	2CE, EtAc, AcN, ChOH, DME, 2-BuOH, DMF, 2-Pyr
10	23,96 ±0,21	0,91 ±0,26	-0,40 ±0,18	1,13 ±0,13	0,932	0,164	24,33	37,30	16,39	46,31	AcN, ChOH, BzOH, 2-BuOH, 2CE, Toluen, 2-PrOH
11	26,13 ±0,30	-2,71 ±0,41	0,30 ±0,39	-0,01 ±0,17	0,925	0,208	15,91	89,74	9,93	0,33	DMSO, DMAc, 2-BuOH, ChOH, 2ME, DCM, AcN, F, DMF, NMP
12	23,70 ±0,21	1,10 ±0,27	-0,22 ±0,19	1,38 ±0,15	0,947	0,174	34,43	40,74	8,15	51,11	2CE, DME, BzOH, AcN, 2-BuOH, DMAc
13	22,97 ±0,12	1,65 ±0,15	0,10 ±0,11	0,56 ±0,09	0,958	0,108	48,46	71,43	4,33	24,24	BzOH, AcN, EtOH, iPrOH, 2CE
14	26,80 ±0,25	-1,53 ±0,27	-1,93 ±0,29	-0,81 ±0,12	0,955	0,171	41,91	35,83	45,20	18,97	DCM, ChOH, 2ME, Toluen, THF, BzOH
15	27,26 ±0,49	-2,43 ±0,50	-0,74 ±0,35	0,09 ±0,24	0,906	0,265	12,14	74,54	22,70	2,76	DCM, EtAc, 2CE, Toluen, Aceton, 2-BuOH, iPrOH, THF, DME, AcN
16	29,98 ±0,33	-2,10 ±0,30	-2,87 ±0,38	-0,87 ±0,19	0,957	0,230	47,26	35,96	49,14	14,90	Toluen, DCM, MeOH, 2ME, 2CE

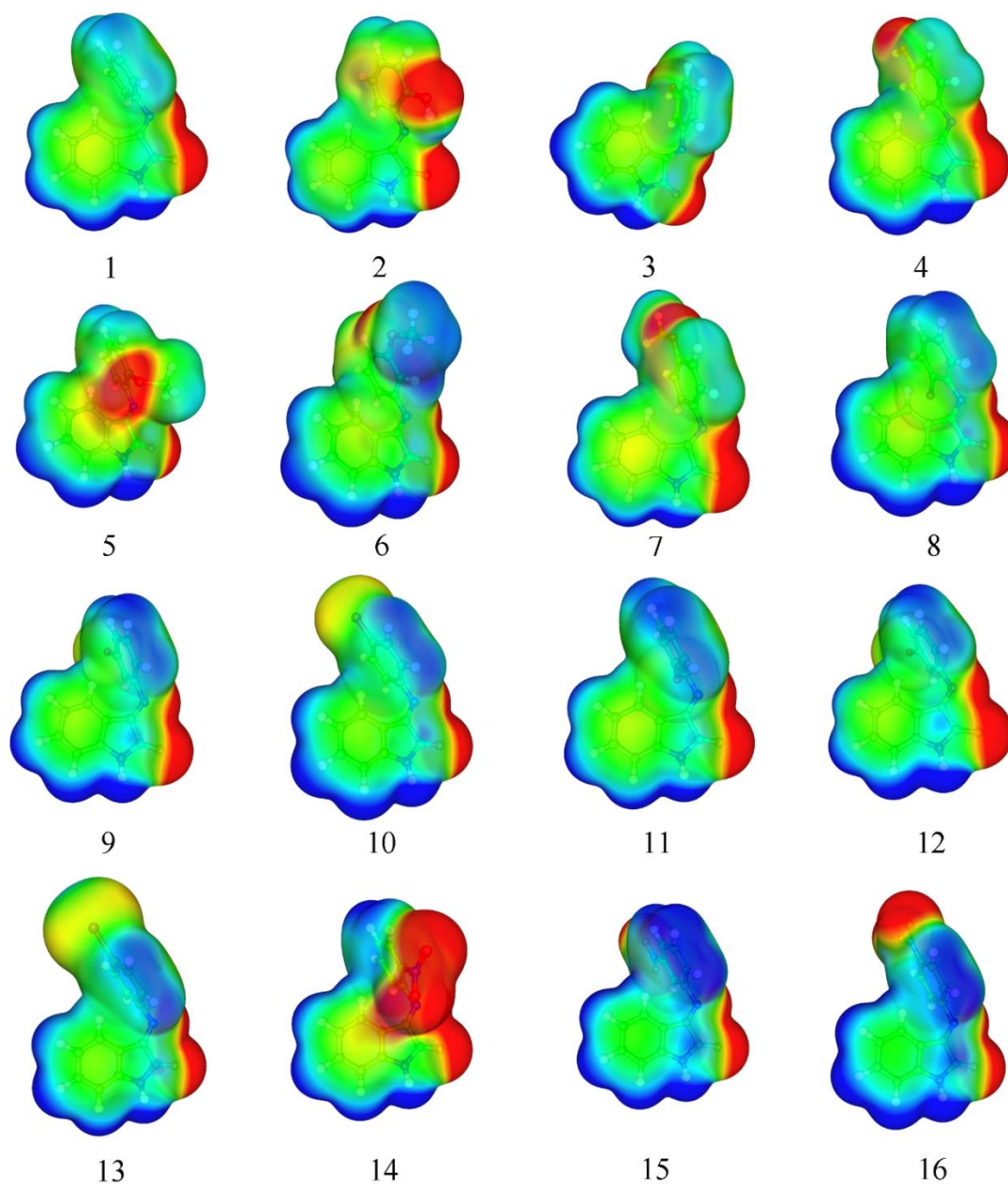
^a Korelacioni koeficijenti; ^b Standardna devijacija ^c Fišerov test; ^d Procenat doprinosa solvatohromnih parametara dobijeni primenom Kamlet-Taftove jednačine (%);.

Pozitivne vrednosti koeficijenta b dobijene su za E izomere jedinjenja **2-4**, **11** i **13** i Z izomere molekula **2-5**, **7**, **12** i **13**, na osnovu kojih se može zaključiti da je bolja stabilizacija molekula u osnovnom stanju (Tabele 4.6 i 7.12). Navedena pozitivna vrednost koeficijenta b ukazuje da proton-akceptorske sposobnosti amidnog azota i karbonilnog kiseonika (C2=O) uglavnom doprinose umerenom do velikom stepenu stabilizacije molekula u osnovnom stanju. Najveće vrednosti koeficijenta b su pronađene za E izomer molekula **16** (-2,87; Tabela 4.6) i Z izomer jedinjenja **4** (3,66; Tabela 7.12). U osnovi, odstupanje od opšteg trenda vrednosti koeficijenata s , a i za ova jedinjenja (Tabela 4.6) je posledica efekata supstituenata i geometrije ispitivanih jedinjenja. Uopšteno posmatrano, složeni uticaji svojstava rastvarača na promenu v_{\max} mogu se tumačiti analizom korelacionih parametara u odnosu na doprinos efekata rastvarača i supstituenta, kao i efekat geometrijskih karakteristika proučavanih derivata izatina.

U cilju detaljnijeg ispitivanja interakcija između rastvarača i rastvorene supstance, izvršena je MEP analiza za vizualizaciju raspodele naelektrisanja preko ispitivanih jedinjenja **serije 2** (Slike 4.9 i 7.10). MEP potencijal u određenoj tački u prostoru oko molekula daje informacije o mreži elektrostatičkih interakcija u odnosu na ukupnu raspodelu naelektrisanja.

Ova vrednost se može korelisati sa različitim molekulskim svojstvima kao što su: dipolni moment, elektronegativnost, delimično naelektrisanje i hemijska reaktivnost. Izopovršina elektronske gustine mapirana elektrostatičkim potencijalom opisuje veličinu, oblik, gustinu naelektrisanja i mesto reaktivnosti molekula. Vrednosti elektrostatičkog potencijala na površini su prikazane različitim bojama: **crvena** označava regione sa najvećim elektronegativnim elektrostatičkim potencijalom (sa velikom elektronskom gustom) odnosno najpovoljnija mesta za HBD interakcije rastvarača i rastvorene supstance; **plava** predstavlja regione sa najpozitivnijim elektrostatičkim potencijalom, tj. regije sa malom elektronskom gustom povoljne za nukleofilni napad (prioritet HBA interakcija između rastvarača i rastvorene supstance), i zelena za prikazivanje regiona sa nultim potencijalom. Potencijal raste u sledećem redosledu crvena < narandžasta < žuta < zelena < plava. Kao što se može videti sa MEP mapa (Slike 4.9 i 7.10), negativni regioni, odnosno najveća HBA sposobnost je uglavnom lokalizovana iznad karbonilne grupe C2=O i iznad metoksi i nitro supstituenata u jedinjenjima **5-7** i **14-16**, respektivno. Na osnovu MEP mapa ispitivanih derivata takođe se može zapaziti da se regioni sa negativnim

potencijalom nalaze iznad elektronegativnih atoma, a da su regioni sa pozitivnim potencijalom iznad izatinske fenil grupe i iznad supstituenata u molekulima **6**, **9-13** i **15-16** u *E* izomernom obliku. Preostali delovi struktura su okruženi nultim potencijalom (Slika 4.9). Izatinska jedinjenja koja zauzimaju *Z* konformaciju imaju slične pozitivne potencijale ali sa manjim intenzitetom promene MEP-a u odnosu na supstituente.



Slika 4.9 MEP mape jedinjenja **1-16** serije **2** u *E* izomernom obliku (gasovita faza) izračunati pomoću B3LYP/6-311G(d,p) metode u osnovnom stanju

4.3.3. LFER analiza UV podataka (serija 1)

U ovoj doktorskoj disertaciji, za dobijanje boljeg uvida u elektronske efekte supstituenata na apsorpcione maksimume i NMR hemijska pomaranja primenjen je LFER koncept linearne korelacije slobodne energije na ν_{\max} i SCS vrednosti, odnosno hemijska pomaranja uslovljena prisustvom supstituenta izatinskih derivata **serije 1**. Izvršena je analiza primenom LFER principa u obliku Hametove jednačine.¹³⁷ Hametove konstante supstituenata su date u Tabeli 7.13, a dobijeni korelacioni rezultati su prikazani u Tabeli 4.7. Na osnovu dobijenih rezultata zapaža se različita osetljivost hemijskog pomaranja na efekte supstituenata. Iz Tabele 4.7 može se primetiti da su korelacije dobrog ili veoma visokog kvaliteta što svakako potvrđuje da SCS vrednosti odražavaju elektronske efekte supstituenata. Takođe je očigledno da su hemijska pomaranja na fenilnom odnosno arilnom C1' atomu pokazala povećanu osetljivost i uobičajene efekte supstituenata.

Tabela 4.7 Korelacioni rezultati SCS sa σ konstantama prema Hametove (SSP) jednačini

Atom	ρ	h	R	F	sd	n	Uključeni supstituenti
H	-0,26 ±0,05	11,22 ±0,03	0,957	32,84	0,004	5	CN*, 3-Me-2-Py, 4-Me-2-Py, 5-Me-2-Py, 6-Hy
	-0,34 ±0,05	11,26 ±0,03	0,971	49	0,004	5	3-Me-2-Py, 4-Me-2-Py, 5-Me-2-Py, 6-Me-2-Py, 6-Hy
	-2,02 ±0,17	12,40 ±0,12	0,993	145,34	0,016	4	NO ₂ *, CN, 4-Me-2-Py, 6-Me-2-Py
C2	-1,09 ±0,17	164,30 ±0,09	0,952	39,13	0,105	6	H, Br, 3-Br, CN, 5-Me-2-Py, 6-Me-2-Py
	-5,68 ±0,95	167,32 ±0,61	0,960	35,65	0,089	5	CN, 2-Br, 4-Me-2-Py, 6-Me-2-Py, 6-Hy
C3	0,83 ±0,09	151,82 ±0,05	0,974	36,62	0,019	4	2-Br, 3-Br, 3-Me-2-Py, 6-Me-2-Py
C1'	19,74 ±3,00	142,05 ±1,76	0,957	43,28	1,392	6	Br, 3-Br, NO ₂ , 4-Me-2-Py, 5-Me-2-Py, 6-Me-2-Py
	17,39 ±1,53	143,86 ±0,95	0,989	129,71	0,651	5	Br, NO ₂ , 4-Me-2-Py, 5-Me-2-Py, 6-Me-2-Py
	6,02 ±1,12	151,70 ±0,69	0,952	28,76	0,701	5	H, NO ₂ , 4-Me-2-Py, 5-Me-2-Py, 6-Me-2-Py

* NMR podaci za 4-NO₂ i 4-CN su preuzeti iz literature: ref.²⁵⁰

Prikazani rezultati ukazuju da oba efekta supstituenta, elektron-donorski i elektron-akceptorski, imaju značajan uticaj na pomerenje elektronske gustine u ispitivanom

molekulu. Efektivnost prenosa efekata supstituenata je određena konformacionom (geometrijskom) promenom ispitivanih molekula koje potiču od neplanarne rotacije aril supstituenta u odnosu na ravan indol-2-ona, definisanu torzionim uglom θ (Slika 3.1). Suprotan efekat (*eng.* reverse effect) supstituenata je zapažen na H1 i C2 ugljeniku.

Postojanje ovih korelacija je tumačeno kao dokaz efekta supstituenta na promenu elektronske gustine iznad ispitivanog molekula. Prisustvo elektron-akceptorpske keto grupe na C2 položaju (C2=O), i elektron-donorske amino grupe (N1-H), kao deo π_1 -elektronskog sistema amidne grupe, doprinosi intenzivnoj elektronskoj interakciji koja postoji u 3-(imino supstituisanom)-2-Py ostatku.²⁵¹ Korelacije za C2 pokazale su negativne vrednosti korelacionog koeficijenta ρ . Negativan znak reakcione konstante, ρ , ukazuje na suprotno ponašanje, tj. SCS vrednosti se smanjuju iako se sposobnost supstituenata da privlači elektrone, merena sa σ , povećava. Ovakav rezultat jasno odražava obrnuto ponašanje u odnosu na normalnu polarizaciju u keto grupi koji proizlazi iz doprinosa dva suprotna efekta: elektron-akceptorskog C2=O grupe i arilnih supstituenata sa učešćem elektron-donorskog efekta indolnog azota. Veličina ovog efekta u najvećoj meri zavisi od elektron-akceptorskog karaktera aril supstituenata, koji uzrokuje obrnuto pomeranje π -elektronske gustine sa C2=O keto grupe. Doprinos rezonacionih interakcija zavisi od prostornog rasporeda arilnog dela, a samim tim, povoljna konformacija obezbeđuje efektivan prenos rezonacionih efekata sa C2 na C3 ugljenik. Na osnovu toga, očekuje se da će prisustvo elektron-donorske grupe podržati polarizaciju C2=O, dok electron-akceptorska grupa ima suprotan efekat koji se ogleda u obrnutoj polarizaciji. Normalna polarizacija na C3 ugljeniku odražava doprinos elektronskih efekata obe π -elektronske jedinice (Slika 3.1), a prvenstveno je određena polarizacijom C=N imino veze koja je manjoj ili većoj meri poremećena usled promene supstituenta na fenil odnosno aril ostatku. Očigledno je da hemijska pomeranja C1 'pokazuju povećanu osetljivost i normalan efekat supstituenta u odnosu na konstantu supstituenta. Ovaj nalaz je često zapažen u literaturi i pojavljuje se kao posledica elektronskih interakcija na malim rastojanjima sa supstituentom u *para*-položaju fenilnog prstena.

Rezultati korelacije UV - Vis apsorpcionih maksimuma ispitivanih jedinjenja, dobijeni primenom LFER-ovih principa, prikazani su u Tabeli 4.8. Rezultati LFER-a ukazuju na kompleksne uticaje efekta rastvarača i supstituenta na pomeranje UV-Vis apsorpcionih maksimuma (Tabela 4.8). Ovi rezultati pokazuju da efekti rastvarača:

dipolarnost/polarizabilnost, HBD i HBA sposobnosti uzrokuju odgovarajuću osetljivost položaja apsorpcionih maksimuma (v_{\max}) na efekte supstituenta.

Tabela 4.8 Rezultati korelacije v_{\max} vrednosti **serije 1** sa σ konstantama supstituenta primenom Hametove (SSP) jednačine

Atom	Rastvarač	ρ	h	R	F	sd	n	Uključeni supstituenti
Pik na nižoj talasnoj dužini	DMF	0,90 $\pm 0,18$	33,08 $\pm 0,11$	0,961	24,48	0,043	4	2-Br, 3-Br, 4-Me-2-Py, 6-Me-2-Py
	Etanol	0,47 $\pm 0,08$	33,05 $\pm 0,05$	0,958	33,33	0,030	5	2-Br, 4-Br, 4-Me-2-Py, 5-Me-2-Py, 6-Me-2-Py
		0,35 $\pm 0,06$	33,14 $\pm 0,03$	0,961	35,92	0,036	5	H, 4-Br, 4-Me-2-Py, 5-Me-2-Py, 6-Me-2-Py
	AcN	-3,19 $\pm 0,31$	35,90 $\pm 0,17$	0,981	102,97	0,180	6	H, 2-Br, 4-Me-2-Py, 5-Me-2-Py, 6-Me-2-Py, 8-OH-2-Hy
		-0,25 $\pm 0,03$	34,06 $\pm 0,02$	0,976	60,90	0,012	5	3-Br, 4-Br, 4-Me-2-Py, 5-Me-2-Py, 6-Me-2-Py
	THF	1,12 $\pm 0,15$	33,37 $\pm 0,08$	0,975	57,52	0,058	5	3-Br, 4-Br, 4-Me-2-Py, 5-Me-2-Py, 6-Me-2-Py
Pik na višoj talasnoj dužini	DMF	-1,31 $\pm 0,24$	24,88 $\pm 0,15$	0,967	28,80	0,020	4	2-Br, 3-Me-2-Py, 4-Me-2-Py, 5-Me-2-Py
		-0,82 $\pm 0,12$	24,15 $\pm 0,05$	0,979	45,04	0,056	4	H, 4-Br, 6-Hy, 8-OH-2-Hy
	Etanol	-0,51 $\pm 0,06$	24,47 $\pm 0,03$	0,977	62,21	0,033	5	H, 2-Br, 3-Br, 6-Me-2-Py, 8-OH-2-Hy
	AcN	-1,67 $\pm 0,18$	25,38 $\pm 0,09$	0,982	82,97	0,100	5	H, 2-Br, 3-Br, 4-Me-2-Py, 8-OH-2-Hy, 6-Hy
	THF	2,03 $\pm 0,29$	23,42 $\pm 0,16$	0,971	48,85	0,115	5	3-Br, 4-Br, 4-Me-2-Py, 5-Me-2-Py, 6-Me-2-Py,

Dipolaran rastvarač DMF; i rastvarač sa malim HBD efektom, AcN, i velikim HBD efektom, etanol, doprinose suprotnom ponašanju pomeranja apsorpcionih frekvencija na višim talasnim dužinama u odnosu na efekte supstituenata. Aprotični rastvarači se ponašaju

kao slabi rastvarači koji imaju mali potencijal za solvataciju anjona, dok sa druge strane pokazuju dobra solvaciona svojstva u odnosu na pozitivno naelektrisanje i najčešće bolje stabilišu veća i značajno dispergovana pozitivna naelektrisanja. Manji doprinos efekata supstituenata u rastvaraču sa većom relativnom permitivnošću može se objasniti činjenicom da veoma dipolarni medijum značajnije doprinosi pomeranju elektronske gustine, a sa druge strane ovi efekti utiču na smanjenje osetljivosti promene položaja apsorpcionog maksimuma izazvanih elektronskim efektima supstituenata. Slično ponašanje je pronađeno za AcN i etanol, a takođe se može zapaziti da je dipolarnost/polarizabilnost rastvarača najznačajniji efekat koji doprinosi suprotnoj zavisnosti ν_{\max} od efekata supstituenata (reverse substituent effect). Pronađen je suprotan efekat supstituenata na promenu ν_{\max} u THF-u.

U dva rastvarača koji pokazuju HBD svojstva, AcN i etanol, dobijene su negativne vrednosti korelacionog koeficijenta sa pikom na nižim talasnim dužinama za prvi rastvarač. Nešto veća osetljivost ν_{\max} na efekte supstituenata je pronađena za AcN (prvi set rastvarača) i THF. U DMF-u, dobijen je negativan solvatohromizam u odnosu na efekte supstituenta, što ukazuje na bolju stabilizaciju osnovnog stanja proučavanih jedinjenja. Nešto niže vrednosti i sličan trend korelacije nagiba su pronađeni za etanol, usled smanjenog doprinosa efekta dipolarnosti/polarizabilnosti rastvarača. Ovaj rezultat ukazuje da prenos elektronskih efekata supstituenata značajno zavisi od konformacije ispitivanih molekula i svojstava rastvarača. Prikazani rezultati takođe pokazuju da se prenos elektronskih efekata supstituenata kroz π -rezonancione jedinice odvija uravnoteženim doprinosom dva načina: kroz lokalizovanu π -elektronsku jedinicu i sveobuhvatni konjugovani sistem proučavanih jedinjenja. Njihov doprinos zavisi od seta jedinjenja koji imaju supstituente različitih svojstava, kao i od karakteristika rastvarača. Ova činjenica ukazuje da promena elektronske gustine potiče od lokalizovane/proširene delokalizacije u elektron-akceptor supstituisanim jedinjenjima. Kao posledica, javlja se manji efekat supstituenata u rastvaraču sa većom sposobnošću HBA odnosno prihvatanja protona pri formiranju vodonične veze.

4.3.4. LFER analiza UV podataka (serija 2)

Da bi se analizirali efekti supstituenata na ICT ispitivanih derivata izatina, primenjeni su principi LFER-a na UV-Vis spektralne podatke korišćenjem Hametove jednačine (3.6). Dobijene su nelinearne korelacije a rezultati su navedeni u Tabeli 4.9 za oba *E* i *Z* izomera.

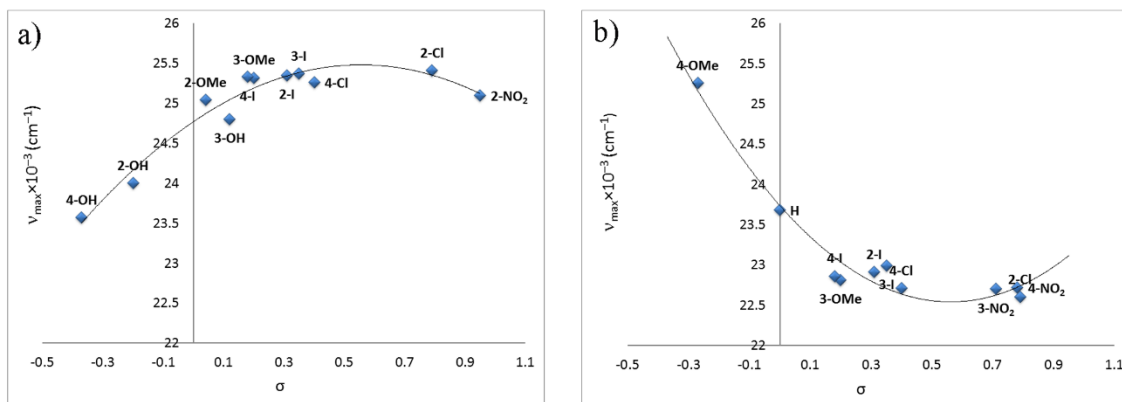
Tabela 4.9 Korelacioni rezultati v_{\max} sa σ konstantama dobijeni za *E* i *Z* izomere serije 2 primenom Hametove (SSP) jednačine

Oblik	Rastvarač	ρ	h	R	F	sd	n	Isključeno jedinjenje	
<i>E</i>	AcN	(-2,31 $\pm 0,29$) σ^2	(2,57 $\pm 0,22$) σ	24,77 $\pm 0,06$	0,97	72,21	0,16	11	1, 7, 9, 15, 16
	DMSO	(-2,80 $\pm 0,24$) σ^2	(2,40 $\pm 0,17$) σ	24,20 $\pm 0,05$	0,98	96,15	0,13	11	1, 3, 6, 7, 16
	EtOH	(-5,30 $\pm 0,59$) σ^2	(4,95 $\pm 0,45$) σ	24,29 $\pm 0,11$	0,96	59,44	0,28	12	1, 4, 6, 16
	2CE	(-9,20 $\pm 1,44$) σ^2	(8,89 $\pm 1,13$) σ	23,30 $\pm 0,27$	0,93	31,77	0,70	13	1, 4, 6
	Acetone	(-0,90 $\pm 0,39$) σ^2	(1,60 $\pm 0,28$) σ	24,10 $\pm 0,09$	0,94	21,72	0,21	9	1, 3, 5, 6, 7, 15, 16
	Toluen	(-2,47 $\pm 0,63$) σ^2	(4,11 $\pm 0,49$) σ	23,26 $\pm 0,13$	0,97	56,24	0,30	11	1, 4, 5, 6, 15
	THF	(-3,07 $\pm 0,74$) σ^2	(3,84 $\pm 0,57$) σ	23,45 $\pm 0,15$	0,93	26,68	0,36	11	1, 3, 4, 5, 16
	F	(-5,13 $\pm 0,65$) σ^2	(4,17 $\pm 0,50$) σ	24,25 $\pm 0,12$	0,94	35,73	0,32	12	1, 4, 8, 16
	DMAc	(-2,71 $\pm 0,39$) σ^2	(2,12 $\pm 0,28$) σ	24,16 $\pm 0,08$	0,94	29,36	0,21	11	3, 5, 7, 12, 16
	2-Pyr	(-5,35 $\pm 0,69$) σ^2	(4,69 $\pm 0,54$) σ	24,00 $\pm 0,13$	0,95	37,64	0,33	12	1, 4, 11, 16
<i>Z</i>	AcN	(3,81 $\pm 0,51$) σ^2	(-4,27 $\pm 0,37$) σ	23,74 $\pm 0,09$	0,98	81,44	0,19	10	2, 3, 4, 5, 9, 14
	DMSO	(6,62 $\pm 0,90$) σ^2	(-4,41 $\pm 0,75$) σ	23,10 $\pm 0,19$	0,95	27,58	0,40	9	2, 3, 4, 5, 6, 8, 15
	EtOH	(2,81 $\pm 0,87$) σ^2	(-3,54 $\pm 0,60$) σ	23,88 $\pm 0,16$	0,94	21,06	0,31	9	1, 2, 3, 4, 5, 14, 16
	2CE	(7,10 $\pm 1,33$) σ^2	(-1,49 $\pm 1,10$) σ	21,99 $\pm 0,25$	0,95	30,28	0,58	9	2, 3, 4, 6, 8, 15, 16
	Acetone	(8,49 $\pm 0,98$) σ^2	(-5,34 $\pm 0,76$) σ	22,27 $\pm 0,17$	0,93	38,21	0,48	14	4, 8
	Toluen	(7,93 $\pm 1,16$) σ^2	(-4,40 $\pm 0,97$) σ	21,62 $\pm 0,24$	0,94	27,86	0,51	10	1, 2, 3, 4, 6, 16
	THF	(9,39 $\pm 0,90$) σ^2	(-4,84 $\pm 0,70$) σ	21,85 $\pm 0,16$	0,97	61,50	0,44	12	4, 8, 13, 15
	F	(2,84 $\pm 0,50$) σ^2	(-1,13 $\pm 0,44$) σ	22,95 $\pm 0,09$	0,95	28,02	0,20	9	3, 4, 5, 7, 8, 15, 16
	DMAc	(7,97 $\pm 0,94$) σ^2	(-5,27 $\pm 0,71$) σ	22,37 $\pm 0,17$	0,96	36,03	0,41	9	3, 4, 5, 8, 9, 11, 16
	2-Pyr	(4,58 $\pm 0,84$) σ^2	(-2,82 $\pm 0,65$) σ	22,73 $\pm 0,15$	0,93	15,01	0,36	8	3, 4, 6, 8, 11, 12, 15, 16

Rezultati LFER-a odražavaju kompleksne i uravnotežene uticaje elektronskih efekata rastvarača i supstituenata na pomeranje apsorpcionih maksimuma oba izomera (Tabela 4.9). Najbolje korelacije su dobijene pomoću polinomske (kvadratne) jednačine drugog reda. S obzirom na rezultate korelacije za *E* i *Z* izomere, može se zapaziti da oblik krivih u velikoj meri zavisi od korišćenog rastvarača (Slika 4.10 i Slike 7.11 – 7.14). Većina krivih (parabole) nisu paralelne u odnosu na *y* osu ukazujući da nema proporcionalne promene v_{\max} u odnosu na elektronske efekte supstituenata. Dobijene su dve vrste parabola: otvorena na dole za *E* izomer (Slika 4.10 a)) i otvorena na gore za *Z* izomer (Slika 4.10 b)). Veća osetljivost v_{\max} na efekte supstituenata je pronađena u protičnim rastvaračima za derivate izatina u *E* izomernom obliku.

Najznačajniji korelacioni koeficijent je pronađen uz ne-kvadratni član što ukazuje na umeren/veliki uticaj efekata supstituenta na stabilizaciju u osnovnom stanju molekula u *E* obliku. Najveće vrednosti koeficijenta sa σ konstantom zapažene su za rastvarače koji pokazuju značajnu sposobnost davanja protona, tj. 2CE rastvarač (8,89), a znatno niže vrednosti su pronađene za EtOH (4,95) i F (4,17). Na osnovu rezultata takođe se zapaža da HBD efekat rastvarača u velikoj meri doprinosi stabilizaciji mesta koje prihvataju protone u osnovnom stanju proučavanih molekula. Sa druge strane, rastvarač sa velikom relativnom permitivnošću pokazao je manji doprinos efekata dipolarnosti/polarizabilnosti u osnovnom stanju. Dipolarni aprotični rastvarači ponašaju se kao slabi solvatatori anjona, sa većim potencijalom za stabilizaciju većih i više dispergovanih pozitivnih naelektrisanja. Sa druge strane, energija potrebna za razdvajanje naelektrisanja bilo u osnovnom ili u pobuđenom stanju relativno je slična ili je zanemarljivih razlika, što dovodi do manje osetljivosti na stabilizaciju izraženom koeficijentom *s*.

Suprotan oblik korelacione krive pronađen je za *Z* izomer, što ukazuje na veća hispohromna pomeranja v_{\max} u jedinjenjima sa izraženim elektron-donorskim ili elektron-akceptorskim svojstvima. Negativan znak linearnog koeficijenta, dobijen u korelaciji za *Z* izomer, pokazuje batohromno pomeranje apsorpcionog maksimuma sa porastom doprinosa dipolarnosti/polarizabilnosti i HBA sposobnosti rastvarača. Najveća vrednost koeficijenta u linearnim jednačinama pronađena je za aceton (-5,34), dok je pozitivan koeficijent sa kvadratnom jednačinom zapažen za THF (9,39) što ukazuje na veću stabilizaciju osnovnog stanja.



Slika 4.10 Korelacija ν_{\max} vs parametri supstituenata za jedinjenja **1-16** (a) *E* izomeri, b) *Z* izomeri) u AcN

4.3.5. LFER analiza NMR podataka (serija 2)

Za dobijanje boljeg uvida u način prenošenja efekata supstituenata izvršena je odgovarajuća analiza ¹³C NMR hemijskih pomeranja. Opšti zaključak koji proizilazi iz podataka u Tabeli 7.8 ukazuje da svi supstituenti iz fenilnog prstena utiču na SCS vrednosti atoma ugljenika koji oslikavaju efekte prenosa naelektrisanja (C1', C2 i C3) putem njihovih elektronskih efekata. Efikasnost prenosa efekata supstituenata takođe zavisi od konformacije proučavanih jedinjenja i vrednosti torzionog ugla θ (Slika 3.1). Torzioni uglovi θ su dobijeni iz optimizovanih geometrija korišćenjem MP2 metode sa 6-311G (d, p) bazis setom (Tabele 4.14 i 4.15).

Analiza efekata supstituenata na NMR podatke atoma ugljenika koji odražavaju efekat prenosa naelektrisanja, izvršeno je korišćenjem LFER-ove jednačine (3.6) sa konstantama supstituenata σ , a rezultati dobijenih korelacija za azotov H i C2, C3 i C1' ugljenike su predstavljeni u Tabelama 4.10 i 4.11, i na Slici 7.15.

Zapažene ρ vrednosti ukazuju na različitu osetljivost SCS na efekte supstituenata. Iz Tabela 4.10 i 4.11 može se primetiti da su korelacije dobrog i visokog kvaliteta što pokazuje da promena NMR podataka odražava osetljivost na elektronske efekte supstituenata. Ispitivanje prenosa elektronskih efekata supstituenata kroz definisane π -rezonancione jedinice proučavanih jedinjenja ukazuje da doprinos prenosa elektronskog efekta supstituenata kroz izolovane π -elektronske jedinice i celokupan konjugovani sistem istraživanih molekula, kao i njihov odnos, zavisi od razmatrane vrste prisutnih

supstituenata. Rezultati korelacije za C2 i C3 u oba oblika i C1' u *E* obliku pokazali su nelinearnu (paraboličnu) zavisnost u odnosu na efekte supstituenata. Male konstante proporcionalnosti su pronađene u korelacijama za H(N) u oba oblika.

Tabela 4.10 Korelacioni rezultati NMR podataka izatinskih derivata **serije 2** u *E* izomernom obliku sa σ konstantama primenom Hametove jednačine (3.6)

atom	ρ	h	R	F	sd	n	Isključeni molekuli	
H(N)	0,10 $\pm 0,01$	10,95 $\pm 0,00$	0,965	120,76	0,013	11	1, 3, 9, 11, 15	
C2	(-5,52 $\pm 0,80$) σ^2	(-0,48 $\pm 0,56$) σ	164,18 $\pm 0,15$	0,964	71,96	0,474	14	1, 3, 11, 15
C3	(-5,51 $\pm 1,20$) σ^2	(-0,43 $\pm 0,89$) σ	156,05 $\pm 0,23$	0,936	28,39	0,646	11	8, 15
C1'	(-17,73 $\pm 2,64$) σ^2	(14,56 $\pm 2,05$) σ	149,33 $\pm 0,51$	0,938	25,72	1,209	10	7, 8, 11, 15, 16

Tabela 4.11 Korelacioni rezultati NMR podataka izatinskih derivata **serije 2** u *Z* izomernom obliku sa σ konstantama primenom Hametove jednačine (3.6)

atom	ρ	h	R	F	sd	n	Isključena jedinjenja	
H(N)	0,09 $\pm 0,02$	10,84 $\pm 0,01$	0,933	33,50	0,017	7	1, 3, 5, 6, 7, 9, 11, 14, 16	
C2	(-2,98 $\pm 0,69$) σ^2	(0,86 $\pm 0,36$) σ	159,69 $\pm 0,14$	0,926	12,05	0,219	7	1, 3, 6, 10, 11, 12, 13, 14, 16
C3	(3,18 $\pm 0,63$) σ^2	(-0,56 $\pm 0,35$) σ	153,62 $\pm 0,14$	0,953	14,86	0,229	6	1, 2, 3, 5, 6, 7, 11, 14, 15, 16
C1'	9,28 $\pm 1,03$	148,12 $\pm 0,26$	0,970	80,94	0,665	7	3, 6, 7, 8, 9, 10, 14, 15, 16	

Očigledno je da hemijska pomeranja C1' odražavaju povećanu osetljivost i normalan efekat supstituenata u *Z* obliku (Tabela 4.11), dok je slično ponašanje i manji efekat pronađen za jedinjenja u *E* obliku. (Tabela 4.10). Reversni efekat supstituenata je zapažen za molekule sa elektron-donorskim supstituentima C2 i C3 u *E* obliku, i C2 u *Z* obliku (Tabele 4.10 i 4.11). Negativan znak reakcione konstantne, ρ , označava reversno ponašanje, tj. vrednost *SCS* se smanjuje, iako se sposobnost privlačenja elektrona od strane supstituenata, merena σ konstantom, povećava. Reversni efekat supstituenta se može pripisati lokalizovanoj π -polarizaciji²⁵², koja preovladava nad proširenom π -polarizacijom (Tabela 4.10). Detalji o poreklu π -polarizacije dati su u narednom poglavlju.

4.3.6. Komparativna LFER analiza NMR podataka za azometinski ugljenik izabranih serija imino jedinjenja (serija 2)

Proučavanje mehanizma prenosa elektronskih efekata supstituenata u aromatičnom delu s bočnim nizom, tj. imino derivata (Slike 7.16 i 7.17) može dati važne informacije u analizi i kvantifikaciji doprinosa polarnih (induktivnih i efekat polja)²⁵³ i polarizacionih efekata na ugljenikovom atom koji oslikava prenos naelektrisanja. U mnogim organskim jedinjenjima proučavana su ¹³C NMR hemijska pomeranja na azometinskom ugljeniku u cilju ispitivanja prenosa elektronskih efekata supstituenata.^{254–259} Literaturne vrednosti hemijskih pomeranja na azometinskom ugljeniku su uzete za *N*-benzilidenaniline (serija **3**, Slika 7.16)²⁵⁵, i *N*-(fenil supstituisane)piridine-2- i -3-aldimine (serija **4**, i **5**, Slika 7.16)²⁵⁶, *N*-(fenil supstituisane)piridin-4-aldimine (serija **6**, Slika 7.16)²⁵⁷, i 4-supstituisane *N*-[1-(piridin-3- i -4-il)etiliden]aniline (serija **7** i **8**, Slika 7.17).²⁵⁸ Za dobijanje boljeg uvida u prenos elektronskih efekata supstituenta X na anilinski prsten, izvršena je obimna analiza ¹³C NMR hemijskih pomeranja na ugljenikovom atom koji odražava prenos naelektrisanja. Hemijska pomeranja na azometinskim ugljenikovim atomima u odnosu na nesupstituisano jedinjenje predstavljena su u Tabeli 7.14. Hidroksi, metoksi, dimetilamino i metil grupa kao elektron-donorski substituenti indukuju pomeranja ka višim hemijskim pomeranjima (*eng.* downfield shifts) na imino ugljeniku, dok elektron-akceptorski supstituenti (halogeni: hlor i brom, estar, acetil, nitro i trifluorometil) indukuju pomeranja ka nižim hemijskim pomeranjima (*eng.* upfield shifts). Atom fluora indukuje pomeranje ka višim hemijskim pomeranjima na imino ugljeniku u *N*-benzilidenanilinima sa obrnutim efektom u *N*-[1-(piridin-4-il)etiliden]anilinima.

Literaturni podaci serija **3–8**^{255–258} za azometinski ugljenik su korelisani sa različitim skalama, najbolje korelacije su dobijene za različite vrednosti σ čiji je izbor prikazan u Tabeli 7.6 a dobijeni rezultati predstavljeni su u Tabeli 4.12.

Strukturna sličnost serija **2–8** daje mogućnost poređenja korelacionih rezultata u odnosu na strukturne razlike heterociklične strukture vezane na C3 atomu (Slika 3.1). Dipol supstituenta polarizuje vinil π -elektrone i uzrokuje razdvajanje suprotnih naelektrisanja na susednim atomima, koji zavisi od heterocikličnog sistema vezanog na C3 ugljeniku. Za dobijanje dubljeg uvida u faktore koji određuju ovu vrstu pojava, izvršena je sveobuhvatna analiza elektronskih i strukturalnih efekata za proučavane derivate izatina i upoređena je sa rezultatima dobijenim za šest imino serija **3 – 8** (Slike 7.16 i 7.17).^{255–258} Izvršena je LFER

analiza NMR podataka 4-supstituisanih *N*-benzilidenanilina (**3**), *N*-(fenil supstituisanih)piridin-3-aldimina (**4**), *N*-(fenil supstituisanih)piridin-2-aldimina (**5**), *N*-(fenil supstituisanih)piridin-4-aldimina (**6**) i 4-supstituisanih *N*-[1-(piridin-3-il)-etiliden]anilina (**7** i **8**). Teorijska proračunavanja su pokazala da je *E* konfiguracija optimizovane strukture daleko stabilniji izomer za obe serije ketimina (serija **7** i **8**).²⁵⁸

Rezultati LFER analize za azometinski ugljenik serija **3–8**, u obliku SSP jednačine sa σ konstantom su prikazani u Tabeli 4.12.

Tabela 4.12 Korelacija SCS vrednosti za azometinski ugljenik za serije **3–8** sa SSP jednačinom.

Seriya	ρ	h	r	F	s	n	ref,
3	4,50(\pm 0,26)	0,63(\pm 0,13)	0,992	293	0,34	7	²⁵⁵
4	5,35(\pm 0,41)	0,44(\pm 0,16)	0,986	166	0,43	7	²⁵⁶
5	5,23(\pm 0,33)	0,37(\pm 0,13)	0,990	246	0,35	7	²⁵⁶
6	5,80(\pm 0,45)	0,67(\pm 0,18)	0,985	163	0,48	7	²⁵⁷
7	2,30(\pm 0,18)	0,31(\pm 0,07)	0,986	128	0,18	7	²⁵⁸
8	2,98(\pm 0,28)	0,43(\pm 0,12)	0,979	114	0,30	7	²⁵⁸

Manja osetljivost na elektronske efekte supstituenata za serije **7** i **8** utvrđena je iz dobijenih vrednosti ρ (Tabela 4.12). Normalni efekti supstituenata su zapaženi za sva ispitivana jedinjenja, izuzev izatinske serije u *E* izomernom obliku. Mogu se prepoznati dve grupe korelacionih rezultata za azometinski ugljenik: serije **3–6** i serija **7** i **8**. Vrednosti koeficijenta ρ za C3 su slične za serije **4–6** sa najvećom vrednošću 5,80 pronađenoj za seriju **6** (Tabela 4.12). Ovaj redosled zapravo odražava sposobnost elektronske gustine na C3 ugljeniku za interakciju sa dve susedne piridil grupe, koje zauzvrat mogu ostvarivati kompetitivnu rezonacionu interakciju sa prisutnim fenil supstituentom. Azometinski C3 atom postaje elektron deficitaran usled velikih elektron-akceptorskih svojstava "aza" supstituenta. Ovi rezultati ukazuju na manji doprinos rezonantnog efekta verovatno usled ravnotežnih/suprotnih efekata supstituenata i heterocikličnog ostatka, prouzrokujući veći doprinos π -polarizacije na C3 ugljeniku u izatinskoj seriji *E* izomernog oblika.

Delokalizacija usamljenog elektronskog para u "aza" grupi doprinosi smanjenju elektronske gustine i, usled toga, se povećava osetljivost imino ugljenika na efekat polja. Konkurentne rezonancione interakcije (strukture II-VI; Slika 7.18) učestvuju u različitoj

meri u promenama NMR pomeranja na imino ugljeniku. Elektron-akceptori u određenoj meri utiču na smanjenje proširene π -delokalizacije u anilinskom delu molekula usled favorizovanih n,π -rezonantnih interakcija anilinskog tipa (struktura IV; Slika 7.18). Nasuprot tome, elektron-donori podržavaju veći doprinos struktura V i VI (Slika 7.18). Korelacioni rezultati za imino ugljenik (Tabela 4.12) pokazuju da ne samo elektronska svojstva heteroatoma, već i geometrijska svojstva utiču na njihovo specifično ponašanje. Uvođenje metil grupe, prisutne u serijama **7** i **8**, daje odgovarajući sterni efekat i pozitivan induktivni efekat koji obezbeđuje rezonanciju imino tipa.^{252,253,255,256}

Uopšteno može se zaključiti, prema rezultatima LFER-a (Tabela 4.12), da prenos elektronskih efekata supstituenata kroz definisane π -rezonancione jedinice ukazuje na to da se ove jedinice u zavisnosti od prisutnih supstituenata ponašaju ili kao izolovani ili konjugovani fragmenti. Značaj produžene π,π -delokalizacije kroz definisane π -rezonancione jedinice **serije 2** (Slika 3.1) je uglavnom prisutan unutar π -rezonacionih jedinica sa odgovarajućim doprinosom π -polarizacije.

4.4. DFT, TD-DFT proračuni i Baderova analiza: priroda graničnih molekulskih orbitala

4.4.1. Optimizovane geometrije i MEP analiza ispitivanih derivata izatina (serija 1)

Za dodatnu analizu efekata rastvarača i supstituenata na apsorpcione frekvencije i konformacione promene proučavanih jedinjenja, izvršeni su neophodni teorijski proračuni, tj. optimizacija geometrije i MEP analiza. Geometrijska optimizacija ispitivanih molekula izvedena je primenom B3LYP funkcionala sa 6-311G (d, p) bazis setom. Najstabilnije konformacije molekula **1-11 serije 1** su prikazane na slici Slici 4.11. Izračunati elementi optimizovanih geometrija jedinjenja su predstavljeni u Tabeli 4.13. Teorijski apsorpcioni spektri molekula **1** (dobijeni podaci su prikazani u Tabeli 7.7) u acetonu, acetonitrilu, etanolu, tetrahidrofuranu, DMSO, formamidu i toluenu su izračunati TD-DFT metodom i pokazali su veoma dobro slaganje sa eksperimentalnim podacima.

Optimizacija geometrije, sa fokusom na određivanju vrednosti torzionog ugla θ (Slika 3.1), daje dragocene rezultate potrebne za bolje razumevanje prenosa efekata supstituenata, tj. raspodele elektronske gustine. Planarniji molekul, tj. molekul sa manjim

torzionim uglom, indukuje batohromno pomeranje u apsorpcionom spektru.^{260,261} U ispitivanim molekulima vrednosti θ su različite i uglavnom zavise od prisutnog supstituenta. Nešto veće odstupanje θ je primećeno za jedinjenja **2**, **5-8** i **11** (Tabela 4.13), što ukazuje na značaj produžene rezonancione interakcije u elektron-donorskim supstituisanim jedinjenjima. Nasuprot tome, u elektron-akceptorskim supstituisanim molekulima odgovarajući doprinos n,π -konjugacije (učesće slobodnog para na azotu) ukupnoj elektronskoj interakciji sa π -elektronskim sistemom piridonske jedinice uzrokuje promenu π -elektronske gustine.

Tabela 4.13 Parametri optimizovanih geometrija serije 1 dobijeni DFT proračunima

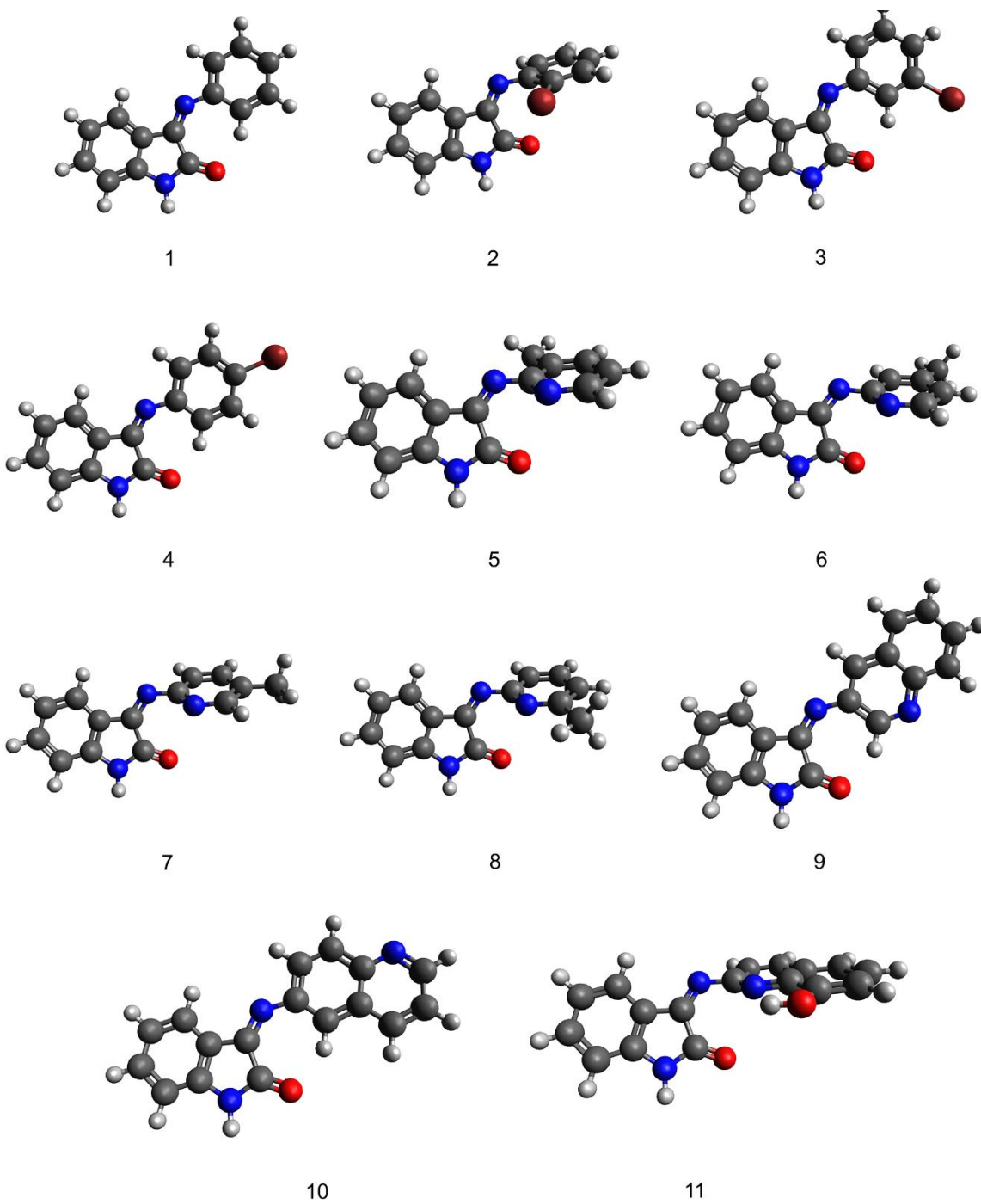
Molekul	Međuatomsko rastojanje (Å)					Torzioni ugao*
	N1-C2	C2=O	C2-C3	C3=N	N-C1'	$\theta / ^\circ$
1	1,3830	1,2208	1,5451	1,2849	1,3931	0,021
2	1,3857	1,2125	1,5449	1,2751	1,4053	69,686
3	1,3819	1,2202	1,5464	1,2845	1,3933	0,045
4	1,3820	1,2210	1,5451	1,2854	1,3913	0,006
5	1,3889	1,2120	1,5464	1,2762	1,4058	60,636
6	1,3888	1,2120	1,5469	1,2757	1,4062	61,201
7	1,3892	1,2121	1,5469	1,2769	1,4046	58,482
8	1,3890	1,2121	1,5472	1,2762	1,4056	59,411
9	1,3827	1,2195	1,5462	1,2854	1,3889	0,179
10	1,3818	1,2216	1,5446	1,2856	1,3917	0,029
11	1,3876	1,2122	1,5480	1,2770	1,4018	60,877

* Torzioni ugao između izatinske i aril ravni

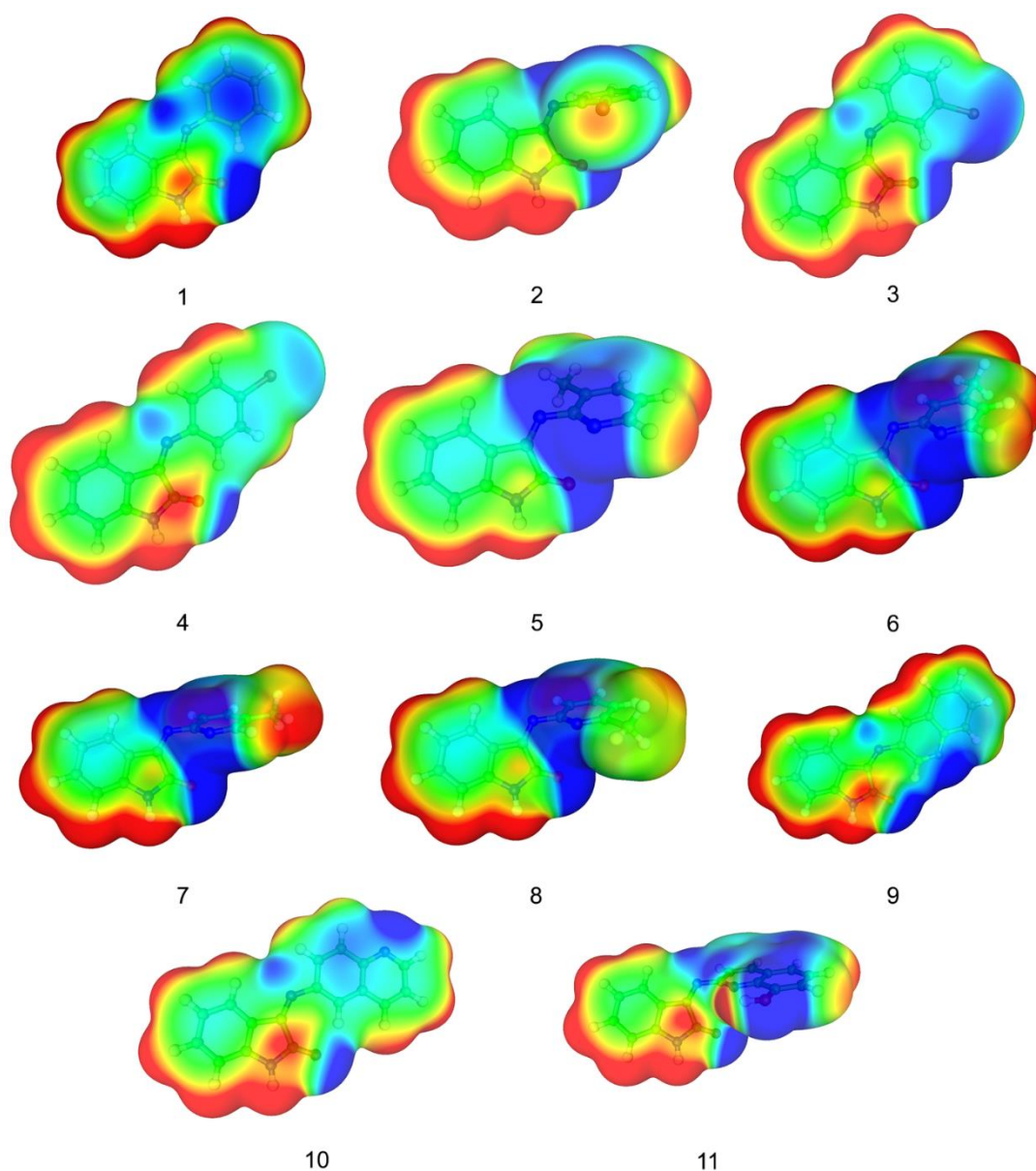
Elementi geometrije supstituisanih derivata izatina slični su sa elementima nesupstituisanog jedinjenja. Uvođenje uglavnom elektron-akceptorskih supstituenta izaziva smanjenje dužine veze C3=N, tj. supstituent podržava normalnu polarizaciju u imino grupi, što uzrokuje odgovarajuće pomeranje elektronske gustine na azot. Prisustvo elektron-donorske grupe vezane za kompleksnu strukturu arilnog dela doprinosi pomeranju elektronske gustine od fenilnog prstena ka indolnom delu, što prouzrokuje povećanje planarizacije molekula. Smanjenje dužine C2=O je uslovljeno superpozicijom dva efekta: normalne polarizacije u C2=O vezi i suprotnog efekta elektron-akceptorske grupe na položaju C3, što uzrokuje blago pomeranje π -elektronske gustine ka karbonilnom ugljeniku. Kao posledica toga, N1-C2 veza postaje duža, u odnosu na jedinjenje **1** kao rezultat prigušivanja amidnog tipa rezonance.

Veće odstupanje od planarnosti pronađeno je za molekule **2**, **7**, **8** i **11** što je povezano sa *orto* -efektom 2-Br u jedinjenju **2**, prisustvom elektron-donorske metil grupe smeštene u piridilu na različitim položajima (molekuli **7** i **8**), kao i sa jakim elektron-donorskom hidroksilnom grupu u jedinjenju **11**. U proučavanim jedinjenjima deluju dva suprotna elektron-akceptorska efekta: elektron-akceptorski arilni supstituenti i indol-2-on jezgro koji utiču na odgovarajuće geometrijsko prilagođavanje ovih molekula kao odgovor na elektronsku potražnju elektron deficitarnog okruženja. Osim blizine elektronske gustine na C2=O i atoma azota u molekulima **5-8** i **11**, povećanom odstupanju od planarnosti takođe doprinosi odbijanje negativnog potencijala prisutnog na ovim molekulskim fragmentima.

Promena svojstava supstituenata jasno ukazuje na to da su doprinosi i konformacionog uređenja i donorsko-akceptorska svojstva uključeni u elektronske promene ispitivanih jedinjenja. Pored toga, elektronska gustina proučavanih molekula dobijena pomoću MEP analize omogućava vizualizaciju raspodele elektronske gustine za proučavana jedinjenja. MEP analiza je korišćena za procenu i vizualizaciju raspodele naelektrisanja u ispitivanim jedinjenjima i ilustruje trodimenzionalne raspodele naelektrisanja preko proučavanih molekula. MEP potencijal u tački u prostoru oko molekula daje informacije o nultom elektrostatičkom efektu proizvedenom u toj tački od ukupne raspodele naelektrisanja (elektron + proton) molekula i koreliše se sa dipolnim momentima, elektronegativnošću, parcijalnim naelektrisanjem i hemijskom reaktivnošću molekula. On predstavlja vizuelni metod za razumevanje relativne polarnost molekula.^{262,263} Elektrostatički potencijal je mapiran na površinu jednake elektronske gustine ($0,0004 e^-/\text{Å}^3$) i prikazuje veličinu, oblik, gustinu naelektrisanja i mesto hemijske reaktivnosti molekula. MEP predstavljen na Slici 4.12 ilustruje trodimenzionalnu raspodelu naelektrisanja oko ispitivanih molekula. Kao što se vidi iz Slike 4.12, različite vrednosti elektrostatičkog potencijala na površini su predstavljene različitim bojama; plava pokazuje regione najelektronegativnijeg elektrostatičkog potencijala, ukazuje na oblast velike elektronske gustine, tj. mesta pogodna za elektrofilni napad; crvena označava region najpozitivnijeg elektrostatičkog potencijala, tj. region male elektronske gustine povoljan za nukleofilni napad, a zelena predstavlja region nultog potencijala. Potencijal se smanjuje u sledećem redosledu crvena > narandžasta > žuta > zelena > plava. Crvena boja ukazuje na jak privlačni potencijal, region povoljan za HBA interakciju rastvarača, dok plava boja naznačava odbojni potencijal i uključuje mesta pogodna za HBD interakcije rastvarača.



Slika 4.11 Optimizovane geometrije proučavanih jedinjenja **serije 1**



Slika 4.12 MEP potencijal ispitivanih molekula **serije 1**

Postoji očigledan negativni potencijal na atomu kiseonika, koji je deo keto grupe ($C=O$) u strukturi indol-2-ona, i atomu azota prisutnog u strukturi aril supstituenta. Prema tome, za većinu HBA sposobnosti ispitivanih jedinjenja se može pretpostaviti da potiču iz keto grupe ($C=O$) i arilnog azota koji su elektron-akceptorske grupe i uzrokuju povećanje elektronske gustine na ova dva mesta, stvarajući favorizovanu interakciju sa proton-donorskim rastvaračima.

U molekulima koji sadrže heterocikličnu strukturu sa atomom azota primećuje se povećanje elektronske gustine, koja deluje kao centar koji pokazuje značajnu protona-akceptorsku interakciju sa molekulima rastvarača (povećan HBD efekat).

Neplanarnost ispitivanog molekula značajno doprinosi raspodeli gustine i prenosu elektronske gustine koja se javlja usled uticaja i rastvarača i supstituenata. Posebno je interesantno napomenuti da osim induktivnog efekta, rezonacioni efekat azotovog atoma igra važnu ulogu u povećanju negativnog potencijala supstituenata što prouzrokuje značajan doprinos HBD efekata rastvarača. U jedinjenjima u kojima su heteroatomi azota u *orto* položaju u odnosu na vezu C=N (molekuli **6-8**), zapažaju se sterne smetnje i povećava se elektronska gustina azota kao rezultat dobijene konformacije ispitivanog jedinjenja što ima za posledicu smanjenje elektronske gustinu u ostatku heterocikličnog prstena. Ovi faktori doprinose povećanju proton-akceptorskih sposobnosti sa molekulima rastvarača koji imaju izražen HBD efekat.

Ispitivan je uticaj položaja supstituenta na elektronske efekte, a različite geometrije i raspodele elektronske gustine su zapažene u jedinjenjima **2-4** uzetim kao primeri. Efekat atoma broma, koji pokazuje negativan induktivan i pozitivan rezonacioni efekat, na raspodelu elektronske gustine preko jedinjenja **2-4**, značajno zavisi od položaja supstituenta, tj. *orto*, *meta* ili *para*-položaja. Elektron-akceptorski efekat atoma broma utiče na pomeranje elektronske gustine ka supstituentu što značajno menja geometriju *orto*, *meta* i *para*-derivata, a time i razlike u raspodeli elektronske gustine i stoga doprinosi različitim interakcijama sa rastvaračem.

4.4.2. Kvantnohemijski proračuni i Baderova analiza (serija 2)

Za dobijanje boljeg uvida u efekte rastvarača i supstituenata na ν_{\max} , tj. solvatochromizam izomernih oblika i konformacione promene jedinjenja **serije 2** zasnovanih na izatinu, urađeni su kvantnohemijski proračuni. Optimizacija geometrije i analiza gustine naelektrisanja izvršena je korišćenjem MP2 metode sa 6-311G (d, p) bazis setom. Dobijena je značajna stabilnost molekula **1-3**, **6-9** i **11-13** u *E* izomernom obliku (Tabela 4.14).

Tabela 4.14 Optimizovane relativne energije izatinskih derivata **serije 2**

Molekul	Izomer	Energija (kcal)	Molekul	Izomer	Energija (kcal)
1	E	0,0	9	E	0,0
	Z	0,288		Z	0,151
2	E	0,0	10	E	0,155
	Z	0,551		Z	0,0
3	E	0,0	11	E	0,0
	Z	0,519		Z	0,280
4	E	0,347	12	E	0,0
	Z	0,0		Z	0,406
5	E	1,301	13	E	0,0
	Z	0,0		Z	0,175
6	E	0,0	14	E	1,563
	Z	0,972		Z	0,0
7	E	0,0	15	E	0,545
	Z	0,612		Z	0,0
8	E	0,0	16	E	0,641
	Z	0,357		Z	0,0

Dodatno, geometrije proučavanih molekula su u potpunosti optimizovane korišćenjem MP2 metode, a elementi optimizovanih geometrija su navedeni u Tabelama 4.15 i 7.15.

Tabela 4.15 Elementi optimizovanih geometrija ispitivanih jedinjenja **serije 2** u *E* obliku, dobijeni primenom MP2/6-31G(d,p) metode

Jedinjenje/ Supstituent	N1-C2	C2-C3	C3=N3	N3-Ph	θ
1 / H	1,3859	1,5283	1,2893	1,4179	89,968
2 / 2-OH	1,3865	1,5258	1,2941	1,399	46,303
3 / 3-OH	1,3857	1,5283	1,2895	1,4183	84,168
4 / 4-OH	1,387	1,5277	1,2903	1,4152	71,845
5 / 2-OMe	1,3848	1,5287	1,2907	1,414	69,815
6 / 3-OMe	1,3858	1,5282	1,2895	1,4196	87,603
7 / 4-OMe	1,387	1,5275	1,2905	1,4144	70,794
8 / 2-Cl	1,3857	1,5284	1,2895	1,413	84,607
9 / 3-Cl	1,3854	1,5288	1,2896	1,4155	85,65
10 / 4-Cl	1,3855	1,5287	1,2896	1,4164	89,997
11 / 2-I	1,3865	1,5284	1,2912	1,4129	89,634
12 / 3-I	1,386	1,5291	1,2909	1,4141	79,726
13 / 4-I	1,386	1,529	1,2906	1,4154	89,997
14 / 2-NO₂	1,3859	1,5273	1,2881	1,4093	87,865
15 / 3-NO₂	1,3852	1,5291	1,2895	1,4117	82,155
16 / 4-NO₂	1,385	1,529	1,2894	1,4117	89,986

Iz dobijenih rezultata (Tabele 4.15 i 7.15) uočena su određena odstupanja u odnosu na efekte supstituenata i zapažene su razlike u trendu elemenata optimizovanih geometrija oba izomerna oblika derivata izatina (Tabela 4.15 i 7. 15). Pojedine vrednosti dužina veza su u opsegu statističkih grešaka i zbog toga nisu odgovarajuće za evaluacionu svrhu. Uopšteno posmatrano, mogu se zapaziti mali/umereni uticaji elektronskih efekata supstituenata. Mala promena dužine N1-C2 veze ukazuje na manji uticaj efekta supstituenata, tj. mali doprinos rezonance u interakciji u amidnoj grupi (π_3 -jedinica; Slika 3.1), i malu unakrsnu interakciju sa π_1 -jedinicom. Istovremeno, dužina C2-C3 veze se povećava u molekulima koja sadrže jak/umeren hidroksi/metoksi elektron-donorski supstituent u 2- i 4-položaju *E* i *Z* izomera, isključujući jedinjenje **5** u *E* i **2** i **5** u *Z* izomernom obliku. Malo povećanje je zabeleženo za *meta*-supstituisane derivate. Ovakav trend promene dužine C2-C3 veze ukazuje da dva suprotna elektron-akceptorska efekta deluju u π_2 -jedinici: elektron-akceptorski fenil supstituisan prsten i C2=O karbonilne grupe kao odgovor na elektronsku potražnju elektron deficitarnog okruženja. Normalna polarizacija karbonilnih grupa je potisnuta i uzrokuje malo smanjenje dužine veze.

Uvođenje elektrona-donorskih i elektrona-akceptorskih supstituenata dovodi do povećanja dužine C3=N3 veze u svim *E* izomerima, izuzev u jedinjenju **14** (2-NO₂). Rezultati su prilično oprečni za molekule u *Z* izomernom obliku među kojima je najveće povećanje dužine veze utvrđeno za 2- i 4-OH/2- i 4-OCH₃ supstituisana jedinjenja. Suprotan trend je uočen kada je prisutan elektron-akceptor (nitro grupa). Jedinjenja sa *orto*-, *meta*- i *para*-halogen supstituentom pokazala su slične vrednosti za dužinu N1-C2 i C3=N3 veze u derivatima *E* izomernog oblika, osim u molekulu **11**. Prisustvo halogena prouzrokuje smanjenje dužine N3-Ph veze u svim *E* izomerima sa najvećim pronađenim efektom za *orto*-supstituisana jedinjenja. Ovaj rezultat odražava efekat produžene konjugacije koja deluje u π_1 - i π_2 -jedinici na smanjivanje π -elektronske gustine prema C2=O karbonilnoj grupi i podržava *n*, π -konjugaciju u π_3 -jedinici.

Smanjenje dužine N3-Ph veze, koja je deo anilinskog π -elektronskog sistema (π_1 -jedinice), doprinosi većem stepenu *n*, π -konjugacije. Ova veza je nešto duža samo u elektron-donorski supstituisanim derivatima 3-OH/3-OCH₃. Sa druge strane, zapažen je interesantan trend za proučavane molekule u *Z* izomernom obliku: generalno, zapaženo je da su sve dužine N3-Ph veze manje za *orto*- i *para*-supstituisana jedinjenja nego u nesupstituisanom jedinjenju **1**, dok se veza povećava za sva nitro supstituisana jedinjenja.

Ovi rezultati upućuju na slabljenje rezonancione interakcije kod jedinjenja **14-16** kao posledica konkurentnih interakcija u okviru π_1 - i π_2 -rezonancionih jedinica.

Bolje razumevanje prenosa efekata supstituenata zasnovano je na vrednosti torzionog ugla θ (Slika 3.1) koji doprinosi produženoj konjugaciji. Planarnija struktura obezbeđuje veći doprinos produžene π -konjugacije, koja zauzvrat izaziva batohromno pomeranje u UV spektru. Vrednosti torzionog ugla θ za *E* izomere su veoma slične, osim u 2- i 4-supstituisanim jedinjenjima, npr. 2-OH i 2-OCH₃, što ukazuje na značaj produžene rezonancione interakcije u elektron-donorski supstituisanim molekulima.

Elektron-donorski supstituent (hidroksi i metoksi) obezbeđuje pomeranje elektronske gustine iz π_1 -jedinice (supstituisani fenil prsten) u izatinski deo, uzrokujući u većoj meri planarizaciju celog molekula. Takođe, odstupanje od planarnosti povećava se sa porastom sternog efekta fenil supstituenta, izuzev kod molekula **7** u *Z* izomernom obliku (4-OCH₃) sa skoro planarnom geometrijom ($\theta = 0,01$). U poređenju sa nesupstituisanim *Z* izomerom, dobijene su veće vrednosti θ za halogen i nitro supstituisana jedinjenja (Tabela 7.15). U ovim jedinjenjima doprinos n,π -konjugacije (učestvuje slobodni par na azotu) na ukupnu elektronsku interakciju uzrokuje narušavanje/poremećaj π -elektronske gustine u molekulu kao celini. Odstupanje od planarnosti se povećava sa smanjivanjem elektron-akceptorske sposobnosti prihvatanja arilidenskog supstituenta.

U sledećem koraku ove disertacije proučavan je mehanizam elektronskih ekscitacija i raspodele elektronske gustine u osnovnim i pobuđenim stanjima izračunavanjem HOMO/LUMO energija ($E_{\text{HOMO}}/E_{\text{LUMO}}$), i E_{gap} vrednosti (energetska razlika između HOMO i LUMO) (Tabele 7.16-7.19). Rezultati TD-DFT-a za izatine u *Z* izomernom obliku pokazali su značajan doprinos pojedinačnih HOMO \rightarrow LUMO prelaza iz osnovnog stanja u pobuđeno stanje, veći od 60 % za sva izračunata jedinjenja, izuzev za molekule **15** (47 %) i **16** (48 %) (Tabela 7.16). Slični rezultati su dobijeni za jedinjenja u *E* izomernom obliku (veći doprinos od 59 % za sva), osim molekula **11** (40 %) (Tabela 7.17).

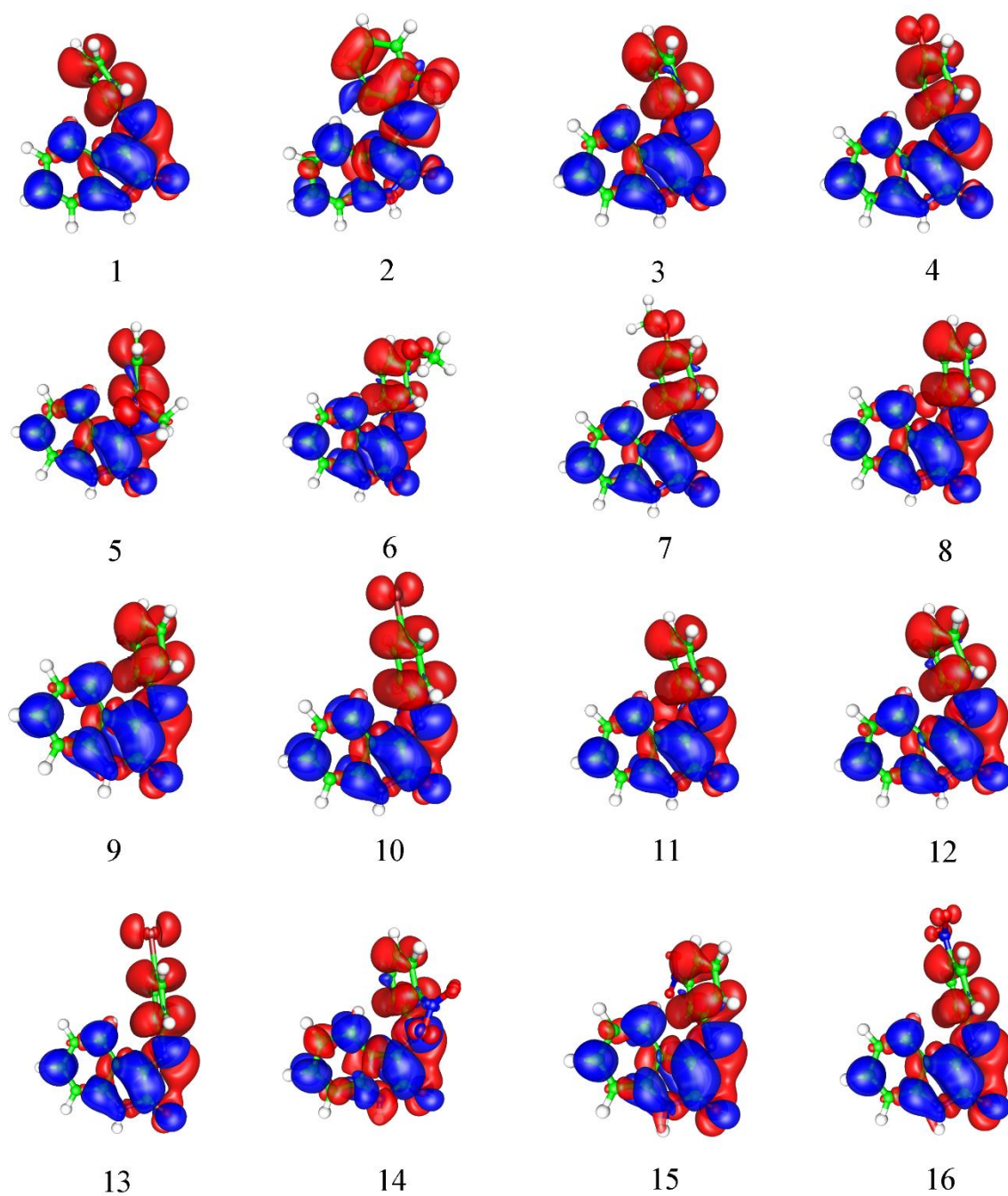
Niže E_{gap} vrednosti su zapažene za sva jedinjenja u *Z* izomernom obliku, izuzev molekula **2**. Što se tiče elektrona-donorskih supstituenata, mogu se uočiti mali uticaj na promene E_{gap} , a najmanje vrednosti su pronađene za hidroksi i metoksi supstituisana jedinjenja, tj. jedinjenja **4** (5,59) i **7** (5,60), respektivno. Ovi rezultati su u skladu sa najvećim batohromnim pomeranjem. Prema TD-DFT analizi, efekti rastvarača na promenu

$E_{\text{HOMO}}/E_{\text{LUMO}}$ i E_{gap} pokazali su male razlike između rezultata dobijenih za gasovitu fazu (Tabela 7.18) i proračuna koji uključuju rastvarače DMSO, EtOH i AcN (Tabela 7.19).

Za dobijanje podataka o raspodeli elektronske gustine, izvršena je Baderova analiza naelektrisanja. Baderova teorija atoma u molekulima je korisna za definisanje naelektrisanja obuhvaćenog Baderovim volumenom kao dobre aproksimacije ukupnog elektronskog naelektrisanja atoma. Numeracija atoma i prstena korišćena u Baderovoj analizi data je na Slici 7.19. Razlika atomskih naelektrisanja u pobuđenom i osnovnom stanju (Δ_{charge}) za odgovarajuće atome, kao i izračunate promene u sveukupnoj elektronskoj gustini molekula predstavljeni su u Tabelama 7.20-7.22, i na Slikama 4.13 i 7.20.

Prisustvo elektron-donorskog supstituenta (hidroksi i metoksi) u *E* izomerima, uzrokuje smanjenje elektronske gustine na C1' (osim kod molekula **2**, 2-OH i **6**, 3-OMe), imino ugljeniku C3 i imino azotu N3, u odnosu na nesupstituisano jedinjenje **1** (Slika 4.13 i Tabele 7.20-7.22). Sa druge strane, prisustvo halogenih supstituenata dovodi do povećanja količine naelektrisanja (Δ_{charge}) na C1' i imino azotu N3, dok imino ugljenik C3 ima slične vrednosti kao jedinjenje **1**. Efekat elektron-akceptorskog karaktera nitro grupe u *E* izomerima indukuje smanjenje elektronske gustine na C1', kao i na imino azotu N3 i povećanje elektronske gustine na imino ugljeniku C3 u odnosu na molekul **1**.

U odnosu na *Z* izomer nesupstituisanog jedinjenja **1** vrednost količine naelektrisanja (Δ_{charge}) na C1' i imino ugljeniku C3 se smanjuje ukoliko je hidroksilna grupa u *orto* i *para*-položaju, kao i ako je metoksi grupom u *para*-položaju (Slika 7.20 i Tabele 7.20-7.22). Nasuprot tome, elektronska gustina na imino azotu N3 se povećava u prisustvu 2-OH i 4-OMe, molekula **2** i **7**, respektivno. Svi hloro supstituisani *Z* izomeri, uključujući i jedinjenje **13** (4-I), imaju veću količinu naelektrisanja (Δ_{charge}) na C1' u poređenju sa molekulom **1**. Ako su atomi halogena u *orto*-položaju, imino ugljenik C3 i azot N3 dobijaju Δ_{charge} . Prisustvo elektron-akceptorske nitro grupe prouzrokuje smanjenje elektronske gustine na C1' i C3 imino ugljeniku, dok se suprotna promena zapaža na imino N3 azotu. Sveukupno posmatrano, TD-DFT i LFER rezultati su međusobno saglasni i odražavaju uticaje prenosa elektronskih efekata supstituenata na promenu Δ_{charge} u okviru posmatrane imino grupe koja povezuje fenilno i izatinsko jezgro.



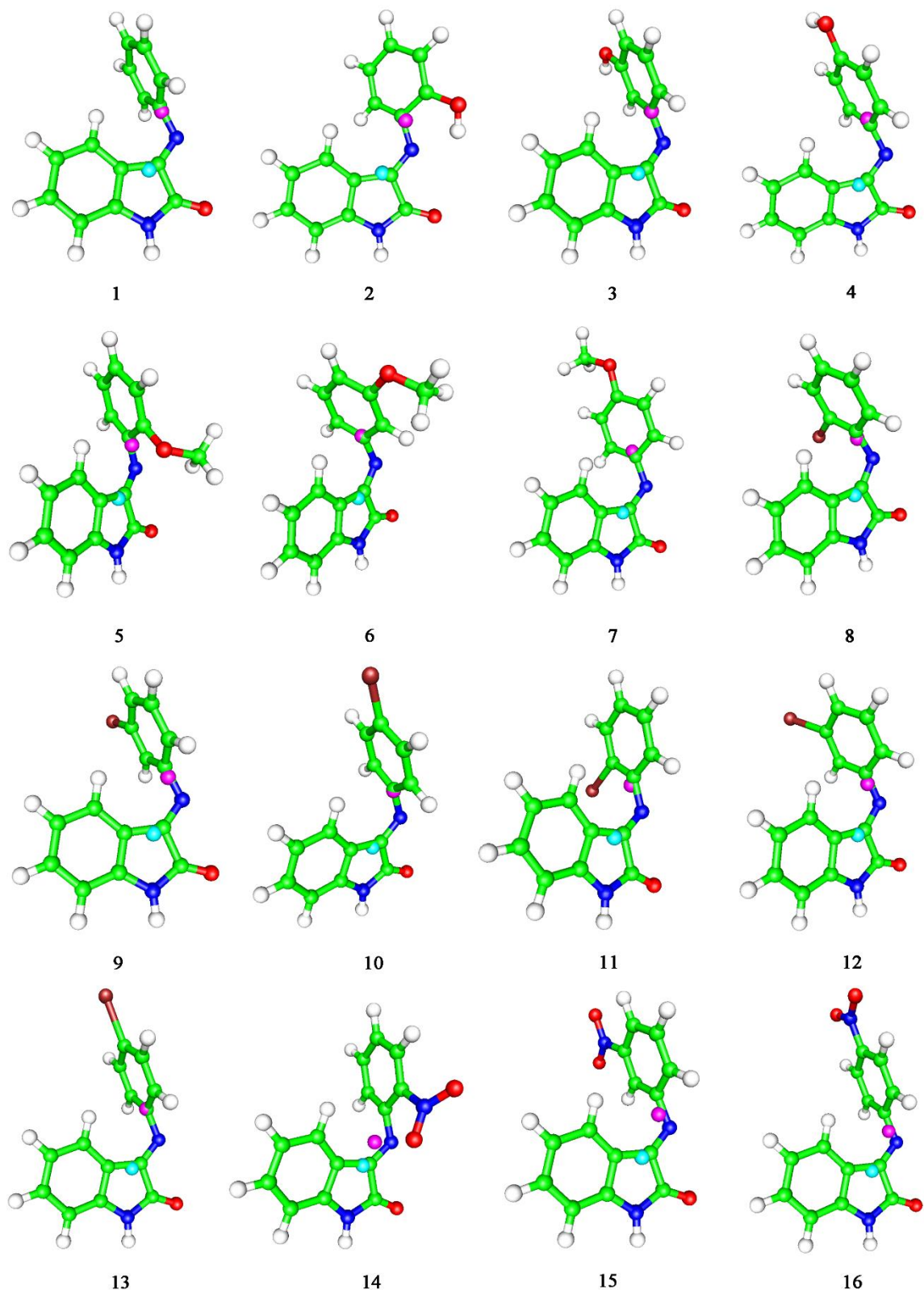
Slika 4.13 ICT procesi iz osnovnog u pobuđeno stanje za jedinjenja **1–16** serije **2** u *E* izomernom obliku (crveno, elektronska gustina se povećava u toku prelaza; plava, elektronska gustina se smanjuje u toku prelaza).

Intramolekulski prelaz naelektrisanja (ICT, *eng.* Intramolecular Charge Transfer) nastaje kada apsorpcija fotona podstiče značajnu deformaciju elektronskog oblaka usled odgovarajućeg (delimičnog odnosno ukupnog) elektronskog pomaka od jednog dela

molekula u drugi. Procena ICT se može izvršiti pomoću jednostavnog i efikasnog modela na osnovu izračunate ukupne raspodele naelektrisanja i promena u osnovnom i pobuđenom stanju.^{236,264,265} U nastavku ove disertacije, indikatori kvalitativnog transfer naelektrisanja su određeni pomoću TD-DFT metode proračunavanjem rastojanja između dva baricentra, zone smanjenja i povećanja gustine, odnosno rastojanja prenosa naelektrisanja (D_{CT} , *eng.* Charge-Transfer Distance) i količine prenetog naelektrisanja (Q_{CT} , *eng.* Amount of Transferred Charge) u toku ekscitacije. Rezultati izračunatih Q_{CT} i D_{CT} su prikazani u Tabeli 4.16 i Slikama 4.14 i 7.21.

Na osnovu predstavljenih rezultata, može se uočiti jasan ICT proces sa prenosom elektronske gustine iz izatinskog prstena ka supstituisanoj fenil grupi u toku ekscitacije za oba izomerna oblika. Takođe je zapaženo da se najjači ICT odvija u molekulima **14** (2- NO₂) za *Z* izomere i **6** (3-OMe) za *E* izomere, pokazujući transfer od 0,732 e⁻ preko 2,131 Å i 0,776 e⁻ preko 2,608 Å, respektivno. Sa druge strane, u molekulu **7** (4-metoksi supstituent), intramolekularni prenos naelektrisanja od 0,703 e⁻ preko 0,156 Å ima karakter lokalnog procesa koji se javlja u okviru imino grupe koja povezuje fenilno i izatinsko jezgro (Slika 7.21). Promena supstituenata jasno ukazuje da su doprinosi konformnog uređenja i oba donorsko-akceptorska karaktera uključeni u ICT mehanizam proučavanih molekula **serije 2**.

Poređenjem promene vrednosti Q_{CT} od *orto* ka *para* položaju, prikazanih u Tabeli 4.16, zapaža se trend smanjenja Q_{CT} u *Z* izomerima, za halogen (hloro i jodo) i nitro supstituisane derivate izatina. Sa druge strane, promena Q_{CT} vrednosti nitro supstituisanih derivata izatina u *E* izomerima pokazuje trend rasta. Za hidroksi i metoksi supstituisane derivate u oba izomerna oblika, *E* i *Z*, kao i sa hlor i jod supstituisanim *E* izomernim molekulima, izračunate Q_{CT} vrednosti za *orto*, *meta* i *para* položaje predstavljaju nelinearnu zavisnost. Specifično ponašanje hidroksi supstituisanih derivata izatina u *E* i *Z* oblicima i metoksi derivata u *E* konformaciji, ogleda se u većim Q_{CT} vrednostima pronađenim za *meta* supstituisana jedinjenja. S druge strane, metoksi supstituisani molekuli u *Z* obliku, kao i a hlor i jod supstituisani u *E* obliku imaju manju vrednost za *meta* supstituisane derivate izatina.



Slika 4.14 ICT u molekulima 1–16 serije 2 za *E* izomere. Položaji baricentara za gubitak naelektrisanja (plavi krug) i porast naelektrisanja (ljubičasti krug) u toku prelaza

Tabela 4.16 Rastojanje između dva baricentra (D_{CT}) i količina prenetog naelektrisanja (Q_{CT}).

Jedinjenje/supstituent, <i>E</i> izomer	Q_{CT} , (e)	D_{CT} , (Å)	Jedinjenje/supstituent, <i>Z</i> izomer	Q_{CT} , (e)	D_{CT} , (Å)
1 / H	0,762	2,363	1 / H	0,669	1,93
2 / 2-OH	0,624	2,27	2 / 2-OH	0,626	1,993
3 / 3-OH	0,762	2,51	3 / 3-OH	0,684	2,172
4 / 4-OH	0,742	2,74	4 / 4-OH	0,644	2,149
5 / 2-OMe	0,71	2,208	5 / 2-OMe	0,69	2,291
6 / 3-OMe	0,776	2,608	6 / 3-OMe	0,683	1,974
7 / 4-OMe	0,737	2,78	7 / 4-OMe	0,703	0,156
8 / 2-Cl	0,757	2,286	8 / 2-Cl	0,708	2,142
9 / 3-Cl	0,746	2,194	9 / 3-Cl	0,676	1,889
10 / 4-Cl	0,766	2,509	10 / 4-Cl	0,661	1,999
11 / 2-I	0,762	2,333	11 / 2-I	0,692	2,049
12 / 3-I	0,728	2,121	12 / 3-I	0,674	1,871
13 / 4-I	0,766	2,574	13 / 4-I	0,661	2,066
14 / 2-NO₂	0,674	1,062	14 / 2-NO₂	0,732	2,131
15 / 3-NO₂	0,711	1,819	15 / 3-NO₂	0,693	1,91
16 / 4-NO₂	0,729	1,881	16 / 4-NO₂	0,671	1,753

4.5. Antimikrobna analiza (serija 2)

Literaturnim pretraživanjem je za ispitivane derivate izatina **serije 2** pronađeno da molekuli **1** (H), **5** (2-OMe), **6** (3-OMe), **7** (4-OMe), **8** (2-Cl), **9** (3-Cl), **10** (4-Cl) i **16** (4-NO₂) pokazuju antikonvulzivnu kao i antidepresivnu aktivnost,⁷⁶ među kojima jedinjenje **16** (4-NO₂) ima najsnažnije depresantno svojstvo. Takođe, molekul **2** (2-OH) pokazuje veću antibakterijsku i antifungalnu aktivnost kao ligand u rutenium(III) kompleksima.²⁶⁶ Osim toga, antibakterijsku aktivnost na sulfat redukujuće bakterije ispoljavaju jedinjenja **4** (4-OH), **7** (4-OMe) i **10** (4-Cl), dok molekul **10** (4-Cl) pokazuje i aktivnost prema bakterijama koje oksiduju gvožđe.²⁶⁷

U okviru ove disertacije, testirana je antimikrobna aktivnost derivata izatina **serije 2** na: *Staphylococcus aureus* +, *Listeria monocytogenes* +, *Shigella sonnei* -, *Yersinia enterocolitica* -, *Escherichia coli* -, *Proteus Hauseri* -, *Pseudomonas Aeruginosa* -, *Cryptococcus neoformans* and *Candida albicans*. Amoksicilin (AMX) i flukonazol (FLU) su korišćeni kao standard za antibakterijsko ispitivanje. Dobijeni rezultati su prikazani u Tabeli 4.17. Molekuli **7** (4-OMe), **12** (3-I) i **13** (4-I) su isključeni iz antimikrobne analize usled male rastvorljivosti u 10 % DMSO. U opsegu ispitivanih koncentracija, sva druga

proučavana jedinjenja **serije 2** pokazala su aktivnost na barem pojedine mikrobiološke vrste korišćenih u ovom istraživanju.

Aktivnost ispitivanih derivata izatina na iste mikrobiološke sojeve je slična u većini slučajeva, sa nekoliko izuzetaka, na osnovu čega se može zaključiti da različiti supstituenti korišćeni u ovom istraživanju imaju mali efekat ili ne utiču na antimikrobnu aktivnost ispitivanih jedinjenja. Ipak, postoji trend značajne aktivnosti *orto*-supstituisanih hidroksilnih i hlor derivata kao i *orto*- i *para*-nitro derivata u odnosu na većinu sojeva. Među navedenim supstituentima, prvi pripadaju elektron-donorima, a drugi elektron-akceptorima ali su sveukupno posmatrano elektronegativne grupe što može biti veoma značajno svojstvo za antimikrobnu aktivnost. Razlika je najizraženija u slučaju aktivnost molekula **2** (2-OH) i **3** (3-OH) na *Yersinia enterocolitica*, koja je uvećana za više od 10 puta (MIC = 156 za 2-OH i MIC > 1250 za 3-OH).

Generalno posmatrano ne postoji razlika u aktivnosti između G+ i G- bakterija, ali treba napomenuti da su pojedine vrste osetljivije. *Listeria monocytogenes*, *Shigella sonnei*, *Yersinia enterocolitica* i *Proteus hauseri* su uopšteno posmatrano osetljivije u odnosu na druge bakterijske vrste.

Po pitanju gljivičnih sojeva, *Cryptococcus neoformans* je pokazao daleko veću osetljivost na jedinjenja u odnosu na *Candida albicans*. Vrednosti MIC za *Candida albicans* su slične dobijenim za bakterijske sojeve, dok su vrednosti MIC za *Cryptococcus neoformans* u pojedinim slučajevima čak 100 puta veće (molekuli **2**, 2-OH i **11**, 2-I, MIC=0,019). Jedinjenja **3** (3-OH), **4** (4-OH), **8** (2-Cl), **14** (2-NO₂), **16** (4-NO₂) su takođe pokazala značajnu antifungalnu aktivnost na ovaj oportunistički ljudski patogen (MIC=0,038).

Celokupna aktivnost ovih jedinjenja je najizraženija u odnosu na pomenuti *Cryptococcus neoformans*. Molekuli **2** (2-OH) i **8** (2-Cl) pokazuju najbolju aktivnost na *Candida albicans* (MIC=0.313) od svih ispitivanih jedinjenja. Dobijeni rezultati ispitivanja antimikrobne aktivnosti upućuju na nužnost daljeg uvođenja drugih supstituenata na fenil ili heterociklični prsten derivata izatina za dalja istraživanja.

Tabela 4.17 MIC vrednosti izatinskih derivata **serije 2** na ispitivane mikrobnе sojeve (μg/mL).

Jedinjenje/ mikrobni soj	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	AMX	FLU
<i>S. aureus</i>	1250	1250	1250	>1250	1250	1250	-	1250	1250	>1250	1250	-	-	1250	>1250	1250	0,17	
<i>L. monocytogenes</i>	1250	313	>1250	>1250	1250	1250	-	313	1250	1250	1250	-	-	313	1250	313	0,34	
<i>S. sonnei</i>	625	313	1250	625	625	625	-	313	625	1250	>1250	-	-	313	1250	156	5,42	
<i>Y. enterocolytica</i>	1250	156	>1250	313	1250	625	-	313	625	1250	1250	-	-	156	1250	156	10,84	
<i>E. coli</i>	1250	1250	>1250	>1250	>1250	1250	-	1250	>1250	>1250	>1250	-	-	1250	1250	1250	5,42	
<i>Proteus Hauseri</i>	1250	313	>1250	1250	1250	1250	-	313	1250	1250	156	-	-	313	1250	313	2,71	
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	625	1250	>1250	>1250	>1250	>1250	-	1250	>1250	1250	1250	-	-	625	1250	625	21,68	
<i>C. neoformans</i>	156	19	39	39	156	>1250	-	39	156	156	19	-	-	39	156	39		6,25
<i>C. Albicans</i>	1250	313	>1250	>1250	>1250	>1250	-	313	625	1250	1250	-	-	1250	1250	313		12,50

4.6. Kvantitativna korelacija strukture i aktivnosti, QSAR (serija 2)

Radi nalaženja strukturnih delova derivata izatina značajnih za antimikrobnu aktivnost jedinjenja **1-16 serije 2**, generisana su tri QSAR modela uzimajući MIC vrednosti za *S. sonnei*, *Y. enterocolitica* i *C. neoformans*. MIC vrednosti su prvenstveno prevedene iz $\mu\text{g/mL}$ u molarne jedinice (M), a kao zavisna varijabla za dalja izračunavanja uzete su samo $-\log(\text{MIC})$ vrednosti. Statistički značajan model se dobijen samo za aktivnost jedinjenja prema *C. neoformans* koji je nastavku ove disertacije detaljno objašnjen.

4.6.1. Model za antimikrobnu aktivnost jedinjenja na *C. neoformans* (serija 2)

Analiza glavnih komponentata (PCA; eng. Principal Components Analysis) je izvršena primenom celog seta GRIND-2 deskriptora. U cilju filtriranja suvišnih varijabli iz modela, izvršena su dva ciklusa frakcionog faktorskog dizajna (FFD, eng. Fractional Factorial Design), a dobijeni statistički podaci predstavljeni su u Tabeli 4.18. Model sa 3 glavne komponente (PC) objasnio je 77,78 % od sume X kvadrata (SSX_{acc}), i 70,22 % od X varijanse (VarX_{acc}).

Tabela 4.18 Statistički parametri PCA modela dobijenog nakon dva FFD ciklusa (od 560 varijabli, zadržano je 271 u modelu).

Komponente	SSX	SSXacc	VarX	VarXacc
1	49,92	49,92	45,27	45,27
2	14,62	64,54	12,03	57,30
3	13,24	77,78	12,92	70,22

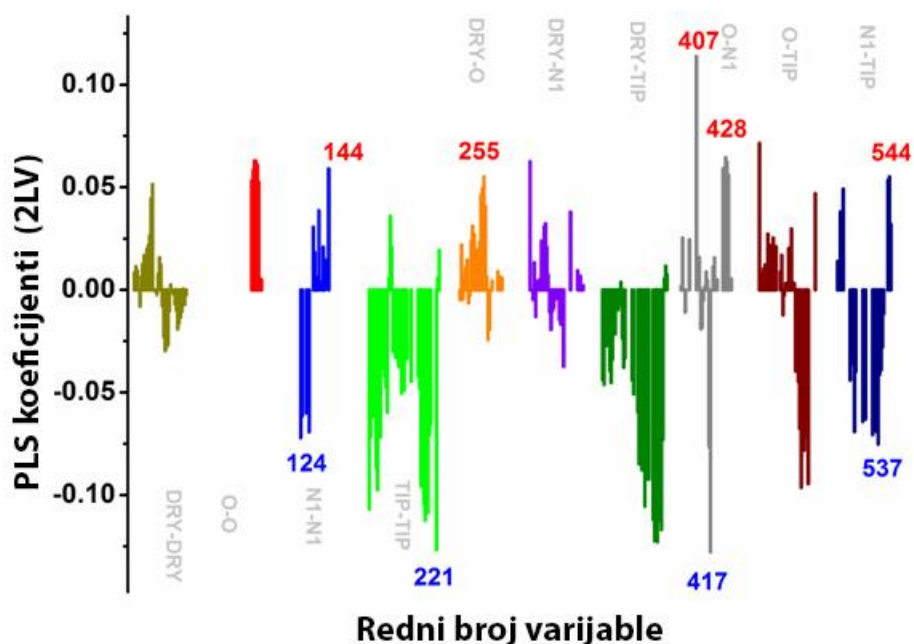
Model PLS je napravljen kako bi se korelirala strukturna svojstva jedinjenja sa antimikrobnom aktivnošću prema *C. neoformans*. Nakon filtriranja deskriptora kroz 2 FFD ciklusa, predvidivost modela je značajno poboljšana. Dobijeni model sadržavao je samo dve latentne promenljive (LV), uz vrlo dobre statističke parametre ($r^2 = 0,89$, $q^2 (\text{LOO}) = 0,69$) i standardnom devijacijom predviđanja greške (SDEP) od 0,29 M. U cilju daljeg utvrđivanja prediktivne moći modela, primenjeni su LTO i RG postupci unakrsne validacije (CV). Tabela 4.19 prikazuje statistiku PLS modela dobijenog sa tri CV procedure. Za eliminisanje slučajne korelacije, izvršeno je 10 ciklusa y-randomizacije (nasumičnog pripisivanja eksperimentalno određenih aktivnosti jedinjenjima) i dobijeni su statistički inferiorni modeli u svakom koraku.

Tabela 4.19 Statistički parametri 2LV PLS model nakon primene CV procedura. Podešavanja: FFD-LV = 2, 20 % veštačkih varijabli, 20 nasumičnih ciklusa, 3 nasumične grupe, 2 ciklusa FFD

Model	SSX _{acc}	SDEC	SDEP	r ² _{acc}	q ² _{acc}
2 LV (LOO)	64,22	0,17	0,29	0,89	0,69
2 LV (LTO)	64,39	0,18	0,31	0,88	0,64
2 LV (RG)	70,61	0,18	0,34	0,88	0,57

2LV (LOO) model je korišćen za predviđanje aktivnosti tri jedinjenja koja nisu bila rastvorna u eksperimentalnim uslovima, tj. u DMSO (**7**, **12**, **13**). Predviđena aktivnost jedinjenja **7** iznosila je 3,070 (u pMIC jedinicama, što odgovara 215 µg/mL). Predviđena aktivnost za molekule **12** i **13** ima vrednost 181 i 157 µg/mL, respektivno.

Iz grafika PLS koeficijenata (Slika 4.15) identifikovano je nekoliko varijabli značajnih za aktivnosti koje razdvajaju više i manje aktivna jedinjenja. Varijable sa pozitivnim PLS koeficijentima su pozitivno korelisane sa aktivnošću, dok varijable sa negativnim PLS koeficijentima su povezane sa delovima strukture derivata izatina koji smanjuju aktivnost.



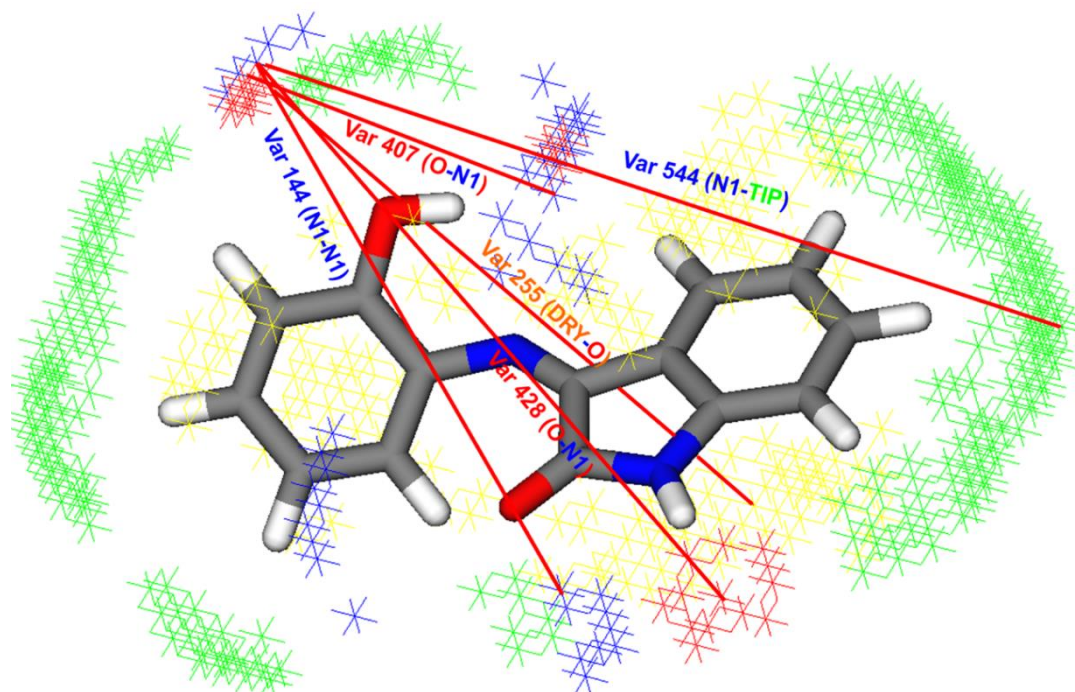
Slika 4.15 Grafik PLS koeficijenata za model sa 2 LV, dobijen sa LOO CV procedurom. Najinformativnije varijable su označene brojevima i dalje diskutovane u disertaciji.

Najinformativnije varijable u PLS modelu su one koje jasno razdvajaju više i manje aktivna jedinjenja. Strukturni delovi povezani sa najinformativnijim varijablama su opisani u Tabeli 4.20.

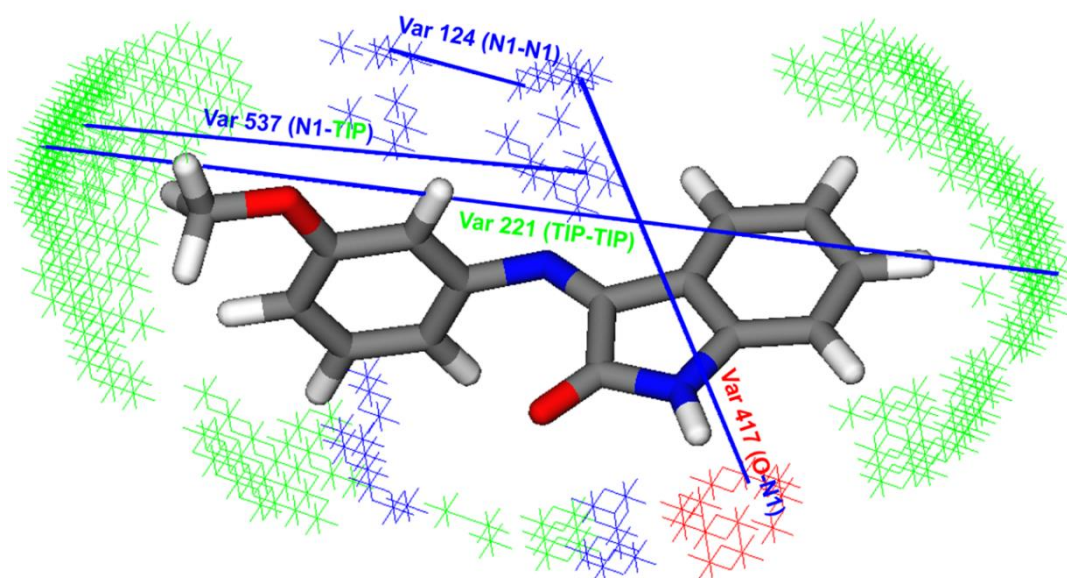
Tabela 4.20 Pregled najznačajnijih varijabli i njima odgovarajućih strukturnih elemenata
Skracénica: numerička vrednost varijable (VV, *eng.* variable value)

Blok proba	Broj varijable (N°)	Rastojanje (Å)	Uticaj	Strukturni elementi, komentari
N1-N1	124	3,84 - 4,16	–	Dva HBA na molekulu sa malim rastojanjem. Jedan čvor ove varijable je uvek postavljen oko imino N atoma.
N1-N1	144	10,24 - 10,56	+	Dve HBA grupe na većem rastojanju. Izražena samo u molkulima 2-4 . Jedan čvor je oko karbonilnog O atoma, a drugi je oko –OH grupe.
TIP-TIP	221	16,96 - 17,28	–	Predstavlja dva sterno važna mesta na velikom rastojanju. Jedinjenje 10 , 4-Cl derivat, ima najveću vrednost ove varijable (VV).
DRY-O	255	9,92-19,24	+	Optimalno rastojanje između HBD grupe i hidrofobnog ostatka molekula. Izraženija u najaktivnijim jedinjenjima (2-4 , 11). Za molekule 2-4 , čvor DRY probe je na izatinskom prstenu, dok jedinjenje 11 ima DRY čvor na fenilnom prstenu, blizu atoma joda.
O-N1	407	4,80- 5,12	+	HBA i HBD grupe na malom rastojanju doprinose aktivnosti. Prisutan samo u najaktivnijim molekulima (2-4 , 14). Najveća VV je za jedinjenje 2 .
O-N1	417	8,00 - 8,32	–	HBA i HBD grupe na ovom rastojanju negativno doprinose aktivnosti. Izraženo u svim manje aktivnim i još nekoliko aktivnijih molekula. N1 čvor je povezan sa imino N atomom kao HBA u svim jedinjenjima koja izražavaju ovu varijablu.
O-N1	428	11,52 - 11,84	+	Veće rastojanje između HBD i HBA, pozitivno se koreliše sa aktivnošću. Izraženo samo u molekulima 2-4 . NH iz izatinskog prstena je HBD deo ove varijable, u interakciji sa O probom.
N1-TIP	537	10,56- 10,88	–	HBA grupa na ovom rastojanju od sternog važnog mesta negativno utiče na aktivnost. Izraženija u manje aktivnim jedinjenjima, sa najvećom VV za jedinjenje 6 .
N1-TIP	544	12,80- 13,12	+	Optimalno rastojanje između HBA i sterno važnog mesta. Oblik molekula oko izatinskog prstena je povezana sa TIP čvorom ove varijable, a OH grupa jedinjenja 2-4 sa N1 čvorom.

Pozitivno korelisane varijable su prikazane na jedinjenju **2** kao modelu za aktivnija jedinjenja (Slika 4.16). Varijable sa negativnim uticajem na aktivnost predstavljene su na najmanje aktivnom jedinjenju, **6** (Slika 4.17).



Slika 4.16 Strukturni elementi koji doprinose povećanju aktivnosti jedinjenja **1-16** serije **2**, prikazane na jedinjenju **2** (crvene linije)



Slika 4.17 Strukturni elementi koji doprinose smanjenju aktivnosti jedinjenja **1-16** serije **2**, predstavljene na jedinjenju **6** (plave linije)

5. ZAKLJUČAK

U cilju ispitivanja strukture i svojstava Šifovih baza izatina sintetisano je 26 1,3-dihidro-3-arilimino-2*H*-indol-2-ona, podeljenih u dve serije na osnovu vrste prisutne aril grupe i supstituenata vezanih za arilimino deo proučavanih izatinskih derivata. Ispitivana jedinjenja su sintetisana u skladu sa literaturnim postupcima i okarakterisana su određivanjem temperature topljenja, UV-Vis, FTIR, ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom i elementalnom analizom. Za obe serije jedinjenja ispitan je uticaj rastvarača, efekat supstituenata primenom odgovarajućih metoda, i izvršeni su kvantnohemijski proračuni. Apsorpcioni maksimumi proučavanih jedinjenja snimljeni su u 22 rastvarača različite polarnosti.

UV-Vis i NMR podaci za 11 derivata izatina, Šifovih baza, iz **serije 1** su analizirani primenom LSER i LFER principa. Solvatohromizam ispitivanih jedinjenja je analiziran primenom Kamlet-Taftovog modela. Pozitivan znak *s* i *a* koeficijenta jedinjenja **1**, **3-5**, **9-11** (pik na višim talasnim dužinama) ukazuje na hipsohromna pomeranja. Uzimajući u obzir HBA efekte rastvarača, negativna vrednost koeficijenta *b*, osim za molekul **5**, pokazuje bolju stabilizaciju prelaznog stanja. Nasuprot tome, negativni znak koeficijenata *s* i *a*, osim za jedinjenje **9**, ukazuje na batohromno pomeranje pika na nižim talasnim dužinama sa povećanjem dipolarnosti odnosno polarizacije rastvarača. Izmena znaka koeficijenta *b*, odnosno pozitivne vrednosti su pronađene za molekule **3**, **4**, **8** i **11**, i pokazuju bolju stabilizaciju osnovnog stanja.

LFER analiza primenjena na NMR hemijske podatke i ν_{\max} **serije 1** implicira da efekti rastvarača imaju značajan uticaj na način prenosa efekata supstituenata. LFER analiza NMR podataka na H1 i C2 ugljeniku ukazuju na obrnuto ponašanje, a najveća osetljivost na efekte supstituenata zapažena je za C1'. Pozitivni solvatohromizam je pronađen u sledećim rastvaračima: THF-u, DMF-u i etanolu za pikove na nižim talasnim dužinama. Obrnuto ponašanje je zapaženo u AcN-u.

Kvantnohemijski proračuni **serije 1** pokazuju da prisustvo supstituenata značajno menja proširenu konjugaciju. Iz MEP mapa proučavanih molekula se može zaključiti da su regioni sa negativnim potencijalom lokalizovani iznad elektronegativnog atoma kiseonika u C2=O i azota u piril i hinolil prstenu na mestu C3=N. Sa druge strane, regije sa pozitivnim potencijalom su iznad fenilnog jezgra i preostalih supstituisanih prstenova koji pokazuju region male elektronske gustine povoljan za nukleofilni napad. Teorijski proračuni i eksperimentalni

rezultati dali su uvid o uticaju molekulske konformacije na prenos efekata supstituenata kao i doprinosu različitih interakcija između rastvarača i rastvorene supstance.

Odnosi *E/Z* izomera za 16 ispitivanih izatinskih derivata **serije 2** su određeni na osnovu NMR podataka, teorijskih proračuna i dekonvolucije UV-Vis spektara. Uticaji supstituenta i efekat rastvarača na ν_{\max} oba izomerna oblika proučavanih derivata izatina su uspešno procenjeni na osnovu eksperimentalnih podataka i teorijskih proračuna.

Spektrofotometrijskom titracijom određene su konstante kiselosti proučavanih derivata izatina **serije 2**. Eksperimentalno dobijene pK_a i pK_{a1} amidnog N-H protona su u opsegu 9,68 – 11,49 za molekule **1** i **5-16**, i 11,92 – 12,52 za jedinjenja **2-4**, dok je vrednost pK_{a1} koja odgovara hidroksilnom protonu u intervalu 8,54 – 8,75. LFER analiza pK_a vrednosti pokazuje da odnos pK_a i σ u značajnoj meri zavisi od elektron-akceptorskih i elektron-donorskih efekata supstituenata, čime se menja kiselost N-H vodonika izatinskog prstena. Obrnuti efekat supstituenta na promenu pK_a vrednosti ukazuje da povećanje elektron-akceptorskih sposobnosti supstituenta prouzrokuje porast pK_a vrednosti iako se σ povećava.

LSER analiza UV-Vis spektara za *E* i *Z* izomere **serije 2** primenom Kamlet-Taftovog modela pokazala je značajan uticaj efekata rastvarača i supstituenata na promenu i variranje solvatohromnih koeficijenata. Negativan znak koeficijenta *s* i *a*, dobijeni u korelacijama za *E* izomer koji se odnose na nespecifične i HBD efekte rastvarača ukazuju na batohromno pomeranje apsorpcionih maksimuma sa povećanjem dipolarnosti/polarizabilnosti i HBD sposobnosti rastvarača. Nasuprot korelacijama *E* izomera, za *Z* izomere su uglavnom dobijene pozitivne vrednosti koeficijenata *s* i *a*, označavajući obrnuti trend odnosno hipsohromno pomeranje apsorpcionog maksimuma. Specifične interakcije tj. proton-akceptorske sposobnosti amidnog azota i karbonilnog kiseonika (C2=O) uglavnom doprinose umerenom do velikom stepenu stabilizacije molekula u osnovnom stanju sa neznatnim uticajem prisutnih supstituenata.

MEP analizom proučavanih molekula **serije 2** izvršena je vizualizacija raspodele naelektrisanja preko ispitivanih jedinjenja. Negativni regioni odnosno mesta pogodna za elektrofilni napad su uglavnom lokalizovana iznad karbonilne grupe C2=O, metoksi i nitro supstituenata. Na osnovu MEP mapa ispitivanih derivata u *E* izomernom obliku može se zaključiti da se regioni sa negativnim potencijalom nalaze iznad elektronegativnih atoma, dok su regioni sa pozitivnim potencijalom lokalizovani na izatinskužoj fenil grupu i supstituenatima u molekulima **6**, **9-13** i **15-16**. Proučavani molekuli **serije 2** koji zauzimaju *Z*

konformaciju imaju slične pozitivne potencijale ali sa manjim intenzitetom promene MEP-a u odnosu na *E* derivate izatina sa istim supstituentima.

LFER rezultati **serije 2** odražavaju kompleksne i uravnotežene uticaje rastvarača na elektronske efekte supstituenta **serije 2**. LFER analiza NMR podataka za C1' pokazuje najveći efekat, dok je obrnuti efekat supstituenata zapažen za elektron-donorske supstituente na C2, C3 i C1' u *E* obliku, i C2 u *Z*, objašnjen doprinosom π -polarizacije. Hemijska pomeranja C1' pokazuju povećanu osetljivost i normalan efekat supstituenata u *Z* obliku, dok je slično ponašanje i manji efekat pronađen za jedinjenja u *E* obliku. Reversni efekat supstituenata je zapažen za molekule sa elektron-donorskim supstituentima za C2 i C3 u *E* obliku, i C2 u *Z* obliku. Negativan znak reakcione konstantne, ρ , označava reversno ponašanje, tj. vrednost *SCS* se smanjuje, iako se sposobnost privlačenja elektrona od strane supstituenata, merena σ konstantom, povećava. Reversni efekat supstituenta se može pripisati lokalizovanoj π -polarizaciji, koja preovladava nad proširenom π -polarizacijom.

Uključivanje efekata rastvarača u TD-DFT proračune pokazalo je da značajan uticaj na ICT karakter imaju i efekti supstituenata **serije 2**, u zavisnosti od njihovog položaja u molekulu kao i efekti rastvarača. ICT proces se odigrava iz izatinskog dela prema supstituisanom fenilnom jezgru sa značajnom količinom ICT-a pronađenom za jedinjenje **14** u *Z*-obliku i **6** u *E*-obliku, pokazujući prenos od 0,732 e⁻ preko 2,131 Å i 0,776 e⁻ preko 2,608 Å, respektivno.

Ispitivani derivati izatina **serije 2** ispoljili su umerenu aktivnost prema bakterijskim sojevima sa najznačajnijom aktivnošću prema *C. neoformans*. Jedinjenja sa hidroksi, nitro grupom i hlorom u *orto*- položaju kao i *para*- nitro supstituisani derivati pokazali su bolju aktivnost.

3D QSAR model ukazuje da su hidroksilne grupe kao supstituenti važne za jačinu aktivnosti jedinjenja **serije 2** prema gljivičnom soju *C. neoformans*. Zamena OH sa OMe grupom uklanja HBD sposobnost supstituenta što je prepoznato kao značajan parametar aktivnosti. U isto vreme, povećavanjem dužine molekula uvođenjem voluminoznijih supstituenata u *meta*- ili *para*- položaj fenilnog jezgra, smanjuje se aktivnost jedinjenja. Imino povezujuća grupa **serije 2** je prepoznata kao strukturni motiv koji smanjuje aktivnost jedinjenja, jer je korelaciji sa nekoliko varijabli koje negativno utiču na aktivnost. Zamena imino grupe (C=N) sa C=C ili nekom drugom alkil grupom najverovatnije bi dovela do povećanja aktivnosti izatinskih derivata prema soju *C. neoformans*.

6. LITERATURA

- (1) Schiff, H. Mittheilungen Aus Dem Universitätslaboratorium in Pisa: Eine Neue Reihe Organischer Basen. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1864**, 131 (1), 118–119.
- (2) Hussain, Z.; Yousif, E.; Ahmed, A.; Altaie, A. Synthesis and Characterization of Schiff's Bases of Sulfamethoxazole. *Org. Med. Chem. Lett.* **2014**, 4 (1), 1.
- (3) Layer, R. W. The Chemistry of Imines. *Chem. Rev.* **1963**, 63 (5), 489–510.
- (4) Pine, S. H. *Organska Kemija*, III.; Školska knjiga: Zagreb, 1994.
- (5) Fessenden, Joan S.; Fessenden, R. J. *Organic Chemistry*, Sixth Edit.; Brooks/Cole Publishing Company, 1998.
- (6) Streitwieser, Andrew; Heathcock, Clayton H.; Kosower, E. M. *Introduction to Organic Chemistry*, Fourth Edi.; Prentice Hall: New Jersey USA, 1998.
- (7) Campbell, K. N.; Sommers, A. H.; Campbell, B. K. The Preparation of Unsymmetrical Secondary Aliphatic Amines. *J. Am. Chem. Soc.* **1944**, 66 (1), 82–84.
- (8) Hie, J.; Yeh, C. Y. Equilibrium In Formation And Conformational Isomerization Of Imines Derived From Isobutyraldehyde And Saturated Aliphatic Primary Amines. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89 (11), 2669–2676.
- (9) Brewster, C. M. SCHIFF'S BASES FROM 3,5-DIBROMO-SALICYLALDEHYDE. *J. Am. Chem. Soc.* **1924**, 46 (11), 2463–2468.
- (10) Munir, C.; Yousaf, S.M. and Ahmad, N. Synthesis, Characterization and Pharmacological Properties of a Cobalt (II) Complex of Antibiotic Ampicillin. *J. Chem. Soc. Pakistan* **1985**, 7, 301–305.
- (11) Brewster, C. M. Schiff's Bases from 3,5-Dibromo-Salicylaldehyde. *J. Am. Chem. Soc.* **1924**, 46 (11), 2463–2468.
- (12) Bader, N. R. Application of Schiff Base Chlation in Quantitative Analysis. *Rasayan J. Chem* **2010**, 3 (4), 660–670.
- (13) Satyanarayana, V. S. V; Sreevani, P.; Sivakumar, A.; Vijayakumar, V. Synthesis and Antimicrobial Activity of New Schiff Bases Containing Coumarin Moiety and Their Spectral Characterization. *Arkivoc* **2008**, 2008 (17), 221–233.
- (14) Iftikhar, B.; Javed, K.; Khan, M. S. U.; Akhter, Z.; Mirza, B.; Mckee, V. Synthesis, Characterization and Biological Assay of Salicylaldehyde Schiff Base Cu(II) Complexes and Their Precursors. *J. Mol. Struct.* **2018**, 1155, 337–348.
- (15) Rauf, A.; Shah, A.; Munawar, K. S.; Ali, S.; Nawaz Tahir, M.; Javed, M.; Khan, A. M. Synthesis, Physicochemical Elucidation, Biological Screening and Molecular Docking Studies of a Schiff Base and Its Metal(II) Complexes. *Arab. J. Chem.* **2017**.
- (16) Radecka-Paryzek, W.; Pospieszna-Markiewicz, I.; Kubicki, M. Self-Assembled Two-Dimensional Salicylaldimine Lanthanum(III) Nitrate Coordination Polymer. *Inorganica Chim. Acta* **2007**, 360 (2), 488–496.
- (17) Prashanthi, Y.; Kiranmai, K.; Subhashini, N. J. P.; Shivaraj. Synthesis, Potentiometric and Antimicrobial Studies on Metal Complexes of Isoxazole Schiff Bases. *Spectrochim.*

Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc. **2008**, 70 (1), 30–35.

- (18) Mishra, A. P.; Khare, M.; Gautam, S. K. Synthesis, Physico-Chemical Characterization, and Antibacterial Studies of Some Bioactive Schiff Bases and Their Metal Chelates. *Synth. React. Inorg. Met. Chem.* **2002**, 32 (8), 1485–1500.
- (19) Golcu, A.; Tumer, M.; Demirelli, H.; Wheatley, R. A. Cd(II) and Cu(II) Complexes of Polydentate Schiff Base Ligands: Synthesis, Characterization, Properties and Biological Activity. *Inorganica Chim. Acta* **2005**, 358 (6), 1785–1797.
- (20) Singh, V. P.; Bali, A.; Singh, N.; Jaggi, A. S. Advanced Glycation End Products and Diabetic Complications. *Korean J. Physiol. Pharmacol.* **2014**, 18 (1), 1–14.
- (21) Ki, J.; Mukherjee, A.; Rangasamy, S.; Purushothaman, B.; Song, J. M. Insulin-Mimetic and Anti-Inflammatory Potential of a Vanadyl-Schiff Base Complex for Its Application against Diabetes. *RSC Adv.* **2016**, 6 (62), 57530–57539.
- (22) Ansari, N. A.; Dash, D. Amadori Glycated Proteins: Role in Production of Autoantibodies in Diabetes Mellitus and Effect of Inhibitors on Non-Enzymatic Glycation. *Aging Dis.* **2013**, 4 (1), 50–56.
- (23) Sriram, D.; Yogeewari, P.; Myneedu, N. S.; Saraswat, V. Abacavir Prodrugs: Microwave-Assisted Synthesis and Their Evaluation of Anti-HIV Activities. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2006**, 16 (8), 2127–2129.
- (24) De Clercq, E. Strategies in the Design of Antiviral Drugs. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2002**, 1 (1), 13–25.
- (25) Da Silva, C. M.; Da Silva, D. L.; Modolo, L. V.; Alves, R. B.; De Resende, M. A.; Martins, C. V. B.; De Fátima, Â. Schiff Bases: A Short Review of Their Antimicrobial Activities. *J. Adv. Res.* **2011**, 2 (1), 1–8.
- (26) Erdmann, O. L. Untersuchungen Über Den Indigo. *J. Prakt. Chem.* **1840**, 19 (1), 321–362.
- (27) Laurent, A. Recherches Sur l'indigo. *Ann. Chim. Phys.* **1840**, 3 (3), 393–434.
- (28) Guo, Y; Chen, F. TLC-UV-Spectrophotometric and TLC-Scanning Determination of Isatin in Leaf of Isatis. *Zhongcaoyao* **1986**, 17, 8–11.
- (29) Bergman, J.; Lindström, J. O.; Tilstam, U. The Structure and Properties of Some Indolic Constituents in *Couroupita Guianensis* Aubl. *Tetrahedron* **1985**, 41 (14), 2879–2881.
- (30) Wei, L.; Wang, Q.; Liu, X. Application of Thin-Layer Chromatography in Quality Control of Chinese Medicinal Preparations. II. Qualitative Analysis of Some Chinese Medicinal Preparations of Chansu. *Yaowu Fenxi Zazhi* **1982**, 2 (5), 288–291.
- (31) d'Ischia, M.; Palumbo, A.; Prota, G. Adrenalin Oxidation Revisited. New Products beyond the Adrenochrome Stage. *Tetrahedron* **1988**, 44 (20), 6441–6446.
- (32) Palumbo, A.; d'Ischia, M.; Misuraca, G.; Prota, G. A New Look at the Rearrangement of Adrenochrome under Biomimetic Conditions. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* **1989**, 990 (3), 297–302.
- (33) Halket, J. M.; Watkins, P. J.; Przyborowska, A.; Goodwin, B. L.; Clow, A.; Glover, V.; Sandler, M. Isatin (Indole-2,3-Dione) in Urine and Tissues. Detection and Determination by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. B Biomed.*

- Sci. Appl.* **1991**, 562 (1–2), 279–287.
- (34) Popp, P. D. The Chemistry of Isatin. *Adv. Heterocycl. Chem.* **1975**, 18 (C), 1–58.
- (35) Bhavesh, R.N.; Kishor, S.P.; Manish, M.J.; Mayur, R. P. Synthesis and Antimicrobial Activity of Some New Isatins Derivatives. *Der Pharma Chem.* **2011**, 3 (4), 367–372.
- (36) Ristovska, N.; Anastasova, F.; Stefova, M. N"-[(3Z)-1-Acetyl-5-Chloro-2-Oxo-1,2-Dihydro-3H-Indol-3-Ylidene]Thiocarbonohydrazide. *Molbank* **2013**, 2013 (2), M798.
- (37) Naumov, P.; Anastasova, F. Experimental and Theoretical Vibrational Study of Isatin, Its 5-(NO₂, F, Cl, Br, I, CH₃) Analogues and the Isatinato Anion. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2001**, 57 (3), 469–481.
- (38) Vine, K. L.; Locke, J. M.; Ranson, M.; Benkendorff, K.; Pyne, S. G.; Bremner, J. B. In Vitro Cytotoxicity Evaluation of Some Substituted Isatin Derivatives. *Bioorganic Med. Chem.* **2007**, 15 (2), 931–938.
- (39) Singh, A.; Nisha, N.; Bains, T.; Hahn, H. J.; Liu, N.; Tam, C.; Cheng, L. W.; Kim, J.; Debnath, A.; Land, K. M.; et al. Design, Synthesis and Preliminary Antimicrobial Evaluation of N-Alkyl Chain-Tethered C-5 Functionalized Bis-Isatins. *Med. Chem. Commun.* **2017**, 8 (10), 1982–1992.
- (40) Sluyter, R.; Vine, K. L. N-Alkyl-Substituted Isatins Enhance P2X7 Receptor-Induced Interleukin-1 β Release from Murine Macrophages. *Mediators Inflamm.* **2016**, 2016, 1–9.
- (41) El-faham, A.; Hozzein, W. N.; Wadaan, M. A. M.; Khattab, S. N.; Ghabbour, H. A.; Fun, H.; Siddiqui, M. R. Microwave Synthesis, Characterisation, and Antimicrobial Activity of Some Novel Isatin Derivatives. *J. Chem.* **2015**, 2015, 716987.
- (42) Sharma, P. K.; Balwani, S.; Mathur, D.; Malhotra, S.; Singh, B. K.; Prasad, A. K.; Len, C.; Van der Eycken, E. V.; Ghosh, B.; Richards, N. G. J.; et al. Synthesis and Anti-Inflammatory Activity Evaluation of Novel Triazolyl-Isatin Hybrids. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2016**, 31 (6), 1520–1526.
- (43) Tatsugi, J.; Ikuma, K.; Izawa, Y. Selective Photo-Reduction of 1-Alkylisatins in Degassed Alcoholic Solutions. *Heterocycles* **1996**, 43 (1), 7–10.
- (44) Khan, Mi. Ai.; Rocha, E. K. Arylindoles. I. Synthesis of Some N-Arylindoles. *Chem. Pharm. Bull.* **1977**, 25 (11), 3110–3114.
- (45) Suida, W. Ueber Das Isatin Und Seine Derivate. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1878**, 11 (1), 584–587.
- (46) Sumpter, W. C. The Chemistry of Isatin. *Chem. Rev.* **1944**, 34 (3), 393–434.
- (47) Gasparic, J.; Vontor, T.; Lycka, A.; Snobl, D. Formation of Acetals and Cleavage of the 5-Membered Ring in the Bromination of Isatin in Alcohols. *Collect. Czechoslov. Chem. Commun.* **1990**, 55 (12), 2963–2966.
- (48) Pfitzinger, W. Ueber Condensationen Der Isatinsäure Zu Cinchoninsäurederivaten. *J. für Prakt. Chemie* **1897**, 56 (1), 283–320.
- (49) Shvekhgeimer, M.-G. A.; Kondrashova, N. N. Synthesis of New Derivatives of 4-Quinolinecarboxylic Acid. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2002**, 38 (2), 253–254.

- (50) Popp, F. D. Potential Anticonvulsants. IX. Some Isatin Hydrazones and Related Compounds. *J. Heterocycl. Chem.* **1984**, *21* (6), 1641–1645.
- (51) Hewlins, M. J. E.; Jackson, A. H.; Oliveira-Campos, A.-M.; Shannon, P. V. R. Synthesis of 8,9,10-Trimethoxyellipticine. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1981**, 2906.
- (52) Coppola, G. M. *N*-Arylation of Isatins. A Direct Route to *N*-Arylisatoic Anhydrides. *J. Heterocycl. Chem.* **1987**, *24* (5), 1249–1251.
- (53) Sandmeyer, T. Über Isonitrosoacetanilide Und Deren Kondensation Zu Isatinen. *Helv. Chim. Acta* **1919**, *2* (1), 234–242.
- (54) Zerong Wang. Sandmeyer Isatin Synthesis. In *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*; John Wiley & Sons, I., Ed.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2010.
- (55) Kearney, T.; Harris, P. A.; Jackson, A.; Joule, J. A. Synthesis of Isatin 3-Oximes from 2-Nitroacetanilides. *Synthesis-Stuttgart* **1992**, *1992* (8), 769–772.
- (56) Ma, H. M.; Liu, Z. Z.; Chen, S. Z. New Approach to Synthesis of 6, 7-Dimethoxyisatin. *Chinese Chem Lett* **2003**, *14* (5), 468–470.
- (57) Da Silva, J. F. M.; Garden, S. J.; Pinto, A. C. The Chemistry of Isatins: A Review from 1975 to 1999. *J. Braz. Chem. Soc.* **2001**, *12* (3), 273–324.
- (58) Stollé, R. Über Eine Neue Methode Zur Darstellung *N*-Substituierter Isatine. (Vorläufige Mitteilung). *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1913**, *46* (3), 3915–3916.
- (59) Loloiu, G.; Maior, O. Isatin Chemistry. Synthesis of *N*-Methyl-2,3-Dioxo-2,3-Dihydropyrrolo(2,3-*b*) Phenoxathiin. *Rev. Roum. Chim.* **1997**, *42*, 67–69.
- (60) Fukuda, Y.; Itoh, Y.; Nakatani, K.; Shiro, T. Synthetic Studies on Duocarmycin. 1. Total Synthesis of *DL*-Duocarmycin A and Its 2-Epimer. *Tetrahedron* **1994**, *50* (9), 2793–2808.
- (61) Stammbach, C.; Huhn, G. F.; Jensen, J. H.; Pierce, M. E. A Large Scale Preparation of the Cognitive Enhancer Linopirdine. *Synth. Commun.* **1993**, *23* (11), 1617–1625.
- (62) Lopes, W.A.; Silva, G.A.; Sequeira, L. C. . P.; A.L.; Pinto, A. C. *J. Braz. Chem. Soc.* **1993**, 34.
- (63) Welstead, W. J.; Moran, H. W.; Stauffer, H. F.; Turnbull, L. B.; Sancilio, L. F. Antiinflammatory Agents. 1. Synthesis and Antiinflammatory Activity of 2-Amino-3-Benzoylphenylacetic Acid. *J. Med. Chem.* **1979**, *22* (9), 1074–1079.
- (64) Kapadia, G. J.; Shukla, Y. N.; Basak, S. P.; Sokoloski, E. A.; Fales, H. M. The Melosatins-a Novel Class of Alkaloids from *Melochia tomentosa* 11 Part 13 in the Series, Potential Carcinogens. For Part 12 See Ref. 2. *Tetrahedron* **1980**, *36* (17), 2441–2447.
- (65) Sonawane, R. P.; Tripathi, R. R. The Chemistry and Synthesis of 1*H*-Indole-2,3-Dione (Isatin) and Its Derivatives. *Int. Lett. Chem. Phys. Astron.* **2013**, *12*, 30–36.
- (66) Zerong, W. Gassman Oxindole Synthesis. In *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2010.
- (67) Hewawasam, P.; Meanwell, N. A. A General Method for the Synthesis of Isatins:

- Preparation of Regiospecifically Functionalized Isatins from Anilines. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35 (40), 7303–7306.
- (68) Šekularac, G. M.; Nikolić, J. B.; Petrović, P.; Bugarski, B.; Durović, B.; Drmanić, S. Z. Synthesis, Antimicrobial and Antioxidative Activity of Some New Isatin Derivatives. *J. Serbian Chem. Soc.* **2014**, 79 (11), 1347–1354.
- (69) Shah, R. J.; Modi, N. R.; Patel, M. J.; Patel, L. J.; Chauhan, B. F.; Patel, M. M. Design, Synthesis and in Vitro Antibacterial and Antifungal Activities of Some Novel Spiro[Azetidine-2,3'-Indole]-2,4(1'H)-Dione. *Med. Chem. Res.* **2011**, 20 (5), 587–594.
- (70) Al-kadhimi, A. A. H.; Al-azzawi, N. K. E.; Khalaf, A. I. Facile Synthesis of Schiff and Mannich Bases of Isatin Derivatives. *J. Chem., Biol. Phys. Sci.* **2015**, 5 (3), 2–8.
- (71) Shirokii, G. A.; Zelenin, K. N. O-Acetylaminophenylglyoxylic Acid Anil and Its Derivatives. *Russ. J. Gen. Chem.* **2002**, 72 (2), 244–250.
- (72) Pandey, M.; Raghuvanshi, D. S.; Singh, K. N. Microwave-Assisted, Solvent-Free Synthesis of 3'-(Aryl/Heteroaryl)-1- Morpholinomethyl/Piperidinomethylspiro[3H-Indole-3,2'-Thiazolidine]-2, 4'(1H)-Diones via 3-Isatinimines. *J. Heterocycl. Chem.* **2009**, 46 (1), 49–53.
- (73) Salado, I. G.; Zaldivar-Diez, J.; Sebastian, V.; Li, L.; Geiger, L.; González, S.; Campillo, N. E.; Gil, C.; Morales, A. V.; Perez, D. I.; et al. Leucine Rich Repeat Kinase 2 (LRRK2) Inhibitors Based on Indolinone Scaffold: Potential pro-Neurogenic Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, 138, 328–342.
- (74) Shi, G.; He, X.; Shang, Y.; Xiang, L.; Yang, C.; Han, G.; Du, B. Synthesis of 3',4'-Diaryl-4'H-Spiro[Indoline-3,5'-[1',2',4']Oxadiazol]-2-Ones via DMAP-Catalyzed Domino Reactions and Their Antibacterial Activity. *Chinese J. Chem.* **2016**, 34 (9), 901–909.
- (75) Al Marhoon, Z.; Abdel-Megeed, A.; Sholkamy, E. N.; Siddiqui, M. R. H.; El-Faham, A. Synthesis of Phenylcarbamic Acid and 2-[2-Oxo-3-(4-Substituted Phenylimino)-Indolin-1-Yl]Acetohydrazide Derivatives as Promising Antifungal Agents. *Asian J. Chem.* **2014**, 26 (22), 7665–7672.
- (76) Ma, J. Y.; Quan, Y. C.; Jin, H. G.; Zhen, X. H.; Zhang, X. W.; Guan, L. P. Practical Synthesis, Antidepressant, and Anticonvulsant Activity of 3-Phenyliminoindolin-2-One Derivatives. *Chem. Biol. Drug Des.* **2016**, 87 (3), 342–351.
- (77) Popp, F. D. Synthesis of Potential Antineoplastic Agents. XX. Compounds Related to the 3-o-Nitrophenylhydrazone of Isatin. *J. Med. Chem.* **1969**, 12 (1), 182–184.
- (78) Panda, S. S.; Jain, S. C. “On Water” Synthesis of Spiro-Indoles via Schiff Bases. *Monatshefte für Chemie* **2012**, 143 (8), 1187–1194.
- (79) Solomons, T. W. Graham; Fryhle, B. C. *Organic Chemistry*, 10th ed.; John Wiley & Sons, Inc., 2009.
- (80) Vollhardt, K.; C., P. *Organic Chemistry: Structure and Function*, 6th ed.; Clancy Marshall, 2009.
- (81) Vélez, Y.; Díaz-Oviedo, C.; Quevedo, R. Kinetic and Thermodynamic Control in β -Phenylethylamines Reaction with Isatin. *J. Mol. Struct.* **2017**, 1133, 430–435.

- (82) Guo, Q. X.; Liu, Y. W.; Li, X. C.; Zhong, L. Z.; Peng, Y. G. Enantioselective and Solvent-Controlled Diastereoselective Mannich Reaction of Isatin Imines with Hydroxyacetone: Synthesis of 3-Substituted 3-Aminooxindoles. *J. Org. Chem.* **2012**, *77* (7), 3589–3594.
- (83) Davidovich, P.; Novikova, D.; Tribulovich, V.; Smirnov, S.; Gurzhiy, V.; Melino, G.; Garabadzhiu, A. First X-Ray Structural Characterization of Isatin Schiff Base Derivative. NMR and Theoretical Conformational Studies. *J. Mol. Struct.* **2014**, *1075*, 450–455.
- (84) Jakusová, K.; Cigáň, M.; Donovalová, J.; Gáplovský, M.; Sokolík, R.; Gáplovský, A. Light Initiated *E-Z* and *Z-E* Isomerization of Isatinphenylsemicarbazones: Tautomeric Equilibrium Effect. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2014**, *288*, 60–69.
- (85) Cigáň, M.; Gáplovský, M.; Jakusová, K.; Donovalová, J.; Horváth, M.; Filo, J.; Gáplovský, A. Isatin N^2 -Diphenylhydrazones: New Easily Synthesized Vis-Vis Molecular Photoswitches. *RSC Adv.* **2015**, *5* (77), 62449–62459.
- (86) Smirnov, A. S.; Nikolaev, D. N.; Gurzhiy, V. V.; Smirnov, S. N.; Suslonov, V. S.; Garabadzhiu, A. V.; Davidovich, P. B. Conformational Stabilization of Isatin Schiff Bases – Biologically Active Chemical Probes. *RSC Adv.* **2017**, *7* (17), 10070–10073.
- (87) Kang, I. J.; Wang, L. W.; Hsu, T. A.; Yueh, A.; Lee, C. C.; Lee, Y. C.; Lee, C. Y.; Chao, Y. S.; Shih, S. R.; Chern, J. H. Isatin- β -Thiosemicarbazones as Potent Herpes Simplex Virus Inhibitors. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2011**, *21* (7), 1948–1952.
- (88) Liang, C.; Xia, J.; Lei, D.; Li, X.; Yao, Q.; Gao, J. Synthesis, in Vitro and in Vivo Antitumor Activity of Symmetrical Bis-Schiff Base Derivatives of Isatin. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *74*, 742–750.
- (89) Solomon, V. R.; Hu, C.; Lee, H. Hybrid Pharmacophore Design and Synthesis of Isatin-Benzothiazole Analogs for Their Anti-Breast Cancer Activity. *Bioorganic Med. Chem.* **2009**, *17* (21), 7585–7592.
- (90) Eldehna, W. M.; Fares, M.; Ibrahim, H. S.; Alsherbiny, M. A.; Aly, M. H.; Ghabbour, H. A.; Abdel-Aziz, H. A. Synthesis and Cytotoxic Activity of Biphenylurea Derivatives Containing Indolin-2-One Moieties. *Molecules* **2016**, *21* (6), 762.
- (91) Muralisankar, M.; Sujith, S.; Bhuvanesh, N. S. P.; Sreekanth, A. Synthesis and Crystal Structure of New Monometallic and Bimetallic Copper(II) Complexes with *N*-Substituted Isatin Thiosemicarbazone Ligands: Effects of the Complexes on DNA/Protein-Binding Property, DNA Cleavage Study and in Vitro Anticancer Activity. *Polyhedron* **2016**, *118*, 103–117.
- (92) Kumar, M.; Ramasamy, K.; Mani, V.; Mishra, R. K.; Majeed, A. B. A.; Clercq, E. De; Narasimhan, B. Synthesis, Antimicrobial, Anticancer, Antiviral Evaluation and QSAR Studies of 4-(1-Aryl-2-Oxo-1,2-Dihydro-Indol-3-Ylideneamino)-*N*-Substituted Benzene Sulfonamides. *Arab. J. Chem.* **2014**, *7* (4), 396–408.
- (93) Swathy, S. S.; Selwin Joseyphus, R.; Nisha, V. P.; Subhadrambika, N.; Mohanan, K. Synthesis, Spectroscopic Investigation and Antimicrobial Activities of Some Transition Metal Complexes of a [(2-Hydroxyacetophenone)-3-Isatin]-Bishydrazone. *Arab. J. Chem.* **2012**, *9*, S1847–S1857.
- (94) Baharfar, R.; Asghari, S.; Rassi, S.; Mohseni, M. Synthesis and Evaluation of Novel

- Isatin and 5-Isatinylidenerhodanine-Based Furan Derivatives as Antibacterial Agents. *Res. Chem. Intermed.* **2015**, *41* (10), 6975–6984.
- (95) Prakash, C. R.; Raja, S. Synthesis, Characterization and in Vitro Antimicrobial Activity of Some Novel 5-Substituted Schiff and Mannich Base of Isatin Derivatives. *J. Saudi Chem. Soc.* **2013**, *17* (3), 337–344.
- (96) Kumar, K.; Carrère-Kremer, S.; Kremer, L.; Guérardel, Y.; Biot, C.; Kumar, V. 1 H - 1,2,3-Triazole-Tethered Isatin-Ferrocene and Isatin-Ferrocenylchalcone Conjugates: Synthesis and in Vitro Antitubercular Evaluation. *Organometallics* **2013**, *32* (20), 5713–5719.
- (97) Ahmad, M.; Pervez, H.; Zaib, S.; Yaqub, M.; Naseer, M. M.; Khan, S. U.; Iqbal, J. Synthesis, Biological Evaluation and Docking Studies of Some Novel Isatin-3-Hydrazone-thiazolines. *RSC Adv.* **2016**, *6* (65).
- (98) Akhaja, T. N.; Raval, J. P. 1,3-Dihydro-2H-Indol-2-Ones Derivatives: Design, Synthesis, in Vitro Antibacterial, Antifungal and Antitubercular Study. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46* (11), 5573–5579.
- (99) Nikalje, A. P.; Ansari, A.; Bari, S.; Ugale, V. Synthesis, Biological Activity, and Docking Study of Novel Isatin Coupled Thiazolidin-4-One Derivatives as Anticonvulsants. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **2015**, *348* (6), 433–445.
- (100) Kulkarni, A. A.; Wankhede, S. B.; Dhawale, N. D.; Yadav, P. B.; Deore, V. V.; Gonjari, I. D. Synthesis, Characterization and Biological Behavior of Some Schiff's and Mannich Base Derivatives of Lamotrigine. *Arab. J. Chem.* **2017**, *10*, S184–S189.
- (101) Nain, S. Recent Advancement in Synthesis of Isatin as Anticonvulsant Agents: A Review. *Med. Chem. (Los. Angeles)*. **2014**, *4* (4), 417–427.
- (102) Rane, R. A.; Karunanidhi, S.; Jain, K.; Shaikh, M. H.; Hampannavar, G.; Karpoomath, R. A Recent Perspective on Discovery and Development of Diverse Therapeutic Agents Inspired from Isatin Alkaloids. *Curr. Top. Med. Chem.* **2015**, *27* (0), 1262–1289.
- (103) Chauhan, P.; Chimni, S. S. Asymmetric Addition of Indoles to Isatins Catalysed by Bifunctional Modified Cinchona Alkaloid Catalysts. *Chem. - A Eur. J.* **2010**, *16* (26), 7709–7713.
- (104) Nitti, A.; Signorile, M.; Boiocchi, M.; Bianchi, G.; Po, R.; Pasini, D. Conjugated Thiophene-Fused Isatin Dyes through Intramolecular Direct Arylation. *J. Org. Chem.* **2016**, *81* (22), 11035–11042.
- (105) Musin, L. I.; Abdullin, I. T.; Vandyukov, A. E.; Yakhvarov, D. G.; Zinnatullin, R. G.; Mironov, V. F.; Bogdanov, A. V. Novel Azo-Dyes-Modified Isatin Derivatives: Synthesis, UV/VIS Spectroscopic, and Electrochemical Study. *Helv. Chim. Acta* **2016**, *99* (8), 597–600.
- (106) Al-kadhimi, A. A. H.; Azzawi, N. K. E. Al; Khalaf, A. I. Synthesis and Characterization of Some Novel Isatin Azo – Imine Dyes. *J. Chem. , Biol. Phys. Sci.* **2016**, *6* (1), 138–152.
- (107) Chen, N. Y.; Ren, L. P.; Zou, M. M.; Xu, Z. P.; Shao, X. S.; Xu, X. Y.; Li, Z. Design, Synthesis and Insecticidal Activity of Spiro Heterocycle Containing Neonicotinoid Analogs. *Chinese Chem. Lett.* **2014**, *25* (2), 197–200.

- (108) Pakravan, P.; Kashanian, S.; Khodaei, M. M.; Harding, F. J. Biochemical and Pharmacological Characterization of Isatin and Its Derivatives: From Structure to Activity. *Pharmacol. Reports* **2013**, *65* (2), 313–335.
- (109) Sommer, T.; Bjerregaard-Andersen, K.; Simensen, S. M.; Jensen, J. K.; Jochimsen, B.; Riss, P. J.; Etzerodt, M.; Morth, J. P. Enzymatic Detection and Quantification Assay of Isatin, a Putative Stress Biomarker in Blood. *ACS Chem. Neurosci.* **2015**, *6* (8), 1353–1360.
- (110) Shahbazy, M.; Pakravan, P.; Kompany-Zareh, M. Multivariate Spectrochemical Analysis of Interactions of Three Common Isatin Derivatives to Calf Thymus DNA *in Vitro*. *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2016**, 1–18.
- (111) Marques, C. S.; Burke, A. J. Enantioselective Rhodium(I)-Catalyzed Additions of Arylboronic Acids to *N*-1,2,3-Triazole-Isatin Derivatives: Accessing *N*-(1,2,3-Triazolmethyl)-3-Hydroxy-3-Aryloxindoles. *ChemCatChem* **2016**, *8* (22), 3518–3526.
- (112) Manallack, D. The PKa Distribution of Drugs: Application to Drug Discovery. *Dye. Drugs* **2011**, *1*, 80–102.
- (113) Reijenga, J.; van Hoof, A.; van Loon, A.; Teunissen, B. Development of Methods for the Determination of PK_a Values. *Anal. Chem. Insights* **2013**, *8*, ACI.S12304.
- (114) 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; pp 1–10.
- (115) Albert, A.; Serjeant, E. P. Determination of Ionization Constants by Spectrophotometry. In *The Determination of Ionization Constants*; Springer Netherlands: Dordrecht, 1984; pp 70–101.
- (116) Babić, S.; Horvat, A. J. M.; Mutavdžić Pavlović, D.; Kaštelan-Macan, M. Determination of PKa Values of Active Pharmaceutical Ingredients. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2007**, *26* (11), 1043–1061.
- (117) Serjeant, E. P.; Albert, A. *The Determination of Ionization Constants: A Laboratory Manual*, 2nd ed.; Chapman and Hall: London, 1971.
- (118) Maddox, C. E.; Laur, L. M.; Tian, L. Antibacterial Activity of Phenolic Compounds against the Phytopathogen *Xylella Fastidiosa*. *Curr. Microbiol.* **2010**, *60* (1), 53–58.
- (119) Boudet, A. M. Evolution and Current Status of Research in Phenolic Compounds. *Phytochemistry* **2007**, *68* (22–24), 2722–2735.
- (120) Gaffer, H. E.; Fouda, M. M. G.; Khalifa, M. E. Synthesis of Some Novel 2-Amino-5-Arylazothiazole Disperse Dyes for Dyeing Polyester Fabrics and Their Antimicrobial Activity. *Molecules* **2016**, *21* (1), 122.
- (121) Mohamed, H. M.; El-Wahab, A. H. F. A.; El-Agrody, A. M.; Bedair, A. H.; Eid, F. A.; Khafagy, M. M.; Abd-El-rehem, K. A. Synthesis and Characterization of New Diiodocoumarin Derivatives with Promising Antimicrobial Activities. *Beilstein J. Org. Chem.* **2011**, *7*, 1688–1696.
- (122) El-Agrody, A. M.; Abd El-Latif, M. S.; El-Hady, N. A.; Fakery, A. H.; Bedair, A. H. Heteroaromatization with 4-Hydroxycoumarin Part II: Synthesis of Some New

- Pyrano[2,3-d]Pyrimidines, [1,2,4]Triazolo[1,5-c]Pyrimidines and Pyrimido[1,6-b]-[1,2,4]Triazine Derivatives. *Molecules* **2001**, *6* (6), 519–527.
- (123) Weber, U. S.; Steffen, B.; Siegers, C. P. Antitumor-Activities of Coumarin, 7-Hydroxy-Coumarin and Its Glucuronide in Several Human Tumor Cell Lines. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* **1998**, *99* (2), 193–206.
- (124) Fogue, P. S.; Lunga, P. K.; Fondjo, E. S.; De Dieu Tamokou, J.; Thaddée, B.; Tsemeugne, J.; Tchapi, A. T.; Kuate, J. R. Substituted 2-Aminothiophenes: Antifungal Activities and Effect on *Microsporum Gypseum* Protein Profile. *Mycoses* **2012**, *55* (4), 310–317.
- (125) Sabnis, R. W.; Rangnekar, D. W.; Sonawane, N. D. 2-Aminothiophenes By the Gewald Reaction. *J. Heterocycl. Chem.* **1999**, *36* (2), 333–345.
- (126) Gershon, H.; Shanks, L. Fungitoxicity of 1,4-Naphthoquinones to *Candida Albicans* and *Trichophyton Mentagrophytes*. *Can. J. Microbiol.* **1975**, *21* (9), 1317–1321.
- (127) Fondjo, E. S.; Tsemeugne, J.; De Dieu Tamokou, J.; Djintchui, A. N.; Kuate, J. R.; Sondengam, B. L. Synthesis and Antimicrobial Activities of Some Novel Thiophene Containing Azo Compounds. *Heterocycl. Commun.* **2013**, *19* (4), 253–259.
- (128) Tamokou, J.; Tsemeugne, J.; Fondjo, E. S.; Sarkar, P. Antibacterial and Cytotoxic Activities and SAR of Some Azo Compounds Containing Thiophene Backbone. *Pharmacologia* **2016**, *7* (4), 182–192.
- (129) Tsemeugne, J.; Sopbué Fondjo, E.; Tamokou, J.-D.; Rohand, T.; Ngongang, A. D.; Kuate, J. R.; Sondengam, B. L. Synthesis, Characterization, and Antimicrobial Activity of a Novel Trisazo Dye from 3-Amino-4H-Thieno[3,4-c][1]Benzopyran-4-One. *Int. J. Med. Chem.* **2018**, *2018*, 1–8.
- (130) CLSI, *Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Guideline. CLSI Document M44-A. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania; 2004.*
- (131) *Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard, 7th Ed., CLSI Document M02-A11. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012. Http://Shop.Clsi.Org/Site/Sample{_; 2012.*
- (132) Pfaller, M. A.; Sheehan, D. J.; Rex, J. H. Determination of Fungicidal Activities against Yeasts and Molds: Lessons Learned from Bactericidal Testing and the Need for Standardization. *Clin. Microbiol. Rev.* **2004**, *17* (2), 268–280.
- (133) L. F. JOYCE, J. DOWNES, K. STOCKMAN, A. J. H. A. Comparison of Five Methods , Including the PDM Epsilometer Test (E Test), for Antimicrobial Susceptibility Testing of *Pseudomonas Aeruginosa*. *J. Clin. Microbiol.* **1992**, *30* (10), 2709–2713.
- (134) Jones, R. A. *Physical and Mechanistic Organic Chemistry*, 2 nd.; Cambridge University Press: London, 1984.
- (135) Anslyn, E. C.; Dougherty, D. A. *Modern Physical Organic Chemistry*; University Science Book: Sausalito, California, 2005.
- (136) Hammett, L. P. Some Relations between Reaction Rates and Equilibrium Constants. *Chem. Rev.* **1935**, *17* (1), 125–136.

- (137) Hammett, L. P. The Effect of Structure upon the Reactions of Organic Compounds. Benzene Derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **1937**, *59* (1), 96–103.
- (138) Jaffe, H. H. A Reëxamination of the Hammett Equation. *Chem. Rev.* **1953**, *53* (2), 191–261.
- (139) Krygowski, T. M.; Stępień, B. T. Sigma- and Pi-Electron Delocalization: Focus on Substituent Effects. *Chem. Rev.* **2005**, *105* (10), 3482–3512.
- (140) Taft, R. W. Sigma Values from Reactivities. *J. Phys. Chem.* **1960**, *64* (12), 1805–1815.
- (141) Acevedo, S.; Bowden, K. Transmission of Polar Effects: Prediction by the Kirkwood–Westheimer Electrostatic Field Effect Model. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1977**, No. 17, 608–609.
- (142) Lewis, E. S.; Johnson, M. D. The Substituent Constants of the Diazonium Ion Group. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81* (9), 2070–2072.
- (143) Cram, D. J. *Fundamentals of Carbanion Chemistry*; Academic Press Inc.: New York, 1965.
- (144) Shorter, J. *Correlation Analysis in Organic Chemistry*; Clarendon Press: Oxford.
- (145) Brown, H. C.; Okamoto, Y. Electrophilic Substituent Constants. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80* (18), 4979–4987.
- (146) Nakata, K.; Fujio, M.; Nishimoto, K.; Tsuno, Y. Theoretical Studies on Empirical Structure-Reactivity Relationship: The Yukawa-Tsuno Equation. *J. Phys. Org. Chem.* **2003**, *16* (6), 323–335.
- (147) Tsuno, Y.; Kusuyama, Y.; Sawada, M.; Fujii, T.; Yukawa, Y. Yukawa-Tsuno 1975.Pdf. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1975**, *48* (11), 3337–3346.
- (148) Yukawa, Y.; Tsuno, Y.; Sawada, M. Resonance Effect Relationship in Hammett Relationship . IV . Linear Free Energy Based on the Normal Substituent Constants. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1966**, *39* (10), 2274–2286.
- (149) 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.* **1958**, *80* (10), 2436–2443.
- (150) Neuvonen, H.; Neuvonen, K.; Fülöp, F. Substituent Cross-Interaction Effects on the Electronic Character of the C=N Bridging Group in Substituted Benzylidene Anilines - Models for Molecular Cores of Mesogenic Compounds. A ¹³C NMR Study and Comparison with Theoretical Results. *J. Org. Chem.* **2006**, *71* (8), 3141–3148.
- (151) Neuvonen, H.; Fülöp, F.; Neuvonen, K.; Koch, A.; Kleinpeter, E. Electronic Effects of Heterocyclic Ring Systems as Evaluated with the Aid Of ¹³C And ¹⁵N NMR Chemical Shifts and NBO Analysis. *J. Phys. Org. Chem.* **2008**, *21* (3), 173–184.
- (152) Bordwell, F. G.; Cornforth, F. J. Application of the Hammett Equation to Equilibrium Acidities of Meta- and Para-Substituted Acetophenones. *J. Org. Chem.* **1978**, *43* (9), 1763–1768.
- (153) Reichardt, C. *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*, 3th ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 2003.

- (154) Amis, E. S.; Hinton, J. F. *Solvent Effects on Chemical Phenomena, Vol I*; Academic Press: New York, 1973.
- (155) Kosower, E. M. *An Introduction to Physical Organic Chemistry*; Wiley: New York, 1968.
- (156) Kakabadse, J. *Solvent Problems in Industry*; Elsevier Applied Science Publishers: London, 1984.
- (157) Marcus, Y. *Ion Solvation*; Wiley: Chichester, 1985.
- (158) Abraham, M. H. No Title. *Pure Appl. Chem.* **1985**, *57*, 1055–1064.
- (159) Abraham, M. H. . G.; P. L.; Abboud, J.-L. M.; Doherty, R. M.; Taft, R. W. Solvent Effects in Organic Chemistry-Recent Developments. *Can. J. Chem.* **1988**, *66*, 2673–2686.
- (160) Connors, K. A. *Chemical Kinetics-The Study Of Reaction Rates in Solution*; VCH Publishers: Weinheim, 1990.
- (161) Berthelot, M.; Pean de Saint-Gilles, L. No Title. *Ann. Chim. Phys.* **1862**, *65*, 385–422.
- (162) 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, .Pi.*, .Alpha., and .Beta., and Some Methods for Simplifying the Generalized Solvatochromic Equation. *J. Org. Chem.* **1983**, *48* (17), 2877–2887.
- (163) Taft, R. W.; Kamlet, M. J. The Solvatochromic Comparison Method. 2. The .Alpha.-Scale of Solvent Hydrogen-Bond Donor (HBD) Acidities. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98* (10), 2886–2894.
- (164) Kamlet, M. J.; Abboud, J. L.; Taft, R. W. The Solvatochromic Comparison Method. 6. The .Pi.* Scale of Solvent Polarities. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99* (18), 6027–6038.
- (165) Horn, A.; Lanig, H. Encyclopedia of Computational Chemistry. *J. Mol. Model.* **1999**, *5* (9), 141–142.
- (166) Koch, W.; Holthausen, M. C. *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*, 2nd ed.; Wiley-VCH and John Wiley & Sons, 2001.
- (167) Jensen, F. *Introduction to Computational Chemistry*; John Wiley & Sons: Chichester, 2007.
- (168) Kleinpeter, E.; Stamboliyska, B. A. Quantification of the Push-Pull Character of Donor-Acceptor Triazines. *J. Org. Chem.* **2008**, *73* (21), 8250–8255.
- (169) Perdew, J. P.; Kurth, S. *A Primer in Density Functional Theory*; Fiolhais, C., Nogueira, F., Marques, M. A. L., Eds.; Lecture Notes in Physics; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2003; Vol. 620.
- (170) Lewars, E. G. *Computational Chemistry-Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics*; Springer Netherlands: Dordrecht, 2010.
- (171) Jensen, J. H. *Molecular Modeling Basics*; CRC Press LLC, 2010.
- (172) Hohenberg, P.; Kohn, W. Inhomogeneous Electron Gas. *Phys. Rev.* **1964**, *136* (3B), B864–B871.

- (173) Kohn, W.; Sham, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Phys. Rev.* **1965**, *140* (4A), A1133–A1138.
- (174) Perdew, J. P.; Chevary, J. A.; Vosko, S. H.; Jackson, K. A.; Pederson, M. R.; Singh, D. J.; Fiolhais, C. Atoms, Molecules, Solids, and Surfaces: Applications of the Generalized Gradient Approximation for Exchange and Correlation. *Phys. Rev. B* **1992**, *46* (11), 6671–6687.
- (175) Perdew, J. P.; Burke, K.; Ernzerhof, M. Generalized Gradient Approximation Made Simple. *Phys. Rev. Lett.* **1996**, *77* (18), 3865–3868.
- (176) Becke, A. D. Density-Functional Exchange-Energy Approximation with Correct Asymptotic Behavior. *Phys. Rev. A* **1988**, *38* (6), 3098–3100.
- (177) Becke, A. D. A New Mixing of Hartree-Fock and Local Density-Functional Theories. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98* (2), 1372–1377.
- (178) Gunnarsson, O.; Lundqvist, B. I. Exchange and Correlation in Atoms, Molecules, and Solids by the Spin-Density-Functional Formalism. *Phys. Rev. B* **1976**, *13* (10), 4274–4298.
- (179) Harris, R.; Multimani, B. G. Scattering from Impurities in Silver and Gold Alloys. *J. Phys. F Met. Phys.* **1974**, *4* (5), 703–710.
- (180) Becke, A. D. Density- functional Thermochemistry. III. The Role of Exact Exchange. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98* (7), 5648–5652.
- (181) Staroverov, V. N.; Scuseria, G. E.; Tao, J.; Perdew, J. P. Comparative Assessment of a New Nonempirical Density Functional: Molecules and Hydrogen-Bonded Complexes. *J. Chem. Phys.* **2003**, *119* (23), 12129–12137.
- (182) Adamo, C.; Barone, V. Toward Reliable Density Functional Methods without Adjustable Parameters: The PBE0 Model. *J. Chem. Phys.* **1999**, *110* (13), 6158–6170.
- (183) Zhao, Y.; Truhlar, D. G. The M06 Suite of Density Functionals for Main Group Thermochemistry, Thermochemical Kinetics, Noncovalent Interactions, Excited States, and Transition Elements: Two New Functionals and Systematic Testing of Four M06-Class Functionals and 12 Other Function. *Theor. Chem. Acc.* **2008**, *120* (1–3), 215–241.
- (184) Drissi, M.; Benhalima, N.; Megrouss, Y.; Rachida, R.; Chouaih, A.; Hamzaoui, F. Theoretical and Experimental Electrostatic Potential around the M-Nitrophenol Molecule. *Molecules* **2015**, *20* (3), 4042–4054.
- (185) Chirlian, L. E.; Francl, M. M. Atomic Charges Derived from Electrostatic Potentials: A Detailed Study. *J. Comput. Chem.* **1987**, *8* (6), 894–905.
- (186) Santos, C. B. R. dos; Lobato, C. C.; de Sousa, M. A. C.; Macêdo, W. J. da C.; Carvalho, J. C. T. Molecular Modeling: Origin, Fundamental Concepts and Applications Using Structure-Activity Relationship and Quantitative Structure-Activity Relationship. *Rev. Theor. Sci.* **2014**, *2* (2), 91–115.
- (187) Politzer, P.; Murray, J. S. The Fundamental Nature and Role of the Electrostatic Potential in Atoms and Molecules. *Theor. Chem. Acc.* **2002**, *108* (3), 134–142.
- (188) Zhang, G.; Musgrave, C. B. Comparison of DFT Methods for Molecular Orbital Eigenvalue Calculations. *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111* (8), 1554–1561.

- (189) Grant, G. H.; Richards, W. G. *Computational Chemistry*; Oxford Science Publications, 1996.
- (190) Heaton, C. A.; Miller, A. K.; Powell, R. L. Predicting the Reactivity of Fluorinated Compounds with Copper Using Semi-Empirical Calculations. *J. Fluor. Chem.* **2001**, *107* (1), 1–3.
- (191) Clare, B. W. Frontier Orbital Energies in Quantitative Structure-Activity Relationships: A Comparison of Quantum Chemical Methods. *Theor. Chim. Acta* **1994**, *87* (6), 415–430.
- (192) Clare, B. W. Charge Transfer Complexes and Frontier Orbital Energies in QSAR: A Congeneric Series of Electron Acceptors. *J. Mol. Struct. THEOCHEM* **1995**, *337* (2), 139–150.
- (193) Clare, B. W. The Relationship of Charge Transfer Complexes to Frontier Orbital Energies in QSAR. *J. Mol. Struct. THEOCHEM* **1995**, *331* (1–2), 63–78.
- (194) Contreras, R.; Domingo, L. R.; Andrés, J.; Pérez, P.; Tapia, O. Nonlocal (Pair Site) Reactivity from Second-Order Static Density Response Function: Gas- and Solution-Phase Reactivity of the Acetaldehyde Enolate as a Test Case. *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103* (10), 1367–1375.
- (195) Tang, W.; Sanville, E.; Henkelman, G. A Grid-Based Bader Analysis Algorithm without Lattice Bias. *J. Phys. Condens. Matter* **2009**, *21* (8), 084204.
- (196) Bader, R. F. W. *Atoms in Molecules - A Quantum Theory*; Oxford University Press: Oxford, 1990.
- (197) Madsen, G. K. H.; Gatti, C.; Iversen, B. B.; Damjanovic, L.; Stucky, G. D.; Srdanov, V. I. F Center in Sodium Electrosodalite as a Physical Manifestation of a Non-Nuclear Attractor in the Electron Density. *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.* **1999**, *59* (19), 12359–12369.
- (198) De Proft, F.; Van Alsenoy, C.; Peeters, A.; Langenaeker, W.; Geerlings, P. Atomic Charges, Dipole Moments, and Fukui Functions Using the Hirshfeld Partitioning of the Electron Density. *J. Comput. Chem.* **2002**, *23* (12), 1198–1209.
- (199) Ángyán, J. G.; Jansen, G.; Loss, M.; Hättig, C.; Heß, B. A. Distributed Polarizabilities Using the Topological Theory of Atoms in Molecules. *Chem. Phys. Lett.* **1994**, *219* (3–4), 267–273.
- (200) Wiberg, K. B.; Rablen, P. R. Comparison of Atomic Charges Derived via Different Procedures. *J. Comput. Chem.* **1993**, *14* (12), 1504–1518.
- (201) Popelier, P. L. A. Morphy98 A Program Written by PLA Popelier with a Contribution from RGA Bone. *UMIST, Manchester, England*. 1998.
- (202) Stefanov, B. B.; Cioslowski, J. An Efficient Approach to Calculation of Zero- flux Atomic Surfaces and Generation of Atomic Integration Data. *J. Comput. Chem.* **1995**, *16* (11), 1394–1404.
- (203) Popelier, P. L. A. A Fast Algorithm to Compute Atomic Charges Based on the Topology of the Electron Density. *Theor. Chem. Accounts Theory, Comput. Model. (Theoretica Chim. Acta)* **2001**, *105* (4–5), 393–399.

- (204) Popelier, P. L. A. An Analytical Expression for Interatomic Surfaces in the Theory of Atoms in Molecules. *Theor. Chim. Acta* **1994**, 87 (6), 465–476.
- (205) Popelier, P. L. A. A Method to Integrate an Atom in a Molecule without Explicit Representation of the Interatomic Surface. *Comput. Phys. Commun.* **1998**, 108 (2–3), 180–190.
- (206) Malcolm, N. O. J.; Popelier, P. L. A. An Algorithms to Delineate and Integrate Topological Basins in a Three-Dimensional Quantum Mechanical Density Function. *J. Comput. Chem.* **2003**, 24 (10), 1276–1282.
- (207) Malcolm, N. O. J.; Popelier, P. L. A. An Improved Algorithm to Locate Critical Points in a 3D Scalar Field as Implemented in the Program MORPHY. *J. Comput. Chem.* **2003**, 24 (4), 437–442.
- (208) Crum-Brown, A.; Fraser, T. R. On the Connection between Chemical Constitution and Physiological Action. Part 1. On the Physiological Action of the Ammonium Bases, Derived from Strychia, Brucia, Thebaia, Codeia, Morphia and Nicotia. *Trans. Roy. Soc. Edinburgh.* **1868**, 25, 151–203.
- (209) Hansch, C.; Maloney, P. P.; Fujita, T.; Muir, R. M. Correlation of Biological Activity of Phenoxyacetic Acids with Hammett Substituent Constants and Partition Coefficients. *Nature* **1962**, 194 (4824), 178–180.
- (210) Dossetter, A. G.; Griffen, E. J.; Leach, A. G. Matched Molecular Pair Analysis in Drug Discovery. *Drug Discov. Today* **2013**, 18 (15–16), 724–731.
- (211) Clark, M.; Cramer, R. D. The Probability of Chance Correlation Using Partial Least Squares (PLS). *Quant. Struct. Relationships* **1993**, 12 (2), 137–145.
- (212) Caron, G.; Nurisso, A.; Ermondi, G. How to Extend the Use of Grid-Based Interaction Energy Maps from Chemistry to Biotopics. *ChemMedChem* **2009**, 4 (1), 29–36.
- (213) Pastor, M.; Cruciani, G.; McLay, I.; Pickett, S.; Clementi, S. GRid-INdependent Descriptors (GRIND): A Novel Class of Alignment-Independent Three-Dimensional Molecular Descriptors. *J. Med. Chem.* **2000**, 43 (17), 3233–3243.
- (214) Klebe, G.; Abraham, U.; Mietzner, T. Molecular Similarity Indices in a Comparative Analysis (CoMSIA) of Drug Molecules to Correlate and Predict Their Biological Activity. *J. Med. Chem.* **1994**, 37 (24), 4130–4146.
- (215) Cruciani, G.; Watson, K. A. Comparative Molecular Field Analysis Using GRID Force-Field and GOLPE Variable Selection Methods in a Study of Inhibitors of Glycogen Phosphorylase B. *J. Med. Chem.* **1994**, 37 (16), 2589–2601.
- (216) Abdi, H.; Williams, L. J. Principal Component Analysis. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Stat.* **2010**, 2 (4), 433–459.
- (217) Cruciani, G.; Crivori, P.; Carrupt, P.-A.; Testa, B. Molecular Fields in Quantitative Structure–permeation Relationships: The VolSurf Approach. *J. Mol. Struct. THEOCHEM* **2000**, 503 (1–2), 17–30.
- (218) Fontaine, F.; Pastor, M.; Sanz, F. Incorporating Molecular Shape into the Alignment-Free GRid-INdependent Descriptors. *J. Med. Chem.* **2004**, 47 (11), 2805–2815.
- (219) Durán, Á.; Martínez, G. C.; Pastor, M. Development and Validation of AMANDA, a

- New Algorithm for Selecting Highly Relevant Regions in Molecular Interaction Fields. *J. Chem. Inf. Model.* **2008**, *48* (9), 1813–1823.
- (220) Clementi, S.; Cruciana, G.; Riganelli, D.; Valigi, R.; Constantino, G.; Baroni, M.; Wold, S. Autocorrelation as a Tool for a Congruent Description of Molecules in 3D-QSAR Studies. *Pharm. Pharmacol. Lett.* **1993**, *3* (1), 5–8.
- (221) Popović-Djordjević, J. B.; Došen-Mićović, L. I.; Juranić, I. O.; Drakulić, B. J. Antiproliferative Activity of NCI-DTP Glutarimide Derivatives. An Alignment Independent 3D QSAR Study. *J. Serbian Chem. Soc.* **2010**, *75* (9), 1167–1179.
- (222) Yang, L.; Xie, X.; Zhang, J.; Sun, G. Microemulsion Electrokinetic Chromatography in Combination with Chemometric Methods to Evaluate the Holistic Quality Consistency and Predict the Antioxidant Activity of *Ixeris Sonchifolia* (Bunge) Hance Injection. *PLoS One* **2016**, *11* (6), e0157601.
- (223) Albert, A.; Serjeant, E. P. No Title. In *The determination of Ionization constants*; Chapman and Hall: London, 1971; p 44.
- (224) Filipović, N. R.; Bjelogrić, S.; Marinković, A.; Verbić, T. Ž.; Cvijetić, I. N.; Senčanski, M.; Rodić, M.; Vujčić, M.; Sladić, D.; Striković, Z.; et al. Zn(II) Complex with 2-Quinolinecarboxaldehyde Selenosemicarbazone: Synthesis, Structure, Interaction Studies with DNA/HSA, Molecular Docking and Caspase-8 and -9 Independent Apoptose Induction. *RSC Adv.* **2015**, *5* (115), 95191–95211.
- (225) Kamlet, M. J.; Abboud, J. L. M.; Taft, R. W. An Examination of Linear Solvation Energy Relationships. In *Progress in Physical Organic Chemistry*; Taft, R. W., Ed.; John Wiley & Sons: New York, 1981; pp 485–630.
- (226) Exner, O. *The Hammett Equation – the Present Position, Advances in Linear Free Energy Relationship*; Champan, N. B., Shorter, J., Eds.; Plenum Press: London, 1972.
- (227) Martin, Y. C. Exploring QSAR: Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants C. Hansch, A. Leo, and D. Hoekman. American Chemical Society, Washington, DC. 1995. Xix + 348 Pp. 22 × 28.5 Cm. Exploring QSAR: Fundamentals and Applications in Chemistry and Biology . C. Hansc. *J. Med. Chem.* **1996**, *39* (5), 1189–1190.
- (228) *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: 15th Informational Supplement CLSI Document M100-S15PA, USA: Wayne (2005).*
- (229) Klaus, A.; Kozarski, M.; Vunduk, J.; Todorovic, N.; Jakovljevic, D.; Zizak, Z.; Pavlovic, V.; Levic, S.; Niksic, M.; Van Griensven, L. J. L. D. Biological Potential of Extracts of the Wild Edible Basidiomycete Mushroom *Grifola Frondosa*. *Food Res. Int.* **2015**, *67*, 272–283.
- (230) Yanai, T.; Tew, D. P.; Handy, N. C. A New Hybrid Exchange-Correlation Functional Using the Coulomb-Attenuating Method (CAM-B3LYP). *Chem. Phys. Lett.* **2004**, *393* (1–3), 51–57.
- (231) Tomasi, J.; Mennucci, B.; Cammi, R. Quantum Mechanical Continuum Solvation Models. *Chem. Rev.* **2005**, *105* (8), 2999–3093.
- (232) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Montgomery, J. A.; Vreven, J. T.; Kudin, K. N.; Burant, J. C.; et al. *GAUSSIAN 09, Revision C.02*; Gaussian, Inc.: Pittsburgh, PA, 2009.

- (233) Laaksonen, L. A Graphics Program for the Analysis and Display of Molecular Dynamics Trajectories. *J. Mol. Graph.* **1992**, *10* (1), 33–34.
- (234) Glukhovtsev, M. N.; Pross, A.; McGrath, M. P.; Radom, L. Extension of Gaussian-2 (G2) Theory to Bromine- and Iodine-Containing Molecules: Use of Effective Core Potentials. *J. Chem. Phys.* **1995**, *103* (5), 1878–1885.
- (235) Tomasi, J. Thirty Years of Continuum Solvation Chemistry: A Review, and Prospects for the near Future. *Theor. Chem. Acc.* **2004**, *112* (4), 184–203.
- (236) Le Bahers, T.; Adamo, C.; Ciofini, I. A Qualitative Index of Spatial Extent in Charge-Transfer Excitations. *J. Chem. Theory Comput.* **2011**, *7* (8), 2498–2506.
- (237) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; et al. Gaussian 09, Revision D.01. Gaussian, Inc.: Wallingford CT 2013.
- (238) Goodford, P. J. A Computational Procedure for Determining Energetically Favorable Binding Sites on Biologically Important Macromolecules. *J. Med. Chem.* **1985**, *28* (7), 849–857.
- (239) Stewart, J. J. P. Optimization of Parameters for Semiempirical Methods V: Modification of NDDO Approximations and Application to 70 Elements. *J. Mol. Model.* **2007**, *13* (12), 1173–1213.
- (240) Pedretti, A.; Villa, L.; Vistoli, G. VEGA – An Open Platform to Develop Chemo-Bio-Informatics Applications, Using Plug-in Architecture and Script Programming. *J. Comput. Aided. Mol. Des.* **2004**, *18* (3), 167–173.
- (241) Brkić, D. R.; Božić, A. R.; Marinković, A. D.; Milčić, M. K.; Prlainović, N.; Assaleh, F. H.; Cvijetić, I. N.; Nikolić, J. B.; Drmanić, S. Detailed Solvent, Structural, Quantum Chemical Study and Antimicrobial Activity of Isatin Schiff Base. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2018**, *196*, 16–30.
- (242) González, A.; Quirante, J.; Nieto, J.; Almeida, M. R.; Saraiva, M. J.; Planas, A.; Arsequell, G.; Valencia, G. Isatin Derivatives, a Novel Class of Transthyretin Fibrillogenesis Inhibitors. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2009**, *19* (17), 5270–5273.
- (243) Banerji, J.; Lai, T. K.; Basak, B.; Neuman, A.; Prangé, T.; Chatterjee, A. A Novel Route to Anticonvulsant Imesatins and an Approach to Cryptolepine, the Alkaloid from *Cryptolepis* Sp. *Indian J. Chem. - Sect. B Org. Med. Chem.* **2005**, *44* (2), 426–429.
- (244) Brkić, D. R.; Božić, A. R.; Nikolić, V. D.; Marinković, A. D.; Elshafly, H.; Nikolić, J. B.; Drmanić, S. Solvatochromism of Isatin Based Schiff Bases: An LSER and LFER Study. *J. Serbian Chem. Soc.* **2016**, *81* (9), 979–997.
- (245) Tsuchida, N.; Yamabe, S. Reaction Paths of Tautomerization between Hydroxypyridines and Pyridones. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109* (9), 1974–1980.
- (246) Rančić, M. P.; Stojiljković, I.; Milošević, M.; Prlainović, N.; Jovanović, M.; Milčić, M. K.; Marinković, A. D. Solvent and Substituent Effect on Intramolecular Charge Transfer in 5-Arylidene-3-Substituted-2,4-Thiazolidinediones: Experimental and Theoretical Study. *Arab. J. Chem.* **2016**, DOI: 10.1016/j.arabjc.2016.12.013.
- (247) Al-Hazmi, G. A. A.; Metwally, N. El. A Series of Nickel(II) Complexes Derived from Hydrazide Derivatives, Electrochemical, Thermal and Spectral Studies. *Arab. J. Chem.*

2013, 10, S1003–S1013.

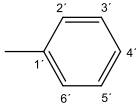
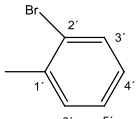
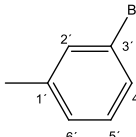
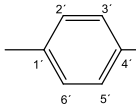
- (248) Antonov, L.; Stoyanov, S. Analysis of the Overlapping Bands in UV-Vis Absorption Spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* **1993**, 47 (7), 1030–1035.
- (249) Barone, V.; Polimeno, A. Integrated Computational Strategies for UV/Vis Spectra of Large Molecules in Solution. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, 36 (11), 1724–1731.
- (250) Šekularac, G. M.; Nikolić, J. B.; Petrović, P.; Bugarski, B.; Durović, B.; Drmanić, S. Z. Synthesis, Antimicrobial and Antioxidative Activity of Some New Isatin Derivatives. *J. Serbian Chem. Soc.* **2014**, 79 (11), 1347–1354.
- (251) Assaleh, F. H.; Marinković, A. D.; Nikolić, J.; Prlainović, N. T.; Drmanić, S.; Khan, M. M.; Jovanović, B. T. Conformational Stability of 5-Substituted Orotic Acid Derivatives Analyzed by Measuring ^{13}C NMR Chemical Shifts and Applying Linear Free Energy Relationships. *Arab. J. Chem.* **2013**, 10.1016/j.arabjc.2015.08.014.
- (252) 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.* **2013**, 1049, 59–68.
- (253) Craik, D. J.; Brownlee, R. T. C. Substituent-Effects on Chemical-Shifts in the Sidechains of Aromatic Systems. In *Progress in Physical Organic Chemistry*; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 1983; Vol. 14, pp 1–73.
- (254) Drmanic, S.; Marinkovic, A.; Nikolic, J.; Jovanovic, B. The Substituent Effects on the ^{13}C Chemical Shifts of the Azomethine Carbon Atom of *N*-(Phenyl Substituted) Salicylaldimines. *J. Serbian Chem. Soc.* **2012**, 77 (8), 993–1001.
- (255) Akaba, R.; Sakuragi, H.; Tokumaru, K. Multiple Substituent Effects on ^{13}C Chemical Shifts of *N*-Benzylideneanilines. Evidence for Substituent–Substituent Interactions and Their Implications of Conformational Changes with Substituents. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1985**, 58 (4), 1186–1195.
- (256) Jovanović, B. Ž.; Mišić-Vuković, M.; Marinković, A. D.; Vajs, V. Effect of Substituents on the ^{13}C Chemical Shifts of the Azomethine Carbon Atom of *N*-(Phenyl Substituted)Pyridine-3- and -2-Aldimines. *J. Mol. Struct.* **2002**, 642 (1–3), 113–118.
- (257) Jovanović, B. Ž.; Mišić-Vuković, M.; Marinković, A. D.; Vajs, V. Effect of Substituents on the ^{13}C Chemical Shifts of the Azomethine Carbon Atom of *N*-(Phenyl Substituted) Pyridine-4-Aldimines. *J. Mol. Struct.* **1999**, 482–483, 375–378.
- (258) Rančić, M.; Trišović, N.; Milčić, M.; Jovanovic, M.; Jovanovic, B.; Marinkovic, A. Linear Free-Energy Relationships Applied to the ^{13}C NMR Chemical Shifts in 4-Substituted *N*-[1-(Pyridine-3- and -4-Yl)Ethylidene]Anilines. *J. Heterocycl. Chem.* **2015**, 51 (5), 1442–1451.
- (259) Marinković, A. D.; Jovanović, B. Ž.; Assaleh, F. H.; Vajs, V. V.; Juranić, M. I. Linear Free Energy Relationships Applied to the Reactivity and the ^{13}C NMR Chemical Shifts in 4-[[Substituted Phenyl]Imino]Methyl]Benzoic Acids. *J. Mol. Struct.* **2012**, 1011, 158–165.
- (260) Ajaj, I.; Markovski, J.; Rančić, M.; Mijin, D.; Milčić, M.; Jovanović, M.; Marinković, A. Solvent and Structural Effects in Tautomeric 2(6)-Hydroxy-4-Methyl-6(2)-Oxo-1-(Substituted Phenyl)-1,2(1,6)-Dihydropyridine-3-Carbonitriles: UV, NMR and Quantum Chemical Study. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2015**,

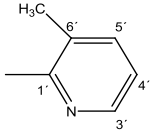
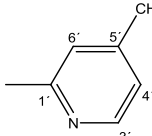
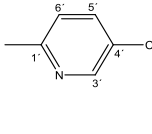
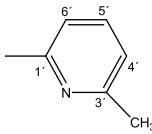
150, 575–585.

- (261) Ajaj, I.; Markovski, J.; Marković, J.; Jovanović, M.; Milčić, M.; Assaleh, F.; Marinković, A. Solvent and Structural Effects in Tautomeric 3-Cyano-4-(Substituted Phenyl)-6-Phenyl-2(1H)-Pyridones: Experimental and Quantum Chemical Study. *Struct. Chem.* **2014**, *25* (4), 1257–1270.
- (262) Chidangil, S.; Shukla, M. K.; Mishra, P. C. A Molecular Electrostatic Potential Mapping Study of Some Fluoroquinolone Anti-Bacterial Agents. *J. Mol. Model.* **1998**, *4* (8), 250–258.
- (263) Luque, F. J.; López, J. M.; Orozco, M. Perspective on “Electrostatic Interactions of a Solute with a Continuum. A Direct Utilization of Ab Initio Molecular Potentials for the Prevision of Solvent Effects.” *Theor. Chem. Acc.* **2000**, *103* (3–4), 343–345.
- (264) 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* **2012**, *116* (22), 11946–11955.
- (265) 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.* **2012**, *14* (16), 5383–5388.
- (266) Arunachalam, S.; Priya, N. P.; Boopathi, K.; Jayabalakrishnan, C.; Chinnusamy, V. Biocidal and Catalytic Efficiency of Ruthenium(III) Complexes with Tridentate Schiff Base Ligands. *Appl. Organomet. Chem.* **2010**, *24* (7), 491–498.
- (267) Chen, G.; Su, H.; Zhang, M.; Huo, F.; Zhang, J.; Hao, X.; Zhao, J. New Bactericide Derived from Isatin for Treating Oilfield Reinjection Water. *Chem. Cent. J.* **2012**, *6* (1), 90.
- (268) Ma, J. Y.; Quan, Y. C.; Jin, H. G.; Zhen, X. H.; Zhang, X. W.; Guan, L. P. Practical Synthesis, Antidepressant, and Anticonvulsant Activity of 3-Phenyliminoindolin-2-One Derivatives. *Chem. Biol. Drug Des.* **2016**, *87* (3), 342–351.
- (269) 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.* **1983**, *48* (17), 2877–2887.
- (270) Marcus, Y. The Properties of Organic Liquids That Are Relevant to Their Use as Solvating Solvents. *Chem. Soc. Rev.* **1993**, *22* (6), 409–416.
- (271) Chapman, N. B.; Shorter, J. *Correlation Analysis in Chemistry: Recent Advances*; Chapman, N. B., Shorter, J., Eds.; Springer US: Boston, MA, 1978.
- (272) Hansch, C; Leo, A; Hoekman, D. *Exploring QSAR: Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants*. ACS Professional Reference Book. Washington, DC: American Chemical Society; American Chemical Society: ACS Professional Reference Book: Washington, DC, 1995.

7. PRILOG

Tabela 7.1 Prinos, tačka topljenja, FT-IR, ¹H i ¹³C NMR podaci sintetisanih jedinjenja (serija 1)

Br.	R	Prinos i t.t.	Elementalna analiza	IR (cm-1)	¹ H NMR (200 MHz, DMSO- <i>d</i> 6)(ppm)	¹³ C NMR (50 MHz, DMSO- <i>d</i> 6)(ppm)
1		Prinos: 76 %; Eksp: 221-222 °C (metanol) Lit: 209,7-211,4 °C ²⁶⁸	Teoretski (%) C: 75,66 H: 4,54 N: 12,60 Pronađeno (%) C: 75,42 H: 4,65 N: 12,38	3344, 1741, 1661, 1254.	6,65 (d, 1H, 4), 6,74 (t, 1H, 5), 6,95 (d, 1H, 4'), 7,04 (d, 2H, 2'6'), 7,26 (t, 1H, 6), 7,30 (t, 1H, 7), 7,44 (t, 2H, 3',5) 10,76 (s, 1H, N1-H).	112,1 (C-7), 116,4 (C-3a), 118,1 (C-2'6'), 123,0 (C-5), 125,70 (C-4), 126,6 (C-4'), 129,7 (C-3'5'), 134,6 (C-6), 146,0 (C-7a), 151,88 (C-1'), 156,20 (C-3), 164,21 (C-2).
2		Prinos: 69 %; Eksp: 223-224 °C (metanol) Lit: 219,8-220,6 °C ²⁶⁸	Teoretski (%) C: 55,84 H: 3,01 N: 9,30 Pronađeno (%) C: 56,01 H: 2,94 N: 9,28	3342, 1746, 1659, 1252.	6,41 (d, 1H, 4), 6,38 (td, 1H, 5), 6,78 (d, 1H, 6'), 6,94 (d, 1H, 6), 7,34 (d, 1H, 4'), 7,36-7,43 (m, 2H, 7, 5'), 7,62 (d, 1H, 3'), 10,66 (s, 1H, N1-H).	89,1 (C-2'), 111,6 (C-7), 116,74 (C-3a), 119,58 (C-6'), 122,21 (C-5), 123,4 (C-4'), 125,82 (C-4), 127,13 (C-5'); 133,02 (C-3'), 135,11 (C-6), 147,62 (C-1'), 148,04 (C-7a), 152,1 (C-3), 164,1 (C-2).
3		Prinos: 66 %; Eksp: 235-236 °C (metanol) Lit: 219,1-220,2 °C ²⁶⁸	Teoretski (%) C: 55,84 H: 3,01 N: 9,30 Pronađeno (%) C: 56,04 H: 2,92 N: 9,34	3340, 1744, 1658, 1250.	6,38 (d, 1H, 4), 6,39 (td, 1H, 5), 6,88 (d, 1H, 6'), 6,91 (d, 1H, 6), 7,28 (d, 1H, 5'), 7,37 (dd, 1H, 7), 7,54-7,68 (m, 2H, 2', 4'), 10,84 (s, 1H, N1-H).	88,56 (C-3'), 111,8 (C-7), 116,70 (C-3a), 119,69 (C-6'), 122,24 (C-5), 123,4 (C-2'), 125,77 (C-4), 126,23 (C-4'); 135,06 (C-6), 136,02 (C-5'), 147,61 (C-1'), 148,2 (C-7a), 152,03 (C-3), 164,03 (C-2).
4		Prinos: 80 %; Eksp: 244-241 °C (metanol)	Teoretski (%) C: 55,84 H: 3,01 N: 9,30	3342, 1745, 1648, 1251	6,40 (d, 1H, 4), 6,71 (td, 1H, 5), 6,83 (d, 2H, 2',6'), 6,91 (d, 1H, 6), 7,35 (dd, 1H, 7),	89,55 (C-4'), 111,91 (C-7), 115,87 (C-3a), 119,69 (C-2', C-6'), 122,18 (C-5), 125,72 (C-4), 135,0 (C-6),

		Lit: 220,9-223 °C ²⁶⁸	Pronađeno (%) C: 55,98 H: 2,96 N: 9,31		7,76 (td, 2H, 3', 5'), 10,81 (s, 1H, N1-H).	138,58 (C-3',C-5'), 147,39 (C-7a), 147,63 (C-1'), 152,09 (C-3), 164,11 (C-2).
5		Prinos: 64 %; Eksp: 239-240 °C (DMF/metanol)	Teoretski (%) C: 76,25 H: 5,12 N: 11,86 Pronađeno (%) C: 76,41 H: 5,06 N: 11,74	3445, 1751, 1625, 3191, 1729, 1251.	2,31 (s, 3H, CH3), 6,41 (d, 1H, 4), 6,72 (td, 1H, 5), 6,96 (d, 1H, 6), 7,06 (d, 1H, 4'), 7,38 (dd, 1H, 7), 7,66 (dd, 1 H, 5'), 8,36 (dd, 1 H, 3'), 11,05 (s, 1H, N1-H).	19,7 (CH3); 111,88 (C-7), 115,98 (C-3a), 118,73 (C-4'), 122,19 (C-5), 125,82 (C-4), 131,24 (C-3'), 135,12 (C-6), 138,22 (C-5'), 147,44 (C-7a), 151,64 (C-3'), 152,16 (C-3), 158,3 (C-1'), 163,4 (C-2).
6		Prinos: 72 %; Eksp: 204-205 °C (DMF/metanol) Lit: 204-206 °C ⁶⁸	Teoretski (%) C: 76,25 H: 5,12 N: 11,86 Pronađeno (%) C: 76,36 H: 5,20 N: 11,88	3444, 1752, 1627, 3191, 1731, 1254.	2,34 (s, 3H, CH3), 6,41 (d, 1H, 4), 6,68 (td, 1H, 5), 6,93 (d, 1H, 6), 7,11 (d, 1H, 6'), 7,38 (dd, 1H, 7), 7,45 (dd, 1 H, 4'), 8,42 (dd, 1 H, 3'), 11,04 (s, 1H, N1-H).	19,8 (CH3); 111,91 (C-7), 115,99 (C-3a), 117,90 (C-6'), 122,19 (C-5), 125,68 (C-4), 127,3 (C-4'), 135,13 (C-6), 147,38 (C-7a), 148,58 (C-5'), 151,44 (C-3'), 152,32 (C-3), 155,32 (C-1'), 163,4 (C-2).
7		Prinos: 60 %; Eksp: 203-204 °C (DMF/metanol)	Teoretski (%) C: 76,25 H: 5,12 N: 11,86 Pronađeno (%) C: 76,33 H: 5,14 N: 11,73	3447, 1753, 1626, 3193, 1733, 1253.	2,33 (s, 3H, CH3), 6,43 (d, 1H, 4), 6,72 (td, 1H, 5), 6,88 (d, 1H, 6'), 6,95 (d, 1H, 6), 7,37 (dd, 1H, 7), 7,63 (dd, 1 H, 5'), 8,33 (dd, 1 H, 3'), 11,07 (s, 1H, N1-H).	19,5 (CH3); 111,88 (C-7), 116,01 (C-3a), 117,73 (C-6'), 122,22 (C-5), 125,74 (C-4), 132,3 (C-4'), 135,1 (C-6), 138,58 (C-5'), 147,41 (C-7a), 151,74 (C-3'), 152,2 (C-3), 154,4 (C-1'), 163,6 (C-2).
8		Prinos: 71 %; Eksp: 185-187 °C (DMF/metanol)	Teoretski (%) C: 76,25 H: 5,12 N: 11,86 Pronađeno (%) C: 76,22 H: 5,14 N: 11,92	3447, 1753, 1626, 3191, 1731, 1253.	2,30 (s, 3H, CH3), 6,43 (d, 1H, 4), 6,74 (td, 1H, 5), 6,88 (d, 1H, 6), 6,94 (d, 1H, 6'), 7,40 (dd, 1H, 7), 7,68 (dd, 1 H, 5'), 7,72 (dd, 1 H, 4'), 11,03 (s, 1H, N1-H).	19,4 (CH3); 111,92 (C-7), 116,01 (C-3a), 114,73 (C-6'), 122,26 (C-5), 123,42 (C-4'), 125,91 (C-4), 135,22 (C-6), 137,50 (C-5'), 147,51 (C-7a), 151,62 (C-3'), 152,18 (C-3), 156,42 (C-1'), 163,5 (C-2).

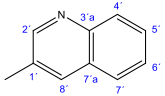
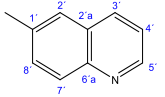
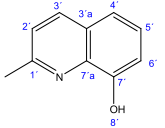
9		Prinos: 59 %; Eksp: 300-301 °C (DMF/metanol) Lit: 303-304 °C ⁵⁰	Teoretski (%) C: 74,71 H: 4,06 N: 15,38 Pronađeno (%) C: 75,01 H: 3,99 N: 15,24	3048,1742, 1614, 1311, 1254.	6,33 (d, 1H, 4), 6,69 (td, 1H, 5), 6,92 (d, 1H, 6), 7,11 (t, 1H, 6'), 7,35 (dd, 1H, 7'), 7,44-7,82 (dtdd, 2H, 4', 5'), 7,87-8,15 (m, 2H, 7', 8'), 8,68 (dd, 1H, 2'), 11,03 (s, 1H, N1-H).	111,34 (C-7), 116,20 (C-3a), 122,33 (C-5), 125,52 (C-4), 127,79 (C-6'), 128,11 (C-4'), 128,30 (C-5'), 128,50 (C-8'), 129,20 (C-7'a), 135,11 (C-7'), 135,34 (C-6), 143,11 (C-2'), 144,51 (C-1'), 146,53 (C- 3'a), 147,70 (C-7a), 154,25 (C-3), 163,52 (C-2).
10		Prinos: 64 %; Eksp: 290-291 °C (DMF/metanol)	Teoretski (%) C: 74,71 H: 4,06 N: 15,38 Pronađeno (%) C: 74,98 H: 3,94 N: 15,27	3061,1742, 1618, 1302, 1254.	6,35 (d, 1H, 4), 6,72 (td, 1H, 5), 6,94 (d, 1H, 6), 7,30 (t, 1H, 7'), 7,37 (dd, 1H, 7'), 7,52-7,85 (m, 2H, 4', 8'), 8,09-8,40 (m, 2H, 2', 3'), 8,79 (dd, 1H, 5'), 11,06 (s, 1H, N1-H).	111,28 (C-7), 115,9 (C-3a), 122,29 (C-5), 125,47 (C-4), 126,76 (C-2'), 127,66 (C-4'), 128,10 (C-8'), 129,80 (C-2'a), 133,10 (C-7'), 135,11 (C-3'), 136,56 (C-6), 146,98 (C-6'a), 147,54 (C-7a), 149,11 (C- 5'), 151,11 (C-1'), 154,31 (C-3), 163,8 (C-2).
11		Prinos: 70 %; Eksp: 283-285 °C (DMSO/metanol)	Teoretski (%) C: 70,58 H: 3,83 N: 14,53 Pronađeno (%) C: 70,66 H: 3,95 N: 14,67	3451, 3056, 1740, 1626, 1302.	6,33 (d, 1H, 4), 6,67 (t, 1H, 5), 6,92 (d, 1H, 6), 7,35 (t, 1H, 5'), 7,45-7,61 (m, 3H, 7,4', 6'), 8,14 (d, 1H, 3'), 8,35 (d, 1H, 2'), 9,80 (d, 1H, 8'), 11,06 (s, 1H, N1- H).	111,24 (C-7), 112,00 (C6'); 116,13 (C-3a), 117,71 (C4'); 118,65 (C2'); 122,41 (C-5), 125,58 (C-4), 127,97 (C5'); 128,71 (C3a'); 135,41 (C-6), 136,03 (C3'); 138,10 (C7a'); 147,70 (C-7a), 153,36 (C1'); 159,25 (C-3), 163,52 (C-2); 175,72 (C7').

Tabela 7.2 Lista sintetisanih derivata izatina sa rezultatima elementalne analize (serija 2)

Br.	Jedinjenje	Supstituent R	Elementalna analiza	
			Izračunato	Pronađeno
1	1,3-dihidro-3-(fenilimino)-2 <i>H</i> -indol-2-on	H	%C, 75,66; %H, 4,54; %N, 12,60; %O, 7,20	%C, 75,61; %H, 4,57; %N, 12,61; %O, 7,21
2	1,3-dihidro-3-[(2-hidroksifenil)imino]-2 <i>H</i> -indol-2-on	2-OH	%C, 70,58; %H, 4,23; %N, 11,76; %O, 13,43	%C, 70,56; %H, 4,18; %N, 11,79; %O, 13,47
3	1,3-dihidro-3-[(3-hidroksifenil)imino]-2 <i>H</i> -indol-2-on	3-OH	%C, 70,58; %H, 4,23; %N, 11,76; %O, 13,43	%C, 70,59; %H, 4,19; %N, 11,78; %O, 13,44
4	1,3-dihidro-3-[(4-hidroksifenil)imino]-2 <i>H</i> -indol-2-on	4-OH	%C, 70,58; %H, 4,23; %N, 11,76; %O, 13,43	%C, 70,56; %H, 4,22; %N, 11,77; %O, 13,45
5	1,3-dihidro-3-[(2-metoksifenil)imino]-2 <i>H</i> -indol-2-on	2-OCH ₃	%C, 71,42; %H, 4,79; %N, 11,10; %O, 12,68	%C, 71,44; %H, 4,77; %N, 11,06; %O, 12,73
6	1,3-dihidro-3-[(3-metoksifenil)imino]-2 <i>H</i> -indol-2-on	3-OCH ₃	%C, 71,42; %H, 4,79; %N, 11,10; %O, 12,68	%C, 71,46; %H, 4,76; %N, 11,08; %O, 12,70
7	1,3-dihidro-3-[(4-metoksifenil)imino]-2 <i>H</i> -indol-2-on	4-OCH ₃	%C, 71,42; %H, 4,79; %N, 11,10; %O, 12,68	%C, 71,47; %H, 4,78; %N, 11,04; %O, 12,71
8	1,3-dihidro-3-[(2-hlorfenil)imino]-2 <i>H</i> -indol-2-on	2-Cl	%C, 65,51; %H, 3,53; %Cl, 13,81; %N, 10,91; %O, 6,23	%C, 65,48; %H, 3,58; %Cl, 13,78; %N, 10,92; %O, 6,24
9	1,3-dihidro-3-[(3-hlorfenil)imino]-2 <i>H</i> -indol-2-on	3-Cl	%C, 65,51; %H, 3,53; %Cl, 13,81; %N, 10,91; %O, 6,23	%C, 65,45; %H, 3,59; %Cl, 13,78; %N, 10,88; %O, 6,30
10	1,3-dihidro-3-[(4-hlorfenil)imino]-2 <i>H</i> -indol-2-on	4-Cl	%C, 65,51; %H, 3,53; %Cl, 13,81; %N, 10,91; %O, 6,23	%C, 65,47; %H, 3,57; %Cl, 13,79; %N, 10,93; %O, 6,24
11	1,3-dihidro-3-[(2-jodfenil)imino]-2 <i>H</i> -indol-2-on	2-I	%C, 48,30; %H, 2,61; %I, 36,45; %N, 8,05; %O, 4,60	%C, 48,26; %H, 2,64; %I, 36,40; %N, 8,07; %O, 4,63
12	1,3-dihidro-3-[(3-jodfenil)imino]-2 <i>H</i> -indol-2-on	3-I	%C, 48,30; %H, 2,61; %I, 36,45; %N, 8,05; %O, 4,60	%C, 48,34; %H, 2,62; %I, 36,39; %N, 8,03; %O, 4,62
13	1,3-dihidro-3-[(4-jodfenil)imino]-2 <i>H</i> -indol-2-on	4-I	%C, 48,30; %H, 2,61; %I, 36,45; %N, 8,05; %O, 4,60	%C, 48,28; %H, 2,63; %I, 36,42; %N, 8,03; %O, 4,64
14	1,3-dihidro-3-[(2-nitrofenil)imino]-2 <i>H</i> -indol-2-on	2-NO ₂	%C, 62,92; %H, 3,39; %N, 15,72; %O, 17,96	%C, 62,86; %H, 3,42; %N, 15,75; %O, 17,97
15	1,3-dihidro-3-[(3-nitrofenil)imino]-2 <i>H</i> -indol-2-on	3-NO ₂	%C, 62,92; %H, 3,39; %N, 15,72; %O, 17,96	%C, 62,94; %H, 3,40; %N, 15,74; %O, 17,92
16	1,3-dihidro-3-[(4-nitrofenil)imino]-2 <i>H</i> -indol-2-on	4-NO ₂	%C, 62,92; %H, 3,39; %N, 15,72; %O, 17,96	%C, 62,93; %H, 3,39; %N, 15,72; %O, 17,96

Tabela 7.3 FT-IR Karakterizacija ispitivanih derivata izatina (**serija 2**)

R	IR (KBr) ν_{\max} (cm ⁻¹)
H	3194,86 (N-H istezanje amidne grupe), 1713,57 (C=O amidno istezanje), 1613,91 (C=N imino istezanje),
2-OH	3124,42 (N-H istezanje amidne grupe), 1716,82 (C=O amidno istezanje), 1613,54 (C=N imino istezanje), 1342,60 (hidroksilno C-O istezanje),
3-OH	3128,74 (N-H istezanje amidne grupe), 1722,99 (C=O amidno istezanje), 1614,77 (C=N imino istezanje), 1341,56 (hidroksilno C-O istezanje),
4-OH	3194,86 (N-H istezanje amidne grupe), 1725,83 (C=O amidno istezanje), 1610,31 (C=N imino istezanje), 1332,82 (hidroksilno C-O istezanje),
2-OMe	3461,30 (N-H istezanje amidne grupe), 1745,31 (C=O amidno istezanje), 1605,52 (C=N imino istezanje), 1193,36 (metoksi C-O istezanje),
3-OMe	3436,62 (N-H istezanje amidne grupe), 1735,83 (C=O amidno istezanje), 1602,19 (C=N imino istezanje), 1183,44 (metoksi C-O istezanje),
4-OMe	3462,29 (N-H istezanje amidne grupe), 1745,33 (C=O amidno istezanje), 1604,03 (C=N imino istezanje), 1193,69 (metoksi C-O istezanje),
2-Cl	3189,86 (N-H istezanje amidne grupe), 1724,17 (C=O amidno istezanje), 1613,47 (C=N imino istezanje), 660,23 (C-Cl istezanje),
3-Cl	3189,99 (N-H istezanje amidne grupe), 1724,11 (C=O amidno istezanje), 1613,63 (C=N imino istezanje), 660,01 (C-Cl istezanje),
4-Cl	3189,99 (N-H istezanje amidne grupe), 1724,39 (C=O amidno istezanje), 1613,14 (C=N imino istezanje), 660,09 (C-Cl istezanje),
2-I	3190,00 (N-H istezanje amidne grupe), 1727,09 (C=O amidno istezanje), 1613,33 (C=N imino istezanje), 661,26 (C-I istezanje),

3-I	3189,30(N-H istežanje amidne grupe), 1724,02(C=O amidno istežanje), 1613,35 (C=N imino istežanje), 660,49(C-I istežanje),
4-I	3161,24 (N-H istežanje amidne grupe), 1722,15 (C=O amidno istežanje), 1604,59 (C=N imino istežanje), 652,49 (C-I istežanje),
2-NO ₂	3189,73 (N-H istežanje amidne grupe), 1746,57 (C=O amidno istežanje), 1613,17 (C=N imino istežanje), 1330,96 (nitro C-NO ₂ istežanje),
3-NO ₂	3178,65 (N-H istežanje amidne grupe), 1746,69 (C=O amidno istežanje), 1608,75 (C=N imino istežanje), 1336,95 (nitro C-NO ₂ istežanje),
4-NO ₂	3192,21 (N-H istežanje amidne grupe), 1745,24 (C=O amidno istežanje), 1614,67 (C=N imino istežanje), 1330,74 (nitro C-NO ₂ istežanje),

Tabela 7.4 Prinos, tačka topljenja, ¹H i ¹³C NMR podaci sintetisanih jedinjenja (serija 2)

Br.	Prinos; t.t. rastvarač ili smeša rastvarača upotreljenih za prekrizalizaciju	Odnos E:Z izomera	¹ H NMR (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)(ppm)	¹³ C NMR (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)(ppm)
4	72 %; 182-184 °C (metanol)	7,5:2,5	Izomer E 6,70 (d, 1H, 4), 6,75 (dd, 2H, 2',6'), 6,80-6,94 (m, 3H, 5,6,7), 7,33 (td, 2H, 3', 5'), 9,57 (s, 1H, 4'-OH), 10,92 (s, 1H, N1-H); Izomer Z 6,77 (td, 1 H, J= 8,2, 1,0), 7,01-7,09 (m, 3 H, H-5, H-2', H-5'), 7,35-7,45 (m, J= 7,8, 1,2 Hz, 2 H, H-3', H-5'), 7,53 (td, J= 7,7 Hz, 1 H, H-6), 7,61-7,66 (m, H-4), 10,81 (s, 1 H, N1-H).	Izomer E 111,65 (C-7), 116,12 (C-3a), 120,09 (C-2', C-6'), 122,33 (C-5), 125,09 (C-4), 134,28 (C-6), 139,64 (C-3',C-5'), 144,92 (C-7a), 146,52 (C-1'), 155,73 (C-3), 156,64 (C-4'), 164,06 (C-2); Izomer Z 115,00 (C-7), 116,20 (C-3a), 121,921 (C-2', C-6'), 124,12 (C-5), 125,14 (C-4), 141,85 (C-6), 142,64 (C-3',C-5'), 143,92 (C-7a), 144,93 (C-1'), 154,29 (C-3), 155,21 (C-4'), 159,09 (C-2).
5	69 %; 190-191 °C (DMSO/metanol)	7,5:2,5	Izomer E 3,69 (s, 3H, OCH ₃), 6,43 (d, H-4), 6,74 (m, H-5, H-7; 2H), 6,92 (d, J= 8,8 Hz, 1 H, H-2'), 7,01 (dd, 1 H, H-3'), 7,34 (t, 1 H, H-6), 10,98 (br s, 1 H, N1-H); Izomer Z 3,77 (s, 3H, OCH ₃), 6,87 (d, 2 H, H-4, H-3'), 7,08 (d, 1 H, H-5), 7,14 (d, 1 H, H-2'), 7,47 (dd, 1 H, H-6), 7,59 (m, 1 H, H-7), 10,81 (br s, 1 H, N1-H).	Izomer E 55,59 (OCH ₃), 111,74 (C-7), 115,58 (C-3'), 117,71 (C-3a), 118,72 (C-2'), 121,15 (C-5), 125,0 (C-4), 134,77 (C-6), 147,85 (C-7a), 151,00 (C-1'), 155,87 (C-3), 159,69 (C-4'), 163,83 (C-2); Izomer Z 55,73 (OCH ₃), 111,10 (C-7), 112,51 (C-3'), 116,61 (C-3a), 122,28 (C-5), 122,66 (C-4), 123,09 (C-2'), 134,55 (C-6), 146,44 (C-7a), 148,39 (C-1'), 154,35 (C-3), 159,12 (C-4'), 159,69 (C-2).
7	61 %; 238-240 °C (DMSO/metanol)	8:2	Izomer E 3,79 (s, 3H, OCH ₃), 6,64 (dd, J= 7,8, 0,6 Hz, 1 H, H-4), 6,75 (td, J= 7,7, 1,1 Hz, 1 H, H-5), 6,88 (dm, J= 7,2 Hz, 1 H, H-7), 6,97 (d, J= 8,8 Hz, 2 H, H-2', H-6'), 7,03 (d, J= 8,8 Hz, 2 H, H-3', H-5'), 7,33 (td, J= 7,8, 1,2 Hz, 1 H, H-6), 10,91 (br s, 1 H, N1-H); Izomer Z 3,77 (s, 3H, OCH ₃), 6,83 (d, J= 8 Hz, 1 H, H-4), 6,89 (masked d, 1 H, H-3', H-5'), 7,03 (masked t, 1 H, H-5), 7,17 (d, J= 8,8 Hz, 2 H, H-2', H-6'), 7,40 (td, J= 7,6, 1,2 Hz, 1 H, H-6), 7,55 (dd, J= 7,6, 0,4 Hz, 1 H, H-7), 10,91 (br s, 1 H, N1-H).	Izomer E 55,5 (OCH ₃), 111,6 (C-7), 114,9 (C-3'), 116,0 (C-3a), 119,6 (C-2'), 121,9 (C-5), 125,1 (C-4), 134,4 (C-6), 143,3 (C-1'), 147,0 (C-7a), 154,7 (C-3), 157,3 (C-4'), 163,8 (C-2); Izomer Z 55,5 (OCH ₃), 110,7 (C-7), 113,6 (C-3'), 114,9 (C-3a), 122,3 (C-5), 122,5 (C-4), 122,9 (C-2'), 133,7 (C-6), 141,2 (C-1'), 145,2 (C-7a), 151,8 (C-3), 157,7 (C-4'), 158,9 (C-2).
10	72 %;	7,5:2,5	Izomer E 6,43 (dd, J= 7,7, 0,6 Hz, 1 H, H-4), 6,77 (td, J= 7,7, 0,9 Hz, 1 H, H-5), 6,90 (d, J= 7,8 Hz, 1 H, H-	Izomer E 111,67 (C-4'), 119,37 (C-7), 120,96 (C-3a), 121,94 (C-2'), 122,99 (C-5), 125,47 (C-4), 134,75 (C-

	216-218 °C (metanol)		7), 7,00-7,05 (m, 2 H, H-2', H-6'), 7,34 (m, 1 H, H-6), 7,51 (m, 2 H, H-3', H-5'), 10,99 (s, 1 H, N1-H); Izomer Z 6,87 (d, $J = 7,8$ Hz, 1 H, H-4), 7,01-7,05 (m, 2 H, H-2', H-5') 7,07 (dd, $J = 7,6, 0,8$ Hz, 1 H, H-5), 7,34 (m, 1 H, H-3'), 7,37 (d, $J = 1,2$ Hz, 1 H, H-5'), 7,45 (td, $J = 7,7, 1,3$ Hz, 1 H, H-6), 7,58 (dd, $J = 7,5, 0,6$ Hz H-4), 10,88 (s, 1 H, N1-H).	6), 138,43 (C-3'), 147,14 (C-7a), 149,23 (C-1'), 155,40 (C-3), 163,39 (C-2); Izomer Z 110,89 (C-4'), 115,63 (C-7), 119,45 (C-3a), 121,24 (C-2'), 122,43 (C-5), 124,73 (C-4), 134,50 (C-6), 137,46 (C-3'), 145,88 (C-7a), 147,95 (C-1'), 153,67 (C-3), 158,56 (C-2).
11	77 %; 172-174 °C (DMF/metanol)	8:2	Izomer E 6,19 (d, 1H, 4), 6,70 (t, 1H, 5), 6,86-7,08 (m, 3H, 6,5', 7), 7,43 (dd, 2H, 4', 6'), 7,96 (d, 1H, 3'), 11,05 (s, 1H, N1-H); Izomer Z 6,90 – 7,15 (d, 2 H, H-4, H-3'), 7,08 (d, 1 H, H-5), 7,13 (d, 1 H, H-2'), 7,42 (dd, 1 H, H-6), 7,54 (m, 1 H, H-7), 10,94 (br s, 1 H, N1-H).	Izomer E 86,35 (C-2'), 111,76 (C-7), 116,14 (C-3a), 118,75 (C-6'), 122,78 (C-5'), 123,28 (C-5), 125,84 (C-4), 129,11 (C-4'), 135,53 (C-6), 138,69 (C-3'), 147,32 (C-7a), 152,48 (C-1'), 156,72 (C-3), 164,17 (C-2); Izomer Z 86,35 (C-2'), 112,06 (C-7), 116,12 (C-3a), 118,73 (C-6'), 121,99 (C-5'), 123,22 (C-5), 125,77 (C-4), 129,03 (C-4'), 135,41 (C-6), 138,43 (C-3'), 147,12 (C-7a), 151,66 (C-1'), 154,57 (C-3), 158,70 (C-2).
12	70 %; 247.9 °C (DMF/metanol)	7:2	Izomer E 6,35(d, 1H, 4), 6,77 (t, 1H, 5), 6,89 (d, 1H, 7), 6,92-7,03 (m, 2H, 6, 4'), 7,26 (t, 1H, 5'), 7,38-7,61 (dd, 2H, 2', 6'), 10,98 (s, 1H, N1-H); Izomer Z 6,95 – 7,16 (d, 2 H, H-4, H-3'), 7,06 (d, 1 H, H-5), 7,12 (d, 1 H, H-2'), 7,45 (dd, 1 H, H-6), 7,56 (m, 1 H, H-7), 10,86 (br s, 1 H, N1-H).	Izomer E 94,47 (C-3'), 111,98 (C-7), 117,21 (C-3a), 118,74 (C-6'), 122,18 (C-5'), 123,35 (C-5), 125,74 (C-4), 130,71 (C-4'), 134,89 (C-6), 135,09 (C-3'), 147,47 (C-7a), 152,21 (C-1'), 155,82 (C-3), 163,64 (C-2); Izomer Z 90,01 (C-3'), 111,0 (C-7), 121,2 (C-3a), 121,5 (C-2'), 122,8 (C-5), 122,9 (C-4), 135,1 (C-6), 137,1 (C-4'), 145,9 (C-7a), 151,04 (C-1'), 153,97 (C-3), 158,7 (C-2).
13	61 %; 269.3 °C (DMF/metanol)	7,5:2,5	Izomer E 6,44 (d, $J = 7,6$ Hz, 1 H, H-4), 6,74 (td, $J = 7,7, 0,6$, 1 H, H-5), 6,83 (d, $J = 8,8$ Hz, 2 H, H-3', H-5'), 6,88 (d, $J = 8$ Hz, 1 H, H-7), 7,35 (td, $J = 7,6, 1,2$ Hz, 2 H, H-2', H-6'), 7,79 (d, $J = 8,4$ Hz, 2 H, H-3), 10,97 (s, 1 H, N1-H); Izomer Z 6,80-6,87 (m, 3 H, H-7 and H-2'), 7,05 (t, $J = 7,2$ Hz, 1 H, H-5), 7,45 (td, $J = 7,8, 1,2$ Hz, 1 H, H-5), 7,45 (td, $J = 7,8, 1,2$ Hz, 1 H, H-6), 7,57 (d, $J = 7,2$ Hz, 1 H, H-4), 7,62 (d, $J = 8,8$ Hz, 2 H, H-3'), 10,87 (s, 1 H, N1-H).	Izomer E 88,4 (C-4'), 111,8 (C-7), 115,8 (C-3a), 120,1 (C-2'), 122,0 (C-5), 125,6 (C-4), 134,9 (C-6), 138,4 (C-3'), 147,3 (C-7a), 150,2 (C-1'), 155,3 (C-3), 163,5 (C-2); Izomer Z 88,9 (C-4'), 111,0 (C-7), 121,4 (C-3a), 121,6 (C-2'), 122,5 (C-5), 123,1 (C-4), 134,6 (C-6), 137,2 (C-3'), 146,0 (C-7a), 149,1 (C-1'), 153,5 (C-3), 158,7 (C-2).

14	65 %; 195-197 °C (DMF/metanol)	1:0	Izomer E 6,60 (ddd, 1H, 4), 6,90 (t, 1H, 5), 7,00 (dd, 1H, 6), 7,10 (t, 1H, 5'), 7,38 – 7,55 (m, 3H, 7,4',6'), 7,60 (d, 1H, 4'), 7,95 (dd, 1H, 3'), 11,03 (s, 1H, N1- <u>H</u>).	Izomer E 112,45 (C-7), 115,72 (C-3a), 118,08 (C-6'), 119,43 (C-5'), 123,02 (C-5), 124,95 (C-4), 125,63 (C-4'), 130,53 (C-6), 135,90 (C-3'), 145,98 (C-7a), 145,85 (C-1'), 150,43 (C-3), 159,04 (C-2), 184,86 (C-2').
16	60 %; 238-240 °C (DMF/metanol)	1:0	E izomer: 6,62 (d, 1H, 4), 6,90 (dd, 2H, 2',6'), 6,95-7,08 (m, 2H, 5,6), 7,56 (dd, 1 H, 7), 7,90 (ddd, 2H, 3', 5'), 11,04 (s, 1H, N1- <u>H</u>).	E izomer: 112,43 (C-7), 112,61 (C-3a), 118,07 (C-2', C-6'), 123,00 (C-5), 124,94 (C-4), 126,66 (C-6), 135,87 (C-3',C-5'), 138,62 (C-7a), 150,97 (C-1'), 155,96 (C-3), 159,63 (C-2), 184,67 (C-4').

Tabela 7.5 Parametri rastvarača^{269,270} korišćeni u Kamlet–Taftovoj jednačini.

Rastvarač	π^*	α	β
Metanol (MeOH)	0,60	0,66	0,98
Etanol (EtOH)	0,54	0,75	0,86
2-propanol (iPrOH)	0,48	0,84	0,76
2-butanol (2-BuOH)	0,40	0,80	0,69
Cikloheksanol (ChOH)	0,45	0,84	0,66
Benzil-alkohol (BzOH)	0,98	0,52	0,60
2-Metoksietanol (2ME)	0,71	0	0
2-Hloretnanol (2CE)	0,46	0,53	1,28
1,2-dimetoksietan (DME)	0,53	0,41	0
Toluen	0,54	0,11	0
Dihlorometan (DCM)	0,82	0,1	0,13
Aceton	0,71	0,43	0,08
Cikloheksanon (ChO)	0,76	0,53	0
Etil-acetat (EtAc)	0,55	0,45	0
Formamid (F)	0,97	0,48	0,71
Dimetilformamid (DMF)	0,88	0,69	0
Dimetilacetamid (DMAc)	0,88	0,76	0
N-Metil-2-pirolidon (NMP)	0,92	0,77	0
Acetonitril (AcN)	0,75	0,4	0,19
Dimetilsulfoksid (DMSO)	1,00	0,76	0
Tetrahidrofuran (THF)	0,58	0,55	0
2-Pirolidon (2-Py)	0,85	0,77	0,36

Tabela 7.6 Vrednosti Hametovih sigma konstanti^{271,272} za seriju 2

Supstituent	σ
H	0,00
2-OH	-0,2
3-OH	0,12
4-OH	-0,37
2-O ⁻	-1,10
3-O ⁻	-0,47
4-O ⁻	-0,81
2-OMe	0,04
3-OMe	0,20
4-OMe	-0,27
2-Cl	0,79
3-Cl	0,37
4-Cl	0,40
2-I	0,31
3-I	0,35
4-I	0,18
2-NO ₂	0,95
3-NO ₂	0,71
4-NO ₂	0,78

Tabela 7.7 Izračunate i eksperimentalne vrednosti apsorpcionih frekvencija jedinjenja 1 u izabranim rastvaračima (pik na višim talasnim dužinama) (**serija 1**)

Rastvarač	$\nu_{\max} \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	
	Izračunato (TD-DFT)	Eksperimentalno
Aceton	24,10	24,66
Acetonitril	24,13	25,41
Etanol	24,11	24,48
THF	23,97	23,95
DMSO	24,12	24,39
Formamid	24,13	24,84
Toluen	23,66	24,04

Tabela 7.8 ^1H i ^{13}C NMR podaci odgovarajućeg ugljenika i azota korišćeni u LFER korelaciji i odnos *E/Z* izomera (**serija 2**)

Supstituent/ oblik	N-H	C2=O	C3=N3	C1'	Reference	Odnos izomera
H / E	10,76	163,50	156,65	151,67	-	<i>E/Z</i> = 8:2
H / Z	10,64	158,97	155,10	148,96	-	
2-OH / E	10,94	163,95	155,80	146,62	-	<i>E/Z</i> = 8:2
2-OH / Z	10,80	159,64	150,90	145,62		
3-OH / E	10,10	164,0	155,0	139,0	243	E
4-OH / E	10,92	164,06	155,73	146,52	-	<i>E/Z</i> = 7,5:2,5
4-OH / Z	10,81	159,09	154,29	144,93		
2-OMe / E	10,98	163,83	155,87	151,0	-	<i>E/Z</i> = 7,5:2,5
2-OMe / Z	10,81	159,69	154,35	148,39		
3-OMe / E	10,97	164,0	155,0	147,0	243	E
4-OMe / E	10,91	163,8	154,7	143,3	242	<i>E/Z</i> = 8:2
4-OMe / Z	10,91	158,9	151,8	141,2	242	
2-Cl / E	11,04	163,42	156,63	150,95	-	<i>E/Z</i> = 8:2
2-Cl / Z	10,92	158,52	155,16	147,59	-	
3-Cl / E	11,04	163,57	155,94	150,97	-	<i>E/Z</i> = 8:2
3-Cl / Z	10,91	159,63	154,10	147,45	-	
4-Cl / E	11,00	163,39	155,40	149,23	-	<i>E/Z</i> = 7,5:2,5
4-Cl / Z	10,88	158,56	153,67	147,95		
2-I / E	11,05	164,17	156,72	152,48	-	<i>E/Z</i> = 8:2
2-I / Z	10,94	158,70	154,57	151,66		
3-I / E	10,98	163,64	155,82	152,21	-	<i>E/Z</i> = 7:2
3-I / Z	10,86	158,81	153,97	151,04		
4-I / E	10,97	163,5	155,3	150,2	242	<i>E/Z</i> = 7,5:2,5
4-I / Z	10,87	158,7	153,5	149,1	242	
2-NO ₂ / E	11,03	159,04	150,43	145,85	-	E
3-NO ₂ / E	10,99	163,79	155,48	147,33	-	<i>E/Z</i> = 7:2
3-NO ₂ / Z	10,88	158,79	153,33	145,99		
4-NO ₂ / E	11,04	159,63	155,96	150,97	-	E

Tabela 7.9 Apsorpcione frekvencije izatinskih jedinjenja **serije 1** u izabranim rastvaračima (pik na višim talasnim dužinama)

Rastvarač/ Jedinjenje	$\nu_{\max} \times 10^{-3} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
MeOH	34,31	33,39	33,5	33,44	33,39	33,73	33,61	33,73	32,63	33,9	34,01
EtOH	33,17	33,28	33,44	33,17	33,22	33,39	33,33	33,39	31,5	34,07	33,22
iPrOH	33,50	33,67	33,67	33,61	33,28	33,61	33,61	33,67	33,11	/	33,96
2-BuOH	/	/	/	/	/	/	/	/	31,35	/	
ChOH	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
BzOH	/	/	/	/	31,7	/	/	/	/	31,06	
2-Me	/	33,44	33,44	33,5	33,5	33,06	33,56	33,78	32,79	34,01	33,78
2-CE	/	33,11	33,06	33,28	32,89	33,06	33,06	33,28	32,73	/	32,73
DME	/	34,01	33,78	33,96	34,19	34,25	34,07	34,07	31,3	34,19	34,36
Toluen	/	33,73	33,61	33,78	/	/	/	/	31,15	31,4	33,33
DCM	/	33,67	33,73	33,61	/	33,73	33,61	33,78	32,95	34,19	33,9
Aceton	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
ChO	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
EtAc	35,03	34,01	33,9	34,07	/	34,13	34,13	34,19	31,4	34,42	34,48
F	/	33,22	33,17	33,11	33,17	33,22	33,22	33,22	32,36	33,84	33,84
DMF	/	33,56	33,44	33,56	34,13	33,67	33,73	33,73	31,4	34,19	34,25
DMAc	36,30	33,67	33,67	33,67	33,73	33,73	33,61	33,78	31,3	34,25	34,25
NMP	/	33,61	33,39	33,56	/	33,78	33,56	33,61	31,2	34,19	34,07
AcN	35,97	33,84	33,96	34,01	/	33,9	33,9	33,90	32,84	34,54	34,36
DMSO	/	33,5	33,56	33,73	33,73	33,61	33,61	33,67	31,25	34,13	34,01
THF	36,83	33,84	33,73	33,67	34,25	34,13	34,07	34,13	31,3	34,25	34,25
2-Py	/	33,67	33,67	33,67	33,5	33,73	33,61	33,61	31,45	34,42	34,01

Tabela 7.10 Apsorpcione frekvencije izatinskih jedinjenja **serije 2** u izabranim rastvaračima za *Z* izomer

Rastvarač/ Jedinjenje	$\nu_{\max} \times 10^{-3} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
MeOH	23,87	23,53	21,45	21,68	22,66	22,74	26,41	23,45	23,36	23,16	22,33	23,14	22,11	26,17	23,03	22,39
EtOH	23,27	22,14	20,85	21,52	22,15	23,65	25,04	22,93	22,71	22,78	23,31	23,19	22,87	24,97	22,66	21,85
2-PrOH	23,05	21,96	21,39	21,51	22,44	21,58	25,65	22,52	22,97	22,42	22,99	22,95	22,77	25,02	22,71	21,77
2-BuOH	20,70	22,33	21,25	21,35	22,38	24,42	24,81	22,33	21,72	21,35	20,96	22,09	21,58	24,74	22,84	21,64
ChOH	22,27	22,36	20,52	21,72	22,85	21,24	25,06	21,83	22,12	22,21	20,86	22,74	21,91	25,03	23,23	21,55
BzOH	22,91	22,23	20,78	21,58	21,65	22,81	25,07	21,72	22,71	22,39	21,35	22,61	21,65	25,05	22,92	22,41
2ME	/	22,96	/	21,87	21,64	/	24,62	22,23	23,17	22,81	22,73	23,32	21,78	25,23	22,87	22,61
2CE	23,08	20,47	19,68	19,13	21,41	23,65	22,61	21,34	22,81	22,24	22,06	21,92	22,07	27,07	22,33	21,79
DME	22,09	23,35	20,79	21,37	22,38	23,07	25,29	21,43	22,99	21,61	22,91	22,36	21,07	25,66	21,69	23,20
Toluen	22,49	20,93	19,58	19,77	21,03	23,30	23,49	22,27	21,88	21,28	20,8	21,12	21,06	25,09	22,38	21,46
DCM	23,24	22,57	/	21,78	22,31	23,92	24,52	22,66	22,52	22,94	22,53	22,51	22,51	24,87	/	21,88
Acetone	22,26	23,28	21,36	21,77	22,29	21,87	24,62	21,61	22,06	21,71	21,49	21,71	20,98	25,46	22,34	22,48
ChO	21,69	23,16	21,34	21,72	21,49	22,51	24,61	21,79	22,54	22,48	21,03	21,33	22,02	26,56	21,84	22,79
EtAc	21,78	22,41	20,79	21,50	21,77	21,32	25,30	22,01	22,54	21,15	23,16	21,21	21,11	26,30	/	23,98
F	23,18	23,16	20,59	21,30	22,37	22,65	25,63	22,79	22,88	22,7	22,92	23,05	23,02	24,48	22,76	21,66
DMF	23,07	23,03	19,99	21,22	22,26	22,07	24,59	21,21	21,79	21,69	22,42	21,57	22,26	24,41	22,15	21,96
DMAc	22,16	23,35	20,57	21,33	20,26	21,15	24,77	20,99	22,84	21,93	22,19	21,54	22,14	24,62	22,38	21,96
NMP	22,24	23,21	20,28	20,60	22,03	23,03	25,34	21,12	22,65	22,03	21,98	22,09	22,26	24,09	21,99	21,82
AcN	23,68	23,51	22,08	21,73	22,28	22,81	25,26	22,60	23,61	22,71	22,91	22,99	22,86	25,28	22,70	22,72
DMSO	23,22	23,09	20,99	21,34	22,21	24,12	24,84	22,78	22,51	22,12	22,21	22,59	22,16	24,46	22,00	24,36
THF	21,78	22,75	21,07	21,30	21,56	20,80	24,38	22,33	21,91	21,44	21,74	21,45	22,83	25,93	21,60	23,27
2-Py	22,74	22,89	20,14	21,11	22,67	23,39	24,32	21,14	22,38	22,47	20,98	22,86	22,23	24,13	22,02	21,80

Tabela 7.11 Rezultati korelacione analize za izatinske derivate **serije 1** (pik na nižim talasnim dužinama) prema Kamlet–Taftovoj jednačini

Jedinjenje*	$\nu_0 \times 10^{-3}$ (cm^{-1})	$s \times 10^{-3}$ (cm^{-1})	$b \times 10^{-3}$ (cm^{-1})	$a \times 10^{-3}$ (cm^{-1})	R^a	Sd^b	F^c	P_π^d	P_β	P_α	Rastvarači isključeni iz korelacije
2	34,50 ±0,16	-0,86 ±0,18	-0,13 ±0,15	-0,62 ±0,08	0,94	0,11	24,99	53,42	8,07	38,51	2-BuOH, ChOH, BzOH, Aceton, ChO, 2ME, Toluen, 2-Py
3	33,89 ±0,11	-0,66 ±0,15	0,55 ±0,12	-0,57 ±0,07	0,95	0,09	23,96	37,08	30,90	32,02	2-BuOH, ChOH, BzOH, Aceton, ChO, AcN, DCM, NMP, DMF, Metanol
4	34,37 ±0,13	-0,93 ±0,17	0,18 ±0,14	-0,57 ±0,08	0,94	0,10	21,35	55,36	10,71	33,93	2-BuOH, ChOH, BzOH, Aceton, ChO, AcN, Etanol, THF, 2ME, 2-Py
5	35,04 ±0,16	-1,21 ±0,20	-0,33 ±0,16	-0,31 ±0,11	0,94	0,10	18,86	65,41	17,84	17,76	2-BuOH, ChOH, BzOH, Toluen, Aceton, ChO, F, 2ME, 2-CE, Etanol
6	34,72 ±0,15	-0,99 ±0,17	-0,05 ±0,14	-0,83 ±0,08	0,96	0,11	40,38	52,94	2,67	44,39	2-BuOH, ChOH, BzOH, Toluen, Aceton, ChO, 2ME, Metanol
7	34,63 ±0,16	-0,97 ±0,18	-0,06 ±0,16	-0,77 ±0,08	0,95	0,11	30,14	53,89	3,33	42,78	2-BuOH, ChOH, BzOH, Toluen, Aceton, ChO, Metanol, 2ME
8	34,63 ±0,12	-1,00 ±0,15	0,02 ±0,10	-0,71 ±0,07	0,96	0,09	39,98	57,80	1,16	41,04	2-BuOH, ChOH, BzOH, Toluen, Aceton, ChO, Metanol
9	31,66 ±0,21	1,57 ±0,28	-2,45 ±0,18	1,42 ±0,13	0,98	0,15	80,32	28,86	45,04	26,10	ChOH, BzOH, Acetone, ChO, iPrOH, AcN, F, Etanol, Toluen
10	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
11	34,62 ±0,27	-1,00 ±0,36	0,67 ±0,22	-1,32 ±0,16	0,94	0,18	24,79	33,44	22,41	44,15	2-BuOH, ChOH, BzOH, Aceton, ChO, Metanol, Toluen, F, AcN

* Za jedinjenja **1** and **10** nisu dobijeni statistički značajne vrednosti korelacije; ^a Korelacioni koeficijent; ^b Standardna devijacija; ^c Fišerov test; ^d Procenat doprinosa solvatohromnih parametara dobijeni primenom Kamlet-Taftove jednačine (%);

Tabela 7.12 Rezultati korelacione analize za *Z* izomere **serije 2** prema Kamlet–Taftovoj jednačini

Molekul	$\nu_0 \times 10^{-3}$ (cm^{-1})	$s \times 10^{-3}$ (cm^{-1})	$b \times 10^{-3}$ (cm^{-1})	$a \times 10^{-3}$ (cm^{-1})	R^a	Sd^b	F^c	P_π^d	P_β	P_α	Rastvarač isključen iz korelacije
1	22,06 ±0,31	0,25 ±0,38	-0,38 ±0,39	1,67 ±0,20	0,943	0,247	26,93	10,87	16,52	72,61	2ME, 2-BuOH, AcN, DMSO, DMF, 2-CE, DCM, ChO
2	23,00 ±0,35	-0,20 ±0,41	0,63 ±0,28	-1,81 ±0,21	0,943	0,267	34,59	7,58	23,86	68,56	MeOH, Toluen, F, EtAc, AcN
3	21,45 ±0,25	-3,94 ±0,43	3,24 ±0,34	-1,29 ±0,18	0,966	0,182	36,87	46,52	38,25	15,23	2ME, DCM, AcN, MeOH, Aceton, BzOH, F, ChO, ChO, DMSO
4	21,09 ±0,45	-2,52 ±0,70	3,66 ±0,58	-2,14 ±0,45	0,923	0,344	17,33	30,29	43,99	25,72	MeOH, BzOH, 2-ME, DCM, F, AcN, Aceton, NMP, EtOH
5	20,56 ±0,28	0,57 ±0,32	1,45 ±0,33	0,81 ±0,19	0,938	0,214	21,82	20,14	51,24	28,62	DMAc, DCM, 2-CE, DME, BzOH, Aceton, EtOH, AcN, 2-ME
6	17,45 ±0,76	6,69 ±0,90	-0,57 ±0,67	2,14 ±0,38	0,937	0,878	19,16	71,17	6,06	22,77	BzOH, 2-ME, 2-BuOH, F, DME, Toluen, DMAc, EtOH, DMF, DCM
7	22,03 ±0,49	2,79 ±0,64	0,64 ±0,37	2,11 ±0,34	0,945	0,278	22,04	50,36	11,55	38,09	2CE, DME, EtAc, 2-Py, BzOH, EtOH, F, DMSO, 2-ME, AcN
8	22,41 ±0,30	0,03 ±0,38	-1,77 ±0,27	1,98 ±0,21	0,950	0,246	36,80	0,79	46,83	52,38	2CE, DMSO, THF, BzOH, 2-Py, AcN
9	22,43 ±0,28	1,13 ±0,30	-0,64 ±0,27	0,97 ±0,16	0,916	0,200	13,98	41,24	23,36	35,40	DME, AcN, DMAc, 2ME, EtAc, 2-PrOH, ChO, NMP, MeOH, DMSO
10	20,84 ±0,30	2,46 ±0,39	-1,57 ±0,25	2,12 ±0,21	0,946	0,214	33,83	40,00	25,53	34,47	2CE, BzOH, F, ChO, Toluen, 2-BuOH
11	20,80 ±0,43	2,56 ±0,46	-1,34 ±0,30	0,55 ±0,22	0,934	0,266	18,17	57,53	30,11	12,36	Toluen, iPrOH, EtOH, ChO, Aceton, BzOH, EtAc, DME, 2-Py, AcN
12	20,62 ±0,40	1,28 ±0,49	0,04 ±0,37	2,05 ±0,25	0,940	0,300	27,89	37,98	1,19	60,83	2CE, DME, BzOH, 2ME, AcN, DMSO, 2-BuOH
13	19,84 ±0,21	2,47 ±0,28	0,15 ±0,21	0,86 ±0,13	0,952	0,183	35,87	70,98	4,31	24,71	THF, BzOH, AcN, iPrOH, EtOH, Aceton, DCM
14	28,04 ±0,35	-3,86 ±0,44	-0,03 ±0,35	0,62 ±0,18	0,955	0,279	38,16	85,59	0,67	13,75	ChO, 2-BuOH, Toluen, ChO, iPrOH, EtOH, 2-Py
15	23,13 ±0,28	-0,33 ±0,29	-1,11 ±0,22	0,81 ±0,15	0,935	0,165	18,53	14,67	49,33	36,00	DCM, EtAc, THF, DME, ChO, iPrOH, 2CE, DMAc, Toluen
16	24,57 ±0,34	-1,25 ±0,32	-2,00 ±0,32	-0,88 ±0,15	0,946	0,188	28,63	30,27	48,43	21,31	Toluen, DMSO, DCM, BzOH, 2-ME, MeOH, EtAc, THF

^a Korelacioni koeficijenti; ^b Standardna devijacija; ^c Fišerov test; ^d Procenat doprinosa solvatohromnih parametara dobijeni primenom Kamlet-Taftove jednačine (%);

Tabela 7.13 Konstante supstituenata²⁷² serije 1

Broj jedinjenja	X	σ
1	H	0
2	2-Br	0,58
3	3-Br	0,39
4	4-Br	0,23
5	3-Me-2-Piridil	0,63*
6	4-Me-2- Piridil	0,68*
7	5-Me-2- Piridil	0,58*
8	6-Me-2- Piridil	0,68*
9	3-hinolil	0,5
10	6- hinolil	0,6
11	8-OH-2- hinolil	0,47*

* σ konstanta je izračunata kao aditivna vrednost; 4-NO₂ (0.78) i 4-CN (0.66) su preuzeti iz literature⁶⁸

Tabela 7.14 ¹³C NMR hemijska pomeranja azometinskih ugljenikovih atoma u supstituisanim *N*-benzilidenanilinima (serija 3), *N*-(fenil supstituisanim)piridin-3-aldiminima (serija 4), *N*-(fenil supstituisanim)piridin-2-aldiminima (serija 5), *N*-(fenil supstituisanim)piridin 4-aldiminima (serija 6), *N*-[1-(piridin-3-il)etiliden]anilinima (serija 7) i *N*-[1-(piridin-4-il)etiliden]anilinima (serija 8).

X	serija 3*	serija 4	serija 5	serija 6	serija 7	serija 8
H	160,07	156,799	160,331	157,673	164,005	164,515
<i>p</i> -N(CH ₃) ₂	-4,45	-4,915	-5,097	-5,717	-1,475	-1,839
<i>p</i> -OH	-	-	-	-	-0,655	-0,819
<i>p</i> -OCH ₃	-2,12	-2,021	-2,239	-2,676	-0,447	-0,237
<i>p</i> -CH ₃	-1,26	-0,728	-0,691	-1,074	-0,054	-0,115
<i>p</i> -F	-0,47	-	-	-	-	0,856
<i>p</i> -Cl	0,33	0,701	0,492	0,492	0,933	1,056
<i>p</i> -Br	-	0,601	0,619	0,546	1,002	1,020
<i>p</i> -COOCH ₃	-	-	1,857	1,785	-	2,185
<i>p</i> -COCH ₃	-	1,857	1,857	1,930	1,368	2,185
<i>p</i> -COOEt	1,27	-	-	-	-	-
<i>p</i> -NO ₂	-	2,39	3,023	-	-	-
<i>m</i> - NO ₂	-	2,841	2,731	2,749	-	-
<i>m</i> -CF ₃	-	1,548	1,621	1,493	-	-
<i>m</i> -Cl	-	-	0,947	-	-	-

*¹³C NMR hemijska pomeranja (u ppm) izražena u odnosu na nesupstituisano jedinjenje; downfield pomeranja ka višim hemijskim pomeranjima odnosno ka manjim talasnim dužinama su pozitivna

Tabela 7.15 Elementi optimizovanih geometrija ispitivanih jedinjenja u Z izomernom obliku, dobijeni primenom MP2/6-31G(d,p) metode (**serija 2**)

Jedinjenje /Supstituent	N1-C2	C2-C3	C3=N3	N3-Ph	θ
1 / H	1,3874	1,5418	1,2886	1,4107	57,191
2 / 2-OH	1,3705	1,5286	1,293	1,3919	48,46
3 / 3-OH	1,3877	1,5417	1,2885	1,4115	57,846
4 / 4-OH	1,3876	1,5405	1,2915	1,4051	50,287
5 / 2-OMe	1,3869	1,5362	1,2887	1,408	56,797
6 / 3-OMe	1,3877	1,5424	1,2875	1,4135	60,625
7 / 4-OMe	1,383	1,5409	1,2967	1,3924	0,01
8 / 2-Cl	1,3862	1,5399	1,2866	1,4102	67,495
9 / 3-Cl	1,3862	1,5421	1,288	1,4116	60,458
10 / 4-Cl	1,3861	1,5417	1,2893	1,4085	55,701
11 / 2-I	1,3845	1,5359	1,2916	1,4075	62,299
12 / 3-I	1,3846	1,5378	1,2919	1,4113	59,374
13 / 4-I	1,3844	1,5373	1,2927	1,4091	55,187
14 / 2-NO2	1,3832	1,5343	1,2837	1,4146	82,077
15 / 3-NO2	1,3847	1,5413	1,2867	1,4122	66,878
16 / 4-NO2	1,3845	1,5412	1,2871	1,4111	63,527

Tabela 7.16 Rezultati TD-DFT proračuna za prelaz iz osnovnog u prvo vertikalno pobuđeno stanje za **Z** izomere **serije 2** u EtOH

Broj jedinjenja	Energija (eV)	Oscilatorna snaga	Pobuđivanje	CI koeficijent ekspanzije*	% doprinosa jednoelektronskih prelaza*
1	2,939	0,111	HOMO→LUMO	0,608	74
			HOMO-1→LUMO	0,212	9
			HOMO-4→LUMO	-0,200	8
2	2,999	0,245	HOMO→LUMO	0,592	70
			HOMO-3→LUMO	0,212	9
			HOMO-4→LUMO	0,200	8
			HOMO-2→LUMO	-0,158	5
3	2,922	0,11	HOMO→LUMO	0,608	74
			HOMO-4→LUMO	0,212	9
			HOMO-2→LUMO	-0,212	9
4	2,803	0,204	HOMO→LUMO	0,636	81
			HOMO-4→LUMO	-0,224	10
5	2,775	0,113	HOMO→LUMO	0,652	85
			HOMO-4→LUMO	0,158	5
			HOMO-3→LUMO	-0,141	4
6	2,939	0,093	HOMO→LUMO	0,548	60
			HOMO-2→LUMO	-0,292	17
			HOMO-4→LUMO	0,200	8
			HOMO-1→LUMO	0,187	7
7	3,181	0,528	HOMO→LUMO	0,663	88
			HOMO-1→LUMO	-0,212	9
8	3,004	0,064	HOMO→LUMO	0,587	69
			HOMO-1→LUMO	-0,265	14
			HOMO-4→LUMO	0,187	7
9	3,005	0,094	HOMO→LUMO	0,574	66
			HOMO-1→LUMO	-0,265	14

			HOMO-4→LUMO	0,200	8
			HOMO-3→LUMO	0,141	4
10	2,936	0,145	HOMO→LUMO	0,616	76
			HOMO-4→LUMO	-0,235	11
			HOMO-1→LUMO	0,158	5
			HOMO-2→LUMO	0,158	5
11	2,939	0,077	HOMO→LUMO	0,587	69
			HOMO-2→LUMO	-0,212	9
			HOMO-1→LUMO	-0,200	8
			HOMO-5→LUMO	0,187	7
12	2,97	0,099	HOMO→LUMO	0,566	64
			HOMO-2→LUMO	0,235	11
			HOMO-1→LUMO	-0,212	9
			HOMO-5→LUMO	0,173	6
13	2,92	0,166	HOMO→LUMO	0,604	73
			HOMO-4→LUMO	0,255	13
14	3,213	0,008	HOMO-1→LUMO	0,612	75
			HOMO→LUMO	-0,224	10
15	3,084	0,064	HOMO→LUMO	0,485	47
			HOMO-1→LUMO	-0,418	35
			HOMO-4→LUMO	0,173	6
16	3,073	0,127	HOMO→LUMO	0,490	48
			HOMO-1→LUMO	-0,381	29
			HOMO→LUMO+1	0,187	7

*Rezultati prikazani samo za pobuđivanja sa doprinosm većim od 10 %

Tabela 7.17 Rezultati TD-DFT proračuna za prelaz iz osnovnog u prvo vertikalno pobuđeno stanje za *E* izomere serije 2 u EtOH

Broj jedinjenja	Energija (eV)	Oscilatorna snaga	Pobuđivanje	CI koeficijent ekspanzije*	% doprinosa jednoelektronskih prelaza*
1	3,501	0,074	HOMO→LUMO	0,700	98
2	3,023	0,296	HOMO→LUMO	0,667	89
3	3,376	0,025	HOMO→LUMO	0,570	65
			HOMO-2→LUMO	0,316	20
			HOMO-4→LUMO	0,187	7
			HOMO-5→LUMO	-0,158	5
4	3,087	0,093	HOMO→LUMO	0,656	86
			HOMO-4→LUMO	0,173	6
			HOMO-5→LUMO	0,158	5
5	3,237	0,087	HOMO→LUMO	0,574	66
			HOMO-1→LUMO	-0,324	21
			HOMO-4→LUMO	0,158	5
6	3,361	0,006	HOMO→LUMO	0,561	63
			HOMO-2→LUMO	0,324	21
			HOMO-4→LUMO	-0,187	7
			HOMO-5→LUMO	-0,158	5
7	3,073	0,11	HOMO→LUMO	0,656	86
			HOMO-4→LUMO	0,173	6
			HOMO-5→LUMO	-0,158	5
8	3,402	0,026	HOMO-1→LUMO	0,543	59
			HOMO→LUMO	-0,354	25
			HOMO-4→LUMO	0,173	6
9	3,447	0,07	HOMO→LUMO	0,640	82
			HOMO-1→LUMO	0,235	11
10	3,469	0,079	HOMO→LUMO	0,704	99

11	3,318	0,022	HOMO→LUMO	0,447	40
			HOMO-1→LUMO	0,424	36
			HOMO-2→LUMO	-0,255	13
			HOMO-4→LUMO	0,158	5
12	3,4	0,082	HOMO→LUMO	0,612	75
			HOMO-1→LUMO	-0,200	8
			HOMO-2→LUMO	0,200	8
13	3,458	0,085	HOMO-1→LUMO	0,700	98
14	3,383	0,08	HOMO→LUMO	0,678	92
15	3,414	0,084	HOMO→LUMO+1	0,616	76
			HOMO→LUMO	-0,308	19
16	3,411	0,095	HOMO→LUMO	0,696	97

*Rezultati prikazani samo za pobuđivanja sa doprinosm većim od 10 %

Tabela 7.18 Izračunate energije HOMO i LUMO orbitala i E_{gap} za jedinjenja **1 - 16** u gasovitoj fazi (**serija 2**)

Jedinjenje	Izomer	Gasovita faza		
		Energija orbitala (eV)		
		E_{HOMO}	E_{LUMO}	E_{gap}
1	Z	-7,36	-1,42	5,94
	E	-7,85	-1,32	6,53
2	Z	-7,44	-1,68	5,76
	E	-7,35	-1,71	5,64
3	Z	-7,20	-1,46	5,74
	E	-7,62	-1,37	6,25
4	Z	-6,96	-1,37	5,59
	E	-7,28	-1,33	5,95
5	Z	-6,99	-1,29	5,70
	E	-7,63	-1,37	6,26
6	Z	-7,27	-1,35	5,93
	E	-7,51	-1,32	6,18
7	Z	-7,03	-1,43	5,60
	E	-7,19	-1,30	5,89
8	Z	-7,54	-1,51	6,04
	E	-7,92	-1,45	6,48
9	Z	-7,61	-1,59	6,02
	E	-7,99	-1,49	6,49
10	Z	-7,43	-1,61	5,82
	E	-7,88	-1,49	6,39
11	Z	-7,51	-1,61	5,90
	E	-7,84	-1,48	6,36
12	Z	-7,59	-1,64	5,95
	E	-7,93	-1,52	6,41
13	Z	-7,39	-1,67	5,72
	E	-7,75	-1,51	6,24
14	Z	-7,91	-1,51	6,40
	E	-8,00	-1,57	6,43
15	Z	-7,93	-1,75	6,18
	E	-8,14	-1,72	6,42
16	Z	-7,99	-1,91	6,08
	E	-8,21	-1,76	6,46

Tabela 7.19 Izračunate energije HOMO i LUMO orbitala i E_{gap} za jedinjenja **1 - 16** u DMSO, EtOH i AcN (**serija 2**)

Jedinjenje	Izomer	DMSO			EtOH			AcN		
		E_{HOMO}	E_{LUMO}	E_{gap}	E_{HOMO}	E_{LUMO}	E_{gap}	E_{HOMO}	E_{LUMO}	E_{gap}
1	Z	-7,58	-1,57	6,01	-7,57	-1,56	6,00	-7,57	-1,57	6,00
	E	-7,86	-1,45	6,41	-7,86	-1,45	6,42	-7,86	-1,45	6,41
2	Z	-7,65	-1,80	5,86	-7,65	-1,79	5,85	-7,65	-1,80	5,85
	E	-7,47	-1,76	5,71	-7,46	-1,76	5,70	-7,46	-1,76	5,71
3	Z	-7,46	-1,59	5,88	-7,45	-1,58	5,87	-7,46	-1,59	5,87
	E	-7,74	-1,48	6,27	-7,74	-1,47	6,26	-7,74	-1,47	6,26
4	Z	-7,19	-1,55	5,64	-7,18	-1,54	5,64	-7,19	-1,55	5,64
	E	-7,39	-1,46	5,93	-7,39	-1,46	5,93	-7,39	-1,46	5,93
5	Z	-7,30	-1,52	5,78	-7,29	-1,51	5,78	-7,30	-1,52	5,78
	E	-7,76	-1,55	6,21	-7,76	-1,54	6,21	-7,76	-1,55	6,21
6	Z	-7,58	-1,55	6,03	-7,57	-1,54	6,03	-7,58	-1,54	6,03
	E	-7,67	-1,46	6,21	-7,67	-1,46	6,21	-7,67	-1,46	6,21
7	Z	-7,23	-1,64	5,59	-7,22	-1,63	5,59	-7,22	-1,64	5,59
	E	-7,35	-1,47	5,88	-7,34	-1,46	5,88	-7,34	-1,46	5,88
8	Z	-7,74	-1,62	6,12	-7,73	-1,61	6,12	-7,74	-1,61	6,12
	E	-7,91	-1,57	6,34	-7,91	-1,57	6,34	-7,91	-1,57	6,34
9	Z	-7,72	-1,64	6,08	-7,71	-1,64	6,08	-7,72	-1,64	6,08
	E	-7,90	-1,53	6,37	-7,90	-1,53	6,37	-7,90	-1,53	6,37
10	Z	-7,58	-1,66	5,93	-7,58	-1,65	5,92	-7,58	-1,66	5,93
	E	-7,90	-1,51	6,38	-7,90	-1,51	6,39	-7,90	-1,51	6,38
11	Z	-7,71	-1,71	6,00	-7,70	-1,70	6,00	-7,70	-1,70	6,00
	E	-7,91	-1,60	6,31	-7,91	-1,59	6,32	-7,91	-1,60	6,31
12	Z	-7,71	-1,69	6,03	-7,71	-1,68	6,03	-7,71	-1,69	6,03
	E	-7,88	-1,56	6,32	-7,89	-1,56	6,33	-7,88	-1,56	6,32
13	Z	-7,56	-1,71	5,85	-7,55	-1,70	5,85	-7,56	-1,71	5,85
	E	-7,85	-1,53	6,32	-7,85	-1,53	6,32	-7,85	-1,53	6,32
14	Z	-7,91	-1,59	6,33	-7,91	-1,58	6,33	-7,91	-1,59	6,33
	E	-7,93	-1,63	6,30	-7,93	-1,63	6,30	-7,93	-1,63	6,30
15	Z	-7,84	-1,66	6,18	-7,84	-1,66	6,19	-7,84	-1,66	6,18
	E	-7,93	-1,74	6,19	-7,94	-1,73	6,20	-7,93	-1,73	6,20
16	Z	-7,86	-1,87	5,99	-7,86	-1,87	5,99	-7,86	-1,87	5,99
	E	-7,95	-1,61	6,33	-7,96	-1,62	6,34	-7,95	-1,62	6,34

Tabela 7.20 Razlika u atomskom naelektrisanju (Δ_{Charge}) između pobuđenog i osnovnog stanja za odgovarajuće atome u **Z** i **E** izomerima **serije**

2

Broj atoma /supstituent	Δ_{Charge}													
	H		2-OH		3-OH		4-OH		2-OMe		3-OMe		4-OMe	
Izomer	Z	E	Z	E	Z	E	Z	E	Z	E	Z	E	Z	E
C2	0,0442	0,0494	0,0533	0,0341	0,0496	0,0494	0,047	0,0472	0,0579	0,0447	0,0445	0,0508	-0,0445	0,0477
C3	0,1473	0,1557	0,1137	0,1577	0,1523	0,1683	0,1406	0,1866	0,1596	0,1647	0,1504	0,1742	0,0676	0,1862
C3a	-0,0024	-0,0038	-0,0017	-0,0028	-0,0019	-0,0034	-0,0021	-0,0014	-0,0003	-0,0052	-0,0021	-0,0019	-0,0094	-0,0011
C4	0,0217	0,0128	0,0089	0,0332	0,0243	0,0124	0,0199	0,0106	0,0272	0,0094	0,0235	0,0133	-0,0073	0,0114
C5	-0,0001	-0,0004	0	-0,0006	-0,0001	-0,0002	-0,0001	-0,0002	0	-0,0002	-0,0001	-0,0003	0	-0,0002
C6	0,037	0,0618	0,0298	0,0342	0,0383	0,0602	0,0331	0,0507	0,0401	0,0517	0,0394	0,0605	0,033	0,0424
C7	0	-0,0001	0	0,0001	0	-0,0001	0	0,0001	0	-0,0001	0	0	0	0,0001
C7a	0,0346	0,051	0,0304	0,0242	0,0356	0,051	0,0309	0,0482	0,0364	0,0422	0,0367	0,0523	0,0296	0,0478
C1'	-0,0013	-0,0031	-0,0167	-0,0096	-0,001	-0,0023	-0,0098	-0,0023	-0,0011	-0,0022	-0,0007	-0,004	-0,0037	-0,0019
C2'	-0,0177	-0,0335	-0,0376	-0,0861	-0,0539	-0,0229	-0,0663	-0,0972	-0,0617	-0,0504	-0,0823	-0,0334	0,0013	-0,0693
C3'	-0,0455	-0,0456	-0,0443	-0,0191	-0,0046	-0,0412	-0,0064	-0,0104	-0,035	-0,0231	-0,0022	-0,0493	0	-0,0393
C4'	-0,0155	-0,0168	-0,0108	-0,0208	-0,0188	-0,0225	-0,0127	-0,0183	-0,0233	-0,0206	-0,0149	-0,0247	0,0387	-0,0191
C5'	-0,0081	-0,0583	-0,0186	-0,0106	-0,043	-0,0551	-0,0045	-0,0656	-0,0091	-0,0411	-0,0438	-0,0618	0	-0,0621
C6'	-0,0548	-0,0359	-0,0435	-0,0629	-0,0539	-0,0487	-0,0601	-0,0277	-0,0774	-0,0385	-0,0188	-0,0491	-0,0113	-0,0261
C7' (OCH ₃)									-0,0182	-0,0048	-0,0059	-0,0011	0	-0,0068
H1	0	0	0	-0,0002	-0,0001	-0,0006	-0,0002	0	0	0	-0,0008	-0,0002	0	-0,0001
H4	0	0	0	0	0	-0,0036	0	-0,0015	0	0	0	-0,0022	0	-0,0025
H5	-0,0001	0	-0,0009	-0,0005	0	-0,0034	0	-0,0017	-0,0001	0	0	0	-0,0021	-0,0001
H6	0	-0,0009	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-0,0003	0	0
H7	0	0	0	0	0	-0,0004	0	-0,0001	0	-0,0004	-0,0002	0	0	-0,0002
H2'	0	0	-	-	0	0	0	0	-	-	0	0	0	-0,0007
H3'	-0,0101	-0,0261	0	-0,0006	-	-	-0,0101	-0,0208	-0,0095	-0,0085	-	-	0	-0,0096
H4'	-0,0158	-0,0143	-0,0085	-0,0157	0	-0,0251	-	-	-0,0089	-0,0208	-0,014	-0,0294	-	-
H5'	-0,0209	-0,0247	0	-0,0151	-0,0099	-0,0485	-0,0064	-0,0169	-0,0133	-0,0205	-0,01	-0,0299	-0,0001	-0,0184
H6'	0	0	0	0	0	0	-0,0216	0	-0,0002	0	-0,0001	-0,0027	0	-0,0009
H (OH)			-0,0118	0	-0,0037	-0,0007	-0,0066	-0,0129						
H' (OCH ₃)									-0,0007	-0,0003	-0,0012	-0,0011	0	-0,0053
H'' (OCH ₃)									0	-0,0019	-0,0004	-0,0038	0,0001	-0,0009
H''' (OCH ₃)									0	0	-0,0001	-0,0014	0,0002	-0,0032
O2	-0,0385	0,0453	0,0324	0,0253	-0,0407	0,0453	-0,0021	0,0452	-0,0224	0,0368	-0,0404	0,0479	-0,0312	0,0446
O (OH)			-0,0101	-0,0332	-0,0234	-0,0268	-0,0378	-0,0577						
O (OCH ₃)									-0,0191	-0,0285	-0,0045	-0,0266	0,011	-0,0618
N1	-0,0048	0,0048	0,0127	-0,0006	-0,0042	0,0043	-0,0012	0,0044	0,0029	0,0022	-0,0053	0,0056	-0,0098	0,0043
N3	-0,0385	-0,1171	-0,0768	-0,0303	-0,021	-0,0855	-0,0234	-0,0586	-0,0236	-0,0848	-0,0467	-0,0813	-0,0622	-0,0551

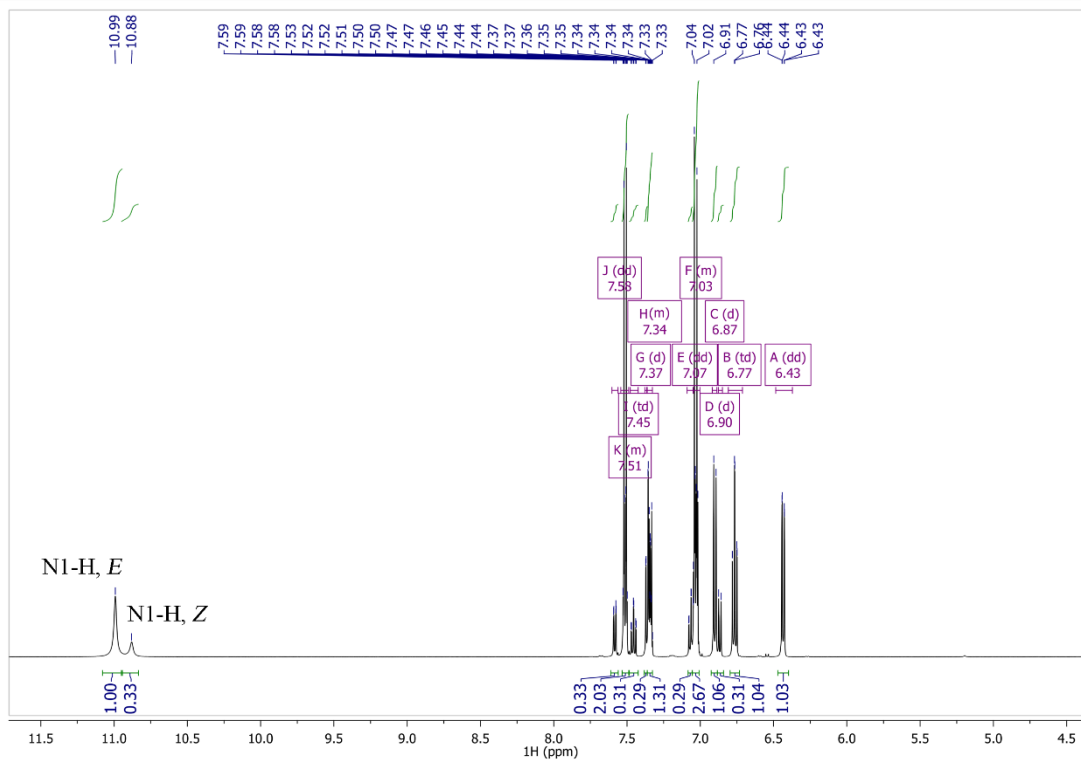
Tabela 7.21 Razlika u atomskom naelektrisanju (Δ_{Charge}) između pobuđenog i osnovnog stanja za odgovarajuće atome u *Z* i *E* izomerima serije

2

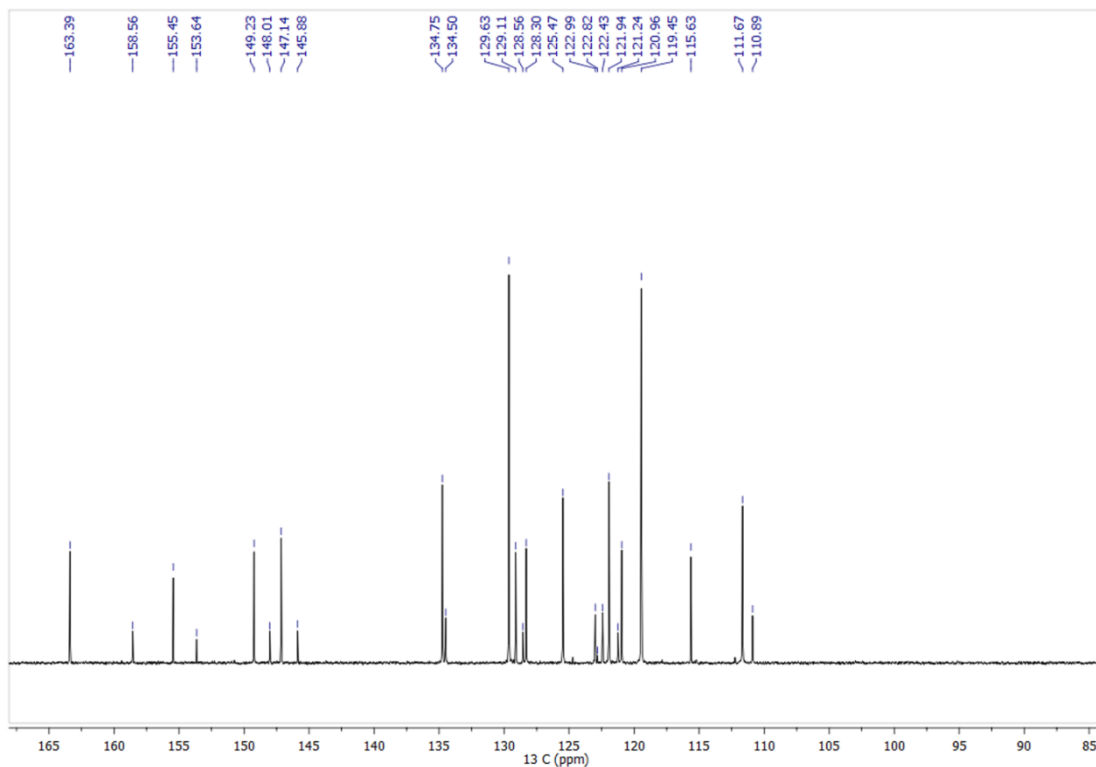
Broj atoma /supstituent Izomer	Δ_{Charge}											
	2-Cl		3-Cl		4-Cl		2-I		3-I		4-I	
	<i>Z</i>	<i>E</i>	<i>Z</i>	<i>E</i>	<i>Z</i>	<i>E</i>	<i>Z</i>	<i>E</i>	<i>Z</i>	<i>E</i>	<i>Z</i>	<i>E</i>
C2	0,047	0,0487	0,04	0,0472	0,0425	0,0489	0,0496	0,0491	0,0448	0,0445	0,0451	0,0498
C3	0,1631	0,1631	0,1492	0,1451	0,1495	0,1795	0,1522	0,1712	0,1455	0,1567	0,1481	0,1547
C3a	-0,0017	-0,0049	-0,0029	-0,0058	-0,0029	-0,0036	-0,002	-0,0045	-0,0027	-0,0065	-0,0027	-0,0037
C4	0,0273	0,014	0,0225	0,0157	0,0201	0,0162	0,0219	0,0159	0,021	0,0045	0,0198	0,019
C5	-0,0001	-0,0004	-0,0001	-0,0003	-0,0002	-0,0004	-0,0001	-0,0004	-0,0001	-0,0003	-0,0002	-0,0004
C6	0,0434	0,0612	0,0382	0,0543	0,0357	0,038	0,0407	0,0608	0,0373	0,0255	0,0353	0,0589
C7	0	-0,0002	0	-0,0001	0	-0,0001	0	-0,0001	0	-0,0002	0	-0,0001
C7a	0,0408	0,0502	0,0349	0,0485	0,0326	0,0518	0,038	0,0498	0,0335	0,0444	0,0333	0,0518
C1'	-0,0004	-0,0018	-0,0007	-0,001	-0,0007	-0,0013	-0,0013	-0,0012	-0,0013	-0,0009	-0,0006	0
C2'	-0,0394	-0,0508	-0,0693	-0,044	-0,0359	-0,0335	-0,033	-0,0374	-0,066	-0,0521	-0,0288	-0,0342
C3'	-0,0421	-0,0441	-0,0014	-0,0302	-0,027	-0,0483	-0,0434	-0,0489	-0,0011	-0,0249	-0,0253	-0,0451
C4'	-0,0163	-0,0138	-0,0171	-0,0162	-0,0139	-0,0176	-0,0174	-0,0119	-0,015	-0,0098	-0,0246	-0,026
C5'	-0,0269	-0,0433	-0,0437	-0,0547	-0,0156	-0,0524	-0,0187	-0,0486	-0,0414	-0,043	-0,0231	-0,0449
C6'	-0,0562	-0,0293	-0,0192	-0,0318	-0,0467	-0,0336	-0,0542	-0,0319	-0,0181	-0,0277	-0,0505	-0,0329
H1	0	-0,0007	0	-0,0005	0	-0,0034	-0,0038	-0,0006	0	-0,0005	-0,0004	-0,0046
H4	0	0	0	-0,0008	0	-0,0075	-0,0036	-0,0025	0	-0,0003	0	-0,0026
H5	0	-0,0073	-0,0002	-0,0008	0	0	-0,0005	-0,0013	-0,0001	0	-0,0003	0
H6	-0,0013	-0,0001	0	-0,0011	0	-0,0003	0	-0,0002	0	-0,0002	-0,0003	0
H7	0	-0,0014	-0,0002	-0,0004	0	-0,0008	0	-0,0002	-0,0001	-0,0012	-0,0002	-0,0069
H2'	-	-	0	-0,0002	0	-0,0009	-	-	0	0	0	0
H3'	-0,0122	-0,0232	-	-	-0,0083	-0,0247	-0,0077	-0,0225	-	-	-0,007	-0,0285
H4'	-0,016	-0,016	-0,0147	-0,019	-	-	-0,0183	-0,0149	-0,0108	-0,0133	-	-
H5'	-0,0299	-0,0249	-0,0086	-0,0126	-0,0063	-0,0233	-0,0135	-0,027	-0,0001	-0,0108	-0,0018	-0,0276
H6'	0	0	0	-0,0044	0	-0,0008	0	-0,0005	0	-0,0001	-0,0233	-0,0011
O2	-0,0338	0,0422	-0,043	0,0364	-0,0372	0,0433	-0,0345	0,0225	-0,0471	0,0342	-0,015	0,0428
N1	-0,004	0,0043	-0,007	0,0025	-0,0049	0,005	-0,0029	0,0037	-0,0044	-0,0012	-0,0029	0,0049
N3	-0,0232	-0,103	-0,0436	-0,1035	-0,0433	-0,0941	-0,0221	-0,0715	-0,0426	-0,0842	-0,0421	-0,095
Cl	-0,0181	-0,0185	-0,013	-0,0223	-0,0376	-0,036						
I							-0,0254	-0,0473	-0,0214	-0,0329	-0,0325	-0,0284

Tabela 7.22 Razlika u atomskom naelektrisanju (ΔCharge) između pobuđenog i osnovnog stanja za odgovarajuće atome u **Z** i **E** izomerima **serije 2**

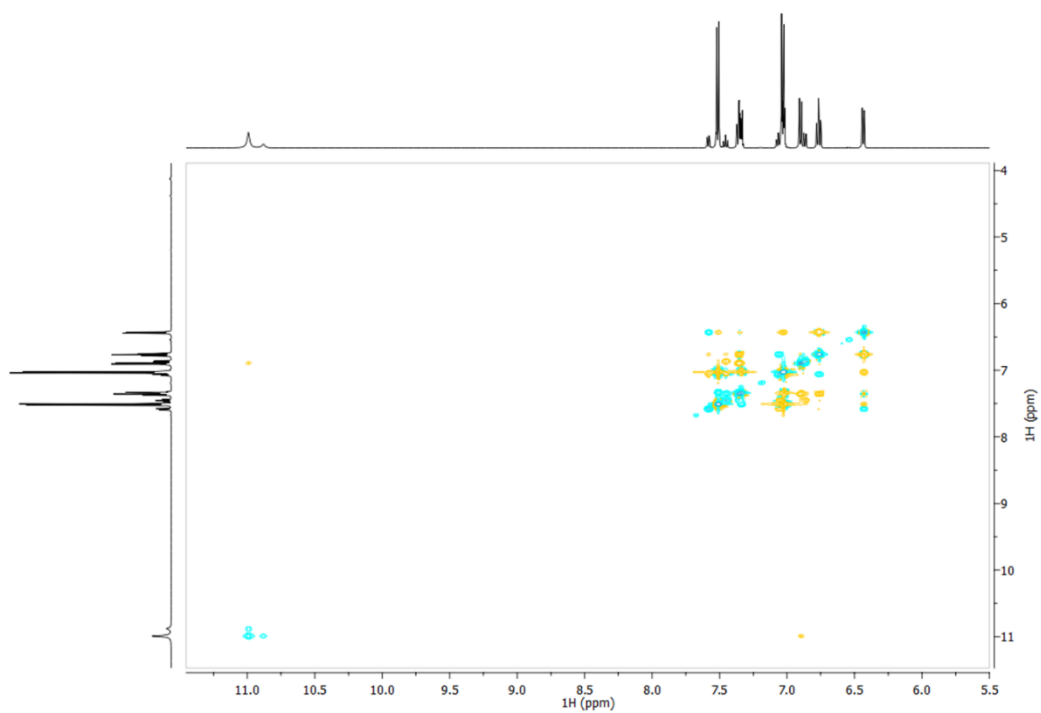
Broj atoma /supstituent	ΔCharge					
	14 (2-NO ₂)		14 (2-NO ₂)		14 (2-NO ₂)	
Izomer	Z	Z	Z	Z	Z	Z
C2	0,0402	0,0272	0,0426	0,0405	0,0362	0,0414
C3	0,1695	0,1401	0,1528	0,1492	0,1511	0,1393
C3a	-0,0016	-0,0104	-0,0031	-0,0088	-0,0032	-0,0082
C4	0,0327	0,0089	0,0247	0,0078	0,0215	0,0195
C5	0	-0,0015	-0,0001	-0,0005	-0,0002	-0,0005
C6	0,0496	0,0303	0,0406	0,0253	0,0368	0,0223
C7	-0,0001	-0,0005	0	-0,0003	0	-0,0004
C7a	0,0481	-0,0121	0,0375	0,0391	0,0329	0,0475
C1'	-0,001	-0,0003	0	-0,0018	-0,0002	-0,0013
C2'	-0,0418	-0,025	-0,022	-0,0325	-0,0167	-0,0247
C3'	-0,0324	-0,0163	-0,0438	-0,0286	-0,0374	-0,0316
C4'	-0,0131	-0,0068	-0,0144	-0,0129	-0,0125	-0,0154
C5'	-0,0386	-0,0304	-0,031	-0,0299	-0,0319	-0,0314
C6'	-0,0267	-0,0181	-0,036	-0,0223	-0,0347	-0,0238
H1	0	-0,005	-0,0017	-0,0001	0	-0,0004
H4	0	-0,0012	0	-0,0023	0	0
H5	-0,0003	-0,0016	0	0	0	-0,0022
H6	-0,0002	-0,0012	0	0	-0,0001	-0,0001
H7	-0,0008	-0,0026	0	-0,0009	0	-0,002
H2'	-	-	0	0	0	0
H3'	-0,0159	-0,0139	-	-	-0,006	-0,0156
H4'	-0,0162	-0,0107	0	-0,0101	-	-
H5'	-0,0188	-0,0189	-0,0106	-0,0143	-0,0045	-0,0161
H6'	0	-0,0001	0	-0,0001	-0,0009	-0,0001
O2	-0,0526	0,0028	-0,0486	0,0207	-0,0504	0,0166
O' (NO₂)	-0,0055	-0,0019	-0,0019	-0,0007	-0,0023	-0,0061
O'' (NO₂)	-0,0054	-0,0013	-0,0098	-0,014	-0,0034	-0,0056
N1	-0,0056	-0,0076	-0,0074	-0,0058	-0,0099	0,0004
N3	-0,0599	-0,018	-0,0515	-0,0837	-0,0528	-0,0852
N (NO₂)	-0,0037	-0,0038	-0,0035	-0,0129	-0,0114	-0,0163



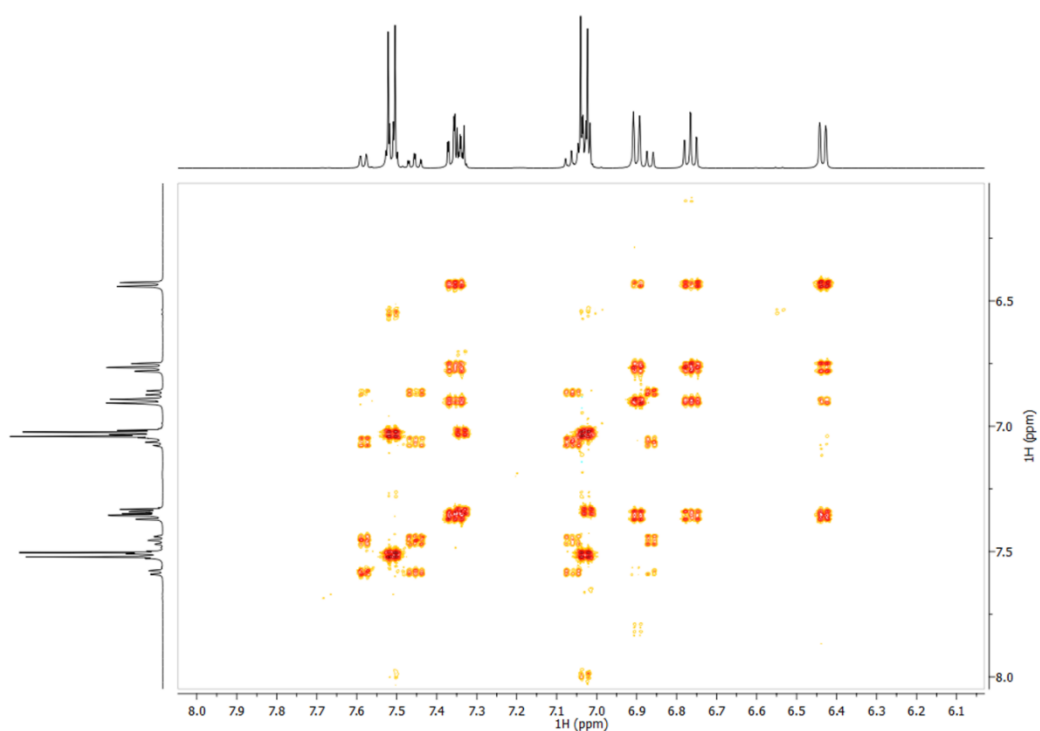
Slika 7.1 ^1H NMR spektar jedinjenja **10** u $\text{DMSO-}d_6$ (serija 2)



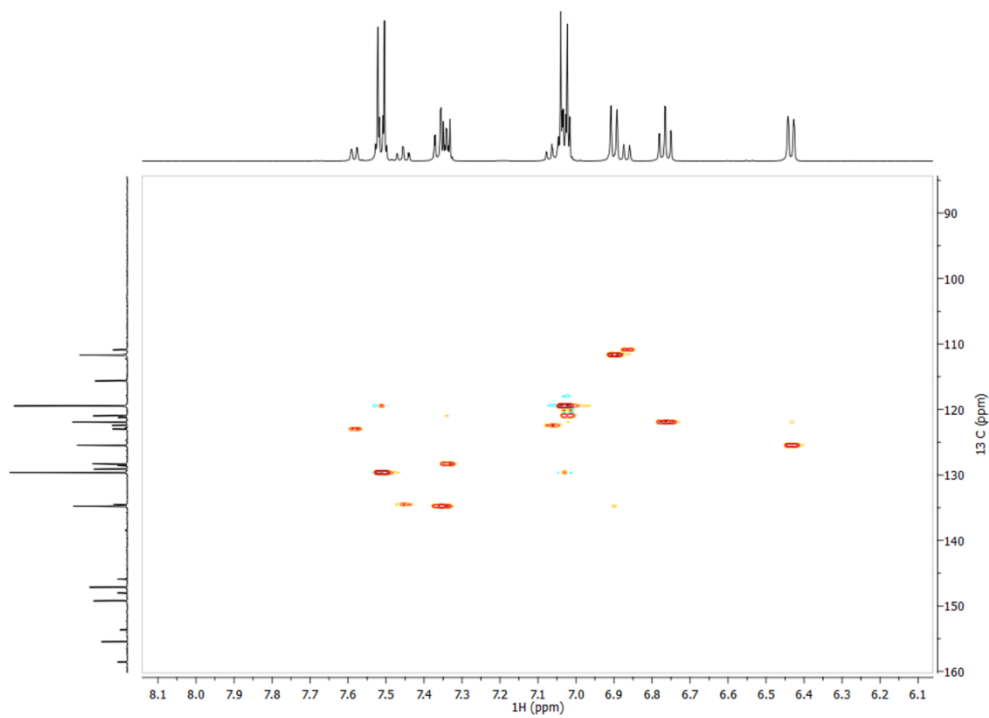
Slika 7.2 ^{13}C NMR spektar jedinjenja **10** u $\text{DMSO-}d_6$ (serija 2)



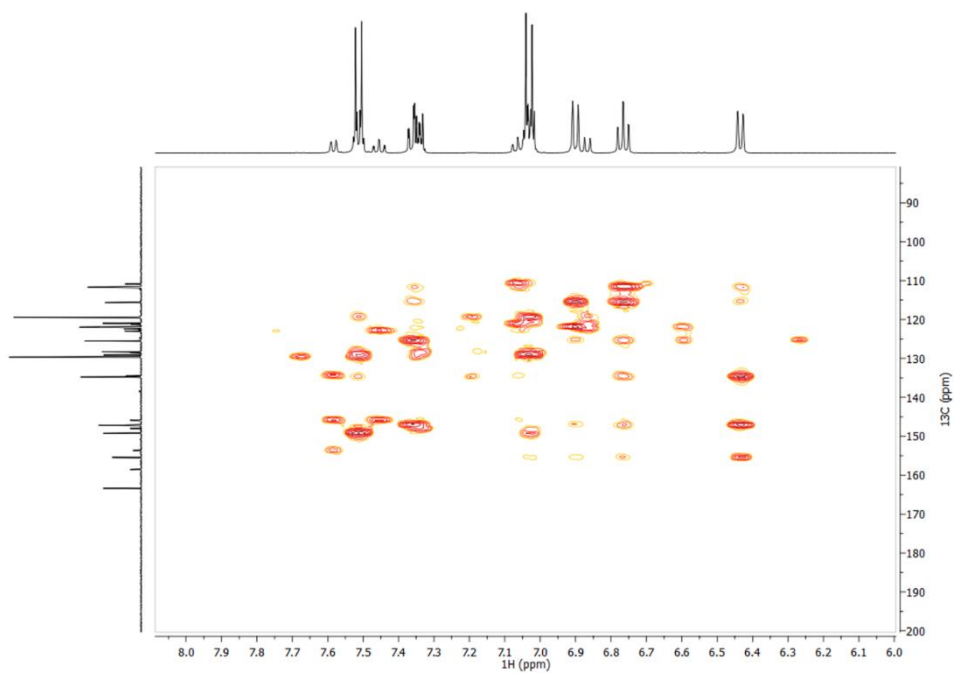
Slika 7.3 COSY spektar jedinjenja **10** u DMSO- d_6 (serija 2)



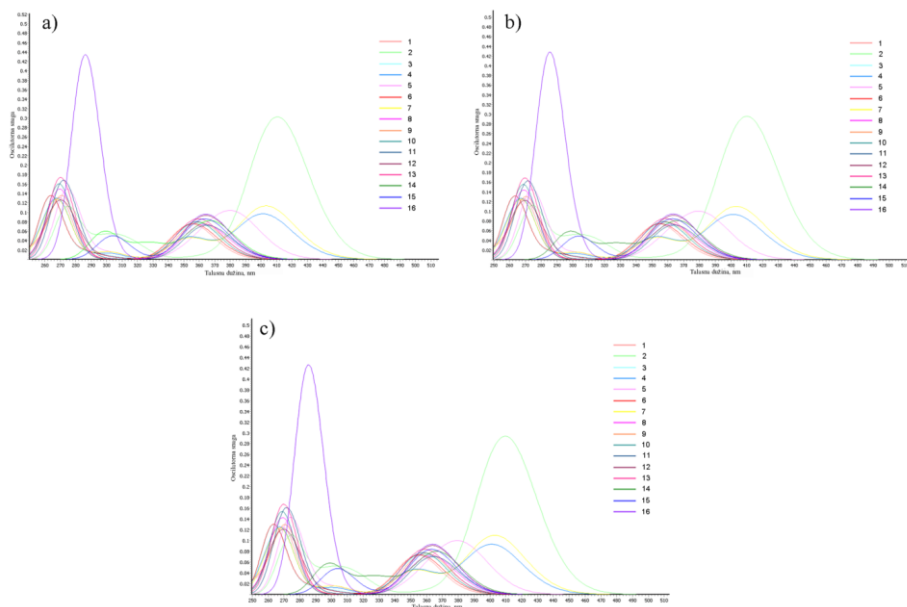
Slika 7.4 NOESY spektar jedinjenja **10** u DMSO- d_6 (serija 2)



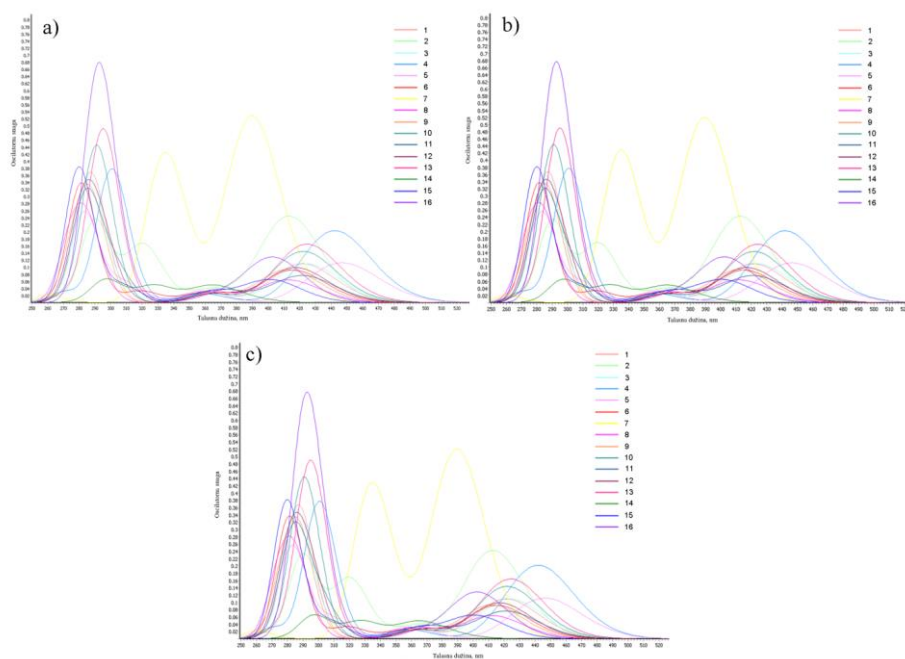
Slika 7.5 ^1H - ^{13}C HSQC spektar jedinjenja **10** u $\text{DMSO-}d_6$ (serija 2)



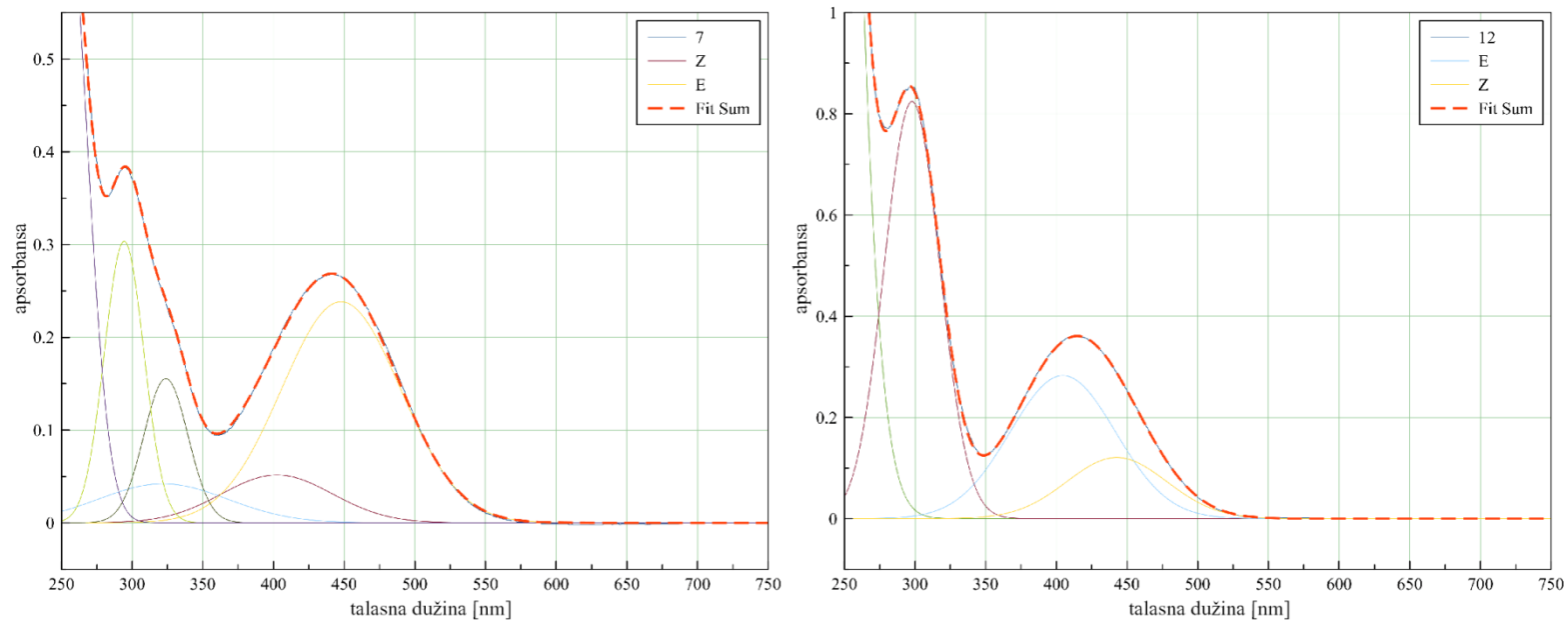
Slika 7.6 ^1H - ^{13}C HMBC spektar jedinjenja **10** u $\text{DMSO-}d_6$ (serija 2)



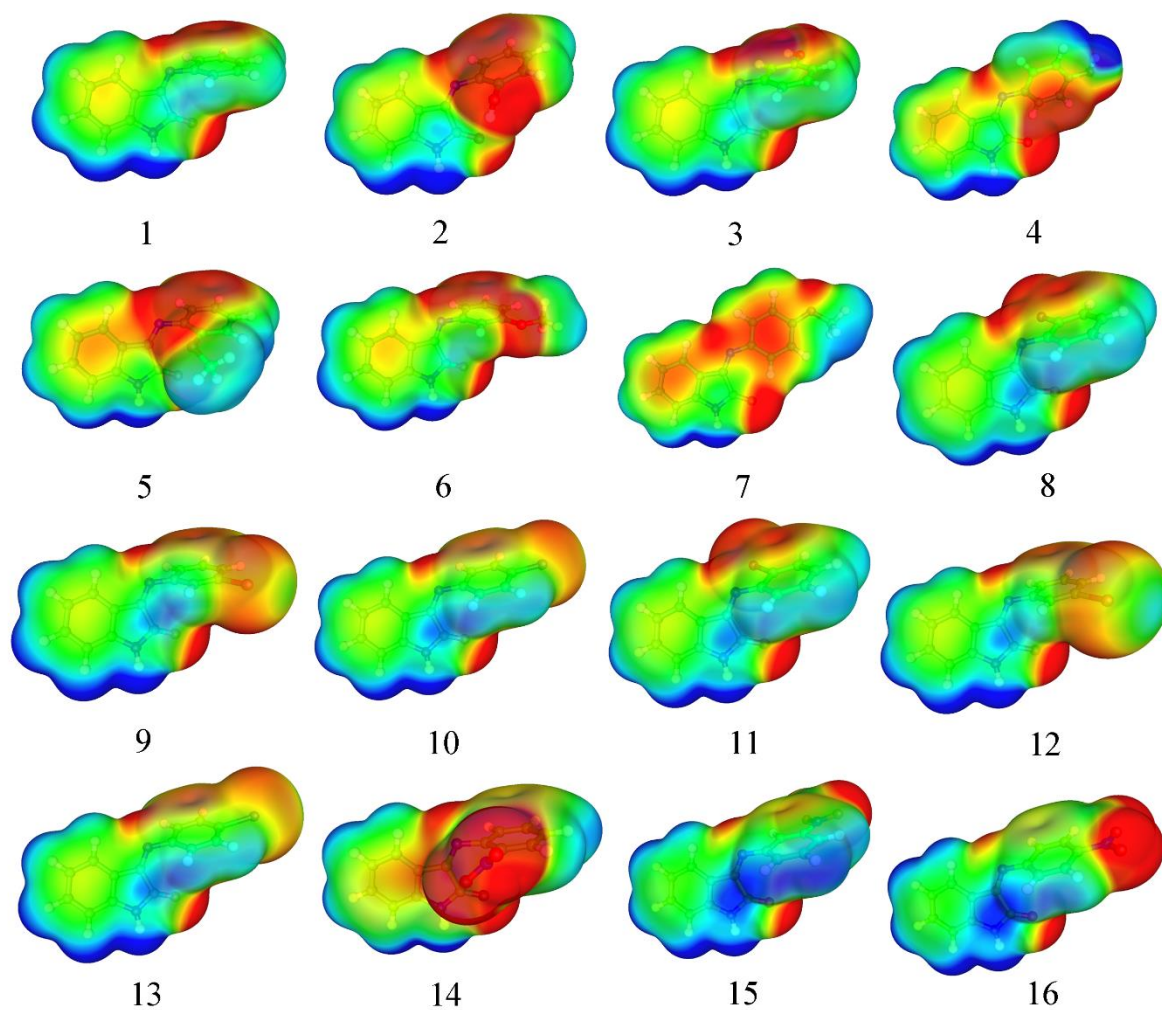
Slika 7.7 TD-DFT izračunati UV-Vis spektri *E* izomernog oblika u a) DMSO, b) EtOH, c) AcN (serija 2)



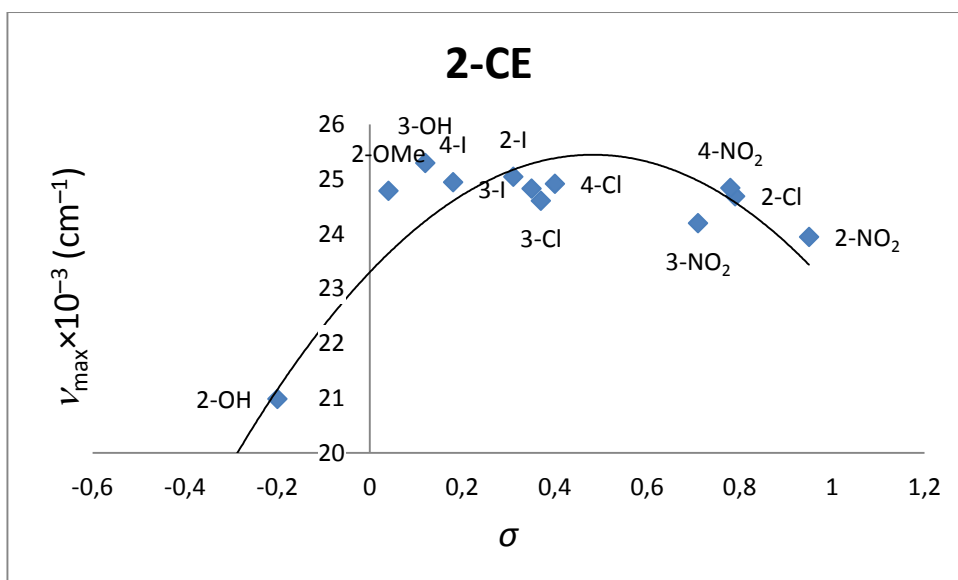
Slika 7.8 TD-DFT izračunati UV-Vis spektri *Z* izomernog oblika u a) DMSO, b) EtOH, c) AcN (serija 2)



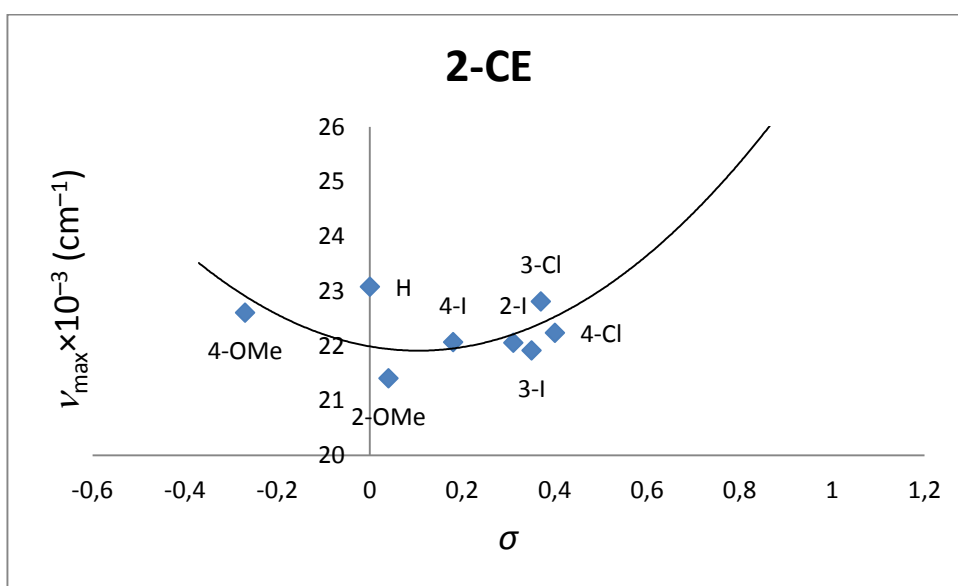
Slika 7.9 Dekonvolucija preklapljenih traka za jedinjenja **7** i **12** u DMSO-u (**serija 2**)



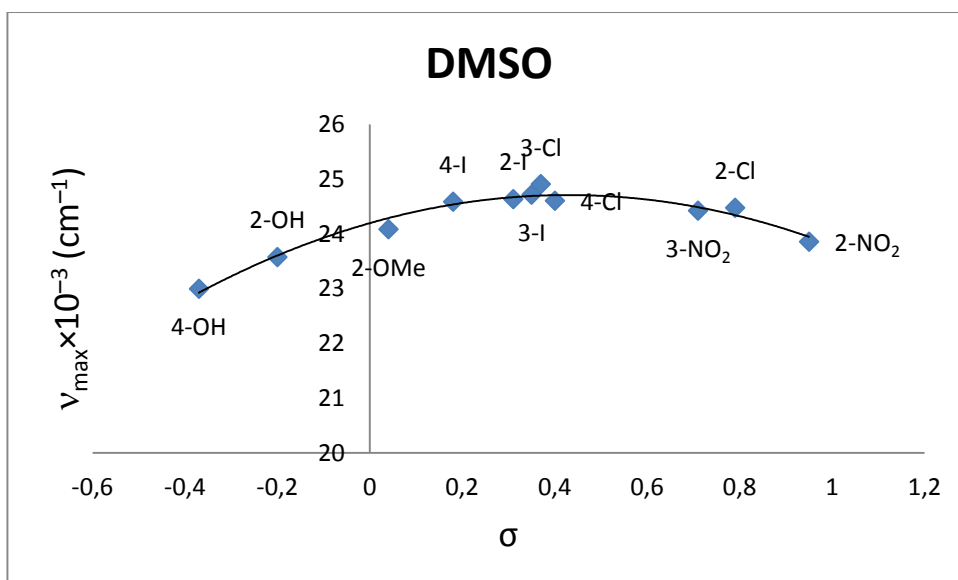
Slika 7.10 MEP mape jedinjenja **1-16** serije **2** u Z obliku (gasovita faza) izračunati pomoću B3LYP/6-311G(d,p) metode u osnovnom stanju



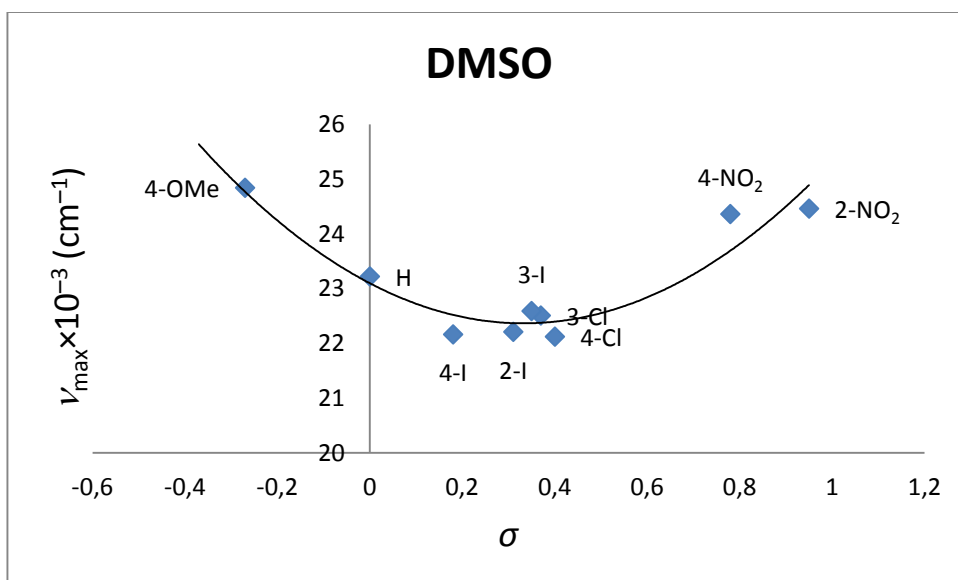
Slika 7.11 Korelacija v_{\max} vs parametara supstituenata za jedinjenja **1-16** u 2-CE za *E* izomere serije **2**



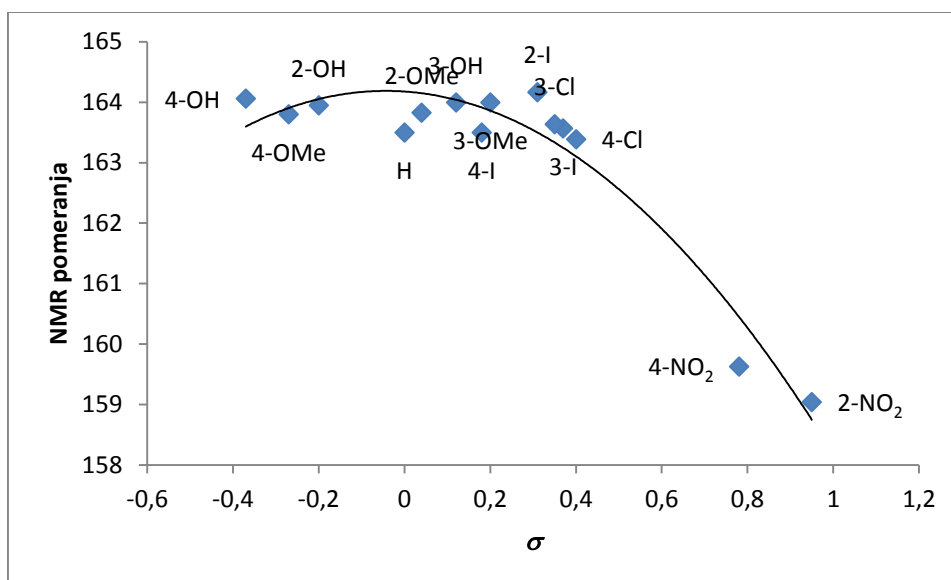
Slika 7.12 Korelacija v_{\max} vs parametara supstituenata za jedinjenja **1-16** u 2-CE za *Z* izomere serije **2**



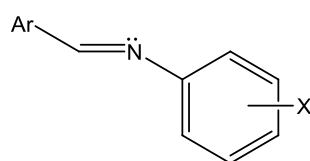
Slika 7.13 Korelacija v_{\max} vs parametara supstituenata za jedinjenja **1-16** u DMSO za *E* izomere **serije 2**



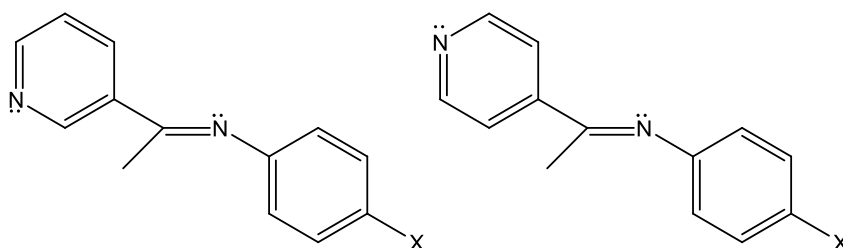
Slika 7.14 Korelacija v_{\max} vs parametara supstituenata za jedinjenja **1-16** u DMSO za *Z* izomere **serije 2**



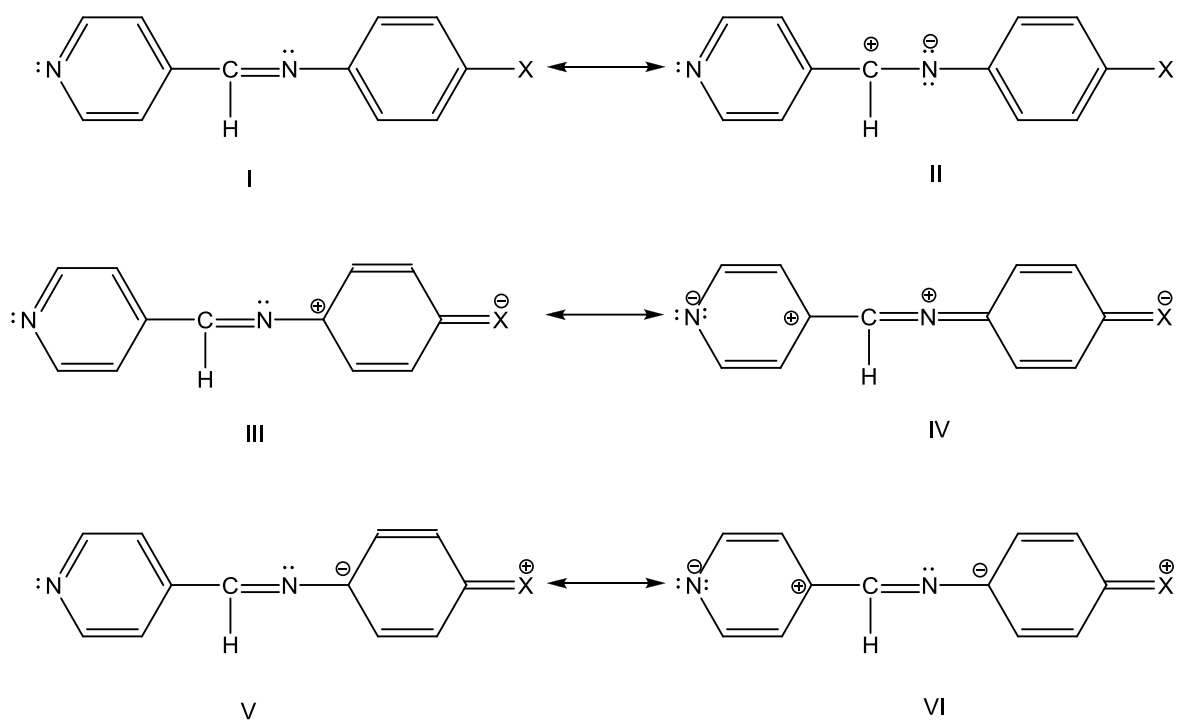
Slika 7.15 Korelacioni rezultati SCS vrednosti izatinskih derivata (*E* izomeri) sa σ konstantama primenom Hametove jednačine 3.6. (2) na C2; variabla (σ^2) = -5,52, variabla (σ) = -0,48, odsečak = 164,18, $r = 0,964$ (**serija 2**)



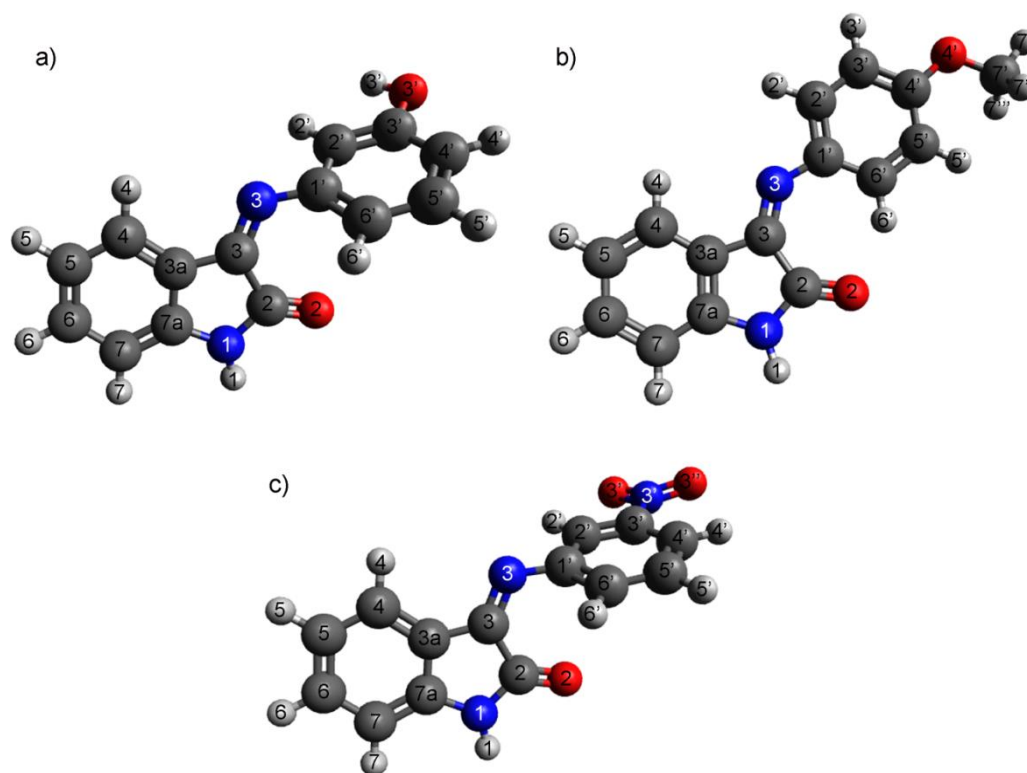
Slika 7.16 Strukture 4-supstuisanih *N*-benzilidenanilina (Ar = fenil, serija **3**), *N*-fenil supstuisani aldimini (Ar = 3-piridil serija **4**; Ar = 2- piridil serija **5**; Ar = 4- piridil serija **6**).



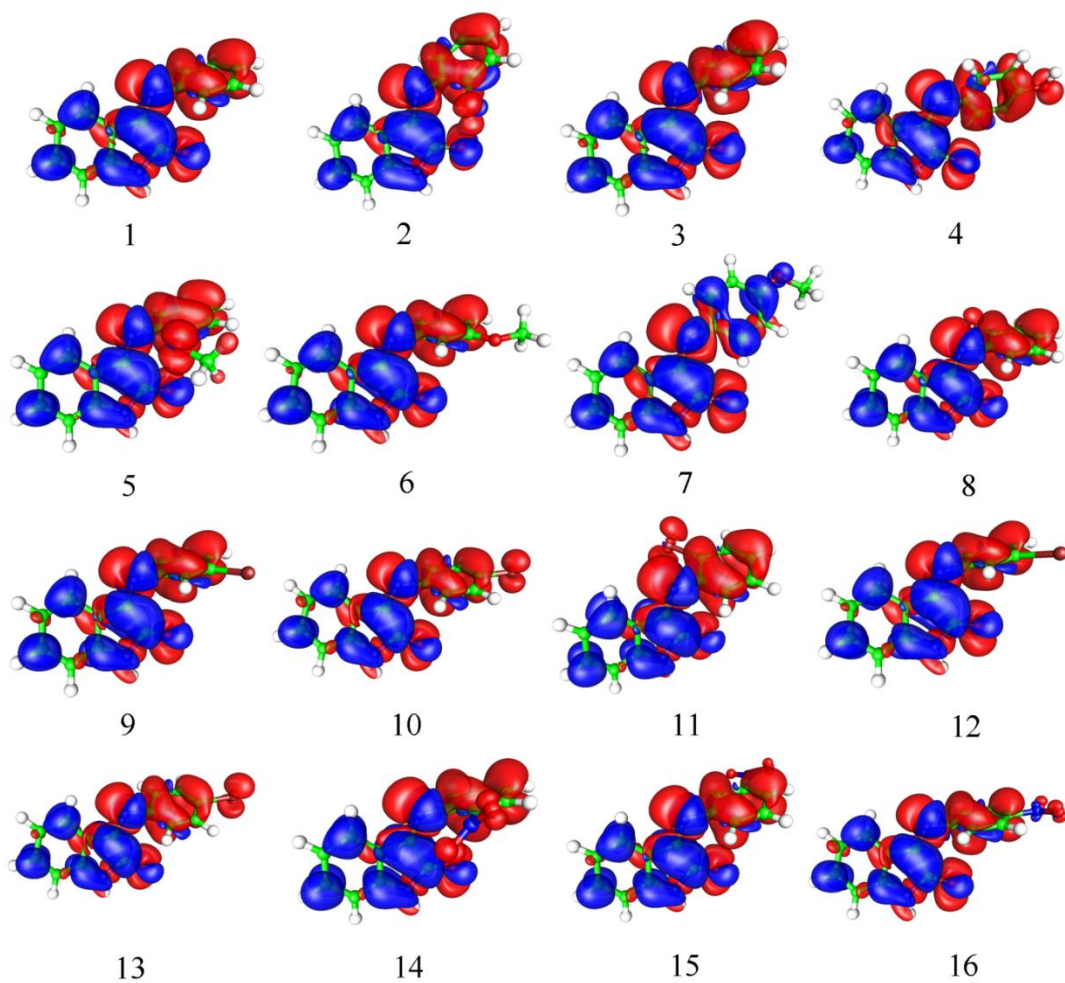
Slika 7.17 Strukture 4-supstuisanih *N*-[1-(piridin-3-il)etiliden]anilina (serija **7**) i 4-supstuisanih *N*-[1-(piridin-4-il)etiliden]anilina (serija **8**).



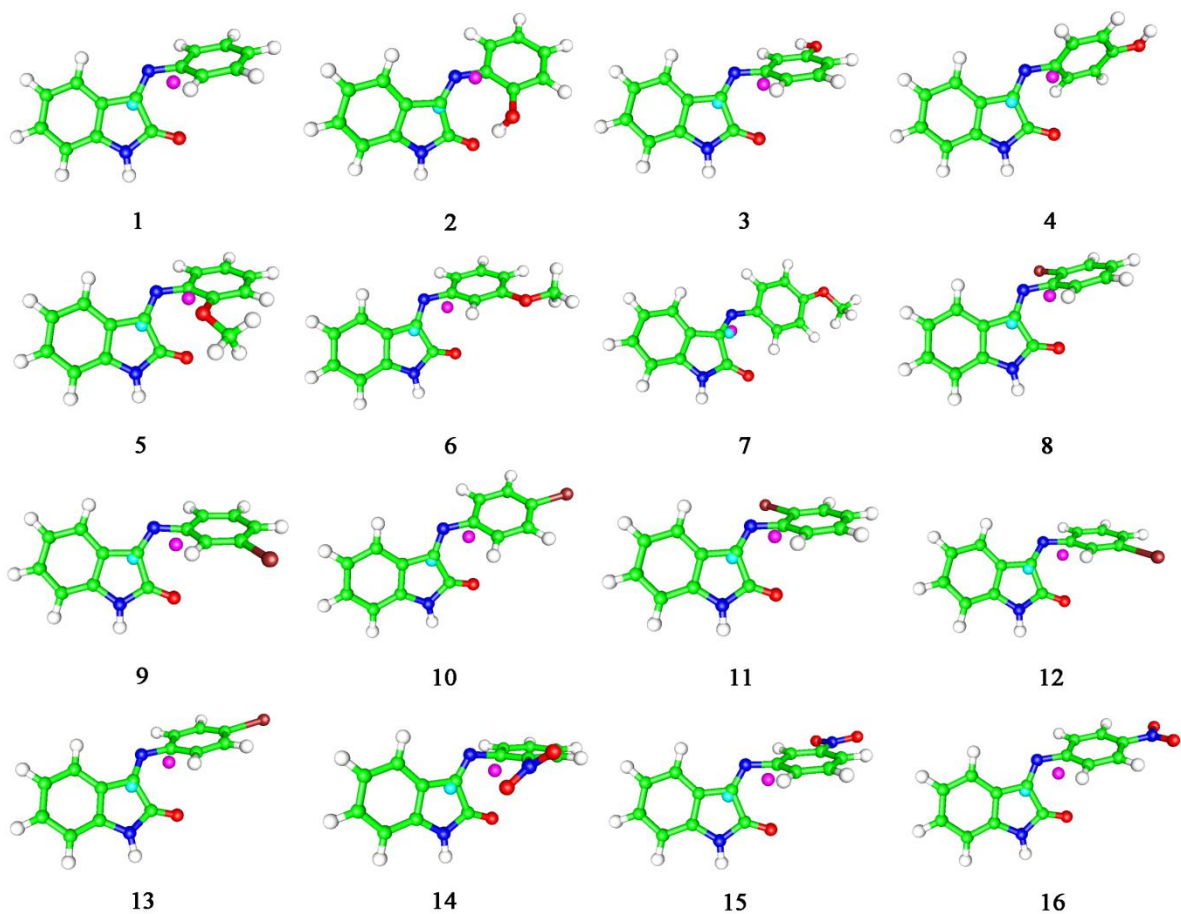
Slika 7.18 Mezomerne strukture imino derivata sa elektron-donorskim i elektron-akceptorskim grupama



Slika 7.19 Numeracija atoma korišćena u Baderovoj analizi za proučavana jedinjenja (primeri dati za a) **3** (3-OH), b) **6** (4-OMe) i c) **15** (3-NO₂) molekule **serije 2**



Slika 7.20 ICT procesi iz osnovnog (crveno) u pobuđeno stanje (plavo) za jedinjenja **1-16** serije **2** u Z izomernom obliku



Slika 7.21 ICT u molekulima **1–16 serije 2** za Z izomere. Položaji baricentara za gubitak naelektrisanja (cijan krug) i dobijanje naelektrisanja (ljubičasti krug) u toku prelaza

BIOGRAFIJA

Dominik Radovana Brkić, rođena je 5. oktobra 1970. godine u Čačku, Opština Čačak, Republika Srbija. Školske 1988/1989. godine upisala je Tehnološko-metalurški fakultet u Beogradu. Diplomirala je 14.11.1995. godine prosečnom ocenom studija 7,48. Poslediplomske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu u Beogradu, na Katedri za Organsku hemiju, upisala je školske 1996/1997. godine. Magistarski rad pod nazivom „Sinteza i reaktivnost 4-pirimidin karboksilnih kiselina u reakciji sa diazodifenilmetanom“ pod mentorstvom prof. dr Bratislava Jovanovića, odbranila je 25.06.2007. godine i stekla zvanje magistra tehničkih nauka.

Od 1998. godine pa na dalje zaposlena u Visokoj školi strukovnih studija Beogradska politehnika. Od 1998. do 2007. godine radila je kao saradnik na predmetima Hemija, Hemija 1 i Hemija 2. Od 2007. do danas, realizuje nastavu na predmetu Hemija koji se sluša na četiri studijska programa odeljenja za tehnologije Beogradske politehnike. Zvanje predavača u navedenoj ustanovi, a iz uže stručne oblasti – Primenjena Hemija, stekla je 26. decembra 2007. godine. Član je Saveta Škole od 07.03.2012. Od 01.06.2012. radi u sektoru nastave na poslovima Koordinatora nastave. Pohađala seminar „Usavršavanje univerzitetskih nastavnika – bazični program“, u Beogradu 2006. godine. Rukovodilac projekta „Upotreba Moodle platforme za e-učenje na predmetu Hemija u školskoj 2010/11 godini“. Od 2015. godine angažovana je na projektu „WamPPP 2015, Erasmus +“. mr Dominik Brkić se služi engleskim, francuskim i ruskim jezikom. Za potrebe nastave i naučno-istraživačkog rada, odlično se služi računarom i koristi odgovarajuće softverske pakete.

Dominik Brkić je kao koautor i autor do sada učestvovala u izradi i publikaciji ukupno 39 radova u kategorijama: 1 rad kategorije M21, 5 radova kategorije M23, 20 radova kategorije M33, 1 rad kategorije M34, 1 rad kategorije M51 i 11 radova kategorije M63. Iz oblasti istraživanja kojoj pripada predložena tema doktorske disertacije, kandidat je autor 2 naučna rada objavljena u međunarodnom časopisu (oznaka grupe M20: vrsta rezultata M21, M23).

Spisak objavljenih radova i saopštenja proistekli iz disertacije

Kategorija M21:

1. **D. Brkić**, A. Božić, A. Marinković, M. Milčić, N. Prlainović, F. Assaleh, I. Cvijetić, J. Nikolić, S. Drmanić, „Detailed solvent, structural, quantum chemical study and antimicrobial activity of isatin Schiff base“, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, Vol. 196, pp. 16-30, DOI: 10.1016/j.saa.2018.01.080, 2018, ISSN: 1386-1425, IF: 2,536.

Kategorija M23:

1. **D. Brkić**, A. Božić, V. Nikolić, A. Marinković, H. Elshafli, J. Nikolić, S. Drmanić, „Solvatochromism of isatin based Schiff bases: An LSER and LFER study“ *Journal of the Serbian Chemical Society*. Vol. 81, Issue 9, p979-997. DOI: 10.2298/JSC160119049B, 2016, ISSN: 0352-5139, IF: 0.822.

Изјава о ауторству

Потписани Доминик Бркић

Број индекса _____

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

„Синтеза, структура и својства Шифових база изатина“

- 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 кршила ауторска права и користила интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 21.05.2018. године

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

Име и презиме аутора Доминик Бркић

Број индекса _____

Студијски програм: _____

Наслов рада **„Синтеза, структура и својства Шифових база изатина“**

Ментор др Саша Дрманић, ванредни професор

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предала ради похрањена 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, 21.05.2018. године

Изјава о коришћењу

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

„Синтеза, структура и својства Шифових база изатина“

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предала 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 одлучила.

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)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.

Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 21.05.2018. године

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

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

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

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

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

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