

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ТЕХНОЛОШКО-МЕТАЛУРШКИ ФАКУЛТЕТ

ЈЕЛЕНА Љ. ПЕТКОВИЋ-ЦВЕТКОВИЋ

СИНТЕЗА, СТРУКТУРА И СВОЈСТВА
ПОТЕНЦИЈАЛНО
БИОЛОШКИ АКТИВНИХ
N-АРИЛ-2,2-ДИСУПСТИТУИСАНИХ
СУКЦИНИМИДА

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

БЕОГРАД, 2019.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY

JELENA LJ. PETKOVIĆ-CVETKOVIĆ

SYNTHESIS, STRUCTURE AND
PROPERTIES
POTENTIAL BIOLOGICALLY ACTIVE
N-ARYL-2,2-DISUBSTITUTED
SUCCINIMIDES

DOCTORAL DISERTATION

BELGDRADE, 2019.

МЕНТОРИ:

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

Др Жељко Витник, виши научни сарадник
Универзитета у Београду
ИХТМ

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

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

Др Небојша Бањац, доцент
Универзитета у Београду
Пољопривредног факултета

Др Јелена Лађаревић, научни сарадник
Универзитета у Београду
Технолошко-металуршког факултета

ДАТУМ ОДБРАНЕ: _____

ЗАХВАЛНИЦА

Експериментални део ове докторска дисертација је урађена на Катедри за Органску хемију, Технолошко-металуришког факултета Универзитета у Београду, на Одељења за физиологију биљака Института за биолошка истраживања "Синиша Станковић", Универзитет у Београду, Хемијском факултету и Фармацеутском факултету Универзитета у Београду. Идеју о истраживању у овој области дугујем професорки др Гордани Уићумлић. Драгој професорки др Гордани Уићумлић, без чијег несебичног стручног залагања, безрезервне подршке и разумевања наведени рад никад не би био завршен, најискреније се захваљујем.

Професорки др Наташи Валентић, захваљујем се на свим корисним саветима и стручним примедбама које су утицале на побољшање квалитета докторске дисертације.

Др Жељку Витнику и др Весни Витник се захваљујем на уложеном напору у области квантохемијских израчунавања проучаваних једињења која су дала изузетан допринос овој дисертацији.

Др Небојши Баћац од срца се захваљујем што ме је својим врхунским знањем и љубављу изузетном лакоћом провео кроз свет конвенционалне и микроталасне синтезе. Неизрециво сам му захвална и на свим саветима и сугестијама у обради и тумачењу резултата. Била ми је изузетна част и задовољство сарађивати са њим.

Др Бојану Божићу најискреније се захваљујем на огромном залагању у писању научних радова, обради и тумачењу добијених резултата.

Др Јовани Петровић и Др Марини Соковић се захваљујем на извршеним испитивањима антимикуробне активности проучаваних једињења, која су дала изузетан допринос овој дисертацији.

Од срца се захваљујем родитељима, сестри и супругу који су ми својом безграничном љубављу и разумевањем били највећа подршка на овом путу.

Дубоку захвалност дугујем свима који су дали немерљив допринос настанку ове дисертације, а нису поменути.

Слава Господу који окупи дивне људе при овом путу, јер нама „припада труд а Њему успех“.

Урошу, Стефану и Милени

... Моја вера у Бога не смета ми да усвојим сву
праву науку...? Најбоља наука стоји у савршеној
хармонији са најбољом вером.

Владика Николај Велимировић

СИНТЕЗА, СТРУКТУРА И СВОЈСТВА ПОТЕНЦИЈАЛНО БИОЛОШКИ АКТИВНИХ, *N*-АРИЛ-2,2-ДИСУПСТИТУИСАНИХ СУКЦИНИМИДА

РЕЗИМЕ

У оквиру овог рада, са циљем испитивања утицаја структуре на биолошку активност, први пут су синтетисане три различите серије једињења деривата сукцинимиди (пиролидин-2,5-диона), и то: *N*-(3- и 4-супституисани фенил)-2-етил-2-метилсукцинимиди, *N*-(3- и 4-супституисани фенил)-2-фенил-2-метилсукцинимиди и *N*-(3- и 4-супституисани фенил)-2-(4-хлорфенил)-2-метилсукцинимиди.

Свих 34 једињења су синтетисана према модификованим поступцима из литературе, а структура и чистоћа су потврђена применом одговарајућих спектроскопских метода.

Ефекти солватације растварача различитих поларности на електронска својства деривата *N*-арил-2,2-дисупституисаних сукцинимиди су проучавани снимањем UV-Vis апсорпционих спектра у опсегу таласних дужина 200–400 nm.

Урађени су квантохемијски прорачуни, коришћењем програмског пакета Gaussian 09 применом DFT методе. У циљу проналажења најстабилнијих конформера, урађена је конформациона анализа. Одређена је мапа молекулског електростатичког потенцијала деривата и анализа енергија граничних молекуларних орбитала (НОМО и LUMO), као и енергетска разлика између њих, применом B3LYP и M06-2X/6-311++G(d,p) методе.

У наставку истраживања урађена је процена потенцијалне биолошке активности проучаваних једињења. Експериментално је одређена антимикробна активност синтетизованих деривата сукцинимиди методом микродилуције, на осам бактеријских врста и осам гљивичних врста.

Кључне речи: Сукцинимиди · Синтеза · UV-Vis спектрална анализа · DFT прорачун · Антимикробна активност ·

Научна област: Хемија.

Ужа научна област: Органска хемија.

UDK број:

SYNTHESIS, STRUCTURE AND PROPERTIES POTENTIAL BIOLOGICALLY ACTIVE *N*-ARYL-2,2-DISUBSTITUTED SUCCINIMIDES

SUMMARY

In this paper, three different series of compounds of succinimide derivatives (pyrrolidine-2,5-dione) were synthesized for the first time to investigate the effect of the structure on biological activity: *N*-(3- and 4-substituted phenyl)-2-ethyl-2-methylsuccinimides, *N*-(3- and 4-substituted phenyl)-2-phenyl-2-methylsuccinimides and *N*-(3- and 4-substituted phenyl)-2-(4-chlorophenyl)-2-methylsuccinimides.

All 34 compounds were synthesized according to modified literature procedures, and the structure and purity were confirmed using appropriate spectroscopic methods.

The effects of the solvation of solvents of different polarities on the electronic properties of *N*-aryl-2,2-disubstituted succinimide were studied by recording UV-Vis absorption spectra in the wavelength range of 200-400 nm.

Quantum-chemical calculations were made using the Gaussian 09 software package using the DFT method. In order to find the most stable conformers, a conformational analysis was made. A map of the molecular electrostatic potential of the derivatives and the analysis of the energy of Frontier Molecular Orbitals (HOMO and LUMO), as well as the energy difference between them, was determined using the B3LYP and M06-2H / 6-311 ++ G (d, p) methods.

In the continuation of the research, an assessment was made of the potential biological activity of the compounds studied. The antimicrobial activity of the synthesized succinimide derivatives was experimentally determined by microdilution method, eight bacterial species and eight fungal species. Experimental antimicrobial activity was determined by microdilution method.

Key words: Succinimides · Synthesis · UV-Vis spectral analysis · DFT calculation · Antimicrobial activity ·

САДРЖАЈ:

1. ТЕОРИЈСКИ ДЕО	4
1.1. Сукцинимида - структура, карактеристике и реактивност	4
1.1.1. Структура сукцинимида	5
1.1.2. Физичка својства сукцинимида	8
1.1.3. Изградња скелета сукцинимида	8
1.1.4. Хемијска својства сукцинимида	13
1.2. Биолошки активни деривати сукцинимида и њихово дејство	19
1.2.1. Антиконвулзивна активност деривата сукцинимида	20
1.2.2. Антитуберкулозна активност деривата сукцинимида	28
1.2.3. Антипролиферативна активност деривата сукцинимида	32
1.3. Корелациона анализа у органској хемији	36
1.3.1. Утицај електронских својстава на биолошку активност	39
1.3.2. Стерни утицаји на биолошку активност	42
1.3.3. Утицај липофилности на биолошку активност	43
1.4. Микроталасна синтеза	45
1.4.1. Природа микроталасног зрачења и механизам загревања	46
1.4.2. Поређење конвенционалног и микроталасног загревања	48
2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО	53
2.1. Општи поступак синтезе <i>N</i> -арил-2,2-дисупституисаних сукцинимида	54
2.1.1. Синтеза 2-етил-2-метилсукцинске киселине	54
2.1.2. Синтеза 2-фенил-2-метилсукцинске киселине	56
2.1.3. Синтеза 2-(4-хлорфенил)-2-метилсукцинске киселине	57
2.1.4. Микроталасна синтеза <i>N</i> -арил-2,2-дисупституисаних сукцинимида	59
2.2. Методе карактеризације испитиваних једињења	68
2.3. Методе квантохемијских израчунавања	69

2.4. Одређивање антимикробне активности	69
2.4.1. Антибактеријска и антифугална активност	69
3. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА	73
3.1. UV-Vis спектрална анализа <i>N</i> -арил-2,2-дисупституисаних сукцинимиди у различитим растварачима	73
3.2. Квантнохемијска анализа конформационих и електронских карактеристика <i>N</i> -арил-2,2-дисупституисаних сукцинимиди	87
3.2.1. Конформациона стабилност <i>N</i> -(3- и 4-супституисаних фенил)-2-етил-2-метил сукцинимиди.....	87
3.2.2. Конформациона стабилност <i>N</i> -(3- и 4-супституисаних фенил)-2-фенил-2-метил сукцинимиди.....	90
3.2.3. Вибрациона и NMR спектрална анализа <i>N</i> -фенил-2-фенил-2-метилсукцинимиди.....	96
3.2.4. Поређење експерименталних и израчунатих вредности.....	103
3.2.5. Електронска анализа.....	103
3.2.6. Молекуларни електростатички потенцијал.....	109
3.3. Биолошка активност <i>N</i> -арил-2,2-дисупституисаних сукцинимиди.....	112
3.3.1. Мултипараметарска оптимизација молекулских дескриптора деривата сукцинимиди и предвиђање њихове активности	112
3.3.2. Експериментално одређивање антимикробне активности <i>N</i> -арил-2,2-дисупституисаних сукцинимиди	120
4. ЗАКЉУЧАК.....	132
5. ЛИТЕРАТУРА.....	137

СПИСАК СКРАЋЕНИЦА И СИМБОЛА

- AIDS–Синдром стечене имунодефицијенције (енгл. Acquired Immune Deficiency Syndrome)
- GABA– γ -аминобутерне киселине
- DFT–Теорија функционалне густине (енгл. Density Functional Theory)
- ED₅₀ – Средња ефективна доза (лека)
- IC₅₀–Концентрација лека која изазива 50% инхибиције
- ICT–Интрамолекулски трансфер наелектрисања (енгл. Intramolecular Charge Transfer)
- ИНТ - [2-(4јодофенил)-3-(4-нитрофенил)-5-фенилтетразолијум хлорид
- LD₅₀ - Орална токсичност медикамента
- log *P*–Подеони коефицијент (параметар липофилности који описује расподелу супстанци у систему *n*-октанол/вода)
- log *D* - Дистрибуциони коефицијент,
- log *S*- Коефицијент солубилности
- LUMO - Најнижа непопуњена молекулска орбитала (енгл. Lowest Unoccupied Molecular Orbital)
- MIC - Минималне инхибиторне концентрације
- MFC - Минималне фунгицидне концентрације
- MBC - Минималне бактерицидне концентрације
- MES- Максимални електрошок тест - (енгл. maximal electroshock seizure)
- MR - Моларна рефрактивност
- MAOC - Микроталасно-стимулисана органске синтезе (microwave-assisted organic synthesis),
- MEP - Молекулски електростатички потенцијал
- NMR–Нуклеарна магнетна резонанца
- PI - Заштитни индекс (TD₅₀/ ED₅₀)
- PES - Површина потенцијалне енергије (енгл. Potential energy surface)
- PASS - Online програм (енгл. Prediction of Activity Spectra for Substances)
- PSA - Поларна површина
- SAR - Корелација структуре и активности (енгл. Structure Activity Relationship)
- scPTZ –Субкутални пентилентетразол тест
- ТТ- Температура топљења

TOX - Ротациони тест - (енгл. neurological toxicity test)

TD₅₀ - Средња доза токсичности

ТБ - Туберкулоза

scPTZ тест - Пентилентетразолски тест

UV-Vis - Ултраљубичасто–видљива област

FAS II - Биосинтези масних киселина типа II

FT-IR - Инфрацрвена спектроскопија

FMO - Граничне молекулске орбитале (енгл. Frontier Molecular Orbitals)

HOMO - Највиша попуњена молекулска орбитала (енгл. Highest Occupied Molecular Orbital)

HBD - Атомска група која даје протон при успостављању водоничне везе (енгл. *Hydrogen-Bonding Donor*)

HDAC - Ензим Хистонске деацеилазе

ЦНС- Централни нервни систем

QSAR - Квантитативна корелација структуре и активности (енгл. Quantitative Structure Activity Relationship)

QSPR - Квантитативна корелација својства и активности (енгл. Quantitative Structure Property Relationship)

QSTR - Квантитативна корелација токсичности и активности (енгл. Quantitative Structure Toxicity Relationship)

СПИСАК СЛИКА

Слика 1.1. Структурна формула имида (општа) (а) и сукцинимида (б).....	4
Слика 1.2. Вибрациони модалитети (савијање и увртање) прстена сукцинимида.....	6
Слика 1.3. <i>N</i> -(2-, 3- и 4-нитрофенил) деривати сукцинимида.....	6
Слика 1.4. Просторни аранжман <i>N</i> -(2-нитрофенил)сукцинимида.....	7
Слика 1.5. Део кристалне решетке молекула <i>N</i> -(2-нитрофенил)сукцинимида.....	7
Слика 1.6. Просторни аранжман <i>N</i> -(2-пиридил)-3,3-дифенилсукцинимида.....	8
Слика 1.7. Етосукцинимид.....	10
Слика 1.8. Метосукцинимид.....	11
Слика 1.9. Фенсукцинимид.....	12
Слика 1.10. Резонанционе структуре општих имида.....	14
Слика 1.11. Активни метаболит <i>N</i> -десметилметосукцинимид.....	21
Слика 1.12. 1-(4-метил-2-пиридинил)-3-циклохексилпиридилин-2,5-дион.....	23
Слика 1.13. Структуре серије синтетизованих једињења.....	25
Слика 1.14. <i>N</i> -((4-метилпиперазин-1-ил)-метил)-3-(1-фенилетил)-пиридилин-2,5-дион.....	25
Слика 1.15. Општа структура серије нових молекула.....	26
Слика 1.16. 2-(2,5-диоксопиридилин-1-ил)- <i>N</i> -фенилпропанамид.....	26
Слика 1.17. 1-((4-(3-хлорфенил)пиперазин-1-ил)метил)-3-метил-3-фенилпиридилин-2,5-дион и његов 3,4-дихлор аналог.....	27
Слика 1.18. <i>N</i> -((морфолин-1-ил)метил)-3-бензхидрилпиридилин-2,5-дион.....	28
Слика 1.19. 3-(9Н-флуорен-9-ил)пилоридин-2,5-дион.....	29
Слика 1.20. Деривати 3-(9Н-флуорен-9-ил)пилоридин-2,5-диона.....	29
Слика 1.21. Структура 1-бензоил-3-(9Н-флуорен-9-ил)пиридилин-2,5-диона.....	30
Слика 1.22. Једињење 1-фенил-3-(4Н-1,2,4-триазол-3-илсулфанил)пиридилин-2,5-дион.....	31
Слика 1.23. <i>N</i> -супституисни деривати сукцинимида.....	34
Слика 1.24. Сукцинимидхидроксаминске киселине.....	35

Слика 1.25. Трифлуорометилловани моно- и бициклични сукцинимида	36
Слика 1.26. <i>N</i> -супституисани-2-фенилсукцинимида	44
Слика 1.27. Диполни поларизациони механизам (А) и механизам јонске кондукције (В)	47
Слика 1.28. Поређење конвенционалног и микроталасног загревања реакционе смеше	49
Слика 1.29. Микроталасно-стимулисано загревања метанола у <i>Anton Paar Monowave 300</i>	49
Слика 1.30. Приказ загревања код моно-модног (А) и мулти-модног (В) микроталасног реактора	51
Слика 1.31. <i>Anton Paar Monowave 300</i> моно-модни микроталасни реактор и реакциони судови намењени за рад у микроталасној пећи	51
Слика 1.32. <i>Anton Paar Synthos 3000</i> са ротором капацитета загревања 48 реакционих смеша паралелно или четири SiC плоче (4 x 20 узорака).	52
Слика 2.1. Деривати сукцинимида синтетизовани у овом раду (R=H, OH, OCH ₃ , CH ₃ , COOH, Cl, Br, F, I, CN, NO ₂)	53
Слика 3.1. UV-Vis спектри <i>N</i> -(4-метоксифенил)-2-етил-2-метилсукцинимида A2 у свим испитиваним растварачима	76
Слика 3.2. UV-Vis спектри <i>N</i> -(4-нитрофенил)-2-етил-2-метилсукцинимида A12 у свим испитиваним растварачима	76
Слика 3.3. UV-Vis спектри једињења A2 , A4 и A12 у метанолу	77
Слика 3.4. UV-Vis спектри једињења A2 , A4 и A12 у 2-пропанолу	77
Слика 3.5. Веза између ν_{\max} са σ_p константама за серију A1-A12 у свим растварачима	80
Слика 3.6. Веза између ν_{\max} са σ_p^+ константама за серију A1-A12 у свим растварачима	80
Слика 3.7. UV-Vis спектри серије <i>N</i> -(3- и 4-супституисаних фенил)-2-фенил-2- метилсукцинимида (B1-B12) у етанолу	83
Слика 3.8. UV-Vis спектри серије <i>N</i> -(3- и 4-супституисаних фенил)-2-(4-хлорфенил)- 2-метилсукцинимида, (B1-B10) у етанолу	83
Слика 3.9. Корелација ν_{\max} са σ_p за <i>p</i> -супституисане деривате серије сукцинимида B1-B10 у метанолу, етанолу и ацетонитрилу	85

Слика 3.10. Корелација v_{\max} са $\sigma_{p/m}$ за деривате серије (B1-B12) у етанолу.....	87
Слика 3.11. Дијаграм потенцијалне енергије за ротацију етил-групе, конформација са торзионим углом фенил-групе од $\sim 43^\circ$ (горе) и $\sim 136^\circ$ (доле).....	89
Слика 3.12. Најстабилнија конформација једињења A4 добијена V3LYP методом...	89
Слика 3.13. Површина потенцијалне енергије за ротацију фенил-групе у положају 2 у вакуму (црвено) и етанолу (плаво) добијена методом V3LYP/6-311G(d,p) за угао торзије од $\sim 44^\circ$	91
Слика 3.14. Површина потенцијална енергија за ротацију фенил-групе у положају 2 у вакуму (црвено) и етанолу (плаво) добијена методом V3LYP/6-311G(d,p) за угао торзије од $\sim 136^\circ$	92
Слика 3.15. Геометрија свих стабилних конформера за једињење B4 добијена V3LYP методом.....	93
Слика 3.16. Експериментални а) и израчунати б) инфрацрвени спектри једињења B4	96
Слика 3.17. Нумерисање атома у једињењу B4	97
Слика 3.18. ^1H NMR спектар једињења B4 у DMSO- d_6	102
Слика 3.19. ^{13}C NMR спектар једињења B4 у DMSO- d_6	102
Слика 3.20. НОМО и LUMO молекулске орбитале са њиховим енергијама и енергетским разликама за једињења A2 , A4 , A8 и A12 у вакуму.	104
Слика 3.21. НОМО и LUMO молекулске орбитале за једињења B2 , B4 , B10 и B12	108
Слика 3.22. Мапе електростатичких потенцијала <i>N</i> -фенил-2-етил-2-метилсукцинимиде (A4) и <i>N</i> -(4-бромофенил)-2-етил-2-метилсукцинимиде (A8) у вакуму.....	109
Слика 3.23. Мапа молекулског електростатичког потенцијала и контурна мапа <i>N</i> -(4-бромофенил)-2-етил-2-метилсукцинимиде (A8) у вакуму	110
Слика 3.24. Мапа електростатичког потенцијала <i>N</i> -(4-бромофенил)-2-етил-2-метилсукцинимиде (A8) у вакуму	111
Слика 3.25. Мапе молекуларних електростатичких потенцијала испитиваних молекула (осим за A4 и A8) у вакуму	111
Слика 3.26. Антибактеријска активност једињења A2 и Ампицилина.....	123
Слика 3.27. Антибактеријска активност једињења A3 и Ампицилина.....	124

- Слика 3.28. Антифугулна активност за врсту *Aspergillus flavus* деривата сукцинимида серије **A1-A12**, Кетоконазола и Бифеназола 126
- Слика 3.29. Антифугална активност једињења **A8**, Кетоконазола и Бифеназола 127
- Слика 3.30. Антифугулна активност за врсту *Penicillium ochrocloron* деривата сукцинимида серије **A1-A12** и Кетоконазол 127
- Слика 3.31. Антифугулна активност за врсту гљивице *Trichoderma viride* за деривате сукцинимида све три серије који садрже хлор као супституент на фенилном језгру 130
- Слика 3.32. Антифугулна активност за врсту гљивице *Trichoderma viride* за деривате сукцинимида све три серије које садрже бром као супституент на фенилном језгру..... 131

СПИСАК ШЕМА

Шема 1.1. Резонанција у молекулу сукцинимиде.....	5
Шема 1.2. Синтеза сукцинимиде из сукцинанхидрида и амонијака.....	9
Шема 1.3. Синтеза сукцинимиде из ћилибарне киселине и амонијака	9
Шема 1.4. Синтеза <i>N</i> -алкил и <i>N</i> -арил деривата сукцинимиде из ћилибарне киселине и примарног арил- или алкиламина	9
Шема 1.5. Синтеза <i>N</i> -алкил и <i>N</i> -арил деривата сукцинимиде из анхидрида ћилибарне киселине и примарног арил- или алкиламина.....	9
Шема 1.6. Синтеза сукцинимиде из сукцидонитрила	10
Шема 1.7. Синтеза деривата сукцинимиде из амида акрилне киселине.....	10
Шема 1.8. Синтеза етосукцинимиде.....	11
Шема 1.9. Синтеза метосукцинимиде	12
Шема 1.10. Синтеза фенсукцинимиде.....	13
Шема 1.11. Хидролиза сукцинимиде у базној средини.....	15
Шема 1.12. Резонанционе структуре <i>N</i> -арилсукцинимиде	15
Шема 1.13. Базна хидролиза фталимида и реакција са фенилхидразином	15
Шема 1.14. Делимична хидролиза сукцинимиде у киселој средини	16
Шема 1.15. Реакција сукцинимиде са метаналом	16
Шема 1.16. Реакција сукцинимиде са 40% раствором метанала	17
Шема 1.17. Реакција сукцинимиде са фенилизоцијанатом.....	17
Шема 1.18. Реакција сукцинимиде са 1,2-диброметаном	17
Шема 1.19. Реакција сукцинимиде са тропил-бромидом.....	18
Шема 1.20. Реакција сребро-сукцинимиде са алкил-јодидом	18
Шема 1.21. Реакција сукцинимиде са <i>N</i> -бензилидинанилоном.....	18
Шема 1.22. Реакција сукцинимиде са изопропенил-естром стеаринске киселине.....	19
Шема 1.23. Реакција сукцинимиде са калцијум-оксихлоридом.....	19
Шема 1.24. Реакција натријум-сукцинимиде са β -пропиолактоном.....	19
Шема 1.25. Неактивни метаболит 2-(1-хидроксиетил)-2-метилсукцинимид.....	21

Шема 1.26. Добијање 2,2-дисупститусаног <i>N</i> -(2-пиридинил)сукцинимидом из супституисане сукцинске киселине и супституисаног 2-аминопиридина.....	23
Шема 1.27. Добијање <i>N</i> -фениламинопилодин-2,5-диона у реакцији дисупституисане сукцинске киселине са одговарајућим супституисаним фенилхидразинама	24
Шема 1.28. Синтеза 3-метил- и 3,3-дисупституисаних-2,5-диоксопилодин-1-илацетамидом.....	27
Шема 1.29. Синтеза 1,3- супституисаних пилодин-2,5-диона.....	28
Шема 1.30. Синтеза 1-фенил-3-(4Н-1,2,4-триазол-3-илсулфанил)пилодин-2,5-диона (R=Ph) и 1-(4-метоксифенил)-3-(4Н-1,2,4-триазол-3-илсулфанил)пилодин-2,5-диона (R=4-МеО-С ₆ Н ₄).....	31
Шема 1.31. Синтеза 3-(3,4-дихидроизохинолин-2(1Н)-ил)-1-фенилпилодин-2,5-диона (R=Ph) и 1-бензил-3-(3,4-дихидроизохинолин-2(1Н)-ил)пилодин-2,5-диона (R=СН ₂ Ph).....	31
Шема 1.32. Типови ароматских система које је изучавао Хамет	37
Шема 1.33. Реакција дисоцијације <i>мета</i> и <i>пара</i> супституисане бензоеве киселине у води.....	40
Шема 1.34. Кисела хидролиза естара	42
Шема 2.1. Синтеза 2-етил-2-метилсукцинске киселине.....	55
Шема 2.2. Синтеза 2-фенил-2-метилсукцинске киселине.....	56
Шема 2.3. Синтеза 2-(4-хлорфенил)-2-метилсукцинске киселине.....	58
Шема 2.4. Микроталасна синтеза <i>N</i> -арил-2,2-дисупституисаних сукцинимидом	59

СПИСАК ТАБЕЛА

Табела 1.1. Експериментално добијени IC_{50} у μM анализираних једињења на различитим ћелијским линијама.....	34
Табела 3.1. UV-Vis апсорпционе фреквенције <i>N</i> -(3- и 4-супституисаних фенил)-2-етил-2-метилсукцинимиди (A1-A12) у одабраним растварачима.....	75
Табела 3.2. Резултати корелације v_{max} са σ_p константама супституента серије сукцинимиди A1-A12	78
Табела 3.3. Резултати корелације v_{max} са σ_p^+ константама супституента серије сукцинимиди A1-A12	79
Табела 3.4. Апсорпциони максимуми серије <i>N</i> -(3- и 4-супституисаних фенил)-2-фенил-2-метилсукцинимиди (B1-B12), у одабраном сету растварача.....	82
Табела 3.5. Апсорпциони максимуми <i>N</i> -(3- и 4-супституисаних фенил)-2-(4-хлорфенил)-2-метилсукцинимиди (V1-V10) у одабраном сету растварача.....	82
Табела 3.6. Резултати корелације v_{max} са σ_p константама једињења серије сукцинимиди V1-V10	86
Табела 3.7. Електронске енергије (E_{HF}) и ZPE кориговане енергије (E_{ZPE}) у а.у., релативне енергије (E_R) у kcal/mol и ω свих конформера за једињење B4 добијене са B3LYP и M06-2X методама и 6-311G(d,p) основним сетом орбитала.....	95
Табела 3.8. Експерименталне и израчунате FT-IR (B3LYP/6-311G(d,p)) фреквенције за једињење B4	98
Табела 3.9. Израчуната и експериментална 1H и ^{13}C NMR хемијска померања (у односу на TMS у раствору DMSO) једињења B4	101
Табела 3.10. Енергије НОМО ($E_{НОМО}$) и LUMO (E_{LUMO}) молекулских орбитала, енергетске разлике (E_{gap}) у eV, торзиони угао θ у $^\circ$ и диполни моменти (μ) у D (Дебај) за испитивана једињења серије A сукцинимиди, у вакуму и етанолу као растварачима.....	105
Табела 3.11. Енергије НОМО ($E_{НОМО}$) и LUMO (E_{LUMO}) молекулских орбитала, енергетске разлике (E_{gap}) у eV, торзиони угао θ у $^\circ$ и диполни моменти (μ) у D (Дебај) за испитивана једињења серије A сукцинимиди, у THF, DMSO и води као растварачима.....	106
Табела 3.12. Молекулски дескриптори за једињења серије A1-A12	113
Табела 3.13. Молекулски дескриптори за једињења серије B1-B12	114
Табела 3.14. Молекулски дескриптори за једињења серије V1-V10	115

Табела 3.15. PASS предвиђање испитиваних сукцинимида Б1–Б12	116
Табела 3.16. Антибактеријска активност испитаних деривата сукцинимида серије А1-А12	122
Табела 3.17. Антифугулна активност деривата сукцинимида серије А1-А12	125
Табела 3.18. Антифугулна активност деривата сукцинимида серије Б1-Б12	129
Табела 3.19. Антифугулна активност испитаних деривата сукцинимида серије В1-В10	129

УВОД

У годинама брзог техничког прогреса и развоја информационах технологија, комбинаторна хемија је обезбедила приступ хемијским базама података у којима су веома заступљени хетероциклични системи, јер припадају класи једињења која су се показала корисним у медицинској хемији. Синтеза и дизајн молекула који се могу примењивати као терапеутски агенси су један од основних захтева који се постављају органској и медицинској хемије.

Сукцинимиди су веома важне структурне јединице у многим природним и биолошки активним једињењима, а неки од њих показују и значајну фармаколошку активност. У индустрији се деривати сукцинимиде користе као сировине за производњу синтетских полимера, активатора и стабилизатора, вулканизатора, мазива, оптичких и фотографских средства.

Деривати сукцинимиде су активна супстанца у антиконвулзивним лековима прве генерације као што су етосукцинимид (заронтин) и метосукцинимид (целонтин), као и нових лекова као што су леветирацетам, бриварацетам и селетрацетам. Већ дуго се интензивно испитује утицај структуре једињења деривата сукцинимиде на њихову активност како би се потпуно утврдиле карактеристика општег фармаколошког модела. Многа истраживања су показала да су водоничне интеракције и липофилност молекула изузетно важни за дејство сукцинимиде у току њиховог проласка кроз организам до места деловања као и за везивање лека за одговарајуће рецепторе. На основу тога предложени су многи фармаколошки модели који садрже атоме или атомске групе за интеракцију водоничним везама уз присуство електронегативне групе са великим хидрофобним делом молекула. Као једноставан модел за липофилно-хидрофобну равнотежу и интеракцију преко водоничних веза, у систему октанол-вода, који представља апроксимацију ћелијске мембране, показао се подеони коефицијент.

Користећи раније студије односа структуре и активности (SAR), експериментално је утврђено да многи 1,3-дисулституисани деривати пирролидин-2,5-диона (сукцинимиде), показују антиконвулзивну активност већу од комерцијално доступних лекова. Такође, многи деривати сукцинимиде показали су аналгетско дејство и локална анестетичка својства.

Хетероциклична структура представља основу многих антитуморских лекова, као и антибиотика, који се увелико примењују у хемотерапијској контроли бројних карцинома, а такође су веома ефикасни код карцинома који се постепено

развијају. Клинички значај таквих лекова, утицао је на развој нових антипролиферативних агенаса код којих је задржано хетероциклично језгро из структура лекова. Експериментална истраживања су утврдила да многи *N*-фенил деривати сукцинимиде показују антипролиферативну активност.

У оквиру овог рада, са циљем испитивања утицаја структуре на биолошку активност, синтетисане су три различите серије једињења деривата сукцинимиде (пиролдин-2,5-диона):

- *N*-(3- и 4-супституисани фенил)-2-етил-2-метилсукцинимиди,
- *N*-(3- и 4-супституисани фенил)-2-фенил-2-метилсукцинимиди,
- *N*-(3- и 4-супституисани фенил)-2-(4-хлорфенил)-2-метилсукцинимиди.

Свих 34 једињења су први пут синтетисана према измењеним поступцима наведеним у литератури, применом микроталасне синтезе, и потпуно су структурно окарактерисана применом одговарајућих метода (температура топљења, FT-IR, ¹H NMR и ¹³C NMR). Солватохромна својства су детаљно проучавана одређивањем UV-Vis апсорпционих максимума у сету растварача различите поларности. Утицај супституената на солватохромизам једињења, анализиран је простом Хаметовом (Hammett) једначином.

Урађени су квантохемијски прорачуни, коришћењем програмског пакета Gaussian 09 који у оквиру 6-311++G(d,p) основног сета орбитала садржи две методе (B3LYP и M06-2X). У циљу одређивања који од проучаваних деривата синтетизованих сукцинимиде, поседује фармакокинетичку активност, њихова структурна својства су тестирана емпиријским „правилом пет“ које је предложио Липински (параметри израчунати применом програма Molinspiration и SwissADME).

Експериментално је одређена антимикуробна активност методом микродилуције. Одређене су минималне инхибиторне (MIC), минималне фунгицидне (MFC) и минималне бактерицидне концентрације (MBC) синтетисаних сукцинимиде да би се утврдило како стерна и електронска својства супституената у положају 2 сукцинимидног прстена и на атому азота, утичу на биолошку одрживост бактерија и гљивица.

Утицај структурних параметара на биолошку активност проучаваних сукцинимиде, одређен експерименталним методама, упоређен је са одговарајућим подацима добијеним рачунским техникама.

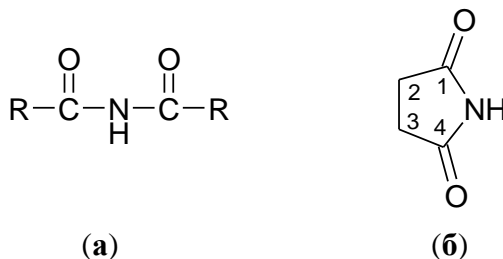
Добијени резултати у овом раду, даће допринос проширивању фундаменталног знања о синтези и структури потенцијално биолошки активних

деривата сукцинимиди. Кроз проучавање добијених структурних и биолошких података омогућиће се боље разумевање односа структуре и активности синтетизованих молекула, боље разумевање механизма њиховог деловања, као и евентуално моделовање нових деривата сукцинимда.

1. ТЕОРИЈСКИ ДЕО

1.1. Сукцинимиди - структура, карактеристике и реактивност

Имиди киселина су диацилни деривати амонијака. То су поларна једињења, растворна у поларним растварачима (нпр. вода, етанол). Водоник на N-атому у структури сукцинимидида може да учествује у грађењу водоничних веза



Слика 1.1. Структурна формула имидида (општа) (а) и сукцинимидида (б).

Сукцинимид (Слика 1.1) или пирролидин-2,5-дион (IUPAC), је цикличан имид ћилибарне киселине. Ћилибарна или сукцинска киселина се може изоловати из ћилибара (лат. succinus), природне смоле по којој је и добила име. Први пут сукцинимид је синтетисао Аркет 1835. године, реакцијом анхидрида сукцинске киселине и амонијака [1,2].

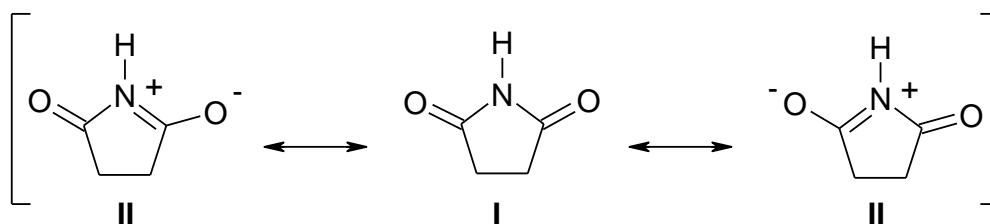
Најзначајнија примена деривата сукцинимидида је у медицини где се користе као активне супстанце у антиконвулзивним лековима (антиепилептици) као што су Целонтин[®], Милонтин[®] и Заронтин[®] [3,2].

Сукцинимиди се користе у индустрији као активатори, стабилизатори, вулканизатори, мазива, оптичка и фотографска средства и растварачи [4,2]. Велику примену имају као синтетички полимери (кополимер *N*-винилсукцинимидида и етилена) и у индустријским процесима посребравања. Користе се као адитиви за моторна уља, сукцинимидни дисперзанти, који на принципу површински активне супстанце, заробљавају честице (чврсте продукате сагоревања) и продужавају век трајања мотора.

Деривати сукцинимидида су биолошки и фармаколошки активна једињења [5-7,2]. Користе се као фунгициди, инсектициди и као средства за раст биљака.

1.1.1. Структура сукцинимида

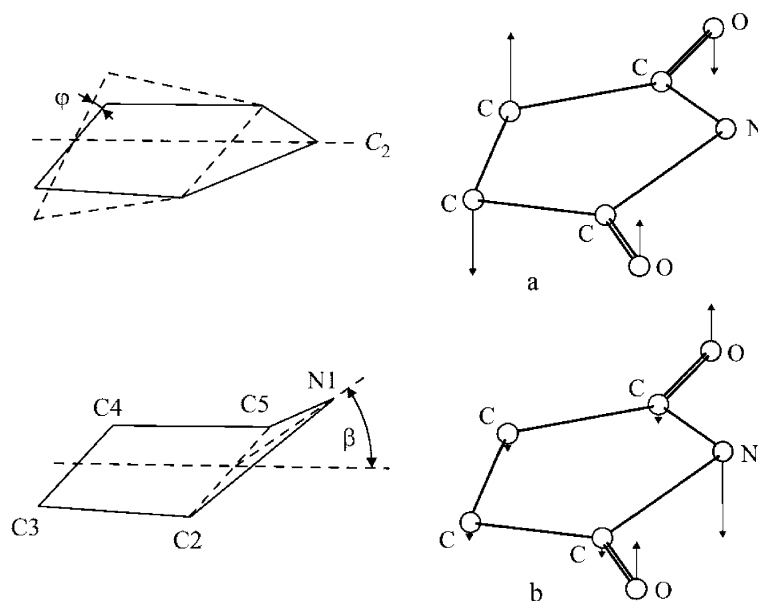
Молекул сукцинимида је резонанциони хибрид три граничне резонанционе структуре (Шема 1.1) [2,8,9]. Допринос еквивалентних граничних структура са раздвојеном шаржом (II) је од значаја за поларизацију молекула. Могућност интермолекуларског водоничног везивања директна је последица поларизације молекула.



Шема 1.1. Резонанција у молекулу сукцинимида

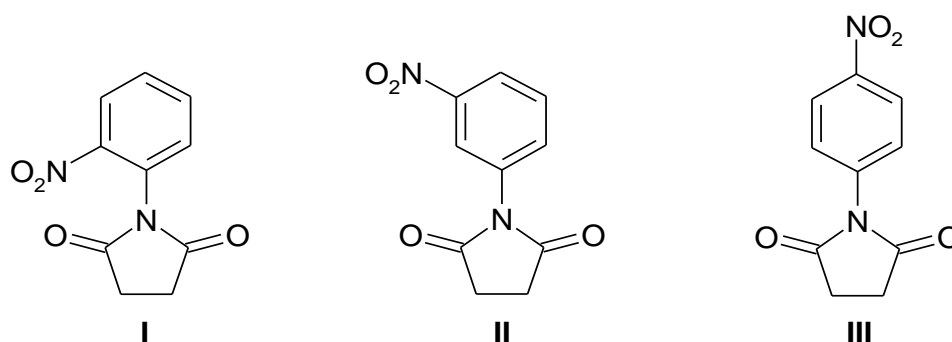
Кристалографска испитивања структуре молекула сукцинимида су показала да молекул није планаран с обзиром да метилenske-группе одступају за 5 nm изнад равни прстена. У кристалном стању, молекули сукцинимида се повезују интермолекуларским водоничним везама типа N–H----O (измерена дужина везе је 28,5 nm) [5, 2].

Еластичност молекула сукцинимида је проучавана применом квантнохемијских метода (*ab initio* израчунавања) и метода дифракције електрона у гасној фази, на основу података из вибрационих спектра [10]. Анализа вибрационих спектра (за молекулски модел C_{2v} симетрије) је показала да су савијање и увртање прстена два постојећа померања прстена изнад равни (Слика 1.2) [2,10].



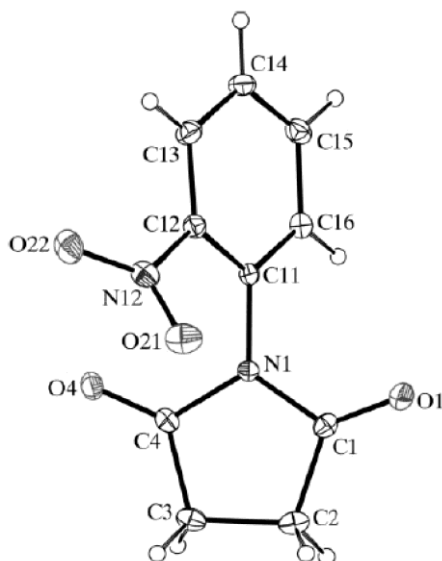
Слика 1.2. Вибрациони модалитети (савијање и увртање) прстена сукцинимидида

Проучавањем структуре три изомерна *N*-нитрофенил деривата сукцинимидида (Слика 1.3), установљено је да је прстен сукцинимидида планаран код *N*-(2- и 3-нитрофенил) деривата (структуре **I** и **II**), док код *p*-нитродеривата заузима конформацију полу столице. Као последица стерних и електронских ефеката (индуктивни и резонанциони) нитро-групе, као супституента у различитим положајима на фенилном језгру, торзиони угао између прстена сукцинимидида и арил-групе има различите вредности код изомера **I**, **II** и **III** и износи $57,4^\circ$, $46,0^\circ$ и $39,1^\circ$ [11,2].

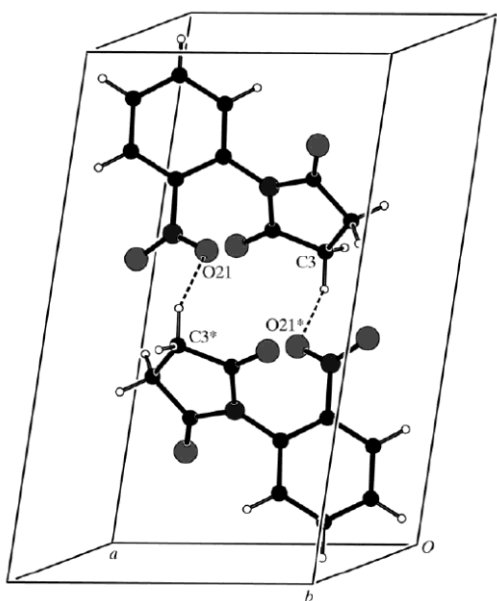


Слика 1.3. *N*-(2-, 3- и 4-нитрофенил) деривати сукцинимидида

Доминантне интеракције које се јављају код наведених изомера су водоничне везе типа: C–H----O и C–H---- π (арен). Такође, јављају се и друге интеракције, што условљава различити просторни распоред сва три изомера. Просторни аранжман *N*-(2-нитрофенил)сукцинимидида приказан је на Сликама 1.4 и 1.5 [11,2], а такође су приказане доминантне интеракције код димерне структуре (Слика 1.5).



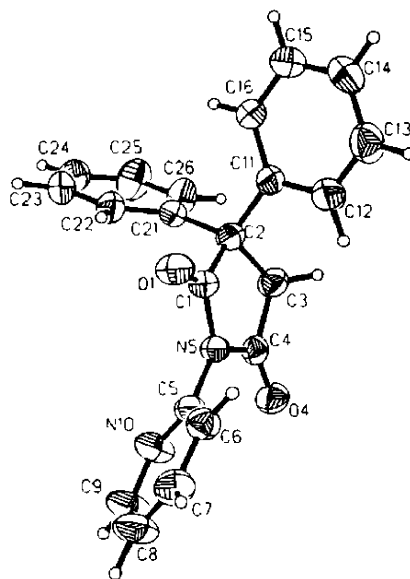
Слика 1.4. Просторни аранжман *N*-(2-нитрофенил)сукцинимида



Слика 1.5. Део кристалне решетке молекула *N*-(2-нитрофенил)сукцинимида

Испитивањем структуре *N*-(2-пиридил)-3,3-дифенилсукцинимида *X*-зрацима, установљено је да прстен сукцинимида заузима тзв. конформацију отвореног писма, са *C2* атомом који се налази изван равни одређене следећим атомима: *C1*, *C3*, *C4* и *N5*. Угао између два фенилна језгра је скоро прав и износи $88,8^\circ$. Два фенилна језгра нагнута су над сукцинимидни прстен са диедарским углом који износи $89,3^\circ$ и $74,5^\circ$,

за сваки прстен посебно. Угао нагиба пиридилног прстена у односу на сукцинимидни износи $57,3^\circ$ (Слика 1.6) [12,2].



Слика 1.6. Просторни аранжман *N*-(2-пиридил)-3,3-дифенилсукцинимида

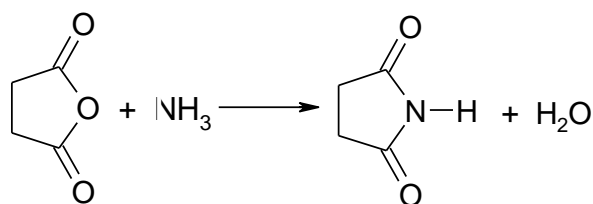
1.1.2. Физичка својства сукцинимида

Сукцинимид је бела или безбојна кристалана супстанца температуре топљења $125-126^\circ\text{C}$. Раствара се у води и етанолу. Хидрофобни карактер деривата сукцинимида расте са увођењем алкил-, односно арил-група у прстен, а самим тим долази до повећања липофилног карактера молекула [2].

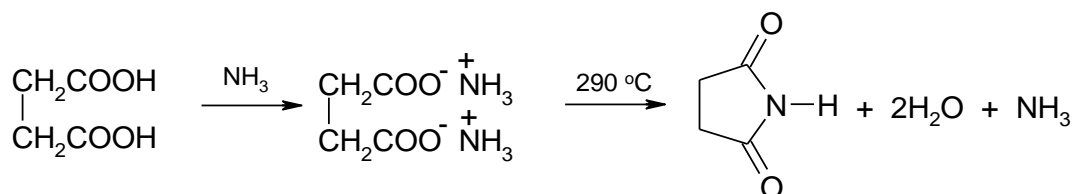
Увођење алкил супституената у положаје 2 и 3 доводи до смањења температуре топљења као последица смањења интензитета или немогућности интермолекулског водоничног везивања [13,2]. Тако на пример, температура топљења *N*-метилсукцинимида износи $67-69^\circ\text{C}$, температура топљења *N*-фенил-2-метилсукцинимида износи $105-108^\circ\text{C}$ а температура топљења *N*-фенил-2-етил-2-метилсукцинимида износи $53-54^\circ\text{C}$.

1.1.3. Изградња скелета сукцинимида

Сукцинимид (бутанимид) и неки његови деривати се добијају реакцијом бутан-дикиселине (ћилибарне или сукцинске киселине), односно, њених деривата (хлорида, естара и анхидрида) са амонијаком или примарним аминима (Шеме 1.2 и 1.3) [1,2,14].

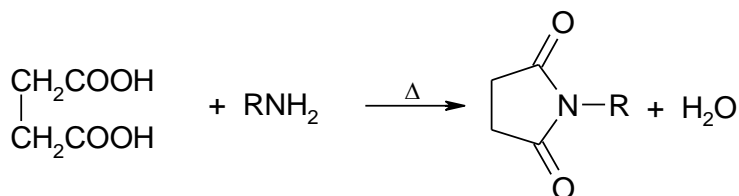


Шема 1.2. Синтеза сукцинимида из сукцинанхидрида и амонијака

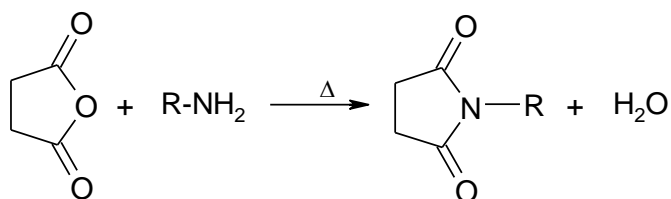


Шема 1.3. Синтеза сукцинимида из ћилибарне киселине и амонијака

N-алкил и *N*-арил деривати сукцинимида могу се добити реакцијом ћилибарне киселине са примарним аминима [14a] (Шеме 1.4 и 1.5).

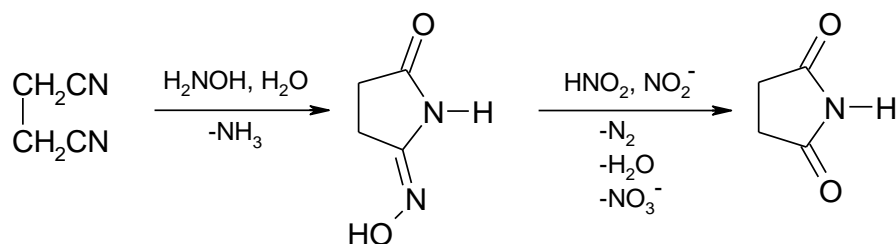


Шема 1.4. Синтеза *N*-алкил и *N*-арил деривата сукцинимида из ћилибарне киселине и примарног арил- или алкиламина



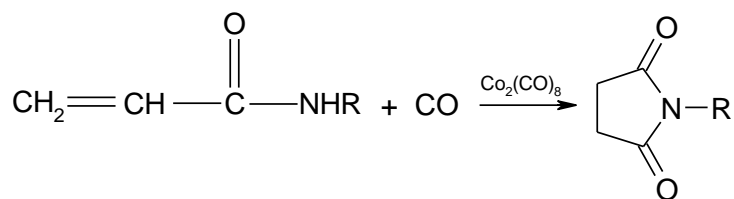
Шема 1.5. Синтеза *N*-алкил и *N*-арил деривата сукцинимида из анхидрида ћилибарне киселине и примарног арил- или алкиламина

Сукцинонитрил може да реагује са хидроксиламином у топлом раствору алкохола и воде, при чему настаје 5-хидроксиимино-2-пиролидон, који третиран са натријум-нитритом у киселом воденом раствору даје сукцинимид (Шема 1.6) [4,2]:



Шема 1.6. Синтеза сукцинимида из сукцидонитрила

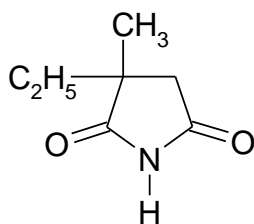
N-алкил и *N*-арил деривати се, такође, могу добити реакцијом амида акрилне киселине и угљен-моноксида, у присуству $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ као катализатора (Шема 1.7) [7,2]:



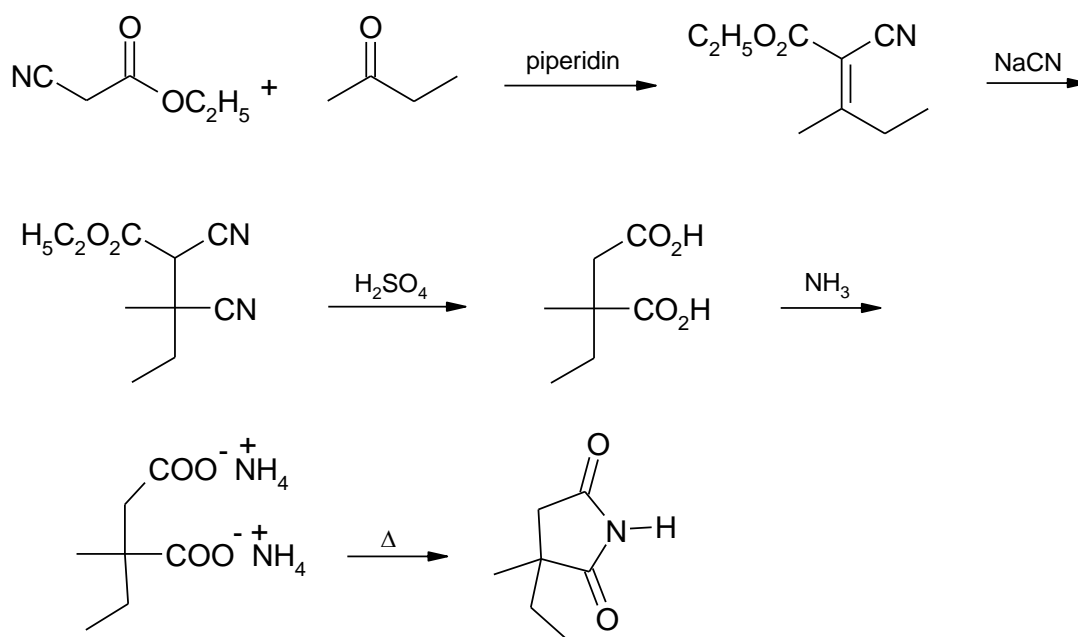
Шема 1.7. Синтеза деривата сукцинимида из амида акрилне киселине

1.1.3.1. Добијање деривата сукцинимида са антиконвулзивним својствима

Етосукцинимид (Заронтин[®]) (Слика 1.7) настаје у реакцији одговарајућег кетона са цијано-естрима, у неколико фаза [15,2]. Прва фаза реакције је реакција кондензације између етил-цијаноацетата и 2-бутанона, а као производ настаје етил-2-цијано-3-метил-2-пентеноат. Друга фаза подставља увођење цијано-групе у положај 3, при чему као производ настаје етил-2,3-дицијано-3-метилпентаноат. У наредној фази долази до хидролизе дицијано-естра, при чему настаје 2-етил-2-метилћилибарана киселина. У завршној фази супституисана ћилибарна киселина реагује са амонијаком градећи диамонијумову со, која на повишеној температури циклизацијом даје 2-етил-2-метилсукцинимид, односно, етосукцинимид (Шема 1.8) [16,2].

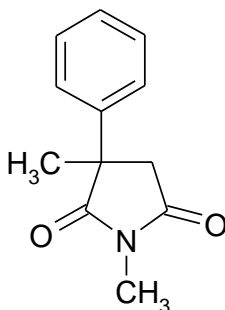


Слика 1.7. Етосукцинимид

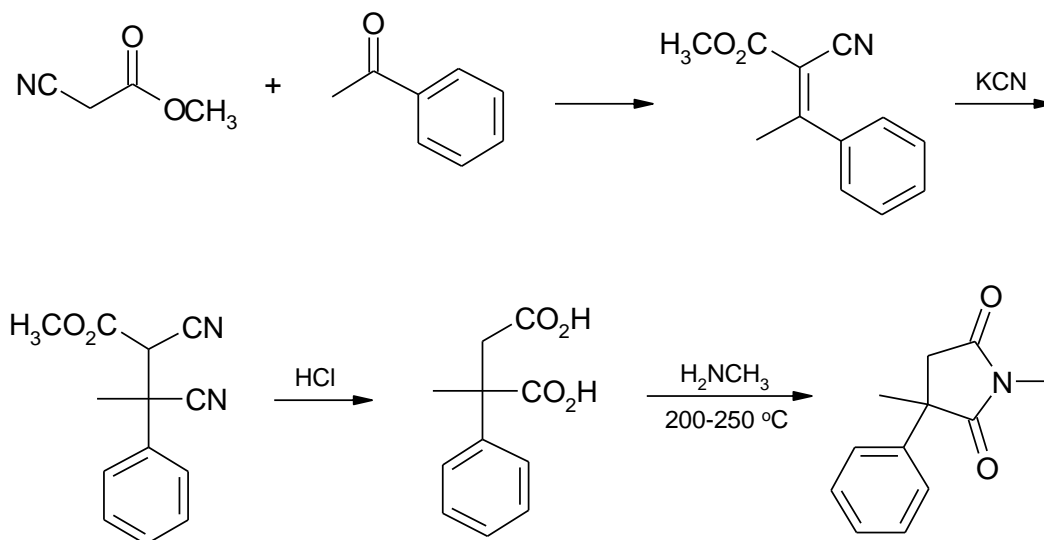


Шема 1.8. Синтеза етосукцинимида

Синтеза метосукцинимида (Целонтин[®]) (Слика 1.8) се одвија аналогно синтези етосукцинимида. Прва фаза реакције представља кондензацију метилцијаноацетата са ацетофеноном и настајање метил-2-цијано-3-фенил-2-бутеноата. У другој фази се уводи цијано-група у положај 3, при чему као производ настаје метил-2,3-дицијано-3-фенилбутаноат. У наредној фази долази до хидролизе дицијано-естра, при чему настаје 2-фенил-2-метилћилибарна киселина. У завршној фази реакције, супституисана ћилибарна киселина реагује са метиламином на повишеној температури, дајући циклични имид, односно, молекул *N*-метил-2-фенил-2-метилсукцинимида (метосукцинимида) [17, 18, 2] (Шема 1.9).

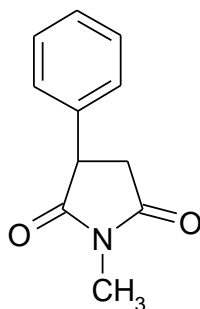


Слика 1.8. Метосукцинимид

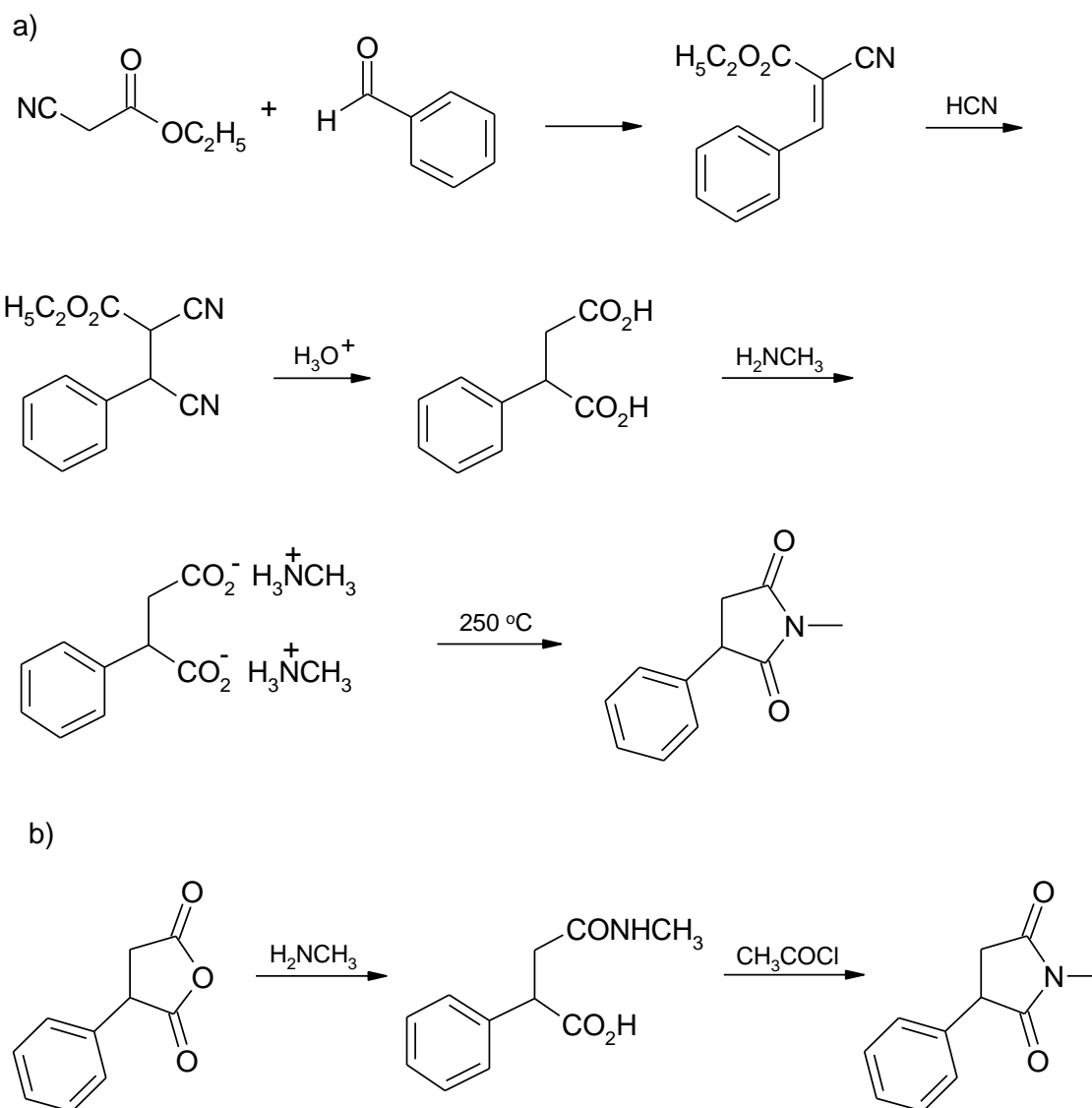


Шема 1.9. Синтеза метосукцинимида

Уопштено говорећи, синтеза **фенсукцинимида** (Милонтин[®]) (Слика 1.9) се одвија аналогно синтези етосукцинимида и метосукцинимида (Шема 1.10а). Могућа је модификација поступка синтезе (Шема 1.10) у смислу да се интермедијарна 2-фенилфенилбарна киселина прво преводи у анхидрид, а потом настали анхидрид реагује са метиламином дајући полуамид из кога циклизацијом у просутству ацетилхлорида настаје *N*-метил-2-фенилсукцинимид (фенсукцинимид) [17,18,2].



Слика 1.9. Фенсукцинимид



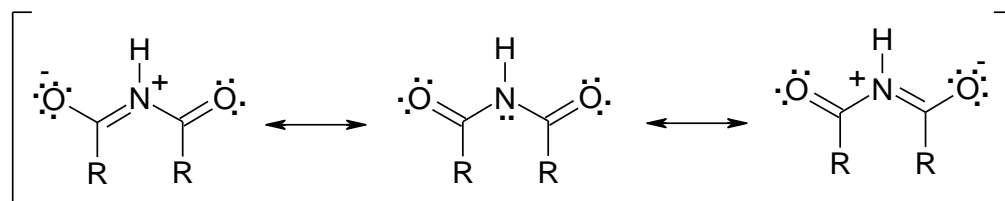
Шема 1.10. Синтеза фенсукцинимида

1.1.4. Хемијска својства сукцинимида

1.1.4.1. Киселост

У структури имида (азотови аналози анхидрида карбоксилних киселина), на атому азота се налази слободан електронски пар који је делимично делокализован на оба карбонилна кисеоника имидне-групе. Код имида је делокализација електронског пара са азота још већа него код амида, те они практично немају базни карактер. Киселост NH-групе обичних имида ($pK_a = 8,3$) је много већа него код обичних амида ($pK_a = 20$) [14b].

Имиди се могу представити као резонанциони хибрид следећих резонанционих структура:



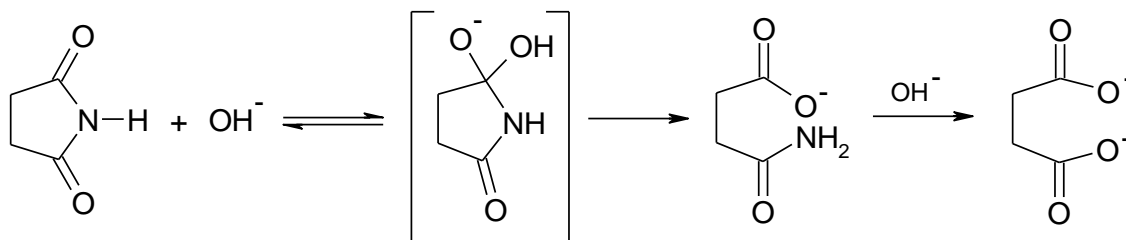
Слика 1.10. Резонанционе структуре општих имида

Киселост сукцинимиде је последица присуства атома водоника везаног за електронегативнији атом азота. NH-група се налази између две електрон-акцепторске карбонилне-групе (Шема 1.1), које својим негативним резонанционим ефектом смањују електронску густину на азоту те додатно повећавају киселост сукцинимиде [12,2]. Измерена рКа вредност сукцинимиде у води износи 9,35 [4,2].

Различити супституенти својим електронским и стерим ефектима мењају киселост основног молекула сукцинимиде. Познато је да се рКа вредност деривати сукцинимиде креће у интервалу 7-10 (измерено у 4% раствору етанол-вода) [4,2]. Присуство алкил-групе у положају 2 у прстену сукцинимиде, не утиче значајно на смањење киселости. Тако на пример, 2-етил-2-метилсукцинимид има рКа вредност 9,38. Фенил-група у положају 2, код 2-фенилсукцинимиде, повећава киселост, а вредност рКа износи 9,13 [13]. Увођење још једне фенилне-групе у положај 2, додатно повећава киселост сукцинимиде, при чему измерена вредност рКа износи 8,28 (у 4% раствору етанола и воде) [4,2]. Киселост 2-бензил-2-фенилсукцинимиде је незнатно мања у односу на 2,2-дифенилсукцинимид, рКа = 8,40 [4,2]. Присуство цијано-групе у положају 2 значајно повећава киселост молекула. Тако 2-цијано-3-фенилсукцинимид има рКа вредност 7,62, а 2-цијано-3,3-дифенилсукцинимид чак 5,18 што је у рангу карбоксилних киселина [4,2].

1.1.4.2. Хидролиза – отварање прстена

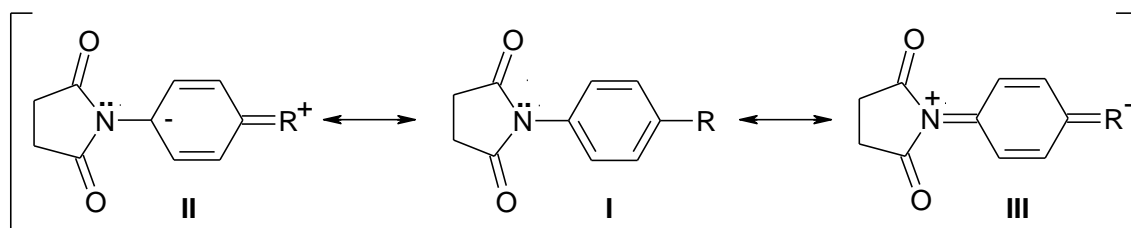
Сукцинимиди у реакцији са slabим базама као што су $\text{Ca}(\text{OH})_2$, $\text{Ba}(\text{OH})_2$ или PbO , у воденом раствору на повишеној температури, дају одговарајуће соли метала полуамида сукцинске киселине. Хидролиза полуамида у базној средини се наставља (Шема 1.11) и настају соли сукцинске киселине [4,2].



Шема 1.11. Хидролиза сукцинимида у базној средини

Код *N*-фенилсукцинимида, насталог супституцијом водоника NH-групе фенил-групом, при базној хидролизи је уочено повећање брзине отварања сукцинимидног прстена [4,2]. Узрок повећања брзине хидролизе је електрон-акцепторски ефекат фенил-групе који дестабилизује прстен имида, углавном због коњугације слободног електронског пара са атома азота и фенилног језгра [4].

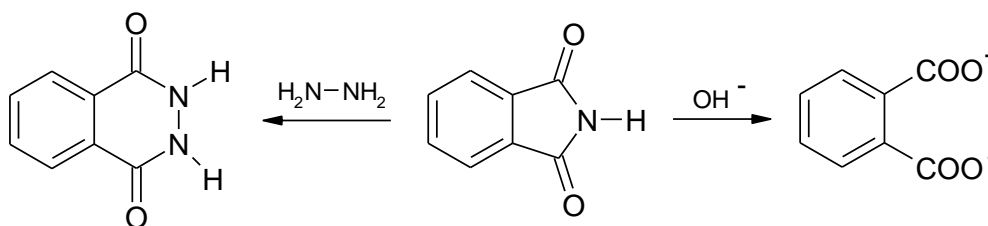
N-арилсукцинимиди могу се представити као резонанциони хибриди следећих граничних структура (Шема 1.12):



Шема 1.12. Резонанционе структуре *N*-арилсукцинимида

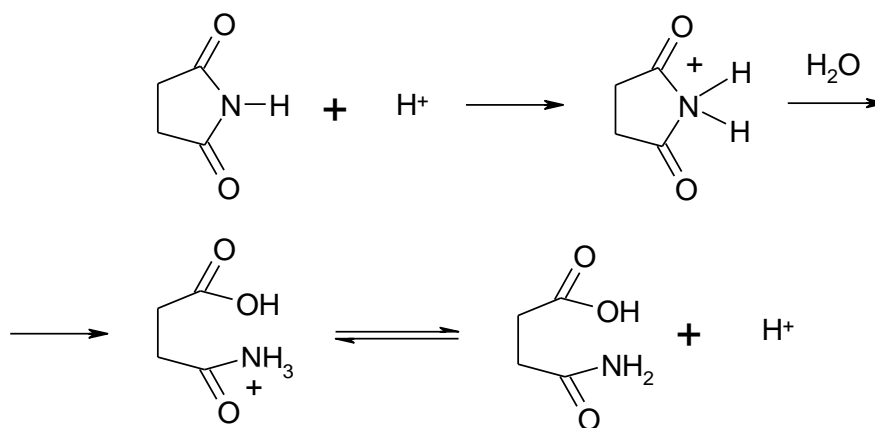
Електрон-акцепторски супституенти фаворизују структуру **III**, а електрон-донорски супституенти структуру **II** [2].

Базном хидролизом фталимида настаје со *орто*-фталне киселине. Реакцијом фталимида са хидразином се добија хидразид (Шема 1.13) [14а].



Шема 1.13. Базна хидролиза фталимида и реакција са фенилхидразином

У воденим растворима јаким минералних киселина, сукцинимида (и *N*-супституисани сукцинимида) потпуно хидролизују до сукцинске киселине и амонијака (или примарног амина). Као главни интермадијар настаје сукцинаминска киселина (Шема 1.14). Реакција хидролизе започиње протоновањем на азоту, затим следи нуклеофилни напад молекула воде (адисија) на карбонилни угљеник (спора фаза реакције). Депротоновањем на азоту настаје полуамид сукцинске киселине [4,19]. Његовом хидролизом се на крају добија ћилибарна киселина и амонијак (или примарни амин).

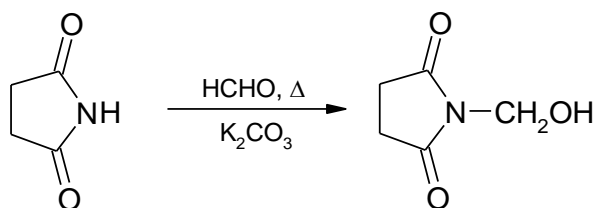


Шема 1.14. Делимична хидролиза сукцинимида у киселој средини

1.1.4.3. Реакције на атому азота

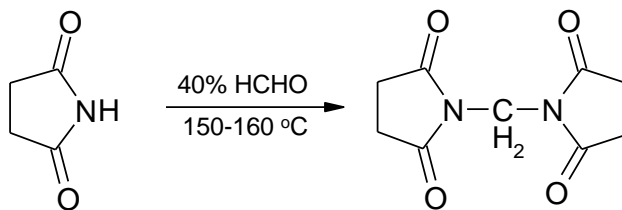
Реакције сукцинимида у којима долази до супституције имидног водоника су многобројне:

1. У кључалом метаналу, у присуству калијум-карбоната, сукцинимид даје *N*-хидроксиметилсукцинимид (Шема 1.15) [4,19].



Шема 1.15. Реакција сукцинимида са метаналом

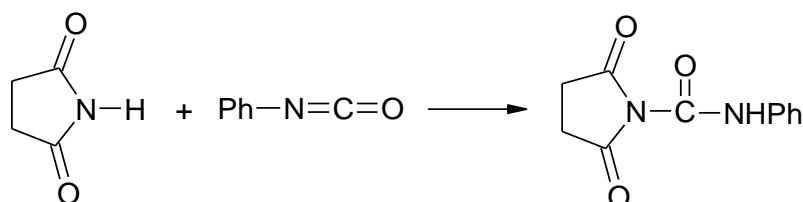
Реакцијом са 40% раствором метанала на температури од 150-160°C, настаје *N,N*-метилендисукцинимид (Шема 1.16) [4,19].



Шема 1.16. Реакција сукцинимида са 40% раствором метанала

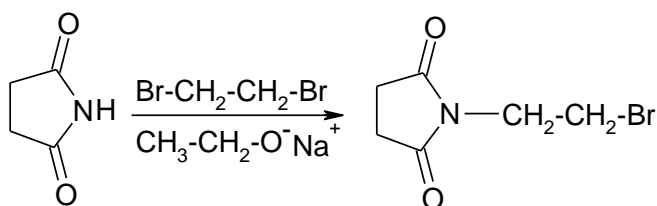
Сукцинимид реагује у еквимолском односу са метаналом и примарним ариламином дајући *N*-ариламинометилсукцинимид. У реакцији са алифатичним аминима, неопходно је користи два мола амина и метанала на један мол имида, при чему настаје бис(сукцинимидо)алкиламин. Кондензацијом сукцинимида са *N,N*-диетиламиноетанолом настаје *N*-(2-диетиламиноетил)сукцинимид [4,19].

2. Реакцијом сукцинимида са фенилизоцијанатом, у присуству толуена, настаје 1-сукцинил-3-фенилуреа (Шема 1.17) [4,2].



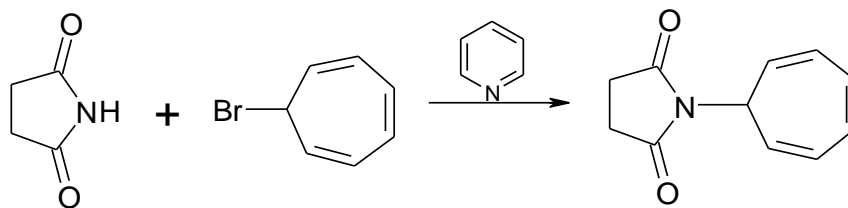
Шема 1.17. Реакција сукцинимида са фенилизоцијанатом

3. *N*-Алкиловањем сукцинимида са 1,2-диброметаном, у присуству натријум-етоксида, настаје *N*-(2-брометил) дериват. Аналогно, у реакцији са 1,3-дибромпропаном се добија *N*-(3-бромпропил) дериват (Шема 1.18) [4,19].



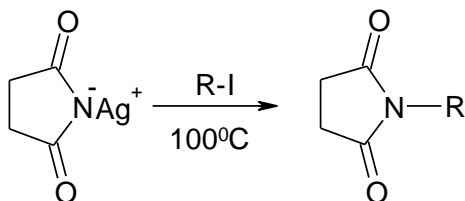
Шема 1.18. Реакција сукцинимида са 1,2-диброметаном

N-тропил дериват сукцинимида настаје (у добром приносу) у реакцији сукцинимида са 7-бром-1,3,5-циклохептатриеном, у пиридину (Шема 1.19) [4,19].



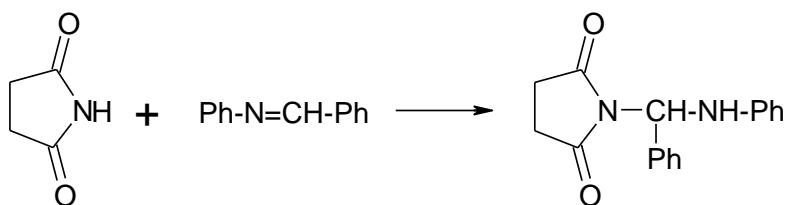
Шема 1.19. Реакција сукцинимида са тропил-бромидом

У одсуству влаге, среброве соли имида реагују са алкил- и арил-халогенидима при чему долази до *N*-алкиловања (*N*-ариловања) [4]. Пример је реакција сребро-сукцинимида са алкил-јодидом (на 100 °C) (Шема 1.20) [4,19]. Реакција сребро-сукцинимида са јодетаном у хлороформу је спора, а као главни производ настаје 2-етоксипирол. Производ *N*-етиловања детектован је у веома малој количини.



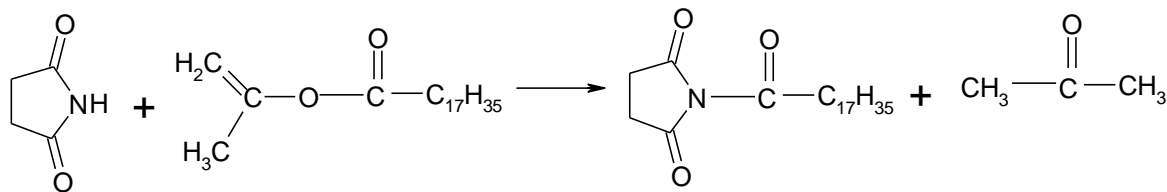
Шема 1.20. Реакција сребро-сукцинимида са алкил-јодидом

4. *N*-бензилидинанилин реагује са сукцинимидом дајући као производ *N*-(α -анилинобензил)сукцинимид (Шема 1.21) [4,19].



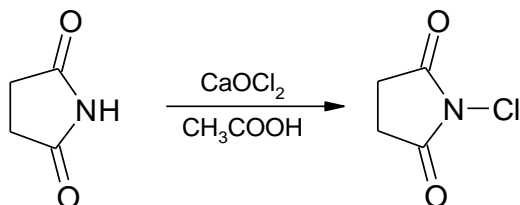
Шема 1.21. Реакција сукцинимида са *N*-бензилидинанилоном

5. На повишеној температури у реакцији са анхидридом етанске киселине, долази до *N*-ацетиловања [4]. На температури изнад 150-175°C, у присуству киселине као катализатора, долази до кондензације сукцинимида са изопропенил-стеаратом (уз елиминацију ацетона) и настаје *N*-стеариловани дериват у великом приносу (Шема 1.22) [4,19].



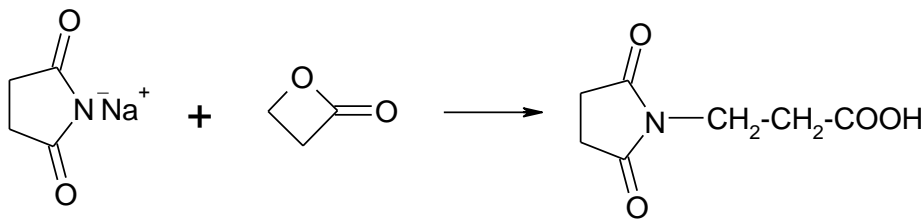
Шема 1.22. Реакција сукцинимида са изопропенил-естром стеаринске киселине

6. Имидни водоник у структури сукцинимида може бити супституисан халогеном. Сукцинимиди реагују са HOCl и NOBr, дајући *N*-хлор- и *N*-бромсукцинимиде. *N*-Хлорсукцинимид се такође може добити у реакцији сукцинимида са калцијум-оксихлоридом у сирћетној киселини (Шема 1.23) [4]. *N*-бромсукцинимид може се добити реакцијом сукцинимида са *N*-бромацетамидом. Сребро-сукцинимид реагује са јодом у ацетону, дајући *N*-јодсукцинимид [4,19].



Шема 1.23. Реакција сукцинимида са калцијум-оксихлоридом

7. У реакцији натријум-сукцинимида са β-пропиолактоном, лактонски прстена се отвара и настаје 3-сукцинимидопропанска киселина (Шема 1.24) [4,19].



Шема 1.24. Реакција натријум-сукцинимида са β-пропиолактоном

1.2. Биолошки активни деривати сукцинимида и њихово дејство

Деривати сукцинимида су биолошки активна једињења [5-7,]. Једињење 4-сукцинимид-2,6-диметилпиримидин утиче на раст биљака [2]. 2-хлорфенил-3-хлорсукцинимид, *N*-(трихлорметилтио)-2,2-пентаметиленсукцинимид и изопропокси-метил-етар *N*-(β-хидроксиетил)сукцинимид се користе се као фунгициди. Деривати сукцинимида се користе и као инсектициди и нису

фитотоксични. *N*-амилсукцинимид се користи у третирању *pediculus humanis corporis* (људске ваши) [4,2].

Сукцинимиди показују значајну фармаколошку активност. Њихови деривати се могу користити у лечењу глаукома [20,2], тремора, делимичних тремора удружених са Паркинсоновом болешћу, мултипле склерозе и других церебралних болести [21,2]. Натријум-сукцинимид се користи у третману артритиса [2].

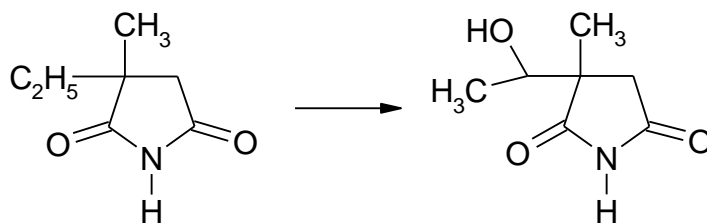
1.2.1. Антиконвулзивна активност деривата сукцинимиди

Антиконвулзивни лекови се разликују по структури, мађутим, уочено је да је за антиепилептичку активност важан део структуре хетероатомни систем са азотом, најчешће циклични имид, са најмање једном карбонилном групом [22]. Међу лековима за лечење епилепсије који припадају првој генерацији антиепилептика, а који поседују поменуте структурне карактеристике, истичу се фенитоин, етосукцинимид и метосукцинимид. Од нових лекова треба поменути леветирацетам, бриварацетам и селетрацетам, који су у групи антиконвулзива друге генерације [22]. Антиконвулзиви, односно антиепилептици су медикаменти који се користе у третирању оболелих од епилепсије [2]. Епилепсија је поремећај функције мозга који је веома чест, а карактеришу га епилептички напади. Асинхроно високо-фреквентно пражњење импулса од стране неурона у мозгу, узрокује епилептички напад. Поменуто поремећено пражњење започиње локално са могућношћу ширења на остале делове мозга [2,19]. Специфични симптоми напада зависе од од функције моздане регије која је захваћена. Код парцијалних напада, пражњење које почиње локално, најчешће остаје локализовано. Они могу да изазову, углавном, моторне, сензорне или бихејвиоралне реакције. Када је захваћен читав мозак ради се о генерализованим нападима [2,2]. Тонично-клонични (гранд мал) и абсансни напади (петит мал) два су најчешћа облика епилепсије [2,19].

Претпоставља се да постоје три главна механизма деловања антиепилептика [3]: појачавање деловања GABA (енгл. γ -aminobutyric acid), инхибирање функције натријумових и калцијумових канала (волтажно-зависни канали Na^+ и Ca^{2+}).

Постоје медикаменти који блокирају глутаматне рецепторе, који су још увек у предклиничким испитивањима. Новији лекови имају још неразјашњене механизме деловања [3].

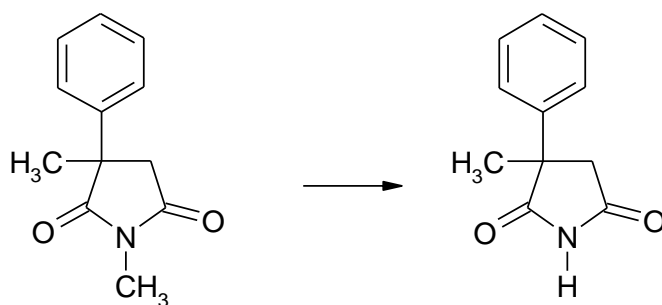
Етосуксимид (Заронтин®) се користи у третирању абсансних напада, док на остале типове епилепсије скоро да нема дејство. Механизам деловања се огледа у томе што блокира Т-тип волтажно-зависних калцијумових канала код таламусних неурона [23,2]. Брзо се ресорбује (у периоду од 3 до 5 часова). Елиминише се путем метаболизма у виду неактивног диастереоизомера 2-(1-хидроксиетил)-2-метилсукцинимид и 2-хидроксиетил изостера (Шема 1.25). Око 20% супстанце се излучи преко урина, а мањи део преко фецеса, у непромењеном облику. Полувреме елиминације износи око 60 часа [24,2].



Шема 1.25. Неактивни метаболит 2-(1-хидроксиетил)-2-метилсукцинимид

Нежељени ефекти примене етосукцинимиде су бројни и разноврсни [25,2]. Такође, његово коришћење потенцијално утиче на генетски материјал те тако може изазвати дефекат плода (код трудница) приликом примене током трудноће. Орална токсичност медикамента (LD50) код мишева износи 1530 mg/kg, док је код пацова нешто већа и износи 1820 mg/kg [2,26].

Метосукцинимид (Целонтин®), делује на сличан начин као етосукцинимид. Користи се код третирања абсенсних напада. С обзиром да не делује на клонично-тоничне нападе, терапијски се употребљава са антиконвулзивима попут фенитоина или фенобарбитала [27,2]. Ресорпција му је брза. Преводи се у активни метаболит *N*-десметилметосукцинимид (Слика 1.11), у реакцији *N*-деметиловања. Мање од 1% метосукцинимиде је нађено у урину [24].



Слика 1.11. Активни метаболит *N*-десметилметосукцинимид

Нежељени ефекти су слични као код етосукцинимида, и такође су разноврсни и бројни [25,2]. Орална токсичност медикамента (LD₅₀) испитивана је на мишевима и износи 900 mg/kg [2,26].

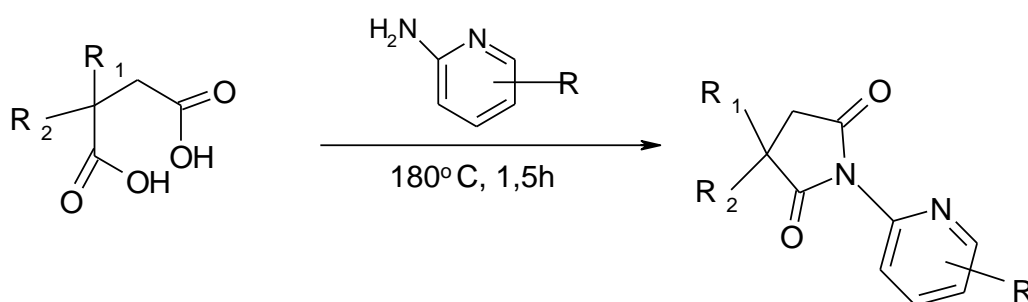
Фенсукцинимид (Милонтин[®]) се попут етосукцинимида и метосукцинимида користи за отклањање абсенских напада. Такође, услед селективности у дејству, неопходно га је комбиновати са другим антиконвулзивима. Излучује се преко урина и жучи [27,2]. Интерперитонеална токсичност (LD₅₀) испитивана је на мишевима и износи 485 mg/kg, док је орална токсичност нешто већа и износи 700 mg/kg [28,2].

Мада је постигнут велики напредак у истраживачкој области везаној за епилепсију, и даље до 30% пацијената који болују од епилепсије прима неадекватну терапију. Међу бројним нежељеним ефектима примене антиепилептичких медикамената на ЦНС (централни нервни систем) треба истаћи: смањење пажње, памћења, моторике и брзине обраде података [29-31]. Сходно поменутом, неопходно је наставити трагање за новим молекулима са потенцијалном антиконвулзивном активношћу, чија би примена била ефикаснија са мање нежељених дејстава [22].

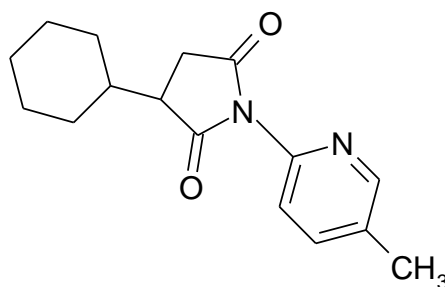
Осим поменутих антиконвулзива заронтина, целонтина и милонтина, постоје и други дериватима сукцинимида који показују антиконвулзивна својства. Код лакших облика епилепсије се користе 3-фенил-2,3-диметилсукцинимиди (и његови *N*-метил деривати), *N*-етил-2,2-диметил- и *N*-пропил-2,3-диметилсукцинимид [4,2]. Ди-2-фталимидосукцинимид и 2-фталимидо-3-метилсукцинимид имају седативна и антиконвулзивна својства. *N*-Метил-2-етил-2-фенилсукцинимид и *N*,3-диметил-2-фенилсукцинимид су нетоксични антиконвулзиви и користе се, такође, код лакших облика епилепсије. Неки арил супституисани деривати сукцинимида су показали значајану антиконвулзивну активност али знатно мању у поређењу са фенсукцинимидом [4,2].

Камински (Kaminski) и Обниска (Obniska) [32] су извршили синтезу и тестирали активности серије 1-(2-пиридинил)сукцинимида, супституисаних у положају 3 имидног прстена (Шема 1.26). Фармаколошка активност је испитана помоћу максималног електрошок теста - MES (енгл. Maximal Electroshock Seizure) и субкуталног пентилентетразол теста – scPTZ, који су најчешћи коришћени модели напада за рано откриће антиконвулзаната, док је њихова неуротоксичност одређена помоћу ротационог теста - ТОХ (енгл. Neurological Toxicity Test). Добијени резултати указују да антиконвулзивна активност зависи углавном од врсте

супституента у положају 3-пиролидин-2,5-дионског прстена. Најактивнији су били 3,3-диалкилпиролидин-2,5-диони као и једињења са 3-метилциклохексил-групом као супституентом. 3-циклохексилсукцинимида са циклохексановим прстеном као флексибилним фрагментом били су мање активни, док су несупституисани деривати били неактивни у оба теста. SAR (енгл. Structure Activity Relationship) анализа је показала да су најактивнија једињења са метил-супституентом у положају 3 и 6 2-пиридинил фрагмента. Највећу активност показало је једињење 1-(4-метил-2-пиридинил)-3-циклохексилпиролидин-2,5-дион (Слика 1.12) који даје анти-scPTZ заштиту са дозом од 30 mg/kg.



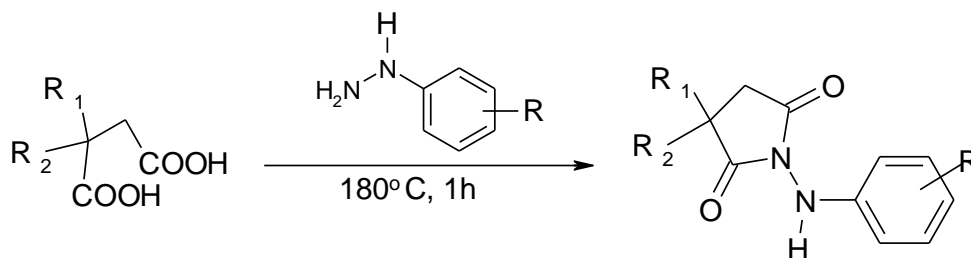
Шема 1.26. Добијање 2,2-дисупституисаног *N*-(2-пиридинил)сукцинимида из супституисане сукцинске киселине и супституисаног 2-аминопиридина



Слика 1.12. 1-(4-метил-2-пиридинил)-3-циклохексилпиролидин-2,5-дион

Исти аутори [33] су синтетизовали и серију *N*-фениламинопиролидин-2,5-диона реакцијом дисупституисане сукцинске киселине са одговарајућим супституисаним фенилхидразинама (Шема 1.27). Антиконвулзивна активност свих једињења оцењена је помоћу максималног електрошок теста MES и субкутаног пентилентетразол теста scPTZ. Њихова неуротоксичност је одређена применом ротационог теста TOX. Квантитативна *in vivo* атиконвулзивна провера *N*-фениламино-3,3-диметилпиролидин-2,5-диона, спроведена у време максималне

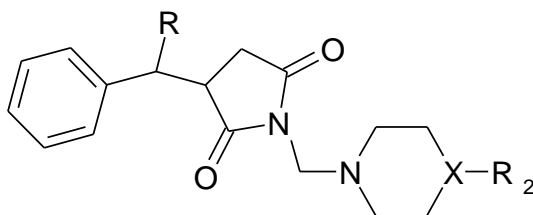
фармакодинамичке активности, показала је вредности MES ED₅₀ од 69,86 mg/kg код пацова. Средња доза токсичности (TD₅₀) износила је 500 mg/kg, дајући том једињењу вредност заштитног индекса PI од 7.15 (TD₅₀/ ED₅₀).



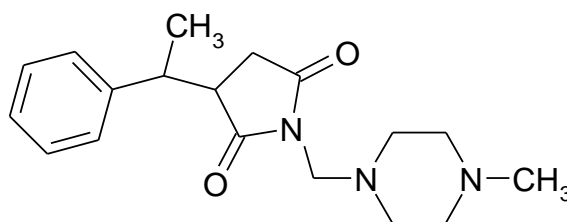
Шема 1.27. Добијање *N*-фениламинопилодин-2,5-диона у реакцији дисупституисане сукцинске киселине са одговарајућим супституисаним фенилхидразинама

Рубка (Rybka) и сарадници [34] су синтетизовали две серије нових 3-(1-фенилетил)- и 3-бензилпилолидин-2,5-диона. Најпре су уводили фенил- или бензил-групе у положај 3 имидног прстена, а онда су у положај 1 уводили 4-фенилпиперазил фрагмент (Слика 1.13). У наредној фази, фенилни прстен 4-супституисаног пиперазина је замењен бензил-, пиримидинил-, хидроксиетил-, метил- и циклохексил-групама, као и цела фенилпиперазинил-група са бензилпиперадином или морфолином. Циљ ових измена је био добијање деривата са широким спектром антиконвулзивне активности, као и да се претпостави могући механизам деловања. Квантитативна фармаколошка истраживања су открила да највећи ниво заштите показује једињење *N*-((4-метилпиперазин-1-ил)-метил)-3-(1-фенилетил)пилолидин-2,5-дион (Слика 1.14) који је показао активност у scPTZ тесту (ED₅₀=39mg/kg) и у 6-Hz тесту (ED₅₀=36mg/kg). Овај молекул је показао активност већу него референтни антиепилептички лекови као што су етоксимид, лакосамид и валпроинска киселина. У циљу објашњења могућег механизма деловања једињења, студијом *in vitro* према раније утврђеним процедурама, процењен је утицај једињења на својства везивања натријумових и калијумових канала као и њихов утицај на NMDA и GABA_A рецепторе. Једињење *N*-((4-метилпиперазин-1-ил)-метил)-3-(1-фенилетил)пилолидин-2,5-дион показало је инхибицију мању од 50%. Добијени резултати указују на то да је други механизам дејства одговоран за

антиконвулзивну активност ове групе једињења и да је неопходно извршити нова *in vitro* и спровести истраживања *in vivo* како би се објаснило деловање.

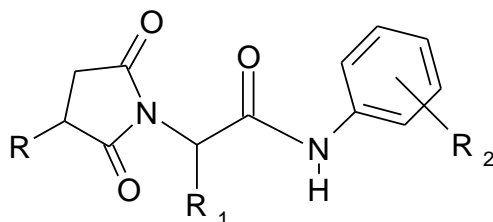


Слика 1.13. Структуре серије синтетизованих једињења

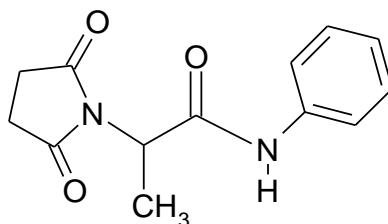


Слика 1.14. *N*-((4-метилпиперазин-1-ил)-метил)-3-(1-фенилетил)-пиролидин-2,5-дион

Синтезу нове групе *N*-фенил-2-(2,5-диоксопиролидин-1-ил)пропанамида, 2-(3-метил-2,5-диоксопиролидин-1-ил)пропанамида и деривата 2-(2,5-диоксопиролидин-1-ил)бутанамида као потенцијалних антиконвулзивних аганаса (Слика 1.15), извршили су Камински и сарадници [35]. Ови хибридни молекули су добијени као блиски аналози претходно добијених *N*-бензилних деривата уз увођење фрагмената клинички релевантних антиепилептика као што су етосукцинимид и лакосамид. Почетна антиконвулзивна испитивања су обављена на мишевима користећи класичне тестове MES, scPTZ и 6 Hz (психомоторни тестови напада) тест. [36,37,38] Применом ротационог ТОХ теста утврђена је акутна неуролошка токсичност. Широки спектар активности код предклиничких модела напада показало је једињење 2-(2,5-диоксопиролидин-1-ил)-*N*-фенилпропанамид (Слика 1.16) са ED₅₀=96,9mg/kg, MES тест, ED₅₀=75,4mg/kg scPTZ тест и ED₅₀=44,3mg/kg, 6 Hz тест, које је показало TD₅₀=335,8 mg/kg на ротационом тесту и дао задовољавајуће заштитне индексе (PI_{MES}=3,5; PI_{scPTZ}=4,4; PI_{6Hz}=7,6). Сходно претходно изнетом и у овој серији је откривено једињење које има упоредиво бољи безбедносни профил од модела антиепилептичких лекова етосукцинимид, лакосамида и валпроинске киселине.



Слика 1.15. Општа структура серије нових молекула

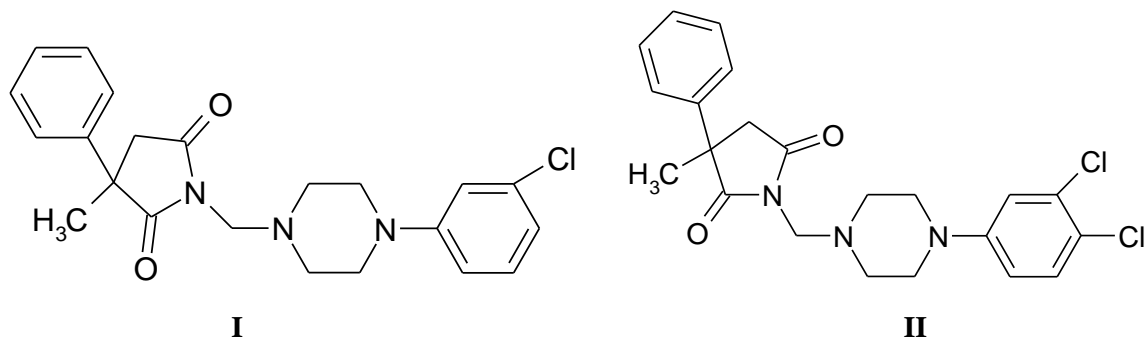


Слика 1.16. 2-(2,5-диоксопиролидин-1-ил)-*N*-фенилпропанамид

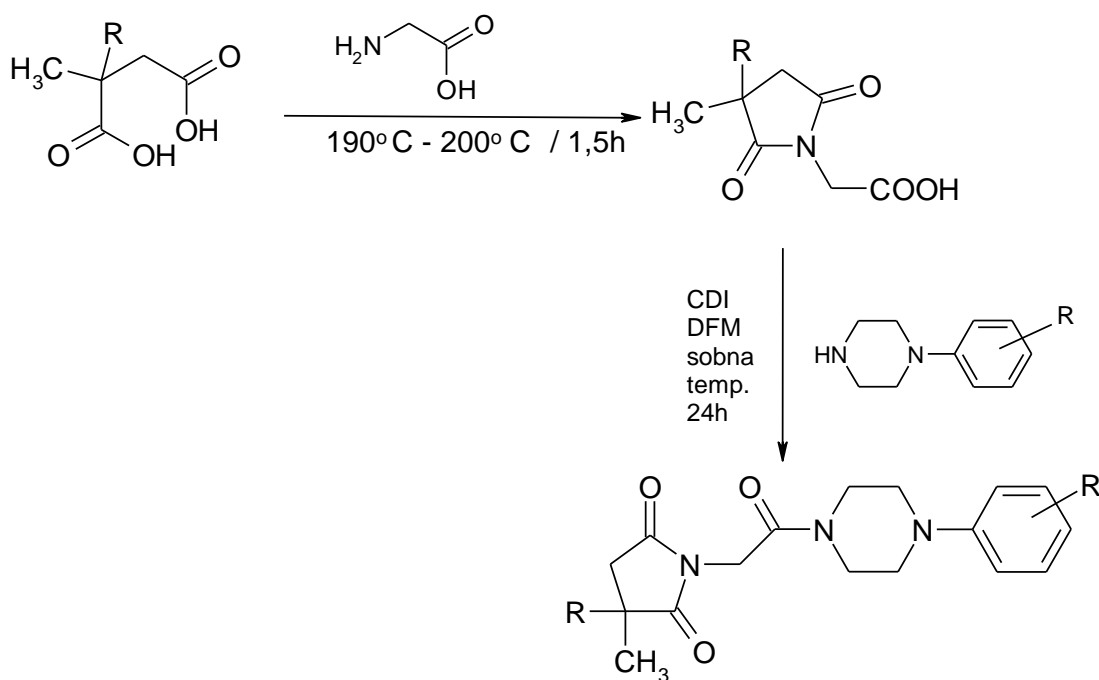
Обниска и сарадници [39] су користећи раније студије односа структуре и активности (SAR) за *N*-(4-арилпиперазин-1-ил)метил-3,3-дисулституисан-2,5-дионе [40] међу којима су најактивнији били 1-((4-(3-хлорфенил)пиперазин-1-ил)метил)-3-метил-3-фенилпиролидин-2,5-дион и његов 3,4-дихлор аналог (Слика 1.17 **I** и **II**), који су показали активност само у MES тесту, извршили синтезу нове групе 3-метил- и 3-етил-3-метил-2,5-диоксопиролидин-1-илацетамида (Шема 1.28). Нова једињења су испитана на MES, scPTZ и 6 Hz тест. Једињења 1-(2-(4-(4-хлорфенил)пиперазин-1-ил)-2-оксоетил)-3-метилпиролидин-2,5-дион ($ED_{50}=32,08\text{mg/kg}$, MES тест) и 1-(2-(4-(3-хлорфенил)пиперазин-1-ил)-2-оксоетил)-3-метилпиролидин-2,5-дион ($ED_{50}=40,34\text{mg/kg}$, MES тест) показала су највећу активност. Ова једињења показују знатно бољи безбедносни профил од клинички релевантних антиепилетика фенитоина, етосукцинимиди или валпроинске киселине. Такође, неколико једињења ове групе показало је аналгетичко дејство и локална анестетичка својства.

Интезивне студије о физиолошким и биохемијским процесима који се одвијају током епилептичког напада, омогућиле су увид у молекуларни механизам којим би напад могао бити контролисан. Фундаментална улога у успостављању и регулацији побуђења неурона ЦНС, као и сузбијању епилептичног напада се

преписује напонским натријумовим каналима [41]. Студије *in vitro* показале су да би утицај једињења на својства везивања натријумових и калијумових канала, могао бити основни механизам деловања [42-44].



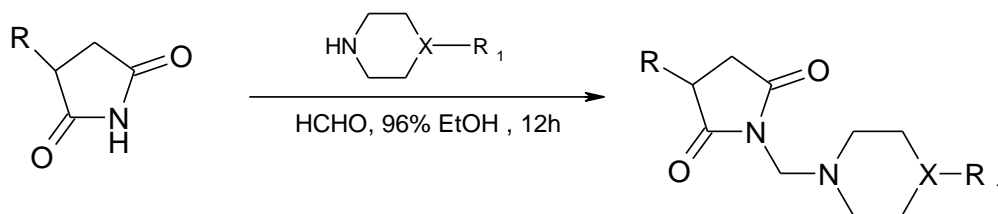
Слика 1.17. 1-((4-(3-хлорфенил)пиперазин-1-ил)метил)-3-метил-3-фенилпириролидин-2,5-дион и његов 3,4-дихлор аналог



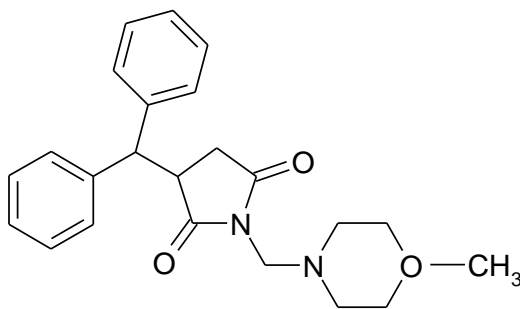
Шема 1.28. Синтеза 3-метил- и 3,3-дисулституисаних-2,5-диоксопириролидин-1-илацетамида

Рибка и сарадници [22] су синтетизовали четири серије, односно 28 нових 1,3-супституисаних пириролидин-2,5-диона (Шема 1.29), пратећи резултате QSAR (енгл. Quantitative Structure Activity Relationship) студија. У положају 3 увођене су метил-, изопропил- и бензохидрил-групе. Накнадно су у положај 1, на атом азота

уведени метил-, бензил-, пиримидинил-, хидроксиетил- и циклохексилпиперазин фрагменти, а након тога деривати 4-супституисаних пиперазина замењени су бензилпиперазином и морфолином. Активност добијених једињења је испитана помоћу MES теста, scPTZ теста као и 6 Hz теста. Такође су спроведене студије *in vitro* за одабране деривате како би се објаснио могући механизам деловања. Неуротоксичност је одређена помоћу ротационог теста ТОХ. Најактивније једињење групе било је *N*-((морфолин-1-ил)метил)-3-бензхидрилпиролидин-2,5-дион (Слика 1.18), јер показује активност у MES ($ED_{50}=41.0$ mg/kg), scPTZ ($ED_{50}=101.6$ mg/kg), и 6 Hz ($ED_{50}=45.42$ mg/kg) тесту. Ово једињење показује кориснији индекс заштите (PI) од антиепилептичких лекова као што су етосукцинимид и лакосамид. Студије *in vitro* су показале да је могући механизам деловања поменутог једињења блокада волтажно зависних натријумових канала и инхибирање L-типа калцијумових канала.



Шема 1.29. Синтеза 1,3- супституисаних пиролидин-2,5-диона



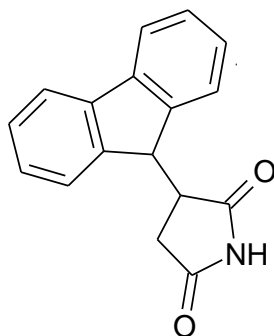
Слика 1.18. *N*-((морфолин-1-ил)метил)-3-бензхидрилпиролидин-2,5-дион

1.2.2. Антитуберкулозна активност деривата сукцинимида

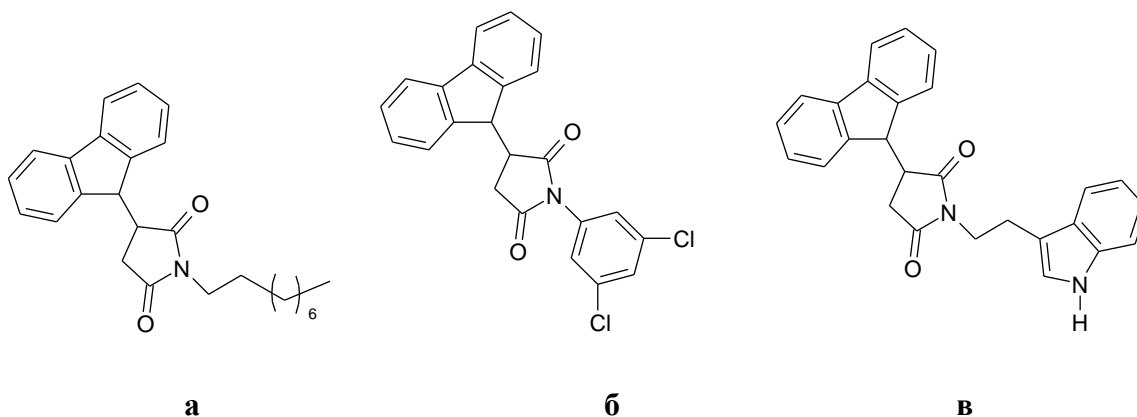
Туберкулоза (ТБ) изазвана бактеријом *Mycobacterium tuberculosis* је водећи узрок смртности широм света, поред маларије и АИДС-а са око два милиона смртних случајева годишње [45]. Данас је инфицирана скоро једна трећина глобалне популације, а њихова локација је углавном у земљама у развоју. Хемотерапеутски третмани базирани су на употреби антибиотика, а најважнији су изониазид,

рифампицин, пиразинамид, етамбутол и стрептомицин. Ефикасност постојећих антитуберкулозних лекова за борбу против ове инфекције се озбиљано компромитују појавом мулти- и обимно- резистентних сојева туберкулозе (MDR-TB [45] и XDR-TB [45]). Због тога је потребно повећати спектар нових лекова како би се зауставили сви облици туберкулозе отпорне на лекове.

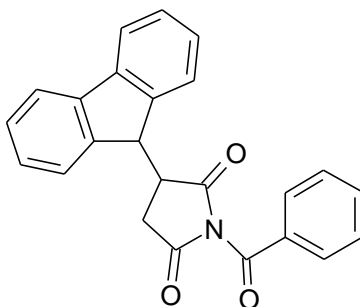
Матвиук (Matviiuk) и сарадницу [45] су синтетизовали серију деривата 3-(9Н-флуорен-9-ил)пилоридин-2,5-диона, (Слика 1.19), нову класу инхибитора *Mycobacterium tuberculosis H37Rv* соја. У овој групи једињења 3-(9Н-флуорен-9-ил)-1-нонилпиридин-2,5-дион, 1-(3,5-дихлорфенил)-3-(9Н-флуорен-9-ил)пиридин-2,5-дион и 3-(9Н-флуорен-9-ил)-1-(2-(1Н-индол-3-ил)етил)пиридин-2,5-дион, (Слика 1.20. а, б, в) су показала добру инхибицију на InhA протеин, који је кључни ензим у биосинтези масних киселина типа II (FAS II) ћелијског зида микробактерија. Једињење 1-бензол-3-(9Н-флуорен-9-ил)пиридин-2,5-дион, показало је највећу активност на *M. tuberculosis H37Rv* сој који је отпоран на многе лекове. (Слика 1.21)



Слика 1.19. 3-(9Н-флуорен-9-ил)пилоридин-2,5-дион



Слика 1.20. Деривати 3-(9Н-флуорен-9-ил)пилоридин-2,5-диона

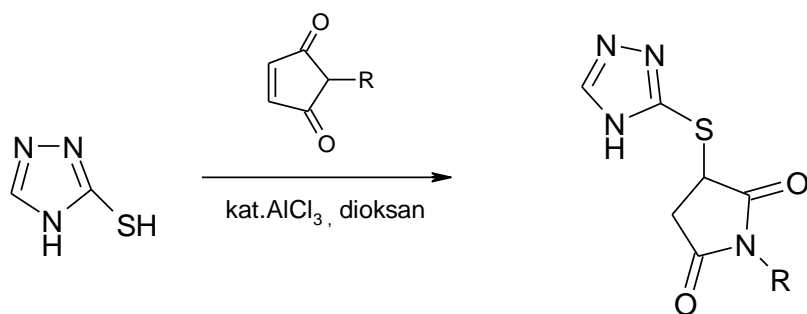


Слика 1.21. Структура 1-бензоил-3-(9H-флуорен-9-ил)пиролидин-2,5-диона

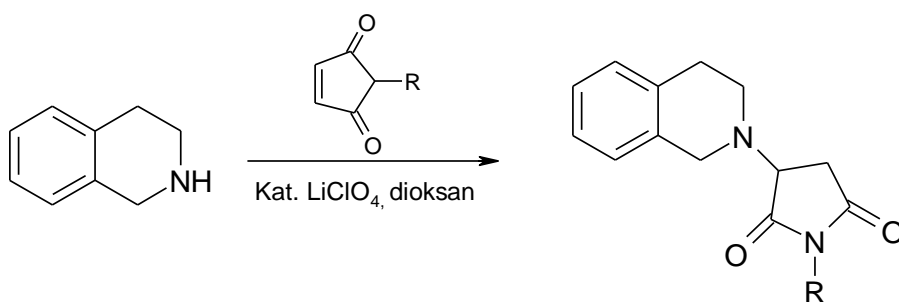
Серија деривата 3-супституисаних пиролидин-2,5-диона [46] је синтетизована и анализирана на инхибицију InhA протеина, раст *Mycobacterium tuberculosis H37Rv* соја, а испитана је и цитотоксичност. У поменутој серији, имидни бодоник је супституисан хетероцикличним фрагментом. Луисове киселине су се показале као ефикасни катализатори у реакцији Мајклове (Michael) коњуговане адиције нуклеофилних хетероцикала на електрофилне, *N*-арил супституисане малеимиде (Шеме 1.30 и 1.31).

Међу синтетизованим једињењима, једињења 3-[4-(9H-флуорен-9-ил)-1-пиперазинил]-1-фенилпиролидин-2,5-дион и 1-бензил-3-[4-(9H-флуорен-9-ил)-1-пиперазинил]пиролидин-2,5-дион показала су умерене инхибиције InhA протеина и слабе активности на *Mycobacterium tuberculosis H37Rv* соја. Једињења 1-фенил-3-(4H-1,2,4-триазол-3-илсулфанил)пиролидин-2,5-дион, 1-(4-метоксифенил)-3-(4H-1,2,4-триазол-3-илсулфанил)пиролидин-2,5-дион, 3-(3,4-дихидроизохинолин-2(1H)-ил)-1-фенилпиролидин-2,5-дион и 1-бензил-3-(3,4-дихидроизохинолин-2(1H)-ил)пиролидин-2,5-дион показују добре инхибиционе вредности при расту бактерија *M. tuberculosis*.

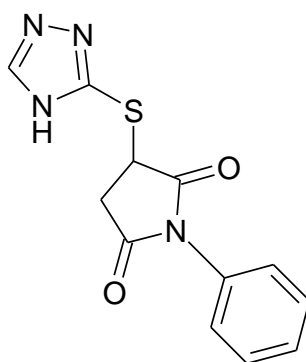
Надаље је испитана цитотоксичност ових једињења која је оцењивана на две хумане ћелијске линије, хуманог канцера дебелог црева (HCT 116) и хуманог фибробласта (GM 637). Добијени резултати су показали да су вредности IC₅₀ изнад 100μM, што указује на то ова једињења нису цитотоксична према хуманим ћелијским линијама, сем једињења 1-фенил-3-(4H-1,2,4-триазол-3-илсулфанил)пиролидин-2,5-дион (Слика 1.22) које показује цитотоксичност према хуманим ћелијским линијама IC₅₀=17/15μM (HCT116/GM637H).



Шема 1.30. Синтеза 1-фенил-3-(4H-1,2,4-триазол-3-илсулфанил)пиролидин-2,5-диона (R=Ph) и 1-(4-метоксифенил)-3-(4H-1,2,4-триазол-3-илсулфанил)пиролидин-2,5-диона (R=4-MeO-C₆H₄)



Шема 1.31. Синтеза 3-(3,4-дихидроизохинолин-2(1H)-ил)-1-фенилпиролидин-2,5-диона (R=Ph) и 1-бензил-3-(3,4-дихидроизохинолин-2(1H)-ил)пиролидин-2,5-диона (R=CH₂Ph)



Слика 1.22. Једињење 1-фенил-3-(4H-1,2,4-триазол-3-илсулфанил)пиролидин-2,5-дион

1.2.3. Антипролиферативна активност деривата сукцинимиди

Карцином (гр. *karkinos* - рак) представља групу болести које узрокује мењање ћелија и њихова неконтролисана пролиферација. Већина врста ћелија рака формира грудвице или масу звану тумор. Сви тумори нису рак. Тумор који није рак се назива бенигним, а канцерогени тумор малигним. Ћелије рака се дистрибуирају дифузијом, у друге делове тела где могу да наставе да расту. Бенигни тумори су најчешће учаурени, јаснодефинисаних граница и не шире се у друге делове тела. Они обично животно не угрожавају пацијента и елиминишу се оперативно [47, 48].

Малигнитет је водећи узрочник смрти у двадесетом веку, иако је познат од настанка човечанства [49]. Може се појавити у било ком животном добу, иако су много веће шансе за његов развој у средњим годинама. Одређени карциноми ретко или скоро никако се не појављују код малолетних пацијената. Код деце се уочавају тумори на мозгу, нервном систему, костима, бубрезима, леукемије и лимфома који се иначе ретко срећу код великог броја одраслих људи. Карцином дебелог црева најчешће се региструје код особа узраста 30-50 година, док се карцином ректума јавља код особа од 50-70 година [50,48].

Карциноми се могу лечити оперативно, хемотерапијом или радијацијом [50]. Када је карцином дефинисаних граница и није дошло до метастазе, примаран метод лечења је хирушка интервенција са великим успехом. Неретко је то све што је неопходно да би се у потпуности елиминисао карцином [51,48].

Поред хирургије, хемотерапија се такође често примењује и изузетно је корисна код бројних карцинома, као што је карцином дојке, колоректални карцином, карцином панкреаса, карцином тестиса, карцином јајника. Ефикасност Оваг вида лечења је често ограничена због токсичности по друге органе или цео организам [58].

Хетероцикличне структуре представљају активну супстанцу у многим антитуморским лековима, који се примењују у хемотерапијској терапији [52]. Клинички значај таквих медикамената, утицао је на развој нових антипролиферативних агенаса код којих је задржано хетероциклично језгро из структура лекова. [49,48].

Н. Милошевић и сарадници [53] су синтетизовали групу од 6 нових *N*-супституисаних деривата сукцинимиди (Слика 1.23). Дизајнирању нових лекова обично претходи анализа којима се повезује структура молекула са њиховим

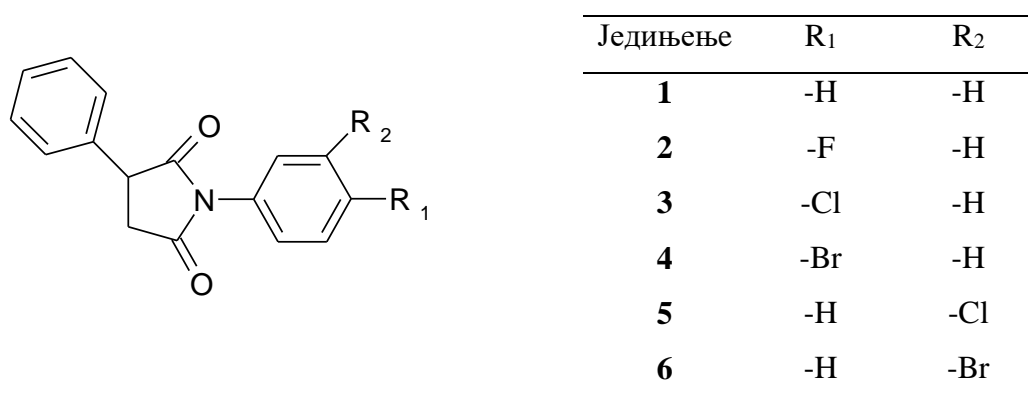
својствима QSA(P)R (енгл. Analysis of Quantitative Structure Activity (Properties) Relationships) [60]. Одабраној серији *N*-супституисних деривата сукцинимидида су одређене: *in silico* физичко-хемијске особине, фармакокинетички и токсиколошки предиктори; *in vitro* биолошка активност на четири различите ћелијске линије карцинома и на здравим фетусним ћелијама плућа и липофилност на течном хроматографу.

In silico утврђеном липофилношћу [54], пропустљивост и растворљивост су корелисани са експериментално добијеним липофилним константама (помоћу течне хроматографије) и добијене су линеарне колерације. Резултати *in vitro* теста (Табела 1.1) показали су да пет једињења има антипролиферативну активност према HeLa ћелијским линијама карцинома грлића материце; три су цитотоксична према MCF-7 ћелијама карцинома дојке, док је једна инхибирала пролиферацију ћелијских линија карцинома ХТ-29 дебелог црева.

Једињење **5**, са хлором као супституентом у *мета*-положају, нема цитотоксичне карактеристике. Исто тако ни једињење **6** са бромом као супституентом у истом положају, које изузев умерене активности према карциному ћелија грлића материце (HeLa) са IC₅₀ нешто изнад 100μМ, није показало антипролиферативни потенцијал.

Антипролиферативну активност према ХТ-29 је примећена за једињења која немају супституенат везан за *N*-фенил-групу, што указује на то да увођење супституента у положају *мета* и *пара*, укључујући мале атоме као флуор, смањује цитотоксични потенцијал агенса. Само једињења са супституентом у *пара* положају показују антипролиферативну активност према MCF-7. Интересантно је да увођењем флуора у молекул, једињење **2** показује иницијалну цитотоксичност, која је праћена троструким повећањем антипролиферативне активности када је већи атом као хлор (једињење **3**) везан за молекул на истој позицији. Међутим, липофилност и повећање молекулске величине заменом хлора са већи атомом, као што је бром (једињење **4**), само је смањило антипролиферативно својство, што је било сасвим неочекивано. Једињење **3** је показало неповољну цитотоксичност према нормалним ћелијама плућа (MRC-5), што га је класификовало као прилично несигурно, упркос томе што је ефикасно.

Засновано на свим *in silico* фармакокинетичким особинама и *in vitro* антипролиферативним ефектима, једињења **1**, **2** и **4** могу се предложити за даља испитивања.



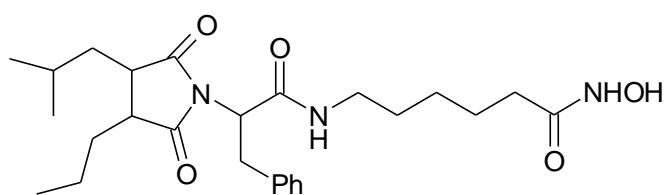
Слика 1.23. N-супституисни деривати сукцинимиди

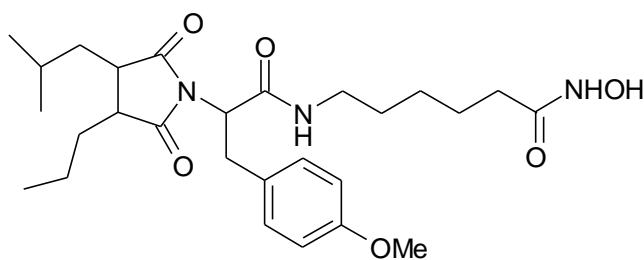
Табела 1.1. Експериментално добијени IC₅₀ у μМ анализираних једињења на различитим ћелијским линијама

Једињење	MRC-5	MCF-7	HT-29	A549	HeLa
1	>100	>100	7.55	>100	22.94
2	>100	10.42	>100	>100	1.58
3	62.13	3.73	>100	>100	19.47
4	>100	6.98	>100	>100	52.63
5	>100	>100	>100	>100	>100
6	>100	>100	>100	>100	119.13

MCF-7- карцином дојке, A549-карцином плућа, HT-29-карцином дебелог црева, HeLa- карцинома грлића материце, MRC-5-здраве ћелије плућа

У серији новосинтетизованих сукцинимидхидроksamинских киселина [55] испитана је *in vitro* активност на инхибицију HDAC (ензима Хистонске деацетилазе) и антипролиферативна активност на ћелије карцинома дојке MDA435. Једињење **I** (Слика 1.24) показало је снажну антипролиферативну активност на ћелије MDA435, IC₅₀=0,57 μМ са IC₅₀=0,40 μМ на здраве ћелије HT1080, као и једињење **II** (слика 1.25) IC₅₀=0,18 μМ са IC₅₀=0,53 μМ на здраве ћелије HT1080.

**I**

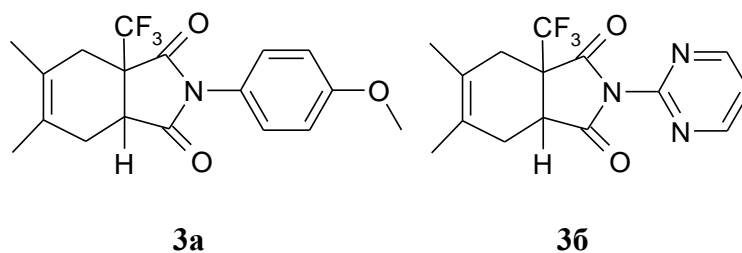


II

Слика 1.24. Сукцинимида хидроксиаминске киселине

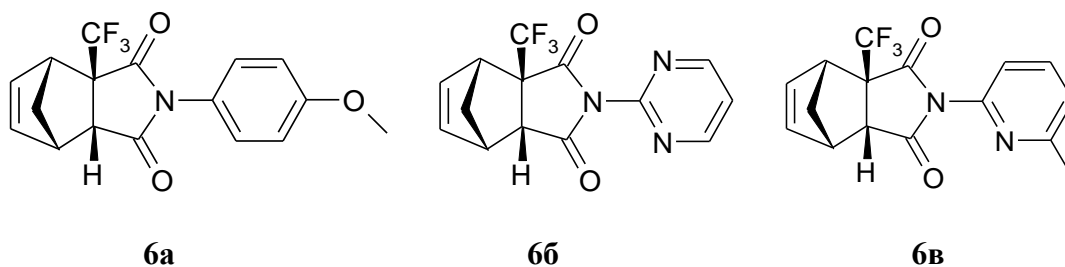
У серији нових трифлуорметилваних моно- и бицикличних сукцинимида [56] изведених из трифлуорометилмалеинског анхидрида испитана је биолошка активност методом предвиђања и експериментално. CF_3 -група је важна у медицинској хемији јер њена инкорпорација у мали молекул често повећава ефекат интеракције са циљаним ћелијама, побољшава пропустљивост ћелијске мемране и повећава стабилност минимизирајући оксидативни метаболизам лекова [57-59]. Да би се испитао биолошки потенцијал једињења, имплементиран је PASS (енгл. Prediction of Activity Spectra for Substances) Online програм. PASS је софтверски производ дизајниран као средство за процену општег биолошког потенцијала органског молекула и потенцијалне лекове засновано на структури органских једињења [60-65].

Ова серија нових трифлуорметил сукцинимида (Слика 1.25) је тестирана на Националном институту за рак (NCI Bethesda, САД) у једној дози (10^{-5} М) применом примарног антиканцерогеног теста на 60 хуманих ћелијских линија карцинома [66-68]. Једињења **6а**, **6б**, **6в** (Слика 1.25) показују активност на ћелијским линијама леукемије (RPMI-8226). Имиди **3б** и **6а**, **6б** имају активност на ћелијске линије рака плућа (A549/ATCC) а имиди **3а** и **6в** показују активност на ћелијске линије карцинома бубрега (A498 и SN12C).



3а

3б



Слика 1.25. Трифлуорометилловани моно- и бициклични сукцинимиди

1.3. Корелациона анализа у органској хемији

Потреба за систематизацијом података у хемији јавила се још са крајем XIX века. Под систематизацијом подразумева се сумирање и анализирање експерименталних резултата. Да би се одређени подаци могли анализирати било је потребно успоставити корелације једних резултата са другим, при чему су најчешће биле коришћене већ познате емпиријске зависности. На тај начин било је могуће упоређивати резултате, а на основу тога изводити и различите закључке. Поред познатих, увођене су и развијене и нове математичке релације, чиме је постало могуће и предвиђање неких карактеристика молекула. Овакав целокупан приступ експерименталним подацима познат је под називом корелациона анализа. [69,70]

На почетку коришћена углавном за проучавање брзине хемијских реакција, односно реактивност органских једињења, данас корелационе анализе обухвата сваку математичку зависност која повезује различите карактеристике и особине молекула. [19]

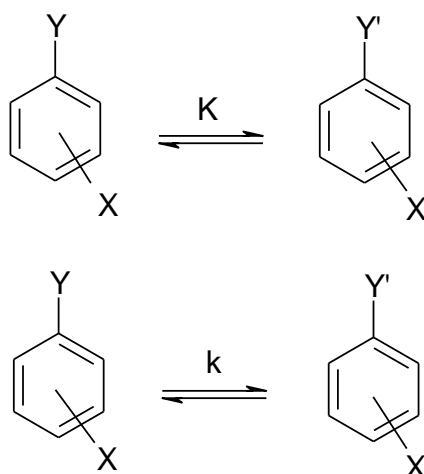
При дизајнирања нових лекова, од изузетног је значаја предикција емпиријским методама којима се повезује структура молекула са њиховим својствима, па се и методе тако разликују. QSAR (енгл. Quantitative Structure Activity Relationship) су методе за корелацију параметара структуре молекула са одређеним *in vitro* или *in vivo* биолошким својством. Уколико се моделују физичкохемијска својства, употребљава се QSPR методе (енгл. Quantitative Structure Property Relationship) а када се повезује структура са токсиколошким подацима, користи се QSTR методе [71,48]. Применом поменутих метода добијају се поуздани математички и статистички модели којима се омогућава предикција активности нових органских једињења јер се зна да промене у структури једињења узрокују разлике у биолошкој активности [72].

Први пут су 1868. године математичким изразом, Крам-Браун (Crum-Brown) и Фрејзер (Fraser), формулисали кавтитативну везу између структуре и активност хемијског једињења. Претпостављајући да је „физиолошка активност“ једињења Φ у функцији његове хемијске структуре C (једначина 1.1), јер су истраживањем алкалоида, закључили да алкиловање N-атома, даје одређене биолошке ефеката код насталих кватернерних амонијум једињења у поређењу са основним аминима. [73, 48].

$$\Phi = f(C) \quad (1.1)$$

Једну такву математичку зависност представља и Хаметова (Hammett) једначина која повезује структуру и реактивност различитих система:

$$\log K/K_0 = \rho \cdot \sigma, \quad \log k/k_0 = \rho \cdot \sigma \quad (1.2)$$



Y - реакциони центар

X - супституент у *мета* или *пара* положају

Шема 1.32. Типови ароматских система које је изучавао Хамет

Симболи K и k (Шема 1.32) представљају константу равнотеже и константу брзине реакције испитиваних једињења са супституентом, а K_0 и k_0 , за несупституисани систем [84]. Реакциона константа ρ је мерило осетљивости реакције или равнотеже на ефекте супституента и константна је за одређену реакцију и услове у којим се реакција изводи (температура, растварач) а независна је од природе супституента. Константа супституената σ искључиво зависи од природе супституента и његовог положаја на језгру, а независна је од типа реакције.

1950. године Ханч (Hansch), амерички хемичар [75-80] је како би корелисао биолошку активност са својствима молекула дефинисао хидрофобни параметар, од када се примењују детаљније статистичке методе.

Као што је речено скуп математичких техника које се примењују за проналажење зависности између физикохемијских и биолошких података означен је као QSAR. Циљ ових техника је корелација између неког биолошког својства или облика активности и физикохемијских особина групе молекула:

$$\text{биолошка активност} = f(\text{физичко-хемијска својства})$$

Биолошка активност се изражава мерењем одређених величина:

- Концентрација лека у организму, c ;
- Константа јонизације лека, K_i ;
- Ефективна доза лека која изазива жељено дејство у 50% случајева, ED_{50} ;
- Афинитет везивања, IC_{50} итд.

Физикохемијска својства се грубо класификују у три групе:

- Електронска својства (Хаметове константе (σ , σ^- , σ^+), константе јонизације pK_a , хемијска померања (^{13}C , 1H) δ , Тафтове (Taft) поларне константе (σ^* , σ_I));
- Стерни утицаји (моларна запремина, Тафтов стерни параметар);
- Липофилност / хидрофобност (партициони коефицијент $\log P$, константа супституента π , дистрибуциони коефицијент $\log D$, коефицијент солубилности $\log S$) [19].

Зависност између активности и својстава се најчешће приказује као математички израз који је добијен применом статистичких или сродних метода (нпр. вишеструка линеарна регресија). Параметри који описују физичко-хемијска својства су независне променљиве, док је биолошка активност зависна променљива. Некада се ова зависност не може лако математички изразити, због комплексности и нелинеарности те зависности.

Математичка зависност којом се повезује биолошка активност лека као функција липофилности, електронских и стерних ефеката дата је једначином 1.3:

$$\text{биолошка активност} = b' \cdot (\log P)^2 + b \cdot \log P + a \cdot \sigma + c \cdot E_s + d \quad (1.3)$$

где је $\log P$ подеони коефицијент у систему октанол-вода, σ – електронски параметар, E_s – стерни параметар, a, b, b', c, d – регресионе константе.

Као и све и QSAR технике имају низ предности али и недостатака. Предности примене QSAR техника су: [19]

- омогућава лакше разумевање утицаја структуре на активност који није увек очигледан када се посматрају добијени експериментални подаци;
- применом интерполације може се предвидети синтеза нових аналога физиолошки активне супстанце.
- олакшава се разумевање интеракције физиолошки активне супстанце и рецептора;

А недостаци су:

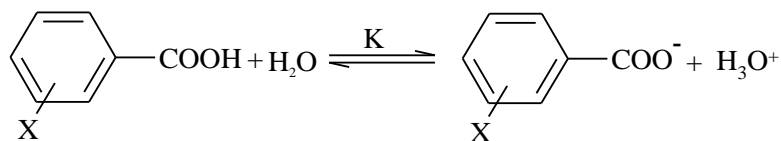
- често математичке методе захтевају већи број експерименталних података од доступних. Зато су неки резултати добијени QSAR техникама не могу примењивати за предвиђање једињења са најбољом физиолошком активношћу;
- како експериментално добијени подаци о биолошке особине могу садржати грешке, могу се добити корелације које нису веродостојне;
- одређени физичко-хемијски параметри се могу преклапати у описивању неког својства једињења, па се користе комбинације које имају малу коваријансу. [19]

1.3.1 Утицај електронских својстава на биолошку активност

Електронски ефекти молекула представљају осетљивост реакције на преношење електронске густине и потребу реакције за електронима, одређена механизмом саме реакције. Та својства молекула описују се применом различитих параметара: Хаметове (Hammett) константе ($\sigma, \sigma^-, \sigma^+$), константе јонизације (pK_a), диполни моменат (μ), параметри водоничног везивања, хемијска померања ($^{13}C, ^1H$) δ , Тафтове (Taft) поларне константе (σ^*, σ_I), параметри поља и резонанције (F, R), параметри добијени применом молекулске спектроскопије и параметри који су резултат квантохемијских прорачуна (енергија молекулских орбитала и парцијална наелектрисања) [73].

Електронска својства су се најпре разматрала кроз утицај супституената на реактивност ароматских једињења. Хамет [81,82] је анализирао вредности константи

дисоцијације *мета* и *пара* супституисаних бензоевих киселина у води на 25 °C (Шема 1.33).



Шема 1.33. Реакција дисоцијације *мета* и *пара* супституисане бензоеве киселине у води

На основу ове реакције се може закључити на који начин електронска својства супституента утичу на положај равнотеже реакције, односно киселост дате киселине. Електрон-акцепторски супституенти повећавају вредност константе равнотеже K_a , јер стабилишу карбоксилатни анион. Киселина у молекулском облику је стабилизована ако је X електрон-донорски супституент; фаворизована је повратна реакција.

Електронски ефекти једињења се могу квантификовати преко константи дисоцијације K_a :

$$\sigma = \log K_a - \log K_{a0} = \log K_{a(RX)} - \log K_{a(RH)} = \log (K_{a(RX)} / K_{a(RH)}) \quad (1.4)$$

где је: σ - константа супституента.

Вредност константе супституента (σ) је у функцији супституента, односно зависи од положаја и електронске особине супституента на ароматском прстену. [89] Електрон-акцепторски супституенти са својим електронским ефектом повећавају вредност константе равнотеже реакције K_a јер стабилизују карбоксилатни анион, вредност pK_a је мања, односно вредности σ позитивне. Електрон-донорски супституенти имају негативне вредности σ .

Константе супституената σ_m и σ_p су одређене на основу реакције дисоцијације *m*- и *p*- супституисаних бензоевих киселина у води на 25°C при $\rho = 1$. Референтни супституент је водоник, за кога је вредност константе супституента усвојена и износи нула ($\sigma_H = 0$). У односу на водоник одређује се вредност константи за остале супституенте.

Хаметова једначина се не може примењивати на системе у којима се супституент налази у *орто* положају у односу на реакциони центар. С обзиром на близину супституента и реакционог центра на реактивност оваквих система утичу

стерни или поларни ефекти који могу делимично или потпуно онемогућити разматрање квантитативног утицаја електронских ефеката супституената на реакциони центар. Због тога је, Чартон (Charton) развио проширену Хаметову једначину (једначина 1.5), раздвојивши *орто* -електронски ефекат на индуктивни, резонанциони и стерни допринос. Параметри α , β и χ представљају параметре осетљивости реакције или реакционе константе.

$$\log k = \alpha\sigma_I + \beta\sigma_R + \chi r_v + h \quad (1.5)$$

где су σ_I и σ_R индуктивни и резонанциони допринос супституената, r_v је минимални Ван дер Валсов (Van der Waals) радијус, а h је одсечак.

Фуџита (Fujita) и Нишиока (Nishioka) су формирали једначину 1.6, применивши интегрисани приступ на сет једињења која су садржала о-, м-, и р-супституенте:

$$\log k = \rho\sigma + \delta E_s^{\text{orto}} + fF^{\text{orto}} + c \quad (1.6)$$

у којој су константе σ замењене Тафтовим стерним параметром E_s и Свеин-Лаптоновим (Swain-Lupton) параметром поља F^{orto} [48].

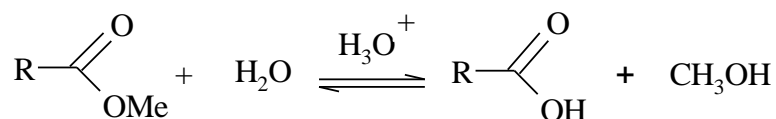
Аналогно поменутом, алифатски системи не могу се корелисати Hammett-овом једначином због појаве слободне ротације која узрокује читав низ могућих конформација, а самим тим и потенцијалних стерних ефеката остатка молекула на реакциони центар.

Реакциона константа ρ је мерило осетљивости реакције или равнотеже на електронска својства супституената. Њене велике, позитивне или негативне вредности, показују на велики утицај супституента, односно да је дошло до промене наелектрисања на основном атому функционалне групе.

За реакције код којих се у прелазном стању јавља негативно наелектрисање, вредност ρ је позитивна. Такву реакцију успорава електрон-донорских супституенат на ароматском прстену, а убрзава присуство електрон-акцепторских супституената. Обрнуто, вредност ρ је негативна када у прелазном стању долази до повећања позитивно наелектрисања, тј. код којих долази до смањења електронске густине на реакционом центру [19].

1.3.2. Стерни утицаји на биолошку активност

По аналогији са Хаметовом једначином 1952. године Тафт [83-87] је предложио једначину, користећи кисело катализовану хидролизу естара (Шема 1.34) која раздваја поларне, стерни и резонанционе ефекте, увођењем стерног параметра E_s .



Шема 1.34. Кисела хидролиза естара

$$E_s = \log k_{a(\text{RCO}_2\text{CH}_3)} - \log k_{a(\text{CH}_3\text{CO}_2\text{CH}_3)} = \log(k_{a(\text{RCO}_2\text{CH}_3)} / k_{a(\text{CH}_3\text{CO}_2\text{CH}_3)}) \quad (1.7)$$

Величина k_a у једначини (1.7) је константа брзине реакције. Референтни супституент у Тафтовој једначини је метил-група, при чему је вредност наведеног параметра нула.

На брзину хемијске реакције (Шема 1.45), супституент R утиче својим волуменом тако што омета нуклеофилни напад молекула воде. Са повећањем волумена супституента вредност константе брзине реакције k_a се смањује, па се повратна реакција фаворизује. [89]

Вредност Тафтовог параметра за водоник је $E_s(\text{H}) = +1,24$, што указује на мали стерни отпор хидролизи. Вредност Тафтовог параметра за *t*-Бу $E_s(t\text{-Bu}) = -1,54$ што указује на велике стерне сметње при хидролизи.

Модификацију Тафтовог стерног параметара је извршио Ханкок (Hancock). Он је укључио допринос C–H хиперкоњугације предложивши једначину 1.8.

$$E_s^c = E_s + 0,306 (n-3) \quad (1.8)$$

где је n број α -водоникових атома; 0,306 је константа која потиче од молекуларно орбиталних прорачуна. Како су параметари E_s^c и E_s недоступност за све супституенте искључила је њихову примену из QSAR модела [72,19].

Данас се и многи други стерни параметри користе за описивање утицаја стерног ефекта супституена [72,19]. Моларна рефрактивност MR , је један од често коришћених. Дефинисан је преко Лоренц-Лоренцове (Lorentz-Lorenz) једначине и у функцији је моларне запремине:

$$MR = [(n^2 - 1) / (n^2 + 2)] V_m \quad (1.9)$$

$$V_m = M / \rho \quad (1.10)$$

где је: n -индекс рефракције, V_m - моларна запремина. Однос индекса рефракције дефинисан као $(n^2 - 1) / (n^2 + 2)$ представља корекциони фактор и показује лакоћу поларизације супституента. Веома је важан за супституенте који садрже π -електроне или слободне електронске парове. Моларна рефрактивност, овим односом, укључује компоненту поларизабилности повезану са Лондоновим дисперзионим силама. Не садржи податке о облику молекула, иако је замишљена као груба мера волуминозности супституента, [72,19].

1.3.3. Утицај липофилности на биолошку активност

Основни параметар молекула са физиолошком активношћу, је његова липофилност од кога зависи његова апсорпција и дистрибуција у биолошким системима (мембранска пропустљивост и везивање лиганда за рецептор). Дефинише се кроз подеони коефицијент, P , који представља однос равнотежних концентрација растворене супстанце расподељене између два растварача који се делимично или уопште не мешају, једначина (1.13).

$$P = C_{\text{лек, октанол}} / C_{\text{лек, вода}} \quad (1.13)$$

Као референтни систем за испитивање липофилности изабран је систем 1-октанол/вода који представља апроксимацију ћелијске мембране, органске фазе. Подеоне коефицијенте се мери при ниској концентрацији једињења или се добијена вредност P екстраполише до бесконачно разблаженог раствора, због могућности асоцијације молекула [73].

Ако супстанца има велику вредност подеоног коефицијента, сматра се липофилном. Супстанца са малом вредношћу подеоног коефицијента је хидрофилна. Логаритмовањем P постаје адитивна величина (због лакше манипулације са малим бројевима), једначина (1.14).

$$\log P = \log C_{\text{лек, октанол}} - \log C_{\text{лек, вода}} \quad (1.14)$$

Овај двофазни систем је послужио да се измере вредности подеоних коефицијената за серију једињења што је резултирало успостављањем нове хидрофобне скале [72,19]. Вредности $\log P$ зависе од методе која је примењена за

њихово одређивање. Постоји више метода мерења подеоног коефицијента, односно $\log P$:

- класична метода мућкањем у систему два растварача који се слабо мешају.
- метода колонског генератора која је изузетно сложена и скупа.
- хроматографске методе помоћу RP-HPLC и RP- TLC као и центрифугалном подеоном хроматографијом.

Ове методе су индиректне, тј. потребно је коришћење референтних једињења познатог $\log P$.

По угледу на Хаметове константе супституената, Ханш је дефинисао и нови хидрофобни/липофилни параметар π (једначина 1.15) који је мера релативне хидрофобности супституента у односу на водоник.

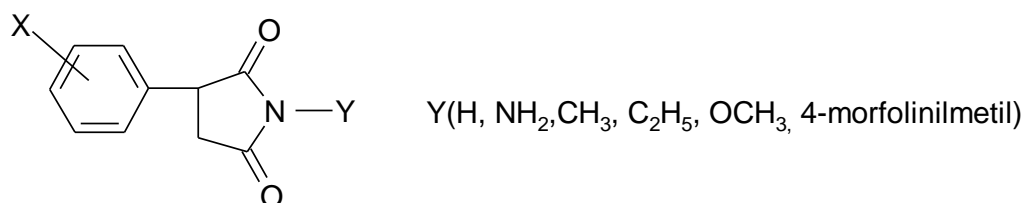
$$\pi_x = \log (P_{RX} / P_{RH}) \quad (1.15)$$

где су P_{RX} и P_{RH} подеони коефицијенти супституисаног и несупституисаног једињења. Негативне вредности константе хидрофобности показују да је супституент мање хидрафобан од водоника, а позитивне вредности супротно [72].

Лапчевиц (Laršević) и група сарадника испитујући антиконвулзантска активност *N*-супституисаних-2-фенилсукцинимидна на мишевима (Слика 1.26), показали су да испитивана активност зависи од хидрофобног параметра π_x супституента *X* према следећој јеначини: [89]

$$\log 1/C = 0,92(\pm 0,36) \pi_x - 0,34(\pm 0,15) \pi_x^2 + 3,18(\pm 0,07) \quad (1.16)$$

$$n = 15, r^2 = 0,902, s = 0,09, \pi_0 = 1,35$$



Слика 1.26. *N*-супституисани-2-фенилсукцинимиди

1.4. Микроталасна синтеза

На самог почетку истраживања хемијских трансформација, уочено је да је загревање један од кључних услова за одвијање многих хемијских реакција и да има важан утицај на брзину и начин одигравања различитих процеса. Први пламеник који је 1855. године конструисао Бунсен (Bunsen) био је револуционарно откриће. Касније је пламеник замењен уљаним и воденим купатилима или грејном облогом као извором топлоте [90-92].

За време Другог светског рата Percy Spencer је радећи на радарским постројењима, када је испитиван магнетрон као извор радарског зрачења константне фреквенције, случајно открио да су микроталаси истопили чоколаду у његовом џепу. То му је дало идеју да би се микроталасно зрачење могло искористити за загревање хране. 1954. године, направљена је прва микроталасна пећница за кућну употребу, а развој микроталасне технологије и масовна производња микроталасних уређаја су појефтинила израду магнетрона.

Почетак нове ере у органској синтези почиње са примени микроталасног зрачења у органској синтези, а прву публикацију објавили су Gedye-a и Giguere-a 1986. године. Након те публикације, број радова у којима се овај тип реакције примењује нагло се повећавао. Данас су те реакције синтезе познате као микроталасно-стимулисана органске синтезе (microwave-assisted organic synthesis), МАОС [93-95].

У поређењу са реакцијама које се одигравају уз конвенционално загревање, микроталасна стимулација се показала као веома ефикасна јер скраћује време трајања реакција, већи је принос и чистоћа добијених производа, као резултат одигравања мањег броја нежељених, споредних реакција. Због низа предности, микроталасна синтеза је нашла примену у медицинској хемији и фармацеутској индустрији, синтези полимера, хемији материјала, нанотехнологији и биохемији.

Фармацеутска индустрија је прва увела микроталасну синтезу у лабораторије, јер је идеална за брзу оптимизацију реакционих услова, односно омогућава већи број одлука и закључака у јединици времена кроз "хипотезу-експеримент-резултат" интеракцију. [96,92].

Синтезе су на почетку извођене у кућним микроталасним пећницама у тефлонским или стакленим судовима без одговарајућих мерења температуре и притиска. Како кућне микроталасне пећнице нису предвиђене за ригорозне

реакционе услове, услед брзог и неконтролисаног загревања реакционе смеше, често је долазило до експлозија. Неколико истраживачких група је крајем прошлог века започело експерименте у одсуству растварача (*solvent-free* или *dry-media*) елиминишући на тај начин опасност од експлозије. Ипак, многобројне публикације везане за реакције синтезе у одсуству растварача, а често и катализатора, указује на проблеме везане за неравномерно загревање, мешање и прецизно одређивање реакционе температуре. Насупрот томе, микроталасно стимулирана синтеза са органским растварачима, у отвореном систему микроталасног реактора, ограничена је температуром загревања реакционе смеше која представља температуру кључања самог растварача под атмосферским притиском [96-100].

Данас постоје четири главна произвођача микроталасних реактора за органску синтезу (*Anton Paar, Biotage, Milstone i CEM*), који су опремљени сензорима за температуру и притисак, поседују магнетно мешање и уређаје за контролу снаге мешања и софтвер за праћење тих параметара, ради безбедног рада. Из тог разлога, број корисника је у сталном порасту и само је питање времена када ће већина лабораторија бити опремљена микроталасним реактором.

С друге стране, у великом броју публикација (~ 30 %) и даље се истиче коришћење кућне микроталасне пећнице која није прихваћена као инструмент за микроталасне синтезе од стране великог броја научних часописа данашњице (*American Chemical Society, Organic Chemistry Journals*) [92, 101-103].

1.4.1. Природа микроталасног зрачења и механизам загревања

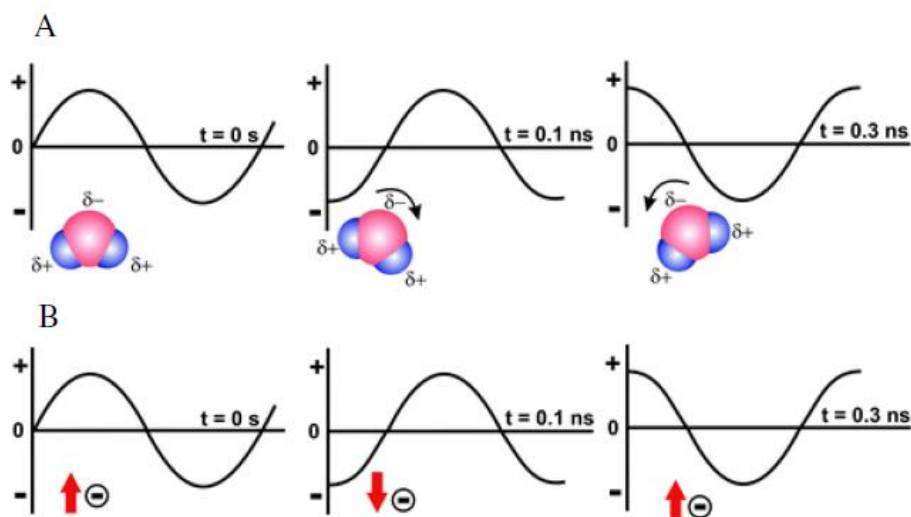
Област микроталасног зрачења се у електромагнетном спектру налази између инфрацрвеног и радио таласа у области таласних дужина од 1 mm до 1 m, што одговара фреквенцији између 0.3 и 300 GHz. Таласне дужине од 1mm до 25 cm, користи се за радарску емисију, а област од 25cm до 1m се користи у телекомуникацијама. Кућне микроталасне пећнице и микроталасни уређаји намењени за рад у лабораторијама раде на фреквенцији од 2.45GHz, односно таласној дужи од 12.25 cm, да не би дошло до интерференције са телекомуникационим уређајима и мобилном телефонијом.

Важно је напоменути да је енергија микроталасног фотона (0.0016 eV) сувише ниска да би довела до раскидања веза у молекулу, чак и водоничних, односно за разлику од фотохемијских реакција које се одигравају под дејством

ультраљубичастог и видљивог зрачења, хемијске реакције не могу бити индуковане директном апсорпцијом микроталасне енергије. [92]

Принцип дејства микроталаса се заснива на загревању материје ефектом микроталасног диелектричног загревања, односно способности дате материје (нпр. растварача или реагенса) да апсорбује микроталасну енергију и преведе је у топлоту.

Као и сви електромагнетни таласи и микроталаси се састоје од електричног и магнетног поља. Електрично поље је одговорна за интеракције између таласа и материје, иако је у неким интеракцијама, као што су интеракције са оксидима прелазних метала, значајна и компонентна магнетног поља. Основни механизми електрично поље који проузрокује загревање су диполарна поларизација и јонска кондукција. Интеракција компоненте електричног поља са реакционом смешом назива се диполарни поларизациони механизам (Слика 1.27) [104-106].



Слика 1.27. Диполни поларизациони механизам (А)
и механизам јонске кондукције (В)

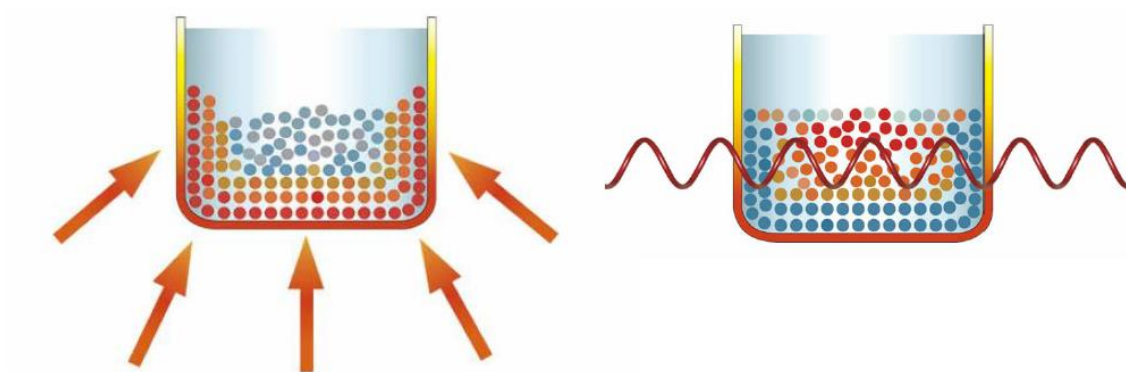
Основном механизму микроталасног загревања, који се заснива на осциловању поларних молекула или јона под дејством осцилаторног електричног поља, подлежу само супстанце које поседују диполни моменат или наелектрисање. Поларни молекули или јони, изложени микроталасној фреквенцији настоје да прате примењено електрично поље, које доводи до промене оријентације дипола. Захваљујући молекулском трењу, током праћења спољашњег наизменичног поља од стране дипола, доведена микроталасна енергија се претвара у топлотну енергију. У

току процеса микроталасног загревања, количина топлоте која се ослободи директно је повезана са могућношћу реакционе смеше да прати фреквенције поља. Како би дошло до загревања молекулски диполи морају да имају времена да прати спољашњег поља (фреквенцију микроталасног зрачења) али не и да се поравња са истим. Када диполи немају довољно времена (високофреквентно зрачење) или се оно одвија сувише брзо (нискофреквентно зрачење) не долази до загревања. Код гасовитих медија удаљеност између ротирајућих молекула је сувише велика па се они не могу микроталасно загревати. Смрзнути флуиди, лед је скоро микроталасно-транспарентан јер се диполи не могу померати као у течној фази. [92]

Јонски кондукциони механизам је други механизам загревања. Солватисани јони који прате осцилације поља померају се и сударају са суседним молекулима при чему долази до трења и стварања топлоте. Кондукциони механизам је далеко ефектнији у поређењу са механизмом диполарне поларизације у количини ослобођене топлоте. Код проводника и полупроводника јавља се сличан механизам. Микроталасно зрачење индукује струју електрона на површини материјала и на тај начин доводи до загревања (омски отпор) [107]. Кондукциони механизам се у органској синтези користи за загревање јаким микроталасно-апсорбујућих материјала, као што су танки филмови метала (Pd, Au), графитних подлога или тзв. пасивних елемената загревања изграђених од силицијум-карбида.[92]

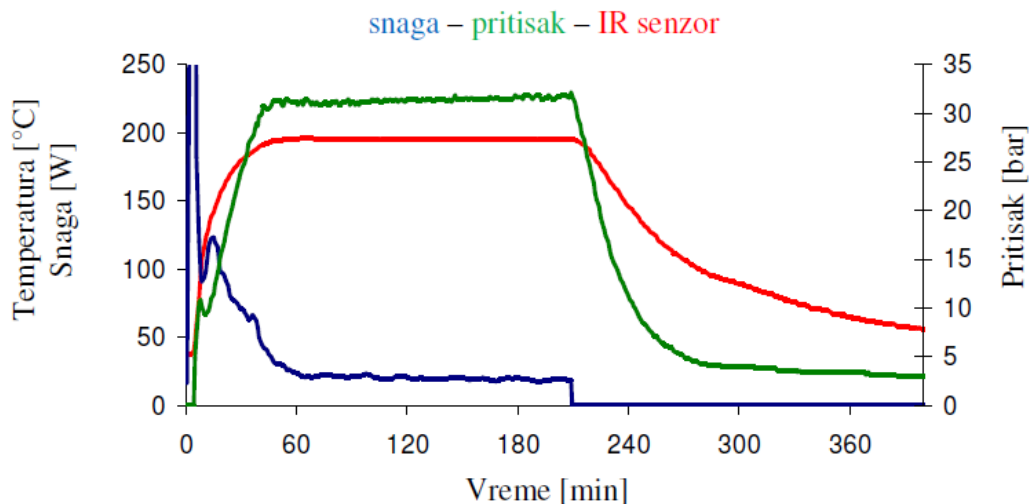
1.4.2. Поређење конвенционалног и микроталасног загревања

Класичан начин загревања реакционих смеша (нпр. уљано купатило или грејна облога) је релативно спор и неефикасан. Разлог је спор пренос енергије унутар реакционог система, јер зависи од конвекције топлоте кроз реакциону смешу, као и топлотне кондуктивности материјала реактора. Неретко због много виших вредности температура зидова реакционог суда у односу на реакциону смешу долази до локалног прегревања, што може да довести до разлагања реагенса и настајања споредних производа. Са друге стране, микроталасно зрачење ефикасно загрева читавом запремином реакционог суда, директном интеракцијом микроталаса са молекулима присутним у реакционој смеси (Слика 1.28) [96].



Слика 1.28. Поредиба конвенционалног и микроталасног загревања реакционе смеше

У моно-модним микроталасним реакторима реакције се изводи у затвореном систему, са високом густином микроталаса. Ти услови омогућавају да се и растварачи ниске температуре кључања, као што је метанол ($T_k = 65\text{ }^{\circ}\text{C}$), брзо загревају до температура које су за чак $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ више у односу на њихове температуре кључања, што се може уочити и на Слици 1.29. Овакав температурни профил је скоро немогуће остварити класичним загревањем. [92]



Слика 1.29. Микроталасно-стимулисано загревања метанола у *Anton Paar Monowave 300*

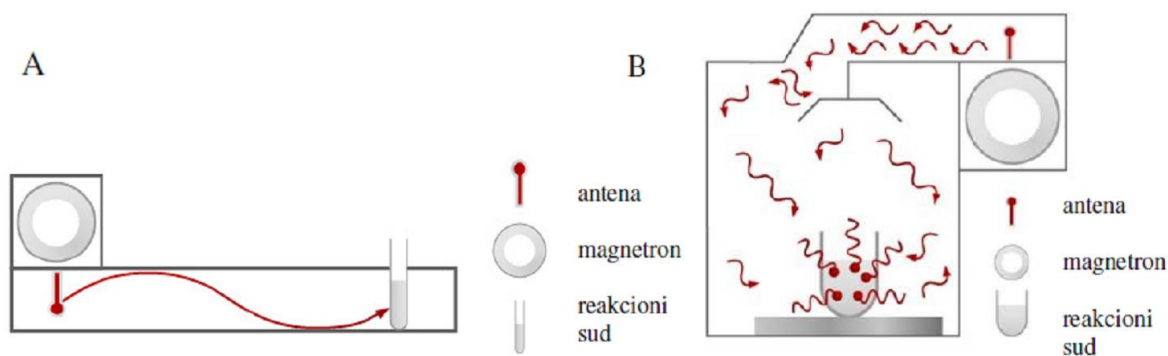
На Слици 1.29 је приказан принцип функционисања микроталасних реактора. На контролном екрану су приказани подаци о профилима температуре, притиска и снаге при загревању метанола. Реакциона смеша се у првих неколико секунди или

минута загрева при максималној вредности снаге, како би се задата температура постигла у што краћем временском периоду. Велики проблем током микроталасног зрачења представља прецизна контрола температуре, јер су класични температурни сензори, непоуздани услед купловања са електромагнетним пољем [108]. На савременијим моно-модним микроталасним реакторима (Biotage Initiator, СЕМ Discover) температура се прати спољним инфрацрвеним сензором, којим се детектује температура на површини реакционог суда (тем. опсег $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $400\text{ }^{\circ}\text{C}$). Услед супротног смера кретања топлоте у односу на класично загревање, зид реакционог суда је најхладнији део реакционог система, па измерена температура није идентична температури унутар реакционе смеше. [109-112].

Брзина хемијских реакција у микроталасном реактору у прегрејаном растварачу, много је већа у односу на реакције које се изводе при атмосферском притиску на температури кључања. Mingos и Baghurst су применом Арениус-овог закона предвидели време трајања хемијске реакције, која захтева 68 дана за постизање приноса од 90 % на $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ при класичном методом, за исти степен конверзије за само 1.61 секунду загревањем на температури од $227\text{ }^{\circ}\text{C}$ у микроталасном реактору. Због различитих температурних профила између микроталасног и конвенционалног загревања, долази и до различитих исхода хемијских реакција [113], па се при микроталасно-стимулисаним реакцијама углавном добијају чистији производи него са конвенционалним.

Да би се обезбедио несметан пролаз микроталаса кроз зид суда, микроталасни реакциони судови направљени су од микроталасно-транспарентног материјала, као што је борсиликатно стакло (*Pyrex*), кварц или PTFE (*Teflon*) [114,92]. До елиминације ефекта зида (вреле површине реакционог суда) долази и због ефикасног трансфера топлоте кроз унутрашњост реакционе.

Данас су на тржишту доступни моно-модни и мулти-модни микроталасни реактори. Разлика између ових реактора је у различитим принципима зрачења приказаним на Слици 1.30. Код моно-модног реактора зрачење усмерено пада на реакциону посуду, која је на прецизно одређеној удаљености од извора, а код мулти-модног зрачење се рефлектовањем од зидове кућишта распоређује у свим смеровима (Слика 1.30). [92]



Слика 1.30. Приказ загревања код моно-модног (А) и мулти-модног (В) микроталасног реактора



Слика 1.31. *Anton Paar Monowave 300* моно-модни микроталасни реактор и реакциони судови намењени за рад у микроталасној пећи

Anton Paar Monowave 300 је моно-модни микроталасни реактор (Слика 1.30) са могућношћу загревања реакционих смеша до 300°C, притиску до 30 bar и максималној снази магнетрона од 850 W. Реактор поседује могућност унутрашњег (FO) и спољашњег (IR) мерења температуре. Реакциони судови за рад у *Monowave 300* запремине су 0.5 - 2 ml, 2 - 6 ml (Pyrex i SiC реакциони суд) и 6 - 20 ml. [92]

Anton Paar Synthos 3000, (Слика 1.32) је новије генерације мулти-модних реактора на тржишту за микроталасно стимулисане реакције са могућношћу загревања реакционих смеша до 80 bar и 300 °C (ИЦ сензор) уз максималну снагу магнетрона од 1400 W.



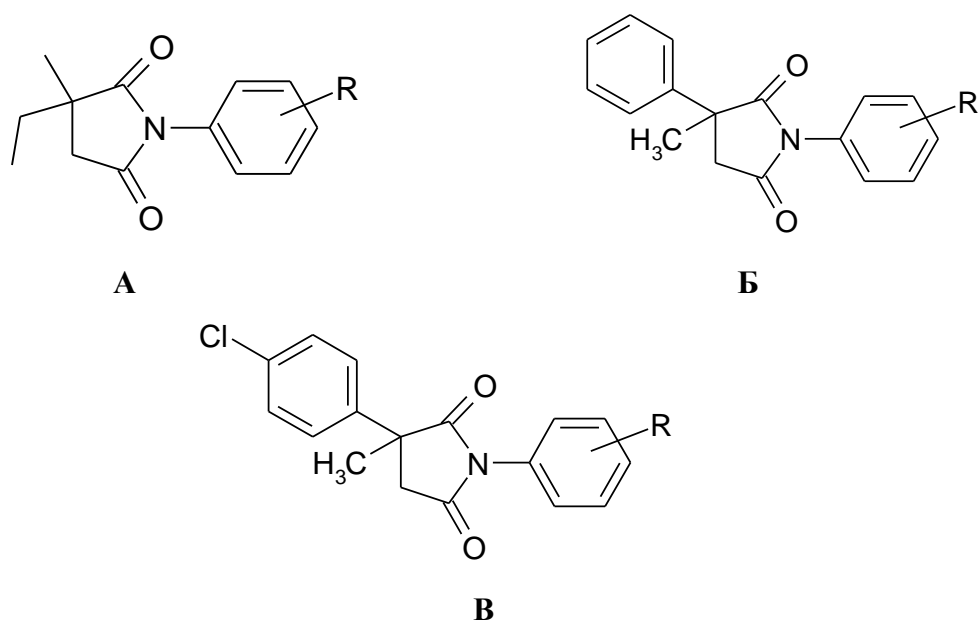
Слика 1.32. Anton Paar Synthos 3000 са ротором капацитета загревања 48 реакционих смеша паралелно или четири SiC плоче (4 x 20 узорака).

Избор одговарајућег реактора, пре свега зависи од захтева за реакционе услове. Снага у мулти-модним реакторима је далеко већа (1000 - 1600 W) у односу на моно-модне (300 - 400 W) али је зато густина микроталаса далеко мања па је загревање малих узорака отежано [92].

2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

У оквиру овог рада, са циљем испитивања утицаја структуре на биолошку активност деривата сукцинимиди (пиролидин-2,5-диона), синтетисане су три различите серије једињења и то:

- *N*-(3- и 4-супституисани фенил)-2-етил-2-метилсукцинимиди, (Слика 2.1 А),
- *N*-(3- и 4-супституисани фенил)-2-фенил-2- метилсукцинимиди, (Слика 2.1 Б),
- *N*-(3- и 4-супституисани фенил)-2-(4-хлорфенил)-2-метилсукцинимиди, (Слика 2.1 В).



Слика 2.1. Деривати сукцинимиди синтетизовани у овом раду (R=H, OH, OCH₃, CH₃, COOH, Cl, Br, F, I, CN, NO₂)

Свих 34 једињења су први пут синтетисана према модификованим поступцима из литературе и потпуно структурно окарактерисана температурама топљења (ТТ), FT-IR, ¹H и ¹³C NMR и UV-Vis спектроскопијом. Биолошка активност синтетизованих једињења као потенцијалних антимикуробних агенаса одређена је методом микродилуције мерењем минималне инхибиторне концентрације (MIC).

2.1. Општи поступак синтезе *N*-арил-2,2-дисупституисаних сукцинимиди

Синтеза *N*-арил-2,2-дисупституисаних сукцинимиди се изводи у две фазе реакције. Прва фаза обухвата синтезу 2,2-дисупституисанесукцинске (ћилибарне) киселине, док друга фаза реакције обухвата синтезу деривата *N*-арил-2,2-дисупституисаних пиролдин-2,5-диона.

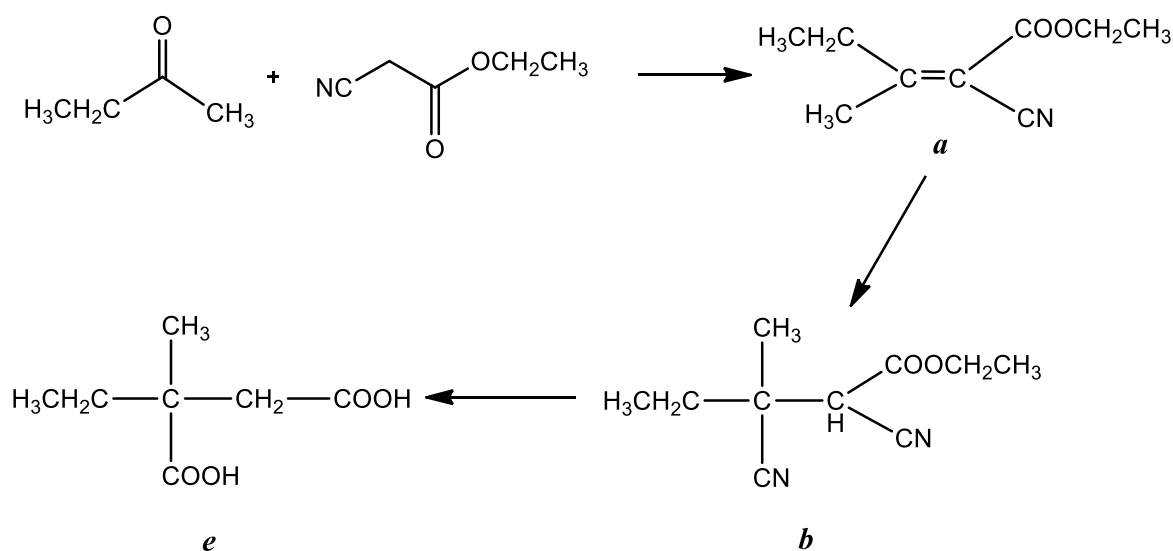
Сви испитивани *N*-арил-2,2-дисупституисанесукцинимиди су синтетисани из одговарајућег деривата сукцинске киселине и супституисаних анилина микроталасном синтезом у условима без растварача, у моно-модном микроталасном реактору, *Anton Paar Monowave 300*.

2.1.1. Синтеза 2-етил-2-метилсукцинске киселине

У реакциони балон запремине 500 ml, са Дин-Штарковим наставком и рефлуксним кондезатором, сипа се 56,5 g (0,5 mol) етил цијаноацетата, 43,2 g (0,6 mol) бутанона, 3,85 g (0,05 mol) амонијум-ацетата, 6,0 g (0,1 mol) глацијалне сирћетне киселине и 50 ml бензена. Реакциона смеша загрева се преко уљаног купатила на температури од 130-160 °С. Реакција се одвија још један сат након престанка издвајања воде из реакционе смесе. Укупно време реакције је 6 часова [15].

Након завршетка реакције, реакциона смеша се хлади и испира 3 пута са 100 ml воде. Раствор бензена, који садржи кондензациони производ, се испира 3 пута са по 25 ml 10% воденог раствора NaCl. Бензен се уклања вакуум дестилацијом. Раствор који садржи кондезациони производ се потом пребаци у ерленмајер запремине 500 ml и дода водени раствор направљен од 65 g натријум-бисулфита и 200 ml воде. Раствор се затим меша 10 часова, а потом пребаци у левак за раздвајање у коју је додата једнака количина воде. Врши се екстракција са 4 порције од по 25 ml бензена да би се уклонио не прореаговали етил-цијаноацетат. Бисулфитни раствор се потом хлади на леду, а након тога се додаје хладан раствор направљен од 28 g NaOH и 100 ml воде. Раствор се пребацује у левак за раздвајање. Одвоји се естарски слој, а водени слој се екстрахује бензеном. Споји се естарски слој са бензеном и испере са веома разблаженим раствором HCl. Уклони се водени слој, а заостали бензен се уклони вакуум дестилацијом [15]. Добијени производ је етил-2-цијано-3-метил-2-пентаноат (Шема 2.1 структура *a*).

У реакциони балон запремине 250 ml сипа се 57,3 g (0,34 mol) етил-2-цијано-3-метил-2-пентаноата (добијен у реакцији бутанона и етил-цијаноацетата [17]), 35,9 g KCN и 110 ml 50% етанола. Реакциона смеша се загрева на уљаном купатилу све док се не формира бистар раствор [18]. После хлађења, смеша се раствара у 275 ml воде, а рН вредност у опсегу 3,1-4,9 (Конгоцрвено) се подешава додатком концентроване HCl. Након што се уљани талог уклони, врши се екстракција воденог слоја са 140 ml етра. Етарски слој се испираса са 55 ml воде, две порције од 55 ml засићеног раствора NaHCO₃ и поново са 55 ml воде. Етарски слој се потом осуши додатком анхидрованог MgSO₄. Етар се уклања вакуум дестилацијом. Добијено је 35,3 g (53 %) етил 2,3-дицијано-3-метилпентаноата (Шема 2.1, структура *b*) [18].



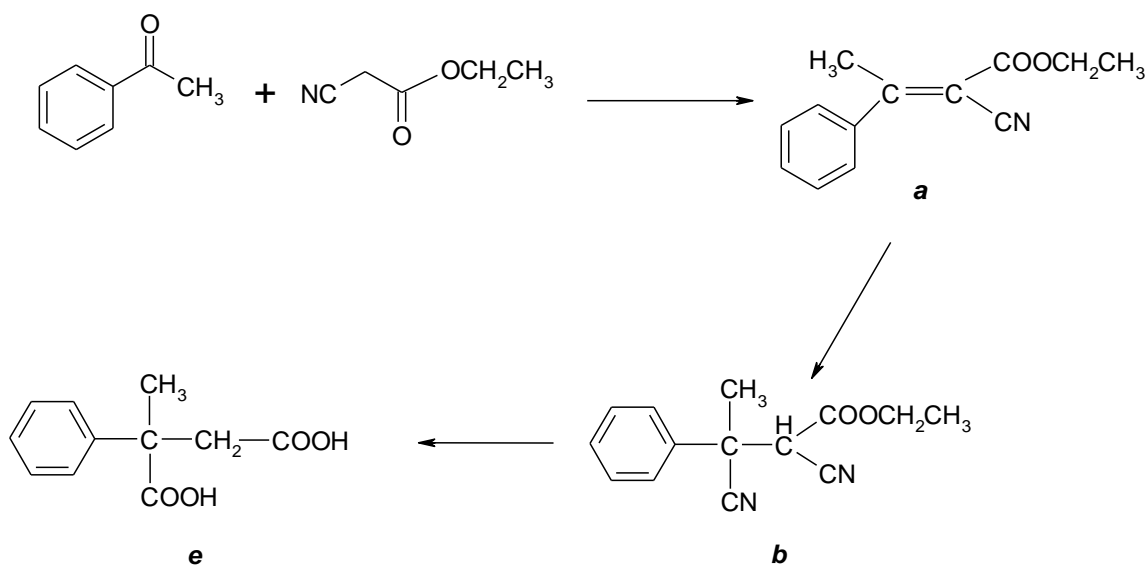
Шема 2.1. Синтеза 2-етил-2-метилсукцинске киселине

У реакциони балон запремине од 250 ml сипа се 35,3 g (0,18 mol) етил-2,3-дицијано-3-метилпентаноата и 200 ml 12M HCl. Реакциона смеша загрева се на уљаном купатилу 20 часова. После хлађења реакционе смесе уклања се уљани слој. Добијени продукт се раствара у вишку 10% раствора NaOH. Додаје се активни угаљ и раствор се филтрира кроз филтер папир. Закишељавањем раствора са HCl добија се уљани талог. Водени слој се декантује, а уљани слој стајањем прелази у чврст производ. Производ се прекристалише из етра. Добијено је 15,9 g (55%) 2-етил-2-метилсукцинске киселине [17,18] (Шема 2.1, структура *e*).

2.1.2. Синтеза 2-фенил-2-метилсукцинске киселине

У реакциони балон запремине 500 ml, са Дин-Штарковим наставком и рефлуксним кондезатором, сипа се 56,6 g (0,5 mol) етил-цијаноацетата, 60,1 g (0,5 mol) ацетофенона, 7,7 g (0,1 mol) амонијум-ацетата, 24 g (0,4 mol) глацијалне сирћетне киселине и 100 ml бензена. Реакциона смеша се загрева преко уљаног купатила на температури од 130-160°C. Реакција се одвија један сат након престанка издвајања воде из реакционе смесе [15].

Након завршетка реакције, реакциона смеша се хлади и испира 3 пута са 100 ml воде. Раствор бензена, који садржи кондензациони производ, се испира 3 пута са по 25 ml 10% воденог раствора NaCl. Бензен се уклања вакуум дестилацијом. Раствор који садржи кондезациони производ се потом пребаци у ерленмајер запремине 500 ml и дода водени раствор направљен од 65 g натријум-бисулфита и 200 ml воде. Раствор се затим меша 10 часова, а потом пребаци у левак за раздвајање у коме је додата једнака количина воде. Врши се екстракција са 4 порције од по 25 ml бензена да би се уклонио не прореаговали етил цијаноацетат. Бисулфитни раствор се потпом хлади ледом, а након тога се додаје хладан раствор направљен од 28 g NaOH и 100 ml воде. Раствор се пребацује у левак за раздвајање. Одвоји се естарски слој, а водени слој се екстрахује са бензеном. Споји се естарски слој са бенезеном и испере са веома разблаженим раствором HCl. Након уклањања воденог слоја, а заостали бензен се уклони вакуум дестилацијом [15]. Добијени производ је етил-2-цијано-3-фенил-2-бутаноат (Шема 2.2 структура *a*).



Шема 2.2. Синтеза 2-фенил-2-метилсукцинске киселине

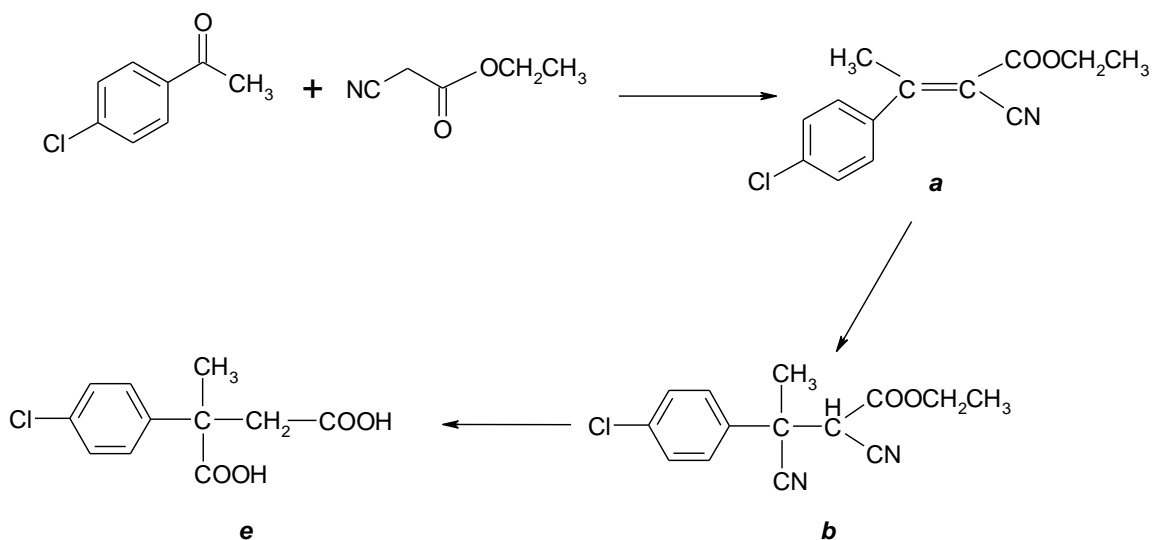
У реакциони балон запремине 250 ml сипа се 51,6 g (0,24 mol) етил-2-цијано-3-фенил-2-бутаноата (добијен у реакцији ацетофенона и етил цијаноацетата [15]), 25,2 g (0,39 mol) KCN и 78 ml 50% етанола. Реакциона смеша се загрева на уљаном купатилу све док се не формира бистар раствор. После хлађења, смеша се раствара у 193 ml воде, а рН вредност у опсегу 3,1-4,9 (Конго црвено) се подешава додатком концентроване HCl. Након што се уљани талог уклони, врши се екстракција воденог слоја са 100 ml етра. Етарски слој се испираса са 50 ml воде, две порције од 50 ml zasiћеног раствора NaHCO₃ и поново са 50 ml воде. Етарски слој се потом осуши додатком анхидрованог MgSO₄. Етар се уклања вакуум дестилацијом [18]. Добијено је 36,5 g етил-2,3-дицијано-3-фенил-2-бутаноата (Шема 2.2, структура *b*).

У реакциони балон запремине 250 ml сипа се 36,5 g (0,15 mol) етил-2,3-дицијано-3-фенил-2-бутаноата и 136 ml 12M HCl. Реакциона смеша загрева се на уљаном купатилу 20 часова. После хлађења реакционе смесе уклања се уљани слој. Добијени продукт се раствара у вишку 10% раствора NaOH. Додаје се активни угљ и раствор се филтрира кроз филтер папир. Закишељавањем раствора са HCl добија се уљани талог. Водени слој се декантује, а уљани стајањем прелази у чврст производ. Производ се прекристалише из етра. Добијено је 20,8 g (0,1 mol) 2-фенил-2-метилсукцинске киселине (Шема 2.2, структура *e*) [17,18].

2.1.3. Синтеза 2-(4-хлорфенил)-2-метилсукцинске киселине

У реакциони балон запремине 500 ml, са Дин-Штарковим наставком и рефлуксним кондезатором, сипа се 56,5 g (0,5 mol) етил цијаноацетата, 77,3 g (0,5 mol) p-хлорацетофенона, 7,7 g (0,1 mol) амонијум-ацетата, 24 g (0,4 mol) глацијалне сирћетне киселине и 100 ml бензена. Реакциона смеша загрева се преко уљаног купатила на температури кључања реакционе смеше. Реакција се одвија између 4 и 12 часова, односно један сат након престанка издвајања воде из реакционе смесе.

Након завршетка реакције, реакциона смеша се хлади и пречисти по претходно наведеном поступку [15]. Добијени производ је етил-2-цијано-3-(4-хлорфенил)-2-бутаноат. (Шема 2.3 структура *a*).



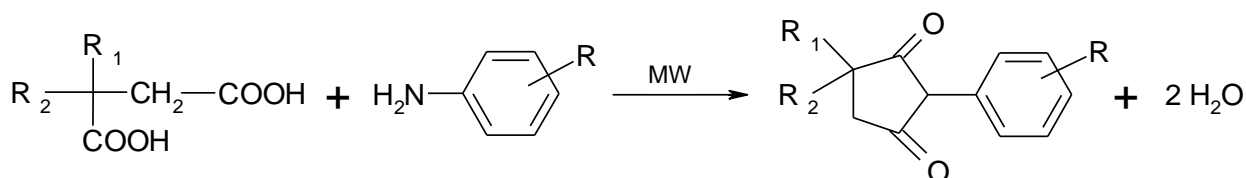
Шема 2.3. Синтеза 2-(4-хлорфенил)-2-метилсукцинске киселине

У реакциони балон запремине 250 ml сипа се 60,0 g (0,24 mol) етил 2-цијано-3-(4-хлорфенил)-2-бутаноат (добијен у реакцији ацетофенона и етил цијаноацетата [14]), 25,2 g (0,39 mol) KCN и 78 ml 50% етанола. Реакциона смеша се загрева на уљаном купатилу све док се не формира бистар раствор. После хлађења, смеша се раствара у 193 ml воде, а рН вредност у опсегу 3,1-4,9 (Конго црвено) се подешава додатком концентроване HCl. Након што се уљани талог уклони, врши се екстракција воденог слоја са 100 ml етра. Етарски слој се испираса са 50 ml воде, две порције од 50 ml засићеног раствора NaHCO₃ и поново са 50 ml воде. Етарски слој се потом осуши додатком анхидрованог MgSO₄. Етар се уклања вакуум дестилацијом [18]. Добијено је 33,7 g етил-2,3-дицијано-3-(4-хлорфенил)-2-бутаноата. (Шема 2.3 структура *b*).

У реакциони балон запремине 250 ml сипа се 33,7 g (0,12 mol) етил-2,3-дицијано-3-(4-хлорфенил)-2-бутаноата и 136 ml 12M HCl. Реакциона смеша загрева се на уљаном купатилу 20 часова. После хлађења реакционе смесе уклања се уљани слој. Добијени производ се раствара у вишку 10% раствора NaOH. Додаје се активни угаљ и раствор се филтрира кроз филтер папир. Закишељавањем раствора са HCl добија се уљани талог. Водени слој се декантује, а уљани стајањем прелази у чврст производ. Производ се прекристалише из етра. Добијено је 17,0 g (0,07 mol) 2-(4-хлорфенил)-2-метилсукцинске киселине (Шема 2.3 структура *e*).

2.1.4. Микроталасна синтеза *N*-арил-2,2-дисупституисаних сукцинимида

Претходно синтетизоване 2,2-дисупституисане сукцинске киселине ($4,12 \cdot 10^{-3}$ mol) и супституисани анилин ($4,78 \cdot 10^{-3}$ mol) меша се у реакционом суду од 10 ml на $180\text{ }^\circ\text{C}$ у микроталасном реактору током 15 мин у условима без растварача. Након завршетка реакције, смеша се охлади на собну температуру. Добијена сирова смеша се раствара у етил ацетату и узастопно се испере са 10 ml 5% раствора HCl, 10 ml zasiћеног раствора NaHCO₃ и два пута са 10 ml дестиловане воде. Органски слој се осуши преко Na₂CO₄ а растварач се упарава под сниженим притиском. Сирови производ се рекристалише у ацетону (Шема 2.4). Добијена једињења су потпуно структурно окарактерисана одређивањем температуре топљења, FT-IR, ¹H и ¹³C NMR спектроскопијом и елементарном анализом.



Шема 2.4. Микроталасна синтеза *N*-арил-2,2-дисупституисаних сукцинимида

Физичко-хемијски параметри за прва група једињења (**A1-A12**) из серије *N*-(3- и 4-супституисани фенил)-2-етил-2-метилсукцинимида:

N-(4-хидроксифенил)-2-етил-2-метилсукцинимид (**A1**, C₁₃H₁₅NO₃). Бела кристална супстанца; принос 78%; т.т.: $145\text{--}147\text{ }^\circ\text{C}$; FT-IR (KBr): $|\nu| \text{ cm}^{-1} = 1767$ (C=O), 1687 (C=O); ¹H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 9.75$ (s, 1H, –OH), 7.03 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, –C₆H₄), 6.84 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, –C₆H₄), 2.80–2.56 (AB q, $J_{AB} = 18.0$ Hz, 2H, –CH₂–), 1.74–1.52 (m, 2H, –CH₂CH₃), 1.28 (s, 3H, –CH₃), 0.86 (t, $J = 8.0$ Hz, 3H, –CH₂CH₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 182.37$ (C6), 175.79 (C7), 157.79 (C11), 128.57 (C9, C9'), 123.80 (C8), 115.66 (C10, C10'), 43.74 (C4), 40.13 (C5), 31.15 (C2), 23.37 (C3), 8.73 (C1). Израчунато за C₁₃H₁₅NO₃: C, 66.94; H, 6.48; N, 6.00; Одређено: C, 66.81; H, 6.40; N, 5.93.

N-(4-метоксифенил)-2-етил-2-метилсукцинимид (**A2**, C₁₄H₁₇NO₃). Црна кристална супстанца; принос 77%; т.т.: $75\text{--}77\text{ }^\circ\text{C}$; FT-IR (KBr): $|\nu| \text{ cm}^{-1} = 1766$ (C=O), 1703 (C=O); ¹H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 7.18$ (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, –C₆H₄), 7.03 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, –C₆H₄), 3.79 (s, 3H, –OCH₃), 2.82–2.58 (AB q, $J_{AB} = 18.0$ Hz, 2H, –CH₂–), 1.76–1.54 (m, 2H, –CH₂CH₃), 1.29 (s, 3H, –CH₃), 0.88 (t, $J = 8.0$ Hz, 3H, –

CH_2CH_3); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 182.24 (C6), 175.67 (C7), 159.17 (C11), 128.56 (C9, C9'), 125.27 (C8), 114.35 (C10, C10'), 55.57 (C12), 43.78 (C4), 40.14 (C5), 31.11 (C2), 23.27 (C3), 8.69 (C1). Израчунато за $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}_3$: C, 68.00; H, 6.93; N, 5.66; Одређено: C, 67.89; H, 6.82; N, 5.60.

N-(4-метилфенил)-2-етил-2-метилсуццинимид (**A3**, $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}_2$). Бела кристална супстанца; принос: 75%; т.т.: 54–56 °C; FT-IR (KBr): $|\nu| \text{ cm}^{-1}$ = 1777 (C=O), 1710 (C=O); ^1H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 7.29 (d, J = 8.0 Hz, 2H, – C_6H_4), 7.14 (d, J = 8.0 Hz, 2H, – C_6H_4), 2.77–2.65 (AB q, J_{AB} = 18.0 Hz, 2H, – CH_2 –), 2.34 (s, 3H, – CH_3), 1.76–1.54 (m, 2H, – CH_2CH_3), 1.29 (s, 3H, – CH_3), 0.88 (t, J = 8.0 Hz, 3H, – CH_2CH_3); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 182.16 (C6), 175.58 (C7), 138.12 (C11), 130.14 (C8), 129.64 (C10, C10'), 127.16 (C9, C9'), 43.87 (C4), 40.20 (C5), 31.16 (C2), 23.31 (C3), 20.95 (C12), 8.73 (C1). Израчунато за $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}_2$: C, 72.70; H, 7.41; N, 6.06; Одређено: C, 72.55; H, 7.33; N, 6.00.

N-фенил-2-етил-2-метилсуццинимид (**A4**, $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}_2$). Бела кристална супстанца; принос: 79 %; т.т.: 53–54 °C; FT-IR (KBr): $|\nu| \text{ cm}^{-1}$ = 1776 (C=O), 1711 (C=O); ^1H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 7.54–7.42 (m, 5H, – C_6H_5), 7.28 (d, J = 8.0 Hz, 1H, – C_6H_5), 2.85–2.61 (AB q, J_{AB} = 18.0 Hz, 2H, – CH_2 –), 1.78–1.56 (m, 2H, – CH_2CH_3), 1.31 (s, 3H, – CH_3), 0.89 (t, J = 8.0 Hz, 3H, – CH_2CH_3); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 182.04 (C6), 175.45 (C7), 132.71 (C8), 129.14 (C9, C9'), 128.57 (C11), 127.34 (C10, C10'), 43.89 (C4), 40.21 (C5), 31.12 (C2), 23.24 (C3), 8.70 (C1). Израчунато за $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}_2$: C, 71.87; H, 6.96; N, 6.45 Одређено: C, 71.77; H, 6.86; N, 6.39 .

N-(4-флуорофенил)-2-етил-2-метилсуццинимид (**A5**, $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{NO}_2\text{F}$). Бела кристална супстанца; принос: 72%; т.т.: 63–64 °C; FT-IR (KBr): $|\nu| \text{ cm}^{-1}$ = 1776 (C=O), 1704 (C=O); ^1H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 7.335 (d, J = 6.0 Hz, 4H, – C_6H_4), 2.79–2.65 (AB q, J_{AB} = 18.0 Hz, 2H, – CH_2 –), 1.79–1.52 (m, 2H, – CH_2CH_3), 1.30 (s, 3H, – CH_3), 0.88 (t, J = 8.0 Hz, 3H, – CH_2CH_3); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 181.99 (C6), 175.40 (C7), 161.63 (d, J = 237.9 Hz, C11,11'), 129.53 (d, J = 8.50 Hz, C9,9'), 129.91 (d, J = 3.0 Hz, C8), 116.05 (d, J = 22.5 Hz, C10,10'), 43.88 (C4), 40.20 (C5), 31.06 (C2) 23.28 (C3), 8.82 (C1). Израчунато за $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{FNO}_2$: C, 66.37; H, 6.00; N, 5.95; Одређено: C, 66.35; H, 5.96; N, 5.92.

N-(4-хлорофенил)-2-етил-2-метилсуццинимид (**A6**, $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{NO}_2\text{Cl}$). Бела кристална супстанца; принос: 76%; т.т.: 50–52 °C; FT-IR (KBr): $|\nu| \text{ cm}^{-1}$ = 1775 (C=O), 1702 (C=O); ^1H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 7.57 (d, J = 8.0 Hz, 2H, –

C_6H_4), 7.33 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, $-C_6H_4$), 2.79–2.65 (AB q, $J_{AB} = 18.0$ Hz, 2H, $-CH_2-$), 1.73–1.55 (m, 2H, $-CH_2CH_3$), 1.30 (s, 3H, $-CH_3$), 0.87 (t, $J = 8.0$ Hz, 3H, $-CH_2CH_3$); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 181.89 (C6), 175.25 (C7), 133.07 (C8), 131.54 (C11), 129.23 (C10, C10'), 129.17 (C9, C9'), 43.97 (C4), 40.27 (C5), 31.09 (C2), 23.13 (C3), 8.72 (C1). Израчунато за $C_{13}H_{14}ClNO_2$: C, 62.03; H, 5.61; N, 5.56; Одређено: C, 61.92; H, 5.45; N, 5.49.

N-(3-хлорфенил)-2-етил-2-метилсулцинимид (**A7**, $C_{13}H_{14}NO_2Cl$). Бела кристална супстанца; принос: 60%; т.т.: 58–59 °C; FT-IR (KBr): $|\nu|$ cm^{-1} = 1779 (C=O), 1698 (C=O); 1H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 7.58–7.48 (m, 2H, $-C_6H_4$), 7.44 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H, $-C_6H_4$), 7.32–7.26 (m, 1H, $-C_6H_4$), 2.85–2.59 (AB q, $J_{AB} = 18.0$ Hz, 2H, $-CH_2-$), 1.81–1.52 (m, 2H, $-CH_2CH_3$), 1.30 (s, 3H, $-CH_3$), 0.89 (t, $J = 8.0$ Hz, 3H, $-CH_2CH_3$); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 181.90 (C6), 175.30 (C7), 134.26 (C8), 133.43 (C10), 130.97 (C10'), 128.78 (C9), 127.51 (C11), 126.37 (C9'), 44.22 (C4), 40.58 (C5), 31.25 (C2) 23.32 (C3), 8.95 (C1). Израчунато за $C_{13}H_{14}NO_2Cl$: C, 62.03; H, 5.61; N, 5.56; Одређено: C, 61.90; H, 5.47; N, 5.48.

N-(4-бромфенил)-2-етил-2-метилсулцинимид (**A8**, $C_{13}H_{14}NO_2Br$). Бела кристална супстанца; принос: 75%; т.т.: 60–63 °C; FT-IR (KBr): $|\nu|$ cm^{-1} = 1775 (C=O), 1702 (C=O); 1H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 7.70 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, $-C_6H_4$), 7.26 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, $-C_6H_4$), 2.78–2.66 (AB q, $J_{AB} = 18.0$ Hz, 2H, $-CH_2-$), 1.76–1.55 (m, 2H, $-CH_2CH_3$), 1.30 (s, 3H, $-CH_3$), 0.87 (t, $J = 8.0$ Hz, 3H, $-CH_2CH_3$); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 181.83 (C6), 175.24 (C7), 132.18 (C10, C10'), 131.97 (C8), 129.46 (C9, C9'), 121.56 (C11), 43.98 (C4), 40.28 (C5), 31.10 (C2) 23.13 (C3), 8.72 (C1). Израчунато за $C_{13}H_{14}NO_2Br$: C, 52.72; H, 4.76; N, 4.73; Одређено: C, 52.59; H, 4.63; N, 4.65.

N-(3-бромфенил)-2-етил-2-метилсулцинимид (**A9**, $C_{13}H_{14}NO_2Br$). Бела кристална супстанца; принос: 63%; т.т.: 72–73 °C; FT-IR (KBr): $|\nu|$ cm^{-1} = 1779 (C=O), 1698 (C=O); 1H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 7.67–7.56 (m, 2H, $-C_6H_4$), 7.47 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H, $-C_6H_4$), 7.35–7.30 (m, 1H, $-C_6H_4$), 2.79–2.63 (AB q, $J_{AB} = 18.0$ Hz, 2H, $-CH_2-$), 1.81–1.52 (m, 2H, $-CH_2CH_3$), 1.30 (s, 3H, $-CH_3$), 0.88 (t, $J = 8.0$ Hz, 3H, $-CH_2CH_3$); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 181.73 (C6), 175.14 (C7), 134.13 (C8), 131.44 (C10 along $-Cl$), 131.04 (C10'), 130.06 (C9 close to $-Cl$), 126.57 (C11), 121.38 (C9'), 43.94 (C4), 40.28 (C5), 30.96 (C2) 23.18 (C3), 8.83 (C1). Израчунато за $C_{13}H_{14}NO_2Br$: C, 52.72; H, 4.76; N, 4.73; Одређено: C, 52.56; H, 4.60; N, 4.64.

N-(4-карбоксифенил)-2-етил-2-метилсукцинимид (**A10**, C₁₄H₁₅NO₄). Бела кристална супстанца; принос: 72%; т.т.: 152–154 °C; FT-IR (KBr): $|\nu| \text{ cm}^{-1} = 1779$ (C=O), 1717 (C=O); ¹H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 8.06$ (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, –C₆H₄), 7.44 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, –C₆H₄), 2.87–2.63 (AB q, $J_{AB} = 18.0$ Hz, 2H, –CH₂–), 1.78–1.56 (m, 2H, –CH₂CH₃), 1.31 (s, 3H, –CH₃), 0.88 (t, $J = 8.0$ Hz, 3H, –CH₂CH₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 181.81$ (C6), 175.20 (C7), 166.99 (C12), 136.51 (C8), 130.73 (C11), 130.19 (C10, C10'), 127.34 (C9, C9'), 44.05 (C4), 40.34 (C5), 31.15 (C2), 23.15 (C3), 8.73 (C1). Израчунато за C₁₄H₁₅NO₄: C, 64.36; H, 5.79; N, 5.36; Одређено: C, 64.48; H, 5.89; N, 5.34.

N-(4-цијанофенил)-2-етил-2-метилсукцинимид (**A11**, C₁₄H₁₄N₂O₂). Бела кристална супстанца; принос: 76%; т.т.: 93–96 °C; FT-IR (KBr): $|\nu| \text{ cm}^{-1} = 1772$ (C=O), 1714 (C=O); ¹H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 7.98$ (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, –C₆H₄), 7.55 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, –C₆H₄), 2.87–2.63 (AB q, $J_{AB} = 18.0$ Hz, 2H, –CH₂–), 1.78–1.56 (m, 2H, –CH₂CH₃), 1.31 (s, 3H, –CH₃), 0.88 (t, $J = 8.0$ Hz, 3H, –CH₂CH₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 181.56$ (C6), 174.95 (C7), 136.75 (C8), 133.26 (C10, C10'), 128.11 (C9, C9'), 118.57 (C12), 111.12 (C11), 44.07 (C4), 40.35 (C5), 31.06 (C2), 22.99 (C3), 8.68 (C1). Израчунато за C₁₄H₁₄N₂O₂: C, 69.41; H, 5.82; N, 11.56; Одређено: C, 69.30, H, 5.68, N, 11.49.

N-(4-нитрофенил)-2-етил-2-метилсукцинимид (**A12**, C₁₃H₁₄N₂O₄). Жута кристална супстанца; принос: 73%; т.т.: 115–117 °C; FT-IR (KBr): $|\nu| \text{ cm}^{-1} = 1782$ (C=O), 1713 (C=O); ¹H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 8.36$ (d, $J = 10.0$ Hz, 2H, –C₆H₄), 7.63 (d, $J = 10.0$ Hz, 2H, –C₆H₄), 2.83–2.71 (AB q, $J_{AB} = 18.0$ Hz, 2H, –CH₂–), 1.79–1.58 (m, 2H, –CH₂CH₃), 1.32 (s, 3H, –CH₃), 0.89 (t, $J = 8.0$ Hz, 3H, –CH₂CH₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 181.58$ (C6), 174.97 (C7), 146.85 (C11), 138.29 (C8), 128.27 (C10, C10'), 124.45 (C9, C9'), 44.12 (C4), 40.38 (C5), 31.09 (C2), 22.97 (C3), 8.70 (C1). Израчунато за C₁₃H₁₄N₂O₄: C, 59.54; H, 5.38; N, 10.68; Одређено: C, 59.44; H, 5.31; N, 10.62.

Физичко-хемијски параметри за друге група једињења (**B1-B12**) из серије *N*-(3- и 4-супституисани фенил)-2-фенил-2-метилсукцинимид:

N-(4-Хидроксифенил)-2-фенил-2-метилсукцинимид (**B1**, C₁₇H₁₅NO₃). Бела кристална супстанца; принос: 52%; т.т. 173.2-174.9 °C; IR (KBr): $|\nu| \text{ cm}^{-1} = 1774$ (C=O), 1687 (C=O); ¹H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 9.78$ (s, 1H, –OH), 7.50–7.27(m, 5H, –C₆H₅), 7.12 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, –C₆H₄–), 6.87 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, –C₆H₄),

3.13 (s, 2H, $-\text{CH}_2-$), 1.73 (s, 3H, $-\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 180.42 (C2), 175.03 (C5), 157.49 (C10), 142.59 (C11), 128.81 (C12,12'), 128.44 (C8,8'), 127.24 (C14), 125.90 (C13,13'), 123.52 (C7), 115.49 (C9,9'), 47.53 (C4), 44.60 (C3), 24.51 (C6). Израчунато за $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO}_3$: C, 72.58; H, 5.37; N, 4.98; Одређено: C, 72.44; H, 5.31; N, 4.89;

N-(4-Метоксифенил)-2-фенил-2-метилсуқцинимид (**Б2**, $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{NO}_3$). Црна кристална супстанца; принос: 62%; т.т. 104-126 °C; IR (KBr): $|\nu| \text{ cm}^{-1} = 1772$ (C=O), 1710 (C=O); ^1H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 7.52–7.31 (m, 5H, $-\text{C}_6\text{H}_5$), 7.25 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, $-\text{C}_6\text{H}_4-$), 7.05 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, $-\text{C}_6\text{H}_4-$), 3.79 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$), 3.14 (ABq, 2H, $\Delta\nu_{\text{AB}} = 8.72$ Hz, $J = 18$ Hz, $-\text{CH}_2-$), 1.74 (s, 3H, $-\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 180.33 (C2), 174.94 (C5), 159.10 (C10), 142.54 (C11), 128.80 (C12,12'), 128.47 (C8,8'), 127.25 (C14), 125.93 (C13,13'), 125.02 (C7), 114.21 (C9,9'), 55.40 (C15, Ph- OCH_3), 47.58 (C4), 44.61 (C3), 24.45 (C6). Израчунато за $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO}_3$: C, 73.20; H, 5.80; N, 4.74; Одређено: C, 73.14; H, 5.71; N, 4.63;

N-(4-Метилфенил)-2-фенил-2-метилсуқцинимид (**Б3**, $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{NO}_2$). Бела кристална супстанца; принос: 55%; т.т. 105,5-106,6 °C; IR (KBr): $|\nu| \text{ cm}^{-1} = 1772$ (C=O), 1707 (C=O); ^1H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 7.53–7.20 (m, 9H, $-\text{C}_6\text{H}_5$ and N- $-\text{C}_6\text{H}_4-$), 3.17 (ABq, 2H, $J = 18$ Hz, $-\text{CH}_2-$), 2.35 (s, 3H, Ph- CH_3), 1.75 (s, 3H, succ- CH_3); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 180.17 (C2), 174.77 (C5), 142.79 (C11), 138.05 (C10), 129.88 (C7), 129.44 (C9,9'), 128.80 (C12,12'), 127.24 (C14), 126.99 (C8,8'), 125.90 (C13,13'), 47.63 (C4), 44.62 (C3), 24.45 (C6), 20.71 (C15, Ph- CH_3). Израчунато за $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{NO}_2$: C, 77.40; H, 6.13; N, 5.01; Одређено: C, 77.34; H, 6.01; N, 4.93;

N-фенил-2-фенил-2-метилсуқцинимид (**Б4**, $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO}_2$). Бела кристална супстанца; принос: 45%; т.т. 105,5-106,6 °C; IR (KBr): $|\nu| \text{ cm}^{-1} = 1779$ (C=O), 1705 (C=O); ^1H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 7.56–7.28 (m, 10H, $-\text{C}_6\text{H}_5$ and N- $-\text{C}_6\text{H}_5$), 3.18 (ABq, 2H, $J = 18$ Hz, $-\text{CH}_2-$), 1.75 (s, 3H, $-\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 180.12 (C2), 174.72 (C5), 142.45 (C11), 132.47 (C7), 128.99 (C8,8', C9,9'), 128.82 (C12,12'), 128.54 (C10), 127.25 (C14), 125.94 (C13,13'), 47.69 (C4), 44.64 (C3), 24.46 (C6). Израчунато за $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO}_2$: C, 76.96; H, 5.70; N, 5.28; Одређено: C, 76.87; H, 5.61; N, 5.30;

N-(4-Флуорфенил)-2-фенил-2-метилсуқцинимид (**Б5**, $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{NO}_2\text{F}$). Бела кристална супстанца; принос: 57%; т.т. 119,8-121,1 °C; IR (KBr): $|\nu| \text{ cm}^{-1} = 1782$ (C=O), 1712 (C=O); ^1H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 7.54–7.28 (m, 9H, $-\text{C}_6\text{H}_5$

and N-C₆H₄-), 3.18 (s, 2H, -CH₂-), 1.76 (s, 3H, -CH₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO): |δ| ppm = 180.10 (C2), 174.68 (C5), 161.62 (d, *J* = 244.0 Hz, C10), 142.41 (C11), 129.49 (d, *J* = 9.0 Hz, C8,8'), 128.80 (C12,12'), 128.69 (d, *J* = 3 Hz, C7), 127.28 (C14), 125.98 (C13,13'), 115.91 (d, *J* = 22.5 Hz, C9,9'), 47.67 (C4), 44.64 (C3), 24.54 (C6). Израчунато за C₁₇H₁₄NO₂F: C, 72.07; H, 4.98; N, 4.94; Одређено: C, 72.00; H, 4.86; N, 4.30;

N-(4-Хлорфенил)-2-фенил-2-метилсуқцинимид (Б6, C₁₇H₁₄NO₂Cl). Бела кристална супстанца; принос: 65%; т.т. 120,2-122,2 °C; IR (KBr): |ν| cm⁻¹ = 1778 (C=O), 1710 (C=O); ¹H NMR (200 MHz, DMSO): |δ| ppm = 7.63–7.29 (m, 9H, -C₆H₅ and N-C₆H₄-), 3.18 (ABq, 2H, Δν_{AB} = 12.65 Hz, *J* = 18Hz, -CH₂-), 1.76 (s, 3H, -CH₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO): |δ| ppm = 179.90 (C2), 174.47 (C5), 142.32 (C11), 133.02 (C10), 131.29 (C7), 129.03 (C8,8', C9,9'), 128.78 (C12,12'), 127.28 (C14), 125.96 (C13,13'), 47.70 (C4), 44.61 (C3), 24.58 (C6). Израчунато за C₁₇H₁₄NO₂Cl: C, 68.12; H, 4.71; N, 4.67; Одређено: C, 68.04; H, 4.59; N, 4.59;

N-(3-Хлорфенил)-2-фенил-2-метилсуқцинимид (Б7, C₁₇H₁₄NO₂Cl). Бела кристална супстанца; принос: 66%; т.т. 128,6-130,3 °C; IR (KBr): |ν| cm⁻¹ = 1774 (C=O), 1709 (C=O); ¹H NMR (200 MHz, DMSO): |δ| ppm = 7.60–7.28 (m, 9H, -C₆H₅ and N-C₆H₄-), 3.17 (ABq, 2H, Δν_{AB} = 12.65 Hz, *J* = 18Hz, -CH₂-), 1.76 (s, 3H, -CH₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO): |δ| ppm = 179.82 (C2), 174.37 (C5), 142.28 (C11), 133.79 (C7), 133.04 (C9 уз -Cl), 130.60 (C8 близу -Cl, C9'), 128.77 (C12,12'), 128.55 (C10), 127.27 (C14), 126.11 (C8'), 126.01 (C13,13'), 47.71 (C4), 44.68 (C3), 24.56 (C6). Израчунато за C₁₇H₁₄NO₂Cl: C, 68.12; H, 4.71; N, 4.67; Одређено: C, 68.07; H, 4.60; N, 4.59;

N-(4-Бромфенил)-2-фенил-2-метилсуқцинимид (Б8, C₁₇H₁₃NO₂Br). Бела кристална супстанца; принос: 61%; т.т. 112,3-114,4 °C; IR (KBr): |ν| cm⁻¹ = 1776 (C=O), 1709 (C=O); ¹H NMR (200 MHz, DMSO): |δ| ppm = 7.73 (d, *J* = 8 Hz, 2H, -C₆H₄-), 7.53–7.27 (m, 7H, -C₆H₅ and N-C₆H₄-), 3.18 (ABq, 2H, Δν_{AB} = 8.72 Hz, *J* = 18Hz, -CH₂-), 1.75 (s, 3H, -CH₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO): |δ| ppm = 179.86 (C2), 174.44 (C5), 142.31 (C11), 131.99 (C8,8'), 131.73 (C7), 129.35 (C9,9'), 128.80 (C12,12'), 127.29 (C14), 125.97 (C13,13'), 121.53 (C10), 47.72 (C4), 44.62 (C3), 24.57 (C6). Израчунато за C₁₇H₁₄NO₂Br: C, 59.32; H, 4.10; N, 4.07; Одређено: C, 59.25; H, 4.01; N, 3.99;

N-(3-Бромфенил)-2-фенил-2-метилсуқцинимид (Б9, C₁₇H₁₃NO₂Br). Бела кристална супстанца; принос: 66%; т.т. 118,8-121,1 °C; IR (KBr): |ν| cm⁻¹ = 1772

(C=O), 1709 (C=O); ^1H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 7.69–7.28 (m, 9H, $-\text{C}_6\text{H}_5$ and $\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-$), 3.17 (ABq, 2H, $\Delta\nu_{\text{AB}} = 12.65$ Hz, $J = 18$ Hz, $-\text{CH}_2-$), 1.76 (s, 3H, $-\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 179.82 (C2), 174.38 (C5), 142.27 (C11), 133.91 (C7), 131.42 (C9'), 130.86 (C10), 130.06 (C8'), 128.76 (C12,12'), 127.26 (C14), 126.50 (C9 са $-\text{Br}$), 126.01 (C13,13'), 121.22 (C8 близу $-\text{Br}$), 47.70 (C4), 44.68 (C3), 24.56 (C6). Израчунато за $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{NO}_2\text{Br}$: C, 59.32; H, 4.10; N, 4.07; Одређено: C, 59.22; H, 4.03; N, 3.97;

N-(4-Карбоксифенил)-2-фенил-2-метилсулцинимид (**Б10**, $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{NO}_4$). Бела кристална супстанца; принос: 61%; т.т. 173,5–174,7 °C; IR (KBr): $|\nu|$ $\text{cm}^{-1} = 1783$ (C=O), 1710 (C=O); ^1H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 13.15 (bs, 1H, $-\text{COOH}$), 8.09 (d, $J = 10$ Hz, 2H, $-\text{C}_6\text{H}_4-$), 7.54–7.28 (m, 7H, $-\text{C}_6\text{H}_5$ and $\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-$), 3.21 (ABq, 2H, $\Delta\nu_{\text{AB}} = 12.65$ Hz, $J = 18$ Hz, $-\text{CH}_2-$), 1.76 (s, 3H, $-\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 179.85 (C2), 174.44 (C5), 166.76 (C15, $-\text{COOH}$), 142.31 (C11), 136.27 (C7), 130.68 (C10), 130.02 (C9,9'), 128.85 (C12,12'), 127.36 (C14), 127.25 (C8,8'), 125.99 (C13,13'), 47.81 (C4), 44.65 (C3), 24.58 (C6). Израчунато за $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{NO}_4$: C, 69.89; H, 4.89; N, 4.53; Одређено: C, 69.72; H, 4.73; N, 4.46;

N-(4-Цијанофенил)-2-фенил-2-метилсулцинимид (**Б11**, $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$). Бела кристална супстанца; принос: 58%; т.т. 93,9–95,3 °C; IR (KBr): $|\nu|$ $\text{cm}^{-1} = 1784$ (C=O), 1713 (C=O); ^1H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 8.01 (d, $J = 8$ Hz, 2H, $-\text{C}_6\text{H}_4-$), 7.64 (d, $J = 10$ Hz, 2H, $-\text{C}_6\text{H}_4-$), 7.55–7.28 (m, 5H, $-\text{C}_6\text{H}_5$), 3.21 (ABq, 2H, $\Delta\nu_{\text{AB}} = 12.65$ Hz, $J = 18$ Hz, $-\text{CH}_2-$), 1.77 (s, 3H, $-\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 179.61 (C2), 174.17 (C5), 142.18 (C11), 136.51 (C7), 133.08 (C9,9'), 128.80 (C12,12'), 127.34 (C14), 128.05 (C8,8'), 126.01 (C13,13'), 118.35 (C15, $-\text{CN}$), 111.09 (C10), 47.81 (C4), 44.62 (C3), 24.61 (C6). Израчунато за $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$: C, 74.47; H, 4.86; N, 9.65; Одређено: C, 74.39; H, 4.79; N, 9.67;

I-(4-Нитрофенил)-2-фенил-2-метилсулцинимид (**Б12**, $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_4$). Бела кристална супстанца; принос 60%; т.т. 106,9–108,1 °C (107,5 °C); IR (KBr): $|\nu|$ $\text{cm}^{-1} = 1773$ (C=O), 1705 (C=O); ^1H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 7.95 (d, $J = 8$ Hz, 2H, $-\text{C}_6\text{H}_4-$), 7.71 (d, $J = 10$ Hz, 2H, $-\text{C}_6\text{H}_4-$), 7.55–7.27 (m, 5H, $-\text{C}_6\text{H}_5$), 3.23 (ABq, 2H, $\Delta\nu_{\text{AB}} = 12.65$ Hz, $J = 18$ Hz, $-\text{CH}_2-$), 1.85 (s, 3H, $-\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 179.61 (C2), 174.17 (C5), 142.15 (C11), 138.05 (C7), 128.82 (C9,9'), 128.21 (C12,12'), 127.37 (Ph), 128.05 (Ph), 126.03 (Ph), 112.42 (Ph), 47.86 (C4), 44.61 (C3), 24.60 (C6). Израчунато за $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_4$: C, 66.00; H, 4.24; N, 9.06; Одређено: C, 59.94; H, 4.26; N, 9.09.

Физичко-хемијски параметри за друге група једињења (**B1-B10**) из серије *N*-(3- и 4-супституисани фенил)-2-(4-хлорфенил)-2-метилсулцинимид:

N-фенил-2-Хлорфенил-2-метилсулцинимид (**B1**, C₁₇H₁₄NO₂Cl). Безбојна кристална супстанца; принос: 80%; т.т. 125,1-126,6 °C; IR (KBr): $|\nu| \text{ cm}^{-1} = 1783$ (C=O), 1699 (C=O); ¹H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 7.52-7.32$ (m, 9H, -C₆H₅ and N-C₆H₅), 3.14 (ABq, 2H, $J = 11\text{Hz}$, -CH₂-), 1.72 (s, 3H, -CH₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 181.73$ (C5), 176.83 (C2), 143.31 (C11), 134.41 (C14), 134.04(C7), 130.95 (C12,12'), 130.65 (C13,13'), 130.65 (C9,9'), 130.11 (C8,8'), 129.24 (C10), 46.32 (C4), 41.56 (C3), 26.89 (C6). Израчунато за C₁₇H₁₄NO₂Cl: C, 68.12; H, 4.71; N, 4.67; Одређено: C, 68.02; H, 4.61; N, 4.55;

N-(4-Хлорфенил)-2-(4-Хлорфенил)-2-метилсулцинимид (**B2**, C₁₇H₁₃NO₂Cl₂). Бела кристална супстанца; принос: 76%; т.т. 102,0-103,1 °C; IR (KBr): $|\nu| \text{ cm}^{-1} = 1778$ (C=O), 1706 (C=O); ¹H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 7.58-7.38$ (m, 9H, -C₆H₅ and N-C₆H₄-), 3.14 (ABq, 2H, $\Delta\nu_{\text{AB}} = 12.65 \text{ Hz}$, $J = 12 \text{ Hz}$, -CH₂-), 1.72 (s, 3H, -CH₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 181.61$ (C2), 176.20 (C5), 143.18 (C11), 135.05 (C10), 134.05 (C14), 133.1 (C7), 131.05 (C12,12'), 131.00 (C8,8'), 130.62 (C13,13'), 130.14 (C9,9'), 46.30 (C4), 41.55 (C3), 26.94 (C6). Израчунато за C₁₇H₁₃NO₂Cl₂: C, 61.1; H, 3.92; N, 4.19; Одређено: C, 60.92; H, 3.81; N, 4.08;

N-(4-Бромфенил)-2-(4-Хлорфенил)-2-метилсулцинимид (**B3**, C₁₇H₁₃NO₂BrCl). Бела кристална супстанца; принос: 76%; т.т. 77,5-79,5 °C; IR (KBr): $|\nu| \text{ cm}^{-1} = 1783$ (C=O), 1706 (C=O); ¹H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 7.74-7.33$ (m, 9H, -C₆H₅ and N-C₆H₄-), 3.17 (ABq, 2H, $\Delta\nu_{\text{AB}} = 12.65 \text{ Hz}$, $J = 12\text{Hz}$, -CH₂-), 1.73 (s, 3H, -CH₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 179.50$ (C5), 174.62 (C2), 141.63 (C11), 132.49 (C14), 132.41 (C12,12'), 132.11 (C7), 129.82 (C8,8'), 129.07 (C13,13'), 128.61 (C9,9'), 122.00 (C10), 47.87 (C4), 44.75 (C3), 25.38 (C6). Израчунато за C₁₇H₁₃NO₂BrCl: C, 53.92; H, 3.46; N, 3.70; Одређено: C, 53.82; H, 3.38; N, 3.61;

N-(4-Нитрофенил)-2-(4-Хлорфенил)-2-метилсулцинимид (**B4**, C₁₇H₁₃N₂O₄Cl). Жута кристална супстанца; принос ; т.т 101,7-105,2 °C; IR (KBr): $|\nu| \text{ cm}^{-1} = 1783$ (C=O), 1716 (C=O); ¹H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 8.40-7.46$ (m, 8H, -C₆H₅), 3.24 (ABq, 2H, $J = 12\text{Hz}$, -CH₂-), 1.77 (s, 3H, -CH₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 179.73$ (C2), 174.26 (C5), 141.25 (C10), 141.46 (C7), 138.42 (C11), 132.57 (C14), 129.07 (C12,12'), 128.69 (C13,13'), 128.66 (C8,8'), 124.66 (C9,9'), 48.00 (C4), 44.74 (C3), 25.50 (C6). Израчунато за C₁₇H₁₃N₂O₄Cl: C, 59.23; H, 3.80; N, 8.13; Одређено: C, 6859.12; H, 43.71; N, 8.05;

N-(4-Флуорфенил)-2-(Хлорфенил)-2-метилсулцинимид (**B5**, C₁₇H₁₃NO₂ClF).
Бела кристална супстанца; принос: 71%; т.т. 130,4-132,0 °C; IR (KBr): ν = 1780 (C=O), 1705 (C=O); ¹H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 7.65–7.43 (m, 9H, –C₆H₅ и N–C₆H₄–), 3.45 (s, 2H, –CH₂–), 1.82 (s, 3H, –CH₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 180.00 (C5), 174.95 (C2), 163.25 (C10), 141.67 (C11), 132.45(C14), 130.01(C12,12'), 129.92 (C8,8'), 129.08 (C13,13'), 128.62(C7), 116.45-116.23 (d, J = 22 Hz, C9,9'), 47.81 (C4), 44.75 (C3), 25.37 (C6). Израчунато за C₁₇H₁₃NO₂ClF: C, 64.26; H, 4.12; N, 4.41; Одређено: C, 64.18; H, 4.03; N, 4.35;

N-(4-Метилфенил)-2-(4-Хлорфенил)-2-метилсулцинимид (**B6**, C₁₈H₁₆NO₂Cl).
Бела кристална супстанца; принос: 75%; т.т. 121,6-122,8 °C; IR (KBr): ν = 1774 (C=O), 1706 (C=O); ¹H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 7.62–7.28 (m, 9H, –C₆H₅ и N–C₆H₄–), 3.24 (ABq, 2H, J = 12Hz, –CH₂–), 2.43 (s, 3H, Ph–CH₃), 1.80 (s, 3H, –CH₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 180.35 (C5), 174.97 (C2), 141.80 (C10), 138.55 (C11), 132.44 (C14), 130.24 (C12,12'), 129.87 (C13,13'), 129.09 (C9,9'), 128.56 (C7), 127.48 (C8,8'), 47.79 (C4), 44.74 (C3), 25.29 (C6), 21.21 (C15, Ph–CH₃). Израчунато за C₁₈H₁₆NO₂Cl: C, 68.90; H, 5.14; N, 4.46; Одређено: C, 68.81; H, 5.03; N, 4.40;

N-(4-Метоксифенил)-2-(4-Хлорфенил)-2-метилсулцинимид (**B7**, C₁₈H₁₆NO₃Cl).
Бела кристална супстанца; принос: 77%; т.т. 127,6-129,4 °C; IR (KBr): $|\nu|$ cm⁻¹ = 1774 (C=O), 1705 (C=O); ¹H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 7.54–7.45 (m, 5H, –C₆H₅), 7.25 (d, J = 3.0 Hz, 2H, –C₆H₄–), 7.05 (d, J = 2.0 Hz, 2H, –C₆H₄–), 3.80 (s, 3H, –OCH₃), 3.21-3.09 (ABq, 2H, $\Delta\nu_{AB}$ = 25.25 Hz, J = 12Hz, –CH₂–), 1.73 (s, 3H, –CH₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 180.48(C5), 175.13 (C2), 159.54 (C10), 159.48 (C11), 141.84 (C14), 132.43 (C12,12'), 129.08 (C13,13'), 128.94 (C8,8'), 128.56 (C7), 114.62 (C9,9'), 55.95 (C15, Ph–OCH₃), 47.72 (C4), 44.73 (C3), 25.31 (C6). Израчунато за C₁₈H₁₆NO₃Cl: C, 66.56; H, 4.89; N, 4.25; Одређено: C, 66.48; H, 4.75; N, 4.15;

N-(3-Бромфенил)-2-(4-Хлорфенил)-2-метилсулцинимид (**B8**, C₁₇H₁₃NO₂Br Cl).
Бела кристална супстанца; принос: 80%; т.т. 127,2-129,9°C; IR (KBr): $|\nu|$ cm⁻¹ = 1780 (C=O), 1701 (C=O); ¹H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 7.77–7.48 (m, 9H, –C₆H₅ and N–C₆H₄–), 3.32-3.18(ABq, 2H, $\Delta\nu_{AB}$ = 14.75 Hz, J = 14Hz, –CH₂–), 1.83 (s, 3H, –CH₃); ¹³C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta|$ ppm = 180.00 (C5), 174.67 (C2), 141.62 (C7), 134.29 (C11), 132.47 (14), 131.93 (C12,12'), 131.32 (C9), 130.58 (C13,13'), 129.05 (C10), 128.69 (C8), 127.03 (C9' са –Br), 121.65(C8' близу –Br), 47.86 (C4), 44.84 (C3), 25.37(C6). Израчунато за C₁₇H₁₃NO₂BrCl: C, 53.92; H, 3.46; N, 3.70; Одређено: C, 53.82; H, 3.39; N, 3.64;

N-(3-Јодфенил)-2-(4-Хлорфенил)-2-метилсулцинимид (**B9**, C₁₇H₁₃NO₂ICl).
 Бела кристална супстанца; принос: 72,3%; т.т. 153,5-155,0°C; IR (KBr): $|\nu| \text{ cm}^{-1} = 1780 \text{ (C=O)}, 1701 \text{ (C=O)}$; ¹H NMR (200 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 7.88 \text{ (d, } J = 3.0 \text{ Hz, 2H, -C}_6\text{H}_4\text{-)}, 7.62\text{--}7.37 \text{ (m, 7H, -C}_6\text{H}_5 \text{ and N-C}_6\text{H}_4\text{-)}, 3.22 \text{ (ABq, 2H, } \Delta\nu_{\text{AB}} = 12.65 \text{ Hz, } J = 14\text{Hz, -CH}_2\text{-)}, 1.76 \text{ (s, 3H, -CH}_3\text{)}$; ¹³C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 180.04 \text{ (C5)}, 174.64 \text{ (C2)}, 137.69 \text{ (C7)}, 134.10 \text{ (C11)}, 132.48 \text{ (C10, C14)}, 131.30 \text{ (C12,12')}, 129.05 \text{ (C9,C8')}, 128.66 \text{ (C13,13')}, 127.37 \text{ (C8)}, 94.52 \text{ (C9' са -I)}, 47.895 \text{ (C4)}, 44.83 \text{ (C3)}, 25.38 \text{ (C6)}$. Израчунато за C₁₇H₁₃NO₂ICl: C, 47.97; H, 3.08; N, 3.29; Одређено: C, 47.88; H, 3.00; N, 3.14;

N-(3-Хлорфенил)-2-(4-Хлорфенил)-2-метилсулцинимид (**B10**, C₁₇H₁₃NO₂Cl₂).
 Бела кристална супстанца; принос: 60%; т.т. 118,9-120,4 °C; IR (KBr): $|\nu| \text{ cm}^{-1} = 1778 \text{ (C=O)}, 1706 \text{ (C=O)}$; ¹H NMR(200 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 7.80\text{--}7.20 \text{ (m, 9H, -C}_6\text{H}_5 \text{ and N-C}_6\text{H}_4\text{-)}, 3.21 \text{ (ABq, 2H, } \Delta\nu_{\text{AB}} = 12.85 \text{ Hz, } J = 13\text{Hz, -CH}_2\text{-)}, 1.79 \text{ (s, 3H, -CH}_3\text{)}$; ¹³C NMR (50 MHz, DMSO): $|\delta| \text{ ppm} = 179.98 \text{ (C5)}, 174.57 \text{ (C2)}, 141.61 \text{ (C7)}, 134.17\text{(C9' са -Cl)}, 133.47\text{(C11)}, 132.50 \text{ (C14)}, 131.03\text{(C12,12')}, 129.06 \text{ (C9)}, 128.66\text{(C13,13')}, 128.35 \text{ (C8' близу -Cl)}, 127.75\text{(C10)}, 126.59 \text{ (C8)}, 47.87 \text{ (C4)}, 44.83 \text{ (C3)}, 25.40 \text{ (C6)}$. Израчунато за C₁₇H₁₃NO₂Cl₂: C, 61.10; H, 3.92; N, 4.19; Одређено: C, 61.02; H, 3.83; N, 4.04;

2.2. Методе карактеризације испитиваних једињења

Сва синтетисана једињења окарактерисана су применом следећих експерименталних техника:

- температура топљења (ТТ)
- FT-IR, ¹H и ¹³C NMR спектроскопијом за потврђивање хемијске структуре,
- Апсорпционом спектроскопијом за испитивањем солватохромизма.

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

NMR спектри синтетисаних једињења снимљени су на апарату Varian Gemini 200 на 200 MHz и 500 MHz. Као интерни стандард коришћен је тетраметилсилан

(TMS). Хемијска померања δ изражена су у ppm у односу на TMS ($\delta_{\text{H}} = 0$ ppm) у ^1H NMR спектрима, односно резидуални сигнал растварача DMSO ($\delta_{\text{C}} = 39,5$ ppm) у ^{13}C NMR спектрима.

Апсорпциони спектри су снимљени на спектрофотометру Shimadzu 1700 у растварачима спектроскопске чистоће (Fluka) при фиксној концентрацији од 10^{-5} mol/dm³. Употребљено је 9 поларних (метанол, етанол, 1-пропанол, 2-пропанол, 1-бутанол, 2-бутанол, *i*-бутанол, *t*-бутанол и ацетонитрил) и 2 неполарна растварача (хексан и циклохексан). Поред тога за снимање апсорпционих спектра у опсегу таласних дужина 200-400 nm, коришћене су и одговарајуће смеше растварача.

2.3. Методе квантнохемијских израчунавања

Сви DFT прорачуни извршени су коришћењем програмског пакета Gaussian 09 [115] на B3LYP [116] и M06-2X [117] нивоу са 6-311++G(d,p) основним сетом орбитала. Геометрије проучаваних сукцинимида оптимизоване су применом DFT B3LYP/6-311++G(d,p) методе. UV-Vis апсорпционе енергије израчунате су помоћу TD-DFT B3LYP и M06-2X метода у етанолу. Утицај растварача на израчунате електронске параметре проучаваних сукцинимида, као и енергија граничних молекулских орбитала HOMO и LUMO разматрани су употребом CPCM модела [118]. Прорачуни NBO орбитала извршени су применом програма NBO 3.1 [119] који је део Gaussian-а 09. Да би се у потпуности разумела хемијска реактивност сукцинимида, одређен је молекулски електростатички потенцијал (MEP), појединих молекула, помоћу B3LYP/6-311++G(d,p) методе.

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

2.4. Одређивање антимицробне активности

2.4.1. Антибактеријска и антифугална активност

Нови синтетисани сукцинимида су процењени на антибактеријску активност против осам бактеријских врста: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus cereus* (клинички изолована), *Micrococcus flavus* (ATCC 10240), *Listeria monocytogenes* (NCTC 7973) (грам позитивне бактерије), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853),

Enterobacter cloacae (клинички изолована), *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311), *Escherichia coli* (ATCC 35210) (грам негативне бактерије).

Антифунгална активност је процењена на осам гљивичних врста: *Aspergillus flavus* (ATCC 9643), *Aspergillus ochraceus* (ATCC 12066), *Aspergillus versicolor* (ATCC 11730), *Aspergillus niger* (ATCC 6257), *Penicillium ochrochloron* (ATCC 9112), *Penicillium funiculosum* (ATCC 36839), *Penicillium verrucosum var.cycopium* (изолована из хране), *Trichoderma viride* (IAM 5061).

2.4.1.1. Припрема културе микромицета

Микромицете (гљиве) су гајене на malt agar (МА) подлози 21 дан на 26 °C. Инокулум је припремљен тако што су споре са површине подлоге испране стерилним раствором 0.85% NaCl који садржи 0.1% Tween 80 (vol/vol). Раствор спора је припремљен растварањем 100 ml примарне културе у 900 ml медија храњиве подлоге (malt broth - MB). Суспензија спора је стерилним раствором NaCl-доведена до коначне концентрације од 1.0×10^5 CFU/ml медијума. Тако припремљен инокулум је чуван на +4°C до употребе.

Бактеријски сојеви су чувани у глицеролу и засејани на 2 ml tryptic soy broth (TSB) подлогу (Biolife, Милано, Италија), а затим инкубирани у термостату током 24 h на 37 °C. Преконоћна култура је имала приближно 1.0×10^9 ћелија/ml. Крајњи раствор културе и медија (1.0×10^8 ћелија/ml) је добијен растварањем 100 ml примарне културе у 900 ml TSB. Број спора израчунава се под светлосни микроскопом (Leica DMLS) помоћу хемцитометра.

2.4.1.2. Макродилуциона метода

Антимикробна активност извршена је методом микродилуције [120-127]. Одређени су минималне инхибиторне (MIC), минимални фунгицидни (MFC) и минималне бактерицидне концентрације (MBC) синтетисаних сукцинимида за сваку врсту проучаваних микроорганизама. Ново синтетизовано једињење је растворено у 10% DMSO воденог раствора. Концентрација растворених сукцинимида је било 10 mg/ml. У сваком бунару микро плоча ("F" -микро плоча са поклопцем, Спектар, Чачак, Србија), додато је по 20 µl MB медија за гљиве, 180 µl раствора једињења и у зависности од соја, различите запремине гљива. На исти начин у сваком бунару микро плоча додато је по 20 µl TSB подлоге за бактерије, 180 µl раствора једињења и 10 µl бактеријске инокуле за сваку врсту бактерија. Антимикотици кетоконазол и

бифоназол и антибиотици стрептомицин и ампицилин су коришћени као позитивна контрола (1 mg/ml у стерилном физиолошком раствору). Десет посто ДМСО је кориштено као негативна контрола. Микроплоче су инкубиране 72 h на 28 °C (микромицети) и 24 h на 37 °C (бактерије).

2.4.1.3. Одређивање минималне инхибиторне концентрације

Минимална инхибиторна концентрација (МИС) је најнижа концентрација антимикробног средства која потпуно инхибира бактерије и гљивице без видљивог раста, посматрано под бинокуларним микроскопом [128,129]. Вредности МИС-а су одређене бројањем ћелија спектрофотометријским методама [123,124]. МИС-ови добијени испитивањем осетљивости различитих бактерија у анализираном једињењу су такође одређени путем колориметријског микробиолошког теста преживљавања на основу редукције ИНТ [2-(4јодофенил)-3-(4-нитрофенил)-5-фенилтетразолијум хлорид; Sigma-Aldrich, Минхен, Немачка] у поређењу са позитивним контролама за сваки бактеријски сој. Након обојења, колоније су инкубиране 2 h на 37 °C. Инхибиција раста је назначена бледо жућкастом бојом [120]. Коришћен је читач микроплоча (Tecan Austria GmbH, Гродиг, Аустрија, Eppendorf AG, Хамбург, Немачка), да би се проценио интензитет жуте боје. Вредности МИК-а израчунате су као милиграм на 100 µl, а затим се вредности преносе у милиграме по милилитру [123,124].

2.4.1.4. Одређивање минималне фунгицидне и бактерицидне концентрације

Минимална фунгицидна (МФС) и минимална бактерицидна концентрација (МВС) одређене су серијском субкултивацијом 2 µl инокулама у микротитарске плоче које садрже 100 µl подлоге по бунару и инкубацијом 72 h на 26 °C за микромицете, односно 24 h на 37 °C за бактерије, према протоколу Миколошке лабораторије, Одељења за физиологију биљака Института за биолошка истраживања "Синиша Станковић", Универзитет у Београду [123,124]. МФС и МВС су дефинисани као најмања концентрација без видљивог гљивичног/бактеријског раста, што указује на 99,5% уништења првобитне инокуле [129]. Оптичка густина гљивичних/бактеријских култура је мерена уређајем Microplate Manager (Tecan Austria GmbH, Grödig, Austria; Eppendorf AG, Хамбург, Немачка) на таласној дужини од 655 nm и упоређивана је са празном (медијум са додатком разређених екстракта) и позитивном контролом. Вредности МВС су одређене колориметријском

анализом микробиолошке способности преживљавања засноване на редукцији ИНТ боје и упоређене су са позитивним контролама за сваки бактеријски сој. Након наношења мрља (40 μ l по бунару), обојане колоније су инкубиране 2 сата на 37 ° C. Нестабилне коморе микроплоча показале су присуство бактерицидног ефекта (CLSI2009). Резултати MFC и MBC вредности израчунати су као милиграми на 100 μ l, а затим су вредности пренете у милиграме по милилитру.

3. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

У овом раду су, у циљу проучавања утицаја структуре на биолошку активност деривата сукцинимидна (пиролидин-2,5-диона), синтетисане три различите серије једињења и то: *N*-(3- и 4-супституисани фенил)-2-етил-2-метилсукцинимиди (**A1-A12**), *N*-(3- и 4-супституисани фенил)-2-фенил-2-метилсукцинимиди (**B1-B12**), *N*-(3- и 4-супституисани фенил)-2-(4-хлорфенил)-2-метилсукцинимиди, (**V1-V10**). Серије се међусобно разликују према групама (CH₃, CH₂CH₃, фенил и 4-хлорфенил) присутним у положају 2 сукцинимидног прстена. Једињења се, у оквиру сваке серије, међусобно разликују према природи супституента (H, CH₃, OCH₃, F, Cl, Br, I, OH, COOH, CN, NO₂) присутног у фенилној-групи на атому азота сукцинимидног прстена.

3.1. UV-Vis спектрална анализа *N*-арил-2,2-дисупституисаних сукцинимидна у различитим растварачима

Како би се стекао увид у могућност и врсту интеракција потенцијалних антимикробних лекова и њиховог окружења, од момента узимања лека до његовог деловања, снимљени су ултраљубичасти апсорпциони спектри одабраних *N*-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-етил-2-метилсукцинимидна (**A1-A12**), у 10 растварача различитих поларности у интервалу таласних дужина од 200 до 400 nm.

Спектре свих једињења карактеришу углавном два максимума који потичу од $n \rightarrow \pi^*$ прелаза у карбонилним групама и $\pi \rightarrow \pi^*$ прелаза у фенил групама. Вредности фреквенција које одговарају апсорпционом максимуму веће вредности енергије представљене су у Табели 3.1 и на Сликама 3.1, 3.2, 3.3 и 3.4.

Подаци наведени у Табели 3.1 недвосмислено потврђују да положаји UV-Vis апсорпционих максимума за серију деривата сукцинимидна, **A1-A12** у великој мери зависе од природе супституената на фенилном језгру, које се налази у положају 1 пиролидин-2,5-дионског прстена, док је утицај растварача знатно слабији. [130] Ово је карактеристично за молекуле са slabим диполним моментом у основном стању, пошто су њихови електронски прелази повезани са интрамолекулском трансфером наелектрисања [131]. Код цикличних уреида, пре свега хидантоина [132,133] и сукцинимидна [134,135] делокализација електрона одвија се између атома азота и

кисеоника преклапањем π -атомских орбитала карбонилне групе и атомских орбитала које садрже слободан електронски пар на атому азота.

Добијени резултати указују на идентичан тренд промене апсорпционих максимума са променом поларности растварача. Повећање поларности растварача помера апсорпционе максимуме ка мањим таласним дужинама, односно јавља се хипсохромни ефекат (Табела 3.1 и Сlike 3.1 и 3.2), што указује на доминантну улогу $n \rightarrow \pi^*$ електронског прелаза који се дешава у карбонилним групама.

Апротични растварачи за разлику од протичних, померају апсорпционе максимуме ка већим таласним дужинама, односно јавља се батохромни ефекат (Табела 3.1 и Сlike 3.1 и 3.2). Протични растварачи остварују јаче интеракције са хромофорама, па је потребна већа енергија за прелаз електрона из основног у ексцитовано стање.

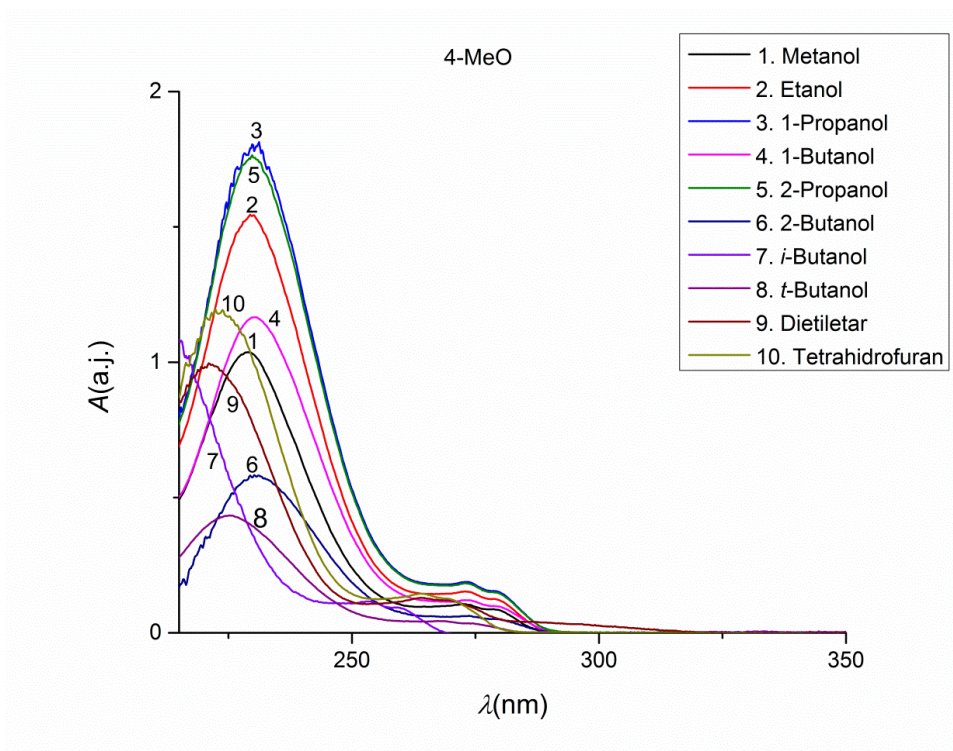
UV-Vis спектри свих испитиваних молекула указују на батохромне промене апсорпционих максимума у односу на несупституисан молекул **A4**. Негативни резонанциони ефекат $-\text{NO}_2$ групе изазива највеће батохромно померање (Табела 3.1), док слаба електрондонорска $-\text{OCH}_3$ група доводи до малих батохромних померања апсорпционих максимума у односу несупституисани молекул.

Утицај растварача на UV апсорпционе спектре за једињења **A2**, **A4** и **A12** у растварачима метанолу и 2-пропанолу, представљен је на сликама 3.3 и 3.4. Резултати указују на благи батохромни ефекат узрокован смањењем поларности растварача (од метанола до 2-пропанола) што је у складу са претходно наведеним објашњењима.

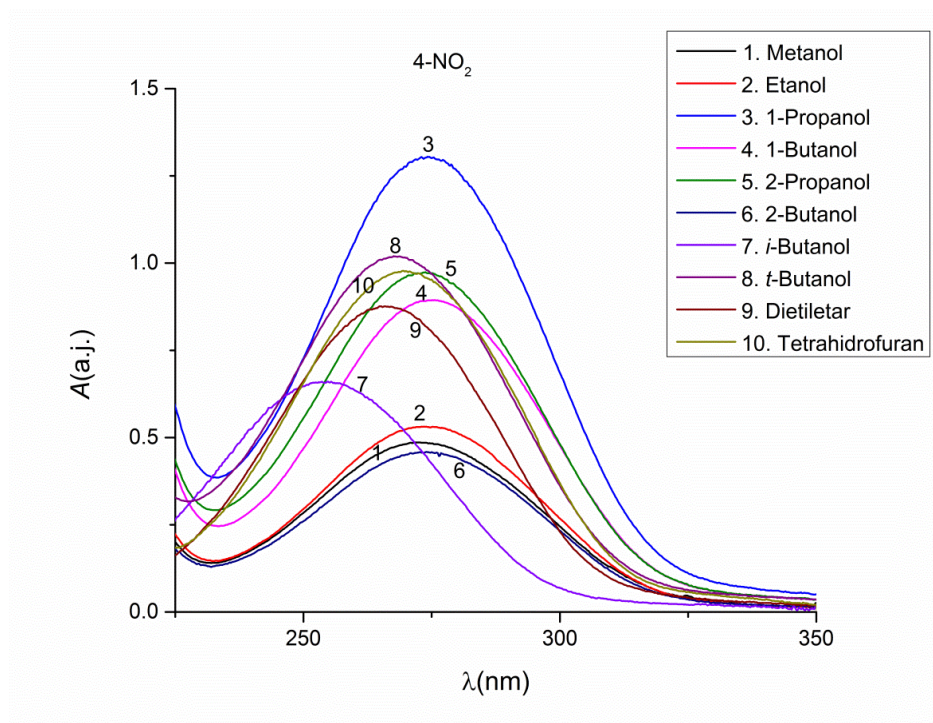
У наставку рада проучавани су ефекти супституената на апсорпционе спектре синтетизованих деривата сукцинимиде серије **A1-A12**, корелисањем апсорпционих фреквенција ($\nu = 1/\lambda$) за траке више енергије (Табела 3.1) са Хаметовим σ_p и σ_{p^+} константама супституената. Резултати корелације ν_{max} са σ_p и σ_{p^+} константама супституената посебно за доноре, а посебно за акцепторе испитиваних једињења су дате у Табелама 3.2 и 3.3 и на Сликама. На Сликама 3.5 и 3.6 уочава се нелинеарна корелација апсорпционих максимума Хаметовом једначином, односно различите зависности за електрон-донорске и електрон-акцепторске супституенте.

Табела 3.1. UV-Vis апсорпционе фреквенције *N*-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-етил-2-метилсукцинимиди (**A1-A12**) у одабраним растварачима

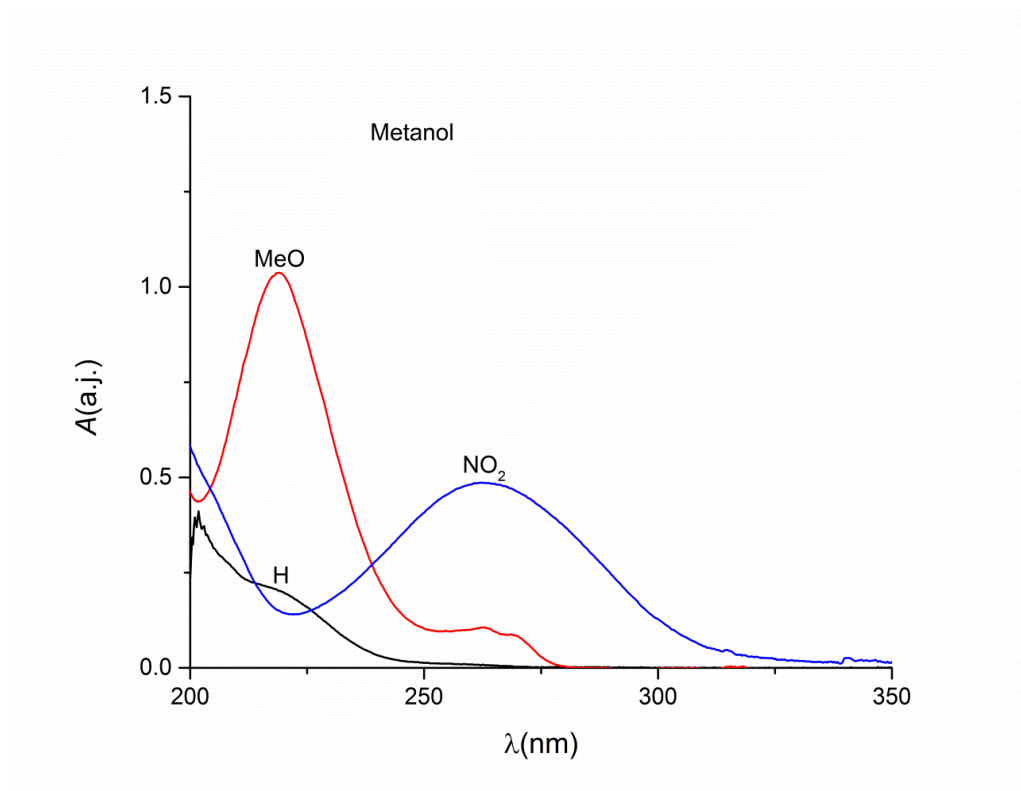
Растварач	$\nu_{\max} \times 10^{-3} [\text{cm}^{-1}]$								
	A1	A2	A3	A4	A6	A8	A10	A11	A12
Метанол	43,71	43,74	45,41	48,78	44,48	43,67	41,88	42,05	36,58
Етанол	43,52	43,52	45,25	49,12	44,13	43,37	41,70	41,29	36,47
1-Пропанол	43,40	43,44	44,84	48,08	44,01	43,22	41,60	41,15	36,39
2-Пропанол	43,37	43,44	45,17	46,43	44,01	43,29	41,46	41,19	36,52
1-Бутанол	43,29	43,40	45,17	46,17	43,98	43,25	41,56	41,15	36,28
2-Бутанол	43,10	43,33	44,80	44,76	43,90	43,22	41,53	41,08	36,47
<i>i</i> -Бутанол	43,22	43,25	43,71	44,33	43,44	43,29	41,56	41,19	36,36
<i>t</i> -Бутанол	43,29	43,40	45,21	46,08	44,01	43,29	41,49	41,25	36,55
Диетилетар	43,18	43,25	44,21	45,00	43,07	42,66	41,02	40,95	36,21
Тетрахидрофуран	42,88	42,92	43,98	44,88	43,29	42,37	40,65	40,62	35,74



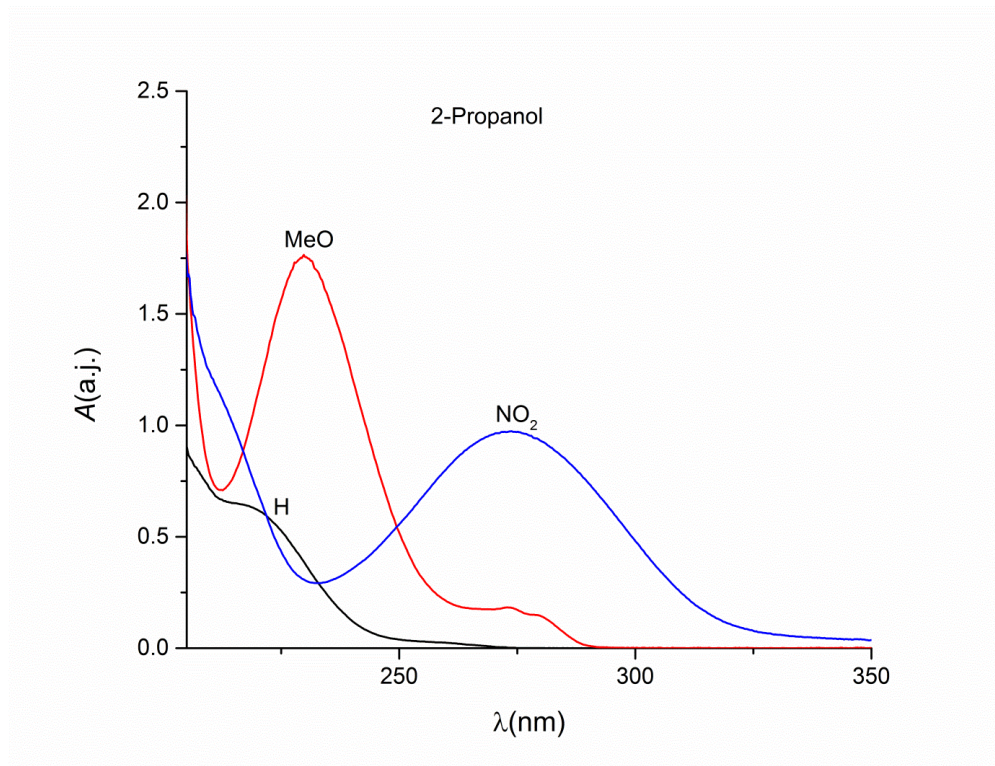
Слика 3.1. UV-Vis спектри N-(4-метоксифенил)-2-етил-2-метилсукцинимида **A2** у свим испитиваним растварачима



Слика 3.2. UV-Vis спектри N-(4-нитрофенил)-2-етил-2-метилсукцинимида **A12** у свим испитиваним растварачима



Слика 3.3. UV-Vis спектри једињења **A2**, **A4** и **A12** у метанолу



Слика 3.4. UV-Vis спектри једињења **A2**, **A4** и **A12** у 2-пропанолу

Табела 3.2. Резултати корелације v_{\max} са σ_p константама супституента серије сукцинимида **A1-A12**

Растварач	v_{\max} са σ_p	R*
Метанол	(Д): $v_{\max} = 48,341 + 14,468\sigma_p$	0,958
	(А): $v_{\max} = 47,827 - 12,564\sigma_p$	0,926
Етанол	(Д): $v_{\max} = 48,577 + 15,939\sigma_p$	0,952
	(А): $v_{\max} = 47,855 - 13,217\sigma_p$	0,940
1-Пропанол	(Д): $v_{\max} = 47,628 + 13,268\sigma_p$	0,953
	(А): $v_{\max} = 47,243 - 12,345\sigma_p$	0,944
2-Пропанол	(Д): $v_{\max} = 46,429 + 9,027\sigma_p$	0,965
	(А): $v_{\max} = 46,364 - 10,758\sigma_p$	0,943
1-Бутанол	(Д): $v_{\max} = 46,234 + 8,525\sigma_p$	0,959
	(А): $v_{\max} = 46,263 - 10,715\sigma_p$	0,937
2-Бутанол	(Д): $v_{\max} = 45,017 + 5,029\sigma_p$	0,873
	(А): $v_{\max} = 45,458 - 9,273\sigma_p$	0,917
<i>i</i> -Бутанол	(Д): $v_{\max} = 44,272 + 3,193\sigma_p$	0,972
	(А): $v_{\max} = 45,128 - 8,764\sigma_p$	0,897
<i>t</i> -Бутанол	(Д): $v_{\max} = 46,178 + 8,306\sigma_p$	0,953
	(А): $v_{\max} = 46,177 - 10,372\sigma_p$	0,938
Диетил етар	(Д): $v_{\max} = 44,991 + 5,334\sigma_p$	0,971
	(А): $v_{\max} = 45,153 - 9,367\sigma_p$	0,921
Тетрахидрофуран	(Д): $v_{\max} = 44,854 + 5,871\sigma_p$	0,967
	(А): $v_{\max} = 45,139 - 9,908\sigma_p$	0,923

Д- доноси; А- акцептори; *R-коэффициент корелације

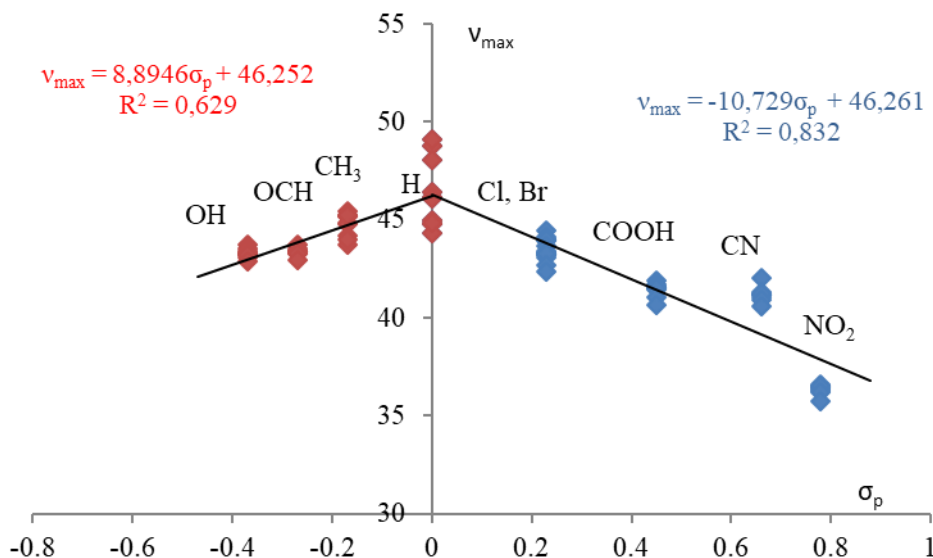
На основу корелација добијених применом прости Хаметове једначине (Табеле 3.2 и 3.3 и Сlike 3.5 и 3.6) уочава се да електрон-донорски као и електрон-акцепторски супституенти изазивају батохромно померање апсорпционих максимума у односу на несупституисани молекул **A4**. Супституисани деривати сукцинимида серије **A1-A12**, апсорбују енергију веће таласне дужине него N-фенил-2-етил-2-метилсукцинимид **A4**.

Табела 3.3. Резултати корелације v_{\max} са σ_p^+ константама супституента серије сукцинимида **A1-A12**

Растварач	v_{\max} са σ_p^+	R*
Метанол	Д: $v_{\max} = 48,075 + 5,302\sigma_p^+$	0,945
	А: $v_{\max} = 46,845 - 11,095\sigma_p^+$	0,893
Етанол	Д: $v_{\max} = 48,273 + 5,819\sigma_p^+$	0,936
	А: $v_{\max} = 46,797 - 11,603\sigma_p^+$	0,900
1-Пропанол	Д: $v_{\max} = 47,371 + 4,836\sigma_p^+$	0,935
	А: $v_{\max} = 46,288 - 10,932\sigma_p^+$	0,913
2-Пропанол	Д: $v_{\max} = 46,334 + 3,450\sigma_p^+$	0,992
	А: $v_{\max} = 45,598 - 9,710\sigma_p^+$	0,929
1-Бутанол	Д: $v_{\max} = 46,159 + 3,286\sigma_p^+$	0,995
	А: $v_{\max} = 45,512 - 9,706\sigma_p^+$	0,927
2-Бутанол	Д: $v_{\max} = 45,018 + 2,029\sigma_p^+$	0,949
	А: $v_{\max} = 44,868 - 8,570\sigma_p^+$	0,925
<i>i</i> -Бутанол	Д: $v_{\max} = 44,222 + 1,188\sigma_p^+$	0,974
	А: $v_{\max} = 44,573 - 8,107\sigma_p^+$	0,906
<i>t</i> -Бутанол	Д: $v_{\max} = 46,114 + 3,220\sigma_p^+$	0,994
	А: $v_{\max} = 45,452 - 9,404\sigma_p^+$	0,928
Диетил етар	Д: $v_{\max} = 44,929 + 2,026\sigma_p^+$	0,992
	А: $v_{\max} = 44,498 - 8,489\sigma_p^+$	0,911
Тетрахидрофуран	Д: $v_{\max} = 44,785 + 2,230\sigma_p^+$	0,989
	А: $v_{\max} = 44,466 - 9,034\sigma_p^+$	0,919

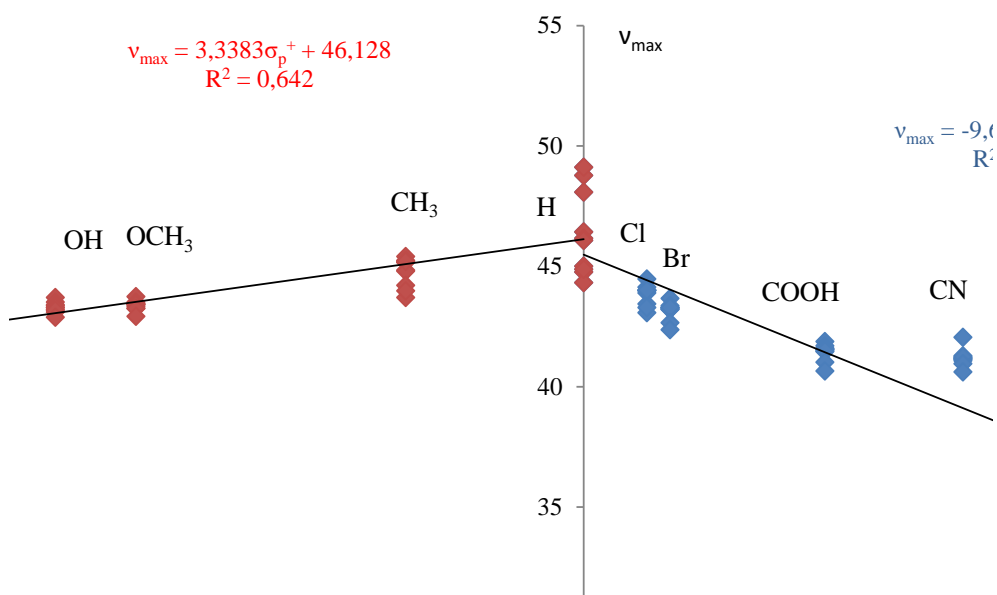
Д- доноси; А- акцептори; ***R**-коэффициент корелације

Код деривата сукцинимида серије **A1-A12**, са акцепторским супституентима добија се боља корелација са σ_p константама у свим испитиваним растварачима него са електрон-донорским супституентима. Из овога се може закључити да не долази до директне интеракције између реакционог центра (атома азота) и супституената у испитиваним растварачима. Вредности коефицијента корелације R за сваки појединачни растварач се могу видети у Табели 3.2. и они имају сасвим задовољавајуће вредности.



Слика 3.5. Веза између v_{\max} са σ_p константама за серију **A1-A12** у свим растварачима

Код исте серије сукцинимида са донорским супституентима добија се боља корелација са σ_p^+ константама него са σ_p константама у испитиваним растварачима (Табела 3.3). На основу овога се може закључити да се јављају директне интеракције донорских супституената и реакционог центра у испитиваним растварачима. Вредности коефицијента корелације R се могу видети у Табели 3.3 и оне такође показују задовољавајуће вредности.



Слика 3.6. Веза између v_{\max} са σ_p^+ константама за серију **A1-A12** у свим растварачима

На Сликама 3.5 и 3.6 уочава се линеарна зависност у свим растварачима, посебно за донорске а посебно за акцепторске супституенте и добијају се високе вредности коефицијента корелације R . Утицај супституената на електронске спектре представљен је дијаграмима, као и одговарајућим једначинама посебно за електрон-донорске (једначине 3.1) и електрон-акцепторске (једначине 3.2) супституенте:

$$v_{\max} = 46,25(\pm 0,271)+8,89(\pm 1,11)\sigma_p \quad (3.1)$$

$$R = 0,793, s = 0,959, F = 64, n = 40$$

$$v_{\max} = 46,26(\pm 0,302)-10,73(\pm 0,635)\sigma_p \quad (3.2)$$

$$R = 0,911, s = 1,32, F = 285, n = 60$$

Наведени резултати корелације указују на висок степен сагласности података и одабраног модела за квантитативну процену ефеката супституената, што је потпуно у сагласности са структуром проучаваних једињења.

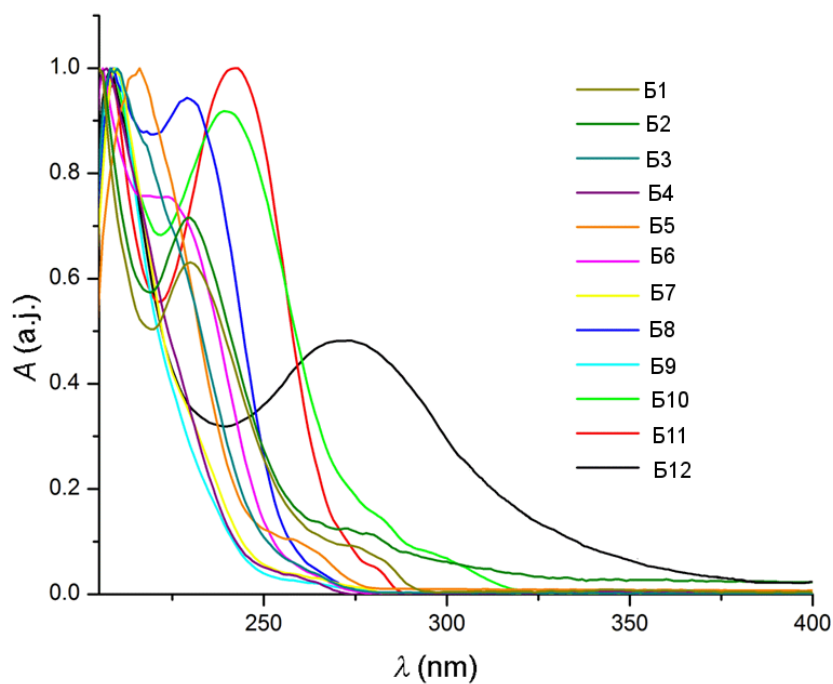
У наставку рада снимљени су и апсорпциони спектри једињења из серије *N*-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-фенил-2-метилсукцинимиди (**B1-B12**) и једињења из серије *N*-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-(4-хлорфенил)-2-метилсукцинимиди (**B1-B10**) у одабраном сету растварача. Како је показано за серију сукцинимиди **A1-A12** утицај растварача је знатно слабији, на положаје UV–Vis апсорпционих максимума, у односу на утицај супституената на фенилном језгру. Из тог разлога апсорпциони максимуми за друге две групе су снимљени у мањем броју карактеристичних растварача. Одговарајуће вредности апсорпционих максимума приказане су у Табелама 3.4 и 3.5, а репрезентативни спектри снимљени у етанолу, представљени су на Сликама 3.7 и 3.8.

Табела 3.4. Апсорпциони максимуми серије N-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-фенил-2-метилсукцинимиди (**Б1-Б12**), у одабраном сету растварања

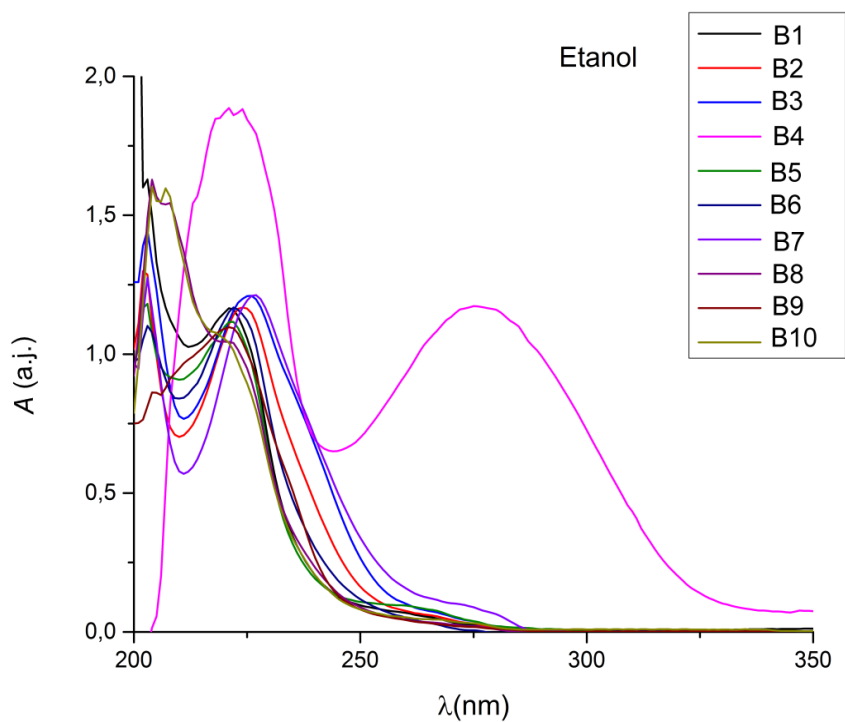
Растварач	$\nu_{\max} \times 10^{-3} [\text{cm}^{-1}]$											
	Б1	Б2	Б3	Б4	Б5	Б6	Б7	Б8	Б9	Б10	Б11	Б12
Етанол	43,48	43,48	45,87	48,31	46,30	44,44	47,62	43,48	47,62	41,67	41,32	36,63
Ацетронитрил	51,81	45,66	51,81	51,81	44,05	43,86	51,81	41,84	43,86	49,75	51,55	36,50
Циклохексан	46,08	43,29	45,66	46,72	43,10	42,55	45,66	40,98	42,92	46,51	46,73	35,97

Табела 3.5. Апсорпциони максимуми N-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-(4-хлорфенил)-2-метилсукцинимиди (**В1-В10**) у одабраном сету растварања

Растварач	$\nu_{\max} \times 10^{-3} [\text{cm}^{-1}]$									
	В1	В2	В3	В4	В5	В6	В7	В8	В9	В10
Метанол	45,25	44,84	44,44	36,76	45,25	45,04	44,25	45,25	45,45	45,45
Етанол	45,04	44,64	44,25	36,76	45,04	45,04	44,05	45,25	45,25	45,66
Ацетонитрил	45,25	44,84	44,64	36,63	45,25	45,25	44,24	45,25	45,66	45,66
Диетилетар	43,10	42,55	42,37	35,34	43,10	42,92	42,37	43,10	43,10	43,48
Циклохексан	42,74	42,37	42,55	35,97	36,10	43,10	42,74	43,10	42,74	43,10



Слика 3.7. UV-Vis спектри серије N-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-фенил-2-метилсукцинимиди (**B1-B12**) у етанолу



Слика 3.8. UV-Vis спектри серије N-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-(4-хлорфенил)-2-метилсукцинимиди, (**B1-B10**) у етанолу

Као што је раније показано, [136] главни утицај на UV апсорпционе максимуме манифестује се кроз електронску природу супституената на фенил групи везаној за атом азота на језгру сукцинимида. Такође, приметан је скоро занемарљив ефекат поларности растварача и његових других карактеристика на промену положаја UV апсорпције. [136] Као што се и очекивало, сви супституенти узрокују на батохромно померање у односу на несупституисана једињења **B4** и **B1**. Слаба електрон-донаторска метил група индукује најмање позитивне промене на UV спектрима, док група која највише повлачи електроне (нитро група) показује највећу батохромну промену.

Померање апсорпционих максимума потиче од различитих $\pi \rightarrow \pi^*$ прелаза који укључују одговарајући π -електронски систем испитиваних сукцинимида. Делокализација је у суштини резултат преноса π -електрона из фенилног прстена, изазваног електронским ефектима супституената у *p*- или *m*- положају, на карбонилне групе сукцинимидног прстена. Ова батохромна померања апсорпционих максимума, која су примећена за сва испитивана једињења, доказ су да је $\pi \rightarrow \pi^*$ прелаз одговоран за ове UV апсорпције. Планарност молекула је једна од главних карактеристика која веома утиче на пренос резонантног ефекта кроз молекул и стога значајно утиче на допринос делокализације електронске густине на UV апсорпцију сваког једињења. У наставку истраживања посебна пажња је посвећена конформацијама проучаваних сукцинимида.

Положаји апсорпционих максимума N-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-(4-хлорфенил)-2-метилсукцинимида (**B1-B10**) незнатно се мењају са променом поларности растварача (Табела 3.6). Доминантнији утицај супституената на електронске спектре представљен је дијаграмом ν_{\max} у функцији σ_p (Слика 3.9), као и одговарајућим једначинама посебно за електрон-донорске (једначина 3.3) а посебно за електрон-акцепторске (једначина 3.4) супституенте:

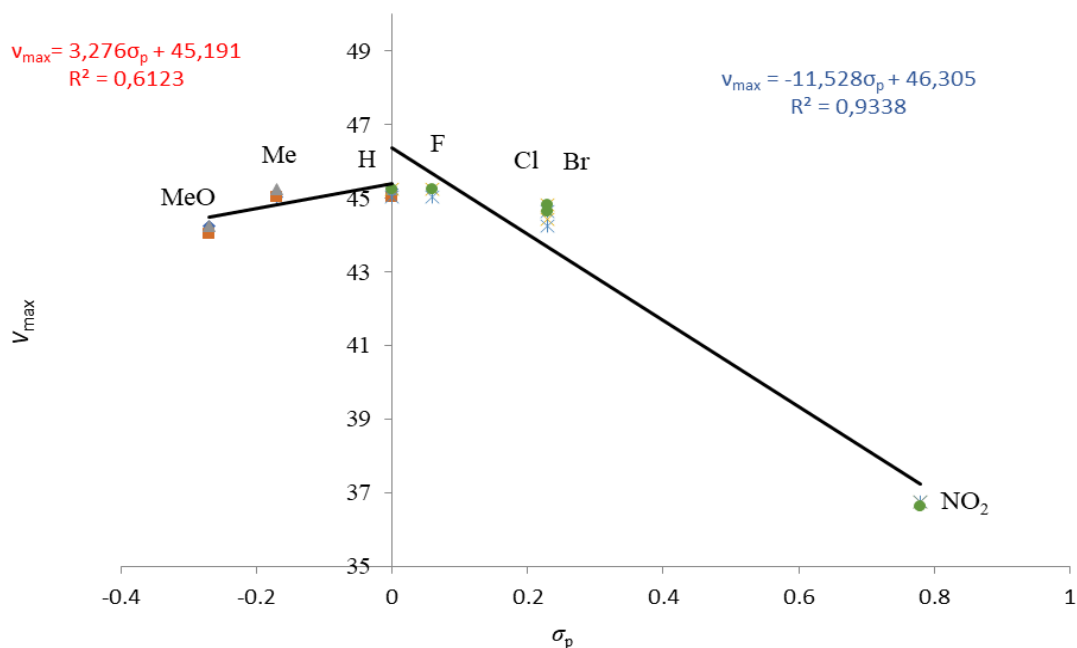
$$\nu_{\max} = 45,31(\pm 0,174) + 3,35(\pm 0,943)\sigma_p \quad (3.3)$$

$$R = 0,8021, s = 0,315, F = 13, n = 9$$

$$\nu_{\max} = 46,25(\pm 0,329) - 11,50(\pm 0,869)\sigma_p \quad (3.4)$$

$$R = 0,9648, s = 0,928, F = 174, n = 15$$

Применом Хаметове једначине добијена је нелинеарна зависност $v_{\max}=f(\sigma_p)$ (Слика 3.9), која показује различит утицај природе супституента на померање електронске густине у проучаваној хромофори. Ово је такође потврђено резултатима корелације представљеним у Табели 3.6.



Слика 3.9. Корелација v_{\max} са σ_p за *p*-супституисане деривате серије сукцинимиди **B1-B10** у метанолу, етанолу и ацетонитрилу

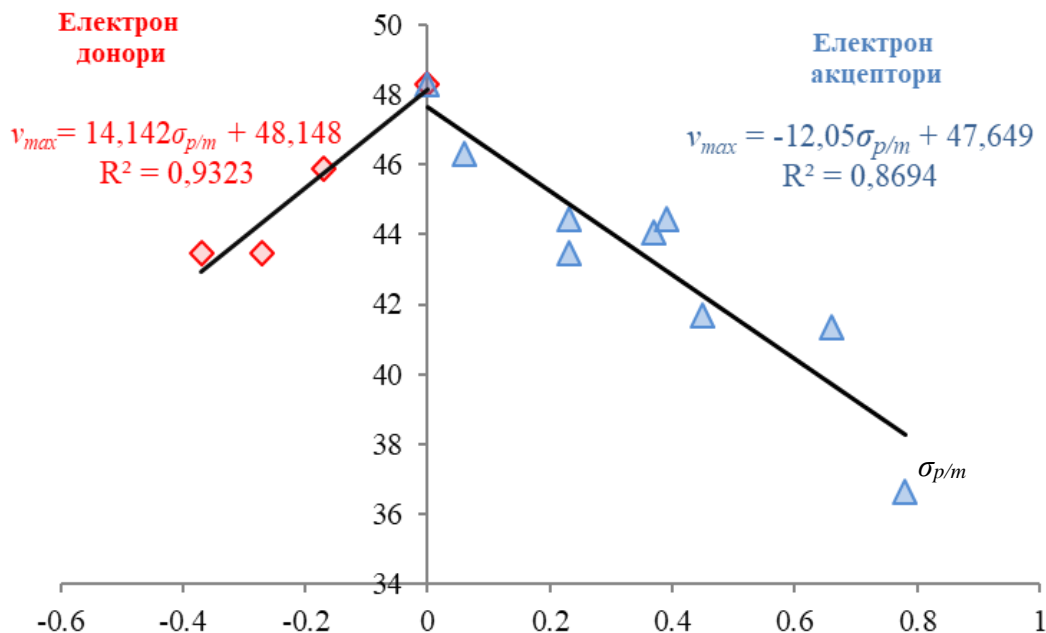
Као резултат резонантних интеракција са фенилним језгром, електрон-донорски супституенти повећавају електронску густину на атомима кисеоника у положајима 1 и 4 сукцинимидног прстена. Ово померање електронске густине ка атомима кисеоника утиче на поларизацију молекула чинећи поменуте атоме подложнијима НВД-нападу (енгл. *Hydrogen-Bonding Donor*). Када је супституент електрон-акцептор, поларизација молекула углавном потиче од електрон-акцепторске конкуренције између арил група присутних у положајима 1 и 3 сукцинимидног језгра и карбонилне групе. Долази до успостављања водоничних веза између протон-донорских растварача и карбонилних група. Претпоставља се да супституенти на фенилном језгру у положају 1 пиролдин-2,5-дионског прстена, значајно утичу на конјугацију система и интрамолекулски пренос наелектрисања проучаваних деривата сукцинимиди [130].

Табела 3.6. Резултати корелације ν_{\max} са σ_p константама једињења серије сукцинимида **B1-B10**

Растварач	ν_{\max} са σ_p	R^a
Метанол	Д: $\nu_{\max}=45,351+3,44\sigma_p$	0,891
	А: $\nu_{\max}=46,305-11,527\sigma_p$	0,966
Етанол	Д: $\nu_{\max}=46,732+9,922\sigma_p$	1,000
	А: $\nu_{\max}=46,696-12,372\sigma_p$	0,982
Ацетонитрил	Д: $\nu_{\max}=46,951+10,01\sigma_p$	1,000
	А: $\nu_{\max}=47,051-12,954\sigma_p$	0,980
Диетилетар	Д: $\nu_{\max}=43,846+5,456\sigma_p$	1,000
	А: $\nu_{\max}=44,597-11,557\sigma_p$	0,984
Циклохексан	Д: $\nu_{\max}=43,730+3,684\sigma_p$	1,000
	А: $\nu_{\max}=45,178-11,557\sigma_p$	1,000

Д- донори; А- акцептори; ***R**-коэффициент корелације

График $\nu_{\max}=f(\sigma_{p/m})$ за серију N-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-фенил-2-метилсукцинимида, (**B1-B12**) такође показује одступање од Хаметове линеарности, па се електронски ефекти електрон-донорских и електрон-акцепторских супституената разматрају у обзир одвојено (Слика 3.10). За супституенте који донирају електроне, вредност ρ је значајно већа од 1, што показује високу осетљивост UV максимума према овим супституентима. Такође, вредности $\rho \gg 1$ указују да је повећан негативни набој (или је умањен позитивни набој) на сукцинимидном прстену који је у потпуној сагласности са могућим резонантним структурама ових молекула са електрон-донирајућим супституентима, где се слободни електрони са супституента померају ка имидном делу језгра сукцинимида. Исти тренд о осетљивости се добија и за супституенте који повлаче електроне, али знак ρ вредности указује на потпуно супротне ефекте него што је претходно описано. $\rho \ll 0$ се добија за супституенте који повлаче електроне, што указује на формирање позитивног набоја или смањење негативних набоја на хромофорном сукцинимидном прстену.



Слика 3.10. Корелација v_{max} са $\sigma_{p/m}$ за деривате серије (Б1-Б12) у етанолу

Када се упореде апсолутне вредности реакционе константе ρ за све три серије једињења, у етанолу као растварачу, могу се уочити незнатно веће вредности константе ρ за серију А1-А12 у етанолу (серија А: $\rho = 15,939$ и $-13,217$; серија Б: $\rho = 14,142$ и $-12,05$ и серија В: $\rho = 9,922$ и $-12,372$) односно да је највећи утицај супституената присутан у овој серији сукцинимида.

Наведено проучавање утицаја супституената на солватохромна својства деривата сукцинимида које је контролисано интрамолекулским трансфером наелектрисања значајно је за разумевање интеракција ових молекула и њиховог окружења и може допринети дизајнирању нових једињења са побољшаним фармакокинетичким својствима.

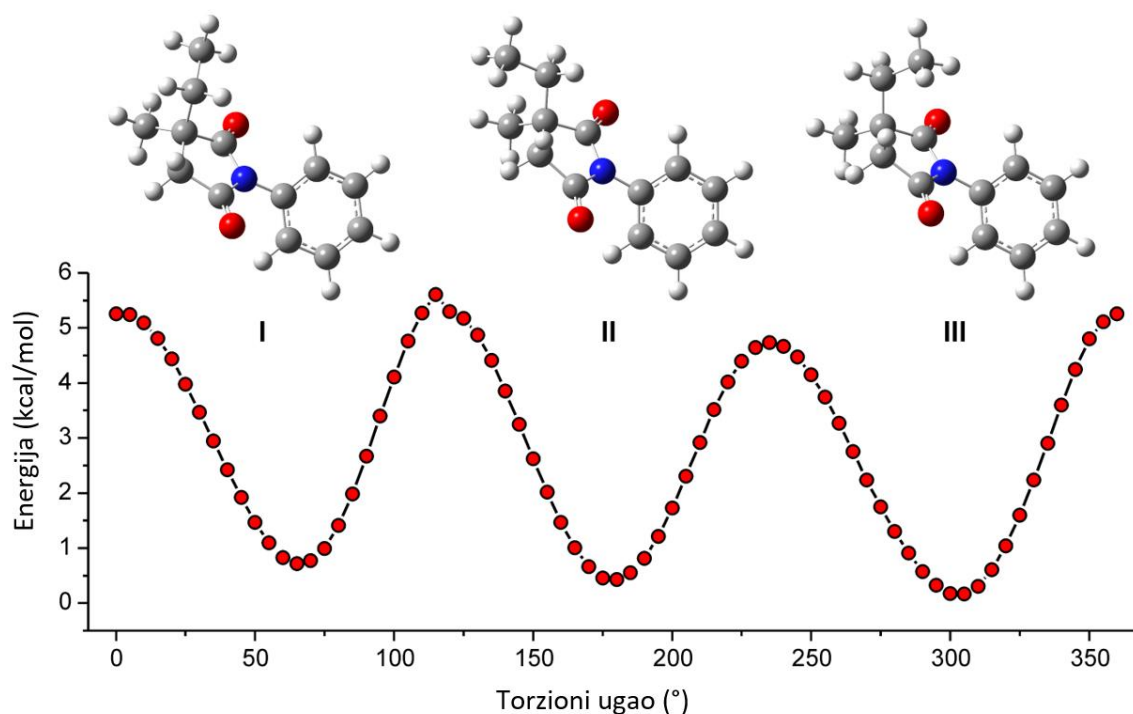
3.2. Квантохемијска анализа конформационих и електронских карактеристика *N*-арил-2,2-дисупституисаних сукцинимида

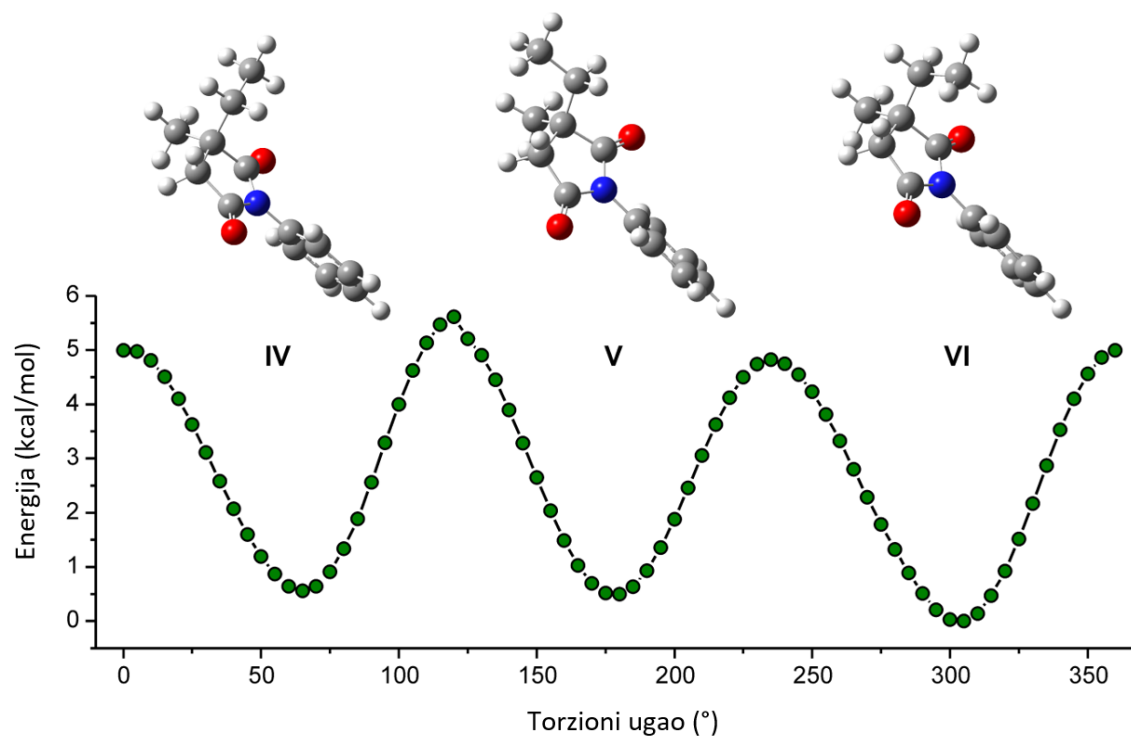
3.2.1. Конформациона стабилност *N*-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-етил-2-метил сукцинимида

У циљу проналажења најстабилнијих конформера, урађена је конформациона анализа за серију једињења *N*-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-етил-2-метил сукцинимида, А1-А12. Сукцинимидни прстен проучаваних једињења је врло крут,

тако да су једине конформацијске промене могуће због присуства супституената у положају 2 и на атому азота. Како ротација метил-групе не доприноси значајно енергији проучаваних система, испитивана је само позиција етил- и фенил-групе. Положаји фенил-групе детаљно су истражени раније [136], а слични резултати су забележени и у овом раду. Да би се боље упознали са енергетским променама које су последица ротације етил-групе, урађена је површина потенцијалне енергије (Potential energy surface, PES) за две могуће оријентације фенилне-групе. Током израчунавања, сви геометријски параметри су пуштени да се слободно мењају, док је угао торзије етил-групе вариран за 5° у интервалу од 0° до 360° . Резултати показују да је могуће лоцирати шест стабилних конформација за молекуле са симетричним супституентом и 12 конформација за асиметричне супституенте (Слика 3.11).

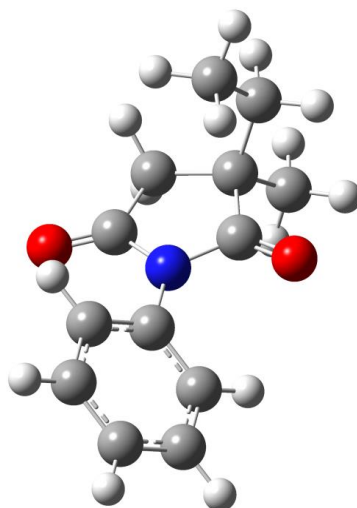
Потпуна геометријска оптимизација ових конформера извршена је B3LYP методом [137] са 6-311++G(d,p) основним сетом орбитала, у вакуму и у четири растварача (THF, етанол, DMSO и вода). Резултати ових прорачуна користили су се за различите анализе у овом раду.





Слика 3.11. Дијаграм потенцијалне енергије за ротацију етил-групе, конформација са торзионим углом фенил-групе од $\sim 43^\circ$ (горе) и $\sim 136^\circ$ (доле).

Геометрија најстабилнијег конформера за једињење **A4** добијена методом V3LYP приказана је на Слици 3.12.



Слика 3.12. Најстабилнија конформација једињења **A4** добијена V3LYP методом

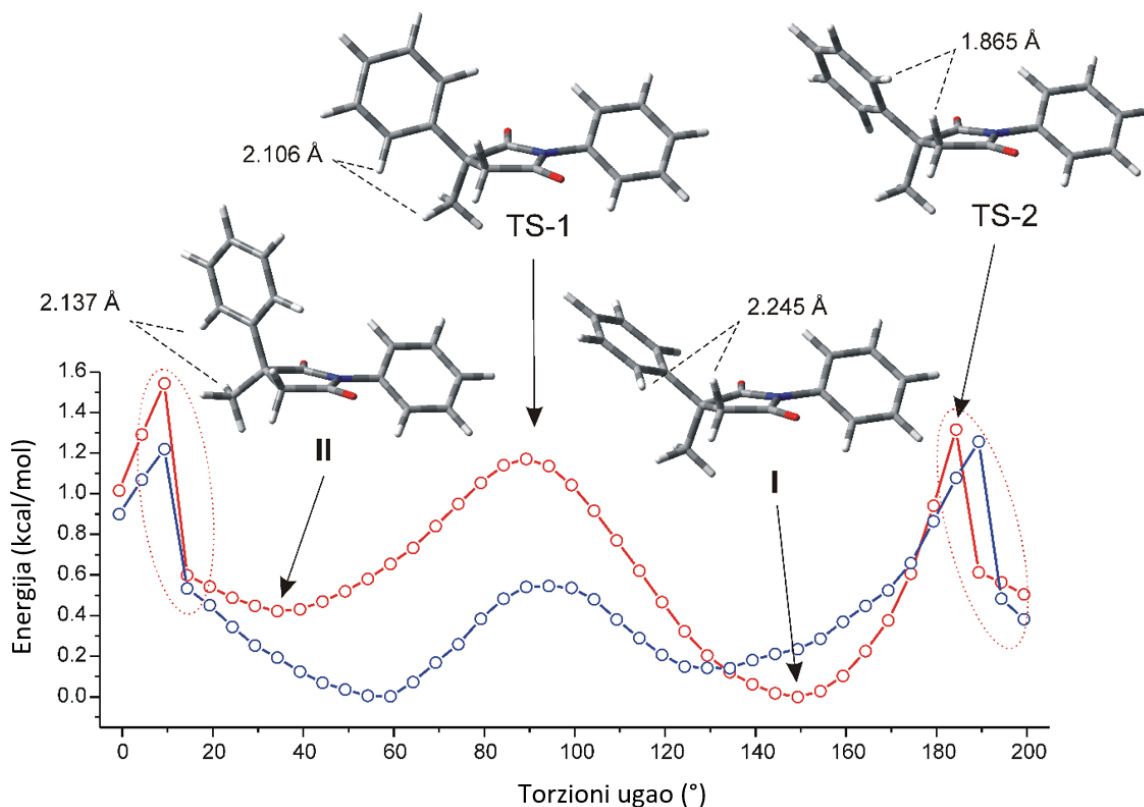
Пронађене конформације имају сличне енергије, које се разликују од енергије најстабилнијег конформера за мање од 0,6 kcal/mol у зависности од супституента, а према Болцмановој (Boltzmann) анализи могу истовремено да буду

присутне у смеши. Без обзира на то, особине које су нама биле интересантне за проучавање симулиране су на основу геометрије најстабилнијег конформера.

DFT прорачуни указују да у пронађеним конформацијама непостоји планарност између сукцинимидна и фенил прстенова код свих проучаваних сукцинимидна. Одступање од планарности (изражено преко диедарског угла θ између равни сукцинимидна и фенил прстена, (Табела 3.10 и 3.11)) може послужити као груба мера за ефикасност преношења резонантног ефекта супституента из фенилног на сукцинимидни прстен. У испитиваној серији сукцинимидна резонантни ефекат се повећава са повећањем електрон-донорске способности супституента R. B3LYP методом одређен је угао торзије θ од 38° до 45° у вакуму, док се увођењем растварача (THF, етанол, DMSO и вода) предвиђају много веће вредности за овај угао, тј. од 46° до 67° . Треба напоменути да се угао θ повећава са повећањем поларности растварача.

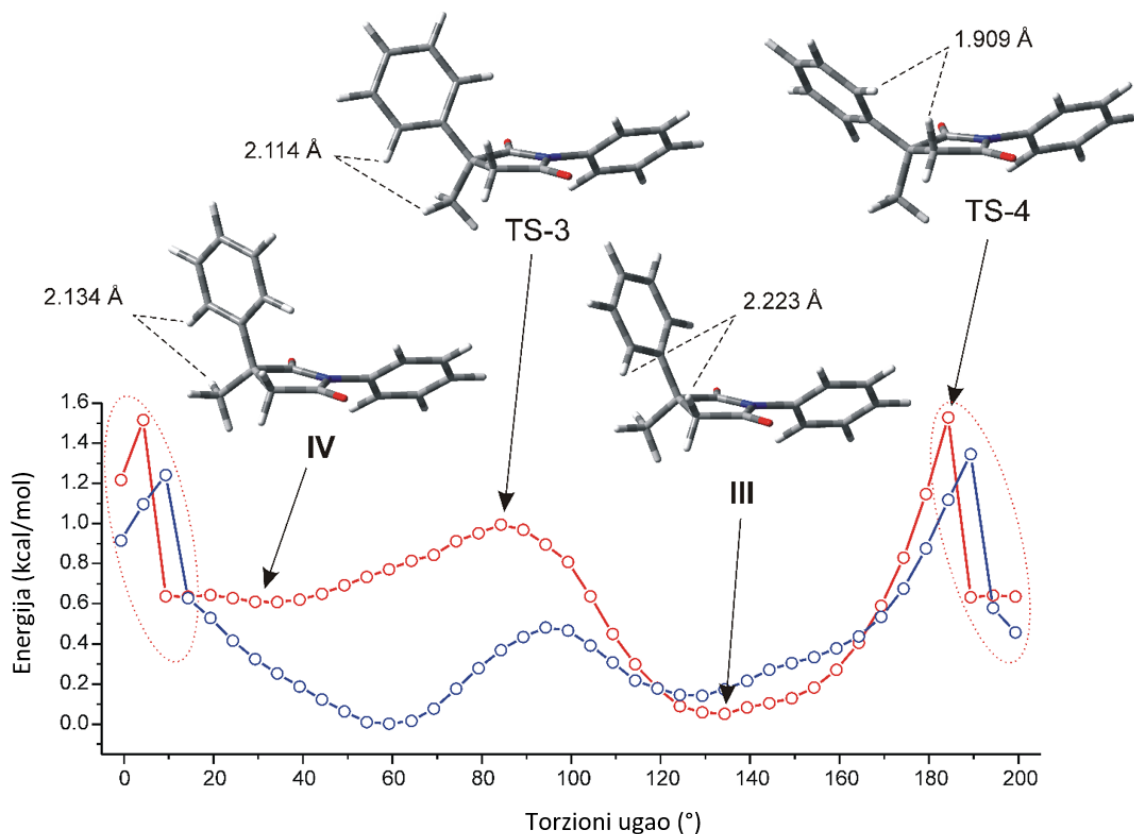
3.2.2. Конформациона стабилност *N*-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-фенил-2-метил сукцинимидна

Конформациона анализа је урађена и за деривате *N*-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-фенил-2-метил сукцинимидна, **Б1-Б12** како би се одредили сви најстабилнији конформери. Конформационе промене испитиваних једињења су могуће само на месту везивања супституената у положају 2 (метил- и фенил-група) као и на атому азота (*N*-фенил-група). Мале промене су детектоване у позицијама 2 и 3 сукцинимидног прстена. У овом делу рада детаљно су испитивани положаји фенил-групе везане за C2 атом прстена за серију једињења **Б1-Б12**. Положаји *N*-фенилне-групе су испитани за претходну групу деривата сукцинимидна [136], а ротација метил-групе не доприноси значајно енергији испитиваних система. За бољи увид у промене енергије повезане са ротацијом фенил-групе у положају 2, урађена је површина потенцијалне енергије (PES) за две могуће оријентације *N*-фенил-групе, методом B3LYP/6-311G(d,p) у вакуму и етанолу. Током прорачуна, сви геометријски параметри су релаксирани, док је торзиони угао θ фенил-групе у позицији 2 вариран за 5° у опсегу од 0° до 180° . На Слици 3.13 представљен је дијаграм потенцијалне енергије за конформере са торзионим углом *N*-фенил-групе од $\sim 44^\circ$, док је дијаграм потенцијалне енергије за торзиони угао од $\sim 136^\circ$ приказана на Слици 3.14.



Слика 3.13. Површина потенцијалне енергије за ротацију фенил-групе у положају 2 у вакуму (црвено) и етанолу (плаво) добијена методом B3LYP/6-311G(d,p) за угао торзије од $\sim 44^\circ$.

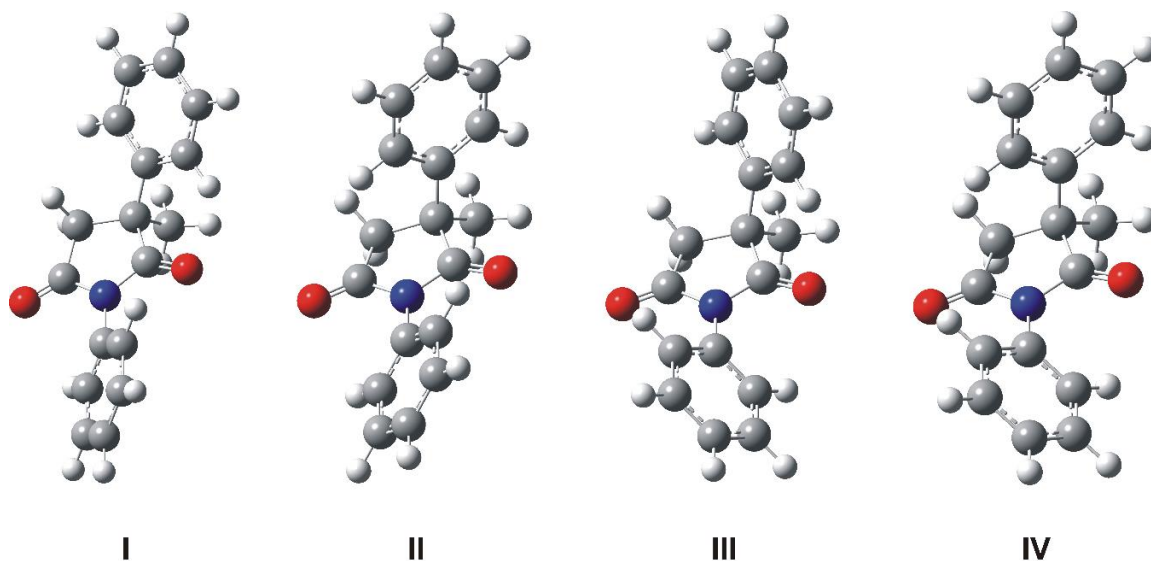
Стабилне позиције фенил-групе у положају 2 сукцинимидног прстена су одређене стерним ефектима са другим присутним групама. Сукцинимидни прстен у испитиваним молекулима је скоро планаран и само C2 атом одступа од равни за не више од $\pm 6^\circ$, док C3 атом показује занемарљиво одступање ($\pm 3^\circ$) али у супротном смеру, па сукцинимидни прстен формира нестабилну конформацију коверте. Енергетски најважнија одбојна интеракција се ствара између атома водоника у положају 3 и фенилне-групе у положају 2 (Слика 3.13). Ова интеракција одређује, да док 2-фенил-група пролази преко CH₂-групе, сукцинимидни прстен мора брзо да пређе из једне конформације коверте у другу, и то се може видети као неправилност на дијаграму потенцијалне енергије (на Слици 3.13 део означен црвеним кругом).



Слика 3.14. Површина потенцијална енергија за ротацију фенил-групе у положају 2 у вакуму (црвено) и етанолу (плаво) добијена методом B3LYP/6-311G(d,p) за угао торзије од $\sim 136^\circ$

За разлику од *N*-(4-хлорофенил)-2-фенил сукцинимиде који не садржи метил-групу на позицији 2 и показују само једну стабилну конформацију за 2-фенил-групу [134], деривати сукцинимиде који су овде испитани (**Б1-Б12**), показују да ротација 2-фенил-групе даје два стабилна конформера (**I** и **II** Слика 3.13). Главни разлог за то може бити додатно одбијање између метил и фенил-група у положају 2 које је најјаче када су фенил-група и C2-CH₃ веза у истој равни (Слика 3.13). Укупна промена енергије повезана са ротацијом 2-фенил-групе је веома мала, мања од 1,5 kcal/mol, што значи да је група веома покретна, односно да може лако да прилагоди своју позицију под спољним утицајем. За поређење, висина ротационе баријере за ротацију етил-групе у *N*-фенил-2-етил-2-метилсукцинимиду је око 5,5 kcal/mol [138].

Значајна разлика у профилу реакционих координата у вакууму и етанолу, се може уочити са Сlike 3.13. Најочигледнија разлика је у енергији конформација **I** и **II**. Конформација **I** са 2-фенил-групом у екваторијалној позицији доминантна је у вакууму, што је у складу са општим ставом да просторно највећи супституент тежи да заузме екваторијалну позицију. Насупрот томе, у поларном растварачу (етанол), конформер **I** постаје мање фаворизован. Главни разлог таквом понашању је у диполним моментима конформера. Прорачуни показују да конформери **I** и **II** у вакууму имају диполни момент од 1.456 и 1.575 D, понаособ, односно мање поларни конформер је стабилнији. Диполни моменти израчунати у етанолу су 1.741 и 1.834 D, а конформер **II** постаје најстабилнији. Поларни растварач тежи да повећа диполни момент и додатно локализује хидрофобне и хидрофилне делове молекула, мењајући конформацију (коверте) сукцинимидног прстена, и на тај начин доводи фенилне-групе у близину. Такође, ово доприноси бољој интеракцији имидне-групе са молекулима растварача. Резултати DFT прорачуна, за серију **B** сукцинимида, показују да су могућа четири конформера за молекулу са симетричним супституентом и осам конформера са асиметричним супституентом.



Слика 3.15. Геометрија свих стабилних конформера за једињење **B4** добијена V3LYP методом

Потпуна оптимизација геометрије ових конформера је урађена помоћу V3LYP и M06-2X метода са 6-311G(d,p) основним сетом орбитала у вакууму и растварачима (етанол и DMSO). Према Болцмановој анализи, сви конформери могу

истовремено бити присутни у раствору на собној температури, тако да се израчуната својства свих конформера користе у динамичком облику (примењује се Болцманова процедура упросечавања) за корелисање геометријских особина док је најстабилнија геометрија једињења **Б4** коришћена за вибрационе и NMR анализе. Геометрије свих стабилних конформера за једињење **Б4** добијене B3LYP поступком, приказане су на Слици 3.5. Израчунате енергије и статистички Болцманов коефицијент расподеле (ω) свих стабилних конформера за једињење **Б4** са B3LYP и M06-2X методама у вакуму, етанолу и DMSO-у су приказане у Табели 3.7.

Конформациона анализа за деривате *N*-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-хлорфенил-2-метилсукцинимиди, серија **В** није извршена, јер се не очекује знатна разлика у односу на конформациону анализу **Б** групе сукцинимиди, односно да атом хлора у *para*- положају 2-фенил-групе неће додатно утицати на покретљивост тј. ротацију 2-фенил-групе.

Табела 3.7. Електронске енергије (E_{HF}) и ZPE кориговане енергије (E_{ZPE}) у а.у., релативне енергије (E_{R}) у kcal/mol и ω свих конформера за једињење **Б4** добијене са B3LYP и M06-2X методама и 6-311G(d,p) основним сетом орбитала

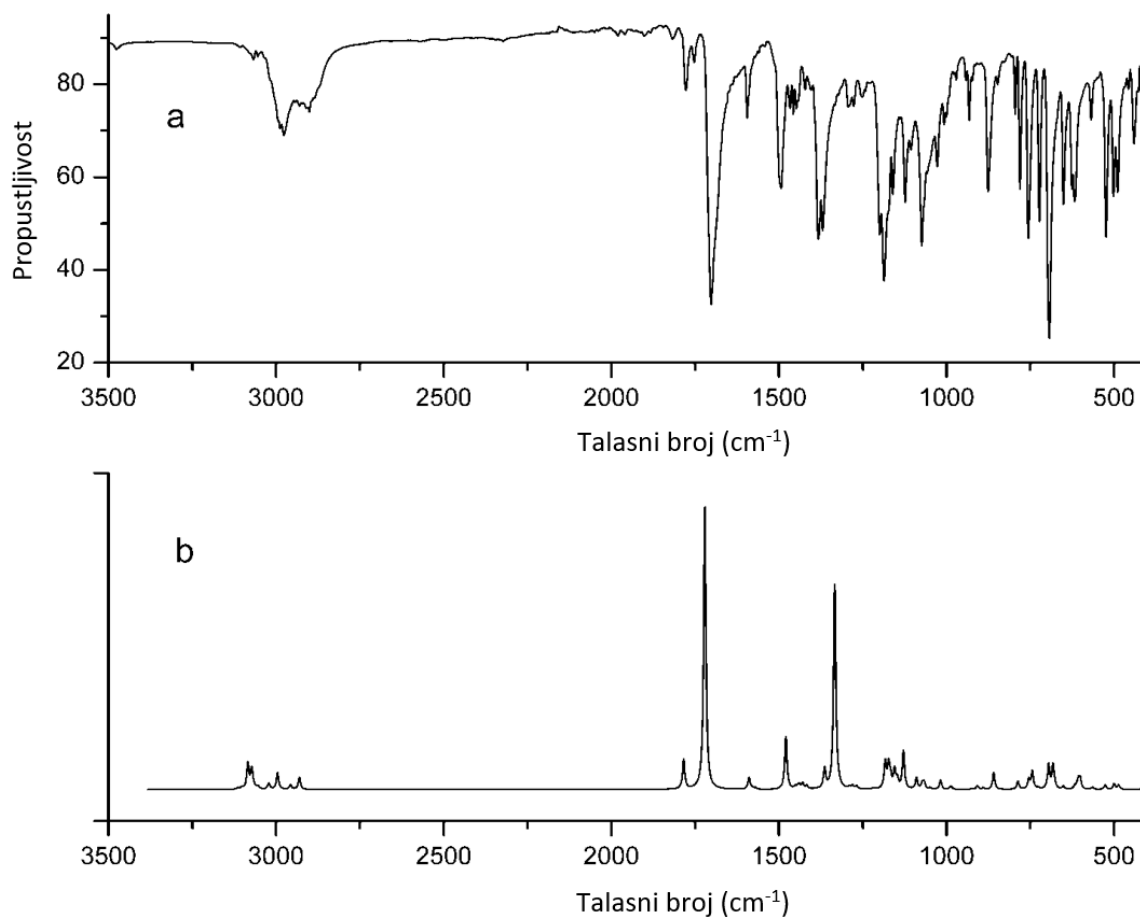
Конф	B3LYP											
	Вакум				Етанол				DMSO			
	E_{HF}	E_{ZPE}	E_{R}	ω	E_{HF}	E_{ZPE}	E_{R}	ω	E_{HF}	E_{ZPE}	E_{R}	ω
I	-862,292747	-862,012164	0,02	35,3	-862,305019	-862,024885	0,15	22,2	-862,305319	-862,025215	0,15	22,2
II	-862,292075	-862,011389	0,51	15,6	-862,305248	-862,025033	0,05	25,9	-862,305575	-862,025370	0,05	26,2
III	-862,292670	-862,012202	0	36,7	-862,305021	-862,024943	0,11	23,6	-862,305319	-862,025249	0,13	23,1
IV	-862,291781	-862,011169	0,65	12,4	-862,305242	-862,025118	0	28,3	-862,305575	-862,025450	0	28,5
	M06-2X											
I	-861,944531	-861,660608	0,16	23,9	-861,957569	-861,674089	0,49	16,2	-861,957887	-861,674422	0,48	16,2
II	-861,944911	-861,660861	0	31,1	-861,958511	-861,674864	0	36,5	-861,958832	-861,675192	0	36,4
III	-861,944588	-861,660724	0,09	27,0	-861,957522	-861,674065	0,50	15,7	-861,957828	-861,674373	0,51	15,3
IV	-861,944568	-861,660342	0,33	18,0	-861,958265	-861,674728	0,09	31,6	-861,958595	-861,675074	0,07	32,1

$E_{\text{R}} = E_{\text{ZPE}}(\text{i}) - E_{\text{ZPE}}(0)$; $E_{\text{ZPE}}(0)$ - ZPE коригована енергија најстабилнијег конформера

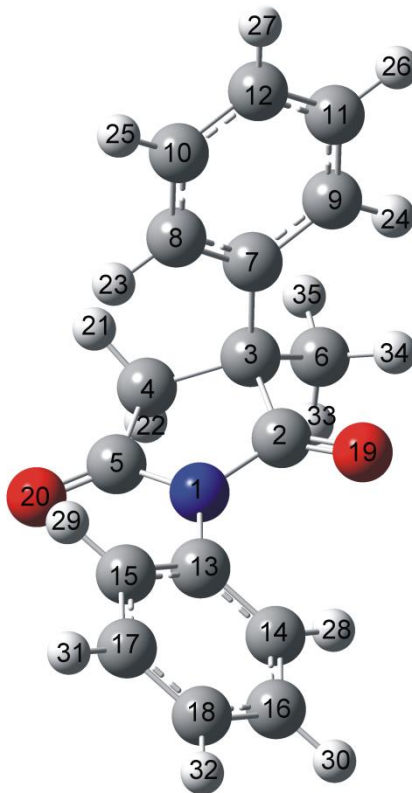
3.2.3. Вибрациона и NMR спектрална анализа *N*-фенил-2-фенил-2-метилсукцинимид

3.2.3.1. Вибрациона спектрална анализа

Молекул несупституисаног сукцинимид из серије **Б**, *N*-фенил-2-фенил-2-метилсукцинимид (**Б4**) је изабран као репрезентативни узорак за структурну анализу. Детаљна анализа експерименталних и израчунатих инфрацрвених спектра несупституисаног сукцинимид **Б4** је урађена и у Табели 3.8 дати су најважније вибрације за његову структуру. Експериментални и израчунати спектри приказани су на Слици 3.16, а шема нумерисања атома у молекулу је приказана на Слици 3.17.



Слика 3.16. Експериментални а) и израчунати б) инфрацрвени спектри једињења **Б4**



Слика 3.17. Нумерисање атома у једињењу **Б4**

Вибрације истезања ароматичних веза C-H и C-C карактеристичне су за обе фенил-групе у молекулу **Б4**. Две широке и слабе траке, у израчунатом спектру, на 3102 и 3112 cm^{-1} , потичу од симетричних вибрација истезања C-H веза, а асиметричне вибрације истезања су на 3084 и 3089 cm^{-1} , са еквивалентом у експерименталном FT-IR спектру на 2977 cm^{-1} . Вибрације у равни C-H веза се појављују у подручју 1050-1595 cm^{-1} и мешају се са C-C истезањем, као и вибрацијама алифатичних метил и метиленских-група. Вибрација савијања ван равни C-H веза у фенил-групама се појављују као интензивне траке на 652 и 756 cm^{-1} у FT-IR, а одговарајуће израчунате вредности су 695 и 743 cm^{-1} . Вибрације истезања ароматичних C-C веза су уочене на 1595 cm^{-1} и корелишу се са израчунатим вредностима на 1569 и 1589 cm^{-1} . Вибрације савијања у равни и изван равни ароматичних C-C веза корелишу се добро (Табела 3.8).

Табела 3.8. Експерименталне и израчунате FT-IR (B3LYP/6-311G(d,p)) фреквенције за једињење **Б4**

$\text{IR}_{\text{exp}}^{\text{a}}$	Експерименталне вредности	Израчунате вредности	$\text{IR}_{\text{Int}}^{\text{b}}$	Задате везе
	3219	3112	1,4	$\nu_{\text{s}}\text{CH}$
	3209	3102	3,04	$\nu_{\text{s}}\text{CH}$
2977	3195	3089	24,18	$\nu_{\text{as}}\text{CH}$
	3190	3084	22,93	$\nu_{\text{as}}\text{CH}$
	3124	3020	4,86	$\nu_{\text{as}}\text{C4H}_2$
2901	3089	2986	30,45	$\nu_{\text{as}}\text{C12H}_3$
	3058	2956	8,53	$\nu_{\text{s}}\text{C4H}_2$
	3031	2930	22,46	$\nu_{\text{s}}\text{C12H}_3$
1778	1845	1784	54,11	$\nu_{\text{as}}\text{C}=\text{O}$
1702	1780	1721	518,06	$\nu_{\text{s}}\text{C}=\text{O}$
1595	1644	1589	17,8	$\nu\text{CC} + \beta\text{HCC}$
	1623	1569	2,53	$\nu\text{CC} + \beta\text{HCC}$
	1531	1480	44,33	βHCC
1493	1529	1478	54,98	$\beta\text{HCC} + \delta_{\text{as}}\text{C12H}_3$
1457	1465	1416	5,9	ψC12H_2
1382	1410	1363	36,14	$\delta_{\text{s}}\text{C12H}_3$
1293	1379	1333	378,7	$\nu\text{NC} + \delta_{\text{s}}\text{C12H}_3 + \omega\text{C4H}_2$
1186	1223	1182	48,5	$\nu\text{NC} + \nu\text{CC} + \beta\text{CCH} + \text{tC4H}_2$
1123	1213	1173	42,44	$\rho\text{C12H}_3 + \beta\text{HCC} + \beta\text{CO}$
	1194	1154	33,57	$\text{tC4H}_2 + \beta\text{HCC}$
1074	1167	1128	71,15	$\text{tC4H}_2 + \beta\text{HCC} + \rho\text{C12H}_3$
1050	1127	1090	20,67	$\beta\text{CNC} + \beta\text{HCC} + \rho\text{C12H}_3$

932	1019	985	2,04	β CCC
876	889	859	31,2	β CCC + ρ C4H ₂
780	814	787	14,61	γ CCO + τ CCCC
756	769	743	32,58	γ CNC + γ HCC
652	719	695	44,48	γ HCC
569	583	564	3,3	γ CCO + ρ C4H ₂
480	517	500	10,23	τ CCCC + τ CNCC + τ HCCC
444	503	486	8,03	τ CCCC

^a Хармонијска фреквенција (cm⁻¹) ; ^bIR_{int} – IR интензитет, K mol⁻¹; ν – истезање; ν_s – симетрично истезање; ν_{as} – асиметрично истезање; β – савијање у равни; γ – савијање ван равни; τ – торзија; δ_s симетрична деформација; δ_{as} асиметрична деформација; ψ – савијање (scissoring); ρ – љуљање (rocking) ; ω – превијање (wagging);

Најзначајније вибрационе траке сукцинимидног прстена се налазе у подручју 1700-1800 cm⁻¹ и припадају вибрацијама истезања две карбонилне-групе, које су спрега симетричних и асиметричних вибрација истезања. Симетричне вибрације истезања се јављају као оштар и веома интензиван пик на 1702 cm⁻¹, а асиметричне вибрације истезања се јављају као сигнал слабог интензитета на 1778 cm⁻¹. Средње интензивне IR траке на 569, 780 и 1123 cm⁻¹ идентификоване су као C=O вибрације ван и у равни, одговарајући теоретски пикови су на 564, 787 и 1173 cm⁻¹ и добро се слажу са експерименталним вредностима. Вибрације истезања C-C и C-N веза сукцинимидног прстена су предвиђене на 1182 и 1333 cm⁻¹ методом B3LYP/6-311G(d,p), а пронађени на 1186 и 1293 cm⁻¹ у FT-IR-у. Вибрације савијања у и ван равни C-C и C-N веза сукцинимидног дела су на 876, 932 и 569, 756, а израчунате су на 859, 985 и 564, 748 cm⁻¹.

Фреквенције вибрација C-H веза фенилног прстена су на вишим фреквенцијама него код CH₂- и CH₃-група. Такође, симетричне вибрације имају вишу фреквенцију од асиметричних за фенилне C-H везе, а супротно за CH₂- и CH₃-групе. Израчунате симетричне и асиметричне вибрације истезања за метил- и метиленску алифатичну-групу су 2930, 2956 и 2986, 3020 cm⁻¹, и одговарају експерименталној на 2901 cm⁻¹. Траке на 1457 и 1293 cm⁻¹ се приписују вибрацијама савијања и превијања CH₂-групе, понаособ. Средње јак сигнал на 1074 cm⁻¹ додељен

је вибрацијама увијања, а два максимума на 569 и 876 cm^{-1} у FT-IR су додељена вибрацијама љуљања CH_2 -групе. Симетричне и асиметричне вибрације CH_3 -групе предвиђене су на 1363 и 1478 cm^{-1} и уочене на 1382 и 1493 cm^{-1} у FT-IR. Вибрације љуљања метил-групе једињења **Б4** су у спрези са вибрацијама у равни савијања ароматских C-H и C-C веза, вибрацијама у равни савијања C-N-C везе, као и са вибрацијама увијања CH_2 -групе и приказују се као средње јаки максимума на 1050 и 1074 cm^{-1} у FT-IR.

3.2.3.2. NMR спектрална анализа

Експерименталне и теоријске вредности за ^1H и ^{13}C NMR хемијских померања молекула **Б4** дате су у Табели 3.3, а шема нумерисања атома у молекулу је приказана на Слици 3.7. Спектри ^{13}C и ^1H NMR једињења **Б4** су одређени у $\text{DMSO-}d_6$ и приказани су на Сликама 3.18 и 3.19.

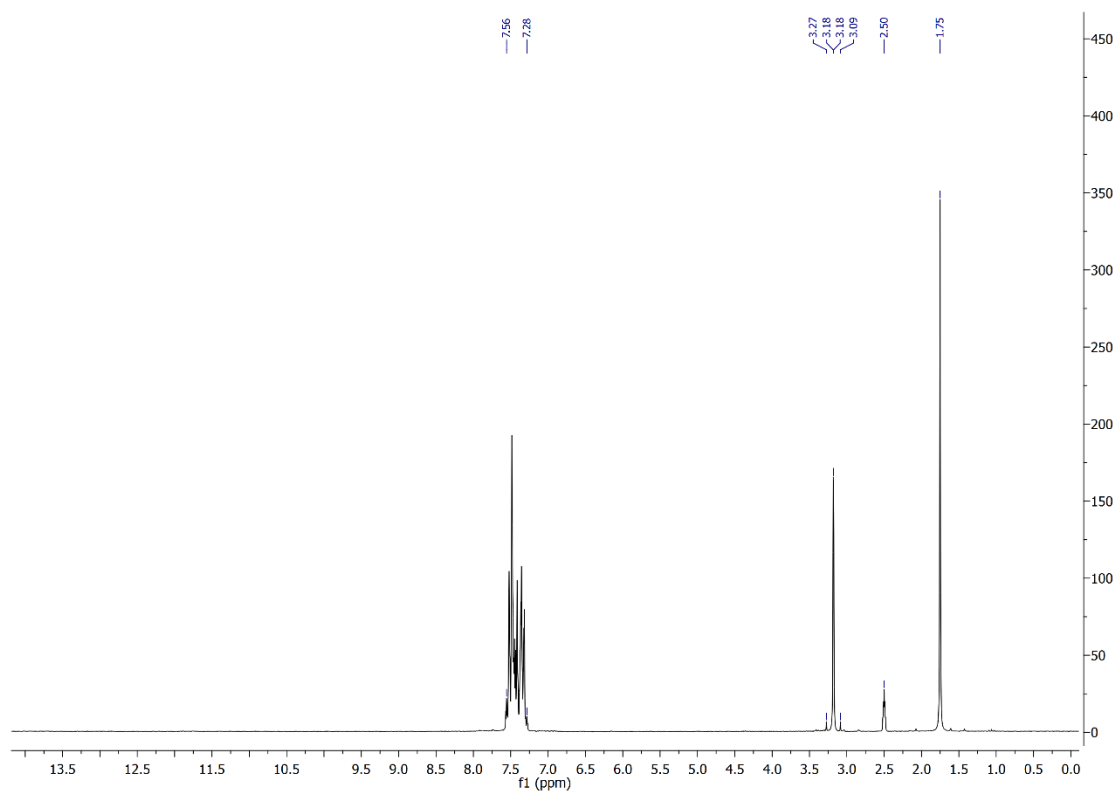
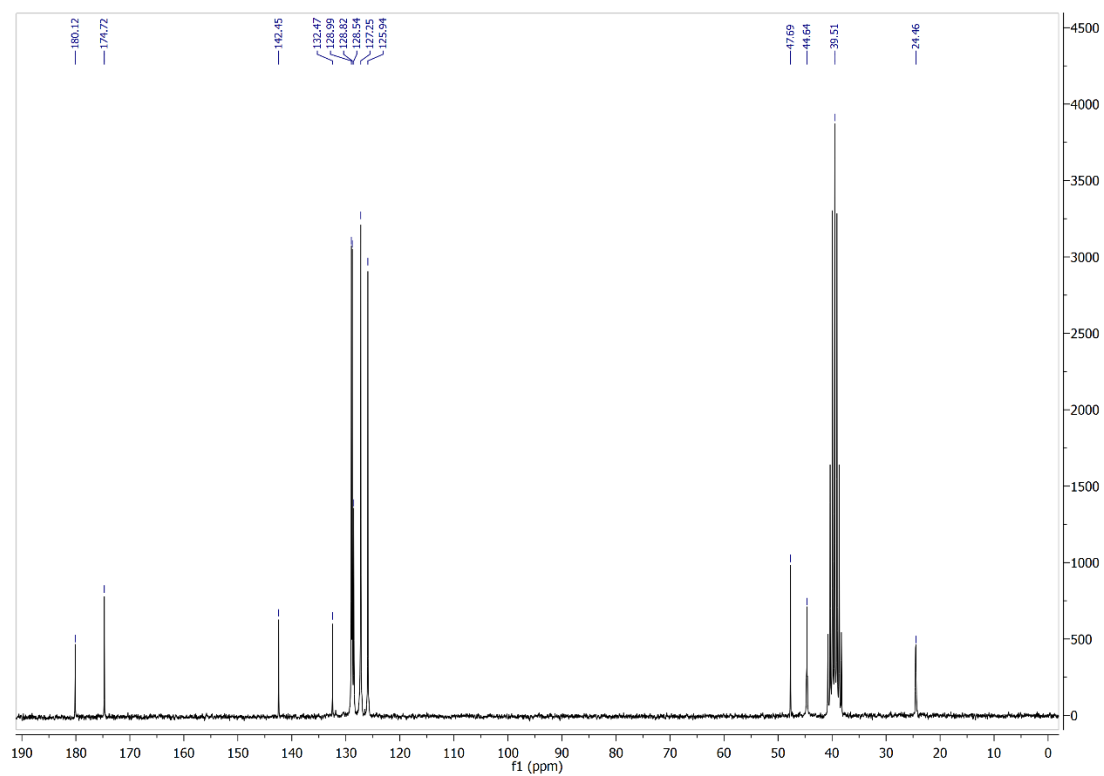
Два атома угљеника (C3 и C4) сукцинимидног прстена се налазе на 44.64 и 47.69 ppm у ^{13}C NMR спектру и показују добро слагање са израчунатим вредностима 52.89 и 55.13 ppm , понаособ. Атоми угљеника (C2 и C5) две карбонилне-групе су померени због електронегативних атома кисеоника и приказани су ниже на 180.12 и 174.72 ppm и добро се слажу са израчунатим помаком на 190.75 и 183.54 ppm . Угљеников атом C6 метил-групе је примећен на 24.46 ppm , а израчунати хемијски померај је на 26 ppm . Атоми угљеника две фенилне-групе појављују се у региону 125.94 – 142.45 ppm и 134.04 – 152.88 ppm у експерименталном и израчунатом спектру.

У ^1H NMR спектру, синглет који се појављује на $1,75\text{ ppm}$ са три протонска интеграла је додељен протонима метил-групе C_6H_3 и показује добро слагање са теоријским вредностима на $1,54$, $1,90$ и $1,91\text{ ppm}$ за H35, H34 и H33, понаособ. Квартет који се појављује на $3,18\text{ ppm}$ додељен је метиленским протонима (H21 и H22) и корелише се са израчунатим вредностима од $2,89$ и $3,09\text{ ppm}$, респективно. Пикови на $7,32$ – $7,56\text{ ppm}$, у односу на TMS (тетраметилсилан $\text{CH}_3\text{-C}(\text{CH}_3)_3$), указују на присуство ароматичних водоникових атома две фенил-групе.

Табела 3.9. Израчуната и експериментална ^1H и ^{13}C NMR хемијска померања (у односу на TMS у раствору DMSO) једињења **Б4**

^1H NMR	Израчуната	E^a	^{13}C NMR	Израчуната	E^a
H21	3,09	3,18	C2	190,75	180,12
H22	2,89	3,18	C5	183,54	174,72
H23	7,78	7,46	C4	52,89	44,64
H24	7,51	7,32	C3	55,13	47,69
H25	7,70	7,45	C7	152,88	142,45
H26	7,68	7,42	C8	132,45	125,94
H27	7,60	7,37	C9	134,42	125,94
H28	7,68	7,44	C10	134,98	128,99
H29	7,53	7,53	C11	135,81	128,99
H30	7,84	7,56	C12	134,04	128,82
H31	7,82	7,52	C6	26,00	24,46
H32	7,79	7,49	C13	142,20	132,47
H33	1,91	1,75	C14	135,14	127,25
H34	1,90	1,75	C15	134,79	127,25
H35	1,54	1,75	C16	135,85	128,54
			C17	135,93	128,54
			C18	135,97	128,99

^a - експериментална вредност

Слика 3.18. ^1H NMR спектар једињења **Б4** у $\text{DMSO-}d_6$ Слика 3.19. ^{13}C NMR спектар једињења **Б4** у $\text{DMSO-}d_6$

3.2.4. Поређење експерименталних и израчунатих вредности

Будући да је планарност молекула једно од најважнијих молекулских својстава које утиче на померање електронске густине кроз молекул, важно је одредити односе између торзионих углова (θ) и спектроскопских података. Због тога су урађене корелације UV апсорпционих максимума испитиваних једињења групе **Б** у етанолу са одговарајућим $\cos^2\theta$ Болцманове расподеле најстабилнијих конформера (θ је добијен V3LYP/6-311G(d,p) методом). Добијене су линеарне корелације:

$$\text{за доноре } \nu_{max} = 43,804 \times \cos^2\theta + 38,063, R^2 = 0,9331 \quad (3.5)$$

$$\text{за акцепторе } \nu_{max} = -40,415 \times \cos^2\theta + 56,774, R^2 = 0,9101 \quad (3.6)$$

а резултати су у потпуној сагласности са претходно описаним LFER моделом (Слика 3.3).

Корелације C2 и C5 SCS (substituent chemical shifts) са $\cos^2\theta$ показују одличне линеарне корелације:

$$\delta_{C(C2)} = -2,221 \times \cos^2\theta + 0,471, R^2 = 0,9093 \quad (3.7)$$

$$\delta_{C(C5)} = -2,372 \times \cos^2\theta + 0,492, R^2 = 0,9029 \quad (3.8)$$

Поред тога, добијена је одлична корелација $\cos^2\theta$ са Хаметовим константама супституената (подаци нису приказани), што је у потпуној сагласности са претходно описаним LFER концептом. Такође, показано је одлично слагање експерименталних и рачунски добијених SCS података ($\delta_{C(C2)eks} = 0,631 \times \delta_{C(C2)izr} - 0,022, R^2 = 0,9197$; $\delta_{C(C5)eks} = 0,633 \times \delta_{C(C5)izr} - 0,012, R^2 = 0,9383$). Одлично слагање између експерименталних и теоријских података директно указује на високу валидност и прецизност предложених модела.

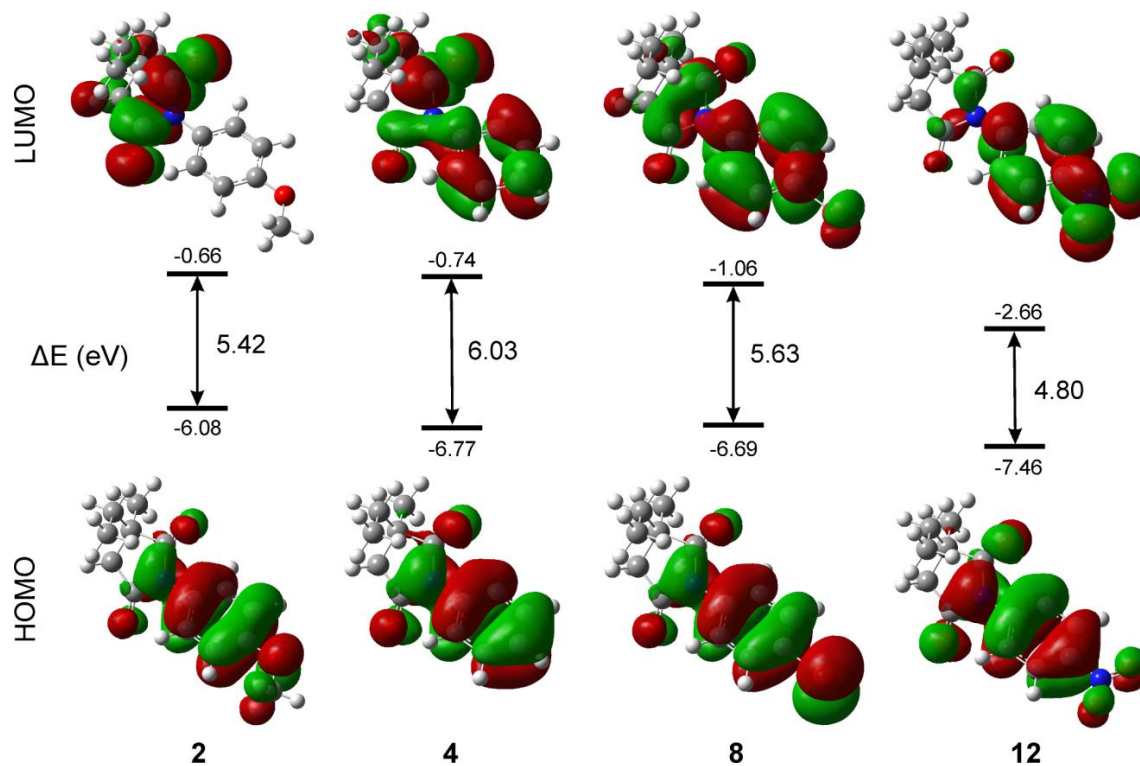
3.2.5. Електронска анализа

Граничне молекулске орбитале, FMO (Frontier Molecular Orbitals), највиша попуњена молекулска орбитала, HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) и најнижа непопуњена молекулска орбитала, LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital), дефинишу начин на који молекул интерагује са другим молекулима, UV-Vis спектре, електронска и оптичка својства [139]. Анализа енергија граничних молекуларних орбитала (HOMO и LUMO), као и енергетска разлика (енгл. Energy

gaps) између њих, објашњавају кинетичку стабилност и хемијску реактивност молекула. Мала енергетска разлика граничних молекулских орбитала означава више поларизабилан молекул и већу реактивност, али такође ниску кинетичку стабилност [140]. Електронски прелази као и промене у укупној густини наелектрисања у основном и ексцитованом стању проучаваних сукцинимиди серије А, испитиване су израчунавањем енергетске разлике између молекулских орбитала НОМО и LUMO. Енергије НОМО и LUMO су, у суштини, грубе мере способности молекула да отпусти или прими електрон.

Да би се проверили могући начини интеракција за серију једињења *N*-(3- и 4- супституисаних фенил)-2-етил-2-метилсукцинимиди, (**A1-A12**) енергије и расподела електронских густина граничних молекулских орбитала израчунате се у различитим растварачима (THF, етанол, DMSO и вода) користећи B3LYP метод (Табела 3.10 и 3.11).

На Слици 3.20 приказане су НОМО и LUMO орбитале у вакууму и енергетске разлике за несупституисани дериват **A4**, као и деривате који садрже електрон-донорски супституент **A2** и електрон-акцепторске супституенте **A8** и **A12** на фенил-групи [138].



Слика 3.20. НОМО и LUMO молекулске орбитале са њиховим енергијама и енергетским разликама за једињења **A2**, **A4**, **A8** и **A12** у вакууму.

Табела 3.10. Енергије НОМО ($E_{\text{НОМО}}$) и LUMO (E_{LUMO}) молекулских орбитала, енергетске разлике (E_{gap}) у eV, торзиони угао θ у $^{\circ}$ и диполни моменти (μ) у D (Дебај) за испитивана једињења серије А сукцинимида, у вакуму и етанолу као растварачима

Јед.	R	Вакум					Етанол				
		$E_{\text{НОМО}}$	E_{LUMO}	E_{gap}	θ	μ	$E_{\text{НОМО}}$	E_{LUMO}	E_{gap}	θ	μ
A1	4-OH	-6,18	-0,70	5,48	43,65	2,58	-6,48	-0,79	5,69	65,72	2,38
A2	4-OCH ₃	-6,08	-0,66	5,42	44,23	1,81	-6,39	-0,78	5,61	64,44	1,93
A3	4-CH ₃	-6,52	-0,69	5,83	43,67	1,36	-6,86	-0,79	6,07	63,56	1,35
A4	H	-6,77	-0,74	6,03	43,91	1,84	-7,10	-0,82	6,28	61,56	2,02
A5	4-F	-6,74	-0,86	5,88	42,59	3,97	-7,01	-0,86	6,15	59,21	3,97
A6	4-Cl	-6,77	-1,04	5,72	40,94	4,52	-6,98	-1,09	5,89	53,38	4,70
A7	3-Cl	-6,90	-1,07	5,83	41,51	3,84	-7,11	-1,12	5,99	53,26	4,19
A8	4-Br	-6,69	-1,06	5,63	40,88	4,05	-6,91	-1,11	5,80	53,46	4,54
A9	3-Br	-6,81	-1,06	5,75	41,80	3,44	-7,03	-1,11	5,92	55,56	4,07
A10	4-COOH	-7,06	-1,74	5,32	40,65	4,18	-7,25	-1,88	5,37	50,77	4,58
A11	4-CN	-7,20	-1,86	5,33	39,02	7,03	-7,28	-1,91	5,37	48,61	8,37
A12	4-NO ₂	-7,46	-2,66	4,80	38,63	7,91	-7,47	-2,88	4,59	47,29	8,52

Табела 3.11. Енергије НОМО ($E_{\text{НОМО}}$) и LUMO (E_{LUMO}) молекулских орбитала, енергетске разлике (E_{gap}) у eV, торзиони угао θ у ° и диполни моменти (μ) у D (Дебај) за испитивана једињења серије **A** сукцинимиди, у THF, DMSO и води као растварачима.

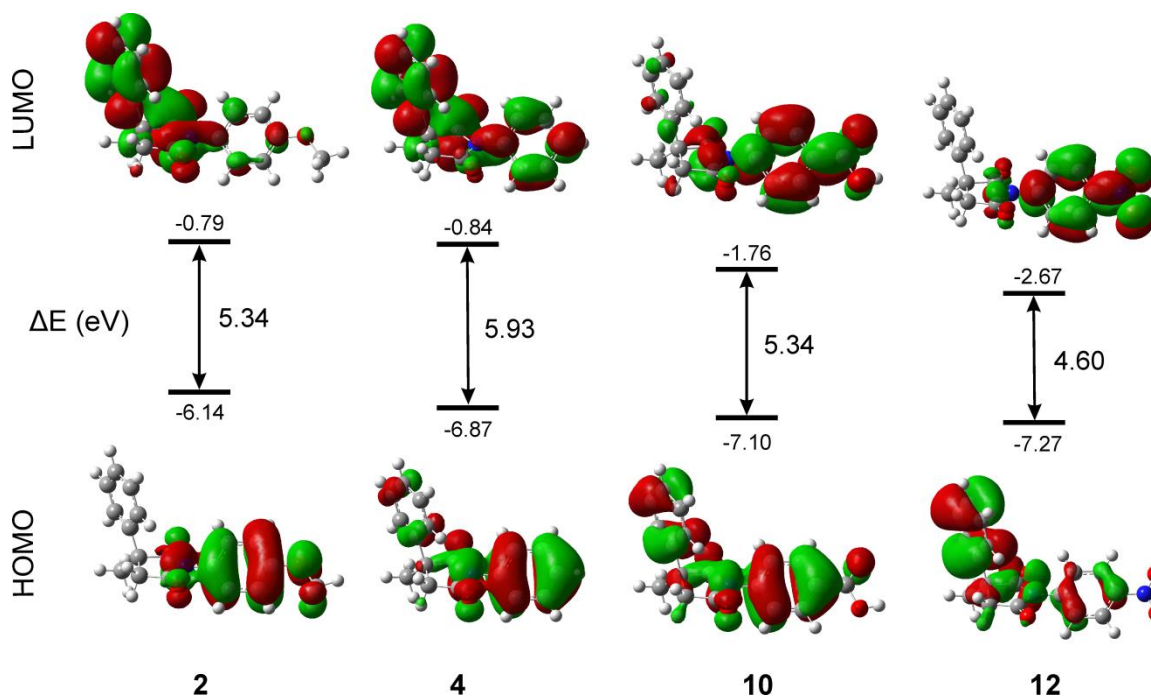
Јед.	R	THF					DMSO					Вода				
		$E_{\text{НОМО}}$	E_{LUMO}	E_{gap}	θ	μ	$E_{\text{НОМО}}$	E_{LUMO}	E_{gap}	θ	μ	$E_{\text{НОМО}}$	E_{LUMO}	E_{gap}	θ	μ
A1	4-OH	-6,44	-0,77	-5,67	62,26	2,31	-6,49	-0,79	-5,69	66,41	2,39	-6,49	-0,80	-5,69	66,79	2,40
A2	4-OCH ₃	-6,34	-0,76	-5,58	60,45	1,96	-6,40	-0,79	-5,61	64,94	1,95	-6,40	-0,79	-5,61	65,16	1,96
A3	4-CH ₃	-6,80	-0,77	-6,02	58,93	1,36	-6,87	-0,80	-6,08	64,31	1,35	-6,88	-0,80	-6,08	64,74	1,35
A4	H	-7,02	-0,83	-6,19	55,24	2,01	-7,11	-0,83	-6,28	61,52	2,02	-7,12	-0,83	-6,29	61,84	2,02
A5	4-F	-6,94	-0,84	-6,10	54,14	3,93	-7,02	-0,87	-6,15	60,19	3,98	-7,02	-0,87	-6,15	60,63	3,98
A6	4-Cl	-6,95	-1,09	-5,86	51,45	4,61	-6,99	-1,10	-5,89	53,79	4,72	-6,99	-1,10	-5,90	53,99	4,73
A7	3-Cl	-7,08	-1,11	-5,97	51,59	4,10	-7,11	-1,12	-5,99	53,67	4,21	-7,12	-1,12	-6,00	53,83	4,21
A8	4-Br	-6,88	-1,10	-5,78	51,57	4,45	-6,92	-1,11	-5,81	53,89	4,56	-6,92	-1,11	-5,81	54,06	4,57
A9	3-Br	-7,00	-1,10	-5,90	53,34	3,90	-7,04	-1,11	-5,93	56,24	4,08	-7,04	-1,11	-5,93	56,53	4,09
A10	4-COOH	-7,22	-1,86	-5,36	49,28	4,49	-7,26	-1,89	-5,37	51,12	4,60	-7,26	-1,89	-5,37	51,33	4,61
A11	4-CN	-7,27	-1,90	-5,37	47,48	8,19	-7,28	-1,91	-5,37	48,85	8,40	-7,28	-1,91	-5,37	48,95	8,42
A12	4-NO ₂	-7,47	-2,85	-4,61	46,08	8,34	-7,47	-2,89	-4,58	47,54	8,56	-7,47	-2,89	-4,58	47,63	8,58

Електронска густина НОМО молекулских орбитала за све испитиване молекуле доминантно је локализована на арил-групи и имидном делу сукцинимидног прстена. Електронска густина LUMO молекулских орбитала показује велики утицај супституента на процес интрамолекулског преноса електронске густине (енгл. Intramolecular Charge Transfer, ICT). LUMO орбитална густина у молекулима са супституентом који донира електроне је локализована на сукцинимидном прстену, што показује велико померање густине електрона у односу на НОМО орбиталу и указује на јак ICT карактер. Молекули са slabим електрон-акцепторским супституентима показују незнатно померање електронске густине од арил-групе до имидног дела сукцинимидног прстена и указују на slab карактер ICT-а. Насупрот томе, јаки супституенти који повлаче електроне показују незнатан помак електронске густине из имидног дела сукцинимидног прстена у арил-групу и указују на slab ICT карактер у супротном смеру.

У серији сукцинимида који су овде истраживани, несупституисано једињење **A4** има највећу енергетску разлику са 6,03 eV у вакуму, док присуство електрон-донорског супституента доводи до малог смањења енергетске разлике и већег смањења за електрон-акцепторске супституенте.

Увођење ефекта растварача доводи до повећања енергетске разлике, у апсолутним вредностима, за све супституенте осим нитро-групе. У односу на несупституисано једињење **A4**, увођење поларних растварача подстиче смањење енергетске разлике за све супституисане сукцинимиде. Присуство електрон-донорског супституента доводи до малог смањења енергетске разлике док супституент који повлачи електроне показује знатно веће смањење и овај ефекат је у складу са порастом поларности. У неполарном растварачу, THF, супституент који донира електрон, узрокује мали пораст, док електрон-акцепторски супституент, као и у претходном случају, указује на велико смањење енергетске разлике.

Да би се извршило предвиђање и одредио могући пренос наелектрисања у дериватима *N*-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-фенил-2-метилсукцинимидима, серија **B1-B12**, такође су израчунати нивои енергије НОМО и LUMO орбитала користећи методу B3LYP/6-311G(d,p). Композиције граничних молекулских орбитала, заједно са њиховим енергијама и енергетским разликама за једињења **B2**, **B4**, **B10** и **B12** су приказане на Слици 3.21.



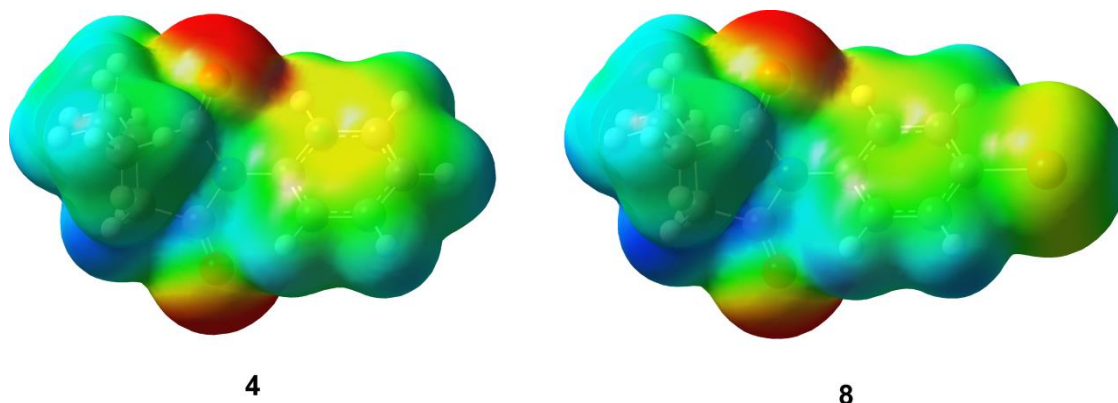
Слика 3.21. НОМО и LUMO молекулске орбитале за једињења **B2**, **B4**, **B10** и **B12**.

Са Сlike 3.21. је видљиво да су електронске густине НОМО и LUMO орбитала за једињење **B2** локализоване на *N*-(4-метоксифенил) и 2-фенил-групи, понаособ. Због тога је у молекулу могућ ICT. Супротно томе, у молекулу **B12**, електронска густина НОМО орбитале је доминантно локализована на 2-фенил-групи, а електронска густина LUMO орбитале се налази на *N*-(4-нитрофенилном) прстену због јаког електрон-акцепторског нитро супституента који индукује померање π електронске густине са 2-фенил-групе према *N*-арилној-групи. Електронске густине НОМО и LUMO орбитала за несупституисано једињење **B4** се простиру преко и сукцинимидног и фенилног прстена и таква расподела узрокује слабији ICT него она у супституисаним сукцинимидима. Разлика у енергији између НОМО и LUMO за једињење **B4** износи 5.93 eV и потврђује ниску хемијску реактивност овог сукцинимида. Интересантно је да сукцинимида **B2**, **B10** и **B12** са електрон-донорским и електрон-акцепторским супституентом имају мању енергетску разлику од 5.34 и 4.6 eV, понаособ, што може објаснити повећање њихове реактивности у односу на молекул **B4**. То значи да је ICT присутнији у једињењу **B12**.

3.2.6. Молекуларни електростатички потенцијал

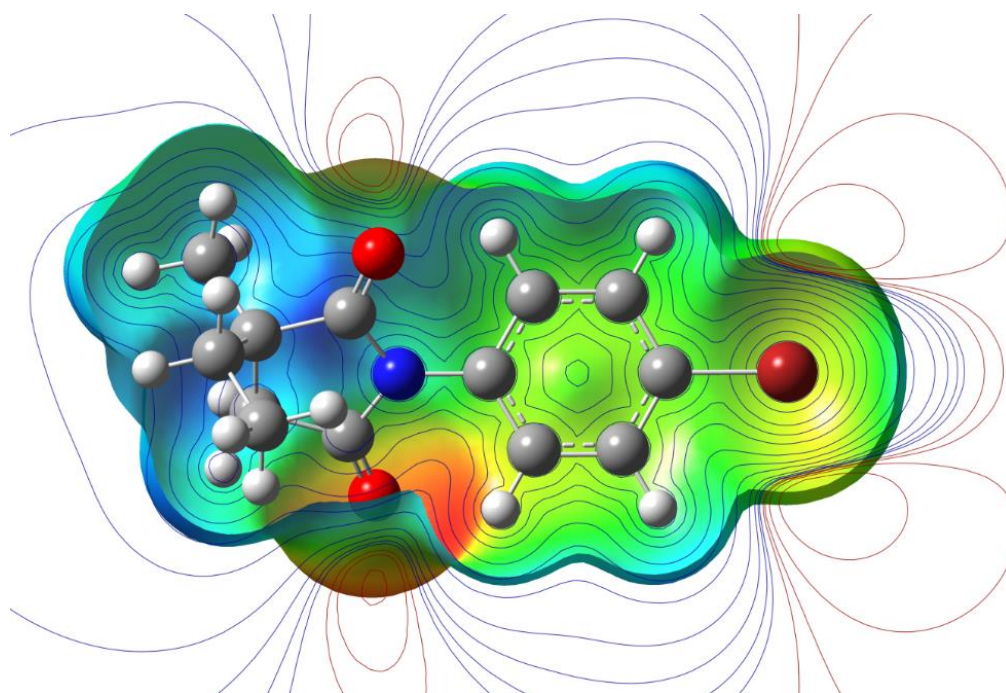
Успостављање интеракције лек–рецептор у многоме зависи од електронских параметара молекула (лека). Мапа молекуларног електростатичког потенцијала (МЕР) омогућава разумевање електронског доприноса успостављању ових интеракција. Молекуларни електростатички потенцијал (МЕР) је сликовити приказ електронске густине молекула која имају за циљ предвиђање величине молекула и распореда електростатичког потенцијала унутар њега [141]. МЕР често помаже да се предвиди реактивност хемијских система у електрофилним и нуклеофилним реакцијама, проучавање процеса биолошког препознавања и интеракције са водоничним везивањем [142]. Такође пружа увид у релативну поларност молекула. Различите вредности електростатичког потенцијала означене су на мапи одговарајућим бојама. Црвена боја показује делове молекула са негативним вредностима електростатичког потенцијала, плава означава подручја са позитивним вредностима електростатичког потенцијала, док зелена боја указује на делове молекула код којих је вредност електростатичког потенцијала блиска нули. Вредност електростатичког потенцијала расте на следећи начин: црвена < наранџаста < жута < зелена < плава.

У циљу предвиђања реактивних места електрофилног или нуклеофилног напада за испитиване молекуле деривата групе **A** сукцинимиде, израчунате су мапе молекуларног електростатичког потенцијала применом DFT B3LYP/6-311++G(d,p) методе. Негативни (црвени и жути) региони МЕР-а односе се на електрофилну реактивност, а позитивне (плаве) регије на нуклеофилне реактивности, Слика 3.22.

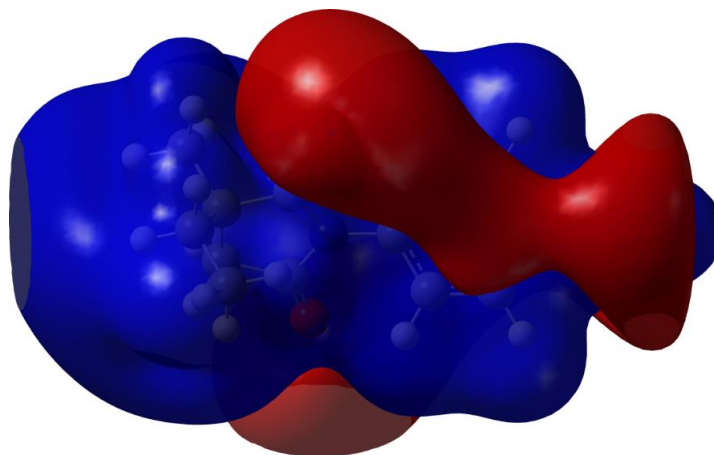


Слика 3.22. Мапе електростатичких потенцијала *N*-фенил-2-етил-2-метилсукцинимиде (**A4**) и *N*-(4-бромофенил)-2-етил-2-метилсукцинимиде (**A8**) у вакууму.

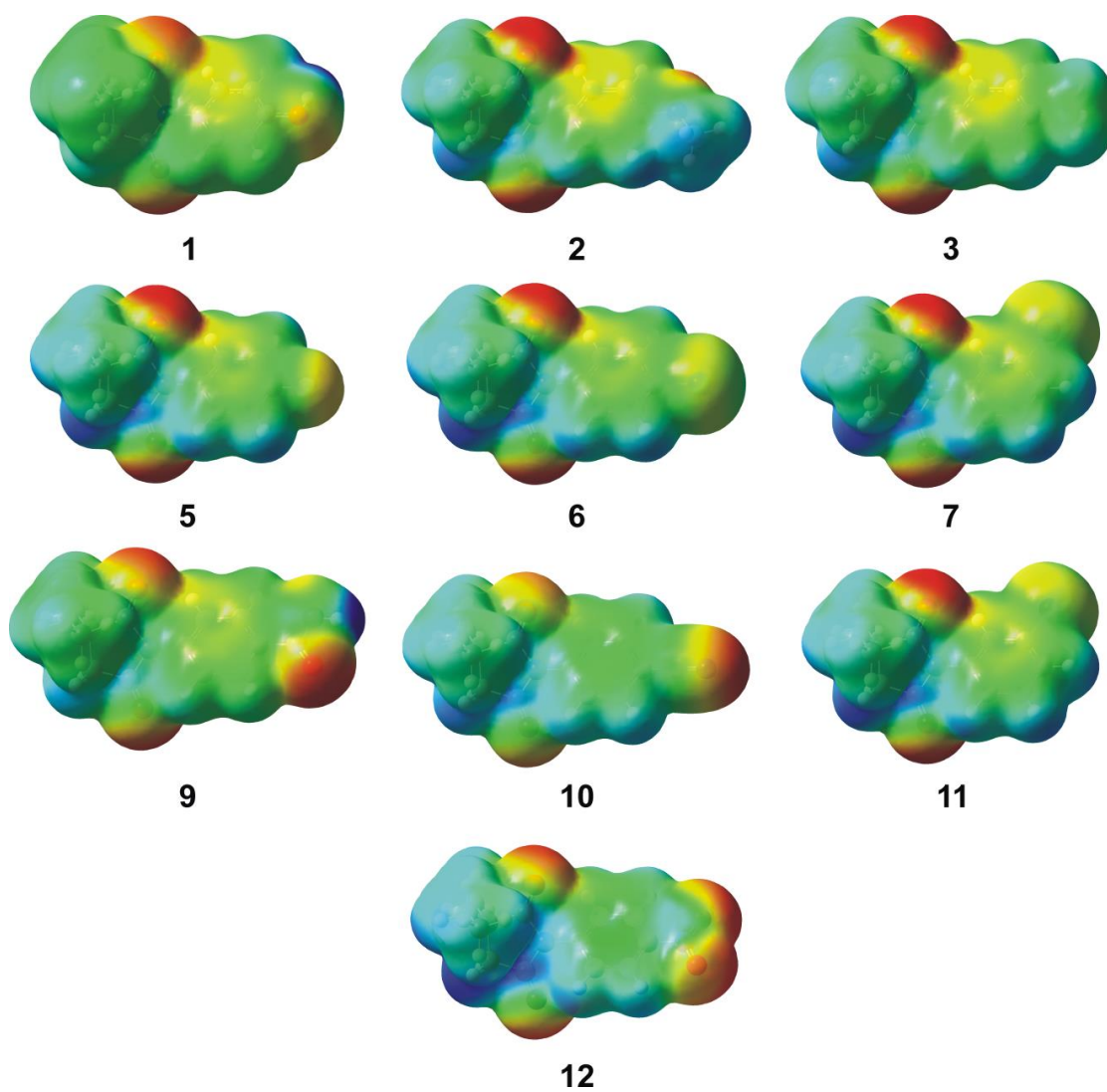
Као што се може видети из Сlike 3.22, молекул *N*-фенил-2-етил-2-метилсукцинимидида (**A4**) у вакуму има два могућа места за електрофилни и једно место за нуклеофилни напад. Негативни региони поменутог молекула налазе се око атома кисеоника карбонилних-група, а умерени позитивни регион је локализован на атомима водоника метиленске-групе из сукцинимидног прстена. Слично томе, молекул **A8** има два могућа места за електрофилни напад, са продуженим негативним потенцијалом од карбонилних-група преко фенил-групе до супституента, атома брома у пара положају (Сlike 3.23 и 3.24). Истовремено, позитивна област локализована на атомима водоника метиленске-групе из сукцинимидног прстена је продужена преко Н-атома фенил-групе до "σ-групе" атома брома у *para* положају. Преко такве позитивне "σ-групе", молекул може реаговати са негативним подручјима да би формирао нековалентни комплекс [143]. MEP мапе других испитаних деривата сукцинимидида приказане су на Слици 3.25.



Слика 3.23. Мапа молекулског електростатичког потенцијала и контурна мапа *N*-(4-бромофенил)-2-етил-2-метилсукцинимидида (**A8**) у вакуму



Слика 3.24. Мапа електростатичког потенцијала *N*-(4-бромофенил)-2-етил-2-метилсукцинимида (**A8**) у вакуму



Слика 3.25. Мапе молекуларних електростатичких потенцијала испитиваних молекула (осим за **A4** и **A8**) у вакуму

3.3. Биолошка активност N-арил-2,2-дисулституисаних сукцинимиди

3.3.1. Мултипараметарска оптимизација молекулских дескриптора деривата сукцинимиди и предвиђање њихове активности

Један од најважнијих фактора у пројектовању биолошки активних супстанци је њихова орална биодоступност. Како би одредили који од синтетизованих деривата *N*-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-етил-2-метилсукцинимиди (**A1**–**A12**), поседује фармакокинетичку активност, њихова структурна својства су тестирана емпиријским „правилом пет“ које је предложио Липински (Lipinski) [144]. У складу са овим правилом, једињења која задовољавају следеће четири структурне карактеристике потенцијално могу показати добру *in vivo* пропустљивост кроз ћелијску мембрану живих организама [145]:

1. Молекулска маса мања од 500 g/mol,
2. Максимално 5 атома који су протон-донори у водоничним везама (-ОН и -NH),
3. Максимално 10 атома (N и O) који су акцептори у водоничним везама,
4. Израчуната логаритамска вредност подеоног коефицијента октанол/вода ($\log P$) мања од 5.

Додатни структурни параметри који морају бити укључени у покушају да се предложи одговарајући модел испитиваних молекула заснива се на редуковању флексибилности молекула: број ротирајућих веза би требало да буде мањи од 8, ниска поларна површина, $PSA < 140 \text{ \AA}^2$ и моларна рефрактивност у распону од 40 до 130 \AA^3 [145-147]. Сви горе поменути структурни параметри приказани су у Табели 3.12.

На основу података наведених у Табели 3.12. може се приметити да сва испитана једињења, осим **A10** и **A12** (критеријуми за поларну површину), испуњавају емпиријски критеријум „правило пет“. Ови резултати показују да синтетизовани сукцинимиди **A1**–**A12** поседују фармакокинетичку активност и тиме се кандидују за фармакодинамичку фазу испитивања. Како је $\log P$ повезан са растворљивошћу и пропустљивошћу (пермеабилност молекула), овај физичко-хемијски параметар је један од најважнијих за процену способности преношења молекула кроз ћелијске мембране. Ако је једињење хидрофилно, тј. има негативну $\log P$ вредност, онемогућен му је пролазак кроз ћелијске мембране због

хидрофобног карактера липидног двослоја. С друге стране, хидрофобна једињења (висока $\log P$ вредност) нису одговарајућа због нерастворљивости и могућности задржавања у липидним мембранама.

Табела 3.12. Молекулски дескриптори за једињења серије **A1-A12**

Једињење	Моларна маса [g/mol]	$\log P^e$	Водоничне везе ^e		Рот. везе ^e	PSA ^e [Å ²]	MR[Å ³]
			Д ^a	А ^b			
A1	233,26	2,64	1	4	2	116,82	60,74
A2	247,29	2,75	0	4	3	77,92	65,40
A3	231,29	3,31	0	3	2	60,49	64,85
A4	217,26	3,03	0	3	2	59,72	58,95
A5	235,25	3,19	0	3	2	59,86	59,45
A6	251,71	3,59	0	3	2	59,03	63,06
A7	251,71	3,59	0	3	2	60,57	63,06
A8	296,16	3,86	0	3	2	60,02	66,48
A9	296,16	3,86	0	3	2	59,16	66,48
A10	261,27	2,59	1	5	3	149,92	65,58
A11	242,27	3,17	0	4	2	117,38	66,74
A12	262,26	3,06	0	6	3	152,50	66,45
Метосукцин имид	203,24	1,34	0	3	1	37,38	60,42
Идеално једињење	<500	<5	<5	<10	<8	<140	40-130

^a Донори указује на -ОН или -NH групу.

^b Акцептори означавају О или N-атом укључујући и оне у донаторским групама.

^e Параметри израчунати из програма Molinspiration. [148]

MR - моларна рефрактивност

Испитивани сукцинимидни деривати **A1-A12** су умерено липофилна једињења, при чему сви супституенти, искључујући снажну електрон-донорску хидроксилну групу и умерено електрон-акцепторску карбоксилну групу, индукују повећање хидрофобног карактера у поређењу са несупституисаним молекулом (**A4**). Такође, проучавана једињења садрже мали број ротирајућих веза (Табела 3.12), а тиме су могуће и умерене конформацијске промене услед везивања за рецептор. Поред тога, примећено је да је поларна површина (PSA) врло важан дескриптор за карактеристике транспорта лека, тако да ће молекули који немају одговарајућа

својства PSA имати потешкоће у тако важном процесу као што је њихов транспорт. У серији **A1–A12**, само два молекула нису задовољила овај PSA критеријум који се директно одражава на њихову активност. Један од најчешће коришћених стерних параметара је моларна рефрактивност (*MR*) који представља комбинацију молекулске запременине и поларизабилности молекула. То је дескриптор који се израчунава на основу индекса рефракције и молекулске запремине молекула. Сва једињења групе **A** задовољавају критеријум моларне рефрактивности.

Структурне особине *N*-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-фенил-2-метил сукцинимид (**B1–B12**) и *N*-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-(4-хлорфенил)-2-метил сукцинимид, (**B1–B10**), су такође тестиране помоћу Липинског емпиријског "правила пет" да би се одредила и њихова фармакокинетичка активност. Сви структурни параметри примењени су на испитиване сукцинимиде као и на комерцијално доступан антиконвулзив Метосукцинимид (целонтин). Одговарајући подаци приказани су у Табелама 3.13 и 3.14.

Табела 3.13. Молекулски дескриптори за једињења серије **B1–B12**

Једињење	Моларна маса [g/mol]	log <i>P</i> ^с	Водоничне везе ^с		Рот. везе ^с	PSA ^с [Å ²]	<i>MR</i> ^с [Å ³]
			Д ^а	А ^б			
B1	281,31	2,09	1	4	2	57,61	82,68
B2	295,34	2,63	0	4	3	46,61	87,15
B3	279,34	3,02	0	3	2	37,38	85,63
B4	265,31	2,57	0	3	2	37,38	80,66
B5	283,30	2,73	0	3	2	37,38	80,62
B6	299,76	3,25	0	3	2	37,38	85,67
B7	299,76	3,23	0	3	2	37,38	85,67
B8	344,21	3,38	0	3	2	37,38	88,36
B9	344,21	3,36	0	3	2	37,38	88,36
B10	309,32	2,48	1	5	3	74,68	87,62
B11	290,32	2,33	0	4	2	61,17	85,38
B12	310,31	2,53	0	6	3	83,20	89,48
Метосукцинимид	203,24	1,34	0	3	1	37,38	60,42
Идеално једињење	<500	<5	<5	<10	<8	<140	40-130

^а Донори указује на -ОН или -NH групу.

^б Акцептори означавају О или N-атом укључујући и оне у донаторским групама.

^в Параметри израчунати из програма Molinspiration. [148]

^г Параметар израчунат из програма SwissADME [151]

Табела 3.14. Молекулски дескриптори за једињења серије **B1–B10**

Једињење	Моларна маса [g/mol]	$\log P^e$	Водоничне везе		Рот. везе ^е	PSA ^е [Å ²]	MR ^з [Å ³]
			Д ^а	А ^б			
B1	299,76	3,25	0	3	2	37,38	85,67
B2	334,20	3,93	0	3	2	37,38	90,68
B3	378,65	4,06	0	3	2	37,38	93,37
B4	344,75	3,21	0	6	3	83,65	94,49
B5	317,75	3,41	0	3	2	37,38	85,63
B6	313,78	3,70	0	3	2	37,38	90,64
B7	329,78	3,31	0	4	3	46,61	92,16
B8	378,65	4,03	0	3	2	37,38	93,37
B9	425,65	4,31	0	3	2	37,38	98,39
B10	334,20	3,90	0	3	2	37,38	90,68
Идеално једињење	<500	<5	<5	<10	<8	<140	40-130

^а Донори указује на -ОН или -NH групу.

^б Акцептори означавају О или N-атом укључујући и оне у донаторским групама.

^е Параметри израчунати из програма Molinspiration

^з Параметар израчунат из програма SwissADME

На основу података наведених у Табелама 3.13 и 3.14, може се уочити да сви испитивани сукцинимида серије **B1–B12** и серије **B1–B10** задовољавају емпиријске критеријуме "правило пет" и да су се кандидовали за фармакодинамичку фазу испитивања. Испитивани деривати сукцинимида су умерено липофилна једињења, при чему сви халогени супституенти, метокси и метил групе индукују повећање хидрофобног карактера у поређењу са несупституисаним молекулима **B4** и **B1**. Синтетизовани молекули показују мали број ротирајућих веза (Табеле 3.13 и 3.14), што може изазвати умерене конформационе промене молекула због везивања за рецептор. Како је поларна површина (PSA) веома важан параметар за карактеристике транспорта лека, а сви испитивани сукцинимида поседују погодне вредности PSA, може се очекивати да ови потенцијално биолошки активни кандидати неће имати тешкоћа у транспорту и пролазу кроз ћелијске мембране у живим организмима. На крају, може се приметити да сва испитивана једињења серије **B1–B12** показују слична својства "правила пет" са комерцијално доступним антиконвулзивом Метосукцинимидом.

Применом програмског пакета PASS (Предвиђање спектра активности- Prediction of Activity Spectra for Substances) [149] могуће је предвиђање интеракције лиганда са протеинима. Лиганд (lat. ligare - везати се), у биохемији и фармакологији, представља супстанцу која може да се веже и формира комплекс са биомолекулом. У ужем смислу то је сигнал активирајући молекул, који се везује са циљним протеином путем интермолекуларске везе (јонске, водоничне везе и Ван дер Валсове силе). [150] У овој студији, PASS резултати за синтетизовану серију **Б1–Б12** сукцинимида, приказани су у Табели 3.15. На основу PASS-а резултата се може приметити да су сукцинимиди ове серије врло перспективни кандидати за лекове, када се упореде Pa/Pi односи са Метосукцинимидом, при чему се мали број деривата издваја од овог односа. Pa и Pi представљају вероватноће да истражени молекули може бити активан и неактиван. (Приказани су само резултати са $Pa > 0,7$).

Табела 3.15. PASS предвиђање испитиваних сукцинимида **Б1–Б12**

N-(4-хидроксифенил)-2-метил-2-фенилсукцинимид (**Б1**)

Pa	Pi	Рецептори
0,853	0,023	CYP2C12 substrate
0,796	0,020	Antiseborrheic
0,788	0,028	Testosterone 17beta-dehydrogenase (NADP+) inhibitor
0,733	0,004	Tetrahydroxynaphthalene reductase inhibitor
0,730	0,010	27-Hydroxycholesterol 7alpha-monooxygenase inhibitor
0,718	0,016	Glutathione thiolesterase inhibitor
0,731	0,054	Aspulvinone dimethylallyltransferase inhibitor
0,721	0,061	Ubiquinol-cytochrome-c reductase inhibitor

N-(4-метоксифенил)-2-метил-2-фенилсукцинимид (**Б2**)

Pa	Pi	Рецептори
0,764	0,044	Aspulvinone dimethylallyltransferase inhibitor
0,735	0,038	Gluconate 2-dehydrogenase (acceptor) inhibitor
0,721	0,053	CYP2C12 substrate

N-(4-метилфенил)-2-метил-2-фенилсукцинимид (**Б3**)

Pa	Pi	Рецептори
0,783	0,030	Testosterone 17beta-dehydrogenase (NADP+) inhibitor
0,735	0,010	27-Hydroxycholesterol 7alpha-monooxygenase inhibitor

0,712	0,046	CYP2J substrate
0,717	0,054	CYP2C12 substrate

N-фенил-2-метил-2-фенилсуқцинимид (Б4)

<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	Рецептори
0,823	0,020	Testosterone 17beta-dehydrogenase (NADP+) inhibitor
0,806	0,005	27-Hydroxycholesterol 7alpha-monooxygenase inhibitor
0,746	0,008	Anticonvulsant
0,731	0,005	CYP2A8 substrate
0,740	0,050	CYP2C12 substrate
0,703	0,015	Phosphatidylcholine-retinol O-acyltransferase inhibitor
0,727	0,042	CYP2J substrate
0,705	0,022	Lysase inhibitor

N-(4-Хлорфенил)-2-фенил-2-метилсуқцинимид (Б5)

<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	Рецептори
0,748	0,008	Anticonvulsant

N-(4-Хлорфенил)-2-фенил-2-метилсуқцинимид (Б6)

<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	Рецептори
0,830	0,003	CYP2A8 substrate
0,809	0,005	Anticonvulsant
0,803	0,005	27-Hydroxycholesterol 7alpha-monooxygenase inhibitor
0,764	0,048	Phobic disorders treatment
0,734	0,039	CYP2J substrate
0,709	0,021	5-O-(4-coumaroyl)-D-quinic acid 3'-monooxygenase inhibitor
0,704	0,034	Glycosylphosphatidylinositol phospholipase D inhibitor

N-(3-Хлорфенил)-2-фенил-2-метилсуқцинимид (Б7)

<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	Рецептори
0,835	0,005	Anticonvulsant
0,809	0,004	CYP2A8 substrate
0,774	0,007	27-Hydroxycholesterol 7alpha-monooxygenase inhibitor
0,734	0,027	Glycosylphosphatidylinositol phospholipase D inhibitor
0,731	0,062	Phobic disorders treatment
0,706	0,048	CYP2J substrate

N-(4-Бромфенил)-2-фенил-2-метилсуццинимид (Б8)

<i>P_a</i>	<i>P_i</i>	Рецептори
0,778	0,006	Anticonvulsant

N-(3-Хлорфенил)-2-фенил-2-метилсуццинимид (Б9)

<i>P_a</i>	<i>P_i</i>	Рецептори
0,807	0,005	Anticonvulsant

N-(4-Карбоксифенил)-2-фенил-2-метилсуццинимид (Б10)

<i>P_a</i>	<i>P_i</i>	Рецептори
0,909	0,005	Testosterone 17beta-dehydrogenase (NADP+) inhibitor
0,848	0,004	Phosphatidylcholine-retinol O-acyltransferase inhibitor
0,825	0,006	Pullulanase inhibitor
0,823	0,005	Glutathione thiolesterase inhibitor
0,823	0,005	Ribulose-phosphate 3-epimerase inhibitor
0,803	0,004	Electron-transferring-flavoprotein dehydrogenase inhibitor
0,798	0,004	Cholestanetriol 26-monoxygenase inhibitor
0,799	0,006	Creatininase inhibitor
0,806	0,017	Alkenylglycerophosphocholine hydrolase inhibitor
0,798	0,019	Antieczematic
0,787	0,009	Fusarinine-C ornithinesterase inhibitor
0,781	0,004	Arylalkyl acylamidase inhibitor
0,772	0,004	Phenol O-methyltransferase inhibitor
0,767	0,005	1,4-Lactonase inhibitor
0,772	0,011	5-O-(4-coumaroyl)-D-quinic acid 3'-monoxygenase inhibitor
0,763	0,004	Ferredoxin-NAD+ reductase inhibitor
0,763	0,004	Naphthalene 1,2-dioxygenase inhibitor
0,775	0,017	Taurine dehydrogenase inhibitor
0,768	0,011	Glucan endo-1,6-beta-glucosidase inhibitor
0,761	0,007	3-Hydroxybenzoate 6-monoxygenase inhibitor
0,760	0,009	UDP-N-acetylglucosamine 4-epimerase inhibitor
0,756	0,006	L-glutamate oxidase inhibitor
0,773	0,025	Chlordecone reductase inhibitor
0,757	0,010	NADPH-cytochrome-c2 reductase inhibitor
0,751	0,007	Gluconate 5-dehydrogenase inhibitor
0,756	0,016	Glutamyl endopeptidase II inhibitor

0,750	0,010	Bisphosphoglycerate phosphatase inhibitor
0,748	0,008	Polyamine-transporting ATPase inhibitor
0,744	0,005	Chenodeoxycholoyltaurine hydrolase inhibitor
0,740	0,005	Tryptophanamidase inhibitor
0,741	0,008	Methylamine-glutamate N-methyltransferase inhibitor
0,743	0,010	Dimethylargininase inhibitor
0,740	0,008	Pterin deaminase inhibitor
0,735	0,004	Cyclohexyl-isocyanide hydratase inhibitor
0,736	0,012	Alkane 1-monooxygenase inhibitor
0,727	0,004	Mannan endo-1,4-beta-mannosidase inhibitor
0,735	0,018	Dehydro-L-gulonate decarboxylase inhibitor
0,724	0,007	Spermidine dehydrogenase inhibitor
0,719	0,008	Poly(alpha-L-gulonate) lyase inhibitor
0,715	0,005	(R)-Pantolactone dehydrogenase (flavin) inhibitor
0,717	0,012	2-Hydroxymuconate-semialdehyde hydrolase inhibitor
0,709	0,004	N-acetylneuraminase synthase inhibitor
0,708	0,005	Opheline kinase inhibitor
0,708	0,005	Taurocyamine kinase inhibitor
0,708	0,006	Aminobutyraldehyde dehydrogenase inhibitor
0,707	0,005	Long-chain-aldehyde dehydrogenase inhibitor
0,713	0,013	2-Hydroxyquinoline 8-monooxygenase inhibitor
0,728	0,028	Sugar-phosphatase inhibitor
0,712	0,012	N-acetylneuraminase 7-O(or 9-O)-acetyltransferase inhibitor
0,705	0,007	NADH kinase inhibitor
0,704	0,008	Gamma-guanidinobutyraldehyde dehydrogenase inhibitor
0,706	0,009	Mitochondrial processing peptidase inhibitor
0,702	0,007	Peptide alpha-N-acetyltransferase inhibitor
0,713	0,022	Sphinganine kinase inhibitor
0,713	0,026	Glutamate-5-semialdehyde dehydrogenase inhibitor
0,715	0,063	Ubiquinol-cytochrome-c reductase inhibitor

N-(4-Цијанофенил)-2-фенил-2-метилсуқцинимид (Б11)

<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	Рецентори
0,864	0,020	CYP2C12 substrate
0,770	0,005	Neurotransmitter uptake inhibitor

N-(4-Нитрофенил)-2-фенил-2-метилсукцинимид (Б12)

<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	Рецентори
0,770	0,013	Lysase inhibitor
0,792	0,036	Ubiquinol-cytochrome-c reductase inhibitor
0,766	0,011	Fusarinine-C ornithinesterase inhibitor
0,759	0,012	Glucan endo-1,6-beta-glucosidase inhibitor
0,721	0,009	Anticonvulsant
0,701	0,044	Acrocyllindropepsin inhibitor
0,701	0,044	Chymosin inhibitor
0,701	0,044	Saccharopepsin inhibitor

Месуксимид

<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	Рецентори
0,909	0,004	Anticonvulsant
0,847	0,003	CYP2A8 substrate
0,823	0,020	Testosterone 17beta-dehydrogenase (NADP+) inhibitor
0,772	0,014	Nicotinic alpha2beta2 receptor antagonist
0,745	0,005	4-Nitrophenol 2-monoxygenase inhibitor
0,738	0,005	CYP2A2 substrate
0,767	0,044	CYP2C12 substrate
0,740	0,023	Nicotinic alpha6beta3beta4alpha5 receptor antagonist
0,727	0,010	27-Hydroxycholesterol 7alpha-monoxygenase inhibitor
0,703	0,015	Phosphatidylcholine-retinol O-acyltransferase inhibitor
0,709	0,047	CYP2J substrate

3.3.2. Експериментално одређивање антимицробне активности *N*-арил-2,2-дисупституисаних сукцинимида

Деривати сукцинимида су биолошки активна једињења, јер имају способност да прођу кроз ћелијску мембрану [4]. Супституисани деривати сукцинимида показују широк спектар фармаколошких активности као што су: антидепресивна [152], аналгетичка [153], цитостатичка [154-156], блокада нервне проводљивости [157], антиспазмодичка [158,160], бактериостатска и антибактеријска [159,162], хипотензивна [161], антифунгална [163], антиконвулзивна [164] и антитуберкулозна активност [165] .

У наставку истраживања анализирана је антибактеријска и антифунгална активност синтетизованих деривата сукцинимида, да би се утврдило како њихова

стерна и електронска својства утичу на биолошку одрживост микроорганизама. Антибактеријска активност је тестирана на осам бактеријских врста: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus cereus* (клинички изолована), *Micrococcus flavus* (ATCC 10240), *Listeria monocytogenes* (NCTC 7973) (грам позитивне бактерије), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Enterobacter cloacae* (клинички изолована), *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311), *Escherichia coli* (ATCC 35210) (грам негативне бактерије). Антифунгална активност је процењена на осам гљивичних врста: *Aspergillus flavus* (ATCC 9643), *Aspergillus ochraceus* (ATCC 12066), *Aspergillus versicolor* (ATCC 11730), *Aspergillus niger* (ATCC 6257), *Penicillium ochrochloron* (ATCC 9112), *Penicillium funiculosum* (ATCC 36839), *Penicillium verrucosum var. cyclopium* (изолована из хране), *Trichoderma viride* (IAM 5061).

Минимална инхибиторна концентрација (МИС) је најнижа концентрација антимикумног средства (тестираних супстанци) која потпуно инхибира бактерије или гљивице без видљивог раста, посматрано под бинокуларним микроскопом. Што је вредност МИС мања, то је активност испитиване супстанце већа.

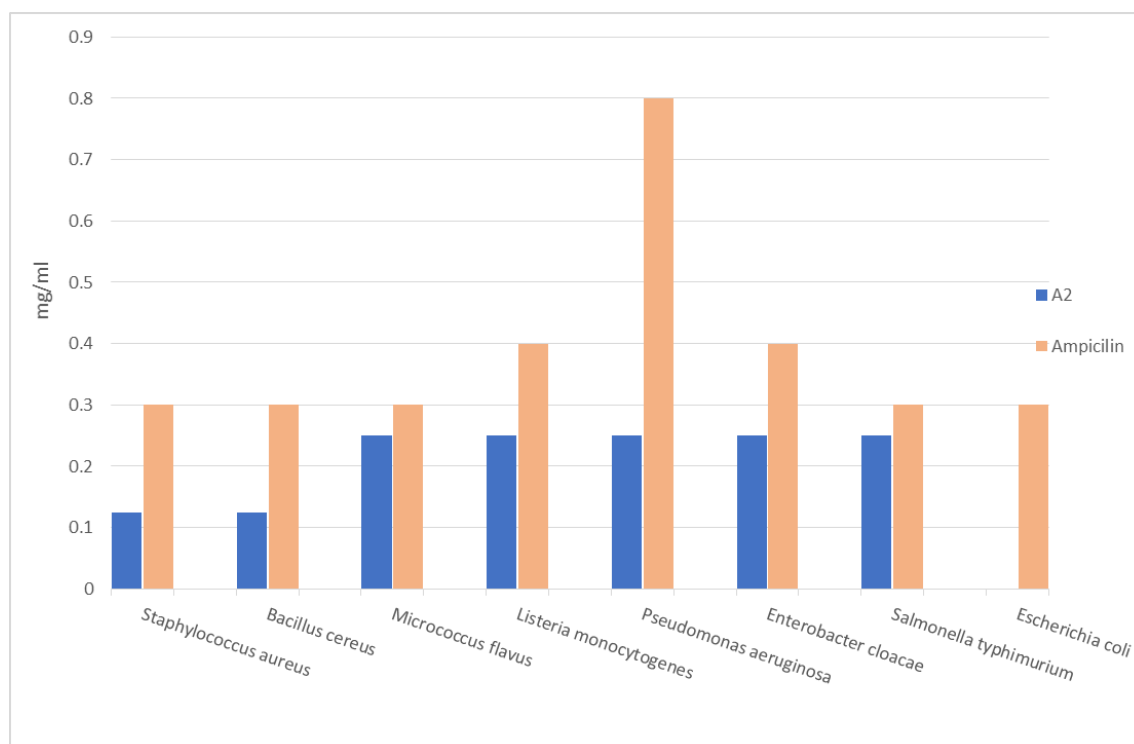
Синтетизовани деривата сукцинимиди серије **A1-A12** су тестирани на антибактеријску активност на осам бактеријских врста, поменуте раније, а вредности МИС/МВС су дате у Табели 3.16. [138]. Из Табеле 3.16. се види да нека једињења имају активност сличну, а за неке врсте и бољу, од комерцијално доступних антибиотика (*Streptomycin* и *Ampicillin*).

Табела 3.16. Антибактеријска активност испитаних деривата сукцинимидија серије **A1-A12**

Једињење	<i>Staphyl. aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Micrococcus flavus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Escherichia coli</i>
	MIC/MBC [mg/ml]							
A1	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.
A2	0,125/0,25	0,125/0,25	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5	н.а.
A3	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5	0,125/0,5	0,125/0,25	н.а.	н.а.
A4	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.
A5	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.
A6	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.
A7	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.
A8	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.
A9	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.
A10	н.а.	н.а.	н.а.	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5	н.а.
A11	0,25/0,5	н.а.	н.а.	0,25/0,5	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.
A12	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.	н.а.
Streptomycin	0,05/0,1	0,1/0,2	0,2/0,3	0,2/0,3	0,2/0,3	0,3/0,5	0,2/0,3	0,2/0,3
Ampicillin	0,3/0,4	0,3/0,4	0,3/0,4	0,4/0,5	0,8/1,25	0,4/0,8	0,3/0,5	0,3/0,5

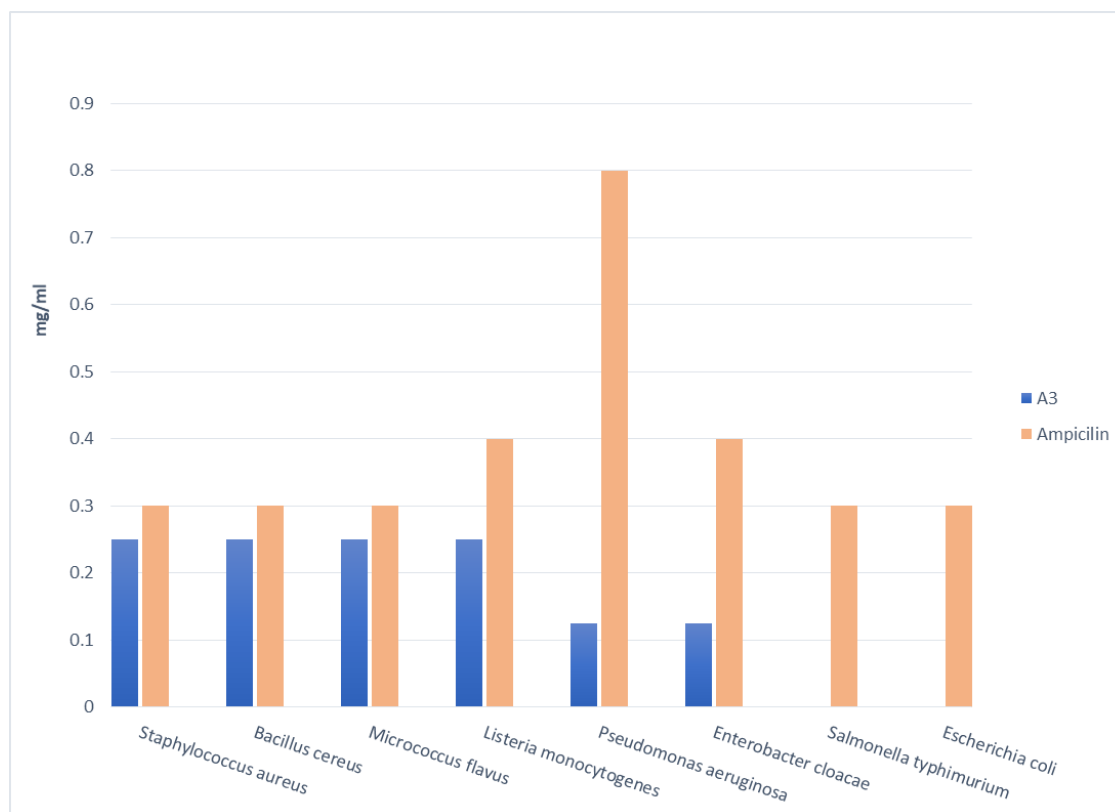
* н.а. – неактивно

Из Табеле 3.16. и са Сlike 3.26. се може закључити да једињење **A2** има већу активност од ампицилина за све врсте осим на врсту *Escherichia coli*, на коју не показује активност, а са Сlike 3.27 да једињење **A3** нема активности за *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium*, али његова активност је боља за све друге испитане бактерије од ампицилина. Посебно треба нагласити да оба једињења показују изузетну активност на врсту *Pseudomonas aeruginosa*, једињење **A2** три пута, а једињење **A3** чак шест пута већу од ампицилина. Једињење **A10** показује активност на четири бактерије: *Listeria monocitogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Salmonella typhimurium*. За врсту *Enterobacter cloacae* показује активност бољу од поменутих комерцијално доступних антибиотика. Остала једињења нису показала никакву активност на тестираним бактеријама.



Слика 3.26. Антибактеријска активност једињења A2 и Ампицилина

На основу представљених резултата у Табели 3.16. и са Сlike 3.26. и 3.27. може се закључити да једињења која садрже електрон-донорске супституенте као што су метил- и метокси-група у фенилном језгру показују добру активност на испитане бактеријске врсте, за неке врсте знатно бољу од ампицилина.



Слика 3.27. Антибактеријска активност једињења А3 и Ампицилина

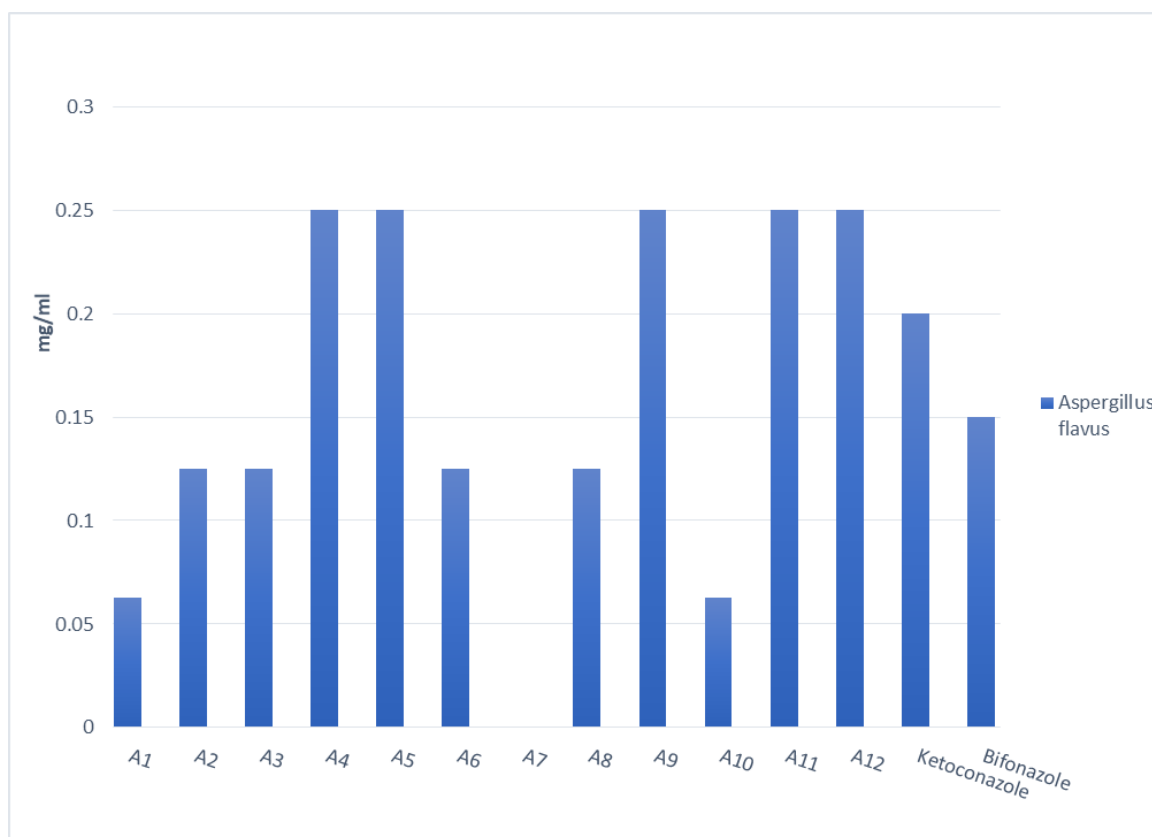
Серија А1-А12 сукцинимида је тестирана и на антифунгалну активност на осам врста гљивица, а вредности МИС/МФС, као и за комерцијално доступне антимицотике (*Ketoconazole* и *Bifonazole*) су дате у Табели 3.17. и на Сликама 3.28, 3.29 и 3.30. Сва једињења ове серије сукцинимида су показала значајну активност према већини испитаних врста гљивица. Несупституисано једињење А4, показује добру активност на све врсте гљивица али не и бољу за већину врста од комерцијалног лека Бифоназола.

Табела 3.17. Антифугулна активност деривата сукцинимида серије **A1-A12**

Једињење	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Aspergillus versicolor</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium ochrochloron</i>	<i>Penicillium funiculosum</i>	<i>Penicillium verr.var.cycl.</i>	<i>Trichoderma viride</i>
	MIC/MFC [mg/ml]							
A1	0,063/0,125	0,063/0,125	0,125/0,25	0,125/0,25	0,25/0,5	0,25/0,5	н.а.	0,25/0,5
A2	0,125/0,25	0,125/0,25	0,125/0,25	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5	0,125/0,25	0,125/0,25
A3	0,125/0,25	0,25/0,5	0,25/0,5	н.а.	0,25/0,5	н.а.	н.а.	0,25/0,5
A4	0,25/0,5	0,25/0,5	0,125/0,25	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5
A5	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5	0,125/0,25	0,25/0,5
A6	0,125/0,25	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5	0,5/0,5	0,25/0,5
A7	н.а.	0,25/0,5	0,25/0,5	0,125/0,25	0,063/0,125	н.а.	н.а.	0,25/0,5
A8	0,125/0,25	0,125/0,25	0,125/0,25	0,125/0,25	0,063/0,125	0,25/0,5	0,063/0,125	0,032/0,063
A9	0,25/0,5	0,25/0,5	0,125/0,25	0,125/0,25	0,125/0,25	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5
A10	0,063/0,125	0,125/0,25	0,063/0,125	0,25/0,5	0,25/0,5	н.а.	н.а.	н.а.
A11	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5	0,5/0,5	н.а.	0,25/0,5	0,25/0,5	0,25/0,5
A12	0,25/0,5	0,25/0,5	0,125/0,25	0,25/0,5	0,25/0,5	н.а.	0,25/0,5	0,25/0,5
Ketoconazole	0,20/0,50	0,15/0,20	0,20/0,50	0,20/0,50	1,00/1,50	0,20/0,50	0,20/0,30	1,00/1,50
Bifonazole	0,15/0,20	0,15/0,20	0,10/0,20	0,15/0,20	0,20/0,25	0,20/0,25	0,10/0,20	0,15/0,20

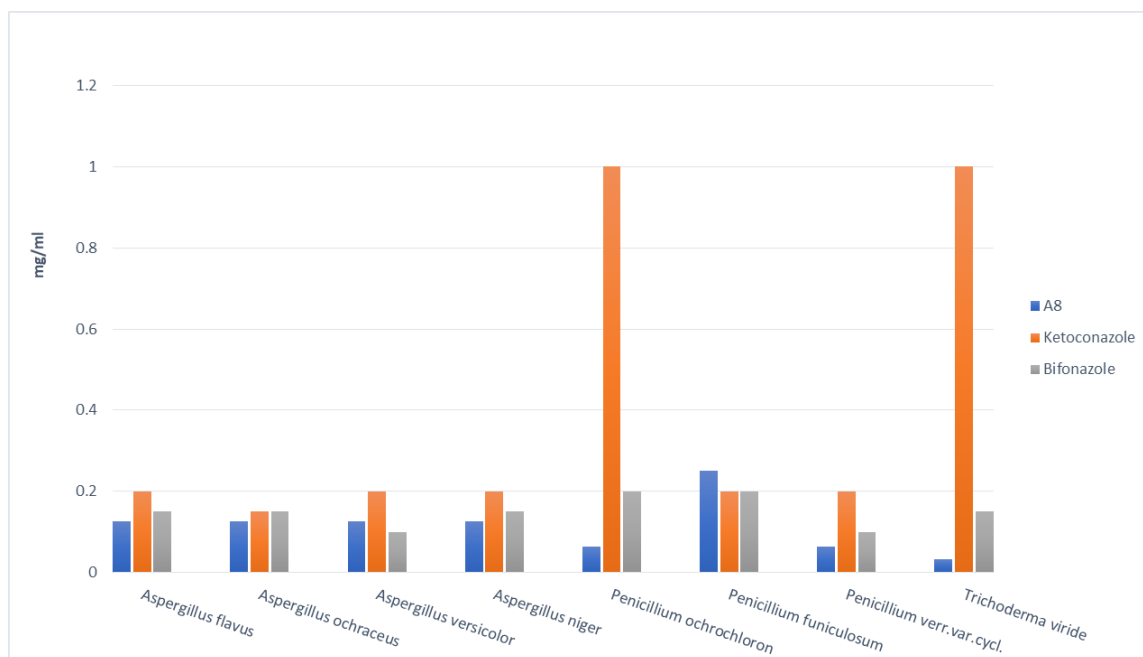
* н.а.— неактивно

На Слици 3.28. су приказани резултати антифугулна активност свих испитаних деривата сукцинимиди серије А, Кетоконазола и Бифоназола за врсту *Aspergillus flavus*. Сва једињења су показала активност на поменућу гљиву, а једињења **A1**, **A2**, **A3**, **A6**, **A8** и **A10** показују бољу активност од поменућих комерцијално доступних антимицотика.

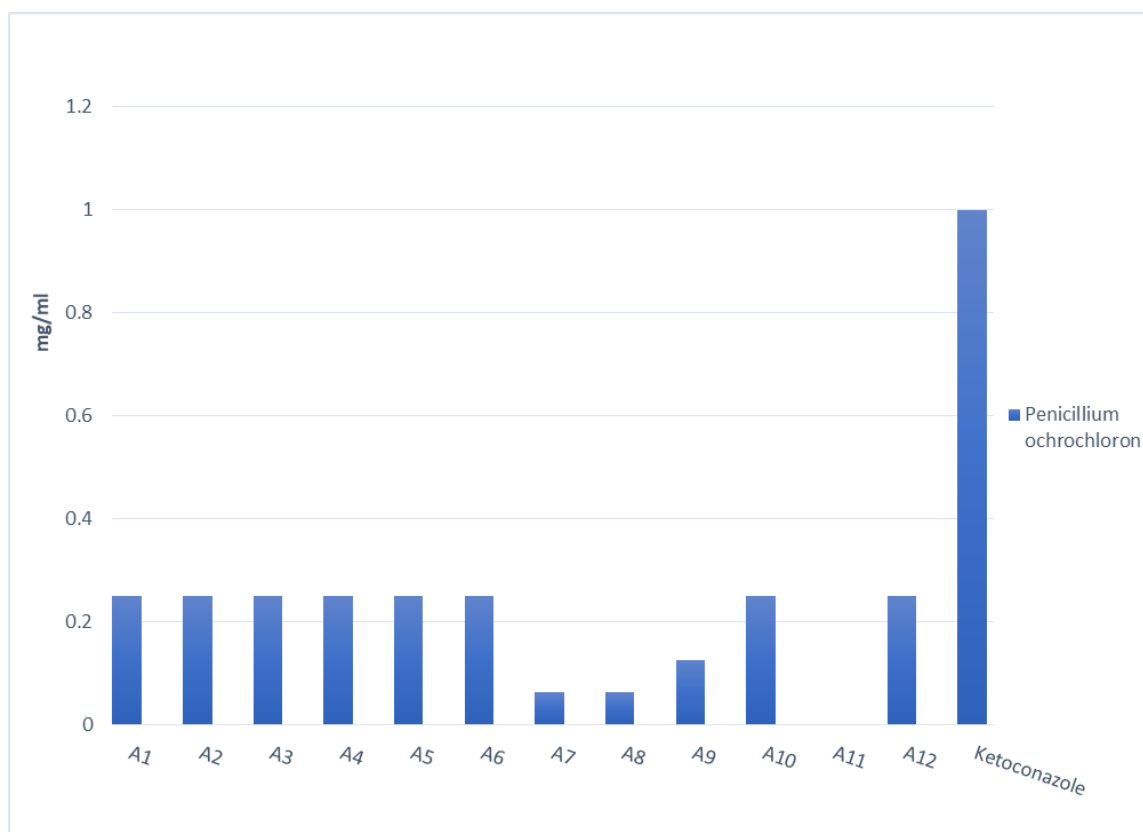


Слика 3.28. Антифугулна активност за врсту *Aspergillus flavus* деривата сукцинимиди серије **A1-A12**, Кетоконазола и Бифоназола

Једињење N-(4-бромфенил)-2-етил-2-метил сукцинимид (**A8**), треба посебно истаћи, јер има бољу активност од референтних, комерцијално доступних једињења, Кетоконазола и Бифоназола, на све испитане врсте гљивица изузев на врсту *Penicillium funiculosum* (Табела 3.17 и Слика 3.29).



Слика 3.29. Антифугална активност једињења **A8**, Кетоконазола и Бифеназола



Слика 3.30. Антифугална активност за врсту *Penicillium ochrochloron* деривата сукцинимидна серије **A1-A12** и Кетоконазол

Резултати такође, примећено је да према врсти *Penicillium ochrochloron*, сва једињења серије **A1-A12** сукцинимида, сем једињења **A11** које није активно, поседују знатно бољу активност од комерцијално доступног лека Кетоконазола (Слика 3.30). Исти тренд ова серија показује и за врсту *Trichoderma viride*, изузев једињења **A10**.

На основу представљених резултата из Табеле 3.17 и са Слика 3.28, 3.29 и 3.30 може се закључити да једињења која садрже електрон-акцепторске супституенте показују изузетно добру антифугалну активност, за неке врсте гљивица бољу од комерцијално доступних лекова. Може се такође приметити да су тестирана једињења показала већи антифунгални потенцијал, од антибактеријског ефекта. Реаговали су према готово свим врстама гљивица, изузев неких једињења према неким врстама *Penicillium*. Управо такви добијени антимицробни резултати кандидују проучавана једињења сукцинимида серије **A1-A12** за значајне антифунгалне агенсе.

С обзиром да су се халогени деривати серије **A** сукцинимида, (**A5-A9**) показали као најактивнији, у наставку истраживања било је оправдано тестирати халогене деривате и за друге две серије сукцинимида синтетизованих у овом раду на антифунгалну активност.

Одабрани халогени деривати из серија **B** (**B6, B7, B8 и B9**) и **V** (**B2, B3, B8 и B10**) сукцинимида су тестирани на истих осам врсти гљивица као и серија **A**, а добијени резултати активности су приказани у Табелама 3.18 и 3.19. Тестирани су деривати са атомима хлора и брома као супституентом у положају 3 и 4 на фенилном језгру везаном за атом азота у прстену сукцинимида. Као што је приказано у Табелама 3.18. и 3.19. и на Сликама 3.31 и 3.32, испитивани деривати сукцинимида нису показали жељену активност у поређењу са референтним једињењима Кетоконазолом и Бифоназолом. На основу испитивања која су вршена за претходну серију сукцинимида **A1-A12**, где су многа а посебно једињење N-(4-бромфенил)-2-етил-2-метилсукцинимид показало бољу активност од референтних једињења, испитивана једињења серија **B** и **V** су показала знатно слабију активност.

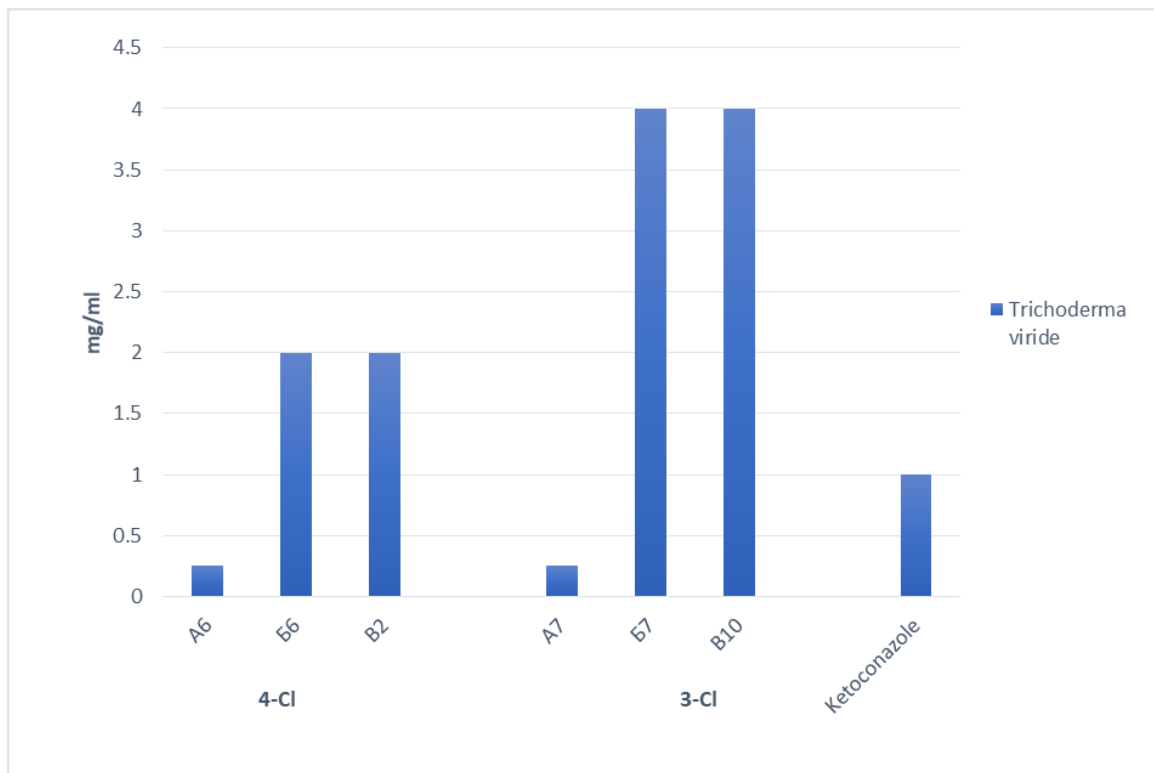
Табела 3.18. Антифугулна активност деривата сукцинимида серије **Б1-Б12**

Једињење	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Aspergillus versicolor</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium ochrochloron</i>	<i>Penicillium funiculosum</i>	<i>Penicillium verr.var.cycl.</i>	<i>Trichoderma viride</i>
MIC/MFC [mg/ml]								
Б6	4,00/>4,00	4,00/>4,00	4,00/>4,00	н.а.	4,00/>4,00	4,00/>4,00	2,00/4,00	2,00/4,00
Б7	2,00/4,00	2,00/4,00	4,00/>4,00	н.а.	4,00/>4,00	4,00/>4,00	2,00/4,00	4,00/>4,00
Б8	1,90/3,80	1,90/3,80	3,80/>3,80	н.а.	н.а.	3,80/>3,80	3,80/>3,80	3,80/>3,80
Б9	3,80/>3,80	3,80/>3,80	3,80/>3,80	н.а.	3,80/>3,80	3,80/>3,80	1,90/3,80	3,80/>3,80
<i>Ketoconazole</i>	0,20/0,50	0,15/0,20	0,20/0,50	0,20/0,50	1,00/1,50	0,20/0,50	0,20/0,30	1,00/1,50
<i>Bifonazole</i>	0,15/0,20	0,15/0,20	0,10/0,20	0,15/0,20	0,20/0,25	0,20/0,25	0,10/0,20	0,15/0,20

Табела 3.19. Антифугулна активност испитаних деривата сукцинимида серије **В1-В10**

Једињење	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Aspergillus versicolor</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium ochrochloron</i>	<i>Penicillium funiculosum</i>	<i>Penicillium verr.var.cycl.</i>	<i>Trichoderma viride</i>
MIC/MFC [mg/ml]								
В2	2,00/4,00	4,00/>4,00	4,00/>4,00	н.а.	4,00/>4,00	4,00/>4,00	2,00/4,00	2,00/4,00
В3	1,00/2,00	2,00/4,00	4,00/>4,00	н.а.	4,00/>4,00	4,00/>4,00	2,00/4,00	4,00/>4,00
В8	3,80/>3,80	3,80/>3,80	3,80/>3,80	н.а.	3,80/>3,80	3,80/>3,80	1,90/3,80	3,80/>3,80
В10	4,00/>4,00	4,00/>4,00	4,00/>4,00	н.а.	4,00/>4,00	4,00/>4,00	2,00/4,00	4,00/>4,00
<i>Ketoconazole</i>	0,20/0,50	0,15/0,20	0,20/0,50	0,20/0,50	1,00/1,50	0,20/0,50	0,20/0,30	1,00/1,50
<i>Bifonazole</i>	0,15/0,20	0,15/0,20	0,10/0,20	0,15/0,20	0,20/0,25	0,20/0,25	0,10/0,20	0,15/0,20

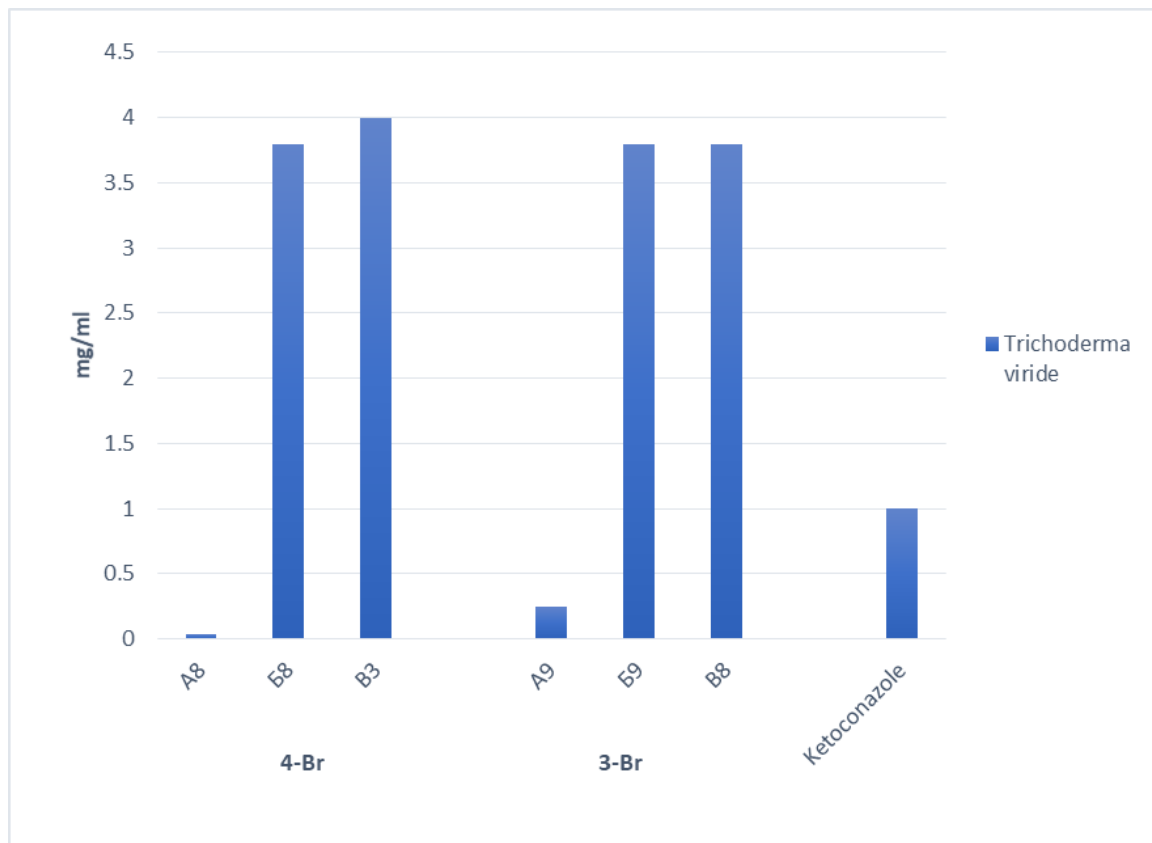
На Сликама 3.31. и 3.32. су приказане активности на врсту гљивице *Trichoderma viride*, за деривате са атомима хлора и брома као супституентом, за све три групе једињења. На обе слике се јасно може уочити да деривати серије **A** имају далеко већу активност од деривата серија **B** и **B**.



Слика 3.31. Антифугална активност за врсту гљивице *Trichoderma viride* за деривате сукцинимидна све три серије који садрже хлор као супституент на фенилном језгру

Поредећи структурна својства тестирана одговарајућим статистичким програмима за све три групе сукцинимидна (Табеле 3.12., 3.13. и 3.14.) и експериментално одређену антифугалну активност, може се закључити да деривати серија **B** и **B** имају знатно веће вредности моларне рефрактивности у поређењу са дериватима серије **A** и референтним једињењем Метосукцинимидом. У просеку вредности моларне рефракције (параметар који одражава моларну запремину и лакоћу поларизације молекула) за деривате серије **B** и **B** су за око 40% веће него за деривате серије **A**. Основна претпоставка лоше активности деривата серије **B** и **B** је увођење фенилног језгра у положај два сукцинимидног прстена, уместо етил групе која се налази у истом положају код једињења серије **A**. Фенил група својим стерним ефектом повећава моларну запремину молекула а својим електронским

ефектом повећава делокализацију електрона кроз цео молекул сукцинимиде, што доводи до смањења антифугалне активности сукцинимиде серије **Б** и **В** у односу на сукцинимиде из серије **А**.



Слика 3.32. Антифугална активност за врсту гљивице *Trichoderma viride* за деривате сукцинимиде све три серије које садрже бром као супституент на фенилном језгру

Ако се упореде резултати антифугалне активности показане на Слиама 3.31. и 3.32. за врсту гљивице *Trichoderma viride* за деривате сукцинимиде који садрже хлор (**A6**, **B6** и **B2**) и бром(**A7**, **B7** и **B10**) као супституенте на фенилном језгру, очигледно је да су изузев серије **A** деривати са хлором активнији од деривата са бромом за серију **Б** и **В**.

4. ЗАКЉУЧАК

1. У оквиру овог рада први пут су синтетисане три различите серије једињења деривата сукцинимида (пиролидин-2,5-диона), и то:

a) *N*-(3- и 4-супституисани фенил)-2-етил-2-метилсукцинимида обухватају 12 деривата, код којих су супституенти (ОН, ОСН₃, СН₃, F, Cl, Br, COOH, CN, NO₂) уведени у *m*- и *p*- положај фенилног прстена на атому азота;

b) *N*-(3- и 4-супституисани фенил)-2-фенил-2-метилсукцинимида обухватају 12 деривата, код којих су супституенти (ОН, ОСН₃, СН₃, F, Cl, Br, COOH, CN, NO₂) уведени у *m*- и *p*- положај фенилног прстена на атому азота;

v) *N*-(3- и 4-супституисани фенил)-2-(4-хлорфенил)-2-метилсукцинимида обухватају 10 деривата, код којих су супституенти (ОСН₃, СН₃, F, Cl, Br, I, NO₂) уведени у *m*- и *p*- положај фенилног прстена на атому азота.

2. Свих 34 једињења су синтетисана према модификованим поступцима из литературе, а структура и чистоћа су потврђена температурама топљења (ТТ), FT-IR, ¹H и ¹³C NMR и UV-Vis спектроскопијом.

3. Ефекти солватације растварача различитих поларности на електронска својства деривата *N*-арил-2,2-дисупституисаних сукцинимида су проучавани снимањем UV-Vis апсорпционих спектра у опсегу таласних дужина 200–400 nm. На спектрима се уочавају углавном два максимума који потичу од $n \rightarrow \pi^*$ прелаза у карбонилним групама и $\pi \rightarrow \pi^*$ прелаза у фенил групама. Положаји UV-Vis апсорпционих максимума деривата сукцинимида, у великој мери зависе од природе супституената на фенилном језгру, које се налази у положају 1 пиролидин-2,5-дионског прстена, док је утицај растварача знатно слабији. Ово је карактеристично за молекуле са slabим диполним моментом у основном стању, пошто су њихови електронски прелази повезани са интрамолекулском трансфером наелектрисања.

Добијени резултати указују на идентичан тренд промене апсорпционих максимума са променом поларности растварача. Повећање поларности растварача помера апсорпционе максимуме ка мањим таласним дужинама,

односно јавља се хипсохромни ефекат, што указује на доминантну улогу $n \rightarrow \pi^*$ електронског прелаза који се дешава у карбонилним групама.

На основу корелација добијених применом просте Хаметове једначине уочава се да електрон-донорски као и електрон-акцепторски супституенти изазивају батохромно померање апсорпционих максимума у односу на несупституисани молекул. Супституисани деривати сукцинимиди испитиваних серија, имају мањи садржај енергије тј. стабилнији су него несупституисани молекули. Негативни резонанциони ефекат $-\text{NO}_2$ групе изазива највеће батохромно померање, док слаба електрондонорска $-\text{OCH}_3$ група доводи до малих батохромних померања апсорпционих максимума у односу на несупституисани молекул.

- У циљу проналажења најстабилнијих конформера, урађена је конформациона анализа за серију једињења *N*-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-етил-2-метилсукцинимиди, **A1-A12** и за деривате *N*-(3- и 4-супституисаних фенил)-2-фенил-2-метилсукцинимиди, **B1-B12**, применом B3LYP и M06-2X/6-311++G(d,p) методе (у оквиру програмског пакета Gaussian 09).

Да би се боље упознали са енергетским променама које су последица ротације етил групе за серију **A**, урађена је површина потенцијалне енергије (PES) за две могуће оријентације фенилне групе. Резултати показују да је могуће лоцирати шест стабилних конформација за молекуле са симетричним супституентом и 12 конформација за асиметричне супституенте. Пронађене конформације имају сличне енергије, које се разликују од енергије најстабилнијег конформера, несупституисаног једињења **A4** за мање од 0,6 kcal/mol у зависности од супституента, а према Болцмановој анализи могу истовремено да буду присутне у смеси.

Резултати DFT прорачуна, за серију **B** сукцинимиди, показују да су могућа четири конформера за молекуле са симетричним супституентом и осам конформера са асиметричним супституентом. Потпуна оптимизација геометрије ових конформера је урађена помоћу B3LYP и M06-2X метода са 6-311G(d,p) основним сетом орбитала у вакууму и растварачима (етанол и DMSO). Према Болцмановој анализи, сви конформери могу истовремено бити присутни у раствору на собној температури

- Вибрациона и NMR спектрална анализа је урађена за *N*-фенил-2-фенил-2-метилсукцинимид, **B4**. Детаљна анализа је показала изузетно добро слагање експерименталних и израчунатих инфрацрвених спектра несупституисаног

сукцинимида **Б4**. Експерименталне и теоријске вредности за ^1H и ^{13}C NMR хемијских померања молекула **Б4** су такође показали добро слагање.

6. Електронски прелази као и промене у укупној густини наелектрисања у основном и ексцитованом стању проучаваних сукцинимида серије **А**, испитиване су израчунавањем енергетске разлике између молекулских орбитала НОМО и LUMO у различитим растварачима помоћу B3LYP методе. Електронска густина НОМО молекулских орбитала за све испитиване молекуле доминантно је локализована на арил-групи и имидном делу сукцинимидног прстена. Велики утицај супституента на процес интрамолекулског преноса електронске густине показују електронска густина LUMO молекулских орбитала. LUMO орбитална густина у молекулима са супституентом који донира електроне је локализована на сукцинимидном прстену, што показује велико померање густине електрона у односу на НОМО орбиталу и указује на јак ICT карактер. Молекули са slabим електрон-акцепторским супституентима показују незнатно померање електронске густине од арил групе до имидног дела сукцинимидног прстена и указују на slab карактер ICT. Насупрот томе, јаки супституенти који повлаче електроне показују незнатан помак електронске густине из имидног дела сукцинимидног прстена у арил групу и указују на slab ICT карактер у супротном смеру.

У серији сукцинимида који су у овој дисертацији проучавани, несупституисано једињење **А4** има највећу енергетску разлику од 6,03 eV у вакуму, док присуство електрон-донорског супституента доводи до незнатног смањења енергетске разлике. Нешто већа разлика је добијена за електрон-акцепторске супституенте. Увођење ефекта растварача доводи до повећања енергетске разлике, у апсолутним вредностима, за све супституенте осим нитро групе.

За једињење **Б2** је уочено да су електронске густине НОМО и LUMO орбитала локализоване на *N*-(4-метоксифенил) и 2-фенил-групи, понаособ. Због тога је у молекулу могућ интрамолекулски пренос набоја. Супротно томе, у молекулу **Б12**, електронска густина НОМО орбитале је доминантно локализована на 2-фенил групи, а електронска густина LUMO орбитале се налази на *N*-(4-нитрофенилном) прстену због јаког електрон-акцепторског нитро супституента који индукује померање π електронске густине са 2-фенил групе према *N*-арилној групи. Електронске густине НОМО и LUMO орбитала за несупституисано једињење **Б4** се простиру преко и сукцинимидног и фенилног

прстена и таква расподела узрокује слабији ICT ефекат него она у супституисаним сукцинимидима. Разлика у енергији између HOMO и LUMO орбитала за једињење **B4** износи 5.93 eV и потврђује ниску хемијску реактивност овог сукцинимида. Интересантно је да сукцинимида **B2**, **B10** и **B12** са електрон-донорским и електрон-акцепторским супституентом имају мању енергетску разлику од 5.34 и 4.6 eV, понаособ, што може објаснити повећање њихове реактивности у односу на молекул **B4**. То значи да је ICT ефекат присутнији у једињењу **B12**.

7. Мапа молекулског електростатичког потенцијала деривата *N*-(3- и 4-супституисани фенил)-2-етил-2-метилсукцинимида урађена је DFT/B3LYP/6-311++G(d,p) методом. Показано је да су најпогоднија места за електрофилни напад, за несупституисано једињење **A4**, атоми кисеоника карбонилне групе, а умерени позитивни регион је локализован на атомима водоника метиленске групе из сукцинимидног прстена. Слично томе, молекул **A8** има два могућа места за електрофилни напад, са продуженим негативним потенцијалом од карбонилних група преко фенил групе до супституента, атома брома у пара положају. Истовремено, позитивна област локализована на атомима водоника метиленске групе из сукцинимидног прстена је продужена преко H-атома фенил групе до „ σ -групе“ атома брома у *para* положају. Преко такве позитивне „ σ -групе“, молекул може реаговати са негативним подручјима да би формирао нековалентни комплекс.
8. Процена потенцијалне биолошке активности проучаваних једињења у овој дисертацији указује да сви *N*-арил-2,2-дисупституисани сукцинимид, осим **A10** и **A12** (критеријуми за поларну површину), испуњавају све неопходне критеријуме чиме су се кандидидовали за следећу фармакодинамичку фазу испитивања.
9. У наставку истраживања анализирана је антимикуробна активност синтетизованих деривата сукцинимида методом микродилуције, на осам бактеријских врста и осам гљивичних врста.

Једињења **A2**, **A3** и **A10** показују добру антибактеријска активност, на испитане врсте бактерија, за неке врсте и бољу од комерцијално доступних антибиотика (*Streptomycin* и *Ampicillin*). Сва једињења серије **A** сукцинимида су показали значајну активност према већини испитаних врста гљивица. Једињење *N*-(4-бромфенил)-2-етил-2-метил сукцинимид (**A8**), треба посебно истаћи, јер има бољу активност од референтних, комерцијално доступних једињења,

Кетоконазола и Бифоназола, на све испитане врсте гљивица изузев на врсту *Penicillium funiculosum*. Одабрани халогени деривати из серија **Б (Б6, Б7, Б8 и Б9)** и **В (В2, В3, В8 и В10)** сукцинимида су тестирани на истих осам врсти гљивица као и серија **А** и нису показали жељену активност у поређењу са референтним једињењима Кетоконазолом и Бифоназолом.

Поредећи структурна својства тестирана одговарајућим статистичким програмима за све три групе сукцинимида и експериментално одређену антифугалну активност, може се закључити да деривати серија **Б** и **В** имају знатно веће вредности моларне рефрактивности у поређењу са дериватима серије **А** и референтним једињењем Метосукцинимидом. У просеку вредности моларне рефракције (параметар који одражава моларну запремину и лакоћу поларизације молекула) за деривате серије **Б** и **В** су за око 40% веће него за деривате серије **А**. Основна претпоставка лоше активности деривата серије **Б** и **В** је увођење фенилног језгра у положај два сукцинимидног прстена, уместо етил групе која се налази у истом положају код једињења серије **А**. Фенил група својим стерним ефектом повећава моларну запремину молекула а својим електронским ефектом повећава делокализацију електрона кроз цео молекул сукцинимида, што доводи до смањења антифугалне активности сукцинимида серије **Б** и **В** у односу на сукцинимиде из серије **А**.

Добијени резултати у овом раду, дају допринос проширивању знања о синтези, структури и биолошкој активности деривата сукцинимиди. Резултати су показали да проучавани сукцинимиди имају значајно антифугално дејство и да представљају кандидате за свеобухватније испитивање биолошке активности.

5. ЛИТЕРАТУРА

- [1] E.H. Miller, Succinimides, *J. Am. Chem. Soc.*, **16** (1894) 433–642.
- [2] N. Banjac, N. Trišović, N. Valentić, G. Ušćumlić, S. Petrović, *Hem. ind.* **65** (4) (2011) 439–453.
- [3] H.P. Rang, M.M. Dale, J.M. Ritter, P.T. Moore, *Farmakologija*, peto izdanje, Data status, Beograd, 2005, str. 550–560.
- [4] M.K. Hargreaves, J.G. Pritchard, H.R. Dave, *Chem. Rev.*, **70** (1970) 439–469.
- [5] K. Takahashi, N. Hashimoto, C. Nakama, K. Kamata, K. Sasaki, R. Yoshimoto, S. Ohyama, H. Hosaka, H. Maruki, Y. Nagata, J.-I. Eiki, T. Nishimura, *Bioorg. Med. Chem.*, **17** (2009) 7042–7051.
- [6] M.L. Curtin, R.B. Garland, H.R. Heyman, R.R. Frey, M.R. Michaelides, J.Li, L.J. Pease, K.B. Glaser, P.A. Marcotte, S.K. Davidsen, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **12** (2002) 2919–2923.
- [7] Y.I. Hubsy, O.V. Velchynska, *Med. Khim.*, **10** (2008) 5–11.
- [8] R. Mason, *Acta Cryst.*, **14** (1961) 720–724.
- [9] R. Mason, *Acta Cryst.*, **9** (1956) 405–410.
- [10] N. Vogt, L.S. Khaikin, O.E. Grikina, N.M. Karasev, J. Vogt, L.V. Vilkov, *J. Phys. Chem., A* **113** (2009) 931–937.
- [11] C. Glidewell, J.N. Low, J.M.S. Skakle, J.L. Wardell, *Acta Cryst., C* **61** (2005), 216–220.
- [12] J. Karolak-Wojciechowska, M. Blaszczyk, W. Kwiatkowsky, J. Obniska, A. Zejc, *J. Chem. Cryst.*, **27** (1997) 297–301.
- [13] <http://scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinder/scifinderExplore.jsf>.
- [14] K.P.C. Vollhardt, N.E. Schore, *Organska hemija: struktura i funkcija*, četvrto izdanje, Data status, Beograd, 2004, a) str. 836, b) str.938
- [15] A.C. Cope, C.M. Hofmann, C. Wyckoff, E. Hardenbergh, *J. Am. Chem. Soc.*, **63** (1941) 3452–3456.
- [16] S. Sahay, G. Sircar, *J. Chem. Soc.*, (1927) 1252–1256.
- [17] C.A. Miller, L.M. Long, *J. Am. Chem. Soc.*, **73** (1951) 4895–4898.
- [18] C.A. Miller, L.M. Long, *J. Am. Chem. Soc.*, **75** (1953) 373–375.
- [19] N. Banjac, *Sinteza, struktura i solvatohromizam potencijalno farmakološki aktivnih derivata sukcinimida*, Doktorska disertacija, Beograd, 2012.

- [20] M. Sharir, Succinimide derivatives as ocular hypotensive agents, (M. Sharir [IL]), WO 2007057889 (2007).
- [21] D.A. Prince, (Univ Leland Stanford Junior [US]), U.S. Patent 4,981,867, 1991.
- [22] S. Rybka, J. Obniska, A. Rapacz, B. Filipek, P. Zmudzki, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **27** (2017) 1412–1415.
- [23] P.N. Patsalos, *Epilepsia*, **46** (2005) 140–148.
- [24] D. Abraham, *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*, 6th ed., Volume 6, Nervous System Agents, Wiley-Interscience, 2003, pp. 283–289.
- [25] G.K. McEvoy (Eds.), *AHFS Drug Information*, Bethesda, Md: American Society of Health-System Pharmacists (2003) pp. 2115–2117.
- [26] <http://drugbank.ca/drugs/DB00593>.
- [27] T.L. Lemke, D.A. Williams, V.F. Roche, S.W. Zito, Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 6th ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA (2008) pp. 542–543.
- [28] National Library of Medicine <http://chem.sis.nlm.nih.gov>.
- [29] W. Löscher, D. Schmidt, *Epilepsia*. (2011); 52:657–678.
- [30] J.A. Cramer, S. Mintzer, J. Wheless, R.H. Mattson, *Expert Rev Neurother.* (2010); 10:885–891.
- [31] D. Schmidt, M. Sillanpaa, *Curr Opin Neurol.* (2012); 2:159–163.
- [32] K. Kaminski, J. Obniska, *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, Vol. 65 No. 4, (2008) pp. 457-465.
- [33] K. Kaminski, J. Obniska, *Bioorg. Med. Chem.* 16 (2008) 4921–4931.
- [34] S. Rybka, J. Obniska, A. Rapacz, A. Furgała, B. Filipek, P. Zmudzki, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 26 (2016) 2147–2151.
- [35] K. Kaminski, A. Rapacz, B. Filipek, J. Obniska, *Bioorg. Med. Chem.* 24 (2016) 2938–2946.
- [36] K. Kaminski, M. Zagaja, A. Rapacz, J. J. Luszczki, M. Andres-Mach, M. Abram, J. Obniska, *Bioorg. Med. Chem.* (2016), 24, 606-618.
- [37] K. Kaminski, M. Zagaja, J. J. Luszczki, A. Rapacz, M. Andres-Mach, G. Latacz, K. Kiec-Kononowicz, *J. Med. Chem.* (2015), 58, 5274-5286.
- [38] K. Kaminski, A. Rapacz, J. J. Luszczki, G. Latacz, J. Obniska, K. Kiec-Kononowicz, B. Filipek, *Bioorg. Med. Chem.* (2015), 23, 2548-2561.
- [39] J. Obniska, A. Rapacz, S. Rybka, M. Gora, K. Kaminski, K. Salat, P. Zmudzki, *Bioorg. Med. Chem.* 24 (2016) 1598–1607.

- [40] K. Kaminski, J. Obniska, I. Chlebek, P. Liana, E. Pekala, *Eur. J. Med. Chem.* (2013), 66, 12-21.
- [41] M. A. Rogawski, W. Löscher, *Nat. Rev. Neurosci.* (2004) 5, 553-564.
- [42] B. S. Meldrum, M. A. Rogawski, *Neurotherapeutics* (2007), 4, 18-61.
- [43] G. Liu, V. Yarov-Yarovoy, M. Nobbs, J. J. Clare, T. Scheuer, W. A. Catterall, *Neuropharmacology* (2003) 44, 413-422.
- [44] P. Yogeewari, J. V. Ragavendran, R. Thirumurugan, A. Saxena, D. Sriram, *Curr. Drug Targets* (2004) 5, 589-602.
- [45] T. Matviiuk, F. Rodriguez, N. Saffon, S. Mallet-Ladeira, M. Gorichko, A. L. de J. L. Ribeiro, M. R. Pasca, C. Lherbet, Z. Voitenke, M. Baltas, *Eur. J. Med. Chem.* 70 (2013) 37-48.
- [46] T. Matviiuk, G. Mori, C. Lherbet, F. Rodriguez, M. R. Pasca, M. Gorichko, B. Guidetti, Z. Voitenko, M. Baltas, *Eur. J. Med. Chem.* 71 (2014) 46-52.
- [47] Online Cancer Glossary, Amer. Cancer Society, 2015
<http://www.cancer.org/cancer/cancerglossary/index>.
- [48] A. Lazić, *Sinteza, struktura i svojstva potencijalno biološki aktivnih derivata cikloalkanspiro-5-hidantoina*, Doktorska disertacija, Beograd, 2017.
- [49] G.M. Cooper, *Elements of human cancer*, Jones and Bartlett Learning, Boston. 1992.
- [50] A. Lazić, N. Valentić, N. Trišović, S. Petrović, G. Ušćumlić, *Hem. Ind.* 70 (2) (2016) 177-199.
- [51] D. W. Kufe, R. E. Pollock, R. R. Weichselbaum, R. C. Bast, T. S. Gansle, J.F. 175 Holland, E. Frei (eds.) *Holland-Frei Cancer Med.* 6th ed. BC Decker, Hamilt. 2003.
- [52] I. Gomez-Monterrey, G. Santelli, P. Campiglia, D. Califano, F. Falasconi, C. Pisano, L. Vesci, T. Lama, P. Grieco, E. Novellino, *J. Med. Chem.* 48 (2005) 1152-1157.
- [53] N. Milosevic, V. Kojic, J. Curcic, D. Jakimov, N. Milic, N. Banjac, G. Uscumlic, R. Kaliszan, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 137 (2017) 252–257.
- [54] H. van de Waterbeemd, E. Gifford, *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2 (2003) 192–204.
- [55] M. Curtin, R. B. Garland, H. Heyman, R. Frey, M. Michaelides, J. Li, L. Pease, K. Glaser, P. Marcotte, S. Davidsen, *Bioorg. Med. Chem.Lett.* 12 (2002) 2919–2923.
- [56] E. Luzina, A. Popov, *J Fluor Chem.* (2014) 168: 121–127.
- [57] K. Mueller, C. Faeh, F. Diederich. *Fluorine in Pharmaceuticals: Looking Beyond Intuition.* *Science* (Washington, DC, U. S.). (2007) 317:1881–1886.
- [58] Purser S, Moore PR, Swallow S, Gouverneur V. Fluorine in medicinal chemistry. *Chem. Soc. Rev.* 2008; 37:320–330. [PubMed: 18197348]

- [59] W.K. Hagmann, *J. Med. Chem.* 2008; 51:4359–4369.
- [60] <http://www.pharmaexpert.ru/PASSOnline/index.php>.
- [61] D.A. Filimonov, A.A. Lagunin, T.A. Glorizova, A.V. Rudik, D.S. Druzhilovskii, P.V. Pogodin, V.V. Poroikov. *Chem. Heterocycl. Compd.* (N. Y., NY, U. S.). (2014); 50: 444–457.
- [62] A. Lagunin, A. Stepanchikova, D. Filimonov, V. Poroikov, *Bioinformatics.* (2000); 16:747–748.
- [63] A. Sadym, A. Lagunin, D. Filimonov, V. Poroikov, *SAR QSAR Environ. Res.* (2003); 14:339–347.
- [64] A. Geronikaki, D. Druzhilovsky, A. Zakharov, V. Poroikov. *SAR QSAR Environ. Res.* (2008); 19:27–38.
- [65] A.A. Lagunin, O.A. Gomazkov, D.A. Filimonov, T.A. Gureeva, E.A. Dilakyan, E.V. Kugaevskaya, Y.E. Elisseeva, N.I. Solovyeva, V.V. Poroikov. *Computer-Aided Selection of Potential.*
- [66] Available from: http://dtp.nci.nih.gov/branches/btb/onedose_interp.html.
- [67] K.D. Paull, R.H. Shoemaker, L. Hodes, A. Monks, D.A. Scudiero, L. Rubinstein, J. Plowman, M.R. Boyd. *J Natl Cancer Inst.* (1989); 81:1088–1092.
- [68] D.W. Zaharevitz, S.L. Holbeck, C. Bowerman, P.A. Svetlik, *J Mol Graph Model.* (2002); 20:297–303.
- [69] J. Shorter, *Correlation analysis in organic chemistry*, Clarendon Press, Oxford (1973).
- [70] N. B. Champen, J. Shorter (Eds), *Correlation analysis in chemistry-recent advances*, Plenum Press, New York, (1978).
- [71] D. A. Winkler, *Brief. Bioinform.* 3 (2002) 73–86.
- [72] B. Jhanwar, V. Sharma, R. K. Singla, B. Shrivastava, *Pharmacol. Online Newsl.* 1 (2011) 306.
- [73] H. Kubinyi, *QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches*, Wiley-VCH, Weinheim (1993).
- [74] G. Ušćumlić, V. Krstić, *Rastvarači i njihov značaj u organskoj hemiji*. TMF-Beograd 2000.
- [75] C. Hansch, *Accts. Chem. Res.*, **2** (1969) 232-239.
- [76] C. Hansch, E. W. Deutch, N. R. Smith, *J. Am. Chem. Soc.*, **87** (1965) 2738-2742.
- [77] C. Hansch, T. Fujita, *J. Am. Chem. Soc.*, **87** (1964) 1616-1626.
- [78] C. Hansch, E. W. Deutch, *Biochem. Biophys. Acta*, **126** (1966) 117-128.
- [79] C. Hansch, E. Lien, *Biochem. Pharmacol.*, **17** (1968) 709-720.

- [80] C. Hansch, *J. Org. Chem.*, **35** (1970) 620-621.
- [81] L.P. Hammett, *Trans. Farad. Soc.*, **34** (1938) 156-165.
- [82] L.P. Hammett, *J. Am. Chem. Soc.*, **59** (1937) 96-103.
- [83] R.W. Taft, J.C. Lewis, *J. Am. Chem. Soc.*, **79** (1957) 4935-4940.
- [84] R.W. Taft, J.C. Lewis, *J. Phys. Chem.*, **64** (1960) 1805-1815.
- [85] R.W. Taft, J.C. Lewis, *J. Am. Chem. Soc.*, **80** (1958) 2436-2443.
- [86] R.W. Taft, D.J. Smith, *J. Am. Chem. Soc.*, **75** (1953) 4231-4238.
- [87] R.W. Taft, D.J. Smith, *J. Am. Chem. Soc.*, **76** (1954) 305-307.
- [88] E. Lein, G. Tong, J. Chow, L. Lien, *J. Pharm. Sci.*, **62** (1973) 246-250.
- [89] C. Hansch, A. Leo, *Exploring QSAR Fundamentals and Applications in Chemistry and Biology*, American Chemical Society, Washington, DC (1995), pp. 397-408.
- [90] R. Gedye, F. Smith, K. Westaway, H. Ali, L. Baldisera, L. Laberge, J. Rousell, *Tetrahedron Letters* **27** (1986) 279.
- [91] R.J. Giguere, T.L. Bray, S.M. Duncan, G. Majetich, *Tetrahedron Letters* **27** (1986) 4945.
- [92] B. Vasiljevic, Mikrotalasno stimulisana sinteza odabranih derivata naftenskih i žucnih kiselina, ispitivanje njihove biološke aktivnosti kao i termicke i hemijske stabilnosti odabranih lekova, doktorska disertacija, Novi Sad, 2014.
- [93] A. Loupy, *Microwaves in Organic Synthesis*, Wiley-VCH, Weinheim (2002).
- [94] B.L. Hayes, *Microwave Synthesis: Chemistry at the Speed of Light*, CEM Publishing, (2002) Matthews.
- [95] M. Larhed, K. Olofsson *Microwave Methods in Organic Synthesis*, Springer, Berlin (2006).
- [96] C.O. Kappe, D. Dallinger, S.S. Murphree *Practical Microwave Synthesis for Organic Chemists*, Wiley-VCH, Weinheim (2006).
- [97] R.S. Varma, *Green Chemistry* **1** (1999) 43.
- [98] R.S. Varma, *Tetrahedron* **58** (2002) 1235.
- [99] A. Loupy, *Comptes Rendus Chimie* **7** (2004) 103.
- [100] J. Robinson, S. Kingman, D. Irvine, P. Licence, A. Smith, G. Dimitrakis, D. Obermayer, C. O. Kappe, *Physical Chemistry Chemical Physics* **12** (2010) 4750.
- [101] W. Karuehanon, W. Fanfuenha, A. Rujiwatra, M. Pattarawarapan, *Tetrahedron Letters* **53** (2012) 3486.

- [102] T.A. Shell, J.R. Shell, K.A. Poole, T.F. Guetzloff, *Journal of Chemical Education* **88** (2011) 1439.
- [103] American Chemical Society, *Journal of Organic Chemistry* (<http://pubs.acs.org/journal/jocea>).
- [104] D.R. Baghurst, D.M.P. Mingos, *Chemical Society Reviews* **20** (1991) 1.
- [105] C. Gabriel, S. Gabriel, E.H. Grant, B.S. Halstead, D.M.P. Mingos, *Chemical Society Reviews* **27** (1998) 213
- [106] C.O. Kappe, *Chemical Society Reviews* **37** (2008) 1127.
- [107] D. Bogdal, A. Prociak (2007) *Microwave-Enhanced Polymer Chemistry and Technology*, Blackwell Publishing, Oxford.
- [108] C.O. Kappe, *Chemical Society Reviews* **42** (2013) 4977
- [109] M. Nuchter, B. Ondruschka, W. Bonrath, A. Gum, *Green Chemistry* **6** (2004) 128.
- [110] M. Nuchter, B. Ondruschka, D. Weiß, W. Bonrath, A. Gum, *Chemical Engineering & Technology* **28** (2005) 871.
- [111] N.E. Leadbeater, S.J. Pillsbury, E. Shanahan, V.A. Williams, *Tetrahedron* **61** (2005) 3565.
- [112] M. Hosseini, N. Stiasni, V. Barbieri, C.O. Kappe, *The Journal of Organic Chemistry* **72** (2007) 1417.
- [113] P. Lidstrom, J.P. Tierney *Microwave-Assisted Organic Synthesis*, Blackwell Publishing, Oxford (2005).
- [114] A. de La Hoz, A. Diaz-Ortiz, A. Moreno, *Current Organic Chemistry* **8** (2004) 903.
- [115] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ö. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, and D. J. Fox, *Gaussian 09, Revision D.01*, Wallingford CT, 2009.
- [116] A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* **98** (1993) 5648.

- [117] Y. Zhao, D. G. Truhlar, *Acc. Chem. Res.* 41 (2008) 157.
- [118] M. Cossi, N. Rega, G. Scalmani, V. Barone, *J. Comput. Chem.* 24 (2003) 669.
- [119] E.D. Glendening, A. E. Reed, J. E. Carpenter, F. Weinhold, NBO 3.1, TCI, University of Wisconsin, Madison, (1998).
- [120] CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard, 8th edn. CLSI publication M07-A8. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne (2009).
- [121] K.D. Daouk, M.S. Dagher, J.E. Sattout, *J Food Prot* (1995) 58:1147–1149.
- [122] H. Hanel, W. Raether, *Mycoses* (1988) 31:148–154.
- [123] M. Nenadić, M. Soković, J. Glamočlija, A. Ćirić, V. Perić-Mataruga, L. Ilijin, V. Tešević, L. Vujisić, M. Todosijević, N. Vesović, S. Ćurčić, (2016a) *Sci Nat* 103:34.
- [124] M. Nenadić, M. Soković, J. Glamočlija, A. Ćirić, V. Perić-Mataruga, V. Tešević, L. Vujisić, M. Todosijević, N. Vesović, S. Ćurčić, *Bull Entomol Res* (2016b) 106:474–480.
- [125] Soković M, Glamočlija J, Marin PD, Brkić D, Van Griensven LJLD, *Molecules* (2010) 15:7532–7546.
- [126] M. Nenadić, M. Soković, J. Glamočlija, A. Ćirić, V. Perić-Mataruga, L. Ilijin, V. Tešević, M. Todosijević, Vujisić Lj, N. Vesović, S. Ćurčić, *Appl Microbiol Biotechnol* (2017) 101:977–985.
- [127] S. Petrović, *Uticaj različitih tehnika ekstrakcije i destilacije na hemijski sastav etarskog ulja i ekstrakata iz biljnih vrsta roda *Thymus L.*, Doktorska disertacija, Leskovac, (2014).*
- [128] J.L. Rodríguez-Tudela, F. Barchiesi, J. E. Bille Chryssanthou, M. Cuenca-Estrella, D. Denning, J.P. Donnelly, B. Dupont, W. Fegeler, M. Moore, M. Richardson, P.E. Verweij, *Clin Microbiol Infect* (2003) 9:1–8.
- [129] I. Wiegand, K. Hilpert, Hancock REW, *Nat Protoc* (2008) 3: 163–175.
- [130] N. Banjac, N. Trišović, Ž. Vitnik, V. Vitnik, N. Valentić, G. Ušćumlić, I. Juranić, *Monatsh. Chem.* 144 (2013) 1525.
- [131] C. Reichardt, *Solvent Effects on the Absorption Spectra of Organic Compounds*, in *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*, 3rd ed. Wiley-VCH, Weinheim 2003.
- [132] N. Trišović, T. Timić, J. Divljaković, J. Rogan, D. Poleti, M. M. Savić, G. Ušćumlić, *Monatsh. Chem.* 143 (2012) 1451.
- [133] S. Hmuda, N. Trišović, J. Rogan, D. Poleti, Ž. Vitnik, V. Vitnik, N. Valentić, B. Božić, G. Ušćumlić, *Monatsh. Chem.* 145 (2014) 821.

- [134] V. Vitnik, Ž. Vitnik, N. Banjac, N. Valentić, G. Ušćumlić, I. Juranić, *Spectrochim. Acta - Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* 117 (2014) 42-53.
- [135] M. Rančić, N. Trišović, M. Milčić, G. Ušćumlić, A. Marinković, *Spectrochim. Acta - Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* 86 (2012) 500.
- [136] N. R. Banjac, B. Đ. Božić, J. M. Mirković, V. D. Vitnik, Ž. J. Vitnik, N. V. Valentić, G. S. Ušćumlić, *J. Mol. Struct.* (2017), 1129, 271–282.
- [137] A.D. Becke, *J. Chem. Phys.* 98 (1993) 5648e5652.
- [138] J. L.J. Petković Cvetković, B. Đ. Božić, N. R. Banjac,; J. Petrović, M.Soković, V. D.Vitnik, Ž. J. Vitnik, G. S. Ušćumlić, N. V. Valentić, *J. Mol. Struct.* (2019), 1181, 148–156.
- [139] I. Fleming, *Frontier orbitals and organic chemical reactions*, John Wiley and Sons, New York, (1976), pp. 5e27.
- [140] V.D. Vitnik, Z.J. Vitnik, *Spectrochim. Acta A* 138 (2015) 1e12.
- [141] E. J. Braga, B. T. Corpe, M. M. Marinho, E. S. Marinho, *Int. J. Sci. Eng. Res.* 7 (2016) 315.
- [142] J. Murray, P. Politzer, *The electrostatic potential: an overview*, *WIREs Comp. Mol. Sci.* 1 (2) (2011) 153e163.
- [143] P. Politzer, J.S. Murray, T. Clark, *J. Mol. Model.* 21 (3) (2015) 52.
- [144] C.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy, P.J. Feeney, *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 23(1-3) (1997) 3-25.
- [145] M. Remko, M. Swary, F.M. Bickelhaupt, *Bioorg. Med. Chem.* 14(6) (2006) 1715-1728.
- [146] D.F. Veber, S.R. Johnson, H.Y. Cheng, B.R. Smith, K.W. Ward, K.D. Kopple, *J. Med. Chem.* 45(12) (2002) 2615-2623.
- [147] A.K. Ghose, V.N. Viswanadhan, J.J. Wendoloski, *J. Comb. Chem.* 1(1) (1999) 55-68.
- [148] www.molinspiration.com/cgi-bin/properties
- [149] L. Sinha, M. Karabacak, V. Narayan, M. Cinar, O. Prasad, *Spectrochim. Acta A* **2013**, 109, 298–307.
- [150] Thomas L. Lemke; David A. Williams, yp. (2002). „Chapter 4. Receptors and drug action”. *Foye's Principles of Medicinal Chemistry* (5. изд.). Baltimore: Lippincott Willams & Wilkins
- [151] <http://www.swissadme.ch/index.php>
- [152] Aeberli P, Gogerty JH, Houlihan WJ, Iorio LC. *J. Med. Chem.*, 1976, 19(3), 436-8.

- [153] Correa R, Filho VC, Rosa PW, Pereira CI, Schlemper V, Nunes RJ. *Pharm. Pharmacol. Comm.*, 1997, 3(2), 67-71.
- [154] Hall IH, Wong OT, Scovill JP. *Biomed. Pharmacol. Ther.*, 1995, 49(5), 251-8.
- [155] Crider AM, Kolczynski TM, Yates KM. *J. Med. Chem.*, 1980, 23(3), 324-6.
- [156] DH. Rich, JH Gardner. *Tetrahedron Lett.*, (1983), 24(48), 5305-8.
- [157] GJ Kaczorowski, OB McManus, BT, Priest, ML. Garcia, *J. Gen. Physiol.*, (2008), 131(5), 399-405.
- [158] VC Filho, RJ Nunes, JB Calixto, RA.Yunes *Pharm. Pharmacol. Comm.*, (1995), 1(8), 399- 401.
- [159] TP. Johnston, JR. Piper, *J. Med. Chem.*, (1971), 14(4), 350-4.
- [160] DL. Musso, FR. Cochran, JL. Kelley, EW. McLean, JL. Selph, GC. Rigdon, *J. Med. Chem.*, (2003), 46(3), 399-408.
- [161] F.C. Pennington, P.A. Guercio, I. A. Solomons, *J. Am. Chem. Soc.*, (1953), 75(9), 2261-1.
- [162] F. Zentz, A. Valla, RL. Guillou, R. Labia, AG. Mathot, D. Sirot, *Il Farmaco*, (2002), 57(5), 421-6.
- [163] B.G. Hazra, V.S. Pore, S.K. Day, S. Datta, M.P. Darokar, D. Saikia. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, (2004), 14(3), 773-7.
- [164] M.J. Kornet, A.M. Crider, E.O. Magarian. *J. Med. Chem.*, (1977), 20(3), 405-9.
- [165] M. Isaka, W. Prathumpai, P. Wongsu, M. Tanticharoen, F. Hirsutellone. *Org. Lett.*, (2006), 8(13), 2815-7.

БИОГРАФИЈА КАНДИДАТА

Јелена Петковић-Цветковић, рођена је 25.06.1982. године у Брчком, Босна и Херцеговина. Основну школу и гимназију завршила је у Београду са одличним успехом. Основне студије на Технолошко–металуршком факултету у Београду завршила је у предвиђеном року. Дипломирала је 2008. године на одсеку Органска хемијска технологија и полимерно инжењерство (просечна оцена положених испита 8,35) одбранивши дипломски рад са темом „Синтеза, структура и солватохромизам потенцијално фармаколошки активних 1-(4-супституисаних фенил)-3-фенилпирилодин-2,5-диона“ са оценом десет. Школске 2009/2010 године уписује докторске студије на Технолошко–металуршком факултету у Београду, на студијском програму Хемија на Катедри за Органску хемију. Успешно је положила све испите на докторским студијама као и завршни испит са темом „Синтеза, структура и својства потенцијално биолошки активних деривата Н-арил-3-фенил-3-метилсукцинимидида“ са оценом десет.

Од 2010. године запослена је у Војнотехничком институту у Београду као виши истраживач у Сектору за материјале и заштиту, Одељење за енергетске материјале. Од 2014. године, одуком Наставно-научног већа Војне академије, изабрана је за асистента, за ужу научну област „Опасне материје“, а 2017. године реизабрана у исто звање.

Аутор је и коаутор два рада објављена у водећим међународним часописима (M22), једног рада објављеног у међународном часопису (M23), четири рада на међународним научним скуповима (M33), четири рада у водећим часописима националног значаја (M51), и четири рада на скуповима националног значаја публиковано у изводу (M64).

Прилог 1.**Изјава о ауторству**

Име и презиме аутора Јелена Петковић-Цветковић

Број индекса 4024/2009

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Синтеза, структура и својства потенцијално биолошки активних

N-арил-2,2-дисупституисаних сукцинимиди

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

Потпис аутора

У Београду, _____

Прилог 2.**Изјава о истоветности штампане и електронске верзије
докторског рада**Име и презиме аутора Јелена Петковић-ЦветковићБрој индекса 4024/2009Студијски програм ХемијаНаслов рада Синтеза, структура и својства потенцијално биолошки активних
N-арил-2,2-дисупституисаних сукцинимидиМентор Др Наташа Валентић, Др Жељко Витник

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла 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, _____

Прилог 3.**Изјава о коришћењу**

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

Синтеза, структура и својства потенцијално биолошки активних N-арил-2,2-дисупституисаних сукцинимиди

која је моје ауторско дело.

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

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

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
- 3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)**
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, _____

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.