

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ-СОФИЯ
ФАРМАЦЕВТИЧЕН ФАКУЛТЕТ**

ИЛИЯ МАНЛОВ ИЛИЕВ

**СИНТЕЗ, СТРУКТУРА, СВОЙСТВА И
ФАРМАКОЛОГИЧНА АКТИВНОСТ НА ПРОИЗВОДНИ
НА 4-ХИДРОКСИКУМАРИНА**

ДИСЕРТАЦИЯ

за присъждане на научната степен

“ДОКТОР НА НАУКИТЕ”

Област: Здравеопазване и спорт

Научно направление: Фармация

Научна специалност: Биоорганична химия, химия на природните и
биологически физиологично активни вещества

София , 2011 г

Използвани съкращения

| Съкращение | Термин |
|------------------|--|
| ATC | Антагонист на витамин К |
| ФПК | Фактори на протромбиновия комплекс |
| AGP | Гликопротеин |
| HAS | Човешки серумен албумин |
| HPLC | Високоэффективна течна хроматография |
| ФДЕ | Ензим фосфодиестераза |
| РНК | Рибонуклеинова киселина |
| ДНК | Дезоксирибонуклеинова киселина |
| цАМФ | Цикличен аденозин монофосфат |
| АТФ | Аденозин трифосфат |
| ГТФ | Гуанозинтрифосфат |
| 4-MUG | Глюкурониди |
| 4-MUS | Сулфати |
| IDEC | Инхибиращо действие върху дора декарбоксилаза |
| DPPH | 1,1-Дифенил-2-пикрилхидразин |
| LOOH | Пероксид на линоленовата киселина |
| RAE | Относителна антиоксидантна активност |
| MTT | [3-(4,5-Диметилтиазол-2-ил)-2,5- дифенилтетразолиев бромид] |
| PUVA | Терапия при псориазис |
| HIV | Human Immunodeficiency Virus |
| CEM | Клетки |
| FISH | Флуоресцентна in situ хибридизация |
| UV | Ултравioletова спектроскопия |
| DMSO | Диметилсулфоксид |
| ФТОК | Трифлуороцетна киселина |
| CCDC | The Cambridge Crystallographic Data Center |
| CEM-клетки | Човешки лимфобластоидни клетки |
| IC ₅₀ | Инхибиторна концентрация 50 |
| USP XXI – | XXI фармакопея на САЩ |

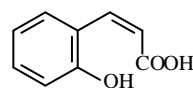
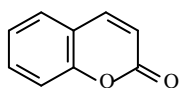
| | |
|---------------------|---|
| UV-VIS | Спектроскопия в ултравиолетовата и видимата област |
| IR | Инфрачервена спектроскопия |
| ¹ H NMR | Протонна спектроскопия на ядрено-магнитния резонанс |
| EIMS | Масспектрометрия с електронен удар |
| DMSO-d ₆ | Деутериран диметилсулфоксид |
| CDCl ₃ | Деутериран хлороформ |
| MHK | Максимална нетоксична концентрация |
| ЦД ₅₀ | Цитотоксична доза |
| СИ | Индекс на селективност |
| ТОН | α-Токоферол |
| СА | Кафеена киселина |
| SA | Синапова киселина |
| FA | Ферулова киселина |
| p-CumA | p-Кумаринова киселина |
| ЕДТА | Етилендиаминтетраоцетна киселина |
| HL-60 | Клетъчна линия с произход от човешка промиелоцитна левкемия |
| ТИ | Терапевтичен индекс |
| MT-2 | Човешки лимфобластоидни клетки (суспензионни) |
| ICRF-159 | Кардиоксол, аналог на ЕДТА с кардиопротективна и противотуморна активност |
| РИОКОЗ | Районен инспекторат за опазване и контрол на общественото здраве |
| KE-37 | Клетъчна линия с произход от Т-клетъчна левкемия |
| SKW-3 | Клетъчна линия с произход от Т-клетъчна левкемия |
| BV-173 | Клетъчна линия с произход от човешка хронична миелоидна левкемия |
| MGH-U1 | Клетъчна линия с произход от човешки карцином на пикочния мехур |
| MCF-7 | Клетъчна линия с произход от карцином на млечната жлеза |
| MDA-MB-231 | Клетъчна линия с произход от карцином на млечната жлеза |

***I. Литературен преглед на
биологичните свойства на
кумарините***

I.1. Разпространение, основен структурен елемент, особености

Интересът към изучаване на кумаринови съединения, притежаващи висока биологична активност, непрекъснато нараства. Кумарините са едни от най-широко разпространените вещества в растителния свят. Те са открити в много лечебни растения. Най-често кумарини се съдържат в представители на следните семейства: *Ariaceae*, *Asteraceae*, *Rutaceae*, *Fabaceae*, *Caryophyllaceae*, *Hippocastanaceae*, *Oleaceae* и др. Количеството им в отделните видове варира в много широки граници: от 0.2 до до 10 %, а в пъпките на *Daphne odorata*, сем. *Thymeliaceae*, се натрупват и до 20% [1]. Производни на кумарина има и в продуктите на жизнената дейност на микроорганизми и животни.

Кумарините са хетероциклени съединения, основен структурен елемент на които е кондензираната система от α -пирон и бензеново ядро. Тази кондензирана система носи тривиалното название кумарин (1) и се разглежда като лактон на цис-о-хидроксиканелена (кумаринова) киселина (2).



Кумарин, (бензо- α -пирон,

2H-1- бензопиран-2-он, 2H-хромен-2-он)

1

Кумаринова киселина

2

Структурата на кумарините е разнообразна. Както и природните феноли (хидроксибензоени киселини и флавоноиди), те се синтезират изключително от растенията и изпълняват в тях различни функции, преди всичко свързани с регулацията на растежа и развитието. От природни източници са изолирани много кумаринови съединения и е установена структурата им. Най-токсичните кумарини не се синтезират от зелените части на растенията. Такива са афлатоксините, които са продукт на плесенните гъби *Aspergillus flavus*.

За кумарините е характерна твърде разнообразна биологична активност. Най-важни и добре изучени са спазмолитичното, коронароразширяващото и фотосенсибилизиращото действия. С най-голямо значение за лечебната практика

е употребата на кумаринови производни като антикоагуланти. Освен в медицината кумарините намират приложение и в много други сфери на човешката дейност [2].

I.2. Антикоагулантно действие на кумарини

В традиционната медицина най-широко се прилагат производните на 4-хидроксикумарина, проявяващи ефекти върху тромбообразуването. Още през 1936 г. е установена антикоагулантната активност на дикумарол, което довежда до създаване на лекарствени препарати за профилактика и лечение на венозните тромбози и миокардния инфаркт. При изучаване на зависимостта структура-действие е установено, че при метилиране или алкилиране на хидроксилната група при четвъртия въглероден атом в кумариновия цикъл, антикоагулантните свойства изчезват. Промяна във фармакологичното действие настъпва и при модификация на карбонилната група в страничната верига, както и при промяна броя на въглеродните атоми (не повече от четири) [3].

Лекарствените вещества от тази група се означават като индиректни антикоагуланти. Те са антагонисти на витамин К – изместват го от активния център на ензима, който редуцира хиноновата му форма до хидрохинонова. Хидрохиноновата форма на витамин К е кофактор, който участва в γ -карбоксилирането на N-терминалните глутаматни остатъци на белтъците-предшественици на витамин К-зависимите фактори на кръвосъсирването в черния дроб. Това са фактори II (протромбин), VII (проконвертин), IX (фактор на Christmas) и X (фактор на Stewart-Prower). Кумариновите антикоагуланти действат само *in vivo* като терапевтичното им действие се наблюдава след латентен период, необходим за елиминиране на наличните в плазмата активни фактори на кръвосъсирването [4].

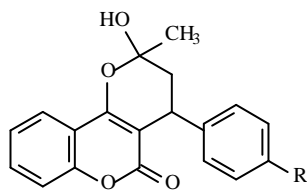
Липсата на биологично активната форма на витамин К води до прекъсване синтеза на факторите на протромбиновия комплекс или витамин К зависими фактори (ФПК), на етапа на прерибозомната модификация. Това означава, че се потиска процесът на карбоксилиране на специфични глутаминови остатъци в аминотерминалния край на молекулата и се осуетява получаването на γ -карбоксиглутаминова киселина, определяща прокоагулантната активност на тези фактори. Синтезират се само прекурсорите на хемостазните фактори, наречени “акарбокси” форми. Те са неактивни като прокоагуланти и освен това оказват

инхибиращ ефект върху активирането на фактор X, което води до терапевтична хипокоагулация [5].

Кумариновите антикоагуланти са есенциални лекарства, които се прилагат за дълговременна профилактика и лечение на тромбоемболични състояния – тромбози на дълбоките вени, белодробна емболия, предсърдно мъждене при пациенти с изкуствени сърдечни клапи, ревматични пороци на сърцето и др.

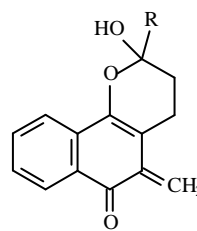
Кумариновите антикоагуланти се резорбират добре при перорален прием. Имат висока степен на свързване с плазмените протеини (> 98%), поради което са с висок кумулативен потенциал ($t_{1/2} = 24$ ч за Асеносоумарол и 37 ± 15 ч за Warfarin) [6]. Могат да бъдат изместени от свързващите места с плазмените протеини от други лекарства с висока степен на протеинно свързване, което крие риск от хеморагии. Поради това изискват продължителен мониторинг на хемостазните показатели [4].

Тези вещества преминават хематоенцефалната и плацентарната бариери. В организма те образуват цикличен полукетал (**3**), който е структурен аналог на активната форма на витамин К (**4**):



полукетал на антикоагулант

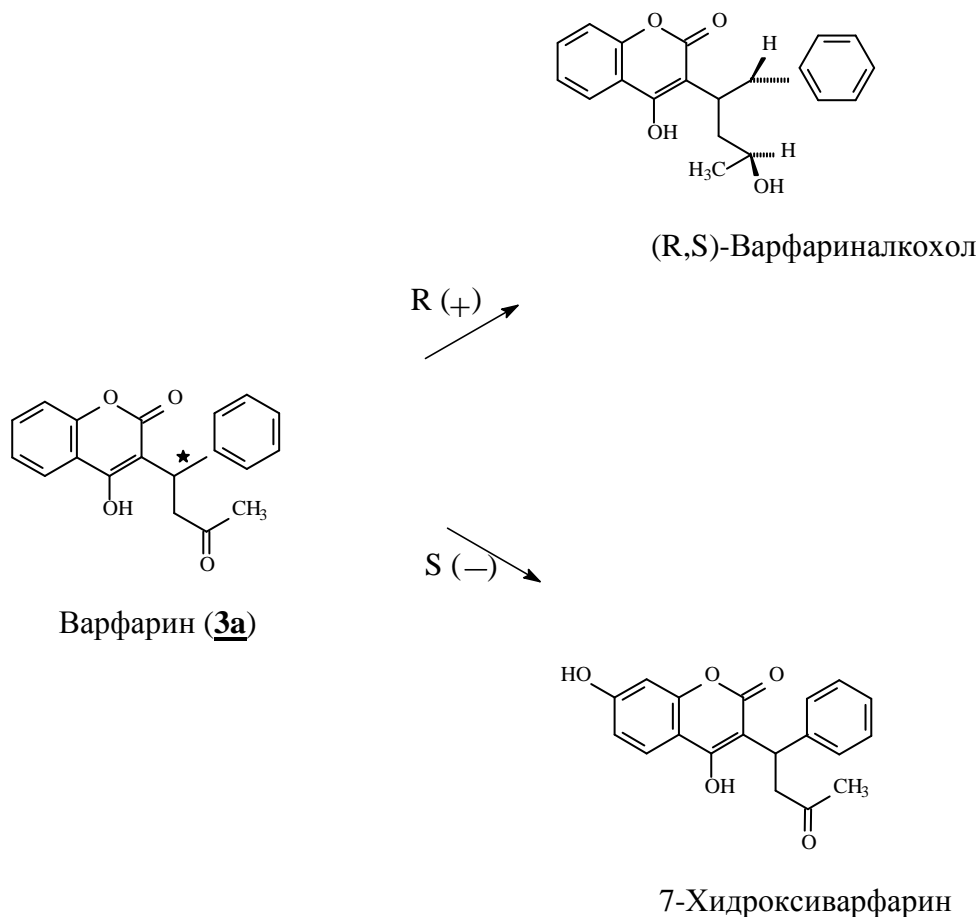
3



полукетал на витамин К₁

4

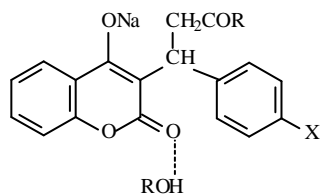
В молекулата си производните на кумарина, като напр. Warfarin, Асеносоумарол и други от този тип, имат по един асиметричен С-атом, поради което имат по два енантиомера. Установено е, че S-енантиомерите са с по-силен антикоагулантен ефект. Енантиомерите се различават и по метаболитния си път:



Основният плазмен метаболит на Warfarin е (R,S)- Варфариналкохол.

Тези най-изявени антикоагуланти са твърде добре проучени [7-10]. Описан е синтезът на такива съединения [11,12], както и методи за техния количествен и качествен анализ [13]. Лекарствените продукти са рацемични смеси.

За антикоагулантното действие на Warfarin и Warfarin натрий се съобщава още през 60-те години на XX век [14,15]. По-късно са получени синтетични антикоагуланти за инжекционно въвеждане, а именно натриеви соли на кумаринови комплекси с наситени алкохоли при обработването на кумарините с алкални алкоксиди в разтвор на алкохоли [16].



(5)

Рацемичната натриева сол на Warfarin (Кумадин) е широко използвана в профилактиката на тромбоемболичните болести. Kerr et al. характеризират три нови

класа аналози на Warfarin, като ги сравняват с енантиомерите на Warfarin [17]. И трите класа съединения инхибират витамин К-епоксидредуктазата (ензим, инхибиран от рацемичния Warfarin) и имат подобна *in vivo* антикоагулантна активност.

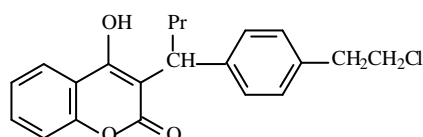
За доказване на връзката структура-активност Duhaïman определя активната група при кумариновите производни в инхибирането на оксиредуктазната активност. Използвани са кумарин, 4-хидроксикумарин, 4-метил 7-хидроксикумарин и Warfarin. Установено е, че инхибиращият потенциал намалява в следната последователност: Warfarin > 4-хидроксикумарин >> кумарин. Само дикумаролът, 4-хидроксикумаринът и Warfarin инхибират оксиредуктазната активност. Връзката структура-активност при кумарините показва, че фенолната хидроксилна група на четвърта позиция в кумариновия скелет играе значителна роля за инхибиращата способност [18].

Оралните антикоагуланти от кумаринов тип (Warfarin, Phenprocoumon и Acenocoumarol) са лекарствени средства за дългосрочно лечение и профилактика на тромбоемболичните смущения. Huang H. L. et al. изследват техните фармакокинетични и фармакодинамични параметри [19].

Hanmantgad S. S. et al. [20] съобщават за ефикасността и безопасността на прилагане на натриевата сол на Warfarin като антикоагулант.

В обширен литературен обзор са разгледани фармакокинетичните и фармакодинамични механизми на взаимодействие на кумаринови антикоагуланти, тяхната клинична значимост, както и препоръки за намаляване на риска от лекарствените взаимодействия [21].

Най-съществените клинични недостатъци на кумариновите антикоагуланти са техните многобройни взаимодействия с други лекарствени средства. Литературните данни относно тези реакции на взаимодействие много често са спорни и противоречиви [22]. Изучаван е ефектът на антибиотици върху кумарини по отношение на времето на кървене и времето на съсирване [23]. Thonnart et al. изследват антикоагулантното действие на новосинтезирани производни на 4-хидроксикумарин и антагонизма им със синтетичен витамин К₁ [24]. Доказано, че орално приложен 3-{1-[p-(2-хлороетил)фенил]бутил}-4-хидроксикумарин

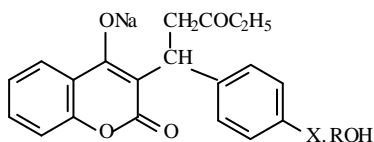


(6)

е потенциално по-добър антикоагулант, отколкото Phenprocoumon. Антикоагулантната активност на двете съединения се антагонизира от витамин K₁ [25]. Известно е, че витамин K₁ (филохинон) участва в биосинтезата на факторите на кръвосъсирването. Недостигът му води до кръвотечения и снижаване активността на редица ферменти. За витамин K₁-антагонистичното действие на кумарини се съобщава и от Harvey R. G. et al. [25], Wang R. H. S. [26].

В литературата има данни и за свързването на кумариновите антикоагуланти към α -аминокиселините на Glycoprotein (AGP) и човешки серумен албумин (HSA) [27], установено с помощта на флуоресцентни и спектроскопски методи. Доказано е, че размерът на заместителите на трета позиция в кумариновия пръстен също влияе на връзките с двата протеина. Оказва се, че свързващите се части на кумариновите съединения са локализирани вътре в хидрофобните вдлъбнатини на протеина.

Boschetti et al. съобщават за първи път за родентицида 4-хидрокси-3-(3-хидроксипропил)кумарин, който проявява антикоагулантно действие [28]. В литературата е описана кинетиката на антикоагулантния ефект на бис-хидроксикумарини при човека [29]. Smirnova et al. доказват антикоагулантните качества на алкохолни комплекси на 4-хидроксикумарини [30].



(7)

Valint S. съобщава за ефекта, който оксиметацин има върху кумаринови антикоагуланти и върху функцията на тромбоцитите [31]. Kirkiacharian, S. et al. изследват взаимодействието между антиацидни средства и кумаринови антикоагуланти като Dicoumarol, Nicoumalone, Phenprocoumon и Warfarin [32]. Изследвано е влиянието на S-окислението върху антикоагулантната активност на 4-хидроксикумарините [33].

Hunter предлага метод за определяне на кумаринови остатъци от родентициди-антикоагуланти в животински тъкани чрез използване на високоефективна течна хроматография (HPLC) [34, 35]. Този метод се използва и за определяне на кумаринови антикоагуланти в таблетки [36, 37], както и за определяне на кумаринови антагонисти на витамин K в кръвната плазма [38].

Magiatis, P. et al. изследват антитромбоцитната активност на нови кумаринови производни, като 8-хлоро-3- β -диетиламиноетил-4-метил-7-етоксикарбоксиметоксикумарин с добри *in vitro* и *in vivo* показатели [39]. Същото съединение оказва влияние върху аритмии и има потенциално действие върху сърдечно-мускулните влакна [40].

Исхемичната ретинопатия е трудна за третиране, с изключение на няколко лекарствени средства, прилагани клинично, между които е кумаринът като антикоагулант с голям ефект. Lu, H. D. et al. изследват кумаринови производни и установяват, че ако шеста, седма и осма позиция в кумариновия пръстен са свързани с различни функционални групи, съединението проявява по-висок ефект [41].

Синтезирани са и са изследвани като инхибитори на няколко ензима, отговорни за кръвосъсирването, серия производни на 7-амино-4-хлоро-3-(3-изотиоуреидопророкси)изокумарин с различни заместители на седма и на трета позиция. Установена е ролята на различните заместители върху инхибиращата способност на използваните съединения. Доказана е ефективността им на антикоагуланти *in vitro* и се препоръчват за прилагане *in vivo* [42].

Синтезирани са хетероциклени съединения на азота с бензопирано-пиридинова верига, съдържащи кумарин с очаквана антикоагулантна активност [43].

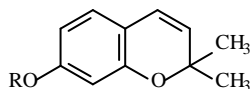
Описва се развитието на оралната антикоагулантна терапия с кумаринови съединения [44-46].

I.3. Ензимно-модулираща активност

Природните и синтетични кумаринови производни оказват влияние върху развитието на клетките на растенията и животните. Някои кумарини влияят на ензимната активност. о-, m- и p- Кумариновите киселини, както и умбелиферон, влияят на ензимната активност на пепсин *in vitro* [47]. Най-голяма инхибираща активност проявяват m-кумариновата киселина и умбелиферонът.

p-Кумаратхидроксилазата е важен ензим в биохимичния синтез на кофеиновата киселина [48]. Кумаринът влияе на чернодробноензимната активност [49,50]. Представени са имунохимични изследвания на чернодробната кумарин-7-хидроксилаза [51,52]. Едно от характерните свойства на кумарините е тяхното забавящо или стимулиращо действие върху поникването на семената и растежа на корените на редица растения. Инхибиращото действие на кумарините е обратимо и това се свързва с лесното им разграждане от ензими или метаболити на растителната

клетка. Монозаместените в бензеновото ядро кумарини (7-хидроксикумарин и др.) имат около десет пъти по-ниска активност в сравнение с незаместения кумарин. Дизаместените в бензеновото ядро кумарини практически са неактивни. По-малка активност проявяват и монозаместените в лактонния пръстен кумарини. Обсъдено е регулиращото действие на кумарините върху растежа на различни растения [53, 54]. Baraldi et al. установяват подобна ензимно-модулираща активност при естерни производни на 2-хидроксиетилфосфоновата киселина [55].



(8)

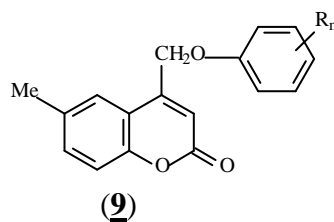
Процесът на акумулация на азот, фосфор и калий в *Pisum sativum* и техният растеж значително се влияе от присъствието на ескулин и ескулетин и не толкова от кумарин [56]. В работите на Samokhvalov et al. [57] и Kofinas et al. [58] има данни за метаболизма на кумаринови производни в растителните клетки.

Chavasiri et al. установяват, че 3,3'-бензилиденбис-4-хидроксикумарините с хидрокси- или метоксигрупи в бензилиденовия остатък проявяват висока хербицидна активност срещу плевела *Mimosa pigra* [59]. Някои от тези съединения е възможно да намерят приложение като нови хербициди [60, 61]. Alexieva V. et al. показват, че кумарините и бискумарините забавят растежа на растенията, като в повечето случаи ефектът е по-добре изявен при бискумарините [62].

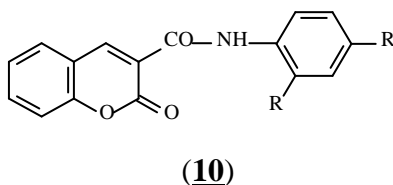
1.4. Антимикробна активност

В литературата са описани множество кумаринови представители с различно изразена антимикробна активност. Към тях са чувствителни различни микроорганизми – гъбички, бактерии, вируси.

Batra et al. изследват противогъбната активност на 4-(заместени фенокси) метил-6-метилкумарини върху *Pythium aphanidermatum*, *Colletotricum falcatum*, *Dreschlera aryzae*, *Alternaria alternata* и *Fusarium solani* [63].



Противогъбната активност е доказана и при 6-алкил-3-п-бутил-7-хидрокси-4-метилкумарин [64]. Бактерицидна и фунгицидна активност показват и р-заместени-3-кумаринкарбоксамиди [65].



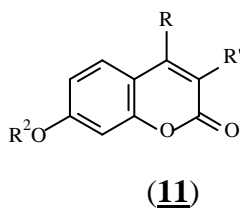
Giri сравнява фунгицидната активност на производни на 3-(арилазо)-4-хидроксикумарини и 3-(N-арилтиокарбамоил)-4-хидроксикумарини срещу *Alternaria tenuis* и *Helminthosporium oryzae* [66].

Изследвана е противогъбната активност и на някои природни кумарини [67].

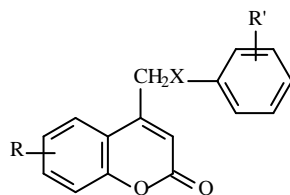
Анджелицин, природен фурукумарин с доказана противогъбна активност, е използван като основна структура за синтез на група кумаринови производни с подобна активност. Синтезираните кумарини са изследвани върху *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae* и *Aspergillus niger* [68].

Много кумарини и фурукумарини имат бактериостатични свойства. Самият кумарин проявява ниска антибактериална активност по отношение на някои грам-положителни и грам-отрицателни бактерии. Умбелиферон и ескулетин потискат *Brucella abortus* и *B. melitensis*. Умбелиферон и пимпинелин имат противогъбна активност. Дикумарол проявява антибактериална активност по отношение на *Staphylococcus aureus*, *S. albus* и *Streptococcus pyogenes*. Новобиоцин, антибиотик с кумаринова структура, изолиран от *Streptomyces*, е с подчертано висока активност върху грам-положителните микроорганизми, включително *Proteus vulgaris*.

Rao A.K. et al. [69] и Beeryd B. [70] синтезират 7-алкокси-3,4-заместени кумарини и изследват антимикробната им активност.

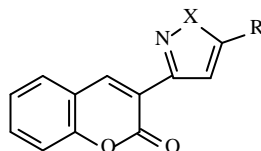


Някои от съединенията частично или напълно инхибират растежа на *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis* [71].



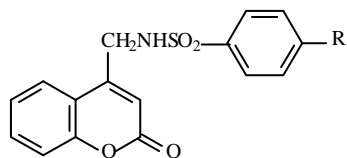
(12)

Bhide V.H. et al. [40] изследват противогъбната и антибактериална активност на 3-фенил-3,4-дихидроизокумарини. 3-(3'-кумарил)-5-заместени фенил-2-пиразолини, 1-фенил-3-(3'-кумарил)-5-заместени фенил-2-пиразолини и 3-(3'-кумарил)-5-заместени фенил-2-изоксазолини са изследвани *in vitro* за фунгицидна и бактерицидна активност [72].



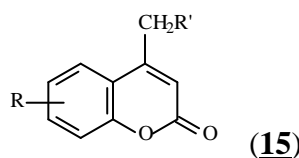
(13)

Някои 4-(сулфонамидометил)кумарини показват по-добра антибактериална активност срещу *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* отколкото стандартните сулфонамиди [73].

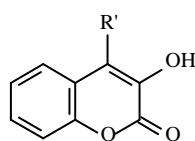


(14)

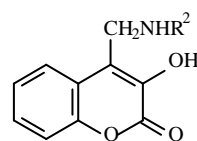
За антимикробните свойства на някои 4-заместени кумарини се съобщава в работата на Hanmantgad S. S. et al. [74], а за други кумарини - като потенциални бактерицидни и фунгицидни агенти - в работата на Elstner E. F. [75].



(15)

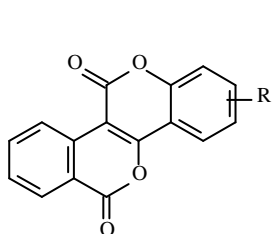


(16)

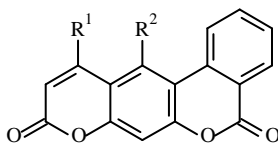


(17)

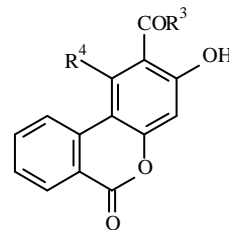
Кумариноизокумарини и дибензо- α -пирони са изследвани за антибактериална и противогъбна активност [70]. Най-активни срещу *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* са [R= OH, 2,4-(OAc)₂] и [R¹= OH, OAc; R²= H; R¹= R²= OAc], а срещу *Aspergillus niger* са [(R= 2-OAc, 3-OAc) и (R¹= OAc, R²= H; R¹= R²= OAc)].



(18)



(19)



(20)

Samokhvalov et al. изследват антибактериална активност на кумаринови производни, заместени на трета или четвърта позиция в пирановия цикъл. Халогенопроизводните не показват антибактериални свойства. Натриевата сол на 4-меркаптокумарин е най-активното бактериостатично съединение сред съра съдържащите производни [57].

Wallin съобщава за кумарини, чиято активност е изследвана върху *M. tuberculosis* [76].

В литературата се съобщава за противотуберкулозната активност на 3,7-диамино-4-хидроксикумарин [77]. Meyer B. et al. синтезират кумарилсулфони, които са изключително активни срещу *Mycobacterium tuberculosis* [78].

Друга група кумарини и флавоноиди са изследвани за антибактериална активност върху клинично изолирани *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli* [79].

Хидроксикумаринови съединения, между които ескулетин и неговият диацетат, показват значителен инхибиращ ефект върху поредица от вируси, между които пикорна-вируси (сред които причинителите на менингит, полиомиелит и някои от въздушно-капковите инфекции), ортомиксо- и парамиксо-вируси (сред които причинителите на грип, парагрип, паротит, морбили), както и херпес-вируси [80].

Kayser O. et al. изследват антибактериалната активност на серия от кумарини върху грам-положителни бактерии (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus beta-haemoliticus* и *Streptococcus pneumoniae*) и върху грам-отрицателни бактерии (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Haemophilus influenzae* и *Escherichia coli*). Изследването представлява първият систематичен

анализ върху връзката структура-активност. Кумарините с метоксигрупа на седма позиция и една хидроксилна група на шеста или на осма позиция са ефективни върху грам-отрицателните бактерии. Наличието на две метоксигрупи и поне една фенолна хидроксилна група определя кумарина като обещаващ широкоспектърен антибактериален агент [81].

Haustein K. съобщава за антибактериалното действие на кумаринови производни от *Licorise roots* против *Streptococcus mutans* [82].

Осем химични групи природни съединения, включително и кумарини от *Triphasia trifolia*, са били изолирани и изследвани върху *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* и *Mycobacterium kansasii*. Определени са най-активните от тях и е установена връзката структура-модификация и структура-активност [83].

Lake B. G. изследва антимикробните свойства на известни и нови кумарини – 5,8-ди(2,3-дихидрокси-3-метилбутокси)псорален, извлечени от корените на *Angelica dahurica* [84].

В традиционната медицина в Източна Турция се използва растението *Prangos platyphalaena*, което приложено външно спира кръвоизливи и лекува белези от рани. От него са изолирани кумарини, които са изследвани върху бактериални щамове [85].

Stadler et al. [86] и Suzuki T. J. [87] описват антимикробните, цитотоксични и фитотоксични свойства на биоактивни метаболити (изокумарини), екстрахирани от *Lachnum parvum*.

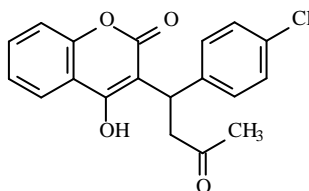
Известни и нови дихидроксикумарини са изолирани от различни гъби. Абсолютната конфигурация на тези вторични метаболити е потвърдена с рентгеноструктурен анализ. Laprinzi C. L. et al. описват антимикробната им активност [88].

I.5. Родентицидна активност

Производните на 4-хидроксикумарина са известни с родентицидната си активност [89-92]. Кумаринът действа наркотично на зайци, земни червеи, седативно и хипнотично - на мишки. За някои едри животни той представлява отрова. Изучаването на зависимостта на инсектицидните и родентицидните свойства от строежа на кумарините е показало, че въвеждането на фенолна група в положение 3-

и 4- на кумариновата структура съществено повишава токсичността на тези съединения.

Някои кумаринови производни с антикоагулантно действие влизат в състава на препарати за унищожаване на гризачи – причиняват безболезнената им смърт от хеморагии. Напр. Кумахлор:



(36)

I.6. Спазмолитична и хипотензивна активност

Производните на фурокумарините и пиранокумарините имат спазмолитично и коронароразширяващо действие, а за други е установено противоязвено действие.

Ефектите на полусинтетичните кумаринови антикоагуланти се свързват с повишаване пропускливостта на съдовите стени, релаксиращо действие върху гладката мускулатура на съдовете (особено на коронариите), мускулатурата на червата и на бронхите. Прилагането им при коронарна недостатъчност се оправдава и от известно намаляване на стенокардната болка, което се отдава и на непосредствен вазодилатиращ ефект.

От народната медицина е известно използването на *Angelica archangelica*, *Heracleum sibirianum*, *Pastinaca sativa*, *Ammi majus*, *Ammi visnaga* и видовете от род *Peucedanum* при хипертония, стенокардия и ритъмни нарушения. Ефектът на посочените лечебни растения е свързан с наличието на кумаринов комплекс, който повлиява сърдечната дейност и просвета на съдовете, вкл. и на коронариите. Визират се главно фурано- и пиранокумаринови производни: пастинацин, архангелин, виснадин, самидин, дихидросамидин и др.

Интересна закономерност е наблюдавана между строежа на кумарините и спазмолитичното им действие. Установено е, че последното е свързано с положението и броя на заместителите, особено тези при С-6 и С-7. Например 7-хидроксикумаринът е по-активен от кумарина, а неговият ацетат двукратно превъзхожда активността на хидроксипроизводното. Наличието на втора хидроксилна група при С-6 съществено изменя спазмолитичната активност. 7-

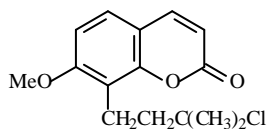
Метокси- и 6,7-диметоксикумарините са по-активни от хидроксипроизводните. Ацилните производни притежават значително по-силно изразен ефект [93].

В литературата са описани изследвания, разглеждащи спазмолитичната активност на фуранокумарините. От групата на псоралена особено перспективен се оказва императоринът. Ангелицинът, изолиран от *Heracleum thomsoni*, показва специфична релаксираща активност по отношение на гладката мускулатура, без да повлиява сърдечната и скелетната в разнообразни *in vitro* и *in vivo* тестови модели. В повечето от тест-системите той се оказва еквипотентен на папаверина [93].

Chen J. et al. [94] изследват серия кумаринови производни, показващи хипотензивна и спазмолитична активност. Mendiaxon (4-метил-7-хидрокси-кумарин) е избран за стандарт, спрямо който е определена активността на останалите хидрокси-, amino-, хлоро- и метилови производни. Изследвано е и инхибиращото им действие върху *dopa decarboxylase* (IDEC).

Stadler M. H. et al. [95] описват спазмолитичната активност на производни на 4-метил-7-хидроксикумарин.

Хипотензивна активност показва и 7-метокси-8-(3'-хлороизопентил)-кумарин (**21**). Установен е механизмът на неговото действие [96].



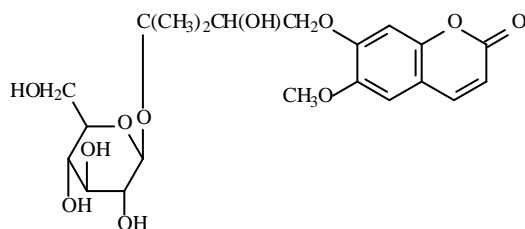
(21)

Синтезирани са кумаринови съединения, аналози на Аураптен и е изследвана тяхната спазмолитична активност върху Ca^{2+} , ацетилхолин и хистамин с цел установяване на връзката структура-активност [97]. Определена е значителната роля на цис-изомерията на двойната връзка на втора позиция.

Aida Y. et al. [98] изследват ефектите на лактони от *Peucedanum praeruptorum*. Съединенията показват специфичен антагонистичен ефект върху тромбоцитната агрегация, индуцирана от тромбоцит-активиращ фактор, върху хистамин и левкотриен-Д4-индуцирани контракции в изолиран илеум от морско свинче.

Тотален извлек, съдържащ кумарини от плодовете на *Cnidium monnieri*, има протективен ефект срещу бронхоспазми, индуцирани с хистамин. *In vitro* кумарините инхибират контракции на трахея и илеум. Те проявяват и антиалергичен ефект [99].

Изследвани са кумарини, изолирани от растението *Naplophyllum*. Съединенията показват спазмолитично и хипотензивно действие. Най-добро действие има посоченото по-долу съединение (**22**), но неговият хипотензивен ефект не е така продължителен както на останалите. Съединенията са с ниска токсичност [100-102].



(**22**)

1.7. Антиоксидантно действие

За кумариновите производни е открита и антиоксидантна активност. Редица кумаринови производни са изследвани в *in vitro* системи, генериращи свободни радикали, както и върху моделни клетъчни линии. Много от тези вещества проявяват значителна антиоксидантна и радикал-улавяща активност [103-118].

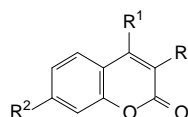
Направено е проучване върху връзката структура-активност на различни 4-хидроксикумарини в моделна система, съдържаща стабилния свободен радикал 1,1-дифенил-2-пикрилхидразил (DPPH) [119]. Зависимостта, която може да се установи между структурата и активността за свързването на свободни радикали е, че по-активни са тези съединения, които имат електронодонорни заместители в положение 3- и 7- в бензеновото ядро.

Изследвана е зависимостта между структура и активност на някои кумаринови антиоксиданти срещу токсичността на пероксида на линоленовата киселина (LOOH) върху човешки пъпни венозни ендотелни клетки [120]. От всички изследвани кумаринови производни, ескулетинът проявява най-силна антиоксидантна активност. Той е познат и като силен липоксигеназен инхибитор. Последното се дължи на о-фенолните групи, които са много съществени за активността.

Изследвана е антиоксидантната активност на кумарини чрез измерване тяхното протективно действие към пероксидацията на линоленова киселина в мицели от натриев додецилсулфонат в буферен разтвор при pH = 7.3 [121].

Резултатите са изразени като относителна антиоксидантна активност (RAE), представляваща отношение на активността на изследваното съединение към тази на α -токоферол. Най-висока активност проявяват дафнетин, 4-метилдафнетин и 6,7-дихидрокси-4-метилкумарин. Тя се дължи вероятно на *o*-фенолни хидроксилни (катехолни) групи. Активността на съединенията може да се свърже с различната способност за пренос на водороден атом към LOO \cdot . Хидрофилността играе роля за пенетрацията през мицелите от натриев додецилсулфонат и за антиоксидантната активност.

Детайлно са проучени хемилуминесцентните характеристики на различни кумарини в система от пероксиоксалат-водороден пероксид. Последната генерира свободни радикали [122]. Техните структури са представени по-долу:



$R = R^2 = H; R^1 = OH$ 4-Хидроксикумарин (**23**)

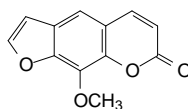
$R = R^1 = H; R^2 = OH$ 7-Хидроксикумарин (**23а**)

$R = H; R^1 = CH_3; R^2 = OH$ 4-Метил-7-хидроксикумарин (**23б**)

$R = H; R^1 = CH_3; R^2 = NH_2$ 7-Амино-4-метилкумарин (**23в**)

$R = H; R^1 = CF_3; R^2 = NH_2$ 7-Амино-4-трифлуорометилкумарин (**23г**)

$R = COOH; R^1 = R^2 = H$ Кумарин-3-карбоксилна киселина (**23д**)

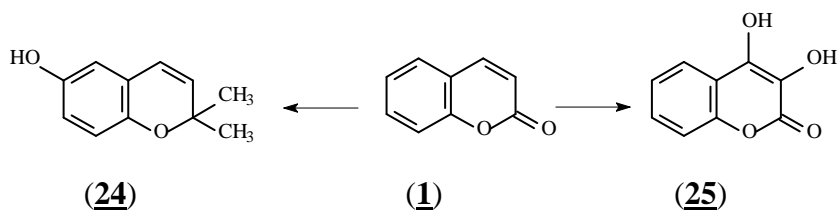


8-Метоксипсорален (**23е**)

Сравнени са флуоресцентните и хемилуминесцентните спектри и всички кумарини показват добра флуоресценция. Интензитетът и кинетичните параметри за хемилуминесцентните системи са оценени графично от зависимостта интензитет-време. 7-Амино-4-трифлуорометилкумарин проявява най-значителна синя флуоресценция. Целта на проучването е да се изследват 4-хидроксикумарини в система, генерираща свободни радикали за радикал улавящи свойства.

При изследване на изолирани от *Fraxinus ornus* хидроксикумарини, ескулетин и фраксетин са показали висока антиоксидантна активност, по-висока в сравнение със съответните гликозиди ескулин и фраксин [123].

Една от основните роли в молекулните механизми на взаимодействие на кумарините с животинските организми играят антиоксидантните свойства на тези съединения [124]. Окислително-редукционният потенциал, като важен параметър за жизнената дейност на клетката, нормално се поддържа в достатъчно тесен интервал. Нарушението му води до изтощение на биологичните антиоксиданти. Антиоксидантната функция е присъща на повечето витамини и микроелементи, от които преди всичко следва да се отделят структурно, а в някои аспекти и функционално, близките до кумарините витамини С и Е. Чрез несложна химична модификация молекулата на кумарина лесно се превръща, от една страна, във фенолния антиоксидант 2,2-диметил-6-хроменол (аналог на витамин Е) и от друга - в 3,4-дихидроксикумарин – представител на редуктоните (аналог на витамин С). По този начин кумаринът заема междинно положение между мастноразтворимите и водоразтворимите природни антиоксиданти.



Пълноценната защита на организма от патологични отклонения изисква постоянно постъпване на цял комплекс от взаимно допълващи се природни антиоксиданти, както с органична, така и с неорганична природа. Може да се направи изводът, че търсенето на фармакологичноактивни агенти с антиоксидантни свойства на основата на кумарина е особено перспективно при комплексните съединения на производни на кумарин с йони на преходните биогеенни метали. Изучено е комплексообразуването с различни метали и е изследвана тяхната биологична активност. Vladimirov Yu. A. et al. съобщават за антиоксидантния капацитет на медни комплекси с кумаринови лиганди [125].

Patnaik G. et al.[126] разглежда природни кумаринови съединения, структура на хидроксикумарини, механизми на биологична активност на кумарини, различни техни фармакологични и биологични свойства, радиопротективно и антиоксидантно действие. И други автори разглеждат кумарините като потенциални антиоксидантни средства [127, 128].

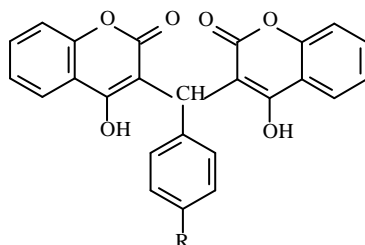
Raju K. M. et al. изследват производни на 4-метилкумарин с цел установяване на връзката структура-активност. Доказано е, че 7,8-дихидрокси-4-метилкумарин и 7,8-диацетокси-4-метилкумарин показват добри резултати по отношение на антиоксидантната си активност [129].

Baele G. [130] сравнява антиоксидантното действие на поредица флавоноиди и кумарини. Установено е, че наличието на хидроксилни групи като заместители във флавоноидното ядро увеличава активността им, докато метоксигрупите като заместители намаляват антиоксидантната активност.

I.8. Противотуморно действие.

Антинеопластична и антиметастатична активност

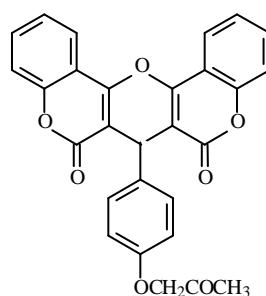
Кумаринът потиска растежа при *in vitro* изследвания върху човешки малигнени клетъчни линии. Антитуморната му активност е потвърдена и *in vivo* при експериментални миши тумори на простатата [131]. Главният му метаболит е 7-хидроксикумарин (умбелиферон) [132].



(26)

R = H, F, NO₂, NH₂, OCH₂COCH₃, OCH₂COC₆H₅

Бискумарините показват инхибираща активност върху тромбоцитната агрегация. Съединението с R=OCH₂COCH₃ и неговото епоксипроизводно (27) имат силно потискащо действие върху растежа на клетъчна линия от човешки бъбречен карцином UO-31.



(27)

За някои перорални антикоагуланти, напр. Warfarin, също е установен антиметастатичен ефект при експериментални и човешки тумори [133].

Изяснената антимиотозна активност е дала тласък в изучаването на антитуморната активност на кумарините. Най-активни в това отношение са фурокумарините, заместени на осма позиция (ксантотоксин и прангенин). Тези вещества засилват действието на алкилиращите противотуморни препарати. Антиканцерогенната активност на фурокумарините в някаква степен е свързана с наличието на спрежение в лактонната система и с положението на заместителите. Отсъствието на спрежение снижава активността.

Има данни от 60-те години на XX век за използването на кумарина като противотуморен агент. Nagmar [134] съобщава за ефекта на хепарин, ϵ -аминокапронова киселина и кумарин върху туморния растеж и образуването на метастази. По-късно Handler, J. et al. [135] изследва влиянието на хепарин, кумаринови антикоагуланти и ϵ -аминокапронова киселина върху формирането на метастази от трансплантирани тумори и цитотоксичния ефект на тези съединения в кръвта. Доказана е намалената циркулация на туморни клетки в кръвта на мишки, третирани с хепарин, кумариновия антикоагулант фенпрокумон и антифибринолитика ϵ -аминокапронова киселина [136].

Luzzatto, G. et al. изследват действието на кумарин върху T-24 клетъчна линия от карцином на пикочния мехур и доказват антитуморната му активност, клиничната му безопасност и ниска токсичност, което го прави надеждно средство за хемопревантивната терапия в онкологията [137].

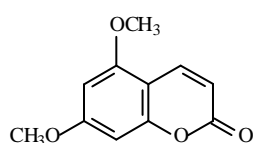
Laprinzi et al. [88] съобщава, че кумаринът е ефективен при прилагане на жени с лимфоедема. Представени са клинични изследвания върху група пациентки с хронична лимфоедема след лекуване на рак на гърдата.

Lake B. G. свързва кумариновия метаболизъм и токсичността с канцерогенезата. Множеството тестове за мутагенен и генотоксичен потенциал

показват, че кумаринът не е генотоксичен агент [138]. Установено е, че наличието на кумарин в хранителните и козметични продукти не крие здравен риск за хората.

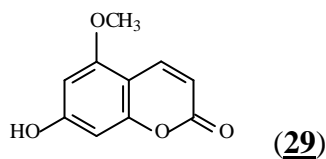
Roskopf F. et al., както и Ratanasavanh D. et al. изучават *in vitro* влиянието на кумарин и негови 4- и 7-хидроксипроизводни, както и с о-, m- и p-кумаринова киселина върху туморни клетки P-815 и P-388. Всички съединения са показали цитотоксична активност върху използваните туморни клетъчни линии [139,140].

Проявяването на физиологична активност при хидроксикумарините е свързано с наличието на свободна фенолна хидроксилна група в състава на молекулите на тези съединения. На 7,12-диметилбенз(а)антрацен-индуциран рак на млечна жлеза на мишки диметоксипроизводното лиметин



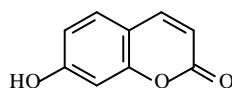
(28)

се проявява като по-активно противотуморно съединение, отколкото частично деметилираното производно скополетин,



(29)

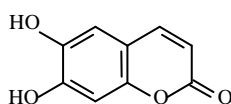
докато умбелиферонът (23a) изобщо не проявява протективни свойства.



(23a)

Значителна противотуморна активност са показали диметоксикумарините и спрямо клетки L1210 [126].

Съществуват данни за взаимодействието на ескулетин



(30)

с мембраната на еритроцитите и на кумарин с повърхността на клетките на меланома, потвърждаващи мембранната активност на кумарините.

Weber et al. представя антитуморната активност на кумарин и 7-хидроксикумарин върху няколко човешки туморни клетъчни линии [54]. Кумаринът

метаболизира в човешкия организъм в 7-хидроксикумарин. Доказано е, че и двете съединения инхибират клетъчната пролиферация на карцином на стомаха (Caco-2), на карцином на черния дроб (Hep G2) и на лимфната тъкан (CCRFcem).

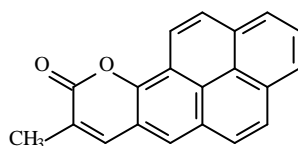
Наблюдавана е *in vitro* цитостатична активност на монохидроксикумарини (3-4-, 6-, 7-, 8-монохидроксикумарин), техните ацетати и метилетери върху клетки от миши меланом (B16-F10) [141]. За целта е използван МТТ-методът. Най-активни са се оказали 3-ацетоксикумарин, 4-метоксикумарин и 6-хидроксикумарин.

Al-Jorany описва антипролиферативния и цитотоксичен ефект на ескулин, скополетин и умбелиферон върху поредица от човешки лимфоидни, миелоидни и еритроидни клетъчни линии *in vitro* [142]. Ескулинът инхибира пролиферацията на значителен брой туморните клетъчни линии, като най-чувствителна към ефекта на ескулин е KG-1. *In vivo* изследванията показват, че ескулин, скополетин и умбелиферон са потенциални инхибитори на костномозъчната митоза.

Nakagawa [14] изследва цитотоксичния ефект на дикумарол върху изолирани от плъх хепатоцити.

Takahashi N. et al. съобщава за противотуморни лекарства, съдържащи куместан и 3-арилкумарин. Тяхната активност е доказана върху мишки [89].

Harvey R. G. et al. прилага нов метод за синтез на полициклични съединения на кумарина с противотуморни свойства. Предварителните изследвания на биологичната активност на получените бензо- α -пиренкумарини, аналози на съединението



(31)

показват, че те са потенциални инхибитори на тумори [25]. Полицикличните кумарини все повече се утвърждават като химиотерапевтични агенти за лечение на злокачествени новообразувания.

Pradhan et al. [23] представя синтез на нови азокумарини, които са подложени на скрининг за антимикробна активност, както и за противотуморен потенциал и резултатите са обещаващи.

Duhaiman A. S. [18] описва синтеза и охарактеризирането на 8-нитро-7-хидроксикумарин. Определени са цитотоксичната и цитостатичната активност на

съединението, като за целта са използвани човешки и животински клетъчни линии *in vitro*. 8-Нитро-7-хидроксикумарин е цитотоксичен спрямо три клетъчни линии и цитостатичен към всички клетъчни тест-системи.

Синтезирани са поредица производни на 3-аминокумарин, които са изследвани за антимикробна, антитуморна и антивирусна активност [143].

Magiatis et al. [39] и Bhide V. H. [40] описват известни и новосинтезирани пиранокумарини от групата на сеселин и ксантилетин. Изследвана е цитотоксичната им активност *in vitro* върху левкозните L-1210 клетки. Определени са най-активните съединения.

Синтезирани са серия флуоресциращи аналози на метоксикумарин. Цитотоксичната им активност е изследвана чрез МТТ-метода върху две човешки клетъчни линии H69/P и H69/LX4 от рак на белия дроб [144].

Проучен е цитотоксичният ефект на хидроксилните радикали, продуцирани в биологични системи [145].

6,12-Дихидро-1-бензопирано-(3,4b)-(1,4)-бензотиазин-6-он, производни на кумарини, са сравнени по отношение на тяхната цитотоксична активност върху левкемични HL-60 клетки [146].

Valenti et al. [147] са описват кумариноцетна киселина, флавонолоцетна киселина и флаваноноцетна киселина. Цитотоксичният ефект на синтезираните съединения е определен върху карцином на дебелото черво (LoVo-човешка клетъчна линия).

Изследван е механизмът на остра кумарин-индуцирана хепатотоксичност на плъхове, като е сравнен ефектът на кумарин с тези на поредица от метилпроизводни на кумарина [88]. Резултатите показват, че острата кумарин-индуцирана хепатотоксичност върху плъхове се дължи на образуването на кумарин-3,4-епоксид като междинно съединение.

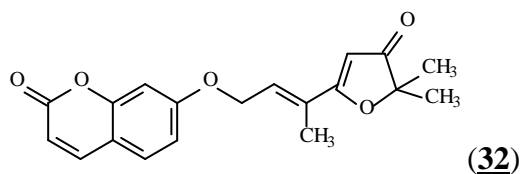
Leiner et al. [101] описва псорален- и кумарин-спрегнати с пиrol- и имидазол-съдържащи дистамицинови аналози. Съединенията са активни върху K-562 левкемични клетки [148]. Връзката структура-активност е изследвана за 5-, 7- и 8-заместените кумарини. Фармакологичните данни показват, че заместителят на осма позиция има значителен ефект върху активността им. Когато има само хидроксилна група на седма позиция активността е най-висока в сравнение с останалите, но когато има метилова група на осма позиция, редът на активност се променя.

Dalla V. L. et al. синтезира тетрахидробензо- и бензопсораленови производни, носещи на пето и осмо място от фуранокумариновия фрагмент: метокси-, хидрокси-, диметиламинопропокси-странични вериги [99]. Те показват фотоантипролиферативна активност върху HeLa-клетъчна линия.

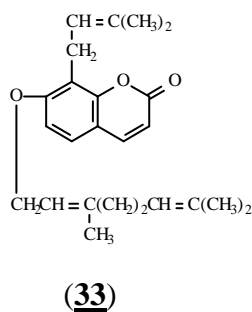
С цел да докаже цитотоксичното и/или цитостатично действие на кумарини върху туморни клетки, Mc. Culloch P. et al. изследва ефекта на Warfarin върху растежа на туморните клетки. Оказва се, че Warfarin инхибира метастази от Mtn3 rat mammary carcinoma без да засяга туморния растеж [149].

Bordin et al. съобщават за ефекта на кобалт-60-гама лъчи върху туморни клетки в присъствието на производни на фурукумарин [150].

Синтезирани са аналози на сложно 7-заместени кумаринови производни с известен антитуморен ефект, като Гейпарварин и др. [151].



Meyer V. N. et al. изолира флавоноиди, кумарини и алкалоиди от *Sargentia greggii*. Екстрактът, съдържащ кумарините 3-(α,α -диметилалил)хернианин, сеселин и о-геранилостенол, показва изявена антитуморна активност [78].



Цитогенин (8-хидрокси-3-хидроксиметил-6-метоксиизокумарин) е изследван за цитотоксичност върху миши и човешки туморни клетки *in vitro* [152]. Kumagai et al. [71] изследва антитуморния ефект на цитогенин върху миши ИМС карцином. Доказано е, че той не проявява забележим ефект върху туморни клетки *in vitro*. Вероятно противотуморният ефект се дължи на различен механизъм на действие *in vivo*.

ItoKawa, H. et al. изучава нискомолекулни имуномодулатори за третиране на някои неизлечими заболявания, включително хематологични и възпалителни.

Изследваните имуномодулатори са продуцирани от микроорганизми. Между тях са описани цитогенин и цитобластин [153].

Охратоксинът (хлородихидроизокумарин), свързан чрез amidна връзка с фенилаланин е микотоксин и се съдържа в хранителните продукти. За него е доказано, че е нефротоксичен, генотоксичен, с мутагенен и канцерогенен ефект върху гризачи [154]. Rasonyi et al. [65] доказва канцерогенния му ефект върху рак на бъбрека при плъхове.

Известни кумарини, вкл. и умбелиферон, са показали значителна цитотоксична активност върху P388 клетъчна линия. Кумарините са изолирани от корените на *Angelica gigas* (*Umbelliferae*) [154]. За цитотоксична активност на новосинтезирани бискумарини съобщават Zhang H. et al. [155]. Riveiro et al. [156] намират нови противотуморни свойства на известни кумаринови производни [157].

1.9. Противовъзпалителна и антиалергична активност

От известните молекулни механизми на противовъзпалително действие на кумарините следва да се отбележи инхибиращата активност на хидроксикумарините по отношение на фермента липооксигеназа. Ескулетинът инхибира липооксигеназата на тромбоцитите много по-активно, отколкото другият простагландин-образуващ фермент – циклооксигеназа. Кумарините са по-активни инхибитори на липооксигеназа, отколкото хидрохинон, галова и аскорбинова киселина. Доказано е, че хидроксилната група в седмо положение е необходима за проява на активност, като при това хидроксилна група в съседно положение (6- или 8-) засилва инхибиращото действие.

Много от споменатите хидроксикумарини могат да се изолират от растения, които традиционно се използват за лечение на възпалителни и алергични заболявания. В сравнение с други известни инхибитори на липооксигеназа, хидроксикумарините са по-достъпни и с по-висока селективност, което определя тяхната перспективност и като терапевтични средства, и като инструменти за биохимичен анализ на механизмите на действие.

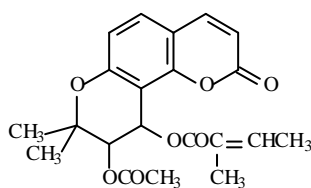
Известната противоалергична активност на хидроксикумарините се дължи на способността им да инхибират алдозоредуктазата [126].

1.10. Ефект върху калциевите канали

Изследван е ефектът на природни кумарини с различни структури върху миокардни клетки. Кумарини, изолирани от *Angelica decursiva* (Umbelliferae), decursinol и podakenetin, както и антикоагулантът дикумарол блокират в значителна степен бавните калциеви канали. Инхибиращият ефект е във връзка с антагонистичното им действие върху калциевите канали [158].

Кумарини, изолирани от *Heraclium scabridum* и изследвани *in vivo* и *in vitro* показват аналгетично, мускулно-релаксантно и брадикардно действие [159].

3'-Ангелоилокси-4'-ацетокси-3',4'-дихидросеселин, изолиран от *Peucedanum praeruptorum*



(34)

и други подобни съединения се проявяват като калциеви антагонисти. Действието им зависи от химичната структура на съединенията. Ацетокси групата на 3',4'-позиция в сеселиновия или ксантилетиновия скелет е в основата на инхибиращия им ефект [160].

Провеждан е скрининг на природни продукти (екстракти от *Waenninghausenia albiflora*), за да се установи ефектът им върху калциевите канали [97]. Wachter G. A. et al. изследва кумарини, изолирани от *Peucedanum palustre*, които показват ефект върху калциевите канали [161]. Hart J.A.D. изолира и идентифицира кумарини от *Angelica archangelica* със същото действие. Те са изследвани за калциево-антагонистична активност. Проявяват ефект, както и екстрактите [162].

Синтезирани са кумарин-1,4-дихидропиридинови производни. Съединенията показват селективен инхибиторен ефект върху миокардния контрактилитет и честота.

I.11. Фотосенсибилизиращо действие

То е характерно за фуранокумарините от псораленов тип. При тях е установена зависимост структура-действие. С най-висока активност е псораленът като неговите метоксипроизводни бергаптен и ксантотоксин също са високо

ефективни. С-Метилните производни на псоралена са няколко пъти по-активни от изходното съединение [1].

Фотосенсибилизиращото действие намира приложение в терапевтичната практика при витилиго и гнездова плешивост (alopecia areata), за PUVA-терапия при псориазис – псорален + UV-A облъчване.

Лекарственият продукт Methoxalen съдържа растителни фуранокумарини с фотосенсибилизиращо действие. Стимулира образуването на пигмент в кожата и растежа на косата, засилва действието на UV-лъчите, които влияят върху меланогенезата. Препаратът потиска предимно ДНК-синтезата в епидермалните клетки. Прилага се за PUVA-терапия при псориазис, витилиго, alopecia areata, червен плосък лишай и др. [5].

I.12. Антивирусна активност

Открита е антиретровирусна активност за някои 4-хидроксикумаринови производни. Най-общо техният механизъм на действие се състои в блокирането на вирусните ензими HIV-1 протеаза и интегразата.

Нов нуклеотиден антивирусен препарат е 5,7-диацетокси-4-фенилкумарин [163]. Притежава активност срещу ДНК-вируси (например Herpes simplex virus).

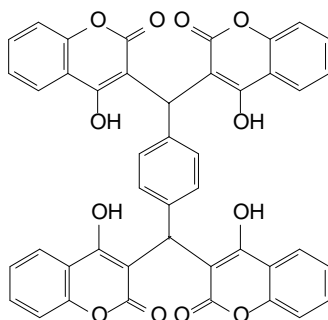
I.12.1. Анти – HIV лекарствени продукти

1) HIV-1 интегразни инхибитори

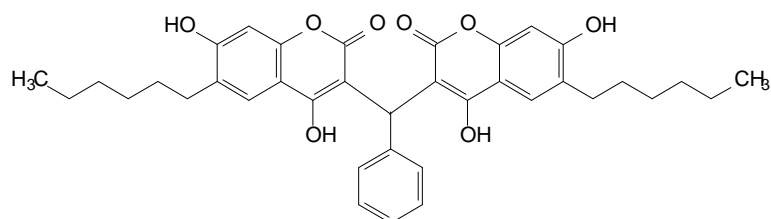
Процесът на интеграция е важна част от цикъла на репликация на HIV. Ензимът интегразата липсва в организма на здрави хора. Той е потенциална мишена за разработване на нетоксични антиретровирусни лекарства.

Известно е, че някои 4-хидроксикумарини проявяват активност срещу изолирана HIV-1 интегразата - **35** (производно, съдържащо четири 4-хидроксикумаринови ядра) [89]. Mazumder et al. съобщава за инхибиторната активност на тетрамерен 4-хидроксикумарин върху HIV-1-интегразата [164]. Веществото е активно върху изолирана HIV-1 интегразата и върху клетъчни линии – заразени СЕМ клетки. То инхибира 3'-разкъсването на вирусната ДНК и вграждането на този фрагмент вирусна ДНК в човешкия геном. Съединението блокира и HIV-протеазата. Същите автори описват и други 4-хидроксикумаринови производни с активност към протеазата и интегразата, но по-слабо активни, като

съединение **26** (съдържа две 4-хидроксикумаринови ядра). То проявява по-висока активност към вирусната протеаза от **35**.

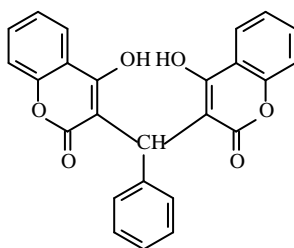


35



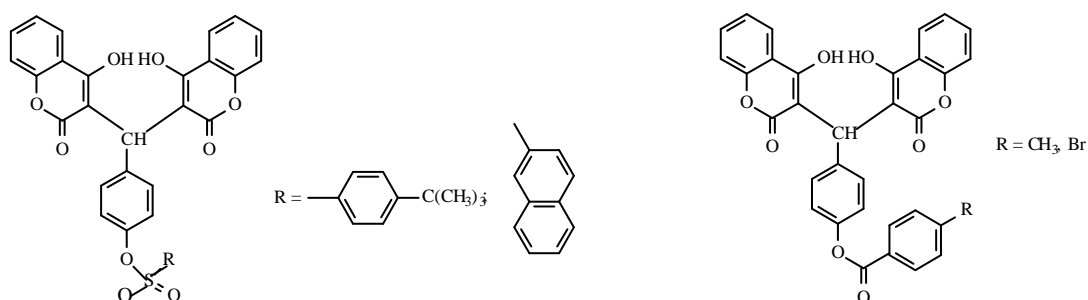
36

Zhao et al. определя, че минимално необходимият структурен елемент за осъществяване на инхибиране на HIV-1 интегразата е 4-хидроксикумаринов димер с арилов заместител при метиленовата група, свързваща двата кумаринови фрагмента **26** [165].



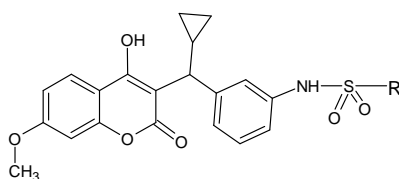
(26)

Мао Р.С.М et al. изследва HIV-1 интегразата инхибиращата активност на модифицирани 4-хидроксикумаринови димери [166]. Определя, че най-ниска IC₅₀, респ. най-висока активност имат съединенията, съдържащи хидрофобен компонент, свързан чрез сулфонилокси- или бензоилокси-група към бензеновото ядро при метиленовата група на кумариновия димер:



Изследвана е активността към HIV-протеазата на някои 3-фенил-4-хидроксикумарини, 3-бензил-4-хидроксикумарини, 3-фенокси-4-хидроксикумарини, 3-бензенсулфонил-4-хидроксикумарини, 3-(7-кумаринилокси)-4-хидроксикумарини [119]. Данните показват важността на заместителите на пето и седмо място в кумариновия пръстен върху инхибиторната активност на производните.

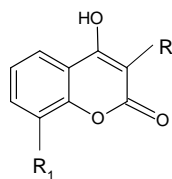
Съществуват експериментални данни за анти-HIV-протеазна активност на 4-хидроксикумарини, които съдържат сулфонамидна група в молекулата си [167].



38

R = флуорофенил-, цианофенил-, нафтиридин-, N-метилимидазол.

Някои фенилови и бензилови производни на 4-хидроксикумарина със заместители на трето място също проявяват добра анти-HIV-протеазна активност [168].



39

| No. | R | R ₁ | IC ₅₀ {μmol/l} |
|-----|---|-----------------|---------------------------|
| 39a | -C ₃ H ₆ -O-C ₆ H ₅ | H | 2,7 |
| 39б | 3,4-диметоксибензил | H | 84 |
| 39в | 3,4-диметоксибензил | CH ₃ | 23 |
| 39г | бензил | фенил | 8,1 |
| 3a | C ₆ H ₅ -CH-CH ₂ COCH ₃ | H | 18 |

От представените данни се вижда, че най-активното съединение е **39a**. Съединение **3a** (Warfarin) проявява анти-HIV-протеазна активност.

2). HIV-протеазни инхибитори

Ензимът протеаза участва в крайния етап на свързване на вирусните частици. В литературата има данни, че 3-заместените 4-хидроксикумарини проявяват свойства на протеазни инхибитори [169].

Mitra A. K. et al. синтезират бензилиден-бис(4-хидроксикумарини) с различни заместители в бензеновото ядро в търсене на по-добри непептидни HIV-протеазни инхибитори [170].

Ето защо фенилметиленидикумаролите са перспективни съединения за създаване на лекарства, инхибиращи едновременно HIV-интегразата и HIV-протеазата [171].

I.13. Уреазни инхибитори

Уреазата е ензим, който разгражда карбамида до амоняк и въглероден диоксид и е фактор на патогенността на някои видове бактерии, причиняващи заболявания при човека и животните. Например *Proteus mirabilis* и *P. vulgaris*, сем. *Enterobacteriaceae*, които са чести причинители на уроинфекции, продуцират голямо количество уреаза. Образуваният в резултат на уреазната активност амоняк алкализира урината и причинява отлагането на фосфатни конкременти в бъбречното легенче (фосфатна нефролитиаза).

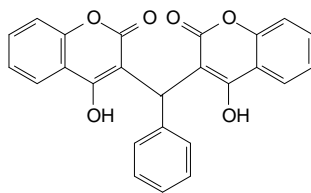
Ureaplasma urelyticum за разлика от другите микоплазми също продуцира уреаза. Този микроорганизъм е причинител на пиелонефрити, цервицити, фертилни смущения и др.

Уреазата е важен фактор на патогенността и на *Helicobacter pylori*.

Полученият амоняк позволява бактерията да преживява при ниските стойности на рН на стомаха и уврежда епителните клетки.

Затова се търсят вещества, които да блокират този ензим и да намалят патологичните му влияния. Кумарините проявяват и уреаза-инхибиращо действие. Някои синтетични производни на дикумарола показват уреаза-инхибираща активност [172]. Установено е, че най-силна уреаза-инхибираща активност проявяват вещества със заместители във фениловия остатък при С-9. Мета-заместено ароматно ядро индуцира по-голяма активност, докато *o*- и *p*-заместителите са по-

слабоактивни. Показано е, че дикумаролът и неговите производни са водещи структури при търсене на нови уреазни инхибитори.



26

Khan et al. изследва уреазна-инхибиращата способност на бискумарини [173]. Някои от тях показват добра инхибираща активност. Незаместеният дикумарол е дори по-активен от приетия за стандарт уреазен инхибитор тиокарбамид.

I.14. Добавки към торове

Уреазна-инхибиращата активност на бискумарините може да намери приложение и за повишаване добивите на различни земеделски култури, тъй като много от почвените бактерии са уреазно-продуциращи. Те разграждат карбамида в почвата, чрез което намаляват усвояването му от растенията. Полученият амоняк действа токсично чрез повишаване рН на почвата и се отделя в атмосферата като предизвиква екологично замърсяване.

I.15. Хербициди

Кумарините притежават свойства на регулатори на растежа при някои растения – в ниски концентрации го усилват, а във високи го потискат [1]. За редица кумаринови производни е установена хербицидна активност, което е основание веществата да намират приложение и в агрономството [123]. Chavasiri et al., установяват, че 3,3'-бензилиденбис-4-хидроксикумарините с хидрокси- или метоксигрупи в бензилиденовия остатък проявяват висока хербицидна активност срещу плевела *Mimosa pigra* [59, 60]. Показано е, че съединения със заместители в орто-позиция на фенилметиленовия остатък се оказват по-ефективни от тези със заместители в пара-позиция. Няколко новосинтезирани кумаринови производни на дикумарола са изследвани и описани като по-активни от някои търговски марки хербициди. Тези съединения могат да са изходни за създаване на нови хербициди. Alexieva et al. също показват, че кумарините и бискумарините забавят растежа на растенията, като в повечето случаи ефектът е по-изявен при бискумарините [62].

I.16. Приложение в биохимията и молекулярната биология

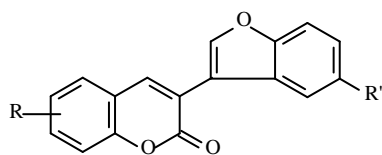
Кумарините притежават свойството да флуоресцират при облъчване с UV-светлина, поради което се използват като флуоресцентни маркери за нуклеинови киселини и олигонуклеотиди в хибридизационния анализ (FISH – флуоресцентна *in situ* хибридизация), като флуорогенни субстрати в тестове за идентичност на микроорганизми, маркери за антигени при имунологични изследвания, флуоресцентни сонди за изучаване на биологични мембрани и липидни бислоеве и др.

Флуоресценцията на някои кумарини (напр. умбелиферон, химекромон и др.) зависи от рН и те се използват за измерване на вътреклетъчното рН чрез флуориметрия. [174],

I.17. Други фармакологични свойства

Кумарини намират приложение като инсектициди за борба с насекоми, вредители по растенията или паразити при животните [175].

Синтезирани са 3-(3-бензофуранил)кумарини и е доказано, че някои от тях проявяват успокоително, аналгетично и хипотензивно действие [176].

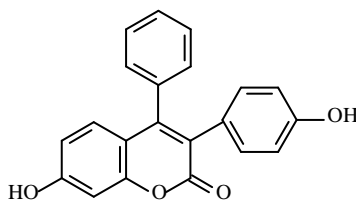


(40)

В литературата има данни от изследвания на антипиретичните свойства на кумарини [177, 178].

7-Хидрокси-4-фенил-3-(4-хидроксифенил)кумарин показва потенциална контрацептивна активност без да предизвиква стерилитет. Той проявява естрогенна активност в дози, много по-ниски отколкото ефективните интерсептивни дози. Същото съединение има андрогенна и прогестогенна активност [179].

Ran S. изследва фармакологично и токсикологично 7-хидрокси-3-(4-хидроксифенил)-4-фенилкумарин



(41)

като потенциален контрацептивен агент [182].

3,9-Дихидрокси-5Н-бензофуоро(3,2-с)хинолин-6-он има структура, която е много близка до тази на фитоестрогена куместрол. Доказано е, че има и уникален ефект на инхибиране на костната резорбция и на стимулиране на костната минерализация [180].

Racz G., Osan A. [181] разглеждат действието на високи дози Warfarin върху калцификацията на множество артерии и на сърдечната клапа на аортата.

Токсикологията и фармакокинетиката на кумариновите производни е изследвана подробно и описана в литературата [183 - 189].

I.18. В лазерната техника

Кумаринови производни се прилагат и като нелинейни материали за течнокристални лазери, лазерни бои, активатори за фотополимери, записващи материали, цветни филтри и др [190].

I.19. В аналитичната практика като киселинно-основни индикатори

Киселинно-основните индикатори са слаби протолити, при които протонираната и депротонираната форма имат различен цвят. В кисела среда преобладава протонираната, а в алкална – депротонираната форма на индикатора, което е причина за промяна на цвета при различно рН на средата.

Киселинно-основните индикатори могат да бъдат двуцветни – когато и протонираната, и депротонираната форма притежават цвят или едноцветни – когато едната от двете форми е безцветна [191].

Кумариновото ядро е хромофор с абсорбционен максимум при 306-320 nm [192]. Присъствието на ауксохромни заместители може да доведе до батохромно отместване с поява на абсорбция във видимата област. При заместители с киселинно-основни свойства дължината на вълната, при която се наблюдава абсорбционен максимум, зависи от тяхното протониране или депротониране.

Известно е, че 7-хидроксикумарините показват синя флуоресценция, която изчезва в кисела среда.

Shan N.M. и Dave L.D. изследват индикаторните свойства на 6-ацетил-4-метил-5-хидроксикумарин. В алкална среда съединението се оцветява ярко жълто, а в кисела среда е безцветно. При използването му се получават резултати сходни с тези при фенолфталеина [193].

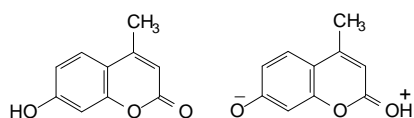
4-Хидроксикумарините, поради наличието на спрегнати двойни връзки, проявяват добра абсорбционна способност в UV-областта, а някои от тях притежават изразена флуоресценция. Флуоресцентните свойства на 7-хидроксикумарин и 4-метил-7-хидроксикумарин са изследвани в присъствие на киселини във водни разтвори с различна концентрация на хлоридния анион като флуоресцентен гасител [194].

Проучени са синята и синьо-зелената флуоресцентни ивици на 7-хидроксикумарин във воден разтвор като функция от рН и дължината на вълната, при която има възбуждане на молекулата [195]. Корелацията на абсорбционните и емисионните спектри при няколко различни рН-стойности обясняват основното и възбуденото състояние на киселинно-основните видове и профилите на флуоресцентна интензивност-рН. Изследвани са абсорбционните и флуоресцентните спектри на умбелиферона. Намерено е, че във възбудено състояние базичността на α -пироновия фрагмент надвишава тази на фенолатния анион [196].

Снети са флуоресцентните спектри на 3-аминокумарина при 77 К. Установено е, че при различни стойности на рН са налице две йонизирани форми [197].

Описани са синтеза, абсорбцията, флуоресцентните спектри, както и рK_a стойностите на 7-хидроксикумарините с електроноакцепторни заместители в положение 3. Изучено е влиянието на киселини и основи върху флуоресценцията на 6-амино-4-метил-7-хидроксикумарин в разтвор [198].

Изследвана е кинетиката на тавтомеризация на 4-метил-7-хидроксикумарин. Установено е, че съществуват две тавтомерни форми – неутрална и цвитерйон (**236**).



(236)

Изследвано е влиянието на трифлуорооцетната киселина (ТФОК) и триметиламина върху флуоресценцията му в различни разтворители [199].

Описано е киселинно-алкалното поведение на 3-етоксикарбонил-4-(2-*p*-диметиламинофенилетенил)-кумарин в разтвор като потенциален киселинно-основен индикатор [200].

Изследвани са някои хидроксикумарини, които претърпяват цветни промени при различни стойности на рН. 5-Хидроксикумарини в алкален разтвор се оцветяват в жълто и се обезцветяват при подкиселяване [201].

Michaylova, V. et al. изследват киселинно-основните индикаторни свойства на някои кумаринови производни [202]. Например 3-карбетокси-4-[2-[4-(диметиламино)фенил]-етенил]кумарин има няколко цветни прехода и използването му в титриметрията е показало добри резултати.

В литературата не са намерени данни за киселинно-основни индикаторни свойства на бискумаринови или 4-хидроксикумаринови производни.

Всички тези и други биологични свойства на кумарините и редица техни не по-малко интересни физикохимични свойства позволяват да се намери тяхното полезно приложение не само в медицината, но и в промишлеността и в селското стопанство.

ЛИТЕРАТУРА

1. Асенов И., Николов С. *Фармакогнозия*. София, Медицина и физкултура, 1988.
2. **Костова И., Манолов И., Атанасов П. Биологични свойства на кумарините**, Медицински преглед, 2004, **60**, Приложение 1, 5-26. ISSN **1312-2193**.
3. Дряновска-Нонинска Л. *Фармацевтична химия*, МФ, София, 1977, 347.
4. Караиванова М., Данчев Н. и кол. *Фармакология*, под редакцията на Караиванова М., София, Аси, 2003 г.
5. Thijsen H. H. W., Vaars L. G. M., Vervoort-Peters H. T. M. *Brit. J. Pharmacol.* **95**, 675-682 (1988). [128-St.].
6. Крушков, И., Ламбев И. *Фармакотерапевтичен справочник*, София, 2002 г.
7. Obaseki A., Coker H. *J. Pharm. Pharmacol.* **39**, 142-144 (1987).
8. Chen Y. L. Wang T. C., Lee K. H., Tzeng C. C., Chang Y. L. Teng C. M. *Helv. Chim. Acta* **79**, 651-657 (1996).
9. Kerins G. M. *Comp. Haematol. Intern.* **9**, 76-82 (1999).
10. Mesenheimer T. M., Lund M., Baker A. E. M. *Biochem. Pharmacol.* **47** (4), 673-678 (1994).
11. Okuyama T. et al. *Chem. Pharm. Bull.* **38** (4), 1084-1086 (1990).
12. Singh R. et al. *Pestic. Sci.* **20** (2), 125-130 (1987).
13. Gupta S. et al. *Indian J. Exp. Biol.* **23** (11), 638-640 (1985).
14. Nakagawa Y. *Toxicol. Lett.* **84** (2), 63-68 (1996).
15. Orlov Yu. E. *Khim. Prir. Soedin.* **3**, 367 (1986).
16. Stacchino C., R. Spano A. Pettiti. *Bull. Chim. Pharm.* **122**, 158-160 (1983).
17. Kerr J. S. et al. *Thromb. Res.* **88** (2), 127-136 (1997).
18. Duhaiman A. S. *J. Protein Chem.* **15** (2), 261-264 (1996).
19. Huang H. L. et al. *Yao Hsueh Hsueh Pao* **31** (6), 431-436 (1996).
20. Hanmantgad S. S., M. V. Kulkarni V. D. Patil. *Rev. Roum. Chim.* **30** (8), 735-741 (1985).

21. Khalil S. A. *Int. J. Pharm.* **19** (3), 307-321 (1984).
22. Sandler A. *Drug Intel. Clin. Pharm.* **4** (6), 146-148 (1970).
23. Pradhan A., V. Pradhan V. S. Jolly. *Orient J. Chem.* **10** (1), 73-74 (1994).
24. Thonnart N. *C. R. Soc. Biol.* **167** (6), 1081-1085 (1973).
25. Harvey R. G. et al. *J. Org. Chem.* **53** (17), 3936-3943 (1988).
26. Wang Richard H. S. *Appl.* 693,489, US 4,788,298 (Cl.C07D311/16), 1985 (CA, **110**, 114680).
27. Matsuda T. *Chiryogaku* **10** (6), 946-949 (1983) (CA, **99**, 168847).
28. Boschetti E., Molho D., Fontaine L. *Fr. Appl.* 6801,383, SA 6801,383, 1967 (CA, **70**, 90732).
29. O'Reilly R., Ohms J., Motley C. *J. Biol. Chem.* **244** (5), 1303-1305 (1969).
30. Smirnova T. V., et al. *Tr. Inst. – Mosk. Khim.-Tekhnol. Inst. Im. D. I. Mendeleeva* **149**, 92-97 (1987).
31. Balint S. *Appl.* 84, 12, 801, WO 8600,904 (Cl. C07F9/40), 1984 (CA, **105**, 134144).
32. Kirkiacharian S. et al. *Ann. Pharm. Fr.* **57** (4), 332-339 (1999).
33. Ritschel W. A., Denson D. D., Grummich K. W. *Arzneimittelforschung* **38** (11), 1619-1623 (1988).
34. Hunter K. *J. Chromatogr.* **270**, 277-283 (1983).
35. Ichibagase T., Ichikawa M., Nagasaki S. *Appl.* 70, 24,985, JP 70 24,985 (Cl. 16E41), 1968 (CA, **73**, 98958).
36. Moore E. J. *Assoc. Off. Anal. Chem.* **70** (5), 834-836 (1987).
37. Nagashima R., O'Reilly R., Levy G. *Clin. Pharmacol. Ther.* **1**, 22-35 (1969).
38. Silveira W., Bernardino A. *Appl.* 87, 724 PI BR 87 00,724 (Cl. C07D311/02), 1987 (CA, **110**, 135088).
39. Magiatis P. et al. *J. Nat. Prod.* **61** (8), 982-986 (1998).
40. Bhide B. H. *Proc. Indian Acad. Sci. [Ser.] Chim. Sci.* **91** (5), 437-440 (1982).
41. Lu, H. D. et al. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **833**, 147-153 (1997).
42. Kayser, O., H. Kolodziej. *Z. Naturforsch. [C]* **54** (3), 169-174 (1999).
43. Abd. Rahman, A. H., A. M. Khalil, M. M. Girges. *Boll. Chim. Farm.* **137** (10), 387-394 (1998).
44. Mc Culloch P., George W. D. *Br. J. Cancer* **59** (2), 179-183 (1989).
45. Vevelka K., Kudela V. *Appl.* 84, 9, 987, CS 251, 648 (Cl. A01N43/16), 1988 (CA, **110**, 130518).

46. Shah A. et al. *Anticancer Res.* **18** 910, 61-63 (1998).
47. Raj H. G. et al. *Bioorg. Med. Chem.* **6** (6), 833-839 (1998).
48. Merchant I. R. *Chem. Ind. (London)* **23**, 955 (1982).
49. Lake B. G. et al. *Food Chem. Toxicol.* **32** (4), 357-363 (1994).
50. Krohn K. et al. *Phytochemistry* **45** (2), 313-320 (1997).
51. Kam C. M. et al. *J. Med. Chem.* **37** (9), 1298-1308 (1994).
52. Ritschel W. A. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* **4** (6), 407-411 (1982).
53. Vladimirov Yu. A. et al. *Byull. Eksp. Biol. Med.* **113** (5), 479-481 (1992).
54. Weber U. S., Steffen B., Siegers C. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* **99** (2), 193-206 (1998).
55. Baraldi P. G. et al. *Tetrahedron Lett.* **26** (43), 5319-5322 (1985).
56. Rybnikar A., Minar J. *Scr. Fac. Sci. Nat. Univ. Purk. Brun.* **15** (7), 379-388 (1985).
57. Samokhvalov A. N., Vishnyakova G. M., Smirnova T. V. T. V. *Izv. Acad. Nauk. SSSR, Ser. Biol.* **1**, 144-147 (1989).
58. Kofinas C. et al. *Planta Med.* **64** (2), 174-176 (1998).
59. Chavasiri W., Deesamer S. et al. *Thai Journal of Agriculture Sciences*, **34** (1-2), 81-89 (2001).
60. Cheav S. L., Kirkiacharian S., Kurkjian R., Pieri F., Poisson D., *Tours Annales pharmaceutiques francaises* **53** (5), 215-219 (1995).
61. Podbielkowska M., Walenza M., Dobrzynska K., Zobel A.M., *Intern. J. Pharm.* **34** (2), 96-104 (1996).
62. **Alexieva V., Sergiev I., Manolov I., Karanov E. *Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci.* **55** (9), 91-98 (2002).**
63. Batra T. et al. *Pestic. Sci.* **25** (1), 53-58 (1989).
64. Smirnova, T. N., *Appl. 2*, 699,146, SU 725, 423 (Cl. C070311/12), 1978 (CA, **99**, 187734).
65. Rasonyi T., Schlatter D. R. Dietrich. *Toxicol. Lett.* **104** (1), 83-92 (1999).
66. Giri S. *J. Agric. Food Chem.* **32** (4), 759-762 (1984).
67. Parfenov E. A., Smirnov L. D. *Khim. Farm. Zh.* **22** (12), 1438-1448 (1988).
68. Schulz J., Schulz M. *Pharm.Ztg.* **135** (39), 51-54 (1990).
69. Rao A. K. *Acta Cienc Indica [Ser.] Chem.* **9** (4), 200-203 (1983).
70. Beeryd B. *Acta Pathol. Microbiol. Scand., Sect. A*, **80** (3), 303-307 (1972).
71. Kumagai H. et al. *J. Antibiot. Tokyo* **48** (2), 175-178 (1995).

72. Rani B. S., Darbarwar M. *Indian J. Chem., Sect. B*, **25** (6), 619-622 (1986).
73. Hanmantgad S. S. et al., *Indian J. Chem.*, **25** (7), 779-781 (1986).
74. Hanmantgad S. S., *Indian J. Chem., Sect. B*, **24** (4), 459-461 (1985).
75. Elstner E. F., Beuscher N N. *Appl.* 3, 715, 990, DE 3, 715, 990 (Cl. A61K31/37), 1987 (CA, **111**, 50435).
76. Wallin R., Patrick S. D., Ballard J. O. *Thromb. Haemost.* **55** (2), 235-239 (1986).
77. Ishizuka M. et al. *Int. J. Immunopharmacol.* **17** (2), 133-139 (1995).
78. Meyer B. et al. *J. Nat. Prod.* **48** (6), 952-956 (1985).
79. Numamoto N. et al. *Appl.* 88, 183, 956, JP 02 36, 178 (Cl. C070311/46), 1988 (CA, **113**, 58941).
80. Gallicchio V. S. et al. *J. Biol. Responce Modif.* **8** (2), 116-121 (1989).
81. Kayser O., Kolodziej H. Z. *Naturforsch. [C]* **54** (3), 169-174 (1999).
82. Haustein K. *Semin. Thromb. Hemost.* **25** (1), 5-11 (1999).
83. Raunio H. et al. *Biochem. Pharmacol.* **37** (20), 3889-3895 (1988).
84. Lake B. G. *Food Chem. Toxicol.* **32** (4), 357-363 (1994).
85. Valenti P. et al. *Anticancer Drug Res.* **8** (5), 349-360 (1993).
86. Stadler M., Anke H., Sterner O. *J. Antibiot. (Tokyo)* **48** (2), 149-153 (1995).
87. Suzuku T. *J. Pharmacobiodyn.* **8** (4), 257-263 (1985).
88. Laprinzi C. L. et al. *N. Engl. J. Med.* **340** (5), 346-350 (1999).
89. Takahashi N. et al. *Appl.* 84, 33, 756, JP 60, 178, 815 (Cl. A61K31/12), 1984, (CA, **104**, 95475).
90. Liu S. X. et al. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* **13** (1), 69-79 (1997).
91. Whyte A. C. et al. *J. Nat. Prod.* **59** (8), 765-769 (1996).
92. Mc Kenzie D. B., Hassner L. R., Newton J. R. *J. Plant. Nutr.* **10** (1), 15-24 (1987).
93. Polson J. B. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **132** (3), 963-967 (1969).
94. Chen J., Paug K. S. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **280**, 24-31 (1997).
95. Stadler M., Anke H., Sterner O. *J. Antibiot. (Tokyo)* **48** (3), 261-266 (1995).
96. Abyshev A. Z. *Deposited Doc., VINITI*, 1667-1684 (1984) (CA, **102**, 214826).
97. Yamahara J. et al. *Yakugaku Zasshi* **107** (10), 823-826 (1987) (CA, **108**, 31620).
98. Aida Y. et al. *Chem. Pharm. Bull. Tokyo* **43** (5), 859-867 (1995).
99. Dalla V. L. et al. *J. Med. Chem.* **42** (21), 4405-4413 (1999).
100. Ammar H. O. et al. *Pharmazie* **52** (12), 946-950 (1997).
101. Leiner S., Hesoun D., Rajsner M. *Appl.* 87, 1, 307, CS 259, 633 (Cl. C07D311/16), 1987 (CA, **111**, 232574).

102. Yamada Y., Nakatani N., Fuwa H. *Agric. Biol. Chem.* **51** (6), 1711-1713 (1987).
103. Prabhakar K.R., Veerapur V.P., Bansal P., et al. *Bioorg. Med. Chem.* 14, 7113-7120 (2006).
104. Yordanov N.D. *Appl. Magn. Reson.* 10 (1996) 339-350.
105. Popov A., Yanishlieva N., Slavcheva J. *Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci.* 21, 443 (1968).
106. Christie W. W. *Lipid Analysis, Bridgwater (England)*. The Oily Press, 208 (2003).
107. Yanishlieva N., Popov A. *Die Nahrung* 15, 671 (1971).
108. Kancheva V. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 111 (2009) (in press).
109. Denisov E.T., Afanas'ev I. B. *CRC Press, Boca Ration* 1024 (2005).
110. Doerffel K. *Statistics in the Analytical Chemistry*, Mir, Moscow, 1994, 251 (in Russian).
111. Kancheva V., Saso L., Boranova P., et al. *5th Indo-Italian Workshop: "Chemistry and Biology of Antioxidants"*, 5-9 July 2009, Rome, Italy, 24.
112. Nishida J., Kawabata J. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70, 193-202 (2006).
113. Nenadis N., Tsimidou M. *JAOCS* 79, 1191-1195 (2002).
114. Torres R., Faini F., Modak B., Urbina F., Labbe C., Guerrero J. *Phytochemistry* 67, 984-987 (2006).
115. Kasaikina O. T., Kortenska V. D., Yanishlieva N. V. *Russ. Chem. Bul.* 48, 1891 (1996).
116. Denisov E. T., Denisova T. G. *Handbook of Antioxidants. Bond Dissociation Energies, Rate constants, Activation Energies and Enthalpies of Reactions*, Second Ed. CRS Press, New York, Washington D.C. (2001).
117. Kancheva V. D., Dinchev D., Tsimidou M., Kostova I., Nenadis N. *Riv. Ital. delle Sost. Grasse* 84, 10-19 (2007).
118. Vermerris W., Nickolson R. *Phenolic Compound Biochemistry*, Springer, Dordrecht, The Netherlands, (2006) 48-61.
119. Kirkiacharian S., Bakhchinian R., Chidiak H., Mazmanian M., Planche C., *Ann. Pharm Fr.* **57**, 251-254 (1999) .
120. Khan K., Iqbal S., Lodhi M.A., Maharvi G.M., Perveen S., Choudhary M.I., Rahman A.U., Chohan Z.H., Supurtan C.L., *J. Enz.I. Med.Chem.***19** (4), 367-371 (2004).

121. Foti M., Piatelli M., Barata M.T., Ruberto G., *J. Agric. Food. Chem.* **44**, 497-501 (1996).
122. Chaichi M. J., Karami A. R., Shockravi A., Shamsipur M., *Spectrochim. Acta* p.A **59**, 1145-1150 (2003).
123. Marinova E. H., Yanisheva N., Kostova I., *Food Chem.* **51** (2), 125-132 (1994).
124. Rodrigues S. A., Nazareno M. A., Maumgartner M. T. *XVII Simposio Nacional de Quimica Organica*, Argentina, Buenos Aires, Oct. 2009.
125. Vladimirov Yu. A. et al. *Byull. Eksp. Biol. Med.* **113** (5), 479-481 (1992).
126. Patnaik, G. et al. *Planta Med.* **45** (2), 517-520 (1987).
127. Evans J. G. et al. *Toxicology* **55** (2), 207-224 (1989).
128. Pahwa G. S. et al. *Indian J. Exp. Biol.* **25** (7), 450-453 (1987).
129. Raju K. M. *Acta Cienc. Indica [Ser.] Chem.* **9** (1), 168-171 (1983).
130. Baele G. *Arzneimittelforschung* **33** (1), 149-152 (1983).
131. Omarbasha B., Fairand W. R., Nestow W. D. *Cancer Res.* **49** (11), 3045-3049 (1989).
132. Chen Yeh-Long et al. *Chinese Pharm. J.* **53** (2), 85-95 (2001).
133. **Манолов И., Караиванова М. Х. Синтез и противометастатични свойства на 4-хидрокси-3-(3-оксо-1-фенилбутил)-2Н-1-бензопиран-2-он (Варфарин), Фармация, 1990, 40 (2), 1-6.**
134. Hagmar B., *Pathol. Eur.* **4** (3), 283-292 (1969).
135. Handler J. et al. *Prev. Cardiol.* **1** (4), 13-20 (1998).
136. Belmadani A. et al. *Arch. Toxicol.* **72** (10), 656-662 (1998).
137. Luzzatto G. et al. *Arzneimittelforschung* **36** (6), 972-973 (1986).
138. Lake B. G. *Arch. Toxicol. Suppl.* **7**, 16-29 (1984).
139. Rosskopf F., Kraus J., Franz G. *Pharmazie* **47** (2), 139-142 (1992).
140. Ratanasavanh D. et al. *Fundam. Clin. Pharmacol.* **10** (6), 504-510 (1996).
141. Kachur A. V., Tittle S. W., Biaglow J. E. *Radiat. Res.* **150** (4), 475-482 (1998).
142. Al-Jorany K. H. A. *Dirasat. Med. Biol. Sci.* **25** (2), 138-149 (1998).
143. Tsutsumi N. et al. *Jpn. J. Pharmacol.* **67** (2), 169-171 (1995).
144. Rybnicar A., Minar J. *Scr. Fac. Sci. Nat. Univ. Purk. Brun.* **15** (7), 373-377 (1985).
145. Kaipainen P. *Comp. Biochem. Physiol. C. Comp. Pharmacol. Toxicol.* **81** (2), 293-296 (1985).

146. Shapiro J., Mayer, Schroeder W. *Probl. Nauk. Inst. Chem. Org. Fiz. Politech. Wroclaw* **33**, 8 (1988).
147. Valenti P. et al. *Anticancer Drug Des.* **11** (3), 243-252 (1996).
148. Hunter K. *J. Chromatogr.* **270**, 267-276 (1983).
149. Mc Culloch P., George W. D. *Brit. J. Cancer* **59** (2), 179-183 (1989).
150. Bordin F. et al. *Ric. Sci.* **39** (7), 558-562 (1969).
151. Batra T. et al. *Pestic. Sci.* **25** (1), 53-58 (1989).
152. Abe C. et al. *Int. J. Tissue React.* **17** (6), 175-180 (1995).
153. Itokawa H. et al. *Nat. Med.* **48** (4), 334-335 (1994).
154. Jimenez F. A. et al. *Melanoma Res.* **9** (3), 243-247 (1999).
155. Zhang H., Yu T., Zhao Yu-Ling, Fan D. W., Ding L., Zhang S. *Chem. Res. Chinese Universities* **25** (5), 644-647 (2009).
156. Riveiro M. E., De Kimpe N., Moglioni A., Vazquez R., Monczor F., Shayo C., and Davio C. *Cur. Med. Chem.* **17**, 1325-1338 (2010).
157. Zhen-Feng C., and Hong L. *Anti-Cancer Agents in Med. Chem.* **10**, 412-423 (2010).
158. Ng T. B. et al. *Gen. Pharmacol.* **27** (7), 1237-1240 (1996).
159. Duhaiman A. S. *J. Protein Chem.* **15** (2), 261-264 (1996).
160. Szejtli J. *Appl.* 84, 2, 533, HU 38, 203 (Cl. A01N25/10), 1984 (CA, **105**, 185893).
161. Wachter G. A. et al. *J. Med. Chem.* **41** (13), 2436-2438 (1998).
162. Hart J. A. D. *Biochem. Pharmacol.* **33** (19), 3013-3019 (1984).
163. Marcal de Queiroz P. *Italy PCT Int. Appl.* WO 98 25,608 (Cl. A61K31/37), 18 Jun 1998.
164. Mazumder A., Wang S., Neamati N., Nicklaus M., Sunder S., Chen J., Milue G. W. A., Rice W. G., Burke T. R., Pommier J. *J. Med. Chem.* **39**, 2472-2481 (1996).
165. Zhao H., Neamati N., Houg H., Mazumder A., Wang S., Sunder S., Milue G. W. A., Pommier J. I., Burke T. R. *J. Med. Chem.* **40**, 242-249 (1997).
166. Mao P. C. M., Mouscadet J. F., Leh H., Auclair C., Hsu H. Y. *Chem. Pharm. Bull.* **50** (12), 1634-1637 (2002).
167. Thairivongs S., Janakiraman M.N., Chong K.T., Tomich P.K, Dolak L.A., Turner S. R., Strohbach J.W., Lynn J.C., Horng M. M., Hinshaw R. R., Watenpaugh K.D., *J. Med. Chem.* **39**, 2400-2410 (1996).
168. Tummino P. J., Ferguson D., Hupe L., Hupe D., *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **200**, 1658-1664 (1994).

169. Thairivongs S., Tomich P., et al. *J. Med. Chem.* **37** (20), 3200-3204 (1994).
170. Mitra Alok Kuwar et al. *J. Indian Chem. Soc.* **75** (10-12), 666-671 (1998).
171. Takagaki H., Aoki Y., Nakanishi S., Abe M. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 08 92,086* (Cl. A61K31/37), 9 Apr. 1996.
172. Khan K., Iqbal S., Lodhi M.A., Maharvi G.M., Perveen S., Choudhary M.I., Rahman A.U., Chohan Z.H., Supurtan C.L., *J. Enz.I. Med.Chem.***19** (4), 367-371 (2004).
173. Khan Khalid M., Iqbal S., Lodhi M. A., Maharut G. M., Ullah Z., Choudhary M. I., Rahman A., Perveen S. *Bioorg. Med. Chem.* **12**, 1963-1968 (2004).
174. Chen R. F. *Anal. Lettr.* **1** (7), 423-428 (1968).
175. Shearer M. *Methods Enzymol.* **123**, 223-234 (1986).
176. Hardt T. J., *Avail. Univ. Microfilms Int.* **43** (5), 1445 (1982).
177. Ritschel W. A. *Arzneimittelforschung* **33** (9), 1254-1258 (1983).
178. Ritschel W. A. et al. *Arzneimittelforschung* **38** (10), 1466-1468 (1988).
179. Hagmar B. *Pathol. Eur.* **3** (4), 622-630 (1968).
180. Ulubelen A. et al. *J. Ethnopharmacol.* **45** (3), 193-197 (1995).
181. Racz G., Osan A. *Rev. Roum. Biochim.* **24** (1), 55-60 (1987).
182. Pan S. Z. *Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz* **90** (3), 265-268 (1983).
183. Fujioka T. et al. *Chem. Pharm. Bull. Tokyo* **47** (1), 96-100 (1999).
184. Garrett E. R. et al. *Biopharm. Drug Dispos.* **14**, 13-39 (1993).
185. Grigorev O. A., Khabarov A. A., Kobelev S. N. *Appl.* 3, 774, 630, SU1, 182, 348 (Cl. G01N21/64), 1984 (CA, **104**, 161337).
186. Deng S., Mo Y. *Zhongcaoyao* **19** (10), 454-457 (1988).
187. Thonnart N. C. R. *Soc. Biol.* **167** (6), 1081-1085 (1973).
188. Harmala P. et al. *Phytochem. Anal.* **3** (1), 42-48 (1992).
189. Robson C. et al. *Biochem. Pharmacol.* **56** (7), 807-816 (1998).
190. Dondon R., Khilya V. P., Roshal A. D., Ferry-Forgues S. *New J. Chem.* **23**, 923-927 (1999).
191. Будевски О. *Основи на аналитичната химия*, София, 1995.
192. Sen K., Bagghi P. *J. Org. Chem.* **24**, 316-319 (1959).
193. Shan N. M., Dave L. D. *Curr. Sci.* **10**, 381 (1949).
194. Mulwad V. V., Shirodkar J. M. *J. Heter. Chem.* **11** (3), 199-202 (2002).

195. Friesner R., Banks J., Murphy R., Halgren T., Klicic J., Mainz D., Repasky M., Knoll E., Shelley M., Perry J., Shaw D., Perry F., Penkin P. (2004) Maestro, Macromodel, Glide, XCluster, Schrödinger L.L.C., *J. Med. Chem.* **47**, 1739-1749.
196. Moriya T. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **61**, 753-759 (1988).
197. Subbiah D., Kala S., Mishra A.K. *Chemosphere* **61**, 1580-1586 (2005).
198. Иваницкая С. А., Дилунг И. И. *Журн. Прикл. Спектр.* **29**, 261-265 (1978).
199. Mikeš V. *Coll. Czechoslov. Chem. Commun.* **44**, 508-517 (1979).
200. Shah N. M., Dave L. D. *Curr. Sci.* **10**, 381 (1949).
201. Michaylova V., Dimitrova E., Angelova Y. *Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci.* **4** (4), 29-32 (1995).
202. Michaylova V., Dimitrova E., Angelova Y. *Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci.* **46** (10), 49-51 (1993).

Цел и задачи

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

ЦЕЛ

Целта на настоящия труд е да се изследват химичните свойства, структурните особености и фармакологичното действие на производните на 4-хидроксикумарина.

Във връзка с това са формулирани и следните

ЗАДАЧИ:

1. Да се разработи патентно чиста технология за синтез на антикоагуланти от кумаринов тип с клинично приложение.
2. Да се синтезират структурни аналози на антикоагулантите от кумаринов тип, да се докаже строежът им и да се изследва антикоагулантното им действие.
3. Да се изследва взаимодействието на 4-хидроксикумарин с Шифови бази и се докаже структурата на получените съединения.
4. Да се изучи взаимодействието и ходът на реакцията между 4-хидроксикумарин и 3-ацетилкумарин с помощта на рентгеноструктурен анализ.
5. Да се синтезират бискумарини по реакцията на Кнъовенагел и да се докаже структурата им. Веществата да се изследват за антикоагулантно, цитотоксично, антиоксидантно действие и анти-HIV-активност.
6. Да се синтезират комплексни съединения на кумаринови лиганди с йоните на биогенни d- и f-елементи и да се изучи фармакологичното им действие.

***II. Разработване на патентно
чисти технологии за синтез на
антикоагуланти от кумаринов
тип. Структурни изследвания***

II.1. Лабораторна технология за производство на антикоагуланти от кумаринов тип с клинично приложение

Първите стъпки в областта на производните на 4-хидроксикумарина бяха свързани с опити да се разработи патентно чиста лабораторна технология за получаване на 4-хидрокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2*H*-хромен-2-он, известен в клиничната практика с наименованията Асепосоумарол, Sintrom, Sincoumar, а впоследствие и с българското наименование Niffcoumar.

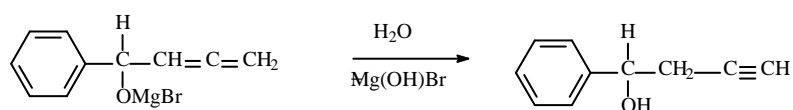
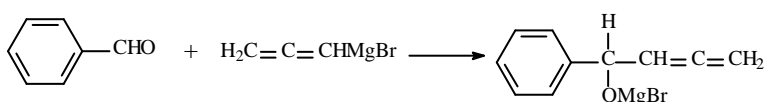
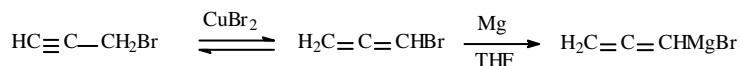
В литературата бяха намерени следните няколко метода за получаване на Асепосоумарол: Еквимолекулна смес от 4-хидроксикумарин и 4-(4-нитрофенил)-3-бутен-2-он се нагрява на маслена баня при температура 135-140 °С в продължение на 12 до 14 ч. След охлаждане втвърдената стопилка се разтваря в ацетон и се прибавя към разреден разтвор на натриева основа при разбъркване. Обработва се с активен въглен, разрежда се с вода, филтрува се от въглена и неразтворените смолисти вещества. Бистрият разтвор се подкислява със солна киселина, при което продуктът се утаява и филтрува. Добивът е нисък, продуктът – силно онечистен [1-3].

По-различен е методът за получаване на Асепосоумарол, при който 4-хидроксикумарин се разтваря в оцетна киселина, към разтвора се прибавя сярна киселина, фосфорна киселина или борен трифлуорид етерат и сместа се нагрява при температура 100–110°С. Към горещия разтвор се прибавя 1-(4-нитрофенил)-3-бутин-1-ол. Реакционната смес се нагрява при температура 110 °С и след охлаждане се излива върху лед. Добивът на Асепосоумарол е около 70 %. Продуктът се използва като родентицид [4,5].

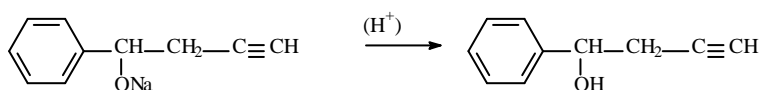
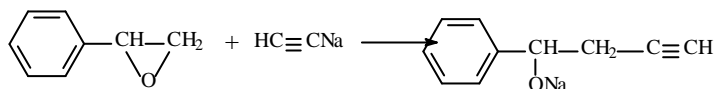
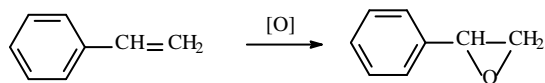
Недостатъци на известните методи са: голяма продължителност на отделните етапи при синтеза и изолирането, работа с големи обеми за получаване на малки количества краен продукт, силно онечистване на суровия продукт със смолисти вещества и значителни загуби при отстраняването им, както и използването на трудно достъпния фенилбутинол и негови производни [4]. Фенилбутинол се получава по следния начин:

Пропаргилбромид изомеризира в бромопропадиен, който се превръща в органомгнезиево съединение – пропадиенилмагнезиев бромид. Бромоаленът се пречиства чрез третиране с диетиламин с последваща двукратна дестилация, след

което се обработва с метален магнезий. Следва взаимодействие на пропадиенилмагнезиевия бромид с бензалдеhid и се получава крайният фенилбутинол. Методът е четиристадиен. Добивът на фенилбутинол е 57 % [6].



Още една възможност за получаване на фенилбутинол е използването на стирен, неговия оксид и взаимодействието му с натриев ацетиленид. Методът е четиристадиен като се включи и получаването на натриев ацетиленид. Добивът не е посочен [7].



Недостатъците и на двата метода са, че те не са подходящи за работа нито в лабораторни, нито в промишлени условия. Използваните реактиви са огнеопасни и взривоопасни. Крайните добиви са ниски и производството е икономически неизгодно.

Разработеният от нас метод се състои във взаимодействие на 4-хидроксикумарин и 4-(4-нитрофенил)-3-бутен-2-он в еквимоларни количества при кипене във водна среда и разбъркване до втвърдяване на органичната фаза. След

охлаждане суровият продукт се изолира и пречиства чрез прекристализация из лед. оцетна киселина.

Предимствата на метода са няколко: използва се вода като реакционна среда, работи се при по-ниска температура, намалено е най-малко наполовина времетраенето на реакцията, съкратени са многобройните операции по изолирането и пречистването на продукта, не се използват големи обеми за получаване на малки количества продукт, полученият продукт е чист и с добър добив [8-10].

Работата с кипяща ледена оцетна киселина води до неприятни последици, свързани с нейната висока токсичност и замърсяване на околната среда. Това беше поводът за модифициране на разработената от нас и утвърдена вече лабораторна технология. Процесът се провежда във водна среда при кипене в присъствие на алкални флуориди (1-15 мол. %) като междуфазови катализатори. Продължителността на процеса на присъединяване се съкращава трикратно, продуктът се пречиства чрез прекристализация из етилацетат, добивът на продукта се повишава с 15 – 18 % [11,12,13] .

В литературата е описано твърде схематично и трудно възпроизводимо препаративното получаване на 4-(4-нитрофенил)-3-бутен-2-он [14,15]. Недостатък на съществуващото в литературата описание е:

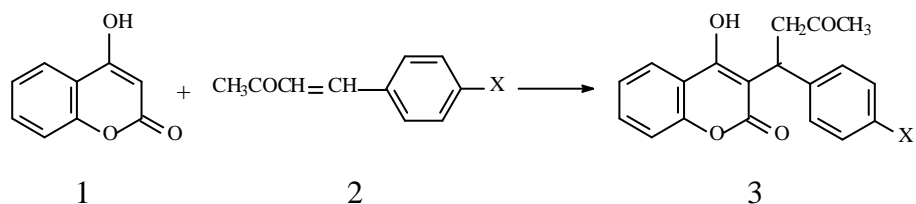
- Съобщава се, че след алкализиране с 1 % разтвор на натриева основа реакционната смес се разбърква около 15 мин. Това време се оказва недостатъчно за пълно протичане на алдолната кондензация;
- Използва се 2 N сярна киселина за подкисляване на реакционната смес и 1 N сярна киселина при кротонизацията – дехидратирането на междинния алдол 4-хидрокси-4-(4-нитрофенил)бутан-2-он, без да е посочено колко трае процесът;
- Не е посочен добивът на 4-(4-нитрофенил)-3-бутен-2-он.

В резултат на нашите изследвания бе разработен оптимизиран метод за получаване на 4-(4-нитрофенил)-3-бутен-2-он. Същността на метода се състои във взаимодействие между *p*-нитробензалдехид и ацетон в молно съотношение 1 : 25. От съществено значение за нормалния ход на алдолната кондензация е постепенното алкализиране на реакционната среда при ниска температура (около 0 °C). При тази температура взаимодействието протича за около 30-35 мин. Реакционната смес се оцветява в тъмнокафяво. В края на реакцията охлаждането се прекратява,

подкислява се с 2 N сярна киселина. Излишъкът от ацетона се отстранява чрез дестилация. Към дестилационния остатък (алдол - 4-хидрокси-4-(4-нитрофенил)бутан-2-он) се прибавя 2 N сярна киселина (в отношение 1 : 7 спрямо изходния р-нитробензалдеhid) и сместа се кипи 1 час. При тези условия алдолът се дехидратира до 4-(4-нитрофенил)-3-бутен-2-он. След охлаждане на реакционната смес при разбъркване се отделят твърди гранули [суров 4-(4-нитрофенил)-3-бутен-2-он], които се филтруват и се сушат на въздуха при стайна температура. Продуктът се прекристализира из метанол. Добивът на пречистен продукт е 69–77 % спрямо теоретично изчисления. Изследванията показаха, че от съществено значение за хода на алдолната кондензация е температурата на реакционната смес по време на прибавяне на натриевата основа да бъде - 5°C, а пречистването на крайния продукт да се осъществи чрез прекристализация из смесен разтворител (вода-низш алкохол 1:1) (метанол, етанол, 1-пропанол, 2-пропанол). По този начин добивът на пречистен продукт е повишен с около 15 %, подобрено е и качеството на продукта [16,17].

В хода на изследванията бяха разработени лабораторни технологии за синтез на Warfarin и Coumachlor. Присъединяването по Михаел, според данните в литературата, е осъществено с участието на алкални фосфати в инертна среда [18-20], при кипене в среда от пиридин [21-23] или във водна среда в присъствие на каталитични количества амоняк [24,25], първични, вторични или третични алифатни или ароматни амини [26-30]. Процесът на присъединяване за получаване на Warfarin трае 42 ч. [31,32], а за Coumachlor – 14 ч. [33].

Изучихме влиянието на междуфазови катализатори върху хода на реакцията на Михаел [12]. Взаимодействието между 4-хидроксикумарин и 4-фенил-3-бутен-2-он се осъществява при кипене в хетерогенна система. Използвани са някои алкиламониени соли и натриев флуорид като междуфазови катализатори.



| | | | |
|------|---|-----------------|----|
| 2, 3 | a | b | c |
| X | H | NO ₂ | Cl |

Таблица 1. Влияние на междуфазовите катализатори върху продължителността на реакцията на Михаел, добива на продуктите и чистотата им

| № | Продукт | Катализатор (%) | Времетраене | Добив, % | Т.т., °С |
|----|---------|---|-------------|----------|----------|
| 1 | 3а | Без катализатор | 42 | 46 | 160-161 |
| 2 | | Бензилтриетиламониев хлорид (2.5 мол. %) | 2 | 66 | 155-158 |
| 3 | | Бензилтриетиламониев хлорид (5.0 мол. %) | 2 | 83 | 155-158 |
| 4 | | Бензилтриетиламониев хлорид (10.0 мол. %) | 2 | 84 | 155-158 |
| 5 | | Тетрабутиламониев хлорид (5.0 мол. %) | 3 | 77 | 150-154 |
| 6 | | Бензилтрибутиламониев хлорид (5.0 мол. %) | 2 | 83 | 156-159 |
| 7 | | Тетраоксиламиониев бромид (5.0 мол. %) | 3 | 75 | 155-157 |
| 8 | | Аликват 336 (5.0 мол. %) | 2 | 68 | 158-160 |
| 9 | | Калиев флуорид (5.0 мол. %) | 20 | 71 | 158-162 |
| 10 | | Триетиламин (7.7 мол. %) | 3 | 67 | 159-161 |
| 11 | | Тринариев фосфат (6.0 мол. %) | 10 | 57 | 159-161 |
| 12 | 3б | Без катализатор | 6 | 78 | 192-196 |
| 13 | | Калиев флуорид (5.0 мол. %) | 2 | 77 | 192-196 |
| 14 | | Калиев флуорид (10.0 мол. %) | 2 | 83 | 192-196 |
| 15 | | Натриев флуорид (15.0 мол. %) | 2 | 75 | 192-196 |
| 16 | | Натриев флуорид (5.0 мол. %) | 2 | 79 | 192-196 |

| | | | | | |
|----|----|--|-----|----|----------------------|
| 17 | | Бензилтриетиламониев хлорид (5.0 мол. %) | 3 | 88 | 192-196 |
| 18 | | Калиев флуорид (5.0 мол. %) + бензилтриетиламониев хлорид (5.0 мол. %) | 2 | 92 | 157-180 (оцветен) |
| 19 | 3с | Без катализатор | 14 | 75 | 162-163 |
| 20 | | Бензилтриетиламониев хлорид (5.0 мол. %) | 0.5 | 74 | 162-163 |

Данните показват, че за получаване на Warfarin оптималната концентрация на междуфазовия катализатор е 5 мол. %. Добивът не се влияе съществено от природата на кватернерната амониева сол. Използването на тези катализатори съкращава реакционното време почти двадесеткратно, докато калиевият флуорид съкращава реакционното време наполовина. Освен това използването на междуфазовите катализатори води до значително повишаване на добивите. В литературата се съобщава за използване на триетиламин или тринатриев фосфат (опити 10 и 11).

Алкалните флуориди в концентрация 5 мол. % са по-подходящи за получаване на Асепосумарол. Практически не се наблюдава разлика в ефектите на солите върху крайния резултат в опити №№ 13-16. Алкалните флуориди съкращават реакционното време трикратно, докато бензилтриетиламониевият хлорид – наполовина (опит 17). Едновременното използване на два катализатора (опит 18) не само не води до повишаване на добива на крайния продукт, но влошава значително качеството му.

Високи добиви (почти 80 %) са постигнати при използване на бензилтриетиламониев хлорид за Warfarin (опит 3) и натриев флуорид за Асепосумарол (опит 16). Реакционната смес се оцветява в бледо жълто до края на процеса на присъединяване, продуктът може да се изолира лесно и е хроматографски еднороден [32].

Получихме Coumachlor при взаимодействие между 4-хидроксикумарин и 4-(4-хлорофенил)-3-бутен-2-он в дестилирана вода при кипене. Процесът се осъществява за 14 ч. Използването на бензилтриетиламониев хлорид в концентрация

5 мол. % спрямо количеството на 4-хидроксикумарина съкращава реакционното време 28 пъти [33].

Михаеловото присъединяване се осъществява при кипене на хетерогенна смес, тъй като 4-хидроксикумаринът (1) е разтворим в гореща вода, а ненаситеният кетон (2) е в стопено състояние. Очевидно флуоридните йони се проявяват като слаб базичен катализатор с добра разтворимост в органичната фаза [12].

II.2. Течнохроматографски контрол

Разработен е високоефективен течнохроматографски метод за разделяне и количествено определяне на Warfarin и изходните вещества за синтеза му. Разделянето е осъществено на неполярна октилсиланова неподвижна фаза (Lichrosorb RP 8.7 μm) и водно-метанолна подвижна фаза. Изследвани са хроматографските отнасяния на компонентите в зависимост от съдържанието на метанола в подвижната фаза и киселинността ѝ. С помощта на потенциометрично титруване са определени pK_a -стойностите на 4-хидроксикумарин и Warfarin в различни водно-метанолни смеси. На тази основа е построена зависимостта капацитетен фактор/ pH на водно-метанолната подвижна фаза за киселините от типа НА и са намерени подходящи условия за тяхното разделяне. Извършен е контрол на 4-фенил-3-бутен-2-он – суров и пречистен продукт с оглед изясняване необходимостта от провеждане на вакуумдестилация и съкращаване на производствения процес. Осъществено е количествено определяне на Warfarin и примеси от 4-хидроксикумарин и бензилиденацетон на суровия продукт при пречистването му чрез прекристализация и са оценени провежданите процедури [34,35].

II.3. Количествено определяне на Warfarin натрий

За да се получат водоразтворими съединения с оглед бъдещи изследвания антикоагулантите са превърнати в алкални соли (натриеви и калиеви) [36-38]. Синтезът на Warfarin натрий е осъществен по оригинална технология с оглед индустриалното производство на лекарствената форма [137]. Количественото определяне на Warfarin натрий е направено спектрофотометрично. Изследването се оказва сложно, с недобра точност и изисква няколко успоредни анализа - на изследваното вещество, на стандартна проба и празна проба.

Warfarin натрий е слаба база от заряден тип A^- , така че количественото му определяне може да се извърши с помощта на киселинно-основно титруване. Наличието на двуфазна система прави трудно потенциометричното определяне и електродният потенциал не достига равновесното състояние. Експериментално установихме, че метанолът е подходящ разтворител. С оглед намаляване загубите на метанол използвахме смес метанол/вода (70:30 об. ч.). Титрувалната крива в смес метанол/вода е получена чрез потенциометрично титруване на стандартен разтвор. Еквивалентната част е относително кратка, т.е. грешката при използване на индикатор е не по-малка от 2-3 %. Еквивалентната част на титрувалната крива е от 6 до 3 рН-единици. За този рН-интервал подходящи индикатори са метилоранж и 2,6-динитрофенол. Направени са пет определения на хроматографски чист продукт с двата индикатора. Резултатите от титруването с двата индикатора показват систематична грешка + 3.8 % за метилоранж и + 2.9 % за 2,6-динитрофенол [39].

За да се избегне грешката при използване на индикатор беше проведено потенциометрично титруване с използване на стъклен електрод. От гледна точка на незначителната потенциална промяна, дължаща се на слабите базични свойства на изследваното съединение, определянето на еквивалентния пункт бе осъществено по метода на Gran [40]. Използваното за целта уравнение има вида [41]:

$$V_e = V + K_a \left[\frac{V}{H} + \frac{V_o + V}{C} \left(\frac{K_s}{H^2} - 1 \right) \right] + \frac{V_o + V}{C} \left(\frac{K_s}{H} - H \right)$$

Където

V_o – начален обем на пробата;

V – обем на прибавения титрант;

C – концентрация на титранта;

K_s – автопротолизна константа на разтворителя;

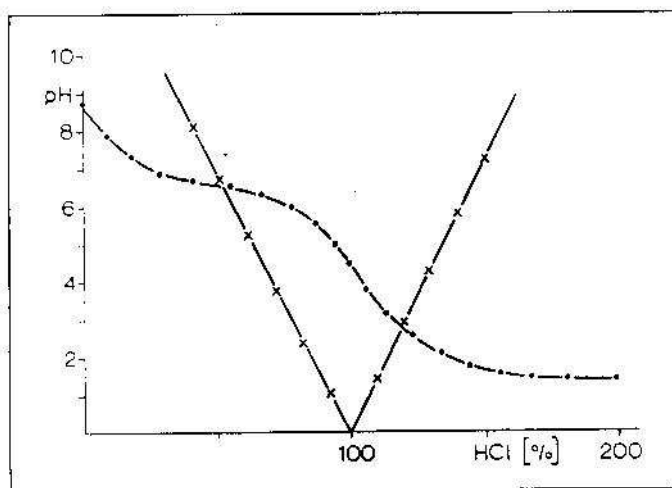
K_a – протолизна константа на Warfarin;

H – концентрация на водородните йони [mol/L].

За решаването на проблема приложихме калибриране на електродите в процеса на титруването [42]. Титруването се провежда чрез отчитане на данните в миливолти и тяхното последващо преизчисляване в рН-единици.

Резултатите от определянето на Warfarin натрий по предложения метод са показани на фигурата.

Фигура 1. Данни от потенциометричното титруване



Определянето на еквивалентния пункт е достатъчно надеждно и с висока точност. Направени са пет паралелни анализа на Warfarin натрий, прилагайки потенциометричния метод и метода от USP XXI. Резултатите са представени в таблицата.

Таблица 2. Данни от потенциометричния и спектрофотометричния методи

| № | Потенциометричен метод | | | Спектрофотометричен метод | |
|------------------------|------------------------|---------------|----------------|---------------------------|----------------|
| | проба (mg) | резултат (mg) | съдържание (%) | pK _a | съдържание (%) |
| 1. | 294.0 | 290.8 | 98.9 | 5.93 | 97.6 |
| 2. | 296.2 | 292.3 | 98.7 | 5.90 | 98.2 |
| 3. | 295.9 | 292.0 | 98.7 | 5.88 | 99.5 |
| 4. | 295.3 | 291.9 | 98.8 | 5.84 | 99.9 |
| 5. | 299.6 | 295.7 | 98.7 | 5.82 | 98.4 |
| Средна стойност: | | | 98.76 | 98.72 | |
| Стандартно отклонение: | | | 0.09 | 0.96 | |

Съвпадението на стойностите, получени по двата метода (потенциометричен и спектрофотометричен), е в съгласие с фармакопейните изисквания за съдържание. Що се отнася до точността и прецизността на двата метода, предимствата на потенциометричния метод пред спектрофотометричния са очевидни. С оглед повишаване точността на резултатите чрез елиминиране на субективния фактор методът е автоматизиран. Програмата е адаптирана към възможностите на автоматичната титрационна система. Установено е, че автоматичното провеждане на анализа не само повишава прецизността, но съкращава и времето на единичното определяне до 1-2 минути [43,44].

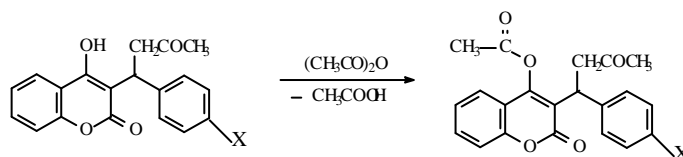
II.4. Модификация на хидроксилната група в молекулата на 4-хидроксикумариновите антикоагуланти. Рентгеноструктурен анализ

Наложено е схващането, че за проява на антикоагулантните свойства на тази група съединения от особена важност е наличието на хидроксилна група на четвърто място в кумариновия пръстен, четири въглеродни атома в страничната верига, както и наличие на карбонилна група при втория въглероден атом в страничната верига [45].

За потвърждаване или отхвърляне на горното ние синтезирахме поредица производни с оглед системна промяна на споменатите структурни фрагменти.

Чрез модификация на структурата на Warfarin получихме нови съединения с биологична активност, сравнима с тази на Warfarin, но с по-ниска токсичност и по-малко странични действия.

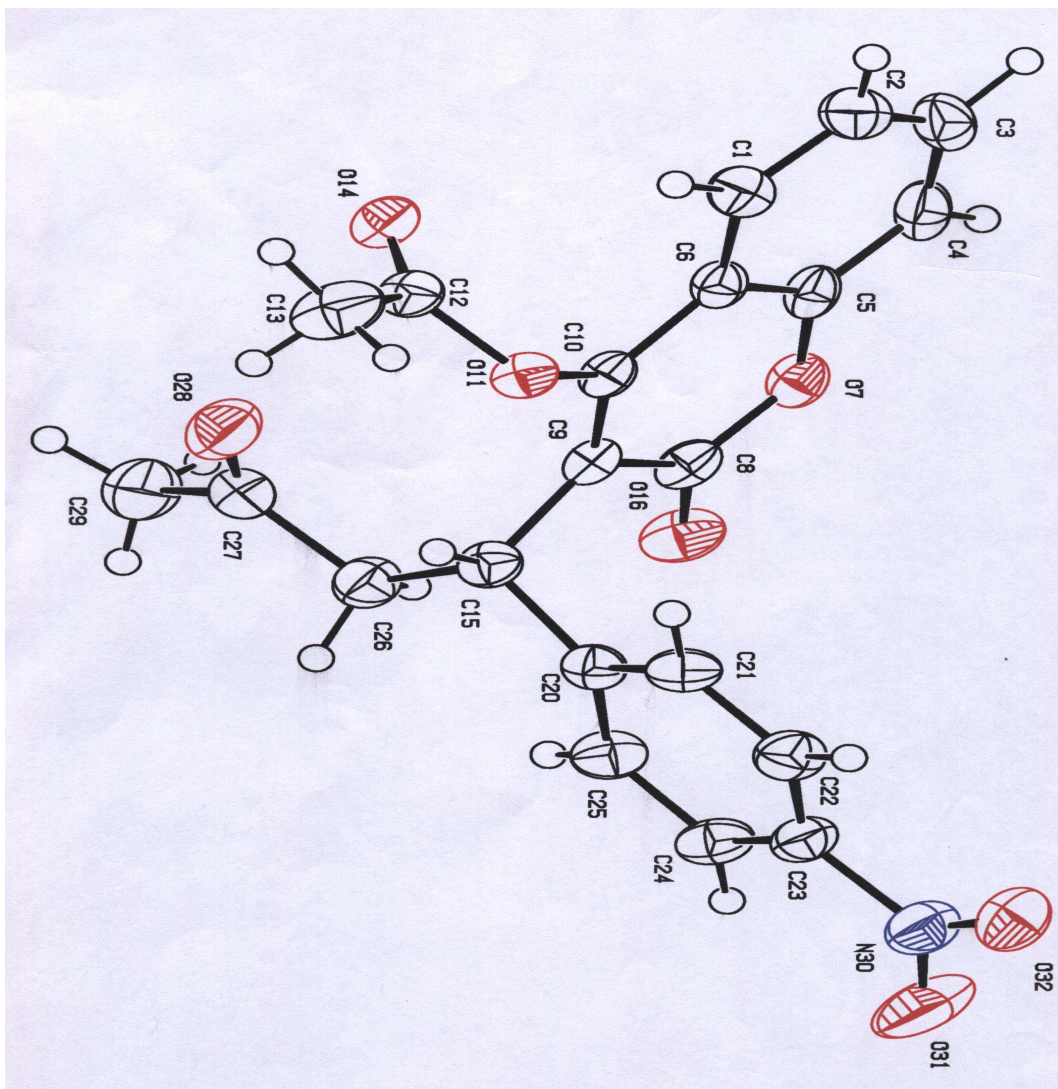
Модификацията на хидроксилната група бе осъществена с помощта на оцетен анхидрид [46-50]. Получени са ацетилни производни на Warfarin, Acenocoumarol и неговия изомер по следната схема:



| 4 | a | b | c |
|---|---|-------------------|-------------------|
| X | H | p-NO ₂ | m-NO ₂ |

Структурата на тези съединения е потвърдена и с мас-спектрални изследвания [49,50].

Фигура 2. Структура на 4-ацетокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2Н-1-бензопиран-2-он [50]:



Строежът на 4-ацетокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2Н-1-бензопиран-2-он е доказан с помощта на рентгеноструктурен анализ [50-53]. Резултатите от това изследване са представени в таблици №№ 3 – 6:

Таблица 3. Структурен анализ на 4-ацетокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3- оксобутил]-
2Н-1-бензопиран-2-он:

| | |
|---|---|
| Емпирична формула | $C_{21}H_{17}NO_7$ |
| Молекулна маса | 395.36 |
| Температура | 173 (2) К |
| Дължина на вълната | 0.71073 Å / MoKa |
| Кристална система | Моноклинна |
| Пространствена група | $P21/a$ |
| Параметри на кристалната клетка | $a=9.5505(13)$ Å; $b=11.9546(11)$ Å ; $\beta=97.497(12)^\circ$ $c=16.336(2)$ Å; |
| Обем | 1849.2(4) Å ³ |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 4 |
| Дифрактометрична плътност | 1.420 Mg/m ³ |
| Абсорбционен коефициент | 0.108 mm ⁻¹ |
| F (000) | 824 |
| Макроскопско описание на кристала | Безцветен |
| Кристал | Прозрачен |
| Размери на кристала | 0.65 x 0.15 x 0.10 mm |
| θ интервал за събиране на данни [°] | 3.13 to 26.96 deg. |
| Лимит на индексите | $-12 \leq h \leq 10$, $-15 \leq k \leq 15$, $-20 \leq l \leq 20$ |
| Сканиращ метод | ω сканиране |
| Разлагане | 1 % |
| Крайни R индекси [$I > 2\sigma(I)$] | $R1 = 0.0644$, $wR2 = 0.1252$ |
| Крайни R индекси $R1 / wR2$ | 0.0993 / 0.1388 |
| Адекватност на приближението (Goodness of fit on F^2) | 1.130 |
| Максимална / минимална E-плътност | 0.221 and - 0.177 e. Å ⁻³ |
| CCDC | 652259 |

Таблица 4. Дължини на връзките (Å)

| | | | |
|-------------|-----------|-------------|-----------|
| C 5 – O 7 | 1.372 (3) | C 12 – C 13 | 1.495 (4) |
| C 6 – C 10 | 1.449 (3) | C 15 – C 20 | 1.528 (3) |
| O 7 – C 8 | 1.376 (3) | C 15 – C 26 | 1.538 (4) |
| C 8 – O 16 | 1.208 (3) | C 23 – N 30 | 1.473 (3) |
| C 8 – C 9 | 1.468 (3) | C 26 – C 27 | 1.515 (4) |
| C 9 – C 10 | 1.347 (3) | C 27 – O 28 | 1.215 (3) |
| C 9 – C 15 | 1.520 (3) | C 27 – C 29 | 1.505 (4) |
| C 10 – O 11 | 1.389 (3) | N 30 – O 32 | 1.224 (3) |
| O 11 – C 12 | 1.390 (3) | N 30 – O 31 | 1.226 (3) |
| C 12 – O 14 | 1.191 (3) | | |

Таблица 5. Валентни ъгли (°)

| | | | |
|--------------------|-------------|--------------------|-----------|
| O 7 – C 5 – C 6 | 121.2 (2) | O 14 – C 12 – C 13 | 128.2 (2) |
| O 7 – C 5 – C 4 | 116.7 (2) | O 11 – C 12 – C 13 | 108.7 (2) |
| C 6 – C 5 – C 4 | 122.0 (2) | C 9 – C 15 – C 20 | 107.3 (2) |
| C 5 – C 6 – C 10 | 117.1 (2) | C 9 – C 15 – C 26 | 113.5 (2) |
| C 1 – C 6 – C 10 | 124.8 (2) | C 20 – C 15 – C 26 | 114.5 (2) |
| C 5 – O 7 – C 8 | 122.31 (18) | C 25 – C 20 – C 15 | 122.5 (2) |
| O 16 – C 8 – O 7 | 116.5 (2) | C 21 – C 20 – C 15 | 118.8 (2) |
| O 16 – C 8 – C 9 | 125.4 (2) | C 24 – C 23 – N 30 | 118.3 (2) |
| O 7 – C 8 – C 9 | 118.1 (2) | C 22 – C 23 – N 30 | 119.0 (3) |
| C 10 – C 9 – C 8 | 118.9 (2) | C 27 – C 26 – C 15 | 114.1 (2) |
| C 10 – C 9 – C 15 | 123.4 (2) | O 28 – C 27 – C 29 | 121.9 (3) |
| C 8 – C 9 – C 15 | 117.5 (2) | O 28 – C 27 – C 26 | 121.8 (3) |
| C 9 – C 10 – O 11 | 119.2 (2) | C 29 – C 27 – C 26 | 116.3 (3) |
| C 9 – C 10 – C 6 | 122.3 (2) | O 32 – N 30 – O 31 | 123.7 (3) |
| O 11 – C 10 – C 6 | 118.30 (19) | O 32 – N 30 – C 23 | 118.8 (3) |
| C 10 – O 11 – C 12 | 117.69 (18) | O 31 – N 30 – C 23 | 117.5 (3) |
| O 14 – C 12 – O 11 | 123.0 (2) | | |

Изследваното съединение е структурен аналог на Warfarin. Според рентгеноструктурния анализ то образува кристали, принадлежащи към моноклинната система, пространствена група $P2_1/a$. Изучаването на дължините на връзките между атомите показва, че съединението кристализира в отворено-верижна кето-форма и има само един асиметричен център при C15. Дължината на връзката O11 – C10 е 1.389(3)Å и е сравнима с дължината на връзката C – O в молекулата на фенола. В допълнение, дължините на връзките C26 – C27 и C27 – C29 са съответно 1.515 (4) и 1.505 (4), близки до очакваните стойности за C – C връзки, съседни на карбонилни групи. В структурата на изследваното съединение липсва връзка между C27 и O11. В кумариновия цикъл дължината на двойната връзка C9 – C10, 1.347(3)Å, съответства на C=C, спрегната с карбонилна група, а съседната C 8 – C9 връзка е с дължина 1.468(3)Å и е незначително по-къса от очакваната дължина поради резонанс. Двете близко разположени равнини на кумариновата пръстенна система и на ароматното ядро сключват ъгъл между C9 – C15 – C20 107.3(2)°. Данните категорично показват, че изследваното съединение не кристализира под формата на цикличен полукетал. Установено е, че вещества, структурни аналози на Синтрома, образуват кристали, принадлежащи към триклинната система, пространствена група $P1$. Те образуват вътрешномолекулен полукетал и притежават два асиметрични въглеродни атома [52-59]. Очевидно, заместването на водородния атом във фенолната хидроксилна група при C-4 на кумариновия цикъл не позволява образуването на вътрешномолекулен полукетал.

II.5. Модификации в страничната верига в молекулата на 4-хидроксикумариновите антикоагуланти. Рентгеноструктурен анализ

Промяната в страничната верига е осъществена в няколко направления. В едното се заменя метиловата група с ароматно ядро, съдържащо електронодонорни или електроноакцепторни заместители [60-62]. Процесът на присъединяване бе осъществен във водна среда при кипене с различна продължителност (от 1 до 200 часа) [63-65]. Получаването на 4-хидрокси-3-(1-фенил-2-бензоилетил)-2Н-1-бензопиран-2-он продължава 57 часа, а с междуфазов катализатор реакционното време се съкращава 9.5 пъти. Добивът се повишава от 26 % до 93 % [66,67].

Структурата на тези съединения е потвърдена и с мас-спектрални изследвания [62]. Различията в хода на фрагментацията вероятно се дължат на различните заместители в ароматното ядро на съединенията.

Таблица 6. Арилиденацетофенони

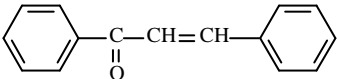
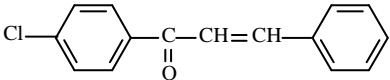
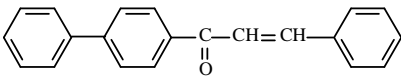
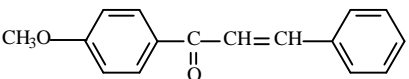
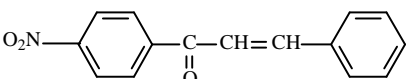
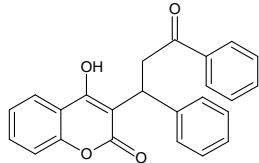
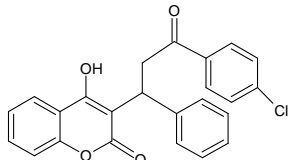
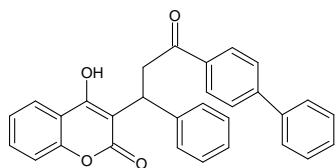
| Структурна формула | Брутна формула | Елементен анализ (изч/нам) | IR (нуйол) cm ⁻¹ |
|---|--|--|--|
|  Бензилиденацетофенон Добив: 63 % | $C_{15}H_{12}O$ (мол. м. 208) т.т. 55-6°C; (лит. т.т. 58°C) | % C = 86.54; % H = 5.77 % C = 86.31; % H = 5.43 | 1665, 1609, 1574, 1336, 1213, 746. |
|  Бензилиден-4'- хлороацетофенон Добив: 78 % | $C_{15}H_{11}ClO$ (мол. м. 242.5) т.т. 96-8°C | % C = 74.23; % H = 4.54 % Cl = 14.64 % C = 73.95; % H = 4.41 % Cl = 14.45 | 1669, 1605, 1335, 1219, 1090, 872, 829, 794, 764, 729. |
|  Бензилиден-4'- фенилацетофенон Добив: 90 % | $C_{21}H_{16}O$ (мол. м. 284) т.т. 157-9°C | % C = 88.73; % H = 5.63 % C = 88.91; % H = 5.48 | 1659, 1605, 1591, 1574, 1224, 1180, 1036, 986, 837, 750, 687. |
|  Бензилиден-4'- метоксиацетофенон Добив: 80 % | $C_{16}H_{14}O_2$ (мол. м. 238) т.т. 103-5°C | % C = 80.67; % H = 5.88 % C = 80.91; % H = 5.78 | 1653, 1599, 1570, 1261, 1181, 1036, 945, 830, 762, 729. |
|  Бензилиден-4'- нитроацетофенон | $C_{15}H_{11}NO_3$ (мол. м. 253) | % C = 71.15; % H = 4.35 % N = 5.53 % C = 71.29; % H = 4.53 % N = 5.75 | |

Таблица 7. Адукти на 4-хидроксикумарин с арилиденацетофенони

| Структурна формула | Брутна формула | Елементен анализ (изч/нам) | IR (нуйол) cm ⁻¹ | ¹ H NMR | EIMS |
|--|--|---|--|---|--|
|  <p>[60-62,138-146] 4-Хидрокси-3-(1-фенил-2-бензоилетил)-2Н-1-бензопиран-2-он</p> | <p>C₂₄H₁₈O₄ (мол. м. 370)</p> | <p>% C = 80.67; % H = 5.88 % C = 80.91; % H = 5.78</p> | <p>3220, 1680, 1616, 1572, 1331, 1123, 984, 941, 820, 762, 696.</p> | <p>Acetone-d₆: 3.9-4.1 (d, 2H), 5.0-5.1 (t, 1H), 7.1-8.2 (m, 14H), 8.8-9.0 (s, 1H)</p> | <p>370 (4), 265 (33), 209 (53), 207 (98), 162 (32), 130 (53), 120 (54), 92 (31), 77 (100).</p> |
|  <p>[62,142,144,147] 4-Хидрокси-3-[1-фенил-2-(4'-хлоробензоил)етил]-2Н-1-бензопиран-2-он</p> | <p>C₂₄H₁₇ClO₄ (мол. м. 404)</p> | <p>% C = 71.20; % H = 4.20 % Cl = 8.78 % C = 71.37; % H = 4.42 % Cl = 8.99</p> | <p>3225, 1682, 1616, 1574, 1277, 1244, 1111, 1040, 982, 939, 820, 762.</p> | <p>CDCl₃: 3.8-3.9 (d, 2H), 4.95-5.15 (t, 1H), 7.2-8.2 (m, 13H), 9.8-9.9 (s, 1H).</p> | <p>404/406 (8), 265 (100), 162 (3), 139/141 (27), 120 (34), 111 (20), 92 (8).</p> |



[60-62,142,144,147]

4-Хидрокси-3-[1-фенил-2-(4'-
фенилбензоил)этил]-
2H-1-бензопиран-2-он

$C_{30}H_{22}O_4$
(мол. м. 446)

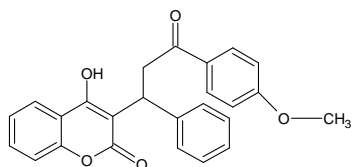
% C = 80.72;
% H = 4.93

% C = 80.53;
% H = 4.97

3216, 1682,
1616, 1572,
1275, 1127,
910, 762,
748, 696.

$CDCl_3$:
3.8-3.9 (d, 2H), 4.9-
5.0 (t, 1H), 7.2-8.0 (m,
18H), 9.55-9.7 (s, 1H).

446 (15), 283 (33), 265
(100), 181 (67), 162 (14),
152 (72), 120 (23), 92 (17),
77 (22).



[60-62]

4-Хидрокси-3-[1-фенил-2-(4'-
метоксибензоил)этил]-
2H-1-бензопиран-2-он

$C_{25}H_{20}O_5$
(мол. м. 400)

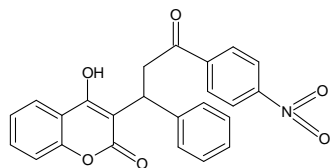
% C = 75.00;
% H = 5.00

% C = 75.05;
% H = 5.05

1669, 1647,
1597, 1561,
1458, 1287,
1175, 753,
700.

Acetone- d_6 :
3.9 (s, 3H), 4.2-4.3 (d,
2H), 4.4-4.7 (t, 1H),
6.9-8.2 (m, 13H), 9.6-
9.7 (s, 1H).

400 (6), 265 (24), 249 (13),
238 (51), 237 (58), 162 (26),
135 (100), 120 (40), 92 (40).



[60,61,144]

4-Хидрокси-3-[1-фенил-2-(4'-
метоксибензоил)этил]-
2H-1-бензопиран-2-он

$C_{24}H_{17}NO_6$
(мол. м. 415)

% C = 69.40;
% H = 4.10

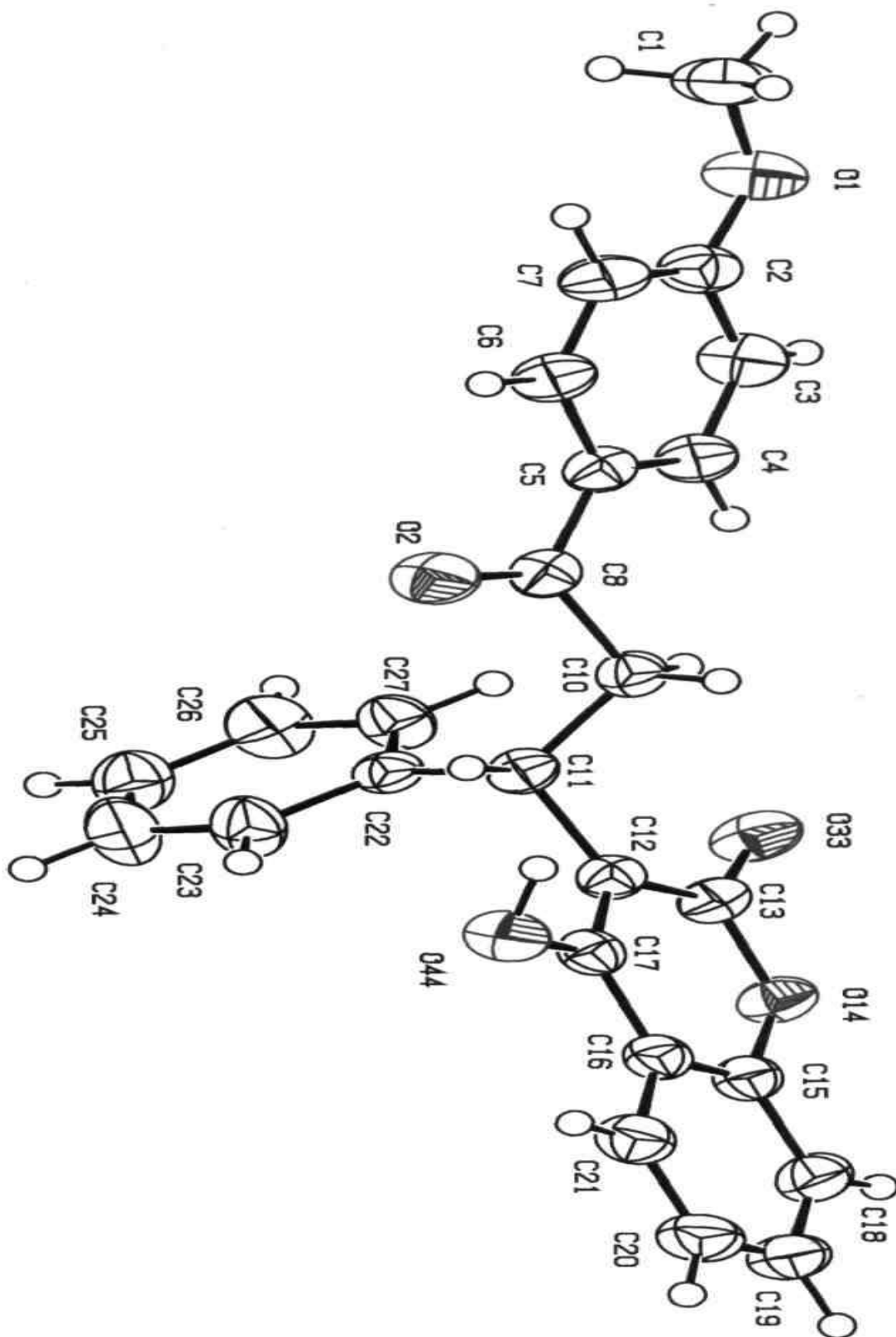
% N = 3.37

% C = 69.10;
% H = 4.43

% N = 3.59

3240, 1691,
1616, 1578,
1278, 1121,
915, 762,
746, 694.

Фигура 3: Структура на 4-хидрокси-3-[3-(4-метоксифенил)-3-оксо-1-фенилпропил]-2Н хромен-2-он [63]:



Резултатите от изследването са представени в следните четири таблици [63]:

Таблица 8. Структурен анализ на 4-хидрокси-3-[3-(4-метоксифенил)-3-оксо-1-фенилпропил]-2Н хромен-2-он

| | |
|--|--|
| Емпирична формула | $C_{25}H_{20}O_5$ |
| Молекулна маса | 400.41 |
| Температура | 293 (2) К |
| Дължина на вълната | 0.71073 Å |
| Кристална система | Моноклинна |
| Пространствена група | $C2/c$; |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 8 |
| Параметри на кристалната клетка | $a = 42.259 (8) \text{ \AA}$ $b = 8.8538 (12) \text{ \AA}; \beta = 104.569(12)^\circ$ $c = 10.6835 (11) \text{ \AA}$ |
| Обем | $3868.8 (10) \text{ \AA}^3$ |
| Дифрактометрична плътност | 1.375 Mg/m^3 |
| Абсорбционен коефициент | 0.096 mm^{-1} |
| F (000) | 1680 |
| Размери на кристала | 0.60 x 0.20 x 0.20 mm |
| Θ интервал за събиране на данни [°] | 3.15 to 25.98 deg. |
| Лимит на индексите | $-51 \leq h \leq 51, -1 \leq k \leq 10, -13 \leq l \leq 13$ |
| Адекватност на приближението (Goodness-of-fit on F^2) | 1.017 |
| Крайни R индекси [$I > 2\sigma(I)$] | $R1 = 0.0364, wR2 = 0.0890$ |
| Крайни R индекси (all) $R1 / wR2$ | 0.0592 / 0.0995 |
| Максимална/минимална E-плътност | 0.249 and $-0.198 \text{ e. \AA}^{-3}$ |
| CCDC | 637813 |

Таблица 9. Избрани дължини на връзките (Å)

| | | | |
|-------------|-------------|-------------|-------------|
| O 33 – C 13 | 1.2246 (18) | C 11 – C 12 | 1.5242 (19) |
| O 44 – C 17 | 1.3469 (17) | C 11 – C 22 | 1.529 (2) |
| C 1 – O 1 | 1.431 (2) | C 12 – C 17 | 1.3635 (19) |
| O 1 – C 2 | 1.3588 (19) | C 12 – C 13 | 1.435 (2) |
| C 5 – C 8 | 1.481 (2) | C 13 – O 14 | 1.3706 (17) |
| C 8 – O 2 | 1.2181 (18) | O 14 – C 15 | 1.3727 (18) |
| C 8 – C 10 | 1.518 (2) | C 16 – C 17 | 1.4421 (19) |
| C 10 – C 11 | 1.525 (2) | | |

Таблица 10. Избрани валентни ъгли (°)

| | | | |
|--------------------|-------------|--------------------|-------------|
| O 2 – C 8 – C 5 | 120.55 (13) | C 17 – C 12 – C 11 | 122.36 (13) |
| O 2 – C 8 – C 10 | 119.59 (14) | O 44 – C 17 – C 12 | 123.42 (13) |
| C 5 – C 8 – C 10 | 119.79 (13) | O 44 – C 17 – C 16 | 115.32 (12) |
| C 8 – C 10 – C 11 | 111.74 (13) | C 12 – C 17 – C 16 | 121.24 (13) |
| C 12 – C 11 – C 10 | 114.32 (12) | | |

Изследваното съединение е структурен аналог на Warfarin. Рентгеноструктурният анализ показва, че то образува кристали, принадлежащи на моноклинната система. Дължината на връзката O44 – C17 е 1.3469(17)Å и е близка по стойност до дължината на C – O връзката в молекулата на фенола. В допълнение, дължините на връзките C8 – C10 и C5 – C8 са съответно 1.518 (2) и 1.481 (2), близки до очакваните стойности за C – C връзки, съседни на карбонилни групи. В структурата на изследваното съединение липсва връзка между C8 и O44. В кумариновия цикъл дължината на двойната връзка C12 – C17 1.3635(19)Å съответства на C=C, спрегната с карбонилна група, а съседната C12 – C13 връзка е с дължина 1.435(2)Å и е незначително по-къса от очакваната дължина поради

резонанс. Съединението кристализира в отворено-верижна кето-форма и има само един асиметричен център при C11.

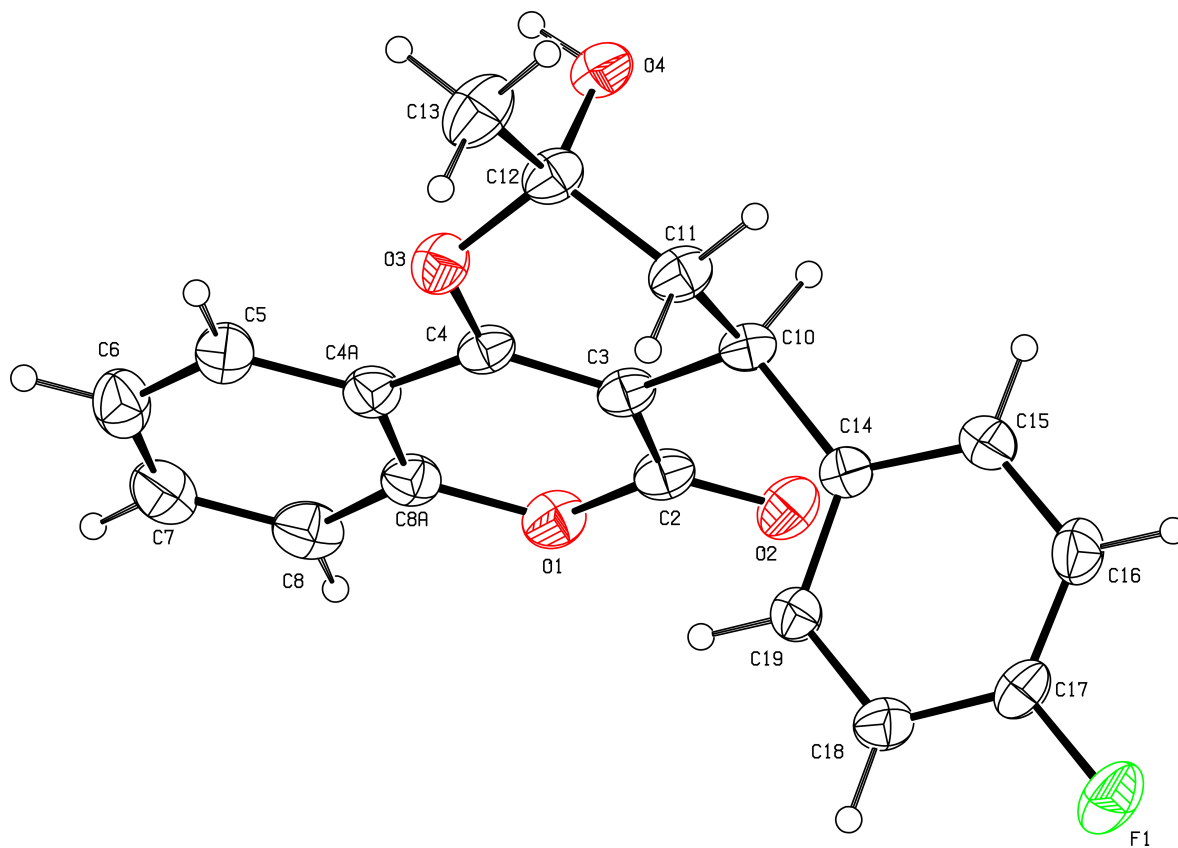
Очевидно наличието на заместители в страничната верига на производните на Warfarin, различни от метилова група, поради пространствено пречене не позволяват образуването на вътрешномолекулен полукетал.

Установено е, че молекулата на рацемичния Warfarin, който широко се използва като антикоагулант, кристализира под формата на вътрешномолекулен полукетал и може да се опише като оксобензопиранодихидробензопиранол. Warfarin кристализира в орторомбичната система. Образуването на вътрешномолекулен полукетал е предпоставка за възникване на втори асиметричен център при C13 [64].

Циклични полукетали образуват и аналозите на Warfarin 4-хидрокси-3-[(4-флуорофенил-3-оксобутил)-2H-1-бензопиран-2-он и 4-хидрокси-3-[(3-нитрофенил-3-оксобутил)-2H-1-бензопиран-2-он. Двете съединения в разтвор съществуват под формата на равновесна смес от двата диастереомерни полукетала заедно с междинната кето-форма. Те кристализират като циклични полукетали с аксиално разположени хидроксилни групи, а дихидропирановият пръстен може да приеме всяка възможна конформация. В молекулната структура 4-флуорофенилната група е разположена псевдоекваториално и сключва ъгъл от 69° спрямо равнината на кумариновия пръстен. Установено е за 3-нитропроизводното, че диедричните ъгли между равнините на кумариновия и фениловия остатък са съответно 102° и 109° за двете диастереомерни форми [64,65]. Данните в литературата се отнасят за оптичноактивната форма на молекулата. Изследванията са проведени в разтвор.

Нашите изследвания са проведени в твърдо кристално състояние на рацемична смес [62-72].

Фигура 4. Структура на 4-(4-флуорофенил)-2-хидрокси-2-метил-3,4-дихидро-2Н,5Н-пирано[3,2-с]хромен-5-он [65]:



Ние установихме, че веществото кристализира в циклична полукетална форма [65]. Това е най-вероятната причина да се появяват различия в дължините на връзките и други характеристики на кристалната решетка, намерени от нас в сравнение със същите, цитирани в работите на предишни автори [64-69].

Таблица 11. Структурен анализ на 4-(4-флуорофенил)-2-хидрокси-2-метил-3,4-дихидро-2Н,5Н-пирано[3,2-с]хромен-5-он

| | |
|--|--|
| Емпирична формула | $C_{19} H_{15} F O_4$ |
| Молекулна маса | 326.31 |
| Кристална система | орторомбична |
| Пространствена група | $F dd2$ |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 16 |
| Параметри на кристалната клетка | $a = 25.057(3) \text{ \AA}$, $b = 42.713(5) \text{ \AA}$, $c = 5.792(1) \text{ \AA}$ |
| Обем | $6198.9(15) \text{ \AA}^3$ |
| Температура | 293(2)К |
| Дифрактометрична плътност | 1.399 g/cm^3 |
| Размери на кристала | 0.50 x 0.15 x 0.13 mm |
| $F(000)$ | 2720 |
| Адекватност на приближението (Goodness-of-fit on F^2) | 1.072 |
| Екстинкционен коефициент | 0.00163(19) |
| $(\Delta/\sigma)_{\max} = 0.001$ | |
| $(\Delta\rho)_{\max} = 0.130 \text{ e. \AA}^{-3}$ $(\Delta\rho)_{\min} = -0.141 \text{ e. \AA}^{-3}$ | |
| Система за измерване | Enraf-Nonius KappaCCD |
| Програма | COLLECT software package |
| Структурно определяне | SIR-97 |
| CCDC | 716651 |

Таблица 12. Избрани дължини на връзките (Å)

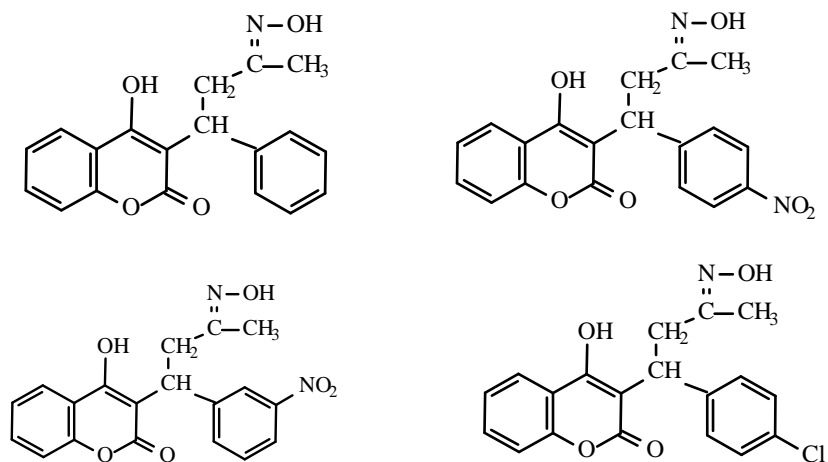
| | | | | | |
|--------|----------|---------|----------|---------|----------|
| O1-C8A | 1.374(3) | C3-C10 | 1.512(3) | C10-C14 | 1.526(3) |
| O1-C2 | 1.375(3) | C4-C4A | 1.440(4) | C10-C11 | 1.545(3) |
| O2-C2 | 1.219(3) | C5-C6 | 1.375(4) | C11-C12 | 1.508(4) |
| O3-C4 | 1.352(3) | C5-C4A | 1.401(4) | C12-C13 | 1.507(4) |
| O3-C12 | 1.458(3) | C6-C7 | 1.381(4) | C14-C15 | 1.382(4) |
| F1-C17 | 1.367(3) | C7-C8 | 1.378(4) | C15-C16 | 1.389(3) |
| O4-C12 | 1.393(3) | C8-C8A | 1.382(4) | C16-C17 | 1.358(4) |
| C2-C3 | 1.445(3) | C19-C18 | 1.378(3) | C17-C18 | 1.360(4) |
| C3-C4 | 1.351(4) | C19-C14 | 1.381(4) | C4A-C8A | 1.387(3) |

Таблица 13. Избрани валентни ъгли (°)

| | | | | | |
|-----------|------------|-------------|------------|-------------|----------|
| C8A-O1-C2 | 121.64(19) | C7-C8-C8A | 118.9(3) | C15-C14-C10 | 119.8(2) |
| C4-O3-C12 | 116.0(2) | C18-C19-C14 | 121.6(3) | C14-C15-C16 | 121.6(3) |
| O2-C2-O1 | 116.1(2) | C3-C10-C14 | 114.96(19) | C17-C16-C15 | 117.8(3) |
| O2-C2-C3 | 125.2(3) | C3-C10-C11 | 109.2(2) | C16-C17-C18 | 123.0(2) |
| O1-C2-C3 | 118.6(2) | C14-C10-C11 | 107.85(19) | C16-C17-F1 | 118.2(2) |
| C4-C3-C2 | 119.0(2) | C12-C11-C10 | 112.5(2) | C18-C17-F1 | 118.7(2) |
| C4-C3-C10 | 122.4(2) | O4-C12-O3 | 108.29(18) | C17-C18-C19 | 118.3(3) |
| C2-C3-C10 | 118.4(2) | O4-C12-C13 | 113.0(2) | C8A-C4A-C5 | 118.5(3) |
| C3-C4-O3 | 124.1(2) | O3-C12-C13 | 105.0(3) | C8A-C4A-C4 | 117.3(2) |
| C3-C4-C4A | 121.9(2) | O4-C12-C11 | 107.8(2) | C5-C4A-C4 | 124.2(2) |
| O3-C4-C4A | 114.0(2) | O3-C12-C11 | 108.9(2) | O1-C8A-C8 | 117.4(2) |
| C6-C5-C4A | 120.3(3) | C13-C12-C11 | 113.8(2) | O1-C8A-C4A | 121.2(2) |
| C5-C6-C7 | 120.0(3) | C19-C14-C15 | 117.8(2) | C8-C8A-C4A | 121.4(3) |
| C8-C7-C6 | 121.0(3) | C19-C14-C10 | 122.3(2) | | |

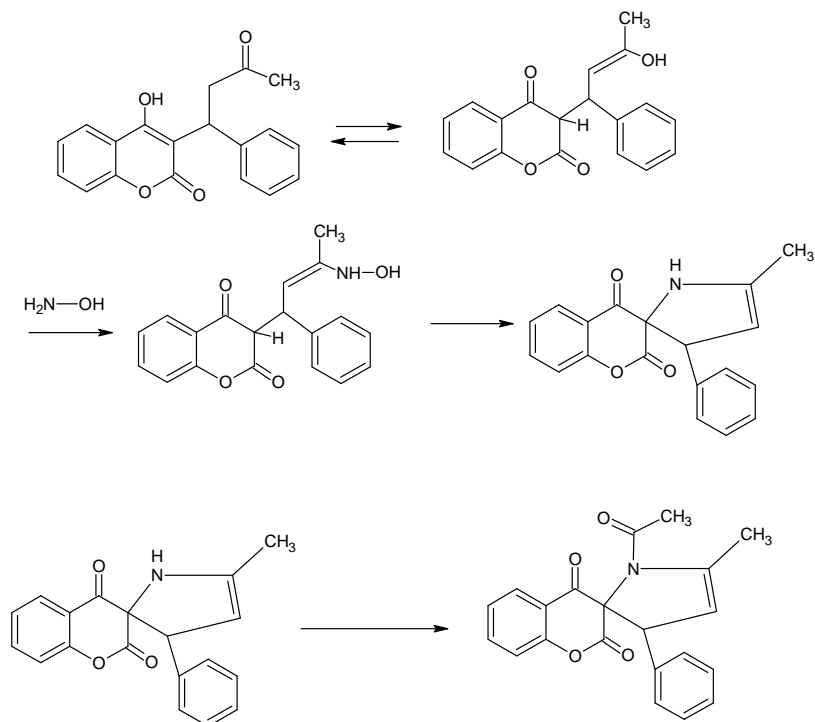
II.6. Модификация на карбонилната група в страничната верига на 4-хидроксикумариновите антикоагуланти. Рентгеноструктурен анализ

Друг тип модифициране на страничната верига е карбонилната група при третия въглероден атом в страничната верига да бъде превърната в оксим с помощта на хидроксиламин хидрохлорид [44]. Проведохме опити с Warfarin, Acenocoumarol, неговия мета-изомер и Coumachlor [73].

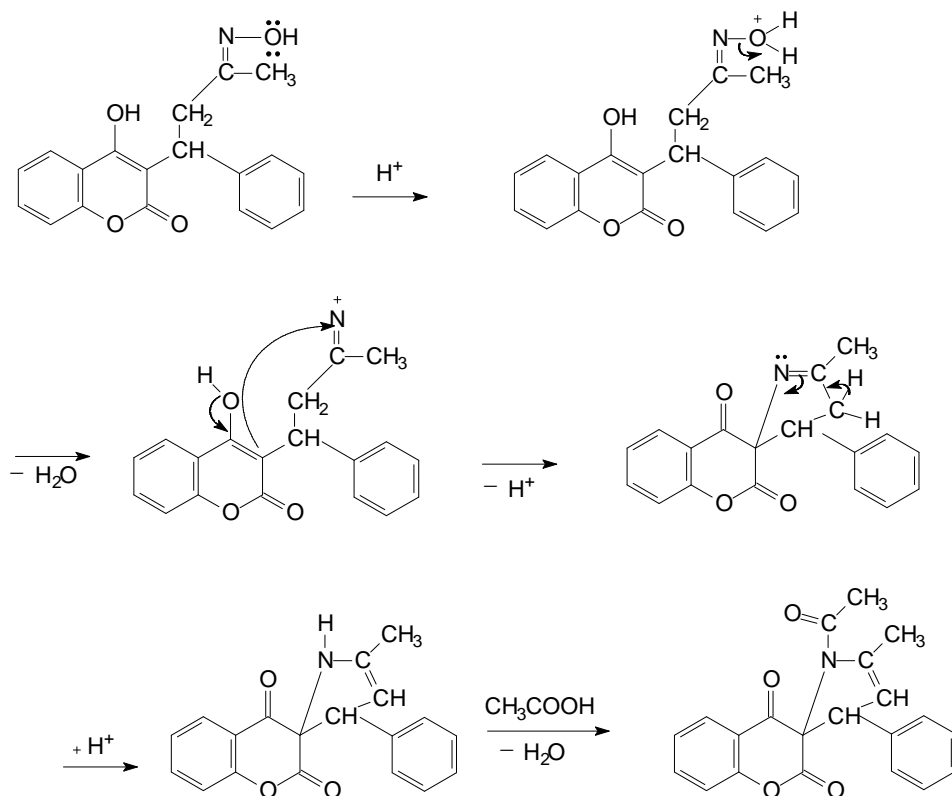


Това известно в литературата взаимодействие между карбонилни съединения и хидроксиламин хидрохлорид показва неочаквани резултати. Вместо 4-хидрокси-3-[(3E)-3-(хидроксиимино)-1-фенилбутил]-2H-хромен-2-он ние установихме ново, неописано в литературата спиро-съединение [73-76]. Схемата за получаването му може да се представи по следния начин:

Взаимодействие между Warfarin и хидроксиламин хидрохлорид



Вероятен механизъм на превръщането на оксим в спиро-съединение



Фигура 5. Кристалографска структура на 1'-ацетил-5'-метил-3'-фенил-1',3'-дихидроспиро[хроман-3,2'-пирол]-2,4-дион [74]:

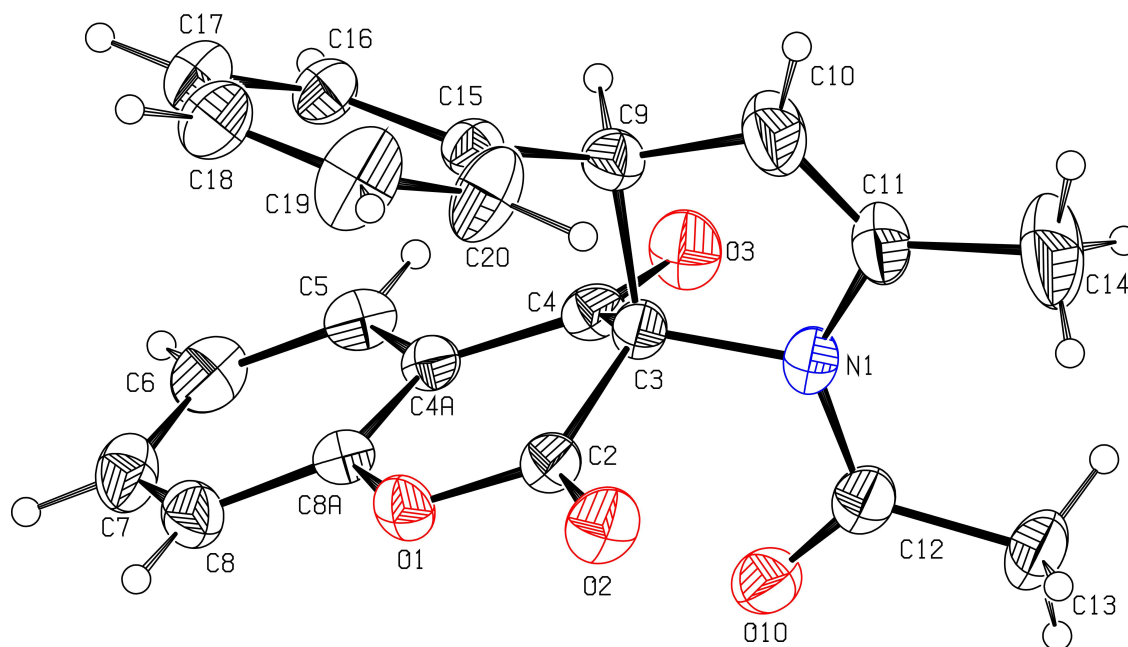


Таблица 14. Структурен анализ на 1'-ацетил-5'-метил-3'-фенил-1',3'-
дихидропириро[хроман-3,2'-пирол]-2,4-дион

| | |
|--|--|
| Емпирична формула | C ₂₁ H ₁₇ NO ₄ |
| Молекулна маса | 347.36 |
| Температура | 293(2) К |
| Кристална система | орторомбична |
| Пространствена група | P 21 21 21 |
| Параметри на кристалната решетка | a = 6.317(2) Å b = 12.442(3) Å c = 21.957(5) Å |
| Обем | 1725.7(8) Å ³ |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 4 |
| Дифрактометрична плътност | 1.337 Mg/m ³ |
| Радиация | Mo K _α (λ = 0.71069 Å) |
| Абсорбционен коефициент | 0.093 mm ⁻¹ |
| F(000) | 728 |
| Размери на кристала | 0.48 x 0.13 x 0.05 mm |
| θ интервал за събиране на данни | 1.88 to 22.46° |
| Адекватност на приближението (Goodness-of-fit on F ²) | 1.066 |
| Крайни R индекси [I > 2σ (I)] | R1 = 0.0365, wR2 = 0.0872 |
| Крайни R индекси (all data) | R1 = 0.0536, wR2 = 0.0966 |
| Система за измерване | Enraf-Nonius CAD-4 |
| Програма | Enraf-Nonius SDP |
| CCDC | 706630 |

Таблица 15. Избрани дължини на връзките (Å)

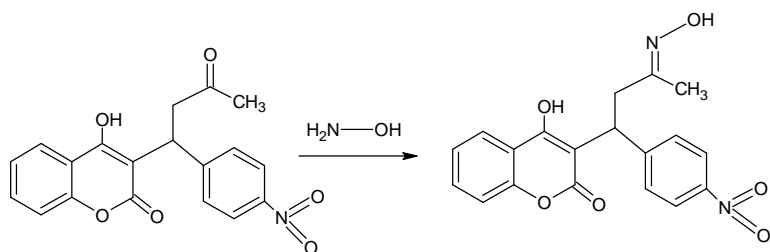
| | |
|-------------|----------|
| O 1 – C 2 | 1.348(4) |
| O 1 – C 8A | 1.391(4) |
| O 2 – C 2 | 1.195(4) |
| O 3 – C 4 | 1.216(4) |
| O 10 – C 12 | 1.216(5) |
| C 2 – C 3 | 1.520(5) |
| C 3 – N 1 | 1.456(4) |
| C 3 – C 4 | 1.522(5) |
| C 3 – C 9 | 1.592(5) |
| C 4 – C 4A | 1.460(5) |
| C 9 – C 10 | 1.490(6) |
| C 9 – C 15 | 1.504(5) |
| C 10 – C 11 | 1.314(6) |
| C 11 – N 1 | 1.421(5) |
| C 11 – C 14 | 1.505(6) |
| N 1 – C 12 | 1.375(5) |
| C 12 – C 13 | 1.499(6) |

Таблица 16. Избрани валентни ъгли (°)

| | |
|--------------------|----------|
| C 2 – O 1 – C 8A | 122.1(3) |
| O 2 – C 2 – O 1 | 118.4(4) |
| O 2 – C 2 – C 3 | 122.7(4) |
| O 1 – C 2 – C 3 | 118.9(3) |
| N 1 – C 3 – C 2 | 107.5(3) |
| N 1 – C 3 – C 4 | 111.0(3) |
| C 2 – C 3 – C 4 | 114.3(3) |
| N 1 – C 3 – C 9 | 104.4(3) |
| C 2 – C 3 – C 9 | 110.9(3) |
| C 4 – C 3 – C 9 | 108.3(3) |
| O 3 – C 4 – C 4A | 123.6(3) |
| O 3 – C 4 – C 3 | 120.5(4) |
| C 4A – C 4 – C 3 | 115.8(3) |
| C 10 – C 9 – C 15 | 115.7(3) |
| C 10 – C 9 – C 3 | 100.8(3) |
| C 15 – C 9 – C 3 | 116.5(3) |
| C 11 – C 10 – C 9 | 114.2(4) |
| C 10 – C 11 – N 1 | 109.9(4) |
| C 10 – C 11 – C 14 | 126.3(5) |
| N 1 – C 11 – C 14 | 123.7(5) |
| C 12 – N 1 – C 11 | 134.9(4) |
| C 12 – N 1 – C 3 | 114.8(3) |
| C 11 – N 1 – C 3 | 110.0(3) |
| O 10 – C 12 – N 1 | 118.1(4) |
| O 10 – C 12 – C 13 | 121.4(4) |
| N 1 – C 12 – C 13 | 120.6(4) |
| C 16 – C 15 – C 9 | 121.3(4) |
| C 20 – C 15 – C 9 | 121.1(4) |
| C 8A – C 4A – C 4 | 119.9(3) |
| C 4A – C 8A – O 1 | 122.9(3) |
| C 8 – C 8A – O 1 | 115.2(3) |

Кристаллографските данни за 1'-ацетил-5'-метил-3'-фенил-1',3'-дихидроспиро-[хроман-3,2'-пирол]-2,4-дион са представени в табл. №№ 14 – 16, а молекулната структура на съединението е показана на фиг. 5. При получаването на оксим в конкретния случай е възможна вътрешномолекулна дехидратация, съпроводена с образуването на полизаместено дихидроспиро-съединение. Вероятно оксимът претърпява прегрупировка, аналогична на прегрупировката на Beckmann [77].

Изучихме взаимодействието на 4-хидрокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2H-хромен-2-он (Асепосоумарол) с хидроксиламин хидрохлорид. Установихме, че в този случай единственият продукт на взаимодействието е оксим, показан на фиг. 6. Структурата му беше доказана чрез рентгеноструктурен анализ.



[73]

Оксимът на Асепосоумарол е траен най-вероятно поради влиянието на нитро групата в р-положение в ароматното ядро от страничната верига. Силният отрицателен индукционен ефект и значителният отрицателен мезомерен ефект на нитро групата са причина за стабилизиране на съединението и препястват участието му в прегрупировка, аналогична на прегрупировката на Beckmann.

Фигура 6. Структура на 4-хидрокси-3-[(3E)-3-хидроксиимино-1-(4-нитрофенил)-бутил]-*2H*-хромен-2-он [78]:

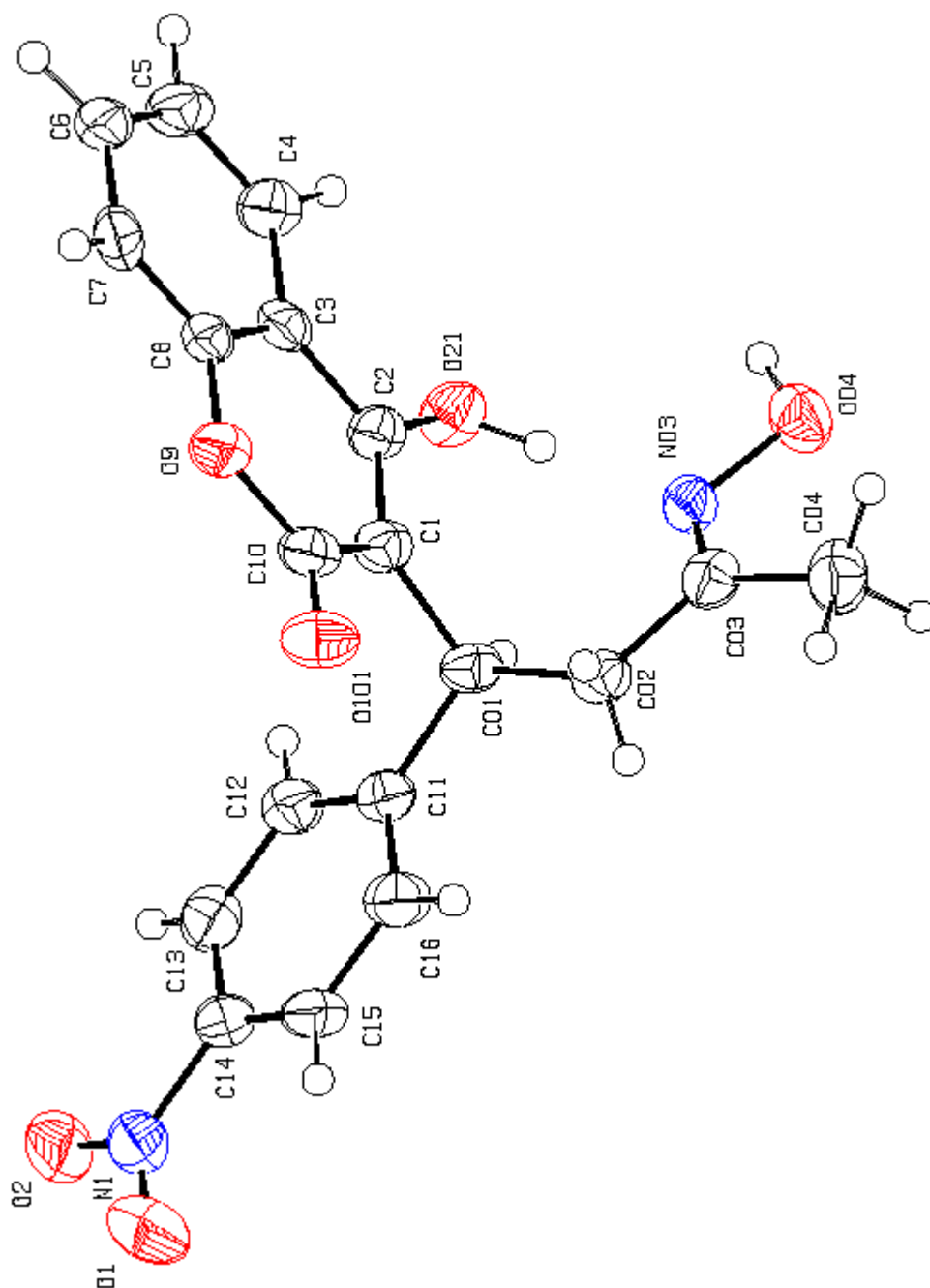


Таблица 17. Структурен анализ на 4-хидрокси-3-[(3E)-3-хидроксиимино-1-(4-нитрофенил)бутил]-2H-хромен-2-он

| | |
|--|---|
| Емпирична формула | $C_{19} H_{16} N_2 O_6$ |
| Молекулна маса | 368.34 |
| Температура | 173(2) K |
| Дължина на вълната | 0.71073 Å |
| Кристална система | Орторомбична |
| Пространствена група | Pbcn |
| Параметри на кристалната клетка | $a = 11.3411(8) \text{ Å}$ $\alpha = 90^\circ$ $b = 10.0843(14) \text{ Å}$ $\beta = 90^\circ$ $c = 33.170(3) \text{ Å}$ $\gamma = 90^\circ$ |
| Обем | $3793.6(7) \text{ Å}^3$ |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 8 |
| Дифрактометрична плътност | 1.290 Mg/m^3 |
| Абсорбционен коефициент | 0.098 mm^{-1} |
| F(000) | 1536 |
| Размери на кристала | 0.30 x 0.15 x 0.10 mm |
| Θ интервал за събиране на данни | 5.89 to 24.70 deg. |
| Лимит на индексите | $-13 \leq h \leq 13$, $-11 \leq k \leq 10$, $-38 \leq l \leq 38$ |
| Адекватност на приближението (Goodness-of-fit on F^2) | 1.235 |
| Крайни R индекси [$I > 2\sigma(I)$] | $R1 = 0.0946$, $wR2 = 0.1667$ |
| Крайни R индекси (all data) | $R1 = 0.1339$, $wR2 = 0.1814$ |
| Максимална/минимална E-плътност | 0.222 and -0.175 e.Å^{-3} |

Таблица 18. Избрани дължини на връзките (Å)

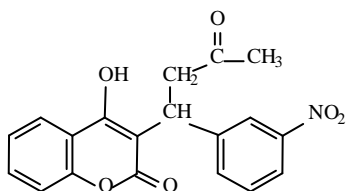
| | |
|--------------|----------|
| C 01 – C 11 | 1.518(6) |
| C 01 – C 1 | 1.525(6) |
| C 01 – C 02 | 1.528(6) |
| C 1 – C 2 | 1.359(6) |
| C 1 – C 10 | 1.437(6) |
| C 2 – O 21 | 1.348(5) |
| C 2 – C 3 | 1.436(6) |
| C 02 – C 03 | 1.502(6) |
| C 03 – N 03 | 1.280(6) |
| C 03 – C 04 | 1.490(7) |
| C 8 – O 9 | 1.381(5) |
| C 10 – O 101 | 1.214(5) |
| C 10 – O 9 | 1.374(5) |
| C 14 – N 1 | 1.478(6) |
| N 1 – O 1 | 1.219(6) |
| N 1 – O 2 | 1.231(6) |
| N 03 – O 04 | 1.413(5) |

Таблица 19. Избрани валентни ъгли (°)

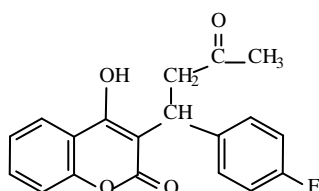
| | | | |
|--------------------|----------|--------------------|----------|
| C 11 – C 01 – C 1 | 110.4(4) | O 9 – C 8 – C 3 | 121.6(4) |
| C 11 – C 01 – C 02 | 116.0(4) | O 101 – C 10 – O 9 | 115.5(4) |
| C 1 – C 01 – C 02 | 113.4(4) | O 101 – C 10 – C 1 | 125.4(4) |
| C 2 – C 1 – C 10 | 119.4(4) | O 9 – C 10 – C 1 | 119.1(4) |
| C 2 – C 1 – C 01 | 123.2(4) | C 16 – C 11 – C 12 | 119.2(4) |
| C 10 – C 1 – C 01 | 117.3(4) | C 16 – C 11 – C 01 | 123.7(4) |
| O 21 – C 2 – C 1 | 123.3(4) | C 12 – C 11 – C 01 | 117.1(4) |
| O 21 – C 2 – C 3 | 115.7(4) | C 13 – C 14 – N 1 | 119.1(5) |
| C 03 – C 02 – C 01 | 115.5(4) | O 1 – N 1 – O 2 | 124.5(5) |
| C 4 – C 3 – C 2 | 123.9(4) | O 1 – N 1 – C 14 | 118.2(5) |
| N 03 – C 03 – C 04 | 124.0(5) | O 2 – N 1 – C 14 | 117.3(5) |
| N 03 – C 03 – C 02 | 117.4(4) | C 03 – N 03 – O 04 | 112.8(4) |
| C 04 – C 03 – C 02 | 118.5(4) | C 10 – O 9 – C 8 | 120.8(3) |
| O 9 – C 8 – C 7 | 116.8(4) | | |

II.7. Модификации в ароматното ядро от страничната верига в молекулата на 4-хидроксикумариновите антикоагуланти

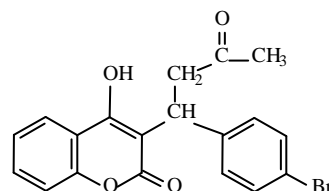
Трети вид модификация се състои в това, че заместителите в ароматното ядро са разнообразни както с промяна на мястото (2- и 3-нитро-), така и с вида на заместителя (вместо хлорен атом, флуорен или бромов атом).



[62,135,143,149]



[62,134,150]



[62, 135-138,151-153]

Чрез мас-спектралното изследване е доказана молекулната маса на продуктите

Таблица 20. Арилиденацетони

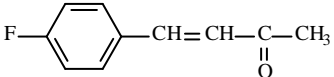
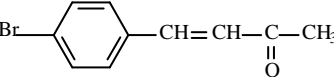
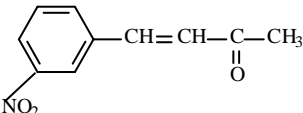
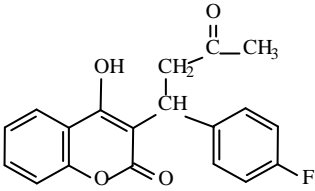
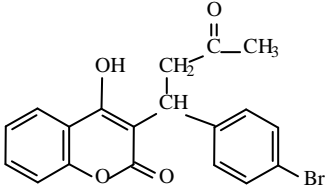
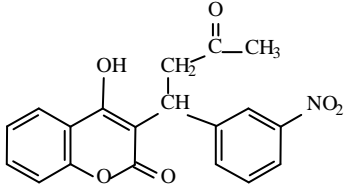
| Структурна формула | Брутна формула | Елементен анализ (изч/нам) | IR (нуйол) cm^{-1} |
|--|--|--|---|
|  4-(4-Флуорофенил)-3-бутен-2-он [53] | $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{FO}$ (мол.м. 164) | % C = 73.17; % H = 5.49 % C = 73.44; % H = 5.23 | 3477, 1711, 1694, 1669, 1638, 1624, 1613, 1599, 1233, 978, 818, 779. |
|  4-(4-Бромфенил)-3-бутен-2-он [62,75,76, 121-125,154-160] | $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{BrO}$ (мол.м. 225) | % C = 53.33; % H = 4.00 % C = 53.54; % H = 4.27 | 1684, 1657, 1639, 1624, 1584, 1462, 1262, 1101, 1009, 866, 804. |
|  4-(3-Нитрофенил)-3-бутен-2-он | $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_3$ (мол.м. 191) | % C = 62.83; % H = 4.71 % N = 7.33 % C = 63.14; % H = 4.67 % N = 7.43 | 1715, 1698, 1649, 1616, 1593, 1251, 1458, 1137, 833, 757. |

Таблица 21. Продукти на 4-хидроксикумарин с арилиденацетони

| Структурна формула | Брутна формула | Елементен анализ (изч/нам) | IR (нуйол) cm^{-1} | ^1H NMR | MS |
|---|--|---|--|---|--|
|  <p>4-Хидрокси-3-[1-(4-флуорофенил)-3-оксобутил]-2Н-1-бензопиран-2-он [73,134] Добив: 40 %</p> | <p>$\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{FO}_4$ (мол.м. 326)</p> | <p>% C = 69.94; % H = 4.60 % C = 70.19; % H = 4.73</p> | <p>3275, 1682, 1618, 1572, 1327, 1279, 1105, 951, 887, 835, 762.</p> | <p>Aceton-d_6 1.57-1.83 (s, 3H), 2.24-2.35 (d, 2H), 4.01- 4.13 (t, 1H), 6.03-6.52 (s, 1H), 6.9-7.9 (m, 8H),</p> | <p>326 (16), 283 (100), 269 (9), 187 (23), 163 (10), 120 (62), 92 (15), 43 (95).</p> |

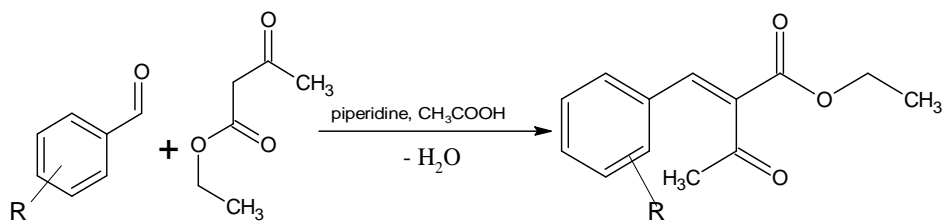
| | | | | | |
|---|-------------------------------------|--|--|--|---|
|  <p>4-Гидрокси-3-[1-(4-бромофенил)-3-оксобутил]-2Н-1-бензопиран-2-он Добив: 81 %</p> | $C_{19}H_{15}BrO_4$ (МОЛ.М. 387) | % C = 58.91; % H = 3.88 % C = 59.11; % H = 4.13 | 3297, 1682, 1616, 1568, 1277, 1190, 818, 764. | Aceton-d ₆ 1.44-1.74 (s, 3H), 2.10-2.47 (d, 2H), 3.80- 4.05 (t, 1H), 5.5-6.6 (s, 1H), 6.9-7.9 (m, 8H). | 387 (14), 344 (60), 343 (52), 329 (3), 263 (7), 249 (11), 187 (26), 120 (51), 92 (14), 43 (100). |
|  <p>4-Гидрокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2Н-1-бензопиран-2-он</p> | $C_{19}H_{15}NO_6$ (МОЛ.М. 353) | % C = 64.59; % H = 4.25 % N = 3.97 % C = 64.34; % H = 4.46 % N = 4.17 | 3374, 1690, 1618, 1573, 1272, 1186, 823, 750. | | |

II.8. Модификация на цялата странична верига на антикоагулантите с клинично приложение. Рентгеноструктурен анализ

II.8.1. Получаване на арилметилден- β -кетоестери

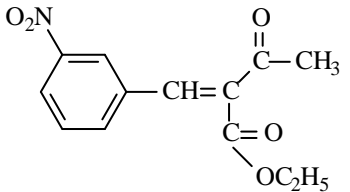
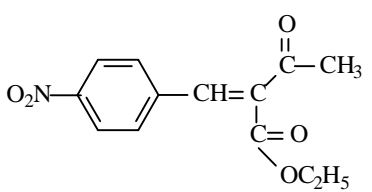
Взаимодействието между ароматни алдехиди и ацетон води до получаването на арилиденацетони. Вместо ацетон в алдолната кондензация могат да се използват 1,3-дикарбонилни съединения: ацетоцетов естер или ацетилацетон. Получават се арилиден- β -кетоестери или арилиден-2,4-пентандиони.

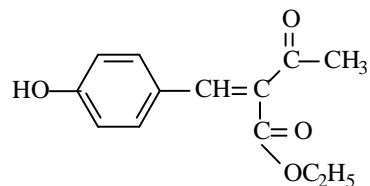
Арилметилден- β -кетоестери се получават по реакцията на Кнъвенагел. Протича взаимодействие между ароматен алдехид и етилацетоацетат в отсъствие на разтворител и наличие на пиперидин и лед. оцетна киселина при стайна температура. Реакционната схема на получаване на арилметилден- β -кетоестери е:



Данните за получените съединения са представени в таблица 22:

Таблица 22. Арилметилден-β-кетоестери

| Структурна формула | Брутна формула | Елементен анализ (изч/нам) | IR (нуйол) cm ⁻¹ | ¹ H NMR | EIMS |
|--|---|--|--------------------------------|---|---|
|  <p>Етил-2-(3-нитрофенил-метилден)-3-оксобутаноат [94-96] Добив: 17 %</p> | C ₁₃ H ₁₃ NO ₅ (мол.м. 263) | % C = 59.31; % H = 4.98 % C = 59.54; % H = 5.13 | 1728, 1661, 1530, 780, 735 | (DMSO-d ₆): 0.9 (t, 3H), 1.6 (s, 3H), 4.8 (q, 2H), 7.56-7.58 (m, 1H), 7.02-7.09 (m, 1H), 7.87-7.92 (m, 1H), 8.31-8.36 (m, 1H), 8.64-8.66 (m, 1H) | m/z (%): 263 (65), 262 (20), 248 (99), 246 (100), 234 (19), 220 (32), 218 (52), 216 (16), 202 (36), 200 (24), 192 (13), 180 (18), 176 (66), 174 (27), 160 (10), 152 (22), 146 (13), 130 (21), 129 (36), 120 (17), 115 (19), 102 (36), 101 (48), 89 (14), 75 (30), 63 (10), 51 (13), 45 (3). |
|  <p>Етил-2-(4-нитрофенил-метилден)-3-оксобутаноат [80-83,95,119,129-133,161] Добив: 66 %</p> | C ₁₃ H ₁₃ NO ₅ (мол.м. 263) | % C = 59.31; % H = 4.98; % N = 5.32 % C = 59.44; % H = 5.33; % N = 5.02 | 1732, 1711, 1609, 1530, 845 | (Acetone-d ₆): 0.9 (t, 3H), 1.3 (s, 3H), 2.8 (q, 2H), 6.1 (s, 1H), 7.62-7.68 (m, 2H), 7.89-7.95 (m, 2H) | - |



Етил-2-(4-
гидроксифенилметилен)-3-
оксобутаноат

[84-86]

Добив: 51 %

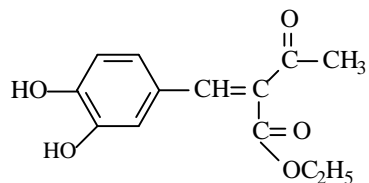
$C_{13}H_{14}O_4$
(мол.м. 234)

% C = 66.66;
% H = 6.02

3326, 1732, 1642,
1597, 1206, 820.

(Acetone- d_6): 1.3 (t, 3H), 2.3 (s, 3H), 4.3 (q, 2H), 6.85-6.91 (m, 2H), 7.38-7.44 (m, 2H), 7.44-7.46 (m, 1H), 10.5 (s, 1H)

234 (100), 233 (57), 220 (10), 219 (69), 217 (17), 205 (15), 191 (925), 189 (38), 187 (11), 175 (9), 163 (11), 161 (11), 160 (29), 151 (29), 147 (69), 146 (11), 145 (37), 131 (7), 123 (30), 120 (10), 119 (20), 118 (19), 91 (20), 89 (19).



Етил-2-(3,4-
дигидроксифенилметилен)-
3-оксобутаноат

[84, 87, 95, 96, 126-128, 162-
164]

Добив: 19 %

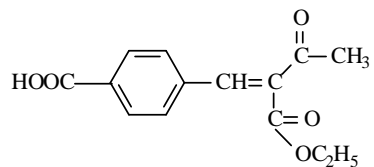
$C_{13}H_{14}O_5$
(мол.м. 250)

% C = 62.39;
% H = 5.64

3540, 1715, 1646,
1603, 1197.

(DMSO- d_6): 1.0 (t, 3H), 2.3 (s, 3H), 4.2 (q, 2H), 6.91 (dq, 1H), 7.0 (dq, 1H), 7.13-7.14 (m, 1H), 7.42-7.44 (m, 1H), 8.4 (s, 2H).

250 (100), 249 (40), 235 (20), 233 (30), 222 (17), 205 (31), 189 (76), 177 (10), 176 (31), 163 (43), 161 (74), 134 (19), 89 (16).



[95,119,165]

(4-[2-(етоксикарбонил)-3-оксобут-1-енил] бензоена киселина)

Добив: 57 %

$C_{14}H_{14}O_5$
(мол.м. 262)

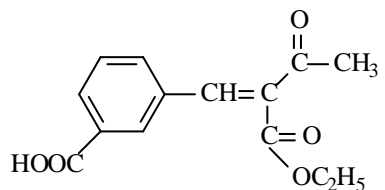
% C = 64.12;
% H = 5.38

3300-2400, 1736,
1690, 1609, 848.

% C = 64.44;
% H = 5.26

(DMSO- d_6):
1.0 (t, 3H), 2.3 (s, 3H), 4.2 (q, 2H), 7.39-7.41 (m, 1H), 7.53-7.59 (m, 2H), 7.91-7.96 (m, 2H), 13.23 (s, 1H).

262 (64), 261 (17), 247 (18), 233 (8), 218 (18), 217 (100), 191 (10), 189 (15), 179 (10), 175 (26), 173 (27), 171 (11), 155 (15), 151 (17), 147 (8), 131 (10), 129 (18), 103 (18), 101 (15), 77 (11).



3-[2-(етоксикарбонил)-3-оксобут-1-енил] бензоена киселина

Добив: 5 %

$C_{14}H_{14}O_5$
(мол.м. 262)

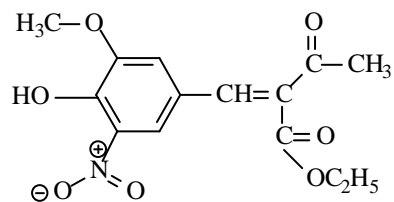
% C = 64.12;
% H = 5.38

3320-2400, 1726,
1695, 1615, 848.

% C = 64.24;
% H = 5.56

(DMSO- d_6):
1.2 (t, 3H), 2.5 (s, 3H), 4.3 (q, 2H), 7.44-7.51 (m, 1H), 7.61-7.63 (m, 1H), 7.73-7.78 (m, 1H), 8.09-8.14 (m, 1H), 8.22-8.24 (m, 1H), 10.0 (s, 1H).

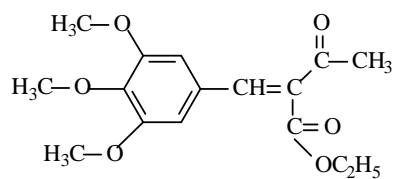
-



Етил 2-(3-метокси-5-нитро-
4-хидроксифенилметилеи)-
3-оксобуаноат
[166,167]

3448, 1734, 1666,
1607, 1563, 863.

(DMSO-d₆):
1.3 (t, 3H), 3.1 (s,
3H), 3.8 (s, 3H), 3.9
(q, 3H), 7.40-7.42 (m,
1H), 7.52-7.54 (m,
1H), 7.8 (dd, 1H), 9.6
(s, 1H).



$C_{16}H_{20}O_6$ % C = 62.33;
(мол.м. 308) % H = 6.54
% C = 62.02;
% H = 6.64

1734, 1670, 1610,
1580, 860.

Етил 2-ацетил-3-(3,4,5-
триметоксифенил) акрилат

Масата на молекулният катион радикал съответства на молекулната маса на очакваното съединение.

Структурата на етил 2-ацетил-3-(3,4,5-триметоксифенил) акрилат е доказана и с помощта на рентгеноструктурен анализ [94].

Фигура 7. Кристалографска структура на етил 2-ацетил-3-(3,4,5-триметоксифенил) акрилат

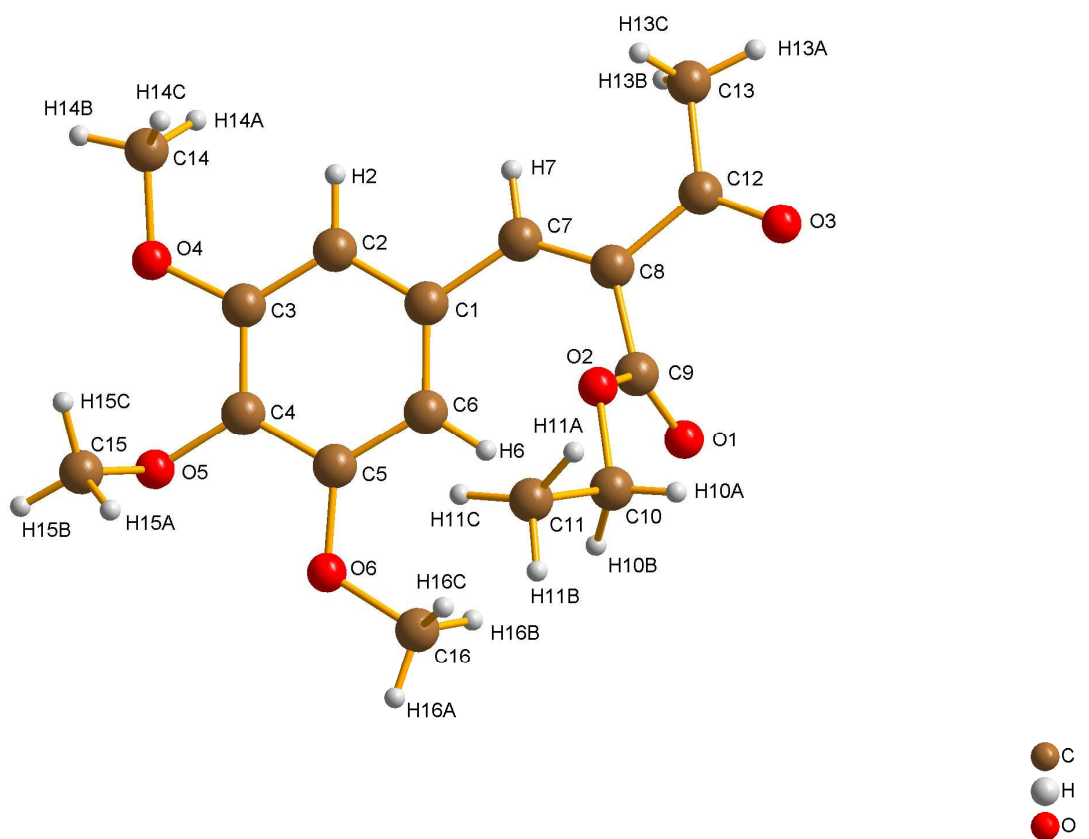


Таблица 23. Дължина на връзките (Å) на етил 2-ацетил-3-(3,4,5-триметоксифенил) акрилат

| | | | |
|-----------|----------|-------------|----------|
| C 1 – C 6 | 139.3(2) | C 8 – C 12 | 148.5(2) |
| C 1 – C 2 | 134.0(2) | C 8 – C 9 | 149.8(2) |
| C 1 – C 7 | 147.0(2) | C 9 – O 1 | 120.2(2) |
| C 2 – C 3 | 139.4(2) | C 9 – O 2 | 133.5(2) |
| C 3 – O 4 | 136.4(2) | O 2 – C 10 | 145.9(2) |
| C 3 – C 4 | 138.6(2) | C 10 – C 11 | 148.4(3) |
| C 4 – O 5 | 137.9(2) | C 12 – O 3 | 122.2(2) |
| C 4 – C 5 | 139.9(2) | C 12 – C 13 | 149.6(2) |
| C 5 – O 6 | 136.7(2) | O 4 – C 14 | 142.4(2) |
| C 5 – C 6 | 138.5(2) | O 5 – C 15 | 143.1(2) |
| C 7 – C 8 | 134.2(2) | O 6 – C 16 | 142.6(2) |

Таблица 24. Валентни ъгли [°] на етил 2-ацетил-3-(3,4,5-триметоксифенил) акрилат

| | | | |
|-------------------|----------|------------------|----------|
| C 8 – C 7 – C 1 | 129.7(1) | C 6 – C 1 – C 7 | 123.6(1) |
| C 7 – C 8 – C 12 | 123.0(1) | C 2 – C 1 – C 7 | 116.9(1) |
| C 7 – C 8 – C 9 | 123.9(1) | C 3 – C 2 – C 1 | 120.0(1) |
| C 12 – C 8 – C 9 | 113.1(1) | O 4 – C 3 – C 4 | 115.6(1) |
| O 1 – C 9 – O 2 | 124.5(1) | O 4 – C 3 – C 2 | 124.1(1) |
| O 1 – C 9 – C 8 | 125.2(1) | C 4 – C 3 – C 2 | 120.3(1) |
| O 2 – C 9 – C 8 | 110.3(1) | O 5 – C 4 – C 3 | 121.1(1) |
| C 9 – O 2 – C 10 | 116.7(1) | O 5 – C 4 – C 5 | 119.3(1) |
| O 2 – C 10 – C 11 | 107.5(2) | C 3 – C 4 – C 5 | 119.6(1) |
| O 3 – C 12 – C 8 | 118.8(1) | O 6 – C 5 – C 6 | 124.3(1) |
| O 3 – C 12 – C 13 | 121.1(1) | O 6 – C 5 – C 4 | 115.4(1) |
| C 8 – C 12 – C 13 | 120.1(1) | C 6 – C 5 – C 4 | 120.4(1) |
| C 3 – O 4 – C 14 | 118.0(1) | C 5 – C 6 – C 1 | 120.3(1) |
| C 4 – O 5 – C 15 | 112.8(1) | C 5 – O 6 – C 16 | 117.4(1) |

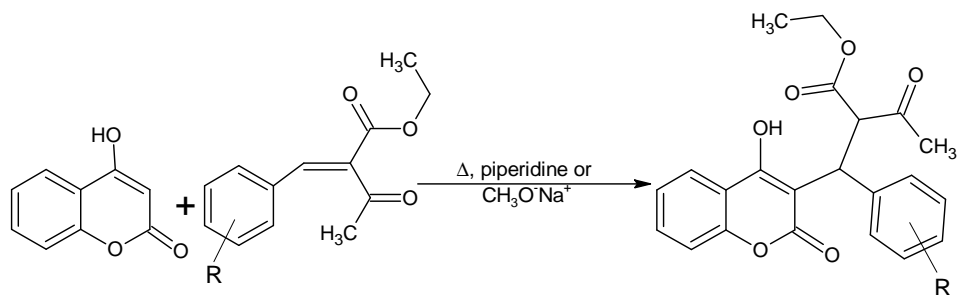
Дължината на връзката C7 - C8 е около 134Å и съответства на двойна връзка, а връзката C12 – O3 е 122.2 Å, съответства на двойна връзка в карбонилна група (C = O). Връзките C9 – O1 и C9 – O2 (естерната група) имат характер на частично двойни, поради тяхната дължина 120.2 и 133.5Å. Това е доказателство за делокализация (p,π-спрежение) на електронната плътност в естерната група. Химичната връзка O2 – C10 е с дължина на проста връзка (145.9Å). Връзките C8 - C9 и C8 - C12 са 149.8 и 148.5Å са по-къси от дължината на простата връзка, поради ефект на спрягане (π,π-спрежение) между π-електроните от C7 - C8 връзката и π-електроните от C12 – O3 и C9-O1 връзката. Валентните ъгли около C7 - C8 връзката (C8 – C7- C1 и C7 – C8 – C12) са 129.7° и 123°, което е указание за въглеродни атоми в sp² хибридно състояние и наличие на двойна връзка C7 = C8. Валентният ъгъл O1 - C9 - C8 е 125.2° и потвърждава sp² хибридно състояние на участващите атоми (естерна карбонилна група), докато другият ъгъл на естерната група O2 – C9 – C8 е 110.5° доказва sp³ хибридно състояние на атомите. Ъглите O3 - C12 - C13 и O3 – C12 – C8 са 121.1° и 118.8° – sp² хибридно състояние и двойна връзка C12 = O3.

В UV-Vis спектрите на тези съединения се наблюдава батохромно отместване (абсорбционни ивици до около 300 nm). То се дължи на спрегнатата система от двойни връзки (π,π-спрежение). Възможни са електронни преходи n – π* и π – π*.

Ауксохромни заместители като хидроксилна група, свързана с ароматно ядро, също оказват батохромен ефект, поради p,π-спрежение. Съединението етил 2-ацетил-3-(3-метокси-5-нитро-4-хидроксифенил)акрилат поради наличие на два ауксохромни заместителя и спрегната система от двойни връзки има червено-оранжев цвят и абсорбционни максимуми при 335 и 404 nm.

II.8.2. Взаимодействие на арилметилен-β-кетоестери с 4-хидроксикумарин

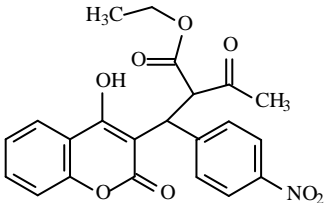
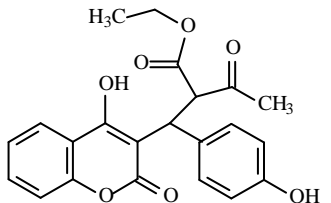
Арилметилен-β-кетоестерите взаимодействат с 4-хидроксикумарин по реакцията на Михаел. Продуктите съдържат арилметилен-β-кетоестерна странична верига. Реакцията може да се представи със следната схема:

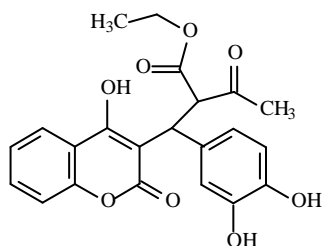


Взаимодействието се осъществява при продължително кипене в присъствие на пиперидин като катализатор. Метанол или диоксан/вода се използват като реакционна среда при получаването на етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)-(3,4,5-триметоксифенил)метил]-3-оксобутаноат и на етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)-(3-метокси-5-нитро-4-хидроксифенил)метил]-3-оксобутаноат.

Получените по горната схема съединения са представени в табл. 25.

Таблица 25. Адукти на 4-хидроксикумарин с арилметилен-β-кетоестери

| Структурна формула | Брутна формула | Елементен анализ (изч/нам) | IR (нуйол) cm^{-1} | ^1H NMR | EIMS |
|--|---|--|---|---|---|
|  <p>Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(4-нитрофенил)метил]-3-оксобутаноат</p> | $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{NO}_8$ (мол.м. 426) | % C = 62.12; % H = 4.50; % N = 3.29 % C = 62.02; % H = 4.38; % N = 3.21 | 3362, 1732, 1651, 1616, 1601, 833, 765. | (DMSO- d_6): 1.0 (t, 3H), 2.0 (s, 3H), 3.9 (q, 2H), 4.36-4.40 (m, 1H), 4.62 (dq, 1H), 7.17-7.25 (m, 3H), 7.38 (dq, 1H), 7.46-7.51 (m, 2H), 7.77-7.83 (m, 1H), 7.94-7.98 (m, 1H), 10.0 (s, 1H). | 426 (0.8), 380 (0.8), 368 (0.8), 368 (0.4), 343 (0.8), 327 (5.3), 317 (3.5), 302 (1.8), 284 (0.9), 274 (0.8), 256 (7), 242 (3), 230 (6), 213 (27), 202 (4.4), 187 (4.4), 176 (5.3), 163 (10), 162 (81), 149 (8), 134 (2), 121 (48), 120 (100), 105 (4.4), 92 (57), 77 (8), 63 (18), 51 (6.1), 46 (2). |
|  <p>[91,92,115] Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(4-хидроксифенил)метил]-3-оксобутаноат</p> | $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_7$ (мол.м. 396) | % C = 66.66 % H = 5.09 % C = 66.36 % H = 5.13 | 3391, 1700, 1622, 1599, 821, 760. | (DMSO- d_6): 1.0 (t, 3H), 2.0 (s, 3H), 4.1 (q, 2H), 4.36-4.40 (m, 1H), 4.62 (dq, 1H), 6.82-6.87 (m, 2H), 7.17-7.23 (m, 1H), 7.4 (dq, 1H), 7.49-7.55 (m, 2H), 7.77-7.83 (m, 1H), 7.94-7.98 (m, 1H), 8.6 (s, 2H). | 396 (0.09), 364 (0.09), 350 (0.09), 321 (0.09), 307 (0.9), 279 (0.4), 266 (56), 265 (100), 249 (31.6), 237 (10.5), 221 (2.6), 210 (2.6), 181 (1.8), 165 (1.8), 153 (2.6), 146 (7), 130 (7), 121 (19.3), 118 (17.5), 102 (4.4), 92 (15.8), 85 (12.3), 76 (2.6), 63 (10.5), 53 (2.6), 46 (0.09). |



[95,96,119]

Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3,4-дихидроксифенил)метил]-3-оксобутаноат

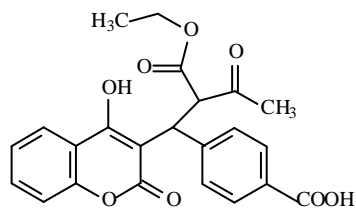
$C_{22}H_{20}O_7$
(МОЛ.М. 412)

% C = 64.07
% H = 4.89
% C = 64.44
% H = 4.52

3451, 1732, 1663,
1609, 1181, 1109,
826, 756.

(DMSO- d_6):
1.2 (t, 3H), 2.1 (s,
3H), 4.1 (q, 2H),
4.35-4.39 (m, 1H),
4.62 (dq, 1H), 6.86
(dq, 1H), 7.11 (dt,
1H), 7.17-7.25 (m,
2H), 7.38 (dq, 1H),
7.77-7.83 (m, 1H),
7.94-7.98 (m, 1H),
8.1 (s, 3H).

412 (0.09), 396 (0.09), 374
(0.9), 348 (0.5), 331 (0.9),
317 (5.3), 282 (8.8), 281
(12.3), 265 (9.6), 241 (1.8),
228 (26.3), 213 (0.9), 200
(48.2), 189 (1.8), 171 (8.8),
162 (93), 144 (7), 134
(5.3), 120 (100), 110
(58.8), 92 (74.6), 81 (8.8),
64 (35), 51 (11.4), 45 (3.5).



Етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(4-карбоксифенил)метил]-3-оксобутаноат

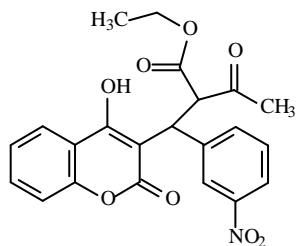
$C_{23}H_{20}O_8$
(МОЛ.М. 424)

% C = 65.09
% H = 4.75
% C = 65.07
% H = 4.90

3442, 3300-2400,
1732, 1694, 1613,
1109, 846, 756.

(DMSO- d_6):
1.0 (t, 3H), 2.1 (s,
3H), 3.9 (q, 2H),
4.36-4.40 (m, 1H),
4.62 (dq, 1H), 7.17-
7.24 (m, 1H), 7.38
(dq, 1H), 7.45-7.50
(m, 2H), 7.57-7.62
(m, 2H), 7.77-7.83
(m, 1H), 7.94-7.98
(m, 1H), 12.83 (s,
2H).

424 (1.3), 392 (0.4), 378
(17.5), 360 (1.8), 335
(48.2), 317 (19.3), 307
(9.6), 294 (44.7), 293
(34.2), 265 (6.1), 257
(50.9), 250 (22.8), 249
(100), 239 (5.3), 229 (1.8),
215 (12.3), 205 (1.8), 187
(2.6), 173 (2.6), 165 (4.4),
146 (2.6), 130 (6.1), 120
(19.3), 102 (6.1), 92 (30.7),
75 (6.1), 64 (8.8), 51 (2.6).



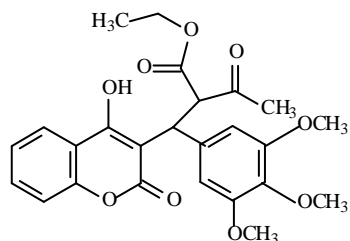
Етил 2-[(4-гидрокси-2-оксо-2H-хромен-3-ил)(3-нитрофенил)метил]-3-оксобутаноат

$C_{22}H_{19}NO_8$
(мол.м. 426)

% C = 65.09
% H = 4.75
% C = 65.07
% H = 4.90

3335, 1732.3,
1674.4, 1620.4,
1529.7, 1068.7,
763, 736.

(DMSO- d_6):
1.0 (t, 3H), 1.9 (s, 3H), 3.9 (q, 2H), 4.61-4.68 (m, 2H), 7.17-7.23 (m, 1H), 7.4 (dq, 1H), 7.46-7.52 (m, 1H), 7.60-7.64 (m, 1H), 7.77-7.83 (m, 1H), 7.84-7.86 (m, 1H), 7.94-7.98 (m, 1H), 9.8 (s, 1H).
426 (4.4), 382 (4.4), 361 (12.3), 336 (38.6), 320 (1.8), 308 (2.6), 294 (58.8), 278 (100), 266 (8.8), 257 (14.9), 249 (48.2), 248 (91.2), 239 (1.8), 220 (8.8), 205 (1.8), 176 (3.5), 165 (10.5), 139 (95.3), 130 (15.8), 120 (71.9), 101 (13.2), 92 (68.4), 85 (18.4), 75 (14.9), 64 (17.5), 51 (6).

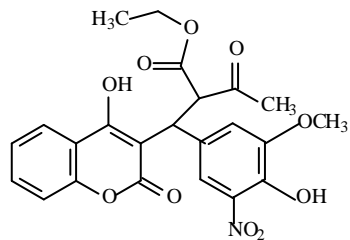


Етил 2-[(4-гидрокси-2-оксо-2H-хромен-3-ил) 2H-(3,4,5-триметоксифенил)-метил]- 3-оксобутаноат

$C_{25}H_{26}O_9$
(мол.м. 470)

% C = 63.83
% H = 5.53
% C = 63.67
% H = 5.39

(DMSO- d_6):
1.0 (t, 3H), 2.0 (s, 3H), 3.8 (s, 9H), 4.2 (q, 2H), 6.77-6.78 (m, 2H), 7.17-7.23 (m, 1H), 7.6 (dq, 1H), 7.77-7.83 (m, 1H), 7.94-7.98 (m, 1H), 11.2 (s, 1H).
470 (0.4), 450 (0.4), 420 (44.7), 406 (0.4), 392 (0.4), 374 (17.4), 359 (0.8), 347 (28), 331 (4.5), 318 (1.5), 301 (100), 286 (6.1), 260 (26.5), 245 (9.8), 232 (8.3), 210 (1.5), 199 (4.5), 181 (5.3), 168 (8.3), 153 (5.3), 135 (5.3), 115 (6.8), 98 (9.8), 77 (6.1), 65 (2.3), 53 (4.5).



етил -2- [(4-гидрокси-2-оксо-
хромен-3-ил)(3-метокси-5-
нитро-4-гидрокси)метил]-3-
оксобутаноат

$C_{23}H_{21}NO_{10}$

(мол.м. 471)

% C = 58.60

% H = 4.46

% N = 2.97

% C = 58.79

% H = 4.39

% N = 2.75

3445, 1744, 1636,
1463, 1377, 772

(DMSO- d_6):

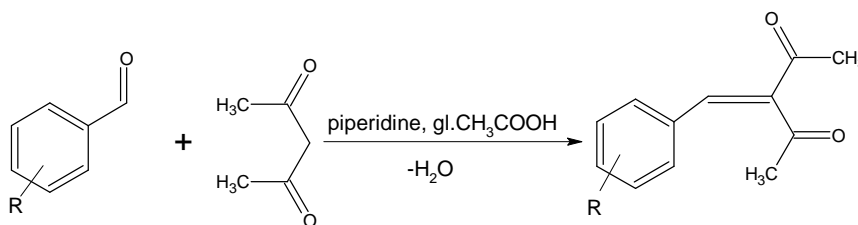
1.2 (s,3H), 1.6 (s,
3H),3.8 (s, 3H), 4.1
(q, 2H), 4.6 (dq, 1H),
4.80-4.84 (m, 1H),
7.17-7.23 (m, 1H),
7.38 (dq, 1H), 7.77-
7.83 (m, 1H), 7.93-
7.98 (m, 1H), 9.9 (s,
2H).

В UV-Vis спектрите се наблюдават типичните за бензен и негови производни абсорбционни максимуми около 210 nm, както и типичните за кумаринови производни максимуми около 280 и 308 nm.

На базата на всички спектрални данни и данни от елементния анализ се потвърждават очакваните структури.

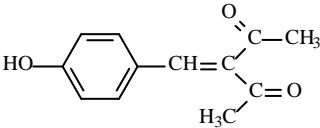
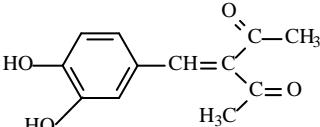
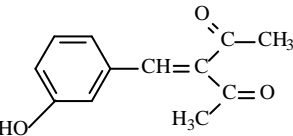
II.8.3. Получаване на 3-арилметилден-2,4-пентандиони

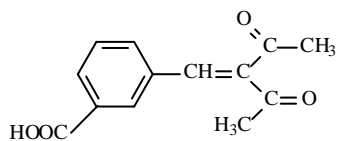
3-Арилметилден-2,4-пентандиони се получават по реакция на Кнъвенагел между ацетилацетон (2,4-пентандион) и различно заместени ароматни алдехиди в присъствие на пиперидин и лед. оцетна киселина при стайна температура. Реакцията се провежда в отсъствие на разтворители.



Данните за 3-арилметилден-2,4-пентандионите са представени в таблица 26:

Таблица 26. 3-Арилметилден-2,4-пентандиони

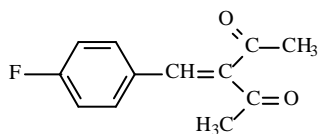
| Структурна формула | Брутна формула | Елементен анализ (изч/нам) | IR (нуйол) cm^{-1} | ^1H NMR | EIMS |
|--|--|--|---|---|---|
|  <p>3-(4-хидроксифенилметилден)-2,4-пентандион (Добив: 22 %)</p> | $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_3$ (мол.м. 204) | % C = 70.59 % H = 5.88 % C = 70.67 % H = 5.59 | 3180, 1705, 1640, 1600, 1580, 1160, 900, 730. | (DMSO- d_6): 2.2 (s, 3H), 2.4 (s, 3H), 4.8 (s, 1H), 6.74-6.80 (m, 2H), 7.06-7.11 (m, 2H), 10.2 (s, 1H). | 204 (100), 189 (100), 171 (18.5), 161 (100), 147 (100), 133 (9.2), 119 (74), 105 (6.7), 91 (38.7), 77 (15.1), 63 (26), 51 (11.8), 45 (0.8). |
|  <p>[96] 3-(3,4-дихидроксифенилметилден)-2,4-пентандион (Добив: 48 %)</p> | $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_4$ (мол.м. 220) | % C = 65.45 % H = 5.45 % C = 65.63 % H = 5.29 | | (DMSO- d_6): 2.2 (s, 3H), 2.4 (s, 3H), 4.8 (s, 1H), 6.73-6.81 (m, 2H), 6.9 (s, 1H), 9.5 (s, 2H). | 220 (100), 205 (100), 187 (26.9), 177 (100), 163 (100), 145 (89.1), 135 (79), 117 (48.7), 103 (22.7), 89 (57.1), 77 (44.5), 62 (31.9), 51 (34.4), 45 (1.6). |
|  <p>3-(3-хидроксифенилметилден)-2,4-пентандион (Добив: 12 %)</p> | $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_3$ (мол.м. 204) | % C = 70.59 % H = 5.88 % C = 70.37 % H = 5.72 | 3150, 1705, 1650, 1580, 1270, 1180, 780. | (DMSO- d_6): 2.2 (s, 3H), 2.4 (s, 3H), 4.8 (s, 1H), 6.57-6.59 (m, 1H), 6.92-6.97 (m, 1H), 7.01-7.06 (m, 1H), 7.14-7.21 (m, 1H), 9.8 (s, 1H). | 204 (100), 187 (100), 171 (12.6), 161 (100), 147 (100), 133 (17.6), 119 (100), 105 (17.6), 91 (89), 77 (30.2), 63 (51.3), 51 (26), 45 (0.8). |
| | | | | (DMSO- d_6): | |



3-(2-ацетил)-3-оксобут-1-енил] бензоена киселина
(Добив: 51 %)

$C_{13}H_{12}O_4$ % C = 67.24
(мол.м. 232) % H = 5.17
% C = 67.43
% H = 5.28

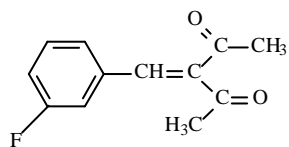
2.2 (s, 3H), 2.5 (s, 3H), 5.0 (s, 1H), 7.44-7.51 (m, 1H), 7.63-7.68 (m, 1H), 7.92-7.93 (m, 1H), 8.29-8.33 (m, 1H), 10.0 (s, 1H).



3-(4-флуорофенилметиле)-2,4-пентандион
(Добив: 15 %)

$C_{12}H_{11}FO_2$ % C = 69.89
(мол.м. 206) % H = 5.38

% C = 69.67
% H = 5.31



3-(3-флуорофенилметиле)-2,4-пентандион
(Добив: 50 %)

$C_{12}H_{11}FO_2$ % C = 69.89
(мол.м. 206) % H = 5.38

% C = 69.73
% H = 5.58

Изследванията показаха, че когато взаимодействието между ацетилацетон и ароматен алдехид се провежда в присъствие на разтворител, в някои случаи се получават продукти, различни от очакваните. Когато заместителите в ароматното ядро са хидроксилна група, метоксигрупа или бромов атом се получават арилиденацетилацетони. Когато в ароматното ядро заместителите са нитрогрупа и флуорен атом в р-положение спрямо алдехидната група – продуктите са сложно заместени циклохексанони. Структурата на продуктите е доказана с рентгеноструктурен анализ.

Фигура 8. Структура на 3-(4-хидроксифенилметил)-2,4-пентандион

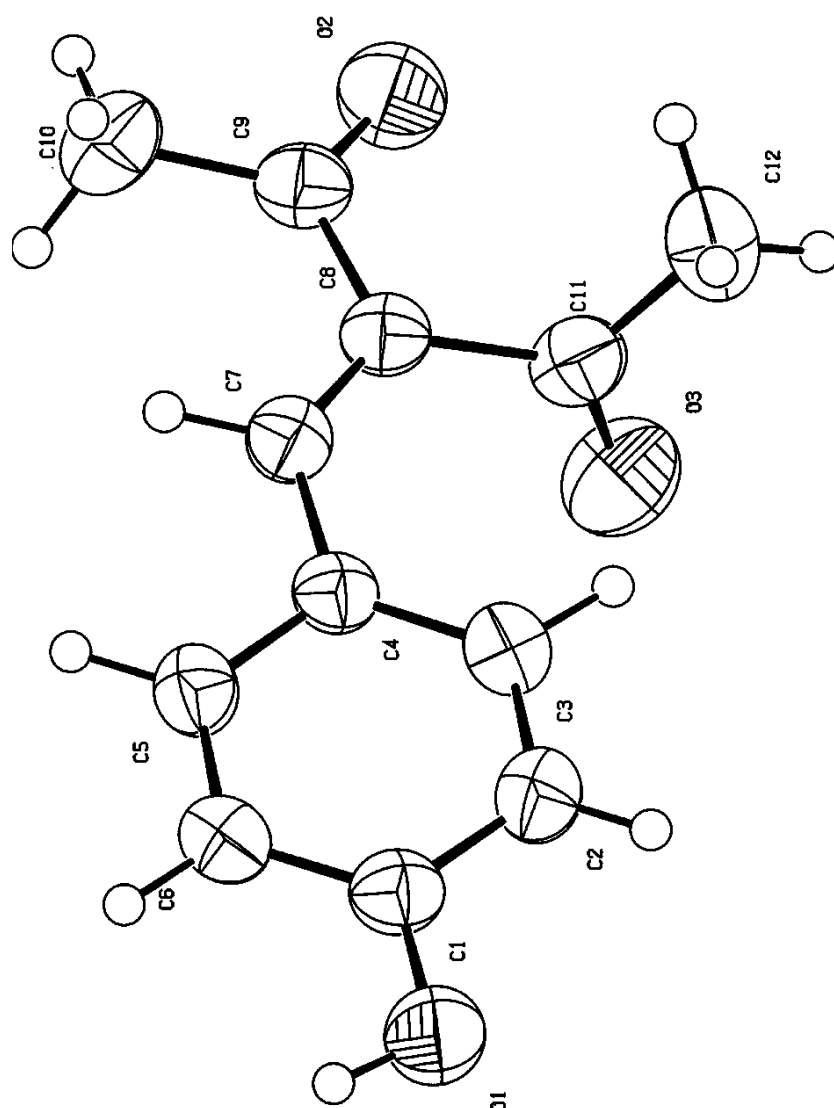


Таблица 27. Кристалографски данни за 3-(4-хидроксифенилметилен)-
2,4-пентандион

| | |
|---|---|
| Емпирична формула | $C_{12}H_{12}O_3$ |
| Молекулна маса | 204.22 |
| Температура | 293 (2) К |
| Дължина на вълната / Радиация | 0.71073 Å / MoK α |
| Кристална система | моноклинна |
| Пространствена група | $P21/c$ |
| Параметри на кристалната клетка | $a = 9.9866(11) \text{ \AA}; \alpha = 90^\circ$ $b = 7.3554(8) \text{ \AA}; \beta = 108.668(12)^\circ$ $c = 15.308(3) \text{ \AA}; \gamma = 90^\circ$ |
| Обем | $1065.3(3) \text{ \AA}^3$ |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 4 |
| Дифрактометрична плътност | 1.273 Mg/m^3 |
| Абсорбционен коефициент | 0.091 mm^{-1} |
| F(000) | 432 |
| Описание на кристала | безцветен блок |
| Размери на кристала | 0.5 x 0.25 x 0.20 mm |
| θ интервал за събиране на данни [°] | 3.11 to 31.01 deg. |
| Лимит на индексите | $-1 \leq h \leq 14, -1 \leq k \leq 7, -22 \leq l \leq 21$ |
| Крайни R индекси [$I > 2\sigma(I)$] | $R1 = 0.0556, wR2 = 0.1417$ |
| Крайни R индекси R1 / wR2 | 0.1344 / 0.1813 |
| Адекватност на приближението (Goodness-of-fit on F^2) | 0.936 |

Таблица 37. Дължина на връзките (Å) на 3-(4-хидроксифенилметилен)-2,4-пентандион

| | | | |
|------------|-----------|-------------|-----------|
| O 1 – C 1 | 1.358 (3) | C 9 – O 2 | 1.223 (3) |
| C 4 – C 7 | 1.452 (3) | C 9 – C 10 | 1.492 (3) |
| C 7 – C 8 | 1.343 (3) | C 11 – O 3 | 1.206 (3) |
| C 8 – C 9 | 1.470 (3) | C 11 – C 12 | 1.483 (4) |
| C 8 – C 11 | 1.506 (3) | | |

Таблица 28. Валентни ъгли (°) на 3-(4-хидроксифенилметилен)-2,4-пентандион

| | | | |
|------------------|-------------|-------------------|-------------|
| O 1 – C 1 – C 6 | 122.8 (2) | C 9 – C 8 – C 11 | 113.69 (17) |
| O 1 – C 1 – C 2 | 117.6 (2) | O 2 – C 9 – C 8 | 119.9 (2) |
| C 3 – C 4 – C 7 | 125.62 (18) | O 2 – C 9 – C 10 | 118.8 (2) |
| C 5 – C 4 – C 7 | 117.2 (2) | C 8 – C 9 – C 10 | 121.4 (2) |
| C 8 – C 7 – C 4 | 132.2 (2) | O 3 – C 11 – C 12 | 121.4 (2) |
| C 7 – C 8 – C 9 | 121.0 (2) | O 3 – C 11 – C 8 | 120.0 (2) |
| C 7 – C 8 – C 11 | 125.2 (2) | C 12 – C 11 – C 8 | 118.6 (2) |

Фигура 9. Структура на 3-(4-метоксифенилметилен)-2,4-пентандион

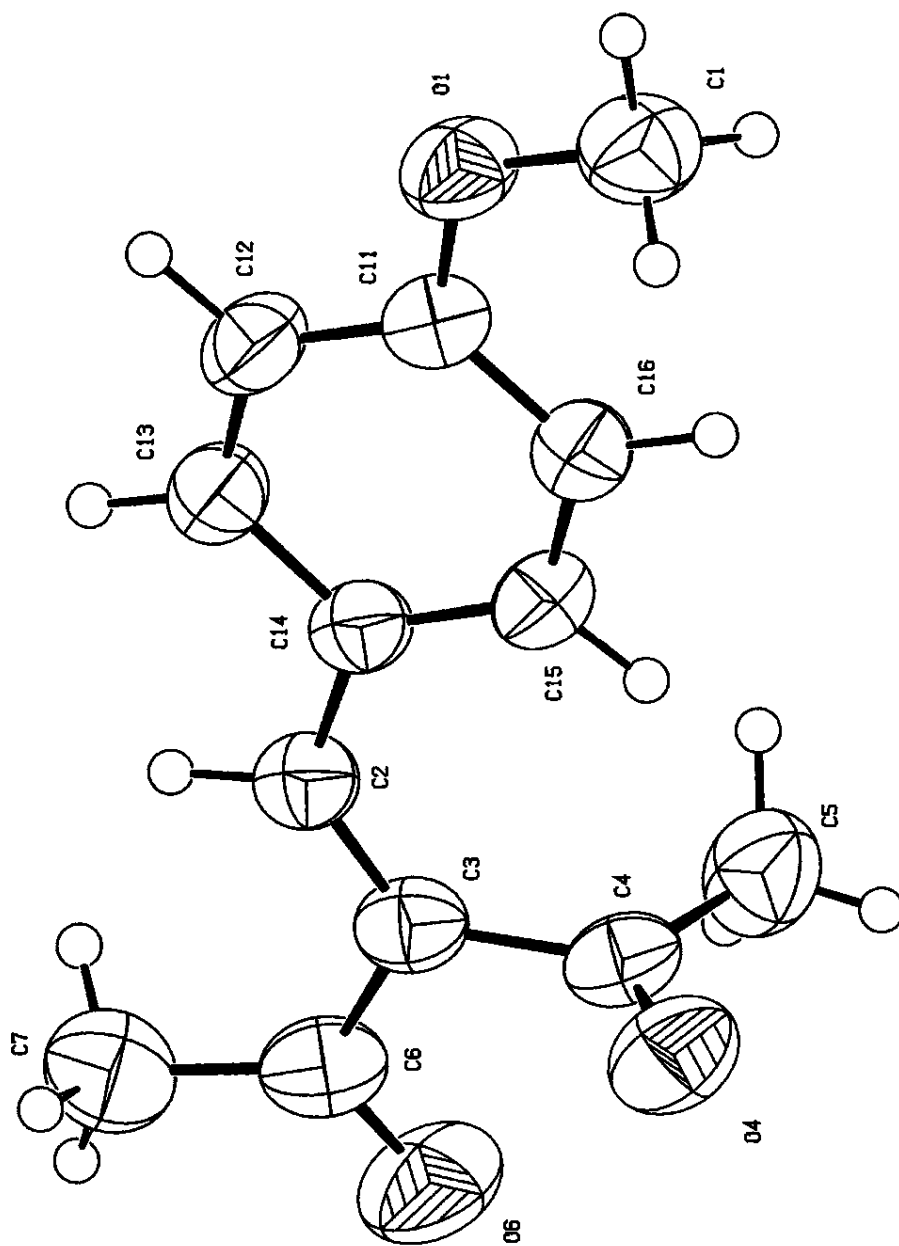


Таблица 29. Кристалографски данни за 3-(4-метоксифенилметилен)-
2,4-пентандион

| | |
|---|--|
| Емпирична формула | $C_{11}H_{14}O_3$ |
| Молекулна маса | 194.22 |
| Температура | 291 (2) K |
| Дължина на вълната / Радиация | 0.71073 Å / MoK α |
| Кристална система | моноклинна |
| Пространствена група | P21/c |
| Параметри на кристалната клетка | $a = 12.915 (3) \text{ \AA}; \alpha = 90$ $b = 10.1065 (9) \text{ \AA}; \beta = 100.169 (12)^\circ$ $c = 9.2163 (11) \text{ \AA}; \gamma = 90^\circ$ |
| Обем | $1184.0 (3) \text{ \AA}^3$ |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 4 |
| Дифрактометрична плътност | 1.090 Mg/m^3 |
| Абсорбционен коефициент | 0.079 mm^{-1} |
| F(000) | 416 |
| Размери на кристала | 0.6 x 0.50 x 0.25 mm |
| θ интервал за събиране на данни [°] | 3.02 to 28.03 deg. |
| Лимит на индексите | $-17 \leq h \leq 16, -13 \leq k \leq 0, -1 \leq l \leq 12$ |
| Крайни R индекси [$I > 2\sigma(I)$] | $R1 = 0.0461, wR2 = 0.1439$ |
| Крайни R индекси (all) R1 / wR2 | 0.0946 / 0.1814 |
| Адекватност на приближението (Goodness-of-fit on F^2) | 0.872 |

Таблица 30. Дължина на връзките (Å) на 3-(4-метоксифенилметилеи)-2,4-пентандион

| | | | |
|------------|-----------|------------|-----------|
| O 1 – C 11 | 1.356 (2) | C 2 – C 14 | 1.463 (2) |
| O 1 – C 1 | 1.425 (3) | C 3 – C 6 | 1.485 (3) |
| O 4 – C 4 | 1.208 (2) | C 3 – C 4 | 1.499 (3) |
| O 6 – C 6 | 1.216 (3) | C 4 – C 5 | 1.485 (3) |
| C 2 – C 3 | 1.349 (3) | C 6 – C 7 | 1.497 (4) |

Таблица 31. Валентни ъгли (°) на 3-(4-метоксифенилметилеи)-2,4-пентандион

| | | | |
|------------------|-------------|-------------------|-------------|
| C 11 – O 1 – C 1 | 118.18 (15) | O 1 – C 11 – C 12 | 116.22 (16) |
| C 3 – C 2 – C 14 | 131.04 (19) | O 1 – C 11 – C 16 | 124.36 (17) |
| C 2 – C 3 – C 6 | 121.85 (19) | C 15 – C 14 – C 2 | 125.89 (16) |
| C 2 – C 3 – C 4 | 125.33 (17) | C 13 – C 14 – C 2 | 117.29 (17) |
| C 6 – C 3 – C 4 | 112.82 (16) | O 6 – C 6 – C 3 | 118.2 (2) |
| O 4 – C 4 – C 5 | 122.3 (2) | O 6 – C 6 – C 7 | 120.14 (19) |
| O 4 – C 4 – C 3 | 120.51 (18) | C 3 – C 6 – C 7 | 121.64 (18) |
| C 5 – C 4 – C 3 | 117.18 (19) | | |

Фигура 10. Структура на 3-(4-бромофенилметил)-2,4-пентандион

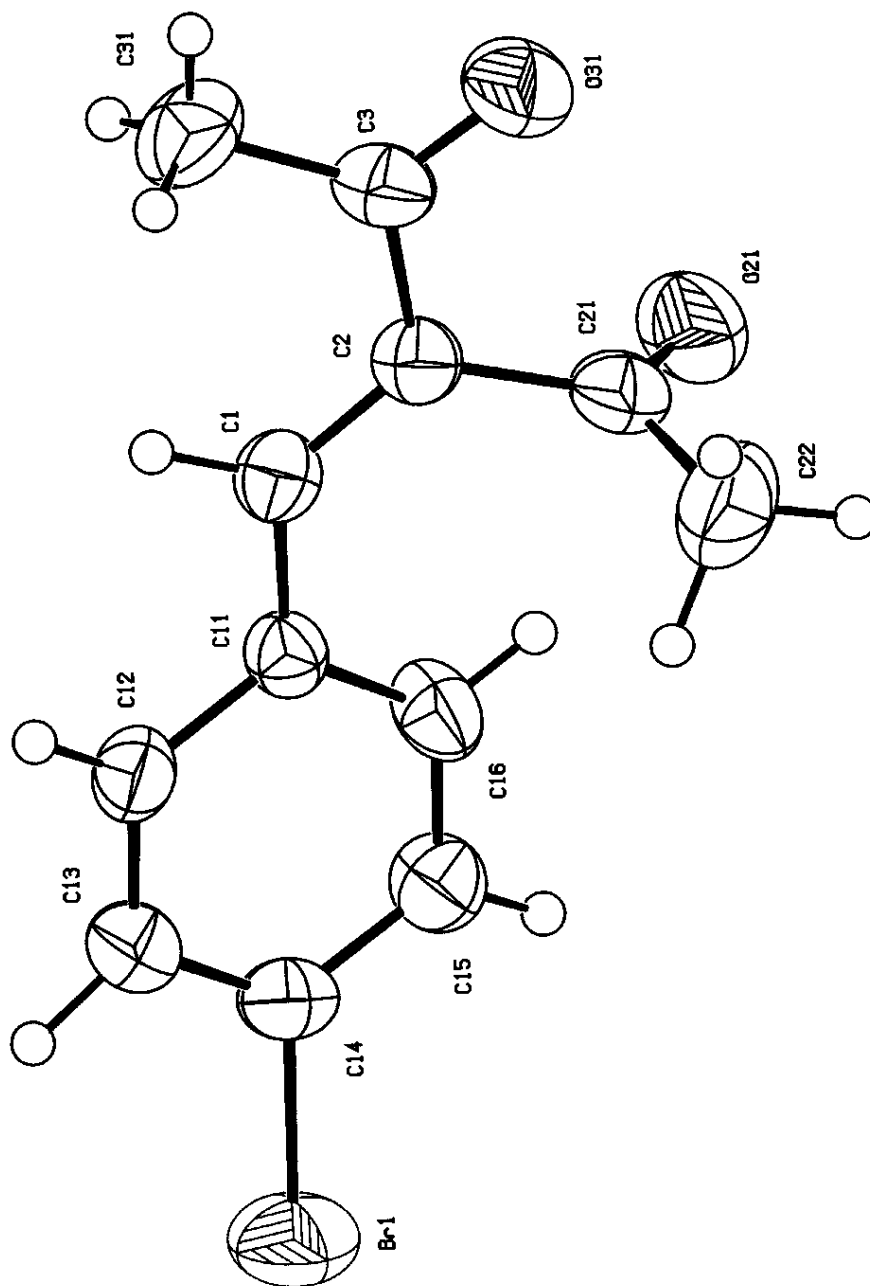


Таблица 32. Кристалографски данни за 3-(4-бромофенилметилен)-
2,4-пентандион

| | |
|--|--|
| Емпирична формула | $C_{12}H_{11}BrO_2$ |
| Молекулна маса | 267.12 |
| Температура | 291 (2) K |
| Дължина на вълната / Радиация | 0.71073 Å / MoK α |
| Кристална система | орторомбична |
| Пространствена група | P212121 |
| Параметри на кристалната клетка | $a = 8.6433 (6) \text{ \AA}; \alpha = 90^\circ$ $b = 10.0188 (13) \text{ \AA}; \beta = 90^\circ$ $c = 13.516 (5) \text{ \AA}; \gamma = 90^\circ$ |
| Обем | 1170.5 (4) Å ³ |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 4 |
| Дифрактометрична плътност | 1.516 Mg/m ³ |
| Абсорбционен коефициент | 3.489 mm ⁻¹ |
| F(000) | 536 |
| Размери на кристала | 0.90 x 0.50 x 0.30 mm |
| θ интервал за събиране на данни [°] | 3.01 to 25.98 deg. |
| Лимит на индексите | $-10 \leq h \leq 10, -1 \leq k \leq 12, -1 \leq l \leq 16$ |
| Крайни R индекси [$I > 2\sigma(I)$] | R1 = 0.0391, wR2 = 0.0789 |
| Крайни R индекси (all) R1 / wR2 | R1 = 0.0874, wR2 = 0.0919 |
| Адекватност на приближението (Goodness-of-fit on F ²) | 1.001 |
| Максимална / минимална E-плътност | 0.292 and -0.347 e. Å ⁻³ |

Таблица 33. Дължина на връзките (Å) на 3-(4-бромофенилметилен)-
2,4-пентандион

| | | | |
|-------------|-----------|-------------|-----------|
| Br 1 – C 14 | 1.908 (4) | C 2 – C 21 | 1.494 (7) |
| O 21 – C 21 | 1.212 (6) | C 2 – C 3 | 1.495 (6) |
| O 31 – C 3 | 1.210 (5) | C 3 – C 31 | 1.494 (7) |
| C 1 – C 2 | 1.332 (6) | C 21 – C 22 | 1.490 (8) |
| C 1 – C 11 | 1.478 (6) | | |

Таблица 34. Валентни ъгли (°) на 3-(4-бромофенилметилен)-
2,4-пентандион

| | | | |
|-------------------|-----------|-----------------------|-----------|
| C 2 – C 1 – C 11 | 129.3 (4) | C 16 – C 11 – C 1 | 124.2 (4) |
| C 1 – C 2 – C 21 | 124.9 (4) | C 12 – C 11 – C 1 | 117.7 (4) |
| C 1 – C 2 – C 3 | 122.3 (4) | C 13 #2 – C 14 – Br 1 | 119.4 (3) |
| C 21 – C 2 – C 3 | 112.8 (4) | C 15 – C 14 – Br 1 | 118.2 (3) |
| O 31 – C 3 – C 31 | 121.2 (4) | O 21 – C 21 – C 22 | 122.3 (5) |
| O 31 – C 3 – C 2 | 118.3 (4) | O 21 – C 21 – C 2 | 121.3 (4) |
| C 31 – C 3 – C 2 | 120.5 (4) | C 22 – C 21 – C 2 | 116.4 (5) |

Фигура 11. Структура на 2,4-диацетил-5-хидрокси-5-метил-3-(4-нитрофенил)-
циклохексанон

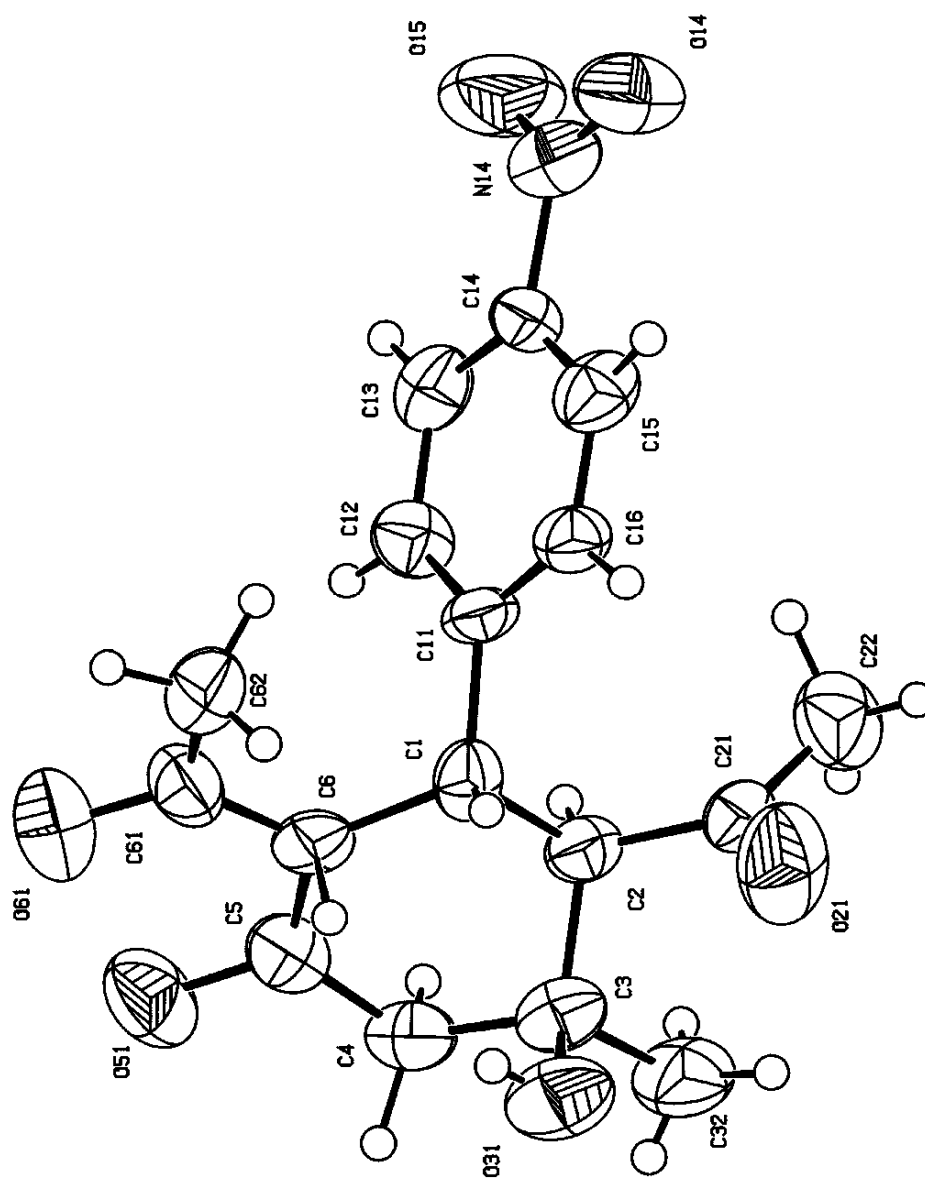


Таблица 35. Кристалографски данни за 2,4-диацетил-5-хидрокси-5-метил-3-(4-нитрофенил)-циклохексанон

| | |
|---|---|
| Емпирична формула | $C_{17}H_{19}NO_6$ |
| Молекулна маса | 333.33 |
| Температура | 213 (2) К |
| Дължина на вълната / Радиация | 0.71073 Å / MoK α |
| Кристална система | орторомбична |
| Пространствена група | Pbca |
| Параметри на кристалната клетка | $a = 8.6405 (10) \text{ \AA}; \alpha = 90^\circ$ $b = 18.682 (2) \text{ \AA}; \beta = 90^\circ$ $c = 20.187 (4) \text{ \AA}; \gamma = 90^\circ$ |
| Обем | $3258.7 (8) \text{ \AA}^3$ |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 8 |
| Дифрактометрична плътност | 1.359 Mg/m^3 |
| Абсорбционен коефициент | 0.104 mm^{-1} |
| F(000) | 1408 |
| Размери на кристала | 0.30 x 0.15 x 0.15 mm |
| θ интервал за събиране на данни [°] | 5.83 to 20.81 deg. |
| Лимит на индексите | $-1 \leq h \leq 8, -1 \leq k \leq 18, -1 \leq l \leq 20$ |
| Крайни R индекси [$I > 2\sigma(I)$] | $R1 = 0.0687, wR2 = 0.1225$ |
| Крайни R индекси R1 / R2 | $R1 = 0.2550, wR2 = 0.1590$ |
| Адекватност на приближението (Goodness-of-fit on F^2) | 1.078 |
| Максимална / минимална E-плътност | 0.298 and $-0.384 \text{ e. \AA}^{-3}$ |

Таблица 36. Дължина на връзките (Å) на 2,4-диацетил-5-хидрокси-5-метил-3-(4-нитрофенил)-циклохексанон

| | | | |
|------------|------------|-------------|------------|
| C 1 – C 11 | 1.496 (10) | C 5 – C 6 | 1.377 (10) |
| C 1 – C 6 | 1.512 (10) | C 6 – C 61 | 1.444 (11) |
| C 1 – C 2 | 1.532 (10) | C 14 – N 14 | 1.487 (11) |
| C 2 – C 21 | 1.513 (10) | C 21 – O 21 | 1.223 (9) |
| C 2 – C 3 | 1.521 (10) | C 21 – C 22 | 1.500 (12) |
| C 3 – O 31 | 1.462 (8) | C 61 – O 61 | 1.261 (9) |
| C 3 – C 32 | 1.495 (12) | C 61 – C 62 | 1.496 (10) |
| C 3 – C 4 | 1.506 (11) | O 14 – N 14 | 1.231 (8) |
| C 4 – C 5 | 1.490 (12) | O 15 – N 14 | 1.214 (8) |
| C 5 – O 51 | 1.323 (9) | | |

Таблица 37. Валентни ъгли (°) на 2,4-диацетил-5-хидрокси-5-метил-3-(4-нитрофенил)-циклохексанон

| | | | |
|-------------------|------------|--------------------|------------|
| C 11 – C 1 – C 6 | 115.2 (7) | C 5 – C 6 – C 61 | 117.7 (9) |
| C 11 – C 1 – C 2 | 109.0 (7) | C 5 – C 6 – C 1 | 121.8 (9) |
| C 6 – C 1 – C 2 | 111.4 (8) | C 61 – C 6 – C 1 | 120.5 (9) |
| C 21 – C 2 – C 3 | 111.4 (7) | C 16 – C 11 – C 1 | 120.7 (8) |
| C 21 – C 2 – C 1 | 109.4 (7) | C 12 – C 11 – C 1 | 120.8 (8) |
| C 3 – C 2 – C 1 | 114.0 (8) | C 15 – C 14 – N 14 | 119.3 (10) |
| O 31 – C 3 – C 32 | 107.3 (8) | C 13 – C 14 – N 14 | 117.4 (10) |
| O 31 – C 3 – C 4 | 107.9 (8) | O 21 – C 21 – C 22 | 121.0 (9) |
| C 32 – C 3 – C 4 | 110.8 (9) | O 21 – C 21 – C 2 | 121.3 (9) |
| O 31 – C 3 – C 2 | 111.8 (7) | C 22 – C 21 – C 2 | 117.6 (9) |
| C 32 – C 3 – C 2 | 111.1 (10) | O 61 – C 61 – C 6 | 121.0 (9) |
| C 4 – C 3 – C 2 | 107.9 (8) | O 61 – C 61 – C 62 | 117.3 (9) |
| C 5 – C 4 – C 3 | 113.3 (9) | C 6 – C 61 – C 62 | 121.4 (9) |
| O 51 – C 5 – C 6 | 121.3 (9) | O 15 – N 14 – O 14 | 122.0 (9) |
| O 51 – C 5 – C 4 | 115.6 (9) | O 15 – N 14 – C 14 | 120.0 (10) |
| C 6 – C 5 – C 4 | 123.0 (10) | O 14 – N 14 – C 14 | 118.0 (9) |

Фигура 12. Структура на 2,4-диацетил-3-(4-флуорофенил)-5-хидрокси-5-метилциклохексанон

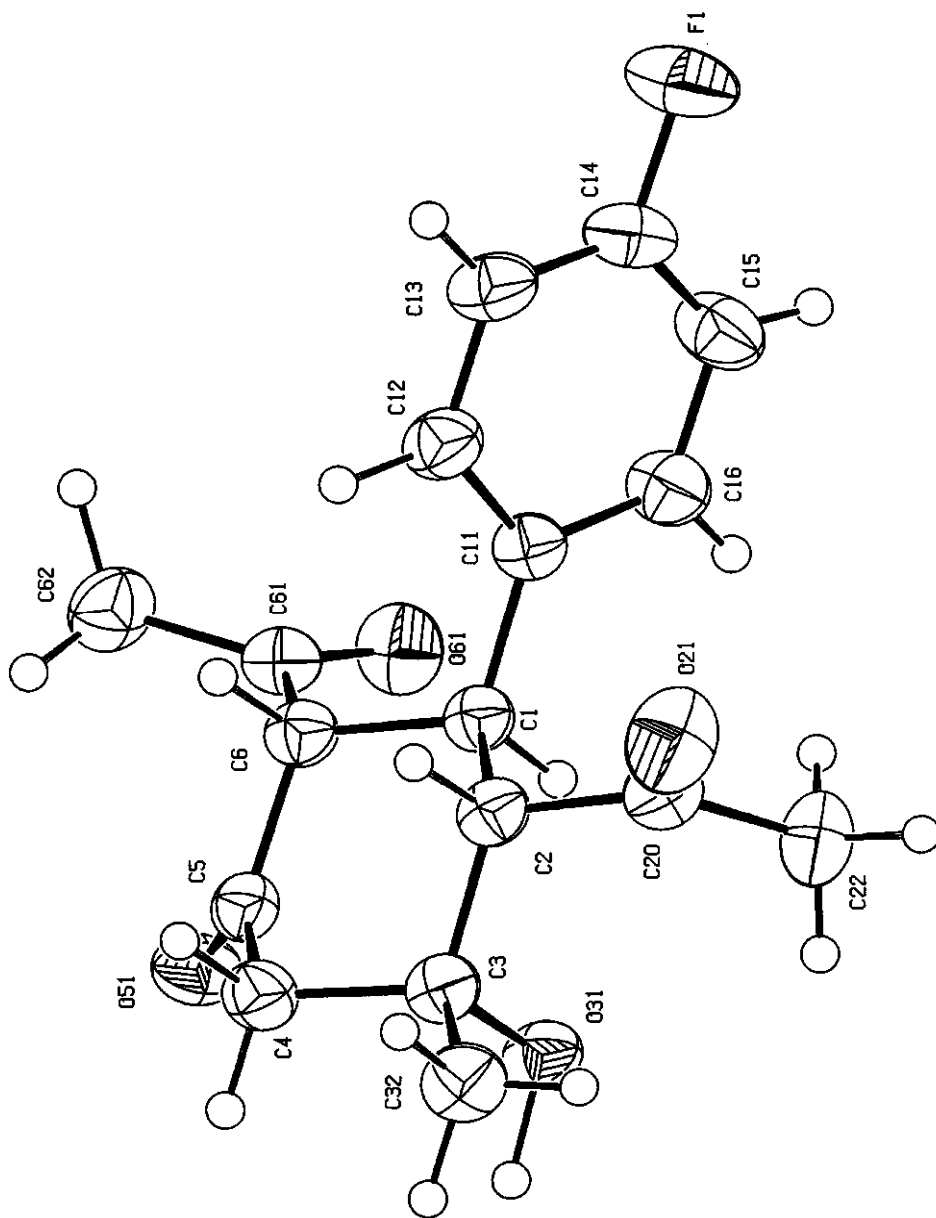


Таблица 38. Кристалографски данни за 2,4-диацетил-3-(4-флуорофенил)-
5-хидрокси-5-метилциклохексанон

| | |
|---|---|
| Емпирична формула | $C_{17}H_{19}FO_4$ |
| Молекулна маса | 306.32 |
| Температура | 223 (2) K |
| Дължина на вълната / Радиация | 1.54184 Å / MoK α |
| Кристална система | моноклинна |
| Пространствена група | P21/c |
| Параметри на кристалната клетка | $a = 5.7045 (5) \text{ \AA}$; $\alpha = 90^\circ$ $b = 18.120 (3) \text{ \AA}$; $\beta = 96.192 (6)^\circ$ $c = 16.1678 (11) \text{ \AA}$; $\gamma = 90^\circ$ |
| Обем | $1661.5 (3) \text{ \AA}^3$ |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 4 |
| Дифрактометрична плътност | 1.225 Mg/m^3 |
| Абсорбционен коефициент | 0.784 mm^{-1} |
| F(000) | 648 |
| Размери на кристала | 0.50 x 0.15 x 0.15 mm |
| θ интервал за събиране на данни [°] | 5.50 to 64.96 deg. |
| Лимит на индексите | $-1 \leq h \leq 6$, $-1 \leq k \leq 21$, $-18 \leq l \leq 18$ |
| Крайни R индекси [$I > 2\sigma(I)$] | $R1 = 0.0699$, $wR2 = 0.2100$ |
| Крайни R индекси R1 / R2 | $R1 = 0.0792$, $wR2 = 0.2210$ |
| Адекватност на приближението (Goodness-of-fit on F^2) | 1.067 |
| Максимална / минимална E-плътност | 1.126 and $-0.234 \text{ e. \AA}^{-3}$ |

Таблица 39. Дължина на връзките (Å) на 2,4-диацетил-3-(4-флуорофенил)-
5-хидрокси-5-метилциклохексанон

| | | | |
|------------|-----------|-------------|-----------|
| C 1 – C 11 | 1.515 (3) | C 5 – O 51 | 1.214 (3) |
| C 1 – C 6 | 1.543 (3) | C 5 – C 6 | 1.520 (3) |
| C 1 – C 2 | 1.555 (3) | C 6 – C 61 | 1.525 (4) |
| C 2 – C 20 | 1.522 (4) | C 14 – F 1 | 1.367 (3) |
| C 2 – C 3 | 1.535 (3) | C 20 – O 21 | 1.208 (4) |
| C 3 – O 31 | 1.432 (3) | C 20 – C 22 | 1.499 (4) |
| C 3 – C 32 | 1.528 (4) | C 61 – O 61 | 1.211 (3) |
| C 3 – C 4 | 1.544 (4) | C 61 – C 62 | 1.490 (4) |
| C 4 – C 5 | 1.498 (4) | | |

Таблица 40. Валентни ъгли (°) на 2,4-диацетил-3-(4-флуорофенил)-
5-хидрокси-5-метилциклохексанон

| | | | |
|-------------------|-------------|--------------------|-----------|
| C 11 – C 1 – C 6 | 111.61 (19) | C 4 – C 5 – C 6 | 115.2 (2) |
| C 11 – C 1 – C 2 | 111.2 (2) | C 5 – C 6 – C 61 | 109.2 (2) |
| C 6 – C 1 – C 2 | 109.7 (2) | C 5 – C 6 – C 1 | 111.0 (2) |
| C 20 – C 2 – C 3 | 112.8 (2) | C 61 – C 6 – C 1 | 113.1 (2) |
| C 20 – C 2 – C 1 | 111.9 (2) | C 16 – C 11 – C 1 | 120.0 (2) |
| C 3 – C 2 – C 1 | 111.9 (2) | C 12 – C 11 – C 1 | 121.7 (2) |
| O 31 – C 3 – C 32 | 110.1 (2) | C 15 – C 14 – F 1 | 118.5 (3) |
| O 31 – C 3 – C 2 | 107.49 (19) | C 13 – C 14 – F 1 | 118.7 (3) |
| C 32 – C 3 – C 2 | 112.1 (2) | O 21 – C 20 – C 22 | 121.1 (3) |
| O 31 – C 3 – C 4 | 108.0 (2) | O 21 – C 20 – C 2 | 118.7 (3) |
| C 32 – C 3 – C 4 | 110.4 (2) | C 22 – C 20 – C 2 | 120.2 (2) |
| C 2 – C 3 – C 4 | 108.7 (2) | O 61 – C 61 – C 62 | 122.3 (3) |
| C 5 – C 4 – C 3 | 108.6 (2) | O 61 – C 61 – C 6 | 121.0 (2) |
| O 51 – C 5 – C 4 | 123.4 (2) | C 62 – C 61 – C 6 | 116.7 (2) |
| O 51 – C 5 – C 6 | 121.4 (2) | | |

От UV-Vis спектрите на съединенията може да се установи следното: Поради π,π -спрежението се наблюдава батохромно отместване на абсорбционните максимуми за ароматно ядро и карбонилните групи до 280 - 290 nm. Ако на пара-позиция е свързана хидроксилна група, напр. съединения 3-(3-нитрофенилметил)-2,4-пентандион и 3-(3,4-дихидроксифенилметил)-2,4-пентандион, има и допълнително r,π - спрежение, в което взема участие и r -електронната двойка на кислородния атом. В този случай се наблюдава още един характерен абсорбционен максимум (328–348 nm) Ако хидроксилната група е свързана на мета-позиция, напр. 3-(3-хидроксифенилметил)-2,4-пентандион, не се наблюдава този допълнителен абсорбционен максимум. В случаите когато към ароматното ядро е свързан електроноакцепторен заместител – 3-(2-ацетил-3-оксобут-1-енил)бензоена киселина, 3-(4-флуорофенилметил)-2,4-пентандион и 3-(3-флуорофенилметил)-2,4-пентандион – също не се наблюдава допълнителен абсорбционен максимум.

II.8.4. Взаимодействие на 3-арилметил-2,4-пентандиони с 4-хидроксикумарин

Арилметил-2,4-пентандионите взаимодействат с 4-хидроксикумарин по реакцията на Михаел в присъствие на пиперидин и продължително кипене на обратен хладник в среда от метанол или диоксан. Реакционната схема е представена по-долу:

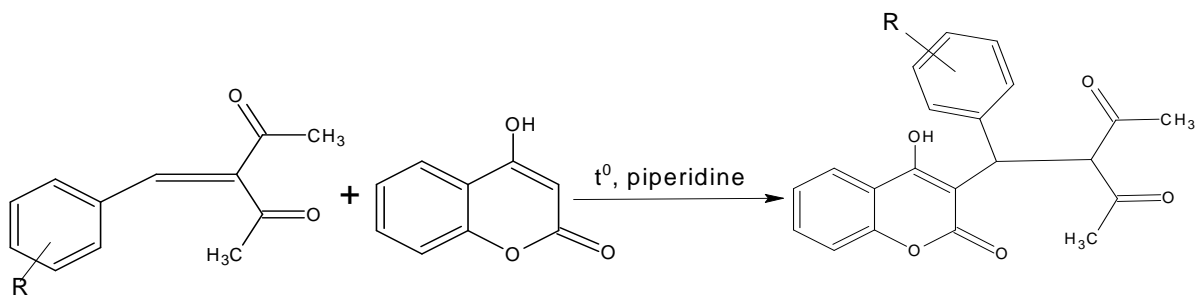
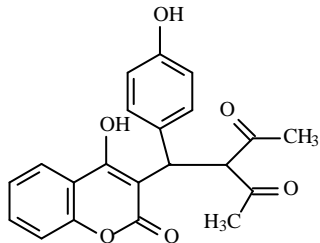
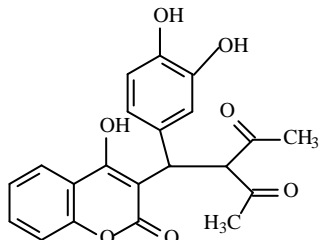
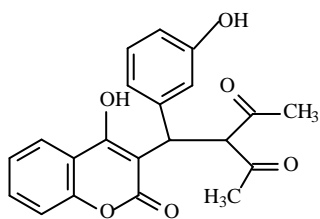


Таблица 41. Адукти на 4-хидроксикумарин с 3-арилметилен-2,4-пентандиони

| Структурна формула | Брутна формула | Елементен анализ (изч/нам) | IR (нуйол) cm^{-1} | ^1H NMR | EIMS |
|--|--|--|---|--|------|
|  <p>3-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(4-хидроксифенил)метил]-2,4-пентандион</p> <p>[96]</p> | $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_6$ (мол.м. 366) | % C = 68.85 % H = 4.95 % C = 68.73 % H = 4.92 | 3449, 1719, 1674, 1617, 1570, 1384, 833, 744. | (DMSO- d_6): 1.5 (s, 3H), 2.0 (s, 3H), 4.50-4.55 (m, 1H), 4.9 (dqui, 1H), 6.87-6.93 (m, 2H), 7.17-7.23 (m, 1H), 7.38 (dq, 1H), 7.50-7.55 (m, 2H), 7.77-7.83 (m, 1H), 7.99-8.03 (s, 1H), 9.2 (s, 2H). | |
|  <p>3-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3,4-дихидроксифенил)метил]-2,4-пентандион</p> | $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_7$ (мол.м. 382) | % C = 65.97 % H = 4.71 % C = 65.74 % H = 4.52 | 3443, 1726, 1682, 1612, 1462, 1380, 759. | (DMSO- d_6): 2.3 (s, 6H), 4.19-4.23 (m, 1H), 4.6 (dqui, 1H), 6.89-6.93 (m, 1H), 7.11-7.12 (m, 1H), 7.17-7.25 (m, 2H), 7.38 (dq, 1H), 7.77-7.83 (m, 1H), 7.99-8.03 (m, 1H), 8.1 (s, 3H). | |



$C_{21}H_{18}O_6$
(мол.м. 366)

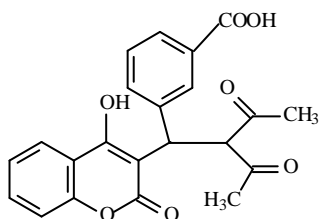
% C = 68.85
% H = 4.95

% C = 68.67
% H = 4.79

3448, 1728, 1600,
1581, 1381, 772.

(DMSO- d_6):
1.6 (s, 6H), 4.21-4.25
(m, 1H), 4.9 (dqui,
1H), 7.17-7.23 (m,
1H), 7.38 (dq, 1H),
7.51-7.56 (m, 2H),
7.58-7.63 (m, 2H),
7.77-7.83 (m, 1H),
7.99-8.03 (m, 1H),
10.2 (s, 2H).

3-[(4-гидрокси-2-оксо-2Н-
хромен-3-ил)(3-
гидроксифенил)метил]-2,4-
пентандион



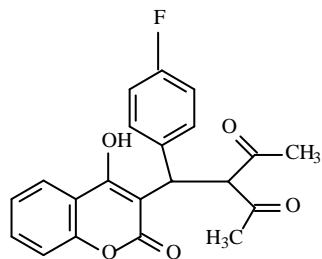
$C_{22}H_{18}O_7$
(мол.м. 394)

% C = 67.00
% H = 4.57

% C = 67.27
% H = 4.73

(DMSO- d_6):
1.8 (s, 3H), 3.0 (s,
3H), 4.38-4.43 (m,
1H), 5.0 (dqui, 1H),
7.17-7.23 (m, 1H),
7.4 (dq, 1H), 7.45-
7.51 (m, 1H), 7.63-
7.67 (m, 1H), 7.77-
7.83 (m, 1H), 7.99-
8.03 (m, 1H), 8.21-
8.25 (m, 2H), 11.0 (s,
2H).
394 (0.4), 365 (0.4), 336
(3.1), 317 (11.5), 304 (0.8),
293 (44.6), 277 (6.9), 249
(100), 221 (6.2), 205 (1.5),
187 (1.5), 173 (3.0), 146
(1.5), 120 (33.8), 105 (2.3),
92 (36.9), 75 (4.6), 64
(9.2), 51 (3.8).

4-[2-ацетил-1-(4-гидрокси-2-
оксо-2Н-хромен-3-ил)-3-
оксобутил]бензоена
киселина



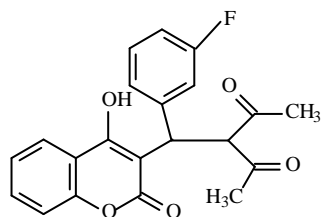
3-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(4-флуорофенил)метил]-2,4-пентандион

$C_{21}H_{17}FO_5$
(мол.м. 368)

% C = 68.48
% H = 4.62
% C = 68.27
% H = 4.71

3421, 1730, 1668,
1613, 1570, 1379,
801, 757

($CDCl_3$):
1.9 (s, 6H), 3.90-3.95
(m, 1H), 4.5 (dqui,
1H), 6.2 (s, 1H),
6.99-7.07 (m, 2H),
7.17-7.23 (m, 1H),
7.4 (dq, 1H), 7.52-
7.58 (m, 2H), 7.77-
7.83 (m, 1H), 7.99-
8.03 (m, 1H).



3-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3-флуорофенил)метил]-2,4-пентандион

$C_{21}H_{17}FO_5$
(мол.м. 368)

% C = 68.48
% H = 4.62
% C = 68.59
% H = 4.47

3420, 1715, 1670,
1612, 1589, 1381,
787, 721.

($CDCl_3$):
1.9 (s, 3H), 2.1 (s,
3H), 3.92-3.97 (m,
1H), 4.6 (dqui, 1H),
6.88-6.95 (m, 1H),
7.08-7.12 (m, 1H),
7.17-7.28 (m, 2H),
7.4 (dq, 1H), 7.44-
7.48 (m, 1H), 7.77-
7.83 (m, 1H), 7.99-
8.03 (m, 1H), 10.1 (s,
1H).
369 (0.4), 351 (0.4), 338
(0.8), 322 (43.2), 304
(23.5), 289 (5.3), 276 (1.5),
261 (7.6), 245 (50.8), 231
(15.9), 231 (11.4), 201
(84.8), 187 (20.5), 165
(12.1), 154 (3), 121 (100),
93 (18.9), 77 (18.2), 53
(10.6).

В UV-Vis спектрите се наблюдават абсорбционни максимуми при 204-210 nm (характерни за бензен – β -ивица) и 275-304 nm (характерни за кумарин). При съединение 4-[2-ацетил-1-(4-хидрокси-2-оксо-2H-хромен-3-ил)-3-оксобутил]бензоена киселина се наблюдава и ивица при 328 nm, която е резултат от батохромното влияние на карбоксилната група [89,90].

II.9. Токсичност и фармакологично действие на синтезираните кумаринови производни

II.9.1. Изследване на противотуморно действие

В литературата са описани данни за инхибиране на експериментално предизвикани метастази на карцинома на Уокър след прилагането на Warfarin [91]. Изследвано е противометастатичното действие на Warfarin и са проучени възможностите за повлияване на експериментални метастази [92]. Изследванията подчертават наличието на противометастатично действие на Warfarin и инхибиращото му влияние върху “спонтанния” процес на образуване на хематогенни метастази. При проведеното изследване не е установено намаляване на броя на тромбоцитите в сравнение с броя им при нетретираните туморинокулирани животни. Аналогично и други противометастатични средства (ICRF-159) не повлияват редица хематологични показатели [93]. Това дава основание да се приеме, че основен момент при метастазообразуването е влиянието на веществата върху процеса на отделяне и навлизане на туморните клетки в кръвния ток [97].

II.9.2. Цитогенетично охарактеризиране на антикоагулантите

В съвременната лекарствена терапия оралните антикоагуланти заемат съществено място. Те намират широко приложение при профилактиката и лечението на тромбози и емболии, при тромбоза на вените, тромбоемболии, миокарден инфаркт, стенокардия, ревматични пороци на сърцето, следоперативни интервенции и др., което им отрежда място при лечението на социално значимите заболявания.

Токсикологичното и особено цитогенетичното охарактеризиране на синтезираното лекарствено вещество е наложително, тъй като изследванията на редица автори показват, че значителна част от лекарствените вещества проявяват мутагенно действие [101-103]. Това е много важно, тъй като Marx [102] установява,

че даже единично генетично изменение може да предизвика злокачествено израждане.

Проведено бе сравнително цитогенетично изследване на оралните антикоагуланти Warfarin и Ниффкумар.

Получените данни от цитогенетичния анализ дават основание да се направи изводът, че Warfarin по-малко уврежда хромозомния апарат на използваните като модел костномозъчни клетки от мишки в сравнение с Ниффкумар. От друга страна Warfarin има меко действие като преди всичко променя ориентацията на хромозомите в центромерните им области една спрямо друга и за разлика от други препарати не уврежда силно ядрения хроматин [97].

II.9.3. Родентицидно действие

В дератизационната практика на РИОКОЗ, в аптечната мрежа и във фирмите, специализирани за дератизация в домашни условия, съществува остър дефицит на препарати за борба с вредните гризачи (плъхове и мишки). Малкото на брой родентициди, с които се работи у нас, са вносни и много скъпи.

Родентицидният препарат на основата на Warfarin, условно наречен “ВАРФАТОКС” [104,105], има следните предимства:

- Представлява антикоагулантен родентицид от първа генерация от групата на кумариновите производни, разрешени за употреба в дератизационната практика;
- По-малко опасен за човека и ползвателната фауна;
- Произвежда се от достъпни и сравнително евтини суровини;
- Технологиите за производство и рецептурата са лесно изпълними;
- У нас досега не е констатирана резистентност на гризачи спрямо Warfarin и негови аналози;
- Високоэффективен дератизационен препарат.

II.9.4. Растеж-регулираща активност на кумаринови антикоагуланти

Изследвана е и растеж-регулиращата активност на 4-хидроксикумарин, Warfarin и Ниффкумар, както и на техните калиеви соли.

Кумаринът е с добре известна растеж-регулираща активност [110,120].

Резултатите показват наличие на растеж-инхибираща активност и в двата изследвани вида (корени на четиридневни краставици и кълнове на пшеница). Кумаринът и неговите 4-хидроксилни производни потискат растежа на житните колеоптилни сегменти. Превръщането на 4-хидроксикумарините в калиеви соли води до промяна в действието им – потискащото действие се проявява само при концентрация 1 mM, докато добре изразена стимулация се наблюдава при концентрации 0.1 - 0.0001 mM [110].

II.9.5. Антибактериална активност

Проведено е изследване на антибактериалната активност *in vitro* на нитрофенилбутенони и техни производни. Интересът ни бе предизвикан от структурната прилика на тези съединения с хлорамфеникола. Показано е, че нитрофенилбутеноните и техните производни проявяват умерена антибактериална активност, но потискат синтеза на протеини в прокариотите дори в концентрации по-ниски от MIC [111,112].

II.9.6. Токсикологична характеристика на антикоагулантите

Рационалната терапия с антикоагуланти изисква познаване взаимодействията им на метаболитно ниво с други лекарства [117,118]. Изследвани са някои параметри на лекарствената биотрансформация при плъхове след еднократно и многократно прилагане на синтезираните от нас натриеви соли на Warfarin, Асепосумарол и неговия m-изомер. Установено е, че и трите вещества потискат активността на лекарствометаболизиращите ензимни системи, като по този начин се намесват в метаболизма на други, едновременно приложени с тях, лекарства. Това налага повишено внимание при комбинираното прилагане на оралните антикоагуланти с различни медикаменти в клиниката [118].

Изследвана е хепатотоксичността върху пряко изолирани хепатоцити от плъх на две 4-хидроксикумаринови производни с доказано антикоагулантно действие и е сравнена с тази на Warfarin. Наблюдаваните цитотоксични ефекти при най-високата използвана концентрация подреждат съединенията така: Warfarin, 4-хидрокси-3-[1-(4-хлорофенил)-3-(хидроксиимино)бутил]-2H-1-бензопиран-2-он и 4-ацетокси-3-[1-(3-нитрофенил)-3-оксобутил]-2H-1-бензопиран-2-он. Различията в

степената на активност може да се обясни с различията в структурата на съединенията [118].

II.9.7. Токсичност и антикоагулантно действие на модифицирани молекули

Изучена е токсичността и антикоагулантното действие на 4-ацетокси-3-(3-оксо-1-фенилбутил)-2Н-1-бензопиран-2-он, 4-ацетокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2Н-1-бензопиран-2-он, 4-хидрокси-3-[1-(4-хлорофенил)-3-оксобутил]-2Н-1-бензопиран-2-он и натриевата му сол. Резултатите показват, че ацелираният продукт на Асепосумарол има ниска токсичност както при орално, така и при интраперитонеално приложение. Токсичността на веществото е значително по-ниска от тази на Warfarin. Ефектът на съединението върху времето на съсирване на кръвта е значително по-добро от това на Warfarin. Данните дават основание да се приеме, че съединението 4-ацетокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2Н-1-бензопиран-2-он представлява интерес за бъдещи фармакологични и токсикологични проучвания [49].

Проведени са токсикологични и фармакологични изследвания на оксимите на Асепосумарол, неговия m-изомер, Warfarin и Coumachlor. Резултатите, свързани с изследване на острата токсичност показват, че и четирите съединения проявяват по-висока токсичност от Warfarin, но оксимите на Асепосумарол и Coumachlor показват токсичност, съизмерима с токсичността на Coumachlor при интраперитонеално приложение. Оксимите на Асепосумарол, Warfarin (спиро-съединение) и Coumachlor са по-токсични от Warfarin и Coumachlor при перорално приложение. Данните за времето на съсирване на кръвта показват, че оксимите на Асепосумарол и Coumachlor удължават времето на съсирване. На основата на експерименталните данни установихме, че оксимът на Coumachlor проявява антикоагулантен ефект, съизмерим с ефекта на Warfarin и Coumachlor, но острата токсичност на веществото е по-висока от тази на стандартните вещества [73]. Токсикологичните и фармакологичните резултати, които са в противоречие с досега публикуваните данни, послужиха за повод да се потърси помощта на рентгеноструктурния анализ, който показва неочакваното превръщане на оксима в полизаместено спиро-съединение.

Фармакологично са охарактеризирани и модифицираните в страничната верига производни на 4-хидроксикумарина. Изследвано е времето на съсирване на кръвта *in vivo*. Определени са стойностите на остра токсичност при орално и интраперитонеално въвеждане на веществата. Експерименталните данни показват, че изследваните съединения удължават времето на съсирване, с изключение на 4-хидрокси-3-[1-фенил-2-(4'-фенилбензоил)-етил]-2Н-1-бензопиран-2-он. Анализът на експерименталните данни върху острата токсичност показва, че 4-хидрокси-3-[1-фенил-2-бензоилетил]-2Н-1-бензопиран-2-он и 4-хидрокси-3-[1-фенил-2-(4'-хлоробензоил)етил]-2Н-1-бензопиран-2-он са по-високо токсични от Warfarin. Антикоагулантната активност на съединението 4-хидрокси-3-[1-фенил-2-(4'-хлоробензоил)етил]-2Н-1-бензопиран-2-он е сравнима с тази на Warfarin. Заместването на метиловата група в страничната верига с ароматно ядро (специално две ароматни ядра в молекулата на 4-хидрокси-3-[1-фенил-2-(4'-фенилбензоил)етил]-2Н-1-бензопиран-2-он) води до понижаване на острата токсичност. Най-активно е съединението 4-хидрокси-3-[1-фенил-2-(4'-хлоробензоил)-етил]-2Н-1-бензопиран-2-он. Другите изследвани съединения: 4-хидрокси-3-[1-фенил-2-бензоилетил]-2Н-1-бензопиран-2-он, 4-хидрокси-3-[1-фенил-2-(4'-фенилбензоил)-етил]-2Н-1-бензопиран-2-он, 4-хидрокси-3-[1-фенил-2-(4'-метокси-бензоил)-етил]-2Н-1-бензо-пиран-2-он не проявяват подобна активност [61].

II.9.8. Фармакологична активност на синтезираните съединения с напълно модифицирана странична верига

Пет от получените адукти на 4-хидроксикумарин с арилметилен- β -кетоестери са изследвани за цитотоксична активност върху EJ-клетки и HL-клетки, използвайки МТТ-тест. На основата на резултатите и в двете клетъчни линии етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3,4-дихидроксифенил)метил]-3-оксобутаноат може да се използва като модел за по-нататъшно разработване на цитотоксични кумаринови производни [95,96].

Четири от новосинтезираните вещества са изследвани за антиоксидантна активност в система от хипохлоритни аниони. От тях етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(4-хидроксифенил)метил]-3-оксобутаноатът показва най-висока антиоксидантна активност при концентрация 10^{-4} mol/L, докато при етил 2-[(4-

хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3-нитрофенил)метил]-3-оксобутаноат, скевинджърната активност е съвсем незначителна, дори при най-високата концентрация [119].

Изследвана е растеж-регулирущата активност на три новосинтезирани кумаринови производни върху соеви растения от сорт Павликени 1250. Най-силно проявен хербициден ефект се отчита при прилагане на етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3,4,5-триметоксифенил)метил]-3-оксобутаноат. Най-висока степен на инхибиране на азотфиксиращата активност (98) се отчита при третиране на растенията с етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(4-хидрокси-фенил)метил]-3-оксобутаноат. Прилагането на етил 2-[(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)(3,4,5-триметоксифенил)-метил]-3-оксобутаноат при отглеждането на люцерна, инокулирана с азотфиксиращи бактерии (*Sinorhizobium meliloti*) и ендомикоризни гъби (*Glomus intradices*) значително потиска важни процеси, свързани с усвояването на азота и фосфора в растенията [120].

II.10. Основни приноси

- Разработени са лабораторни технологии за синтез на антикоагулантите Асеносоумарол, Warfarin и Coumachlor. При използване на алкални флуориди и кватернерни амониеви халогениди времетраенето на реакцията е съкратено от 3 до 28 пъти. Методите са патентовани. Разработен е автоматизиран метод за количествено определяне на Warfarin натрий и са подчертани предимствата на потенциометричния метод пред спектрофотометричния. Разработен е високоефективен течнохроматографски метод за разделяне и количествено определяне на Warfarin. Определени са pK_a -стойностите на 4-хидроксикумарин и Warfarin в различни водно-метанолни смеси. Теоретично е изчислена и построена зависимостта капацитетен фактор/pH на водно-метанолната подвижна фаза.

- Модифицирани са хидроксилната група при четвъртия въглероден атом в кумариновия цикъл, метиловата и карбонилната група от страничната верига на молекулите на антикоагулантите. Структурата на продуктите е доказана с рентгеноструктурен анализ.

- Резултатите от рентгеноструктурния анализ показаха, че когато се модифицира хидроксилната група при четвъртия въглероден атом в кумариновия фрагмент (ацетилян продукт) или метиловата група от страничната верига се замести с ароматно ядро, веществата кристализират в отворено-верижна кето-форма.

- В резултат на взаимодействие на карбонилната група в страничната верига на Warfarin с хидроксиламин хидрохлорид за първи път е установено, че вместо оксим се получава спиро-съединение, а именно: 1'-ацетил-5'-метил-3'-фенил-1',3'-дихидроспиро-[хроман-3,2'-пирол]-2,4-дион. Структурата е доказана с рентгено-структурен анализ.

- Изследвано е противометастатичното действие на Warfarin при карцинома на Люис. Показано е, че Warfarin намалява броя на белодробните метастази и действа инхибиращо върху спонтанния процес на образуване на хематогенни метастази.

- Изучена е токсичността и антикоагулантното действие на 4-ацетокси-3-(3-оксо-1-фенилбутил)-2Н-1-бензопиран-2-он, 4-ацетокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксо-бутил]-2Н-1-бензопиран-2-он, 4-хидрокси-3-[1-(4-хлорофенил)-3-оксобутил]-2Н-1-бензо-пиран-2-он. Резултатите показват, че ацетиленият продукт на Асеносоumarol проявява по-ниска токсичност от тази на Warfarin .

ЛИТЕРАТУРА

1. Geigy J. R. A.–G. *Brit. Pat.* 701111, Dec. 16, 1953.
2. Stoll W. and F. Litvan (Geigy A.–G., Basel). *US Pat.* 2 648 682, Aug. 11, 1953.
3. Schering Akt.-Ges. (Alfred Czyzewski and Alfred Markschiess, inventors). *Ger.* 966 535 (Cl. 12q, 24), Aug. 22, 1957.
4. Spitzner W., Arzneimittelfabrik G.m.b.H. *Ger.* 1 253 711 (Cl. C 07d), Nov. 9, 1967; *Appl.* Jan. 10, 1963; *CA*, 68, P105019v (1968).
5. Reisch J. *Arch. Pharm.* 299 (9), 806-808 (1966).
6. Fontaine G., C. Andre, C. Jolivet and P Maitte. *Bull. Soc. Chem. France*, 1963 (7), 1447-1448; *CA* 59 9823b.
7. Blumenthal J. H. *US Pat.* 3 028 423, Apr. 3, 1962; *Appl.* Feb. 25, 1957.
8. **Манолов И., И. Иванов, С. Карагъзов, П. Василев. Метод за получаване на 4-хидрокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2Н-1-бензопиран-2-он. *Авт. Свид. № 45469* (Cl. 07 D 311/12), 21.03.1988.**
9. Kostova I., T. Stefanova. *J. Coord. Chem.* **2009**, 62 (19), 3187-3197.
10. Pisklak M., D. Maciejewska, F. Herold, I. Wawer. *J. Mol. Struct.* 2003, 649, 169-176.
11. **Манолов И., И. Иванов, С. Александрова, С. Карагъзов, П. Василев. Метод за получаване и пречистване на 4-хидрокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-2Н-1-бензопиран-2-он. *Авт. Свид. № 48268* (Cl. 07 D 311/12), 08.05.1989.**
12. Ivanov I. C., **I. Manolov**, L. A. Alexandrova. New Efficient Catalysts in the Synthesis of Warfarin and Acenocoumarol. *Arch. Pharm.(Weinheim)* 1990, **323**, 521-522.
13. Александрова Л. А. *Дипл. работа, Фарм. Ф-т, МУ-София, 1991.*
14. Baeyer A. und P. Becker. *Ber.*, 1883, 16 1969.
15. Corbett R. E. and C. L. Davey. *J. Chem. Soc.* 1955, 296.
16. **Манолов И., С. Карагъзов, И. Иванов. Метод за получаване на р-нитробензилиденацетон. *Удостоверение за рационализация № 5058/16.05.1988.***
17. Василев П., С. Александрова, С. Карагъзов, **И. Манолов.** Метод за получаване на р-нитробензилиденацетон. *Удостоверение за рационализация рег. № 211/1989 .*

18. Norddeutsche Affinerie and Spiess P. and Spiess W. *Brit. Pat.* 734 142, July 27, 1955.
19. Spiess C. F. & Sohn and Norddeutsche Affinerie (Kurt Knoevenagel, inventor) *Ger.* 948 507 (Cl. 12 q, 24), Sept. 6, 1956.
20. Joshi C. G., J. L. Bose. *Indian J. Technol.* 1972, 10 (12), 461-462.
21. Stahmann M. A., M. Ikawa., and K. P. Link. *US Pat.* 2 427 578, Sept. 16, 1947.
22. Mosuke Hayashi and Masaharu Masubuchi. *Japan Pat.*, 968 ('57), Feb. 13; CA, 52, P4694ⁱ (1958).
23. Yoshio Akazawa. *Japan* 6537 ('61), June 1; CA, 58, P10177g (1963).
24. Ikawa M., M. A. Stahmann, and K. P. Link. *J. Am. Chem. Soc.* 66, 902-906 (1944).
25. Hans G. Krey. *Ger. (East)* 15 092 (Cl. 12q), July 25, 1958.
26. Hans G. Krey. *Ger. (East)* 15 093 (Cl. 12q), July 18, 1958.
27. Starr D. F. and K. K. Haber. *US Pat.* 2 666 064, Jan. 12, 1954.
28. Penick S. B. & Co. *Brit. Pat.* 715 846, Sept. 22, 1954., CA, 49, P6314f (1955).
29. Starr D. F. and C. C. Disanto. *US Pat.* 2 752 360, June 26, 1956.
30. Starr D. F. and C. C. Disanto. *Brit. Pat.* 753805, Aug. 1, 1956.
31. **Манолев И., И. Иванов. Метод за получаване на 4-хидрокси-3-(3-оксо-1-фенилбутил)-2Н-1-бензопиран-2-он. Авт. Свид. № 48021 (Cl. 07 D 311/12 и 07 D 311/18), 14.04.1989.**
32. **Ivanov, I., I. Manolov, L. A. Alexandrova. New Efficient Catalysts in the Synthesis of Warfarin and Acenocoumarol, Arch. Pharm. (Weinheim), 323, 521-522(1990№.**
33. **Амари Ю. Ф. Дипл. работа, Фарм. Ф-т, МУ-София, 1993.**
34. **Димитрова Б., М. Радулова, И. Манолев, П. Чакърова, К. Фатумата. Контрол и оптимизиране на синтеза на Warfarin с помощта на ВЕТХ. II Национален конгрес по фармация с международно участие, 8-10.10.1992, Програма, 37 стр., постер.**
35. **Конате Ф. Дипл. работа, Фарм. Ф-т, МУ-София, 1991.**
36. Ring P. R., J. M. Bostick. *J. Pharm. Biomed. Anal* 2000, 22, 573-581.
37. Schroeder C. H. and K. P. Link. *U.S.* 3,192,232 (Cl. 260-343.2), June 29, 1965, Appl. Feb. 25, 1959 and Feb. 21, 1961; CA, 63, P13219g (1965).
38. Kubert Joe I., I. Kostova, C. Ravikumar, M. Amalanathan, S. C. Pinzaru. *J. Raman Spectrosc.* 2009, 40, 1033-1038.

39. Panushev A., G. Velinov, and **I. Manolov**. Automated method for the quantitative determination of Warfarin Sodium. *Pharmazie*, 1992, 47 (4), 302-303.
40. Gran G.. *Analyst* 1952, 77, 661.
41. Pehrsson L., F. Ingman, A. Johansson. *Talanta* 1976, 23, 769.
42. Tencheva J., G. Velinov, O. Budevsky. *J. Electroanal. Chem.* 1976, 68, 65.
43. Fasco M. J., M. J. Kashin, L. S. Kaminsky *J. Liq. Chromatogr.* 1979, 2 (4), 565-575.
44. Fasco M. J., P. P. Dimerski., J. David Vos, and L. S. Kaminsky. *J. Med. Chem.* 1978, 21 (10), 1054-1059.
45. Sangwan N. K., B. S. Verma, M. S. Malic, K. S. Dhindsa. *Chromatographia* 1985, 20 (12), 732-734.
46. Дряновска-Нонинска, Л. *Фармацевтична химия*, МФ, София, 1977, 347.
47. Windholz M (ed), 1983. *The Merck Index* 10th ed. Rahway, USA, 1441.
48. Каркелева И. Б. *Дипл. работа*, Фарм. Ф-т, МУ-София, 1992.
49. **Manolov I.**, and N. D. Danchev. Synthesis, Toxicological and Pharmacological Assessment of Some 4-Hydroxycoumarin Derivatives, *Eur. J. Med. Chem.* 1995, 30, 531-535.
50. **Manolov I.**, and C. Maichle-Moessmer. Crystal Structure of 4-Acetoxy-3-[1-(4-nitrophenyl)-3-oxobutyl]-2H-1-benzopyran-2-one. *Anal Sci. - X-Ray Structure Analysis Online* 2007, 23, 171-172.
51. Brandenburg K. *DIAMOND* (Version 3.0). Crystal and Molecular Structure Visualization, Crystal Impact-K. Brandenburg & H. Putz GbR, Bonn (Germany), 2004.
52. Savell Jr V. H., E. J. Valente, D. S. Eggleston. *Acta Cryst.*, 1989, C45, 1908.
53. Kochetov A. N., L. G. Kuz'mina. *Crystallogr. Reports* 2007, 52 (4), 668-671.
54. Casalone G., T. Pilati, A. Binello. *Acta Cryst.* 1998, C54, 1042-1047.
55. Kohler E. P., H. M. Chadwell. *Organic Syntheses*, Coll. Vol. 1, 78 (Second Edition).
56. *Organicum, Organisch-chemisches Grundpracticum* 1964, 440 (Berlin).
57. Bravo P., G. Resnati, C. Ticozzi, G. Cavicchio. *Heterocycles* 1984, 22, 1387-1390.
58. Boschetti E., D. Molho, L. Fontaine. *Ger. Offen* 1,959,317 (1970) [Chem. Abstr. 1970, 73, P87795s].

59. Boschetti E., D. Molho, J. Chabert, M. Grand, L. Fontaine. *Chim. Ther.* 1972, 7, 20-23 [Chem. Abstr. 1972, 77, 83392t].
60. Георгиев Г. С. *Дипл. работа, Фарм. Ф-т, МУ-София, 1999.*
61. Момеков Г., И. Манолов, С. Константинов и М. Караиванова. Цитотоксична активност *in vitro* на производни на 4-хидроксикумарина върху човешката промиелоцитна левкемична клетъчна линия HL-60. *Фармация* 2002 (1-4), XLIX, 23-27.
62. Manolov I., and N. D. Danchev. Synthesis and Pharmacological Investigations of Some 4-Hydroxycoumarin Derivatives, *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, 2003, 336 (2), 83-94.
63. Manolov I., and C. Maichle-Moessmer. Crystal Structure of 4-Hydroxy-3-[1-phenyl-2-(4-methoxybenzoyl)ethyl]-2H-1-benzopyran-2-one, *Anal. Sci. – X-Ray Structure Analysis Online* 2007, 23, 79-80.
64. Valente E. J., W. F. Trager, and L. H. Jensen. *Acta Cryst.*, 1975, B31, 954-960.
65. Penkova A., P. Retailleau, and I. Manolov. Crystal Structure of 4-(4-fluorophenyl)-2-hydroxy-2-methyl-3,4-dihydropyrano[3,2-c]chromen-5(2H)-one. *Anal. Chem. – X-ray Structure Analysis Online*, 2009, 25, 89-90.
66. Nonius B. V. "Collect" data collection software, 1999.
67. Sheldrick G. M., *SHELX97*. Program for the Refinement of Crystal Structures from Diffraction Data, University of Göttingen, Germany, 1997.
68. Sheldrick G. M. *Acta Cryst.* 2008, A64, 112.
69. Otwinovski Z., W. Minor. "Macromolecular Crystallography, Part A Methods in Enzymology", Academic Press, New York, 1997, 307.
70. Halland N., T. Hansen, K. A. Jorgensen. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2003, 42, 4955-4957.
71. Thalladi V. R., H-C. Weiss, D. Bläser, R. Boese, A. Nangia, G. R. Desiraju. *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, 120, 8702.
72. Casalone G., T. Pilati, A. Binello. *Acta Cryst.* 1998, C54, 1042-1047.
73. Manolov I., and N. D. Danchev. Synthesis, Toxicological and Pharmacological Assessment of Some Oximes and Aldehyde Condensation Products of 4-Hydroxycoumarin, *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, 1999, 332, 243-248.
74. Penkova A., P. Retailleau, and I. Manolov. Crystal Structure of a 1'-Ethanoyl-5'-methyl-3'-phenyl-1',3'-dihydrospiro[chroman-3,2'-pyrrole]-2,4-dione. *Anal. Chem. – X-ray Structure Analysis Online*, 2009, 25, 125-126.

75. Lutz Jr M. R., M. Zeller. and P. D. Becker. *Acta Cryst.* **2007**, E63, 4390-4391 [doi:10.1107/S16005368007051136].
76. Ajees A. A., S. Manikandan, and R. Raghunathan. *Acta Cryst.* **2002**, E58, 802-804 [doi: 10.1107/S1600536802010863].
77. Петров, Г. *Органична химия*, Университетско издателство „Св. Кл. Охридски”, София, 1996.
- 78. Manolov I. and C. Maichle-Moessmer. Непубликувани данни.**
79. Marthur K. B. L., H. S. Mehra, D. R. Sharma, V. P. Charchra. *Indian J. Chem.* **1963**, 1, 388-390.
80. Lutz R. E., T. A. Martin, J. F. Codington, et al. *J. Org. Chem.* **1949**, 14, 982-1000.
81. Valente E. J., G. Ruggiero, C. W. Miller, J. D. Zubkovski, D. Eggleston. *Mater. Synth. Charact.* **1997** [Proc. Am. Soc. Symp. **1994**, 19-60] [Chem. Abstr. **1998**, 128, 243631x].
82. Rall K.B., V. V. Peraklin. *Dokladi Nauk SSSR* , **1955**, 100: 715-717.
83. Schulman S. G., L. S. Rosenberg. *The J.Phys.Chem.* **83** (4), 447-450 (1979).
84. Xavier L.J.C., J. J. Germinda. *Biol. Fertil. Soils*, **37**, 262-267 (2003).
85. Zhang B., He W., Li X., Zhu Y, *Disi Junyi Daxue Xuebao* **22**, 480 (2001).
86. Fink D. W., W. R. Koehler. *Anal. Chem.* **42** (9), 990-993 (1970).
- 87. Hoagland D.R., D. I. Arnon. Calif. Agric. Exp. Stat. Circ. 347, 1-39 (1950).**
88. Sun Z. (Shandong Xinhua Pharmaceutic Factory, Peop. Rep. China). *Chinese patent CN 1080631* .(1994).
89. Su C., Z. C. Chen, Q. G. Zeng. *Synthesis*, **4**, 555-559 (2003).
90. Harima R., K. Shimada, T. Goto, M. Usui. *Jap. Pat.* 50154419 (1975).
- 91. Podbielkowska M., M. Walenza, K. Dobrzynska, A. M. Zobel. Intern. J. Pharm. 34 (2), 96-104 (1996).**
92. Prasad C. R., M. Nagesam, M. Raju, M. S. Raju. *Ind. J. Pharm. Sci.* **51**,(1): 1-4 (1989).
- 93. Pandya R., K. Pandya. J. Ind. Chem. Soc. 39, 231-237 (1957).**
- 94. Станчев С., И. Манолов. Непубликувани данни.**
- 95. Stanchev S., G. Momekov, F. Jensen, I. Manolov. Synthesis, computational study and cytotoxic activity of new 4-hydroxycoumarin derivatives. Eur. J. Med. Chem. 43, 694-706 (2008).**

96. Stanchev S., F. Jensen, I. Manolov. Synthesis and DFT Study of the spectral behaviour of new 4-hydroxycoumarins. *Intern. J. Quant. Chem.* 108, 1340-1351 (2008).
97. Манолов И., М. Караиванова. Синтез и противометастатични свойства на 4-хидрокси-3-(3-оксо-1-фенилбутил)-2Н-1-бензопиран-2-он. *Фармация* 1990, XL (2), 1-6.
98. Agostino D., E. E. Clifton. *Arch. Surg.* 1962, 60, 449-453.
99. Giraldi T. et al. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 1981, 20 (7), 961-966.
100. Giraldi T. et al. *The Control of tumot Growth and its Biological Bases*, Eds. Davis W., Maltoni C., Tannenberг S. Berlin, Akad. – Verlag, 1983, 55-62.
101. Топашка-Анчева М., М. Караиванова, Х. Гетов. *Сборник IV нац. конференция по цитогенетика.* 2-6.10.1989, 307-310.
102. Marx L. J. *Science* 1982, 218, 667-671.
103. Манолов И., М. Топашка-Анчева, Е. Клоучек. Синтез, токсикологична и сравнителна цитогенетична характеристика на антикоагуланта Warfarin. *Експ. Мед. и Морф.*, 1993, 31 (3-4), 49-61.
104. Матева М., И. Манолов, К. Д. Арабаджиев. Дератизационен препарат “ВАРФАТОКС”. *Удостоверение за рационализация № 7047/ 13.11.1992 г.*
105. Матева М., И. Манолов, К. Арабаджиев. Дератизационен препарат “ВАРФАТОКС”. *VII конгрес по заразни и паразитни болести с международно участие, Велинград, 21-23.10.1992 г. – постер.*
106. Karanov E. In: *Hormonal Regulation of Plant Growth and Development* (Eds H. Kaldewey, Y. Vardar), Verlag Chemie Weinheim, 1972, 453-454.
107. Kefeli V. *Natural Inhibitors of Growth and Phytohormones*, Moscow, Nauka, 1974.
108. Letham D. In: *Phytohormones and Related Compounds*, v.1 (Eds D. Letham, P. Goodwin and T. Higgins), Elsevier, Amsterdam, 1978, 349-417.
109. Van Sumere C., J. Cottenie, J. de Greef, J. Kint. *Recent Adv. Phytochemistry*, 1972, 4, 165-221.
110. Alexieva V., I. Manolov, E. Karanov. Plant Growth Regulating Activity of Some Derivatives of Hydroquinone and Coumarin. *Compt. Rend. Acad Bilg. Sci.* 1992, 45 (7), 85-88.

111. Tabakova S., I. Manolov, E. Golovinski. In vitro Antibacterial Activity and Effect on Protein Synthesis of Nitrophenyl- and Phenylbutene Derivatives. *Comp. Rend. Acad. Bulg. Sci.* 1995, 48 (3), 63-66.
112. Tabakova S., I. Manolov, E. Golovinski. Nitrophenyl-3-buten-2-ones as Inhibitors of Growth and Protein Synthesis in E. Coli. *XIII National Biochemistry Congress (With International Participation) 26-30 March 1996 Hotel Antalya Dedeman, Antalya, Turkey – poster.*
113. Fasco M. J., K. P. Vatsis, L. S. Kaminsky, M. J. Coon. *J. Biol. Chem.* 1978, 253 (21), 7813-7820.
114. Kaminsky L. S., M. J. Fasco, and F. P. Guengerich. *J. Biol. Chem.* 1980, 255 (1), 85-91.
115. Wong Y. W. J. and P. J. Davis. *J. Chromatogr.* 1989, 469, 281-291.
116. Fasco M. J., L. J. Piper, L. S. Kaminsky. *Biochem. Pharmacol.* 1978, 28, 97-103.
117. Мичева М., А. Аструг, И. Манолов. Влияние на Warfarin, Ниффкумар и m-Асепосуомарол върху някои параметри на чернодробния лекарствен метаболизъм. *II Национален конгрес по фармация с международно участие, 8-10 октомври 1992 г. София – постер.*
118. Mitcheva M., V. Vitcheva, I. Manolov, I. Valkova. Effect of Two Newly Synthesized 4-Hydroxycoumarin Derivatives (4-OHC) on Isolated Rat Hepatocytes. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2002, 24 (6), 345-349.
119. Stanchev S., V. Hadjimitova, T. Traykov, T. Boyanov, I. Manolov. Investigation of the antioxidant properties of some new 4-hydroxycoumarin derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 44, 3077-3082 (2009).
120. Stanchev S., T. Boyanov, M. Geneva, M. Boychinova, I. Stancheva, I. Manolov. Growth-Regulating Activity of Three 4-Hydroxycoumarin Derivatives on Inoculated Soybean Plants. *J. Plant Growth Regul.* 29, 1-5 (2010).
121. Wu Chunlin, Li Wenjun, Yang Juanjuan, Liang Xinmiao, Ye Jinxing. *Org. & Biomol. Chem.* 8(14), 3244-3250 (2010).
122. Wang Y., X. Guo, J. Wang, X. Bai, Y. Li, Z. An, L. Xu. *Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu* (2010), 8pp. CODEN: CNXXEV CN 101712633 A 20100526.

123. Feng J.-Jun, Chen X.-Feng, Shi M., Duan W.-Liang. *J. Am. Chem. Soc.* 132(16), 5562-5563 (2010).
124. Tang S., J. He, Y. Sun, L. He, X. She. *Org. Lett.* 11(17), 3982-3985 (2009).
125. Tang S., J. He, Y. Sun, L. He, X. She. *J. Org. Chem.* 75(6), 1961-1966 (2010).
126. Pandya R. K., K. C. Pandya. *J. Indian Chem. Soc.* 34 231-237 (1957).
127. Freudenberg K., W. Heel. *Chem. Ber.* 86 190-196 (1953).
128. D'Alcontres G. S., G. Cuzzocrea. *Atti della Societa Peloritana di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali* 1956-1957 (3) 179-186 (1957).
129. Feng C., C. Lu, Z. Chen, N. Dong, J. Shi, G. Yang. *J. Het. Chem.* 47(3), 671-676 (2010).
130. Marco-Contelles J., R. Leon, C. de los Rios, A. Samadi, M. Bartolini, V. Andrisano, O. Huertas, X. Barril, F. J. Luque, M. I. Rodriguez-Franco, B. Lopez, M. G. Lopez, A. G. Garcia, M. Carreiras do Carmo, M. Villarroya. *J. Med. Chem.* 52(9), 2724-2732 (2009).
131. Zienkiewicz Z., V. Calvino-Casilda, I. Sobczak, M. Ziolk, R. M. Martin-Aranda, A. J. Lopez-Peinado. *Catal. Today* 142(3-4), 303-307 (2009).
132. Calvino-Casilda V., R. M. Martin-Aranda, A. J. Lopez-Peinado, I. Sobczak, M. Ziolk. *Catal. Today* 142(3-4), 278-282 (2009).
133. Zhang H., Cao Wei-Guo, J. Chen, Hu Ji-Rong, Qian Jia-Xian, Zhu Shi-Zheng. *Chinese J. Chem.* 25(7), 968-972 (2007).
134. Dong Z., L. Wang, X. Chen, X. Liu, L. Lin, X. Feng. *Eur. J. Org. Chem.* 30, 5192-5197 (2009), S5192/1-S5192/30.
135. Baars L. G. M., M. T. Schepers, J. J. R. Hermans, H. J. J. Dahlmans, H. H. W. Thijssen. *J. Pharm. Pharmacol.* 42(12), 861-866 (1990).
136. Rizzo J. D., P. J. Davis. *J. Pharm. Sci.* 78(3), 183-189 (1989).
137. Stoll W. G., F. Litvan. *Proc. Intern. Conf. Thrombosis and Embolism*, 1st, Basel 244-250 (1955).
138. Smirnova T. V., G. M. Vishnyakova, K. M. Lakin, N. V. Novikova, E. G. Lobanova, G. N. Zonova, V. I. Sklyarenko. *Trudy Instituta - Moskovskii Khimiko-Tekhnologicheskii Institut imeni D. I. Mendeleeva* 149, 92-97 (1987).
139. Bravo P., G. Resnati, C. Ticozzi, A. Arnone, G. Cavicchio. *Gazz. Chim. Ital.* 116(9), 491-499 (1986).
140. Bravo P., G. Resnati, C. Ticozzi, A. Arnone, G. Cavicchio. *Gazz. Chim. Ital.* 116(9), 501-510 (1986).

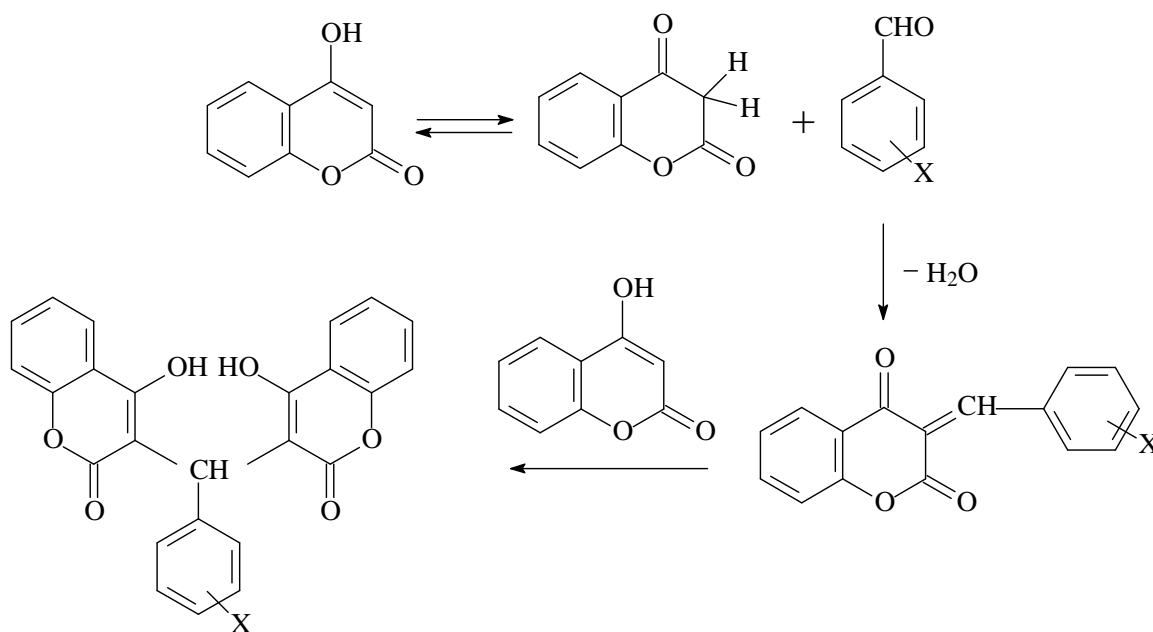
141. Bravo P., G. Resnati, C. Ticozzi, G. Cavicchio. *Heterocycles* 22(6), 1387-1390 (1984).
142. Proksa B., J. Fуска, A. Fuskova. *Czech. CS* 196618 B1 19800331 (1982).
143. Boschetti E., D. Molho, J. Chabert, M. Grand, L. Fontaine. *Chim. Ther.* 7(1), 20-23 (1972).
144. Buckelew A. R. Jr., A. Chakravarti, W. R. Burge, V. M. Jr. Thomas, M. Ikawa. *J. Agric. and Food Chem.* 20 (2), 431-433 (1972).
145. Zalukaev L. P., Yu. A. Sergeev. *Trudy Voronezh. Gos. Med. Inst.* 79, 100-102 (1970).
146. Reisch J. *Arch. Pharm. und Berichte der Deutsch. Pharm. Ges.* 299(9), 806-808 (1966).
147. Czyzewski A., A. Markschiess. *DE* 966535 19570822 (1957).
148. Boschetti E., D. Molho, L. Fontaine. *Ger. Offen. DE* 1959317 A 19700723 (1970).
149. Lakin K. M., T. V. Smirnova, M. G. Karaseva, V. A. Fel'dbaum. *Farmakol. Toksikol.* (Moscow) 30(4), 456-460 (1967).
150. *GB Pat.* 701111 19531216 (1953).
151. Rizzo J. D., P. J. Davis. *J. Pharm. Sci.* 78(3), 183-189 (1989).
152. *CH Pat.* 292993 19531201 (1953).
153. *CH Pat.* 292985 19531201 (1953).
154. Yang Y.-Q., Z. Chai, H.-F. Wang, X.-K. Chen, H.-F. Cui, C. Zheng, X. H. Wu, P. Li, G. Zhao. *Eur. J. Chem.* 15(48), 13295-13298, S13295/1-S13295/95 (2009).
155. Tang S., J. He, Y. Sun, L. He, X. She. *Org. Lett.* 11(17), 3982-3985 (2009).
156. Yang Y.-Q., G. Zhao. *Eur. J. Chem.* 14 (35), 10888-10891 (2008).
157. Mou L., Z. Lin, J. Liu, Q. Zhang, L. Zhu, W. Wang, Z. Nie, Y. He. *Yaoxue Xuebao* 43(9), 917-925 (2008).
158. Nguyen H.-P., M. Baboulene. *Fr. Demande FR* 2912748 A1 20080822 (2008).
159. Berger H., R. Weis, M. Kaiser, R. Brun, R. Saf, W. Seebacher. *Bioorg. Med. Chem.* 16(12), 6371-6378 (2008).
160. Habib R. T., S. F. Karaev, Sh. O. Guseinov, M. M. Movsumzade. *Dokl. – Akad. Nauk Azerbaidzh. SSR* 40(2), 38-41 (1984).
161. Wang Wen-juan, Cheng Wen-ping, Shao Li-li, Liu Cai-Hua, Yang Jian-guo. *Kinetics and Catalysis* 50(2), 186-191(2009).

162. D'Alcontres G. S., G. Cuzzocrea. *Atti della Societa Peloritana di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali* 3, 179-186 (1957).
163. Pandya R. K., K. C. Pandya. *J. Indian Chem. Soc.* 34, 231-237 (1957).
164. Freudenberg K., W. Heel. *Chem. Ber.* 86, 190-196 (1953).
165. Sakaguchi A., N. Ogura, K. Inoue. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP* 10204498 A 19980804 (1998).
166. Kuno A., Y. Sugiyama, K. Katsuta, T. Kamitani, H. Takasugi. *Chem. Pharm. Bull.* 40(6), 1452-1461 (1992).
167. Takaya T., H. Takasugi, A. Kuno, Y. Sugiyama. *Eur. Pat. Appl. EP* 169712 A2 19860129 (1986).

***III. Синтез, структура,
свойства и фармакологична
активност на бискумарини и
техни производни***

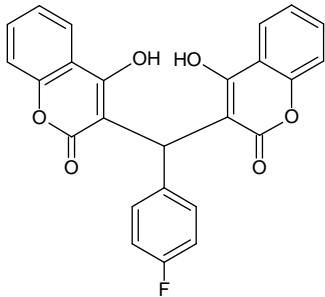
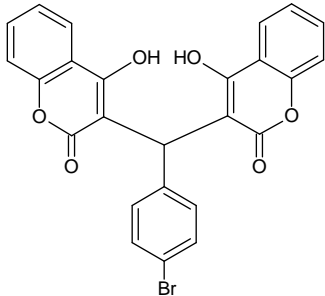
III.1. СИНТЕЗ, СТРУКТУРА ,СВОЙСТВА И ФАРМАКОЛОГИЧНА АКТИВНОСТ НА НЯКОИ БИСКУМАРИНОВИ СЪЕДИНЕНИЯ. РЕНТГЕНОСТРУКТУРЕН АНАЛИЗ

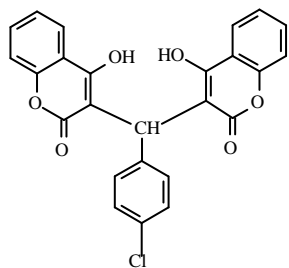
При взаимодействие на ароматни алдехиди с 4-хидроксикумарин по реакцията на Кньюенагел са синтезирани бискумарини (29 съединения). Използваните ароматни алдехиди съдържат електродонорни или електроноакцепторни заместители. Броят на заместителите достига до четири. Различна е и позицията им в ароматното ядро. Кондензационният процес е провеждан във водна среда, в среда от етанол или оцетна киселина при кипене и продължителността му варира от няколко минути до 240 ч по схемата:



Синтезираните съединения са представени в таблица 1. Структурата на съединенията е доказана със съвременни аналитични и физични методи.

Таблица 1. Данни за синтезираните бис-кумарини

| Структурна формула | Брутна формула, мол. м., т.т., продължителност на реакцията | Елементен анализ (изч/нам) | IR (нуйол) cm^{-1} | MS | NMR |
|--|---|---|---|---|---|
|  <p>III-1 [1-8]</p> | <p>$\text{C}_{25}\text{H}_{15}\text{FO}_6$ (мол.м. 430)</p> <p>л. CH_3COOH, 60 мин.</p> | <p>% C = 69.77; % H = 3.49</p> <p>% C = 69.92; % H = 3.27</p> | <p>1674, 1667, 1559, 1352, 1280, 1101 1088, 956, 920, 768</p> | <p>430 (12), 268 (33), 267 (100), 162 (31), 120 (88), 92 (54), 63 (31).</p> | <p>^1H NMR (Acetone-d_6): 2.0 (s, 1H), 6.05-6.2 (s, 1H), 7.0-8.2 (m, 12H), 11.4- 11.5 (s, 1H)</p> |
|  <p>III-2 [1-11]</p> | <p>$\text{C}_{25}\text{H}_{15}\text{BrO}_6$ (мол.м. 491)</p> <p>л. CH_3COOH, 3 ч.</p> | <p>% C = 61.10; % H = 3.05</p> <p>% C = 60.81; % H = 3.16</p> | <p>1669, 1605, 1559, 1352, 1310, 1280, 1182, 1094, 900, 874, 820, 789</p> | <p>491 (34), 329 (24), 248 (100), 162 (36), 120 (82), 92 (61)</p> | <p>^1H NMR (Acetone-d_6): 4.1-4.3 (s, 1H), 6.08-6.16 (s, 1H), 7.24-8.12 (m, 12H), 11.02-11.51 (s, 1H)</p> |



[7-9,11,12,15-41,190,191,196-198]

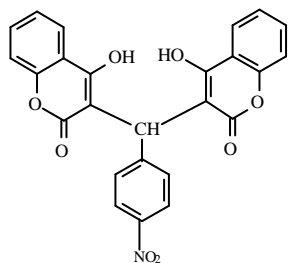
III-3

$C_{25}H_{15}ClO_6$ % C = 67.34
 (МОЛ.М. 445.5) % H = 3.14
 Т.Т. 260-262 °С % Cl = 7.97
 (ЛИТ. Т.Т.239-
 240 °С) % C = 67.51
 Л. CH_3COOH , % H = 3.39
 30 мин. % Cl = 7.73

1669, 1618, 1543, 1380,
763

(FAB NEG): 446.5
 (16), 444.8 (65),
 331 (19), 199 (48),
 167 (70), 161 (79)

1H NMR
 (DMSO- d_6):
 4.6-4.8 (s, 1H),
 5.3-5.7 (s, 1H),
 6.2-6.3 (s, 1H),
 7.2-8.1 (m,
 12H)



[8,9,11,12,36-43,46-48]

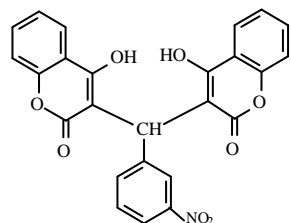
III-4

$C_{25}H_{15}NO_8$ % C = 65.64
 (МОЛ.М. 457) % H = 3.28
 % N = 3.06
 Л. CH_3COOH , % C = 65.51
 30 мин. % H = 3.15
 % N = 3.11

2953, 2924, 2855, 1653,
1616, 1597, 1564, 1491,
1377, 793,

457 (1.2), 294 (12),
 278 (36), 220 (7),
 162 (34), 121 (27),
 120 (100), 92 (80)

1H NMR
 (CDCl $_3$): 5.9 (s,
 1H), 7.1-8.0
 (m, 12H), 8.5-
 9.0 (s, 1H),
 11.0-11.2 (s,
 1H)



[8,11,35,37,39,41-48,61]

III-5

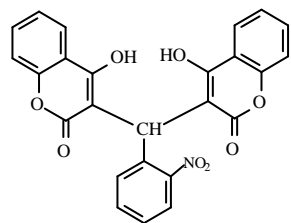
$C_{25}H_{15}NO_8$
(МОЛ.М. 457)
% C = 65.64
% H = 3.28
% N = 3.06

л. CH_3COOH ,
45 МИН.
% C = 65.72
% H = 3.38
% N = 3.28

2951, 2924, 2855, 1654,
1614, 1598, 1564, 1490,
1377, 740

457 (1.1), 439
(0.4), 294 (13), 278
(21), 248 (18), 162
(60), 120 (100), 92
(61), 63 (10)

1H NMR
($CDCl_3$): 5.8 (s,
1H), 7.1-8.1
(m, 12H), 8.5-
9.0 (s, 1H),
11.0-11.2 (s,
1H)



[6-8,37,42,43]

III-6

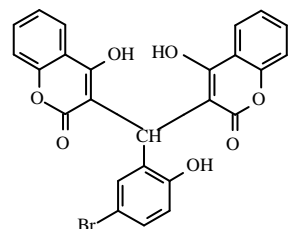
$C_{25}H_{15}NO_8$
(МОЛ.М. 457)
% C = 65.64
% H = 3.28
% N = 3.06

л. CH_3COOH ,
60 МИН.
% C = 65.88
% H = 3.50
% N = 3.31

2924, 2855, 1653, 1616,
1568, 1524, 1377, 1354,
1099,762

457 (0.3), 410 (13),
322 (8), 304 (53),
264 (86), 263 (70),
235 (51), 208 (6),
178 (14), 162 (41),
120 (100), 92 (68),
63 (31)

1H NMR
($CDCl_3$): 6.0 (s,
1H), 7.1-8.2
(m, 12H), 8.6-
9.0 (s, 1H),
11.0-11.2 (s,
1H)



[49-52]

III-7

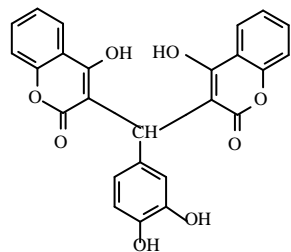
$C_{25}H_{15}BrO_7$
(МОЛ.М. 507)
% C = 59.17
% H = 2.96
% Br = 15.78

т.т 210-212 °C
% C = 59.41
% H = 3.15
% Br = 16.03

1707, 1629, 1217, 748

507/509 (3),
489/491 (24),
327/329 (100), 248
(26), 162 (18), 121
(36), 93 (24), 63
(12)

1H NMR
($DMSO-d_6$):
1.91 (s, 1H),
2.08 (s, 1H),
3.85 (s, 1H),
6.09 (s, 1H),
7.69-8.52 (m,
11H)



[24,50, 51]

$C_{25}H_{16}O_8$ % C = 67.57
(мол.м. 444), % H = 3.60

т.т 223-225 °C % C = 67.77
 % H = 3.86

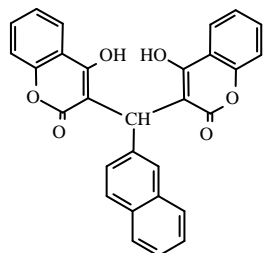
C_2H_5OH ,
12 ч.

1662,1603,1097, 764

281 (3), 265 (7),
162 (100), 120
(78), 92 (82), 63
(11)

1H NMR
(DMSO- d_6):
1.91 (s, 1H),
2.07 (s, 1H),
2.49 (s, 1H),
4.98 (s, 1H),
6.22 (s, 1H),
6.42-7.92 (m,
11H, J = 3 Hz)

III-8



[17,46,50,51,53-60]

$C_{29}H_{18}O_6$ % C = 75.32
(мол.м. 462), % H = 3.90

т.т 263-265 °C % C = 75.53
 % H = 3.78

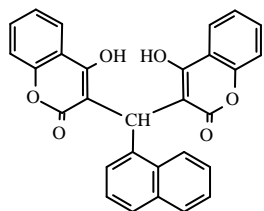
C_2H_5OH ,
30 мин.

1661, 1564, 1188, 1010,
765

462 (0), 300 (53),
299 (100), 271
(10), 162 (18), 152
(25), 120 (36), 92
(26)

1H NMR
(DMSO- d_6):
3.94 (s, 1H),
4.45 (s, 1H),
6.86 (s, 1H),
7.66-8.29 (m,
15H)

III-9



[7,17,50,51,53,54,61,62]

$C_{29}H_{18}O_6$ % C = 75.32
(мол.м. 462), % H = 3.90

т.т 150.2-151.2 °C % C = 75.39
 % H = 3.83

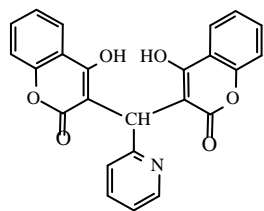
C_2H_5OH ,
9 ч.

1662, 1615, 1099, 912,
765

462 (0), 300 (51),
299 (100), 271
(12), 162 (15), 152
(28), 120 (22), 92
(17), 63 (7)

1H NMR
(DMSO- d_6):
1.92 (s, 1H),
4.24 (s, 1H),
6.74 (s, 1H),
7.62-8.32 (m,
15H)

III-10



[7,48,50,51,63-70]

III-11

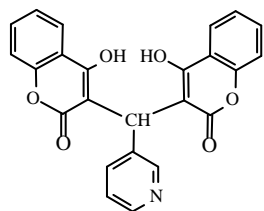
$C_{24}H_{15}NO_6$
(МОЛ.М. 413)
Т.Т 211-213 °С

% C = 69.73
% H = 3.63
% N = 3.39

3122, 3060, 1695, 1635,
1609, 1539, 1489, 1350,
1339, 1278, 1164, 1110,
760

413 (2), 395 (2),
338 (2), 317 (5),
252 (8), 251 (12),
223 (20), 222 (28),
195 (22), 162 (29),
120 (26), 92 (39),
88 (100), 63 (8), 58
(42)

1H NMR
(DMSO- d_6):
6.54 (s, 1H),
7.24-7.58 (m,
8H), 7.80-8.64
(m, 4H), 10.3
(s, 2H)



[48,50,51,66,68-71]

III-12

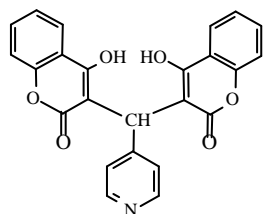
$C_{24}H_{15}NO_6$
(МОЛ.М. 413)
Т.Т 274-276 °С

% C = 69.73
% H = 3.63
% N = 3.39

1688, 1616, 1263, 1118,
752

413 (7), 292 (3),
264 (4), 252 (26),
250 (100), 222
(40), 195 (16), 162
(60), 120 (74), 92
(86), 63 (25)

1H NMR
(DMSO- d_6):
6.51 (s, 1H),
7.31-7.59 (m,
8H), 7.90- 8.37
(m, 4H), 10.1
(s, 2H)



[7,48,50,51,66-69,71-73]

III-13

$C_{24}H_{15}NO_6$
(МОЛ.М. 413)
Т.Т 261-263 °С

% C = 69.73
% H = 3.63
% N = 3.39

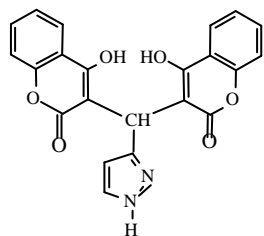
3180, 1685, 1635, 1609,
1538, 1498, 1340, 1277,
1155, 1107, 770, 730

413 (0), 252 (18),
222 (16), 195 (9),
162 (38), 121 (12),
120 (50), 92 (80),
63 (19)

1H NMR
(DMSO- d_6):
6.46 (s, 1H),
7.22-7.58 (m,
8H), 7.80-8.68
(m, 4H), 9.9 (s,
2H)

C_2H_5OH ,
15 мин.

% C = 69.48
% H = 3.90
% N = 3.17



$C_{22}H_{14}N_2O_6$
(МОЛ.М. 402)
Т.Т 245-247 °С

% C = 69.73
% H = 3.63
% N = 3.39

C_2H_5OH ,
15 мин.
% C = 69.73
% H = 3.63
% N = 3.39

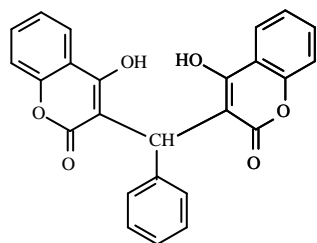
3139, 3070, 1668, 1635,
1568, 1507, 1496, 1360,
1300, 1207, 1150, 1110,
1095, 763, 748

402 (0), 241 (16),
240 (100), 211
(32), 186 (32), 162
(72), 120 (74), 92
(98), 77 (6), 63
(28)

1H NMR
(DMSO- d_6):
6.36 (s, 1H),
7.23-7.55 (m,
8H), 7.83-8.15
(m 2H), 9.28
(s, 2H)

[50,51,65,72,74,75]

III-14



$C_{25}H_{16}O_6$
(МОЛ.М. 412)
Т.Т 229-230 °С

% C = 72.81
% H = 3.88

C_2H_5OH ,
5 ч.
% C = 72.62
% H = 3.99

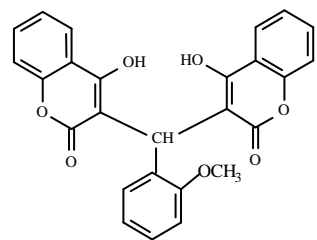
3074, 3032, 1660,1617,
1605, 1568, 1496,1182,
1160, 1092, 1074

412 (8), 249 (100),
221 (17), 162 (20),
120 (37)

1H NMR
(DMSO- d_6):
6.37 (s, 1H),
7.11-7.39 (m,
8H), 7.56-7.92
(m, 5H), 10.1
(s, 2H)

III-15

[8,11,12,19-21,23,24,27-
42,46,47,52,53,67,69,74-91]



$C_{26}H_{18}O_7$
(МОЛ.М. 442)
Т.Т 214-215 °С
(ЛИТ. Т.Т. 218 °С)

% C = 70.59
% H = 4.07

C_2H_5OH ,
5 мин.
% C = 70.83
% H = 3.92

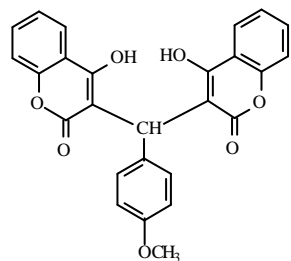
1666, 1605, 1265,1240,
1128, 740

442 (1.5), 279 (4),
249 (100), 162
(61), 120 (91), 92
(70), 63 (28)

1H -NMR
(DMSO- d_6):
3.6-3.8 (s,
3H),4.4-4.5 (s,
1H), 6.2-6.3 (s,
1H), 6.6-6.7 (s,
1H), 6.9-8.1
(m, 12H)

[19,21,24,27-34,42,92-98]

III-16



[6-9,11,12,19-22,24-41,47,76,77,79,80,95,96,98-100]

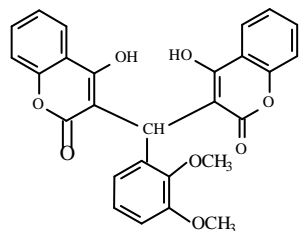
$C_{26}H_{18}O_7$
(МОЛ.М. 442)
Т.Т 250-251 °С
(ЛИТ. Т.Т. 242 °С)
 C_2H_5OH ,
3 мин.

% C = 70.59
% H = 4.07
1672, 1618, 1259,1217,
1113, 769
% C = 70.84
% H = 4.00

442 (4), 279 (100),
249 (100), 162
(72), 120 (96), 92
(100), 63 (75)

1H -NMR
(DMSO- d_6):
3.6-3.8 (s, 3H),
4.3-4.4 (s, 1H),
6.3-6.4 (s, 1H),
6.4-6.5 (s, 1H),
6.8-8.2 (m,
12H)

III-17



[33,34,93,98]

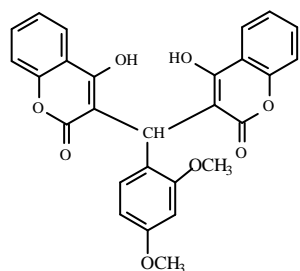
III-18

$C_{27}H_{20}O_8$
(МОЛ.М. 472)
Т.Т 189.5-190.5 °С
(ЛИТ. Т.Т. 282 °С)
 C_2H_5OH ,
3 ч.

% C = 68.64
% H = 4.23
1667, 1661, 1603, 1273,
1225, 1100, 770
% C = 68.92
% H = 4.94

472 (4), 440 (18),
310 (4), 279 (100),
162 (52), 120 (83),
92 (44), 63 (17)

1H -NMR
(DMSO- d_6):
3.4-3.5 (s, 3H),
3.7-3.8 (s, 3H),
4.4-4.5 (s, 1H),
5.9-6.1 (s, 1H),
6.3-6.4 (s, 1H),
6.8-8.4 (m,
11H)



[6,7,9,33,34,93,98]

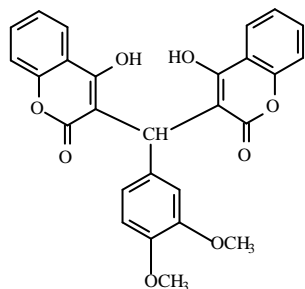
III-19

$C_{27}H_{20}O_8$
(МОЛ.М. 472)
Т.Т 197-198 °С
(ЛИТ. Т.Т. 197-199 °С)
 C_2H_5OH ,
15 мин.

% C = 68.64
% H = 4.24
1661, 1607, 1279, 1180,
765
% C = 68.93
% H = 4.19

472 (0), 454 (1),
440 (3), 279 (75),
162 (66), 120
(100), 92 (48), 63
(20)

1H -NMR
(DMSO- d_6):
3.4-3.5 (s, 3H),
3.6-3.7 (s, 3H),
4.5-4.6 (s, 1H),
6.1-6.3 (s, 1H),
6.4-6.5 (s, 1H),
7.0-8.0 (m,
11H)



$C_{27}H_{20}O_8$
(МОЛ.М. 472)
Т.Т 266.5-268 °С
(ЛИТ. Т.Т. 264-
266 °С)
 C_2H_5OH ,
5 мин.

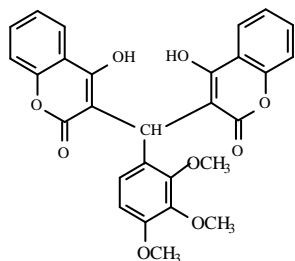
% C = 68.64
% H = 4.23
% C = 68.40
% H = 3.99

1651, 1614, 1265, 1095,
1059, 766

472 (1), 458 (3),
310 (64), 279
(100), 162 (20),
120 (96), 92 (34),
63 (19)

1H -NMR
(DMSO- d_6):
3.6-3.7 (s, 3H),
3.8-3.9 (s, 3H),
4.1-4.2 (s, 1H),
5.9-6.1 (s, 1H),
6.2-6.3 (s, 1H),
6.5-8.3 (m,
11H)

[6,8,9,12,24,33,34,38-40,
III-20 45,94,98,101,102]



$C_{28}H_{22}O_9$
(МОЛ.М. 502)
Т.Т 185.3-187.3
°С
 C_2H_5OH ,
186 ч.

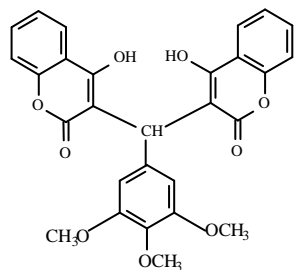
% C = 66.93
% H = 4.38
% C = 67.16
% H = 4.21

1661, 1603, 1254, 1211,
1103, 763

502 (0), 484 (3),
310 (64), 295 (36),
162 (60), 120
(100), 92 (47), 63
(22)

1H -NMR
(DMSO- d_6):
3.5-3.6 (s, 3H),
3.7-3.8 (s, 3H),
3.8-3.9 (s, 3H),
4.5-4.8 (s, 1H),
5.4-5.6 (s, 1H),
6.2-6.3 (s, 1H),
6.5-8.3 (m,
10H)

III-21 [33,34,94,95,98]



$C_{28}H_{22}O_9$
(МОЛ.М. 502)
Т.Т 240.6-243.1
°С
 C_2H_5OH ,
10 мин.

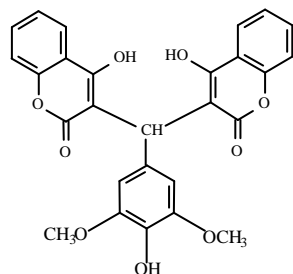
% C = 66.93
% H = 4.38
% C = 66.68
% H = 4.57

1661, 1620, 1266, 1211,
1129, 760

502 (7.5), 501 (29),
306 (17.5), 305
(40), 199 (79), 161
(100)

1H -NMR
(DMSO- d_6):
3.2-3.6 (D,
9H), 4.4-4.6 (s,
1H), 5.0-5.5 (s,
1H), 6.0-6.4 (d,
1H), 6.8-7.8
(m, 10H)

III-22 [7,12,13, 33,34,-
39,45,47,76,94,101,103-108]



$C_{27}H_{20}O_9$ % C = 66.39
 (МОЛ. М. 488) % H = 4.10
 Т.Т. 188-189 °C

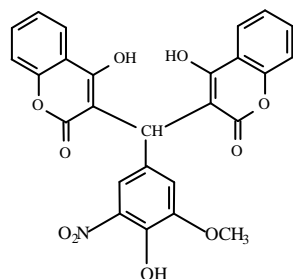
 % C = 66.55
 C_2H_5OH , % H = 4.46
 30 МИН.

1665, 1605, 1269, 1215,
 1100, 765

488 (1), 326 (64),
 295 (100), 279
 (16), 162 (50), 120
 (93), 92 (55), 63
 (22)

^1H-NMR
 (DMSO- d_6):
 3.6-3.7 s (6H),
 4.4-4.6 s (1H),
 5.3-5.5 s (1H),
 6.2-6.3 s (1H),
 6.4-6.5 s (1H),
 7.2-8.1 m (10)

III-23 [33,34,98,109]



$C_{26}H_{17}NO_{10}$ % C = 62.03
 (МОЛ. М. 503) % H = 3.38
 Т.Т. 171-173 °C % N = 2.78

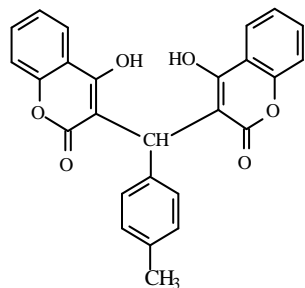
Л. CH_3COOH , % C = 62.08
 6 Ч. % H = 3.62
 % N = 2.63

1651, 1607, 1456, 1377,
 1098, 762

503 (13), 468 (4),
 341 (15), 310 (5),
 264 (2), 149 (3),
 120 (100), 92 (64),
 63 (46)

^1H-NMR
 (DMSO- d_6):
 3.6-3.8 s (3H),
 5.1-5.2 s (1H),
 5.4-6.1 s (2H),
 6.1-6.3 s (1H),
 7.0-8.0 m
 (10H)

III-24 [33,34,110,111,151-153]



$C_{26}H_{18}O_6$ % C = 73.24
 (МОЛ. М. 426) % H = 4.22
 Т.Т. 265-267 °C

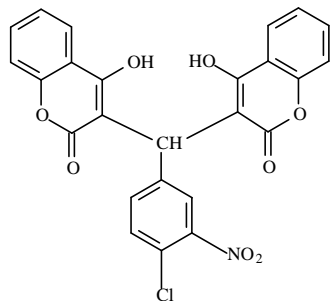
 % C = 73.74
 Л. CH_3COOH , % H = 4.09
 2 Ч.

1673, 1605, 1352, 764.

426 (4), 263 (38),
 249 (100), 235
 (4), 162 (12), 120
 (13), 92 (13), 64
 (13).

^1H-NMR
 (DMF- d_6): 2.1-
 2.3 s (3H), 4.9-
 5.3 s (1H), 5.8-
 6.1 s (1H),
 6.4-6.6 s (1H),
 6.9-
 8.2m(12H)

III-25
 [6,7,11,12,13,20,21,24,33,34,38-
 41,46,47,91,98,112-119]



[33,34,98,123]

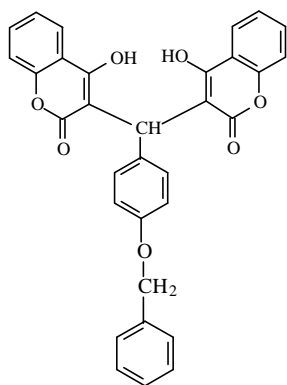
$C_{25}H_{14}ClNO_8$ % C = 61.04
 (МОЛ. М. 491) % H = 2.85
 Т.Т. 264-267 °C % Cl = 7.22
 % N = 2.85
 Л. CH_3COOH ,
 3.5 ч. % C = 61.27
 % H = 3.16
 % Cl = 7.13
 % N = 3.01

1667, 1615, 1538, 1377,
766.

(FAB NEG): 491.5
(4), 490 (13), 331
(22), 306 (56), 199
(41), 168 (70)

1H -NMR
(DMSO- d_6):
4.7-4.9 (s, 1H),
5.5-5.9 (s, 1H),
6.3-6.4 (s, 1H),
7.2-8.0 (m,
11H)

III-26



III-27

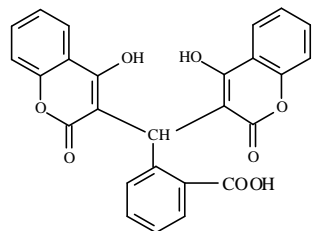
$C_{32}H_{22}O_7$ % C = 74.13
 (МОЛ.М. 518) % H = 4.25
 Т.Т. 224-226 °C % C = 74.10
 % H = 4.43
 Л. CH_3COOH ,
 5 ч.

1669, 1607, 1377, 1182,
772

518 (38), 464 (5),
427 (40), 356 (20),
265 (6), 167 (3),
162 (39), 120 (20),
91 (100), 77 (12),
41 (19)

1H -NMR
(DMSO- d_6):
5.0-5.1 (s, 1H),
5.2-5.6 (s, 2H),
6.2-6.3 (s, 2H),
6.8-8.0 (m,
17H)

[13,33,34,44,46,58-60,98,120-122]



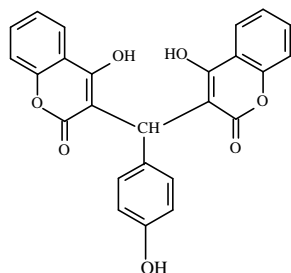
III-28 [28,33,34,103]

$C_{26}H_{16}O_8$ % C = 68.42
 (МОЛ.М. 356) % H = 3.51
 Т.Т. 228-231 °С
 (ЛИТ. Т.Т..228-
 230 °С) % C = 68.61
 Л. CH_3COOH , % H = 3.39
 6 ч.

3229,1770, 1682, 1633,
 1572, 1280, 754

GC/MS

1H -NMR
 (DMSO- d_6):
 4.6-5.4 (s, 3H),
 6.9-7.1 (s, 1H),
 7.2-8.2 (m,
 12H)



[7,9,19,24,35,46,189-192]
 III-29

$C_{25}H_{16}O_7$ % C = 70.09
 (МОЛ.М. 428) % H = 3.74
 Т.Т. 212-214 °С
 Л. CH_3COOH ,
 7 ч. % C = 70.31
 % H = 3.89

1668,1609,1091, 764

428 (5), 335 (8),
 265 (7), 162 (100),
 120 (71), 92 (78),
 63 (13)

1H NMR
 (DMSO- d_6):
 1.89 (s, 1H),
 2.11 (s, 1H),
 2.54 (s, 1H),
 4.88 (s, 1H),
 6.51-7.95 (m,
 12H, J = 3 Hz)

Съединения с подходящи размери на кристалите бяха изследвани с помощта на рентгеноструктурен анализ. Някои от резултатите са представени по-долу.

Фигура 1. Структура на 3,3'-[(4-бромофенил)метилен]-бис-[4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он] (**III-2**) [10]

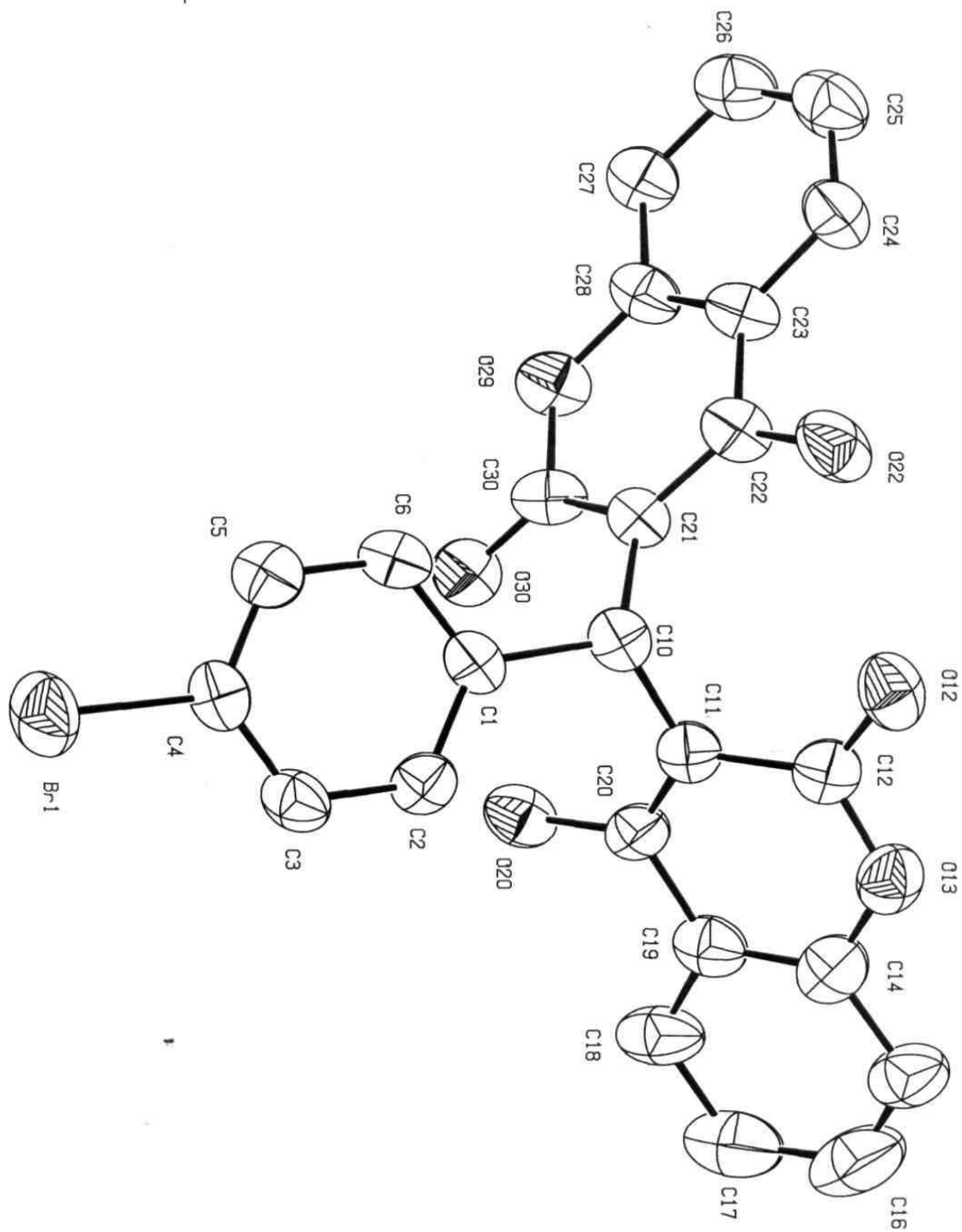


Таблица 2. Структурен анализ на 3,3'-[(4-бромофенил)метилен)]-бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он)

| | |
|--|---|
| Емпирична формула | $C_{25}H_{15}BrO_6$ |
| Молекулна маса | 491.28 |
| Температура | 223 (2) К |
| Дължина на вълната | 1.54184 Å |
| Кристална система | Моноклинна |
| Пространствена група | P21/c |
| Параметри на кристалната клетка | $a = 10.256 (2) \text{ \AA}; \alpha = 90^\circ$ $b = 10.2341 (17) \text{ \AA}; \beta = 93.61 (2)$ $c = 19.839 (5) \text{ \AA}; \gamma = 90^\circ$ |
| Обем | $2078.1 (8) \text{ \AA}^3$ |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 4 |
| Дифрактометрична плътност | 1.570 Mg/m^3 |
| Абсорбционен коефициент | 3.037 mm^{-1} |
| F(000) | 992 |
| Размери на кристала | 0.25 x 0.25 x 0.20 mm |
| Θ интервал за събиране на данни [°] | 6.02 to 65.11° |
| Лимит на индексите | $-12 \leq h \leq 12, 0 \leq k \leq 12, -1 \leq l \leq 23$ |
| Крайни R индекси [$I > 2\sigma(I)$] | R1 = 0.0588, wR2 = 0.1300 |
| Крайни R индекси R1 / wR2 | R1 = 0.1197, wR2 = 0.1567 |
| Адекватност на приближението (Goodness of fit on F^2) | 1.023 |
| CCDC | 627180 |

Таблица 3. Дължина на връзките (Å) на 3,3'-[(4-бромофенил)метилен]-бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он)

| | | | |
|-------------|------------|-------------|------------|
| C 1 – C 6 | 1.373 (8) | C 16 – C 17 | 1.402 (13) |
| C 1 – C 2 | 1.380 (7) | C 17 – C 18 | 1.384 (10) |
| C 1 – C 10 | 1.532 (7) | C 18 – C 19 | 1.389 (8) |
| C 2 – C 3 | 1.387 (8) | C 19 – C 20 | 1.454 (8) |
| C 3 – C 4 | 1.369 (8) | C 20 – O 20 | 1.332 (7) |
| C 4 – C 5 | 1.373 (8) | C 21 – C 22 | 1.369 (7) |
| C 4 – Br 1 | 1.897 (5) | C 21 – C 30 | 1.435 (7) |
| C 5 – C 6 | 1.377 (8) | C 22 – O 22 | 1.329 (6) |
| C 10 – C 11 | 1.492 (8) | C 22 – C 23 | 1.445 (7) |
| C 10 – C 21 | 1.528 (7) | C 23 – C 28 | 1.404 (8) |
| C 11 – C 20 | 1.356 (8) | C 23 – C 24 | 1.405 (8) |
| C 11 – C 12 | 1.452 (8) | C 24 – C 25 | 1.358 (9) |
| C 12 – O 12 | 1.243 (7) | C 25 – C 26 | 1.375 (9) |
| C 12 – O 13 | 1.323 (7) | C 26 – C 27 | 1.369 (8) |
| C 14 – C 19 | 1.374 (8) | C 27 – C 28 | 1.394 (8) |
| C 14 – C 15 | 1.377 (9) | C 28 – O 29 | 1.353 (6) |
| C 14 – O 13 | 1.404 (7) | C 30 – O 30 | 1.208 (6) |
| C 15 – C 16 | 1.364 (13) | C 30 – O 29 | 1.368 (6) |

Таблица 4. Валентни ъгли (°) на 3,3'-[(4-бромофенил)метилен]-бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он)

| | | | |
|--------------------|-----------|--------------------|-----------|
| C 6 – C 1 – C 2 | 118.0 (5) | C 14 – C 19 – C 20 | 118.2 (6) |
| C 6 – C 1 – C 10 | 119.1 (5) | C 18 – C 19 – C 20 | 123.1 (6) |
| C 2 – C 1 – C 10 | 122.7 (5) | O 20 – C 20 – C 11 | 125.4 (5) |
| C 1 – C 2 – C 3 | 121.2 (6) | O 20 – C 20 – C 19 | 114.6 (5) |
| C 4 – C 3 – C 2 | 119.4 (6) | C 11 – C 20 – C 19 | 120.0 (5) |
| C 3 – C 4 – C 5 | 120.2 (5) | C 22 – C 21 – C 30 | 119.0 (5) |
| C 3 – C 4 – Br 1 | 121.0 (4) | C 22 – C 21 – C 10 | 123.3 (5) |
| C 5 – C 4 – Br 1 | 118.8 (5) | C 30 – C 21 – C 10 | 117.7 (4) |
| C 4 – C 5 – C 6 | 119.6 (6) | O 22 – C 22 – C 21 | 123.9 (5) |
| C 1 – C 6 – C 5 | 121.5 (6) | O 22 – C 22 – C 23 | 115.2 (5) |
| C 11 – C 10 – C 21 | 112.7 (4) | C 21 – C 22 – C 23 | 120.8 (5) |
| C 11 – C 10 – C 1 | 115.6 (5) | C 28 – C 23 – C 24 | 119.5 (5) |
| C 21 – C 10 – C 1 | 114.0 (4) | C 28 – C 23 – C 22 | 116.9 (5) |
| C 20 – C 11 – C 12 | 118.4 (5) | C 24 – C 23 – C 22 | 123.6 (5) |
| C 20 – C 11 – C 10 | 126.1 (5) | C 25 – C 24 – C 23 | 118.8 (6) |
| C 12 – C 11 – C 10 | 115.4 (5) | C 24 – C 25 – C 26 | 122.0 (7) |
| O 12 – C 12 – O 13 | 116.2 (5) | C 27 – C 26 – C 25 | 120.7 (7) |
| O 12 – C 12 – C 11 | 123.5 (5) | C 26 – C 27 – C 28 | 119.1 (6) |
| O 13 – C 12 – C 11 | 120.3 (5) | O 29 – C 28 – C 27 | 118.0 (5) |
| C 19 – C 14 – C 15 | 123.2 (7) | O 29 – C 28 – C 23 | 122.0 (5) |
| C 19 – C 14 – O 13 | 120.8 (5) | C 27 – C 28 – C 23 | 120.0 (5) |
| C 15 – C 14 – O 13 | 115.9 (6) | O 30 – C 30 – O 29 | 114.9 (5) |
| C 16 – C 15 – C 14 | 116.3 (8) | O 30 – C 30 – C 21 | 125.5 (5) |
| C 15 – C 16 – C 17 | 123.8 (8) | O 29 – C 30 – C 21 | 119.6 (5) |
| C 18 – C 17 – C 16 | 117.2 (8) | C 12 – O 13 – C 14 | 120.8 (5) |
| C 17 – C 18 – C 19 | 120.7 (8) | C 28 – O 29 – C 30 | 121.3 (4) |
| C 14 – C 19 – C 18 | 118.7 (6) | | |

Фигура 2. Структура на 3,3'-(3-метокси-5-нитро-4-хидрокси-фенилметиле)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он) (III-24) [110,111]

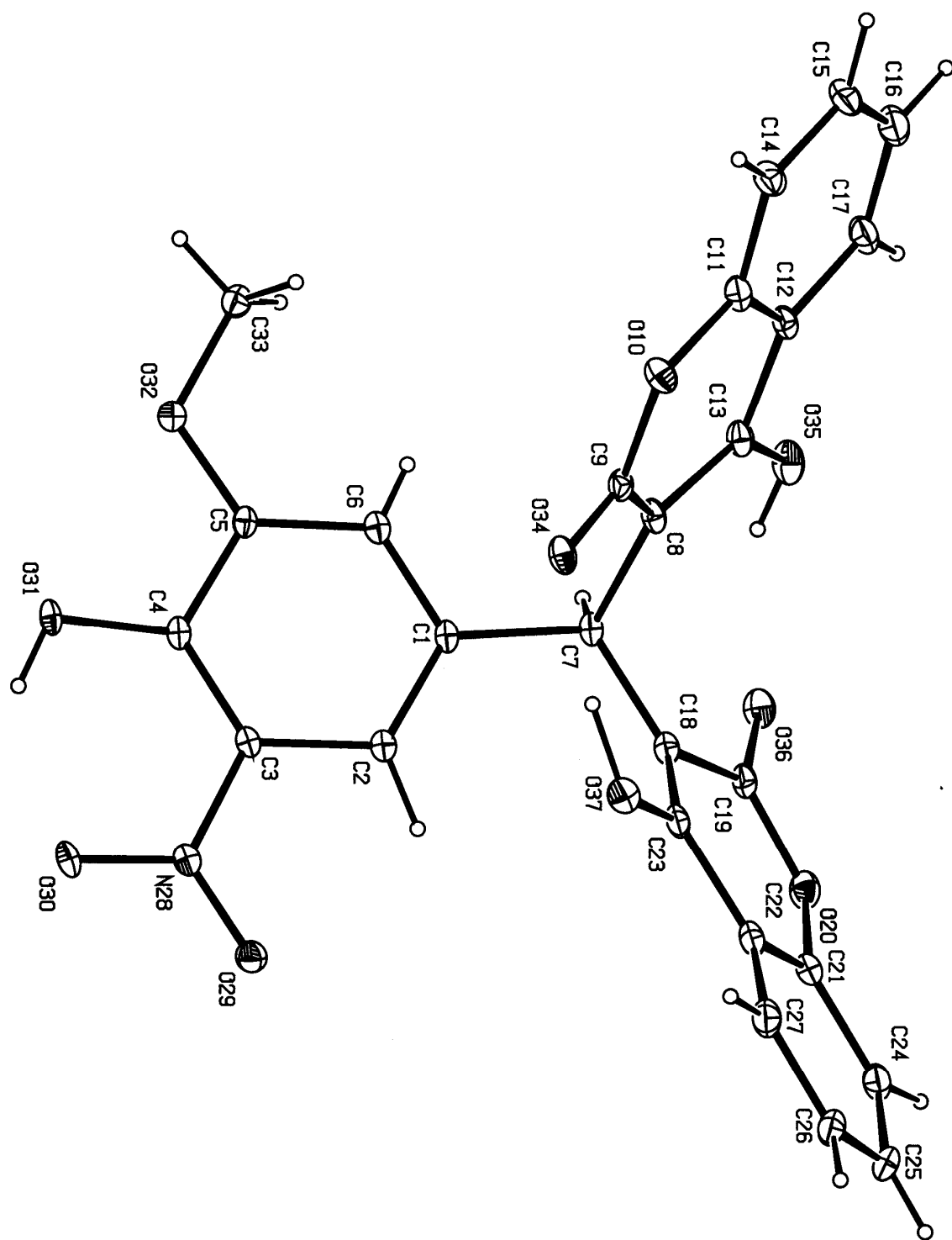


Таблица 5. Структурен анализ на 3,3'-(3-метокси-5-нитро-4-хидрокси-фенилметилен)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он)

| | |
|---|---|
| Емпирична формула | $C_{26}H_{17}NO_{10}$ |
| Молекулна маса | 503.41 |
| Температура | 213 (2) К |
| Дължина на вълната / Радиация | 1.54184 Å / Cu-K α |
| Кристална система | Моноклинна |
| Пространствена група | $P2_1/n$ |
| Параметри на кристалната клетка | $a = 16.859 (4) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $b = 6.1624 (15) \text{ \AA}$ $\beta = 98.019 (19)^\circ$ $c = 25.164 (4) \text{ \AA}$ $\gamma = 90^\circ$ |
| Обем | $2588.8 (10) \cdot 10^6 \text{ \AA}^3$ |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 4 |
| Дифрактометрична плътност | 1.292 Mg/m^3 |
| Абсорбционен коефициент | 0.859 mm^{-1} |
| $F(000)$ | 1040 |
| Размери на кристала | 0.25 x 0.25 x 0.1 mm |
| Θ интервал за събиране на данни [°] | 16.24 to 28.05 deg. |
| Лимит на индексите | $-1 \leq h \leq 19, 0 \leq k \leq 6, -28 \leq l \leq 28$ |
| Крайни R индекси [$I > 2\sigma(I)$] | $R1 = 0.0879, wR2 = 0.2223$ |
| Адекватност на приближението (Goodness-of-fit on F^2) | 0.953 |
| Крайни R индекси R1 / wR2 | 0.1493 / 0.2501 |
| CCDC | 628866 |

Таблица 6. Дължина на връзките (Å) на 3,3'-(3-метокси-5-нитро-4-хидрокси-фенилметилена)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он)

| | | | |
|-------------|-----------|-------------|------------|
| C 1 – C 6 | 1.370 (7) | C 13 – O 35 | 1.331 (6) |
| C 1 – C 2 | 1.370 (7) | C 14 – C 15 | 1.346 (8) |
| C 1 – C 7 | 1,539 (6) | C 15 – C 16 | 1.389 (10) |
| C 2 – C 3 | 1.416 (6) | C 16 – C 17 | 1.338 (9) |
| C 3 – C 4 | 1.363 (7) | C 18 – C 23 | 1.332 (7) |
| C 3 – N 28 | 1.443 (6) | C 18 – C 19 | 1.503 (7) |
| C 4 – O 31 | 1.359 (5) | C 19 – O 36 | 1.199 (6) |
| C 4 – C 5 | 1.403 (6) | C 19 – O 20 | 1.318 (6) |
| C 5 – O 32 | 1.354 (6) | O 20 – C 21 | 1.386 (7) |
| C 5 – C 6 | 1.384 (6) | C 21 – C 22 | 1.369 (8) |
| C 7 – C 18 | 1.491 (7) | C 21 – C 24 | 1.400 (8) |
| C 7 – C 8 | 1.516 (7) | C 22 – C 27 | 1.349 (8) |
| C 8 – C 13 | 1.364 (7) | C 22 – C 23 | 1.463 (8) |
| C 8 – C 9 | 1.471 (7) | C 23 – O 37 | 1.338 (6) |
| C 9 – O 34 | 1.207 (6) | C 24 – C 25 | 1.406 (11) |
| C 9 – O 10 | 1.359 (6) | C 25 – C 26 | 1.404 (11) |
| O 10 – C 11 | 1.377 (6) | C 26 – C 27 | 1.344 (8) |
| C 11 – C 14 | 1.399 (8) | N 28 – O 29 | 1.223 (5) |
| C 11 – C 12 | 1.401 (8) | N 28 – O 30 | 1.252 (5) |
| C 12 – C 17 | 1.380 (7) | O 32 – C 33 | 1.417 (7) |
| C 12 – C 13 | 1.441 (7) | | |

Таблица 7. Валентни ъгли (°) на 3,3'-(3-метокси-5-нитро-4-хидрокси-фенилметилен)-бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он)

| | | | |
|--------------------|-----------|--------------------|-----------|
| C 6 – C 1 – C 2 | 118.7 (4) | O 35 – C 13 – C 12 | 114.1 (4) |
| C 6 – C 1 – C 7 | 117.1 (4) | C 8 – C 13 – C 12 | 122.7 (5) |
| C 2 – C 1 – C 7 | 124.0 (4) | C 15 – C 14 – C 11 | 118.4 (6) |
| C 1 – C 2 – C 3 | 119.0 (5) | C 14 – C 15 – C 16 | 121.6 (6) |
| C 4 – C 3 – C 2 | 122.2 (4) | C 17 – C 16 – C 15 | 119.9 (6) |
| C 4 – C 3 – N 28 | 121.6 (4) | C 16 – C 17 – C 12 | 121.5 (6) |
| C 2 – C 3 – N 28 | 116.2 (4) | C 23 – C 18 – C 7 | 127.0 (5) |
| O 31 – C 4 – C 3 | 127.5 (4) | C 23 – C 18 – C 19 | 119.0 (4) |
| O 31 – C 4 – C 5 | 114.1 (4) | C 7 – C 18 – C 19 | 113.9 (4) |
| C 3 – C 4 – C 5 | 118.3 (4) | O 36 – C 19 – O 20 | 119.3 (5) |
| O 32 – C 5 – C 6 | 125.1 (5) | O 36 – C 19 – C 18 | 122.8 (5) |
| O 32 – C 5 – C 4 | 116.2 (4) | O 20 – C 19 – C 18 | 117.7 (5) |
| C 6 – C 5 – C 4 | 118.7 (5) | C 19 – O 20 – C 21 | 122.1 (4) |
| C 1 – C 6 – C 5 | 123.1 (5) | C 22 – C 21 – O 20 | 122.7 (5) |
| C 18 – C 7 – C 8 | 114.0 (4) | C 22 – C 21 – C 24 | 123.0 (6) |
| C 18 – C 7 – C 1 | 117.2 (4) | O 20 – C 21 – C 24 | 114.3 (6) |
| C 8 – C 7 – C 1 | 112.2 (4) | C 27 – C 22 – C 21 | 118.5 (5) |
| C 13 – C 8 – C 9 | 117.0 (5) | C 27 – C 22 – C 23 | 125.3 (5) |
| C 13 – C 8 – C 7 | 124.0 (5) | C 21 – C 22 – C 23 | 116.2 (5) |
| C 9 – C 8 – C 7 | 119.0 (4) | C 18 – C 23 – O 37 | 124.6 (5) |
| O 34 – C 9 – O 10 | 115.5 (5) | C 18 – C 23 – C 22 | 121.4 (5) |
| O 34 – C 9 – C 8 | 124.4 (5) | O 37 – C 23 – C 22 | 114.0 (5) |
| O 10 – C 9 – C 8 | 120.1 (5) | C 21 – C 24 – C 25 | 116.4 (7) |
| C 9 – O 10 – C 11 | 120.8 (4) | C 26 – C 25 – C 24 | 119.6 (6) |
| O 10 – C 11 – C 14 | 117.2 (5) | C 27 – C 26 – C 25 | 120.1 (7) |
| O 10 – C 11 – C 12 | 122.2 (5) | C 26 – C 27 – C 22 | 122.4 (7) |
| C 14 – C 11 – C 12 | 120.6 (5) | O 29 – N 28 – O 30 | 121.8 (4) |
| C 17 – C 12 – C 11 | 117.9 (5) | O 29 – N 28 – C 3 | 120.6 (4) |
| C 17 – C 12 – C 13 | 125.6 (5) | O 30 – N 28 – C 3 | 117.7 (4) |
| C 11 – C 12 – C 13 | 116.4 (5) | C 5 – O 32 – C 33 | 117.7 (4) |
| O 35 – C 13 – C 8 | 123.1 (5) | | |

Фигура 3: Структура на 3,3'-(2,3,4-триметоксифенил-метилен)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он) (III-21)[34]

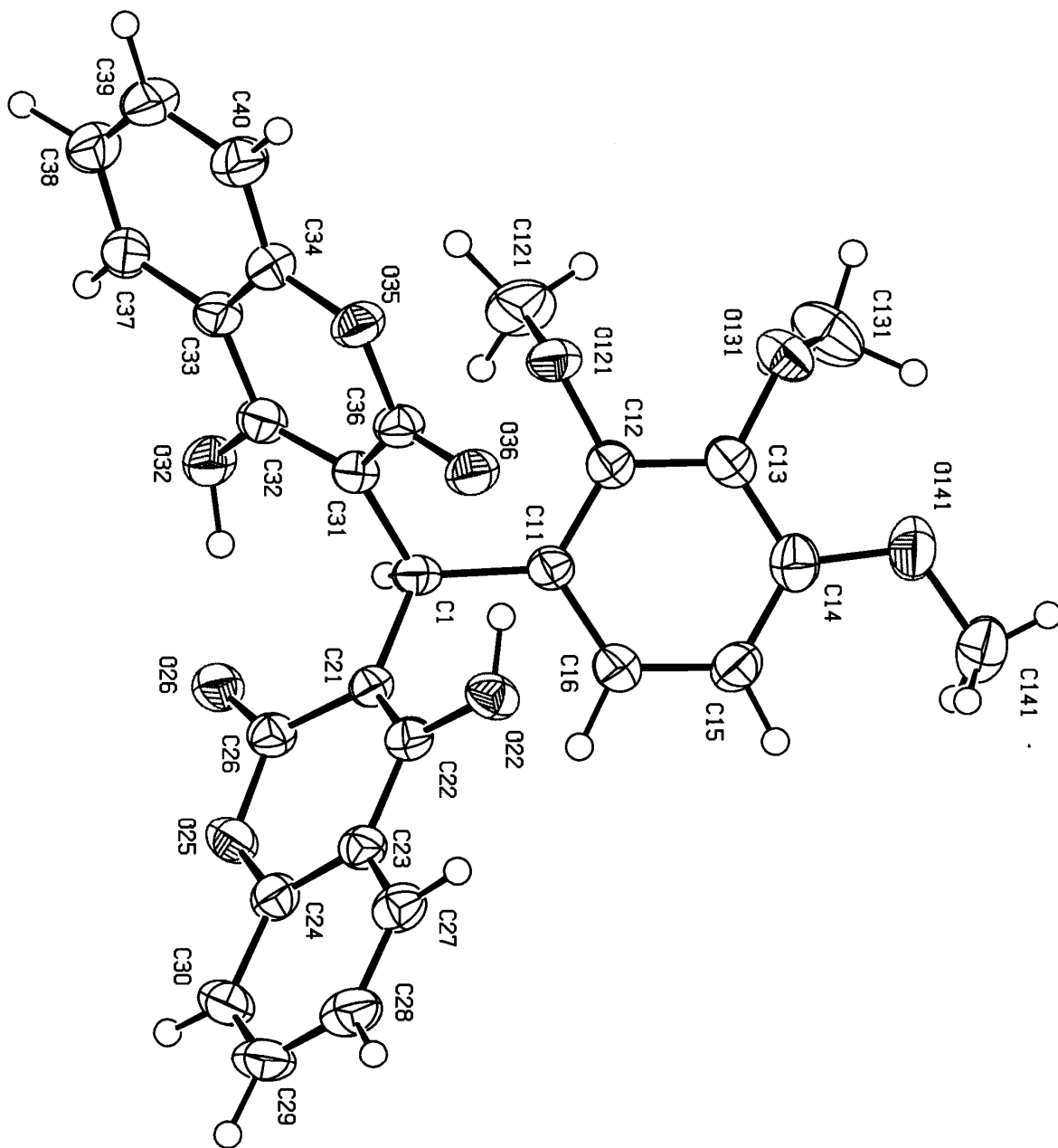


Таблица 8. Структурен анализ на 3,3'-(2,3,4-триметоксифенилметилен)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он)

| | |
|---|--|
| Емпирична формула | $C_{28}H_{22}O_9$ |
| Молекулна маса | 502.46 |
| Кристална система | орторомбична |
| Пространствена група | P212121 |
| Параметри на кристалната клетка | $a = 11.5002 (8) \text{ \AA} ; \alpha = 90^\circ$ $b = 13.8707 (15) \text{ \AA} ; \beta = 90^\circ$ $c = 14.2137 (17) \text{ \AA} ; \gamma = 90^\circ$ |
| Обем | $2267.3 (4) \text{ \AA}^3$ |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 4 |
| Дифрактометрична плътност | 1.472 Mg/m^3 |
| Абсорбционен коефициент | 0.929 mm^{-1} |
| F (000) | 1048 |
| Макроскопско описание на кристала | безцветни плочки |
| Размери на кристала | 0.30 x 0.25 x 0.20 mm |
| Θ интервал за събиране на данни [°] | 5.00 to 64.95 deg. |
| Лимит на индексите | $-1 \leq h \leq 13, -1 \leq k \leq 16, -16 \leq l \leq 16$ |
| Крайни R индекси [$I > 2\sigma(I)$] | $R1 = 0.0475, wR2 = 0.1181$ |
| Крайни R индекси R1/ wR2 | 0.0688/0.1325 |
| Максимална/минимална E-плътност | 0.226 and $-0.215 \text{ e. \AA}^{-3}$ |

Таблица 9. Дължина на връзките (Å) на 3,3'-(2,3,4-триметоксифенилметилден)-
бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он)

| | | | |
|---------------|-----------|-------------|-----------|
| O 22 – C 22 | 1.338 (5) | C 14 – C 15 | 1.390 (6) |
| O 25 – C 26 | 1.357 (5) | C 15 – C 16 | 1.383 (6) |
| O 25 – C 24 | 1.377 (5) | C 21 – C 22 | 1.364 (5) |
| O 26 – C 26 | 1.234 (5) | C 21 – C 26 | 1.447 (6) |
| O 32 – C 32 | 1.344 (5) | C 22 – C 23 | 1.443 (5) |
| O 35 – C 36 | 1.361 (4) | C 23 – C 24 | 1.396 (6) |
| O 35 – C 34 | 1.387 (5) | C 23 – C 27 | 1.400 (6) |
| O 36 – C 36 | 1.226 (5) | C 24 – C 30 | 1.386 (6) |
| O 121 – C 12 | 1.384 (5) | C 27 – C 28 | 1.377 (6) |
| O 121 – C 121 | 1.422 (5) | C 28 – C 29 | 1.403 (7) |
| O 131 – C 13 | 1.392 (5) | C 29 – C 30 | 1.374 (6) |
| O 131 – C 131 | 1.436 (6) | C 31 – C 32 | 1.367 (6) |
| O 141 – C 14 | 1.365 (5) | C 31 – C 36 | 1.436 (5) |
| O 141 – C 141 | 1.432 (6) | C 32 – C 33 | 1.440 (5) |
| C 1 – C 31 | 1.521 (5) | C 33 – C 34 | 1.383 (6) |
| C 1 – C 21 | 1.523 (5) | C 33 – C 37 | 1.416 (6) |
| C 1 – C 11 | 1.543 (5) | C 34 – C 40 | 1.373 (6) |
| C 11 – C 12 | 1.393 (5) | C 37 – C 38 | 1.381 (6) |
| C 11 – C 16 | 1.400 (6) | C 38 – C 39 | 1.384 (7) |
| C 12 – C 13 | 1.400 (6) | C 39 – C 40 | 1.396 (7) |
| C 13 – C 14 | 1.394 (6) | | |

Таблица 10. Валентни ъгли ($^{\circ}$) на 3,3'-(2,3,4-триметоксибензилметилден)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он)

| | | | |
|----------------------|-----------|--------------------|-----------|
| C 26 – O 25 – C 24 | 121.5 (3) | C 27 – C 23 – C 22 | 124.1 (4) |
| C 36 – O 35 – C 34 | 120.8 (3) | O 25 – C 24 – C 30 | 117.1 (4) |
| C 12 – O 121 – C 121 | 114.2 (3) | O 25 – C 24 – C 23 | 120.8 (3) |
| C 13 – O 131 – C 131 | 112.9 (4) | C 30 – C 24 – C 23 | 122.0 (4) |
| C 14 – O 141 – C 141 | 117.3 (4) | O 26 – C 26 – O 25 | 115.6 (4) |
| C 31 – C 1 – C 21 | 111.1 (3) | O 26 – C 26 – C 21 | 124.8 (3) |
| C 31 – C 1 – C 11 | 116.3 (3) | O 25 – C 26 – C 21 | 119.7 (4) |
| C 21 – C 1 – C 11 | 114.1 (3) | C 28 – C 27 – C 23 | 120.5 (4) |
| C 12 – C 11 – C 16 | 116.6 (4) | C 27 – C 28 – C 29 | 120.0 (4) |
| C 12 – C 11 – C 1 | 122.7 (3) | C 30 – C 29 – C 28 | 120.7 (4) |
| C 16 – C 11 – C 1 | 120.2 (3) | C 29 – C 30 – C 24 | 118.7 (4) |
| O 121 – C 12 – C 11 | 121.1 (3) | C 32 – C 31 – C 36 | 119.1 (3) |
| O 121 – C 12 – C 13 | 117.7 (3) | C 32 – C 31 – C 1 | 122.4 (3) |
| C 11 – C 12 – C 13 | 121.2 (4) | C 36 – C 31 – C 1 | 118.5 (3) |
| O 131 – C 13 – C 14 | 120.9 (4) | O 32 – C 32 – C 31 | 124.0 (3) |
| O 131 – C 13 – C 12 | 118.3 (4) | O 32 – C 32 – C 33 | 115.7 (4) |
| C 14 – C 13 – C 12 | 120.8 (4) | C 31 – C 32 – C 33 | 120.2 (4) |
| O 141 – C 14 – C 15 | 126.3 (4) | C 34 – C 33 – C 37 | 118.0 (4) |
| O 141 – C 14 – C 13 | 115.1 (4) | C 34 – C 33 – C 32 | 118.4 (4) |
| C 15 – C 14 – C 13 | 118.6 (4) | C 37 – C 33 – C 32 | 123.6 (4) |
| C 16 – C 15 – C 14 | 119.9 (4) | C 40 – C 34 – C 33 | 122.9 (4) |
| C 15 – C 16 – C 11 | 122.9 (4) | C 40 – C 34 – O 35 | 116.2 (4) |
| C 22 – C 21 – C 26 | 118.2 (3) | C 33 – C 34 – O 35 | 120.9 (4) |
| C 22 – C 21 – C 1 | 126.5 (3) | O 36 – C 36 – O 35 | 115.2 (3) |
| C 26 – C 21 – C 1 | 115.0 (3) | O 36 – C 36 – C 31 | 125.0 (3) |
| O 22 – C 22 – C 21 | 124.2 (3) | O 35 – C 36 – C 31 | 119.8 (3) |
| O 22 – C 22 – C 23 | 114.7 (4) | C 38 – C 37 – C 33 | 119.6 (4) |
| C 21 – C 22 – C 23 | 121.1 (4) | C 37 – C 38 – C 39 | 120.8 (4) |
| C 24 – C 23 – C 27 | 118.1 (4) | C 38 – C 39 – C 40 | 120.3 (4) |
| C 24 – C 23 – C 22 | 117.7 (4) | C 34 – C 40 – C 39 | 118.4 (5) |

Фигура 4. Структура на 3,3'-(3,4,5-триметокси-фенилметилен)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он) (**III-22**) [107]

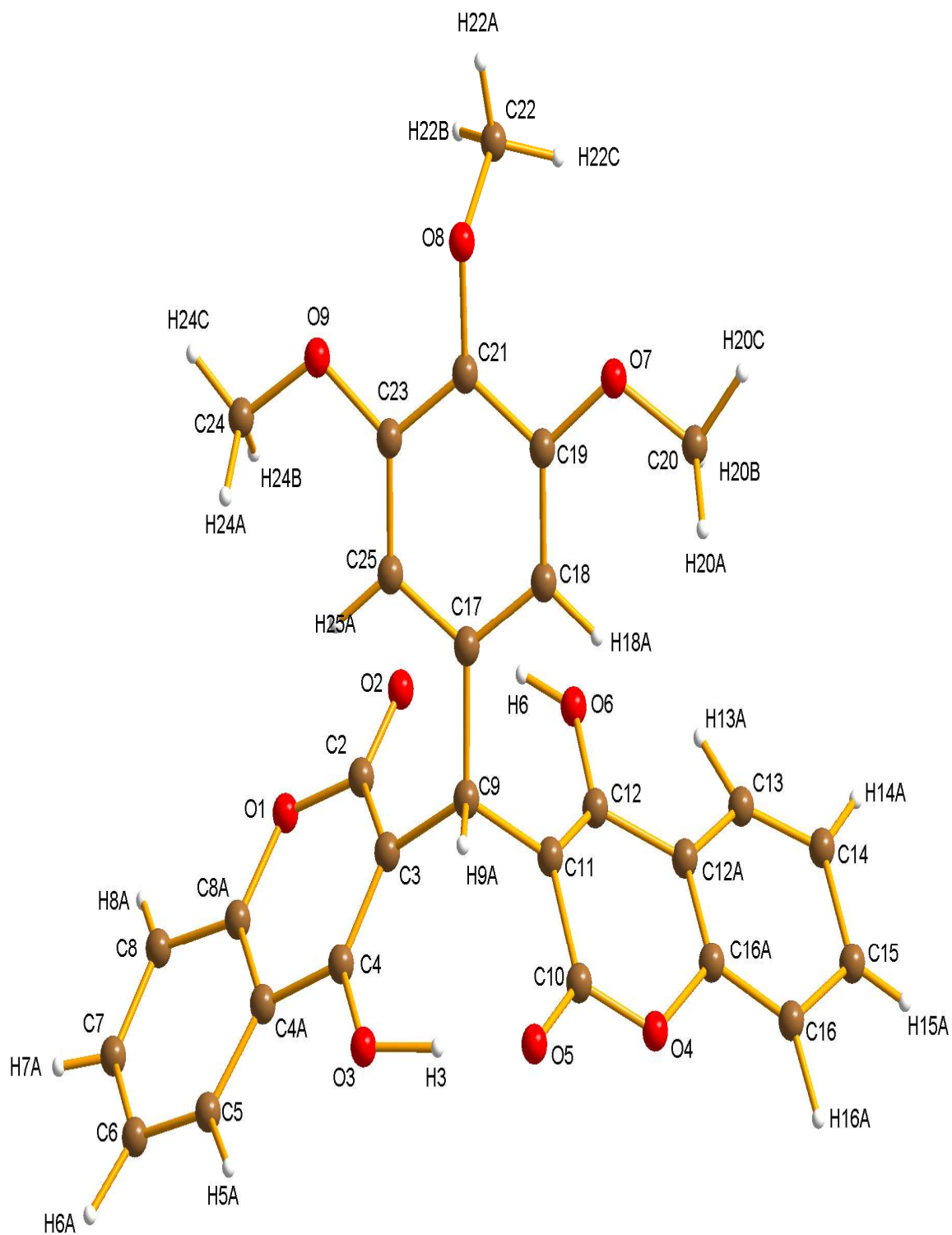


Таблица 11. Структурен анализ на 3,3'-(3,4,5-триметоксифенилметилен)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он)

4-Хидрокси-3-[(2-оксо-2Н-хромен-3-ил)-(3,4,5-триметоксифенил)-метил]хромен-2-он

| | | |
|---|--|--|
| Емпирична формула | $C_{56} H_{44} O_{18}$ | |
| Молекулна маса | 1004.91 | |
| Температура | 223(2) К | |
| Дължина на вълната | 71.073 Å | |
| Кристална система | моноклинна | |
| Пространствена група | C 2/c (No. | |
| Параметри на кристалната клетка | $a = 3599.8(4) \text{ \AA}$ $b = 900.7(1) \text{ \AA}$ $c = 1460.7(2) \text{ \AA}$ | $\alpha = 90^\circ$. $\beta = 98.02(1)^\circ$. $\gamma = 90^\circ$. |
| Обем | 4.690(1) nm ³ | |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 4 | |
| Дифрактометрична плътност | 1.423 Mg/m ³ | |
| Абсорбционен коефициент | 0.107 mm ⁻¹ | |
| F (000) | 2096 | |
| Размери на кристала | 0.50 x 0.30 x 0.10 mm | |
| Θ интервал за събиране на данни [°] | 2.29 to 25.03 deg. | |
| Лимит на индексите | $-42 \leq h \leq 42, -10 \leq k \leq 10, -17 \leq l \leq 17$ | |
| Крайни R индекси [$I > 2\sigma(I)$] | R1 = 0.0555, wR2 = 0.1341 | |
| Крайни R индекси R1/ wR2 | 0.0795/0.1466 | |
| Максимална/минимална E-плътност | 0.461 and - 0.188 e. Å ⁻³ | |
| Адекватност на приближението (Goodness of fit on F ²) | 0.976 | |
| CCDC | 675105 | |

Таблица 12. Дължина на връзките (Å) на 3,3'-(3,4,5-триметоксифенилметилен)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он)

| | | | |
|-------------|----------|---------------|----------|
| O 1 – C 8A | 135.1(2) | C 12 – O 6 | 133.4(2) |
| O 1 – C 2 | 136.6(2) | C 12 – C 12A | 149.4(3) |
| C 2 – O 2 | 117.3(2) | C 12A – C 13 | 131.8(3) |
| C 2 – C 3 | 147.6(3) | C 12A – C 16A | 133.7(3) |
| C 3 – C 4 | 136.2(3) | C 13 – C 14 | 132.4(3) |
| C 3 – C 9 | 154.3(3) | C 14 – C 15 | 146.6(4) |
| C 4 – O 3 | 133.5(2) | C 15 – C 16 | 144.0(4) |
| C 4 – C 4A | 143.4(3) | C 16 – C 16A | 135.6(3) |
| C 4A – C 5 | 139.7(3) | C 17 – C 25 | 138.1(3) |
| C 4A – C 8A | 141.7(3) | C 17 – C 18 | 139.9(3) |
| C 5 – C 6 | 133.0(4) | C 18 – C 19 | 137.8(3) |
| C 6 – C 7 | 134.6(4) | C 19 – O 7 | 137.0(2) |
| C 7 – C 8 | 133.5(3) | C 19 – C 21 | 140.1(2) |
| C 8 – C 8A | 143.2(3) | O 7 – C 20 | 142.3(2) |
| C 9 – C 11 | 150.1(3) | C 21 – O 8 | 137.7(2) |
| C 9 – C 17 | 152.4(3) | C 21 – C 23 | 139.6(3) |
| O 4 – C 10 | 129.3(3) | O 8 – C 22 | 142.0(3) |
| O 4 – C 16A | 145.0(3) | C 23 – O 9 | 137.0(2) |
| C 10 – O 5 | 120.6(2) | C 23 – C 25 | 138.0(3) |
| C 10 – C 11 | 151.1(3) | O 9 – C 24 | 142.5(2) |
| C 11 – C 12 | 127.8(3) | | |

Таблица 13. Валентни ъгли (°) на 3,3'-(3,4,5-триметоксифенилметилен)бис-(4-хидрокси-2H-1-бензопиран-2-он)

| | | | |
|--------------------|----------|----------------------|----------|
| C 8A – O 1 – C 2 | 121.9(2) | C 11 – C 12 – O 6 | 127.2(2) |
| O 2 – C 2 – O 1 | 116.3(2) | C 11 – C 12 – C 12A | 120.8(2) |
| O 2 – C 2 – C 3 | 125.4(2) | O 6 – C 12 – C 12A | 111.9(2) |
| O 1 – C 2 – C 3 | 118.2(2) | C 13 – C 12A – C 16A | 116.9(2) |
| C 4 – C 3 – C 2 | 118.1(2) | C 13 – C 12A – C 12 | 126.6(2) |
| C 4 – C 3 – C 9 | 124.0(2) | C 16A – C 12A – C 12 | 116.4(2) |
| C 2 – C 3 – C 9 | 117.9(2) | C 12A – C 13 – C 14 | 125.4(2) |
| O 3 – C 4 – C 3 | 123.2(2) | C 13 – C 14 – C 15 | 118.5(2) |
| O 3 – C 4 – C 4A | 113.7(2) | C 16 – C 15 – C 14 | 116.4(2) |
| C 3 – C 4 – C 4A | 123.1(2) | C 16A – C 16 – C 15 | 116.2(2) |
| C 5 – C 4A – C 8A | 118.0(2) | C 12A – C 16A – C 16 | 126.5(2) |
| C 5 – C 4A – C 4 | 126.7(2) | C 12A – C 16A – O 4 | 122.1(2) |
| C 8A – C 4A – C 4 | 115.1(2) | C 16 – C 16A – O 4 | 111.3(2) |
| C 6 – C 5 – C 4A | 121.8(3) | C 25 – C 17 – C 18 | 119.5(2) |
| C 5 – C 6 – C 7 | 119.1(3) | C 25 – C 17 – C 9 | 120.3(2) |
| C 8 – C 7 – C 6 | 125.3(3) | C 18 – C 17 – C 9 | 119.8(2) |
| C 7 – C 8 – C 8A | 116.9(2) | C 19 – C 18 – C 17 | 120.0(2) |
| O 1 – C 8A – C 4A | 123.1(2) | O 7 – C 19 – C 18 | 123.9(2) |
| O 1 – C 8A – C 8 | 118.0(2) | O 7 – C 19 – C 21 | 115.4(2) |
| C 4A – C 8A – C 8 | 118.9(2) | C 18 – C 19 – C 21 | 120.7(2) |
| C 11 – C 9 – C 17 | 115.2(2) | C 19 – O 7 – C 20 | 116.3(2) |
| C 11 – C 9 – C 3 | 113.0(2) | O 8 – C 21 – C 23 | 119.8(2) |
| C 17 – C 9 – C 3 | 115.1(2) | O 8 – C 21 – C 19 | 121.5(2) |
| C 10 – O 4 – C 16A | 120.7(2) | C 23 – C 21 – C 19 | 118.7(2) |
| O 5 – C 10 – O 4 | 118.3(2) | C 21 – O 8 – C 22 | 115.5(2) |
| O 5 – C 10 – C 11 | 123.6(2) | O 9 – C 23 – C 25 | 124.3(2) |
| O 4 – C 10 – C 11 | 118.1(2) | O 9 – C 23 – C 21 | 115.3(2) |
| C 12 – C 11 – C 9 | 125.6(2) | C 25 – C 23 – C 21 | 120.4(2) |
| C 12 – C 11 – C 10 | 120.7(2) | C 23 – O 9 – C 24 | 116.1(2) |
| C 9 – C 11 – C 10 | 113.7(2) | C 23 – C 25 – C 17 | 120.7(2) |

Фигура 5. Структура на 3,3'-(3,5-диметокси-4-хидроксифенилметилен)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он) (III-23) [34]

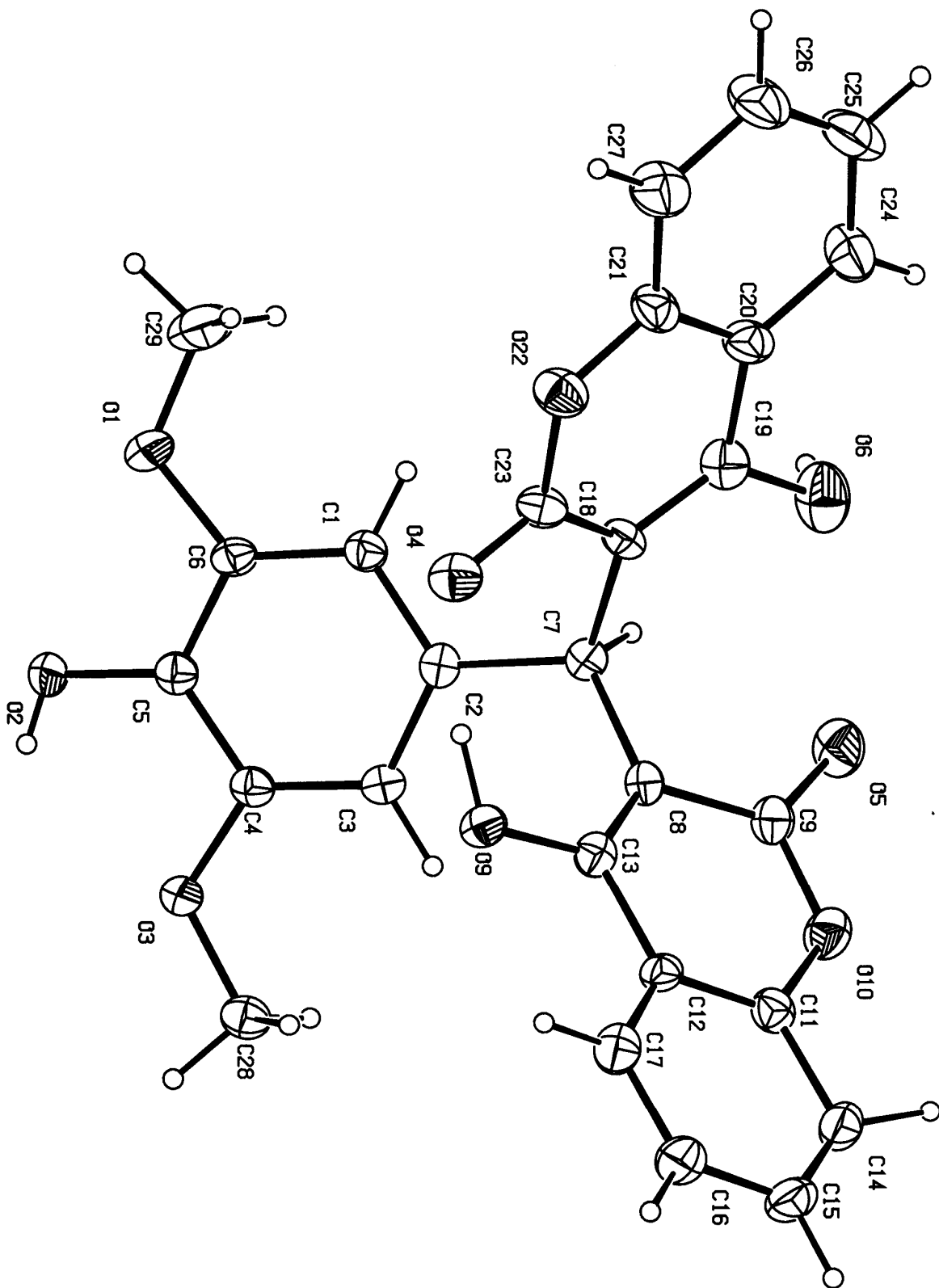


Таблица 14. Структурен анализ на 3,3'-(3,5-диметокси-4-хидроксифенилметилен)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он)

| | |
|---|--|
| Емпирична формула | $C_{27}H_{20}O_9$ |
| Молекулна маса | 488.43 |
| Кристална система | Триклинна |
| Пространствена група | P-1 |
| Параметри на кристалната клетка | $a = 7.0383 (7) \text{ \AA} ; \alpha = 68.84^\circ$ $b = 12.327 (2) \text{ \AA} ; \beta = 88.57^\circ$ $c = 16.567 (3) \text{ \AA} ; \gamma = 73.88^\circ$ |
| Обем | $1283.1 (4) \text{ \AA}^3$ |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 2 |
| Дифрактометрична плътност | 1.264 Mg/m^3 |
| Абсорбционен коефициент | 0.096 mm^{-1} |
| F (000) | 508 |
| Макроскопско описание на кристала | безцветни плочки |
| Размери на кристала | 0.40 x 0.35 x 0.15 mm |
| Θ интервал за събиране на данни [°] | 6.81 to 23.25 deg. |
| Лимит на индексите | $-1 \leq h \leq 7, -13 \leq k \leq 13, -18 \leq l \leq 18$ |
| Крайни R индекси [$I > 2\sigma(I)$] | $R1 = 0.0891, wR2 = 0.2365$ |
| Крайни R индекси R1/ wR2 | 0.2076/0.2935 |
| Максимална/минимална E-плътност | 0.616 and $-0.289 \text{ e. \AA}^{-3}$ |

Таблица 15. Дължина на връзките (Å) на 3,3'-(3,5-диметокси-4-
 хидроксифенилметилен)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он)

| | | | |
|------------|------------|-------------|------------|
| O 9 – C 13 | 1.339 (8) | C 9 – O 10 | 1.335 (8) |
| O 3 – C 4 | 1.382 (7) | O 10 – C 11 | 1.388 (8) |
| O 3 – C 28 | 1,413 (8) | C 11 – C 12 | 1.369 (9) |
| O 1 – C 6 | 1.387 (8) | C 11 – C 14 | 1.411 (10) |
| O 1 – C 29 | 1.401 (10) | C 12 – C 17 | 1.388 (9) |
| O 4 – C 23 | 1.218 (8) | C 12 – C 13 | 1.470 (9) |

Таблица 16. Валентни ъгли (°) на 3,3'-(3,5-диметокси-4-хидрокси-
 фенилметилен)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он)

| | | | |
|-------------------|-----------|--------------------|-----------|
| C 4 – O 3 – C 28 | 118.7 (5) | C 11 – C 12 – C 13 | 117.0 (6) |
| C 6 – O 1 – C 29 | 117.9 (5) | C 17 – C 12 – C 13 | 124.2 (6) |
| C 13 – C 8 – C 9 | 118.7 (6) | C 8 – C 13 – O 9 | 124.3 (6) |
| C 13 – C 8 – C 7 | 126.8 (6) | C 8 – C 13 – C 12 | 121.4 (6) |
| C 9 – C 8 – C 7 | 114.4 (6) | O 9 – C 13 – C 12 | 114.3 (6) |
| C 6 – C 1 – C 2 | 120.7 (6) | C 15 – C 14 – C 11 | 117.5 (8) |
| C 3 – C 2 – C 1 | 118.9 (6) | C 16 – C 15 – C 14 | 120.5 (7) |
| C 3 – C 2 – C 7 | 120.0 (6) | C 17 – C 16 – C 15 | 121.5 (8) |
| C 1 – C 2 – C 7 | 120.8 (6) | C 16 – C 17 – C 12 | 120.4 (7) |
| C 4 – C 3 – C 2 | 119.4 (6) | C 19 – C 18 – C 23 | 118.4 (6) |
| C 3 – C 4 – O 3 | 125.8 (6) | C 19 – C 18 – C 7 | 123.5 (7) |
| C 3 – C 4 – C 5 | 121.2 (6) | C 23 – C 18 – C 7 | 118.1 (5) |
| O 3 – C 4 – C 5 | 112.9 (5) | C 18 – C 19 – O 6 | 123.4 (8) |
| O 2 – C 5 – C 6 | 118.3 (6) | C 18 – C 19 – C 20 | 122.4 (8) |
| O 2 – C 5 – C 4 | 122.2 (6) | O 6 – C 19 – C 20 | 114.1 (7) |
| C 6 – C 5 – C 4 | 119.5 (6) | C 21 – C 20 – C 24 | 118.2 (7) |
| C 5 – C 6 – C 1 | 120.1 (6) | C 21 – C 20 – C 19 | 116.1 (7) |
| C 5 – C 6 – O 1 | 114.9 (5) | C 24 – C 20 – C 19 | 125.5 (8) |
| C 1 – C 6 – O 1 | 125.0 (6) | O 22 – C 21 – C 27 | 117.8 (8) |
| C 8 – C 7 – C 2 | 116.2 (5) | O 22 – C 21 – C 20 | 121.3 (7) |
| C 8 – C 7 – C 18 | 111.5 (5) | C 27 – C 21 – C 20 | 120.8 (7) |
| C 2 – C 7 – C 18 | 113.7 (5) | C 23 – O 22 – C 21 | 121.7 (6) |
| O 5 – C 9 – O 10 | 117.0 (6) | O 4 – C 23 – O 22 | 115.7 (6) |
| O 5 – C 9 – C 8 | 123.9 (7) | O 4 – C 23 – C 18 | 125.3 (6) |
| O 10 – C 9 – C 8 | 119.0 (7) | O 22 – C 23 – C 18 | 119.0 (6) |
| C 9 – O 10 – C 11 | 121.7 (6) | C 25 – C 24 – C 20 | 119.1 (9) |

| | | | |
|--------------------|-----------|--------------------|-----------|
| C 12 – C 11 – O 10 | 121.4 (6) | C 26 – C 25 – C 24 | 122.1 (9) |
| C 12 – C 11 – C 14 | 121.3 (8) | C 25 – C 26 – C 27 | 120.4 (9) |
| O 10 – C 11 – C 14 | 117.3 (7) | C 26 – C 27 – C 21 | 119.3 (9) |
| C 11 – C 12 – C 17 | 118.8 (6) | | |

Фигура 6. Структура на 3,3'-(4-хидроксифенилметилен)-бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он) (**III-29**) [124]

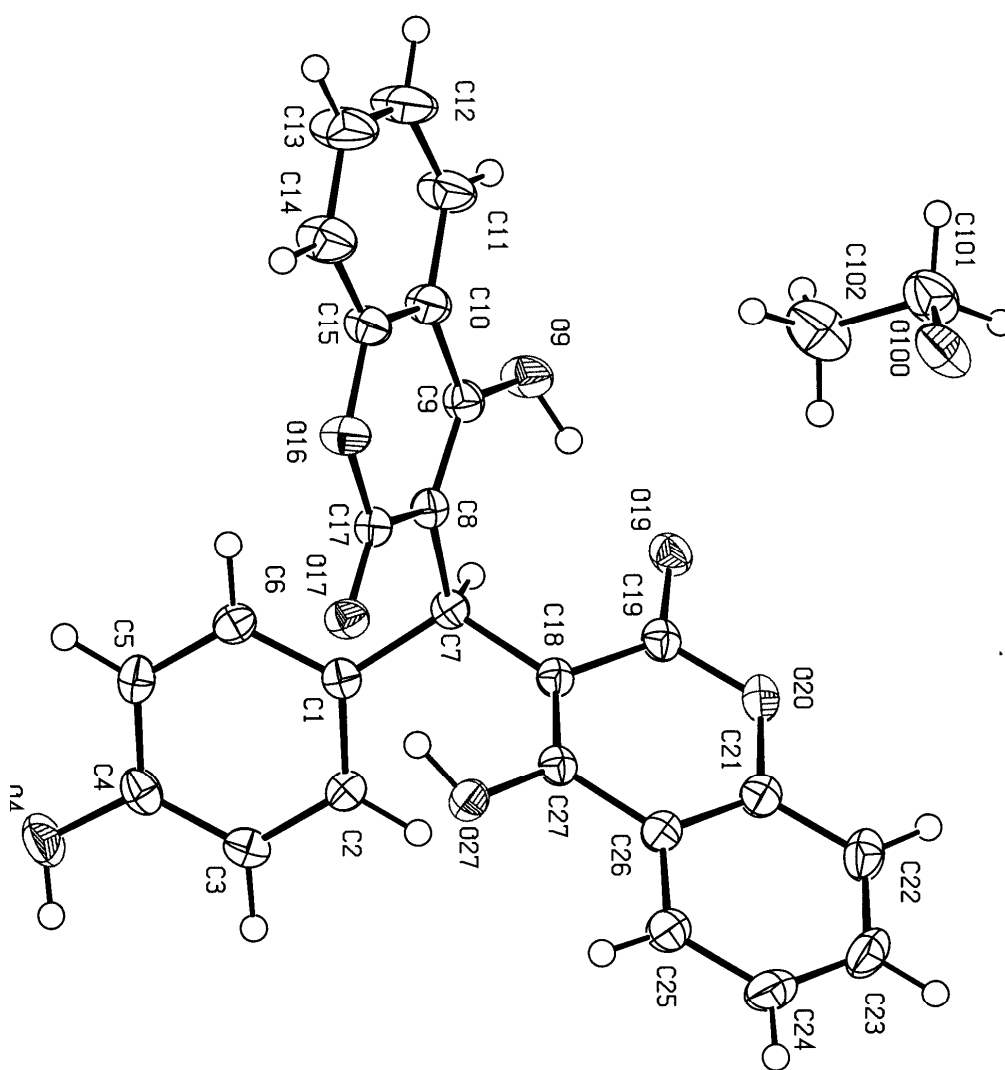


Таблица 17. Структурен анализ на 3,3'-(4-хидроксифенилметилен)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он)

| | |
|--|--|
| Емпирична формула | $C_{27}H_{21}O_8$ |
| Молекулна маса | 473.44 |
| Кристална система | Моноклинна |
| Пространствена група | P21/n |
| Параметри на кристалната клетка | $a = 11.7288 (13) \text{ \AA} ; \alpha = 90^\circ$ $b = 10.1643 (2) \text{ \AA} ; \beta = 95.796^\circ$ $c = 19.024 (2) \text{ \AA} ; \gamma = 90^\circ$ |
| Обем | $2256.1 (4) \text{ \AA}^3$ |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 4 |
| Дифрактометрична плътност | 1.394 Mg/m^3 |
| Абсорбционен коефициент | 0.103 mm^{-1} |
| F (000) | 988 |
| Макроскопско описание на кристала | безцветни плочки |
| Размери на кристала | 0.25 x 0.20 x 0.15 mm |
| Θ интервал за събиране на данни [°] | 3.31 to 26.86 deg. |
| Лимит на индексите | $-14 \leq h \leq 14, -12 \leq k \leq 12, -24 \leq l \leq 24$ |
| Адекватност на приближението (Goodness of fit on F^2) | 1.106 |
| Крайни R индекси [$I > 2\sigma(I)$] | $R1 = 0.0502, wR2 = 0.1010$ |
| Крайни R индекси R1/ wR2 | 0.0686/0.1086 |
| Максимална/минимална E-плътност | 0.585 and $-0.189 \text{ e. \AA}^{-3}$ |

Таблица 18. Дължина на връзките (\AA) на 3,3'-(4-хидроксифенилметилден)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он)

| | | | |
|-------------|-----------|---------------|-----------|
| O 4 – C 4 | 1.364 (2) | C 8 – C 17 | 1.438 (2) |
| O 9 – C 9 | 1.341 (2) | C 9 – C 10 | 1.448 (3) |
| O 16 – C 17 | 1.364 (2) | C 10 – C 15 | 1.390 (3) |
| O 16 – C 15 | 1.384 (2) | C 10 – C 11 | 1.403 (3) |
| O 17 – C 17 | 1.228 (2) | C 11 – C 12 | 1.381 (3) |
| O 19 – C 19 | 1.237 (2) | C 12 – C 13 | 1.389 (3) |
| O 20 – C 19 | 1.352 (2) | C 13 – C 14 | 1.380 (3) |
| O 20 – C 21 | 1.378 (2) | C 14 – C 15 | 1.384 (3) |
| O 27 – C 27 | 1.334 (2) | C 18 – C 27 | 1.367 (2) |
| C 1 – C 2 | 1.391 (2) | C 18 – C 19 | 1.439 (2) |
| C 1 – C 6 | 1.393 (2) | C 21 – C 22 | 1.386 (3) |
| C 1 – C 7 | 1.533 (2) | C 21 – C 26 | 1.393 (3) |
| C 2 – C 3 | 1.397 (3) | C 22 – C 23 | 1.378 (3) |
| C 3 – C 4 | 1.391 (3) | C 23 – C 24 | 1.391 (3) |
| C 4 – C 5 | 1.383 (3) | C 24 – C 25 | 1.376 (3) |
| C 5 – C 6 | 1.385 (3) | C 25 – C 26 | 1.399 (3) |
| C 7 – C 18 | 1.518 (2) | C 26 – C 27 | 1.446 (2) |
| C 7 – C 8 | 1.525 (2) | O 100 – C 101 | 1.430 (3) |
| C 8 – C 9 | 1.366 (2) | C 101 – C 102 | 1.488 (3) |

Таблица 19. Валентни ъгли ($^{\circ}$) на 3,3'-(4-хидроксифенилметилден)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он)

| | | | |
|--------------------|-------------|-----------------------|-------------|
| C 17 – O 16 – C 15 | 121.38 (14) | C 13 – C 14 – C 15 | 118.30 (2) |
| C 19 – O 20 – C 21 | 120.69 (14) | O 16 – C 15 – C 14 | 116.81 (17) |
| C 2 – C 1 – C 6 | 117.50 (16) | O 16 – C 15 – C 10 | 120.91 (16) |
| C 2 – C 1 – C 7 | 122.26 (15) | C 14 – C 15 – C 10 | 122.28 (18) |
| C 6 – C 1 – C 7 | 119.63 (15) | O 17 – C 17 – O 16 | 115.26 (15) |
| C 1 – C 2 – C 3 | 121.48 (17) | O 17 – C 17 – C 8 | 125.31 (16) |
| C 4 – C 3 – C 2 | 119.91 (17) | O 16 – C 17 – C 8 | 119.43 (15) |
| O 4 – C 4 – C 5 | 117.54 (17) | C 27 – C 18 – C 19 | 118.87 (16) |
| O 4 – C 4 – C 3 | 123.42 (18) | C 27 – C 18 – C 7 | 126.33 (15) |
| C 5 – C 4 – C 3 | 119.03 (17) | C 19 – C 18 – C 7 | 114.76 (15) |
| C 4 – C 5 – C 6 | 120.59 (17) | O 19 – C 19 – O 20 | 115.33 (15) |
| C 5 – C 6 – C 1 | 121.50 (17) | O 19 – C 19 – C 18 | 124.27 (16) |
| C 18 – C 7 – C 8 | 112.54 (14) | O 20 – C 19 – C 18 | 120.39 (16) |
| C 18 – C 7 – C 1 | 116.11 (14) | O 20 – C 21 – C 22 | 116.78 (17) |
| C 8 – C 7 – C 1 | 113.78 (14) | O 20 – C 21 – C 26 | 121.32 (16) |
| C 9 – C 8 – C 17 | 119.24 (16) | C 22 – C 21 – C 26 | 121.89 (18) |
| C 9 – C 8 – C 7 | 122.24 (16) | C 23 – C 22 – C 21 | 118.50 (2) |
| C 17 – C 8 – C 7 | 118.52 (15) | C 22 – C 23 – C 24 | 120.85 (19) |
| O 9 – C 9 – C 8 | 123.72 (16) | C 25 – C 24 – C 23 | 120.10 (2) |
| O 9 – C 9 – C 10 | 115.75 (16) | C 24 – C 25 – C 26 | 120.31 (19) |
| C 8 – C 9 – C 10 | 120.49 (16) | C 21 – C 26 – C 25 | 118.27 (17) |
| C 15 – C 10 – C 11 | 118.23 (18) | C 21 – C 26 – C 27 | 117.85 (16) |
| C 15 – C 10 – C 9 | 117.81 (16) | C 25 – C 26 – C 27 | 123.87 (17) |
| C 11 – C 10 – C 9 | 123.90 (18) | O 27 – C 27 – C 18 | 124.86 (16) |
| C 12 – C 11 – C 10 | 120.00 (2) | O 27 – C 27 – C 26 | 115.05 (16) |
| C 11 – C 12 – C 13 | 120.10 (2) | C 18 – C 27 – C 26 | 120.04 (16) |
| C 14 – C 13 – C 12 | 121.00 (2) | O 100 – C 101 – C 102 | 108.93 (19) |

Фигура 7. Структура на 3,3'-[(4-бензилоксифенил)-метилен]бис-(4-хидрокси-2Н-хромен-2-он) (III-27) [125]

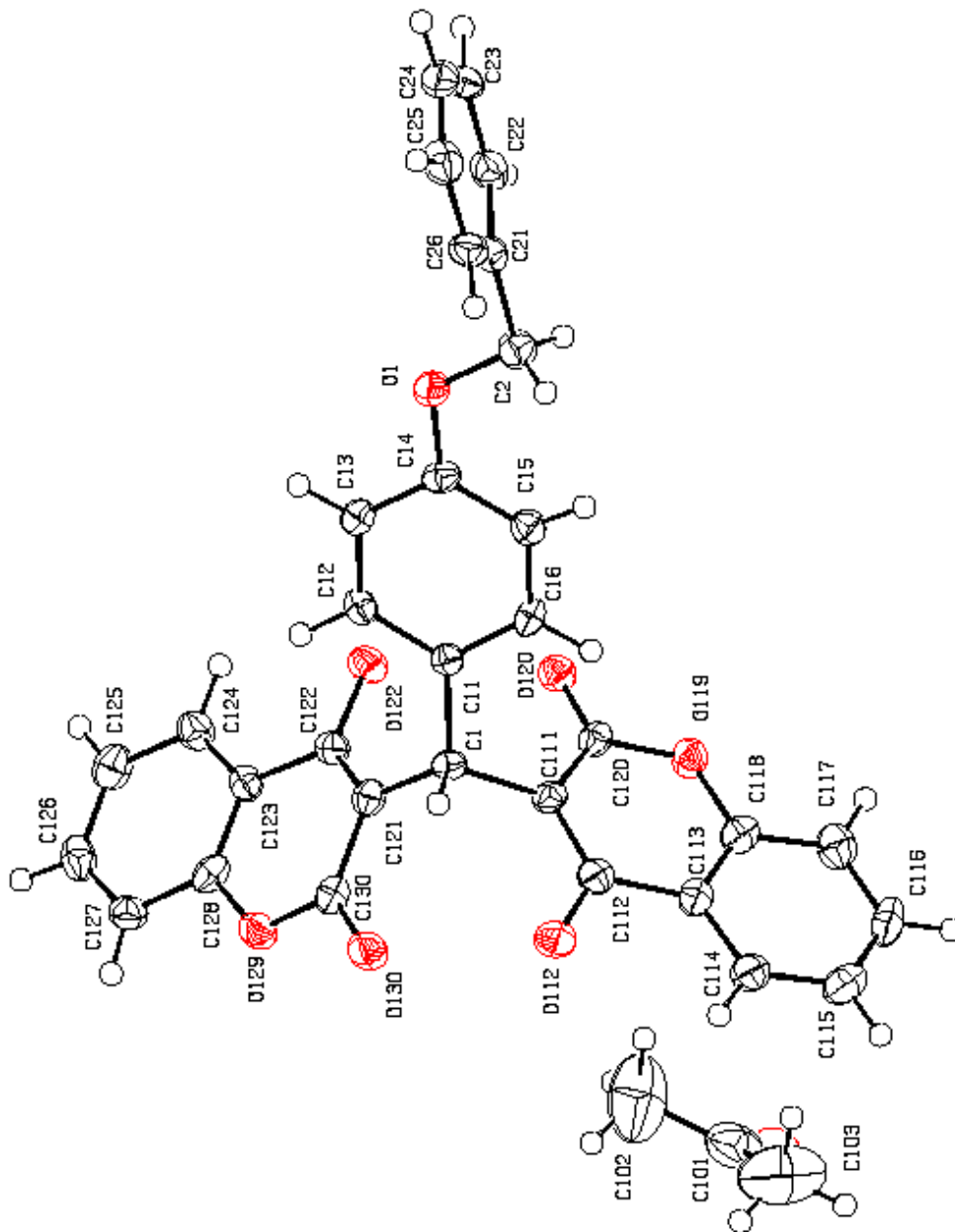


Таблица 20. Структурен анализ на 3,3'-[(4-бензилоксифенил)-метилен]бис-(4-хидрокси-2Н-хромен-2-он)

| | |
|---|---|
| Емпирична формула | $C_{35} H_{26} O_8$ |
| Молекулна маса | 574.56 |
| Температура | 173(2) К |
| Дължина на вълната | 0.71073 Å |
| Кристална система | Моноклинна |
| Пространствена група | P21/n |
| Параметри на кристалната клетка | $a = 12.2990(15) \text{ \AA}, \alpha = 90^\circ$ $b = 10.8108(8) \text{ \AA}, \beta = 99.808(9)^\circ$ $c = 21.277(2) \text{ \AA}, \gamma = 90^\circ$ |
| Обем | $2787.7(5) \text{ \AA}^3$ |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 4 |
| Дифрактометрична плътност | 1.369 Mg/m^3 |
| Абсорбционен коефициент | 0.097 mm^{-1} |
| F(000) | 1200 |
| Размери на кристала | 0.40 x 0.10 x 0.10 mm |
| Θ интервал за събиране на данни [°] | 6.85 to 26.37 deg. |
| Лимит на индексите | $-15 \leq h \leq 15, -13 \leq k \leq 12, -26 \leq l \leq 26$ |
| Адекватност на приближението (Goodness-of-fit on F^2) | 1.122 |
| Крайни R индекси [$I > 2\sigma(I)$] | $R1 = 0.0892, wR2 = 0.1626$ |
| Крайни R индекси (all data) | $R1 = 0.1358, wR2 = 0.1807$ |
| Максимална/минимална E-плътност | 0.711 and $-0.237 \text{ e. \AA}^{-3}$ |

Таблица 21. Дължина на връзките (Å) на 3,3'-[(4-бензилоксифенил)-метилен]бис-(4-хидрокси-2Н-хромен-2-он)

| | | | |
|---------------|----------|---------------|----------|
| O 1 – C 14 | 1.372(4) | C 23 – C 24 | 1.372(6) |
| O 1 – C 2 | 1.427(4) | C 24 – C 25 | 1.379(6) |
| O 101 – C 101 | 1.201(7) | C 25 – C 26 | 1.386(6) |
| O 112 – C 112 | 1.336(4) | C 101 – C 103 | 1.484(8) |
| O 119 – C 120 | 1.363(4) | C 101 – C 102 | 1.487(9) |
| O 119 – C 118 | 1.383(4) | C 111 – C 112 | 1.355(5) |
| O 120 – C 120 | 1.215(4) | C 111 – C 120 | 1.448(5) |
| O 122 – C 122 | 1.327(4) | C 112 – C 113 | 1.454(5) |
| O 129 – C 130 | 1.354(4) | C 113 – C 114 | 1.387(5) |
| O 129 – C 128 | 1.383(4) | C 113 – C 118 | 1.393(5) |
| O 130 – C 130 | 1.215(4) | C 114 – C 115 | 1.358(6) |
| C 1 – C 121 | 1.519(5) | C 115 – C 116 | 1.379(6) |
| C 1 – C 11 | 1.529(4) | C 116 – C 117 | 1.366(6) |
| C 1 – C 111 | 1.530(5) | C 118 – C 117 | 1.395(5) |
| C 2 – C 21 | 1.503(5) | C 121 – C 122 | 1.357(5) |
| C 11 – C 16 | 1.383(5) | C 121 – C 130 | 1.460(5) |
| C 11 – C 12 | 1.396(5) | C 122 – C 123 | 1.457(5) |
| C 12 – C 13 | 1.379(5) | C 123 – C 128 | 1.390(5) |
| C 13 – C 14 | 1.389(5) | C 123 – C 124 | 1.390(5) |
| C 14 – C 15 | 1.386(5) | C 124 – C 125 | 1.369(5) |
| C 15 – C 16 | 1.386(5) | C 125 – C 126 | 1.390(6) |
| C 21 – C 26 | 1.378(5) | C 126 – C 127 | 1.371(6) |
| C 21 – C 22 | 1.387(5) | C 127 – C 128 | 1.383(5) |
| C 22 – C 23 | 1.385(6) | | |

Таблица 22. Валентни ъгли (°) на 3,3'-[(4-бензилоксифенил)-метилен]бис-(4-хидрокси-2Н-хромен-2-он)

| | | | |
|-----------------------|----------|-----------------------|----------|
| C 14 – O 1 – C 2 | 116.5(3) | C 111 – C 112 – C 113 | 121.1(3) |
| C 120 – O 119 – C 118 | 121.5(3) | C 114 – C 113 – C 118 | 118.7(3) |
| C 130 – O 129 – C 128 | 121.2(3) | C 114 – C 113 – C 112 | 124.4(3) |
| C 121 – C 1 – C 11 | 117.2(3) | C 118 – C 113 – C 112 | 116.8(3) |
| C 121 – C 1 – C 111 | 112.0(3) | C 115 – C 114 – C 113 | 120.0(4) |
| C 11 – C 1 – C 111 | 112.8(3) | C 114 – C 115 – C 116 | 121.0(4) |
| O 1 – C 2 – C 21 | 108.6(3) | C 117 – C 116 – C 115 | 120.9(4) |
| C 16 – C 11 – C 12 | 117.5(3) | O 119 – C 118 – C 113 | 121.7(3) |
| C 16 – C 11 – C 1 | 119.9(3) | O 119 – C 118 – C 117 | 117.2(3) |
| C 12 – C 11 – C 1 | 122.0(3) | C 113 – C 118 – C 117 | 121.1(3) |
| C 13 – C 12 – C 11 | 121.2(3) | C 116 – C 117 – C 118 | 118.3(4) |
| C 12 – C 13 – C 14 | 120.5(3) | O 120 – C 120 – O 119 | 115.6(3) |
| O 1 – C 14 – C 15 | 124.2(3) | O 120 – C 120 – C 111 | 125.7(3) |
| O 1 – C 14 – C 13 | 116.7(3) | O 119 – C 120 – C 111 | 118.7(3) |
| C 15 – C 14 – C 13 | 119.1(3) | C 122 – C 121 – C 130 | 119.0(3) |
| C 16 – C 15 – C 14 | 119.7(3) | C 122 – C 121 – C 1 | 127.1(3) |
| C 11 – C 16 – C 15 | 122.0(3) | C 130 – C 121 – C 1 | 113.9(3) |
| C 26 – C 21 – C 22 | 119.4(3) | O 122 – C 122 – C 121 | 124.4(3) |
| C 26 – C 21 – C 2 | 120.7(3) | O 122 – C 122 – C 123 | 115.1(3) |
| C 22 – C 21 – C 2 | 119.9(3) | C 121 – C 122 – C 123 | 120.5(3) |
| C 23 – C 22 – C 21 | 120.0(4) | C 128 – C 123 – C 124 | 118.1(3) |
| C 24 – C 23 – C 22 | 120.2(4) | C 128 – C 123 – C 122 | 117.4(3) |
| C 23 – C 24 – C 25 | 120.2(4) | C 124 – C 123 – C 122 | 124.4(3) |
| C 24 – C 25 – C 26 | 119.7(4) | C 125 – C 124 – C 123 | 120.6(4) |
| C 21 – C 26 – C 25 | 120.5(4) | C 124 – C 125 – C 126 | 120.1(4) |
| O 101 – C 101 – C 103 | 122.5(6) | C 127 – C 126 – C 125 | 120.7(4) |
| O 101 – C 101 – C 102 | 121.2(5) | C 126 – C 127 – C 128 | 118.6(4) |
| C 103 – C 101 – C 102 | 116.3(6) | C 127 – C 128 – O 129 | 116.7(3) |
| C 112 – C 111 – C 120 | 119.6(3) | C 127 – C 128 – C 123 | 121.9(3) |
| C 112 – C 111 – C 1 | 122.8(3) | O 129 – C 128 – C 123 | 121.4(3) |
| C 120 – C 111 – C 1 | 117.5(3) | O 130 – C 130 – O 129 | 115.7(3) |
| O 112 – C 112 – C 111 | 123.8(3) | O 130 – C 130 – C 121 | 124.7(3) |
| O 112 – C 112 – C 113 | 115.1(3) | O 129 – C 130 – C 121 | 119.4(3) |

Резултатите от рентгеноструктурния анализ за всички изследвани съединения показват, че двата 4-хидроксикумаринови остатъка са свързани посредством метиленов мост и разположението им позволява образуването на две вътрешномолекулни водородни връзки между хидроксилната група на единия кумаринов фрагмент и лактонния карбонил на другия [10, 34, 107, 111, 124, 125].

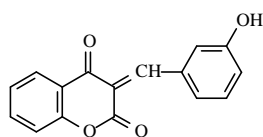
Някои от изследваните съединения изкрystalлизират с молекула от разтворителя за прекристализация.

Аналогична структура на бискумарин от този тип и две вътрешномолекулни водородни връзки са потвърдени от Трендафилова и сътр. с помощта на изчислителната химия [68, 69].

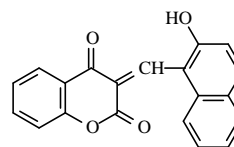
III.2. 2,4-Дикетохромани

В хода на изследванията беше установено, че една част от алдеhidите не взаимодействат с две молекули 4-хидроксикумарин, а взаимодействието спира на първия етап. Получават се 2,4-дикетохромани. По този начин се отнасят някои от изомерите на салициловия алдеhid: 3-хидроксибензалдеhid. Взаимодействието на 2-хидроксинафталдеhid с 4-хидроксикумарин в молно отношение 1:2 води до получаването на 2,4-дикетохроман. Допускаме, че електронни и стерични фактори са в основата на тези резултати .

Когато се използва 4-хидроксибензалдеhid крайният продукт е бискумарин. Ако хидроксилната група е на трето място процесът спира до получаването на 2,4-дикетохроман.



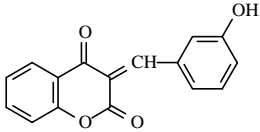
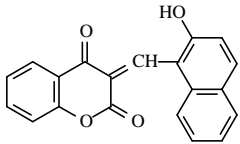
(III-30)



(III-31)

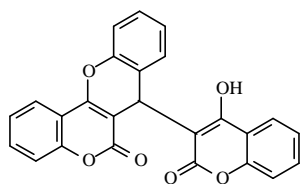
Фармакологичните изследвания на тези съединения показват, че 3-(3'-хидроксифенилметил)-2,4-дикетохроман е с ниска токсичност и дозозависима антикоагулантна активност *in vivo*. Веществото е перспективно за по-задълбочени изследвания в това направление [50,51].

Таблица 23. Данни за арилиден-2,4-дикетохромани

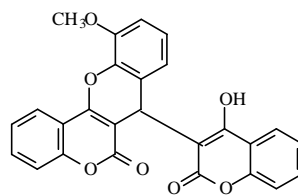
| Структурна формула | Брутна формула, мол.м., продълж. | Елементен анализ (изч/нам) | IR (нуйол) cm^{-1} | MS | NMR |
|--|--|----------------------------|---|---|---|
|  <p>[51] (III-30)</p> | $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{O}_4$ (мол.м. 266) | % C = 72.18; % H = 3.76 | 1683, 1654, 1636, 1616, 1601, 1100, 1088, 761 | (m/z, %): 266 (37), 265 (54), 249 (54), 162 (93), 120 (85), 92 (100), 63 (19). | $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): 2.88 (s, 1H), 5.07 (s, 1H), 6.67-8.31 (m, 8H). |
| | $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, 9 часа | % C = 71.92; % H = 3.57 | | | |
|  <p>(III-31) [54,126-129]</p> | $\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{O}_4$ (мол.м. 316) | % C = 75.95; % H = 3.80 | 1706, 1699, 1695, 1684, 1653, 1631, 1623, 1569, 1488, 1307, 818 | (m/z, %): 316 (86), 315 (90), 196 (62), 168 (100), 139 (97), 121 (48), 93 (30), 65 (27). | $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): 2.89 (s, 1H), 7.31-9.50 (m, 10H), 11.17 (s, 1H) |
| | $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, 45 мин. | % C = 75.92; % H = 3.65 | | | |

III.3. Хроманокумарини

Още в първата половина на миналия век е установено, че салициловият алдехид и аналозите му при взаимодействието си с 4-хидроксикумарин образуват бискумарини. В хода на реакцията продуктите претърпяват спонтанна вътрешномолекулярна дехидратация и се получават хроманокумарини. Доказателство на това твърдение са продуктите на салицилов алдехид, 3-метокси-2-хидроксibenзалдехид или 5-нитро-2-хидроксibenзалдехид с 4-хидроксикумарин.



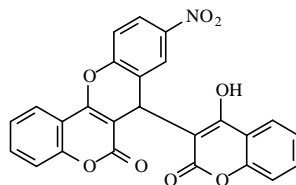
(III-32)



(III-33)

[2,5,19,42,51,58,59,94,95,113,129-132,134,
135,137,195,199,201]

[5,19,51,98,132,137]



(III-34)

[5,51,136,137]

Структурата на първия беше потвърдена от нас и с помощта на рентгеноструктурен анализ.

Фигура 7. Структура на 3-[6-оксо-(6Н,7Н)-бензопирано-[4,3-б] бензопиран-7-ил]-4-
хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он (III-32) [40,179]

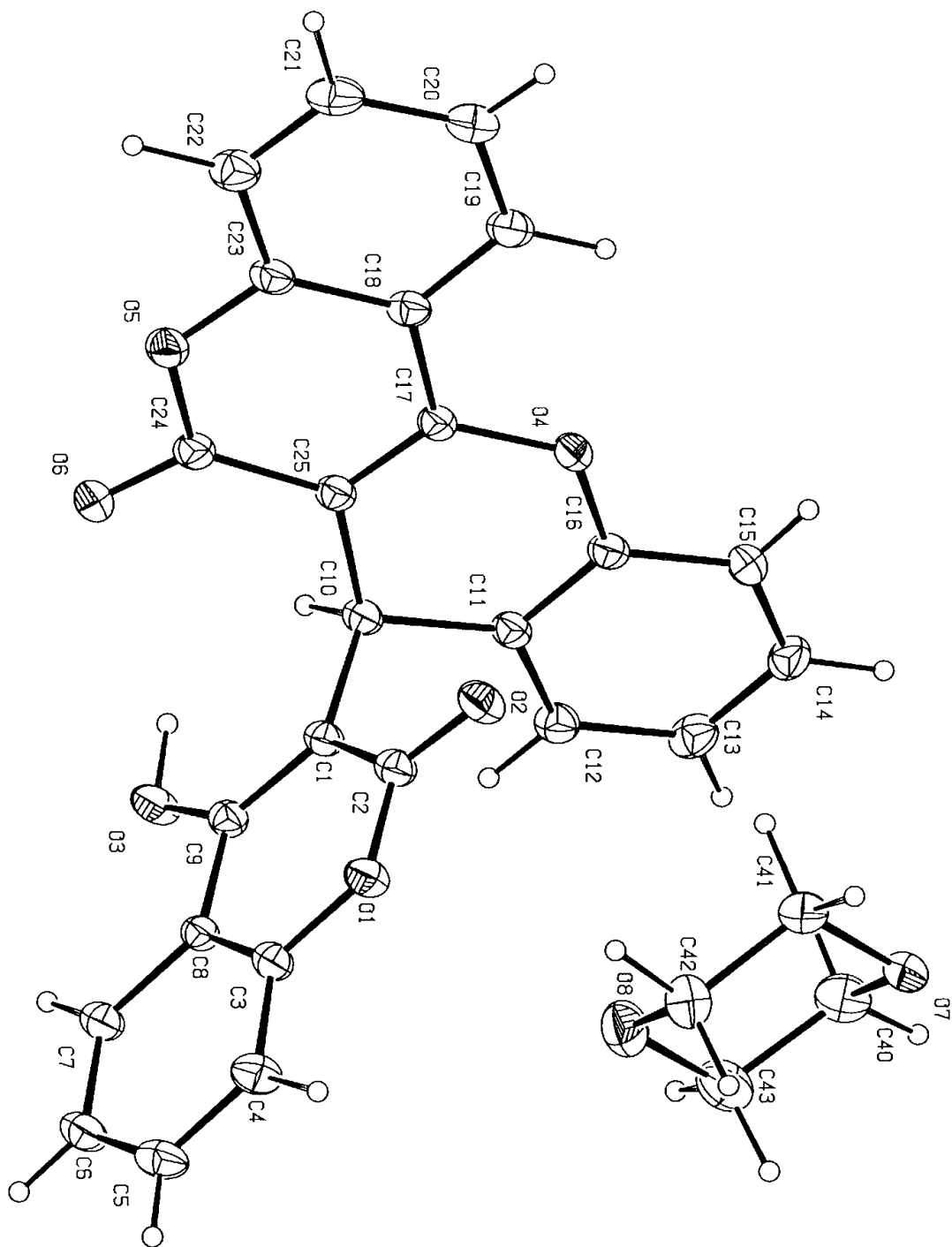


Таблица 24. Структурен анализ на 3-[6-оксо-(6H,7H)-бензопирано-
[4,3 - b] бензопиран-7-ил]-4-хидрокси-2H-1-бензопиран-2-он

| | |
|---|--|
| Емпирична формула | $C_{29}H_{22}O_8$ |
| Молекулна маса | 498.47 |
| Кристална система | Орторомбична |
| Пространствена група | $Pbca$ |
| Параметри на кристалната клетка | $a = 1565.3(2) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $b = 1658.8(2) \text{ \AA}$ $\beta = 90^\circ$ $c = 1760.8(3) \text{ \AA}$ $\gamma = 90^\circ$ |
| Обем | $4572.0 (12) \cdot 10^6 \text{ \AA}^3$ |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 8 |
| Дифрактометрична плътност | 1.448 Mg/m^3 |
| Абсорбционен коефициент | 0.884 mm^{-1} |
| F(000) | 2080 |
| Описание на кристала | безцветен/прозрачен блок |
| Размери на кристала | 0.25 x 0.20 x 0.20 mm |
| θ интервал за събиране на данни [$^\circ$] | 5.02 to 70.79 deg. |
| Лимит на индексите | $-19 \leq h \leq 0, -1 \leq k \leq 18, 0 \leq l \leq 20$ |
| Крайни R индекси [$I > 2\sigma(I)$] | $R1 = 0.0494, wR2 = 0.1230$ |
| Крайни R индекси R1 / wR2 | 0.0771 / 0.1384 |
| Адекватност на приближението (Goodness-of-fit on F^2) | 1.016 |
| Максимална/минимална E-плътност | 0.206 and -0.254 e. \AA^3 |

Таблица 25. Дължина на връзките (\AA) на 3-[6-оксо-(6Н,7Н)-бензопирано-[4,3- b]-
бензопиран-7-ил]-4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он

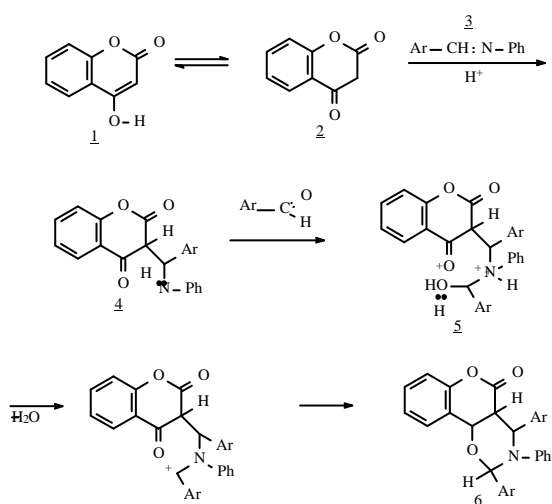
| | | | |
|-------------|-----------|-------------|-----------|
| O 1 – C 2 | 1.329 (2) | C 11 – C 16 | 1.336 (4) |
| O 1 – C 3 | 1.332 (3) | C 11 – C 12 | 1.455 (4) |
| O 2 – C 2 | 1.175 (3) | C 12 – C 13 | 1.414 (4) |
| O 3 – C 9 | 1.341 (3) | C 13 – C 14 | 1.341 (5) |
| O 4 – C 17 | 1.397 (3) | C 14 – C 15 | 1.435 (4) |
| O 4 – C 16 | 1.444 (3) | C 15 – C 16 | 1.418 (4) |
| O 5 – C 23 | 1.330 (3) | C 17 – C 25 | 1.297 (4) |
| O 5 – C 24 | 1.417 (3) | C 17 – C 18 | 1.473 (4) |
| O 6 – C 24 | 1.181 (3) | C 18 – C 19 | 1.349 (4) |
| C 1 – C 9 | 1.310 (4) | C 18 – C 23 | 1.431 (4) |
| C 1 – C 2 | 1.441 (4) | C 19 – C 20 | 1.414 (4) |
| C 1 – C 10 | 1.460 (3) | C 20 – C 21 | 1.428 (5) |
| C 3 – C 4 | 1.335 (4) | C 21 – C 22 | 1.316 (5) |
| C 3 – C 8 | 1.372 (4) | C 22 – C 23 | 1.433 (4) |
| C 4 – C 5 | 1.319 (4) | C 24 – C 25 | 1.485 (4) |
| C 5 – C 6 | 1.379 (5) | O 7 – C 40 | 1.448 (4) |
| C 6 – C 7 | 1.317 (4) | O 7 – C 41 | 1.526 (4) |
| C 7 – C 8 | 1.350 (4) | O 8 – C 42 | 1.424 (4) |
| C 8 – C 9 | 1.386 (4) | O 8 – C 43 | 1.506 (5) |
| C 10 – C 25 | 1.533 (4) | C 40 – C 43 | 1.450 (5) |
| C 10 – C 11 | 1.550 (4) | C 41 – C 42 | 1.431 (5) |

Таблица 26. Валентни ъгли (°) на 3-[6-оксо-(6H,7H)-бензопирано-
[4,3-b]бензопиран-7-ил]-4-хидрокси-2H-1-бензопиран-2-он

| | | | |
|--------------------|-----------|--------------------|-----------|
| C 2 – O 1 – C 3 | 117.7 (2) | C 13 – C 14 – C 15 | 118.9 (3) |
| C 17 – O 4 – C 16 | 122.4 (2) | C 16 – C 15 – C 14 | 123.1 (3) |
| C 23 – O 5 – C 24 | 118.4 (2) | C 11 – C 16 – C 15 | 119.7 (3) |
| C 9 – C 1 – C 2 | 121.3 (2) | C 11 – C 16 – O 4 | 120.2 (2) |
| C 9 – C 1 – C 10 | 120.3 (2) | C 15 – C 16 – O 4 | 120.0 (2) |
| C 2 – C 1 – C 10 | 118.4 (2) | C 25 – C 17 – O 4 | 121.9 (2) |
| O 2 – C 2 – O 1 | 112.0 (2) | C 25 – C 17 – C 18 | 119.0 (2) |
| O 2 – C 2 – C 1 | 127.5 (3) | O 4 – C 17 – C 18 | 119.1 (2) |
| O 1 – C 2 – C 1 | 120.5 (2) | C 19 – C 18 – C 23 | 116.8 (3) |
| O 1 – C 3 – C 4 | 113.3 (3) | C 19 – C 18 – C 17 | 121.7 (3) |
| O 1 – C 3 – C 8 | 122.8 (2) | C 23 – C 18 – C 17 | 121.5 (2) |
| C 4 – C 3 – C 8 | 123.9 (3) | C 18 – C 19 – C 20 | 117.1 (3) |
| C 5 – C 4 – C 3 | 115.1 (3) | C 19 – C 20 – C 21 | 125.1 (3) |
| C 4 – C 5 – C 6 | 122.3 (3) | C 22 – C 21 – C 20 | 118.9 (3) |
| C 7 – C 6 – C 5 | 122.1 (3) | C 21 – C 22 – C 23 | 116.2 (3) |
| C 6 – C 7 – C 8 | 116.9 (3) | O 5 – C 23 – C 18 | 119.9 (2) |
| C 7 – C 8 – C 3 | 119.6 (3) | O 5 – C 23 – C 22 | 114.3 (3) |
| C 7 – C 8 – C 9 | 120.0 (3) | C 18 – C 23 – C 22 | 125.8 (3) |
| C 3 – C 8 – C 9 | 120.4 (2) | O 6 – C 24 – O 5 | 113.2 (2) |
| C 1 – C 9 – O 3 | 127.3 (2) | O 6 – C 24 – C 25 | 124.3 (3) |
| C 1 – C 9 – C 8 | 117.2 (3) | O 5 – C 24 – C 25 | 122.5 (2) |
| O 3 – C 9 – C 8 | 115.4 (2) | C 17 – C 25 – C 24 | 118.3 (2) |
| C 1 – C 10 – C 25 | 107.9 (2) | C 17 – C 25 – C 10 | 120.1 (2) |
| C 1 – C 10 – C 11 | 110.4 (2) | C 24 – C 25 – C 10 | 121.6 (2) |
| C 25 – C 10 – C 11 | 115.2 (2) | C 40 – O 7 – C 41 | 111.4 (3) |
| C 16 – C 11 – C 12 | 115.9 (3) | C 42 – O 8 – C 43 | 112.3 (3) |
| C 16 – C 11 – C 10 | 118.5 (2) | O 7 – C 40 – C 43 | 108.3 (3) |
| C 12 – C 11 – C 10 | 125.6 (2) | C 42 – C 41 – O 7 | 111.6 (3) |
| C 13 – C 12 – C 11 | 125.3 (3) | O 8 – C 42 – C 41 | 109.3 (3) |
| C 14 – C 13 – C 12 | 117.1 (3) | C 40 – C 43 – O 8 | 112.7 (3) |

III.4. Взаимодействие на 4-хидроксикумарин с Шифови бази

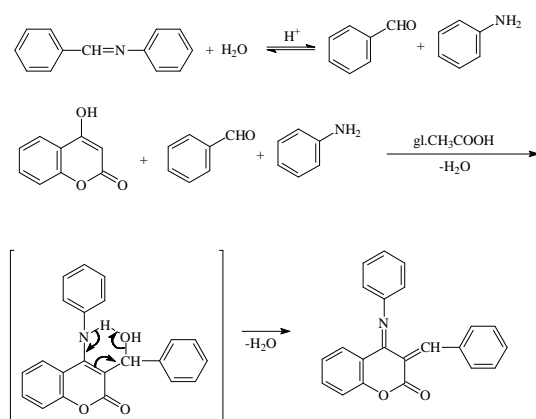
Индийски изследователи съобщават, че при взаимодействие на 4-хидроксикумарин с Шифови бази в оцетнокисела среда се получават сложно заместени оксазини [138]. Процесът се осъществява между една молекула 4-хидроксикумарин и две молекули бензилиденанилин в ледена оцетна киселина при 30 °C за 1 – 3 часа. Полученият бензопиранооксазин е с молекулна маса 431 (C₂₉H₂₁NO₃) и т.т. 169-170 °C. Реакцията може да се представи със схемата:



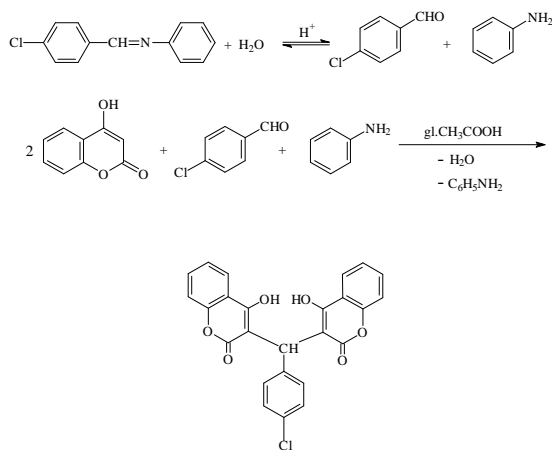
Опитите да се синтезират бензопиранооксазини бяха неуспешни. При описаните реакционни условия, съотношение между реагентите, температурен режим, разтворител (оцетна киселина или метанол) изходните вещества не се променят. Кондензационен процес не протича.

Ние проведохме реакцията при кипене в продължение на 13 ч. Изолиран бе кристален продукт с молекулна формула C₂₂H₁₅NO₂. На основата на получените експериментални данни ние допускаме, че Шифовата база е претърпяла хидролиза в оцетнокиселата среда. Отделеният ароматен алдехид атакува C-3, а анилинът – C-4 в молекулата на 4-хидроксикумарина. Крайният продукт е 3-бензилиден-4-фенилиминокумарин след последователно или едновременно отделяне на две молекули вода [22]. За да потвърдим това допускане ние осъществихме взаимодействие между 4-хидроксикумарин и анилин в молно отношение 1:17 (тегловни части). Реакционната смес бе нагрята за 45 минути и беше получен 4-фенилиминокумарин. 4-Фенилиминокумаринът с бензалдехид в ледена оцетна киселина при кипене в

продължение на 17 ч образува същия продукт, който се получава при взаимодействие на 4-хидроксикумарин с бензилиденанилин [139].



Когато в ароматното ядро на алдехида от Шифовата база има заместител, напр. хлорен атом (4-хлорбензилиденанилин) или метокси група (4-метоксибензилиденанилин) взаимодействието с 4-хидроксикумарин протича по друг път. Вместо 3-арилметилен-4-фенилиминокумарини се получават 3,3'-(арилметилен)бис-4-хидроксикумарини. Този неочакван път на процеса би могъл да се обясни с наличието на заместители с електронодонорни свойства в р-положение в ароматното ядро на алдехида от Шифовата база. Променената електронна плътност пречатства по-нататъшно взаимодействие между арилметиленхроманокумарин и образувания фениламониев ацетат. След алкализирание на филтрата от реакционната смес анилинът се появява под формата на маслени капки на повърхността на разтвора.

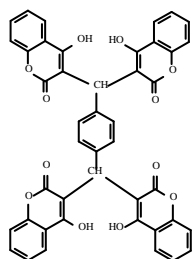


(III-3)

Същите продукти са синтезирани и от 4-хидроксикумарин и ароматни алдехиди (4-метоксибензалдехид или 4-хлорбензалдехид) в кипящ алкохол или ледена оцетна киселина [15,42,77,93]. Структурата на крайните продукти е идентична с тази на веществата, описани по-горе при взаимодействие на 4-хидроксикумарин с Шифови бази, което е доказано еднозначно.

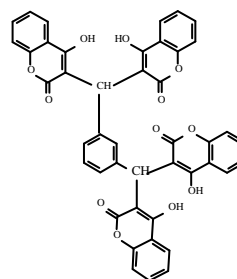
III.5. Тетракискумарини

Използването на ароматни диалдехиди води до получаване на тетракискумарини. Ние успешно получихме тетракис-производните на терефталовия и изофталовия алдехид. Многобройните опити да синтезираме продукт на фталовия диалдехид останаха безрезултатни. Най-вероятната причина за това е стеричният фактор.



(III-35)

[34,58-60,81,121,140-145,202-208]

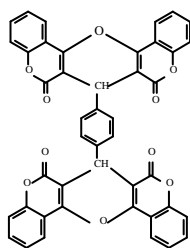


(III-36)

[33,34,46,58,59,199,200,209]

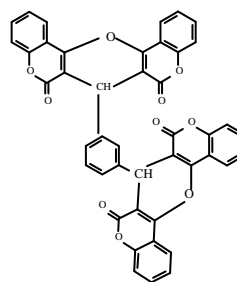
Освен чрез данните на рентгеноструктурния анализ, с помощта на теоретични изчисления се потвърди образуването на вътрешномолекулни водородни връзки [69,85,86].

Ако бискумарините или тетракискумарините се третират с оцетен анхидрид при кипене, протича процес на вътрешномолекулна дехидратация. Продуктите са епоксидикумарини или епокситетракискумарини със следния строеж:



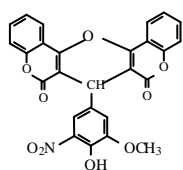
(III-37)

[33,34,146,206]



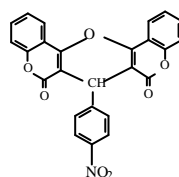
(III-38)

[33,34]



(III-39)

[33,43,98,111]



(III-40)

[26,43,82,102,136,206,210]

III.6. Синтез и изследване на диоксибициклононани

III.6.1. Получаване на 3-ацетилкумаринови производни

Взаимодействието между ароматни алдехиди и ацетоцетов естер води до получаването на бензилиденетилацетоацетати. Използването на салицилов алдехид и негови производни показва, че процесът не спира до получаване на посочения кондензационен продукт, а след отделяне на молекула етанол се получава 3-ацетилкумарин и негови аналози.

Взаимодействието се осъществява по реакцията на Кнъвенагел между различно заместен салицилов алдехид и етилацетоацетат в присъствие на пиперидин и лед. оцетна киселина при стайна температура в отсъствие на разтворители. Установено е, че протича спонтанна преестерификация и се получават 3-ацетилкумаринови производни по схемата:

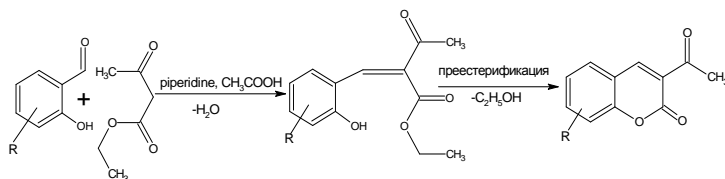
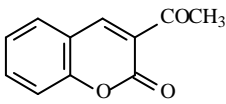
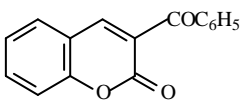
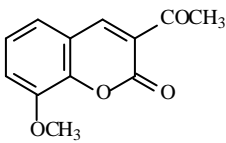


Таблица 27. 3-Ацетилкумарини

| Структурна формула | Брутна формула, мол.м., т.т., добив | Елементен анализ (изч/нам) | IR (нуйол) cm^{-1} | MS | NMR |
|--|--|--|---|---|---|
|  3-ацетилкумарин [172,173] (III-41) | $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{O}_3$ (мол.м. 188.18); т.т. 117-121°C (лит. т.т. 121-122°C); Добив: 57 % | % C = 70.21 % H = 4.29 % C = 69.98 % H = 4.33 | 1730, 1680,1605,1530,1280, 1200,1150,750 | 188 (100), 173 (100), 160 (1.7), 145 (41), 131 (7.0),118 (36), 101 (31),89 (60),75 (9.2), 63 (33), 51 (9.2) | $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): 2.6 (s, 3H), 7.22-7.29 (m, 1H), 7.33- 7.40 (m, 1H), 7.42-7.43 (m, 1H), 8.4 (s,1H) |
|  3-бензоилкумарин [169, 170] (III-42) | $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{O}_3$ (мол.м.250.24); т.т. 136-138 °C; Добив: 70 % | % C = 76.79 % H = 4.03 % C = 76.64 % H = 4.19 | 1715, 1684, 1610, 1537, 1283, 1214, 1167, 740 | - | - |
|  3-ацетил-8-метоксикумарин (III-43) [174,175] | $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{O}_5$ (мол.м. 218.0); т.т. 171-172°C (лит. т.т. 172-173°C); Добив: 57 % | % C = 66.05 % H = 4.62 % C = 66.04 % H = 4.38 | 1728, 1690, 1601, 1208, 1094, 766 | - | $^1\text{H NMR}$ (acetone- d_6): 2.7 (s, 3H), 4.0 (s,3H), 7.15 (t, 1H), 7.3 (qd, 1H), 7.34-7.38 (m, 1H), 8.4 (s, 1H) |

| | | | | | |
|--|--|--|---|--|--|
| | $C_{11}H_8O_4$ (мол.м. 204.18); т.т. 234.5-238.5 $^{\circ}C$ (лит. т.т. 236 $^{\circ}C$); Добив: 22 % | % C = 64.71 % H = 3.95 % C = 65.02 % H = 4.14 | - | 204 (81), 189 (100), 161 (24), 134 (14), 105 (38), 77 (10), 51 (17) | 1H NMR (DMSO- d_6): 2.0 (s, 3H), 6.97 (dd, 1H), 7.49- 7.50 (m, 1H), 7.54 (dq, 1H), 8.43- 8.44 (m, 1H), 10.5 (s, 1H) |
| 3-ацетил-7-гидроксикумарин (III-44) [176] | | | | | |
| | $C_{12}H_{10}O_5$ (мол.м. 204.18); т.т. 178.0-180.5 $^{\circ}C$ (лит. т.т. 181- 182 $^{\circ}C$); Добив: 68 % | % C = 66.05 % H = 4.62 % C = 66.32 % H = 4.73 | - | - | 1H NMR (CDCl $_3$): 2.7 (s, 3H), 3.9 (s, 3H), 6.7 (qq, 1H), 6.84-6.86 (m, 1H), 7.22 (dq, 1H), 8.43-8.44 (m, 1H) |
| 3-ацетил-6-метоксикумарин (III-45) [177] | | | | | |
| | $C_{11}H_7NO_5$ (мол.м. 233.17); т.т. 199.0-202.5 $^{\circ}C$ (лит. т.т. 197- 198 $^{\circ}C$); Добив: 36 % | % C = 56.65 % H = 3.00 % N = 6.01 % C = 56.44 % H = 3.18 % N = 6.13 | - | - | 1H NMR (CDCl $_3$): 2.6 (s, 3H), 7.59- 7.65 (m, 1H), 8.47-8.48 (m, 1H), 8.49-8.52 (m, 1H), 8.6 (s, 1H) |
| 3-ацетил-6-нитрокумарин (III-46) [178] | | | | | |

Съединенията са аналози на 4-метил-7-хидроксикумарин (Mendiaxon) и рентгеноструктурният анализ дава категорично потвърждение на структурите.

Фигура 8. Структура на 3-ацетил-7-хидроксикумарин

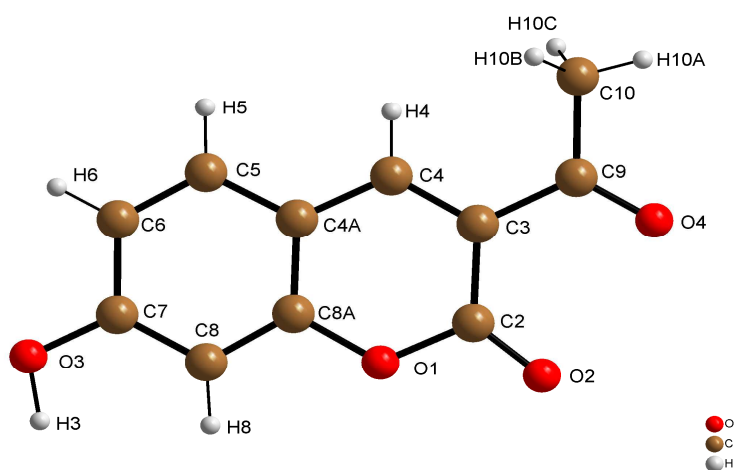


Таблица 28. Дължини на връзки (Å) на 3-ацетил-7-хидроксикумарин

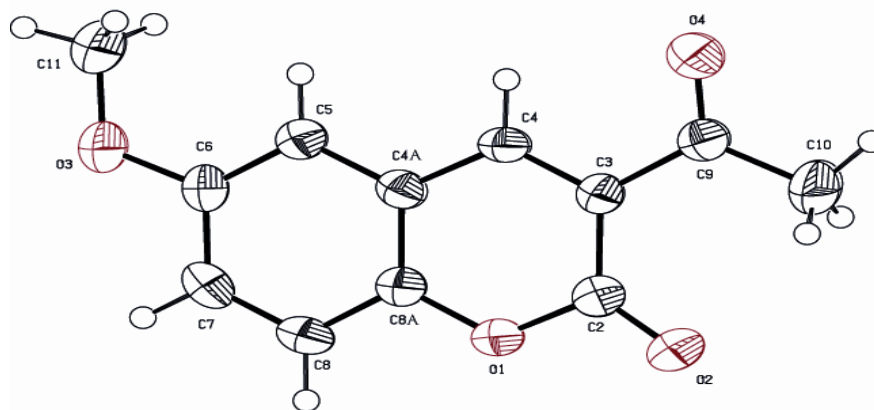
| | | | |
|-------------|----------|------------|----------|
| O 1 – C 8A | 137.6(2) | C 4A – C 5 | 140.0(2) |
| O 1 – C 2 | 137.9(2) | C 5 – C 6 | 136.8(2) |
| C 2 – O 2 | 121.0(2) | C 6 – C 7 | 140.4(2) |
| C 2 – C 3 | 145.9(2) | C 7 – O 3 | 134.2(2) |
| C 3 – C 4 | 135.8(2) | C 7 – C 8 | 139.0(2) |
| C 3 – C 9 | 148.9(2) | C 8 – C 8A | 137.2(2) |
| C 4 – C 4A | 141.6(2) | C 9 – O 4 | 121.2(2) |
| C 4A – C 8A | 139.9(2) | C 9 – C 10 | 149.1(2) |

Таблица 29. Валентни ъгли [°] на 3-ацетил-7-хидроксикумарин

| | | | |
|------------------|----------|-------------------|----------|
| O 4 – C 9 – C 10 | 120.0(1) | C 3 – C 4 – C 4A | 122.7(1) |
| C 3 – C 9 – C 10 | 118.3(1) | C 8A – C 4A – C 5 | 117.0(1) |
| C 8A – O 1 – C 2 | 123.4(1) | C 8A – C 4A – C 4 | 118.0(1) |
| O 2 – C 2 – O 1 | 114.9(1) | C 5 – C 4A – C 4 | 125.0(1) |
| O 2 – C 2 – C 3 | 127.7(1) | C 6 – C 5 – C 4A | 121.2(1) |
| O 1 – C 2 – C 3 | 117.4(1) | C 5 – C 6 – C 7 | 120.2(1) |
| C 4 – C 3 – C 2 | 118.8(1) | O 3 – C 7 – C 8 | 122.5(1) |
| C 4 – C 3 – C 9 | 121.8(1) | O 3 – C 7 – C 6 | 117.5(1) |
| C 2 – C 3 – C 9 | 119.4(1) | C 8 – C 7 – C 6 | 120.0(1) |

От данните за дължините на химичните връзки се вижда, че връзката C3 – C4 е 135.8 Å, което показва, че тя е двойна връзка, връзката C2 – O2 е 121 Å - също двойна връзка. Единичната връзка между тях C3 - C2 е дълга 145.9 Å. Дължината и е по-малка от тази на проста връзка (154 Å), поради π, π - спрежение между π -електроните от карбонилната група и π -електроните от връзката C3 – C4. Химичната връзка C9 – O4 има дължина 121.2 Å (двойна връзка C = O), а връзката C3 – C9 е по-къса от проста връзка също поради π, π -спрежение. Връзките C2 – O1 и O1 – C8A са съответно 137.9 и 137.6 Å. Те са по-къси поради по-голямата разлика в електроотрицателността на въглерода и кислорода и поради ρ, π - спрежението в цикличната естерна група (неподелена ρ -електронна двойка на пирановия кислороден атом с π -електроните от карбонилната група). Валентните ъгли в молекулата са около 120° (115-127), което потвърждава равнинния строеж на молекулата, sp^2 -хибридно състояние на въглеродните и кислородни атоми и наличие на голям брой спрегнати двойни връзки.

Фигура 9. Структура на 3-ацетил-6-метоксикумарин [179, 180]



Дължините на връзките в [Å] в α -пироновото ядро са O1 – C8A 1.373(3), O1 – C2 1.381(3), O2 – C2 1.206(3), C2 – C3 1.460(4), C3 – C4 1.353(3) и C4 – C4A 1.432(4), според които е налице π, π - спрежение между π -електроните от двойната връзка C3 – C4 и π -електроните от лактонната карбонилна група. Основание за подобно заключение ни дава фактът, че дължината на тези връзки е по-голяма от двойната връзка C = C (1.33 Å) и C = O и по-малка от единичната C – C (1.54 Å) и C – O (1.43 Å) връзка. Дължината на връзката C3 – C9 е 1.498(4) и е по-малка от единичната проста връзка C – C, което е указание за участие на ацетилната карбонилна група в π, π -спрежението.

Валентните ъгли O1 – C2 – C3 116.9(2)⁰, C4 – C3 – C2 119.3(3), C3 – C4 – C4a 122.5(2), C8a – O1 – C2 123.0(2), O2 – C2 – O1 115.6(2), O2 – C2 – C3 127.5(3), C4 – C4a – C8a – 117.7(2) показват, че всички атоми в α -пироновото ядро са в sp^2 – хибридно състояние и кумариновата система като цяло е планарна. Валентните ъгли, описващи ацетилната група C10 – C9 – O4 120.1⁰, O4 – C9 – C3 118.2⁰, C9 – C3 – C2 122.6(2)⁰, показват също sp^2 – хибридно състояние на атомите от карбонилната група и че тя лежи в една равнина с кумариновото ядро.

Таблица 30. Дължини на връзки (Å) на 3-ацетил-6-метоксикумарин

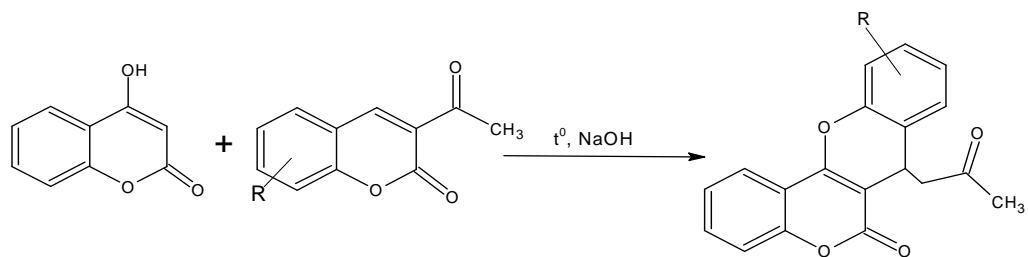
| | | | |
|------------|----------|-------------|----------|
| O 1 – C 8A | 1.373(3) | C 4 – C 4A | 1.423(4) |
| O 1 – C 2 | 1.381(3) | C 5 – C 6 | 1.381(4) |
| O 2 – C 2 | 1.206(3) | C 5 – C 4A | 1.407(4) |
| O 3 – C 6 | 1.367(3) | C 6 – C 7 | 1.384(4) |
| O 3 – C 11 | 1.426(3) | C 7 – C 8 | 1.376(4) |
| O 4 – C 9 | 1.209(3) | C 8 – C 8A | 1.376(4) |
| C 2 – C 3 | 1.460(4) | C 9 – C 10 | 1.489(4) |
| C 3 – C 4 | 1.353(3) | C 4A – C 8A | 1.387(4) |
| C 3 – C 9 | 1.498(4) | | |

Таблица 31. Валентни ъгли [°] на 3-ацетил-6-метоксикумарин

| | | | |
|------------------|----------|-------------------|----------|
| C 8A – O 1 – C 2 | 123.0(2) | C 5 – C 6 – C 7 | 119.9(3) |
| C 6 – O 3 – C 11 | 118.0(2) | C 8 – C 7 – C 6 | 121.7(3) |
| O 2 – C 2 – O 1 | 115.6(2) | C 8A – C 8 – C 7 | 118.4(3) |
| O 2 – C 2 – C 3 | 127.5(3) | O 4 – C 9 – C 10 | 120.1(3) |
| O 1 – C 2 – C 3 | 116.9(2) | O 4 – C 9 – C 3 | 118.2(2) |
| C 4 – C 3 – C 2 | 119.3(3) | C 10 – C 9 – C 3 | 121.7(3) |
| C 4 – C 3 – C 9 | 118.1(2) | C 8A – C 4A – C 5 | 119.2(3) |
| C 2 – C 3 – C 9 | 122.6(2) | C 8A – C 4A – C 4 | 117.7(2) |
| C 3 – C 4 – C 4A | 122.5(2) | C 5 – C 4A – C 4 | 123.1(2) |
| C 6 – C 5 – C 4A | 119.2(3) | O 1 – C 8A – C 8 | 117.8(2) |
| O 3 – C 6 – C 5 | 124.2(2) | O 1 – C 8A – C 4A | 120.6(3) |
| O 3 – C 6 – C 7 | 115.9(3) | C 8 – C 8A – C 4A | 121.6(3) |

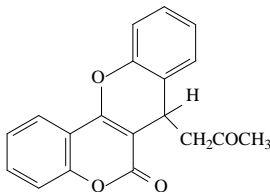
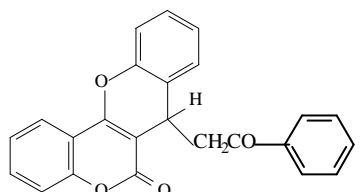
III.6.2. Взаимодействие на 4-хидроксикумарин с 3-ацетилкумаринови производни

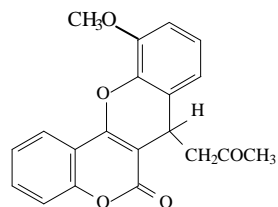
Присъединяването на 4-хидроксикумарин и 3-ацетилкумаринови производни протича по реакцията на Михаел. Реакцията се извършва във воден разтвор и разр. NaOH при продължително кипене.



По горната схема бяха синтезирани съединения, приети от нас като бензопиранобензопиран в съответствие с установеното от Икава и сътр. през 1943 г. и утвърдено в химическата литература [181].

Таблица 32. Синтезирани бензопиранобензопираны (хроманокумарини)

| Структурна формула | Брутна формула, мол.м., т.т. | Елементен анализ (изч/нам) | IR (нуйол) cm^{-1} | MS | NMR |
|--|--|--|---|---|--|
|  <p>[171,181,183,193,194] 7-ацетонил-6-оксо-6Н, 7Н – (1)-бензопирано [4,3b] (1)- бензопиран</p> | $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{O}_4$ (мол.м. 306) т.т. 260-262 °С | % С = 74.50 % Н = 4.68 % С = 74.32 % Н = 4.73 | 1700, 1640, 1580, 1207, 1080, 900, 850, 750, 730. | 306 (100), 291 (100), 278 (2.5), 263 (41), 249 (26), 235 (2.5), 213 (54), 199 (2.0), 185 (23.5), 171 (15), 158 (13), 145 (100), 132 (17), 121 (30), 107 (2), 89 (14), 77 (11), 63 (13), 51 (5) | $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): 2.0 (s, 3H), 2.3 (qd, 2H), 4.3 (t, 1H), 6.97-7.11 (m, 3H), 7.34-7.40 (m, 2H), 7.52- 7.59 (m, 1H), 7.61-7.66 (m, 1H), 7.85-7.89 (m, 1H) |
|  <p>7-бензоилметил-6-оксо-6Н, 7Н – (1)-бензопирано [4,3b] (1)- бензопиран</p> | $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{O}_4$ (мол.м. 368.4) т.т. 240 °С с разл. | % С = 78.26 % Н = 4.35 % С = 78.39 % Н = 4.27 | 1702, 1634, 1608, 1483, 1390, 1340, 1275, 1234, 1128, 981, 879, 758, 700 | 368 (100), 351 (6), 291 (4), 275 (11), 263 (7), 207 (27), 194 (38), 178 (13), 121 (11), 92 (6), 77 (7) | - |



[171,181,193]

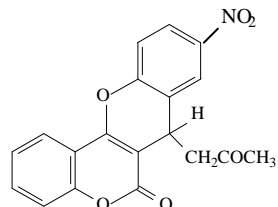
7-ацетонил-11-метокси-6-оксо-6Н,
7Н – (1)-бензопирано [4,3b] (1)-
бензопиран

$C_{20}H_{16}O_5$ % C = 74.50
(мол.м. 336) % H = 4.68
Т.Т. 149-152 °С
% C = 74.32
% H = 4.73

3180, 1705, 1695,
1615, 1585, 1210,
1080, 860, 765

336 (100), 321 (77),
305 (39), 293 (18),
279 (21), 265 (3.5),
238 (3.5), 227 (4.4),
213 (54), 201 (8),
188 (3), 175
(25), 160 (10), 152
(10), 132 (8), 121
(16), 103 (3), 77
(6), 65 (5), 51 (3)

1H NMR
(DMSO- d_6):
1.9 (s, 3H), 2.85-
3.25 (m, 2H), 3.9
(s, 3H), 5.07-5.14
(m, 1H), 6.53-
6.59 (m, 1H),
6.94-7.09 (m,
2H), 7.34-7.40
(m, 2H), 7.52-7.59
(m, 1H), 7.72-7.8
(m, 1H)



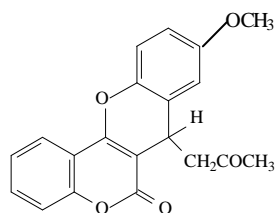
7-ацетонил-9-нитро-6-оксо-6Н, 7Н
– (1)-бензопирано [4,3b] (1)-
бензопиран

$C_{19}H_{13}NO_6$ % C = 64.96
(мол.м. 351) % H = 3.70
Т.Т. 260-262 °С % N = 3.99
% C = 65.14
% H = 3.58
% N = 4.13

3422, 1733, 1672,
1618, 1570, 1378, 750

351 (26), 334 (100),
318 (2.3), 304 (89),
279 (2), 262 (4.5),
248 (8.3), 232 (5.3),
213 (14), 192 (35),
176 (2.3), 162
(20.4), 144 (11.4),
131 (2.3), 109 (6),
92 (18), 77 (4), 63
(11), 51 (4.5)

1H NMR
(DMSO- d_6):
2.0 (s, 3H), 3.6
(d, 2H), 4.8 (t,
1H), 6.80-6.89
(m, 3H), 7.13-
7.20 (m, 1H),
7.75-7.85 (m,
2H), 8.1 (s, 1H)



7-ацетонил-9-метокси-6-оксо-6H,
7H – (1)-бензопирано [4,3b] (1)-
бензопиран

$C_{20}H_{16}O_5$ % C = 74.50
(мол.м. 336) % H = 4.68
т.т. 149-152 °C

% C = 74.43
% H = 4.87

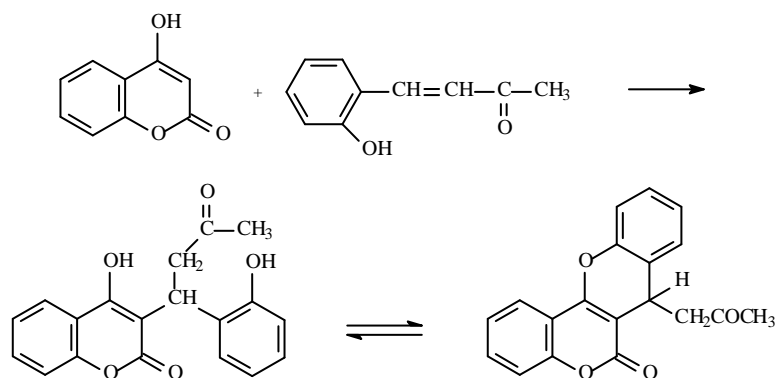
1732, 1715, 1634,
1380, 1263, 799, 744

-

1H NMR

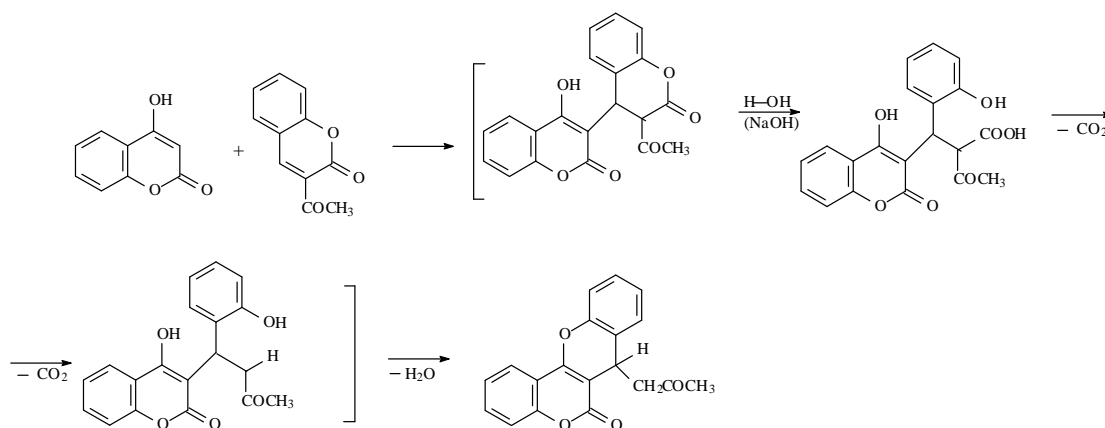
(acetone- d_6):
1.5 (s, 3H), 2.65-
3.01 (m, 2H), 4.2
(s, 3H), 5.23-5.30
(m, 1H), 7.10-
7.30 (m, 3H),
7.44-7.50 (m,
2H), 7.6 (dt, 1H),
7.96-7.99 (m, 1H)

Ikawa et al. [181] установяват, че когато α,β -ненаситени кетони, производни на салициловия алдехид (2-хидроксибензалдехид) взаимодействат с 4-хидроксикумарин по реакцията на Михаел, продуктите на присъединяване претърпяват спонтанна дехидратация и се получават високотопими, неразтворими в алкални основи и ограничено разтворими в етанол вещества. Според авторите се получават 6-оксо-7-заместени-6Н,7Н-[1]бензопирано[4,3-*b*] [1]-бензопирани.



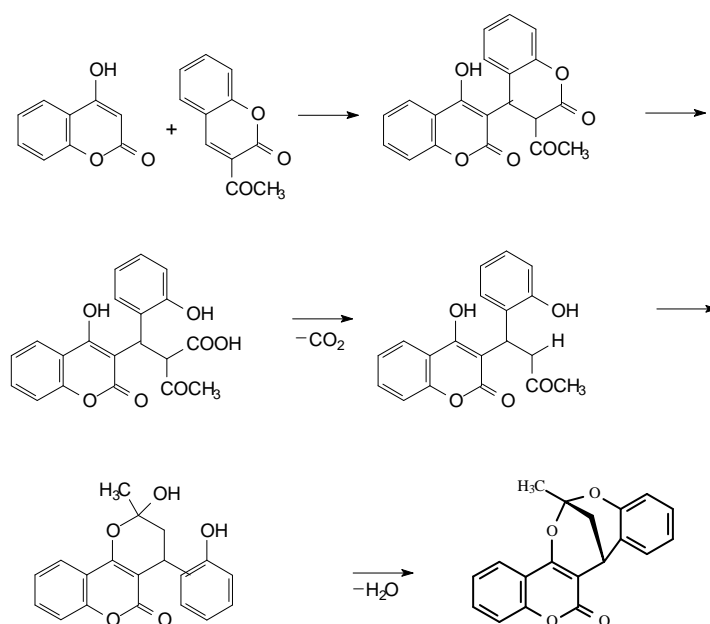
Ние изучихме взаимодействието между 3-ацетилкумарин и 4-хидроксикумарин в еквимоларни количества в присъствие на натриева основа във водна среда [171]. Реакционната смес се нагрява при кипене в продължение на 20 ч. По време на реакцията се отделя въглероден диоксид. Несъществени различия се наблюдават при взаимодействието между 4-хидроксикумарин и 3-бензоилкумарин. Процесът би трябвало, според Ikawa, да протича по схемата:

А. Ход на взаимодействието по Ikawa:



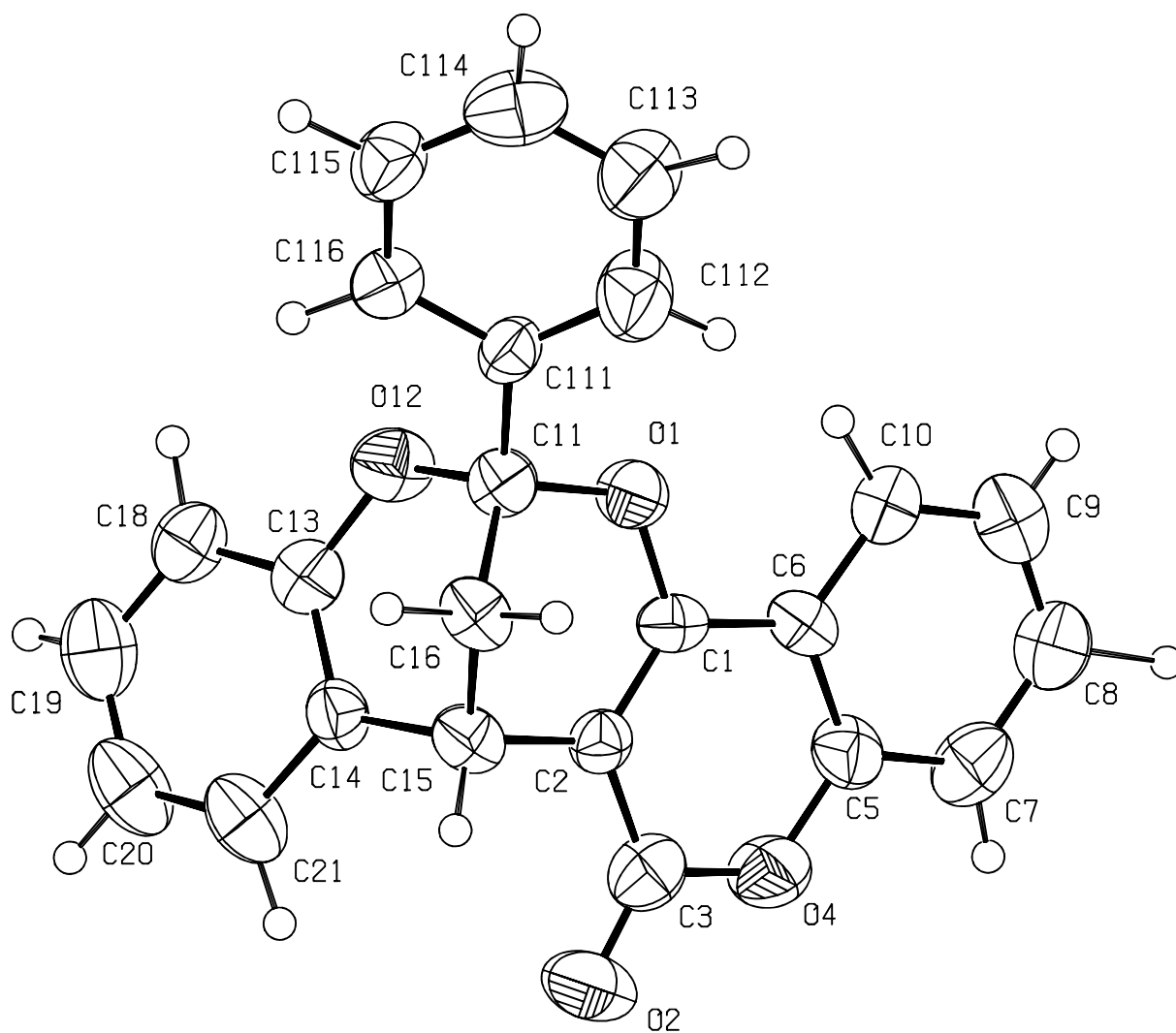
Данните от анализа и особено резултатите от рентгеноструктурния анализ за получените от нас вещества насочиха вниманието ни към преценка на твърденията на Икава и сътр. за получаване на бензопиранобензопириани. Ние стигнахме устновихме получаването на нов тип продукти – диоксабициклононани [182].

Б. Ход на взаимодействието в резултат на наши изследвания:



Двете структури (бензопиранобензопиран и диоксабициклононан) са изомерни, т.е. имат еднаква брутна формула, еднакъв качествен и количествен състав, но различен строеж [182 – 188].

Фигура 10. Структура на 1-фенилкумарино-[4',3'-с]бензо-[3'',4''-f]-2,8-диоксабицикло[3.3.1]нонан [182]



**Таблица 33. Кристалографски данни за 1-фенилкумарино-[4',3'-с]бензо-
[3'',4''-f]-2,8-диоксибицикло[3.3.1]нонан**

| | |
|---|---|
| Емпирична формула | $C_{24}H_{16}O_4$ |
| Молекулна маса | 368.37 |
| Температура | 291 (2) К |
| Дължина на вълната | 0.71073 Å |
| Кристална система | орторомбична |
| Пространствена група | $Pna2_1$ |
| Параметри на клетката | $a = 7.5735 (14) \text{ Å}$ $b = 19.658 (4) \text{ Å}$ $c = 12.0806 (15) \text{ Å}$ $\beta = 90$ |
| Обем | $1798.5 (5) \text{ Å}^3$ |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 4 |
| Дифрактометрична плътност | 1.360 Mg.m^{-3} |
| Абсорбционен коефициент | 0.093 |
| F(000) | 768 |
| Размери на кристала | 0.40 x 0.25 x 0.15 mm |
| θ интервал за събиране на данни [°] | 3.34 - 30.95 |
| Лимит на индексите | $0 \leq h \leq 10, 0 \leq k \leq 28, -17 \leq l \leq 17$ |
| Адекватност на приближението (Goodness-of-fit on F^2) | 0.893 |
| Крайни R индекси [$I > 2 \sigma(I)$] | $R1 = 0.0737, wR2 = 0.0695$ |
| Крайни R индекси R1 / wR2 | 0.3559 / 0.1084 |
| Максимална/минимална E-плътност | 0.175 / -0.208 e.Å ⁻³ |
| CCDC | 284360 |

**Таблица 34. Дължина на връзките (Å) на 1-фенилкумарино-[4',3' -с]бензо-
[3'',4''-f]-2,8-диоксабицикло[3.3.1]нонан**

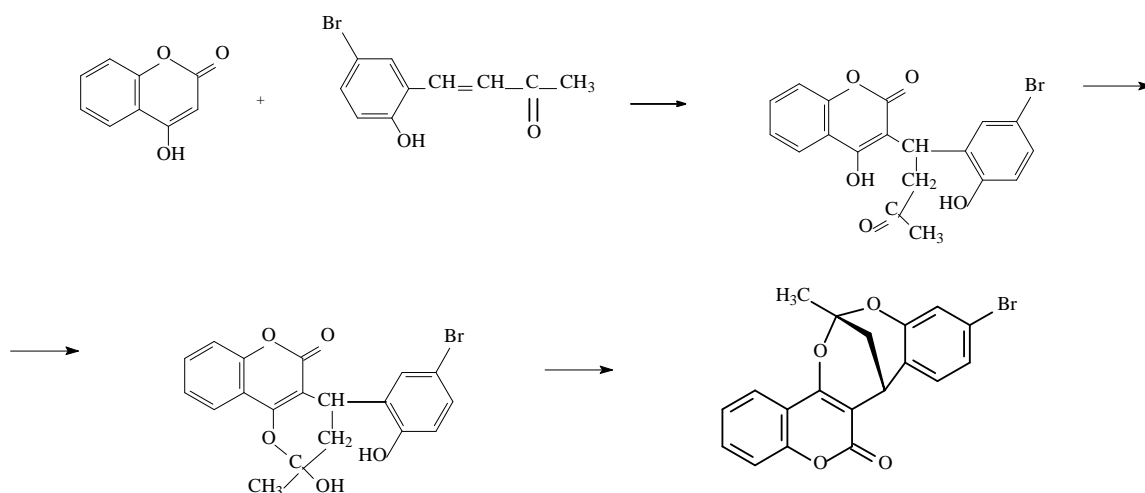
| | | | |
|--------------|-----------|----------------|------------|
| C 1 – C 2 | 1.338 (7) | C 21 – C 26 | 1.382 (7) |
| C 1 – C 6 | 1.427 (6) | C 22 – O 27 | 1.376 (6) |
| C 1 – C 20 | 1.498 (8) | C 22 – C 23 | 1.391 (8) |
| C 2 – O 29 | 1.366 (5) | C 23 – C 24 | 1.386 (8) |
| C 2 – C 3 | 1.435 (7) | C 24 – C 25 | 1.374 (10) |
| C 3 – C 4 | 1.383 (6) | C 25 – C 26 | 1.360 (10) |
| C 3 – C 10 | 1.391 (7) | C 28 – O 29 | 1.441 (6) |
| C 4 – O 5 | 1.370 (6) | C 28 – O 27 | 1.449 (6) |
| C 4 – C 7 | 1.400 (8) | C 28 – C 221 | 1.480 (8) |
| C 6 – O 6 | 1.217 (7) | C 28 – C 202 | 1.505 (7) |
| C 6 – O 5 | 1.380 (7) | C 221 – C 222 | 1.370 (8) |
| C 7 – C 8 | 1.382 (8) | C 221 – C 226 | 1.378 (7) |
| C 8 – C 9 | 1.379 (9) | C 222 – C 223 | 1.381 (8) |
| C 9 – C 10 | 1.383 (8) | C 223 – C 224 | 1.373 (9) |
| C 20 – C 202 | 1.514 (8) | C 224 – C 225 | 1.368 (9) |
| C 20 – C 21 | 1.525 (7) | C (225 – C 226 | 1.384 (7) |
| C 21 – C 22 | 1.382 (7) | | |

Таблица 35. Валентни ъгли (°) на 1-фенилкумарино-[4',3' -с]-
бензо[3'',4''-f]-2,8-диоксабицикло[3.3.1]нонан

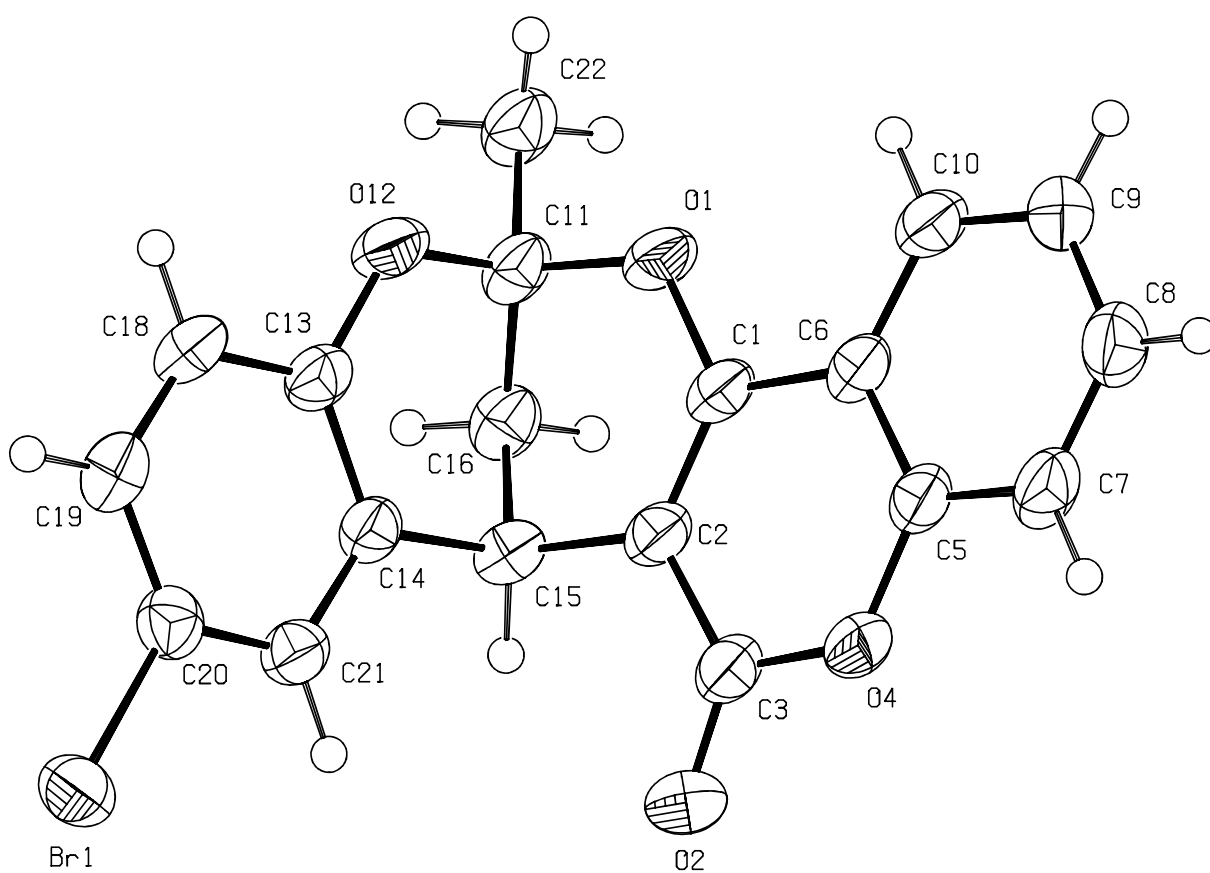
| | | | |
|---------------------|-----------|-----------------------|-----------|
| C 2 – C 1 – C 6 | 120.1 (6) | O 27 – C 22 – C 21 | 123.3 (6) |
| C 2 – C 1 – C 20 | 121.0 (5) | O 27 – C 22 – C 23 | 115.2 (6) |
| C 6 – C 1 – C 20 | 118.9 (6) | C 21 – C 22 – C 23 | 121.5 (6) |
| C 1 – C 2 – O 29 | 123.1 (5) | C 24 – C 23 – C 22 | 118.6 (8) |
| C 1 – C 2 – C 3 | 122.3 (5) | C 25 – C 24 – C 23 | 119.8 (9) |
| O 29 – C 2 – C 3 | 114.6 (5) | C 26 – C 25 – C 24 | 120.7 (8) |
| C 4 – C 3 – C 10 | 119.1 (6) | C 25 – C 26 – C 21 | 121.2 (8) |
| C 4 – C 3 – C 2 | 116.4 (6) | O 29 – C 28 – O 27 | 106.0 (4) |
| C 10 – C 3 – C 2 | 124.5 (5) | O 29 – C 28 – C 221 | 107.0 (5) |
| O 5 – C 4 – C 3 | 121.5 (6) | O 27 – C 28 – C 221 | 107.2 (5) |
| O 5 – C 4 – C 7 | 117.1 (5) | O 29 – C 28 – C 202 | 110.5 (5) |
| C 3 – C 4 – C 7 | 121.3 (7) | O 27 – C 28 – C 202 | 110.0 (5) |
| O 6 – C 6 – O 5 | 116.1 (6) | C 221 – C 28 – C 202 | 115.7 (5) |
| O 6 – C 6 – C 1 | 126.3 (7) | C 28 – C 202 – C 20 | 109.1 (5) |
| O 5 – C 6 – C 1 | 117.6 (6) | C 222 – C 221 – C 226 | 117.9 (6) |
| C 8 – C 7 – C 4 | 119.1 (7) | C 222 – C 221 – C 28 | 122.6 (5) |
| C 9 – C 8 – C 7 | 119.3 (7) | C 226 – C 221 – C 28 | 119.3 (5) |
| C 8 – C 9 – C 10 | 121.9 (8) | C 221 – C 222 – C 223 | 122.0 (7) |
| C 9 – C 10 – C 3 | 119.2 (6) | C 224 – C 223 – C 222 | 118.6 (7) |
| C 1 – C 20 – C 202 | 108.2 (5) | C 225 – C 224 – C 223 | 121.0 (7) |
| C 1 – C 20 – C 21 | 112.3 (5) | C 224 – C 225 – C 226 | 119.1 (6) |
| C 202 – C 20 – C 21 | 105.4 (5) | C 221 – C 226 – C 225 | 121.3 (6) |
| C 22 – C 21 – C 26 | 118.0 (6) | C 4 – O 5 – C 6 | 121.9 (5) |
| C 22 – C 21 – C 20 | 116.8 (6) | C 22 – O 27 – C 28 | 120.0 (5) |
| C 26 – C 21 – C 20 | 125.1 (6) | C 2 – O 29 – C 28 | 119.0 (4) |

За да потвърдим установеното от нас получаване на диоксибициклононан, ние изследвахме взаимодействието на 4-(5-бромо-2-хидроксифенил)-3-бутен-2-он с 4-хидроксикумарин.

Резултатите показаха, че се осъществява взаимодействие между карбонилната група от страничната верига и хидроксилната група при С-4 от кумариновия цикъл, при което молекулата се превръща в цикличен полукетал. Спонтанната дехидратация между полукеталната хидроксилна група и хидроксилната група от 5-бромо-2-хидроксифениловия фрагмент водят до получаване на 1-метилкумарино-[4',3'-с]бромобензо-[3'',4''-f]-2,8-диоксибицикло-[3.3.1]нонан. Това наше твърдение се подкрепя и от данните на рентгеноструктурния анализ.



Фигура 11. Структура на 1-метилкумарино-[4',3'-с]бромобензо-[3'',4''-f]-2,8-диоксибицикло[3.3.1]нонан [182]



**Таблица 36. Кристалографски данни за 1-метилкумарино-[4',3'-с]бромобензо-
[3'',4''-f]-2,8-диоксабицикло[3.3.1]нонан**

| | |
|---|---|
| Емпирична формула | $C_{19}H_{13}BrO_4$ |
| Молекулна маса | 385.20 |
| Температура | 213 (2) K |
| Дължина на вълната | 1.54184 Å /Cu-K α |
| Кристална система | моноклинна |
| Пространствена група | $P2_1/a$ |
| Параметри на кристалната клетка | $a = 7.758 (9) \text{ \AA}$ $b = 22.458 (3) \text{ \AA}$ $c = 9.4626 (16) \text{ \AA}$ $\beta = 111.47 (13)$ |
| Обем | $1534.2 (19) \cdot 10^6$ |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 4 |
| Дифрактометрична плътност | $1.668 \text{ Mg} \cdot \text{m}^{-3}$ |
| Абсорбц.коэффициент μ [mm^{-1}] | 3.841 mm^{-1} |
| F (000) | 776 |
| Описание на кристала | безцветни игли |
| Размери на кристала | 0.3 x 0.05 x 0.05 mm |
| θ интервал за събиране на данни [$^\circ$] | 5.02 - 65.04 deg |
| Лимит на индексите | $-9 \leq h \leq 7, -26 \leq k \leq 1, 11 \leq l \leq 11$ |
| Адекватност на приближението (Goodness-of-fit on F^2) | 0.939 |
| Крайни R индекси [$I > 2 \sigma(I)$] | $R1 = 0.0414, wR2 = 0.0741$ |
| Крайни R индекси R1 / wR2 | 0.0650 / 0.0838 |
| Максимална/минимална E-плътност | 0.789 and $-1.006 \text{ e} \cdot \text{A}^{-3}$ |
| CCDC | 284361 |

Таблица 37. Дължина на връзките (\AA) на 1-метилкумарино-[4',3'-с]-
бромобензо-

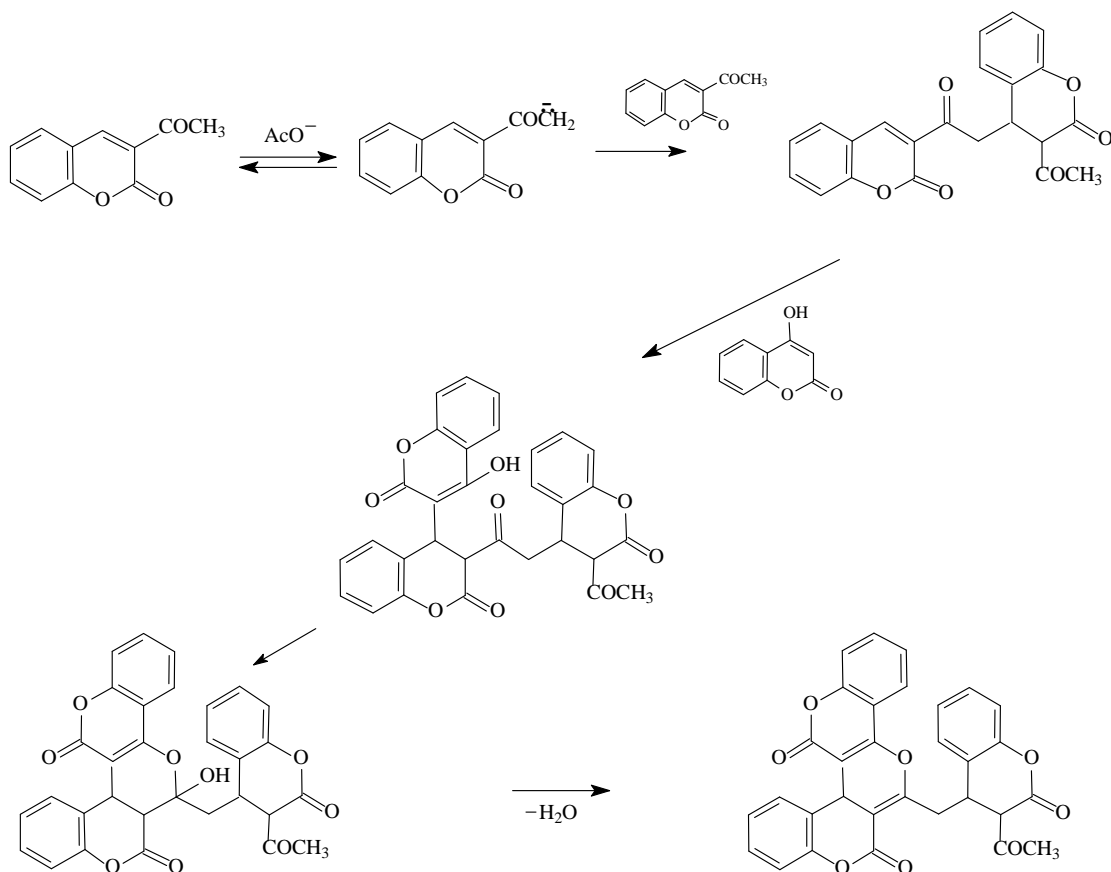
[3'',4''-f]-2,8-диоксабицикло[3.3.1]нонан

| | | | |
|-------------|-----------|-------------|-----------|
| Br 1 – C 20 | 1.911 (4) | C 7 – C 8 | 1.383 (5) |
| O 1 – C 1 | 1.353 (5) | C 8 – C 9 | 1.385 (6) |
| O 1 – C 11 | 1.466 (4) | C 9 – C 10 | 1.383 (5) |
| C 22 – C 11 | 1.505 (5) | C 11 – O 12 | 1.414 (5) |
| O 2 – C 3 | 1.210 (4) | C 11 – C 16 | 1.513 (5) |
| C 1 – C 2 | 1.360 (4) | O 12 – C 13 | 1.383 (4) |
| C 1 – C 6 | 1.440 (4) | C 13 – C 18 | 1.356 (7) |
| C 2 – C 3 | 1.428 (6) | C 13 – C 14 | 1.416 (6) |
| C 2 – C 15 | 1.513 (5) | C 14 – C 21 | 1.397 (5) |
| C 3 – O 4 | 1.389 (4) | C 14 – C 15 | 1.496 (6) |
| O 4 – C 5 | 1.390 (4) | C 15 – C 16 | 1.536 (5) |
| C 5 – C 7 | 1.377 (5) | C 18 – C 19 | 1.376 (6) |
| C 5 – C 6 | 1.384 (6) | C 19 – C 20 | 1.380 (6) |
| C 6 – C 10 | 1.407 (4) | C 20 – C 21 | 1.367 (6) |

**Таблица 38. Валентни ъгли (°) на 1-метилкумарино-[4',3'-с]бромобензо-
[3'',4''-f]-2,8-диоксабицикло[3.3.1]нонан**

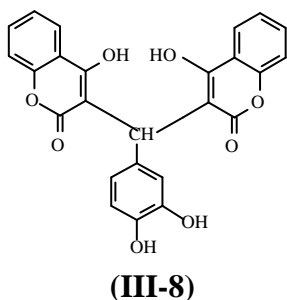
| | | | |
|-------------------|-----------|--------------------|-----------|
| C 1 – O 1 – C 11 | 118.9 (2) | O 12 – C 11 – C 22 | 107.8 (4) |
| O 1 – C 1 – C 2 | 124.3 (3) | O 1 – C 11 – C 22 | 104.0 (3) |
| O 1 – C 1 – C 6 | 114.7 (3) | O 12 – C 11 – C 16 | 112.4 (3) |
| C 2 – C 1 – C 6 | 121.0 (3) | O 1 – C 11 – C 16 | 109.9 (3) |
| C 1 – C 2 – C 3 | 120.8 (3) | C 22 – C 11 – C 16 | 114.7 (3) |
| C 1 – C 2 – C 15 | 119.1 (3) | C 13 – O 12 – C 11 | 120.4 (3) |
| C 3 – C 2 – C 15 | 120.1 (3) | C 18 – C 13 – O 12 | 117.7 (4) |
| O 2 – C 3 – O 4 | 115.9 (3) | C 18 – C 13 – C 14 | 121.0 (3) |
| O 2 – C 3 – C 2 | 126.2 (3) | C 12 – C 13 – C 14 | 121.4 (4) |
| O 4 – C 3 – C 2 | 117.9 (3) | C 21 – C 14 – C 13 | 117.5 (4) |
| C 3 – O 4 – C 5 | 121.2 (3) | C 21 – C 14 – C 15 | 123.8 (4) |
| C 7 – C 5 – C 6 | 122.3 (3) | C 13 – C 14 – C 15 | 118.7 (3) |
| C 7 – C 5 – O 4 | 116.2 (4) | C 14 – C 15 – C 2 | 110.4 (3) |
| C 6 – C 5 – O 4 | 121.6 (3) | C 14 – C 15 – C 16 | 107.8 (4) |
| C 5 – C 6 – C 10 | 118.3 (3) | C 2 – C 15 – C 16 | 107.8 (3) |
| C 5 – C 6 – C 1 | 117.3 (3) | C 11 – C 16 – C 15 | 107.4 (3) |
| C 10 – C 6 – C 1 | 124.3 (3) | C 13 – C 18 – C 19 | 121.0 (5) |
| C 5 – C 7 – C 8 | 118.6 (4) | C 18 – C 19 – C 20 | 118.7 (5) |
| C 7 – C 8 – C 9 | 120.8 (3) | C 21 – C 20 – C 19 | 121.7 (3) |
| C 10 – C 9 – C 8 | 120.2 (3) | C 21 – C 20 – Br 1 | 118.7 (3) |
| C 9 – C 10 – C 6 | 119.8 (3) | C 19 – C 20 – Br 1 | 119.5 (3) |
| O 12 – C 11 – O 1 | 107.5 (3) | C 20 – C 21 – C 14 | 120.1 (4) |

Изследвахме влиянието на средата върху хода на реакцията. Проведохме процеса в лед. оцетна киселина в присъствие на калиев ацетат (вместо вода и еквимоларно количество натриева основа). Крайният продукт е 7-[3-ацетил-2-оксо-3,4-дихидро-2Н-[1]бензопиран-4-ил]метил-6Н,14Н-14bН-бис-[1]бензопирано-[4,3-б:4',3'-d]пиран-6,14-дион:

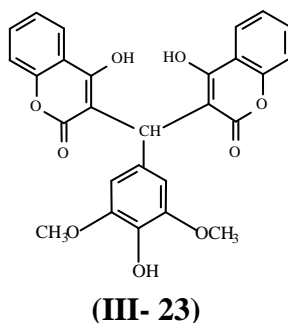


III.7. Киселинно-основни свойства на някои 4-хидроксикумарини

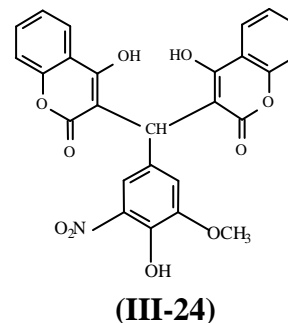
Някои 4-хидроксикумаринови производни [34, 90] променят цвета си в кисела и алкална среда, т.е. да проявяват свойството на киселинно-основни индикатори. Изследваните вещества могат да се представят със следните формули.



[24,51]



[33,34,98,109]



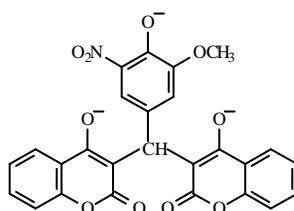
[33,34,111]

Те са неразтворими във вода. Разтварят се във водни разтвори на алкални основи, което се дължи на киселинните свойства на енолните и фенолни хидроксилни групи. Установено е, че арилметилден-бис(4-хидроксикумарини), съдържащи хидроксилна групана на р-място спрямо алдехидната група, образуват трайно оцветени разтвори в алкална среда.

Изследвана е зависимостта рН на средата – цветна промяна чрез потенциометрично и спектрофотометрично титруване, при което е определен интервалът на превръщане на трите вещества.

При разтваряне на съединението 3,3'-(3-метокси-5-нитро-4-хидрокси-фенилметилден)бис-(4-хидроксикумарин) **(III-24)** в 0.01 N NaOH се получава червено-оранжево оцветяване. След подкисляване цветът се променя в жълт. При разтваряне в етанол цветът на разтвора е жълт, при прибавяне на 0.01 N NaOH, разтворът се оцветява в оранжево. Алкалният разтвор на съединението **(III-24)** (рН= 12) има три абсорбционни максимума в UV-Vis областта - 220, 316 и 484 nm. При подкисляване максимумът при 484 nm изчезва.

Установен е коефициентът на еквивалентност: с колко мола NaOH реагира един мол от изследваното вещество. Всеки мол от съединение **(III-24)** реагира с 3 mol NaOH. Очевидно NaOH образува соли с двете енолни групи от 4-хидроксикумарина и фенолната група на р-място, а лактонните пръстени остават незасегнати.



При остатъчното титруване е установен следният рН-интервал на превръщане:

Жълто 6.6 – 8.4 Червено-оранжево

Интервалът на превръщане на изследваното вещество е близък до този на о-нитрофенола (pK_a 7.2), което дава основание да се допусне, че именно този фрагмент от изследваната молекула, сходен с нитрофенола, е отговорен за киселинно-основните му характеристики. Поради по-ниската диелектрична константа на етанола протолизата на киселини заряден тип НА се затруднява. Образованите йони силно се привличат и това измества равновесието към незаредените частици.

III.7.1. Определяне на протолизната константа на 3,3'-(3-метокси-5-нитро-4-хидроксифенилметил)бис-(4-хидроксикумарин) (III-24)

III.7.1.1. Потенциометрично определяне на протолизната константа

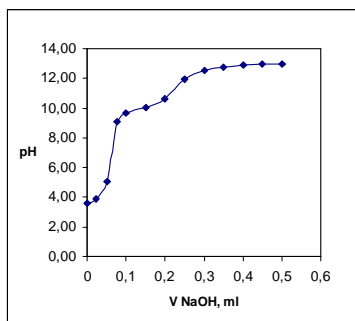
При потенциометричното определяне се титрува 0.001 N разтвор на изследваното съединение с 0.1 N NaOH в среда от 96 % етанол.

Таблица 39. Резултати от титруването на 0.001 N разтвор на съединение (III-24) с 0.1 N NaOH в среда от 96 % етанол

| V NaOH, mL | pH |
|------------|-------|
| 0 | 3.59 |
| 0.024 | 3.90 |
| 0.050 | 5.06 |
| 0.076 | 9.10 |
| 0.100 | 9.67 |
| 0.150 | 10.07 |
| 0.200 | 10.63 |
| 0.250 | 11.93 |
| 0.300 | 12.50 |
| 0.350 | 12.77 |
| 0.400 | 12.91 |
| 0.450 | 12.99 |
| 0.500 | 13.00 |

Установихме, че еквивалентната част от кривата е слабоизразена и е трудно от нея да се определи еквивалентният обем. За това се използват диференциалният метод и методът на Гран [147].

Фигура 12. Титрувална крива на 0.001 mol/L (III-24) с 0.1 mol/L NaOH

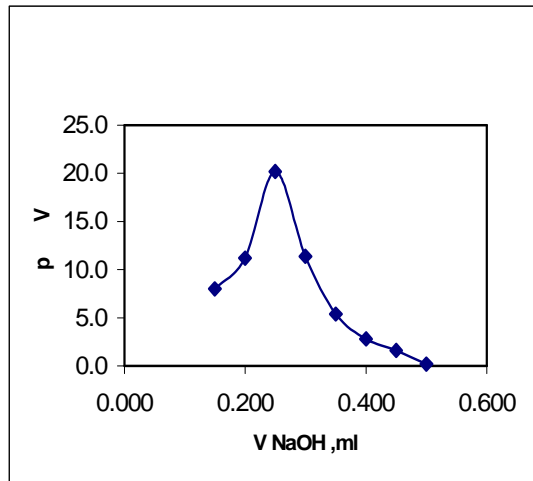


III.7.1.2. Диференциален метод

Според диференциалния метод се намира първата производна на функцията, описваща титрувалната крива. Изчислява се намалението на рН (ΔpH) при нарастване на обема (ΔV) (Табл. 30). Отношението $\Delta\text{pH}/\Delta V$ към обема добавен титрант се изразява графично в т.нар. диференциална крива. На нея еквивалентният обем се отчита като максимум.

Таблица 40. Данни от титруването на съединение (III-24) с помощта на диференциалния метод

| I. | pH | V NaOH, mL | $\Delta\text{pH}/\Delta V$ |
|----|-------|------------|----------------------------|
| | 9.67 | 0.100 | |
| | 10.07 | 0.150 | 8.0 |
| | 10.63 | 0.200 | 11.2 |
| | 11.93 | 0.250 | 20.2 |
| | 12.50 | 0.300 | 11.4 |
| | 12.77 | 0.350 | 5.4 |
| | 12.91 | 0.400 | 2.8 |
| | 13.03 | 0.450 | 1.6 |
| | 13.09 | 0.500 | 0.2 |
| | 13.09 | 0.500 | 0.2 |



Фигура 13. Диференциална титрувална крива

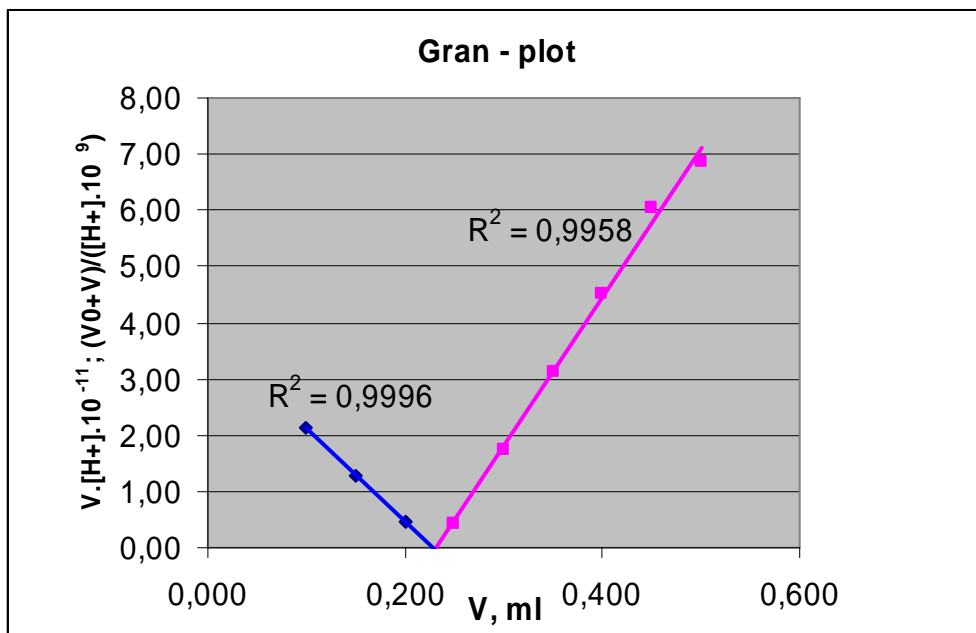
Диференциалната титрувална крива показва, че еквивалентният обем е 0.25 mL, следователно обемът на полунейтрализация е 0.125 mL. рН на разтвора при тази стойност е 9.9 и това е търсената рK_a-стойност.

III.7.1.3. Потенциометрично определяне на рK_a с помощта на метода на Гран

Според метода на Гран [147] данните от титруването се обработват с помощта на функции на Гран. В резултат на това титрувалната крива се трансформира в две прави линии, които се пресичат с абсцисата (тройна пресечна точка). Тази тройна пресечна точка изразява точно еквивалентния обем [148].

Таблица 41. Данни от титруването на съединение (III-24) с помощта на функциите на Гран

| II. | V, mL | pH | [H ⁺].10 ⁻¹¹ | V.[H ⁺].10 ⁻¹¹ | (V ₀ +V)/([H ⁺].10 ⁹) |
|-----|----------|-------|-------------------------------------|---------------------------------------|--|
| | 0.100 | 9.67 | 21.37 | 2.14 | |
| | 0.150 | 10.07 | 8.51 | 1.28 | |
| | 0.200 | 10.63 | 2.34 | 0.47 | |
| | 0.250 | 11.93 | 0.12 | | 0.44 |
| | 0.300 | 12.50 | 0.03 | | 1.76 |
| | 0.350 | 12.77 | 0.017 | | 3.14 |
| | 0.400 | 12.91 | 0.012 | | 4.50 |
| | 0.450 | 13.03 | 0.009 | | 6.05 |
| | 0.500 | 13.09 | 0.008 | | 6.88 |

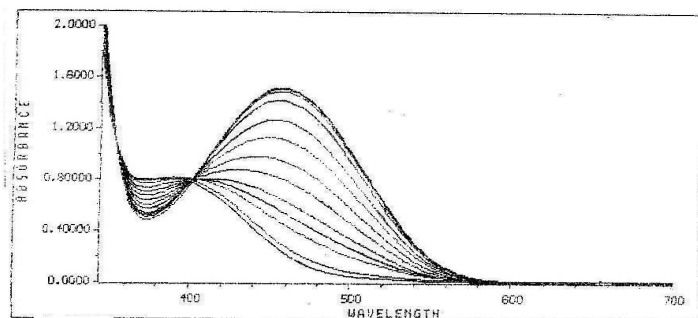


Фигура 14. Гран-плот

Установихме, че еквивалентният обем е 0.23 mL, а обемът на полунейтрализация е 0.115 mL. От титрувалната крива се вижда че на обем 0.115 mL отговаря рН = 9.8.

III.7.1.4. Спектрофотометрично определяне на рК_a

Зависимостта между рН и абсорбцията се използва за построяване на експериментална фотометрична титрувална крива [149,150]. Представени са абсорбционните спектри на разтвора на съединението в 96% етанол. Най-нисколежащата крива е на разтвор на съединението, а всяка следваща крива е заснета след титруване на разтвора с порции от 0.1 mL 0.01 N NaOH, прибавяни последователно в обем от 0.1 mL.

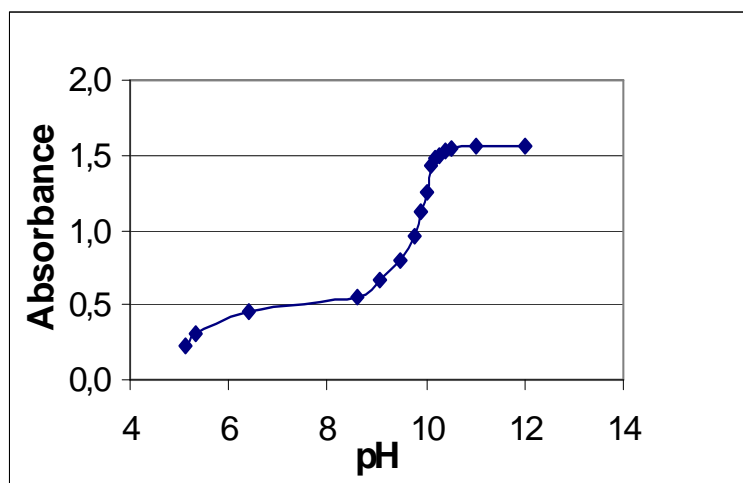


Фигура 15. Насложени абсорбционни спектри на съединение (III-24) след титруване с 0.01 N NaOH

Етанолният разтвор показва широко рамо при 365 - 420 nm, а при титруването с 0,01 mol/L NaOH абсорбционният максимум се измества батохромно към 460 nm. В спектъра се наблюдава изобестична точка при 352 и 404 nm, което е знак за наличие на равновесие между протонираната и депротонираната форма. След прибавяне на всяка порция NaOH се измерва рН на разтвора (Табл. 42). Това позволява да се начертае експериментална крива рН/абсорбция при фиксирана дължина на вълната (в нашия случай при 460 nm) (фиг.16).

Таблица 42. Данни от спектрофотометричното титруване на съединие (III-24) с 0,01 mol/L NaOH

| V NaOH, mL | рН | Абсорбция |
|------------|--------|-----------|
| 0 | 5.10 | 0.229 |
| 0.100 | 5.32 | 0.301 |
| 0.200 | 6.40 | 0.450 |
| 0.300 | 8.60 | 0.549 |
| 0.400 | 9.07 | 0.662 |
| 0.500 | 9.49 | 0.800 |
| 0.600 | 9.76 | 0.957 |
| 0.700 | 9.90 | 1.121 |
| 0.800 | 10.02 | 1.258 |
| 0.900 | 10.12 | 1.432 |
| 1.000 | 10.19 | 1.479 |
| 1.100 | 10.26 | 1.500 |
| 1.200 | 10.38. | 1.521 |
| 1.300 | 10.52 | 1.545 |
| 1.400 | 11.02 | 1.562 |
| 1.500 | 12.10 | 1.567 |



Фигура 16. Зависимост между рН и абсорбцията на съединение (III-24) при титруването му с 0.01 mol/L NaOH при $\lambda=460$ nm

III.7.1.5. Основание за използване на 3,3'-(3- метокси-5-нитро-4-хидроксифенилметиле)бис-(4-хидроксикумарин) като индикатор при киселинно-основно титруване

- Разтворим е в широко разпространения, безвреден и смесващ се във всяко отношение с водата – 96% етанол.
- Притежава най-високата моларна абсорбируемост във видимата област $\sim 4 \cdot 10^3$ $\text{cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{L}$ при $\lambda=460$ nm в оранжева форма. Това е причина за използването му в достатъчно ниски концентрации без да се променя киселинно-основното равновесие в изследвания разтвор.
- Киселинно-основното равновесие се установява бързо за определено рН, така че промените в интензивността на оцветяването с времето са минимални.

0,001mol/L разтвор на изследваното съединение в 96 % етанол се прилага като киселинно-основен индикатор при титруване на водна 0,01 mol/L NaOH с водна 0,01 mol/L HCl.

Таблица 43. Титруване на 0.01 mol/L NaOH с 0.01 mol/L HCl в присъствие на съединение (III-24) като индикатор.

| Проба № | Обем NaOH, [mL] | Теоретичен обем HCl, [mL] | Експериментален обем HCl, [mL] | Отклонение, % |
|--------------------------|-----------------|---------------------------|--------------------------------|---------------|
| 1. | 20.00 | 20.00 | 20.00 | 0.00 |
| 2. | 20.00 | 20.00 | 20.02 | + 0.10 |
| 3. | 20.00 | 20.00 | 20.00 | 0.00 |
| 4. | 20.00 | 20.00 | 19.98 | - 0.10 |
| 5. | 20.00 | 20.00 | 20.02 | + 0.10 |
| Средни стойности: | | | 20.00 | +0.02 |

$$s = 0.02$$

$$\varepsilon = 0.07\%$$

където s е стандартното отклонение, а ε - процентна грешка.

Средното отклонение при титруване на NaOH с еквимоларен разтвор HCl в присъствие на изследваното съединение като индикатор е 0.02 mL. Под 0.05 mL резултатите се считат за възпроизводими при титруване. Следователно съединението 3,3'-(3-Метокси-5-нитро-4-хидроксифенилметилден)бис-(4-хидроксикумарин) (**III-24**) може да се използва като киселинно-основен индикатор при титруване на протолити, чиято еквивалентна част включва цветния преход на съединението във вода - рН – 6.6 - 8.4.

III.8. Токсикологични и фармакологични изследвания на бискумариновите производни

Проведени са предварителни токсикологични и фармакологични изследвания на бискумаринови производни с оглед установяване на тяхната остра токсичност, индекса им на резорбция и влиянието им върху времето на съсирване на кръвта. Пет от всички изследвани съединения практически показват липса на токсичност или по-слаба токсичност в сравнение с препарата-стандарт Warfarin. Те удължават времето на кръвосъсирване (приложени в доза 1/20 част от LD₅₀) повече от 4-6 пъти в сравнение с това при животните от контролната група и статистически значимо повече от референтния лекарствен продукт Warfarin. (Таблица 44). Клинично прилаганият препарат Warfarin удължава времето на кръвосъсирване 350.4 % в

сравнение с това при контролните животни, докато петте съединения удължават този показател от 421.1 % до 1412.5 % в сравнение с контролата. Веществата трябва да бъдат изследвани по-задълбочено, тъй като представените резултати показват перспективност за бъдещо практическо приложение [5,29-34,43,51].

Таблица 44. Остра токсичност на бискумарините след интраперитонеално и перорално приложение на бели мъжки мишки и антикоагулантно действие при еднократно приложение

| В-во № | LD ₅₀ (мг/кг) i. p. | LD ₅₀ (мг/кг) p.o. | IA (%) | Време на съсирване - % спрямо контрола |
|--------------|---|---|-------------|---|
| III-1 | 243.5 (176.2 – 336.4) | 1278.9 (1156.0 – 1414.0) | 19 | 237.6 % |
| III-2 | 945.5 (674.4 – 1325.5) | > 5000 | 18.9 | 633.6 % |
| III-3 | 2447.4 (2247.6 – 2665.0) | 2735.6 (2632.9 – 2842.3) | 89.4 | 364.3 % |
| III-4 | 1115.4 (985.3 – 1262.6) | > 2500 | < 44.6 | 76.8 % |
| III-5 | 418.0 (359.7 – 485.8) | > 2500 | < 16.7 | 27.7 % |
| III-6 | 640.5 (541.9 – 756.9) | > 2500 | < 26.6 | 108.9 % |
| III-7 | 1212.5 (925.0 – 2492.5) | > 5000 | < 24.3 | 65.2 % |

| | | | | |
|---------------|--|---|------------|----------------|
| III-8 | 387.5 (251.6 – 523.0) | 4500.0 (3600.0 – 5400.0) | 8.6 | 77.9 % |
| III-9 | 1937.5 (1258.2 – 2616.8) | > 5000 | 38.8 | 29.7 % |
| III-10 | 550.0 (315.8 – 784.2) | > 5000 | < 11.0 | 111.4 % |
| III-11 | 256.2 (188.3 – 324.2) | 4500.0 (3600.0 – 5400.0) | 5.7 | 435.8 % |
| III-12 | 356.2 (288.3 – 424.2) | > 5000 | < 7.3 | 156.4 % |
| III-13 | 356.2 (288.3 – 424.2) | 2600.0 (2080.0 – 3120.0) | 14.1 | 142.2 |
| III-14 | 456.2 (388.3 – 524.2) | 3400.0 (3175.0 – 3625.0) | 13.4 | 80.8 % |
| III-15 | 529.3 (337.7 – 829.7) | 1379.5 (1045.3 – 1820.6) | 38.3 | 147.6 % |
| III-16 | 664.3 (632.5 – 1354.1) | 1614.1 (1193.3 – 2183.3) | 41.1 | 225.9 % |
| III-17 | 983.9 (953.9 – 1014.8) | 2695.1 (2414.7 – 3008.1) | 36.5 | 126.0 % |
| III-18 | 578.4 (544.1 – 606.5) | 807.0 (596.6 – 1091.6) | 71.6 | 165.4 % |
| III-19 | 924.9 (893.1 – 1091.6) | 1290.2 (1229.3 – 1354.1) | 71.6 | 184.7 % |
| III-20 | 1206.3 (1103.3 – 1318.9) | 2260.0 (1609.5 – 3176.0) | 53.3 | 77.7 % |
| III-21 | 639.4 (578.2 – 707.1) | 4296.6 (4034.9 – 4573.3) | 14.8 | 70.0 % |
| III-22 | 586.6 (428.5 – 802.9) | 2752.0 (2404.1 – 3152.0) | 21.3 | 84.0 % |

| | | | | |
|-----------------|---|---|-------------|-----------------|
| III-23 | 292.0 (239.8 – 355.5) | 1257.7 (1009.4 – 1567.1) | 23.2 | 190.4 % |
| III-24 | 489.1 (381.8 – 626.7) | 4716.8 (4382.4 – 5076.8) | 10.4 | 192.7 % |
| III-25 | 803.7 (714.9 – 905.5) | 4842.6 (3818.9 – 6140.7) | 16.5 | 127.7 |
| III-26 | 2184.3 (1683.7 – 2833.9) | 4134.7 (3359.7 – 5088.6) | 52.8 | 185.7 % |
| III-27 | 1612.1 (1418.0 – 1833.7) | > 5000 | 32.4 | 1412.5 % |
| III-28 | 626.3 (577.9 – 678.8) | 2209.2 (1885.8 – 2588.0) | 28.3 | 421.1 % |
| III-29 | - | - | - | - |
| Warfarin | 750.1 (581.7 – 966.6) | 1468.6 (1212.7 – 1778.6) | 51.0 | 350.4 % |
| Контрола | - | - | - | 100.0 % |

III.9. Сравнителна цитотоксичност на бискумарини върху туморни и нетуморни клетъчни линии

За първи път бяха изследвани за анти-HIV активност 15 бискумарини. В клетъчна култура MT-2 в условията на остра инфекция бяха определени минималната нетоксична концентрация (МНК) и цитотоксична доза (ЦД₅₀).

Таблица 45. МНК и ЦД₅₀ на изследваните съединения (48 часа след инкубация на съответното вещество с МТ-2 клетки)

| В-во № | Мол.маса | ЦД ₅₀ µg/ml | ЦД ₅₀ µM | МНК µg/ml | МНК µM |
|---------------------------|------------|------------------------|---------------------|----------------|-------------|
| III-2 | 491 | 491 | 1 000 | 0.0491 | 0.1 |
| III-3 | 446 | 4460 | 10 000 | 446 | 1 000 |
| III-15 | 426 | 4260 | 10 000 | 0.0426 | 0.1 |
| III-16 | 442 | 442 | 1 000 | 44.2 | 100 |
| III-17 | 442 | 44.2 | 100 | 4.42 | 10 |
| III-18 | 472 | 472 | 1 000 | 47.2 | 100 |
| III-19 | 472 | 47.2 | 100 | 4.72 | 10 |
| III-20 (ИМ-7) | 472 | 472 | 1 000 | 0.0472 | 0.1 |
| III-21 (ИМ-8) | 502 | 5020 | 10 000 | 0.502 | 1 |
| III-22 (ИМ-10) | 502 | 502 | 1 000 | 0.00502 | 0.01 |
| III-23 | 488 | 4880 | 10 000 | 488 | 1 000 |
| III-24 | 503 | 5030 | 10 000 | 503 | 1 000 |
| III-25 | 412 | 4120 | 10 000 | 41.2 | 100 |
| III-26 | 491 | 491 | 1 000 | 491 | 1 000 |
| III-27 | 518 | 518 | 1 000 | 518 | 1 000 |

Данните показват, че макар сходни по строеж и с близки молекулни маси изследваните съединения силно се различават по цитотоксичност. С най-ниска цитотоксичност са III-15 (ИМ-1), III-21 (ИМ-8), III-23 (ИМ-9), III-25 (ИМ-12), III-24 (ИМ-14) и III-3 (ИМ-16). Следващата група вещества проявяват цитотоксичност с един порядък по-висока от предходната: III-2 (ИМ-2), III-16 (ИМ-4), III-18 (ИМ-6), III-20 (ИМ-7), III-22 (ИМ-10), III-26 (ИМ-11), III-27 (ИМ-13). В отделна група са

веществата III-17 (ИМ-3) и III-19 (ИМ-5), които са с най-висока цитотоксичност. По цитотоксичност веществата се подреждат така:

I група (с най-висока цитотоксичност):

III-17 (ИМ-3) = III-19 (ИМ-5) = 100 μ M

II група (умерена цитотоксичност):

III-2 (ИМ-2) = III-16 (ИМ-4) = III-18 (ИМ-6) = III-20 (ИМ-7) = III-22 (ИМ-10) = III-26 (ИМ-11) = III-27 (ИМ-13) = 1 000 μ M

III група (с най-ниска цитотоксичност):

III-15 (ИМ-1) = III-21 (ИМ-8) = III-23 (ИМ-9) = III-25 (ИМ-12) = III-24 (ИМ-14) = III-3 (ИМ-16) = 10 000 μ M.

Пет от веществата и референтното вещество III-15 (ИМ-1) (анти-HIV активно с доказано антиинтеградно действие) са с еднакво ниска цитотоксичност. Всички останали са с един или два порядъка по-висока цитотоксичност.

Установихме, че МНК за всички вещества е от 10 до 100 000 пъти по-ниска от цитотоксичната концентрация, което определя голямото разнообразие в терапевтичната им ширина.

Резултатите показват, че нито едно от съединенията не проявява директно вирусцидно действие.

Единствените вещества, показали анти-HIV активност, са III-20 (ИМ-7), III-21 (ИМ-8) и III-22 (ИМ-10), както и референтното вещество III-15 (ИМ-1) (IN). Всички останали вещества не показват антивирусна активност. ИК50 за трите вещества, които се изследват за първи път и показват анти-HIV активност, (ИМ-7, ИМ-8 и ИМ-10) е доста близка до МНК:

За III-20 (ИМ-7), – ИК 50 = МНК, т.е. 0.1 μ M

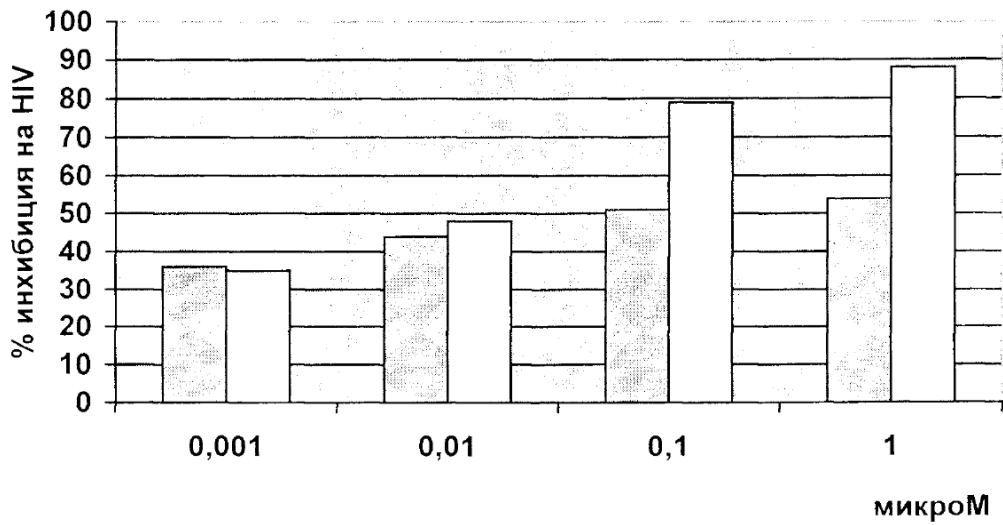
За III-21 (ИМ-8) – ИК 50 е 10 пъти по-ниска от МНК, т.е. 0.1 μ M

За III-22 (ИМ-10) – ИК 50 е 10 пъти по-ниска от МНК, т.е. 0.001 μ M

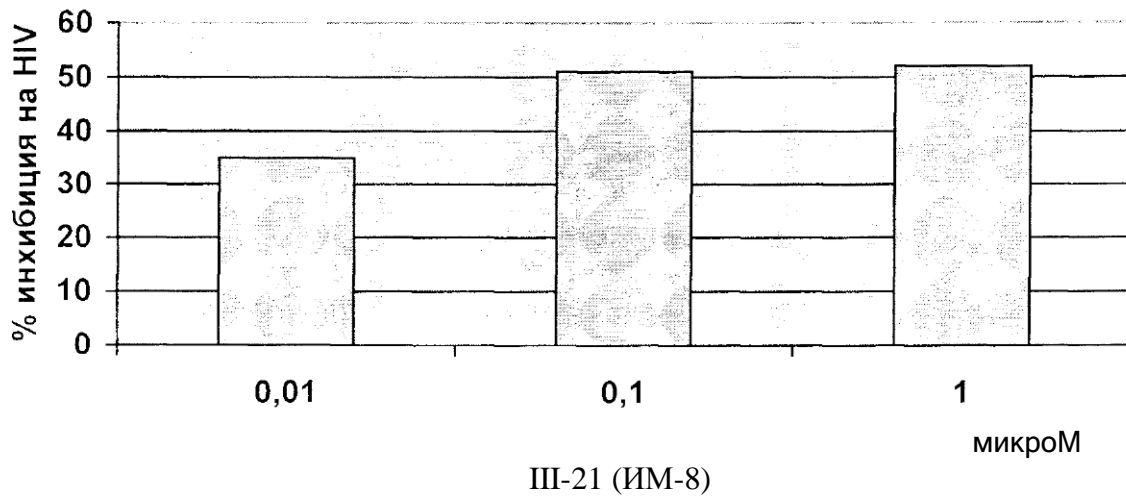
За сравнение:

За III-15 (ИМ-1) (IN) – ИК 50 е 10 пъти по-ниска от МНК, т.е. 0.01 μ M

Фигура 17. Зависимост „доза – анти-НIV-ефект” за III-20 (ИМ-7) – данни от два отделни опита



Фигура 18. Зависимост „доза – анти-НIV-ефект” за



III-21 (ИМ-8)

Фигура 19. Зависимост „доза – анти-НIV-ефект” за

III-22 (ИМ-10)

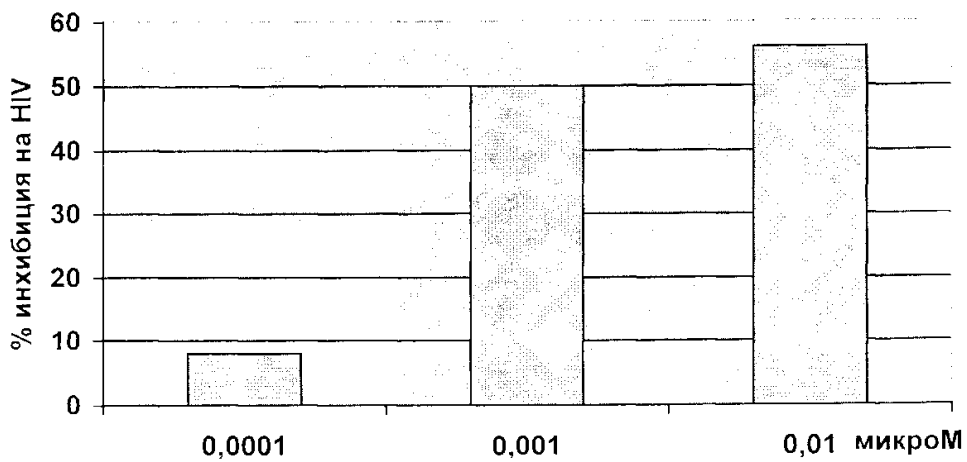


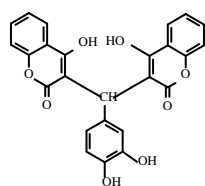
Таблица 46. Селективен индекс на активните анти-НIV бис-кумарини

| Вещество | ЦД 50 (μM) | ИК 50 (μM) | СИ |
|--------------------|----------------------------|----------------------------|-----------|
| III-20 (ИМ-7) | 1 000 | 0.1 | 10 000 |
| III-21 (ИМ-8) | 10 000 | 0.1 | 100 000 |
| III-22 (ИМ-10) | 1 000 | 0.001 | 1 000 000 |
| III-15 (ИМ-1) (IN) | 10 000 | 0.01 | 1 000 000 |

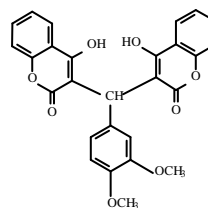
Определен е селективният индекс (СИ) на веществата, проявили анти-НIV активност в клетъчна култура. Резултатите показват, че трите изследвани съединения са със селективен индекс 1 – 2 порядъка по-нисък или равен на референтното вещество. Това е указание за антивирусната активност на веществата и за бъдещ рационален синтез на високоселективни и специфични анти-НIV инхибитори [98,108,151-158].

III.10. Антиоксидантно действие на някои бискумарини

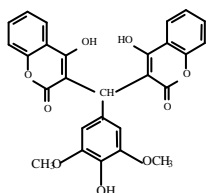
Изследвана е антиоксидантната активност на следните пет съединения:



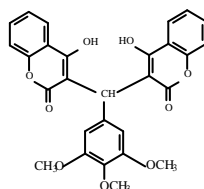
(III-8) 2



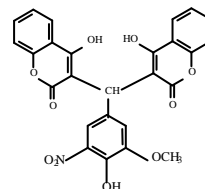
(III-20) 3



(III-23) 4



(III-22) 5



(III-24) 6

Резултатите показват, че съединение (III-8) 2 (съдържа две хидроксилни групи, свързани със съседни въглеродни атоми в ароматното ядро и представлява пирокатехолов остатък) проявява най-мощна антиоксидантна активност. Съединение (III-23) 4 проявява умерена активност, а при всички останали – липсва активност. Съединения (III-8) 2 и (III-23) 4 проявяват радикал-улавяща активност. Останалите съединения не проявяват подобно действие.

Обсъдена е зависимостта структура – действие на основата на сравнителния кинетичен анализ. Използвани са и стандартни антиоксиданти като α -токоферол (ТОН), кафеена киселина (СА), синапова киселина (SA) и ферулова киселина (FA) и p-кумаринова киселина (p-CumA). Изучен е възможният синергизъм между фенолните антиоксиданти чрез използване на бинерни смеси [104-106,159-168].

III.11. Растеж регулираща активност на някои бискумарини

Изследвана е растеж регулиращата активност на пет бискумаринови съединения, съдържащи нитро група (три позиционни изомери) (III-4), (III-5), (III-6), метокси група (III-17) и хлорен атом (III-3) в ароматното ядро (табл. 57). Показано е, че използваните бискумарини забавят растежа на изследваните растителни видове и ефектът е по-силно изразен в сравнение с други монокумаринови производни [22,25,26,171].

III.12. Основни приноси

- Синтезирани са около 40 бискумарини и техни производни. На осем от тях е доказан строежът с помощта на рентгеноструктурен анализ. Установено е, че в твърдо състояние двата 4-хидроксикумаринови остатъка се разполагат по такъв начин, че се образуват две вътрешномолекулни водородни връзки – между водородния атом от хидроксилната група на четвърто място в кумариновия остатък и кислородния атом от лактонната карбонилна група.

- Ние установихме, че при взаимодействие на 4-хидроксикумарин с Шифови бази вместо заместени оксазини се получават бензилиденфенилиминохромани. Ако

алдехидът от Шифовата база има заместител в ароматното ядро (метокси група или хлорен атом), крайният продукт е бискумарин.

- За първи път установихме, че взаимодействието между 4-хидроксикумарин и 3-ацетилкумарин не води до получаването на бензопиранобензопирани, а до нов тип продукти – диоксабициклононани.

- Изследвани са киселинно-основните свойства на някои бискумарини. 3,3'-(3-Метокси-5-нитро-4-хидроксифенилметилени)бис-(4-хидроксикумарин) III-24 може да бъде използван в аналитичната практика като индикатор при киселинно-основно титруване.

- Проведени са токсикологични и фармакологични изследвания на бискумаринови производни. Пет от тях практически показват липса на токсичност. Те удължават времето на кръвосъсирване (приложени в доза 1/20 част от LD₅₀) повече от 4-6 пъти в сравнение с Warfarin.

- Изучена е цитотоксичността на бискумарини върху туморни и нетуморни клетъчни линии. Определени са максималната нетоксична концентрация (МНК) и цитотоксична доза (ЦД₅₀). За първи път бяха изследвани за анти-HIV активност 15 бис-кумарини като три от съединенията – III-20 (ИМ-7), III-21 (ИМ-8) и III-22 (ИМ-10) са активни.

- Изследвана е антиоксидантната активност на пет съединения. Резултатите показват, че съединение III-8 проявява най-мощна антиоксидантна активност.

- Изследвана е растеж-регулирущата активност на пет бискумаринови съединения, съдържащи нитро група III-4, III-5, III-6, метокси група III-17 и хлорен атом III-3 в ароматното ядро. Те забавят растежа на изследваните растителни видове и ефектът е по-силно изразен в сравнение с монокумаринови производни.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Guminska M., M. Eckstein, B. Stahurska. *Diss. Pharm. Pharmacol.* **20** (2), 157-162 (1968); [Chem. Abstr. 69, 17790e (1968)].
2. Eckstein M., J. Sulko, K. Jakubovski. *Diss. Pharm. Pharmacol.* **21** (2), 147-153 (1969); [Chem. Abstr. 71, 61137n (1969)].
3. **Кенти А. Т. Дипл. Работа, Фарм. Ф-т, МУ-София, 1999.**
4. **Масалджиева Е. Д. Дипл. Работа, Фарм. Ф-т, МУ-София, 2001.**
5. **Manolov I., N. Danchev. Synthesis and Pharmacological Investigations of Some 4-Hydroxycoumarin Derivatives. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **336** (2), 83-94 (2003).**
6. Wang J., Shi Da-Qing , Q. Y. Zhuang, X. S. Wang, S. J. Tu. *Youji Huaxue* **25** (8), 926-929 (2005).
7. Mercep M., I. Malnar, B. Hrvacic, S. Markovic et al. *PCT Int. Appl.* 2006, WO 2006111858 A2 20061026.
8. Singh P., P. Kumar, A. Katyal, R. Kalra, S. K. Dass, S. Prakash, R. Chandra. *Catalysis Letters*, **134** (3-4), 303-308 (2010).
9. Wu N., X. Li, X. Xu, D. Shi. *J. Chem. Res.* **10**, 561-562 (2007).
10. **Manolov, I., C. Maichle-Mössmer. Synthesis and structure of 3,3-[(4-bromophenyl)methylene]bis-(4-hydroxy-2H-1-benzopyran-2-one] *Anal. Sci.: X-Ray Structure Analysis Online*, **23** (4), x63 (2007).**
11. Heravi M. M., S. Sadjadi, N. M. Haj, H. A. Oskoole, F. F. Bamoharram. *Catalysis Commun.* **10** (13), 1643-1646 (2009).
12. Khurana J. M., S. Kumar. *Tetrahedron Letters* **50** (28), 4125-4127 (2009).
13. **Грашева В. Б. Дипл. Работа, Фарм. Ф-т, МУ-София, 2000.**
14. Kolos N. N., L. L. Gozalishvili, E. N. Sivokon, I. V. Knyazeva. *Russ. J. Org. Chem.* **45** (1), 119-125 (2009).
15. Fucik K. *CS Pat. CS 86515* (1957).
16. Zellner R. J. *US Pat.* 2851461 (1958).
17. Zdyb-Guminska M., M. Eckstein. *J. Med. Pharm. Chem.*, **3**, 583-595 (1961).
18. Eckstein M., J. Cwynar. *Pol. Diss. Pharm.* **14**, 29-39 (1962).
19. Arora R. B., N. R. Krishnaswamy, T. R. Seshadri, S. D. S. Seth, B. R. Sharma. *J. Med. Chem.* **10** (1), 121-124 (1967).

20. Hutchinson D. W., J. A. Tomlinson. *Tetrahedron* **25** (12), 2531-2537 (1969).
21. Appendino G., G. Cravotto, S. Tagliapietra, S. Ferraro, G. M. Nano, G. Palmisano. *Helv. Chim. Acta* **74** (7), 1451-1458 (1991).
22. **Manolov I.** Aldehyde Condensation Products of 4-Hydroxycoumarin and Schiff Bases. *Tet. Lett.* **39** (19), 3041-3042 (1998).
23. Mao P. C. M., J. F. Mouscadet, H. Leh. Auclair C., Hsu L. Y. *Heterocycles* **55** (7), 1263-1270 (2001).
24. Chavasiri W., S. Deesamer, U. Kokpol, C. Thipnoisanga, S. Wattanasereekul, S. Zungsontiporn. *Thai J. Agricult. Sci.* **34**, 81-89 (2001).
25. **Милчов Д. Ф.** Дипл. Работа, Фарм. Ф-т, МУ-София, 2000.
26. Alexieva V., I. Sergiev, **I. Manolov**, E. Karanov. Plant Growth Regulating Activity of Some Coumarins and Biscoumarins. *Compt. rend. Acad. Bulg. Sci.* **55** (9), 91-98 (2002).
27. Ling Y., X. Yang, M. Yang, W. Chen. *Huaxue Tongbao* **67** (5), 355-358 (2004).
28. **Алфандари М. Р.** Дипл. Работа, Фарм. Ф-т, МУ-София, 2000.
29. **Мусиевска Д. Н.** Дипл. Работа, Фарм. Ф-т, МУ-София, 2000.
30. **Занева Д. С.** Дипл. Работа, Фарм. Ф-т, МУ-София, 2002.
31. **Арабаджиева С. Н.** Дипл. Работа, Фарм. Ф-т, МУ-София, 2002.
32. **Сомова Т. Н.** Дипл. Работа, Фарм. Ф-т, МУ-София, 2004.
33. **Zaneva O., I. Manolov, N. Danchev.** Toxicological and Pharmacological Investigations of Newly Synthesized Derivatives of 4-Hydroxycoumarin. *Farmacyja*, **LII** (1-2), 85-89 (2005).
34. **Manolov I., C. Maichle-Mössmer, N. Danchev.** Synthesis, structure, toxicological and pharmacological investigations of 4-hydroxycoumarin derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **41**, 882-890 (2006).
35. Kidwai M., V. Bansal, P. Mothsra, S. Saxena, R. K. Somvanshi, S. Dey, T. P. Singh. *J. Mol. Catal. A: Chemical* **268** (1), 76-81 (2007).
36. **Каркелева И. Б.** Дипл. Работа, Фарм. Ф-т, МУ-София, 1992.
37. Qadir S., A. A. Dar, K. Z. Khan. *Synth. Commun.* **38** (20), 3490-3499 (2008).
38. Gong G.-X., J-F. Zhou, L.-T. An, X-L. Duan, Ji S.-J. *Synth. Commun.* **39** (3), 497-505 (2009).
39. Shaterian H. R., M. Honarmand. *Chinese J. Chem.* **27** (9), 1795-1800 (2009).

40. Zhou J., G. Gong, L. An, X. Sun, F. Zhu. *Youji Huaxue* **29** (12), 1988-1991 (2009).
41. Heravi M. M., F. Nahavandi, S. Sadjadi, H. A. Oskooie, F. F. Bamoharram. *Synth. Commun.* **40** (4), 498-503 (2010).
42. Sullivan W. R., C. F. Huebner, M. A. Stahmann, K. P. Link. *J. Am. Chem. Soc.* **65**, 2288-2291 (1943).
43. **Manolov I., N. Danchev. Synthesis, Toxicological, and Pharmacological Assessment of Some Oximes and Aldehyde Condensation products of 4-Hydroxycoumarin. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **332**, 243-248 (1999).**
44. Vilar S., L. Santana, E. Uriarte. *J. Med. Chem.*, **49** (3), 1118-1124 (2006).
45. Choudhary M. I., N. Fatima, K. M. Khan, S. Jalil, S. Iqbal, Atta-Ur-Rahman. *Bioorg. & Med. Chem.* **14** (23), 8066-8072 (2006).
46. Saiz-Urra L., M. P. Gonzalez, Y. Fall, G. Gomez. *Eur. J. Med. Chem.* **42** (1), 64-70 (2007).
47. Hamdi N., M. C. Puerta, P. Valerga. *Eur. J. Med. Chem.* **43** (11), 2541-2548 (2008).
48. Choudhary M. I., N. Fatima, K. M. Khan, S. Jalil, S. Iqbal, Atta-Ur-Rahman. *Bioorg. & Med. Chem.* **14** (23), 8066-8072 (2006).
49. *Amlinter Screening Library* - 01.01.2004.
50. **Атанасов А. Д. Дипл. работа, Фарм. Ф-т, МУ-София, 2002.**
51. **Manolov I., C. Maichle-Mössmer, I. Nicolova, N. Danchev. Synthesis and Anticoagulant Activities of Substituted 2,4-Diketochromans, Biscoumarins, and Chromanocoumarins. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **339**, 319-326 (2006).**
52. Završnik D., S. Muratovic, M. Medic'Saric. *Proc. Eur. Symp. QSAR and Mol. Model*, 15th, Istanbul, Turkey, Sept. 5-10, 2004; 95-97 (2006).
53. Nolan K. A., J. R. Doncaster, M. S. Dunstan, K. A. Scott, A. D. Frenkel, D. Siegel, D. Ross, J. Barnes, C. Levy, D. Leys et al. *J. Med. Chem.* **52** (22), 7142-7156 (2009).
54. Eckstein M., A. Kocwa, H. Pazdro. *Rocz. Chem.* **32**, 789-800 (1958).
55. Anderson D. J., L. S. Banitt, P. K. Tomich, M. J. Bohanon, S. R. Turner, J. W. Strohbach, S. Thaisrivongs, C. Yang, R. C. Thomas et al. *PCT Int. Appl.* (1994) WO 9418188. [Chem. Abstr. 123, P285778c (1995)].

56. Tomich P. K., M. J. Bohanon, S. R. Turner, J. W. Strohbach, S. Thaisrivongs, R. C. Thomas, K. R. Romines, C. Yang, P. A. Aristoff, H. I. Skulnick, P. D. Johnson, R. B. Gammill, Q. Zhang, G. L. Bundy, D. J. Anderson et al. *US Pat. No.* 169 302 (1997).
57. Tomish P. K., M. J. Bohanon, S. R. Turner, J. W. Strohbach, S. Thaisrivongs, R. C. Thomas, K. R. Romines, C.-P. Yang, P. A. Aristoff, H. I. Skulnick, P. D. Johnson, R. B. Gammill, Q. Zhang, G. L. Bundy, D. J. Anderson, L. S. Banitt. *US* 5,686,486 (Cl. 514 – 456; A61K31/35), 11 Nov 1997, WO Appl. 94/US938, 3 Feb 1994; 157 pp; [Chem. Abstr. 128, P34683b (1998)].
58. Zhao H., Neamati N., Hong H., Mazumder A., Wang S., Sunder S., Milne G. W. A., Pommier Y., Burke Jr. T. R. *J. Med. Chem.*, **40** (2), 242-249 (1997).
59. Yuan H., Parril A. L. *Bioorg. Med. Chem.*, **10** (12), 4169-4183 (2002).
60. Deng J., K. W. Lee, T. Sanchez, M. Cui, N. Neamati, J. M. Briggs. *J. Med. Chem.*, **48** (5), 1496-1505 (2005).
61. Khan K. M., S. Iqbal, M. A. Lodhi, G. M. Maharvi, S. Perveen, M. I. Choudhary, Atta-Ur-Rahman, Z. H. Chohan, C. T. Supuran. *J. Enzyme Inhibition Med. Chem.*, **19** (4), 367-371 (2004).
62. Csoregh I., M. Eckstein. *Acta Cryst. Sect. B& Struct. Crystallogr. & Crystal Chem.* **B35** (2), 389-395 (1979).
63. Klosa J. *Arch. Pharm. (Weinheim)* **288**, 545-549 (1952).
64. Profft E., H. Schneider - Beyer. *J. Prakt. Chem.* **4** (2), 147-167 (1955).
65. **Kostova I., I. Manolov, G. Momekov. Cytotoxic activity of new neodimium(III) complexes of bis-coumarins. *Eur. J. Med. Chem.* **39**, 765-775 (2004).**
66. Kostova I., G. Momekov, M. Zaharieva, M. Karaivanova. *Eur. J. Med. Chem.* **40** (6), 542-551 (2005).
67. Kostova I., N. Trendafilova, T. Mihaylov. *Chem. Phys.* **314** (1-3), 73-84 (2005).
68. Georgieva I., I. Kostova, N. Trendafilova, V. K. Rastogi, G. Bauer, W. Kiefer. *J. Raman Spectrosc.* **37** (7), 742-754 (2006).
69. **Mihaylov T., I. Georgieva, G. Bauer, I. Kostova, I. Manolov, N. Trendafilova Theoretical study of the substituent effect on the intramolecular hydrogen bonds in di(4-hydroxycoumarin) derivatives. *Intern. J. Quantum Chem.* **106** (6), 1304-1315 (2006).**

70. Casanola-Martin G. M., Y. Marrero-Ponce, M. T. H. Khan, F. Torrens, F. Perez-Gimenez, A. Rescigno. *J. Biomol. Screening* **13** (10), 1014-1024 (2008).
71. Kostova I., N. Trendafilova, V. K. Rastogi, W. Kiefer. *Optoelectr. Advanc. Mater., Rapid Commun.* **1** (10), 534-542 (2007).
72. Kostova I., G. Momekov. *Eur. J. Med. Chem.* **41** (6), 717-726 (2006).
73. Kostova I., G. Momekov. *Eur. J. Med. Chem.* **43** (1), 178-188 (2008).
74. **Kostova I., I. Manolov, G. Momekov, T. Tzanova, M. Karaivanova. Cytotoxic activity of new Cerium(III) complexes of bis-coumarins. *Eur. J. Med. Chem.* **40** (12), 1246-1254 (2005).**
75. Kostova I., G. Momekov, T. Tzanova, M. Karaivanova. *Bioinorg. Chem. & Appl.* 7/1-7/9 (2006).
76. Grussner A. *Jubilee Vol Emil Barell* 238-252 (1946).
77. Klosa J. *Apoth. Zeit.* **4**, 55-56 (1952).
78. Valente E. J., D. S. Eggleston. *Acta Crystallogr., Sect. C: Crystal Structure Commun.* **C45** (5), 785-787 (1989).
79. Nawaz K., M. A. Munawar, M. Siddiq. *J. Chem. Soc. Pakistan* **13** (4), 272-274 (1991).
80. Goncharenko M. P. *J. Org. Chim. (Russ)* **29** (7), 1465-1479 (1993).
81. Hong H., N. Neamati, S. Wang, M. C. Nicklaus, A. Mazumder, H. Zhao, T. R. Jr. Burke, Y. Pommier, G. W. A. Milne. *J. Med. Chem.* **40** (6), 930-936 (1997).
82. Chen Y. L., I. L. Chen, C. H. Chung, P. H. Chen, C. C. Tzeng, C. M. Teng. *Chinese Pharmac. J.* **53** (2), 85-95 (2001).
83. Cravotto G., A. Demetri, G. M. Nano, G. Palmisano, A. Penoni, S. Tagliapietra. *Eur. J. Org. Chem.* **22**, 4438-4444 (2003).
84. Cravotto G., G. M. Nano, G. Palmisano, S. Tagliapietra. *Synthesis* **8**, 1286-1291 (2003).
85. Trendafilova N., G. Bauer, T. Mihaylov. *Chem. Phys.* **302** (1-3), 95-104 (2004).
86. **Trendafilova N., I. Kostova, I. Manolov, G. Bauer, T. Mihaylov, I. Georgieva. Synthesis and Spectroscopic Study of a New Lanthanum(III) Complex of 3,3-Benzylidenedi-4-hydroxycoumarin. *Synth.&React. Inorg. Metal-Org. Chem.* **34** (9), 1635-1650 (2004).**
87. Dong S.-Y., J. Li, H. T.-L. Gaoeng. *Xuexiao Huaxue Xuebao* **30** (8), 1516-1521 (2009).

88. **Manolov I., S. Raleva, P. Genova, A. Savov, L. Froloshka, D. Dundarova, R. Argirova. Antihuman immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) activity of rare earth metal complexes of 4-hydroxycoumarins in cell culture. *Bioinorg. Chem. & Appl.* **4/1-4/7** (2006).**
89. Trendafilova N., I. Kostova, V. K. Rastogi, I. Georgieva, G. Bauer, W. Kiefer. *J. Raman Spectrosc.* **37** (8), 808-815 (2006).
90. Kostova I., M. Traykova. *Med. Chem.* **2** (5), 463-470 (2006).
91. Hamdi N., C. Lidriss, M. Saoud, M. Boulaid, A. Romerosa, A. Khemiss, H.Zarrouk. *J. Soc. Argentine Chim.* **16** (1), 119-125 (2006).
92. Klosa J. *Arch. Pharm.* **285**, 327-332 (1952).
93. Eckstein M., A. Kocwa, H. Pazdro. *Rocz. Chem.* **32**, 801-811 (1958).
94. Mitra A. K., A. De, N. Karchaudhuri, S. K. Misra, A. K. Mukhopadhyay. *J. Indian Chem. Soc.* **75** (9), 526-528 (1998).
95. Mitra A. K., A. De, N. Karchaudhuri, S. K. Misra, A. K. Mukhopadhyay. *J. Indian Chem. Soc.* **75** (10-12), 666-671 (1998).
96. Khan K. M., S. Iqbal, M. A. Lodhi, G. M. Maharvi, M. I. Zia-Ullah Choudhary, Atta-Ur-Rahman, S. Perveen. *Bioorg & Med. Chem.*, **12** (8), 1963-1968 (2004).
97. Medic-Saric M., A. Mornar, T. Badovinac-Crnjevic, I. Jasprica. *Croat. Chem. Acta* **77** (1-2), 367-370 (2004).
98. **Raleva S., A. Savov, L. Froloshka, D. Dundarova, I. Manolov, R. Argirova. Examination for anti human immunodeficiency virus – type 1 (HIV-1). Effect of three 4-hydroxycoumarin (4-hc) derivatives. *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.* **19** (2), 11-17 (2005).**
99. Hagiwara H., N. Fujimoto, T. Suzuki, M. Ando. *Heterocycles* **53** (3), 549-552 (2000).
100. Matache M., C. Dobrota, N. D. Bogdan, I. Dimitru, L. L. Ruta, C. C. Paraschivesku, I. C. Farcasanu, I. Baciuc, D. P. Funeriu. *Tetrahedron*, **65** (31), 5949-5957 (2009).
101. Khan K. M., S. Iqbal, M. A. Lodhi, G. M. Maharvi, S. Perveen, M. I. Choudhary, Atta-Ur-Rahman, Z. H. Chohan, C. T. Supuran. *J. Enzyme Inhibition Med. Chem.*, **19** (4), 367-371 (2004).
102. Fuskova A., B. Proksa, J. Fuska. *Pharmazie* **32** (5), 291-293 (1977).
103. Desnoyers P., K. Binovic. *Therapie* **22** (1), 207-218 (1967).

104. Perola E., K. Xu, T. M. Kollmeyer, S. H. Kaufmann, F. G. Prendergast, Y. P. Pang. *J. Med. Chem.* **43** (3), 401-408 (2000).
105. Griffith R., R. Chanphen, S. P. Leach, P. A. Keller. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **12** (4), 539-542 (2002).
106. Keller P. A., C. Birch, S. P. Leach, D. Tyssen, R. Griffith. *J. Mol. Graph. & Model.* **21** (5), 365-373 (2003).
107. **Manolov I., M. Strobele, H.-J. Meyer. Crystal structure of 4-hydroxy-3-[(2-oxo-2H-chromen-3-yl)-(3,4,5-trimethoxyphenyl)methyl]chromen-2-one. *Anal. Sci.:X-ray structure Analysis online* **24** (7), x135 (2008).**
108. **Genova P., D. Dundarova, S. Raleva, R. Argirova, I. Manolov. Comparative cytotoxicity of some novel synthesized 4-hydroxycoumarin (4-hc) derivatives against tumor and nontumor cell lines. *Farmacya (Sofia)*, **LII** (1-2), 74-76 (2005).**
109. *ChemStar Product List*, 09.03.2005 г.
110. **Иванова Е. С. Дипл. Работа, Фарм. Ф-т, МУ-София, 2004.**
111. **Stanchev S., C. Maichle-Moessmer, I. Manolov. Synthesis, Structure and Acid-Base Behaviour of Some 4-Hydroxycoumarin Derivatives. *Z. Naturforsch.* **62b**, 737-741 (2007).**
112. Dezelic M., M. Trkovnik. *Croat. Chem. Acta* **33**, 209-217 (1961).
113. Dezelic M., M. Trkovnik, M. Zovko. *Glasnik Hemicara Technol. Bosne Hercegovine* **12**, 17-44 (1963).
114. Dezelic M., M. Trkovnik. *J. Med. Chem.* **7**(3), 284-288 (1964).
115. Falbe J., H. J. Schulze-Steinen, F. Korte. *Ber.* **97** (4), 1096-1103 (1964).
116. Eiden F., W. Luft. *Arch. Pharm.* **307** (4), 257-263 (1974).
117. Ason B., D. J. Knauss, A. M. Balke, G. Merkel, A. M. Skalka, W. S. Reznikoff. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49** (5), 2035-2043 (2005).
118. Ason B. L., W. S. Reznikoff, A. M. Skalka, D. Knauss. *US Appl. US2006035245 A1* 20060216 (2006).
119. Ason B. L., D. Knauss, A. M. Balke, G. Merkel, A. M. Skalka, W. S. Reznikoff. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49** (5), 2035-2043 (2005).
120. Iyer M., A. J. Hopfinger. *J. Chem. Inform. & Model.* **47** (5), 1945-1960 (2007).
121. Yuan H., A. L. Parril. *J. Mol. Graph. & Model.* **23** (4), 317-328 (2005).
122. Manisha I., A. J. Hopfinger. *J. Chem. Inform. & Model.* **47** (5), 1945-1960 (2007).
123. *Interchim Intermediates*, 18.01.2005 г.

124. **Manolov I., C. Maichle-Mössmer. *Unpublished data***
125. **Manolov I., C. Maichle-Mössmer. *Unpublished data***
126. Kidwai M., S. Rastogi, R. Mohan. *Bulletin of the Korean Chem. Soc.* **25** (1), 119-121 (2004).
127. Deschamps-Vallet C., J. Aknin, J. Andrieaux, B. Bodo, D. Molho. *Bull. Mus. Natl. Hist. Nat., Sci. Phys.-Chim.* **3**, 3-12 (1974).
128. Aknin J., C. Deschamps-Vallet, J. Andrieaux, B. Bodo, D. Molho. *Bull. Mus. Natl. Hist. Nat., Sci. Phys.-Chim.* **3**, 13-19 (1974).
129. Covello M., E. Abignente, A. Manna. *Rend. Accad. Sci. Fis. Mat., Naples*, **38**, 259-266 (1971).
130. Brode W. R., J. H. Gould, G. M. Wyman. *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 1856-1859 (1953).
131. Litvan F., G. W. Stoll. *Helv. Chim. Acta* **42**, 878-886 (1959).
132. Riboulleau J., C. Deschamps-Vallet, D. Molho, C. Mentzer. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **8-9**, 3138-3144 (1970).
133. Khan K. Z., K. Tasneem, M. Rahman, S. Prakash, A. Zaman. *Indian J. Chem., Sect. B: Org. Chem. Med. Chem.* **24B**(1), 42-46 (1985).
134. Ivezic Z., M. Trkovnik. *PCT Int. Appl.* (2003) PIXXD2 WO 2003029237 A1 20030410.
135. Mustata G. I., A. Brigo, J. M. Briggs. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **14** (6), 1447-1454 (2004).
136. Kocwa A., M. Eckstein, H. Pazdro. *Pol. Diss. Pharm.* **11**, 243-249 (1959).
137. Andrieux J., J. Aknin, H. Cunha, C. Deschamps-Vallet, M. Molho, H. Normant. *C. R. Acad. Sc. Serie C, Paris*, **271** (10), 426-429 (1970).
138. Dike S. Y., J. R. Merchant. *Tetrahedron Lett.* **38**, 3607-3608 (1978).
139. Tabacovic K., I. Tabacovic, N. Ajdini, O. Leci. *Synthesis*, 308-310 (1987).
140. Wang S., G. W. A. Milne, X. Yan, I. Posey, M. C. Nicklaus, L. Graham, W. G. Rice. *J. Med. Chem.*, **39**, 2047-2054 (1996).
141. Mazumder A., S. Wang, N. Neamati, M. Nicklaus, S. Sunder, J. Chen, G. W.A. Milne, W. G. Rice, T. R. Jr. Burke, Y. Pommier. *J. Med. Chem.* **39** (13), 2472-2481 (1996).
142. Mazumder A., N. Neamati, S. Sunder, J. Schulz, H. Pertz, E. Eich, Y. Pommier. *J. Med. Chem.* **40** (19), 3057-3063 (1997).

143. Carlson H. A., K. M. Masukawa, J. A. McCammon. *J. Phys. Chem. A* **103** (49), 10213-10219 (1999).
144. Carlson H. A., K. M. Masukawa, K. Rubins, F. D. Bushman, W. L. Jorgensen, R. D. Lins, J. M. Briggs, J. A. McCammon. *J. Med. Chem.* **43** (11), 2100-2114 (2000).
145. Liu H., C. Felten, Q. Xue, B. Zhang, P. Jedrzejewski, B. L. Karger, F. Foret. *Anal. Chem.* **72** (14), 3303-3310 (2000).
146. Pazdro H. *Diss. Pharm.* **15** (1), 29-34 (1963).
147. Gran G. *Analyst* **77**, 661-671 (1952).
148. Spargue J. T., J. C. Thai, Y. Yuh, N. L. Allinger. *J. Comp. Chem.* **8**, 581-603(1987).
149. Christian G., D. O'Reilly. *Instrumental analysis*. Sofia University Press, Sofia, 1998.
150. Slater J. C. *Quantum theory of molecules and solids volume 4: selfconsistentfield for molecules and solids*. McGrawHill. New York (1974).
151. **Manolov I., Z. Mladenova, S. Raleva, L. Froloschka, D. Dundarova, R. Argirova.** Newly Synthesized Coumarin-Based Derivatives With Putative Anti-HIV Activity. Screening in Cell Culture (Preliminary Results). *Втори Национален конгрес по Имунология с международно участие, Сборник резюметар постер*, София, България, 30-31 май 2003 г.
152. **Manolov I., Z. Mladenova, S. Raleva, L. Froloschka, D. Dundarova, R. Argirova.** Newly Synthesized Coumarin-Based Derivatives With Putative Anti-HIV Activity. Screening in Cell Culture (Preliminary Results). *Second International Conference "Bacterial, Viral and Parasitic Infections in Human and Veterinary Medicine"*, Republic of Bulgaria, Medical University, Sofia, June 13-15, 2003, Oral Presentation.
153. **Manolov I., S. Raleva, Z. Mladenova, L. Froloschka, D. Dundarova, R. Argirova.** Anti-HIV effect of some newly synthesized 4-hydroxycoumarin derivatives in cell culture (preliminary report). *Abstract 6.11/3, 9th European AIDS Conference (EACS), October 25 – 29, 2003, Warsaw, Poland, Abstract Book, p. 46.*
154. **Manolov I., Z. Mladenova, S. Raleva, L. Froloschka, A. Savov, R. Argirova.** Positional Isomerism Confers Anti-HIV Activity of Some 4-Hydroxycoumarin

- (4-hc) Derivatives in Cell Culture. *XVI International AIDS Conference*, Bangkok, Thailand, July 11-16, 2004.
155. Genova P., D. Dundarova, S. Raleva, R. Argirova, I. Manolov. Comparative cytotoxicity of some novel synthesized 4-hydroxycoumarin (4-hc) derivatives against tumour and nontumour cell lines, PTX-P8, , *Fourth congress of Pharmacy with international participation, poster, Pharmacia (Sofia) 2005, LII, (1-2), 74-76.*
156. Raleva S., P. Genova, D. Dundarova, L. Froloschka, I. Kostova, I. Manolov, R. Argirova. Studies of anti-HIV effect of synthrtic complexes of Lanthanides with 4-hydroxycoumarins in cell culture. *Twenty-first Annual Clinical Virology Symposium and Annual Meeting Pan American Society for Clinical Virology. May 8-11, 2005. Hilton Clearwater Beach Resort, Clearwater Beach, Florida, USA.*
157. Raleva S., A. Iordanova, Y. Gradinarova, A. Savov, R. Gavazova, L. Froloschka, P. Genova, I. Manolov, D. Dundarova, R. Argirova. Study of Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Variants Obtained by Long-Term Passaging in Presence of Newly Synthesized 4-Hydroxycoumarins (4-HC) With Anti-HIV Activity. *Eighth International Congress on Drug Therapy in HIV Infection. Glasgow, UK – 12-16 November 2006 [P 398].*
158. Hazuda D. J., P. Felock, M. Witmer, A. Wolfe et al. *Science*, 646-650 (2000).
159. Prabhakar K. R., V. P. Veerapur, P. Bansal et al. *Bioorg. Med. Chem.* **14**, 7113-7120 (2006).
160. Yordanov N. D. *Appl. Magn. Reson.* **10**, 339-350 (1996).
161. Christie W. W. *Lipid Analysis*. The Oily Press, Bridgwater (England), 208 (2003).
162. Kancheva V. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **111**, 1072-1089 (2009).
163. Kancheva V., L. Saso, P. Boranova et al. Structure-Antioxidant Activity Relationship of Some Dihydroxycoumarins; *5th Indo-Italian Workshop; "Chemistry and Biology of Antioxidants"*, 5-9 July 2009, Rome, Italy, 24.
164. Nishida J., J. Kawabata. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **70**, 193-202 (2006).
165. Torres R., F. Faini, B. Modak, F. Urbina, C. Labbe, J. Guerrero. *Phytochemistry* **67**, 984-987 (2006).
166. Kancheva V. D., D. Dinchev, M. Tsimidou, I. Kostova, N. Nenadis. *Riv. Ital. Delle Sost. Grasse* **84**, 10-19 (2007).

167. Vermerris W., R. Nickolson. *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer, Dordrecht, The Netherlands, 48-61 (2006).
168. **Kancheva V. D., P. Boranova, J. T. Nechev, I. Manolov.** Structure-activity relationships of new 4-hydroxy bis-coumarins as radical scavengers and chain-breaking antioxidants. *Biochimie*, 1-9 (2010). doi:10.1016/j.biochi.2010.02.033.
169. Cadin S. B. *J. Org. Chem.* 31, 620-, 1966.
170. **Еленков И.** Дипл. Работа, Фарм.ф-т, МУ-София, 1991.
171. **Manolov I., N. D. Danchev.** Synthesis, toxicological and pharmacological assessment of some 4-hydroxycoumarin derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 30, 931-935 (1995).
172. Leach A. R. *Molecular modeling – principles and application*, Pearson Prentice Hall, Second Ed., Essex, 2001.
173. Reddy G. J., R. S. Reddy, K. Palavi, K. S. Rao. *Het. Commun.* 10, 93-96 (2004).
174. Cespedes C. L., J. G. Avila, A. Martinez, B. Serrato, J. C. Calderon-Migica, R. Salgado-Garciglia. *J. Agric. Food Chem.* 54, 3521-3527 (2006).
175. Horning E. C., M. G. Horning. *J. Am. Chem. Soc.* 69, 968-969 (1947).
176. Wolfbeis O. S., E. Koller, P. Hognmuth. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 58, 731-734 (1985).
177. Destro R., T. Pilati, M. Simmonetta. *Acta Cryst.* B36, 2495-2497 (1980).
178. Weiss R., E. Merksammer. *Monatsh.* 50, 115-122 (1928).
179. **Stanchev S., A. Penkova, P. Retailleau, G. Avdeev, I. Manolov.** Crystal Structure of 3-Acetyl-6-methoxy-2H-1-benzopyran-2-one. *Anal. Sci., X-ray Structure Analysis Online* 24, x183 (2008).
180. **Станчев С.** Дисертация, Фарм.ф-т, МУ-София, 2008.
181. Ikawa M., M. A. Stahmann, K. P. Link. *J. Am. Chem. Soc.* 66, 902-906 (1944).
182. **Manolov I., C. Maichle- Moessmer, E. Niquet.** Synthesis and Structure of 1-Substituted Benzopyrano-[4',3'-c]benzo[3'',4''-f]-2,8-dioxabicyclo[3.3.1]nonane. *Z. Naturforsch.* 61b, 207-212 (2006).
183. Porter W. R., W. F. Trager. *J. Het. Chem.* 14, 319-320 (1977).
184. Valente E. J., W. R. Porter, W. F. Trager. *J. Med. Chem.* 21, 231- (1978).
185. Jurd L. *J.Het. Chem.* 18 (2), 429-430 (1981).
186. Ruggiero G., E. J. Valente, D. S. Eggleston. *Acta Crystallogr.* C45, 1182 - , (1989).
187. Valente E. J., G. Ruggiero, D. S. Eggleston. *Acta Crystallogr.* C48, 1635- , (1992).
188. Abd El-Rahman A. H., A. M. Khalil, M. A. Hanna. *Chem. Papers* 48, 114-, (1994).

189. Shah A. K., N. S. Bhatt, R. V. Raval, V. M. Thakor. *Science and Culture* **52** (7), 228-229 (1986).
190. Shaterian H. R., M. Honarmand. *Chinese J. Chem.* **27** (9), 1795-1800 (2009).
191. Sangshetti J. N., N. D. Kokare, D. B. Shinde. *Green Chem. Lett. Reviews* **2** (4), 233-235 (2009).
192. Singh P., P. Kumar, A. Katyal, R. Kalra, S. K. Dass, S. Prakash, R. Chandra. *Catalysis Lett.* **134** (3-4), 303-308 (2010).
- 193. Topashka-Ancheva M., M. Markova, I. Manolov. Clastogenic Effect of Some Coumarin Anticoagulants. *Compt. rend. Acad. bulg. Sci.*, **47** (12), 95-98 (1994).**
194. Chmielewska J., D. Ciecierska. *Przemysl Chemiczny* **31** (8), 253-256 (1952).
195. Fedotova O. V., A. Yu. Nikishin, N. M. Goncharenko. *Izvestiya Vysshikh Uchebnykh Zavedenii, Khimiya i Khimicheskaya Tekhnologiya* **50** (11), 14-16 (2007).
196. Zhu Lei, Djaballah Hakim, Li Yueming, Shelton Christopher Chad. PCT Int. Appl. (2010), 210pp. CODEN: PIXXD2 WO 2010075280 A2 20100701 Application: WO 2009-US68989 20091221. Priority: US 2008-139830 20081222; US 2009-255819 20091028. CAN 153:116051 AN 2010:812592 CAPLUS (Copyright (C) 2010 ACS on SciFinder (R)).
197. Heravi M. M., F. Nahavandi, S. Sadjadi, H. A. Oskooie, F. F. Bamoharram. *Synth. Commun.* **40** (4), 498-503 (2010).
198. Zhou J., G. Gong, L. An, X. Sun, F. Zhu. *Youji Huaxue* **29** (12), 1988-1991 (2009).
199. Nolan K. A., Zhao He, P. F. Faulder, A. D. Frenkel, D. J. Timson, D. Siegel, D. Ross, T. R. Jr. Burke, J. Stratford Ian, R. A. Bryce. *J. Med. Chem.* **50** (25), 6316-6325 (2007).
200. Vilar S., L. Santana, E. Uriarte. *J. Med. Chem.* **49** (3), 1118-1124 (2006).
201. Mustata G. I., A. Brigo, J. M. Briggs. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **14** (6), 1447-1454 (2004).
202. Sharma G., R. Altmeyer, V. Pendharker, Y. Chen, M. Foley. *U.S. Pat. Appl. Publ.* US 20100081713 A1 20100401 (2010).
203. Zhou J., G. Gong, L. An, X. Sun, F. Zhu. *Youji Huaxue* **29** (12), 1988-1991 (2009).
204. Liu M., X. J. Cong, P. Li, J. J. Tan, W. Z. Chen, C. X. Wang. *Biopolymers* **91** (9), 700-709 (2009).

205. Gong Gui-Xia, Zhou Jian-Feng, An Li-Tao, Duan Xiu-Li, Ji Shun-Jun
Synth. Commun. **39** (3), 497-505 (2009).
206. Hamdi N., M. C. Puerta, P. Valerga. *Eur. J. Med. Chem.* **43** (11), 2541-2548
(2008).
207. Nunthaboot N., S. Tonmunphean, V. Parasuk, P. Wolschann, S. Kokpol. *Eur. J.
Med. Chem.* **41** (12), 1359-1372 (2006).
208. Završnik D., S. Muratovic, S. Spirtovic, M. Medic-Saric. *Pharmacia (Sarajevo,
Bosnia and Herzegovina)* **15**, 29-44 (2004).
209. Yuan H., A. L. Parrill. *Bioorg. Med. Chem.* **10** (12), 4169-4183 (2002).
210. Arora R. B., N. R. Krishnaswamy, T. R. Seshadri, S. D. S. Seth, B. R. Sharma.
J. Med. Chem. **10** (1), 121-124 (1967).

***IV. Синтез, структура и
фармакологична активност на
комплексни съединения на
кумаринови производни***

IV.1. Комплексни съединения и комплексообразуване

Електронодонорните свойства на молекулата на кумарина се обуславят от наличието на два кислородни атома в лактонния пръстен и ароматна π -електронна система, които са способни да образуват координационни връзки с метални йони. Литературни данни показват монодентатна координация на кумарина с металния йон, която се осъществява чрез кислородния атом от лактонната карбонилна група, най-добрият донорен център в молекулата.

При 4-метил-7-хидроксикумарина се появява допълнителен донорен център – хидроксилната група на седма позиция, която при депротониране може да образува йонна координационна връзка с метала. Това е възможно, когато в близост с нея на осма или шеста позиция има заместител с подобни свойства. Осем- и шест-заместените производни на 4-метил-7-хидроксикумарина са лиганди, при които координацията с металния йон се осъществява чрез донорните центрове на 8- и 7- или на 6- и 7-позиции в кумариновата структура.

7,8- и 6,7-Дихидроксикумарините и техните производни се използват като лиганди. Литературните данни за синтез на техни комплексни съединения са оскъдни и са свързани с търсенето на биологична активност. Много често тези съединения се използват и в аналитичната химия поради образуването на цветни или малкоразтворими комплекси с метални катиони, прилагачи се като чувствителни качествени реакции [1-6].

Комплекси на преходни метали с хидрокси- и дихидроксикумарини и техните антибактериални свойства се описват в работа на Shebaldova [7].

Литературните данни относно синтеза и охарактеризирането на комплексни съединения са предимно за производни на 4-метил-7-хидроксикумарин [8-11].

Наблюдавана е зависимост между строежа на кумарините и спазмолитичното им действие. Установено е, че то е свързано с положението и броя на заместителите, особено тези при С6 и С7. Напр. 7-хидроксикумаринът е по-активен от кумарина, а неговият ацетат двукратно превъзхожда по активност хидроксикумарина. Наличието на втора хидроксилна група при С6 съществено изменя спазмолитичната активност. Има данни за спазмолитичното действие на кумарини [12,13], но липсват данни за изследвания на спазмолитична активност при техни комплексни съединения.

Разнообразните биологични свойства на 4-хидроксикумарините обуславят интереса към тяхното използване като лиганди за синтез на комплексни съединения. Тези комплексни съединения намират приложение в аналитичната практика. Липсват данни за фармакологичното действие. Получени са комплексни съединения с метали от групата на d- и f-елементите. Най-често като лиганди са използвани производни на 4-хидроксикумарина, заместени на трета позиция, предвид близкото разположение на донорните центрове в изходните лиганди [14].

Показано е, че 3-амино-4-хидроксикумаринът участва в координация с азотния атом от аминогрупата и кислородния атом от депротонираната енолна група, а 3-нитро-4-хидроксикумаринът се координира с кислородния атом от нитрогрупата и лактонния карбонилен кислороден атом. Двата лиганда и техните комплекси са изследвани за фунгицидно и бактерицидно действие. Комплексите на мед и никел проявяват значителна фунгицидна и антибактериална активност, по-висока от тази на лигандите [15]

Синтезирани са лантаноидни комплекси на бис-(4-хидрокси-3-кумаринил)-оцетна киселина със състав $M_2L_3 \cdot 10H_2O$ и е изследвано антикоагулантното им действие [16]. Металните йони заместват двата водородни атома от хидроксилните групи и се свързват с кислородния атом от карбонилната група на бензопирановия пръстен. Електронните спектри показват, че връзката лантаноид-лиганд има в известна степен ковалентен характер, като участието на 4f-орбиталите е незначително. Лантаноидните комплекси проявяват антикоагулантно действие, най-силно изразено при комплекса на лантана.

Литературният преглед относно синтеза на комплексни съединения на производни на 4-хидроксикумарина показва, че независимо от широкото им приложение в клиничната практика като антикоагуланти, те не са използвани като лиганди. Проявата на антикоагулантна активност при лигандите е достатъчно основание да се търси подобно действие и при техните комплексни съединения [17-23].

Независимо от факта, че в литературата липсват данни за синтез на комплексни съединения на Warfarin, Coumachlor и др. антикоагуланти, синтезирането на такива съединения и изследването на фармакологичната им активност заслужава внимание.

Кумаринът е в монодентатна координация с металния йон чрез кислородния атом от лактонната карбонилна група. В 3-амино-, 3-хидрокси- и 3-

карбоксикумарина, благодарение на наличието на съответните функционални групи, се появява допълнителен донорен център, който може да образува връзки с металния йон. 3-Заместените кумарини представляват полидентатна циклична система, която съдържа няколко потенциални донорни атоми, способни да се конкурират при координация с метала. Доказано е, че твърдите Люисови киселини (SnCl_4 , TiCl_4 , AlCl_3 и FeCl_3) се координират с лактонната карбонилна група на кумарините, заместени на трето място. 3-Аминокумаринът взаимодейства със соли на платиновите метали. При еднаква стерична достъпност на координационните центрове Pt(II) и Pd(II) като меки киселини се координират предимно с по-мекия донорен азотен атом от аминогрупата. Аналогично се проявяват и заемащите междинно място киселини – йоните Co(II), Rh(I) и Rh(III). Относно взаимодействието на 3-хидроксикумарина и 3-карбоксикумарина със солите на преходните метали Ni(II), Co(II), Pd(II), Rh(III), Ru(IV), причислявани към меките и междинни киселини, се наблюдава депротониране на хидроксилната и карбоксилната групи на лигандите, при което металът се координира както с кислородния атом от депротонираната функционална група, така и с кислородния атом от карбонилната група.

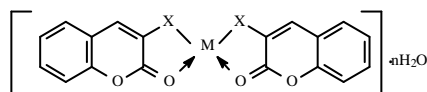
Това е теоретичната обосновка на връзката метал-лиганд, съобразно свойствата на комплексообразувателя и донорите в лиганда и класифицирането им към твърдите или меки киселини или основи.

Един от често използваните лиганди от групата на 3-заместените кумарини е 3-хидроксикумаринът.

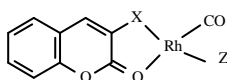
Спектрофотометрично са изследвани реакциите на комплексообразуване на Fe(III) и UO_2^+ с 3-хидроксикумарин [24, 25]. Образува се комплекс на Fe(III) със стехиометрия 1:1. 3-Хидроксикумаринът е използван като индикатор при комплексонометрично определяне на железни йони чрез титруване с ЕДТА при $\text{pH} = 1.0 - 3.6$. Реакцията на 3-хидроксикумарин (HL) с UO_2^+ води до образуването на два комплекса UO_2L^+ и UO_2L_2 при различни стойности на pH.

Ryzenko [26] съобщава за комплекси на преходните метали с 3-хидроксикумарин и 3-карбоксикумарин. Комплексите с обща формула $\text{ML}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (HL = 3-хидроксикумарин; M = Cu, n = 3; M = Ni, n = 2; M = Pd, n = 1) са получени при смесване на 3-хидроксикумарин с меден сулфат, никелов динитрат и паладиев дихлорид. Аналогично са получени и комплексите с обща формула $\text{ML}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (HL = 3-карбоксикумарин; M = Cu, n = 3; M = Ni, n = 2; M = Pd, n = 1.5). При обработване

на 3-хидроксикумарин и 3-карбоксикумарин с $[\text{Rh}(\text{CO})_2\text{Cl}]_2$ се получава комплекс **1** ($X = \text{хидрокси-}; \text{ карбокси-}; z = \text{CO}$), а при третиране с $\text{Rh}(\text{CO})(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{Cl}$ се получава аналогичен комплекс **2** ($z = \text{Ph}_3\text{P}$):

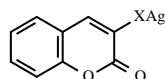


1



2

Сребърният комплекс има вида ($X = \text{хидрокси-}, \text{ карбокси-}$):



3-Хидроксикумарин и 3-карбоксикумарин се използват като лиганди като натриеви соли.

Комплекси на металите от платиновата група с 3-хидроксикумарин (HL) и 3-карбоксикумарин (HL') са получени при смесване на алкохолни разтвори на $\text{RhCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ и посочените лиганди, $\text{pH} \approx 10$ [27]. Продуктите са $\text{RhLCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ и $\text{RhL}'\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. При прибавяне на воден разтвор на K_2PtCl_4 към воден разтвор на HL или HL' и $\text{pH} = 10$ се получават комплексите $\text{K}_2[\text{PtLCl}_3] \cdot \text{H}_2\text{O}$ $\text{K}_2[\text{PtL}'\text{Cl}_3] \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$. Комплексните съединения на Rh(III) и Pt(II) се получават само в алкална среда. Образуване на комплекси в неутрална и слабо кисела среда с тези метали не е осъществено. Получени са и паладиеви комплекси със същите лиганди, които имат състав $\text{PdL}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ и $\text{PdL}'_2 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$. Образува се донорно-акцепторна връзка на метала с лактонната карбонилна група. Връзка с карбонилната група не се образува в платиновите комплекси.

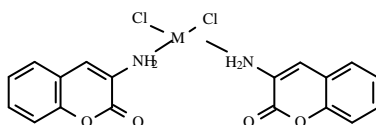
Получени и описани са комплексни съединения на рутений с 3-хидроксикумарин (HL) и 3-карбоксикумарин (HL'). Те имат обща формула $\text{Ru}(\text{OH})\text{ClL}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ и се получават от $\text{Ru}(\text{OH})\text{Cl}_3$ и лиганда в етанол или вода. Независимо от молното съотношение на изходните реагенти винаги се осъществява заместване на два атома хлор от $\text{Ru}(\text{OH})\text{Cl}_3$ с депротонирания остатък от лигандите [28].

Получени са комплекси на Co(II), Ni(II) и Fe(III) с 3-карбоксикумарин. Комплексите имат състав $\text{CoLCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{NiLCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $\text{FeLCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Доказана е координационната връзка на лиганда с металите, която се осъществява с кислородния атом от карбонилната група [29].

Описани са синтезът и свойствата на комплекси на 3-карбоксикумарин с Cu(II), Zn(II), Mn(II) [30]. Комплексите имат състав MLCl_2 . Лигандът е бидентатен и участва в координационни връзки чрез кислородните атоми от карбонилните си групи.

Синтезирани са комплекси със състав $\text{Ln}(\text{L})_2\text{X}_n\text{S}$ и $\text{Ln}(\text{L})\text{X}_2 \cdot n\text{S}$ [$\text{Ln} = \text{Sm}, \text{Eu}, \text{Gd}, \text{Tl}, \text{Dy}$; $\text{HL} = 3\text{-карбоксикумарин}$; $\text{X} = \text{Cl}^-, \text{ClO}_4^-, \text{NO}_3^-$; $\text{S} = \text{разтворител}$]. Получени са при взаимодействие на лиганда със съответните соли на лантаноидите в различни стехиометрични отношения в н-бутанол. Изследвани са флуоресцентните свойства на посочените по-горе лантаноидни комплекси [31, 32].

Получени са комплекси на 3-аминокумарин с метали от платиновата група, които показват антибактериална активност [33]. Комплексите имат състав ML_2Cl_2 [$\text{M} = \text{Pt}, \text{Pd}$].



Със същия лиганд са синтезирани комплексни съединения с Pt и Pd с обща формула $\text{cis-ML}_2\text{X}_2$. $\text{X} = \text{Cl}^-, \text{Br}^-, \text{I}^-, \text{NO}_2^-, \text{SCN}^-$. Лигандът участва в координация с метала чрез азотния атом от аминогрупата. Металът е свързан във вътрешната координационна сфера с посочените аниони [34]. Сравняването на рентгенограмите на получените комплекси с тези на лиганда и на съответните соли показва образуването на нови вещества. Изследвана е антибактериалната и антимикробната активност на посочените комплекси. Всички те показват значителна антибактериална активност.

Синтезирани са комплекси на 3-аминокумарин (L), 3-хидроксикумарин (HL') или 3-карбоксикумарин (HL') с калай (IV) и желязо (III) с обща формула SnL_2Cl_4 и $\text{FeL}'_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. В комплексите $\text{FeL}'_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ кумарините са бидентатни като координацията се осъществява с карбонилния кислороден атом и депротонираната хидроксилна или карбоксилна група [35].

Изследвани са комплексни съединения на Co(II) и Ni(II) с 3-бензимидазолкумарин. Съединенията са със състав ML_2X_2 . Доказано е, че лигандът

е бидентатен и участва в координационни връзки с металите чрез азотния атом от бензимидазоловия фрагмент и хетероцикличния кислороден атом от кумариновия фрагмент [36].

Синтезирани и описани са мед-съдържащи координационни съединения на 3-(бензимидазол-2-ил)- и 3-(N-метилбензимидазол-2-ил)кумарин. Комплексите са със състав CuL_2X_2 [37].

Описани са комплекси на Fe(II) с 1-бензил-2-фенилбензимидазол и 2-кумаринилбензимидазол. Хлоридните, бромидните, йодидните и тиоцианатните комплекси имат обща формула FeL_2X_2 . Перхлоратният комплекс на 2-кумаринилбензимидазол има състав $[\text{FeL}_3][\text{ClO}_4]_2$. Комплексът е електролит в нитробензен и метанол. Останалите комплекси се проявяват като неелектролити. Показано е, че 2-кумаринилбензимидазол има два координационни центъра, а именно азотния атом и карбонилната група на лиганда [38].

Установена е противоязвена активност на комплексни съединения с формула $[\text{L}_2\text{Cu(II)Im}_2]$, $[\text{LCu(II)Im}_2]$, $\text{K}_2[\text{L}_2\text{Zn(II)Im}_2]$, $[\text{LZn(II)Im}_2]$, където L е 2-оксо-2Н-бензопиран-3-карбоксилна киселина или 3,3'-метилен-бис-(4-хидроксикумарин), а Im е вода или имидазол [39].

Синтезирана е поредица комплексни съединения на йони на преходните метали (Fe, Mn, Ni, Co, Cu) с някои кумаринови производни, включително 3-хидроксикумарин, 3-аминокумарин, етил-3-кумаринкарбоксилат и 3-цианокумарин [40]. Синтезирани са комплексни съединения на Ru(II) с пиридин-свързани кумарини. Намерено е, че те проявяват повишена светлинна абсорбция [41].

Получени са комплексни съединения на Cu(II), Co(II) и Ni(II) с трет. бутилкумаринови производни. Установено е, че процесът на координиране е ендотермичен. Изследваните съединения са полупроводници [42].

Синтезирани са лантаноидни комплекси с 2-(3-кумаринилтиоацетил)-бензимидазол със състав $[\text{ML}(\text{NO}_3)_3].3\text{EtOH}$, където M = La(III), Sm(III), Gd(III), Dy(III), Y(III) и $[\text{M}'\text{LCl}_3].2\text{H}_2\text{O}$, където M' = Nd(III), Ce(III), Pr(III). Лигандът участва в координацията с лактонната карбонилна група, 3-кетогрупата и с азотния атом от азометиновата група [43].

Проведено е потенциометрично и спектрофотометрично изследване на комплексообразувателния процес на UO_2^{2+} с кумаринови производни в 70 % воден разтвор на диоксан [44]. Като лиганди са използвани 6-етил-4-метил-7-хидроксикумарин, 3-хлоро-4-метил-7-хидроксикумарин и 4,6-диметил-7-хидрокси-

кумарин. Определени са константите на протониране на лигандите (pK) и стабилитетните константи на комплексите ($\log K$). Разликата в стойностите на pK и $\log K$ при различните лиганди и комплекси се дължи на ефекта на заместителите.

Описани са структурни изследвания на бис-координационни съединения на $Cu(II)$, $Co(II)$ и $Ni(II)$ със 7-хидрокси-4-фенил-6-(α -нафтиламинометил)кумарин ($L'H$) и 4-нитрозо-1-хидрокси-2-нафтолова киселина ($L''H$) [45]. Аналитичните данни показват 1: 1: 1 (M - $L'H$ - $L''H$) стехиометричен състав. Данните за електропроводимост в диметилформаид при концентрация 10^{-3} M показват неелектролитната природа на координационните съединения. Термогравиметричните изследвания показват наличието на координирана вода в $Co(II)$ и $Ni(II)$ комплексите.

Изследвана е стабилността на железни, манганови и медни комплекси с поредица съединения, включително и кумаринова киселина. Определени са стабилитетните константи на съединенията чрез потенциометрични измервания [46].

Описани са UV-спектрите на 4-арилоксиметил-, 4-ариламинометил-, 4-тиофеноксиметилкумарини в полярни и неполярни разтворители. UV-спектрите показват, че прибавянето на сребърен нитрат към кумарините в полярни разтворители води до комплексообразуване [47]. Описан е синтезът на (7-метоксикумарин-4-ил)метил естери в присъствие на дисребърен оксид [48]. Изследвани са флуоресцентните им свойства и са сравнени със силно флуоресциращия 4-хидроксиметил-7-метоксикумарин.

Изследвани са ефектите на двувалентни йони върху флуоресценцията на 3-(4-малеимидил)-4-метил-7-(диетиламино)-кумаринови производни [49]. Описани са хелати на двувалентни катиони като $Zn(II)$ [50] и $Cu(II)$ [51] с кумаринови производни. Съобщава се за бихромофорни кумарини, които свързват $Pb(II)$ в ацетонитрил и в пропиленкарбонат [52]. Посочени са промените във фотофизичните им свойства. Комплекси на Na^+ , K^+ и Pb^{2+} с бискумаринови молекули показват катион зависими изменения на интензивността на абсорбцията във флуоресцентните си спектри, дължащи се на комплексообразователни процеси [53].

Синтезирани са комплекси на рутений, осмий и желязо с кумаринови производни с приложение във фотохимията [54, 55]. С подобни свойства са и синтезираните комплекси на $Pt(IV)$ с кумаринови лиганди [56]. Комплексите са силно флуоресциращи в разтвор при стайна температура [57]. Съобщава се за

луминесцентни състави, съдържащи метални комплекси на органични лиганди, включително и кумарин с флуоресцентни свойства [58].

Луминесцентни свойства на лантаноидни комплекси на кумарини описват Selvin et al. [59]. Използвани са 7-амино-4-метил-2-кумарин и 7-амино-4-трифлуорометил-2-кумарин, аминометилтриметилпсорален. Лигандите са с висок афинитет към лантаноидите, и най-вече към тербий и европий. Хелатите могат да се образуват по различен начин, при което се получават съединения за диагностични и терапевтични цели. Сравнени са луминесцентните свойства на лантаноидни комплекси на 7-амино-4-трифлуорометил-2-кумарин с тези на 7-амино-4-трифлуорометил-2-(1H)-хинолин [60].

Изследвани са флуоресцентните свойства на комплекси на тербий и европий с 7-амино-4-метил-2-кумарин [61]. Интензивността на флуоресценцията на комплексите на тербий и европий се увеличава като резултат от чувствителността на абсорбцията на 7-амино-4-метил-2-кумарин при 344 nm. Съобщава се за приложението на кумаринови координационни съединения в светочувствителни слънчеви клетки, отличаващи се с висока стабилност [62]. Описано е и използването на комплексни съединения на кумарини за оптични цели [63, 64]. Представени са основните класове флуоресцентни молекулни сензори за разпознаване на катиони [65]. Класифицирането е направено според структурата на комплексообразователната част на молекулата – хелати, краунетери и т.н. Лантаноидните хелати (Eu^{2+} , Tb^{2+} и др.) с UV-абсорбиращи кумаринови лиганди, проявяващи луминесцентни свойства, намират широко приложение в биохимията [66-68].

Ново в съвременната координационна химия е синтезирането и установяването на комплексообразователните свойства на краунетерите. Синтезирани са кумаринови краунетери и е изследвана способността им да образуват комплексни съединения [69]. Използвани са азакраунетери за синтез на кумаринови производни. Комплексообразователните им свойства с медни, никелови, цинкови и оловни йони са изследвани в ацетонитрил и метанол [70], както и йони на алкални и алкалоземни метали [71]. Високите стабилитетни константи на комплексите се дължат на участието на карбонилната група от кумарина в координация с метала, както и на спрегнението на азотния атом от азакраунетера с π -електронната система.

Фотофизичните свойства и възможностите за комплексообразуване на флуоройонофори, съдържащи кумаринови фрагменти, свързани с дибензо-16-краун-

5 и трибензо-19-краун-6 са изследвани в ацетонитрил и етанол [72, 73]. Доказано е, че карбонилната група от кумариновата структура образува химична връзка със съответния катион. Чувствителността на съединенията към алкалните и алкалоземните метални катиони се оказва значително висока. Доказано е, че в ацетонитрил чувствителността към Ca^{2+} в сравнение с Mg^{2+} е по-висока. 4-Н-, 4-метил- и 4-фенил-1-бензопиран-2-он производните на [18]краун-6 [74] и на [12]краун-4 и [15]краун-5 [75] са синтезирани от 6,7- и 7,8-дихидрокси-1-бензопиран-2-он при взаимодействие с дихлорополиетиленгликоли в калиев карбонат – диметилформамид – вода. Описани са синтезът и спектралните свойства на 6,7-диметокси-4-метенкумаринмоноаза-[18]краун-6 [76]. Доказани са флуоресцентните им свойства.

На основа на литературните данни може да се обоснове търсенето на антиоксидантни свойства в групата на кумарина. Особено перспективно е това при комплексните съединения с йони на преходните биогенни метали.

Сравнени са антиоксидантните свойства на флавоноиди и кумарини [77]. Доказано е, че антиоксидантната активност и при двата класа съединения се дължи на металохелатните комплекси, които се образуват с Fe(II) и Fe(III). Наличието на фенолни хидроксилни групи в тяхната структура повишава активността им, докато метоксигрупите намаляват антиоксидантния ефект. Съобщава се за антиоксидантна и антирадикалова активност на комплексни съединения на медта [78]. Антиоксидантният потенциал на медните хелати е изследван чрез метода на желязоиндуцирана хемилуминесценция. Комплексите могат да бъдат предложени като потенциални антиоксиданти. Изследван е и механизмът на действие на кумаринови производни с антиоксидантни свойства [79-81].

Литературните данни, отнасящи се до противотуморната активност, са изключително за кумарини, но не и за техни комплексни съединения. Проявата на такъв тип активност у самите кумарини е достатъчно основание да се търси подобно действие и при техните комплексни съединения [82-96].

Анализът на литературните данни относно методите за синтез, охарактеризирането на комплексни съединения на кумарини и фармакологичното им действие очертава и нашата изследователска работа:

- Липсват данни за синтез на комплексни съединения на 4-метил-7-хидроксикумарин с лантаноиди;

- Не са синтезирани и описани комплексни съединения на кумаринови производни с клинично приложение (Acenocoumarol, Warfarin и Coumachlor);
- Практически липсват данни за използване на натриеви соли на хидроксикумарини при синтез на комплексни съединения;
- Най-широко използваните методи за охарактеризиране на комплексните съединения са елементарен анализ и термогравиметрия. Металът най-често е определян като оксид. Използвани са спектрални методи, като липсват данни за прилагане на ^1H - и ^{13}C NMR-спектроскопия, мас-спектрометрия, рентгеноструктурен анализ и др.;
- Получаването на комплексни съединения с кумарини не е било с оглед установяване на биологично действие. Липсват данни за изследване на спазмолитична и противотуморна активност, както и антикоагулантно действие. Малко познатите и интересни лантаноиди и техните комплекси с кумарини не са били обект на фармакологични проучвания.

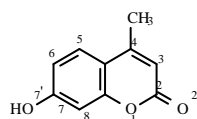
Целта на тази част от нашата изследователска дейност се базира на следното:

- От литературата е известно, че кумарините проявяват възможности на добри лиганди с наличието на донорни центрове в молекулите си.
- Металите от групата на лантаноидите са перспективни комплексообразуватели от химична гледна точка, а от биологична гледна точка са недостатъчно изследвани. Срещат се оскъдни данни за проява на противотуморен ефект, което представлява интерес и заслужава да бъде проучено.

Търсенето на подходящ метод за синтез на комплексните съединения на използваните хидроксикумарини премина през няколко етапа. Първоначалните опити да бъдат синтезирани комплексите, изхождайки от Н-формите на лигандите бяха неуспешни. Мендиаксон, Acenocoumarol, Warfarin и Coumachlor са неразтворими във вода, което налага провеждането на експеримента в органичен разтворител (напр. етанол). Прибавянето на неорганичната сол към разтвора на лиганда предизвиква изсолване. Липсват литературни данни за използване на алкални соли на хидроксикумарини за синтез на комплексни съединения. Това даде основание да направим опит за използване на натриевите соли на лигандите, което

позволява комплексообразването да се осъществи във водна среда. Не се налага добавянето на реактиви за коригиране на рН, както и използване на излишък от лиганда. Независимо от различните стехиометрични съотношения на лиганд и неорганична сол, се получаваше един продукт.

IV.2. Синтез и анализ на комплексни съединения на 4-метил-7-хидроксикумарин (Мендиаксон) с лантаноиди (церий, лантан и неодим) и с йоните на някои преходни биогенни метали



Комплексните съединения на Мендиаксон с йоните на церий, лантан и неодим са получени при смесване на водни разтвори на съответната сол и натриевата сол на Мендиаксон в съотношение метал:лиганд 1:3 [97]. Комплексните съединения на Мендиаксон с йоните на мед, цинк, никел, кобалт и желязо са получени при смесване на водни разтвори на съответната сол и натриевата сол на Мендиаксон в съотношение метал:лиганд 1:2 [98]. При смесване на водните разтвори се отделят утайки. Комплексните съединения на лантаноидите представляват дребнокристални вещества, които са високотопими и са неелектролити. Разтварят се в диметилсулфоксид, ограничено в етанол и ацетон и са неразтворими във вода.

Таблица 1. Елементен анализ, т.т. и кондуктометрични данни за комплекси на Мендиаксон с лантаноиди

| Комплекс % | т.т., °C | λ $\mu\text{S}/\text{cm}$ | добив % | данни от елементния анализ, | | | |
|--|----------|--------------------------------------|------------|-----------------------------|------|-------|------------------|
| | | | | изчислено/намерено | | | |
| | | | | C | H | Metal | H ₂ O |
| Ce(HL) ₂ (OH).5H ₂ O | 162-164 | 2.11 | 81 | 40.20 | 4.19 | 23.45 | 15.07 |
| | | | | 39.71 | 3.77 | 24.80 | 15.00 |
| La(HL) ₃ .6 H ₂ O | 250-253 | 2.12 | 83 | 46.63 | 4.27 | 18.00 | 13.99 |
| | | | | 46.98 | 3.75 | 19.50 | 14.40 |
| Nd(HL) ₃ .6 H ₂ O | 250-252 | 2.12 | 94 | 46.33 | 4.25 | 18.53 | 13.89 |
| | | | | 46.34 | 3.94 | 20.00 | 14.00 |

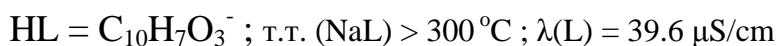
HL = C₁₀H₇O₃⁻; т.т. (NaL) > 300 °C; λ = 39.6 $\mu\text{S}/\text{cm}$

Координационните съединения са анализирани за съдържание на метал (термогравиметрично, по твърдия остатък при елементния анализ, както и с помощта на рентгенофлуоресцентния метод), определяне на въглерод и водород (елементен анализ), вода (метод на Карл-Фишер и термогравиметрично). Наличието на натрий се проверява чрез пламъкова фотометрия.

Синтезираните комплексни съединения с йоните на биогенните елементи мед, цинк, никел, кобалт и желязо представляват дребнокристални вещества с характерно оцветяване. Съединенията са разтворими в диметилсулфоксид.

Таблица 2. Елементен анализ, т.т. и кондуктометрични данни за комплекси на Мендиаксон с йоните на биогенни елементи

| Комплекс (цвет) | т.т., °C | λ $\mu\text{S}/\text{cm}$ | добив % | данни от елементния анализ, % изчислено/намерено | | | |
|--|----------|--------------------------------------|------------|---|--------------|----------------|------------------|
| | | | | C | H | Metal | H ₂ O |
| Cu(HL) ₂ .4 H ₂ O (зелен) | 163-165 | 2.12 | 87 | 49.48 50.10 | 4.53 4.07 | 12.99 14.61 | 14.84 15.25 |
| Zn(HL) ₂ .2 H ₂ O (безцветен) | 285-288 | 2.33 | 92 | 53.21 52.61 | 3.99 3.80 | 14.41 15.84 | 7.98 7.50 |
| Ni(HL) ₂ .3 H ₂ O (зелен) | 250-253 | 2.14 | 73 | 51.95 52.16 | 4.33 3.93 | 12.70 12.30 | 11.69 11.30 |
| Co(HL) ₂ .4 H ₂ O (тъмно сив) | 169-172 | 2.70 | 85 | 49.89 49.75 | 4.57 4.62 | 12.26 12.63 | 14.97 15.00 |
| Fe(HL) ₃ .5 H ₂ O (кафяв) | 155-157 | 1.98 | 79 | 53.65 53.64 | 4.62 4.69 | 8.34 7.15 | 13.41 13.00 |



Съдържанието на метал в комплексните съединения е определено термогравиметрично, по твърдия остатък от елементния анализ и чрез рентгенофлуоресцентен метод.

IV.2.1. Термогравиметричен анализ

Таблица 3. Данни от термогравиметричния анализ за комплекси на Мендиаксон с лантаноиди

| Изследвано съединение | Термичен ефект | t, °C | Δm (Δm _{изчисл.}), % |
|--|----------------|---------------|--------------------------------|
| C ₁₀ H ₇ O ₃ Na | Endo | 140; 180 | 7.0; 8.0 |
| | Exo | 355; 420; 475 | 10.5; 30.5; 40.0 |
| | Endo | 618; 86 | 50.0; 75.0 |
| Ce(HL) ₂ (OH).5H ₂ O | Endo | 120; 360 | 6.50 (6.03); 18.40 (17.92) |
| | Exo | 540 | 50.0 |
| | Endo | 900 | 71.0 |
| Ne(HL) ₃ .6H ₂ O | Endo | 110; 215 | 7.00 (6.95); 14.00 (13.89) |
| | Exo | 500 | 50.0 |
| | Endo | 900 | 77.5 |

Данните показват различията в поведението на изходния лиганд и комплексите в условията на термогравиметричния анализ (нагряване на пробата със скорост 10 °C/min до максимална температура 900 °C). Изследваните комплексни съединения при тези условия проявяват ендотермични ефекти, отговарящи на отделянето на кристализационна или координирана вода. Разпадните процеси при тези температури и редуцията на масата на пробата съответстват на стехиометрията на комплексите. Комплексът на церий с Мендиаксон показва ендотермичен ефект при 120 °C, отговарящ на редуция на масата с 6.50 %. Вторият ендотермичен ефект е при относително висока температура ~ 360 °C, при което масата се редуцира с 18.40 %. Разграждането при тази относително висока температура вероятно се дължи на разкъсване на връзки във вътрешната координационна сфера на комплекса. Комплексът на неодим с Мендиаксон показва също два изразени ендотермични ефекта при температури 110 °C и 215 °C, свързани с редуция на масата, съотв. със 7.00 % и 14.00 %. Комплексите показват изразен екзотермичен ефект при температура 500-550 °C, който съответства на деструкция на лиганда и редуция на масата на пробата с около 50 %. При максималната температура 900 °C остатъкът отговаря на стабилните оксиди на металите.

Съставът на комплексите на мед, цинк, никел и кобалт също е потвърден чрез диференциален термичен и термогравиметричен анализ. Данните от анализа са отразени в следващата таблица.

Таблица 4. Данни от термогравиметричния анализ за комплекси на Мендиаксон с йоните на биогенни елементи

| Изследвано съединение | Термичен ефект | t, °C | Δm ($\Delta m_{\text{изчисл.}}$), % |
|--|----------------|----------|---|
| Cu(HL) ₂ .4H ₂ O | Endo | 200; 260 | 7.05 (4.42); 15.25 (14.84) |
| | Exo | 500 | 51.7 |
| | Endo | 880 | 83.0 |
| Zn(HL) ₂ .2H ₂ O | Endo | 100; 220 | 3.57 (3.99); 7.60 (7.98) |
| | Exo | 500 | 55.0 |
| | Endo | 900 | 84.0 |
| Ni(HL) ₂ .3H ₂ O | Endo | 140; 215 | 8.00 (7.79); 11.50 (11.69) |
| | Exo | 495 | 48.0 |
| | Endo | 900 | 89.0 |
| Co(HL) ₂ .4H ₂ O | Endo | 105; 215 | 7.70 (7.48); 14.50 (14.97) |
| | Exo | 465 | 35.8 |
| | Endo | 900 | 88.0 |

В термограмите на всички комплекси доминира екзотермичен ефект в интервала 400-500 °C, съответстващ на разграждането на органичните лиганди. При максималната температура, до която се води изследването, се наблюдава загуба в масата, съответстваща на образуването на термично стабилните оксиди на металите [99, 100].

IV.2.2. Мас-спектрален анализ

Данните от мас-спектралния анализ потвърждават стехиометричното съотношение метал:лиганд в изследваните комплекси на Мендиаксон и молекулните им маси. В мас-спектрите на комплексите се наблюдава пик с m/z 352, съответстващ на две молекули Мендиаксон. Следователно, в комплексите на мед, цинк и церий съотношението метал:лиганд е 1:2. Данните от анализа са представени в табл. 5.

Таблица 5. Мас-спектрални данни за натриевата сол на Мендиаксон и комплексите му с церий, мед и цинк

| Съединение | m/z | % | Съединение | m/z | % |
|--|-----|-----|--|-----|-----|
| C ₁₀ H ₇ O ₃ Na | 198 | 80 | Cu(HL) ₂ .4H ₂ O | 353 | 15 |
| | 176 | 100 | | 176 | 100 |
| | 154 | 60 | | 154 | 27 |
| | 136 | 60 | | 136 | 35 |
| | 120 | 17 | | 120 | 13 |
| | 107 | 22 | | 107 | 17 |
| Ce(HL) ₂ (OH).5H ₂ O | 352 | 17 | Zn(HL) ₂ .2H ₂ O | 353 | 16 |
| | 176 | 100 | | 176 | 100 |
| | 154 | 35 | | 154 | 38 |
| | 136 | 35 | | 136 | 45 |
| | 120 | 14 | | 120 | 11 |
| | 107 | 17 | | 107 | 22 |

IV.2.3. Химични връзки метал-лиганд

Молекулата на лиганда е оптимизирана чрез полуемпиричния квантовомеханичен метод РМЗ, който е част от МОРАС (Ver. 6.49), реализиран на компютърна програма Chem-X. За да се прецени теоретично кой/кои атоми от молекулата на лиганда участват в комплексообразуването, са изчислени отстатъчните заряди (Q) и нуклеофилните суперделокализационни индекси (S^N) на кислородните атоми в молекулата. Резултатите показват, че електронната плътност на кислородния атом от лактонната карбонилна група (O^{2'}) в молекулата на Мендиаксон е значително по-висока, отколкото на останалите кислородни атоми. Относително висока е и електронната плътност при кислородния атом от хидроксилната група (O^{7'}). На основата на резултатите от полуемпиричния квантовомеханичен метод се допуска бидентатно свързване на лиганда с металните йони с донорни центрове кислородните атоми от лактонната карбонилна група и от депротонираната хидроксилна група на седма позиция [101].

IV.2.4. Абсорбционен спектрален анализ

В електронните абсорбционни спектри на кумарините се наблюдават характерни честоти в ултравиолетовата област на спектъра (290-350 и 210-270 nm), обусловени от бензопирановия цикъл [102]. Всяко изменение в системата влияе на положението и характера на кривите на поглъщане, както и на моларния коефициент на поглъщане. В спектъра на кумарина в етанол има ивици с $\lambda_{\max} = 275$ и 310 nm ($\lg \epsilon = 4.03$; 3.72). Абсорбционният спектър на производните на кумарина се видоизменя в зависимост от характера на заместителя и положението му в бензеновото ядро или в пирановия пръстен. Въвеждането на хидроксилна група на шеста или седма позиция води до батохромен ефект. Въвеждането на един заместител в лактонния пръстен на кумарина (на трето или четвърто място) съвсем незначително променя спектъра на кумарина.

Проведен е абсорбционен спектрален анализ на разтворите на Мендиаксон и на комплексите му с церий, лантан, неодим, никел и желязо в DMSO. Разтворът на Мендиаксон показва ивица при 324 nm. Характерната $n-\pi^*$ ивица на C=O групата е при 320 nm. Поради повлияването на ивицата на карбонилната група от разтворителя се наблюдава батохромно отместване. При разтворите на комплексите на Мендиаксон в същия разтворител, освен ивицата при 324 nm, се наблюдават ивици с малък интензитет във видимата област на спектъра. Комплексите на церий, лантан и неодим поглъщат съответно при 396 nm и 400 nm във видимата област. Ивицата на комплекса на никела е при 402 nm, а на комплекса на желязото при 396 nm.

IV.2.5. Спектри в инфрачервената област

Бяха заснети ИЧ-спектрите на Н-формата на Мендиаксон, на натриевата сол на Мендиаксон и на комплексите му с церий, лантан и неодим в нуйол [102]. Данните за комплексните съединения, сравнени с тези на лиганда, потвърждават комплексобразуването.

Таблица 6. ИЧ-спектри на комплекси на Мендиаксон с лантаноиди (cm^{-1})

| Съединение | $\nu(\text{OH}/\text{H}_2\text{O})$ | $\nu_{\text{C=O}}$ | $\nu_{\text{C=C}}$ | $\nu_{\text{C-C}}$ | $\nu_{\text{C-O}}$ | $\nu_{\text{C-O-C}}$ |
|---|-------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3$ | 3130 | 1679 | 1599 | 1273-1239 | 1158 | 1067 |
| $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{O}_3\text{Na}$ | 3655 | 1726 | 1576 | 1291-1210 | 1138 | 1070 |
| $\text{Ce}(\text{HL})_2(\text{OH}) \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 3487 | 1668 | 1607 | 1276-1213 | 1159 | 1076 |
| $\text{La}(\text{HL})_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | 3480 | 1669 | 1607 | 1277-1213 | 1161 | 1077 |
| $\text{Ne}(\text{HL})_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | 3493 | 1671 | 1607 | 1276-1213 | 1163 | 1076 |

Данните от инфрачервените спектри на комплексните съединения на мед, цинк, кобалт, никел и желязо, сравнени с тези на лиганда в Н-формата и на натриевата сол на лиганда, са представени в следващата таблица.

Таблица 7. ИЧ-спектри на комплекси на Мендиаксон с йоните на биогенни елементи (cm^{-1})

| Съединение | $\nu(\text{OH}/\text{H}_2\text{O})$ | $\nu_{\text{C=O}}$ | $\nu_{\text{C=C}}$ | $\nu_{\text{C-C}}$ | $\nu_{\text{C-O}}$ | $\nu_{\text{C-O-C}}$ |
|--|-------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3$ | 3130 | 1679 | 1599 | 1273-1239 | 1158 | 1067 |
| $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{O}_3\text{Na}$ | 3655 | 1726 | 1576 | 1291-1210 | 1138 | 1070 |
| $\text{Cu}(\text{HL})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 3493 | 1668 | 1607 | 1276-1211 | 1159 | 1076 |
| $\text{Zn}(\text{HL})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 3493 | 1671 | 1607 | 1277-1210 | 1161 | 1077 |
| $\text{Ni}(\text{HL})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ | 3493 | 1671 | 1607 | 1277-1213 | 1163 | 1076 |
| $\text{Co}(\text{HL})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 3489 | 1671 | 1607 | 1277-1210 | 1161 | 1077 |
| $\text{Fe}(\text{HL})_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 3495 | 1671 | 1607 | 1276-1210 | 1163 | 1076 |

Характеристичните ивици в инфрачервения спектър на натриевата сол на Мендиаксон са при 1726, 1576, 1291-1210, 1138, 1070 cm^{-1} . Ивицата при 1726 cm^{-1} отговаря на валентните трептения на карбонилната група от лактонния пръстен.

Ивицата при 1576 cm^{-1} се отнася за валентните трептения на системата от спрегнати двойни връзки.

При всички комплекси се появява широка ивица в областта $3500\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$, характеризираща наличието на координирана или кристализационна вода. Ивицата при 1726 cm^{-1} в спектъра на натриевата сол на Мендиаксон, отговаряща на $\nu_{\text{C=O}}$, се отмества с около 50 cm^{-1} към нисковълновите стойности при комплексните съединения, което служи за доказателство, че лактонната карбонилна група участва в координация с металния йон [103].

В спектъра на Н-формата на Мендиаксон ивицата 3130 cm^{-1} , отнасяща се до валентните трептения на хидроксилната група на седмо място в кумариновата структура показва ниска стойност поради възможността за образуване на междумолекулни водородни връзки. При комплексите липсва такава ивица, което е указание за наличие на химична връзка на депротонираната ОН-група с металния йон. δ_{OH} (1401) при Мендиаксон липсва в спектрите на комплексите, което потвърждава депротонирането на хидроксилната група и участието на енолатния йон в химична връзка с метала.

Промените в инфрачервените спектри на комплексите се приемат като доказателство за бидентатното поведение на лиганда и връзките на металния йон с лиганда са очевидно осъществени с лактонната карбонилна група и с депротонираната хидроксилна група на седмо място в молекулата на лиганда. Тези две групи са и най-добрите електронодонорни центрове в молекулата на лиганда, показано и чрез полуемпиричния квантовомеханичен модел РМЗ.

IV.2.6. Спектри в далечната ИЧ-област

Таблица 8. Данни от ИЧ-спектрите на Мендиаксон, натриевата сол на Мендиаксон и комплекса му с никел в нискочестотната област (cm^{-1})

| $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3$ | $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{O}_3\text{Na}$ | $\text{Ni}(\text{HL})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ |
|-------------------------------------|--|--|
| 640 | 652 | 640 |
| 583 | 606 | 584 |
| 529 | 535 | 535, 505* |
| 457, 439, 415 | 441 | 456, 441, 420 |
| 345, 327 | 334 | 382* |
| 271 | 269 | 274 |

В спектъра на никеловия комплекс се появяват нови ивици при 505 и при 382 cm^{-1} , които се свързват с връзките метал-кислород. Резултатите от спектъра корелират с данните за комплексни съединения на подобни кумаринови производни [100].

IV.2.7. ^1H ЯМР спектрални изследвания

Съществуват литературни данни за ^1H ЯМР изследвания на незаместен кумарин [102]. Свързването на лиганда с металните йони се доказва от данните на ^1H ЯМР спектри на комплексите, сравнени със спектъра на изходния лиганд. Промените, наблюдавани в спектрите на комплексите, дефинират връзката на металите с карбонилната група от лактонния пръстен и с фенолатния анион на седмо място. Най-съществени отмествания се наблюдават при протона на трето място, най-близо разположен до карбонилната група от кумарина, както и при протоните на шесто и осмо място, разположени в близост до депротонираната хидроксилна група.

Таблица 9. ^1H ЯМР-спектрални данни на лантаноидни комплекси на Мендиаксон, 100 (250) MHz

| $\text{C}_n - \text{H}$ | Мультиплетност на сигнала | δ (ppm) | | | |
|----------------------------|------------------------------|----------------|---------------|-----|-----|
| | | лиганд | комплекси | | |
| | | | Ce | La | Nd |
| $\text{C}_8 - \text{H}$ | s, 1H | 5.9 (5.91) | 6.8 (6.71) | 6.7 | 6.8 |
| $\text{C}_6 - \text{H}$ | d, 1H; J = 7 Hz | 6.2 (6.17) | 6.9 (6.82) | 6.8 | 6.9 |
| $\text{C}_5 - \text{H}$ | d, 1H; J = 7 Hz | 7.2 (7.15) | 7.7 (7.61) | 7.6 | 7.8 |
| $\text{C}_3 - \text{H}$ | s, 1H | 5.5 (5.44) | 6.1 (6.13) | 6.0 | 6.2 |
| $\text{C}_4 - \text{CH}_3$ | s, 3H | 2.1 (2.19) | 2.3 (2.36) | 2.3 | 2.4 |

Резултатите от протонните спектри за комплексите на мед, цинк, никел, кобалт и желязо показват съществени отмествания за сигналите на протоните на трето, шесто и осмо място.

Таблица 10. ^1H ЯМР-спектрални данни на комплекси на Мендиаксон с йоните на биогенни елементи, 100 (250) MHz

| $\text{C}_n - \text{H}$ | Мултиплетност на сигнала | лиганд | δ (ppm) | | | | |
|----------------------------|--------------------------|---------------|----------------|---------------|-----------------------|-----|-----|
| | | | Cu | Zn | комплекси Ni Co Fe | | |
| $\text{C}_8 - \text{H}$ | s, 1H | 5.9 (5.91) | 6.8 (6.67) | 6.7 (6.69) | 6.7 | 6.7 | 6.8 |
| $\text{C}_6 - \text{H}$ | d, 1H; J = 7 Hz | 6.2 | 6.9 | 6.8 | 6.8 | 6.8 | 6.9 |
| $\text{C}_5 - \text{H}$ | d, 1H; J = 7 Hz | 7.2 (7.15) | 7.7 (7.53) | 7.8 (7.59) | 7.6 | 7.6 | 7.7 |
| $\text{C}_3 - \text{H}$ | s, 1H | 5.5 (5.45) | 6.2 (6.02) | 6.1 (6.11) | 6.0 | 6.0 | 6.2 |
| $\text{C}_4 - \text{CH}_3$ | s, 3H | 2.1 (2.19) | 2.4 (2.33) | 2.3 (2.34) | 2.4 | 2.4 | 2.4 |

IV.2.8. ^{13}C ЯМР спектри на комплексите на Мендиаксон

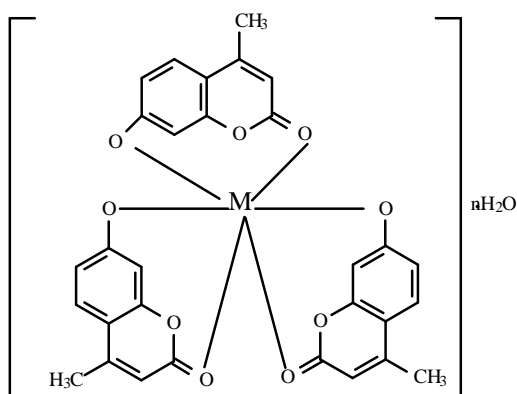
Резултатите от ^{13}C ЯМР спектрите показват съществено отместване на сигнала на въглеродния атом от лактонната карбонилна група на цериевия и цинковия комплекси на Мендиаксон в сравнение с този на натриевата сол на Мендиаксон.

Таблица 11. ^{13}C ЯМР спектри на комплекси на Мендиаксон,
62.9 MHz, δ (ppm)

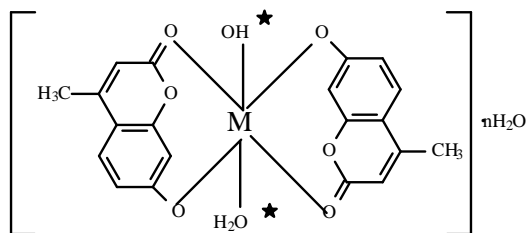
| C_n | $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{O}_3\text{Na}$ | $\text{Ce}(\text{HL})_2(\text{OH})\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | $\text{Zn}(\text{HL})_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ |
|---------------------|--|--|---|
| CH_3 | 18.08 | 18.11 | 18.01 |
| C_5 | 101.44 | 102.18 | 102.15 |
| C_3 | 103.03 | 110.25 | 110.08 |
| C_4 | 104.13 | 111.91 | 111.85 |
| C_6 | 118.66 | 112.87 | 112.87 |
| C_8 | 125.03 | 126.63 | 126.49 |
| $\text{C}_{4'}$ | 153.56 | 153.57 | 153.45 |
| $\text{C}_{8'}$ | 157.46 | 155.13 | 154.79 |
| C_7 | 162.02 | 160.29 | 160.22 |
| $\text{C}=\text{O}$ | 175.99 | 161.16 | 161.19 |

IV.2.9. Рентгеноструктурен прахов анализ

Заснети са рентгенограми на натриевата сол на Мендиаксон и комплексите на церий, лантан, неодим, никел и кобалт. Данните от рентгеноструктурния анализ показват, че е необходимо отглеждането на кристали с подходящи размери за електронномикроскопско изследване и рентгеноспектрален микроанализ. Сравняването и на този тип рентгенограми на съединенията показва образуването на комплекси като нови индивидуални вещества.



Предполагаема структура на комплекси на Мендиаксон с лантаноиди и йони на биогенни елементи ($\text{M} = \text{La}, \text{Nd}, \text{Fe}$)



Предполагаема структура на комплекси на Мендиаксон с лантаноиди и йони на биогенни елементи (M = Ce*, Cu, Zn, Co, Ni)

IV.3. Синтез и анализ на комплексни съединения на лантаноиди с производни на 4-хидроксикумарина

Комплексните съединения на Асеносукарин [104], Warfarin [105,106] и Coumachlor [106] с йоните на редкоземните f-елементи и йоните на биогенните d-елементи се получават и анализират аналогично на комплексните съединения на Мендиаксон.

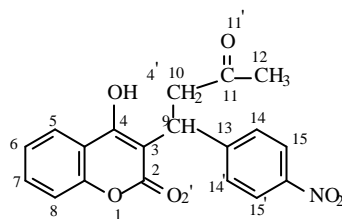
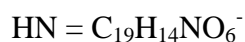
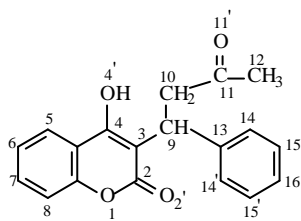


Таблица 12. Елементен анализ, добив и т.т. за комплекси на Асеносукарин с йоните на f-елементи

| Комплекс | добив | т.т.(°C) | намерено/изчислено (%) | | | | |
|--|-------|----------|------------------------|------|------|------------------|-------|
| | | | C | H | N | H ₂ O | Ln |
| Ce(HN) ₃ .4H ₂ O | 93 % | 270-272 | 53.94 | 3.94 | 3.31 | 5.68 | 11.04 |
| | | | 53.84 | 3.82 | 3.03 | 5.93 | 10.96 |
| La(HN) ₃ .4H ₂ O | 82 % | >300 | 53.98 | 3.94 | 3.31 | 5.68 | 10.97 |
| | | | 54.05 | 4.35 | 3.52 | 6.05 | 10.85 |
| Nd(HN) ₃ .6H ₂ O | 95 % | >300 | 52.29 | 4.13 | 3.21 | 8.26 | 11.01 |
| | | | 52.48 | 4.10 | 3.01 | 7.95 | 10.83 |

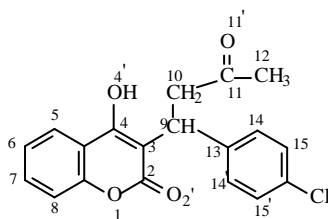




Данните за състава на комплексните съединения на Warfarin с церий, лантан и неодим са представени по-долу.

Таблица 13. Елементен анализ, добив и т.т. за комплекси на Warfarin с йоните на f-елементи

| Комплекс | добив | т.т.(°C) | намерено/изчислено (%) | | | |
|--|-------|----------|------------------------|------|------------------|-------|
| | | | C | H | H ₂ O | Ln |
| Ce(HW) ₃ .4H ₂ O | 87 % | 235-238 | 59.95 | 4.67 | 6.05 | 11.97 |
| | | | 60.37 | 4.68 | 6.35 | 12.35 |
| La(HW) ₃ .4H ₂ O | 75 % | > 300 | 59.91 | 4.61 | 5.89 | 12.38 |
| | | | 60.42 | 4.68 | 6.36 | 12.28 |
| Nd(HW) ₃ .4H ₂ O | 92 % | > 300 | 59.70 | 4.57 | 6.67 | 12.61 |
| | | | 60.15 | 4.66 | 6.33 | 12.66 |



По-долу са представени данните за състава на комплексните съединения на Coumachlor с церий, лантан и неодим.

Таблица 14. Елементен анализ, добив и т.т. за комплекси на
 Coumachlor с йоните на f-елементи

| Комплекс | добив | т.т.(°C) | намерено/изчислено (%) | | | | |
|--|-------|----------|------------------------|------|------|------------------|-------|
| | | | C | H | Cl | H ₂ O | Ln |
| Ce(HC) ₃ .5H ₂ O | 89 % | 260-263 | 54.65 | 4.03 | 8.65 | 7.37 | 11.52 |
| | | | 54.59 | 4.15 | 8.38 | 7.18 | 11.17 |
| La(HC) ₃ .5H ₂ O | 76 % | > 300 | 54.28 | 4.12 | 8.35 | 6.98 | 11.54 |
| | | | 54.63 | 4.15 | 8.39 | 7.19 | 11.10 |
| Nd(HC) ₃ .4H ₂ O | 93 % | > 300 | 55.01 | 4.09 | 8.89 | 6.06 | 11.29 |
| | | | 55.20 | 4.03 | 8.47 | 5.81 | 11.62 |

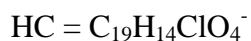


Таблица 15. Данни от термогравиметричния анализ за комплекси на
 Асеносoumarol

| Изследвано съединение | Термичен ефект | t, °C | Δm (Δm _{изчисл.}), % |
|---|----------------|----------------|--------------------------------|
| C ₁₉ H ₁₅ NO ₆ | Endo | 240; 465 | 1.6; 30.7; |
| | Exo | 540; 620; 738. | 42.0; 58.0; 80.6 |
| C ₁₉ H ₁₄ NaNO ₆ | Endo | 170 | 10.2 |
| | Exo | 300 | 40.9 |
| | Endo | 450 | 47.7 |
| | Exo | 480 | 56.8 |
| | Endo | 630 | 65.9 |
| Ce(HN) ₃ .4H ₂ O | Endo | 100, 220 | 3.00 (2.84); 6.00 (5.68) |
| | Exo | 360 | 22.0 |
| | Endo | 755 | 68.2 |
| La(HN) ₃ .4H ₂ O | Endo | 110, 220 | 3.00 (2.84); 5.70 (5.68) |
| | Exo | 355, 465 | 27.1; 45.7 |
| | Endo | 810 | 85.7 |
| Nd(HN) ₃ .6H ₂ O | Endo | 105, 220 | 4.00 (4.13); 8.00 (8.25) |
| | Exo | 350, 500 | 25.9; 46.0 |
| | Endo | 727 | 75.3 |

Таблица 16. Данни от термогравиметричния анализ на Warfarin, натриевата му сол и комплекс с церий

| Изследвано съединение | Термичен ефект | t, °C | Δm (Δm _{изчисл.}), % |
|---|----------------|---------------|--------------------------------|
| C ₁₉ H ₁₆ O ₄ | Endo | 190 | 0.73 |
| | Exo | 523, 605, 765 | 61.8; 77.9; 89.7 |
| C ₁₉ H ₁₅ O ₄ Na | Exo | 200 | 2.5 |
| | Endo | 260, 340, 505 | 8.2; 20.0; 55.3 |
| | Exo | 588 | 64.7 |
| | Endo | 760 | 84.7 |
| Ce(HW) ₃ .4H ₂ O | Endo | 220 | 6.00 (6.35) |
| | Exo | 580 | 60.0 |
| | Endo | 900 | 86.0 |

Цериевият комплекс показва ендотермичен ефект при 220 °C и редуция на масата с 6 %. При максималната температура се образува стабилният оксид на церия.

Таблица 17. Данни от термогравиметричния анализ на Coumachlor и комплекса му с церий

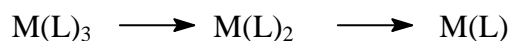
| Изследвано съединение | Термичен ефект | t, °C | Δm (Δm _{изчисл.}), % |
|--|----------------|----------|--------------------------------|
| C ₁₉ H ₁₅ ClO ₄ | Endo | 180, 575 | 1.0; 53.7 |
| | Exo | 660 | 75.0 |
| | Endo | 775 | 91.2 |
| (7.18) Ce(HC) ₃ .5H ₂ O | Endo | 170, 260 | 2.90 (2.87); 7.50 |
| | Exo | 550 | 56.0 |
| | Endo | 810 | 80.0 |

Цериевият комплекс на Coumachlor показва два ендотермични ефекта при 170 °C и 260 °C.

IV.3.1. Мас-спектрален анализ

Данните от мас-спектралния анализ на Асеносоумарол, Warfarin и Coumachlor, на техните натриеви соли и комплексите им с церий, лантан и неодим потвърждават

стехиометричния състав и молекулните маси на комплексните съединения. При комплексите ходът на фрагментацията е:



Общото в хода на мас-спектралната фрагментация на трите производни на 4-хидроксикумарина (Acenocoumarol, Warfarin и Coumachlor) е получаването на подобни фрагменти, различаващи се по заместителите в ароматното ядро в страничната верига, т.е. по m/z и по стабилността на образуваните фрагменти [107]. В условията на мас-спектралния анализ молекулните катион-радикали показват масите на изследваните съединения: Acenocoumarol(m/z 354), Warfarin (m/z 308) и Coumachlor (m/z 343).

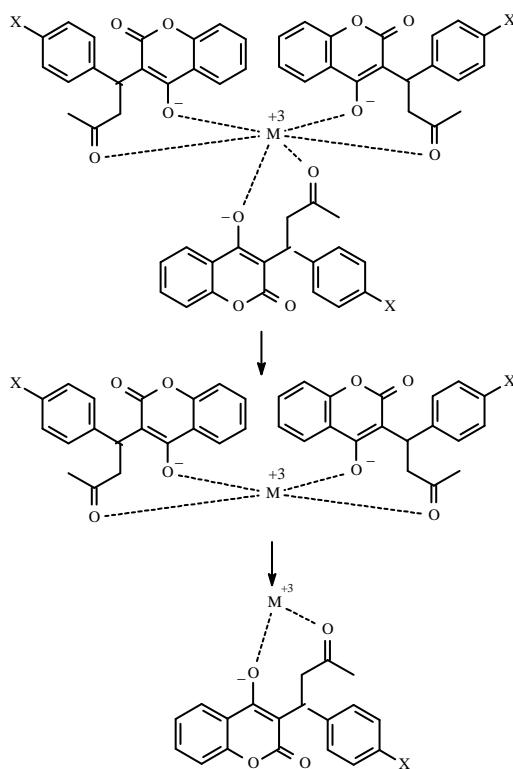


Таблица 18. Мас-спектрални данни за Асепосоumarol, натриевата сол на Асепосоumarol и комплексите му с церий, лантан и неодим

| Съединение | m/z | % | Съединение | m/z | % |
|---|--------------------------|------|--|--------------------------|------|
| C ₁₉ H ₁₅ NO ₆ | 354 | 100 | La(HN) ₃ .4H ₂ O | 1196 La(HN) ₃ | 0.27 |
| | 295 | 17 | | 843 La(HN) ₂ | 1.23 |
| | 163 | 27 | | 490 La(HN) | 3 |
| C ₁₉ H ₁₄ NaNO ₆ | 375 | 17 | 354 | 38 | |
| | 352 | 22 | 295 | 19 | |
| | 176 | 100 | 176 | 12 | |
| | | | 163 | 22 | |
| Ce(HN) ₃ .4H ₂ O | 1197 Ce(HN) ₃ | 0.27 | Nd(HN) ₃ .4H ₂ O | 1200 Nd(HN) ₃ | 0.03 |
| | 844 Ce(HN) ₂ | 0.93 | | 847 Nd(HN) ₂ | 0.17 |
| | 492 Ce(HN) | 1 | | 496 Nd(HN) | 0.5 |
| | 354 | 48 | | 354 | 33 |
| | 295 | 19 | | 295 | 27 |
| | 176 | 32 | | 176 | 20 |
| | 163 | 20 | | 163 | 18 |

Таблица 19. Мас-спектрални данни за натриевата сол на Warfarin и комплексите му с церий, лантан и неодим

| Съединение | m/z | % | Съединение | m/z | % | | |
|---|--------------------------|------|--|--------------------------|------|-------------------------|---|
| C ₁₉ H ₁₅ O ₄ Na | 330 | 30 | La(HW) ₃ .4H ₂ O | 1061 La(HW) ₃ | 0.75 | | |
| | 265 | 5 | | 753 La(HW) ₂ | 2.1 | | |
| | 176 | 43 | | 445 La(HW) | 7 | | |
| Ce(HW) ₃ .4H ₂ O | 1061 Ce(HW) ₃ | 0.75 | 308 | 100 | | | |
| | | | 265 | 40 | | | |
| | | | 250 | 33 | | | |
| | 754 Ce(HW) ₂ | 3 | Nd(HW) ₃ .4H ₂ O | 1065 Nd(HW) ₃ | 0.25 | | |
| | | | | 446 Ce(HW) | 9 | 756 Nd(HW) ₂ | 1 |
| | | | | 308 | 100 | 448 Nd(HW) | 7 |
| 265 | 40 | 308 | 100 | | | | |
| 250 | 32 | 265 | 40 | | | | |
| | | 250 | 33 | | | | |

Таблица 20. Мас-спектрални данни за натриевата сол на Coumachlor и комплексите му с церий, лантан и неодим

| Съединение | m/z | % | Съединение | m/z | % |
|------------------------|-----------|----------------|------------------------|-----------|-----------------|
| $C_{19}H_{14}NaClO_4$ | 365/367 | 33 | $La(HC)_3 \cdot 5H_2O$ | 1163/1165 | $La(HC)_3$ 0.4 |
| | 343/345 | 8 | | 821/823 | $La(HC)_2$ 2.1 |
| | 299/301 | 5 | | 479/481 | $La(HC)$ 12 |
| | 176 | 75 | | 343/345 | 50 |
| | | | 163 | 58 | |
| $Ce(HC)_3 \cdot 5H_2O$ | 1164/1166 | $Ce(HC)_3$ 0.4 | $Nd(HC)_3 \cdot 4H_2O$ | 1170/1172 | $Nd(HC)_3$ 0.45 |
| | 822/824 | $Ce(HC)_2$ 1 | | 826/828 | $Nd(HC)_2$ 0.4 |
| | 480/482 | $Ce(HC)$ 5 | | 486/488 | $Nd(HC)$ 1 |
| | 343/345 | 100 | | 343/345 | 47 |
| | 299/301 | 38 | | 163 | 35 |
| | 285/287 | 36 | | | |
| | 163 | 60 | | | |

IV.3.2. Абсорбционни спектри

Проведено е спектрофотометрично изследване на разтворите на Асепосоумарол и комплексите му с церий и неодим в диметилсулфоксид. Разтворът на Асепосоумарол поглъща при 286, 298 и 310 nm. Абсорбционните ивици на комплексите на церий и неодим са съответно при 296, 312 и 396 nm. Поглъщането във видимата област на спектъра при двата комплекса е свързано с d-d преходи, обуславящи цвета на комплексните съединения. Подобни ивици във видимата област са наблюдавани и при комплексите на Мендиаксон с лантаноиди и други метали.

IV.3.3. Спектри в инфрачервената област

Характеристичните ивици за карбонилните групи в спектрите на поредицата съединения са отместени към нискочестотната област [108,109]. Обяснение за отместването може да се търси в равновесието между спрегнатите енолни системи – карбонилна и хромонна. Вероятно това е причината характеристичната ивица на карбонилната група от страничната верига на Асепосоумарол да се отмества към по-ниски честоти (1686 cm^{-1}). Характеристичната ивица за лактонната карбонилна група, която е в равновесие с карбонилната група при четвъртия въглероден атом в структурата на хромона, се явява при 1619 cm^{-1} .

Таблица 21. ИЧ-спектрални данни за Асепосоумарол, заснети в нуйол, хлороформ и метиленхлорид

| Разтворител | $\nu^k_{\text{C=O}}$ | $\nu^1_{\text{C=O}}$ | $\nu_{\text{C=C}}$ | ν_{Ar} |
|---------------|----------------------|----------------------|--------------------|-------------------|
| Нуйол | 1686 | 1619 | 1572 | 1512 |
| Хлороформ | 1705 | 1626 | 1576 | 1520 |
| Метиленхлорид | 1711 | 1626 | 1576 | 1522 |

В ИЧ-спектъра на натриевата сол на Асепосоумарол характеристичната ивица за карбонилната група от страничната верига е при 1715 cm^{-1} , подобно на спектрите на Асепосоумарол в хлороформ и метиленхлорид. Ивицата за лактонната карбонилна група е при 1653 cm^{-1} . Характеристичната ивица не променя положението си и в комплексните съединения, което означава, че последната не участва в комплексобразуването. Повишаването на честотата най-вероятно се дължи на делокализация на отрицателния заряд, получен при депротонирането на лиганда.

За разлика от лактонната карбонилна група от хетероцикъла, карбонилната група от страничната верига в комплексите е отместена с около 20 cm^{-1} към нискочестотната област, което е указание за участието ѝ в координация с металния йон. Пространствената близост на карбонилната група от страничната верига с депротонираната хидроксилна група от кумариновия хетероцикъл дава основание да се предположи, че Асепосоумаролът се проявява като едновалентен бидентатен

лиганд. Ивицата при 3295 cm^{-1} в спектъра на Н-формата на лиганда се свързва с валентните трептения на хидроксилната група. Тази ивица липсва при комплексите, което означава, че хидроксилната група е депротонирана и кислородният атом участва в координация с метала. Положителното отместване на $\nu_{\text{C-O}}$ (енол) с около 10 cm^{-1} при комплексите потвърждава координацията и потвърждава литературните данни [103]. Ивицата на валентните трептения на хидроксилната група отсъства и в спектъра на натриевата сол на Асепосоумарол. Новата широка ивица в областта $3390\text{-}3430\text{ cm}^{-1}$ в спектрите на комплексите се отдава на кристализационната вода във всеки от случаите на комплексообразуване. Ивицата при 1595 cm^{-1} в спектъра на натриевата сол на Асепосоумарол се отнася до валентните трептения на спрегнатата ароматна система. Ивицата при 1516 cm^{-1} се свързва с ароматното ядро в страничната верига. Ивиците за натриевата сол на лиганда и комплексите са близки, но се отличават от Н-формата на лиганда, което най-вероятно се дължи на сходството в структурата на енолатния йон в натриевата сол и комплекса.

Таблица 22. ИЧ-спектрални данни за Асепосоумарол, натриевата сол и комплексите с церий, лантан и неодим

| Съединение | ν_{OH} | $\nu_{\text{C=O}}^{\text{k}}$ | $\nu_{\text{C=O}}^{\text{l}}$ | $\nu_{\text{C=C}}$ | ν_{Ar} | $\nu_{\text{C-C}}$ | $\nu_{\text{C-O}}$ | $\nu_{\text{C-O-C}}$ |
|--|-------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{NO}_6$ | 3295 | 1686 | 1619 | 1572 | 1512 | 1249-1212 | 1173 | 1101 |
| $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{NaNO}_6$ | 3364 | 1715 | 1653 | 1595 | 1516 | 1267-1226 | 1163 | 1076 |
| $\text{Ce}(\text{HN})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 3400 | 1696 | 1650 | 1598 | 1514 | 1280-1227 | 1177 | 1111 |
| $\text{La}(\text{HN})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 3432 | 1696 | 1651 | 1597 | 1514 | 1280-1228 | 1181 | 1110 |
| $\text{Nd}(\text{HN})_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | 3392 | 1697 | 1650 | 1598 | 1514 | 1281-1229 | 1179 | 1111 |

Различията в спектралните ивици на комплексите спрямо лиганда се приемат като доказателство за връзките на металния йон с лиганда.

Таблица 23. ИЧ-спектрални данни за Warfarin, натриевата сол
и комплексите с церий и неодим

| Съединение | ν_{OH} (H_2O) | $\nu^k_{\text{C=O}}$ | $\nu^l_{\text{C=O}}$ | $\nu_{\text{C=C}}$ | ν_{Ar} | $\nu_{\text{C-C}}$ | $\nu_{\text{C-O}}$ | $\nu_{\text{C-O-C}}$ |
|--|---|----------------------|----------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{O}_4$ | 3272 | 1680 | 1617 | 1570 | 1492 | 1277-1243 | 1191 | 1075 |
| $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{NaO}_4$ | 3400 | 1721 | 1668 | 1597 | 1516 | 1265-1223 | 1163 | 1092 |
| $\text{Ce}(\text{HW})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 3280 | 1685 | 1650 | 1580 | 1500 | 1279-1244 | 1178 | 1108 |
| $\text{Nd}(\text{HW})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 3394 | 1695 | 1651 | 1580 | 1505 | 1280-1245 | 1179 | 1108 |

Карбонилната група от страничната верига в комплексите е отместена с около $20\text{-}30\text{ cm}^{-1}$ към нискочестотната област. Warfarin се проявява като едновалентен бидентатен лиганд [103].

Таблица 24. ИЧ-спектрални данни за Coumachlor, натриевата сол
и комплексите с церий, лантан и неодим

| Съединение | ν_{OH} | $\nu^k_{\text{C=O}}$ | $\nu^l_{\text{C=O}}$ | $\nu_{\text{C=C}}$ | ν_{Ar} | $\nu_{\text{C-C}}$ | $\nu_{\text{C-O}}$ | $\nu_{\text{C-O-C}}$ |
|--|-------------------|----------------------|----------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{ClO}_4$ | 3286 | 1679 | 1615 | 1569 | 1492 | 1277-1243 | 1190 | 1075 |
| $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{NaClO}_4$ | 3400 | 1722 | 1668 | 1598 | 1522 | 1266-1223 | 1159 | 1087 |
| $\text{Ce}(\text{HC})_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 3300 | 1700 | 1650 | 1599 | 1510 | 1282-1228 | 1181 | 1091 |
| $\text{La}(\text{HC})_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 3204 | 1695 | 1650 | 1599 | 1510 | 1283-1228 | 1182 | 1090 |
| $\text{Nd}(\text{HC})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 3378 | 1693 | 1651 | 1598 | 1514 | 1282-1229 | 1180 | 1092 |

Промените в инфрачервените спектри на комплексите се приемат като доказателство за донорно-акцепторната връзка на металните йони с лигандите (Асепосоумарол, Warfarin и Coumachlor) - карбонилната група от страничната верига, както и с депротонираната хидроксилна група при четвъртия въглероден атом в посочените молекули. Тези групи са най-добрите електронодонорни центрове в

молекулите на кумаринови антикоагуланти. От значение е и пространствената близост на двете функционални групи.

IV.3.4. Спектри в далечната инфрачервена област

Спектрите в далечната инфрачервена област ($700\text{-}200\text{ cm}^{-1}$) се използват за доказване на връзки метал-лиганд. В спектрите на изследваните съединения се наблюдава появата на нови ивици (отбелязани със звездичка).

Таблица 25. ИЧ-спектрални данни в областта $700\text{-}200\text{ cm}^{-1}$ за Асепосоумарол, натриевата сол и комплексите с церий, лантан и неодим

| $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{NO}_6$ | $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{NaNO}_6$ | $\text{Ce}(\text{HN})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | $\text{La}(\text{HN})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | $\text{Nd}(\text{HN})_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ |
|---|---|--|--|--|
| 699 | 692 | 686 | 685 | 686 |
| 632 | 579 | 575 | 575 | 578 |
| 525, 511 | 544, 531 | 542 | 542 | 542 |
| 472 | 458 | 463* | 463* | 464* |
| 409 | 395 | 401 | 402 | 402 |
| 312, 295 | 322, 298 | 305* | 306* | 305* |
| 236 | 225 | 238 | 235 | 231 |

Таблица 26. ИЧ-спектрални данни в областта 700-200 cm^{-1} за Warfarin,
натриевата сол и комплексите с церий, лантан и неодим

| $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{O}_4$ | $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{NaO}_4$ | $\text{La}(\text{HW})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | $\text{Nd}(\text{HW})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ |
|--|--|--|--|
| 700 | 690 | 700 | 700 |
| 638 | 660, 630 | 638 | 638 |
| 603, 575 | 559 | 564* | 565* |
| 466 | 458 | 464 | 464 |
| 409 | 397 | 404 | 404 |
| 308, 287, 274 | 295 | 305 | 307 |
| 259, 244, 223 | 262, 243, 235 | 226 | 233 |

Таблица 27. ИЧ-спектрални данни в областта 700-200 cm^{-1} за Coumachlor,
натриевата сол и комплексите с лантан и неодим

| $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{ClO}_4$ | $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{NaClO}_4$ | $\text{La}(\text{HC})_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | $\text{Nd}(\text{HC})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ |
|--|--|--|--|
| 680 | 690 | 682 | 684 |
| 574 | 580 | 575 | 578 |
| 526, 515 | 521 | 535* | 535* |
| 456 | 457 | 460 | 462 |
| 418 | 405 | 403 | 402 |
| 309, 291 | 299 | 304 | 304 |
| 280 | 261 | 262 | 262 |

IV.3.5. ^1H - и ^{13}C ЯМР спектрални изследвания

Синтезираните съединения допълнително охарактеризирахме с помощта на ^1H - и ^{13}C ЯМР спектрални изследвания.

Таблица 28. ^1H ЯМР-спектрални данни за Асепосоутарол, натриевата сол и комплексите с церий, лантан и неодим (DMSO- d_6 , 100 MHz)

| Съединение | $\text{H}_5 - \text{H}_8$ | H_9 | δ , ppm | | |
|--|---------------------------|--------------|-----------------|-----------------|--------------------|
| | | | H_{10} | H_{12} | $\text{H}_{14,15}$ |
| $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{NO}_6$ | 7.36-7.66 m | 4.18 s | 3.47 | 1.94 | 7.83-8.12 dd |
| $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{NaNO}_6$ | 6.95-7.40 m | 5.05 t | 3.40 d | 2.52 s | 7.60-8.10 dd |
| $\text{Ce}(\text{HN})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 6.90-7.40 m | 4.40 s | 3.35 b s | 1.90 s | 7.50-8.00 dd |
| $\text{La}(\text{HN})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 6.90-7.35 m | 4.35 t | 3.30 b d | 2.05 s | 7.50-8.10 dd |
| $\text{Nd}(\text{HN})_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | 7.20-7.60 m | 6.80 s | 3.50 b s | 1.90 s | 7.50-7.90 dd |

Химичните отмествания на H_9 - и H_{10} -протоните в комплексните съединения варират поради различните свойства на металните йони. При комплексите на церия и лантана с Асепосоутарол има слаб отрицателен отместващ ефект спрямо лиганда. При комплекса на неодим има силно изразен положителен ефект на отместване на H_9 - и по-слаб за H_{10} -протона. Прави впечатление, че най-силно са повлияни протоните на 9- и 10 място, което се обяснява с близостта им до функционалните групи, участващи в комплексообразуването [110].

Таблица 29. ^1H ЯМР-спектрални данни за натриевата сол на Warfarin
и комплексите с церий, лантан и неодим (DMSO- d_6 , 100 MHz)

| Съединение | $\text{H}_5 - \text{H}_8$ | H_9 | δ , ppm | | |
|--|---------------------------|--------------|------------------|------------------|-----------------------|
| | | | 2H_{10} | 3H_{12} | $\text{H}_{14,15,16}$ |
| $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{NaO}_4$ | 7.00-7.50 m | 4.90 t | 3.25 d | 2.05 s | 7.50-7.80 m |
| $\text{Ce}(\text{HW})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 7.00-7.50 m | 5.60 bs | 3.20 bs | 1.70 bs | 7.50-7.90 m |
| $\text{La}(\text{HW})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 7.00-7.50 m | 4.65 bs | 3.25 bs | 1.95 bs | 7.50-7.90 m |
| $\text{Nd}(\text{HW})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 6.95-7.20 m | 6.85 bs | 3.45 bs | 1.85 bs | 7.40-7.70 m |

Таблица 30. ^1H ЯМР-спектрални данни за натриевата сол на Coumachlor
и комплексите с церий, лантан и неодим (DMSO- d_6 , 100 MHz)

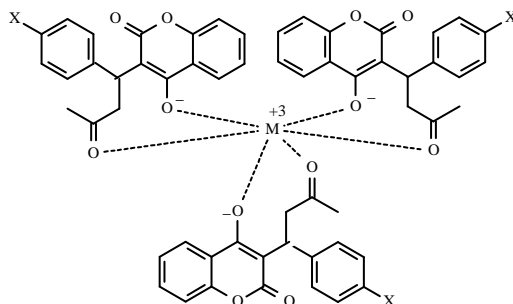
| Съединение | $\text{H}_5 - \text{H}_8$ | H_9 | δ , ppm | | |
|--|---------------------------|--------------|------------------|------------------|--------------------|
| | | | 2H_{10} | 3H_{12} | $\text{H}_{14,15}$ |
| $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{NaClO}_4$ | 6.95-7.30 m | 4.90 t | 3.27 d | 2.05 s | 7.55-7.80 d |
| $\text{Ce}(\text{HC})_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 6.90-7.30 m | 5.50 bs | 3.30 bs | 1.90 s | 7.20-7.50 d |
| $\text{La}(\text{HC})_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 6.95-7.30 m | 4.70 bt | 3.21 bd | 2.05 s | 7.55-7.85 d |
| $\text{Nd}(\text{HC})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 7.35-7.65 m | 6.85 bs | 3.45 bs | 1.90 s | 7.15-7.60 d |

Заснети са ^{13}C ЯМР спектрите на Асепосумарол, натриевата сол и комплексите му с лантаноиди. Наблюдават се разлики в химичните отмествания на карбонилните групи.

IV.3.6. Рентгеноструктурен прахов анализ

Проведен е рентгеноструктурен прахов анализ на Асепосумарол, Warfarin и Coumachlor, както и на комплексните им съединения с лантаноиди. За сравнение са

използвани данни от Американската картотека за стандартни образци JCPDS No. 31.1724 и No.44.1800. Структурата на комплексите може да се представи със следната формула:



IV.3.7. Изследване стабилността на комплексните съединения

Изследването цели да получи количествена оценка за стабилността на комплекси на лантаноиди с 4-метил-7-хидроксикумарин (Мендиаксон) [111], както и с Асеноскумарол, Warfarin и Кумохлор [112].

IV.3.8. Определяне на протолизните константи на изследваните лиганди

Използваните лиганди са практически неразтворими във вода със слабо изразени киселинно-основни свойства. Много слабите киселини показват стойности на дисоциационните си константи $K_a \leq 10^{-7}$ или $pK_a \geq 7$. Мендиаксонът проявява слаби киселинни свойства, докато производните на 4-хидроксикумарина са по-силни киселини от производните на 7-хидроксикумарина. Стойностите на pK_a във водна среда са около 5.

За определяне на киселинно-основните константи на изследваните лиганди е използвано потенциометрично титруване в 96 % етанол със стъклен електрод [113]. Етанолът се предпочита поради амфипротния му характер и добрата му разтваряща способност на изследваните съединения. Данните от потенциометричното титруване са обработени с компютърна програма NABTIT на PC "Hewlett Packard 85 B" [114].

Титрувани са 0.01 M разтвори на Мендиаксон, Асеноскумарол, Warfarin и Coumachlor в етанол със стандартен разтвор на натриева основа [115]. Получени са следните стойности за дисоциационните константи на изследваните вещества:

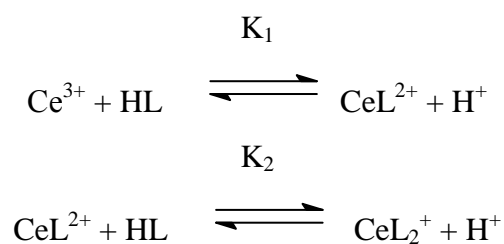
| | |
|-----------------|------------------------|
| Мендиаксон: | $pK_a = 8.79 \pm 0.01$ |
| Асеносcoumarol: | $pK_a = 5.15 \pm 0.01$ |
| Warfarin: | $pK_a = 5.88 \pm 0.01$ |
| Coumachlor: | $pK_a = 5.33 \pm 0.01$ |

Данните потвърждават, че изследваните лиганди са слаби киселини и корелират с данни от литературата [116].

IV.3.9. Определяне на степенните стабилитетни константи на комплекс на церий с Мендиаксон

Спектрофотометрично е изследвана реакцията на Ce(III) с Мендиаксон с цел установяване стабилността на получените комплекси [25]. Доказано е, че в разтвора се образуват два моноядрени комплекса със състав CeL^{2+} и CeL_2^+ в зависимост от рН и концентрацията на лиганда. Реакцията на комплексообразуване е обратима при рН = 1.5 – 4.0. При рН > 4 абсорбцията не се променя с повишаване на рН. Изследванията са ограничени до посочените стойности. При по-високи стойности на рН, вероятно започва образуване на натриева сол на Мендиаксон, тъй като абсорбционният спектър силно се променя.

На основата на тези изследвания може да се направи заключението, че при различни рН-интервали лигандът последователно се координира в две степени чрез освобождаване на един протон при всяка от степените на комплексообразуването до рН = 4. Предлага се следната схема на взаимодействие:

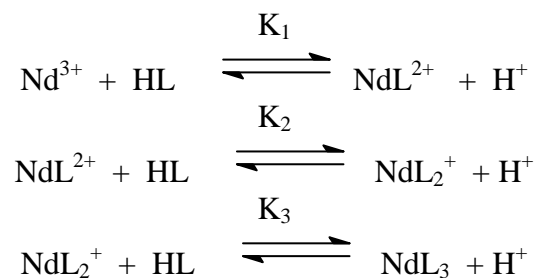


Дисоциационната константа на лиганда, определена потенциометрично, има стойност $pK_a = 8.79$. Тази стойност е използвана при изчисляване на стабилитетните константи на комплексите.

IV.3.10. Определяне на степенните стабилитетни константи на комплекс на неодим с Coumachlor

Спектрофотометрично е изследвана реакцията на Nd(III) с Coumachlor [117]. В разтвора се образуват три моноядрени комплекса със състав NdL^{2+} , NdL_2^+ и NdL_3 в зависимост от рН и концентрацията на лиганда. Определени са стойностите на степенните стабилитетни константи. Показано е, че реакцията на комплексообразуване е обратима в рН-интервала 3.0-7.5. При по-високи стойности на рН започва образуването на натриева сол на Coumachlor и абсорбционният спектър силно се променя.

От проведеното изследване може да се направи заключението, че при различни рН интервали една молекула Coumachlor последователно се координира в три степени чрез освобождаване на един протон при всяка от степените на комплексообразуване до рН = 7.5. Приема се следната схема на взаимодействие при посочените рН интервали:



Дисоциационната константа на лиганда има стойност $\text{pK}_a = 5.33$, използвана при изчисление на стабилитетните константи на комплексите.

IV.3.11. Определяне на степенните стабилитетни константи на комплекси на церий, лантан и неодим с производните на 4-хидроксикумарина (Acenocoumarol, Warfarin и Coumachlor)

Изследвани са комплексите на неодим с Acenocoumarol и Warfarin, както и комплексите на церий и лантан с Warfarin. Целта е да се установи разликата в стабилността на комплексите на трите лиганда, да се сравнят помежду си трите комплексообразувателя и да се оцени влиянието на стабилността на комплексите върху фармакологичната им активност.

За всеки от комплексите е доказано образуването в разтвор на три моноядрени комплекса със състав ML^{2+} , ML_2^+ и ML_3 , където $M = Ce, La, Nd$; $L =$ Асеносоумарол и Warfarin. Реакциите на комплексообразуване са обратими в тесен рН интервал. При $pH > 7.5-8.0$ абсорбцията на изследваните разтвори остава постоянна с повишаване на рН.

Таблица 31. рН-Интервали, подходящи за комплексообразуване на церий, лантан и неодим с Асеносоумарол, Warfarin и Coumachlor

| Съединение | ML^{2+} | ML_2^+ | ML_3 |
|------------------------|-----------|-----------|-----------|
| $Nd(HC)_3 \cdot 4H_2O$ | 3.0 – 4.0 | 5.0 – 6.0 | 6.5 – 7.5 |
| $Nd(HN)_3 \cdot 6H_2O$ | 3.0 – 4.5 | 5.0 – 6.0 | 6.5 – 7.5 |
| $Nd(HW)_3 \cdot 4H_2O$ | 2.5 – 5.0 | 5.5 – 6.5 | 7.0 – 8.0 |
| $La(HW)_3 \cdot 4H_2O$ | 2.0 – 3.5 | 4.5 – 5.5 | 6.0 – 7.5 |
| $Ce(HW)_3 \cdot 4H_2O$ | 3.0 – 4.0 | 5.0 – 6.5 | 7.5 – 8.5 |

Таблица 32. Стойности на моларната абсорбируемост на комплексите на церий, лантан и неодим с Асеносоумарол, Warfarin и Coumachlor, $\epsilon \cdot 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

| Съединение | $\epsilon_1(ML^{2+})$ | $\epsilon_2(ML_2^+)$ | $\epsilon_3(ML_3)$ |
|------------------------|-----------------------|----------------------|--------------------|
| $Nd(HC)_3 \cdot 4H_2O$ | 1.675 | 3.525 | 4.850 |
| $Nd(HN)_3 \cdot 6H_2O$ | 2.275 | 3.075 | 4.375 |
| $Nd(HW)_3 \cdot 4H_2O$ | 1.625 | 2.250 | 3.350 |
| $La(HW)_3 \cdot 4H_2O$ | 1.375 | 2.125 | 3.125 |
| $Ce(HW)_3 \cdot 4H_2O$ | 1.437 | 2.000 | 3.875 |

Таблица 33. Състав и степенни стабилитетни константи на координационните съединения на церий, лантан и неодим с Асеносоумарол, Warfarin и Coumachlor

| Съединение | Състав на Комплекса | lgK1 | lgK2 | lgK3 |
|--|---|------|------|------|
| Nd(HC) ₃ .4H ₂ O | ML ²⁺ , ML ₂ ⁺ , ML ₃ | 6.84 | 3.54 | 1.77 |
| Nd(HN) ₃ .6H ₂ O | ML ²⁺ , ML ₂ ⁺ , ML ₃ | 6.20 | 3.46 | 2.58 |
| Nd(HW) ₃ .4H ₂ O | ML ²⁺ , ML ₂ ⁺ , ML ₃ | 6.69 | 3.34 | 1.55 |
| La(HW) ₃ .4H ₂ O | ML ²⁺ , ML ₂ ⁺ , ML ₃ | 7.47 | 3.92 | 1.91 |
| Ce(HW) ₃ .4H ₂ O | ML ²⁺ , ML ₂ ⁺ , ML ₃ | 7.29 | 3.95 | 1.56 |

Предвид сходството в свойствата на лантаноидите, както и близките по структура лиганди е логично да се очакват неголеми различия в стабилността на техните съединения.

От комплексите на лантаноидите (церий, лантан и неодим) най-малко стабилни са комплексите на неодим, а с близка стабилност са комплексите на церий и лантан. Разликата между комплексите на неодим и другите два метала е съществена. Сравнявайки комплексите на трите лиганда (Асеносоумарол, Warfarin и Coumachlor) разликите не са съществени, но по-висока стабилност показват комплексите на Warfarin и Coumachlor, а по-малка стабилност – комплексите на Асеносоумарол.

IV.4. Комплексни съединения на бискумарини

IV.4.1. Синтез на комплексни съединения на бискумарини с йоните на редкоземни елементи

От поредицата изследвани бискумарини с две и три метокси групи в ароматното ядро показаха определена анти-HIV-активност. Това беше основанието ни да пристъпим към синтез и изследване на комплексни съединения. В последните години интересът към тези съединения значително нарастна [118-121]. Комплексите

на тривалентните лантаноиди с посочените лиганди бяха синтезирани чрез взаимодействие на солите на лантаноидите (III) и лигандите, в съотношение метал:лиганд 1:2 и 1:3. Комплексните съединения са неразтворими във вода, слабо разтворими в метанол и етанол и добре разтворими в DMSO.

Данните от елементния анализ са представени в таблици 34 – 36. Резултатите от анализа потвърждават очакванията и се различават от изчислените стойности в границите ± 0.5 %.

Таблица 34. Данни от елементния анализ на комплексите на Ce(III), La(III) и Nd(III) с 3,3'-(3,4-диметоксифенилметилден)бис-(4-хидрокски-2H-1-бензопиран-2-он)

| Съединение | Изчислено | Намерено |
|--|-------------|-------------|
| Nd (L-1) (C ₂₇ H ₁₈ O ₈ Nd) | % C = 52.77 | % C = 52.98 |
| | % H = 2.93 | % H = 3.24 |
| Ce (L-1) (C ₂₇ H ₁₈ O ₈ Ce) | % C = 53.11 | % C = 53.58 |
| | % H = 2.95 | % H = 3.14 |
| La (L-1) (C ₂₇ H ₁₈ O ₈ La) | % C = 53.20 | % C = 53.56 |
| | % H = 2.95 | % H = 3.28 |

Таблица 35. Данни от елементния анализ на комплексите на Ce(III), La(III) и Nd(III) с 3,3'-(2,3,4-триметоксифенилметилден)бис-(4-хидрокски-2H-1-бензо-пиран-2-он)

| Съединение | Изчислено | Намерено |
|---|-------------|-------------|
| Nd (L-2) (C ₂₈ H ₂₁ O ₉ Nd.H ₂ O) | % C = 50.68 | % C = 51.02 |
| | % H = 3.46 | % H = 3.78 |
| Ce (L-2) (C ₂₈ H ₂₁ O ₉ Ce) | % C = 52.42 | % C = 52.65 |
| | % H = 3.28 | % H = 3.68 |
| La (L-2) (C ₂₈ H ₂₁ O ₉ La) | % C = 51.14 | % C = 51.02 |
| | % H = 3.50 | % H = 4.11 |

Таблица 36. Данни от елементния анализ на комплексите на Ce(III), La(III) и Nd(III) с 3,3'-(3,4,5-триметоксифенилметилен)бис-(4-хидрокски-2H-1-бензопиран-2-он)

| Съединение | Изчислено | Намерено |
|---|---------------------------|---------------------------|
| Nd (L-3) (C ₂₈ H ₂₁ O ₉ Nd.H ₂ O) | % C = 50.68 % H = 3.46 | % C = 51.22 % H = 3.54 |
| Ce (L-3) (C ₂₈ H ₂₁ O ₉ Ce) | % C = 52.42 % H = 3.28 | % C = 52.86 % H = 3.35 |
| La (L-3) (C ₂₈ H ₂₁ O ₉ La) | % C = 51.14 % H = 3.50 | % C = 50.82 % H = 3.32 |

Данните от ИЧ-спектралните изследвания потвърждават образуването на комплексни съединения. Особено показателни са спектралните данни в областта 700 – 250 cm⁻¹, където се появяват ивици, доказващи връзката метал-кислород. Резултатите от ИЧ-спектралните изследвания са представени в таблици 37 – 42.

Таблица 37. ИЧ-Спектрална характеристика на лиганда 3,3'-(3,4-диметоксифенилметилен)бис-(4-хидрокски-2H-1-бензопиран-2-он) (**1**) и комплексите му с Ce(III), La(III) и Nd(III) в областта 3600 – 700 cm⁻¹

| Съединение/ Характ. ивица | ν_{OH} | $\nu_{C=O}$ | $\nu_{C=C}$ | ν_{Ar} | ν_{C-C} | ν_{C-O} | ν_{C-O-C} |
|--|------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|---------------|
| C ₂₇ H ₂₀ O ₈ (L-1) | | | | | | | |
| Nd (L-1) | 3395 | 1600 | 1596 | 1504 | 1445 | 1242 | 1108 |
| Ce (L-1) | | 1600 | 1597 | 1505 | 1445 | 1249 | 1108 |
| La (L-1) | | 1600 | 1597 | 1505 | 1446 | 1249 | 1107 |

Таблица 38. ИЧ-Спектрална характеристика на лиганда 3,3'-(3,4-диметоксифенил-метилен)бис-(4-хидрокски-2Н-1-бензопиран-2-он) (**1**) и комплексите му с Ce(III), La(III) и Nd(III) в областта 700 – 250 cm⁻¹

| C ₂₇ H ₂₀ O ₈ (L-1) | Nd (L-1) | Ce (L-1) | La (L-1) |
|--|----------|----------|----------|
| 671.6 | 687.0 | 686.0 | 686.0 |
| 507.9 | 515.7 | 515.6 | 515.5 |
| 462.3 | 473.8 | 472.2 | 471.9 |
| 405.8 | 421.2 | 421.2 | 421.2 |
| 317.4 | 320.4 | 320.4 | 319.7 |
| 278.7 | 299.0 | 299.2 | 299.5 |
| - | 253.8 | 258.6 | 254.0 |

Таблица 39. ИЧ-Спектрална характеристика на лиганда 3,3'-(2,3,4-триметокси-фенилметилен)бис-(4-хидрокски-2Н-1-бензопиран-2-он) (**2**) и комплексите му с Ce(III), La(III) и Nd(III) в областта 3600 – 700 cm⁻¹

| Съединение/ Характ. ивица | ν _{OH} | ν _{C=O} | ν _{C=C} | ν _{Ar} | ν _{C-C} | ν _{C-O} | ν _{C-O-C} |
|--|-----------------|------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|--------------------|
| C ₂₈ H ₂₂ O ₉ (L-2) | 3852 | 1661 | 1603 | 1568 | 1464 | 1311 | 1103 |
| Nd (L-2) | 3392 | 1600 | 1595 | 1493 | 1445 | 1280 | 1094 |
| La (L-2) | 3380 | 1600 | 1596 | 1494 | 1444 | 1281 | 1094 |
| Ce (L-2) | 3380 | 1600 | 1595 | 1494 | 1444 | 1272 | 1095 |

Таблица 40. ИЧ-Спектрална характеристика на лиганда 3,3'-(2,3,4-триметокси-фенилметилен)бис-(4-хидрокски-2Н-1-бензопиран-2-он) (**2**) и комплексите му с Ce(III), La(III) и Nd(III) в областта 700 – 250 cm⁻¹

| C ₂₈ H ₂₂ O ₉ (L-2) | Nd (L-2) | Ce (L-2) | La (L-2) |
|--|----------|----------|----------|
| 698.4 | 689.5 | 691.6 | 690.3 |
| 498.9 | 477.6 | 473.7 | 473.4 |
| 460.6 | - | - | - |
| 439.9 | 443.6 | 443.4 | 440.0 |

Таблица 41. ИЧ-Спектрална характеристика на лиганда 3,3'-(3,4,5-триметокси-фенилметилен)бис-(4-хидрокски-2Н-1-бензопиран-2-он) (**3**) и комплексите му с Ce(III), La(III) и Nd(III) в областта 3600 – 700 cm⁻¹

| Съединение/ Характ. ивица | ν_{OH} | $\nu_{C=O}$ | $\nu_{C=C}$ | ν_{Ar} | ν_{C-C} | ν_{C-O} | ν_{C-O-C} |
|--|------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|---------------|
| C ₂₈ H ₂₂ O ₉ (L-3) | | | | | | | |
| Nd (L-3) | 3410 | 1600 | 1596 | 1502 | 1446 | 1234 | 1107 |
| Ce (L-3) | 3411 | 1600 | 1597 | 1504 | 1447 | 1235 | 1107 |
| La (L-3) | 3382 | 1600 | 1597 | 1504 | 1415 | 1235 | 1122 |

Таблица 42. ИЧ-Спектрална характеристика на лиганда 3,3'-(3,4,5-триметокси-фенилметилен)бис-(4-хидрокски-2Н-1-бензопиран-2-он) (**3**) и комплексите му с Ce(III), La(III) и Nd(III) в областта 700 – 250 cm⁻¹

| C ₂₈ H ₂₂ O ₉ (L-3) | Nd (L-3) | Ce (L-3) | La (L-3) |
|--|----------|----------|----------|
| 672.6 | 688.8 | 688.0 | 686.3 |
| 654.7 | - | - | - |
| 588.1 | 577.8 | 574.8 | 573.8 |
| 505.4 | 511.6 | 511.5 | 511.8 |
| 460.7 | 473.8 | 472.1 | 471.1 |
| 406.9 | 421.5 | 420.3 | 421.6 |
| 351.3 | - | - | - |
| 319.4 | 320.6 | 277.6 | 285.8 |

Данните от протонните ЯМР-спектрални изследвания, представени в таблица 43, показват образуване на комплексни съединения със състав метал:лиганд 1:

Таблица 43. Данни от протонните ЯМР-спектрални изследвания на 3,3'-(3,4,5-триметоксифенилметилен)бис-(4-хидрокски-2Н-1-бензопиран-2-он) и комплексите му с Се(III), La(III) и Nd(III)

| Съединение | (OCH ₃) | (OH) | (CH) | (H-Arom.) | (OH) |
|---|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------|
| Лиганд C ₂₈ H ₂₂ O ₉ | 3.2 – 3.6 (d, 9H); | 4.4 – 4.6 (s, 1H); | 6.0 – 6.4 (d, 1H); | 6.8 – 7.8 (m, 10H) | - |
| Nd (L-3) (C ₂₈ H ₂₁ O ₉ Nd.H ₂ O) | 3.1 – 3.7 (s, 9H) | - | 6.3 – 6.5 (d, 1H) | 7.1 – 7.8 (m, 10H) | 13.9 (s, 1H) |
| Ce (L-3) (C ₂₈ H ₂₁ O ₉ Ce) | 3.2 – 3.5 (s, 9H) | - | 6.2 – 6.4 (d, 1H) | 7.0 – 7.7 (m, 10H) | 13.9 (s, 1H) |
| La (L-3) (C ₂₈ H ₂₁ O ₉ La) | 3.3 – 3.9 (s, 9H) | - | 6.4 – 6.5 (d, 1H) | 7.1 – 7.8 (m, 10H) | 14.0 (s, 1H) |

IV.4.2. Получаване на натриева сол на 3,3'-(3,4-диметоксифенилметилен)бис (4-хидрокски-2Н-1-бензопиран-2-он).

Доказване структурата на солта

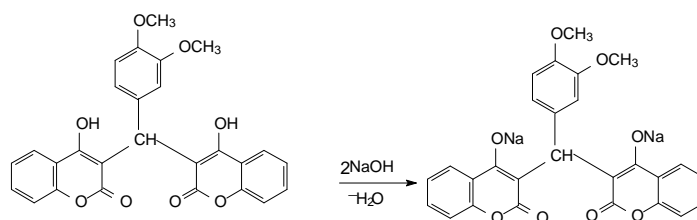
Превръщането на кумариновите съединения в алкални соли улеснява разтворимостта им във вода и процеса на комплексобразуване.

От дълги години съществува схващането, че в алкална среда кумарините са нестабилни дори и при стайна температура. В резултат на хидролиза лактонният пръстен се отваря и кумарините, проявяващи специфична фармакологична активност, се превръщат в неактивни съединения (фенолни киселини).

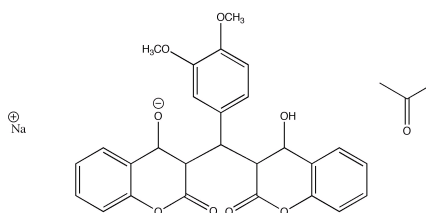
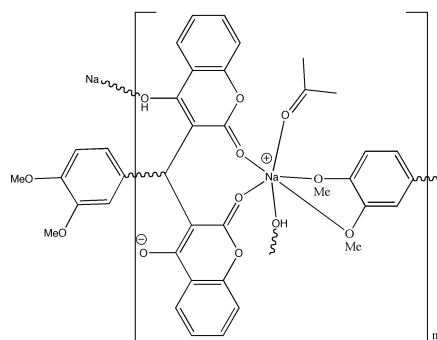
При синтеза на натриевата сол на 3,3'-(3,4-диметоксифенилметилен)бис-(4-хидрокски-2Н-1-бензопиран-2-он) се получи продукт различен от очаквания [122].

Резултатите от рентгеноструктурния анализ показват, че кумариновият пръстен се запазва в силно алкална среда ($\text{pH} \approx 10$) при стайна температура, както и при нагряване. Вместо сол с йоннокристален строеж се получава комплексно съединение с полимерна структура с шесткоординиран натриев йон. Координацията с натриевия йон се осъществява от карбонилния кислороден атом от бензопирановия пръстен, кислородния атом от двете метокси групи в ароматното ядро и кислородния атом от карбонилната група на ацетона, използван като разтворител при кристалния растеж [123-130].

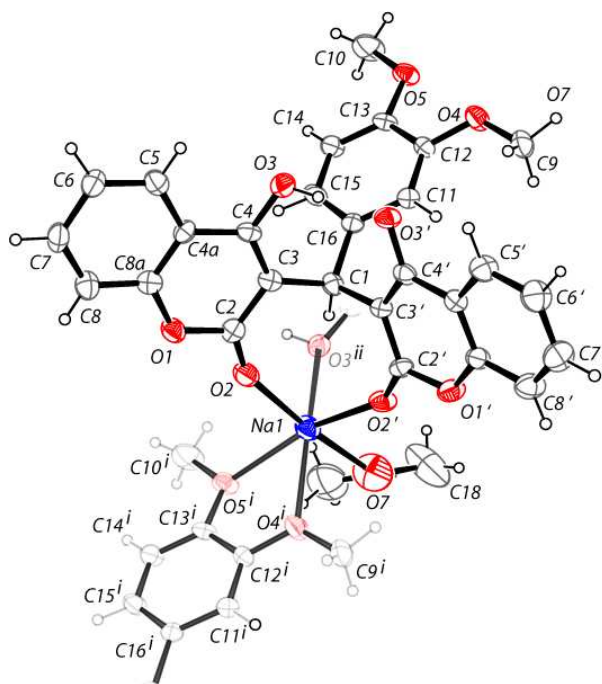
Фигура 1. Очакван ход на реакцията



Фигура 2. Действителен ход на реакцията



Фигура 3. Структура на натриев поли[[ацетон-О)-3-((3,4-диметоксифенил)(4-хидрокси-2-оксо-2H-хромен-3-ил)метил)-(2-оксо-2H-хромен-4-олат)]]



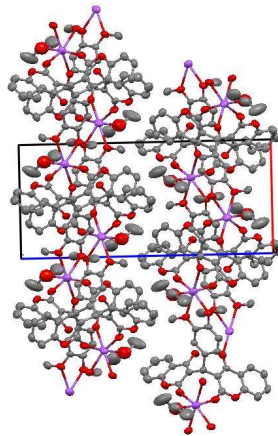
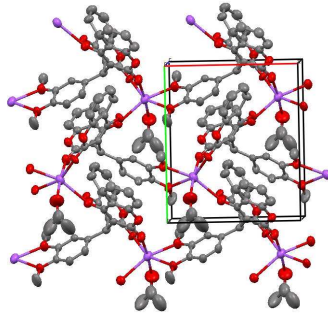
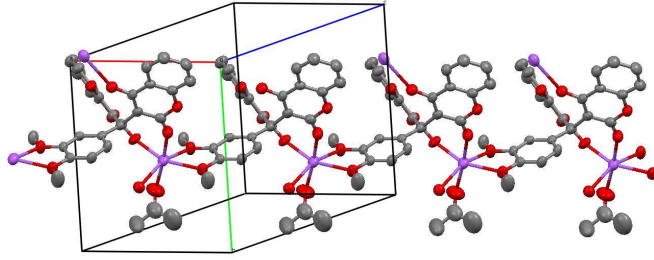


Таблица 44. Структурен анализ на натриев поли[(ацетон-О)-3-((3,4-диметоксифенил)(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)метил)-(2-оксо-2Н-хромен-4-олат)]

| | |
|--|--|
| Емпирична формула | $C_{30} H_{25} Na O_9$ |
| Молекулна маса | 552.49 |
| Температура | 293(2) К |
| Дължина на вълната | 0.71069 Å / MoK α |
| Кристална система | Орторомбична |
| Пространствена група | $P 2_1 2_1 2_1$ |
| Параметри на кристалната клетка | $a = 9.967(2) \text{ \AA}; \alpha=90^\circ$ $b = 11.473(3) \text{ \AA}; \beta=90^\circ$ $c = 22.176(5) \text{ \AA}; \gamma=90^\circ$ |
| Обем | 2535.9(10) Å ³ |
| Брой формулни единици за елементарна клетка (Z) | 4 |
| Дифрактометрична плътност | 1.452 g/cm ³ |
| Абсорбционен коефициент | 0.124 mm ⁻¹ |
| F (000) | 1152 |
| Макроскопско описание на кристала | Безцветен |
| Кристал | Прозрачен |
| Размери на кристала | 0.50 x 0.14 x 0.08 mm ³ |
| θ интервал за събиране на данни [°] | 2.00 до 22.11 ° |
| Лимит на индексите | $-10 \leq h \leq 10, -12 \leq k \leq 12, -23 \leq l \leq 23$ |
| Крайни R индекси [$I > 2\sigma(I)$] | 14591 / 1822 [R(int) = 0.0407] |
| Крайни R индекси R1 / wR2 | R1 = 0.0774, wR2 = 0.1556 |
| Адекватност на приближението (Goodness of fit on F ²) | 1.146 |
| Максимална / минимална E-плътност | 0.256 and - 0.385 e.Å ⁻³ |
| CCDC | 723527 |

Таблица 45. Дължини на връзки [\AA] на натриев поли[(ацетон-О)-3-(3,4-диметоксифенил)(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)метил)-(2-оксо-2Н-хромен-4-олат)]

| | | | |
|--------------------------|-----------|-------------------------|-----------|
| Na 1 – O 2 | 2.267(7) | C 16 – C 15 | 1.391(10) |
| Na 1 – O 2' | 2.323(7) | C 16 – C 1 ⁱ | 1.541(11) |
| Na 1 – O 7 | 2.347(9) | C 15 – C 14 | 1.376(11) |
| Na 1 – O 5 | 2.414(6) | C 8A – C 4A | 1.384(11) |
| Na 1 – O 4 | 2.481(7) | C 8A – C 8 | 1.388(11) |
| Na 1 – O 3 ^{iv} | 2.775(6) | C 3 – C 4 | 1.377(10) |
| O 2 – C 2 | 1.206(9) | C 3 – C 1 | 1.521(10) |
| O 3 – C 4 | 1.314(9) | C 1 – C 3' | 1.520(10) |
| O 3 – Na 1 ⁱⁱ | 2.775(6) | C 1 – C 16 ^v | 1.541(11) |
| O 5 – C 13 | 1.376(9) | C 8 – C 7 | 1.367(12) |
| O 5 – C 10 | 1.439(10) | C 7 – C 6 | 1.418(13) |
| O 7 – C 17 | 1.202(15) | C 6 – C 5 | 1.371(11) |
| O 4 – C 12 | 1.378(9) | C 17 – C 19 | 1.435(13) |
| O 4 – C 9 | 1.404(9) | C 17 – C 18 | 1.436(12) |
| O 1' – C 8A' | 1.376(9) | C 5 – C 4A | 1.388(11) |
| O 1' – C 2' | 1.395(9) | C 4A – C 4 | 1.455(11) |
| O 1 – C 8A | 1.356(9) | C 2' – C 3' | 1.429(10) |
| O 1 – C 2 | 1.406(9) | C 3' – C 4' | 1.375(10) |
| O 2' – C 2' | 1.198(9) | C 4' – C 4A' | 1.471(11) |
| O 3' – C 4' | 1.306(9) | C 5' – C 6' | 1.394(12) |
| C 13 – C 14 | 1.357(10) | C 5' – C 4A' | 1.397(11) |
| C 13 – C 12 | 1.407(10) | C 6' – C 7' | 1.408(13) |
| C 12 – C 11 | 1.385(10) | C 7' – C 8' | 1.364(12) |
| C 11 – C 16 | 1.379(10) | C 8' – C 8A' | 1.390(11) |
| C 2 – C 3 | 1.429(11) | C 4A' – C 8A' | 1.371(11) |

Таблица 46. Валентни ъгли [°] на натриев поли[(ацетон-О)-3-(3,4- диметокси-
фенил)(4-хидрокси-2-оксо-2Н-хромен-3-ил)метил)-(2-оксо-2Н-
хромен-4-олат)]

| | | | |
|---------------------------------|-----------|--------------------------------|-----------|
| O 2 – Na 1 – O 7 | 174.5(3) | O 1 – C 8A – C 4A | 121.7(7) |
| O 2' – Na 1 – O 7 | 90.9(3) | O 1 – C 8A – C 8 | 116.5(8) |
| O 2 – Na 1 – O 5 | 86.9(2) | C 4A – C 8A – C 8 | 121.8(8) |
| O 2' – Na 1 – O 5 | 153.6(3) | C 4 – C 3 – C 2 | 120.7(8) |
| O 7 – Na 1 – O 5 | 97.2(3) | C 4 – C 3 – C 1 | 124.4(7) |
| O 2 – Na 1 – O 4 | 100.4(2) | C 2 – C 3 – C 1 | 114.9(7) |
| O 2' – Na 1 – O 4 | 92.7(2) | C 3' – C 1 – C 3 | 115.0(6) |
| O 7 – Na 1 – O 4 | 84.8(3) | C 3' – C 1 – C 16 ^v | 115.3(6) |
| O 5 – Na 1 – O 4 | 63.33(19) | C 3 – C 1 – C 16 ^v | 113.8(6) |
| O 2 – Na 1 – O 3 ^{iv} | 94.2(2) | C 7 – C 8 – C 8A | 120.0(9) |
| O 2' – Na 1 – O 3 ^{iv} | 100.4(2) | C 8 – C 7 – C 6 | 118.9(8) |
| O 7 – Na 1 – O 3 ^{iv} | 81.2(3) | C 5 – C 6 – C 7 | 120.2(8) |
| O 5 – Na 1 – O 3 ^{iv} | 105.6(2) | O 7 – C 17 – C 19 | 113.5(14) |
| O 4 – Na 1 – O 3 ^{iv} | 160.9(2) | O 7 – C 17 – C 18 | 126.2(15) |
| C 2 – O 2 – Na 1 | 152.5(5) | C 19 – C 17 – C 18 | 120.2(15) |
| C 4 – O 3 – Na 1 ⁱⁱ | 147.8(5) | C 6 – C 5 – C 4A | 121.0(8) |
| C 13 – O 5 – C 10 | 116.8(7) | C 8A – C 4A – C 5 | 118.0(7) |
| C 13 – O 5 – Na 1 | 123.0(5) | C 8A – C 4A – C 4 | 118.7(7) |
| C 10 – O 5 – Na 1 | 117.5(5) | C 5 – C 4A – C 4 | 123.2(7) |
| C 17 – O 7 – Na 1 | 134.9(11) | O 2' – C 2' – O 1' | 113.6(7) |
| C 12 – O 4 – C 9 | 118.3(6) | O 2' – C 2' – C 3' | 127.9(7) |
| C 12 – O 4 – Na 1 | 120.0(4) | O 1' – C 2' – C 3' | 118.4(7) |
| C 9 – O 4 – Na 1 | 121.2(5) | O 3 – C 4 – C 3 | 123.6(7) |
| C 8A' – O 1' – C 2' | 121.1(6) | O 3 – C 4 – C 4A | 117.4(7) |
| C 8A – O 1 – C 2 | 121.4(7) | C 3 – C 4 – C 4A | 119.0(7) |
| C 2' – O 2' – Na 1 | 148.4(5) | C 4' – C 3' – C 2' | 120.9(7) |
| C 14 – C 13 – O 5 | 126.7(7) | C 4' – C 3' – C 1 | 122.3(7) |
| C 14 – C 13 – C 12 | 119.0(7) | C 2' – C 3' – C 1 | 116.7(7) |
| O 5 – C 13 – C 12 | 114.3(7) | O 3' – C 4' – C 3' | 125.7(7) |
| O 4 – C 12 – C 11 | 124.5(7) | O 3' – C 4' – C 4A' | 115.7(7) |
| O 4 – C 12 – C 13 | 115.6(7) | C 3' – C 4' – C 4A' | 118.6(7) |
| C 11 – C 12 – C 13 | 119.8(7) | C 6' – C 5' – C 4A' | 119.7(8) |
| C 16 – C 11 – C 12 | 121.3(7) | C 5' – C 6' – C 7' | 118.9(9) |
| O 2 – C 2 – O 1 | 113.4(7) | C 8' – C 7' – C 6' | 121.7(9) |
| O 2 – C 2 – C 3 | 128.3(8) | C 7' – C 8' – C 8A' | 118.1(9) |
| O 1 – C 2 – C 3 | 118.3(8) | C 8A' – C 4A' – C 5' | 119.3(7) |
| C 11 – C 16 – C 15 | 117.3(7) | C 8A' – C 4A' – C 4' | 118.8(7) |
| C 11 – C 16 – C 1 ⁱ | 123.6(6) | C 5' – C 4A' – C 4' | 121.9(7) |
| C 15 – C 16 – C 1 ⁱ | 118.8(7) | C 4A' – C 8A' – O 1' | 121.7(7) |
| C 14 – C 15 – C 16 | 122.0(7) | C 4A' – C 8A' – C 8' | 122.2(8) |
| C 13 – C 14 – C 15 | 120.5(7) | O 1' – C 8A' – C 8' | 116.1(7) |

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:
i: x-1,y,z; ii: 1-x,y-1/2, 3/2-z; iv: 1-x,y+1/2, 3/2-z; v: x+1,y,z

Резултатите от рентгеноструктурния анализ показват, че вместо сол с йонна структура, се получава полимер с шест координиран натриев йон. Кумариновата структура се запазва [123-130].

IV.5. Фармакологични изследвания на комплексните съединения

Комплексите на 4-метил-7-хидроксикумарин са изследвани за спазмолитично и антикоагулантно действие. Комплексите на Warfarin, Acenocoumarol и Coumachlor са изследвани за антикоагулантна активност. Всички комплекси на церий, лантан и неодим с Мендиаксон, Warfarin, Acenocoumarol и Coumachlor са изследвани за цитотоксично действие. Фармакологичните изследвания са проведени в Катедрата по фармакология, фармакотерапия и токсикология на Фармацевтичния факултет при Медицински университет-София и в Катедрата по вирусология, НИЗПБ-МУ-София.

IV.5.1. Спазмолитична активност на комплекси на Мендиаксон

Проучено е спазмолитичното действие на комплексите на Мендиаксон при опити *in vitro* върху гладкомускулен препарат от изолиран илеум на морско свинче. Данните са представени в табл. 47 и 48.

При модел на серотонин-индуцирана контракция цериевият и железният комплекси на Мендиаксон показват инхибираща активност, по-висока от тази на Мендиаксон.

Таблица 47. Влияние на цериев комплекс на Мендиаксон върху серотонин-индуцирана контракция

| Съединение | Концентрация $\mu\text{mol/L}$ | Релаксация (%) | IC_{50} | PD_2 |
|---|-----------------------------------|-------------------|-----------------------|---------------|
| Мендиаксон | 1.10^{-6} | 0 | 5.14×10^{-3} | 2.29 |
| | 1.10^{-5} | 16.5 ± 3.8 | | |
| | 1.10^{-4} | 19.9 ± 3.6 | | |
| | 3.10^{-4} | 35.5 ± 5.1 | | |
| $\text{Ce}(\text{HL})_2(\text{OH}) \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 1.10^{-6} | 0 | 5.65×10^{-4} | 3.25 |
| | 1.10^{-5} | 18.3 ± 3.5 | | |
| | 1.10^{-4} | 29 ± 5.8 | | |
| | 3.10^{-4} | 47.5 ± 6.46 | | |

Таблица 48. Влияние на комплекс на Fe(III) с Мендиаксон върху серотонин-индуцирана контракция

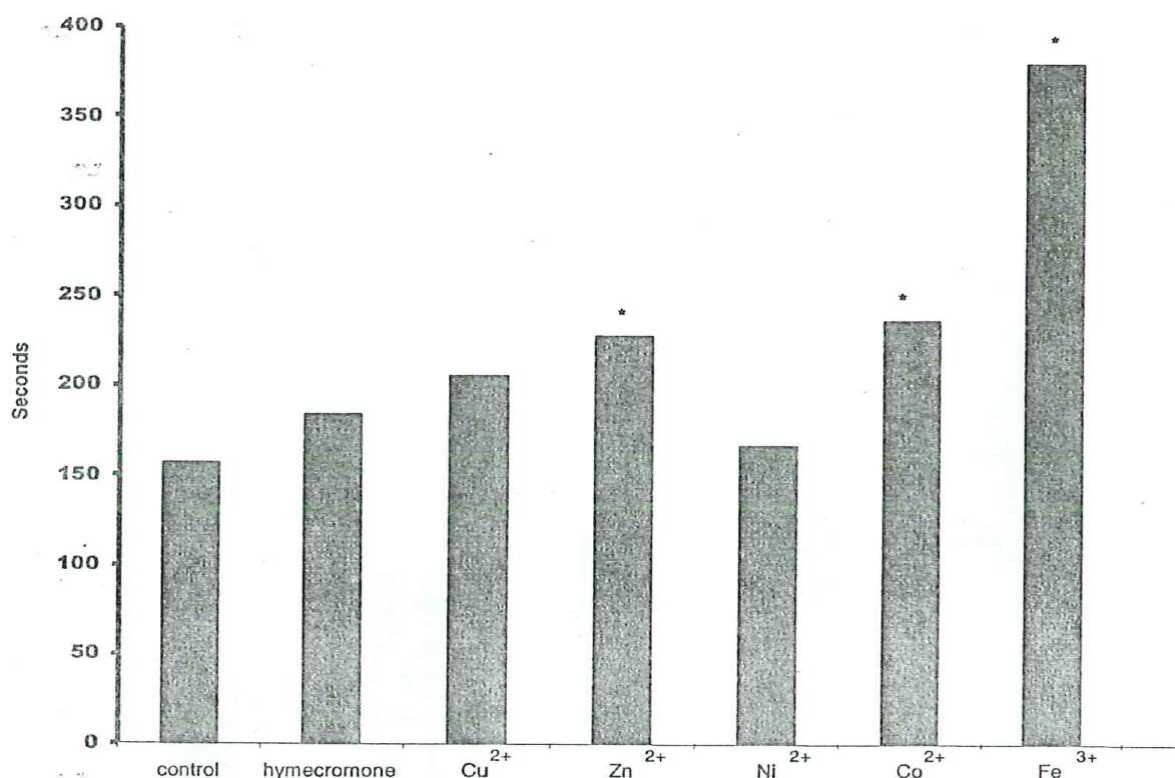
| Съединение | Концентрация $\mu\text{mol/L}$ | Релаксация (%) | IC_{50} | PD_2 |
|--|-----------------------------------|-------------------|-----------------------|---------------|
| Мендиаксон | 1.10^{-6} | 0 | 5.14×10^{-3} | 2.29 |
| | 1.10^{-5} | 16.5 ± 3.8 | | |
| | 1.10^{-4} | 19.9 ± 3.6 | | |
| | 3.10^{-4} | 35.5 ± 5.1 | | |
| $\text{Fe}(\text{HL})_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 1.10^{-6} | 0 | 1.08×10^{-4} | 3.96 |
| | 1.10^{-5} | 21.1 ± 4.4 | | |
| | 3.10^{-5} | 32.8 ± 4.2 | | |
| | 1.10^{-4} | 48.7 ± 3.0 | | |

IV.6. Антикоагулантна активност на комплексите

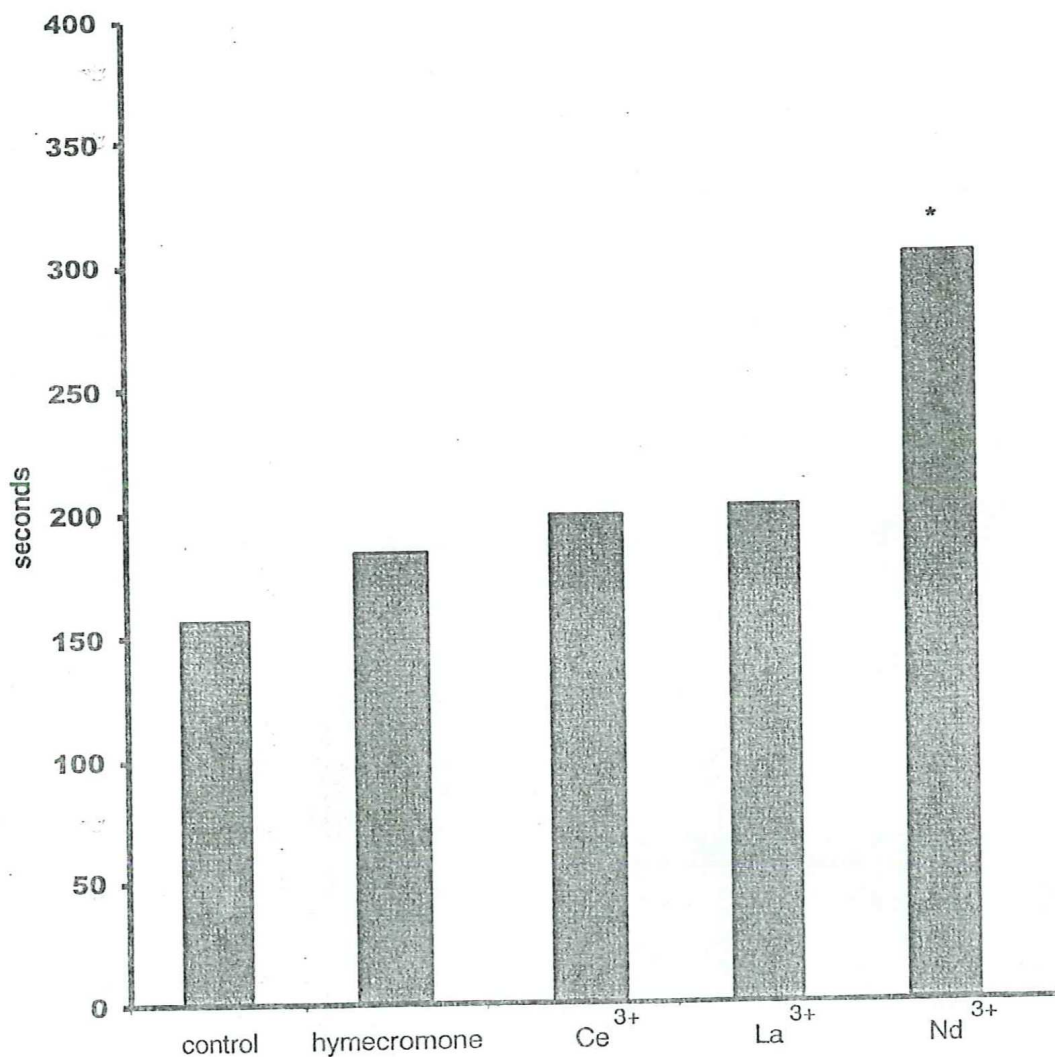
IV.6.1. Антикоагулантен ефект на комплекси на Мендиаксон

Данните от изследване на съединенията за антикоагулантна активност показват, че комплексът на желязото статистически значимо удължава времето на съсирване на кръвта спрямо това на контролата. Комплексите на цинк, кобалт и неодим удължават времето на съсирване, но ефектът е умерен. Комплексите на никел, церий и лантан не променят времето на съсирване в сравнение с това при контролните животни. Данните за антикоагулантната активност на комплекса на тривалентния железен йон корелират с данните за железни комплекси на 4-хидроксикумарини. Последните намират приложение като родентициди поради антикоагулантното им действие.

Фигура 1. Влияние на комплекси на Мендиаксон с йони на биогенни метали върху времето на кръвосъсирване



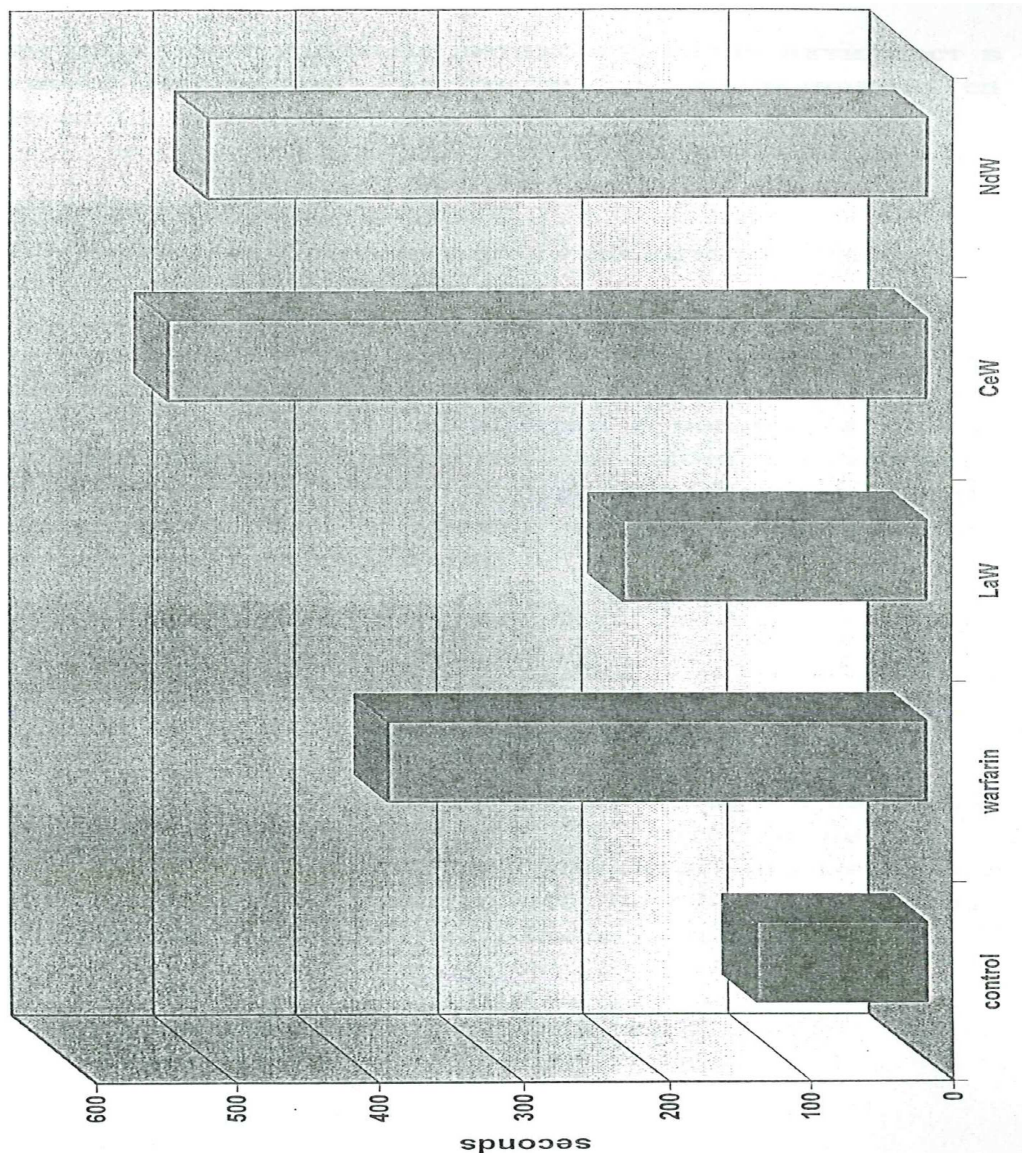
Фигура 2. Влияние на комплекси на Мендиаксон с лантаноиди върху времето на кръвосъсирване



IV.6.2. Антикоагулантен ефект на комплекси на Warfarin

Комплексите на церий и неодим в доза 1/10 от LD₅₀, приложени р.о., проявяват по-силно изразен антикоагулантен ефект в сравнение с Warfarin. Комплексът на лантана значително по-слабо повлиява времето на съсирване. Данните от изследването са представени на фиг.3.

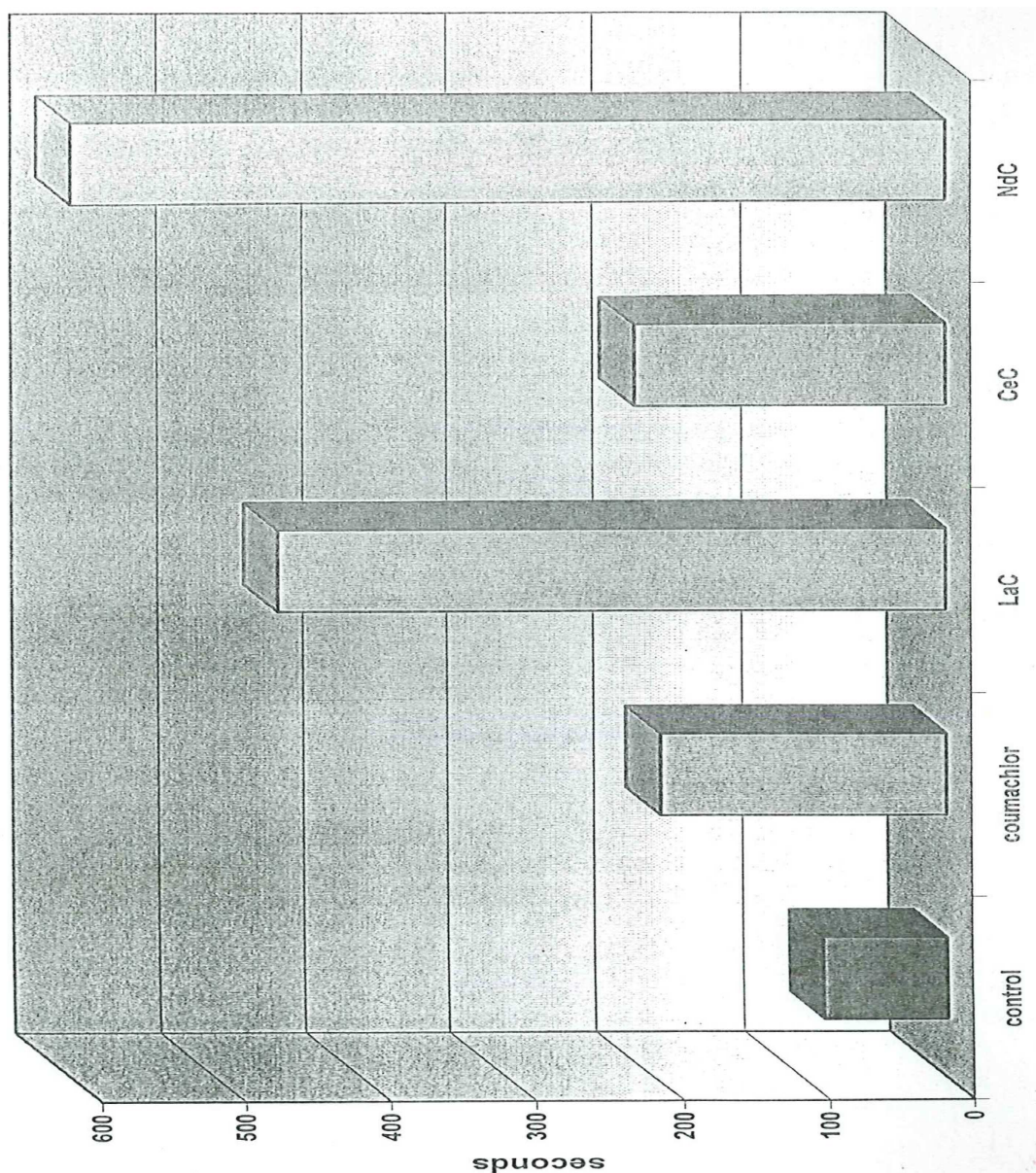
Фигура 3. Влияние на лантаноидните комплекси на Warfarin върху времето на кръвосъсирване



IV.6.3. Антикоагулантна активност на комплекси на Coumachlor

При изследване влиянието на комплексите на Coumachlor върху времето на съсирване установихме, че комплексите на лантан и неодим са с най-силно изразено действие. Антикоагулантното действие на комплекса на церий е сравнимо с това на Coumachlor (фиг. 4).

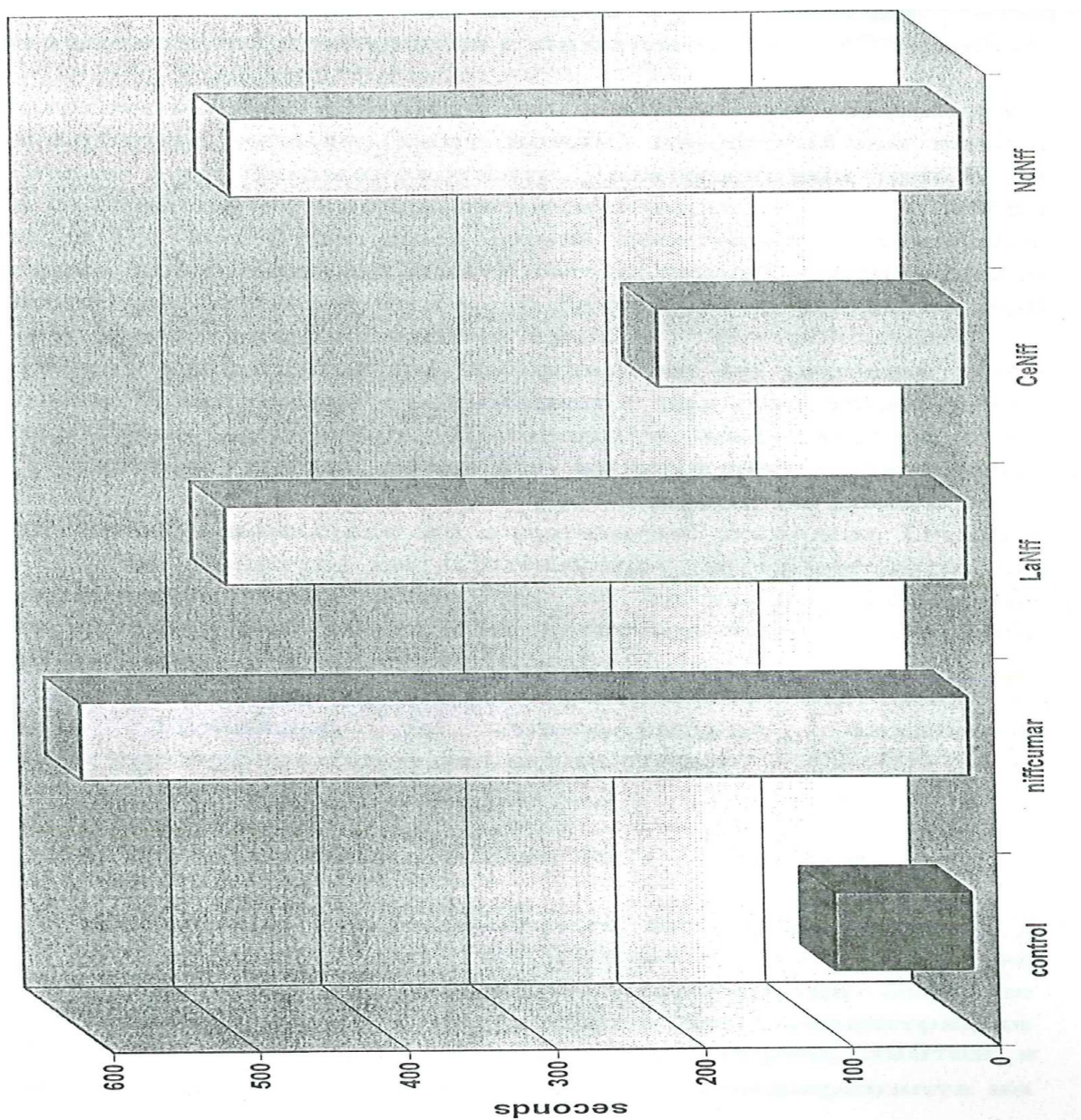
Фигура 4. Влияние на лантаноидните комплекси на Coumachlor върху времето на кръвосъсирване



IV.6.4. Антикоагулантна активност на комплекси на Asenocoumarol

Резултатите от изследване на антикоагулантното действие на комплексите на Asenocoumarol показват, че ефектът им е по-слабо изразен в сравнение с ефекта на лиганда (фиг. 5).

Фигура 5. Влияние на лантаноидните комплекси на Аспеносуmarol върху времето на кръвосъсирване



IV.7. Цитотоксична активност *in vitro* на комплексите на кумарини с лантаноиди (МТТ-тест)

Цитотоксичният скрининг на комплексни съединения на лантаноиди е важно направление във фармакологията. През последните десетилетия комплексите на платината (Cisplatin, Carboplatin и др.) са се утвърдили като лекарствени продукти при терапията на злокачествените тумори. Изследванията на комплексни

съединения на лантаноиди с клинично прилагани лекарствени продукти, както и с бискумарини показват, че инхибират клетъчната пролиферация в различна степен.

IV.7.1. Цитотоксичност при P3HR1 клетки

Изследването на комплексите на церий, лантан и неодим с Мендиаксон, както и изходните неорганични соли върху P3HR1 клетки от лимфом на Бъркит показва, че солите не повлияват пролиферацията на клетките, докато комплексите предизвикват забавяне на пролиферативните процеси на лимфомните клетки (табл. 49).

Таблица 49. Спектрофотометрични данни от МТТ-теста за комплексите на Мендиаксон върху клетъчна линия P3HR1

| Съединение | Абсорбция на МТТ-formazan при 580 nm | | | |
|--|--------------------------------------|--------|--------|--------|
| | Нетрет. контр. | 25 µM | 100 µM | 400 µM |
| Ce(NO ₃) ₃ .6H ₂ O | 0.3936 | 0.4835 | 0.4216 | 0.3649 |
| (± SD) | 0.0672 | 0.0419 | 0.0511 | 0.0823 |
| La(NO ₃) ₃ .6H ₂ O | 0.3936 | 0.4429 | 0.4258 | 0.4142 |
| (± SD) | 0.0672 | 0.0579 | 0.0801 | 0.0775 |
| Nd(NO ₃) ₃ .6H ₂ O | 0.3936 | 0.4874 | 0.4143 | 0.3613 |
| (± SD) | 0.0672 | 0.0885 | 0.0245 | 0.0955 |
| Ce(HL) ₂ (OH).5H ₂ O | 0.8167 | 0.7670 | 0.7508 | 0.5180 |
| (± SD) | 0.0565 | 0.0443 | 0.0397 | 0.0170 |
| La(HL) ₃ .6H ₂ O | 0.8167 | 0.6280 | 0.7164 | 0.5256 |
| (± SD) | 0.0566 | 0.0842 | 0.0877 | 0.0244 |
| Nd(HL) ₃ .6H ₂ O | 0.8167 | 1.0138 | 0.6034 | 0.4592 |
| (± SD) | 0.0565 | 0.0565 | 0.0469 | 0.0488 |

При изследване на комплексните съединения на церий, лантан и неодим с Warfarin върху P3HR1-клетки (табл. 50) е установено, че само комплексът на церия инхибира туморно-клетъчната пролиферация (T/C = 25 %).

Таблица 50. Спектрофотометрични данни от МТТ-теста за комплексите на Warfarin върху клетъчна линия РЗНR1

| Съединение | Абсорбция на МТТ-formazan при 580 nm | | | |
|--|--------------------------------------|------------|-------------|-------------|
| | Нетрет. контр. | 25 μ M | 100 μ M | 400 μ M |
| Ce(NO ₃) ₃ .6H ₂ O | 0.3936 | 0.4835 | 0.4216 | 0.3649 |
| (\pm SD) | 0.0672 | 0.0419 | 0.0511 | 0.0823 |
| La(NO ₃) ₃ .6H ₂ O | 0.3936 | 0.4429 | 0.4258 | 0.4142 |
| (\pm SD) | 0.0672 | 0.0579 | 0.0801 | 0.0775 |
| Nd(NO ₃) ₃ .6H ₂ O | 0.3936 | 0.4874 | 0.4143 | 0.3613 |
| (\pm SD) | 0.0672 | 0.0885 | 0.0245 | 0.0955 |
| Ce(HW) ₃ .4H ₂ O | 0.3332 | 0.3649 | 0.3466 | 0.2795 |
| (\pm SD) | 0.0393 | 0.0704 | 0.0489 | 0.0476 |
| La(HW) ₃ .4H ₂ O | 0.3332 | 0.3681 | 0.3138 | 0.3503 |
| (\pm SD) | 0.0393 | 0.0472 | 0.0400 | 0.0540 |
| Nd(HW) ₃ .4H ₂ O | 0.3332 | 0.3939 | 0.4313 | 0.4218 |
| (\pm SD) | 0.0393 | 0.0698 | 0.0545 | 0.0548 |

За комплексите на Coumachlor с лантаноидите върху лимфомните РЗНR1-клетки са получени аналогични данни за неповлияване на растежа на клетките след третиране с неорганичните соли и с комплекс на неодим (табл.51). Комплексите на церий и лантан инхибират с 25 % клетъчния растеж при концентрации 100 и 400 μ M.

Таблица 51. Спектрофотометрични данни от МТТ-теста за комплексите на Соумачлог върху клетъчна линия РЗНR1

| Съединение | Абсорбция на МТТ-formazan при 580 nm | | | |
|--|--------------------------------------|------------|-------------|-------------|
| | Нетрет. контр. | 25 μ M | 100 μ M | 400 μ M |
| Ce(NO ₃) ₃ .6H ₂ O | 0.3936 | 0.4835 | 0.4216 | 0.3649 |
| (\pm SD) | 0.0672 | 0.0419 | 0.0511 | 0.0823 |
| La(NO ₃) ₃ .6H ₂ O | 0.3936 | 0.4429 | 0.4258 | 0.4142 |
| (\pm SD) | 0.0672 | 0.0579 | 0.0801 | 0.0775 |
| Nd(NO ₃) ₃ .6H ₂ O | 0.3936 | 0.4874 | 0.4143 | 0.3613 |
| (\pm SD) | 0.0672 | 0.0885 | 0.0245 | 0.0955 |
| Ce(HC) ₃ .5H ₂ O | 0.4099 | 0.4019 | 0.3313 | 0.2819 |
| (\pm SD) | 0.0808 | 0.1001 | 0.1220 | 0.0470 |
| La(HC) ₃ .5H ₂ O | 0.4099 | 0.3941 | 0.3129 | 0.3030 |
| (\pm SD) | 0.0808 | 0.0942 | 0.0334 | 0.0945 |
| Nd(HC) ₃ .5H ₂ O | 0.4099 | 0.4441 | 0.4354 | 0.3700 |
| (\pm SD) | 0.0808 | 0.0612 | 0.1478 | 0.0962 |

Лантаноидните комплекси на Асепосоумарол инхибират развитието на лимфомните РЗНR1-клетки (табл. 52).

Таблица 52. Спектрофотометрични данни от МТТ-теста за комплексите на Асепосоуагоl върху клетъчна линия РЗНR1

| Съединение | Абсорбция на МТТ-formazan при 580 nm | | | |
|--|--------------------------------------|--------|--------|--------|
| | Нетрет. контр. | 25 µM | 100 µM | 400 µM |
| Ce(NO ₃) ₃ .6H ₂ O | 0.3936 | 0.4835 | 0.4216 | 0.3649 |
| (± SD) | 0.0672 | 0.0419 | 0.0511 | 0.0823 |
| La(NO ₃) ₃ .6H ₂ O | 0.3936 | 0.4429 | 0.4258 | 0.4142 |
| (± SD) | 0.0672 | 0.0579 | 0.0801 | 0.0775 |
| Nd(NO ₃) ₃ .6H ₂ O | 0.3936 | 0.4874 | 0.4143 | 0.3613 |
| (± SD) | 0.0672 | 0.0885 | 0.0245 | 0.0955 |
| Ce(HN) ₃ .4H ₂ O | 0.8167 | 0.7270 | 0.7346 | 0.6410 |
| (± SD) | 0.0565 | 0.0270 | 0.1086 | 0.0163 |
| La(HN) ₃ .4H ₂ O | 0.8167 | 0.7454 | 0.7154 | 0.6494 |
| (± SD) | 0.0565 | 0.0363 | 0.0939 | 0.1234 |
| Nd(HN) ₃ .4H ₂ O | 0.8167 | 0.8485 | 0.7710 | 0.6531 |
| (± SD) | 0.0565 | 0.0732 | 0.0712 | 0.1327 |

Сравняването на получените данни върху РЗНR1-клетъчна линия показва, че клетъчният отговор е диференциран най-добре по отношение на комплексите на Соумаслор, като тези с церий и лантан се определят като съединения с цитостатичен ефект – отчетена е 25 % редукция на виталните клетки.

IV.7.2. Цитотоксичност при ТНР-1 клетки

При изследване върху лимфомни клетки ТНР-1 на комплексите на церий и лантан с Мендиаксон (табл. 53) е установено намаление на виталните клетки от туморно-клетъчната популация с 20 % при концентрации 100 и 400 µM.

Таблица 53. Спектрофотометрични данни от МТТ-теста за комплексите на Мендиаксон върху клетки ТНР-1

| Съединение | Абсорбция на МТТ-formazan при 580 nm | | | |
|--|--------------------------------------|------------|-------------|-------------|
| | Нетрет. контр. | 25 μ M | 100 μ M | 400 μ M |
| Ce(NO ₃) ₃ .6H ₂ O | 0.374 | 0.4416 | 0.4312 | 0.4230 |
| (\pm SD) | 0.080 | 0.010 | 0.030 | 0.020 |
| La(NO ₃) ₃ .6H ₂ O | 0.3745 | 0.4078 | 0.4217 | 0.4026 |
| (\pm SD) | 0.080 | 0.010 | 0.030 | 0.040 |
| Ce(HL) ₂ (OH).5H ₂ O | 0.3745 | 0.3230 | 0.2962 | 0.2612 |
| (\pm SD) | 0.080 | 0.008 | 0.020 | 0.020 |
| La(HL) ₃ .6H ₂ O | 0.3745 | 0.3657 | 0.3335 | 0.3058 |
| (\pm SD) | 0.080 | 0.010 | 0.008 | 0.020 |

Неорганичните соли, използвани за синтез на комплексите, не повлияват пролиферацията на клетките.

Комплексите на церий и лантан с Асепосуитарол инхибират клетъчната пролиферация при най-високата концентрация 400 μ M. Виталните клетки намаляват с 25 % (табл. 54).

Таблица 54. Спектрофотометрични данни от МТТ-теста за комплексите на Асеносоумарол върху клетки ТНР-1

| Съединение | Абсорбция на МТТ-formazan при 580 nm | | | |
|--|--------------------------------------|------------|-------------|-------------|
| | Нетрет. контр. | 25 μ M | 100 μ M | 400 μ M |
| Ce(NO ₃) ₃ .6H ₂ O | 0.374 | 0.4416 | 0.4312 | 0.4230 |
| (\pm SD) | 0.080 | 0.010 | 0.030 | 0.020 |
| La(NO ₃) ₃ .6H ₂ O | 0.3745 | 0.4078 | 0.4217 | 0.4026 |
| (\pm SD) | 0.080 | 0.010 | 0.030 | 0.040 |
| Ce(HN) ₃ .4H ₂ O | 0.3745 | 0.3855 | 0.3828 | 0.2746 |
| (\pm SD) | 0.080 | 0.010 | 0.030 | 0.020 |
| La(HL) ₃ .4H ₂ O | 0.3745 | 0.3968 | 0.3763 | 0.2871 |
| (\pm SD) | 0.080 | 0.020 | 0.060 | 0.008 |

Данните показват, че инхибиране на Т-клетъчния растеж от комплексите на церий и лантан с Мендиаксон и Асеносоумарол се постига само при високи концентрации.

IV.7.3. Цитотоксичност при клетъчна линия K-562

При изследване на лантаноидните комплекси на Асеносоумарол върху сравнително резистентната клетъчна линия K-562 е установено, че както неорганичните соли, така и комплексите инхибират развитието на клетките при концентрации 100 и 400 μ M. Най-силно изразен е инхибиращият ефект при комплексите на лантан и неодим. Виталните клетки намаляват със 75 % (табл. 55).

Таблица 55. Спектрофотометрични данни от МТТ-теста за комплексите на Асепосоуагол върху клетъчна линия К-562

| Съединение | Абсорбция на МТТ-formazan при 580 nm | | | |
|--|--------------------------------------|------------|-------------|-------------|
| | Нетрет. контр. | 25 μ M | 100 μ M | 400 μ M |
| Ce(NO ₃) ₃ .6H ₂ O | 0.4649 | 0.3846 | 0.3502 | 0.3283 |
| (\pm SD) | 0.030 | 0.040 | 0.010 | 0.020 |
| La(NO ₃) ₃ .6H ₂ O | 0.4694 | 0.3906 | 0.3342 | 0.2068 |
| (\pm SD) | 0.030 | 0.020 | 0.050 | 0.010 |
| Nd(NO ₃) ₃ .6H ₂ O | 0.4694 | 0.3895 | 0.3485 | 0.2987 |
| (\pm SD) | 0.030 | 0.030 | 0.030 | 0.020 |
| Ce(HN) ₃ .4H ₂ O | 0.3168 | 0.3791 | 0.2897 | 0.2390 |
| (\pm SD) | 0.020 | 0.030 | 0.030 | 0.020 |
| La(HN) ₃ .4H ₂ O | 0.3168 | 0.4971 | 0.3975 | 0.1382 |
| (\pm SD) | 0.020 | 0.030 | 0.070 | 0.020 |
| Nd(HN) ₃ .6H ₂ O | 0.3168 | 0.3720 | 0.4192 | 0.1538 |
| (\pm SD) | 0.020 | 0.040 | 0.030 | 0.020 |

Данните потвърждават възможността за инхибиране пролиферацията на туморно-клетъчни популации от различен произход с лантаноидни комплекси на кумарини.

Изследванията върху трите клетъчни линии показват, че комплексите на кумаринови производни с клинично приложение проявяват цитостатична активност. Отчетено е значително инхибиране на резистентната клетъчна линия К-562 от комплексите на лантан и неодим с Асепосоуагол. Това дава основание да приемем, че съединенията са перспективни за повлияване растежа на резистентни тумори.

IV.8. Цитотоксична активност на бискумарини и техни лантаноидни координационни съединения

Има основание да се предполага, че лантаноидните комплекси с подобрени кумаринови лиганди ще запазят или дори ще подобрят биологична активност [131,132]. Ce (III), La (III) и Nd (III) йони притежават цитотоксична активност. Известно е, че кумарините също имат тези свойства. Поради това идеята да се синтезират комплекси с Ce (III), La (III) и Nd (III) е съединенията да се изследват за цитотоксична и анти-*HSV* активност.

Бискумарините и техните лантаноидни координационни съединения са проучени за цитотоксична активност върху спектър от човешки туморни клетъчни линии с помощта на МТТ тест. Получените IC₅₀ стойности на трите лиганда показват, че 2,3,4-триметокси- (**2**) и особено 3,4,5-триметокси- (**3**) са значително по-активни от 3,4-диметокси производното (**1**). При всички съединения най-висока химиочувствителност се отчита при левкемичните клетъчни линии KE-37(SKW-3), HL-60, BV-173, докато тези с произход от солидни тумори – MCF-7, MDA-MB-231 и MGH-U1 са много по-слабо чувствителни. Цериевите комплекси показват най-висока цитотоксична активност, сравнима с тази на свободния лиганд или дори по-висока, докато съответните лантанови и неодимови координационни съединения са по-слабо активни. За оценка на способността на изследваните съединения да индуцират апоптоза, бе проведено количествено определяне на образуването на моно- и олигонуклеозомални ДНК фрагменти при третиране клетки с помощта на “Cell death detection” ELISA-кит (Roche Applied Science). 24-Часовото третиране на KE-37 клетките с лиганд (**3**), както и с неговите цериев (**3a**), лантанов (**3b**) и неодимов (**3c**) комплекси води до значително натрупване на хистоно-асоциирани ДНК-фрагменти, което свидетелства за индукция на програмирана клетъчна смърт.

Таблица 56. Цитотоксична активност на изследваните бис-кумаринови производни **1-3** и техните цериеви (**1a-3a**), лантанови (**1b-3b**) и неодимови (**1c-3c**) комплекси върху спектър от туморни клетъчни линии след 72 ч експозиция in (MTT-тест)

| Съедине -ние | <i>IC₅₀ (μM)</i> | | | | | |
|-----------------|-----------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|-------------------------|
| | HL-60 ^a | KE-37 ^b | BV-173 ^c | MGH-U1 ^d | MCF-7 ^e | MDA-MB-231 ^e |
| 1 | 24.4 ± 3.7 | 31.9 ± 2.9 | 37.3 ± 4.4 | 44.6 ± 2.7 | 51.8 ± 4.1 | 47.7 ± 3.6 |
| 1a | 21.3 ± 2.9 | 30.8 ± 1.2 | 29.1 ± 5.7 | 40.1 ± 4.2 | 50.9 ± 2.2 | 49.2 ± 4.2 |
| 1b | 25.4 ± 4.3 | 33.3 ± 2.1 | 38.2 ± 2.3 | 47.2 ± 3.7 | 54.6 ± 2.9 | 55.4 ± 2.9 |
| 1c | 27.1 ± 2.6 | 35.7 ± 3.2 | 34.6 ± 3.0 | 51.6 ± 4.4 | 56.9 ± 3.7 | 58.9 ± 2.9 |
| 2 | 17.4 ± 2.2 | 21.2 ± 1.7 | 25.4 ± 3.1 | 32.1 ± 2.6 | 37.2 ± 4.3 | 30.1 ± 2.7 |
| 2a | 16.9 ± 2.4 | 19.2 ± 1.8 | 20.9 ± 6.2 | 30.7 ± 1.9 | 38.3 ± 2.1 | 28.9 ± 3.0 |
| 2b | 24.1 ± 4.3 | 22.0 ± 2.5 | 31.3 ± 3.4 | 37.9 ± 3.7 | 44.6 ± 3.8 | 38.4 ± 4.3 |
| 2c | 22.4 ± 2.7 | 24.6 ± 3.2 | 30.4 ± 2.2 | 39.3 ± 2.3 | 48.7 ± 3.7 | 39.2 ± 3.1 |
| 3 | 14.4 ± 3.7 | 18.9 ± 2.9 | 20.2 ± 1.3 | 24.4 ± 2.7 | 29.2 ± 3.6 | 27.9 ± 2.9 |
| 3a | 15.2 ± 2.9 | 21.2 ± 4.9 | 22.3 ± 3.3 | 27.0 ± 3.9 | 28.7 ± 2.8 | 25.8 ± 4.3 |
| 3b | 19.2 ± 3.3 | 27.9 ± 3.9 | 24.2 ± 4.3 | 30.4 ± 4.7 | 32.4 ± 1.7 | 27.1 ± 1.8 |
| 3c | 20.9 ± 2.7 | 25.4 ± 4.4 | 25.9 ± 1.7 | 29.8 ± 3.9 | 34.7 ± 2.9 | 30.1 ± 3.8 |
| Cisplatin | 8.2 ± 1.4 | 11.3 ± 2.7 | 22.9 ± 2.9 | 7.2 ± 1.5 | 7.9 ± 2.1 | 8.6 ± 2.7 |

^a Остра промиелоцитна левкемия; ^b Т-клетъчна левкемия; ^c Хронична миелоидна левкемия; ^d Карцином на пикочния мехур; ^e Карцином на млечната жлеза.

IV.8.1. Цитотоксични и проапоптогични ефекти

Антипролиферативната и цитотоксична активност на бискумариновите лиганди и на съответните лантаноидни (цериеви, лантанови и неодимови) комплекси бе оценена *in vitro* върху спектър от човешки туморни клетъчни линии репрезентативни за някои клиничнозначими неопластични заболявания: HL-60 (остра промиелоцитна левкемия); KE-37(SKW-3) (Т-клетъчна левкемия); BV-173 (хронична миелоидна левкемия); MGH-U1 (EJ) (карцином на пикочния мехур); MCF-7 (карцином на млечната жлеза, с експресия на естрогенов рецептор) и MDA-MB-231 (карцином на млечната жлеза, без експресия на естрогенов рецептор). Клетъчната жизнестойност след 72 ч третиране бе оценена с помощта на стандартния МТТ тест на Mosmann [133] като от него чрез нелинейна регресия бяха определени съответните IC₅₀ стойности (концентрациите, при които съответното съединение предизвиква 50% редукция на виталните клетки), обобщени на таблица 5б. Cisplatin (Platidium[®], Lachema) бе използван като референтен антинеопластичен препарат.

От представените данни се вижда, че изследваните бискумарини показват изразена цитотоксична активност върху използваните клетъчни линии, при което установените стойности на IC₅₀ са съпоставими с тези на референтното антинеопластично лекарство cisplatin. Съпоставянето на IC₅₀ стойностите на трите кумаринови производни показва, че триметокси аналозите **2** и особено **3** са значително по-активни от диметокси производното **1**. При всички съединения най-висока химиочувствителност се отчита при левкемичните клетъчни линии KE-37(SKW-3), HL-60, BV-173, докато тези с произход от солидни тумори – MCF-7, MDA-MB-231 и MGH-U1 са много по-слабо чувствителни.

Комплексните съединения и на трите лиганда се отличават с цитотоксична активност, сравнима с тази на лигандите или е дори по-слабо изразена. Както се вижда от IC₅₀ стойностите при всички кумаринови производни цериевите комплекси показват най-висока цитотоксична активност, сравнима с тази на свободния лиганд или дори по-висока, докато съответните лантанови и неодимови координационни съединения са по-слабо активни. Отчетените различия в химиочувствителността на отделните туморни модели към свободните лиганди са налице и при проучване на цитотоксичните свойства на съответните лантаноидни комплекси.

Получените данни дават основание да се заключи, че изследваните кумаринови производни и техните лантаноидни комплекси са цитотоксични биологичноактивни вещества, потискащи пролиферацията на спектър от малигнени клетъчни линии при ниски микромолярни концентрации. Изразената цитотоксична активност както и установената способност на подобрени аналози да индуцират програмирана клетъчна смърт ги прави перспективни като лидерни структури за разработване на по-големи серии от хомолози, чието биологично охарактеризиране би позволило изясняване на връзката структура-активност за този клас антинеопластични съединения, както и провеждането на рационален дизайн за разработване на по-активни аналози.

4.9. Изследване на антивирусната активност (анти-HIV-1) на лантаноидните комплекси в сравнение с лигандите

Определянето на IC₅₀ и МНК за всяко изходно вещество и неговия комплекс са предмет на изследването. Използвани са МТ-4 клетки.

Таблица 57. Цитотоксичност (ЦД50 - μM), максимална нетоксична концентрация (МНК - μM) и терапевтичен индекс (ТИ) на изследваните изходни 4-хидроксикумарини и техните комплекси (ТИ = ЦД50/МНК) на клетки МТ-4 и при култивиране 72 ч.

| Вещество | МНК (μM) | III. ЦД50 (μM) | Терапевтичен индекс (ТИ) |
|--|--------------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| $\text{C}_{27}\text{H}_{20}\text{O}_8$ (L-1) | 0,1 | 1 000 | 10 000 |
| IV. Ce (L-1) | 0,001 | 50 | 50 000 |
| Nd (L-1) | 0,01 | 50 | 50 000 |
| La (L-1) | 0,01 | 90 | 9 000 |
| V. $\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{O}_9$ (L-2) | 1 | 10 000 | 10 000 |
| VI. Ce (L-2) | 0,01 | 100 | 10 000 |
| VII. Nd (L-1) | 0,001 | 75 | 75 000 |
| La(L-1) | 0,001 | 100 | 100 000 |
| $\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{O}_9$ (L-3) | 0,01 | 1 000 | 100 000 |
| VIII. Ce (L-3) | 0,001 | 600 | 600 000 |
| IX. Nd (L-3) | 0,001 | 500 | 500 000 |
| X. La (L-3) | 0,001 | 400 | 400 000 |

Резултатите показват, че най-слабо токсични за МТ-4 клетките са редкоземните комплекси на 3,3'-(3,4,5-триметоксифенилметилден)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он) (**3**), следвани от тези на 3,3'-(2,3,4-триметоксифенилметилден)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он) (**2**) и накрая като най-силно токсични за клетките са комплексите на 3,3'-(3,4-диметоксифенилметилден)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он) (**1**). Интересно е, че съединение (**1**) е значително по-силно токсично от останалите две съединения – (**2**) и (**3**). От редкоземните комплексни съединения сравнително най-токсични са тези на церия (Ce (L-1)), следвани с малка разлика от Ce (L-2). За разлика от тях Ce (L-3) се отличава със сравнително ниска цитотоксичност. Резултатите показват, че

комплексите на 4-хидроксикумарините с редкоземните метали са по-токсични от изходните кумарини. Затова пък както изходните съединения, така и новосинтезираните комплекси имат висок терапевтичен индекс [134-136].

Таблица 58. Определяне на анти-HIV-активност на изходните 4-хидроксикумарини и новосинтезираните комплексни съединения по МТТ теста

| Вещество (1) | МТТ тест % инх./концентрация (2) | RT в култ. течност % инх./концентрация (3) | rRT /директен ефект/ % инх./концентрация (4) |
|---|--|--|---|
| C ₂₇ H ₂₀ O ₈ (L-1) | > 95 - МНК 72.3 - МНК ⁻¹ | 86.4 - МНК 65.5 - МНК ⁻¹ | 0 – МНК 0 - МНК ⁻¹ |
| Ce (L-1) | 91,1 - МНК 53,3 - МНК ⁻¹ 55,2 - МНК ⁻² | 56.4 - МНК 91.9 - МНК ⁻¹ 69.3 - МНК ⁻² | 0 – МНК 0 - МНК ⁻¹ 0 - МНК ⁻² |
| Nd (L-1) | 0 - МНК 0 - МНК ⁻¹ 0 - МНК ⁻² | 0 - МНК 0 - МНК ⁻¹ 0 - МНК ⁻² | 0 – МНК 0 - МНК ⁻¹ 0 - МНК ⁻² |
| La (L-1) | > 95 - МНК 62,6 - МНК ⁻¹ 56,6 - МНК ⁻² | 0 - МНК 0 - МНК ⁻¹ 35.1 - МНК ⁻² | 0 – МНК 0 - МНК ⁻¹ 0 - МНК ⁻² |
| C ₂₈ H ₂₂ O ₉ (L-2) | > 95 - МНК 90,2 - МНК ⁻¹ 0 - МНК ⁻² | 91.3 - МНК 81.4 - МНК ⁻¹ 0 – МНК ⁻² | 0 – МНК 0 - МНК ⁻¹ 0 - МНК ⁻² |
| Ce (L-2) | > 95 - МНК 92,3 - МНК ⁻¹ 90,3 - МНК ⁻² | 28.2 - МНК 76.7 - МНК ⁻¹ 87.2 – МНК ⁻² | 0 МНК 0 - МНК ⁻¹ 0 - МНК ⁻² |
| Nd (L-2) | > 95 - МНК > 95 - МНК ⁻¹ > 95 - МНК ⁻² | 18.0 - МНК 19.0 - МНК ⁻¹ 21.0 – МНК ⁻² | 0 – МНК 0 - МНК ⁻¹ 0 - МНК ⁻² |
| La (L-2) | > 95 - МНК | 99.3 - МНК | 0 – МНК |

| | | | |
|---|--|--|---|
| | 90.3 - МНК ⁻¹ 90.0 - МНК ⁻² | 82.1 - МНК ⁻¹ 0 - МНК ⁻² | 0 - МНК ⁻¹ 0 - МНК ⁻² |
| C ₂₈ H ₂₂ O ₉ (L-3) | 80.1 - МНК 75.4 - МНК ⁻¹ 26.3 - МНК ⁻² | 88.5 - МНК 71.2 - МНК ⁻¹ 15.3 - МНК ⁻² | 0 - МНК 0 - МНК ⁻¹ 0 - МНК ⁻² |
| Ce (L-3) | 68.2 - МНК 63.5 - МНК ⁻¹ 61.2 - МНК ⁻² | 51.3 - МНК 50.5 - МНК ⁻¹ 48.3 - МНК ⁻² | 0 - МНК 0 - МНК ⁻¹ 0 - МНК ⁻² |
| Nd (L-3) | 67.1 - МНК 64.6 - МНК ⁻¹ 77.7 - МНК ⁻² | 58.2 - МНК 52.6 - МНК ⁻¹ 54.1 - МНК ⁻² | 0 - МНК 0 - МНК ⁻¹ 0 - МНК ⁻² |
| La (L-3) | 77.4 - МНК 60.9 - МНК ⁻¹ 24.6 - МНК ⁻² | 61.2 - МНК 53.9 - МНК ⁻¹ 13.5 - МНК ⁻² | 0 - МНК 0 - МНК ⁻¹ 0 - МНК ⁻² |

- Резултатите от изследванията показват антивирусната активност (анти-HIV-1) на 3,3'-(3,4-диметоксифенилметилен)бис-(4-хидроксипиран-2-он) (**1**), 3,3'-(2,3,4-триметоксифенилметилен)бис-(4-хидроксипиран-2-он) (**2**) и 3,3'-(3,4,5-триметоксифенилметилен)бис-(4-хидроксипиран-2-он) (**3**) – изходните 4-хидроксикумаринови производни, основа на синтеза на новите комплекси с редкоземни метални йони.
- Налице е висока активност на производните на анти-HIV активните лиганди. Някои от тях – напр. La (L-2) в биологичен тест показват дори по-висока активност от изходните кумарини. Останалите две производни с неодим показват значителна антивирусна активност [вж. Nd (L-2) и Nd (L-3)].
- От всички изследвани съединения комплексите на 4-хидроксикумарините с лантан и церий показват най-постоянно и отчетливо потискане на вирусната репликация.

IV. 10. Основни приноси

- Синтезирани са нови комплексни съединения на анти-HIV-активни бис-4-хидроксикумаринови производни с тривалентни лантаноидни йони. Веществата са охарактеризирани и идентифицирани с помощта на елементарен анализ и спектроскопски изследвания. Установено е, че независимо от използваните количествени съотношения между реагентите, комплексните съединения са със състав метал:лиганд 1:1.

- При синтеза на натриева сол на 3,3'-(3,4-диметоксифенил-метилена)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он) за първи път се установи, че вместо сол се получава комплексно съединение с полимерна структура с шест координиран натриев йон. Кумариновата структура не се повлиява от присъствието на алкална основа при стайна температура.

- Бискумарините и техните лантаноидни комплекси проявяват изразена цитотоксична активност върху спектър от човешки туморни клетъчни линии, при което изомерните триметокси производни са значително по-активни от диметокси производното. Цериевите комплекси проявяват най-висока цитотоксична активност, докато съответните лантанови и неодимови координационни съединения са по-слабо активни.

- Третирането на KE-37 клетки с лиганд **3** както и с неговите цериев (**3a**), лантанов (**3b**) и неодимов (**3c**) комплекси води до значително натрупване на хистоно-асоциирани ДНК-фрагменти, индукция на програмирана клетъчна смърт.

Установена е висока активност на новосинтезираните комплексни съединения. Някои от тях – напр. (L-2)La в биологичен тест показват по-висока активност от лигандите. (L-1)Nd не показва антивирусна активност. От всички редкоземни метални производни La с трите лиганда показва най-постоянно и отчетливо подтискане на вирусната репликация.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tyagi J. S. *Chem. Era* **11** (4), 22-27 (1975).
2. Singh P. J. *Indian Chem. Soc.* **52** (10), 958-959 (1975).
3. Singh D. *J. Inst. Chem (India)* **49** (4), 191-196 (1977).
4. Bag S. P. *J. Indian Chem. Soc.* **58** (9), 901-903 (1981).
5. Singh H. B. *J. Inst. Chem (India)* **54** (4), 163-168 (1982).
6. Singh H. B. *J. Inst. Chem (India)* **54** (6), 276-280 (1982).
7. Shebaldova A. D. *Khim. Pharm. Zh.* **10** (11), 67-72 (1976).
8. Rastogi D. K. *Austr. J. Chem.* **25** (4), 729-737 (1972).
9. Rastogi D. K. *J. Inorg. Nucl. Chem.* **34** (2), 619-623 (1972).
10. Rastogi D. K. *J. Inorg. Nucl. Chem.* **34** (4), 1449-1452 (1972).
11. Rastogi D. K. *Indian J. Chem.* **13** (12), 1335-1337 (1975).
12. Yamada I., N. Nakatani, H. Fuwa. *Agric. Biol. Chem.* **51** (6), 1711-1714 (1987).
13. Leiner S., D. Hesoun, M. Rajsner. *Appl.* **87**, 1, 307, CS 259, 633 (Cl. C07D311/16), 1987 (Chem. Abstr. **111**, 232574).
14. Костова И. Дисертация, Фармацевтичен факултет, МУ- София, 2001.
15. Kumar B. B., V. J. Raju, V. Ranabaore, M. C. Ganorkar. *Orient J. Chem.* **3** (1), 34-39 (1987).
16. Deng R., J. Wu, L. Long. *Bull. Soc. Chim. Belg.* **101** (6), 439-443 (1992).
17. Silveira W., A. Bernardino. Process for obtaining the anticoagulant and rodenticide 3-(1-phenyl-2-acetyethyl)-4-hydroxycoumarin (Warfarin) and its alkali metals (esp sodium) salts. *Appl.* **87**, 724, PI BR 87 00,724 (Cl. CO7D311/02), 1987 (Chem. Abstr. **110**, 135088).
18. Kerr J. S., H. Y. Li, R. S. Wexler, A. J. Robinson, C. S. Robinson, G. A. Boswell, C. Kranthausser, P. P. Harlow. *Thromb. Res.* **88** (2), 127-136 (1997).
19. Duhaiman A. S. *J. Protein Chem.* **15** (2), 261-264 (1996).
20. Liu S. X., M. C. Kapingu, M. S. Wang, G. C. Chiou. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* **13** (1), 69-79 (1997).
21. Matsuda J. *Chiryogaku* **10** (6), 946-949 (1983) (Chem. Abstr. **99**, 168847).
22. Verstraete M. *Verh. K. Acad. Geneeskol. Belg.* **48** (2), 85-98 (1986) (Chem. Abstr. **105**, 145478).
23. Schulz J., M. Schulz. *Pharm. Ztg.* **135** (39), 51-54 (1990).
24. Singh D. *J. Inst. Chem. (India)* **52** (6), 243-249 (1980).

25. Singh H. B. *J. Ind. Chem. Soc.* **60** (4), 344-346 (1983).
26. Ryzhenko L. M. *Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim.* **6**, 1418-1421 (1974).
27. Shebaldova A. D. *Koord. Khim.* **7** (2), 279-283 (1981).
28. Ryzhenko L. M. *Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim.* **1**, 208-210 (1983).
29. Pogosyan L. E., S. N. Avagyan, A. M. Arakelyan, N. Zh. Galstyan, S. S. Avagyan. *Koord. Khim.* **15** (1), 108-109 (1989).
30. Pogosyan L. E., S. N. Avagyan, A. M. Arakelyan, S. S. Avagyan. *Arm. Khim. Zh.* **42** (7), 467-470 (1989).
31. Bisi C. C., O. Carugo. *Inorg. Chim. Acta* **159** (2), 157-161 (1989).
32. Layley D. R., J. C. Bertrand, R. N. Ciccarelli, T. R. Pickering. Appl. US 5250380 (Cl. G03G-009/08), 1993.
33. Shebaldova A. D. Appl. USSR 675,843 (Cl. C 07 F15/00), 1980 (Chem. Abstr. **93**, 31802).
34. Ryzhenko L. M. *Khim. Pharm. Zh.* **15** (6), 72-76 (1981).
35. Ryzhenko L. M., A. D. Shebaldova. *Koord. Khim.* **14** (10), 1385-1388 (1988).
36. Artemenko M. V., V. A. Litenko, E. G. Lampeka, N. I. Zakharenko. *Ukr. Khim. Zh.* **58** (4), 285-289 (1992).
37. Lampeka E. G., V. A. Litonenko, M. V. Artemenko. *Ukr. Khim. Zh.* **59** (3), 242-246 (1993).
38. Joseph P. T. *Transition Met. Chem.* **3** (5), 286-288 (1978).
39. Trapkov V. A., E. A. Parfenov, L. D. Smirnov. *Ukim. Pharm. Zh.*, **30** (7), 20-21 (1996).
40. Abd El Wahed M. G., K. El Manakhly, N. El Khososy, A. El Faragy. *Bull. Korean Chem. Soc.*, **18** (6), 594-599 (1997).
41. Raboin J. C., M. Beley, G. Uirsch. *Tetrahedron Lett.*, **41** (8), 1175-1177 (2000).
42. Abd El Wahed M. G., N. El Khososy, K. A. El Manakhly. *Bol. Soc. Quim. Peru*, **63** (2), 72-80 (1997).
43. Gudashi K. B., T. R. Goudar. *J. Indian Chem. Soc.* **74** (10), 786-788 (1997).
44. Mandakmare, A. U., M. L. Narwade. *Acta Cienc. Indica Chem.* **20** (1), 30-34 (1994).
45. Agarwal S. K., M. Lal. *Asian J. Chem.* **10** (4), 1051-1053 (1998).
46. Merdy P., E. Guillon, M. Aplincourt, J. Domouceau. *J. Chem. Res.* **2**, 76-77 (2000).
47. Kulkarni G. M., M. V. Kulkarni. *Proc. Natl. Acad. Sci. India, Sect. A* **68** (3), 209-216 (1998).

48. Hagen V., J. Bendigb, S. Fringsc, B. Wiesnera, B. Schadea, S. Helmb, D. Lorenza, U. B. Kauppc. *J. Photochem. Photobiol. B: Biology* **53** (1-3),91-102 (1999).
49. Tipper J., E. Wollny, S. Fullilove, G. Kramer, L. Hardesty. *J. Biol. Chem.* **261** (16), 7144-7150 (1986).
50. Parellada J., G. Sugrez, M. Guinea. *J. Enzyme Inhibition*, 1998. (?)
51. Weser U., C. Richter, A. Wendel, M. Younes. *Bioinorg. Chem.* **8** (3), 201-213 (1978).
52. Valeur B., J. Pouget, J. Bourson, M. Kaschke, M. P. Ernsting. *J. Phys. Chem.* **96** (16), 6545-6549 (1992).
53. Karsli N., C. Erk. Biscoumarin ligands and their complexes with Na⁺, K⁺ and Pb²⁺ cations. *Dyes Pigm.* **32** (2), 85-92 (1996).
54. Matsuo Hiroshi, Nakao Takuya. Appl. JP 06102548 (Cl. G02F001/35), 1994, (Chem. Abstr. **122**, 42387).
55. Mann Kent R., M. Blough Amy, L. Schrenk Janet, R. Koefod Scott. *Pure Appl. Chem.* **67** (1), 95-101 (1995).
56. Aye K. T., R. J. Pudephatt. *Inorg. Chim. Acta* **235** (1), 307-310 (1995).
57. Jamashita K., S. Imakashi. Appl. JP 06, 332, 172 (Cl. G03F7/029), 1994 (Chem. Abstr. **122**, 226830).
58. Kulmalaa S., M. Helinb, T. Ala-Klemb, L. Vireb, D. Papkovskyc, T. Korpelad, A. Kulmalab. *Anal. Chim. Acta* **386** (1-2), 1-6 (1999).
59. Selvin P. R., J. Hearst. Appl. US 269, 162, 29 (Cl. G01N33/53), 1996 (Chem. Abstr. **124**, 255246).
60. Jiyan C., P. R. Selvin. *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry* **135** (1), 27-32 (2000).
61. Wang M., G. Qian, S. Liu. *Mater. Sci. Eng.* **55** (1), 119-122 (1998).
62. Busenbender I., G. Agüero. Appl DE 19, 757, 312 (Cl. H01L031/06), 1998 Chem. Abstr. **128**, 232811).
63. Seifert K. R., L. Lynch, D. K. Johnson, J. Kalla, W. Fowler. Appl. WO 97, 096, 09 (Cl. G01N021/64), 1997 (Chem. Abstr. **126**, 258184).
64. Tsien R. Y., J. E. Gonzalez. Appl. WO 96, 411, 66 (Cl. G01N033/50), 1996 (Chem. Abstr. **126**, 154814).
65. Valeurasba B., I. Leraya. *Coord. Chem. Rev.* **205** (2), 3-40 (2000).
66. Heyduk E., T. Heyduk. *Anal. Biochem.* **248** (2), 216-227 (1997).
67. Roy B. C., R. Peterson, S. Mallik, A. D. Campiglia. *J. Org. Chem.* **65** (12), 3644-3651 (2000).

68. Breeze A. L. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* **36** (4), 323-372 (2000).
69. Bulut M., C. Erk. *Synth. Commun.* **22** (9), 1259-1263 (1992).
70. Badaoui F. Z., J. Bourson. *Anal. Chim. Acta* **302** (2), 341-354 (1995).
71. Bourson J., J. Pouget, B. Valeur. *J. Phys. Chem.* **97** (17), 4552-4557 (1993).
72. Leraya I., J. L. Habib-Jiwanb, C. Brangera, J. Ph. Soumillionb, B. Valeur. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **135** (2-3), 163-169 (2000).
73. Takadate A., T. Masuda, C. Murata, T. Tanaka, S. Goya. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **68** (11), 3105-3110 (1995).
74. Erk C., A. Gocmen, M. Bulut. *J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. Chem.* **31** (4), 319-331 (1998).
75. Erk C., A. Gocmen, M. Bulut. *Supramol. Chem.* **11** (1), 49-56 (1999).
76. Wei J., L. Li, A. Tong. *Fenxi Shiyanshi* **18** (6), 5-9 (1999) (Chem. Abstr. **132**, 188998).
77. Arora A., M. G. Nair, M. G. Strasburg. *Free Radic. Biol. Med.* **24** (9), 1355-1363 (1998).
78. Vladimirov Iu. A., E. A. Parfenov, O. M. Epanchintseva, V. S. Sharov, E. S. Dremina, L. D. Smirnov. *Bull. Eksp. Biol. Med.* **113** (5), 479-481 (1992).
79. Chakrabarti S., A. Mahmood, A. I. Kassis, E. A. Bump, A. G. Jones, G. M. Makrigiorgos. *Free Radic. Res.* **25** (3), 207-220 (1996).
80. Chakrabarti S., G. M. Makrigiorgos, K. O'Brien, E. Bump, A. Kassis. *Free Radic. Biol. Med.* **20** (6), 777-783 (1996).
81. Robson C., K. A. Wright, P. R. Twentyman, P. A. Lambert, R. J. Griffin. *Biochem. Pharmacol.* **56** (7), 807-816 (1998).
82. Beeryd B. *Acta Pathol. Microbiol. Scand., Sect. A* **80** (3), 303-307 (1972).
83. Lu H. D., U. Schmitz, B. Niggemaun, K. S. Zauker. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **833**, 147-153 (1997).
84. Laprinzi C. L., J. W. Kugler, J. A. Sloan, T. W. Rooke, S. K. Wuella, P. Novatny, J. C. Michalak, P. J. Stella, R. Levitt, K. Windschitl. *N. Engl. J. Med.* **340** (5), 346-350 (1999).
85. Lake B. G. *Food Chem. Toxicol.* **37** (4), 423-453 (1999).
86. Roskopf F., J. Kraus, G. Franz. *Pharmazie* **47** (2), 139-142 (1992).
87. Parfenov E. A., L. D. Smirnov. *Khim. Pharm. Zh.* **22** (12), 1438-1448 (1998).

88. Weber U. S., B. Steffen, C. Siegers. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* **99** (2), 193-206 (1998).
89. Jimenez F. A., J. A. Molina, P. N. Mendoza, C. F. Leon, P. B. Flores, S. E. Santos, J. J. Mandoki. *Melanoma Res.* **9** (3), 243-247 (1999).
90. Ratanasavanh D., D. Lamiable, M. Biour, Y. Guedes, M. Gersberg, E. Leutenegger, C. Riche. *Fundam. Clin. Pharmacol.* **10** (6), 504-510 (1996).
91. Al Jorany K. H. A. *Dirasat. Med. Biol. Sci.* **25** (2), 138-149 (1998).
92. Egan D., P. James, D. Cooke, R. O'Kennedy. *Cancer Lett.* **118** (2), 201-211 (1997).
93. Kawai S., Y. Tomono, E. Katase, K. Ogawa, M. Yano. *Anticancer Res.* **20** (4), 2505-2512 (2000).
94. Kachur A. V., S. W. Tuttle, J. E. Biaglow. *Radiat. Res.* **150** (4), 475-482 (1998).
95. McCulloch P., W. D. George. *Brit. J. Cancer* **59** (2), 179-183 (1989).
- 96. Manolov I., M. Topashka-Ancheva, E. Klouček. The synthesis, toxicological and comparative cytogenetic characteristics of the anticoagulant warfarin. *Eksp. Med. Morfol.* **31** (3), 49-60 (1993).**
- 97. Kostova I., I. Manolov, I. Nicolova, S. Konstantinov, M. Karaivanova. New lanthanide complexes of 4-methyl-7-hydroxycoumarin and their pharmacological activity, *Eur. J. Med. Chem.*, 2001, **36**, 339-347.**
- 98. Kostova I., I. Manolov, I. Nicolova, N. Danchev. New metal complexes of 4-methyl-7-hydroxycoumarin sodium salt and their pharmacological activity, *II Pharmaco*, 2001, **56**, 707-713.**
99. Singh H. B. *Proc. Indian Acad. Sci. Ser. Chem. Sci.* **90** (2), 141-146 (1981).
100. Shebalova A. D. *Koord. Khim.* **7** (2), 279-283 (1981).
- 101. Manolov I., I. Kostova, T. Netzeva, S. Konstantinov, M. Karaivanova. Cytotoxic activity of Cerium complexes with coumarin derivatives. Molecular modeling of the ligands. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **333** (4), 93-98 (2000).**
102. Кузнецова Г. А. *Природные кумарины и фурукумарины*. Л., Наука, 1967, 247.
103. Lewis F. D., S. V. Barancyk. *J. Am. Chem. Soc.* **111**, 8653-8658 (1989).
- 104. Manolov I., I. Kostova, S. Konstantinov, M. Karaivanova. Synthesis, physicochemical characterisation and cytotoxic screening of new complexes of cerium, lanthanum and neodymium with Nifcoumar sodium salt, *Eur. J. Med. Chem.*, 1999, **34**, 853-858.**
- 105. Karaivanova V., I. Manolov, M. Minassyan, N. Danchev, S. Samurova. Metal Complexes of Warfarin Sodium, *Die Pharmazie*, 1994, **49**(11), 856-857.**

106. Kostova I., I. Manolov, S. Konstantinov, M. H. Karaivanova. Synthesis, Physicochemical Characterisation and Cytotoxic Screening of new Complexes of Cerium, Lanthanum and Neodymium with Warfarin and Coumachlor Sodium Salts, *Eur. J. Med. Chem.*, 1999, **34**, 63-68.
107. Терентьев П. Б. *Масс-спектрометрия в органической химии*. М. Высш. Школа, 223 (1979).
108. Sharada L. N., M. C. Ganorcar. *Indian J. Chem., Sect. A.* **27** (6), 542-544 (1988).
109. Sharada L. N., M. C. Ganorcar. *Indian J. Chem., Sect. A.* **27** (2), 163-165 (1988).
110. Ёонин Б. И., Б. А. Ершов, А. И. Кольцов. ЯМР-спектроскопия в органической химии. Л., Химия, 272 (1983).
111. Kostova I., I. Manolov, M. Radulova. Stability of the complexes of some lanthanides with coumarin derivatives. I. Cerium (III)-4-methyl-7-hydroxycoumarin, *Acta Pharm.* 2004, **54** (1), 37-47.
112. Kostova I., I. Manolov, M. Radulova. Stability of the complexes of some lanthanides with coumarin derivatives. II. Neodymium (III)-acenocoumarol, *Acta Pharm.* 2004, **54** (1), 119-131.
113. Tencheva J., G. Velinov, O. Budevsky. *J. Electroanal. Chem.* **68**, 65-74 (1976).
114. Budevsky O., T. Zikolova, J. Tencheva. *Talanta* **35** (11), 899-905 (1988).
115. Roger G. B., M. Paabo, R. Robinson. *A. J. Phys. Chem.* **67** (9), 1833-1838 (1963).
116. Georgievskii V. P. *Uhim. Prir. Soed.* **6**, 770-773 (1985).
117. Singh D. *Indian J. Chem., Sect. A* **14** (10), 781-784 (1976).
118. Kostova I., I. Manolov, G. Momekov. Cytotoxic activity of new neodymium (III) complexes of bis-coumarins. *Eur. J. Med. Chem.*, 2004, **39**, 765-775.
119. Trendafilova N., I. Kostova, I. Manolov, G. Bauer, T. Mihaylov, I. Georgieva. Synthesis and Spectroscopic Study of a New Lanthanum (III) Complex of 3,3'-Benzylidenedi-4-hydroxycoumarin. *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry* 2004, **34** (9), 1635 – 1650.
120. Kostova I., I. Manolov, G. Momekov, Tz. Tzanova, S. Konstantinov, M. Karaivanova. Cytotoxic activity of new cerium (III) complexes of bis-coumarins. *Eur. J. Med. Chem.* 2005, **40**, 1246-1254.
121. Manolov I., S. Raleva, P. Genova, A. Savov, L. Froloshka, D. Dundarova, and R. Argirova. Antihuman Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Activity of Rare Earth Metal Complexes of 4-Hydroxycoumarins in Cell Culture. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, Vol. 2006, Article ID 71938, Pages 1-7.

122. **Penkova A., P. Retailleau, and I. Manolov.** Crystal Structure of Poly[(acetone-O)-3-((3,4-dimethoxyphenyl)(4-hydroxy-2-oxo-2H-chromen-3-yl)methyl)-(2-oxo-2H-chromen-4-olate)sodium]. Hindawi Publishing Corporation, *Org. Chem. Intern.* **2010**, Article ID 564256, 7 pages, doi: 10.1155/2010/564256.
123. Otwinovski Z. and W. Minor. " *Macromolecular Crystallography, Part A Methods in Enzymology*", Academic Press 1997, 307-326.
124. Nonius B.V., "Collect" data collection software, 1999.
125. Altomare A., M. C. Burla, M. Camalli, G. L. Cascarano, C. Giacovazzo, A. Guagliardi, A. G. G. Moliterni, G. Polidori & R. Spagna. *SIR 97* (1999). *J. Appl. Cryst.* 32, 115-119.
126. Sheldrick G. M. *SHELX97. Program for the Refinement of Crystal Structures from Diffraction Data*, University of Göttingen, Germany, 1997.
127. Spek A. L. *J. Appl. Cryst.* 36, 7-13 (2003).
128. Valente E. J., D. S. Eggleston. *Acta Cryst.* C45, 785-787 (1989).
129. Vijayalakshmi L., V. Parthasarathi, V. Vora, B. Desai, A. Shah. *Acta Cryst.* C57, 817-818 (2001).
130. Vijayalakshmi L, V. Parthasarathi, V. Vora, B. Desai, A. Shah. *Acta Cryst.* E58, o659-o660 (2002).
131. **Genova P., D. Dundarova, S. Raleva, R. Argirova, I. Manolov.** Comparative cytotoxicity of some novel synthesized 4-hydroxycoumarin (4-hc) derivatives against tumor and nontumor cell lines. *Pharmacia* (Sofia) **2005**, LII (1-2), 74-76.
132. **Raleva S., A. Savov, L. Froloshka, D. Dundarova, I. Manolov, R. Argirova.** Examination for anti human immunodeficiency virus – type 1 (HIV-1) effect of three 4-hydroxycoumarin (4-hc) derivatives. *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.* **2005**, 19 (2), 11-17.
133. Mosmann T. *J. Immunol. Methods* 65, 55-63 (1983).
134. **Genova-Kalou P. et al.** Rare-Earth metal complexes with 4- hydroxycoumarins show higher therapeutic efficacy than their ligands in cell culture. *7th International Symposium on Trace Elements in Human: new perspectives. Proc., Athens, 13 – 14 october 2009*, p. 77–81.
135. **Raleva S. et al.** Evidence for a new inhibitor of Human Immunodeficiency Virus – type 1 (HIV-1) integrase. Poster presentation. *Abstracts of the 6th Balkan Conference of Microbiology (Microbiologia Balkanica), Ohrid, Macedonia, 28 – 31 October, 2009*, Abstract 4.23P, 95.

136. Genova-Kalou P. et al. Cytotoxicity and antiviral activity of rare earth metal complexes with 4-hydroxycoumarins in cell cultures. *Fourth Workshop "On biological activity of metals and metal compounds"*. November 24 – 25, 2009, Sofia, Abstract BO2, 17.

СЪДЪРЖАНИЕ

I. Литературен преглед на биологичните свойства на кумарините

| | |
|---|-----------|
| I.1. Разпространение, основен структурен елемент, особености..... | 1 |
| I.2. Антикоагулантно действие на кумарини..... | 2 |
| I.3. Ензимно-модулираща активност..... | 7 |
| I.4. Антимикробна активност..... | 9 |
| I.5. Родентицидна активност..... | 13 |
| I.6. Спазмолитична и хипотензивна активност..... | 13 |
| I.7. Антиоксидантно действие..... | 15 |
| I.8. Противотуморно действие. Антинеопластична и антиметастатична активност..... | 18 |
| I.9. Противовъзпалотелна и антиалергична активност..... | 25 |
| I.10. Ефект върху калциевите канали..... | 25 |
| I.11. Фотосенсибилизиращо действие..... | 26 |
| I.12. Антивирусна активност..... | 27 |
| I.12.1. Анти-HIV лекарствени продукти..... | 27 |
| I.13. Уреазни инхибитори..... | 30 |
| I.14. Добавки към торове..... | 31 |
| I.15. Хербициди..... | 31 |
| I.16. Приложение в биохимията и молекулярната биология..... | 31 |
| I.17. Други фармакологични свойства..... | 32 |
| I.18. В лазерната техника..... | 33 |
| I.19. В аналитичната практика като киселинно-основни индикатори..... | 33 |
| ЛИТЕРАТУРА..... | 36 |
| ЦЕЛ И ЗАДАЧИ..... | 45 |

II. Разработване на патентно чисти технологии за синтез на антикоагуланти. Структурни изследвания

| | | |
|---------|---|-----|
| II.1. | Лабораторна технология за производство на антикоагуланти от кумаринов тип с клинично приложение..... | 46 |
| II.2. | Течнохроматографски контрол..... | 52 |
| II.3. | Количествено определяне на Wafarin Sodium..... | 52 |
| II.4. | Модификация на хидроксилната група в молекулата на 4-хидроксикумариновите антикоагуланти. Рентгеноструктурен анализ..... | 55 |
| II.5. | Модификации в страничната верига в молекулата на 4-хидроксикумариновите антикоагуланти. Рентгеноструктурен анализ..... | 59 |
| II.6. | Модификация на карбонилната група в страничната верига на 4-хидроксикумариновите антикоагуланти. Рентгеноструктурен анализ..... | 69 |
| II.7. | Модификации в ароматното ядро от страничната верига в молекулата на 4-хидроксикумариновите антикоагуланти..... | 79 |
| II.8. | Модификация на цялата странична верига на антикоагулантите с клинично приложение. Рентгеноструктурен анализ..... | 82 |
| II.8.1. | Получаване на арилметилен- β -кетоестери..... | 82 |
| II.8.2. | Взаимодействие на арилметилен- β -кетоестери с 4-хидроксикумарин..... | 89 |
| II.8.3. | Получаване на 3-арилметилен-2,4-пентандиони..... | 95 |
| II.8.4. | Взаимодействие на 3-арилметилен-2,4-пентандиони с 4-хидроксикумарин..... | 113 |
| II.9. | Токсичност и фармакологично действие на синтезираните кумаринови производни..... | 117 |
| II.9.1. | Изследване на противотуморно действие..... | 117 |
| II.9.2. | Цитогенетично охарактеризиране на антикоагулантите..... | 117 |
| II.9.3. | Родентицидно действие..... | 118 |
| II.9.4. | Растеж-регулираща активност на кумаринови антикоагуланти..... | 118 |
| II.9.5. | Антибактериална активност..... | 119 |
| II.9.6. | Токсикологична характеристика на антикоагулантите..... | 119 |
| II.9.7. | Токсичност и антикоагулантно действие на модифицирани молекули..... | 120 |

| | |
|--|-----|
| II.9.8. Фармакологична активност на синтезираните съединения с напълно модифицирана странична верига..... | 121 |
| II.10. Основни приноси..... | 122 |
| ЛИТЕРАТУРА..... | 124 |

III. Синтез, структура, свойства и фармакологична активност на бискумарини и техни производни

| | |
|---|-----|
| III.1. Синтез, структура, свойства и фармакологична активност на някои бискумаринови съединение. Рентгеноструктурен анализ..... | 133 |
| III.2. 2,4-Дикетохромани..... | 172 |
| III.3. Хроманокумарини..... | 174 |
| III.4. Взаимодействие на 4-хидроксикумарин с Шифови бази..... | 179 |
| III.5. Тетракискумарини..... | 181 |
| III.6. Синтез и изследване на диоксабициклононани..... | 182 |
| III.6.1. Получаване на 3-ацетилкумаринови производни..... | 182 |
| III.6.2. Взаимодействие на 4-хидроксикумарин с 3-ацетилкумаринови производни..... | 189 |
| III.7. Киселинно-основни свойства на някои 4-хидроксикумарини..... | 204 |
| III.7.1. Определяне на протолизната константа на III-24..... | 206 |
| III.7.1.1. Потенциометрично определяне на протолизната константа..... | 206 |
| III.7.1.2. Диференциален метод..... | 207 |
| III.7.1.3. Потенциометрично определяне на pK_a с помощта на метода на Гран..... | 208 |
| III.7.1.4. Спектрофотометрично определяне на pK_a | 209 |
| III.7.1.5. Основание за използване на III-24 като индикатор при киселинно-основното титруване..... | 211 |
| III.8. Токсикологични и фармакологични изследвания на бискумаринови производни..... | 212 |
| III.9. Сравнителна цитотоксичност на бискумарини върху туморни и нетуморни клетъчни линии..... | 215 |
| III.10. Антиоксидантно действие на някои бискумарини..... | 219 |
| III.11. Растеж-регулираща активност на някои бискумарини..... | 220 |

| | |
|------------------------------|-----|
| III.12. Основни приноси..... | 220 |
| ЛИТЕРАТУРА..... | 222 |

IV. Синтез, структура и фармакологични свойства на комплексни съединения на кумаринови производни

| | |
|--|-----|
| IV.1. Комплексни съединения и комплексообразване..... | 234 |
| IV.2. Синтез и анализ на комплексни съединения на 4-метил-7-хидроксикумарин (Mendiaxon) с лантаноиди (церий, лантан, неодим) и с йоните на някои преходни биогенни метали..... | 244 |
| IV.2.1. Термогравиметричен анализ..... | 246 |
| IV.2.2. Масспектрален анализ..... | 247 |
| IV.2.3. Химични връзки метал-лиганд..... | 248 |
| IV.2.4. Абсорбционен спектрален анализ..... | 249 |
| IV.2.5. Спектри в инфрачервената област..... | 249 |
| IV.2.6. Спектри в далечната инфрачервена област..... | 251 |
| IV.2.7. ^1H ЯМР спектрални изследвания..... | 252 |
| IV.2.8. ^{13}C ЯМР спектри на комплексите на Mendiaxon..... | 253 |
| IV.2.9. Рентгеноструктурен прахов анализ..... | 254 |
| IV.3. Синтез и анализ на комплексни съединения на лантаноиди с производни на 4-хидроксикумарина..... | 255 |
| IV.3.1. Масспектрален анализ..... | 258 |
| IV.3.2. Абсорбционни спектри..... | 261 |
| IV.3.3. Спектри в инфрачервената област..... | 262 |
| IV.3.4. Спектри в далечната инфрачервена област..... | 265 |
| IV.3.5. ^1H ЯМР и ^{13}C ЯМР спектрални изследвания..... | 267 |
| IV.3.6. Рентгеноструктурен прахов анализ..... | 268 |
| IV.3.7. Изследване стабилността на комплексните съединения..... | 269 |
| IV.3.8. Определяне на протолизните константи на изследваните лиганди..... | 269 |
| IV.3.9. Определяне на степенните стабилитетни константи на комплекса на церий с Mediaxon..... | 270 |
| IV.3.10. Определяне на степенните стабилитетни константи на комплекса на неодим с Mendiaxon..... | 271 |

| | |
|---|-----|
| IV.3.11. Определяне на степенните стабилитетни константи на церий, лантан и неодим с производните на 4-хидроксикумарина (Ascenocoumarol, Mendiaxon и Coumachlor)..... | 271 |
| IV.4. Комплексни съединения на бискумарини..... | 273 |
| IV.4.1. Синтез на комплексни съединения на бискумарини с йоните на редкоземни елементи..... | 273 |
| IV.4.2. Получаване на натриева сол на 3,3'-(3,4-диметоксифенил- метилен)бис-(4-хидрокси-2Н-1-бензопиран-2-он). Доказване структурата на солта..... | 280 |
| IV.5. Фармакологични изследвания на комплексните съединения..... | 286 |
| IV.5.1. Спазмолитична активност на комплекси на Mendiaxon..... | 286 |
| IV.6. Антикоагулантна активност на комплексите..... | 288 |
| IV.6.1. Антикоагулантен ефект на комплекси на Mendiaxon..... | 288 |
| IV.6.2. Антикоагулантен ефект на комплекси на Warfarin..... | 289 |
| IV.6.3. Антикоагулантна активност на комплекси на Coumachlor..... | 290 |
| IV.6.4. Антикоагулантна активност на комплекси на Ascenocoumarol..... | 291 |
| IV.7. Цитотоксична активност <i>in vitro</i> на комплексите на кумарини с лантаноиди (МТТ-тест)..... | 292 |
| IV.7.1. Цитотоксичност при РЗНR1 клетки..... | 293 |
| IV.7.2. Цитотоксичност при ТНР-1 клетки..... | 296 |
| IV.7.3. Цитотоксичност при клетъчна линия К-562..... | 298 |
| IV.8. Цитотоксична активност на бискумарини и техни лантаноидни координационни съединения..... | 300 |
| IV.8.1. Цитотоксични и проапоптотични ефекти..... | 302 |
| IV.9. Изследване на антивирусната активност (анти-НIV-1) на лантаноидните комплекси в сравнение с лигандите..... | 303 |
| IV.10. Основни приноси..... | 307 |
| ЛИТЕРАТУРА..... | 308 |